

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**TRĪSAIZVIETOTI OKSAZOLI KĀ VIENKĀRŠOTI
DIAZONAMĪDA A ANALOGI**

BAKALaura DARBS

Autors: **Nauris Narvaišs**

Studenta apliecības Nr.: nn16005

Darba vadītāji: Mg. Chem. Mihail Kazak

Dr. Chem. Igors Kļimenkovs

RĪGA

2019

ANOTĀCIJA

Trīsaizvietoti oksazoli kā vienkāršoti Diazonamīda A analogi. Narvaišs N., zinātniskie vadītāji: Mg. Chem. M. Kazak, Dr. chem. I. Kļimenkovs. Bakalaura darbs, 47 lappuses, 35 attēli, 5 tabulas, 25 literatūras avoti. Latviešu valodā.

Bakalaura darbā apskatītas dabasvielas Diazonamīda A un tās sintētiskā analoga DZ-2384 īpašības un potenciāls kā pretvēža zāles, oksazolu sintēzes metodes, kā arī aprakstīts jaunu Diazonamīda analogu dizains un to sintēze.

DIAZONAMĪDS A, OKSAZOLS, C-N SAITES VEIDOŠANA, MEDICĪNAS ĶĪMIJA, PRETVĒŽA ZĀLES

ABSTRACT

Trisubstituted oxazoles as simplified analogues of Diazonamide A. Narvaišs N., supervisors: Mg. chem. M. Kazak, Dr. chem. I. Klimentovs. Bachelor's thesis, 47 pages, 35 images, 5 tables, 25 references. In Latvian.

This work includes description of properties and potential utilization of natural product Diazonamide A and its' synthetic analogue DZ-2384 as anti-cancer drugs, also contains description for synthesis of oxazoles and consists of design and synthesis of new analogues.

DIAZONAMIDE A, OXAZOLE, C-N BOND FORMATION, MEDICINAL CHEMISTRY, ANTI-CANCER DRUGS

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS	4
IEVADS	6
1. LITERATŪRAS APSKATS.....	7
1.1. Diazonamīda A un tā analogu pielietojums	7
1.2. 2,4-diaizvietotu oksazolu sintēzes metodes no nitriliem	7
1.3. Oksazolu sintēzes metode no amīdiem	10
1.4. C(aril)-N saites izveidošana	11
2. REZULTĀTU ANALĪZE	15
2.1. Savienojumu dizains	15
2.2. Analogu sintēze.....	18
2.3. Analogu aktivitātes noteikšana	29
3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	32
SECINĀJUMI	44
LITERATŪRAS SARAKSTS	45

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

AEŠH/MS	Augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija/ masspektrometrija
BINAP	2,2'-Bis(difenilfosfīn)-1,1'-binaftols
Bn	Benzil
Boc	<i>Terc</i> -butiloksikarbonil
Cbz	Karboksibenzil
CDI	1,1'-Karbonildiimidazols
dba	(1 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-1,5-Difenilpenta-1,4-diēn-3-ons
DBU	1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undeka-7-ēns
DCM	Dihlormetāns
DDQ	2,3-Dihlor-5,6-diciāno-1,4-benzohinons
DIPEA	<i>N,N</i> -Diizopropiletilamīns
DMA	<i>N,N</i> -Dimetilacetamīds
DME	1,2-Dimetoksietāns
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamīds
DMI	1,3-Dimetil-2-imidazolidinons
DMSO	Dimetilsulfoksīds
dppf	1,1'-Bis(difenilfosfanil)ferocēns
EDC·HCl	1-Etil-3-(3-dimetilamīnpropil)karbodiimīda hidrohlorīds
HBTU	2-(1 <i>H</i> -Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronija heksafluorfosfāts
HMPA	Heksametilfosforamīds
HOBt	Benzotriazol-1-ols
iPr	Izopropil
ist. t.	Istabas temperatūra
KHMDS	Kālija 1,1,1-trimetil- <i>N</i> -(trimetilsilil)silānamidīns
LiHMDS	Litija 1,1,1-trimetil- <i>N</i> -(trimetilsilil)silānamidīns
mCPBA	3-Hlorperoksibenzoskābe
Me	Metil
Ms	Mezil (metānsulfonil)
OtBu (Ot-Bu)	<i>Terc</i> -butoksi
PDB	Proteīnu datubāze (Protein Data Bank)
Ph	Fenil

PyBroP	Bromtripirolidīnfosfonija heksafluorfosfāts
PPA	Polifosforskābe
secBuLi (sec-BuLi;sBuLi)	Sec-Butillitijs
Ser	Serīns
SPhos	2-Dicikloheksilfosfīn-2',6'-dimetoksibifenils
tBu	<i>Terc</i> -Butil
TEA	<i>N,N</i> -Dietiletānamīns
Tf	Triflil (trifluormetānsulfonil)
TFA	2,2,2-Trifluoretiķskābe
TFAA	2,2,2-Trifluoretiķskābes anhidrīds
THF	Tetrahidrofurāns
TMEDA	<i>N,N,N',N'</i> -Tetrametiletān-1,2-diamīns
Ts	Tozil (toluolsulfonil)
XPhos	2-Dicikloheksilfosfīn-2',4',6'-triizopropilbifenils

IEVADS

Diazonamīds A ir no Ascīdiju klases pārstāvja *Diazona Angulata* izolēta dabasviela, kura uzrāda antimikrobiālu, citotoksisku un antivirālu iedarbību. Pie Diazonamīda A totālās sintēzes ir strādājuši daudzi slaveni ķīmiķi divu iemeslu dēļ:

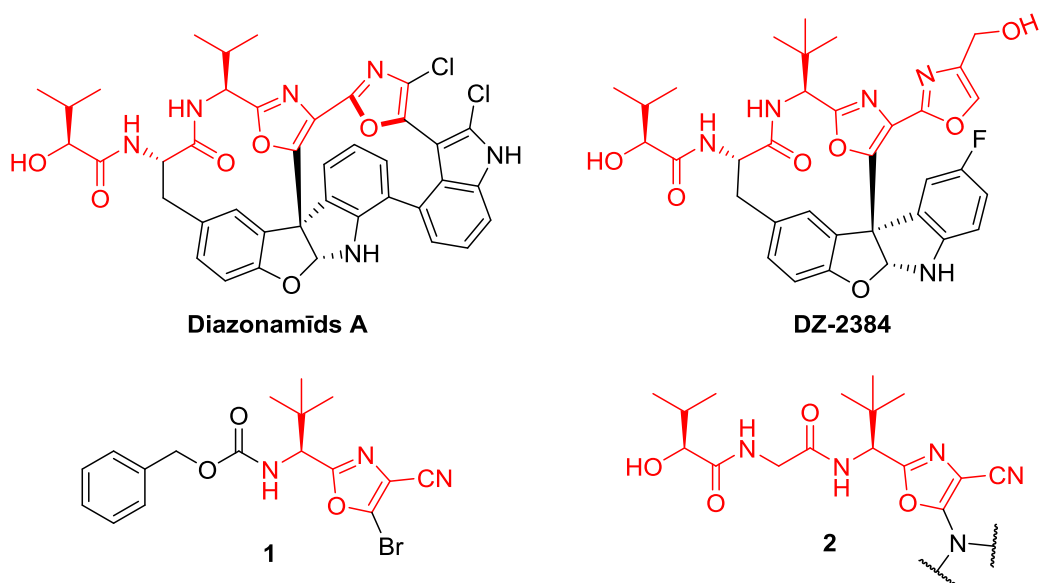
- 1) Diazonamīds A uzrāda IC_{50} vērtības 2-5 nM apgabalā pret 4 cilvēka vēža šūnu līnijām ¹.
- 2) Diazonamīds A ir strukturāli sarežģīta molekula. Tā vienlaikus ir makrolaktāms, makrociklisks heterocikls, kurš dabā ir sastopams kā viens atropoizomērs, turklāt molekulas pašā centrā ir hirāls ceturtējais oglekļa atoms.

DZ-2384 ir sintētisks Diazonamīda analogs, kurš uzrāda ļoti augstu aktivitāti, kas ir salīdzināma ar Diazonamīdu A un analoga pirmsklīniskie testi uzrāda ļoti zemu toksicitāti ². Lai gan DZ-2384 ir strukturāli vienkāršāks nekā Diazonamīds A, tā sintēze joprojām ir apjomīga un sarežģīta, un ir nepieciešamība pēc vēl vienkāršākiem analogiem (skat. 1. att.).

Par darba mērķi izvirzīta Diazonamīda A analogu **2** sintēze.

Darba uzdevumi:

1. Sintezēt būvbloku – bromīdu **1**.
2. Izstrādāt C-N saites veidošanas metodoloģiju oksazola piektajā pozīcijā amīniem ar atšķirīgu nukleofilitāti.
3. Sintezēt diazonamīda A analogus **2**.



1.att. Diazonamīda A, DZ-2384, būvbloka **1** un analogu **2** struktūru salīdzinājums

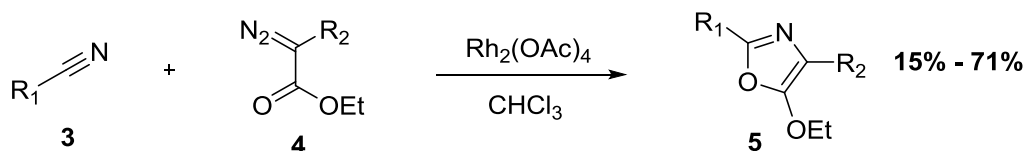
1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Diazonamīda A un tā analoģu pielietojums

Diazonamīda A un arī DZ-2384 citotoksicitātes pamatā ir mitozes laikā ierosinātā mikrocaurulīšu tīkla deformācija. Tā balstās uz Diazonamīda un DZ-2384 spēju saistīties ar mikrocaurulītes veidojošo proteīnu – tubulīnu, kavējot šūnu dalīšanos. Tubulīns ir vairāku formu globulārs proteīns. Tā alfa un beta formas veido dimērus, kuri polimerizējas ar galiem, veidojot garus pavedienus – protofilamentus, kuriem sāniski asociējoties, veidojas mikrocaurulītes. Diazonamīds un DZ-2384 ar tubulīnu saistās specifiskā vietā, kuru sauc par vinka domēnu jeb vinka saistīšanās vietu. Nosaukums cēlies no vinka alkaloidiem vinblastīna un vinkristīna, plaši izmantotām pretvēža zālēm. Ar elektronmikroskopiju un rentģendifraktometriju noskaidroja, ka DZ-2384 izmaina tubulīna dimēra izliekumu, iztaisnojot protofilamentus. Gan DZ-2384, gan vinka alkaloids vinorelbīns inhibē mikrocaurulīšu augšanas ātrumu vēža šūnās. Lai gan mikrocaurulītes saistošām pretvēža zālēm ir labi panākumi klīniskajā praksē, toksiskas blakusparādības bieži liek pārtraukt ārstēšanu vai samazināt devu. Visbiežāk tiek izraisīta neitropēnija un neiropātija. Tā kā neironu pamatā ir mikrocaurulītes, nav pārsteigums, ka mikrocaurulītes saistošas pretvēža zāles iedarbojas uz nerviem. Taču DZ-2384 neironos neizmaina mikrocaurulīšu tīklu. Šī atšķirība no citām pretvēža zālēm ir galvenais iemesls DZ-2384 potenciālam kā pretvēža zālēm ar uzlabotu drošību – samazinātu toksicitāti².

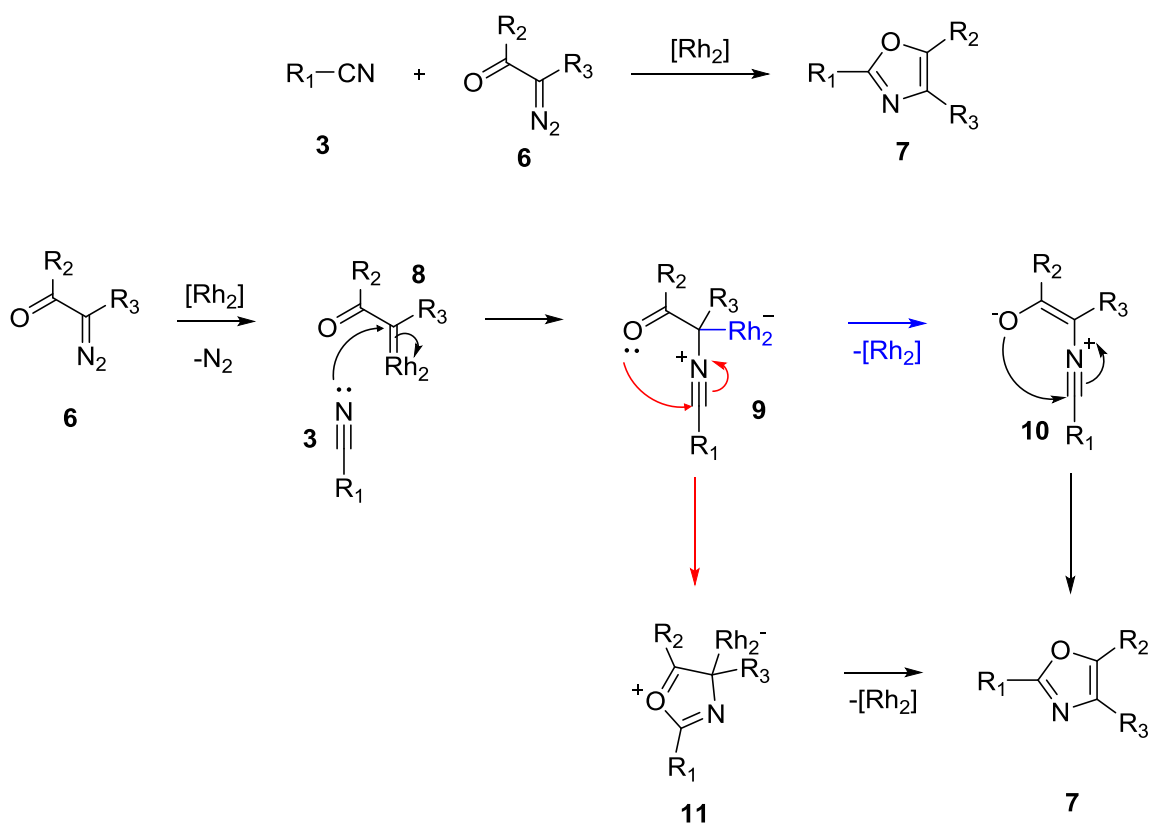
1.2. 2,4-diaizvietotu oksazolu sintēzes metodes no nitriliem

Viena no plašāk izmantotajām metodēm totālajās sintēzēs 2,4-aizvietotu oksazolu iegūšanai ir Mūdijs (*Moody*) izstrādātā rodija (II) katalizētā reakcija, kurā, izmantojot nitrilu **3** un alfa-diazoesteri **4**, veidojas oksazols **5** (1.1 att.).³



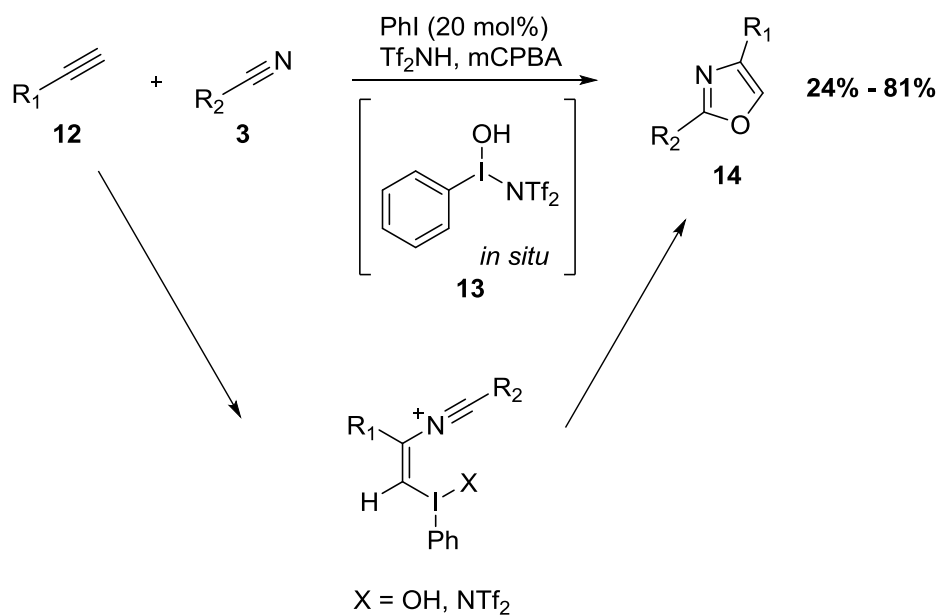
1.1. att. Oksazolu sintēze no nitrila un alfa-diazoestera

Vispārīgas šāda tipa reakcijas mehānisms parādīts 1.2. attēlā. Vispirms diazokarbonil savienojums **6** izveido rodija karbenoīdu **8**, uz kuru tad uzbrūk nitrils **3**. Starpsavienojums **9** var pārveidoties par produktu **7** divos veidos: 1) rodija katalizators vispirms eliminējas, veidojot enolātu **10**, kurš ciklizējas, nukleofili uzbrūkot nitrīlija jonam vai 2) karbonilgrupas skābeklis uzbrūk uz nitrīlija jonu, veidojot **11**, tad rodija katalizators eliminējas un savienojums **11** pārgrupējas par oksazolu **7**.



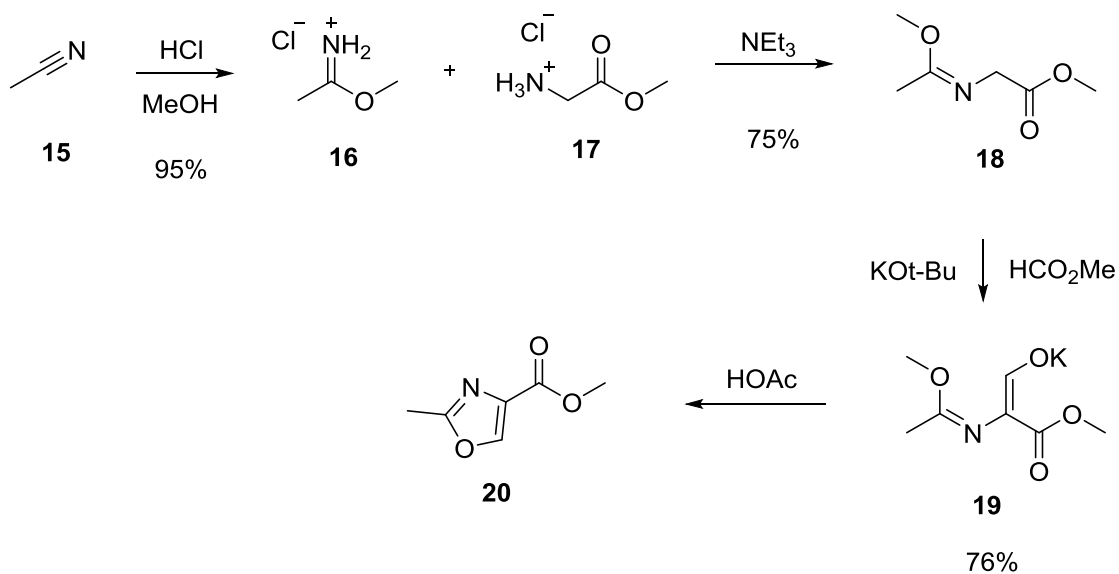
1.2. att. Oksazolu **7** sintēzes ar rodija karbenoīdu vispārīgs mehānisms

Saito (*Saito*) izstrādāja reģioselektīvu metodi (1.3. att.) 2,4-aizvietotu oksazolu **14** sintēzei no alkīna **12** un nitrila **3**, izmantojot *in situ* ģenerētu hipervalentā joda savienojumu **13**⁴.



