

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra Organické Chémie



**Vývoj nových pluripotentných intermediátov pre
divergentne orientovanú syntézu zamerané na
tetrahydrofurány**

DIPLOMOVÁ PRÁCA

Autor:

Bc. Jozef Kristek

Študijný odbor:

Organická chémia

Vedúci práce:

doc. RNDr. Jiří Pospíšil, PhD.

Akademický rok:

2020/2021

Bibliografická identifikácia

Meno a priezvisko autora:	Bc. Jozef Kristek
Názov práce:	Vývoj nových pluripotentných intermediátov pre divergentne orientovanú syntézu zamerané na tetrahydrofurány
Typ práce:	Diplomová
Pracovisko:	Katedra Organickej Chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Vedúci práce:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, PhD.
Abstrakt:	Dnešná organická syntetická chémia čelí mnohým novým výzvam. Jednou z nich je vývoj nových syntetických intermediátov využiteľných v kontextu divergentnej organickej syntézy. Intermediátov, ktoré by boli schopné účinne pripraviť štruktúrne bohatú knižnicu malých organických molekúl iba v niekoľko málo krokoch. V tejto práci sa zaoberáme vývojom práve takýchto intermediátov, zameraných na THF skelety.
Kľúčové slová:	divergentne-orientovaná syntéza, stavebné bloky, pluripotentná molekula, laktón, tetrahydrofurán
Počet strán:	92
Jazyk:	slovenčina

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Bc. Jozef Kristek

Title: Development of novel pluripotent intermediates for diversity-oriented synthesis. Aiming on tetrahydrofurans.

Type of thesis: Diploma

Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc

Supervisor: doc. RNDr. Jiří Pospíšil, PhD.

Abstract: Nowadays organic synthesis is facing many new challenges. One of them is to develop a way, how to build up a short and efficient manner pluripotent building blocks that would be readily explorable in the context of diversity-oriented synthesis. In this thesis we focus on the development such intermediates that explore tetrahydrofuran structural motive.

Keywords: diversity-oriented synthesis, building blocks, pluripotent molecule, lactone, tetrahydrofuran

Number of pages: 92

Language: slovak

Prehlásenie:

Prehlasujem, že predloženú diplomovú prácu som vypracoval samostatne na základe konzultácií s vedúcim práce a štúdia odbornej literatúry a zoznam použitej literatúry som uviedol na príslušnom mieste.

V Olomouci dňa:

.....

Bc. Jozef Kristek

Pod'akovanie:

Rád by som sa poďakoval predovšetkým môjmu školiteľovi doc. RNDr. Jířimu Pospíšilovi, PhD. za vedenie práce, cenné rady, pripomienky a nápady. Chcem oceniť jeho trpezlivosť, obetavosť a veľkú ochotu vždy pomôcť a poradiť mi s akýmikoľvek problémami alebo nejasnosťami v danej téme. Taktiež by som sa chcel poďakovať pánovi Mgr. Tomášovi Pospíšilovi, PhD. (katedra Chemickej biológie) za pomoc pri riešení NMR spektier. Ďalej by som sa chcel poďakovať všetkým zamestnancom katedry organickej chémie a všetkým kolegom, ktorí mi pomohli cennými radami pri písaní tejto práce a pri práci v laboratóriu.

Táto záverečná práca vznikla za finančnej podpory Internej Grantovej Agentúry Univerzity Palackého IGA_PrF_2021_024.

OBSAH

1	Úvod a ciele práce.....	9
2	Teoretická časť.....	11
2.1	Divergentne-orientovaná syntéza.....	11
2.1.1	Úvod.....	11
2.1.2	Stratégie syntézy	11
2.1.3	Divergentne-orientovaná syntéza	13
2.1.4	<i>Build/Couple/Pair</i> stratégia v DOS	14
2.1.5	Realizácia DOS v našej výskumnej skupine – generácia diverzity	15
2.2	PM-3, tretia generácia pluripotentných molekúl.....	20
2.2.1	Príprava PM-3c a PM-3d	21
2.2.2	Očakávaná reaktivita PM-3c a PM-3d , <i>Pair</i> fáza	22
2.3	Vybrané prírodné a biologicky aktívne látky s THF skeletom	25
3	Výsledky a diskusia	29
3.1	Retrosyntéza vedená k PM-3c a PM-3d	29
3.2	Príprava stavebných blokov pre syntézu PM-3c a PM-3d	30
3.2.1	Príprava laktónu 16	30
3.2.2	Príprava laktónu 17	34
3.2.3	Príprava 2-(metylsulfonyl)benzo[d]tiazol 19	37
3.3	Príprava pluripotentných intermediátov PM-3c a PM-3d	37
3.3.1	Príprava PM-3d	38
3.3.2	Príprava PM-3c	44
3.4	Modifikácia PM-3d – fáza <i>Pair</i>	45
4	Záver	49
5	Experimentálna časť	50
5.1	Obecné metódy.....	50
5.2	Príprava laktónu 16	51

5.2.1	1-benzyloxy-4-pentén (51)	51
5.2.2	4-(benzyloxy)butanál (48)	52
5.2.3	Metyl (<i>E</i>)-6-(Benzyloxy)hex-3-enoát (51)	53
5.2.4	Metyl 6-(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexanoát (45)	54
5.2.5	5-(2-benzyloxyetyl)-4-hydroxydihydrofuran-2(3H)-ón (54)	54
5.2.6	5-(2-benzyloxyetyl)-4-(<i>terc</i> -butyldimethylsilyloxy)dihydrofuran-2(3H)-ón (16)	55
5.3	Príprava laktónu 17	56
5.3.1	Príprava laktónu 17 s využitím modifikovanej Knoevenagelovej kondenzácie	56
5.3.2	Syntéza laktónu 17 , založená na otvárani epoxidu 50	58
5.4	Príprava 2-(metylsulfonyl)benzo[d]tiazol 19	61
5.5	Príprava intermediátov PM-3	62
5.5.1	Reakcia, ktorá mala viesť k produktu PM-3c – vznik neznámeho produktu	62
5.5.2	2-(benzo[d]tiazol-2-ylsulfonyl)methyl)-5-(2-benzyloxyetyl)tetrahydrofuran-2-ol (PM-3d)	63
6	Zoznam literatúry	65
7	Prílohy	76

ZOZNAM SKRATIEK

APCI – chemická ionizácia za atmosférického tlaku (<i>atmospheric-pressure chemical ionization</i>)	MF – mobilná fáza
Bn – benzyl	MS – hmotnostná spektrometria
BnBr – benzyl bromid (bromometyl)benzén	NMO – N-metylmorfolín-N-oxid
BT – benzo[<i>d</i>]tiazol	NMR – nukleárna magnetická rezonancia
BTSO ₂ Me – 2-(metylsulfonyl)benzo[<i>d</i>]tiazol	P.E. – petroléter
DBU – 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-én	PCC – pyridinium chlorochromát
DCM – dichlórmetán	PM – pluripotentná molekula
DMAP – 4-(N,N-dimetylamino)pyridín	<i>R_f</i> – retenčný faktor
DMP – Dess-Martin perjodinán	rt – laboratórna teplota (<i>room temperature</i>)
DMSO – dimetylsulfoxid	RVO – rotačná vákuová odparka
DOS – divergentne-orientovaná syntéza	SF – stacionárna fáza
ekviv. – ekvivalent	TBS – <i>tert</i> -butyldimetylsilyl
ESI – elektrosprejová ionizácia (electrospray ionization)	TBSCl – <i>tert</i> -butyldimetylsilyl chlorid
HRMS – vysoko-rozlišujúca hmotnostná spektrometria (<i>high-resolution mass spectrometry</i>)	Tf – triflát
KHMDS – bis(trimetylsilyl)amid draselný	THF – tetrahydrofurán
LDA – diisopropylamid lítny	THP – tetrahydropyrán
LiHMDS – bis(trimetylsilyl)amid lítny	TLC – chromatografia na tenkej vrstve (<i>thin-layer chromatography</i>)
<i>m</i> CPBA – kyselina <i>meta</i> -chlórperoxybenzoová	TMSOTf – trimetylsilyltriflát
	TOS – cieľovo-orientovaná syntéza (<i>target-oriented synthesis</i>)
	<i>T_t</i> – teplota topenia

1 ÚVOD A CIELE PRÁCE

Moderná medicínálna chémia sa zameriava na využívanie malých organických molekúl, ktoré majú tú schopnosť, že pri interakcii s bio-makromolekulami umožňujú modifikáciu biochemických dráh. Tieto malé organické molekuly, ktoré v tomto kontexte preberajú rolu malých „chemických sond“, nám tak môžu umožniť alebo nás naviesť k hlbšiemu porozumeniu biologických procesov, biologických systémov a následne i fungovaniu (vplyvu) na celý orgán alebo telo. Ideálne teda „zvolíme vhodnú sondu (molekulu) a organizmus nám potom o sebe niečo povie“. Problém v tomto prístupe teda tkvie len v jednej veci – ako vybrať/nájsť vhodnú sondu „do života bunky“. Odpoveď na túto zdanlivo jednoduchú požiadavku je však komplikovanejšia než sa zdá. V prípade, že chceme špecifickú odpoveď, potrebujeme aj špecifickú molekulárnu sondu. Lenže my vlastne vôbec netušíme, ako taká molekula má vypadat’.

Aby syntetickí chemici boli schopní nejakým spôsobom reagovať na požiadavky ich biológov („poskytnite mi organickú molekulu, ktorá bude robiť čo potrebujeme, ale netuším, ako táto molekula má vyzerat’“), tak zaviedli nový syntetický postup – tvorbu knižníc látok obsahujúcich tisíc malých organických molekúl. Otestovanie takýchto knižníc by malo pomôcť identifikovať látky, z ktorých by sa následne mohli stať nové malé organické „sondy“, využiteľné pri štúdiu biologických procesov. Najprv sa tieto knižnice utvárali podľa obecného ľudského pravidla – čím väčší, tým lepší (90. roky a začiatok 21. storočia),^{1,2} ale neskôr sa zistilo, že správnym prístupom je zamerať sa na tvorbu knižníc s vysokou štruktúrnou rozmanitosťou. Slovo „diverzita“ sa v tomto kontexte teda neobmedzuje len na atómovú konektivitu (zmena substituentov), ale tiež na špecifickú distribúciu a konzistentnosť vložených štruktúrnych prvkov molekúl.^{3,4}

Táto zmena viedla následne k vývoju nových syntetických metód a vývoju nových postupov, umožňujúcich vytvárať chemické knižnice rýchlo, lacno a s minimom vedľajších reakcií, avšak zároveň s vysokou štruktúrnou rozmanitosťou.

Jedným z cieľov našej výskumnej skupiny je vyvinúť nové syntetické stratégie, ktoré by umožnili prípravu syntetických intermediátov, ktoré krátkym, jednoduchým a účinným spôsobom a z ľahko dostupných východiskových materiálov generujú takto navrhnuté knižnice. Kľúčovým krokom našej stratégie je návrh vysoko funkcionalizovaného medziproduktu (pluripotentná molekula), ktorý by nám umožnil

transformovať ju na vysoko stereodefinované, ale zároveň štruktúrne rozdielne produkty. V rámci svojej diplomovej práce sa zaoberám vývojom tzv. 3. generácie týchto molekúl v rámci našej výskumnej skupiny. Cieľom týchto intermediátov je vytvoriť pluripotentnú molekulu, ktorá by bola schopná vytvoriť knižnicu látok, sústredenú okolo tetrahydrofuránového skeletu. Ciele mojej práce by boli teda nasledujúce:

- 1) Vypracovať rešerš na tému „Divergentne-orientovaná syntéza a jej aplikácia pri tvorbe chemických knižníc“.
- 2) Vyvinúť syntetické transformácie umožňujúce modifikáciu (β -substituovaných) laktónov na prípravu chirálnych pluripotentných molekúl.
- 3) Charakterizácia pripravených látok pomocou dostupných fyzikálne-chemických metód.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Divergentne-orientovaná syntéza

2.1.1 Úvod

Chemické látky s malou molekulovou hmotnosťou boli v chémii a biológii vždy zaujímavé kvôli ich schopnosti silne ovplyvňovať biologické procesy v živých organizmoch.^{3,5} Medicínálni chemici sa snažia pochopiť tieto procesy a vytvoriť tak látky, ktoré sú schopné interagovať s makromolekulami zapojenými v biologických systémoch. Chemoinformatici vypočítali a nasimulovali všetky tieto látky a zahrnuli ich do chemického priestoru. Chemický priestor je súbor všetkých molekúl, ktoré by mohli interagovať so živými systémami. Tento priestor je možné považovať za analogický s vesmírom v jeho rozľahlosti, pričom chemické látky obývajú vesmír namiesto hviezd.⁶ Predpokladá sa, že v tomto priestore sa nachádza viac ako 10^{63} biologicky aktívnych molekúl o hmotnosti 500 dalton a menej.⁷⁻⁹

2.1.2 Stratégie syntézy

Existuje mnoho možností, ako získať tieto malé biologicky aktívne molekuly. Bohatým zdrojom bola vždy príroda. Prírodné produkty sa už po stáročia používajú ako lieky a hlavne ako zdroj nových, biologicky aktívnych štruktúr.¹⁰ Na druhej strane, tento zdroj má množstvo nevýhod. Cieľová molekula je izolovaná v malom množstve, musí sa najskôr určiť jej štruktúra a vzhľadom na ťažkosti s čistením, sa môže stať, že izolovaná molekula je kontaminovaná, a teda že pozorovaná biologická aktivita je spôsobená biotickým efektom dvoch látok. Ďalej, prírodné produkty sú často štruktúrne veľmi náročné a prípadná chemická derivatizácia molekuly (zmena za účelom zvýšenia biologickej aktivity) je extrémne náročná až nemožná.

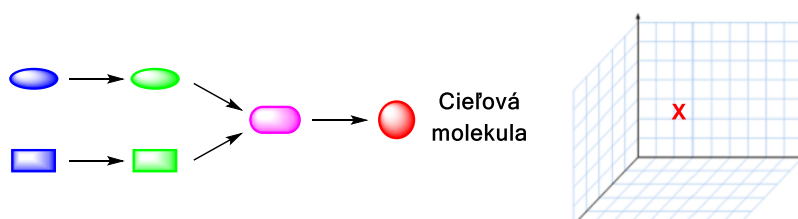
Štruktúrne motívy prírodných produktov a doteraz dostupných zlúčenín zaberajú len malú časť chemického priestoru. Je ale potrebné preskúmať aj doteraz neobjavené časti chemického priestoru, obsahujúce doposiaľ neznáme štruktúry. Táto úloha je následne cieľom syntetických organických chemikov, ktorí sa snažia získať nové biologicky aktívne molekuly pomocou troch nezávislých prístupov.

Prvý základný prístup využíva cieľovo-orientovanú syntézu (*Target-Oriented Synthesis*, **TOS**). TOS sa spolieha najmä na objavy prírodných zlúčenín identifikovaných v rôznych rastlinných extraktoch. Látka sa vyzisluje a plne charakterizuje pomocou

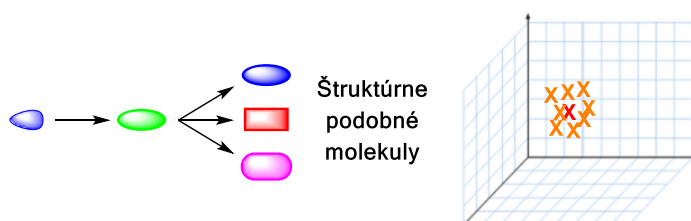
rôznych spektroskopických techník. Po presnej identifikácii sa následne stane cieľom syntézy. Úlohou je teda pripraviť presne jednu látku o známej štruktúre a biologických vlastnostiach. V chemickom priestore pokryjeme teda len jeden bod (**Obr. 1**). Aby sme dosiahli tohto cieľa, tak sa aplikuje konvergentný prístup, tzn. že sa začína z rôznych fragmentov a ich postupné skladanie do seba skončí v cieľovej molekule.

Druhý prístup využíva kombinatoriálnu chémiu. Charakteristickým znakom tejto chémie je syntéza veľkých chemických knižníc (knižníc malých štruktúrne značne podobných látok) za krátky čas (i s viac ako 10 000 zlúčeninami). Tieto látky (knižnice) je následne možné podrobiť skríningu na biologickú aktivitu. Cieľom je preskúmať hustú oblasť chemického priestoru okolo presného bodu (prírodný produkt, liečivo alebo navrhnutá štruktúra aktívnej látky), ktorý má známe užitočné vlastnosti (**Obr. 1**).

Cieľovo orientovaná syntéza



Kombinatoriálna chémi

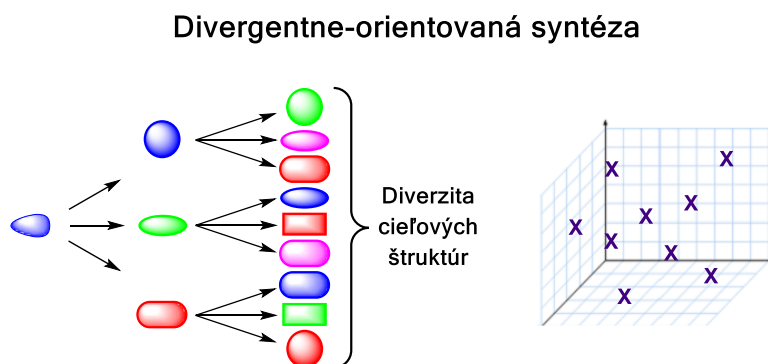


Obr. 1: TOS a kombinatoriálna chémi; zásah v chemickom priestore¹¹

Tieto dva prístupy majú niekoľko nevýhod. Niekedy sa môže stať, že cieľ syntézy nie je úplne známy a má obmedzenú dostupnosť. Taktiež môže byť cieľ synteticky príliš komplexný, a tým je príprava zlúčenín neefektívna a náročná. Na druhej strane, kombinatoriálna chémi má obrovskú výhodu v tom, že za pomoci moderných technológií je možné vyprodukovať aj viac ako 100 000 nových zlúčenín za rok.^{12,13} Ako bolo spomenuté, tieto zlúčeniny sú si navzájom štruktúrne veľmi podobné, tzn. že ak

hlavný štruktúrny motív nebude mať biologickú aktivitu, je takmer isté, že celá knižnica nebude mať túženú aktivitu. Takže veľkosť nie je všetko, knižnica má malú štruktúrnu rozmanitosť, zasiahne podrobne malý chemický priestor, ktorý je bohužiaľ mimo náš záujem z pohľadu cieľa (žiadna biologická aktivita).

Aby došlo k vyššej úspešnosti pri hľadaní nových biologicky aktívnych látok, bolo potrebné vyvinúť nový typ syntetického postupu. Taký postup, ktorý by spojoval širokú štruktúrnu rozmanitosť (pokrytie chemického priestoru) so silou kombinatoriálneho prístupu (veľké chemické knižnice látok, rýchla syntéza). Vyvinula sa divergentne-orientovaná syntéza (*Diversity-Oriented Synthesis, DOS*).¹⁴ Cieľom tohto prístupu je preskúmať široký chemický priestor, vrátane slabo preskúmaných (alebo dokonca prázdnych) oblastí a objaviť nové štruktúrne komplexné a rozdielne malé molekuly, ktoré majú často neznáme chemické a biologické vlastnosti (**Obr. 2**). To všetko z jednoduchých a ľahko dostupných východiskových látok v 3 až 5 krokoch.



Obr. 2: Divergentne-orientovaná syntéza a jej široký zásah v chemickom priestore¹¹

2.1.3 Divergentne-orientovaná syntéza

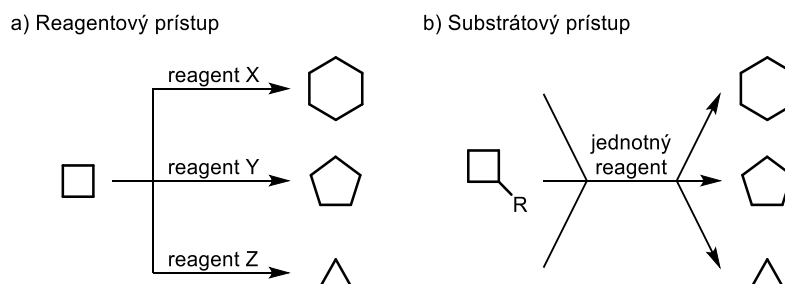
Celkovým cieľom DOS je vytvoriť knižnicu malých molekúl s vysokým stupňom štruktúrnej i funkčnej diverzity, ktorá nám súčasne umožní pokryť veľkú oblasť chemického priestoru. Najzaujímavejšie, a teda aj tie, na ktoré najviac cieľime, sú práve biologicky aktívne látky, ktoré doteraz unikali pozornosti.⁴ Dôležitým bodom DOS je teda diverzita (rozmanitosť) chemickej knižnice. Knižnicu možno považovať za rozmanitú, ak spĺňa nasledujúce tri kritéria diverzity⁵:

- 1) Diverzita stavebných blokov – založená na pripojení rôznych reťazcov, funkčných skupín na vopred definovanom mieste, definovaného základného

skeletu. Kľúčový bod je systematické a selektívne využitie rôznych reakčných centier a postupné pridávanie/striedanie nových prvkov.¹⁵

- 2) Stereochemická diverzita – orientácia (umiestnenie) v priestore, veľmi dôležitá pre interakciu s makromolekulami (jedinečnosť povrchu molekuly – jedinečnosť v interakcii)¹⁶
- 3) Štrukturálna diverzita – diverzita štruktúry (kostry). Diverzita základného skeletu určuje diverzitu knižnice, hlavný rozdiel od kombinatoriálneho prístupu. Je možné ju zaistiť dvoma rôznymi stratégiami:

- a) prístup založený na použití reagentov a nimi spôsobená transformácia jedného substrátu na rôzne produkty¹⁷ (**Obr. 3a**)
- b) prístup založený na použití rovnakých reakčných podmienok (reagentov), diverzita je potom generovaná vďaka rôznorodosti substrátov. Po transformácii tak vznikajú štrukturálne rôzne produkty¹⁸ (**Obr. 3b**)



Obr. 3: Schematické znázornenie dvoch rôznych prístupov generujúce štrukturálnu diverzitu⁵

2.1.4 *Build/Couple/Pair* stratégia v DOS

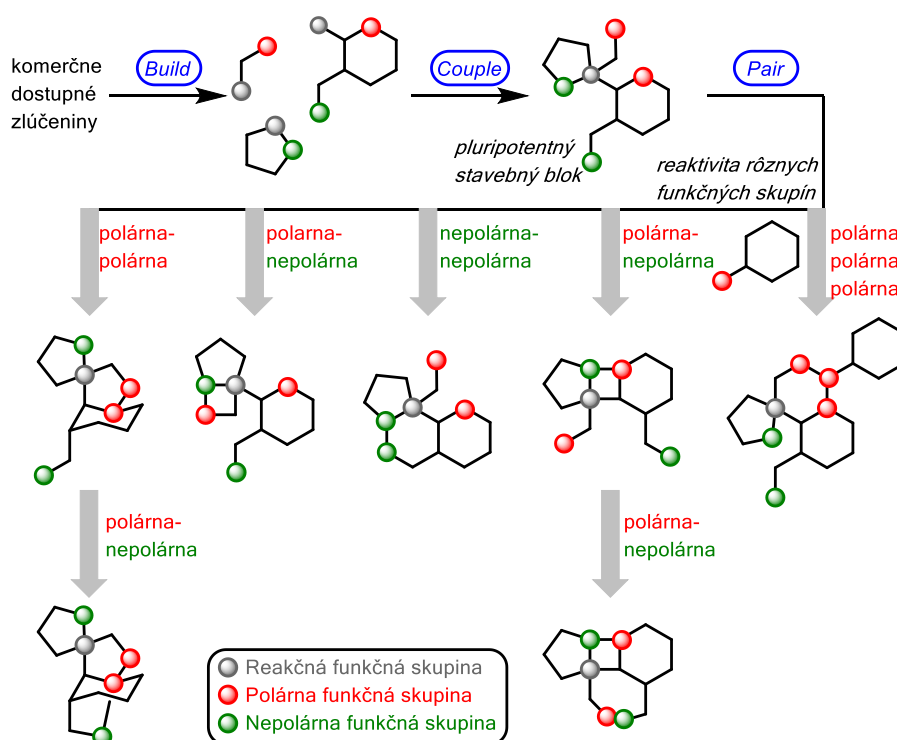
Aby sme mohli dosiahnuť spomínanej diverzity pri DOS syntéze, vznikol nový typ algoritmu (spôsobu, ako uvažovať o syntéze skôr než o type syntetickej metódy), nazývaný *Build/Couple/Pair* (*B/C/P*) stratégia, ktorú vyvinul prof. Schreiber.¹⁹

Objasníme si jednotlivé kroky tejto stratégie (**Obr. 4**):

- 1) *Build* – z jednoduchých zlúčenín sa pripravia rôzne (chirálné) stavebné bloky, ktoré obsahujú niekoľko rozmanitých funkčných skupín. Jedna funkčná skupina v hlavnom bloku je potom predurčená reagovať špecificky s inou v ďalšom stavebnom bloku.
- 2) *Couple* – pripravené stavebné bloky sa navzájom spoja (využitie navrhnutých funkčných skupín), ideálne s úplnou kontrolou všetkých možných

stereochemických výstupov reakcie a vytvoria tak jeden „pokročilý“ intermediát – pluripotentný stavebný blok, ktorý obsahuje rôzne funkčné skupiny a reaktívne miesta

- 3) *Pair* – v poslednej fáze sa využívajú funkčné skupiny, prítomné v pluripotentnom stavebnom bloku. Ich vzájomnou kombináciou tak dochádza k zmenám skeletu a teda vpravujeme do knižnice žiadanú štruktúrnu diverzitu.²⁰



Obr. 4: Štruktúrna diverzita v B/C/P stratégii¹⁹

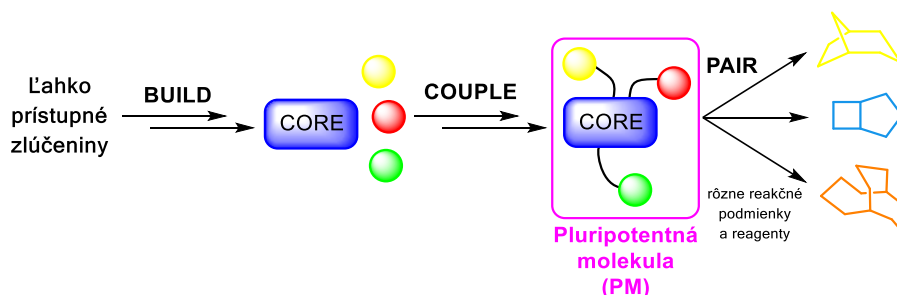
2.1.5 Realizácia DOS v našej výskumnej skupine – generácia diverzity

Jedným z cieľov našej výskumnej skupiny je vytvoriť nový typ syntetických prístupov, ktoré by nám umožnili prípravu štruktúrne diverzných knižníc. Tento typ chemických knižníc by mal byť pripravený z jedného pokročilého intermediátu – tzv. **pluripotentná molekula (PM)**,²¹ ktorý by umožnil výslednú rôznorodosť. V prípade, že umiestnime náš prístup do B/C/P stratégie, potom naša PM molekula odpovedá výsledku kroku

Couple (Obr. 5).

Takže naším cieľom je vyvinúť PM molekulu, ktorá bude stabilná a ktorá bude „husto pokrytá“ rôznymi funkčnými skupinami, ktoré nám následne umožnia žiadanú diverzitu základného PM skeletu. Ďalšou požiadavkou je jeho jednoduchá príprava

a možnosť diverzifikácie. Pri návrhu tohto typu intermediátu musíme taktiež uvažovať nad prípravou PM molekuly (rýchla, stereoselektívna, vysoké výťažky).

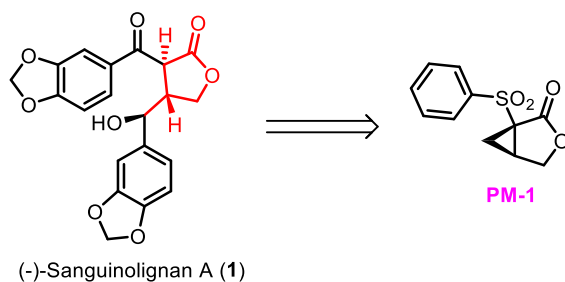


Obr. 5: Pluripotentná molekula (PM) – kľúčový bod B/C/P stratégie

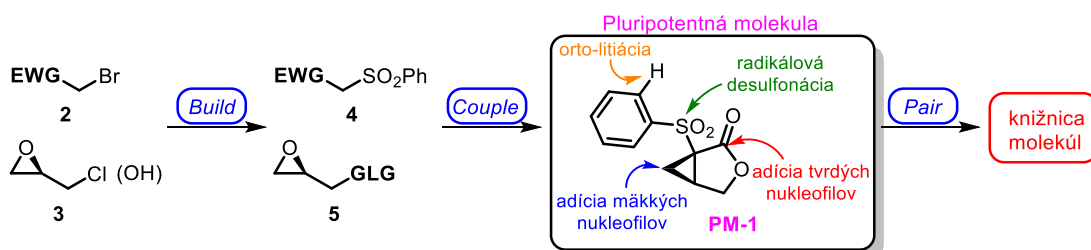
2.1.5.1 Fenyľ-sulfonyl laktón ako stavebný blok v organickej syntéze

Vývoj PM molekúl v skupine začal s doktorskou prácou Dr. Konrádovej.²² Dr. Konrádová sa vo svojej práci zamerala primárne na prírodné deriváty fenyľpropanoidov, lignany a na ich biologickú aktivitu, hlavne v kontexte Leishmanie, resp. účinkov na parazity, ktoré toto ochorenie spôsobujú. Ako inšpiráciu, Dr. Konrádová využila známu aktivitu (-)-Sanguinolignanu A voči amastigotom *Leishmania major*, infekčnú formu *L. major* pre ľudských hostiteľov.^{23,24} Na základe štruktúry Sanguinolignanu **1** bola potom navrhnutá Pluripotentná molekula (**PM-1**), ktorá mala slúžiť ako kľúčový štruktúrny motív k príprave knižnice nových látok (**Obr. 6a**). Bicyklický laktón **PM-1** sa tu v tejto stratégii náramne osvedčil. Tento laktón bol ľahko dostupný v dvoch krokoch a ľahko sa modifikoval za veľmi veľkého množstva štruktúrne odlišných látok (**Obr. 6b**). Vybrané produkty (11 zo 101) pripraviteľné z kľúčového intermediátu PM-1 sú ukázané na **Obr. 7**.

a) Inšpirácia pre návrh PM molekuly



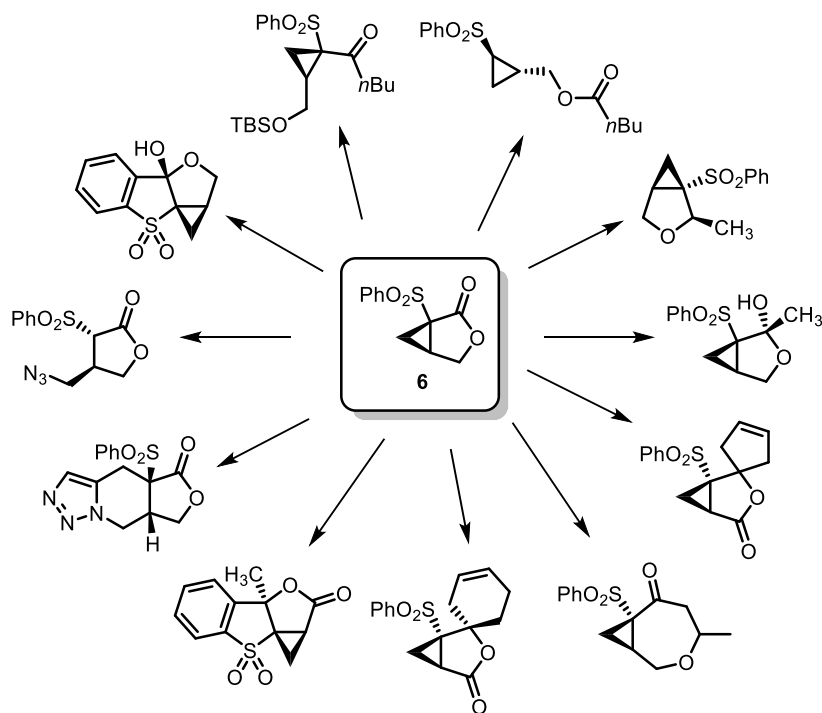
b) Aplikácia B/C/P stratégie



Obr. 6: Pluripotentná molekula a jej možná reaktivita. EWG = elektron-akceptorná skupina (*electron withdrawing group*), GLG = dobre odstupujúca skupina (*good leaving group*)

Celkovo bola aplikácia **PM-1** veľkým úspechom, pretože tento bicyklický laktón môže jednoducho podliehať nielen očakávaným reakciám ako je redukcia, desulfonácia či aminolýze, otváraníu cyklopropánového kruhu pomocou mäkkých (C, N, S) nukleofilov, selektívnemu otváraníu laktónového kruhu použitím tvrdých nukleofilov (organolitné a horečnaté), ale taktiež môžu podliehať *ortho*-litiáciám a cykloadičným reakciám.²⁵ Popísané reakcie prebiehali za vysokej stereoselektivity a všetky cieľové produkty boli získané v 1-3 krokoch a vo vynikajúcej selektivite (**Obr. 7**).

Výsledná knižnica o 101 látkach bola následne testovaná na biologickú aktivitu voči amastigotom *Leishmania major* a k tomu sa ešte identifikovali tri rôzne látky s podobnou aktivitou akú má Amphotericin B (bežne používané liečivo leishmaniózy), ktoré ale fungovalo úplne iným, zatiaľ neidentifikovateľným mechanizmom.

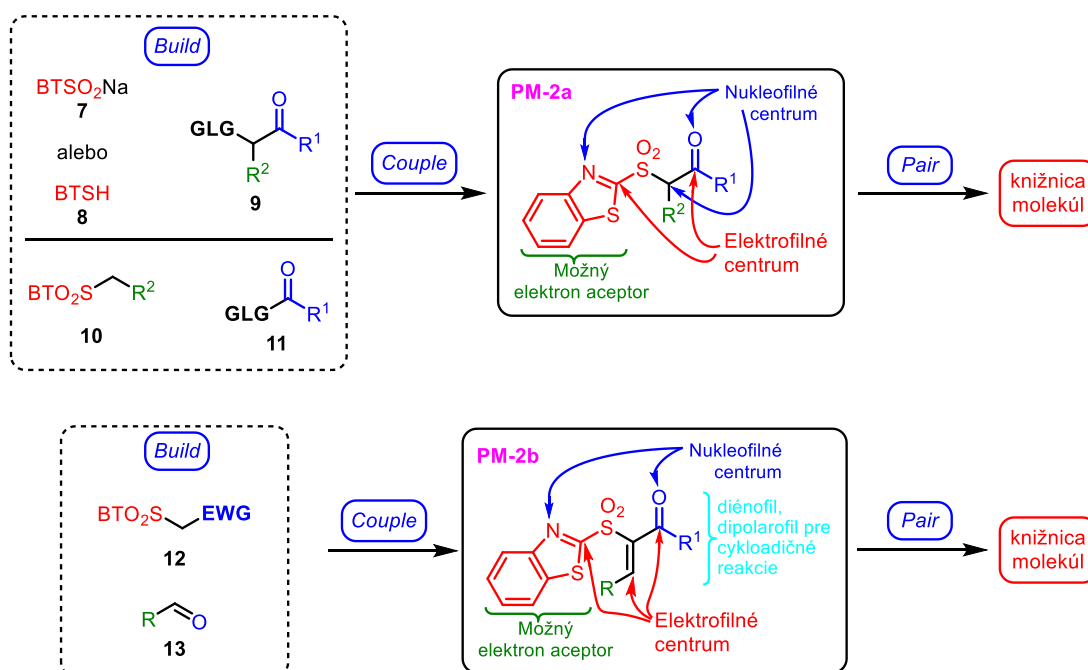


Obr. 7: Vybrané príklady členov knižnice látok vytvorených vo fáze *Pair* v *B/C/P* stratégii z **PM-1**²²

2.1.5.2 Druhá generácia PM molekúl pre DOS (**PM-2**)

Na základe predchádzajúcich skúseností v našej výskumnej skupine, hlavne v oblasti Julia-olefinácii, sme navrhli novú generáciu PM molekúl (**PM-2**), založenú na benzo[d]thiazol-2-yl sulfónovom skelete ako *Core* motív.²¹ V tomto prípade šlo len o design (žiadna inšpirácia už biologicky aktívnou látkou), a tak sme mohli navrhnuť celkom nový typ štruktúrneho fragmentu. V rámci svojej doktorskej práce, tak Dr. Kováč navrhol dva typy na seba nadväzujúcich fragmentov – **PM-2a** a **PM-2b**.²⁶

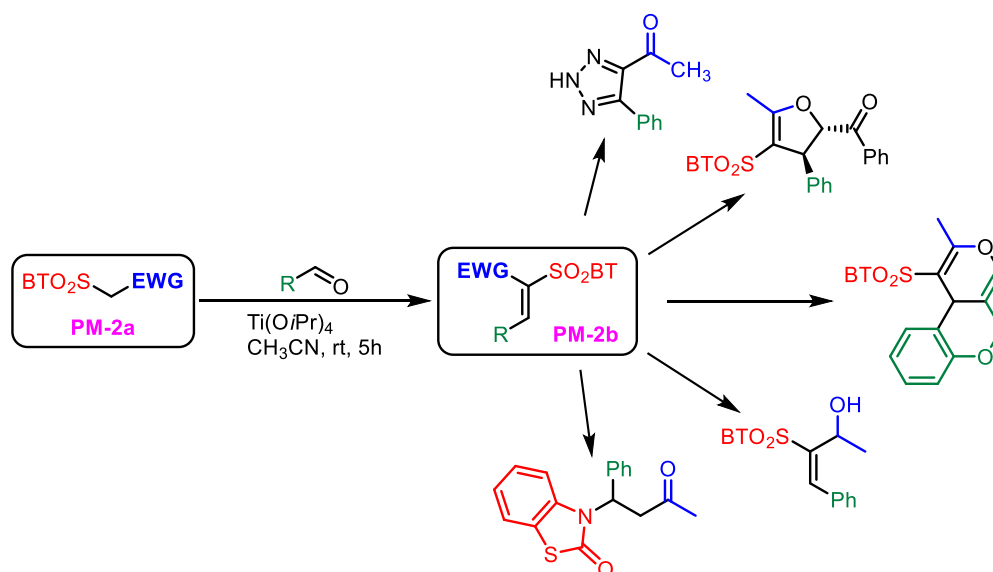
Najprv sa zameriame na **PM-2a**. Tento typ intermediátu je známy v literatúre už dlhšiu dobu a rôzne spôsoby prípravy boli popísané našou^{27,28} i ďalšími²⁹ výskumnými skupinami. Tento typ látok, **PM-2a**, bol teda jednoducho pripraviteľný a následne ho šlo využiť ako nový typ C-nukleofilu pre rôzne jednouhlíkaté a dvojuhlíkaté predĺženie primárnych a sekundárnych alkoholov.³⁰ Bohužiaľ, toto bolo málo na to, aby sa z tejto látky stal plnohodnotný pluripotentný intermediát. Jeho zjednodušená varianta (**PM-2a**, kde R² = H) viac-menej šla využiť, ako základný stavebný blok (**12**) pri výstavbe **PM-2b**.



