

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra organické chemie



**Rhodium(III)-katalyzovaná syntéza neolignanů
s benzofuranovým skeletem**

Diplomová práce

Autor:	Bc. Roksolana Ilnycka
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Bioorganická chemie a chemická biologie
Typ studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně pod vedením školitele doc. RNDr. Jiřího Pospíšila, Ph.D., všechny použité zdroje jsem řádně ocitovala a práce nebyla předložena jiné instituci k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci, dne 13. 5. 2024

Bc. Roksolana Ilnycka

Poděkování:

První poděkování patří v první řadě mému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Pospíšilovi, Ph.D., který mne nadchnul pro hloubější pátrání po pravidlech organické chemie stejně jako pro práci v jeho skupině, sdílel zkušenosti z oblasti vědy a života a díky jeho charakteru a vlídnosti dokázal vytvořit v naší skupině skvělé pracovní prostředí. A nevzdal se myšlenky na dokončení této práce ani při mých slabších chvílích. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině a všem, kteří pro mne měli vlídné slovo, posouvají mne životem nebo diskutují nad otázkami života, vesmíru a vůbec. Jmenovitě patří dík Kubkovi, Zuzaně, Zuze a Dítě za jejich podporu a důvěru. Závěrem děkuji za finanční podporu Interní Grantové Agentuře PrF UP (IGA_PrF_2024_28) a Katedře organické chemie za vstřícnost a možnost zpracovávat experimentální část v jejich prostorách.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Bc. Roksolana Ilnycka
Název práce:	Rhodium(III)-katalyzovaná syntéza neolignanů s benzofuranovým skeletem
Typ práce:	Diplomová práce
Pracoviště:	Katedra organické chemie
Školitel:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2024
Abstrakt:	Diplomová práce se zaměřuje na rozvoj nové metody syntézy benzofuranového skeletu, který využívá katalýzy tranzitního kovu – rhodia(III). Teoretická část se zabývá obecným popisem sekundárních metabolitů a následně jsou rozebrány biologické aktivity vybraných zástupců neolignanů se zaměřením na různá onemocnění. Dále jsou popsány možnosti aplikace rhodia při syntéze přírodních látek a také je shrnuta přecházející práce na tématu neolignanů v naší výzkumné skupině. Experimentální část popisuje aplikaci a optimalizaci Rh-katalyzované annulace pro syntézu benzofuranového skeletu neolignanů z aldehydu a vybraných diazosloučenin.
Klíčová slova:	neolignany, fenyylpropanoidy, benzofurany, biologická aktivita, anthelmintická aktivita, diazosloučeniny, katalýza tranzitními kovy, rhodium
Počet stran:	58
Počet příloh:	2
Jazyk:	Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Bc. Roksolana Ilnycka

Title: Rhodium(III)-catalyzed synthesis of benzofuran skeleton neolignans

Type of thesis: Master thesis

Department: Department of Organic Chemistry

Advisor: doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.

The year of presentation: 2024

Abstract: This presented thesis is focused on the development of a new method for the synthesis of benzofuran skeleton using rhodium(III) transition metal catalysis. The theoretical part brings a general description of secondary metabolites and then the biological activities of selected representatives of neolignans are discussed with a focus on various diseases. Furthermore, the possible applications of rhodium in the synthesis of natural compounds are described and the ongoing work on the topic of neolignans in our research group is summarized. The experimental part describes the application and optimization of Rh-catalyzed annulation for the synthesis of benzofuran skeleton of neolignans from aldehyde and selected diazo compounds.

Keywords: neolignans, phenylpropanoids, benzofuranes, biological activities, anthelmintic activity, diazocompounds, transition metal catalyzed reactions, rhodium

Number of pages: 58

Number of appendixes: 2

Language: Czech

„Život přinese výzvy, které budou vyžadovat řešení. Ta řešení přicházejí s lidmi.“

Jiří Pospíšil

Obsah

Seznam použitých zkratek	7
Úvod.....	10
Cíle	10
1. Teoretická část	11
1.1. Sekundární metabolity	11
1.1.1 Biosyntéza fenylypropanoidů	11
1.1.2 Benzofurany – tvorba a výskyt v přírodě.....	13
1.2 Biologická aktivita benzofuranů	15
1.2.1 Neuroprotektivní	15
1.2.2 Antitumorní.....	16
1.2.3 Protizánětlivá a antioxidační.....	17
1.2.4 Antimikrobiální a antivirální	19
1.2.5 Antidiabetické	19
1.2.6 Antiparazitické.....	20
1.3 Využití rhodia (Rh) při syntéze přírodních látek	22
1.3.1 Rh – historie, vlastnosti a využití.....	22
1.3.2 Aplikace Rh při syntéze přírodních látek	23
1.3.3 Aplikace Rh při syntéze benzofuranů	23
1.4 Dosavadní výsledky ve skupině zabývající se neolignany	25
1.4.1 Radikálový křížený dehydrogenační coupling	26
1.4.2 Esterový coupling	27
1.4.3 Suzuki-Miyaura coupling	28
2. Výsledky a diskuze	30
2.1. Retrosyntéza.....	30
2.2 Příprava diazosloučenin 83a-c	30
2.2.1 Příprava ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (83a).....	31
2.2.2 Příprava ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b).....	31
2.2.3 Příprava ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c).....	32
2.3 Rh(III)-katalyzovaná syntéza benzofuranového skeletu (82).....	32
2.3.1 Rh(III)-katalyzovaná anulace	32
3. Závěr	39
4. Experimentální část	40

4.1	Obecné informace	40
4.1.1	Vizualizační roztoky pro TLC	41
4.1.2	Vizuální přehled experimentální části	41
4.2	Postup organické syntézy.....	41
4.2.1	Syntéza výchozích diazoslučenin	41
4.2.2	Syntéza látek s benzofuranovým skeletem	44
5.	Seznam použité literatury	47
6.	Přílohy (kopie ^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spekter).....	55

Seznam použitých zkratk

ATP	adenosintrifosfát (<i>adenosine triphosphate</i>)
A β	amyloid β
AD	Alzheimerova nemoc (<i>Alzheimer's Disease</i>)
AgNTf ₂	bis(trifluoromethansulfonyl)imid stříbrný
CC	sloupcová chromatografie (<i>column chromatography</i>)
CDC	křížený dehydrogenační coupling (cross dehydrogenative coupling)
CDCl ₃	deuterovaný chloroform
Cp*	pentamethylcyklopentadienyl (ligand)
CO	oxid uhelnatý
DAHP	3-deoxy- <i>D</i> -arabino-heptulosonát-7-fosfát
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	dichlormethan
DHQ	3-dehydrochinát
DMP	Dess-Martinův perjodinan
DNA	deoxyribonukleová kyselina (<i>deoxyribonucleid acid</i>)
dppf	1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen
EC	Číslo Evropské komise (<i>European Community number</i>)
ekviv.	ekvivalent
EPSP	5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát
Et	ethyl
EtOAc	ethylacetát
FADH	redukovaný flavinadenindinukleotid
hIAPP	(<i>human islet amyloid polypeptide</i>)
HIV-1	virus lidské imunitní nedostatečnosti (<i>Human immunodeficiency virus 1</i>)
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (<i>high-resolution mass spectrometry</i>)
HUVEC	lidské endotelové buňky pupečnickové žíly (<i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>)
IC ₅₀	polovina maximální inhibiční koncentrace

EC ₅₀	polovina maximální účinné koncentrace
<i>J</i>	štěpící konstanta
kat.	katalýza/katalyzátor
LC-MS/MS	spojení kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i>)
Me	methyl
MOM	methoxymethyl ether
m. p.	bod tání (<i>melting point</i>)
n. a.	neanalyzováno (<i>not analyzed</i>)
n. d.	nedetekováno (<i>not detected</i>)
NAD	nikotinamidadenin dinukleotid
NL3	neolignany s (dihydro)benzofuranovým skeletem
NMR	nukleární magnetická resonance (<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
NO	oxid dusný
PE	petrolether
PEP	fosfoenolpyruvát
Phe	fenylalanin
PMA	Hannesianův roztok
PTC	katalyzátor fázovým přenosem (<i>phase-transfer catalyst</i>)
PZQ	praziquantel
<i>R_f</i>	retenční faktor
RT	laboratorní teplota (<i>room temperature</i>), 23 °C
RVO	rotační vakuová odparka
S3P	šikimát-3-fosfát
SM	sekundární metabolity
TLC	chromatografie na tenké vrstvě (<i>thin-layer chromatography</i>)
TSQ	<i>Thermo Scientific Quantis</i>
Tyr	tyrosin
UV	ultra fialové záření

δ chemický posun

Úvod

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na prozkoumání nového typu přístupu k syntéze benzofuranového skeletu přírodních látek, které jsou inspirovány neolignanů. Některé látky tohoto typu vykazují vysokou biologickou aktivitu a mohou tak poskytnout medicíně zajímavý zdroj léčiv pro široké spektrum onemocnění či problémů způsobených patogeny (viry, bakterie, jednobuněční i mnohobuněční parazité).

Syntéza látek pro terapeutické účely by měla být v ideálním případě co nejefektivnější a měla by zohlednit otázky ceny, rychlosti a její bezpečnosti. Využití tranzitních kovů jako katalyzátorů je v totální organické syntéze trendem od třicátých let dvacátého století¹ a může přispět ke snížení počtu reakčních kroků, k lepší kontrole chemo- i stereoselektivity, případně dovoluje provedení reakcí, které jsou metodami využívajícími tranzitních kovů nedosažitelné anebo dosažitelné v omezené míře. Limitem tohoto postupu je mnohdy cena katalyzátoru a také fakt, že rezidua použitého katalyzátoru nesmí přesáhnout přísně stanovený limit ve finálním produktu. Kovy samy o sobě totiž mohou být cytotoxické, a tak by mohly zkreslit výsledky testů biologické aktivity nebo v horším případě negativně ovlivnit zdraví pacienta.

Teoretická část práce vás nejprve uvede do problematiky sekundárních metabolitů rostlin s důrazem na aktuální poznatky o biologické aktivitě produktů Šikimátové dráhy – neolignanů. O využití rhodiových katalyzátorů při syntéze přírodních látek bude pojednávat část druhá. Ve výsledcích diskusi pak budou popsány syntetické postupy zaměřené na přípravu benzofuranového skeletu. Dosažené výsledky, resp. jejich postup pak budou popsány v experimentální části této práce.

Cíle

1. Literární rešerše na téma: syntéza opticky aktivních neolignanů s benzofuranovým skeletem a jejich biologická aktivita zaměřená zejména na anthelmintické účinky.
2. Vývoj a aplikace rhodiem-katalyzované syntetické metody umožňující přípravu centrálního strukturního motivu neolignanů – benzofuranového skeletu.
3. Charakterizace připravených látek pomocí dostupných fyzikálně-chemických metod.

1. Teoretická část

1.1. Sekundární metabolity

Ačkoli by se mohlo na první pohled zdát, že sekundární metabolity (SM) jsou z názvu „druhotné“ metabolity, opak je pravdou. Oproti primárním metabolitům se v rostlinách², houbách³ a bakteriích⁴ sice nepodílejí na hlavních biologických procesech potřebných pro bazální přežití, ale hrají nezastupitelnou roli v kvalitě života organismu. Jejich biosyntéza je mj. indukována v reakci na biotický i abiotický stres⁵ (např. patogeny, okus živočichy, teplota, UV záření, salinita půdy), účastní se adaptačních procesů a dokážou obecně velmi efektivně a rychle reflektovat aktuální potřeby celého organismu.⁶

Specifita sekundárního metabolomu⁷ může být místní, časová i druhová, kdy můžeme sledovat rozdíly v koncentracích a typu SM například z pohledu tkáňové specifity nebo ji využijeme při taxonomii.⁸ Pozornost zkoumání je v současné době zaměřena nejen na jednotlivé látky (konkrétní biologická aktivita), ale i na jejich synergii a tím pádem i na účinek kombinací SM, bavíme-li se o případném terapeutickém potenciálu této skupiny látek.

Celkově rozeznáváme tři hlavní třídy SM: alkaloidy, isoprenoidy a fenoly.⁹ Neolignan, o kterých se bude následně důkladněji zabývat teoretická část mé diplomové práce, jsou podskupinou fenolických látek, resp. dimerů fenylypropanoidů – jednoho ze základních staveních kamenů fenolických látek.

1.1.1 Biosyntéza fenylypropanoidů

Propojením mezi primárním a sekundárním metabolismem u fenolů fenylypropanopidového typu je Šikimátová dráha, nesoucí název po kyselině šikimové **6**, jež byla izolována roce 1885 z rostliny *Illicium religiosum* (japonsky „*Shikimi-no-ki*“).¹⁰ Tato látka je prekurzorem pro tvorbu esenciálních aromatických aminokyselin, ze kterých se následně tvoří základní stavební jednotka lignanů a neolignanů – fenylypropanoid s C₆C₃ skeletem¹¹.

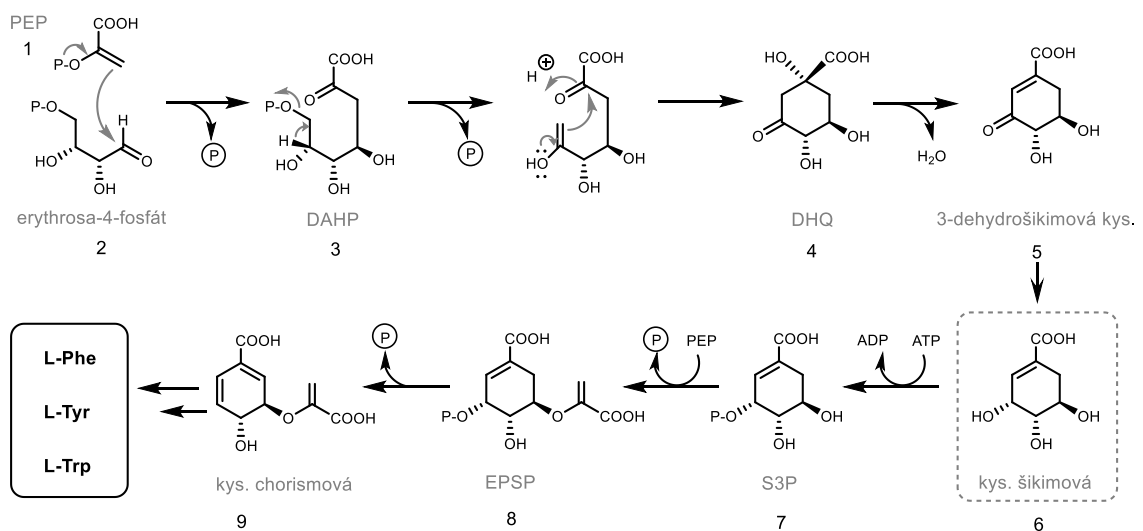
1.1.1.1 Šikimátová dráha

Vznik kyseliny šikimové **6** (Obr. 1) začíná kondenzací fosfoenolpyruvátu **1** (PEP, z glykolýzy) a erythrosy-4-fosfátu **2** (z pentosafosfátové dráhy) za vzniku 3-deoxy-*D*-arabino-heptulosonát-7-fosfátu **3** (DAHP) katalyzovaný DAHP synthasou (EC 2.5.1.54).

V druhém kroku je eliminován fosfát (P) za vzniku 3-dehydrochinátu **4** (DHQ) pomocí DHQ synthasy (EC 4.2.3.4) a katalytického množství nikotinamidadeninukleotidu (NAD) jako kofaktoru. Tento krok zahrnuje oxidaci, β -eliminaci anorganického fosfátu (*syn* stereochemie), redukci, otevření kruhu a intramolekulární aldolovou kondenzaci.

Následná dehydratace a dehydrogenace DHQ meziproductu **4** je u rostlin zajištěna bifunkčním enzymem DHQ dehydratasou-šikimátdehydrogenasou (EC 4.2.1.10/EC 1.1.1.25) za spotřeby kofaktoru nikotinadeninukleotidfosfátu (NADP). U mikroorganismů a hub bychom našli dva oddělené enzymy. Pátým krokem je fosforylace vzniklého šikimátu **6** enzymem šikimátkinasou (EC 2.7.1.71) v poloze 3 za spotřeby adenosintrifosfátu (ATP). V předposledním kroku vstupuje do reakce druhý PEP **1** a ze šikimát-3-fosfátu **7** (S3P) je vytvořen 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát **8** (EPSP). Enzym EPSP synthasa (EC 2.5.1.19), katalyzující tento krok, je také cílem herbicidu glyfosátu (obch. Roundup), který se váže na komplex [enzym-S3P] a chová se jako kompetitivní inhibitor k PEP **1**.

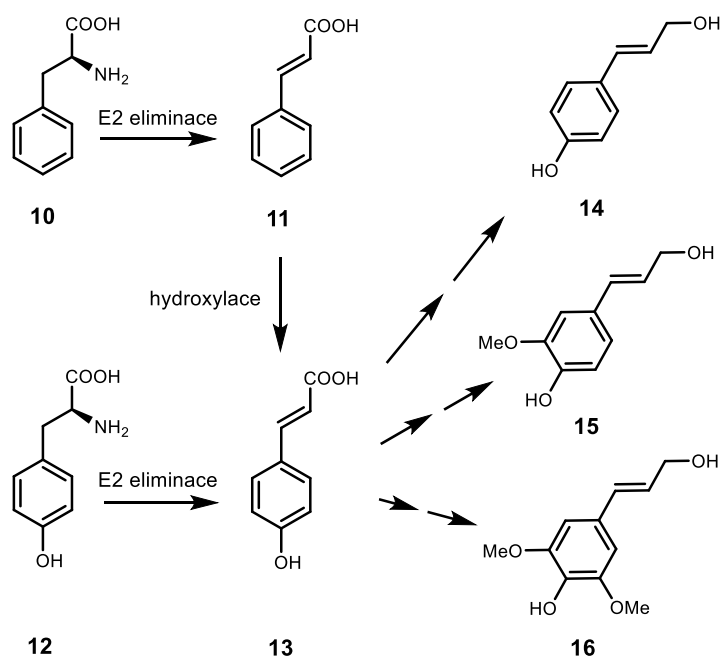
Posledním krokem Šikimátové dráhy je tvorba kyseliny chorismové **9**. *Trans*-1,4-eliminace fosfátu je indukována enzymem chorismátsynthasou (EC 4.2.3.5) za vzniku druhé dvojné vazby cyklu. Pro tuto reakci je zapotřebí redukovaný flavinadeninukleotid (FADH), jelikož slouží jako donor elektronů a iniciuje přerušení vazby C-O.^{12,13} Chorismová kyselina **9** se v tomto bodě stává výchozím metabolitem k tvorbě aromatických aminokyselin dalšími enzymatickými přeměnami v plastidech a ty jsou poté transportovány do cytoplasmy.



Obr. 1 Schematické znázornění biosyntézy aromatických kyselin.

1.1.1.2 Tvorba fenylylpropanoidu

Aminokyseliny fhenylalanin (L-Phe) **10** a tyrosin (L-Tyr) **12** následně podstupují E2 eliminaci dusíku aminolyasami, která vede ke společné kyselině 4-hydroxykumarové **13**. Ta je poté sledem hydroxylačných, methylačných a dehydrogenačných reakcí přeměněna na aromatické alkoholy – monolignoly, jež slouží jako základní C₆C₃ skelet (fenylpropanoid) pro biosyntézu lignanů a neolignanů. Konkrétně se jedná o 4-hydroxycinnamyl alkohol **14**, koniferyl alkohol **15** a sinapyl alkohol **16**. Zjednodušené schéma jejich tvorby je na Obr. 2.



