

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie



Syntéza analogů benzo[*c*]fenanthridinových alkaloidů

Diplomová práce

Autor:	Bc. Pavel Lasák
Studijní program:	N1407
Studijní obor:	Organická chemie
Forma studia:	prezenční
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci vypracoval samostatně a veškeré informační zdroje jsem uvedl v seznamu literatury. Dále prohlašuji, že tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby byla tato práce prezenčně zpřístupněna na Katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého.

V Olomouci, 10. 5. 2016

.....

Bc. Pavel Lasák

Mé poděkování patří v první řadě doc. RNDr. Jakubu Stýskalovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a čas, který mi v průběhu zpracovávání této práce věnoval. Dále bych chtěl poděkovat všem členům Katedry organické chemie za vstřícný přístup a cenné rady, které mi jimi byly poskytnuty.

Tato závěrečná práce vznikla za podpory projektu studentské grantové soutěže na UP s registračním číslem IGA/PrF/2016/020.

Bibliografická identifikace:

Jméno a Příjmení autora: Bc. Pavel Lasák
Název práce: Syntéza analogů benzo[c]fenanthridinových alkaloidů
Typ práce: Diplomová práce
Pracoviště: Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta
Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.
Rok obhajoby práce: 2016

Abstrakt:

Hlavním cílem této práce bylo syntetizovat vybraná analoga benzo[c]fenanthridinových alkaloidů (BA), která by se vyznačovala absencí benzenového jádra, a ty pak společně s meziprodukty otestovat na antibakteriální a kancerostatickou aktivitu. Pro co nejděsnější přiblížení strukturám přírodních BA bylo nutné vycházet z 2,3-substituovaných anilinů. Ty byly reagovány s vybranými aldehydy za vzniku redukovaných Schiffových bází, které představovaly základní strukturní motiv pro studium cyklizačních reakcí vedoucích k uzavěru fenanthridinového skeletu. Pro dosažení co možná největší podobnosti s biologicky aktivními BA byly tyto cyklizáty dále modifikovány kvarterizací na atomu dusíku. Byla rovněž sledována možnost záměny aniontu za účelem zvýšení rozpustnosti a stability nově vzniklých kvartérních solí.

Klíčová slova: benzo[c]fenanthridinové alkaloidy, radikálová cyklizace
Počet stran: 89
Počet příloh: 47
Jazyk: Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname: Bc. Pavel Lasák

Title: Synthesis of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids analogues

Type of thesis: Diploma

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

Supervisor: doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.

Thesis defence year: 2016

Abstrakt:

The main goal of this thesis was to synthesize selected analogues of benzo[*c*]phenanthridine alkaloids (BA) that are characterized by the absence of benzene core and to perform antibacterial and antitumor testing of all newly prepared compounds. For the most realistic structure reflection of natural BA, 2,3-substituted anilines had to be synthesized. The anilines were reacted with the aldehydes to give reduced Schiff bases, which represented essential structural motive for study of cyclization reactions leading to the closure of phenanthridine ring. To obtain compounds more similar to biologically active BA, quarternization of nitrogen was necessary. For increasing solubility of quaternary iminium salts, experiments for anion exchange were performed.

Keywords: benzo[*c*]phenanthridine alkaloids, radical cyclization

Number of pages: 89

Number of appendices: 47

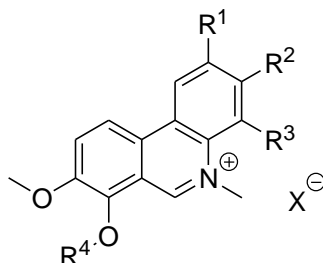
Language: Czech

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	CELKOVÉ REAKČNÍ SCHÉMA.....	9
3	KOMENTÁŘ K CELKOVÉMU REAKČNÍMU SCHÉMATU	10
4	TEORETICKÁ ČÁST.....	11
4.1	VÝSKYT	11
4.2	REAKTIVITA	12
4.3	BIOLOGICKÁ AKTIVITA	15
4.4	SYNTÉZA QBA SKUPINY CHELERYTHRINU	17
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	22
5.1	PŘÍPRAVA VÝCHOZÍCH LÁTEK	22
5.1.1	SYNTÉZA ALDEHYDŮ Vb a Vc	22
5.1.2	SYNTÉZA ANILINŮ IVc a IVd	23
5.1.2.1	PŘÍPRAVA 3-NITROBENZEN-1,2-DIOLU (II).....	23
5.1.2.2	PŘÍPRAVA NITROSLOUČENIN IIIa a IIIb	25
5.1.2.3	PŘÍPRAVA ANILINŮ IVc a IVd	28
5.2	PŘÍPRAVA SCHIFFOVÝCH BÁZÍ A JEJICH REDUKOVANÝCH FOREM.....	29
5.3	CYKLIZACE VEDOUcí K UZÁVĚRU FENANTHRIDINOVÉHO SKELETU ..	33
5.3.1	CROSS-COUPPING CYKLIZACE	33
5.3.2	RADIKÁLOVÉ CYKLIZACE	36
5.4	KVARTERIZACE FENANTHRIDINŮ	41
5.5	VÝMĚNA ANIONTU	43
5.6	DEBENZYLACE ZA VZNIKU FENANTHRIDINOLŮ	46
5.7	PŘÍPRAVA HYDROCHLORIDŮ	49
5.8	FLUORESCENČNÍ VLASTNOSTI PŘIPRAVENÝCH FENANTHRIDINŮ	50
5.9	ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA	52
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	55
7	SEZNAM ZKRATEK.....	81
8	ZÁVĚR.....	83
9	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	85
10	PŘÍLOHY	89

1 ÚVOD

Tato práce je věnována syntéze a studiu pentasubstituovaných kvartérních sloučenin s fenantridinovým skeletem se substitucí v polohách 2, 3, 4, 5, 7, 8 (**1**) (*Obr. 1*).

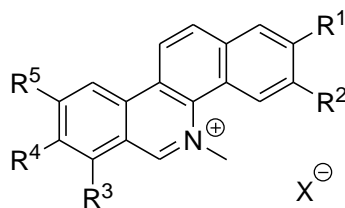


1

$R^1, R^2, R^3 = \text{H, OMe, O-CH}_2\text{-O}$; $R^4 = \text{H, OMe}$; $X = \text{I, Cl, NO}_3, \text{HSO}_4, \text{ClO}_4$

Obr. 1

Strukturální předlohu pro tento typ sloučenin představovala skupina kvartérních benzo[*c*]fenanthridinových alkaloidů (*Obr. 2*), u kterých byla zjištěna různorodá biologická aktivita (kancerostatická, antimikrobiální, antifungální a protizánětlivá).^{1,2} Mezi významné zástupce této skupiny patří např. fagaridin (**2a**), chelerythrin (**2b**), sanguinarin (**2c**), nitidin (**2d**) nebo fagaronin (**2e**). Jelikož byla v minulosti tato skupina vědeckou obcí intenzivně zkoumána, byly připraveny také syntetická analoga, z nichž nejznámější je derivát NK 109 (**2f**), který vykazuje velice zajímavou protinádorovou aktivitu.³ Jak ukazuje i množství článků zaměřených na uzávěření skeletu fenantridinového typu, které byly publikovány v posledních několika letech,^{4,5,6,7,8,9} zájem o sloučeniny tohoto typu ani dnes neopadá.



2

Fagaridin (**2a**): $R^1 = R^2 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = \text{OMe}$; $R^4 = \text{OH}$; $R^5 = \text{H}$

Chelerythrin (**2b**): $R^1 = R^2 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = R^4 = \text{OMe}$; $R^5 = \text{H}$

Sanguinarin (**2c**): $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^5 = \text{H}$

Nitidin (**2d**): $R^1 = R^2 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = \text{H}$; $R^4 = R^5 = \text{OMe}$

Fagaronin (**2e**): $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = R^4 = R^5 = \text{OMe}$; $R^3 = \text{H}$

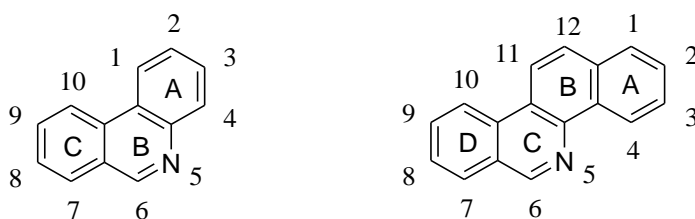
NK 109 (**2f**): $R^1 = R^2 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = \text{OMe}$; $R^4 = \text{OH}$; $R^5 = \text{H}$; $X = \text{HSO}_4$

Obr. 2

Hlavním cílem této práce bylo připravit struktury co nejvíce podobné biologicky aktivním benzo[*c*]fenanthridinům, které by obsahovaly o jedno benzenové jádro méně. Aby mohla být tato podmínka splněna, bylo nutné vycházet z nezvykle substituovaných anilinů, jejichž příprava vyžadovala značné úsilí. Dílčím cílem bylo prozkoumat nové možnosti uzávěru fenanthridinového skeletu pomocí moderních činidel a otestovat biologickou aktivitu nově připravených sloučenin.

Tato práce je standardně členěna na úvod, po kterém následuje celkové reakční schéma a komentář k celkovému reakčnímu schématu. Na teoretickou část, která stručně a přehledně shrnuje výskyt, reaktivitu, biologickou aktivitu a syntézu některých vybraných benzo[*c*]fenanthridinů navazuje stěžejní část praktická, ve které jsou diskutovány dosažené výsledky, včetně antibakteriální aktivity nově syntetizovaných sloučenin. Ty jsou doloženy v sekci experimentální, která popisuje přípravu všech získaných sloučenin. Všechny nově získané sloučeniny byly charakterizovány pomocí NMR spektroskopie, teplot tání, případně LCMS, retenčních faktorů (TLC) nebo elementární analýzy. V závěru jsou shrnuty dosažené výsledky a nastíněn výhled do budoucna. Následuje seznam použitých zkratk a literárních zdrojů. Přílohy obsahují NMR spektra všech sloučenin. Tato práce, včetně příloh, je k dispozici také v elektronické podobě na přiloženém CD.

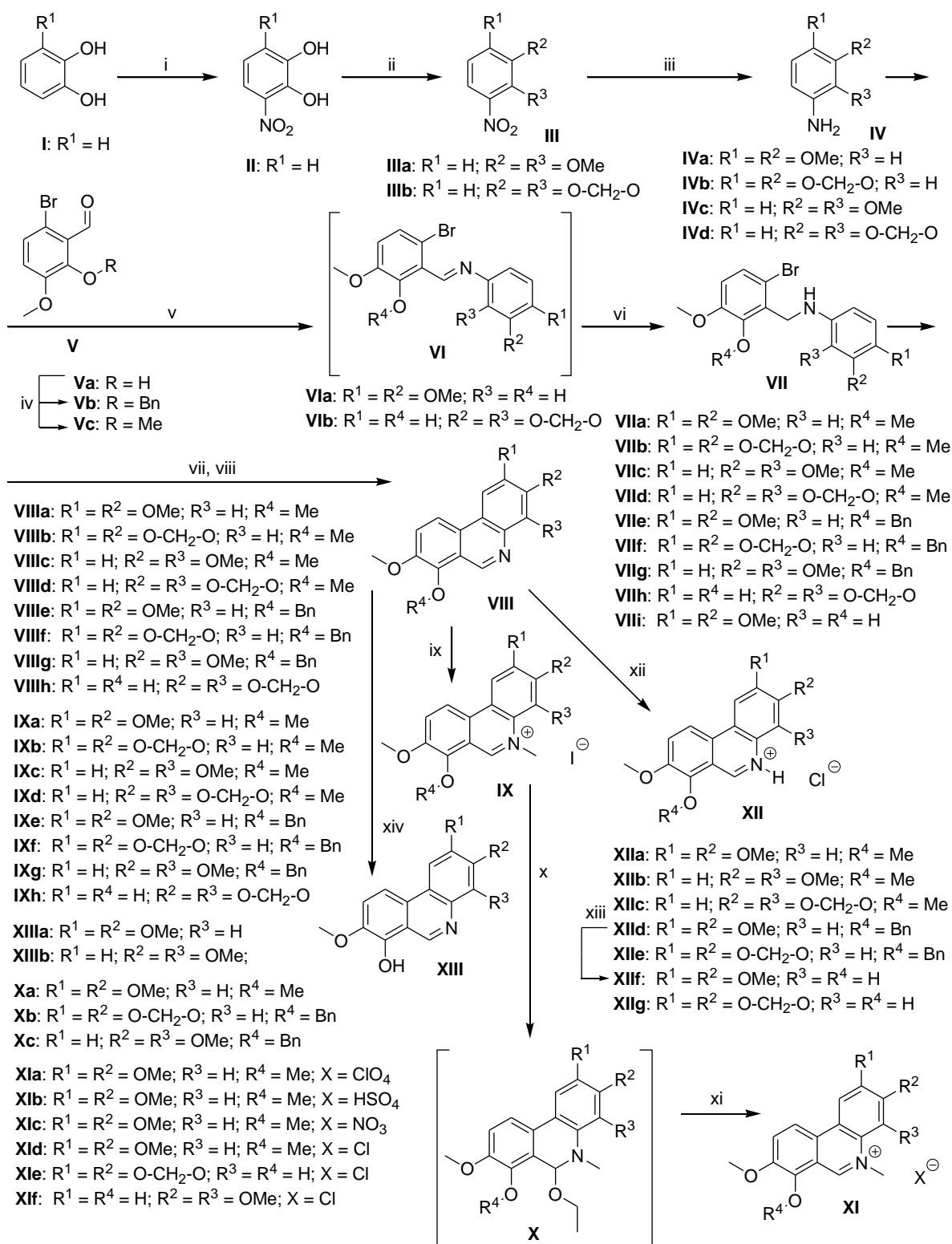
Číslování sloučenin obsahující fenanthridinový nebo benzo[*c*]fenanthridinový skelet vychází ze zažitého systému (*Obr. 3*).



Obr. 3

K jednoznačné identifikaci sloučenin v praktické části je nutné využívat celkové reakční schéma. K této úpravě bylo přistoupeno z důvodu zjednodušení dílčích reakčních schémat, která neobsahují konkrétní typ a polohu substituentů. Celkové schéma je uvedeno jednak na straně č. 8, a pro větší přehlednost je rovněž k dispozici samostatně vytištěné. Toto provedení by čtenáři mělo usnadnit orientaci napříč praktickou částí.

2 CELKOVÉ REAKČNÍ SCHÉMA



(i) HNO_3 , ether, 10 - 14 °C, 0,5 hod, 26 %; (ii) **IIIa:** Me_2SO_4 , NaH, DMF, 60 °C, 7 hod, 57 %; **IIIb:** CH_2I_2 , NaH, DMF, 110 °C, 18 hod, 22 %; (iii) 10% Pd/C, H_2 , MeOH, atm. t., RT, 1 hod, 98 % (**IVc**), 92 % (**IVd**); (iv) **Vb:** BnBr, KI, K_2CO_3 , MeOH, reflux, 9 hod, 58 %; **Vc:** MeI, K_2CO_3 , DMF, 45 °C, 18 hod, 92 %; (v) EtOH, 70 °C, 1 hod, 97 % (**VIa**), 85 % (**VIb**); (vi) **VIIh, VIIi:** $NaBH_4$, EtOH, RT, 2 hod, 99 % (**VIIh**), 80 % (**VIIi**); **VIIa-g:** $NaBH(OAc)_3$, toluen, RT, 1 hod, 34 - 96 %; (vii) Bu_3SnH , AIBN, toluen, ± 106 °C, 3 - 6 hod; (viii) MnO_2 , RT, 18 hod, 13 - 47 %; (ix) MeI, MeCN, RT (50 °C pro **IXg**), 7 dni, 19 - 90 %; (x) EtOH, aq. NaOH, 50 °C, 20 hod; (xi) **XIa-d:** nadbytek HX, RT, ihned; **XIe, XIg:** HCl, reflux, 20 hod, 75 % (**XIe**), 22 % (**XIg**); (xii) **XIIa-e:** HCl, dioxan, RT, ihned, 66 - 95 %; **XIIg:** HCl, reflux, 5 hod, 59 %; (xiii) 10% Pd/C, H_2 , MeOH, atm. t., RT, 30 min, 88 %; (xiv) 10% Pd/C, H_2 , MeOH, atm. t., RT, 4 hod, 71 % (**XIIIa**), 66 % (**XIIIb**)

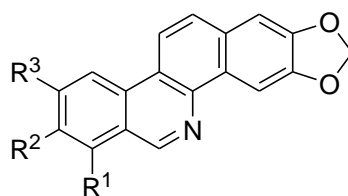
3 KOMENTÁŘ K CELKOVÉMU REAKČNÍMU SCHÉMATU

Syntéza fenanthridinových sloučenin měla vycházet z netradičně substituovaných anilinů **IVc** a **IVd**, které měly být kondenzovány s aldehydy **V**, za vzniku Schiffovy báze **VI**. Ta měla být redukována a vzniklý sekundární amin **VII** měl být cyklizován za vzniku fenanthridinového skeletu **VIII**. Tyto fenanthridiny **VIII** měly být dále modifikovány za účelem zvýšení jejich rozpustnosti ve fyziologických podmínkách a přiblížení jejich struktury již známým a biologicky aktivním benzo[*c*]fenanthridinovým alkaloidům. Měly tak být připraveny jejich *N*-methyl kvartérní amoniové soli **IX**, ze kterých by se, skrze pseudobáze **X**, daly připravit ještě rozpustnější soli **XI**. Od některých fenanthridinů **VIII** měly být připraveny také jejich hydrochloridy **XII**.

4 TEORETICKÁ ČÁST

Benzo[*c*]fenanthridinové alkaloidy, také zkráceně označovány jako benzofenanthridinové alkaloidy (BA), představují skupinu polykondenzovaných, tetracyklických, aromatických sloučenin, obsahujících ve své molekule atom dusíku. Zástupci této skupiny vykazují různorodou biologickou aktivitu. Kromě kancerostatické aktivity jsou tyto látky také nositeli aktivity antimykotické, protizánětlivé a antimikrobiální.² Mohou interagovat se širokou škálou biologických cílů, jako jsou mikrotubuly, DNA nebo enzymy (např. topoisoméráza I/II, proteinkináza C, reverzní transkriptáza).^{2,8,10}

Tyto sloučeniny můžeme dělit na základě substituce na atomu dusíku na kvartérní *N*-methyl iminiové soli **2** (QBA) a na jejich volné báze **3**. Pojmeme volné báze se v tomto případě rozumí nekvarterní *N*-demetylované sloučeniny vykazující bazický charakter (*Obr. 4*). QBA můžeme dále rozdělit na skupinu chelerythrinu (substituce 2, 3, 5, 7, 8), do které řadíme chelerythrin (**2b**), sanguinarin (**2c**) a fagaridin (**2a**), a nitidinu, do které můžeme zařadit nitidin (**2d**) a fagaronin (**2e**) (substituce 2, 3, 5, 8, 9). Jelikož cílem této práce bylo připravit analoga se substitucí v polohách 2, 3, 5, 7, 8 a 3, 4, 5, 7, 8, bude skupině nitidinu věnována pouze minimální pozornost. Redukované formy BA, tedy hexahydrobenzofenanthridinové a dihydrobenzofenanthridinové alkaloidy, nejsou předmětem této rešerše.



3

Decarin (**3a**): $R^1 = \text{OMe}$; $R^2 = \text{OH}$; $R^3 = \text{H}$

Isodecarin (**3b**): $R^1 = \text{OH}$; $R^2 = \text{OMe}$; $R^3 = \text{H}$

Norchelerythrin (**3c**): $R^1 = R^2 = \text{OMe}$; $R^3 = \text{H}$

Norsanguinarin (**3d**): $R^1 = R^2 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = \text{H}$

Normitidin (**3e**): $R^1 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = \text{OMe}$

Obr. 4

4.1 VÝSKYT

BA řadíme mezi sekundární rostlinné metabolity, vyskytující se zejména v rostlinách čeledi zemědýmovitých (*Fumariaceae*), makovitých (*Papaveraceae*) a routovitých

(*Rutaceae*).^{2,11,12} Tyto rostliny je využívají jako ochranu před mikroorganismy a býložravci.¹³ Na evropském kontinentu představuje jediný přírodní zdroj rostlina *Chelidonium majus* L. (vlaštovičník větší) z čeledi makovitých, jejíž kořeny obsahují až 0,6 % QBA.¹⁴ Latex této byliny však obsahuje až 10x vyšší koncentrace QBA.¹⁴ Tato skutečnost se vymyká obecnému pravidlu, podle kterého podzemní části rostlin obsahují až řádově vyšší koncentrace QBA, než jejich nadzemní části.¹⁴ Nejvyšší koncentrace pak obsahuje severoamerická bylina *Sanguinaria canadensis* L., u které zastoupení QBA v oddencích dosahuje až 6 % sušiny.^{12,14,15} Tato rostlina, v americké literatuře také lidově označována jako redroot, bloodroot nebo red puccoon, roní krvavě červený latex, jehož zbarvení je způsobeno vysokým obsahem sanguinarinu (**2c**).^{12,14} Díky této své nápadné vlastnosti byl její extrakt používán k lékařským účelům již domorodým obyvatelstvem předkolumbovské Ameriky.¹² Mezi další významné zdroje QBA patří rostliny *Dicranostigma lactucoides* Hook f. & Thomson (až 4 % QBA v suchém kořeni), *Macleaya microcarpa* Fedde a *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br., všechny z čeledi *Papaveraceae*.¹⁴ Procentuální obsah alkaloidů značně závisí na podmínkách, kterým byly rostliny během svého vegetativního období vystaveny, a na období jejich sběru.¹² QBA substituované v polohách 8 a 9 (skupina nitidinu) se vyskytují pouze v rostlinách čeledi *Rutaceae*, konkrétně v rodech *Fagara*, *Toddalia* a *Zanthoxylum*.^{1,14}

4.2 REAKTIVITA

Pro reaktivitu QBA je typická citlivost polární iminiové vazby $C=N^+$ k nukleofilnímu ataku. Kromě literatury, která se zabývá izolací nebo syntézou benzofenanthridinů, je toto tvrzení podloženo i kvantovými výpočty elektronové hustoty pro benzo[*c*]fenanthridinový a fenanthridinový skelet.^{16,17} QBA proto relativně snadno reagují s nukleofily za vzniku tzv. pseudobáze (Schéma 1), přičemž rovnováha těchto reakcí závisí na pH.¹ Narozdíl od svých aduktů jsou QBA barevné a ve vodě rozpustné sloučeniny.¹² Formace pseudobáze je obecným jevem popsaným u heterocyklických sloučenin, které obsahují kladně nabitý heteroatom.^{18,19}

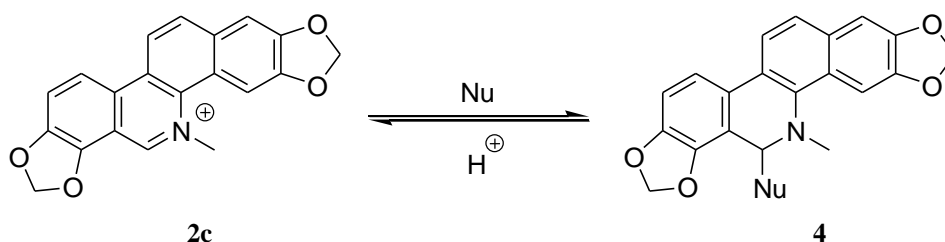


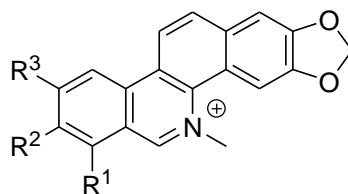
Schéma 1.