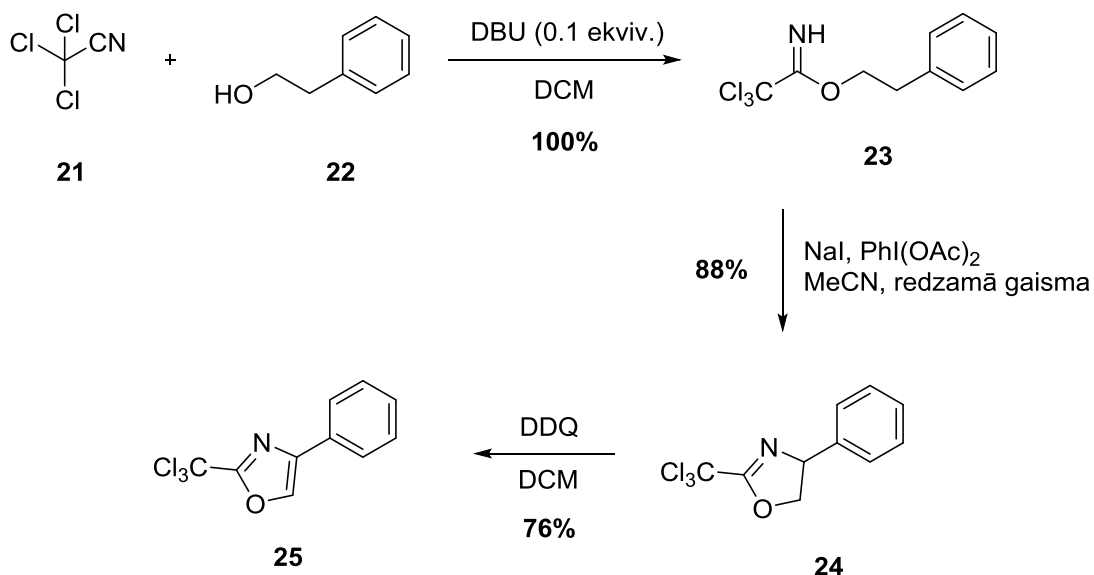
1.3. att. Oksazolu sintēze ar hipervalentā joda reaģentu

Lindermans (*Linderman*) antibiotisku dabasvielu Virginiamicīna M1, Griseoviridīna un Madumicīna II sintēzēs 2,4-aizvietotu oksazola fragmentu sintezēja pēc Kornforta (*Cornforth*) metodes⁵. Acetonitrilu **15** vispirms pārveidoja par imidāta hidrohlorīdu **16**, kurš reakcijā ar metil glicināta hidrohlorīdu **17** un trietilamīnu labā iznākumā veido N aizvietotu imidāta esteru **18**. Ģenerējot enolātu ar kālija *tert*-butoksīdu un reakcijas maisījumu apstrādājot ar metil formātu, ieguva Kornforta intermediātu **19**. Cieto intermediātu **19** pievienojot vārošai etiķskābei, ieguva oksazolu **20** (skat. 1.4. att.).



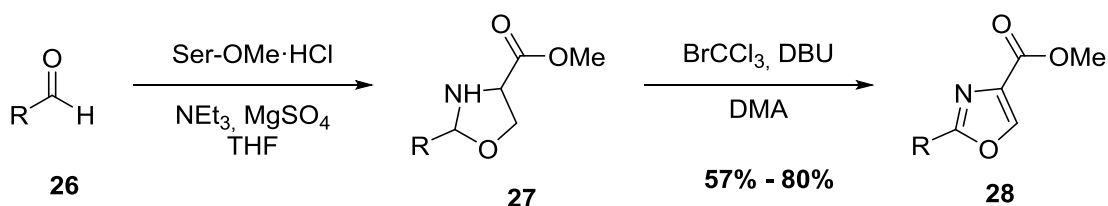
1.4. att. Kornforta (*Cornforth*) metode oksazolu sintēzei

Nagībs (*Nagib*) pētīja spirtu β C-H saites aminēšanu, izmantojot redzamo gaismu un noskaidroja, ka vienu no intermediātiem ir iespējams labā iznākumā pārvērst par oksazolu **25**⁶. Vispirms trihloracetnitrilam **21** reaģējot ar spirtu **22** DBU klātbūtnē, ieguva imidātu **23** ar kvantitatīvu iznākumu. Tad, iekšmolekulāri ciklizējot imidātu **23**, ieguva oksazolīnu **24**, kuru oksidējot ar DDQ, iespējams iegūt oksazolu **25** (1.5. att.).



1.5. att. Oksazola **25** sintēze ar spirtu β C-H saites aminēšanu

Greiems (*Graham*) izstrādāja ērtu metodi oksazolu sintēzei no aldehīdiem divos soļos⁷. Aldehīds **26** vispirms kondensācijas/ciklizācijas reakcijā ar serīna metilestera hidrohlorīdu izveido ciklisku pusaminālu **27**, kuru pēc tam oksidējot, iegūst oksazolu **28** (1.6. att.).

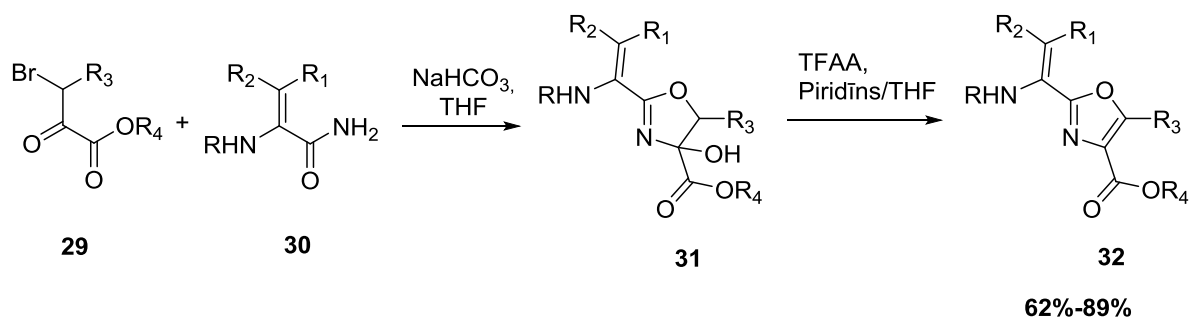


1.6. att. Oksazolu **28** sintēze no aldehīda **26**

1.3. Oksazolu sintēzes metode no amīdiem

Vispopulārākā oksazolu sintēzes metode no amīdiem ir izmantojot modificētu Hanča reakciju (1.7. att.). Šādā reakcijā amīdu **30** maisot ar alfa-bromketonu **29**, tas ciklizējas par hidroksioksazolīnu **31**, kuru tālāk pārstrādā par oksazolu **32**. Sato (*Sato*) pētīja aminoskābju, dehidroaminskābju amīdu un tioamīdu ciklizācijas apstākļus par tiazoliem un oksazoliem.

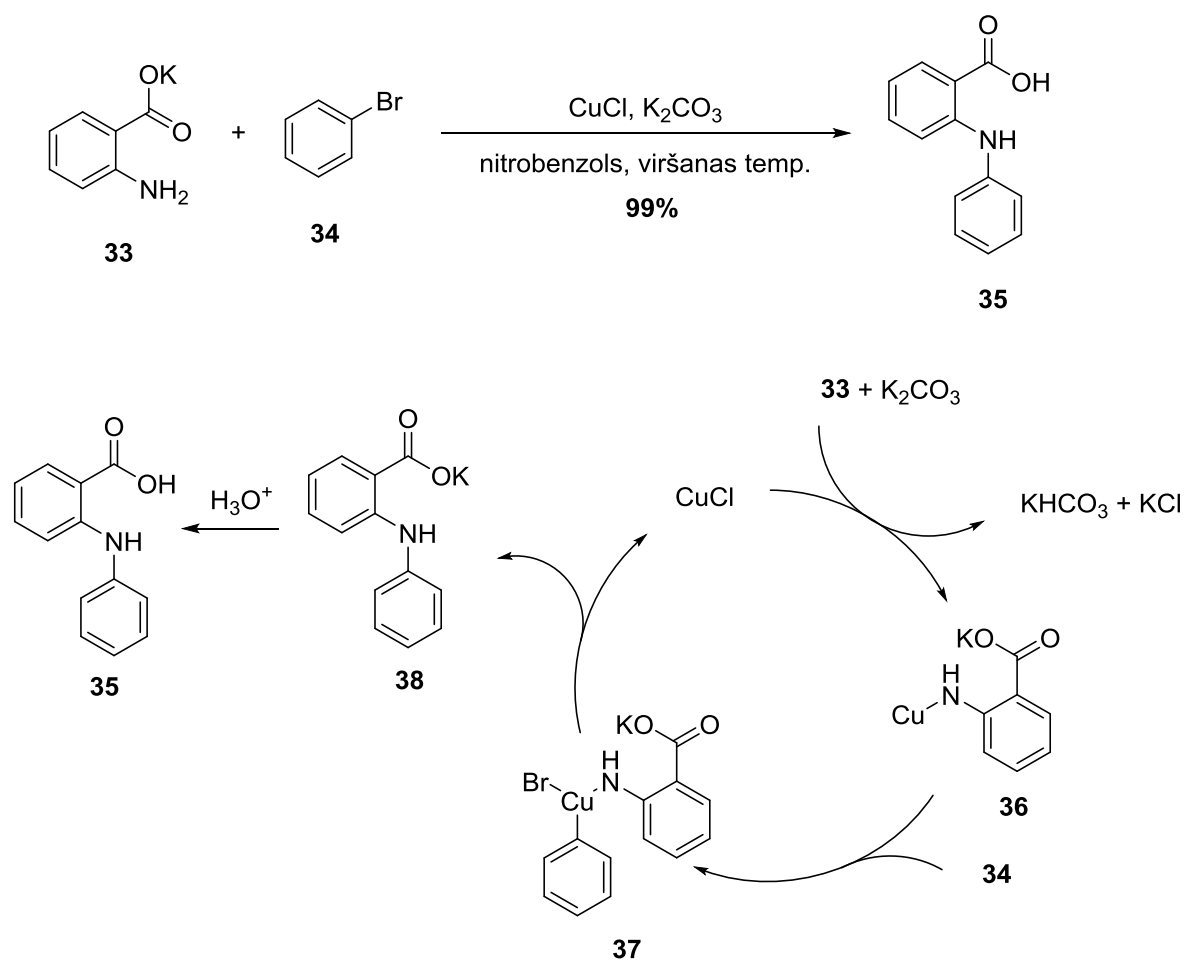
Oksazolu gadījumā, optimizējot reakcijas apstākļus, ar dažādiem substrātiem varēja iegūt oksazolus ar 62% - 89% iznākumu ⁸.



1.7. att. Oksazola 32 sintēze ar modificētu Hanča reakciju

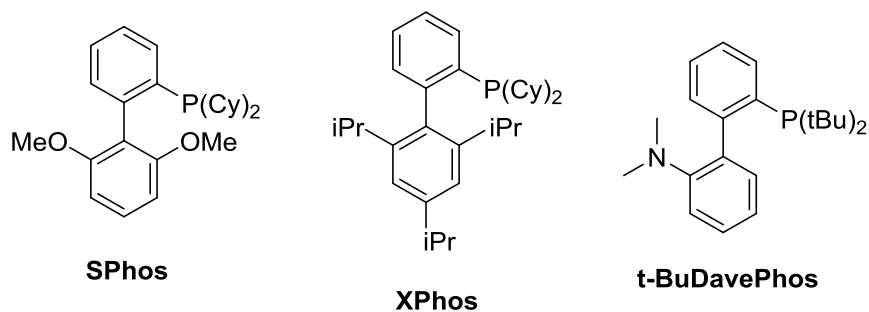
1.4. C(aril)-N saites izveidošana

Daudzas no dabasvielām satur heterociklus, it īpaši heterociklus ar vienu vai vairākiem slāpekļa atomiem. Tā kā vēsturiski pašu dabasvielu sintēze bija interesanta no organiskās sintēzes iespēju pārbaudīšanas viedokļa, kā arī daudzas dabasvielas ir ar medicīnisku pielietojumu, liela uzmanība tikusi veltīta C-N saites veidošanai. Vēsturiski pirmā metode bija Ulmana (*Ullmann*) izveidotā nukleofīlu amīnu šķērssametināšana ar aril halīdiem, izmantojot vara sāļus (dažkārt reakciju sauc par Goldbergas reakciju)⁹(skat. 1.8. att). Šīs metodes trūkumi ir nepieciešamība izmantot stehiometriskus daudzumus toksisku vara sāļu, bieži halīdiem ir nepieciešamas elektronatvelkošās grupas orto pozīcijā, kā arī bieži nepieciešamas augstas reakciju temperatūras (pat līdz 210°C). Vēlāk metode tika uzlabota, izmantojot katalītiskus daudzumus Cu savienojumu, kā arī izmantojot diamīna vai acetilacetonāta ligandus vara katalizatoriem.¹⁰ Katalītiskas Ulmana aminēšanas reakcijas mehānisms parādīts 1.8. attēlā.



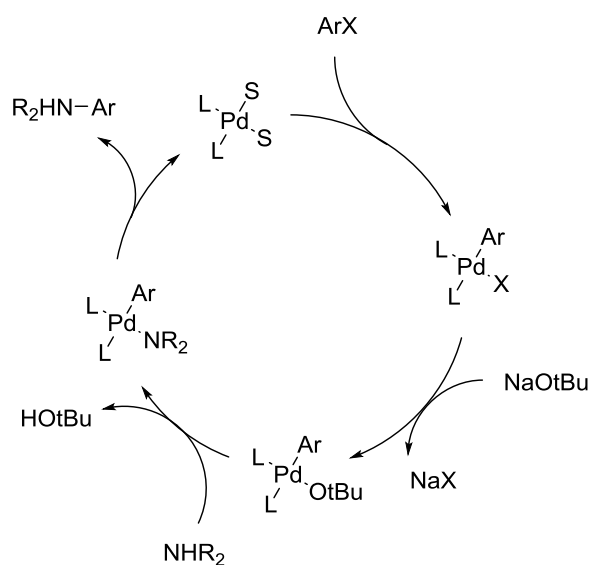
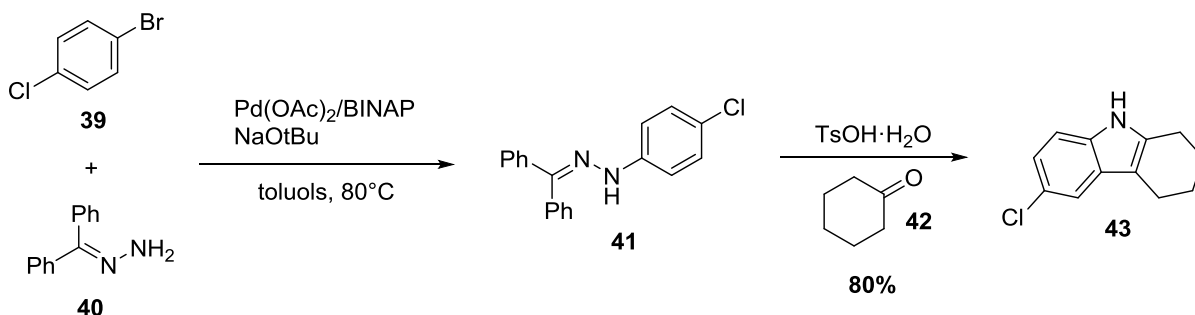
1.8. att. Ulmana (Goldbergas) aminēšanas reakcija⁹ un tās mehānisms

Modernāka metode, izmantojot pārejas metālu katalizatorus, ir Bakvalda-Hārtviga (*Buchwald-Hartwig*) aminēšanas reakcija, kurā pārsvarā izmanto Pd katalizatorus (vai retāk Ni). Bakvalds izstrādāja dažādus ligandus (skat. 1.9. att.), kuri aminēšanas reakcijā atļauj izmantot ārkārtīgi plašu slāpekļa saturošu molekulu klāstu, kā arī izmantot hlorīdus, pat pseidohalogēnīdus (piemēram, triflātus)^{11,12}.



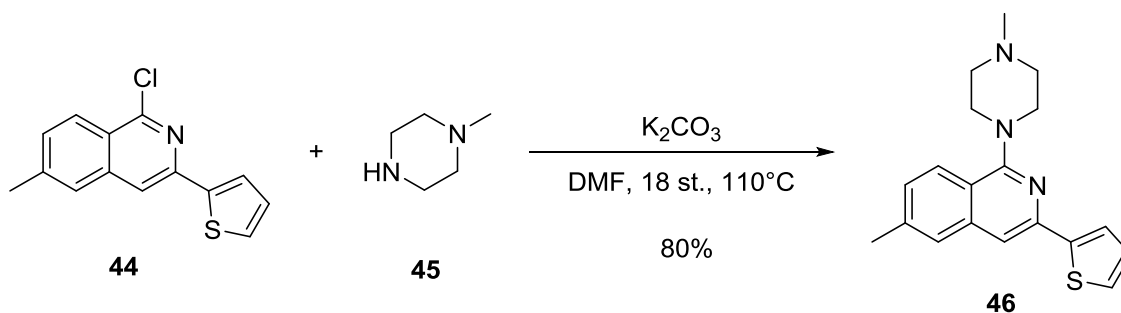
1.9. att. Daži Bakvalda ligandi

Dažkārt sarežģītu substrātu reakcijās mēdz izmantot arī Cu/Pd ko-katalīzi C-N saites izveidošanai.^{13,14} Viens no Bakvalda-Hārtviga aminēšanas piemēriem un reakcijas vispārīgs mehānisms parādīts 1.10. attēlā.



