

**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



Nové C-H aktivace a cross-coupling reakce pro modifikace deazapurinových nukleobází

New C-H activations and cross-coupling reactions for modification of deazapurine nucleobases

Mgr. Nazarii Sabat

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

Praha, 2017

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 22.09.2017

Podpis

Abstract

This PhD thesis reports the development of novel C-H activation strategies and aqueous-phase Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions for the synthesis of modified deazapurine nucleobases.

The methodologies of chemo- and regioselective synthesis of highly functionalized deazapurines have been developed by using modern C-H activation chemistry. Various functional groups such as amino-, imido-, silyl- and phosphoryl- were introduced by C-H activation reactions.

Amino deazapurine derivatives were synthesized by developed Pd/Cu-catalyzed direct C-H amination and C-H chloroamination of 6-substituted 7-deazapurines with *N*-chloro-*N*-alkyl-arylsulfonamides. C-H imidation reactions of pyrrolopirimidines were performed under ferrocene catalysis with *N*-succinimido- or *N*-phthalimidoperesters. In order to obtain silylated derivatives, Ir-catalyzed C-H silylations of phenyldeazapurines with alkyl silanes were designed. Highly interesting deazapurine phosphonates were prepared by using Mn-promoted C-H phosphonation method and were further transformed into the corresponding phosphonic acids. All of the developed direct C-H functionalization reactions proceeded regioselectively at position 8 in deazapurine core, except for C-H silylation where reaction undergoes mainly as directed *ortho* C-H silylation on phenyl ring, leading to new interesting nucleobase derivatives.

The second part of this thesis focused on the modification of position 6 and 7 of 7-deazapurine bases by the aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions with diverse (het)aryl boronic acids. A series of 6-(het)aryl-7-deazapurine bases bearing F at position 7 and H, F, Cl, Me or NH₂ at position 2 was prepared. 7-(Het)aryl-7-deazapurine nucleobases were synthesized from SEM-protected-7-iodo-7-deazapurines by using a protecting group strategy. After cleavage of the SEM group, the 6-methoxy derivatives were transformed into 7-deazahypoxanthines and 7-deazaguanines by *O*-demethylation reactions.

C-H functionalization strategies in combination with aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions were shown to be a powerful tool for the modification of the deazapurine scaffold. Diverse functional groups were introduced directly by C-H activation reactions, whereas for (het)aryl substituents aqueous Suzuki-Miyaura cross-couplings were used. This approach allowed multifunctionalization of deazapurine all around the heterocycle system.

Abstrakt

Tato práce se zabývá vývojem nových C-H aktivačních reakcí a Suzuki-Miyaura reakcí ve vodné fázi využitelných pro syntézu modifikovaných deazapurinových nukleobází.

Byla vyvinuta metodologie pro chemo- a regioselektivní syntézu vysoko funkcionálizovaných deazapurinů založená na moderních metodách C-H aktivace, které umožňují do molekuly zavést různé funkční skupiny jako např. amino-, imido-, silyl- a fosfonyl-.

Aminodeazapurinové deriváty byly připraveny přímou Pd/Cu katalyzovanou C-H aminací a C-H chloroaminací z 6-substituovaných 7-deazapurinů pomocí *N*-chlor-*N*-alkylarylsulfonamidů. C-H imidační reakce pyrrolopyrimidinů pomocí *N*-sukcinimido- a *N*-ftalimidoperesterů byly provedeny za katalýzy ferrocenem. Dále byly navrženy iridiem katalyzované C-H silylační reakce 6-fenyldeazapurinů pomocí alkyl silanů. Pomocí manganem iniciované C-H fosfonace byly připraveny velmi zajímavé deazapurinové fosfonáty, které byly dále převedeny na příslušné fosfonové kyseliny.

Všechny vyvinuté přímé C-H aktivační reakce probíhají regioselektivně v poloze 8 na deazapurinovém jádře s výjimkou C-H silylací, které přednostně probíhají v ortho poloze na fenylu, což nicméně vede k zajímavým sloučeninám.

Druhá část této práce je zaměřena na modifikaci 7-deazapurinových bází v polohách 6 a 7 pomocí Suzuki-Miyaura reakcí s různými (hetero)aryl boronovými kyselinami ve vodném prostředí. Byla připravena série 6-(het)aryl-7-deazapurinových bází nesoucích F v poloze 7 a dále H, F, Cl, Me nebo NH₂ skupinu v poloze 2. 7-(Het)aryl-7-deazapurinové báze byly syntetizovány ze 7-jod-7-deazapurinu nesoucího SEM chránící skupinu. Po odstranění SEM skupiny byly 6-methoxyderiváty převedeny na 7-deazahypoxanthiny a 7-deazaguaniny pomocí *O*-demethylačních reakcí.

Kombinace C-H aktivačních reakcí a vodných Suzuki-Miyaura reakcí se ukázala jako mocný nástroj pro modifikaci deazapurinového skeletu a umožnila zavedení různých funkčních skupin a hetarylových substituentů do všech možných poloh.

List of abbreviations

Ac	acetyl
acac	acetylacetone
Ar	aryl
bpy	2,2'-bipyridine
Bn	benzyl
COD	1,5-cyclooctadiene
Cp	cyclopentadienyl
DCM	dichloromethane
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
dtbpy	4,4'-di- <i>tert</i> -butyl-2, 2' bipyridyl
DTBP	di-(<i>tert</i> -butyl) peroxide
equiv.	equivalent
Et	ethyl
<i>i</i> Pr	isopropyl
Me	methyl
Ms	methylsulfonyl
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidone
NSP	<i>N</i> -succinimidyl perester
<i>o</i> Ns	<i>o</i> -nitrobenzenesulfonyl
Ph	phenyl
Phen	1,10- phenanthroline
r.t.	room temperature
SEM	[2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
<i>t</i> Bu	<i>tert</i> -butyl
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
TMS	trimethylsilyl
TPPTS	triphenylphosphine-3,3',3''-trisulfonic acid trisodium salt
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl

Contents

Abstract	3
Abstrakt.....	4
List of abbreviations.....	5
Contents.....	6
1 Introduction	8
2 Specific aims of the project.....	8
3 Results and discussion.....	9
 3.1 C-H functionalization of deazapurine nucleobases	9
3.1.1 Direct C-H amination and C-H chloroamination of 7-deazapurines	9
3.1.2 Direct C-H imidation of 7-deazapurines	13
3.1.3 <i>ortho</i> C-H silylation of 7- and 9-phenyldeazapurines	14
3.1.4 Direct C-H phosphonation of 7- and 9-deazapurines	16
 3.2 Synthesis of 2-substituted 6- and 7-(het)aryl-7-deazapurine bases.....	21
3.2.1 Synthesis of 2-substituted 6-(het)aryl-7-deazapurines	22
3.2.2 Synthesis of 2-substituted-7-(het)aryl-7-deazapurines	25
4 Conclusion.....	29
5 Úvod.....	31
6 Cíle práce	31
7 Výsledky a diskuze	32
 7.1 C-H funkcionalizace deazapurinových nukleobází	32
7.1.1 Přímá C-H aminace a C-H chloroaminace 7-deazapurinů.....	32
7.1.2 Přímá C-H imidace 7-deazapurinů	35
7.1.3 <i>ortho</i> C-H silylace 7- a 9-fenyldeazapurinů	37
7.1.4 Přímá C-H fosfonace 7- a 9-deazapurinů	39
 7.2 Syntéza 2-substituovaných 6- a 7-(het)aryl-7-deazapurinových bází	43
7.2.1 Syntéza 2-substituovaných 6-(het)aryl-7-deazapurinů	44

7.2.2 Syntéza 2-substituovaných 7-(het)aryl-7-deazapurinů	47
8 Závěr.....	51
9 Seznam publikací - Selected publications	53
10 Konferenční příspěvky - Conference contributions	53
11 Curriculum vitae	54
12 References	54

1 Introduction

This PhD project lies at the crossroads of synthetic organic, bioorganic, organometallic and medicinal chemistry. The main goal of this work was to develop novel synthetic methodologies for the modification of deazapurine nucleobases. 7-Deazapurines¹ (pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines) and 9-deazapurines (pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidines) are important carbaanalogues of biogenic purine bases. Deazapurine derivatives bearing multiple substituents and functional groups display diverse biological effects,²⁻³ they are potent cytostatics² or inhibitors of various kinases.³

Typically, synthesis of substituted deazapurines involves multistep heterocyclization reactions,⁴ whereas the alternative approach is based on one step nucleophilic aromatic substitution⁵ or cross-coupling reactions.⁶ However, even these methods have their limitations and require additional substrate pre-functionalization. In order to find methods for the modification of deazapurine scaffold, our scientific group has been studying the reactivity of these privilege nucleobases by using C-H functionalization chemistry as the most straightforward and powerful tool in modern synthetic organic chemistry.⁷ As a result, methods for direct C-H borylation⁸ and sulfenylation⁹ were developed. Inspired by this research, it was decided to follow up and design novel methodologies for direct C-H amination, C-H imidation, C-H silylation and C-H phosphonation of deazapurine nucleobases.

The newly developed C-H activation reactions in combination with cross-couplings and nucleophilic aromatic substitutions can be potentially a strong synthetic approach towards multifunctionalized deazapurine nucleobases for biological activity screening.

2 Specific aims of the project

1. Development of direct C-H amination/imidation of deazapurines
2. Development of direct C-H silylation of deazapurines
3. Development of direct C-H phosphonation of deazapurines
4. Synthesis of substituted 6-(het)aryl 7-deazapurines by aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions
5. Synthesis of substituted 7-(het)aryl 7-deazapurines by aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions

3 Results and discussion

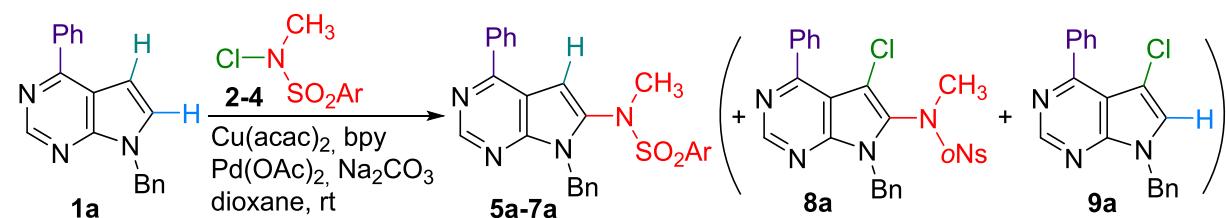
3.1 C-H functionalization of deazapurine nucleobases

In order to introduce various functional groups onto the deazapurine heterocycle, I started by the studying of novel methodologies for direct C-H amination, C-H imidation, C-H silylation and C-H phosphonation reactions. My interest also focused on further transformations of installed functionality onto deazapurine nucleobases.

3.1.1 Direct C-H amination and C-H chloroamination of 7-deazapurines

Transition metal-catalyzed direct C-H aminations are increasingly popular reactions for modification of arenes and heterocycles as confirmed by the literature.¹⁰ Hence, this is where the motivation for the investigation of C-H aminations of 7-deazapurines starts from.

For the initial study, I selected easily accessible 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a** as a model compound and started testing its reaction with *N*-chloro-*N*-methyl-tosylamide **2**, as an aminating agent, using the corresponding literature¹¹ conditions in presence of Pd(OAc)₂, Cu(acac)₂, 2,2'-bipyridine (bpy) and Na₂CO₃ in dioxane (Scheme 1, Table 1). The reaction with 2 equivalents of **2** in the presence of 2 equivalents of Na₂CO₃ gave the desired 8-tosylamino product **5a** in 13 % yield only (Table 1, entry 1). The use of larger excesses of the base (5-7 equiv.) and of reagent **2** (3 equiv.) led only to a low increase of yields (18-29 %). Only the use of a large excess (5 equiv.) of **2** gave product **5a** in acceptable preparative yields of 68 % (Table 1, entry 5).



Scheme 1 C-H aminations of 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a**

In order to have a choice of some more easily cleavable *N*-protecting groups,¹² I also tested 4-nitrophenylsulfonyl (*p*-nosyl, *p*Ns) and 2-nitrophenylsulfonyl (*o*-nosyl, *o*Ns) chloroamides **3** and **4**. The reaction of **1a** with *p*Ns reagent **3** (3 equiv.) gave the 8-*p*-nosylamino product **6a** in acceptable 48 % yield (Table 1, entry 6). The reactions of **1a** with *o*Ns chloroamide **4** (1.5-2 equiv.) resulted in very low conversions (Table 2, entries 1-7), whereas the reaction with 5 equiv. of **4** produced a mixture of the desired product of 8-

amination **7a** (28 %), 7-chloro-8-amino **8a** and 7-chloro-7-deazapurine **9a** as side-products (Table 1, entry 7).

Table 1 Optimization of C-H aminations of 7-deazapurine **1a** with *N*-chloro-*N*-methylarylsulfoneamides **2-4**^a

Entry	Ar	2-4 (equiv.)	Na ₂ CO ₃ (equiv.)	Product(s) (yield)
1	4-MePh	2 (2)	2	5a (13 %)
2	4-MePh	2 (2)	5	5a (18 %)
3	4-MePh	2 (3)	5	5a (25 %)
4	4-MePh	2 (3)	7	5a (29 %)
5 ^b	4-MePh	2 (5)	7	5a (68 %)
6	4-NO ₂ Ph	3 (3)	7	6a (47 %)
7	2-NO ₂ Ph	4 (5)	5	7a (28 %) + 8a (33 %) + 9a (25 %)
8	2-NO ₂ Ph	4 (3)	7	7a (60 %)

^a Reagents and conditions: Pd(OAc)₂ (5 %), Cu(acac)₂ (10 %), bpy (10 %), Na₂CO₃, 1,4-dioxane, Ar, rt, 24 h; ^b reaction time 72 h.

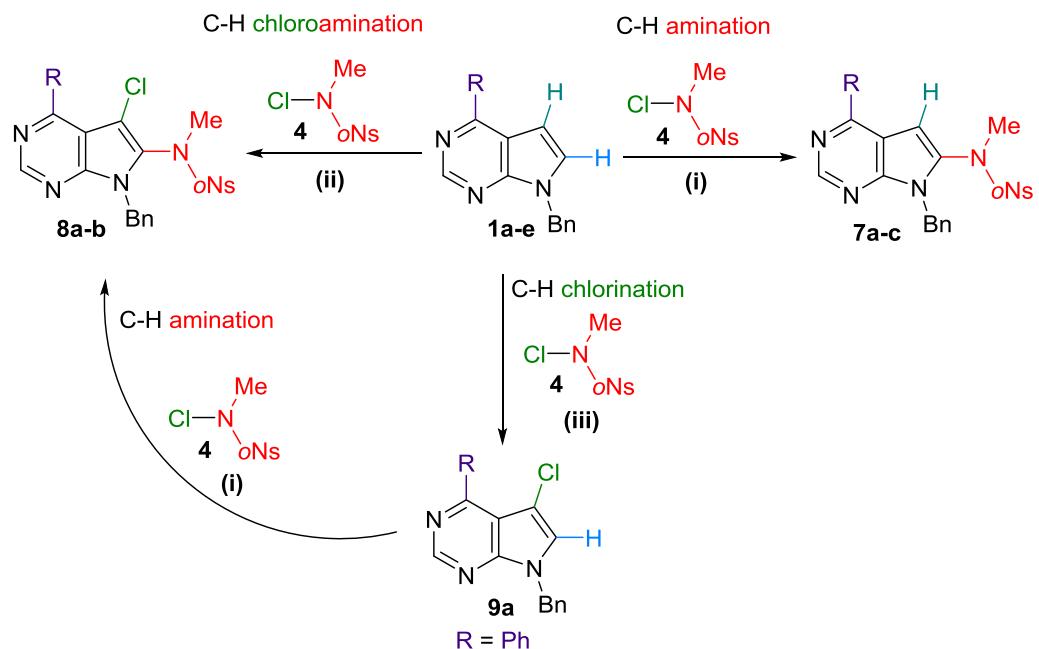
Apparently chloroamide **4** in larger excess can act as an electrophilic chlorination reagent which halogenates the deazapurine at position 7. This was confirmed later by the reaction of deazapurine **1a** with **4** under non-catalytic conditions, resulting in chlorinated product **9a** (Scheme 2, Table 2, entry 11). Therefore, I performed a comprehensive optimization of this reaction using different ratios of reagents, catalysts, additives, etc. The optimum protocol for aminations used 3-3.5 equiv. of **4** in presence of large excess of Na₂CO₃ (7 equiv.) to give the desired product **7a** in 60-62 % yield (Table 1, entry 8; Table 2, entry 1).

The detailed optimization also revealed some ratios of reagents and conditions under which the chloroamination proceeded. I employed CuCl as the copper source, Ag₂CO₃ as the base and LiCl as the additive to find the optimum protocol leading exclusively to C-H chloroamination. As a result, the optimal reaction conditions were reached by using **4** (3.5 equiv.) in the presence of Pd(OAc)₂ (2.5 %), CuCl (10 mol %), LiCl (2 equiv.) and Ag₂CO₃ (2 equiv.) (Table 2, entry 6).

The next step was the study of the scope and limitations of the methods. A series of five 9-benzyl-7-deazapurine derivatives **1a-e** bearing a phenyl, methoxy, methyl, chloro or amino group at position 6 was tested in the amination and chloroamination reactions (Scheme 2, Table 2).

Preparative aminations were performed with chloroamide **4** (3.5 equiv.) in the presence of Pd(OAc)₂, Cu(acac)₂, bpy and 7 equiv. of Na₂CO₃. The reactions of 6-phenyl, -methoxy and -methyl deazapurines proceeded smoothly to give desired 8-(*o*-

nosyl)methylamino-7-deazapurines **7a-7c** in acceptable yields of 41-62 % (Table 2, entries 1-3). Conversely, analogous reaction of 6-chloro- and 6-amino-derivatives **1d** and **1e** led to very complex inseparable mixtures (Table 2, entries 4-5).



Scheme 2 C-H aminations, chloroaminations and chlorination of 7-deazapurines

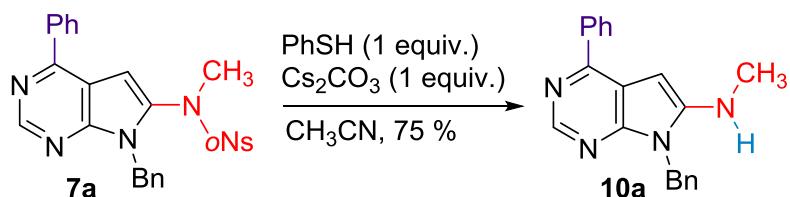
Table 2 Preparative C-H aminations, chloroaminations and chlorination of 7-deazapurines

Entry	Starting compound	R	Product (yield)
1	1a	Ph	7a (62 %)
2	1b	OMe	7b (60 %)
3	1c	Me	7c (41 %)
4	1d	Cl	complex mixture
5	1e	NH ₂	complex mixture
6	1a	Ph	8a (51 %)
7	1b	OMe	8b (42 %)
8	1c	Me	low conversion, complex mixture
9	1d	Cl	complex mixture
10	1e	NH ₂	complex mixture
11	1a	Ph	9a (78 %)
12	9a	Ph	8a (41 %)

Next I tested the chloroamination protocol on the same series of deazapurines **1a-1e**. The reactions with **4** (3.5 equiv.) were performed in the presence of Pd(OAc)₂, CuCl, LiCl

and Ag_2CO_3 . The reactions of 6-phenyl and 6-methoxy derivatives **1a** and **1b** proceeded well to obtain desired 7-chloro-8-(*o*Ns)MeNH-7-deazapurines **8a** and **8b** in acceptable yields of 51 and 42 % respectively (Table 3, entries 6-7), whereas the reaction of 6-methyl derivative **1c** gave low conversion to an inseparable mixture containing products of chlorination and chloroamination. Similarly, the reactions of 6-chloro- and 6-aminodeazapurines **1d** and **1e** gave complex inseparable mixtures. It was interesting that reaction of **1a** with **4** (1.5 equiv.) under non-catalytic reaction conditions resulted in chlorinated product **9a** in 78 % yield due to the strong chlorinating nature of *N*-chlorosulfonamide (analogous to *N*-chlorosuccinimide) (Table 3, entry 11). Finally, 6-phenyl-7-chloro-7-deazapurine **9a** was also converted to 7-chloro-8-amino derivative **8a** in 41 % yield (Table 3, entry 12) and this shows that the chlorine at position 7 is better tolerated (as it is less reactive toward nucleophiles) than the chlorine at position 6.