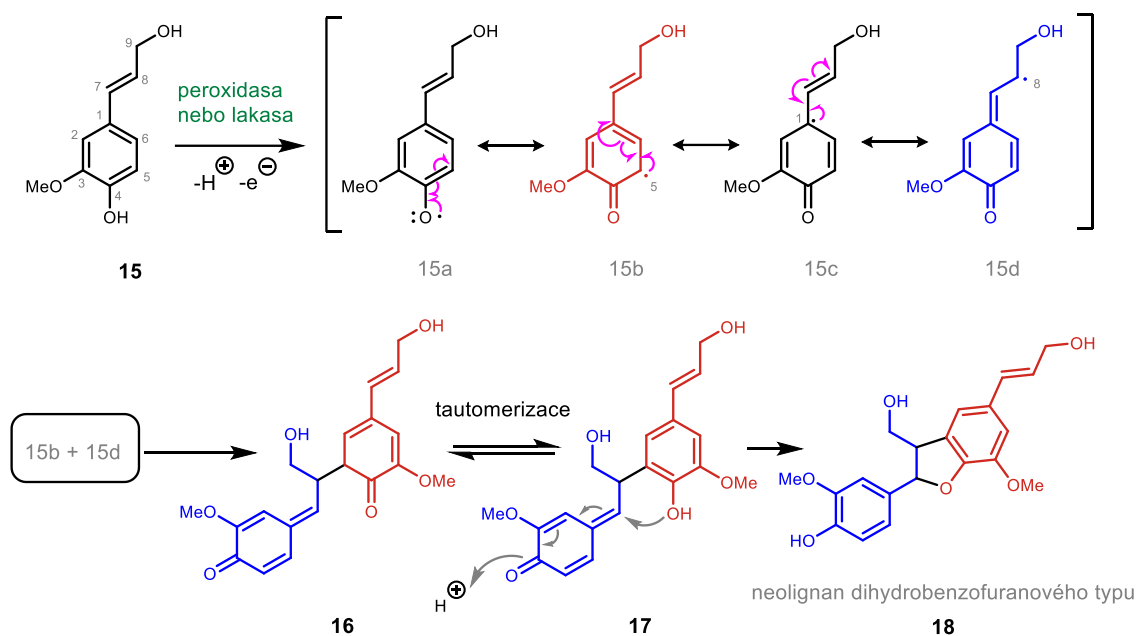
Obr. 2 Schematické znázornění tvorby látek se základním C₆C₃ stavebním skeletem z aromatických aminokyselin fenylylalaninu a tyrosinu. Dimerizace látek **14**, **15** a **16** vede ke vzniku SM (lignanů a neolignanů).

1.1.2 Benzofurany – tvorba a výskyt v přírodě

Varianta dimerizace základních podjednotek fenylylpropanoidů je několik a závisí na možnostech vazby stabilizovaných radikálových intermediátů. Tento fakt spojený s postdimerizačními procesy (oxidace, methylace) zajišťuje produkci ohromného množství SM fenylylpropanoidového typu v závislosti na aktuální potřebě organismu.

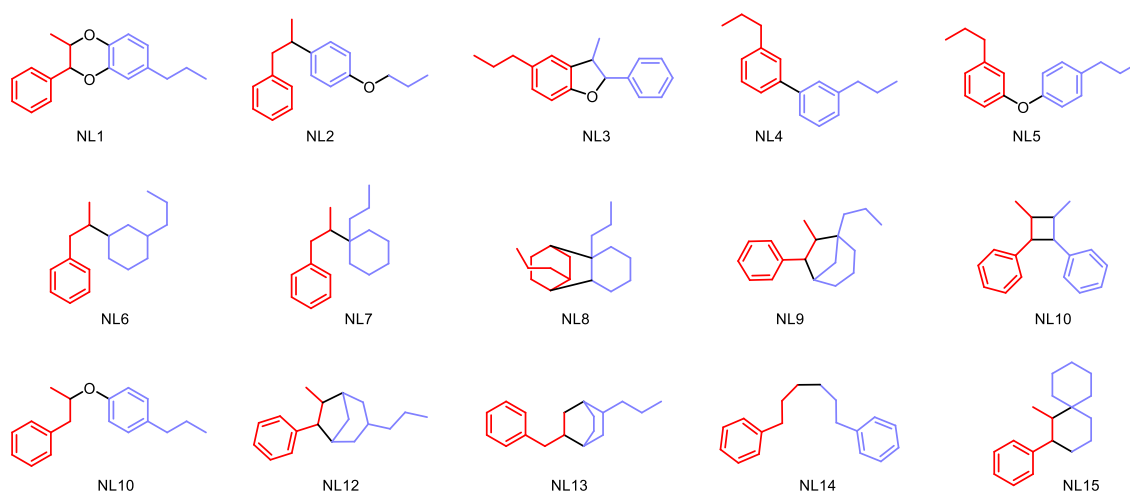
Pokud je vytvořena vazba mezi uhlíky C₈-C_{8'} mluvíme pak o tzv. lignanech a pokud jsou spojeny jiné než C₈-C_{8'} uhlíky, pak o produktech mluvíme jako o neolignanech.¹⁴ Na Obr. 3 (převzato a upraveno¹⁵) je schematicky popsána radikálová dimerizace koniferyl alkoholu **15** za vzniku neolignanů **18** (dihydro)benzofuranového typu s vazbou uhlíků C₈-C_{5'}. Tvorba radikálu je v prvním kroku iniciována enzymy

peroxidasou nebo lakasou, ty v mnoha případech za přítomnosti tzv. dirigentních proteinů (cytochrom P450 dependentních), umožňují tvorbu následných dimerů s vysokou regio- a stereochemií.^{16,17} Vzniklé lignany a neolignany pak primárně slouží ke tvorbě ligninu (opěrný systém rostlin) ale daný organismu je může využít i jinak.¹⁸



Obr. 3 Příklad tvorby neolignanů benzofuranového typu z koniferyl alkoholu **15** s vazbou mezi uhlíky C₈ a C_{5'} pomocí radikálové homodimerizace.

Neolignany se vyskytují v mnoha strukturních typech, na obr. 4 je přehled patnácti doposud popsanych možností dimerizace s vyznačenými skelety.¹⁹ V přírodě nalezneme neolignany ve vyšších rostlinách čeledí *Lauraceae* (vavřínovité),²⁰ *Labiatae* (hluchavkovité),²¹ *Rosaceae* (ružovité), *Krameriaceae* (krameriovité), *Pinaceae* (borovicovité), *Magnoliaceae* (šácholanovité), *Myristicaceae* (muškátovníkovité),

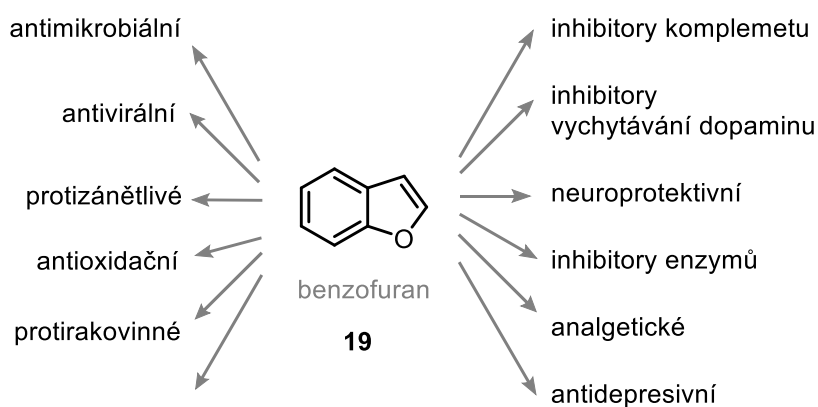


Obr. 4 Různé možnosti strukturních typů neolignanů.

Styracaceae (sturačovité)²² a v mnoha dalších. Přehledně zpracovaný seznam rostlinných zdrojů dihydrobenzofuranů (NL3) a jejich 455 struktur známých do r. 2020 je k nalezení v kapitole 2 knihy *Benzofuran: Production and Applications* (Dias *et. al.*, 2020, *editor Murilo Souza Barros*).²³

1.2 Biologická aktivita benzofuranů

Velké množství látek s biologickou aktivitou (Obr. 5) obsahuje ve své struktuře benzofuranový skelet **19**.²⁴ Z přírodních látek byly následně odvozeny semisyntetické a syntetické deriváty, které jsou nyní hojně využívány jako klinicky schválená léčiva (např. Naloxon, Galantamin, Morfin, Rifampicin, Griseofulvin, Psoralen, Citalopram).²⁵



Obr. 5 Příklad všestranných biologických aktivit neolignanů s benzofuranovým skeletem **19**.

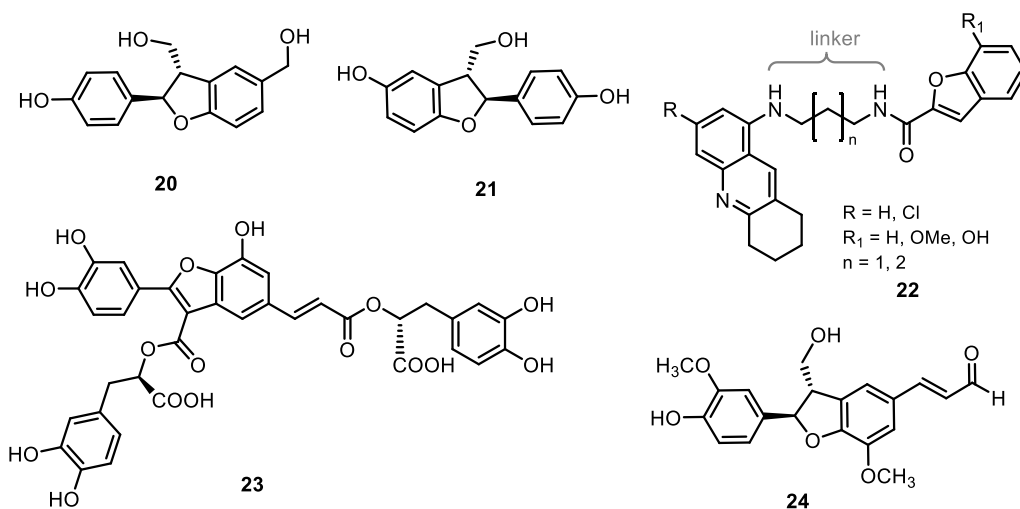
1.2.1 Neuroprotektivní

Se zvyšujícím se věkem dožití člověka se také zvyšuje riziko rozvoje neurodegenerativních onemocnění jako je Alzheimerova choroba (AD)²⁶ nebo Parkinsonova choroba.²⁷ V současné době lze využít pouze symptomatickou léčbu, která však neřeší samotnou degeneraci mozkové tkáně.²⁸ V přírodě lze ale nalézt několik zástupců neolignanů, jež vykazují neuroprotektivní aktivitu a mohli by v budoucnu být slibnými kandidáty pro farmaceutický průmysl. Struktury vybraných zástupců jsou na obr. 6.

Senilní plaky tvořené typickými strukturami amyloidu β ($A\beta$) jsou jednou z příčin rozvoje AD. Indukce samovolné tvorby agregátů $A\beta$ může být potlačena působením neolignanů (7S,8R)-rubussinu A **20** a (7R,8S)-rubussinu B **21** izolovaných z ovoce rostliny *Rubus idaeus*.²⁹ Na agregaci $A\beta$ cílí i některé nové syntetické multi-target deriváty, například takrin-benzofuran **22**, slibující navíc inhibici acetylcholinesterasy,

antioxidační účinky a chelataci iontů kovů.³⁰ Další nově izolovanou látkou bojující proti agregaci A β je schizotenuin A **23** s aktivitou IC₅₀ = 2,93 μ M.³¹

Další příčinou rozpadu neuronů je zvýšené množství volných radikálů. Například mikroglie BV-2 aktivované lipopolysacharidy produkují zvýšené množství molekul oxidu dusnatého (NO), což může vést až k neurozánětu v mozku. 7S,8R-balanophonin **24** izolovaný ze stromu *Firmiana simplex* se ukázal jako slibný kandidát s aktivitou IC₅₀ = 7,07 μ M proti vysoké produkci NO.³²



Obr. 6 Chemické struktury (7S,8R)-rubussinu A **20**, (7R,8S)-rubussinu B **21**, takrin-benzofuranu **22**, schizotenuinu A **23** a (7S,8R)-balanophoninu **24**.

1.2.2 Antitumorní

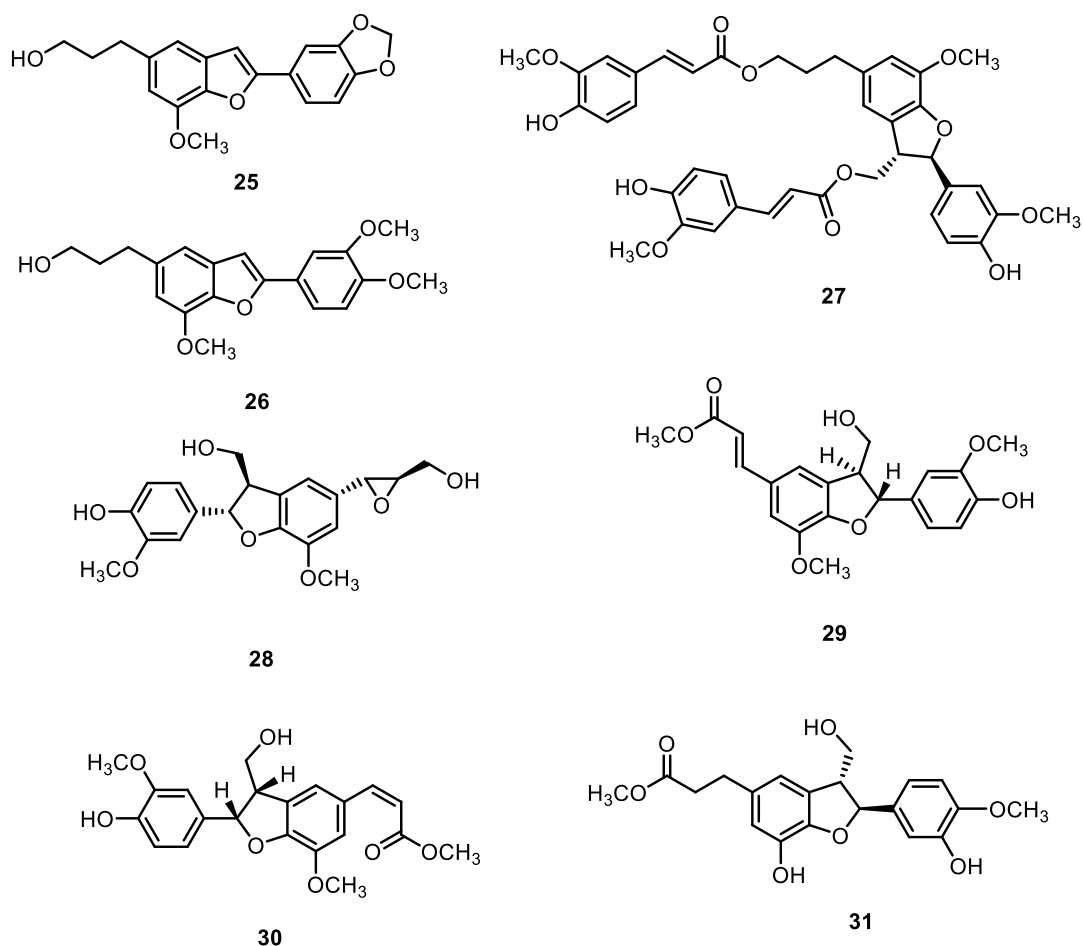
Výčet neolignanů vykazující vysokou aktivitu proti nádorovým buňkám je velmi vysoký.¹⁹ Např. egonol **25** izolovaný z rostliny *Styrax camporum* (z čeledi sturačovitě) vykazuje aktivitu proti buněčné linii hepatocelulárního karcinomu Hep2G (IC₅₀ = 11,2 \pm 0,4 μ M). V kombinaci s homoegonolem **26** působí cytotoxicky i proti MCF-7 linii adenokarcinomu prsu s IC₅₀ = 13,3 \pm 0,6 μ M.³³

Proti nádorové linii buněk lidského spinocelulárního karcinomu A431 působí např. boehmenan **27** s aktivitou IC₅₀ = 1,6 μ M. Inhibice proliferace je zajištěna blokadou přechodu z G2 do M fáze buněčného cyklu, zvýšením intracelulární produkce reaktivních forem kyslíku a indukci apoptosy (řízené buněčné smrti).³⁴

Neolignan lyciumnan **28**, jež obsahuje epoxidovou skupinu, izolovaný z listů rostliny *Lycium barbarum*, byl testován na cytotoxickou aktivitu proti nádorovým buněčným liniím rakoviny plic (A549, IC₅₀ = 37,1 \pm 3,3 μ M), prostaty (PC-3, IC₅₀ = 51,7 \pm 3,6 μ M) a epiteliálními buňkami HeLa (IC₅₀ = 54,7 \pm 3,9 μ M).³⁵ Gardenofoliny A-H

izolované z *Gardenia ternifolia* vykazovaly střední účinek proti HeLa buňkám, z nich nejúčinnější se ukázaly být gardenofolin D **29** a gardenofolin E **30** s $IC_{50} = 21,0 \mu M$ resp. $IC_{50} = 32,5 \mu M$.³⁶ V případě buněčné linie lidské leukémie HL-60 byl testován např. trogopterin A **31** (izolován z výkalů poletuchy horské *Trogopterus xanthipes*) s aktivitou $IC_{50} = 45,68 \pm 3,25 \mu M$.³⁷

U následující látky izolované ze semen rostliny *Crataegus pinnatifida* byl zkoumán vliv přítomnosti dvojně vazby v poloze C₇-C₈ poblíž aromatického jádra benzofuranu. Redukce této konkrétní dvojně vazby vede až k 10násobnému snížení cytotoxické aktivity. Balanophonin **24** vykazuje silnou inhibiční aktivitu ($IC_{50} = 8,86 \mu M$) také proti buněčné linii HT-1080 sarkomu fibroblastu v porovnání s kontrolním 5-fluorouracilem ($IC_{50} = 35,62 \mu M$).³⁸ Struktury zmíněných látek jsou na obr. 7.



Obr. 7 Chemické struktury egnonolu **25**, homoegonolu **26**, boehmenanu **27**, lyciumnanu **28**, gardenofolinu D **29**, gardenofolinu E **30** a trogopterinu A **31**.

