

RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE

Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte
Organiskās ķīmijas tehnoloģijas institūts
Bioloģiski aktīvo savienojumu ķīmijas tehnoloģijas katedra

RIGA TECHNICAL UNIVERSITY

Faculty of Material Science and Applied Chemistry
Institute of Technology of Organic Chemistry
Department of Chemical Technology and Biological Active Compounds

Dmitrijs LUBRIKS

Organiskās ķīmijas doktora programmas doktorants

**mPGES-1 Inhibitoru dizains. Heteroaromātisko C–H saišu
aminēšanas un oksidēšanas metožu izstrāde**

Promocijas darba kopsavilkums

**Discovery of mPGES-1 inhibitors. Development of methods for C-H
acetoxylation and amination of (hetero)arenes**

Summary of Doctoral Thesis

Zinātniskais vadītājs

Dr. chem., profesors

E. SŪNA

Rīga 2015

Lubriks D. mPGES-1 Inhibitoru dizains. Heteroaromātisko C–H saišu aminēšanas un oksidēšanas metožu izstrāde.-R.:RTU, 2014.-44 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU P–O1 2014. gada 18. decembra lēmumu, protokols Nr. 1.

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu Nacionālās programmas „Atbalsts doktorantūras pētījumiem” projektā „Atbalsts RTU doktorantūras attīstībai” ietvaros.



EIROPAS SAVIENĪBA

Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda
(Nr. 2009/0203/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/023) atbalstu

ISBN

PROMOCIJAS DARBS
IZVIRZĪTS ĶĪMIJAS DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI
RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ

Promocijas darbs ķīmijas doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2015. g. 26. martā Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3, 272. telpā.

OFICIĀLIE RECENZENTI

Profesors, *Dr. chem.* M. Turks
Rīgas Tehniskā universitāte

Vadošais pētnieks, *Dr. chem.* A. Jirgensons
Latvijas Organiskās sintēzes institūts

Vadošais pētnieks, R. Zemribo, *Ph.D.*
Latvijas Organiskās sintēzes institūts

APSTIPRINĀJUMS

Apstiprinu, ka esmu izstrādājis doto promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē ķīmijas doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs nav iesniegts nevienā citā universitātē zinātniskā grāda iegūšanai.

Dmitrijs Lubriks(Paraksts)

Datums:

Promocijas darbs sagatavots kā vienots zinātnisko publikāciju un patentu kopums. To veido kopsavilkums, 3 publikācijas un 4 patenti.

SATURS / CONTENT

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS.....	6
1.1. Tēmas izklāsts, promocijas darba struktūra un apjoms.....	6
1.2. Pētījuma mērķis un uzdevumi.....	7
PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI.....	8
2.1. Mikrosomālās prostaglandīna sintāzes 1 (mPGES-1) inhibitoru izstrāde.....	8
2.1.1. Arahidonskābes metabolisms.....	8
2.1.2. Farmakoforais modelis.....	11
2.1.3. mPGES-1 Inhibitoru struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumi. Pirmās paaudzes farmakoforais modelis.....	13
2.1.4. Otrās paaudzes farmakoforā modeļa izstrāde.....	16
2.1.5. mPGES-1 inhibitoru sintēze.....	22
2.2. Sintēzes metožu izstrāde zāļvielu molekulu „vēlīnai modifikācijai”.....	26
2.2.1. Hipervalentā joda(III) ķīmijas pamatprincipi.....	27
2.2.2. Uz hipervalentā joda(III) savienojumiem balstīta C–H saišu aktivēšanas koncepcija.....	31
2.2.3. Elektronēm bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H oksidēšanas metode.....	32
2.2.4. Elektronēm bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H azidēšanas metode.....	33
2.2.5. Elektronēm bagātu aromātisko un heteroaromātisko savienojumu C–H aminēšanas metode.....	34
2.2.6. (Hetero)aromātisko savienojumu C-H funkcionalizācijas mehānisms.....	37
GALVENIE REZULTĀTI.....	41
SECINĀJUMI.....	42
GENERAL DESCRIPTION OF THE DISSERTATION THESIS.....	43
1.1. Description of the topic, structure and volume of the paper.....	43
1.2. Research objectives and tasks.....	44
PRINCIPAL RESULTS OF THE DISSERTATION.....	45
2.1. Development of microsomal prostaglandin synthase 1 (mPGES-1) inhibitors.....	45
2.1.1. Arachidonic acid metabolism.....	45
2.1.2. Pharmacophore model.....	48
2.1.3. SAR studies. First generation pharmacophore model.....	50
2.1.4. Development of second generation pharmacophore model.....	53
2.1.5. Synthesis of mPGES-1 inhibitors.....	59
2.2. Development of methods for "late-stage" modification of drug compounds.....	63

2.2.1. Hypervalent iodine(III) chemistry	64
2.2.2. C-H bond activation concept based on hypervalent iodine(III) compounds	68
2.2.3. C-H Oxidation method for electron-rich heteroarenes	69
2.2.4. C-H Azidation methodology for electron-rich heteroarenes	70
2.2.5. C-H Amination of electron rich arenes and heteroarenes.....	72
2.2.6. Mechanistic studies of the C-H functionalization of (hetero)arenes	74
GENERAL RESULTS.....	78
CONCLUSIONS.....	79
PUBLIKĀCIJAS UN PATENTI / PUBLICATIONS AND PATENTS	80

PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

1.1. Tēmas izklāsts, promocijas darba struktūra un apjoms

Farmaceutiskās industrijas, materiālzinātnes un citu starpdisciplināro zinātnes nozaru straujā attīstība pēdējās desmitgadēs ir būtiski ietekmējusi „tradicionālo” zinātnes nozaru pētījumu raksturu un virzienus. Tā, organiskajā ķīmijā pakāpeniski sāk dominēt pielietojama rakstura pētījumi, kuri vērsti uz citu, radniecīgo zinātnes nozaru problēmu risinājumiem. Tādējādi, līdztekus analītiskajai ķīmijai, arī organiskā ķīmija pakāpeniski pārvēršas par sava veida „instrumentu” jeb metodoloģiju kopumu starpdisciplināro zinātnes nozaru mērķu sasniegšanai. Piemēram, viens no svarīgākajiem organiskās ķīmijas pētījumu virzieniem ir jaunu sintēzes metodoloģiju izstrāde medicīnas ķīmijas, agroķīmijas un farmaceitiskās industrijas vajadzībām. Latvijā ķīmiski-farmaceutiskā nozare ir viens no prioritārajiem tautsaimniecības virzieniem, un tāpēc promocijas darbu izstrāde medicīnas ķīmijas jomā ir svarīgs ieguldījums nozares speciālistu sagatavošanā.

Promocijas darbu veido pielietojamo pētījumu kopums, un darbs veltīts medicīnas ķīmijas problēmu risināšanai. Viens no promocijas darbā iekļautajiem pētījumiem vērsts uz jauna darbības mehānisma nesteroidālo pretiekaisuma līdzekļu izstrādi, par farmakoloģisko mērķi izmantojot mikrosomālo prostaglandīna sintāzi 1 (mPGES-1). mPGES-1 sintēzes inhibitoru dizainā līdztekus tradicionālajiem struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumiem izmantota arī datormodelēšana. Farmakoforā datormodeļa izstrāde paātrināja potenciālo pretiekaisuma līdzekļu izstrādi, un darbs ir vainagojies ar vairākiem augsti efektīviem lidersavienojumiem tālākai virzībai *in vivo* pētījumos. Intelektuālais ieguldījums mPGES-1 inhibitoru izstrādē aizsargāts ar 4 starptautiskajiem patentiem.

Otrs promocijas darbā iekļautais pētījums vērsts uz jaunu organiskās sintēzes metožu izstrādi, kuras būtu piemērotas potenciālo zāļu vielu struktūras modifikācijai sintēzes shēmas pēdējās stadijās. Strukturālās daudzveidības radīšana pētāmajā bāzes struktūrā sintēzes beigu posmā jeb t.s. „vēlīnā modifikācija” ievērojami paātrina struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumus un racionalizē sintētisko darbu. Promocijas darba ietvaros ir izstrādātas uz C-H saites aktivāciju balstītas aromātisko un heteroaromātisko savienojumu reģioselektīvas aminēšanas un oksidēšanas metodes. Metodes balstās uz viena reaktora secīgu reakciju virkni un iekļauj sākotnēju C-H saišu aktivāciju, izmantojot hipervalentos joda(III) savienojumus un tālāku λ^3 -jodānu starpsavienojumu reakciju ar strukturāli daudzveidīgiem slāpekļa un skābekļa nukleofiliem. Izstrādātās metodes publicētas trijās zinātniskajās publikācijās.

Promocijas darbs sagatavots kā tematiski vienotu zinātnisko publikāciju un patentu kopums, un kopsavilkums sniedz paveiktā darba kopskatu. Publikācijas un patentu pieteikumi uzrakstīti angļu valodā.

1.2. Pētījuma mērķis un uzdevumi

Promocijas darbam ir divi savstarpēji saistīti **mērķi**:

1. plašas savienojumu bibliotēkas skrīninga rezultātā atrasto mPGES-1 sintāzes inhibitoru (*hit*) pārvērst par lidersavienojumu (*lead*) tā tālākai attīstībai par jauna darbības mehānisma nesteroidālo pretiekaisuma līdzekli;
2. izstrādāt jaunu sintēzes metodoloģiju potenciālo zāļvielu bāzes struktūras „vēlīnai modifikācijai”. Sintēzes metodoloģijas izstrāde balstāma uz C–H saišu aktivācijas pieeju, kura neprasa bāzes struktūras iepriekšēju modifikāciju un ļauj veikt tiešu C–H saišu apmaiņu pret C–O un C–N saitēm.

Darba mērķu īstenošanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

1. sintezēt strukturāli daudzveidīgus aktīvā savienojuma (*hit*) analogus un uz to bāzes izstrādāt pirmās paaudzes mPGES-1 inhibitoru farmakoforo datormodeli;
2. uzlabot farmakoforo datormodeli un veikt struktūras –aktivitātes likumsakarību pētījumus;
3. izmantot optimizēto farmakoforo modeli virtuālo mPGES-1 inhibitoru aktivitātes prognozei; sintezēt prognozētos aktīvākos savienojumus un pārbaudīt to bioloģisko aktivitāti;
4. izstrādāt metodi elektroniem bagātu heteroaromātisko savienojumu reģioselektīvai C–H oksidēšanai, izmantojot hipervalentos joda(III) savienojumus;
5. izstrādāt metodi elektroniem bagātu heteroaromātisko savienojumu reģioselektīvai C–H azidēšanai un C–H aminēšanai, izmantojot hipervalentos joda(III) savienojumus un Cu(I) sāļu katalīzi.

PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI

2.1. Mikrosomālās prostaglandīna sintāzes 1 (mPGES-1) inhibitoru izstrāde

2004. Gadā aptiekas pārtrauca tirgot vairākus pretiekaisuma līdzekļus, piemēram, rofekoksibu, jo šī preparāta ilgstoša lietošana daudziem pacientiem izraisīja smagas, bieži pat letālas kardiovaskulāras komplikācijas. Jāatzīmē, ka rofekoksiba pārdošanas apjomi 2003. gadā sasniedza 2,5 miljardus ASV dolāru, liecinot par pretiekaisuma līdzekļu augsto pieprasījumu. Lai aizstātu no pārdošanas atsauktos preparātus, daudzas pasaules vadošās farmaceitiskās kompānijas uzsāka jaunas darbības mehānisma pretiekaisuma līdzekļu izstrādes pētījumus.

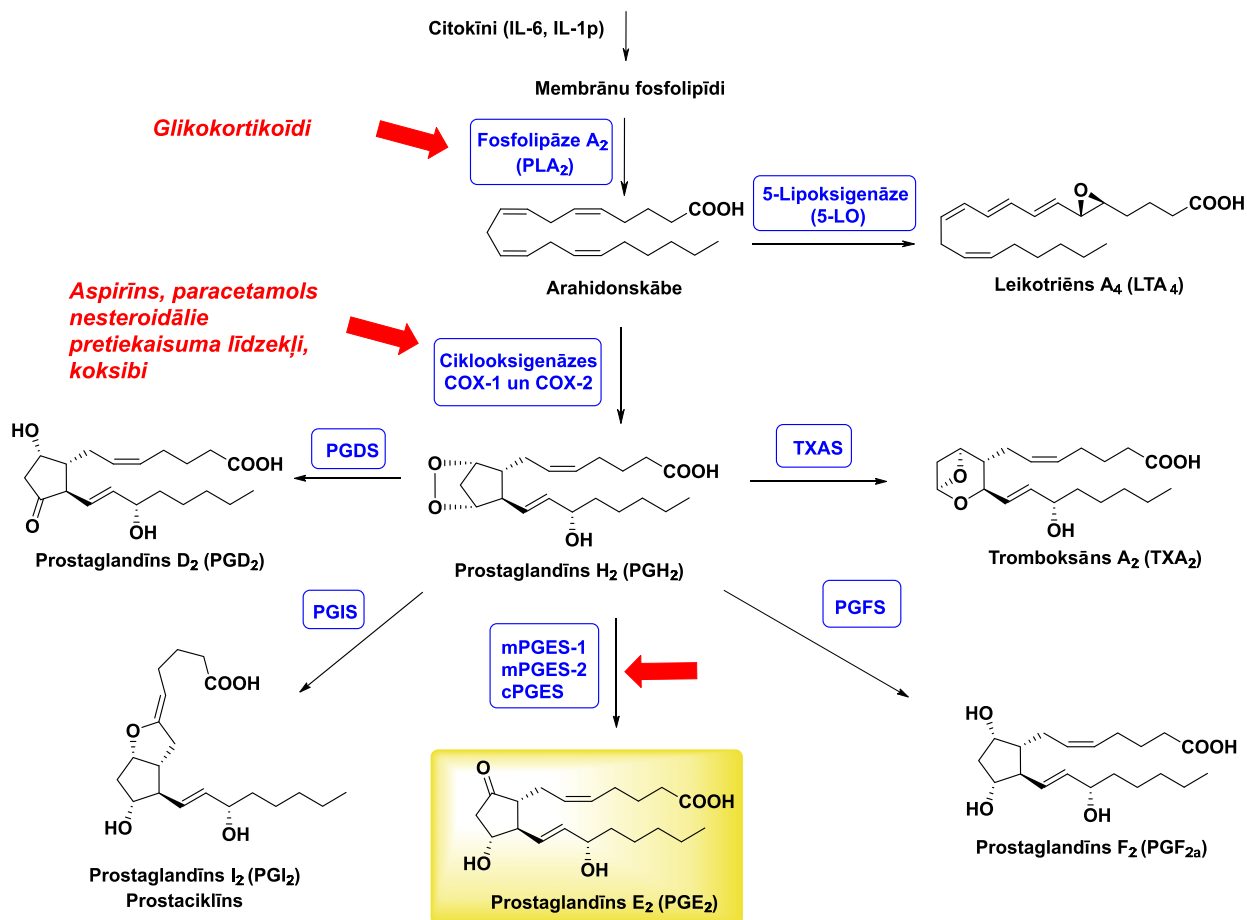
2.1.1. Arahidonskābes metabolisms

Vairumam no mūsdienās lietotajām nenarkotiskajām pretiekaisuma, pretdrudža un pret sāpju zāļvielām farmakoloģiskās darbības mehānisms ir saistīts ar prostaglandīna PGE₂ veidošanās inhibēšanu. Prostaglandīns PGE₂ ir nepiesātinātās taukskābes – arahidonskābes (AA) metabolīts, kurš audos pastiprināti veidojas dažādu kaitīgu faktoru (mehānisku, ķīmisku, termisku, neirālu vai humorālu) ietekmē. Prostaglandīna PGE₂ uzkrāšanās audos ir saistīta arī ar sāpju rašanos, jo PGE₂ paaugstina nociceptoru (sāpju receptoru) jutību pret kairinātājiem, līdz ar to izsaucot hiperalgēziju. PGE₂ ietekmē notiek arī asinsvadu paplašināšanās, palielinās kapilāru sienu caurlaidība, un rodas tūska – pazīmes, kuras raksturīgas iekaisumam. Tādēļ prostaglandīnu PGE₂ uzskata par iekaisuma mediatoru.

Prostaglandīna PGE₂ veidošanos principā iespējams kavēt dažādos arahidonskābes metabolisma posmos (1. att.). Piemēram, glikokortikoīdi (prednizolons, metilprednizalons 2. att.) ar proteīna lipokortīna-1 starpniecību bloķē Fosfolipāzi A₂ (PLA₂), tādējādi kavējot pašas arahidonskābes veidošanos. Vairums zāļvielu tomēr ir mērķētas uz ciklooksigenāžu, sevišķi iekaisuma jeb inducējamā izoenzīma COX-2 inhibēšanu (aspirīns, paracetamols, nesteroidālie pretiekaisuma līdzekļi (NPL), piemēram, *ibuprofēns*, *diklofenaks* kā arī t.s. koksībi – *celekoksībs* un *rofekoksībs*; sk. 2. att.). Interesanti, ka COX-2 darbojas kā mPGES-1 kokatalizators un mediators. Normālos fizioloģiskos apstākļos mPGES-1 līmenis ir ļoti zems. Turpretim, paaugstinoties COX-2 koncentrācijai, attiecīgi palielinās arī mPGES-1 koncentrācija, kas nodrošina strauju PGE₂ veidošanos.

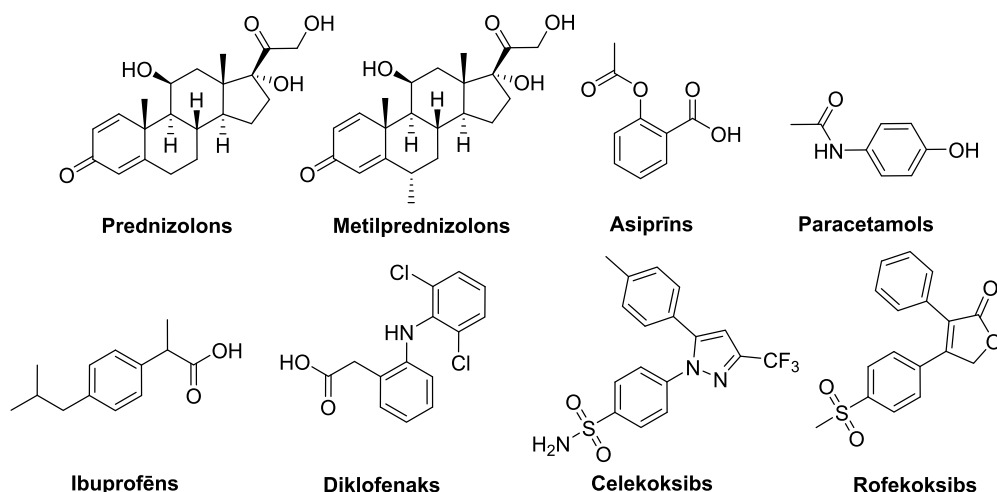
Būtiski, ka praktiski visām līdz šim lietotajām pretiekaisuma zāļvielām raksturīgas ievērojamas blaknes. To cēlonis ir citu arahidonskābes metabolītu – leukotriēnu (LTA₄), tromboksāna (TXA₂) un pārējo prostaglandīnu (PGF_{2a}, PGD₂ un PGI₂) biosintēzes inhibēšana. Arahidonskābes metabolīti ir bioregulatori daudzos fizioloģiski svarīgos procesos. Tie ietekmē

sirds-asinsvadu, gremošanas, elpošanas un reproduktīvo sistēmu, un to biosintēzes kavēšana var izraisīt nevēlamas fizioloģiskas sekas. Interesanti, ka arahidonskābes metabolītiem bieži ir pretēji fizioloģiskie efekti. Tromboksāns A_2 (TXA_2) sašaurina asinsvadu sienīgas un paaugstina arteriālo spiedienu, bet prostaglandīns I_2 (PGI_2) izraisa pretējo efektu – paplašina asinsvadus. TXA_2 un PGI_2 antagonistiskie efekti izpaužas arī iedarbībā uz asins sarecēšanu: TXA_2 ir spēcīgs trombocītu agregācijas induktors, bet PGI_2 kavē trombocītu agregāciju un adhēziju. Līdzīgi, prostaglandīni $PGF_{2\alpha}$ un PGD_2 izraisa bronhu sašaurināšanos, bet prostaglandīnam PGE_2 raksturīgs bronholītiskais efekts.



1. att. Arahidonskābes metabolisms

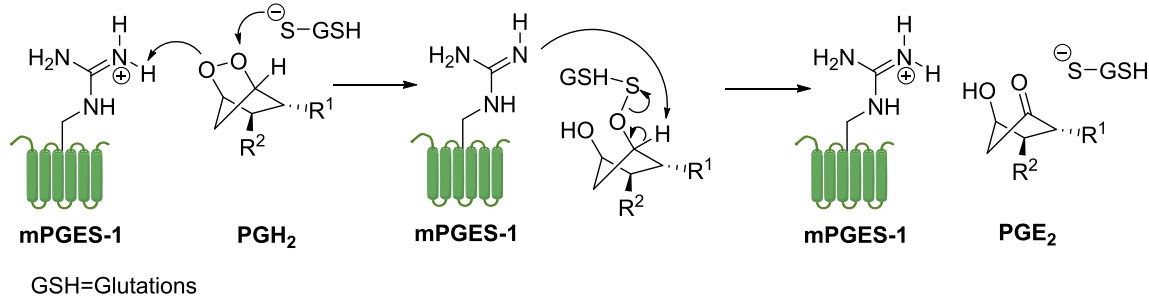
Ar prostaglandīna PGE_2 biosintēzes neselektīvo inhibēšanu saistītās blaknes ir bijušas par cēloni vairāku plaši lietotu pretiekaisuma un pretspāpju zāļu atsaukšanai no tirgus. Piemēram, 2004. gadā aptiekas pārtrauca tirgot COX-2 inhibitoru rofekoksibu, jo daudziem pacientiem šī preparāta ilgstoša lietošana izraisīja smagas, bieži pat letālas kardiovaskulāras komplikācijas.



2. att. Reprezentatīvi pretiekaisuma līdzekļi

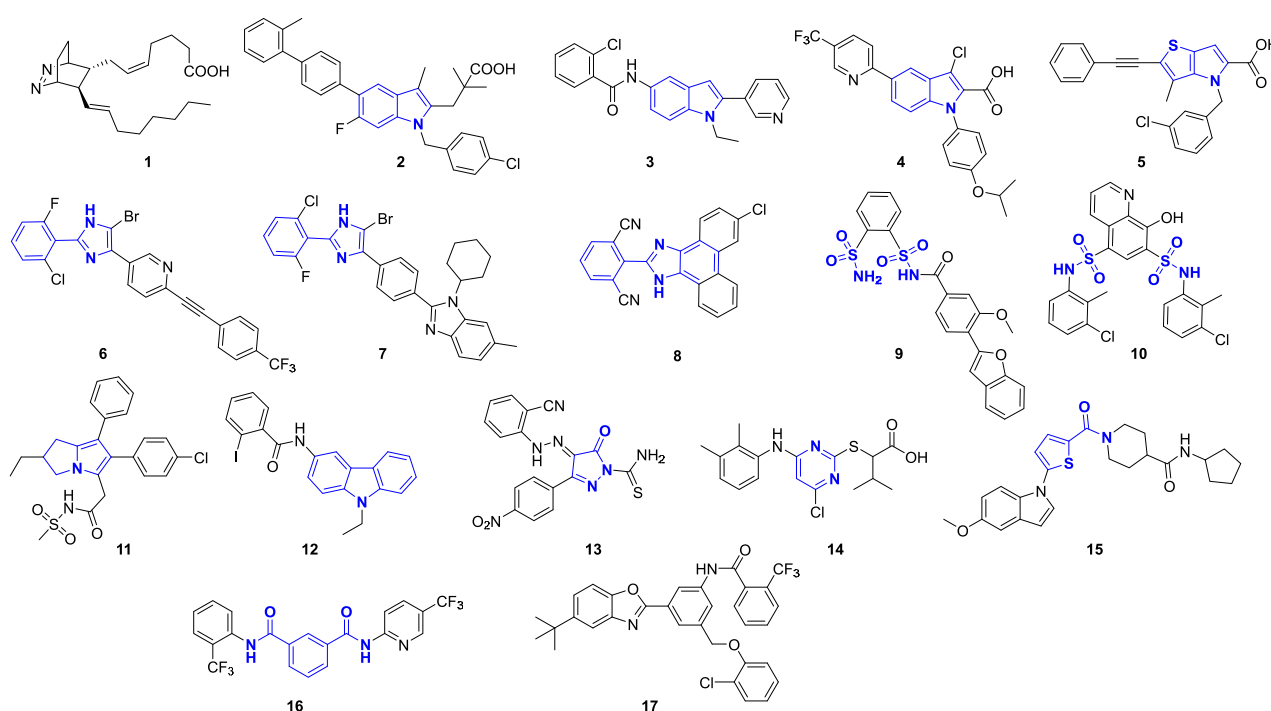
Arahidonskābes metabolisma kaskādes analīze (1. att.) rāda, ka iekaisuma mediatora PGE_2 biosintēzi var inhibēt selektīvi, iedarbojoties uz mPGES-1. PGES Fermentu grupu veido citosolā lokalizētais ferments cPGES un membrānsaistītie proteīni mPGES-1 un mPGES-2, kuri katalizē PGH_2 pārvēršanu par PGE_2 . Jāatzīmē, ka cPGES un mPGES-2 ir pastāvīgi funkcionējošie enzīmi, kuri nodrošina homeostatisko PGE_2 līmeni. Turpretī mPGES-1 sintāze ir inducējama enzīms, kura pastiprinātu ekspresiju izraisa COX-2 līmeņa paaugstināšanās iekaisuma faktoru ietekmē. Tāpēc mPGES-1 ir piemērots terapeitiskais mērķis pretiekaisuma, pretkrampju un pretspāņu zāļu izstrādei.

Cilvēka mPGES-1 sintāzes un glutationa (GSH) kompleksa struktūra ir noteikta ar rentgenstruktūras difrakcijas metodi (3.5 Å izšķirtspēja). Cilvēka mPGES-1 sastāv no 3 vienādām subvienībām, un katru subvienību veido 4 transmembrānas spirāles. Kompleksa uzbūves noskaidrošana ļāva izprast mPGES-1 lomu PGH_2 pārvērtībā par PGE_2 . Tā, sākotnēji notiek GSH tiolāta anjona uzbrukums PGH_2 endoperoksīda C-9 skābeklim. Uzbrukumam seko protona pārnese no mPGES-1 sintāzes (Arg-126) uz C-11 skābekli, un veidojas hidroksilgrupa. Kaskādes reakcijas noslēgumā mPGES-1 sintāze (Arg-126) deprotonē C-9 oglekli, veidojot ketonu un reģenerējot GSH tiolāta anjonu (3. att.).



3. att. Postulētais mPGES-1 katalizētas PGE_2 veidošanās mehānisms

Uz PGE₂ biosintēzes mehānismu tika balstīts vairāku mPGES-1 inhibitoru dizains. Piemēram, prostaglandīnam PGH₂ strukturāli līdzīgajā modificētajā taukskābē **1** peroksīda cikls aizstāts ar biciklu (4. att.). Tomēr lielākajai daļai no mPGES-1 inhibitoriem nav acīmredzamas strukturālas līdzības ar endogēno substrātu PGH₂. Starp visplašāk sastopamajiem mPGES-1 inhibitoru struktūrelementiem jāatzīmē indola un tam radniecīgā tienopirola heterocikli (Kanādas firmas *Merck Frosst* radītais indola atvasinājums **2**, Itālijas uzņēmumā *Aziende Chimiche Riunite* izstrādātais savienojums **3**, Zviedrijas uzņēmuma *Biolipox(Orexo)* un Latvijas OSI kopīgi izstrādātie indols **4** un tienopirols **5**), 2-arilimidazoli un 2-arilbenzimidazoli (imidazols **6**, Vācijas uzņēmuma *Boeringer-Ingelheim* radītais diarilimidazola atvasinājums **7**, benzimidazols **8**), kā arī sulfonamīda funkcionālo grupu saturoši mPGES-1 inhibitori (Zviedrijas uzņēmumā *ASTRA ZENACA* izstrādātais bis-sulfonamīds **9** un *Biolipox(Orexo)/LOSI* radītais bis-sulfonamīds **10**). Starp patentētajiem mPGES-1 inhibitoriem jāpiemin arī trešajā klīnisko pētījumu fāzē esošais *licofelons* **11**, karbazola atvasinājums **12**, 2,4-dihidro-pirazolons **13**, pirimidīna atvasinājums **14**, tienilkarbonskābes amīds **15**, Zviedrijas kompānijas *NOVA-SAID* izstrādātais izoftalskābes diamīds **16** un benzoksazols **17** (4. att.).



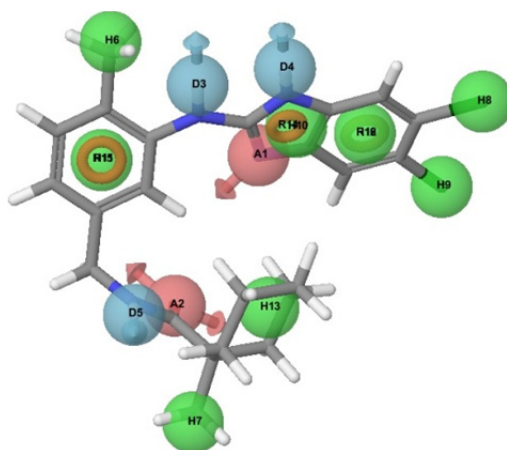
4. att. Patentētie mPGES-1 inhibitori

2.1.2. Farmakoforais modelis

Lai paātrinātu zāļvielu izstrādi un paaugstinātu sintēzes darba mērķtiecību, medicīnas ķīmijā plaši izmanto datormodelēšanu. Datormodeļi ļauj kvantitatīvi paredzēt ķīmisko savienojumu un mērķproteīna saistības efektivitāti un sniedz informāciju par mērķproteīna–liganda mijiedarbības

telpiskajiem, fizikālajiem un ķīmiskajām raksturlielumiem. Datormodeļu izstrādei visbiežāk izmanto savienojuma receptorsaistības (aktivitātes) raksturlielumus, kurus korelē ar savienojuma trīsdimensiju struktūru vai specifiski izvēlētiem struktūrelementiem, izmantojot matemātiko statistiku. Šādi iegūst t.s. kvalitatīvos struktūras-aktivitātes kopsakarību (*Quantitative Structure-Activity Relationship* jeb *QSAR*) modeļus. QSAR apzīmējums bieži tiek lietots plašākā nozīmē, ar to apzīmējot jebkuru „struktūras-īpašības” modeli. Starp plašāk lietotajiem QSAR modeļiem ir t.s. farmakoforie modeļi, kuri īpaši noderīgi nenoskaidrotas struktūras mērķproteīnu gadījumā.

Farmakoforā modeļa struktūrelements ir farmakofors – zāļvielas fragments vai funkcionālā grupa, kura nodrošina receptorsaistību. Piemēram, farmakofors var būt spirta vai amīna funkcionālā grupa, aromātiskais cikls vai karboksilāta anjons. Katra farmakofora (un arī zāļvielu molekulas) stēriskās un elektroniskās īpašības apraksta ar deskriptoriem. Deskriptors ir, piemēram, ūdeņraža saites donora vai akceptora veidošanās virziens, hidrofobās virsmas laukums, aizvietotāja dipolmomenta vērsums, lādiņš, rezonanses formas, aromātiskās π -sistēmas esamība u.c. funkcijas. Vienam farmakoforam parasti cenšas atrast pēc iespējas vairāk dažādu deskriptoru, lai ar matemātiskās analīzes palīdzību atrastu visām analizējamajām zāļvielu molekulām kopīgos deskriptorus. Piemēram, aromātiskā π -sistēmas esamība ir deskriptors. Tomēr zināms, ka aromātiskiem gredzeniem piemīt hidrofobas īpašības, tādēļ aromātiskajos gredzenos kā papildus deskriptors tiek izmantota hidrofobā virsma (5. att.).



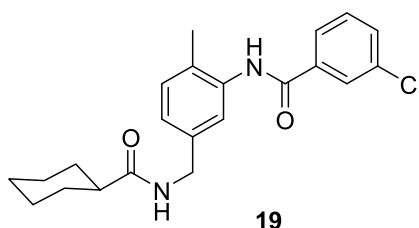
5. att. Farmakoforais modelis (aromātiskiem gredzeniem pievieno hidrofobo īpašību; zaļas-hidrofobas, sarkanas-protonu akceptoras, zilas-protonu donoras īpašības, oranžas-aromātiskā π -sistēmas esamība)

Farmakofora modeli parasti ģenerē, izmantojot ligandu kopumu ar eksperimentāli iepriekš noteiktu afinitāti pret mērķproteīnu. Viss ligandu kopums tiek nejaušā kārtībā sadalīts divās grupās: darba grupā un testa grupā (*training set*). Grupas var būt gan skaitliski vienādas, gan atšķirīgas. Darba grupu izmanto, lai izveidotu farmakoforo modeli, bet testa grupu – lai pārbaudītu izveidotā modeļa spēju prognozēt afinitāti. Sākotnēji katrai darba grupas molekulai tiek aprēķinātas zemākās

enerģijas konformācijas, kuras pieņem par bioaktīvajām konformācijām. Turpmākā modeļa izstrādes mērķis ir atrast pēc iespējas vairāk deskriptorus, kuri raksturīgi visiem *aktīvajiem* ligandiem, bet iztrūkst visām darba grupas *neaktīvajām* molekulām. Modeļa izstrādes gaitā tiek ģenerētas daudzas farmakoforu modeļu hipotēzes, kuru precizitātes pārbaudei izmanto testa grupu. Vislabākās farmakoforā modeļa hipotēzes spēj pareizi prognozēt testa grupā esošo molekulu saistības afinitāti 70-85% gadījumos, un tas ir ļoti labs rādītājs. Izveidoto farmakoforo modeli tālāk pielieto, lai prognozētu konstruējamo ligandu saistības afinitāti.