The last goal of this study was to test the deprotection of the sulfonamides and the stability of the corresponding 8-amino-7-deazapurines. Any attempts to cleave the Ts- or *p*Ns-groups in compounds **5a** or **6a** according to the literature¹² either did not work or led to decomposition of the heterocycles. Therefore, a major part of this study was performed with the *o*Ns-group which is more easily cleavable.¹² Deprotection of compound **7a** was successfully performed using thiophenol and cesium carbonate^{12d} to afford 8-methylamino-7-deazapurine **10a** in 75 % yield (Scheme 3). Additionally, I performed one-pot C-H amination/deprotection sequence to furnish the desired compound **10a** directly in 35 % yield after two steps.



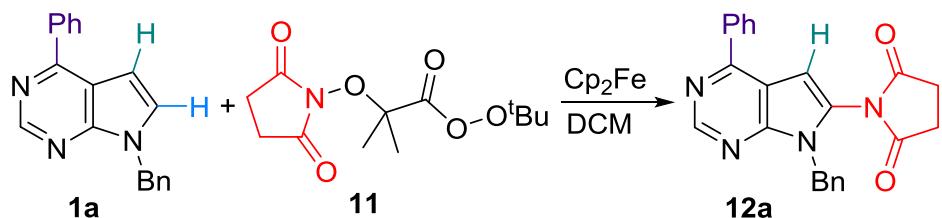
Scheme 3 Deprotection of 6-phenyl-8-(*o*-nosyl)methylamino-7-deazapurine **7a**

I was also interested in the preparation of a series of 8-amido derivatives and started testing the reactivity of **10a** by its reaction with carboxylic acids. Unfortunately, 8-(methylamino)-7-deazapurine **10a** quickly decomposed when exposed to even traces of acid (e.g. in chlorinated solvents). The instability of **10a** could be explained by its tendency to protonation and in principal, it can be oxidized with the degradation of deazapurine molecule. Analogous 2-aminoindoles are prone to protonation, tautomerization and autoxidation.^{13a,b}

3.1.2 Direct C-H imidation of 7-deazapurines

Direct intermolecular imidation is another interesting transformation to effect C-N bond construction. C-H imidation strategies attract more and more scientific attention over the recent years.¹⁴⁻¹⁵ This study draws its inspiration from the reported work regarding mild ferrocene-catalyzed C-H imidation of heteroarenes with *N*-succinimidyl perester (NSP).^{15c}

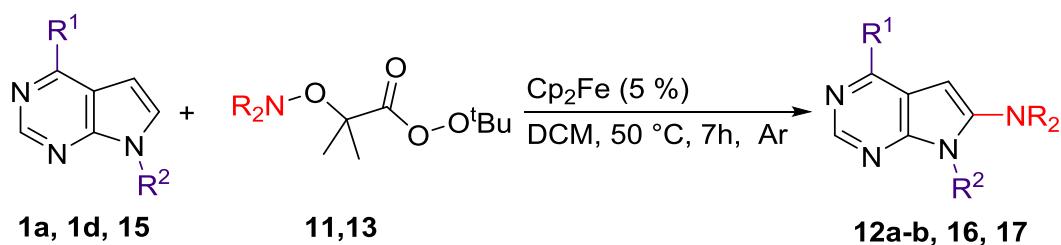
I began the study of the C-H imidation reaction of deazapurines by testing the reactivity of model 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a** with previously prepared *N*-succinimidyl perester **11** under ferrocene catalysis (Scheme 4).



Scheme 4 C-H imidation of 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a**

The reaction of **1a** with 2 equiv. of NSP **11** in the presence of ferrocene catalyst (5 %) gave imidated product **12a** in 22 % yield. In order to improve the reaction, a larger excess of NSP **11** was used for the reaction and 2.75 equivalents was found to be the optimal amount. Increasing of Cp_2Fe catalyst loading (10 %) did not influence the yield. Next, I screened other potentially suitable catalysts such as Cu(I) and Mn(III) salts for the imidation reaction but, unfortunately, the reactions gave very low conversions. All attempts to improve it by using different solvents (MeCN, THF, 1,4-dioxane), additives, temperature modes (70°C) or longer reaction time failed.

Despite the fact that conversion was unsatisfactory even after the optimization, I decided to use the best conditions for preparative C-H imidations of 6-substituted-7-deazapurines (Scheme 5). The short scope of the method was studied for the series of 6-substituted-7-deazapurines (Scheme 5, Table 3).



Scheme 5 C-H imidation of 7-deazapurines

Reaction of 6-Cl- and 6-Ph-9-benzyl-7-deazapurines **1a** and **1d** led to the imidated products **12a-b** in 32 and 27 % yields, respectively (Table 3, entries 1-2). In order to test the tolerance of other protecting groups, reaction of SEM protected 7-deazapurine **15** was carried out resulting in 46 % yield of desired product **16** (Table 3, entry 3). In addition, I was interested in trying another imidyl precursor and, for this purpose, phthalimidyl perester **13** was prepared similarly to NSP. Its reaction with model deazapurine **1a** gave the 8-phthalimidom-7-deazapurine **17** in slightly better 35 % yield in comparison to succinimidyl product **12a** (Table 3, entry 4).

Table 3 Preparative C-H imidations of 7-deazapurines

Entry	Starting compound	NR ₂	R ¹	R ²	Product (yield)
1	1a	succinimidyl	Ph	Bn	12a (32 %)
2	1d	succinimidyl	Cl	Bn	12b (27 %)
3	15	succinimidyl	OMe	SEM	16 (46 %)
4	1a	phthalimidyl	Ph	Bn	17 (35 %)

In the last step, I tried to obtain deazapurines bearing the primary amino group after hydrolysis of 8-imidyl derivatives. Unfortunately, after several attempts of acidic hydrolysis or hydrazinolysis I was unable to isolate any amount of the desired 8-amino product, due to the decomposition within reaction. This fact is in accordance with the low stability of similar 8-methylamino-7-deazapurine **10a**. It seems that free amino functionality at position 8 of 7-deazapurine heterocycle makes it very unstable and prone to quick decomposition.

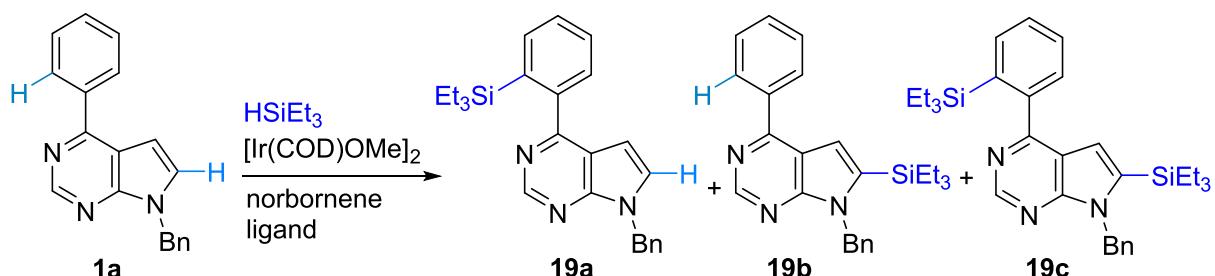
3.1.3 *ortho* C-H silylation of 7- and 9-phenyldeazapurines

C-H silylation reactions are currently widely studied for the functionalization of heteroarenes¹⁶ since the resulting silanes can be further used in Hiyama cross-couplings and other functional group transformations.¹⁷ The most common protocols utilize Ir, Rh and Ru catalysts.¹⁸ In indoles and related five-membered heterocycles, C-H silylation has been reported at the 2-position¹⁹ unless a directing group (coordinating the metal) is present to facilitate *ortho*-silylation.²⁰ In 6-aryl-substituted purines and deazapurines, the question arose whether the N-1 atom would direct *ortho* silylation of the aryl group or whether the C-8 atom reactivity would prevail resulting in direct substitution at the five-membered ring of the nucleobase.

The study started by testing the reactivity of 9-benzyl-6-phenylpurine **18**. The reaction with HSiEt₃ was examined in the presence of [Ir(COD)OMe]₂ catalyst, dtbpy ligand and

norbornene hydrogen acceptor under literature conditions,^{19d-g} but no reaction was observed. This was in accordance with the previous observations regarding the lack of reactivity of purines to Ir-catalyzed C-H borylation,⁸ that is most likely caused by a strong coordination of the metal to the N-7 nitrogen and deactivation of the catalyst. Therefore, I focused further attention on 7- and 9-deazapurines which are reactive under the reported C-H borylations.⁸

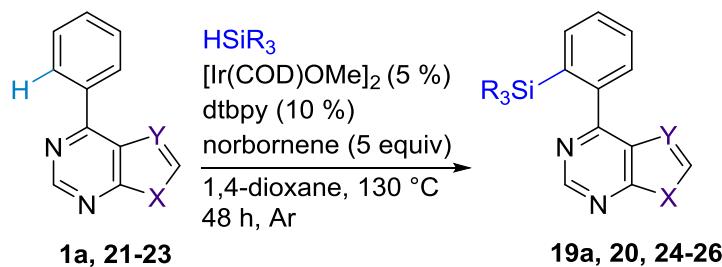
Optimization of the reaction conditions was performed on 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a**. Its reaction with HSiEt₃ in the presence of [Ir(COD)OMe]₂ catalyst, dtbpy ligand, and norbornene in THF at r.t. (Scheme 6) resulted in low conversion (26 %) giving a mixture of three silylated products: - a product of *ortho*-silylation at the phenyl group compound **19a** (10 %), compound **19b** (9 %) - a product of direct C-H silylation of the deazapurine and compound **19c** (5 %) - a product of silylation at both positions.



Scheme 6 C-H silylations of 6-phenyl-7-deazapurine **1a**

When the same reaction mixture was heated to 80°C for 48 h, conversion increased to 72 %, mostly in favor of the *ortho*-silylated product **19a** (41 % isolated yield), the 8-silyl derivative **19b** in 13 % yield and the bisilylated product **19c** in 5 % yield. Increasing the excess of the HSiEt₃ slightly improved the yield of *ortho*-silylated product **19a** and decreased the formation of **19b** and **19c**. Replacement of the dtbpy ligand by bpy or Me₃Phen had little effect, whereas the presence of an additional base (Cs₂CO₃ or KOtBu) caused very low conversion. Interestingly, reaction in the absence of norbornene (or cyclohexene) hydrogen acceptor predominantly resulted in the direct C-H silylation product **19b** (29 %) yield. These reaction conditions were the same as used for the reported C-H borylations⁸ where reaction proceeded selectively at position 8 of deazapurine **1a**, and no formation of *ortho* C-H borylated product was observed. However, in contrast to efficient C-H borylations, C-H silylation proceeded with a very low conversion under the same conditions. Solvent-free reactions in neat norbornene at 80 °C gave lower conversion but the same reaction at 130 °C again resulted in higher conversion with good selectivity for **19a**. On the other hand, the use of Ru or Rh catalysts led to only very low conversions.

The most synthetically useful protocol was the reaction in dioxane at 130 °C which was used for the preparative synthesis of all three products **19a-c**, that were separable by column chromatography. The same method was therefore used for silylation reactions of other phenyldeazapurines (Scheme 7, Table 4).



Scheme 7 *ortho* C-H silylations of phenyldeazapurines

Table 4 Preparative *ortho* C-H silylations of phenyldeazapurines

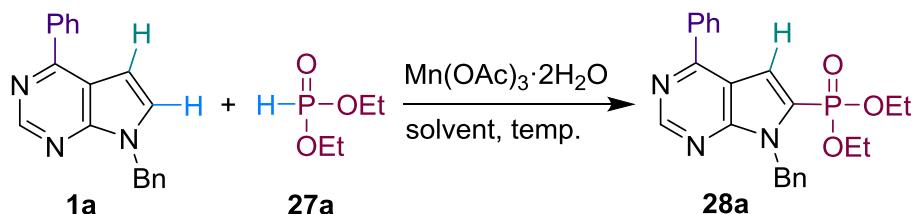
Entry	Starting compound	HSiR ₃	X	Y	Product (yield)
1	1a	HSiEt ₃	N-Bn	CH	19a (55 %)
2	1a	HSiMe ₂ Ph	N-Bn	CH	20 (32 %)
3	21	HSiEt ₃	NH	CH	24 (47 %)
4	22	HSiEt ₃	CH	N-Bn	25 (46 %)
5	23	HSiEt ₃	CH	NH	26 (37 %)

At first, reaction of **1a** with HSiMe₂Ph was performed under the same conditions, however, the conversion was much lower than in the case of HSiEt₃ the *ortho*-silylated derivative **17** was the only product isolated in 32 %. The reaction with HSiEt₃ was applied to 9-unprotected 6-phenyl-7-deazapurine **18** to selectively obtain the *ortho*-silylated 6-phenyl-7-deazapurine base **21** in 47 % yield (Table 4, entry 3). The same protocol was then applied to the reaction of 6-phenyl-7-benzyl-9-deazapurine **19**. The reaction proceeded analogously to 7-deazapurine to give the *ortho*-silylated derivative **22** in 46 % yield (Table 4, entry 4). Similarly, the reaction of non-benzylated 6-phenyl-9-deazapurine **20** gave the *ortho*-silylated 6-phenyl-9-deazapurine base **23** in 37 % yield (Table 4, entry 5).

3.1.4 Direct C-H phosphonation of 7- and 9-deazapurines

Phosphonation of deazapurines is an extremely appealing research topic due to the interesting properties of phosphonate group in heteroaromatic systems in general. Since C-H phosphonation has not been studied intensively, and to the best of my knowledge, no C-H phosphonations of 7- or 9-deazapurines have been reported so far, I endeavored to find such conditions. Motivated by the number of reported oxidative phosphonations of arenes and heteroarenes,²¹ I began the study of C-H phosphonation reactions on deazapurines.

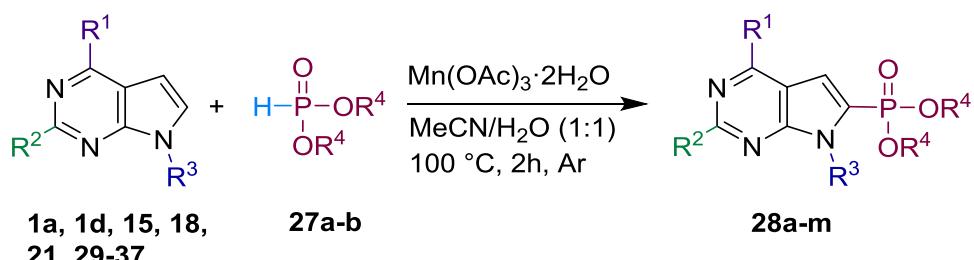
Typically, I selected 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a** as a model compound for the study of its C-H phosphonation with diethylphosphite **27a** to screen the reagents and reaction conditions. After some initial experiments with Ag(I), Fe(III) and Co(III) salts, which did not work or gave very low conversions, I focused on the use of Mn(OAc)₃·2H₂O (Scheme 8).



Scheme 8 Optimization of C-H phosphonation reaction of 6-phenyl-9-benzyl-7-deazapurine **1a** with diethylphosphite **27a**

The reaction using 3 equiv. of Mn(OAc)₃·2H₂O in AcOH at room temperature did not proceed, but when the temperature was increased to 50 or 80 °C, I obtained the desired 8-phosphonated 7-deazapurine product **28a** in 23 or 37 % yield, respectively. Increasing or decreasing the promoter loadings had no positive effect. Next, I tried various solvents and found out that the mixture of MeCN/H₂O (1:1) resulted in an improved 43 % yield. Finally, further increasing the temperature to 100 °C and using a larger excess of diethylphosphite (5 equiv.) provided **28a** in 47 % yield. None of other efforts to further improve the yields were successful, and therefore, I used these conditions as the optimal ones.

With optimized reaction conditions in hand, my next step was to study the scope and limitations of the method. A series of diverse substituted 7-deazapurines was tested in preparative C-H phosphonation reactions (Scheme 9, Table 5).



Scheme 9 C-H phosphonations of 7-deazapurines

The reactions of 6-chloro- and 6-substituted-7-benzyl and 7-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl)-protected deazapurines **1a**, **1d**, **30**, **31**, **15** proceeded smoothly to provide desired products **28a-b**, **28d-f** in acceptable 36-56 % yields (Table 5, entries 1-2, 4-6). Moreover, the C-H phosphonation of benzoyl-protected nucleoside **29** resulted in 25 %

yield of the desired phosphono-nucleoside **28c** (Table 5, entry 3). Another useful substrate was 6-chloro-7-deazapurine base **32** which was suitable for further functional group transformations at positions 6 and 9. In this case, the C-H phosphonation worked nicely to give the desired 9-unsubstituted 6-chloro-8-phosphono-7-deazapurine **28g** in 41 % yield (Table 5, entry 8). It also showed that no 9-substitution or protection is needed for the C-H phosphonations. In addition, I tried the reaction of 6-chloro-7-deazapurine **32** with bulkier diisopropyl phosphite **27b** to afford the desired product **28h** in somewhat lower 30 % yield. Then, I decided to explore preparative C-H phosphonations of different 2- and/or 6-substituted-7-deazapurine bases. In all cases, I obtained the desired products **28i-m** in good (37-40 %) yields (Table 5, entries 9-13). On the other hand, attempted C-H phosphonations of 7-fluoro-7-deazapurine **37** and 6-phenylpurine base **18** did not proceed (Table 5, entries 14-15)

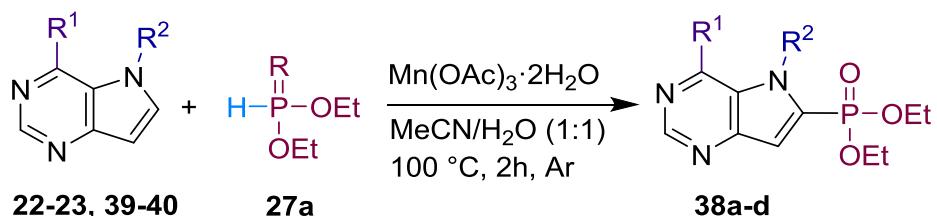
Table 5 Preparative C-H phosphonations of 7-deazapurines

Entry	Starting compound	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Product (yield)
1	1a	Ph	H	Bn	Et	28a (47 %)
2	1d	Cl	H	Bn	Et	28b (36 %)
3	29	Ph	H	ribofuranose	Et	28c (25 %)
4	30	Cl	H	SEM	Et	28d (30 %)
5	31	SMe	H	SEM	Et	28e (56 %)
6	15	OMe	H	SEM	Et	28f (40 %)
7	32	Cl	H	H	iPr	28h (30 %)
8	32	Cl	H	H	Et	28g (41 %)
9	21	Ph	H	H	Et	28i (40 %)
10	33	Cl	NH ₂	H	Et	28k (38 %)
11	34	Cl	Cl	H	Et	28j (39 %)
12	35	Cl	Me	H	Et	28l (37 %)
13	36	Cl	F	H	Et	28m (37 %)
14 ^a	37	Cl	H	H	Et	n.r.
15 ^b	18	Ph	H	Bn	Et	n.r.

^a Deazapurine **37** include F substituent at position 7; ^b Compound **18** is purine analogue.

Subsequently, the C-H phosphonation protocol was tested on 9-deazapurines (Scheme 10, Table 6). The reactions of 7-benzyl-6-chloro- and 6-phenyl-9-deazapurines **39** and **22** proceeded well to give the 8-phosphonated 9-deazapurine products **38a** and **38b** in 30 and 31 % yield, respectively (Table 6, entry 1-2). The C-H phosphonation of 7-unsubstituted 6-chloro- and 6-phenyl-9-deazapurine **40** and **23** also worked well to afford the corresponding

phosphonated 9-deazapurine bases **38c** and **38d** in 37 or 36 % yield, respectively (Table 6, entry 3-4).

