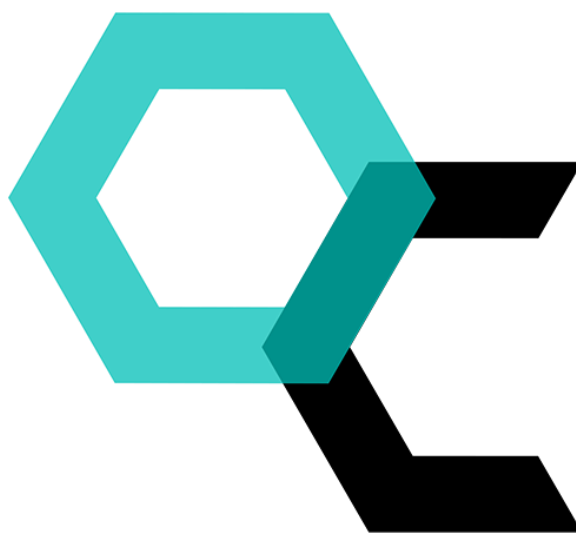


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické chemie



**Nový přístup k neolignanovému skeletu
odvozenému od licarinu A**

Bakalářská práce

Autor práce: Michaela Střížová
Studijní obor: Bioorganická chemie a chemická biologie
Vedoucí práce: doc. RNDr. Jiří Pospíšil, PhD.

Olomouc 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předloženou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením doc. RNDr. Jiřího Pospíšila, Ph.D., a že jsem použila parametrů, které cituji v seznamu použité literatury. 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 dne:

.....

Michaela Střížová

Poděkování:

Největší poděkování patří mému vedoucímu doc. RNDr. Jiřímu Pospíšilovi PhD. Děkuji ti Jirko za vše, za tvůj čas, ochotu, pomoc, trpělivost při mých častých dotazech a velmi užitečné rady. Také za tvé vtípky a velmi milý přístup.

Poděkování nesmí chybět ani Mgr. Danielu Chrenkovi a především Mgr. Jozefu Kristkovi a Mgr. Vladimíru Horkovi za velmi užitečné rady a nesmírnou pomoc i ochotu při mé experimentální práci, ale také všem ostatním členům skupiny, za příjemné chvíle v laboratoři a pomoc, kdykoli jsem potřebovala.

Další poděkování patří mé rodině, především rodičům, kteří mi po celou dobu studia byli nesmírnou oporou.

Za finanční podporu mého výzkumu děkuji svým rodičům a Interní Grantové Agentuře Univerzity Palackého v Olomouci (IGA_PrF_2022_022).

Bibliografické údaje

Jméno a příjmení autora:	Michaela Strížová
Název práce:	Nový přístup k neolignanovému skeletu odvozenému od licarinu A
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra Organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Školitel:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, PhD.
Rok obhajoby:	2022
Abstrakt:	Bakalářská práce popisuje neolignany jakožto sekundární metabolity vyšších rostlin a jejich biologické účinky zejména z pohledu možné anthelmintické aktivity. Experimentální část je potom zaměřena na vývoj nové Bronstedtovou kyselinou katalyzované metody umožňující potencionálně připravit nové strukturně zajímavé deriváty neolignanů odvozených od licarinu A.
Klíčová slova:	neolignany, fenylypropanoidy, přírodní látky, biologická aktivita, athelmintická aktivita, Bronstedtovy kyseliny, diazo sloučeniny
Počet stran:	97
Počet stran příloh:	17
Počet příloh:	1
Jazyk:	Čeština

Bibliographical identification

Author's first name and surname:	Michaela Strížová
Title:	A new synthetic approach to the licarin A based neolignan-like skeletons
Type of thesis:	Bachelor
Department:	Department of Organic chemistry, Faculty of Science, Palacký University
Advisor:	Assoc. prof. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.
The year of presentation:	2022
Abstract:	The bachelor thesis discusses the use of neolignans, secondary metabolites of higher plants, in term of their biological effects. Special attention is paid to anthelmintic activity. The experimental part is then focused on the development of a new Bronsted acid-catalyzed synthetic method that should pave the way to new structurally interesting derivatives of neolignans related to licarin A.
Key words:	neolignans, phenylpropanoids, natural substances, biological activity, anthelmintic activity, Bronsted acid catalysis, diazo compounds.
Number of pages:	97
Number of appendix pages:	17
Number of appendices:	1
Language:	Czech

Obsah

Seznam zkratk	8
1. Úvod	9
1.1 Cíle práce	10
2. Teoretická část	12
2.1 Neolignany – sekundární rostlinné metabolity fenyylpropanoidového typu	12
2.1.1 Základní charakteristika	12
2.1.2 Neolignany – strukturní pohled	14
2.1.3 Biosyntéza	16
2.1.4 Biologická aktivita	19
2.2 Anthelmintická a leishmaniální aktivita	26
2.2.1 Vybrané typy parazitů a anthelmintických léčiv	27
2.2.2 Neolignany a anthelmintická aktivita	36
2.3 Syntéza neolignanů – vybrané postupy	39
2.3.1 Oxidační dimerizace styrylfenolů zprostředkovaná dusičnanem ceričito-amonným – syntéza substituovaných (\pm)- <i>trans</i> -dihydrobenzofuranů	39
2.3.2 Příprava licarinu A pomocí enzymatických reakcí	41
2.3.3 <i>Vliv stereochemie u licarinu A na biologickou aktivitu</i>	41
2.4 Syntéza neolignanů v kontextu naší výzkumné skupiny	42
3. Výsledky a diskuze	45
3.1 Návrh reakčních partnerů	45
3.2 Příprava diazosloučenin	46
3.3 Klíčový krok – cyklizační reakce	48
3.4 Roskampova reakce	52
3.4.1 Syntéza aldehydů pro Roskampovu reakci	52
3.4.2 Roskampova reakce	53
4. Závěr	54
5. Experimentální část	55

5.1	Obecné informace	55
5.1.1	Vizualizační roztoky pro TLC	56
5.2	Syntéza diazosloučenin	56
5.2.1	Syntéza diazosloučenin 14b a 14c	56
5.2.2	Syntéza diazosloučenin 15	62
5.2.3	Syntéza ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (16).....	64
5.3	Cyklizace za katalýzy HBF_4 – tvorba produktu 25	65
5.4	Roskampova reakce.....	66
5.4.1	Syntéza aldehydů 28	66
5.5	Roskampova reakce.....	67
5.5.1	Protokol A – SnCl_2 katalýza	67
5.5.2	Protokol B – $\text{HBF}_4 \cdot \text{OEt}_2$ katalýza.....	68
5.5.3	Experimentální data jednotlivých produktů 29.....	68
6.	Použitá literatura.....	70
7.	Přílohy	80

Seznam zkratek

SM	sekundární metabolit	Et	ethyl
DAHPS	3-deoxy-D-arabino- heptulosonát-7-fosfát synthasa	Ac	acetyl
VL	viscerální leishmanióza – kala-azar	Bz	benzoyl
PKD	post-kala-azarová dermální leishmanióza	RT	laboratorní teplota
WHO	světová zdravotnická organizace	RVO	rotační vakuová odpadka
CL	kožní leishmanióza	TLC	tenkovrstvá chromatografie
DCL	difúzní kožní leishmanióza	CC	sloupcová chromatografie
DCM	dichlormethan	NMR	nukleární magnetická rezonance
DMF	dimethylformamid	HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ACN	acetonitril	PMA	fosfomolybdenová kyselina
Et ₃ N	trimethylamin	CAN	dusičnan ceričito-amonný
DBU	1,8- diazabicyklo(5.4.0)undec-7-en	HRP	horseradish peroxidase
p-ABSA	4- acetamidobenzensulfonyl azid	NHPI	N-Hydroxyphthalimide
Et ₂ O	diethylether	DTBP	di-tert-butyl peroxide
Hex	hexan	P-TSA	kyselina p- toluensulfonová
EtOAc	ethylacetát	TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran	CSA	kampfor sulfonová kyselina
MeOH	methanol		
AcOH	kyselina octová		
DMAP	4-dimethylaminopyridin		
Cl-OAc	acetyl chlorid		
Me	methyl		

1. Úvod

Rostliny hrají v našem životním prostředí extrémně důležitou roli, která se neomezuje pouze na produkci kyslíku či potravy. Rostliny totiž sami o sobě obsahují a produkují širokou škálu zajímavých složek od vitamínů, přes léčivé látky, až po látky umožňující přímo či nepřímo ovlivňovat náš organismus např. omamnými až psychotropními účinky.

Již od pravěku bylo těchto účinků využíváno při různých rituálech, při léčení anebo naopak některé rostliny byly využívány ve formě barviv pro nástěnné malby. Není proto s podivem, že již ve starověku začali vznikat první spisy o shrnující poznatky o léčivých účincích některých rostlin, kdy nejstarší dochovaný nalezený spis sahá do roku 3000 př. n. l.¹ Ve starověkém Řecku pak kolem roku 500 př.n.l. postupně došlo ke kodifikaci a „vědeckému“ přístupu k využití poznatků o léčivých účincích rostlin. Základy tohoto přístupu k využití přírodních látek jako léčiv, jejichž základy odvozujeme od školy vedené Pythagorasem a jež byly následně rozšířeny Aristotelem, začaly z pohledu vědy v průběhu středověku upadat a zůstávaly zachovávány pouze v lokálních formách (báby kořenářky) a ve větších ucelenějších formách (někdy také dále rozvíjeny) v některých kláštorech (např. sv. Hildegarda z Bingen, 11. stol.). Na základě těchto zachovalých poznatků pak nová generace alchymistů a lékařů jejichž hlavním protagonistou byl dozajista německo-švýcarský rodák Paracelsus (jméno přijal až za svého života, 16. stol) prosadili „chemické“ chápání léčiv a extraktů (Paracelsus je považován za prvního „chemika přírodních látek“)². Od té doby samozřejmě výzkum přírodních látek a jejich biologické aktivity nabral nový a intenzivní směr a vědci se mu věnují více a více. Navíc, vývoj nových analytických metod a postupů nám umožňuje v této oblasti posunovat hranice poznání stále více dopředu díky neustálému zvyšování citlivosti jednotlivých analytických metod.

Jak jsem již uvedla, hlavním zdrojem biologicky aktivních látek jsou vyšší rostliny, které jsou v dnešní době využívány jako zdroj nových přírodních látek ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu. Kromě primárních metabolitů (proteiny, lipidy nebo sacharidy) rostliny produkují i velkou plejádu nízkomolekulárních sekundárních metabolitů (SM)³. Přívlastek „sekundární“ v tomto kontextu nevyjadřuje žádné podřadné postavení z hlediska jejich biologické funkce⁴. Sekundární metabolity jsou

látky, jež sice nejsou nezbytné pro život rostlin, ale jejich produkce prudce zvyšuje šanci rostlin na přežití. Jinými slovy, sekundární metabolity jsou látky, jež u rostlin tvoří rozdíl mezi „živořením“ (primární metabolity) a „plnohodnotným“ životem (primární a sekundární metabolity). Sekundární metabolity totiž umožňují rostlinám se snadněji přizpůsobit při změnách klimatických podmínek, čelit herbivorům, přitahovat opylovače, či zvyšovat jejich rezistenci vůči mikroorganismům³. Strukturní rozmanitost SM je pak reakcí rostlin na širokou škálu abiotických a biotických oxidativních procesů, stresů, jimiž rostliny čelí každý den v jejich boji za přežití⁵.

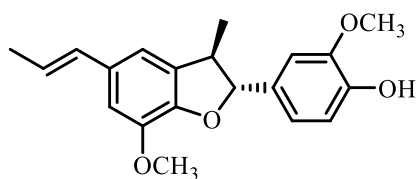
V mé bakalářské práci se zaměřuji na sekundární rostlinné metabolity s fenylypropanoidovým skeletem. Přesněji se jedná o neolignanové přírodní látky licarinem A a burchelinem. Z pohledu biologické aktivity se obecně neolignanové vyznačují značně širokou biologickou aktivitou. To je také jedním z důvodů, proč jsou v naší skupině tyto látky studovány. Naším hlavním cílem je vyvinout nové a rychlé syntetické metody, jež by nám umožnily snadnou přípravu těchto látek. Z pohledu biologické aktivity se pak zaměřujeme zejména na látky s anthelmintickou aktivitou. Tedy na látky s účinkem proti parazitům, a to jak v medicíně, tak i v zemědělství. Zejména se pak jedná o parazity rodu *Tylenchida*, neboli háďátka, které parazitují na hospodářských rostlinách. Vedle těchto se pak také zaměřujeme na parazity z rodu *Leishmania* jež vyvolávají onemocnění leishmání. Tato nemoc je endemická na pěti kontinentech a v 88 zemích světa. Nejvíce se vyskytuje v Asii, Africe, Evropě, a Severní a Jižní Americe. Ročně je odhadováno, že na zemi přibude 1,5 – 2 miliony nových případů nákazy⁶. Rezervoárem tohoto parazita⁷ a hlavním zdrojem nákazy⁸ pak je bodnutí samicemi flebotominových písečných mušek. Je třeba podotknout, že leishmání je i v dnešní době smrtelnou nemocí, která je ve své nejtěžší formě (cca 1/3 případů) neléčitelná.

1.1 Cíle práce

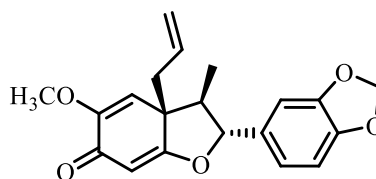
Cílem mé bakalářské práce je ověřit hypotézu, že neolignanové skelety podobné licarinu A lze připravit pomocí nového typu přesmyku založeném na kondenzaci stabilizovaných diazosloučenin a aromatických hydroxy aldehydů.

Detailněji je to následovně:

1. Vypracování literární rešerše na téma syntéza a biologická aktivita licarinu A a burchelinu (Obr. 1) a strukturně obdobných látek
2. Otestování nového typu cyklizačních reakcí mezi diazosloučeninami a hydroxyaldehydy
3. Otestování biologické aktivity připravených látek na jejich biologickou aktivitu
4. Charakterizace připravených látek pomocí dostupných fyzikálně-chemických metod



Licarin A



Burchelin

Obr. 1. Struktury neolignanů jež slouží jako hlavní inspirace pro mou bakalářskou práci

2. Teoretická část

2.1 Neolignany – sekundární rostlinné metabolity fenylypropanoidového typu

2.1.1 Základní charakteristika

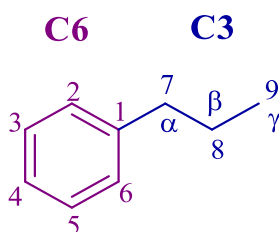
Neolignany patří z biochemického pohledu do skupiny fenylypropanoidů, fenolických látek, jež mají benzofuranový skelet. Z pohledu SM představují fenylypropanoidy největší podskupinu SM jež pokrývá téměř 20 % všech sekundárních metabolitů produkovaných rostlinami⁹. Tyto sloučeniny jsou v rámci rostlinné říše všudypřítomné a většina z nich je netoxická ale vykazuje zajímavé biologické vlastnosti. Typickými vlastnostmi těchto látek je jejich antibakteriální, antioxidační, antivirová nebo také anthelmintická aktivita¹⁰. Pouze sporadicky se pak vyskytuje protinádorová aktivita (např. phodophillotoxin).¹¹

V rostlinách se fenylypropanoidní podjednotky vyskytují ve formě monomerů (např. deriváty kyseliny skořicové, monolignoly a kumariny), dimerů (např. lignany, neolignany a flavonoidy) a polymerů (např. lignin). Základní monomery, fenylypropanoidy, jsou pak získány jako produkt Šikimátové biosyntetické cesty.¹² Následně jsou tyto monomery v rostlinných buňkách dále metabolizovány a transformovány na pozorované biologicky aktivní produkty. Typickou reakcí, mimo oxidace, je pak dimerizace fenylypropanoidů v přítomnosti peroxidáz či lakkáz.¹³ Výsledné produkty pak u rostlin zajišťují řadu fyziologických funkcí nezbytných pro růst a vývoj rostlin. Klíčová je pak jejich role např. při reakci na stres jež doprovází změna světla, nedostatek minerálů, dále pak umožňují efektivnější ochranu proti herbivorům, patogenům i UV záření. Zároveň také zajišťují interakce mezi rostlinou a prostředím (např. lákají opylovače pro zprostředkování rozmnožování).^{12 14}

Fenylypropanoidová dráha, tedy biosyntetická dráha, jež umožňuje přípravu SM fenylypropanoidového typu, je jednou z nejvíce zkoumaných biosyntetických cest u rostlin. Důvodem je její důležitá role při syntéze ligninu (fenylypropanoidový polymer) jež

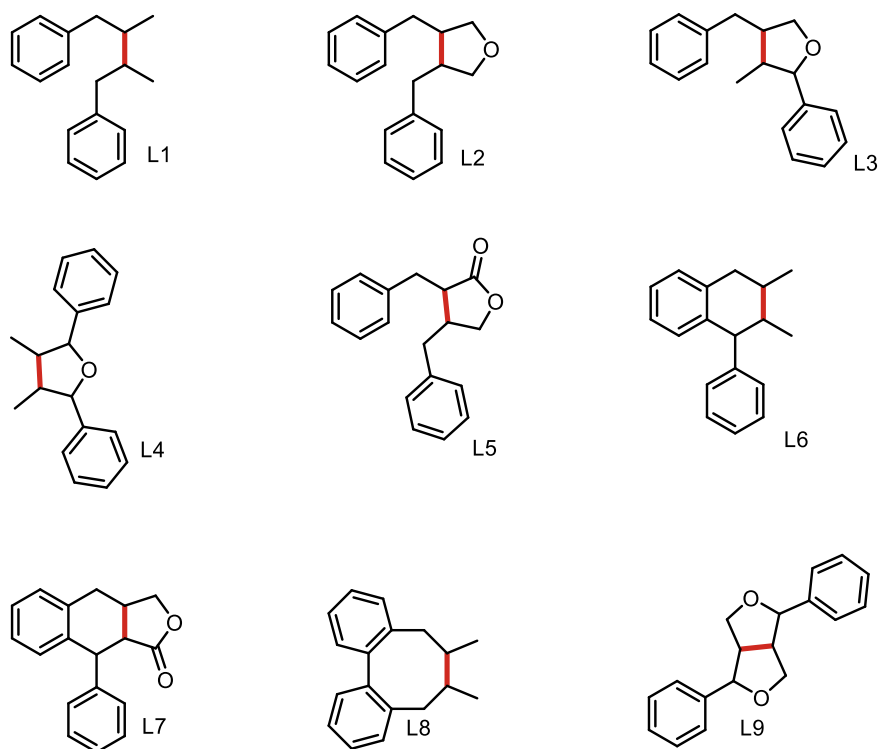
je zodpovědný za stabilitu stonku, a tedy celé rostliny. Fenylypropanoidová dráha, tedy sled enzymatických reakcí, jež umožňuje transformaci fenylalaninu na kyselinu hydroxyskořicovou, pak pravděpodobně evolučně vznikla přibližně před 450 miliony lety. Z pohledu rostliny jsou pak fenylypropanoidy užitečné pouze pokud jsou ve správný čas na správném místě. Jejich biosyntéza je pak v rostlinách přísně regulována a to nejen vlastní biosyntézou, ale také z pohledu různých distribučních systémů jako jsou membránové transporty jež kontrolují oběh meziproductů i konečných productů.¹⁴

Ze strukturního pohledu se fenylypropanoidy skládají z uhlíkatého skeletu jež se skládá z C6-C3 podjednotek¹⁵. Dle IUPAC názvosloví se pak základní C6 fenylypropanoidový skelet čísluje od 1 do 6 (od propylové jednotky přes benzenové jádro), a C3 propylová skupina pak od čísla 7 do čísla 9. V některé literatuře se také vžilo označení pro C3 propylenového ve stylu α , β a γ ().¹⁶



Obr. 2. Číslování základní fenylypropanoidové jednotky dle IUPAC.¹⁶

Dimerizací dvou fenylypropanoidových podjednotek na uhlících C8-C8' (C8' odpovídá druhému z obou dimerů)¹⁷ vznikají lignany (Obr. 3). Následnými post-dimerizačními transformacemi lignanů (typicky oxido-redukční reakce a methylační reakce) následně rozšiřují množství a strukturní diverzitu produkovaných látek. A samozřejmě ruku v ruce s tím i možné biologické vlastnosti syntetizovaných lignanů. Tato nejpočetnější skupina fenylypropanoidových dimerů (C8-C8') je pak doprovázena dalšími méně početnými skupinami dimerů, jako jsou norlignany nebo conioidy, lišícími se místy (atomy) na nichž dochází k vlastní dimerizaci.¹⁸ A právě do jedné z těchto skupin látek patří tzv. neolignany – třída látek s benzofuranovým skeletem jež jsou hlavní náplní mé bakalářské práce.

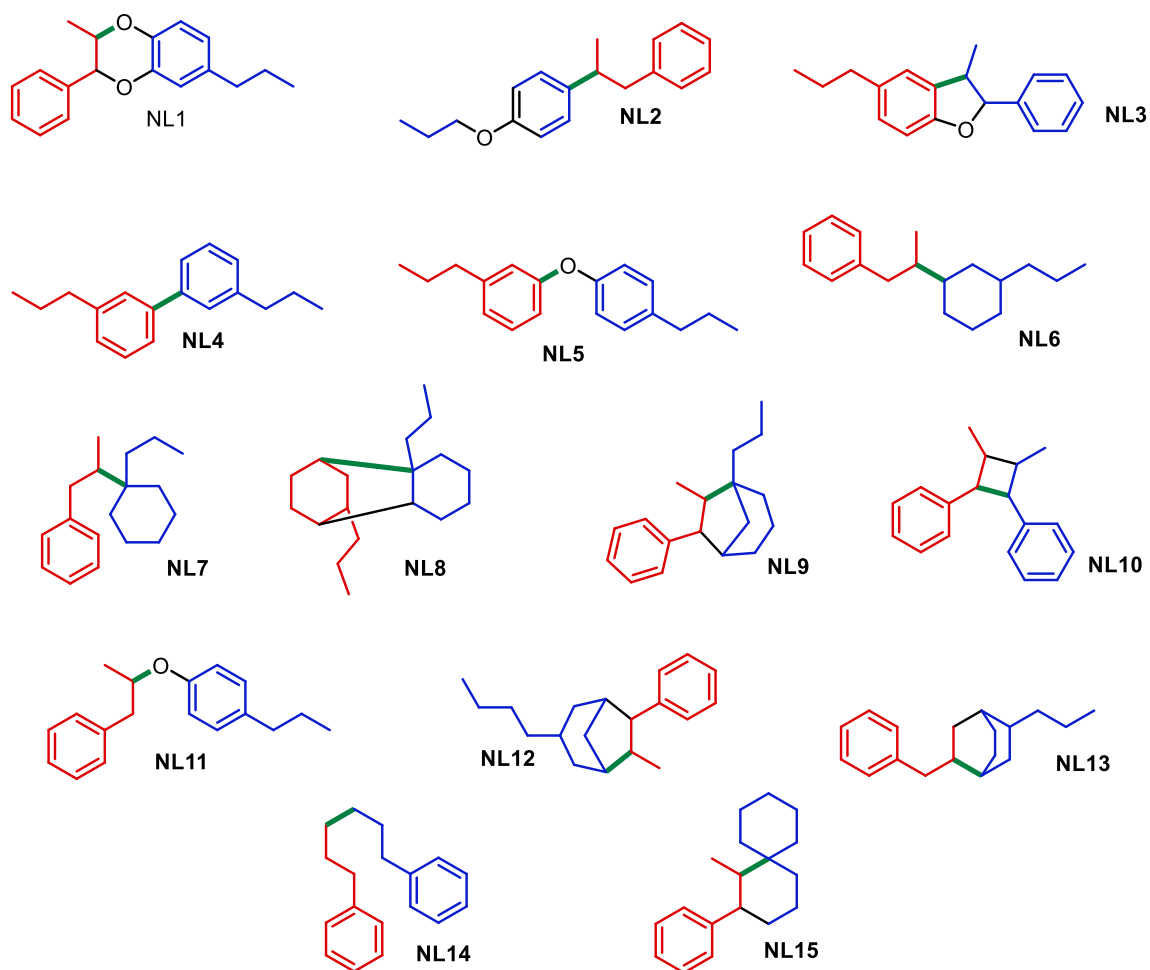


Obr. 3. Základní typy lignanových skeletů vytvořených dimerizací dvou fenylpropanoidových jednotek (nově vytvořená vazba vyznačena červeně).¹⁷

2.1.2 Neolignany – strukturní pohled

Ze strukturního pohledu jsou neolignany dimery fenylpropanoidů vznikající primárně pomocí CY-C(O)X vazby, kde X,Y jsou celá čísla a alespoň jedno z nich je různé od 8.¹⁶ Jak je ze zápisu patrné, konektivita také může vést přes atom kyslíku, pakliže je v původní molekule fenylpropanoidu přítomen. Všechny ostatní vazby, jež jsou následně vytvořeny spadají již do post-couplingových transformací. Jednotlivé třídy neolignanů jsou pak zahrnuty v Obr. 4.¹⁹ Prvotně radikálovým couplingem vytvořená vazba je pak znázorněna zeleně.

Tato obecná diverzita a širokost možností kombinací umožňuje, aby v přírodě vznikalo nepřeberné množství různých struktur neolignanového typu. Vzniklé strukturní motivy jsou mnohdy tak komplexní, že původní fenylpropanové jednotky lze v cílových izolovaných strukturách identifikovat mnohdy až detailním pátráním. Jeden by tedy mohl snadno nabýt milného dojmu, že fenylpropanoidů neolignanového typu se bude v přírodě nacházet mnohem více než dříve zmíněných lignanů. Překvapivě, opak je pravdou. Je pak tedy pouze otázkou, jestli opravdu neolignanů se nachází v rostlinách méně, anebo jestli k dnešnímu dni je v literatuře pouze méně neolignanů popsáno a charakterizováno.¹⁸ Ať je tomu tak či onak, ve své práci se budu zabývat pouze neolignany typu NL3 (Obr. 4).

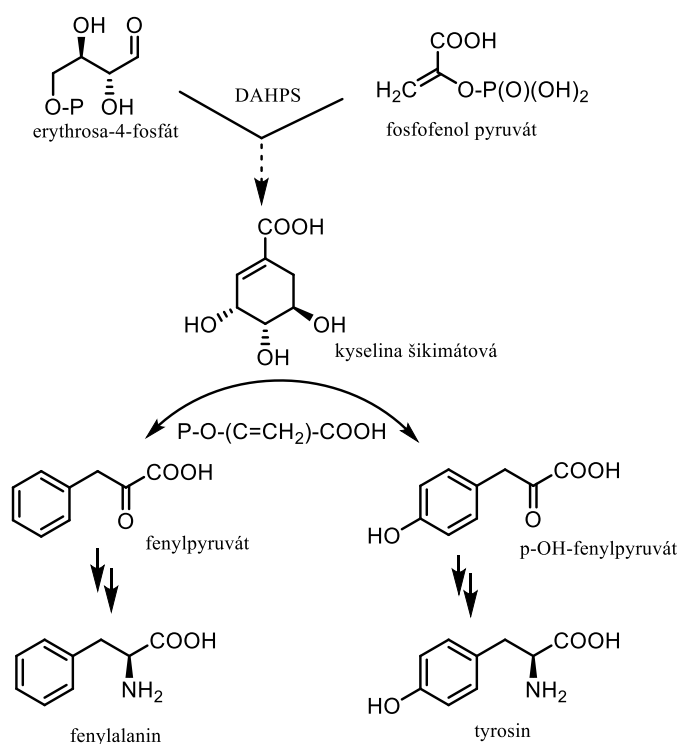


Obr. 4. Přehled strukturálních typů neolignanů. Jednotlivé dimery jsou zvýrazněny červeně a modře, primárně vytvořená vazba během radikálového couplingu pak zeleně.¹⁹

Vyšším stupněm dimerizací jsou pak oligomerizace a polymerace. Oba tyto stupně se při radikálových couplingech hojně vyskytují a zejména ten poslední z nich, polymerace, má pro vyšší rostliny velký význam. Touto reakcí totiž u vyšších rostlin vzniká lignin – „stužující“ jednotka rostlinných stébel a kmenů.^{18,20} Z funkčního hlediska je lignin naprosto nezbytnou stavební látkou neboť propůjčuje buněčným stěnám rostlin pevnost²¹, zvyšuje hydrofilnost buněčné stěny, což usnadňuje transport vody dovnitř xylemové tkáně¹⁹, a také brání degradaci polysacharidů ve stěně buněk, čímž působí jako hlavní obranná linie proti patogenům, hmyzu a dalším býložravcům²¹. Některé volné hydroxylové funkční skupiny na ligninu pak mohou být glykosylovány nebo vázány na celulózu čímž dávají za vznik lignocelulosovému komplexu. Komplexu jež je následně základním stavebním prvkem dřevitých rostlin a umožňuje stromům jejich mohutný vzrůst, pevnost, tvar a jiné charakteristické vlastnosti.¹⁸

2.1.3 Biosyntéza

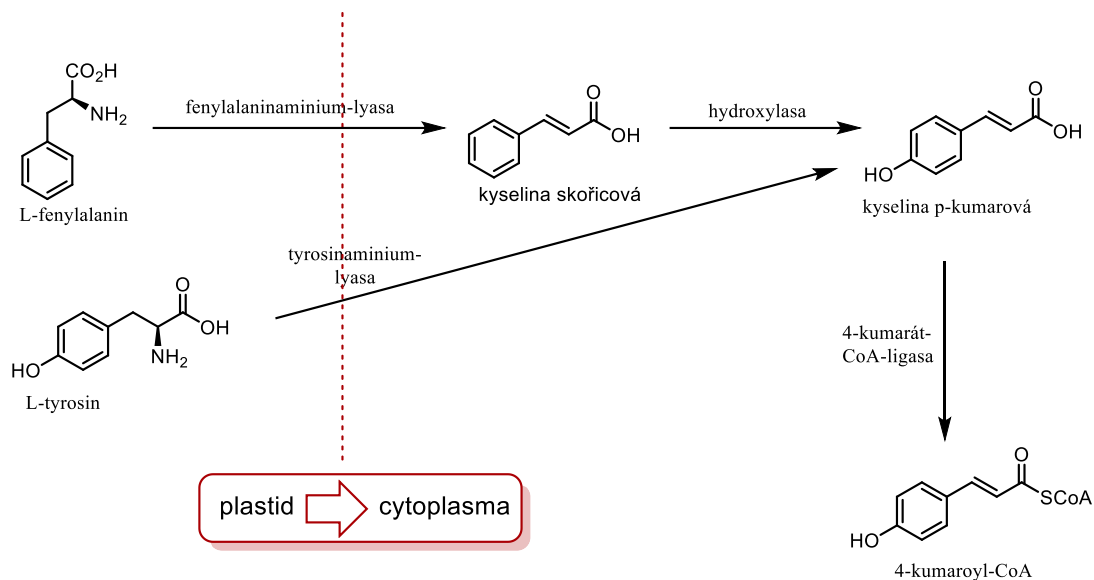
Jak již bylo zmíněno, fenylpropanoidní základní stavební jednotka generuje na základě pouze několika meziproductů Šikimátové dráhy obrovské množství strukturně rozdílných sekundárních metabolitů.¹⁴ Šikimátová dráha vychází z látek sacharidové povahy erythrosa-4-fosfátu a fosfoenolpyruvátu. Kondenzací tohoto intermediátu, jež je mediována pomocí enzymu 3-Deoxy-D-arabino-heptulosonát-7-fosfát syntáza (DAHPS) probíhá via 3-deoxy-D-arabino-heptulosonát-7-fosfát a následných dalších transformací vznik klíčového intermediátu této dráhy jež jí dal jméno.^{22,23} Kyselina šikimová, která je z hlediska biogeneze¹⁸ důležitým meziproductem při biosyntéze všech fenolických i dalších přírodních látek,²⁴ je pak zdrojem fenylalaninu a tyrosinu. Jinými slovy, vstupní branou při vzniku fenylpropanoidů a následně i jejich dimerů, lignanů a neolignanů (Obr. 5).¹⁴



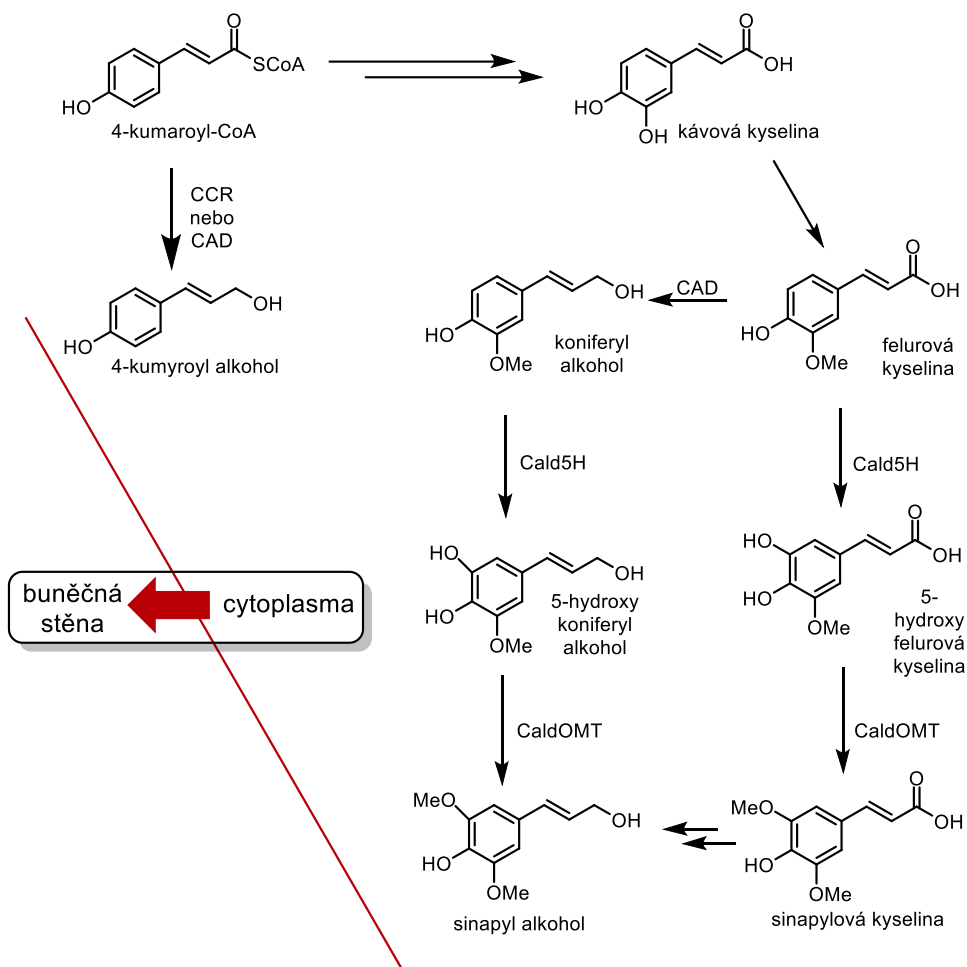
Obr. 5. Vznik fenylalaninu a tyrosinu²²

Takzvaná fenylpropanoidová dráha se skládá ze tří enzymatických kroků (Obr. 6). Jedná se o deaminaci z fenylalaninu, která je mediována pomocí enzymu fenylalaninaminium lyázy a transformuje fenylalanin na *trans*-kyselinu skořicovou. Tato transformace probíhá v cytoplasmě. Dále dochází k hydroxylaci kyseliny skořicové na 4-kumarát (kyselina *p*-kumarová). Tato látka může alternativně vzniknout také přímo z *L*-tyrosinu prostřednictvím odpovídající lyázy. Nakonec dochází ke konverzi

4-kumarátu na 4-kumaroyl-CoA pomocí ligázy. Nově vzniklý 4-kumaroyl-CoA je pak klíčovým meziproduktem při biosyntéze fenyylpropanoidů neb je přímým prekurzorem monolignolů, kumarínů, stilbenů ale také základním stavebním kamenem při biosyntéze flavonoidů (Obr. 7).¹⁴



Obr. 6. Fenyylpropanoidová dráha – tři klíčové enzymatické transformace dávající za vznik 4-kumaroyl-CoA z odpovídajících aminokyselin^{18,19}

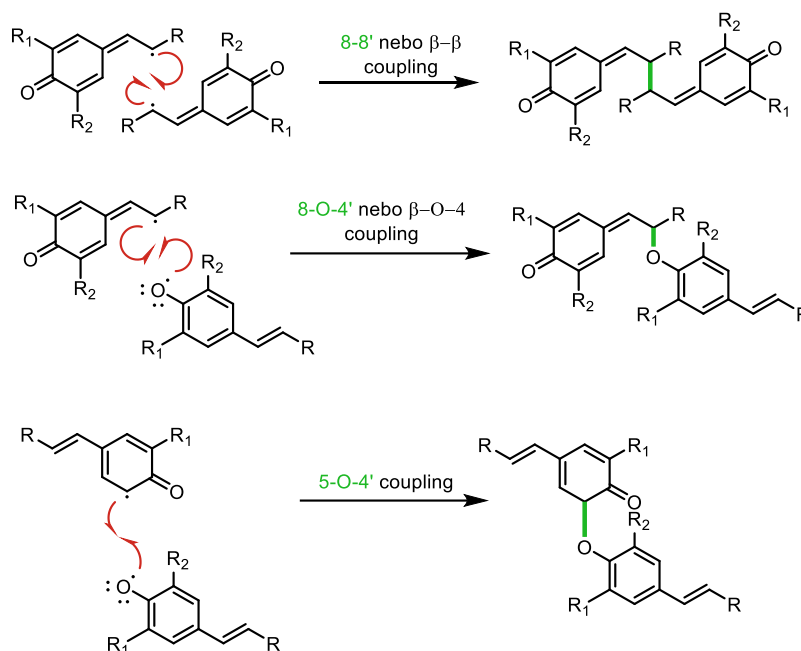


Obr. 7. Biosyntéza fenylpropanoidních monomerů – obecný zjednodušený přehled. (CCR = skořicoát-CoA reduktáza; CAD = skořicoát-lalkohol dehydrogenáza; koniferaldehyd-5-hydroxyláza = Cald5H; 5-hydroxykoniferylaldehyd Ó-methyltransferase = CaldOMT)¹⁹

Jak již bylo zmíněno monolignoly se obecně skládají ze dvou podjednotek C6 a C3. Jejich dimerizací a následnými post dimerizačními reakcemi pak vznikají dvě nové třídy látek, lignany a neolignany. Dimerizace těchto monomerů v rostlinách probíhá pomocí fenol oxidačního couplingu (POC), která je mediována pomocí peroxidáz resp. lakkáz. V rámci tohoto kroku vzniká mezi těmito jednotlivými monomery nová vazba C-C anebo C-O. Tři příklady takovýchto dimerizací jsou zachyceny na Obr. 8.¹⁶

Je jistě zajímavým faktem, že mnoho takto připravených lignanů a neolignanů se v rostlinách nachází v opticky aktivní formě. Tento fakt je pak o to zarážející, že vlastní dimerizační proces, který je z reakčního mechanismu radikálovým, negeneruje žádnou stereoselektivitu. Pozorovaná optická čistota látek je tak způsobena při následných cyklizačních reakcích pomocí tzv. „řídících proteinů“. Tento typ makromolekul je přítomen v rostlině a následně generuje chirální okolí při následné post-dimerizační cyklizaci. Tento typ proteinů pak může a nemusí být v dané rostlině a obecně je jeho

výskyt závislý na mnoha okolnostech jako jsou např. klimatické podmínky, nadmořská výška atp. To znamená, že i stejný typ rostlin může v závislosti na místě pěstění produkovat stejný např. lignan, ale s odlišným enantiomerním složením.