1.2.3 Protizánětlivá a antioxidační

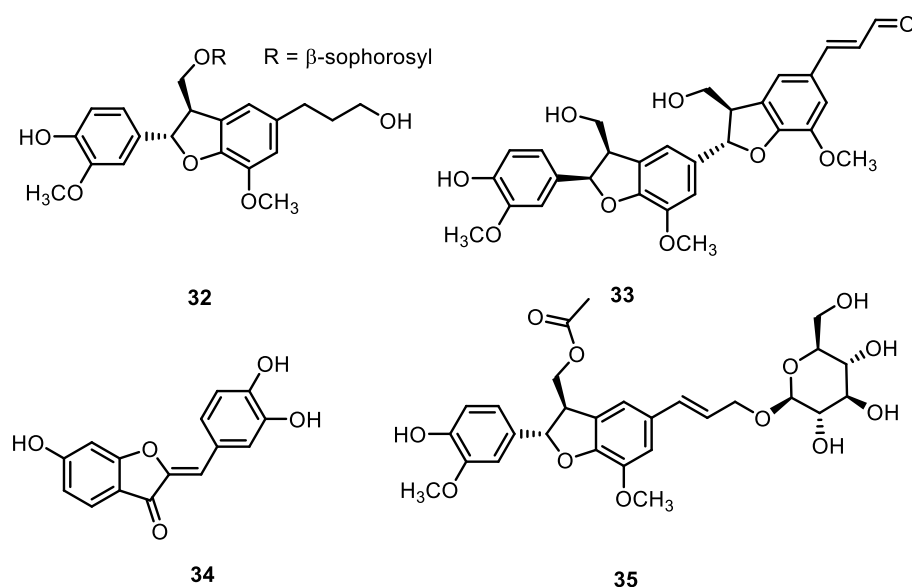
Zánětlivá reakce je první odpovědí organismu na poškození tkáně, přítomnost patogenu nebo toxické látky.³⁹ Přírodní zdroje neolignanů mohou poskytnout mnoho látek

s antioxidačním účinkem. Např. byl z javorové mízy *Acer saccharum* extrahován glykosid saposidu B **32** s antioxidační aktivitou $IC_{50} = 260 \mu M$ proti superoxiddismutase (EC 1.15.1.1).⁴⁰

Dále byl zjištěn inhibiční efekt na produkci NO indukovanou lipopolysacharidy u makrofágů RAW 264,7 u neolignanů z ovoce rostliny *Canarium Album*. Bylo zjištěno, že picrasmaligan **33** ($IC_{50} = 14,3 \pm 2,2 \mu M$) napomáhá redukcii exprese prozánětlivých faktorů COX-2, IL-1 β , IL-6 a iNOS.⁴¹

Sulfuretin **34**, další flavonoid nacházející se v mnoha rostlinných druzích (např. *Rhus verniciflua*, *Dahlia*, *Dipterix lacunifera*), vykazuje široké spektrum biologické aktivity. Zde bych chtěla však zmínit studii antioxidační aktivity této látky jako zhaščeče radikálu hydroxyperoxyly $HOO\bullet$. Výpočty diskrétní Fourierovou transformací vyčíslily celkovou rychlostní konstantu $k = 4,47 \cdot 10^7 M^{-1}s^{-1}$ ve vodě při $pH = 7,4$, kdy se tvoří anion ($pK_a = 7,47$). V nepolárním lipidovém prostředí byla jeho účinnost dokonce 530x rychlejší než u paklitaxelu (cytostatikum, obch. název Taxol) a srovnatelná s kyselinou askorbovou nebo resveratrolem.^{42,43}

Nově izolované benzofurany z rostliny *Ligustrum lucidum* byly testovány na aktivitu proti tvorbě prozánětlivého cytokinu IL-6 a tvorbě NO v lipopolysacharidy-indukovaných buňkách RAW 264,7, nicméně z nich pouze ligustlignanosit C **35** vykazoval aktivitu proti IL-6 v hodnotě $IC_{50} = 49,37 \pm 0,23 \mu M$. U dalších spoluizolovaných látek byla přítomnost hydroxylové skupiny v poloze C₄ a C₉ podstatná pro snížení produkce IL-6.⁴⁴ Obr. 8 shrnuje jejich chemické struktury.



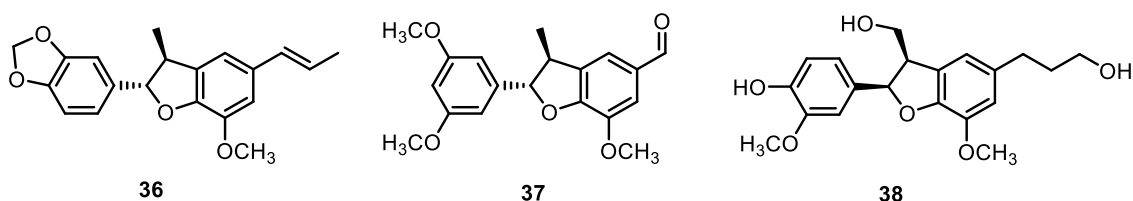
Obr. 8 Chemické struktury glykosidu saposidu B **32**, picrasmalignanů **33**, sulfuretinu **34** a ligustlignanositu C **35**.

1.2.4 Antimikrobiální a antivirální

Strategie boje proti bakteriálním infekcím musí obcházet stále se zvyšující rezistenci bakterií na již známé antibakteriální přípravky.⁴⁵ V případě bakteriální meningitidy, způsobované gram-pozitivní bakterií *Streptococcus pneumoniae*, je možnost cílit na enzym sialidasu (jinak také známá jako neuraminidasa, EC 3.2.1.18). Ta je zodpovědná za tvorbu biofilmu a adhezi bakterie na buňku. Licarin B **36** proti variantě NanA enzymu působí nekompetitivně a vykazuje aktivitu $IC_{50} = 1,5 \pm 0,4 \mu M$.^{46,47}

To, že některé benzofurany nevykazují konkrétní biologickou aktivitu ještě neznámá, že je nemůžeme využít. Je zjištěno, že např. kombinace myticaganalu C **37** a již používaného β -laktamového antibiotika ampicilinu, zvyšuje účinnost tohoto antibiotika proti bakterii *E. Coli* (nejspíše díky lipofilnímu charakteru látky **37**, který pomáhá s difúzí léku skrze buněčnou membránu).⁴⁸

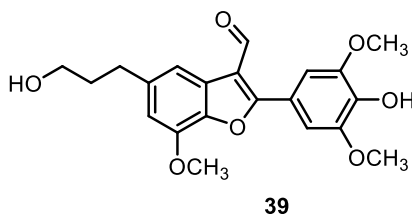
Antivirální účinky můžeme sledovat např. proti viru HIV-1 u vladinolu F **38** (izolovaného ze *Schisandra micrantha*) s $EC_{50} = 9,75 \mu M$ a ještě lepší aktivitu vykazuje balaphonin **24** s $EC_{50} = 8,34 \mu M$.⁴⁹ Struktury popsanych molekul jsou na obr. 9.



Obr. 9 Chemické struktury Licarinu B **36**, myticaganalu C **37** a vladinolu F **38**.

1.2.5 Antidiabetické

U selamoelleninu A **39** (Obr. 10), extrahovaného ze *Selaginella moellendorffii*, byl *in vitro* studován jeho protektivní vliv proti poškození cévních endoteliálních buněk HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) vysokou koncentrací glukosy.⁵⁰



Obr. 10 Chemická struktura selamoelleninu A **39**.

Výše zmíněný schizotenuin A **23** působí účinně nejen proti agregaci filament $A\beta$ v mozku, aktivitu ($IC_{50} = 0,58 \mu M$) vykazuje i proti tvorbě shluků fibril proteinu hIAPP (human islet amyloid polypeptide) u pacientů diabetu druhého typu, které se ukládají v ostrůvcích pankreatu.^{31,51}

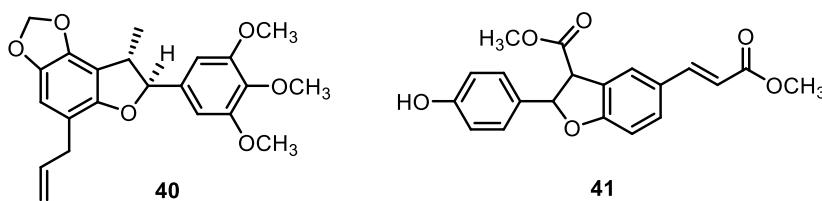
1.2.6 Antiparazitické

Moderní medicína se potýká se závažným problémem zvyšující se rezistence patogenních parazitů na léčbu.^{52,53} Hledání léčiv s novým mechanismem účinku je velkou výzvou, jež čelí časovému tlaku a právě inspirace účinky přírodních látek může napomoci rychlejšímu vývoji vhodných kandidátů na účinná léčiva.

1.2.6.1 Antiprotozoální

Oblastí, kde mohou benzofurany také nabídnout slibné kandidáty pro inspiraci k novým léčivům, je účinek antiprotozoální (Obr. 11). Ococymosin **40**, extrahovaný z *Ocotea cymosa*, endemického stromu Madagaskaru, vykazuje antiparazitickou aktivitu proti Dd2 kmeni prvoka *Plasmodium falciparum* s $IC_{50} = 0,45 \pm 0,02 \mu M$.⁵⁴

Proti amastigotům *Trypanosoma cruzi* (kmen Y) byl testován syntetický benzofuran **41**, jež vykazoval téměř stejný účinek ($IC_{50} = 3,26 \mu M$) jako benznidazol ($IC_{50} = 3,56 \mu M$) – lék používaný proti Chagasově nemoci. U této studie byly esterová skupina na uhlících C_9 a C_9' a dvojná vazba mezi uhlíky C_7 a C_8' označeny za podstatné pro antitrypanosomální aktivitu testované látky.^{55,56}



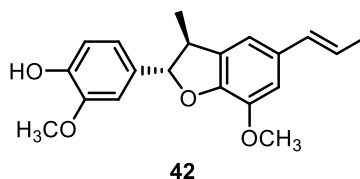
Obr. 11 Chemické struktury ococymosinu **40** a syntetického benzofuranu **41**.

1.2.6.2 Anthelmintické

Jedním z nejrozšířenějších parazitů je krevnička střešní (*Schistosoma mansoni*), která způsobuje onemocnění schistosomiázu, ohrožující celosvětově populaci čítající podle Světové zdravotnické organizace až 800 milionů lidí (převážně v subsaharské Africe). Zatím jedinou široce užívanou preventivní látkou je praziquantel (PZQ),⁵⁷ čímž

se lidstvo vystavuje riziku blížící se vysoké rezistence parazita na tento způsob chemoterapie.

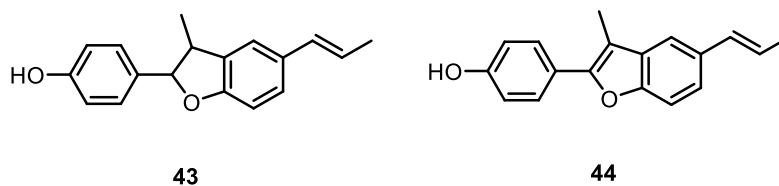
Přírodní zdroje poskytují mnoho slibných kandidátů potenciálních léčiv, nicméně málo z nich postoupí do testování *in vivo*. Licarin A **42** (Obr. 12) z listů *Nectandra oppositifolia* (rod *Lauraceae*), jež vykazuje mj. i antibakteriální, protinádorovou či antileishmaniální aktivitu, byl testován i proti krevničce. *In vivo* studie na myších modelech porovnávala orální podání efektivní dávky 400mk/kg PZQ a licarinu A **42** po 42 dnech inkubace parazita v těle hostitele. Bylo dosaženo mírného snížení produkce vajíček, takže bylo ovlivněno dospívání a plodnost jedince. Licarin A **42** tak může sloužit jako slibný kandidát studia vztahu struktury-aktivity dalších látek s benzofuranovým skeletem.⁵⁸ Nutno však zmínit, že doplňkové studie zaměřené na účinky enantiomerů molekuly podporují teorii, že je důležitá i synergie jednotlivých enantiomerů pro požadovaný účinek.⁵⁹ Terapeutickým cílem může být v případě *Schistosoma mansoni* inhibice glukosového transportéru 4 (*in silico* studie).⁶⁰



Obr. 12 Chemická struktura licarinu A **42**.

1.2.6.3 Antileishmaniální

Z listů brazilské rostliny *Piper rivinoides* (čeleď pepřovníkovité) bylo vyizolováno několik benzofuranů a dihydrobenzofuranů (Obr. 13), z nichž látka conocarpan **43** vykazovala aktivitu proti dvěma testovaným druhům zástupců rodu *Leishmania*. V případě *L. amazonensis* byla $IC_{50} = 10,80 \pm 0,04$ mM, u rodu *L. chagasi* byla hodnota $IC_{50} = 24,50 \pm 0,01$ mM. Tato studie rovněž zdůraznila důležitost volné hydroxylové skupiny v poloze C_{4'} na příkladu výsledků testování biologické aktivity conocarpanu **43** a současně izolovaného eupamatenoidu-6 **44**.^{61,62}



Obr. 13 Chemické struktury conocarpanu **43** a eupamatenoidu-6 **44**.

1.3 Využití rhodia (Rh) při syntéze přírodních látek

1.3.1 Rh – historie, vlastnosti a využití

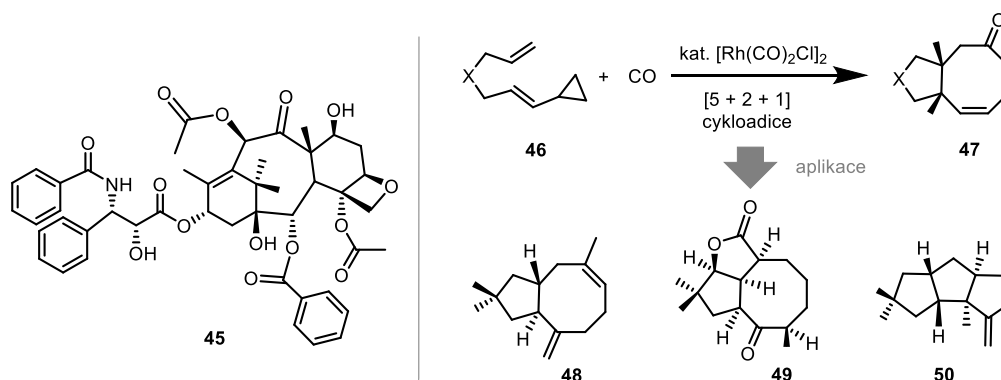
První zmínka o objevení rhodia pochází z roku 1804, kdy William Hyde Wollaston (1766-1828) publikoval článek, ve kterém popisoval izolaci nového, zatím neznámého, kovu. Ten pojmenoval po řeckém slovu *róðou* (růže), jelikož byl získán z růžovo-červeného hydrátu $\text{Na}_3[\text{RhCl}_6] \cdot n\text{H}_2\text{O}$, který zůstal po vysrážení ostatních kovů (platina, palladium, měď a olovo) ze surové platinové rudy. V 19. století se rhodium využívalo zpočátku např. ve slitině s cínem pro odolné hroty per nebo spolu s iridiem, stříbrem a ocelí pro výrobu břitev.^{63,64} V dnešní době najdeme Rh v katalyzátorech aut, v obalech optických vláken nebo v optických zrcadlech.⁶⁵

Současné využití Rh se v chemii orientuje na katalýzu, jež využívá vlastností oxidačních stavů Rh(I) a Rh(III) a s pomocí specifických ligandů je možné precizně kontrolovat enantiosektivitu a stabilitu reakcí. Příklady reakcí, kde je využívána katalýza Rh, jsou následující: hydroborace, hydroformylace, dekarboxylace, cross-couplingy, tvorba C-S vazeb, metathese, annulace, Oppenauerova oxidace, asymetrická C-H aktivace a mnoho dalších.^{66,67}

Některé sloučeniny rhodia jsou testovány i v rámci jejich biologických vlastností. Stručně lze zmínit, že vybrané Rh(II) a Rh(III) komplexy jsou aktivně zkoumány jako inhibitory enzymů [např. enzym aktivující NEDD8 (EC 6.2.1.64) nebo proto-onkogenní thyrosin-proteinová Src kinasa (EC 2.7.10.2)], látky cílící na deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) nebo látky s antitumorním účinkem.^{68,69}

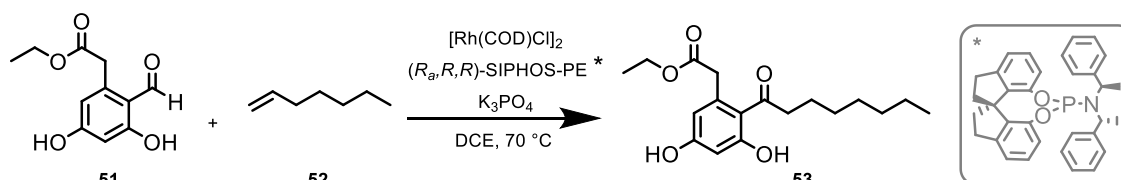
1.3.2 Aplikace Rh při syntéze přírodních látek

V přírodě se setkáme i se složitějšími molekulami, např. paklitaxel **45**, jedno z nejúčinnějších cytostatik (mitotický inhibitor), obsahuje ve své molekule osmičlenný uhlíkatý cyklus.⁷⁰ Syntéza těchto konkrétních vícečlenných kruhů má však své limity, jež vycházejí z enthalpických nebo entropických vlastností tranzitního stavu při cyklizaci. Jedním ze způsobů, jak vytvořit požadovanou velikost kruhu **47**, je $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{Cl}]_2$ -katalyzovaná $[5+2+1]$ cykloadice vinylcyklopropanu **46** a oxidu uhelnatého (CO). Navržená hypotéza byla ověřena na syntéze mj. následujících přírodních látek: bicycklého asterisca-3-(15)-6-dienu **48** a tricycklých (+)-asteriscanolidu **49** a (±)-hirsutenu **50** (Obr.14).⁷¹



Obr. 14 Chemická struktura paklitaxelu **45**, jež obsahuje vícečetný uhlíkatý cyklus. Pro syntézu přírodních látek asterisca-3-(15)-6-dienu **48**, asteriscanolidu **49** a (±)-hirsutenu **50** byla využita Rh-katalyzovaná cykloadice vinylcyklopropanu **46**.

Cytosporony (látky ze skupiny oktaketidů) mohou být připraveny cestou intermolekulární hydroacylace alkenů (např. **52**) s deriváty salicylaldehydu **51**. Navržený postup využívající katalýzy rhodiového katalyzátoru s chirálním ligandem (R_a, R, R)-SIPHOS-PE (Obr. 15) byl aplikován na syntézu osmi látek, mezi nimiž byl i cytosporon B **53**, kandidát na cytostatikum a hypoglykemikum.^{72,73}



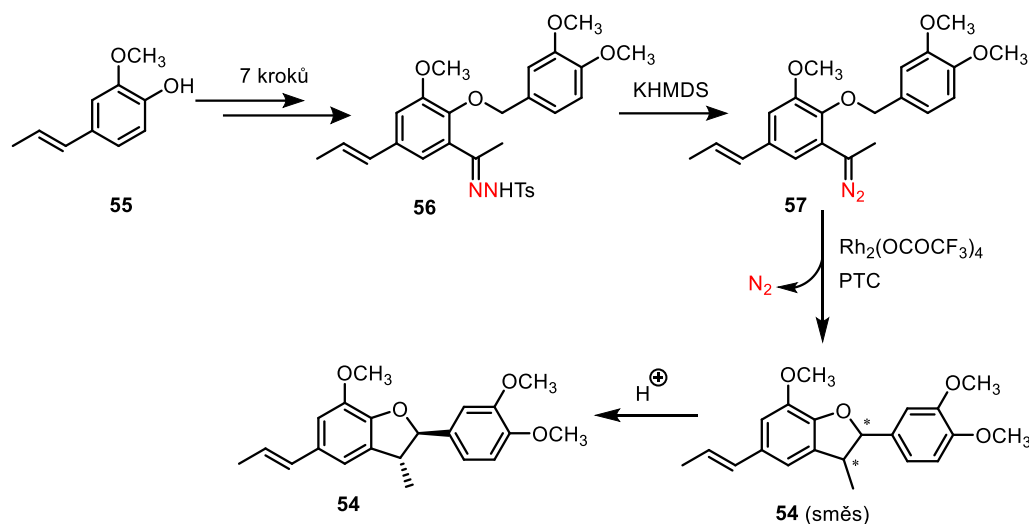
Obr. 15 Schéma Rh-katalyzované syntézy cytosporonu B **53** s využitím chirálního ligandu na centrálním Rh atomu.