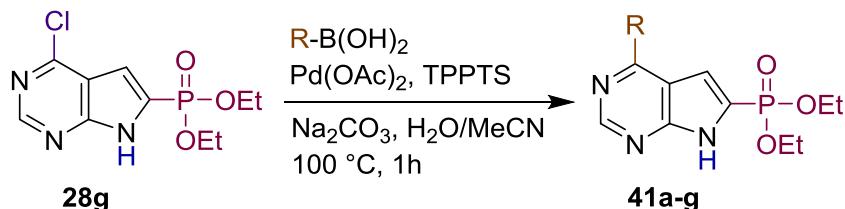


Scheme 10 C-H phosphonations of 9-deazapurines

Table 6 Preparative C-H phosphonations of 9-deazapurines

Entry	Starting compound	R ¹	R ²	Product (yield)
1	39	Cl	Bn	38a (30 %)
2	22	Ph	Bn	38b (31 %)
3	40	Cl	H	38c (37 %)
4	23	Ph	H	38d (36 %)

To test synthetic utility of 6-chloro-7-deazapurine phosphonate intermediate **28g**, I performed a series of aqueous-phase Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions with different (het)aryl boronic acids (Scheme 11). All of these reactions proceeded smoothly to give a series of 6-substituted-7-deazapurine phosphonate bases **41a-g** in good yields 60-75 % (Table 7).

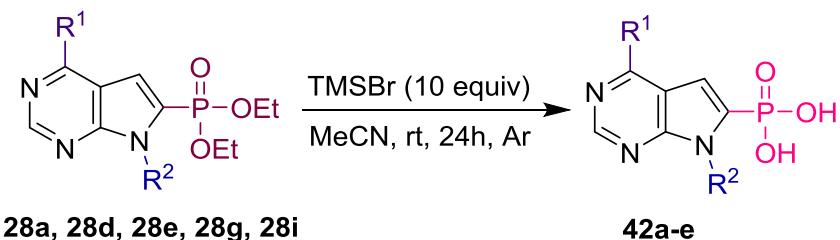


Scheme 11 Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions of 7-deazapurine-8-phosphonate **28**

Table 7 Synthesis of 6-(het)aryl-7-deazapurine phosphonates

Entry	R	Product (yield)
1	furan-2-yl	41a (71 %)
2	furan-3-yl	41b (65 %)
3	thiophen-2-yl	41c (65 %)
4	thiophen-3-yl	41d (72 %)
5	phenyl	41e (75 %)
6	benzofuran-2-yl	41f (67 %)
7	dibenzofuran-4-yl	41g (60 %)

My last goal within the framework of this project was to develop a method for phosphodiester bond cleavage in order to obtain interesting free phosphonic acid derivatives. The deprotection was performed in two steps by reaction with bromo(trimethyl)silane in acetonitrile²² with further aqueous workup to hydrolyze the silyl-esters after transesterification (Scheme 12).



Scheme 12 Phosphodiester cleavage of deazapurine phosphonates **28a, 28d, 28e, 28g, 28i**

I used this protocol for five different 6-chloro- or 6-substituted 7-deazapurine phosphonates either substituted at position 9 with Bn **28a** or SEM groups **28d, 28e** or 9-unsubstituted 7-deazapurine phosphonates **28g, 28i**. In all cases the reactions proceeded nicely to provide the free phosphonic acids **42a-e** in acceptable yields (55-85 %), which were slightly lowered due to the difficulty in isolating the products (Table 8).

Table 8 Synthesis of 7-deazapurine-8-phosphonic acids

Entry	Starting compound	R ¹	R ²	Product (yield)
1	28a	Ph	Bn	42a (75 %)
2	28d	Cl	SEM	42b (55 %)
3	28e	SMe	H	42c (85 %)
4	28g	Br	H	42d (77 %)
5	28i	Ph	H	42e (63 %)

Interestingly, during the phosphodiester cleavage of phosphonate **28e**, the concomitant cleavage of the (2-trimethylsilyl)ethoxymethyl (SEM) protecting group was observed due to strong acidic conditions (Table 8, entry 3). The deprotection of 6-chloro-7-deazapurine-8-phosphonate **28g** with TMSBr led to a concomitant displacement of chlorine by bromine (likely due to HBr formed during the reaction) to give 6-bromo-7-deazapurine-8-phosphonic acid **42d** (Table 8, entry 4). Despite a rather difficult isolation of the free phosphonic acids, the sequence of C-H phosphonation followed by TMSBr treatment and hydrolysis can be used for efficient synthesis of deazapurine-8-phosphonic acids.

3.2 Synthesis of 2-substituted 6- and 7-(het)aryl-7-deazapurine bases

The second part of this PhD thesis is focused on the synthesis of 2-substituted 6- and 7-(het)aryl-7-deazapurine nucleobases. Previously discovered in our scientific group, 6-(het)aryl-7-deazapurine and 7-fluoro-7-deazapurine ribonucleosides (Figure 1) are potent cytostatics^{2a} and/or inhibitors of mycobacterial adenosine kinase,^{2d} whereas the 2-substituted derivatives^{23a} as well as sugar-modified nucleosides^{23b,c} are less active or inactive. 7-(Het)aryl-7-deazaadenosines (Figure 1) are also potent cytostatics^{2b} and/or inhibitors of mycobacterial adenosine kinase.²⁴ The mechanism of their cytostatic effect involves transformation to nucleoside triphosphates and their incorporation into RNA and DNA.²⁵ It was also found that 7-(het)aryl-7-deazapurine ribonucleosides bearing other substituents at position 6 (OMe, SMe, Me) (Figure 1) exert cytostatic activities comparable to the 7-(het)aryl deazaadenosines, whereas the 6-oxo and 2-substituted derivatives were inactive (Figure 1).^{2c}

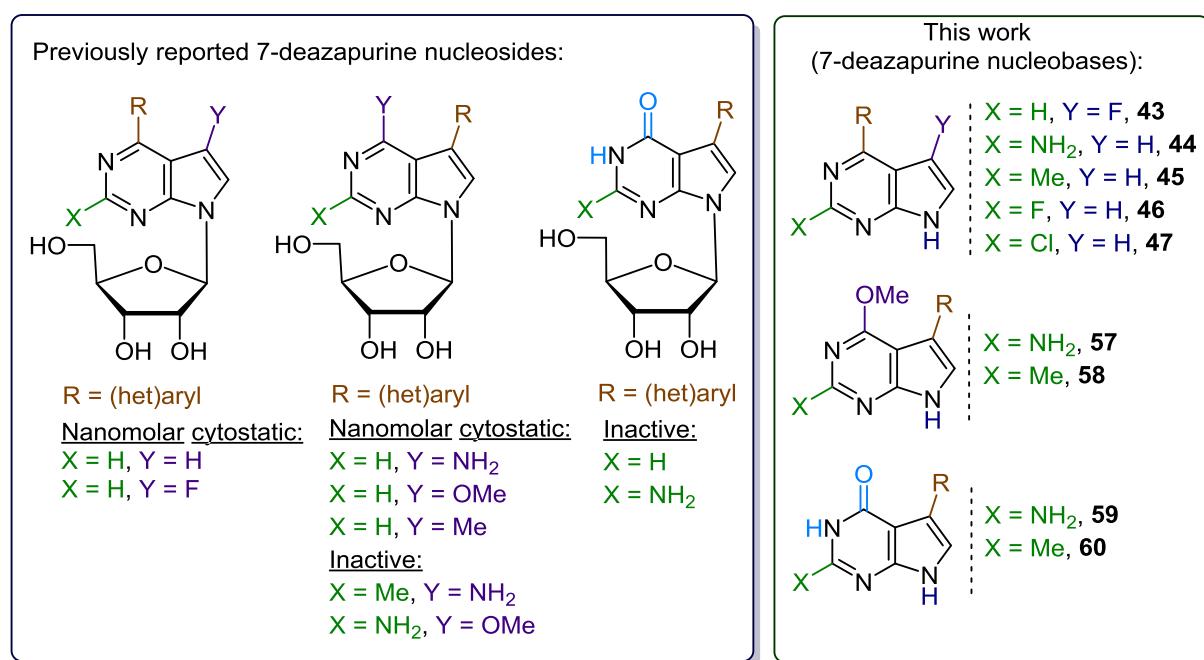


Figure 1 Previously reported biologically active 7-deazapurine nucleosides and 7-deazapurine nucleobases under study

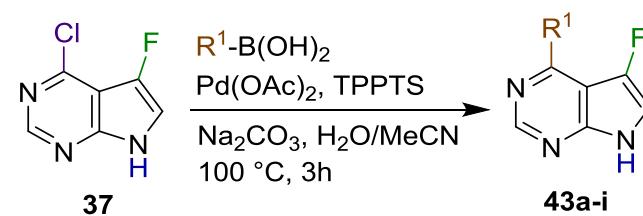
However, the biological activity of the parent 7-deazapurine nucleobases remains unknown. Analysis of this class of compounds is important for determining the structure-activity relationships because, in principle, the nucleobases could be converted into nucleotides by phosphoribosyl transferases of the salvage pathway. This encouraged me to synthesize and profile several new types of 6- and 7-(het)aryl-7-deazapurine bases and for this purpose, I chose the reliable Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction under aqueous

conditions.^{2,26} The first group was the 6-(het)aryl-7-deazapurine derivatives **43** bearing F at position 7, the second type was 2-substituted 6-(het)aryl-7-deazapurine bases **44-47**, the third type 2-amino or 2-methyl 6-methoxy-7-hetaryl-7-deazapurines **57-58** and the last group 7-hetaryl-7-deazaguanines **59** and 2-methyl 7-hetaryl-7-deazahypoxanthines **60**. Additionally, I was interested in establishing the photophysical properties of the newly synthesized (het)aryl-7-deazapurines, because introduction of electron-donating (het)aryl substituents can potentially improve the fluorescence.

3.2.1 Synthesis of 2-substituted 6-(het)aryl-7-deazapurines

I started synthesis of the target 6-(het)aryl-7-deazapurines from 6-chloro-7-deazapurines. Thus, 6-chloro-7-fluoro-7-deazapurine **37** reacted with a series of (het)arylboronic acids to afford the corresponding 6-(het)aryl-7-fluoro-7-deazapurine bases **43a-i** in one step (Table 9).

Table 9 Synthesis of 6-(het)aryl-7-fluoro-7-deazapurines



Entry	R ¹	Product (yield)
1	thiophen-2-yl	43a (75 %)
2	thiophen-3-yl	43b (72 %)
3	furan-2-yl	43c (69 %)
4	furan-3-yl	43d (71 %)
5	phenyl	43e (75 %)
6	benzofuran-2-yl	43f (69 %)
7	dibenzofuran-4-yl	43g (77 %)
8	pyrrol-2-yl ^a	43h (32 %)
9	pyrrol-3-yl ^a	43i (35 %)

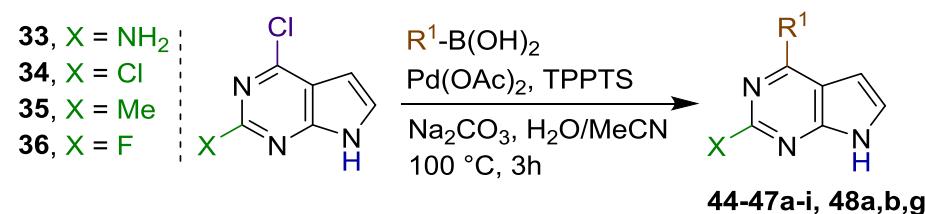
^a For R¹ = pyrrol-2-yl, N-Boc-1*H*-pyrrol-2-yl boronic acid was used; for R¹ = pyrrol-3-yl, N-(triisopropylsilyl)-1*H*-pyrrol-3-yl boronic acid was used.

Typically, the substrate was treated with boronic acid (1.5 equiv), Na₂CO₃ (3 equiv) in the presence of Pd(OAc)₂ (0.05 equiv) and TPPTS (0.125 equiv) in H₂O/MeCN (2:1) mixture at 100 °C for 3 hours. The reactions proceeded cleanly with full conversion of the starting 6-

chloro-7-deazapurine **37** furnishing products in good yields. The only exceptions were the 2- and 3-pyrrolyl derivatives which were obtained in moderate yields (Table 9, entries 8-9). It should also be noted that the *N*-protecting groups from pyrrolyl boronic acids were cleaved under the reaction conditions. In most cases, the products nicely crystallized from the reaction mixture (except for 2- and 3-pyrrolyl derivatives). However, to obtain even purer products, I performed simple chromatography through a short silica gel column to remove precipitated metallic palladium and organic residue arising from the excess of boronic acid.

The synthesis of diverse 2-substituted-6-het(aryl)-7-deazapurines **44a-i**, **45a-i**, **46a-i**, **47a-i** was performed by analogous cross-coupling reactions of 2-amino-6-chloro-7-deazapurine **33**, 2,6-dichloro-7-deazapurine **34**, 6-chloro-2-methyl-7-deazapurine **35** and 2-fluoro-6-chloro-7-deazapurine **36** (Table 10).

Table 10 Synthesis of 2-substituted-6-(het)aryl-7-deazapurines



R^1	Product (yield)				
	$\text{X} = \text{NH}_2$	$\text{X} = \text{Me}$	$\text{X} = \text{F}$	$\text{X} = \text{Cl}$	$\text{X} = \text{R}^1$
thiophen-2-yl	44a (86 %)	45a (95 %)	46a (66 %)	47a (93 %)	
thiophen-3-yl	44b (90 %)	45b (87 %)	46b (91 %)	47b (60 %)	48b (26 %)
furan-2-yl	44c (67 %)	45c (63 %)	46c (84 %)	47c (64 %)	
furan-3-yl	44d (83 %)	45d (84 %)	46d (85 %)	47d (73 %)	
phenyl	44e (80 %)	45e (81 %)	46e (84 %)	47e (50 %)	48e (38 %)
benzofuran-2-yl	44f (58 %)	45f (58 %)	46f (65 %)	47f (30 %)	
dibenzofuran-4-yl	44g (52 %)	45g (66 %)	46g (43 %)	47g (15 %)	48g (5 %)
pyrrol-2-yl ^a	44h (60 %)	45h (70 %)	46h (72 %)	47h (65 %)	
pyrrol-3-yl ^a	44i (43 %)	45i (40 %)	46i (59 %)	47i (56 %)	

^a For $\text{R}^1 = \text{pyrrol-2-yl}$, *N*-Boc-1*H*-pyrrol-2-yl boronic acid was used; for $\text{R}^1 = \text{pyrrol-3-yl}$, *N*-(triisopropylsilyl)-1*H*-pyrrol-3-yl boronic acid was used.

In most cases, the desired 2-substituted-6-hetaryl-7-deazapurine bases were obtained in good to excellent yields (again the pyrrolyl derivatives were prepared less efficiently). It should be noted that no hydrolysis of the relatively reactive 2-fluoro group was observed on 2-fluoro derivatives **46a-i** under basic reaction conditions. In the case of 2,6-dichloro-7-deazapurine **34**, some reactions gave, in addition to the desired major 6-mono-substituted

products **47a-i**, minor amounts of 2,6-diaryl-7-deazapurines **48b**, **48e** and **48g** which were easily separated by column chromatography.

Reported 6-hetarylpurine nucleosides were used for the construction of an intrinsically fluorescent unnatural base pair which was efficiently replicated by polymerases *in vitro*.²⁷ It was noticed that all final 6-(het)aryl-7-deazapurine bases **43-48** exerted fluorescence properties, and therefore, their photophysical properties were studied in more detail in order to identify new candidates for the development of fluorescent nucleoside analogs.

UV-visible absorption and fluorescence spectra of the synthesized compounds were measured in ethanol as the model protic solvent. Spectroscopic characteristics (absorption coefficients, positions of absorption and emission maxima, quantum yields of fluorescence) were determined. The aforementioned 7-deazapurine bases bearing aryl and heteroaryl substituents developed a bathochromically shifted band in their UV spectra, which were usually (with a few exceptions) centered between 307 and 363 nm. All studied compounds were substantially fluorescent, exhibiting single-band emission in the long-UV – blue range, centered between 372 nm (**45i**) and 468 nm (**44f**) as shown in Figure 2a.

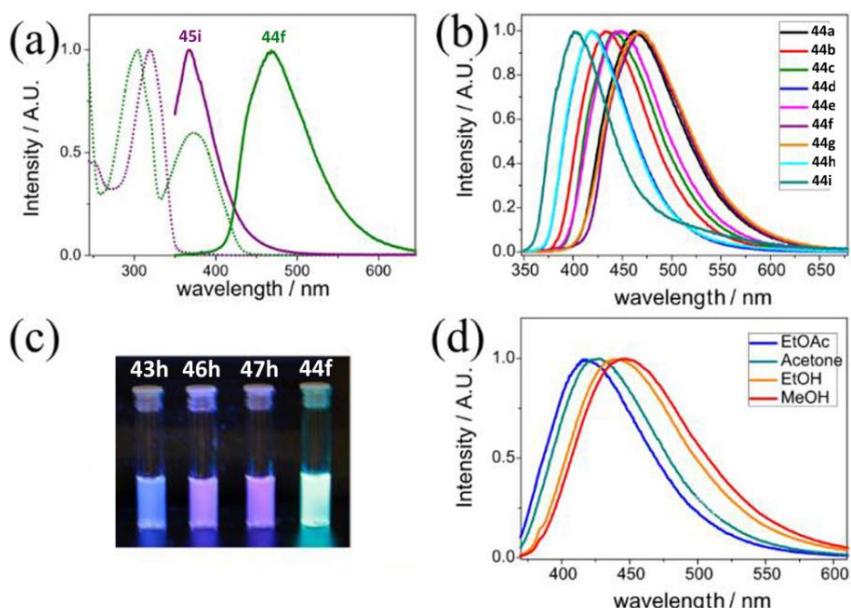


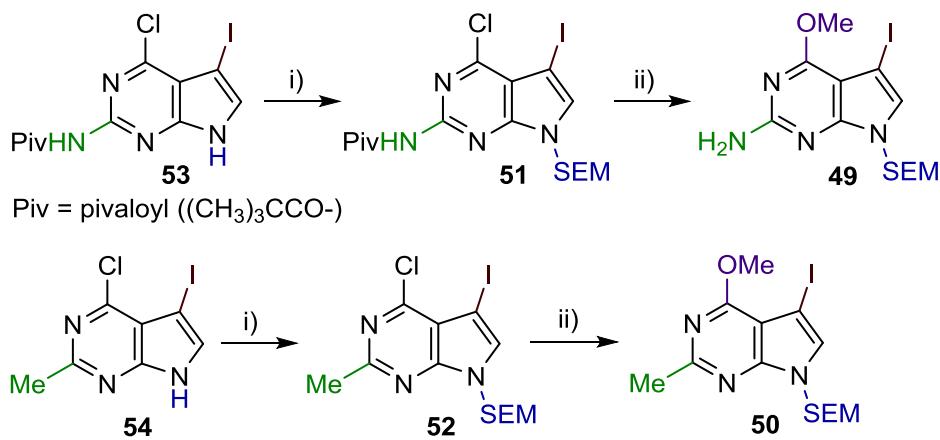
Figure 2 a) Normalized absorption (dotted line) and emission (solid line) of compounds **45i** (violet) and **44f** (green); b) The influence of the substituent at position 6 in the fluorescence spectra; c) Photography of a selected set of compounds in ethanol having the highest values of brightness; d) The influence of the solvent polarity on the emission spectra of compound **43c**.

The fluorescence quantum yield of the synthesized compounds ranged from 0.07 for compound **43d** to 0.83 for compound **46h**, with median of 0.43. The variation of the substituents at positions 2 and 7 of the 7-deazapurine core had no apparent effect on the

brightness of fluorescence ($B = \epsilon_{\max} \times \Phi_f$), with the exception of the 7-fluoro series, where the brightness was relatively low ($< 4000 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) compared to the other compounds. On the contrary, the variation of the aryl and heteroaryl substituents at the position 6 of the 7-deazapurine core had much stronger effect (Figure 2b). Typically, the highest brightness of fluorescence was noticed for the benzofuran-2-yl and pyrrol-2-yl derivatives. Within these series the highest value was observed for the compound **46h** ($19200 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). The highest overall brightness of the pyrrol-2-yl series was also accomplished by relatively short-wavelength emission, centered at 383–420 nm, whereas the emission of the benzofuran-2-yl series was bathochromically shifted with the longest maximum at 468 nm for **44f** (Figure 2c). Solvatochromic nucleoside analogues, i.e. those changing the emission color in response to changes in the polarity of microenvironment, are valuable tools for biophysical studies.²⁸ Emission of the synthesized compounds was examined toward sensitivity to polarity. The best results were obtained for compound **43c**, which changed the emission wavelength from 419 nm in ethyl acetate to 452 nm in methanol (Figure 2d). Potentially, installation of an additional electron donating/withdrawing groups onto this scaffold could further improve the solvatochromism.

