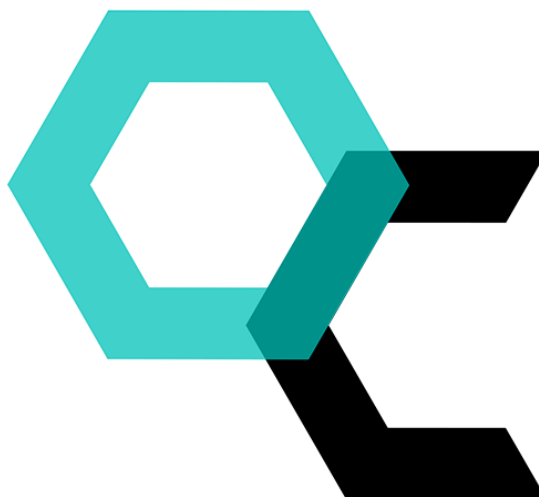


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA  
Katedra organické chemie



## **Příprava a cyklizační reakce vybraných fenacylderivátů**

*Diplomová práce*

Autor:

Studijní program:

Studijní obor:

Typ studia:

Vedoucí práce:

Bc. Patricia Trapani

N1407 Chemie

Bioorganická chemie a chemická biologie

Prezenční

doc. RNDr. Miroslav Sural, Ph.D.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci na téma „Příprava a cyklizační reakce vybraných fenacylderivátů“ zpracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Miroslava Sourala, Ph.D. a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Olomouci, 4.5.2018

.....

Bc. Patricia Trapani

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala především svému vedoucímu, doc. RNDr. Miroslavu Souralovi, Ph.D. za poskytnutí možnosti stát se členem výzkumné skupiny a získávat cenné zkušenosti. Velice mu děkuji za poskytnuté rady, za velikou trpělivost a ochotu kdykoli pomoci. Dále bych ráda poděkovala Mgr. Soně Krajčovičové. V první řadě za pomoc při řešení syntetických komplikací, změření NMR spekter a pomoc s jejich interpretací, ale také za vytvoření příjemné pracovní atmosféry a psychickou podporu. Chtěla bych také poděkovat RNDr. Sandře Benické za změření HRMS spekter a přátelský přístup. Můj dík patří i Mgr. Michalu Kriegelsteinovi za všemožné rady a nápady. Děkuji i ostatním členům naší výzkumné skupiny a zaměstnancům Katedry organické chemie, zejména RNDr. Lubomíru Kvapilovi, Ph.D. za spolupráci na jednom z podprojektů. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za nekonečnou podporu.

Tato závěrečná práce vznikla za finanční podpory grantů IGA\_LF\_2018\_32 a IGA\_PrF\_2018\_29.

## Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Bc. Patricia Trapani
Název práce:	Příprava a cyklizační reakce vybraných fenacylderivátů
Typ práce:	diplomová
Pracoviště:	Katedra organické chemie Ústav molekulární a translační medicíny
Školitel:	doc. RNDr. Miroslav Soural, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2018
Abstrakt:	

Předložená diplomová práce se zabývá možnostmi přípravy vybraných fenacylderivátů a jejich následnou cyklizací na příslušné cílové produkty. Práce je rozdělena do tří částí, které tematicky navazují na předchozí výzkum na Katedře organické chemie týkající se přípravy 2-fenyl-3-hydroxychinolonů s využitím specifického přesmyku. První dvě části využívají tradiční roztokovou syntézu, zatímco třetí část je založena na syntéze na pevné fázi. První část se zabývá fenacylderiváty 2-aminobenzensulfonové kyseliny a jejich cyklizací za předpokládaného vzniku příslušných 2-hydroxy-3-fenyl-4*H*-benzo[*b*][1,4]thiazin 1,1-dioxidů. Druhá část se týká cyklizačních reakcí fenacylesterů thiosalicylové kyseliny za předpokládaného vzniku příslušných thioflavonolových derivátů (3-hydroxy-2-fenyl-4*H*-thiochromen-4-onů). Třetí část se zabývá potenciální přípravou nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů.

Klíčová slova:	sulfonylová skupina, fenacylestery, thiosalicylová kyselina, 2-aminobenzensulfonová kyselina, benzothiazepiny, syntéza na pevné fázi
Počet stran:	86
Počet příloh:	27
Počet volných příloh:	1
Jazyk:	čeština

**Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Bc. Patricia Trapani  
Title: Preparation and cyclization of selected phenacyl derivatives  
Type of thesis: Diploma  
Department: Department of organic chemistry  
Institute of molecular and translational medicine  
Advisor: doc. RNDr. Miroslav Soral, Ph.D.  
The year of presentation: 2018  
Abstract:

This diploma thesis is devoted to the preparation of selected phenacyl derivatives and their subsequent cyclization to corresponding final products. The thesis is divided into three parts and follows the successful preparation of 2-phenyl-3-hydroxyquinolones using specific rearrangement, which was previously reported at the Department of organic chemistry. First and second part is based on traditional solution-phase synthesis, whereas third part takes advantage of solid-phase synthesis. First part is dealing with the preparation of phenacylestere of 2-aminobenzenesulphonic acid and their potential cyclization to desired 2-hydroxy-3-phenyl-4*H*-benzo[*b*][1,4]thiazine 1,1-dioxides. Second part consists of the preparation and cyclization of phenacylestere of thiosalicylic acid to possibly obtain the corresponding thioflavonol derivatives (3-hydroxy-2-phenyl-4*H*-thiochromen-4-ones). Third part is dealing with the attempt to prepare 1,5-benzothiazepine 1,1-dioxides.

Keywords: sulphonyl group, phenacylestere, thiosalicylic acid, 2-aminobenzenesulphonic acid, benzothiazepines, solid-phase synthesis  
Number of pages: 86  
Number of appendixes: 27  
Number of attached appendixes: 1  
Language: Czech

# Obsah

<b>1</b>	<b>Seznam zkratk</b> .....	10
<b>2</b>	<b>Úvod</b> .....	13
<b>3</b>	<b>Teoretická část</b> .....	15
3.1	Studium cyklizačních reakcí fenacylsterů thiosalicylové a 2-aminobenzensulfonové kyseliny .....	15
3.1.1	Příprava 3-HQ a jejich analogů přesmykem .....	15
3.1.2	Příprava 2-hydroxy-3-fenyl-4 <i>H</i> -benzo[ <i>b</i> ][1,4]thiazin-1,1-dioxidů .....	19
3.1.3	Příprava 3-hydroxy-2-fenyl-4 <i>H</i> -thiochromen-4-onů .....	21
3.2	Příprava nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů .....	24
<b>4</b>	<b>Cíle práce</b> .....	26
<b>5</b>	<b>Výsledky a diskuse</b> .....	27
5.1	Studium cyklizačních reakcí fenacylsterů 2-aminobenzensulfonové kyseliny 27	
5.1.1	Alkylace 2-aminobenzensulfonové kyseliny .....	27
5.1.2	Fenacylace 2-nitrobenzensulfonové kyseliny .....	28
5.1.2.1	Pokusy vycházející z 2-nitrobenzensulfonové kyseliny či 2-NosCl .	28
5.1.2.2	Postup využívající intermediát s hypervalentním jódem .....	30
5.1.2.3	Postup využívající tvorbu reaktivního jódderivátu .....	31
5.1.3	Redukce 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu .....	33
5.1.3.1	Redukce železem v kyselém prostředí .....	33
5.1.3.2	Redukce chloridem cínatým .....	35
5.1.4	Příprava 2-hydroxy-3-fenyl-4 <i>H</i> -benzo[ <i>b</i> ][1,4]thiazin 1,1-dioxidů .....	36

5.2	Studium cyklizačních reakcí fenacylesterů thiosalicylové kyseliny .....	38
5.2.1	Přiřazení správné struktury produktu.....	40
5.2.2	Navržené mechanismy jednotlivých transformací.....	42
5.2.3	Přehled připravených látek .....	44
5.2.4	Testování biologické aktivity připravených látek.....	47
5.2.4.1	Cytotoxická aktivita.....	48
5.2.4.2	Antimikrobiální aktivita .....	49
5.3	Příprava nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů .....	50
5.3.1	Původní návrh syntézy .....	50
5.3.1.1	Příprava imobilizovaného sulfidu <b>23</b> .....	51
5.3.1.2	Oxidace sulfidu <b>23</b> .....	51
5.3.1.3	Fenacylace sulfoxidu <b>28</b> .....	53
5.3.2	Aplikace alternativní syntetické cesty .....	55
5.3.2.1	Syntéza sulfonu <b>32</b> .....	55
5.3.2.2	Fenacylace sulfonu <b>32</b> .....	56
5.3.2.3	Redukce fenacylovaného sulfonu <b>33</b> .....	57
5.3.2.4	Cyklizace na cílový 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxid .....	58
<b>6</b>	<b>Experimentální část</b> .....	<b>60</b>
6.1	Všeobecné informace .....	60
6.2	Studium cyklizačních reakcí fenacylesterů 2-aminobenzensulfonové kyseliny 61	
6.2.1	Příprava 2-nitrobenzensulfonové kyseliny .....	61
6.2.2	Příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu.....	61

6.2.3	Příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonátu .....	62
6.3	Studium cyklizačních reakcí fenacylesterů thiosalicylové kyseliny .....	63
6.3.1	Syntéza benzothiofenu <b>20a</b> .....	63
6.3.1.1	Cyklizace O-fenacylesteru <b>14a</b> .....	64
6.3.1.2	Cyklizace S-fenacylesteru <b>19a</b> .....	64
6.3.2	Syntéza benzothiofenu <b>20b</b> .....	64
6.3.2.1	Alkylace dithiobenzoové kyseliny .....	64
6.3.2.2	Redukce disulfidové vazby .....	65
6.3.2.3	Cyklizace fenacylesteru <b>14b</b> .....	65
6.3.3	Syntéza benzothiofenů <b>20c-n</b> .....	66
6.3.3.1	Příprava fenacylesterů <b>18c-n</b> .....	66
6.3.3.2	Příprava benzothiofenů <b>20c-n</b> .....	66
6.3.4	Syntéza dialkylovaného intermediátu <b>21a</b> .....	67
6.3.4.1	Kysele katalyzovaná transalkylace .....	67
6.3.4.2	Alkylace S-izomeru <b>19a</b> .....	67
6.3.5	Analytická data připravených sloučenin .....	68
6.4	Příprava nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů .....	77
6.4.1	Obecný postup přípravy vzorku pro analýzu reakcí .....	77
6.4.2	Obecný popis pro stanovení loadingu pryskyřice .....	77
6.4.3	Původní navržená syntéza .....	78
6.4.3.1	Ukotvení BAL linkeru .....	78
6.4.3.2	Reduktivní aminace .....	78
6.4.3.3	Acylace jódoctovou kyselinou .....	79



6.4.3.4	Redukce bis (2-nitrofenyl) disulfidu .....	79
6.4.3.5	Substituce s <i>o</i> -nitrobenzenthiolem .....	80
6.4.3.6	Oxidace oxonem .....	80
6.4.4	Alternativní syntetická cesta .....	80
6.4.4.1	Alkylace jódoctovou kyselinou .....	81
6.4.4.2	Substituce s <i>o</i> -nitrobenzenthiolem .....	81
6.4.4.3	Oxidace pomocí <i>m</i> CPBA .....	81
6.4.4.4	Fenacylace pomocí Mitsunobu procedury .....	82
6.4.4.5	Redukce po odštěpení z polymerního nosiče .....	82
<b>7</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>83</b>
<b>8</b>	<b>Seznam použité literatury</b> .....	<b>84</b>
<b>9</b>	<b>Přílohy</b> .....	<b>87</b>

## 1 Seznam zkratek

AcOH	kyselina octová
AcCl	acetylchlorid
ACN	acetonitril
Ala	alanin
APT	attached proton test
bezv.	bezvodý
BAL	backbone amide linker
BINAP	2,2'-bis(difenyfosfino)-1,1'-binaftyl
Boc	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
BTTP, BTTP	<i>tert</i> -butylimino-tri(pyrrolidino)fosforan
COD	1,5-cyklooktadien
COSY	homonuclear correlation spectroscopy
DCE	dichlorethan
DCM	dichlormethan
DEPT	distortionless enhancement by polarization transfer
DIC	<i>N,N'</i> -diisopropylkarbodiimid
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
deg.	degassed, odplyněný
DMAP	(4-dimethylamino)pyridin
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
ekv	ekvivalent
EtOAc	ethylacetát
EtOH	ethanol
Fmoc-Osu	<i>N</i> -(9-fluorenylmethoxykarbonyloxy)sukcinimid
hex	<i>n</i> -hexan
HMBC	heteronuclear multi-bond correlation spectroscopy
HOBt	1-hydroxybenzotriazol

HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením
HSQC	heteronuclear single-quantum coherence
<i>i</i> Pr	<i>iso</i> -propyl
kat.	katalýza
lab.T	laboratorní teplota
<i>m</i> CPBA	<i>meta</i> -chlorperbenzoová kyselina
Me	methyl
MeOH	methanol
MF	mobilní fáze
MS	molekulová síta
MW	mikrovlnný ohřev
NaBH(OAc) <sub>3</sub>	triacetoxyborohydrid sodný
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NMP	<i>N</i> -methyl-2-pyrrolidon
NMR	nukleární magnetická rezonance
Nos	nosyl
2-NosCl	2-nitrobenzensulfonylchlorid
Obr.	obrázek
PPA	kyselina polyfosforečná
Ph	fenyl
PPh <sub>3</sub>	trifenylfosfin
PhI(OAc) <sub>2</sub>	jodosobenzen- <i>I,I</i> -diacetát, diacetoxyjódbenzen
<i>p</i> TSA	<i>para</i> -toluensulfonová kyselina
Pyr	pyridin
<i>t</i> Bu	<i>terc</i> -butyl
TEA	triethylamin
TES	triethylsilan
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran

TLC	tenkovrstevná chromatografie
Tol	toluen
UPLC-MS	vysokoúčinná kapalinová chromatografie-hmotnostní spektrometrie
Val	valin

**Zkratky použité v NMR zápisech:**

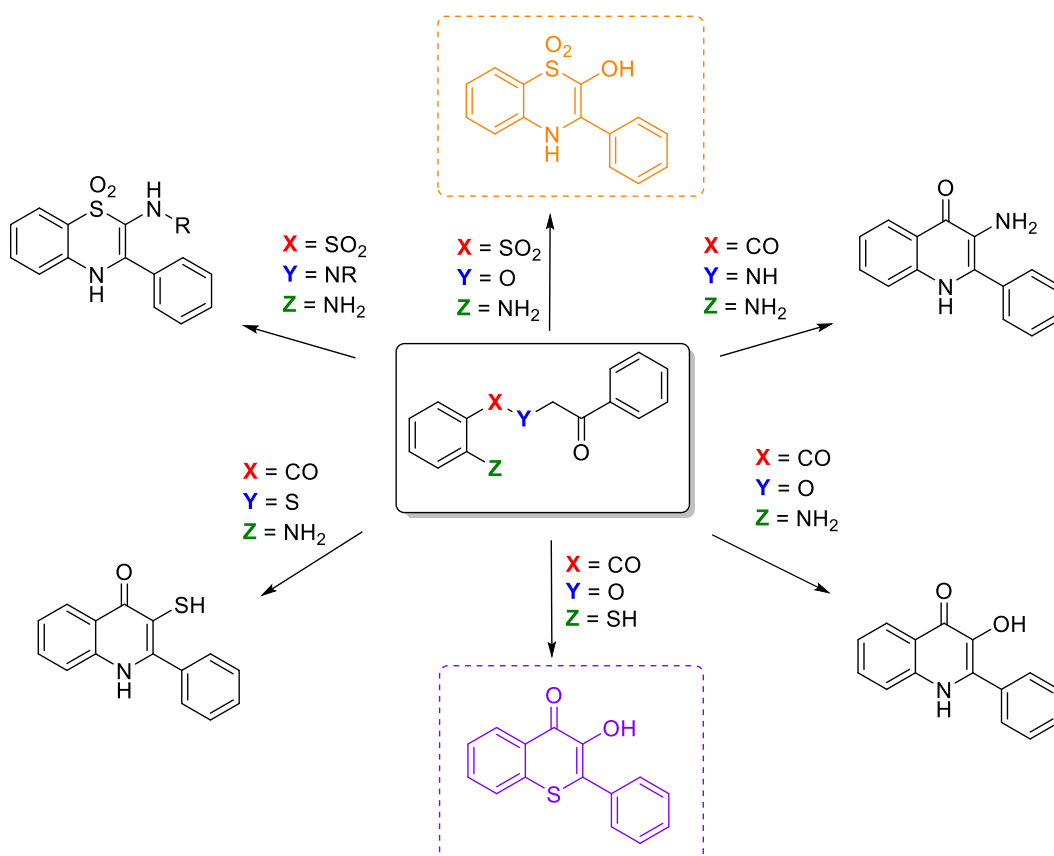
s	singlet
br.s	broad singlet (široký singlet)
d	dublet
dd	dublet dubletů
t	triplet
app	apparent (pozorovaný)
m	multiplet
q	kvartet
ppm	parts per million

## 2 Úvod

Již po delší dobu je část výzkumu na Katedře organické chemie UP věnována 3-hydroxychinolonům (3-HQ), jejich přípravě<sup>1</sup> a dalším vlastnostem (fluorescenční, biologické<sup>2-5</sup> atd.). Zároveň byla popsána již řada analogických sloučenin k 3-HQ<sup>1,6-8</sup> – jejich společným znakem je aplikace klíčového syntetického kroku během jejich syntézy, tj. přesmyku fenacyl-intermediátu na 3-HQ<sup>9</sup> (popsáno v Teoretické části).

První část této diplomové práce tedy tematicky navazuje na předchozí výzkum v rámci naší katedry a zabývá se možností další aplikace zmíněného přesmyku<sup>9</sup> na fenacylestery thiosalicilové a 2-aminobenzensulfonové kyseliny.

3-HQ i jejich analoga patří mezi biologicky atraktivní látky, vzhledem k poměrně velkému množství různých druhů biologické aktivity, které byly u těchto látek popsány<sup>2-5</sup>. Příprava cílových analogických sloučenin 3-HQ (na **Obr.1** vyznačeno oranžově a fialově) se tedy jeví jako zajímavá výzva nejen z pohledu organického chemika.

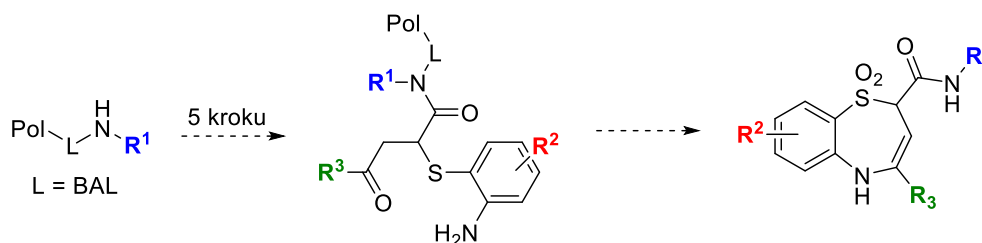


**Obr.1:** Zasazení první části diplomové práce do kontextu výzkumu naší katedry

Druhá část této diplomové práce tematicky navazuje na výzkum v naší výzkumné skupině<sup>10,11</sup>. Týká se přípravy nových heterocyklických sloučenin – benzothiazepin 1,1-dioxidů – pomocí syntézy na pevné fázi, která nebyla doposud pro heterocykly tohoto strukturního motivu použita. Návrh syntézy je vyobrazen na **Schématu 1**.

Jako syntetická inspirace pro tento projekt posloužila nedávno dokončená diplomová práce, která se zabývala přípravou nových derivátů benzothiazinů pomocí syntézy na pevné fázi<sup>10,11</sup>.

Vzhledem k faktu, že jsem se syntézou nových heterocyklických sloučenin na pevné fázi zabývala již v rámci své bakalářské práce<sup>12</sup>, nebude v Teoretické části této diplomové práce popsána obecná problematika této syntetické metodiky.



**Schéma 1:** Navržená syntetická cesta vedoucí k benzothiazepinovým derivátům.

V **Teoretické části** této práce bude nejprve velice stručně popsána historie objevu přesmyku vedoucí k 3-HQ a jeho aplikovatelnost. Poté bude následovat přehled vybraných syntéz vedoucí k cílovým analogům 3-HQ, pro jejichž přípravu nebyl doposud použit zmíněný přesmyk. Závěr **Teoretické části** bude věnován problematice benzothiazepin 1,1-dioxidů, tedy druhé části této diplomové práce.

Následuje kapitola **Cíle práce**. Kapitoly **Výsledky a diskuse** a **Experimentální část** budou též z důvodu lepší přehlednosti podobně rozděleny do více sekcí. Kapitola **Závěr** bude opět společná a bude v ní shrnuto, jakých výsledků se podařilo řešením diplomové práce dosáhnout.

### 3 Teoretická část

#### 3.1 Studium cyklizačních reakcí fenacyl esterů thiosalicylové a 2-aminobenzensulfonové kyseliny

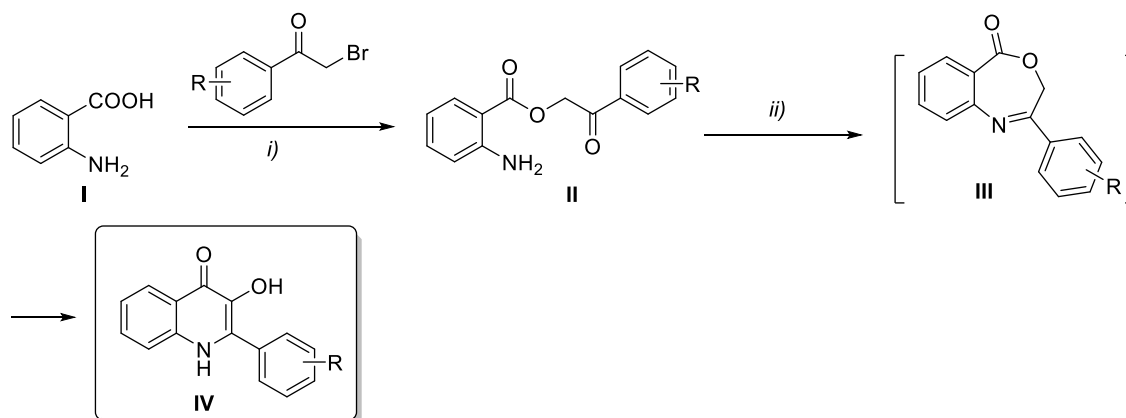
Tato kapitola bude věnována první části diplomové práce, tj. roztokové syntéze za účelem připravit nová analoga 3-hydroxy-2-fenylchinolin-4(1*H*)-onů (3-HQ).

##### 3.1.1 Příprava 3-HQ a jejich analogů přesmykem

V roce 1990 byla poprvé popsána termická, kysele katalyzovaná cyklizace fenacylanthranilátů **II** vedoucí k benzoxazepinu **III**.<sup>13</sup> Jak se ovšem ukázalo později v roce 1995<sup>9</sup>, produktem této cyklizace je 3-hydroxy-2-fenylchinolin-4(1*H*)-on (3-HQ) **IV**, což bylo prokázáno pečlivou strukturní analýzou vyizolovaného produktu<sup>9</sup>. Zároveň byl navržen mechanismus cyklizace.<sup>9</sup>

Výchozí látkou je kyselina anthranilová **I**, která je nejprve alkylována příslušným bromoacetofenonem za vzniku fenacylanthranilátu **II**. Ten je následně podroben kysele katalyzované cyklizaci vedoucí přes hypotetický benzoxazepin **III**, který následně přesmykne na 3-HQ **IV** - viz **Schéma 2**.<sup>9</sup>

Od tohoto okamžiku byl pro přípravu sloučenin typu 3-HQ použit výlučně tento přesmyk, díky hned několika důvodům: výchozí látky jsou dobře dostupné, reakce je jednoduchá a robustní, s dobrými výtěžky i čistotou produktů.<sup>1</sup>

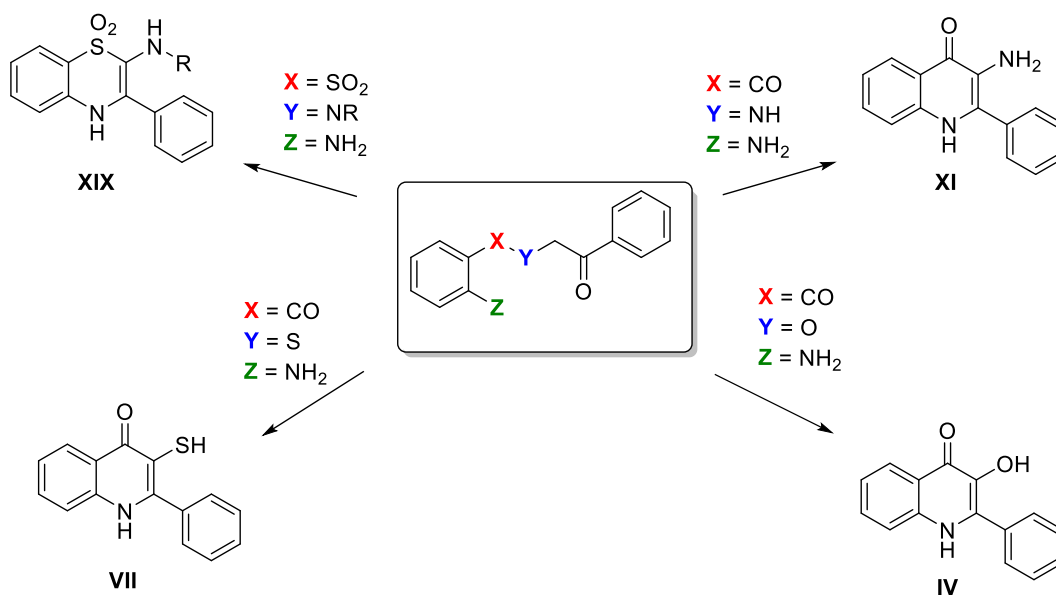


Podmínky: i)  $\text{MHCO}_3$ , DMF, 90-100°C, poté 25-28°C, 1 h ii) PPA, 100°C, 2 h

**Schéma 2:** Příprava 3-HQ cyklizací fenacylanthranilátů s následným přesmykem<sup>9</sup>

Reakce byla dále podrobněji zkoumána a bylo zjištěno, že místo PPA lze použít i jiné kyseliny jako TFA, AcOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Cyklizaci je též možno provést termicky bez kyselé katalýzy, např. v NMP při 200°C. Obecně se ale nejvíce využívá zahřívání v kyselém prostředí (nejčastěji PPA 100-150°C či reflux v TFA, alternativně reflux AcOH pro sloučeniny labilní v přítomnosti silné kyseliny; použití H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> při 100°C často vede k částečné hydrolyze výchozího materiálu a tím pádem k nižším výtěžkům).<sup>1</sup>

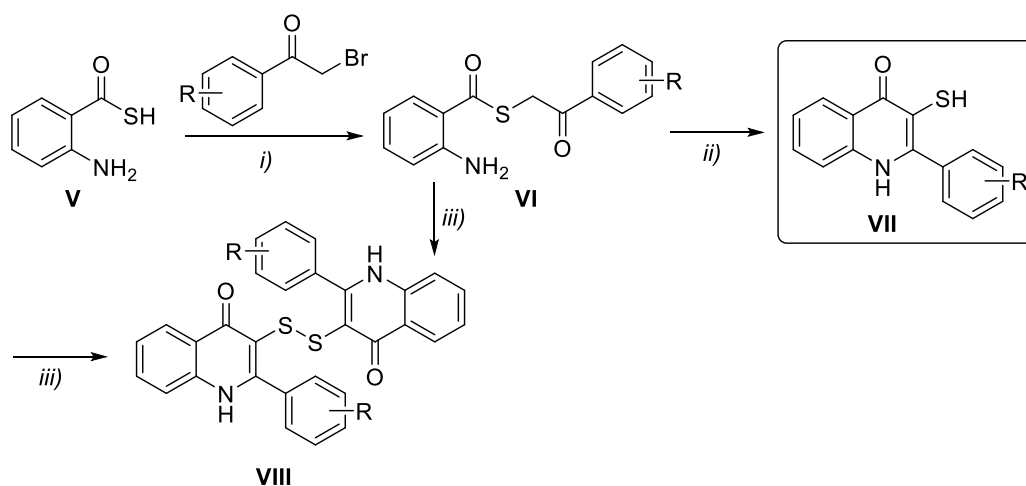
„Hradilův přesmyk“ byl dále aplikován i na jiné typy výchozích látek, než jsou fenacylanthraniláty – např. fenacylamidy anthranilové kyseliny<sup>7</sup>, fenacylthioanthraniláty<sup>6</sup> či fenacylamidy anilin-2-sulfonové kyseliny<sup>8</sup>. Všechny transformace úspěšně vedly k příslušným analogům 3-HQ, jak je naznačeno ve Schématu 3.<sup>6-8</sup>



**Schéma 3:** Aplikace cyklizační reakce na různé výchozí látky<sup>1,6-8</sup>

Příprava thioanalogů **VII** vychází z thioanthranilové kyseliny **V**, která byla nejprve alkylována bromoacetofenonem. Vzniklý fenacylester **VI** byl převeden na produkt **VII** refluxem v TFA. Bylo zjištěno, že dochází ke vzniku směsi příslušného thiolu **VII** a jeho oxidované formy, disulfidu **VIII**. Přeměna na disulfid **VIII** může být též uskutečněna refluxem **VI** či **VII** v *o*-xyleny. Reakční sekvence je popsána ve Schématu 4.<sup>6</sup>

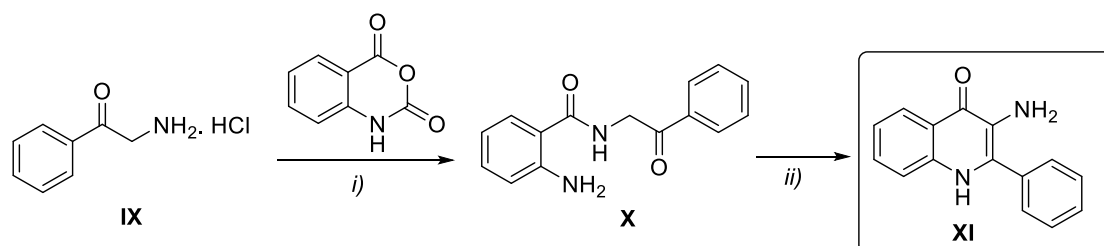




*Podmínky:* i) TEA, DMF, lab.T, 1 h ii) TFA, reflux, 1 h iii) *o*-xylen, reflux, 2 h

**Schéma 4:** Syntéza thioanalogů 3-HQ **VII** a příslušných disulfidů **VIII**<sup>6</sup>

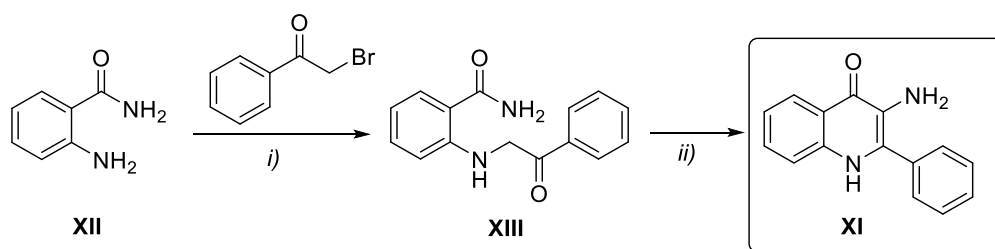
Příprava aminoanalogů **XI** vychází z 2-aminoacetofenonu **IX**, který byl ponechán reagovat s anhydridem kyseliny isatoctové. Vzniklý fenacylamid **X** byl termicky cyklizován v PPA za tvorby produktu **XI** – viz **Schéma 5**.<sup>7</sup>



*Podmínky:* i)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $80^\circ\text{C}$ , 40 min ii) PPA,  $150^\circ\text{C}$ , 1,5 h

**Schéma 5:** Syntéza amino-analogů 3-HQ.<sup>7</sup>

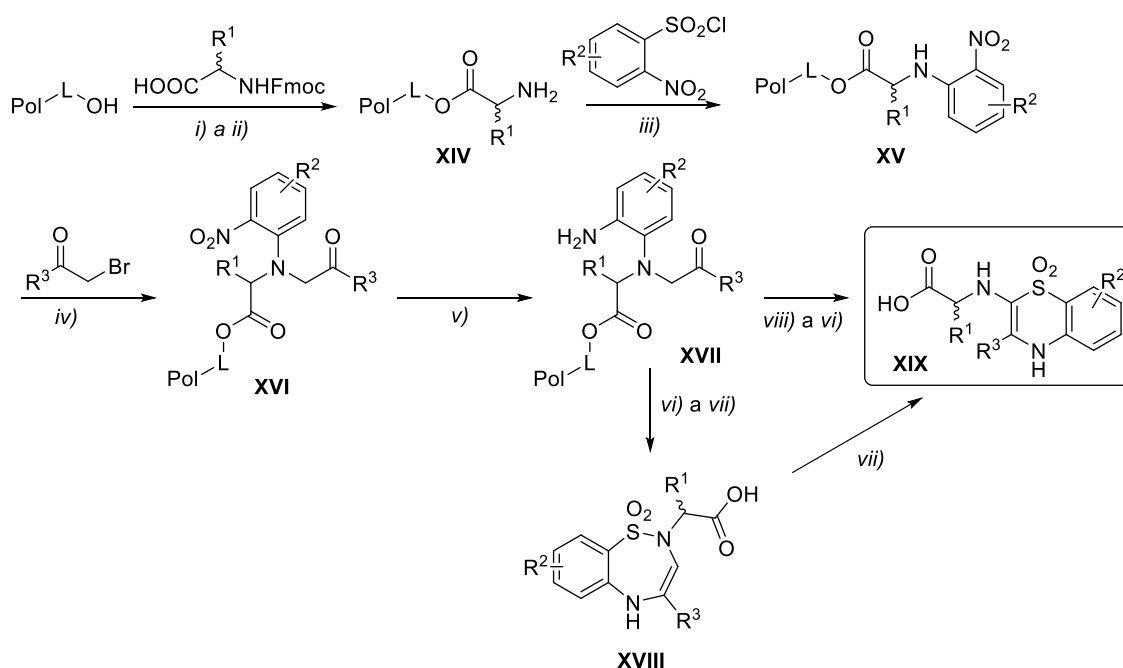
Navíc bylo zjištěno, že reakce běží obdobně, když se vychází z amidu anthranilové kyseliny **XII**. Prvním krokem je alkylace příslušným bromoacetofenonem, ke které dochází na reaktivní aminoskupině za vzniku amidu **XIII**. Po záhřevu v PPA dochází opět k tvorbě produktu **XI** – 3-amino-2-fenylchinolin-4(1*H*)-onu.<sup>7</sup> Reakce jsou popsány ve **Schématu 6**.



*Podmínky:* i)  $K_2CO_3$ , DMF,  $90^\circ C$ , 2 h ii) PPA,  $140^\circ C$ , 2 h

**Schéma 6:** Syntéza amino-analogů 3-HQ vedoucí přes isomer anthranilamidu.<sup>7</sup>

Syntéza vedoucí k 1,4-benzothiazin 1,1-dioxidům byla uskutečněna na pevné fázi a vede přes benzothiazepinové deriváty, u kterých dochází ke kontrakci kruhu – viz **Schéma 7**. Na Wangovu pryskyřici byla nejprve imobilizována příslušná Fmoc-ochráněná aminokyselina, která byla poté ochráněna na N-konci pomocí piperidinu – derivát **XIV**. Po sulfonylaci (**XV**), alkylaci bromoketonem (za vzniku látky **XVI**) a redukcí nitroskupiny na aminoskupinu došlo k tvorbě lineárního sulfonamidu **XVII**. Po odštěpení z pevné fáze pomocí 50% TFA v DCM bylo zjištěno, že k cyklizaci na benzothiazepin **XVIII** dochází v deuterovaném DMSO. Benzothiazepin **XVIII** se v deuterovaném DMSO dále přeměňuje na benzothiazin **XIX**. Pokud byl imobilizovaný sulfonamid **XVII** vystaven působení 5% AcOH v DMSO, došlo ke vzniku imobilizovaného benzothiazinu, který byl následně odštěpen z pevné fáze (**XIX**).



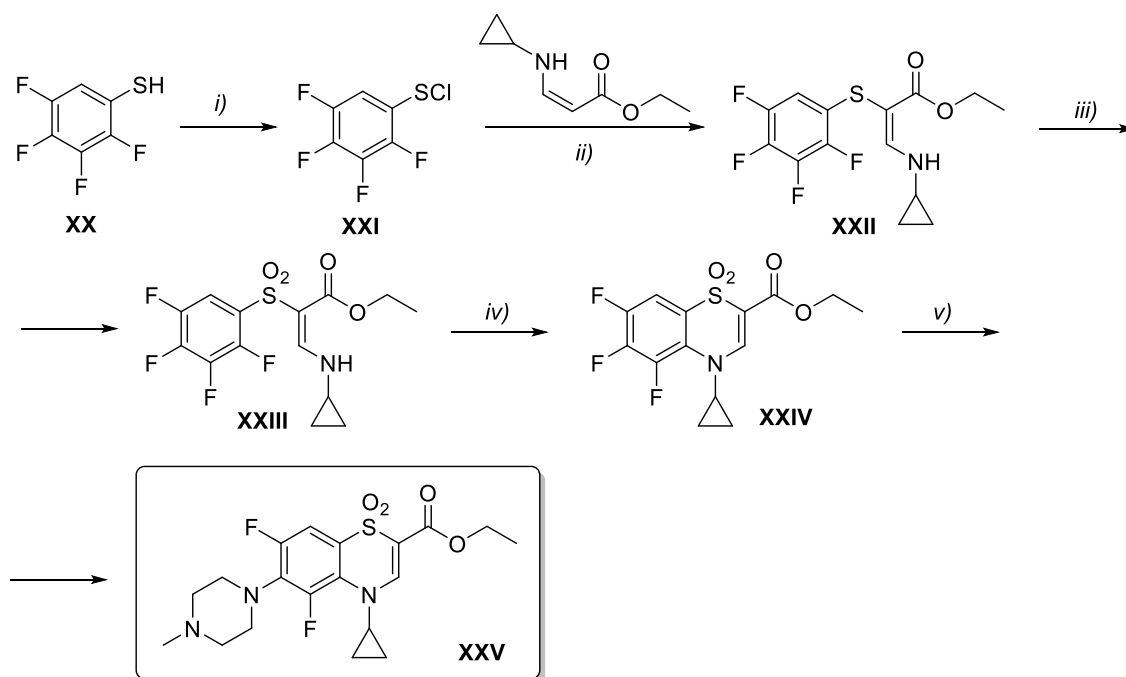
*Podmínky:* i) DMAP, DIC, DCM/DMF, lab.T, 16 h ii) 50% piperidin v DMF, lab.T, 20 min iii) 2,6-lutidin, DCM, lab.T, 16 h iv) DIPEA, DMF, lab.T, 16 h v) Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DCM/H<sub>2</sub>O, lab.T, 16 h vi) 50% TFA v DCM vii) DMSO-*d*<sub>6</sub> viii) 5% AcOH v DMSO, 80°C, 16 h

**Schéma 7:** Příprava 1,4-benzothiazinů pomocí syntézy na pevné fázi.

### 3.1.2 Příprava 2-hydroxy-3-fenyl-4*H*-benzo[*b*][1,4]thiazin-1,1-dioxidů

Jedním z cílů této práce je syntéza nových 1,4-benzothiazinů (sloučenin analogických k 3-HQ) s využitím „Hradilova přesmyku“. Ačkoli byl již přesmyk aplikován na řadu podobných sloučenin, k syntéze 1,4-benzothiazin-1,1-dioxidů nebyl doposud využit. Byly již ale popsány různé jiné syntézy vedoucí k 1,4-benzothiazin-1,1-dioxidům, z nichž byly některé vybrány a popsány níže v této kapitole.

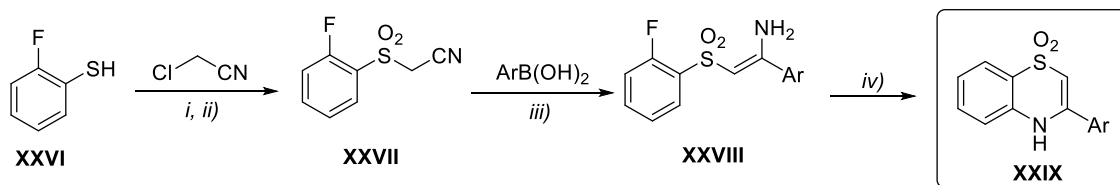
Publikace z roku 1991 využívá jako výchozí látku aromatický polyfluorovaný sulfenylchlorid **XXI** připravený chlorací thiolu **XX**. Po reakci s akrylátovým derivátem (vzniká sloučenina **XXII**) a oxidací na sulfon (sloučenina **XXIII**) dojde k uzavření kruhu (látko **XXIV**). Následně může být fluor substituován např. aminem (produkt **XXV**). Syntézu popisuje **Schéma 8**.<sup>14</sup>



*Podmínky:* i)  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{CCl}_4$ ,  $-10^\circ\text{C}$ , přidávat během 1,5 h ii) Pyr,  $60^\circ\text{C}$ , 15 min  
 iii) mCPBA, DCM, lab.T, 30 min iv) 60% NaH (olejová suspenze), THF, lab.T, 1 h  
 v) 1-methylpiperazin, ACN, reflux, 2,5 dne

**Schéma 8:** Příprava benzothiazin-1,1-dioxidů<sup>14</sup>

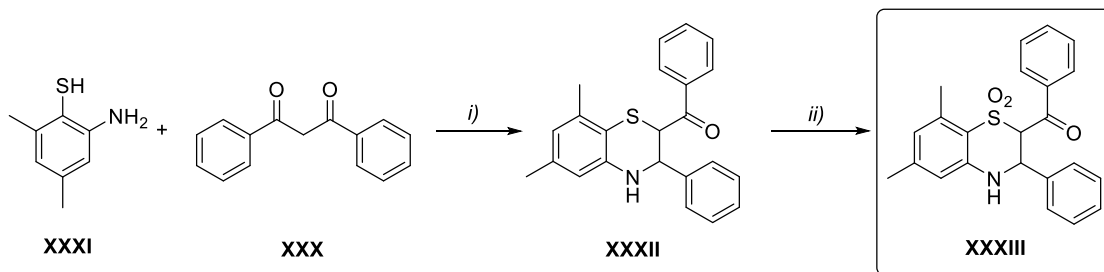
Další publikace využívá k syntéze klíčového meziprojektu **XXVIII** reakci s boronovou kyselinou. **Schéma 9** zobrazuje popsanou syntetickou cestu. Prvním krokem je alkylace thiolu **XXVI** následovaná oxidací vzniklého sulfidu na sulfon **XXVII**. Poté byla provedena adice boronové kyseliny (látko **XXVIII**) a nakonec byl v bazickém prostředí uzavřen kruh za vzniku produktu **XXIX**.<sup>15</sup>



*Podmínky:* i)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1 ekv), aceton,  $50^\circ\text{C}$ , 12 h ii) mCPBA (4 ekv), DCM, reflux, 12 h iii)  $\text{ArB}(\text{OH})_2$  (2,5 ekv),  $[\text{Rh}(\text{COD})\text{OH}]_2$  (2 mol%), BINAP (6 mol%),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (1 ekv), 1,4-dioxan/ $\text{H}_2\text{O}$  (10:1),  $75^\circ\text{C}$ , 6 h iv) NaOH (3 ekv), 1,4-dioxan,  $75^\circ\text{C}$ , 2 h

**Schéma 9:** Využití reakce s boronovou kyselinou pro přípravu benzothiazin-1,1-dioxidů.<sup>15</sup>

Syntéza strukturně příbuzných látek z roku 2013 využívá jako výchozí látky diketon **XXX** a substituovaný 2-aminothiofenol **XXXI**. Po kondenzační reakci vzniká benzothiazin **XXXII**, který je následně zoxidován na sulfon **XXXIII** – viz **Schéma 10**.<sup>16</sup> Na stejném principu jsou založeny i syntézy popsané v jiných publikacích.<sup>17,18</sup>



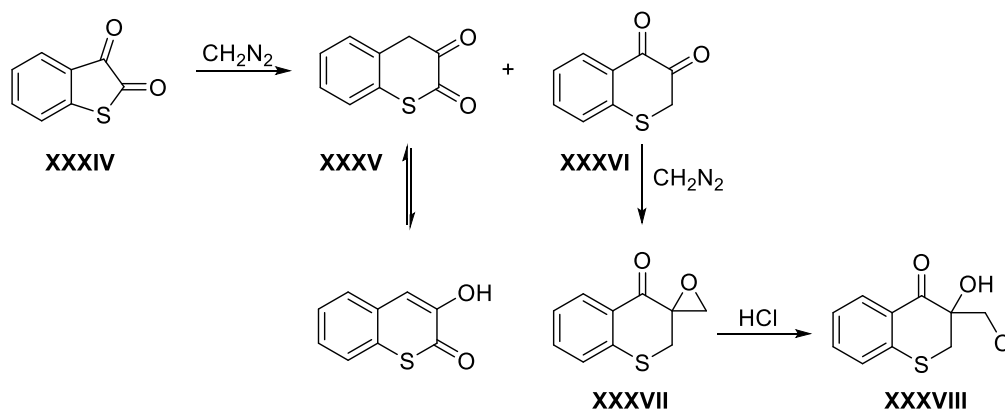
*Podmínky:* *i)* DMSO, reflux, 20 min *ii)* H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, AcOH, 50-55°C, 5 h

**Schéma 10:** Příprava benzothiazin-1,1-dioxidů<sup>16</sup>

### 3.1.3 Příprava 3-hydroxy-2-fenyl-4*H*-thiochromen-4-onů

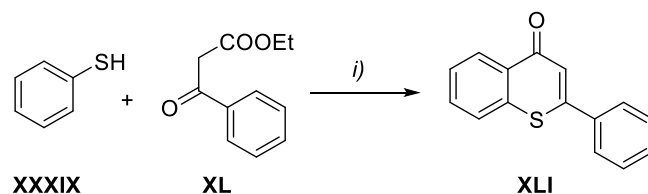
S vědomím, jaké strukturní typy látek lze snadno připravit díky „Hradilově přesmyku“ popsanému výše, byl navržen nový projekt zabývající se další aplikací této reakce – příprava sloučenin s thioflavonolovou strukturou.

Syntéza těchto látek byla doposud popsána velice zřídka, poprvé v roce 1963 s využitím benzo[*b*]thiofen-2,3-dionu **XXXIV** jako výchozí látky. Reakcí výchozí látky s diazomethanem došlo k expanzi kruhu za vzniku dvou regioisomerů (thiochromen-2,3-dion **XXXV** a thiochromen-3,4-dion **XXXVI**). 3,4- isomer **XXXVI** může být následně dále modifikován další reakcí s diazomethanem (vzniká oxiranový intermediát **XXXVII**) a následným působením HCl na thioflavonolový derivát **XXXVIII**.<sup>19</sup> Postup je popsán ve **Schématu 11**.