Obr. 8: PM-2 v kontexte B/C/P stratégie a ich očakávaná reaktivita²⁶

PM-2b tak bol pripravený ako kondenzačný produkt látky **12** s aldehydom (**Obr. 8**). Takto zabudovaný Michaelov akceptor prudko zvýšil aplikovateľnosť PM druhej generácie a Dr. Kováč tak bol schopný vygenerovať knižnicu o viac než 50 štruktúrne rôznych látkach. Obecne bol tento typ intermediátu následne aplikovaný v cykloadičných, nukleofilných (O, C, N, S nukleofily), radikálových a ďalších anulačných reakciách (**Obr. 9**).³¹

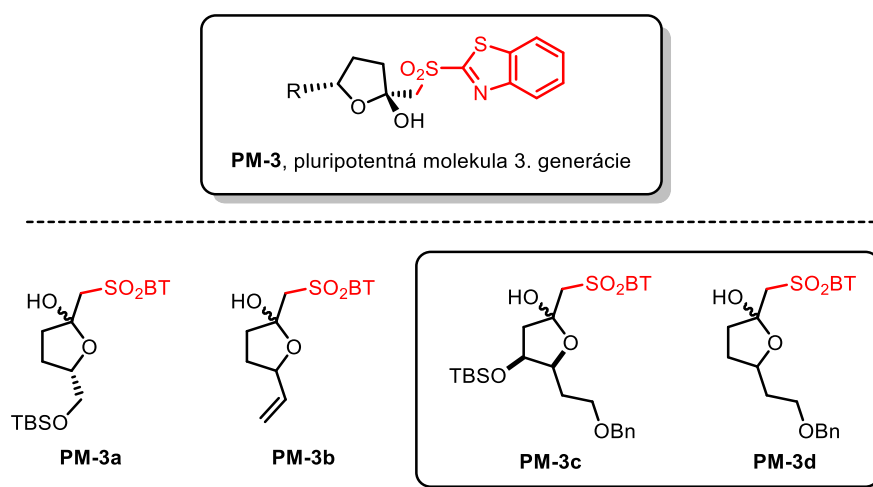
PM-1 bola skúmaná na rôznu reaktivitu a využiteľnosť v DOS. Následne, bola **PM-1** použitá ako východisková zlúčenina v Knoevenagelovej kondenzácii, pričom vznikol nový typ pluripotentnej molekuly **PM-2**, ktorá obsahovala viac reaktívnych centier. O. Kováč tak vytvoril knižnicu s viac ako 50 **PM-2** derivátmi. Táto molekula bola úspešne aplikovaná v cykloadičných reakciách, preskúmali sa reakcie s nukleofilmi (O, C, N, S), ďalej predstavuje Michaelov akceptor alebo diénofil



Obr. 9: Vybrané príklady zlúčenín pripravené z **PM-2b** molekuly vo fáze *Pair*³¹

2.2 PM-3, tretia generácia pluripotentných molekúl

Povzbudení predchádzajúcimi úspechmi našich PM molekúl, sme sa vrhli na prípravu nového typu PM molekúl, ktorý mal pokryť skupinu makrolidických látok obsahujúcich tetrahydrofuránové (THF) kruhy.³² I v tomto prípade sme vsadili na benzotiazol sulfónové deriváty a predpokladali sme, že ich včlenenie do jednoduchého laktónového kruhu nám umožní pripraviť nový typ stabilných PM intermediátov tretej generácie (**PM-3**, Obr. 10). Už od počiatku bol **PM-3** intermediát chápaný ako typovo rôznorodý reaktant a aby sme mohli účinkom jednotlivých skupín, potenciálne prítomných na THF kruhu **PM-3**, ovplyvniť reaktivitu a stereoselektivitu následných reakcií. Boli tak navrhnuté štyri rôzne typy intermediátov (**Obr. 10**).



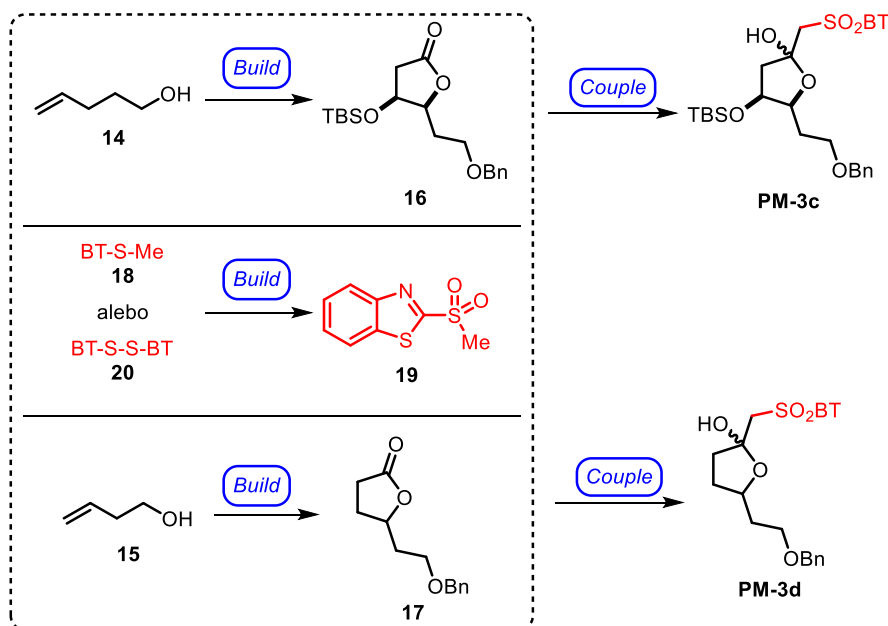
Obr. 10: Nové pluripotentné molekuly tretej generácie

Intermediáty **PM-3a** a **PM-3b** boli cieľové látky Bc. Martina Mičica, ktorý odštartoval tento projekt. Cieľom týchto látok bolo zistiť realizovateľnosť prípravy týchto intermediátov a zároveň zistiť vplyv substitúcie v pozícii 5 na THF kruhu na stereoselektivitu reakcie (**PM-3a**). **PM-3b** (vinyl skupina v pozícii 5) mal následne objaviť stabilitu **PM-3** molekúl, v prípade, že budú substituované pomocou stabilizujúcich skupín, ktoré môžu umožniť jednoduchú otvárateľnosť hemiacetalového kruhu. Táto práca sa zamerala na ďalšie dva intermediáty, ktoré mali ohodnotiť vplyv substitúcie v pozícii 4 na THF kruhu (**PM-3c**) a ten porovnať s nesubstituovaným intermediátom (**PM-3d**).

2.2.1 Príprava **PM-3c** a **PM-3d**

Príprava cieľových PM molekúl prebieha v dvoch fázach, a to *Build* a *Couple*. Stavebné bloky pre tieto fázy by mali byť ľahko dostupné, v ideálnom prípade komerčne dostupné. Pre cieľové intermediáty **PM-3c** a **PM-3d** sme sa rozhodli vychádzať z nenasýtených alkoholov **14** a **15**, ktoré sú komerčne dostupné. Predpokladali sme, že ich transformácia na laktóny **16** a **17** bude ľahká a bude prebiehať s vysokými výťažkami a stereospecificitou, pretože je tento postup už popísaný v literatúre.³³⁻³⁵ Druhým kľúčovým intermediátom pre *Couple* krok je potom, že z komerčne dobre dostupnej látky BT-metylsulfidu **18**, pripravíme BT-sulfón **19**. Sulfid **18** sa v jednom kroku oxiduje na sulfón **19**, alternatívne je možné vychádzať z príslušného disulfidu **20**, ktorý by sa previedol na sulfinovú soľ a následne metyloval na požadovaný BT-sulfón **19** (**Obr. 11**).

Takto pripravené stavebné bloky sa následne využili v ďalšej fáze – *Couple*. BT-sulfón **19** obsahuje v polohe α od sulfónu ľahko deprotonovateľné vodíky za pomoci silnej bázy (napr. KHMDS). Takto vytvorený nukleofil atakuje elektrofilný uhlík karbonylu v laktónovom kruhu. V kroku *Couple* by teda mali reagovať nasyntetizované laktóny **16** a **17** s α -metylovaným BT-sulfónom **19** za vzniku cieľových pluripotentných molekúl **PM-3c** a **PM-3d**.



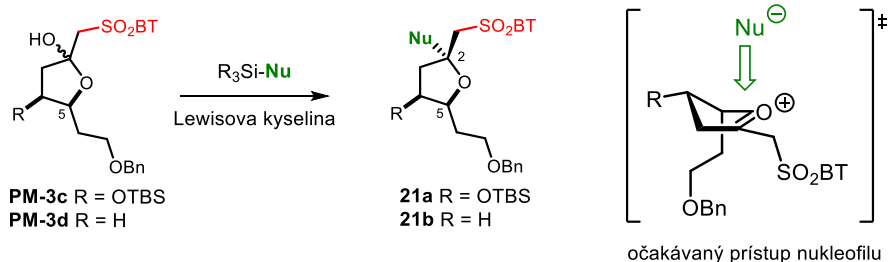
Obr. 11: Príprava **PM-3c** a **PM-3d**, fáza *Build* a *Couple*

Syntéza **PM-3c,d**, ktorá vychádza z nenasýtených alkoholov **14** a **15**, vyžaduje niekoľko stupňovú syntézu, čo v kontexte divergentne-orientovanej syntézy je zdĺhavé a neefektívne. Preto treba poznamenať, že tento typ laktónov (prekurzor **PM-3c,d**) je vybraný len zo študijných účelov, kde hlavnými dôvodmi bolo: zaistiť vyššiu molekulovú hmotnosť intermediátov (z praktických dôvodov) a prítomnosť UV/VIS aktívnej skupiny (jednoduchšia TLC detekcia). V konečnom dôsledku predpokladáme, že tieto laktóny bude možné generovať z furfurylkoholu, ktorý je ľahko získateľný z biomasy.³⁶ Tento prístup má obrovskú výhodu, pretože je založený na využití obnoviteľného zdroja.

2.2.2 Očakávaná reaktivita **PM-3c** a **PM-3d**, *Pair* fáza

Hlavné využitie a sila **PM-3c** a **PM-3d** je samozrejme v *Pair* fáze DOS. Predpokladali sme, že hlavná a prvotná diverzita bude závislá na využití hemiacetalového atómu uhlíku (C₂). Náš hlavný záujem je v tomto prípade zameraný na využitie silanov, alyltrimetylsilan (allyl-TMS) a trietylsilan (TESH), ako nukleofilov. Hemiacetal tak mal byť *in situ* transformovaný na odpovedajúci oxóniový kation, ktorý by v prítomnosti nukleofilu podľahol nukleofilnej adícii, napr. s TESH (**Schéma 1a**). Prítomnosť stereogénneho centra v pozícii C₅ (**PM-3d**) alebo dvoch centier (**PM-3c**) má potom samozrejme vplyv na trajektóriu prístupu nukleofilu. Očakávame teda, že cieľové deriváty **21** budú generované s vysokou stereoselektivitou.³⁷⁻³⁹ Podobne ďalej plánujeme využiť i ďalšie nukleofily za vzniku rôznych produktov (**Schéma 1b**).

A. Reakcia hemiacetalu v prítomnosti Lewisovej kyseliny



B. Možné typy produktov generované v závislosti na použítom nukleofilu

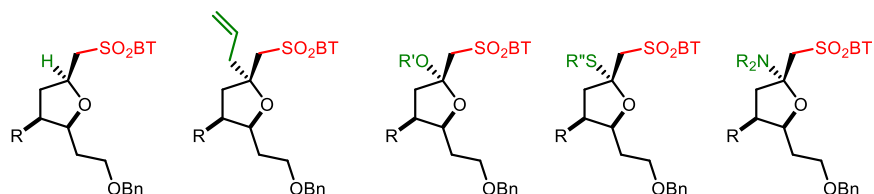
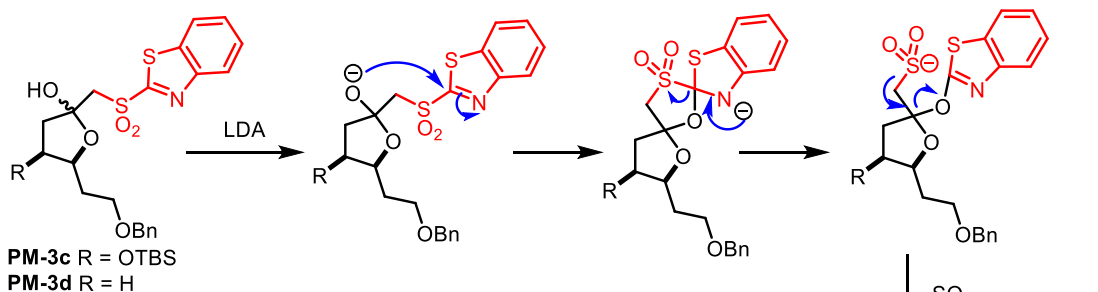


Schéma 1: Reakcie **PM-3c** a **d** s nukleofilom v prítomnosti Lewisovej kyseliny – selektivita a možné typy produktov

Ďalej sme predpokladali, že **PM-3c,d** môžu byť v prítomnosti silných nenukleofilných báz (DBU, LDA) transformované na énoľ-étery **22** (**Schéma 2a**), ktoré môžu byť následne využité, napr. pri adično-cyklizačných reakciách^{40,41} Tento typ látok by následne mohol byť využitý pri tvorbe napr. spirocyklických zlúčenín (**Schéma 2b**).

A. Transformácia PM-3 na énoľ-éter 22



B. Možné využitie énoľ-éterov

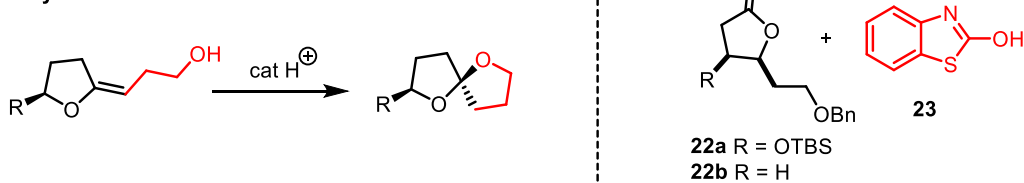


Schéma 2: Smilesov prešmyk a vznik énoľ-éteru **22** a jeho využitie pri syntéze spirocyklov

Látky **22** môžeme ďalej ľahko ochrániť napr. pomocou vodíku za katalýzy vhodného kovu (Pd/C) a vzniknutý alkohol oxidovať pomocou PCC alebo DMP na aldehyd. Pripravený aldehyd môže ďalej reagovať ako elektrofil, napríklad

s organokovovými zlúčeninami.⁴² Alkohol je možné taktiež eliminovať na terminálny alkén **24** (vznik **PM-3b**). Alkén **24** potom po aktivácii acetalu na allyl (prípadne allyl alkohol) poskytne diény **25a,b**, ktoré je možné ďalej transformovať pomocou intramolekulárnej metatézy (*RCM* – ring-closure metathesis) na bicyklické zlúčeniny **26a,b** (Schéma 3).^{43,44}

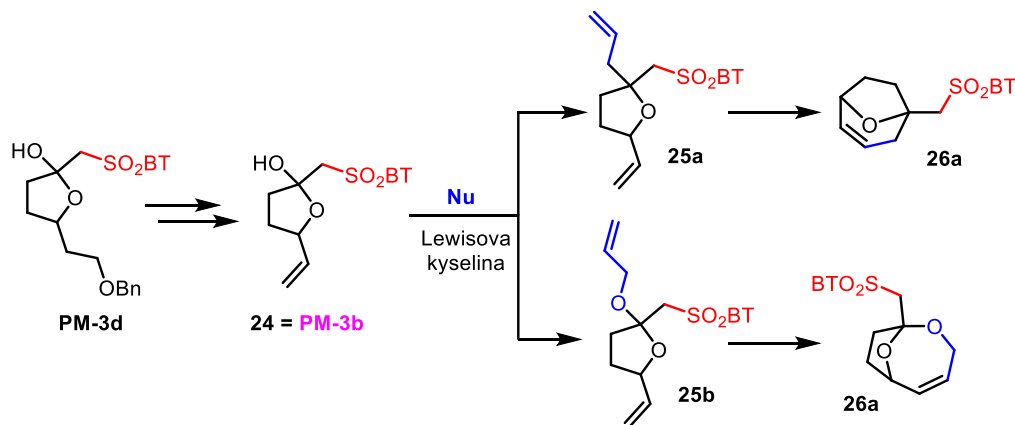


Schéma 3: Modifikácia **PM-3d** v kontexte štruktúrálnej diverzity

Obecné použitie **PM-3c** a ďalších nukleofilov (napr. allylalkohol) značne zvyšuje počet ďalších, štruktúrne rozdielných molekúl, pripravených v *Pair* fáze. V spomínanom prípade by sme dostali z **PM-3c** derivát **27**, ktorý následne môže reagovať v cross metatéze za vzniku látky **28** (Schéma 4). Nasledujúca annulácia (Michaelova adícia) by potom poskytla spirocyklus **29**.

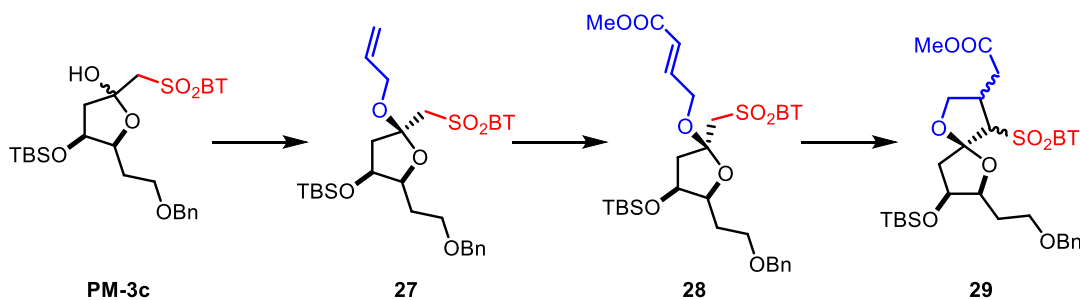


Schéma 4: Transformácia **PM-3c** na vysoko substituovaný spirocyklus **29**

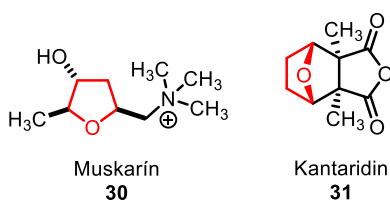
Samozrejme, že práve navrhnuté transformácie, resp. produkty týchto transformácií, ktoré môžeme získať z **PM-3**, tvoria len zlomok možností, ktoré **PM-3** intermediáty umožňujú. Ich úplný zoznam však nie je cieľom tejto práce. Cieľom tejto práce bolo ukázať, že **PM-3c,d** je možné pripraviť a ohodnotiť ich stabilitu.

2.3 Vybrané prírodné a biologicky aktívne látky s THF skeletom

Pri vytváraní tretej generácie pluripotentných molekúl **PM-3** sme sa úmyselne inšpirovali špecifickými prírodnými látkami – makrolidy.³² Preto je v týchto molekulách zakomponovaný ako kľúčový štruktúrny motív – THF cyklus. Molekuly obsahujúce THF motív sa v prírode vyskytujú ako v rastlinách, tak aj v živočíšnej ríši (napr. chrobáky), huby, plesne atď. Mnoho z nich má napríklad antimikrobiálne, antimykotické alebo protinádorové účinky, avšak niektoré sú i silné jedy.

Veľmi známy jednoduchý prírodný THF derivát je muskarín **30** (**Obr. 12**), ktorý sa typicky nachádza napríklad v muchotrávke červenej (*Amanita muscaria*). Tento jedovatý alkaloid sa viaže, podobne ako acetylcholín, na muskarínový acetylcholinový-receptor, avšak na rozdiel od spomínaného acetylcholínu sa muskarín neodštiepuje.⁴⁵ Otrava sa môže prejaviť stratou vedomia, zvracaním, sťaženým dýchaním, v najhorších prípadoch zástavou dýchania alebo zlyhaním srdca.

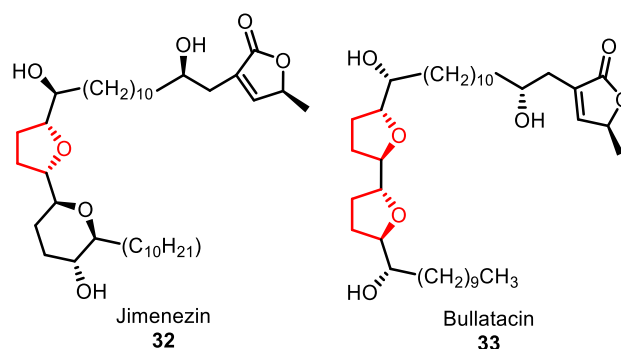
Chrobák Pľuzgiernik lekársky (*Lytta vesicatoria*), známy tiež ako španielska muška, má na svojom povrchu tela jedovatý terpenoid kantaridin **31** (**Obr. 12**). Pri styku s touto látkou dochádza k pľuzgierom, po požití vo veľkom množstve môže aj poškodiť tráviacu sústavu či spôsobiť kolaps srdca a obličiek. Kedysi sa tento chrobák využíval ako afrodiziakum, avšak kvôli množstvu nepriaznivých vedľajších efektov sa od neho upustilo.^{46,47}



Obr. 12: Štruktúry vybraných prírodných jedovatých látok obsahujúce THF kruh– Muskarín **30**
a Kantaridin **31**

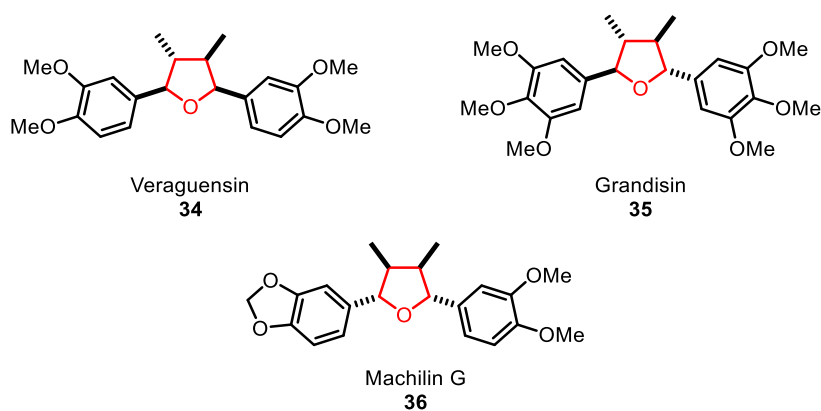
Dvojkľúčoliové rastliny čeľade anonovité (*Annonaceae*) obsahujú obsiahlu skupinu látok, nazývaných obecné acetogeníny (**Obr. 13**). Acetogeníny sa vyskytujú najčastejšie v C₃₂ a C₃₄ mastných kyselinách s terminálnym γ -laktónom. V typickej dlhej lineárnej štruktúre sú tak husto zastúpené rôzne funkčné skupiny ako napríklad hydroxylová, karbonylová⁴⁸, epoxidová⁴⁹, rôznych počtov THF a THP^{50,51} (tetrahydropyran) kruhov, a taktiež násobné⁵² a trojité väzby. Táto skupina doposiaľ obsahuje viac ako 400

izolovaných a identifikovateľných zlúčenín.⁵³ Acetogeniny majú širokú škálu biologických vlastností od antiparazitických a antimikrobiálnych, až po protinádorových.^{54,55} Na druhej strane, extrakty z rastlín obsahujúce acetogeniny sú podozrivé na neurotoxicitu.⁵⁶⁻⁵⁸



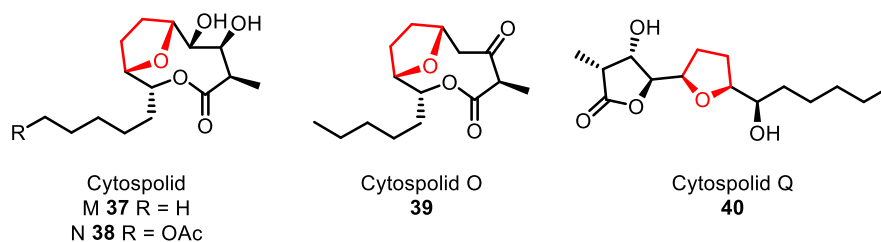
Obr. 13: Vybrané príklady acetogeninov – Jimenezin **32** a Bullatacin **33**

Ďalšou skupinou THF derivátov sú THF lignany izolované z rôznych tropických rastlín v Južnej Amerike. Extrakty týchto rastlín sú bohaté na tento typ lignanov. Ich základnou štruktúrou je 2,3-dimetyltetrahydrofuran, substituovaný v polohách 1,4 rôznymi aromatickými skupinami. Tieto zlúčeniny majú vysokú biologickú aktivitu voči parazitu *Trypanosoma cruzi*.⁵⁹⁻⁶¹ Tento parazitický prvok sa vyskytuje najmä v strednej a južnej Amerike. Spôsobuje Chagasovu chorobu, ktorá napáda najmä srdce, tráviacu sústavu, mozok a oči. Očkovanie na túto chorobu, žiaľ, zatiaľ neexistuje a je možné sa na ňu liečiť len v jej počiatocnom štádiu. Lignany **34-36** (**Obr. 14**) boli taktiež testované voči *Leishmania amazonensis*, avšak voči tomuto parazitu vykazovali omnoho nižšiu aktivitu, než voči *T. cruzi*.^{61,62}



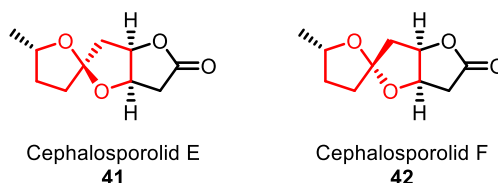
Obr. 14: Vybrané neolignany s biologickou aktivitou voči parazitu *Trypanosoma cruzi*

Sekundárne metabolity, cytospolidy sa nachádzajú v hubách rodu *Cytospora*, ktoré napádajú zelené kríky. Tieto prírodné látky patria do skupiny monocyklických alebo bicyklických makrolidov. Vo svojej štruktúre tieto látky obsahujú 10-členný laktón (okrem cytospolidu Q). Bicyklické deriváty obsahujú i THF premostenie. Všetky cytospolidy A-Q a ich syntetické deriváty vykazujú biologickú aktivitu voči rakovinovým bunkám.^{63,64} Cytospolid M (**37**), N (**38**) a γ -laktón cytospolid Q (**39**) majú zvýšenú biologickú aktivitu voči bunkám ľudského karcinómu pľúc (A549 bunky).⁶⁵



Obr. 15: Vybrané príklady cytospolidov obsahujúce THF kruh

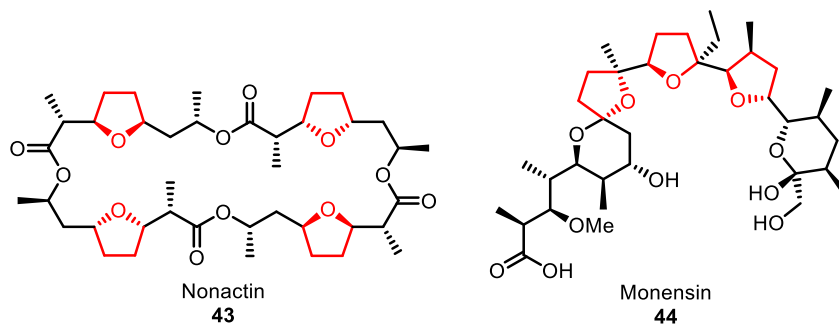
Huby rodu *Cephalosporium aphidicola* produkujú cephalosporolidy – spiroketaly s laktónovým kruhom. Mnoho z týchto prírodných zlúčenín má protizápalové účinky. Cephalosporolid E (**41**) a F (**42**) vykazujú selektívnu antimikrobiálnu aktivitu voči gram-pozitívnym baktériám a hubám.^{66,67}



Obr. 16: Vybrané príklady cephalosporolidov s mikrobiálnou aktivitou

Baktérie rodu *Streptomyces griseus* produkujú veľké množstvo makrocyklických antibiotík. Veľký význam má práve polyéterové antibiotikum nonactin **43**, ktorý má účinné antibakteriálne a protirakovinové účinky.⁶⁸ Nonactin je nielen dôležitý pre svoju biologickú aktivitu, ale aj pre jeho schopnosť viazať kationy alkalických kovov, napríklad K^+ , Na^+ alebo aj NH_4^+ .⁶⁹ Ďalší príklad polyéterového antibiotika je napríklad monensin **44**, vyizolovaný z baktérie rodu *Streptomyces cinnamomensis*. Táto látka má tiež zaujímavé antibakteriálne a antimikrobiálne účinky.⁷⁰ Podobne ako nonactin, tak i monensin má schopnosť naviazať kationy kovov (Na^+ , K^+ , Ag^+).⁷¹ Predpokladá sa, že

práve kvôli tejto vlastnosti viazať a transportovať katióny cez membrány buniek, majú nonactin a monensin tak účinné antibakteriálne vlastnosti.⁷²



Obr. 17: Polyéterové antibiotiká – nonactin 43 a monensin 44

3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

Nasledujúca kapitola je rozdelená do štyroch hlavných častí. Na začiatku je v stručnosti popísaná retrosyntetická analýza (3.1). V druhej časti sú popísané reakcie a experimenty na prípravu stavebných blokov – fáza *Build* (3.2), v druhej časti syntéza pluripotentných intermediátov – fáza *Couple* (3.3). Posledná časť sa zaoberá modifikačnými reakciami pripravených PM derivátov – fáza *Pair* (3.4).

3.1 Retrosyntéza vedená k PM-3c a PM-3d

Našu budúcu chemickú knižnicu založenú na THF derivátoch sme celkovo konštituovali na intermediátoch **PM-3c** a **PM-3d**. Tieto molekuly boli získané (*Couple*) z benzotiazol sulfónu **19** a laktónov **16** a **17**. (**Schéma 5**). Jednotlivé laktóny potom budú pripravené intramolekulárnou cyklizáciou diolu **45** (laktón **16**) a alkoholu **46** (laktón **17**). Diol **45** je možné pripraviť dihydroxyláciou olefinu **47**, ktorý sa získa modifikovanou Knoevenagelovou kondenzáciou aldehydu **48** s monometyl malonátom **49**. Alkohol **46** je možné potom získať otvorením epoxidu **50**. Tento typ retrosyntézy bol zvolený z dôvodu ľahkého prístupu ku kľúčovým intermediátom **50** a **45** v opticky obohatenej forme (Sharplessova epoxidácia⁷³ a dihydroxylácia⁷⁴).

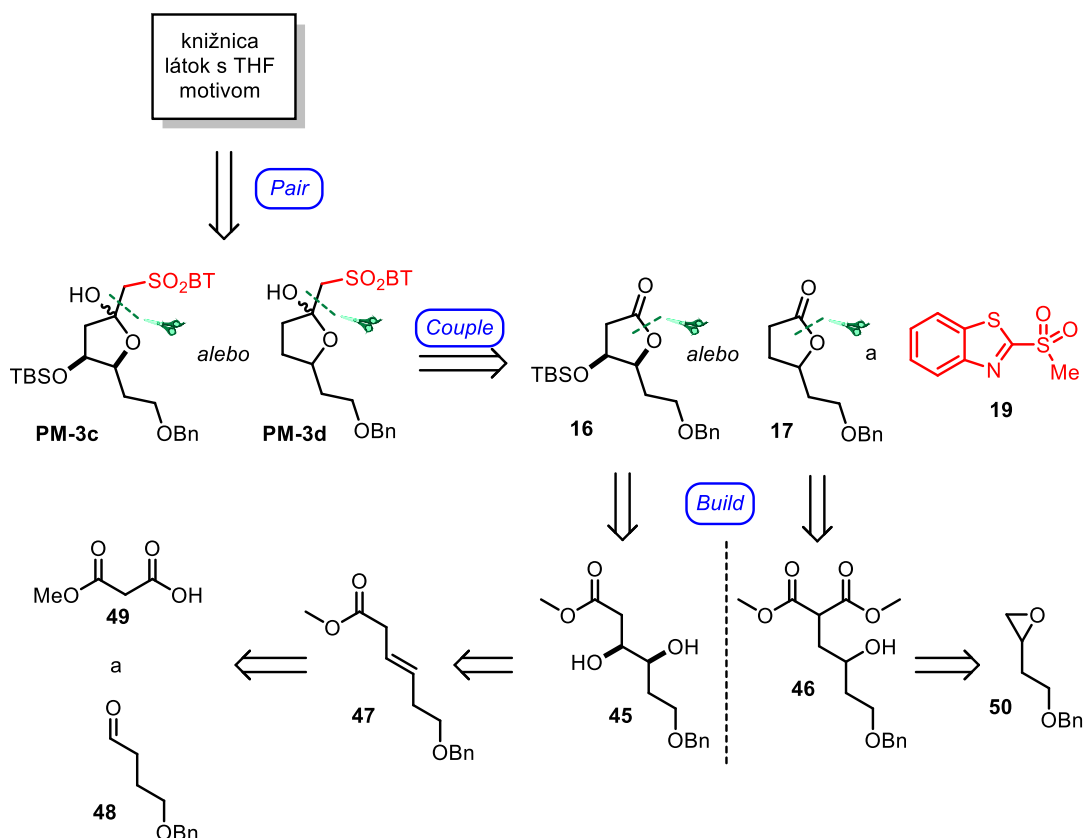


Schéma 5: Retrosynetická analýza nášho prístupu ku knižnici konštituovanej okolo THF fragmentov

3.2 Príprava stavebných blokov pre syntézu PM-3c a PM-3d

3.2.1 Príprava laktónu 16

Syntéza laktónu **16** vychádzala z komerčne dostupného alkoholu 4-pentén-1-ol **14** (Schéma 6). Voľná OH skupina tohto alkoholu sa kvôli ďalším krokom ochránila benzylovou skupinou za vzniku éteru **51**. Následne je olefín **51** podrobený Lemieux-Johnson oxidatívnejmu štiepeniu ($K_2OsO_4 \cdot 2H_2O$ a $NaIO_4$).⁷⁵ Oproti štandardnému protokolu sme do reakčnej zmesi pridali 2,6-lutidín,⁷⁶ aby sme zabránili možným vedľajším produktom (vedľajšia reakcia diolu s OsO_4 za vzniku hydroxyketónu). Za týchto podmienok, po asi 4 hodinách odreagovala všetka východisková látka za vzniku aldehydu **48** s výťažkom 66% (po dvoch krokoch).