Bylo vypořádováno, že substituent v poloze 7 destabilizuje kationt (posouvá rovnováhu ve prospěch aduktu), zatímco substituent v poloze 9 kationt stabilizuje.¹ Pro představu jsou v následující tabulce (*Tabulka 1*) uvedeny hodnoty rovnovážné konstanty pK_R formace pseudobáze pro chelerythrin (**2b**), sanguinarin (**2c**) a nitidin (**2d**) (*Obr. 5*). Z hodnot uvedených v tabulce mimo jiné vyplývá, že solvatace kationtu ve vodném prostředí vede k výraznému poklesu jeho acidity.

Tabulka 1. Hodnoty pK_R pro formaci pseudobáze pro benzofenanthridiny **2b**, **2c**, **2d** ^(a)

Sloučenina	pK_R [voda/EtOH; 1/1(w/w)]	pK_R (voda)
Chelerythrin	$6,67 \pm 0,19$	$8,77 \pm 0,07$
Sanguinarin	$5,75 \pm 0,18$	$7,92 \pm 0,08$
Nitidin	$9,75 \pm 0,15$	$12,10 \pm 0,02$

(a) Hodnoty uvedené v tabulce pocházejí z následujícího zdroje:²⁰



2b: $R^1 = R^2 = \text{OMe}$; $R^3 = \text{H}$

2c: $R^1 = R^2 = \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = \text{H}$

2d: $R^1 = \text{H}$; $R^2 = R^3 = \text{OMe}$

Obr. 5

Disponuje-li QBA nepokrytou hydroxy skupinou v poloze 7 [NK 109 (**2f**), isofagaridin (**5**)], vzniká ketoamin **6** (*Schéma 2*), k formaci pseudobáze nedochází.²¹

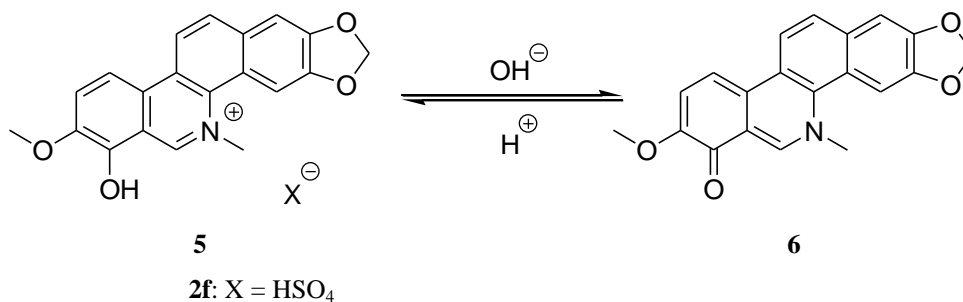


Schéma 2.

V silně alkalickém prostředí pak QBA disproportionují za vzniku 6-oxo (**7**) a 5,6-dihydro (**8**) derivátů (Schéma 3).²²

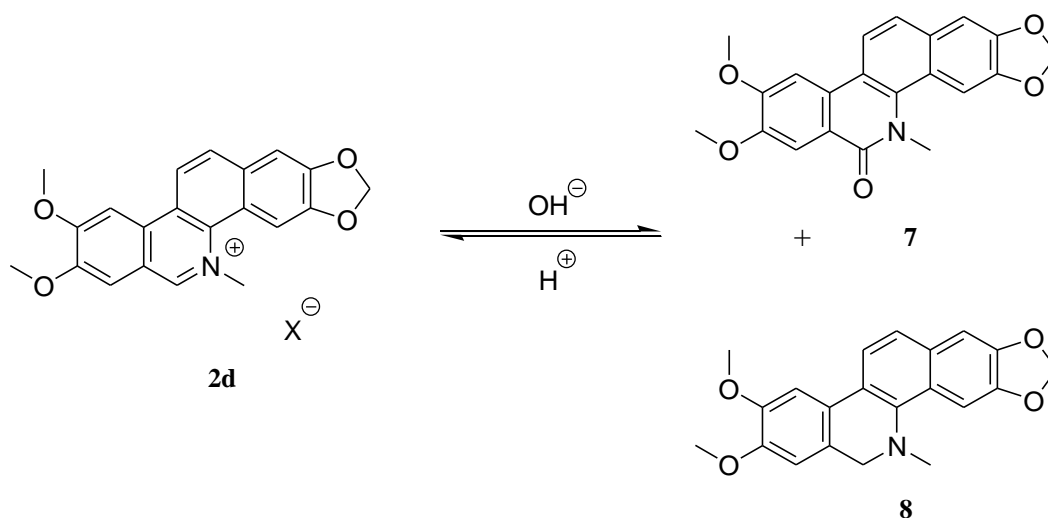
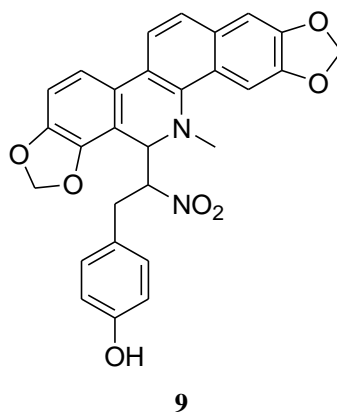


Schéma 3.

Při reakcích s Grignarovými činidly vznikají 6-alkyldihydro deriváty, při reakci s NaCN, popřípadě s KCN, vznikají tzv. pseudokyanidy, které jsou vůči kyselinám výrazně odolnější než odpovídající pseudobáze.¹⁴ Mezi další popsané reakce s C-nukleofily patří reakce s nitromethanem, butanonem nebo acetaldehydem.¹ Reakce s S-, O- a N-nukleofily nejsou v literatuře popsány tak důkladně.¹² Známo je například to, že rekrystalizací QBA z MeOH nebo EtOH vznikají 6-alkoxydihydro deriváty.¹ Mnoho produktů C-nukleofilního ataku bylo také vyizolováno z přírodních zdrojů. Jedním z nich je i nitrotyrasanguinarin (**9**) (Obr. 6), vyizolovaný z rostliny *Hypocoum imberbe* Sibth. et Sm. (*Papaveraceae*), který spadá do nepočtené skupiny přírodních nitrosloúčenin.¹⁴



Obr. 6

Při teplotách nad 200 °C se QBA rozkládají za vzniku *N*-demethylovaných derivátů.^{23,24} Známa je redukce pomocí NaBH₄ nebo Zn prachem ve zředěné HCl (reflux, několik hodin) za vzniku 5,6-dihydro derivátů a oxidace K₃Fe(CN)₆ za vzniku 6-oxo derivátů.^{1,25} Reakcí s peroxokyselinami, jako je např. mCPBA, dochází k oxidaci Bayer-Villigerova typu za současného otevření C-kruhu a formaci tzv. secobenzofenanthridinů (Schéma 4).¹

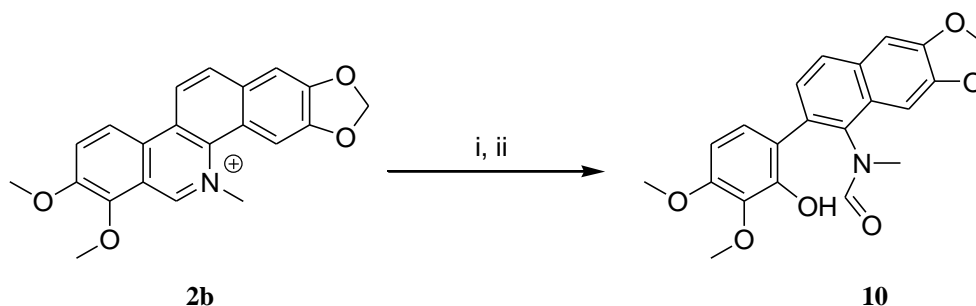
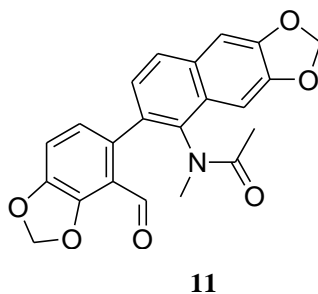


Schéma 4. (i) mCPBA, HMPA; (ii) H₂O

Zahřívání pseudobáze sanguinarinu (**2c**) s acetanhydridem zase vede ke vzniku *N*-acetylsanguinarinu **11** – zatím jedinému popsanému derivátu s volnou aldehydickou skupinou (Obr. 7).¹²



Obr. 7

4.3 BIOLOGICKÁ AKTIVITA

QBA interagují se svými biologickými cíli třemi dosud známými mechanismy, kterými jsou: interkalace do DNA; tvorba aduktů s nukleofily; interakce kvartérního kationtu s aniontovou částí biopolymeru.¹ Tyto sloučeniny proto vykazují velice různorodou biologickou aktivitu.

Předně je třeba rozlišit skupinu chelerythrinu a nitidinu. Sanguinarin (**2c**) a chelerythrin (**2b**) se vyznačují značným antimikrobiálním, antimykotickým, protizánětlivým a

protiplakovým účinkem.^{2,14,26} Nitidin (**2d**) a fagaronin (**2e**) naproti tomu tyto vlastnosti postrádají a vyznačují se účinkem kancerostatickým, zejména antileukemickým.^{26,27} Ukazuje se, že na výsledný typ aktivity má vliv zejména poloha substituentů D-kruhu, zatímco vliv polohy substituentů A-kruhu na typ aktivity je zanedbatelný.¹² Kancerostatická aktivita nitidinu a fagaroninu je vysvětlována vysokou stabilitou kvartérní iminiové formy.²⁸ Ta je stabilizována rezonanční interakcí s volným elektronovým párem substituentu vázaného v poloze 9 (Schéma 5). Pro sloučeniny se substituentem v poloze 7 (skupina chelerythrinu) není konjugace tak významná, jelikož dochází ke sterickému bránění atomem vodíku na C-6.¹² Přítomnost substituentu v poloze 7 nebo ztráta iminiové vazby C=N⁺ (formací 5,6-dihydro nebo 6-oxo derivátu) tak vede k poklesu až ztrátě kancerostatické aktivity.¹² Nutno však dodat, že alkaloidy nitidin a fagaronin neuspěly již v preklinické fázi farmakologického a toxikologického hodnocení, proto se tato skupina nezdá být vhodnou pro další studium kancerostatické aktivity.¹ U nitidinu byla navíc zjištěna kardiovaskulární toxicita.²⁹

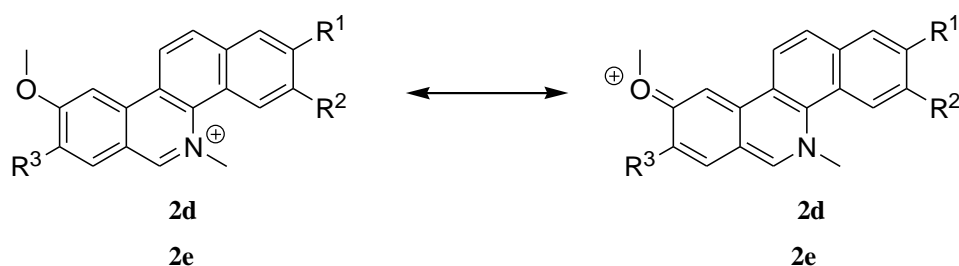


Schéma 5.

QBA skupiny chelerythrinu vykazují naopak významnou antimikrobiální aktivitu zejména proti grampozitivním bakteriím,^{30,31} a antifungální aktivitu, zejména proti kmenům *Trichophyton*, *Microsporium* a *Candida*.^{32,33} Protizánětlivé účinky sanguinarinu a chelerythrinu jsou srovnatelné s protizánětlivými účinky indomethacinu.³⁰ Pro alkaloidy této skupiny, zejména pak pro sanguinarin, byla prokázána hepatotoxicita.³⁴ S ohledem na tuto skutečnost se pak perorální aplikace těchto alkaloidů jeví jako velice problematická.¹²

Sanguinarin a chelerythrin jsou, díky své nízké místní toxicitě a výraznému protizánětlivému účinku,³⁰ vhodné pro léčbu zánětlivých procesů týkajících se dutiny ústní.¹ Dle studie z roku 1984 se pravidelným vyplachováním dutiny ústní roztokem obsahujícím 0,045% extrakt z rostliny *Sanguinaria canadensis* snižuje po 8 dnech množství zubního plaku až o 19%.³⁵ Zubní pasta a ústní voda značky Santoin, které jsou originálním a patentově chráněným českým výrobkem, obsahují oba výše zmíněné alkaloidy.¹⁴ V Rusku je

podobná směs pod názvem Sanguiritrin užívaná vnitřně po následcích obrny (inhibice acetylcholinesterázy) nebo k léčbě myopatií a zevně jako antimikrobiální přípravek.¹⁴ Směs Sangrovit, která se používá jako aditivum do krmiv chovných zvířat, zase obsahuje sanguinarin a chelerythrin jako své hlavní účinné složky.³⁶

Syntetický derivát NK 109 (**2f**), formálně spadající do skupiny chelerythrinu, představuje co do biologické aktivity jistou výjimku. Vykazuje totiž kancerostatickou aktivitu (inhibice topoizomerázy II), a to např. proti buňkám rezistentním vůči cis platině nebo buňkám, vykazujícím tzv. multiple-drug resistance.³ Bylo prokázáno, že nepokrytá skupina v poloze 7 je strukturním rysem, který významně přispívá ke kancerostatické aktivitě těchto sloučenin.^{37,38} V roce 1999 derivát NK 109 v Japonsku dokonce postoupil do první fáze klinických testů.¹¹ Jeho *N*-demethylovaný derivát isodecarin (**3b**) zase vykazuje *in vitro* cytotoxickou aktivitu proti HT-29 nebo P-388 nádorovým liniím.³⁹

4.4 SYNTÉZA QBA SKUPINY CHELERYTHRINU

Přestože existuje několik syntetických metod, které vedou ke vzniku BA, je zde stále potřeba nacházet praktičtější a schůdnější syntetické přístupy. Většina dosud známých přístupů je založena na uzavírání B- nebo C-kruhu. Tyto cyklizace probíhají radikálovým mechanismem, přes stádium arynu, Bischler-Napieralskiho reakcí nebo přechodnými kovy katalyzovanými reakcemi.^{9,11,40,41,42,43,44,45} Pro ilustraci je na následujících schématech nastíněna syntéza několika QBA spadajících do skupiny chelerythrinu.

Vůbec první příprava sanguinarinu (**2c**), publikovaná v roce 1968, využívá cyklizace probíhající radikálovým mechanismem (*Schéma 6*).⁴⁴ Později publikované syntézy však dosahují, oproti této původní, vyšších výtěžků.^{9,40,45}

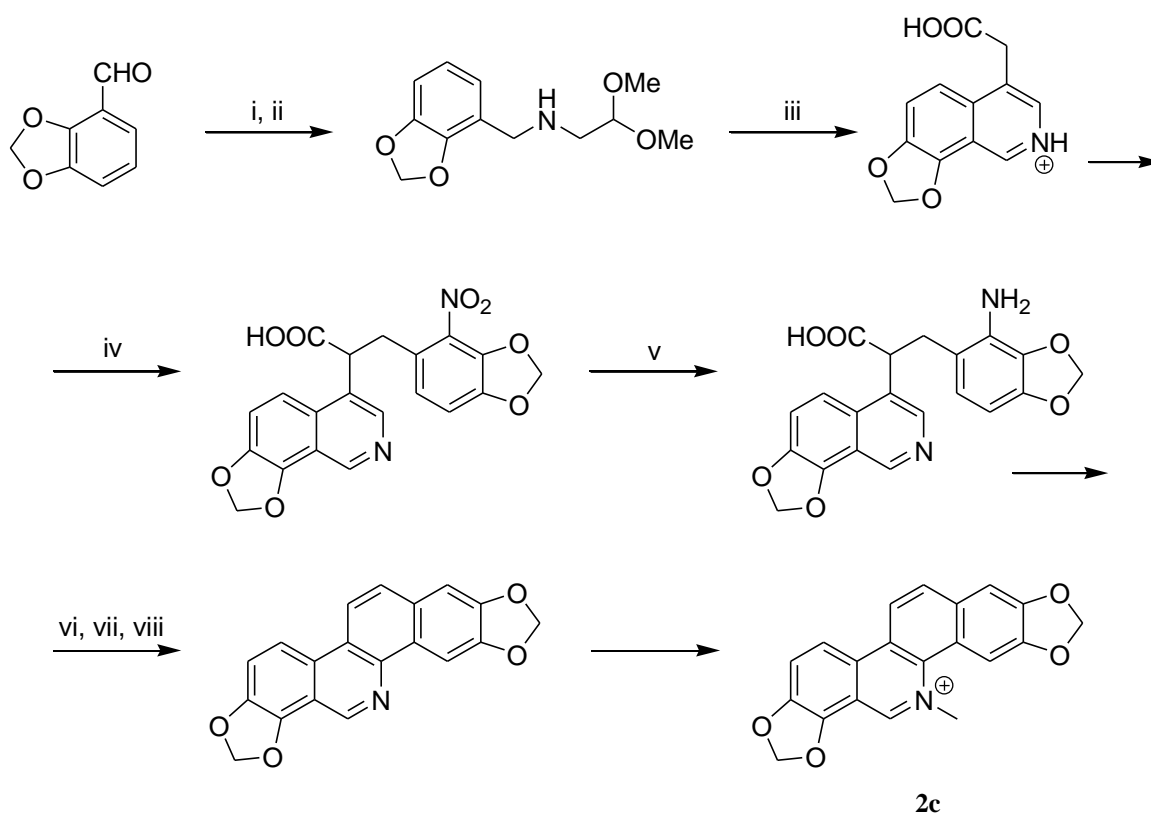


Schéma 6. (i) $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}(\text{OMe})_2$; (ii) H_2/Pd , 95 %; (iii) CHOCOOH , 6M HCl , 46 %; (iv) 6-nitropiperonal, 81 %; (v) $\text{FeSO}_4/\text{NH}_3$, 74 %; (vi) HNO_2 ; (vii) Cu ; (viii) chinolin, 15 %

V práci, která byla publikována v roce 1998, využili autoři k výstavbě benzofenanthridinové kostry syntetického derivátu NK 109 (**2f**) cyklizace, která probíhala přes stádium arynu (*Schéma 7*).¹¹ Pro syntézu ve větším měřítku se však tato metoda ukázala být nevhodná.