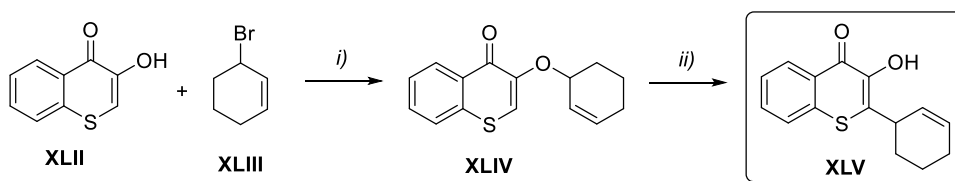
**Schéma 11:** První popsaná syntéza látek s thioflavonolovou strukturou<sup>19</sup>

Další popsaná syntéza z roku 1964 využívá pro tvorbu thiochromenu Pechmannovu (též Simonisovu) kondenzaci, běžně využívanou pro tvorbu kumarinových derivátů. Reakce vychází z thiofenolu **XXXIX** a  $\beta$ -ketoesteru karboxylové kyseliny **XL**, provádí se v kyselém prostředí (PPA) za vyšší teploty – vzniká thiochromen **XLI**, viz **Schéma 12**.<sup>20</sup> Tato metoda byla později využita pro syntézu výchozí látky **XLII** pro přípravu thioflavonolu **XLV** pomocí termického sigmatropního přesmyku - viz **Schéma 13**.<sup>21</sup>



*Podmínky:* i) PPA, 80-100°C

**Schéma 12:** Syntéza thiochromen-4-onu pomocí Pechmannovy kondenzace<sup>20</sup>

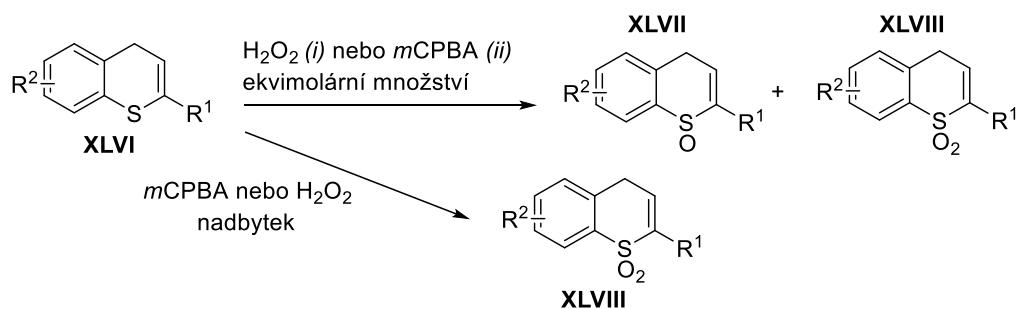


*Podmínky:* i) bezv. aceton,  $K_2CO_3$  (6 ekv), reflux, 6 h ii) chlorbenzen, reflux, 12-14 h

**Schéma 13:** Sigmatropní přesmyk vedoucí k thioflavonolům<sup>21</sup>

Využitím Pechmannovy kondenzace pro přípravu thiochromenů se nechala inspirovat i další výzkumná skupina, které se podařilo připravit set látek pro testování antimikrobiální aktivity. Pro testování použili kromě thiochromenů **XLVI** i příslušné oxidované deriváty – sulfoxid **XLVII** a sulfon **XLVIII**.

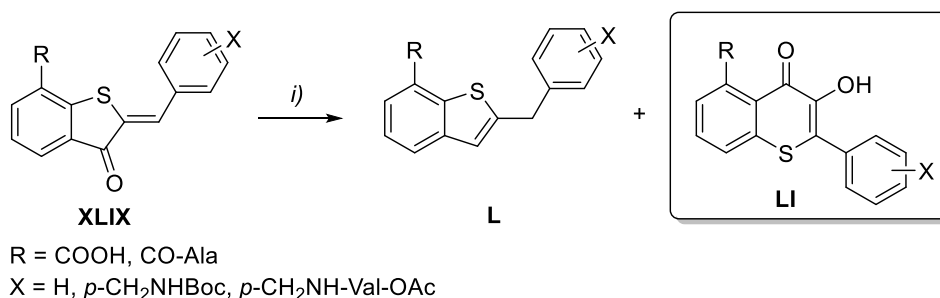
Jako oxidační činidlo byl použit peroxid vodíku či *m*CPBA – pokud byl použit nadbytek, vznikal pouze sulfon **XLVIII**. Pokud bylo použito ekvimolární množství oxidačního činidla, došlo ke vzniku směsi sulfoxidu **XLVII** a sulfonu **XLVIII**, které byly následně chromatograficky odděleny. Oxidace síry na sulfoxid či sulfon (**Schéma 14**) zároveň vedlo ke zlepšení antimikrobiální aktivity.<sup>22,23</sup>



*Podmínky:* i) 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ledová AcOH, 70°C, 6 h ii) 0,05M-*m*CPBA v chlormethanu, CHCl<sub>3</sub>, 0°C, poté 3 h při lab.T

**Schéma 14:** Oxidace atomu síry v thiochromenu na sulfoxid a sulfon<sup>22,23</sup>

Thioflavonol **LI** se též podařilo připravit jako vedlejší produkt za podmínek solid-phase syntézy – viz **Schéma 15**. Původní záměr autorů byla inkorporace thioauronů do struktury lineárních peptidomimetik (reakční schéma či bližší informace nebyly uvedeny). Po odštěpení látek z polymerního nosiče (TFA/DCM, TES) byl detekován jiný produkt, než bylo očekáváno. Proto autoři pokus zopakovali, přičemž vycházeli z Boc-chráněné thioauronové aminokyseliny **XLIX**, která byla podrobena reakci za stejných podmínek, jaké použili pro štěpení z polymerního nosiče. Byly detekovány dva produkty – redukovaný thiainden **L** (zastoupení v reakční směsi 8-88 %) a thioflavonol **LI** (v zastoupení 11-38 %). Látky tvořící zbytek reakční směsi nebyly izolovány a charakterizovány.<sup>24</sup>



*Podmínky:* i) TFA/DCM (85-99,5 % TFA), TES (0,4-2,5%), lab.T, 15-180 min

**Schéma 15:** Příprava thioflavonolu jako nechtěného produktu<sup>24</sup>

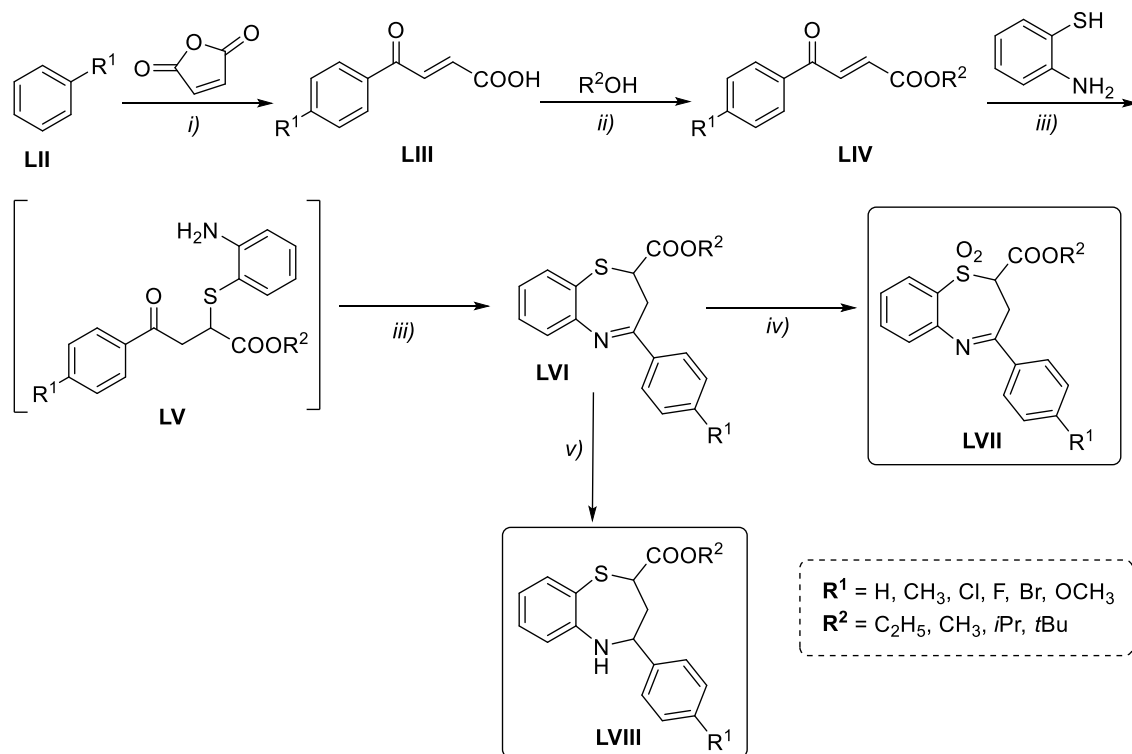
### 3.2 Příprava nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů

Tato kapitola bude věnována druhé části diplomové práce, tj. syntéze benzothiazepin 1,1-dioxidů na pevné fázi.

Příprava 2-substituovaných 1,5-benzothiazepinů byla doposud popsána pouze v roztoku. Prvním krokem syntézy je Friedel-Craftsova acylace aromátu **LII** anhydridem, vzniká látka **LIII** obsahující nenasycenou vazbu. Druhým krokem byla esterifikace s různými alkoholy – vzniká ester **LIV**. Dále byla provedena Michaelova adice s příslušným thiolem, poté byl neizolovaný intermediát **LV** podroben kyselé katalyzované cyklizaci za vzniku 1,5-benzothiazepinu **LVI**. Ten bylo možné dále oxidovat na 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxid **LVII** pomocí peroxidu vodíku či ho redukovat za vzniku nasyceného derivátu **LVIII**. Syntéza je zobrazena ve **Schématu 16**.<sup>25</sup>

U připravených látek byla následně otestována antifungální aktivita a byly provedeny SAR (structure-activity relationship) studie. Z těch autoři vyvodili závěr, že pro antifungální aktivitu je důležité, aby látka byla v iminové formě, a dále je klíčová přítomnost ethoxykarbonylové skupiny v pozici 2. Roli hrála i substituce fenylu v *para*-pozici – důležitá byla substituce vodíkem či fluorem. Vliv oxidace na antifungální aktivitu nebyl prozkoumán. Dále autoři popisují testování cytotoxicity u aktivních derivátů a zkoumání mechanismu jejich účinku. Reaktivní místa pro připravené deriváty jsou pravděpodobně umístěna v buněčné stěně a plazmatické membráně.<sup>25</sup>





*Podmínky:* i)  $\text{AlCl}_3$ , DCM,  $0^\circ\text{C}$ , 5 h ii)  $\text{C}_6\text{H}_6$ , kat. $\text{H}_2\text{SO}_4$ , reflux, 12 h iii) MeOH, kat. AcOH,  $0^\circ\text{C}$ , 5-12 h iv) 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , AcOH, lab.T v) HCl-MeOH,  $\text{NaBH}_3(\text{CN})$ , lab.T, 3 h

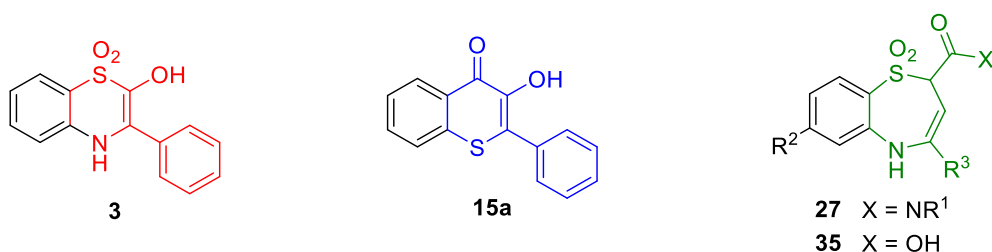
**Schéma 16:** Syntéza nasycených a nenasycených 1,5-benzothiazepinů, 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů<sup>25</sup>

Další příprava takto substituovaných látek nebyla popsána – nalezené deriváty obsahují amid místo iminu<sup>26-28</sup> či jsou v pozici 2 substituované jinak než karboxylovou skupinou či derivátem karboxylové kyseliny<sup>29</sup>. Příprava pomocí syntézy na pevné fázi nebyla doposud popsána vůbec.

## 4 Cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo vyvinutí nových syntetických metod vedoucích k cílovým derivátům zobrazeným níže (**Obr.2**).

Syntéza produktů **3** a **15a** využívá klasickou syntézu v roztoku, syntéza derivátů **27** a **35** vychází z aplikace syntézy na pevné fázi za použití pryskyřice s Wangovým (derivát **35**) či BAL (derivát **27**) linkerem jako polymerního nosiče. Jak již bylo naznačeno v Úvodu, syntéza látek **27** a **35** tematicky navazuje na výzkum v naší výzkumné skupině<sup>10,11</sup>, zatímco syntéza produktů **3** a **15a** byla zasazena do kontextu rozšíření aplikace specifické cyklizace objevené na naší katedře<sup>9</sup>.

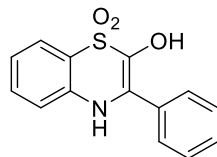


**Obr. 2:** Struktury cílových derivátů

Deriváty **3** a **15a** jsou zajímavé i z pohledu biologické aktivity. U analogických sloučenin, 3-hydroxychinolonů (3-HQs), byla již popsána celá řada různých typů biologické aktivity<sup>5</sup>. Stejně tak i deriváty **27** či **35** patří mezi biologicky atraktivní sloučeniny, a to zejména z pohledu antimikrobiální aktivity<sup>25</sup>. Využití syntézy na pevné fázi zároveň poskytuje možnost rychlé a jednoduché přípravy řady nových derivátů, oproti popsané syntéze v roztoku.<sup>25</sup>

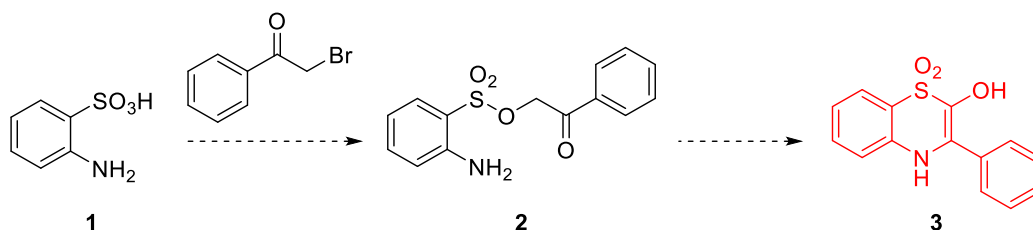
## 5 Výsledky a diskuse

### 5.1 Studium cyklizačních reakcí fenacylsterů 2-aminobenzensulfonové kyseliny



**Obr.3:** Struktura cílového 2-hydroxy-3-fenyl-benzo[*b*][1,4]thiazin 1,1-dioxidu

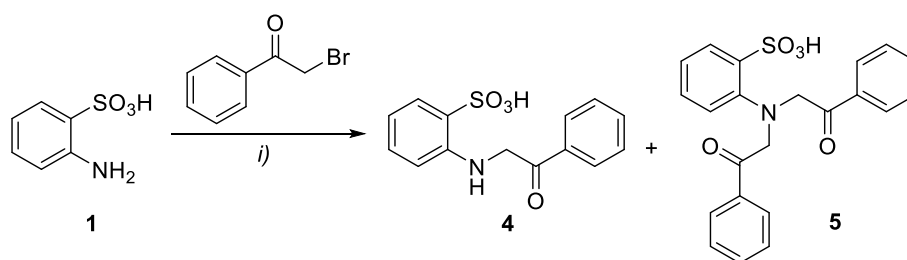
Navržená syntetická cesta sestává ze dvou kroků. Prvním krokem je esterifikace 2-aminobenzensulfonové kyseliny **1** bromoacetofenonem za vzniku příslušného fenacylsteru **2**. Druhým krokem je termická, kysele katalyzovaná cyklizace připraveného esteru **2** na výsledný benzothiazin 1,1-dioxid **3**. Navržená syntetická cesta je popsána ve **Schématu 17**, struktura cílového derivátu **3** je vyobrazena na **Obr.3**.



**Schéma 17:** Navržená syntetická cesta vedoucí k benzothiazin 1,1-dioxidům.

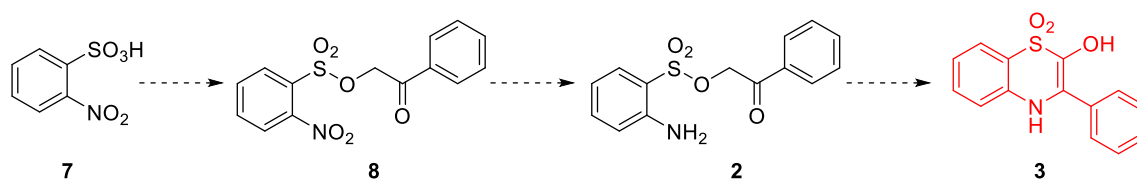
#### 5.1.1 Alkylace 2-aminobenzensulfonové kyseliny

Při pokusu o alkylation 2-aminobenzensulfonové kyseliny **1** bylo zjištěno, že k alkylation dochází přednostně na aminoskupině, nevzniká ester. Výsledkem reakce byla směs mono (**4**) a dialkylovaného (**5**) derivátu – viz **Schéma 18**. Z tohoto důvodu bylo přistoupeno k alternativní cestě – použití 2-nitrobenzenesulfonové kyseliny jako výchozí látky (viz kapitola **5.1.2**), přičemž příslušný ester bude poté zredukován a cyklizován – viz **Schéma 19**.



Podmínky: *i*) DIPEA (1 ekv), DMF

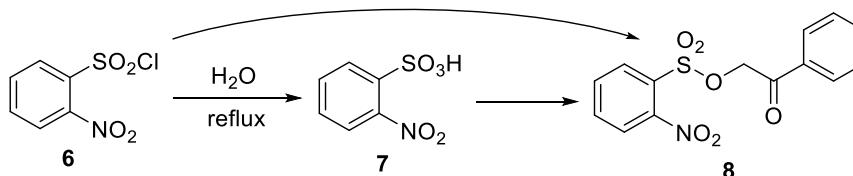
**Schéma 18:** Výsledek reakce 2-aminobenzensulfonové kyseliny s bromoacetofenonem



**Schéma 19:** Alternativní navržená syntetická cesta

### 5.1.2 Fenacylace 2-nitrobenzensulfonové kyseliny

Nejprve bylo nutné připravit 2-nitrobenzensulfonovou kyselinu **7** pomocí hydrolyzy 2-NosCl **6** (reflux ve vodě a následná lyofilizace). Poté měla být 2-nitrobenzensulfonová kyselina alkylována za vzniku fenacylesteru **8** – viz **Schéma 20**.



**Schéma 20:** Příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu vycházející z kyseliny či sulfonylchloridu

#### 5.1.2.1 Pokusy vycházející z 2-nitrobenzensulfonové kyseliny či 2-NosCl

Bylo vyzkoušeno několik různých reakcí vycházejících z 2-nitrobenzensulfonové kyseliny **7** - viz **Tabulka 1**. Všechny pokusy byly neúspěšné a k reakci vůbec nedocházelo. Vzhledem k popsané nestabilitě ethylsulfonylesterů<sup>30</sup> vznikla domněnka, že problémem může být přítomnost reziduální vody (i přes několikadenní lyofilizaci) ve výchozí látce.

Proto bylo vyzkoušeno použití 2-NosCl **6** jako výchozí látky a jeho reakce s 2'-hydroxyacetofenonem za různých podmínek (viz **Tabulka 2**). Následně byla navržena změna reaktivity 2'-hydroxyacetofenonu přeměnou oxo skupiny na ketal – nicméně se nepodařilo ketal připravit (**Tabulka 3**)<sup>31-33</sup>.

Výsledky prvotních testů byly neuspokojivé, nicméně záhy byl nalezen funkční alternativní postup (viz kapitola **5.1.2.3**), a proto bylo od další optimalizace výše zmíněných reakcí (tvorba ketalu, esterifikace 2-NosCl **6** či alkylace sulfonové kyseliny **7**) upuštěno.

Báze	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Další podmínky	Výsledek
DIEA	DMF	lab.T	X	Nereaguje
TEA	DMF	100	X	Nereaguje
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMF	100	X	Nereaguje
DIEA	DMF	100	X	Nereaguje
DIEA	DMF	100	mikrovlnný ohřev	Nereaguje
TEA	DFM	100	mikrovlnný ohřev	Nereaguje
K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMF	100	mikrovlnný ohřev	Nereaguje

**Tabulka 1:** Neúspěšné pokusy o alkylation 2-nitrobenzensulfonové kyseliny

Báze	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Další podmínky	Výsledek
BTTP	DMF	lab.T	X	nereaguje
NaH	bezv.DMF	lab.T	X	nereaguje
TEA	DCM	lab.T	X	nereaguje
DIEA	DMF	lab.T	X	nereaguje
DIEA	DMF	50	X	nereaguje
DIEA	DMF	100	X	nereaguje
DIEA	DMF	100	mikrovlnný ohřev	nereaguje

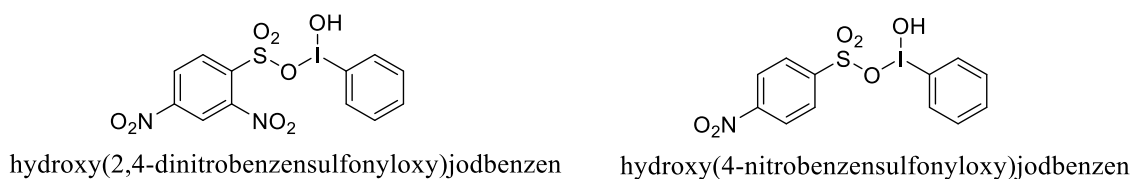
**Tabulka 2:** Neúspěšné pokusy o esterifikaci 2-NosCl

Výchozí látka	Podmínky	Výsledek
2'-hydroxyacetofenon	HCl/EtOH, lab.T, 2 dny	nereaguje
2'-hydroxyacetofenon	NBS, HC(OEt) <sub>3</sub> , bezv.EtOH, lab. T, 1 den	neznámá látka
acetofenon	PhI(OAc) <sub>2</sub> , KOH, MeOH, 4°C, 1 h	nereaguje

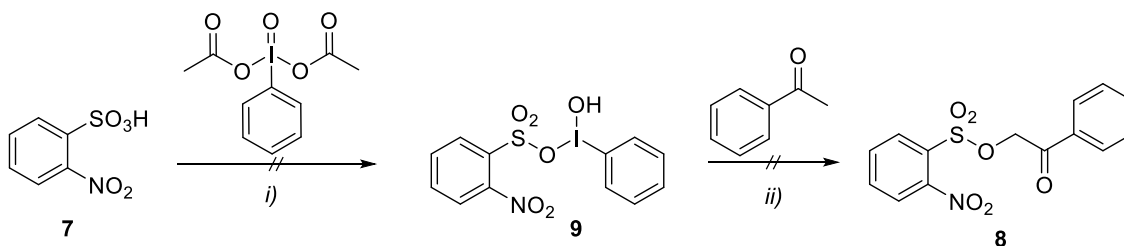
**Tabulka 3:** Neúspěšné pokusy o tvorbu ketalu<sup>31-33</sup>

### 5.1.2.2 Postup využívající intermediát s hypervalentním jódem

Další pokusy o tvorbu 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu byly založeny na postupech převzatých z literatury pro podobné deriváty. V nalezené publikaci autoři popisují přípravu esteru 2,4-dinitrobenzensulfonové kyseliny pomocí reaktivní jodosloučeniny – hydroxy(2,4-dinitrobenzensulfonyloxy) jódbenzenu či hydroxy (4-nitrobenzensulfonyloxy) jódbenzenu – viz **Obr.4**.<sup>34-36</sup> Bohužel, reakci se nepodařilo aplikovat na 2-nitrobenzensulfonovou kyselinu a v reakční směsi byly detekovány pouze výchozí látky, nikoli reaktivní jódderivát **9** – viz **Schéma 21**.



**Obr.4:** Struktury reaktivních sloučenin z literatury obsahující hypervalentní jód<sup>34-36</sup>



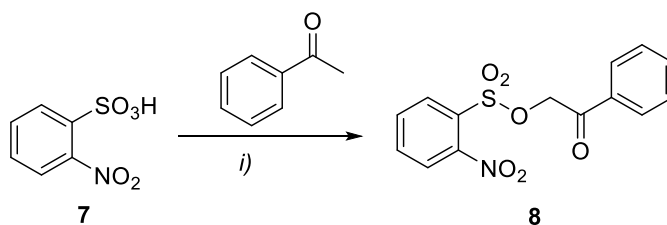
*Podmínky:* i) ACN, lab.T, 1 h    ii) ACN, lab.T, 2 h

**Schéma 21:** Neúspěšná příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu pomocí jodosobenzendiacetátu

### 5.1.2.3 Postup využívající tvorbu reaktivního jódderivátu

Úspěšná cesta vedoucí k fenacylesteru 2-nitrobenzensulfonové kyseliny (2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu) byla nakonec založena na postupu z literatury, kde byla jako výchozí látka použita *p*-toluensulfonová kyselina (*p*TSA)<sup>37</sup>. Klíčovým krokem je tvorba reaktivního intermediátu **11**. *m*CPBA a 1-jódpropan nejprve společně zreagují na kyselinu jodnou, která vytvoří s acetofenonem **10** po následné oxidaci *m*CPBA reaktivní intermediát **11**, který následně reaguje v našem případě s 2-nitrobenzensulfonovou kyselinou za vzniku produktu **8**. Syntéza je popsána ve **Schématu 22**, princip syntézy ve **Schématu 23**<sup>37</sup>.

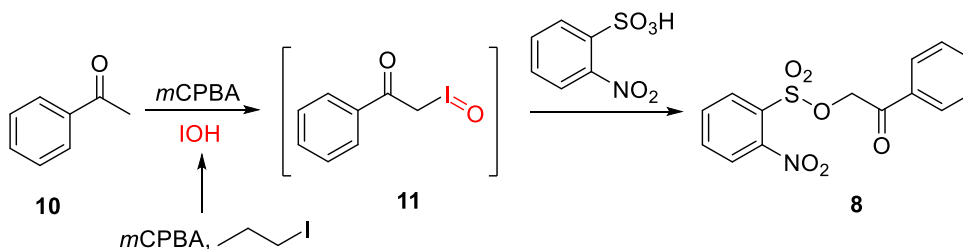
Žádaný produkt byl připraven s celkovým výtěžkem 40 % po čištění. Nižší výtěžek byl způsoben přítomností nečistoty vznikající z cca 25 %. Nečistota měla při chromatografické separaci podobné chování jako produkt a čištění bylo tedy náročné, několik frakcí obsahující produkt bylo kontaminováno nečistotou, proto byl tedy celkový výtěžek nižší. Použití nadbytku reagentů neovlivňovalo průběh ani výsledek reakce. Pokud bylo použito menší množství výchozích látek, reakce probíhala výrazně pomaleji se stejným zastoupením produktu a nečistot. Zakoncentrování reakční směsi (použití menšího objemu rozpouštědel) ani zvýšení teploty neovlivnilo dobu ani výsledek reakce.



*Podmínky:* i) 1-jódpropan, *m*CPBA, CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, ACN, lab.T, 9 h

*Počet použitých ekvivalentů (vůči acetofenonu):* 2,5 ekv sulfonová kyselina, 2 ekv *m*CPBA, 0,5 ekv 1-jódpropanu

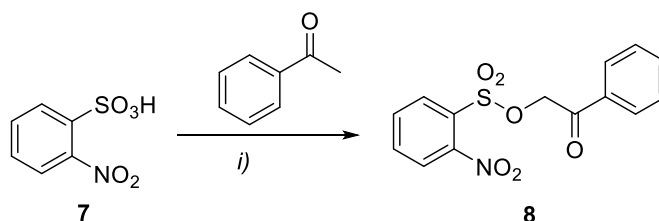
**Schéma 22:** Příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu



**Schéma 23:** Princip reakce vedoucí k 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu

Vzhledem k faktu, že reakční doba byla poměrně dlouhá (9 hodin) a bylo nutno použít poměrně velký nadbytek sulfonové kyseliny i *m*CPBA (viz podmínky ve **Schématu 22**), byl nalezen na první pohled jiný vhodnější postup založený na stejném principu – viz **Schéma 24**.<sup>38</sup>

V tomto postupu<sup>38</sup> bylo sice popsáno použití menšího množství reaktantů a reakční doba byla o něco kratší, ale v našem případě nedocházelo k úplnému odreagování výchozí látky (acetofenonu). Nejvyšší dosažená konverze byla pouze 50 %, i když bylo otestováno provedení reakce za vyšší teploty po změně rozpouštědla, byl testován i mikrovlnný ohřev – viz **Tabulka 4**. Konverzi neovlivnilo ani použití více ekvivalentů výchozích látek. Princip reakce je stejný, jako bylo popsáno ve **Schématu 23**. Pro přípravu žádaného produktu **8** byl tedy používán postup popsáný ve **Schématu 22**.



*Podmínky:* i) *m*CPBA, BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O, CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>I, DCE, 60°C, 6 h

*Počet použitých ekvivalentů (vůči acetofenonu):* 2 ekv sulfonová kyselina, 1,5 ekv *m*CPBA, 0,3 ekv CF<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>I, 3 ekv BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O

**Schéma 24:** Alternativní postup pro přípravu žádaného produktu

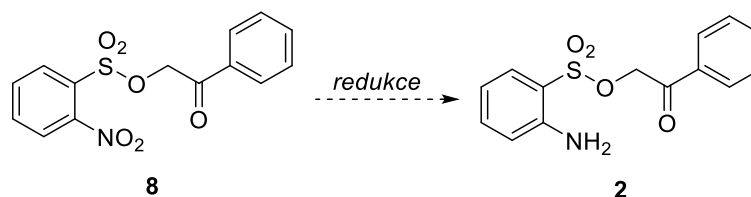
Pokus	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Další	Produkt 2 [%]*
1	DCM	40	x	50
2	DCE	60	x	50
3	DCE	100	MW	24

\* HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

**Tabulka 4:** Testované pokusy pro zlepšení konverze acetofenonu na produkt



### 5.1.3 Redukce 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu



**Schéma 25:** Redukce výchozího nitrobenzensulfonátu na aminobenzensulfonát

Dalším syntetickým krokem byla redukce 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu **8** na 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonát **2**, jak naznačuje **Schéma 25**. Po řadě neúspěšných pokusů (**Tabulka 5**) se podařilo výchozí látku úspěšně zredukovat dvěma způsoby – železem v kyselém prostředí či pomocí chloridu cínatého (viz. další kapitola **5.1.3.1** a **5.1.3.2**).

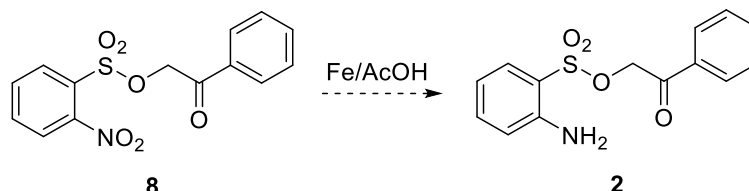
Pokus	Redukční činidlo	Další podmínky	Teplota [°C]	Produkt <b>2</b> [%]*
1	H <sub>2</sub> , Pd/C	MeOH	lab.T	0
2	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , DMF	80	0
3	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , DMF	lab.T	0
4	SnCl <sub>2</sub>	DIPEA	lab.T	0

\* HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

**Tabulka 5:** Neúspěšné pokusy vedoucí k 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonátu **2**

Při použití katalytické redukce vodíkem byla jako hlavní produkt určena 2-aminobenzensulfonová kyselina **1**. Vzhledem k tomu, že se vodík používá mj. k odstranění benzylové chránicí skupiny, nebyl tento výsledek příliš překvapivý, neboť vzhledem ke strukturní podobnosti substrátu proběhla zároveň redukce nitroskupiny a odštěpení esterové části.

#### 5.1.3.1 Redukce železem v kyselém prostředí



**Schéma 26:** Redukce železem v kyselém prostředí

V případě redukce železem v kyselém prostředí bylo zjištěno, že reakce neprobíhá spolehlivě. Nejprve bylo zjištěno, že je reakce citlivá na přítomnost vody,

kteřá se dle postupu z literatury<sup>39</sup> do reakční směsi přidává – pokus 1 v **Tabulce 6**. Proto byla voda z reakčních podmínek vyřazena a bylo použito suché rozpouštědlo.

Ačkoli redukce analytického množství výchozí látky **8** (cca 20 mg) probíhala dobře, při navýšení navážky na 50 mg se výsledky reakce začínaly rozcházet a metoda se ukázala být nereprodukovatelná. Reakční časy potřebné pro úplnou konverzi výchozí látky **8** na produkt **2** se měnily v rozmezí od 27 po 97 hodin, nebyla pozorována závislost na množství železa (pokus 4). Dále byla sledována závislost průběhu reakce na množství AcOH – byly provedeny 2 pokusy (pokusy 5 a 6), při kterých bylo použito dvojnásobné množství AcOH. V případě pokusu 5 došlo k rozkladu produktu, v případě pokusu 6 nikoli. Reakce tedy pravděpodobně nezávisela ani na množství AcOH. V případě pokusu 7 byly použity nejlepší nalezené reakční podmínky, produkt začal vznikat (pokus 7a) a po 3 hodinách byla konverze 40%, proto byla reakce ponechána reagovat dále, konverze se pár hodin prakticky neměnila, po 27 hodinách byl už produkt ale opět rozložený (pokus 7b). Je vhodné konstatovat, že pro všechny pokusy byla použita stejná šarže výchozí látky a stejná šarže všech chemikálií. Všechny pokusy shrnuje **Tabulka 6**. Tato redukční metoda tedy vykazovala nekonstantní a různorodé výsledky a ukázala se tedy nespolehlivá a nereprodukovatelná.

<b>Pokus</b>	<b>VL [mg]<sup>a</sup></b>	<b>Fe [ekv]<sup>b</sup></b>	<b>AcOH [ekv]<sup>b</sup></b>	<b>Čas [h]</b>	<b>Další podmínky</b>	<b>Produkt 2 [%]<sup>c</sup></b>
<b>1</b>	20	14	18	2	aceton, H <sub>2</sub> O, 40°C	0
<b>2</b>	20	7	9	27	bezv. aceton, 40°C	98
<b>3</b>	130	7	9	97	bezv. aceton, 40°C	83
<b>4</b>	50	15	9	49	bezv. aceton, 40°C	17
<b>5</b>	50	7	18	2	bezv. aceton, 40°C	0
<b>6</b>	50	7	18	28	bezv. aceton, 40°C	74
<b>7a</b>	50	7	9	3	bezv. aceton, 40°C	40
<b>7b</b>	50	7	9	27	bezv. aceton, 40°C	0

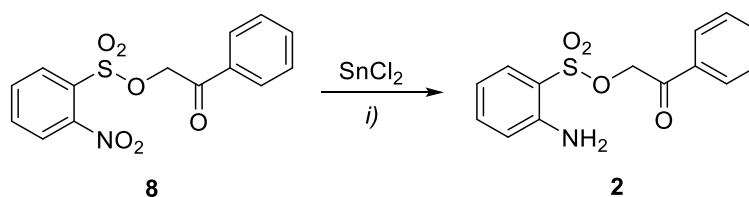
<sup>a</sup>navážka výchozí látky **8**

<sup>b</sup>počet ekvivalentů vůči výchozí látce

<sup>c</sup>HPLC procentuální zastoupení produktu **2** získané z UV-spektra porovnáním ploch pík

**Tabulka 6:** Provedené optimalizace redukce železem v kyselém prostředí

### 5.1.3.2 Redukce chloridem cínatým



*Podmínky:* i) 10 ekv.  $\text{SnCl}_2$ , EtOAc, 4Å-MS, 40°C, 1 h

#### Schéma 27: Úspěšná redukční metoda vedoucí k látce **2**

Tento postup byl inspirován patentem z roku 2002<sup>40</sup>. První pokus této redukční metody vycházel z použití tří ekvivalentů  $\text{SnCl}_2$ , výsledkem reakce byla směs produktu **2**, hydroxylaminu (meziprodukt při redukci nitroskupiny na aminoskupinu), který tvořil 55 % reakční směsi (dle UPLC-MS), a výchozí látky (9 %). Při použití šesti ekvivalentů byl v reakční směsi detekován produkt **2** a nečistoty. Při použití deseti ekvivalentů  $\text{SnCl}_2$  vznikal čistě za pouze jednu hodinu žádaný produkt **2**. Stejného výsledku bylo dosaženo i při zvýšení navážky výchozí látky až na 400 mg (čistota >85%). Optimalizace počtu ekvivalentů  $\text{SnCl}_2$  nutných k čisté redukci na produkt **2** shrnuje **Tabulka 7**.

Pokus	VL [mg] <sup>a</sup>	$\text{SnCl}_2$ [ekv] <sup>b</sup>	Další reakční podmínky	Produkt <b>2</b> [%] <sup>c</sup>
1	20	3	EtOAc, MS, 40°C, 3 h	36
2	20	6	EtOAc, MS, 40°C, 1 h	50
3	20	10	EtOAc, MS, 40°C, 1 h	86
4	100	10	EtOAc, MS, 40°C, 1 h	95
5	400	10	EtOAc, MS, 40°C, 1 h	90

<sup>a</sup>navážka výchozí látky **8**

<sup>b</sup>počet ekvivalentů  $\text{SnCl}_2$  vůči výchozí látce

<sup>c</sup>HPLC procentuální zastoupení produktu **2** získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

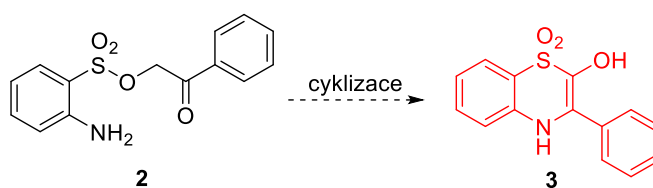
**Tabulka 7:** Optimalizace redukce chloridem cínatým

Následně se však objevil problém s izolací produktu, resp. s odstraněním solí cínu z reakční směsi. Časté zpracování reakční směsi po redukci SnCl<sub>2</sub> zahrnuje převedení produktu do bazického prostředí.<sup>41,42</sup> V případě produktu **2** vedl přídavek 10% NaHCO<sub>3</sub> k úplnému rozkladu.

Proto bylo testováno jiné zpracování reakční směsi – odpaření rozpouštědla, k odparku byla přidána voda s diethyletherem, do kterého by soli cínu neměly přecházet. Tento postup se ukázal být neefektivní – extrakce sama o sobě byla problematická, jelikož často nedošlo k oddělení organické a vodné fáze. Přídavek solanky dělení vrstev ještě více komplikoval, a navíc v extraktu po vysušení organické vrstvy přesto zůstávaly soli cínu, které bylo nutné odstranit pomocí sloupcové chromatografie. Celkový výtěžek redukčního kroku byl pouze 40 %, což vypovídá o významných ztrátách produktu během zpracování reakční směsi, vzhledem k hladkému průběhu reakce.

Proto bylo nutné obejít extrakční krok, během kterého pravděpodobně docházelo k největším ztrátám kvůli špatnému oddělování vrstev. Byl proto otestován jiný postup zpracování reakční směsi – odpařit rozpouštědlo, odparek sonifikovat v DCM (ve kterém je produkt **2** dobře rozpustný), směs přefiltrovat přes Celite<sup>®</sup> a několikrát filtrační koláč promýt čistým DCM. Po vysušení filtrátu a odpaření DCM bylo provedeno čištění pomocí sloupcové chromatografie pro úplné odstranění zbytků solí cínu. Tímto postupem se podařilo vyizolovat produkt **2** v celkovém výtěžku 75 %.

#### 5.1.4 Příprava 2-hydroxy-3-fenyl-4*H*-benzo[*b*][1,4]thiazin 1,1-dioxidů



**Schéma 28:** Poslední syntetický krok – cyklizace

Posledním krokem navržené syntézy byla cyklizace derivátu **2** na finální produkt **3** (strukturní analog 3-hydroxychinolonu) – viz **Schéma 28**. Jak již bylo zmíněno v Teoretické části, cyklizace fenacylderivátů na 3-HQ se obvykle provádí termicky v kyselém prostředí. Přehled provedených experimentů popisuje **Tabulka 8**. Bylo otestováno použití PPA, AcOH a TFA v rozmezí teplot 80-160°C. Reakce buď neprobíhaly vůbec a v reakční směsi byla pořád detekována výchozí látka **2**, nebo došlo k degradaci výchozí látky **2**.

<b>Pokus</b>	<b>Podmínky</b>	<b>Teplota [°C]</b>	<b>Produkt 3 [%]<sup>a</sup></b>
<b>1</b>	TFA	100	0 <sup>b</sup>
<b>2</b>	AcOH	100	0 <sup>c</sup>
<b>3</b>	PPA	80-160	0 <sup>d</sup>
<b>4</b>	NMP	80-160	0 <sup>d</sup>
<b>5</b>	BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	100	0 <sup>b</sup>
<b>6</b>	POCl <sub>3</sub>	100	0 <sup>b</sup>
<b>7</b>	<i>p</i> TSA, Tol	100	0 <sup>e</sup>
<b>8</b>	tavení	160	0 <sup>e</sup>

<sup>a</sup>HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

<sup>b</sup>v reakční směsi detekována pouze výchozí látka **2**

<sup>c</sup>směs výchozí látky **2** a neznámého produktu, který se nepodařilo izolovat

<sup>d</sup>do teploty 160°C pouze výchozí látka **2**, pak rozklad reakční směsi

<sup>e</sup>rozklad reakční směsi

**Tabulka 8:** Přehled neúspěšných pokusů o cyklizaci za vzniku produktu **3**

Při použití AcOH za teploty 100°C byl po 1 hodině detekován v reakční směsi neznámý produkt, který byl přítomen z cca 50 %, zbytek tvořila výchozí látka. Po další hodině byla reakční směs již kompletně rozložena a nebylo možné detekovat ani výchozí látku, ani neznámý produkt. Proto byl proveden pokus o izolaci neznámého produktu po jedné hodině. Již během odpaření AcOH nicméně došlo k jeho degradaci. K té došlo i v případě, kdy byla reakční směs nakapána na led. Vzhledem k nestabilitě neznámého produktu ve vodném prostředí se jej tedy nepodařilo vyizolovat.

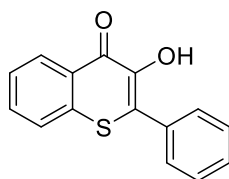
Ve všech ostatních případech byla v reakční směsi detekována vždy pouze výchozí látka, i přes použití vysokých teplot. Reakce byly nejprve prováděny za zvýšené teploty (80 - 100°C) a teplota byla postupně zvyšována, přičemž byla reakční směs monitorována – vždy byl po 1 hodině odebrán vzorek pro analýzu pomocí UPLC-

MS. Ke změně došlo vždy až při teplotě 160°C, kdy se výchozí látka okamžitě kompletně rozložila a nebylo zároveň možné detekovat jakýkoli meziprodukt.

Stejná situace nastala i při termické cyklizaci v NMP. Byl proveden i pokus bez použití rozpouštědla, kdy byla výchozí látka tavena, opět až do 160°C nedocházelo k jakékoli reakci a poté došlo k okamžitému rozkladu. V případě použití BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O jako Lewisovy kyseliny a rozpouštědla zároveň či v případě použití POCl<sub>3</sub> opět nedocházelo k žádné reakci.

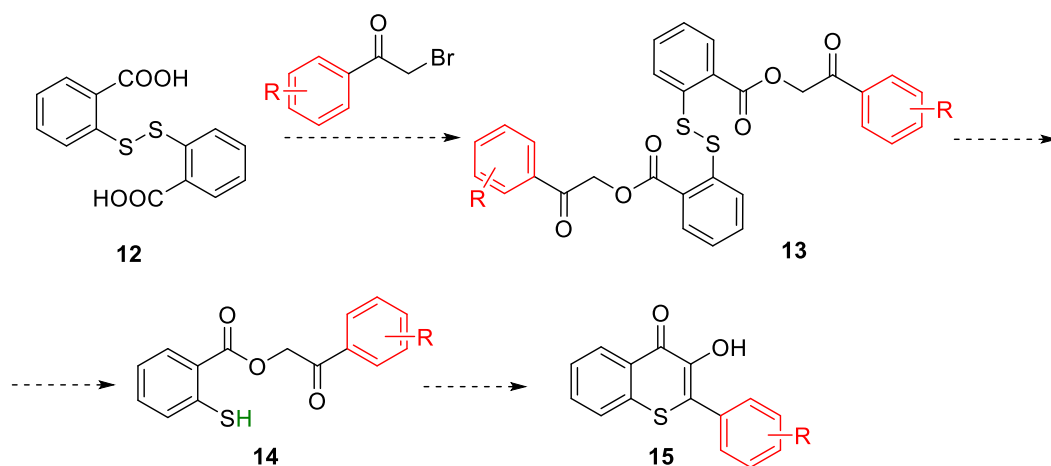
Bylo tedy zjištěno, že výchozí látka **2** je stabilní v kyselém prostředí, ale nechová se stejně jako její strukturní analogy používané pro přípravu analogů 3-HQ a žádaný produkt **3** tedy není možné touto metodikou popsanou v Teoretické části připravit. Z provedených optimalizací redukce vedoucí k derivátu **2** bylo dále zjištěno, že fenacylsulfonáty jsou nestabilní v bazickém prostředí a omezeně stabilní ve vodném prostředí (ačkoli v případě látky **2** je stabilita ve vodě výrazně lepší oproti látce **8**).

## 5.2 Studium cyklizačních reakcí fenacylesterů thiosalicylové kyseliny



**Obr.5** Struktura cílového 3-hydroxy-2-fenyl-4*H*-thiochromen-4-onu

Na úvod je vhodné zmínit, že obsah kapitol **5.2** a **6.2** je součástí publikace Trapani,P.; Kvapil,L.; Hradil,P.; Sural,M. *Synlett* **2018**, 29, 810-814<sup>43</sup>, která je volnou přílohou této diplomové práce.



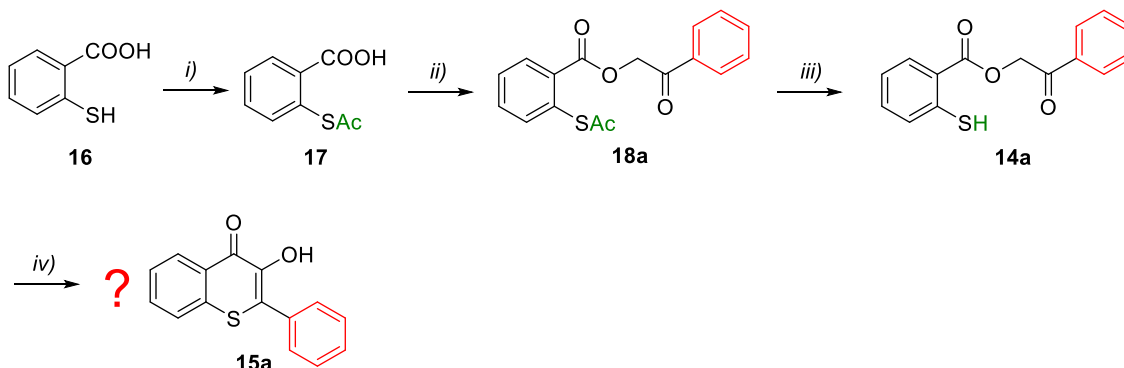
**Schéma 29:** Navržená syntetická cesta vedoucí k produktu **15**

Navržená syntéza 3-hydroxy-2-fenyl-4*H*-thiochromen-4-onů (thioflavonolových derivátů) **15** (**Obr.5**) vychází z dithiobenzoové kyseliny **12**, která je nejprve alkylována bromoacetofenonem za vzniku příslušného bisfenacylesteru **13**. Ten po redukcí disulfidové vazby<sup>44</sup> poskytne žádaný fenacylester thiosalicylové kyseliny **14**, který poskytne cílový produkt **15** kyselé katalyzovanou termickou cyklizací (popsanou v Teoretické části pro přípravu 3-HQ) – viz **Schéma 29**.

Navržená syntetická cesta byla úspěšně aplikována pro přípravu derivátu **15b** (R = OMe). Dithiobenzoová kyselina **12** byla alkylována 2-bromo-1-(4-methoxyfenyl)ethan-1-onem za vzniku bisfenacylesteru **13b**, který byl bez předchozí purifikace podroben redukcí disulfidové vazby trifenylofosfinem<sup>44</sup> za vzniku derivátu **14b**. Tento derivát bylo nutno přečistit pomocí sloupcové chromatografie, aby se odstranil PPh<sub>3</sub>O (trifenylofosfin oxid) jako vedlejší produkt redukce. Látka **14b** byla poté cyklizována v TFA za vzniku produktu **15b**.

V průběhu testování navržené syntetické cesty bylo zjištěno, že se touto chemií v minulosti již částečně zabýval dr.Kvapil<sup>45</sup>, který nám poskytnul derivát **15a** (R = H) jako referenční látku. Zároveň nám byla poskytnuta data k alternativní syntetické cestě vedoucí k derivátům **15** (viz **Schéma 30**). Výchozí látkou je v tomto případě thiosalicylová kyselina **16**, která je nejprve ochráněna acetylem za vzniku S-acetylthiosalicylové kyseliny **17**. Ta byla poté alkylována bromoacetofenonem za vzniku fenacylesteru **18a**, který byl podroben deprotekcí merkaptoskupiny za vzniku derivátu **14a**.