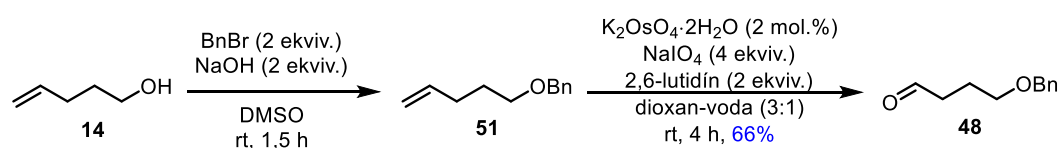


Schéma 6: Príprava aldehydu **48**

Po príprave aldehydu **48** sa ďalší postup inšpiroval literatúrou, v ktorej bol pripravený laktón **16** získaný z rovnakého aldehydu.³⁵ Aldehyd **48** tak reagoval za modifikovaných Knoevenagelových podmienok s metylesterom kyseliny malonovej **49** za vzniku cieľového (*E*)- β,γ -nenasýteného metylesteru **47** vo výťažku 50% (Schéma 7). Spolu s očakávaným produktom došlo taktiež k tvorbe vedľajšieho produktu (*E*)- α,β -nenasýteného metylesteru **52** („klasický“ produkt Knoevenagelovej kondenzácie). Pod pojmom „modifikovaná“ Knoevenagelova kondenzácia sa rozumie použitie kombinácie monometylesteru kys. malonovej s Et₃N.⁷⁷ Za týchto podmienok totižto dochádza nielen ku kondenzácii, ale následne taktiež k dekonjugácii a migrácii násobnej väzby.

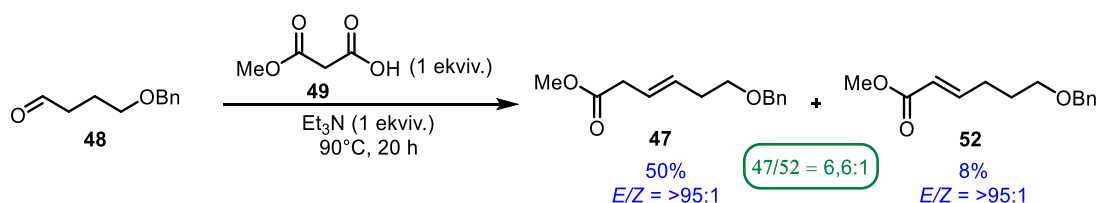


Schéma 7: Schéma prípravy esteru **47** a vedľajšieho produktu **52**

V reakčnej zmesi tak dochádza nielen k tvorbe α,β -nenasýteného esteru **52** (8%), ale predovšetkým k tvorbe β,γ -nenasýteného esteru **47** (50%). Oba produkty sú prítomné výhradne ako (*E*)-izoméry ((*Z*)-izomér nepozorovaný), v pomere **47:52** = 6.6:1. Pomer produktov bol stanovený pomocou ¹H NMR spektroskopie, na základe analýzy surovej reakčnej zmesi. Ako relevantné signály pre analýzu boli vybrané dva singlety patriace vodíkom CH₂ benzylovej skupiny (posuny 4.51 a 4.50 ppm, baseline separácia pík). *E/Z* konfigurácia bola priradená na základe štiepiacej konštanty CH vodíkov násobnej väzby (*J* = 15.7 a 15.8 Hz). Takáto veľká interakčná konštantka potvrdzuje (*E*-) konfiguráciu násobnej väzby. Oba izoméry mali zhodné *R_f*, a preto i po prečistení surového produktu na chromatografickej kolóne, eluent obsahoval oba estery v zhodnom pomere ako pred čistením. Táto zmes potom bola použitá v ďalšom kroku.

Navrhnutý mechanizmus modifikovanej Knoevenagelovej reakcie je v Schéma 8. Monometylester **49**, ktorý v prítomnosti 1 ekvivalentu Et₃N podlieha acidobázickej reakcii za vzniku soli **A**. Tvorba tohto produktu je samozrejme neproduktívna, ale v reakčnej zmesi v malom množstve vzniká i enolát **B** (rovnováha), ktorý je samozrejme prítomný vo svojej pravdepodobnejšej rezonančnej štruktúre **C**. Z dôvodov absencie nadbytku bázy, je následne enolát **C** pravdepodobne prítomný hlavne v podobe

cyklického intermediátu **C**₁. Adícia **C**₁ na aldehyd **48** poskytne adukt **D**, ktorý po následnom transferu protónu H⁺ pomocou prítomnej bázy (Et₃N) poskytne intermediát **F**. Intermediát **F** podľahne *anti*-eliminácii, za vzniku intermediátu **G**, ktorý následne dekarboxyluje za vzniku enolátu **H**. Enolát **H** potom môže byť reprotonovaný na uhlíku α (*cesta A*), resp. γ (*cesta B*). Z dôvodu blízkosti (karboxylát Et₃N⁺-H) je potom preferovaná α pozícia (kinetický produkt). Pokiaľ by sa použila stéricky náročnejšia báza, γ-protonácia by prevládala.

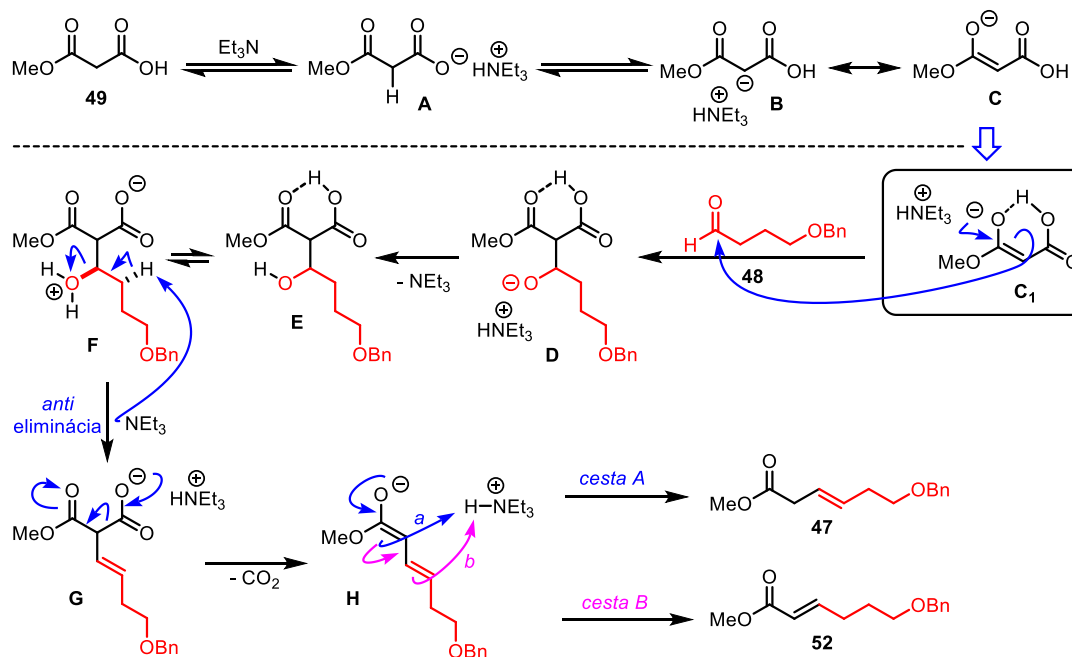


Schéma 8: Schéma reakčného mechanizmu modifikovanej Knoevenagelovej reakcie – príprava esterov **47** a **52**

Následne sa modifikovala násobná väzba, a to pomocou UpJohn dihydroxylácie s využitím 4-metylmorfolín *N*-oxidu (NMO), ako oxidačného činidla pre Os^{VI} → Os^{VIII}. Namiesto OsO₄ bol využitý stabilnejší K₂OsO₄·2H₂O ako zdroj Os^{VIII}.⁷⁸ Aby reakcia prebiehala v čo najlepšom výťažku, pridali sa i 3 ekvivalenty kyseliny citrónovej. Kyselina citrónová má v tejto reakcii dve role. Prvá spočíva v neutralizácii vznikajúceho 4-metylmorfolínu a udržuje tak pH reakčnej zmesi v optimálnom rozsahu pH (pH ~ 6). Druhým dôvodom je potom uľahčenie hydrolýzy Os^{VI} z 5-členného kruhu vzniknutého po dihydroxylácii olefinu. Rýchlejšie uvoľnenie Os^{VI} do roztoku tak urýchľuje priebeh celkovej reakcie. Taktiež, kyselina citrónová funguje ako ligand pre osmium, udržuje aktívnu Os^{VI} formu stabilizovaním proti disproportionácii na nerozpustné Os^{VIII} a Os^{IV} formy.⁷⁹ Za týchto podmienok, po 12 hodinách za laboratórnej teploty vznikol

syn-3,4-diol **45** o izolovanom výťažku 83% (Schéma 9). Keďže východisková látka bola zmesou esterov **47** a **51**, v malom množstve vznikal aj α,β -diol **53** (detekcia v ^1H NMR spektru surovej reakčnej zmesi).

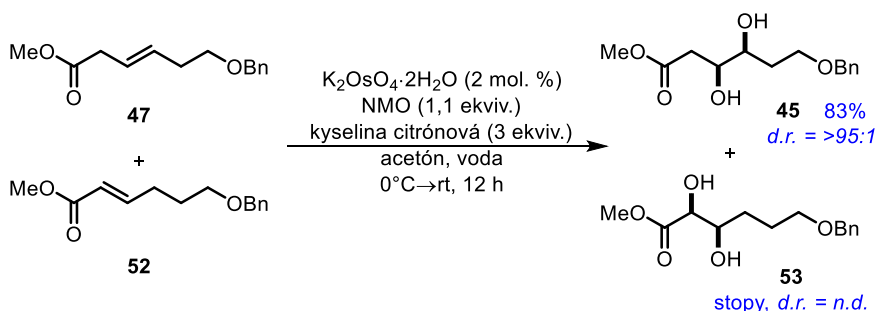


Schéma 9: Schéma prípravy diolu **45** pomocou UpJohn dihydroxylácie

Pripravený ester **45** môže podliehať cyklizácii na laktón. Táto reakcia je kineticky riadená a vzniká prednostne 5-členný laktón. Odpovedajúci 4-členný cyklus síce teoreticky môže vzniknúť, ale za daných reakčných podmienok (K_2CO_3) by okamžite došlo k reakcii s práve uvoľneným MeO^-K^+ a vznikala by východisková látka. Ester **45** sa ponechal reagovať v CH_2Cl_2 s 3,5 ekvivalentami K_2CO_3 pri laboratórnej teplote po dobu 22 hodín (Schéma 10). V reakčnej zmesi sa z predchádzajúcej reakcie nachádzal aj ester **53**, ktorý mal OH skupiny v polohách α,β . Tento ester necyklizuje, resp. po reakcii okamžite dochádza k jeho metanolýze a tým pádom po reakcii ostáva nezmenený. To znamená, že tento vedľajší produkt je ľahko oddeliteľný pomocou chromatografie od žiadaného laktónu **54**. Výťažok reakcie bol 59%. Táto cyklizácia bola skúšaná aj v iných rozpúšťadlách, napr. v THF alebo v metanole, avšak po 24 hodinách reakcie neviedli k úplnej konverzii na produkt **54**.

Posledným krokom k príprave laktónu **16** je ochrana OH skupiny na laktónovom kruhu pomocou TBS (*tert*-butyldimetyl silyl) skupiny. Ochrana laktónu **54** sa najprv skúsila pomocou TBSCl a Et_3N v CH_2Cl_2 . Reakcia prebiehala príliš dlho (viac ako 24 h) a za nízkych výťažkov (10-30%). Preto sa v ďalšom pokuse pridal do reakcie aj 0,2 ekvív. DMAP, ale v reakčnej zmesi sa ešte stále nachádzal nechránený alkohol i po 24 hodinách reakcie (konverzia 70% podľa ^1H NMR). Ideálne podmienky ochrany nakoniec boli, keď sa ako báza použili 2 ekvív. imidazolu a 0,2 ekvív. DMAP v DCM (Schéma 10). Po prečistení na chromatografickej kolóne sa získal ochránený laktón **16**, vo výťažku 53%.

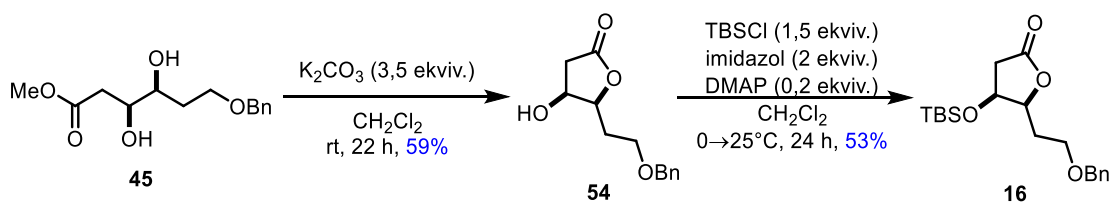


Schéma 10: Schéma prípravy ochráneného laktónu **16**

3.2.2 Príprava laktónu **17**

3.2.2.1 Príprava laktónu **17** inšpirovaná prístupom podľa laktónu **16**

Pri vývoji syntézy laktónu **16** sme sa rozhodli, že by sme mohli pripraviť **PM-3c** o jeden uhlík kratší v postrannom reťazci. Vychádzali sme teda z nenasýteného alkoholu **15** – 3-butén-1-ol. Syntéza bola zhodná so schémou uvedenou v predchádzajúcej kapitole (Schéma **6 a 7**). Najprv sme si pripravili benzylovaný éter **55**, ktorý sme následne transformovali na odpovedajúci aldehyd **56** (výťažok po dvoch krokoch 61%, Schéma **11**).

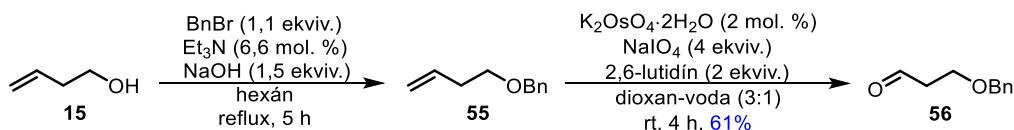


Schéma 11: Schéma prípravy aldehydu **56**

Po príprave aldehydu **56** nasledovala, rovnako ako pri príprave esteru **47**, modifikovaná Knoevenagelova reakcia s metylesterom kyseliny malonovej **49** (Schéma **12**). Prekvapivo, ale v tomto prípade cieľový metylester **57** nebol vôbec detekovaný a v reakčnej zmesi sa nachádzal iba ester **58**. A i ten vznikol len v nízkych výťažkoch (19%).

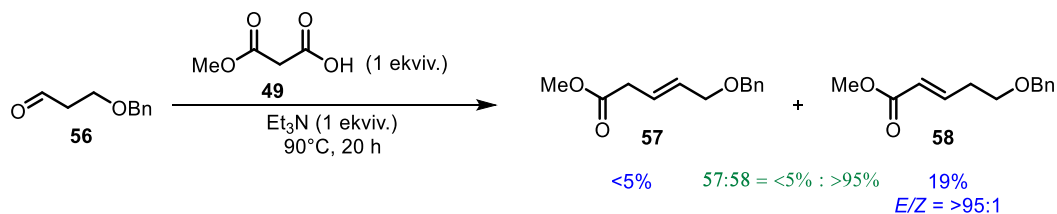


Schéma 12: Modifikovaná Knoevenagelova reakcia s aldehydom **56**

Toto prekvapivé pozorovanie pravdepodobne závisí na fakte, že pri reakcii dochádza k veľmi pomalej eliminácii molekuly vody z intermediátu **K** (Schéma **13**). Väzba atómu vodíku je totižto stabilizovaná protiväzbovým orbitálom benzyloxy

skupiny, a teda je omnoho menej labilný k deprotonácii. Et₃N ani nie je dostatočne silná báza k jej odštiepeniu. Táto benzyloxy skupina pravdepodobne hrá veľkú rolu i pri pozorovanej výlučnej γ -protonácii. Voľné elektrónové páry prítomné na atóme kyslíku pravdepodobne koordinujú H⁺ v Et₃N⁺-H, tým pádom γ -protonácia je uprednostňovaná nad α -protonáciou.

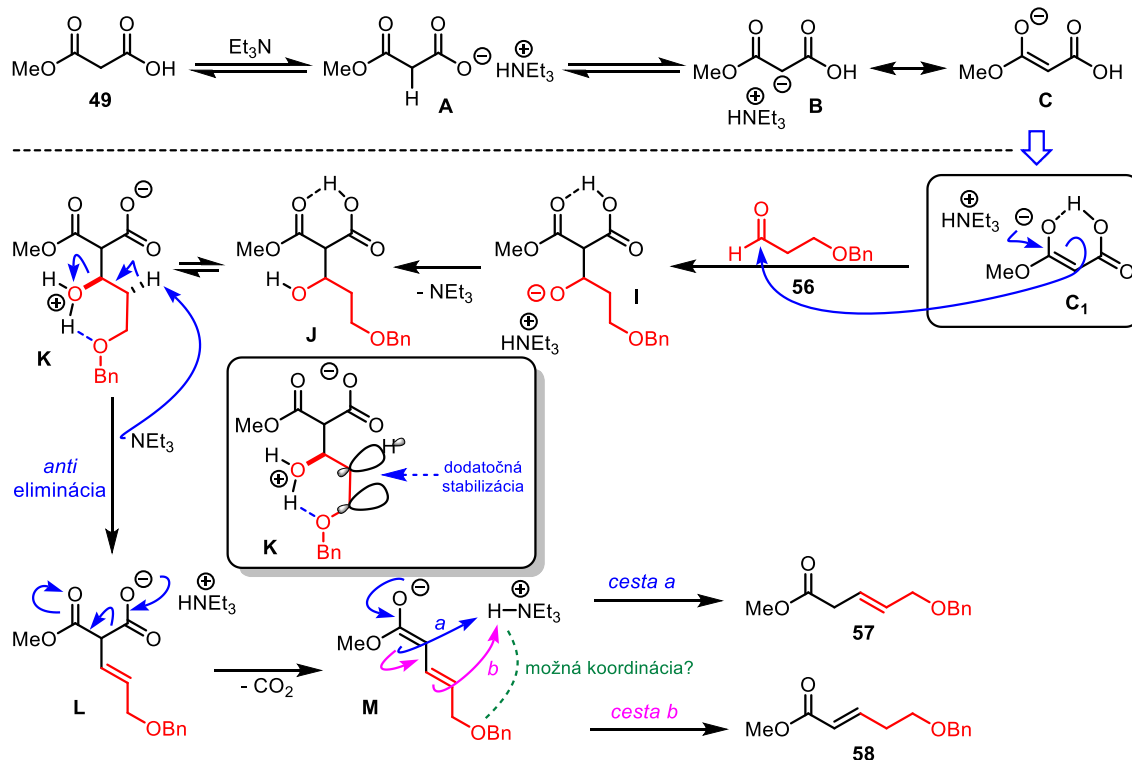


Schéma 13: Schéma reakčného mechanizmu modifikovanej Knoevenagelovej reakcie – príprava esterov **57** a **58**

3.2.2.2 Syntéza laktónu **17**

Syntéza laktónu **17** začala z už pripraveného benzylovaného alkoholu **55**. Jeho epoxidáciou pomocou *m*CPBA dala cieľový epoxid **50** v 75% izolovanom výťažku (Schéma 14).

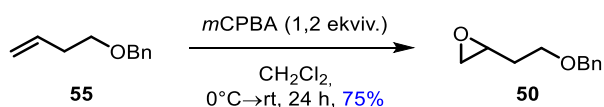


Schéma 14: Schéma prípravy epoxidu **50**

V ďalšom kroku, sa pomocou bázy metanoátu sodného a dimetylésteru kyseliny malonovej **59**, vytvoril C-nukleofil, ktorý následne atakoval epoxidový kruh v **50** na stéricky menej bránenom atóme uhlíku, za vzniku alkoholátu **46** (Schéma 15). Tento intermediát potom spontánne podliehal intramolekulárnej 5-exo-trig cyklizačnej reakcii za vzniku laktónu **60**. Laktón **60** bol izolovaný s výťažkom 44%. Pri tejto reakcii je potrebné poznamenať niekoľko dôležitých pozorovaní, dôležité pre ich ľahkú reprodukovateľnosť. (1) je potrebné používať čerstvo pripravený 1M roztok metanoátu sodného (pripravený rozpustením sodíka v suchom metanole). Vopred pripravený pevný metanoát sodný (komerčný alebo komerčný roztok metanoátu sodného v metanole) nie je vhodný, pretože reakcia potom prebiehala za veľmi nízkych výťažkov (10-20%). Ďalším dôležitým bodom (2) je poznatok, že reakcia musí prebiehať pri zvýšenej teplote (50°C). Pri nižších teplotách je otváranie epoxidu príliš pomalé.

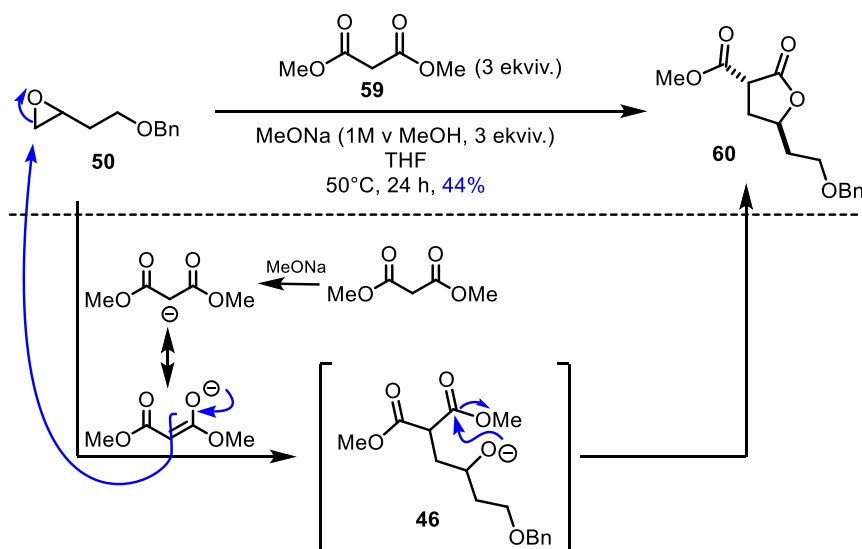


Schéma 15: Schéma mechanizmu vzniku estero laktónu **60** a jej mechanizmus

Posledným krokom syntézy laktónu **17** je odstránenie esterovej skupiny. Keďže v β -polohe od esteru sa nachádza karboxyl, ideálna reakcia je Krapchova dekarboxylácia (Schéma 16)⁸⁰. Reaguje tu NaCl v prostredí zmesi DMSO/voda, za vysokej teploty (160°C). Po 3 hodinách je reakcia hotová a po izolácii a čistení poskytne laktón **17** s výťažkom 73%. Z pohľadu mechanizmu najskôr reaguje chloridový anión s metylom esteru karboxylovej kyseliny (prebieha S_N2 reakcia). Vzniknutý karboxylát následne podlieha dekarboxylácii, ktorá je spôsobená vysokou teplotou a tvorbou stabilizovaného cyklického enolátu, ktorý je okamžite naprotonovaný vodou, nachádzajúcou sa v reakčnej zmesi. Značný vplyv na túto reakciu má pomer DMSO/voda. V prípade, že sa použil

pomer DMSO/voda = 28:1, podobný ako v literatúre⁸¹, reakcia prebehla bez problémov. Akonáhle sa zvýšilo množstvo vody na pomer DMSO/voda = 4:1, reakcia vôbec neprebehla. Dekarboxylácia taktiež funguje aj s inými soľami ako napríklad LiCl (výťažok 67%).

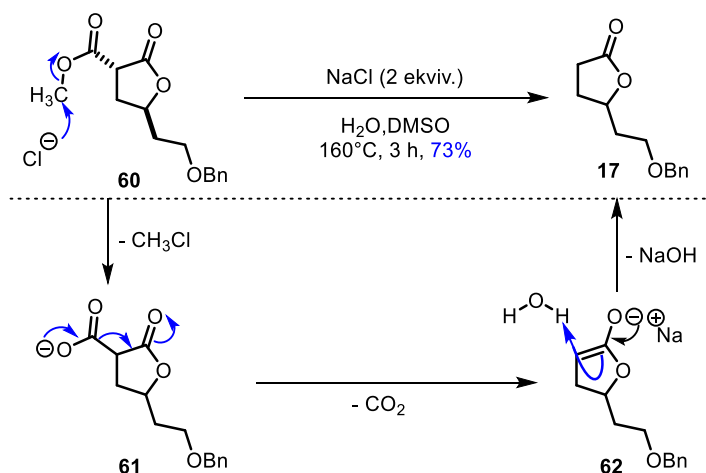


Schéma 16: Schéma prípravy laktónu **17** pomocou Krapchovej dekarboxylácie a jej mechanizmus

3.2.3 Príprava 2-(metylsulfonyl)benzo[d]tiazol **19**

Ako posledný zo stavebných blokov sa pripravil 2-(metylsulfonyl)benzo[d]tiazol **19** (BTSO₂Me). Príprava vychádzala z komerčne dostupného sulfidu **18**, ktorý sa oxidoval pomocou peroxidu vodíka za katalýzy (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O (Schéma 17). Po 16 hodinách zreagovala všetka východisková látka na sulfón **19**, takmer v kvantitatívnom výťažku (99%). Produkt mal vyhovujúcu čistotu, a teda nebola potreba ho ďalej čistiť na chromatografickej kolóne.

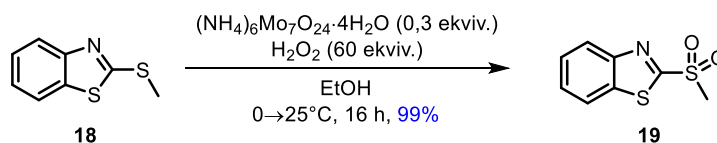


Schéma 17: Schéma prípravy sulfónu **19**

3.3 Príprava pluripotentných intermediátov PM-3c a PM-3d

Pripravené stavebné bloky, laktóny **16** a **17** a sulfón **19**, sa následne využili v ďalšom kroku divergentne orientovanej syntézy – *Couple* fáza. Najprv som sa zameral na prípravu **PM-3d** z laktónu **17** a až potom na **PM-3c**. Dôvodom tohto rozhodnutia bola ľahšia príprava východiskových látok pre **PM-3d** (laktón **17**).

3.3.1 Príprava PM-3d

Sulfón **19** obsahuje, v polohe α , ľahko odštiepiteľný kyslý vodík pomocou silnej bázy (Schéma 18). Táto báza musí byť zároveň nenukleofilná, aby nedošlo k rozkladu sulfónu **19**.²⁷ Ďalší nežiadúci vedľajší produkt reakcie by mohla byť autokondenzácia laktónu **17**, pretože pK_a vodíkov na α -uhlíku laktónu je ~ 22 - 25 .^[1] Po adícii by mohol vznikajúť adukt **63**, ktorý je v rovnováhe so svojou otvorenou formou **64**.

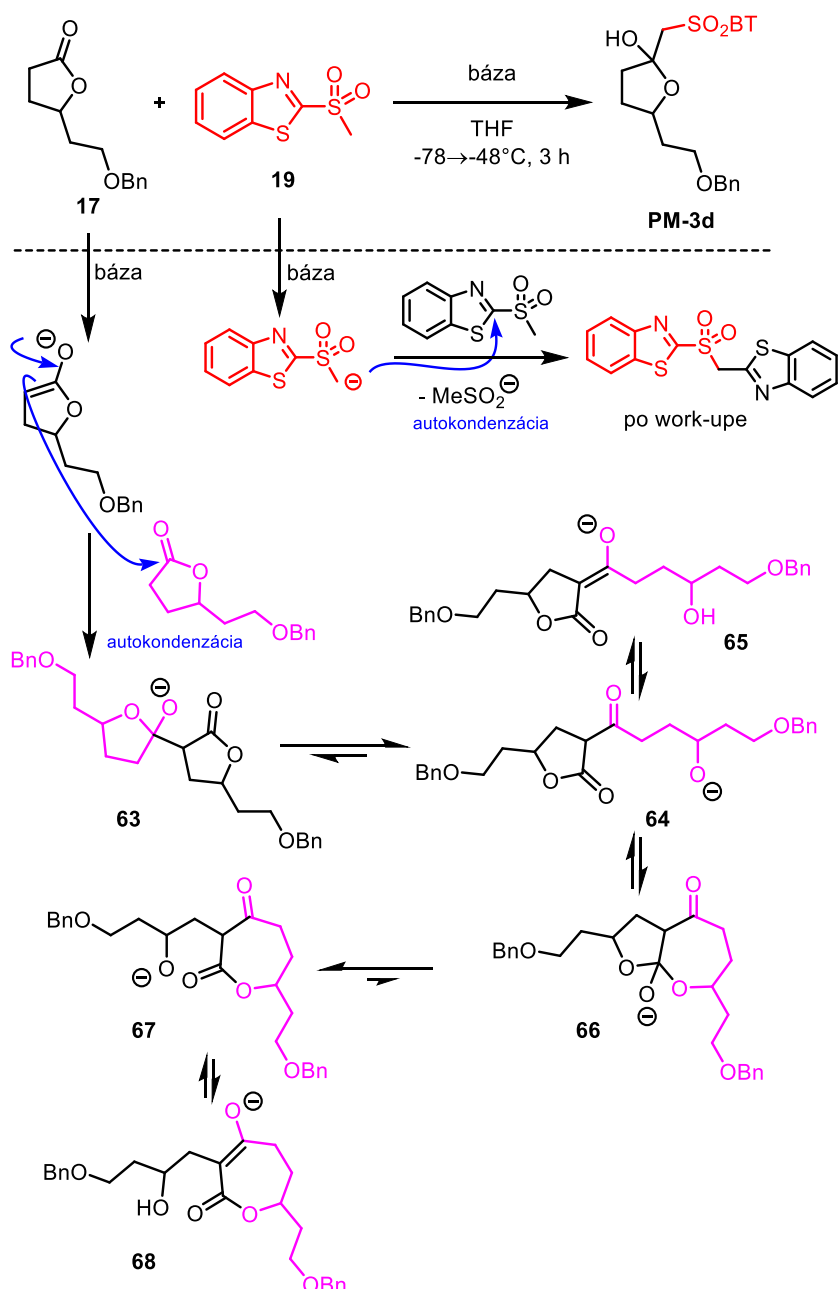


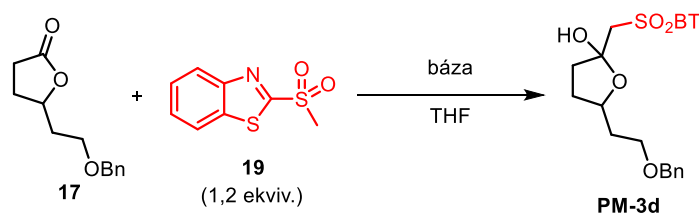
Schéma 18: Schéma prípravy **PM-3d** a očakávané nežiaduce vedľajšie reakcie laktónu **17** a sulfónu **19**

Intermediát **64** následne podlieha transportu protónu medzi alkoholátom a β -ketoesterom ($pK_a(\text{alkohol}):pK_a(\beta\text{-ketoester}) = \sim 17:\sim 11$) a generuje intermediát **65**, ktorý by mohol byť relatívne stabilný. Alternatívne by mohlo dôjsť k intramolekulárnej cyklizácii **64** na **66** (7-exo-trig) za vzniku bicyklického intermediátu. Tento môže práve podľať otvoreniu za vzniku intermediátu **67** resp. **68** (po transfere protónu).

Aby sa znížila pravdepodobnosť neželaných vedľajších reakcií, príprava **PM-3d** sa robila za nízkych reakčných teplôt a v prítomnosti LiHMDS a KHMDS ako bázy (nenukleofilné bázy). Výsledky optimalizácie adície sú zhrnuté v **Tabuľka 1**. Ako sa ukázalo, žiadaný produkt nebol detekovaný (pomocou ^1H NMR spektra surovej reakčnej zmesi) za žiadnych použitých podmienok, kde bol použitý LiHMDS ako báza (**Tabuľka 1**, riadky 1-6). O nič lepšie výsledky neboli dosiahnuté ani pri použití Lewisovej kyseliny ($\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, riadky 2,5 a 6). Reakcia bola ukončená (*quench*) buď prídavkom destilovanej vody (riadky 1-3), alebo nasýteného roztoku NH_4Cl (riadky 4-6). V druhom prípade bola reakčná zmes o niečo „čistejšia“ (menej komplexná zmes podľa ^1H NMR), avšak potrebný produkt **PM-3d** nebol detekovaný, ostatné vzniknuté produkty nebolo možné identifikovať. Konverzia laktónu **17** bola vo všetkých prípadoch kvantitatívna a vo všetkých prípadoch bolo vidieť signál východiskového sulfónu **19**.

Došli sme k záveru, že komplexná zmes produktov môže byť spôsobená nízkou nukleofilitou sulfónového aniónu a preto sme použili KHMDS ako bázu (riadky 7-12). Aj tu sa ukázalo, že work-up (spracovanie reakčnej zmesi) má značný vplyv na „odstránení“ niektorých vedľajších produktov. Taktiež sa prišlo na to, že adícia pri -78°C prebieha, ale veľmi pomaly. Nakoniec sa ukázalo, že reakcia najlepšie prebieha, keď po adícii pri -78°C sa reakčná zmes ponechá reagovať pri teplote -40°C (vnútorná teplota, -48°C vonkajšia teplota chladiacej zmesi). Za týchto podmienok je cieľový produkt **PM-3d** izolovaný v 54-62% (6 opakovaní).

Tabuľka 1: Tabuľka reakčných podmienok pri príprave pluripotentného intermediátu **PM-3d**

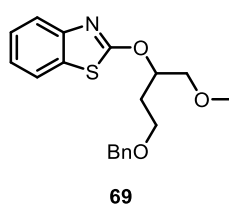


	Báza (2 ekviv.)	Aditívum BF ₃ ·Et ₂ O	Teplota ^{a)} [°C]	Quench ^{b)}	Výt'azok ^{c)} [%]	Poznámka
1	LiHMDS	-	-78 (3h)	H ₂ O pri RT	n.d.	neidentifikovateľná zmes
2	LiHMDS	1 ekviv.	-78 (3h)	H ₂ O pri RT	n.d.	neidentifikovateľná zmes
3	LiHMDS	-	-78 (2h) potom RT (12h)	H ₂ O pri RT	n.d.	neidentifikovateľná zmes
4	LiHMDS	-	-78 (3h)	nas. roztok NH ₄ Cl pri -78°C	n.d.	neidentifikovateľná zmes
5	LiHMDS	1 ekviv.	-78 (3h)	nas. roztok NH ₄ Cl pri -78°C	n.d.	neidentifikovateľná zmes
6	LiHMDS	1 ekviv.	-78 (2h) potom RT (12h)	nas. roztok NH ₄ Cl pri -78°C	n.d.	neidentifikovateľná zmes
7	KHMDS	-	-78 (3h)	H ₂ O pri -78°C	n.d.	komplexná zmes
8	KHMDS	-	-78 (2h) potom RT (12h)	H ₂ O pri RT	n.d.	komplexná zmes
9	KHMDS	1 ekviv.	-78 (3h)	H ₂ O pri -78°C	n.d.	komplexná zmes
10	KHMDS	1 ekviv.	-78 (3h)	nas. roztok NH ₄ Cl pri -78°C	Stopy ^{d)}	zmes látok
11	KHMDS	-	-78 (3h)	nas. roztok NH ₄ Cl pri -78°C	~10% ^{d)}	zmes látok
12	KHMDS	-	-78 (1h) potom -48 (2h)	nas. roztok NH ₄ Cl pri -48°C	54-62%	Vedľajší produkt 69 (22-25%)

^{a)} Reakcia realizovaná s využitím 0.22 mmol sulfónu **19**, 0.2 mmol laktónu **17**, 0.44 mmol báze v THF (0.1M voči laktónu **17**) za udanej teploty (externej) a po udaní dobu. ^{b)} Reakcia ukončená pridaním 20 ml daného roztoku pri danej teplote (externej). ^{c)} Izolovaný výt'azok, *n.d.* = nebol detekovaný (podľa ¹H NMR spektra surovej reakčnej zmesi).

^{d)} Určené na základe ¹H NMR spektra surovej reakčnej zmesi.

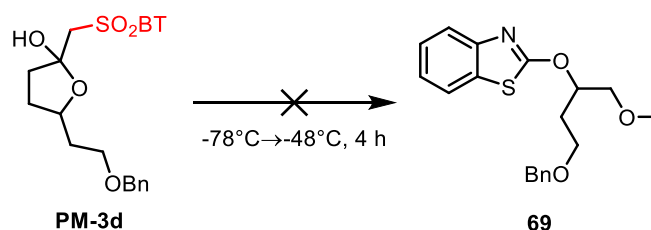
Pri týchto experimentoch vznikol v reakčnej zmesi ešte jeden nový produkt, neskôr identifikovaný ako látka **69** (**Obr. 18**). ^1H a ^{13}C NMR spektrá tohto vedľajšieho produktu nám naznačovali, že to nie je žiaden z očakávaných vedľajších produktov, a ani žiadna východisková látka. V spektrách boli prítomné signály, ktoré poukazovali na prítomnosť BT skupiny, lenže ďalšie signály boli „chudobné“ na kľúčové informácie. Preto sme zmerali 2D spektrá (COSY, HMBC a HSQC), tak i HRMS tejto neznámej látky. Následná analýza týchto spektier a signálov, ktoré boli prediskutované v spolupráci s Dr. Tomášom Pospíšilom (katedra Chemickej biológie), nám umožnila identifikovať danú látku ako éter **69** (**Obr. 18**).