3.2.2 Synthesis of 2-substituted-7-(het)aryl-7-deazapurines

I intended to synthesize 7-hetaryl-7-deazapurine bases bearing OMe group at position 6 and NH₂ or Me at position 2 through aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions of the corresponding 7-ido-7-deazapurines with hetarylboronic acids. However, I found out that the aqueous Suzuki-Miyaura cross-couplings of 9-unsubstituted 7-ido-7-deazapurine bases proceeded less efficiently, and were accompanied by significant deiodinations of the starting heterocycles which lowered the yields and complicated isolation of the products. Therefore, I changed the strategy and decided to introduce a suitable protecting group at position 9. Previous experience from our laboratory suggested that the [2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl (SEM) group²⁹ could be suitable for the Suzuki reactions and could be easily removable at the end. The first goal in this project was to synthesize the 9-SEM protected 7-ido-7-deazapurine intermediates **49** and **50**. They were prepared from the corresponding 6-chloro-7-ido-7-deazapurine bases **53** and **54** by alkylation with [2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl chloride (SEM-Cl) under basic conditions,²⁹ followed by nucleophilic substitution at position 6 with NaOMe (Scheme 13). In the case of 2-amino derivative **53**, orthogonal protection of the amino functionality by the pivaloyl group was introduced to avoid alkylation. These reactions proceeded well to give the key intermediates **49**, **50** in good overall yields at multigram scale.



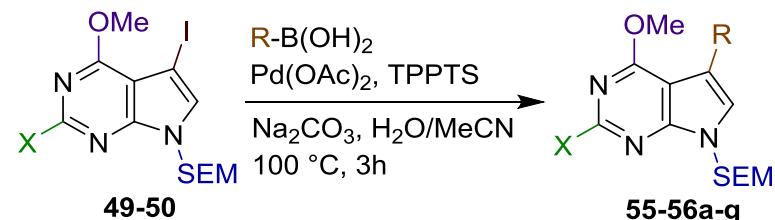
Reagents and Conditions:

- i) NaH, SEM-Cl, DMF, 0 °C to rt; for **51**: 88 %; for **52**: 89 %;
- ii) MeONa, MeOH, reflux, 1-2 h, for **49**: 90 %; for **50**: 79 %.

Scheme 13 Preparation of starting 7-iodo-7-deazapurine bases **49-50**

The 9-SEM-protected 2-amino- and 2-methyl-6-methoxy-7-ido-7-deazapurines **49-50** were then used in aqueous Suzuki-Miyaura reactions with a series of (het)arylboronic acids (Table 11). The choice of the (het)aryl substituents was based on the previous experience with cytostatic nucleosides and involved small furyl or thienyl groups and bulkier benzofuryl, dibenzofuryl and phenyl groups.

Table 11 Synthesis of SEM-protected 7-(het)aryl-7-deazapurines



R	Product (yield)	
	X = NH ₂	X = Me
furan-2-yl	55a (71 %)	56a (68 %)
furan-3-yl	55b (73 %)	56b (76 %)
thiophen-2-yl	55c (73 %)	56c (80 %)
thiophen-3-yl	55d (76 %)	56d (88 %)
phenyl	55e (70 %)	56e (76 %)
benzofuran-2-yl	55f (65 %)	56f (71 %)
dibenzofuran-4-yl	55g (68 %)	56g (64 %)

The aqueous Suzuki-Miyaura cross-couplings of the SEM-protected 7-ido-7-deazapurines **49-50** with the (het)aryl boronic acids were performed under standard reaction

conditions in the presence of Na_2CO_3 (3 equiv) as a base and $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0.05 equiv) and water soluble sodium triphenylphosphine trisulfonate ligand (TPPTS) (0.125 equiv) in a mixture of $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ (2:1) at 100 °C for 3 hours. The reactions proceeded generally very well and gave the desired SEM-protected 7-(het)aryl-7-deazapurines **55-56a-g** in good yields (Table 11).

Later on, SEM-protected 7-(het)aryl-deazapurine intermediates **55-56a-g** were deprotected yielding the target free deazapurine bases **57-58a-g** (Table 12).

Table 12 Synthesis of free 7-(het)aryl-7-deazapurines

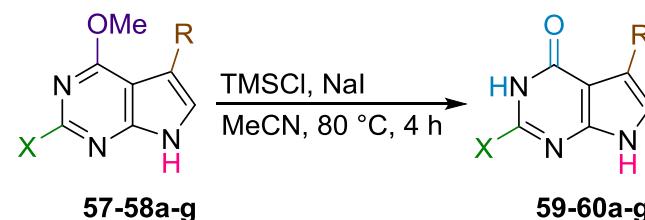
55-56a-g	TBAF ethylenediamine DMF, 50 °C 2-7 days	57-58a-g
R	Product (yield)	
	$\text{X} = \text{NH}_2$	$\text{X} = \text{Me}$
furan-2-yl	57a (69 %)	58a (91 %) ^a
furan-3-yl	57b (78 %)	58b (61 %)
thiophen-2-yl	57c (72 %)	58c (87 %) ^a
thiophen-3-yl	57d (61 %)	58d (58 %)
phenyl	57e (56 %)	58e (77 %) ^a
benzofuran-2-yl	57f (51 %)	58f (83 %) ^a
dibenzofuran-4-yl	57g (54 %)	58g (62 %)

^aReaction conditions used: 1) TFA, DCM, 4 h, r.t.; 2) NH_3 aq (25% [w/w]), r.t., 12 h

The cleavage of 2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl (SEM) group was performed in two steps. In the first step, the SEM-deazapurine derivatives were treated with trifluoroacetic acid resulting in *N*-hydroxymethyl intermediates which were subsequently cleaved in the second step by the treatment with aqueous ammonia (urotropine formation). Alternatively, the SEM group was removed using tetrabutylammonium fluoride (TBAF) in the presence of ethylenediamine (to trap the liberated formaldehyde). This procedure was used, in most cases, due to the insufficient stability of target deazapurines under strongly acidic conditions. Deprotection reactions provided the 2-amino-6-methoxy-7-(het)aryl-7-deazapurines **57a-g** and 2-methyl-7-(het)aryl-7-deazapurines **58a-g** in good yields (Table 12). In order to get the 6-oxo derivatives, I could not use direct cross-coupling reactions (they did not proceed efficiently). Therefore I prepared the 6-oxo derivatives by demethylation of 6-methoxy-7-

deazapurines **57-58**. The 6-methoxy deazapurines **57a-g** and **58a-g** were transformed into 7-substituted 7-deazaguanines **59a-g** and 7-deazahypoxanthines **60a-g** (Table 13) which are 7-substituted 7-deaza analogues of natural purine bases guanine and hypoxanthine. The *O*-demethylation reaction¹⁵² was performed by treatment with iodotrimethylsilane (generated *in situ* from TMSCl and NaI in MeCN) furnishing the desired products **59-60a-g** in good yields (Table 13).

Table 13 Synthesis of 7-(het)aryl 7-deazaguanines and 7-deazahypoxanthines



R	Product (yield)	
	X = NH ₂	X = Me
furan-2-yl	59a (64 %)	60a (91 %)
furan-3-yl	59b (58 %)	60b (61 %)
thiophen-2-yl	59c (65 %)	60c (87 %)
thiophen-3-yl	59d (68 %)	60d (58 %)
phenyl	59e (77 %)	60e (77 %)
benzofuran-2-yl	59f (73 %)	60f (83 %)
dibenzofuran-4-yl	59g (62 %)	60g (52 %)

In 7-substituted 7-deazaguanines **59a-g** which are the closest analogues of natural nucleobases, I also performed UV-vis and fluorescence spectroscopy characterization. They generally exerted absorption maxima at 289-332 nm and some of them showed rather weak fluorescence. The only brighter fluorophores were 7-benzofuryl and 7-dibenzofuryl 7-deazaguanines **59e** and **59f** which might have potential for fluorescent labeling of nucleic acids.

All final free 7-substituted 7-deazapurine bases **43-48**, **57-60a-g** were evaluated against six 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. None of the compounds showed any considerable cytotoxic or cytostatic activity at concentrations up to 15 μM. This is an important result in comparison with the corresponding ribonucleosides² having the same substituents at the heterocyclic aglycon. This

indicates that the salvage pathway (which would allow for formation of the cytotoxic nucleosides from these nucleobases) does not play a role in the metabolism of nucleosides.

4 Conclusion

Novel methodologies for direct C-H functionalization of deazapurine nucleobases have been developed. The newly modified deazapurines bearing amino, imido or phosphonate groups at position 8 and silyl group at *ortho* position of the phenyl ring were synthesized using C-H activation reactions. A series of 2-substituted 6- and 7-(het)aryl-7-deazapurine bases were prepared by aqueous-phase Suzuki-Miyaura cross-couplings.

The Pd/Cu-catalyzed direct C-H amination of 6-substituted-7-deazapurines with *N*-chloro-*N*-alkyl arylsulfonamides proceeded regioselectively at position 8 under mild reaction conditions. Since *N*-chloro-*N*-alkyl arylsulfonamides react both as aminating and chlorinating agents, additional protocols for direct C-H chloroamination and C-H chlorination of 6-substituted-7-deazapurines were developed. The most suitable *ortho*-nitrobenzenesulfonyl group was chosen for the protection of amine, and after protecting group removal, 8-methylamino-7-deazapurine derivative was obtained. Unfortunately, while testing the reactivity of 8-methylaminodeazapurine, it turned out to be unstable, what in principal could be caused by its tendency to protonation and oxidation.

C-H imidation reaction of 6-substituted 9-benzyl or 9-SEM protected 7-deazapurines was performed with *N*-succinimido- or *N*-phtalimidoperesters under ferrocene catalysis. Reactions proceeded selectively at position 8 to give 8-succinimido or 8-phtalimido-7-deazapurines. Any attempts of the acidic hydrolysis or hydrazinolysis of the imide group led to decomposition of the desired 8-amino-7-deazapurine analogously to 8-(methylamino)-7-deazapurine derivative.

Previously reported Ir-catalyzed C-H borylation⁸ proceeded directly at position 8 in deazapurines. The same Ir catalyst and dtbpy ligand with the addition of norbornene as a hydrogen acceptor were used for C-H silylations of phenyldeazapurines with alkylsilanes. Interestingly, all reactions proceeded preferentially as *ortho* C-H silylation of the phenyl group, due to the directing effect of the N-1 atom of deazapurine heterocycle, to give a series of 7- and 9-phenyldeazapurine silylated derivatives.

The phosphonate group was introduced into the deazapurine scaffold by Mn(III) acetate-promoted C-H phosphonation with dialkylphosphites. The reactions proceeded regioselectively at position 8 of 7- and 9-deazapurines resulting in novel deazapurine-8-

phosphonate derivatives. The method showed no limitations and wide scope of substrates bearing different substituents and protecting groups. In order to test the synthetic utility of 6-chloro-7-deazapurine phosphonate, I applied aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions with various (het)aryl boronic acids. All of these reactions proceeded smoothly to give a series of 6-substituted-7-deazapurine 8-phosphonate bases. Deazapurine phosphonates were also used for the preparation of a small series of deazapurine 8-phosphonic acids by developed phosphodiester cleavage protocol.

Modifications of position 6 and 7 in 7-deazapurines with different (het)aryl substituents were performed by aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions of corresponding 6-chloro and 7-iodo 7-deazapurine substrates. A large set of 6-(het)aryl-7-deazapurine bases bearing F at the position 7 and H, F, Cl, Me or NH₂ at the position 2 was prepared by aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions from 6-chloro-7-fluoro or 2-amino, 2-chloro, 2-fluoro and 2-methyl 6-chloro-7-deazapurines in high yields. The same aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling conditions did not work efficiently for the preparation of 7-(het)aryl-7-deazapurines due to significant deiodination of starting 7-iodo-7-deazapurines. Alternatively, the protecting group strategy deemed to be most suitable and easily removable by using 2-[(trimethylsilyl)ethoxy]methyl (SEM) group. Indeed, after cleavage of the SEM group, a series of free 6-methoxy-7-(het)aryl deazapurines bearing NH₂ and Me group at position 2 were obtained. The 6-methoxy-7-(het)aryl-deazapurine derivatives were further transformed into 7-(het)aryl 7-deazahypoxanthines and 7-deazaguanines (new substituted analogues of natural hypoxanthine and guanine bases) by *O*-demethylation reactions.

Summarizing, a library (more than 100) of new modified deazapurine nucleobases bearing multiple substituents and functional groups was synthesized by C-H activations and aqueous Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions. Unfortunately, biological activity screening of target deazapurine bases did not show any significant cytostatic or antiviral activity in contrast to many of their nucleoside analogues. Nevertheless, a number of newly modified deazapurines exerted good fluorescent properties (quantum yields up to 0.83) with potential as labels for nucleic acids.

Finally, developed C-H functionalization methods and further transformations of installed functional groups nicely complement the current toolbox of reactions (cross couplings, substitutions, halogenations, glycosylation) for modification of privileged deazapurine heterocycles. This clearly has further practical potential in the generation of new libraries of modified deazapurine nucleobases.

5 Úvod

Tato dizertační práce leží na pomezí syntetické organické, bioorganické, organokovové a medicinální chemie. Hlavním cílem bylo vyvinout nové syntetické postupy pro modifikaci deazapurinových nukleobází.

7-Deazapuriny¹ (pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidiny) a 9-deazapuriny (pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidiny) jsou důležitými karba-analogy biogenních purinových bází. Deazapurinové deriváty nesoucí různé substituenty a funkční skupiny vykazují nejrůznější biologické aktivity,²⁻³ např. jsou to silná cytostatika² nebo inhibitory kináz.³

Jejich syntéza typicky zahrnuje několik heterocyklizačních reakcí,⁴ zatímco alternativní přístup je založen na jednokrokové aromatické nukleofilní substituci⁵ nebo cross-coupling reakci.⁶ Všechny tyto přístupy ovšem mají své limity a vyžadují předchozí modifikaci substrátu, např. zavedením halogenu. V naší skupině se snažíme o vyvinutí jednodušších metod pro modifikaci těchto zajímavých nukleobází. Tyto metody jsou založeny na přímé C-H aktivaci jako na nejmodernějším a nejpřímějším nástroji v moderní syntetické chemii.⁷ Výsledkem byl objev přímých C-H borylací⁸ a sulfenylací,⁹ které nás inspirovaly k vývoji nových metod pro přímé C-H aminace, C-H imidace, C-H silylace a C-H fosfonace deazapurinových nukleobází.

Nově vyvinuté C-H aktivační reakce v kombinaci s klasickými cross-coupling reakcemi a nukleofilní aromatickou substitucí mohou být mocným nástrojem pro syntézu několikanásobně substituovaných deazapurinů pro testování biologických aktivit.

6 Cíle práce

1. Vývoj přímých C-H aminací/imidací deazapurinů.
2. Vývoj přímých C-H silylací deazapurinů.
3. Vývoj přímých C-H fosfonylací deazapurinů.
4. Syntéza substituovaných 6-(het)-7-deazapurinů pomocí Suzuki-Miyaura reakcí ve vodném prostředí.
5. Syntéza substituovaných 7-(het)aryl-7-deazapurinů pomocí Suzuki-Miyaura reakcí ve vodném prostředí.

7 Výsledky a diskuze

7.1 C-H funkcionálizace deazapurinových nukleobází

Za účelem zavedení různých funkčních skupin na deazapurinový heterocyklus jsem nejprve prostudoval nové metody pro přímou C-H aminaci, imidaci, silylaci a fosfonaci. Dále jsem se zaměřil na následné transformace takto zavedených skupin.

7.1.1 Přímá C-H aminace a C-H chloroaminace 7-deazapurinů

Přímé C-H aminace arenů a heterocyklů katalyzované přechodnými kovy získávají stále větší popularitu,¹⁰ což nás inspirovalo ke studiu těchto reakcí na 7-deazapurinovém skeletu.

Jako modelový příklad byl zvolen snadno dostupný 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurin **1a** a *N*-chlor-*N*-methyl-tosylamid **2** jako aminační činidlo za popsaných podmínek - $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{Cu}(\text{acac})_2$, 2,2'-bipyridin (bpy) a Na_2CO_3 v dioxanu (Schema 1, Tabulka 1).¹¹

Reakce se dvěmi ekvivalenty **2** v přítomnosti 2 ekvivalentů Na_2CO_3 poskytla žádaný 8-tosylamin **5a** v pouze 13 % výtěžku. (Tabulka 1, řádek 1). Použití většího nadbytku báze (5–7 ekv.) a činidla **2** (3 ekv.) vedlo pouze k mírnému zvýšení výtěžků (18–29 %). Pouze přidání velkého nadbytku činidla **2** poskytlo žádaný produkt **5a** v přijatelném výtěžku 68 %. (Tabulka 1, řádek 5).

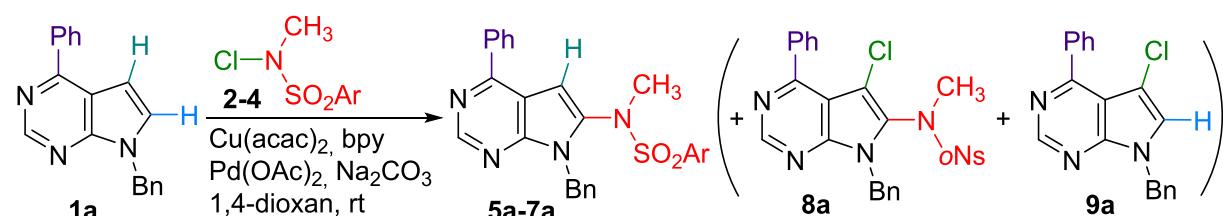


Schéma 1 C-H aminace 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurinu **1a**

4-Nitrofenylsulfonyl (*p*-nosyl, *p*Ns) a 2-nitrofenylsulfonyl (*o*-nosyl, *o*Ns) chloramidy **3** a **4** byly otestovány za účelem získání lépe odstranitelných chráničích skupin.¹² Reakce **1a** s *p*Ns činidlem **3** (3 ekv.) poskytla 8-*p*-nosylamin **6a** v přijatelném výtěžku 48 % (Tabulka 1, řádek 6). Reakce **1a** s *o*Ns chloramidem **4** (1,5–2 ekv.) probíhaly s velice nízkou konverzí, navíc reakce s 5 ekv. činidla **4** vedla ke směsi produktů – žádaného produktu 8-aminace **7a** (28 %), 7-chlor-8-amino derivátu **8a** a 7-chlor-7-deazapurinu **9a** (Tabulka 1, řádek 7).

Tabulka 1 Optimalizace C-H aminací 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurinu **1a** s *N*-chlor-*N*-methyl-arylsulfonamidy **2–4**^a

Pokus	Ar	2–4 (ekv.)	Na ₂ CO ₃ (ekv.)	Produkt(y) (výtěžek)
1	4-MePh	2 (2)	2	5a (13 %)
2	4-MePh	2 (2)	5	5a (18 %)
3	4-MePh	2 (3)	5	5a (25 %)
4	4-MePh	2 (3)	7	5a (29 %)
5 ^b	4-MePh	2 (5)	7	5a (68 %)
6	4-NO ₂ Ph	3 (3)	7	6a (47 %)
7	2-NO ₂ Ph	4 (5)	5	7a (28 %) + 8a (33 %) + 9a (25 %)
8	2-NO ₂ Ph	4 (3)	7	7a (60 %)

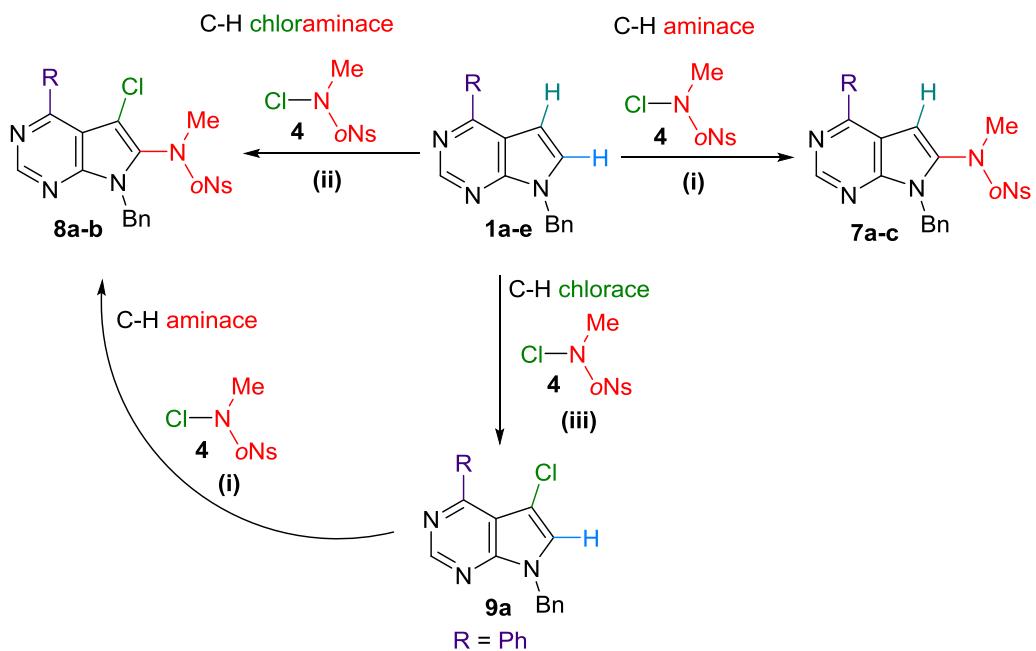
^a Činidla a podmínky: Pd(OAc)₂ (5 %), Cu(acac)₂ (10 %), bpy (10 %), Na₂CO₃, 1,4-dioxan, Ar, rt, 24 h; ^b reakční čas 72 h.