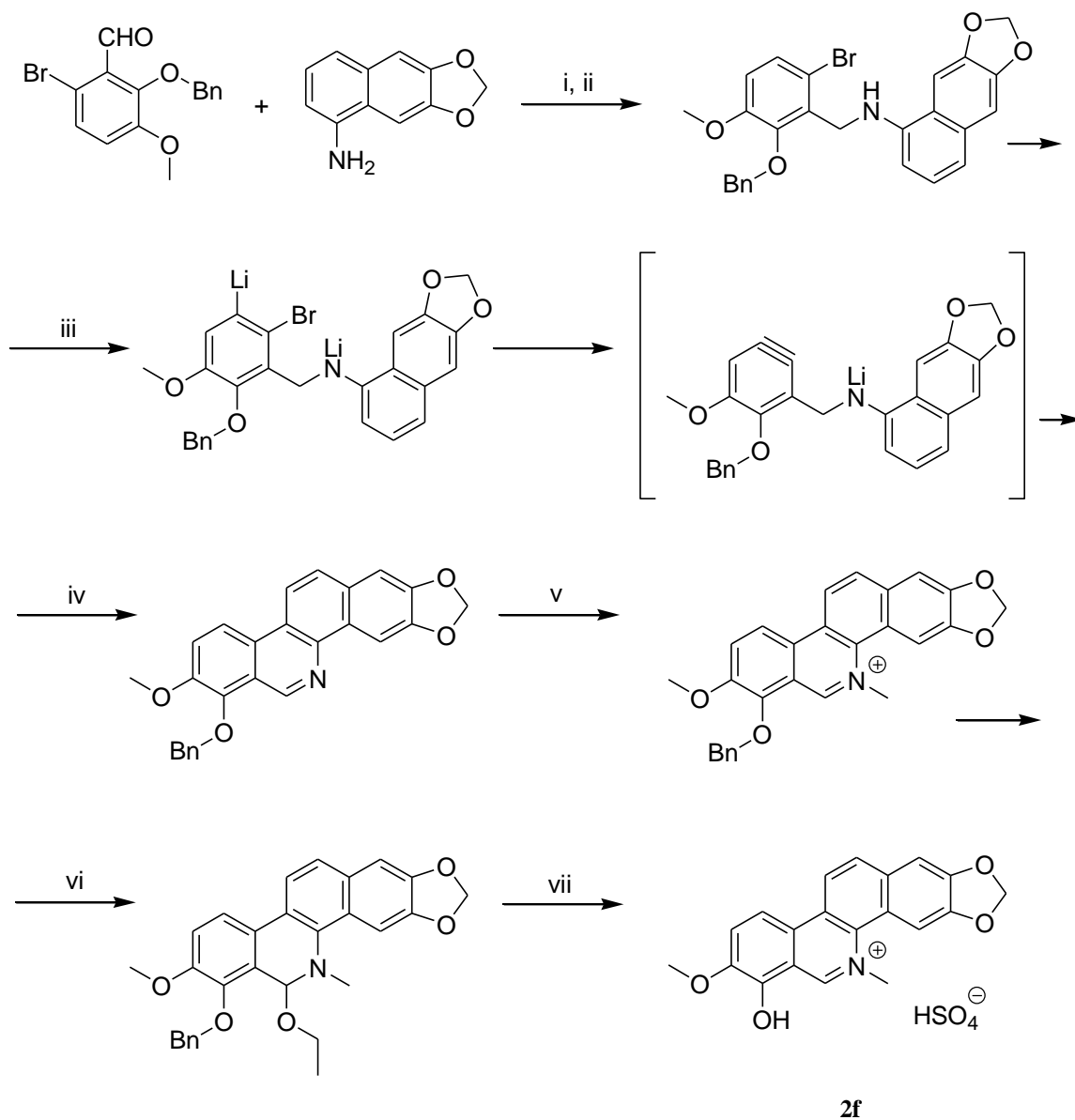


Schéma 7. (i) toluen, reflux, 1,5 hod; (ii) Me_2NHBH_3 , AcOH, toluen, 20 °C, 1 hod, 92 %; (iii) LDA, -78 °C; (iv) rychlé zahřátí k RT; (v) methyl 2-nitrobenzensulfonát, toluen, reflux, 35 hod, 80 %; (vi) NaOH, EtOH, RT, 2 hod, 98 %; (vii) 6M H_2SO_4 , 100 °C, 1 hod

Syntéza chelerythrinu (**2b**) z roku 2011 (*Schéma 8*), která vychází z komerčně dostupných výchozích látek a využívá dostupných činidel, nabízí uzavěr C-kruhu pomocí Pd katalyzované cyklizace. Touto metodou byl syntetizován i sanguinarin (**2c**) nebo nitidin (**2d**).⁴⁰

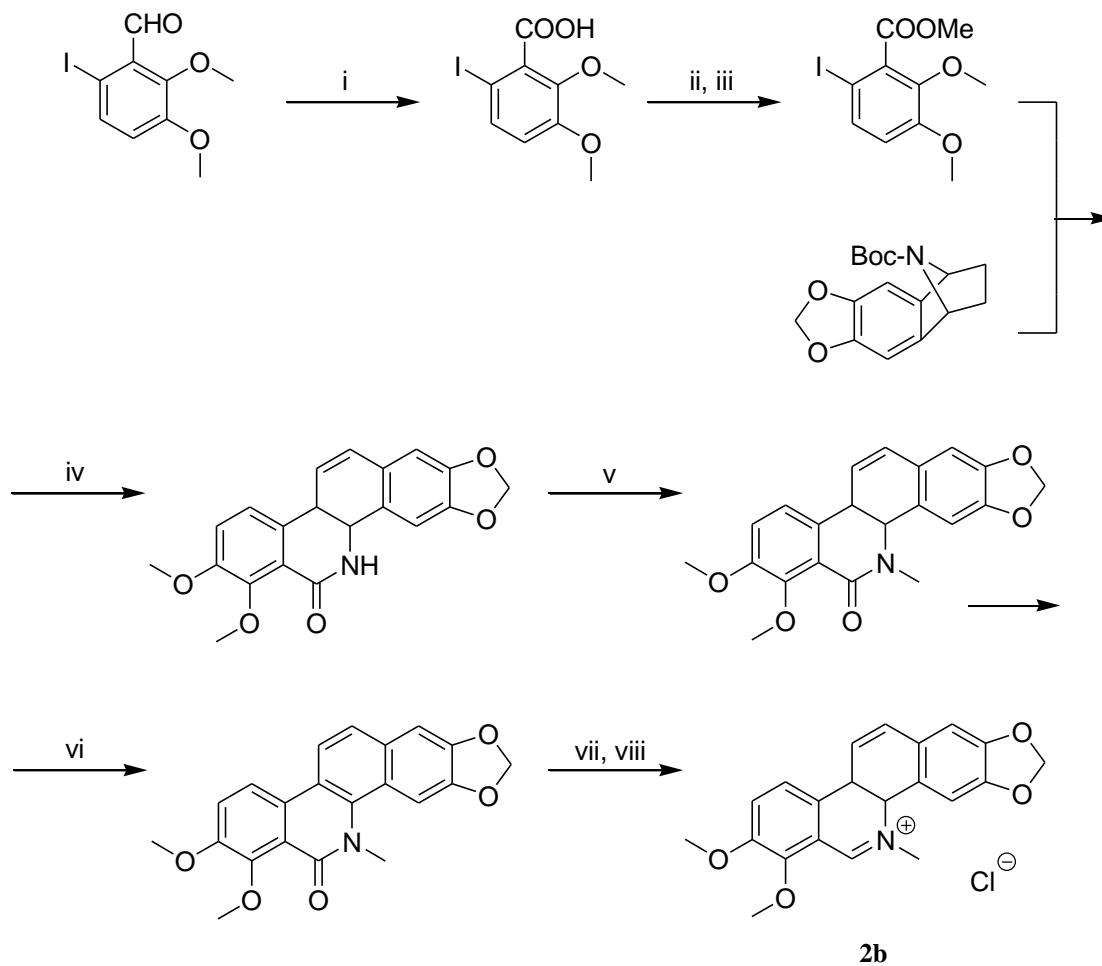


Schéma 8. (i) H_2O_2 , KOH, MeOH; (ii) $(\text{COCl})_2$; (iii) MeOH; (iv) $\text{Pd}(\text{Ph}_3)_2\text{Cl}_2$, Zn, ZnCl_2 , Et_3N , THF, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 1 den; (v) MeI, KOH, acetone; (vi) DDQ, benzen; (vii) LAH, THF; (viii) 10% HCl

Syntéza sanguinarinu (**2c**) z roku 2014 (*Schéma 9*), která přichází s novým způsobem přípravy naftylaminů z 1,5-nenasycených dikarbonylových sloučenin, při cyklizaci využívá mechanismu homolytické aromatické substituce.⁹

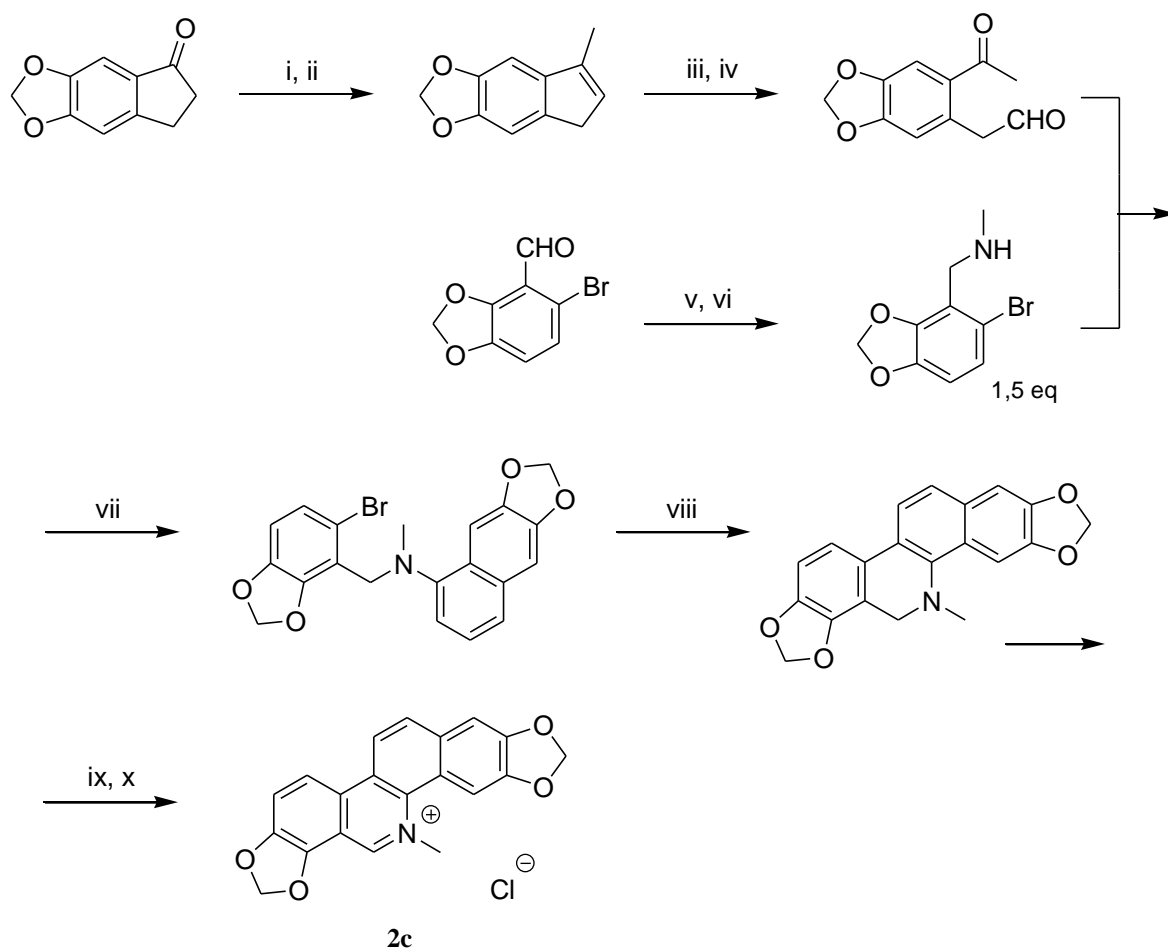


Schéma 9. (i) MeLi, CeCl₃, THF, -78 °C; (ii) PPTS, DCM, 77 %; (iii) K₂OsO₂(OH)₄ (0,02 eq), NMO (2 eq), THF/H₂O; (iv) NaIO₄, SiO₂, Et₂O, 74 %; (v) MeNH₂ (10 eq), EtOH; (vi) NaBH₄, MeOH, 100 %; (vii) ZnCl₂ (0,2 eq), C₂H₄Cl₂, 54 %; (viii) fenanthrolin, t-BuOK, benzen, 100 °C, 58 %; (ix) DDQ, NaOH, benzen (x) HCl, 90 %

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

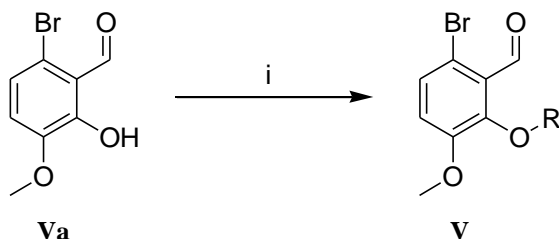
V této části budou diskutovány výsledky z oblasti optimalizace jednotlivých reakčních kroků, které vedly až k přípravě cílových sloučenin, jež obsahují strukturní motiv fenantridinu.

5.1 PŘÍPRAVA VÝCHOZÍCH LÁTEK

Z celkového pohledu bylo nejprve nutné syntetizovat vhodné výchozí látky a jejich postupnou chemickou transformací připravit žádané cílové struktury. Bylo nezbytné syntetizovat 2,3-substituované aniliny **IV** a vhodně ochráněné brombenzaldehydy **V**.

5.1.1 SYNTÉZA ALDEHYDŮ **Vb** a **Vc**

Stěžejní výchozí látkou pro přípravu cílových sloučenin byl komerčně dostupný benzaldehyd **Va**, který byl pro některé dílčí reakce modifikován na fenolické hydroxy skupině (*Schéma 10*). Tato modifikace se ukázala být zásadní při izolaci produktů cyklizace. Cyklizované produkty **VIII** s pokrytou hydroxy skupinou se totiž podařilo vyizolovat krystalizací, zatímco cyklizáty s volnou hydroxy skupinou se vykrytalizovat nepodařilo.



R = Bn, Me

Schéma 10. **Vb**: (i) BnBr, KI, K₂CO₃, MeOH, reflux, 9 hod, 58 %; **Vc**: (i) MeI, K₂CO₃, DMF, 45 °C, 18 hod, 92 %

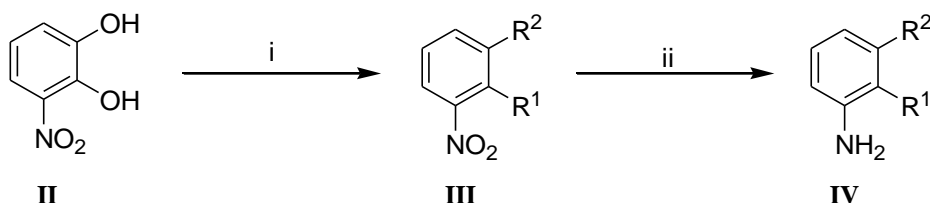
Pro protekci byla vybrána benzylová skupina. Literatura uvádí postup přípravy benzylovaného aldehydu **Vb**.¹¹ Pro alkylaci byl, oproti literatuře, kde autoři používají BnCl, použit reaktivnější BnBr. Napříč dostupnou literaturou^{11,46} se vyskytoval pouze jeden způsob izolace látky **Vb**, a tím byla sloupcová chromatografie. Výjimku tvořila jediná práce,⁴⁷ ve které byla pro izolaci úspěšně použita metoda krystalizace. Vzhledem k tomu, že se jednalo o výchozí látku někololistupňové syntézy, byla upřednostněna právě krystalizace. Nutno dodat, že

látku **Vb** nebylo kvůli jejím fyzikálním vlastnostem (bod tání 55 °C) vždy jednoduché vykrytalizovat.

Druhá modifikace, tentokrát ne ve smyslu protekce, na aldehydu **Va**, byla methylace jeho hydroxy skupiny za vzniku látky **Vc**. Bylo tak zamýšleno připravit sérii fenanthridinů, které mají naopak hydroxy skupinu v poloze 7 pokrytou. Studium obdobných benzo[*c*]fenanthridinových alkaloidů prokázalo, že nepokrytá hydroxy skupina v poloze 7 je nutnou podmínkou pro zachování planarity kvartérních solí v bazickém prostředí, což prokazatelně přispívá k vyšší cytostatické aktivitě zmíněných molekul.^{37,38} Srovnáním cytostatické aktivity odpovídajících si derivátů těchto sérií by se dalo usuzovat na to, zda vůbec, případně jakou roli hraje substituce v poloze 7 pro námi nově syntetizované fenanthridiny. Reakční podmínky pro přípravu dimethoxyaldehydu **Vc** byly převzaty z literatury.⁴⁸ Připravený dimethoxyaldehyd však nebyl izolován sloupcovou chromatografií, ale byl vysrážen z reakční směsi vodou. Tímto postupem byl získán produkt **Vc** ve vysokém výtěžku a dostatečné čistotě pro další reakce.

5.1.2 SYNTÉZA ANILINŮ **IVc** a **IVd**

Bylo rozhodnuto, že vybrané aniliny **IVc** a **IVd**, ze kterých by se daly syntetizovat strukturální analoga chelerythrinu, nitidinu, fagaridinu, fagaroninu, isodecarinu nebo NK109, budou připraveny redukcí nitroskupiny z příslušných prekurzorů **IIIa**, **IIIb**. Jako základní výchozí látka byl proto zvolen 3-nitrobenzen-1,2-diol (**II**), ze kterého lze oba výše zmíněné aniliny teoreticky připravit (*Schéma 11*).



$R^1, R^2 = \text{OMe}, \text{O-CH}_2\text{-O}$

Schéma 11. **IIIa**: (i) Me_2SO_4 , NaH, DMF, 60 °C, 7 hod, 57 %; **IIIb**: (i) CH_2I_2 , NaH, 110 °C, 18 hod, 22 %; (ii) 10% Pd/C, H_2 , MeOH, atm. t., RT, 98 % **IVc**, 92 % **IVd**

5.1.2.1 PŘÍPRAVA 3-NITROBENZEN-1,2-DIOLU (**II**)

Literatura uvádí několik přístupů, kterými lze látku **II** získat.^{49,50,51,52,53} Základní metodou je nitrace pyrokatecholu **I** za vzniku 2 možných regioizomerů **II** a **XIV**, které je

nutné rozdělit⁵³ (Schéma 12). V poslední době byly vyvinuty také postupy selektivní nitrace pyrokatecholu, které by měly poskytovat přednostně derivát **II**.^{51,52} Jedna z těchto metod⁵¹ dokonce slibovala regiospecifický průběh reakce a výlučný vznik produktu **II**, čímž by se dalo vyhnout náročnému dělení. Na základě této metody⁵¹ bylo postupováno následovně: roztok pyrokatecholu **I** (1 eq) a nitrátu močoviny (1 eq) ve směsi MeCN/voda (19/1) byl 18 hodin refluxován. Reakční směs ale začala již po cca 40 minutách černat a nabývat blátivé konzistence. Reakce byla průběžně monitorována pomocí LCMS. Výchozí látka reagovala za vzniku neidentifikovaných nečistot. Produkt mezi nimi nicméně nefiguroval. Reakce byla ještě jednou opakována, rovněž se stejným výsledkem. Použití polovičního množství nitrátu močoviny (0,5 eq) se také neseťkalo s úspěchem.

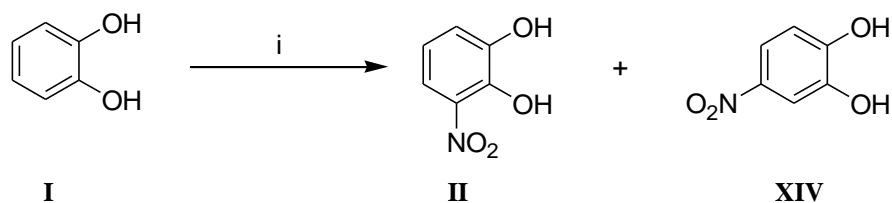


Schéma 12. (i) HNO₃, ether, 10 - 14 °C, 0,5 hod, 26 % **II**

Dále byl zvolen konzervativnější přístup – nitrace pyrokatecholu HNO₃.^{53,54,55} Z literatury byl převzat postup nitrace pyrokatecholu dýmavou HNO₃ v etheru.⁵³ Bylo zjištěno, že při teplotě 0 °C, která je uvedena v patentu⁵³, výchozí látka **I** nedoreagovává. Přítomnost výchozí látky činila při následné separaci regioizomerů problémy a nedovolovala tak získat žádaný nitrodiol **II** v rozumné čistotě a výtěžku. Jiné postupy také zmiňují nitraci při teplotě 0 °C s tím, že po ukončení přidavku HNO₃ je nutné reakční směs při laboratorní teplotě několik hodin míchat.^{54,55} Během optimalizace jsme zjistili následující: je-li teplota během nitrace udržována v rozmezí 10 – 14 °C, výchozí látka zcela doreagovává již 0,5 hodiny od ukončení přidavku a následné problémy při separaci nevyvstávají. Dle patentu⁵³ měly být spojené organické fáze z důvodu eliminace zbytku kyseliny promyty vodným roztokem Na₂CO₃. Vzhledem ke známému faktu, že fenoly vytvářejí s uhličitany své soli, byl upřednostněn vodný roztok NaHCO₃. Nutno dodat, že i při použití roztoku NaHCO₃ část produktu viditelně přecházela do vodné fáze (vliv nitro skupiny).

Při nitraci vznikaly oba možné regioizomery (vždy v poměru 1:1), které bylo nutné rozdělit. V literatuře se objevuje dělení sloupcovou chromatografií,^{53,54} ale vzhledem k potřebě gramových množství látky **II** byla zvolena metoda extrakce vroucím

petroletherem.^{55,56} Sloučenina **II** je díky intramolekulární vodíkové vazbě méně polární a na rozdíl od svého regioizomeru **XIV** do petroletheru přechází. Výtěžek extrakce se vždy pohyboval kolem 50 %.

Dále byl proveden test stability připravené látky **II** v alkalickém prostředí, která byla míchána v otevřené baňce v nadbytku vodného 10M NaOH. Bylo zjištěno, že k žádné nežádoucí chemické změně (oxidaci) ani po 6 hodinách nedochází. Z tohoto důvodu nebyla žádná z následujících alkylací prováděna pod inertní atmosférou. Sloučenina **II** byla nakonec přeci jen uchovávána pod inertní atmosférou, jelikož se ukázalo, že v řádech měsíců její povrch černá. LCMS analýza načernalého podílu však nepotvrdila významný rozklad nebo znečištění látky.

5.1.2.2 PŘÍPRAVA NITROSLOUČENIN **IIIa** a **IIIb**

Methylenace katecholů je v literatuře relativně dobře popsána. Existují dva základní přístupy: alkylace ve vodném prostředí za přispění katalýzy fázového přenosu^{57,58} a alkylace v polárních aprotických rozpouštědlech typu MeCN, DMSO nebo DMF.⁵⁹ Je však zřejmé, že substituce silně aktivující nebo naopak deaktivující skupiny výrazně mění reaktivitu fenolických hydroxy skupin. Pro methylenaci tohoto typu sloučenin neposkytuje literatura univerzální návod.