Obr. 18: Štruktúra vedľajšieho produktu pri syntéze **PM-3d**

V tomto momente pred nami vysvitla otázka, ako a kedy sa tento produkt tvorí v reakčnej zmesi. Keďže do určitej miery nesie v sebe látka **69** časť štruktúry **PM-3d**, tak prvá hypotéza bola, že sa tvorí v reakčnej zmesi z **PM-3d** intermediátu a to, buď v priebehu reakcie (bázické prostredie) alebo až v okamihu work-upu (kyslé prostredie). Aby sme tento predpoklad potvrdili resp. vyvrátili, tak sa **PM-3d** nechal reagovať v prítomnosti rôznych Lewisových, Bronstedtových kyselín a báz (**Tabuľka 2**). Bohužiaľ, ani v jednom z testovaných prípadoch nebola tvorba produktu **69** pozorovaná. Vo všetkých prípadoch došlo k izolovaniu východiskovej látky (**PM-3d**).

Tabuľka 2: Transformácie intermediátu **PM-3d** v prítomnosti Lewisových a Bronstedtových kyselín a báz. Cieľom experimentov bolo zistiť, či látka **69** nevzniká z **PM-3d** pri reakcii alebo po jej ukončení.



	Reagent	Množstvo [ekviv]	Rozpúšťadlo	Poznámka ^{a)}
1	BF ₃ ·Et ₂ O	0,1	CH ₂ Cl ₂	n.r.
2	BF ₃ ·Et ₂ O	2	CH ₂ Cl ₂	n.r.
3	TMSOTf	0,1	CH ₂ Cl ₂	n.r.
4	TMSOTf	2	CH ₂ Cl ₂	n.r.
5	Sc(OTf) ₃	2	CH ₂ Cl ₂	n.r.
6 ^{b)}	HCl	20	Dioxán	n.r.
7 ^{c)}	HCl	20	EtOH	n.r.
8	KHMDS	0,1	THF	n.r.
9	KHMDS	0,5	THF	n.r.
10	KHMDS	1	THF	n.r.
11	KHMDS	2	THF	n.r.
12	KHMDS	3	THF	n.r.
13	KHMDS	2	CH ₂ Cl ₂	n.r.

^{a)} n.r. = žiadna reakcia nepozorovaná, len východisková látka detekovaná v ¹H NMR spektre surovej reakčnej zmesi. ^{b)} reakcia realizovaná za -10°C. ^{c)} reakcia realizovaná za -20°C.

Ďalšou hypotézou bolo, že vedľajší produkt **69** môže vznikáť, kvôli lokálnej vysokej koncentrácii sulfónu **19**, resp. jeho aniónu. Preto sa skúsila reakcia laktónu **17** so sulfónom **19** (Schéma 19), kde sa použil nadbytok sulfónu **19** (2,4 ekviv.) a KHMDS (4 ekviv.). I v tomto prípade bol pomer produktov **PM-3d/69** = 2,5:1. V tomto okamihu teda musíme konštatovať, že mechanizmus tvorby látky **69** z laktónu **17** a sulfónu **19** je neznámy. Žiaden z testovaných predpokladov nám neukázal kde, ako a prečo nám daný produkt vzniká. K väčšiemu vysvetleniu jeho tvorby by bolo asi potreba vykonať experiment s ¹³C značeným sulfónom **19**, aby sme mohli určiť kam (resp. či vôbec) sa metyl z **19** vo výslednej štruktúre **69** zabudováva.

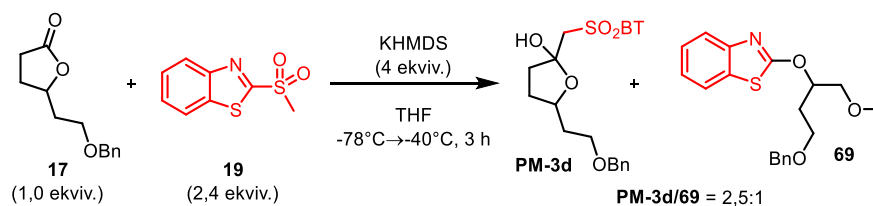
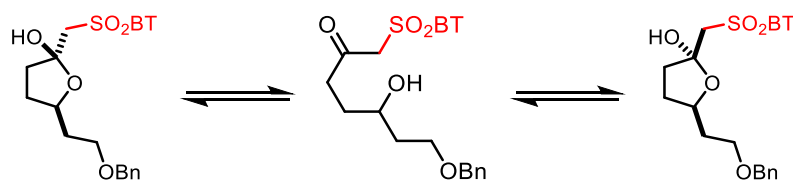


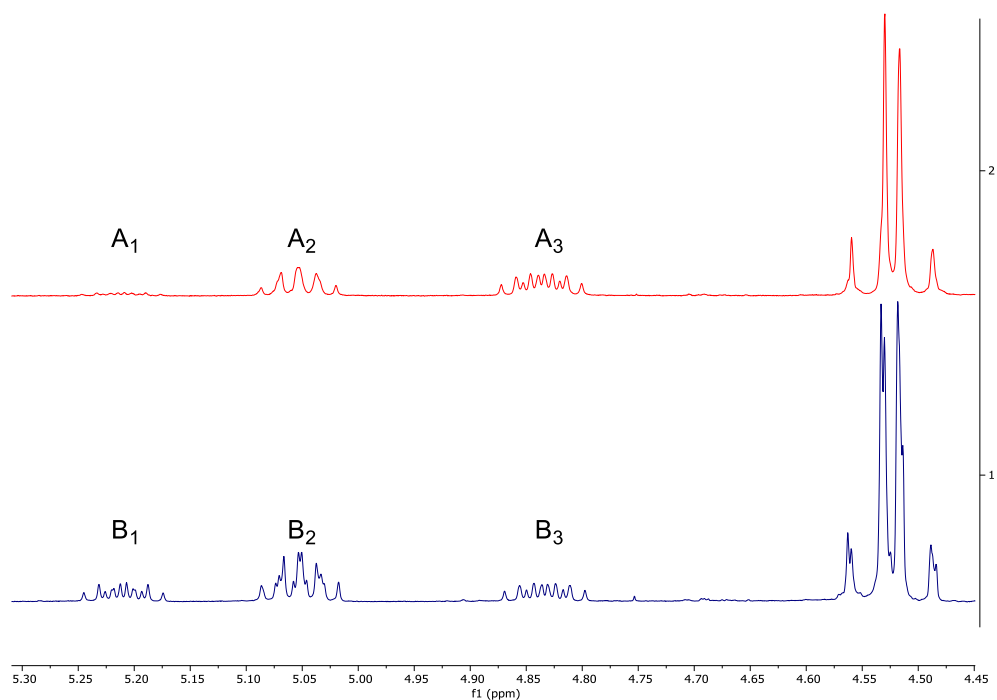
Schéma 19: Kontrolný experiment kondenzácie medzi sulfónom **19** a laktónom **17** realizovaný za veľkých prebytkov sulfónu a báze. Pomer získaný z ^1H NMR spektra meraním zo surovej reakčnej zmesi po ukončení reakcie.

V prípade **PM-3d** sme pozorovali ďalší zaujímavý úkaz, a to je ustanovovanie rovnováhy medzi opakovaným otváraním a zatváraním kruhu – epimerizácia (**Obr. 19**). Tento jav sme spozorovali, keď sme premeriavali ^1H NMR intermediátu **PM-3d** po troch dňoch, čo látka stála v NMR kvete v deuterovanom rozpúšťadle CDCl_3 .



Obr. 19: Pozorovaná epimerizácia intermediátu **PM-3d**

Porovnaním nameraných spektier sme spozorovali odlišnosti v niektorých signáloch, ktoré sú zvýraznené na **Obr. 20**. Tieto tri signály odpovedajú CH vodíku, nachádzajúcemu sa na kruhu. Červené spektrum patrí prvotnému meraniu látky **PM-3d**, modré spektrum patrí meraniu po troch dňoch. Porovnaním týchto spektier vidíme, že sa intenzita prvého multipletu značne zvýšila a intenzita zvyšných dvoch multipletov znížila. Taktiež, sa v spektre **PM-3d** po troch dňoch objavil aj signál vodíku (singlet) patriaci $-\text{OH}$ skupine, ktorý by mohol teoreticky patriť práve otvorenej forme intermediátu **PM-3d**. Zo zvedavosti sme premerali aj ^1H NMR pri teplote 40°C , či sa pomer intenzít nezmení, ale toto spektrum bolo identické s predchádzajúcim.



Obr. 20: Časť ^1H NMR spektier látky **PM-3d**. Červené spektrum odpovedá prvotnému meraniu (integrálny pomer signálov $A_1:A_2:A_3 = 1:3,3:3,8$). Modré spektrum popisuje meranie po troch dňoch (integrálny pomer signálov $B_1:B_2:B_3 = 1:2,3:1,2$).

3.3.2 Príprava **PM-3d**

Keďže sme našli najviac vhodné reakčné podmienky pre prípravu **PM-3d**, vrhli sme sa na prípravu intermediátu **PM-3c**. Pri príprave tohto aduktu sa využili najpriaznivejšie reakčné podmienky, identifikované pri príprave **PM-3d** (Tabuľka 1, riadok 12), tzn. použila sa báza KHMDS a reakcia prebiehala najprv pri teplote -78°C a následne pri teplote -48°C (Schéma 20). Po 4 hodinách reakcie sa v reakčnej zmesi už nenachádzala žiadna východisková látka (podľa TLC) a reakcia sa zastavila pridaním nasýteného roztoku NH_4Cl .

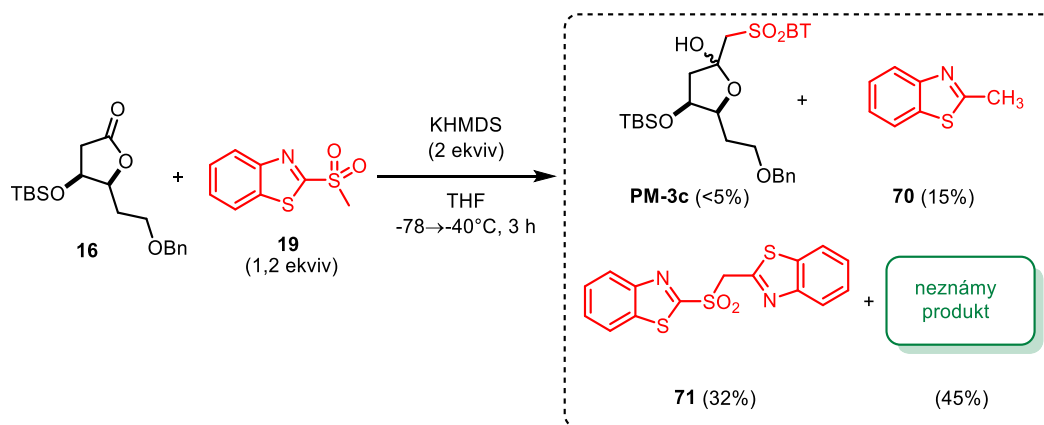


Schéma 20: Schéma reakcie, ktorá mala viesť k príprave pluripotentného intermediátu **PM-3c**

Po spracovaní reakcie sa reakčná zmes prečistila na chromatografickej kolóne a prekvapujúco sme z tejto zmesi vyizolovali 3 rôzne látky. Podľa ^1H a ^{13}C NMR a porovnaním s literatúrou sa jednalo o 2-metylbenzotiazol **70**,⁸² ďalej sa pozoroval dimér **71**²⁷ a nakoniec opäť neznáma látka (**Schéma 20**). Rovnako ako v predchádzajúcom prípade, sme zmerali 2D NMR (COSY, HMBC a HMQC) avšak v tomto prípade na základe zmeraných spektier sa nám (v spolupráci s Dr. Tomášom Pospíšilom) zatiaľ neznámu látku nepodarilo určiť. Čo je zo spektier ale jasné, neznáma štruktúra obsahuje tri BT skupiny, ale na druhej strane neobsahuje skupinu –OTBS. Čo bolo ale najviac prekvapujúce, cieľová látka **PM-3c** nebola vôbec detekovaná. Jedným z dôvodov môže byť veľká sterická náročnosť okolo laktónového karbonylu, ktorá zabraňuje účinnému ataku sulfónového aniónu na karbonyl.

Bohužiaľ, ako pri reakcii vzniká tento vedľajší neznámy produkt, taktiež akým spôsobom vzniká heterocyklus **70**, je v tomto okamihu záhadou a bude si vyžadovať ďalšie experimenty a skúmania. Ohľadom látky **70** špekulujeme, že by mohla vznikáť zo sulfónu **71**, avšak toto je len predpoklad a je potrebné ďalšie bádanie.

3.4 Modifikácia **PM-3c** – fáza *Pair*

Poslednou časťou našej práce je aplikácia **PM3c** a **PM-3d** v poslednej fáze DOS prístupu – *Pair*. Keďže príprava **PM-3c** sa nepodarila, v tejto fáze sa modifikoval len **PM-3d**. Najprv sme sa zamerali na využitie **PM-3d** ako substrátu u Lewisovými kyselinami katalyzovaných adícií nukleofilov na THF skelet (**Schéma 21**). V tomto prípade dôjde najskôr k reakcii hemiacetalovej –OH skupiny na **PM-3d** s Lewisovou

kyselinou a vznikne oxóniový intermediát **72**. Tento intermediát by mal byť veľmi reaktívny voči predloženým nukleofilom Et_3SiH (TESH) a alyltrimetylsilan (alyl-TMS).

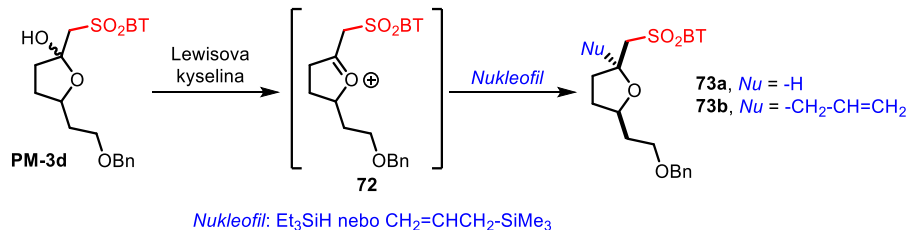
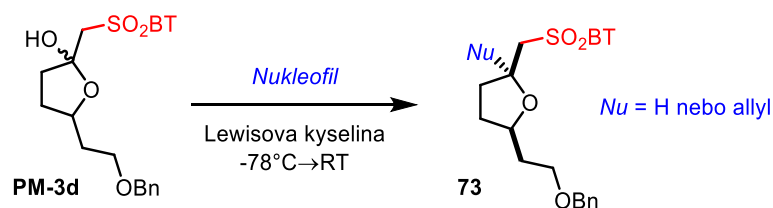


Schéma 21: Predpokladaná modifikácia **PM-3d** pomocou trietylsilanu alebo alyltrimetylsilanu iniciovaná pomocou Lewisovej kyseliny

Bohužiaľ, zo všetkých testovaných podmienok (**Tabuľka 3**) nebola pozorovaná tvorba žiadaného produktu. Toto pozorovanie je v súlade s experimentami, ktoré sme realizovali pri analýze reaktivity **PM-3d**, pri štúdiu vzniku látky **69** (**Tabuľka 2**). Na základe týchto dát (**Tabuľka 2 a 3**) sme došli k záveru, že v reakcii s vysokou pravdepodobnosťou nedochádza k vzniku oxóniového intermediátu **72**. Tento stav by mohol byť zapríčinený nevhodnou orientáciou odstupujúcej aktivovanej hydroxylovej skupiny voči voľnému elektrónovému páru na atóme kyslíku (tvorba oxónia). Ďalej, sa na adukte **PM-3d** nachádza i koordinujúca benzyloxy a sulfónová skupina, ktoré môžu brániť tvorbe oxónia kompetitívnymi interakciami s Lewisovými kyselinami.

Tabuľka 3: Tabuľka reakčných podmienok použitých pri modifikácii **PM-3d**



	Nukleofil [ekviv]	Lewisova kyselina [ekviv]	Rozpúšťadlo	Produkt [%]	Poznámka ^{a)}
1	Et ₃ SiH (2,0 ekviv)	BF ₃ ·Et ₂ O (1,1 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73a (n.d.)	VL reizolovaná
2	Et ₃ SiH (10,0 ekviv)	BF ₃ ·Et ₂ O (5,5 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73a (n.d.)	VL reizolovaná
3	Et ₃ SiH (10,0 ekviv)	BF ₃ ·Et ₂ O (5,5 ekviv)	Et ₂ O	73a (n.d.)	VL reizolovaná
4	Et ₃ SiH (2,0 ekviv)	TMSOTf (1,1 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73a (n.d.)	VL reizolovaná
5	Et ₃ SiH (2,0 ekviv)	TMSOTf (1,1 ekviv)	Et ₂ O	73a (n.d.)	VL reizolovaná
6	Et ₃ SiH (2,0 ekviv)	Sc(OTf) ₃ (1,5 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73a (n.d.)	VL reizolovaná
7	Et ₃ SiH (2,0 ekviv)	Et ₂ AlCl (1,5 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73a (n.d.)	VL reizolovaná
8	allylSiMe ₃ (2,0 ekviv)	BF ₃ ·Et ₂ O (1,1 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73b (n.d.)	VL reizolovaná
9	allylSiMe ₃ (2,0 ekviv)	BF ₃ ·Et ₂ O (1,1 ekviv)	Et ₂ O	73b (n.d.)	VL reizolovaná
10	allylSiMe ₃ (2,0 ekviv)	TMSOTf (1,1 ekviv)	CH ₂ Cl ₂	73b (n.d.)	VL reizolovaná
11	allylSiMe ₃ (2,0 ekviv)	TMSOTf (1,1 ekviv)	Et ₂ O	73b (n.d.)	VL reizolovaná

^{a)} VL – východisková látka.

Keďže nám teda nevyšla modifikácia pomocou Lewisových kyselín, zamerali sme sa na využitie bázy. V literatúre^{40,41} je popísané, že v prípade ak je hemiacetal typu **PM-3d**

ponechaný reagovať s bázou, tak dôjde k vzniku énoľ-éteru **22a** (Schéma 22). Táto možnosť sa nám moc nepozdávala, pretože sme vedeli, že **PM-3d** je v prítomnosti KHMDS veľmi stabilný (Tabuľka 2, štúdium vzniku látky **69**). Napriek tomu, sme ale **PM-3d** ponechali reagovať v prítomnosti DBU a KHMDS, za publikovaných reakčných podmienok. Ani v jednom prípade k vzniku produktu **22a** nedošlo.

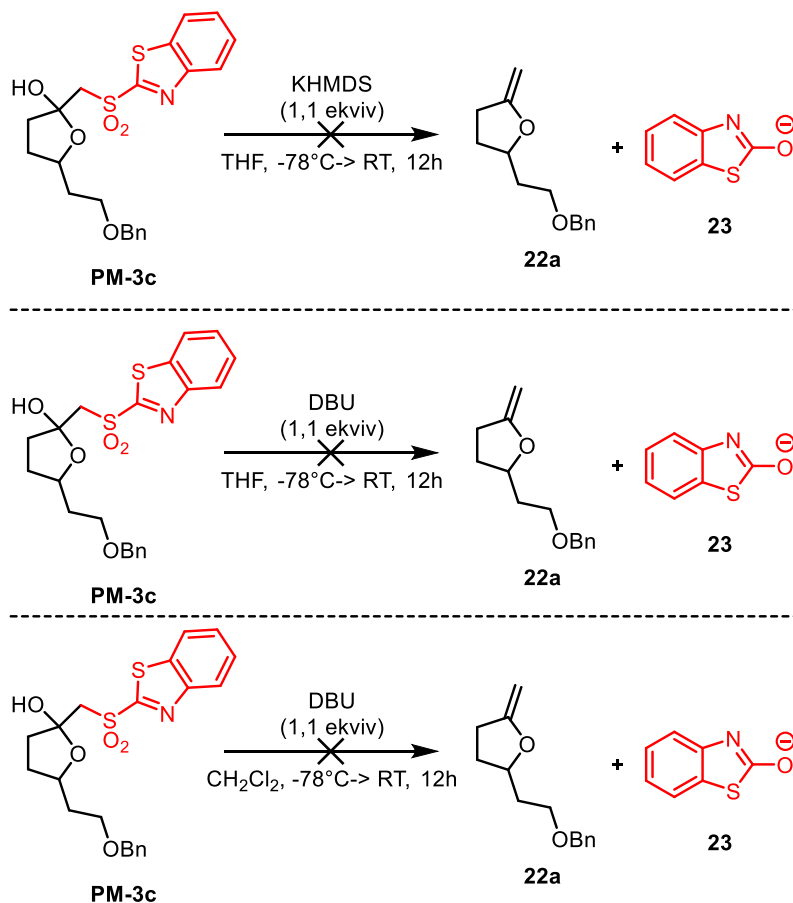


Schéma 22: Transformácie **PM-3d** v prítomnosti bázy. Vznik énoľ-éteru **22a**.

Nízka reaktivita **PM-3d** sa môže pozorovať i v reakcii tohto aduktu s 3 ekvivalentami silnej bázy KHMDS (Tabuľka 2, vstup 10). Predpokladalo by sa, že v reakcii BT₂O₂ derivátu so silnou bázou, nastane intramolekulárny Smilesov prešmyk (kapitola 2.2.2, Schéma 2) za vzniku olefinu **22a**. V tomto prípade sa však v reakčnej zmesi nachádzal len východiskový adukt **PM-3d**.

4 ZÁVER

Vo svojej diplomovej práci som sa zamerlal na vývoj nových tetrahydrofurán obsahujúcich pluripotentných intermediátov **PM-3c** a **PM-3d**. Úspešne som pripravil obidve nevyhnutné východiskové látky pre *Build* fázu nášho DOS prístupu. V prvom prípade sa jednalo o jednoduchý BT-sulfón **19**, ale v druhom šlo o komplexnejšie laktóny **16** a **17**. Tieto laktóny boli pripravené z odpovedajúcich alkoholov v 6 krokoch (**16**, celkový výťažok 9%) a 4 krokoch (**17**, celkový výťažok 24%). Pri ich príprave som vo veľkom využíval chémiu osmia (dihydroxylácia a Lemieux Johnson oxidatívne štiepenie olefínov) a Knoevenagelovú kondenzáciu. Oba tieto postupy sú taktiež vhodné pre prípravu opticky obohatených laktónov **16** a **17**. V prvom prípade by sa len modifikoval UpJohn dihydroxylačný protokol, zámenou reakčných podmienok za Sharplessovu asymetrickú dihydroxyláciu. V prípade laktónu **17** by sa uskutočnila epoxidácia pomocou Jacobsenovho katalyzátoru.

Fáza *Couple* sa bohužiaľ ukázala ako problematická a jedine v prípade intermediátu **PM-3d** sa mi ho podarilo získať v 62% výťažku. Látka **PM-3c** pripravená nebola. V oboch prípadoch nám pri adícii vznikli v reakčnej zmesi neznáme látky, kde v jednom prípade (látka **69**) sa nám túto látku podarilo identifikovať. Identita tej druhej látky rovnako ako mechanizmy ich vzniku zatiaľ zostávajú neodhalené.

V prípade intermediátu **PM-3d** potom bola testovaná fáza *Pair*. Bohužiaľ, žiadna z testovaných reakcií nevedla k žiadaným produktom a vo všetkých prípadoch bola len látka **PM-3d** spätne vyizolovaná z reakčnej zmesi.

Záverom sa teda dá konštatovať, že intermediáty **PM-3c** a **PM-3d** nie sú vhodné pre aplikáciu v kontexte divergentne-orientovanej syntézy.

5 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

5.1 Obecné metódy

Všetky reakcie boli uskutočnené v jednohrdlých alebo dvojhrdlých bankách s guľatým dnom opatrené septami, s využitím štandardných laboratórnych techník. Reakcie citlivé na vzduch a vlhkosť boli uskutočnené pod pozitívnym tlakom inertného plynu – argónu. Všetky rozpúšťadlá a chemikálie použité v reakciách boli komerčnej kvality a použité bez ďalšieho čistenia. Merania NMR spektier boli vykonané na spektrometri JEOL 400II (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 101 MHz) alebo JEOL 500 JNM-ECA 500 MHz (^1H : 500 MHz; ^{13}C : 125 MHz). Vzorky boli rozpustené a následne zmerané v deuterovanom rozpúšťadle CDCl_3 . ^1H a ^{13}C NMR spektrá boli kalibrované na stred signálu použitého zbytkového nedeuterovaného rozpúšťadla (CDCl_3 7,26 ppm pre ^1H) alebo na stred použitého rozpúšťadla (CDCl_3 77,16 ppm pre ^{13}C NMR).⁸³

Merania hmotnostných spektier sa vykonávali na spektrometri TSQ Quantum ACCES (Thermo Scientific, USA), ionizačný zdroj APCI. HRMS bolo zmerané na prístroji Agilent 6230 (Time-of-Flight spektrometer) s ionizačným zdrojom Dual AJS ESI s Full scan mode v rozsahu 100-1700 m/z .

Analytická chromatografia na tenkej vrstve (TLC) bola vykonávaná na hliníkových doskách, pokrytých silikagélom 60 F₂₅₄ značky Merck. K detekcii sa používalo UV žiarenie ($\lambda = 256 \text{ nm}$) a rôzne vizualizačné roztoky.

Pre stĺpcovú chromatografiu sa používal silikagél ako stacionárna fáza a zmes P.E.:EtOAc alebo hexán:EtOAc (V/V) ako mobilná fáza, pokiaľ nie je uvedené inak. Pri delení stĺpcovou chromatografiou sa využíval postupný gradient, kde polárnejšie rozpúšťadlo bolo skokovo pridávané do mobilnej fázy. Jednotlivé frakcie tečúce z kolóny boli zbierané do skúmaviek a ich obsah monitorovaný pomocou TLC. Frakcie obsahujúce rovnaký produkt boli spojené a následne odparené na rotačnej vákuovej odparke.

Vizualizačné roztoky pre TLC

Metódy prípravy:

- a) Zásaditý roztok KMnO_4 bol pripravený rozpustením 1,5 g KMnO_4 a 10 g K_2CO_3 v 200 ml H_2O s 1,25 ml 10% NaOH

b) Vanilínový roztok bol pripravený rozpustením 15 g vanilínu v 250 ml etanolu a 2,5 ml koncentrovanej kyseliny sírovej

5.2 Príprava laktónu 16

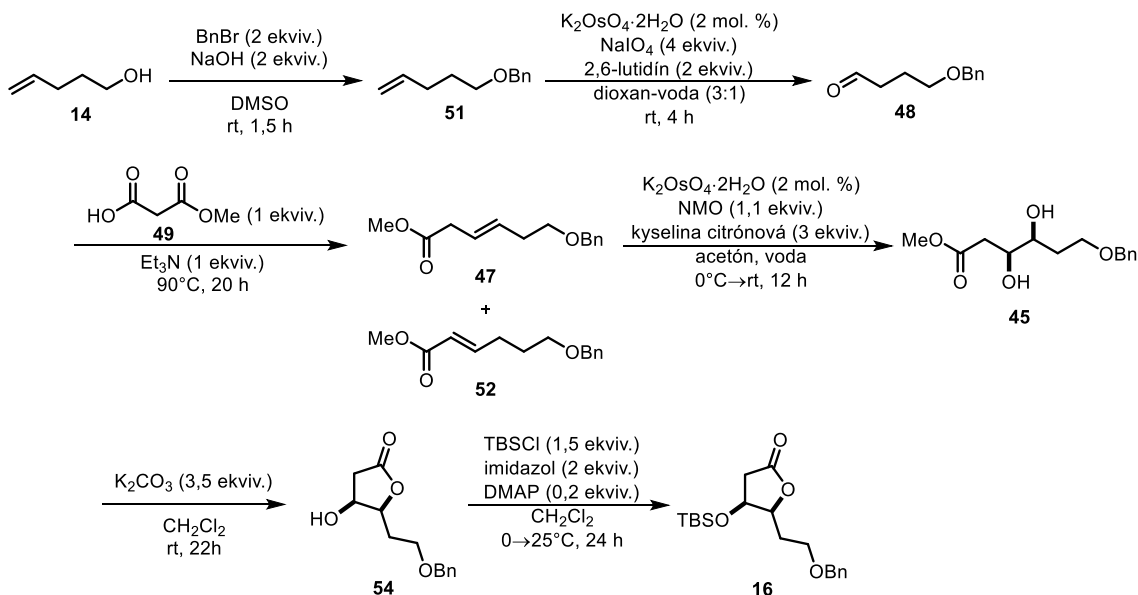
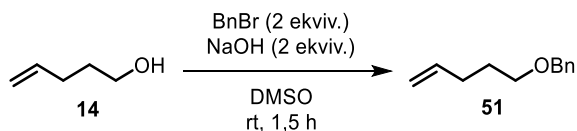


Schéma 23: Schéma syntézy laktónu 16

5.2.1 1-benzyloxy-4-pentén (51)⁸⁴



Do zmesi 4-pentén-1-olu **14** (5,0 g; 58,1 mmol; 1 ekviv.) v dimetyl sulfoxide (70 ml) sa pridal najemno rozdrvený hydroxid sodný (4,64 g; 116 mmol; 2 ekviv.) a zmes sa miešala 30 minút. Následne sa pridal benzyl bromid (13,9 ml; 116 mmol; 2 ekviv.) a zmes sa miešala 1,5 h. Pridalo sa 40 ml destilovanej vody a zmes sa extrahovala s EtOAc (3x30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO₄, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Bolo získané 14,723 g (kvant.) nažltlej olejovitej kvapaliny, ktorá sa ďalej používala bez čistenia.

$R_f = 0,65$ (hexán:Et₂O = 10:1)

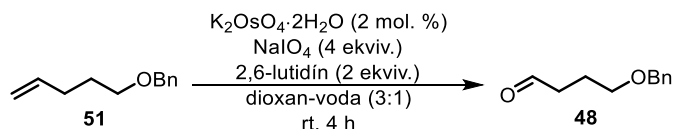
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.43 – 7.26 (m, 5H), 5.83 (ddt, $J = 16.9, 10.1, 6.6$ Hz, 1H), 5.07 – 4.94 (m, 2H), 4.51 (s, 2H), 3.49 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.21 – 2.12 (m, 2H), 1.73 (dq, $J = 8.6, 6.6$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 138.8, 138.5, 128.5, 127.8, 127.6, 114.9, 73.0, 69.9, 30.5, 29.1.

MS (APCI, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 91.10$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 177.1274, nájdené 177.1274

5.2.2 4-(benzyloxy)butanál (**48**)⁷⁶



Do roztoku alkénu **51** (2,5 g; 14,2 mmol; 1 ekvív.) v zmesi dioxán-voda (3:1, 140 ml) sa pridalo 2,6-lutidín (3,29 ml; 28,4 mmol; 2 ekvív.), $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (106 mg; 0,284 mmol; 0,02 ekvív.) a NaIO_4 (12,1 g; 56,7 mmol; 4 ekvív.). Reakcia sa miešala pri laboratórnej teplote a priebeh bol monitorovaný pomocou TLC. Po odreagovaní všetkej východiskovej látky, sa pridalo 180 ml destilovanej vody a 200 ml CH_2Cl_2 . Organická vrstva sa oddelila a vodná vrstva sa extrahovala s CH_2Cl_2 (3x200 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO_4 , sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; P.E.:EtOAc = 20:1→10:1→5:1) a získal sa aldehyd **48**, izolovaný ako číra olejovitá kvapalina (1,680 g; 66 % po dvoch krokoch).

$R_f = 0,46$ (hexán:EtOAc = 3:1)

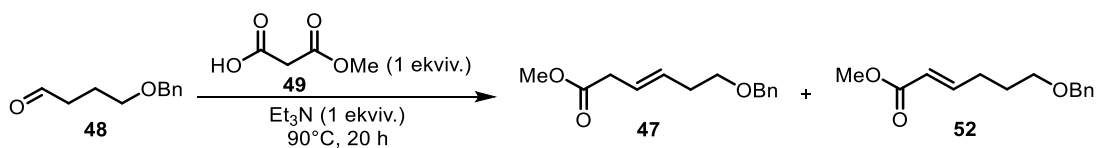
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = δ 9.79 (t, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.42 – 7.27 (m, 5H), 4.49 (s, 2H), 3.51 (t, $J = 6.0$ Hz, 2H), 2.55 (td, $J = 7.1, 1.6$ Hz, 2H), 1.95 (tt, $J = 7.1, 6.1$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 202.4, 138.4, 128.6, 127.8, 73.1, 69.3, 41.1, 22.7.

MS (ESI-TOF, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 178.2$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{NO}^+$ ($[\text{M}+\text{NH}_4]^+[-\text{H}_2\text{O}]$): 178.1226, nájdené 178.1220

5.2.3 Metyl (*E*)-6-(Benzyloxy)hex-3-enoát (**51**)³⁵



Aldehyd **48** (1,66 g; 9,31 mmol; 1 ekvív.), mono metylester kyseliny malonovej **49** (1,1 g; 9,31 mmol; 1 ekvív.) a Et_3N (1,29 ml; 9,31 mmol; 1 ekvív.) sa umiestnili do banky a výsledná reakčná zmes sa následne miešala 20 h pri teplote 90°C . Po skončení reakcie sa zmes nechala samovoľne ochladiť na laboratórnu teplotu a zakoncentrovala na RVO. Surový produkt sa prečistil na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; P.E.:EtOAc = 50:1→25:1→10:1→8:1→5:1) a vyizoloval sa ester **47** ako číra olejovitá kvapalina (1,142 g; 50 %) v zmesi s látkou **52**. Molárny pomer **47** a **52** = 6,5:1 (stanovené pomocou ^1H NMR).

Produkt **47**:

$R_f = 0,50$ (P.E.:EtOAc = 3:1)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.37 – 7.26 (m, 5H), 5.69 – 5.55 (m, 2H), 4.51 (s, 2H), 3.68 (s, 3H), 3.51 (t, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.06 (d, $J = 5.6$ Hz, 2H), 2.40 – 2.35 (m, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 172.5, 138.5, 131.1, 128.5, 127.8, 127.7, 123.7, 73.0, 69.8, 51.9, 38.1, 33.1.

MS (ESI-TOF, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 235.1$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{NO}_3^+$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 252.1594, nájdené 252.1594

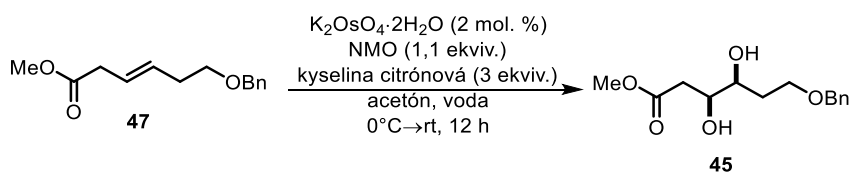
Vedľajší produkt **52**:

$R_f = 0,50$ (P.E.:EtOAc = 3:1)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.37 – 7.26 (m, 5H), 6.98 (dt, $J = 15.8, 7.0$ Hz, 1H), 5.84 (dt, $J = 15.7, 1.6$ Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.49 (t, $J = 6.2$ Hz, 2H), 2.34 – 2.29 (m, 2H), 1.78 (dq, $J = 7.6, 6.3$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 167.2, 149.1, 128.5, 127.7, 127.6, 121.3, 73.1, 69.3, 51.5, 29.1, 28.3.

5.2.4 Metyl 6-(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexanoát (45)⁷⁹



Do roztoku olefinu **47** (1045 mg; 4,46 mmol; 1 ekvív.) v acetóne (22 ml) sa postupne pridala voda (4,5 ml), N-metylmorfolín-N-oxid (575 mg; 4,9 mmol; 1,1 ekvív.) a kyselina citrónová (2,57 g; 13,4 mmol; 3 ekvív.). Výsledná zmes sa ochladila na $0^\circ C$ a nechala miešať 5 minút. Následne sa pridala $K_2OsO_4 \cdot 2H_2O$ (33,2 mg; 0,089 mmol; 0,02 ekvív.) a reakčná zmes sa ponechala miešať cez noc. Pridalo sa 150 ml EtOAc a zmes sa premyla nasýteným roztokom $NaHCO_3$ (2x100 ml). Skombinované vodné vrstvy sa ešte extrahovali s EtOAc (3x100 ml) a všetky organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou $MgSO_4$, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; P.E.:EtOAc = 8:1 \rightarrow 4:1 \rightarrow 2:1) a získal sa diol **45** ako svetlohnedá olejovitá kvapalina (988 mg; 83 %).

$R_f = 0,14$ (P.E.:EtOAc = 1:1)

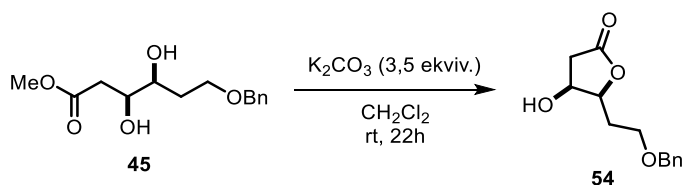
1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 7.38 – 7.27 (m, 5H), 4.53 (s, 2H), 3.99 – 3.92 (m, 4H), 3.71 (s, 3H), 3.79 – 3.63 (m, 3H), 3.17 – 3.10 (m, 2H), 3.11 – 3.06 (m, 1H), 2.63 – 2.54 (m, 2H), 2.00 – 1.85 (m, 1H), 1.83 – 1.75 (m, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) = 173.2, 137.9, 128.7, 128.0, 127.9, 73.6, 72.8, 70.7, 68.5, 52.0, 38.2, 33.2.