Chloramid **4** může podle všeho ve větším nadbytku reagovat jako elektrofilní chlorační činidlo a chlorovat deazapurin v poloze 7, což bylo později potvrzeno reakcí deazapurinu **1a** s činidlem **4** bez přítomnosti katalyzátoru, která přesto poskytla chlorovaný produkt **9a** (Schema 2, Tabulka 2, řádek 11).

Proto jsem provedl rozsáhlou optimalizaci reakčních podmínek za použití různých poměrů všech činidel, katalyzátoru, aditiv atd. Optimální protokol pro aminaci používá 3–3,5 ekv. činidla **4** v přítomnosti velkého nadbytku Na₂CO₃ (7 ekv.). Za těchto podmínek byl produkt **7a** získán v 60–62 % výtěžku (Tabulka 1, řádek 8; Tabulka 2, řádek 1).

Během optimalizace se také ukázalo, za jakých podmínek probíhá chloroaminace. Při použití CuCl jako zdroje mědi, Ag₂CO₃ jako báze a přídavku LiCl probíhala pouze C-H chloroaminace. Výsledné optimální podmínky jsou následující: **4** (3,5 ekv.) v přítomnosti Pd(OAc)₂ (2,5 %), CuCl (10 mol %), LiCl (2 ekv.) a Ag₂CO₃ (2 ekv.) (Tabulka 2, řádek 6).

Dalším krokem byla studie rozsahu a limitů těchto metod. Série pěti 9-benzyl-7-deazapurinových derivátů **1a–e** nesoucích fenyl, methoxy, methyl, chlor nebo amino skupinu v poloze 6 byla otestována při aminačních a chloroaminačních reakcích. (Schema 2, Tabulka 2). Preparativní aminace byly provedeny s chloroamidem **4** (3,5 ekv.) v přítomnosti Pd(OAc)₂, Cu(acac)₂, bpy a 7 ekv. Na₂CO₃. Reakce 6-fenyl, -methoxy a -methyl deazapurinů proběhly bez problému a poskytly žádané 8-(*o*-nosyl)methylamino-7-deazapuriny **7a–7c** v přijatelných výtěžcích 41–62 % (Tabulka 2, řádky 1–3). Na druhou stranu, analogická reakce 6-chlor- a 6-aminoderivátů **1d** a **1e** vyústila v komplexní směsi nedělitelných látek (Tabulka 2, řádky 4–5).



Cinidla a reakcní podmínky:

- (i) **4** (3.5 ekv), Pd(OAc)₂ (5 %), Cu(acac)₂ (10 %), bpy (10 %), Na₂CO₃ (7 ekv), 1,4-dioxan Ar, rt, 24;
- (ii) **4** (3.5 ekv), Pd(OAc)₂ (5 %), CuCl (10 %), LiCl (2 equiv), Ag₂CO₃ (2 ekv), 1,4-dioxan Ar, rt, 24h;
- (iii) **4** (1.5 ekv), 1,4-dioxan, Ar, rt, 45h.

Schéma 2 C-H aminace, chloraminace a chlorace 7-deazapurinů

Tabulka 2 Preparativní C-H aminace, chloraminace a chlorace 7-deazapurinů

Pokus	Výchozí látka	R	Produkt (výtěžek)
1	1a	Ph	7a (62 %)
2	1b	OMe	7b (60 %)
3	1c	Me	7c (41 %)
4	1d	Cl	komplexní směs
5	1e	NH ₂	komplexní směs
6	1a	Ph	8a (51 %)
7	1b	OMe	8b (42 %)
8	1c	Me	nízká konverze, komplexní směs
9	1d	Cl	komplexní směs
10	1e	NH ₂	komplexní směs
11	1a	Ph	9a (78 %)
12	9a	Ph	8a (41 %)

Stejný postup pro chloraminaci byl dále vyzkoušen i na stejné sérii deazapurinů **1a-1e**. Reakce s činidlem **4** (3,5 ekv.) byly provedeny v přítomnosti Pd(OAc)₂, CuCl, LiCl a Ag₂CO₃. Reakce 6-fenyl a 6-methoxy derivátů **1a** a **1b** proběhla bez problémů a poskytla žádané 7-chlor-8-(*o*Ns)MeNH-7-deazapuriny **8a** a **8b** v přijatelných výtěžcích 51 a 42 % (Tabulka 3, řádky 6-7), zatímco reakce 6-methyl derivátu **1c** proběhla s nízkou konverzí a

vedla k nedělitelné směsi obsahující produkty aminace a chloraminace. Také reakce 6-chlor- a 6-aminodeazapurinů **1d** a **1e** vedla k nedělitelné směsi produktů. Zajímavá byla reakce látky **1a** s činidlem **4** (1,5 ekv.) bez přítomnosti katalyzátoru, která díky silně “chlorující” povaze *N*-chlorsulfonamidu (analogické k *N*-chlorsukcinimidu) poskytla chlorovaný produkt **9a** v 78 % výtěžku (Tabulka 3, řádek 11). 6-Fenyl-7-chlor-7-deazapurin **9a** byl nakonec převeden na 7-chlor-8-aminoderivát **8a** ve 41 % výtěžku (Tabulka 3, řádek 12), což dokazuje, že chlor v poloze 7 je mnohem lépe tolerován (je méně reaktivní vůči nukleofilům) než chlor v poloze 6.

Posledním cílem tohoto projektu byl pokus o odchránění sulfonamidů a zkouška stability příslušných 8-amino-7-deazapurinů. Všechny pokusy o odstranění Ts- nebo *p*Ns-skupiny ve sloučeninách **5a** nebo **6a** podle popsaných postupů¹² nefungovaly buď vůbec, nebo vedly k rozkladu heterocyklů. Proto byla převážná část této studie realizována s pomocí lépe odstranitelné *o*Ns skupiny.¹² Úspěšné odstranění chránící skupiny ze sloučeniny **7a** thiofenolem a uhličitanem cesným^{12d} poskytlo 8-methylamino-7-deazapurin **10a** v 75 % výtěžku (Schéma 3). Sekvence C-H aminace a odstranění chránící skupiny byla navíc provedena tzv. “one pot” s 35 % výtěžkem látky **10a** po dvou krocích.

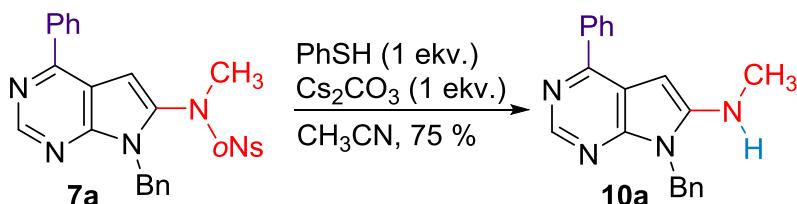


Schéma 3 Odchránění 6-fenyl-8-(*o*-nosyl)methylamino-7-deazapurinu **7a**

Dále mě zajímalá příprava série 8-amidoderivátů a reaktivita látky **10a** s karboxylovými kyselinami. 8-(Methylamino)-7-deazapurin **10a** se naneštěstí v přítomnosti i stopového množství kyseliny (např. v chlorovaných rozpouštědlech) okamžitě rozkládá, což může být vysvětleno sklonem k protonaci a v principu i oxidaci a degradací deazapurinového skeletu. Analogické 2-aminoindoly jsou citlivé k protonaci, tautomerizaci a autooxidaci.^{13a,b}

7.1.2 Přímá C-H imidace 7-deazapurinů

Přímá intermolekulární imidace je další zajímavou možností tvorby C-N vazby, která v posledních letech přitahuje stále větší pozornost vědeckých týmů.¹⁴⁻¹⁵ Tato studie je inspirována publikovanou C-H imidací heteroarenů pomocí *N*-sukcinimidyl peresteru (NSP) za katalýzy ferrocenem.^{15c}

6-Fenyl-9-benzyl-7-deazapurin **1a** byl použit jako modelová sloučenina pro C-H imidaci pomocí dříve připraveného *N*-sukcinimidyl peresteru **11** za katalýzy ferrocenem (Schéma 4).

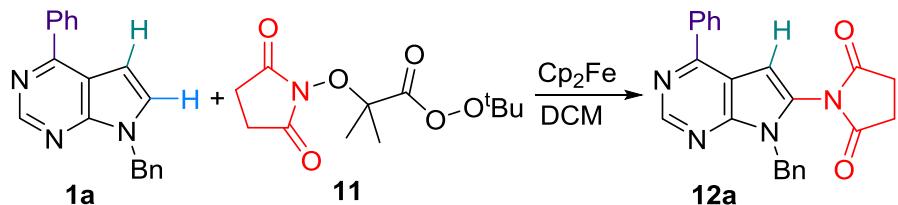


Schéma 4 C-H imidace 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurinu **1a**

Produkt **12a** byl připraven imidací **1a** pomocí NSP **11** v přítomnosti ferrocenového katalyzátoru (5 %) ve 22 % výtěžku. Za účelem zvýšení výtěžku byly použita větší množství NSP **11** a 2,75 ekv. se ukázalo být nejlepší. Zvýšení množství Cp_2Fe katalyzátoru (10 %) nemělo na výtěžek žádný vliv. Dále jsem zkusil další potenciálně vhodné katalyzátory jako mědné a manganaté soli, reakce však probíhaly s velice nízkou konverzí. Všechny pokusy o zlepšení výsledku použitím jiných rozpouštědel (MeCN, THF, 1,4-dioxanu), aditiv, různých teplot nebo delších reakčních časů selhaly.

Navzdory nízkým konverzím jsem se rozhodl použít nejlepší podmínky pro imidaci 6-substituovaných 7-deazapurinů (Schéma 5, Tabulka 3).

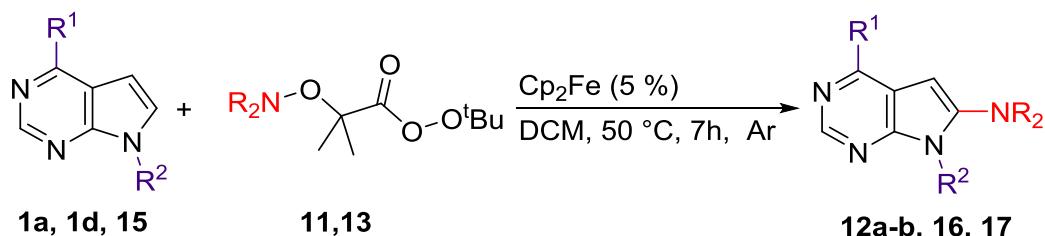


Schéma 5 C-H imidace 7-deazapurinů

Reakce 6-chlor- a 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurinů **1a** a **1d** vedla k produktům imidace **12a-b** v 32 a 27 % výtěžcích (Tabulka 3, řádky 1-2). Za účelem vyzkoušení odolnosti ostatních chránících skupin byla reakce úspěšně provedena i se SEM chráněným 7-deazapurinem **15** se 46 % výtěžkem produktu **16** (Tabulka 3, řádek 3). Pro zajímavost jsem také vyzkoušel další imidylový prekurzor, pro tento účel připravený ftalimidyl perester **13**, který s modelovým deazapurinem **1a** poskytl 8-ftaliimido-7-deazapurin **17** v o něco málo lepším 35 % výtěžku než v případě sukcinimidylperovaného produktu **12a** (Tabulka 3, řádek 4).

Tabulka 3 Preparativní C-H imidatice 7-deazapurinů

Pokus	Výchozí látka	NR ₂	R ¹	R ²	Produkt (výtěžek)
1	1a	sukcinimidyl	Ph	Bn	12a (32 %)
2	1d	sukcinimidyl	Cl	Bn	12b (27 %)
3	15	sukcinimidyl	OMe	SEM	16 (46 %)
4	1a	ftalimidyl	Ph	Bn	17 (35 %)

V posledním kroku jsem se pokusil o přípravu deazapurinů nesoucích volnou amino skupinu hydrolyzou 8-imidylových derivátů. Ani při opakovaných pokusech o kyselou hydrolyzu nebo hydrazinolýzu se mi nepodařilo izolovat žádaný produkt, což bylo způsobeno rozkladem látky během reakce. Toto pozorování je v souladu s nízkou stabilitou podobného 8-methylamino-7-deazapurinu **10a**. Přítomnost volné amino skupiny v poloze 8 na 7-deazapurinovém skeletu se zdá být příčinou nestability a náchylnosti těchto heterocyklů k rozkladu.

7.1.3 *ortho* C-H silylace 7- a 9-fenyldeazapurinů

C-H silylační reakce jsou v současnosti hojně studované pro funkcionálizaci heteroarenů,¹⁶ protože vzniklé silany jsou dále použitelné v Hiyama cross-coupligových reakcích, případně dalších manipulacích funkčních skupin.¹⁷

Nejčastější je využití Ir, Rh a Ru katalyzátorů.¹⁸ Na indolech a příbuzných pětičlenných heterocyklech probíhá C-H silylace přednostně v poloze 2,¹⁹ pokud není přítomna kov koordinující skupina řídící silylaci do polohy ortho.²⁰ V případě 6-aryl substituovaných purinů a deazapurinů byla otázka, zda N-1 bude fungovat jako řídící skupina pro silylaci fenylu, nebo jestli reaktivita C-8 převáží a povede k přímé silylaci pětičlenného kruhu nukleobáze.

Studie začala testováním reaktivity 9-benzyl-6-fenylpurinu **18**. Byla vyzkoušena popsaná^{19d-g} reakce s HSiEt₃ v přítomnosti [Ir(COD)OMe]₂ jako katalyzátoru, dtbpy jako ligandu a norbornenu jako akceptoru vodíku, ale žádný produkt nevznikl, přesně v souladu s přechozím pozorováním nedostatečné reaktivity purinů při iridiem katalyzované C-H borylací,⁸ která je pravděpodobně způsobena silnou koordinací kovu k dusíku N-7 a deaktivací katalyzátoru. Proto jsem se rozhodl zaměřit na 7- a 9-deazapuriny, které při C-H borylacích reagují.⁸ Optimalizace reakčních podmínek byla provedena s 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurinem **1a**. Reakcí s HSiEt₃ v přítomnosti [Ir(COD)OMe]₂ katalyzátoru, dtbpy ligandu a norbornenu v THF za r.t. (Schéma 6) vznikla směs tří silylovaných produktů s nízkou 26 %

konverzí - produkt *ortho*-silylace fenylové skupiny **19a** (10 %), sloučenina **19b** (9 %) – produkt přímé C-H silylace deazapurinu a disilylovaný produkt **19c** (5 %).

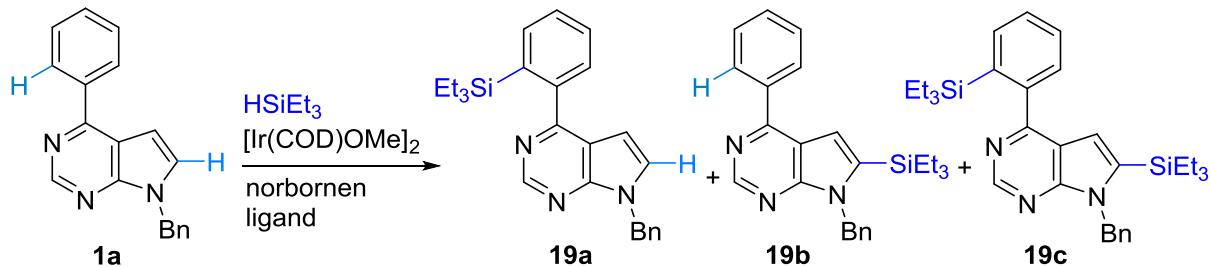


Schéma 6 C-H silylace 6-fenyl-7-deazapurinu **1a**

Zvýšením reakční teploty na 80 °C po dobu 48 h se konverze zvýšila na 72 %, převažoval ovšem *ortho*-silylovaný produkt **19a** (41 % izolovaný výtěžek), následovaný 13 % 8-silyl derivátu **19b** a 5 % disilylovaného produktu **19c**. Zvýšení nadbytku HSiEt_3 vedlo k o málo vyššímu obsahu *ortho*-silylovaného produktu **19a** vůči produktům **19b** a **19c**.

Náhrada dtbpy ligandu bpy ligandem nebo Me_3Phen měla na průběh reakce zanedbatelný vliv, zatímco přítomnost báze (Cs_2CO_3 nebo $\text{KO}t\text{Bu}$) vedla k velice nízké konverzi. Zajímavý je fakt, že reakce bez přítomnosti norbornenu (nebo cyklohexenu) jako akceptoru vodíku poskytla prakticky jen produkt přímé C-H silylace **19b** ve 29 % výtěžku za stejných podmínek, které byly použity pro C-H borylací dazapurinu **1a** do polohy 8 a za kterých nedocházelo k žádné *ortho*-borylací.⁸ Nicméně, na rozdíl od účinných C-H borylací probíhaly C-H silylace s velmi nízkou konverzí. Reakce v pevné fázi, v čistém norbornenu při 80 °C proběhla s dobrou selektivitou pro produkt **19a**, ale s nízkou konverzí, kterou se podařilo zvýšit zahřátím na 130 °C. Použití Ru a Rh katalyzátorů naproti tomu vedlo k dramatickému snížení konverzí.

Ze syntetického hlediska se jako nejvhodnější ukázal protokol používající dioxan jako rozpouštědlo při 130 °C, který byl použit pro přípravu produktů **19a-c**, které byly odděleny sloupcovou chromatografií. Tento protokol byl také následně použit pro silylace ostatních fenyldeazapurinů (Schéma 7, Tabulka 4).

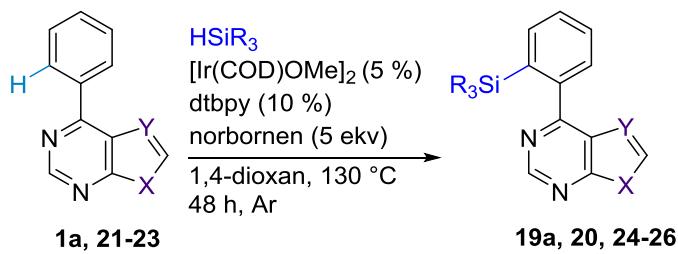


Schéma 7 *ortho* C-H silylace deazapurinů

Tabulka 4 Preparativní *ortho* C-H silylace deazapurinů

Pokus	Výchozí látka	HSiR ₃	X	Y	Produkt (výtěžek)
1	1a	HSiEt ₃	N-Bn	CH	19a (55 %)
2	1a	HSiMe ₂ Ph	N-Bn	CH	20 (32 %)
3	21	HSiEt ₃	NH	CH	24 (47 %)
4	22	HSiEt ₃	CH	N-Bn	25 (46 %)
5	23	HSiEt ₃	CH	NH	26 (37 %)

Reakce **1a** s HSiMe₂Ph byla nejprve provedena za stejných podmínek, nicméně konverze byla výrazně nižší než v případě HSiEt₃, byl však získán pouze produkt *ortho*-silylace **17** ve 32 % výtěžku. Reakce nechráněného 6-fenyl-7-deazapurinu **18** s HSiEt₃ vedla selektivně k *ortho*-silylovanému 6-fenyl-7-deazapurinu **21** ve 47 % výtěžku (Tabulka 4, řádek 3). Stejný protokol byl potom použit na reakci 6-fenyl-7-benzyl-9-deazapurinu **19**, která probíhala analogicky a vedla k *ortho*-silylovanému derivátu **22** ve 46 % výtěžku (Tabulka 4, řádek 4). Podobně i 6-fenyl-9-deazapurin **20** poskytl *ortho*-silylovaný produkt **23** ve 37 % výtěžku (Tabulka 4, řádek 5).