Na základě literatury^{57,58} byl nejprve proveden pokus o alkylaci ve vodném prostředí. K vodnému roztoku nitrodiolu **II** (1 eq), K₂CO₃ (5 eq) a katalyzátoru fázového přenosu (dále již PTC) TEAC (0,3 eq) byl přidán CH₂Br₂ (1,5 eq). Reaktivnější CH₂I₂ nebyl použit, jelikož jodidové ionty působí jako katalytické jedy v katalýze fázového přenosu, negativně ovlivňují reakční kinetiku a vyžadují stechiometrické navážky PTC.^{57,60} Reakce při laboratorní teplotě ani po 2 hodinách neprobíhala. Teplota reakční směsi proto byla zvýšena na 80 °C. Ani po 22 hodinách při této teplotě výchozí látka **II** s CH₂Br₂ nereagovala. Reakce byla reprodukována, tentokrát však se silnější bází (KOH). Výchozí látka s alkylačním činidlem rovněž nereagovala.

Další pokusy o methylenaci probíhaly v bezvodém prostředí polárních aprotických rozpouštědel. Dle patentu⁵³ byl k suspenzi NaH (2,5 eq) v bezvodém HMPA přikapáván roztok diolu **II** v HMPA. Poté byl k této suspenzi přidán CH₂I₂ (1,16 eq) a směs byla míchána 30 minut. Analýza takto provedeného pokusu prokázala, že výchozí látka z velké části nedoreagovala a kromě žádaného produktu **IIIb** vznikal ve stejné míře i vedlejší produkt **XV**.

Alkylace byly dále zkoušeny v dostupnějším DMF (*Schéma 13*). Opakovanými experimenty směřujícími k optimalizaci reakce bylo zjištěno, že intenzivní míchání a pomalé přikapávání soli k methylenačnímu činidlu je důležité z důvodu předcházení vzniku produktu intermolekulární alkylace. Tato skutečnost našla oporu rovněž v literatuře.^{57,58,59} Dále bylo zjištěno, že pro žádaný průběh reakce je nutné udržovat teplotu reakční směsi nad hranicí 100 °C. Při této teplotě došlo do 18 hodin od začátku reakce k úplné konverzi výchozí látky. Na základě LCMS analýzy byly identifikovány následující produkty: cílová sloučenina **IIIb** a produkt intermolekulární alkylace. Vzhledem k rozložení elektronové hustoty se domníváme, že alkylace probíhala přednostně na atom kyslíku v poloze 1 za vzniku derivátu **XV**. Bylo také zjištěno, že v případě použití 4 molárního ekvivalentu CH₂I₂ vznikalo 50 % vedlejšího produktu **XV**, zatímco při použití 1,1 molárního ekvivalentu CH₂I₂ vznikalo látky **XV** již jen asi 25 %. Následná separace látky **XV** od žádaného produktu **IIIb** spočívala v extrakci RS etherem a následné suspendaci odparku ve vodném roztoku Na₂CO₃, ve kterém se látka **IIIa** oproti sloučenině **XV** rozpouští jen částečně.

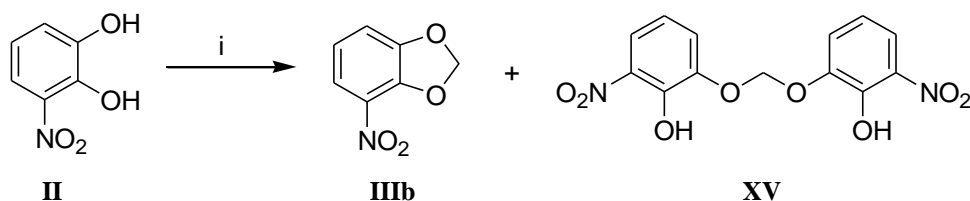


Schéma 13. (i) CH₂I₂, NaH, DMF, 110 °C, 18 hod, 22 % **IIIb**

Stejně jako methylenace, i methylace sloučeniny **II** byla na základě literatury^{61,62} zkoušena ve vodném prostředí, avšak neúspěšně. Při použití MeI (10 eq) a K₂CO₃ (5 eq) za laboratorní teploty k reakci nedocházelo. Reakční směs byla 3 dny refluxována. Analýza ukázala na přítomnost výchozí látky **II** (50 %), monomethylovaného produktu **XVI** (40 %) a dimethylovaného derivátu **IIIa** (10 %), (*Schéma 15*).

Dále byla zkoušena methylace za použití Me₂SO₄ (4 eq) ve vodném prostředí v přítomnosti NaOH (5 eq) za laboratorní teploty. Přes noc se z reakční směsi, jejíž pH bylo menší než 7, vyloučila sraženina, která byla identifikována jako monomethylovaný produkt **XVI**. Při použití Me₂SO₄ (4 eq) a nadbytku NaOH (8 eq) byla reakční směs po třech dnech míchání za laboratorní teploty okyselena AcOH rovněž za vyloučení monomethylovaného produktu **XVI** (23 %). Reakce byla reprodukována, tentokrát při teplotě 90 °C. Navzdory zvýšené teplotě obsahovala reakční směs po 4 dnech prakticky pouze monomethylovaný

derivát **XVI** (Schéma 14). Co se týče žádané dimethylované sloučeniny **IIIa**, byly pozorovány pouze její stopy. Nepomohl ani 10 molární nadbytek methylačního činidla v dostatečném nadbytku báze.

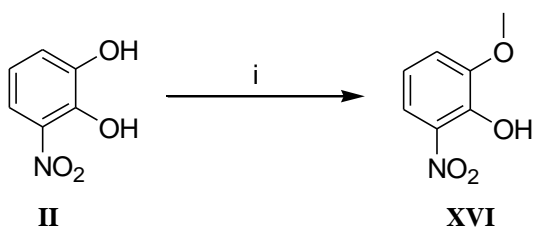


Schéma 14. (i) Me_2SO_4 , NaOH, voda, 90 °C, 4 dny

Další methylace byly prováděny v bezvodém DMF za použití NaH při 60 °C. Jako methylační činidlo byl použit Me_2SO_4 a methyl-triflát. Rozdíl mezi oběma methylačními činidly spočíval zejména v reakční kinetice. Methyl-triflát reagoval dle očekávání řádově rychleji. Na konečnou konverzi ale překvapivě nemělo použití triflátu oproti Me_2SO_4 zásadní vliv. Proto bylo dále pracováno s levnějším Me_2SO_4 . Použití 4 molárních ekvivalentů Me_2SO_4 , NaH (4,2 eq) a teploty 60 °C v bezvodém DMF zajistilo po 7 hodinách dostatečnou celkovou konverzi na dimethylovaný derivát **IIIa** (Schéma 15). Přidání dalších podílů methylačního činidla nemělo na konečnou konverzi zásadní vliv. Ochlazením reakční směsi na laboratorní teplotu a přidáním vody došlo k vysrážení produktu **IIIa**. Aby se společně s produktem nevysrážel i derivát **XVI**, bylo nutné zajistit bazické pH směsi.

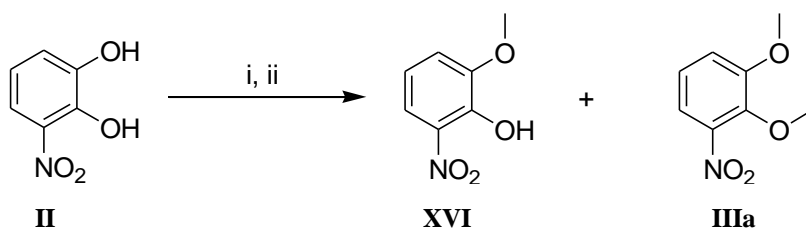


Schéma 15. (i) MeI, K_2CO_3 , voda, reflux, 3 dny, 10 % **IIIa** (čistota); (ii) Me_2SO_4 , NaH, DMF, 60 °C, 7 hod, 57 % **IIIa**

Kromě výše uvedené přípravy sloučeniny **IIIa** byl učiněn pokus připravit tuto sloučeninu nitrací komerčně dostupného 1,2-dimethoxybenzenu (**XVII**). Bylo postupováno obdobným způsobem jako při přípravě sloučeniny **II**. Dle literatury⁶³ probíhá nitrace do prvního stupně výlučně za vzniku izomeru **XVIII**, což se bohužel také potvrdilo (Schéma 16).

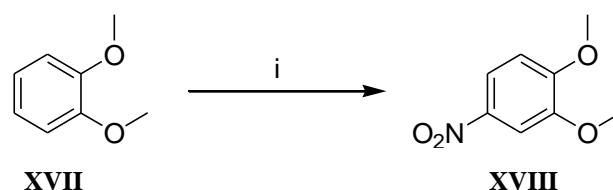
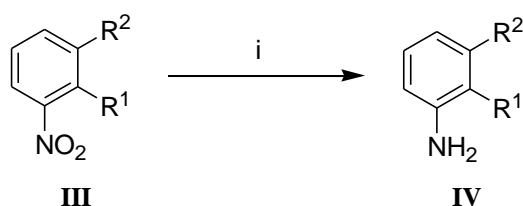


Schéma 16. (i) HNO₃, ether, 10 – 14 °C, 0,5 hod, 90 %

5.1.2.3 PŘÍPRAVA ANILINŮ IVc a IVd

Redukce nitro skupiny na amino skupinu byla provedena za atmosférického tlaku vodíku v přítomnosti 10% Pd/C v MeOH a probíhala snadno jak pro sloučeninu **IIIa**, tak pro sloučeninu **IIIb** (Schéma 17). Úplná konverze výchozí látky v produkt proběhla během 1 hodiny. Odbarvení reakční směsi signalizuje kvantitativní přechod nitroderivátu **III** v anilin **IV**. Jedná se o nové, jednoduché postupy, které ještě nebyly pro redukcí nitrosloučenin **III** aplikovány.

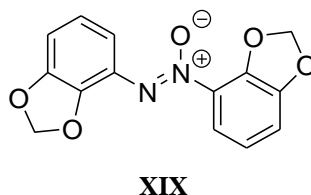


R¹, R² = OMe, O-CH₂-O

Schéma 17. (i) 10% Pd/C, H₂, MeOH, atm. t., RT, 1 hod, 98 % **IVc**, 92 % **IVd**

Redukce vodíkem je popsána pouze pro látku **IIIb**. První metoda popisuje redukcí na 10% Pd/C v AcOH za tlaku 2 atmosfér po dobu 16 hodin s výtěžkem 70 %.⁶⁴ Druhá metoda využívá jako katalyzátoru Ra-Ni za atmosférického tlaku vodíku v EtOH po dobu 4 hodin s výtěžkem 63 %.⁵³ Za námi zvolených podmínek bylo za kratší reakční čas bez nutnosti použití autoklávu dosaženo výtěžku 92 %. Literatura dále popisuje redukcí sloučeniny **IIIb** za účasti Ra-Ni a hydrazin monohydrátu.⁶⁵ Tento zdroj však uvádí nepochopitelně teplotu tání sloučeniny **IVd** (136–138 °C) navzdory tomu, že sloučenina **IVd** byla námi i jinými autory⁶⁴ popsána jako kapalina (za standardních podmínek). ¹H NMR spektrum se ani zdaleka neshoduje s námi naměřenými údaji, navíc se v jeho zápisu vyskytují hrubé nesrovnalosti. ¹³C spektrum nebylo dotyčnými autory⁶⁵ naměřeno. Z toho lze usuzovat, že autory⁶⁵ byla připravena jiná sloučenina, než-li anilin **IVd**, a jejich postup tak nelze brát v úvahu.

Na tomto místě bych rád uvedl jednu zajímavost, kterou se nám zatím nepodařilo zcela vysvětlit. Při jedné z redukcí sloučeniny **IIIb** se z reakční směsi vyloučila zelená sraženina, která byla společně s katalyzátorem odfiltrována. Tuto sraženinu se nepodařilo identifikovat. Z filtrátu se pak začala pozvolna vylučovat žlutá sraženina, která byla po izolaci a NMR a LCMS analýze identifikována jako azoxid výchozí látky **XIX** (Obr. 8). Opětovnou redukcí látky **XIX** byl dle očekávání získán čistý anilin **IVd**, což dotvrdilo, že se jedná o teoretický meziprodukt redukce sloučeniny **IIIb**. V případě formace azoxidu tedy muselo pravděpodobně dojít k deaktivaci katalyzátoru. Výchozí látka **IIIb** nebyla v tomto případě dokonale zbavena DMF z předchozí reakce. Nabízela se odvážná myšlenka, že by DMF mohl neznámou interakcí složek soustavy ovlivňovat průběh hydrogenace. Opakování redukce v MeOH, tentokrát za cíleného přídavku DMF, však nevedlo ke vzniku azoxidu, ale rovnou ke vzniku anilinu **IVd**. DMF tak nemohl deaktivaci katalyzátoru způsobovat. Příčinu otravy katalyzátoru se nepodařilo objasnit. Při předchozích redukcích látky **IIIb** (ani **IIIa**) nebyl azoxid jako meziprodukt pozorován, natož zachycen. Látku **XIX** se nám podařilo připravit pouze jednou.



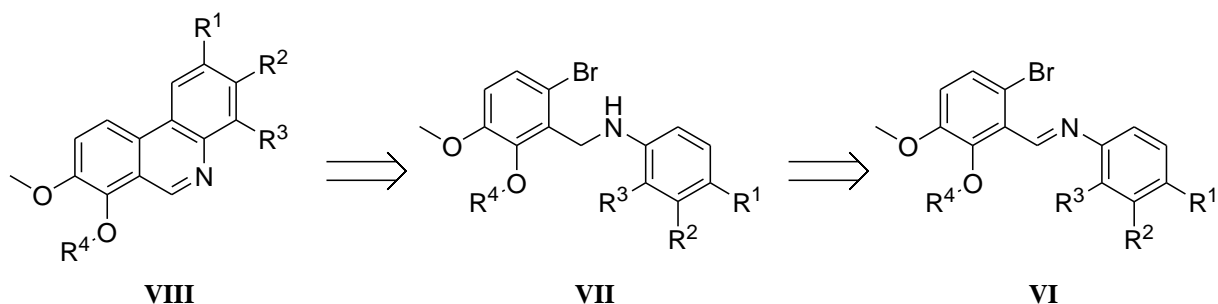
Obr. 8

Sloučenina **IVc** byla zatím jinými autory ze sloučeniny **IIIa** připravena pouze redukcí SnCl_2 v prostředí vodné HCl ⁶⁶ nebo Fe v prostředí vodné HCl (výtěžnost 83 %).⁶⁷ Za námi zvolených reakčních podmínek a způsobu izolace bylo dosaženo výtěžku 98 %.

Takto připravené aniliny **IVc** a **IVd** byly připraveny k reakcím s aldehydy **Va**, **Vb** a **Vc**.

5.2 PŘÍPRAVA SCHIFFOVÝCH BÁZÍ A JEJICH REDUKOVANÝCH FOREM

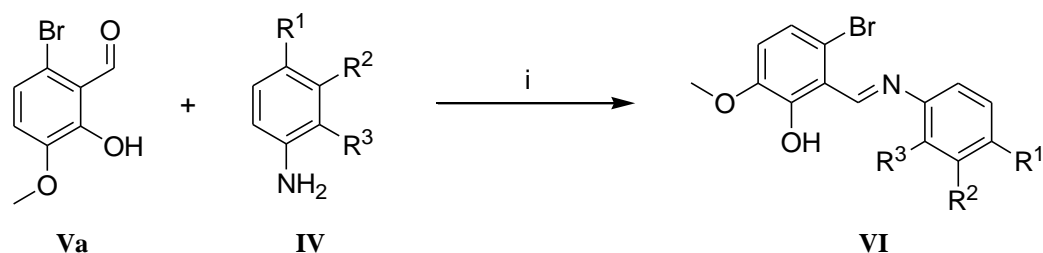
Původní plán syntézy počítal s přípravou a izolací Schiffovy báze **VI** a její následnou redukcí za vzniku substrátu **VII**, který by vhodnou cyklizační reakcí poskytoval odpovídající fenanthridin **VIII** (Schéma 18).



$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O; R^4 = H, Bn, Me$

Schéma 18.

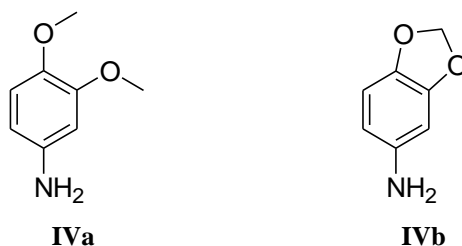
Aldehyd **Va** byl proto reagován s anilinem **IVa** (**IVd**) za refluxu v toluenu. Po jedné hodině byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu za současného vylučování produktu **VIa** (**VIb**) ve formě oranžové sraženiny. Byl vyizolován první typ Schiffovy báze – Schiffova báze s nepokrytou hydroxy skupinou. Z důvodu horší rozpustnosti těchto bází v EtOH byl před toluenem upřednostněn právě EtOH, ze kterého se produkt vylučoval ve vyšším výtěžku (*Schéma 19*).



$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O$

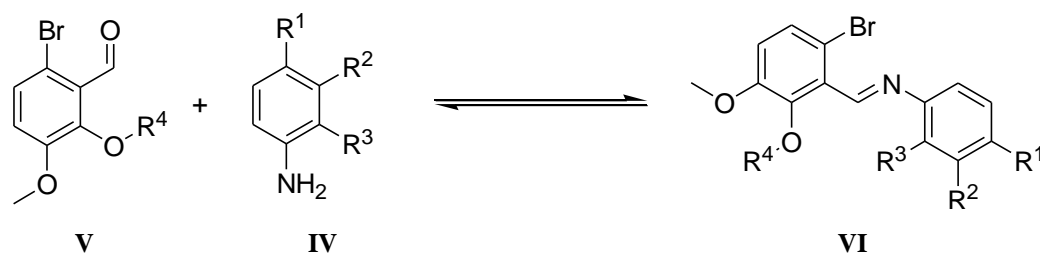
Schéma 19. (i) EtOH, reflux, 1 hod, 97 % **VIa**, 85 % **VIb**

Kondenzace aldehydů **Vb** (**Vc**) s aniliny **IVc** a **IVd** už tak snadno neprobíhaly. Reakce se vždy zastavily v určitém stádiu (50 – 80 % produktu v RS), od kterého se již koncentrace výchozích látek neměnily (*Schéma 20*). K reakci dále nedocházelo. Produkt se nikdy nepodařilo vyizolovat ani podchlazením reakční směsi suchým ledem, ani přidáním vody k reakční směsi EtOH (vždy vznikala emulze). Pro nesnáze, s jakými jsme se v této fázi syntézy setkali, byly zakoupeny komerčně dostupné aniliny **IVa** a **IVb** (*Obr. 9*), se kterými měly být, namísto pracně připravených aminů **IVc** a **IVd**, přednostně optimalizovány dílčí kroky navržené syntézy.



Obr. 9

Obě sloučeniny (**IVa**, **IVb**) reagovaly s aldehydem **Va** obdobným způsobem jako připravené aniliny **IVc** a **IVd**. Anilin **IVa** reagoval s aldehydy **Vb** a **Vc** lépe, než anilin **IVc**, a **IVb** lépe než **IVd**, což se dá vysvětlit menším sterickým bráněním sousedních skupin. Většina kondenzačních reakcí pak byla zkoušena s anilinem **IVa**. Všechny reakce probíhaly v bezvodých rozpouštědlech.



$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O$; $R^4 = Bn, Me$

Schéma 20.

Nejprve bylo pro kondenzace s aldehydy **Vb** (**Vc**) testováno vhodné rozpouštědlo. Bylo voleno mezi DMF při 120 °C a EtOH a toluenem za refluxu. V EtOH a toluenu bylo dosaženo srovnatelné konverze výchozího aldehydu (cca 80 %). V toluenu, pravděpodobně vlivem vyšší teploty, probíhala reakce rychleji. V DMF reakce probíhala podobně, ale docházelo i k neočekávané debenzylaci vznikající Schiffovy báze. Nejvhodnějším rozpouštědlem se tedy pro aldehydy **Vb** (**Vc**) ukázal být toluen, ve kterém probíhaly všechny další (není-li uvedeno jinak) pokusy o ovlivnění rovnováhy.

Možný negativní vliv vznikající vody jsme se snažili minimalizovat přidáním molekulového síta k reakční směsi. Konverze nebyla žádným způsobem ovlivněna. Nadbytek anilinu **IV** (2,2 eq) rovněž neměl na rovnováhu viditelný vliv. Ani přidáním katalytického množství kyseliny (AcOH, pTsoH) se rovnováhu nepodařilo ovlivnit. Pokud bylo vycházeno z benzylovaného aldehydu **Vb**, vedl přídavek kyseliny naopak k úplné debenzylaci produktu.

Dále byly provedeny reakce za asistence mikrovlnného záření – nejprve při teplotě 150 °C a poté 180 °C. Opět bez kýženého výsledku.

Jelikož reakce s aldehydem **Va**, který neměl pokrytou hydroxy skupinu, probíhaly dobře, a docházelo k vysražování produktu z reakční směsi, bylo rozhodnuto nechat reagovat vybraný aldehyd **Vb** s anilinem **XX**, který disponoval dvěma volnými hydroxy skupinami (*Schéma 21*). Volné hydroxy skupiny mohly být teoreticky alkylovány až po izolaci Schiffovy báze **XXI**. Sloučenina **XX**, která byla dle patentu⁶⁸ připravena redukcí za atmosférického tlaku vodíku na 10% Pd/C ze sloučeniny **II**, by navíc měla být oproti sloučeninám **IVc** a **IVd** přístupnější k reakci se stericky bráněným aldehydem. Pro reakci byl tentokrát na základě předchozí zkušenosti vybrán EtOH, ze kterého se vysražovaly Schiffovy báze prvního typu (**VIa**, **VIb** apod.) lépe, než z toluenu. Konverze se po hodině refluxu zastavila na 50 % a s časem se již neměnila. Z reakční směsi se produkt **XXI** nepodařilo konvenční cestou vyizolovat a dále již nebylo v kondenzacích pokračováno.