Posledním krokem reakční sekvence byla cyklizace derivátu **14a** v kyselém prostředí za vzniku produktu **15a**. Naměřená spektrální data pro vyizolovaný produkt (UV, MS, 1D NMR) odpovídala očekávané thioflavonolové struktuře **15a**.<sup>45</sup>

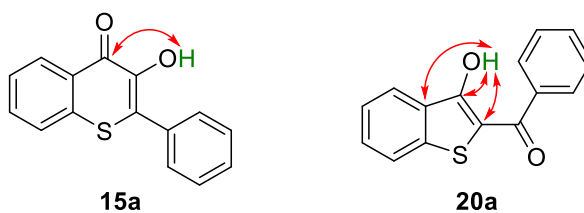


*Podmínky:* i) AcCl, AcOH, reflux, 2 h    ii) bromoacetofenon, TEA, DMF, lab.T, 4 h  
iii) NH<sub>4</sub>OH, NMP, 30 °C, 10 min    iv) TFA, reflux, 3,5 h

**Schéma 30:** Alternativní syntetická cesta vedoucí k produktu **15a**

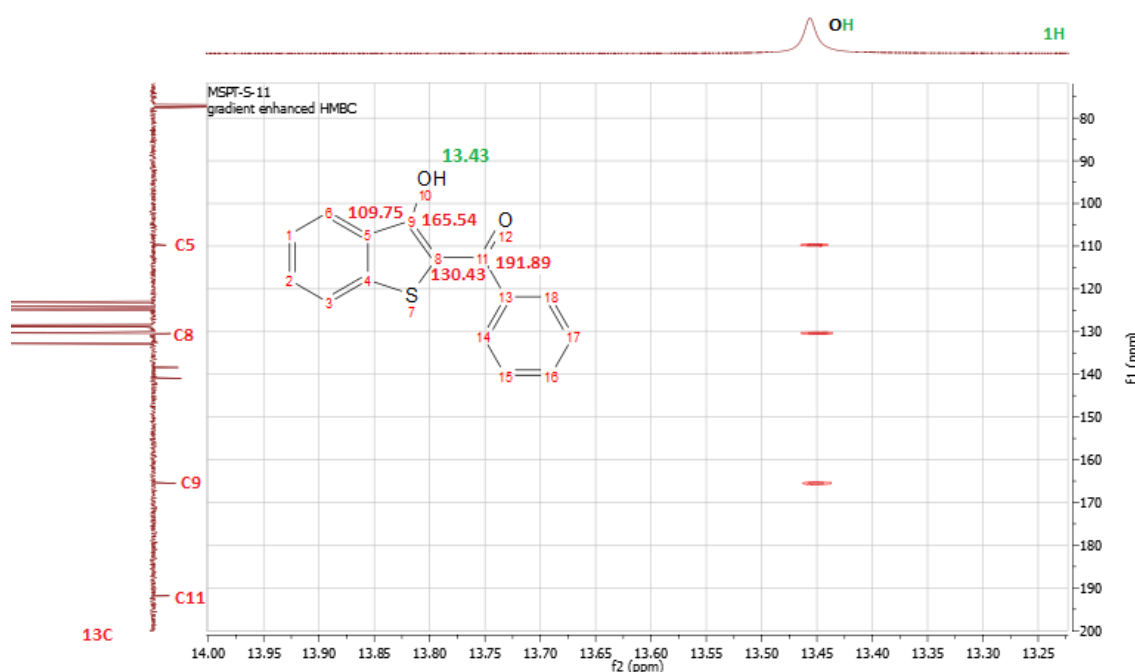
### 5.2.1 Přiřazení správné struktury produktu

Nicméně, při ověřování struktury produktu **15a** pomocí 2D NMR experimentů bylo zjištěno, že naměřené korelace neodpovídají předpokladu. V <sup>13</sup>C-HMBC spektru by měla být přítomna korelace mezi protonem z OH skupiny a uhlíkem z ketoskupiny, jelikož se jedná o třívazebnou interakci, které bývají v HMBC spektru nejintenzivnější. Tato korelace však v naměřených datech chyběla. Proton z OH skupiny vykázal korelaci se třemi uhlíky, ani jeden však nepocházel z ketoskupiny, jak by tomu bylo v případě thioflavonolu. Předpokládané korelace jsou zobrazeny na **Obr.6**, reálné <sup>13</sup>C-HMBC (resp. výřez obsahující korelace OH vodíku) viz **Obr.7**.



**Obr.6:** Předpokládané třívazebné korelace v <sup>13</sup>C-HMBC spektru

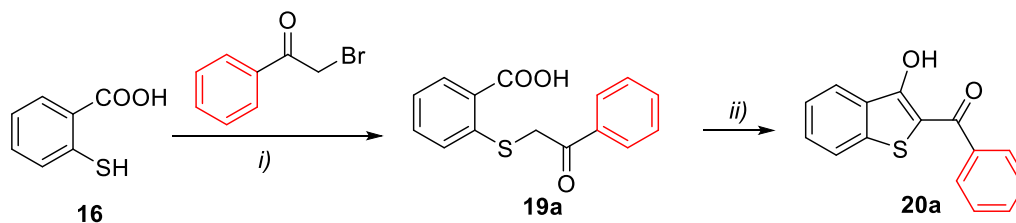




**Obr.7:** Výřez  $^{13}\text{C}$ -HMBC spektra.

*Popis:* Osa x –  $^1\text{H}$  spektrum (OH vodík na 13.43 zeleně). Osa y –  $^{13}\text{C}$  spektrum s vyznačenými důležitými uhlíkovými atomy červeně, očíslované dle vložené struktury. C5 odpovídá 109.75 ppm, C8 130.43 ppm, C9 165.54 ppm, C11 z ketoskupiny 191.89 ppm. OH vodík nevykazuje korelaci s C11 – v případě, že by se jednalo o thioflavonol by byla korelace přítomna.

Vzniklo proto podezření, že struktura **15a** neodpovídá skutečnému produktu transformace fenacylesteru **14a**. Z tohoto důvodu byla provedena aditivní literární rešerše, při které byla nalezena publikace z roku 2013 zabývající se syntézou benzo[*b*]thiofenových derivátů.<sup>46</sup> Autoři zde popisují transformaci S-fenacylesteru **19a** na benzothiofen **20a**, jak je znázorněno na **Schématu 31**.<sup>46</sup>

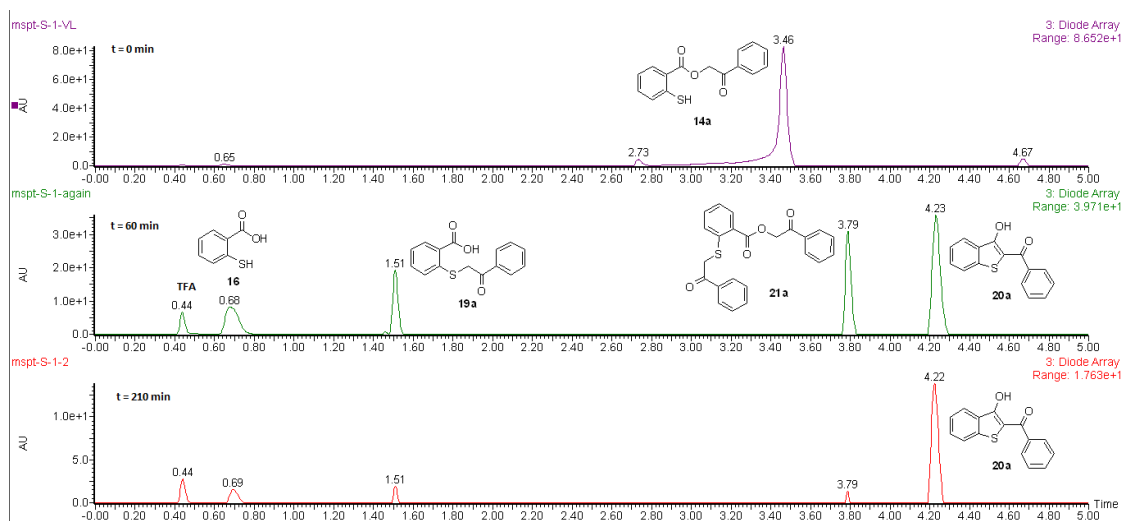


*Podmínky:* i) bromoacetofenon (1 ekv), KOH (2 ekv), EtOH, reflux, 2 h ii)  $\text{H}_2\text{O}$ , reflux, 12 h

**Schéma 31:** Popsaná syntéza benzo[*b*]thiofenu **20a**<sup>46</sup>

Autoři v publikaci nevyvratitelně potvrdili strukturu produktu **20a** pomocí rentgenostrukturní analýzy.<sup>46</sup> Porovnáním údajů z 1D NMR spekter byla zjištěna dokonalá shoda chemického posunu mezi daty z publikace a námi naměřenými daty. Fakt, že se jedná o benzothiofen byl poměrně nečekaný a překvapivý, a proto mu byla věnována další pozornost.

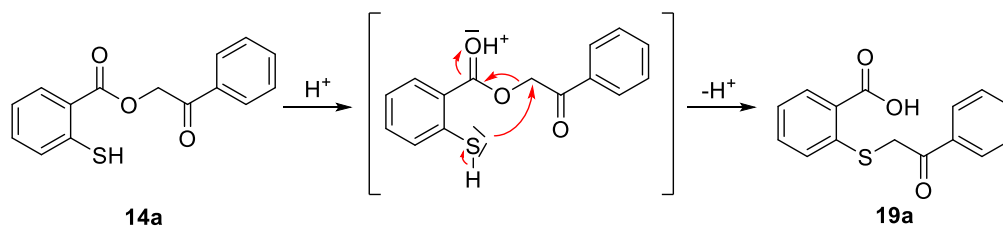
V první řadě vyvstala otázka, jakým mechanismem benzothiofen **20a** vůbec vzniká. Byla tedy znovu provedena cyklizace O-fenacylesteru **14a** s důkladnějším monitoringem reakce pomocí UPLC-MS v různých reakčních časech. Po 1 hodině zahřívání výchozí látky **14a** v TFA došlo k jejímu odreagování a v reakční směsi byl detekován S-izomer **19a** (na základě porovnání spektrálních dat se standardem derivátu **19a**<sup>45</sup>), dialkylovaný intermediát **21a**, produkt **20a** a thiosalicylová kyselina **16** (Obr. 8). Dialkylovaný intermediát **21a** byl vyizolován, přečištěn a struktura byla potvrzena pomocí NMR a HRMS. Zahřívání po další 2,5 hodiny vedlo ke kompletnímu odreagování látek **19a** i **21a** a v reakční směsi byl detekován pouze produkt **20a**.



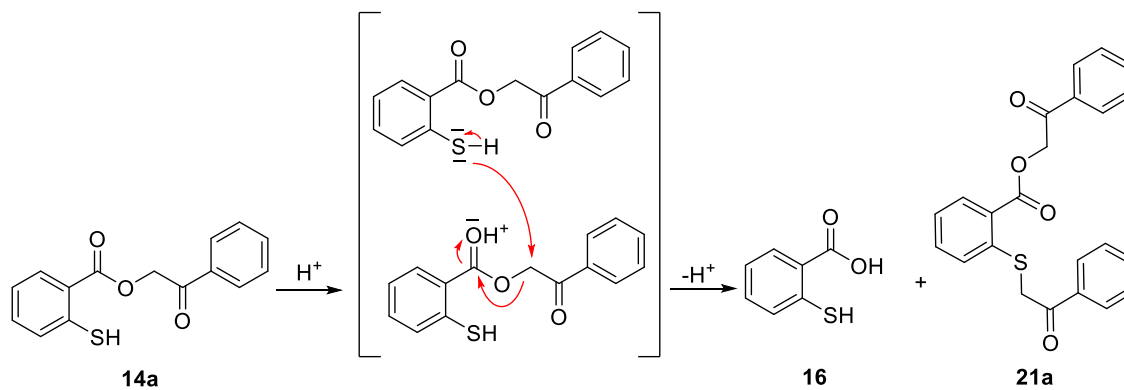
Obr.8: UV spektrum v čase 0 min (nahore), 60 min (uprostřed) a 210 min (dole).

### 5.2.2 Navržené mechanismy jednotlivých transformací

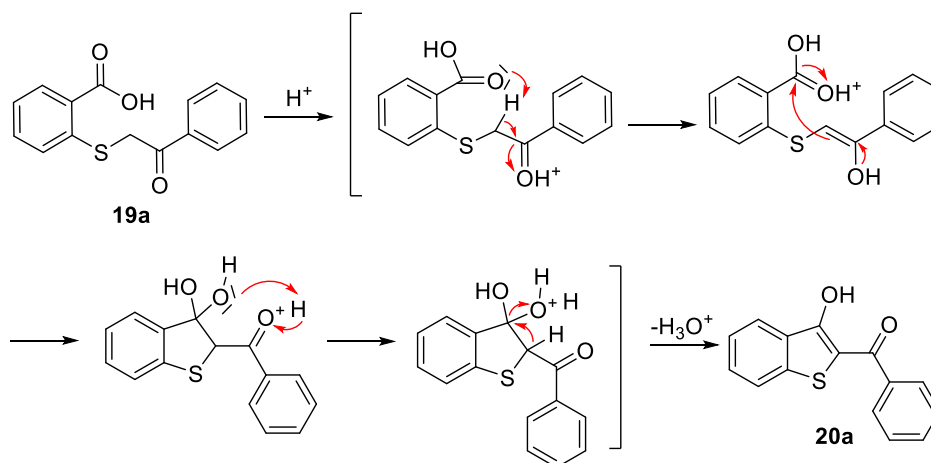
Následně byly navrženy mechanismy transformací vedoucí k S-izomeru **19a** a dialkylovanému intermediátu **21a**. Během zahřívání výchozí látky **14a** dochází nejprve k intramolekulární transalkylaci na S-fenacylester **19a** – Schéma 32. Intermediát **21a** vzniká intermolekulární transalkylací vedoucí k uvolnění thiosalicylové kyseliny – Schéma 33. Oba deriváty **19a** i **21a** následně za kyselé katalýzy vytvoří produkt **20a** – Schéma 34 a 35.



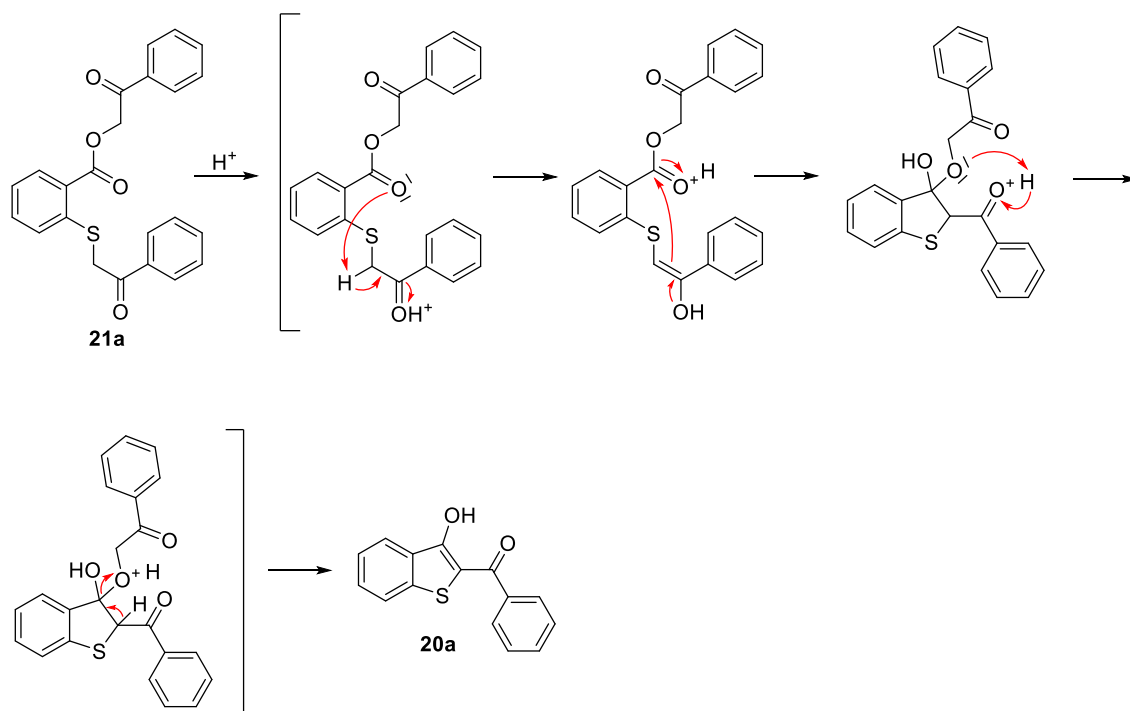
**Schéma 32:** Návrh mechanismu vedoucí k tvorbě S-izomeru **19a**



**Schéma 33:** Návrh mechanismu vedoucí ke vzniku dialkylovaného intermediátu **21a**



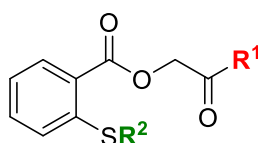
**Schéma 34:** Návrh mechanismu transformace látky **19a** na produkt **20a**



**Schéma 35:** Návrh mechanismu transformace intermediátu **21a** na produkt **20a**

### 5.2.3 Přehled připravených látek

Následně byla připravena série různě substituovaných látek **14a-b**, **18c-n**, aby byla otestována použitelnost a rozsah navržené syntetické metody – viz **Tabulka 9**.



14a-b, 18c-n

Kód	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Výtěžek [%]
14a	Ph	H	94
14b	4-OMe-Ph	H	35
18c	4-CF <sub>3</sub> -Ph	Ac	42
18d	2-NO <sub>2</sub> -Ph	Ac	8
18e	3-NO <sub>2</sub> -Ph	Ac	18
18f	4-NO <sub>2</sub> -Ph	Ac	43
18g	2-Me-Ph	Ac	15
18h	4-Me-Ph	Ac	61
18i	2-Br-Ph	Ac	20
18j	4-Br-Ph	Ac	40
18k	naftyl	Ac	32
18l	thienyl	Ac	22
18m	Me	Ac	71
18n	<i>t</i> Bu	Ac	56

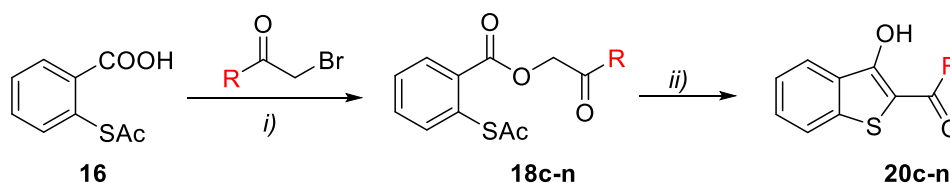
**Tabulka 9:** Přehled připravených fenacylesterů **14a-b**, **18c-n**

Kromě nesubstituovaného derivátu **14a** s aromatickým substituentem (fenyl) byl připraven derivát **18c** obsahující aromatický substituent s -I efektem CF<sub>3</sub> skupiny, nebo derivát **18f** se substituentem s -M efektem obsahující NO<sub>2</sub> skupinu. Byly též připraveny deriváty **18d-e** obsahující NO<sub>2</sub> skupinu v *o*- a *m*- poloze. Pro otestování vlivu polohy

substituentu na aromatickém jádře byly kromě derivátů **18d-f** připraveny i deriváty **18g-h** a **18i-j** s Me skupinou či bromem v o- a p- poloze, respektive. Byly též připraveny látky **18k-l** obsahující jiný aromát než fenyl (naftyl a thienyl, respektive) a látky **18m-n** obsahující alifatický substituent místo aromatického (methyl a terc-butyl, respektive).

Derivát **14b** obsahující aromatický substituent s OMe skupinou vykazující +M efekt byl připraven syntézou popsanou ve **Schématu 28**, zbylé látky byly připraveny podle alternativní syntézy popsané ve **Schématu 29**. Tato syntéza se ukázala být výhodnější – bylo zjištěno, že odštěpení acetylu vodným amoniakem lze vynechat, jelikož k deprotekcí merkaptoskupiny dochází během záhřevu v TFA, a syntetická cesta tak může být zkrácena o jeden krok. Zároveň v případě substituce s CF<sub>3</sub> skupinou se ukázalo, že tento derivát **14c** nelze připravit syntézou popsanou ve **Schématu 28**, jelikož nebylo možné zredukovat disulfidovou vazbu a celá molekula se rozkládala.

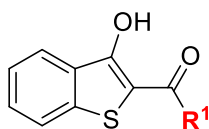
Proto byla pro všechny fenacylestery s výjimkou **14a-b** použita syntéza popsaná níže ve **Schématu 36**. Vychází ze syntézy popsané ve **Schématu 30**.



*Podmínky:* i) DIPEA, DMF, lab.T, 16 h ii) TFA, reflux

#### Schéma 36: Příprava cílových benzo[b]thiofenů **20c-n**

Celkem bylo takto připraveno 12 nových derivátů **18c-n**, které byly všechny následně podrobeny cyklizaci v TFA. Cyklizace probíhala bezproblémově u látek obsahující aromát substituovaný v *p*-poloze, s výjimkou NO<sub>2</sub> skupiny (**18f**). Též probíhala bezproblémově v případě substituce naftylem **18k** a thienylem **18l**. Dohromady bylo takto připraveno a vyizolováno 7 nových benzothiofenů **20a-c,h,j,k-l**. Přehled připravených derivátů lze nalézt v **Tabulce 10**. Jejich struktura byla potvrzena pomocí NMR a HRMS.



**20a-c,h,j,k-l**

Kód	R <sup>1</sup>	Výtěžek [%]
<b>20a</b>	Ph	60
<b>20b</b>	4-OMe-Ph	27
<b>20c</b>	4-CF <sub>3</sub> -Ph	32
<b>20h</b>	4-Me-Ph	38
<b>20j</b>	4-Br-Ph	54
<b>20k</b>	naftyl	66
<b>20l</b>	thienyl	62

**Tabulka 10:** Přehled připravených benzothiofenů **20a-c,h,j,k-l**

Cyklizace neprobíhala, pokud byl aromát substituovaný v *o*- či *m*- poloze (**18d-e,g,i**). Metodu též nebylo možné aplikovat na deriváty s alifatickým substituentem **18m-n**. V případě derivátu obsahující *tert*-butyl **18n** docházelo pouze k deacetylaci, k žádné další reakci nedocházelo, a to ani při prodloužení reakčního času na desítky hodin. Ve všech ostatních neúspěšných případech bylo možné detekovat produkt v reakční směsi, ale pouze ve stopovém zastoupení.

#### 5.2.4 Testování biologické aktivity připravených látek

I přesto, že se nepodařilo připravit příslušné thioflavonolové deriváty, u kterých byla očekávána biologická aktivita, bylo provedeno testování série připravených fenacylthiosalicylátů i benzothiofenů. U připravených fenacylesterů thiosalicylové kyseliny **14a-b** a **18c-n** i benzothiofenů **20a-c,h,k,l** byla stanovována antimikrobiální (nejprve difúzní test, v případě překročení cut-off hodnoty stanovení MIC) a cytotoxická aktivita (stanovení IC<sub>50</sub> pomocí kolorimetrického MTT testu na vybraných

buněčných liniích). Benzothiofen **20j** nebyl otestován, jelikož nebylo k dispozici dostatečné množství.

#### 5.2.4.1 Cytotoxická aktivita

Co se týče MTT testu, fenacylestery před cyklizací **14a-b** a **18c-n** nevykazovaly žádnou aktivitu. Benzothiofeny **20a-c,h,k** vykazovaly hodnotu  $IC_{50} < 20 \mu M$  na některé z testovaných buněčných linií – viz **Tabulka 11**. Benzothiofen **20l** nevykazoval žádnou zajímavou cytotoxickou aktivitu. Nejúčinnější se ukázaly být deriváty **20b** a **20c** s hodnotami  $IC_{50}$  **4,5** a **4,6**  $\mu M$  (respektive) vůči linii CCRF-CEM. Testované látky navíc vykazovaly aktivitu  $> 50 \mu M$  vůči zdravým fibroblastickým buňkám a nejsou tedy vůči zdravým buňkám toxické. Terapeutický index látek **20b** a **20c** je tedy větší než 10.

<b><math>IC_{50}</math> [<math>\mu M</math>]</b>				
	<b>CEM-DNR</b>	<b>CCRF-CEM</b>	<b>K562-TAX</b>	<b>HCT116p53</b>
<b>20a</b>	16	>20	18	20
<b>20b</b>	>20	<b>4,5</b>	>20	>20
<b>20c</b>	>20	<b>4,6</b>	>20	>20
<b>20h</b>	20	>20	20	22
<b>20k</b>	20	>20	20	20

CEM DNR – T-lymfoblastická leukémie, rezistentní na daunorubicin

CCRF-CEM – T-lymfoblastická leukémie

K562-TAX – erytromyeloblastická leukémie, rezistentní na taxol

HCT116p53 – kolorektální karcinom

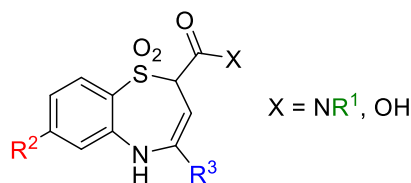
**Tabulka 11:** Zjištěné hodnoty  $IC_{50}$  připravených derivátů **20a-c,h,k** na různých buněčných liniích



#### **5.2.4.2 Antimikrobiální aktivita**

U připravených fenacylthiosalicylátů i příslušných benzothiofenů bylo posléze provedeno i testování antimikrobiální aktivity. Nejprve se provádí tzv. difúzní test pro zjištění citlivosti zkoumaných bakterií vůči připravené látce. Pokud velikost inhibiční zóny přesáhne cut-off hodnotu, stanoví se minimální inhibiční koncentrace (MIC) příslušných látek pomocí tzv. dilučního testu. V případě série připravených benzothiofenů překročily dvě látky cut-off hodnotu a je u nich momentálně prováděn diluční test. Podrobnější informace bohužel nebyly doposud dodány a budou proto prezentovány až při obhajobě diplomové práce.

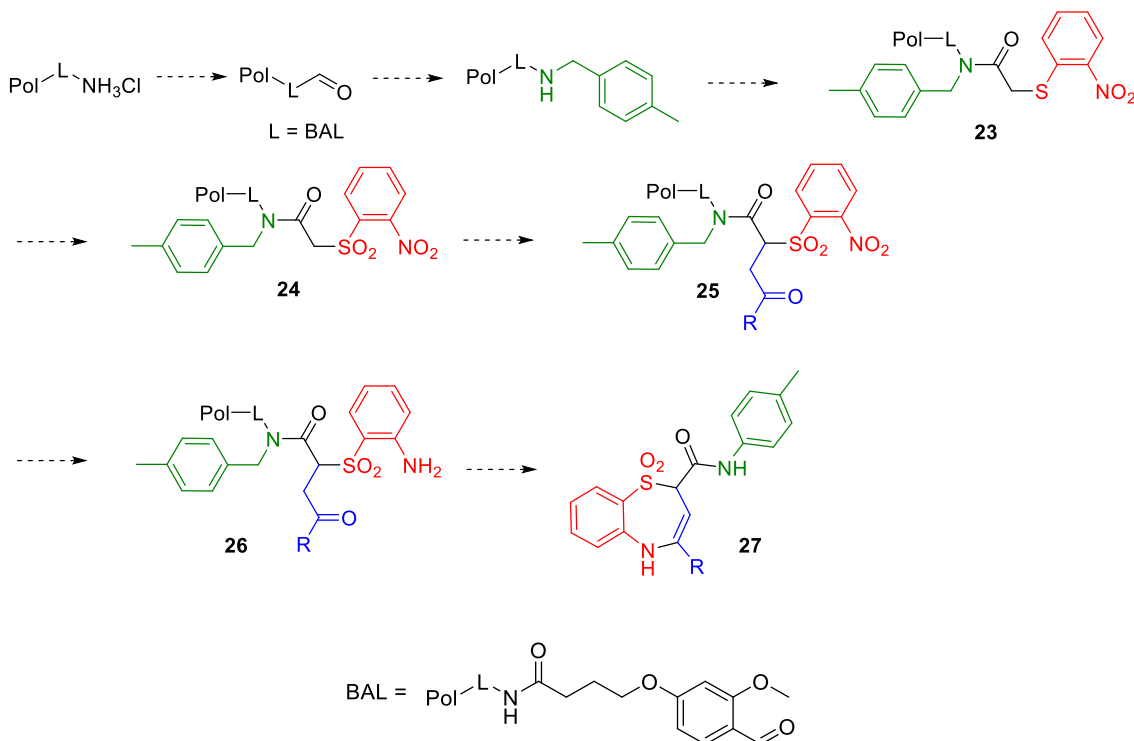
### 5.3 Příprava nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů



**Obr.9** Obecná struktura cílových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů

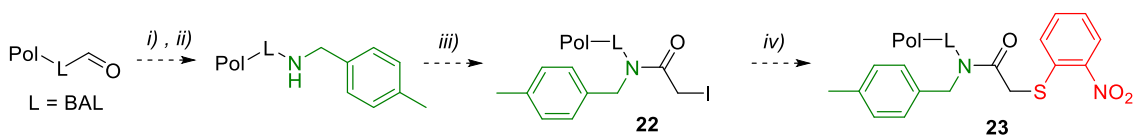
#### 5.3.1 Původní návrh syntézy

Navržená syntetická cesta (viz **Schéma 37**) využívá metodiku syntézy na pevné fázi, cílová struktura je vyobrazena na **Obr. 9**. Prvním krokem navržené syntézy je příprava pryskyřice obsahující BAL linker z aminomethylové pryskyřice a následná reduktivní aminace.<sup>47</sup> Poté následuje reakce s jódoctovou kyselinou za vzniku imobilizovaného amidu. Dalším krokem je nukleofilní substituce s *o*-nitrothiofenolem následovaná oxidací vzniklého sulfidu **23** na sulfon **24**. Následuje alkylace bromoketonem za vzniku derivátu **25**, který je podroben redukcí nitroskupiny na aminoskupinu, vzniká látka **26**, která je v posledním kroku cyklizována za vzniku finálního produktu **27** a odštěpena z pevné fáze.



**Schéma 37:** Navržená syntetická cesta vedoucí k cílovým 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidům

### 5.3.1.1 Příprava imobilizovaného sulfidu 23

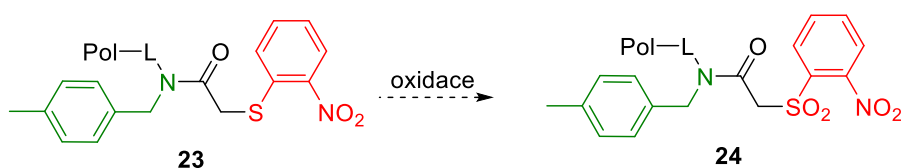


*Podmínky:* i) 4-methylbenzylamin, 10% AcOH v bezv. DMF, lab.T, 16 h ii) NaBH(OAc)<sub>3</sub>, 5% AcOH v bezv. DMF, lab.T, 4 h iii) kyselina jódoctová, DIC, DCM, lab.T, 16 h iv) *o*-nitrothiofenol, DIPEA, DCM, lab.T, 16 h

#### Schéma 38: Syntéza sulfidu 23

Reduktivní aminace, reakce s jódoctovou kyselinou i substituce s *o*-nitrothiofenolem proběhly bez problémů. Výchozí pryskyřice byla připravena s loadingem 0,6 mmol/g a následující kroky proběhly s čistotou < 90% (dle UPLC-MS analýzy). *O*-nitrothiofenol byl připraven z příslušného disulfidu redukcí disulfidové vazby pomocí PPh<sub>3</sub> a merkaptoethanolu, postup je popsán v Experimentální části v kapitole 6.4.3.4).

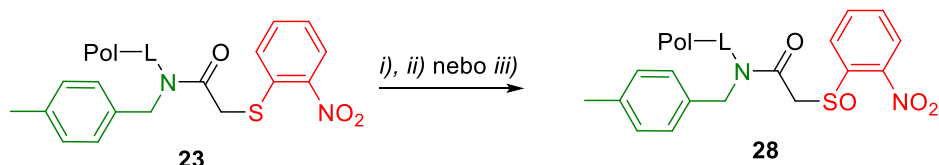
### 5.3.1.2 Oxidace sulfidu 23



#### Schéma 39: Oxidace sulfidu 23

Problematickým krokem se ukázala být oxidace sulfidu na sulfon, která je naznačena ve **Schématu 39**. Všechny provedené experimenty popisuje **Tabulka 12** níže. První testované podmínky vycházely z použití *m*CPBA. Po 16 hodinách došlo k odštěpení látky z pryskyřice, při zkrácení reakční doby na 4 hodiny došlo ke vzniku neznámé látky. Byl proveden pokus o její izolaci a následnou identifikaci, ale bohužel došlo k rozkladu po odštěpení z polymerního nosiče.

Další pokusy byly založeny na oxidaci pomocí H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Nejprve byl použit 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> v NMP – bohužel nedošlo k žádné reakci. Při zvýšení koncentrace H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na 15 % byla v reakční směsi detekována výchozí látka a malé množství látky odpovídající svou molekulovou hmotností struktúře sulfoxidu **28** (**Schéma 40**), nikoli sulfonu.



*Podmínky:* i) 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, NMP, lab.T ii) oxon, DCM/H<sub>2</sub>O, 50°C iii) H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub>, CrO<sub>3</sub>, DMF/H<sub>2</sub>O, lab.T

**Schéma 40:** Testované oxidace vedoucí k sulfoxidu **28**

Stejného výsledku bylo dosaženo za podmínek H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub> a katalytického množství CrO<sub>3</sub> v systému DMF/H<sub>2</sub>O. Nejprve byl otestován systém THF/H<sub>2</sub>O, ale po přidání reagentů k pryskyřici došlo k okamžitému vysrážení. Při analýze pomocí UPLC-MS byla opět detekována jen výchozí látka a stopa sulfoxidu **28**.<sup>48</sup>

Stejný produkt **28** vznikal i při použití systému oxon, DCM/H<sub>2</sub>O. Za lab.T byl v reakční směsi detekován sulfoxid **28**, proto bylo otestováno použití teploty 50°C. Při použití analytického množství pryskyřice byl detekován produkt oxidace odpovídající svou molekulovou hmotností žádanému sulfonu **24**. Při navýšení navážky pryskyřice se ale bohužel podařilo připravit opět pouze sulfoxid **28** s čistotou < 90%. Nepomohlo ani zopakování reakce či prodloužení reakční doby.

Pokus	Množství pryskyřice 23 [mg]	Oxidační činidlo	Teplota [°C]	Sulfoxid 28 [%] <sup>c</sup>	Sulfon 24 [%] <sup>c</sup>
1 <sup>a</sup>	20	<i>m</i> CPBA	lab.T	0	0
2 <sup>b</sup>	150	<i>m</i> CPBA	lab.T	0	0
3	20	10% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	lab.T	0	0
4	20	15% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	lab.T	25	0
5	20	15% H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50	5	0
6	20	H <sub>5</sub> IO <sub>6</sub> +CrO <sub>3</sub>	lab.T	5	0
7	20	H <sub>5</sub> IO <sub>6</sub> +CrO <sub>3</sub>	50	5	0
8	20	Oxon	lab.T	96	0
9	20	Oxon	50	0	95
10	200	Oxon	50	90	0

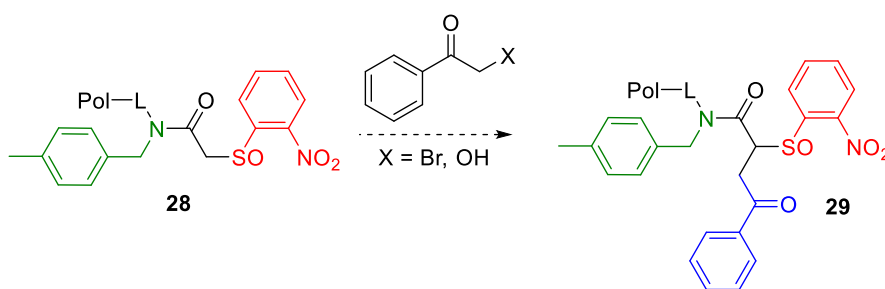
<sup>a</sup>vznik neznámé látky

<sup>b</sup>vznik stejné neznámé látky jako v pokusu 1, ale došlo k její degradaci

<sup>c</sup>HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

**Tabulka 12:** Provedené pokusy o oxidaci sulfidu 23

### 5.3.1.3 Fenacylace sulfoxidu 28



**Schéma 41:** Fenacylace sulfoxidu 28

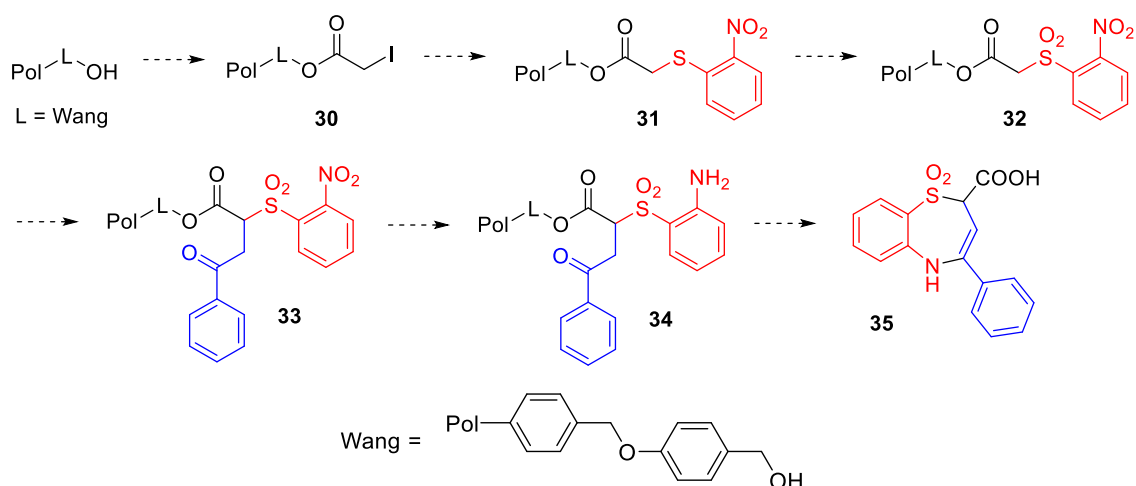
Přestože izolovaný sulfoxid 28 nebyl primárně žádaným meziproduktem, byla vyzkoušena jeho reaktivita pro fenacylaci vedoucí k hypotetickému produktu 29 (Schéma 41). Nejprve byla testována reakce s bromoacetofenonem (X = Br) za použití DIPEA či BTTP jako báze. Bohužel reakce vůbec neprobíhala, pravděpodobně z důvodu nedostatečné reaktivity methylenové skupiny substrátu, vodíky nejsou dostatečně kyselé. Možným řešením by bylo použití silnější báze, což se ukázalo být

komplikovanější. Aby byla síla báze dostatečná ( $pK_a$  methylenových vodíků  $< 18$  byla přibližně odhadnuta dle Evansovy tabulky  $pK_a^{49}$ ), bylo by nutné použít anorganické báze typu NaH, KHMDS či BuLi, jejichž použití není zcela kompatibilní s konceptem syntézy na pevné fázi. Byla proto otestována reakce za Mitsunobu podmíněk s 2-hydroxyacetofenonem ( $X = OH$ ). Bohužel, ani v tomto případě reakce vůbec neprobíhala. Otestované podmínky shrnuje **Tabulka 13**.

<b>Pokus</b>	<b>X</b>	<b>Podmínky</b>	<b>Výsledek</b>
<b>1</b>	Br	DIPEA, DMF, lab.T	nereaguje
<b>2</b>	Br	BTTP, DMF, lab.T	nereaguje
<b>3</b>	OH	PPh <sub>3</sub> , DIAD, bezv.THF, 0°C – lab.T	nereaguje

**Tabulka 13:** Testované podmínky fenacylace sulfoxidu **28**

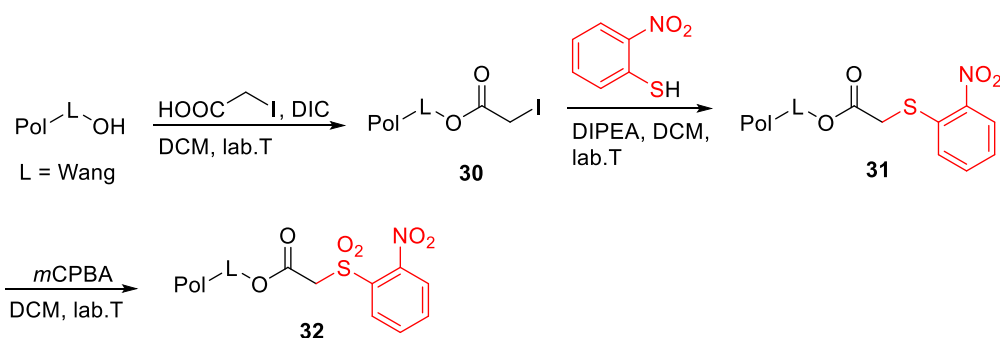
### 5.3.2 Aplikace alternativní syntetické cesty



**Schéma 42:** Alternativní syntetická cesta vedoucí k 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidům

Proto byla navržena alternativní syntetická cesta vycházející z použití Wangovy pryskyřice umožňující immobilizaci výchozí látky (jódoctová kyselina) ve formě esteru. Další syntetické kroky jsou analogické jako v případě původní navržené syntézy. Alternativní syntetická cesta je vyobrazena na **Schématu 42** a až po fázi sulfonu **32** vychází z předchozí práce v naší výzkumné skupině<sup>10,11</sup>. Záměna amidu za ester by měla vést k vyšší reaktivitě methylenů vůči fenacylaci. Nicméně jsme nezapomněli na riziko spojené s použitím esteru, a tím je riziko konkurenční či dokonce přednostní reakce aminoskupiny s karboxylem namísto s ketonem.

#### 5.3.2.1 Syntéza sulfonu 32

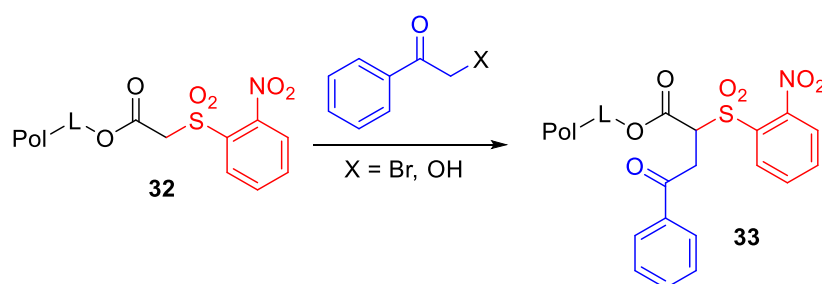


**Schéma 43:** Syntéza sulfonu 32

Alternativní syntéza dle zmíněné práce<sup>10,11</sup> byla relativně bezproblémově aplikována až do fáze sulfonu **32** (**Schéma 43**) a všechny kroky probíhaly s čistotou < 90 %, loading pryskyřice **30** se pohyboval mezi 0,4-0,5 mmol/g.

Za zmínku ale stojí nutnost optimalizovat oxidační metodu vyvinutou v původní práci<sup>10,11</sup>. Během reprodukce této reakce bylo zjištěno, že výsledek závisí na množství *m*CPBA a na reakční době. Při ověřování oxidace na analytickém množství pryskyřice **31** bylo množství použité *m*CPBA cca 0,5 mmol, což vedlo k odštěpení látky z polymerního nosiče. Stejně tak došlo k odštěpení z polymerního nosiče, pokud byla použita reakční doba delší než 17 hodin. Bylo tedy zjištěno, že pro úspěšný průběh oxidace na sulfon **32** vycházející z 200 mg pryskyřice je nutno použít max. 260 mg (1,5 mmol) *m*CPBA a nechat reakci probíhat maximálně 17 hodin.

### 5.3.2.2 Fenacylace sulfonu **32**



**Schéma 44:** Fenacylace sulfonu **32**

Fenacylace je naznačena ve **Schématu 44**. Při prvních pokusech byl použit bromoacetofenon ( $X = \text{Br}$ ) v bazickém prostředí. Při použití DIPEA reakce vůbec neprobíhala. Při použití DBU byl detekován produkt z 28 %, zbytek tvořila výchozí látka. Paralelně byla testována fenacylace za Mitsunobu podmínek s 2-hydroxyacetofenonem ( $X = \text{OH}$ ). Tato metoda se ukázala být úspěšně aplikovatelná na analytickém i preparativním množství pryskyřice s výslednou čistotou produktu **33** < 85 %. Provedené optimalizace popisuje **Tabulka 14**.

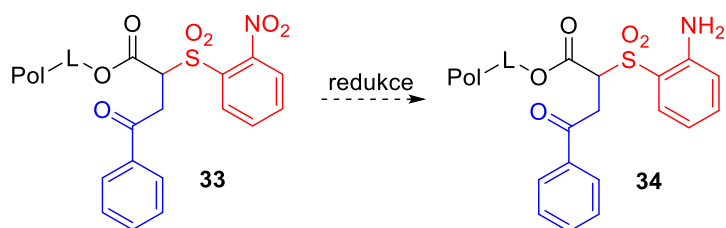
Pokus	X	Podmínky	Produkt <b>33</b> [%]*
1	Br	DIPEA, DMF, lab.T	0
2	Br	DBU, DMF, lab.T	28
3	OH	PPh <sub>3</sub> , DIAD, bezv.THF, 0°C – lab.T	85

\* HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

**Tabulka 14:** Provedené optimalizace fenacylace sulfonu **32**



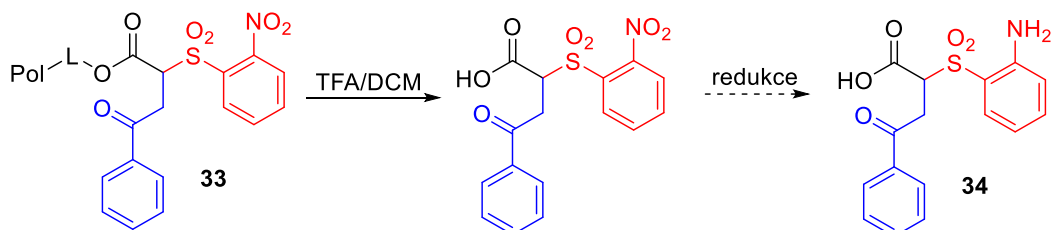
### 5.3.2.3 Redukce fenacylovaného sulfonu 33



**Schéma 45:** Redukce nitroskupiny na pevné fázi

Prvním problematickým krokem se ukázala redukce nitroskupiny na aminoskupinu (**Schéma 45**). Nejprve byla testována redukce  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  v systému DCM/ $\text{H}_2\text{O}$  s využitím TBAHS jako fázového přenašeče.<sup>12</sup> Při analýze byla detekována pouze směs signálů, přičemž žádný neodpovídal produktu ani výchozí látce. Stejný výsledek byl dosažen i při použití jiné redukční metody, a to  $\text{SnCl}_2$ , DIPEA, deg. DMF<sup>12</sup>.

Vzniklo proto podezření, že k redukci možná dochází, ale během štěpení produktu **34** z polymerního nosiče dochází k jeho degradaci v přítomnosti TFA. Proto byla nejprve výchozí látka **33** odštěpena z polymerního nosiče, štěpicí koktejl byl odpařen pomocí  $\text{N}_2$  a poté zlyofilizován přes noc. Následně byly testovány další redukce, tentokrát v roztoku – viz **Schéma 46**.



**Schéma 46:** Redukce výchozí látky po odštěpení z pevné fáze

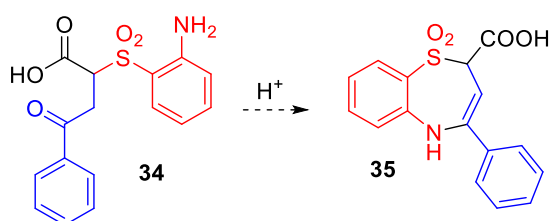
Nejprve byla otestována redukce  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$  v DMF, došlo k degradaci výchozí látky. Poté byla otestována katalytická hydrogenace za použití Pd/C jako katalyzátoru. V tomto případě reakce probíhala s čistotou cca 80 % (dle UPLC-MS). Všechny provedené pokusy shrnuje **Tabulka 15**.