Obr. 8. Vybrané možnosti reakcí mezi dvěma fenoxidovými radikály v průběhu POC¹⁶

2.1.4 Biologická aktivita

Ve formě rostlinných extraktů a jiných typů remedů se lignany a neolignany vyskytují v léčivých přípravcích, tinkturách a extraktech již od samých počátků lidstva, a proto také již od nepaměti přitahují pozornost vědců a badatelů.¹⁹ Jejich značné rozšíření v rostlinné říši spojené s širokou paletou biologických účinků je pak jedním z hlavních důvodů proč tomu tak je.¹⁸ Pro rostliny však neolignany a lignany hrají nezanedbatelnou roli zejména při zprostředkovávání chemických interakcí (komunikaci) např. mezi rostlinami a houbami, rostlinami navzájem (např. při napadení stimulují okolní jedince k preventivnímu zvýšení produkce obranných látek) a rostlinami a hmyzem, ať již jde o přímou formu komunikace (lignany a neoligany jsou signálními molekulami) anebo nepřímou formu, kde tyto fenyylpropanoidní dimery komunikují zprostředkovaně ve spolupráci s jinými účinnými látkami.

Bylo popsáno, že rostliny mají více „smyslů“ – senzorů než lidé.²⁵ Rostliny tak „vidí“, „slyší“, „umí mluvit“, „vnímají pachy, vůně i chutě“ prostřednictvím buněk a respektive látek, které rostliny produkují nebo naopak přijímají z okolního prostředí. Na základě těchto podnětů, chemických přenašečů, pak v rámci buněk dochází ke změnám

elektrického napětí. Pozorování, jež bývá někdy dáváno do souvislosti s přenosem informací obdobné jaké je pozorováno v nervových buňkách zvířat a lidí. Jako příklad tohoto chování by pak mohla sloužit rostlina naholist štítnaný (*Podophyllum peltatum*), která obsahuje jeden z nejznámějších, a také jeden z mála toxických lignanů - podophyllotoxin. Dle pozorování vědci došli k závěru, že tato rostlina „umí vyhodnocovat“ podněty z okolí a s velkou pravděpodobností se umí na jejich základě rozhodnout i „několik let dopředu“ o budoucím růstu nových listů, a termínu kvetení²⁵.

Pomineme-li však tento interakci i tak lignany a neolignany vykazují velmi rozmanité spektrum účinků na vyšší organismy, a to včetně člověka¹⁸. Všechny biologické funkce známých fenylpropanoidních dimerů však nejsou prozatím plně popsány, i když již teď je jisté, že jejich spektrum je značně rozsáhlé a pokrývá širokou plejádu aktivit od protirakovinných, insekticidních, estrogenických, antivirových, antihypersensitivních, antioxidačních až po anthelmintické.¹⁹ Tyto pozorování mají pak za následek zvýšený zájem farmaceutických firem o zkoumání biologických aktivit látek izolovaných z mnohých doposud neprozkoumaných rostlin.¹⁸ Je totiž smutnou pravdou, že dopodrobna popsán byl pouze malý zlomek všech doposud izolovaných a charakterizovaných neolignanů a lignanů.

2.1.4.1 Vybraní zástupci neolignanů a jejich biologické účinky

Doposud bylo detekováno a alespoň částečně charakterizováno přes 8 000 fenylpropanoidů. Pouze několik z nich však bylo plně popsáno včetně určení jejich absolutní 3D architektury a profilu jejich biologické aktivity.⁵ V této kapitole se zaměřím na některé vybrané typy neolignanů jež byly v nedávné době izolovány, popsány, jejich struktura byla plně charakterizována a jejich biologická aktivita byla alespoň zevrubně studována.

Licarin A

Tento neolignan byl izolován z několika druhů rostlin jako je např. *Aristolochia taliscana* (Obr. 9)²⁶, z listů *Nectandra opozitifolia* (rod *Lauraceae*)²⁷ anebo z *Myristica fragrans*²⁸.

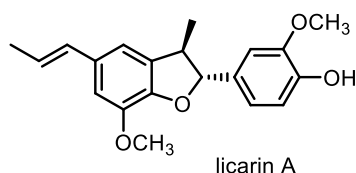


Obr. 9. *Aristolochia taliscana*²⁹

Aristolochia taliscana je považována za jednu z nejprimitivnějších krytosemenných rostlin a zahrnuje sedm rodů bylin, podrostů, keřů a lián rozmístěných po celém světě v různých klimatických oblastech, zejména v tropech, subtropích a některých částech severního mírného pásu. Rostliny typu *Aristolochia* jsou velmi populární v čínské tradiční medicíně a jejím extraktům je připisována spousta účinků od antispazmodika, anthelmintika až po antidotu při uštknutí hady³⁰.

Obdobná situace je zaznamenána také v tradiční mexické medicíně, kdy výtažky z *Aristolochia taliscana* byly běžně používány při léčbě kašle a uštknutí hady. Detailní studie pak ukázala, že licarin A vykazuje zajímavou antimykobakteriální aktivitu (minimálními inhibiční koncentrace od 3,12 po 12,5 $\mu\text{g} / \text{mL}$ proti kmenu *M. tuberculosis*). Obdobně licarin A inhiboval i pět dalších kmenů netuberkulózních mykobakterií.^{26,28}

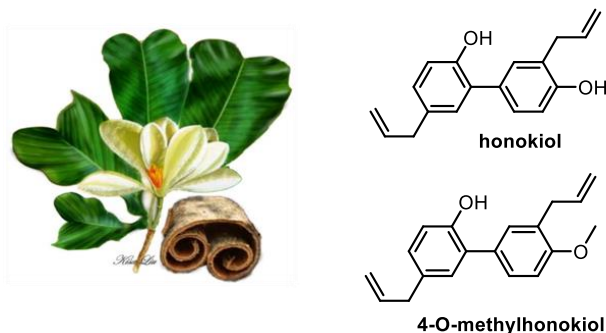
Studie, jež pak využívala extraktu z listů *Nectandra oppositifolia* (Obr. 10), kde licarin A tvoří hlavní detekovaný metabolit, se pak zaměřila na antiparazitickou aktivitu tohoto extraktu proti dospělým červům *Schistosoma mansoni*. Ukázalo se, že již při jediné dávce 400 mg/kg tohoto extraktu dojde k částečnému vyléčení infikovaných myši (snížení zátěže červi o 50 %).²⁷



Obr. 10. *Nectandra oppositifolia*³¹ a struktura licarinu A.

Honokiol

Honokiol (Obr. 11) je vysoce funkcionalizovaný neolignanový přírodní produkt obsahující fenolické a alkenylové sloučeniny³². Byl izolovaný z několika druhů rostlin *Magnolia* především z kůry *Magnoliae cortex* (kůra šácholanu lékařského).



Obr. 11. *Magnolia officinalis*³³

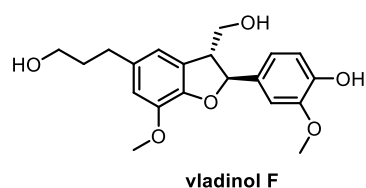
Extrakt těchto rostlin se využívá v tradiční čínské a japonské fytoterapii při potížích s dušností, s nachlazením provázených kašlem a horečkou, a dále se využívá také jako antipyretikum, anthelmintikum nebo diuretikum.

Honokiol je netoxický¹⁷. Podle dosavadních poznatků se zdá, že má především neuroprotektivní aktivitu⁵. Působí ale také protizánětlivě a protirakovinně. Ve druhém případě bylo prokázáno, že hlavní modus operandi honokoiolu je blokáce signálních procesů v nádorových buňkách s poškozenou funkcí proteinu p53 čímž způsobuje rychlou buněčnou smrt takovýchto buněk. Zároveň má neuroprotektivní účinky při ischemicko-reperfusionním poškození mozku (jedná se o antioxidační a antiradikálové působení, protizánětlivý účinek a protektivní vliv na neurony)¹⁷. Dále je předpokládáno, že ochranné vlastnosti jsou i výsledkem inhibice produkce prostaglandinu E2 v mozku⁵.

Účinné jsou i některé deriváty např. 4-O-methylhonokiol, který je potenciálně využitelný při léčbě nemocí spojených se změnou metabolismu β -amyloidu. Předpokládá se, že vyvolává oxidativní stres a způsobuje záněty v mozku. Tedy procesy jež hrají důležitou roli při patogenezech jako je Alzheimerova choroba, kognitivní porucha, ztráta paměti nebo amyloidáza.^{5,17}

Vladinol F

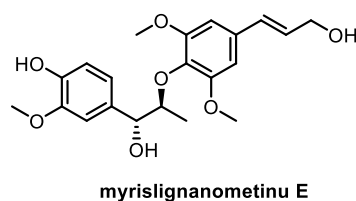
Sloučenina s neolignanovým skeletem, jež byla izolována z kůry stromu *Dryobalanops oblongifolia* () ve formě acetonového/etherického extraktu, prokázala svoji aktivitu proti *Plasmodium falciparum* ($IC_{50} = 3,51$ g/ml). Tyto výsledky tak naznačují, že vladinol F by mohl být vhodným antimalaretikem.³⁴



Obr. 12. *Dryobalanops oblongifolia*³⁵ a vladinol F.³⁴

Myrislignanometin E

Tento neolignan byl extrahovaný z rostliny *Myristica fragrans*¹⁹ (Obr. 13) a spolu s licarinem B (extrahován z téže rostliny) vykazoval nejvyšší aktivitu ze zkoumaných látek proti bakterii *Streptococcus pneumoniae*, která je hlavní příčinou meningitidy a zápalu plic. Bylo zjištěno, že sloučeniny působí prostřednictvím inhibice sialidázy čímž zabráňují bakteriálnímu rozmnožování.¹⁹



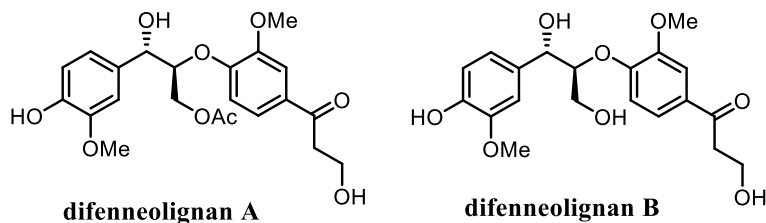
Obr. 13. *Myristica fragrans*³⁶ a struktura myrislignanometinu E¹⁹

Léčebné využití těchto extraktů je v aurvédském léčebném systému (léčebný systém pocházející z Indie³⁷) předpovídá další zajímavé vlastnosti extraktů těchto rostlin a proto nyní dochází k dalšímu zkoumání chemických složek *M. fragrans* v kontextu hypolipidemických a hypocholesterolemických účinků, antimikrobiálních, antidepressivních, afrodiziakálních, paměťových, antioxidačních a hepatoprotektivních vlastností³⁸.

Difenneolignan A a B

Látky izolované z rostliny *Illicium difengpi* (Obr. 14), neboli badyániku, pocházející z Číny. Jedná se o toxický keř, který roste převážně v horských oblastech. Kmenová kůra byla v tradiční čínské medicíně používána k léčbě revmatické artritidy. Předchozí studie odhalily, že tato rostlina je bohatá na neolignany a jejich glykosidy³⁹

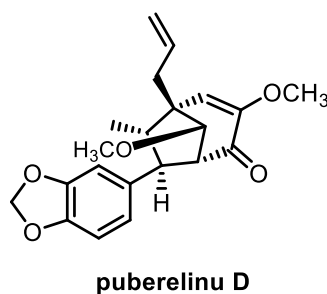
přičemž látky difenneolignan A a B vykazovali slibné anti-HIV-1 účinky⁵ (difenneolignan A; anti-HIV-1 aktivita ($EC_{50} = 2,26$ g/ml, $CC_{50} = 215,8$ g/ml, a TI (terapeutický index) = 95,5); difenneolignan B; anti-HIV-1 aktivita ($EC_{50} = 2,16$ g/ml, $CC_{50} = 247,2$ g/ml a TI = 114,4).³⁹



Obr. 14. *Illicium difengpi*⁴⁰ a struktura difenneolignanu A a B³⁹

Puberulin D

Tento neolignan byl spolu se dvěma dalšími látkami (–)-acuminatin, (–)-denudatin B izolovány z *Piper Betle* (Obr. 15).¹⁹



Obr. 15. *Piper betle*⁴¹ a struktura puberelinu D¹⁹

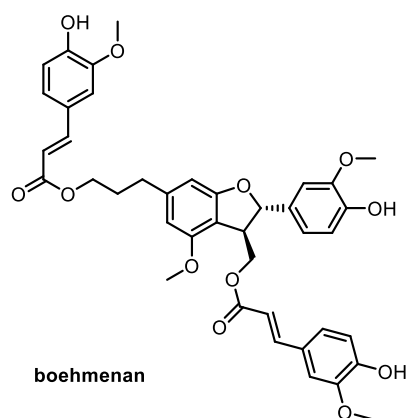
Tato rostlina je využívána v tradičním lidovém léčitelství pro její antiseptické a antibiotické účinky, pomáhá při onemocnění žaludečních a horních cest dýchacích, a také jako stimulant.⁴¹

Puberulin D a další neolignany obsažené v rostlině jsou odpovědný za účinek proti bakteriím jako je *S. aureus*. Bylo prokázáno, že inhibují efluxní pumpu, která je odpovědná za vznik rezistence bakterií.¹⁹

Boehmenan

Tento neolignan byl izolován ze sušeného stonku rostliny *Clemantis armandii* (Obr. 16).⁴² V Číně, kde se tato rostlina nejčastěji vyskytuje, je sušený stoněk *C. armandii* v lékopisu uveden jako populární bylinný lék s názvem „Chuan-Mu-Tong“ a dlouhodobě se používá při léčbě zánětlivých stavů, jako je revmatismus, infekce močových cest atd.

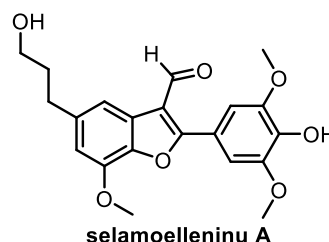
Boehmenan pak vykazuje silné cytotoxické účinky proti mnoha rakovinovým buněčným liniím. Působí proti buňkám lidského epidermoidního karcinomu a bylo zjištěno, že inhibuje buněčný růst blokováním dráhy kinázy p70S6/S6.⁴³



Obr. 16. *Clematis arandifolia*⁴⁴ a struktura *boehmenanu*⁴⁵

Selamoellenin A

Neolignan, který se vyskytuje v rostlině *Selaginella moellendorffii* hieron (), rostlině jež je převážně rozšířena v Číně. Extrakty této rostliny se pak využívají k léčbě kapavky, žloutenky, hepatitidy a krvácení.⁴⁶

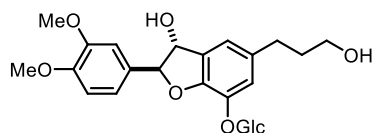


Obr. 17. *Selaginella moellendorffii* hieron⁴⁷ a struktura *selamoelleninu A*⁴⁸

Bylo zjištěno, že Selamoellenin A navíc vykazuje silné protektivní účinky proti poškození endotelů u lidských umbilikálních žil, jež je indukované vysokým obsahem glukózy. Toto pozorování naznačuje, že tato látka může hrát důležitou roli při léčbě vaskulární endoteliální dysfunkce, hlavního patofyziologického procesu spojených s vaskulárními komplikacemi u diabetických pacientů.¹⁹

Izodonosid IV

Jedná se o neolignan izolovaný z rostliny *Isodon japonicas*¹⁹ (Obr. 18), trvalku která je značně rozšířena v Číně a Japonsku. Nadzemní části *I. japonicus* se využívají v tradiční čínské a japonské medicíně k léčbě GIT poruch, nádorů a zánětlivých onemocnění.⁴⁹



isodonosid IV

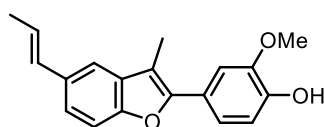
Glc = glukóza

Obr. 18. *Isodon japonicas*⁵⁰ a struktura isodonosidu IV⁴⁹

U isodonosid IV byla zjištěna především ochranná funkce, zejména z pohledu prevence oxidačního stresu a poškození DNA. Některé výzkumy také naznačují, že tento neolignan také může hrát klíčovou roli při prevenci karcinomu plic.^{19,49}

Eupomatenoid-5

Tento neolignan byl nalezen u několika druhů *Piper* jako jsou *P. regnellii*, *P. solmsianum*, *P. decurrens*, *P. abutiloides*, *P. kadsurai* a *P. rivinoides*. U těchto extraktů obsahujících tyto látky pak byly zjištěny účinky proti rakovinovým buňkám. Následné testy samotného eupomatenoid-5 následně vykazali vysokou míru apoptózy a je pozoruhodné, že experimenty *in vivo* s použitím Ehrlichova modelu solidního tumoru u myši prokázaly, že podávání této látky snížilo objem tumoru o 30 % bez jakýchkoliv pozorovatelných nežádoucích účinků u myši.⁵¹



eupomatenoid-5

Obr. 19. Struktura eupomatenoidu-5⁵¹

2.2 Anthelmintická a leishmaniální aktivita

Anthelmintická aktivita, tedy aktivita proti parazitům (červům) je velice důležitou biologickou aktivitou zkoumanou v dnešních dnech. Cílení parazité jsou totiž nebezpeční ne pouze pro nás lidi a pro hospodářské zvířata, ale hlavně pro kulturní plodiny jako jsou například brambory.

Na zemi existuje velké množství parazitických druhů, které jsou méně či více nebezpečné. V mnohých případech na ně známe léčbu a v mnohých případech ne. Mnohdy se také stává, že jednotlivé parazitické kmeny se stávají vůči nejpoužívanějším

léčebným metodám a látkám rezistentní.⁵ Na následujících několika stránkách bych chtěla čtenáři mé bakalářské práce přiblížit některé z těchto nebezpečných parazitů a léčebné prostředky jež jsou využívány při jejich léčbě.

2.2.1 Vybrané typy parazitů a anthelmintických léčiv

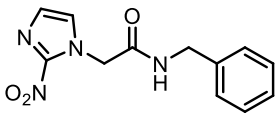
Střevní parazitární hlístice – nematody

Tito parazité i v současnosti představují problém v humánní i veterinární medicíně. Parazitární hlístice u lidí spadají do dvou širokých kategorií: střevní hlístice a tkáňové (krevní) hlístice. Střevní parazitické hlístice, které jsou nejčastějšími a nejtrvalejšími parazitickými hlísticemi u lidí, infikují přibližně dvě miliardy lidí na celém světě, zejména pak v rozvojových zemích. Tyto parazitické infekce mohou neblaze působit na lidský růst, výživu, poznávání, pracovní produktivitu, a i při těhotenství. Většina střevních parazitických infekcí se vyskytuje u dětí. Bylo zjištěno, že infekce nepřímo způsobují poškozením imunitního systému z důvodu značné zátěže, jež mu způsobují. Důsledkem této zátěže je pak zvýšená náchylnosti napadeného organismu napadení dalšími parazity, jež způsobují např. malárii, HIV/AIDS či tuberkulózu.

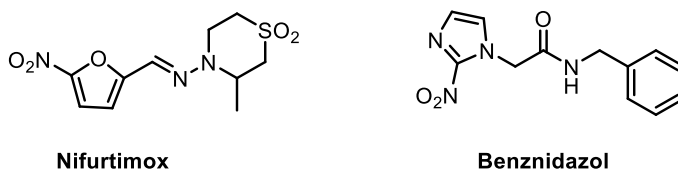
Kromě toho mají gastrointestinální hlístice velký hospodářský dopad i na hospodářská zvířata (včetně ovcí, koz, skotu, koní a prasat). Roční ekonomické ztráty způsobené parazitickými hlísticemi u hospodářských zvířat se odhadují celosvětově na desítky miliardy dolarů.

Počet anthelmintických léků je i přes vážný dopad jednotlivých parazitických nemocí na zdraví velmi malý. K léčbě střevních hlístic se používají čtyři hlavní anthelmintika: pyrantel pamoát, albendazol, mebendazol a levamisol. Bohužel však tyto léčiva již nejsou velmi účinná díky vzrůstající a všudypřítomné rezistenci. Na rozdíl od humánních anthelmintik byly ve veterinární medicíně v posledních několika letech komercializovány tři nové anthelmintika: emodepsid, monepantel a derquantel. Odolnost i vůči těmto látkám se však celosvětově velmi rychle rozšířila a jejich celosvětový impakt na chov hospodářských zvířat je tak relativně malý. Toto jen ukazuje na obecný trend nástupu rezistence na jednotlivé látky. Například, rezistence vůči mebendazolu se objevila pouhé tři roky po jeho uvedení na trh. A to je důvod proč je potřeba nových anthelmintických léků, zejména pak těch jejichž účinnost je spojena s doposud nepopsanými mechanismy účinku.⁵²

Trypanosoma cruzi

Tento parazit je původcem tzv. Chagasovy choroby, která jenom v Jižní Americe ročně nakazí více než 18 milionů lidí a usmrtí více než 50 000 lidí. Dosud nebyla nalezena žádná účinná léčba proti této nemoci. Nifurtimox a benznidazol () látky, které se používají k léčbě akutního stádia Chagasovy choroby, jsou sice účinné vůči nemoci, ale pacienti je velmi špatně snášejí (špatná tolerance) a jejich užití je spojené s častými vedlejšími účinky, jež jsou způsobeny jejich inherentní toxicitou.

Bylo prokázáno, že některé neolignany inhibují infekci *T. cruzi*. Touto studií byl zkoumán licarin A a burchelin jako alternativní chemoterapeutické činidlo proti Chagasově chorobě.⁵³



Obr. 20. Struktura léčiv používaných vůči Chagasově nemoci.⁵⁴

Hád'átka

Mezi významné a v praxi bohužel často přehlížené škůdce polních plodin patří fytoparazitická hád'átka (zástupci kmene *Nematoda* – hlístice). Hlavním důvodem tohoto nepříznivého stavu je náročná diagnostika těchto živočichů.⁵⁵ Hád'átka jsou drobní (do 1,5 mm) červi, kteří poškozují rostlinná pletiva jednak sáním (parazitismus) a jednak fyto toxickými produkty své látkové přeměny.⁵⁶ Hád'átka pak parazitují na zemědělských i okrasných rostlinách. Jde především o brambory a cukrovou řepu, oves, chmel, cibuloviny ale i jinou kořenovou zeleninu v závislosti na druhu hád'átka. Mezi hospodářsky významné cizopasně druhy na území ČR patří: hád'átko bramborové (Obr. 21) (*Globodera rostochiensis*, *Globodera pallida* a *Globodera ellingtonae*), hád'átko řepné (*Heterodera schachtii*), hád'átko ovesné (*Heterodera avenae*), hád'átko severní (*Meloidogyne hapla*) a některé další druhy rodu *Meloidogyne*.^{57 58}

Poškození rostlin se projevuje zaostáváním v růstu bez jiných patrných vnějších příčin, žloutnutím a odumíráním. Na kořenech se vyskytují cysty, nádory či tmavé léze⁵⁸. Míra vyvinutí symptomů u napadených rostlin závisí na druhu hád'átka a jeho populační hustotě, na druhu rostliny (tzn. odrůdě a stupni rezistence nebo tolerance vůči patogenům), typu a druhu půdy a půdních podmínkách (teplota, vlhkost apod.). Z důvodu poklesu turgoru vzhledem k nedostatečnému přísunu vody a živin rostlina chradne a vadne. Napadené hlízy bramboru mohou mít na povrchu (nad vyvíjejícími se hád'átky)

malé vyvýšené zduřeniny. Pletivo pod pokožkou je v okolí přisedlé samice zahnědlé, nekrotické. Jak samice dozrává a umírá, její tělo, tvořící vak s vajíčkem, postupně hnědne a tmavne. Poškozené rostliny potom snižují tržní hodnotu brambor v důsledku vnitřní nekrózy a vnější tvorby hálek na hlízách.⁵⁹



Obr. 21. Hád'átka bramborové a jimi poškozený brambor⁶⁰

U okrasných rostlin může být nepřímou ochranou množení pouze ve zdravém materiálu a dodržování čistoty substrátu; tzn. propaření substrátu⁵⁸, u zemědělských rostlin je to mnohem složitější, protože chemická ochrana se z důvodu omezené činnosti, negativního vlivu na životní prostředí a finanční náročnost používá jen výjimečně. Jediným preventivním opatřením je použití rezistentních odrůd rostlin, zaměření se na zamezení přenosu hád'átka kontaminovanou půdou, závlahovou vodu nebo částmi rostlin. Dále pomáhá preventivní střídání plodin a pravidelné obdělávání půdy s vysokými dávkami organických hnojiv. Lze tedy konstatovat, že v případě fytoparazitických hád'átek se jedná o škůdce, jejichž význam pro praxi by neměl být podceňován.⁶¹

Leishmania

Jedná se o bičíkaté prvoky, kteří spadají do třídy *Kinetoplastea*, čeledi *Trypanosomidae* a rodu *Leishmania*.^{62,63} Z pohledu biologického cyklu, *leishmania* je parazit jenž neustále mění dva hostitele, aby umožnil plně rozvinout svůj cyklus. Prvním hostitelem je obratlovec a druhým bezobratlý organismus, ve většině případů krev sající dvoukřídlý hmyz – samice písečných mušek⁸. Na základě druhu písečné mušky se leishmanióza dělí na leishmaniózu starého světa (Asie, severní Afrika a jižní Evropa), kdy přenašečem jsou písečné mušky rodu *Flebotomus* (Obr. 22), kteří žijí spíše v stepních oblastech než v lesích; a na leishmaniózu Nového světa, kde přenašečem je rod mušek *Lutzomyia* (Obr. 22). Tyto druhy se nacházejí především v lesních oblastech ve Střední a Jižní Americe. U druhů *Lutzomyia* se vyskytují široké morfologické variace u přenašečů jež jsou násobně větší, než u druhů starého světa.⁶⁴



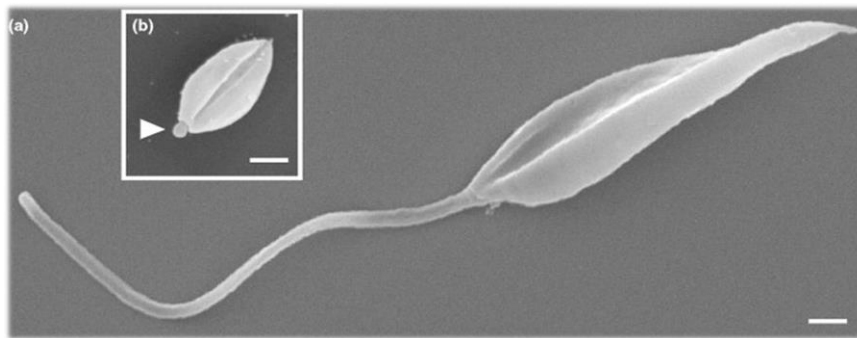
Flebotomus papatasi



Lutzomyia

Obr. 22. *Flebotomus papatasi*⁶⁵ a *Lutzomyia*⁶⁶

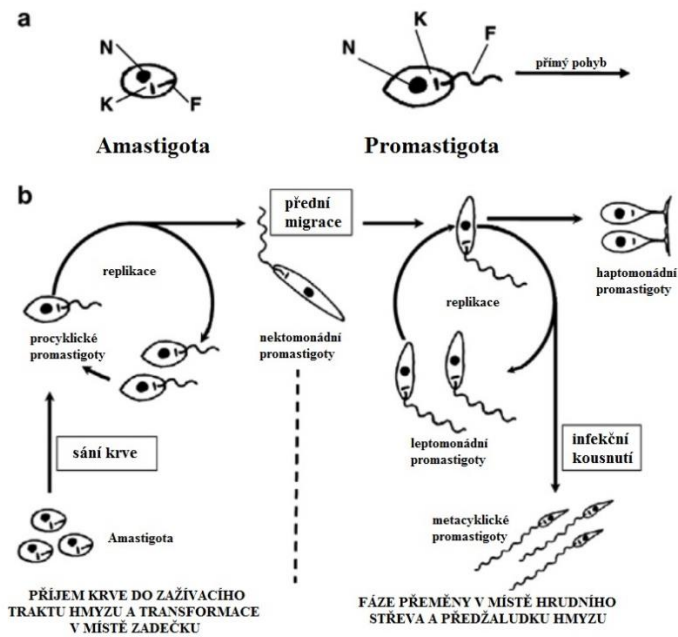
V životním cyklu Leishmanií (obrázek 30.) se střídá mezi prodlouženými formami promastiogtů (obrázek 29.), kteří jsou přizpůsobeni pro extracelulární existenci ve střevě písečných mušek, a poté vejcovitými amastigoty (obrázek 29.) specializovanými na intracelulární přežití uvnitř savčího makrofága.^{67 6}



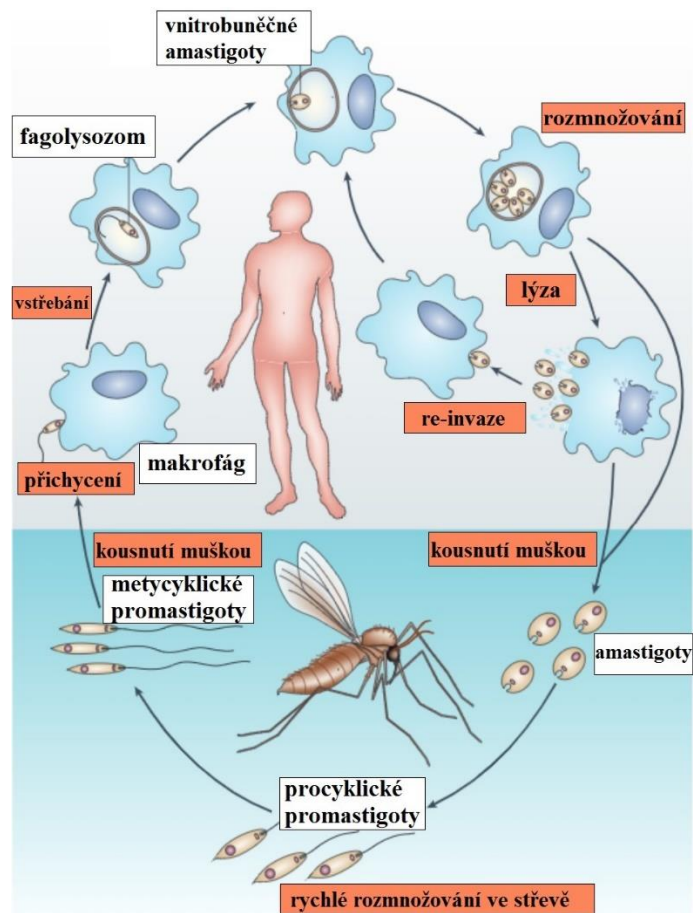
Obr. 23. Vzhled promastigotu (a) a amastigotu (b)⁶⁸

Životní cyklus začíná u písečných mušek rodu *Phlebotomus* a *Lutzomia*, kteří získají parazita ve formě amastigoty od infikovaného savce (hlodavci nebo psi) anebo také od infikovaných lidí. Amastigoty se transformují několika vývojovými stádii ve střevě mušek na promastigoty (Obr. 24), kteří jsou poté přenášeny na hostitele.⁶

V savčím hostiteli jsou promastigoty rychle pohlceny fagocytárními buňkami v místě infekce a v nich podlehnou přeměně na amastigoty⁶. Velikost promastiogtů i amastiogtů je v řádech μm .⁶⁹



Obr. 24. Vývoj druhů *Leishmania* ve vektoru písečných mušek. a) Morfologie amastigotů a promastigotů. Každá forma má jádro (N), kinetoplast (K) a bičík (F). Kinetoplast je mitochondriální genom. Bičík v amastigotech je vnitřní a nefunkční; u promastigotů bičík vyběhává z těla buňky, bije a táhne organismus v uvedeném směru, vycházející z předního konce buňky. (b) Vývojová sekvence pěti hlavních forem promastigotů. (převzato z ref.⁸).