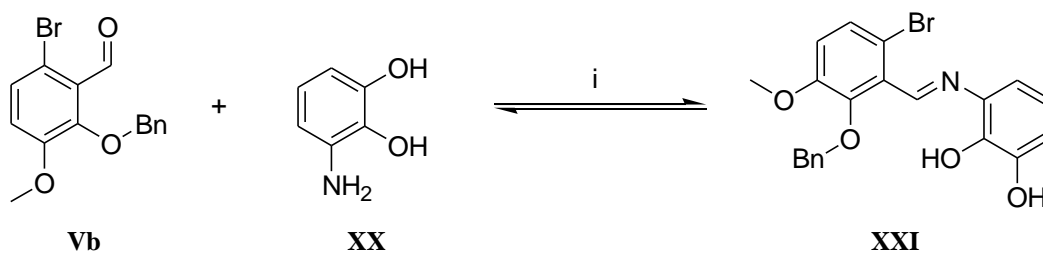
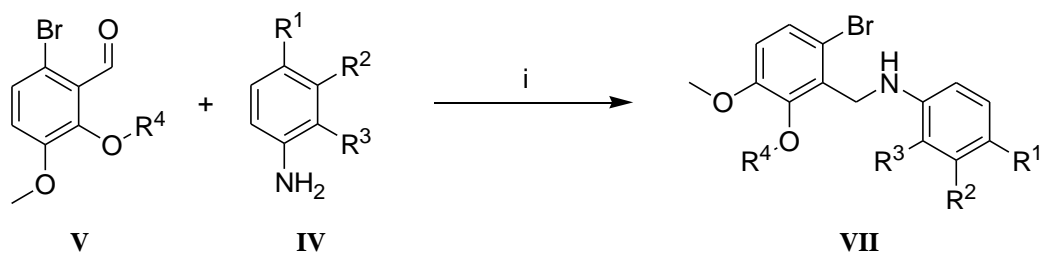


Schéma 21. (i) EtOH, reflux, 4 hod, 50 % (čistota)

Rovnováhu ve prospěch produktu se nám tedy nepodařilo žádným způsobem ovlivnit a Schiffovy báze druhého typu, u kterých by substituent R⁴ (*Schéma 21*) odpovídal metylu, nebo benzyly, nebyly připraveny. Hlavním cílem ale byla příprava redukovaných Schiffových bází. Proto byly aplikovány podmínky typické pro reduktivní aminaci. Ukázalo se, že aldehyd **Vb** (**Vc**) reaguje v toluenu kvantitativně s anilinem **IV** v přítomnosti NaBH(OAc)₃ za vzniku redukované Schiffovy báze **VIIa-g**. V *i*-PrOH probíhala reakce s NaBH(OAc)₃ také, ale několikanásobně pomaleji. Reduktivní aminaci v toluenu za použití nadbytku NaBH(OAc)₃ tedy byly připraveny všechny potřebné sekundární aminy odvozené od Schiffových bází druhého typu (*Schéma 22*). Redukce již izolovaných Schiffových bází prvního typu **VIa**, **VIb** byla uskutečněna prostřednictvím NaBH₄ v EtOH.

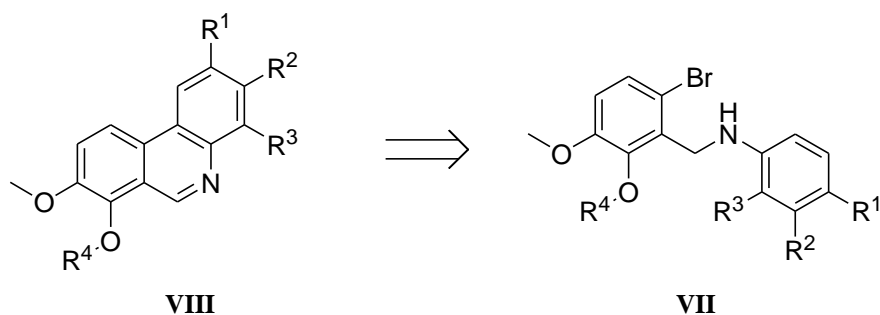


$R^1, R^2, R^3 = \text{H, OMe, O-CH}_2\text{-O; } R^4 = \text{Bn, Me}$

Schéma 22. (i) NaBH(OAc)_3 , toluen, RT, 1 hod, 34 - 96 %

5.3 CYKLIZAČNÍ REAKCE VEDOUcí K UZÁVĚRU FENANTHRIDINOVÉHO SKELETU

Jedním z cílů této diplomové práce bylo také prozkoumat možnosti uzávěru fenanthridinového skeletu. Vzhledem k substituci námi zvolených a připravených substrátů **VII** bylo nutné, aby k cyklizaci docházelo přímou arylací (Schéma 23). Byly zvoleny dva základní přístupy cyklizace: cyklizace za katalýzy přechodného kovu, tzv. cross-coupling, a cyklizace probíhající čistě radikálovým mechanismem.



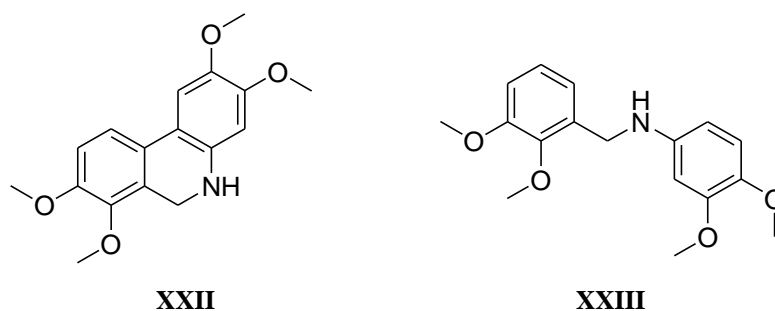
$R^1, R^2, R^3 = \text{H, OMe, O-CH}_2\text{-O; } R^4 = \text{H, Bn, Me}$

Schéma 23.

5.3.1 CROSS-COUPLING CYKLIZACE

Cyklizace za účasti přechodného kovu byly zkušeny na substrátech **VIIa** a **VIIIi**. Na základě literatury^{69,70,71,72} byly zvoleny podmínky reakce pro látku **VIIa**, které jsou uvedeny v tabulce č. 2. Jak je z tabulky patrné, cyklizace ve vysokovroucích polárních aprotických rozpouštědlech (1 – 8) v podstatě neprobíhala. Nepatrné množství redukované formy cyklizátu **XXII** (Obr. 10) vznikalo v případě DMA pouze po přidání kyseliny pivalové při 150 °C a 18 hodinách. V případě použití NMP byly stopy produktu pozorovány již 1,5 hod od

začátku reakce, avšak jeho podíl se v průběhu času, nezávisle na podmínkách (7 a 8), již nezměnil. Naopak docházelo k degradaci výchozí látky za vzniku debromovaného aminu **XXIII** (Obr. 10), (6 – 8). V případě použití benzylalkoholu a ethylenglykolu docházelo prokazatelně již 20 minut od začátku reakce prakticky ke kvantitativní debromaci. Nepatrné množství produktu bylo registrováno pouze pro reakce v benzylalkoholu (9 a 10).



Obr. 10

Tabulka 2. Výsledky cyklizace látky **VIIa** za podmínek 1 – 12^(a)

Vstup	Ligand ^(b)	Pivalová kyselina [eq]	Rozpouštědlo	Teplota [°C]	Čas [hod]	Čistota [%] ^(c)	
						XXII	XXIII
1	-	-	DMA	95	1,5	NR ^(d)	
2	-	-	DMA	95	3	NR	
3	PPh ₃	-	DMA	95	1,5	NR	
4	PPh ₃	0,1	DMA	150	18	< 5	
5	-	-	NMP	95	1,5	< 5	
6	-	-	NMP	95	3	< 5	20
7	XPhos	-	NMP	95	1,5	< 5	30
8	XPhos	0,1	NMP	150	18	< 5	55
9	Xphos	0,2	BnOH	150	0,3	< 5	> 95
10	PPh ₃	0,2	BnOH	150	0,3	< 5	> 95
11	Xphos	0,2	Glykol	150	0,3	-	100
12	PPh ₃	0,2	Glykol	150	0,3	-	100

(a) Všechny reakce byly provedeny pod inertní atmosférou Ar za použití Pd(OAc)₂ (0,1 eq), Cs₂CO₃ (3 eq) a TEBAC (1,5 eq); (b) Poměr ligand/Pd = 2; (c) Uvedená hodnota představuje plochu píku dle HPLC (UV/VIS detekce) (d) Nedocházelo k žádné reakci

Jak dále vyplývá z tabulky č. 2, průběh cyklizace se nepodařilo ovlivnit delšími reakčními časy, volbou ligandu, rozpouštědla, teplotou ani přidavkem pivalové kyseliny, která by měla působit jako kokatalyzátor a usnadňovat průběh reakce.⁷³ Vzhledem k tomu, že výchozí látka ve všech provedených experimentech cyklizaci podléhala jen v mizivém množství (4 – 10), nereagovala vůbec (1 – 3) nebo se rozkládala (6 – 12), nebylo dále v experimentech s látkou **VIIa** pokračováno.

Další cyklizační reakce byly testovány na substrátu **VIIIi**. Ten byl reagován s Pd(PPh₃)₄ (0,1 eq), Cs₂CO₃ (1,5 eq), kyselinou pivalovou (0,3 eq) a PTC TEBAC (1,5 eq) za refluxu v bezvodém dioxanu. Po hodině byl odebrán vzorek reakční směsi k analýze LCMS. Analýza ukázala na přítomnost jediné látky, která stále obsahovala atom bromu a zároveň měla o 90 jednotek větší molekulovou hmotnost než látka výchozí. Sloučenina odpovídala výchozí látce **VIIIi** po benzylaci. Abychom ověřili, zda opravdu k benzylaci dochází, byl proveden další experiment. K roztoku **VIIIi** v dioxanu byl přidán Cs₂CO₃ a TEBAC a směs byla míchána, tentokrát za laboratorní teploty. K reakci nedocházelo ani po 2 hodinách. Směs byla proto přivedena k refluxu (stejně jako při první reakci – snaze o cyklizaci) a po hodině opět zanalyzována. Přítomna byla opět tatáž sloučenina, která odpovídala benzylované výchozí látce. Výchozí látka již přítomna nebyla. Abychom rozhodli, zda dochází k O-benzylaci nebo N-benzylaci, byla s TEBAC v zásaditém prostředí reagována sloučenina **VIIa**, která má pokryté všechny fenolické skupiny. K reakci nedocházelo. To nás vedlo k závěru, že v předchozích případech docházelo výlučně k O-benzylaci za vzniku látky **VIIe** (Schéma 24). Sloučenina **VIIe** byla později připravena reduktivní aminací a její retenční charakteristiky a UV/VIS spektrum s maximy 250 a 289 nm se navíc shodovaly se sloučeninou připravenou benzylací pomocí TEBAC. Sloučenina **VIIe** tedy v přítomnosti Pd(PPh₃)₄ za daných podmínek necyklizovala. Další pokusy o cyklizaci sloučeniny **VIIIi** již nebyly provedeny.

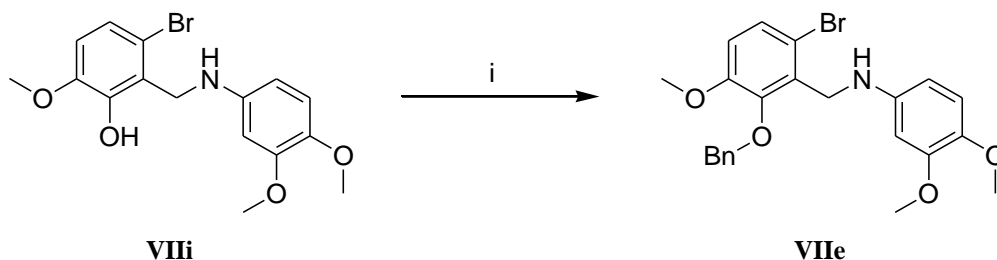


Schéma 24. (i) TEBAC, Cs₂CO₃, dioxan, reflux, 1 hod, 100 % (čistota)

Pokud byl k benzylaci sloučeniny **VIII** použit konvenční BnBr (1,5 eq) v prostředí suspenze uhličitanu (EtOH nebo DMF) vznikala již za laboratorní teploty směs mono a dibenzylovaného produktu. Pro ověření možnosti benzylace jiných sloučenin pomocí TEBAC byl zvolen 3-(aminomethyl)fenol (**XXIV**). V reakční směsi docházelo rovněž k benzylaci za vzniku jediného produktu (*Schéma 25*). Metoda se tedy zdá být univerzální a použitelná pro benzylaci fenolické skupiny i v přítomnosti neochráněných amino skupin tam, kde selektivita standardních benzylačních činidel, jako je BnBr, selhává. Benzylační schopnosti činidla TEBAC byly na jednoduchých substrátech okrajově popsány až v nedávné době několika autory,^{74,75,76} avšak jeho selektivita byla poprvé popsána až v této práci.

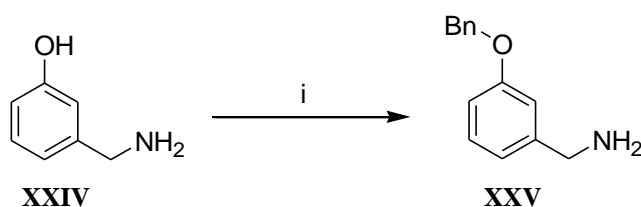
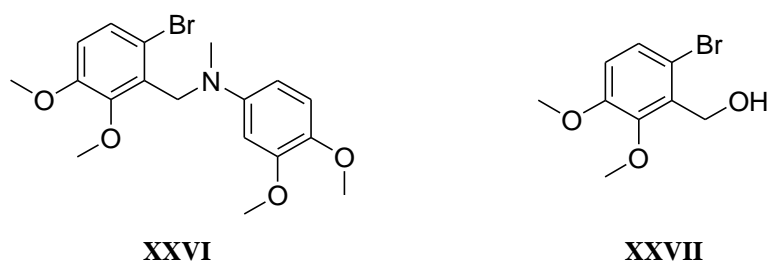


Schéma 25. (i) TEBAC, Cs₂CO₃, dioxan, reflux, 1 hod, 100 % (čistota)

5.3.2 RADIKÁLOVÉ CYKLIZACE

Vzhledem k negativním výsledkům cross-coupling reakcí, bylo učiněno několik pokusů o intramolekulární cyklizaci, která by probíhala mechanismem homolytické aromatické substituce.^{77,4} Autoři⁴ aplikovali tento přístup na přípravu různě substituovaných pyrrolofenanthridonů, benzo[*c*]fenanthridinů a fenanthridinů. Vycházeli však z aminů, které byly před cyklizací *N*-methylovány nebo *N*-acylovány za vzniku terciárních aminů, respektive amidů. Pro přiblížení těmto strukturám byla sloučenina **VIII** methylována MeI (6 eq) za přítomnosti nadbytku NaH (3 eq) v bezvodém DMF. LCMS analýza reakční směsi dokládala kvantitativní konverzi výchozí látky v pentamethylovaný produkt **XXVI** (*Obr. 11*), který byl identifikován na základě intenzivního *m/z*, avšak následná NMR analýza krystalického podílu ukázala, že se jedná o benzylalkohol **XXVII** (*Obr. 11*), což bylo velice překvapivé. Bylo zjištěno, že vyizolovaný benzylalkohol se za daných podmínek na LCMS vůbec neionizuje. Naopak byl pozorován odpovídající iont pro **XXVI**. Na základě toho byl učiněn závěr, že benzylalkohol **XXVII** byl pravděpodobně znečištěn nepatrným množstvím látky **XXVI**, která má stejný retenční čas a ionizuje se, oproti benzylalkoholu, velice dobře. LCMS analýza tak v tomto případě poskytovala zavádějící informace.



Obr. 11

Identifikace produktu jakožto látky **XXVII** byla navíc kromě NMR potvrzena i změřením teploty tání (77–79 °C), která koresponduje s literaturou,⁷⁸ kde byl benzylalkohol **XXVII** připraven jiným způsobem. Vysrážení benzylalkoholu z reakční směsi lze vysvětlit rozkladem nestálé kvartérní amoniové soli produktu **XXVI** po přidání vody, která byla nezbytná pro ukončení reakce a další izolaci terciárního aminu. Záznam hmotnostního spektrometru však na přítomnost molekulárního iontu kvartérní amoniové soli v reakční směsi neukázal. Další pokusy o methylaci nebo acylaci nebyly učiněny. Methylace ekvimolárním množstvím MeI vedla k nedostatečné konverzi výchozí látky v produkt **XXVI**.

Cyklizace byla přesto uskutečněna s náhradním prekurzorem **VIIa** (1 eq) v bezvodém benzenu za účasti t-BuOK (3 eq) při teplotě 110 °C. V reakční směsi se kromě výchozí látky, která byla i po několika hodinách zastoupena v dominantním a dále již neměnném množství, vyskytovaly i neidentifikované vedlejší produkty, mezi nimiž však kýžený cyklizát **XXVIII** nefiguroval. Přídavek fenanthrolinu, který měl jako bidentátní ligand usnadňovat průběh reakce, k posunutí rovnováhy rovněž nepřispěl (*Schéma 26*).

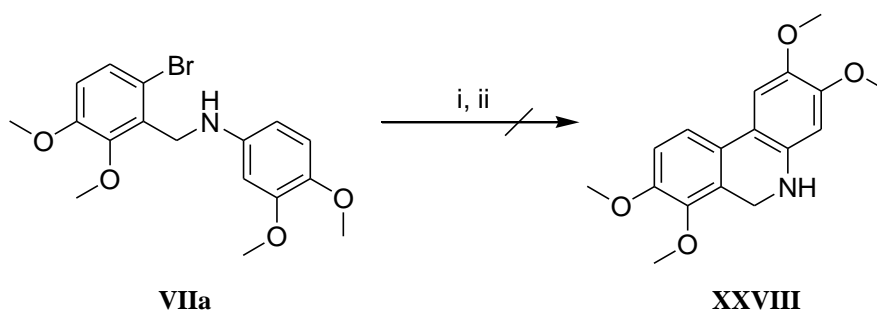
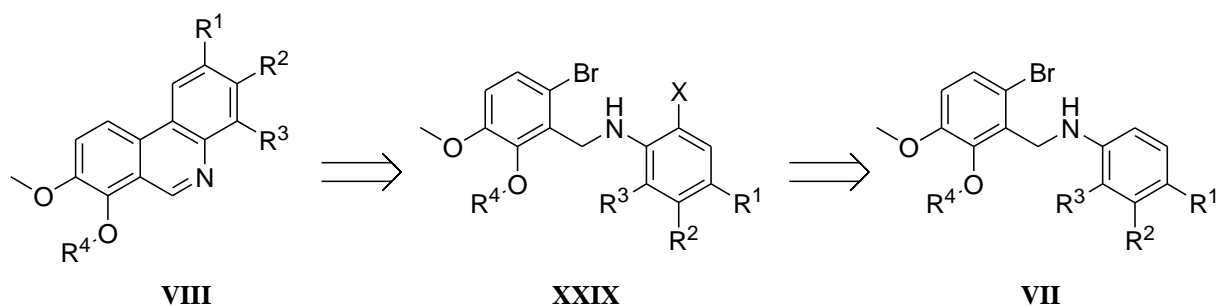


Schéma 26. (i) t-BuOK, benzen, 110 °C, 8 hod, 0 %; (ii) t-BuOK, fenanthrolin monohydrát, benzen, 110 °C, 6 hod, 0 %

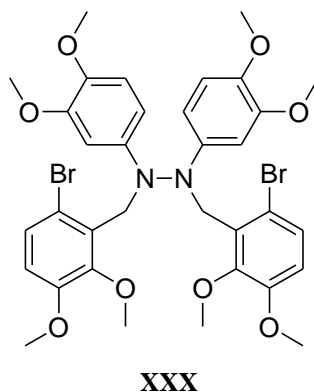
Dalším způsobem, jak docílit cyklizace radikálovým mechanismem, byl pokus o reakci Ullmannova typu. Za tímto účelem byla snaha připravit vhodný dihalogenderivát **XXIX**, který by reakci mohl podléhat (*Schéma 27*).



$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O$; $R^4 = H, Bn, Me$; $X = \text{halogen}$

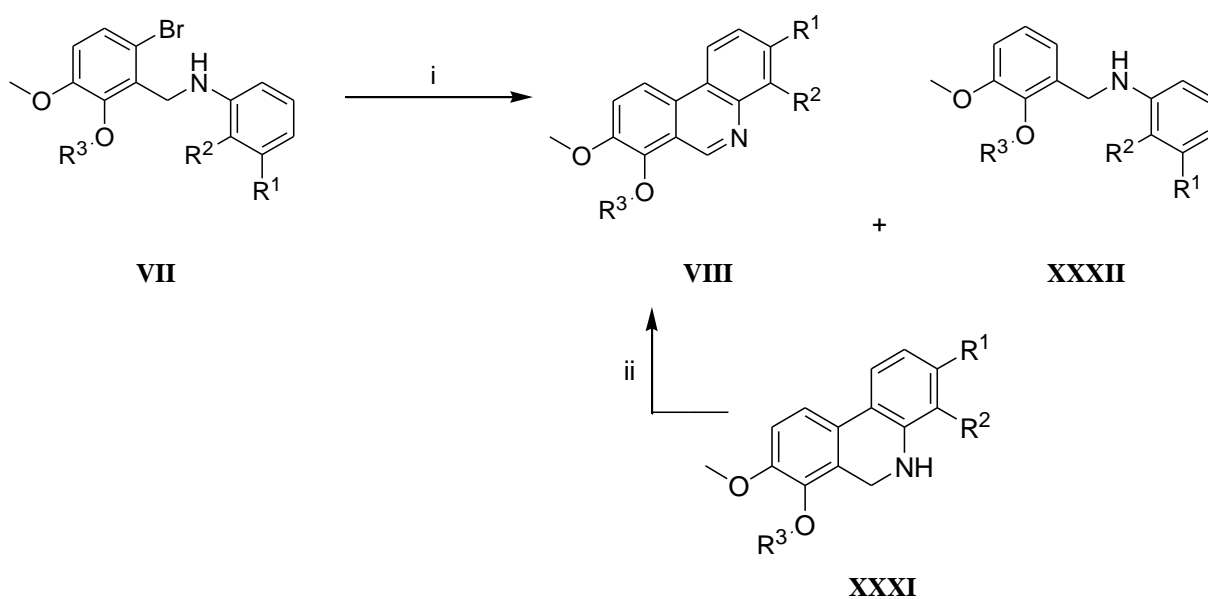
Schéma 27.