1.3.3 Aplikace Rh při syntéze benzofuranů

Dalším příkladem je enantioselektivní syntéza neolignanů (+)-*trans*-akuminatinu **54**, při které byla využita katalýza Rh(II).⁷⁴ Látka byla poprvé izolována v roce 1972 z kůry

kořenů šácholanu přišpičatělého (*Magnolia acuminata*), stromu okrasného charakteru.⁷⁵ Akuminatin **54** vykazuje mj. inhibici DNA-topoisomerasy I a II (typ I: EC 5.99.1.2, typ II: EC 5.99.1.3) nebo fosfolipasy C γ 1 (EC 3.1.4.11; IC₅₀ = 26,0 ± 1,5 μ M), která se účastní proliferačního mechanismu rakovinných buněk u člověka.⁷⁶

Výchozí látkou byl *trans*-isoeugenol **55**, který byl v sedmi krocích přetransformován na tosylhydrazon **56**, jež reakcí s hexamethyldisilazanem draslíku (KHMDS) vytvořil diazo-meziprodukt **57**. Ten iniciací Rh(II)-karbenoidu reagoval cestou 1,5 C-H inzerce. Reakce byla navíc optimalizována chirální kvartérní amoniovou solí (působí jako katalyzátor transferu mezi fázemi, PTC). Výsledný produkt vzniká jako směs *cis/trans* izomerů, takže je nutná následná izomerizace (+)-*cis*-akuminatinu na *trans* izomer **54** za kyselých podmínek (Obr. 16).⁷⁴ Většina biologicky aktivních neolignanů se v přírodě totiž nachází právě ve své *trans* formě.

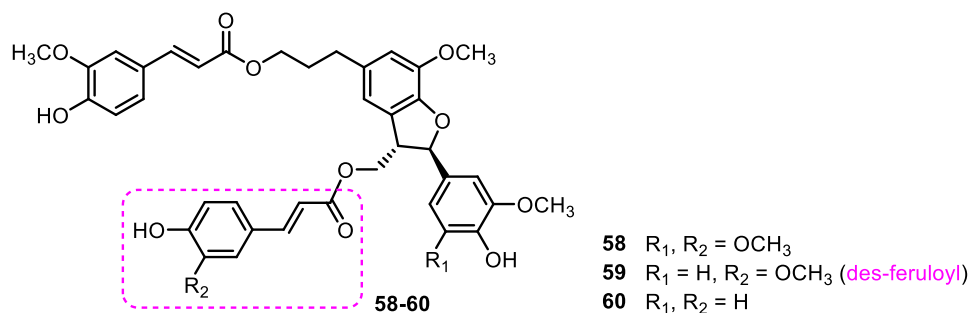


Obr. 16 Rh(II)-katalyzovaná C-H inzerce diazo-meziproduktu **57** vede ke směsi *cis/trans* izomerů (+)-akuminatinu **54**.

Použité Rh(II) katalyzátory vykazují menší stabilitu, proto se nyní obecně ve výzkumu zaměřujeme na využití stabilnějších katalyzátorů Rh(III). Inspirací pro mou práci je publikace Peng Suna, v níž se jeho tým věnoval syntéze chromonů a benzofuranů s využitím katalyzované C-H aktivace/annulace mezi aldehydem a diazolétkami.⁷⁷

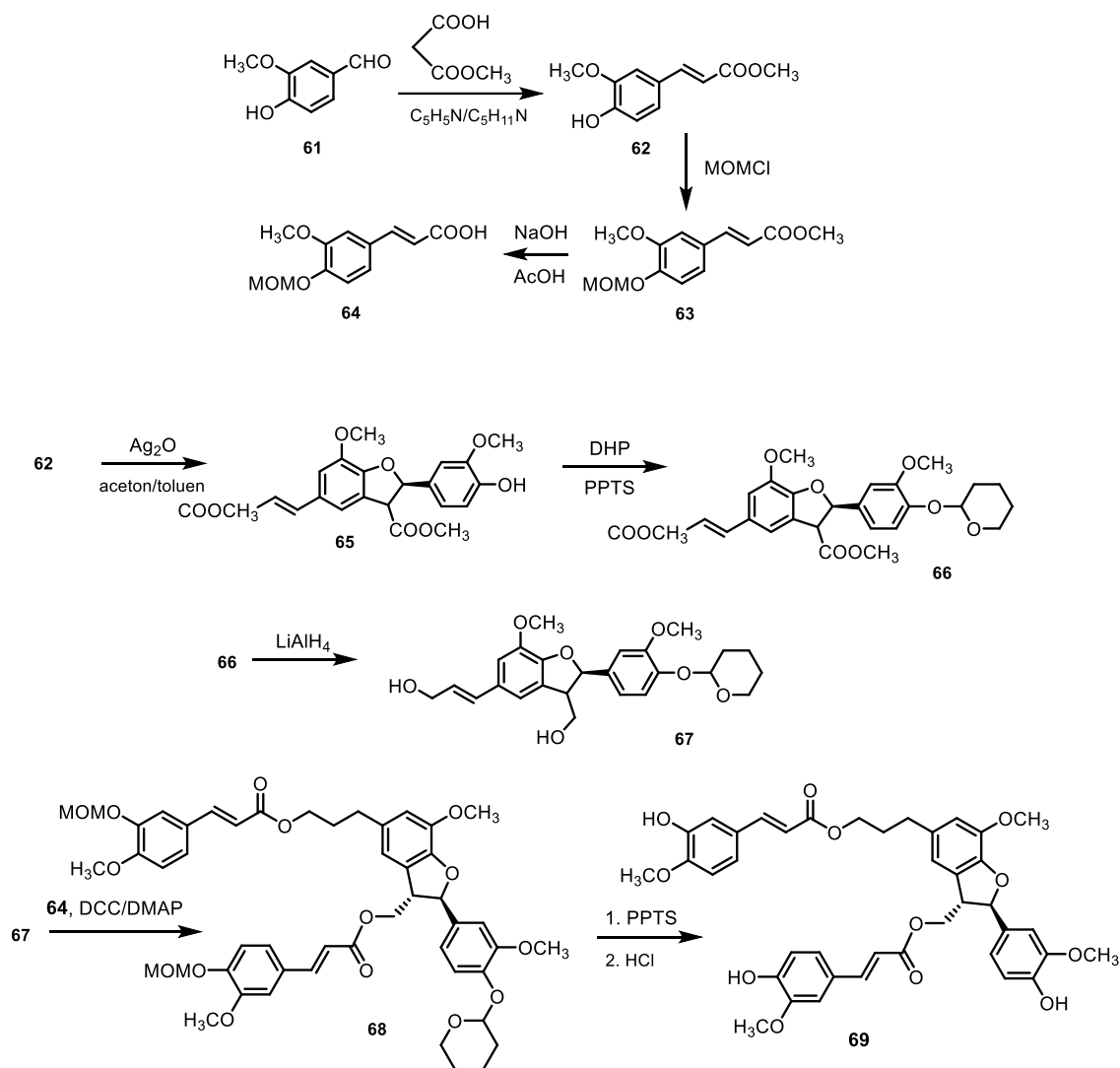
1.4 Dosavadní výsledky ve skupině zabývající se neolignanů

Jedním z klíčových cílů naší výzkumné skupiny je syntéza boehmenanů. Struktury tří nejvýznamnějších (boehmenan D **58**, boehmenan H **59**, boehmenan X **60**) jsou zobrazeny na obr. 17.⁷⁴



Obr. 17 Chemické struktury boehmenanu D **58**, boehmenanu H **59** a boehmenanu X **60**.

První totální syntéza boehmenanu **69**, jež vycházela z vanilinu **61**, byla publikována v roce 2014 za využití biomimetického oxidativního couplingu jako klíčového kroku (Obr. 18).⁷⁸ Naším cílem ale bylo nalézt jednoduchou a efektivní syntézu benzofuranového skeletu, jež by nám umožnila tuto syntézu s využitím jednotného přístupu. Za uplynulou dekádu byly vyzkoušeny mnohé postupy, z nichž některé byly více či méně úspěšné. V této části bude prezentován stručný přehled dosavadních syntetických přístupů pro zástupce neolignanů s benzofuranovým skeletem, kterým se věnovali mí předchůdci.



Obr. 18 Schéma první totální syntézy boehmenanu 69 vycházející z vanilinu 61.

1.4.1 Radikálový křížený dehydrogenační coupling

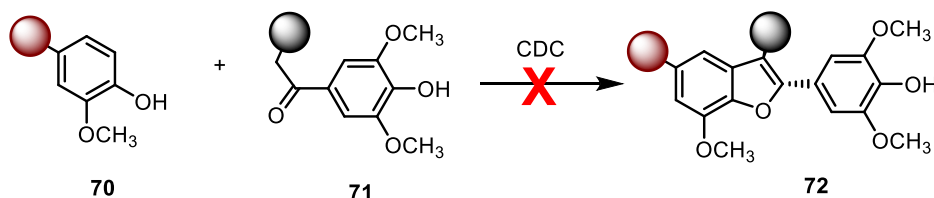
Syntéza skeletu boehmenanů 72 může být provedena více způsoby. Prvním studovaným přístupem byl radikálový křížený dehydrogenační coupling (CDC; cross dehydrogenative coupling) využívající radikálové reakce substituovaného fenolu 70 a β -ketoesteru 71 (Obr. 19).

Práce Mgr. Baruščákové se zabývala návrhem syntézy boehmenanu X 60 a využila heterodimerizaci β -ketoesteru MOM-chráněné kyseliny ferulové s acetalem vanilinu. Již příprava prekurzorů ale narazila na problematické místo. β -ketoester kyseliny ferulové měl být připraven z β -hydroxyesteru, který ovšem nebyl získán v dostatečném množství pro optimalizaci následné oxidační reakce. Důvodem mohla být sterická zábrana na benzenovém jádře vanilinu, která znemožnila vhodnou orientaci při cyklickém mechanismu reakce katalyzovaného Fe(III) solí, nebo kladný mezomerní

efekt substituentů na benzenovém jádře vanilinu, čímž byla ztížena nukleofilní adice na aldehydické skupině.⁷⁹

Molekula boehmenanu H **59** byla dalším cílem aplikace CDC couplingu na radikálovou reakci mezi MOM-chráněným vanilinem a MOM-kyselinou ferulovou. Syntéza se však zabrdila již při přípravě prekurzorů. Byly připraveny fenoly s různými chránícími skupinami (acetal, MOM) a v případě β -ketoesteru bylo také využito více postupů syntézy. Finální pokusy o radikálový coupling však byly neúspěšné a otázka použití vybraného postupu zůstala otevřená i po snaze Bc. Lachetové.⁸⁰

Bakalářská práce Bc. Tuny pokračovala v plánu využití CDC couplingu k syntéze dalšího neolignanů – boehmenanu D **58**. Jako prekurzory byly použity vanilin chráněný TBDMS a β -ketoester kyseliny ferulové připravený ze syringaldehydu. Při testovacím couplingu s různě substituovaným fenolem byla potvrzena hypotéza, že reakce je ovlivněna polohou substituentů na benzenovém jádře β -ketoesteru. Elektronodonní substituenty v poloze *meta* couplingovou reakci zpomalují. U použitého fenolu je nežádoucí elektronodonní substituent v poloze *ortho*. Poloha *para* je v obou případech nemá vliv na reaktivitu. Studium vlivu substituentů na výchozích substrátech tak vedlo k odklonu od CDC couplingu, jelikož je methoxy skupina v poloze *ortho* nutná pro syntézu boehmenanu D **58**.⁸¹

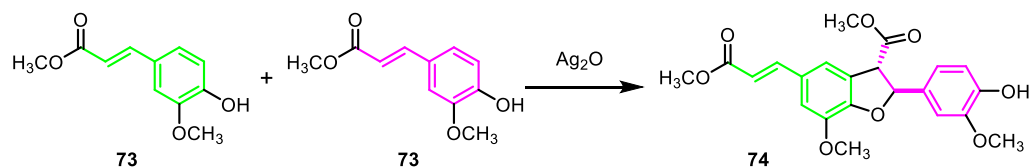


Obr. 19 Schématické znázornění CDC couplingu vedoucího ke skeletu boehmenanů **72**, kdy charakter zvýrazněných postranních skupin negativně ovlivnil průběh reakce.

1.4.2 Esterový coupling

Mgr. Barbuščáková se pokusila připravit boehmenan X **60** ještě jiným způsobem, a to cestou esterového homocouplingu methylestetru kyseliny ferulové **73** (Obr. 20). Výchozími látkami zde byli Wittigova sůl, MOM-chráněná (methoxymethyl-chráněná) kyselina kumarová a chráněný L-prolin, který měl úlohu chirální pomocné skupiny. Syntéza byla zahájena Wittigovou reakcí vanilinu s Wittigovou solí s pomocí mikrovlnného záření. Radikálová reakce dalšího kroku (homodimerizace) probíhala za přítomnosti Ag_2O a poskytla racemický benzofuran **74**. Vzhledem k malým výtěžkům tohoto kroku bylo nutné reakci několikrát opakovat pro získání dostatečného množství

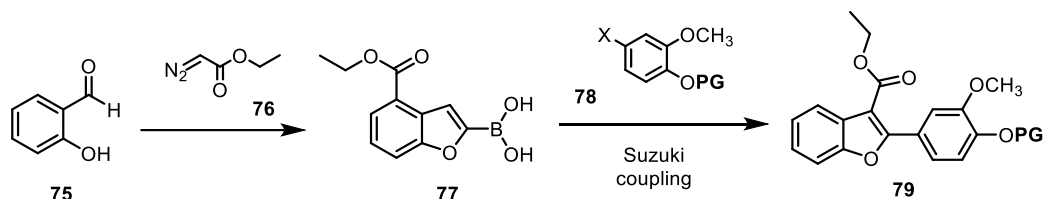
meziproduktu. Reaktivní fenolický hydroxyl byl v dalším kroku ochráněn terc-butyldimethylsilyl skupinou. Původní plán použití chirální pomocné skupiny pro oddělení enantiomerů nebyl realizován vzhledem k neúspěšné syntéze chráněného L-prolinu, byla však navíc navržena cesta k selektivnímu zavedení odlišného postranního řetězce. Ani esterový coupling neposkytl uspokojivé výsledky syntézy neolignanů s benzofuranovým skeletem, jelikož cílové látky mají odlišné postranní řetězce a tato navržená metoda poskytovala pouze homodimery.⁷⁹



Obr. 20 Schematické znázornění homodimerizační reakce methylesterů kyseliny ferulové **73** vedoucí k benzofuranu se strukturou **74**.

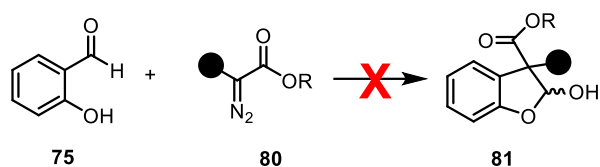
1.4.3 Suzuki-Miyaura coupling

Zcela jiný přístup k syntéze benzofuranového skeletu neolignanů byl zvolen v bakalářské práci Mgr. Vysloužilové (Obr. 21). Látka **79** měla být připravena pomocí Suzuki-Miyaura couplingu boronové kyseliny **77** s arylhalogenidem **78**. Výhodou použitého couplingu bylo využití stabilních reakčních partnerů a možnost práce v protickém prostředí. Katalyzátorem byl komplex palladia v ox. stavu 0 ($\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ je použit jako pre-katalyzátor). Po úspěšné syntéze benzofuranového skeletu **79** byla proveden pokus o *trans*-selektivní redukci dvojně vazby benzofuranu kovovým hořčíkem. Tato redukce se však ukázala jako nereprodukovatelná.⁸²



Obr. 21 Schematické znázornění syntézy látky **79** s benzofuranovým skeletem pomocí Suzuki-couplingu za přítomnosti boronové kyseliny **77**, jejíž příprava vycházela z aldehydu **75** a diazolatky **76**.

Navržený postup byl poté rozšířen na studium cyklizace salicylaldehydu **75** s α -substituovanými diazosloučeninami **80** v bakalářské práci Bc. Střížové. I zde se ale ukázalo, že vyvíjená metoda je velice úzce aplikovatelná (limitace z pohledu sterické a elektronické substituce) a není vhodná pro přípravu širokého množství (z pohledu substituce) cílových derivátů. Původně navržená hypotéza o potenciální tvorbě benzofuranu **81** s kvarterním centrem se nepotvrdila (Obr. 22).⁸³



Obr. 22 Schematické znázornění potenciální tvorby benzofuranu **81** s kvarterním centrem reakcí aldehydu **75** s diazolétkou **80**.

Jelikož žádný z předchozích postupů nepřinesl uspokojivé výsledky, rozhodli jsme se vyzkoušet nový – tranzitními kovy mediovaný – přístup k neolignanům a navázat na využití komerčně dostupného aldehydu a připravených diazosloučenin jako výchozích látek.

2. Výsledky a diskuze

Cesta za jednoduchou syntézou zdánlivě nesložité látky může být mnohdy klikatá. Jak bylo nastíněno v kapitole 1.4., práce několika mých předchůdců se zaměřila na hledání vhodného přístupu k syntéze benzofuranového skeletu neolignanů (NL3), avšak s neuspokojivým výsledkem. Jak nám připomíná Google Scholar: „stůjte na ramenou obrů“, jala jsem se pokračovat v jejich snaze a v předložené diplomové práci jsem se snažila o rozšíření možností přístupu k univerzální syntéze benzofuranového skeletu s vyhlídkou, že tentokrát bude zakončení úspěšnější.

2.1. Retrosyntéza

Nový přístup, který jsme se rozhodli ve skupině reprodukovat, nabízí širokou škálu možností modularity a dle publikace, ze které jsme vycházeli, slibuje i vysoké výtěžky.⁷⁷ V návaznosti na práci Bc. Střížové jsme mohli vyjít ze stejných výchozích látek, tedy salicylaldehydu **75** a α -substituovaných diazosloučenin **83** (Schéma 1). Novým prvkem je klíčový krok annulace (tvorba cyklu), který využívá katalýzy tranzitním kovem, v našem případě byl využit katalyzátor se stabilním Rh(III). Detailní mechanismus cyklizace bude diskutován v dalších kapitolách.

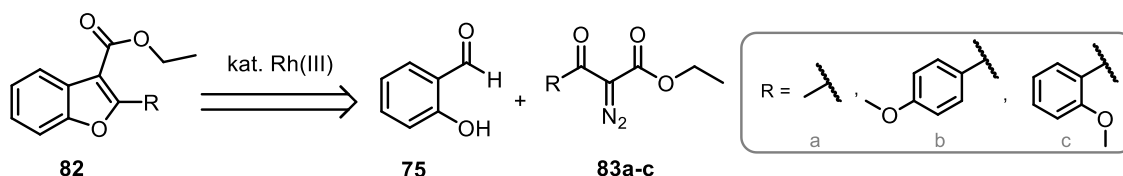


Schéma 1: Retrosyntéza látky **82** s benzofuranovým skeletem, kde klíčovým krokem je katalyzovaná reakce mezi aldehydem **75** a vybranými diazosloučeninami **83a-c**.