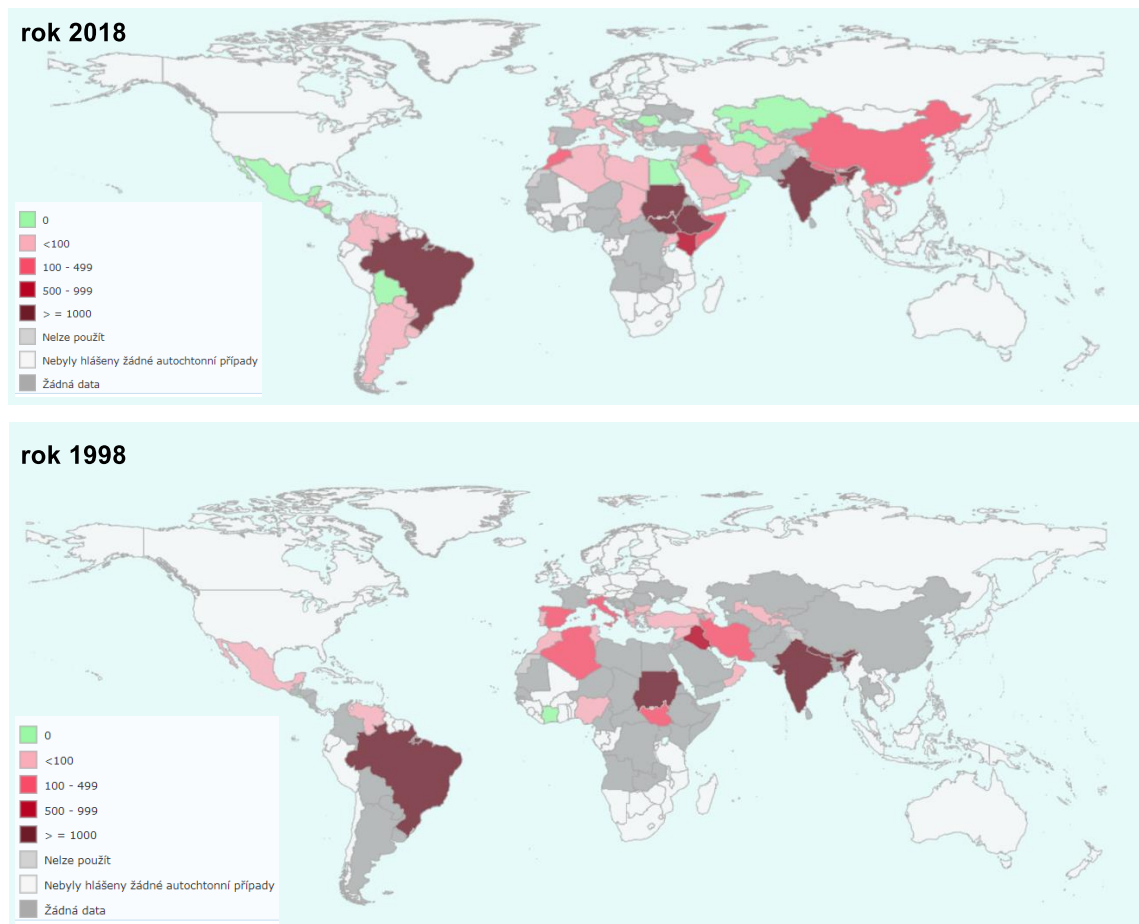


Obr. 25. Schématický náčrt životního cyklu *Leishmanie* (převzato a upraveno z ref.⁷⁰)

Podle Světové zdravotnické organizace (WHO) se leishmanióza (soubor onemocnění způsobených prvky rodu *leishmania*) řadí mezi 10 nejvíce zanedbávaných onemocnění na světě a zároveň je po malárii nejvýznamnějším onemocněním přenášeným krev sajícím hmyzem. Nemoc je dělena na 3 hlavní formy onemocnění a to viscerální, kožní a mukokutánní. Onemocnění způsobené druhy Starého světa (*Leishmania major* nebo *Leishmania tropica*), anebo druhy Nového světa (*Leishmania mexicana*) obecně způsobují lokalizované kožní léze, které se obecně samy hojí. Po této nákaze pak existuje celoživotní imunita. Infekce druhy jako *Leishmania braziliensis*, *Leishmania panamensis* nebo *Leishmania guyanensis* se projevuje nejprve kožními lézemi, které se pak mohou šířit anebo metastázovat a způsobovat mukokutánní léze, které jsou často rezistentní na léčbu anebo vyléčení. Infekce způsobená prvky *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum* (nebo *Leishmania chagasi* pro Nový svět) může vést k chronickému šíření viscerálního onemocnění – tzv. viscerální leishmanióze (VL; také známá jako kala-azar) a post-kala-azarová dermální leishmanióze (PKDL).^{71 70}

Podle WHO je nemoc často spojena s podvýživou, vysídlením populace, špatným bydlením a slabým imunitním systémem, může však postihnout i lidi zdravé. Leishmanióza souvisí také se změnami životního prostředí, jako odlesňování, budování přehrad a zavlažovací schémata, ale také s oteplováním klimatu. Podle WHO se odhaduje, že ročně se vyskytne 700 000 až 1 milion nových případů.⁷²

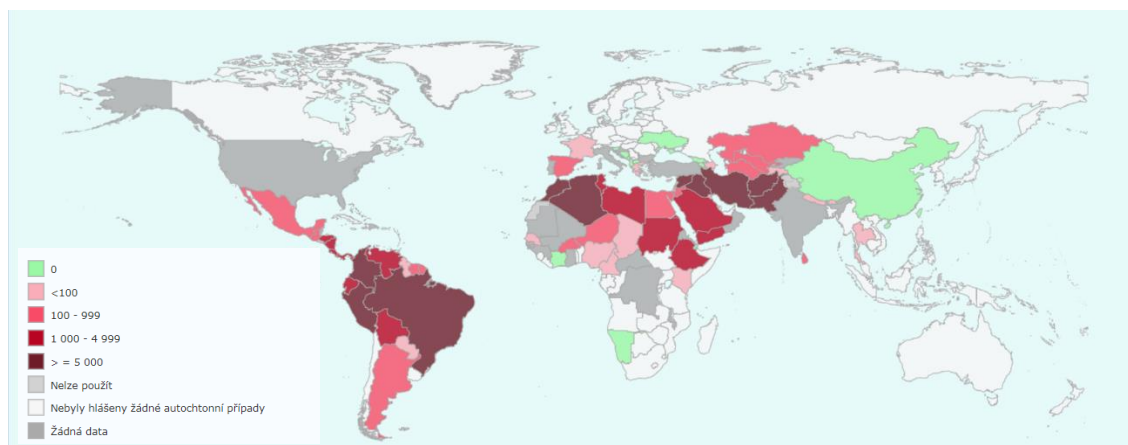
Viscerální forma (VL) známá také jako kala-azar, je způsobena dvěma leishmaniálními druhy, *L. donovani* nebo *L. infantum*, v závislosti na zeměpisné oblasti výskytu. *L. infantum* infikuje převážně děti a osoby s oslabenou imunitou, zatímco *L. donovani* infikuje všechny věkové skupiny. Je odhadováno, že každý rok přibude 500 000 nových případů a více než 50 000 úmrtí. tento počet mezi parazitickými nemocemi překonává v úmrtnosti pouze malárie. Oba údaje jsou pouze přibližné, protože VL často není zavčas rozpoznána anebo nahlášena. Nejvíce se VL vyskytuje v následujících šesti zemích (Bangladéš, Indie, Nepál, Súdán, Etiopie a Brazílie), kde případy nákazy činí více než 90 % ze všech detekovaných onemocnění. Inkubační doba je obvykle dva až šest měsíců. Během tohoto období se u pacientů projevují příznaky jako horečka, únava, slabost, ztráta chuti k jídlu a hubnutí. Vlivem parazitické invaze do krve a retikulo-endoteliálního systému dojde poté k zvětšení lymfatických uzlin, sleziny a jater.⁷⁰



Obr. 26. Porovnání stavů hlášených případů viscerální leishmaniózy v roce 1998 a v roce 2018 (zdroj WHO).

Kožní forma (CL) se získává kousnutím infikovanou písečnou muškou a obvykle se tak vyskytuje na nepokrytých částech těla, tedy především na obličeji, krku a pažích. Leishmanióza Nového světa se pak běžně projevuje osamělou primární lézí, zatímco u onemocnění Starého světa se často vyskytuje více primárních lézí.

Po průměrné inkubační době 1 týdne až 3 měsíců se pak objeví červená papule, která se zvětší na plak nebo uzlík. Z léze se tak často vyvine vřed, který je dobře ohraničen fialovým okrajem.⁷³ Vředy spontánně ustupují mezi 1-36 měsíci, v závislosti na pacientovi a infikujícím organismu. I když CL není oproti VL smrtelná zanechává po zahojení jizvy, které mohou vést k nepříjemné sociální a fyzické zátěži pro pacienty.^{5,74,75}



Obr. 27. Stav hlášených případů kožní leishmaniózy z roku 2017 (zdroj WHO)

Mukokutánní leishmanióza způsobená *L. braziliensis* je charakterizována slizničními lézemi v oblasti nosu, úst nebo hrtanu. Vyvíjí se měsíce po uzdravení primárních kožních lézí. Po slizniční tkáni následuje ulcerace a perforace septa. Je to také nefatální onemocnění, ale destrukce tkání může mít velmi silný sociální dopad na pacienta.⁵ Více než 90% případů mukokutánní leishmaniózy se vyskytuje v Bolívii, Brazílii, Etiopii a Peru.⁷⁶

Difúzní kožní leishmanióza (DCL) je anergická varianta CL, ve které se šíří léze, připomínající lepromatózní malomocenství. Infekci může způsobit *Leishmania aethiopica* anebo *Leishmania amazonensis*. Onemocnění obvykle začíná počátečními primárními lézemi a poté se šíří tak, aby zahrnovalo co největší oblasti kůže. Léze jsou neulcerativní uzliny plné parazitů, kteří jsou často rozptýleni po končetinách, hýždích a obličeji. Na rozdíl od lepry nedochází k nervovému poškození. Nemoc nenapadá vnitřní orgány, ale reaguje jen částečně na léčbu a často recidivuje, a stává se tak chronickou.“

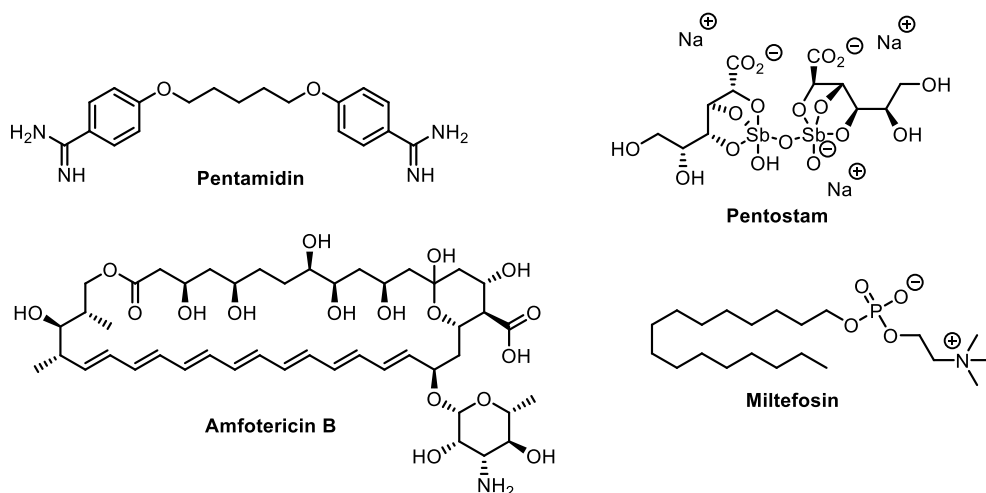
Nutno zmínit Post-kala-azarovou dermální leishmaniózu (PKDL), která je obvykle pokračováním viscerální leishmaniózy způsobené *L. donovani*. Je endemická ve východní Africe a Indii. Africká varianta PKDL se vyskytuje až u 50 % pacientů, kteří se zotavují z VL. PKDL se projevuje vyrážkou papírově zbarvených papulí na tvářích, bradě, uších a předloktí. Většina lézí je spontánně zahojena během několika měsíců. Na rozdíl od africké PKDL se indická PKDL vyskytuje u 20 % pacientů přibližně 1–2 roky po uzdravení. Prvním projevem PKDL jsou obvykle malé makuly, které se zvětšují a vytvářejí velké nepravidelné skvrny. Makuly se vyvíjejí dále ve formě nažloutlých uzlíků, které nejčastěji postihují obličej, ušní boltce, trup a genitálie a méně často se vyskytují na ruce a nohy. Případy PKDL je obtížné léčit, a vyžadují delší a systémovou léčbu.⁷⁵

Přenos leishmaniálních parazitů závisí na vektorech (muškách), a proto by jeho šíření mělo být v zásadě „kontrolovatelné“. Bohužel hlavní ohniska této nemoci jsou v nejchudších oblastech světa. Podvýživa a nedostatek odpovídající zdravotní péče a dalších nezákladnějších komodit (čistá voda, drogy, ochranné sítě atd.) jsou tedy hlavními důvody, proč dodnes selhávají všechny preventivní akce a programy na kontrolu šíření.⁵

V současné době neexistuje vhodná vakcína ani chemoterapie pro lidi, která by vedla k úplné eradikaci leishmaniózy. Na trhu jsou dostupné 4 registrované vakcíny určené pro psy (Leishmune®, Leish-tec®, Canileish® a LetiFend®), kteří jsou významnými přirozenými rezervoárovými hostiteli v mnoha oblastech.

Použití léků je nedostatečné především kvůli narůstající rezistenci, jejich vysoké ceně a nežádoucím účinkům, jako jsou srdeční arytmie, hepatitida či dysfunkce ledvin. Nejstarší používanou léčbou jsou antimonové sloučeniny (pentosam, glucantim, Obr. 28) s předpokládaným účinkem založeným na interferenci komplexu antimonu s enzymy podílejícími se na oxidaci mastných kyselin a glykolýze. Bohužel byla u těchto preparátů pětimocných antimonů zjištěna vzrůstající rezistence, která byla objevená i u pentamidinu, který účinkuje proti DNA parazita. Navíc je jejich velkým problémem jejich vysoká toxicita. Používání amfotericinu B, který zvyšuje propustnost parazitické membrány a cílí na ergosterol na povrchu promastigotů a amastigotů čímž zvyšuje membránovou propustnost a příliv iontů do parazita a jeho explozi. Podání látky však vyžaduje hospitalizaci a překážkou je i jeho vysoká cena a toxicita vyskytující se při dlouhodobém podávání. Dalším registrovaným preparátem proti kožní i viscerální leishmanióze je miltefosin, který byl původně uveden na trh jako protinádorový prostředek. Jeho výhodou je perorální způsob podání a celkově krátkodobé užívání, nicméně zároveň byla popsána vznikající rezistence proti tomuto léku a navíc byly zaznamenány u tohoto léku teratogenní účinky.^{5 77}

Naléhavost vývoje nových antileishmaniálních léčiv neustále vzrůstá z důvodu rozšíření leishmaniózy do Evropy, Číny a jižního USA. Rozšiřování souvisí s globálními změnami klimatu (oteplování) a socioekonomickou migrací lidí z oblastí s endemickým výskytem leishmaniózy. Kromě toho se zvyšuje rezistence na léčiva první volby, a proto se dramaticky zvyšuje potřeba hledat nové způsoby léčby. Z tohoto důvodu si myslíme, že cílené hledání nových látek s leishmaticidními účinky založenými na přírodních látkách (například na fenylpropanoidových skeletech) je velice důležité.⁵

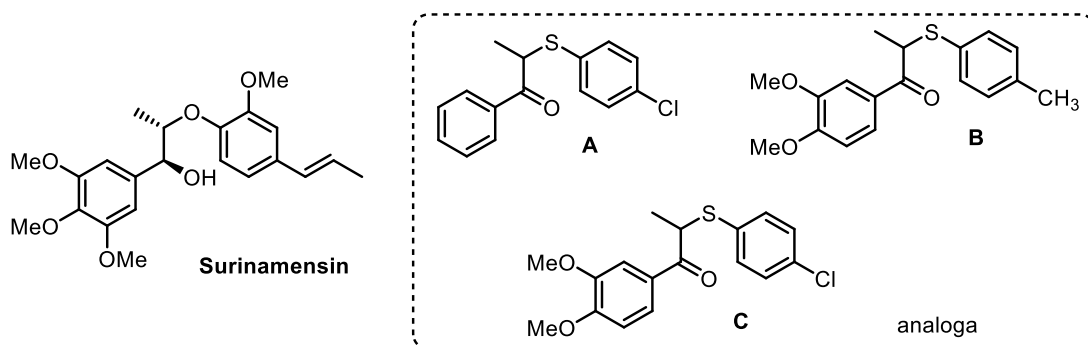


Obr. 28. Struktury léčiv využívaných pro léčbu leishmaniózy.

2.2.2 Neolignany a anthelmintická aktivita

V důsledku nedávných klimatických změn jsou parazitární nemoci, jako je trypanosomiáza, malárie a leishmanióza, ale i rozšíření různých nematodů (hádčátek) stále častější a tím pádem pro lidstvo nebezpečnější. Se zvyšující se rezistencí stávajících léčiv a léčivých postupů dochází k hledání nových biologicky aktivních látek s podobnými biologickými efekty, které by ale využívali jiných mechanismů účinku. Mnoho rostlinných sekundárních metabolitů je tedy testováno na jejich leishmaicidní a anthelmintickou aktivitu. A neolignany pak vykazují v této oblasti velice slibné výsledky.⁵

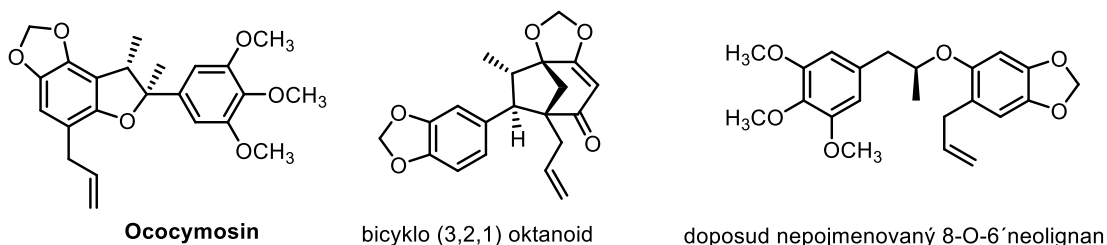
Jako příklad bych uvedla neolignany vyskytující se v *Myristicaceae* a dalších primitivních rostlinách a obecně mají širokou škálu biologických účinků, včetně antifungálních, protizánětlivých, neuroleptických, antihepatotoxických, protirakovinných a anthelmintických aktivit. V rámci série studií byly popsány například neolignany izolované z listů *Virola surinamensis* (*Myristicaceae*). Endemicky tyto rostliny pochází z amazonského deštného pralesa v Brazílii a obsahují širokou paletu fenylypropanoidních látek. Jednou z takovýchto látek je např. **surinamensin** (Obr. 29), který vykazuje anti-schistozomální aktivitu. Bylo prokázáno, že tato látka je účinná *in vitro* proti promastigotům *Leishmania donovani* ($IC_{50} = 50\mu M$), ale při testování proti amastigotům *L. donovani* v myším modelu bohužel nevykazovala žádnou aktivitu. Syntetické analogy surinamensinu označené **A**, **B**, **C** se sulfidovým můstkem byly aktivní jak proti amastigotům tak i promastigotům a vykazovaly i větší selektivitu (snížení zátěže/poškození u jater testovaných myší).⁷⁸



Obr. 29. Struktura surinamensinu a jeho syntetických derivátů⁷⁸

V další studii byly testovány neolignany izolované ze stromu z rodu *Ocotea* (*Lauraceae*). V daném rodě je asi 350 druhů stromů, které se primárně vyskytují v tropických a teplých oblastech Ameriky, Afriky a na Madagaskaru. Obecně stromy rodu *Ocotea* jsou bohatými zdroji neolignanů, a to včetně takových jako jsou bicyklo (3,2,1) oktanoidní neolignany **ocobullenony**, **iso-ocobullenony**, **sibyllenony**, **ocophyllaly A** a **B** a také benzofuranový skelet obsahující neolignany různé biologické aktivity.

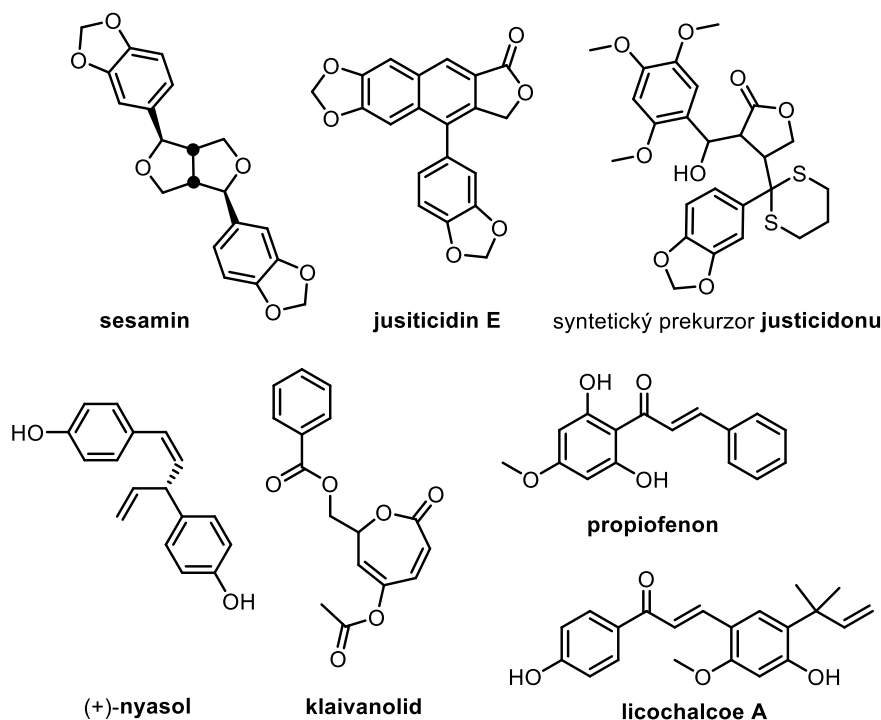
Nový, doposud nepojmenovaný 8-O-6'-neolignan, dihydrobenzofuranoid (**ococymosin**) a bicyklo [3.2.1] oktanoid (Obr. 30) vykazovali *in vitro* aktivitu proti *Aedes aegypti* (komár tropický) s úmrtností $\geq 80\%$ při 4 mg/ml. **Ococymosin** byla neaktivnější antiparazitární látka mezi testovanými látkami s $IC_{50} = 0,45\mu M$ vůči DD2 z *Plasmodium falciparum* (zimnička tropická).⁷⁹



Obr. 30 Testované látky izolované ze stromů rodu *Ocotea* vykazující aktivitu vůči zimničce a jejímu přenašeči.⁷⁹

Mnoho neolignanů a lignanů bylo také na jejich anthelmintickou aktivitu. Např. neolignan **nyasol** (Obr. 31), izolovaný z kořenů rostliny *Asparagus africanus*, (dřevnatý keř z Keni, který je po staletí využíván v tradiční medicíně k léčbě splenomegalie – klinického projevu infekcí leishmaniózy, nebo při reinfekce malárií), vykazoval antimalarickou aktivitu a účinně inhiboval růst promastigotů *Leishmania major* s $IC_{50} = 12\mu M$, a mírně inhiboval schizonty *Plasmodium falciparum* s $IC_{50} = 49\mu M$. Navíc při nízkých koncentracích pouze nepatrně ovlivňoval proliferaci lidských lymfocytů. **Muzanzagenin**, neolignan také izolovaný z kořene rostliny *Asparagus africanus*,

vykazoval *in vitro* aktivitu ($IC_{50} = 70 \mu M$) vůči promastigotům leishmanie a proti schizontům čtyř různých kmenů malárie ($IC_{50} = 16, 163, 23$ a $16 \mu M$)^{5,80}. Přírodní lignany **justicidin E** a **sesamin** (Obr. 31) izolovány z *Justicia hyssopifolia* nebyli aktivní, zatímco diastereoizomerní směs syntetického prekurzoru justicidonu vykazoval ze všech testovaných sloučenin nejvyšší leishmanicidní aktivitu $IC_{50} = 99,27 \mu M$ (*Leishmania braziliensis*) a $IC_{50} = 181,75 \mu M$ (*L. amazonensis*).⁸¹



Obr. 31. Struktury lignanů a neolignanů s e zajímavými leishmaicidními a antimalaritickými vlastnostmi^{5,81}

Klaivanolid pak vykazoval *in vitro* antileishmantickou aktivitu vůči *L. donovani* citlivé na **amfotericin B** ($IC_{50} = 1,75 \mu M$) a i pro kmeny rezistentní na **amfotericin B** ($IC_{50} = 3,12 \mu M$). Neolignan **propiofenon** pak prokázal významnou antileishmantickou aktivitu vůči *L. donovani* (*in vivo*) se schopností snížit jaterní amastigoty o 42 % po 5 dnech. Naopak **licochalcone A** prokázal selektivní schopnost inhibice fumarát-reduktázy a dalších enzymů dýchacího řetězce parazita. Jeho mechanismus účinku tedy je s velkou pravděpodobností inhibice parazitního mitochondriálního dýchání.⁵

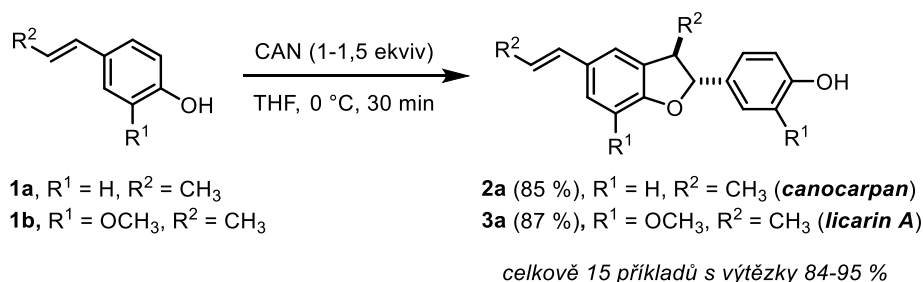
Výše uvedené neolignany a lignany jsou jen řízenou namátkou vybrané neolignany s cílenou anthelmintickou a leishmaicidní aktivitou jež v poslední době zaujali mnoho výzkumných skupin ve světě. Lze tedy předpokládat, že nové typy látek spojené s přírodními látkami neolignanového typu budou v budoucnu představeny jako nové léky a léčivé formy. v boji proti parazitům.

2.3 Syntéza neolignanů – vybrané postupy

V této kapitole bych čtenáře mé bakalářské práce chtěla seznámit s několika metodami umožňující syntézu licarinu A a jeho derivátů. Ve druhé části se pak zaměřuji na metody využívané anebo vyvinuté v naší skupině v předcházejících letech.

2.3.1 Oxidační dimerizace styrylfenolů zprostředkovaná dusičnanem ceričito-amonným – syntéza substituovaných (\pm)-*trans*-dihydrobenzofuranů

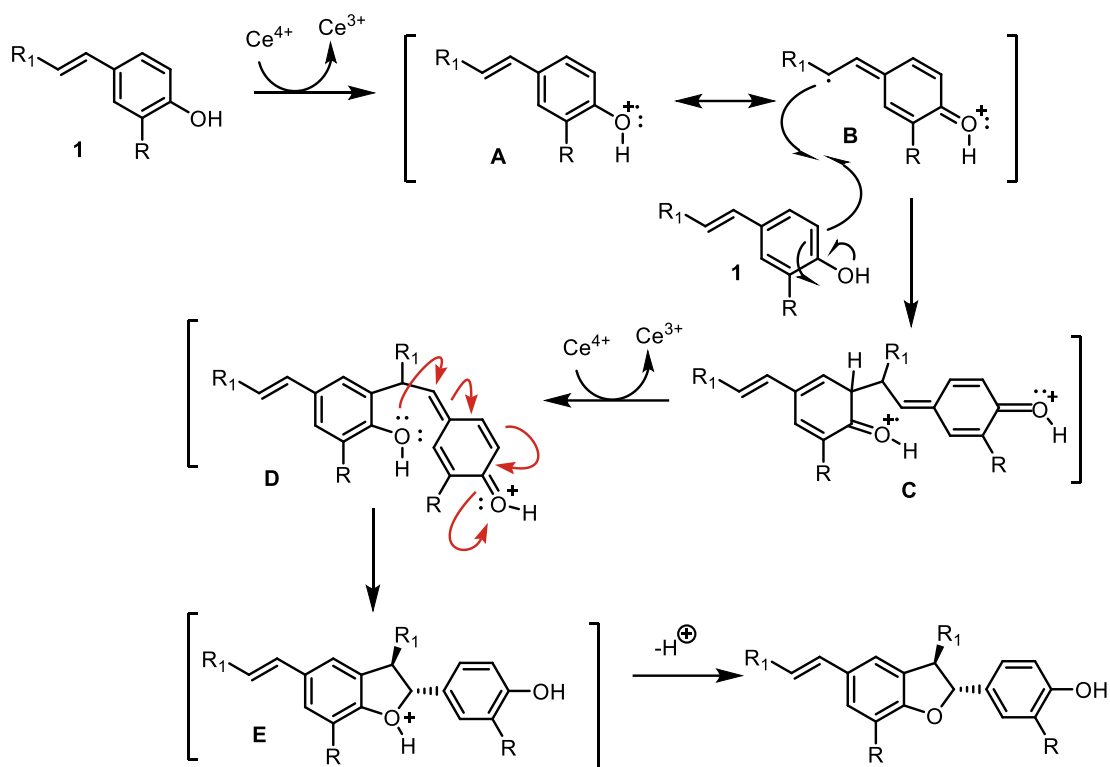
Tato metoda byla primárně inspirována popsanou oxidativní dimerizací isoeugenolu a jí příbuzných látek pomocí enzymatických biokatalyzátorů. Cílem bylo navázat na tuto studii a vyřešit mnoho nedostatků spojených s reakčními podmínkami a stereoselektivitou. Vyvinuté podmínky pro CAN (dusičnan ceričito-amonný) mediovaný coupling následně umožnili diastereoselektivní přípravu 2,3-substituovaných dihydrobenzofuranů (Obr. 32), jmenovitě (\pm)-conocarpan, (\pm)-licarin A a dalších 13 příkladů.



Obr. 32. Oxidativní coupling alkenylfenolů mediovaný CAN katalyzátorem.

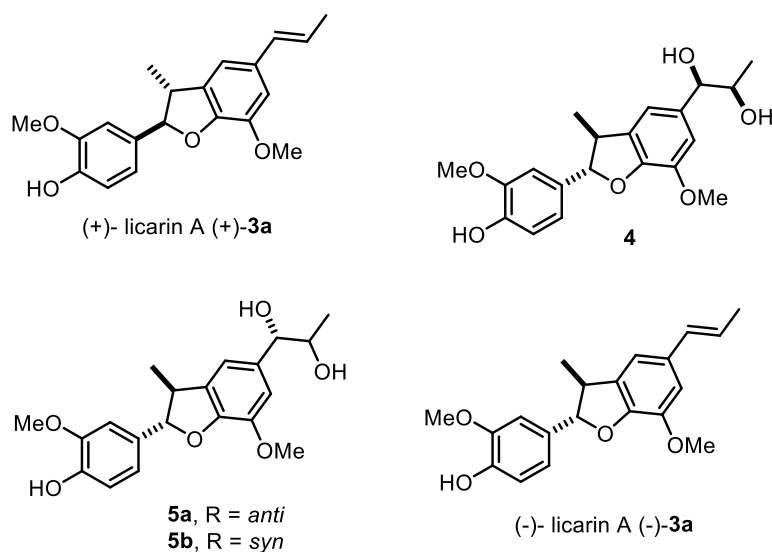
Optimalizace reakčních podmínek ukázalo, že v případě licarinu A (**3a**) je optimální použít 1,5 ekvivalentu CAN, který je přidáván postupně v průběhu 30 minut.

Z mechanistického pohledu reakce probíhá následovně (Obr. 33). Nejprve dochází k oxidaci fenolu na kation radikál **A**, který následně reaguje s další molekulou styrylfenolu **1** za vzniku intermediátu **C**. Tento následně podléhá další oxidaci za vzniku fenolu **D** jež po intramolekulární cyklizaci a následné deprotonaci dává vzniknout cílovému dihydrobenzofuranu.⁸²



Obr. 33. Navrhovaný mechanismus pro tvorbu *trans*-2,3-substituovaných nebo 2-substituovaných dihydrobenzofuranů z alkenylfenolů pomocí CAN.⁸²

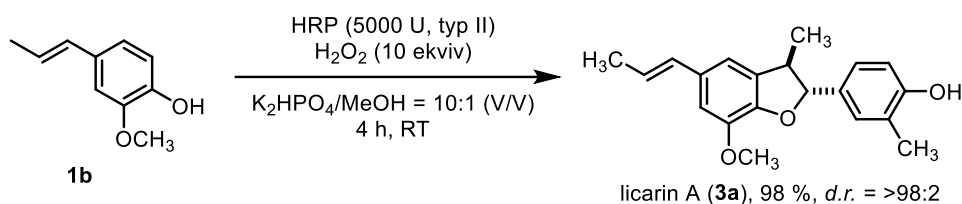
Rozšířením této studie pak byla práce zabývající se syntézou 8,9-disubstituovaných licarindiolů **3** jež byly připraveny z (\pm) Licarinu A (**3a**). Tato syntéza byla založena na předběžných studiích látek izolovaných z *Aristolochia pubescens* strukturně obdobných s (-)-licarinem A (Obr. 34). Syntéza licarindiolů **4** a **5** byla prováděna z racemického licarinu A **3a** připraveného pomocí dříve zmíněného couplingu (*E*)-izoeugenolu **1b**. Sharplessova dihydroxylace následně připravila odpovídající dioly, licarindioly **4** a **5**.



Obr. 34. Struktury (+)-likacarinu A ((+)-**3a**) a dalších neolignanů izolovaných z *Aristolochia pubescens*.

2.3.2 Příprava licarinu A pomocí enzymatických reakcí

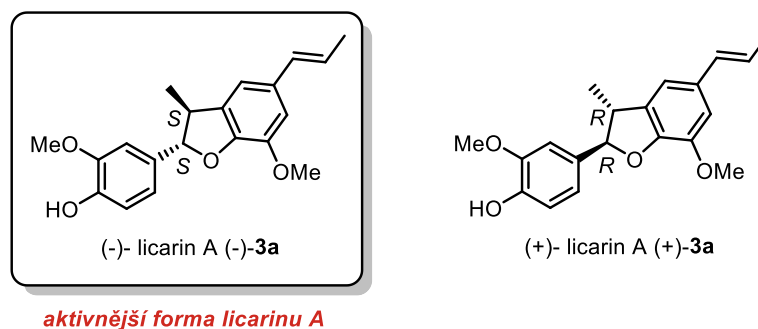
Syntéza licarinu A **3a** byla také úspěšně zakončena pomocí enzymatické reakce, konkrétně s využitím HRP peroxidázy. Výsledkem reakce byla látka **3a** připravená ve formě racemické směsi. Oxidativní coupling z isoeugenolu **1b** probíhal s 98 % výtěžkem a poskytoval cílovou látku v 97 % čistotě (HPLC, ^{13}C NMR) ve formě jednoho diastereoizomeru (*d.r.* = >98:2, HPLC, ^{13}C NMR).



Obr. 35. Syntéza licarinu A pomocí enzymatické reakce.

2.3.3 Vliv stereochemie u licarinu A na biologickou aktivitu

(±)-Licarin A (**3a**) byl získán pomocí oxidativního couplingu. Tato racemická směs byla následně podrobena chirální separaci a poskytla oba možné enantiomery, (–)-licarin A ((–)-**3a**) a (+)-licarin A ((+)-**3a**), pomocí semipreparativní HPLC separace na chirálních nosičích. Schistosomicidní a trypanocidní aktivita těchto látek pak byla hodnoceny v *in vitro* testech na dospělých červech *Schistosoma mansoni* a trypomastigotním formám *Trypanosoma cruzi*. Racemická směs látky **3a** vykazovala významnou schistosomicidální aktivitu $\text{LC}_{50} = 53,57\ \mu\text{M}$ a trypanocidální aktivitu s $\text{IC}_{50} = 127,17\ \mu\text{M}$. (–)-**3a** enantiomer pak vykazoval $\text{LC}_{50} = 91,71\ \mu\text{M}$ vůči *S. mansoni* a (+)-**3a** enantiomer nevykazoval žádnou významnou biologickou aktivitu. V trypanocidálním testu pak (–)-**3a** enantiomer vykazoval významnou účinnost ($\text{IC}_{50} = 23,46\ \mu\text{M}$) zatímco u (+)-**3a** enantiomeru byla zjištěna pouze hodnota $\text{IC}_{50} = 87,73\ \mu\text{M}$. Tyto výsledky tak naznačují že (–)-**3a** enantiomer licarinu A **3a** je mnohem biologicky aktivnější než jeho (+)-**3a** enantiomer (Obr. 36). Další studie jež by prokázali mechanismus účinku daných látek jsou nyní prováděny.⁸³

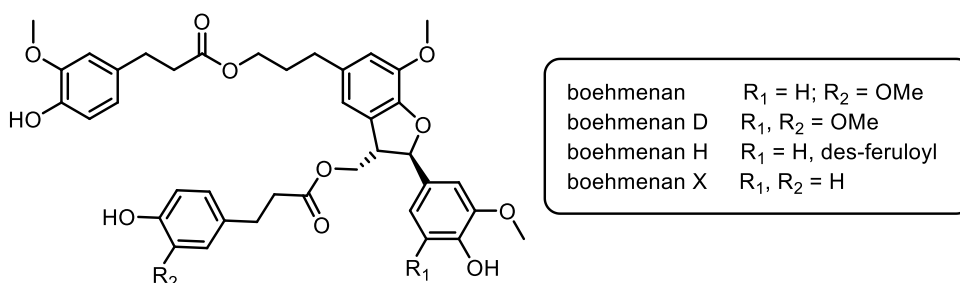


Obr. 36. Strukturní vzorce obou enantiomerů licarinu A (3a).

2.4 Syntéza neolignanů v kontextu naší výzkumné skupiny

Jak již bylo zmíněno, neolignany zkoumáme z důvodu našeho zájmu o jejich biologickou aktivitu v naší skupině již po delší dobu. V minulosti jsme se hlavně zaměřovali na studium neolignanů s cílem najít především aktivní látky s antileishmaicidní aktivitou.^{84,85} V poslední době se ale zaměřujeme zejména na anthelmintickou aktivitu (probíhající práce na dané téma). Jeden z našich hlavních cílů je nalézt neoptimálnější a nejobecnější postup vhodný k přípravě látek s benzofuranovým skeletem jež by nám umožňovali jednoduchou a modulární syntézu mnohých přírodních látek s tímto motivem.

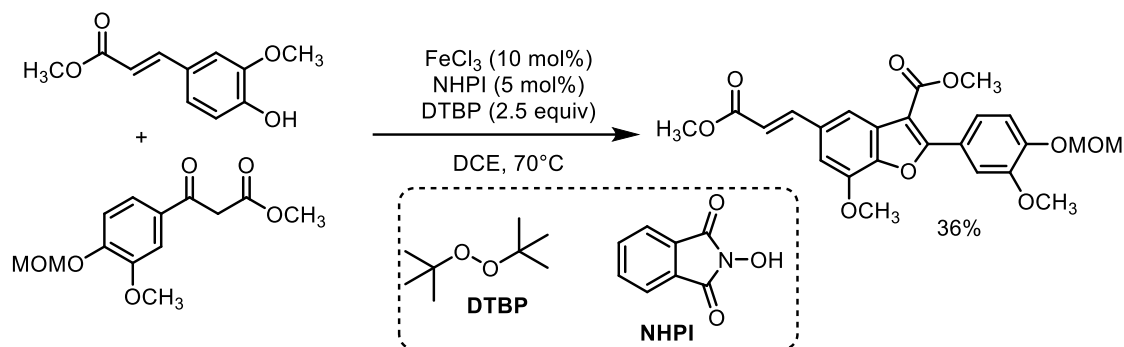
Ne ironicky, prvním fenylpropanoidním dimerem připraveným v naší skupině byl lignan s názvem Sanguinolignan A (Daniela Konrádová, *Diplomová práce* 2015). Tato metoda byla dále rozpracována a vedla k obecnějšímu přístupu k látkám tohoto typu.⁸⁶ Další práce v naší skupině se pak věnovali syntéze neolignanů patřících do skupiny látek obecně nazývaných boehmenany. Cíleně jsme se pak věnovali přípravě boehmenanů H, D a X (Obr. 37).