2.1.3. mPGES-1 Inhibitoru struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumi. Pirmās paaudzes farmakoforais modelis

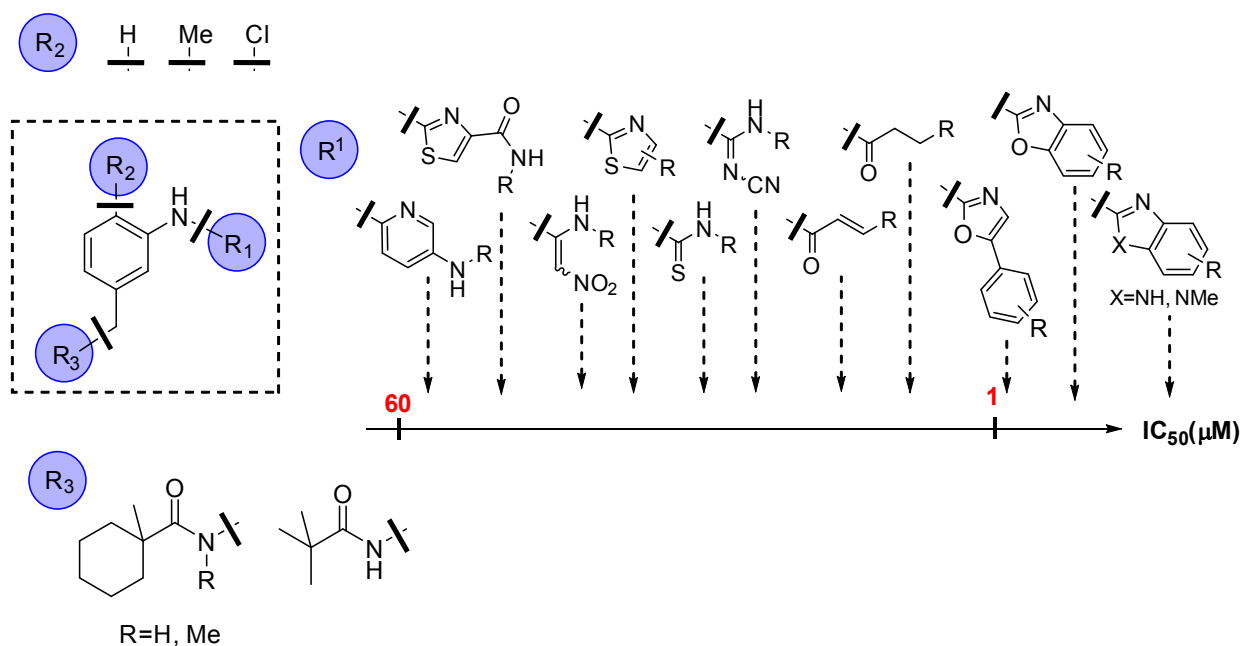
Jaunu patentspējīgu mPGES-1 inhibitoru izstrādes programmas pamatā bija plašas savienojumu bibliotēkas (~ 2 milj. individuālu ķīmisko vielu) skrīninga rezultātā atrasts aktīvs savienojums (*hit*) – acilēts aminometilanilīns **19** ar $IC_{50}=832$ mM inhibējošo aktivitāti pret mPGES-1 (6. att.). Augstas caurlaides spējas skrīnings tika veikts Vācijas uzņēmumā *Boehringer Ingelheim*. Lai atvieglotu un paātrinātu jaunu mPGES-1 inhibitoru izstrādi un paaugstinātu sintēzes darba mērķtiecību, aktīvā savienojuma attīstīšanai par t.s. „līdersavienojumu” jeb „*hit-to-lead*” programmai nolēmām pielietot kompleksu pieeju: tradicionālos struktūras-aktivitātes likumsakarību (SAR) pētījumus apvienojām ar datormodelēšanu. Tā kā darba uzsākšanas brīdī trūka informācijas par savienojuma **19** saistības vietu ar enzīmu, kā arī par mPGES-1 un liganda-enzīma kompleksa uzbūvi, no plašā QSAR datormodeļu klāsta izvēlējāmies farmakoforo modelēšanu, kura īpaši noderīga nenoskaidrotas struktūras mērķproteīnu gadījumā. Farmakofora modeļa izmantošana ļauj prognozēt inhibējošo aktivitāti un sniegt informāciju par enzīma–liganda mijiedarbību.



6. att. Savienojumu bibliotēkas aktivitātes pārbaudē atrastais aktīvais savienojums **19**

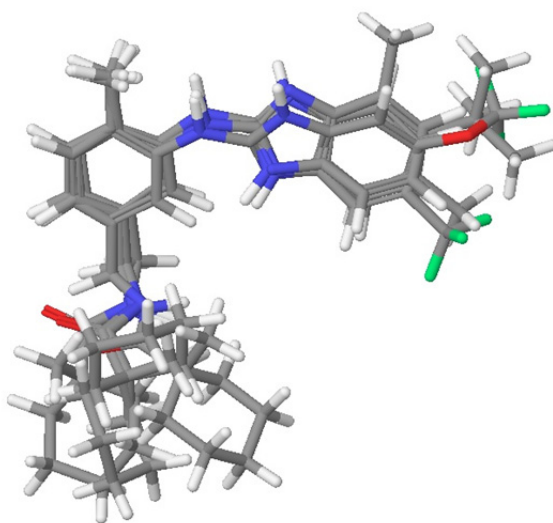
Farmakoforā modeļa izstrādei nepieciešams strukturāli daudzveidīgs ligandu klāsts ar eksperimentāli noteiktu katra liganda afinitāti pret mērķproteīnu. Tādēļ sākotnēji sintezējām plašu liganda **19** analogu klāstu ar dažādiem aizvietotājumiem R^1 , R^2 un R^3 centrālajā gredzenā. Kopumā sintezējām 120 savienojumus, kuriem noteiktā inhibējošā aktivitāte pret mPGES-1 bija robežās no $IC_{50}=1$ μ M līdz pat $IC_{50}=60$ μ M. Visaktīvākie ligandi ar submikromolāro inhibējošo koncentrāciju

saturēja 2-aminooksazola, 2-aminobenzoksazola un 2-aminobenzimidazola struktūrelementus (7. att.).



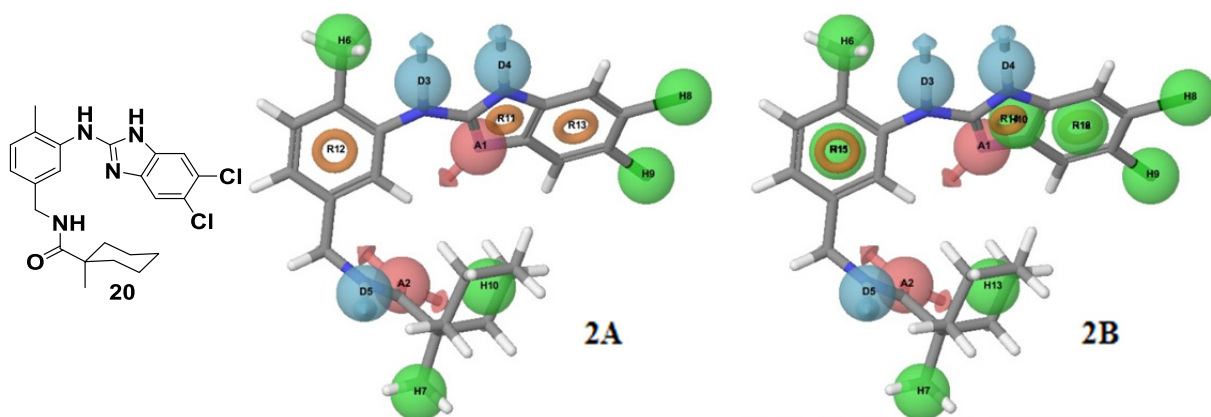
7. att. Farmakoforā modeļa izveidei un sākotnējiem SAR pētījumiem sintezētie savienojumi

No sintezētā 120 savienojumu klāsta 60 savienojumi bija neaktīvi ($IC_{50} > 10 \mu M$), 35 savienojumiem piemita vidēja inhibējošā aktivitāte (IC_{50} robežās no 1 līdz $10 \mu M$), bet 25 ligandi bija aktīvi, jo to inhibējošā aktivitāte bija zemāka par $1 \mu M$. Farmakoforā modeļa darba datubāzes izveidei izvēlējamies 15 visaktīvākās struktūras un 15 visneaktīvākās. Ar *Schroedinger Suite 2012* programmu izvēlētajiem 30 savienojumiem aprēķinājām zemākās enerģijas konformācijas un veicām aprēķināto struktūru savietošanu, izmantojot *Schroedinger* programmu paketē iebūvēto *Maestro 9.3* superpozīcijas funkciju (8. att.).



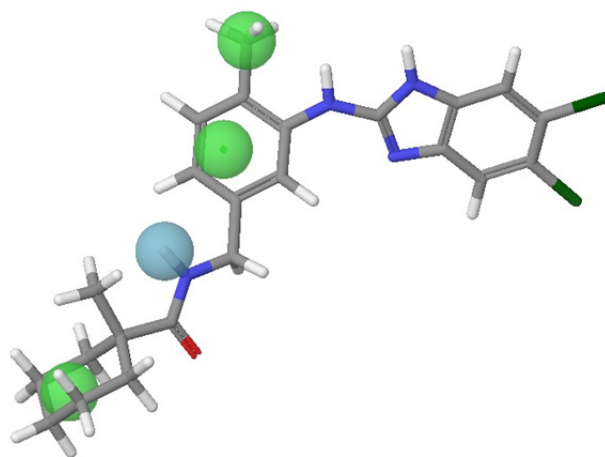
8. att. Vairāku darba datubāzes struktūru superpozīcija

Tālāk, izmantojot *Phase 3.7* moduli, katram savienojumam atradām farmakoforus, kuru īpašības aprakstam izmantojām deskriptorus (9. att.; ligandam **20** automātiski ģenerētais deskriptoru komplekts attēlots struktūrā **2A**). *Phase* modulī iebūvētais deskriptoru redaktors ļauj mainīt gan programmas ģenerētos deskriptorus, gan arī pievienot jaunus. Aromātiskiem gredzeniem piemīt hidrofobās īpašības, un, lai uzlabotu aromātiska gredzena farmakofora efektivitāti, tā raksturošanai pievienojam hidrofobitāti kā jaunu deskriptoru (9. att., struktūra **2B**). Pēc darba datubāzes skenēšanas ieguvām jaunu datubāzi ar savienojumu farmakoforiem un to deskriptoriem.



9. att. Ligandam **20** atrastie deskriptori (zaļa krāsa–hidrofobitāte, sarkanā–protonu akceptors, zilā–protonu donors, oranžā–aromātiskā π -sistēma)

Pēc farmakoforu deskriptoru ģenerēšanas veicām statistiskos aprēķinus, lai atrastu pēc iespējas vairāk deskriptorus, kuri raksturīgi visiem *aktīvajiem* ligandiem, bet iztrūkst visām *neaktīvajām* molekulām. Modeļa izstrādes gaitā tika ģenerētas 240 farmakoforā modeļa hipotēzes. Tālāk modeļu hipotēzēm pārbaudījām spēju prognozēt savienojumu aktivitāti, proti, spēju sadalīt visus 120 sintezētos savienojumus 3 grupās: aktīvajos, vidēji aktīvajos un neaktīvajos savienojumos. Jo lielāks ir aktīvo savienojumu skaits, kuriem farmakoforu īpašības (rādiuss, vektors, tilpums) sakrīt ar analizējamā modeļa attiecīgo farmakoforu īpašībām un jo mazāka ir vidējā kvadrātiskā novirze no modeļa, jo labāks ir modelis. Pārbaudes rezultātā nonācām pie farmakoforā modeļa, kurš balstās uz četriem farmakoforajiem punktiem: vienu ūdeņraža saites donoru un trijām hidrofobā tipa mijiedarbībām (10. att.). Atrastais farmakofora modelis sintezēto 120 savienojumu klāstā identificēja visus 25 aktīvos savienojumus, tos atlasot no neaktīvajiem un vidēji aktīvajiem. Tomēr modelis nepareizi prognozēja 17 vidējās aktivitātes savienojumus un 5 neaktīvos savienojumus.

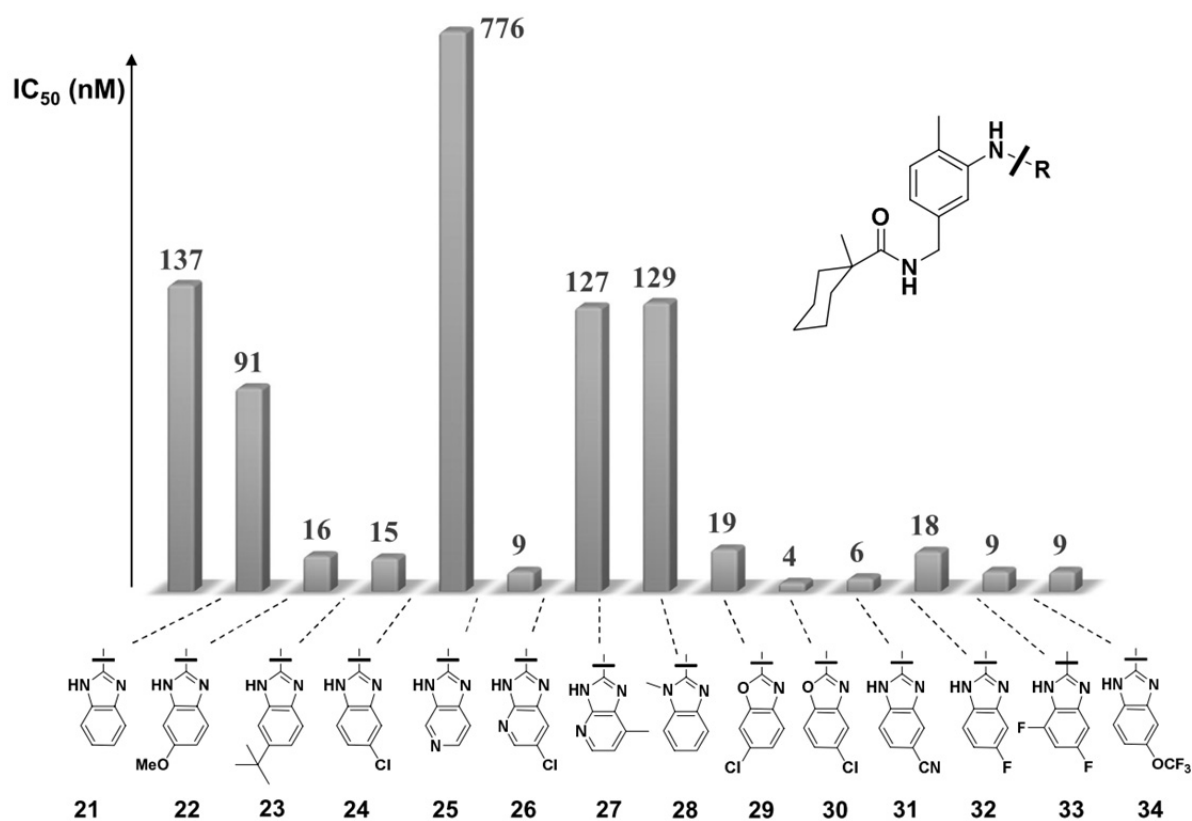


10. att. Pirmās paaudzes farmakoforais modelis

2.1.4. Otrās paaudzes farmakoforā modeļa izstrāde

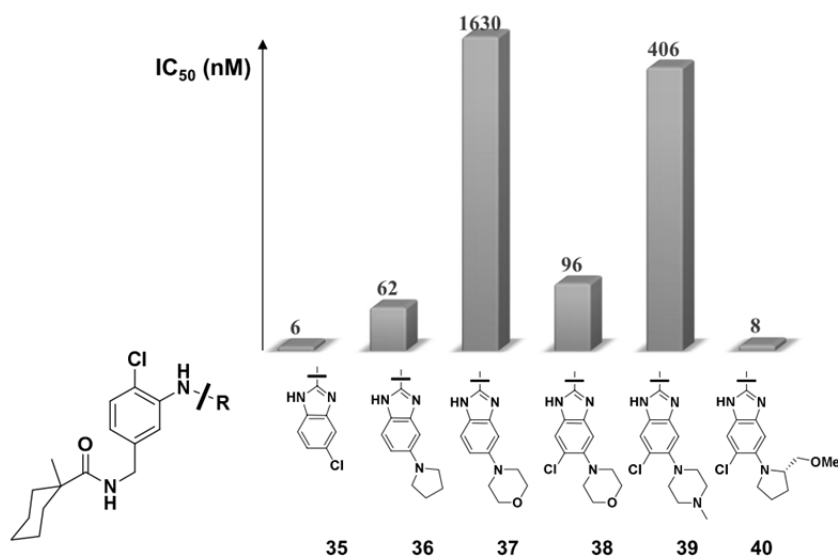
Izveidotā farmakoforā modeļa precizitātes uzlabošanai nolēmām ieviest papildus farmakoforus. Modeļa pilnveidošana ļautu precīzāk atlasīt neaktīvus un vidēji aktīvus ligandus. Jaunu farmakoforu identificēšana būtu jāveic heterocikla (benzimidazola, benzoksazola) daļā, kurā acīmredzami trūkst farmakoforo punktu (10. att.). Turklāt SAR likumsakarību analīze liecina, ka 2-aminobenzimidazola vai 2-aminobenzoksazola struktūrelementa ievadīšana ļauj iegūt mPGES-1 inhibitorus ar submikromolāru aktivitāti (7. att.). Tādēļ turpmākajā pētījumu posmā pievērsāties benzazolu heterociklus saturošu ligandu sintēzei.

Sintezējot virkni 2-aminobenzimidazolu **21-34**, noskaidrojām, ka lipofīlu aizvietotāju ievadīšana benzimidazola 5. stāvoklī heterociklā uzlaboja mPGES-1 inhibējošo aktivitāti (savienojumi **23-24**, **32-34** salīdzinājumā ar neaizvietoto benzimidazolu **21**; sk. 11. att). Polārā slāpekļa atoma ievadīšana benzimidazola 5. pozīcijā samazināja inhibējošo aktivitāti (savienojums **25**), bet benzimidazoli ar slāpekļa atomu 4. pozīcijā saglabāja augsto inhibējošo aktivitāti (savienojums **26**, 11. att.). Noskaidrojām, ka ūdeņraža saites donora klātbūtne benzimidazola fragmentā neietekmē inhibējošo aktivitāti, kura *N*-H benzimidazoliem **21**, **24** un to struktūranalogiem – *N*-metilbenzimidazolam **28** un benzoksazoliem **29-30** praktiski ir vienāda.



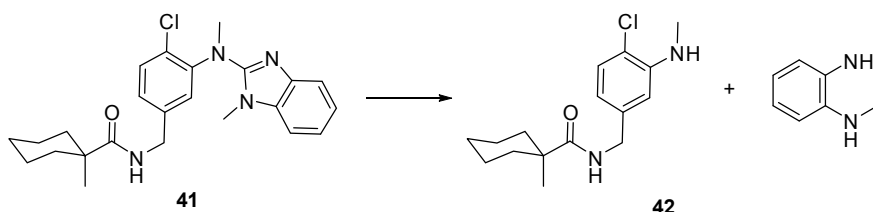
11. att. mPGES-1 inhibitoru struktūras-aktivitātes likumsakarības benzazolu **21-34** rindā

Telpiski lielāku lipofilo aizvietotāju ievadīšana benzimidazolā kopumā saglabāja augsto inhibējošo aktivitāti (savienojumi **36**, **40**), liecinot par to, ka benzimidazolu 5. un 6. pozīcijas apgalā enzīmā aktīvajā centrā ir salīdzinoši liela telpiskā brīvība (11. att.). Polārie heteroatomi ievērojami samazina inhibējošo aktivitāti (savienojumi **37**, **39** salīdzinot ar **36**, **38** un **40**), kas liecina par šajā apgalā dominējošo lipofilo sadabību starp ligandu un mPGES-1.



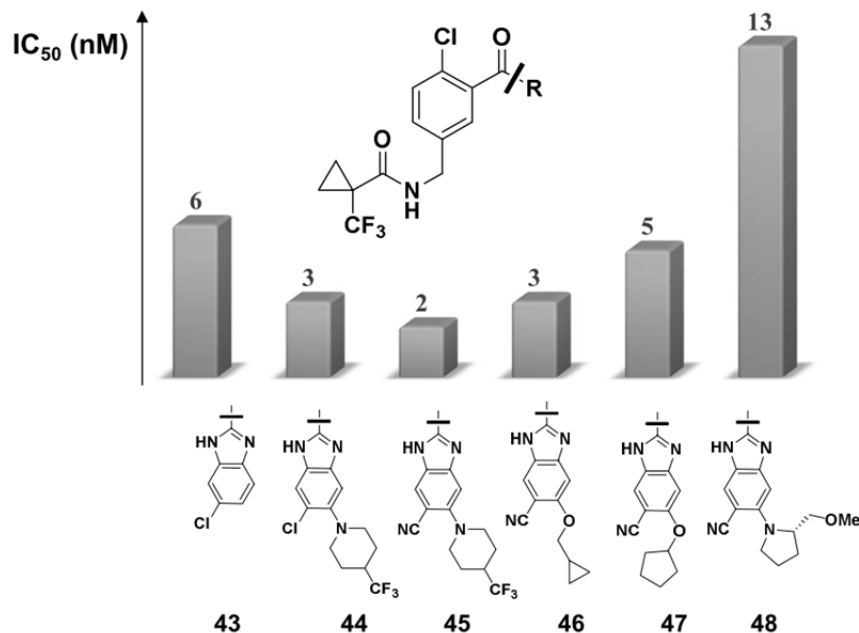
12. att. mPGES-1 inhibitoru struktūras-aktivitātes likumsakarības aminobenzimidazolu **35-40** rindā

Saskaņā ar pirmās paaudzes farmakoforā modeļa hipotēzi (10. att.) slāpekļa atoma tiltniņš starp centrālo benzola gredzenu un benzimidazola heterociklu nav farmakoforais elements, un tāpēc tā aizvietošana pakāpei nebūtu jāietekmē mPGES-1 inhibējošā aktivitāte. Lai pārbaudītu farmakoforā modeļa pareizību, otrējo amīna grupu tiltniņā nolēmām aizstāt ar trešējo amīna grupu, kā arī ar ketogrupu. Diemžēl sintezētais trešējais amīns **41** izrādījās ārkārtīgi nestabils, un reakcijā ar gaisa mitrumu tas spontāni sadalījās par *N*-metilanilīnu **42** un *N*-metilfenilēndiamīnu (13. att.).



13. att. Aminobenzimidazola **41** sadalīšanās

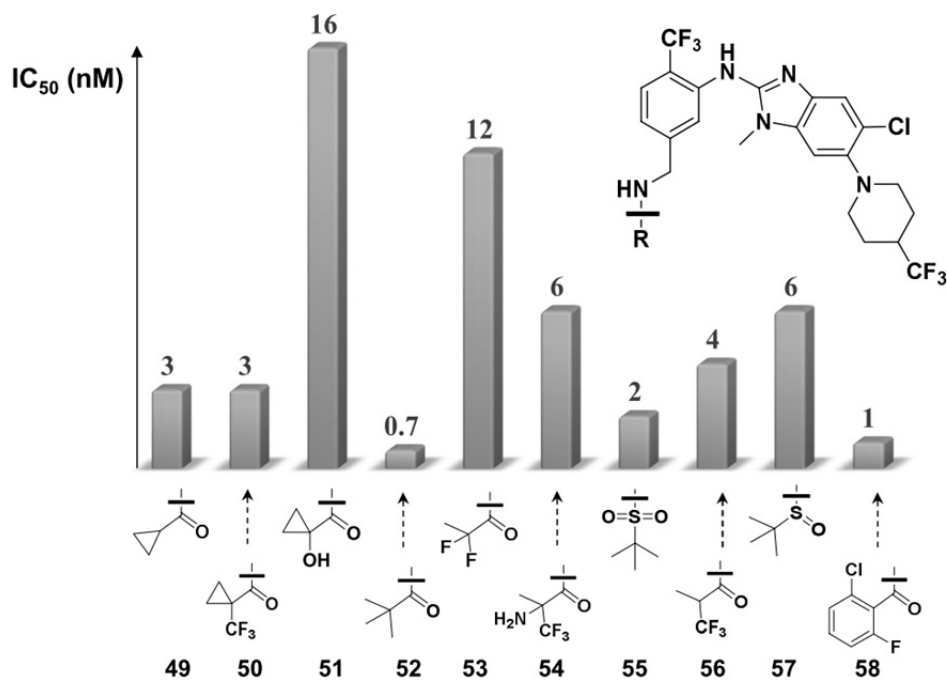
Savukārt ketogrupas tiltniņu saturošie savienojumi ir stabili, turklāt tie nodrošina nanomolārā līmeņa inhibēšanas aktivitāti (14. att.), kas apstiprina 1. paaudzes farmakoforā modeļa pareizību: tiltniņš starp centrālo gredzenu un benzimidazola fragmentu nenodrošina receptoraistību un, tāpēc, nav farmakoforais elements. Aktīvākie sērijas savienojumi satur izteikti lipofīlus aizvietotājus benzimidazola gredzenā **43-48** (14. att.).



14. att. Ketoatvasinājumu **43-48** mPGES-1 inhibitorā aktivitāte

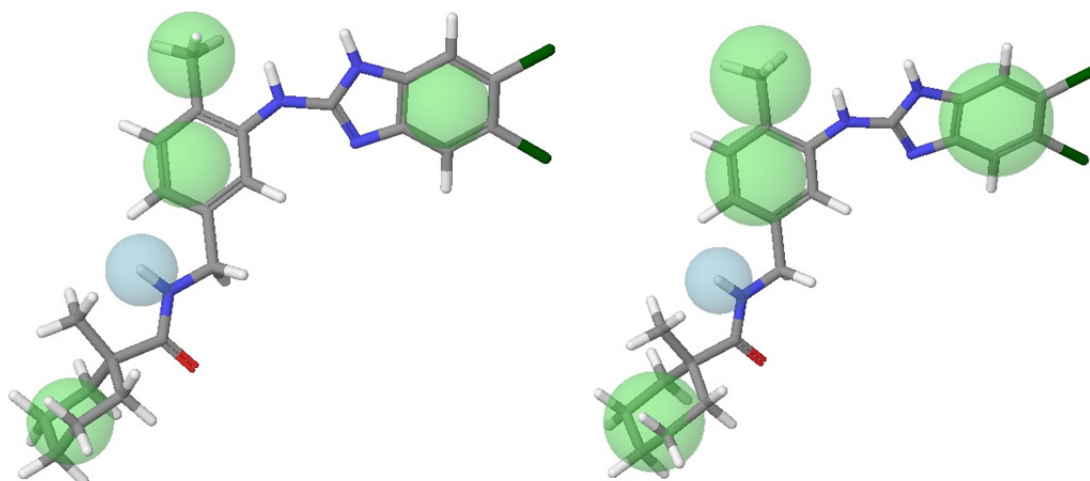
Diemžēl vairumam ketoatvasinājumu (14. att.) piemīt zema *in vitro* metaboliska stabilitāte ($t_{1/2}$ no 2 līdz 15 minūtēm), tāpēc ketogrupu saturošie inhibitori tālākajos pētījumos netika izmantoti. Zema metaboliskā stabilitāte raksturīga arī vairākiem aminobenzimidazola

atvasinājumiem, piemēram, savienojumiem **26** ($t_{1/2}=1$ min), **30** ($t_{1/2}=7$ min), **31** ($t_{1/2}=5$ min), **34** ($t_{1/2}=6$ min), **35** ($t_{1/2}=7$ min), **40** ($t_{1/2}=7$ min) un **43** ($t_{1/2}=4$ min). Tika noskaidrots, ka zemā metaboliskā stabilitāte saistīta ar 1-metilcikloheksilgrupas oksidēšanos. Aktīvākie no sintezētajiem 1-metilcikloheksilgrupas analogiem **49-58** ar paaugstinātu metabolisko stabilitāti ir parādīti 15. attēlā.



15. att. mPGES-1 inhibitori **49-58** ar paaugstinātu metabolisko stabilitāti

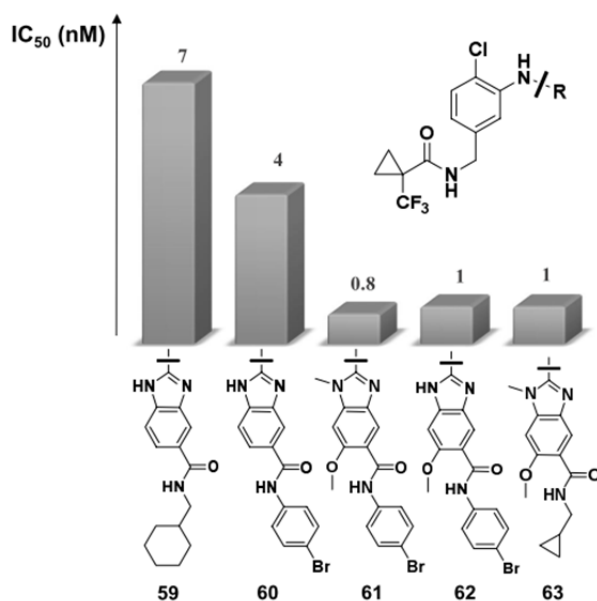
Pirmās paaudzes farmakoforā modeļa optimizācijai tika izmantoti visi papildus sintezētie mPGES-1 inhibitori, kopskaitā vairāk nekā 180 savienojumu. Pēc papildus farmakoforu deskriptoru ģenerēšanas un statistiskajiem aprēķiniem ieguvām 35 farmakoforā modeļa hipotēzes. No tām par otrās paaudzes farmakoforo modeli tika izvēlēta hipotēze ar 5 farmakoforiem: vienu ūdeņraža saites donoru un četrām hidrofobām mijiedarbībām (16. att.). Otrās paaudzes modelis spēja ievērojami precīzāk atlasīt aktīvākus savienojumus no neaktīviem, tomēr 4 vidēji aktīvi un 1 neaktīvs savienojums tika prognozēti kļūdaini. Farmakoforā modeļa tālākai uzlabošanai izvēlējamies nesarežģīt modeli ar papildus farmakoforiem, bet izmainīt esošo farmakoforu sfēru rādiusus. Pārbaudot dažādus farmakoforu sfēru rādiusus, atradām, ka lipofilo farmakoforu rādiusu palielināšana par 0.3 Å (no 1.0Å uz 1.3Å) un neliela attālumu izmainīšana starp farmakoforiem ļāva izveidot modeli, kurš veiksmīgi un gandrīz kvantitatīvi spēj atlasīt aktīvus savienojumus no neaktīvajiem un vidēji aktīvajiem (16. att.).