2.2 Příprava diazosloučenin **83a-c**

Pro studium annulační reakce jsme zvolili výchozí diazosloučeniny **83a-c** tak, abychom v počátku práce otestovali reprodukovatelnost publikované metody a zároveň jsme rozšířili možnosti annulace⁷⁷ o další, v té době nepublikované, výchozí látky, potenciálně vhodné pro naše cílové struktury. Zároveň jsme využili příležitost experimentovat s možným sterickým bráněním postranních řetězců na aromátu při katalyzované reakci. Následující podkapitoly shrnují kroky, vedoucí k jejich přípravě.

2.2.1 Příprava ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (83a)

Nejjednodušší výchozí diazolátka **83a** s methylovým postranním řetězcem v α -poloze vedle diazo- funkční skupiny byla připravena reakcí ethyl 3-oxobutanoátu **84** s azidem 4-acetamidobenzenosulfonátu **85** (Schéma 2). Diazotransfer proběhl za laboratorní teplot s výtěžkem 92 %. Reakce byla sledována pomocí TLC a po zreagování výchozích látek **84** a **85** byla ukončena po 16h a následně proběhla purifikace produktu této reakce (**83a**) pomocí sloupcové chromatografie (CC) na silikagelu jako stacionární fázi. Jako mobilní fáze byla využita směs PE:EtOAc v poměru 4:1.

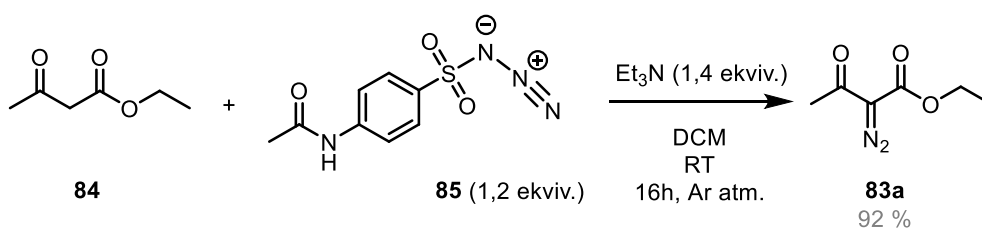


Schéma 2: Příprava diazolátky **83a** s využitím azidu sulfonátu **85** a β -ketoesteru **84**.

2.2.2 Příprava ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b)

Další připravovaná diazolátka **83b** obsahovala aromatickou skupinu s postranní methoxy skupinou v poloze *para*, jež reprezentovala kladný mezomerní efekt avšak bez vlivu na sterickou náročnost v následujících reakcích. Postup byl obdobný jako při přípravě předchozí látky **83a** (Schéma 3). Diazotransfer na ethyl 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **86** byl opět zajištěn azidem **85** a následné zpracování a purifikace ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu **83b** byly uskutečněny stejným způsobem jako v případě látky **83a** s 96% výtěžností.

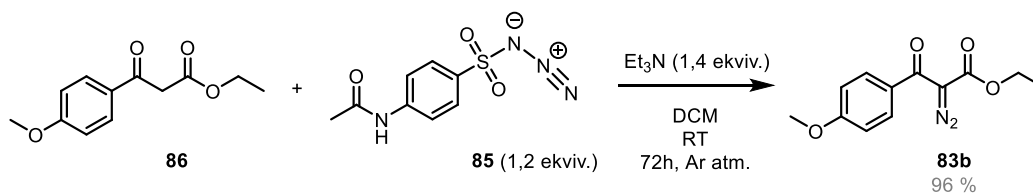


Schéma 2: Příprava diazolátky **83b** s využitím s využitím azidu sulfonátu **85** a substituovaného β -ketoesteru **86**.

2.2.3 Příprava ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)

Pro studium sterického charakteru výchozí látky na následující annulační krok byl zvolen u poslední diazolatky postranní aromatický řetězec s methoxy skupinou v poloze *ortho*. Pro tuto syntézu byl využit odlišný přístup než v případě předchozích dvou látek **83a** a **83b** a skládal se ze dvou částí – tvorba α -dialzo- β -hydroxykarbonylu a jeho následná oxidace (Schéma 4). V prvním kroku byl 2-methoxybenzaldehyd **86** reagován s ethyl 2-diazoacetátem **87**, přičemž jako organokatalyzátor byl použit nenukleofilní 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU). Vzniklý ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **88** byl přečištěn pomocí CC a poté byl podroben selektivní oxidaci pomocí selektivního Dess-Martinova perjodinanu (DMP), při které byl sekundární alkohol přeměněn na keton za pokojové teploty.^{84,85,86} Výsledný ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83c** byl po purifikaci na CC izolován s celkovým výtěžkem 35 % (po dvou zmíněných krocích).

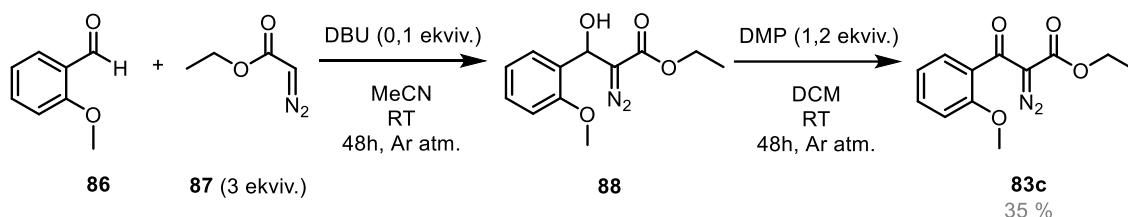


Schéma 4: Příprava diazolatky **83c** ve dvou krocích, kdy byl hydroxy-meziprodukt **88** oxidován pomocí DMP.

2.3 Rh(III)-katalyzovaná syntéza benzofuranového skeletu (82)

Po přípravě 2-diazo-3-ketoesterů **83a-c** bylo možné pokračovat ve zkoumání dalšího kroku mé experimentální práce, jež zahrnoval optimalizaci annulační reakce se salicylaldehydem **75** katalyzované Rh(III) a zhodnocení vlivu sterické náročnosti výchozích diazolaték **83b-c** na úspěšnost reakce.

2.3.1 Rh(III)-katalyzovaná annulace

Jak již bylo zmíněno v teoretické části, inspirací pro využití zvoleného přístupu pro syntézu neolignanů s benzofuranovým skeletem byla publikace popisující cestu derivatizace dostupného salicylaldehydu **75** pomocí diazolaték cestou C-H aktivace, dekarbonylace a následné annulace v jednom katalytickém cyklu. Navržený mechanismus tohoto cyklu je vyobrazen na Schématu 5.

V prvním kroku zobrazuje tvorbu kationického aktivního katalyzátoru $[\text{Cp}^*\text{Rh(III)}]^{++}$ z prekatalyzátoru [dimer dichlor(pentamethylcyklopentadienyl)

rhodia(III)] po přidavku bis(trifluoromethansulfonyl)imidu stříbrného (AgNTf_2), který favorizuje právě tvorbu benzofuranu **82** (narozdíl od AcOH, kdy je produktem annulační reakce chromon). Použité $(\text{NTf}_2)^-$ anionty jsou kvůli objemné struktuře v katalyzátoru více vzdálené od atomu Rh, proto se formálně značí dvě valenční sféry. Jelikož je Rh silně oxofilní, dochází v dalším kroku ke koordinaci na hydroxylovou skupinu aldehydu a následně k C-H inserci, přičemž dochází ke tvorbě penta-metalo cyklu **89**. Následné vyštěpení molekuly plynu – CO – posune rovnováhu k dalšímu kroku, kdy vznikne tetra-metalo cyklus **90**. Po vstupu diazolatky **83a-c**, jako další reakční složky, dojde k odstoupení další plynné složky – molekuly N_2 – tím se opět posune rovnovážná reakce k meziprojektu **91** a v dalším kroku je vzniklý komplex reorganizován interní migrací tak, že je favorizován stabilnější pětičetný cyklus **92**. Protonace v tomto kroku vede k regeneraci aktivního katalyzátoru a následná intramolekulární dehydratace vzniklé molekuly **93** k požadovanému benzofuranovému derivátu **82**.

Optimalizace reakčních podmínek dovolila autorům publikace vyzkoušet syntézy mnoha variant benzofuranových derivátů s výtěžky 57-90 % avšak zde nebyly vyzkoušeny deriváty obsahující substituovanou fenyl skupinu.⁷⁷ S přihlédnutím k výběru látek **20-44**, o nichž pojednávala teoretická část mé práce, je zřejmé, že přírodní zdroje poskytují mj. deriváty neolignanů se substituovaným aromatickým postranním řetězcem **R**. Abychom se tedy pokusili přiblížit přírodním derivátům, zvolili jsme výchozí diazolatky dle tohoto kritéria.

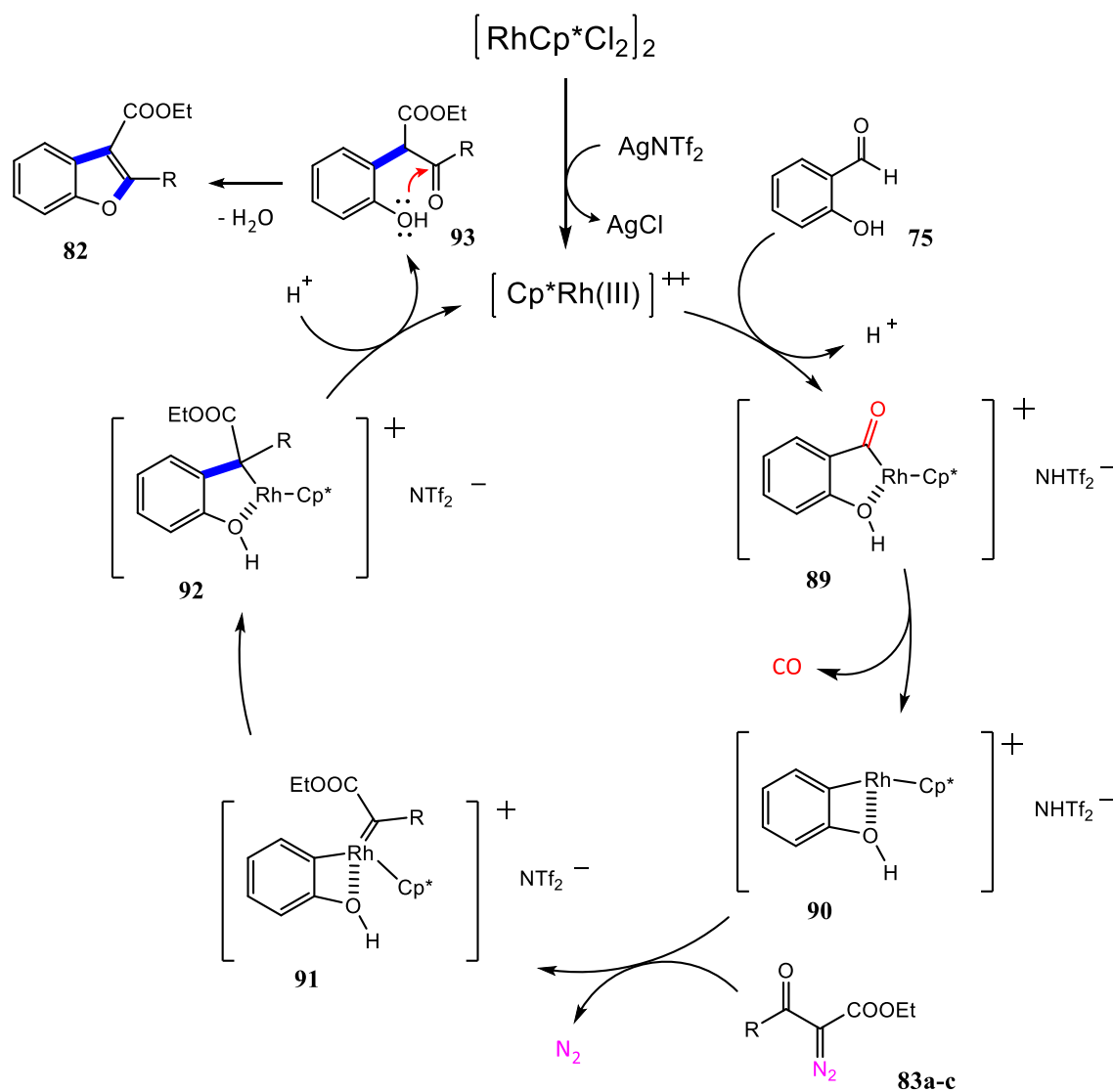


Schéma 5: Katalytický cyklus, jež využívá posunu rovnováhy směrem k produktu s benzofuranovým skeletem **82** pomocí odstupujících plynných molekul CO a N_2 (detekováno vznikem bublinek v reakční směsi). Po aktivaci pre-katalyzátoru se vysráží AgCl a díky chemickým vlastnostem vzniklého katalyzátoru dojde k C-H inserci, vyštěpení molekuly CO a tvorbě tetra-metallo cyklu **90**, ke kterému přistupuje vybraná diazolátka **83a-c**. Odstoupení plynného dusíku posune rovnovážnou reakci dále a tetra-metallo cyklus **91** podstoupí samovolně přeměnu na stabilnější penta-metallo cyklus **92**. Následné okyselení a dehydratace zajistí tvorbu produktu a katalyzátor je regenerován do další smyčky reakce.

2.3.1.1 Optimalizace Rh(III)-katalyzované reakce

2.3.1.1.1 Syntéza ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu (82a)

Prvním úkolem při testu nového typu syntetické reakce je pokus o reprodukci podmínek, jež byly publikovány. S využitím doporučených reakčních podmínek byla však výtěžnost produktu **82a** nižší, než uváděla publikace. Byla provedena série optimalizačních reakcí (Tab. 1), kde byly otestovány různé poměry výchozích látek **75** a **83a** nebo byl sledován vliv rychlosti přidavku diazolatky do reakční směsi. Ekvivalenty byly rozděleny a v experimentech #3-6 byl druhý ekvivalent diazolatky **83a** např. přidávám postupně pomocí automatické jehly rychlostí 2,5 ml/h.

Vyzkoušeli jsme také vliv přidavku katalyzátoru $[\text{RhCp}^*\text{Cl}_2]_2$ (Tab. 1) nebo jeho aktivátoru AgNTf_2 (Graf 1 a Graf 2). Dvojnásobný přírůstek AgNTf_2 nezvyšuje konverzi výchozích látek na produkt. Toto „pseudokinetické“ měření surové reakční směsi probíhalo následujícím způsobem: Z reakční směsi byly postupně (každých 20 minut, před a po přidavku diazolatky **83a**, před ukončením reakce) odebírány mikropipetou alikvoty směsi (100 μl) tak, abychom získali data o průběhu celé reakce a sledovali, jak se vyvíjí úbytek salicylaldehydu **75** a přibývá produktu reakce **82a**. Alikvot byl vždy rozpuštěn ve 450 μl 0,1M DCM (bezvodý, funkce vnitřního standardu) v CDCl_3 . Každý takto připravený vzorek byl ihned měřen na NMR (32 scanů) a na získaném ^1H spektru byly sledovány peaky typické pro látky **75** a **82a**. Jejich poměr byl zadán do přepočtové tabulky, jež zpracovala konverzi výchozích látek na produkt.

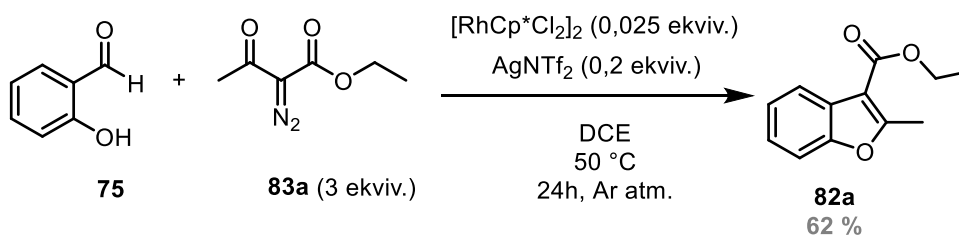
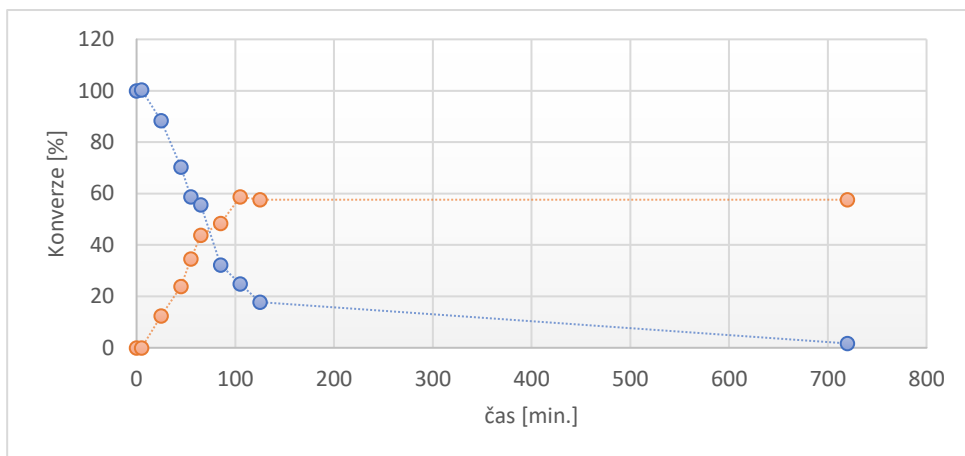
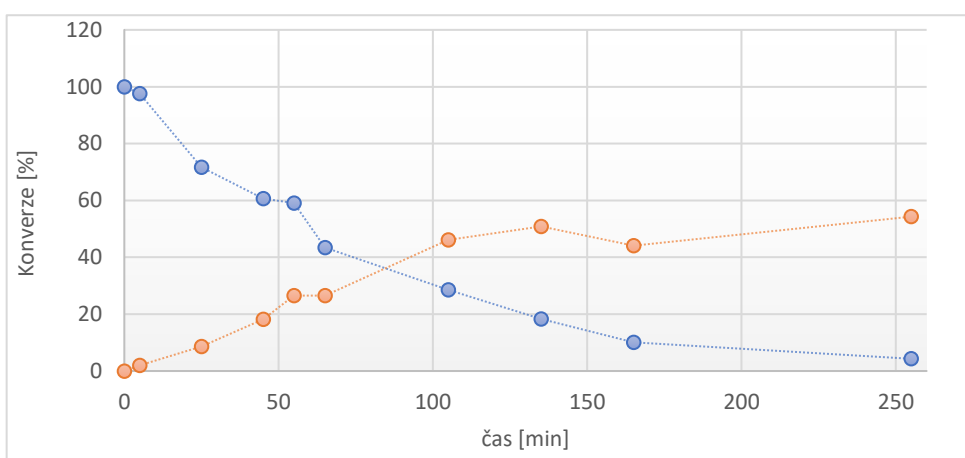


Schéma 6: Optimální reakční podmínky pro syntézu ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82a**.

Výsledkem optimalizace je vyhodnocení reakčních podmínek reakce #7 jako nejvhodnější pro další experimenty (spotřeby katalyzátoru a AgNTf_2 co nejmenší a nejvyšší dosažený výtěžek). Izolovaný celkový výtěžek ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82a** byl 62 % (Schéma 6).



Graf 1 Přidavek 0,2 ekviv. AgNTf₂. Modrá linka 75, oranžová linka 82a.



Graf 2 Přidavek 0,4 ekviv. AgNTf₂. Modrá linka 75, oranžová linka 82a. Vyšší množství aktivátoru katalyzátoru nemělo vliv na vyšší konverzi výchozích látek 75 a 83a v produkt 82a.