Pokus	Forma výchozí látky 33	Redukční činidlo	Produkt 34 [%]*
1	na pevné fázi	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	0
2	na pevné fázi	SnCl <sub>2</sub>	0
3	odštěpena z pevné fáze	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	0
4	odštěpena z pevné fáze	H <sub>2</sub> , Pd/C	80

\* HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

**Tabulka 15:** Provedené pokusy o redukci výchozí látky 33

#### 5.3.2.4 Cyklizace na cílový 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxid



**Schéma 46:** Finální cyklizace na 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxid

Posledním krokem reakční sekvence je cyklizace zredukovaného derivátu 34 na finální 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxid 35 v kyselém prostředí (Schéma 46). První pokusy vycházely z použití TFA. Nejprve byla použita čistá TFA, ale bohužel došlo k rozkladu výchozí látky, což zároveň potvrdilo náš předpoklad z předchozí kapitoly, tj. že redukce nitroskupiny derivátu 33 navázaném na polymerním nosiči možná probíhá, ale není možné reakci analyzovat, jelikož během štěpení z polymerního nosiče dochází k degradaci látky 34.

Následně byla použita TFA/DCM o koncentraci 10 %. Ani tato reakce bohužel nebyla úspěšná, došlo k okamžité degradaci výchozí látky 34. Stejný výsledek byl dosažen i při použití podmínek DMSO, katalytické množství *p*TSA, 100°C.

Neúspěch těchto reakcí nás dovedl k myšlence, že látka 34 není stabilní v kyselém prostředí a finální cyklizace na 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxid 35 tedy nemůže být pravděpodobně vůbec uskutečněna. Doposud provedené pokusy o finální cyklizaci shrnuje Tabulka 16.

<b>Pokus</b>	<b>Podmínky</b>	<b>Teplota [°C]</b>	<b>Produkt 35 [%]<sup>a</sup></b>
1	čistá TFA	lab.T	0 <sup>b</sup>
2	10% TFA/DCM	lab.T	0 <sup>b</sup>
3	<i>p</i> TSA, DMSO	100	0 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>HPLC procentuální zastoupení získané z UV-spektra porovnáním ploch píků

<sup>b</sup>rozklad výchozí látky

**Tabulka 16:** Doposud provedené pokusy o finální cyklizaci

Z časových důvodů nebyly provedeny další pokusy pro ověření této domněnky (např. použití AcOH jako slabé kyseliny) či vyzkoušet výchozí látku zahřát např. v NMP, případně vyzkoušet mikrovlnný ohřev. Dokončení tohoto projektu bude věnována pozornost v nejbližší době.

## 6 Experimentální část

### 6.1 Všeobecné informace

Rozpouštědla a chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma Aldrich (Milwaukee, IL, [www.sigmaaldrich.com](http://www.sigmaaldrich.com)), v případě kapitoly 6.4 byly použité pryskyřice (aminomethylová a Wangova) zakoupeny od firmy AAPPTec (Louisville, KY, [www.aapptec.com](http://www.aapptec.com)). Syntézy popsané v kapitole 6.4 byly prováděné v plastových stříkačkách opatřených polypropylenovou fritou (pokud není řečeno jinak) za použití manuálně ovládaného syntetizéru (Torviq, Niles, MI, [www.torviq.com](http://www.torviq.com)). Při promývání byla pryskyřice míchána s čerstvým rozpouštědlem po dobu 1 minuty před změnou rozpouštědla. Intermediáty navázané na pryskyřici byly pro kvantitativní analýzu či dlouhodobé skladování vysušeny proudem dusíku. Všechny reakce probíhaly za laboratorní teploty (21°C), pokud není uvedeno jinak.

UPLC-MS analýza byla provedena pomocí systému složeného z UPLC chromatografu Acquity s PDA detektorem a MS s jednoduchým kvadrupólem (Waters). Byla použita X-Select kolona C18 při 30°C a průtok 600 µl/min. Jako MF bylo použito: (A) 0,01M octan amonný v H<sub>2</sub>O (B) ACN lineárně naprogramovaný od 10 do 80 % B po 2,5 minuty, udržováno po 1,5 minuty. ESI zdroj operoval pod proudem 5µA, s odpařovací teplotou 350°C a kapilární teplotou 200°C.

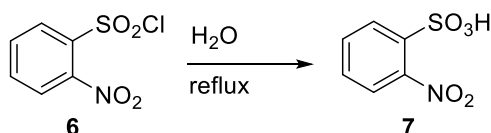
Čištění látek pomocí semipreparativní HPLC bylo provedeno pomocí C18 kolony s reverzní fází (19 x 100 mm, 5 µm částice) a gradient MF byl tvořený z 0,01M octanu amonného v H<sub>2</sub>O a ACN s průtokem 15 ml/min.

Pro měření NMR spekter byl použit spektrometr JEOL ECX500 s magnetickým polem 11,75 T (při operační frekvenci 500,16 MHz pro <sup>1</sup>H a 125,77 MHz pro <sup>13</sup>C) a spektrometr JEOL ECA400II s magnetickým polem 9,39 T (při operační frekvenci 399,78 MHz pro <sup>1</sup>H a 100,53 MHz pro <sup>13</sup>C) při laboratorní teplotě (25°C). Chemické posuny (δ) jsou uváděny v ppm (parts per million) a interakční konstanty (J) v Hz (Herzech). <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C signály byly kalibrovány na signál rozpouštědel: CDCl<sub>3</sub> [7.26 ppm (<sup>1</sup>H) a 77.23 ppm (<sup>13</sup>C)] a DMSO-*d*<sub>6</sub> [2.50 ppm (<sup>1</sup>H) a 39.51 ppm (<sup>13</sup>C)]. Pokročilejší 2D experimenty zahrnují COSY, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HMBC, <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C HSQC.

HRMS analýza byla prováděna na systému tvořeném kapalinovým chromatografem (Dionex UltiMate 3000, Thermo Fischer Scientific, MA, USA) a hmotnostním spektrometrem Exactive Plus Orbitrap high-resolution (Thermo Fischer Scientific, MA, USA). Jako ionizační zdroj byl použit elektrosprej a snímána byla spektra v kladném i záporném módu v rozsahu 150-450  $m/z$ . Chromatografická separace byla prováděna na koloně Phenomenex Gemini (C18, 50 x 2 mm, 3  $\mu\text{m}$  částice), eluce byla izokratická, MF obsahovala 80 % ACN a 20 % pufru (0,01M octan amonný). Vzorky byly připraveny rozpuštěním látek ve směsi MeOH:voda (1:1).

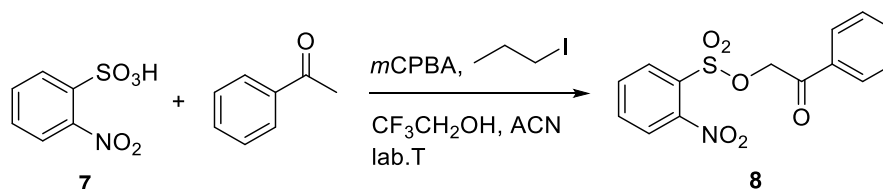
## 6.2 Studium cyklizačních reakcí fenacylesterů 2-aminobenzensulfonové kyseliny

### 6.2.1 Příprava 2-nitrobenzensulfonové kyseliny



K výchozímu 2-NosCl (15 g) byla přidána voda (90 ml) a vzniklá suspenze byla refluxována po dobu 2 hodin. Došlo k postupnému rozpuštění pevné látky za vzniku nažloutlého roztoku, reakce byla monitorována pomocí UPLC-MS analýzy. Po ukončení reakce byla reakční směs ochlazena na lab.T a poté lyofilizována 2 dny. Produkt byl vyizolován jako nažloutlá hygroskopická amorfnní pevná látka, s výtěžkem 14 g (93 %).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm) = 7.83 (dd,  $J$  = 9.0, 2.3 Hz, 1H), 7.60 – 7.54 (m, 2H), 7.53 – 7.49 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm) = 147.86, 139.32, 130.81, 130.09, 129.03, 122.44. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_5\text{S}$  [M-H] $^-$  201.9805, nalezeno 201.9803.

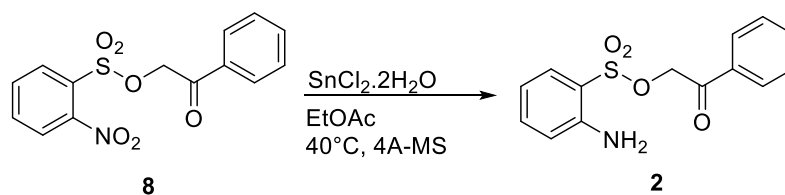
### 6.2.2 Příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonátu



Nejprve byla rozpuštěna 2-nitrobenzensulfonová kyselina (10 mmol ; 2,057 g) ve směsi rozpouštědel ACN (28 ml) +  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$  (12 ml). Poté byly do reakční směsi postupně přidány další reagenty: acetofenon (4 mmol ; 470  $\mu\text{l}$ ), 1-jodpropan (2 mmol ;

195  $\mu$ l) a *m*CPBA (8 mmol ; 1,384 g). Reakční směs byla míchána 6-9 hodin při laboratorní teplotě, reakce byla monitorována pomocí UPLC-MS analýzy. Reakce byla ukončena ve chvíli, kdy došlo k úplnému odreagování acetofenonu. Poté byla reakční směs zakoncentrována pomocí RVO. Odparek byl rozpuštěn v DCM, nasorbován na silikagel a čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO<sub>2</sub>, MF hex:EtOAc 1,5:1). Frakce obsahující produkt byly smíchány a odpařeny dosucha. Výsledný 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonát byl získán jako hnědobílá amorfni pevná látka, výtěžek byl 514 mg (40 %). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.28 – 8.22 (m, 1H), 7.90 – 7.85 (m, 2H), 7.84 – 7.81 (m, 2H), 7.81 – 7.77 (m, 1H), 7.65 – 7.60 (m, 1H), 7.53 – 7.46 (m, 2H), 5.62 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 190.00, 135.07, 134.58, 133.50, 132.65, 131.74, 130.37, 129.19, 128.03, 124.99, 72.23. HRMS (ESI-TOF) *m/z* vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>6</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 322.0380, nalezeno 322.0380.

### 6.2.3 Příprava 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonátu



Nejprve byl navážen výchozí 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonát **8** (1,25 mmol ; 400 mg). Poté byla výchozí látka rozpuštěna v ethylacetátu (6 ml), následně byla přidána molekulová síta (4 Å, 50 mg) a SnCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (12,4 mmol ; 2,79 g). Reakční směs byla míchána 1 hodinu při 40°C. Konec reakce byl indikován pomocí UPLC-MS a TLC (MF hex:EtOAc 1,5:1), kdy došlo k úplnému odreagování výchozí látky. Následně byla odstraněna molekulová síta a produkt **2** vyizolován dle jednoho z následujících postupů:

#### *Izolace 1:*

Ethylacetát byl odpařen pomocí RVO. Bíložlutý lepivý odparek obsahující soli cínu a žádaný produkt byl následně sonifikován v DCM 5 minut. Poté byla směs přefiltrována přes Celite<sup>®</sup> a filtrační koláč byl několikrát promyt DCM. Matečný louh byl poté zakoncentrován pomocí RVO na minimální objem a poté byla nažloutlá olejovitá směs nasorbována na silikagel a přečištěna pomocí sloupcové chromatografie (SiO<sub>2</sub>, MF hex:EtOAc 1,5:1). Frakce obsahující produkt byly spojeny a odpařeny dosucha. Výsledný 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonát byl vyizolován v celkovém výtěžku 75 % jako bílá amorfni pevná látka, výtěžek byl 270 mg (75 %). <sup>1</sup>H

NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 7.88 – 7.79 (m, 2H), 7.78 – 7.69 (m, 1H), 7.65 – 7.56 (m, 1H), 7.47 (t,  $J$  = 7.8 Hz, 2H), 7.41 – 7.31 (m, 1H), 6.79 – 6.69 (m, 2H), 5.24 (s, 2H), 5.14 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 190.65, 146.77, 135.81, 134.36, 133.93, 130.46, 129.06, 128.17, 117.72, 117.20, 116.05, 70.22. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 292.0638, nalezeno 292.0637.

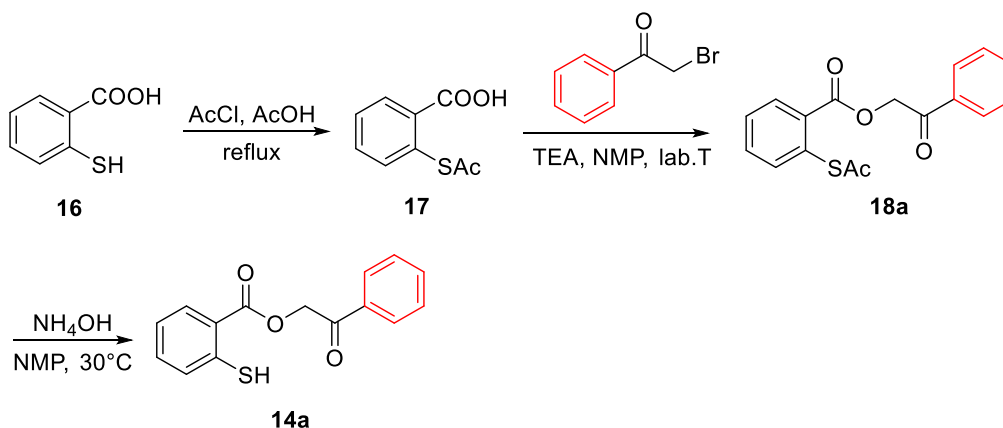
#### *Izolace 2:*

Ethylacetát byl odpařen pomocí RVO a k odparku byla přidána voda (100 ml), čímž došlo ke vzniku bíložluté sraženiny. Poté byla provedena extrakce pomocí Et<sub>2</sub>O (3x100 ml). Spojené organické vrstvy byly vysušeny pomocí Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a odpařeny do sucha. Odparek byl poté rozpuštěn v DCM, nasorbován na silikagel a čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO<sub>2</sub>, MF hex:EtOAc 1,5:1). Frakce obsahující produkt byly spojeny a odpařeny dosucha. Výsledný 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonát byl vyzolován v celkovém výtěžku 40%. Naměřená analytická data odpovídají hodnotám uvedeným v postupu *Izolace 1*.

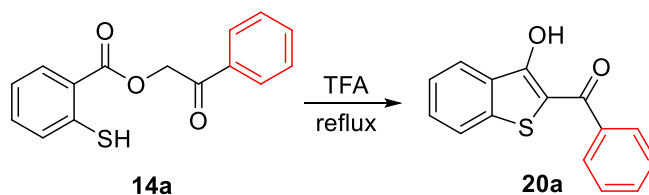
### 6.3 Studium cyklizačních reakcí fenacylesterů thiosalicylové kyseliny

#### 6.3.1 Syntéza benzothiofenu 20a

Jak již bylo zmíněno v kapitole Výsledky a diskuse, syntéza vedoucí k derivátu **14a** byla provedena dr.Kvapilem a je součástí publikace<sup>43</sup> včetně příslušných analytických dat. Pro větší přehlednost je syntetický postup popsán níže.

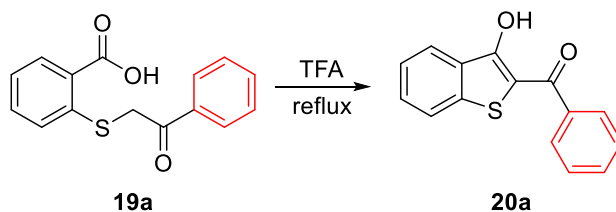


### 6.3.1.1 Cyklizace O-fenacylesteru 14a



Fenacylester **14a** (130 mg ; 0,48 mmol) byl rozpuštěn v čisté TFA (1,5 ml) a reakční směs byla refluxována 3,5 hodiny v tlakové ampuli. Po ukončení reakce byla TFA odpařena pomocí N<sub>2</sub> a výsledný žlutý olej byl přečištěn pomocí semipreparativní HPLC. Produkt **20a** byl vyzolován ve formě žlutého prášku. Struktura produktu **20a** byla potvrzena pomocí NMR a HRMS.

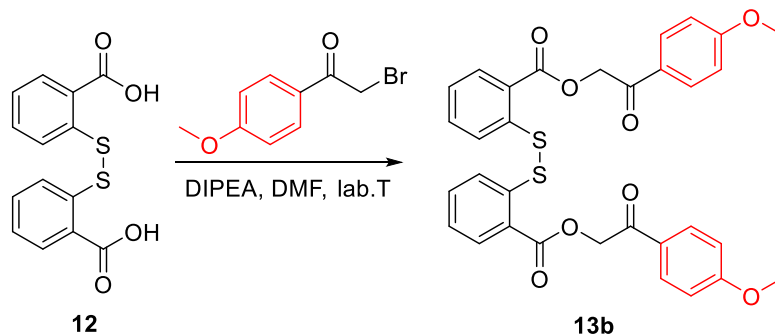
### 6.3.1.2 Cyklizace S-fenacylesteru 19a



Fenacylester **19a** (150 mg ; 0,56 mmol) byl rozpuštěn v čisté TFA (2 ml) a reakční směs byla refluxována 2 hodiny v tlakové ampuli. Poté byla TFA odpařena pomocí N<sub>2</sub>. Produkt **20a** byl identifikován na základě porovnání retenčního času, UV a MS spektra s produktem připraveným podle metody popsané v podkapitole **6.3.1.1** a nebyl dále izolován.

## 6.3.2 Syntéza benzothiofenu 20b

### 6.3.2.1 Alkylace dithiobenzoové kyseliny

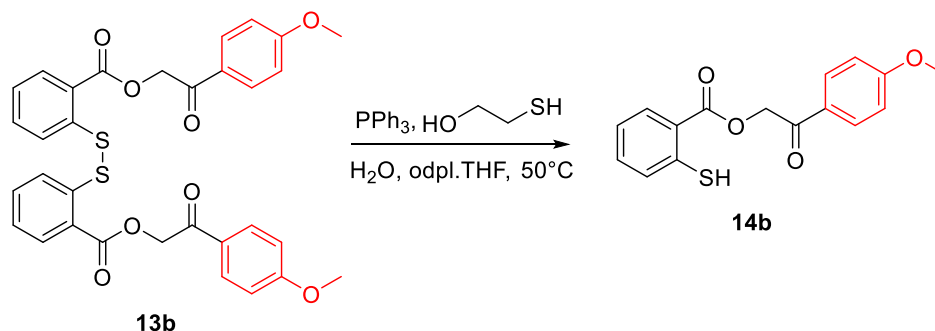


Dithiobenzoová kyselina **12** (306 mg ; 1 mmol) byla rozpuštěna v DMF (3,5 ml) a byl přidán DIPEA (350  $\mu$ l ; 2 mmol). Reakční směs byla míchána 20 min při lab.T. Poté byl přidán 4-methoxy-2-bromfenylethan-1-on (456 mg ; 2 mmol) a reakční směs



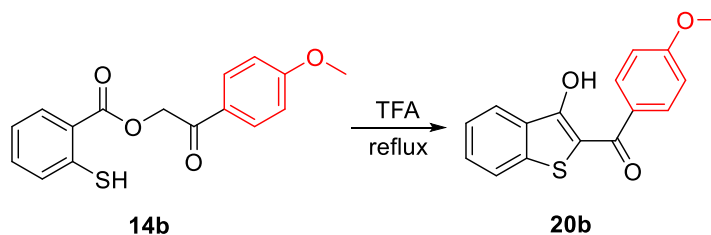
byla míchána 16 h při lab.T. Konec reakce byl indikován pomocí UPLC-MS. Po ukončení reakce byl hnědý roztok nalit na směs ledu a 10% NaHCO<sub>3</sub> (4 ml). Hnědá sraženina byla odsáta a promyta 10% NaHCO<sub>3</sub> a vodou. Surový bisfenacylester **13b** byl dále použit bez jakékoli purifikace.

### 6.3.2.2 Redukce disulfidové vazby



Bisfenacylester **13b** (681 mg ; 1,3 mmol) byl rozpuštěn v deg. THF (10 ml). Poté byl přidán PPh<sub>3</sub> (511 mg ; 1,95 mmol), 2-merkapt ethanol (95 µl ; 1,3 mmol) a voda (235 µl). Reakční směs byla míchána 16 h při 50°C.<sup>44</sup> Po ukončení reakce byl THF odpařen pomocí RVO a žlutý olej byl poté naředěn solankou (100 ml) a extrahován DCM (3x 90 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a odpařeny dosucha. Olejovitý žlutý odparek byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO<sub>2</sub>, MF EtOAc:hex 1:2).

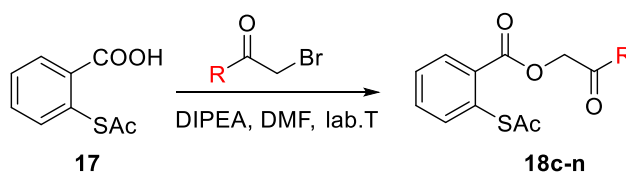
### 6.3.2.3 Cyklizace fenacylesteru 14b



Fenacylester **14b** (50 mg ; 0,17 mmol) byl rozpuštěn v čisté TFA (1 ml) a refluxován 5 hodin v tlakové ampuli. Poté byla TFA odpařena pomocí N<sub>2</sub> a odparek byl přečištěn pomocí semipreparativní HPLC.

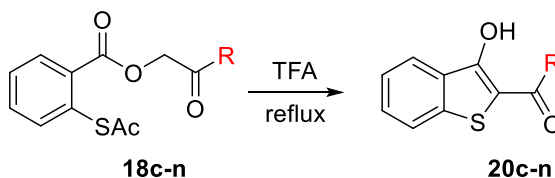
### 6.3.3 Syntéza benzothiofenů 20c-n

#### 6.3.3.1 Příprava fenacylesterů 18c-n



S-acetylthiosalicylová kyselina **17** (196 mg ; 1 mmol) byla rozpuštěna v DMF (2 ml), poté byl přidán DIPEA (175  $\mu$ l ; 1 mmol) a reakční směs byla míchána 20 min při lab.T. Poté byl přidán příslušný bromoketon (1 mmol) a reakční směs byla míchána 16h při lab.T. Po ukončení reakce byla reakční směs naředěna vodou (5 ml) a extrahována EtOAc (3x10 ml). Organické vrstvy byly spojeny a promyty vodou (3x40 ml) pro odstranění DMF. Poté byla organická vrstva vysušena pomocí Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a odpařena dosucha. Žlutooranžový olejovitý odparek byl rozdělen na polovinu – jedna polovina byla bez další purifikace použita pro testování cyklizace za vzniku benzothiofenu **20c-n**, druhá polovina byla přečištěna pomocí semipreparativní HPLC pro získání čistého produktu **18c-n**.

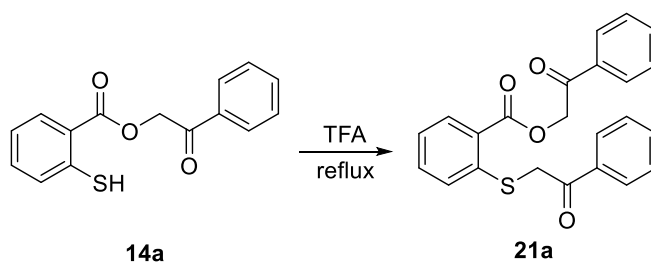
#### 6.3.3.2 Příprava benzothiofenů 20c-n



Fenacylester **18c-n** (0,5 mmol) byl rozpuštěn v čisté TFA (1,5 ml). Reakční směs byla refluxována 5 h (v případě **18j** bylo dostačující 1,5 h) v tlakové ampuli. Po ukončení reakce byla TFA odpařena pomocí N<sub>2</sub> a odparek byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO<sub>2</sub>, MF hex:EtOAc 15:1 až 10:1 pro **20c**, hex:DCM 1:1 či 1:2 pro **20h,j** a **20k-l**). Sloučeniny **20d-g,i,m** byly v reakční směsi detekovány pouze ve stopovém množství a nebyly izolovány. Sloučenina **18n** byla pouze deacetylována a k cyklizaci na produkt **20n** nedošlo vůbec.

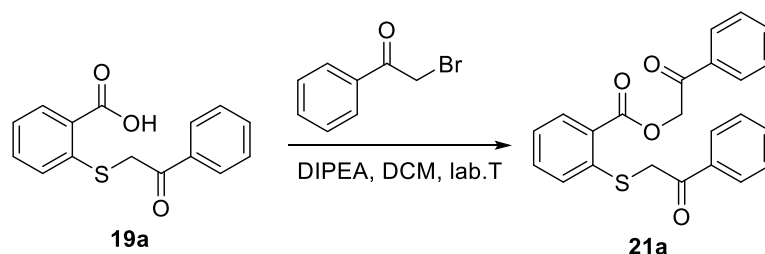
## 6.3.4 Syntéza dialkylovaného intermediátu 21a

### 6.3.4.1 Kyselé katalyzovaná transalkylace



Fenacylester **14a** (130 mg ; 0,48 mmol) byl rozpuštěn v čisté TFA (1 ml) a reakční směs byla refluxována 15 min. Poté byla TFA odpařena pomocí N<sub>2</sub> a olejovitý odparek byl přečištěn pomocí semipreparativní HPLC pro získání čistého produktu **21a**.

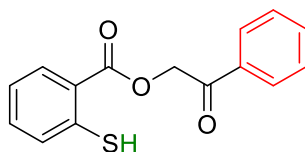
### 6.3.4.2 Alkylace S-izomeru 19a



Sulfid **19a** (544 mg ; 2 mmol) byl rozpuštěn v DCM (5 ml) a byl přidán DIPEA (350  $\mu$ l ; 2 mmol). Po 20 min míchání při lab.T byl přidán 2-bromo-1-fenylethan-1-on (400 mg ; 2 mmol). Reakce byla míchána 3 h při lab.T. Po ukončení reakce byl DCM odpařen pomocí RVO a žlutý olejovitý odparek byl krystalizován z MeOH. Všechna analytická data (retenční čas, UV, MS a NMR spektrum) bylo identické s daty naměřenými u produktu **21a** připraveného metodou dle **6.3.4.1**.

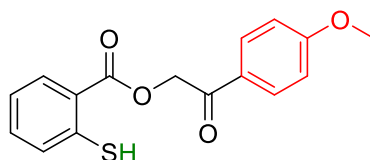
### 6.3.5 Analytická data připravených sloučenin

#### 2-oxo-2-fenylethyl 2-merkaptobenzoát (14a)



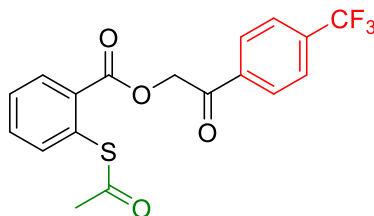
Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 1.1 g (50 %). ESI-MS  $m/z$  271 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.22 – 8.16 (m, 1H), 8.01 – 7.91 (m, 2H), 7.66 – 7.59 (m, 1H), 7.54 – 7.47 (m, 2H), 7.38 – 7.30 (m, 2H), 7.20 (m, 1H), 5.59 (s, 2H), 4.73 (s, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 191.98, 166.20, 138.82, 134.31, 134.12, 132.98, 132.31, 131.00, 129.06, 127.97, 125.34, 124.92, 66.65. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>S [M-H]<sup>-</sup> 271.0423, nalezeno 271.0435.

#### 2-(4-methoxyfenyl)-2-oxoethyl 2-merkaptobenzoát (14b)



Žlutá amorfnní pevná látka, výtěžek 210 mg (35 %). ESI-MS  $m/z$  301 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.22 – 8.15 (m, 1H), 7.99 – 7.89 (m, 2H), 7.36 – 7.31 (m, 2H), 7.23 – 7.16 (m, 1H), 7.00 – 6.91 (m, 2H), 5.58 – 5.50 (s, 2H), 4.75 (s, 1H), 3.88 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 190.43, 166.28, 164.24, 138.75, 132.91, 132.32, 130.97, 130.28, 127.33, 125.45, 124.90, 114.24, 66.41, 55.68. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>S [M-H]<sup>-</sup> 301.0529, nalezeno 301.0539.

#### 2-oxo-2-(4-(trifluormethyl)fenyl)ethyl 2-(acetylthio)benzoát (18c)

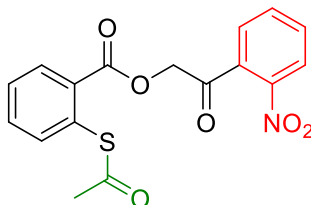


Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 160 mg (42 %). ESI-MS  $m/z$  381 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.17 – 8.13 (m, 1H), 8.07 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 2H), 7.78 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.61 – 7.56 (m, 2H), 7.54 – 7.49 (m, 1H), 5.54 (s, 2H), 2.43 (s, 3H). <sup>13</sup>C

NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 193.17, 191.28, 165.61, 136.98, 136.77, 135.33 (q,  $^2J_{C-F}$  = 33.0 Hz), 133.01, 132.62, 131.58, 129.59, 129.15, 128.39, 126.16 (q,  $^3J_{C-F}$  = 3.5 Hz), 123.53 (q,  $^1J_{C-F}$  = 272.9 Hz), 66.78, 30.47. HRMS\* (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S [M-H]<sup>-</sup> 339.0308, nalezeno 339.0298.

\*detekován pouze deacetylovaný fragment

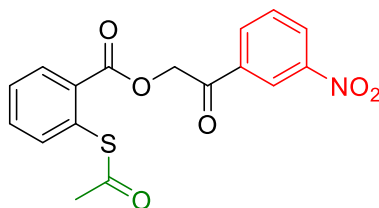
### 2-(2-nitrofenyl)-2-oxoethyl 2-(acetylthio)benzoát (18d)



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 15 mg (8 %). ESI-MS  $m/z$  358 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.15 (dd,  $J$  = 8.2, 0.8 Hz, 1H), 7.86 – 7.81 (m, 1H), 7.76 (td,  $J$  = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.66 – 7.60 (m, 1H), 7.58 – 7.51 (m, 3H), 7.49 – 7.40 (m, 1H), 5.21 (s, 2H), 2.41 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 197.08, 192.89, 165.35, 146.13, 136.78, 134.83, 134.63, 132.68, 132.33, 131.44, 131.28, 129.49, 129.19, 128.84, 124.26, 68.24, 30.43. HRMS\* (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup> 316.0285, nalezeno 316.0274.

\*detekován pouze deacetylovaný fragment

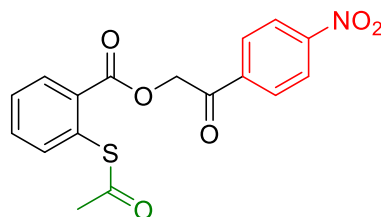
### 2-(3-nitrofenyl)-2-oxoethyl 2-(acetylthio)benzoát (18e)



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 30 mg (18 %). ESI-MS  $m/z$  358 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.78 (t,  $J$  = 1.9 Hz, 1H), 8.48 (ddd,  $J$  = 8.2, 2.2, 1.0 Hz, 1H), 8.28 (dt,  $J$  = 7.8, 1.3, 1.3 Hz, 1H), 8.16 – 8.12 (m, 1H), 7.74 (t,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.60 – 7.57 (m, 2H), 7.55 – 7.49 (m, 1H), 5.56 (s, 2H), 2.44 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 193.11, 190.31, 165.56, 148.61, 136.78, 135.49, 133.57, 132.87, 132.68, 131.54, 130.45, 129.61, 129.18, 128.31, 122.93, 66.71, 30.47. HRMS\* (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup> 316.0285, nalezeno 316.0272.

\*detekován pouze deacetylovaný fragment

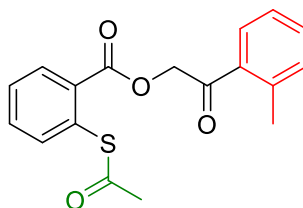
**2-(4-nitrofenyl)-2-oxoethyl 2-(acetylthio)benzoát (18f)**



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 76 mg (43 %). ESI-MS  $m/z$  358 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.37 – 8.36 (m, 1H), 8.36 – 8.34 (m, 1H), 8.16 – 8.10 (m, 3H), 7.60 – 7.58 (m, 2H), 7.55 – 7.50 (m, 1H), 5.54 (s, 2H), 2.44 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 193.10, 190.93, 165.54, 150.89, 138.73, 136.80, 132.82, 132.72, 131.54, 129.62, 129.20, 129.15, 124.29, 66.83, 30.47. HRMS\* (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>5</sub>S [M-H]<sup>-</sup> 316.0285, nalezeno 316.0272.

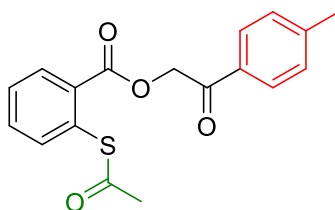
\*detekován pouze deacetylovaný fragment

**2-oxo-2-(*o*-tolyl)ethyl 2-(acetylthio)benzoát (18g)**



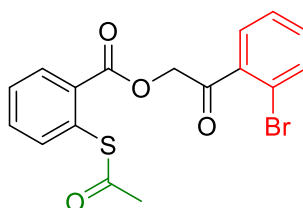
Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 25 mg (15 %). ESI-MS  $m/z$  327 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.00 (dd,  $J$  = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.87 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H), 7.69 (td,  $J$  = 7.5, 1.7 Hz, 1H), 7.66 – 7.59 (m, 2H), 7.53 – 7.47 (m, 1H), 7.40 – 7.31 (m, 2H), 5.53 (s, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.41 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) = 196.14, 192.51, 165.17, 137.81, 136.73, 134.22, 133.59, 132.43, 132.14, 131.82, 130.56, 129.76, 128.63, 127.84, 125.93, 68.42, 30.13, 20.45. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 329.0842, nalezeno 329.0840.

### 2-oxo-2-(*p*-tolyl)ethyl 2-(acetylthio)benzoát (18h)



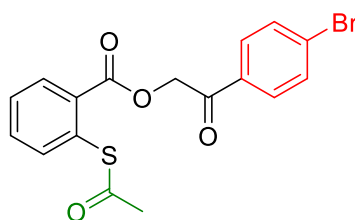
Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 100 mg (61 %). ESI-MS  $m/z$  327 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.04 (dd,  $J$  = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.95 – 7.88 (m, 2H), 7.70 (td,  $J$  = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.66 (dd,  $J$  = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 7.64 – 7.61 (m, 1H), 7.39 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 2H), 5.68 (s, 2H), 2.42 (s, 3H), 2.41 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm) = 192.56, 191.94, 165.10, 144.56, 136.75, 133.65, 132.45, 131.33, 130.64, 129.79, 129.44, 127.92, 127.83, 67.21, 30.15, 21.22. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 329.0842, nalezeno 329.0840.

### 2-(2-bromfenyl)-2-oxoethyl 2-(acetylthio)benzoát (18i)



Bílý olej, výtěžek 40 mg (20 %). ESI-MS  $m/z$  390 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.05 (dd,  $J$  = 7.8, 1.2 Hz, 1H), 7.66 – 7.62 (m, 1H), 7.58 – 7.53 (m, 3H), 7.50 – 7.46 (m, 1H), 7.43 – 7.33 (m, 2H), 5.37 (s, 2H), 2.43 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 196.53, 192.91, 165.57, 138.43, 136.71, 133.91, 133.09, 132.71, 132.47, 131.47, 130.89, 129.71, 129.49, 129.15, 127.75, 68.50, 30.41. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 392.2843, nalezeno 392.2841.

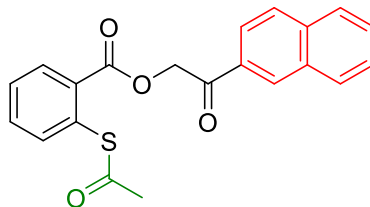
### 2-(4-bromfenyl)-2-oxoethyl 2-(acetylthio)benzoát (18j)



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 80 mg (40 %). ESI-MS  $m/z$  391 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.14 (dd,  $J$  = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 7.83 – 7.79 (m, 2H), 7.68 – 7.62 (m, 2H), 7.62 – 7.54 (m, 2H), 7.54 – 7.47 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 2.43 (s, 3H). <sup>13</sup>C

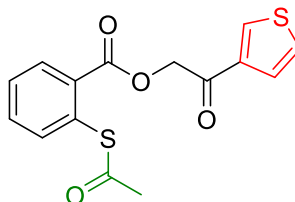
NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 193.12, 191.12, 165.64, 136.74, 133.19, 133.10, 132.51, 132.42, 131.57, 129.55, 129.45, 129.35, 129.16, 66.59, 30.45. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>BrO<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 392.9791, nalezeno 392.9791.

**2-(naftalen-2-yl)-2-oxoethyl 2-(acetylthio)benzoát (18k)**



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 58 mg (32 %). ESI-MS  $m/z$  363 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.48 (d,  $J$  = 0.8 Hz, 1H), 8.22 – 8.18 (m, 1H), 8.01 (dd,  $J$  = 8.6, 1.7 Hz, 1H), 7.98 (dd,  $J$  = 8.0, 0.4 Hz, 1H), 7.94 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 1H), 7.90 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.66 – 7.63 (m, 1H), 7.63 – 7.61 (m, 1H), 7.60 – 7.56 (m, 2H), 7.55 – 7.50 (m, 1H), 5.69 (s, 2H), 2.44 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 193.26, 191.88, 165.78, 136.70, 136.06, 133.31, 132.52, 132.45, 131.65, 131.63, 129.76, 129.74, 129.55, 129.07, 129.03, 128.04, 127.23, 123.45, 66.87, 30.47. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 365.0842, nalezeno 365.0843.

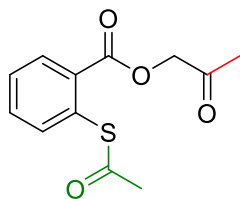
**2-oxo-2-(thiofen-3-yl)ethyl 2-(acetylthio)benzoát (18l)**



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 33 mg (22 %). ESI-MS  $m/z$  319 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.18 – 8.10 (m, 2H), 7.61 – 7.54 (m, 3H), 7.54 – 7.47 (m, 1H), 7.41 – 7.34 (m, 1H), 5.40 (s, 2H), 2.43 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 193.24, 186.47, 165.66, 138.79, 136.70, 133.20, 132.48, 131.57, 129.54, 129.07, 127.04, 126.63, 66.99, 30.46. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 321.0250, nalezeno 321.0249.

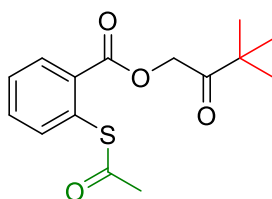


### 2-oxopropyl 2-(acetylthio)benzoát (18m)



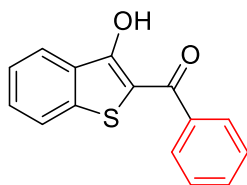
Bílá amorfni pevná látka, výtěžek 90 mg (71%). ESI-MS  $m/z$  251 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.09 – 8.06 (m, 1H), 7.60 – 7.54 (m, 2H), 7.53 – 7.47 (m, 1H), 4.85 (s, 2H), 2.43 (s, 3H), 2.23 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 201.53, 193.12, 165.48, 136.78, 133.01, 132.55, 131.42, 129.54, 129.14, 69.06, 30.46, 26.40. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 253.0529, nalezeno 253.0527.

### 3,3-dimethyl-2-oxobutyl 2-(acetylthio)benzoát (18n)



Žlutobílý olej, výtěžek 83 mg (56 %). ESI-MS  $m/z$  293 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 8.15 – 8.08 (m, 1H), 7.61 – 7.52 (m, 2H), 7.52 – 7.44 (m, 1H), 5.10 (s, 2H), 2.43 (s, 3H), 1.24 (s, 9H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 207.58, 193.26, 165.65, 136.58, 133.45, 132.32, 131.54, 129.48, 128.86, 65.24, 43.05, 30.49, 26.38. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 295.0999, nalezeno 295.1001.

### (3-hydroxybenzo[b]thiofen-2-yl)(fenyl)methanon (20a)

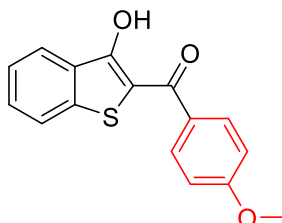


Žlutá amorfni pevná látka, výtěžek 80 mg (60 %). ESI-MS  $m/z$  253 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 13.45 (s, 1H), 8.10 – 8.01 (m, 3H), 7.74 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 1H), 7.65 – 7.59 (m, 1H), 7.58 – 7.51 (m, 3H), 7.44 (t,  $J$  = 7.5 Hz, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm) = 191.95, 165.50, 140.93, 138.37, 132.78, 130.41, 130.31,

128.86, 128.54, 124.88, 124.14, 123.11, 109.75.\* HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $C_{15}H_{10}O_2S$   $[M-H]^-$  253.0318, nalezeno 253.0323.

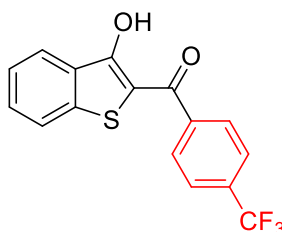
\*naměřená data se shodují s publikovanými hodnotami<sup>46</sup>

**(3-hydroxybenzo[*b*]thiopen-2-yl)(4-methoxyfenyl)methanon (20b)**



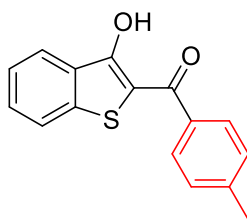
Žlutá amorfnní pevná látka, výtěžek 15 mg (27 %). ESI  $m/z$  283  $[M-H]^-$ .  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) = 13.75 – 13.59 (br.s, 1H), 8.13 – 8.08 (m, 2H), 8.07 – 8.04 (m, 1H), 7.77 – 7.72 (m, 1H), 7.57 – 7.52 (m, 1H), 7.46 – 7.40 (m, 1H), 7.05 – 7.00 (m, 2H), 3.97 – 3.83 (s, 3H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) = 190.47, 165.41, 163.48, 140.58, 130.99, 130.84, 130.51, 130.11, 124.83, 124.03, 123.05, 114.17, 109.35, 55.69. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $C_{16}H_{12}O_3S$   $[M-H]^-$  283.0423, nalezeno 283.0431.

**(3-hydroxybenzo[*b*]thiopen-2-yl)(4-(trifluormethyl)fenyl)methanon (20c)**



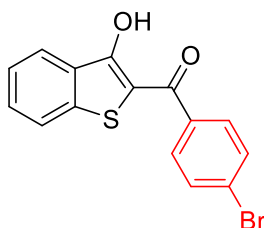
Oranžová amorfnní pevná látka, výtěžek 80 mg (32 %). ESI  $m/z$  321  $[M-H]^-$ .  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) = 13.23 (s, 1H), 8.14 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 8.09 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.81 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 2H), 7.75 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.59 (m, 1H), 7.46 (m, 1H).  $^{13}C$  NMR (126 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) = 190.59, 166.06, 141.33, 141.04, 134.07 (q,  $^2J_{C-F}$  = 32.6 Hz), 130.78, 130.24, 128.85 (app.d,  $^4J_{C-F}$  = 3.9 Hz), 125.89 (app.d,  $^5J_{C-F}$  = 3.2 Hz), 125.13 (app.d,  $^3J_{C-F}$  = 8.1 Hz), 124.36, 123.72 (q,  $^1J_{C-F}$  = 272.7 Hz), 123.21, 109.62. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $C_{16}H_9F_3O_2S$   $[M-H]^-$  321.0203, nalezeno 321.0193.

**(3-hydroxybenzo[*b*]thiopen-2-yl)(*p*-tolyl)methanon (20h)**



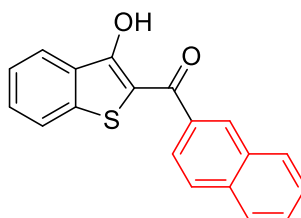
Žlutá amorfnní pevná látka, výtěžek 50 mg (38 %). ESI  $m/z$  267 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 13.56 (s, 1H), 8.10 – 8.04 (m, 1H), 8.01 – 7.95 (m, 2H), 7.78 – 7.70 (m, 1H), 7.59 – 7.51 (m, 1H), 7.46 – 7.40 (m, 1H), 7.35 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 2H), 2.46 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 191.58, 165.48, 143.66, 140.82, 135.70, 130.51, 130.19, 129.56, 128.73, 124.83, 124.09, 123.09, 109.67, 29.86. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 269.0631, nalezeno 269.0630.

**(4-bromfenyl)(3-hydroxybenzo[*b*]thiopen-2-yl)methanon (20j)**



Žlutá amorfnní pevná látka, výtěžek 90 mg (54 %). ESI  $m/z$  331 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 13.36 (s, 1H), 8.07 (d,  $J$  = 8.0 Hz, 1H), 7.95 – 7.89 (m, 2H), 7.74 (d,  $J$  = 8.3 Hz, 1H), 7.71 – 7.65 (m, 2H), 7.60 – 7.54 (m, 1H), 7.44 (t,  $J$  = 7.3 Hz, 1H). <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 190.57, 165.90, 140.84, 137.08, 132.17, 130.56, 130.35, 130.10, 127.84, 125.03, 124.24, 123.14, 109.44. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>9</sub>BrO<sub>2</sub>S [M+H]<sup>+</sup> 332.9579, nalezeno 332.9580.

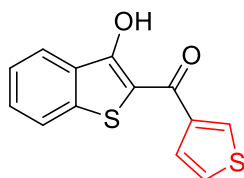
**(3-hydroxybenzo[*b*]thiopen-2-yl)(naftalen-2-yl)methanon (20k)**



Bílá amorfnní pevná látka, výtěžek 100 mg (66 %). ESI  $m/z$  303 [M-H]<sup>-</sup>. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) = 13.54 (s, 1H), 8.66 – 8.61 (m, 1H), 8.13 – 8.06 (m, 2H), 8.05 – 7.97 (m, 2H), 7.93 (d,  $J$  = 8.1 Hz, 1H), 7.79 – 7.73 (m, 1H), 7.67 – 7.54 (m, 3H), 7.49 –

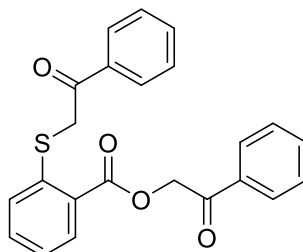
7.42 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 191.77, 165.63, 141.00, 135.70, 135.42, 132.62, 130.52, 130.34, 129.99, 129.65, 128.90, 128.63, 128.03, 127.15, 124.93, 124.53, 124.20, 123.14, 109.98. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  305.0631, nalezeno 305.0631.

**(3-hydroxybenzo[*b*]thiofen-2-yl)(thiofen-3-yl)methanon (20I)**



Žlutá amorfnní pevná látka, výtěžek 80 mg (62 %). ESI  $m/z$  259  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 13.52 (s, 1H), 8.40 – 8.35 (m, 1H), 8.08 – 8.02 (m, 1H), 7.81 – 7.73 (m, 2H), 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.47 – 7.40 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) = 184.71, 165.86, 141.13, 140.41, 132.35, 130.55, 130.33, 127.75, 126.77, 124.97, 124.05, 123.18, 109.49. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_2\text{S}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  261.0038, nalezeno 261.0735.

**2-oxo-2-fenylethyl 2-((2-oxo-2-fenylethyl)thio)benzoát (21a)**



Žlutobílá amorfnní pevná látka, výtěžek 120 mg (60 %). ESI-MS  $m/z$  389  $[\text{M}-\text{H}]^-$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm) = 8.14 – 7.97 (m, 5H), 7.73 – 7.65 (m, 2H), 7.63 – 7.45 (m, 6H), 7.34 – 7.28 (m, 1H), 5.75 (s, 2H), 4.81 – 4.72 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  (ppm) = 194.47, 192.76, 164.93, 140.81, 135.51, 134.08, 133.89, 133.70, 133.14, 131.19, 128.99, 128.80, 128.61, 127.87, 126.39, 126.11, 124.41, 99.49, 67.15. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočteno pro  $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{S}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  391.0999, nalezeno 391.0997.