MS (APCI, m/z): $[M+H]^+ = 90.98$

HRMS vypočítané pre $C_{14}H_{20}O_5Na^+$ $[M+Na]^+$: 291.1203, nájdené 291.1198

5.2.5 5-(2-benzyloxyetyl)-4-hydroxydihydrofuran-2(3H)-ón (54)



K roztoku diolu **45** (529,5 mg; 1,97 mmol; 1 ekvív.) v CH_2Cl_2 (9,9 ml) sa pridala za laboratórnej teploty K_2CO_3 (955 mg; 6,91 mmol; 3,5 ekvív.) a zmes sa ponechala miešať 22 h. Do reakčnej zmesi sa pridalo 25 ml destilovanej vody a výsledná zmes sa extrahovala s CH_2Cl_2 (3x30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili

pomocou MgSO₄, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO₂; hexán:EtOAc = 4:1→1:1) a získal sa laktón **54** ako číra olejovitá kvapalina (275,3 mg; 59 %).

$R_f = 0,26$ (CH₂Cl₂:EtOAc = 2:1)

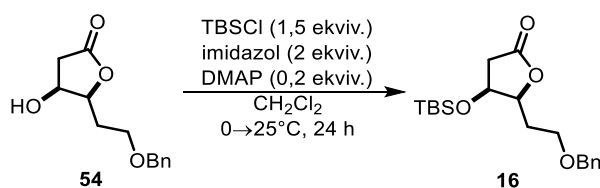
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.42 – 7.27 (m, 5H), 4.54 (AB_q, $\Delta\nu_{AB} = 17.7$ Hz, $J_{AB} = 11.6$ Hz), 3.73 (ddd, $J = 9.6, 4.5, 3.4$ Hz, 1H), 3.55 (ddd, $J = 11.0, 9.6, 2.2$ Hz, 1H), 3.43 (dd, $J = 2.4, 1.7$ Hz, 1H), 2.75 (ddd, $J = 17.8, 5.6, 1.6$ Hz, 1H), 2.55 (d, $J = 18.0$ Hz, 1H), 2.36 – 2.23 (m, 1H), 2.22 – 2.09 (m, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 175.6, 137.0, 128.9, 128.4, 128.1, 83.9, 74.0, 68.8, 66.2, 38.1, 28.7.

MS (APCI, m/z): [M+H]⁺ = 91.02

HRMS vypočítané pre C₁₃H₂₀NO₄⁺ [M+NH₄]⁺: 254.1387, nájdené 254.1382

5.2.6 5-(2-benzyloxyetyl)-4-(*tert*-butyldimethylsilyloxy)dihydrofuran-2(3H)-ón (**16**)³⁵



Laktón **54** (260 mg; 1,1 mmol; 1 ekvív.) sa rozpustil v CH₂Cl₂ (5,5 ml) a vzniknutý roztok sa ochladil na teplotu 0 °C a pridal sa imidazol (150 mg; 2,2 mmol; 2 ekvív.). Po 10 minútach sa pridal *tert*-butyldimetylsilyl chlorid (249 mg; 1,65 mmol; 1,5 ekvív.) a 4-(*N,N*-dimetylamo)pyridín (27,4 mg; 0,22 mmol; 0,2 ekvív.). Po 15 minútach bol odstránený chladiaci kúpeľ a zmes sa ponechala miešať 24 h pri laboratórnej teplote. Následne sa pridalo 30 ml nasýteného roztoku NH₄Cl a vodná fáza sa extrahovala s CH₂Cl₂ (3x30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO₄, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO₂; hexán:EtOAc = 5:1→2:1) a získal sa ochránený laktón **16** ako nažltlá olejovitá kvapalina (205,7 mg; 53 %).

$R_f = 0,75$ (P.E.:EtOAc = 1:1)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38 – 7.27 (m, 5H), 4.62 (dt, $J = 9.3, 3.8$ Hz, 1H), 4.52 (AB_q, $\Delta\nu_{AB} = 22.35$ Hz, $J_{AB} = 11.8$ Hz, 2H), 4.39 (ddd, $J = 5.0, 3.7, 1.2$ Hz, 1H), 3.65 (dd, $J = 7.3, 4.7$ Hz, 2H), 2.72 (dd, $J = 17.2, 5.2$ Hz, 1H), 2.43 (dd, $J = 17.2,$

1.2 Hz, 1H), 2.10 (ddt, $J = 14.0, 9.3, 4.7$ Hz, 1H), 1.92 (dtd, $J = 14.7, 7.3, 4.0$ Hz, 1H), 0.88 (s, 9H), 0.06 (s, 3H), 0.05 (s, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 175.6, 138.3, 128.6, 128.5, 127.9, 127.9, 82.2, 73.5, 70.0, 66.6, 40.0, 29.8, 25.8, 18.1, -4.5, -5.0.

MS (APCI, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 351.22$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{NO}_4\text{Si}^+$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 368.2252, nájdené 368.2245

5.3 Príprava laktónu 17

5.3.1 Príprava laktónu 17 s využitím modifikovanej Knoevenagelovej kondenzácie

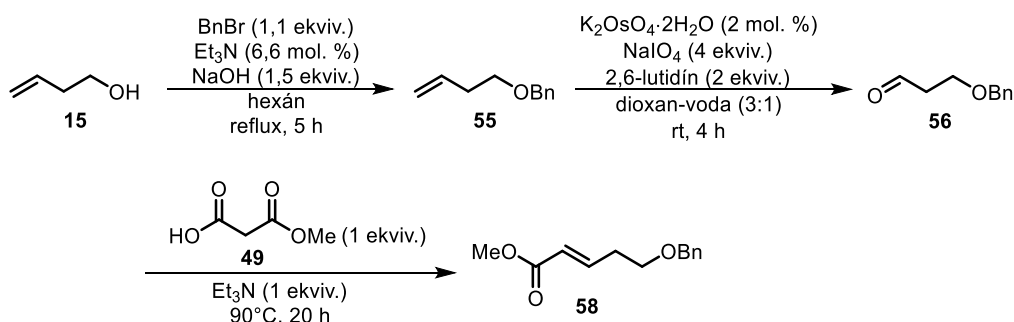
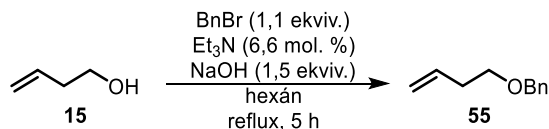


Schéma 24: Schéma prípravy esteru 58

5.3.1.1 1-benzyloxy-3-butén (55)⁸⁵



3-butén-1-ol **15** (23,10 g; 320,3 mmol; 1 ekvív.), trietylamin (2,94 ml; 21,1 mmol; 0,066 ekvív.) a pevný NaOH (19,22 g; 480,5 mmol; 1,5 ekvív.) sa spolu miešali v hexáne (230 ml) pri teplote 50°C po dobu 30 minút. Benzyl bromid (41,76 ml; 349,1 mmol; 1,1 ekvív.) v 50 ml hexáne sa pomaly pridával v priebehu 30 minút. Zmes sa potom zahriala na reflux po dobu 3 hodín. Reakčná zmes sa ponechala voľne ochladíť na laboratórnu teplotu a pridalo sa 250 ml vody. Organická vrstva sa oddelila a vodná vrstva sa extrahovala s dietyléterom (3x300 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO_4 , sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Bolo získané 48,56 g nažltlej olejovitej kvapaliny, ktorá sa ďalej používala bez čistenia.

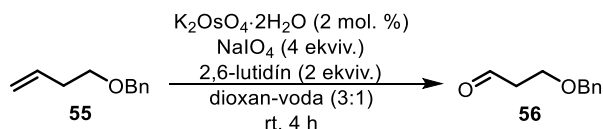
$R_f = 0,69$ (hexán:Et₂O = 10:1)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.39 – 7.25 (m, 5H), 5.86 (ddt, J = 17.0, 10.2, 6.8 Hz, 1H), 5.15 – 5.03 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 3.54 (td, J = 6.7, 0.9 Hz, 2H), 2.39 (qt, J = 6.7, 1.3 Hz, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 138.6, 135.4, 128.5, 127.8, 127.7, 116.5, 73.1, 69.8, 34.4.

MS (APCI, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 91.05$

5.3.1.2 3-(benzyloxy)propanál (**56**)⁷⁶



Do roztoku alkénu **55** (200 mg; 1,23 mmol; 1 ekvív.) v zmesi dioxán-voda (3:1, 12,3 ml) sa pridala 2,6-lutidín (289 μl ; 2,47 mmol; 2 ekvív.), $\text{K}_2\text{OsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (9,18 mg; 0,0247 mmol; 0,02 ekvív.) a NaIO_4 (1,055 g; 4,93 mmol; 4 ekvív.). Reakcia sa miešala pri laboratórnej teplote a priebeh bol monitorovaný pomocou TLC. Po odreagovaní všetkej východiskovej látky sa pridalo 30 ml destilovanej vody a 30 ml CH_2Cl_2 . Organická vrstva sa oddelila a vodná vrstva sa extrahovala s CH_2Cl_2 (3x30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO_4 , sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; P.E.:EtOAc = 10:1 \rightarrow 7:1 \rightarrow 5:1) a získal sa aldehyd **56** ako tmavá olejovitá kvapalina (123,2 mg; 61 %).

$R_f = 0,52$ (hexán:EtOAc = 3:1)

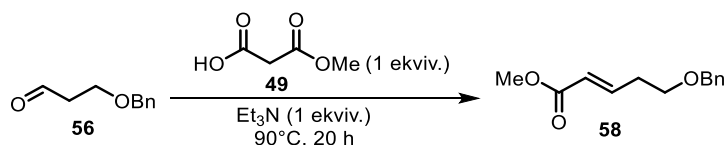
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 9.80 (t, J = 1.8 Hz, 1H), 7.38 – 7.27 (m, 5H), 4.54 (s, 2H), 3.82 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 2.70 (td, J = 6.1, 1.9 Hz, 2H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 201.3, 138.0, 128.6, 127.9, 127.8, 73.4, 64.0, 44.0.

MS (APCI, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 91.02$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_3^+$ ($[\text{2M}+\text{H}]^+[-\text{H}_2\text{O}]$): 311.1642, nájdené 311.1644

5.3.1.3 Metyl (*E*)-6-(Benzyloxy)hex-3-enoát (**58**)³⁵



Aldehyd **56** (57,2 mg; 0,348 mmol; 1 ekvív.), mono metylester kyseliny malonovej **49** (41,1 mg; 0,348 mmol; 1 ekvív.) a Et_3N (48,35 μl ; 0,348 mmol; 1 ekvív.) sa zmiešali dokopy za laboratórnej teploty. Reakčná zmes sa následne miešala 20 h pri teplote 90°C . Po skončení reakcie sa zmes nechala voľne ochladiť na laboratórnu teplotu a zakoncentrovala na RVO. Surový produkt sa prečistil na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; P.E.:EtOAc = 15:1→10:1→6:1→4:1) a získal sa ester **55** ako číra olejovitá kvapalina (14,5 mg; 19%).

$R_f = 0,51$ (P.E.:EtOAc = 3:1)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.38 – 7.27 (m, 5H), 6.99 (dt, $J = 15.7, 6.9$ Hz, 1H), 5.91 (dt, $J = 15.7, 1.6$ Hz, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.59 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.52 (qd, $J = 6.5, 1.6$ Hz, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 167.0, 146.1, 138.2, 128.6, 127.8, 122.7, 73.2, 68.4, 51.6, 32.8.

MS (ESI-TOF, m/z): $[\text{M}+\text{NH}_4]^+ = 238.2$, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 221.1$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{NO}_3^+$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$: 238.1438, nájdené 238.1439

5.3.2 Syntéza laktónu **17**, založená na otváraní epoxidu **50**

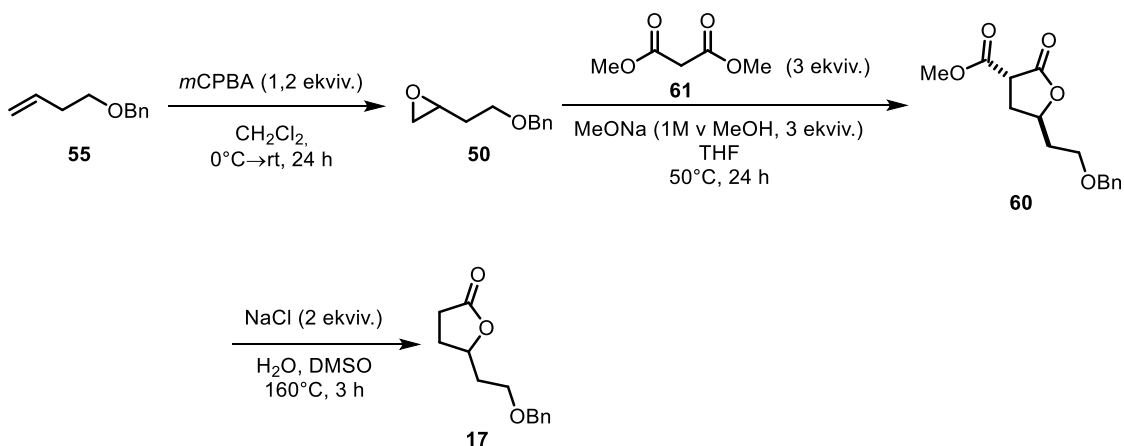
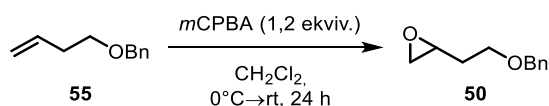


Schéma 25: Schéma alternatívnej prípravy laktónu **17**

5.3.2.1 2-(2-benzyloxyetyl)oxirán (50)⁸⁵



Olefin **55** (200 mg; 1,23 mmol; 1 ekviv.) sa rozpustil v CH₂Cl₂ (12,3 ml) a celá zmes sa chladila ľadom. Po malých častiach bola pridávaná *m*CPBA (332 mg; 1,48 mmol; 1,2 ekviv.) a celá zmes sa ponechala miešať po dobu 12 h. Po odreagovaní všetkej východiskovej látky sa do reakcie pridalo 30 ml nasýteného roztoku NaHCO₃. Organická vrstva sa oddelila a vodná fáza sa extrahovala pomocou CH₂Cl₂ (3x20 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO₄, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO₂; hexán:EtOAc = hexán→50:1→20:1→15:1→10:1→7:1) a získal sa epoxid **50** ako číra olejovitá kvapalina (164,7 mg; 75 %).

*R*_f = 0,51 (hexán:EtOAc = 4:1)

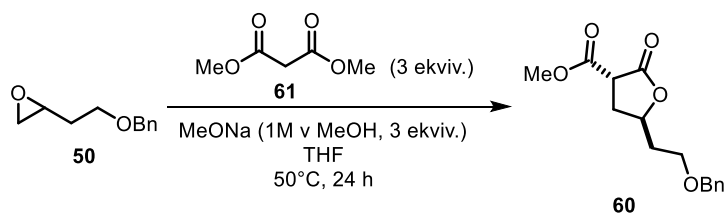
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.38 – 7.26 (m, 5H), 4.54 (s, 2H), 3.63 (dd, *J* = 7.2, 5.6 Hz, 1H), 3.63 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.10 – 3.05 (m, 1H), 2.79 (dd, *J* = 5.0, 4.0 Hz, 1H), 2.53 (dd, *J* = 5.0, 2.7 Hz, 1H), 1.92 (dddd, *J* = 14.5, 7.3, 6.2, 4.7 Hz, 1H), 1.79 (dq, *J* = 14.4, 6.0 Hz, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 138.4, 128.6, 127.8, 73.3, 67.2, 50.2, 47.2, 33.1.

MS (APCI, *m/z*): [M+H]⁺ = 91.04

HRMS vypočítané pre C₁₁H₁₈NO₂⁺ [M+NH₄]⁺: 196.1332, nájdené 196.1328

5.3.2.2 Metyl 5-(2-benzyloxyetyl)-2-oxotetrahydrofuran-3-carboxylát (60)⁸⁶



Čerstvo pripravený metanolickej 1M roztok MeONa (2,56 ml; 2,56 mmol; 3 ekviv.) a dimethylmalonát **59** (292 µl; 2,56 mmol; 3 ekviv.) sa zmiešali za chladenia ľadom približne 5 min. Následne sa pridala roztok epoxidu **50** (152 mg; 0,853 mmol; 1 ekviv.) v THF (2,62 ml) a celá zmes sa miešala 24 h pri teplote 50°C. Vzniknutý hnedý roztok sa okyslil 2M HCl na pH = 5. Pridalo sa 10 ml vody a 10 ml CH₂Cl₂ a vodná

zložka sa extrahovala s CH₂Cl₂ (4x15 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO₄, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO₂; hexán:EtOAc = 10:1→7:1→5:1) a získal sa estero-laktón **60** ako číra olejovitá kvapalina (105,3 mg; 44 %).

$R_f = 0,23$ (hexán:EtOAc = 2:1)

V ¹H NMR spektre boli pozorované dve štruktúry – laktón **60** a jeho énoľ forma v molárnom pomere 1:1,17 (keto:énoľ), vodíky označené hviezdíčkou* patria výlučne énoľ forme

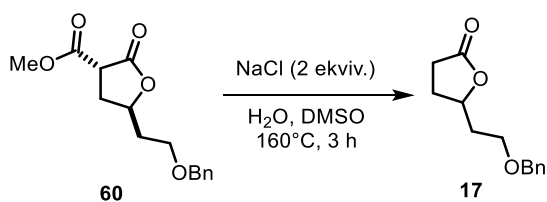
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 7.39 – 7.27 (m, 5H), 4.88 (qd, $J = 7.2, 5.8$ Hz, 1H), 4.69 (dddd, $J = 9.5, 8.0, 6.1, 5.0$ Hz, 1H*), 4.55 – 4.45 (m, 2H), 3.81 (s, 3H*), 3.80 (s, 3H), 3.70 – 3.58 (m, 3H), 3.38 (s, 1H*), 2.73 (ddd, $J = 13.3, 7.0, 4.9$ Hz, 1H), 2.57 (ddd, $J = 13.0, 9.2, 6.1$ Hz, 1H*), 2.38 (ddd, $J = 13.0, 11.1, 9.5$ Hz, 1H*), 2.19 (ddd, $J = 13.3, 9.6, 7.3$ Hz, 1H), 2.13 – 1.93 (m, 2H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ (ppm) = 171.8, 171.7, 168.4, 168.3, 138.2, 138.1, 128.6, 128.6, 127.9, 127.8, 77.9, 77.0, 73.5, 73.4, 69.2, 68.1, 66.2, 59.2, 53.3, 53.2, 47.4, 46.8, 35.8, 33.3, 32.4, 32.2.

MS (ESI-TOF, m/z): [M+H]⁺ = 279.1

HRMS vypočítané pre C₁₅H₁₈O₅K⁺ [M+K]⁺: 317.0786, nájdené 317.0785

5.3.2.3 5-(2-benzyloxyetyl)dihydrofuran-2(3H)-ón (**17**)⁸¹



Zmes estero-laktónu **60** (515 mg; 1,85 mmol; 1 ekvív.), NaCl (216,2 mg; 3,7 mmol; 2 ekvív.) a vody (1,07 ml) v DMSO (27,13 ml) bola zahrievaná pri teplote 160°C po dobu minimálne 3 h. Ukončenie reakcie sa sledovalo pomocou TLC. Zmes sa následne nechala ochladiť, pridalo sa 50 ml destilovanej vody a 50 ml dietyléteru a vodná vrstva sa ešte extrahovala s dietyléterom (3x30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO₄, sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Produkt bol prečistený na chromatografickej kolóne (SiO₂; hexán:EtOAc = 20:1→10:1→5:1→3:1→2:1) a izolovaný ako číra olejovitá kvapalina (296,0 mg; 73 %).

$R_f = 0,46$ (hexán:EtOAc = 1:1)

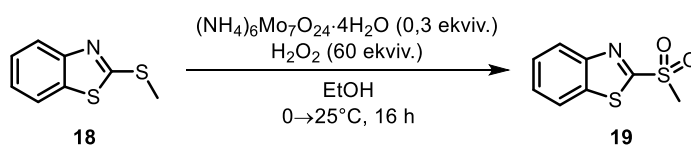
$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.38 – 7.26 (m, 5H), 4.70 (tdd, $J = 8.0, 6.6, 5.1$ Hz, 1H), 4.51 (AB_q, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 12.0$ Hz, $J_{\text{AB}} = 11.8$ Hz, 2H), 3.65 – 3.61 (m, 2H), 2.53 (dd, $J = 9.6, 6.8$ Hz, 2H), 2.40 – 2.29 (m, 1H), 2.06 – 1.85 (m, 3H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 177.2, 138.2, 128.6, 127.9, 127.8, 78.4, 73.4, 66.4, 36.0, 28.9, 28.3.

MS (APCI, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 91.00$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{O}_3^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 221.1172, nájdené 221.1166

5.4 Príprava 2-(metylsulfonyl)benzo[d]tiazol **19**²⁸



Roztok 2-(metyltio)benzo[d]tiazol **18** (4,0 g; 22,1 mmol; 1 ekviv.) v 75 ml etanolu bol za miešania ochladený na teplotu 0°C a pridal sa $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (8,18 g; 6,62 mmol; 0,3 ekviv.). Po piatich minútach miešania pri 0°C, 35%-ný roztok H_2O_2 (135 ml; 34,01 mmol; 60 ekviv.) sa opatrne prikvapával do reakčnej zmesi. Reakcia sa ponechala miešať cez noc pri laboratórnej teplote. Prebytočný peroxid sa neutralizoval pridaním 1M roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Následne sa reakčná zmes extrahovala s CH_2Cl_2 (3x70 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO_4 , sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Bolo získané 4,701 g sulfónu **19** ako bielej kryštalickej látky v kvantitatívnom výťažku (99%).

$T_f = 84\text{-}86$ °C; $R_f = 0,53$ (P.E.:EtOAc = 2:1)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 8.22 (ddd, $J = 8.2, 1.5, 0.7$ Hz, 1H), 8.02 (ddd, $J = 7.8, 1.5, 0.7$ Hz, 1H), 7.68 – 7.58 (m, 2H), 3.42 (s, 3H).

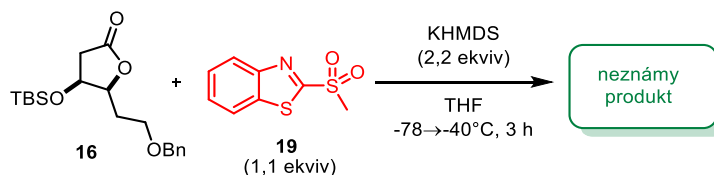
$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 166.5, 152.6, 136.7, 128.2, 127.8, 125.5, 122.5, 42.5.

MS (APCI, m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+ = 213.99$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}_2\text{S}_2^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 213.9991, nájdené 213.9988

5.5 Príprava intermediátov PM-3

5.5.1 Reakcia, ktorá mala viesť k produktu PM-3c – vznik neznámeho produktu



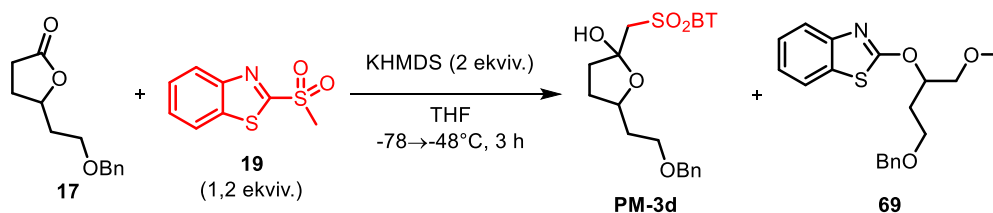
Banka o objeme 10 ml sa vyžihala plameňom v argónovej atmosfére. Do vysušenej banky sa pridal laktón **16** (138 mg; 0,394 mmol; 1 ekv.), bezvodý THF (729 μ l) a sulfón **19** (101 mg; 0,472 mmol; 1,1 ekv.). Celá zmes sa vložila do lázne acetón + suchý ľad (teplota -78°C , externá) a po 10 minútach miešania sa do reakčnej zmesi pridal po kvapkách KHMDS (1M roztok v THF; 787 μ l; 0,787 mmol; 2 ekv.) a zmes sa miešala ďalších 10 minút. Následne sa banka presunula do lázne acetonitril + suchý ľad (teplota -48°C , externá). Po troch hodinách sa pri teplote -48°C do reakčnej zmesi pridal nasýtený roztok NH_4Cl a EtOAc a miešalo sa pri laboratórnej teplote 15 minút. Zmes sa extrahovala s EtOAc (3x10 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO_4 , sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Surová reakčná zmes bola prečistená na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; hexán:EtOAc = 12:1 \rightarrow 10:1 \rightarrow 7:1 \rightarrow 5:1) a neznáma látka bola izolovaná ako číra olejovitá kvapalina (15,8 mg; 11 %).

$R_f = 0,40$ (hexán:EtOAc = 3:1)

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 8.11 (dt, $J = 8.3, 0.9$ Hz, 1H), 8.03 (dt, $J = 8.3, 0.9$ Hz, 1H), 7.96 (dt, $J = 7.8, 0.9$ Hz, 1H), 7.88 (dt, $J = 8.1, 0.8$ Hz, 1H), 7.85 – 7.82 (m, 1H), 7.81 (dt, $J = 8.0, 0.9$ Hz, 1H), 7.56 – 7.51 (m, 2H), 7.50 – 7.43 (m, 2H), 7.43 – 7.35 (m, 2H), 7.29 – 7.20 (m, 7H), 5.31 (td, $J = 9.4, 2.7$ Hz, 1H), 4.42 (AB_q , $\Delta\nu_{\text{AB}} = 6.5$ Hz, $J_{\text{AB}} = 12.1$ Hz, 2H), 4.11 (dd, $J = 15.0, 3.6$ Hz, 1H), 4.05 (td, $J = 9.6, 3.6$ Hz, 1H), 3.69 – 3.59 (m, 2H), 3.09 (dd, $J = 15.0, 9.6$ Hz, 1H), 1.87 (dddd, $J = 14.7, 7.9, 6.7, 2.8$ Hz, 1H), 1.78 (ddt, $J = 14.7, 9.2, 5.3$ Hz, 1H).

$^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 172.7, 168.5, 166.3, 165.9, 153.0, 153.0, 152.2, 138.3, 136.0, 135.6, 135.5, 128.4, 127.8, 127.7, 126.7, 126.6, 126.5, 126.2, 126.2, 126.1, 125.3, 124.0, 123.9, 123.4, 123.0, 122.8, 121.9, 121.7, 121.6, 111.4, 81.7, 73.0, 66.2, 61.8, 52.9, 34.0, 33.3, 29.8.

5.5.2 2-(benzo[d]tiazol-2-ylsulfonyl)methyl)-5-(2-benzyloxyetyl)tetrahydrofuran-2-ol (PM-3d)



Banka o objeme 10 ml sa vyžihala plameňom v argónovej atmosfére. Do vysušenej banky sa pridal laktón **17** (500 mg; 2,27 mmol; 1 ekviv.), bezvodý THF (4,2 ml) a sulfón **19** (581 mg; 2,72 mmol; 1,2 ekviv.). Celá zmes sa vložila do lázne acetón + suchý ľad (teplota -78°C) a po 10 minútach miešania sa do reakčnej zmesi pridal po kvapkách KHMDS (1M roztok v THF; 4,54 ml; 4,54 mmol; 2 ekviv.) a zmes sa miešala ďalších 10 minút. Následne sa banka presunula do lázne acetonitril + suchý ľad (teplota -48°C). Po troch hodinách pri teplote -48°C sa do reakčnej zmesi pridal nasýtený roztok NH_4Cl a EtOAc a miešalo sa pri laboratórnej teplote 15 minút. Zmes sa extrahovala s EtOAc (3x10 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, presušili pomocou MgSO_4 , sfiltrovali a nadbytočné rozpúšťadlo sa odparilo na RVO. Reakčná zmes bola prečistená na chromatografickej kolóne (SiO_2 ; hexán:EtOAc = 5:1→4:1→3:1→2:1) a boli izolované dva produkty **PM-3d** (609,3 mg, 62 %) a éter **69** (181,0 mg, 23 %) ako nažltlé olejovité kvapaliny.

Produkt **PM-3d**:

$R_f = 0,61$ (P.E.:EtOAc = 1:1)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 8.06 – 7.97 (m, 2H), 7.92 – 7.85 (m, 2H), 7.54 – 7.35 (m, 4H), 7.37 – 7.27 (m, 10H), 5.07 (qd, $J = 7.2, 5.8$ Hz, 1H), 4.85 (ddt, $J = 10.5, 7.8, 5.4$ Hz, 1H), 4.58 – 4.49 (m, 4H), 4.36 (dd, $J = 11.9, 8.8$ Hz, 1H), 4.34 – 4.29 (m, 1H), 3.76 – 3.60 (m, 4H), 3.11 (ddd, $J = 13.1, 7.1, 5.8$ Hz, 1H), 3.07 – 2.94 (m, 1H), 2.92 – 2.73 (m, 1H), 2.55 (ddd, $J = 13.2, 9.4, 6.5$ Hz, 1H), 2.45 (dd, $J = 13.1, 9.9$ Hz, 1H), 2.27 – 1.99 (m, 4H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 175.1, 174.1, 173.8, 171.5, 170.8, 165.0, 164.9, 153.3, 153.0, 152.8, 152.7, 138.2, 135.7, 135.6, 128.6, 127.9, 126.7, 126.6, 126.4, 125.9, 125.6, 123.7, 123.3, 123.2, 122.0, 121.8, 78.4, 78.2, 73.5, 73.4, 66.2, 66.0, 46.3, 45.5, 43.7, 35.8, 35.6, 35.5, 35.3, 34.4.

MS (APCI), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 354.12$, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 91.02$

Produkt **69**:

$R_f = 0,83$ (P.E.:EtOAc = 1:1)

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm) = 7.65 (dddd, $J = 13.9, 7.9, 1.3, 0.6$ Hz, 2H), 7.36 (ddd, $J = 8.1, 7.4, 1.3$ Hz, 1H), 7.31 – 7.20 (m, 6H), 5.62 (dtd, $J = 8.3, 5.0, 3.4$ Hz, 1H), 4.51 – 4.44 (m, 2H), 3.78 (dd, $J = 11.0, 3.4$ Hz, 1H), 3.70 – 3.60 (m, 3H), 3.39 (s, 3H), 2.19 – 2.03 (m, 2H).

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, , CDCl_3) δ (ppm) = 172.8, 149.5, 138.3, 132.1, 128.4, 127.8, 127.7, 126.0, 123.5, 121.3, 121.0, 78.9, 73.5, 73.2, 66.3, 59.5, 31.3.

MS (APCI), m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+ = 90.98$

HRMS vypočítané pre $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{NO}_3\text{S}^+$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 344.1315, nájdené 344.1312

6 ZOZNAM LITERATÚRY

- (1) Sauer, W. H. B.; Schwarz, M. K. Molecular Shape Diversity of Combinatorial Libraries: A Prerequisite for Broad Bioactivity. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43* (3), 987–1003. <https://doi.org/10.1021/ci025599w>.
- (2) Frearson, J. A.; Collie, I. T. HTS and Hit Finding in Academia - from Chemical Genomics to Drug Discovery. *Drug Discov. Today* **2009**, *14* (23–24), 1150–1158. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2009.09.004>.
- (3) Galloway, W. R. J. D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D. R. Diversity-Oriented Synthesis as a Tool for the Discovery of Novel Biologically Active Small Molecules. *Nat. Commun.* **2010**, *1* (6), 80. <https://doi.org/10.1038/ncomms1081>.
- (4) Galloway, W. R. J. D.; Spring, D. R. Is Synthesis the Main Hurdle for the Generation of Diversity in Compound Libraries for Screening? *Expert Opin. Drug Discov.* **2009**, *4* (5), 467–472. <https://doi.org/10.1517/17460440902916606>.
- (5) Burke, M. D.; Schreiber, S. L. A Planning Strategy for Diversity-Oriented Synthesis. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2004**, *43* (1), 46–58. <https://doi.org/10.1002/anie.200300626>.
- (6) Lipinski, C.; Hopkins, A. Navigating Chemical Space for Biology and Medicine. *Nature* **2004**, *432* (7019), 855–861. <https://doi.org/10.1038/nature03193>.
- (7) Bohacek, R. S.; McMartin, C.; Guida, W. C. The Art and Practice of Structure-Based Drug Design: A Molecular Modeling Perspective. *Med. Res. Rev.* **1996**, *16* (1), 3–50. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1128\(199601\)16:1<3::AID-MED1>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1128(199601)16:1<3::AID-MED1>3.0.CO;2-6).
- (8) Reymond, J. L.; Van Deursen, R.; Blum, L. C.; Ruddigkeit, L. Chemical Space as a Source for New Drugs. *Medchemcomm* **2010**, *1* (1), 30–38. <https://doi.org/10.1039/c0md00020e>.
- (9) Dobson, C. M. Chemical Space and Biology. *Nature* **2004**, *432* (7019), 824–828. <https://doi.org/10.1038/nature03192>.
- (10) Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75* (3), 311–335.

<https://doi.org/10.1021/np200906s>.