16. att. mPGES-1 inhibitoru otrās paaudzes farmakoforais modelis

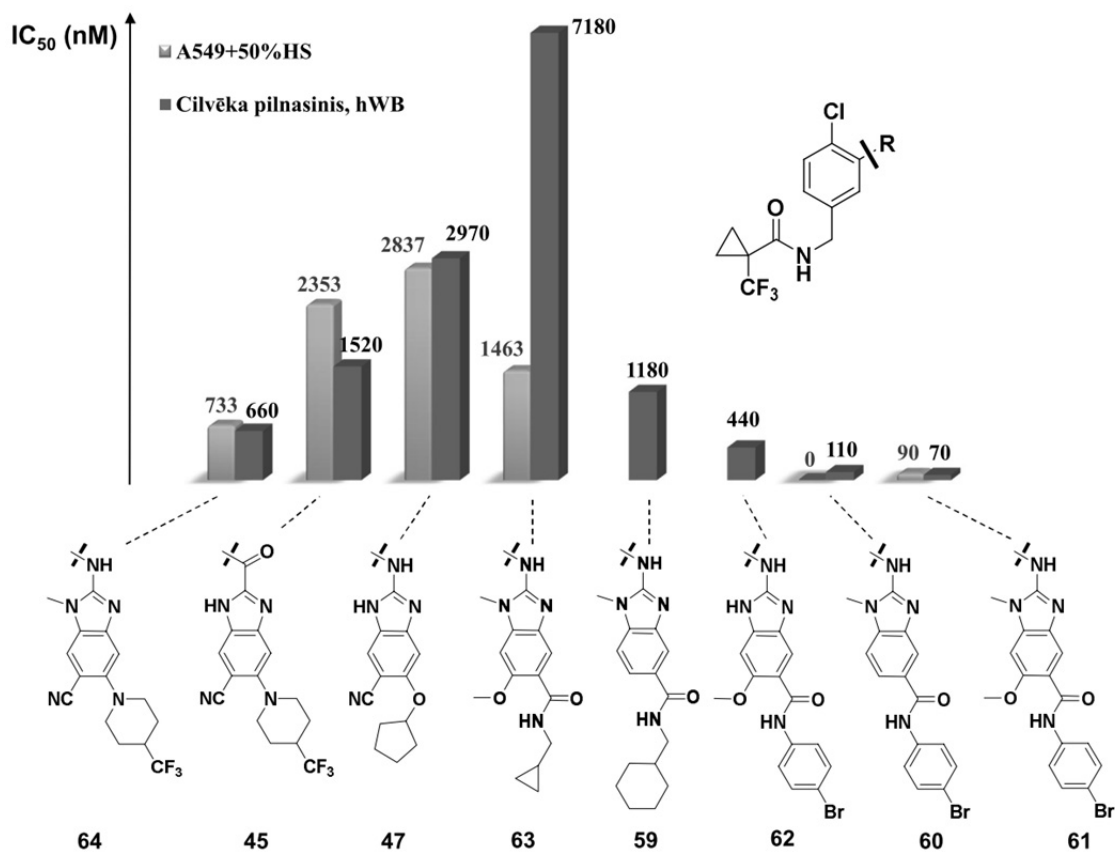
Farmakoforais modelis uzskatāmi rāda, ka mPGES-1 enzīma aktīvajā centrā benzimidazolu 5. un 6. pozīcijas apgabalā ir salīdzinoši maz telpisko apgrūtinājumu. Tas pavēra ceļu savienojumu inhibēšanas aktivitātes tālākajai paaugstināšanai, ievadot benzimidazola heterocikla 5. un 6. stāvokļos stēriski lielus hidrofobus aizvietotājus. Pamatojoties uz šo atziņu, izveidojām plašu hipotētisku inhibitoru struktūru klāstu, kuru ievietojām otrās paaudzes farmakoforajā modelī. Starp hipotētiskajām struktūrām augstu aktivitāti farmakoforais modelis prognozēja benzimidazola atvasinājumiem ar konformacionāli ierobežotu amīda grupu benzimidazola gredzena 5. stāvoklī (savienojumi **59–63**, 17. att.).

Visi savienojumi ar augstu prognozēto aktivitāti tika sintezēti, un eksperimentāli noteiktās ļoti augstās inhibējošās aktivitātes (17. att.) apstiprināja otrās paaudzes farmakoforā modeļa pareizību.



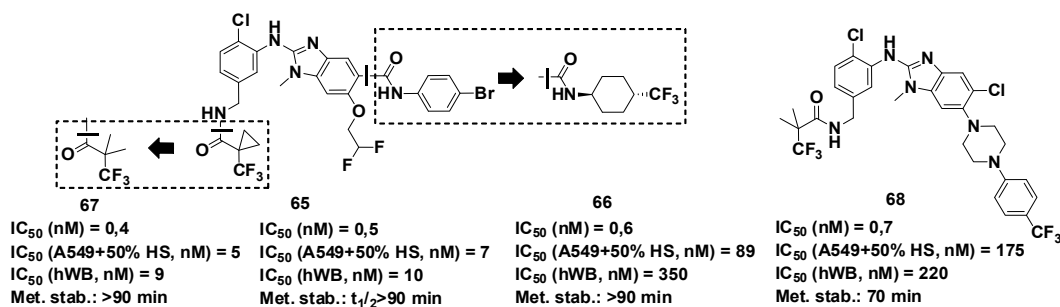
17. att. Amīda grupu saturošie benzimidazolu rindas mPGES-1 inhibitori **59–63**

Turklāt jāatzīmē, ka, atšķirībā no iepriekš iegūtajiem aktīvākajiem inhibitoriem **45**, **47** un **64**, amīda grupu saturošiem benzimidazola atvasinājumi **60-63** saglabā augstu inhibējošo aktivitāti arī cilvēka seruma albumīna klātbūtnē ("A549+50% HSA" tests) un cilvēka pilnasiņu parauga klātbūtnē ("hWB" tests) (18. att.). Tas liecina, ka savienojumiem **60-63** ir ievērojami zemāka afinitāte pret asins plazmas proteīniem un, tātad, potenciāli augstāka biopieejamība.



18. att. Izvēlētu mPGES-1 inhibitoru aktivitāte asins seruma un pilnasiņu parauga klātbūtnē

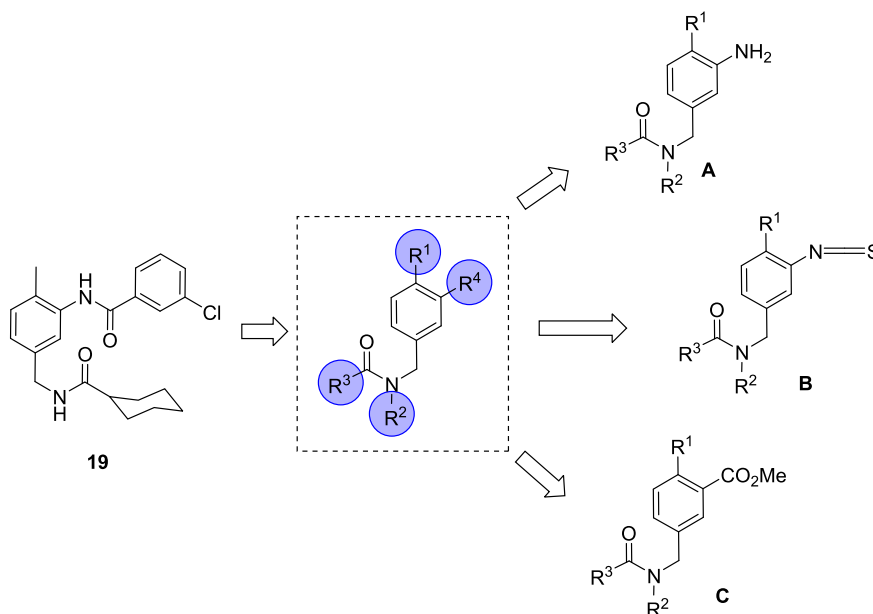
Aktīvāko amīdu **61-62** struktūras papildus optimizācija ļāva uzlabot gan inhibitorās aktivitātes asins seruma un pilnasiņu parauga klātbūtnē, gan arī būtiski paaugstināt savienojumu metabolisko stabilitāti. Darba rezultātā tika izveidoti četri līdersavienojuma kandidāti **65-68** tālākai izmantošanai *in vivo* pētījumos (19. att.).



19. att. Identificētie līdersavienojumu kandidāti mPGES-1 inhibitoru rindā

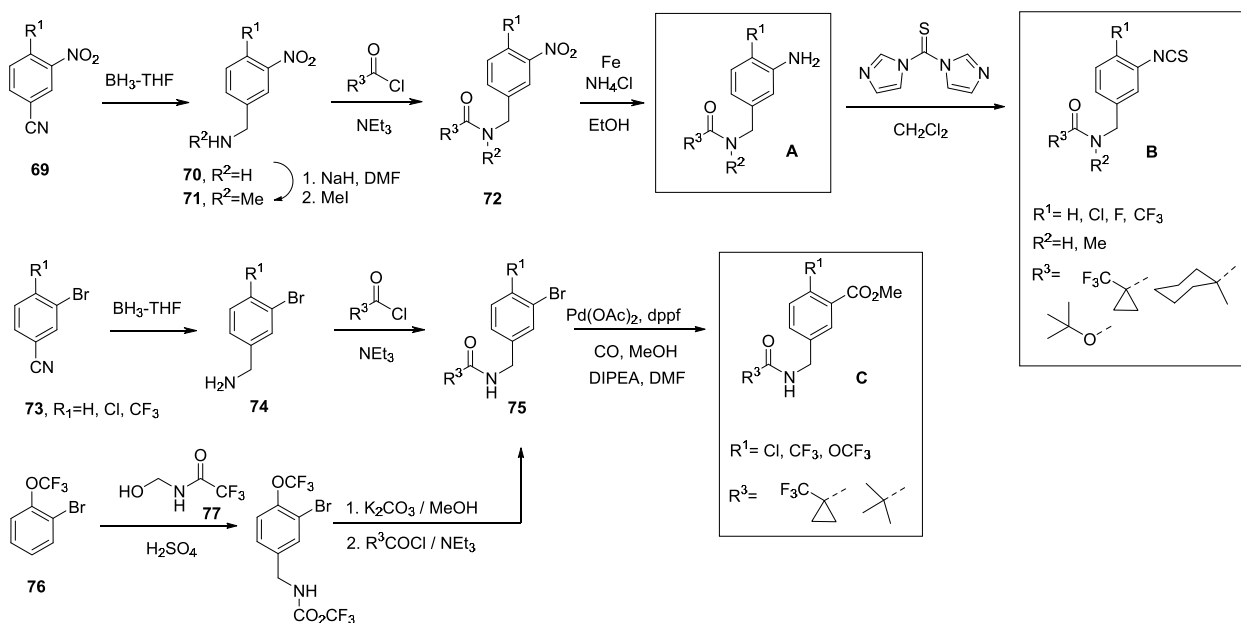
2.1.5. mPGES-1 inhibitoru sintēze

Jaunu mPGES-1 inhibitoru sintēzi balstījām uz būvbloku stratēģiju. Būvblokus izvēlējāmies tā, lai inhibitora molekulas optimizējamā struktūrelementa modifikāciju varētu veikt sintēzes noslēguma posmā. Tā kā inhibitoru struktūras modifikācijas neskāra centrālo benzilamīna struktūrelementu, bet bija vērstas galvenokārt uz aizvietotāju R^1 , R^2 , R^3 un R^4 variēšanu, inhibitoru sintēzei sākotnējā aktīvā savienojuma optimizācijas posmā izmantojām 3 pamatbūvbloku tipus: A, B un C (20. att.).



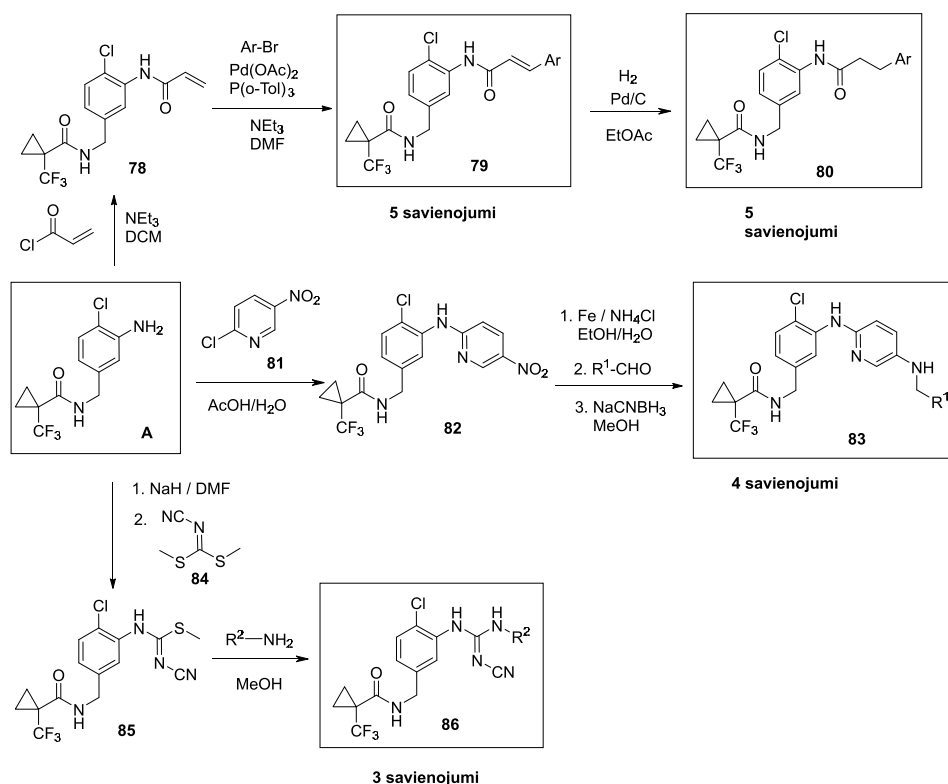
20. att. Pamatbūvbloku veidi aktīvās vielas **19** analogu sintēzei

Būvblokus A un B ieguvām no komerciāli pieejamiem 3-nitrobenzonitriliem **69**. Nitrilu reducējot ar borānu, ieguvām benzilamīnus **70**, kurus tālāk pārvērtām par *N*-metilatvasinājumiem **71**, deprotonējot ar NaH un alkilējot ar MeI. Amīnus **70**, **71** acilējām ar skābju hlorīdiem un nitrogrupu amīdos **72** reducējām ar dzelzi etanola un piesātināta NH_4Cl ūdens šķīduma maisījumā (21. att.). Iegūtos anilīnu būvblokus A tālāk izmantojām 17 inhibitoru sintēzei (22. att.). Savukārt anilīnu A reakcijā ar tiokarbonildiimidazolu ieguvām izotiocianātu būvblokus B, no kuriem pagatavojām 166 mPGES-1 inhibitorus (23. att.). Būvblokus C sintezējām pallādijs katalizētajā metoksikarbonilēšanas reakcijā no brombenzoliem **75**, kurus ieguvām reducēšanas un sekojošajās *N*-acilēšanas reakcijās no ciānobenzoliem **73**, vai arī brombenzola **76** Manniha-tipa reakcijā ar amīdu **77** un sekojošu trifluoracetamīda šķelšanu/*N*-acilēšanu (21. att.). No būvblokiem C ieguvām 35 mPGES-1 inhibitorus (25. att.). Kopumā no 3 pamatbūvblokiem A, B, un C tika sintezēti 218 mPGES-1 inhibitori.



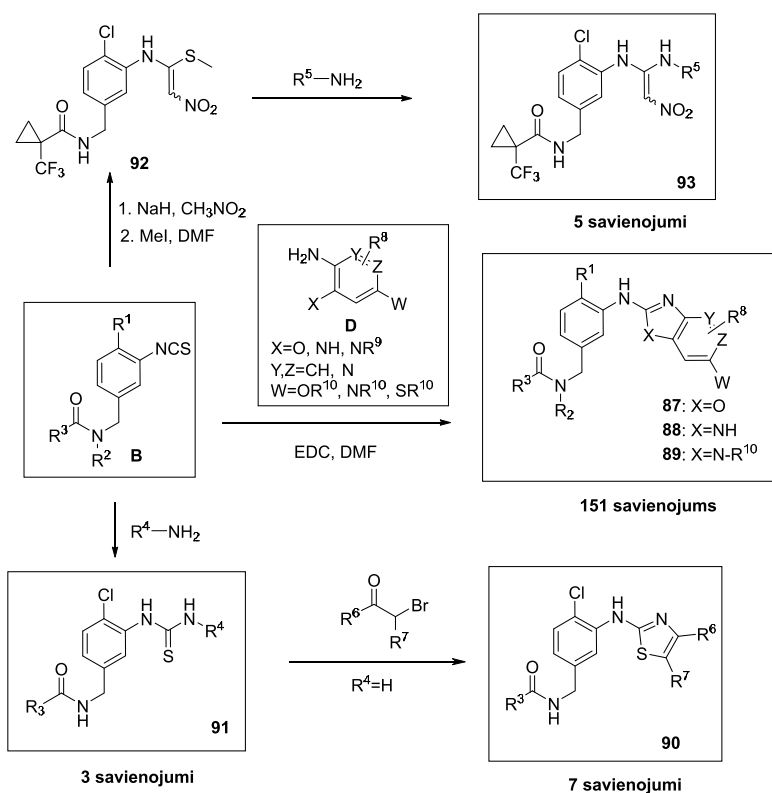
21. att. Pamatbūvbloku A-C iegūšana

Būvbloku **A** izmantojām α,β -nepiesātināto karbonskābes amīdu **79**, attiecīgo reducēto atvasinājumu **80**, diarilamīnu **83** un *N*-cianoguanidīnu **86** iegūšanai (22. att.). α,β -Nepiesātinātos amīdus **79** sintezējam būvbloka **A** reakcijā ar akroilhlorīdu un sekojošajā pallādija katalizētā Heka reakcijā ar arilbromīdiem. Pallādija katalizētā hidrogenēšanā no α,β -nepiesātinātajiem amīdiem **79** ieguvām amīdus **80**. Aminopiridīna atvasinājumi tika iegūti būvbloka **A** reakcijā ar 2-hlor-5-nitropiridīnu **81**, sekojošajā nitrogrupas reducēšanā un, visbeidzot, reducējošās aminēšanas reakcijā ar dažādiem aldehīdiem. Savukārt aizvietotus *N*-ciano-guanidīna atvasinājumus **86** sintezējam būvbloka **A** reakcijā ar *N*-ciano-*S,S*-dimetilditioimido-karbonātu **84** NaH klātbūtnē, *S*-metiltiourīnvielas starpsavienojumam **85** tālāk reaģējot ar dažādiem alifātiskajiem amīniem (22. att.).



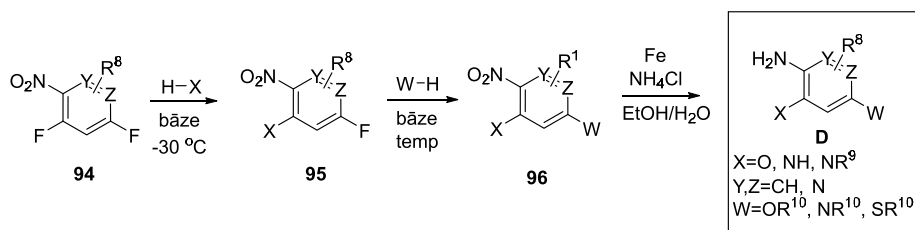
22. att. mPGES-1 inhibitoru iegūšanas shēma no būvbloka A

Būvbloks **B** tika izmantots tiourīnvielu **94** un to bioizostēru – diamino-nitroetēnu **93** sintēzei, 2-aminotiazolu **90** kā arī 2-aminobenzoksazolu **87** un 2-aminobenzimidazolu **88**, **89** iegūšanai (23. att.). Tā, nitrometāna anjona pievienošanās izotiocianātam un sekojošajā *S*-metilēšanā tika iegūts 2-(nitrovinil)anilīns **92**, kura reakcijā ar dažādiem alifātiskajiem amīniem, veidojas mērķsavienojumus **93**. Būvbloka **B** reakcijā ar amīniem veidojās tiourīnvielas **91**, kuras reakcijā ar \square -bromketoniem pārvērtām par aminotiazoliem **90**. Visbeidzot, būvbloka **B** reakcijā ar būvbloku **D** (aizvietotajiem *ortho*-fenilēndiamīniem, *ortho*-aminofenoliem, 2,3-diamino– un 3,4-diaminopiridīniem, sk. 5. att.) ieguvām attiecīgās tiourīnvielas, kuras neizdalot ciklizējām EDCI klātbūtnē par aizvietotiem 2-aminobenzoksazoliem **87** un 2-aminobenzimidazoliem **88**, **89** (23. att.).



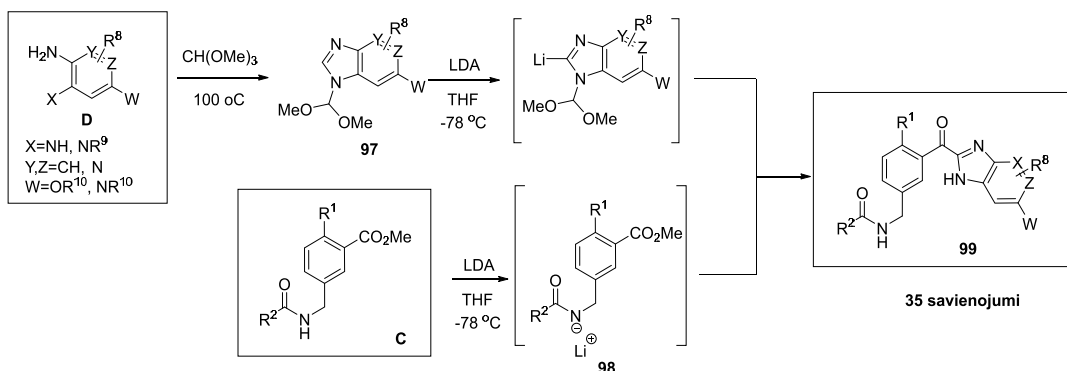
23. att. mPGES-1 inhibitoru iegūšanas shēma no būvbloka **B**

Būvbloku **D** sintezējām no aizvietotiem 2,4-difluor-nitrobenzoliem **94** (24. att). Nitrobenzola **94** *orto*-fluora atoma selektīvu aizvietošanu ar dažādiem amīniem vai alkoksīdiem veicām zemās temperatūrās ($-30\text{ }^\circ\text{C}$). Savukārt otra fluora atoma aizvietošanai ar dažādiem nukleofiliem bija nepieciešama paaugstināta temperatūra. Nitrogrupu reducējām ar dzelzi amonija hlorīda šķīdumā (24. att.).



24. att. Būvbloku **D** iegūšana.

Būvblokus **C** un **D** izmantojām ketogrupu saturošu mPGES-1 inhibitoru sintēzei. *Orto*-fenilēndiamīnus reakcijā ar trimetilortoformiātu pārvērtām par benzoksazolīem **97**, kuru 2. pozīcijā ar LDA ievadījām litiju un pievienojām esteriem **98** (25. att.).



25. att. mPGES-1 inhibitoru iegūšanas shēma no būvblokiem C un D.

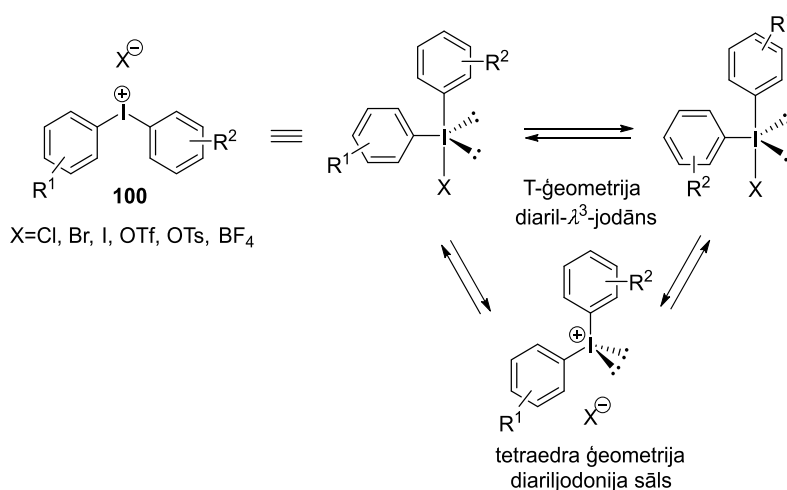
2.2. Sintēzes metožu izstrāde zāļvielu molekulu „vēlīnai modifikācijai”

Zāļvielu molekulu dizainā plašs pielietojums ir „vēlīnās modifikācijas” pieejai, kura paredz strukturālo daudzveidības ieviešanu pētāmajā bāzes struktūrā sintēzes beigu posmā. Pieeja ļauj ievērojami paātrināt struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumus un racionalizēt sintētisko darbu. Potenciālo zāļvielu molekulu „vēlīnām modifikācijām” konceptuāli vispiemērotākās ir sintēzes metodes, kuras ļauj ievadīt vēlamo aizvietotāju (potenciālo farmakoforu) optimizējamajā pamatstruktūrā tieši bez tās iepriekšējās funkcionalizēšanas. Piemēram, tradicionālā pieeja aromātisko un heteroaromātisko amīnu veidošanai paredz sākotnēju halogēna atoma vai analogas funkcionālās grupas (Cl, Br, I, OTf, OMs) ievadīšanu ciklā un sekojošu tās apmaiņu pret amīna grupu. Tieša, nepastarpināta aminogrupas ievadīšana aromātiskajā vai heteroaromātiskajā ciklā (C–H saišu funkcionalizācijas ceļā) ļautu ne tikai saīsināt sintēzes ceļu, bet arī risināt funkcionālo grupu savietojamības problēmu. Piemēram, tiešās C–H aminēšanas metodes visbiežāk neskar molekulā esošus halogēna atomus. Tai pat laikā būtisks tiešās C–H funkcionalizēšanas metodes trūkums ir zemā reģioselektivitāte, jo aromātiskajos vai heteroaromātiskajos savienojumos ir vairākas potenciāli funkcionalizējamas C–H saites. C–H Saišu funkcionalizēšanas reģioselektivitātes nodrošināšanai visbiežāk izmanto t.s. „virzošās grupas” – aizvietotājus, kuri nodrošina *ortho*-vai *meta*-pozīcijās esošu C–H saišu aktivēšanu. „Virzošās grupas” pēc aizvietotāja ievadīšanas visbiežāk jāaizvāc, kas daudzos gadījumos nav triviāls uzdevums. Promocijas darbā ir piedāvāta alternatīva C–H aktivēšanas pieeja, kurā C–H saišu funkcionalizēšanas reģioselektivitāti kontrolē substrāta reaģētspēja elektrofilās aromātiskās aizvietošanas apstākļos. Attiecīgi C–H aktivēšana notiks elektrofilākajā aromātiskā vai heteroaromātiskā cikla pozīcijā, un reakcijai nav nepieciešama „virzošā grupa”. Šāda pieeja bieži nodrošina no „virzītās” C–H funkcionalizēšanas atšķirīgu reģioselektivitāti, un tāpēc tā ir nozīmīga komplimentāra metode ar potenciāli plašu pielietojumu zāļvielu molekulu „vēlīnajai modifikācijai”. Elektronēm bagātu aromātisko un heteroaromātisko ciklu C–H aktivēšanas metodoloģijas izstrādi nolēmām balstīt uz hipervalento joda(III)

savienojumu ķīmiju. Kā pētījumu mērķi izvēlējamies medicīnas ķīmijai svarīgu C–H aminēšanas un C–H oksidēšanas metožu izstrādi.

2.2.1. Hipervalentā joda(III) ķīmijas pamatprincipi.

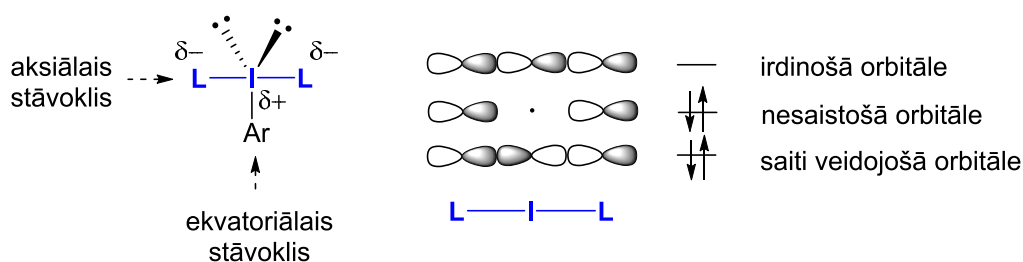
Hipervalentos joda savienojumus veido trīsvērtīgs jods un trīs ligandi. Ja divi no ligandiem ir aromātiskie savienojumi, tos sauc par diariljodonija sāļiem. Termins „jodonija sāļi” ir neprecīzs, jo „onija sāļiem”, piemēram, amonija un sulfonija sāļiem raksturīga tetraedriska ģeometrija. Turpretī joda(III) savienojumiem raksturīga T–veida ģeometrija (pseudotrigonālā bipiramīda), kuru nosaka divas atšķirīgas ķīmiskās saites jodānos. Saite starp ekvatoriāli novietoto ligandu un joda(III) atomu ir kovalenta σ -saite, bet saite starp aksiālajos stāvokļos novietotajiem ligandiem un joda centru ir t.s. hipervalentā saite (26. att.). Uzskata, ka hipervalentajiem joda(III) savienojumiem T-veida ģeometrija saglabājas arī šķīdumos, un tādēļ joda(III) savienojumus pareizāk būtu saukt par λ^3 -jodāniem un attiecīgi diariljodonija sāļus **100** par diaril- λ^3 -jodāniem.



26. att. Diaril- λ^3 -jodāni.

Hipervalento saiti veido 2 elektroni no joda $5p$ orbitāles un pa vienam elektronam no katra liganda. Līdz ar to hipervalentajai saitei raksturīga 4 elektronu trīs centru konfigurācija, un tā ir lineāra. Hipervalentās saites divas zemākās enerģijas orbitāles, saiti veidojošā un nesaistošā orbitāle, ir aizpildītas. Uz centrālā joda atoma ir gandrīz vienu vienību liels pozitīvs daļlādiņš ($\sigma_1 \approx +1$), bet uz aksiāli novietotajiem hipervalentās saites ligandiem ir negatīvs daļlādiņš. Šādu lādiņu sadalījumu saitē nosaka mezgla punkts (*node*) aizpildītās nesaistošās orbitāles centrā. Pozitīvais daļlādiņš uz joda atbildīgs par aril- λ^3 -jodanilaizvietotāja izteikti elektrofilo raksturu. Tā, fenil- λ^3 -jodanilgrupa $\text{Ph}(\text{BF}_4)\text{I}^+$ inductīvi ir ļoti spēcīga elektronakceptora grupa ($\sigma_1 = 1.34$). Tās aizvietotāja inductīvais efekts ir salīdzināms ar diazonija sāļiem $\text{N}_2^+-\text{BF}_4^-$ ($\sigma_1 = 1.48$), un tas ir pat spēcīgāks nekā nitroaizvietotājam ($\sigma_1 = 0.64$). Stipri polarizētā hipervalentā saite nosaka

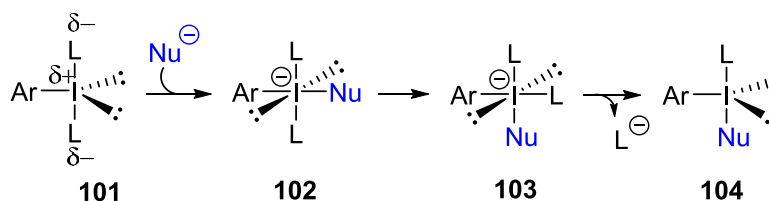
viselektronegātīvāko ligandu novietojumu aksiālajos stāvokļos (hipervalentās saites galos). Parādīts, ka aksiālos stāvokļos esošu ligandu Hammeta aizvietotāju indukcijas konstantes tieši korelē ar λ^3 -jodānu stabilitāti: jo augstāka ligandu elektronegativitāte, jo stabilāks ir λ^3 -jodāns.



27. att. Hipervalentā orbitāle λ^3 -jodānos.

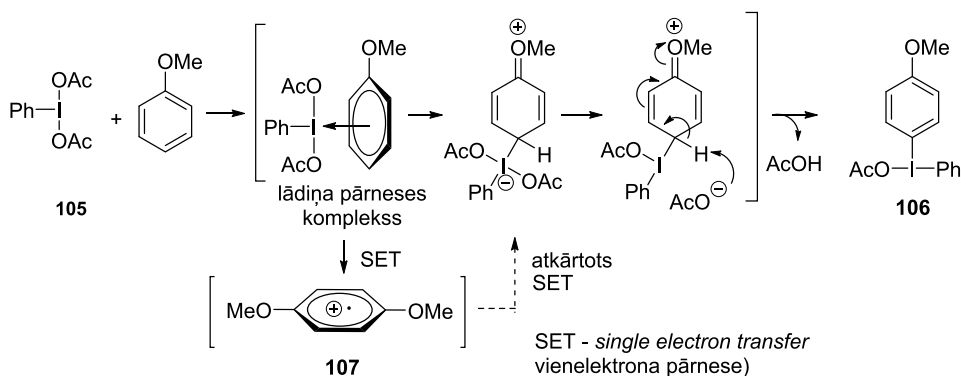
Hipervalento savienojumu elektroniskās struktūras attēlošanai bieži izmanto [N-X-L] apzīmējumu, kur N ir elektronu skaits, kas formāli pieder centrālajam atomam X, bet L ir centrālajam atomam piesaistīto ligandu skaits. Attiecīgi λ^3 -jodāni ir [10-I-3] daļiņas, bet ariljodonija sāļi ir savienojumi ar [8-I-2] konfigurāciju.

λ^3 -Jodāniem raksturīgas divas pamatreakcijas: ligandu apmaiņa, kura neietekmē joda(III) oksidēšanās pakāpi un reducējošā eliminēšanās, kuras rezultātā λ^3 -jodāns reducējas līdz jodīdam. Pateicoties joda(III) jona elektrofilajam raksturam, λ^3 -jodāni reaģē ar dažādiem nukleofīliem. Nukleofīls uzbrūk C-I saites irdinošajai σ^* orbitālei λ^3 -jodānā **101**, un veidojas *trans*-tetrakoordinēts jodāts **102** [12-I-4] (28. att.). *Trans*-jodāts **102** izomerizējas par *cis*-jodātu **103**, un heteroatoma liganda L disociācijas rezultātā veidojas jauns hipervalentā joda savienojums **104**. Ligandu apmaiņa ir ātra un apgriezeniska. Jodāns **104** var stāties arī tālākajā ligandu apmaiņas reakcijā.