## 6.4 Příprava nových derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů

### 6.4.1 Obecný postup přípravy vzorku pro analýzu reakcí

Do mikrozkušavky bylo odebráno analytické množství pryskyřice (cca 30 mg) promyté DCM. Poté byl přidán 1 ml 50% TFA v DCM. Reakční směs byla třepána 30 min až 1 hod při lab.T. Poté byl štěpící koktejl odpařen pomocí dusíku a vzorek byl naředěn 1 ml ACN. Pro analýzu pomocí UPLC-MS bylo poté odebráno do HPLC vialky 0,5 ml vzorku a bylo přidáno 0,5 ml vody. Poté byl ještě vzorek přefiltrován přes mikrofiltr.

### 6.4.2 Obecný popis pro stanovení loadingu pryskyřice

*Pomocí UPLC-MS:*

Nejprve byla provedena derivatizace (zavedení chromoforu) vzorku pryskyřice pomocí reakce s Fmoc-Osu. K cca 30 mg pryskyřice promyté DCM byl přidán roztok Fmoc-Osu (0,5 mmol ; 168 mg) v 1 ml DCM. Reakční směs byla třepána 30 min při lab.T a poté byla pryskyřice 5x promyta DCM. Následně byla pryskyřice promyta 3x MeOH, čímž došlo ke zmenšení jejího objemu. Poté byla pryskyřice ve stříkačce opatřené z obou stran fritou vysušena proudem dusíku. Následně bylo odváženo 2x 10 mg pryskyřice do dvou mikrozkušavek. Do obou mikrozkušavek byl poté přidán 1 ml 50% TFA v DCM a reakční směs byla třepána 30 min při lab.T. Poté byl štěpící koktejl odpařen proudem dusíku, vzorek byl rozpuštěn v 1 ml ACN, do HPLC vialky bylo odebráno 0,5 ml vzorku a přidáno 0,5 ml vody. V UV spektru byla poté provedena integrace píku při 300 nm a hodnota plochy byla zaznamenána. Jako referenční hodnota byla použita plocha píku standardu (Fmoc- $\beta$ -Ala-OH o koncentraci 50 mg/ml), získaná opět integrací při 300 nm.

*Pomocí NMR:*

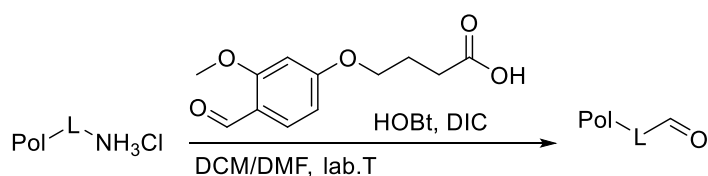
Stanovení loadingu pomocí NMR bylo aplikováno pro imobilizované látky neobsahující ve své struktuře žádný chromofor a nemající ani žádné reaktivní místo, na které by bylo možné chromofor pomocí derivatizace vzorku navázat (např. reakcí s Fmoc-Osu).

Nejprve byla pryskyřice promytá 3x MeOH vysušena proudem dusíku a následně bylo odváženo do stříkačky 100 mg vysušené pryskyřice. Ta byla poté promyta 3x DCM a poté štěpena 1 hodinu 50% TFA v DCM (1 ml). Roztok byl poté

přefiltrován do mikrozkuhavky a vysušen pod proudem dusíku. Odparek byl rozpuštěn v 700  $\mu\text{l}$   $\text{DMSO-}d_6$  a podroben  $^1\text{H}$  NMR analýze. Standard pro stanovení loadingu byl připraven následovně: 20 mg jódoctové kyseliny bylo rozpuštěno v 700  $\mu\text{l}$   $\text{DMSO-}d_6$  a roztok byl též podroben  $^1\text{H}$  NMR analýze. Následně byl v obou NMR spektrech (vzorek i standard) zintegrován signál rozpouštědla (integrace za 1) a referenční signál methylenové skupiny. Trojčlenkou bylo dopočítáno množství látky ve vzorku a poté byl vypočítán loading.

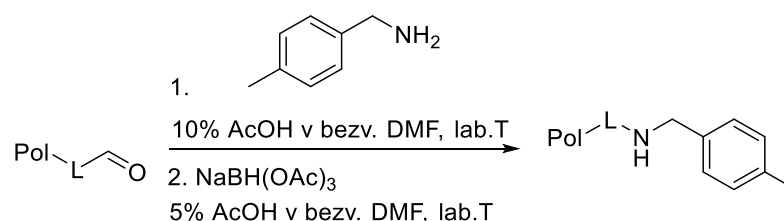
### 6.4.3 Původní navržená syntéza

#### 6.4.3.1 Ukotvení BAL linkeru



Do stříkačky opatřené polypropylenovou fritou byla navážena aminomethylová pryskyřice (1 g, výchozí loading 0,98 mmol/g). Pryskyřice byla promyta 3x DCM a neutralizována 10 minut 20% piperidinem v DMF (10 ml) při lab.T. Následně byla pryskyřice promyta 3x DMF. Poté k ní byl přidán roztok 4-(4-formyl-3-methoxyphenoxy)butanové kyseliny (3,92 mmol ; 934 mg), HOBt (3,92 mmol ; 600 mg) a DIC (3,92 mmol ; 607  $\mu\text{l}$ ) ve směsi DCM/DMF (1:1, 10 ml). Reakční směs ve stříkačce byla třepána při laboratorní teplotě 16 hodin a poté byla pryskyřice promyta 3x DMF a 3x DCM. Analýza úspěšnosti byla provedena následovně: K cca 10 mg pryskyřice v 1 ml DCM byla přidána kapka 0,03M roztoku bromfenolové modři v NMP. Pokud došlo ke vzniku modrého zbarvení, nedošlo k úplnému pokrytí všech aminoskupin pryskyřice. Pokud došlo ke vzniku žlutého či žlutozeleného zbarvení, byla reakce úspěšná a všechny aminoskupiny byly převedeny na amid.

#### 6.4.3.2 Reduktivní aminace

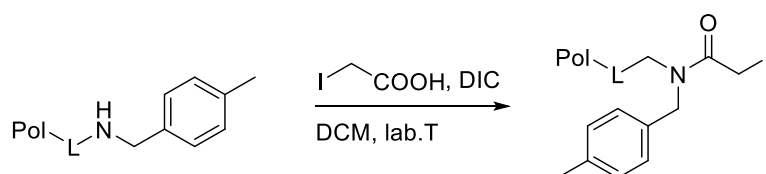


1 g pryskyřice s navázaným BAL linkerem byl promyt 3x bezv. THF a 3x bezv. DMF. Poté byl do stříkačky přidán roztok 4-methylbenzylaminu (4,9 mmol ; 624  $\mu\text{l}$ )

v 10% AcOH v bezv. DMF (10 ml). Reakční směs byla třepána při laboratorní teplotě 16 hodin. Do stříkačky byl po uplynutí této doby přidán roztok NaBH(OAc)<sub>3</sub> (0,98 mmol ; 207 mg) v 5% AcOH v bezv. DMF (2,5 ml). Pod píst stříkačky byla umístěna jehla pro odvod vznikajícího vodíku a stříkačka byla umístěna do svislé polohy. Reakční směs byla třepána 1 hodinu při laboratorní teplotě. Poté byl do reakční směsi přidán další NaBH(OAc)<sub>3</sub> (0,98 mmol ; 207 mg) a reakční směs byla opět třepána 1 hodinu při laboratorní teplotě. Poté byla přidána poslední dávka NaBH(OAc)<sub>3</sub> (0,98 mmol ; 207 mg) a reakce byla třepána 2 hodiny při laboratorní teplotě. Poté byla pryskyřice promyta 3x DMF a neutralizována 20% piperidinem v DMF (10 ml) po dobu 20 minut. Pryskyřice byla následně promyta 3x DMF a 3x DCM.

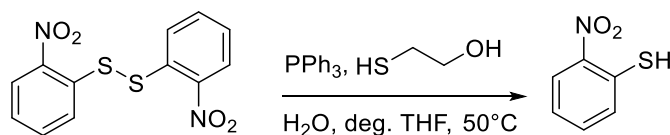
Poté byla provedena kvantifikace podle výše popsaného postupu (kapitola 6.4.2), hodnota loadingu se pohybovala kolem 0,6 mmol/g.

#### 6.4.3.3 Acylace jódoctovou kyselinou



200 mg pryskyřice bylo promyto 3x DCM. Jódoctová kyselina (0,9 mmol ; 168 mg) byla rozpuštěna v DCM (2 ml), do směsi byl poté přidán DIC (0,36 mmol ; 156  $\mu$ l) a reakční směs byla míchána 30 min za laboratorní teploty, došlo k vysrážení diisopropylmočoviny. Roztok nad sraženinou byl přidán k pryskyřici a reakční směs byla třepána 16 hodin při laboratorní teplotě. Poté byla pryskyřice promyta 3x DMF a 3x DCM. Poté byla provedena analýza pomocí UPLC-MS.

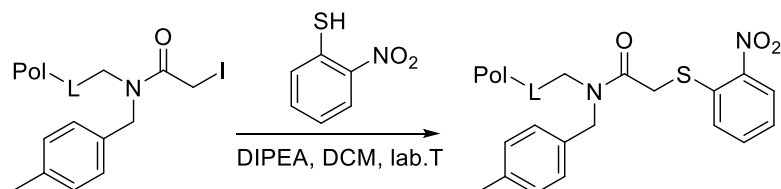
#### 6.4.3.4 Redukce bis (2-nitrofenyl) disulfidu



Bis(2-nitrofenyl) disulfid (1,62 mmol ; 500 mg) byl rozpuštěn v 15 ml deg. THF. Poté byl přidán PPh<sub>3</sub> (2,5 mmol ; 653 mg), 2-merkapt ethanol (1,16 mmol ; 115  $\mu$ l) a voda (166 mmol ; 300  $\mu$ l). Reakční směs byla zahřívána 20 hodin při 50°C.<sup>44</sup> Konec reakce byl indikován pomocí UPLC-MS i TLC (MF EtOAc:hex 3:1). Poté byla reakční směs zpracována: THF byl odpařen pomocí vakuové odparky, k olejovitému žlutému odparku byla přidána solanka a poté byla provedena extrakce (3x 90 ml DCM). Spojené

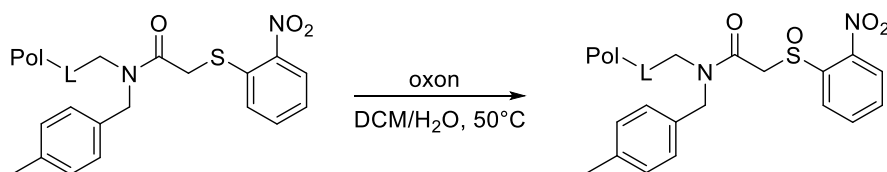
organické extrakty byly vysušeny pomocí  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a po filtraci bylo rozpouštědlo odpařeno. Žlutý odparek byl poté čištěn pomocí sloupcové chromatografie ( $\text{SiO}_2$ , MF EtOAc:hex 3:1).

#### 6.4.3.5 Substituce s *o*-nitrobenzenthiolem



200 mg pryskyřice bylo promyto 3x DCM. Do roztoku *o*-nitrothiofenolu (0,6 mmol) v DCM (2 ml) byl přidán DIPEA (0,2 mmol ; 35  $\mu\text{l}$ ) a výsledný červený roztok byl přidán k pryskyřici. Reakční směs byla třepána 16 hodin při laboratorní teplotě. Poté byla pryskyřice 5x promyta DCM. Následně byla provedena analýza pomocí UPLC-MS.

#### 6.4.3.6 Oxidace oxonem



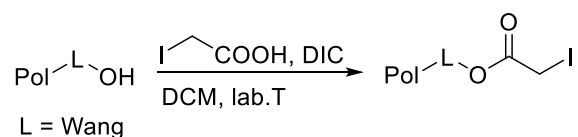
200 mg pryskyřice bylo promyto 3x DCM a poté byla přenesena do tlakové ampule. Následně byl připraven dvoufázový roztok oxonu v  $\text{H}_2\text{O}$  a DCM (1:1) a roztok byl přidán k pryskyřici. Reakční směs byla rychle míchána při 50°C 16 hodin, poté byla pryskyřice přenesena do stříkačky opatřené fritou a promyta 3x vodou a poté 8x DCM. Následně byla provedena analýza pomocí UPLC-MS.

#### 6.4.4 Alternativní syntetická cesta

Kvůli nízké reaktivitě pryskyřice na amidovém linkeru vůči oxidaci byla zvolena syntetická cesta vycházející z Wangovy pryskyřice<sup>47</sup>. Část syntetické cesty byla vyvinuta v naší výzkumné skupině.<sup>10,11</sup>

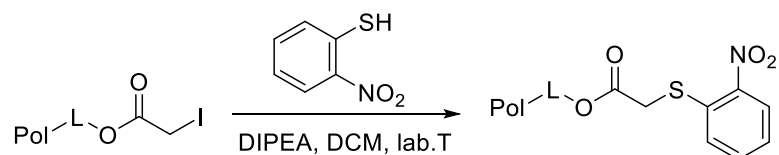


#### 6.4.4.1 Alkylace jódctovou kyselinou



1g Wangovy pryskyřice byl nejprve promyt 3x DCM. Poté byl připraven roztok jódctové kyseliny (4,5 mmol ; 837 mg) a DIC (1,8 mmol ; 279  $\mu$ l) v DCM (10 ml), který byl poté míchán 30 min při lab.T, čímž došlo k vysrážení diisoprylmočoviny. Poté byl roztok přidán k promyté pryskyřici a reakční směs byla třepána přes noc za lab.T. Následně byla pryskyřice promyta 3x DMF a 5x DCM. Nakonec byl pomocí  $^1\text{H}$  NMR stanoven loading dle výše popsaného postupu (kapitola 6.4.2), hodnota se pohybuje mezi 0,4-0,5 mmol/g.

#### 6.4.4.2 Substituce s *o*-nitrobenzenthiolem



900 mg pryskyřice bylo nejprve promyto 3x DCM. Poté byl k pryskyřici přidán roztok 2-nitrobenzenthiole (2,9 mmol ; 450 mg) a DIPEA (0,9 mmol ; 161  $\mu$ l) v DCM (9 ml). Reakční směs byla třepána při lab.T přes noc. Následně byla pryskyřice promyta 8x DCM.

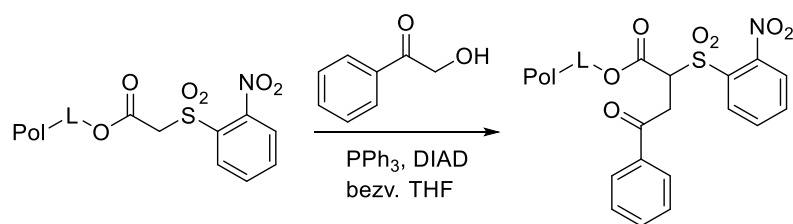
Pozn. 2-nitrobenzenthiole byl připraven podle postupu popsaného výše (6.4.3.4).

#### 6.4.4.3 Oxidace pomocí *m*CPBA



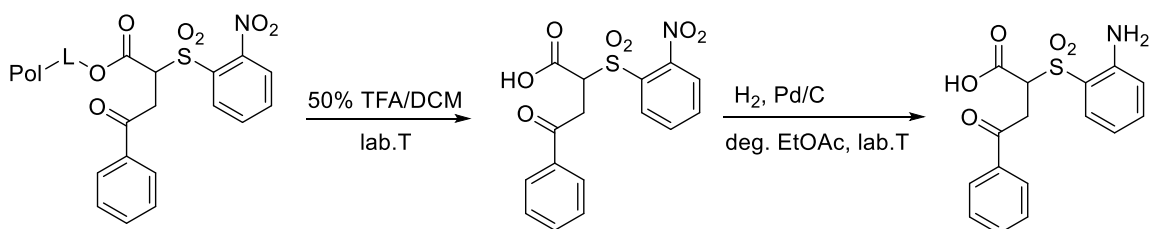
900 mg pryskyřice bylo promyto 3x DCM. Poté byl k pryskyřici přidán roztok *m*CPBA (6,8 mmol ; 1,17 g) v DCM (15 ml). Reakční směs byla třepána za lab.T přes noc po dobu maximálně 16 h (jinak dochází ke štěpení látky z pryskyřice a k degradaci). Poté byla pryskyřice promyta 6x DCM.

#### 6.4.4.4 Fenacylace pomocí Mitsunobu procedury



250 mg pryskyřice bylo promyto 3x DCM, poté 3x bezv. DMF a 5x bezv. THF. K pryskyřici byl poté přidán roztok 2-hydroxyacetofenonu (2,26 mmol ; 310 mg) a PPh<sub>3</sub> (2,26 mmol ; 590 mg) v bezv. THF (3 ml). Do druhé stříkačky byl přidán roztok DIAD (2,26 mmol ; 444 μl) v bezv. THF (3 ml). Obě stříkačky byly propojeny spojkou a umístěny na 30 min do mrazáku. Poté byly obsahy stříkaček za lab.T spojeny a reakční směs byla třepána 16 h. Pryskyřice byla poté přenesena do nové stříkačky opatřené fritou a promyta 5x THF a 3x DCM.

#### 6.4.4.5 Redukce po odštěpení z polymerního nosiče



100 mg pryskyřice bylo po promytí DCM (3x) štěpeno po 1 hodinu 50% TFA/DCM (2 ml). Následně byl štěpicí koktejl odpařen pomocí proudu N<sub>2</sub> a žlutý olejovitý odparek byl lyofilizován přes noc. Poté byl odparek rozpuštěn v deg. EtOAc (1 ml), bylo přidáno katalytické množství Pd/C (cca 10 mg) v deg. EtOAc (0,5 ml). Reakční směs byla poté probublávána 15 minut H<sub>2</sub> a následně byla reakční směs ponechána míchat za lab.T 6 hodin ve vodíkové atmosféře. Po ukončení reakce byla reakční směs zfiltrována a po promytí EtOAc byl nažloutlý roztok odpařen dosucha.

## 7 Závěr

Tato diplomová práce se zabývá syntézou nových derivátů 2-hydroxy-3-fenyl-4*H*-benzo[*b*][1,4]thiazin 1,1-dioxidů, 3-hydroxy-2-fenyl-4*H*-thiochromen-4-onů a 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů.

V případě syntézy 2-hydroxy-3-fenyl-4*H*-benzo[*b*][1,4]thiazinu se podařilo vyvinout syntetickou metodu vedoucí k intermediátu pro závěrečnou cyklizaci na žádaný produkt. Cyklizaci na produkt se bohužel nepodařilo provést, bylo otestováno použití různých činidel, žádný pokus ale nevedl k tvorbě produktu. Nicméně byly v rámci tohoto projektu připraveny 2 doposud nepopsané látky, a to 2-oxo-2-fenylethyl 2-aminobenzensulfonát a 2-oxo-2-fenylethyl 2-nitrobenzensulfonát.

Při syntéze 3-hydroxy-2-fenyl-4*H*-thiochromen-4-onů bylo zjištěno, že struktura získaného produktu neodpovídá žádanému thioflavonolu. Správná struktura produktu byla určena jako (3-hydroxybenzo[*b*]thiofen-2-yl)(fenyl)methanon. Pro přiřazení správné struktury byly použity NMR experimenty, jako klíčové se ukázalo být <sup>13</sup>C-HMBC spektrum, ve kterém nebyly nalezeny interakce očekávané pro thioflavonol. Následně byla otestována použitelnost a rozsah navržené syntetické cesty, podařilo se připravit 14 intermediátů pro cyklizaci, z nichž 7 bylo úspěšně konvertováno na benzo[*b*]thiofen. Byly též navrženy a prokázány mechanismy jednotlivých transformací na produkt. Výsledky projektu byly publikovány v impaktovaném časopise.<sup>43</sup> Připravené látky byly poté otestovány na cytotoxickou a antimikrobiální aktivitu. 2 benzothiofeny vykazovaly cytotoxickou aktivitu (hodnota IC<sub>50</sub>) ± 4,5 μM na buněčné linii CCRF-CEM, terapeutický index příslušných látek je navíc >10, nejsou tedy toxické vůči zdravým buňkám. Výsledky testování antimikrobiální aktivity nebyly zatím dodány a jsou aktuálně v řešení. Podrobnější informace budou dodány při obhajobě diplomové práce.

Posledním řešeným v rámci diplomové práce projektem byla příprava derivátů 1,5-benzothiazepin 1,1-dioxidů. V tomto případě byla pro přípravu cílových derivátů využita syntéza na pevné fázi. Při řešení projektu selhala původní navržená syntetická cesta, nepodařilo se zoxidovat imobilizovaný sulfid na příslušný sulfon. Došlo pouze k oxidaci na sulfoxid, jehož reaktivita vůči následné fenacylaci byla příliš nízká. Proto byla otestována alternativní syntetická cesta. V tomto případě syntéza selhává v posledním kroku, tj. finální cyklizace na produkt. Projekt ještě nebyl definitivně

uzavřen, z časových důvodů se nepodařilo provést všechny experimenty a bude jim věnována pozornost v nejbližší budoucnosti.

## 8 Seznam použité literatury

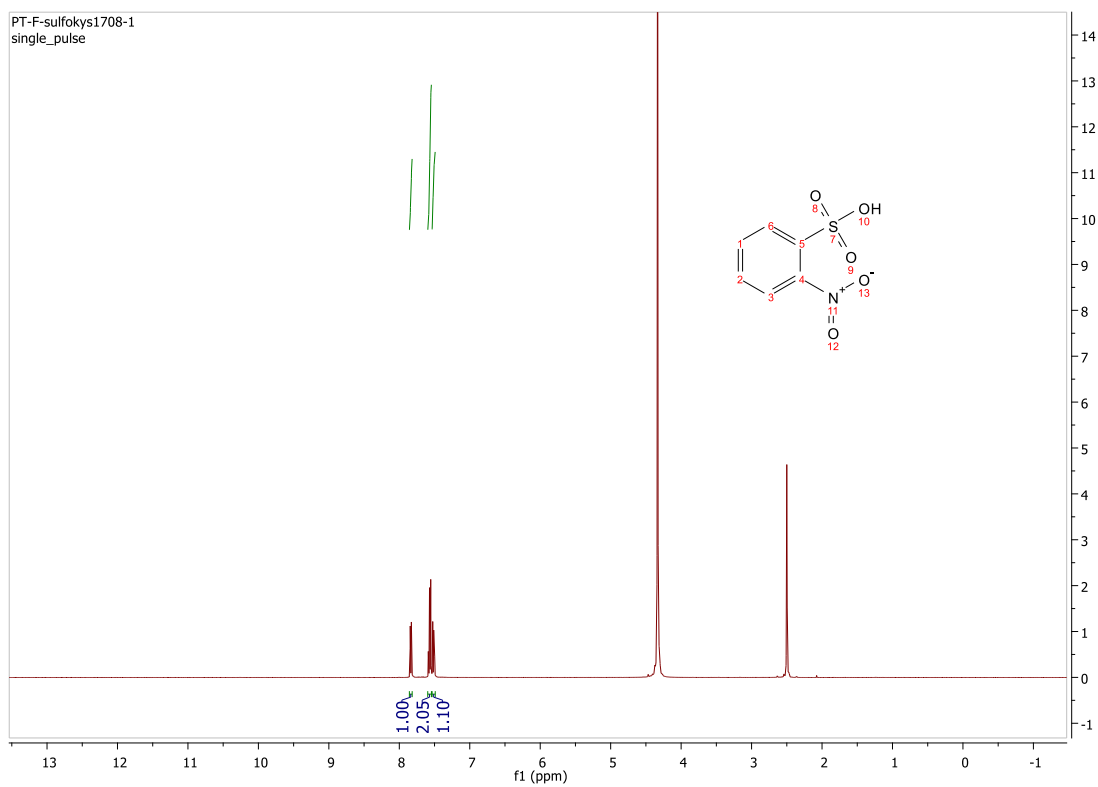
- (1) Soural, M.; Hradil, P.; Krupkova, S.; Hlavac, J. *Mini-Reviews in Organic Chemistry* **2012**, *9*, 426.
- (2) Sui, Z.; Nguyen, V. N.; Altom, J.; Fernandez, J.; Hilliard, J. J.; Bernstein, J. I.; Barrett, J. F.; Ohemeng, K. A. *Eur. J. Med. Chem.* **1999**, *34*, 381.
- (3) Soural, M.; Hlavac, J.; Hradil, P.; Frysova, I.; Hajduch, M.; Bertolasi, V.; Malon, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 467.
- (4) Loya, S.; Rudi, A.; Tal, R.; Kashman, Y.; Loya, Y.; Hizi, A. *Arch. Biochem. Biophys.* **1994**, *309*, 315.
- (5) Hradil, P.; Hlavac, J.; Soural, M.; Hajduch, M.; Kolar, M.; Vecerova, R. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2009**, *9*, 1.
- (6) Soural, M.; Hlavac, J.; Hradil, P.; Hajduch, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 3867.
- (7) Hradil, P.; Grepl, M.; Hlavac, J.; Soural, M.; Malon, M.; Bertolasi, V. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 819.
- (8) Fulopova, V.; Krchnakova, A.; Schutznerova, E.; Zajicek, J.; Krchnak, V. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 1795.
- (9) Hradil, P.; Jirman, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1995**, *60*, 1357.
- (10) Drabiková, M. diplomová práce, Univerzita Palackého v Olomouci, 2017.
- (11) Drabikova, M.; Krajcovicova, S.; Soural, M. *Tetrahedron* **2017**, *73*, 6296.
- (12) Trapani, P. bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, 2016.
- (13) Sicker, D. *J. Prakt. Chem.* **1990**, *332*, 336.
- (14) Culbertson, T. P. *J. Heterocyclic Chem.* **1991**, *28*, 1701.
- (15) Lautens, M.; Tsui, G.; Singjunla, Y. *Synthesis* **2012**, *44*, 1359.

- (16) Agarwal, S.; Kumari, N.; Agarwal, D. K.; Gautam, N.; Ajmera, N.; Gupta, S.; Gautam, D. C. *International Journal of Drug Design and Discovery* **2013**, *4*, 1182.
- (17) Gupta, R. R.; Kumar, R.; Kalwania, G. S.; Gautam, R. K. *Ann. Soc. Sci. Bruxelles, Ser. I* **1986**, *98*, 195.
- (18) Gautam, N.; Dixit, Y.; Dixit, R.; Gupta, S. K.; Gautam, D. C. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2013**, *188*, 1127.
- (19) Eistert, B.; Selzer, H. *Chem. Ber.* **1963**, 1234.
- (20) Bossert, F. *Justus Liebigs Annalen der Chemie* **1965**, *680*, 40.
- (21) Majumdar, K. C.; Roy, B. *Synth. Commun.* **2003**, *33*, 133.
- (22) Nakazumi, H.; Ueyama, T.; Kitao, T. *J. Heterocyclic Chem.* **1984**, *21*, 193.
- (23) Nakazumi, H.; Ueyama, T.; Kitao, T. *J. Heterocyclic Chem.* **1985**, *22*, 1593.
- (24) Varedian, M.; Langer, V.; Bergquist, J.; Gogoll, A. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6033.
- (25) Kang, W.; Du, X.; Wang, L.; Hu, L.; Dong, Y.; Bian, Y.; Li, Y. *Chin. J. Chem.* **2013**, *31*, 1305.
- (26) Gupta, A.; Devi, P.; Chaudhary, P.; Kishore, D. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2012**, *187*, 808.
- (27) Patonay, T.; Adam, W.; Jeko, J.; Kover, K. E.; Levai, A.; Nemeth, M.; Peters, K. *Heterocycles* **1999**, *51*, 85.
- (28) Levai, A. *Arch. Pharm. (Weinheim, Ger.)* **1992**, *325*, 721.
- (29) Jadhav, K. P.; Ingle, D. B. *Indian J. Chem., Sect. B* **1983**, *22B*, 180.
- (30) Demeny, L. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas Belg.* **1931**, *50*, 60.
- (31) Karimi, B.; Seradj, H.; Ebrahimian, G. *Synlett* **1999**, *9*, 1456.
- (32) Liu, H.; Dong, C.; Zhang, Z.; Wu, P.; Jiang, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 12570.

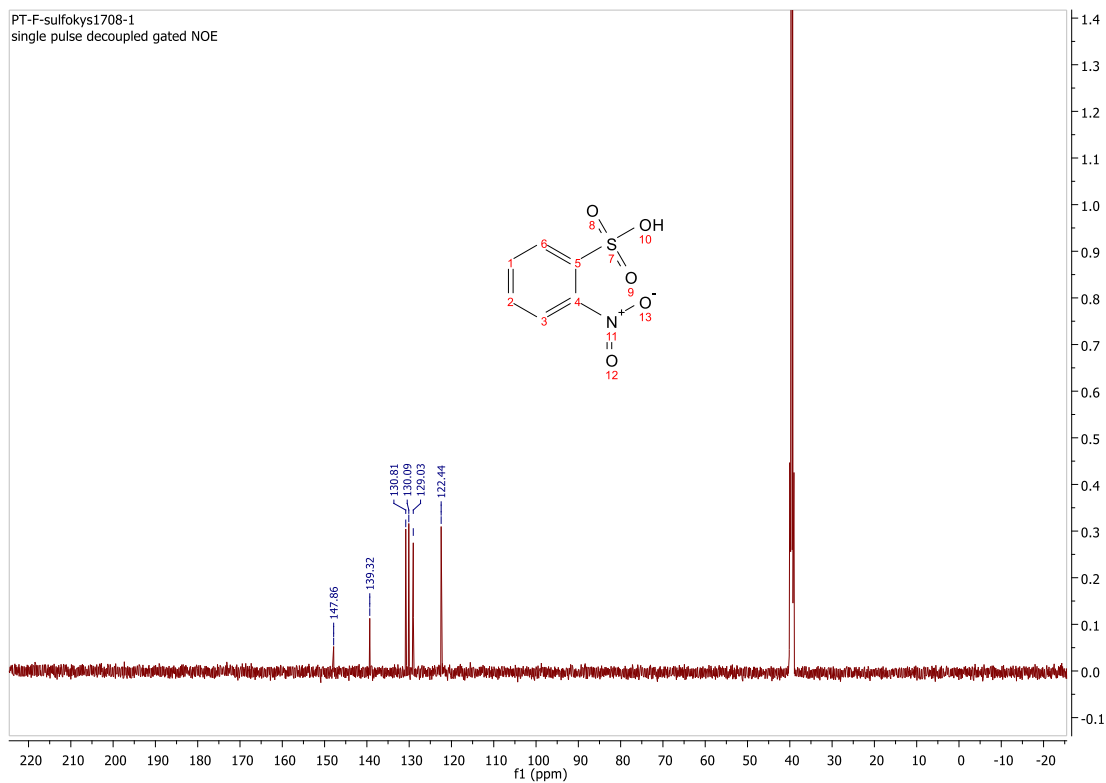
- (33) Meskens, A. J. *Synthesis* **1981**, 7, 501.
- (34) Koser, G. F.; Wettach, R. H. *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 1476.
- (35) Lee, J. C.; Choi, J. H.; Lee, L. C. *Synlett* **2001**, 10, 1563.
- (36) Lee, J. C.; Kim, S.; Ku, H. C.; Choi, J. H.; Lee, Y. C. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2002**, 23, 1503.
- (37) Zhang, B.; Han, L.; Hu, J.; Yan, J. *Tetrahedron Lett.* **2014**, 55, 5851.
- (38) Zhang, B.; Han, L.; Hu, J.; Yan, J. *Synth. Commun.* **2014**, 44, 3264.
- (39) Hradil, P.; Vanecek, J.; Hlavac, J.; Sevcik, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1999**, 64, 257.
- (40) Pandey, A.; WO2002016361A2: **2002**, p 35.
- (41) Chicha, H.; Abbassi, N.; Rakib, E. M.; Khouili, M.; El Ammari, L.; Spinelli, D. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 1569.
- (42) Bellamy, F. D. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 839.
- (43) Trapani, P.; Kvapil, L.; Hradil, P.; Soral, M. *Synlett* **2018**, 29, 810.
- (44) Lu, X.; Long, T. E. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 249.
- (45) Kvapil, L. unpublished results.
- (46) Pan, B.; Ren, P.; Song, H.; Wang, Z. *Synth. Commun.* **2013**, 43, 1337.
- (47) Lemrova, B.; Fulopova, V. *Praktické aspekty syntézy na pevné fázi*; Univerzita Palackého v Olomouci, 2015.
- (48) Zweifel, T.; Nielsen, M.; Overgaard, J.; Jacobsen, C. B.; Jørgensen, K. A. *Eur. J. Org. Chem.* **2011**, 2011, 47.
- (49) Evans, D. A.; Ripin, D. H. Harvard, Accessed on May 8, 2014.

## 9 Přílohy

### Spektrum 1: $^1\text{H}$ spektrum látky 7

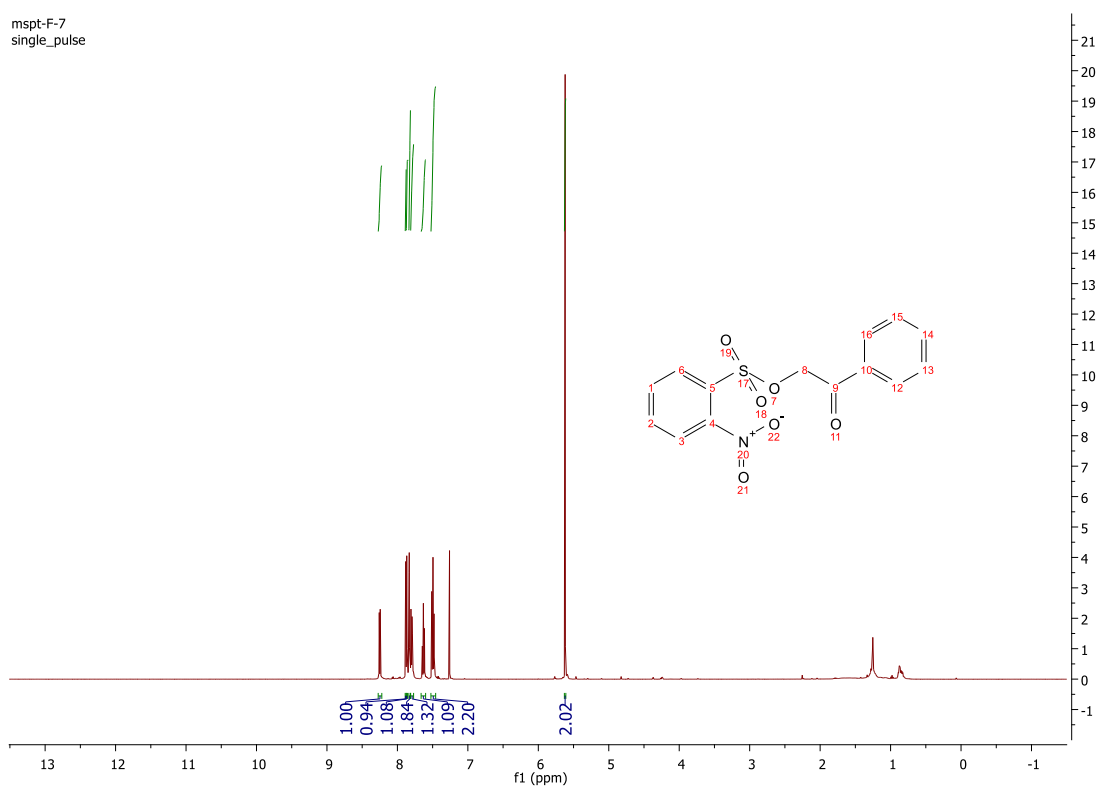


### Spektrum 2: $^{13}\text{C}$ spektrum látky 7



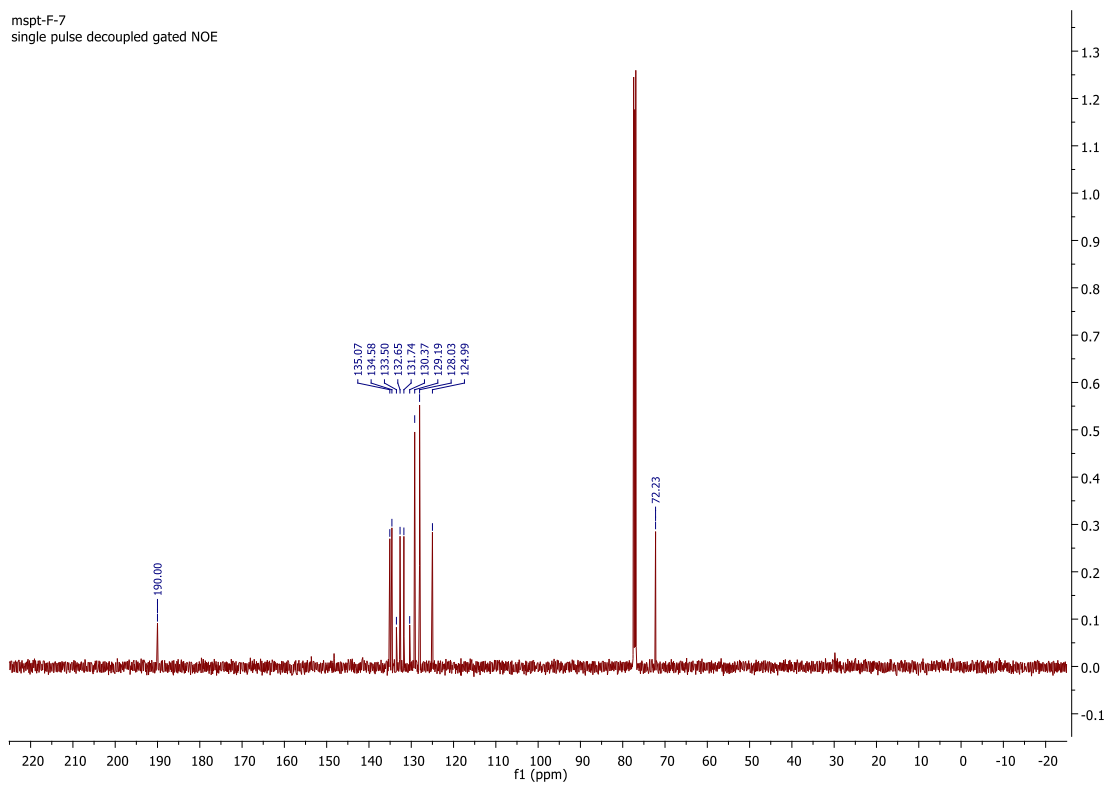
### Spektrum 3: $^1\text{H}$ spektrum látky **8**

mspt-F-7  
single\_pulse



### Spektrum 4: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **8**

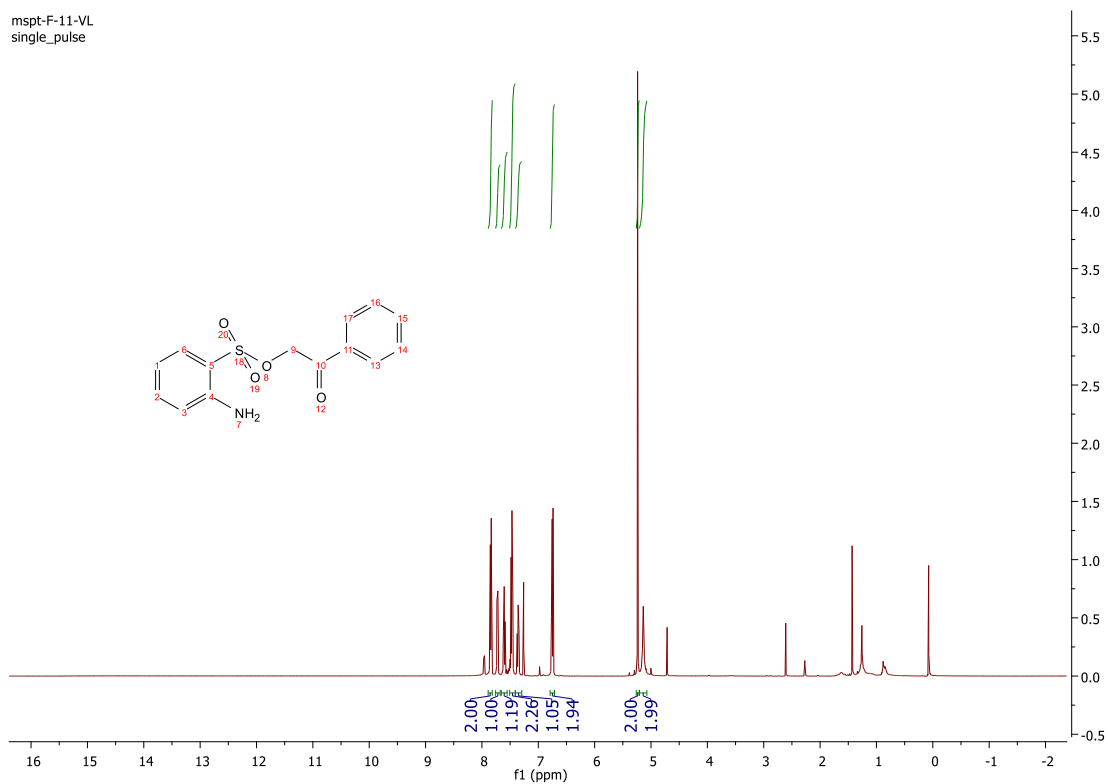
mspt-F-7  
single\_pulse decoupled gated NOE





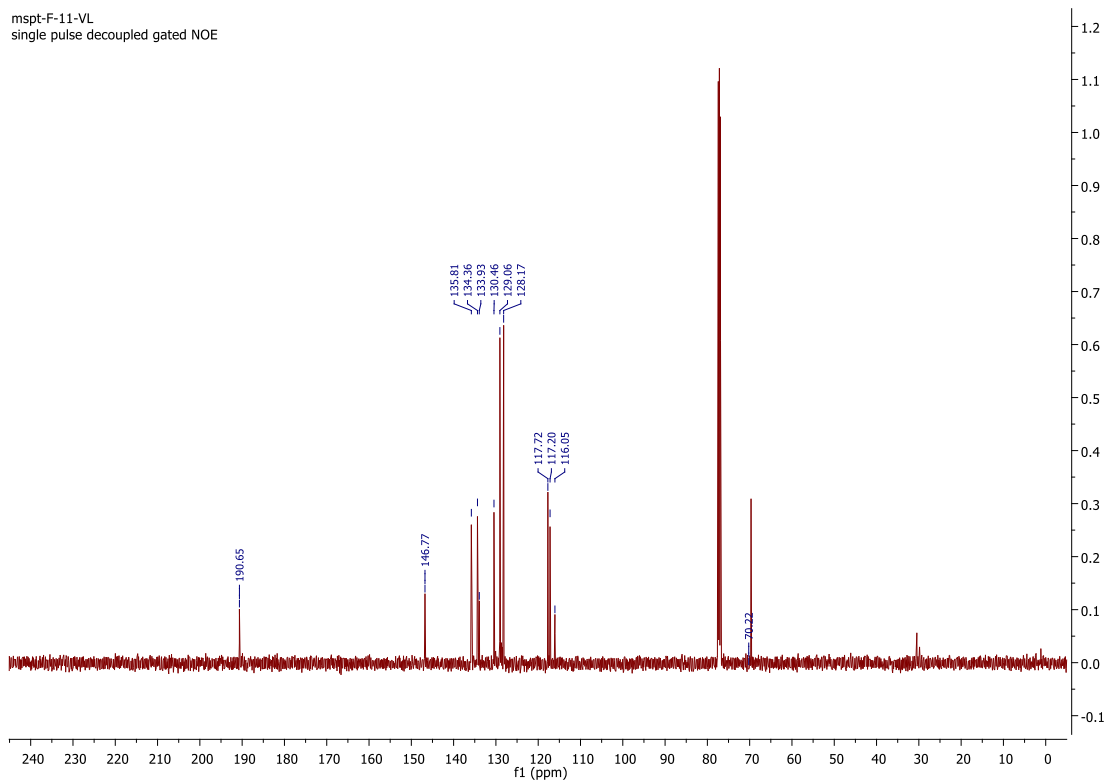
## Spektrum 5: $^1\text{H}$ spektrum látky 2

mspt-F-11-VL  
single\_pulse

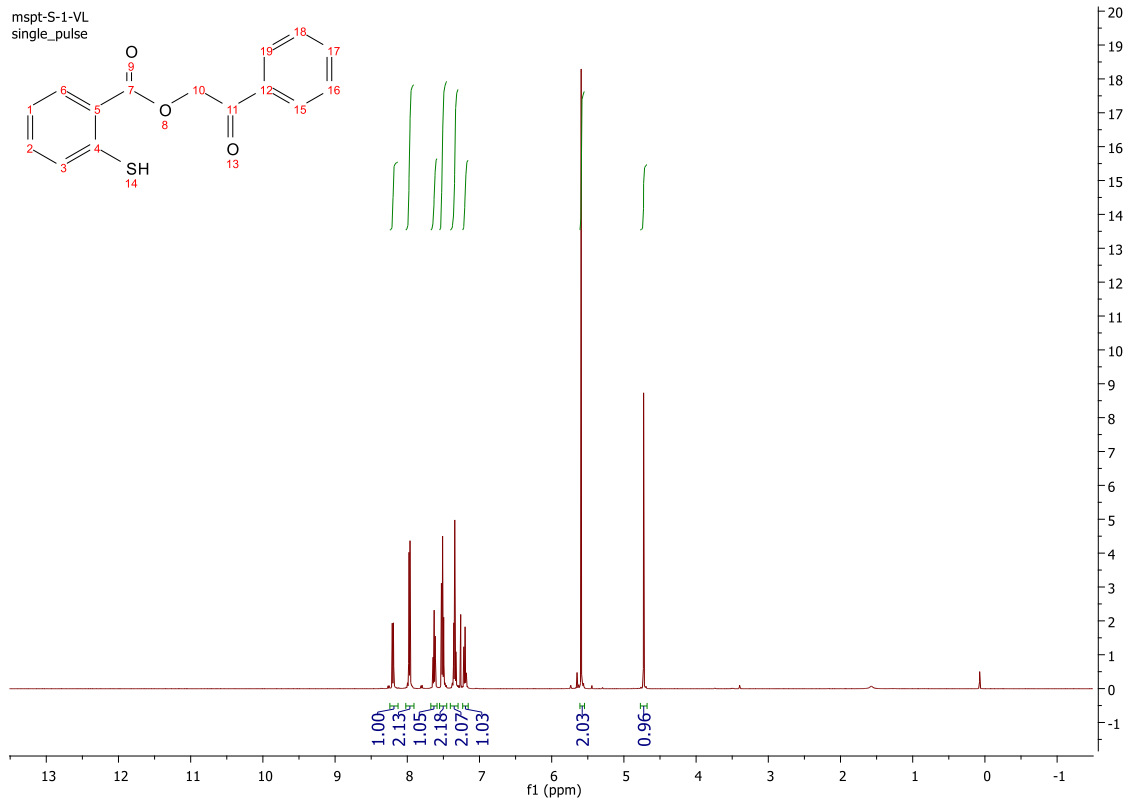


## Spektrum 6: $^{13}\text{C}$ spektrum látky 2

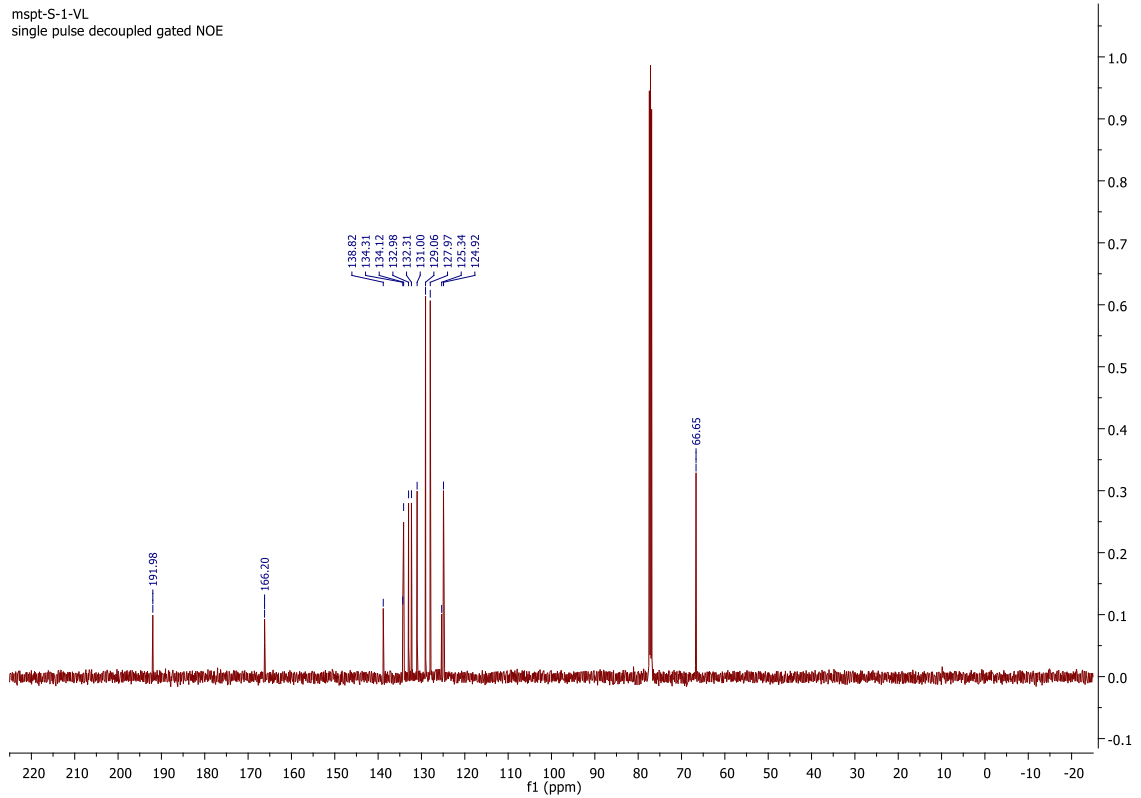
mspt-F-11-VL  
single\_pulse decoupled gated NOE