Obr. 37. Struktury boehmenanů na něž cílili syntetické studie v naší skupině.

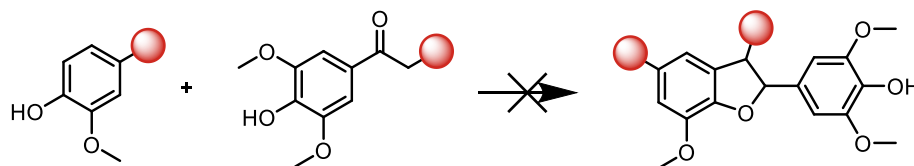
Těmito neolignany se zabývaly ve svých pracích okrajově zabývali Mgr. Hana Kozubíková a Mgr. Daniela Konrádová, Ph.D., ale hlavně pak Mgr. Zuzana

Barbuščáková (Obr. 38).¹³ V rámci těchto studií byl vyvinut Fe^{III}-mediovaný radikálový coupling, který však poskytoval cílové látky pouze ve velmi nízkých výtěžcích. Pokud tedy produkt poskytl vůbec. O obecném natož pak modulárním přístupu se tedy nedalo vůbec mluvit.



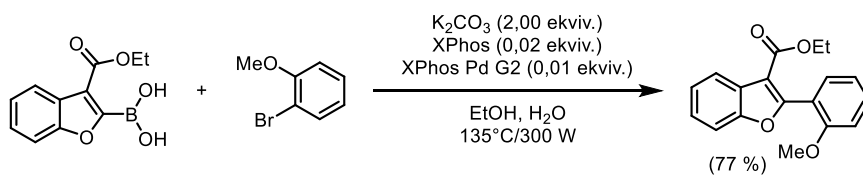
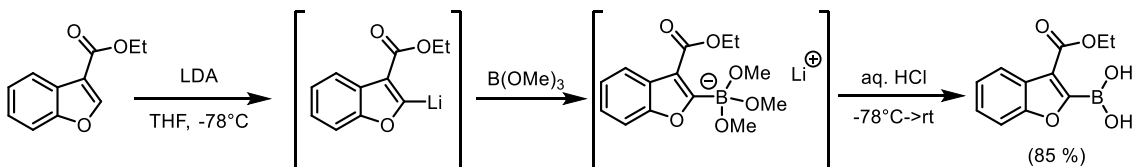
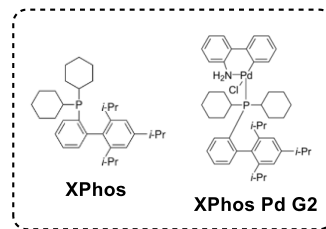
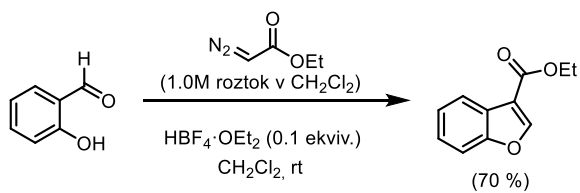
Obr. 38. Radikálový coupling založený na využití Fe^{III} iontů (Z. Barbuščáková).

Na tuto studii se snažili ještě navázat ve svých bakalářských pracích Bc. Eliška Lachetová⁸⁷ a Bc. Pavol Tuna⁸⁸ ale bohužel se ukázalo, že substituční možnosti na aromatických jádrech obou reaktantů jsou velmi omezené (Obr. 39).



Obr. 39. Radikálový křížený dehydrogenační coupling (CDC) – jakákoliv jiná substituce jež se liší od té na Obr. 37 neumožňuje reakci.

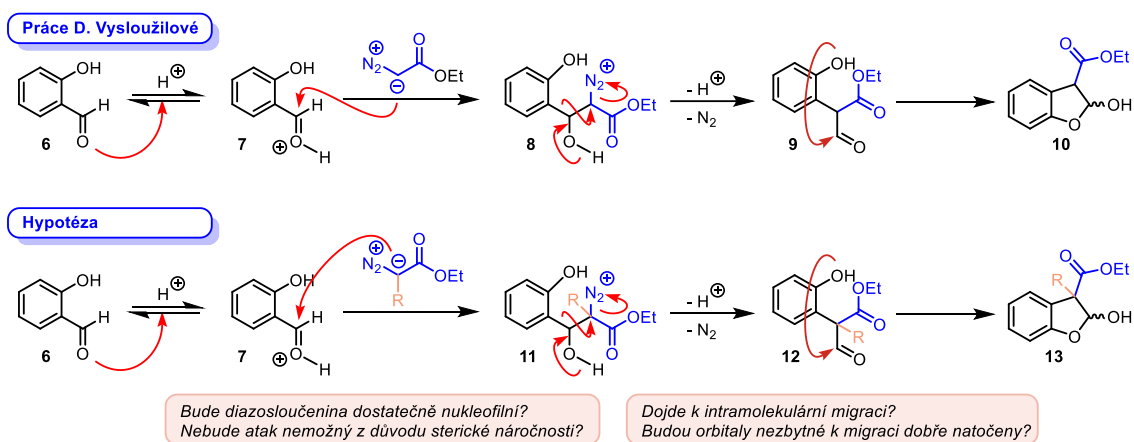
Na základě těchto poznatků se ve své bakalářské práci Bc. Denisa Vysloužilová⁸⁹ zaměřila na nový přístup k neolignanovému skeletu, jež byl založen na adici diazosloučenin na salicyl aldehyd, jež po přesmyku a následné eliminaci poskytl benzofuranový skelet vhodný pro následné zavedení kyseliny borité – nezbytné funkční skupině pro zamýšlený Suzukiho coupling. Suzukiho coupling pak poskytl kýžený benzofuranový skelet (Obr. 40).



Obr. 40. Nejnovější přístup k benzofuranovým skeletům vyvinutý v naší skupině, jež je založen na Bronsdetově cyklizaci a Suzukiho couplingu.⁸⁹

3. Výsledky a diskuze

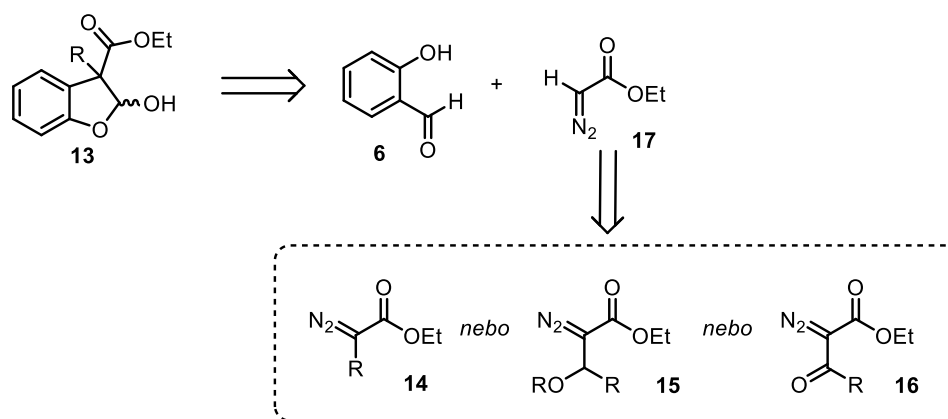
Jak již bylo zmíněno, cílem mé bakalářské práce je ověřit hypotézu, že metoda syntézy benzofuranových skeletů, jež byla vyvinuta Bc. Denisou Vysloužilovou v rámci její bakalářské práce může být rozšířena na substituované diazosloučeniny (). V následujících podkapitolách bych vás ráda seznámila s tím, jestli se tato hypotéza ukázala schůdná a relevantní a jak moje syntetické pokusy v této oblasti dopadli.



Obr. 41. Základní hypotéza mé bakalářské práce. Bude docházet k adici/přesmyku také se stericky náročnějšími substráty než je pouze diazoderivát kyseliny octové?

3.1 Návrh reakčních partnerů

Cílem mé práce je tedy najít reakční podmínky vhodné k přípravě benzofuranového intermediátu **13**. Náš přístup je založen na reakci mezi salicyl aldehydem **6** a α -substituovanými diazosloučeninami (Obr. 42). Abych tedy mohla vyzkoušet tento cyklizační krok, tak jsem si nejprve musela připravit odpovídající α -substituované diazosloučeniny. Již od počátku jsme plánovali vyzkoušet tři různé typy α -substituovaných diazosloučenin, α -alkylované diazosloučeniny **14**, β -alkoxy diazosloučeniny **15**, a β -keto diazosloučeniny **16**. Předpokládali jsme, že diazosloučeniny **14-16** budou mít různý vliv na adiční, resp. cyklizační krok kondenzační reakce, a to z důvodu jejich různé reaktivity vůči aktivovanému aldehydu (sterické a elektronické vlivy).



Obr. 42. Retrosynetická analýza benzofuranu **13**. Předpokládané tři typy diazosloučenin vybrané k testování cyklizace.

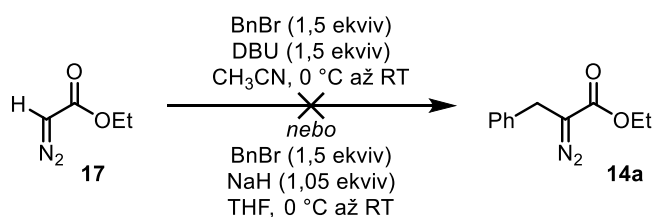
3.2 Příprava diazosloučenin

Nejprve jsem se tedy zaměřila na přípravu diazosloučenin. Nejprve jsem se zabývala syntézou diazosloučeniny **14** (Obr. 43). Nejprve jsem se zabývala jednoduchou benzylací komerčně dostupného ethyl diazoesteru kyseliny octové **17** v bazickém prostředí (Obr. 43A). Bohužel ani v jednom z testovaných příkladů nedošlo k tvorbě cílového diazoesteru **14** a ve všech případech byl detekován pouze rozklad výzhozí látky **17**. Z tohoto důvodu jsem se zaměřila na sice komplikovanější ale již popsanou reakci diazotransférového činidla *p*ABSA s ketoderivátem **21a** (Obr. 43B). Látku **21a** jsem připravila pomocí 3 krokové syntézy z kyseliny skořicové **18**. Nejprve jsem kyselinu **18** transformovala na odpovídající ester pomocí Fisherovy esterifikace, násobnou vazbu ve vzniklém ester **19a** jsem pak redukovala s použitím H₂ v přítomnosti Pd-katalyzátoru a výsledný nasycený ester **20a** jsem pak reagovala v přítomnosti TiCl₄ s benzoyl chloridem za vzniku ketoesteru **21a**. Následný diazotransfer spojený s deacylací se bohužel ukázal jako poněkud problematický a dával cílový diazoprodukt **14b** pouze ve 27% výtěžku. Ale protože jsem měla dostatek látky k následnému vyzkoušení cyklizačního kroku, tak jsem od další optimalizace protokolu upustila.

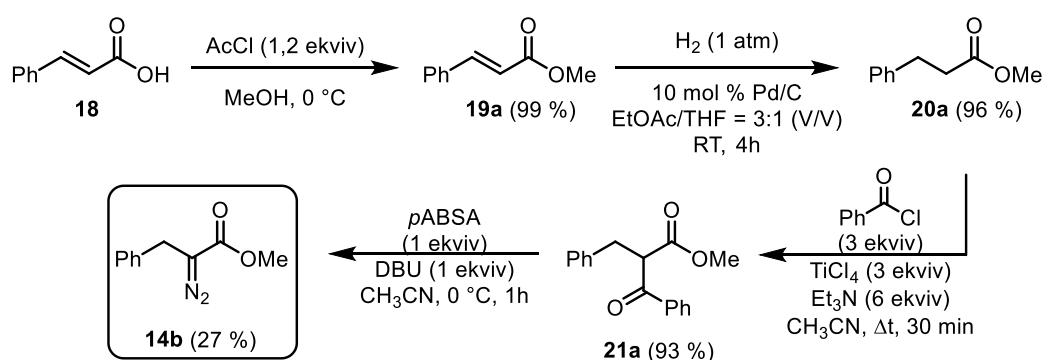
Obdobným způsobem pak byl připraven diazoester **14c**, který se od **14b** lišil přítomností methoxy skupiny na benzenovém jádře (Obr. 43C). V tomto případě syntéza ketoesteru **21b** začala z *p*-methoxybenzaldehydu **22**, který byl ponechán reagovat s Wittigovým ylidem **23** za standartních podmínek vyvinutých již dříve v naší skupině¹² (užití mikrovlnného reaktoru) za vzniku nenasyčeného esteru **19b**. Nenasycený ester **19b** byl pak hydrogenován na nasycený derivát **20b**, který byl ponechán reagovat s benzoyl

chloridem v přítomnosti TiCl_4 . Následný diazotransfer s *p*ABSA pak zakončil transformaci ketoesteru **21b** na diazosloučeninu **14c**.

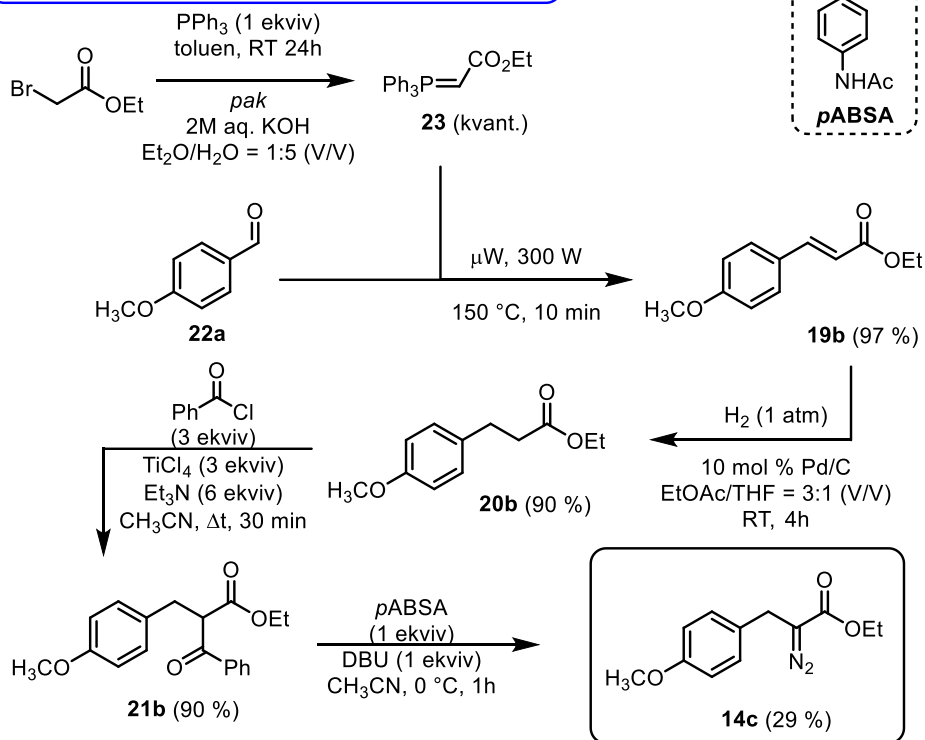
A. Příprava přímou alkyací



B. Nepřímá příprava látky **14b** pomocí diazo transferu

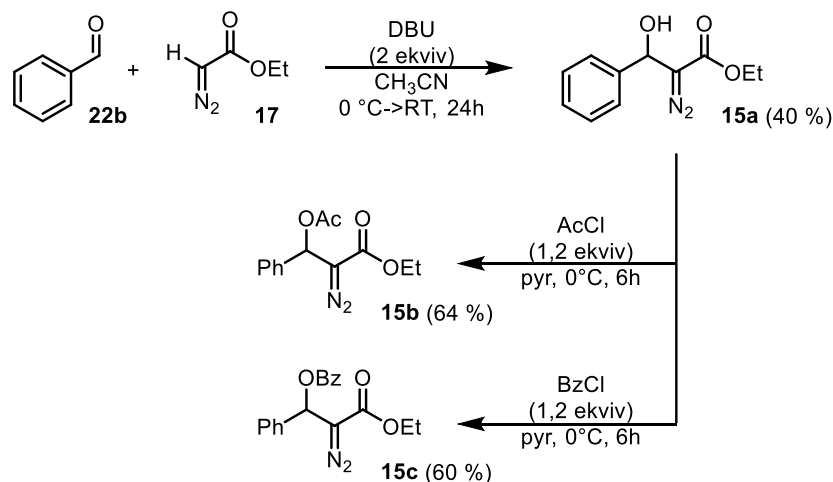


C. Nepřímá příprava látky **14c** pomocí diazo transferu



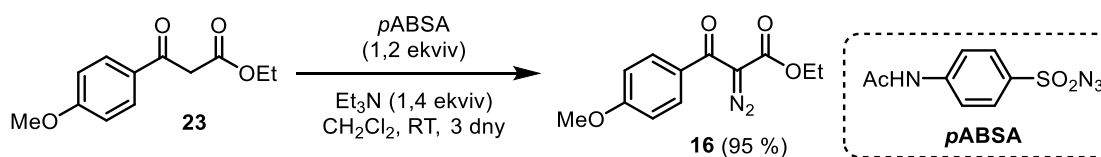
Obr. 43. Příprava α -alkyldiazosloučenin **14**. (A) Syntéza přímou alkyací. (B) Příprava diazosloučeniny **14b** pomocí nepřímé metody založené na diazotransféru z *p*ABSA. (B) Příprava diazosloučeniny **14c** pomocí nepřímé metody založené na diazotransféru z *p*ABSA.

Následně jsem se zaměřila na přípravu β -alkoxy diazosloučenin **15** (Obr. 44). Syntéza byla založena na DBU mediované adici diazoesteru **17** na benzaldehyd **22b**. Cílový produkt **15a** byl připraven ve 40% výtěžku a následně acetylován resp. benzylován pomocí odpovídajícího acyl chloridu. Cílem tohoto postupu bylo připravit také analoga diazosloučeniny **15a**, která by neměla ve své struktuře hydroxylovou skupinu. Skupinu, jež by mohla potencionálně soutěžit s fenolickou hydroxylovou skupinou při plánované cyklizační reakci.



Obr. 44. Syntéza β -alkoxy diazosloučenin **15**.

Posledním typem diazosloučeniny, kterou jsem chtěla připravit před plánovanými pokusy s cyklizačními reakcemi vedoucími potencionálně k benzofuranovému skeletu **13** byly β -keto estery **16**. V mém případě jsem se zaměřila pouze na jediný produkt **16**, který byl lehce připravitelný z odpovídajícího β -keto esteru **23** pomocí diazo transferu z *p*ABSA (Obr. 45). Jak je z uvedeného tématu patrné, reakce probíhala bez větších problémů a poskytla cílovou sloučeninu **16** v 95% výtěžku.

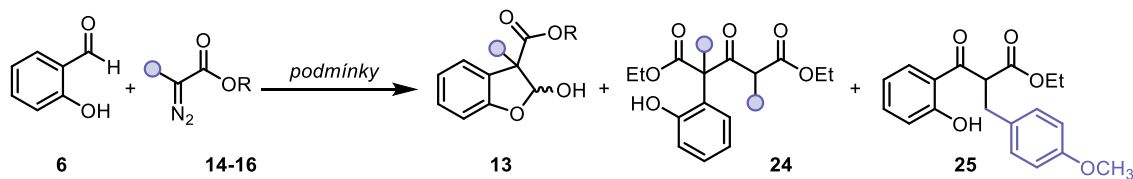


Obr. 45. Syntéza β -keto diazo esteru **16**.

3.3 Klíčový krok – cyklizační reakce

Majíce k ruce všechny plánované diazosloučeniny, pustila jsem se s chutí do optimalizace cyklizační reakce (Tabulka 1).

Tabulka 1. Optimalizace cyklizační reakce mezi aldehydem **6** a diazosloučeninami **14-16**.^{a)}



Řádek	Diazo sloučeniny (ekviv)	Kyselina (ekviv)	Rychlost přidavku	Poměr ^{b)} 13:24:25	Pozorování	Výtěžek látky 25 [%] ^{c)}
1	14b 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14b (100% konverze)	–
2	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	25 %
3	15a 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 15a^{d)}	–
4	15b 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 15a^{d),e)}	–
5	15c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 15a^{d),e)}	–
6	16 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 16^{d)}	–
7	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,2 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	13 %
8	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,01 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	6 %
9	14c 2,1 ekviv	<i>p</i> TSA (0,1 ekviv)	10 µl/min	0:0:0	6^{d)}	–
10	15c 2,1 ekviv	<i>p</i> TSA (0,1 ekviv)	10 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 15a^{d),e)}	–
11	14c 2,1 ekviv	TFA (0,1 ekviv)	10 µl/min	0:0:0	6^{d)}	–
12	15c 2,1 ekviv	TFA (0,1 ekviv)	10 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 15a^{d),e)}	–
13	14c 2,1 ekviv	(+)-CSA (0,1 ekviv)	10 µl/min	0:0:0	6^{d)}	–
14	15c 2,1 ekviv	(+)-CSA (0,1 ekviv)	10 µl/min	0:0:0	6^{d)} + 15a^{d),e)}	–
15 ^{d)}	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	5 %
16 ^{g)}	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	2 %
17 ^{h)}	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	12 %
17 ⁱ⁾	14c 2,1 ekviv	HBF ₄ ·OEt ₂ (0,1 ekviv)	7 µl/min	<5: <5:100	14c (100% konverze)	20 %

a) Standartní reakční podmínky: Do roztoku aldehydu **6** (0,25 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (0,1M) byl přidána kyselina a výchozí směs byla míchána při 0 °C po dobu 5 min. Odpovídající diazosloučenina **14-16** (0,52 mmol, 2,1 ekviv) v bezvodém CH₂Cl₂ (1M roztok, 520 µL)) byla postupně přidána pomocí injekční pumpy. Výsledná směs byla ponechána míchat po dobu 24 h při RT.

b) Určeno na základě analýzy ¹H NMR spektra surové reakční směsi (bez použití vnitřního standardu)

c) Pro izolovanou čistou látku

d) Odpovídající výchozí látky byly reisolovány ve více než >85% původní návážky

e) Došlo k deacylaci a pouze látka **15a** místo acylovaných ekvivalentů **15b** a **c** byly izolovány

f) Reakce byla prováděna v THF

g) Reakce byla prováděna v Et₂O

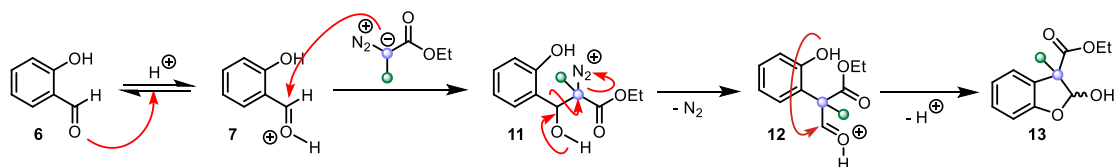
h) Reakce byla prováděna v DCE (dichlorethan)

i) Reakce byla prováděna při -10 °C

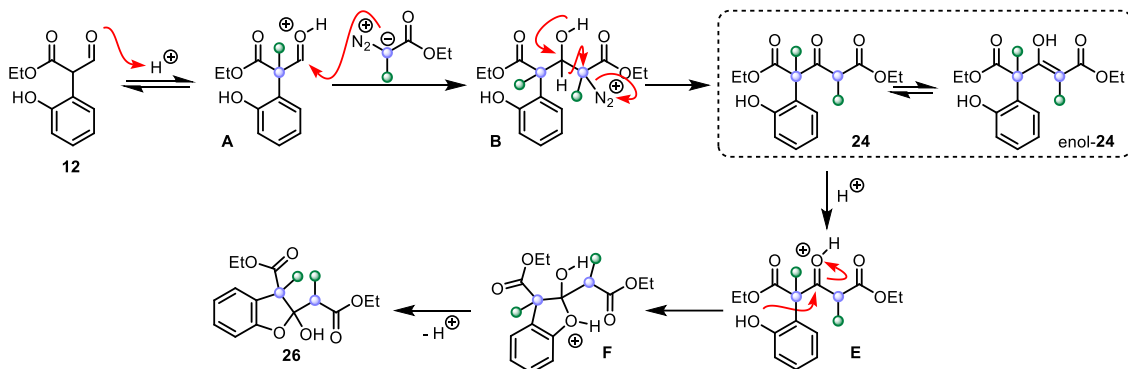
*p*TSA = *p*-toluensulfonová kyselina; TFA = trifluoro octová kyselina; (+)-CSA = kampfor sulfonová kyselina

Předpokládala jsem, že testované reakce budou probíhat podle dříve navrženého reakčního mechanismu popsaného v bakalářské práci Bc. Denisy Vysloužilové (Obr. 46A). Také jsem uvažovala, že při reakci může vzniknout očekávaný vedlejší produkt **24** (Obr. 46B).

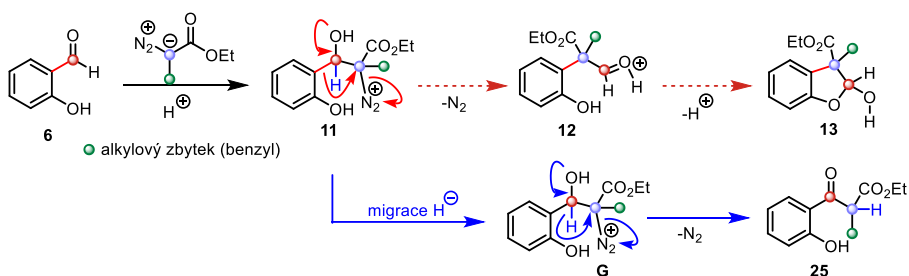
A. Očekávaná reakce dle práce Bc. Vysloužilové



B. Tvorba očekávaného vedlejšího produktu 24



C. Schematické znázornění vzniku látky 25



Obr. 46. Navržené reakční mechanismy pro vybrané transformace. (A) Očekávaná reakce u našich diazosloučenin **14-16** při reakci se salicyl aldehydem **6**. (B) Očekávaný mechanismus formace vedlejšího produktu **24**. Znázorněna je i následující intramolekulární cyklizace (**24** na **26**), která ovšem dle našich simulací s vysokou pravděpodobností nemůže ze sterických důvodů probíhat. (C) Předpokládaný mechanismus tvorby neočekávaného produktu migrace hydridu. Tento produkt je totožný s produktem tzv. Roskampovy reakce.

Za těchto předpokladů jsem tedy ponechala reagovat všechny připravené diazosloučeniny **14-16** s aldehydem **6** za původních podmínek vyvinutých Bc. Vysloužilovou (Tabulka 1, řádky 1 až 6). K mému velkému překvapení ani u jedné z reakčních směsí jsem nebyla schopna detekovat (^1H NMR spektra) žádný z očekávaných produktů **13** anebo vedlejších produktů formovaných z těchto aduktů, látek obecného vzorce **24**. Pouze v případě reakce diazosloučeniny **14c** s **6** došlo k tvorbě nového produktu, látky **25** (řádek 2). Z tohoto důvodu jsem si vybrala diazosloučeninu **14c** jako vhodný výchozí bod pro optimalizaci kondenzační reakce.

Jak jsem již zmínila, v případě diazosloučeniny **14c** došlo k reakci s aldehydem **6** a vznikl produkt **25**. Z mechanistického pohledu vznikla látka **25** pomocí migrace hydridového atomu místo zamýšlené migrace arylového zbytku (Obr. 46C). Tato skutečnost může být způsobena několika různými důvody mezi něž patří například vhodná orientace arylu/hydridu vůči odstupující skupině N₂ (antiperiplanární) anebo pouze rozdíl v reaktivitách.

Nejprve jsem se pokusila ovlivnit reaktivitu systému. Nejprve jsem tedy vyzkoušela reakce s různými množstvím HBF₄ (řádky 7 a 8) a následně jsem vyzkoušela i jiné Bronstedovské kyseliny (řádky 9, 11, a 13). Bohužel v žádném případě nevznikla cílová molekula **13**. Abych ohodnotil reaktivitu ostatních Bronstedovských kyselin i vůči jiným substrátům, reakce diazosloučeniny **15c** s aldehydem **6** v přítomnosti *p*TSA, TFA a (+)-CSA byla vyzkoušena (řádky 10, 12, a 14). Diazosloučenina **15c** byla vybrána jako vhodný substrát, protože v předcházejících experimentech (řádek 5) tato látka, obdobně jako její ekvivalent látka **15b**, nepodléhala cyklizaci ale pouze deacylaci. Předpokládala jsem tedy, že v přítomnosti jiné kyseliny možná dojde k adici diazo sloučeniny na aldehyd rychleji než k její deacylaci. Deacylovaný produkt **15a** se ukázal v reakci neúčinný. Bohužel ani v těchto případech formace cílové látky **13** nebyla pozorována. V těchto případech nebyla pozorována ani tvorba produktu migrace hydridového vodíku jež by poskytla látku podobnou produktu **25**.

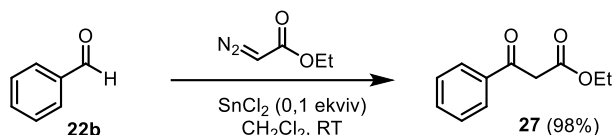
Nakonec jsem se zaměřila na otestování vlivu rozpouštědla (testovány byl Et₂O, THF a DCE) stejně jako teploty (řádky 15 až 17). Bohužel ani v těchto případech nedošlo k tvorbě cílového produktu **13** a pouze produkt migrace hydridového vodíku, látka **25**, byl izolován z reakčních směsí. V optimalizované podobě tak bylo možno připravit produkt **25** ve 25 % výtěžku.

Na základě těchto zkušeností jsme další optimalizační reakce této cyklizace opustili se závěrem, že α -substituované diazosloučeniny **14-16** nejsou vhodnými substráty pro tento typ cyklizační reakce. Předpokládáme, že toto pozorování je způsobeno nevhodnou orientací migrujících skupin (arylová nemigruje vůbec, hydridový vodík pouze v malém množství) vůči odstupující molekule dusíku.

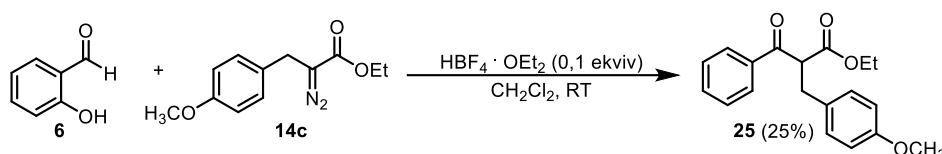
3.4 Roskampova reakce

V předcházející podkapitole jsem popisovala moji neúspěšnou snahu o cyklizaci diazosloučenin **14-16** s aldehydem **6**. Ukázala jsem, že za testovaných podmínek vzniká pouze v případě diazosloučeniny **14c** nějaký produkt reakce. A tento produkt není očekávaný produkt migrace arylu ale produkt migrace hydridového atomu. Tedy reakce jež je v literatuře známa pod jménem Roskampova reakce.⁹⁰ Překvapivým faktem, na který jsme přišli při studiu literatury, je ale fakt, že Roskampova reakce je obecně prováděna za katalýzy pomocí Lewisových kyselin, typicky pomocí SnCl₂ (Obr. 47A). A v našem případě jsme pozorovali tuto reakci v přítomnosti Bronstedovi kyseliny (Obr. 47B).

A. Roskampova reakce - katalýza pomocí Lewisovy kyseliny



B. Bronstedovou kyselinou katalyzovaná Roskampova reakce

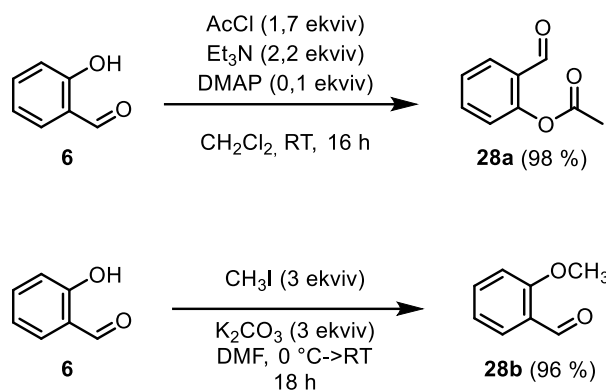


Obr. 47. (A) Roskampova reakce katalyzovaná pomocí Lewisovy kyseliny. (B) Bronstedovou kyselinou katalyzovaná Roskampova reakce.

Na základě tohoto pozorování jsme se rozhodli porovnat reaktivitu vybraných aldehydů s diazosloučeninami **14c** a **17** (standartní diazosloučenina pro Roskampovu reakci). Cílem bylo porovnat zejména reaktivitu derivátů salicyl aldehydu s těmito substráty.

3.4.1 Syntéza aldehydů pro Roskampovu reakci

Jak již bylo zmíněno, hlavním cílem bylo porovnat reaktivitu diazosloučenin **14c** a **17** s aldehydy odvozenými od salicyl aldehydu. Jako cílové substráty jsem si tedy vybrala salicyl aldehyd **6** (není potřeba syntetizovat), acetylovaný salicyl aldehyd **28a** (elektronově deficitní aldehyd), a *O*-methylovaný salicyl aldehyd **28b** (elektronově bohatý aldehyd). Požadované aldehydy **28** tak byly připraveny s využitím standartních protokolů a za vysokých výtěžků (Obr. 48).

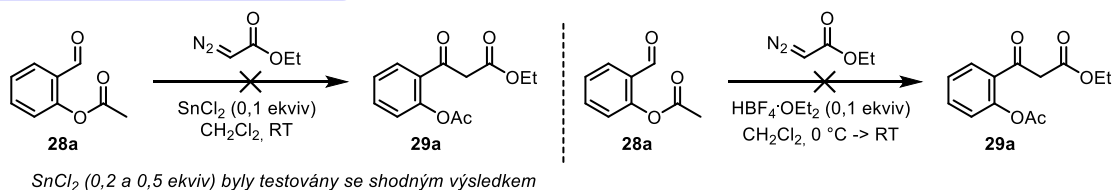


Obr. 48. Příprava aldehydů pro Roskampovu reakci.

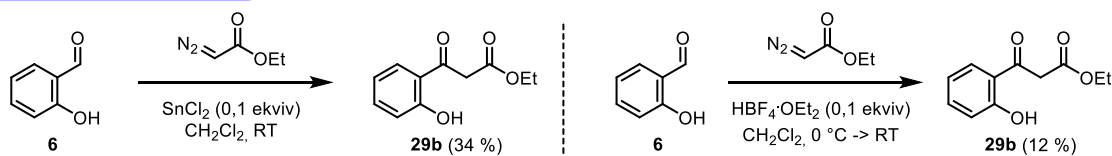
3.4.2 Roskampova reakce

Cílem porovnání reaktivity jednotlivých elektronově různorodých aldehydů **6** a **28** s diazoacetátem **17** za Lewisovou kyselinou a Bronstedovou kyselinou katalyzovaných podmínek byla motivace, že získaná data nám pomohou s možnou modifikací/optimalizací reakčních podmínek pro dříve testovanou cyklizaci. Získané výsledky jsou shrnuty v Obr. 49.

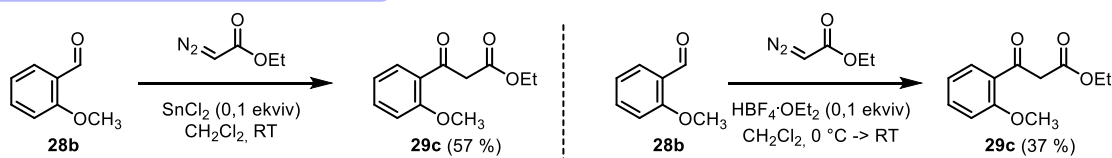
A. Reakce desaktivovaného aldehydu **28a**



B. Reakce salicyl aldehydu **6**



C. Reakce elektronově bohatého aldehydu **28b**



Obr. 49. Testované podmínky Roskampovy reakce s různými aldehydy. (A) elektronově chudým aldehydem **28a**. (B) Se salicyl aldehydem **6**. (C) S elektronově bohatým methoxy benzaldehydem **28b**.

Ukázalo se, že za daných podmínek reagují mnohem lépe elektronově bohaté aldehydy **6** a **28b** v porovnání s acetylovaným aldehydem **28a** (reakce neprobíhá). Zároveň se také ukázalo, že katalýza pomocí SnCl₂ dává vždy lepší výsledky než katalýza pomocí HBF₄.

4. Závěr

V mé bakalářské práci jsem nejprve připravila 6 typů diazosloučenin **14** až **16**, které jsem následně otestovala v cyklizační reakci s aldehydem **6**. Cílem této cyklizační reakce měla být tvorba nového benzofuranového skeletu jež by byl opatřen velmi netradičním kvarterním centrem v pozici 3 benzofuranového kruhu. Bohužel se ukázalo, že tento typ cyklizace neprobíhá bez ohledu na to jaké reakční podmínky byly testovány.

Jediným produktem, který byl v průběhu testovaných reakčních podmínek pozorován, byl produkt **25**. Tento produkt byl za optimálních podmínek připraven ve 25 % výtěžku. Ze strukturního pohledu je tato nově vytvořená látka β -keto ester. Formálně tedy jde o produkt migrace hydridového vodíku. Tento typ transformace je z literatury znám pod názvem Roskampova reakce. Ve své původní formě je Roskampova reakce prováděna za přítomnosti Lewisovy kyseliny, přesněji SnCl_2 .