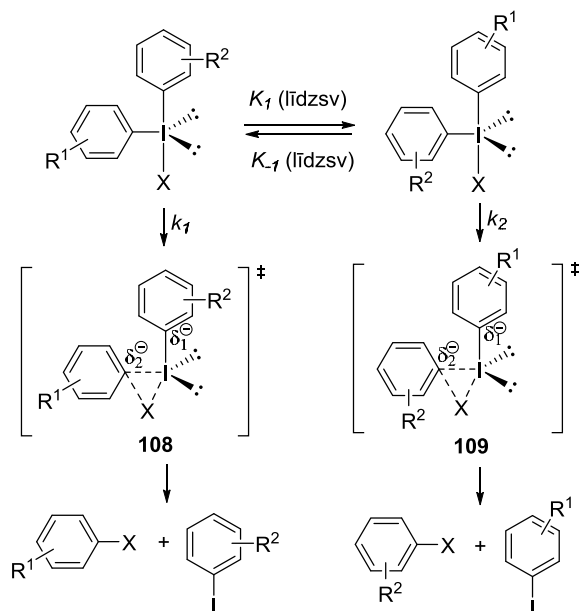
28. att. Ligandu apmaiņa λ^3 -jodānos.

Par nukleofīlu reakcijā ar elektrofilo aril- λ^3 -jodānu **101** var kalpot arī elektroniem bagāts (hetero)aromātiskais cikls. Piemēram, diacetoksijodbenzols (PhI(OAc)₂) **105** reaģē ar anizolu, veidojot nesimetrisko diaril- λ^3 -jodānu **106** (29. att.). Lai gan formāli jodāna **106** veidošanās notiek saskaņā ar elektrofilās aromātiskās aizvietošanas S_{EAr} jeb Frīdela-Kraftsa (*Friedel-Crafts*) mehānismu, padziļināti pētījumi, izmantojot elektronu paramagnētiskās rezonanses metodi, liecina par sākotnēju katjonradikāļa **107** veidošanos viena elektrona pārnēsē (*SET*) no elektroniem bagāta arēna uz elektrofilo joda(III) centru (29. att.).



29. att. Diaril- λ^3 -jodānu veidošanās Frīdela-Kraftsa tipa reakcijā.

No sintētiskā viedokļa vissvarīgākā λ^3 -jodānu, īpaši diaril- λ^3 -jodānu, reakcija ir reducējošā eliminēšanās, kuras rezultātā starp diviem diaril- λ^3 -jodāna ligandiem (nukleofilo ligandu un arilligandu) veidojas saite, bet hipervalentais joda(III) centrs reducējas līdz joda(I) savienojumam. Reducējošās eliminēšanās virzītājspēks diaril- λ^3 -jodānos ir okteta elektronu konfigurācijas joda(I) produktu veidošanās. Saskaņā ar vispārpieņemto mehānismu, elektronakceptorais nukleofils ligands X polarizē hipervalento saiti un izraisa tās heterolītisku šķelšanos. Vienlaicīgi notiek nukleofilā liganda X uzbrukums ekvatoriāli novietotā arilliganda *ipso*-stāvoklim caur pārejas stāvokli **108** vai **109**, veidojoties reducējošās eliminēšanas produktam un ariljodīdam (Ar-I) kā neitrālai aizejošajai grupai (30. att.).



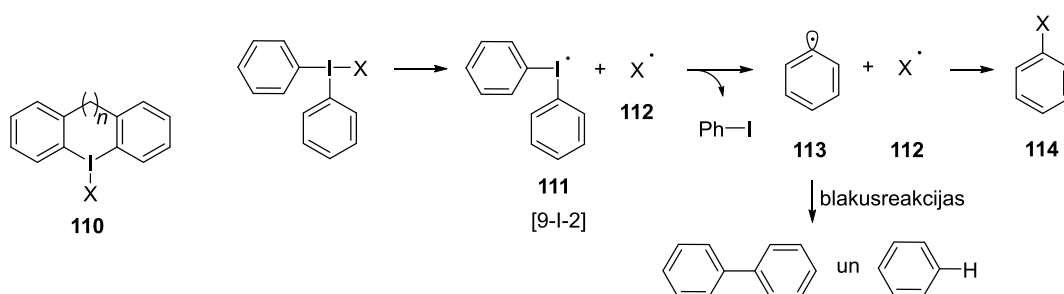
30. att. Reducējošā eliminēšanās diaril- λ^3 -jodānos.

Nesimetrisko diaril- λ^3 -jodānu gadījumā reducējošās eliminēšanās reakcijā teorētiski var veidoties divu produktu maisījums. Saskaņā ar *ab initio* DFT kvantu ķīmiskajiem aprēķiniem, reducējošās eliminēšanās selektivitāte atkarīga no daļlādiņu δ_1^- un δ_2^- lielumiem uz arilligandu *ipso*-

oglekļa atomiem (30. att.). Ar nukleofīlu reaģēs arilligands ar mazāku negatīvo daļlādiņu jeb elektroniem nabadzīgākā aromātiskā sistēma. Būtiski, ka reducējošās eliminēšanās notiek no līdzsvarā esošiem diaril- λ^3 -jodānu izomēriem. Tā kā līdzsvara reakcijas aktivācijas barjera ir ievērojami zemāka par reducējošās eliminēšanās reakcijas aktivācijas barjeru ($K_1 \gg k_1$ un k_2), reducējošās eliminēšanās selektivitāti *nesimetriskajos* diaril- λ^3 -jodānos saskaņā ar Kurtina-Hammeta principu (*Curtin-Hammett principle*) nosaka reducējošās eliminēšanās aktivācijas barjeru atšķirības (k_1 pret k_2 ; sk. 30. att.).

Interesanti, ka reducējošās eliminēšanās selektivitātes elektroniskā kontrole nav spēcīgā gadījumos, kad viens no arilligandiem satur *orto*-aizvietotāju. Šādos nesimetriskajos diaril- λ^3 -jodānos nukleofīlais ligands X veido saiti ar *orto*-aizvietoto ligandu neatkarīgi no daļlādiņu lielumiem uz arilligandu *ipso*-oglekļa atomiem. Šo parādību sauc par „*orto*-efektu” un visbiežāk to skaidro ar telpiskajiem faktoriem. Uzskata, ka stērisko efektu dēļ *orto*-aizvietotais arilligands vienmēr atradīsies termodinamiski izdevīgākajā ekvatoriālajā stāvoklī un tāpēc reaģēs ar nukleofīlo ligandu X.

Būtiski, ka reducējošās eliminēšanās pārejas stāvoklī diaril- λ^3 -jodāniem raksturīgā planārā T-veida ģeometrija tiek izjaukta. Novirze no planārās ģeometrijas enerģētiski ir īpaši neizdevīga gadījumos, kad divi no λ^3 -jodānu ligandiem ir saistīti ar tiltiņu, piemēram, cikliskajā diaril- λ^3 -jodānā **110** (sk. 31. att.). Uzskata, ka šādos gadījumos reducējošā eliminēšanās notiek ar radikāļu starpsavienojumu veidošanos. Jāatzīmē, ka reducējošā eliminēšanās ar radikāļu iesaistīšanos tiek bieži postulēta arī neciklisko diaril- λ^3 -jodānu gadījumā. Radikāļu mehānisms paredz sākotnēju hipervalentās saites homolītisku šķelšanu, veidojoties diariljoda radikālim **111** ar [9-I-2] elektronu konfigurāciju un heteroatoma radikālim **112**. Radikālis **111** sabrūk par jodbenzolu un arilradikāli **113**, kurš veido produktu **114**. Radikālis **113** var iesaistīties arī blakusreakcijās, dimerizējoties vai rekombinējoties ar ūdeņraža atomu (31. att.).



31. att. Reducējošā eliminēšanās caur radikāļu mehānismu.

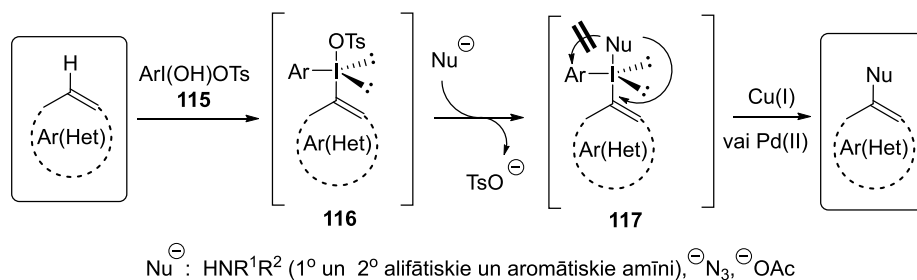
Diaril- λ^3 -jodāni ir starp visefektīvākajiem elektrofilēm oksidējošās pievienošanās reakcijās pārejas metāliem. Augsto oksidējošās pievienošanās reaģētspēju galvenokārt nosaka labas aizejošās grupas – neitrālā jodbenzola veidošanās. Būtiski, ka *nesimetrisko* diaril- λ^3 -jodānu oksidējošās

pievienošanās reakcijā saiti ar pārejas metālu veido telpiski mazākais vai arī elektroniem bagātākais no diviem arilligandiem. Līdz ar to nesimetrisko diaril- λ^3 -jodānu un pārejas metālu reakcijas selektivitāte ir pretēja nesimetrisko diaril- λ^3 -jodānu reducējošās eliminēšanās selektivitātei.

2.2.2. Uz hipervalentā joda(III) savienojumiem balstīta C–H saišu aktivēšanas koncepcija

Aromātisko un heteroaromātisko savienojumu C–H funkcionalizēšanas metodes izstrādes koncepcija balstās uz trīs secīgu viena reaktora reakciju virkni (32. att.):

- 1) elektroniem bagātu aromātisko vai heteroaromātisko savienojumu reakcija ar joda(III) reaģentu $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$ **115** un nesimetriska diaril- λ^3 -jodāna **116** veidošanās;
- 2) diaril- λ^3 -jodāna **116** tozīlāta heteroatoma liganda *in situ* apmaiņa pret citu nukleofīlu heteroatoma ligandu;
- 3) produktu veidojošā reducējošā eliminēšanās no nukleofīlo ligandu saturoša nesimetriskā diaril- λ^3 -jodāna **117**.



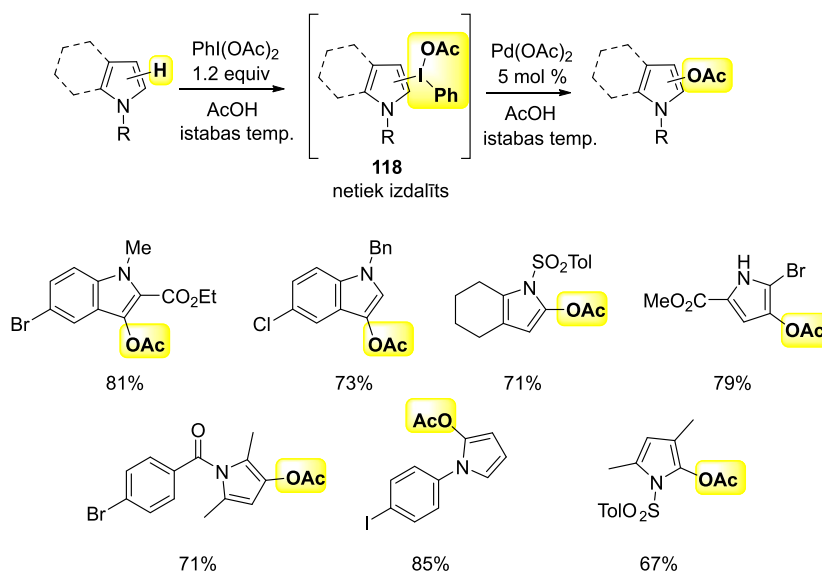
32. att. Uz hipervalentā joda(III) savienojumiem balstīta C–H aktivēšanas koncepcija.

Diaril- λ^3 -jodānu **116** veidošanās reakcijā starp $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$ **115** un elektroniem bagātu (hetero)aromātisko savienojumu (1. reakcija), kā arī heteroatoma ligandu apmaiņa diaril- λ^3 -jodānos **116** (2. reakcija) ir plaši pētītas ķīmiskās norises (sk. 2.2.1. nodaļu). Arī *simetrisko* diaril- λ^3 -jodānu reakcijas ar dažādiem nukleofīliem, piemēram, ar amīniem, azoliem un amīdiem, ir plaši pētītas kā pārejas metālu katalizatoru (Pd(0) un Cu(I)) klātienē, tā arī bez katalizatoru pievienošanas. Turpretī reducējošā eliminēšanās *nesimetriskajos* diaril- λ^3 -jodānos **117** līdz šim nav atradusi praktisku pielietojumu selektivitātes problēmu dēļ: tā kā nesimetriskie diaril- λ^3 -jodāni satur divus dažādus aromātiskos aizvietotājus, to reakcijās ar slāpekļa un skābekļa nukleofīliem bieži veidojas produktu maisījums. Turklāt elektroniem bagātu (hetero)aromātisko savienojumu saturošo *nesimetrisko* diaril- λ^3 -jodānu **117** gadījumā sagaidāma nevēlama reducējošās eliminēšanas selektivitāte: nukleofīlais heteroatoma ligands vieglāk veidos saiti ar elektroniem nabadzīgāko arilligandu, nevis ar elektroniem bagātāko (hetero)aromātisko ligandu (sk. reducējošās eliminēšanas likumsakarību aprakstu 2.2.1. nodaļā).

Ņemot vērā *nesimetrisko* diaril- λ^3 -jodānu un pārejas metālu reakcijas selektivitāti, mēs izvirzījām hipotēzi, ka pārejas metāla klātbūtne varētu mainīt „tradicionālo” nesimetrisko diaril- λ^3 -jodānu reducējošās eliminēšanas selektivitāti. Līdz ar to koncepcijas novitāte balstās uz Pd(II) un Cu(I) katalizatoru izmantošanu nukleofila uzbrukuma selektivitātes kontrolei nesimetrisku diaril- λ^3 -jodānu molekulās.

2.2.3. Elektronēm bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H oksidēšanas metode

Elektronēm bagātu heteroaromātisko ciklu acetoksilēšanas reakcijas izstrādi balstījām uz viena reaktora divstadiju procesu: sākotnēju heteroaril(fenil)- λ^3 -jodāna **118** veidošanos un tālāku produktu veidojošo reducējošo eliminēšanos Pd(II) katalizatora klātbūtnē (33. att.).

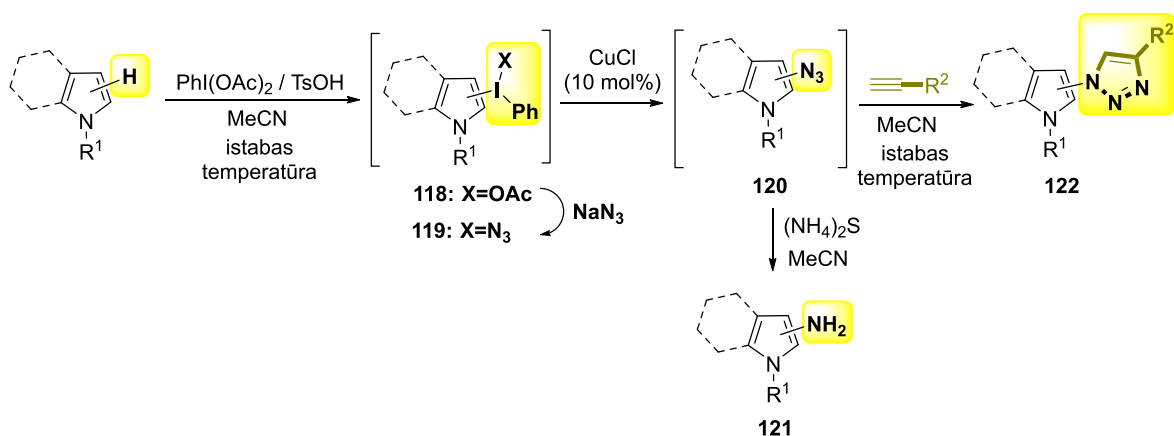


33. att. Elektronēm bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H oksidēšanas metode

λ^3 -Jodāna **118** starpsavienojumus iespējams izdalīt un attīrīt, tomēr no pielietojamā viedokļa ērtāk ir veikt viena reaktora divstadiju procesu. Pallādijs(II) katalizators nodrošina vēlamo selektivitāti λ^3 -jodāna **118** reducējošās eliminēšanās reakcijā. Acetoksilēšana notiek maigos apstākļos (istabas temperatūrā), un reakcijas apstākļi ir savietojami ar plašu funkcionālo grupu klāstu: bromu un pat joda atomu heterociklos, kā arī ar *N*-alkil-, *N*-aril-, *N*-benzoi-, *N*-benzil-, *N*-tozil- un *N*-karbamoilaizsarggrupām. Tā kā λ^3 -jodāns **118** reakcijas gaitā netiek izdalīts, izstrādātajā viena reaktora divstadiju procesā C-H saite tiek pārvērsta par C-O saiti, un tāpēc formāli to var uzskatīt par C-H oksidēšanas reakciju.

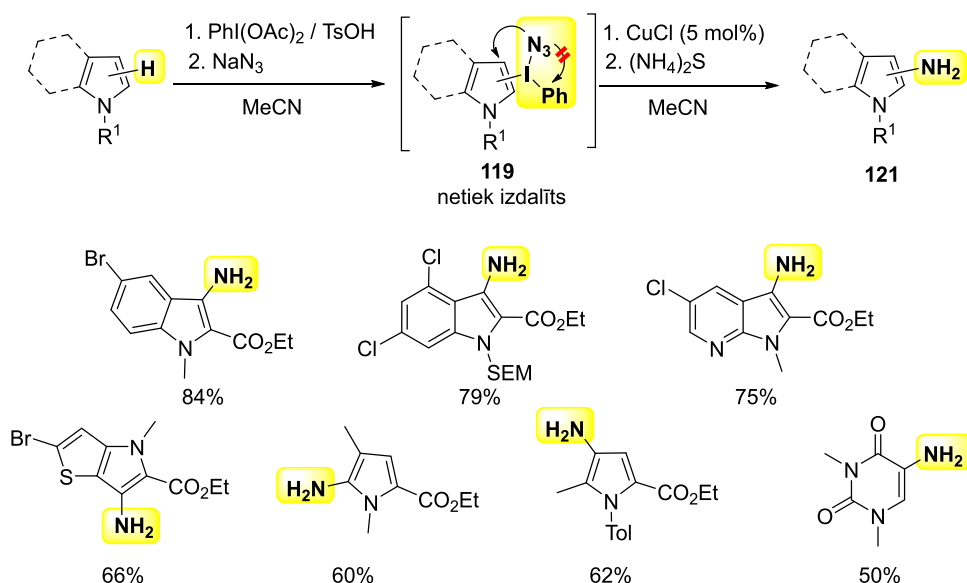
2.2.4. Elektroniem bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H azidēšanas metode

Nukleofilā acetāta liganda nomaīņa pret azīda ligandu nesimetriskajos λ^3 -jodānos (**118** uz **119**) ļāva izstrādāt metodi elektroniem bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H azidēšanai (34. att.).



34. att. Elektroniem bagātu heteroaromātisko savienojumu C–H azidēšanas metode

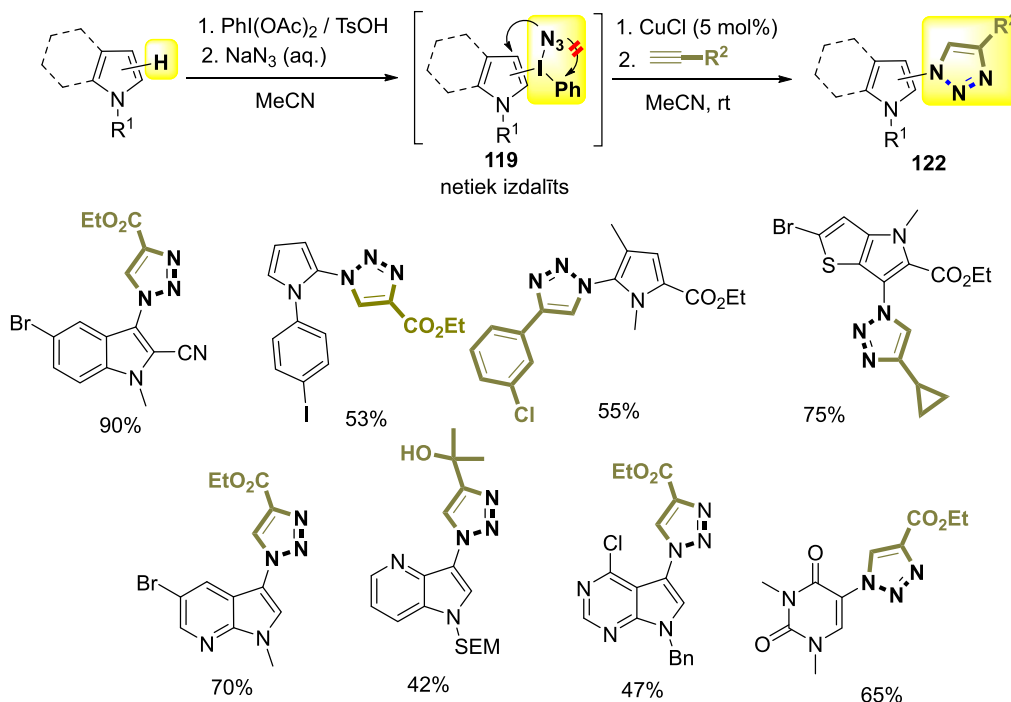
Atslēgas pārvērtība viena reaktora 3 stadiju procesā ir azīdu saturošu nesimetrisko heteroaril(fenil)- λ^3 -jodānu **119** reducējošā eliminēšanās, kuras reģioselektivitāti kontrolē Cu(I) kompleksi. Izveidojušies heteroarilazīdi **120** diemžēl ir nestabili, un tos ir ārkārtīgi grūti izdalīt un attīrīt. Heteroarilazīdus **120** tomēr ir iespējams iesaistīt tālākajās pārvērtībās, tos neizdalot no reakcijas maisījuma. Piemēram, heteroarilazīdi **120** viegli reducējas par atbilstošajiem aminoheterocikliem **121** (35. att.).



35. att. Heteroaromātisko amīnu iegūšana C–H azidēšanas-reducēšanas reakcijā

Heteroarilazīdi **120** stājas arī vara katalizētajā 1,3-dipolārās ciklopievienošanās reakcijā ar acetilēniem, veidojot 1,2,3-triazolus **122**. Līdz ar to vara(I) sāļi ne tikai katalizē azīdu saturošu

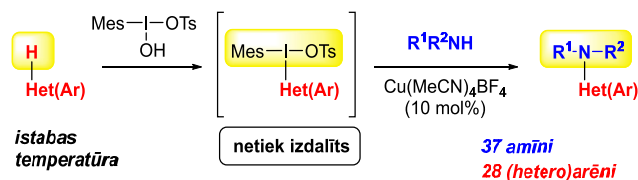
heteroaril(fenil)- λ^3 -jodānu **119** reducējošo eliminēšanas, bet arī veicina sekojošo azīdu **120** 1,3-dipolārās ciklopievienošanās reakciju (36. att.). Izstrādātā sintēzes metode ir piemērota plaša elektroniem bagātu heterociklu klāsta „vēlīnai modificēšanai”.



36. att. Viena reaktora secīga heteroaromātisko C–H azidēšanas-1,3-dipolārās ciklopievienošanās reakcija

2.2.5. Elektroniem bagātu aromātisko un heteroaromātisko savienojumu C–H aminēšanas metode

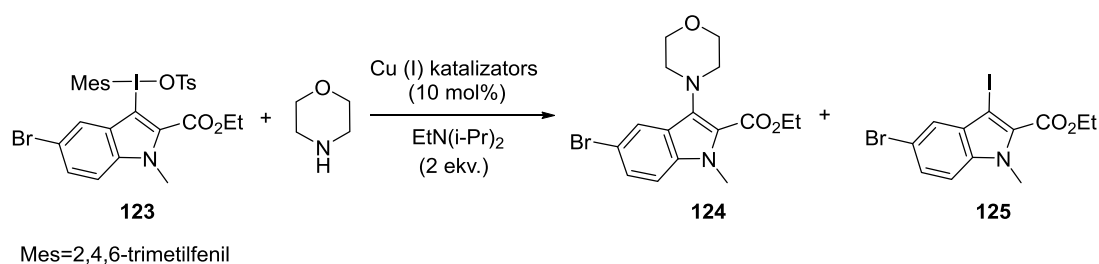
Attīstot koncepciju par nesimetrisko diaril- λ^3 -jodānu reducējošās eliminēšanas selektivitātes maiņu pārejas metālu klātienē, noskaidrojām, ka vara(I) sāļi nodrošina vēlamo selektivitāti arī amīnu reakcijā ar nesimetriskajiem heteroaril(fenil)- λ^3 -jodāniem. Šis novērojums pavēra ceļu heteroaromātisko savienojumu C–H aminēšanas reakcijas izstrādei (37. att.).



37. att. Heteroaromātisko savienojumu C–H aminēšanas reakcija

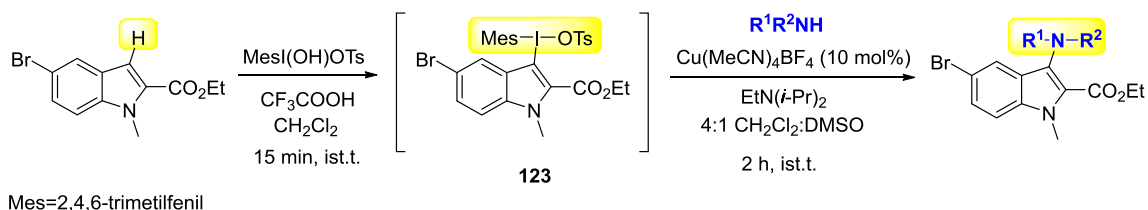
C-H Aminēšanas metodes izstrādei sākotnēji sintezējām, izdalījām un attīrījām meziltil(indolil)jodonija tozilatū **123**, kura uzbūvi viennozīmīgi pierādījām ar rentgenstruktūras analīzes metodi. λ^3 -Jodāna **123** reakcijā ar morfolīnu bez pievienotā katalizatora veidojās tikai nevēlamais jodindols **124**. Savukārt Cu(I) katalizatora pievienošana pilnībā izmainīja reakcijas

selektivitāti, un kā pamatprodukts tika izdalīts vēlamais indolilamīns **125** (38. att.). Pēc dažādu vara sāļu katalītiskās aktivitātes pārbaudes turpmākajiem pētījumiem izvēlējamies salīdzinoši lētu un komerciāli pieejamu $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$.



38. att. C-H Aminēšanas apstākļu optimizācija.

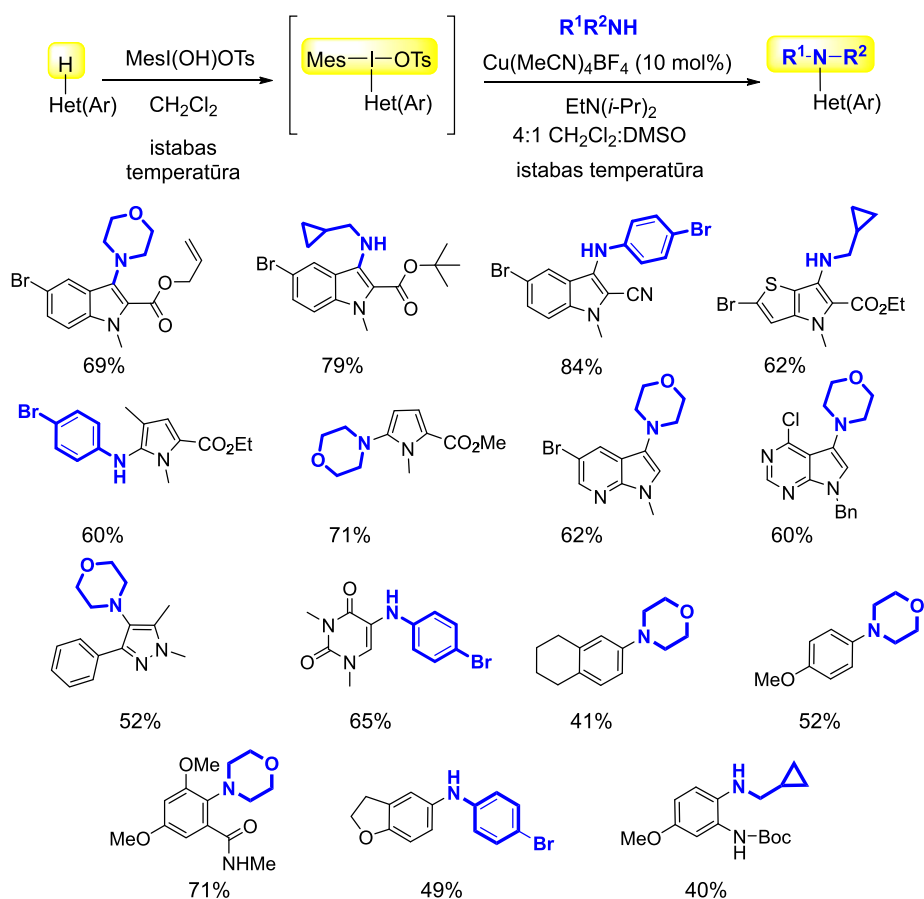
Tālākajā darbā atradām apstākļus, kuros λ^3 -jodānu **123** bez izdalīšanas un attīrīšanas iespējams iesaistīt reakcijā ar morfolīnu. Atrastajos reakcijas apstākļos pārbaudījām amīnu klāstu, kuri piemēroti reakcijai ar λ^3 -jodānu **123** (1. Tabula). Kā redzams, C-H aminēšanas metode ir savietojama ar ļoti plašu pirmējo un otrējo alifātisko kā arī aromātisko amīnu klāstu.



Nr.	R ¹ R ² NH	Izn. (%)	Nr.	R ¹ R ² NH	Izn. (%)	Nr.	R ¹ R ² NH	Izn. (%)
1		74	13		70	25		77
2		66	14		76	26		79
3		75	15		63	27		73
4		71	16		67	28		74
5		76	17		73	29		54
6		76	18		40	30		69
7		70	19		75	31		67
8		35 ^b	20		73	32		62
9		65	21		80	33		79
10		67	22		80	34		76
11		65	23		71	35		77
12		71	24		83	36		65

1. Tabula. C-H aminēšanas reakcijā izmantojamo amīnu klāsts.

Pārbaudījām arī arēnu un heteroarēnu klāstu, kuri piemēroti izstrādātajai C-H aminēšanas metodei (39. att.). C-H Aminēšanas reakcijā stājas plašs elektroniem relatīvi bagātu heterociklu klāsts, tai skaitā indoli, pirolī, pirolopiridīni, tienopirolī, pirolopirimidīns, pirazoli un *N,N*-dimetiluracils. Jāuzsver, ka C-H aminēšanas apstākļos reaģē ne tikai heterocikli, bet arī elektroniem relatīvi bagātie aromātiskie savienojumi.



39. att. (Hetero)aromātisko savienojumu klāsts C-H aminēšanas reakcijā.

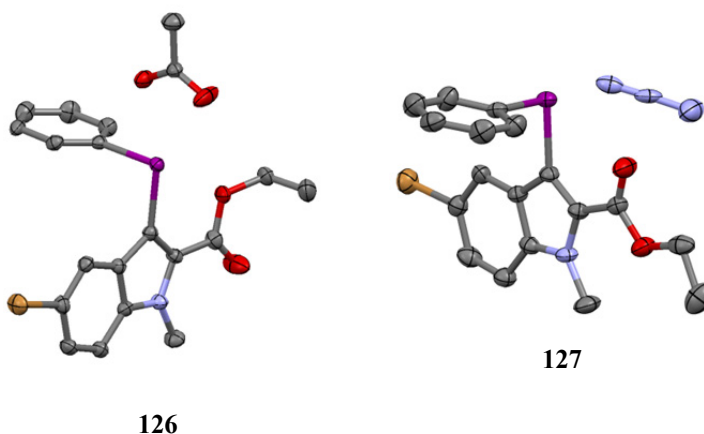
C-H Aminēšanas reakcijas apstākļi ir savietojami ar *O*-alil-, *O*-*terc*-butil- un *O*-alkil esteru funkcionālajām grupām, kā arī ar bromu un hlora aizvietotājiem. Heterocikls vai aromātiskais savienojums var saturēt *N*-alkil-, *N*-aril-, *N*-benzoil-, *N*-benzilaizvietotāju, *N*-Boc kā arī *N*-SEM aizsarggrupas.