7.1.4 Přímá C-H fosfonace 7- a 9-deazapurinů

Vzhledem k zajímavým vlastnostem fosfonátové skupiny obecně je fosfonace deazapurinů velice atraktivním tématem. Protože C-H fosfonace nebyly nijak intenzivně studovány a nejsou mi známy žádné popsané C-H fosfonace 7- nebo 9-deazapurinů, rozhodl jsem se tomuto tématu věnovat ve své práci, motivován množstvím popsaných oxidativních fosfonací arenů a heteroarenů.²¹

Vybral jsem si 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurin **1a** jako modelovou sloučeninu pro studii C-H fosfonací pomocí diethylfosfitu **27a** za různých reakčních podmínek.

Po počátečních nezdarech se stříbrnými, železitými a kobaltitými solemi, které nefungovaly vůbec nebo s velice nízkou konverzí, jsem se zaměřil na použití Mn(OAc)₃·2H₂O (Schéma 8).

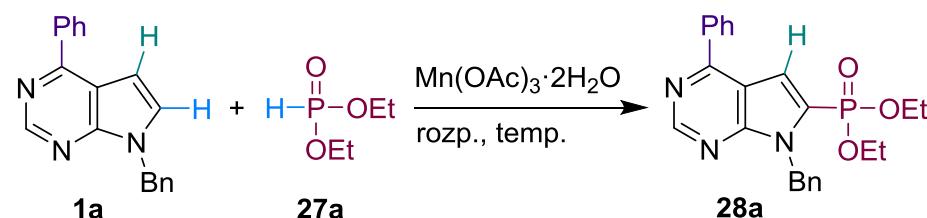


Schéma 8 Optimalizace C-H fosfonací 6-fenyl-9-benzyl-7-deazapurinu **1a** s diethylfosfitem **27a**

Reakce se 3 ekv. $\text{Mn}(\text{OAc})_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ v kyselině octové za r.t. nefungovala, za vyšších teplot (50 a 80 °C) už ale poskytla žádaný 8-fosfonovaný 7-deazapurin **28a** ve 23 % resp. 37 % výtěžku. Manipulace s množstvím promotoru neměla žádný pozitivní efekt. Po otestování různých rozpouštědel se jako nejlepší ukázala směs $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ (1:1), kdy byl produkt získán ve výtěžku 43 %. Zvýšení teploty na 100 °C a použití většího nadbytku diethylfosfitu (5 ekv.) zvýšilo výtěžek na 47 %, všechny ostatní pokusy o jeho zvýšení už ale nebyly úspěšné.

S takto optimalizovanými podmínkami jsem se rozhodl zjistit rozsah a limity této metody a zkusil připravit sérii různě substituovaných 7-deazapurinů (Schéma 9, Tabulka 5).



Schéma 9 C-H fosfonace 7-deazapurinů

Reakce 6-chlor a 6-substituovaných 7-benzyl a 7-(2-trimethylsilyl)ethoxymethyl chráněných deazapurinů **1a**, **1d**, **30**, **31**, **15** proběhly hladce a poskytly žádané produkty **28a-b**, **28d-f** v akceptovatelných výtěžcích 36–56 % (Tabulka 5, řádky 1-2, 4-6).

Tabulka 5 Preparativní C-H fosfonace 7-deazapurinů

Pokus	Výchozí látka	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Produkt (výtěžek)
1	1a	Ph	H	Bn	Et	28a (47 %)
2	1d	Cl	H	Bn	Et	28b (36 %)
3	29	Ph	H	ribofuranosa	Et	28c (25 %)
4	30	Cl	H	SEM	Et	28d (30 %)
5	31	SMe	H	SEM	Et	28e (56 %)
6	15	OMe	H	SEM	Et	28f (40 %)
7	32	Cl	H	H	iPr	28h (30 %)
8	32	Cl	H	H	Et	28g (41 %)
9	21	Ph	H	H	Et	28i (40 %)
10	33	Cl	NH ₂	H	Et	28k (38 %)
11	34	Cl	Cl	H	Et	28j (39 %)
12	35	Cl	Me	H	Et	28l (37 %)
13	36	Cl	F	H	Et	28m (37 %)
14 ^a	37	Cl	H	H	Et	n.r.
15 ^b	18	Ph	H	Bn	Et	n.r.

^a Deazapurin **37** je substituovaný fluorem v poloze 7; ^b sloučenina **18** je purinový analog.

Dále byla úspěšná také fosfonace benzoylovaného nukleosidu **29** vedoucí k fosfono-nukleosidu **28c** ve 25 % výtěžku (Tabulka 5, řádek 3), a dále fosfonace 6-chlor-7-deazapurinové báze **32** s 41 % výtěžkem fosfonátu **28g** (Tabulka 5, řádek 8), který byl vhodným substrátem pro další modifikace v pozicích 6 a 9. Tyto výsledky ukazují, že pro úspěšnou fosfonaci není potřeba mít polohu 9 ochráněnou nebo substituovanou.

Potom jsem zkusil reakci 6-chlor-7-deazapurinu **32** s objemnějším diisopropyl fosfitem **27b**, který poskytl žádaný produkt v o něco menším výtěžku 30 %. Následně jsem se rozhodl prozkoumat preparativní C-H fosfonace různých 2- a/nebo 6-substituovaných 7-deazapurinů. Ve všech případech se mi podařilo získat žádané produkty **28i-m** v dobrých 37–40 % výtěžcích (Tabulka 5, řádky 9-13). Na druhou stranu, 7-fluor-7-deazapurin **37** a 6-fenylpurin **18** se ukázaly být zcela nereaktivní (Tabulka 5, řádky 14-15).

Stejný protokol pro C-H fosfonaci jsem dále použil pro fosfonaci 9-dezapurinů (Schéma 10, Tabulka 6).

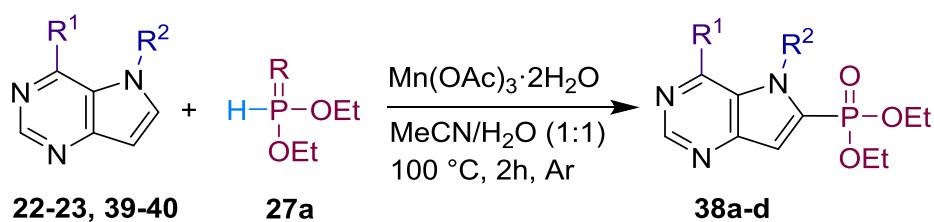


Schéma 10 C-H fosfonace 9-dezapurinů

Reakce 7-benzyl-6-chlor- a 6-fenyl-9-dezapurinů **39** a **22** vedly k 8-fosfonátům 9-dezapurinu **38a** a **38b** v 30 respektive 31 % výtěžku (Tabulka 6, řádky 1-2). Podobně i reakce 6-chlor- a 6-fenyl-9-dezapurinů **40** a **23** poskytla příslušné fosfonáty **38c** a **38d** v 37 resp. 36 % výtěžku (Tabulka 6, řádky 3-4).

Tabulka 6 Preparativní C-H fosfonace 9-dezapurinů

Pokus	Výchozí látka	R ¹	R ²	Produkt (výtěžek)
1	39	Cl	Bn	38a (30 %)
2	22	Ph	Bn	38b (31 %)
3	40	Cl	H	38c (37 %)
4	23	Ph	H	38d (36 %)

Za účelem otestování reaktivity 6-chlor-7-deazapurinového fosfonátu **28g** jsem provedl několik Suzuki-Miyaura reakcí ve vodné fázi (Schéma 11), které proběhly hladce a

vedly k 6-substituovaným 7-deazapurinovým fosfonátům **41a-g**, které byly izolovány v dobrých výtěžcích 60–75 % (Tabulka 7).

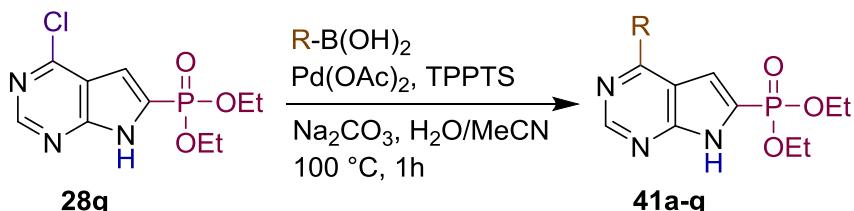


Schéma 11 Suzuki-Miyaura reakce 7-deazapurin-8-fosfonátu **28**

Tabulka 7 Syntéza 6-(het)aryl-7-deazapurin fosfonátů

Pokus	R	Produkt (výtěžek)
1	furan-2-yl	41a (71 %)
2	furan-3-yl	41b (65 %)
3	thiofen-2-yl	41c (65 %)
4	thiofen-3-yl	41d (72 %)
5	fenyl	41e (75 %)
6	benzofuran-2-yl	41f (67 %)
7	dibenzofuran-4-yl	41g (60 %)

Posledním cílem tohoto projektu byl vývoj metody pro štěpení fosfodiesterové vazby vedoucímu k volným fosfonovým kyselinám, což bylo realizováno ve dvou krocích, reakcí s brom(trimethyl)silanem v acetonitrilu²² se zpracováním ve vodě (hydrolýza silyl-esterů po transesterifikaci) (Schéma 12).

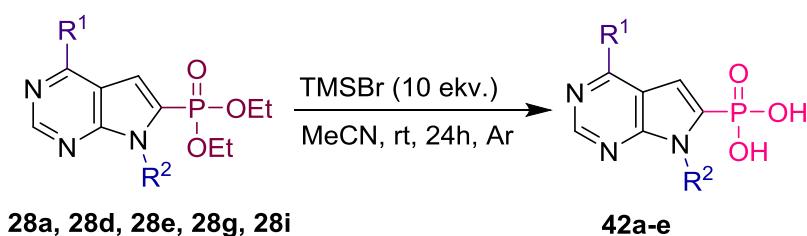


Schéma 12 Štěpení fosfodiesterové vazby deazapurinových fosfonátů **28a, 28d, 28e, 28g, 28i**

Tento protokol jsem následně použil pro syntézu pěti 6-chlor nebo 6-substituovaných 7-deazapurinových fosfonátů nesoucích v poloze 9 benzyl **28a** nebo SEM chránící skupiny **28d, 28e** případně volné báze **28g, 28i**. Všechny reakce proběhly bez problému a poskytly žádáné fosfonové kyseliny **42a-e** v dobrých výtěžcích (55–85 %), které byly nižší kvůli obtížné separaci (Tabulka 8).

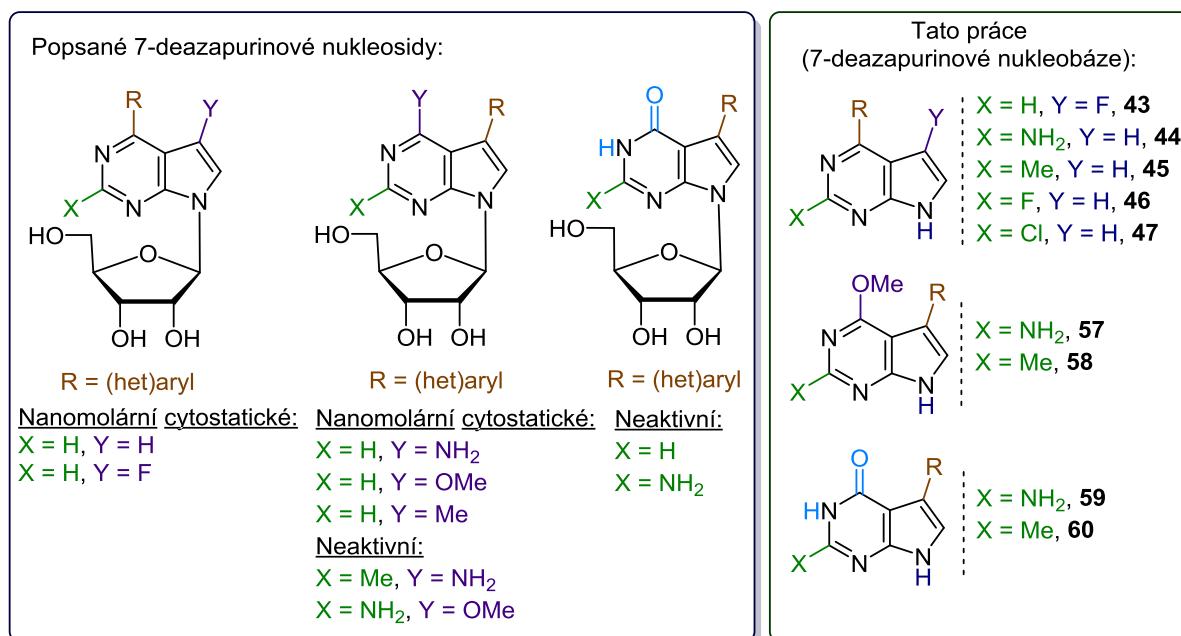
Tabulka 8 Syntéza 7-deazapurin-8-fosfonových kyselin

Pokus	Výchozí látka	R ¹	R ²	Produkt (výtěžek)
1	28a	Ph	Bn	42a (75 %)
2	28d	Cl	SEM	42b (55 %)
3	28e	SMe	H	42c (85 %)
4	28g	Br	H	42d (77 %)
5	28i	Ph	H	42e (63 %)

Vlivem silně kyselého prostředí při štěpení fosfodiesterové vazby fosfonátu **28e** došlo zároveň i k odstranění SEM chránící skupiny (Tabulka 8, řádek 3). Odchránění 6-chlor-7-deazapurin-8-fosfonátu **28g** pomocí TMSBr vedlo k souběžné substituci chloru bromem (reakcí s HBr vzniklou během reakce) a vznikla tak 6-brom-7-deazapurin-8-fosfonová kyselina **42d** (Tabulka 8, řádek 4). Navzdory obtížné separaci volných fosfonových kyselin, sekvence zahrnující C-H fosfonaci s následovanou reakcí s TMSBr a hydrolýzou je vhodnou strategií pro syntézu deazapurin-8-fosfonových kyselin.

7.2 Syntéza 2-substituovaných 6- a 7-(het)aryl-7-deazapurinových bází

Druhá část této dizertační práce je zaměřena na syntézu 2-substituovaných 6- a 7-hetaryl-7-deazapurinových bází (Obrázek 1).



Obrázek 1 Popsané biologicky aktivní 7-deazapurinové nukleosidy a studované 7-deazapurinové nukleobáze

Nedávné výzkumy v naší skupině vedly k objevu 6-(het)aryl-7-deazapurinových a 7-fluor-7-deazapurinových ribonukleosidů (Obrázek 1) jako silných cytostatik^{2a} a inhibitorů

mykobakteriální adenosin kinázy,^{2d} zatímco jejich 2-substituované deriváty^{23a} stejně jako nukleosidy modifikované na sacharidové části^{23b,c} jsou aktivní výrazně méně nebo vůbec.

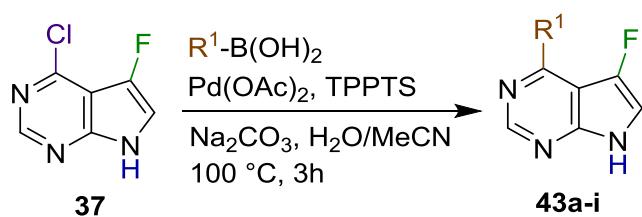
7-(Het)aryl-7-deazaadenosiny (Obrázek 1) jsou také silná cytostatika^{2b} a/nebo inhibitory mykobakteriální adenosin kinázy.²⁴ Mechanismus účinku zahrnuje transformaci nukleosidů na trifosfát a jejich inkorporaci do RNA a DNA.²⁵ Dále bylo zjištěno, že 7-(het)aryl-7-deazapurinové ribonukleosidy nesoucí v poloze 6 susbtituenty jako OMe, SME a Me (Obrázek 1) jsou podobně silná cytostatika jako adenosinové analogy, zatímco 6-oxo a 2-substituované deriváty jsou úplně neaktivní.^{2c}

Nicméně biologická aktivita původních 7-deazapurinových nukleobází zůstává neznámá. Studie této třídy látek je důležitá pro odhalení vztahů mezi strukturou a aktivitou, protože nukleobáze mohou v principu být převedeny na nukleosidy fosforibosyl transferázami. To mě vedlo k syntéze několika nových typů 6- a 7-hetaryl-7-deazapurinových bází pomocí Suzuki-Miyaura cross-couplingových reakcí ve vodné fázi.^{2,26} První skupinou látek byly 6-(het)aryl-7-fluor-7-deazapurinové deriváty **43**, druhou potom 2-substituované 6-(het)aryl-7-deazapurinové báze **44-47**, třetím typem látek byly 2-amino nebo 2-methyl 6-methoxy-7-hetaryl-7-deazapuriny **57-58** a poslední skupinou 7-hetaryl-7-deazaguaniny **59** a 2-methyl 7-hetaryl-7-deazahypoxanthiny **60**. Kromě studia biologických aktivit jsem také chtěl prostudovat fotofyzikální vlastnosti těchto látek, protože zavedení elektron-donorních hetaryllových skupin může zvýšit jejich fluorescenci.

7.2.1 Syntéza 2-substituovaných 6-(het)aryl-7-deazapurinů

Jako výchozí látky pro syntézu 6-(het)aryl-7-deazapurinů byly zvoleny 6-chlor-7-deazapuriny. 6-Chlor-7-fluor-7-deazapurin **37** byl reakcí s různými hetarylboronovými kyselinami v jednom kroku převeden na sérii příslušných 6-(het)aryl-7-fluor-7-deazapurinových bází **43a-i** (Tabulka 9). Substrát byl typicky nechán reagovat s boronovou kyselinou (1,5 ekv.) a Na₂CO₃ (3 ekv.) v přítomnosti Pd(OAc)₂ (0,05 ekv.) a TPPTS (0,125 ekv.) ve směsi H₂O/MeCN (2:1) při 100 °C po dobu 3 h. Reakce probíhaly s úplnou konverzí a produkty byly izolovány v dobrých výtěžcích s výjimkou 2- a 3-pyrrolo derivátů, které byly izolovány pouze v průměrných výtěžcích (Tabulka 9, řádky 8-9). N-chránící skupiny byly odštěpeny během reakce. Produkty ve většině případů vykrystalizovaly z reakční směsi (kromě pyrrolo derivátů). Přesto jsem produkty přefiltroval přes krátký sloupec silikagelu za účelem odstranění vysráženého kovového palladia a organických zbytků pocházejících z boronových kyselin.

Tabulka 9 Syntéza 6-(het)aryl-7-fluoro-7-deazapurinů

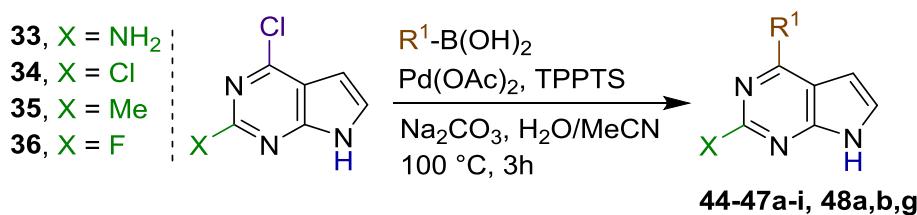


Pokus	R ¹	Produkt (výtěžek)
1	thiofen-2-yl	43a (75 %)
2	thiofen-3-yl	43b (72 %)
3	furan-2-yl	43c (69 %)
4	furan-3-yl	43d (71 %)
5	fenyl	43e (75 %)
6	benzofuran-2-yl	43f (69 %)
7	dibenzofuran-4-yl	43g (77 %)
8	pyrrol-2-yl ^a	43h (32 %)
9	pyrrol-3-yl ^a	43i (35 %)

^a Pro R¹ = pyrrol-2-yl byla použita N-Boc-1*H*-pyrrol-2-yl boronová kyselina; pro R¹ = pyrrol-3-yl byla použita N-(triisopropylsilyl)-1*H*-pyrrol-3-yl boronová kyselina.