Chtěli jsme tedy následně zjistit, jestli Roskampova reakce může být také prováděna za přítomnosti Bronstedovi kyseliny. Mé výsledky naznačují, že ano ale pouze pokud je použit aromatický aldehyd s elektron donorní skupinou. V tomto případě dochází k očekávané reakci. Myslíme si, že elektronově bohatý aromatický kruh urychluje migraci aryl aniontu, respektive hydridového atomu vodíku.

Zároveň se domníváme, že očekávaná cyklizační reakce neprobíhá na našich substrátech, protože migrující (aryl aniont, hydrid) a odstupující skupina (molekula dusíku) se nemohou umístit do *antiperiplanární* orientace v rámci molekuly. Migrace elektronového páru tedy není možná z důvodu nedostatečného překryvu reagujících orbitalů.

Závěrem tedy říci, že originální hypotéza navrhuující přípravu velmi strukturně zajímavého benzofuranového intermediátu s kvarterním stereogenním centrem se bohužel ukázala jako lichá a neproveditelná.

5. Experimentální část

5.1 Obecné informace

Veškeré reakce byly prováděny, pakliže není uvedeno jinak, v bezvodém prostředí. Aparatury byly žíhány plamenem pod tlakem inertního plynu (argon). Veškerá rozpouštědla použitá pro reakce byla, pokud není uvedeno jinak, zbavena vlhkosti pomocí standartních sušících kolon dle protokolu vyvinutého H. C. Grubsem a jeho spolupracovníky.

Pro sloupcovou chromatografii (CC) bylo využito silikagelu jako stacionární fáze a směsi hexanu (Hex.):EtOAc (V/V), pakliže není uvedeno jinak, jako mobilní fáze. Eluované frakce byly jímány po 5-30 ml frakcích a jejich obsah byl monitorován pomocí TLC. Frakce obsahující stejný produkt byly spojeny a následně odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO).

K měření NMR spekter byl, pokud není uvedeno jinak, použit spektrometr JEOL ECA400II pracující při frekvenci 399,78 MHz (^1H) a 100,53 MHz (^{13}C). Měření byla prováděna za laboratorní teploty, přičemž vzorky byly rozpuštěny a následně měřeny v jednom z následujících rozpouštědel, CDCl_3 nebo aceton- d_6 . Chemické posuny zbytkového signálu nedeuterovaného, resp. ne zcela deuterovaného rozpouštědla sloužily ke kalibraci měřených ^1H NMR spekter. Chemické posuny zbytkových nedeuterovaných resp. částečně deuterovaných rozpouštědel v daném rozpouštědle jsou následující: CDCl_3 (7,26 ppm) a aceton- d_6 (2,05 ppm). Ve spektrech ^{13}C bylo využito ke kalibraci charakteristického signálu atomu ^{13}C substituovaného atomem vodíku ^2H . Chemické posuny jsou následující: CDCl_3 (77,23 ppm, prostřední signál) a aceton- d_6 (29,84 ppm). Finální produkty byly purifikovány pomocí kolonové chromatografie na silikagelu (viz výše).

Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na přístroji značky Waters (Q-TOF MICRO). Elementární analýzy byly provedeny na přístroji EA1112 Flash analyser ("Thermo-Finnigan). Teploty tání byly měřeny na přístroji SMP 30 (Stuart[®]) a nejsou korigovány.

Průběh reakcí byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC) na silikagelu. Pro tento typ operace byly použity aluminiové desky pokryté silikagelem 60 SIL G/UV254 s fluorescentním indikátorem (Machery-Nagel). Jednotlivé sloučeniny přítomné v reakční směsi byly dále vizualizovány pomocí vizualizačních roztoků.

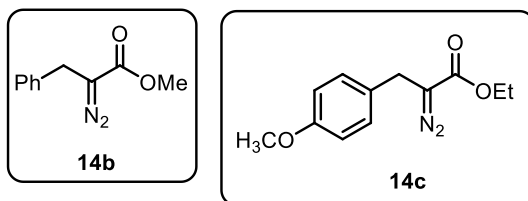
5.1.1 Vizualizační roztoky pro TLC

Metody přípravy:

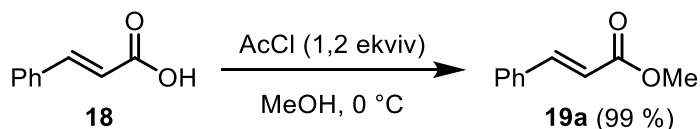
- Zásaditý roztok KMnO_4 byl připraven rozpuštěním 9 g KMnO_4 a 20 g K_2CO_3 ve 150 ml 10 % NaOH
- Vanilinový roztok byl připraven rozpuštěním 2 g vanilinu ve 100 ml ethanolu obsahující 1 ml koncentrované H_2SO_4
- Hannesianův vizualizační roztok byl připraven rozpuštěním 12 g kyseliny fosfomolybdenové v 250 ml ethanolu

5.2 Syntéza diazosloučenin

5.2.1 Syntéza diazosloučenin 14b a 14c



5.2.1.1 Ester 19a synthesis



Kyselina skořicová (**18**) (10 g, 66,8 mmol, 1 ekviv.) se rozpustí v MeOH (270 ml, 1 ekviv.) a reakční směs se ochladí na $0\text{ }^\circ\text{C}$. Poté se přidá po kapkách AcCl (6 ml, 80,2 mmol, 1,2 ekviv.) a reakční směs se ponechá ohřát na RT. Po 24 h se provede kontrolní TLC ($\text{Hex}:\text{EtOAc} = 2:1$, KMnO_4) a reakce se ukončí odpařením rozpouštědla pomocí RVO. Odparek obsahuje produkt (11,7 g, 99 %) ve formě bílé krystalické látky.

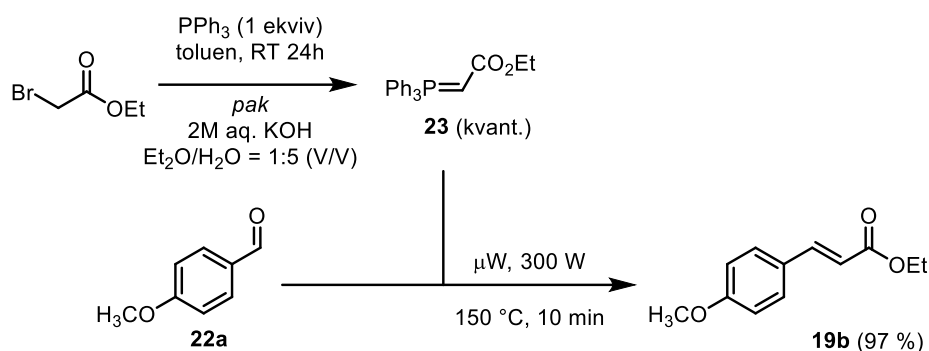
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.70 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 7.57 – 7.48 (m, 2H), 7.44 – 7.32 (m, 3H), 6.45 (d, J = 16.0 Hz, 1H), 3.81 (s, 3H) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 167.55, 144.99, 134.53, 130.41, 129.01, 128.19, 117.95, 51.81 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 163

$t_{\text{T}} = 33\text{--}35\text{ }^\circ\text{C}$

5.2.1.2 Syntéza esteru 19b



Příprava Wittigova reagentu

PPh_3 (39,3 g, 150 mmol, 1,5 ekviv.) se rozpustí v toluenu (200 ml, 100 mmol, 1 ekviv., 0,5 mol/l) za stálého míchání. Následně se přidá po kapkách ethyl bromoacetát (16,6 ml, 150 mmol, 1,5 ekviv.) a v roztoku se postupně vytvoří bílá sraženina. Reakční směs se při laboratorní teplotě nechá míchat po dobu 24 h. Během této doby došlo k přeměně bílé sraženiny na hustou bílou kaši. Po 24 h se kaše odfiltruje pomocí Büchnerovy nálevky a filtrát se promyje 75 ml toluenu a 75 ml Et_2O . Bílá pevná látka se v baňce umístí do vakua na 2 h a poté se rozpustí ve 450 ml H_2O . Přidá se fenolftaleinový indikátor (200 μl) a za stálého míchání se po kapkách přidává 2M roztok NaOH do růžového zbarvení. Vodná vrstva se extrahuje 3x200 ml DCM a spojené organické vrstvy se promyjí 400 ml nasyceného roztoku NaCl a suší se nad bezvodým MgSO_4 . Po filtraci se rozpouštědlo odstraní na RVO. Výsledný hustý olej se rozpustí ve 20 ml Et_2O a koncentruje se znovu na RVO. Následným sušením ve vakuu se získá produkt (35 g, kvant.) ve formě bílé pevné látky.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.69 – 7.61 (m, 6H), 7.57 – 7.50 (m, 3H), 7.48 – 7.40 (m, 6H), 3.96 (s, 2H), 2.87 (s, 1H), 1.30 – 0.73 (m, 3H) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 171.48, 133.15, 133.05, 131.98, 131.96, 128.84, 128.72, 127.66, 57.94, 14.98 ppm.

^{31}P NMR (162 MHz, Chloroform-*d*) $\delta = 18.29$ ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 349.

Kondenzace

V mikrovlnné vialce opatřené míchadlem se v toluenu (10 ml, 1 mol/l) se rozpustí *p*-anisaldehyd (**22a**) (1,2 ml, 10 mmol, 1 ekvív.) a přidá se Wittigův ylid (3,83 g, 11 mmol, 1,1 ekvív.). Vialka se umístí do mikrovlnky a je ozařována (300 W) po dobu 10 min při 150 °C (maximální teplota). Rozpouštědlo se odstraní pomocí RVO a odparek se purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 , Hex:EtOAc = 6:1 \rightarrow 3:1), která poskytne produkt (2,0 g, 97 %) jako žluto-bílou krystalickou látku.

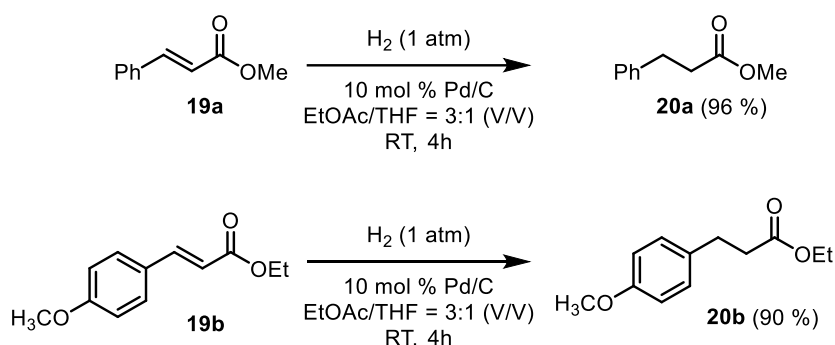
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.64 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.52 – 7.44 (m, 2H), 6.94 – 6.85 (m, 2H), 6.30 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.25 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 1.33 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, CHLOROFORM-*D*) δ 167.44, 161.47, 144.35, 129.80, 127.36, 115.92, 114.45, 60.44, 55.49, 14.49.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 207.

$t_{\text{T}} = 39\text{--}43$ °C

5.2.1.3 Hydrogenace esterů kyseliny skořicové **19**. Příprava dihydro esterů **20**



Uvedeno na příkladu reakce methyl esteru **19a**

Methyl ester kyseliny skořicové (**19a**) (11,7 g, 72,1 mmol, 1 ekvív.) se rozpustí ve směsi EtOAc a THF v poměru 3:1 (144 ml EtOAc + 48 ml THF) za laboratorní teploty a stálého míchání. K této směsi se přidá Pd/C (768 mg, 0,72 mmol, 0,01 ekvív.), aparatura se zazátkuje, zátky a kohouty baňky se utěsní parafilmem a do takto utěsněné baňky se vpustí vodík (balón vodíku, 1 atm). Reakční směs se míchá za laboratorní teploty po dobu

4 h. Následně se provede kontrolní TLC (Hex:EtOAc = 2:1) a reakce se ukončí odfiltrováním Pd/C přes křemelinu. Filtrační koláč se následně promyje pomocí EtOAc (3x50 mL). Rozpouštědlo se odpaří na RVO a odparek obsahuje produkt (11,4 g, 96 %) ve formě světle žluté kapaliny.

Pro redukci ethyl esteru **19b**

Odpaření filtrátu poskytlo látku **20b** (2,2 g, 90 %) jako bezbarvou kapalinu.

Experimentální data pro ester **20a**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.32 – 7.27 (m, 2H), 7.23 – 7.18 (m, 3H), 3.68 (s, 3H), 2.99 – 2.92 (m, 2H), 2.64 (dd, $J = 8.5, 7.2$ Hz, 2H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 173.46, 140.64, 128.63, 128.39, 126.39, 51.73, 35.83, 31.08 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 165.

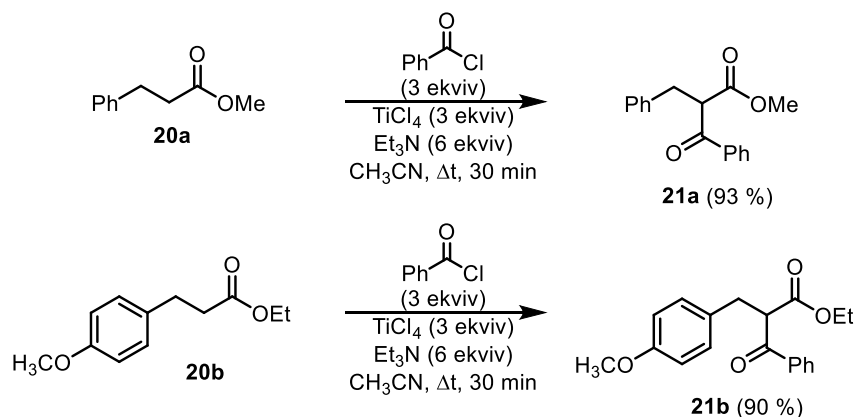
Experimentální data pro ester **20b**

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 7.12 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.12 (q, $J = 7.1$ Hz, 2H), 3.78 (s, 3H), 2.92 – 2.87 (m, 2H), 2.58 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 1.23 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H) ppm.

$^{13}\text{C NMR}$ (101 MHz, Chloroform-*d*) δ 173.30, 158.40, 133.00, 129.57, 114.22, 60.68, 55.57, 36.58, 30.47, 14.54 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 209.

5.2.1.4 Acylace esterů kyseliny dihydroskořicové (**20**). Vznik acylovaných esterů **21**



Obecný postup demonstrováný na přípravě ketoesteru **21a**

V CH₃CN (30,4 ml, 1 mol/l) se postupně rozpustil benzoyl chlorid (10,6 ml, 91,3 mmol, 3 ekviv.), methyl ester kyseliny dihydroskořicové (**26**) (5 g, 30,4 mmol, 1 ekviv.) a Et₃N (25,4 ml, 183 mmol, 6 ekviv.) za 0 °C. V reakční směsi se vytvořila hustá kaše. Po 5 minutách se k reakční směsi postupně přidala v průběhu 30 min po kapkách TiCl₄ (45,7 ml, 45,7 mmol, 1,5 ekviv.). Během přidavku TiCl₄ se hnědo-šedá sraženina mění na černou. Po přidání veškerého TiCl₄ se reakční směs uvede k varu a pod refluxem se nechá po dobu 15 min. Reakční směs se ochladí na pokojovou teplotu a přidá se 60 ml H₂O. Potom se provede extrakce pomocí EtOAc (3x100 ml) a organické fáze se následně promyje pomocí nasyceného roztoku NaCl (150 ml) a suší nad bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo se odstraní pomocí RVO a odparek se purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc:AcOH = 50:0:0,1->20:1:0,1->10:1:0,1->5:1:0,1->2:1:0,1), která poskytne očekávaný produkt (7,63 g, 93 %) ve formě žlutooranžového sirupu.

Příprava ketoesteru **21b**

Surová reakční směs byla purifikována pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc:AcOH = 90:10:1, 80:10:1, 50:10:1, 30:10:1, 20:10:1) a poskytla očekávaný produkt **21b** (1,15 g, 90 %) jako žlutý olej.

Experimentální data pro ketoester **21a**. Látka přítomna jako keto-enol tautomery

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.94 (dd, *J* = 8.4, 1.3 Hz, 2H), 7.58 – 7.52 (m, 1H), 7.46 – 7.40 (m, 2H), 7.27 – 7.15 (m, 5H), 4.65 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.33 (dd, *J* = 7.3, 4.8 Hz, 2H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 194.54, 169.85, 138.48, 136.25, 133.71, 129.00, 128.86, 128.78, 128.68, 126.79, 56.04, 52.66, 34.99 ppm.

MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H]⁺ 269.

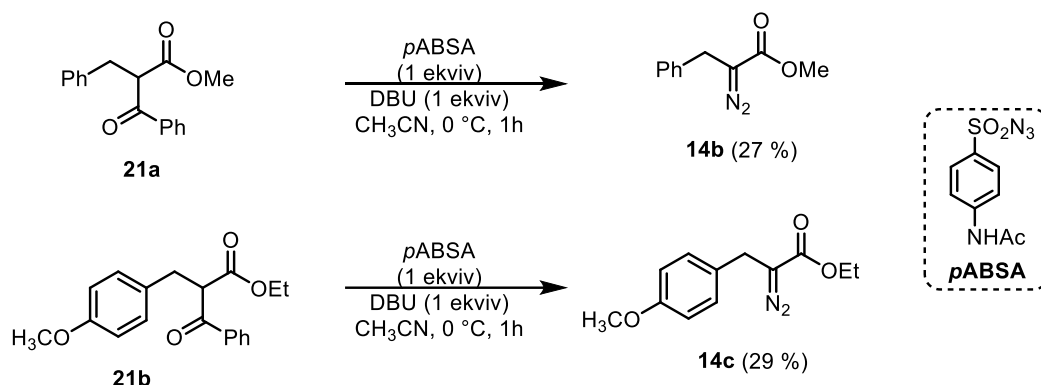
Experimentální data pro ketoester **21b**. Látka přítomna jako keto-enol tautomery

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.95 (dd, *J* = 8.5, 1.3 Hz, 2H), 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.47 – 7.42 (m, 2H), 7.19 – 7.11 (m, 2H), 6.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.58 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.10 (qd, *J* = 7.1, 4.5 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.27 (dd, *J* = 7.3, 1.9 Hz, 2H), 1.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 194.74, 169.46, 158.46, 136.41, 133.60, 130.59, 130.08, 128.81, 128.61, 114.07, 61.59, 56.61, 55.35, 34.08, 14.08 ppm.

MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H]⁺ 313.

5.2.1.5 Diazo-přenos/transacylace esteru **21** na diazosloučeninu **14**



Typický protokol pro transformaci esteru **21a** na diazosloučeninu **14b**

Methyl 2-benzyl-3-oxo-3-fenylpropanoát (**21a**) (400 g, 1,5 mmol, 1 ekvív.) byl rozpuštěn v CH₃CN (15 ml, 0,1 mol/l) za 0 °C výsledná směs byla míchána při 0 °C po dobu 5 minut. *p*ABSA (358 mg, 1,5 mmol, 1 ekvív.) byl přidán a výsledná reakční směs byla míchána po dobu dalších 5 minut při 0 °C. Následně DBU (223 μl, 1,5 mmol, 1 ekvív.) bylo přidáno v rozmězí 30 min za stálého míchání. Po 1 h se reakce ukončí přidavkem 20 ml H₂O. Následně se provede extrakce pomocí EtOAc (3x30 ml) a spojené organické fáze se promyjí pomocí 50 ml nasyceného roztoku NaCl a pak suší nad bezvodým MgSO₄. Po filtraci se rozpouštědlo odstraní na RVO a odparek se purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc = 10:0->7:1->5:1->2:1), která poskytne produkt **14b** (76,6 mg, 27 %) jako žlutý olej.

Příprava diazoesteru **14c**

Odparek se purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc = 10:0->7:1->5:1->2:1), která poskytne produkt **14c** (28 mg, 29 %) jako žlutý olej.

Experimentální data pro diazoester **14b**

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.35 – 7.30 (m, 2H), 7.28 – 7.22 (m, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.64 (s, 2H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 167.53, 144.98, 134.53, 130.41, 129.01, 128.19, 117.96, 51.81 ppm.

MS (ES⁺), m/z (%): [M+H-N₂]⁺ 163.

Experimentální data pro diazoester **14c**

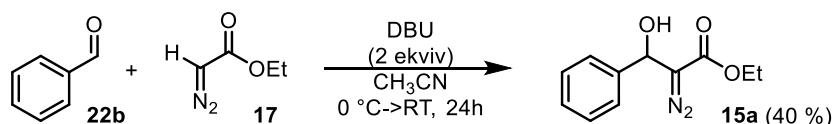
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.19 – 7.12 (m, 2H), 6.89 – 6.82 (m, 2H), 4.24 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 1.28 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 159.05, 129.79, 129.55, 114.52, 61.22, 55.61, 28.89, 14.85 ppm.

MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H-N₂]⁺ 207.

5.2.2 Syntéza diazosloučenin 15

5.2.2.1 ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-fenylpropanoátu (15a)



Ethyl 2-diazoacetát (**17**) (1,84 ml, 15,1 mmol, 1 ekvív.) se rozpustí v CH₃CN (75 ml, 0,2 mol/l) a reakční směs se ochladí na 0 °C. Posléze se přidá DBU (4,6 ml, 30,1 mmol, 2 ekvív. Po 2 min míchání za stálých 0 °C se přidá benzaldehyd (**22b**) (1,74 ml, 16,6 mmol, 1,1 ekvív.). Reakční směs postupně přechází ze žluto-oranžové barvy reakční směsi na oranžovou. Po smísení všech komponent se reakční směs ohřeje na laboratorní teplotu a ponechá míchat za RT po dobu 24 h. Reakce se ukončí přidávkem 50 ml NaHCO₃ a organická směs se extrahuje pomocí CH₂Cl₂ (3x60 ml). Nakonec se spojené organické frakce promyjí pomocí 50 ml nasyceného roztoku NaCl a následně suší nad MgSO₄. Směs se odfiltruje a filtrát je zahuštěn na RVO. Odparek se následně purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc = 4:1), která poskytne produkt (**15a**) (1,7 g, 40 %) jako žluto-zelenou sirupovitou kapalinu.

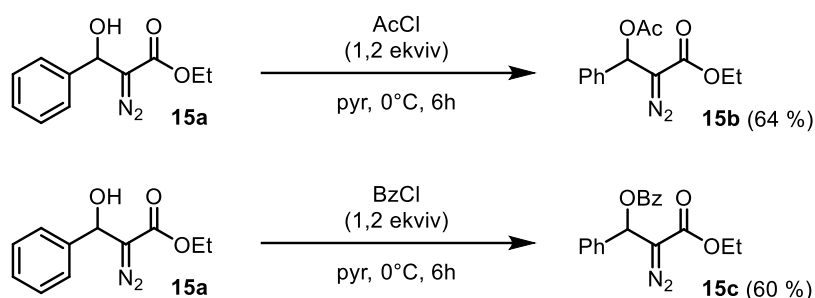
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.46 – 7.36 (m, 4H), 7.35 – 7.30 (m, 1H), 5.92 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 4.28 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.95 (s, 1H), 1.30 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 166.51, 138.94, 128.92, 128.50, 125.88, 68.95, 61.33, 14.62 ppm.

MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H-N₂]⁺ 193.

HRMS vypočítáno pro C₁₁H₁₄KO₃⁺ ([M+K-N₂]): 231,0418, nalezeno 231,0422.

5.2.2.2 Acylace diazosloučeniny 15a



Standardní protokol – Reakce ukázána pro acetylaci látky 15a na 15b

Ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-fenylpropanoát (**15a**) (500 mg, 2,27 mmol, 1 ekvív.) se rozpustí v bezvodém pyridinu (16,2 ml, 0,14 mol/l) a reakční směs se ochladí na 0 °C. Po kapkách se pak přidá acyl chlorid (194 µl, 2,72 mmol, 1,2 ekvív.) a reakční směs se nechá za stálého míchání při 0 °C reagovat po dobu 3 h. Reakce je ukončena přidávkem 25 ml NaHCO₃. Výsledná reakční směs je pak extrahována pomocí CH₂Cl₂ (3x40 ml). Spojené organické fáze se promyjí pomocí 50 ml nasyceného roztoku NaCl a pak suší nad bezvodým MgSO₄. Po zfiltrování se vzniklý roztok zahustí na RVO a odparek se následně purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc:Et₃N = 99:0:1->90:9:1->50:49:1), která poskytne očekávaný produkt **15b** (380 mg, 64 %) jako žlutou olejovitou kapalinu.

Pro benzoylaci látky 15a na 15c

Odparek se následně purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc:Et₃N = 99:0:1->90:9:1->50:49:1), která poskytne očekávaný produkt **15c** (445 mg, 60 %) jako žlutou olejovitou kapalinu.

Experimentální data pro diazoester 15b

¹H NMR (400 MHz, Acetone-*d*₆) δ = 7.45 – 7.41 (m, 3H), 7.40 – 7.34 (m, 1H), 6.80 (s, 1H), 4.24 (qd, *J* = 7.1, 0.7 Hz, 2H), 2.79 (s, 1H), 2.14 (s, 3H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, Acetone-*d*₆) δ = 170.11, 165.11, 137.96, 129.90, 129.52, 126.77, 71.04, 62.02, 20.94, 14.83 ppm.

MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H-N₂]⁺ 235.

HRMS vypočítáno pro C₁₃H₁₄KO₄⁺ ([M+K-N₂]): 273,0524, nalezeno 273,0520.

Experimentální data pro diazoester **15c**

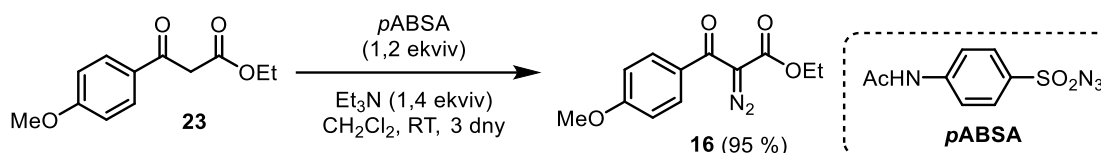
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 8.20 – 8.02 (m, 2H), 7.59 (ddt, J = 8.1, 6.9, 1.3 Hz, 1H), 7.53 – 7.29 (m, 7H), 7.09 (s, 1H), 4.27 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 1.27 (t, J = 7.1 Hz, 3H) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 165.28, 136.68, 133.48, 129.98, 129.89, 129.10, 128.78, 128.64, 125.88, 71.17, 61.50, 14.57 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ 297.

HRMS vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{KO}_4^+$ ($[\text{M}+\text{K}-\text{N}_2]$): 335,0680, nalezeno 335,0678.

5.2.3 Syntéza ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (**16**)



Ethyl 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát (**23**) (3 ml, 15,3 mmol, 1 ekviv.) se rozpustí ve směsi CH_2Cl_2 (30 ml, 0,5 mol/l) a Et_3N (3 ml, 21,5 mmol, 1,4 ekviv.) za laboratorních podmínek. Po 5 min za stálého míchání se přidá po 10-ti částech $p\text{-ABSA}$ (**7**) (4,42 g, 18,4 mmol, 1,2 ekviv.) a z reakční směsi se začne postupně vylučovat bílá sraženina. Po 3 dnech se ukončí reakce odpařením rozpouštědla a odparek je purifikován pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 , Hex:EtOAc = 9:1), která poskytne cílovou látku (**16**) (3,6 g, 95 %) jako světle zelenou viskózní kapalinu.

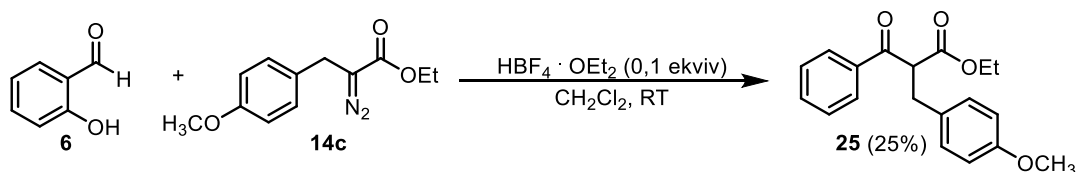
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.17 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.86 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 4.25 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 3.80 (s, 3H), 1.29 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 158.93, 129.66, 129.43, 114.40, 61.08, 55.47, 28.76, 14.71 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}-\text{N}_2]^+$ 221.

HRMS vypočítáno pro $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{KO}_4^+$ ($[\text{M}+\text{K}-\text{N}_2]$): 259,0367, nalezeno 259,0369.

5.3 Cyklizace za katalýzy HBF₄ – tvorba produktu 25



Do roztoku salicyl aldehydu (**6**) (25,7 μ l, 0,244 mmol, 1 ekvív.) v bezvodém CH₂Cl₂ (2 ml, 0,1 mol/l) se přidá HBF₄·OEt₂ (3,32 μ l, 0,0244 mmol, 0,1 ekvív.) přičemž dojde ke žlutému zbarvení reakční směsi. Diazolátka (**14c**) (120 mg, 0,512 mmol, 2,1 ekvív.) v CH₂Cl₂ (0,5 mL) se pak přidává rychlostí 7 μ l/min. Během přidavku docházelo k uvolňování bublin a změně barvy do oranžové. Po 24 h za RT se reakce ukončí přidavkem 1 ml NaHCO₃ a vzniklá směs se extrahuje pomocí EtOAc (3x2 ml). Spojené organické fáze se promyjí pomocí 5 ml nasyceného roztoku NaCl a následně suší nad bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo se odstraní pomocí RVO a odparek se následně purifikuje sloupcovou chromatografií (SiO₂, Hex:EtOAc = 50:1->20:1->10:1->5:1->2:3), která poskytne produkt (20 mg, 25 %) jako béžovou kapalinu.

Produkt přítomen jako směs keto-enol tautomerů

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 7.95 (dd, *J* = 8.5, 1.3 Hz, 2H), 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.47 – 7.42 (m, 2H), 7.19 – 7.11 (m, 2H), 6.79 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 4.58 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 4.10 (qd, *J* = 7.1, 4.5 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H), 3.27 (dd, *J* = 7.3, 1.9 Hz, 2H), 1.12 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 194.74, 169.46, 158.46, 136.41, 133.60, 130.59, 130.08, 128.81, 128.61, 114.07, 61.59, 56.61, 55.35, 34.08, 14.08 ppm.

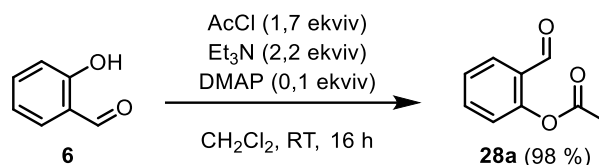
MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H]⁺ 313.

HRMS vypočítáno pro C₁₉H₂₀KO₄⁺ ([M+K]): 351,0993, nalezeno 351,0995.

5.4 Roskampova reakce

5.4.1 Syntéza aldehydů 28

5.4.1.1 Syntéza acetyl salicylaldehydu 28a



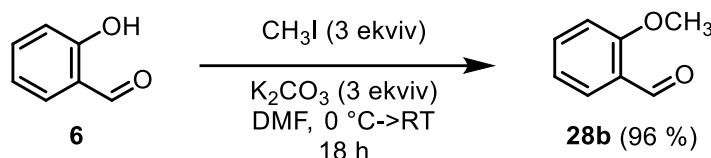
V bezvodém DCM (8 ml, 0,5 mol/l) za laboratorní teploty se rozpustí salicylaldehyd (**6**) (0,431 ml, 4,01 mmol, 1 ekviv.) a přidá se postupně Et₃N (1,23 ml, 8,83 mmol, 2,2 ekviv.), DMAP (50 mg, 0,401 mmol, 0,1 ekviv.) a AcCl (0,487 ml, 6,82 mmol, 1,7 ekviv.). Reakční směs se nechá míchat při RT po dobu 16 h než se reakce ukončí přidavkem 20 ml H₂O a dvou kapek konc. HCl. Organická fáze je poté promyta roztokem 10 % HCl a vodná fáze extrahována pomocí CH₂Cl₂ (20 ml). Spojené organické fáze se potom promyjí 40 ml nasyceného roztoku NaCl a suší nad bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo se odpaří na RVO a odparek obsahuje očekávaný produkt (646 mg, 98 %).

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 10.11 (s, 1H), 7.90 – 7.86 (m, 1H), 7.63 (ddd, *J* = 8.1, 7.4, 1.8 Hz, 1H), 7.42 – 7.38 (m, 1H), 7.20 – 7.17 (m, 1H), 2.39 (s, 3H).

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 188.85, 169.35, 151.63, 135.42, 131.43, 128.20, 126.57, 123.62, 20.99.

MS (ES⁺), m/z (%): [M+H-OAc]⁺ 122,99

5.4.1.2 Syntéza *o*-anisaldehydu 28b



V DMF (1,5 ml, 1,6 mol/l) se rozpustí salicylaldehyd (**6**) (0,262 ml, 2,41 mmol, 1 ekviv.) a reakční směs se ochladí na 0 °C. Po ochlazení se přidá K₂CO₃ (998 mg, 7,22 mmol, 3 ekviv.) a reakční směs se míchá po dobu 5 minut při 0 °C. CH₃I (0,459 ml, 7,22 mmol, 3

ekviv.) se přidá za 0 °C a poté se ponechá reakční směs samovolně ohřát a míchá se po dobu 18 h. Reakce se ukončí přidávkem 5 ml H₂O a 20 ml Et₂O. Extrakce se provádí pomocí 5x10 ml Et₂O a spojené organické fáze se pak promyjí pomocí 5 ml nasyceného roztoku NaCl a suší nad bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo se odstraní na RVO a odparek se dosuší pomocí lyofilizátoru. Cílový produkt **28b** (315 mg, 96 %) je získán ve formě světle žluté pevné látky.

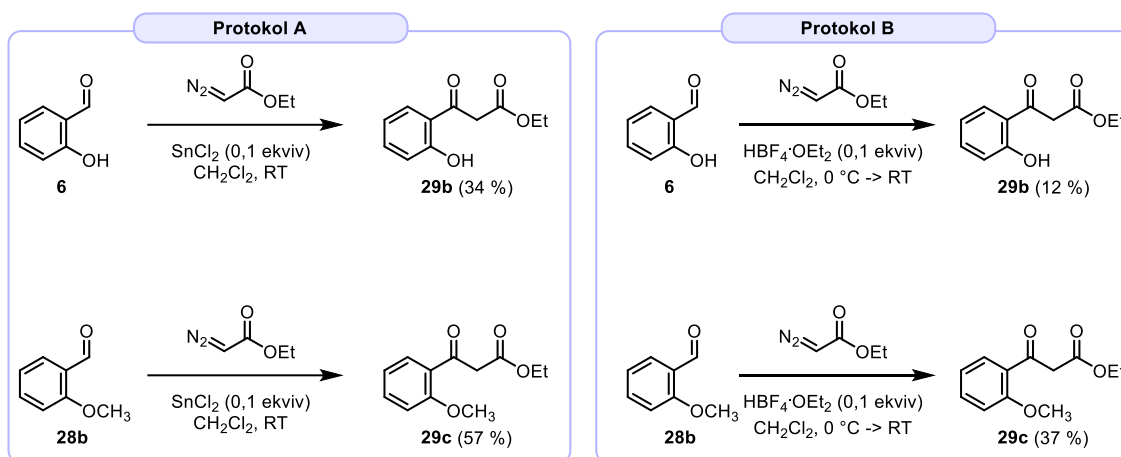
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ = 10.48 (s, 1H), 7.91 – 7.76 (m, 1H), 7.55 (ddd, *J* = 8.4, 7.3, 1.9 Hz, 1H), 7.06 – 6.94 (m, 2H), 3.94 (s, 3H) ppm.

¹³C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ = 189.90, 161.96, 136.04, 128.66, 125.00, 120.78, 111.76, 55.75 ppm.

MS (ES⁺), *m/z* (%): [M+H]⁺ 137,07

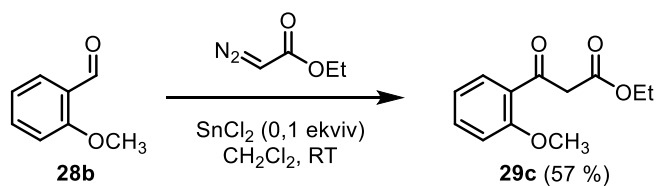
*t*_T = 35–37 °C

5.5 Roskampova reakce



5.5.1 Protokol A – SnCl₂ katalýza

Obecný postup ukázán na příkladu produktu **29c**

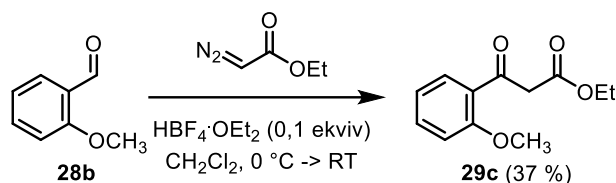


V bezvodém CH₂Cl₂ (14,7 ml, 0,04 mol/l) se rozpustí *o*-anisaldehyd (**28b**) (100 mg, 0,734 mmol, 1 ekviv.) a SnCl₂ (142 mg, 0,734 mmol, 1 ekviv.). Do vzniklého roztoku je za RT

přidán ethyl 2-diazoacetát (**17**) (0,108 ml, 0,881 mmol, 1,2 ekviv.) v průběhu 1. Reakční směs se při přidavku **17** zabarvuje do světle žluté a následně se postupně odbarvuje. Po 6 h dojde k opětovnému celkovému odbarvení. Reakce se ukončí přidavkem 20 ml nasyceného vodného NaCl. Následně se provede extrakce pomocí Et₂O (3x30 ml) a spojené organické fáze se promyjí pomocí 50 ml nasyceného roztoku NaCl a následně se suší nad bezvodým MgSO₄. Po zfiltrování se odpaří rozpouštědla na RVO a odparek se purifikuje pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, Hex:EtOAc = 50:0->25:1->10:1->5:1), která poskytne očekávaný produkt (94 mg, 57 %) velmi světle žluté kapaliny.