#	83a (ekviv.)	kat. (ekviv.)	AgNTf ₂ (ekviv.)	Výtěžnost 82a	Pozn.
1	2	0,025	0,2	57 %	Původní podmínky
2	4	0,025	0,2	62 %	(83a) 2, +1, +1 ekviv. vždy po 1h
3	2	0,025	0,2	n. d.	(83a) 1, +1 ekviv. (roztok v 5 ml DCM, 2,5 ml/h)
4	2	0,050	0,2	n. d.	(83a) 1, +1 ekviv. (roztok v 5 ml DCM, 2,5 ml/h)
5	2	0,050	0,4	n. d.	(83a) 1, +1 ekviv. (roztok v 5 ml DCM, 2,5 ml/h)
6	3	0,025	0,2	n. d.	(83a) 1, +1+1 ekviv. po 1h
7	3	0,025	0,2	62 %	(83a) 2, +1 ekviv. po 1h
8	3	0,025	0,4	n. d.	(83a) 2, +1 ekviv. po 1h

Tab. 1 Optimalizace reakčních podmínek pro katalytickou annulaci vedoucí k produktu 82a.

2.3.1.1.2 Syntéza ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu (82b)

Po optimalizaci reakčních podmínek (kap 2.3.1.1.1) byla katalytická reakce vyzkoušena na další výchozí diazolatce **83b**. Při prvním nasazení reakce byl sice výtěžek **82b** pouze 16 %, nicméně při purifikaci reakční směsi byl izolován a poté kompletně charakterizován vedlejší produkt reakce, látka **84**. Určení struktury látky nebylo na první pokus jednoduché a byly potřeba i pokročilé 3D analýzy. Když bylo známo, co můžeme očekávat v reakcích, bylo zjištěno, že vedlejší produkt se ve směsi s produktem vyskytuje ve 20% objemu (dle NMR signálu).

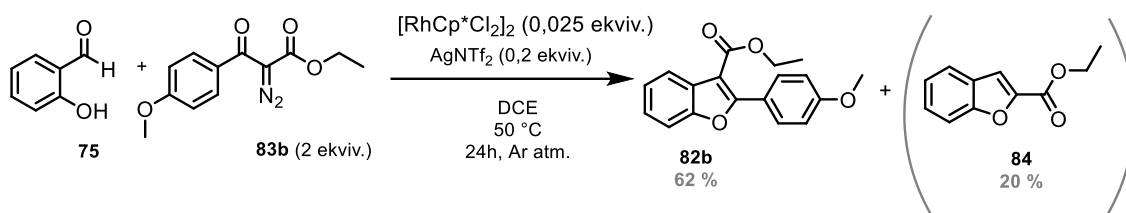


Schéma 7: Optimalizované podmínky pro syntézu ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu **82b** s vyobrazením struktury vedlejšího produktu **84**.

#	83b (ekviv.)	kat. (ekviv.)	AgNTf ₂ (ekviv.)	Výtěžnost 82b	Pozn.
1	2	0,025	0,2	16 %	Identifikován a izolován vedlejší produkt 84
2	4	0,025	0,2	n. d.	-
3	3	0,025	0,2	35 %	(83a) 2, +1 ekviv.; detekce 84 na NMR
4	1	0,025	0,2	39 %	detekce 84 na NMR
5	2	0,025	0,2	33 %	detekce 84 na NMR
6	2	0,025	0,2	62 %	detekce 84 na NMR; 20 %

Tab. 2 Optimalizace reakčních podmínek pro katalytickou annulaci vedoucí k produktu **82b**, současně byla zjištěna přítomnost vedlejšího produktu reakce **84**.

Vyizolovaný vedlejší produkt **84** nebyl v původní publikaci nikde zmíněn, byl proto navržen pravděpodobný mechanismus vzniku tohoto vedlejšího produktu (Schéma 8). Místo toho, aby docházelo k C-H inserci, jde reakce směrem na kyslík karbonylu. Vychází to z reaktivity diazosloučeniny, která je dvojitě aktivovaná, to znamená že vzniká enolát, který atakuje aldehyd. Tento mechanismus není nijak experimentálně prokázán, jde pouze o hypotézu.

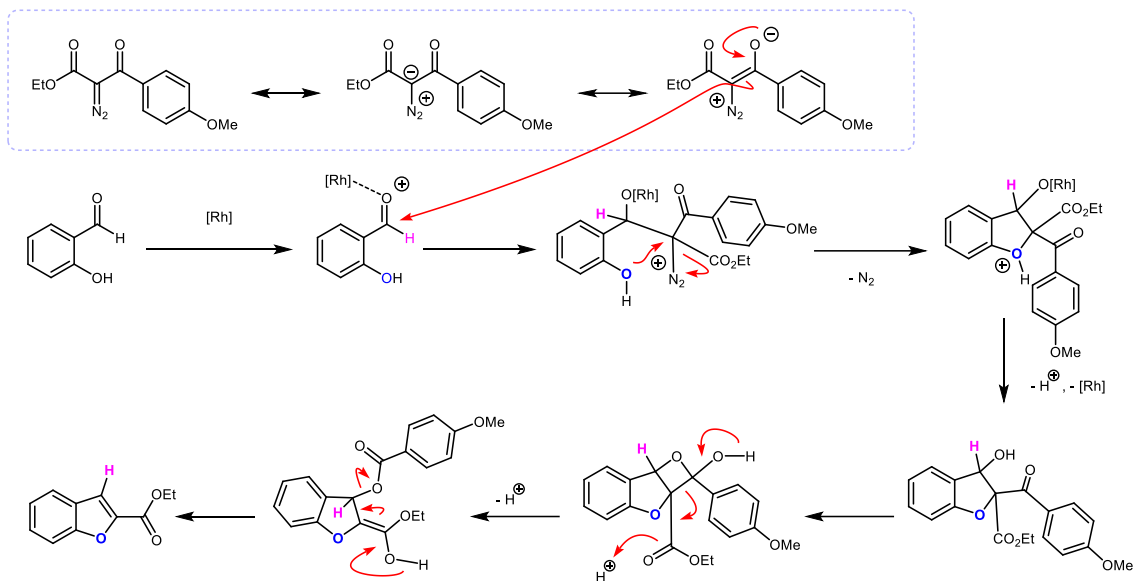


Schéma 8: Navržený mechanismus vzniku vedlejšího produktu **84a**, který doprovází katalytickou annulační reakci.

3. Závěr

V této diplomové práci jsem se zaměřila na přípravu látek s benzofuranovým skeletem za pomoci Rh(III)-katalyzované annulace, jež vycházela ze salicylaldehydu a diazolátek s různými postranními řetězci tak, abychom výsledné produkty přiblížili přírodním látkám, které byly inspirací pro tuto práci (boehmenany). Optimalizace reakčních podmínek Rh(III)-katalyzované reakce vedla k částečně uspokojivým výtěžkům, nicméně při syntéze ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu byl detekován ještě vznik vedlejšího produktu, o kterém nebylo referováno v původní publikaci, což podnítilo naši zvědavost v dalším zkoumání, jaký jiný vedlejší mechanismus by mohl vést ke vzniku vedlejšího produktu této reakce, pokud vzniká až s 20% zastoupením dle NMR detekce. Sledování reakce v reálném čase nám také pomohlo ujistit se, že vyšší přídavek aktivátoru katalyzátoru nezvyšuje konverzi výchozích látek na produkt. Sledování reakce jsme aplikovali také při zkoumání průběhu reakce syntézy ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu. Poslední cílový produkt ethyl 2-(2-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylát nebyl bohužel detekován, nejspíše kvůli znemožnění průběhu reakce polohou postranní methoxy-skupiny na aromatickém postranním řetězci diazolátky.

4. Experimentální část

4.1 Obecné informace

Všechny popsané reakce byly provedeny v bezvodém prostředí pod inertní atmosférou argonu a použité aparatury byly před zahájením syntéz žíhány plamenem.

Měření NMR spekter bylo prováděno za laboratorní teploty na spektrometru JEOL EXA400II při frekvencích 400 MHz (^1H) a 101 MHz (^{13}C) nebo JEOL 500 ECA s frekvencemi 500 MHz (^1H) a 126 MHz (^{13}C). Vzorky pro měření byly rozpuštěny v deuterovaném rozpouštědle CDCl_3 pro nějž jsou chemické posuny zbytkového nedeuterovaného rozpouštědla následující: 7.27 ppm (^1H) a 77.16 ppm (^{13}C). Protonové vazebné vzory jsou označeny následovně: singlet (s), dublet (d), dublet dubletů (dd), triplet (t), triplet tripletů (tt), quartet (q) a multiplet (m).

Na spektrometru TSQ Quantum ACCES (Thermo Scientific, USA) s ionizačním zdrojem ESI+ byla prováděna měření hmotnostních spekter. Pro měření hmotnostních spekter s vysokým rozlišením (HRMS) byl využit hmotnostní spektrometr Agilent 6230 s vysokým rozlišením s ionizací elektrosprejem (ESI) a analyzátozem doby letu pracujícím v pozitivním nebo negativním režimu plného skenování v rozsahu 100-1700 m/z.

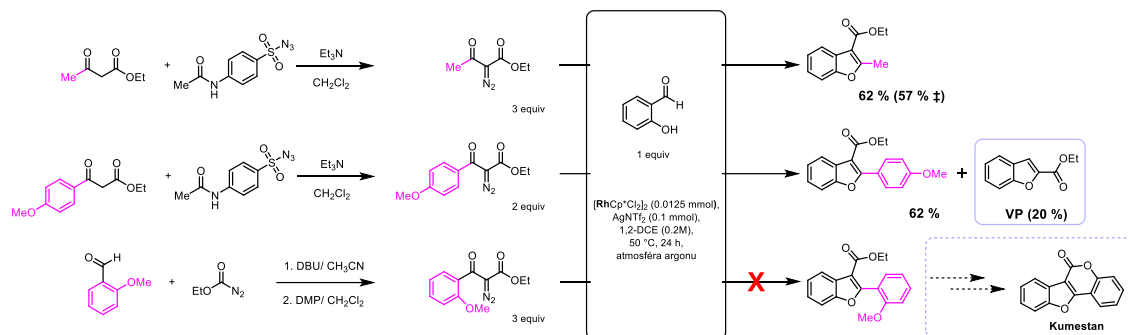
Pro sloupcovou chromatografii (CC) byl využit silikagel (velikost pórů 60 Å, velikost částic 230–400 mesh) jako stacionární fáze a směsí hexan : EtOAc nebo petrolether (PE) : EtOAc (V/V) jako fáze mobilní. Při dělení CC bylo použito postupného gradientu, kdy polárnější část mobilní fáze byla skokově přidávána do mobilní fáze (například byl poměr hexan : EtOAc = 40:1 \rightarrow 20:1 \rightarrow 10:1 \rightarrow 4:1 \rightarrow 2:1). Eluované frakce byly odebírány po 10 - 30ml frakcích a jejich obsah byl průběžně monitorován pomocí TLC na silikagelu. Byly použity aluminiové desky pokryté silikagelem 60 SIL G/UV254 s fluorescentním indikátorem (Sigma-Aldrich nebo Machery-Nagel). Jednotlivé sloučeniny přítomné v reakční směsi byly detekovány pomocí UV záření ($\lambda = 256 \text{ nm}$ nebo 366 nm) a dále byly vizualizovány pomocí vizualizačních roztoků. Frakce obsahující stejný produkt byly spojeny a následně odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO).

Teploty tání byly měřeny na přístroji SMP 30 (Stuart) a nejsou korigovány.

4.1.1 Vizualizační roztoky pro TLC

Zásaditý roztok KMnO_4 byl připraven rozpuštěním 9 g KMnO_4 a 20 g K_2CO_3 ve 200 ml vody s 1,25 ml 10% NaOH . Vanilinový roztok byl připraven rozpuštěním 2 g vanilinu ve 100 ml ethanolu obsahujícím 1 ml koncentrované H_2SO_4 . Hannesianův roztok (PMA) byl připraven rozpuštěním 12 g kyseliny fosfomolybdenové v 250 ml ethanolu.

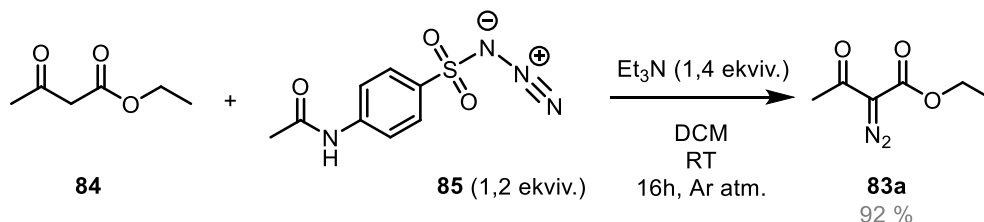
4.1.2 Vizuální přehled experimentální části



4.2 Postup organické syntézy

4.2.1 Syntéza výchozích diazosloučenin

4.2.1.1 Syntéza ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (83a)



Ethyl 3-oxobutanoát **84** (1,03 g; 7,76 mmol; 1,0 ekviv.) byl za laboratorní teploty rozpuštěn v dichlormethanu (DCM) (31 ml) a následně byl k němu přidán trimethylamin (Et_3N ; 1,52 ml; 10,9 mmol; 1,4 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Poté byl do směsi přidán azid 4-acetamidobenzensulfonylu **85** (2,31 g; 9,31 mmol; 1,2 ekviv.) a výsledná suspenze se nechala míchat po dobu 16h. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno ze směsi pomocí rotační vakuové odparky (RVO) a oranžový odparek byl následně purifikován na CC (SiO_2 ; PE:EtOAc = 4:1). Hledaný produkt reakce byl na TLC detekovatelný pouze pomocí UV záření, ostatní vizualizační činidla produkt nezobrazila. Frakce obsahující produkt **83a** byly spojeny a odpařeny na RVO. Výsledný produkt byl získán jako žlutá olejovitá kapalina (1109,2 mg; 92 %).

R_f = 0,5 (PE : EtOAc 4:1)

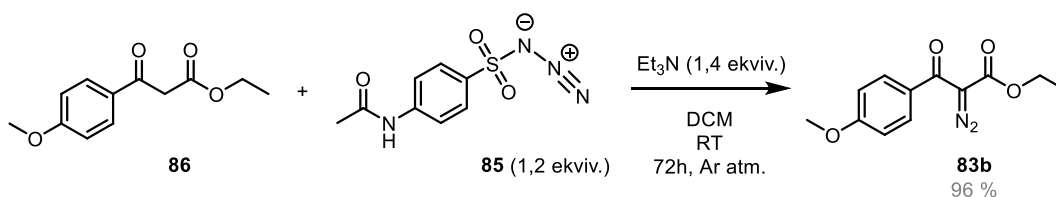
¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 4.29 (q, *J* = 11.8, 0.8 Hz, 4H), 2.48 (s, 4H), 1.33 (t, *J* = 16.6, 0.0 Hz, 6H)

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ 190.45, 161.59, 61.60, 28.43, 14.48

MS (APCI), *m/z* (%): [M+H]⁺ 157,1

HRMS vypočteno pro C₆H₈N₂O₃- [M-H]⁻:, nalezeno

4.2.1.2 Syntéza ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b)



Ethyl 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **86** (2,32 g; 10,2 mmol; 1,0 ekviv.) byl za laboratorní teploty rozpuštěn DCM (40,9 ml) a následně byl k němu přidán Et₃N (1,99 ml; 14,3 mmol; 1,4 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Poté byl do směsi přidán ve třech částech azid 4-acetamidobenzensulfonylu **85** (3,04 g; 12,3 mmol; 1,2 ekviv.) a výsledná suspenze se nechala míchat po dobu 72h. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno ze směsi pomocí RVO a odparek byl následně purifikován na CC (SiO₂; PE:EtOAc = 4:1). Hledaný produkt reakce byl na TLC detekovatelný pouze pomocí UV záření. Frakce obsahující produkt ethyl-2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83b** byly spojeny a odpařeny na RVO. Výsledný produkt byl získán jako žlutá krystalická látka (2434,7 mg; 96 %).

R_f = 0,4375 (PE : EtOAc 4:1)

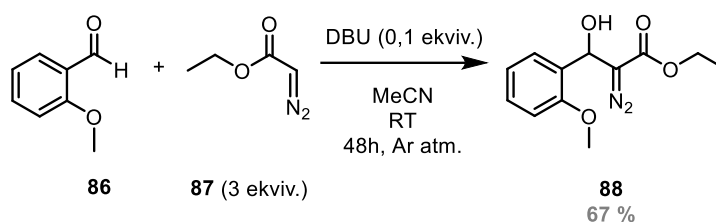
m. p. = 40,2 – 40,5 °C

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.67 (dt, *J* = 27.4, 2.4, 0.0 Hz, 4H), 6.90 (dt, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.26 (q, 9H), 3.86 (s, 6H), 1.29 (t, *J* = 12.2 Hz, 7H)

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ 185.53, 163.27, 161.50, 131.19, 129.51, 113.26, 61.68, 55.57, 14.44

MS (ESI+), *m/z* (%) [M+H]⁺: 249,1 (97%)

4.2.1.3 Syntéza ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (88)

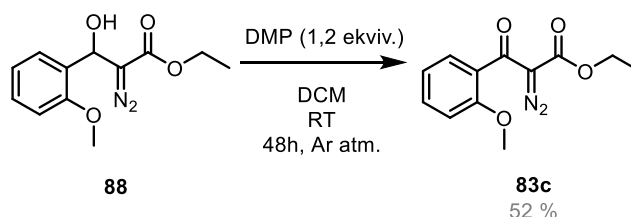


Ethyl 2-diazoacetát **87** (7,57 ml; 10,8 mmol; 3,0 ekvív.) byl rozpuštěn v acetonitrilu (MeCN; 26 ml) a míchán 5 minut při teplotě 0 °C v ledové lázni. 2-methoxybenzaldehyd **86** (500 mg; 3,6 mmol; 1,0 ekvív.) byl spolu s DBU (0,0548 ml; 0,36 mmol; 0,1 ekvív.) rozpuštěn v MeCN (16ml) a tento roztok byl po kapkách přidán do reakční směsi, která se poté nechala oteplít na laboratorní teplotu. Takto byla míchána po dobu 21 hodin. Reakce byla následující den ukončena přidáním roztoku NaHCO₃ (40 ml) a meziproduct **88** byl extrahován do CH₂Cl₂ (3x20 ml). Před poslední extrakcí byl do směsi přidán nasycený roztok NaCl. Sloučené organické fáze byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a přečištěny vakuově přes fritu. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl následně purifikován na CC (SiO₂; PE:EtOAc = 4:1). Získaný ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **88** je žlutá olejovitá kapalina (607 mg; 67 %).

R_f = 0,26 (hexan:EtOAc 4:1)

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

4.2.1.4 Syntéza ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)



Ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **88** (607 mg; 2,42 mmol; 1 ekvív.) byl za laboratorní teploty rozpuštěn v DCM (4,83 ml) a poté byl přidán DMP (1290 mg; 2,9 mmol; 1,2 ekvív.). Vzniklá reakční směs byla míchána po dobu 48 hodin. Pro ukončení oxidační reakce byl do směsi přidán roztok NaHCO₃ (20 ml) a produkt **83c** byl extrahován do CH₂Cl₂ (3x20 ml). Před poslední extrakcí byl do směsi přidán nasycený roztok NaCl. Sloučené organické fáze byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄

a přečištěny vakuově přes fritu. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl následně purifikován na CC (SiO₂; PE:EtOAc = 4:1). Získaný ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83c** je žlutá olejovitá kapalina (310,6 mg; 52 %).