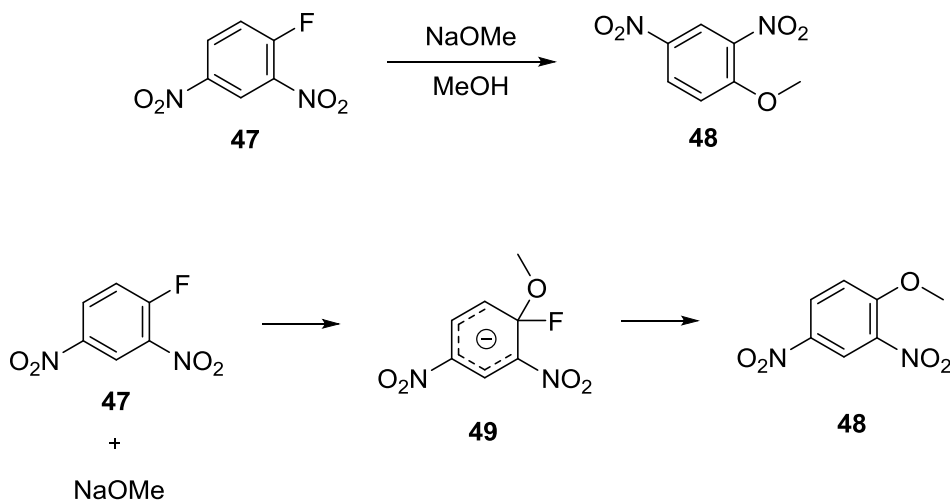
1.10. att. Bakvalda-Hārtviga reakcijas izmantošana Bakvalda modificēta Fišera indola sintēzē¹⁵; vispārīgs Bakvalda-Hārtviga reakcijas katalītiskais cikls

Otra populārā metode C-N saišu izveidošanai (it īpaši heterociklos) ir S_NAr jeb nukleofilās aromātiskās aizvietošanas reakcijai. Šī reakcija parasti nav populārākā, jo bieži vien nepieciešams elektronēm nabadzīgs heterocikls vai elektronatvelkoši aizvietotāji. Bieži reakcijā nepieciešams izmantot bargus reakciju apstākļus, visbiežāk, karsēšanu augstās temperatūrās, kas var novest pie blakusreakcijām vai izejvielu/produktu sadalīšanās. 1.11. attēlā parādīta medicīniskajā ķīmijā izmantota S_NAr reakcija C-N saites veidošanai¹⁶.



1.11. Att. Nukleofilā aromātiskā aizvietošana topoizomerāzes inhibitora sintēzē

Noteikts, ka reakcijas ātrumu limitējošā stadija ir tieši uzbrukums uz aromātisko gredzenu un sigma jeb Meizenheimera kompleksa **49** izveidošanās (skat.1.12. att.), līdz ar to S_NAr reakciju uzlabo 3 faktori: 1) polārs, aprotons šķīdinātājs (piemēram, DMSO, DMF, HMPA) 2) pēc iespējas labāks nukleofils 3) pēc iespējas labāks elektrofilis (vēlams ar elektronakceptorajām grupām aromātiskajā gredzenā). Jaunākas publikācijas liecina, ka reakcija var notikt arī vienotā procesā nevis pakāpeniski un ka Meizenheimera kompleksa veidošanās nav obligāts nosacījums reakcijas veiksmīgai norisei¹⁷.

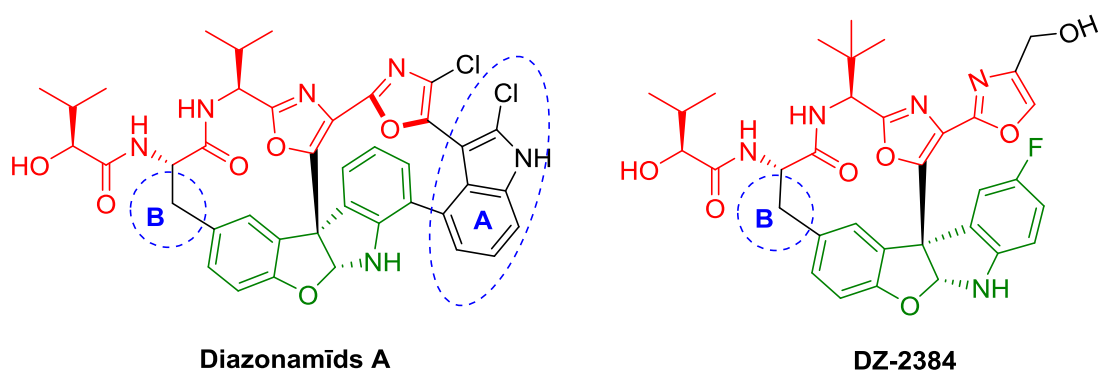


1.12. att. Meizenheimera kompleksa veidošanās S_NAr reakcijā

2. REZULTĀTU ANALĪZE

2.1. Savienojumu dizains

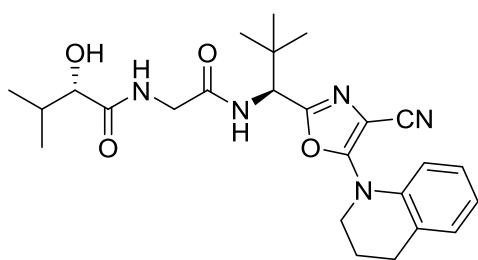
Kopš 2006. gada ir publicēti vairāki patenti, kuros apskatīti diazonomīda A analogi, to sintēzes vai sintēžu optimizācija. Pašreiz visveiksmīgākais analogs pirmsklīniskajos testos ir DZ-2384. Izmantojot Diazonomīda A¹, DZ-2384 un tubulīna ko-kristāla², kā arī patentēto diazonomīda A analogu aktivitātes un saistības pētījumus, izstrādājām farmakoforo hipotēzi veiksmīgāku un sintētiski vienkāršāku analogu iegūšanai. Pēc mūsu hipotēzes, vissvarīgākais saistības nodrošināšanai ar tubulīnu ir bioksazola-tripeptīda fragments (2.1. attēlā sarkanā krāsā). Analizējot DZ-2384 un tubulīna ko-kristālu novērojām, ka pirmais oksazola gredzens ar proteīnu saistās ar π - π mijiedarbību, līdz ar to ārkārtīgi svarīgs, taču otrais oksazola gredzens (vistālāk no tripeptīda), lai gan uzlabo saistību, sintēzes vienkāršošanai var tikt reducēts līdz amīdam, nitrilam vai citai grupai. Indola fragmentu **A** (2.1. attēlā), kurš ir sastopams Diazonomīda A struktūrā, taču nav DZ-2384, uzskatām par nesvarīgu, jo būtiski neietekmē saistību. Metilēngrupa **B** (skat. 2.1. attēlu) ir sastopama pilnīgi visos patentētajos diazonomīda A analogos un visticamāk ir nepieciešama specifiskas makrocikliska konformācijas nodrošināšanai. Par tetracikliskā pusamināl ētera (2.1. attēlā zaļā krāsā) nozīmi nav pilnīgas skaidrības, taču tas ir sastopams diazonomīda A struktūrā un gandrīz visos patentētajos diazonomīda A analogos.



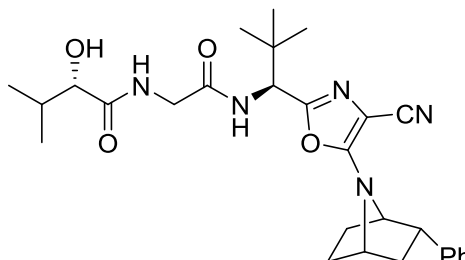
2.1. att. Diazonomīda A un DZ-2384 fragmentu analīze

Latvijas Organiskās sintēzes institūta Organiskās sintēzes perspektīvo tehnoloģiju laboratorijā projekta “Diazonomīda mazmolekulārie struktūranalogi kā pretvēža līdzekļi” ietvaros laboratorijā tika sintezēti vairāki jauni diazonomīda A analogi, no kuriem DZA-003 un *rac*-DZA-004 (2.2. attēlā) izotermālās titrējošās kalorimetrijas (ITC) eksperimentos

uzrādīja labu saistību ar tubulīnu (150 ± 10 mM) robežās, taču uzrāda ļoti zemu aktivitāti *in vitro* testos uz vairākām šūnu līnijām ($15\text{-}70$ μM).



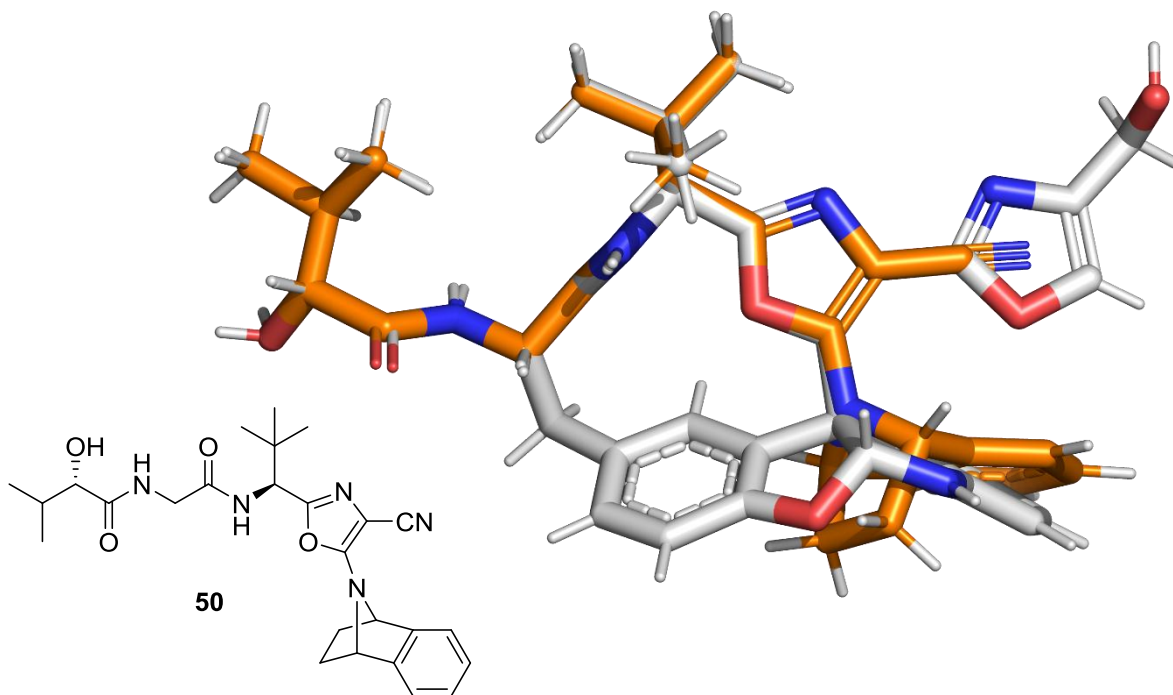
DZA-003



***rac*-DZA-004**

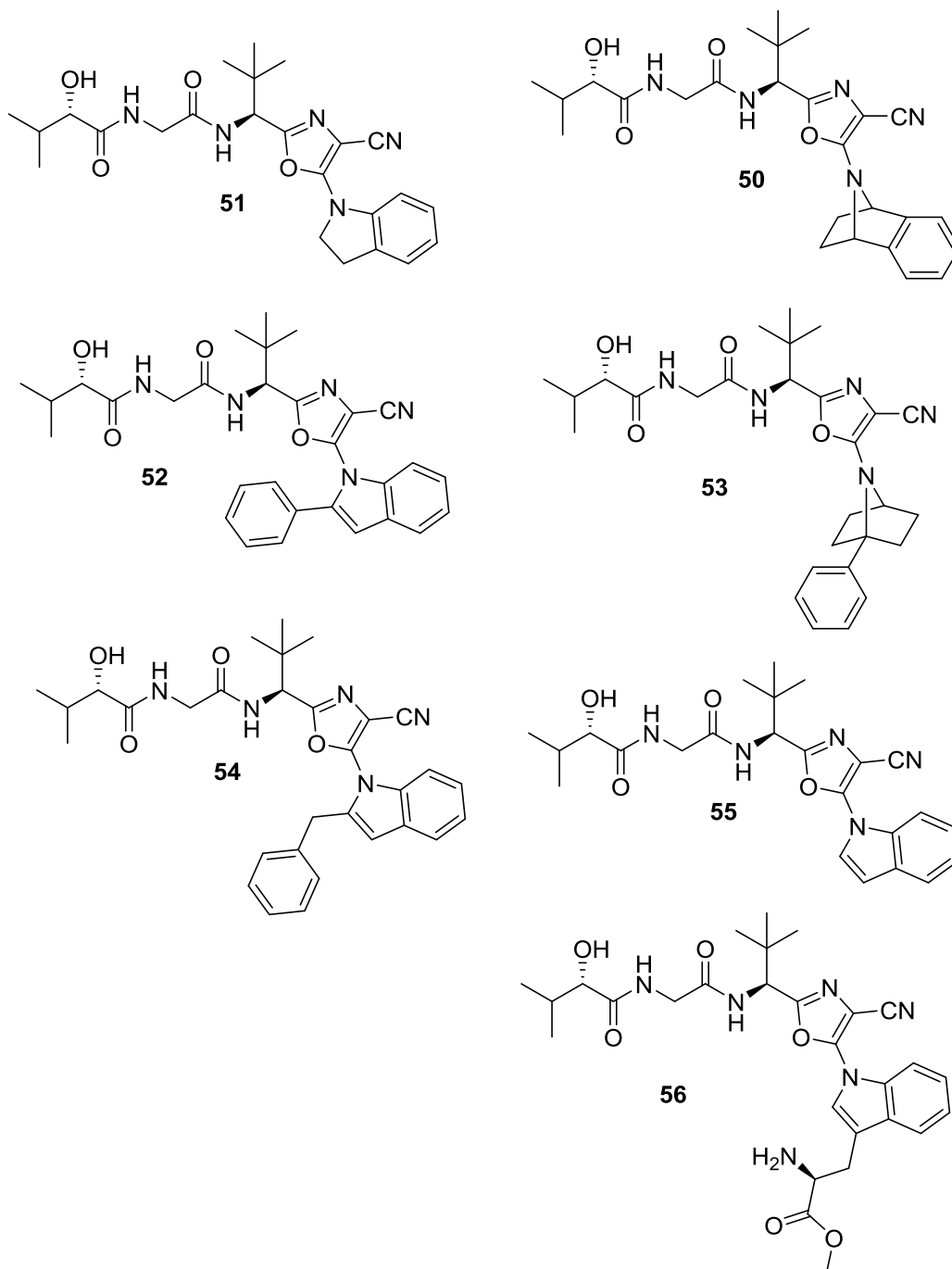
2.2. att. Diazonamīda A analogi DZA-003 un *rac*-DZA-004

Tā kā abos savienojumos nav tetracikliskais fragments (2.1. attēlā zaļā krāsā) un ir zema *in vitro* aktivitāte, taču ir laba saistība ar tubulīnu, secinām, ka, par funkcionālo aktivitāti jeb tubulīna konformācijas izmaiņu, kas noved pie protofilamentu iztaisnošanās, visvairāk atbildīgs ir tieši tetracikliskais fragments. Tā kā tetracikliskais fragments un metilēn-tiltiņš sarežģītā analogu sintēzi, tad nolemts sintezēt acikliskus analogus, kuriem oksazola 5. pozīcijā atrastos tetraciklu pēc tā formas un izmēra ģeometriski imitējošs fragments. Šādu fragmentu potenciālu kā tetracikla mimētiķi aplūkojām ar *in silico* metodēm, aplūkojot dažādu fragmentu zemākās enerģijas konformēru telpisko struktūru, tos pārklājot ar DZ-2384 no DZ-2384 un tubulīna ko-kristāla rentgendifraktogrammas (skat. 2.3. att.).



2.3. att. DZ-2384 (pelēks) pārklāšanās ar analogu 50 (oranžs)

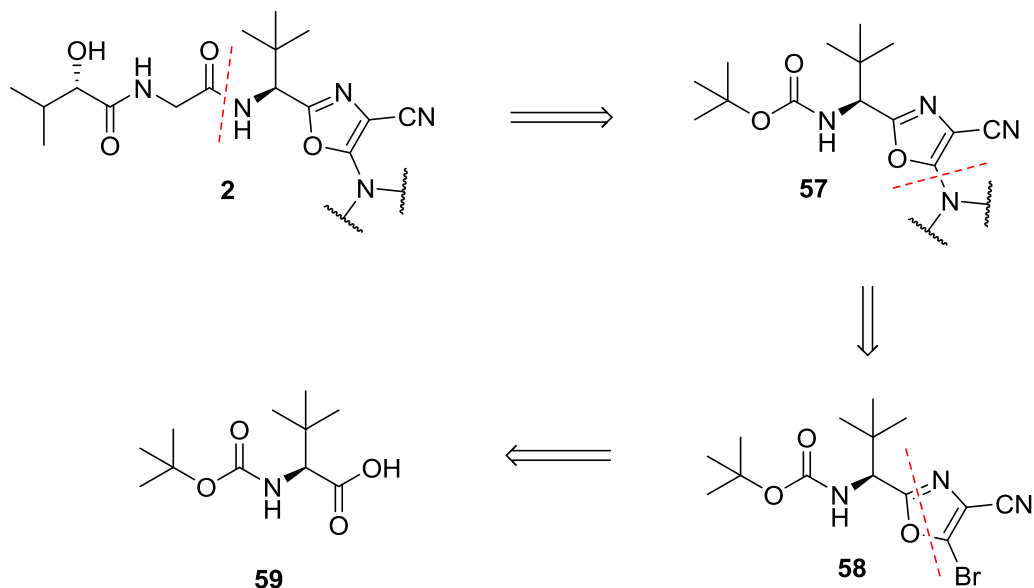
Jaunu analoģu dizainēšanā izmantojām *in silico* veiktos modelēšanas pētījumus DZ-2384 un diazomāda A saturošā tetracikliskā fragmenta telpiskajai pārklāšanai ar dažādiem amīniem, kā arī iepriekš sintezēto analoģu DZA-003 un rac-DZA-004 struktūras. Savienojumu dizainā galvenais uzsvars tika likts uz funkcionālā efekta panākšanu, taču dažādu fragmentu ieviešana oksazola 5. pozīcijā var palīdzēt saprast arī diazomāda A saturošā tetracikla nozīmi saistībai ar tubulīnu. Savienojumu struktūras apkopotas zemāk (2.4. att.).



2.4. Att. Piedāvātās Diazomāda A analoģu struktūras

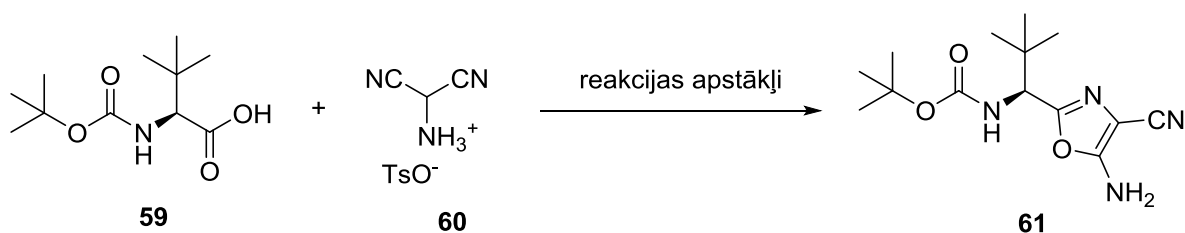
2.2. Analoģu sintēze

Analoģu **2** retrosintētiskā analīze balstās uz peptīdu sametināšanu kā pēdējo stadiju un broma aizvietošanu oksazola 5. pozīcijā ar slāpekli saturošu nukleofilu grupu. Šī sintēzes stratēģija ir ērta, jo atļauj veikt oksazola 5. pozīcijas funkcionalizēšanu sintēzes beigās no kopīga būvbloka **58**, turklāt būvblokam **58** līdzīga savienojuma sintēze ir literatūrā aprakstīta (skat. 2.5. att.).¹⁸



2.5. att. Analoģu restrosintētiskā analīze

Bromīds **58** tika sintezēts analoģiski Harana aprakstītajai metodikai par Diazonamīda A raksturīgās galvenās struktūras sintēzi. Harans totālo sintēzi sāka nevis no *tert*-leicīna, bet no valīna.¹⁸ Vispirms tika paredzēts Boc aizsargāta *tert*-leicīna **59** reakcijā ar aminomalononitrila *p*-toluolsulfonātu (**60**) iegūt amīnu **61** (skat. 2.6. att.), taču izmēģinot gan Harana aprakstītos reakcijas apstākļus, gan izmēģinot citus zināmus apstākļus, produktu neizdevās iegūt (skat. 1. tabulu). Jāpiemin, ka vairākos gadījumos ar AEŠH/MS tika novērota aktivētā estera esamība reakcijas maisījumā.