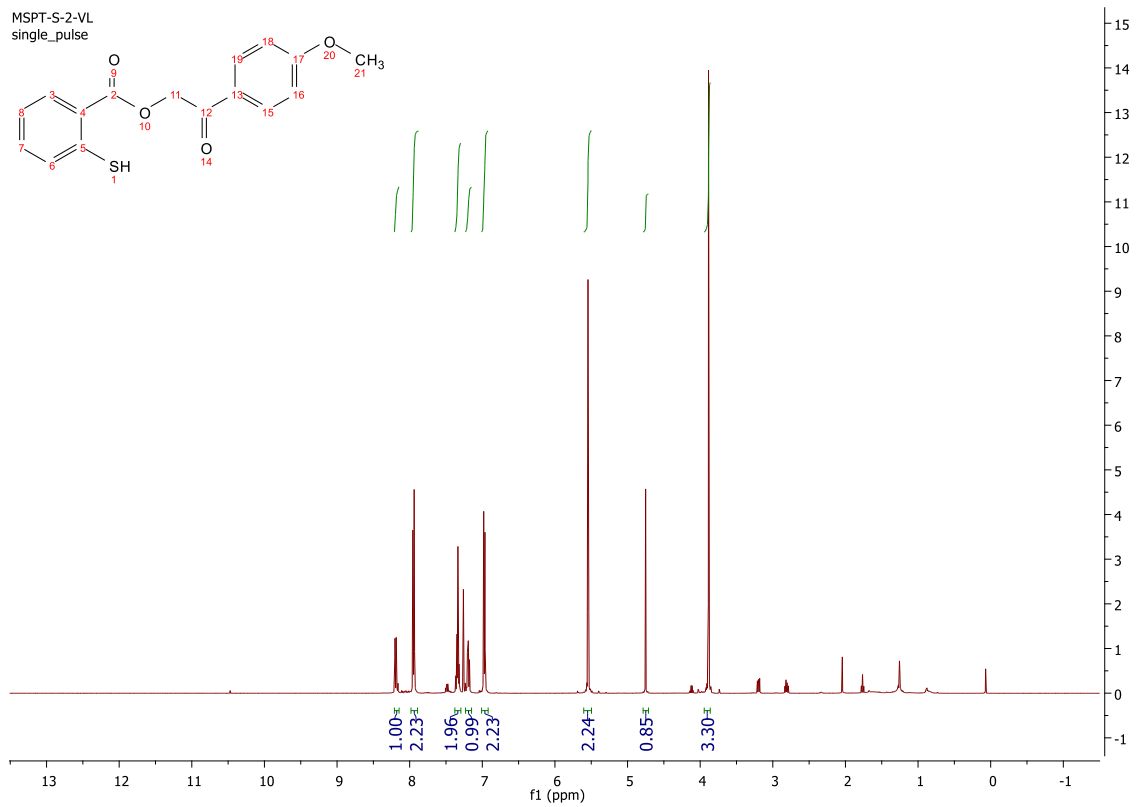
## Spektrum 7: $^1\text{H}$ spektrum látky **14a**



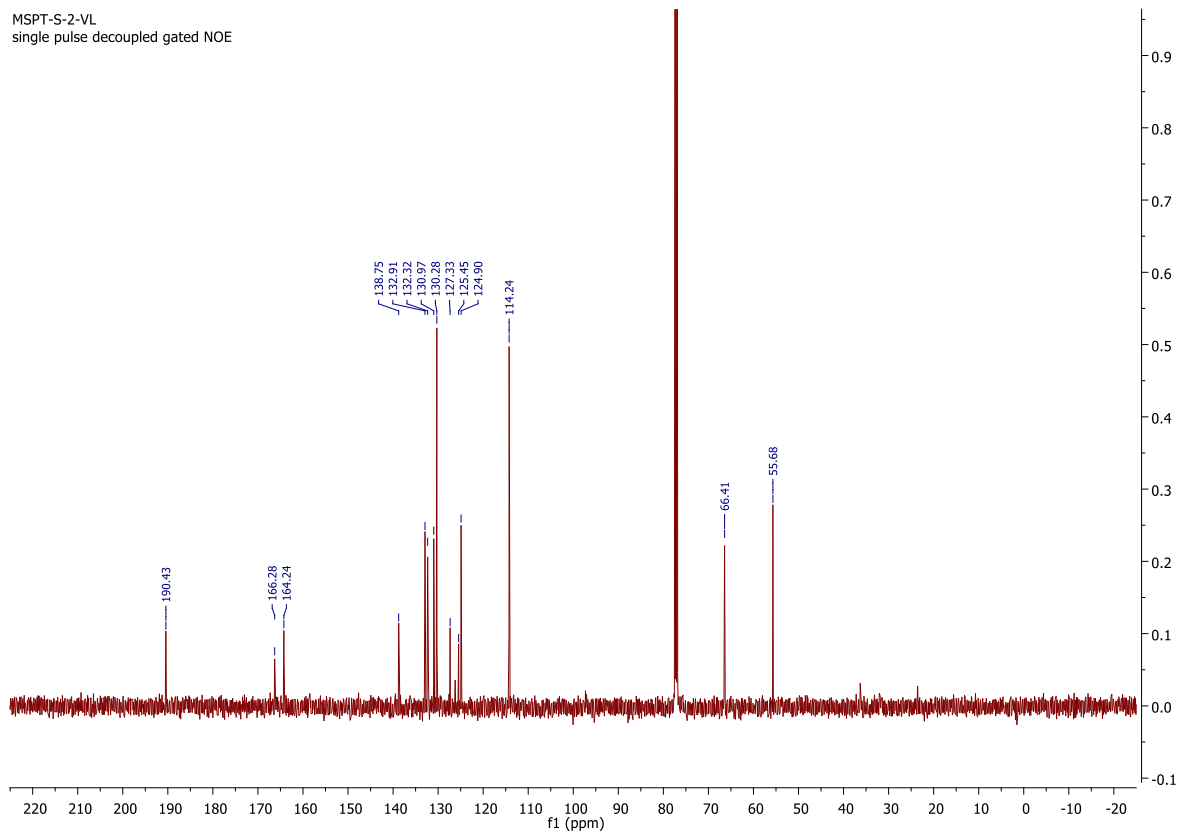
## Spektrum 8: $^{13}\text{C}$ látky spektrum **14a**



## Spektrum 9: $^1\text{H}$ spektrum látky **14b**

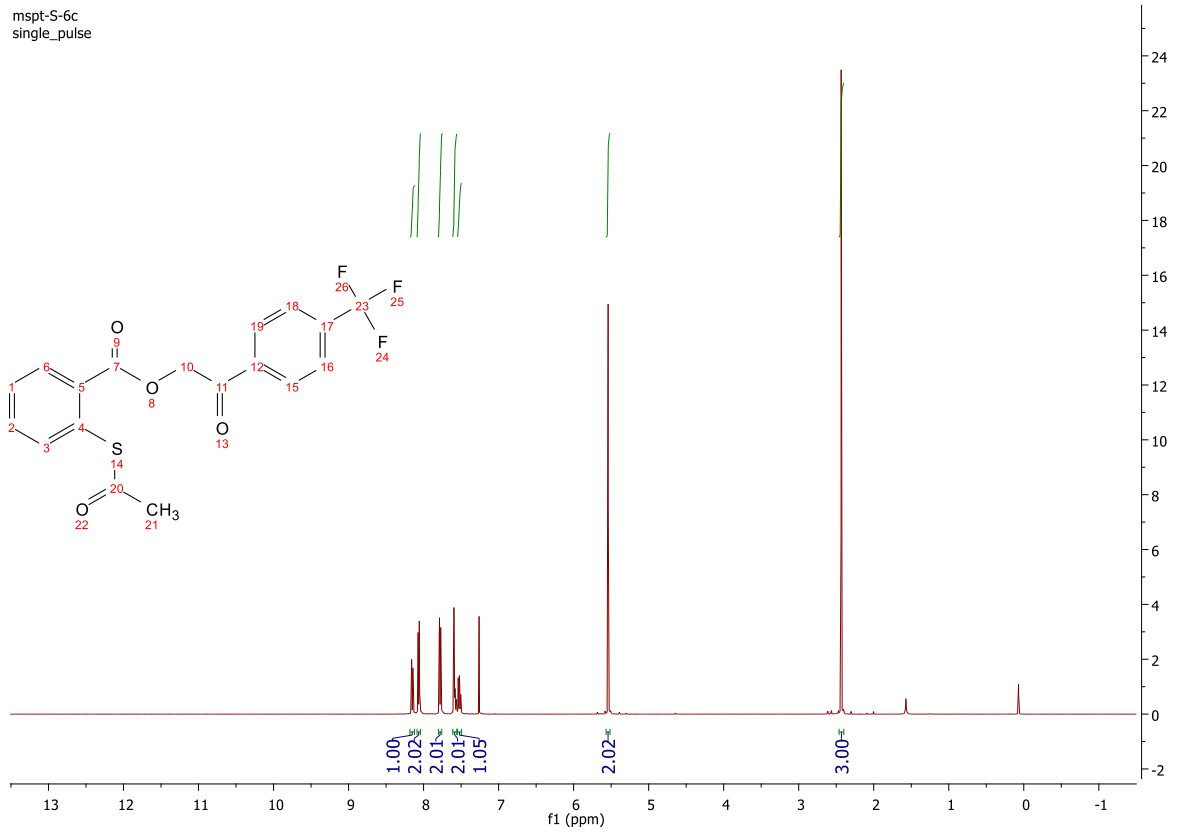


## Spektrum 10: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **14b**



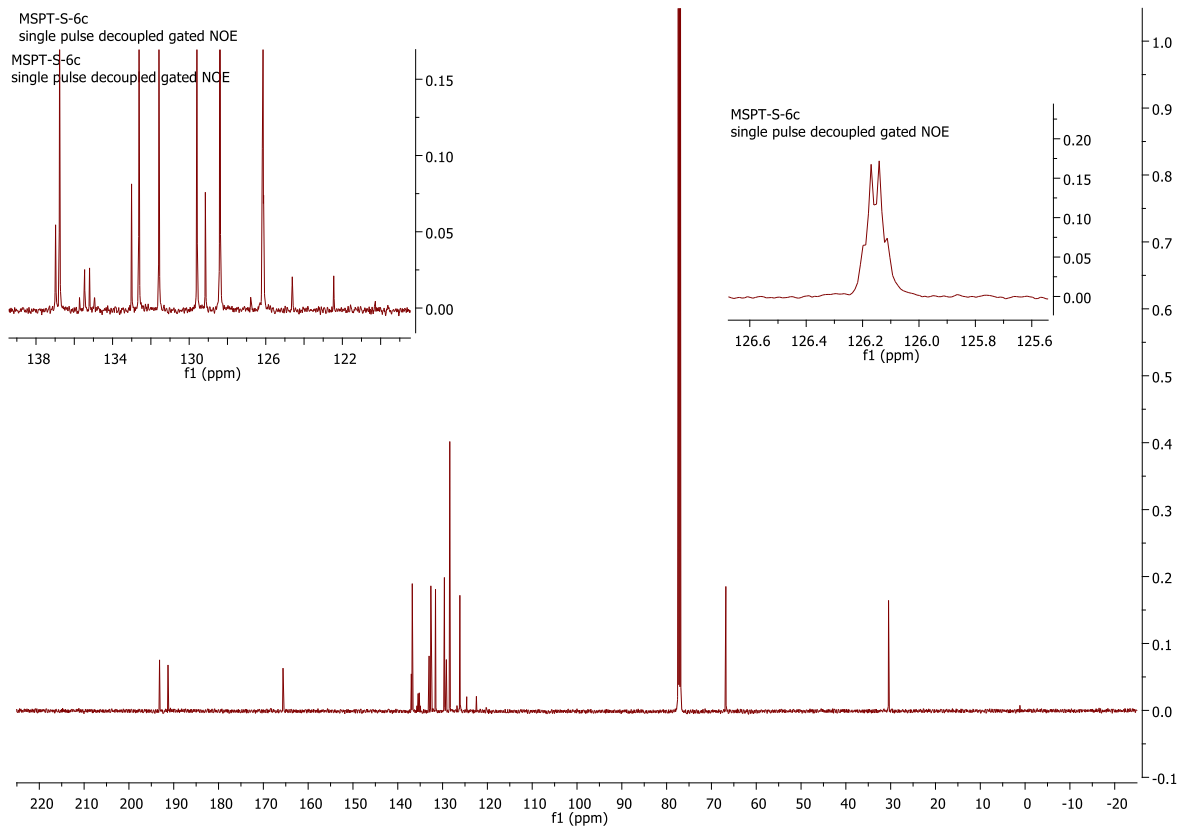
## Spektrum 11: $^1\text{H}$ spektrum látky **18c**

mspt-S-6c  
single\_pulse



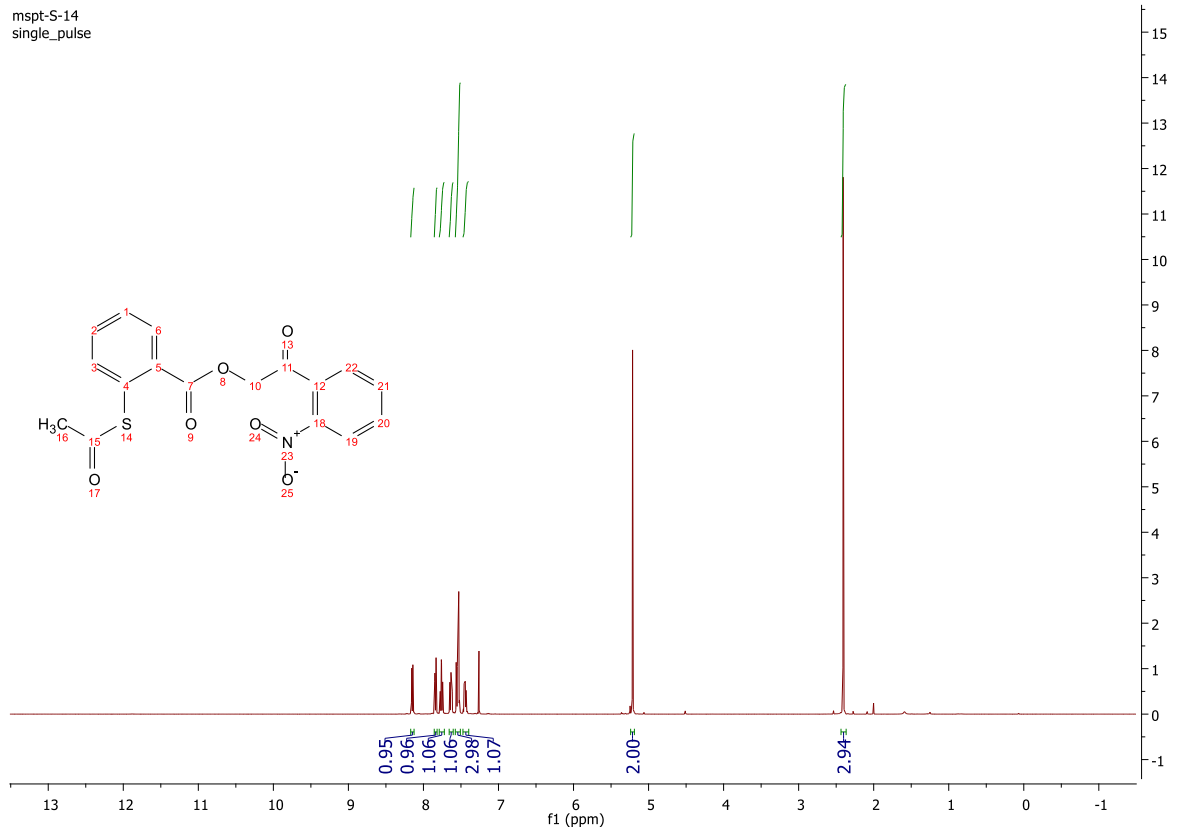
## Spektrum 12: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18c**

MSPT-S-6c  
single pulse decoupled gated NOE  
MSPT-S-6c  
single pulse decoupled gated NCE



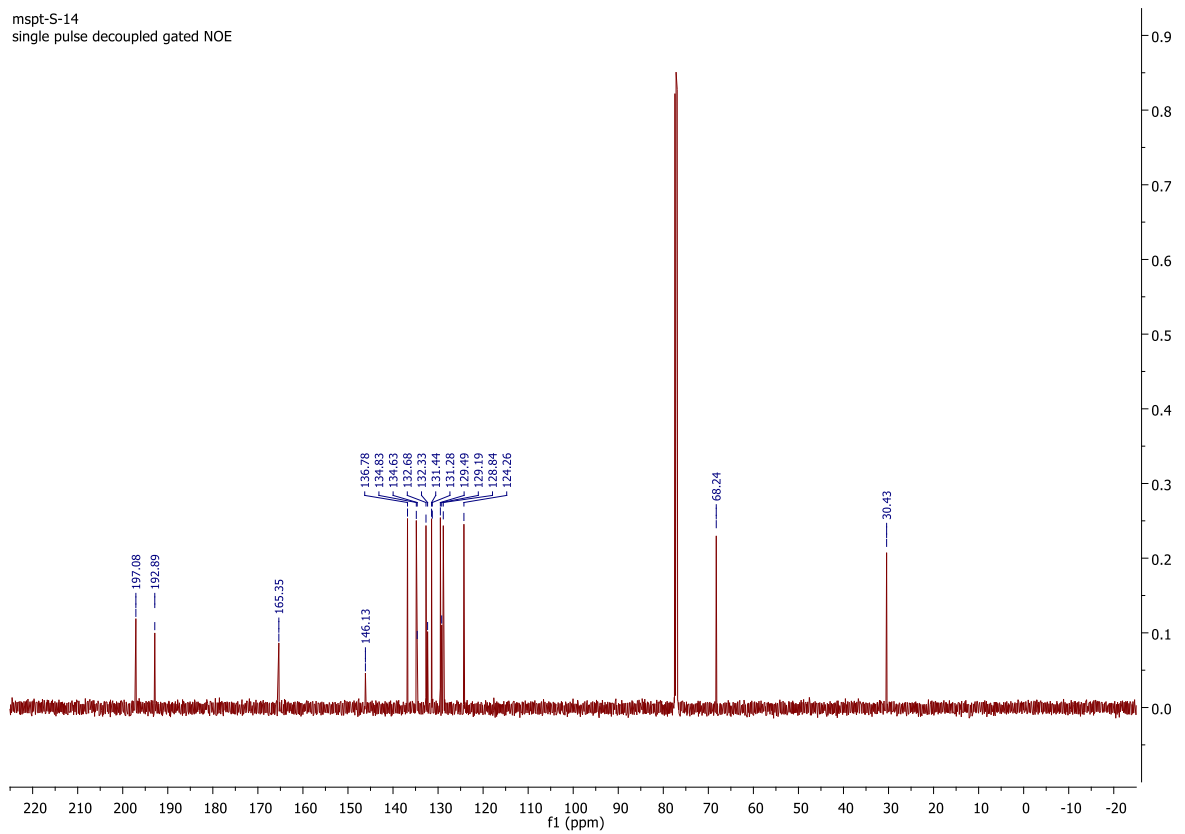
### Spektrum 13: $^1\text{H}$ spektrum látky **18d**

mspt-S-14  
single\_pulse



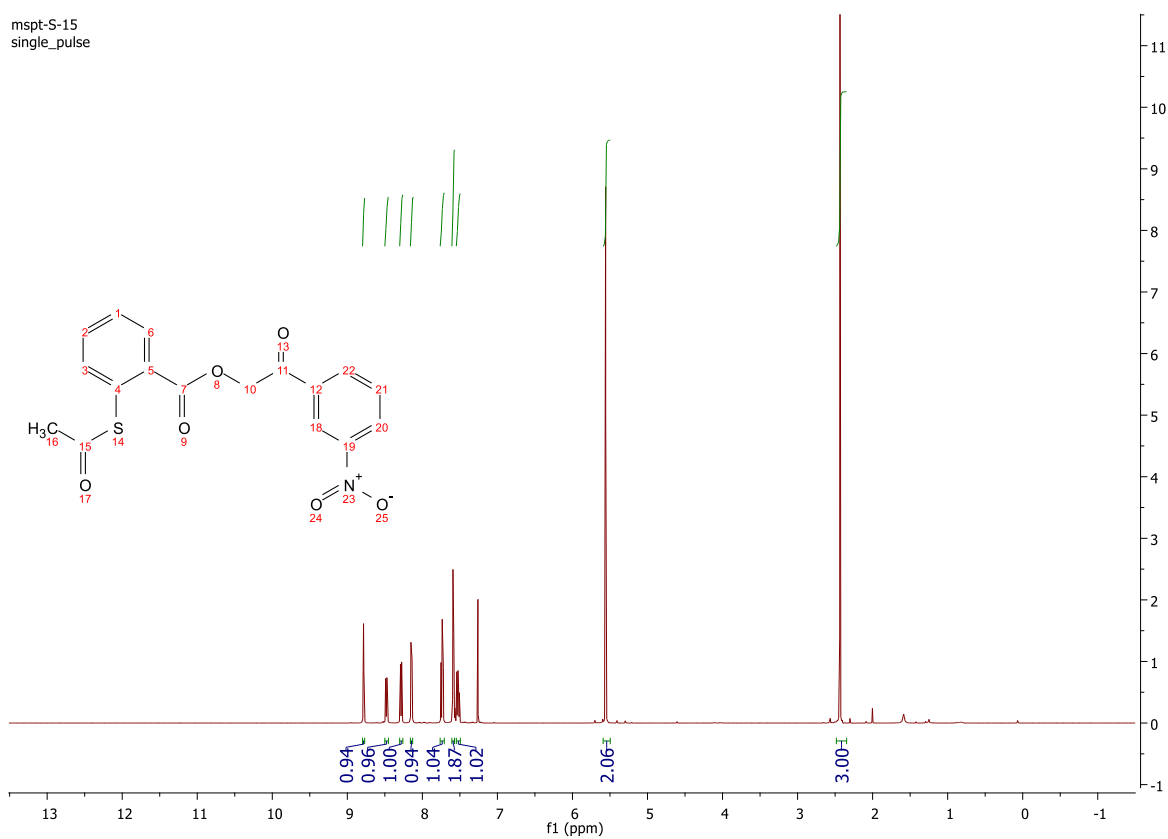
### Spektrum 14: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18d**

mspt-S-14  
single pulse decoupled gated NOE



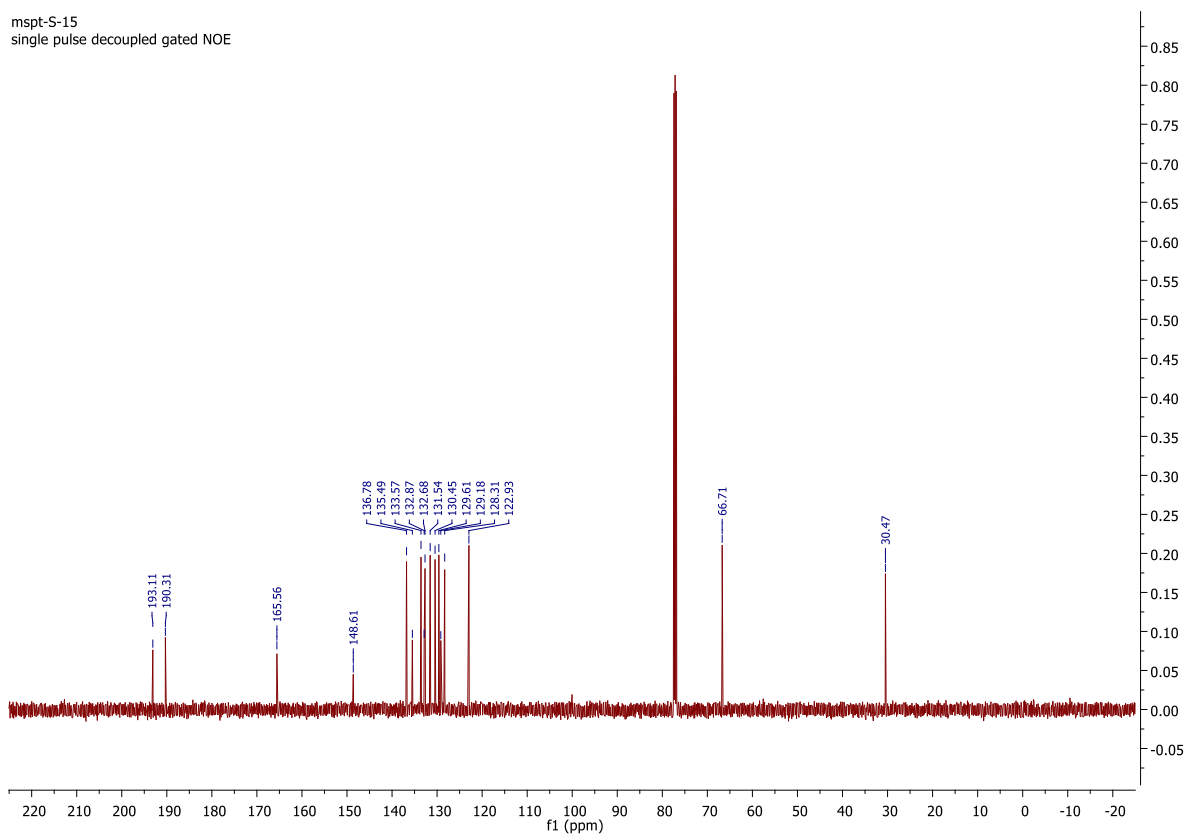
## Spektrum 15: $^1\text{H}$ spektrum látky **18e**

mspt-S-15  
single\_pulse



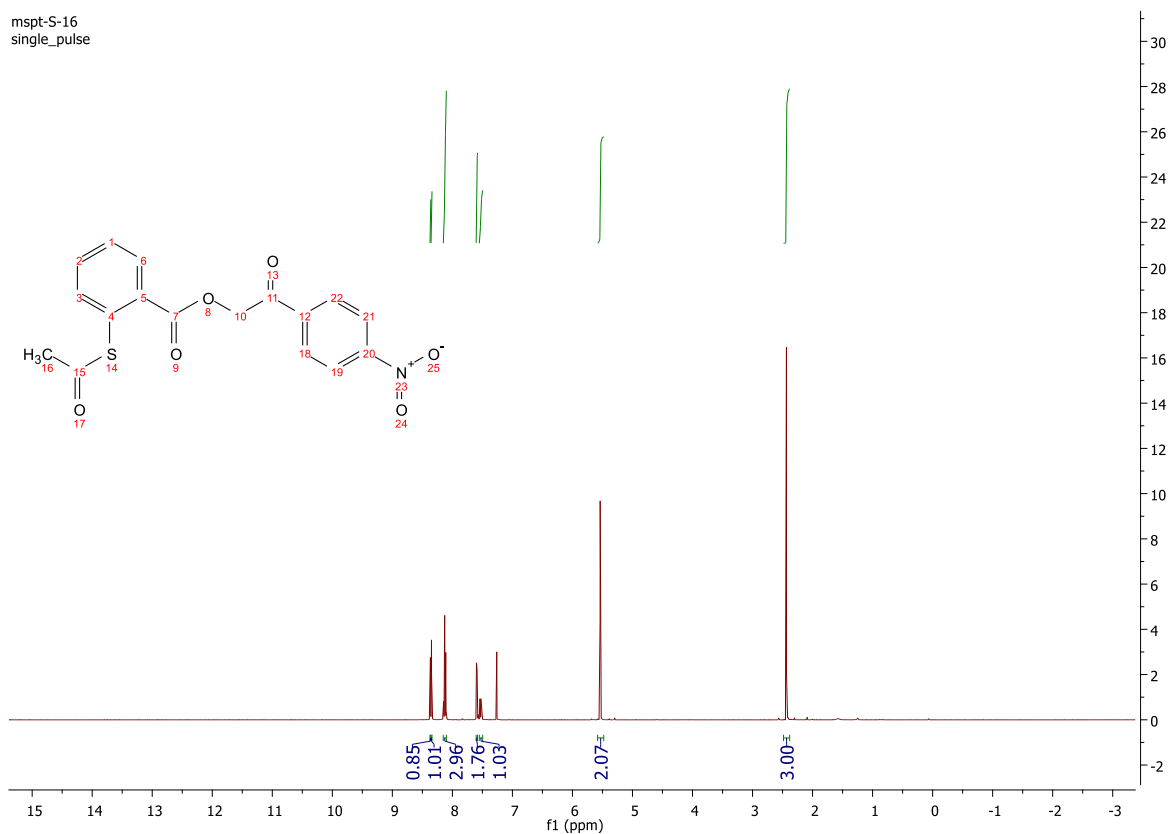
## Spektrum 16: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18e**

mspt-S-15  
single\_pulse decoupled gated NOE



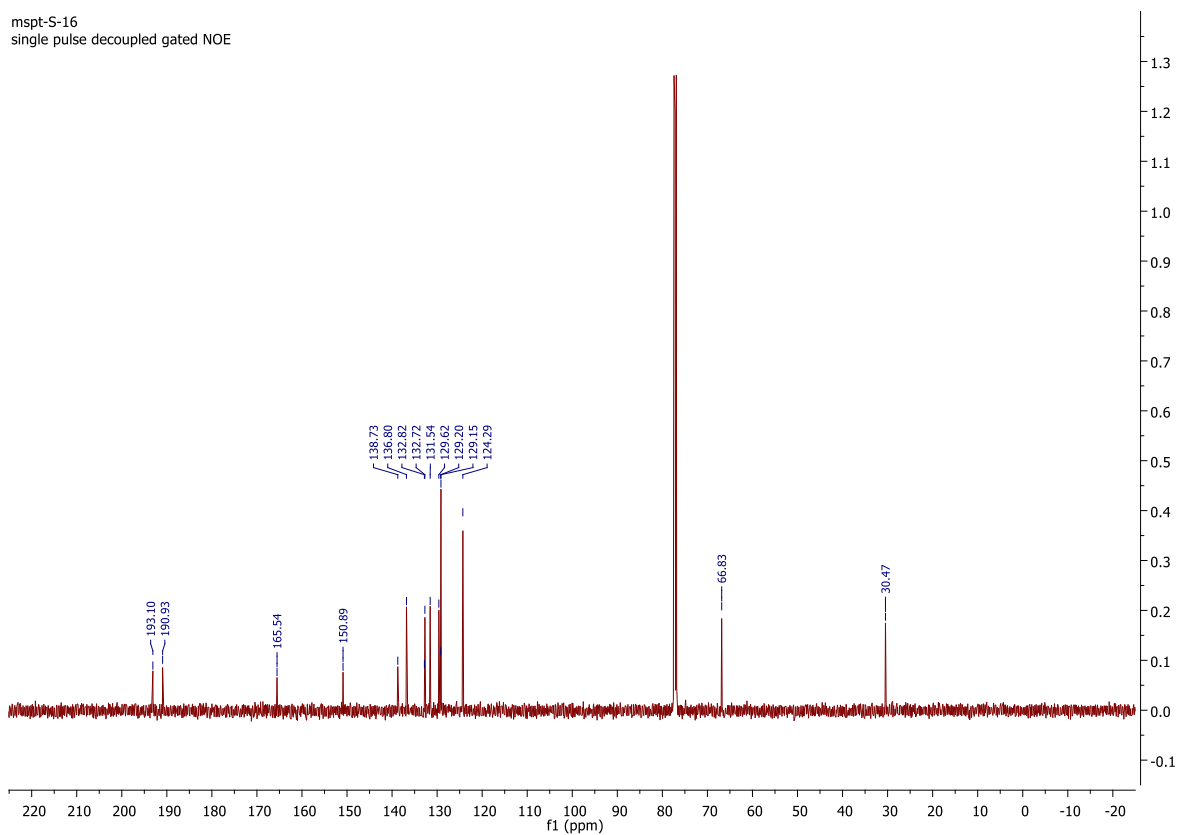
## Spektrum 17: $^1\text{H}$ spektrum látky **18f**

mspt-S-16  
single\_pulse

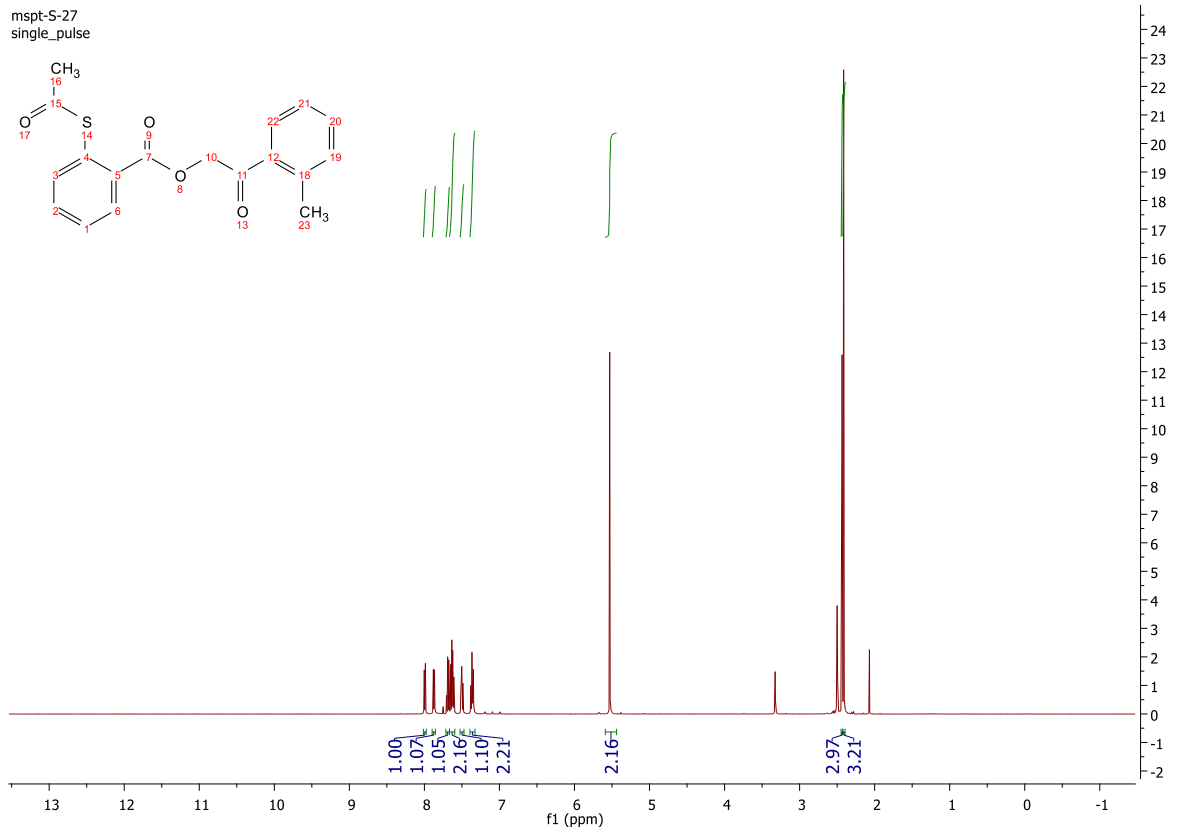


## Spektrum 18: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18f**

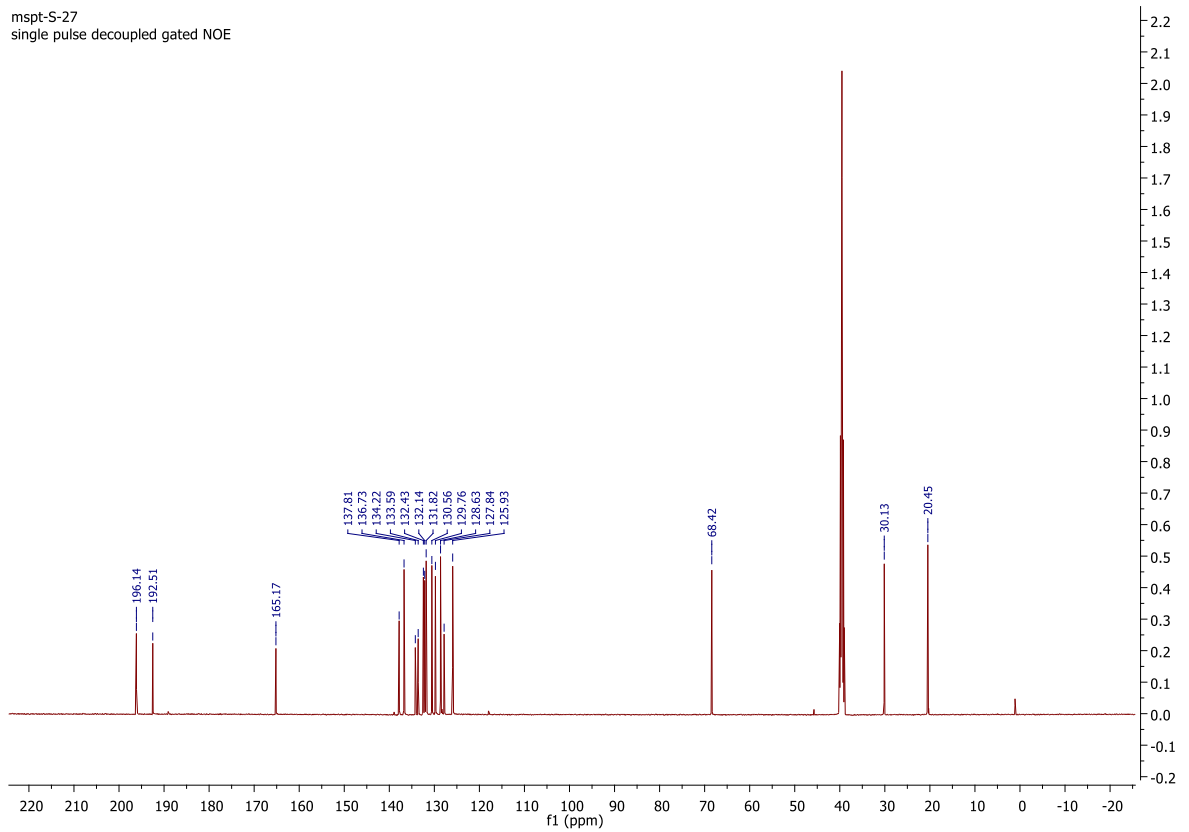
mspt-S-16  
single\_pulse decoupled gated NOE



## Spektrum 19: $^1\text{H}$ spektrum látky **18g**



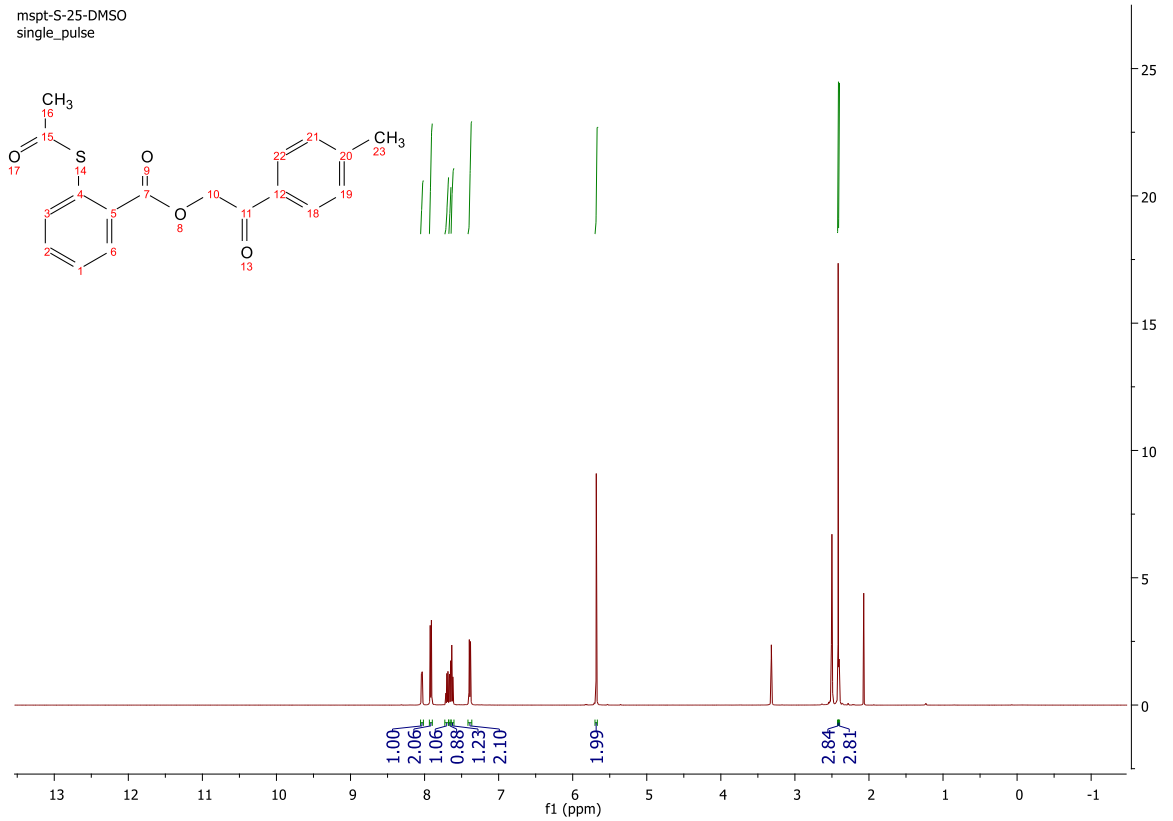
## Spektrum 20: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18g**