5.5.2 Protokol B – HBF₄·OEt₂ katalýza

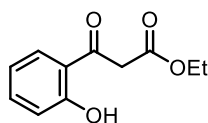
Obecný postup ukázán na příkladu produktu **29c**



Do roztoku aldehydu (**28b**) (100 mg, 0,734 mmol, 1 ekviv.) v bezvodém CH₂Cl₂ (7 ml, 0,1 mol/l) se přidá HBF₄·OEt₂ (10 μl, 0,0734 mmol, 0,1 ekviv.) přičemž dojde ke žlutému zbarvení reakční směsi. Diazolátka (**17**) (360 mg, 1,54 mmol, 2,1 ekviv.) v CH₂Cl₂ (1,5 mL) se pak přidává rychlostí 7 μl/min. Během přidavku docházelo k uvolňování bublin a změně barvy do oranžové. Po 24 h za RT se reakce ukončí přidavkem 1 ml NaHCO₃ a vzniklá směs se extrahuje pomocí EtOAc (3x2 ml). Spojené organické fáze se promyjí pomocí 5 ml nasyceného roztoku NaCl a následně suší nad bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo se odstraní pomocí RVO a odparek se následně purifikuje sloupcovou chromatografií (SiO₂, Hex:EtOAc = 50:0->25:1->10:1->5:1), která poskytne očekávaný produkt (60 mg, 37 %) jako běžovou kapalinu.

5.5.3 Experimentální data jednotlivých produktů 29

5.5.3.1 Experimentální data pro keto ester 29b



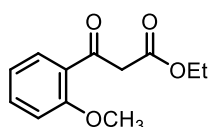
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 11.85 (s, 1H), 7.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (m, 1H), 7.00 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.92 (m, 1H), 4.23 (m, 2H), 4.00 (s, 2H), 1.27 (m, 3H) ppm.

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 193.12, 169.81, 157.74, 129.82, 125.61, 121.52, 110.38, 102.63, 61.82, 55.35, 14.27 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 209.

HRMS vypočítáno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{KO}_4^+$ ($[\text{M}+\text{K}]$): 247,0367, nalezeno 247,0370.

5.5.3.2 Experimentální data pro keto ester 29c



Produkt je přítomen ve směsi keto-enol tautomerů (enol forma označena jako minor).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 12.74 (s, 0.07H, minor), 7.87-7.83 (m, 1H), 7.49 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.38 (t, J = 7.6 Hz, 0.07H, minor), 7.31 (s, 0.03H, minor), 7.02-6.95 (m, 2H), 6.04 (s, 0.07H, minor), 4.24 (q, J = 7.2 Hz, 0.15H, minor), 4.15 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.96 (s, 2H), 3.88 (s, 3H), 1.32 (t, J = 6.8 Hz, 0.25H, minor), 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 3H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 192.8, 173.5 (minor), 168.6 (minor), 167.9, 158.9, 157.8 (minor), 134.5, 131.7 (minor), 130.7, 129.1 (minor), 126.0, 120.5, 120.3 (minor), 111.4, 111.2 (minor), 91.9 (minor), 60.6, 60.0 (minor), 55.3 (minor), 55.1, 50.4, 14.1 (minor), 13.9 ppm.

MS (ES^+), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 223

HRMS vypočítáno pro $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{NaO}_4^+$ ($[\text{M}+\text{Na}]$): 245,0784, nalezeno 245,0781.

6. Použitá literatura

- (1) Mlčoch, Z. Dějiny, historie léčby bylinami (dějiny fytoterapie) v kostce <https://www.bylinkyprovsechny.cz/uvod/dejiny-fytoterapie/509-dejiny-historie-lecby-bylinami-dejiny-fytoterapie-v-kostce> (accessed Sep 5, 2021).
- (2) Juraj Harmatha. Historie Zkoumání Přírodních Látek. In *Chemie a biochemie přírodních látek*; 2002; p 7.
- (3) Jan Masák. Biochemie sekundárních metabolitů <https://ub.vscht.cz/files/uzel/0015847/biochemiesekmet.pdf?redirected> (accessed Aug 11, 2021).
- (4) Juraj Harmatha. Chemické Signály Rostlin - Sekundární Rostlinné Látky. In *Chemie a biochemie přírodních látek*; 2002; p 63.
- (5) Pospíšil, J.; Konrádová, D.; Strnad, M. Antileishmanial Activity of Lignans, Neolignans, and Other Plant Phenols; 2021; pp 115–176. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64853-4_3.
- (6) Leifso, K.; Cohen-Freue, G.; Dogra, N.; Murray, A.; McMaster, W. R. Genomic and Proteomic Expression Analysis of Leishmania Promastigote and Amastigote Life Stages: The Leishmania Genome Is Constitutively Expressed. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2007**, *152* (1), 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2006.11.009>.
- (7) Alcolea, P. J.; Alonso, A.; Gómez, M. J.; Moreno, I.; Domínguez, M.; Parro, V.; Larraga, V. Transcriptomics throughout the Life Cycle of Leishmania Infantum: High down-Regulation Rate in the Amastigote Stage. *Int. J. Parasitol.* **2010**, *40* (13), 1497–1516. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.05.013>.
- (8) Bates, P. A. Transmission of Leishmania Metacyclic Promastigotes by Phlebotomine Sand Flies. *Int. J. Parasitol.* **2007**, *37* (10), 1097–1106. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.04.003>.
- (9) Yu, O.; Jez, J. M. Nature's Assembly Line: Biosynthesis of Simple

- Phenylpropanoids and Polyketides. *Plant J.* **2008**, *54* (4), 750–762. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03436.x>.
- (10) Miao, Y. H.; Hu, Y. H.; Yang, J.; Liu, T.; Sun, J.; Wang, X. J. Natural Source, Bioactivity and Synthesis of Benzofuran Derivatives. *RSC Adv.* **2019**, *9* (47), 27510–27540. <https://doi.org/10.1039/c9ra04917g>.
- (11) Canel, C.; Moraes, R. M.; Dayan, F. E.; Ferreira, D. Podophyllotoxin. *Phytochemistry* **2000**, *54* (2), 115–120. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00094-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00094-7).
- (12) Konrádová, D.; Kozubíková, H.; Doležal, K.; Pospíšil, J. Microwave-Assisted Synthesis of Phenylpropanoids and Coumarins: Total Synthesis of Osthol. *European J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (35), 5204–5213. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201701021>.
- (13) Barbuková, Z.; Kozubíková, H.; Zálešák, F.; Doležal, K.; Pospíšil, J. General Approach to Neolignan-Core of the Boehmenan Natural Product Family. *Monatshefte für Chemie* **2018**, *149* (4), 737–748. <https://doi.org/10.1007/s00706-017-2132-4>.
- (14) Biała, W.; Jasiński, M. The Phenylpropanoid Case – It Is Transport That Matters. *Front. Plant Sci.* **2018**, *871* (November), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01610>.
- (15) El-Seedi, H. R.; El-Said, A. M. A.; Khalifa, S. A. M.; Göransson, U.; Bohlin, L.; Borg-Karlson, A.-K.; Verpoorte, R. Biosynthesis, Natural Sources, Dietary Intake, Pharmacokinetic Properties, and Biological Activities of Hydroxycinnamic Acids. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60* (44), 10877–10895. <https://doi.org/10.1021/jf301807g>.
- (16) Magoulas, G. E.; Papaioannou, D. *Bioinspired Syntheses of Dimeric Hydroxycinnamic Acids (Lignans) and Hybrids, Using Phenol Oxidative Coupling as Key Reaction, and Medicinal Significance Thereof*; 2014; Vol. 19. <https://doi.org/10.3390/molecules191219769>.
- (17) Opletal, L. *Přírodní Látky a Jejich Biologická Aktivita*; 2016.
- (18) Juraj Harmatha. Fenylpropanoidy, Lignany a Jejich Biologické Účinky. In *Chemie*

a biochemie přírodních látek; 2002; pp 117–142.

- (19) Zálešák, F.; Bon, D. J. Y. D.; Pospíšil, J. Lignans and Neolignans: Plant Secondary Metabolites as a Reservoir of Biologically Active Substances. *Pharmacol. Res.* **2019**, *146* (December 2018), 104284. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104284>.
- (20) Vanholme, R.; Demedts, B.; Morreel, K.; Ralph, J.; Boerjan, W. Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiol.* **2010**, *153* (3), 895–905. <https://doi.org/10.1104/pp.110.155119>.
- (21) Hatfield, R.; Vermerris, W. Lignin Formation in Plants. The Dilemma of Linkage Specificity. *Plant Physiol.* **2001**, *126* (4), 1351–1357. <https://doi.org/10.1104/pp.126.4.1351>.
- (22) Sekundární metabolity [http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/28-Sekundární metabolity/28-SekundMetab-1.htm](http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/28-Sekundární%20metabolity/28-SekundMetab-1.htm) (accessed Sep 12, 2021).
- (23) Shumilin, I. A.; Zhao, C.; Bauerle, R.; Kretsinger, R. H. Allosteric Inhibition of 3-Deoxy-D-Arabino-Heptulosonate-7-Phosphate Synthase Alters the Coordination of Both Substrates. *J. Mol. Biol.* **2002**, *320* (5), 1147–1156. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(02\)00545-4](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(02)00545-4).
- (24) Bochkov, D. V.; Sysolyatin, S. V.; Kalashnikov, A. I.; Surmacheva, I. A. Shikimic Acid: Review of Its Analytical, Isolation, and Purification Techniques from Plant and Microbial Sources. *J. Chem. Biol.* **2012**, *5* (1), 5–17. <https://doi.org/10.1007/s12154-011-0064-8>.
- (25) Joseph Scheppach. *Tajemné Vědomí Rostlin*; 2018.
- (26) León-Díaz, R.; Meckes, M.; Said-Fernández, S.; Molina-Salinas, G. M.; Vargas-Villarreal, J.; Torres, J.; Luna-Herrera, J.; Jiménez-Arellanes, A. Antimycobacterial Neolignans Isolated from *Aristolochia Taliscana*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2010**, *105* (1), 45–51. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762010000100006>.
- (27) Mengarda, A. C.; Silva, M. P.; Cirino, M. E.; Morais, T. R.; Conserva, G. A. A.; Lago, J. H. G.; de Moraes, J. Licarin A, a Neolignan Isolated from *Nectandra Oppositifolia* Nees & Mart. (Lauraceae), Exhibited Moderate Preclinical Efficacy against *Schistosoma Mansoni* Infection. *Phyther. Res.* **2021**, *35* (9), 5154–5162.

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

- (28) Alvarenga, D. J.; Matias, L. M. F.; Oliveira, L. M.; Leão, L. P. M. de O.; Hawkes, J. A.; Raimundo, B. V. B.; Castro, L. de F. D.; Campos, M. M. A. de; Siqueira, F. dos S.; Santos, T. dos; Carvalho, D. T. Exploring How Structural Changes to New Licarin A Derivatives Effects Their Bioactive Properties against Rapid Growing Mycobacteria and Biofilm Formation. *Microb. Pathog.* **2020**, *144*, 104203. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104203>.
- (29) Aristolochia taliscana <https://www.flickr.com/photos/plantaphilia/6803091779> (accessed Aug 17, 2021).
- (30) Wu, T.-S.; Damu, A. G.; Su, C.-R.; Kuo, P.-C. Terpenoids of Aristolochia and Their Biological Activities. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, *21* (5), 594. <https://doi.org/10.1039/b401950d>.
- (31) Stefani, M. Nectandra oppositifolia <https://www.flickr.com/photos/restingas/7212981466/> (accessed Sep 11, 2021).
- (32) Wacker, K. T.; Kristufek, S. L.; Lim, S.-M.; Kahn, S.; Wooley, K. L. Bio-Based Polycarbonates Derived from the Neolignan Honokiol. *RSC Adv.* **2016**, *6* (85), 81672–81679. <https://doi.org/10.1039/C6RA19568G>.
- (33) Chen, Y.-H.; Huang, P.-H.; Lin, F.-Y.; Chen, W.-C.; Chen, Y.-L.; Yin, W.-H.; Man, K.-M.; Liu, P.-L. Magnolol: A Multifunctional Compound Isolated from the Chinese Medicinal Plant Magnolia Officinalis. *Eur. J. Integr. Med.* **2011**, *3* (4), e317–e324. <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2011.09.002>.
- (34) Indriani; Aminah, N. S.; Puspaningsih, N. N. T.; Hasna, I. H.; Takaya, Y.; Satrimafitrah, P. Vladinol F, Neolignan Compound from the Stem Bark of Dryobalanops Oblongifolia (Dipterocarpaceae) and Antiplasmodial Activity. *Rasayan J. Chem.* **2021**, *14* (1), 161–165. <https://doi.org/10.31788/RJC.2021.1416017>.
- (35) Dryobalanops oblongifolia <https://www.nparks.gov.sg/florafauweb/flora/2/8/2863> (accessed Sep 28, 2021).
- (36) Eipe, R. Myristica fragrans <https://www.flickr.com/photos/rekhaeipe/4134935907>.

- (37) Tomáš Arndt. Přípravky z oblasti ajurvédské medicíny <https://www.celostnimedica.cz/pripravky-z-oblasti-ajurvedske-mediciny.htm> (accessed Oct 3, 2021).
- (38) Jaiswal, D. P.; Kumar, D. P.; Singh, D. V. K.; Singh, D. K. Biological Effects of *Myristica Fragrans*. *Annu. Rev. Biomed. Sci.* **2009**, *11*, 21–29. <https://doi.org/10.5016/1806-8774.2009v11p21>.
- (39) Yang, Y.; Qin, Y.; Meng, Y.; Xia, C.; Gao, X. M.; Hu, Q. F. 8-O-4'-Neolignans from the Stem Bark of *Illicium Difengpi* and Their Anti-HIV-1 Activities. *Chem. Nat. Compd.* **2016**, *52* (1), 43–47. <https://doi.org/10.1007/s10600-016-1543-5>.
- (40) *Illicium difengpi*.
- (41) Grulich, V. PIPER BETLE L. – pepřovník betelový <https://botany.cz/cs/piper-betle/> (accessed Aug 19, 2021).
- (42) Pan, L. L.; Wang, X. L.; Zhang, Q. Y.; Luo, X. L.; Xu, P.; Liu, S. Y.; Hu, J. F.; Liu, X. H. Boehmenan, a Lignan from the Chinese Medicinal Plant *Clematis Armandii*, Induces Apoptosis in Lung Cancer Cells through Modulation of EGF-Dependent Pathways. *Phytomedicine* **2016**, *23* (5), 468–476. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.006>.
- (43) Pan, L. L.; Wang, X. L.; Luo, X. L.; Liu, S. Y.; Xu, P.; Hu, J. F.; Liu, X. H. Boehmenan, a Lignan from the Chinese Medicinal Plant *Clematis Armandii*, Inhibits A431 Cell Growth via Blocking p70S6/S6 Kinase Pathway. *Integr. Cancer Ther.* **2017**, *16* (3), 351–359. <https://doi.org/10.1177/1534735416669803>.
- (44) Goldstein, S. Kvetoucí vinicě na jaře <https://johnmontgomerylandscapearchitects.com/flowering-vines-for-spring/> (accessed Oct 12, 2021).
- (45) Shono, T.; Ishikawa, N.; Toume, K.; Arai, M. A.; Ahmed, F.; Sadhu, S. K.; Ishibashi, M. Boehmenan, a Lignan from *Hibiscus Ficulneus*, Showed Wnt Signal Inhibitory Activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (14), 2735–2738. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.05.037>.
- (46) Zhu, T. M.; Chen, K. L.; Zhou, W. B. A New Flavone Glycoside from *Selaginella Moellendorffii* Hieron. *Chinese Chem. Lett.* **2008**, *19* (12), 1456–1458.

<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2008.09.042>.

- (47) Selaginella moellendorffii Hieron.
<http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:60457176-2> (accessed Oct 12, 2021).
- (48) Zeng, W.; Yao, C.-P.; Xu, P.-S.; Zhang, G.-G.; Liu, Z.-Q.; Xu, K.-P.; Zou, Z.-X.; Tan, G.-S. A New Neolignan from Selaginella Moellendorffii Hieron. *Nat. Prod. Res.* **2017**, *31* (19), 2223–2227. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1297935>.
- (49) Matsumoto, T.; Nakamura, S.; Nakashima, S.; Ohta, T.; Ogawa, K.; Fukaya, M.; Tsukioka, J.; Hasei, T.; Watanabe, T.; Matsuda, H. Neolignan and Megastigmmane Glucosides from the Aerial Parts of Isodon Japonicus with Cell Protective Effects on BaP-Induced Cytotoxicity. *Phytochemistry* **2017**, *137*, 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.02.007>.
- (50) Isodon japonicus [http://flowers.la.coocan.jp/Lamiaceae/Isodon japonicus.htm](http://flowers.la.coocan.jp/Lamiaceae/Isodon_japonicus.htm) (accessed Oct 10, 2021).
- (51) Cunha, M. R.; Tavares, M. T.; Fernandes, T. B.; Parise-Filho, R. Peppers: A “hot” Natural Source for Antitumor Compounds. *Molecules* **2021**, *26* (6), 1–21. <https://doi.org/10.3390/molecules26061521>.
- (52) Liu, M.; Panda, S. K.; Luyten, W. Plant-Based Natural Products for the Discovery and Development of Novel Anthelmintics against Nematodes. *Biomolecules* **2020**, *10* (3). <https://doi.org/10.3390/biom10030426>.
- (53) Cabral, M. M. O.; Barbosa-Filho, J. M.; Maia, G. L. A.; Chaves, M. C. O.; Braga, M. V.; De Souza, W.; Soares, R. O. A. Neolignans from Plants in Northeastern Brazil (Lauraceae) with Activity against Trypanosoma Cruzi. *Exp. Parasitol.* **2010**, *124* (3), 319–324. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2009.11.007>.
- (54) Pedronel Araque Marín, A. S.-O. Redox Mechanism of Trypanosoma Cruzi Resistance to Nitro Prodrugs Benznidazole and Nifurtimox. *Int. J. Bioinforma. Comput. Biol.* **2020**, *5* (1), 1–7. <https://doi.org/10.20944/preprints201806.0012.v1>.
- (55) Douda, O. Hospodářsky významné druhy fytoparazitických hád'átek na území ČR <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/skudci/hospodarsky-vyznamne-druhy-fytoparazitickyh-hadatek-na>

- uzemi-cr (accessed Aug 28, 2021).
- (56) Hád'átka kořenová <https://www.agromanual.cz/cz/atlas/skudci/skudce/hadatka-korenova> (accessed Aug 28, 2021).
- (57) Douda, O. Hospodářsky významné druhy fytoparazitických hád'átek na území ČR.
- (58) Hád'átka kořenová.
- (59) Václav Čermák, V. G. Háľkotvorná hád'átka http://eagri.cz/public/web/file/94852/halkotvorna_hadatka.pdf.
- (60) Co je to hlístice bramborové a jak se s tím vypořádat <https://farmcs.desiguspro.com/posadka/ogorod/paslenovye/kartofel/kartofelnaya-nematoda-i-kak-s-ney-borotsya.html> (accessed Aug 28, 2021).
- (61) Václav Čermák, V. G. Háľkotvorná hád'átka.
- (62) Borghesan, T. C.; Ferreira, R. C.; Takata, C. S. A.; Campaner, M.; Borda, C. C.; Paiva, F.; Milder, R. V.; Teixeira, M. M. G.; Camargo, E. P. Molecular Phylogenetic Redefinition of *Herpetomonas* (Kinetoplastea, Trypanosomatidae), a Genus of Insect Parasites Associated with Flies. *Protist* **2013**, *164* (1), 129–152. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2012.06.001>.
- (63) Desbois, N.; Pratlong, F.; Quist, D.; Dedet, J.-P. *Leishmania* (*Leishmania*) *Martiniquensis* N. Sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), Description of the Parasite Responsible for Cutaneous Leishmaniasis in Martinique Island (French West Indies). *Parasite* **2014**, *21*, 12. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014011>.
- (64) Akhoundi, M.; Kuhls, K.; Cannet, A.; Votýpka, J.; Marty, P.; Delaunay, P.; Sereno, D. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2016**, *10* (3), e0004349. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004349>.
- (65) Pernicová, E. Horečka papatači <https://odbornost.avenier.cz/cz/horecka-papataci> (accessed Oct 10, 2021).
- (66) Naskrecki, P. Sand Fly <https://www.naturepl.com/stock-photo-lutzomyia-sp-nature-image00476964.html> (accessed Sep 16, 2021).
- (67) Gluenz, E.; Ginger, M. L.; McKean, P. G. Flagellum Assembly and Function

- during the Leishmania Life Cycle. *Curr. Opin. Microbiol.* **2010**, *13* (4), 473–479. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.05.008>.
- (68) Gluenz, E.; Ginger, M. L.; McKean, P. G. Flagellum Assembly and Function during the Leishmania Life Cycle. *Curr. Opin. Microbiol.* **2010**, *13* (4), 473–479. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2010.05.008>.
- (69) Desbois, N.; Pratlong, F.; Quist, D.; Dedet, J.-P. Leishmania (Leishmania) Martiniquensis N. Sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), Description of the Parasite Responsible for Cutaneous Leishmaniasis in Martinique Island (French West Indies). *Parasite* **2014**, *21*, 12. <https://doi.org/10.1051/parasite/2014011>.
- (70) Chappuis, F.; Sundar, S.; Hailu, A.; Ghalib, H.; Rijal, S.; Peeling, R. W.; Alvar, J.; Boelaert, M. Visceral Leishmaniasis: What Are the Needs for Diagnosis, Treatment and Control? *Nat. Rev. Microbiol.* **2007**, *5* (11), 873–882. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1748>.
- (71) Cohen-Freue, G.; Holzer, T. R.; Forney, J. D.; McMaster, W. R. Global Gene Expression in Leishmania. *Int. J. Parasitol.* **2007**, *37* (10), 1077–1086. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2007.04.011>.
- (72) Leishmaniasis <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> (accessed Aug 29, 2021).
- (73) Choi, C. M.; Lerner, E. A. Leishmaniasis as an Emerging Infection. *J. Investig. Dermatology Symp. Proc.* **2001**, *6* (3), 175–182. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.00038.x>.
- (74) Wortmann, G. W.; Aronson, N. E.; Miller, R. S.; Blazes, D.; Oster, C. N. Cutaneous Leishmaniasis Following Local Trauma: A Clinical Pearl. *Clin. Infect. Dis.* **2000**, *31* (1), 199–201. <https://doi.org/10.1086/313924>.
- (75) Choi, C. M.; Lerner, E. A. Leishmaniasis as an Emerging Infection. *J. Investig. Dermatology Symp. Proc.* **2001**, *6* (3), 175–182. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202x.2001.00038.x>.
- (76) Leishmaniasis.
- (77) Proč je leishmanióza jedním z nejpodceňovanějších parazitárních onemocnění? <https://www.veterinari-lekari.cz/novinky/proc-je-leishmanioza-jednim-z->

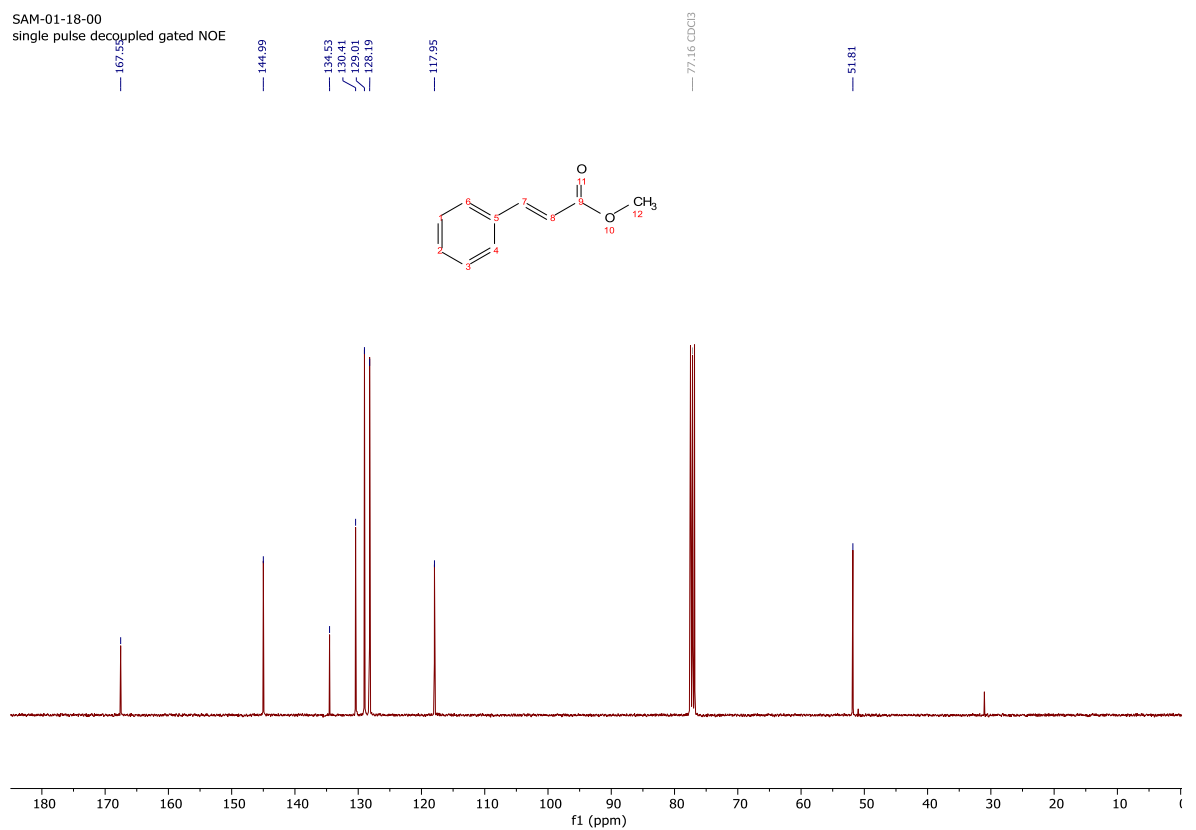
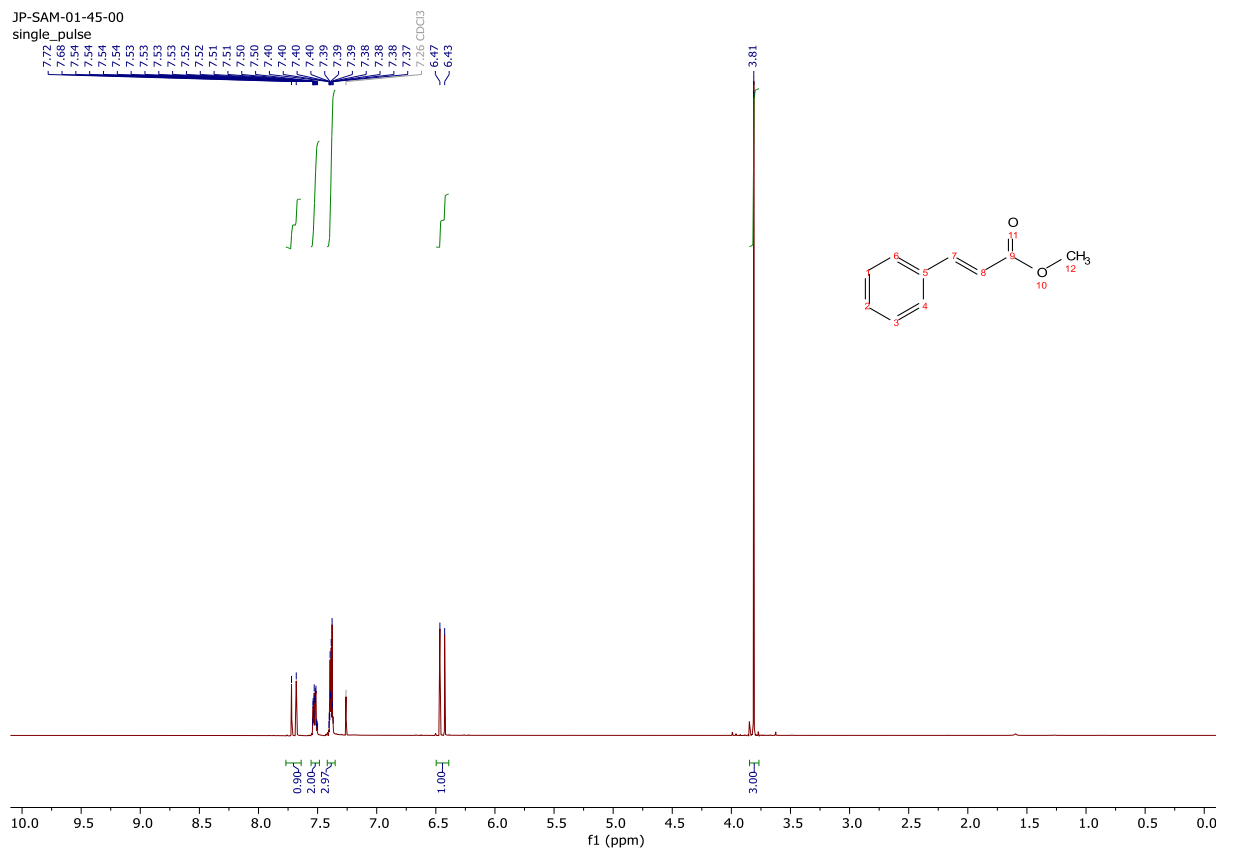
- nejpodcenovanejsich-parazitarnich-onemocneni-112988 (accessed Aug 29, 2021).
- (78) Barata, L. E. S.; Santos, L. S.; Ferri, P. H.; Phillipson, J. D.; Paine, A.; Croft, S. L. Anti-Leishmanial Activity of Neolignans from *Virola* Species and Synthetic Analogues. *Phytochemistry* **2000**, *55* (6), 589–595. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00240-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00240-5).
- (79) Hosein Mohimani, Alexey Gurevich, Alla Mikheenko, Neha Garg, Louis-Felix Nothias, Akihiro Ninomiya, Kentaro Takada, Pieter C. Dorrestein³, and P. A. P. 乳鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiol. Behav.* **2017**, *176* (3), 139–148. <https://doi.org/10.1021/np5008153.Neolignans>.
- (80) Oketch-Rabah, H. A.; Dossaji, S. F.; Christensen, S. B.; Frydenvang, K.; Lemmich, E.; Cornett, C.; Olsen, C. E.; Chen, M.; Kharazmi, A.; Theander, T. Antiprotozoal Compounds from *Asparagus Africanus*. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60* (10), 1017–1022. <https://doi.org/10.1021/np970217f>.
- (81) Agrawal, P. K. Natural Product Communications: Editorial. *Nat. Prod. Commun.* **2014**, *9* (8), 4–7.
- (82) Chen, P. Y.; Wu, Y. H.; Hsu, M. H.; Wang, T. P.; Wang, E. C. Cerium Ammonium Nitrate-Mediated the Oxidative Dimerization of P-Alkenylphenols: A New Synthesis of Substituted (\pm)-Trans- Dihydrobenzofurans. *Tetrahedron* **2013**, *69* (2), 653–657. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2012.11.006>.
- (83) Pereira, A. C.; Magalhães, L. G.; Gonalves, U. O.; Luz, P. P.; Moraes, A. C. G.; Rodrigues, V.; Da Matta Guedes, P. M.; Da Silva Filho, A. A.; Cunha, W. R.; Bastos, J. K.; Nanayakkara, N. P. D.; E Silva, M. L. A. Schistosomicidal and Trypanocidal Structure-Activity Relationships for (\pm)-Licarin A and Its (-)- and (+)-Enantiomers. *Phytochemistry* **2011**, *72* (11–12), 1424–1430. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.007>.
- (84) Pospíšil, J.; Konrádová, D.; Strnad, M. Antileishmanial Activity of Lignans, Neolignans, and Other Plant Phenols. In *Progress in the chemistry of organic natural products*; Springer International Publishing, 2021; Vol. 115, pp 115–176. https://doi.org/10.1007/978-3-030-64853-4_3.
- (85) Konrádová, D.; Bon, D. J.-Y. D.; Pospíšil, J. 1-(Phenylsulfonyl)-3-

- oxabicyclo[3.1.0]hexan-2-One as a Building Block in Organic Synthesis. *J. Org. Chem.* **2018**, 83 (19), 12229–12238. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b01625>.
- (86) Konrádová, D. Výzkum a Vývoj Nových Biologicky Aktivních Látek S Antileishmaniální Aktivitou: Syntéza (–)-Sanguinolignanu A, Universita Palackého v Olomouci, 2015.
- (87) Lachetová Eliška. Syntéza Neolignanů S Benzofuranovým Skeletem, Palackého Univerzita v Olomouci, 2019.
- (88) Pavol Tuna. Syntéza a Biologická Aktivita Fenylpropanoidových Derivátů: Vývoj Syntézy Boehmenanu D, Universita Palackého v Olomouci, 2019.
- (89) Denisa Vysloužilová. Modulární Syntéza a Biologická Aktivita Fenylpropanoidových Dimerů: Syntéza Benzofuranového Skeletu, Universita Palackého v Olomouci, 2021.
- (90) Holmquist, C. R.; Roskamp, E. J. A Selective Method for the Direct Conversion of Aldehydes into β -Keto Esters with Ethyl Diazoacetate Catalyzed by tin(II) Chloride. *J. Org. Chem.* **1989**, 54 (14), 3258–3260. <https://doi.org/10.1021/jo00275a006>.