K roztoku vybraného bromovaného aminu **VIIa** byl při teplotě $-50\text{ }^\circ\text{C}$ pomalu přikapáván roztok resublimovaného I_2 v EtOH, přičemž docházelo k vylučování oranžové sraženiny. Dle LCMS analýzy se pravděpodobně jednalo o tetrasubstituovaný symetrický hydrazin **XXX** (*Obr. 12*). Teprve při vyšších teplotách ($-20\text{ }^\circ\text{C} - \text{RT}$) vznikaly i další produkty, mezi nimiž byl i monojodovaný amin, identifikovaný pomocí MS. Jeho obsah však nikdy nepřekročil 10% hranici, a navíc nemohlo být ověřeno, do jaké polohy substituce probíhá. Protekce amino skupiny za účelem zabránění oxidaci již uskutečněna nebyla. Kromě ochrání amino skupiny by tato cesta vyžadovala i pokrytí hydroxy skupiny některých aminů, u kterých by jinak hrozila oxidace za vzniku chinonů. S ohledem na zmíněná úskalí a naši snahu o minimalizaci použití protektivních skupin byla tato cesta opuštěna.



Obr. 12

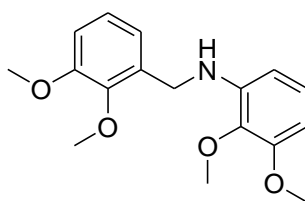
Posledním typem námi uvažované cyklizace, která by probíhala radikálovým mechanismem, byla reakce sekundárních aminů s Bu_3SnH . Tato metoda byla již v minulosti použita u syntézy některých benzo[c]fenanthridinových alkaloidů.^{11,8} Jako iniciátor radikálové reakce byl zvolen AIBN. V prvním kroku vznikl cyklizát **XXXI**, který ještě nevykazoval plně aromatický charakter. Následná oxidace aktivovaným MnO_2 ⁷⁹ zajistila kvantitativní přechod redukované formy v oxidovanou (**VIII**). Použití standardního MnO_2 k oxidaci nevedlo (*Schéma 28*).



$\text{R}^1, \text{R}^2 = \text{OMe}, \text{O-CH}_2\text{-O}; \text{R}^3 = \text{H}, \text{Bn}, \text{Me}$

Schéma 28. (i) Bu_3SnH , AIBN, toluen, $\pm 106\text{ }^\circ\text{C}$, 3 - 6 hod, 10 – 35 % **XXXII**; (ii) MnO_2 , RT, 18 hod, 13 – 47 % **VIII**

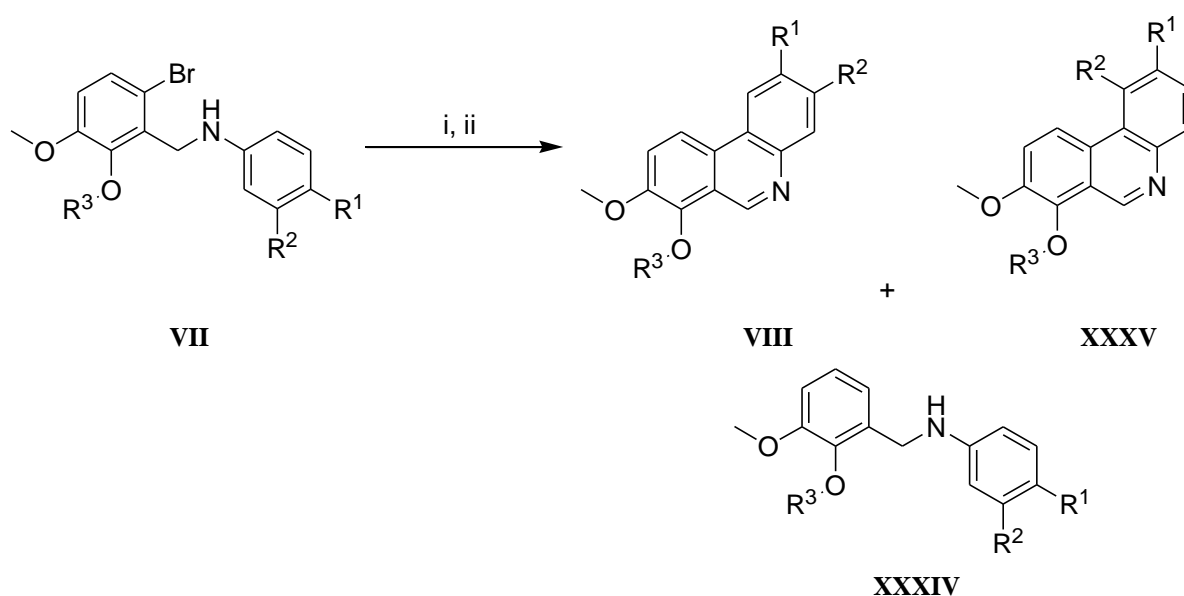
Při všech těchto cyklizacích docházelo dle LCMS k redukci výchozí látky **VII** a vzniku debromovaných aminů **XXXII**. Zastoupení redukovaných aminů kolísalo v rozmezí od 10 % do 35 %. Mezi strukturami výchozích látek a procentuálním zastoupením produktu debromace nebyl vyzorován žádný vztah. Dokonce v případech, kdy byla reakce opakována (bylo tedy vycházeno ze stejné výchozí látky) se poměr cyklizátů a debromovaného aminu lišil. Po jedné z cyklizací byl příslušný debromovaný amin **XXXIII** (*Obr. 13*) vyizolován a jeho struktura dotvrzena pomocí NMR (viz Experimentální část).



XXXIII

Obr. 13

Pokud cyklizaci podléhaly aminy substituované v polohách 3 a 4 (**VIIa**, **VIIb**, **VIIe**, **VIIIf**), docházelo, kromě vzniku hlavního produktu cyklizace **VIII** a debromace **XXXIV**, také z 10–30 % ke vzniku regioizomeru žádaného cyklizátu **XXXV** (Schéma 29).



$R^1, R^2 = \text{OMe}, \text{O-CH}_2\text{-O}$; $R^3 = \text{H}, \text{Bn}, \text{Me}$

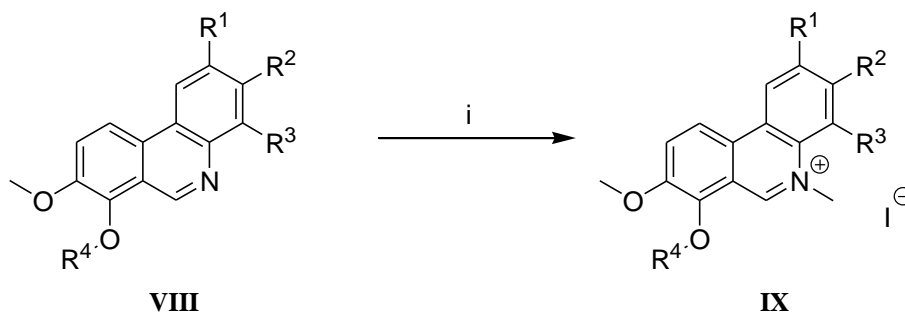
Schéma 29. (i) Bu_3SnH , AIBN, toluen, $\pm 106^\circ\text{C}$, 3 - 6 hod; (ii) MnO_2 , RT, 18 hod, 13 - 47 % **VIII**, 10 - 35 % (čistota) **XXXIV**, 10 - 30 % (čistota) **XXXV**

Pro systémy, které byly v poloze 7 substituované benzylovou či methylovou skupinou, se rekrystalizací vždy podařilo všechny složky, včetně jeho regioizomerů **XXXV**, od převládajícího cyklizačního produktu **VIII** oddělit. Co se týče zpracování reakcí, kde v roli výchozí látky vystupoval sekundární amin s nepokrytou hydroxy skupinou v poloze 7, konkrétně **VIIIh** a **VIIIi**, se rekrystalizace nikdy zcela nepodařila. Látka **VIIIh** byla vyizolována pomocí sloupcové chromatografie a to v poměrně malém výtěžku 13 %. Reakční směs po cyklizaci **VIIIi** se nepodařilo rozdělit ani pomocí sloupcové chromatografie. Nakonec bylo dosaženo rozdělení pomocí preparativního TLC. Byl tak vyizolován fenanthridin-7-ol

XIIIa. Sloučenina **XIIIa** byla nakonec získána ve větším výtěžku deprotekcí benzylové skupiny (viz Debenzylace).

5.4 KVARTERIZACE FENANTHRIDINŮ

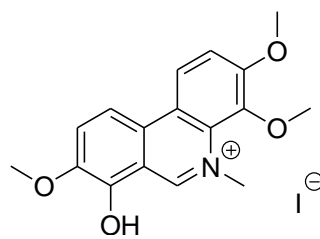
Připravené cyklizáty **VIII** byly kvarterizovány zejména za účelem přiblížení jejich struktury některým významným benzo[*c*]fenanthridinovým alkaloidům, jako je NK 109, chelerythrin nebo sanguinarin. Druhým důvodem bylo očekávané zvýšení jejich rozpustnosti. Jako methylační činidlo byl zvolen MeI (4 eq), který se pro kvarterizace ukázal být dostatečně reaktivní. Reakce probíhaly v MeCN, o němž je známo, že podobně jako třeba aceton nebo nitromethan průběh kvarterizací urychluje. Po několika dnech při RT začala u všech derivátů z roztoku krystalizovat kvartérní sůl **IX** (Schéma 30).



R¹, R², R³ = H, OMe, O-CH₂-O; R⁴ = H, Bn, Me

Schéma 30. (i) MeI, MeCN, RT (50 °C pro **IXg**), 7 dnů, 19 - 90 %

Výjimku tvořila kvarterizace látky **VIIIg**, jejíž kvartérní sůl **IXg** se, pravděpodobně z důvodu větší rozpustnosti v MeCN (ve srovnání se solemi ostatních derivátů), z roztoku nevyučovala, a to ani po jednom týdnu stání (konverze výchozí látky 80 %). Ochlazením na teplotu -20 °C nebylo rovněž dosaženo vyloučení pevného podílu. Reakční směs byla proto 2 dny zahřívána při teplotě 50 °C. Díky vyšší teplotě sice výchozí látka zcela přešla ve svou kvartérní sůl, na druhou stranu došlo, pravděpodobně díky přítomnosti stopového množství vody (použitý MeCN nebyl bezvodý) a tedy i kyseliny HI, k částečné (dle HPLC z 20 %) debenzylaci produktu za vzniku látky **XXXVI** (Obr. 14). Pomalým ochlazením na teplotu -35 °C se však přednostně vysrážel pouze méně polární, benzylovaný produkt **IXg**, který tak mohl být vyizolován. Následná krystalizace odparku z filtrátu v systému MeOH/voda rovněž vedla k vyloučení výlučně benzylovaného produktu a získání druhého krystalického podílu srovnatelné čistoty.



XXXVI

Obr. 14

Co se týče kvarterizace sloučeniny s volnou hydroxy skupinou **VIIIh**, probíhala methylace v neutrálním prostředí pouze na atom dusíku za vzniku sloučeniny **IXh**. Fenolická skupina zůstala nedotčena. Dále byla učiněna snaha získat z látky **VIIIh** dimethylovaný produkt **IXd**. V bazickém prostředí suspenze K_2CO_3 v MeCN vznikal působením MeI (10 eq) za laboratorní teploty a intenzivního míchání z výchozí látky **VIIIh** přednostně O-methylovaný derivát **VIIIId**. Po 20 hodinách výchozí látka zcela doreagovala. Po této době byl poprvé pozorován ion odpovídající dimethylované sloučenině **IXd**. Kvarterizace probíhala tedy relativně pomalu, a proto byla reakční směs zahřívána na teplotu 50 °C. Po 2 dnech zahřívání už predominoval ve směsi z 80 % žádoucí produkt **IXd**. Ve snaze vyizolovat produkt přidáním vody došlo k vyloučení červené sraženiny blátivé konzistence, která kromě produktu obsahovala i nečistoty. Vzhledem k tomu, že navážka výchozí látky **VIIIh** činila 8 mg, se produkt **IXd** nepodařilo konvenční cestou vyizolovat. Sloučenina **IXd** byla později připravena pohodlnějším způsobem ze 7,8-dimethylované látky **VIIIId**.

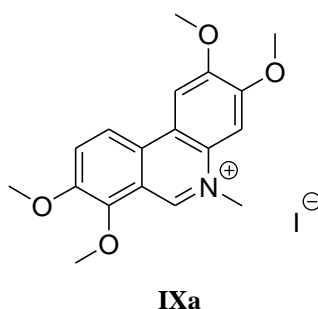
Rozpustnost všech připravených kvartérních solí **IX** byla ve všech zkoušených rozpouštědlech problematická a dá se říci, že horší, než rozpustnost jejich volných bází **VIII**. Nejvhodnějším rozpouštědlem z následujícího výčtu: voda, AcOH, MeOH, MeCN, DMSO, DMF, aceton, pyridin, DMF, ether; se pro vybranou reprezentativní kvartérní sůl **IXa** ukázal být DMSO. I tak relativně špatná rozpustnost v DMSO zapříčinila nekvalitně naměřená ^{13}C NMR spektra některých solí, která proto nemohla být v experimentální části a přílohách použita.

Zajímavostí je, že analýza LCMS zachytila v kladném módu pro všechny kvartérní soli **IX** intenzivní iont, který byl o 2 jednotky m/z větší, než molekulární iont $[M]^+$ (nabýval tedy hodnot $[M+2]^+$). Molekulární iont $[M]^+$ byl rovněž přítomen. Jeho intenzita však byla odhadem pouze 1/5 a menší v porovnání s iontem $[M+2]^+$. Tato skutečnost by se dala vysvětlit chemickou reakcí (redukcí), ke které muselo dojít za daných podmínek v průběhu

ionizace (APCI). NMR spektra všech kvartérních solí každopádně odpovídala svým strukturám.

5.5 VÝMĚNA ANIONTU

Vzhledem ke špatné rozpustnosti většiny fenanthridinium jodidů **IX** bylo žádoucí pokusit se výběrem vhodného aniontu jejich rozpustnost zvýšit. Pro studium vlivu aniontu na rozpustnost kvartérních solí byla vybrána modelová sloučenina **IXa** (Obr. 15).



Obr. 15

První myšlenkou bylo vyměnit jodidový aniont na základě špatné rozpustnosti některých anorganických jodidů, typicky AgI, za aniont vhodnější. K suspenzi **IXa** (1 eq) ve vodě byl za laboratorní teploty přidán AgNO₃ (5 eq). Míchání pokračovalo bez přístupu světla po dobu 22 hodin (Schéma 31). Po této době byla vyloučená tmavě šedá sraženina (dle všeho se jednalo o AgI) zfiltrována. Společně s ní byl však také zfiltrován jemný, žlutě zbarvený, krystalický podíl, pravděpodobně rovněž špatně rozpustný produkt **XIc** či nedoreagovaná výchozí látka **IXa**. Jasně žlutý filtrát byl odpařen. Vzhledem k nadbytku pro reakci použitého AgNO₃ obsahoval odparek jak produkt, tak AgNO₃. Produkt byl natolik polární, že pro něj nebyla nalezena vhodná mobilní fáze a nemohl být chromatograficky izolován. Použití polárních rozpouštědel pro možnou eluci produktu z kolony jako je MeOH nebo aceton naráželo na jejich dobrou rozpuštěcí schopnost pro AgNO₃. Produkt **XIc** se tedy nepodařilo od anorganické soli oddělit. Reakce byla opakována, tentokrát s nadbytkem výchozí látky **IXa** (1 eq) a menším množstvím AgNO₃ (0,9 eq). Po odsátí AgI a částečně i výchozí látky, či produktu, a odpaření filtrátu byl získán žlutý krystalický podíl ve výtěžku 78 %, který byl podroben elementární analýze. Výsledky elementární analýzy však naznačují, že pevný podíl odpovídal směsi látek **IXa** a **XIc**.

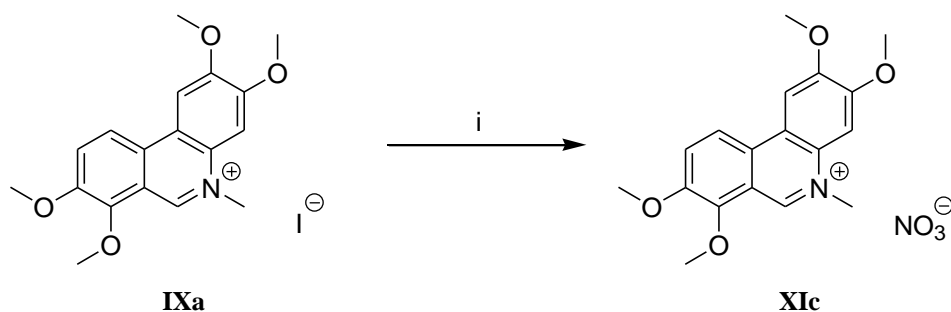


Schéma 31. (i) AgNO₃, voda, RT, 22 hod

Pro získání nitrátu **XIc** a dalších solí v čisté formě bylo nutné vycházet z pseudobáze **X**. Vybraná modelová sloučenina **IXa** byla suspendována v EtOH a přidavkem vodného roztoku NaOH a zahřáním na 50 °C vznikl po několika minutách žlutý roztok (viz příprava **XIa** – Experimentální část). Docházelo k formaci pseudobáze **Xa** (Schéma 32). Přes noc ale neočekávaně došlo k vyloučení žlutooranžové sraženiny, která byla na základě elementární analýzy identifikována jako výchozí látka (Vypočteno pro **IXa**: N, 3,17; C, 48,99; H, 4,57. Naměřeno: N, 2,79; C, 49,08; H, 4,59). Pro potvrzení přítomnosti halogenidu ve vyloučené sraženině byl proveden Beilsteinův test. Nejdříve byl proveden slepý test s roztokem benzylbromidu v EtOH. Plamen se barvil do zelena, zkouška byla pozitivní. Druhý slepý test byl proveden s roztokem pyrokatecholu v EtOH. Plamen se v tomto případě nebarvil, zkouška byla negativní. Takto byla otestována i vyloučená sraženina. Výsledek byl navzdory očekávání negativní. Pro jistotu byla proto Beilsteinově zkoušce podrobena i výchozí látka **IXa**, která halogen obsahuje, opět s negativním výsledkem. Ukázalo se, že jodidový anion není natolik těkavý, aby mohl být při Beilsteinově zkoušce detekován. V úvahu tedy bylo možné brát pouze výsledky elementární analýzy. Proč došlo po několika minutách nejprve k rozpuštění výchozí látky **IXa** a vzniku roztoku a po několika hodinách k opětovnému vyloučení výchozí látky **IXa** lze vysvětlit nestabilitou utvořené pseudobáze **Xa** ve vodném prostředí.

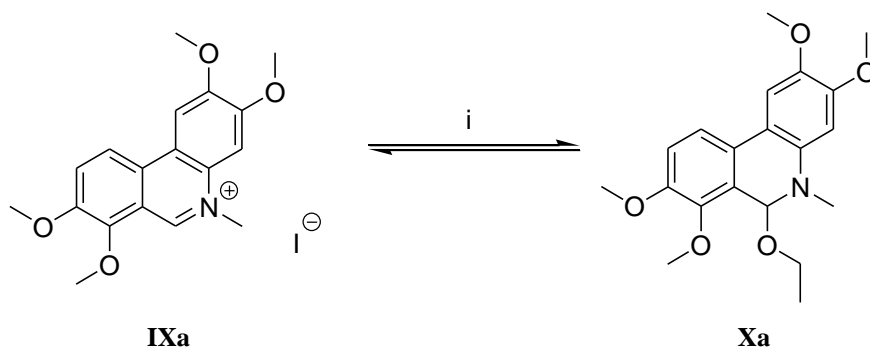


Schéma 32. (i) aq. NaOH, EtOH, 50 °C, 20 hod

Tato hypotéza byla ověřena reakcí **IXa** v bezvodém EtOH za přítomnosti nadbytku EtONa. Za těchto podmínek byla vznikající pseudobáze **Xa** stabilní; i po několika hodinách měla reakční směs stále formu lehce nažloutlého roztoku (*Schéma 33*). Pokud byla k tomuto roztoku přidána kapka vody, došlo naopak k vyloučení oranžové sraženiny (**IXa**). Zajímavostí je, že pseudobáze **Xb** a **Xc** byly ve vodném prostředí stabilní. Reakční směs měla formu roztoku, výchozí látka se nevylučovala.