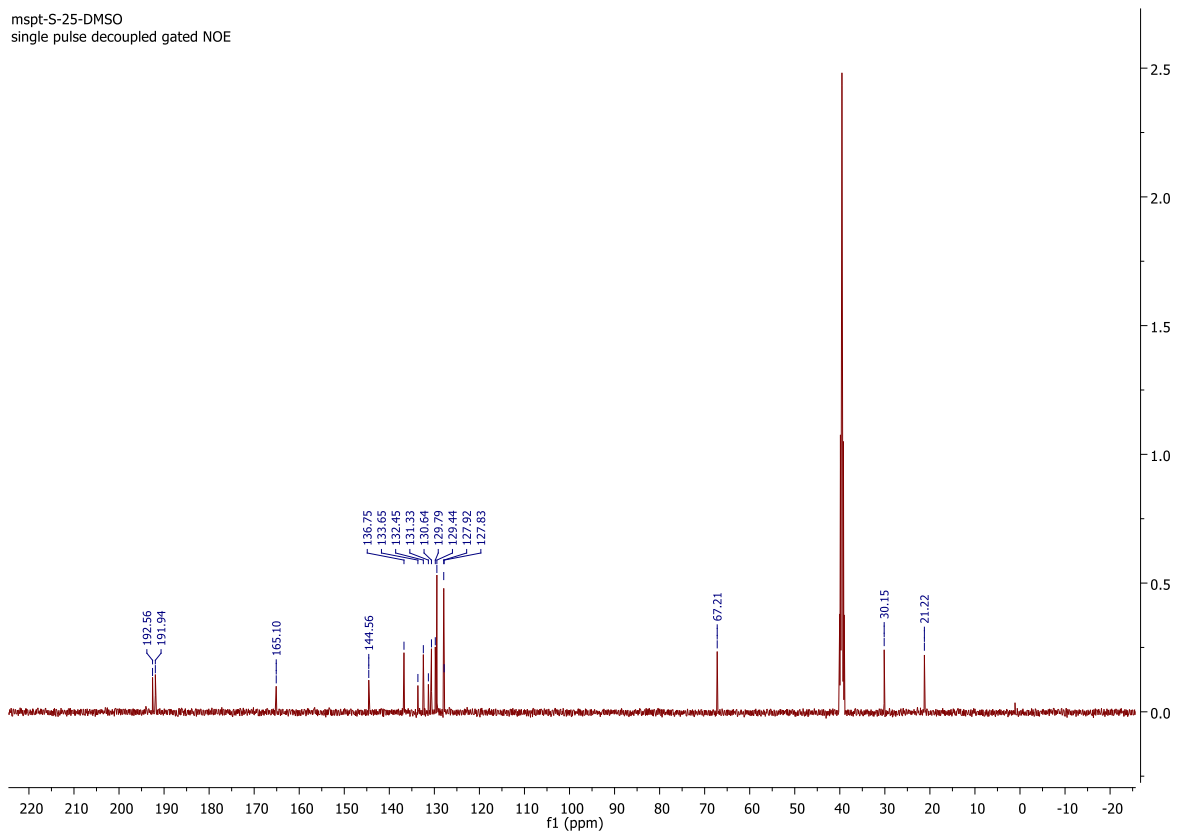
## Spektrum 21: $^1\text{H}$ spektrum látky **18h**

mspt-S-25-DMSO  
single\_pulse



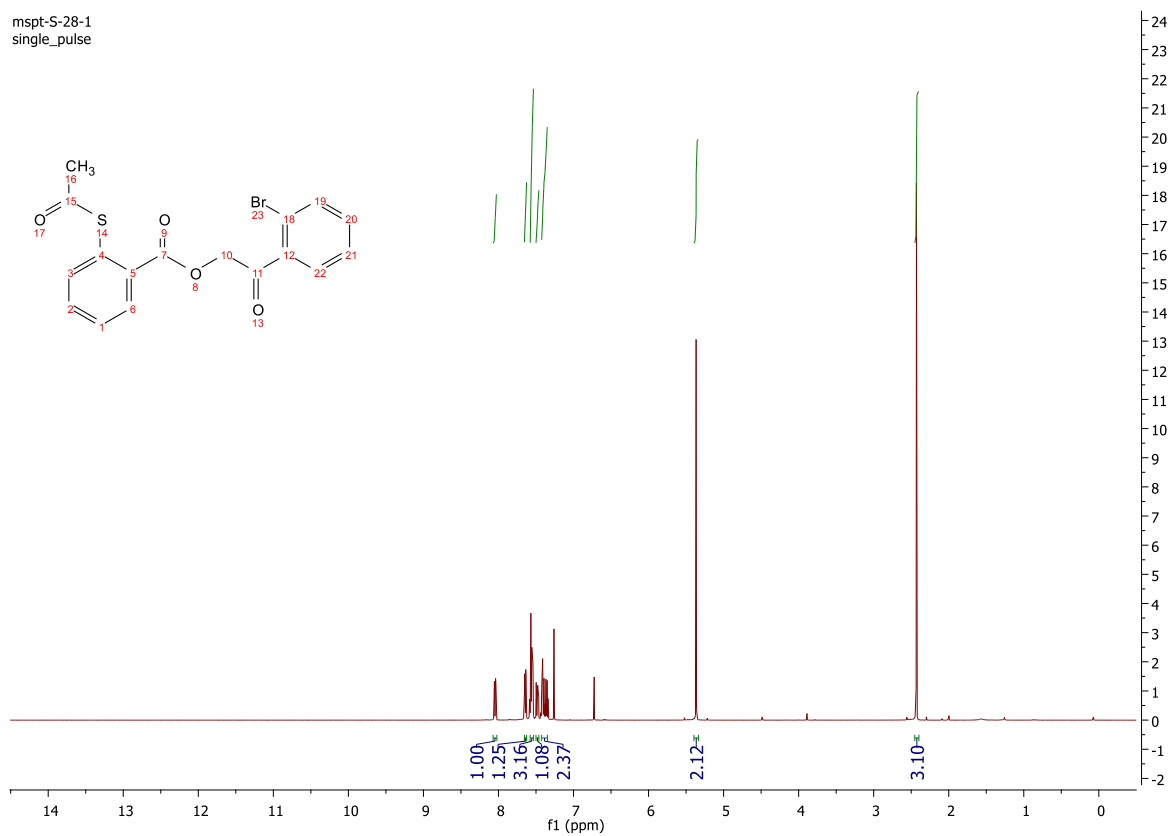
## Spektrum 22: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18h**

mspt-S-25-DMSO  
single pulse decoupled gated NOE



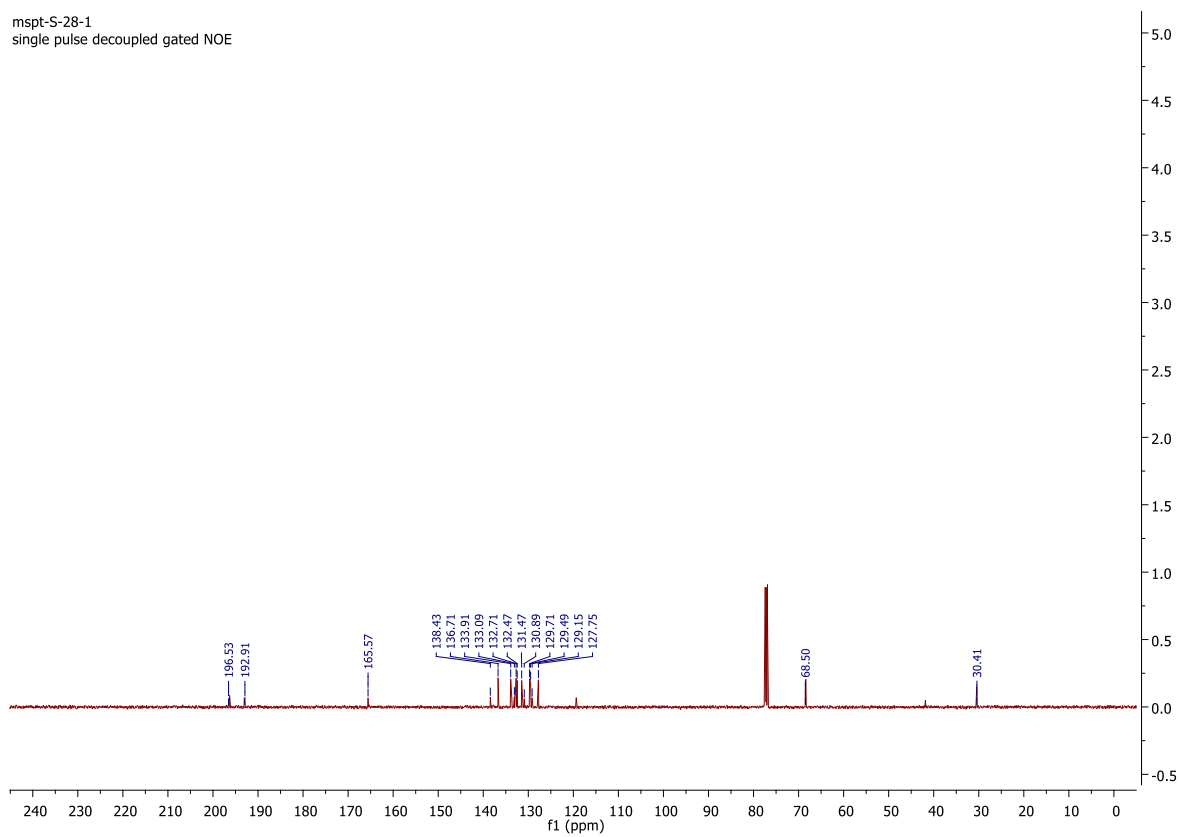
## Spektrum 23: $^1\text{H}$ spektrum látky **18i**

mspt-S-28-1  
single\_pulse

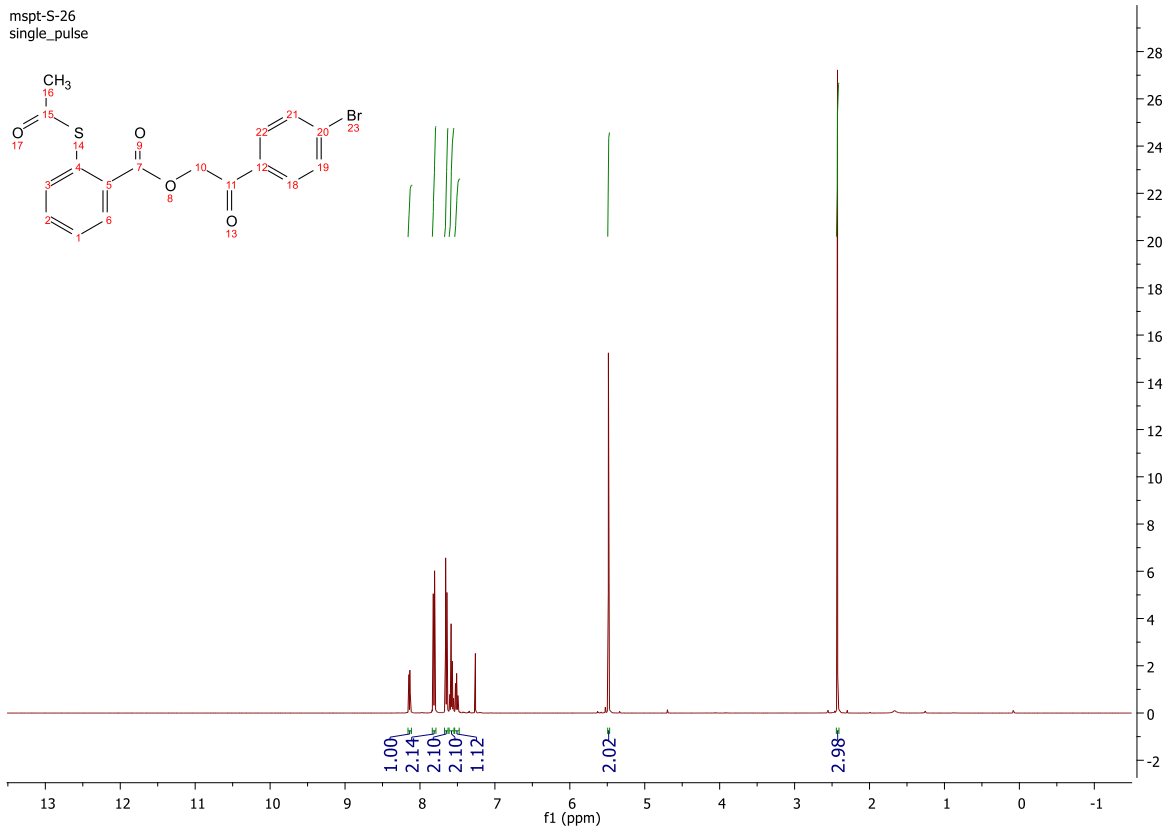


## Spektrum 24: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18i**

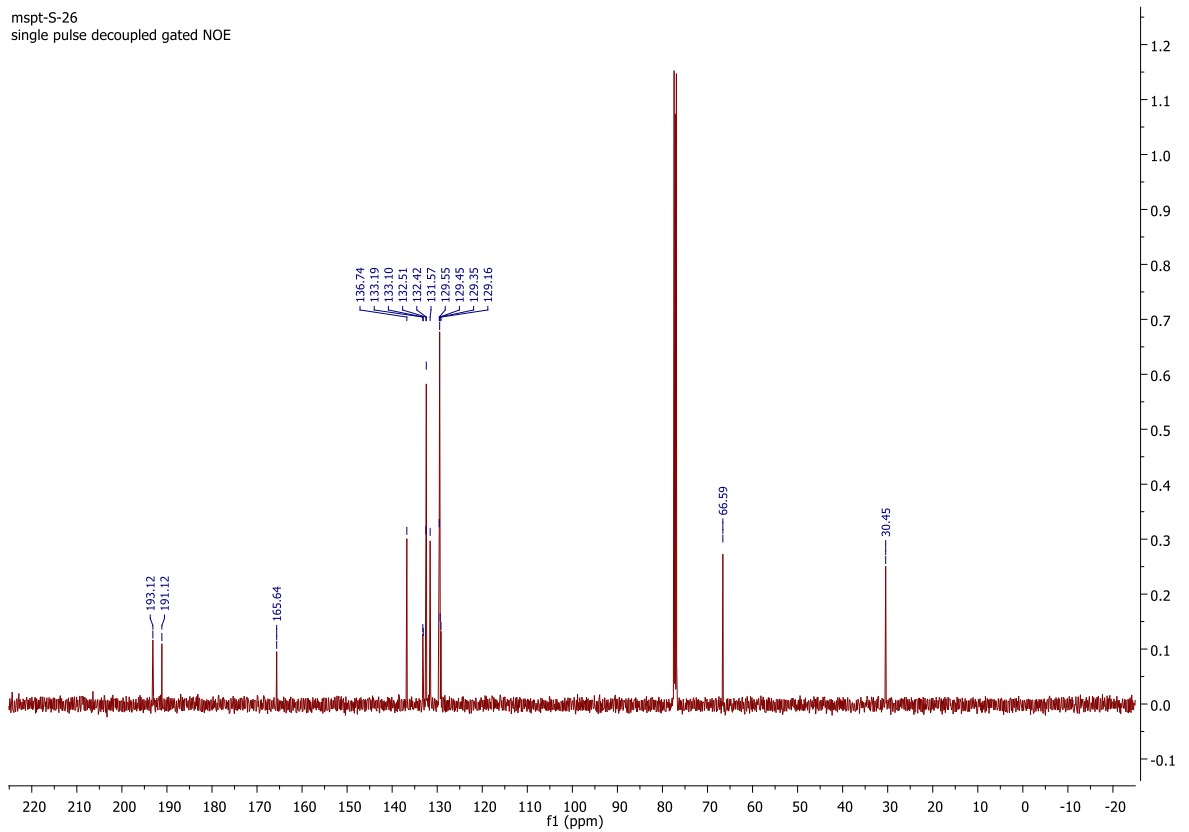
mspt-S-28-1  
single\_pulse decoupled gated NOE



## Spektrum 25: $^1\text{H}$ spektrum látky **18j**

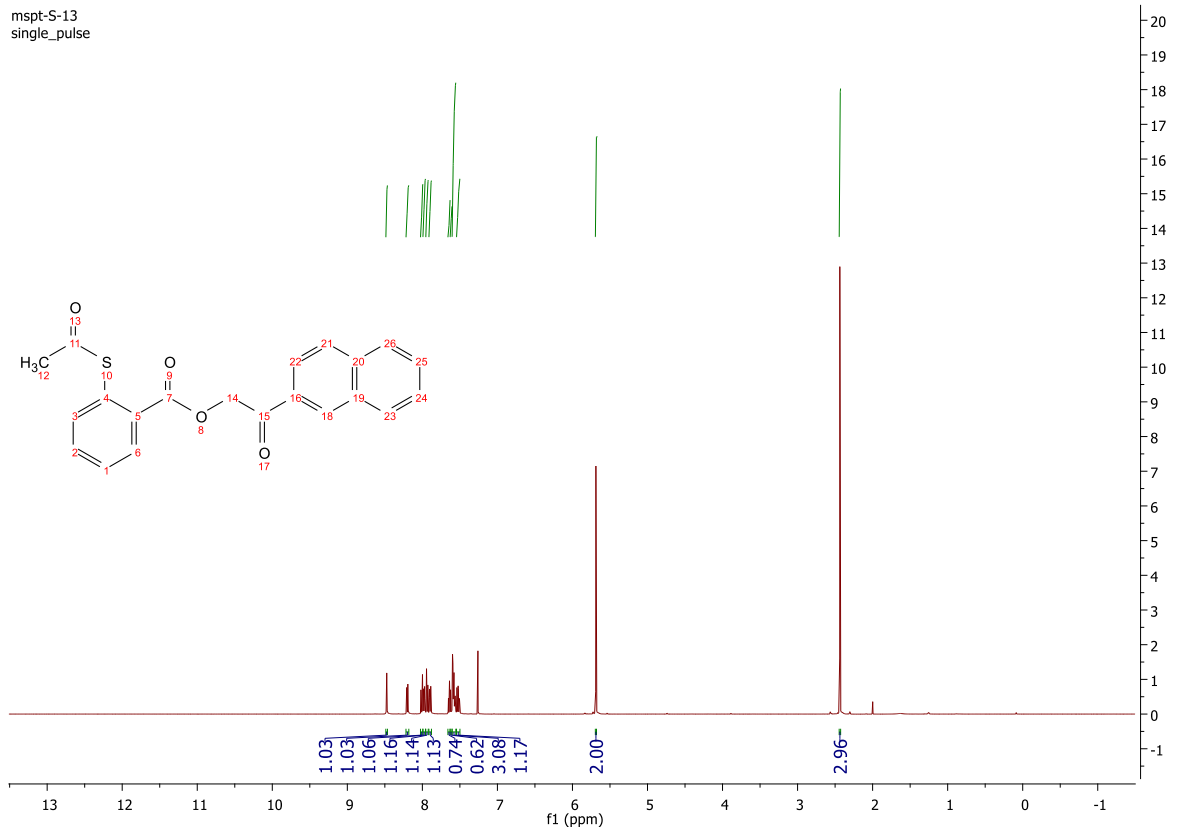


## Spektrum 26: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18j**



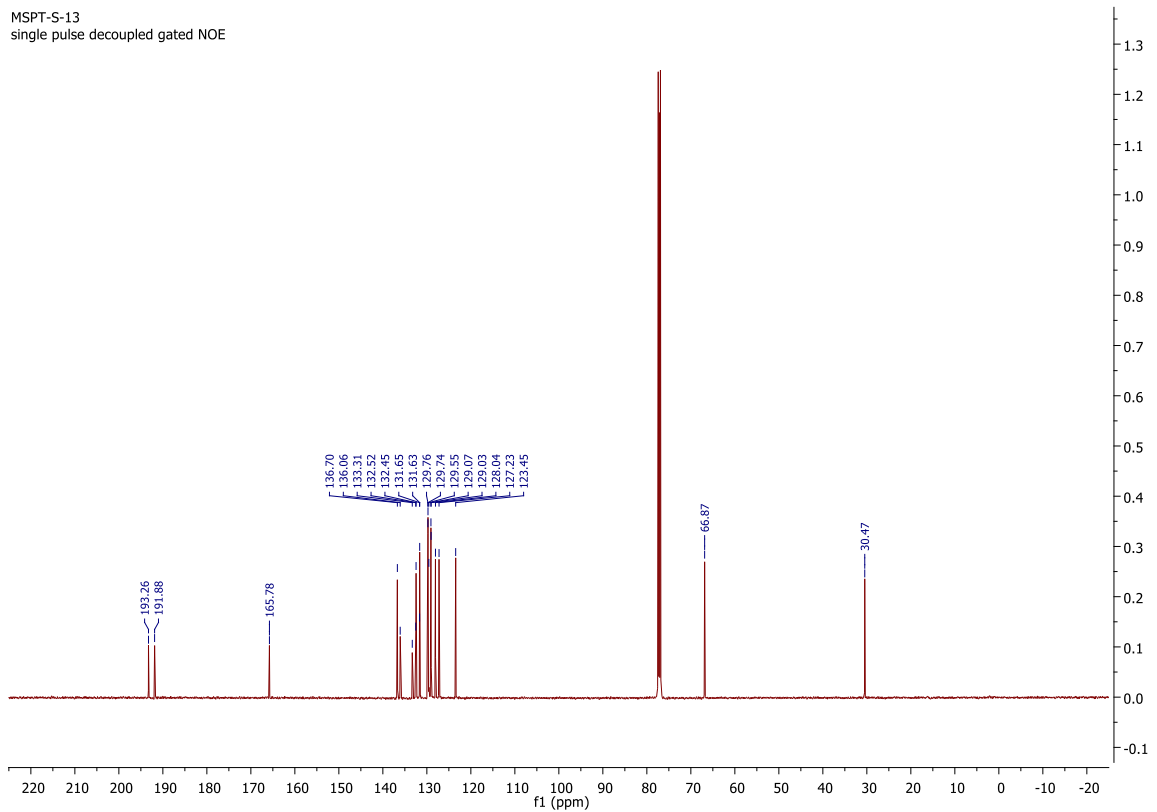
## Spektrum 27: $^1\text{H}$ spektrum látky **18k**

mspt-S-13  
single\_pulse



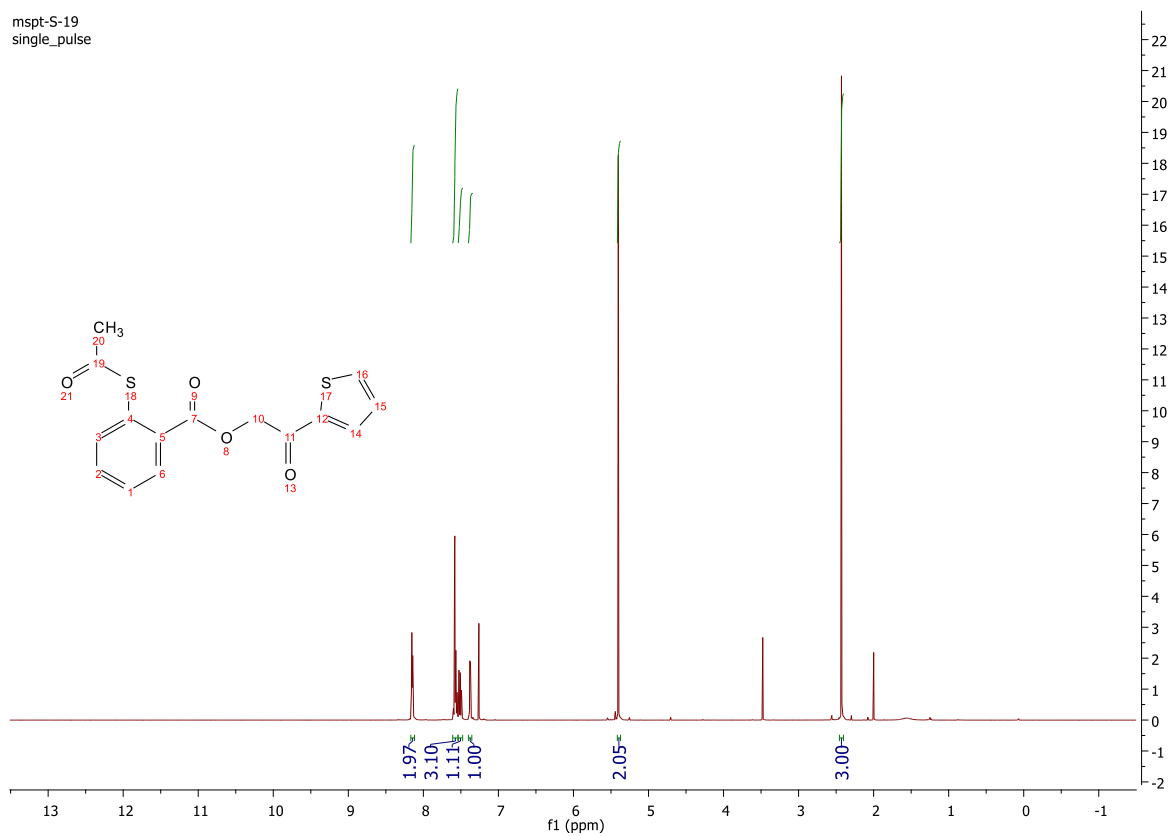
## Spektrum 28: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18k**

MSPT-S-13  
single\_pulse decoupled gated NOE



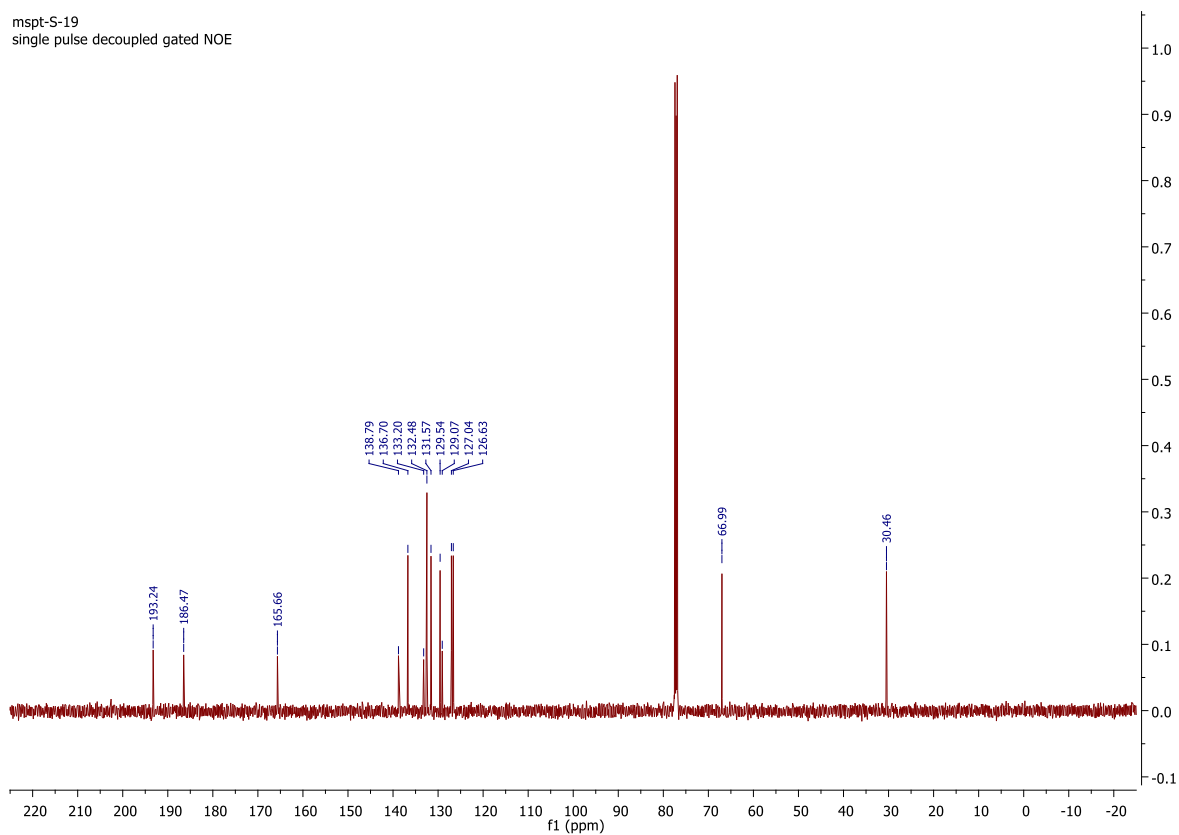
## Spektrum 29: $^1\text{H}$ spektrum látky **18I**

mspt-S-19  
single\_pulse



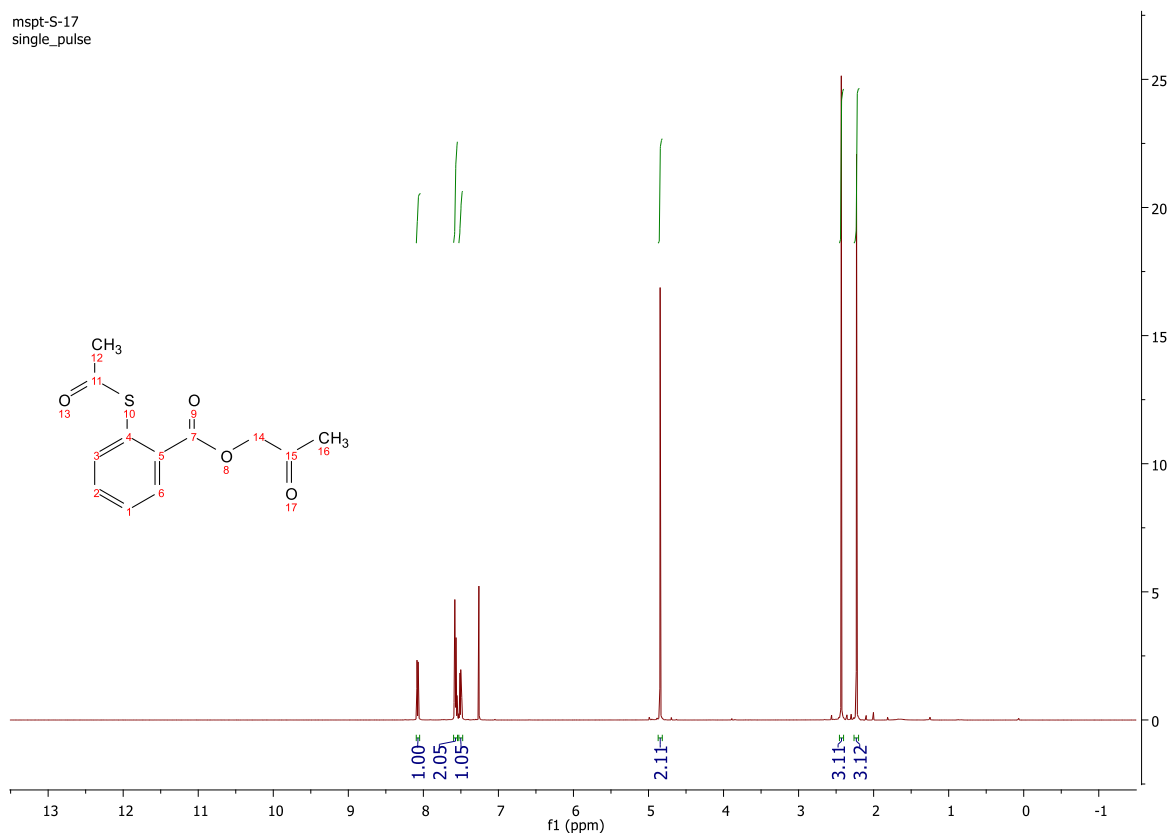
## Spektrum 30: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18I**

mspt-S-19  
single\_pulse decoupled gated NOE



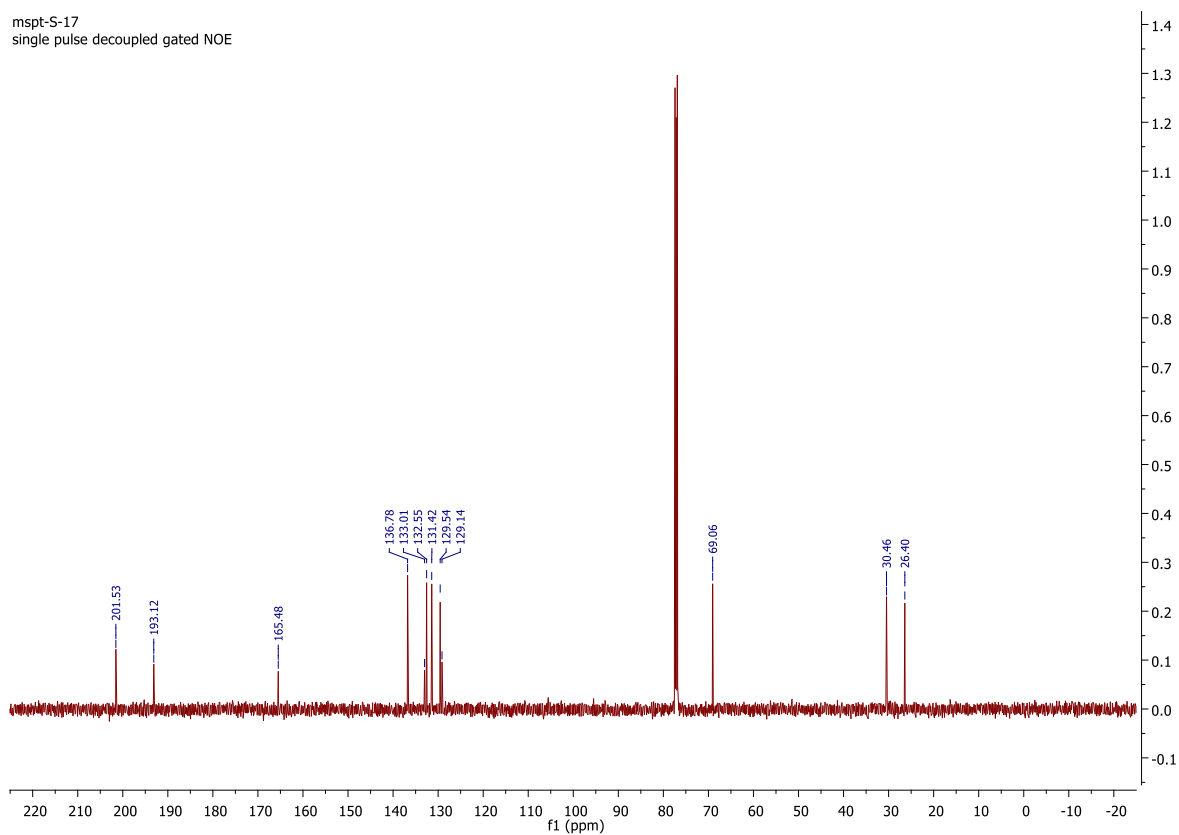
### Spektrum 31: $^1\text{H}$ spektrum látky **18m**

mspt-S-17  
single\_pulse



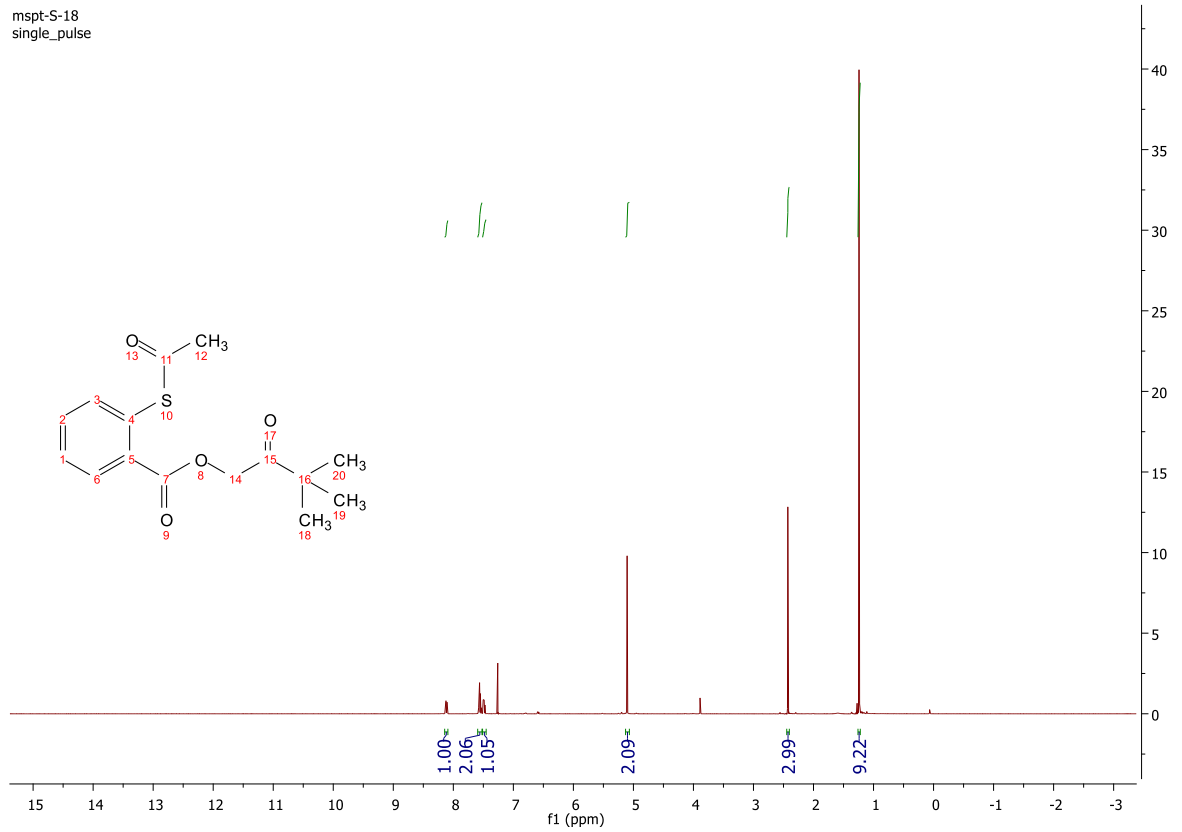
### Spektrum 32: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18m**

mspt-S-17  
single\_pulse decoupled gated NOE



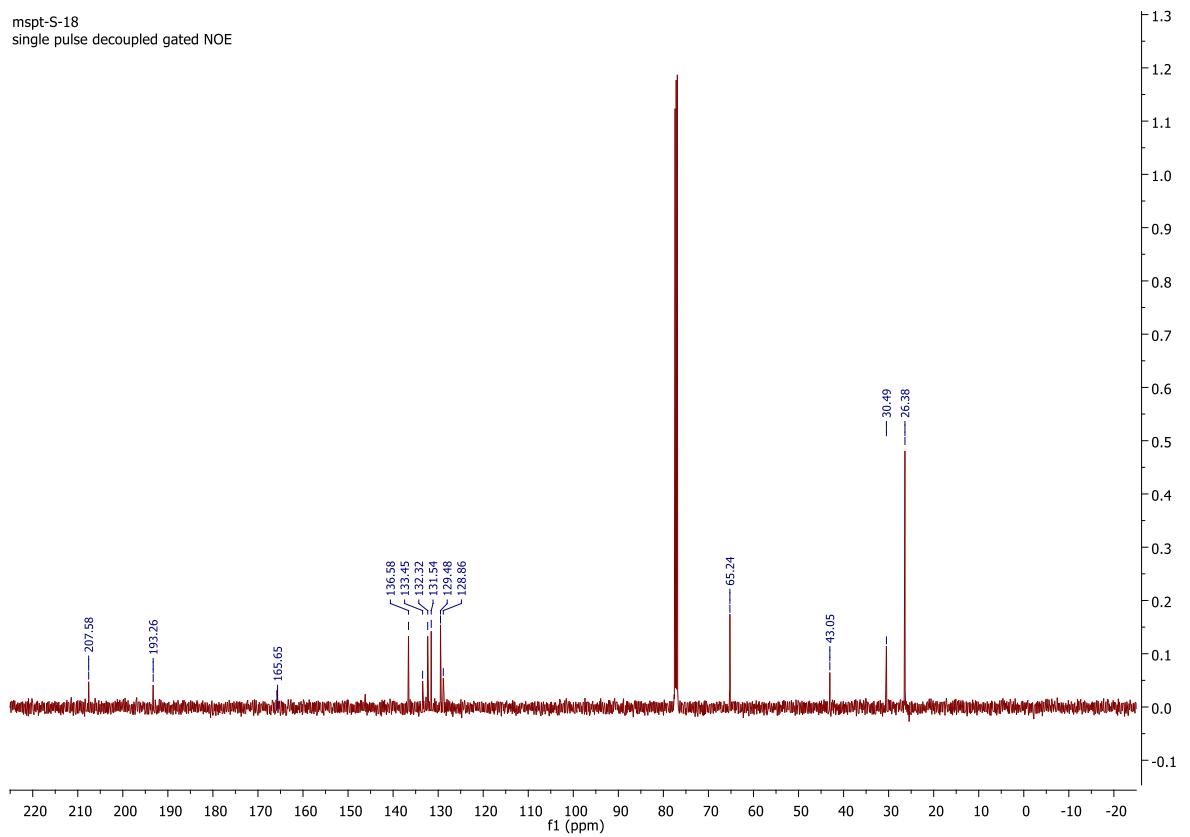
### Spektrum 33: $^1\text{H}$ spektrum látky **18n**

mspt-S-18  
single\_pulse



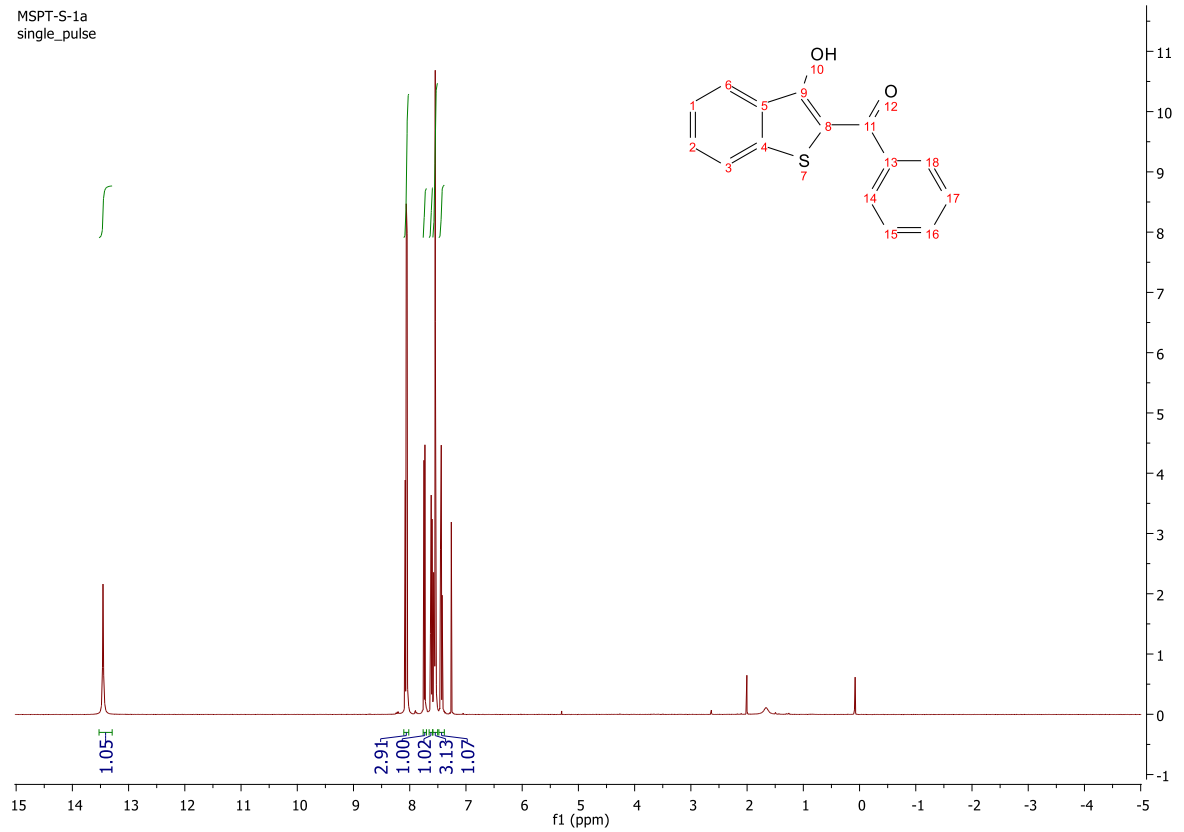
### Spektrum 34: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **18n**

mspt-S-18  
single\_pulse decoupled gated NOE



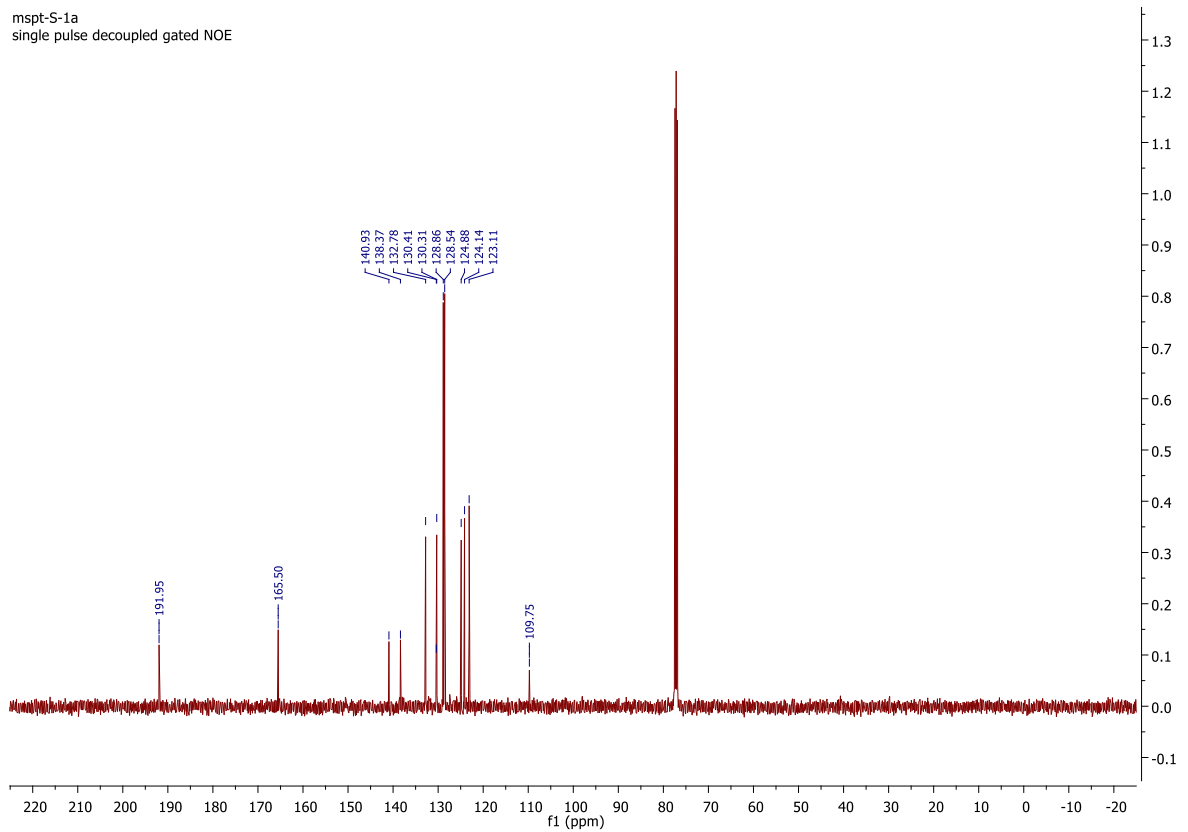
### Spektrum 35: $^1\text{H}$ spektrum látky **20a**

MSPT-S-1a  
single\_pulse



### Spektrum 36: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **20a**

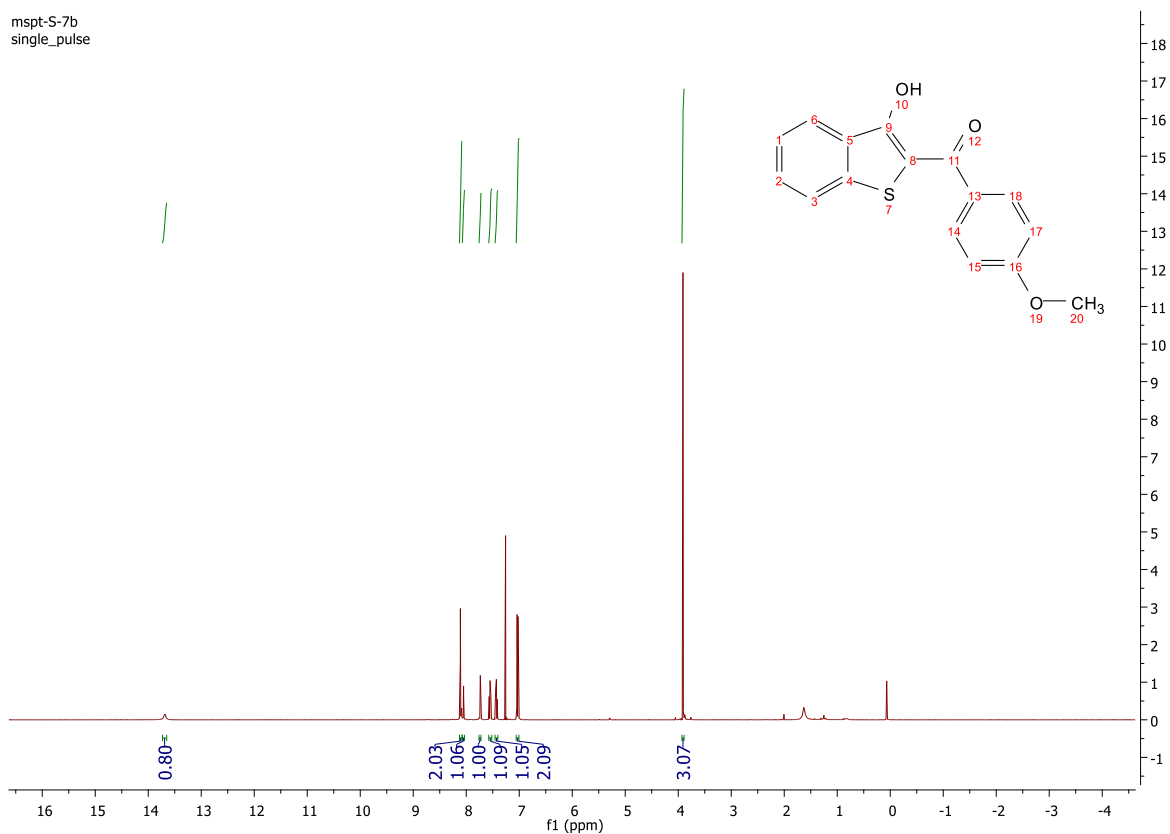
mspt-S-1a  
single pulse decoupled gated NOE