2.2.6. (Hetero)aromātisko savienojumu C-H funkcionalizācijas mehānisms

Aromātisko un heteroaromātisko savienojumu C-H funkcionalizēšanas metožu pirmā stadija ir nesimetrisko heteroaril(aril)- λ^3 -jodānu veidošanās elektrofīlās aromātiskās aizvietošanas (Frīdela-Kraftsa) reakcijā. Šī stadija nosaka C-H funkcionalizēšanas reģioselektivitāti, jo nākamajā solī skābekļa vai slāpekļa nukleofils aizvieto λ^3 -jodāna funkcionālo grupu. Līdz ar to izstrādātajām C-H funkcionalizēšanas metodēm raksturīga elektrofīlās aromātiskās aizvietošanas reakcijām raksturīgā reģioselektivitāte. Tā, indolos un kondensētos pirosos C-H funkcionalizēšana notiek β -stāvoklī, pirosos nukleofils stājas α -stāvoklī, bet 2,5-diaizvietotajos pirosos – β -stāvoklī. Aromātiskajos savienojumos C-H funkcionalizēšanas reģioselektivitāti nosaka spēcīgākais elektrondonorais aizvietotājs, kurš λ^3 -jodāna veidošanos un, līdz ar to, arī nukleofīla uzbrukumu virza *para* stāvoklī. Jāatzīmē, ka funkcionalizējamajam aromātiskajam vai heteroaromātiskajam savienojumam jābūt

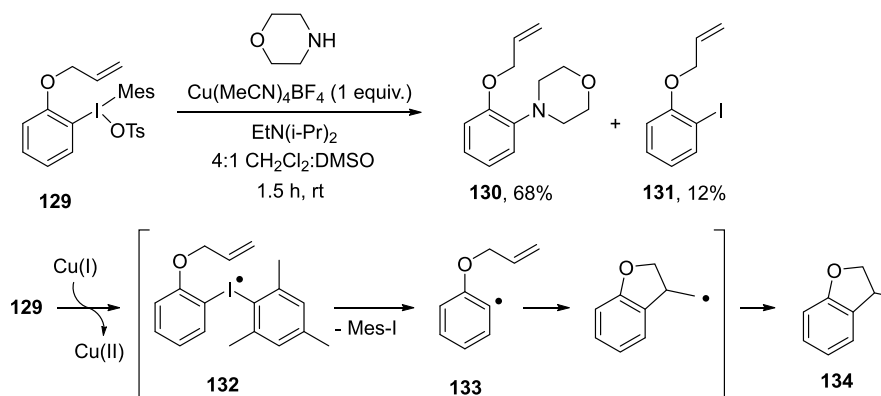
relatīvi elektroniem bagātam. C–H Aminēšanas metodes izstrādes gaitā noskaidrots, ka par toluolu elektroniem mazāk bagātie arēni ar λ^3 -jodāniem neregē. Būtiski, ka visos C–H funkcionalizēšanas piemēros veidojās tīri reģioizomēri, liecinot par reakcijas augsto reģioselektivitāti.

C–H Funkcionalizēšanas reakcijas noslēdzošā stadija ir produktu veidojošā Cu(I) vai Pd(II)-katalizētā nesimetrisko heteroaril(aril)- λ^3 -jodānu reducējošā eliminēšanās. Lai gan heteroarēnu C-H acetoksilēšanas reakcijā par katalizatoru sākotnēji tika izmantoti Pd(II) sāļi, kontroles eksperimenti parādīja, ka Cu(I) sāļi tikpat efektīvi katalizē C–O saiti veidojošo reducējošo eliminēšanos. Diemžēl plašie Cu(I) katalizētās reducējošās eliminēšanas pētījumi nesniedz viennozīmīgu atbildi par reakcijas mehānismu. Piemēram, nukleofilo pretjonu saturošie nesimetriskie heteroaril(aril)- λ^3 -jodānu starpsavienojumi **126** un **127** ir izdalīti un raksturoti tikai acetoksilēšanas un azidēšanas reakciju gadījumā (40 att.), bet C–H aminēšanas gadījumā atbilstošo amīnu saturošu heteroaril(aril)- λ^3 -jodānu **128** veidošanos reakcijas gaitā novērot neizdevās. Tai pat laikā jodānu **128** iesaistīšanos C–H aminēšanas katalītiskajā ciklā izslēgt nevar, jo amīnu saturoši λ^3 -jodāni ir ārkārtīgi nestabili, un tie nav izdalīti.



40. att. Nesimetriskie heteroaril(aril)- λ^3 -jodānu starpsavienojumi un to rentgenstruktūras attēli

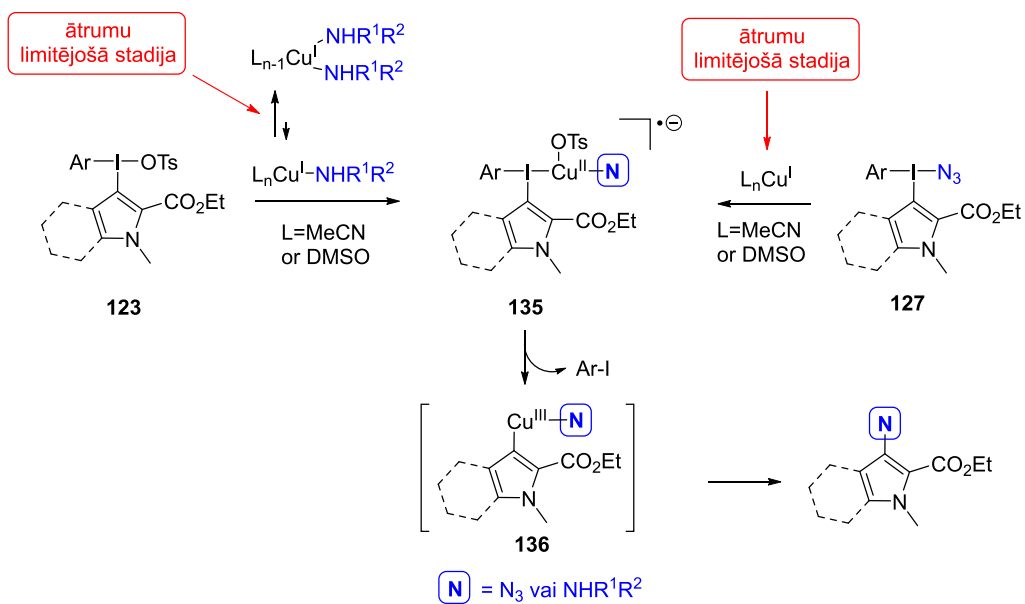
C–H Aminēšanas mehānisma pētījumos noskaidrots, ka radikāļi visticamāk nav iesaistīti reakcijas katalītiskajā ciklā. Šāds atzinums izriet no *orto*-aliloksifenil- λ^3 -jodāna **129** C–H aminēšanas eksperimenta rezultātiem (41. att.), kad no jodāna **129** tika iegūts vēlamais amīns **130** un jodīda blaskuprodukts **131**, bet dihidrobenzofurāna **134** veidošanās netika novērota. Heterocikls **134** veidotos tad, ja Cu(I)-katalizētā reducējošā eliminēšanās jodānā **129** norisinātos caur viena elektrona pārnesi no Cu(I) centra uz jodānu **129** un attiecīgā diariljoda radikāļa **132** veidošanos (sk. arī 2.2.1. nodaļu un 31. att.). Sekojošajā nestabilā radikāļa **132** fragmentācijā un fenilradikāļa **133** ciklizācijā veidotos dihidrobenzofurāns **134**.



41. att. *Orto*-aliloksifenola C–H aminēšanas eksperiments.

Noskaidrots, ka Cu(I) sāļiem piemīt ievērojami augstāka katalītiskā aktivitāte nekā atbilstošajiem Cu(II) kompleksiem. Cu(I) Sāļu katalītiskais efekts acīmredzot nav saistīts ar to Lūisa skābju īpašībām, jo citas Lūisa skābes nekatalizēja nedz C–H azidēšanas reakciju (piemēram, $(\text{Ph}_3\text{P})\text{AuCl}$, $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ un $\text{Sc}(\text{OTf})_3$), nedz arī C–H aminēšanu ($\text{Pd}(\text{OCOCF}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{OTf})_2$ un $\text{Sc}(\text{OTf})_3$). Vērtīgas atziņas par reakcijas mehānismu sniedza reakcijas ātruma mērījumi. Piemēram, noskaidrojām, ka C–H azidēšana ir pirmās kārtas reakcija attiecībā pret Cu(I) katalizatoru, bet nulltās kārtas attiecībā pret azīda anjonu. Rezultāti liecina, ka Cu(I) sāļi ir iesaistīti katalītiskā cikla reakcijas ātrumu limitējošajā stadijā, bet reducējošā eliminēšanās un heteroarilazīda produktu veidošanās ir iekšmolekulārs process. Turpretī C–H aminēšanas reakcijas ātruma pētījumi liecina, ka reakcija ir pirmās kārtas pret Cu(I) katalizatoru un pret amīnu (morfolīnu), bet nulltās kārtas attiecībā pret λ^3 -jodānu **123**. Tātad, C–H aminēšanas katalītiskā cikla ātrumu limitējošajā stadijā iesaistīti tikai Cu(I) katalizators un amīns, bet visas tālākās λ^3 -jodāna **123** pārvērtības ir ātrs process. Šī atziņa ievērojami apgrūtina reakcijas mehānisma pētījumus.

Reakcijas mehānisma pētījumi ļauj izvirzīt hipotētisku C–H funkcionalizēšanas mehānismu, kurš katalītiskā cikla noslēgumā paredz produktu veidojošo reducējošo eliminēšanos no Cu(III) kompleksa **136** (42. att.). Reakcijas mehānisma pirmā stadija ir viena elektrona pārnese no Cu(I) katalizatora uz λ^3 -jodānu **123** vai **127**, veidojoties anjonradikālim **135**. Pieņemot, ka anjonradikālī **135** elektrons lokalizējas indola-joda(III) saites irdinošajā σ^* -orbitālē un to pavājina, anjonradikālis **135** var sabrukt par Ar-I un indolilradikāli, kurš rekombinējas ar Cu(II)-amīna vai Cu(II)-azīda kompleksu un veido Cu(III) daļiņu **136**.



42. att. Hipotētiskais C–H funkcionalizēšanas mehānisms

GALVENIE REZULTĀTI

I daļa. mPGES-1 inhibitoru sintēze

1. Struktūras-aktivitātes likumsakarību pētījumiem un farmakoforā modeļa izstrādei sintezēti 254 mPGES-1 inhibitori;
2. Izveidots mPGES-1 inhibitoru un mērķenzīma farmakoforais modelis, ar kura palīdzību veiksmīgi prognozēta inhibitorā aktivitāte virtuāli dizainētiem savienojumiem;
3. Darba rezultātā iegūti četri līdersavienojuma kandidāti tālākai izmantošanai *in vivo* pētījumos.

II daļa. C–H funkcionalizēšanas metožu izstrāde

1. Izstrādāta metode elektroniem bagātu heteroaromātisko savienojumu reģioselektīvai C–H acetoksilēšanai, izmantojot hipervalentos joda(III) savienojumus un Pd(II) katalizatorus;
2. Izstrādāta metode elektroniem bagātu aromātisko un heteroaromātisko savienojumu reģioselektīvai C–H azidēšanai un C–H aminēšanai istabas temperatūrā, izmantojot hipervalentos joda(III) savienojumus un Cu(I) sāļu katalīzi. Metode savietojama ar plašu amīnu klāstu.

SECINĀJUMI

I daļa. mPGES-1 inhibitoru sintēze

1. Ar otrās paaudzes farmakoforo modeli prognozētās mPGES-1 inhibējošās aktivitātes labi korelē ar eksperimentāli noteiktām vērtībām, tādējādi apstiprinot farmakoforā modeļa pareizību;
2. Saskaņā ar izstrādāto farmakoforo modeli, saistību ar mPGES-1 enzīmu nodrošina pieci farmakoforie struktūrelementi ligandā: otrējā amīda N-H protona ūdeņraža saite un hidrofobā tipa mijiedarbība ar liganda četriem lipofīlajiem fragmentiem;
3. Savienotājelements starp liganda centrālo gredzenu un benzimidazola fragmentu nav iesaistīts liganda–enzīma mijiedarbības nodrošināšanā.

II daļa. C–H funkcionalizēšanas metožu izstrāde

1. Pallādijs(II) un vara(I) katalizatoru klātbūtnē reducējošā eliminēšanās nesimetriskajos diaril- λ^3 -jodānos notiek ar pretēju selektivitāti nekā nekatalizēta procesa gadījumā: diaril- λ^3 -jodānos heteroatoma ligands veidos saiti ar telpiski mazāk traucēto vai elektroniem bagātāko no diviem arilligandiem;
2. C–H Funkcionalizēšanas reģioselektivitāti aromātiskajos un heteroaromātiskajos savienojumos nosaka nesimetriskā λ^3 -jodāna veidošanās elektrofilās aromātiskās aizvietošanās (Frīdeļa-Kraftsa) reakcijā. Arēnos C–O un C–N saite veidosies *para* stāvoklī pret elektrondonoro aizvietotāju. Vairāku elektrondonoro aizvietotāju gadījumā λ^3 -jodānu veidošanos un līdz ar to arī C–H funkcionalizēšanas reģioselektivitāti arēnos noteiks spēcīgākais no elektrondonorajiem aizvietotājiem. Heteroaromātiskie savienojumi reaģēs saskaņā ar tiem raksturīgo reaģētspēja Frīdeļa-Kraftsa reakcijas apstākļos.

GENERAL DESCRIPTION OF THE DISSERTATION THESIS

1.1. Description of the topic, structure and volume of the paper

The prompt development of pharmaceutical, material science and other interdisciplinary sciences over the recent decades has significantly influenced research character and directions of "traditional" sciences. For example, organic chemistry has increasingly become oriented toward solving problems of other sciences. Consequently, organic chemistry alike analytical chemistry, gradually turns into a sort of "tool" or a set of methodologies for the achievement of interdisciplinary research goals. Important research directions in contemporary organic chemistry is development of new synthetic methodologies for medical chemistry, agrochemistry and pharmaceutical industry. Because chemical-pharmaceutical industry is among top priority fields of Latvian economy, this dissertation thesis in the field of medical chemistry contributes to the preparation of industry specialists.

The dissertation thesis comprises a chapter describing medicinal chemistry case study and another chapter focused on the development of synthetic methodologies for medicinal chemistry. The medicinal chemistry case study is directed to the development of non-steroidal anti-inflammatory drugs with a new mechanism of action. The pharmacological target in the study is microsomal prostaglandin synthase 1 (mPGES-1). Computer modelling along with traditional structure-activity relationship (SAR) studies has been used in the design of the enzyme inhibitor. Development of a pharmacophore model facilitated the development of inhibitors and the work has resulted in several lead structures for further *in vivo* studies. The intellectual contribution in the development of mPGES-1 inhibitors is summarized in 4 international patent applications.

The synthetic methodology part of the dissertation thesis is directed toward the development of new organic synthesis methods for the late-stage functionalization of a lead structure in drug discovery. Introduction of structural diversity at the final stages of the synthesis of the lead structure i.e. "late modification" substantially speeds up SAR studies and streamlines synthetic work. Methods for regioselective amination and oxidation of aromatic and heteroaromatic compounds based on C-H bond activation approach have been developed in the dissertation thesis. The developed one-pot sequential methodology comprises an initial activation of C-H bonds with hypervalent iodine (III) compounds, followed by intermolecular reaction of intermediate λ^3 -iodanes with structurally diverse nitrogen and oxygen nucleophiles. Developed methods have been published in three scientific publications. The dissertation thesis is based on three scientific publication and a four PCT Patent Applications, all of them written in English. The thesis summary provides a general overview of the complete work.

1.2. Research objectives and tasks

The present dissertation has two mutually related **objectives**:

1. Elaboration of an initial *hit* of mPGES-1 synthase inhibitor into a *lead* structure for further *in vivo* development;
2. Development of a new synthetic methodology for "late modification" of a core structure of potential drug compounds. The development is to be based on a C–H bond activation approach which does not require prior modification of the core structure and, hence, allows for a direct transformation of C-H bonds to C-O and C-N bonds.

The following **tasks** have been set forth for achievement of the objectives:

1. synthesize structurally diverse analogues of the *hit* and develop a preliminary pharmacophore model of mPGES-1 inhibitors;
2. elaborate the pharmacophore model and perform structure-activity relationship (SAR) studies;
3. employ the optimized pharmacophore model for the *in silico* prediction of mPGES-1 inhibitor activity; synthesize the predicted, most active compounds and test their inhibitory activity;
4. develop a method for regioselective C–H oxidation of electron-rich heteroaromatic compounds using hypervalent iodine (III) compounds;
5. develop a method for regioselective C–H azidation and C–H amination of electron-rich heteroaromatic compounds employing hypervalent iodine (III) compounds

PRINCIPAL RESULTS OF THE DISSERTATION

2.1. Development of microsomal prostaglandin synthase 1 (mPGES-1) inhibitors

In 2004, pharmacies discontinued sale of a number of anti-inflammatory drugs, for example, rofecoxib due to the fact that a prolonged use of the drug caused severe, often lethal cardiovascular complications to a number of patients. It must be noted that the sales of rofecoxib in 2003 reached 2.5 billion US dollars thus indicating on the high demand for anti-inflammatory drugs. In order to replace the drugs withdrawn from market, many of the global leading pharmaceutical companies commenced research on development of inflammatory drugs with a new mechanism of action.

2.1.1. Arachidonic acid metabolism

For most of the non-narcotic anti-inflammatory, anti-fever and pain-relief drug compounds used today the pharmacological mechanism of action is based on inhibition of the formation of prostaglandin PGE₂. Prostaglandin PGE₂ is a metabolite of arachidonic acid (AA), an unsaturated fatty acid which forms in tissues as a response to adverse proinflammatory stimuli (mechanical, chemical, thermal, neural or humoral). Accumulation of prostaglandin PGE₂ in tissues is associated also with pain, because PGE₂ increases the sensitivity of nociceptors (pain receptors) to irritants and causes hyperalgesia. Furthermore, PGE₂ effects dilatation of blood vessels, increases permeability of capillary walls and causes swelling. All these –symptoms are characteristic of inflammation. Therefore prostaglandin PGE₂ is considered to be the mediator of inflammation.

Formation of prostaglandin PGE₂ in principle could be inhibited at various steps of arachidonic acid metabolism (Figure 1). For example, blocking of the phospholipase A₂ (PLA₂) with glucocorticoids (prednisolone, methylprednisolone, Figure 2) inhibits the release of arachidonic acid. However, most of drug compounds (such as aspirin, paracetamol, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) ibuprofen, diclofenac as well as so-called coxibs - celecoxib and rofecoxib, see Figure 2) are aimed at inhibition of cyclooxygenase, particularly an inducible isoenzyme COX-2. It is noteworthy that COX-2 acts as a cocatalyst and mediator of mPGES-1. Thus, under normal physiological conditions, the level of mPGES-1 is low. However, increased expression of COX-2 brings about up-regulation of mPGES-1, which in turn ensures prompt formation of PGE₂.

It is important to note that virtually all marketed anti-inflammatory drugs possess side effects. The reason for this is concomitant inhibition of biosynthesis of other arachidonic acid metabolites - leukotriene (LTA₄), thromboxane (TXA₂) and prostaglandins (PGF_{2a}, PGD₂ and PGI₂). Arachidonic acid metabolites are bioregulators in many physiologically important processes.

They affect cardiac, digestive, respiratory and reproductive systems and the inhibition of their biosynthesis may cause undesirable physiological consequences. It should be emphasized that metabolites of arachidonic acid often have the opposite physiological effects. For instance, thromboxane A₂ (TXA₂) constricts blood vessel walls and increases arterial pressure, whereas prostaglandin I₂ (PGI₂) effects dilatation of blood vessels. The antagonistic effects of TXA₂ and PGI₂ is also present in blood clotting: TXA₂ is a powerful inducer of platelet aggregation whereas PGI₂ inhibits platelet aggregation and adhesion. Similarly, prostaglandin PGF_{2α} and PGD₂ cause bronchial constriction while prostaglandin PGE₂ is known for its bronchodilator effect.

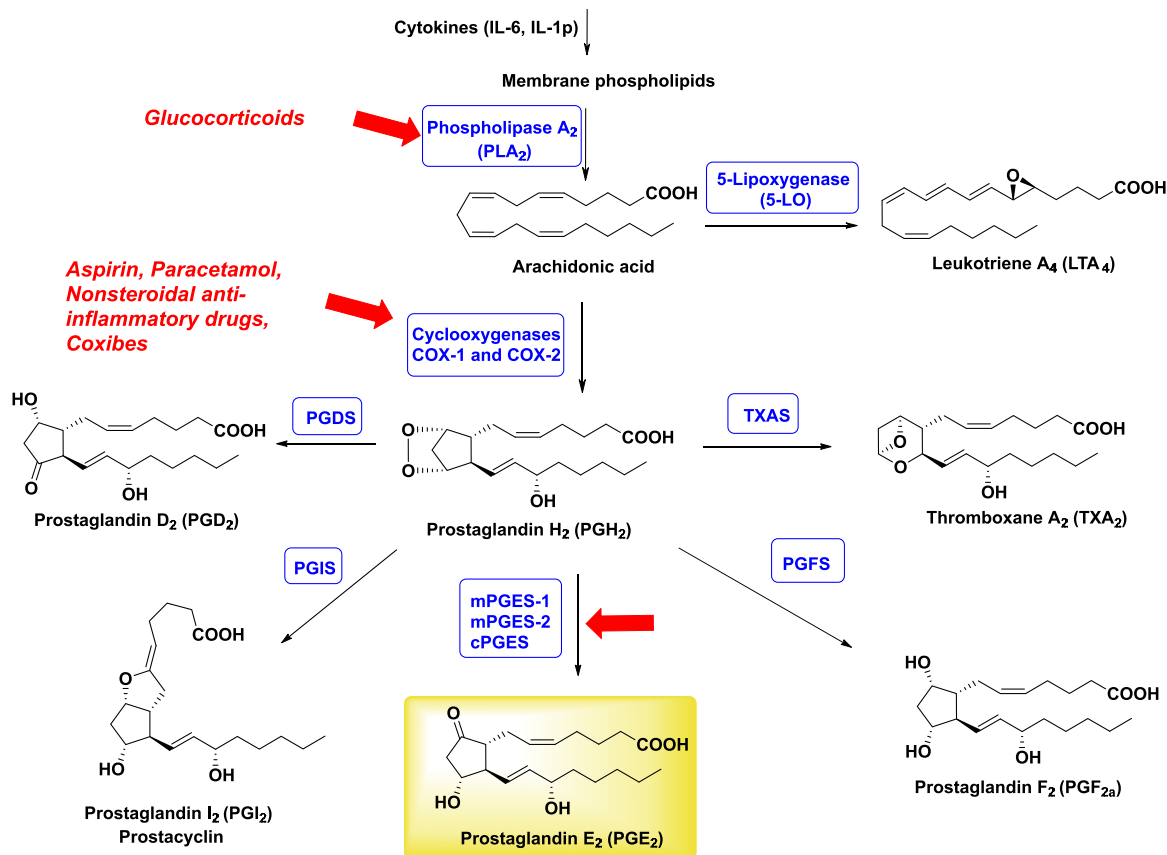


Figure 1. Arachidonic acid metabolism

The side-effects of the non-selective prostaglandin PGE₂ inhibition have caused withdrawal of several marketed anti-inflammatory and pain-relief drugs. For example, in 2014, pharmacies discontinued the sale of COX-2 inhibitor rofecoxib, because a prolonged use of this medicament caused severe often even lethal cardiovascular complications.

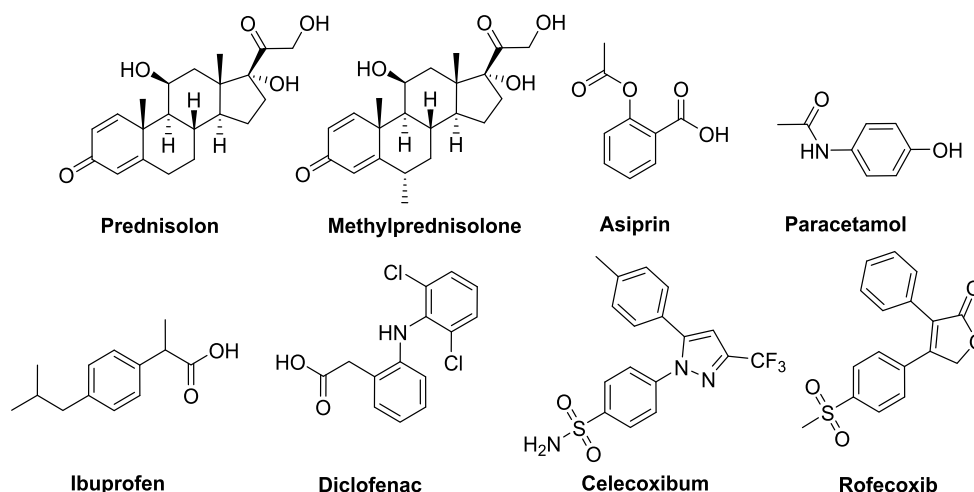


Figure 2. Representative anti-inflammatory drugs

Analysis of arachidonic acid's metabolic pathway (Figure 1) shows that the biosynthesis of the anti-inflammatory mediator PGE_2 can be blocked selectively by inhibitory mPGES-1, a group of enzymes comprising a cytosole-localized cPGES and a membrane-bound proteins mPGES-1 and mPGES-2. It should be noted that cPGES and mPGES-2 are constitutive enzymes which ensure the homeostatic level of PGE_2 . On the contrary, mPGES-1 synthase is an inducible enzyme, which expression is caused by increase of COX-2 levels due to presence of proinflammatory stimuli. Therefore mPGES-1 is suitable therapeutic target for the development of anti-inflammatory, anti-fever and pain-relief drugs.

The structure of human's mPGES-1 synthase complex with glutathione (GSH) has been determined by X-ray method (at 3.5 Å resolution). Human's mPGES-1 possesses 3 identical subunits and each of the subunit forms 4 transmembrane domains. The identification of complex structure rendered feasible understanding the role of mPGES-1 in PGH_2 transformation to PGE_2 . Accordingly, an initial attack of GSH thiolate anion to the oxygen of PGH_2 endoperoxide C-9 is followed by proton transfer from mPGES-1 synthase (Arg-126) to C-11 oxygen, resulting in hydroxy group formation. Subsequently, the C-9 position undergoes deprotonation with mPGES-1 synthase (Arg-126) thus forming ketone and regenerating GSH thiolate anion (Figure 3).

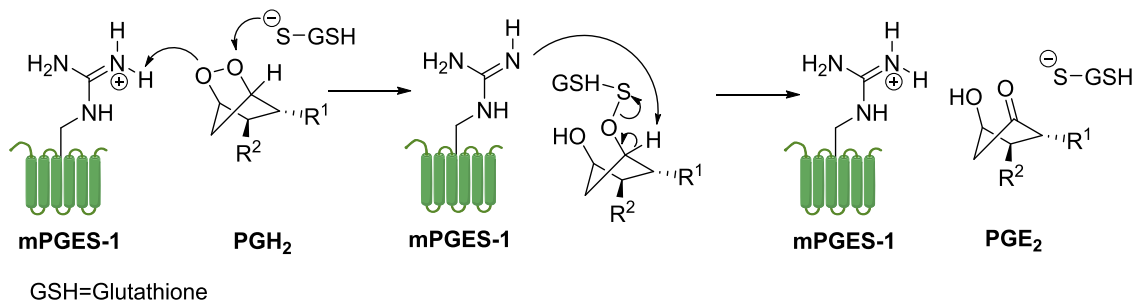


Figure 3. The postulated mechanism of mPGES-1-catalyzed formation of PGE_2 .

Design of several mPGES-1 inhibitors was based on the mechanism of PGE₂ biosynthesis. For example, a fatty acid **1** was designed as an analogue of prostaglandin PGH₂ so that the peroxide cycle was replaced by a bicyclic moiety (Figure 4). Most of the mPGES-1 inhibitors, however, do not have apparent structural similarities to the endogenous substrate PGH₂. Among the most common structural motifs in mPGES-1 inhibitors are indoles and related heterocycle - thienopyrroles (indole derivative **2**, developed by the Canadian company *Merck Frosst*, compound **3**, developed in an Italian company *Aziende Chimiche Riunite*, the indole **4** and thienopyrrole **5** jointly developed by the Swedish company *Biolipox(Orexo)* and Latvian OSI). Among other scaffolds there is 2-arylimidazole and 2-arylbenzimidazole (imidazole **6**, 2-aryl imidazole's derivative created by the German company *Boeringer-Ingelheim* **7**, and benzimidazole **8**). Several mPGES-1 inhibitors possess sulfonamide functional group (bis-sulfonamide **9** developed by the Swedish company *ASTRA ZENECA* and *Biolipox(Orexo)/LOSI* developed bis-sulfonamide **10**). Among the patented mPGES-1 inhibitors there is licofelone **11** (currently undergoes 3rd-phase clinical trials), carbazole derivative **12**, 2,4-dehydro-pyrazolone **13**, pyrimidine derivative **14**, thienylcarboxylic acid amide **15**, isophthalic acid diamide **16** developed by the Swedish company *NOVA-SAID* and benzoxazole **17** (Figure 4).

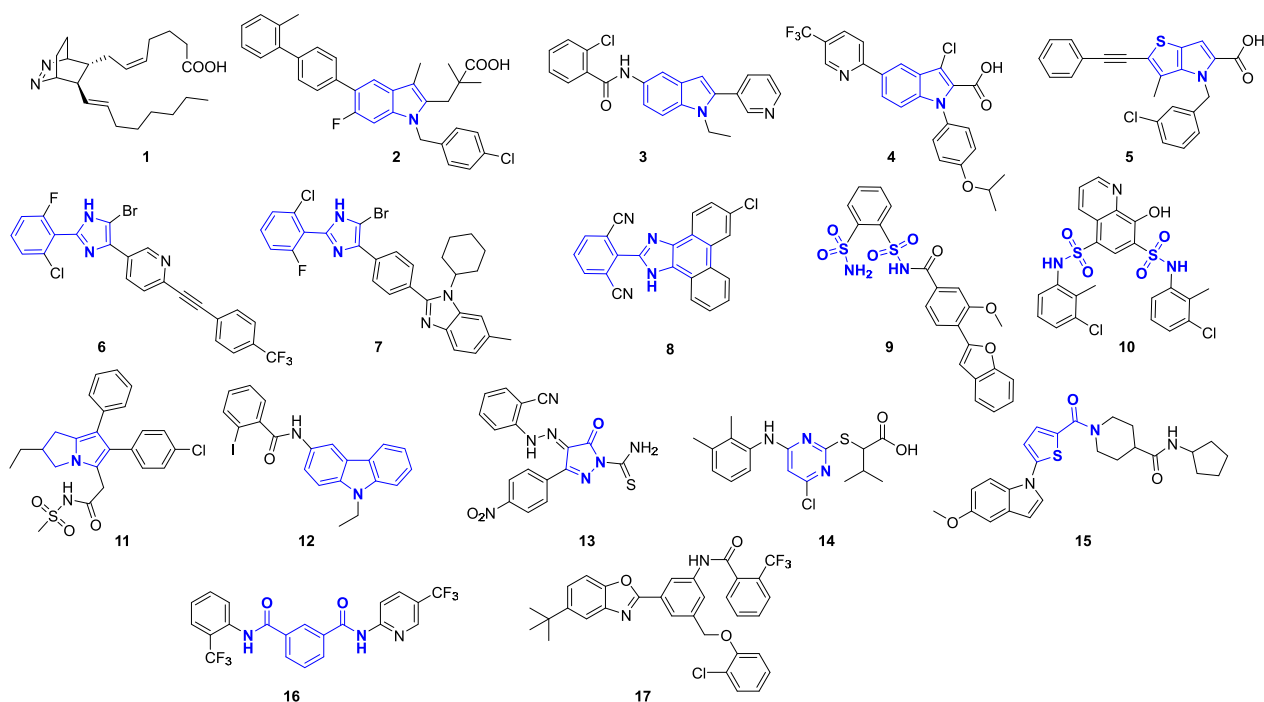


Figure 4. Patented mPGES-1 inhibitors

2.1.2. Pharmacophore model

Computer modelling is widely used to streamline drug development because modelling helps to predict efficiency of interactions between a chemical compound and target protein.

Modelling also provides information about electronic, geometric, or steric properties of target protein–ligand complex. Majority of models correlate biological activity with 3-D chemical structure or specifically selected structural elements of ligand. They are called *Quantitative Structure-Activity Relationship* models or *QSAR* models. The term QSAR model often is used in a broader context, for example to describe any "structure-property" relationship. Pharmacophore models are among the most popular QSAR models. Pharmacophore modeling is used for target proteins of unknown spacial (tertiary or quaternary) structure.