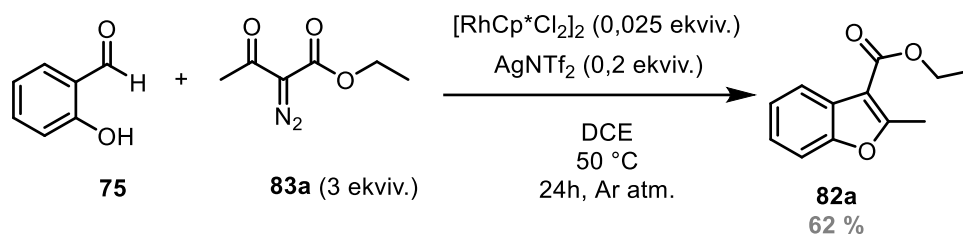
R_f = 0,625 (PE:EtOAc 1:1)

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

4.2.2 Syntéza látek s benzofuranovým skeletem

4.2.2.1 Syntéza ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu (**82a**)



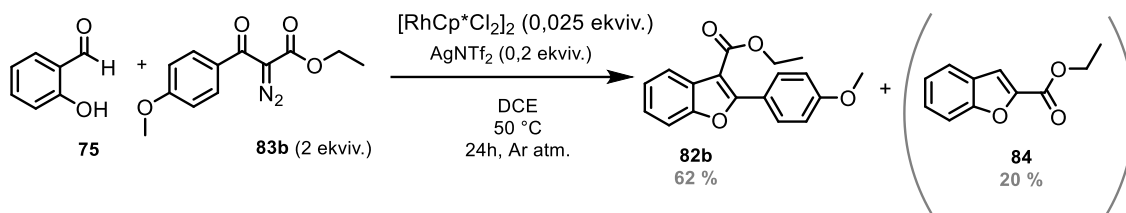
Do 1,2-DCE (4,75 ml; 0,95 mmol; 1 ekviv.) byly za laboratorní teploty a za stálého míchání postupně přidány následující výchozí látky: salicylaldehyd **75** (100 μl; 0,95 mmol; 1 ekviv.), katalyzátor [RhCp*Cl₂]₂ (14,8 mg; 0,0237 mmol; 0,025 ekviv.) a AgNTf₂ (76 mg; 0,19 mmol; 0,2 ekviv.). Poté byl přidán ethyl 2-diazo-3-oxobutanoát **83a** (262 μl; 1,90 mmol; 2 ekviv.) a reakční směs byla zahřívána pomocí olejové lázně na 50 °C. Po hodině od začátku reakce byl do míchané reakční směsi přidán ještě jeden díl ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu **83a** (131 μl; 0,95 mmol; 1 ekviv.) a reakce pokračovala za stejných podmínek dalších 24 hodin. Po ukončení reakce se směs nechala ochladit na laboratorní teplotu a workup byl proveden pomocí EtOAc (3x20 ml). Následovala vakuová filtrace přes křemelinu a filtrát byl odpařen na RVO. Odparek byl poté purifikován na gradientové CC (SiO₂; PE:EtOAc = 40:1 → 20:1). Získaný ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylát **82a** (120 mg; 62 %).

R_f = 0,82 (PE:EtOAc 2:1)

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

4.2.2.2 Syntéza ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu (82b)



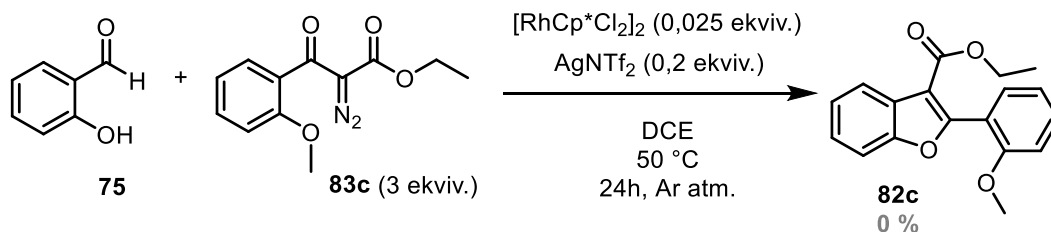
Do DCE (4,62 ml; 0,924 mmol; 1 ekvív.) byly za laboratorní teploty a za stálého míchání postupně přidány následující výchozí látky: salicylaldehyd **75** (100 μ l; 0,924 mmol; 1 ekvív.), katalyzátor $[\text{RhCp}^*\text{Cl}_2]_2$ (14,4 mg; 0,0231 mmol; 0,025 ekvív.) a AgNTf_2 (73,9 mg; 0,185 mmol; 0,2 ekvív.). Poté byl přidán ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83b** (262 μ l; 1,90 mmol; 2 ekvív.) a reakční směs byla zahřívána pomocí olejové lázně na 50 °C. Po hodině od začátku reakce byl do míchané reakční směsi přidán ještě jeden díl ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83b** (131 μ l; 0,95 mmol; 1 ekvív.) a reakce pokračovala za stejných podmínek dalších 24 hodin. Po ukončení reakce se směs nechala ochladit na laboratorní teplotu a workup byl proveden pomocí EtOAc (3x20 ml). Následovala vakuová filtrace přes křemelinu a filtrát byl odpařen na RVO. Odparek byl poté purifikován na gradientové CC (SiO_2 ; PE:EtOAc = 40:1 \rightarrow 20:1). Získaný ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylát **82a** (120 mg; 62 %) byl doprovázen při vedlejším produktem ethyl benzofuran-2-karboxylátem **84** (20 % podle NMR signálu).

$R_f = \text{_____}$ (PE:EtOAc 2:1)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm):

4.2.2.3 Syntéza ethyl 2-(2-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu (82c)



Do DCE (4,61 ml; 0,921 mmol; 1 ekvív.) byly za laboratorní teploty a za stálého míchání postupně přidány následující výchozí látky: salicylaldehyd **75** (100 μ l; 0,921 mmol; 1 ekvív.), katalyzátor $[\text{RhCp}^*\text{Cl}_2]_2$ (14,4 mg; 0,023 mmol; 0,025 ekvív.) a AgNTf_2

(73,7 mg; 0,184 mmol; 0,2 ekviv.). Poté byl přidán ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83c** (457 μ l; 1,84 mmol; 2 ekviv.) a reakční směs byla zahřívána pomocí olejové lázně na 50 °C a míchána po dobu 12 hodin. Po ukončení reakce se směs nechala ochladit na laboratorní teplotu a byl přidán EtOAc (20 ml). Následovala vakuová filtrace přes křemelinu a organické rozpouštědlo z filtrátu bylo odpařeno na RVO. NMR analýza filtrátu nedetekovala přítomnost produktu ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82c** (0 %).

5. Seznam použité literatury

- (1) Reagents, T. M.; Tsuji, J. *Transition Metal Reagents and Catalysts Transition Metal Reagents and Catalysts*; 2000; Vol. 0.
- (2) Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. Production of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. *Plant Sci.* **2001**, *161* (5), 839–851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3).
- (3) Keller, N. P. Fungal Secondary Metabolism: Regulation, Function and Drug Discovery. *Nat. Rev. Microbiol.* *2018* **17** (3), 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>.
- (4) Mohan, C. D.; Rangappa, S.; Nayak, S. C.; Jadimurthy, R.; Wang, L.; Sethi, G.; Garg, M.; Rangappa, K. S. Bacteria as a Treasure House of Secondary Metabolites with Anticancer Potential. *Semin. Cancer Biol.* **2022**, *86*, 998–1013. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2021.05.006>.
- (5) Akula, R.; Aswathanarayana Ravishankar, G. Plant Signaling & Behavior Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>.
- (6) Yang, L.; Wen, K. S.; Ruan, X.; Zhao, Y. X.; Wei, F.; Wang, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Mol.* *2018*, *Vol. 23*, Page 762 **2018**, *23* (4), 762. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23040762>.
- (7) Breitling, R.; Cenicerros, A.; Jankevics, A.; Takano, E. Metabolomics for Secondary Metabolite Research. *Metabolites* **2013**, *3* (4), 1076. <https://doi.org/10.3390/METABO3041076>.
- (8) Wink, M. Evolution of Secondary Metabolites from an Ecological and Molecular Phylogenetic Perspective. *Phytochemistry* **2003**, *64* (1), 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5).
- (9) BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary Metabolites in Plant Defence Mechanisms. *New Phytol.* **1994**, *127* (4), 617–633. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.1994.TB02968.X>.
- (10) Bochkov, D. V.; Sysolyatin, S. V.; Kalashnikov, A. I.; Surmacheva, I. A. Shikimic Acid: Review of Its Analytical, Isolation, and Purification Techniques from Plant and Microbial Sources. *J. Chem. Biol.* **2012**, *5* (1), 5. <https://doi.org/10.1007/S12154-011-0064-8>.
- (11) Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach Second Edition*.
- (12) Herrmann, K. M.; Weaver, L. M. THE SHIKIMATE PATHWAY. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1999**, *50*, 473–503.
- (13) Dewick, P. M. Covering: 1995 and 1996 Previous Review. **1995**, *12*, 579.
- (14) Moss, G. P. Nomenclature of Lignans and Neolignans (IUPAC Recommendations 2000). *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72* (8), 1493–1523. <https://doi.org/10.1351/PAC200072081493/MACHINEREADABLECITATION/RIS>.

- (15) Yonekura-Sakakibara, K.; Yamamura, M.; Matsuda, F.; Ono, E.; Nakabayashi, R.; Sugawara, S.; Mori, T.; Tobimatsu, Y.; Umezawa, T.; Saito, K. Seed-Coat Protective Neolignans Are Produced by the Dirigent Protein AtDP1 and the Laccase AtLAC5 in Arabidopsis. *Plant Cell* **2021**, *33* (1), 129–152. <https://doi.org/10.1093/PLCELL/KOAA014>.
- (16) Pickel, B.; Constantin, M.-A.; Pfannstiel, J.; Conrad, J.; Beifuss, U.; Schaller, A. Enzyme Catalysis An Enantiocomplementary Dirigent Protein for the Enantioselective Laccase-Catalyzed Oxidative Coupling of Phenols**. <https://doi.org/10.1002/anie.200904622>.
- (17) Davin, L. B.; Lewis, N. G. An Historical Perspective on Lignan Biosynthesis: Monolignol, Allylphenol and Hydroxycinnamic Acid Coupling and Downstream Metabolism. *Phytochem. Rev.* **2003**, *2*, 257–288.
- (18) Chapple, C.; Weng, J.-K. Tansley Review The Origin and Evolution of Lignin Biosynthesis. *New Phytol.* **2010**, *187*, 273–285. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03327.x>.
- (19) Zálešák, F.; Bon, D. J. Y. D.; Pospíšil, J. Lignans and Neolignans: Plant Secondary Metabolites as a Reservoir of Biologically Active Substances. *Pharmacol. Res.* **2019**, *146*, 104284. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2019.104284>.
- (20) Li, Y.; Xie, S.; Ying, J.; Wei, W.; Gao, K. Chemical Structures of Lignans and Neolignans Isolated from Lauraceae. *Molecules* **2018**, *23* (12). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23123164>.
- (21) Ryu, J. H.; Ja Son, H.; Hyun Lee, S.; Hwan Sohn, D. Two Neolignans from *Perilla frutescens* and Their Inhibition of Nitric Oxide Synthase and Tumor Necrosis Factor- α Expression in Murine Macrophage Cell Line RAW 264.7. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12* (4), 649–651. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)00812-5](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)00812-5).
- (22) Son, N. T.; Linh, N. T. T.; Tra, N. T.; Ha, N. T. T.; Anh, L. T. T.; Cham, B. T.; Anh, D. T. T.; Van Tuyen, N. Genus *Styrax*: A Resource of Bioactive Compounds. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2021**, *69*, 299–347. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819487-4.00008-2>.
- (23) Crotti, A. E. M.; Dias, H. J.; Silva, E. O. Dihydrobenzofuran Neolignans: An Overview of Their Chemistry And Biological Activities.
- (24) Kamal, M.; Shakya, A. K.; Jawaid, T. Benzofurans: A New Profile of Biological Activities Pharmacological and Phytochemical Investigations View Project Nanomaterials View Project. **2011**.
- (25) Nevagi, R. J.; Dighe, S. N.; Dighe, S. N. Biological and Medicinal Significance of Benzofuran. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97* (1), 561–581. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2014.10.085>.
- (26) Tahami Monfared, A. A.; Byrnes, M. J.; White, L. A.; Zhang, Q. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. *Neurol. Ther.* **2022**, *11* (2), 553–569. <https://doi.org/10.1007/S40120-022-00338-8/TABLES/4>.
- (27) Dong-Chen, X.; Yong, C.; Yang, X.; Chen-Yu, S. T.; Li-Hua, P. Signaling Pathways in Parkinson's Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic

- Interventions. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8* (1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01353-3>.
- (28) Verma, A.; Kumar Waiker, D.; Bhardwaj, B.; Saraf, P.; Shrivastava, S. K. The Molecular Mechanism, Targets, and Novel Molecules in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Bioorg. Chem.* **2022**, *119*, 105562. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2021.105562>.
- (29) Zhou, L.; Wang, J.; Guo, R.; Lin, B.; Wang, X. B.; Huang, X. X.; Song, S. J. Discovery of Dihydrobenzofuran Neolignans from *Rubus Ideaus* L. with Enantioselective Anti-A β 1–42 Aggregation Activity. *Bioorg. Chem.* **2018**, *80*, 64–69. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2018.05.016>.
- (30) Fancellu, G.; Chand, K.; Tomás, D.; Orlandini, E.; Piemontese, L.; Silva, D. F.; Cardoso, S. M.; Chaves, S.; Santos, M. A. Novel Tacrine–Benzofuran Hybrids as Potential Multi-Target Drug Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2020**, *35* (1), 211–226. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1689237>.
- (31) Sun, J.; Murata, T.; Shigemori, H. Inhibitory Activities of Phenylpropanoids from *Lycopus Lucidus* on Amyloid Aggregation Related to Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes. *J. Nat. Med.* **2020**, *74* (3), 579–583. <https://doi.org/10.1007/S11418-020-01398-6/FIGURES/4>.
- (32) Woo, K. W.; Suh, W. S.; Subedi, L.; Kim, S. Y.; Kim, A.; Lee, K. R. Bioactive Lignan Derivatives from the Stems of *Firmiana Simplex*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (3), 730–733. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2016.01.008>.
- (33) de Oliveira, P. F.; Damasceno, J. L.; Bertanha, C. S.; Araújo, A. R. B.; Pauletti, P. M.; Tavares, D. C. Study of the Cytotoxic Activity of *Styrax Camporum* Extract and Its Chemical Markers, Egonol and Homoegonol. *Cytotechnology* **2016**, *68* (4), 1597–1602. <https://doi.org/10.1007/S10616-015-9864-Y/TABLES/1>.
- (34) Pan, L. L.; Wang, X. L.; Luo, X. L.; Liu, S. Y.; Xu, P.; Hu, J. F.; Liu, X. H. Boehmenan, a Lignan from the Chinese Medicinal Plant *Clematis Armandii*, Inhibits A431 Cell Growth via Blocking P70S6/S6 Kinase Pathway. *Integr. Cancer Ther.* **2017**, *16* (3), 351–359. https://doi.org/10.1177/1534735416669803/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1534735416669803-FIG2.JPG.
- (35) Wang, Y.; Li, J.; Ma, H. R.; Numonov, S. R.; Aisa, H. A. New Neolignan from *Lycium Barbarum*. *Chem. Nat. Compd.* **2016**, *52* (3), 396–398. <https://doi.org/10.1007/S10600-016-1657-9/TABLES/2>.
- (36) Tshitenge, D. T.; Feineis, D.; Awale, S.; Bringmann, G. Gardenifolins A-H, Scalemic Neolignans from *Gardenia Ternifolia*: Chiral Resolution, Configurational Assignment, and Cytotoxic Activities against the HeLa Cancer Cell Line. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80* (5), 1604–1614. https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.7B00180/ASSET/IMAGES/NP-2017-00180A_M001.GIF.
- (37) Baek, S.; Xia, X.; Min, B. S.; Park, C.; Shim, S. H. Trogopterins A-C: Three New Neolignans from Feces of *Trogopterus Xanthipes*. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 2955–2962. <https://doi.org/10.3762/BJOC.10.313>.

- (38) Huang, X.-X.; Zhou, C.-C.; Li, L.-Z.; Peng, Y.; Lou, L.-L.; Liu, S.; Li, D.-M.; Ikejima, T.; Song, S.-J. Cytotoxic and Antioxidant Dihydrobenzofuran Neolignans from the Seeds of *Crataegus Pinnatifida*. **2013**. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.09.011>.
- (39) Chen, L.; Deng, H.; Cui, H.; Fang, J.; Zuo, Z.; Deng, J.; Li, Y.; Wang, X.; Zhao, L. Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs. *Oncotarget* **2018**, *9* (6), 7204. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.23208>.
- (40) Yoshikawa, K.; Tani, S.; Baba, C.; Hashimoto, T. Phenylpropanoid, Sapnol A, Lignan and Neolignan Sophorosides, Saposides A and B, Isolated from Canadian Sugar Maple Sap. *Mol. 2013, Vol. 18, Pages 9641-9649* **2013**, *18* (8), 9641–9649. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES18089641>.
- (41) Li, J.; Wang, R.; Wang, Y.; Zeng, J.; Xu, Z.; Xu, J.; He, X. Anti-Inflammatory Benzofuran Neolignans from the Fruits of *Canarium Album* (Chinese Olive). *J. Agric. Food Chem.* **2022**, *70* (4), 1122–1133. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.1C06457/SUPPL_FILE/JF1C06457_SI_001.PDF.
- (42) Hoa, N. T.; Hang, D. T. N.; Hieu, D. P.; Van Truong, H.; Hoang, L. P.; Mechler, A.; Vo, Q. V. The Hydroperoxyl Radical Scavenging Activity of Sulfuretin: Insights from Theory. *R. Soc. Open Sci.* **2021**, *8* (7). <https://doi.org/10.1098/RSOS.210626>.
- (43) Brito, D. A.; Yang, Z.; Rieder, C. L. Microtubules Do Not Promote Mitotic Slippage When the Spindle Assembly Checkpoint Cannot Be Satisfied. *J. Cell Biol.* **2008**, *182* (4), 623. <https://doi.org/10.1083/JCB.200805072>.
- (44) Sim, D. H.; Khanh Vu, N.; Le, D. D.; Kim, H. R.; Ma, E. S.; Min, B. S.; Woo, M. H. Anti-Inflammatory Lignan and Triterpenoid Compounds from the Twigs of *Ligustrum Lucidum*. *Phytochem. Lett.* **2023**, *54*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOL.2023.01.007>.
- (45) Li, T.; Wang, Z.; Guo, J.; De La Fuente-Nunez, C.; Wang, J.; Han, B.; Tao, H.; Liu, J.; Wang, X. Bacterial Resistance to Antibacterial Agents: Mechanisms, Control Strategies, and Implications for Global Health. *Sci. Total Environ.* **2023**, *860*, 160461. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160461>.
- (46) Parker, D.; Soong, G.; Planet, P.; Brower, J.; Ratner, A. J.; Prince, A. The Nana Neuraminidase of *Streptococcus Pneumoniae* Is Involved in Biofilm Formation. *Infect. Immun.* **2009**, *77* (9), 3722. <https://doi.org/10.1128/IAI.00228-09>.
- (47) Park, J. Y.; Hwan Lim, S.; Ram Kim, B.; Jae Jeong, H.; Kwon, H. J.; Song, G. Y.; Bae Ryu, Y.; Song Lee, W. Sialidase Inhibitory Activity of Diarylnonanoid and Neolignan Compounds Extracted from the Seeds of *Myristica Fragrans*. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2017**, *27* (14), 3060–3064. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2017.05.055>.
- (48) Keawchai, K.; Chumkaew, P.; Permpoonpattana, P.; Srisawat, T. Synergistic Effect of Ampicillin and Dihydrobenzofuran Neolignans (Myticaganal C) Identified from the Seeds of *Myristica Fragrans* Houtt. against *Escherichia Coli*. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* **2021**, *12* (1), 79. https://doi.org/10.4103/JAPTR.JAPTR_85_20.