Syntéza různých 2-substituovaných 6-het(aryl)-7-deazapurinů **44a-i**, **45a-i**, **46a-i**, **47a-i** byla provedena obdobným způsobem z 2-amino-6-chlor-7-deazapurinu **33**, 2,6-dichlor-7-deazapurinu **34**, 6-chlor-2-methyl-7-deazapurinu **35** a 2-fluor-6-chlor-7-deazapurinu **36** (Tabulka 10).

Tabulka 10 Syntéza 2-substituovaných 6-(het)aryl-7-deazapurinů



R ¹	Produkt (výtěžek)				
	X = NH ₂	X = Me	X = F	X = Cl	X = R ¹
thiofen-2-yl	44a (86 %)	45a (95 %)	46a (66 %)	47a (93 %)	
thiofen-3-yl	44b (90 %)	45b (87 %)	46b (91 %)	47b (60 %)	48b (26 %)
furan-2-yl	44c (67 %)	45c (63 %)	46c (84 %)	47c (64 %)	
furan-3-yl	44d (83 %)	45d (84 %)	46d (85 %)	47d (73 %)	
fenyl	44e (80 %)	45e (81 %)	46e (84 %)	47e (50 %)	48e (38 %)

benzofuran-2-yl	44f (58 %)	45f (58 %)	46f (65 %)	47f (30 %)	
dibenzofuran-4-yl	44g (52 %)	45g (66 %)	46g (43 %)	47g (15 %)	48g (5 %)
pyrrol-2-yl ^a	44h (60 %)	45h (70 %)	46h (72 %)	47h (65 %)	
pyrrol-3-yl ^a	44i (43 %)	45i (40 %)	46i (59 %)	47i (56 %)	

^a Pro R¹ = pyrrol-2-yl byla použita N-Boc-1*H*-pyrrol-2-yl boronová kyselina; pro R¹ = pyrrol-3-yl byla použita N-(triisopropylsilyl)-1*H*-pyrrol-3-yl boronová kyselina.

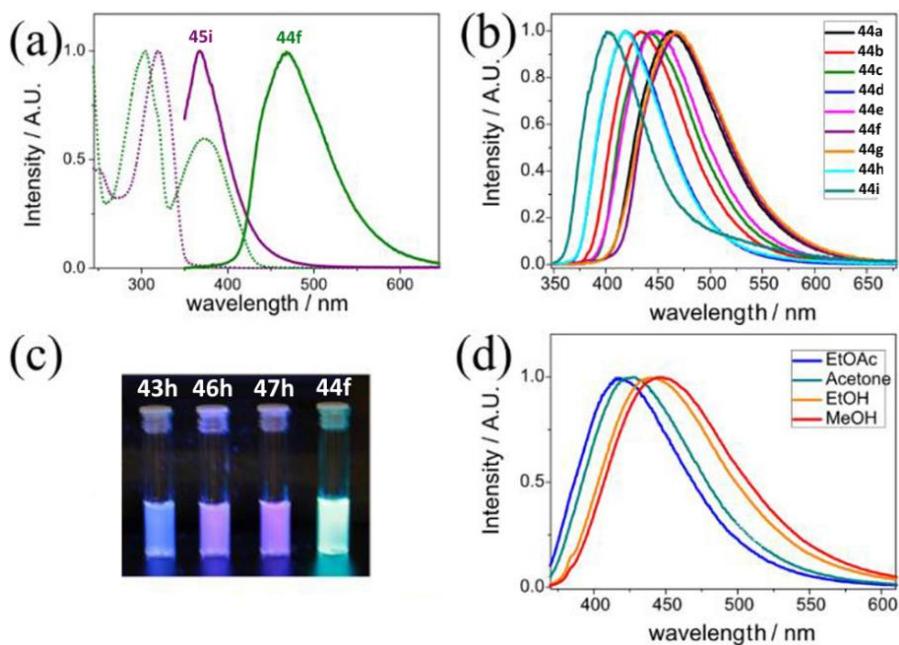
Ve většině případů byly žádané 2-substituované produkty získány v dobrých až výborných výtěžcích (výtěžky pyrrolo derivátů byly opět nižší). Je důležité zmínit, že nedošlo k hydrolýze relativně reaktivní 2-fluor skupiny derivátů **46a-i** za bazických reakčních podmínek. V případě 2,6-dichlor-7-deazapurinu **34** probíhala reakce přednostně v poloze 6 a vedla k derivátům **47a-i**, v několika případech však vzniklo i malé množství 2,6-diaryl derivátů **48b**, **48e** a **48g** které byly snadno odděleny chromatografií.

Popsané 6-hetarylpurinové nukleosidy byly použity pro konstrukci fluorescenčních nepřirozených bází, které byly úspěšně replikovány polymerázami *in vitro*.²⁷ Bylo pozorováno, že všechny 6-(het)aryl-7-deazapurinové báze **43-48** vykazují fluorescenční vlastnosti, proto jsme se rozhodli jejich fotofyzikální vlastnosti studovat detailněji za účelem identifikování nových kandidátů pro vývoj fluorescenčních nukleosidových analogů.

UV-Vis absorpcní a fluorescenční spektra připravených sloučenin byla změřena v ethanolu jako modelovém protickém rozpouštědle a byly změřeny spektroskopické charakteristiky (absorpční koeficienty, pozice absorpčních a emisních maxim, kvantové fluorescenční výtěžky). Již zmíněné 7-deazapurinové báze nesoucí (het)arylové substituenty vykázaly bathochromický posun absorpčního pásu v UV spektrech, který byl typicky mezi 307 a 363 nm. Všechny studované látky byly fluorescenční s jediným emisním pásem v dlouhovlnné UV oblasti (modrá) v rozmezí 372 nm (**45i**) a 468 nm (**44f**) Obrázek 2a.

Fluorescenční kvantové výtěžky se pohybovaly v rozmezí 0.07 u sloučeniny **43d** po 0.83 u sloučeniny **46h**, medián byl 0.43. Změna substituentu v poloze 2 a 7 na 7-deazapurinovém jádře neměla žádný vliv na jas fluorescence ($B = \epsilon_{\max} \times \Phi_f$), s výjimkou 7-fluor derivátů, kde byl jas relativně nízký v porovnání s ostatními deriváty (< 4000 M⁻¹·cm⁻¹). Na druhou stranu změna hetarylůvých substituentů v poloze 6 měl na fluorescenci výrazný vliv (Obrázek 2b). Největší flurescenci typicky vykazovaly benzofuryl a pyrrol-2-yl deriváty, přičemž nejvyšší hodnota byla pozorována u sloučeniny **46h** (19200 M⁻¹·cm⁻¹).

Celkově nejvyšší jas sérije pyrrol-yl derivátů byl dosažen relativně krátkovlnnou emisí kolem 383–420 nm, zatímco emise benzofuran-2-yl derivátů byla bathochromicky posunutá s nejvyšším maximem při 468 nm u látky **44f** (Obrázek 2c).



Obrázek 2 a) Normalizovaná absorpční (tečkovaná čára) a emisní (plná čára) spektra látek (fialová) **45i** a **44f** (zelená); b) vliv substituentu v poloze 6 na fluorescenční spektra; c) foto vybraných látek v ethanolu; d) vliv polarity rozpouštědla na emisní spektra látky **43c**.

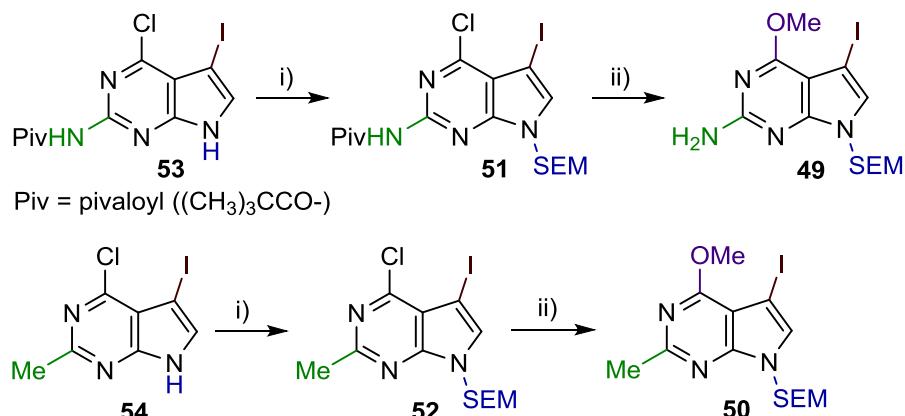
Solvatochromní nukleosidové analogy, např. ty měnící barvu emise v závislosti na polaritě prostředí, jsou cenným nástrojem pro biofyzikální studie.²⁸ Emise zkoumaných látek byla otestována na citlivost vůči polaritě prostředí. Nejlepší výsledek byl získán pro látku **43c**, která změnila emisní vlnovou délku ze 419 nm v ethyl-acetátu na 452 nm v methanolu (Obrázek 1d). Instalace další elektronondonorní/elektronakceptorní skupiny na tento systém může potenciálně zlepšit solvatochromismus.

7.2.2 Syntéza 2-substituovaných 7-(het)aryl-7-deazapurinů

Původní plán byl připravit sérii 7-hetaryl-7-deazapurinových bází nesoucích amino a methoxy skupiny v poloze 2 pomocí Suzuki-Miyaura cross-couplingové reakce ve vodné fázi příslušných 7-jod-7-deazapurinů s boronovými kyselinami. Nicméně po zjištění, že reakce probíhají méně efektivně a dochází během nich k významné dejodaci výchozích bází, což snižuje výtěžek a komplikuje separaci, jsem se rozhodl změnit taktiku a ochránit dusík v poloze 9. Na základě předchozích zkušeností jsem zvolil [2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl (SEM) skupinu,²⁹ která by měla být kompatibilní se Suzukiho reakcí a měla by být snadno odstranitelná.

Nejprve jsem tedy připravil 9-SEM chráněné 7-joód-7-deazapurinové intermediáty **49** a **50** alkylací příslušných bází **53** a **54** pomocí [2-(trimethylsilyl)ethoxy]methyl chloridu

(SEM-Cl) v bazickém prostředí²⁹ následovanou nukleofilní substitucí v poloze 6 methoxidem sodným (Schéma 13). V případě 2-amino derivátu **53** bylo využito ortogonální chránění amino skupiny pivaloylem k zabránění alkylace. Tyto reakce proběhly bez problémů a poskytly klíčové intermediáty **49**, **50** v dobrých celkových výtěžcích v multigramových množstvích.



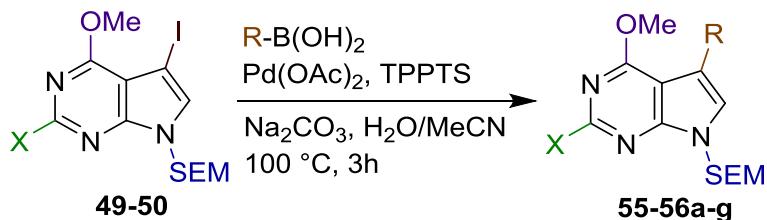
Cnidla a reakcní podmínky:

- i) NaH, SEM-Cl, DMF, 0 °C to rt; pro **51**: 88 %; pro **52**: 89 %;
- ii) MeONa, MeOH, reflux, 1-2 h, pro **49**: 90 %; pro **50**: 79 %.

Schéma 13 Příprava výchozích 7-jod-7-deazapurinových bází **49-50**

9-SEM chráněné 2-amino- a 2-methyl-6-methoxy-7-jód-7-deazapuriny **49-50** byly potom použity jako substráty pro Suzuki-Miyaura reakce se sérií boronových kyselin (Tabulka 11). Výběr hetaryllových substituentů byl založen na přechozích zkušenostech s cytostatickými nukleosidy a zahrnoval malé furylové a thiofenylové skupiny, stejně jako objemnější benzofuryl, dibenzofuryl a feny.

Tabulka 11 Syntéza SEM chráněných 7-(het)aryl-7-deazapurinů



R	Produkt (výtěžek)	
	X = NH ₂	X = Me
furan-2-yl	55a (71 %)	56a (68 %)
furan-3-yl	55b (73 %)	56b (76 %)
thiofen-2-yl	55c (73 %)	56c (80 %)
thiofen-3-yl	55d (76 %)	56d (88 %)

fenyl	55e (70 %)	56e (76 %)
benzofuran-2-yl	55f (65 %)	56f (71 %)
dibenzofuran-4-yl	55g (68 %)	56g (64 %)

Suzuki-Miyaura cross-couplingové reakce SEM-chráněných 7-jod-7-deazapurinů **49-50 s** (het)aryl boronovými kyselinami byly provedeny za standardních podmínek za použití Na_2CO_3 (3 ekv.) jako báze a $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,05 ekv.) a ve vodě rozpustného trifenylfosfinového ligandu (TPPTS) (0,125 ekv.) ve směsi $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ (2:1) při $100\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 3 h. Reakce probíhaly bez problému a poskytly SEM-chráněné deriváty **55-56a-g** v dobrých výtěžcích (Tabulka 11). Tyto byly dále odchráněny na cílové volné deazapurinové báze **57-58a-g** (Tabulka 12).

Odstranění SEM skupiny bylo provedeno dvěma způsoby. Nejprve byly SEM-deazapurinové deriváty převedeny TFA na *N*-hydroxymethyl deriváty, které byly následně odštěpeny reakcí s vodným amoniakem (vznik urotropinu). Případně byla SEM skupina odstraněna tetrabutylammonium fluoridem (TBAF) v přítomnosti ethylendiaminu. Tato možnost byla použita ve většině případů kvůli nízké stabilitě cílových deazapurinů v silně kyselém prostředí. Po odstranění chránící skupiny byly získány 2-amino-6-methoxy-7-(het)aryl-7-deazapuriny **57a-g** a 2-methyl-7-(het)aryl-7-deazapuriny **58a-g** v dobrých výtěžcích (Tabulka 12).

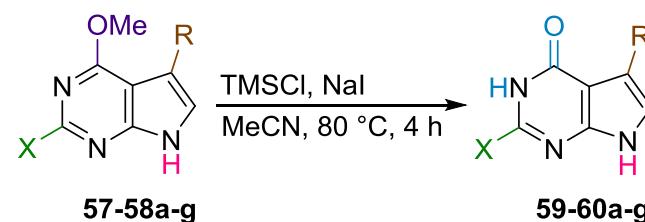
Tabulka 12 Syntéza 7-(het)aryl-7-deazapurinů

 55-56a-g	57-58a-g
R	Produkt (výtěžek)
	$\text{X} = \text{NH}_2$ $\text{X} = \text{Me}$
furan-2-yl	57a (69 %) 58a (91 %) ^a
furan-3-yl	57b (78 %) 58b (61 %)
thiofen-2-yl	57c (72 %) 58c (87 %) ^a
thiofen-3-yl	57d (61 %) 58d (58 %)
fenyl	57e (56 %) 58e (77 %) ^a
benzofuran-2-yl	57f (51 %) 58f (83 %) ^a
dibenzofuran-4-yl	57g (54 %) 58g (62 %)

^a Reakční podmínky: 1) TFA, DCM, 4 h, r.t.; 2) NH_3 (aq.) (25% [w/w]), r.t., 12 h

Přímou cross-couplingovou reakci nebylo možné použít pro přípravu 6-oxo derivátů, protože neprobíhala dostatečně efektivně. Proto jsem 6-oxo deriváty připravil demethylací 6-methoxy-7-deazapurinů **57-58**. Získané 7-substituované 7-deazaguaniny **59a-g** a 7-deazahypoxanthiny **60-g** (Tabulka 13) jsou 7-substituované 7-deaza analogy přirozených purinových bází guaninů a hypoxanthinů. O-demethylace¹⁵² byla realizována reakcí s jodtrimethylsilanem generovaným *in situ* z TMSCl a jodidu sodného a poskytla žádané produkty **59-60a-g** v dobrých výtěžcích (Tabulka 13).

Tabulka 13 Syntéza 7-(het)aryl 7-deazaguaninů a 7-deazahypoxanthinů



R	Produkt (výtěžek)	
	X = NH ₂	X = Me
furan-2-yl	59a (64 %)	60a (91 %)
furan-3-yl	59b (58 %)	60b (61 %)
thiofen-2-yl	59c (65 %)	60c (87 %)
thiofen-3-yl	59d (68 %)	60d (58 %)
fenyl	59e (77 %)	60e (77 %)
benzofuran-2-yl	59f (73 %)	60f (83 %)
dibenzofuran-4-yl	59g (62 %)	60g (52 %)

Pro sérii 7-substituovaných 7-deazaguaninů, nejbližších analogů přirozených nukleobází, jsem změřil také jejich UV-Vis a fluorescenční spektra. Obvykle měly absorpcní maxima při 189–332 nm a některé z nich byly jen málo fluorescenční. Jediné silnější fluorofory byly 7-benzofuryl a 7-dibenzofuryl 7-deazaguaniny **59e** a **59f**, které mají potenciál pro fluorescenční značení nukleových kyselin.

Všechny cílové 7-substituované 7-deazapurinové báze **43-48**, **57-60a-g** byly testovány na protinádorovou aktivitu na 6 buněčných liniích odvozených od lidských nádorů plic (A549), karcinomu střeva (HCT116 a HCT116p53^{-/-}) a leukemických buněčných linií (CCRF-CEM, CEM-DNR, K562, K562-TAX) a pro porovnání také na nezhoubných BJ a MRC-5 fibroblastech. Žádná ze sloučenin nevykázala žádnou zajímavou cytotoxickou nebo cytostatickou aktivitu v koncentracích do 15 µM. Tento výsledek je důležitý v porovnání s příslušnými stejně substituovanými ribonukleosidy, protože ukazuje, že "salvage pathway"

(záchranná cesta), která by vedla ke vzniku cytotoxických nukleosidů z těchto bází, nehráje roli při metabolizmu nukleosidů.

8 Závěr

Byly vyvinuty nové metody C-H funkcionalizace deazapurinových bází a využity pro syntézu nových modifikovaných deazapurinů nesoucích amino, imido nebo fosfonátové skupiny v poloze 8, případně silylovou skupinu v *ortho* poloze fenylu připojeného do polohy 6. Série 2-substituovaných 6- a 7-(het)aryl-7-deazapurinových bází byla připravena pomocí Suzuki-Miyaura cross-couplingové reakce ve vodném protředí.

Pd/Cu katalyzovaná přímá C-H aminace 6-substituovaných 7-deazapurinů pomocí *N*-chlor-*N*-alkyl arylsulfonamidů probíhala regioselektivně v poloze 8, navíc za mírných podmínek. Protože *N*-chlor-*N*-alkyl arylsulfonamid reagují jako aminační a také chlorační činidla, byly vyvinuty i protokoly pro přímou C-H chloraminaci a C-H chloraci 6-substituovaných 7-deazapurinů. Pro chránění aminu byl jako nejvhodnější chránící skupina vybrán *ortho*-nitrobenzensulfonyl, který po odstranění poskytl 8-methylamino-7-deazapurin. Během testování jeho reaktivity se však ukázalo, že je značně nestabilní, což je pravděpodobně způsobeno náchylností k protonaci a oxidaci.

C-H imidační reakce 6-substituovaných 7-deazapurinů chráněných pomocí 9-benzyl nebo 9-SEM skupiny byly realizovány pomocí *N*-sukcinimido- nebo *N*-ftalimidoperesterů za katalýzy ferrocenem. Reakce probíhaly selektivně v poloze 8 a poskytly 8-sukcinimido nebo 8-ftalimido-7-deazapuriny. Všechny pokusy o kyselou hydrolyzu případně o hydrazinolýzu imidoskupiny vedly k rozkladu 7-deazapurin-8-aminu podobně jako v případě 8-(methylamino)-7-deazapurinu.