Structural element of the pharmacophore model is pharmacophore – steric or electronic feature of a ligand that ensure binding with target protein. For example, the pharmacophore can be an aromatic ring in a ligand or a functional group such as hydroxy, amine functional group or carboxylate anion. Steric and electronic properties of each of the pharmacophore (as well as of a drug compound) are described by descriptors. A descriptor is, for example, hydrogen bond vector, hydrophobic surface area, substituent's dipole moment, charge, resonance forms, presence of aromatic π -system etc. In the pharmacophore modelling each of pharmacophores is described with as many different descriptors as possible. This helps to find common descriptors for all ligands using mathematics analysis. For example, the presence of an aromatic π -system itself is a descriptor. However, aromatic rings possess hydrophobic properties, so an additional descriptor for aromatic rings is hydrophobic surface (Figure 5).

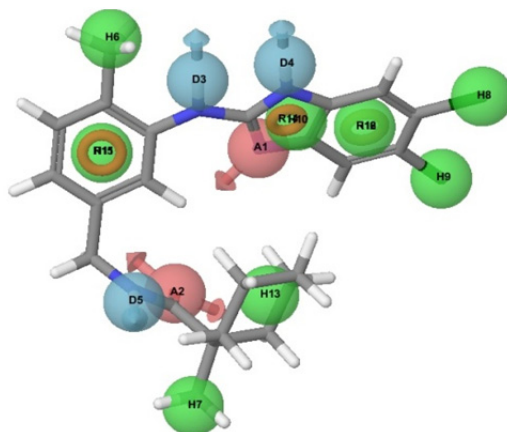


Figure 5. Pharmacophore model (hydrophobic property is added to aromatic rings, green-hydrophobic, red-proton acceptor, blue-proton donor, orange–aromatic π -system).

The pharmacophore model is usually generated using a set of ligands with experimentally -determined affinity toward the target protein. The entire set of ligands is divided randomly in two: working set and training set. Sets may be either equal or different in numbers. The working set is used to create the pharmacophore model, whereas the training set is used to test the prediction ability of the created model. Development of pharmacophore model starts with calculation of lowest energy conformation for each of the working set molecule. It is assumed that the lowest energy

conformation corresponds to bioactive conformation. The next step is to find as many descriptors as possible that are common for all of active ligands but are not present in all of non-active molecules of the working set. During the model development, a number of pharmacophore model hypotheses are generated. Their respective accuracy is tested using the training set. The best pharmacophore model hypotheses are able to predict the binding affinity for 70–85% of ligands in the test group, and this is a very good indicator. The developed pharmacophore model is further used to predict the binding affinity of ligands.

2.1.3. SAR studies. First generation pharmacophore model.

Starting point for the development of a new patentable mPGES-1 inhibitor was a hit structure– acylated amino methyl aniline **19**, discovered during high-throughput screening (HTS) at German pharmaceutical company *Boehringer Ingelheim*. The hit structure exerted micromolar inhibitory activity against mPGES-1 ($IC_{50}=832$ mM; Figure 6). In order to simplify the development of new mPGES-1 inhibitors and streamline synthetic work, we decided to combine a "traditional" SAR studies with computer modelling in our "hit-to-lead" optimization program. When our work was commenced, there were no information available regarding structure of mPGES-1 and enzyme active site. Therefore, pharmacophore modelling was selected from the range of QSAR models as this type of QSAR is especially useful in the case of target proteins with unknown structure. The use of pharmacophore model helps to predict inhibitory activity and provides information on the interaction between the enzyme and ligand.

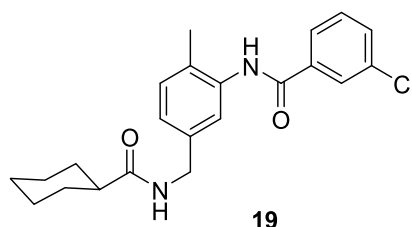


Figure 6. Hit structure **19** from HTS at *Boehringer Ingelheim*

A structurally diverse array of ligands with experimentally determined affinity toward the target protein is necessary for development of the pharmacophore model. Therefore, we initially synthesized a wide array of ligand **19** analogues with various substituents R^1 , R^2 and R^3 in the central ring. A total of 120 compounds were synthesized and their inhibitory activity toward mPGES-1 was determined to be in the rang from $IC_{50}=1$ μ M up to $IC_{50}=60$ μ M. The most active ligands with submicromolar inhibitory concentration contained 2-aminooxazole, 2-aminobenzoxazole and 2-aminobezimidazole structural elements (Figure 7).

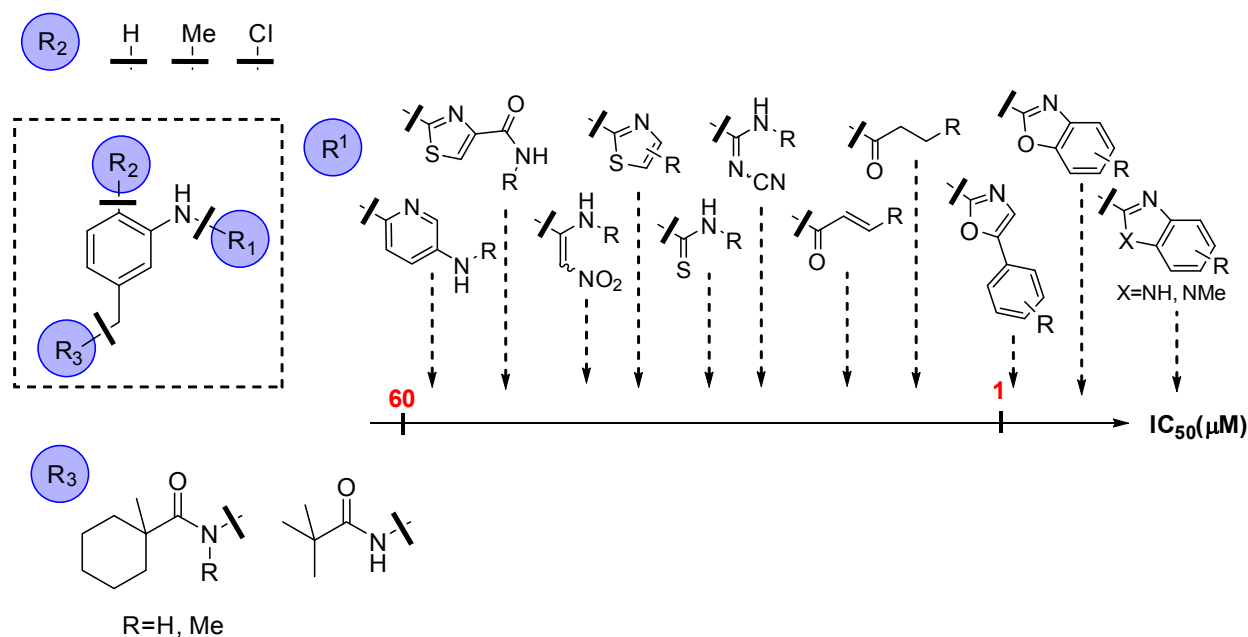


Figure 7. A set of ligands for development of pharmacophore model and initial SAR studies.

From 120 synthesized compounds, 60 were inactive ($IC_{50} > 10 \mu M$), 35 compounds had average inhibitory activity (IC_{50} ranged from 1 to 10 μM), and 25 ligands were active ($IC_{50} < 1 \mu M$). 15 Most active and 15 most inactive compounds were selected as a working set for the development of pharmacophore model. Lowest energy conformations were calculated for these 30 compounds using *Schrodinger Suite 2012* software. Matching of the calculated compound was performed by *Maestro 9.3* superposition function built into the *Schrodinger* software (Figure 8).

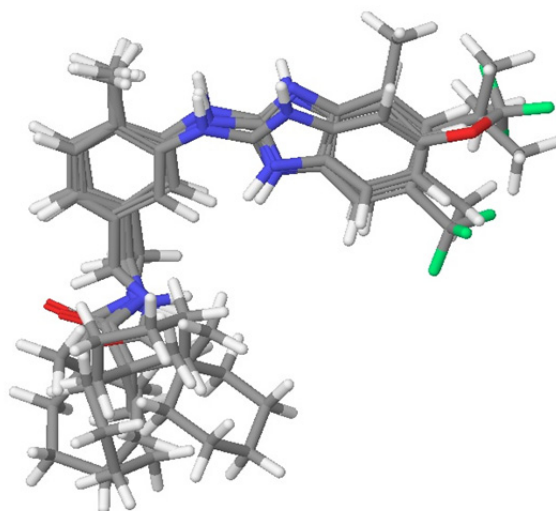


Figure 8. Superposition of a number of structures in a working set

Next, we applied *Phase 3.7* module to find pharmacophores for each of compounds. Set of descriptors was generated for each of pharmacophore (Figure 9, the automatically generated set of descriptors for ligand **20** is presented in structure **2A**). Built-in descriptor editor of the *Phase*

module permits both to modify descriptors generated by the software and to add manually new descriptors. For example, arenes possess hydrophobic properties. To thoroughly describe the aromatic ring pharmacophore, a hydrophobic property was added as an additional (new) descriptor (Figure 9, structure **2B**). Subsequent scanning of the working set provided a new database with compound pharmacophores and their descriptors.

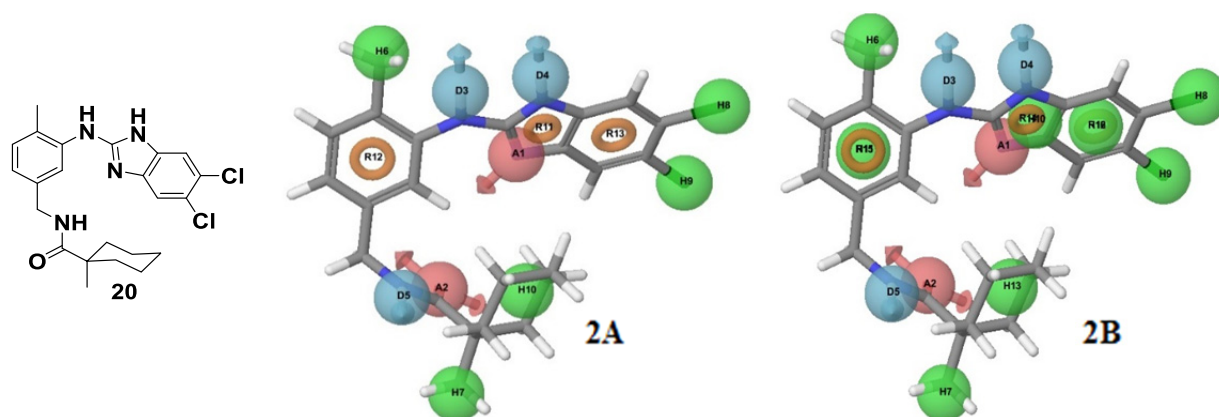


Figure 9. Descriptors for ligand **20** (green - hydrophobic, red - proton acceptor, blue - proton donor, orange - existence of aromatic π -system).

After generation of pharmacophore descriptors, we performed statistical calculations to find as many descriptors as possible that are present in all *active* ligands, and are absent in all *inactive* molecules. A total of 240 pharmacophore model hypothesis were generated in the model development phase. Further, we tested ability of multiple model hypothesis to predict compound inhibitory activity by sorting all of 120 synthesised compounds in three ligand groups: active, moderately active and inactive compounds. The larger the number of active compounds whose pharmacophore properties (radius, vector, volume) matches that of the model, and the lower the root-mean-square deviation from the model, the better the model is. Based on the prediction test, a pharmacophore model relying on four pharmacophore points has been chosen. Pharmacophore points were as follows: one hydrogen bond donor and three hydrophobic type interactions (Figure 10). The pharmacophore model successfully picked-up all 25 active compounds from the entire array of 120 synthesised compounds and separated them from moderately active and non-active ligands. However, the model incorrectly predicted 17 compounds of moderate activity and 5 inactive compounds.

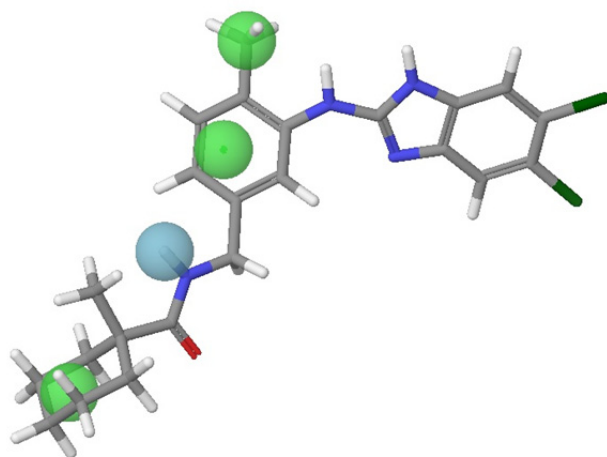


Figure 10. The first generation pharmacophore model

2.1.4. Development of second generation pharmacophore model

To improve the accuracy of the developed pharmacophore model, we decided to add extra pharmacophores. Improvement of the model would enable a more accurate selection of inactive and moderately active ligands. Search for new pharmacophore points had to be performed in the heterocycle part of ligands (e.g. benzimidazole, benzoxazole rings) as these moieties had not been characterized by pharmacophore points in the first generation model (Figure 10). Furthermore, SAR analysis indicated that the introduction of 2-aminobenzimidazole or 2-aminobenzoxazole moieties allowed for obtaining mPGES-1 inhibitors with submicromolar activity (Figure 7). Thus, in the subsequent work we focused on synthesis of benzimidazole subunit-containing heterocycles.

Synthesis of 2-aminobenzimidazoles **21-34** evidenced that introduction of lipophilic substituents at the 5th position of benzimidazole improved inhibitory activity of mPGES-1 (compounds **23-24**, **32-34**; to be compared with the non-substituted benzimidazole **21**, see Figure 11). Introduction of nitrogen atom in the 5th position of benzimidazole reduced the inhibitory activity (compound **25**), whereas benzimidazoles with nitrogen atom in 4th position retained their inhibitory activity (compound **26**, Figure 11). We also found that the presence of hydrogen bond donor in benzimidazole did not affect the inhibitory activity, which was similar for N-H benzimidazoles **21**, **24** and their structural analogues – *N*-methylbenzimidazole **28** and benzoxazole **29-30**.

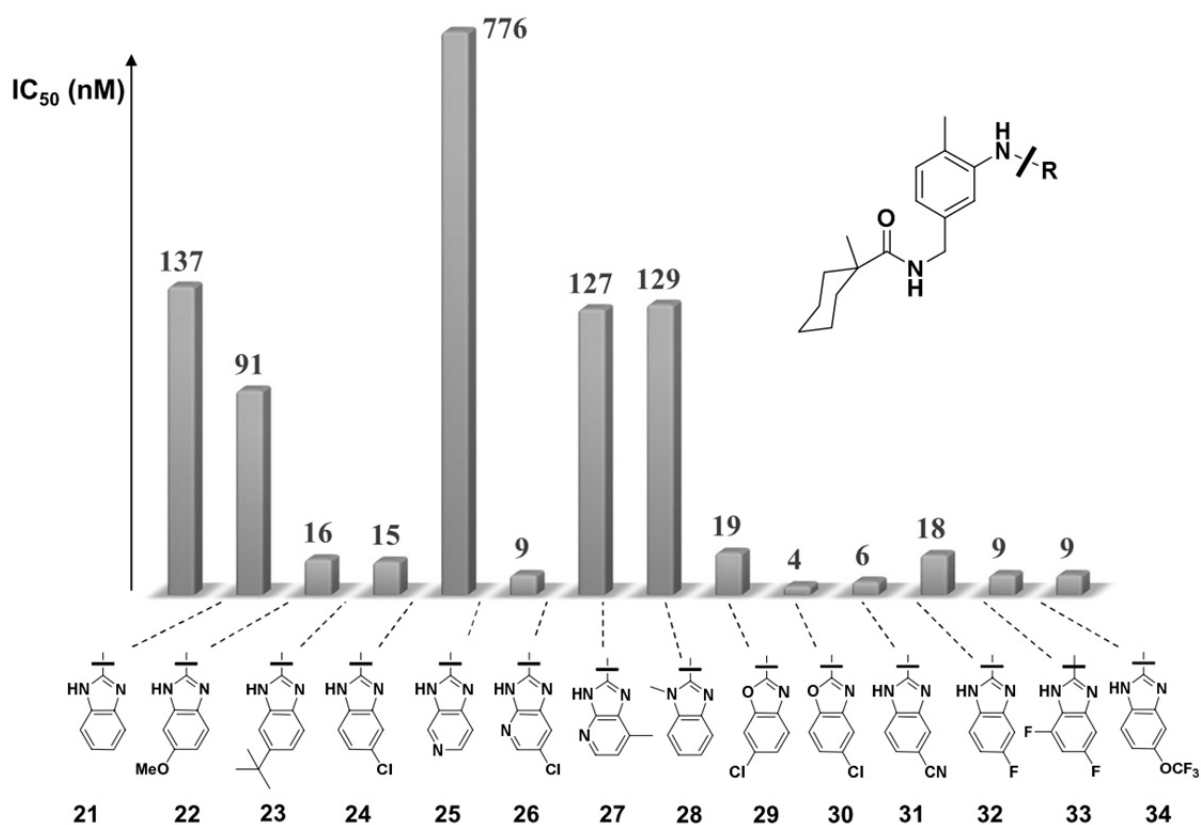


Figure 11. SAR studies in benzimidazole series 21-34.

Introduction of bulky lipophilic substituent in benzimidazole retained high inhibitory activity (compounds **36**, **40**) indicating that there is relatively large space in the active centre of the enzyme around 5th and 6th position of benzimidazole (Figure 11). The presence of polar heteroatoms substantially reduced the inhibitory activity (compounds **37**, **39** compared to **36**, **38** and **40**). These results suggest the lipophilic interaction between the benzimidazole moiety of ligand and mPGES-1.

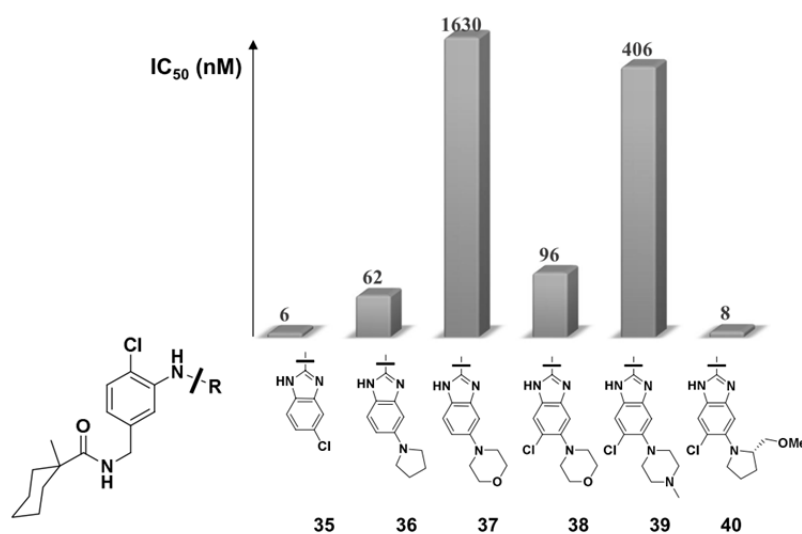


Figure 12. SAR studies in aminobenzimidazole **35-40** series

According to the first generation pharmacophore model (Figure 19), nitrogen atom between the central benzole ring and benzimidazole is merely a linker and not a pharmacophore element. Therefore its substitution degree should not affect the inhibitory activity of mPGES-1. To verify this hypothesis, we decided to replace the secondary amine linker with tertiary amine moiety as well as with a keto group. Unfortunately, tertiary amine **41** turned out to be highly unstable: it spontaneously decomposed into *N*-methyl aniline **42** and *N*-methyl phenylenediamine (Figure 13).

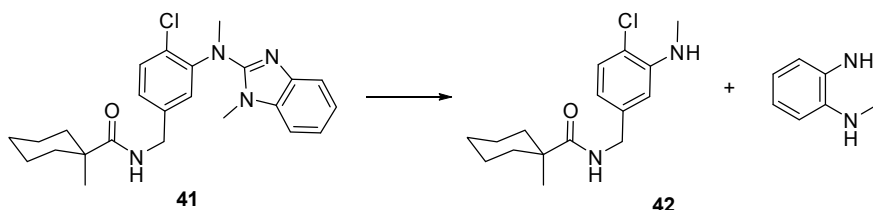


Figure 13. Decomposition of aminobenzimidazole **41**

In sharp contrast, a ketone linker-containing ligands **43-48** were stable. Furthermore, they exerted low nanomolar inhibitory activity (Figure 14). These results confirm that the linker between the central ring and benzimidazole moiety does not interact with the active site of enzyme and, hence, it is not a pharmacophore element. The absence of interactions between the linker and mPGES-1 confirmed prediction accuracy of the 1st generation pharmacophore model. It should be noted that the most active compounds in a series contain highly lipophilic substituents in the benzimidazole ring **43-48** (Figure 14).

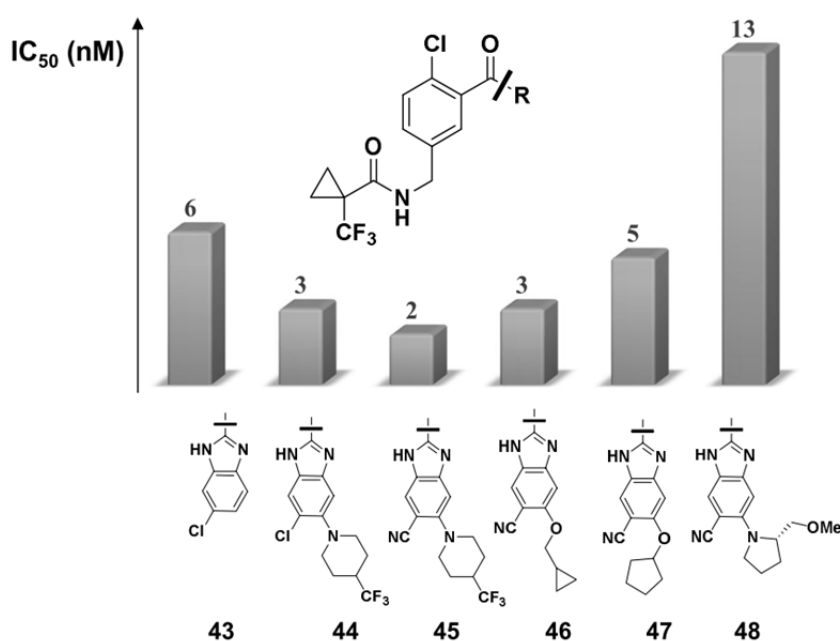


Figure 14. mPGES-1 inhibitory activity of **43-48** keto derivatives

Unfortunately, most of keto derivatives (Figure 14) feature low *in vitro* metabolic stability ($t_{1/2}$ from 2 to 15 minutes). Therefore, ketone linker containing inhibitors were not employed in further studies. Low metabolic stability was observed also for many aminobenzimidazole derivatives, such as ligands **26** ($t_{1/2}$ =1 min), **30** ($t_{1/2}$ =7 min), **31** ($t_{1/2}$ =5 min), **34** ($t_{1/2}$ =6 min), **35** ($t_{1/2}$ =7 min), **40** ($t_{1/2}$ =7 min) and **43** ($t_{1/2}$ =4 min). It was found that the low metabolic activity is related to the oxidation of 1-methylcyclohexyl group. Therefore, a series of metabolically more stable analogs **49-58** have been synthesized (Figure 15).

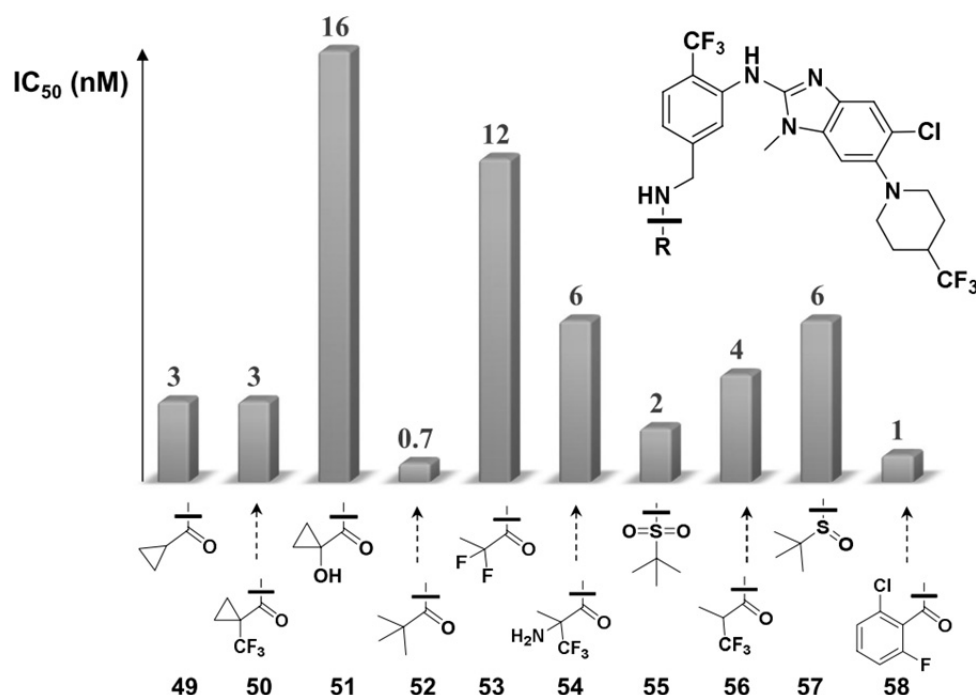


Figure 15. mPGES-1 inhibitors **49-58** with increased metabolic stability

All mPGES-1 inhibitors synthesised for SAR studies (more than 180 compounds) were used for optimization of the 1st generation pharmacophore model. After the generation of additional pharmacophore descriptors and statistical calculations, 35 new pharmacophore model hypotheses were obtained. From these, a model hypothesis involving 5 pharmacophore points was selected as the 2nd generation pharmacophore model. These 5 pharmacophore points are as follows: one hydrogen bond donor and four hydrophobic interactions (Figure 16). Although the 2nd generation model featured enhanced accuracy and better ability to select the most active compounds from inactive ones, 4 moderately active and 1 non active compound were predicted incorrectly. For the model improvement we opted to change the radii of the existing pharmacophore spheres rather than to introduce even more pharmacophores, which would result in too complex model. Upon testing various pharmacophore sphere radii, we found that the increase of lipophilic pharmacophore radius

by 0.3 Å (from 1.0Å to 1.3Å) and slight change of distances between pharmacophores provided an improved model which almost quantitatively separated all active compounds from the inactive and moderately active ones (Figure 16).

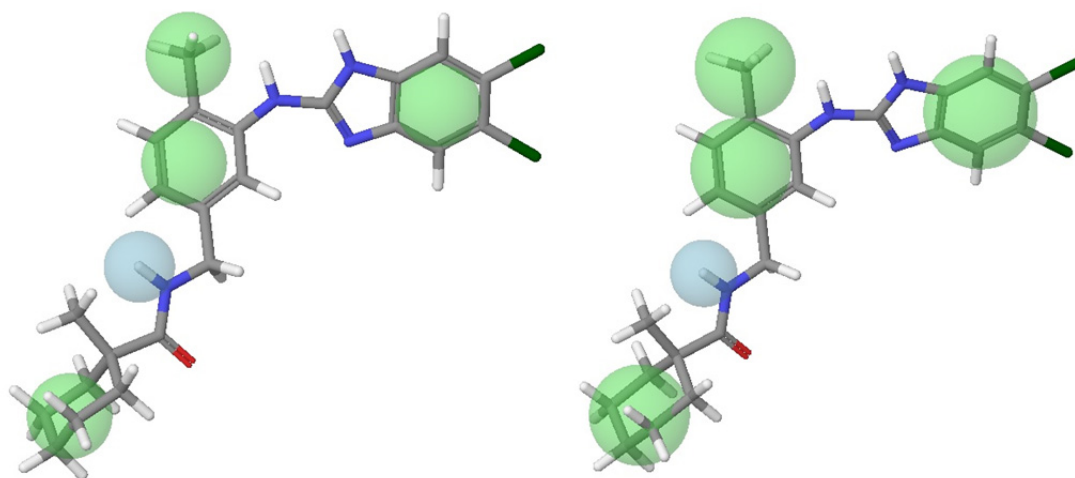


Figure 16. The second generation pharmacophore model

The pharmacophore model clearly shows the absence of steric hindrance in the mPGES-1 active site around benzimidazole 5th and 6th position. This opened the door for introduction of sterically large hydrophobic substituents at the 5th and 6th position of benzimidazole moiety in attempt to increase further the inhibitory activity. Consequently, a series of hypothetical inhibitors were designed *in silico* and examined by the second generation pharmacophore model. Among the designed structures, high inhibitory activity was predicted for benzimidazole derivatives possessing conformationally restricted amide moiety at the 5th position of benzimidazole (compounds **59-63**, Figure 17). All of compounds with predicted high activity were synthesized, and experimentally determined high inhibitory activities (Figure 17) confirmed the accuracy of the 2nd generation pharmacophore model.

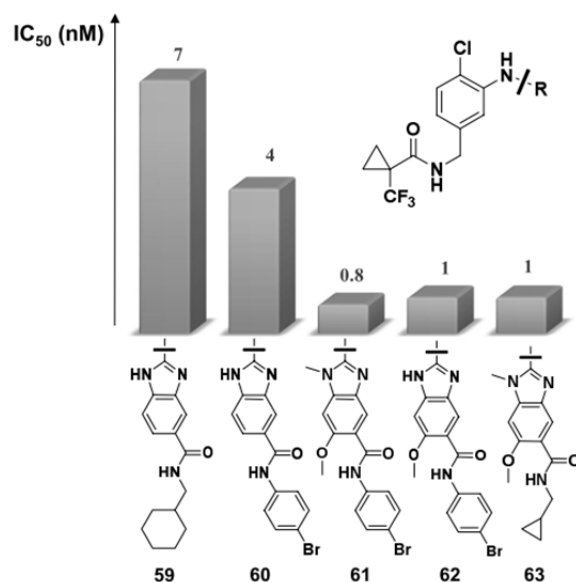


Figure 17. Amide-containing benzimidazole-based mPGES-1 inhibitors **59-63**

Notably, in contrast to the previously synthesized active inhibitors **45**, **47** and **64**, amide group-containing benzimidazoles **60-63** maintained high inhibitory activity even in the presence of human serum albumin ("A549+50% HSA" test) and also in human whole blood sample ("hWB" test) (Figure 18). These result evidence that ligands **60-63** have substantially lower affinity towards plasma proteins and, hence, feature higher bioavailability.

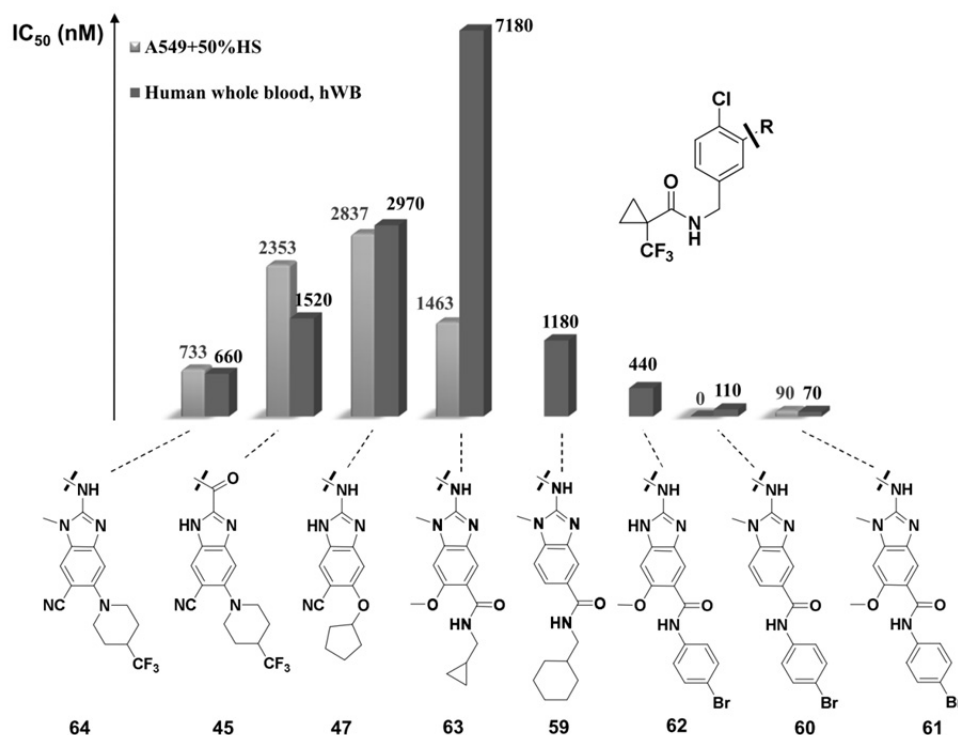


Figure 18. Inhibitory activity of the selected mPGES-1 inhibitors in the presence of plasma proteins and in a whole blood sample

Further optimization of the most active amide-containing ligands **61-62** helped not only to improve even more the inhibitory activity in the presence of plasma proteins and whole blood sample, but also to increase metabolic stability. As a result of the hit-to-lead program, four development candidates **65-68** have been nominated for further *in vivo* studies (Figure 19).