- (11) Spandl, R. J.; Bender, A.; Spring, D. R. Diversity-Oriented Synthesis; A Spectrum of Approaches and Results. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6* (7), 1149–1158. <https://doi.org/10.1039/b719372f>.
- (12) Feher, M.; Schmidt, J. M. Property Distributions: Differences between Drugs, Natural Products, and Molecules from Combinatorial Chemistry. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2003**, *43* (1), 218–227. <https://doi.org/10.1021/ci0200467>.
- (13) Rasheed, A.; Labs, A. P.; Enclave, R.; Colony, B.; Pradesh, A. COMBINATORIAL CHEMISTRY: A REVIEW Anas Rasheed* and Rumana Farhat Active Pharma Labs, Raja Enclave, # 404, Bhagyanagar Colony, Opp: R.S. Brothers, Beside K.S. Baker's, K.P.H.B. Colony, Hyderabad-72, Andhra Pradesh, India. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2013**, *4* (7), 2502–2516. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(7\).2502-16](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(7).2502-16).
- (14) Schreiber, S. L. Target-Oriented and Diversity-Oriented Organic Synthesis in Drug Discovery. *Science* (80-.). **2000**, *287* (5460), 1964–1969. <https://doi.org/10.1126/science.287.5460.1964>.
- (15) Werner, S.; Turner, D. M.; Chambers, P. G.; Brummond, K. M. Skeletal and Appendage Diversity as Design Elements in the Synthesis of a Discovery Library of Nonaromatic Polycyclic 5-Iminooxazolidin-2-Ones, Hydantoins, and Acylureas. *Tetrahedron* **2008**, *64* (29), 6997–7007. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.02.033>.
- (16) Chavez, D. E.; Jacobsen, E. N. Catalyst-Controlled Inverse-Electron-Demand Hetero-Diels-Alder Reactions in the Enantio- and Diastereoselective Synthesis of Iridoid Natural Products. *Org. Lett.* **2003**, *5* (14), 2563–2565. <https://doi.org/10.1021/ol034883l>.
- (17) Kwon, O.; Park, S. B.; Schreiber, S. L. Skeletal Diversity via a Branched Pathway: Efficient Synthesis of 29 400 Discrete, Polycyclic Compounds and Their Arraying into Stock Solutions. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124* (45), 13402–13404. <https://doi.org/10.1021/ja028086e>.
- (18) Morton, D.; Leach, S.; Cordier, C.; Warriner, S.; Nelson, A. Synthesis of Natural-

- Product-like Molecules with over Eighty Distinct Scaffolds. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2009**, *48* (1), 104–109. <https://doi.org/10.1002/anie.200804486>.
- (19) Nielsen, T. E.; Schreiber, S. L. Towards the Optimal Screening Collection: A Synthesis Strategy. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2008**, *47* (1), 48–56. <https://doi.org/10.1002/anie.200703073>.
- (20) Comer, E.; Rohan, E.; Deng, L.; Porco, J. A. An Approach to Skeletal Diversity Using Functional Group Pairing of Multifunctional Scaffolds. *Org. Lett.* **2007**, *9* (11), 2123–2126. <https://doi.org/10.1021/ol070606t>.
- (21) Pospíšil, J. Sulfur-Based Methodologies in the Context of Olefination and Diversity-Oriented Synthetic Methods. Palacký University Olomouc *Habilitačná práce* **2017**.
- (22) Konrádová, M. D.; Biology, P. Palacký University Olomouc Laboratory of Growth Regulators Biological Applications of Secondary Plant Metabolites of Phenyl Propanoid Origins. *Dizertačná práce* **2019**, 69.
- (23) Cabanillas, B. J.; Le Lamer, A. C.; Castillo, D.; Arevalo, J.; Rojas, R.; Odonne, G.; Bourdy, G.; Moukarzel, B.; Sauvain, M.; Fabre, N. Caffeic Acid Esters and Lignans from *Piper Sanguineispicum*. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73* (11), 1884–1890. <https://doi.org/10.1021/np1005357>.
- (24) Pospíšil, J.; Konrádová, D.; Strnad, M. Antileishmanial Activity of Lignans, Neolignans, and Other Plant Phenols. In *Progress in the chemistry of organic natural products*; 2021; Vol. 115, pp 115–176. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64853-4_3.
- (25) Konrádová, D.; Bon, D. J. Y. D.; Pospíšil, J. 1-(Phenylsulfonyl)-3-Oxabicyclo[3.1.0]Hexan-2-One as a Building Block in Organic Synthesis. *J. Org. Chem.* **2018**, *83* (19), 12229–12238. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b01625>.
- (26) Kováč, O. Benzo [d] Thiazol-2-Ylsulfonyl-Based Pluripotent Molecules in Organic Synthesis. Palacký University Olomouc *Dizertačná práce* **2020**.
- (27) Pospíšil, J.; Robiette, R.; Sato, H.; Debrus, K. Practical Synthesis of β -Oxo Benzo[d]Thiazolyl Sulfones: Scope and Limitations. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*

- (6), 1225–1234. <https://doi.org/10.1039/c1ob06510f>.
- (28) Pospíšil, J.; Sato, H. Practical Synthesis of β -Acyl and β -Alkoxy carbonyl Heterocyclic Sulfones. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (7), 2269–2272. <https://doi.org/10.1021/jo102326p>.
- (29) Zweifel, T.; Nielsen, M.; Overgaard, J.; Jacobsen, C. B.; Jørgensen, K. A. Practical Synthesis of β -Carbonyl Phenyltetrazolesulfones and Investigations of Their Reactivities in Organocatalysis. *European J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (1), 47–52. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201001426>.
- (30) Bon, D. J. Y. D.; Kováč, O.; Ferugová, V.; Zálešák, F.; Pospíšil, J. One and Two-Carbon Homologation of Primary and Secondary Alcohols to Corresponding Carboxylic Esters Using β -Carbonyl BT Sulfones as a Common Intermediate. *J. Org. Chem.* **2018**, *83* (9), 4990–5001. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b00112>.
- (31) Kováč, O.; Zálešák, F.; J.-Y. D. Bon, D.; Roiser, L.; Baar, L. V.; Waser, M.; Pospíšil, J.; Pospíšil, J. Trisubstituted Highly Activated Benzo[d]Thiazol-2-Yl-Sulfone-Containing Olefins as Building Blocks in Organic Synthesis. *J. Org. Chem.* **2020**, *85* (11), 7192–7206. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.0c00571>.
- (32) Zhang, H.; Zou, J.; Yan, X.; Chen, J.; Cao, X.; Wu, J.; Liu, Y.; Wang, T. Marine-Derived Macrolides 1990-2020: An Overview of Chemical and Biological Diversity. *Mar. Drugs* **2021**, *19* (4), 180. <https://doi.org/10.3390/md19040180>.
- (33) Martín, T.; Martín, V. S. A Short Synthesis of Trans-(+)-Laurediol. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41* (14), 2503–2505. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)00190-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)00190-8).
- (34) Paterson, I.; Anderson, E. A.; Dalby, S. M.; Lim, J. H.; Maltas, P.; Moessner, C. Synthesis of the DEF-Bis-Spiroacetal of Spirastrellolide a Exploiting a Double Asymmetric Dihydroxylation/Spiroacetalisation Strategy. *Chem. Commun.* **2006**, No. 40, 4186–4188. <https://doi.org/10.1039/b612697a>.
- (35) Ramakrishna, G. V.; Fernandes, R. A. A Catalytic Asymmetric Protecting-Group-Free Total Synthesis of (4 S,5 S)-4,8-Dihydroxy-3,4-Dihydrovernoniynes and Its Enantiomer. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (21), 14127–14132. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.9b02461>.

- (36) Stadler, B. M.; Wulf, C.; Werner, T.; Tin, S.; De Vries, J. G. Catalytic Approaches to Monomers for Polymers Based on Renewables. *ACS Catal.* **2019**, *9* (9), 8012–8067. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b01665>.
- (37) Larsen, C. H.; Ridgway, B. H.; Shaw, J. T.; Woerpel, K. A. A Stereoelectronic Model to Explain the Highly Stereoselective Reactions of Nucleophiles with Five-Membered-Ring Oxocarbenium Ions [13]. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (51), 12208–12209. <https://doi.org/10.1021/ja993349z>.
- (38) Smith, D. M.; Woerpel, K. A. Using Stereoelectronic Effects to Explain Selective Reactions of 4-Substituted Five-Membered Ring Oxocarbenium Ions. *Org. Lett.* **2004**, *6* (12), 2063–2066. <https://doi.org/10.1021/ol0492647>.
- (39) Schmitt, A.; Reißig, H. U. On the Stereoselectivity of γ -Lactol Substitutions with Allyl- and Propargylsilanes - Synthesis of Disubstituted Tetrahydrofuran Derivatives. *European J. Org. Chem.* **2000**, *2000* (23), 3893–3901. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200012\)2000:23<3893::AID-EJOC3893>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200012)2000:23<3893::AID-EJOC3893>3.0.CO;2-E).
- (40) Tomas, L.; Bourdon, B.; Caille, J. C.; Gueyrard, D.; Goekjian, P. G. A Concise and Efficient Synthesis of Spiroketal - Application to the Synthesis of SPIKET-P and a Spiroketal from Bactrocera Species. *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013* (5), 915–920. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201201199>.
- (41) Habib, S.; Larnaud, F.; Pfund, E.; Lequeux, T.; Fenet, B.; Goekjian, P. G.; Gueyrard, D. Synthesis of Fluorinated Exo-Glycals through Modified Julia Olefination. *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013* (10), 1872–1875. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201201719>.
- (42) Tietze, L. F.; Wolfram, T.; Holstein, J. J.; Dittrich, B. First Enantioselective Total Synthesis of (+)-(R)-Pinnatolide Using an Asymmetric Domino Allylation Reaction. *Org. Lett.* **2012**, *14* (16), 4035–4037. <https://doi.org/10.1021/ol301932d>.
- (43) Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. A General Model for Selectivity in Olefin Cross Metathesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125* (37), 11360–11370. <https://doi.org/10.1021/ja0214882>.
- (44) Cannon, S. J.; Blechert, S. Recent Developments in Olefin Cross-Metathesis.

- Angew. Chemie - Int. Ed.* **2003**, *42* (17), 1900–1923.
<https://doi.org/10.1002/anie.200200556>.
- (45) FRASER, P. J. Pharmacological Actions of Pure Muscarine Chloride. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1957**, *12* (1), 47–52. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1957.tb01361.x>.
- (46) Shamloul, R. Natural Aphrodisiacs. *J. Sex. Med.* **2010**, *7* (1 PART 1), 39–49. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2009.01521.x>.
- (47) Sandroni, P. Aphrodisiacs Past and Present: A Historical Review. *Clin. Auton. Res.* **2001**, *11* (5), 303–307. <https://doi.org/10.1007/BF02332975>.
- (48) Tormo, J. R.; Gallardo, T.; Peris, E.; Bermejo, A.; Cabedo, N.; Estornell, E.; Zafra-Polo, M. C.; Cortes, D. Inhibitory Effects on Mitochondrial Complex I of Semisynthetic Mono-Tetrahydrofuran Acetogenin Derivatives. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2003**, *13* (22), 4101–4105. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2003.08.045>.
- (49) Gleye, C.; Akendengue, B.; Laurens, A.; Hocquemiller, R. Coronin from Roots of *Annona Muricata*, a Putative Intermediate in Acetogenin Biosynthesis (1). *Planta Med.* **2001**, *67* (6), 570–572. <https://doi.org/10.1055/s-2001-16481>.
- (50) Naito, H.; Kawahara, E.; Maruta, K.; Maeda, M.; Sasaki, S. The First Total Synthesis of (+)-Bullatacin, a Potent Antitumor Annonaceous Acetogenin, and (+)-(15,24)-Bisepi-Bullatacin. *J. Org. Chem.* **1995**, *60* (14), 4419–4427. <https://doi.org/10.1021/jo00119a019>.
- (51) Takahashi, S.; Maeda, K.; Hirota, S.; Nakata, T. Total Synthesis of a New Cytotoxic Acetogenin, Jimenezin, and the Revised Structure. *Org. Lett.* **1999**, *1* (12), 2025–2028. <https://doi.org/10.1021/ol991200m>.
- (52) Harcken, C.; Brückner, R. Elucidation of the Stereostructure of the Annonaceous Acetogenin (+)-Montecristin through Total Synthesis. *New J. Chem.* **2001**, *25* (1), 40–54. <https://doi.org/10.1039/b002905j>.
- (53) Bermejo, A.; Figadère, B.; Zafra-Polo, M. C.; Barrachina, I.; Estornell, E.; Cortes, D. Acetogenins from Annonaceae: Recent Progress in Isolation, Synthesis and

- Mechanisms of Action. *Nat. Prod. Rep.* **2005**, *22* (2), 269–303. <https://doi.org/10.1039/b500186m>.
- (54) Chih, H. W.; Chiu, H. F.; Tang, K. S.; Chang, F. R.; Wu, Y. C. Bullatacin, a Potent Antitumor Annonaceous Acetogenin, Inhibits Proliferation of Human Hepatocarcinoma Cell Line 2.2.15 by Apoptosis Induction. *Life Sci.* **2001**, *69* (11), 1321–1331. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01209-7](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01209-7).
- (55) Ichimaru, N.; Murai, M.; Kakutani, N.; Kako, J.; Ishihara, A.; Nakagawa, Y.; Nishioka, T.; Yagi, T.; Miyoshi, H. Synthesis and Characterization of New Piperazine-Type Inhibitors for Mitochondrial NADH-Ubiquinone Oxidoreductase (Complex I). *Biochemistry* **2008**, *47* (40), 10816–10826. <https://doi.org/10.1021/bi8010362>.
- (56) Coria-Téllez, A. V.; Montalvo-González, E.; Yahia, E. M.; Obledo-Vázquez, E. N. *Annona Muricata*: A Comprehensive Review on Its Traditional Medicinal Uses, Phytochemicals, Pharmacological Activities, Mechanisms of Action and Toxicity. *Arab. J. Chem.* **2018**, *11* (5), 662–691. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.01.004>.
- (57) Levine, R. A.; Richards, K. M.; Tran, K.; Luo, R.; Thomas, A. L.; Smith, R. E. Determination of Neurotoxic Acetogenins in Pawpaw (*Asimina Triloba*) Fruit by LC-HRMS. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, *63* (4), 1053–1056. <https://doi.org/10.1021/jf504500g>.
- (58) Potts, L. F.; Luzzio, F. A.; Smith, S. C.; Hetman, M.; Champy, P.; Litvan, I. Annonacin in *Asimina Triloba* Fruit: Implication for Neurotoxicity. *Neurotoxicology* **2012**, *33* (1), 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2011.10.009>.
- (59) Bernardes, L. S. C.; Kato, M. J.; Albuquerque, S.; Carvalho, I. Synthesis and Trypanocidal Activity of 1,4-Bis-(3,4,5-Trimethoxy-Phenyl)-1,4-Butanediol and 1,4-Bis-(3,4-Dimethoxyphenyl)-1,4-Butanediol. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, *14* (21), 7075–7082. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2006.07.006>.
- (60) Da Silva Filho, A. A.; Albuquerque, S.; Silva, M. L. A. E.; Eberlin, M. N.; Tomazela, D. M.; Bastos, J. K. Tetrahydrofuran Lignans from *Nectandra*

- Megapotamica with Trypanocidal Activity. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67* (1), 42–45. <https://doi.org/10.1021/np0302697>.
- (61) T.J. Schmidt; S.A. Khalid; A.J. Romanha; T.M.A. Alves; M.W. Biavatti; R. Brun; F.B. Da Costa; S.L. de Castro; V.F. Ferreira; M.V.G. de Lacerda; J.H.G. Lago; L.L. Leon; N.P. Lopes; R.C. das Neves Amorim; M. Niehues; I.V. Ogungbe. The Potential of Secondary Metabolites from Plants as Drugs or Leads Against Protozoan Neglected Diseases - Part II. *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19* (14), 2176–2228. <https://doi.org/10.2174/092986712800229087>.
- (62) das Neves, A. R.; Trefzger, O. S.; Barbosa, N. V.; Honorato, A. M.; Carvalho, D. B.; Moslaves, I. S.; Kadri, M. C. T.; Yoshida, N. C.; Kato, M. J.; Arruda, C. C. P.; Baroni, A. C. M. Effect of Isoxazole Derivatives of Tetrahydrofuran Neolignans on Intracellular Amastigotes of *Leishmania (Leishmania) Amazonensis*: A Structure–Activity Relationship Comparative Study with Triazole-Neolignan-Based Compounds. *Chem. Biol. Drug Des.* **2019**, *94* (6), 2004–2012. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13609>.
- (63) Lu, S.; Kurtán, T.; Yang, G.; Sun, P.; Mándi, A.; Krohn, K.; Draeger, S.; Schulz, B.; Yi, Y.; Li, L.; Zhang, W. Cytosporolides A-E, New Nonanolides from an Endophytic Fungus, *Cytospora* Sp. *European J. Org. Chem.* **2011**, *2011* (28), 5452–5459. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201100675>.
- (64) Ehrlich, G.; Stark, C. B. W. Synthesis of Cytosporolide Analogues and Late-State Diversification Thereof. *J. Org. Chem.* **2019**, *84* (6), 3132–3147. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b02999>.
- (65) Lu, S.; Sun, P.; Li, T.; Kurtán, T.; Mándi, A.; Antus, S.; Krohn, K.; Draeger, S.; Schulz, B.; Yi, Y.; Li, L.; Zhang, W. Bioactive Nonanolide Derivatives Isolated from the Endophytic Fungus *Cytospora* Sp. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (23), 9699–9710. <https://doi.org/10.1021/jo201755v>.
- (66) Raghavan, S.; Patel, J. S.; Ramakrishna, K. V. S. Synthesis of (-) Cephalosporolide e and (+) Cephalosporolide F Utilizing the Vinylogous Mukaiyama Type Reaction with an α -Chloro Sulfide. *RSC Adv.* **2016**, *6* (77), 72877–72884. <https://doi.org/10.1039/c6ra13861f>.

- (67) Oller-López, J. L.; Iranzo, M.; Mormeneo, S.; Oliver, E.; Cuerva, J. M.; Oltra, J. E. Bassianolone: An Antimicrobial Precursor of Cephalosporolides E and F from the Entomoparasitic Fungus *Beauveria Bassiana*. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3* (7), 1172–1173. <https://doi.org/10.1039/b417534d>.
- (68) Hussain Qadri, S. M.; Johnson, S. In Vitro Activity of Netilmicin. *J. - Oklahoma State Med. Assoc.* **1984**, *77* (7), 198–201.
- (69) Kusche, B. R.; Smith, A. E.; McGuirl, M. A.; Priestley, N. D. Alternating Pattern of Stereochemistry in the Nonactin Macrocyclic Is Required for Antibacterial Activity and Efficient Ion Binding. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (47), 17155–17165. <https://doi.org/10.1021/ja9050235>.
- (70) Łowicki, D.; Huczyński, A. Structure and Antimicrobial Properties of Monensin and Its Derivatives: Summary of the Achievements. *Biomed Res. Int.* **2013**, *2013*, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2013/742149>.
- (71) Pinkerton, M.; Steinrauf, L. K. Molecular Structure of Monovalent Metal Cation Complexes of Monensin. *J. Mol. Biol.* **1970**, *49* (3), 533–546. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(70\)90279-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90279-2).
- (72) Huczyński, A.; Stefańska, J.; Przybylski, P.; Brzezinski, B.; Bartl, F. Synthesis and Antimicrobial Properties of Monensin A Esters. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2008**, *18* (8), 2585–2589. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.03.038>.
- (73) Katsuki, T.; Sharpless, K. B. The First Practical Method for Asymmetric Epoxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102* (18), 5974–5976. <https://doi.org/10.1021/ja00538a077>.
- (74) Kolb, H. C.; VanNieuwenhze, M. S.; Sharpless, K. B. Catalytic Asymmetric Dihydroxylation. *Chem. Rev.* **1994**, *94* (8), 2483–2547. <https://doi.org/10.1021/cr00032a009>.
- (75) Pappo, R.; Allen, D. S.; Johnson, W. S.; Lemieux, R. U. Osmium Tetroxide-Catalyzed Periodate Oxidation of Olefinic Bonds. *J. Org. Chem.* **1956**, *21* (4), 478–479. <https://doi.org/10.1021/jo01110a606>.
- (76) Yu, W.; Mei, Y.; Kang, Y.; Hua, Z.; Jin, Z. Improved Procedure for the Oxidative

- Cleavage of Olefins by OsO₄-NaIO₄. *Org. Lett.* **2004**, *6* (19), 3217–3219. <https://doi.org/10.1021/ol0400342>.
- (77) Yamanaka, H.; Yokoyama, M.; Sakamoto, T.; Shiraishi, T.; Sagi, M.; Mirugaki, M. Influence of Heteroaromatic Amines to Knoevenagel Condensation. *Heterocycles* **1983**, *20* (8), 1541–1544. <https://doi.org/10.3987/r-1983-08-1541>.
- (78) VanRheenen, V.; Kelly, R. C.; Cha, D. Y. An Improved Catalytic OsO₄ Oxidation of Olefins to Cis-1,2-Glycols Using Tertiary Amine Oxides as the Oxidant. *Tetrahedron Lett.* **1976**, *17* (23), 1973–1976. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)78093-2](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)78093-2).
- (79) Dupau, P.; Epple, R.; Thomas, A. A.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. Osmium-Catalyzed Dihydroxylation of Olefins in Acidic Media: Old Process, New Tricks. *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344* (3–4), 421–433. [https://doi.org/10.1002/1615-4169\(200206\)344:3/4<421::AID-ADSC421>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/1615-4169(200206)344:3/4<421::AID-ADSC421>3.0.CO;2-F).
- (80) Krapcho, A. P. Synthetic Applications of Dealkoxycarbonylations of Malonate Esters, β -Keto Esters, α -Cyano Esters and Related Compounds in Dipolar Aprotic Media - Part II. *Synth.* **1982**, *1982* (11), 893–914. <https://doi.org/10.1055/s-1982-29991>.
- (81) Hou, H.; Gu, Q.; Wang, X.; Sun, D. Q.; Sun, B. F. Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Cornolactones A and B, and Formal Synthesis of Brasoside and Littoralisone. *Org. Chem. Front.* **2018**, *5* (3), 358–360. <https://doi.org/10.1039/c7qo00843k>.
- (82) Monga, A.; Bagchi, S.; Soni, R. K.; Sharma, A. Synthesis of Benzothiazoles via Photooxidative Decarboxylation of α -Keto Acids. *Adv. Synth. Catal.* **2020**, *362* (11), 2232–2237. <https://doi.org/10.1002/adsc.201901617>.
- (83) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62* (21), 7512–7515. <https://doi.org/10.1021/jo971176v>.
- (84) Yamauchi, N.; Natsubori, Y.; Murae, T. Practical Synthesis of [3-(2H₃)Methyl]Mevalonolactone and Incorporation Experiment of [3-(2H₃)Methyl]Mevalonolactone and [13C]Labeled Acetate in the Biosynthesis of

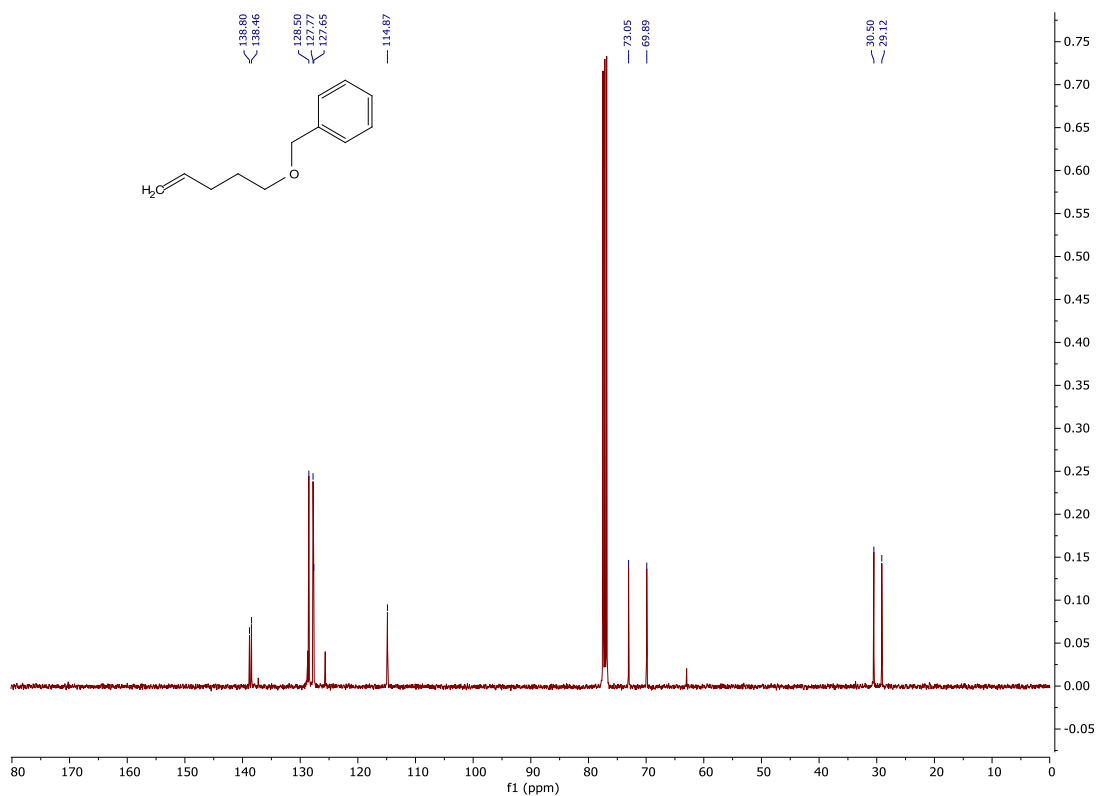
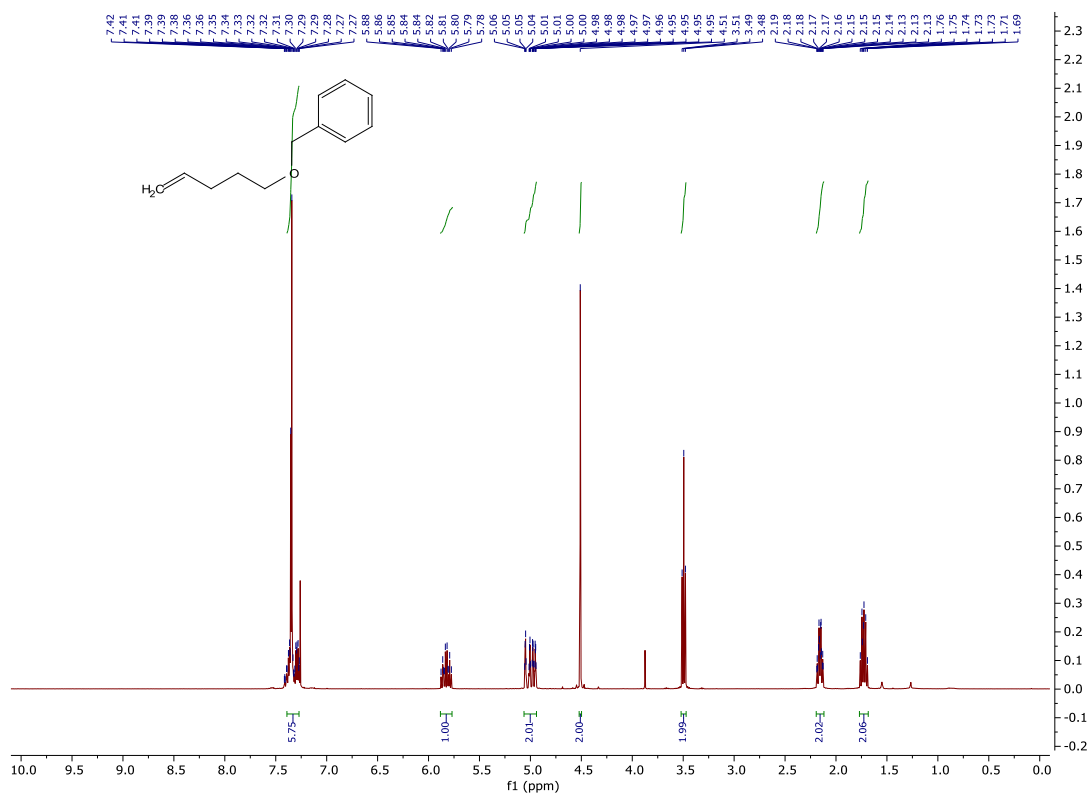
- Isoprenoidal Diether Lipids of Halophilic Archaea. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2000**, *73* (11), 2513–2519. <https://doi.org/10.1246/bcsj.73.2513>.
- (85) Xu, Y. C.; Kohlman, D. T.; Liang, S. X.; Eriksson, C. Stereoselective, Oxidative C-C Bond Coupling of Naphthopyran Induced by DDQ: Stereocontrolled Total Synthesis of Deoxyfrenolicin. *Org. Lett.* **1999**, *1* (10), 1599–1602. <https://doi.org/10.1021/o19909738>.
- (86) Bossart, M.; Fässler, R.; Schoenberger, J.; Studer, A. Stereoselective Radical Aryl Migration Reactions from Sulfur to Carbon. *European J. Org. Chem.* **2002**, *2002* (16), 2742–2757. [https://doi.org/10.1002/1099-0690\(200208\)2002:16<2742::AID-EJOC2742>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1099-0690(200208)2002:16<2742::AID-EJOC2742>3.0.CO;2-R).

Internetové odkazy

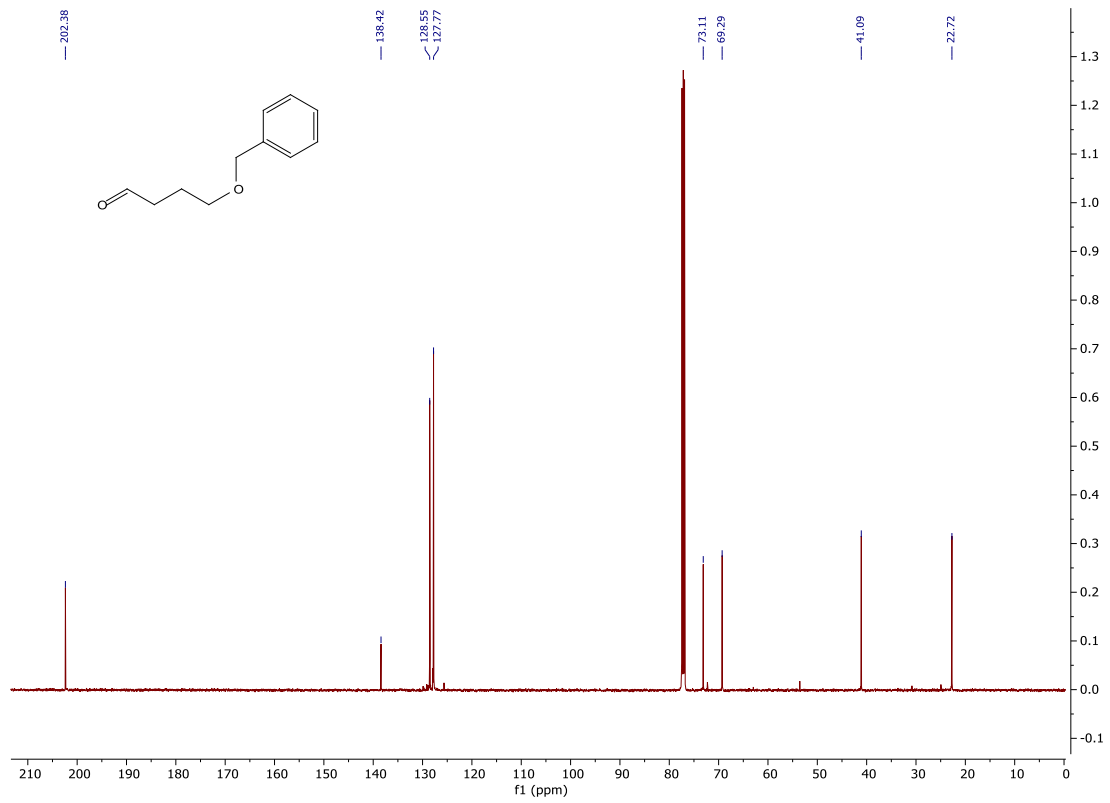
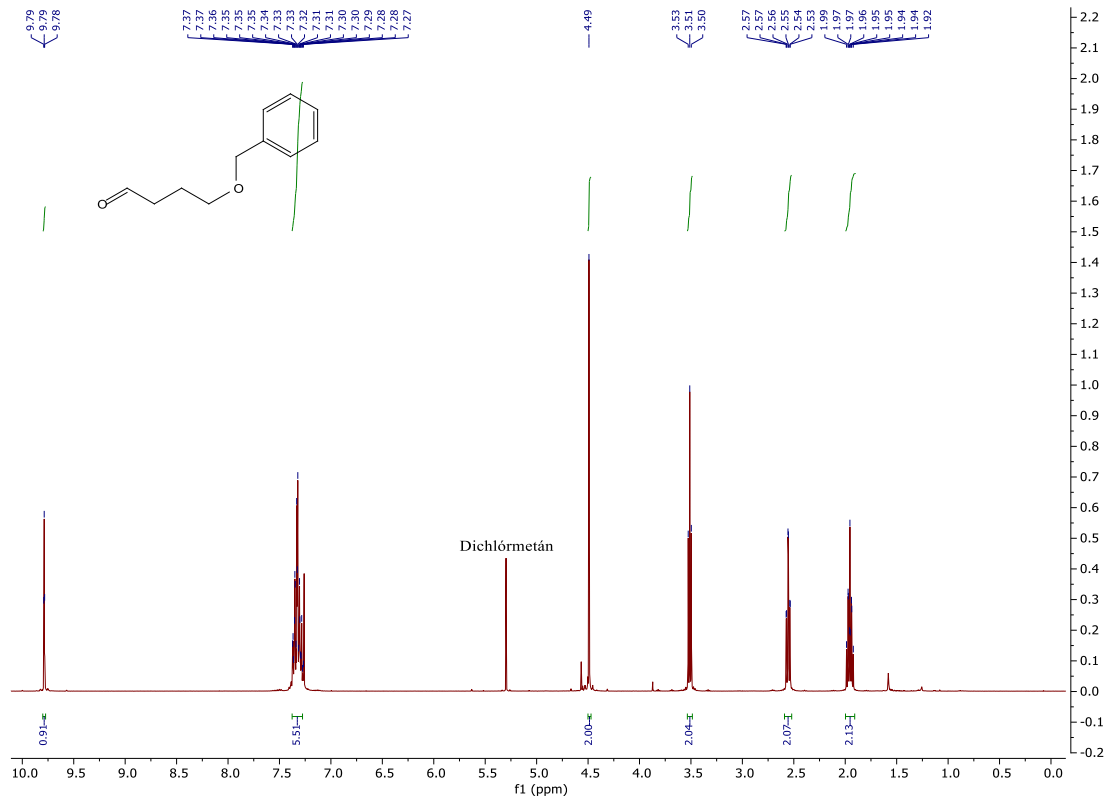
- [1] Hans Reich's Collection. Bordwell pKa Table, stiahnuté zo stránky: <https://organicchemistrydata.org/hansreich/resources/pka/>; dňa 04.05.2021

7 PRÍLOHY

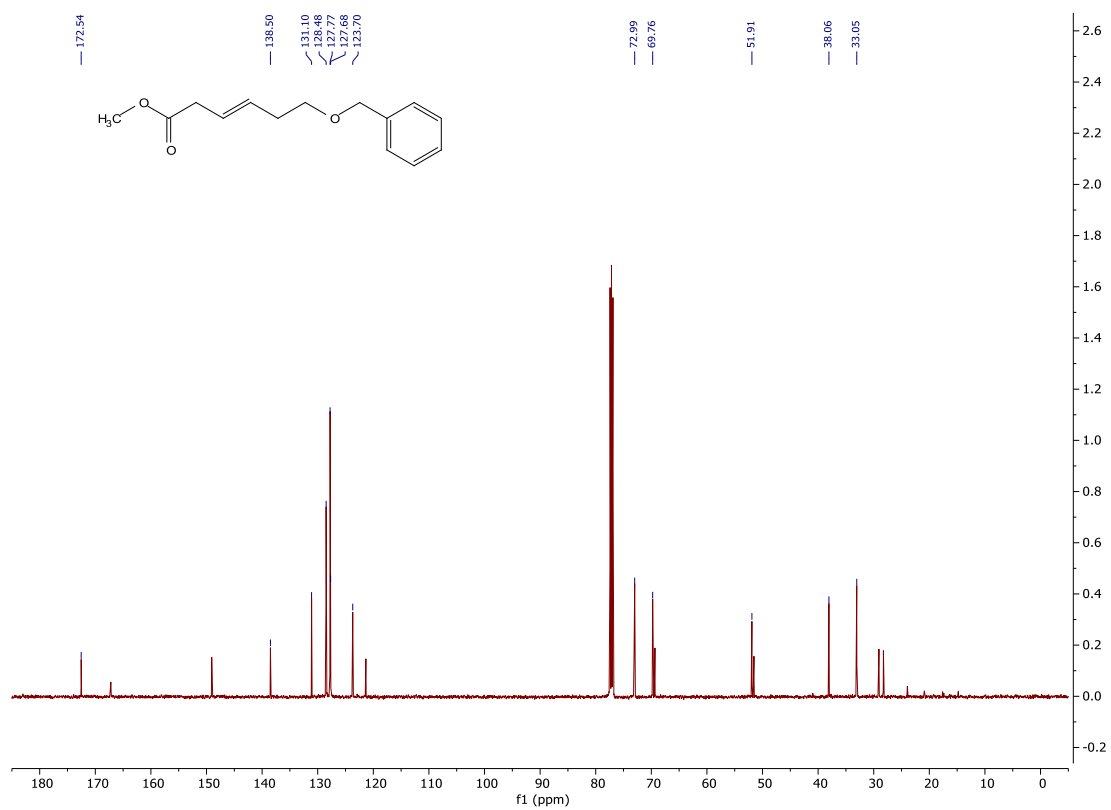
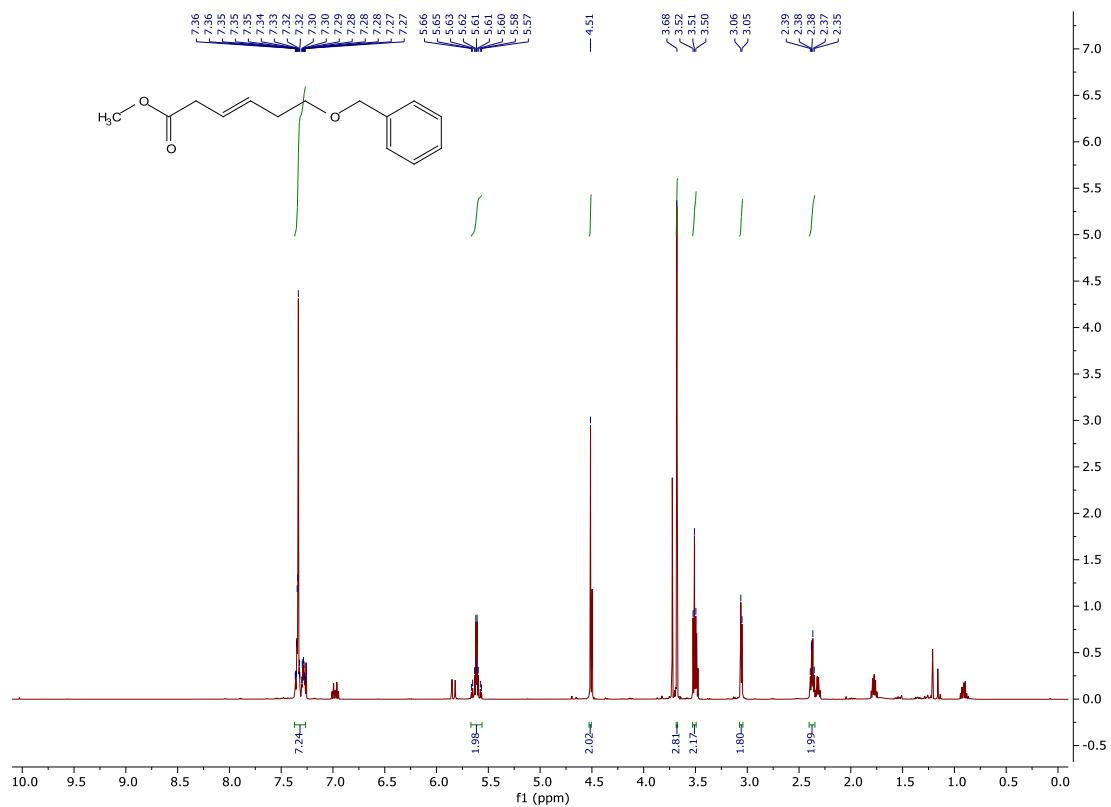
7.1 ^1H a ^{13}C spektrum látky 47