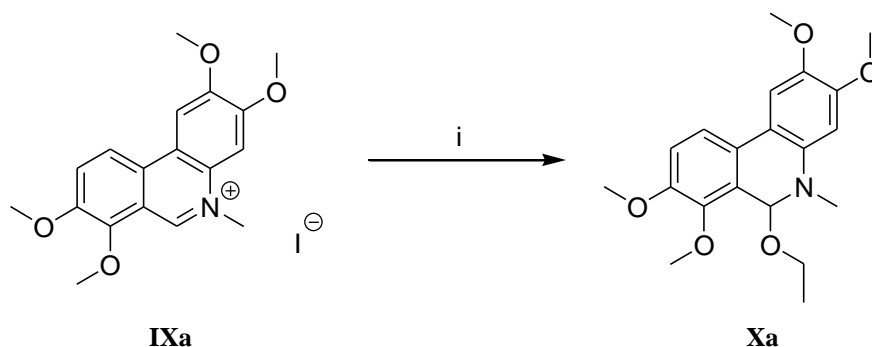
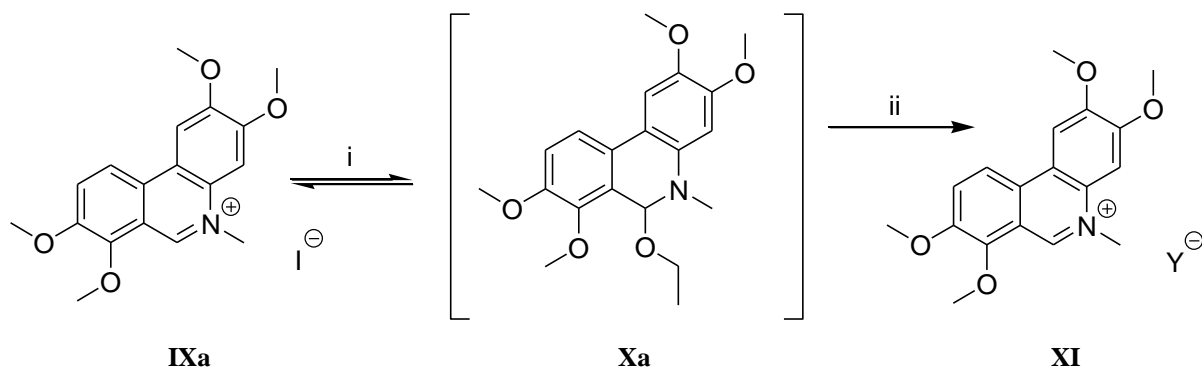


Schéma 33. (i) EtONa/EtOH, RT, 5 hod

Izolace pseudobáze **Xa** pak spočívala v odpaření EtOH, macerace odparu v DCM, filtrace a zahuštění filtrátu na RVO. Takto byl získán medovitý odparek, který byl analyzován metodou NMR. NMR spektra (viz příloha) prokázala přítomnost pseudobáze **Xa**. Triplet methylu ethoxy skupiny je viditelný u 1,04 ppm, kvartet methyleny je pravděpodobně skryt pod signály v intervalu 3,89 – 3,96 ppm. Singletový signál iminického vodíku (poloha 6) se díky zaniknutí dvojně vazby posunul z 9,96 ppm na 6,06 ppm. Dále je viditelná nečistota (cca 10 %) – jedná se o výchozí látku **IXa**, která mohla do DCM částečně přecházet nebo mohla stejně tak vznikat z pseudobáze **Xa**, která se dostala během izolace a přípravy vzorku do styku se vzdušnou vlhkostí.

Postup přípravy pseudobáze v nevodném prostředí se tak zdá být výhodnější. Výměna aniontů však byla uskutečněna pouze jednou a to skrze pseudobázi **X**, která byla připravena prvním postupem, tedy ve vodném prostředí. Po odsátí vyloučené sraženiny (látky identifikované jako **IXa**) byl filtrát, ve kterém přetrvával zbytek pseudobáze, rozdělen na čtyři rovné díly, ke kterým byl přidán roztok koncentrované HNO₃, HClO₄, H₂SO₄ a HCl za předpokládaného vzniku perchlorátu **XIa**, hydrogensíranu **XIb**, nitrátu **XIc** a chloridu **XId** (*Schéma 34*). Sraženiny, které se vyloučily bezprostředně po přidání kyseliny, byly odsáty a promyty vodou. Následně provedená elementární analýza vybrané látky **XIa**, před kterou byl

vzorek přes noc sušen za vakua při teplotě 80 °C, prokázala, že došlo k úplné výměně aniontu. Čistota zbylých solí byla potvrzena ostrou teplotou tání (viz Experimentální část). Na tomto místě je nutné dodat, že se jedná o prvotní experimenty zaměřené na výměnu iontů prostřednictvím pseudobáze. Tuto techniku bude ještě nutné propracovat.



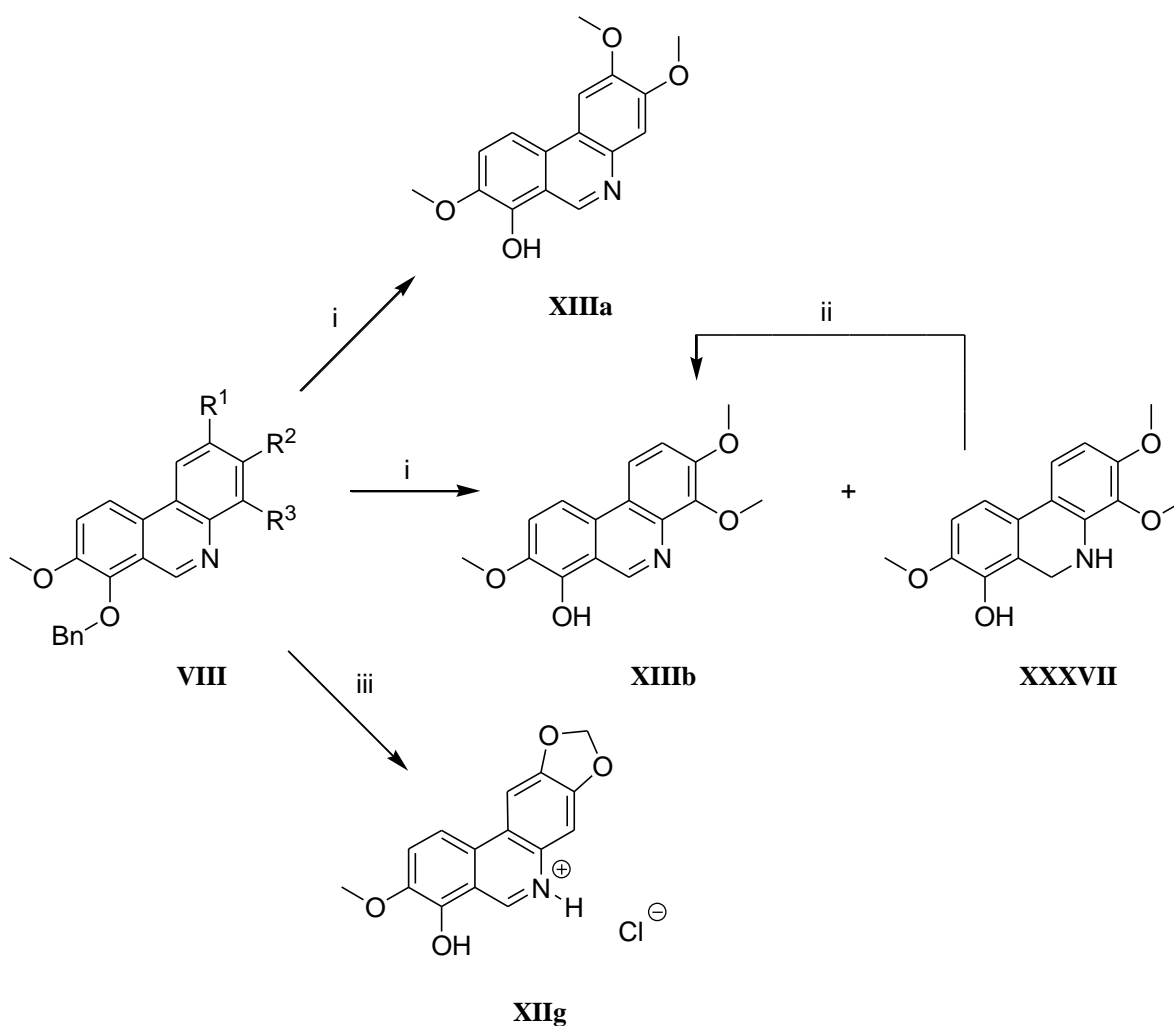
Y = ClO₄, HSO₄, NO₃, Cl

Schéma 34. (i) aq. NaOH, EtOH, 50 °C, 20 hod; (ii) nadbytek HY, RT

Z připravených solí se jako nejvíce rozpustný jednoznačně ukázal být perchlorát **XIa** – platí pro rozpustnost v DMSO. Rozpustnost ostatních připravených solí nebyla zdatelně vyšší než rozpustnost jodidu **IXa**. Míra rozpustnosti ve vodě nebyla pro malé množství u žádné připravené soli **XIa-d** detailně studována.

5.6 DEBENZYLACE ZA VZNIKU FENANTHRIDINOLŮ

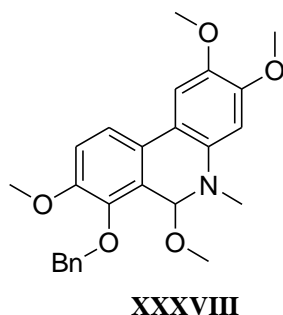
Abychom se vyhnuli problémům s cyklizací sekundárních aminů **VII** disponujících volnou fenolickou skupinou (poloha 7), mezi které patřila tvorba peroxidů, obtížná separace (neúspěšná krystalizace, problematická sloupcová chromatografie), byly cyklizační reakce prováděny na aminech, jejichž fenolická skupina byla ochráněna benzylovou skupinou (**VIIe-g**). Fenanthridin-7-oly tak byly později připraveny debenzylací těchto cyklizátů. Debenzylace byla provedena hydrogenačně za atmosférického tlaku pro substráty **VIIIe** a **VIIIg** za vzniku sloučenin **XIIIa** a **XIIIb**. Zajímavé je, že při debenzylaci sloučeniny **VIIIg** docházelo kromě deprotektce také k redukci dvojné vazby za vzniku sloučeniny **XXXVII**. Při následném zpracování reakční směsi bylo zjištěno, že za přístupu vzdušného kyslíku dochází spontánně k oxidaci, a tedy k opětovné aromatizaci celého systému. Aby byly ověřeny i jiné způsoby deprotektce, byla sloučenina **VIIIf** debenzylována v kyselém prostředí 6M HCl. V tomto případě tak nebyla připravena volná báze, ale rovnou její hydrochlorid **XIIg** (*Schéma 35*).



$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O$

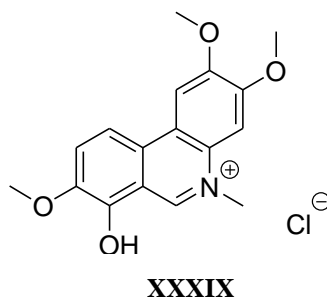
Schéma 35. (i) 10% Pd/C, H_2 , MeOH, atm. t., RT, 4 hod, 71 % **XIIIa**; (ii) vzduch, atm. t., RT, 2 hod, 66 % **XIIIb**; (iii) HCl, reflux, 5 hod, 59 %

Pro debenzylaci kvartérních solí **IX** byla rovněž zkoušena metoda hydrogenace. Sloučenina **IXe** byla rozpouštěna v MeOH. Pro její špatnou rozpustnost byla reakce nakonec provedena v suspenzi s předpokladem, že produkt debenzylace bude v MeOH pravděpodobně mnohem lépe rozpustný a suspenze tak přejde v roztok. Ani po několika hodinách míchání za atmosférického tlaku vodíku však nebyl v reakční směsi produkt pozorován. Kromě výchozí látky zde vznikala nečistota (cca 12 %), která se svým iontem 422 $[M+H]^+$ odpovídala pseudobázi **XXXVIII**, která se v MeOH začala tvořit. (*Obr. 16*).



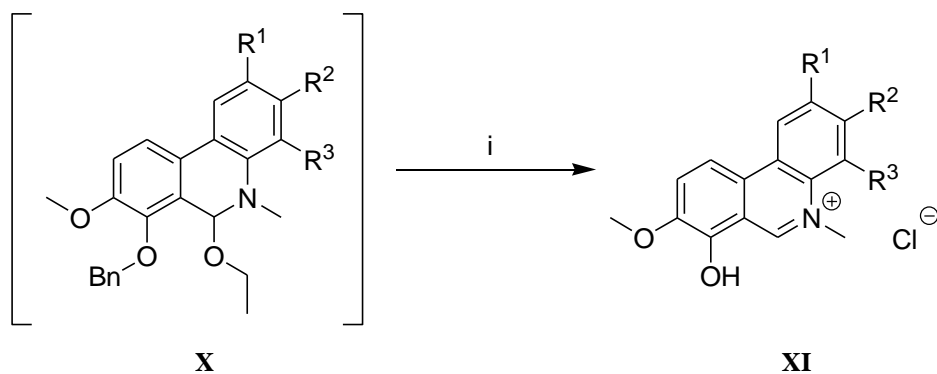
Obr. 16

Abychom zajistili, že výchozí látka bude zcela přítomna v roztoku, byl k reakční směsi přidán DMF. Ani po této modifikaci se na složení reakční směsi s časem nic neměnilo. Hydrogenace při 4, 6 ani 9 barech nevedla ke vzniku produktu. Naopak, při 4 barech vznikl produkt dekarboxylování **VIIIe** (17 %). Vzhledem k tomu, že výchozí látka **IXe** již nebyla k dispozici, byla snaha ze znečištěné reakční směsi, která obsahovala látky **IXe**, **VIIIe** a **XXXVIII**, produkt debenzylace přeci jen vyizolovat. Reakční směs byla proto filtrací zbavena katalyzátoru, k filtrátu byl přidán vodný roztok NaOH a po dobu 20 hodin byla směs míchána. Docházelo ke vzniku pseudobáze **XXXVIII**. Poté byla reakční směs zahuštěna na RVO a 48 hodin refluxována s nadbytkem 6M HCl. Poté bylo v reakční směsi přítomno 20 % látky **XIIf** a 80 % látky **XXXIX** (*Obr. 17*). Krystalizací se tyto 2 sloučeniny již nepodařilo rozdělit.



Obr. 17

7-Hydroxyfenanthridiniové soli **XIe** a **XIf** byly proto připraveny přes pseudobázi **Xb**, **Xc**, která byla následně přidávkem 6M HCl převedena na příslušný chlorid, který po několika hodinách refluxu v kyselém prostředí debenzyloval právě za vzniku **XIe** a **XIf** (*Schéma 36*).



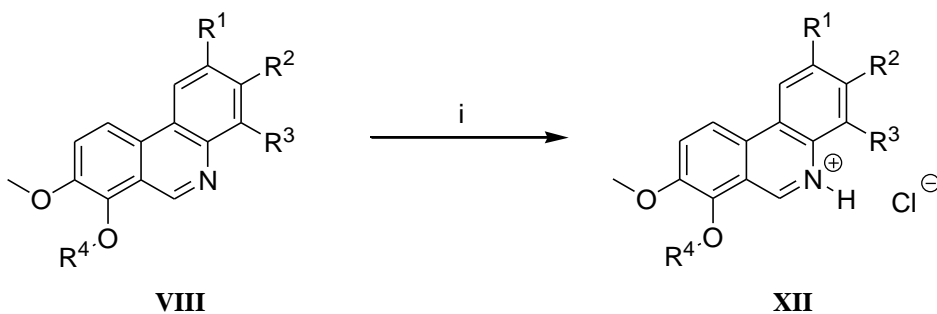
$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O$

Schéma 36. (i) HCl, reflux, 20 hod, 75 % (XIe), 22 % (XI f)

Kvartérní fenanthridiniové sloučeniny benzylované v poloze 7 se tedy podařilo debenzylovat pouze skrze pseudobázi za cenu výměny aniontu. Debenzylace vodíkem za atmosférického ani zvýšeného tlaku k debenzylaci nevedla.

5.7 PŘÍPRAVA HYDROCHLORIDŮ

Pro zvýšení rozpustnosti a biodostupnosti připravených fenanthridinů byla snaha převést jejich volné báze **VIII** na hydrochloridy **XII**. Byl vytvořen nasycený roztok výchozí látky v dioxanu, ke kterému byl přidán nadbytek 4M roztoku HCl v dioxanu. Došlo ihned k vyloučení příslušného hydrochloridu **XIIa-e** (Schéma 37). Pro zvýšení výtěžku byl z důvodu snížení součinu rozpustnosti produktu k výsledné suspenzi přidán podíl etheru. Příprava hydrochloridu **XIIg** je popsána v kapitole „Debenzylace“. Hydrochlorid **XII f** byl zase připraven hydrogenačně z benzylovaného hydrochloridu **XII d** (Schéma 38). Vyizolované hydrochloridy se překvapivě špatně rozpouštěly ve vodě, a oproti jejich volným bázím, i v DMSO.



$R^1, R^2, R^3 = H, OMe, O-CH_2-O; R^4 = Bn, Me$

Schéma 37. (i) HCl, dioxan, RT, 66 - 95 %

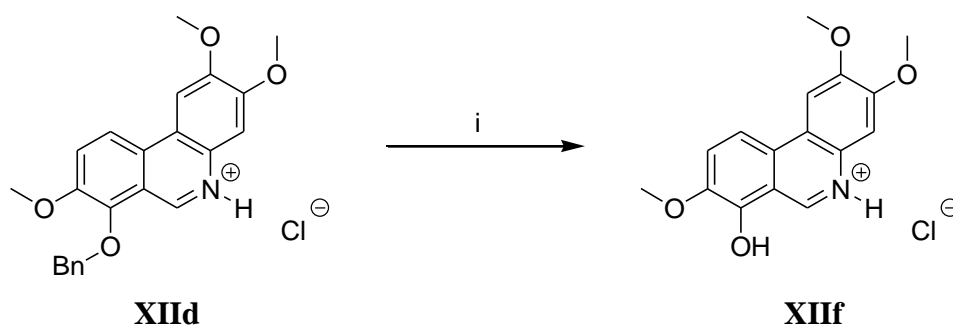
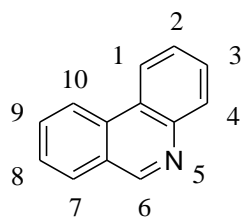


Schéma 38. (i) 10% Pd/C, H₂, MeOH, atm. t., RT, 30 min, 88 %

5.8 FLUORESCENČNÍ VLASTNOSTI PŘIPRAVENÝCH FENANTHRIDINŮ

Při sledování průběhu některých reakcí na TLC a jejich následnou vizualizací pod UV lampou bylo zjištěno, že některé z připravených látek vykazují poměrně zajímavé fluorescenční vlastnosti, a to nejen na TLC, ale i v roztoku. Jednalo se o samotné cyklizáty **VIII**, jejich *N*-methyl kvartérní amoniové soli **IX**, **XI** a hydrochloridy **XII**. Pro zběžné posouzení jejich fluorescenčních vlastností byly látky rozpuštěny v MeOH v koncentraci menší než 0,5 mg/ml a vystaveny záření o vlnové délce 366 nm. Čtyři vybrané sloučeniny byly navíc sledovány i v roztoku CHCl₃. Pro lepší orientaci v odvozených závislostech fluorescence na substituci je přiložena číslovaná struktura fenanthridinu (*Obr. 18*).



Obr. 18

Na základě pozorování můžeme říci, že fenanthridiny substituované v polohách 3 a 4 nevykazovaly žádné, nebo jen minimální fluorescenční vlastnosti. Fluorescence byla rovněž snížena přítomností volné hydroxy skupiny v poloze 7. Nejlepší vlastnosti tedy vykazovaly fenanthridiny substituované v polohách 2 a 3 s pokrytou hydroxy skupinou v poloze 7 (*Obr. 19*).



Obr. 19; zleva: **XIf**, **IXc**, **IXa** (2,3-substituovaný derivát), **IXg**, **IXh**, **IXd**

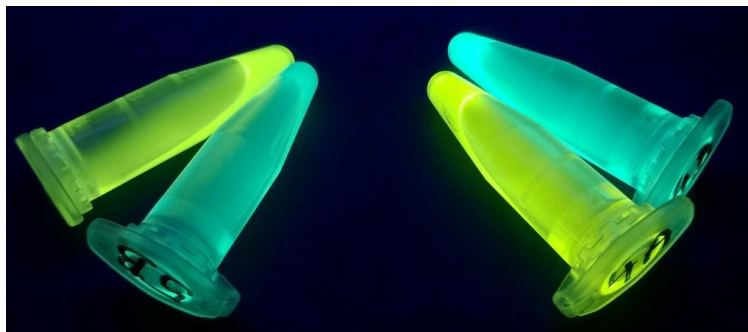
Mezi substitucí methylovou či benzylovou skupinou v poloze 7 nebyl, ve vztahu k fluorescenci, pozorován významný rozdíl. Zdá se, že substituce methoxyskupinou v polohách 2 a 3 má výraznější pozitivní vliv na intenzitu fluorescence pozorovaných látek, než substituce methyldioxyskupinou. U kvartérních benzo[*c*]fenanthridinových alkaloidů je methyldioxyskupině naopak přisuzován větší příspěvek.⁸⁰ Fluorescence solí byla na první pohled několikanásobně vyšší, než fluorescence volných bází. U benzo[*c*]fenanthridinových alkaloidů bylo naopak zjištěno, že přítomnost kladně nabitého dusíku fluorescenci sloučenin významně snižuje.⁸¹ Volné báze vykazovaly modrou (*Obr. 20*), *N*-methylované soli (*Obr. 19*) a hydrochloridy žlutozelenou fluorescenci (*Obr. 21*).



Obr. 20; zleva: **VIII f**, **VIII b**, **VIII e**, **VIII a**, **XIII a**, **VIII d**, **VIII h**, **VIII g**, **VIII c**, **XIII b**

Zvláštností byl posun ve vlnové délce emitovaného záření pro roztoky hydrochloridů v CHCl_3 a MeOH (*Obr. 21*). Konkrétně byl tento jev pozorován u vybraných látek **XIIa** a **XII d**. U *N*-methylovaných derivátů (ověřeno na látce **IXe**) k tomuto jevu nedocházelo. Tomuto

fenoménu nebyla věnována další pozornost. Mezi jednotlivými anionty (dusičnan, hydrogensíran, chlorid, jodid) rozdíl pozorován nebyl.



Obr. 21; z leva: XIIId (MeOH), XIIId (CHCl₃), XIIa (MeOH), XIIa (CHCl₃)

Na základě zjištění polských autorů můžeme říci, že se fenanthridinový skelet, díky své relativní symetrii, nezdá být vhodným, například už jen v porovnání s benzo[*h*]chinoliny, pro vývoj látek s fluorescenční aktivitou.⁸² Fluorescence nejnadějnějších kandidátů, které byly připraveny, již nebyla ve zředěných roztocích při koncentraci 3,5 µg/ml a nižší (MeOH; voda) prakticky pozorována. V tomto stádiu se tak jeví fluorescence námi připravených sloučenin spíše jako zajímavost, která může sloužit pro rychlou orientaci při sledování průběhu reakce pomocí TLC.