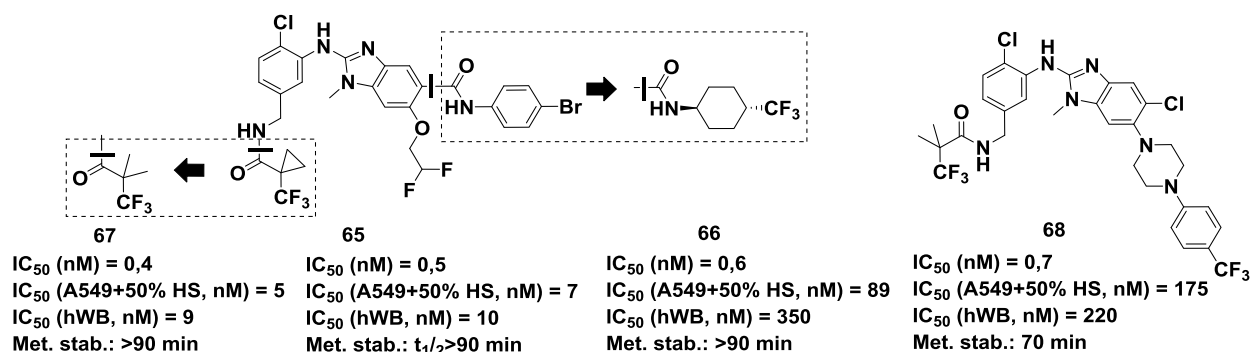


Figure 19. Development candidates for *in vivo* studies

2.1.5. Synthesis of mPGES-1 inhibitors

Synthesis of new mPGES-1 inhibitors was based on a building block strategy. Building blocks were designed so that the desired modifications of the core structure could be done at the late stages of the synthesis. Because structural modifications of inhibitors were focused mainly on variation of R¹, R², R³ and R⁴ substituents without affecting the core benzylamine scaffold, three types of building blocks **A**, **B** and **C** (Figure 20) have been employed at the initial stages of hit-to-lead program..

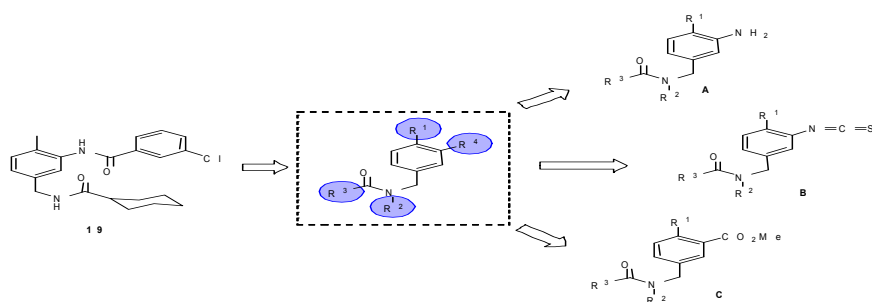


Figure 20. Building blocks for the synthesis of ligand **19** analogues

Building blocks **A** and **B** were prepared from commercially available 3-nitro benzonitrile **69**. Benzylamine **70** was obtained by reducing nitrile **69** with borane. Benzylamines **70** were converted into *N*-methyl derivatives **71** by deprotonation with NaH and further alkylation with MeI. Amines **70** and **71** were acylated with acid chlorides, whereas nitro group in amides **72** was reduced with Fe in a mixture of ethanol and saturated aqueous NH₄Cl solution (Figure 21). Aniline building blocks **A** were used for synthesis of 17 inhibitors (Figure 22). Isothiocyanate building blocks **B** were synthesized in the reaction of aniline **A** with thiocarbonyldiimidazole, and they were used for synthesis of 166 mPGES-1 inhibitors (Figure 23). Building blocks **C** were prepared in the Pd-catalyzed methoxycarbonylation of bromobenzene **75**, which was obtained by reduction of cyanobenzenes **73**, followed by *N*-acylation. Alternatively, building blocks **C** were prepared from bromobenzene **76** in a Mannih-type reaction with amide **77**, followed by trifluoroacetamide hydrolysis/*N*-acylation sequence (Figure 21). Building blocks **C** were used to synthesize 35 mPGES-1 inhibitors (Figure 25). A total of 254 mPGES-1 inhibitors were prepared from the starting building blocks **A**, **B** and **C**.

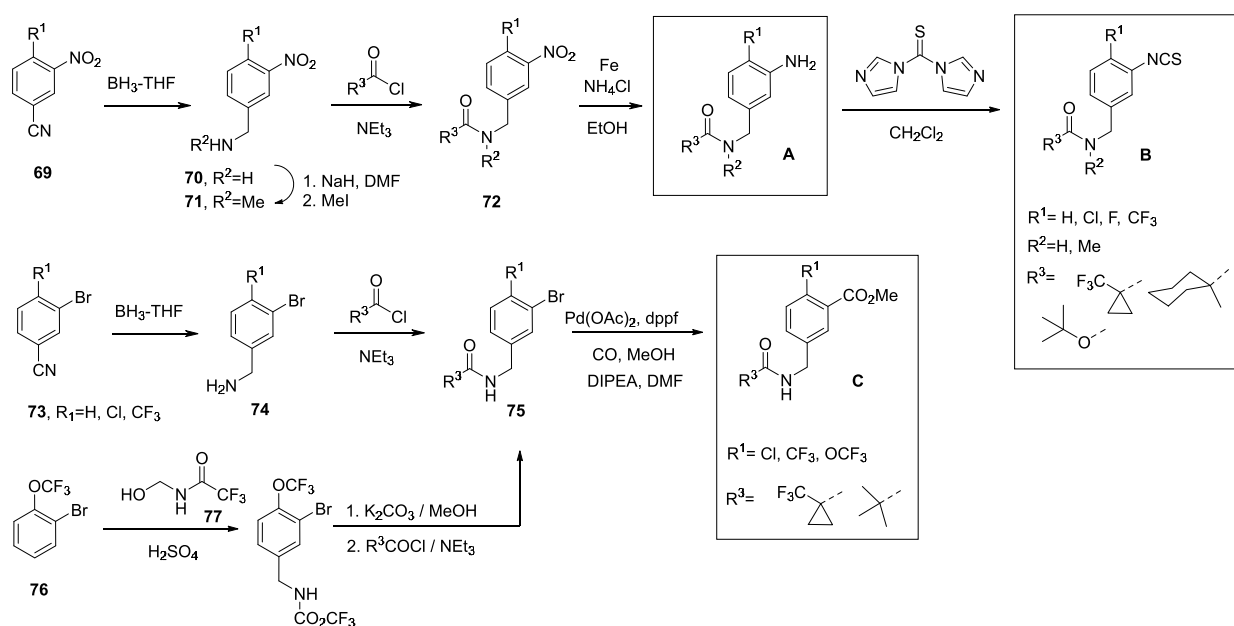


Figure 21. Synthetic approach to starting building blocks **A-C**

Building block **A** was used to obtain α,β -unsaturated carboxylic acid amides **79**, corresponding reduced derivatives **80**, diarylamines **83** and *N*-cyanoguanidines **86** (Figure 22). α,β -Unsaturated amides **79** were prepared by the reaction of building block **A** with acrylic acid chloride, followed by Pd-catalyzed Heck reaction with arylbromide. Amide derivatives **80** were obtained via Pd-catalyzed hydrogenation of α,β -non-saturated amides **79**. Aminopyridine derivatives **83** were synthesized in the reaction between building block **A** and 2-chloro-5-nitropyridine **81**, followed by nitro group reduction and reductive amination reaction. Substituted *N*-cyanoguanidine derivatives

86 were accessible from building block **A** and *N*-cyano-*S,S*-dimethyldithioimidocarbonate **84** in the presence of NaH. Obtained intermediates **85** were converted to target *N*-cyanoguanidines **86** in the reaction with various aliphatic amines (Figure 22).

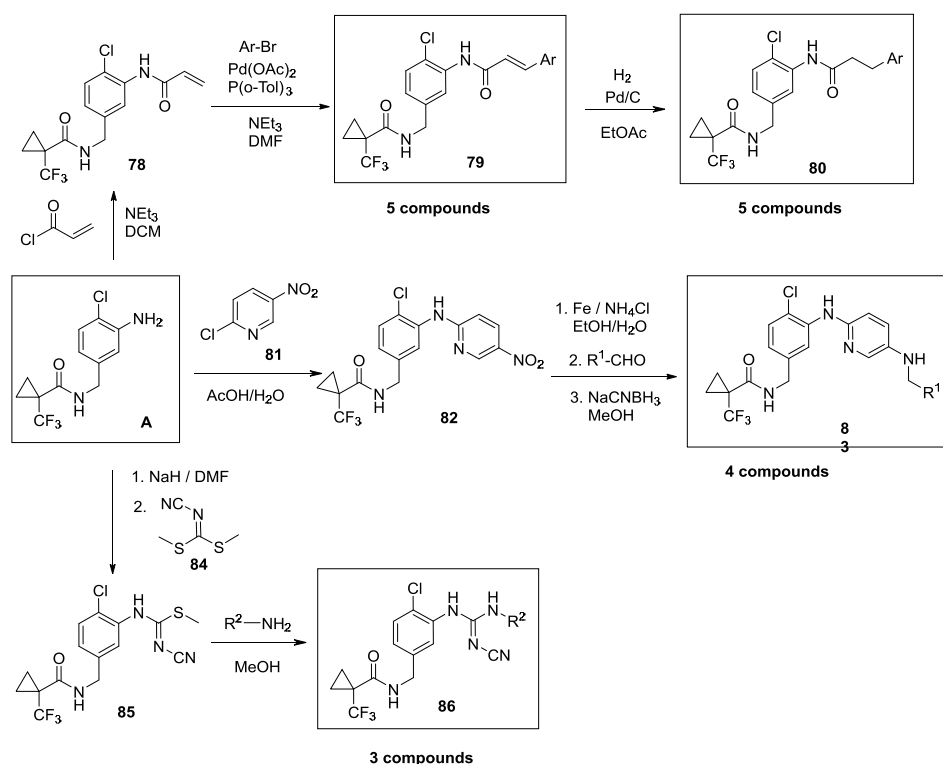


Figure 22. Synthesis of mPGES-1 inhibitors from building block **A**

Building block **B** was utilized for preparation of thiourea **91** and its bioisosters - diamino-nitroethenes **93**, 2-aminothiazoles **90** as well as for synthesis of 2-aminobenzoxazoles **87** and 2-aminobenzimidazoles **88**, **89** (Figure 23). Thus, 2-(nitro-vinyl)-aniline **92** was obtained by the addition of nitromethane anion to the isothiocyanate **B**, followed by *S*-methylation. Target compounds **93** were formed in the reaction with various aliphatic amines. Reaction of building block **B** and amines yielded thiourea derivatives **91**, which were converted into aminothiazoles **90** in a subsequent reaction with α -bromoketones. Finally, the reaction between building blocks **B** and building blocks **D** (substituted *ortho*-phenyldiamines, *ortho*-aminophenoles, 2,3-diamino and 3,4-diaminopyridines, see Figure 24) delivered the corresponding thiourea intermediates, which were cyclized *in situ* into substituted 2-aminobenzoxazoles **87** and 2-aminobenzimidazoles **88**, **89** (Figure 23).

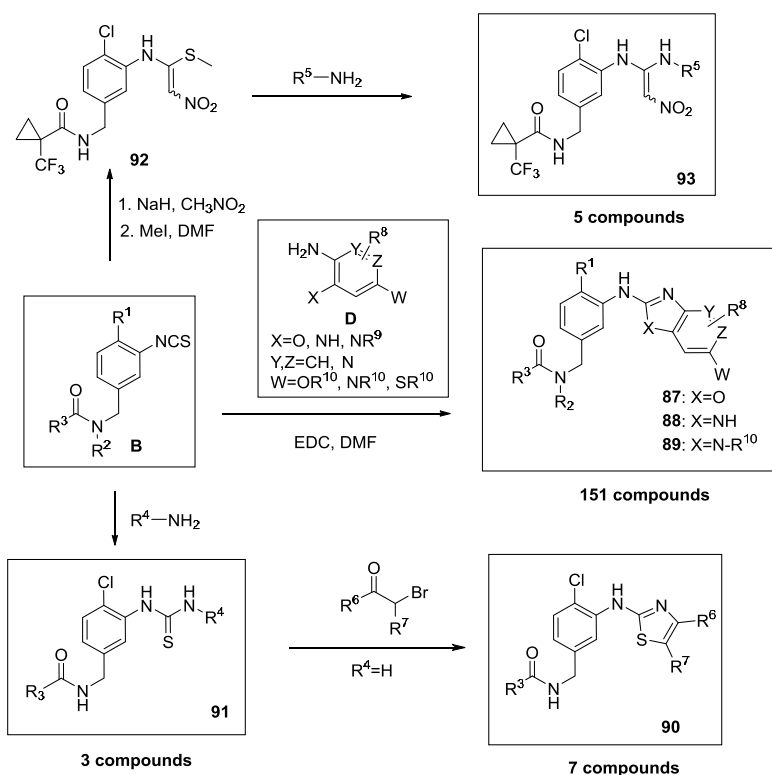


Figure 23. Synthesis of mPGES-1 inhibitors from building blocks **B**

Building block **D** was prepared from substituted 2,4-difluoro-nitrobenzene **94** (Figure 24). *Ortho*-fluorine of nitrobenzene **94** was selectively substituted with various amines and alkoxides at low temperatures (−30 °C). However, higher temperature was required for the reaction of the second fluorine atom with various nucleophiles. The nitro group was reduced with Fe in a mixture of ethanol and aqueous ammonium chloride solution (Figure 24).

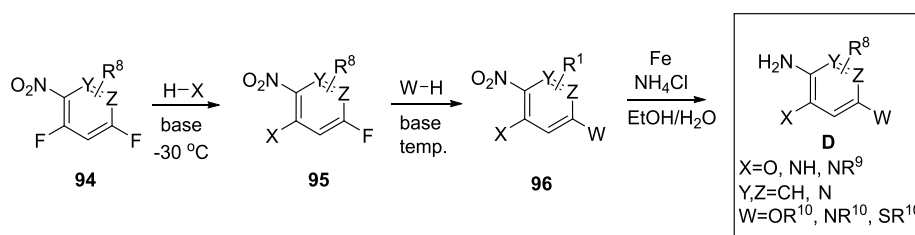


Figure 24. Synthetic approach for preparation of building block **D**

Building blocks **C** and **D** were used for the synthesis of ketone linker-containing mPGES-1 inhibitors **99**. Initially, *ortho*-phenyldiamines were converted into benzimidazoles **97** in the reaction with trimethyl orthoformate. Subsequent treatment with LDA formed 2-lithiated benzimidazoles **97**, which were reacted *in situ* with esters **98** (Figure 25).

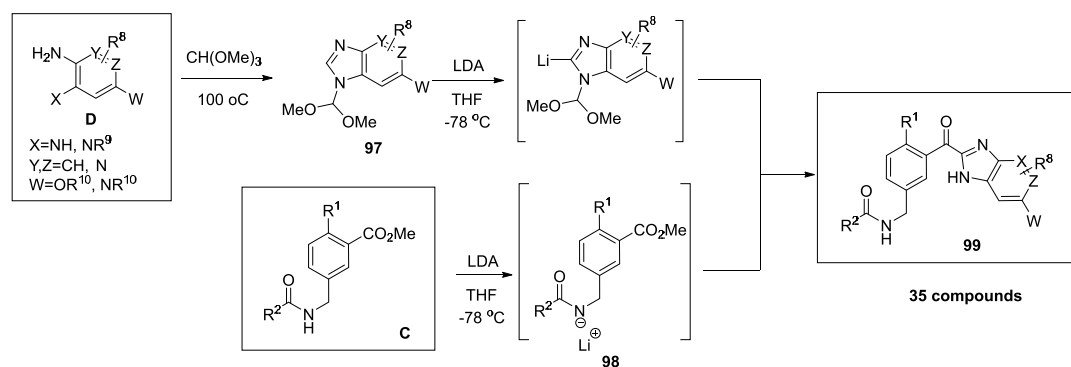


Figure 25. Synthetic approach for mPGES-1 inhibitors synthesis from building blocks **C** and **D**

2.2. Development of methods for "late-stage" modification of drug compounds

"Late-stage" modification is widely employed in the design of drug compounds, because this approach allows for introduction of structural diversity at the final stages of synthesis. As such, the "late-stage" modification substantially speeds up structure-activity relationship studies and streamlines synthetic work. Ideally, introduction of structural diversity is to be accomplished without a preactivation of the lead compound. This differs from traditional approach which relies on an initial introduction of halogen atom or similar functional group (Cl, Br, I, OTf, OMs) and subsequent reaction with the desired nucleophile, for instance, amine to construct the new C-N bond. Therefore, the most suitable approach to the late-stage modification relies on functionalization of C-H bonds. Furthermore, a direct introduction of amino group in aromatic or heteroaromatic cycle would permit not only to shorten the synthesis but also to address functional group compatibility issues. For example, direct C-H amination methods usually are compatible with the presence of halogen atoms. At the same time, the C-H functionalization suffers from low regioselectivity because there are a number of C-H bonds in the arenes or heteroarenes that potentially can be functionalized. To control the regioselectivity of the C-H bond functionalization, "directing groups" are introduced. They are substituents that direct the C-H bond activation to *ortho*- or *meta*-positions. Such directing groups in most cases need to be removed after the C-H functionalization event. The cleavage of the directing group in many cases is a challenging task. We propose an alternative C-H activation methodology where the regioselectivity of C-H bond functionalization is controlled by intrinsic reactivity of substrates under conditions of electrophilic aromatic substitution. Accordingly, the C-H activation will take place at the more electrophilic position of aromatic or heteroaromatic cycle. Consequently, this approach does not require the presence of a "directing group". Furthermore, our C-H functionalization approach often provides a complementary regioselectivity to that of the "directed" C-H activation. As such it could find broad application for the late-stage modification of drug compounds. Our work toward the development of

methodologies for C-H amination and oxidation of electron-rich arenes and heteroarenes was based on the hypervalent iodine(III) chemistry.

2.2.1. Hypervalent iodine(III) chemistry

Hypervalent iodine compounds possess a central iodine atom and three ligands. If two of the ligands are arenes, these species are called diaryliodonium salts. Correctness of the latter term has been questioned because "onium salts" such as ammonium and sulfonium exists in tetrahedral geometry. On the contrary, iodine(III) compounds possess a T-shaped geometry (pseudotrigonal bipyramid), which is due to the presence of two different chemical bonds. Thus, a bond between the central iodine atom and equatorially located ligand in the T-shaped complex is a covalent σ -bond whereas a bond between the two axially-positioned ligands and the iodine atom is so-called hypervalent bond (Figure 26). It has been suggested that hypervalent iodine(III) species retain the T-shape geometry also in solutions. Hence, it is more correct to name the iodine(III) compounds as λ^3 -iodanes and diaryliodonium salts **100** as diaryl- λ^3 -iodanes, respectively.

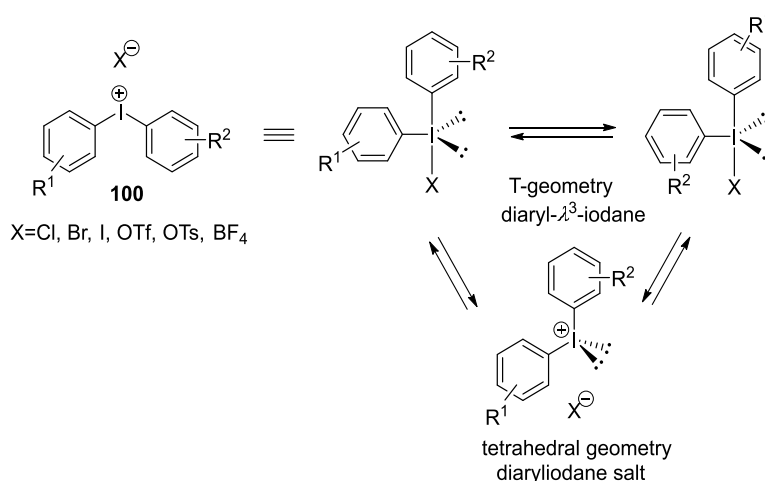


Figure 26. Diaryl- λ^3 -iodanes.

The linear hypervalent bond is a three-center four-electron bond formed from the doubly occupied $5p$ orbital of iodine and one orbital from each of the axial ligands. The hypervalent bond is weaker than the normal covalent σ -bonds. The two lowest-energy orbitals of the hypervalent bonds (bonding and non-bonding orbitals) are filled. There is almost a full positive charge ($\sigma_1 \approx +1$) on the central iodine atom and partial negative charges on both of the axially located ligands at termini of the hypervalent bond. Such charge distribution in the hypervalent bond is determined by the node in centre of the filled non-bonding orbital. The positive charge on the iodine(III) is responsible for strongly electrophilic character of aryl- λ^3 -iodanyl substituent. Thus, phenyl- λ^3 -iodanyl group $\text{Ph}(\text{BF}_4)\text{I}^+$ is a very strong inductive electron-withdrawing group ($\sigma_1 = 1.34$). Strength of it's

inductive effect is comparable to that of diazonium salts $\text{N}_2^+ - \text{BF}_4^-$ ($\sigma_1 = 1.48$) and is even more stronger than that of nitro-substituent ($\sigma_1 = 0.64$). Due to the high polarization of the hypervalent bond, the most electronegatives ligands are located in axial positions (at both ends of the hypervalent bond). It has been demonstrated that Hammett σ -constants of the axially located ligands correlate with stability of λ^3 -iodanes: the higher the electronegativity of ligands, the more stable the λ^3 -iodane is.

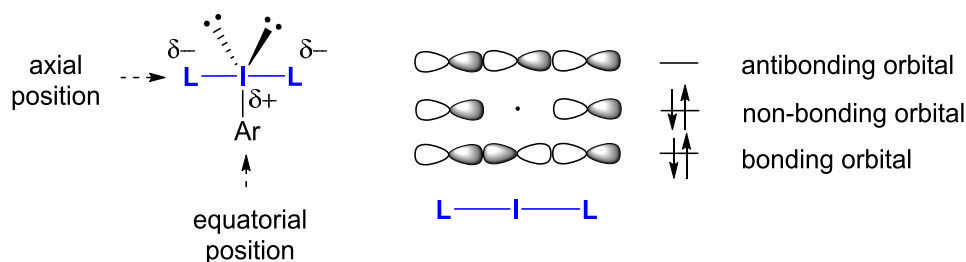


Figure 27. Hypervalent orbital in λ^3 -iodanes.

The [N-X-L] designation is often used to illustrate electronic structure of the hypervalent compounds. According to this designation, N is number of valence electrons at central atom X, whereas L is number of ligands attached to the central atom. Accordingly, λ^3 -iodanes are [10-I-3] species, whereas aryliodonium compounds possess a [8-I-2] configuration.

There are two relevant reactions of λ^3 -iodanes: ligand exchange reaction, which does not affect oxidation state of iodine(III), and reductive elimination of ligands which results in reduction of I(III) center to iodide. λ^3 -Iodanes react with a variety of nucleophiles due to the strongly electrophilic nature of iodine (III) cation. A nucleophile attacks the antibonding σ^* orbital of C-I bond in λ^3 -iodane **101** and forms *trans*-tetracoordinated [12-I-4] iodate **102** (Figure 28). The *trans*-iodate **102** undergoes isomerization to *cis*-iodate **103**. Subsequent dissociation of heteroatom-containing ligand L forms a new hypervalent iodine compound **104**. Exchange of ligands is fast and reversible. Iodane **104** can undergo also further ligand exchange reactions.

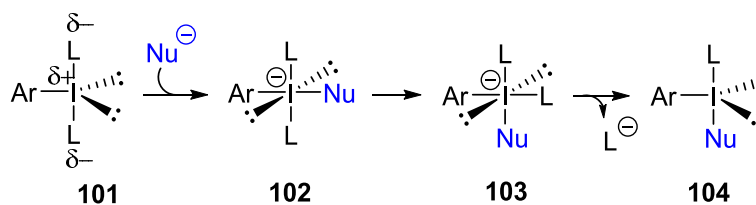


Figure 28. Exchange of ligands in λ^3 -iodanes

Electron-rich (hetero)arene can also serve as a nucleophile in the reaction with electrophilic aryl- λ^3 -iodanes **101**. For example, (diacetoxyiodo)benzene ($\text{PhI}(\text{OAc})_2$) **105** reacts with anisole, forming a unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodane **106** (Figure 29). Although formation of iodane **106**

formally proceeds according to mechanism of the electrophilic aromatic substitution S_{EAr} or *Friedel-Crafts* reaction, an initial formation of cation radical species **107** by single electron transfer (SET) from the electron-rich arene to the electrophilic iodine(III) center was observed by electron paramagnetic resonance method.

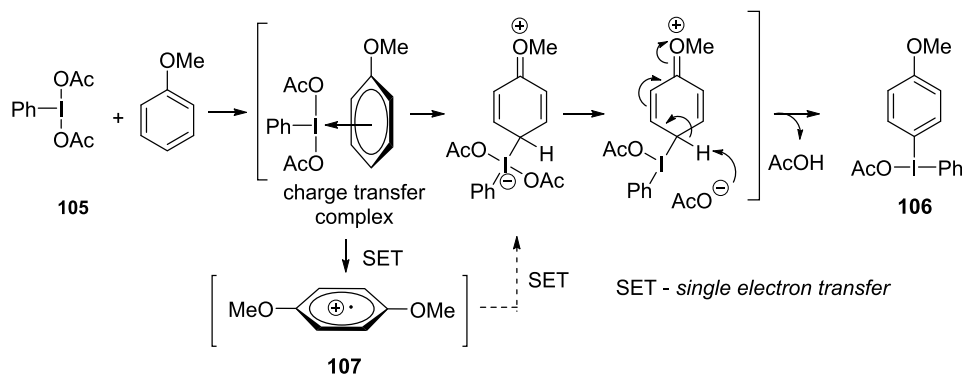


Figure 29. Formation of diaryl- λ^3 -iodane in *Friedel-Crafts* reaction

From a synthetic application viewpoint, the most important reaction of λ^3 -iodanes and especially of diaryl- λ^3 -iodanes is reductive elimination. It leads to formation of a new bond between two ligands (nucleophilic ligand X and the aryl moiety). Concomitantly, the hypervalent iodine(III) centre is reduced to a iodide. The driving force for the reductive elimination from diaryl- λ^3 -iodanes is the formation of iodine(I) with octet electronic configuration. According to widely accepted mechanism, the electron-withdrawing nucleophilic ligand X polarises the hypervalent bond and triggers heterolytic bond fission. Subsequently, the nucleophilic ligand X attacks the *ipso*-position of equatorial aryl ligand *via* the transition state **108** or **109**, thus forming the reductive elimination product and aryl-iodide (Ar-I) as the neutral leaving group (Figure 30).

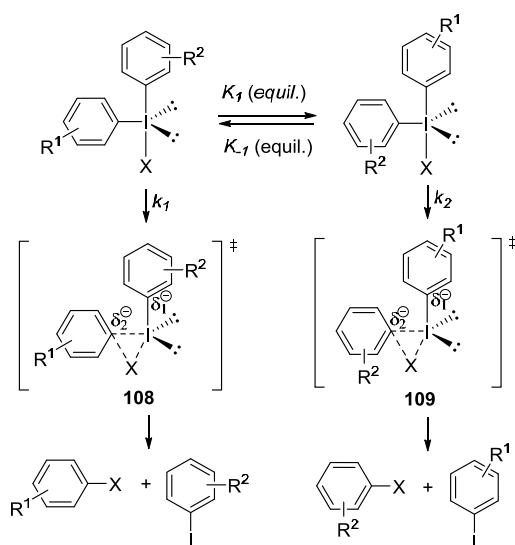


Figure 30. Reductive elimination in diaryl- λ^3 -iodanes

For diaryl- λ^3 -iodanes possessing two differently substituted aryl moieties, a mixture of two products can be formed in the reductive elimination reaction. In accordance to *ab initio* DFT calculations, selectivity of the reductive elimination depends on the values of partial charges δ_1^- and δ_2^- on *ipso*-carbons of aryl ligands (Figure 30). From the two arene moieties, aryl ligands with lowest partial negative charge or the most electron-poor aromatic system will undergo reaction with nucleophile. Importantly, the reductive elimination takes place from equilibrating diaryl- λ^3 -iodane isomers. Because equilibrium barrier is considerably lower than activation energy for reductive elimination reaction ($K_1 \gg k_1$ and k_2), selectivity of the reductive elimination in unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes follows the Curtin-Hammett principle. Accordingly, the selectivity is determined by differences in activation energies of two competing transition states of the reductive elimination (k_1 against k_2 ; see Figure 30).

Noteworthy, the electronic factors do not control selectivity of the reductive elimination if one of the aryl ligands possesses an *ortho*-substituent. In such unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes, the nucleophilic ligand X forms a bond with the *ortho*-substituted ligand regardless of the strength of relative charges on the *ipso*-carbons of the two aryl groups. This phenomenon is called an “*ortho*-effect” and it is steric by origin. It has been suggested that due to a higher steric hindrance, the *ortho*-substituted aryl ligand will always occupy sterically less hindered equatorial position and, hence will react with the nucleophilic ligand X.

Importantly, the planar T-type geometry of diaryl- λ^3 -iodanes is not preserved in the transition state of the reductive elimination. Deviation from the planar geometry energetically is disfavoured, especially in cases when two of ligands of λ^3 -iodane are mutually connected with a linker, such as in cyclic diaryl- λ^3 -iodane **110** (see Figure 31). It has been shown that in such cases the reductive elimination involves formation of radical intermediates. It is often postulated that the reductive elimination occurs with the involvement of radicals also in the case of non-cyclic diaryl- λ^3 -iodanes. Accordingly, an initial homolytic fission of the hypervalent bond results in the formation of diaryliodine radical **111** of [9-I-2] electron configuration and heteroatom radical **112**. Radical **111** dissociates to iodobenzene and aryl-radical **113** which subsequently forms product **114**. Radical **113** can be also involved in side reactions, such as dimerization and recombination with the hydrogen atom (Figure 31).

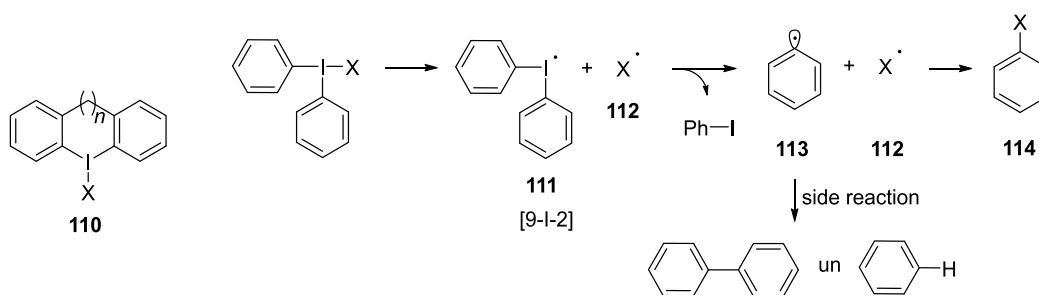


Figure 31. Reductive elimination via radical mechanism

Diaryl- λ^3 -iodanes are among the most efficient electrophiles in oxidative addition reactions with transition metals. Their high reactivity in oxidative addition reaction is rationalized by the formation of iodobenzene as an excellent leaving group. Importantly, sterically smallest or the most electron-rich of the two aryl-ligands forms a bond with a transition metal in cases when unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodane is employed in the oxidative additions reaction. Thus, selectivity in transition metal-catalyzed reactions of unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes is opposite to that of the reaction with heteroatom nucleophiles.

2.2.2. C-H bond activation concept based on hypervalent iodine(III) compounds

Conceptually, the development of method for C-H functionalization of arenes and heteroarenes is based on a three sequential one-pot reactions (See Figure 32):

- 1) reaction of electron-rich arenes or heteroarenes with iodine(III) reactant $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$ **115** to form an unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodane **116**;
- 2) *in situ* exchange of tosylate ligand in the diaryl- λ^3 -iodane **116** for another nucleophilic ligand **117**;
- 3) product forming reductive elimination from the unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodane **117** containing the nucleophilic ligand.

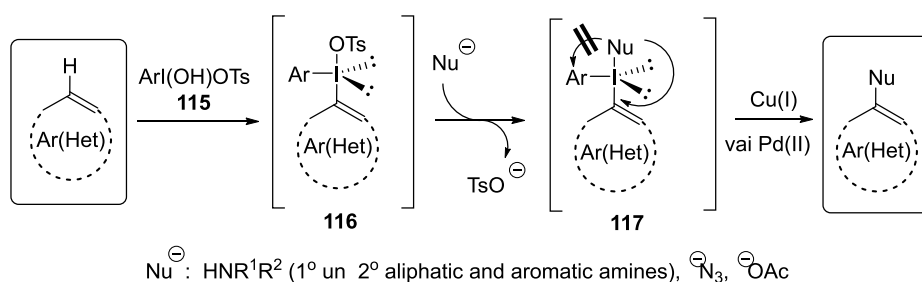


Figure 32. C-H activation concept based on hypervalent iodine(III) compounds

Formation of diaryl- λ^3 -iodane **116** in the reaction between $\text{PhI}(\text{OH})\text{OTs}$ **115** and electron-rich (hetero) aromatic compound (1st reaction) as well as the exchange of heteroatom ligands in diaryl- λ^3 -iodanes **116** (2nd reaction) are well-known chemical processes (See Section 2.2.1).