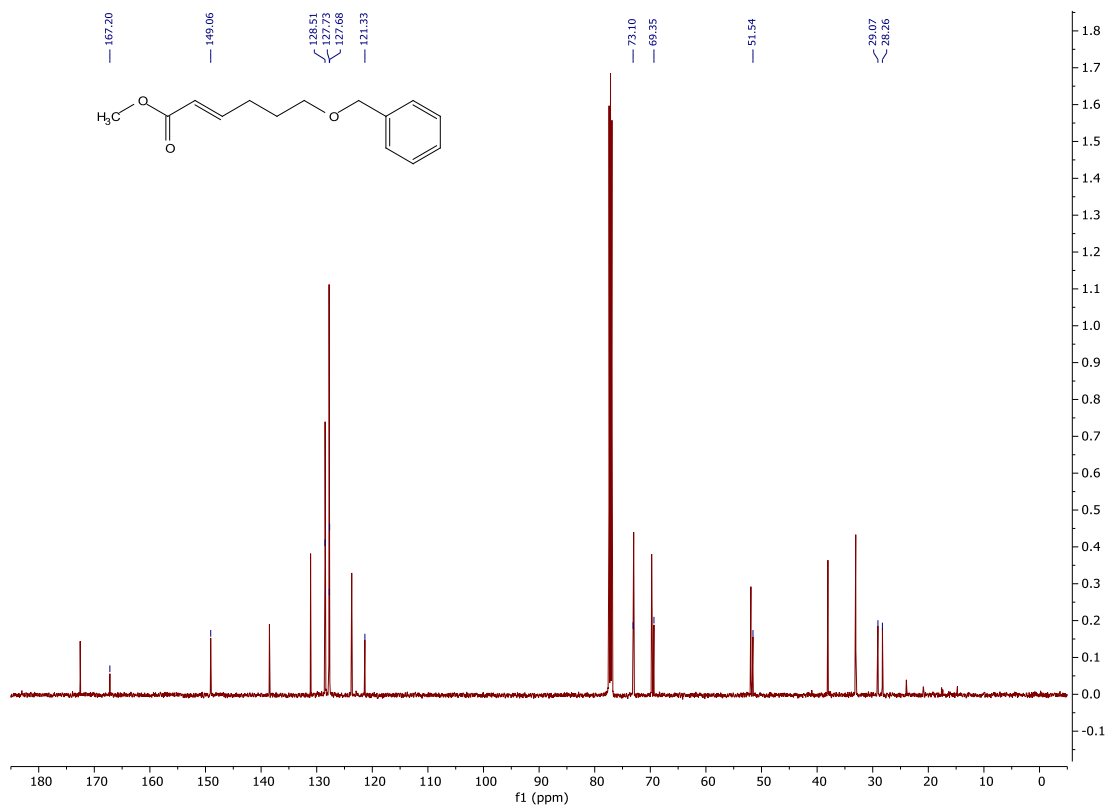
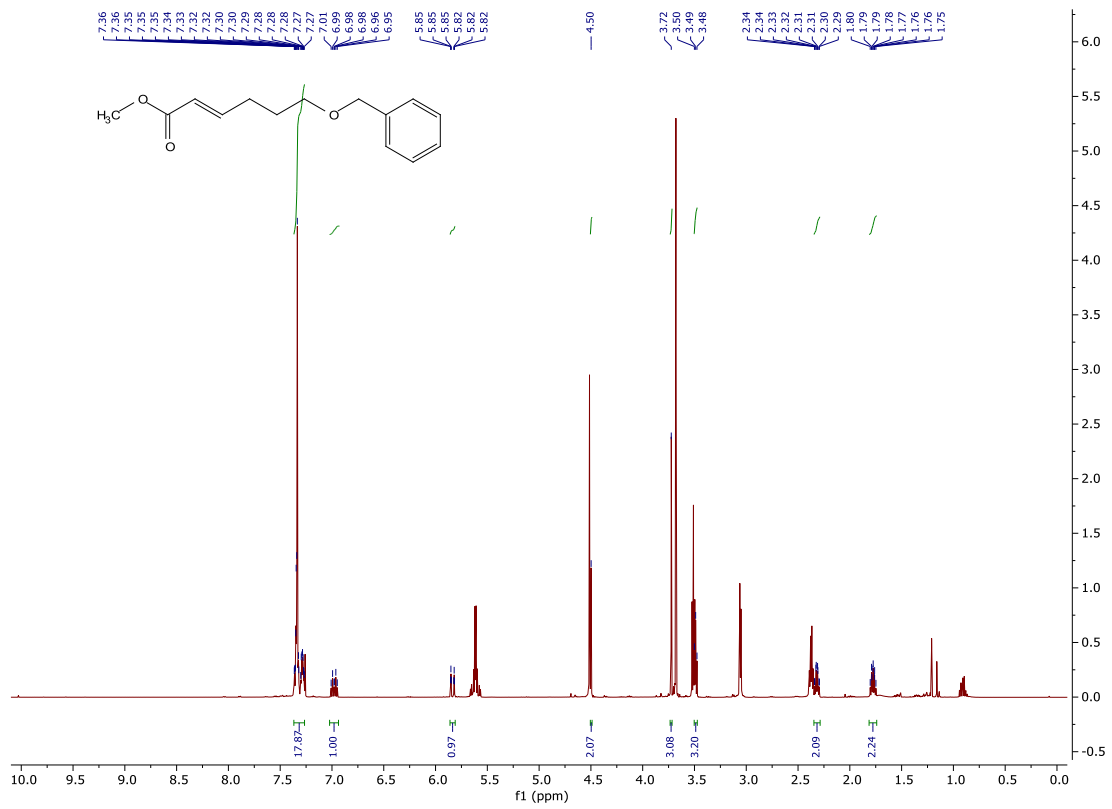
7.2 ^1H a ^{13}C spektrum látky 48



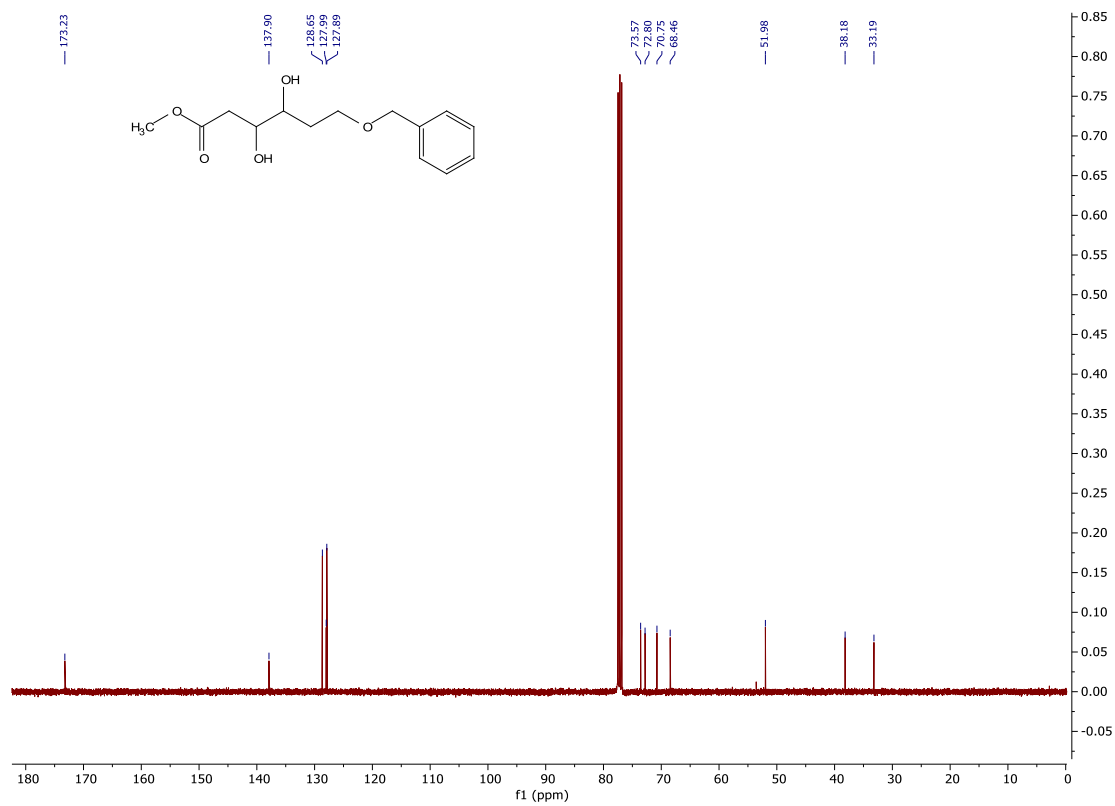
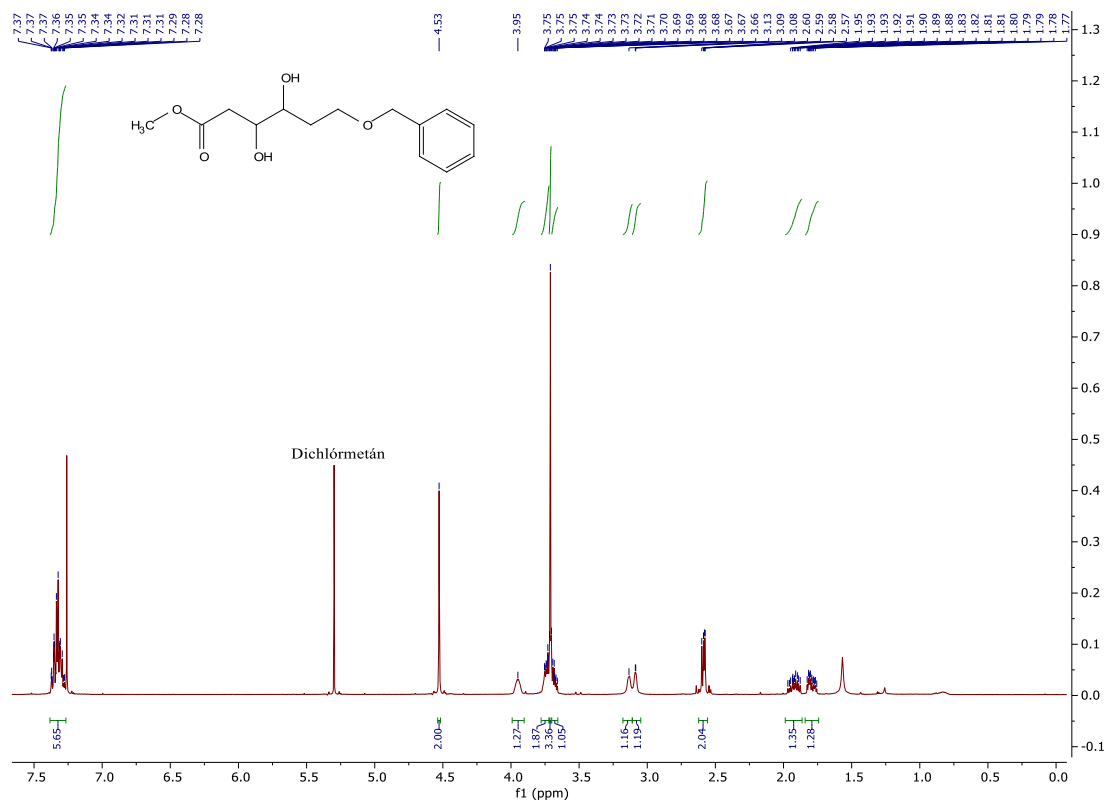
7.3 ^1H a ^{13}C spektrum látky 50



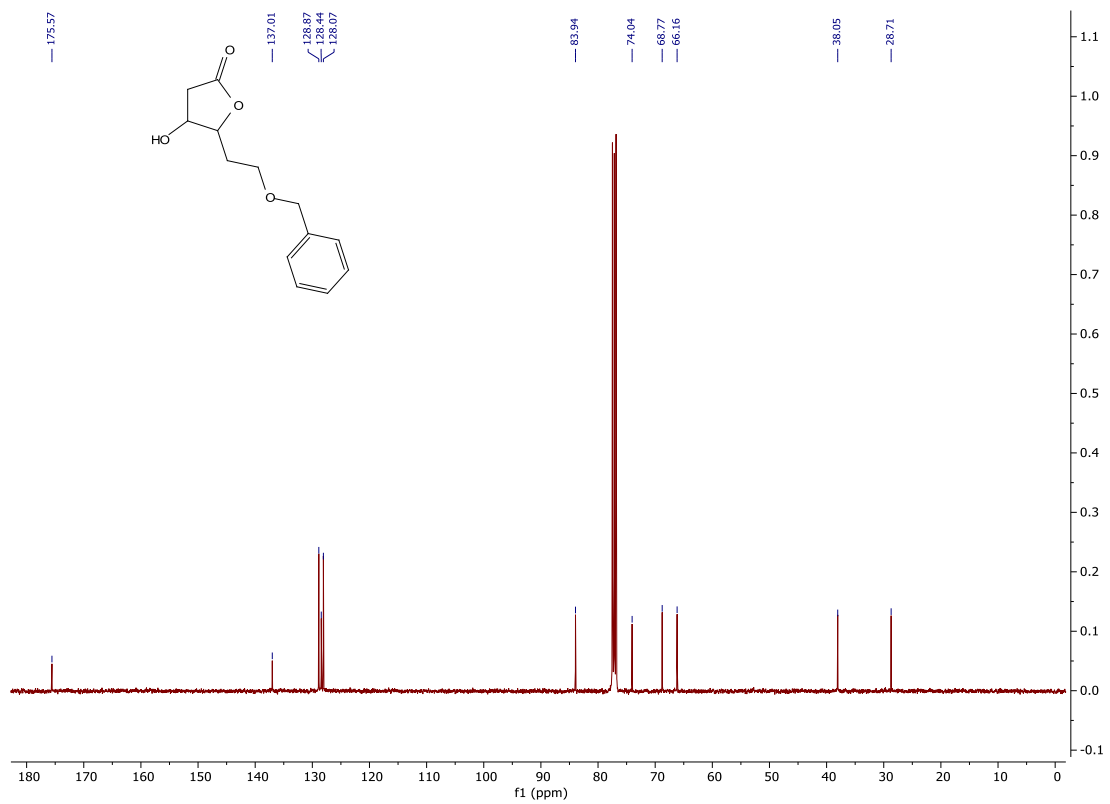
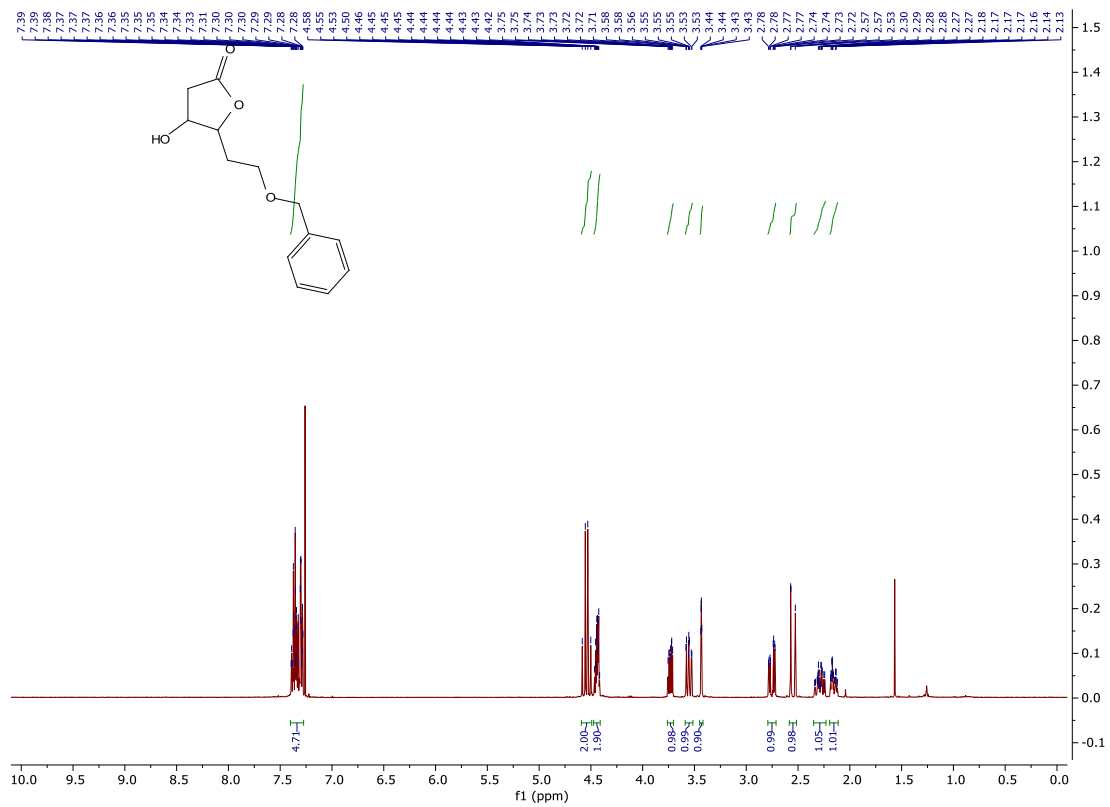
7.4 ^1H a ^{13}C spektrum látky 51



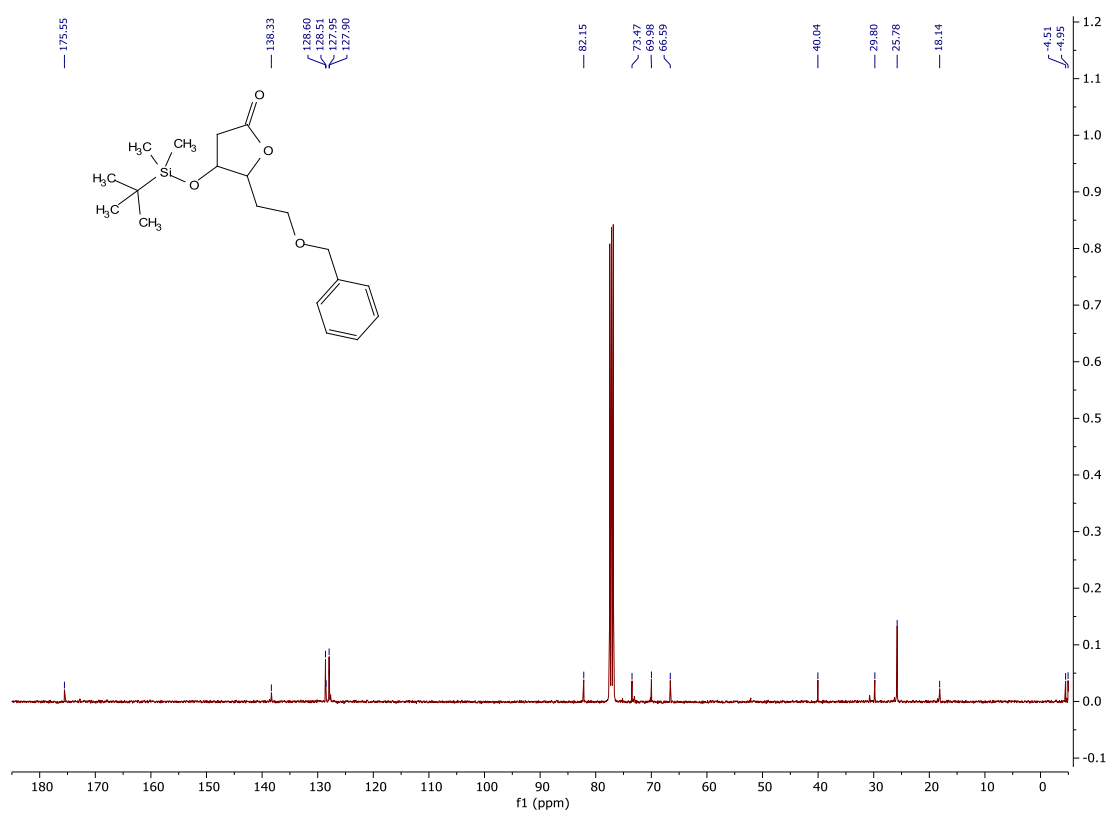
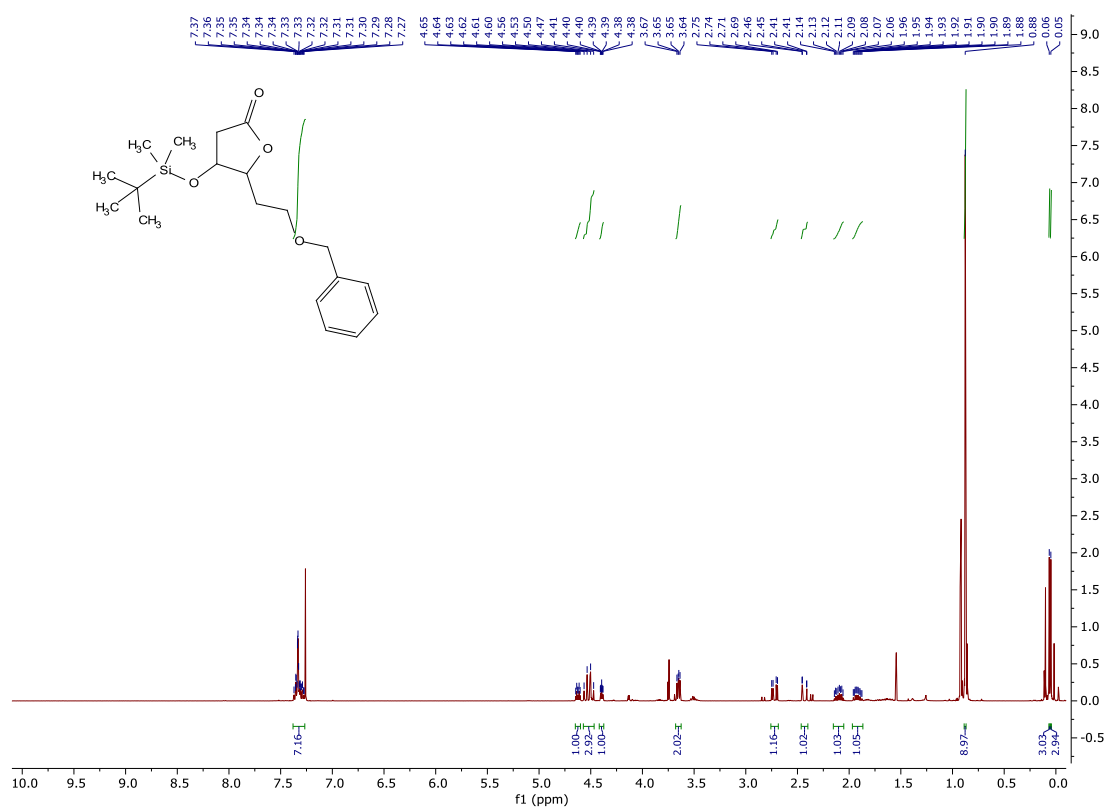
7.5 ^1H a ^{13}C spektrum látky 52



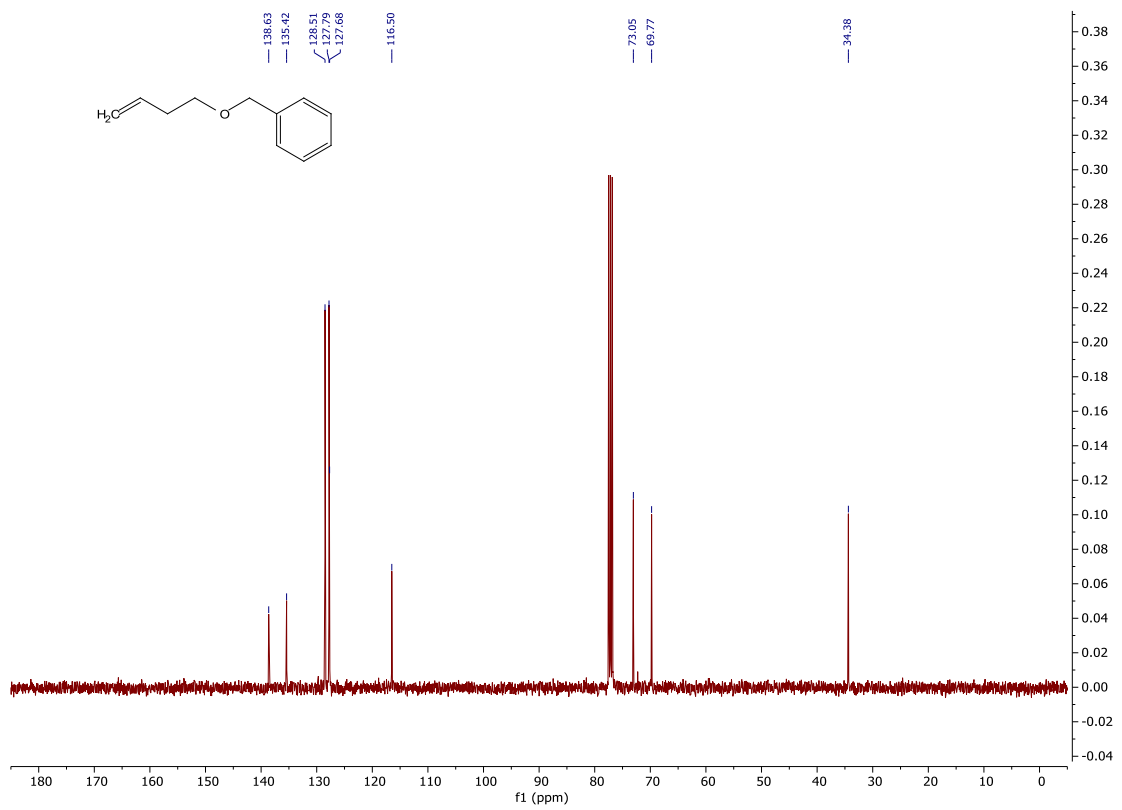
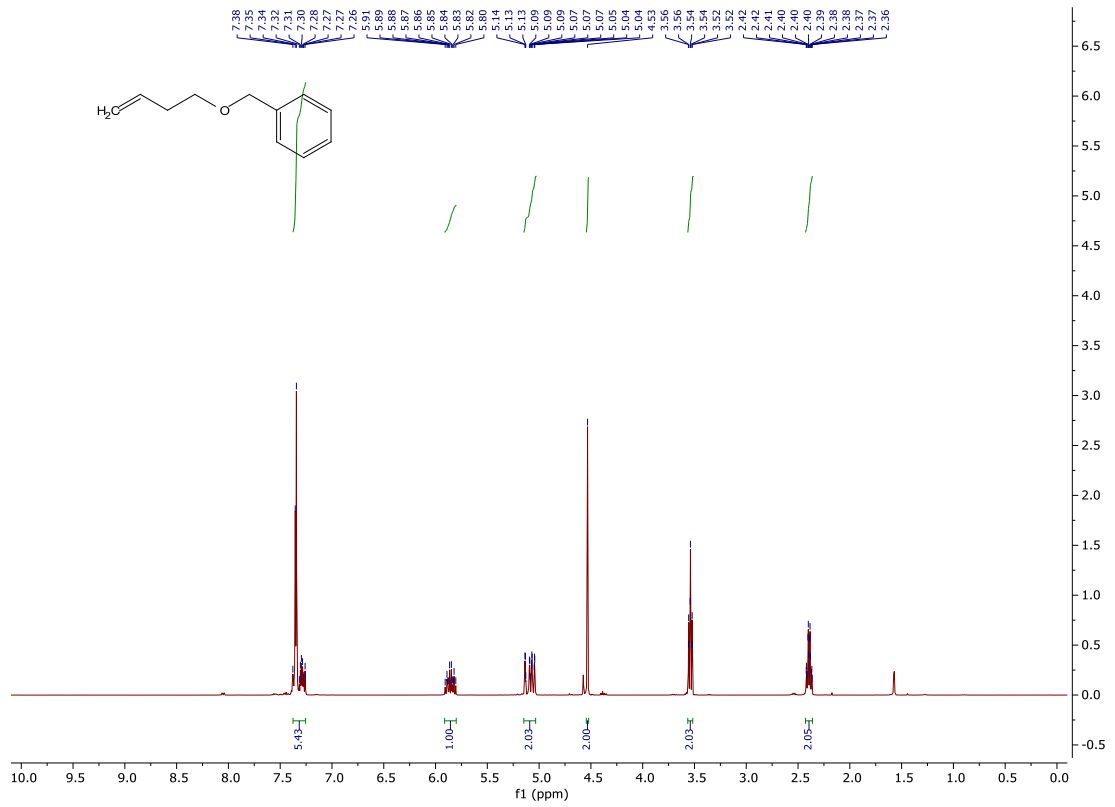
7.6 ^1H a ^{13}C spektrum látky 54



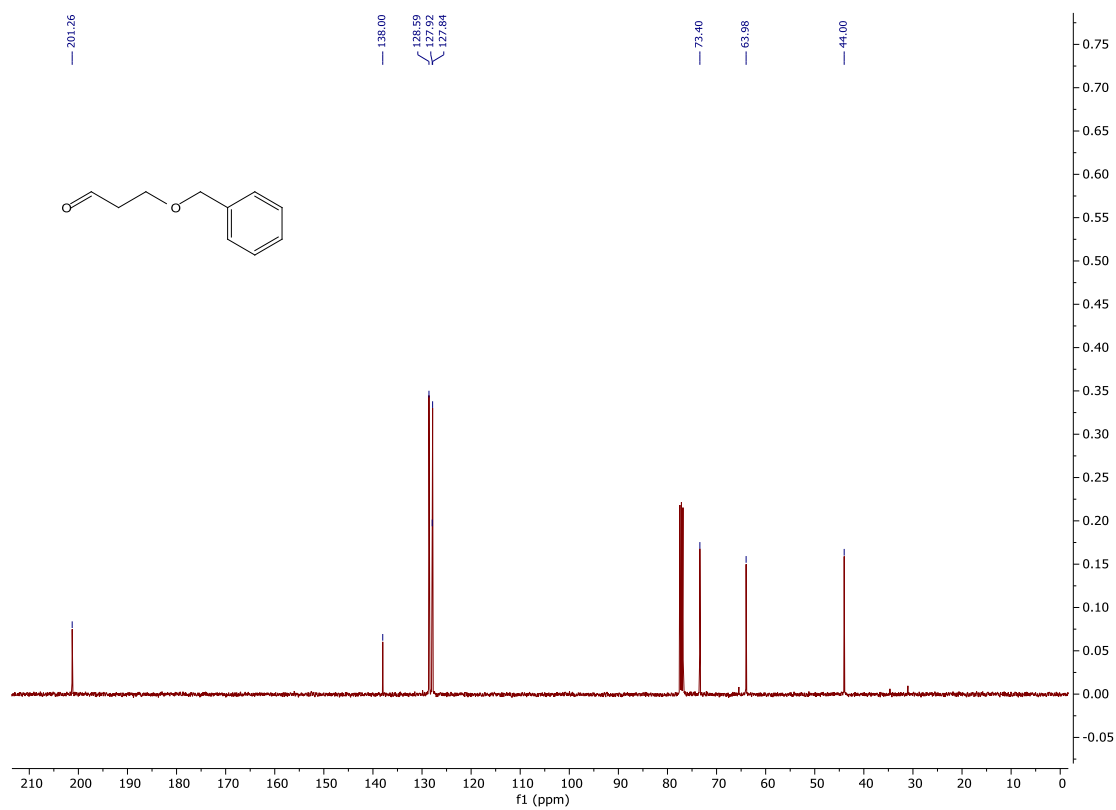
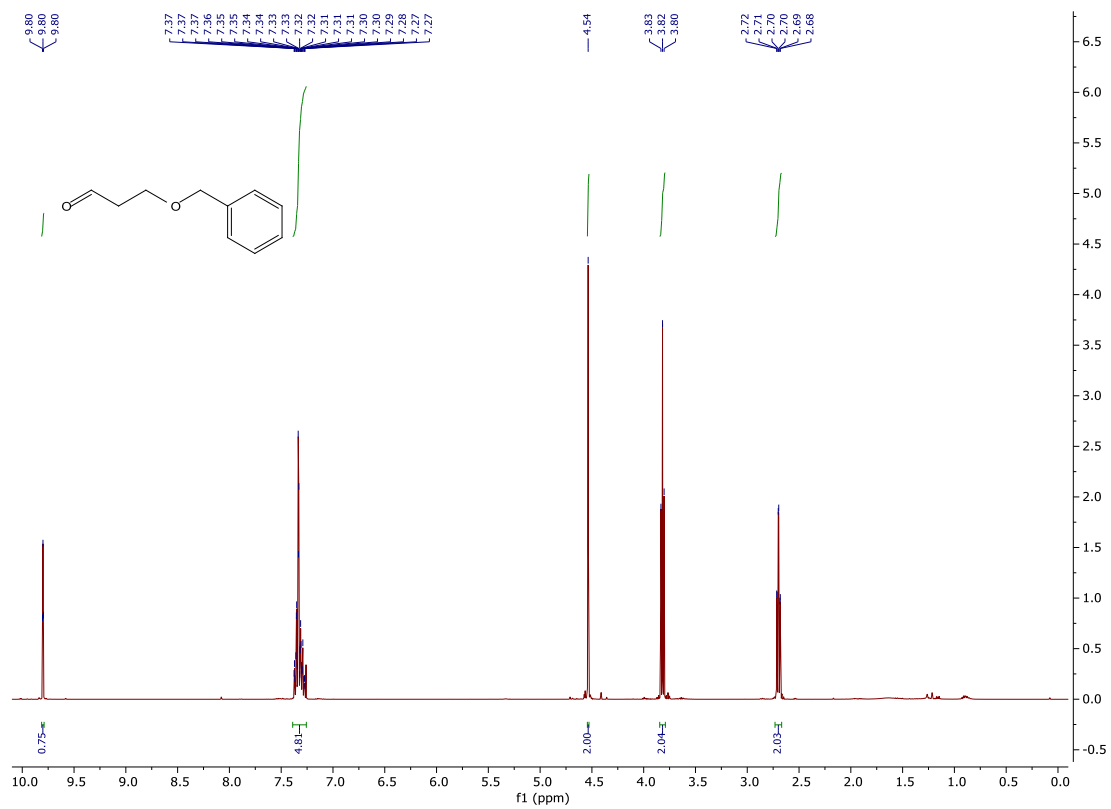
7.7 ^1H a ^{13}C spektrum látky 16