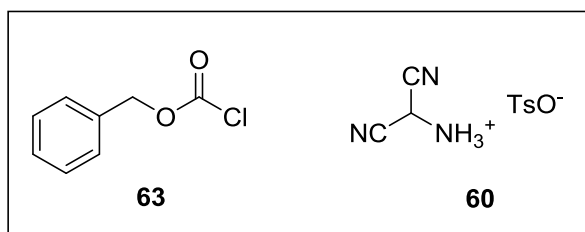
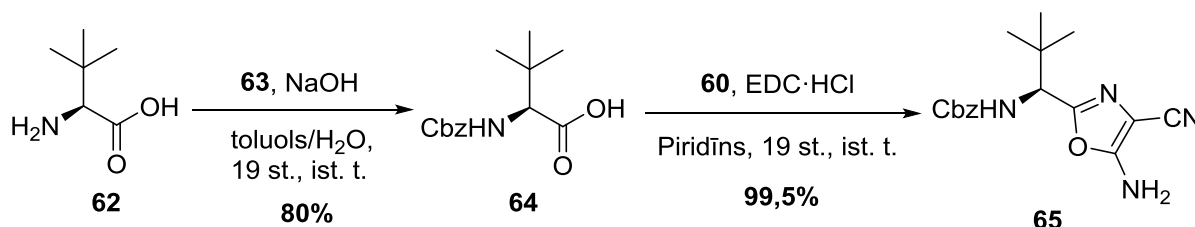


2.6. att. Oksazola gredzena sintēze

Peptīdu sametināšanas izmēģinātie apstākļi

Nr.	Sametināšanas reāģents, ekvīv.	Nukleofilais katalizators, ekvīv.	Papildus bāze, ekvīv.	Šķīdinātājs	Iznākums, %
1.	EDC·HCl; 1,00	-	-	Piridīns	0
2.	EDC·HCl; 1,00	-	DIPEA; 3,30	DCM	0
3.	HBTU; 1,10	-	DIPEA; 3,30	DMF	0
4.	EDC·HCl; 1,20	Imidazols; 3,60	-	DMF	0
5.	CDI; 1,20	-	DIPEA; 3,30	THF	0
6.	PyBroP; 1,20	-	DIPEA 3,60	DCM	0

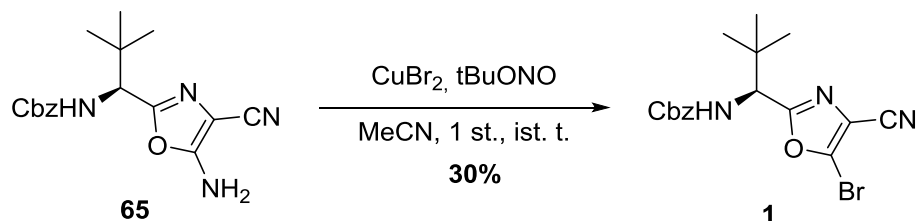
Problēma tika atrisināta, nomainot aizsarggrupu no Boc uz Cbz. Visticamāk, gan Boc grupas, gan *terc*-leicīna *terc*-butil grupas aizklāja aktivēto esteri un apgrūtināja amīna nukleofilo uzbrukumu uz esteri. Tā kā Cbz aizsargātas aminoskābes nebija tobrīd pieejamas lielā apjomā, nolēmām pagarināt sintēzi par vienu stadiju, sākot sintēzi no *terc*-leicīna **62**, kuram reaģējot ar **63**, veidojas aizsargātā aminoskābe **64**. Tad, izmantojot aminoskābi **64**, Harana apstākļos izdevās iegūt amīnu **65** ar kvantitatīvu iznākumu (skat. 2.7. att.).



2.7. att. Oksazola sintēze pēc aizsarggrupas nomaiņas

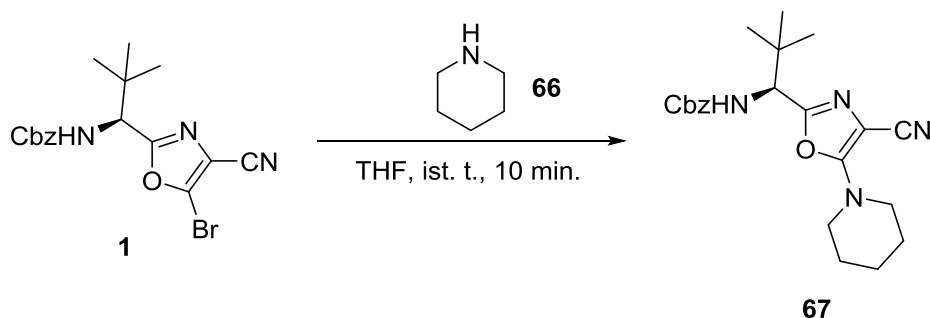
Tālāk pēc Harana procedūras no amīna **65** ieguvām bromīdu **1** (skat. 2.8. att.). Reakcijas mazo iznākumu (30%) var izskaidrot ar amīna samazināto nukleofilitāti. Oksazols ir elektrondeficīts aromātiskais gredzens, turklāt amīns ir konjugēts ar diezgan labu akceptoru –

nitrilu. Arī citās reakcijās, kurās amīns **65** darbojas kā nukleofils, iznākumi ir ne lielāki kā 35%.



2.8. att. Amīna pārveidošana par bromīdu

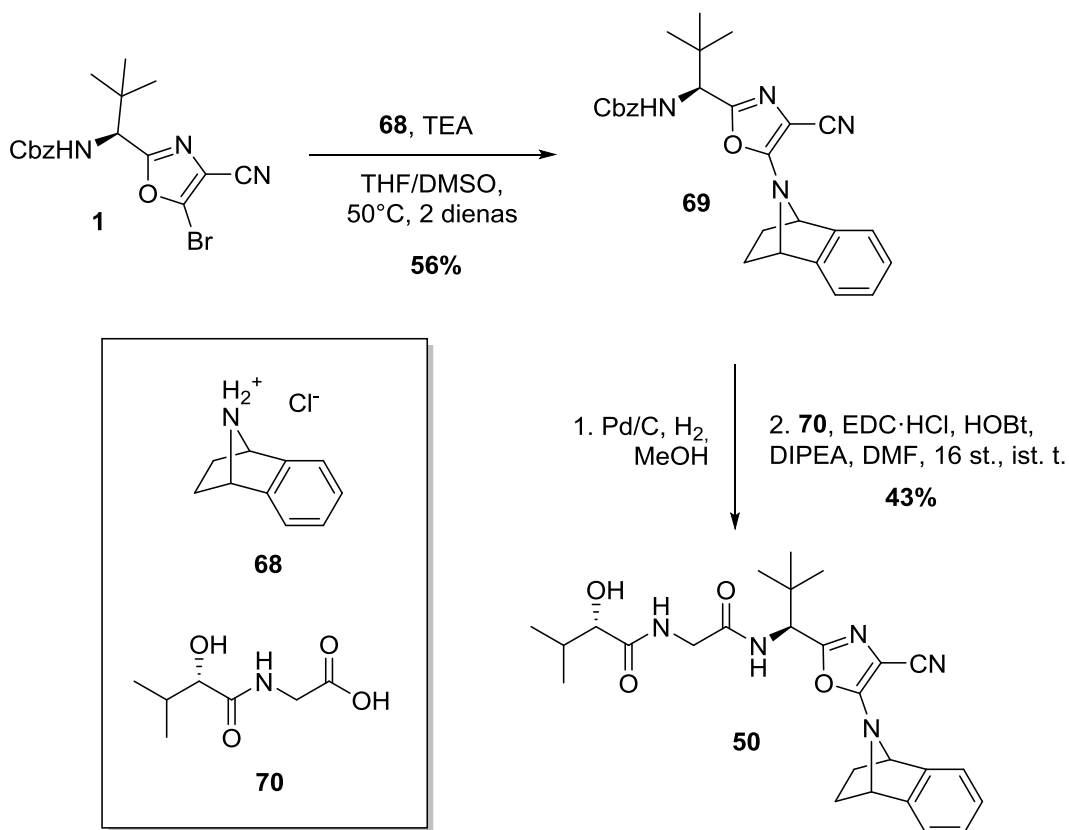
Pirms analoģu sintēzes veikšanas, vēlējāties noskaidrot bromīda **1** reaģētspēju, aizvietojo bromu ar slāpekli saturošu fragmentu. Apstrādājot bromīdu **1** ar 10 ekvivalentiem piperidīna **66** istabas temperatūrā, ar AEŠH/MS novērojām, ka jau 10 minūšu laikā viss bromīds ir patērēts, veidojas **67** un reakcija ir beigusies (skat. 2.9. att.). Tas deva pamatu domāt, ka arī citus nukleofilus amīnus varētu ieviest oksazola 5. pozīcijā ar nukleofilas aromātiskas aizvietošanas stratēģiju.



2.9. att. Bromīda **1** nukleofila aromātiska aizvietošana

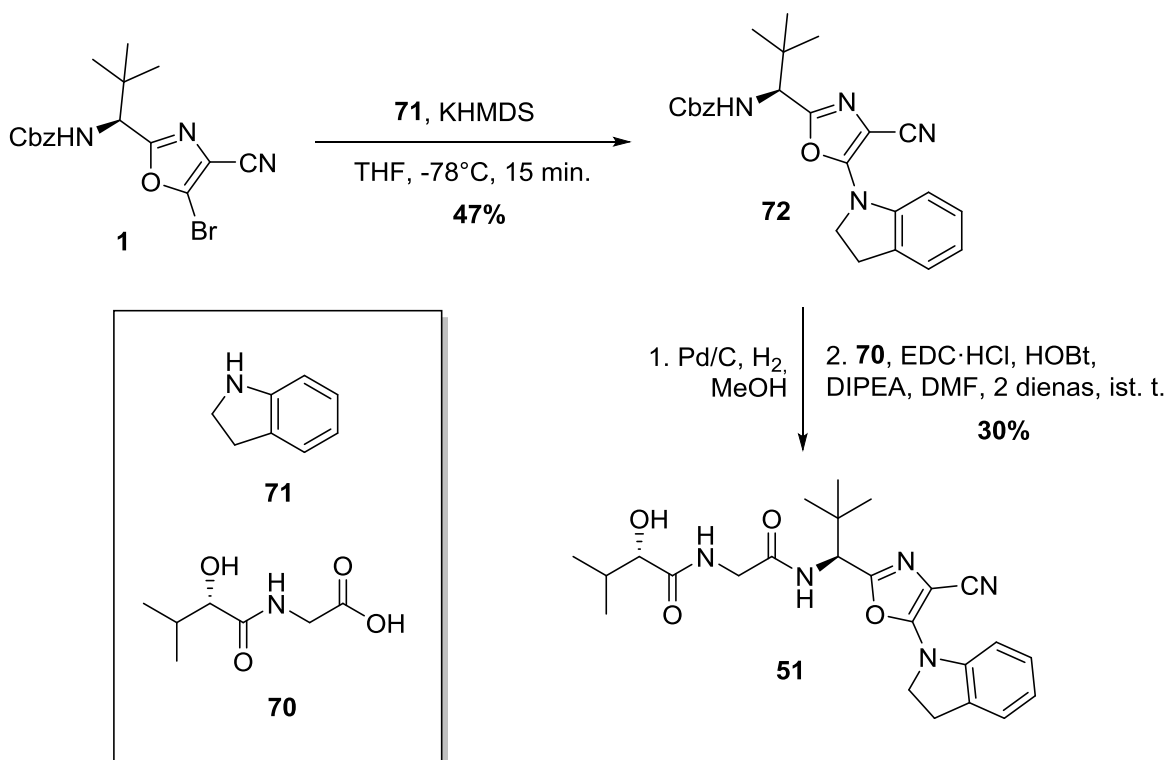
Analoģs **50** tika izvēlēts, jo ir līdzīgs iepriekš sintezētajam analogam **rac-DZA-004**, un atšķirīgās fenil grupas novietojums biciklā varētu ietekmēt saistību. Analoga **50** sintēzē pirmais solis tika veikts ar nukleofilas aromātiskas aizvietošanas stratēģiju, bromīda **1** un komerciāli pieejama bicikliskā amīna hidrohlorīda **68** reakcijā iegūstot Cbz aizsargātu amīnu **69**. Tad amīnam **69** hidrogenolītiski nošķēla Cbz aizsarggrupu un izmantoja nākošajā stadijā – peptīdu sametināšanas reakcijā ar skābi **70**, iegūstot savienojumu **50** ar 43% iznākumu pēc 2 soļiem (skat. 2.10. att.). Skābe **70** nav komerciāli pieejama, taču tika iepriekš sintezēta un laboratorijā bija pieejama. Reakcijā tika izmantots netipisks šķīdinātāju maisījums – THF/DMSO. Mēģinot izšķīdināt reakcijas maisījumu THF, izveidojās suspensija. DMSO

pievienošana veicināja reakcijas maisījuma homogenizēšanos. Tā kā reakcijas produkts tika iegūts ar apmierinošu iznākumu, reakcijas apstākļi netika mainīti.



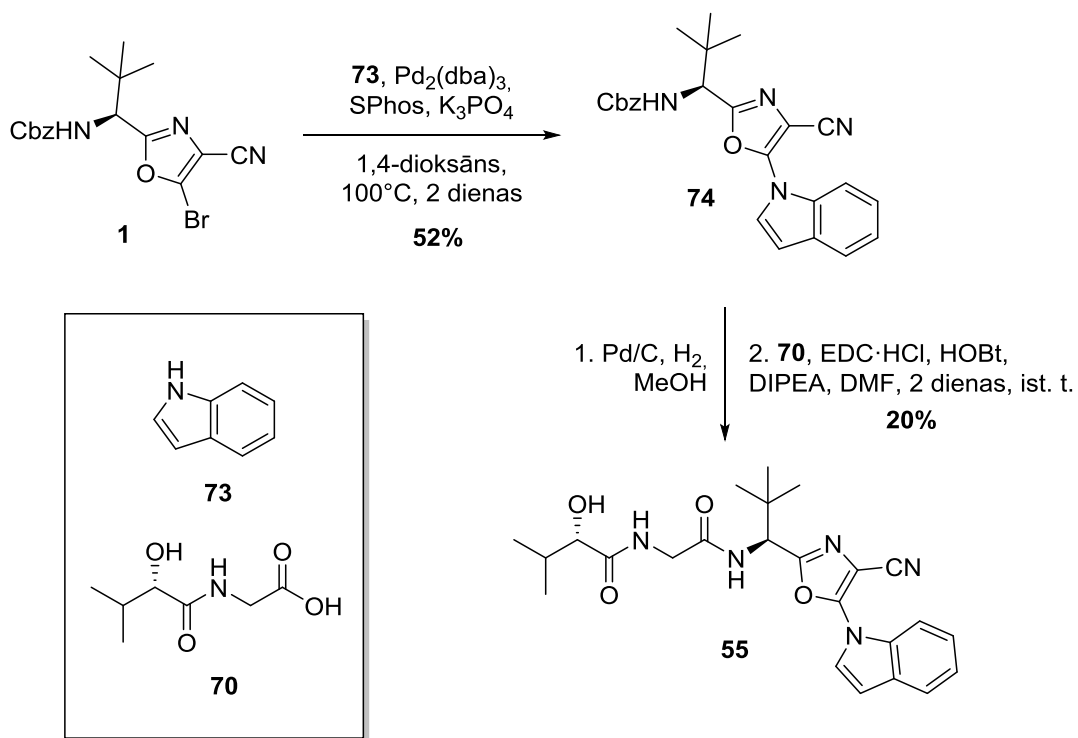
2.10. Att. Analoga 50 sintēze

Tā kā iepriekš sintezētais analogs DZA-003 labi saistās ar tubulīnu un satur tetrahydrohinolīna fragmentu, izvēlējāmies sintezēt ļoti līdzīgu analogu **51**, kurā tetrahydrohinolīna fragments aizvietots ar indolīnu. Jau analoga DZA-003 sintēzē tika pārbaudīts, ka tetrahydrohinolīns ir ar samazinātu nukleofilitāti un slikti reaģē ar bromīdu, to karsējot bāzes klātbūtnē, tāpēc tika izstrādāta cita metode – nukleofila aromātiska aizvietošana, izmantojot stipru bāzi. Analogiski bromīda **1** un indolīna **71** šķīdumu apstrādājot ar KHMDS, ieguvām Cbz aizsargātu amīnu **72**. Amīnam **72** hidrogenolītiski noņēmot Cbz aizsarggrupu un secīgi veicot peptīdu sametināšanas reakciju ar skābi **70**, ieguvām produktu **51** (skat. 2.11. att.).