Likewise, the reactions of symmetrical diaryl- λ^3 -iodanes with various nucleophiles such as amines, azoles and amides have been reported. They proceed both in the presence of transition metal catalysts (Pd(0) and Cu(I)) and without the catalysts. In sharp contrast, reductive elimination in unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes **117** has not found synthetic application apparently because of selectivity issues. Thus, unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes contain two different aromatic substituents, and their reactions with nitrogen or oxygen nucleophiles usually provide mixture of regioisomers. Furthermore, undesirable selectivity of reductive elimination is anticipated for unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes **117** containing electron-rich aryl ligand: nucleophilic heteroatom ligand will form a bond with electron-poor aryl ligand rather than with the electron-rich aryl- or heteroaryl ligand (see description of reductive elimination in Section 2.2.1).

Considering the selectivity of the reaction between unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes and transition metals, we hypothesized that the presence of a transition metal catalyst could change the traditional selectivity of the reductive elimination in unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes. Thus the novelty of our concept is based on the use of Pd(II) and Cu(I) catalysts to control the selectivity of reductive elimination in unsymmetrical- λ^3 -iodane.

2.2.3. C-H Oxidation method for electron-rich heteroarenes

The development of catalytic C-H acetoxylation of electron-rich heteroarenes was based on one-pot two-stage sequential process: an initial formation of heteroaryl(phenyl)- λ^3 -iodane **118**, followed by Pd-catalyzed conversion of the intermediate λ^3 -iodane **118** to acetoxyated product (See Figure 33).

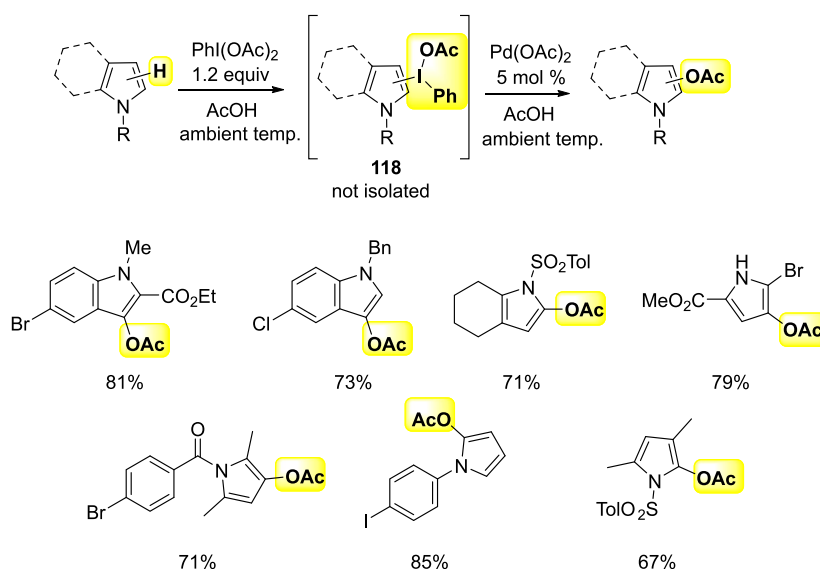


Figure 33. C-H Oxidation of electron-rich heteroaromatic compounds.

Intermediate λ^3 -iodanes **118** were sufficiently stable to be isolated and purified. However, from a practical viewpoint, the use of one-pot sequential process is more convenient. Pd(II) catalyst provides the desired selectivity of the reduction-elimination in λ^3 -iodanes **118**. The Pd-catalyzed acetoxylation reaction occurs under mild reaction conditions (ambient temperature) and is compatible with different functional groups such as bromine and iodine, and *N*-alkyl, *N*-aryl, *N*-benzoyl, *N*-benzyl, *N*-tosyl, and *N*-carbamoyl protecting groups. Given that the intermediate λ^3 -iodane **118** is not isolated during reaction, the developed one-pot two-stage sequential process effects the conversion of C-H bond into a C-O bond. Hence, the developed method formally may be considered as C-H oxidation reaction.

2.2.4. C-H Azidation methodology for electron-rich heteroarenes

Replacement of nucleophilic acetate ligand for an azide ligand in unsymmetrical λ^3 -iodanes (**118** to **119**) allowed for development of a method for C-H azidation of electron-rich heteroarenes (Figure 34).

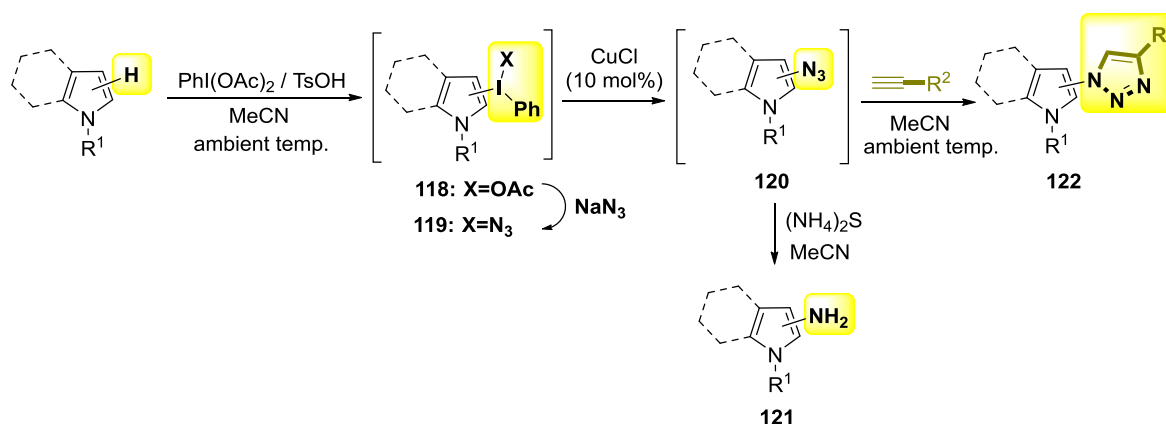


Figure 34. C-H Azidation of electron-rich heteroarenes

Reductive elimination of heteroarylazide from unsymmetrical heteroaryl(phenyl)- λ^3 -iodanes **119** is a key transformation of the one-pot 3-step process. The selectivity of the reductive elimination is controlled by Cu(I) complexes. It was found that the formed heteroarylazides **120** are unstable to be isolated and purified. However, heteroarylazides **120** can be involved in further transformations without isolation. For example, they can be easily reduced to the corresponding aminoheterocycles **121** (See Figure 35).

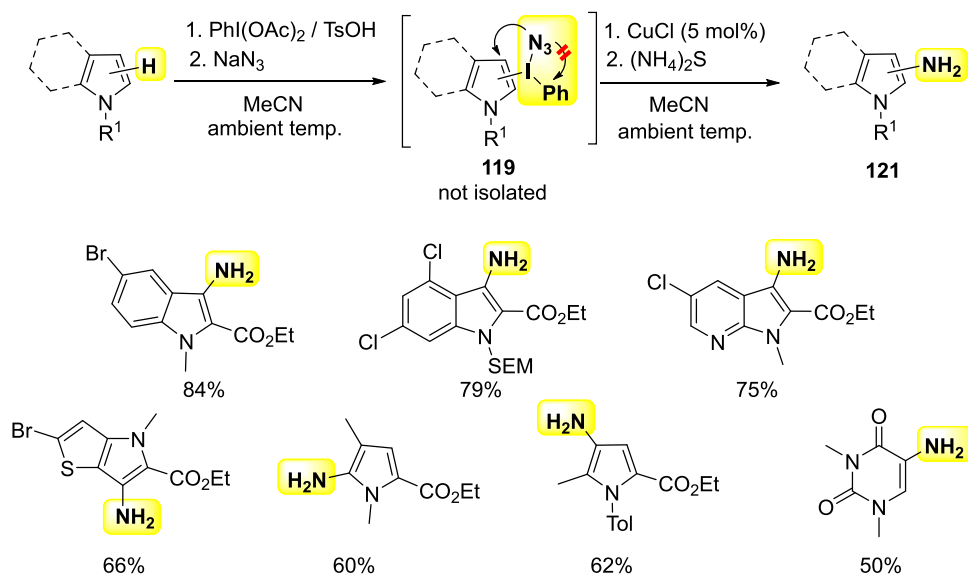


Figure 35. Synthesis of heteroaromatic amines in the C-H azidation-reduction reaction

Heteroarylazides **120** can also react in a copper catalysed 1,3-dipolar cycloaddition reaction with acetylenes to form 1,2,3-triazoles **122**. Copper(I) salts not only catalyze the reductive elimination of heteroarylazide from intermediate heteroaryl(phenyl)- λ^3 -iodanes **119**, but also promote subsequent 1,3-dipolar cycloaddition reaction (Figure 36). The developed methodology is suitable for the late-stage functionalization of a wide range of electron-rich heterocycles.

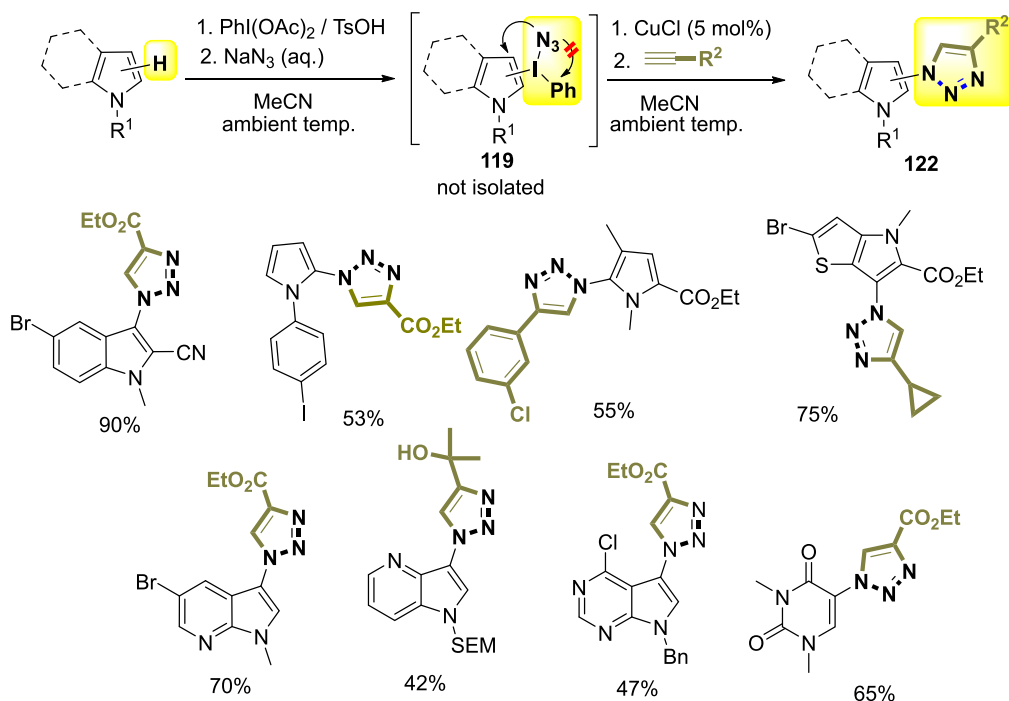


Figure 36. One-pot sequential C-H azidation-1,3-dipolar cycloaddition reaction.

2.2.5. C-H Amination of electron rich arenes and heteroarenes

The desired selectivity of the C-N bond forming reductive elimination from unsymmetrical heteroaryl(phenyl)- λ^3 -iodanes in the presence of Cu(I) salts opened the door to further development of C-N amination methodology. Thus, we have found that copper(I) salts provide the proper selectivity also when in amine is employed as a nucleophile in the reaction with unsymmetrical heteroaryl-(phenyl)- λ^3 -iodanes (See Figure 37).

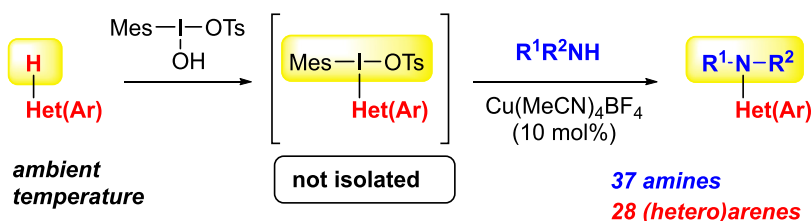


Figure 37. C-H Amination of heteroarenes

At the outset of our investigation we synthesized mesityl(indolyl) iodonium tosylate **123** in a pure form. The structure of **123** was determined by X-ray crystallographic analysis. The reaction of λ^3 -iodane **123** with morpholine without catalyst provided only the undesired iodoindole **125**. In striking contrast, addition of Cu(I) catalyst resulted in complete reversal of selectivity favouring the formation of the desired indolylamine **124** (Figure 38). The catalytic activity of various copper salts was subsequently tested and Cu(MeCN)₄BF₄ was selected as the most efficient catalyst.

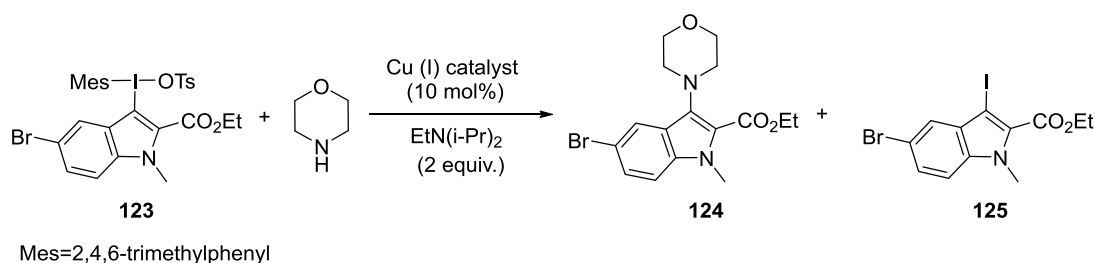
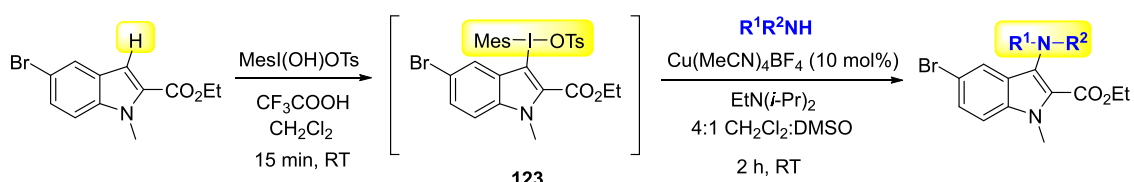


Figure 38. Development of C-H amination conditions

Indolylamine **124** could also be synthesized in a sequential one-pot approach without isolation of the iodonium salt **123**. The one-pot sequential C-H amination approach afforded lower yields of **124** as compared to the two-step synthesis, but avoided the isolation and handling of potentially unstable intermediate λ^3 -iodanes. This adv during the further work, we optimized conditions, in which λ^3 -iodane **123** without separation and purification may be involved in a following reaction with morpholine. In the optimized conditions we checked the scope of amines that are suitable for a range of compensates for decreased yields. Next scope of amines was examined (Table 1). It was found that the C-H amination method is compatible with a wide scope of primary and secondary aliphatic amines and aromatic amines.



Mes=2,4,6-trimethylphenyl

Nr.	R^1R^2NH	Izn. (%)	Nr.	R^1R^2NH	Izn. (%)	Nr.	R^1R^2NH	Izn. (%)
1		74	13		70	25		77
2		66	14		76	26		79
3		75	15		63	27		73
4		71	16		67	28		74
5		76	17		73	29		54
6		76	18		40	30		69
7		70	19		75	31		67
8		35 ^b	20		73	32		62
9		65	21		80	33		79
10		67	22		80	34		76
11		65	23		71	35		77
12		71	24		83	36		65

Table 1. Scope of amines for the C-H amination reaction

The scope of substrates for the C-H amination was surveyed employing morpholine, cyclopropylmethylamine, and 4-bromoanilines as representative amines (Figure 39). A series of relatively electron-rich heterocycles undergo C-H amination reaction, including indoles, pyrroles, pyrrolopyridines, thienopyrroles, pyrrolo-pyrimidine, pyrazoles and *N,N*-dimethyluracil. We were pleased to find that electron-rich carbocyclic arenes also undergo C-H amination (Figure 39).

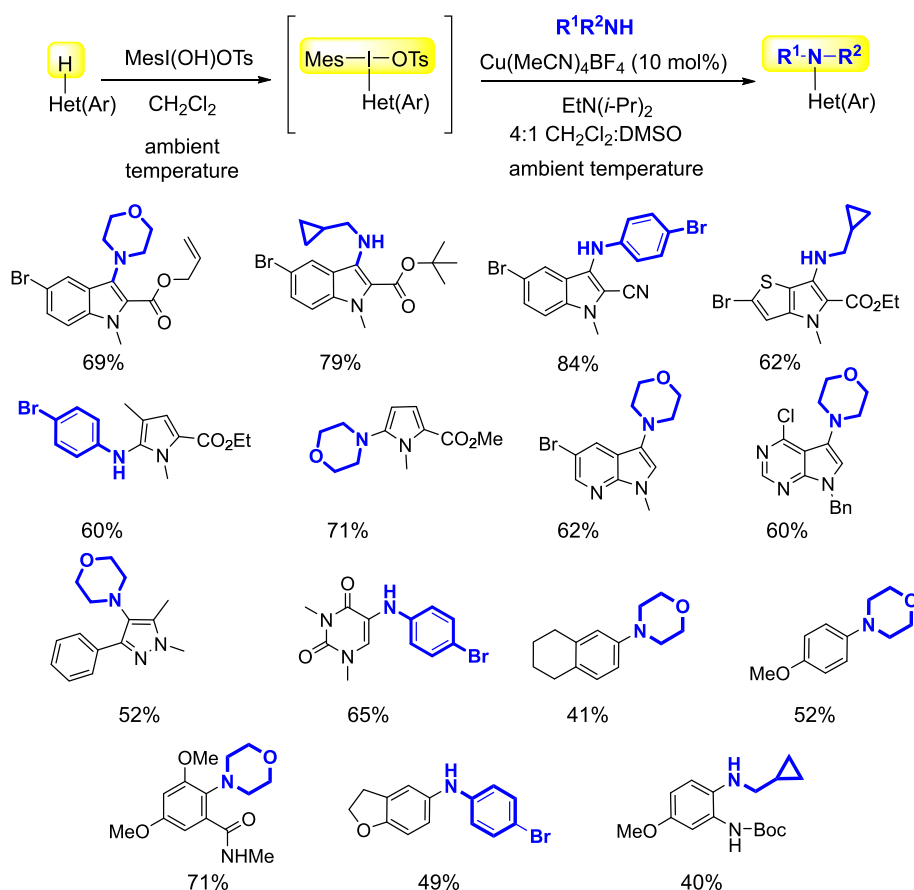


Figure 39. Scope of substrates in C-H amination reaction

The C-H amination conditions are compatible with *O*-aryl-, *O*-*tert*-butyl- and *O*-alkyl ether groups as well as with bromine and chlorine substituents. The substrate may also contain *N*-alkyl-, *N*-aryl-, *N*-benzoyl-, *N*-benzyl- substituents, as well as *N*-Boc and *N*-SEM protective groups.

2.2.6. Mechanistic studies of the C-H functionalization of (hetero)arenes

The first stage of the C-H functionalization of aromatic and heteroaromatic compounds is the formation of unsymmetrical heteroaryl(aryl)- λ^3 -iodanes in the electrophilic aromatic substitution reaction. Because this step determines the regioselectivity of the C-H functionalization, the regioselectivity of the C-H functionalization is consistent with that of the electrophilic aromatic substitution reactions. Accordingly, C-H functionalization takes place at β -position in indoles and fused pyrroles, at α -position of pyrroles, and in β -position of 2,5-disubstituted pyrroles. In arenes the regioselectivity of the C-H functionalization is directed to *para*-position with respect to the strongest electron donating substituent. It must be noted that arene or heteroarene needs to be relatively electron-rich. During the development of the C-H amination method, it was found that arenes less electron-rich than toluene do not react with λ^3 -iodanes. Importantly, in all of C-H

functionalization examples, individual regioisomers are formed thus indicating high regioselectivity of the reaction.

The final step of the C-H functionalization methodology is the formation of product in Cu(I) or Pd(II)-catalyzed reductive elimination from unsymmetrical heteroaryl(aryl)- λ^3 -iodane. Initially Pd(II) salts were used as catalyst for C-H acetoxylation of heteroarenes. Subsequently, control experiments showed that Cu(I) salts are equally efficient as catalysts for the C-O bond-forming reductive elimination. Unfortunately, extensive studies do not provide convincing evidence for the mechanism of the Cu(I)-catalysed reductive elimination. For example, unsymmetrical heteroaryl(aryl)- λ^3 -iodane intermediates **126** and **127** have been isolated and characterized only for C-H acetoxylation and C-H azidation reactions (Figure 40). In the meantime, the formation of the structurally related amine-containing heteroaryl(aryl)- λ^3 -iodane **128** has not been observed in the C-H amination reaction. However, the involvement of λ^3 -iodane **128** in the catalytic cycle of the C-H amination can not be excluded given that λ^3 -iodanes such as **128** are known to be highly unstable and they can not be isolated.

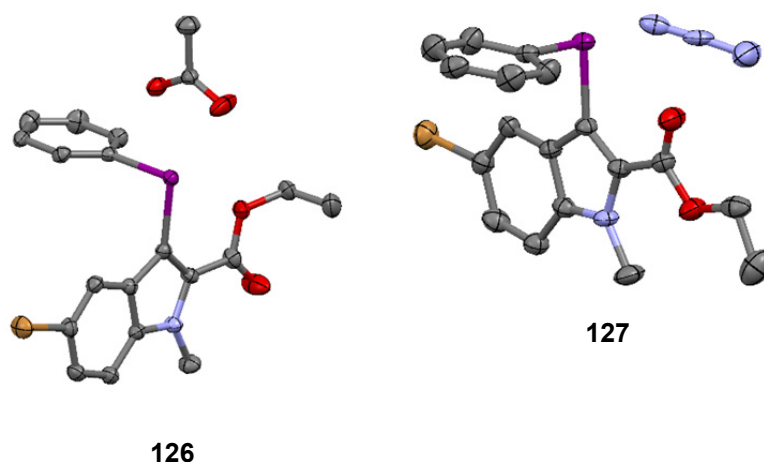


Figure 40. X-ray analysis of unsymmetrical heteroaryl(aryl)- λ^3 -iodane intermediates

Mechanistic studies of the C-H amination pointed against involvement of radicals in the catalytic cycle of the reaction. The evidence stems from the C-H amination of the *ortho*-alliloxypheyl- λ^3 -iodane **129**, which resulted in the formation of the desired amine **130** and iodide side-product **131**. Importantly, formation of dihydrobenzofuran **134** was not observed (Figure 41). The heterocycle **134** should be a major product if Cu(I)-catalysed reductive elimination from λ^3 -iodane **129** occurred through a single electron transfer from Cu(I) to iodane **129** and formation of the corresponding diaryliodine radical **132** (see also Section 2.2.1 and Figure 41). The subsequent fragmentation of the unstable radical **132** to phenyl radical **133**, followed by extremely fast cyclization would deliver the dihydrobenzofuran **134**.

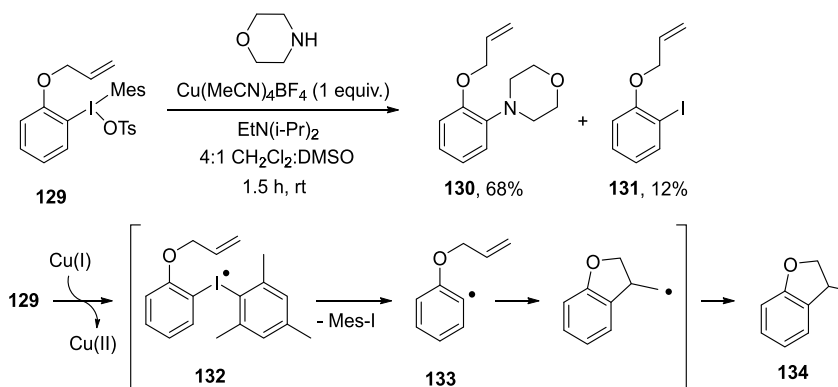


Figure 41. C-H amination of *ortho*-alliloxyphenol

It was found that Cu(I) salts possess significantly higher catalytic activity than the corresponding Cu(II) complexes. The catalytic activity of Cu(I) salts apparently is not related to its Lewis acid properties because other Lewis acids such as $(\text{Ph}_3\text{P})\text{AuCl}$, $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, $\text{Pd}(\text{OCOFCF}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{OTf})_2$ and $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ did not catalyze the C–H azidation and the C–H amination reactions. Kinetic studies provided valuable information about the mechanism of these reactions. Thus we found that the C–H azidation is a first-order in Cu(I) catalyst and a zeroth-order in azide anion. These results show that Cu(I) salts are involved in the rate-limiting step of the catalytic cycle and that the formation of the heteroarylazide is an intermolecular process. Kinetic studies were also carried out to establish the kinetic order of Cu(I)-catalyzed C–H amination in each reaction component. They demonstrated that the reaction is the first-order in Cu(I) catalyst and amine (morpholine) but zeroth-order in λ^3 -iodane **123**. Apparently only Cu(I) catalyst and amine are involved in the rate-limiting step of the catalytic cycle of the C–H amination, and that the subsequent reactions of λ^3 -iodane **123** are fast. The observed differences in the kinetics of the two mechanistically closely related C-H functionalization reactions renders difficult understanding of the mechanism.

A working mechanism for the C-H functionalization has been proposed based on mechanistic studies. Accordingly, the catalytic cycle starts with single-electron transfer from Cu(I) catalyst to λ^3 -iodane **123** (or **127**) to form anion radical **135**. Assuming that electron is transferred into antibonding σ^* -orbital of indole-I(III) bond of the radical **135**, the partial occupation of the σ^* -orbital weakens the indole-I(III) bond. As a result, the anion radical **135** collapses into Ar-I and indole radical, which then undergoes a radical recombination with Cu(II)-amine or Cu(II)-azide complex to form Cu(III) species **136**. The final step of the catalytic cycle is the product forming reductive elimination from the highly electrophilic Cu(III) complex **136** (Figure 42).

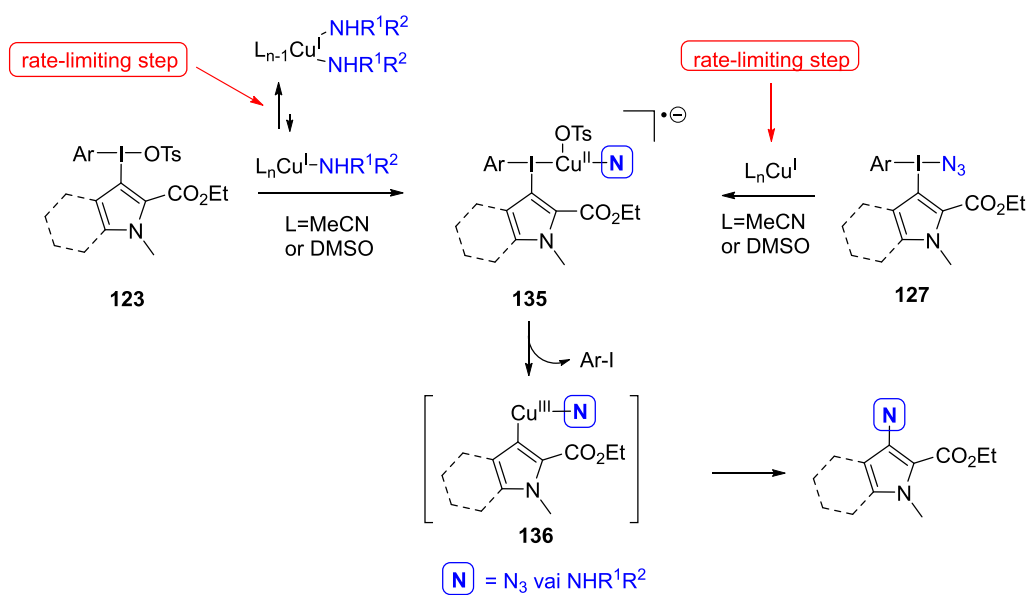


Figure 42. Working mechanism of the C-H functionalization

GENERAL RESULTS

Chapter I. Synthesis of mPGES-1 inhibitor

1. In total 254 mPGES-1 inhibitors were synthesized for structure-activity relationship studies and for the development of a pharmacophore model;
2. The pharmacophore model of enzyme-inhibitor complex was developed to predict mPGES-1 inhibitory activity of virtually designed compounds;
3. Four lead structures were identified for further *in vivo* studies.

Chapter II. Development of C-H functionalization methods

1. A method for Pd-catalyzed regioselective C–H acetoxylation of electron-rich heteroarenes with hypervalent I(III) reagents has been developed;
2. A method for room-temperature regioselective C–H azidation and C–H amination of electron-rich arenes and heteroarenes was developed. The methodology relies on the use of hypervalent iodine(III) compounds together with Cu(I) salt catalyst, and it is compatible with a wide scope of amines.

CONCLUSIONS

Chapter I. Synthesis of mPGES-1 inhibitors

1. mPGES-1 Inhibitory activities predicted by the second generation pharmacophore model correlate well with experimentally determined values thus confirming the precision of the developed pharmacophore model.
2. Interaction between mPGES-1 and inhibitors is ensured by five pharmacophore points: hydrogen bond donor-type interactions involving N-H proton of the secondary amide moiety and four hydrophobic-type interactions involving lipophilic fragments of ligand;
3. A linker between central ring of the ligand and benzimidazole moiety is not involved in the ligand-enzyme interaction.

Chapter II. Development of C-H functionalization methods

1. Pd(II) and Cu(I) catalysts provide opposite selectivity in reductive elimination from unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes when compared to the uncatalyzed process. Thus, in the catalyzed reductive elimination, a heteroatom ligand of the unsymmetrical diaryl- λ^3 -iodanes forms a bond with the less sterically hindered or the most electron-rich of the two aryl ligands;
2. The regioselectivity of the C-H functionalization in arenes and heteroarenes is determined at the stage of the formation of unsymmetrical λ^3 -iodanes in the electrophile aromatic substitution reaction. In carbocyclic arenes, the new C–O and C–N bond will form in a *para*-position to the strongest electron donating substituent. Regioselectivity of heteroarenes is determined by their intrinsic reactivity under conditions of electrophilic aromatic substitution reaction.

PUBLIKĀCIJAS UN PATENTI / PUBLICATIONS AND PATENTS

Patents:

1. Doods, H.; Lubriks, D.; Arndt, K.; Roenn, R.; Stenkamp, D.; Klinder, K.; Kuelzer, R.; Mack, J.; Suna, E.; Pfau, R.; Pelcman, B.; Priepke, H. *3H-Imidazo[4,5-c]pyridine-6-carboxamides as anti-inflammatory agents*. WO 2010/100249 A1, September 10, 2010.
2. Priepke, H.; Doods, H.; Kuelzer, R.; Pfau R.; Stenkamp, D.; Pelcman, B.; Roenn, R.; Lubriks, D.; Suna, E. *2-(Arylamino)-3H-imidazo[4,5-b]pyridine-6-carboxamide derivatives and their use as mPGES-1 inhibitors*. WO 2012/022792 A1, February 23, 2012
3. Priepke, H.; Doods, H.; Kuelzer, R.; Pfau R.; Stenkamp, D.; Pelcman, B.; Roenn, R.; Lubriks, D.; Suna, E. *2-Aminobenzimidazole derivatives useful in the treatment of inflammation*. WO 2012/076672 A1, June 14, 2012.
4. Priepke, H.; Doods, H.; Kuelzer, R.; Pfau R.; Stenkamp, D.; Pelcman, B.; Roenn, R.; Lubriks, D.; Suna, E. *Imidazo[4,5-b]pyridine-6-carboxamides as anti-inflammatory agents*. WO 2012/076674 A1, June 14, 2012.

Publications:

1. Lubriks, D.; Sokolovs, I.; Suna, E. Iodonium Salts Are Key Intermediates in Pd-Catalyzed Acetoxylation of Pyrroles. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 4324–4327.
2. Lubriks, D.; Sokolovs, I.; Suna, E. Indirect C–H Azidation of Heterocycles via Copper-Catalyzed Regioselective Fragmentation of Unsymmetrical λ^3 -Iodanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15436-15442.
3. Sokolovs, I.; Lubriks, D.; Suna, E. Copper-Catalyzed Intermolecular C-H Amination of (Hetero)arenes via Transient Unsymmetrical λ^3 -Iodanes. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6920–6928.