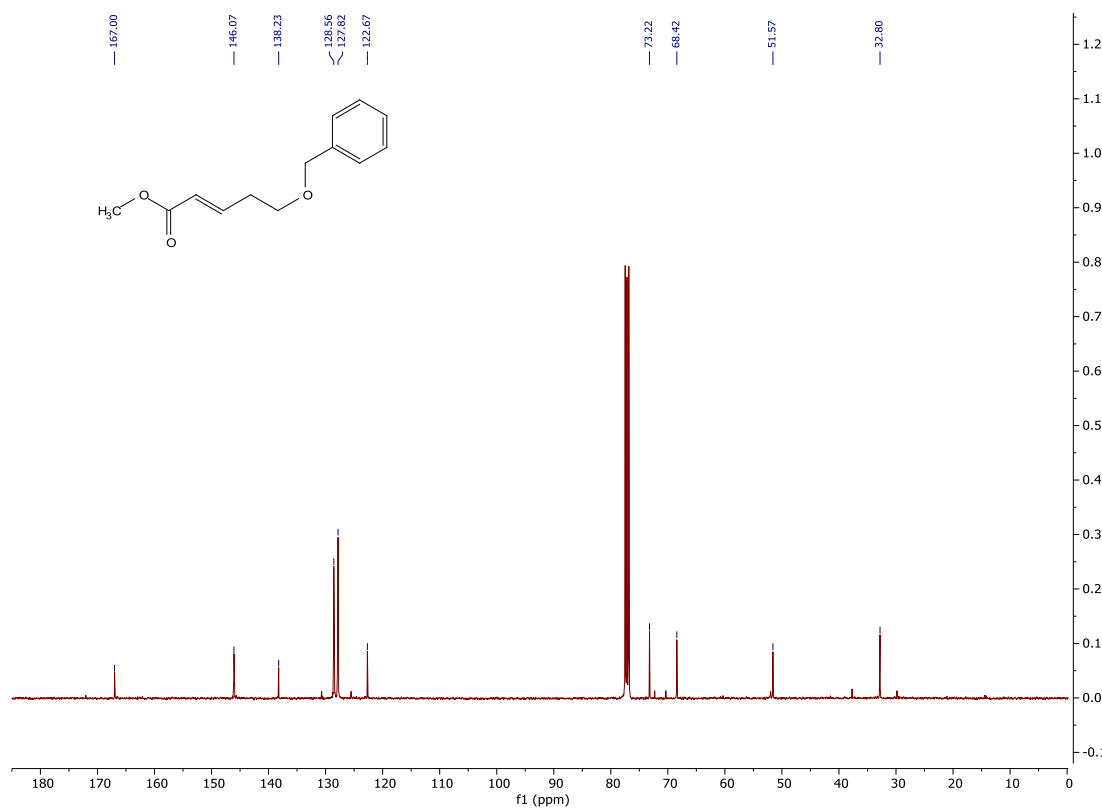
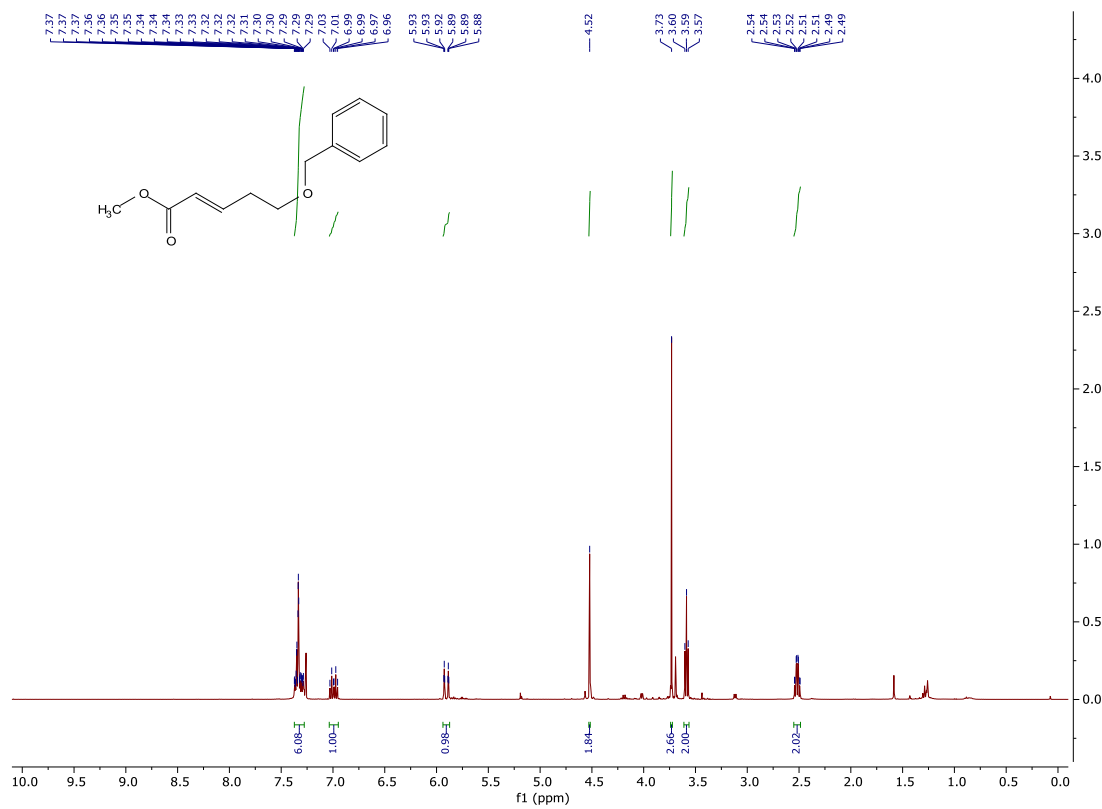
7.8 ^1H a ^{13}C spektrum látky 55



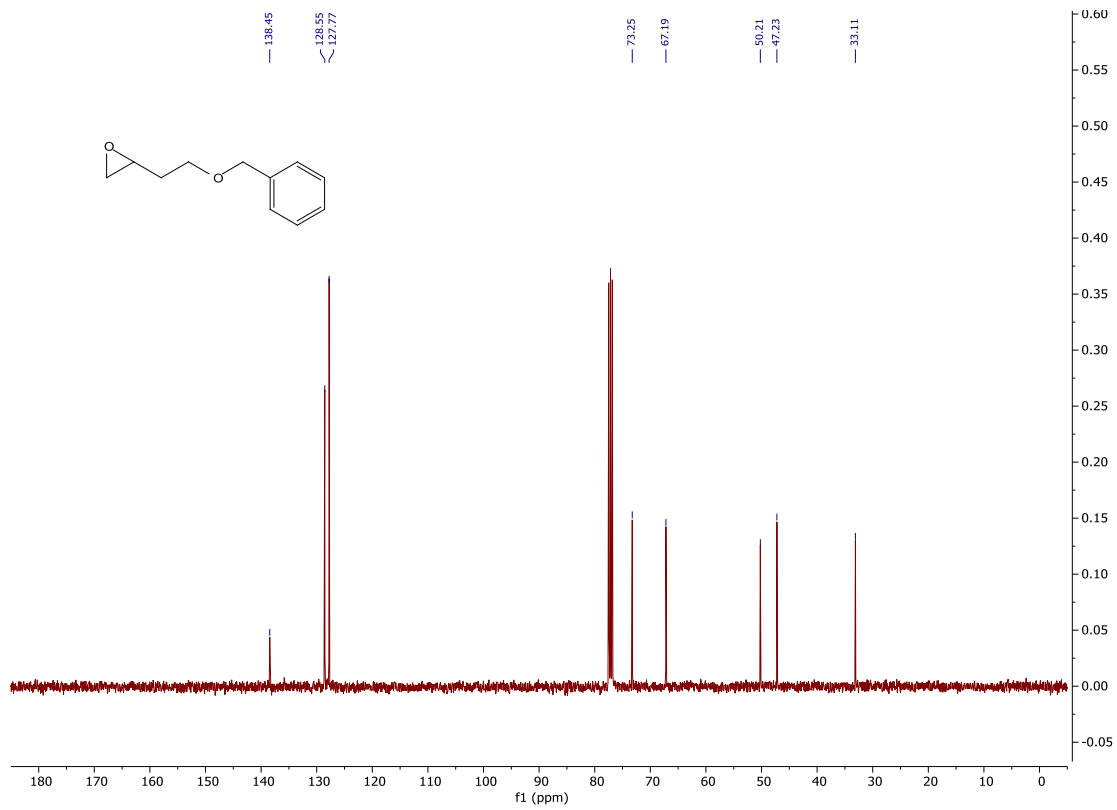
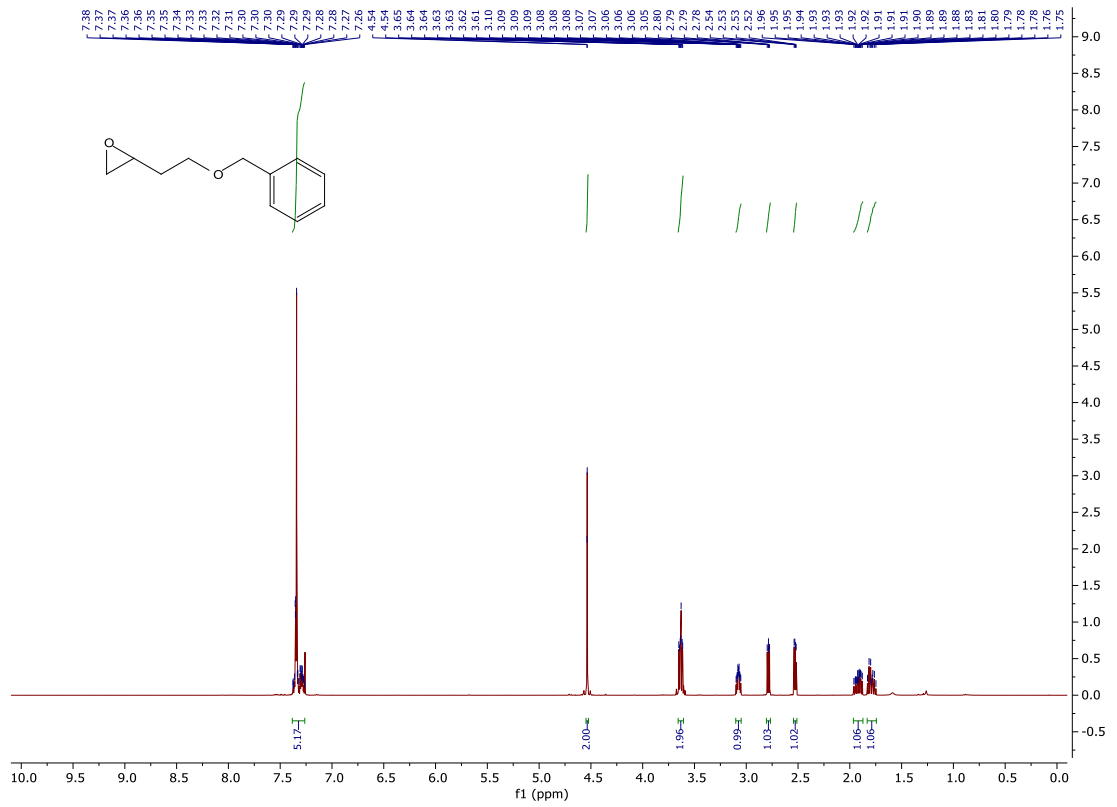
7.9 ¹H a ¹³C spektrum látky 56



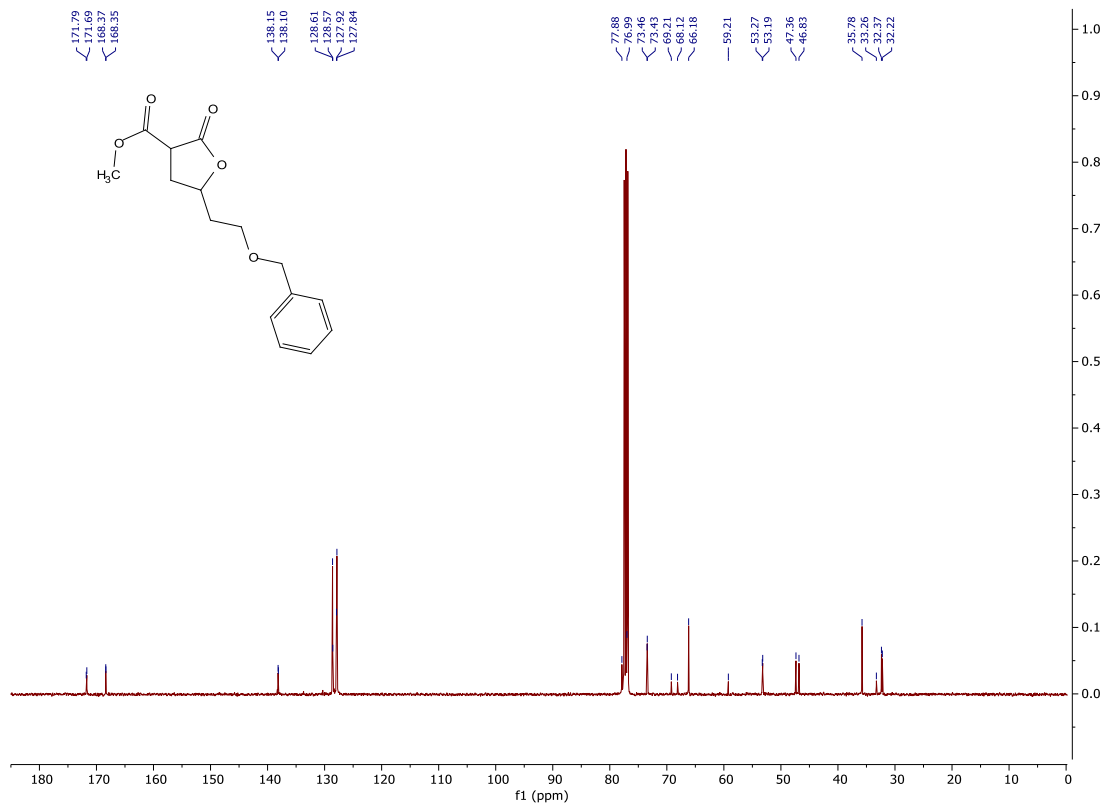
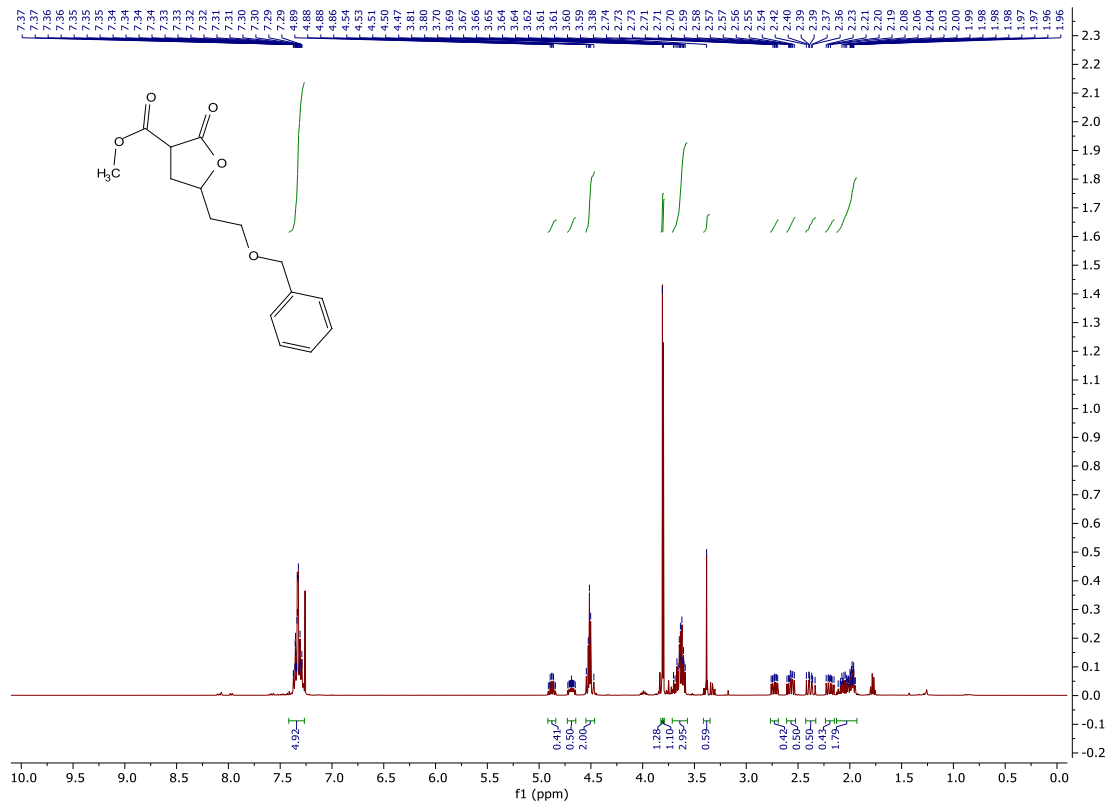
7.10 ^1H a ^{13}C spektrum látky 58



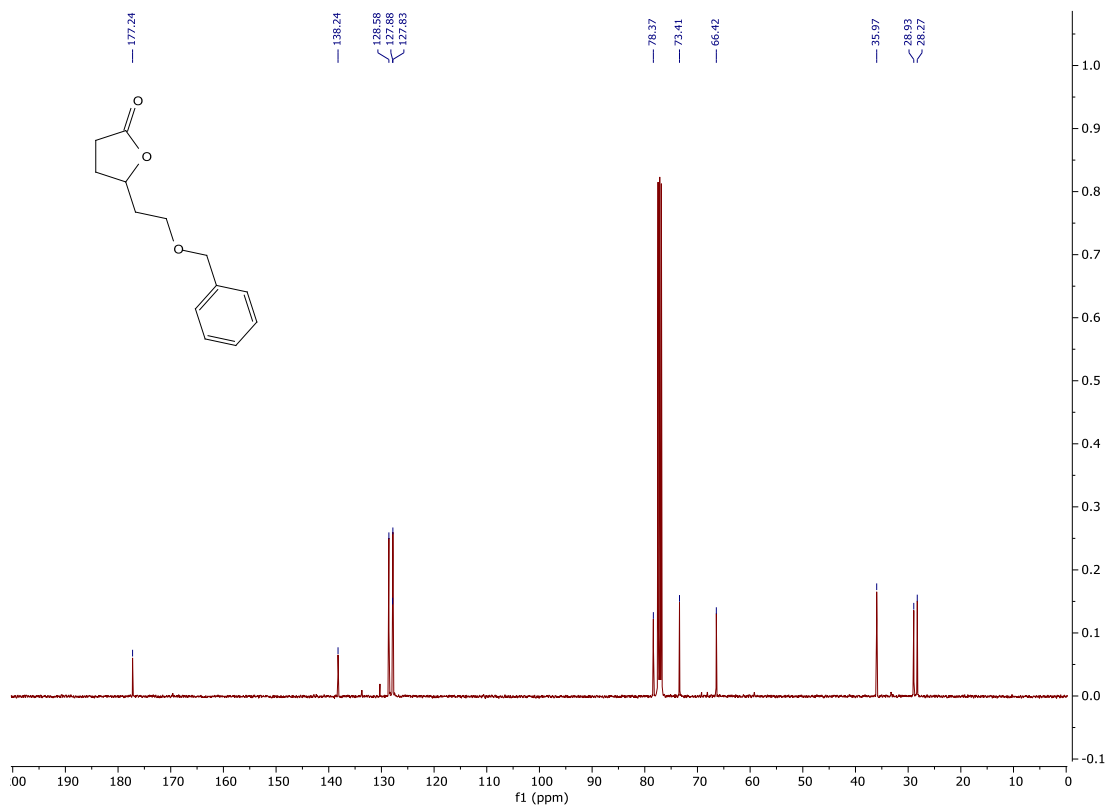
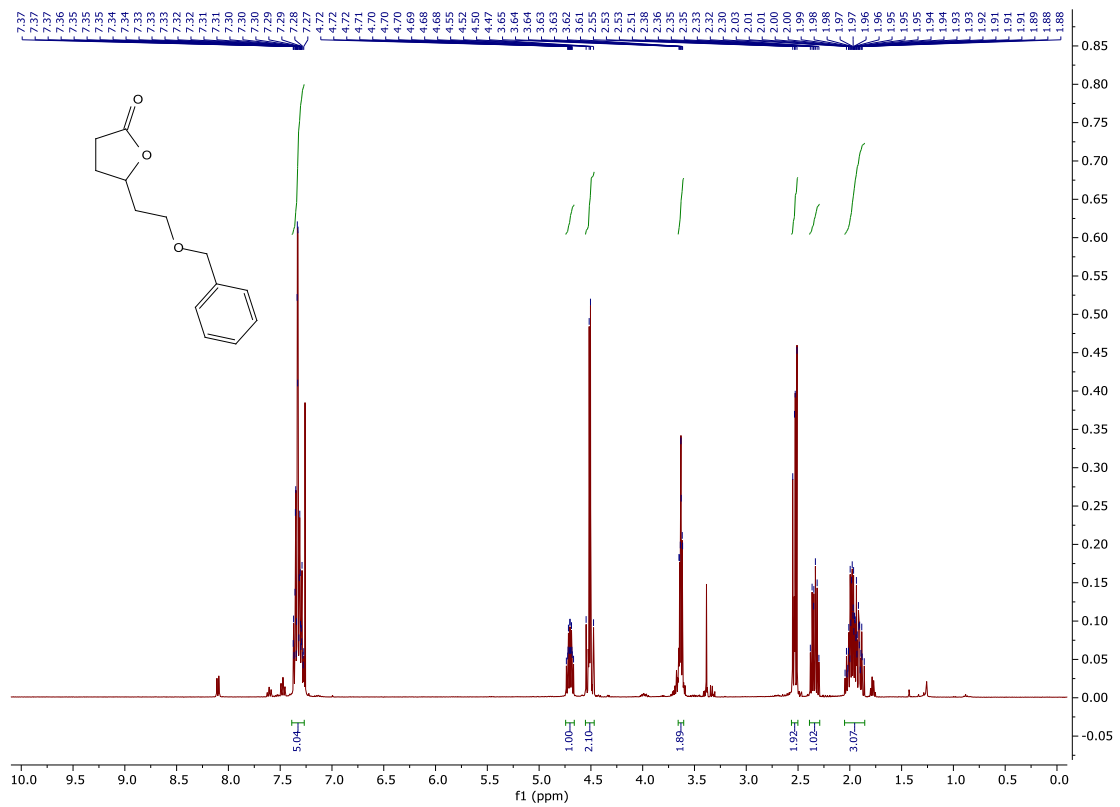
7.11 ^1H a ^{13}C spektrum látky 60



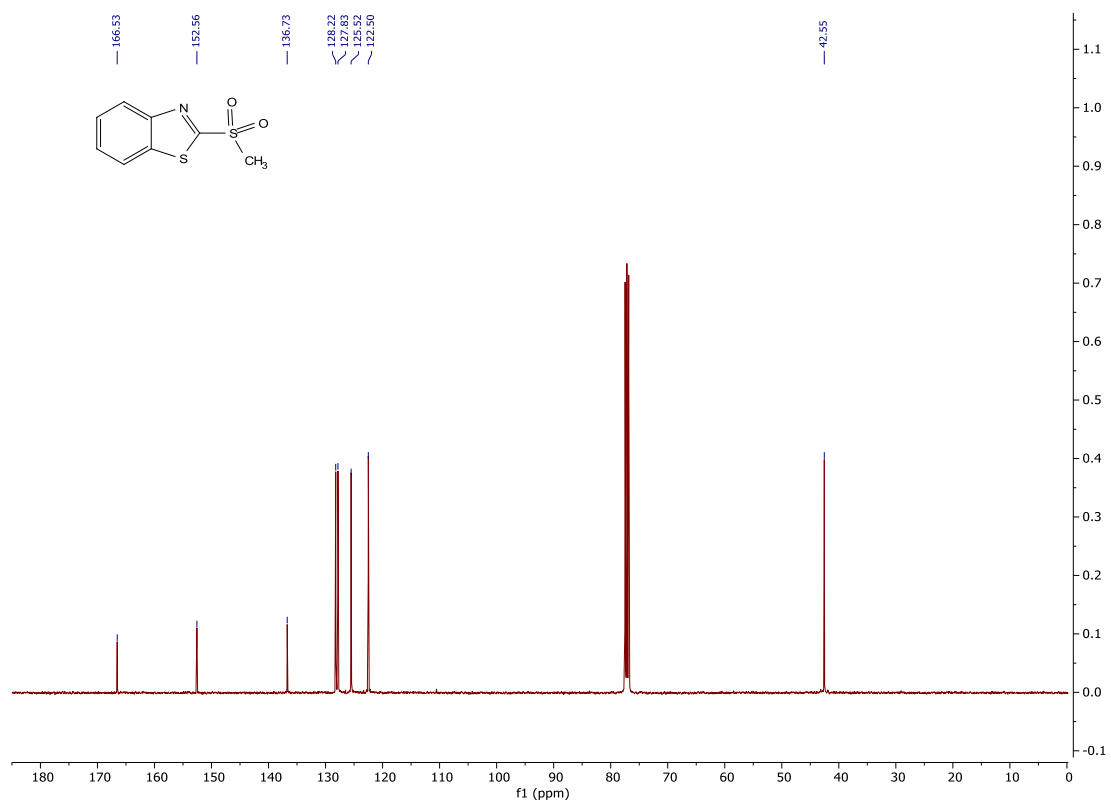
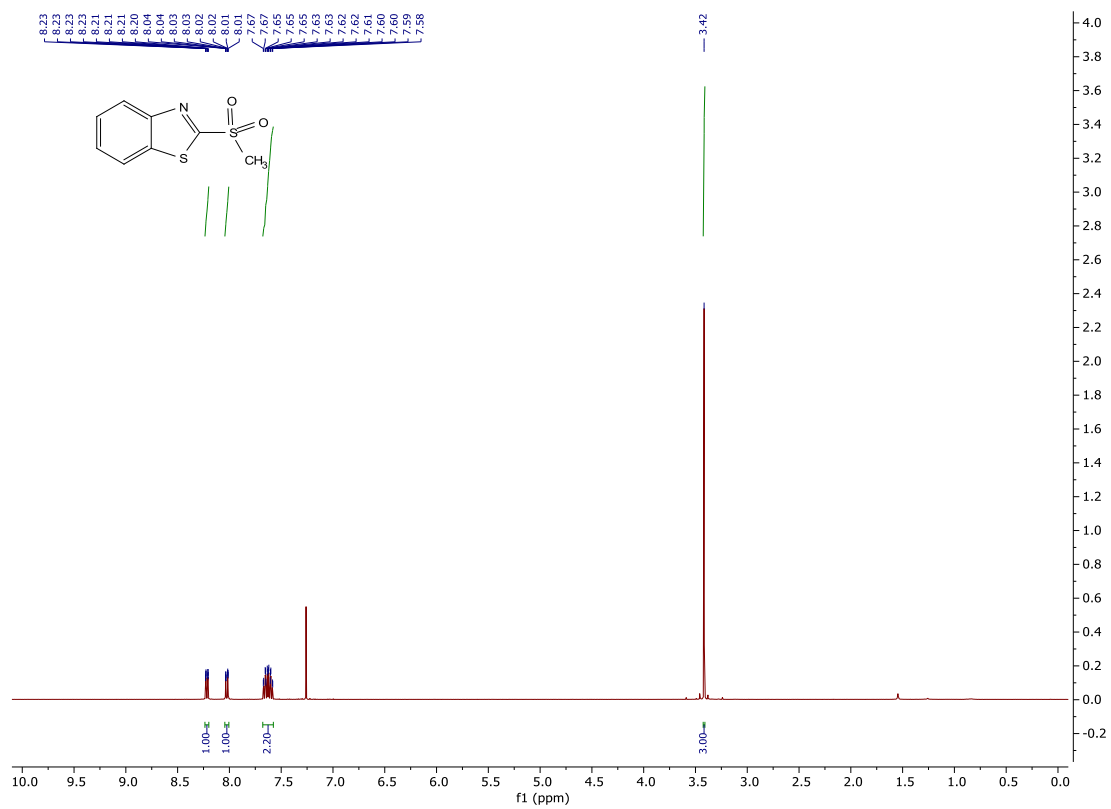
7.12 ^1H a ^{13}C spektrum látky 63



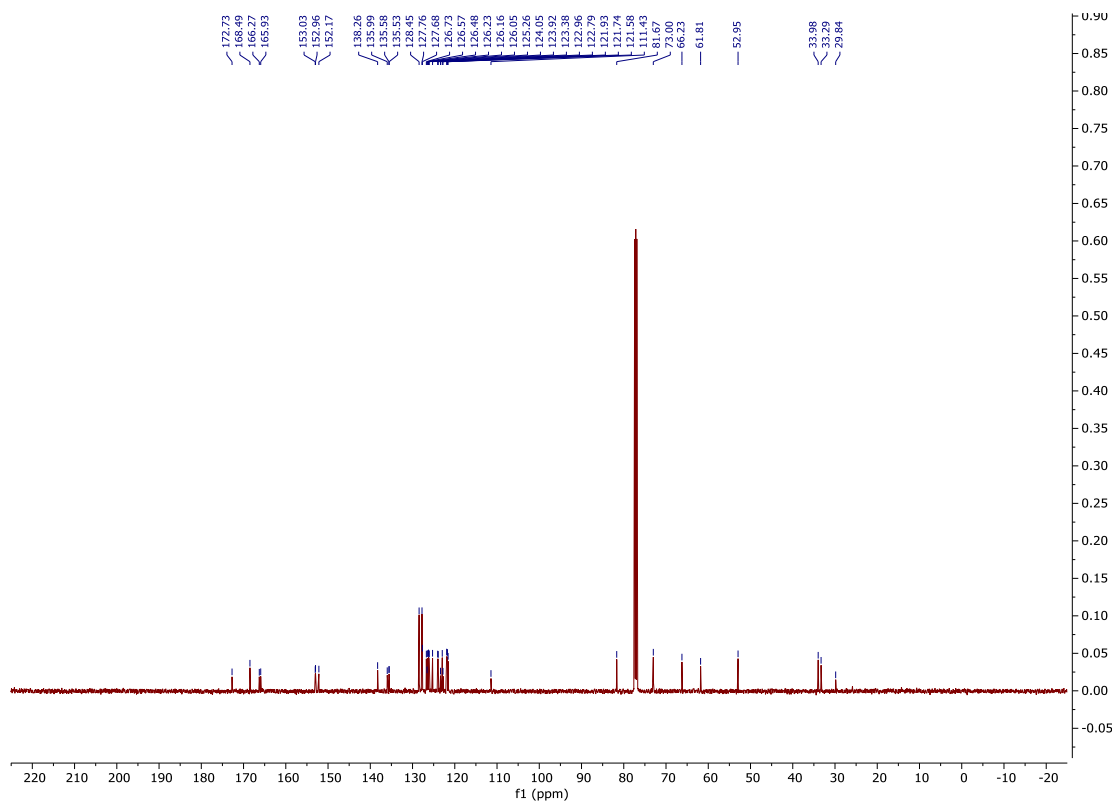
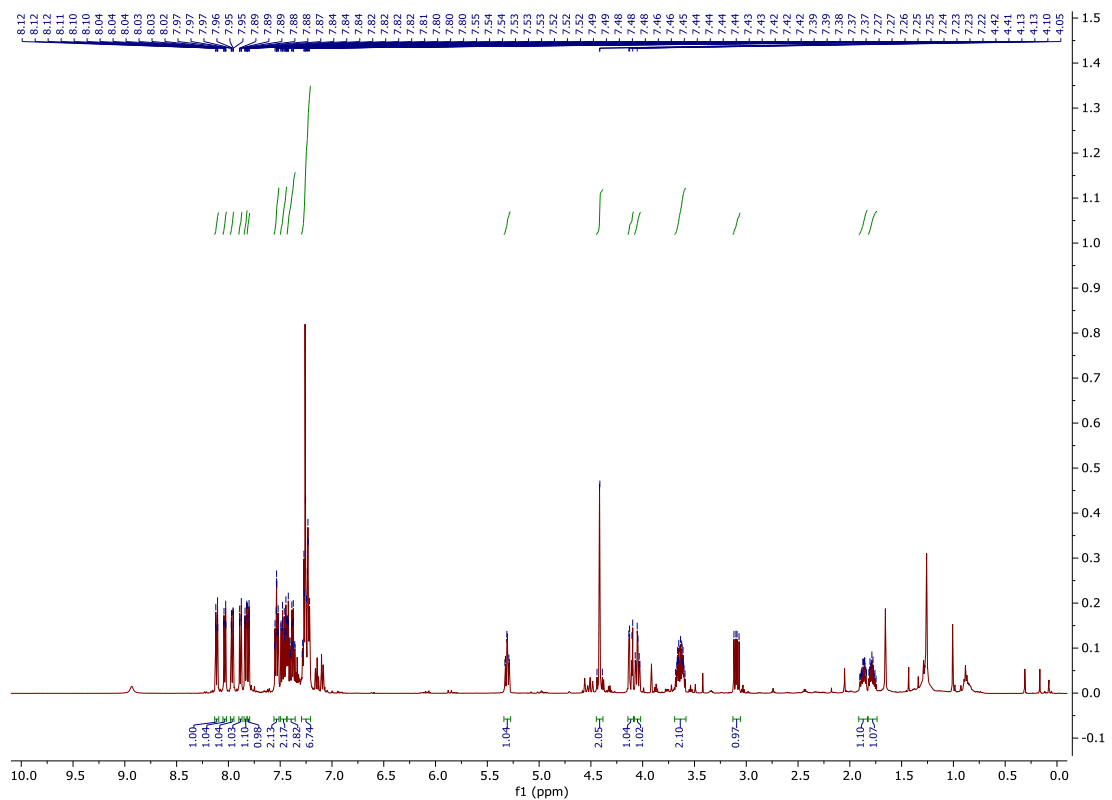
7.13 ^1H a ^{13}C spektrum látky 20



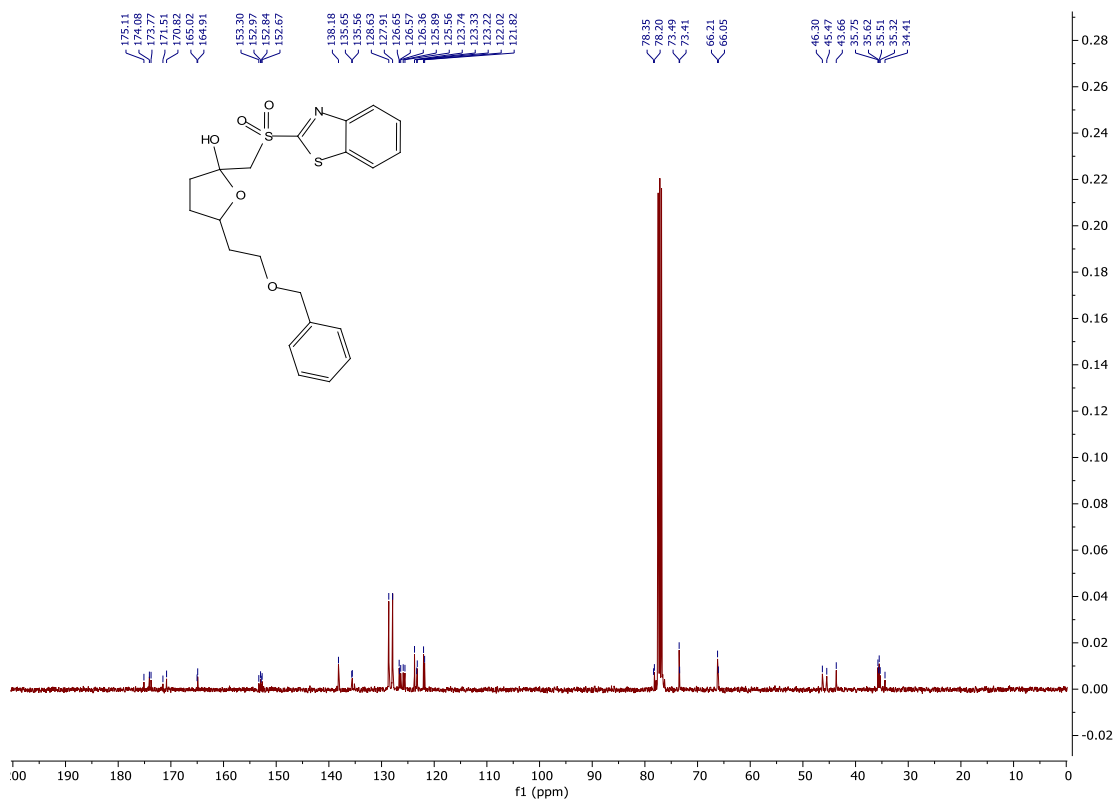
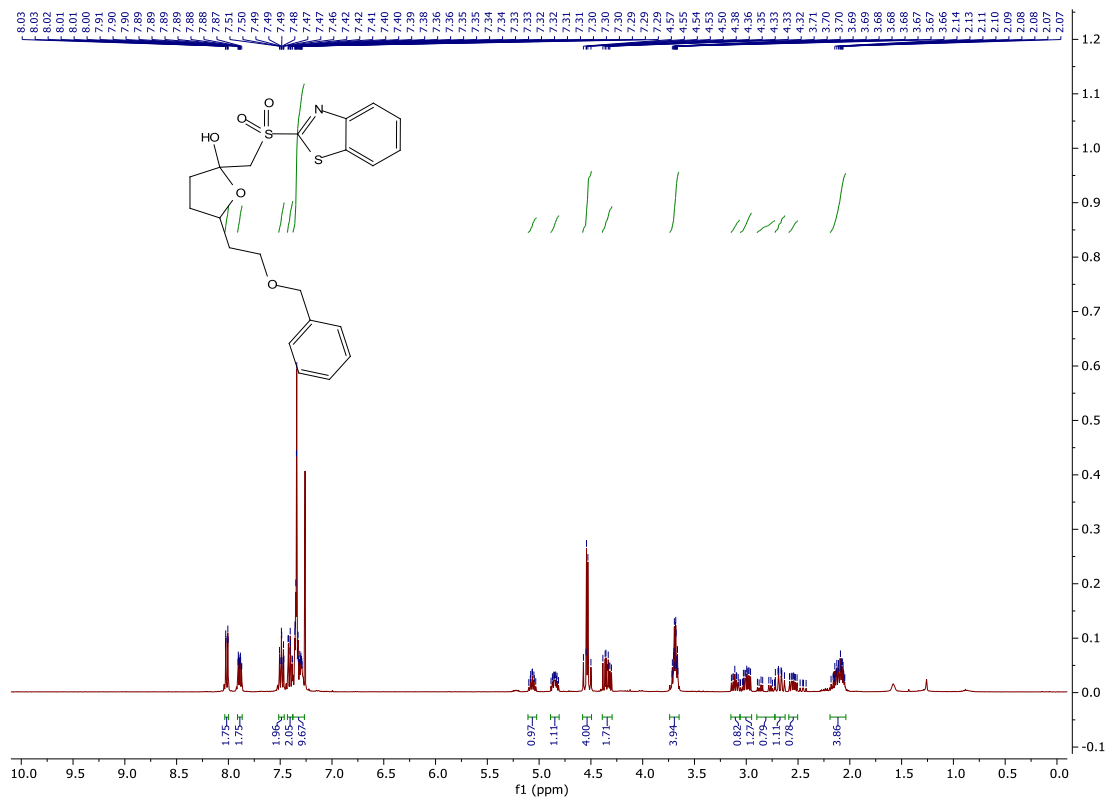
7.14 ^1H a ^{13}C spektrum látky 19



7.15 ¹H a ¹³C spektrum neznámej látky



7.16 ^1H a ^{13}C spektrum látky PM-3d



7.17 ^1H a ^{13}C spektrum látky 66