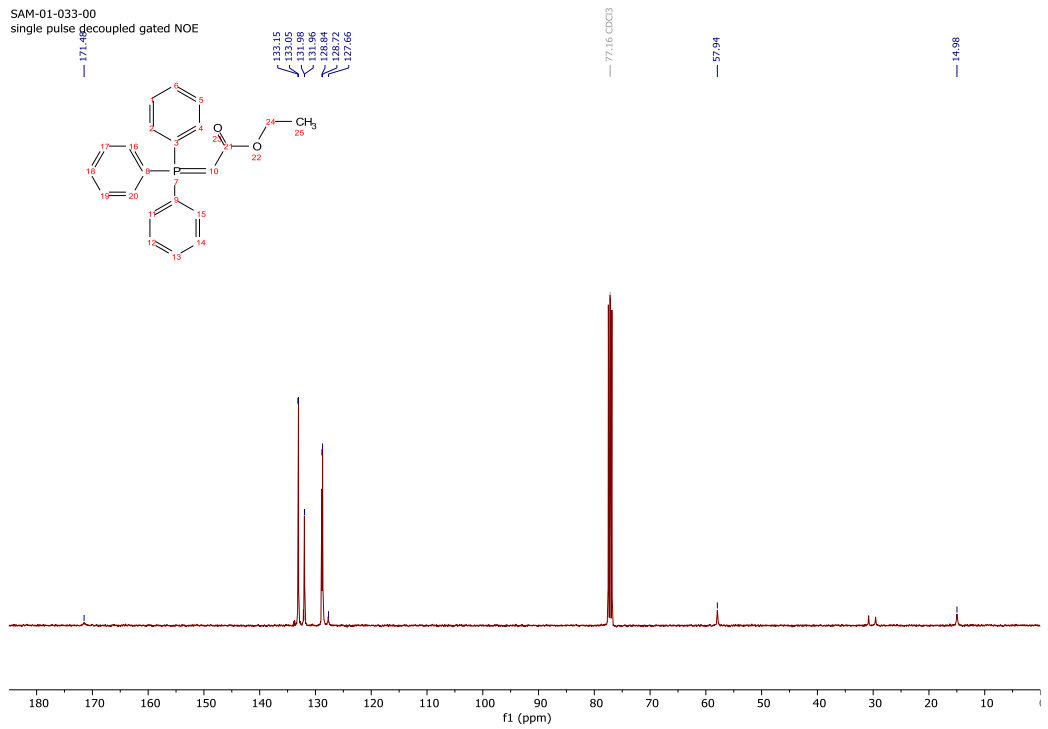
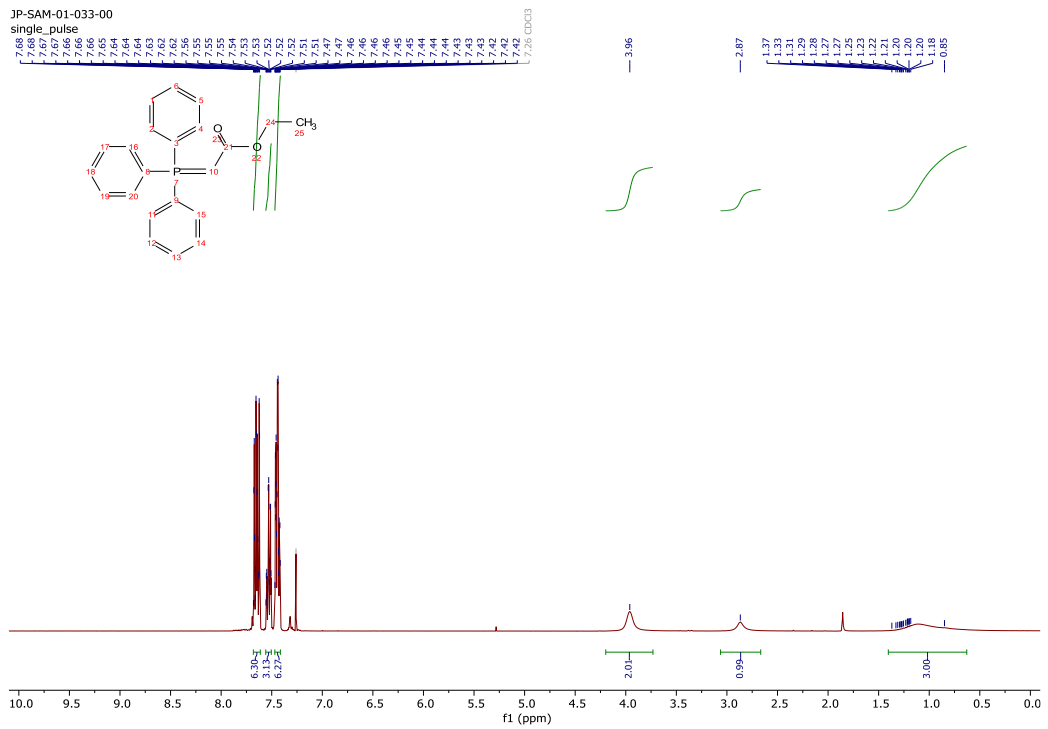
7. Přílohy

Kopie ^1H a ^{13}C NMR spekter
jednotlivých látek

Methyl ester kyseliny skořicové 19a

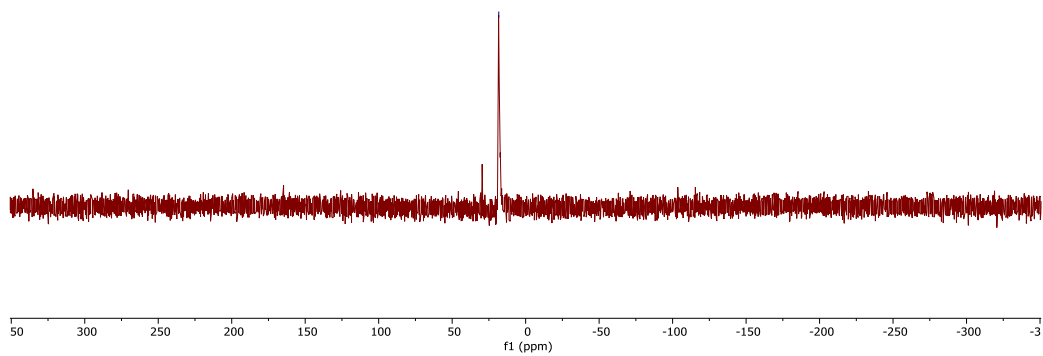
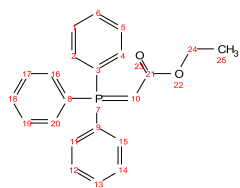


Ethyl 2-(trifenyyl- λ^5 -fosfan-yliden)acetát 23



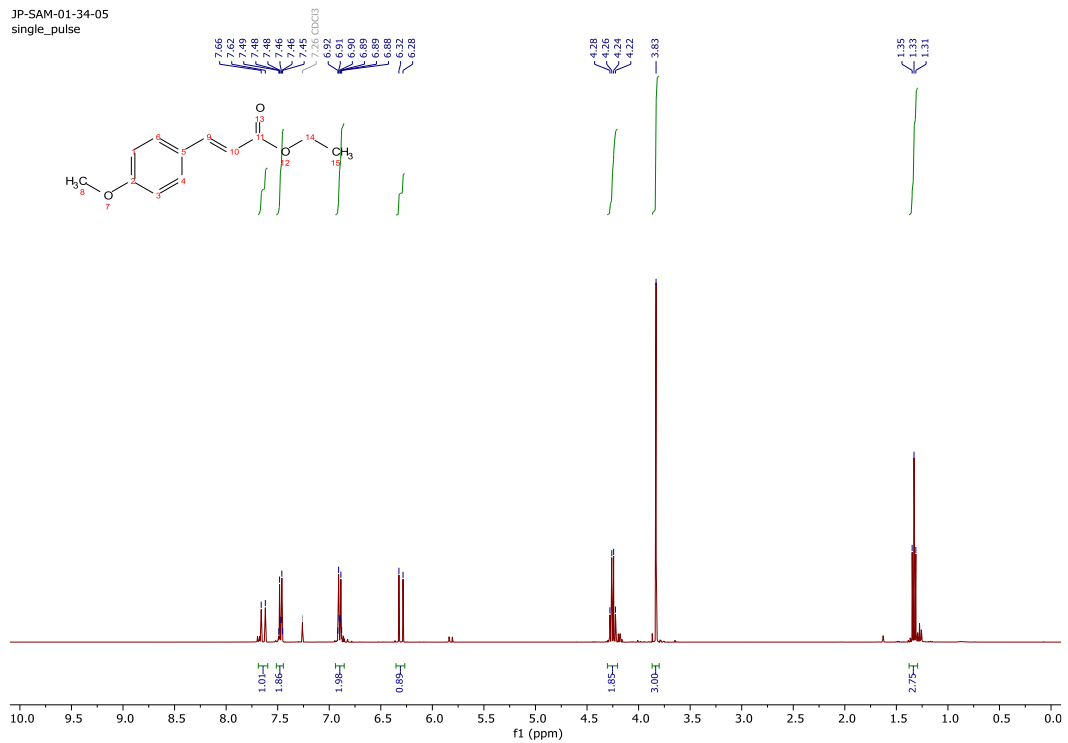
JP-SAM-01-033-00
single_pulse

18.29

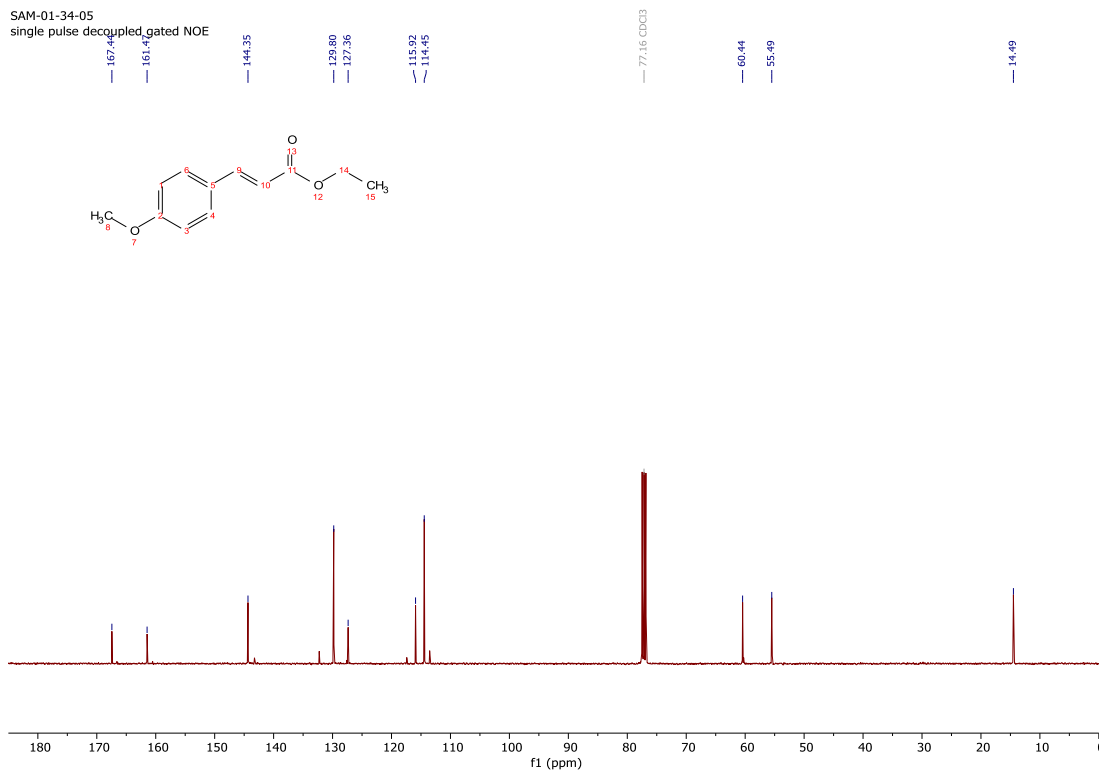


Methyl ester kyseliny 4-methoxy skořicové **19b**

JP-SAM-01-34-05
single_pulse

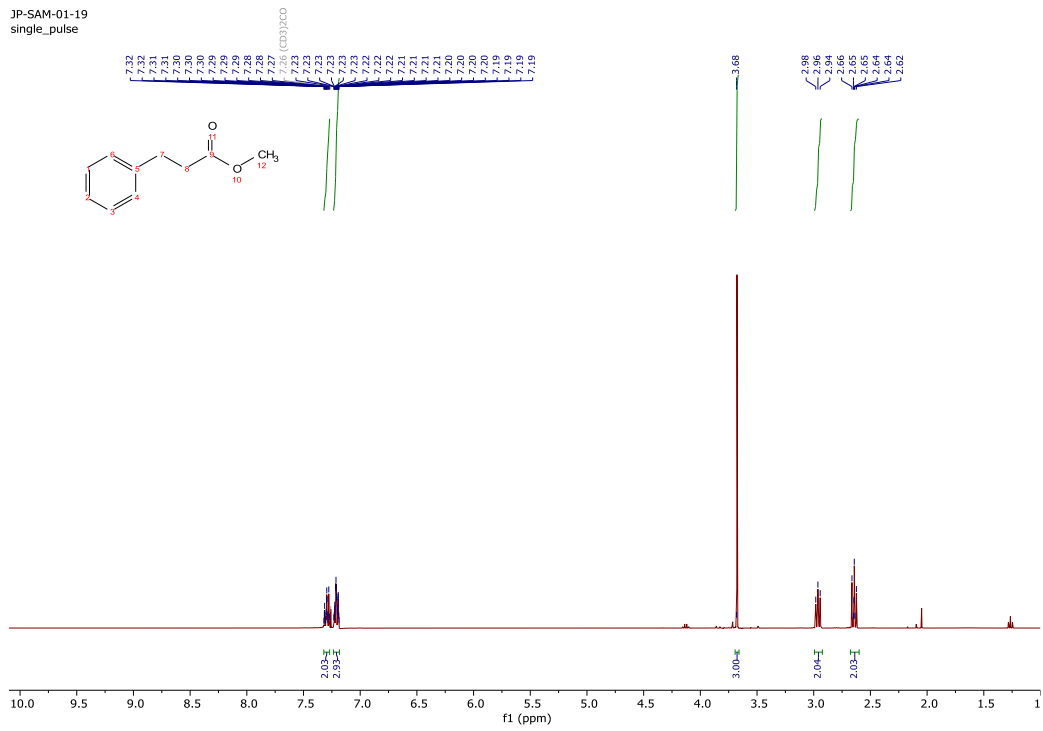


SAM-01-34-05
single_pulse decoupled_gated NOE

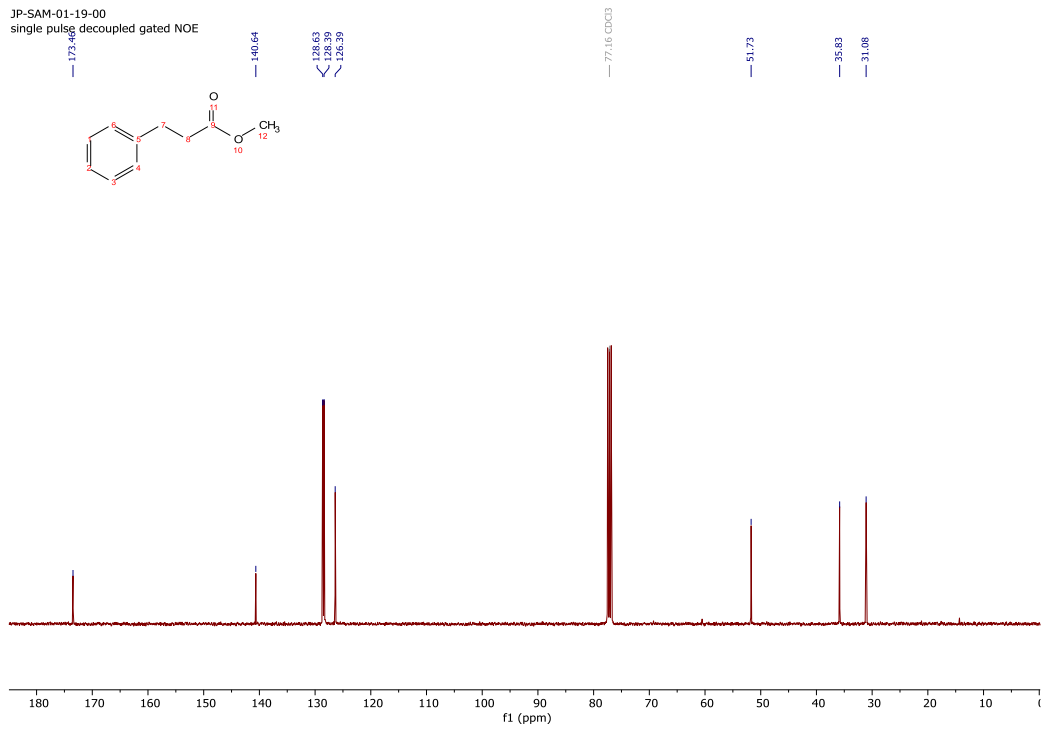


Methyl 3-phenylpropanoát 20a

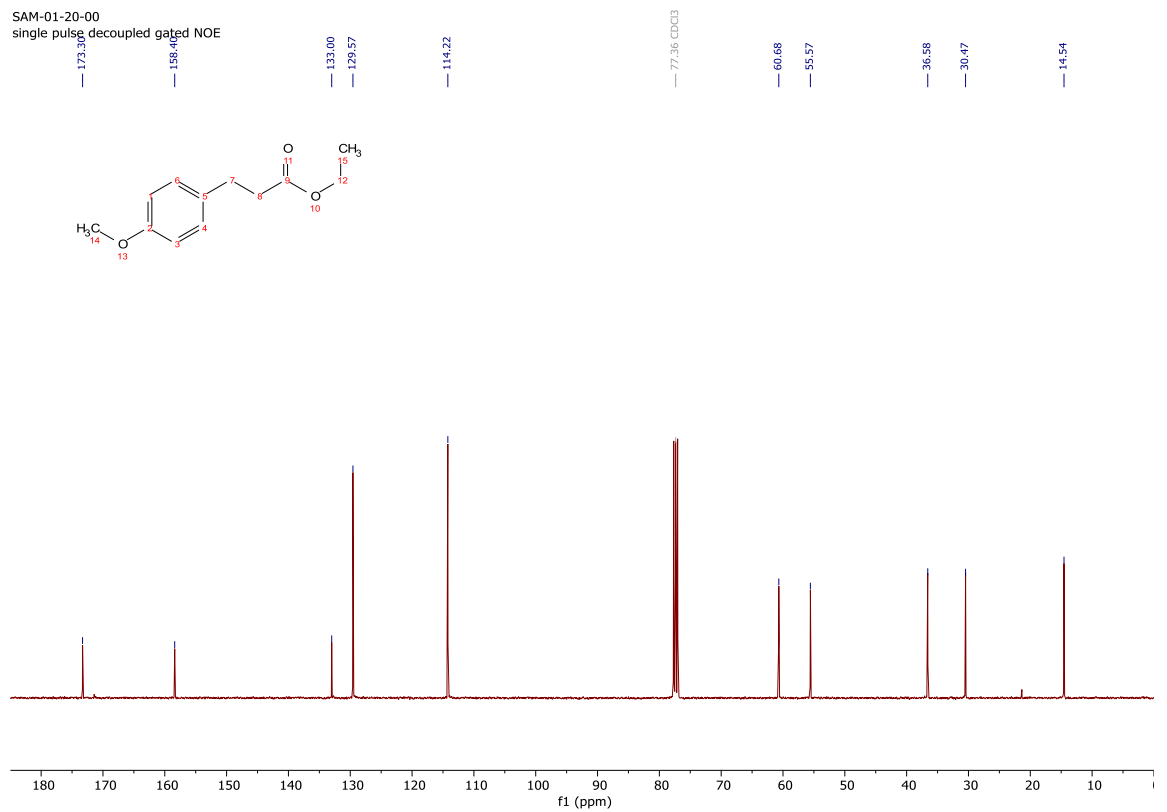
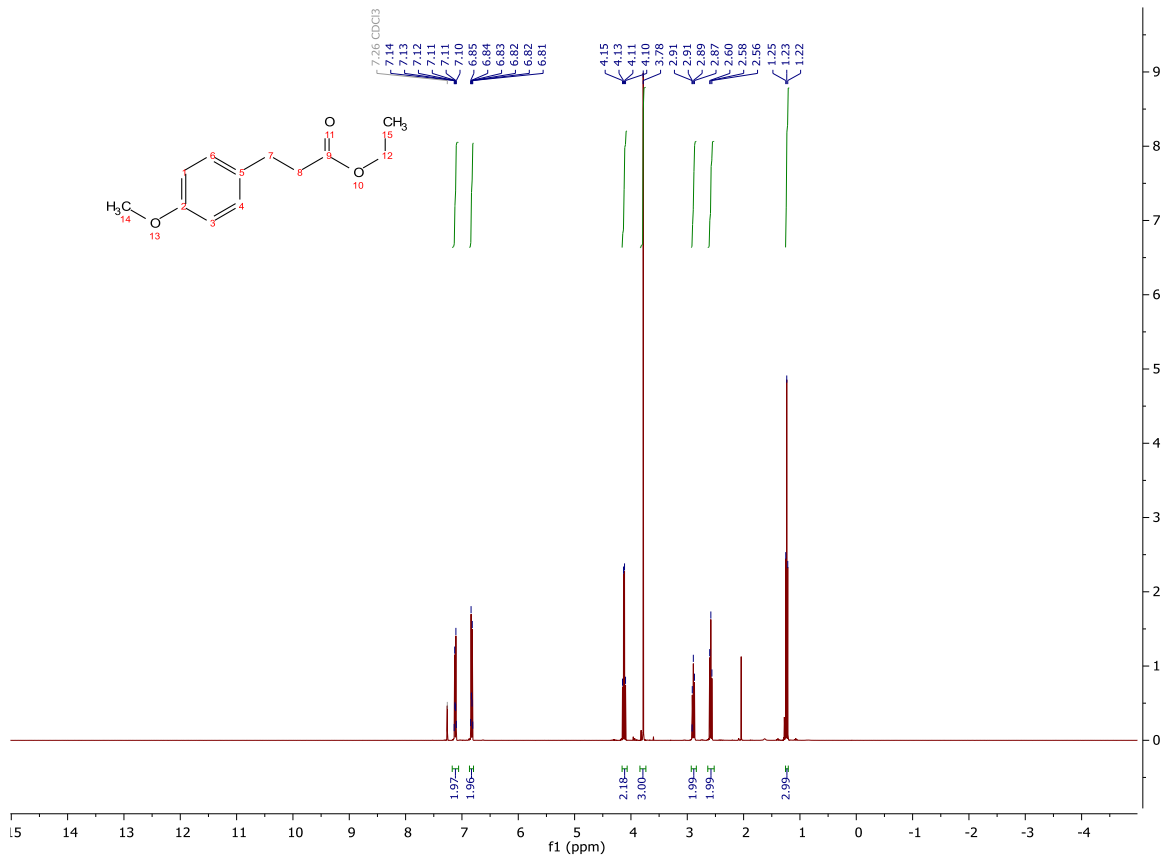
JP-SAM-01-19
single_pulse



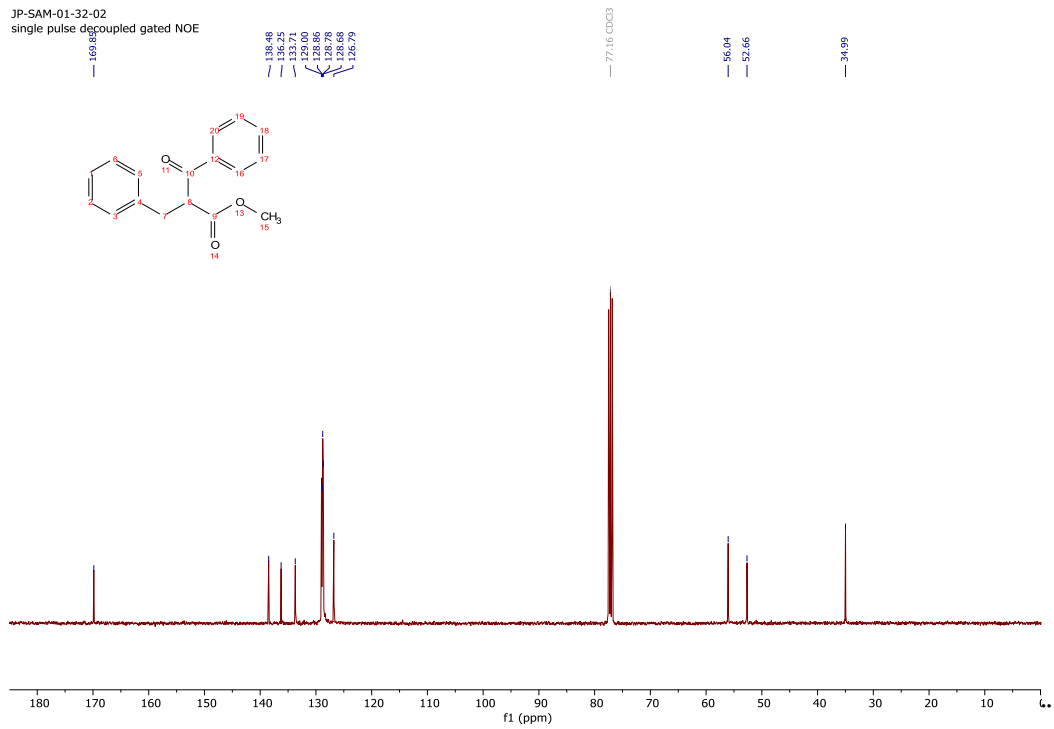
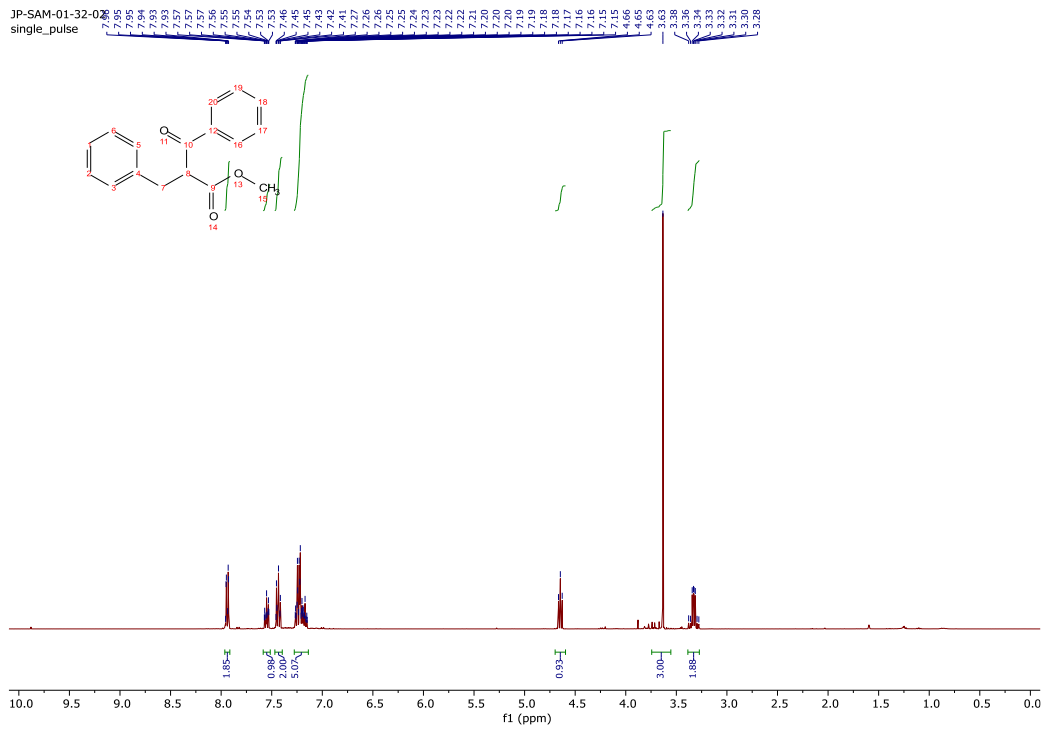
JP-SAM-01-19-00
single_pulse decoupled gated NOE



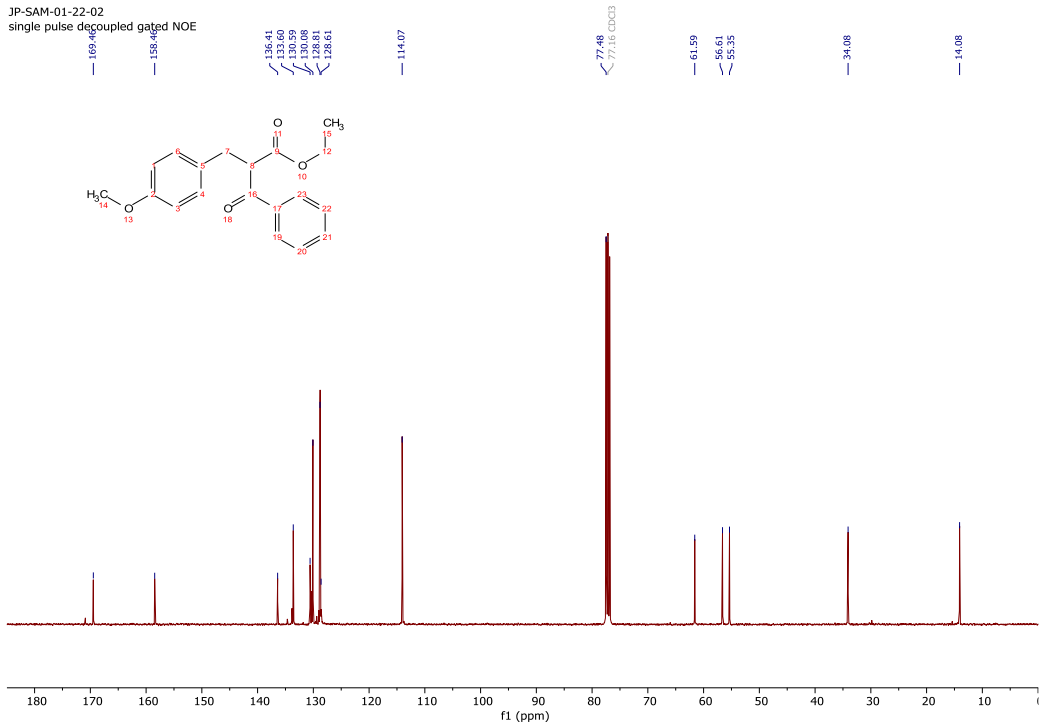
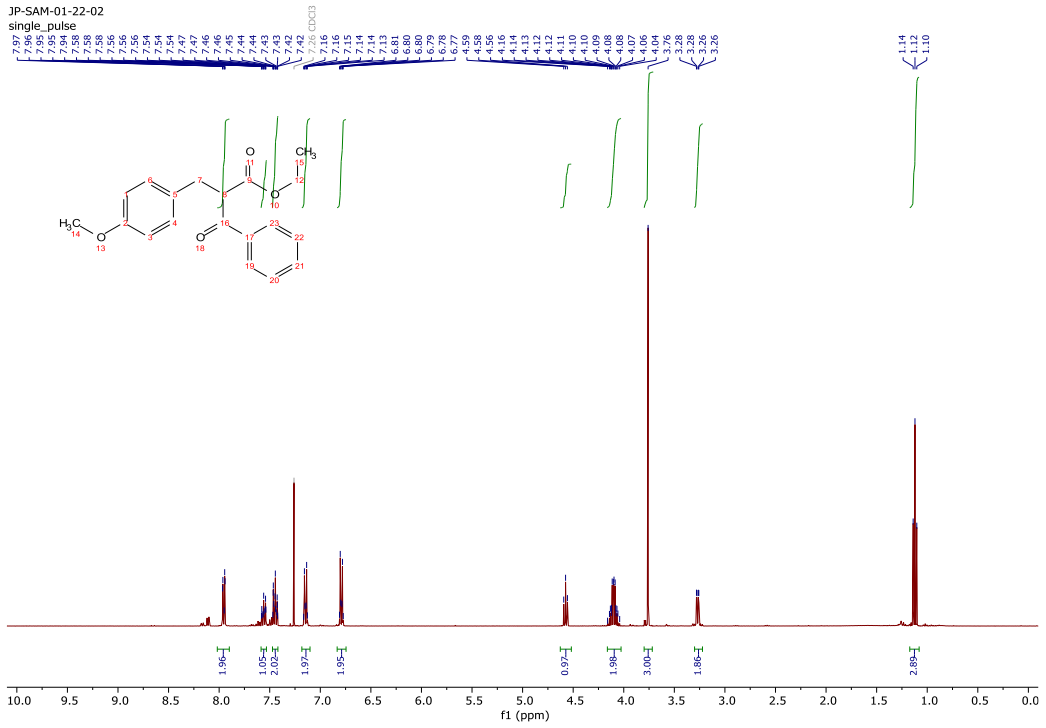
Ethyl 3-(4-methoxyPhenyl)propanoát 20b