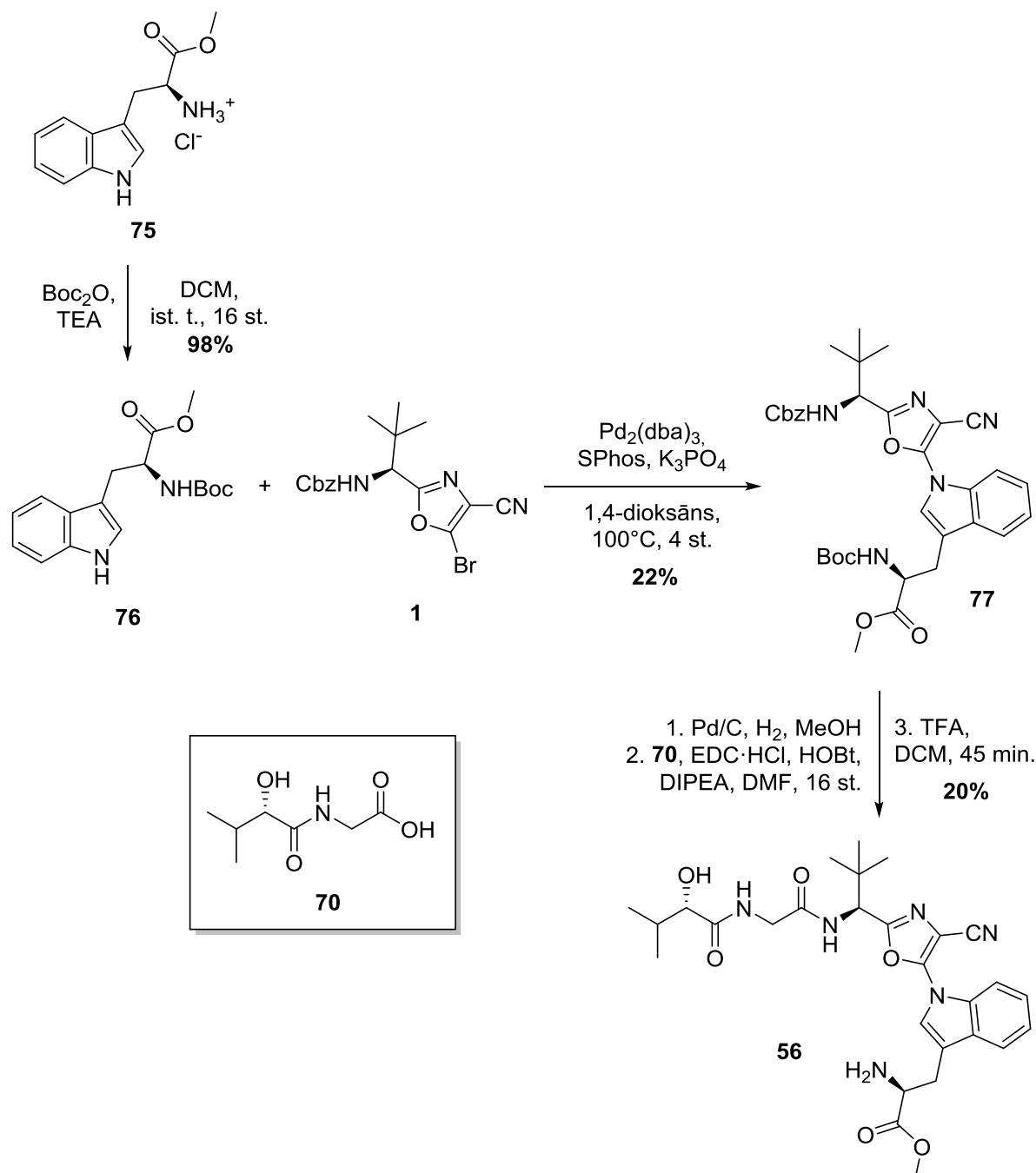
2.11. Att. Analoga 51 sintēze

Indola fragmentu saturošais analogs **55** tika sintezēts pēc citas metodikas, ņemot vērā, ka indols ir mazāk nukleofīls kā indolīns, tādējādi sintēze ar nukleofīlās aromātiskās aizvietošanas stratēģiju nav optimāla. C–N saite tika veidota ar Bakvalda-Hārtviga (*Buchwald-Hartwig*) aminēšanas reakciju starp bromīdu **1** un indolu **73**. Izmantojot Bakvalda fosfīna ligandu SPhos un netradicionālu bāzes/šķīdinātāja kombināciju K₃PO₄/1,4-dioksāns, ieguvām produktu **74** ar 52% iznākumu. Tad, izmantojot jau iepriekš aprakstīto 2 soļu pārvērtību, no Cbz aizsargāta amīna **74** ieguvām analogu **55** (skat. 2.12. att.).



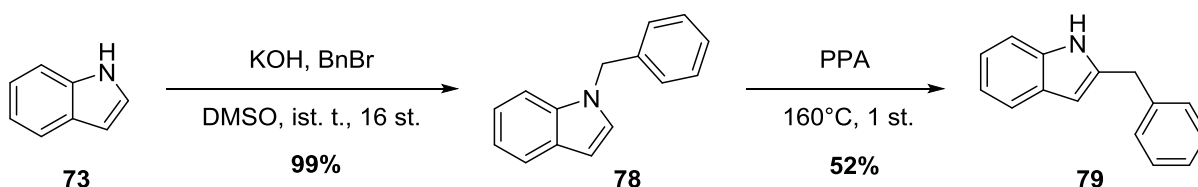
2.12. att. Analoga 55 sintēze

Triptofāna fragmentu saturošais analogs **56** tika sintezēts analogiski indola fragmentu saturošajam analogam **55**. Vispirms triptofāna metilestera hidrohlorīdam **75** tika uzlikta Boc aizsarggrupa ar kvantitatīvu iznākumu. Tad Boc aizsargātais triptofāns **76** Bakvalda-Hārtviga aminēšanas reakcijā ar bromīdu **1** izveidoja Cbz aizsargātu amīnu **77**. Amīnu **77** par analogu **56** pārvērta trīs secīgos soļos. Vispirms hidrogenolītiski noņēma Cbz aizsarggrupu, veica peptīdu sametināšanu, visbeidzot noņēmot Boc aizsarggrupu un iegūstot **56** ar iznākumu 20% pēc trim soļiem (skat. 2.13. att.).



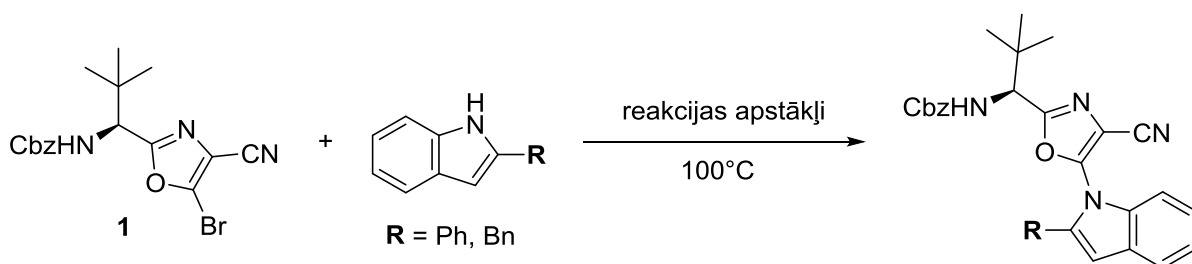
2.13. att. Analoga 56 sintēze

Analoga **54** saturošais 2-benzil indols **79** nebija pieejams laboratorijā, tādēļ tas tika sintezēts divos soļos no indola **73**. Vispirms indolu **73** aizsargāja ar benzil grupu un tad, iegūto N-benzil indolu **78** karsējot polifosforskābē, izomerizēja par 2-benzil indolu **79** (skat. 2.14. att.).



2.14. att. 2-Benzil indola 79 sintēze

Analogu **52** un **54** iegūšanai C-N saiti bija plānots izveidot ar Bakvalda-Hārtviga aminēšanas reakciju tādos pašos apstākļos, kādi izmantoti analogu **55** un **56** sintēzēs, taču, veicot reakcijas starp bromīdu **1** un 2-fenil indolu **80** vai 2-benzil indolu **79**, produkta veidošanās netika novērota (skat. 2.15. att.). Tika izmēģināti dažādi apstākļi aminēšanas reakcijai, taču nevienā no tiem produkts netika novērots (apstākļi norādīti 2. tabulā). Pallādijs katalizatora gadījumā tika izmēģinātas dažādas šķīdinātāju/bāzes kombinācijas, vara katalizatora gadījumā tika izmēģināti vairāki diamīn tipa ligandi (skat. 2.16. att.).

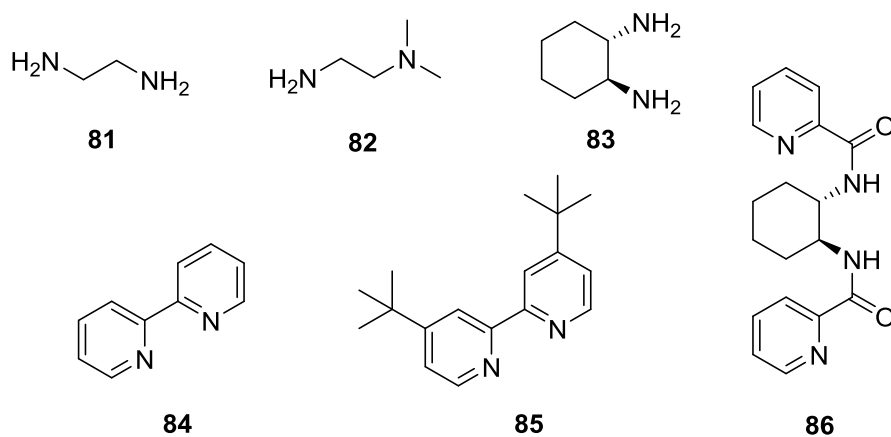


2.15. att. Bakvalda-Hārtviga reakcija ar 2-aizvietotiem indoliem

2. tabula

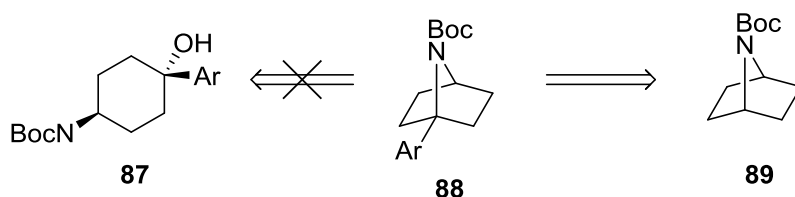
Bakvalda-Hārtviga aminēšanas reakcijas apstākļu skrīnings

R, ekviv.	Katalizators, ekviv.	Ligands, ekviv.	Bāze, ekviv.	Šķīdinātājs
Ph, 2,00	Pd ₂ (dba) ₃ , 0,05	SPhos, 0,15	K ₃ PO ₄ , 3,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	Pd ₂ (dba) ₃ , 0,05	SPhos, 0,15	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	Pd ₂ (dba) ₃ , 0,05	SPhos, 0,15	Cs ₂ CO ₃ , 3,00	DMF
Bn, 2,00	CuI, 0,20	81 , 0,40	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	CuI, 1,00	82 , 2,00	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	CuI, 1,00	83 , 2,00	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	CuI, 1,00	84 , 2,00	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	CuI, 1,00	85 , 2,00	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns
Bn, 2,00	CuI, 1,00	86 , 2,00	K ₃ PO ₄ , 4,00	1,4-dioksāns



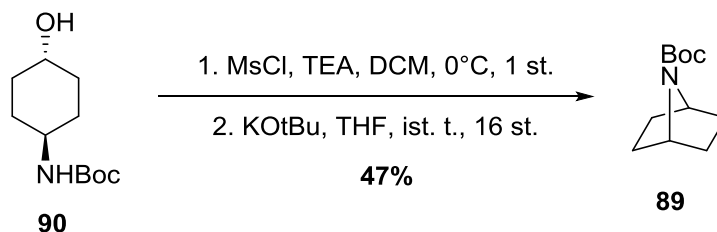
2.16. att. Bakvalda-Härtviga reakcijā izmantotie ligandi

Analogs **53** ir interesants ar to, ka, lai gan atšķiras no iepriekš sintezētā analoga **rac-DZA-004** tikai ar fenil grupas novietojumu biciklā, šāda virsotnes pozīcijas (*bridgehead*) aril bicikla sintēze nav literatūrā aprakstīta. Analoga **53** sintēzē biciklisko fragmentu bija plānots sintezēt, vispirms izveidojot biciklisko struktūru **89** un tikai tad molekulā ieviešot aril grupu nevis sintēzi veidojot no savienojuma **87**, kuru ciklizējot, varētu iegūt biciklu **88** (skat. 2.17. att.).



2.17. att. Bicikla **88** retrosintētiskā analīze

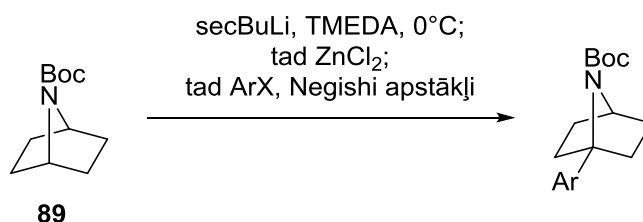
Biciklisko struktūru sintezējām divos soļos no komerciāli pieejama aminospirta **90**, to mezilējot un tad mezilātu iekšmolekulāri ciklizējot par savienojumu **89** (skat. 2.18. att.).



2.18. att. Bicikliskā amīna **89** sintēze

Savienojuma **89** virsotnes pozīcijas (*bridgehead*) arilēšana nav literatūrā aprakstīta. Tā veikšanai izvēlējamies apvienot divas zināmas metodes, no kurām viena ir savienojuma **89**

virsošnes pozīcijas litijēšana¹⁹ un otra – organolitija savienojumu pārmetālēšana uz Zn un secīga Negiši (Negishi) reakcija arilgrupas ieviešanai²⁰ (skat. 2.19. att.). Tika izmēģināti dažādi apstākļi litijēšanai, pārmetālēšanai un šķērssametnāšanai, taču ar AEŠH/MS nevienā gadījumā produkta veidošanās netika novērota (skat. 3. tabulu).



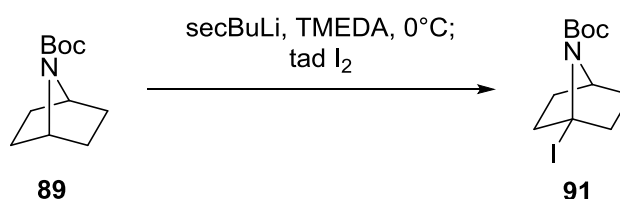
2.19. att. Virsošnes pozīcijas C-H arilēšana

3. tabula

Virsošnes pozīcijas arilēšanas reakcijas apstākļu skrīnings

ArX, ekvīv.	ZnCl ₂ , ekvīv.	Negishi apstākļi
PhI, 1,00	0,90	Pd(OAc) ₂ (0,10 ekvīv.), tBu ₃ PHBF ₄ (0,12 ekvīv.), Et ₂ O, 0°C – 40°C ²⁰
3-bromanizols, 1,00	1,10	Pd(dppf)Cl ₂ (0,06 ekvīv.), CuI (0,12 ekvīv.), DMF, 0°C – 70°C
3-bromanizols, 1,00	1,10	CuI (0,06 ekvīv.), LiCl (1,00 ekvīv.), DMF, 0°C – 70°C
3-bromanizols, 1,00	1,10	Pd(dppf)Cl ₂ (0,10 ekvīv.), CuI (0,12 ekvīv.), THF, 0°C – 60°C ¹³
3-bromanizols, 0,90	0,50	Pd ₂ (dba) ₃ (0,05 ekvīv.), Xphos (0,20 ekvīv.), THF, 0°C – 60°C
3-bromanizols, 0,90	2,00	Pd ₂ (dba) ₃ (0,05 ekvīv.), Xphos (0,20 ekvīv.), LiCl (2,00 ekvīv.), THF/DMI, 0°C – 60°C ²¹

Tā kā arī ar elektroniem bagātām katalizatora un liganda kombinācijām un gan aril jodīdiem un bromīdiem reakcija nenotika, tad secinām, ka problēma ir ar organocinka pārmetālēšanos uz pallādiju. Tādēļ nolēmām šo saiti veidot ar citām metodēm. Vispirms nolēmām savienojumu **89** jodēt virsošnes pozīcijā, lai iegūto jodīdu **91** pārbaudītu šķērssametnāšanas reakcijās (skat. 2.20. att.).



2.20. att. Virsošnes pozīcijas C-H litijēšana

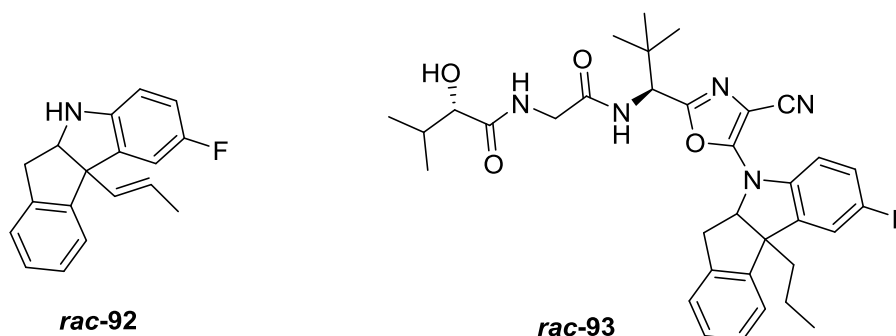
Taču savienojuma **89** litijēšana un iegūtā organolitija savienojuma nodzēšana ar I₂ uzrādīja nepilnīgu konversiju un iegūto jodīdu **91** nebija iespējams atdalīt no savienojuma **89**. Tādēļ testa reakcijām nolēmām izmantot savienojumu **89/91** maisījumu. Arilēšanas produkta novērošanas gadījumā varētu uzlabot jodīda **91** sintēzi un/vai izdalīšanu un strādāt ar tīru savienojumu. Ar maisījumu **89/91** tika izmēģinātas vairākas mehānistiski atšķirīgas reakcijas, no kurām visās (izņemot Nr1) ar AEŠH/MS tika joprojām novērota jodīda klātesamība reakcijas maisījumā (apstākļi apvienoti 4. tabulā). Apstākļi Nr1 ir interesanti, jo nedz produkts, nedz jodīds **91** netika novēroti ar AEŠH/MS. Iespējams, ka veidojas virsotnes pozīcijas radikālis un ir potenciāls izmantot fotoķīmiskas reducēšanās-oksidēšanās reakciju virsotnes pozīcijas arilēšanai (ir zināms, ka iespējama selektīva C(sp³)-H saites arilēšana α pozīcijā NboC grupai²²).

4. Tabula

Jodīda **91** reaģētspējas pārbaude šķērssametnāšanas reakcijās

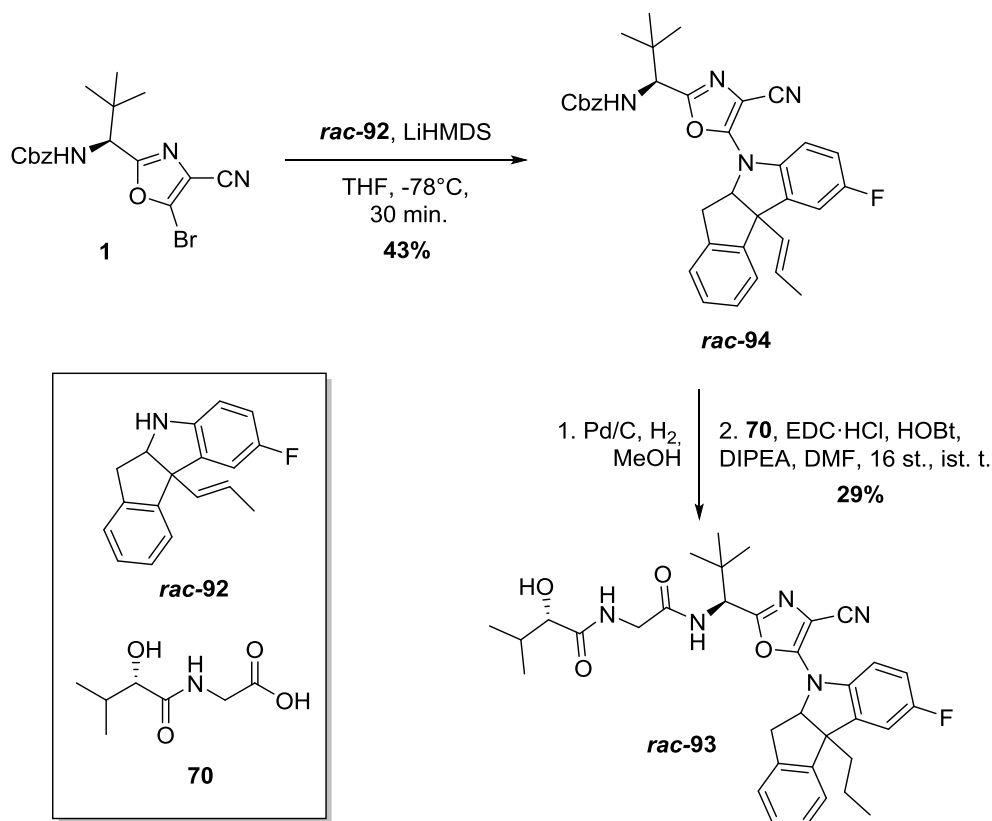
Nr	Reakcijas apstākļi
1	KOtBu (3,00 ekviv.), benzols (20 ekviv.), DMSO, redzamā gaisma ²³
2	3-OMePhB(OH) ₂ (1,20 ekviv.), NiCl ₂ ·DME (0,20 ekviv.), dtbbpy (0,24 ekviv.), KOtBu (2,40 ekviv.), iPrOH (2,40 ekviv.), benzols ²⁴
3	Pd ₂ (dba) ₃ (0,10 ekviv.), SPhos (0,20 ekviv.), K ₂ CO ₃ (3,00 ekviv.), 3-OMePhB(OH) ₂ (1,20 ekviv.)
4	Zn(4-OMePh) ₂ (1,00 ekviv.), benzols ²⁵

Tā kā neizdevās sintezēt analogus **52** un **54**, visticamāk 2-Ph un 2-Bn indolu stērisko problēmu dēļ Bakvalda-Hārtviga aminēšanas reakcijā, meklējām 2-Bn indolam līdzīgus fragmentus, ar kuriem nebūtu šādu sintētisko problēmu. Izvēlējamies izmantot laboratorijā pieejamu, iepriekš sintezētu savienojumu **rac-92**, no kura izveidot analogu **rac-93** (skat. 2.21. att.).