Dříve popsaná iridiem katalyzovaná C-H borylace⁸ probíhá na deazapurinech selektivně v poloze 8. Stejný katalytický systém založený na iridiovém katalyzátoru a dtbpy ligandu s přídavkem norbonenu jako akceptoru vodíku byl použit pro C-H silylační reakce 6-fenyldeazapurinů s alkylsilanamy. Reakce silným řídícím vlivem N-1 atomu deazapurinového heterocyklu probíhaly přednostně v *ortho* poloze fenylového substituentu a poskytly sérii 7- a 9-fenyldeazapurinových silylovaných derivátů.

Fosfonová skupina byla na deazapurinový skelet zavedena pomocí přímé C-H fosfonace dialkylfosfity katalyzované acetátem manganitým. Reakce opět probíhaly regioselektivně v poloze 8 a vedly k novým 7- a 9-deazapurinovým fosfonátům. 6-Chlor-7-deazapurin fosfonát byl dále modifikován Suzuki-Miyaura reakcí s různými

(het)arylboronovými kyselinami. Tyto reakce proběhly hladce a poskytly sérii 6-substituovaných 7-deazapurinových fosfonátů, které byly použity také pro přípravu fosfonových kyselin vyvinutou metodou štěpení fosfodiesterové vazby.

Suzuki-Miyaura cross-couplingová reakce byla použita pro zavedení hetarylového substituentu do polohy 6 a 7 na 7-deazapurinu. Byla připravena knihovna 6-hetaryl-7-deazapurinů nesoucích fluor v poloze 7 a H, F, Cl, Me nebo NH₂ skupinu v poloze 2. Stejná reakce však kvůli významné dejodaci nebyla vhodná pro přípravu 7-(het)aryl-7-deazapurinů z 7-jod-7-deazapurinů. Proto byla použita 2-[(trimethylsilyl)ethoxy]methyl (SEM) chránící skupina, která je kompatibilní s reakčními podmínkami a je snadno odstranitelná v závěru syntézy. Tato strategie byla úspěšná, podařilo se připravit série volných 6-methoxy-7-hetaryldeazapurinů nesoucích amino nebo methylové skupiny v poloze 2. 6-Methoxy-7-(het)aryl-deazapurinové báze byly dále *O*-demethylační reakcí převedeny na 7-(het)aryl 7-deazahypoxanthiny a 7-deazaguaniny (nové substituované analogy přirozených bází hypoxanthinu a guaninu).

Závěrem lze říci, že byla připravena rozsáhlá knihovna (více než 100 látek) nových modifikovaných deazapurinových nukleobází nesoucích různé substituenty a funkční skupiny. Bohužel, všechny připravené látky se v testech biologických aktivit (proteinádorové a protivirové) ukázaly být neaktivní, což je v ostrém kontrastu s příslušnými nukleosidy. Nicméně řada sloučenin vykázala zajímavé fluorescenční vlastnosti (kvantové výtěžky až 0.83) a tím i potenciál pro značení nukleových kyselin.

V neposlední řadě je třeba říci, že vyvinuté C-H funkcionalizace a další transformace instalovaných funkčních skupin vhodně doplňují současné nástroje (cross-couplingové reakce, nukleofilní substituce, halogenace, glykosylace) pro modifikaci deazapurinů, což má nepochybně velký potenciál pro syntézu nových knihoven modifikovaných deazapurinových nukleobází.

9 Seznam publikací - Selected publications

1. Sabat, N.; Klečka, M.; Slavětínská, L.; Klepetářová, B.; Hocek, M.: "Direct C–H amination and C–H chloroamination of 7-deazapurines" *RSC Adv.* **2014**, 4, 62140 – 62143.
2. Sabat, N.; Slavětínská, L.; Hocek, M.: "Ir-catalyzed C–H silylations of phenyldeazapurines" *Tetrahedron Lett.* **2015**, 49, 6860 – 6862.
3. Sabat, N.; Nauš, P.; Matyašovský, J.; Dziuba, D.; Poštová Slavětínská, L.; Hocek, M.: "Synthesis of Fluorescent 2-Substituted 6-(Het)aryl-7-deazapurine Bases {4-(Het)aryl-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines} by Aqueous Suzuki–Miyaura Cross-Coupling Reactions" *Synthesis*. **2016**, 48, 1029 – 1045.
4. Sabat, N.; Poštová Slavětínská, L.; Klepetářová, B.; Hocek, M.: "C–H phosphonation of pyrrolopyrimidines. Synthesis of substituted 7- and 9-deazapurine-8-phosphonate derivatives" *J. Org. Chem.* **2016**, 81, 9507 – 9514.
5. Sabat, N.; Smolén, S.; Nauš, P.; Perlíková, P.; Cebová, M.; Poštová Slavětínská, L.; Hocek, M.: "Synthesis of 2,6-Substituted-7-(Het)aryl-7-deazapurine Nucleobases (2,4-Disubstituted-5-(het)aryl-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines)" *Synthesis*. **2017**, in press. DOI: 10.1055/s-0036-1588443.

10 Konferenční příspěvky - Conference contributions

- 26th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress. September 3-8, 2017, Regensburg, Germany (poster presentation).
- 51st Advances in Organic, Bioorganic and Pharmaceutical Chemistry – „Liblice 2016". November 11-13, 2016, Lázně Bělohrad, Czech Republic (oral presentation).
- 17th Tetrahedron Symposium. Challenges in Biological, Bioorganic, Organic & Medicinal Chemistry. June 28-July 1, 2016, Sitges, Spain (poster presentation).
- EFMC-ASMC'15 6th EFMC International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry. November 15–18, 2015, Rehovot, Israel (poster presentation).
- 2nd Prague Summer School. Advances in Drug Discovery. Novel approaches in Drug design and development. Aug 31st – Sep 4th, 2015. Prague, Czech Republic.
- 49th Advances in Organic, Bioorganic and Pharmaceutical Chemistry – „Liblice 2014". November 7-9, 2014, Lázně Bělohrad, Czech Republic (poster presentation)

11 Curriculum vitae

2012- present PhD study – Organic chemistry

Faculty of Science, Charles University in Prague

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry AS CR, Prague

PhD thesis: *New C-H activations and cross-coupling reactions for modification of deazapurine nucleobases*

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

2007 - 2012 Undergraduate study – Organic chemistry

Ivan Franko National University of Lviv, Lviv (Ukraine), MS degree

Diploma work: *Arylsulfonylation of α,β -unsaturated aldehydes and ketones*

Supervisor: doc. Eugenia E. Bila, PhD.

12 References

- ¹. Review: S. Tumkevicius, J. Dodonova, *Chem. Heterocycl. Comp.* **2012**, 48, 258-279.
- ². a) 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; b) 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; c) 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; d) Perlíková, P.; Konečný, P.; Nauš, P.; Snášel, J.; Votruba, I.; Džubák, P.; Pichová, I.; Hajdúch, M.; Hocek, M. *Med. Chem. Commun.* **2013**, 4, 1497-1500.
- ³. a) 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; b) 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; c) 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; d) Gangjee, A.; Lin, X.; Kisliuk, R. L.; McGuire, J. J. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7215 – 7222; e) Tan, L.; Zhang, Z.; Gao, D.; Luo, J.; Tu, Z. C.; Li, Z.; Peng, L.; Ren, X.; Ding, K. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 6807 – 6825; f) Henderson, J. L.; Kormos, B. L.; Hayward, M. M.; Coffman, K. J.; Jasti, J.; Kurumbail, R. G.; Wager, T. T.; Verhoest, P. R.; Noell, G. S.; Chen, Y.; Needle, E.; Berger, Z.; Steyn, S. J.; Houle, C.; Hirst, W. D.; Galatsis, P. *J. Med. Chem.* **2015**, 58, 419 – 432; g) Lippa, B.; Pan, G.; Corbett, M.; Li, C.; Kauffman, G. S.; Pandit, J.; Robinson, S.; Wei, L.; Kozina, E.; Marr,

- E. S.; Borzillo, G.; Knauth, E.; Barbacci-Tobin, E. G.; Vincent, P.; Troutman, M.; Baker, D.; Rajamohan, F.; Kakar, S.; Clark, T.; Morris, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 3359-3363; h) Beckers, T.; Sellmer, A.; Eichhorn, E.; Pongratz, H.; Schächtele, C.; Totzke, F.; Kelter, G.; Krumbach, R.; Fiebig, H. H.; Böhmer, F. D.; Mahboobi, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 125-136.
- ⁴ a) Jiao, X.; Kopecky, D. J.; Liu, J.; Liu, J.; Jaen, J. C.; Cardozo, M. G.; Sharma, R.; Walker, N.; Wesche, H.; Li, S.; Farrelly, E.; Xiao, S.-H.; Wang, Z.; Kayser, F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 6212-6217; b) Khalaf, A. I.; Huggan, J. K.; Suckling, C. J.; Gibson, C. L.; Stewart, K.; Giordani, F.; Barrett, M. P.; Wong, P. E.; Barrack, K. L.; Hunter, W. N. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 6479-6494; c) Irie, O.; Ehara, T.; Iwasaki, A.; Yokokawa, F.; Sakaki, J.; Hirao, H.; Kanazawa, T.; Teno, N.; Horiuchi, M.; Umemura, I.; Gunji, H.; Masuya, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 3959-3962; d) Frolova, L. V.; Magedov, I. V.; Romero, A. E.; Karki, M.; Otero, I.; Hayden, K.; Evdokimov, N. M.; Banuls, L. M. Y.; Rastogi, S. K.; Smith, W. R.; Lu, S.-L.; Kiss, R.; Shuster, C. B.; Hamel, E.; Betancourt, T.; Rogelj, S.; Kornienko, A. *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 6886-6900; e) V. Prieur, N. Heindler, J. Rubio-Martinez, G. Guillaumet, M. D. Pujol, *Tetrahedron* **2015**, 71, 1207-1214.
- ⁵ Beckers, T.; Sellmer, A.; Eichhorn, E.; Pongratz, H.; Schächtele, C.; Totzke, F.; Kelter, G.; Krumbach, R.; Fiebig, H. H.; Böhmer, F. D.; Mahboobi, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 125-136; Hu, Y. J.; Onge, M. S.; Laliberté, S.; Vallée, F.; Jin, S.; Bedard, L.; Labrecque, J.; Albert, J. S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2014**, 24, 3199-3203; Laufer, S. A.; Domeyer, D. M.; Scior, T. R. F.; Albrecht, W.; Hauser, D. R. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 710-722; Lee, S. M.; Yoon, K. B.; Lee, H. J.; Kim, J.; Chung, Y. K.; Cho, W. J.; Mukai, C.; Choi, S.; Kang, K. W.; Han, S. Y.; Ko, H.; Kim, Y. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, 24, 5036-5046.
- ⁶ Thorarensen, A.; Dowty, M. E.; Bunker, M. E.; Juba, B.; Jussif, J.; Lin, T.; Vincent, F.; Czerwinski, R. M.; Casimiro-Garcia, A.; Unwalla, R.; Trujillo, J. I.; Liang, S.; Balbo, P.; Che, Y.; Gilbert, A. M.; Brown, M. F.; Hayward, M.; Montgomery, J.; Leung, L.; Yang, X.; Soucy, S.; Hegen, M.; Coe, J.; Langille, J.; Vajdos, F.; Chrencik, J.; Telliez, J. B. *J. Med. Chem.* **2017**, 60, 1971 – 1993; Lee, S. M.; Yoon, K. B.; Lee, H. J.; Kim, J.; Chung, Y. K.; Cho, W. J.; Mukai, C.; Choi, S.; Kang, K. W.; Han, S. Y.; Ko, H.; Kim, Y. C. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, 24, 5036-5046; Krömer, M.; Klečka, M.; Slavětínská, L.; Klepetářová, B.; Hocek, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 32, 7203-7210; Lin, Q.; Meloni, D.; Pan, Y.; Xia, M.; Rodgers, J.; Shepard, S.; Li, M.; Galya, L.; Metcalf, B.; Yue, T. Y.; Liu, P.; Zhou, J. *Org. Lett.* **2009**, 11, 1999-2002.
- ⁷ Reviews on C-H bond activations: Labinger, J. A.; Bercaw, J. E. *Nature*. **2002**, 417, 507–514; Jazza, R.; Hitce, J.; Renaudat, A.; Sofack-Kreutzer, J.; Baudoin, O. *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 2654–2672.
- ⁸ Klečka, M.; Pohl, R.; Klepetářová, B.; Hocek, M. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 866–868;
- ⁹ Klečka, M.; Pohl, R.; Čejka, J.; Hocek, M. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, 11, 5189-5193.

- ¹⁰. Reviews on C-H aminations: Louillat, M.-L.; Patureau, F. W. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 901–910; Shin, K.; Kim, H.; Chang, S. *Acc. Chem. Res.* **2015**, 48, 1040–1052; Jiao, J.; Murakami, K.; Itami, K. *ACS Catal.* **2016**, 6, 610–633; Kim, H.; Chang, S. *ACS Catal.* **2016**, 6, 2341–2351; Jiao, J.; Murakami, K.; Itami, K. *ACS Catal.* **2015**, 6, 610–633.
- ¹¹. Liu, X. Y.; Gao, P.; Shen, Y. W.; Liang, Y. M. *Org. Lett.* **2011**, 13, 4196–4199.
- ¹². a) Sabitha, G.; Reddy, B. V. S.; Abraham, S.; Yadav, J. S. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 1569–1570. (b) Roemmele, R. C.; Rapoport, H. *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2367–2371. (c) Alonso, D. A.; Andersson, P. G. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9455–9461. (d) Fukuyama, T.; Jow, C.-K.; Cheung, M. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 6373–6374.
- ¹³. a) Diana, P.; Barraja, P.; Lauria, A.; Almerico, A. M.; Dattolo, G.; Cirrincione, G. *Tetrahedron* **2000**, 56, 5177–5183; b) Hino, T.; Nakagawa, M.; Hashizume, T.; Yamaji, N.; Miwa, Y. *Tetrahedron Lett.* **1970**, 11, 2205–2208.
- ¹⁴. a) Kim, H.; Kim, T.; Lee, D. G.; Roh, S. W.; Lee, C. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 9273–9276; b) Song, L.; Zhang, L.; Luo, S.; Cheng, J. *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 14231–14234; c) Foo, K.; Sella, E.; Thome, I.; Eastgate, M. D.; Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 5279–5282.
- ¹⁵. Reviews on C-H silylations: Sharma, R.; Kumar, R.; Kumar, I.; Singh, B.; Sharma. *Synthesis*. **2015**, 47, 2347–2366; Xu, Z.; Huang, W. S.; Zhang, J.; Xu, L. W. *Synthesis*, **2015**, 47, 3645–3668; Cheng, C.; Hartwig, J. F. *Chem. Rev.* **2015**, 115, 8946–8975; Yang, Y.; Wang, C. *Sci. China. Chem.* **2015**, 58, 1266–1279.
- ¹⁶. Cheng, C.; Hartwig, J. F. *Science*. **2014**, 343, 853–857; Toutov, A. A.; Liu, W. B.; Betz, K. N.; Fedorov, A.; Stoltz, B. M.; Grubbs, R. H. *Nature*. **2015**, 518, 80–84.
- ¹⁷. Choi, G.; Tsurugi, H.; Mashima, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 13149–13161; Klare, H. F. T.; Oestreich, M.; Ito, J.; Nishiyama, H.; Ohki, Y.; Tatsumi, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 3312–3315; Sakurai, T.; Matsuoka, Y.; Hanataka, T.; Fukuyama, N.; Namikoshi, T.; Watanabe, S.; Murata, M. *Chem. Lett.* **2012**, 41, 374–375; Cheng, C.; Hartwig, J. F. *Science*. **2014**, 343, 853–857; Kuninobu, Y.; Yamauchi, K.; Tamura, N.; Seiki, T.; Takai, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 125, 1560–1562.
- ¹⁸. Lu, B.; Falck, J. R.. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 7508–7510.
- ¹⁹. Simmons, E. M.; Hartwig, J. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 17092–17095; Li, Q.; Driess, M.; Hartwig, J. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 8471–8474; Choi, G.; Tsurugi, H.; Mashima, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 13149–13161; f) Manna, K.; Zhang, T.; Lin, W. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 6566–6569.
- ²⁰. Xiang, C.-B.; Bian, Y.-J.; Mao, X.-R.; Huang, Z.-Z. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 7706–7710; Chen, X. L.; Li, X.; Qu, L. B.; Tang, Y. C.; Mai, W. P.; Wei, D. H.; Bi, W. Z.; Duan, L. K.; Sun, K.; Chen, J. Y.; Ke, D. D.; Zhao, Y.-F. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 8407–8416;) Mu, X.-J.; Zou, J.-P.; Qian, Q.-F.; Zhang, W. *Org. Lett.* **2006**, 8, 5291–5293; Xu, W.; Zou, J.-P.; Zhang, W. *Tetrahedron Lett.* **2010**,

- 51, 2639–2643; Li, C.; Yano, T.; Ishida, N.; Murakami, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9801–9804; Feng, C. G.; Ye, M.; Xiao, K. J.; Li, S.; Yu, J. Q. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 9322–9325.
- ²¹. Holý, A.; Rosenberg, I. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1987**, *52*, 2801–2809.
- ²². a) 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; b) 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; c) Perlíková, P.; Konečný, P.; Nauš, P.; Snášel, J.; Votruba, I.; Džubák, P.; Pichová, I.; Hajdúch, M.; Hocek, M. *Med. Chem. Commun.* **2013**, *4*, 1497–1500; d) Western, E. C.; Daft, J. R.; Johnson, E. M.; Gannett, P. M.; Shaughnessy, K. H. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6767; f) Čapek, P.; Vrábel, M.; Hasník, Z.; Pohl, R.; Hocek, M. *Synthesis*, **2006**, 3515–3526; g) Shaughnessy, K. H. *Molecules*. **2015**, *20*, 9419–9454.
- ²³. a) Malnuit, V.; Slavětínská, L.; Nauš, P.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Stolaříková, J.; Snášel, J.; Pichová, I.; Hocek, M. *ChemMedChem* **2015**, *10*, 1079–1093; b) Nauš, P.; Perlíková, P.; Pohl, R.; Hocek, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2011**, *76*, 957–988; c) Perlíková, P.; Jornet Martínez, N.; Slavětínská, L.; Hocek, M. *Tetrahedron* **2012**, *68*, 8300–8310.
- ²⁴. Snášel, J.; Nauš, P.; Dostál, J.; Hnízda, A.; Fanfrlík, J.; Brynda, J.; Bourderioux, A.; Dušek, M.; Dvořáková, H.; Stolaříková, J.; Zábranská, H.; Pohl, R.; Konečný, P.; Džubák, P.; Votruba, I.; Hajdúch, M.; Řezáčová, P.; Veverka, V.; Hocek, M.; Pichová, I. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 8268–8279.
- ²⁵. Perlíková, P.; Rylová, G.; Nauš, P.; Elbert, T.; Tloušťová, E.; Bourderioux, A.; Poštová Slavětínská, L.; Motyka, K.; Doležal, D.; Znojek, P.; Nová, A.; Harvanová, M.; Džubák, P.; Šiller, M.; Hlaváč, J.; Hajdúch, M.; Hocek, M. *Mol. Cancer Ther.* **2016**, *15*, 922–937.
- ²⁶. Western, E. C.; Daft, J. R.; Johnson, E. M.; Gannett, P. M.; Shaughnessy, K. H. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6767; Čapek, P.; Vrábel, M.; Hasník, Z.; Pohl, R.; Hocek, M. *Synthesis*, **2006**, 3515–3526; Shaughnessy, K. H. *Molecules*. **2015**, *20*, 9419–9454.
- ²⁷. Kimoto, M.; Mitsui, T.; Yokoyama, S.; Hirao, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4988–4989.
- ²⁸. Tainaka, K.; Tanaka, K.; Ikeda, S.; Nishiza, K.; Unzai, T.; Fujiwara, Y.; Saito, I.; Okamoto, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 4776–4784; Riedl, J.; Pohl, R.; Ernsting, N. P.; Orsag, P.; Fojta, M.; Hocek M. *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2797–2806.
- ²⁹. Witten, J. P.; Matthews, D. P.; McCarthy J. R. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1891–1894; Muchowski J.M., Solas D.R. *J. Org. Chem.* **1984**, *49*, 203–205.
- ³⁰. Olah, G. A.; Narang, S. C.; Gupta, B. G. B.; Malhotra, R. *J. Org. Chem.* **1979**, *44*, 1247–1251.
- ³¹. Klečka, M.; Pohl, R.; Klepetářová, B.; Hocek, M. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 866–868.