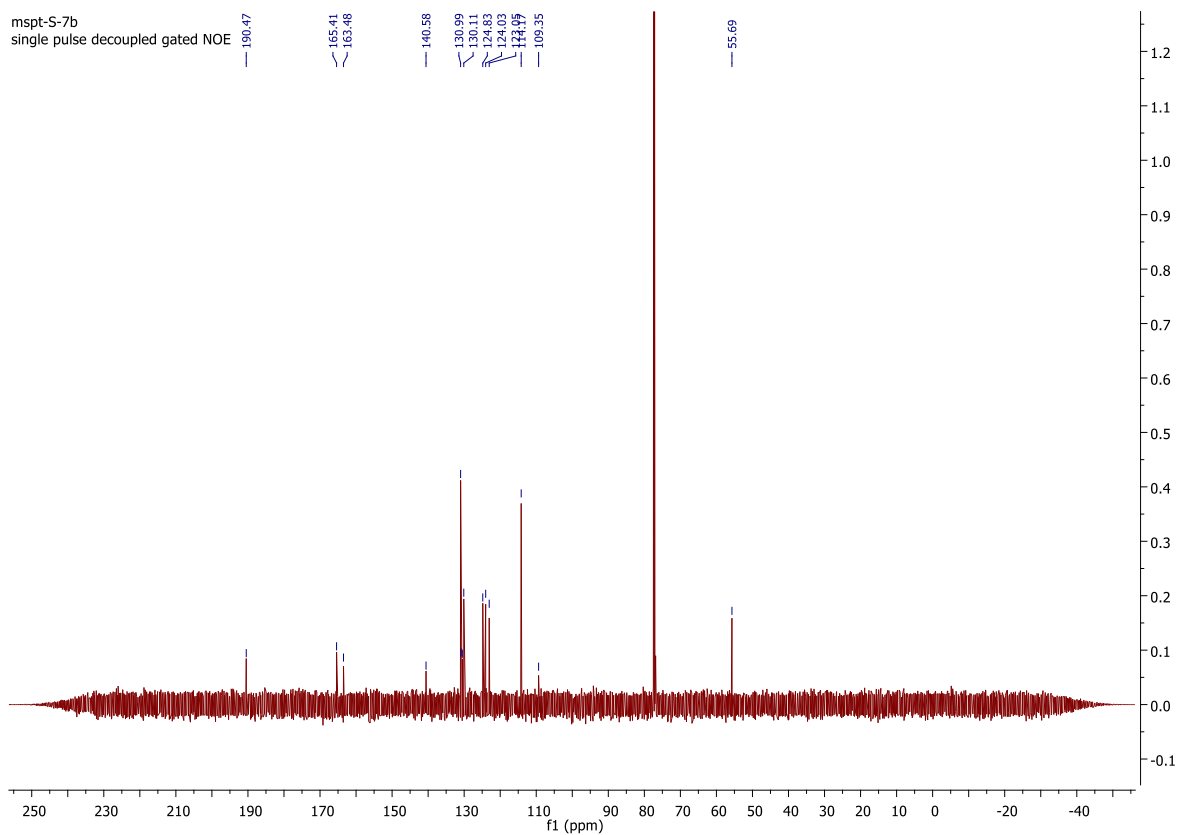
### Spektrum 37: $^1\text{H}$ spektrum látky **20b**

mspt-S-7b  
single\_pulse

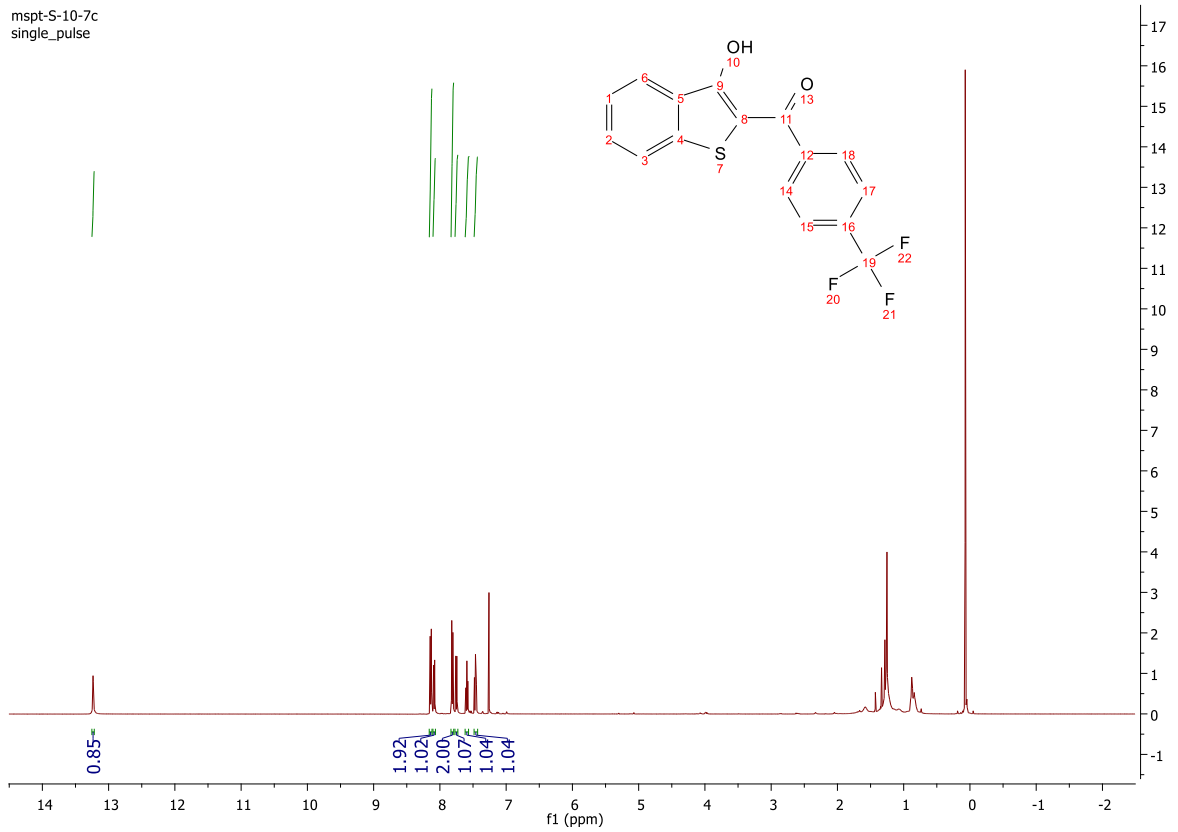


### Spektrum 38: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **20b**

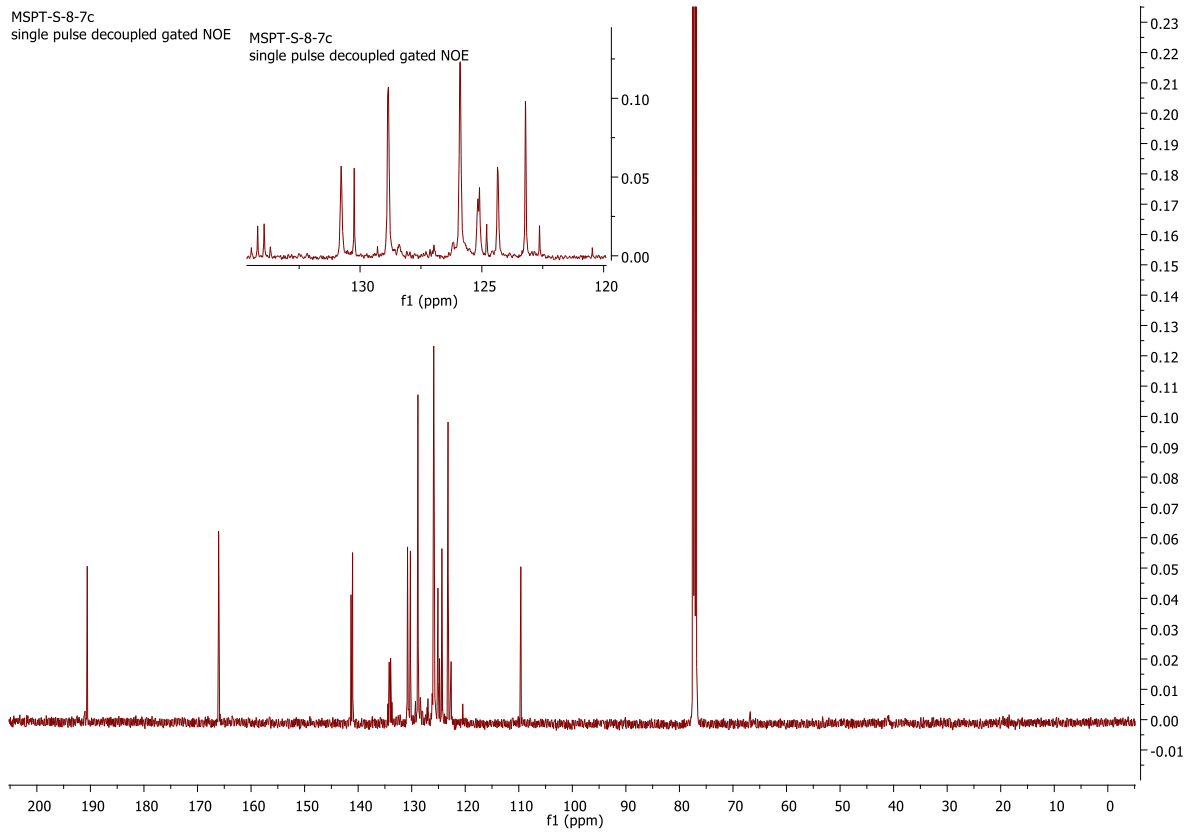
mspt-S-7b  
single\_pulse decoupled gated NOE



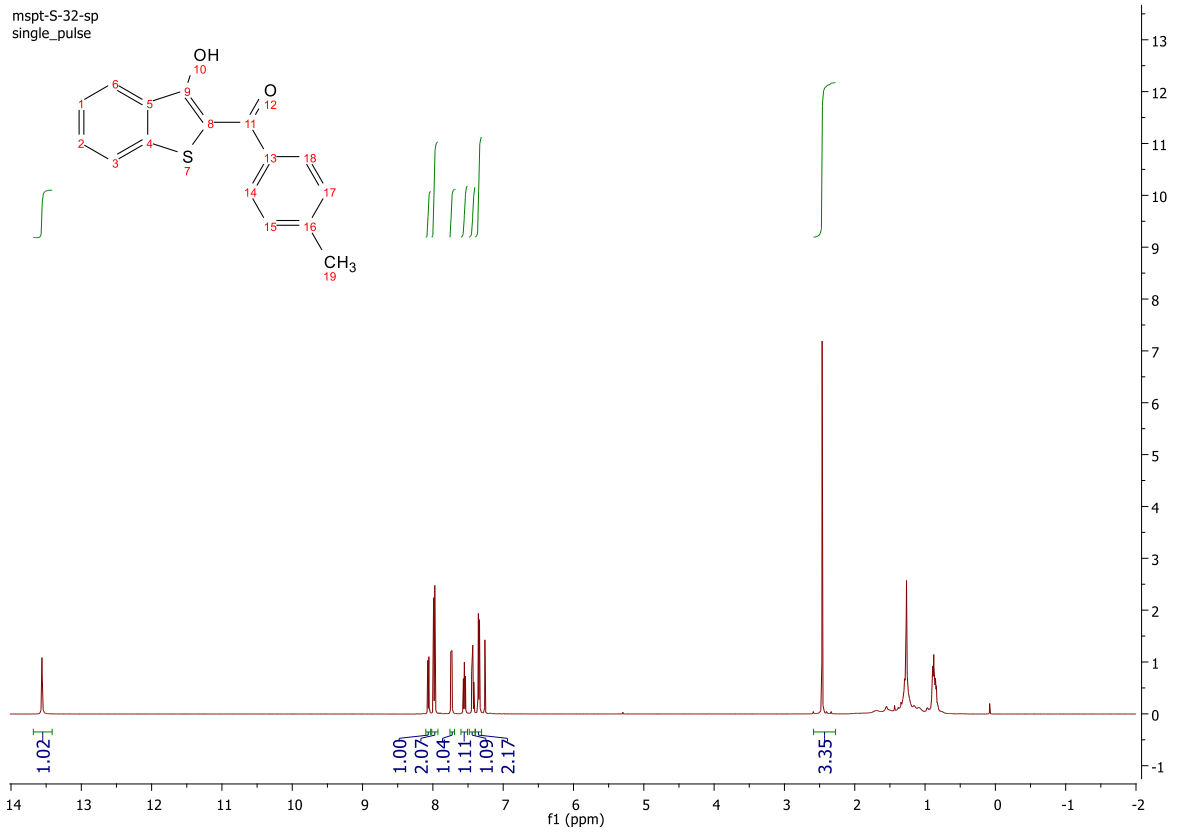
### Spektrum 39: $^1\text{H}$ spektrum látky **20c**



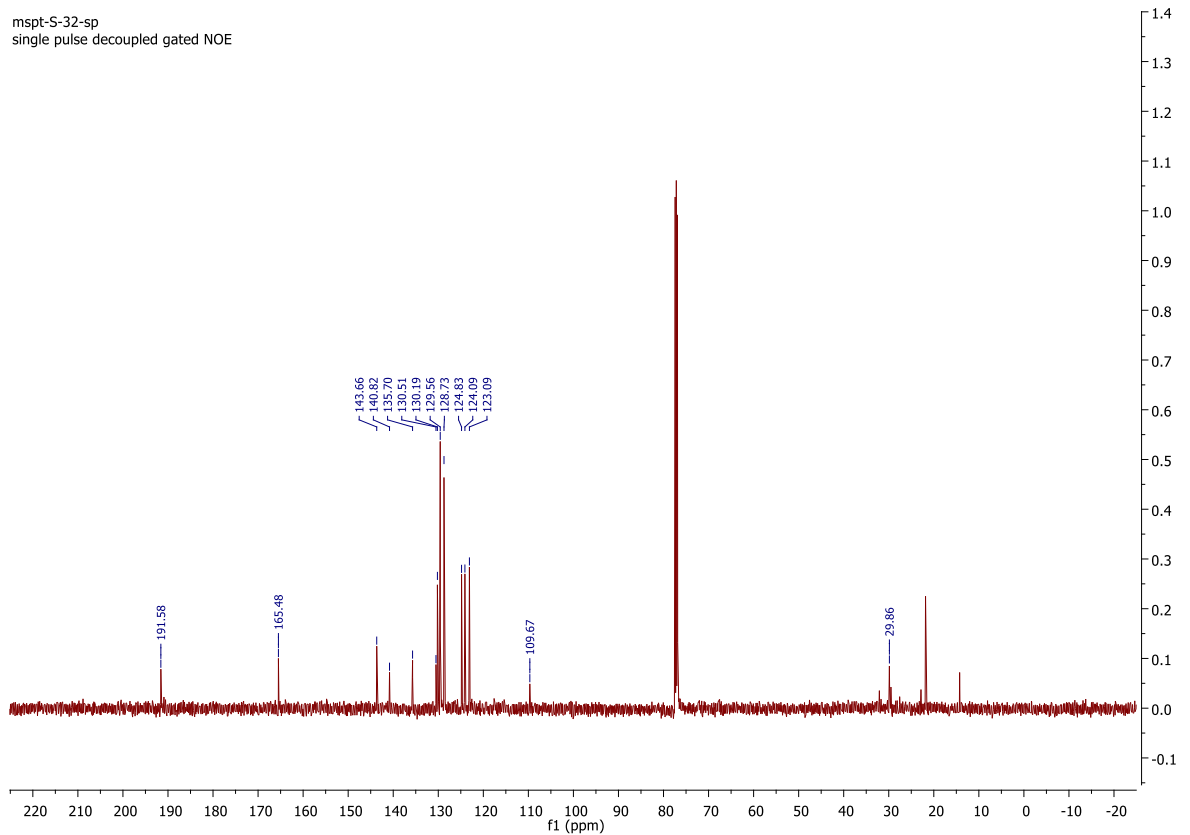
### Spektrum 40: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **20c**



### Spektrum 41: $^1\text{H}$ spektrum látky **20h**

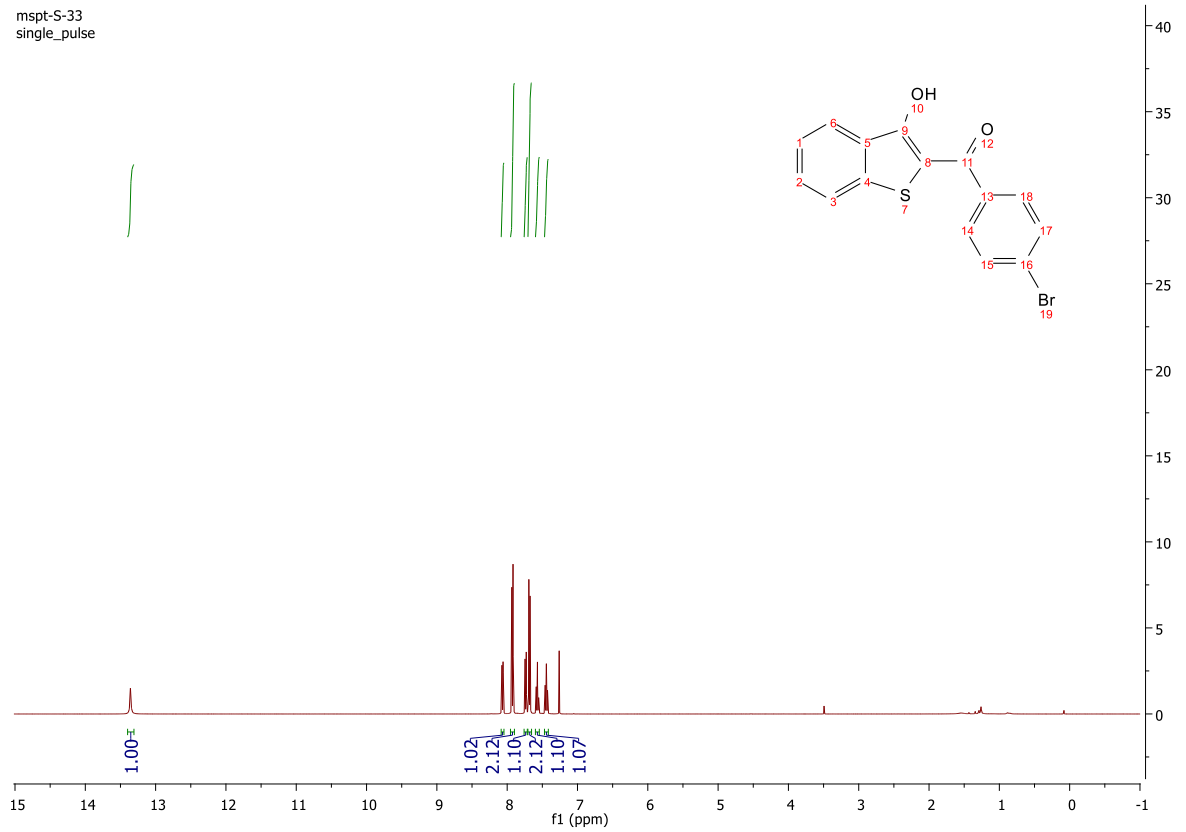


### Spektrum 42: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **20h**



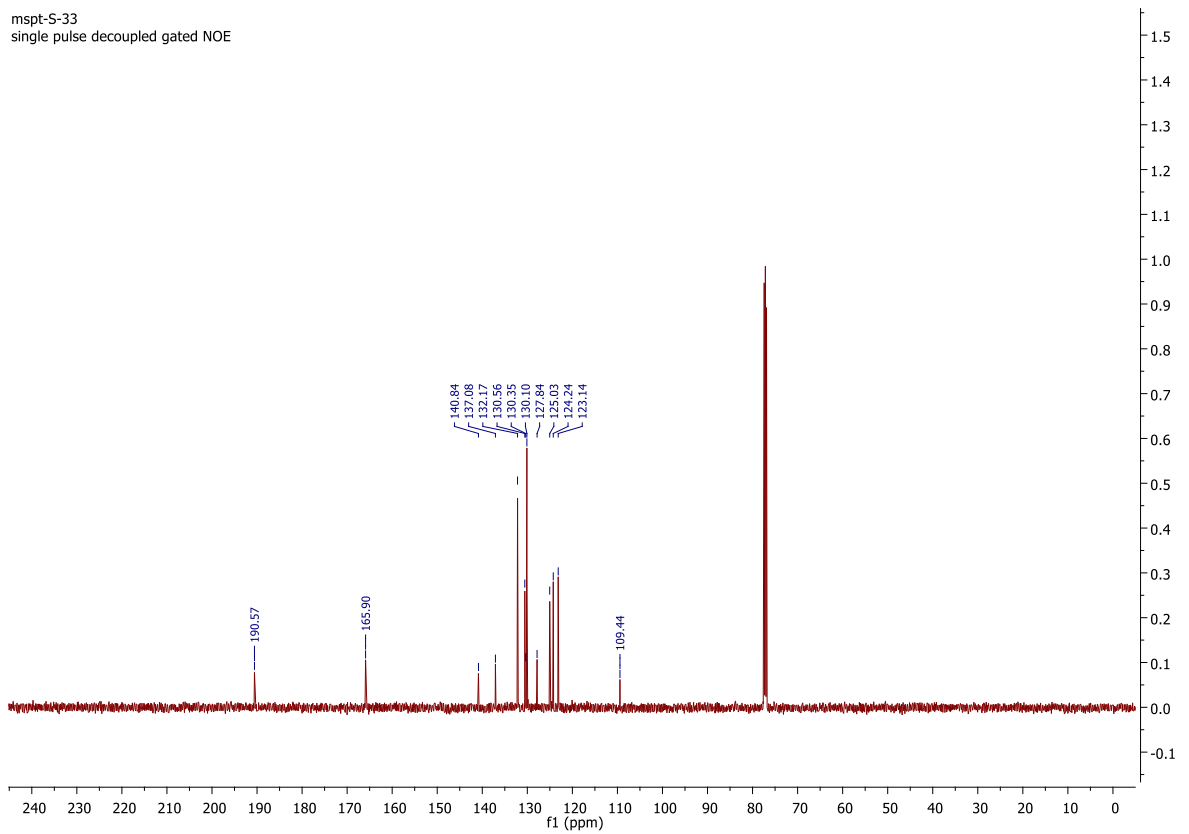
### Spektrum 43: $^1\text{H}$ spektrum látky 20j

mspt-S-33  
single\_pulse



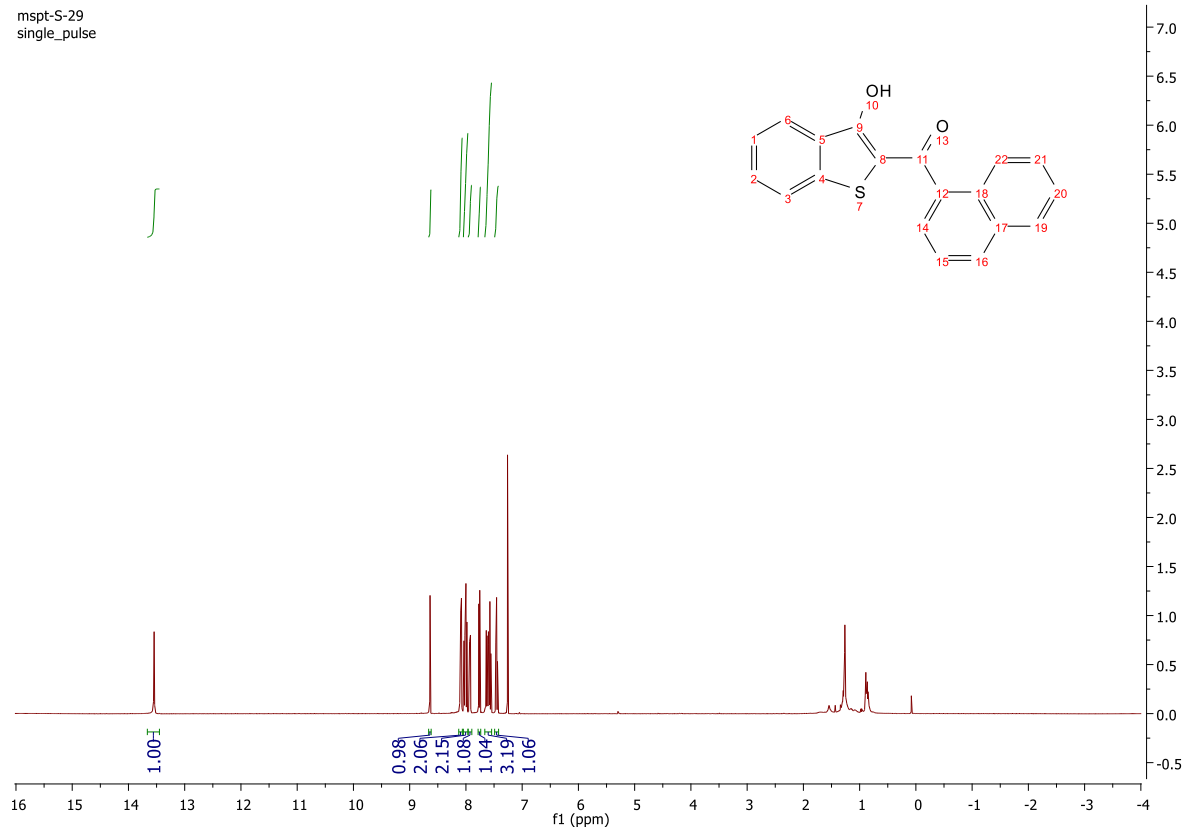
### Spektrum 44: $^{13}\text{C}$ spektrum látky 20j

mspt-S-33  
single\_pulse decoupled gated NOE



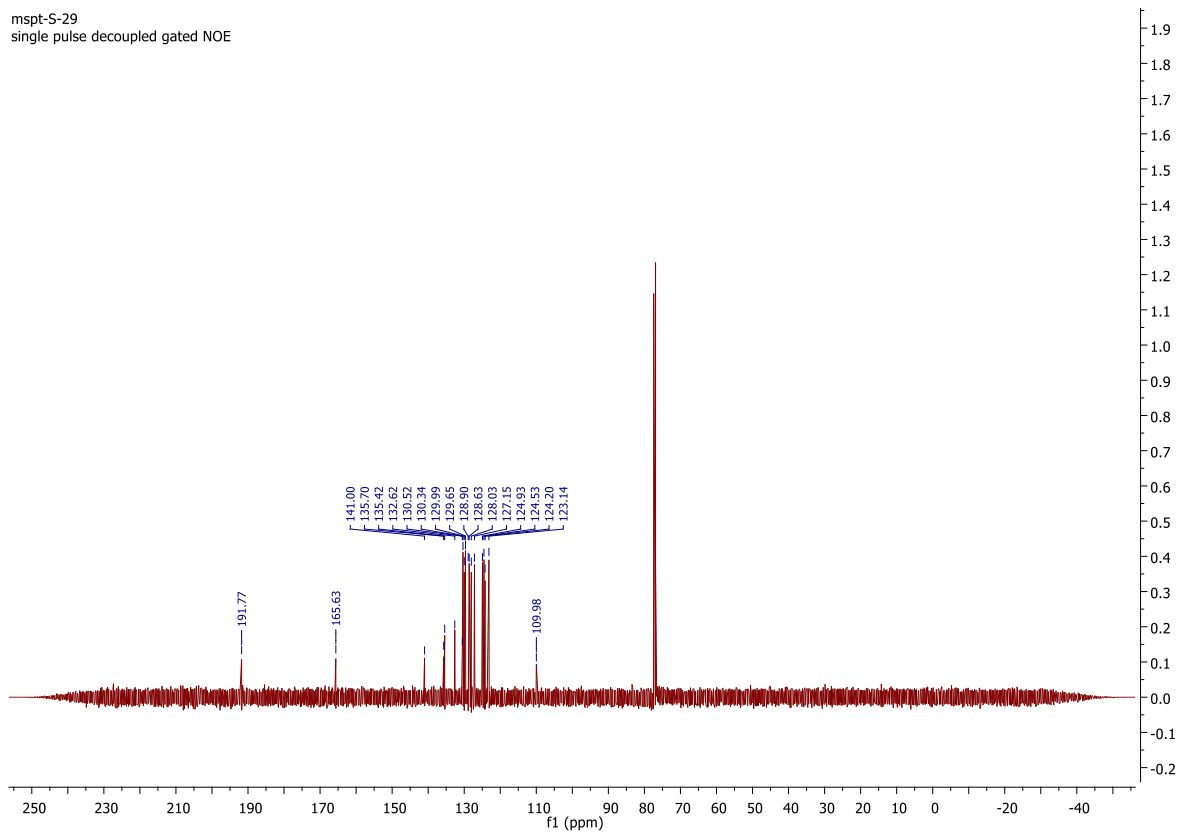
## Spektrum 45: $^1\text{H}$ spektrum látky **20k**

mspt-S-29  
single\_pulse



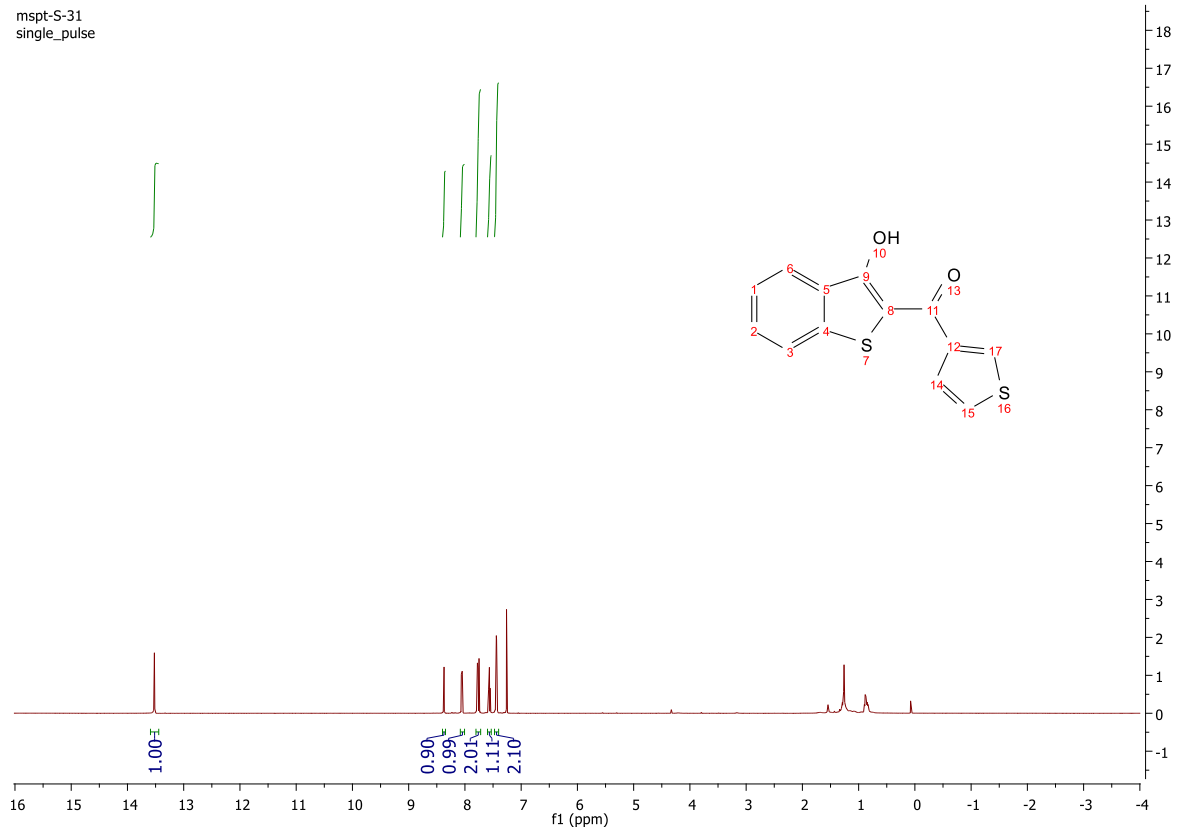
## Spektrum 46: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **20k**

mspt-S-29  
single\_pulse decoupled gated NOE



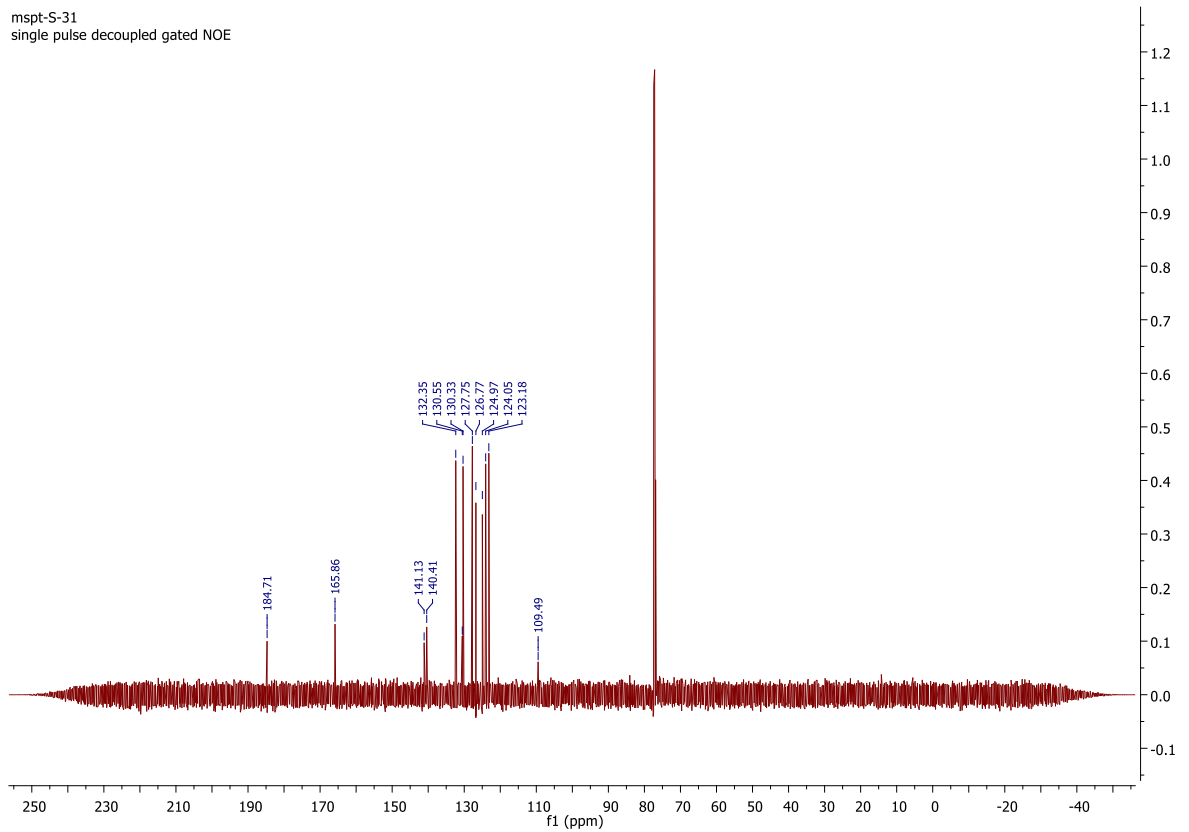
## Spektrum 47: $^1\text{H}$ spektrum látky **201**

mspt-S-31  
single\_pulse



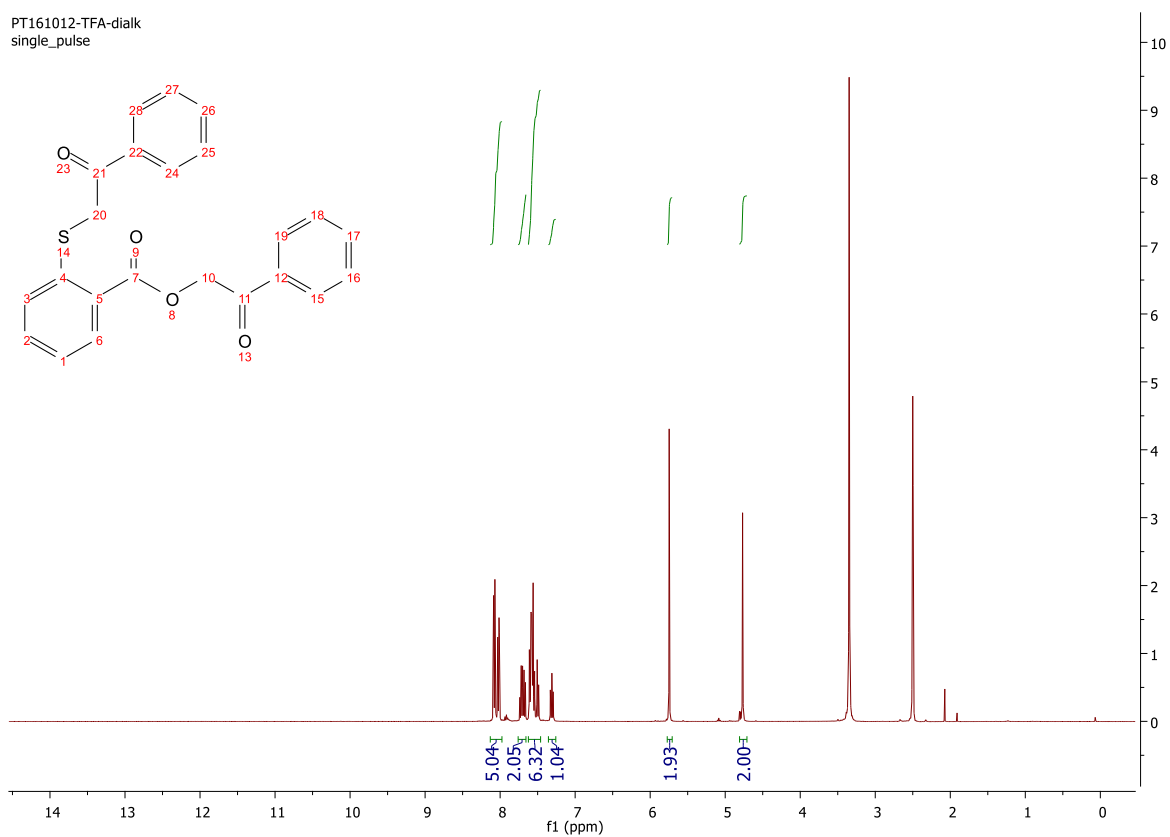
## Spektrum 48: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **201**

mspt-S-31  
single\_pulse decoupled gated NOE



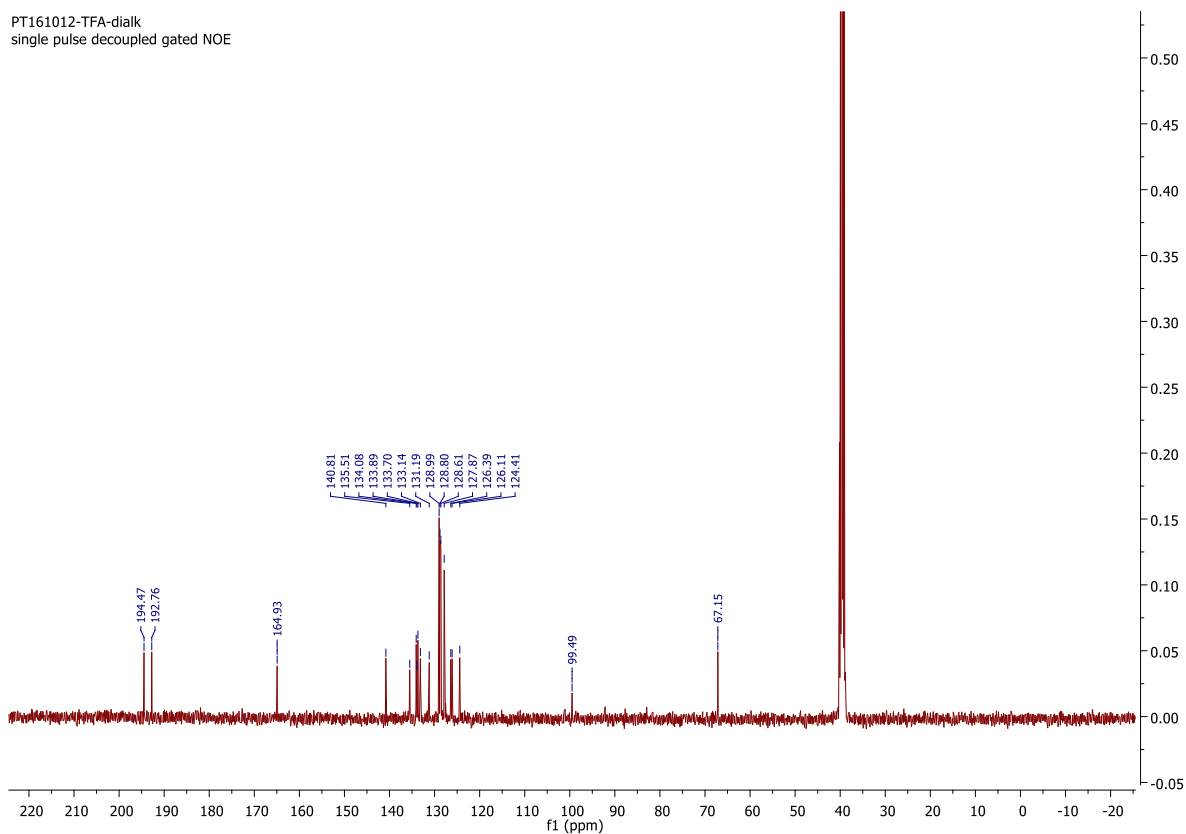
## Spektrum 49: $^1\text{H}$ spektrum látky **21a**

PT161012-TFA-dialk  
single\_pulse

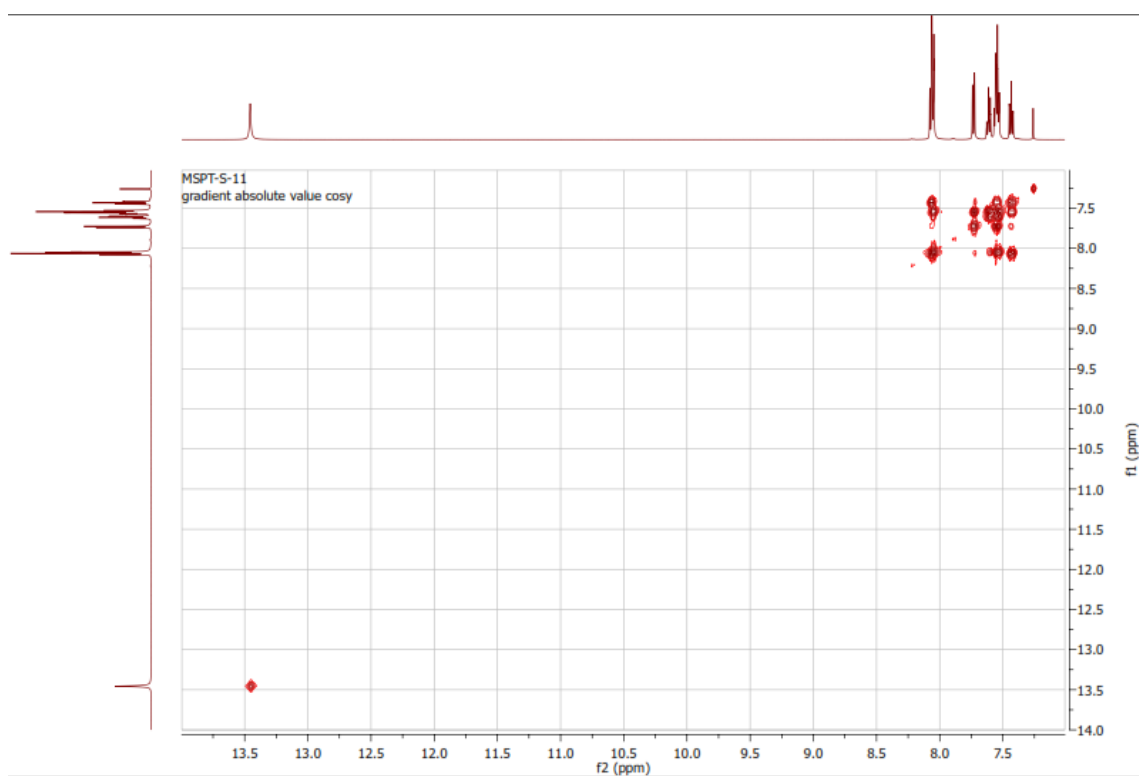


## Spektrum 50: $^{13}\text{C}$ spektrum látky **21a**

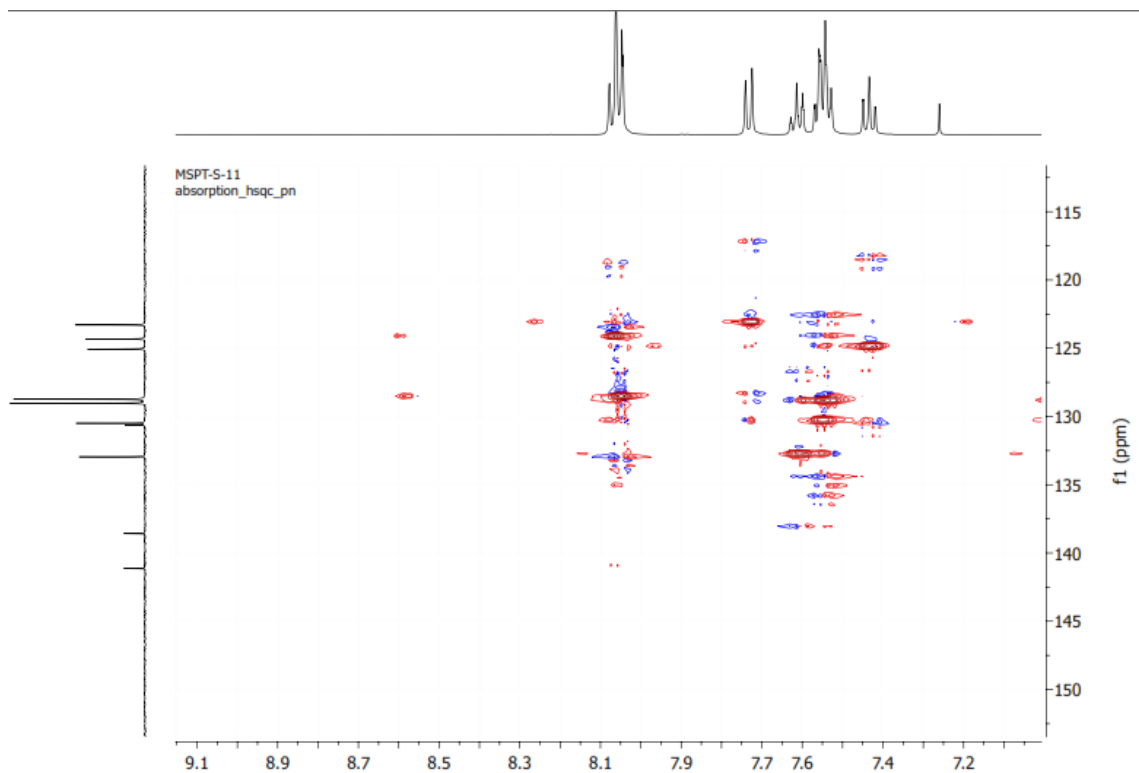
PT161012-TFA-dialk  
single pulse decoupled gated NOE



**Spektrum 51:**  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spektrum látky **20a**

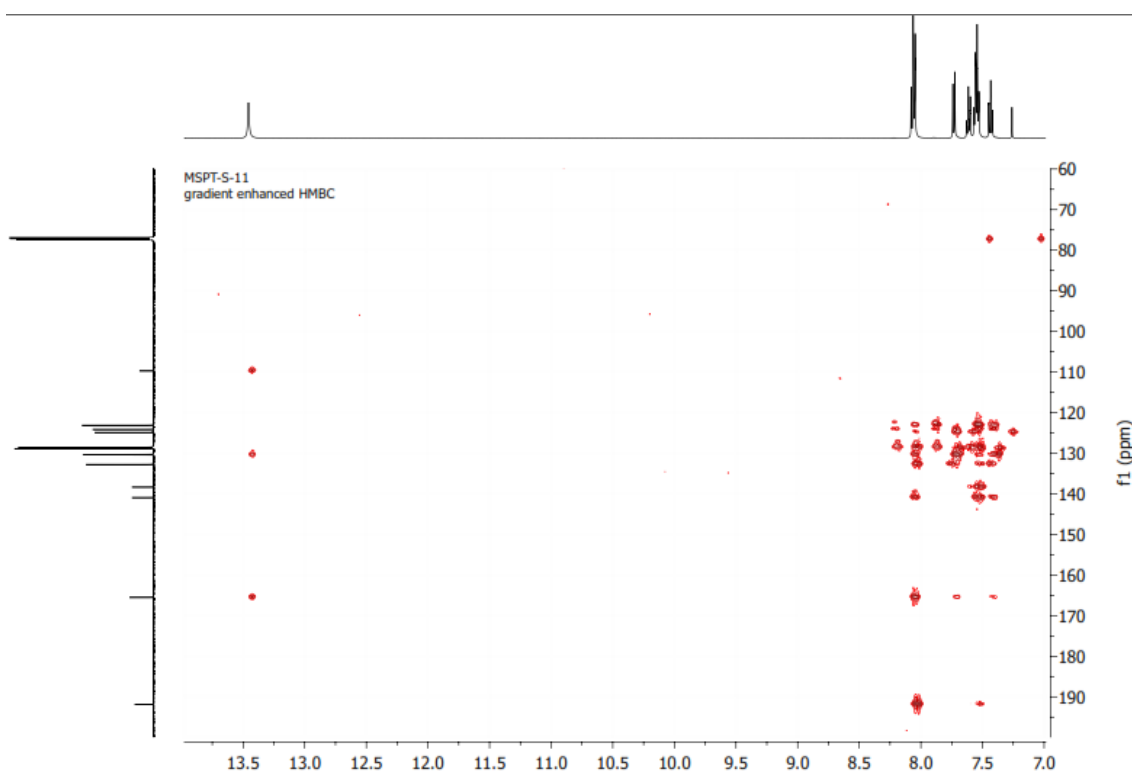


**Spektrum 52:**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC spektrum látky **20a**





**Spektrum 53:**  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMBC spektrum látky **20a**



**Spektrum 54:** DEPT, APT a  $^{13}\text{C}$  spektrum látky **20a**