2.21. att. Laboratorijā pieejamā indolīna **rac-92** un analoga **rac-93** struktūras

Analoga **rac-93** sintēze tika veikta līdzīgi kā analoga **51** sintēze. Vispirms apstrādājot bromīda **1** un laboratorijā pieejama indolīna **rac-92** šķīdumu ar LiHMDS, tika iegūts Cbz aizsargāts amīns **rac-94**. Tad amīnam **rac-94** hidrogenolītiski noņemot Cbz aizsarggrupu un vienlaikus hidrogenējot dubultsaiti, tad veicot peptīdu sametināšanu ar skābi **70**, divos soļos ieguva analogu **rac-93** ar 29% iznākumu (skat. 2.22. att.).



2.22. att. Analoga **rac-93** sintēze

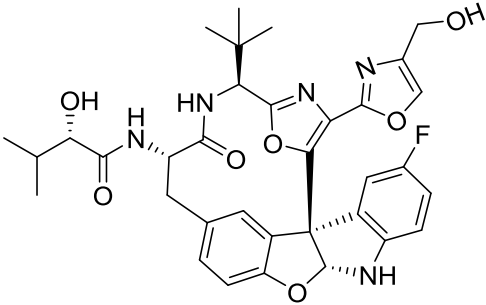
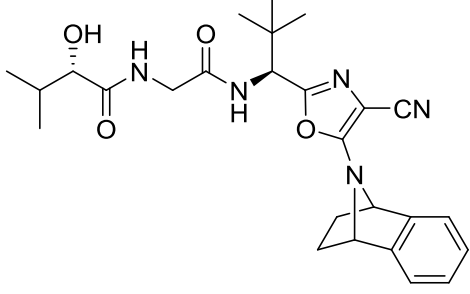
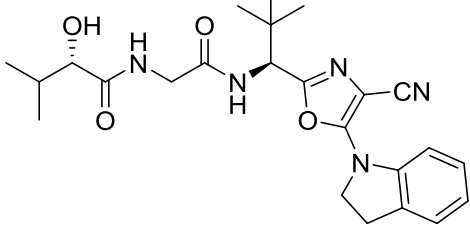
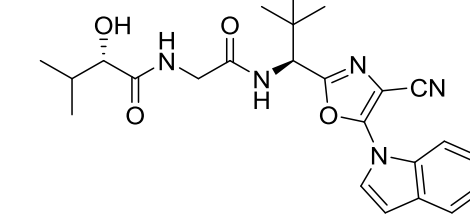
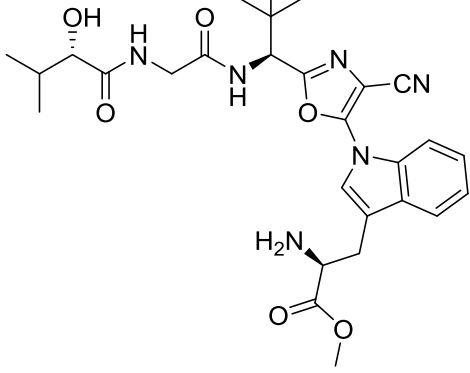
2.3. Analogu aktivitātes noteikšana

Sintezēto analogu saistību ar tubulīnu noteica ar izotermālo titrējošo kalorimetriju (ITC) – populāru metodi medicīniskajā ķīmijā, ligandu saistības ar proteīnu noteikšanai. Metodes pamatā ir stabilizēta tubulīna šķīduma titrēšana ar sintezēto analogu šķīdumiem adiabatiskos traukos. Titrēšanas laikā ligands saistās ar proteīnu (tubulīnu), izdalās siltuma daudzums un, lai trauks saglabātu konstantu temperatūru, tiek samazināta jauda speciāliem, jutīgiem sildītājiem. Salīdzinot jaudas izmaiņu titrēšanas laikā ar citu šūnu, kuru izmanto par salīdzināšanas šūnu, nosaka daudzus termodinamiskos parametrus liganda saistībai ar proteīnu. Svarīgākais parametrs, kuru var noteikt ar ITC, ir K_d jeb proteīna-liganda disociācijas konstante. Lai gan formāli līdzsvara konstantes ir bezdimensionāli lielumi, šajā gadījumā K_d vērtība ir vienāda tādu ligandu koncentrāciju līdzsvarā, pie kādas puse to

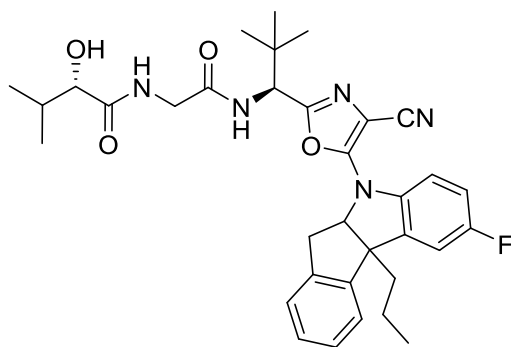
proteīna molekulām ir saistījušās ar ligandiem. Tādējādi, jo mazāka ir K_d vērtība, jo ciešāk ligands saistās ar proteīnu. K_d vērtības sintezētajiem analogiem apkopotas 5. tabulā.

5. Tabula

K_d vērtības diazonomīda A analogiem

Nr	Struktūras	K_d , nM
DZA-2384		50±34
50		1560
51		Siltumefekts netika novērots
55		Siltumefekts netika novērots
56		Siltumefekts netika novērots

rac-93



**Siltumefekts netika
novērots**

Visiem sintezētajiem analogiem, izņemot analogu **50**, titrēšanas laikā izdalītais siltuma daudzums ir metodes kļūdas robežās un to grūti atšķirt no trokšņa līmeņa, tādējādi šiem savienojumiem ir krietni sliktāka saistība kā DZ-2384. Ņemot vērā, ka kopumā sintezēto analogu saistības ir zemas un faktiski trokšņa līmenī, secinām, ka diazomāda A un DZ-2384 sastāvā esošais tetracikls ir krietni svarīgāks nekā iepriekš domāts un ka tetracikls ietekmē ne tikai funkcionālo aktivitāti, bet arī saistību.

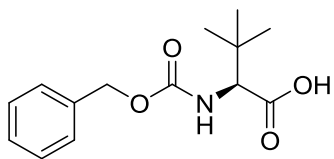
3. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

Sintezēto savienojumu ^1H un ^{13}C KMR spektri uzņemti CDCl_3 , CD_3OD vai $\text{DMSO-}d_6$ šķīdumos, izmantojot Bruker *Fourier* vai Varian *Mercury 400MR* spektrometrus. Kā iekšējais standarts KMR spektriem izmantotas deiterēto šķīdinātāju ķīmiskās nobīdes. Ķīmiskās nobīdes pierakstītas δ skalā un spinu sadarbības konstantes J mērītas hercos (Hz).

Reakcijas, kurās izmanto gaisu vai mitrumu jutīgus reagentus, veica žāvskapī izkarsētos un argona plūsmā atdzesētos traukos argona atmosfērā. Izmantotais sausais THF un sausais Et_2O žāvēti M-BRAUN iekārtā N_2 atmosfērā. Citi sausie šķīdinātāji un reāģenti pirkti no *Acros*, *Alfa Aesar*, *Sigma-Aldrich*, *Combiblocks* un *Fluorochem* piegādātājiem un izmantoti bez papildu attīrīšanas. Reakciju kontrolei izmantota AEŠH/MS analīze, kura veikta ar *Waters Acquity H Class* iekārtu, izmantojot *Acquity UPLC[®] BEH C18 1,7 μm , 2,1·50 mm* kolonnu. Eluents 0,01% TFA ūdens šķīdums/MeCN, gradients no 90:10 līdz 5:95. Plūsmas ātrums – 0,45 mL/min.

Kolonnu hromatogrāfija uz silikagela veikta ar *Armen Spot Flash* iekārtu, izmantojot *Biotage KP-Sil 35 g* un *100 g* kolonnas. Kā eluenti izmantoti DCM / MeOH vai Petrolētera / EtOAc maisījumi. Detektēšanai izmantota UV gaismas absorbcija no 240 līdz 310 nm. Apgrieztās fāzes hromatogrāfija veikta ar *Armen Spot Flash* iekārtu, izmantojot *Biotage C18 12 g* un *24 g* kolonnas. Eluents MeCN / ūdens vai skābes (TFA vai HCO_2H) ūdens šķīdums / MeCN. Detektēšanai izmantota UV gaismas absorbcija no 240 līdz 310 nm.

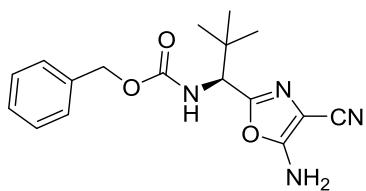
(S)-2-(((Benziloksi)karbonil)amino)-3,3-dimetilbutānskābe (**64**)



Leicīns **62** (10,65 g; 81,19 mmol; 1,00 ekv.) tika izšķīdināts ūdenī (100 mL) un šķīdums atdzesēts līdz 0°C. Svaigi pagatavots NaOH (6,82g; 170,5 mmol; 2,10 ekv.) šķīdums ūdenī (70 mL) un benzil hlorformāta **63** (12,75 mL; 89,31 mmol; 1,10 ekv.) šķīdums toluolā (25 mL) tika vienlaicīgi pievienoti *tert* leicīna ūdens šķīdumam pie 0°C. Reakcijas maisījumu izturēja 5 min 0°C temperatūrā, tad ļāva sasilt līdz istabas temperatūrai un atstāja maisīties istabas temperatūrā pa nakti (19h). Nākošajā dienā abus maisījuma slāņus atdalīja. Pie ūdens slāņa pievienoja EtOAc (70 mL), maisījumu atdzesēja līdz 0°C un tad, aktīvi maisot, pievienoja 30 mL 4 M HCl. Iegūtajam maisījumam ļāva sasilt līdz istabas temperatūrai. Tad slāņus atdalīja un ūdens slāni ekstrahēja ar EtOAc (2x50 mL). Organiskos ekstraktus apvienoja, mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā, iegūstot aizsargāto aminoskābi **64** kā dzeltenu eļļu (17,13 g, 80%)

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10.49 (s, 1H, plats), 7.42 – 7.27 (m, 5H), 5.38 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.17 – 5.09 (m, 2H), 4.22 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H), 1.02 (s, 9H). AEŠH/MS[M+H]⁺ 266 m/z

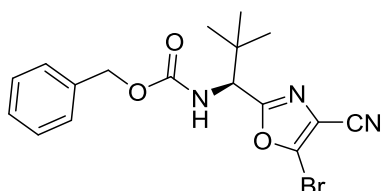
Benzil (S)-1-(5-amino-4-ciānooksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)karbamāts (**65**)



Pie aminomalononitrila p-toluolsulfonāta **60** (12,74 g; 50,31 mmol; 1,10 ekv.) un 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimīda hidrohlorīda (EDC·HCl; 10,52 g; 54,88 mmol; 1,20 ekv.) šķīduma piridīnā (120 mL), pievienoja aminoskābes **64** (12,13 g; 45,74 mmol; 1,00 ekv.) šķīdumu piridīnā (20 mL). Reakcijas maisījumu atstāja maisīties pa nakti istabas temperatūrā. Nākošajā dienā maisījumam pievienoja sasmalcinātu ledu un ūdeni (~40 mL) un atļāva sasilt līdz istabas temperatūrai. Maisījumu pārnesa uz dalāmo piltuvi un ekstrahēja ar EtOAc (3x100 mL). Organiskos ekstraktus apvienoja, mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu (2x100 mL) , žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Iegūto eļļu ietvaicēja kopā ar toluolu (2x), iegūstot amīnu **65** kā cietu, brūnu vielu (14,94 g; 99.5%).

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.38 – 7.32 (m, 5H), 5.34 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 5.12 – 5.09 (m, 2H), 4.81 (s, 2H), 4.58 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H), 0.98 (s, 9H). AEŠH/MS [M+H]⁺ 329 m/z

Benzil (S)-1-(5-brom-4-ciānooksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)karbamāts (**1**)

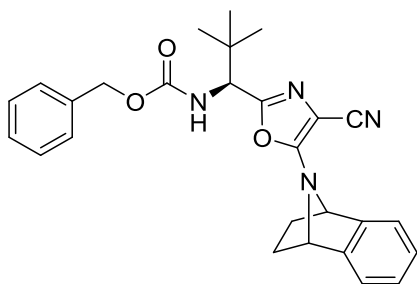


Pie tumši zaļā CuBr₂ (4,08 g; 18,27 mmol; 2,00 ekv.) šķīduma sausā MeCN (60 mL), pievienoja *tert*-butil nitrītu

(1,33 mL; 10,05 mmol; 1,10 ekviv) un tad 10 minūšu laikā pievienoja amīna **65** (3,00 g; 9,14 mmol; 1,00 ekviv.) šķīdumu MeCN (15 mL). 5 minūšu laikā pārtrauca izdalīties gāze. Iegūtais šķīdums tika stundu maisīts istabas temperatūrā. Tad reakcijas maisījumam pievienoja Et₂O (30 mL), H₂O (30 mL) un iegūtos slāņus atdalīja. Pie ūdens slāņa pievienoja 1M HCl (40 mL) un iegūto maisījumu ekstrahēja ar Et₂O. Visus organiskos ekstraktus apvienoja, mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu (2x), žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Eļļu izšķīdināja nelielā tilpumā H₂O/MeCN un attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluents 0,1% HCO₂H/MeCN no 55/45 līdz 15/85). Produktu saturošās frakcijas apvienoja un ietvaicēja pazeminātā spiedienā, iegūstot bromīdu **1** kā brūnu eļļu (1,09 g; 30,4%).

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.39 – 7.31 (m, 5H), 5.37 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.76 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 1.00 (s, 9H). AEŠH/MS [M+H]⁺ 392/394 m/z

Benzil ((S)-1-(4-ciāno-5-((1R,4S)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-epimīnaftalēn-9-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)karbamāts (69)



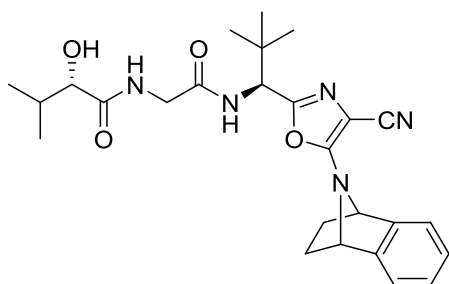
Mikroviļņu ampulā iesvēra bromīdu **1** (100 mg; 0.255 mmol; 1.00 ekviv.). To izšķīdināja THF/DMSO 1:1 (4 mL) maisījumā, tad pievienoja TEA (178 uL; 1.275 mmol; 5.00 ekviv.). Maisījumam pievienoja amīna hidrohlorīdu **68** (92.6 mg; 0.510 mmol; 2.00 ekviv.) un karsēja 50°C temperatūrā divas dienas. Tad pievienoja ūdeni un pies.

NH₄Cl šķīdumu (1:1) (~20 mL) un ekstrahēja ar EtOAc (2x40 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no 90/10 līdz 75/25; UV detektēšana pie 258 un 300 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja, iegūstot **69** kā gaiši brūnas putas (65 mg; 56%).

¹H KMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.40 – 7.27 (m, 7H), 7.21 – 7.15 (m, 2H), 5.33 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 5.12 – 5.04 (m, 2H), 4.56 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 2.29 – 2.22 (m, 2H), 1.48 – 1.42 (m, 2H), 0.89 (s, 9H).

¹³C KMR (100 MHz, CDCl₃): δ 160.26, 155.96, 155.17, 143.59, 143.52, 136.03, 128.56, 128.28, 128.15, 127.28, 127.23, 120.56, 120.44, 114.44, 91.83, 67.28, 64.61, 64.36, 57.38, 35.79, 26.44, 26.42, 26.01. AEŠH/MS [M+H]⁺ 457 m/z

(S)-N-(2-(((S)-1-(4-Ciāno-5-((1R,4S)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-epimīnnaftalēn-9-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)amīn)-2-oksoetil)-2-hidroksi-3-metilbutānamīds (50)



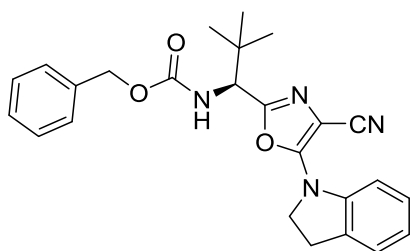
Apaļkolbā iesvēra Cbz aizsargātu amīnu **69** (55 mg; 0.1205 mmol; 1.00 ekviv.), to izšķīdināja 2:1 EtOAc/MeOH maisījumā (6 mL) un pievienoja 10% Pd/C (38.5 mg; 0.036 mmol; 0.30 ekviv.). Maisījumam 2 stundas burbuļoja cauri H₂. Tad maisījumu filtrēja caur Celite® slāni, mazgājot to ar MeOH. Filtrātu pārnesa uz

apaļkolbu, ietvaicēja pazeminātā spiedienā un izpūta ar argonu. Apaļkolbā iesvēra skābi **67** (23.2 mg; 0.1325 mmol; 1.10 ekviv.), EDC·HCl (37.0 mg; 0.1927 mmol; 1.60 ekviv.), HOBt (48.8 mg; 0.3614 mmol; 3.00 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā DMF (2 mL), pievienoja DIPEA (63 uL; 0.3612 mmol; 3.00 ekviv.). Reakcijas maisījumu atstāja maisīties pa nakti istabas temperatūrā. Nākošajā dienā pievienoja pies. NH₄Cl šķīdumu un ūdeni 1:1 (~15 mL) un ekstrahēja ar EtOAc (3x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents DCM/MeOH no DCM līdz 95/5; UV detektēšana pie 300 un 254 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja un attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluents ūdens/MeCN no 60/40 līdz 20/80; UV detektēšana pie 300 un 254 nm). Produktu saturošās frakcijas apvienoja, ietvaicēja kopā ar toluolu, iegūstot produktu **50** kā gaiši brūnas putas (25 mg; 43%).