- (49) Xu Dong-Ying Wang Yi-Ping Li Stephen Deyrup Hong-Jie Zhang, X.-Y. T.; Xu, X.-Y.; Wang contributed equally X-Y Xu Á D-Y Wang Á H-J Zhang, D.-Y.; Xu, X.; Wang, D.; Li, Y.; Deyrup, S. T. Plant-Derived Lignans as Potential Antiviral Agents: A Systematic Review. *Phytochem. Rev.* 2021 211 **2021**, 21 (1), 239–289. <https://doi.org/10.1007/S11101-021-09758-0>.
- (50) Medina-Leyte, D. J.; Domínguez-Pérez, M.; Mercado, I.; Villarreal-Molina, M. T.; Jacobo-Albavera, L. Use of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) as a Model to Study Cardiovascular Disease: A Review. <https://doi.org/10.3390/app10030938>.
- (51) Roy, R.; Paul, S. HIAPP-Amyloid-Core Derived d -Peptide Prevents HIAPP Aggregation and Destabilizes Its Protofibrils. *J. Phys. Chem. B* **2022**, 126 (4), 822–839. https://doi.org/10.1021/ACS.JPCB.1C10395/ASSET/IMAGES/LARGE/JP1C10395_0013.JPEG.
- (52) Capela, R.; Moreira, R.; Lopes, F. An Overview of Drug Resistance in Protozoal Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20 (22). <https://doi.org/10.3390/IJMS20225748>.
- (53) Ouellette, M. Biochemical and Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Parasites. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2001.00777.x>.
- (54) Rakotondraibe, L. H.; Graupner, P. R.; Xiong, Q.; Olson, M.; Wiley, J. D.; Krai, P.; Brodie, P. J.; Callmander, M. W.; Rakotobe, E.; Ratovoson, F.; Rasamison, V. E.; Cassera, M. B.; Hahn, D. R.; Kingston, D. G. I.; Fotso, S. Neolignans and Other Metabolites from *Ocotea Cymosa* from the Madagascar Rain Forest and Their Biological Activities¹. *J. Nat. Prod.* **2015**, 78 (3), 431–440. <https://doi.org/10.1021/NP5008153>.
- (55) Pagotti, M. C.; Dias, H. J.; Candido, A. C. B. B.; Oliveira, T. A. S.; Borges, A.; Oliveira, N. D.; Lopes, C. D.; Orenha, R. P.; Parreira, R. L. T.; Crotti, A. E. M.; Magalhães, L. G. Exploring Synthetic Dihydrobenzofuran and Benzofuran Neolignans as Antiprotozoal Agents against *Trypanosoma Cruzi*. *Pharmaceutics* **2023**, 15 (3), 754. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS15030754/S1>.
- (56) Müller Kratz, J.; Garcia Bournissen, F.; Forsyth, C. J.; Sosa-Estani, S. Clinical and Pharmacological Profile of Benznidazole for Treatment of Chagas Disease. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2018**, 11 (10), 943–957. <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1509704>.
- (57) Kokaliaris, C.; Garba, A.; Matuska, M.; Bronzan, R. N.; Colley, D. G.; Dorkenoo, A. M.; Ekpo, U. F.; Fleming, F. M.; French, M. D.; Kabore, A.; Mbonigaba, J. B.; Midzi, N.; Mwinzi, P. N. M.; N’Goran, E. K.; Polo, M. R.; Sacko, M.; Tchuem Tchuenté, L. A.; Tukahebwa, E. M.; Uvon, P. A.; Yang, G.; Wiesner, L.; Zhang, Y.; Utzinger, J.; Vounatsou, P. Effect of Preventive Chemotherapy with Praziquantel on Schistosomiasis among School-Aged Children in Sub-Saharan Africa: A Spatiotemporal Modelling Study. *Lancet Infect. Dis.* **2022**, 22 (1), 136–149. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00090-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00090-6).
- (58) Mengarda, A. C.; Silva, M. P.; Cirino, M. E.; Morais, T. R.; Geanne, |; Conserva, A. A.; Ao, J. ~; Lago, H. G.; Josué De Moraes, |. Licarin A, a Neolignan Isolated from *Nectandra Oppositifolia* Nees & Mart. (Lauraceae), Exhibited Moderate Preclinical Efficacy against *Schistosoma Mansoni* Infection. **2016**.

<https://doi.org/10.1002/ptr.7184>.

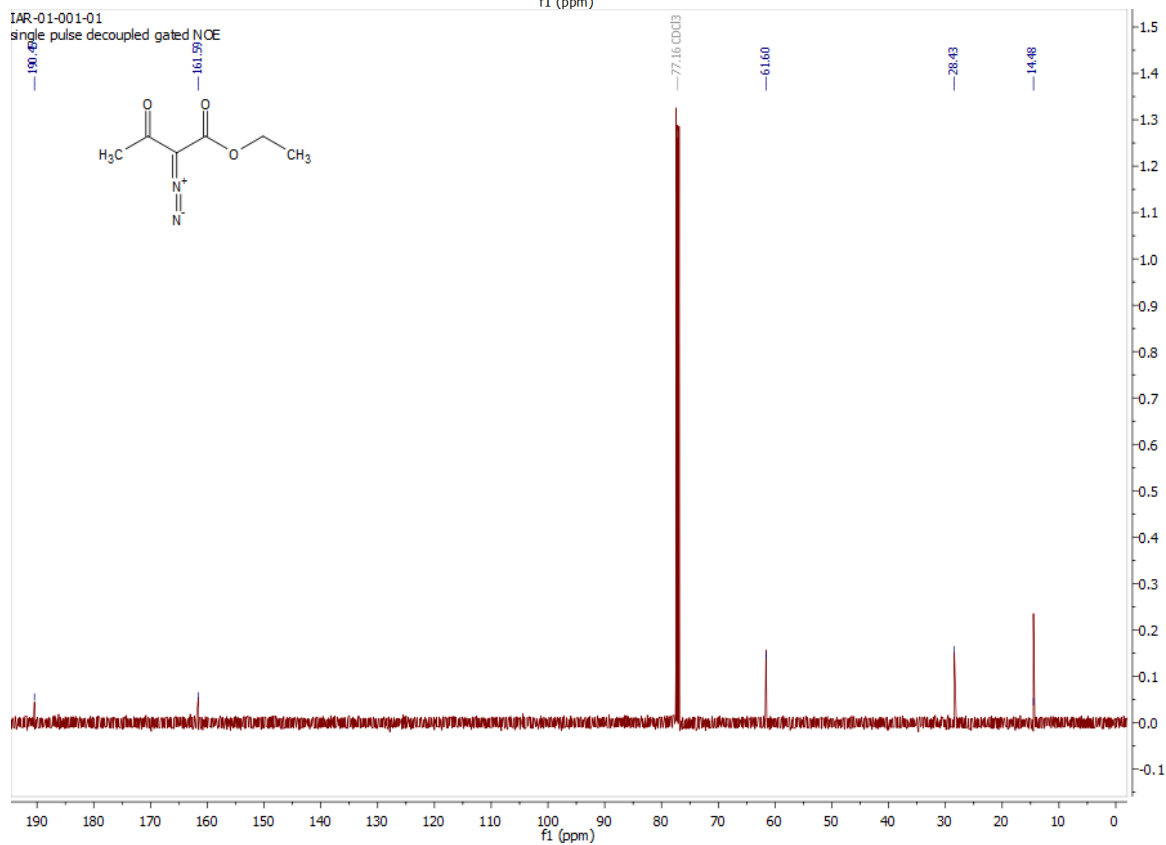
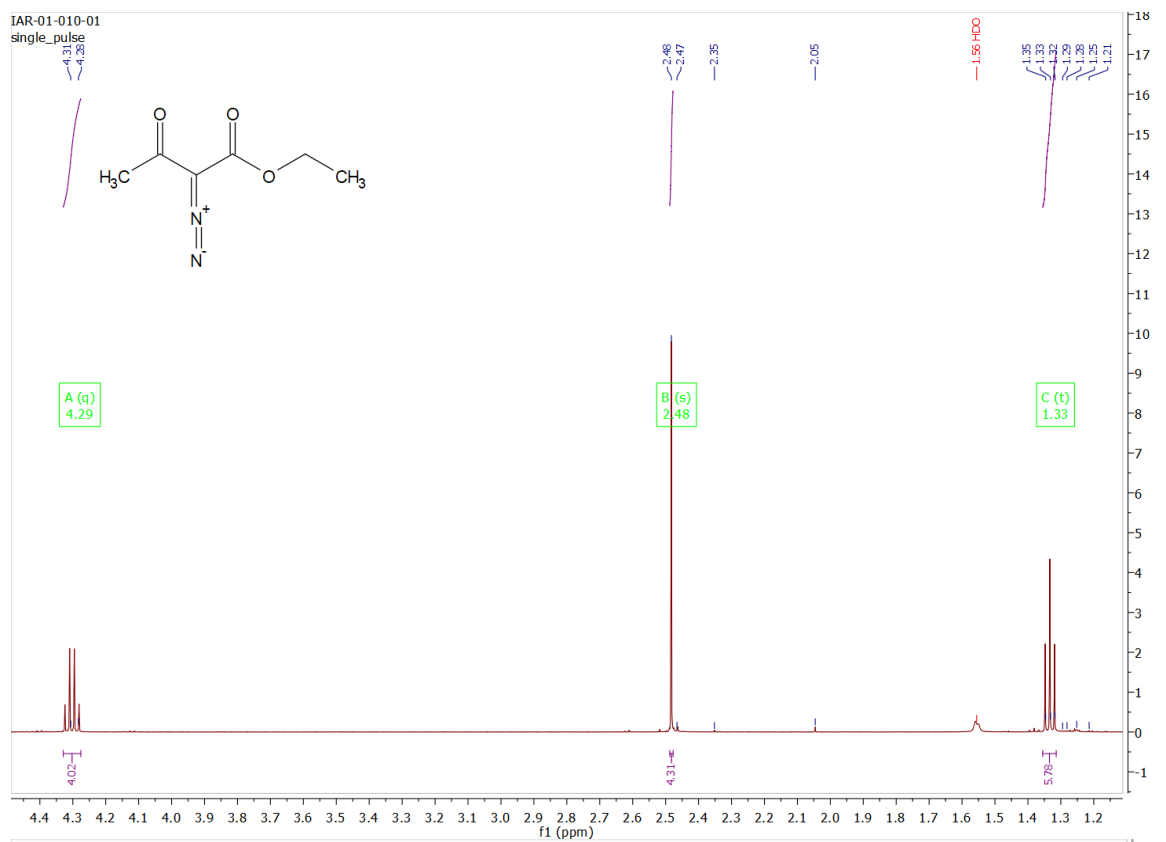
- (59) Alvarenga, D. J.; de Figueiredo Peloso, E.; Marques, M. J.; de Souza, T. B.; Hawkes, J. A.; Carvalho, D. T. Natural and Semi-Synthetic Licarins: Neolignans with Multi-Functional Biological Properties. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2021**, *31* (3), 257–271. <https://doi.org/10.1007/S43450-021-00144-7/METRICS>.
- (60) Adekiya, T. A.; Aruleba, R. T.; Klein, A.; Fadaka, A. O. In Silico Inhibition of SGTP4 as a Therapeutic Target for the Treatment of Schistosomiasis. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1850363> **2020**, *40* (8), 3697–3705. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1850363>.
- (61) Fundação, A. M.; Cruz, O.; Borges, R. M.; Barreto, A. L.; Da, J. A.; Curvelo, R.; De Lima Moreira, D.; Alves De Paiva, R.; Mesquita Marques, A.; Moreira Borges, R.; Léa, A.; Barreto, S.; Alexandre Da, J.; Cavalcanti, J. F.; Teresa, M.; Romanos, V.; Maria, R.; Soares, A.; Auxiliadora, M.; Kaplan, C. Bioactive Neolignans from the Leaves of Piper Rivinoides Kunth (Piperaceae) Novel Approaches for Very Precise and Accurate Quantification of Organic Compounds Using Nuclear Magnetic Resonance View Project Rational Optimization of Process in Drug Discovery from Natural Products View Project Bioactive Neolignans from the Leaves of Piper Rivinoides Kunth (Piperaceae). *Nat. Prod* **2016**, *10*, 472–484.
- (62) Mohd, W.; Hakimi, N.; Salleh, W.; Tawang, A.; Jauri, M. H. Mini-Review on Phytochemistry and Pharmacological Studies of Piper Regnellii (Miq.) C.DC. *Review* **2022**, *12* (2), 1791–1802. <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.17911802>.
- (63) Griffith, W. P. Bicentenary of Four Platinum Group Metals. *Platin. Met. Rev.* **2003**, *47* (4), 175–183.
- (64) Wollaston, W. H. On a New Metal, Found in Crude Platina. *Philos. Trans. R. Soc. London* **1804**, *94*, 419–430.
- (65) Emsley, J. *Nature's Building Blocks: An a-Z Guide to the Elements*; Oxford University Press, Incorporated: New York, 2011. https://doi.org/10.1002/cind.7812_4.x.
- (66) Claver, C. *Rhodium Catalysis...*; 1954; Vol. 32. <https://doi.org/10.1021/cen-v032n001.p085>.
- (67) Li, Y.; Xu, J.; Oliveira, J. C. A.; Scheremetjew, A.; Ackermann, L. Electrochemical Enantioselective C–H Annulation by Achiral Rhodium(III)/Chiral Brønsted Base Domino Catalysis. *ACS Catal.* **2024**, *14*, 8160–8167. <https://doi.org/10.1021/ACSCATAL.4C01886>.
- (68) Li, R.; Dalton, /; Ohata, J.; Ball, Z. T. Rhodium at the Chemistry–Biology Interface. *Dalt. Trans.* **2018**, *47*, 14855. <https://doi.org/10.1039/c8dt03032d>.
- (69) Swords, R. T.; Kelly, K. R.; Smith, P. G.; Garnsey, J. J.; Mahalingam, D.; Medina, E.; Oberheu, K.; Padmanabhan, S.; O'Dwyer, M.; Nawrocki, S. T.; Giles, F. J.; Carew, J. S. Inhibition of NEDD8-Activating Enzyme: A Novel Approach for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Blood* **2010**, *115* (18), 3796–3800. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-11-254862>.
- (70) Singla, A. K.; Garg, A.; Aggarwal, D. Paclitaxel and Its Formulations. *Int. J. Pharm.* **2002**, *235*, 179–192.

- (71) Wang, Y.; Yu, Z. X. Rhodium-Catalyzed [5 + 2 + 1] Cycloaddition of Ene-Vinylcyclopropanes and CO: Reaction Design, Development, Application in Natural Product Synthesis, and Inspiration for Developing New Reactions for Synthesis of Eight-Membered Carbocycles. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48* (8), 2288–2296. https://doi.org/10.1021/ACS.ACCOUNTS.5B00037/ASSET/IMAGES/MEDIUM/AR-2015-000375_0022.GIF.
- (72) Von Delius, M.; Le, C. M.; Dong, V. M. Rhodium-Phosphoramidite Catalyzed Alkene Hydroacylation: Mechanism and Octaketide Natural Product Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (36), 15022–15032. https://doi.org/10.1021/JA305593Y/SUPPL_FILE/JA305593Y_SI_004.PDF.
- (73) Zhan, Y.; Du, X.; Chen, H.; Liu, J.; Zhao, B.; Huang, D.; Li, G.; Xu, Q.; Zhang, M.; Weimer, B. C.; Chen, D.; Cheng, Z.; Zhang, L.; Li, Q.; Li, S.; Zheng, Z.; Song, S.; Huang, Y.; Ye, Z.; Su, W.; Lin, S. C.; Shen, Y.; Wu, Q. Cytosporone B Is an Agonist for Nuclear Orphan Receptor Nur77. *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4* (9), 548–556. <https://doi.org/10.1038/NCHEMBIO.106>.
- (74) López-Sánchez, C.; Álvarez-Corral, M.; Jiménez-González, L.; Muñoz-Dorado, M.; Rodríguez-García, I. Rh(II)-Catalyzed Enantioselective Synthesis of Acuminatin through a C–H Insertion Reaction of a Non-Stabilized Carbenoid. *Tetrahedron* **2013**, *69* (26), 5511–5516. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2013.04.086>.
- (75) Doskotch, R. W.; Flom, M. S. Acuminatin, a New Bis-Phenylpropide from *Magnolia Acuminata* L. *Tetrahedron* **1972**, *28* (18), 4711–4717. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(72\)88079-7](https://doi.org/10.1016/0040-4020(72)88079-7).
- (76) Lee, J. S.; Kim, J.; Uck Yu, Y.; Kim, Y. C. Inhibition of Phospholipase C γ 1 and Cancer Cell Proliferation by Lignans and Flavans from *Machilus Thunbergii*. *Arch Pharm Res* **2004**, *27* (10), 1043–1047.
- (77) Sun, P.; Gao, S.; Yang, C.; Guo, S.; Lin, A.; Yao, H. Controllable Rh(III)-Catalyzed Annulation between Salicylaldehydes and Diazo Compounds: Divergent Synthesis of Chromones and Benzofurans. *Org. Lett* **2016**, *18*, 37. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b03355>.
- (78) Xia, Y.; Dai, X.; Liu, H.; Chai, C. *First Total Synthesis of Boehmenan*; 2014; Vol. 126.
- (79) Zuzana Barbušáková. Syntetické Štúdie Majúce Za Úlohu Zmapovať Cestu Smerom Ku Príprave Prírodných Látok s Neolignanovou Kostrou, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2018. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=64313677462>.
- (80) Lachetová, E. Syntéza Neolignanů s Benzofuranovým Skeletem, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2019. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=56477144082>.
- (81) Tuna, P. Syntéza a Biologická Aktivita Fenylypropanoidových Derivátů: Vývoj Syntézy Boehmenanu D, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2019. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=34574225696>.

- (82) Vysloužilová, D. Modulární Syntéza a Biologická Aktivita Fenylypropanoidových Dimerů: Syntéza Benzofuranového Skeletu, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2021. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=13912739958>.
- (83) Střížová, M. Nový Přístup k Neolignanovému Skeletu Odvozenému Od Licarinu A, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2022. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=19844986301>.
- (84) Ford, A.; Miel, H.; Ring, A.; Slattery, C. N.; Maguire, A. R.; Anthony McKervey, M. Modern Organic Synthesis with α -Diazocarbonyl Compounds. **2015**. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00121>.
- (85) Tetrahedron Lett, A. Readily Accessible 12-I-51 Oxidant for the Conversion of Primary and Secondary Alcohols To. 5927. (*i*)*Organic Synth.* **1983**, 48 (2), 242.
- (86) Burtoloso, A. C. B.; Momo, P. B.; Novais, G. L. Traditional and New Methods for the Preparation of Diazocarbonyl Compounds. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2018**, 90 (1), 859–893. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170768>.

6. Přílohy (kopie ^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spekter)

^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (83a)



^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl 2-diazo-3-(4-metoksyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b)