Methyl 2-benzyl-3-oxo-3-fenylpropanoát 21a

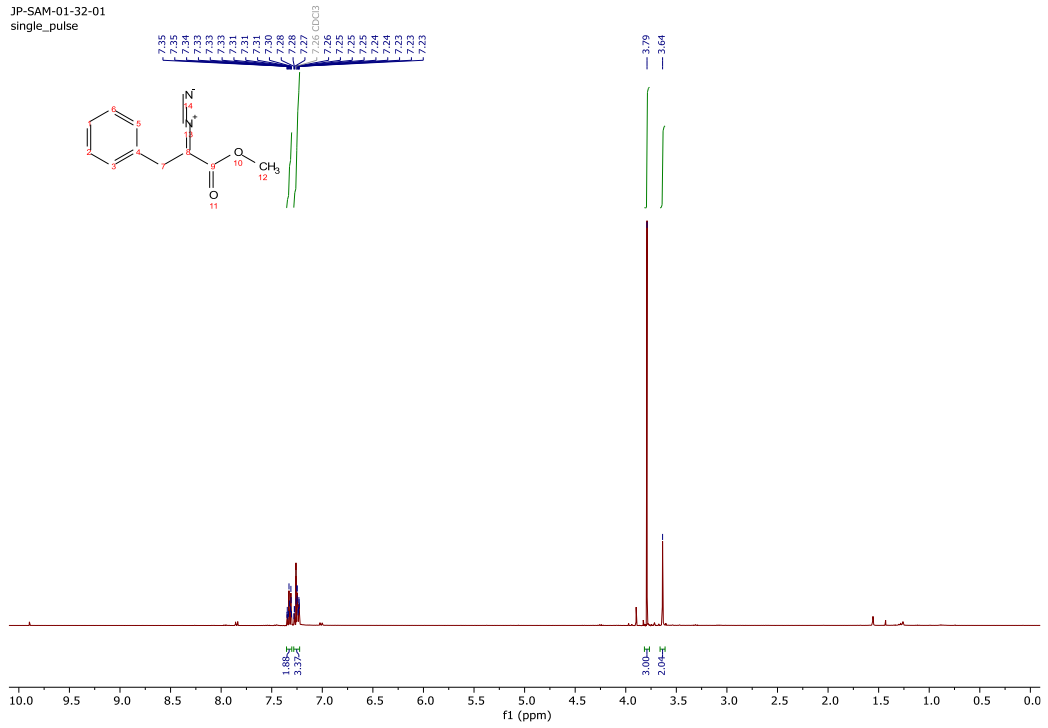


Ethyl 2-(4-methoxybenzyl)-3-oxo-3-fenylpropanoát 21b

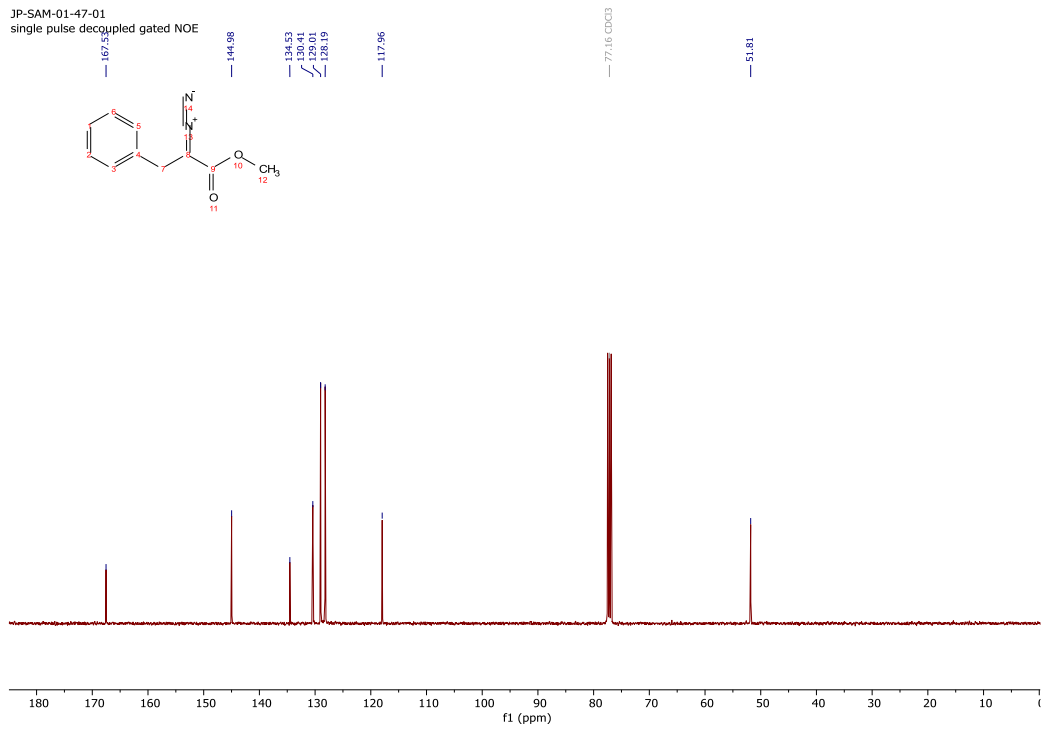


Methyl 2-diazo-3-fenylpropanoát 14b

JP-SAM-01-32-01
single_pulse

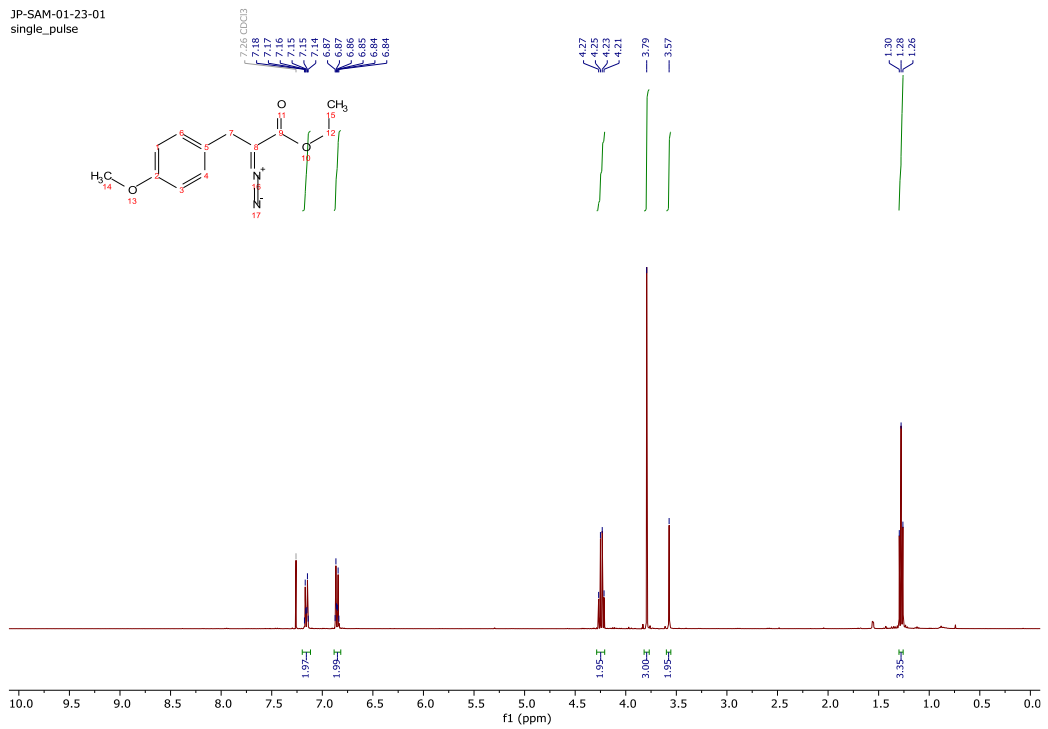


JP-SAM-01-47-01
single_pulse decoupled gated NOE

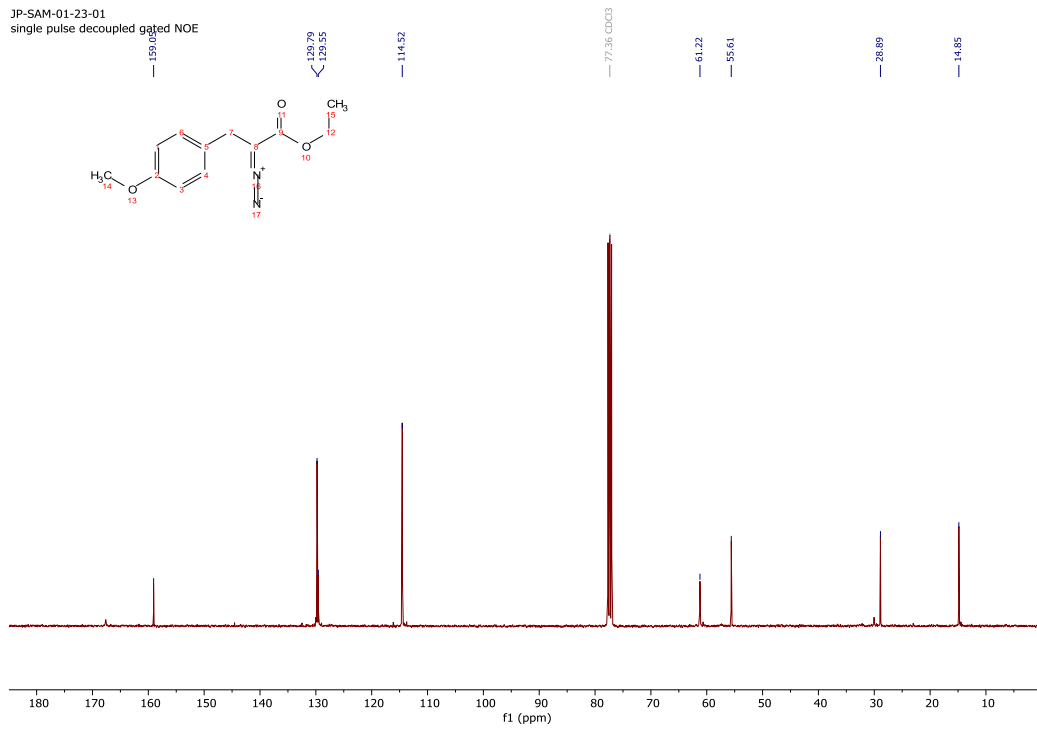


Ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyphenyl)propanoát 14c

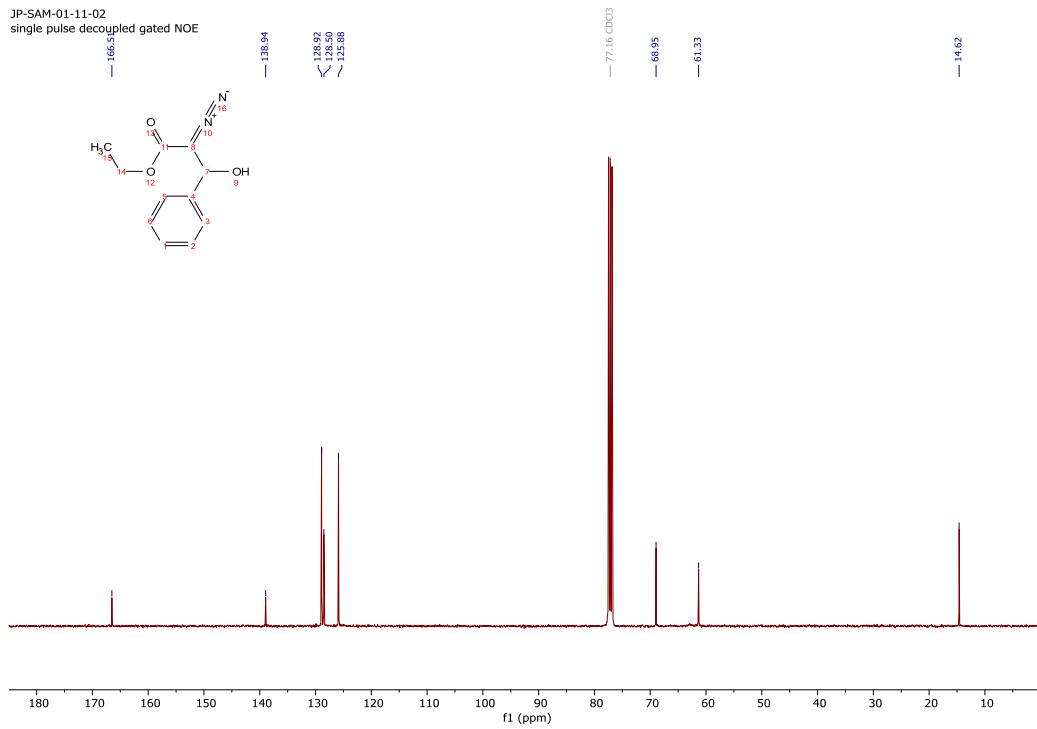
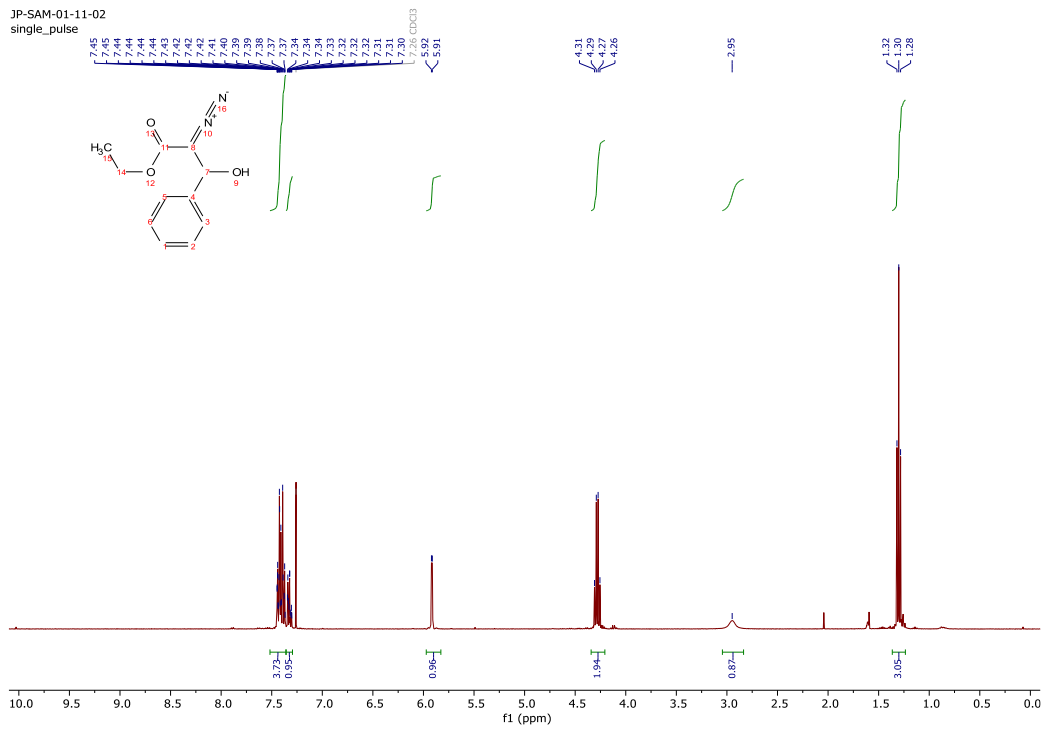
JP-SAM-01-23-01
single_pulse



JP-SAM-01-23-01
single_pulse decoupled gated NOE

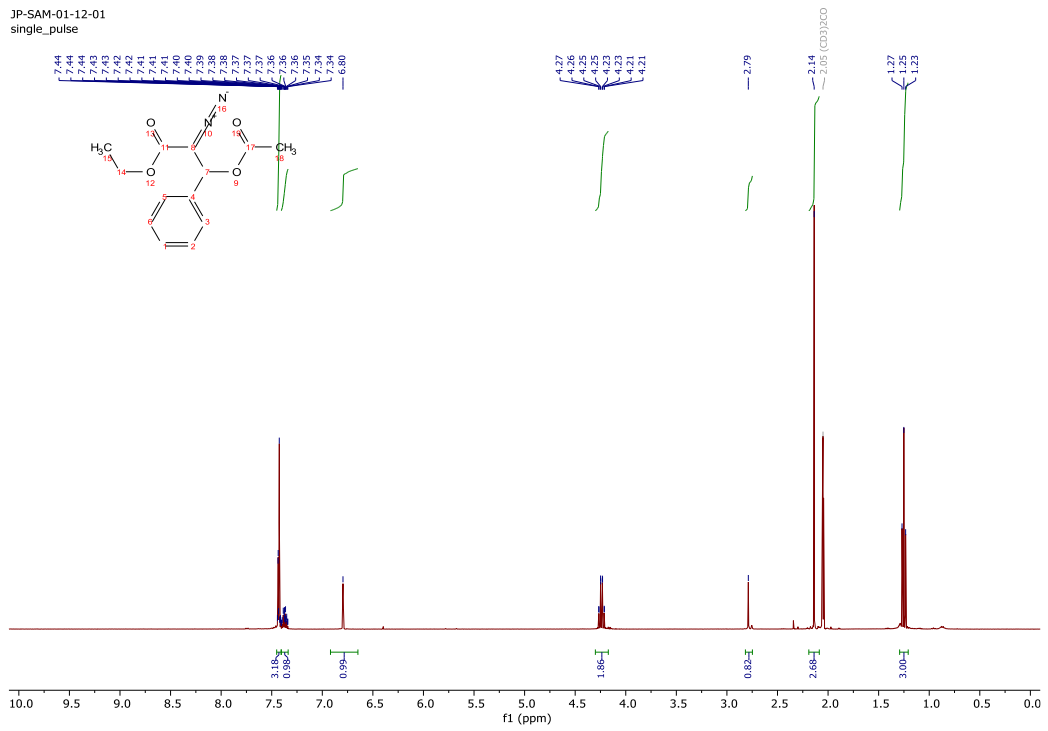


Ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-phenylpropanoát 15a

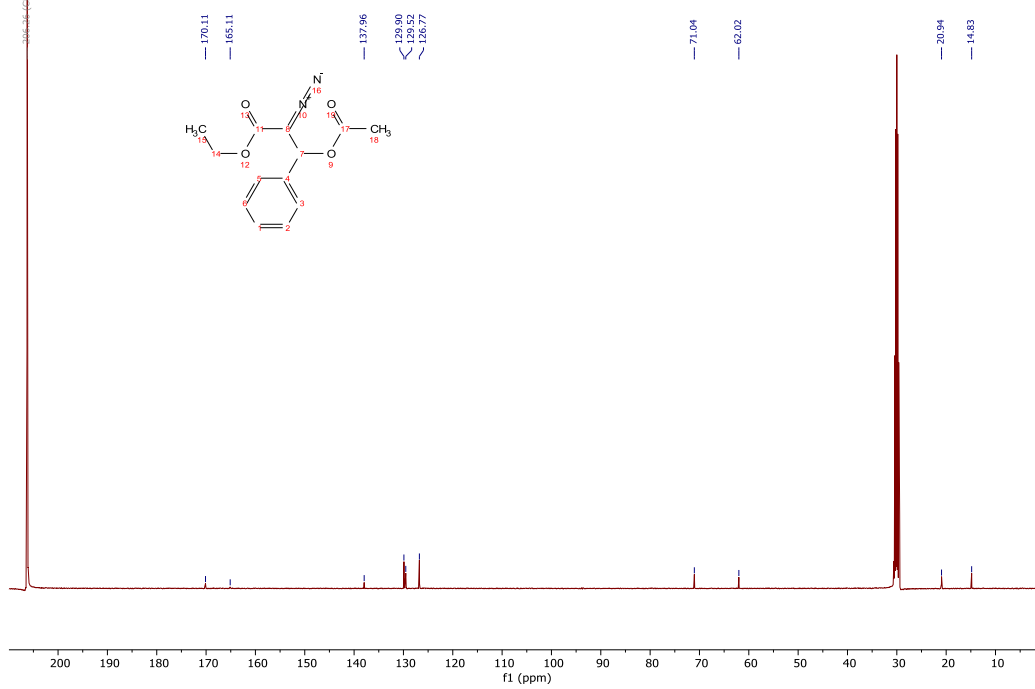


Ethyl 3-acetoxy-2-diazo-3-fenylpropanoát 15b

JP-SAM-01-12-01
single_pulse

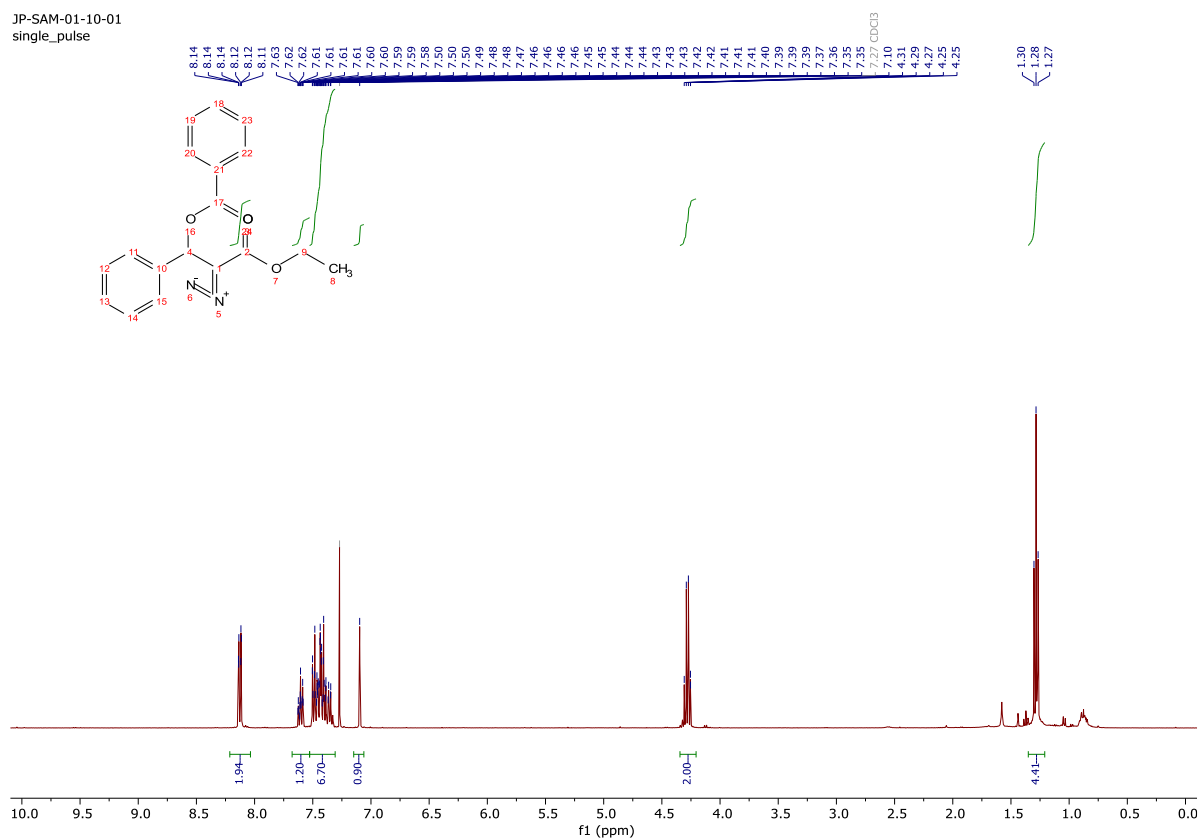


JP-SAM-01-12-01
single_pulse decoupled gated NOE

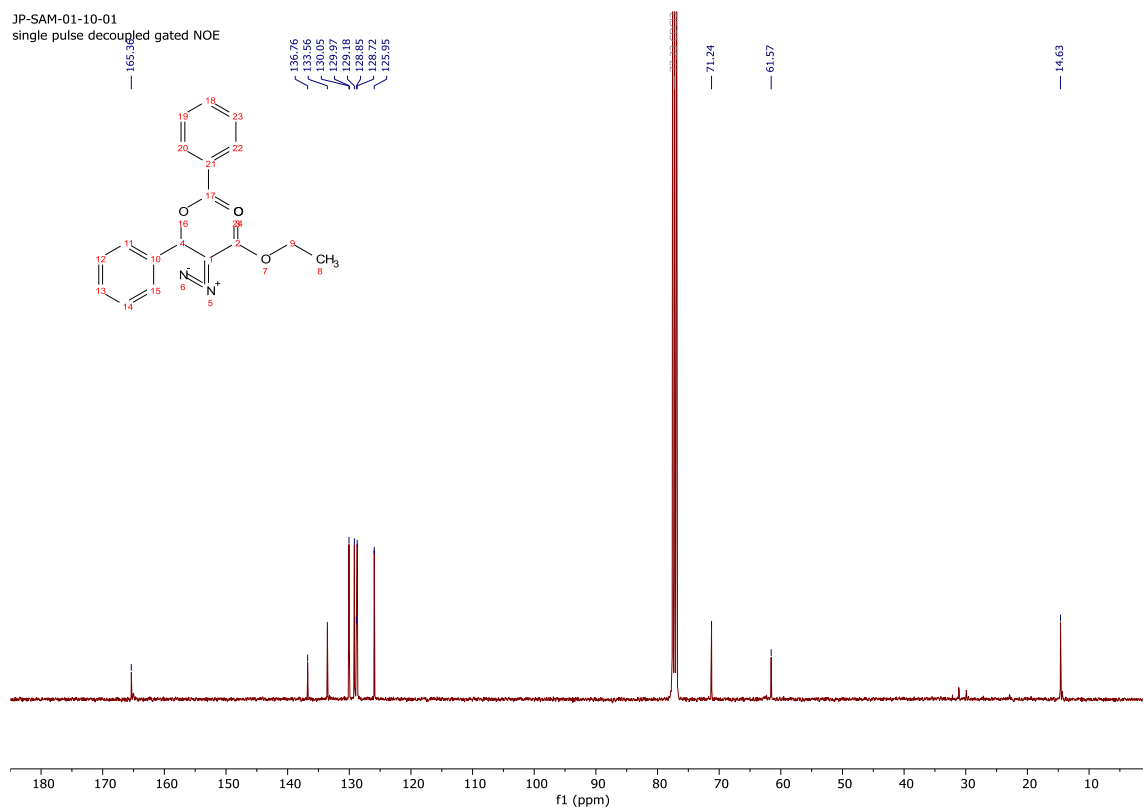


2-diazo-3-ethoxy-3-oxo-1-phenylpropyl benzoát 15c

JP-SAM-01-10-01
single_pulse

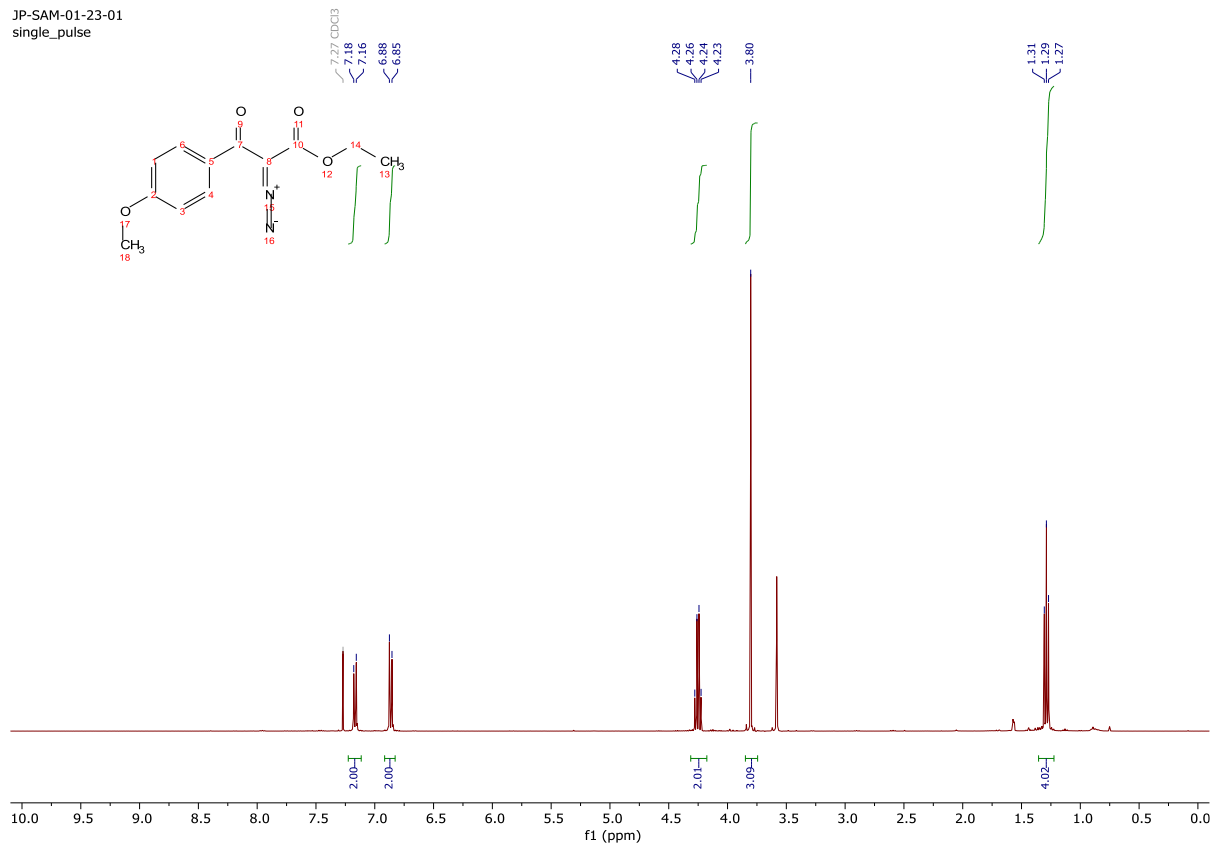


JP-SAM-01-10-01
single pulse decoupled gated NOE

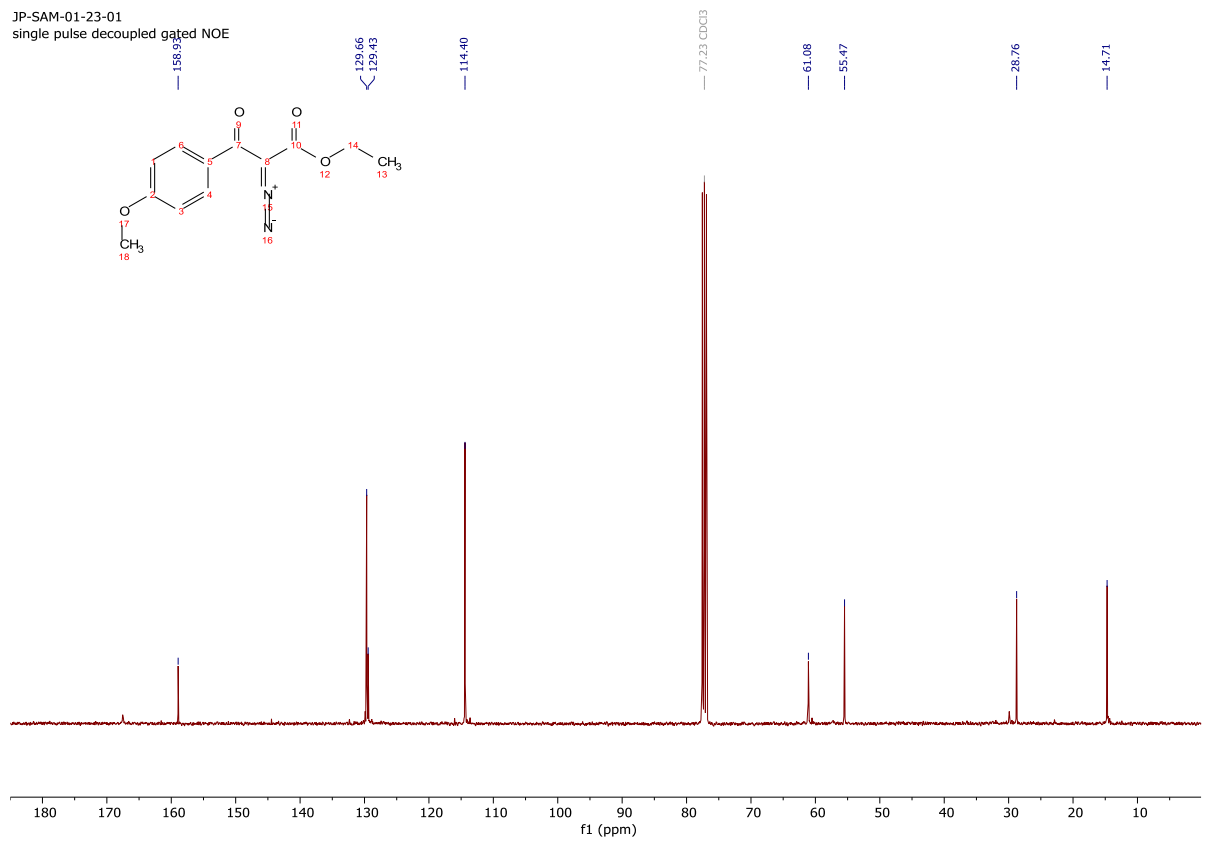


Ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyphenyl)propanoát 16

JP-SAM-01-23-01
single_pulse

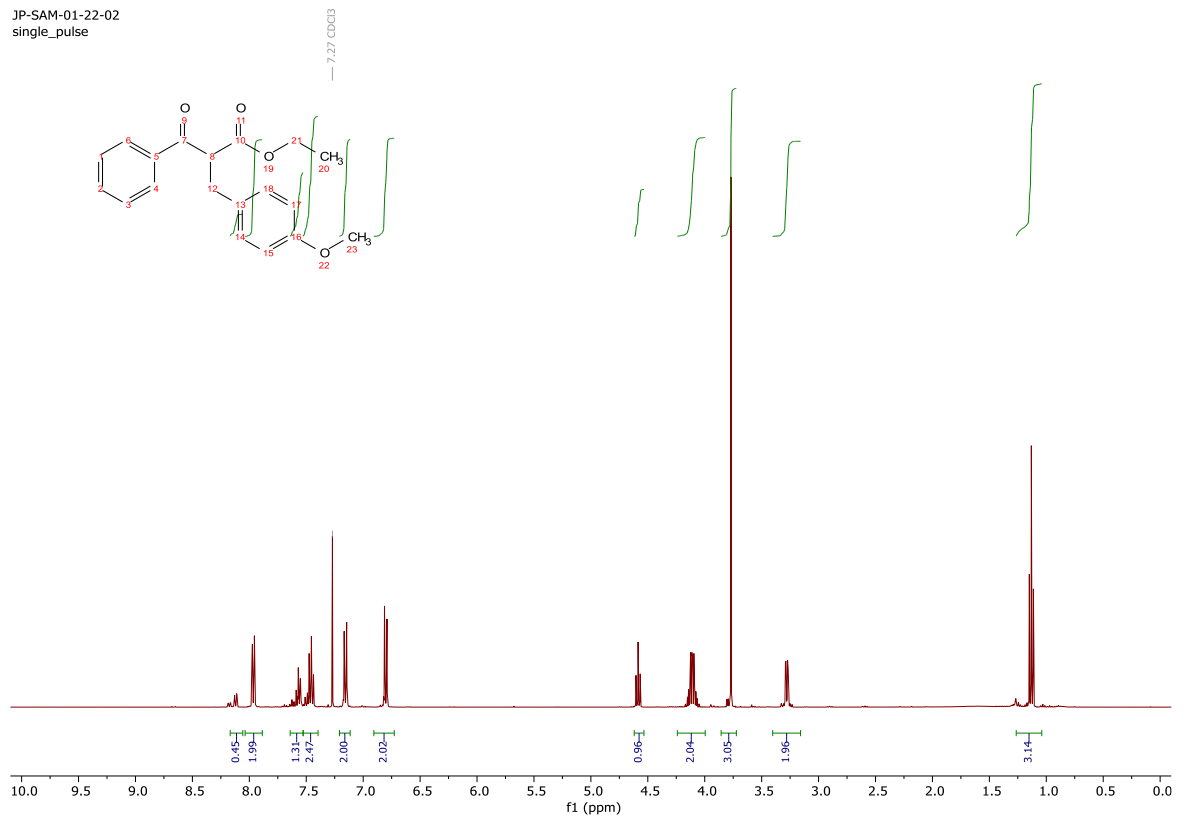


JP-SAM-01-23-01
single_pulse decoupled gated NOE

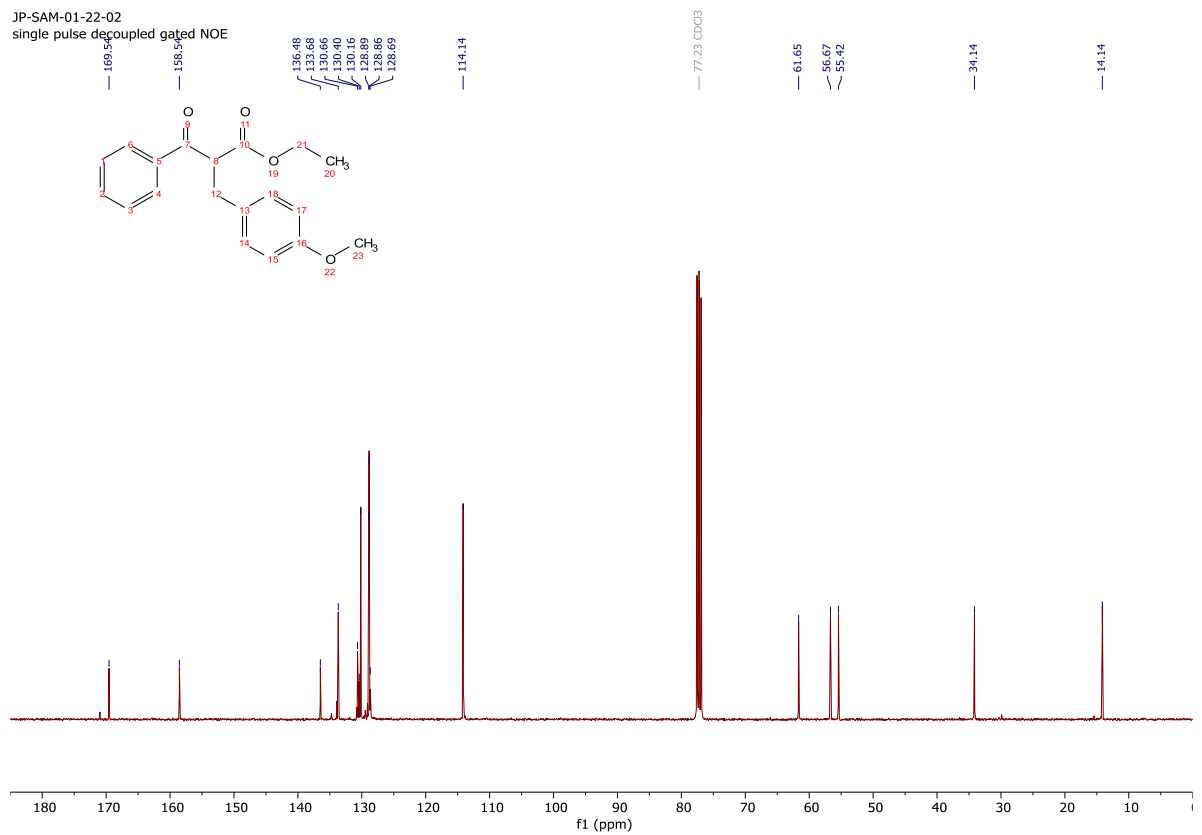


Ethyl 2-(4-methoxybenzyl)-3-oxo-3-fenylpropanoát 25

JP-SAM-01-22-02
single_pulse

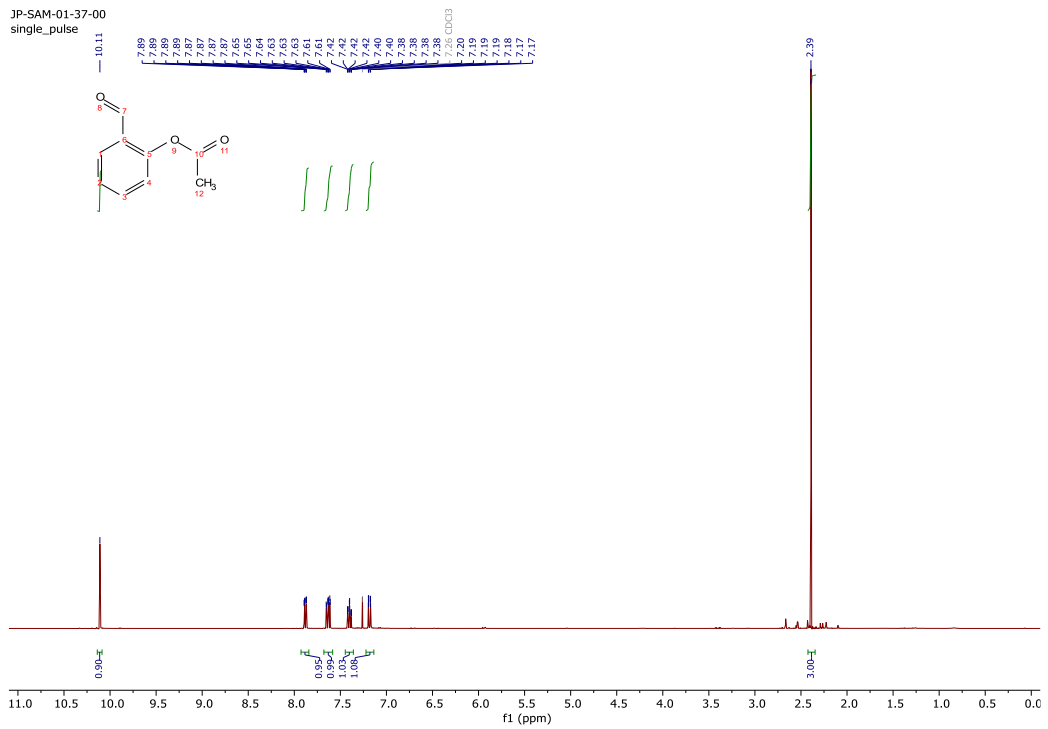


JP-SAM-01-22-02
single_pulse decoupled gated NOE

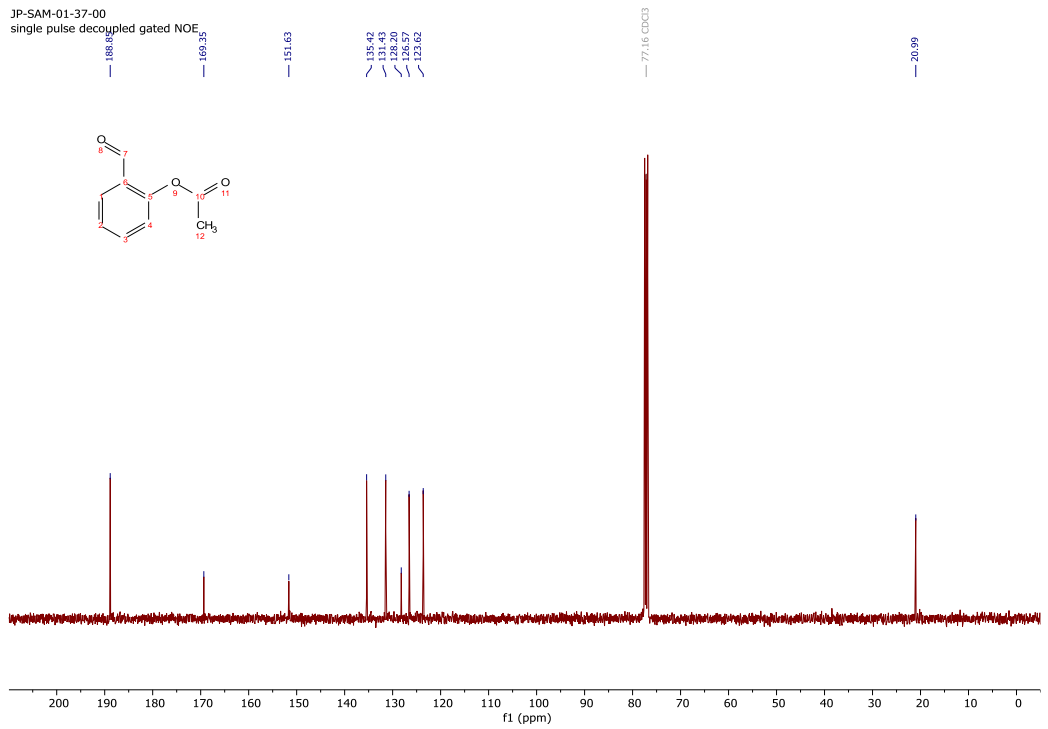


2-formylfenyl acetát 28a

JP-SAM-01-37-00
single_pulse



JP-SAM-01-37-00
single_pulse decoupled gated NOE



2-methoxybenzaldehyd 28b