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.38 – 7.27 (m, 3H), 7.23 – 7.15 (m, 3H), 7.03 – 6.95 (m, 1H), 5.32 – 5.26 (m, 2H), 4.83 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H), 4.06 – 3.90 (m, 3H), 2.30 – 2.23 (m, 2H), 2.22 – 2.13 (m, 1H), 1.47 – 1.41 (m, 2H), 1.02 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.88 (s, 9H), 0.85 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

¹³C KMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.41, 168.64, 160.31, 154.78, 143.59, 143.50, 127.30, 127.24, 120.56, 120.46, 114.39, 91.70, 64.65, 64.34, 55.21, 43.15, 35.80, 31.89, 26.45, 26.42, 26.05, 19.09, 15.58. AEŠH/MS [M+H]⁺ 480 m/z

Benzil (S)-1-(1-(4-ciāno-5-(indolīn-1-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)karbamāts (72)



Žāvskapī izkarsētā, argona plūsmā atdzesētā mikroviļņu ampulā iesvēra bromīdu **1** (90 mg; 0.2294 mmol; 1.00 ekviv.) un pievienoja indolīnu **71** (26 uL; 0.229 mmol; 1.00 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā THF (2 mL) un atdzesēja līdz -78°C acetona/sausā ledus vannā. KHMDS

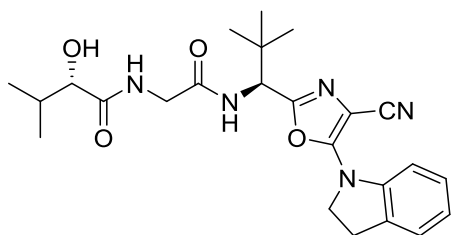
1M šķīdumu THF (367 uL; 0.3671 mmol; 1.60 ekviv.) pievienoja pa pilienam pie reakcijas

maisījuma -78°C temperatūrā. Maisījumu izturēja -78°C temperatūrā 15 minūtes, tad noņēma sausā ledus vannu un ļāva reakcijas maisījumam sasilt līdz istabas temperatūrai. Pievienoja pies. NH₄Cl šķīdumu un ekstrahēja ar EtOAc (2x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no 90/10 līdz 80/20; UV detektēšana pie 310 un 254 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja, iegūstot **72** kā brūnu, cietu vielu (46 mg; 47%).

¹H KMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.43 – 7.28 (m, 6H), 7.25 – 7.15 (m, 2H), 7.06 – 6.97 (m, 1H), 5.44 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 5.18 – 5.05 (m, 2H), 4.72 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 4.36 – 4.24 (m, 2H), 3.37 – 3.27 (m, 2H), 1.04 (s, 9H).

¹³C KMR (100 MHz, CDCl₃): δ 156.12, 154.94, 153.71, 141.95, 136.01, 130.19, 128.57, 128.28, 128.18, 128.04, 125.42, 123.20, 115.25, 112.00, 87.72, 67.35, 57.75, 49.59, 35.85, 28.43, 26.23. AEŠH/MS [M+H]⁺ 431 m/z

(S)-N-(2-(((S)-1-(4-ciāno-5-(indolīn-1-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)amīn)-2-oksoetil)-2-hidroksi-3-metilbutānamīds (51)



Apaļkolbā iesvēra Cbz aizsargātu amīnu **72** (35 mg; 0.0813 mmol; 1.00 ekviv.), to izšķīdināja MeOH/EtOAc 1:1 (2 mL) un pievienoja 10% Pd/C (8,7 mg; 0.0813 mmol; 1,00 ekviv.). Maisījumam 1 stundu burbuļoja cauri H₂. Tad maisījumu filtrēja caur Celite® slāni,

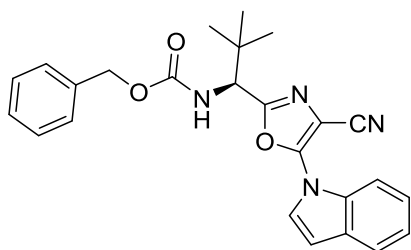
mazgājot to ar EtOAc, tad ar MeOH. Filtrātu pārnesa uz apaļkolbu, ietvaicēja pazeminātā spiedienā un izpūta ar argonu. Apaļkolbā iesvēra skābi **70** (15.6 mg; 0.0891 mmol; 1.10 ekviv.), EDC·HCl (24.8 mg; 0.1296 mmol; 1.60 ekviv.), HOBt (32.8 mg; 0.2430 mmol; 3.00 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā DMF (3 mL), pievienoja DIPEA (42 uL; 0.2428 mmol; 3.00 ekviv.). Reakcijas maisījumu atstāja maisīties 2 dienas istabas temperatūrā. Tad pievienoja ūdeni (~20 mL) un maisījumu ekstrahēja ar EtOAc (3x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluents ūdens/MeCN no 80/20 līdz 50/50; UV detektēšana pie 310 un 254 nm). Produktu saturošās frakcijas apvienoja un ietvaicēja kopā ar toluolu, iegūstot produktu **51** kā gaišas putas (11 mg; 30% pēc 2 soļiem).

¹H KMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.42 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.25 – 7.19 (m, 3H), 7.15 – 7.09 (m, 1H), 7.01 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H), 5.00 (d, *J* = 9.3 Hz, 1H), 4.30 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 4.12 – 3.97

(m, 3H), 3.32 (t, $J = 8.6$ Hz, 2H), 2.25 – 2.16 (m, 1H), 1.28 – 1.23 (m, 2H), 1.07 – 0.99 (m, 12H), 0.89 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H).

^{13}C KMR (100 MHz, CDCl_3): δ 174.42, 168.80, 154.96, 153.25, 141.88, 130.18, 128.06, 125.42, 123.29, 115.21, 112.07, 87.59, 55.53, 49.60, 43.30, 35.92, 31.89, 28.42, 26.25, 19.11, 15.61. AEŠH/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 454 m/z

Benzil (S)-(1-(4-ciāno-5-(1H-indol-1-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)karbamāts (74)

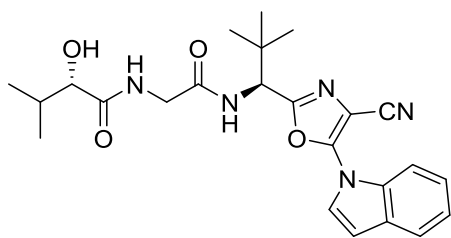


Žāvskapī izkarsētā, argona plūsmā atdesētā mikroviļņu ampulā iesvēra bromīdu **1** (250 mg; 0.637 mmol; 1.00 ekviv.), pievienoja indolu **73** (150 mg; 1.275 mmol; 2.00 ekviv.), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (29.2 mg; 0.032 mmol; 0.05 ekviv.), SPhos (39.3 mg; 0.096 mmol; 0.15 ekviv.) un sausu K_3PO_4 (541 mg; 2.55 mmol; 4.00 ekviv.). Pievienoja sausu 1,4-dioksānu (5 mL). Ampulu noslēdza ar alumīnija korķi un karsēja 2 dienas 100°C temperatūrā. Tad maisījumam pievienoja ūdeni (~30 ml) un ekstrahēja ar EtOAc (2x50 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na_2SO_4 , filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluenta gradients ūdens/MeCN no 50/50 līdz 20/80; UV detektēšana pie 307 un 263 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja, tad divas reizes ietvaicēja kopā ar toluolu. Pievienoja EtOAc, šķīdumu filtrēja caur Na_2SO_4 un ietvaicēja, iegūstot produktu **74** kā gaiši dzeltenas putas (141 mg; 52%).

^1H KMR (400 MHz, CDCl_3): 7.79 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.41 – 7.27 (m, 7H), 6.83 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.54 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.22 – 5.07 (m, 2H), 4.85 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 1.09 (s, 9H).

^{13}C KMR (100 MHz, CDCl_3): δ 157.9, 156.1, 152.1, 135.8, 134.7, 129.5, 128.6, 128.4, 128.2, 124.9, 124.4, 123.4, 121.8, 112.8, 112.3, 109.6, 96.3, 67.5, 58.0, 35.8, 26.2. AEŠH/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 429 m/z

(S)-N-(2-(((S)-1-(4-ciāno-5-(1H-indol-1-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)amīn)-2-oksoetil)-2-hidroksi-3-metilbutānamīds (55)



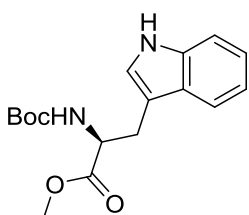
Apaļkolbā iesvēra Cbz aizsargātu amīnu **74** (141 mg; 0.3295 mmol; 1.00 ekviv.), to izšķīdināja 2:9 EtOAc/MeOH maisījumā (22 mL) un pievienoja 10% Pd/C (35.0 mg; 0.0330 mmol; 0.10 ekviv.). Maisījumam 3 stundas burbuļoja cauri H_2 . Tad maisījumu filtrēja caur Celite® slāni, mazgājot to ar MeOH un EtOAc. Filtrātu pārnesa uz apaļkolbu, ietvaicēja

pazeminātā spiedienā un izpūta ar argonu. Apaļkolbā iesvēra skābi **70** (63.5 mg; 0.3625 mmol; 1.10 ekviv.), EDC·HCl (101 mg; 0.5273 mmol; 1.60 ekviv.), HOBt (133.6 mg; 0.9886 mmol; 3.00 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā DMF (5 mL), pievienoja DIPEA (171 uL; 0.9883 mmol; 3.00 ekviv.). Reakcijas maisījumu atstāja maisīties 2 dienas istabas temperatūrā. Nākošajā dienā pievienoja pies. NH₄Cl šķīdumu un ūdeni 1:1 (~20 mL), un ekstrahēja ar EtOAc (2x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no 90/10 līdz 30/70; UV detektēšana pie 307 un 263 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja un attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluents ūdens/MeCN no 60/40 līdz 20/80; UV detektēšana pie 307 un 263 nm). Produktu saturošās frakcijas apvienoja, ietvaicēja kopā ar toluolu, iegūstot produktu **55** kā gaiši brūnas putas (67 mg; 45% pēc 2 soļiem).

¹H KMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.80 – 7.76 (m, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 7.57 – 7.49 (m, 1H), 7.43 – 7.33 (m, 2H), 7.32 – 7.26 (m, 1H), 6.81 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H), 5.09 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 4.16 – 4.00 (m, 3H), 3.07 (s, 1H), 2.25 – 2.14 (m, 1H), 1.08 (s, 9H), 1.02 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 0.86 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

¹³C KMR (100 MHz, CDCl₃): δ 174.85, 169.18, 157.48, 152.10, 134.62, 129.45, 124.89, 124.36, 123.37, 121.81, 112.73, 112.36, 109.63, 96.17, 55.89, 43.42, 35.78, 31.87, 26.27, 19.12, 15.60. AEŠH/MS [M+H]⁺ 452 m/z

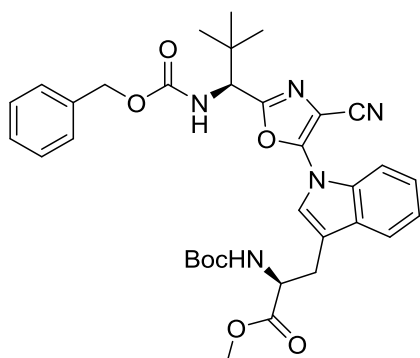
Metil (*tert*-butoksikarbonil)-L-triptofānāts (**76**)



Apaļkolbā iesvēra Trp-OMe·HCl **75** (250 mg; 0.9815 mmol; 1.00 ekviv.), pievienoja sausu DCM (4 mL). Suspensijai ievienoja TEA (137 uL; 0.9815 mmol; 1.00 ekviv.), iegūstot dzidru šķīdumu. Reakcijas maisījumam vienā porcijā pievienoja cietu Boc₂O (257 mg; 1.1778 mmol; 1.20 ekviv.) un iegūto maisījumu atstāja maisīties 2 dienas istabas temperatūrā. Tad pievienoja papildu DCM un pies. NaCl šķīdumu. Slāņus atdalīja un organisko slāni žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā, iegūstot **76** kā dzeltenu, cietu vielu, kuru izmantoja tālāk bez papildu attīrīšanas (306 mg; 98%).

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8.11 (s, 1H), 7.56 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.35 (dt, *J* = 8.2, 1.0 Hz, 1H), 7.24 – 7.16 (m, 1H), 7.15 – 7.08 (m, 1H), 7.01 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 5.07 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 4.72 – 4.59 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.29 (d, *J* = 5.5 Hz, 2H), 2.84 – 2.63 (m, 1H), 1.43 (s, 9H). AEŠH/MS [M+H]⁺ 319 m/z

Metil 1-(2-((S)-1-(((benziloksi)karbonil)amīn)-2,2-dimetilpropil)-4-cyanooxazol-5-yl)-N^α-(*tert*-butoksikarbonil)-L-triptofānāts (77)



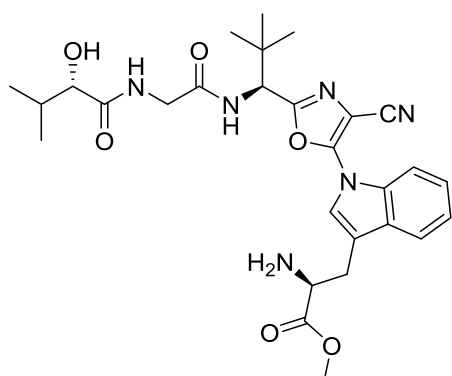
Žāvskapī izkarsētā, argona plūsmā atdzesētā mikroviļņu ampulā iesvēra bromīdu **1** (195 mg; 0.497 mmol; 1,00 ekviv.), pievienoja N-Boc-Trp-OMe **76** (190 mg; 0.597 mmol; 1.20 ekviv.), Pd₂(dba)₃ (22.8 mg; 0.0249 mmol; 0.05 ekviv.), SPhos (30.6 mg; 0.0746 mmol; 0.15 ekviv.) un sausu K₃PO₄ (316 mg; 1.491 mmol; 3.00 ekviv.). Pievienoja sausu 1,4-dioksānu (4.5 mL). Ampulu noslēdza

ar alumīnija korķi un karsēja 4 stundas 100°C temperatūrā. Tad maisījumam pievienoja ūdeni (~30 mL) un ekstrahēja ar EtOAc (3x50 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu izšķīdināja MeCN/ūdens 4:1 šķīdumā (2 mL) un attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluenta gradients ūdens/MeCN no 55/45 līdz 20/80; UV detektēšana pie 310 un 265 nm). Produktu saturošās frakcijas apvienoja, ietvaicēja MeCN. Iegūtajai suspensijai pievienoja EtOAc un pies. NaCl šķīdumu. Maisījumu ekstrahēja ar EtOAc (2x30 mL), organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā, iegūstot produktu **77** kā gaiši dzeltenas putas (68 mg; 22%).

¹H KMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.77 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.46 – 7.28 (m, 8H), 5.50 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 5.22 – 5.07 (m, 3H), 4.83 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), 4.74 – 4.66 (m, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.38 (dd, *J* = 14.7, 5.6 Hz, 1H), 3.27 (dd, *J* = 14.7, 5.1 Hz, 1H), 1.44 (s, 9H), 1.08 (s, 9H).

¹³C KMR (100 MHz, CDCl₃): δ 171.94, 157.71, 156.05, 155.05, 151.90, 135.84, 134.78, 129.72, 128.61, 128.39, 128.24, 125.22, 123.27, 122.21, 120.00, 117.98, 112.84, 112.55, 80.14, 67.53, 57.99, 53.84, 52.69, 35.74, 29.70, 28.30, 27.75, 26.24. AEŠH/MS [M+H]⁺ 630 m/z

Metil 1-(4-ciāno-2-((S)-1-(2-((S)-2-hidroksi-3-metilbutānamīd)acetamīd)-2,2-dimetilpropil)oksazol-5-il)-L-triptofanāts (56)



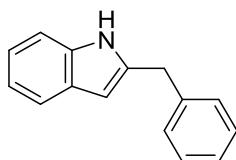
Apaļkolbā iesvēra Cbz aizsargātu amīnu **77** (68 mg; 0.1080 mmol; 1.00 ekviv.), to izšķīdināja MeOH (5 mL) un pievienoja 10% Pd/C (11.5 mg; 0.0108 mmol; 0.10 ekviv.). Maisījumam 90 minūtes burbuļoja cauri H₂. Tad maisījumu filtrēja caur Celite® slāni, mazgājot to ar MeOH. Filtrātu pārnesa uz apaļkolbu, ietvaicēja

pazeminātā spiedienā un izpūta ar argonu. Apaļkolbā iesvēra skābi **70** (20.8 mg; 0.1188 mmol; 1.10 ekviv.), EDC·HCl (33.1 mg; 0.1728 mmol; 1.60 ekviv.), HOBt·H₂O (49.6 mg; 0.3240 mmol; 3.00 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā DMF (5 mL), pievienoja DIPEA (56 uL; 0.3242 mmol; 3.00 ekviv.). Reakcijas maisījumu atstāja maisīties 2 dienas istabas temperatūrā. Nākošajā dienā pievienoja pies. NH₄Cl šķīdumu un ūdeni 1:1 (~15 mL), un ekstrahēja ar EtOAc (2x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no 75/25 līdz 20/80; UV detektēšana pie 300 un 254 nm). Peptīdu saturošās frakcijas ietvaicēja, tad izšķīdināja DCM (0.7 mL). Pa pilienam pievienoja TFA (300 uL; 3.9071 mmol; 121 ekviv.) un atstāja maisīties 45 minūtes istabas temperatūrā. Tad reakcijas maisījumu ietvaicēja pazeminātā spiedienā un attīrīja ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju (eluents ūdens/MeCN no 70/30 līdz 20/80; UV detektēšana pie 300 un 254 nm). Amīnu saturošās frakcijas ietvaicēja līdz palika tikai ūdens, suspensijai pievienoja pies. NaHCO₃ šķīdumu un ekstrahēja ar EtOAc (2x). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā, iegūstot **56** kā bezkrāsainu plēvi (12 mg; 20% pēc 3 soļiem).

¹H KMR (400 MHz, CD₃OD): δ 7.88 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.72 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.47 (t, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.40 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.06 (s, 1H), 4.46 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H), 4.04 (s, 2H), 3.91 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.53 (dd, *J* = 15.2, 6.0 Hz, 1H), 3.44 (dd, *J* = 15.2, 7.0 Hz, 1H), 2.14 – 2.03 (m, 1H), 1.14 (s, 9H), 1.01 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H), 0.86 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H).

¹³C KMR (100 MHz, CD₃OD): δ 177.55, 171.61, 170.37, 159.66, 152.98, 136.69, 129.97, 126.50, 125.52, 124.48, 120.38, 116.10, 113.81, 113.64, 57.66, 53.94, 53.88, 49.00, 42.83, 36.31, 32.97, 26.82, 26.72, 19.62, 16.28. AEŠH/MS [M+H]⁺ 553 m/z

2-Benzil-1H-indols (**79**)

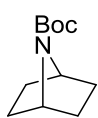


Apaļkolbā iesvēra pietā saberztu KOH (941 mg; 17.07 mmol; 2.00 ekviv.), pievienoja DMSO (16 mL) un iegūto suspensiju maisīja 5 minūtes. Pie maisījuma pievienoja indolu **73** (1.00 g; 8.536 mmol; 1.00 ekviv.) un maisīja 40 minūtes istabas temperatūrā. Tad apaļkolbā pievienoja benzil bromīdu (1.11 mL; 9.390 mmol; 1.10 ekviv.) un suspensiju maisīja 2 dienas istabas temperatūrā. Tad maisījumu izlēja ūdenī (~50 mL) un ekstrahēja ar EtOAc (3x50 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā, iegūstot N-benzil indolu **78** kā cietu vielu (1.77 g; 99%). Produktu izmantoja nākošajā reakcijā bez papildu attīrīšanas. Apaļkolbā iesvēra *N*-benzil

indolu **78** (1.77 g; 8.540 mmol; 1.00 ekviv.), pievienoja PPA (~16 mL). Maisījumu karsēja 1 stundu 160°C temperatūrā. Tad maisījumu atdzesēja līdz 90°C temperatūrai un pievienoja ūdeni. Iegūto suspensiju ekstrahēja ar Et₂O (3x40 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaHCO₃ šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Savienojumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no PE līdz 90/10; UV detektēšana pie 254 un 300 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja, iegūstot 2-benzil indolu **79** kā cietu vielu (920 mg; 52%).

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7.82 – 7.64 (plats s, 1H), 7.59 – 7.47 (m, 1H), 7.36 – 7.27 (m, 2H), 7.27 – 7.20 (m, 4H), 7.16 – 7.00 (m, 2H), 6.33 – 6.29 (m, 1H), 4.11 (s, 2H).

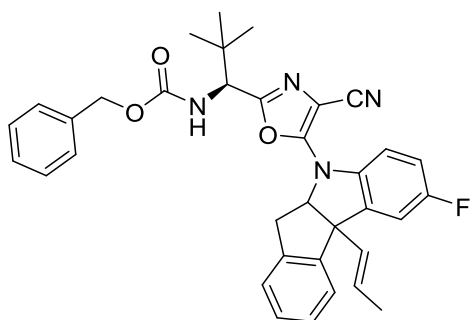
Terc-butil (1s,4s)-7-azabicyklo[2.2.1]heptān-7-karboksilāts (89)



Žāvskapī izkarsētā, argona plūsmā atdzesētā apaļkolbā ievēra aminospirtu **90** (950 mg; 4.413 mmol; 1.00 ekviv.), to izšķīdināja sausā DCM (40 mL). Pievienoja TEA (1.54 mL; 11.03 mmol; 2.50 ekviv.). Iegūto šķīdumu atdzesēja līdz 0°C ledus vannā un pa pilienam pievienoja MsCl (620 uL; 7.943 mmol; 1.80 ekviv.). Reakcijas maisījumu izturēja pie 0°C temperatūras 1 stundu. Reakcijas maisījumam lēnām pievienoja pies. NaHCO₃ šķīdumu (40 mL) ar enerģisku maisīšanu. Maisījumu atšķaidīja ar DCM. No iegūtā maisījuma atdalīja ūdens slāni un to ekstrahēja ar DCM (2x50 mL). Apvienoja organiskos slāņus, mazgāja ar pies. NaHCO₃ šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Apaļkolbu ar iegūto maisījumu izpūta ar argonu un maisījumu izšķīdināja sausā THF (35 mL). Šķīdumu atdzesēja līdz 0°C ledus vannā un pa porcijām pievienoja cietu KOtBu (1,49 g; 13,24 mmol; 3,00 ekviv.). Vannu noņēma un reakcijas maisījumu atstāja maisīties pa nakti istabas temperatūrā. Tad reakcijas maisījumu atdzesēja līdz 0°C un pievienoja pies. NH₄Cl (~60 mL) šķīdumu pie 0°C. Maisījumu atsildīja līdz istabas temperatūrai un ekstrahēja ar EtOAc (2x50 mL). Apvienoja organiskos slāņus, mazgāja ar pies. NaHCO₃ šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na₂SO₄, filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Savienojumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no PE līdz 90/10). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja, iegūstot biciklu **89** kā dzeltenu eļļu (406 mg; 47%).

¹H KMR (300 MHz, CDCl₃): δ 4.18 (s, 2H), 1.81 – 1.70 (m, 4H), 1.44 (s, 9H), 1.41 – 1.33 (m, 4H). AEŠH/MS [M+H]⁺ 198/141 m/z

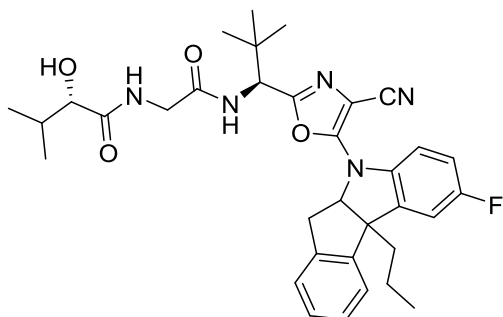
Benzil ((1S)-1-(4-ciāno-5-(2-fluor-10b-((E)-prop-1-ēn-1-il)-6,10b-dihidroindēno[2,1-b]indol-5(5aH)-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)karbamāts (*rac*-94)



Žāvskapī izkarsētā, argona plūsmā atdzesētā mikroviļņu ampulā ievēra bromīdu **1** (115 mg; 0.2932 mmol; 1.00 ekviv.) un pievienoja indenoindolīnu *rac*-**92** (86 mg; 0.3225 mmol; 1.10 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā THF (3 mL) un atdzesēja līdz -78°C acetona/sausā ledus vannā. LiHMDS 1M šķīdumu THF (674 μL ; 0.6743 mmol; 2.30 ekviv.) pievienoja pa pilienam pie reakcijas maisījuma -78°C temperatūrā. Maisījumu izturēja -78°C temperatūrā 30 minūtes, tad noņēma sausā ledus vannu un ļāva reakcijas maisījumam sasilt līdz istabas temperatūrai. Pievienoja pies. NH_4Cl šķīdumu un ūdeni 1:1 (~20 mL), un ekstrahēja ar EtOAc (3x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na_2SO_4 , filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no 95/5 līdz 85/15; UV detektēšana pie 295 un 245 nm). Produktu saturošās frakcijas ietvaicēja, iegūstot produktu *rac*-**94** kā dzeltenas putas (73 mg; 43%). Savienojums iegūts kā ~1:1 diastereomēru maisījums.

^1H KMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.41 – 7.21 (m, 11H), 7.10 – 7.04 (m, 1H), 6.93 – 6.85 (m, 1H), 5.85 – 5.77 (m, 1H), 5.53 – 5.45 (m, 1H), 5.44 – 5.33 (m, 1H), 5.14 – 5.09 (m, 2H), 5.09 – 5.03 (m, 1H), 4.78 – 4.69 (m, 1H), 3.80 – 3.69 (m, 1H), 3.28 – 3.17 (m, 1H), 1.77 – 1.71 (m, 3H), 1.05 (s, 9H). AEŠH/MS $[\text{M}+\text{H}]^+$ 577 m/z

(2S)-N-(2-(((1S)-1-(4-ciāno-5-(2-fluor-10b-propil-6,10b-dihidroindēno[2,1-b]indol-5(5aH)-il)oksazol-2-il)-2,2-dimetilpropil)amīn)-2-oksoetil)-2-hidroksi-3-metilbutānamīds (*rac*-93)



Apāļkolbā ievēra Cbz aizsargātu amīnu *rac*-**94** (70 mg; 0.1214 mmol; 1.00 ekviv.), to izšķīdināja MeOH (15 mL) un pievienoja 10% Pd/C (26 mg; 0.0243 mmol; 0.20 ekviv.). Maisījumam 2 stundas burbuļoja cauri H_2 , pievienoja balonu ar H_2 un atstāja maisīties istabas temperatūrā 2 dienas. Tad maisījumu filtrēja caur Celite® slāni, mazgājot to ar MeOH. Filtrātu pārnesa uz apaļkolbu, ietvaicēja pazeminātā spiedienā un izpūta ar argonu. Apaļkolbā ievēra skābi **70** (23.4 mg; 0.1336 mmol; 1.10 ekviv.), EDC·HCl (37.3 mg; 0.1944 mmol; 1.60 ekviv.), HOBt· H_2O (55.8 mg; 0.3644 mmol; 3.00 ekviv.). Maisījumu izšķīdināja sausā DMF (2 mL), pievienoja DIPEA

(63 μ L; 0.3647 mmol; 3.00 ekviv.). Reakcijas maisījumu atstāja maisīties pa nakti istabas temperatūrā. Nākošajā dienā pievienoja pies. NH_4Cl šķīdumu un ekstrahēja ar EtOAc (3x30 mL). Organiskos slāņus mazgāja ar pies. NaHCO_3 šķīdumu (2x50 mL), tad pies. NaCl šķīdumu, žāvēja ar b.ū. Na_2SO_4 , filtrēja caur vati un ietvaicēja pazeminātā spiedienā. Maisījumu attīrīja ar tiešās fāzes hromatogrāfiju (eluents PE/EtOAc no 85/15 līdz 50/50; UV detektēšana pie 300 un 254 nm). Produktu saturošās frakcijas apvienoja un ietvaicēja, iegūstot produktu **rac-93** kā gaišas putas (21 mg; 29%). Savienojums iegūts kā ~1:1 diastereomēru maisījums.

^1H KMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.40 – 7.26 (m, 5H), 7.23 – 7.18 (m, 2H), 7.13 – 7.08 (m, 1H), 6.93 – 6.86 (m, 1H), 5.09 – 5.04 (m, 1H), 5.03 – 4.97 (m, 1H), 4.09 – 4.03 (m, 3H), 3.79 – 3.68 (m, 1H), 3.28 – 3.18 (m, 1H), 2.24 – 2.12 (m, 1H), 2.09 – 1.93 (m, 1H), 1.08 – 0.97 (m, 12H), 0.95 – 0.80 (m, 10H).

^{13}C KMR (100 MHz, CDCl_3): δ 174.7, 169.1, 160.7, 158.3, 154.3, 153.9, 144.9, 144.8, 139.8, 138.2, 138.1, 138.1, 137.1, 128.0, 127.8, 125.1, 122.8, 114.9, 114.7, 113.0, 112.9, 112.8, 110.9, 110.7, 88.0, 82.9, 70.6, 63.0, 55.7, 55.5, 43.3, 41.7, 40.9, 40.0, 35.9, 35.8, 31.9, 26.3, 23.9, 20.8, 19.1, 18.0, 17.5, 17.3, 15.7, 15.6, 14.7, 14.2. **AEŠH/MS** $[\text{M}+\text{H}]^+$ 602 m/z

SECINĀJUMI

1. Iegūti 5 jauni, vienkāršoti Diazonamīda A analogi.
2. Bromu oksazola 5. pozīcijā var aizvietot, izmantojot 3 dažādas metodes: nukleofīlu aromātisku aizvietošanu, nukleofīlu aromātisku aizvietošanu ar stipru bāzi, Bakvalda-Hārtviga aminēšanu.
3. Noteikts, ka Diazonamīda A struktūrā esošais tetracikls ietekmē ne tikai funkcionālo aktivitāti, bet ir svarīgs arī saistībai ar tubulīnu.

LITERATŪRAS SARAKSTS

- (1) Nicolaou, K. C.; Chen, D. Y.-K.; Huang, X.; Ling, T.; Bella, M.; Snyder, S. A. Chemistry and Biology of Diazonamide A: First Total Synthesis and Confirmation of the True Structure. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126* (40), 12888–12896.
<https://doi.org/10.1021/ja040092i>.
- (2) Wieczorek, M.; Tcherkezian, J.; Bernier, C.; Prota, A. E.; Chaaban, S.; Rolland, Y.; Godbout, C.; Hancock, M. A.; Arezzo, J. C.; Ocal, O.; u.c. The synthetic diazonamide DZ-2384 has distinct effects on microtubule curvature and dynamics without neurotoxicity. *Sci. Transl. Med.* **2016**, *8* (365), 365ra159-365ra159.
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag1093>.
- (3) Doyle, K. J.; Moody, C. J. Diazo-sulfones and -nitriles in oxazole synthesis; three step preparation of a bis-oxazole. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33* (50), 7769–7770.
[https://doi.org/10.1016/0040-4039\(93\)88041-G](https://doi.org/10.1016/0040-4039(93)88041-G).
- (4) Yagyu, T.; Takemoto, Y.; Yoshimura, A.; Zhdankin, V. V.; Saito, A. Iodine(III)-Catalyzed Formal [2 + 2 + 1] Cycloaddition Reaction for Metal-Free Construction of Oxazoles. *Org. Lett.* **2017**, *19* (10), 2506–2509.
<https://doi.org/10.1021/acs.orglett.7b00742>.
- (5) Meyers, A. I.; Lawson, J. P.; Walker, D. G.; Linderman, R. J. Synthetic studies on the streptogramin antibiotics. Enantioselective synthesis of the oxazole dienyl amine moiety. *J. Org. Chem.* **1986**, *51* (26), 5111–5123. <https://doi.org/10.1021/jo00376a011>.
- (6) Wappes, E. A.; Nakafuku, K. M.; Nagib, D. A. Directed β C–H Amination of Alcohols via Radical Relay Chaperones. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (30), 10204–10207.
<https://doi.org/10.1021/jacs.7b05214>.
- (7) Graham, T. H. A Direct Synthesis of Oxazoles from Aldehydes. *Org. Lett.* **2010**, *12* (16), 3614–3617. <https://doi.org/10.1021/ol101346w>.
- (8) Akai, S.; Sato, K.; Nagaya, A.; Yamagishi, Y.; Yonezawa, Y.; Shin, C. Scope and Limitations of a Modified Hantzsch Reaction for the Synthesis of Oxazole-Dehydroamino Acid Derivatives from Dehydroamino Acid Amides. *Heterocycles* **2012**, *85* (2), 313. <https://doi.org/10.3987/COM-11-12372>.
- (9) Goldberg, I. Ueber Phenylirungen bei Gegenwart von Kupfer als Katalysator. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1906**, *39* (2), 1691–1692.
<https://doi.org/10.1002/cber.19060390298>.
- (10) Monnier, F.; Taillefer, M. Catalytic C–C, C–N, and C–O Ullmann-Type Coupling Reactions. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2009**, *48* (38), 6954–6971.

- <https://doi.org/10.1002/anie.200804497>.
- (11) Wolfe, J. P.; Tomori, H.; Sadighi, J. P.; Yin, J.; Buchwald, S. L. Simple, Efficient Catalyst System for the Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Chlorides, Bromides, and Triflates. *J. Org. Chem.* **2000**, *65* (4), 1158–1174. <https://doi.org/10.1021/jo991699y>.
- (12) Anderson, K. W.; Tundel, R. E.; Ikawa, T.; Altman, R. A.; Buchwald, S. L. Monodentate Phosphines Provide Highly Active Catalysts for Pd-Catalyzed C–N Bond-Forming Reactions of Heteroaromatic Halides/Amines and (H)N-Heterocycles. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2006**, *45* (39), 6523–6527. <https://doi.org/10.1002/anie.200601612>.
- (13) Weichert, A.; Bauer, M.; Wirsig, P. Palladium(0) Catalyzed Cross Coupling Reactions of Hindered, Double Activated Aryl Halides with Organozinc Reagents - The Effect of Copper(I) Cocatalysis. *Synlett* **1996**, *1996* (05), 473–474. <https://doi.org/10.1055/s-1996-5445>.
- (14) Huang, J.; Chan, J.; Chen, Y.; Borths, C. J.; Baucom, K. D.; Larsen, R. D.; Faul, M. M. A Highly Efficient Palladium/Copper Cocatalytic System for Direct Arylation of Heteroarenes: An Unexpected Effect of Cu(Xantphos)I. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132* (11), 3674–3675. <https://doi.org/10.1021/ja100354j>.
- (15) Wagaw, S.; Yang, B. H.; Buchwald, S. L. A Palladium-Catalyzed Method for the Preparation of Indoles via the Fischer Indole Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (44), 10251–10263. <https://doi.org/10.1021/ja992077x>.
- (16) My Van, H. T.; Woo, H.; Jeong, H. M.; Khadka, D. B.; Yang, S. H.; Zhao, C.; Jin, Y.; Lee, E.-S.; Youl Lee, K.; Kwon, Y.; u.c. Design, synthesis and systematic evaluation of cytotoxic 3-heteroaryliisoquinolinamines as topoisomerases inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *82*, 181–194. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.05.047>.
- (17) Kwan, E. E.; Zeng, Y.; Besser, H. A.; Jacobsen, E. N. Concerted nucleophilic aromatic substitutions. *Nat. Chem.* **2018**, *10* (9), 917–923. <https://doi.org/10.1038/s41557-018-0079-7>.
- (18) Jeong, S.; Chen, X.; Harran, P. G. Macrocyclic Triarylethylenes via Heck Endocyclization: A System Relevant to Diazonamide Synthesis. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (24), 8640–8641. <https://doi.org/10.1021/jo981791e>.
- (19) Xiong, H.; Frietze, W.; Andisik, D. W.; Ernst, G. E.; Palmer, W. E.; Hinkley, L.; Varnes, J. G.; Albert, J. S.; Veale, C. A. Efficient synthesis of a 7-azabicyclo[2.2.1]heptane based GlyT1 uptake inhibitor. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (51), 6741–6744. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.10.079>.

- (20) Campos, K. R.; Klapars, A.; Waldman, J. H.; Dormer, P. G.; Chen, C. Enantioselective, Palladium-Catalyzed α -Arylation of N -Boc-pyrrolidine. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (11), 3538–3539. <https://doi.org/10.1021/ja0605265>.
- (21) McCann, L. C.; Organ, M. G. On The Remarkably Different Role of Salt in the Cross-Coupling of Arylzincs From That Seen With Alkylzincs. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2014**, *53* (17), 4386–4389. <https://doi.org/10.1002/anie.201400459>.
- (22) Shaw, M. H.; Shurtleff, V. W.; Terrett, J. A.; Cuthbertson, J. D.; MacMillan, D. W. C. Native functionality in triple catalytic cross-coupling: sp³ C-H bonds as latent nucleophiles. *Science (80-.)*. **2016**, *352* (6291), 1304–1308. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6635>.
- (23) Budén, M. E.; Bardagí, J. I.; Puiatti, M.; Rossi, R. A. Initiation in Photoredox C–H Functionalization Reactions. Is Dimsyl Anion a Key Ingredient? *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (16), 8325–8333. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00822>.
- (24) Zultanski, S. L.; Fu, G. C. Nickel-Catalyzed Carbon–Carbon Bond-Forming Reactions of Unactivated Tertiary Alkyl Halides: Suzuki Arylations. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135* (2), 624–627. <https://doi.org/10.1021/ja311669p>.
- (25) Dunsford, J. J.; Clark, E. R.; Ingleson, M. J. Direct C(sp²)–C(sp³) Cross-Coupling of Diaryl Zinc Reagents with Benzylic, Primary, Secondary, and Tertiary Alkyl Halides. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2015**, *54* (19), 5688–5692. <https://doi.org/10.1002/anie.201411403>.