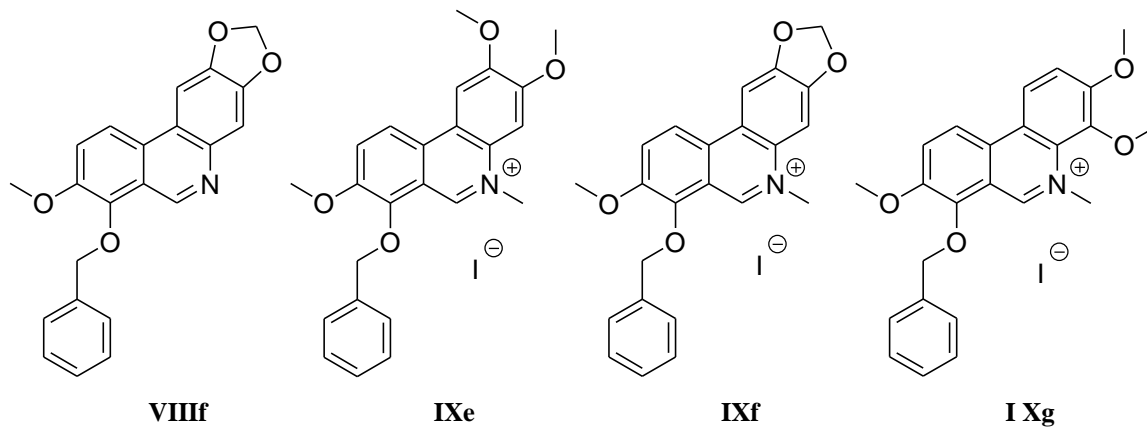
5.9 ANTIBAKTERIÁLNÍ AKTIVITA

U 42 připravených sloučenin byla testována antibakteriální aktivita proti vybraným reprezentativním grampozitivním bakteriím *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) a *Micrococcus luteus* (ATCC 10240) standardizovanou metodou, tzv. agar diffusion assay.⁸³ Byl-li průměr zóny inhibice růstu větší nebo roven 19 mm, látky postoupili do druhého kola, kde byla zjišťována jejich minimální inhibiční koncentrace (MIC). Do druhého kola postoupilo 21 kandidátů (Tabulka 3). Jednalo se o volné báze derivátů fenanthridinu VIII a jejich kvartérní *N*-methyl amoniové soli IX a XI. Jejich MIC bylo srovnáváno s MIC ciprofloxacinu. Pro 3 látky byla zaznamenána srovnatelná a pro jednu látku dokonce nižší MIC proti *M. luteus* (zvýrazněno zeleně), než je MIC standardu (zvýrazněno fialově).

Tabulka 3. Zóna inhibice růstu a hodnoty MIC připravených látek pro *B. subtilis* a *M. luteus*

Sloučenina	Zóna inhibice růstu [mm]	MIC [μ M]	Zóna inhibice růstu [mm]	MIC [μ M]
	<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Micrococcus luteus</i>	
VIa	0	-	12	-
VIIb	0	-	12	-
VIIa	0	-	14	-
VIIIb	0	-	13	-
VIIIc	0	-	13	-
VIIe	0	-	15	-
VIIIf	0	-	15	-
VIIg	0	-	16	-
VIIIa	22	>200	18	-
VIIIb	20	>200	14	-
VIIIc	35	50	30	-
VIII d	34	50	30	100
VIII e	28	50	22	50
VIII f	41	6,25	33	3,13
VIII g	19	>200	18	>200
VIII h	33	50	22	50
IXa	11	-	26	50
IXb	39	6,25	48	12,5
IXc	13	-	36	25
IXd	26	25	40	50
IXe	13	-	42	3,13
IXf	17	-	42	3,13
IXg	17	-	42	0,78
IXh	13	-	19	>200
XIa	13	-	26	25
XIb	0	-	23	25
XIc	13	-	32	12,5
XId	13	-	33	12,5
XIe	25	50	22	100
XIf	0	-	13	-
XIIa	0	-	13	-
XIIb	11	-	16	-
XIIc	0	-	15	-
XIId	14	-	16	-
XIIe	12	-	15	-
XIIf	13	-	14	-
XIIg	13	-	15	-
XIIIa	17	-	17	-
XIIIb	12	-	15	-
XVI	0	-	11	-
XIX	0	-	12	-
XXIVa	18	-	17	-

Společným motivem těchto 4 nejúčinnějších sloučenin je, že obsahují benzylovou skupinu v poloze 7 (Obr. 22). Mezi polohou a typem ostatních substituentů a antibakteriální aktivitou nebyla vypořádána bližší souvislost.



Obr. 22

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

K měření NMR spekter byl použit NMR spektrometr JEOL ECA 400II (^1H : 399,78 MHz; ^{13}C : 100,53 MHz). Měření byla prováděna za laboratorní teploty, přičemž vzorky byly rozpuštěny a následně měřeny v DMSO- d_6 , CDCl_3 , D_2O , nebo CD_3COOD . Chemické posuny signálů byly referencovány na střed signálu daného rozpouštědla (DMSO- d_6 : 2,50 ppm, 39,51 ppm; CDCl_3 : 7,27 ppm, 77,00 ppm; D_2O : 4,75 ppm; CD_3COOD : 2,04 ppm). Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na přístroji TSQ Quantum Acces (Thermo Scientific, USA) a ACQUITY UPLC, PDA/QDA (Waters, USA). Elementární analýzy byly provedeny na přístroji EA 1108 Elemental Analyser (Fisons Instrument). K TLC chromatografii byly použity aluminiové desky pokryté silikagelem 60 F254 značky Merck. Teploty tání byly měřeny na Boetiově bloku a nejsou korigovány.

3-Nitrobenzen-1,2-diol (II)

K roztoku pyrokatecholu (I) (30 g; 0,27 mol) v etheru (1000 ml) byla přikapávána dýmavá kyselina dusičná (13 ml; 0,28 mol). Teplota reakční směsi během přidávání byla udržována v teplotním rozmezí 10 – 14 °C. Po ukončení přidávání byla temně rudě zbarvená reakční směs míchána 30 min při laboratorní teplotě a následně extrahována ledovou vodou (2x30 ml). Vodná fáze byla extrahována etherem (3x40 ml). Spojené organické extrakty byly promyty 10% vodným roztokem NaHCO_3 (1x20 ml), vysušeny Na_2SO_4 , zfiltrvány a zahuštěny na odparce. Odparek dehtovité konzistence byl extrahován vroucím petroletherem (8x120 ml). Jedna extrakce probíhala cca 20 min. Spojené organické extrakty byly zahuštěny na objem 600 ml a přes noc v lednici ponechány krystalizaci. Krystalizací byly získány jehlicovité krystaly žlutooranžové barvy ve výtěžku 17 % (7,1 g). Zahuštěním matečného louhu byl získán druhý krystalický podíl ve výtěžku 9 % (4,0 g). Celkový výtěžek činil 26 % (11,1 g). Produkt byl uchováván pod inertní atmosférou – na vzduchu látka černá.

$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_4$ (M = 155,11 g/mol)

$T_t = 81$ °C (petrolether), žlutooranžová krystalická látka

MS (APCI, m/z): 154,0 [M-H] $^-$; 126,1 (intenzivní iont v kladném módu)

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta = 10.14$ (br. s., 2 H), 7.32 (dd, $J = 1.6, 8.4$ Hz, 1 H), 7.08 (dd, $J = 1.6, 7.9$ Hz, 1 H), 6.79 (t, $J = 8.2$ Hz, 1 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) $\delta = 147.7, 141.7, 137.4, 119.9, 118.7, 114.7$

1,2-Dimethoxy-3-nitrobenzen (IIIa)

K suspenzi NaH (651 mg; 27,15 mmol) v bezvodém DMF (20 ml) byl za míchání pod inertní atmosférou argonu přikapáván roztok nitrofenolu **II** (1 g; 6,45 mmol) v bezvodém DMF (10 ml). Barva suspenze přecházela v závislosti na přídavku od oranžové po intenzivně fialovou. Směs byla míchána po dobu 1 hodiny. K výsledné suspenzi byl přidán Me₂SO₄ (2,4 ml; 25,8 mmol) a reakce byla zahřívána na 60 °C po dobu 7 hodin. Poté byla reakční směs zahuštěna na RVO. Přídavkem vody (120 ml) se vyloučila sraženina, která byla zfiltrována, promyta vodou (10 ml) a vysušena. Výtěžek reakce činil 670 mg (57 %).

C₈H₉NO₄ (M = 183,16 g/mol)

T_f = 57–59 °C, žlutá mikrokrystalická látka

MS (APCI, *m/z*): 182,8 [M-H]⁻; 153,9 (intenzivní ion v kladném módu)

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.40 - 7.37 (m, 2 H), 7.26 (dd, *J* = 7.8, 8.8 Hz, 1 H), 3.90 (s, 3 H), 3.86 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 153.5, 144.7, 141.3, 124.4, 117.0, 115.2, 61.5, 56.5

4-Nitro-1,3-benzodioxol (IIIb)

K suspenzi 95% NaH (407 mg; 16,12 mmol) v bezvodém DMF (65 ml) byl za míchání pod inertní atmosférou argonu přikapáván roztok nitrofenolu **II** (1 g; 6,45 mmol) v bezvodém DMF (13 ml). Barva suspenze přecházela v závislosti na přídavku od oranžové po intenzivně fialovou. Směs byla míchána po dobu 1 hodiny. Výsledná suspenze sodné soli byla poté za intenzivního míchání velice pomalu přikapávána k roztoku CH₂I₂ (675 μl; 8,38 mmol) v bezvodém DMF (3 ml) za teploty 110 °C (CH₂I₂ byl zředěn DMF proto, aby byl zajištěn bezproblémový průběh míchání v počátku reakce). Po 18 hodinách intenzivního míchání při téže teplotě byla reakční směs zahuštěna a rozdělena mezi nasycený vodný roztok CaCl₂ (80 ml) a ether (6x40 ml). Roztok CaCl₂ napomáhal předcházet vzniku emulze. Spojené organické podíly byly promyty vodou (2x10 ml), vysušeny Na₂SO₄ a zfiltrovány. Filtrát byl zahuštěn na odparce za vyloučení oranžových krystalů (406 mg), které byly suspendovány v 10% vodném roztoku Na₂CO₃ (10 ml), zfiltrovány, promyty vodou (2 ml) a vysušeny. Výtěžek reakce činil 240 mg (22 %).

C₇H₅NO₄ (M = 167,12 g/mol)

T_f = 116–118 °C, žlutá krystalická látka

MS (APCI, m/z): 166,0 [M-H]⁻; 179,0 (intenzivní molekulární iont v kladném módu)

¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 7.56 (dd, J = 1.0, 8.8 Hz, 1 H), 7.31 (dd, J = 1.0, 7.8 Hz, 1 H), 7.02 (dd, J = 7.8, 8.8 Hz, 1 H), 6.31 (s, 2 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 150.4, 143.6, 131.6, 121.9, 116.3, 113.9, 103.8

2,3-Dimethoxyanilin (IVc)

K roztoku sloučeniny **IIIa** (1158 mg; 6,32 mmol) v MeOH (60 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (115 mg). Suspenze byla za atmosférického tlaku vodíku míchána 3 hodiny, zfiltrována a zahuštěna na RVO. Byla získána kapalina ve výtěžku 949 mg (98 %).

C₈H₁₁NO₂ (M = 153,19 g/mol)

bezbarvá kapalina

MS (APCI, m/z): 153,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 6.71 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.29 (qd, J = 1.0, 8.0 Hz, 1 H), 6.21 (dd, J = 1.3, 8.0 Hz, 1 H), 4.81 (br. s., 2 H), 3.71 (s, 3 H), 3.62 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 152.8, 142.1, 134.8, 123.9, 108.2, 100.6, 59.1, 55.4

1,3-Benzodioxol-4-amin (IVd)

K roztoku sloučeniny **IIIb** (840 mg; 5,03 mmol) v MeOH (38 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (84 mg). Suspenze byla za atmosférického tlaku vodíku míchána po dobu 1 hodiny, zfiltrována a filtrát byl zahuštěn na RVO. Byla získána čirá kapalina ve výtěžku 632 mg (92 %).

C₇H₇NO₂ (M = 137,14 g/mol)

bezbarvá kapalina

MS (APCI, m/z): 137,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 6.55 (t, J = 8.0 Hz, 1 H), 6.24 (dd, J = 1.0, 8.2 Hz, 1 H), 6.17 (dd, J = 1.1, 7.7 Hz, 1 H), 5.87 (s, 2 H), 4.89 (br. s., 2 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 147.2, 132.9, 132.4, 121.9, 109.9, 99.7, 97.5

2-(Benzyloxy)-6-brom-3-methoxybenzaldehyd (Vb)¹¹

Ke směsi hydroxybenzaldehydu **Va** (4 g; 17,3 mmol), KI (2,87 g; 17,3 mmol) a K₂CO₃ (5,98 g; 43,3 mmol) v MeOH (260 ml) byl přidán benzylbromid (7,2 ml; 60,6 mmol). Po 7 hodinách refluxu byl přidán další podíl K₂CO₃ (2,39 g; 17,3 mmol), reakční směs byla refluxována po další 2 hodiny a poté ochlazena na laboratorní teplotu. Po odpaření MeOH byl odparek rozdělen mezi toluen (150 ml) a vodu (100 ml). Vodná fáze byla promyta toluenem (50 ml) a spojené organické extrakty byly promyty vodou (50 ml), vysušeny MgSO₄, zfiltrvány a zahuštěny na RVO. Odparek byl krystalizován ze směsi hexan/ether ve výtěžku 3,22 g (58 %). Sloučenina byla uchovávána při teplotě 5 °C.

C₁₅H₁₃BrO₃ (M = 321,17 g/mol)

T_t = 55 °C (hexan/ether), R_f = 0,40 (toluen), světle žlutá krystalická látka

MS (APCI, *m/z*): 318,9; 320,9 [M-H]⁻

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 10.12 (s, 1 H), 7.45 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.44 - 7.32 (m, 5 H), 7.30 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 5.10 (s, 2 H), 3.91 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 190.4, 152.7, 150.2, 136.4, 129.6, 128.7, 128.6, 128.4, 128.4, 118.5, 110.3, 75.5, 56.4

6-Brom-2,3-dimethoxybenzaldehyd (Vc)⁴⁸

K roztoku hydroxybenzaldehydu **Va** (3,27 g; 14,15 mmol) v bezvodém DMF (33 ml) byl přidán K₂CO₃ (3,9 g; 28,3 mmol) a MeI (2,64 ml; 42,5 mmol). Výsledná suspenze byla zahřívána na teplotu 45 °C po dobu 18 hodin. Poté byla reakční směs ochlazena na laboratorní teplotu. Přidáním destilované vody (200 ml) se vysrážela krémově bílá sraženina, která byla uchovávána 1 hodinu při 5 °C, poté zfiltrována, promyta vodou (20 ml) a vysušena. Výtěžek reakce činil 3,2 g (92 %).

C₉H₉BrO₃ (M = 245,07 g/mol)

T_t = 77–78 °C, R_f = 0,3 (toluen), krémově bílá nadýchaná krystalická látka

MS (APCI, *m/z*): 244,9; 246,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 10.21 (s, 1 H), 7.44 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 3.84 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 190.5, 152.6, 151.5, 129.3, 128.3, 118.5, 110.5, 61.8, 56.2

3-Brom-2-[[3,4-dimethoxyfenyl]imino]methyl]-6-methoxyfenol (VIa)

K roztoku anilinu **IVc** (410 mg; 2,67 mmol) v bezvodém EtOH (15 ml) byl přidán benzaldehyd **Va** (600 mg; 2,60 mmol). Reakční směs byla 1 hodinu míchána za refluxu. Poté byla pozvolna vychlazena až na teplotu 5–0 °C. Vyloučená světle oranžová sraženina byla odsáta, promyta ledovým EtOH (2 ml) a vysušena. Byla získána mikrokrytalická látka ve výtěžku 921 mg (97 %).

C₁₆H₁₆BrNO₄ (M = 366,21 g/mol)

T_f = 157–159 °C, oranžová mikrokrytalická látka

MS (APCI *m/z*): 365,8; 367,8 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 15.27 (s, 1 H), 9.05 (s, 1 H), 7.02 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.98 - 6.89 (m, 3 H), 6.78 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 3.94 (s, 3 H), 3.92 (s, 3 H), 3.91 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 160.4, 154.6, 149.6, 148.8, 148.7, 140.0, 121.8, 116.4, 115.7, 114.7, 113.1, 111.4, 105.1, 56.2, 56.1, 56.0

2-[(1,3-Benzodioxol-4-ylimino)methyl]-3-brom-6-methoxyfenol (VIb)

Schiffova báze **VIb** byla získána obdobným způsobem jako sloučenina **VIa**. Pro reakci byl použit benzaldehyd **Va** (572 mg; 2,48 mmol), anilin **IVd** (350 mg; 2,55 mmol) a bezvodý EtOH (15 ml). Výtěžek reakce činil 737 mg (85 %).

C₁₅H₁₂BrNO₄ (M = 350,16 g/mol)

T_f = 195–196 °C, světle oranžová mikrokrytalická látka

MS (APCI, *m/z*): 349,9; 351,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 15.18 (s, 1 H), 9.40 (s, 1 H), 7.05 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H), 6.96 - 6.88 (m, 2 H), 6.82 - 6.77 (m, 2 H), 6.09 (s, 2 H), 3.92 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 164.3, 154.7, 148.9, 148.7, 140.3, 129.3, 122.2, 121.9, 116.7, 116.3, 116.0, 115.0, 107.7, 101.7, 56.2

N-(6-Brom-2,3-dimethoxybenzyl)-3,4-dimethoxyanilin (VIIa)

K roztoku brombenzaldehydu **Vc** (1 g; 4,08 mmol) a anilinu **IVa** (644 mg; 4,20 mmol) v bezvodém toluenu (50 ml) byl přidán NaBH(OAc)₃ (2,6 g; 12,2 mmol). Vzniklá suspenze byla míchána za laboratorní teploty po dobu 1 hodiny. Poté byla extrahována vodou (2x35

ml) a solankou (1x40 ml). Vodná fáze byla promyta toluenem (1x40 ml). Spojené organické podíly byly vysušeny Na₂SO₄, zfiltrvány a zakoncentrovány na odparce. K odparku byl přidán MeOH (8 ml). Nahnědlý roztok byl lehce podchlazen, načež počala krystalizace. Pevný podíl byl odsát, promyt ledovým MeOH (1 ml) a vysušen. Výtěžek lehce narůžovělé krystalické látky činil 1185 mg (76 %).

C₁₇H₂₀BrNO₄ (M = 382,25 g/mol)

T_t = 79–80 °C (MeOH), R_f = 0,2 (hexan/EtOAc; 10/3), narůžovělá krystalická látka

MS (APCI, *m/z*): 381,9; 383,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7.27 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.75 (d, *J* = 8.6 Hz, 2 H), 6.43 (d, *J* = 2.6 Hz, 1 H), 6.33 (dd, *J* = 2.5, 8.4 Hz, 1 H), 4.43 (s, 2 H), 4.02 (br. s, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.86 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H), 3.80 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 152.3, 149.8, 148.7, 142.7, 141.7, 132.6, 128.0, 115.2, 113.0, 112.9, 104.6, 99.5, 61.5, 56.6, 55.9, 55.7, 43.9

***N*-(6-Brom-2,3-dimethoxybenzyl)-1,3-benzodioxol-5-amin (VIIIb)**

Sekundární amin **VIIIb** byl připraven obdobným způsobem jako amin **VIIa** za použití brombenzaldehydu **Vc** (400 mg; 1,63 mmol), anilinu **IVb** (231 mg; 1,68 mmol) a NaBH(OAc)₃ (1,04 g; 4,9 mmol) v bezvodém toluenu (20 ml). Odparek byl krystalizován ze směsi EtOH/voda. Byl získán světle šedý prášek ve výtěžku 275 mg (46 %).

C₁₆H₁₆BrNO₄ (M = 366,21 g/mol)

T_t = 74 °C (EtOH/voda), R_f = 0,4 (hexan/EtOAc; 10/3), světle šedý prášek

MS (APCI *m/z*): 365,9; 367,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.65 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H), 6.41 (d, *J* = 2.3 Hz, 1 H), 6.12 (dd, *J* = 2.3, 8.3 Hz, 1 H), 5.82 (s, 2 H), 5.26 (t, *J* = 5.3 Hz, 1 H), 4.16 (d, *J* = 5.2 Hz, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 3.76 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.1, 148.5, 147.7, 144.6, 138.1, 132.0, 127.7, 115.0, 113.7, 108.4, 103.2, 99.9, 95.2, 61.1, 55.9, 43.0

***N*-(6-Brom-2,3-dimethoxybenzyl)-2,3-dimethoxyanilin (VIIIc)**

Sekundární amin **VIIIc** byla připraven obdobným způsobem jako amin **VIIa** za použití brombenzaldehydu **Vc** (400 mg; 1,63 mmol), anilinu **IVc** (258 mg; 1,68 mmol) a

NaBH(OAc)₃ (1,04 g; 4,9 mmol) v bezvodém toluenu (20 ml). Látku se nepodařilo standardní cestou vykrytalizovat. Po několika dnech bylo z medovitého odparu získáno několik krystalů, které byly odebrány. Odparek byl rozpuštěn ve směsi EtOH/voda, naočkován a dalším přidáváním vody doveden ke krystalizaci. Byl získán světle šedý prášek ve výtěžku 212 mg (34 %).

C₁₇H₂₀BrNO₄ (M = 382,25 g/mol)

T_f = 52–53 °C (EtOH/voda), R_f = 0,5 (hexan/EtOAc; 10/3), světle šedý prášek

MS (APCI *m/z*): 381, 9; 383,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.34 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.98 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.86 (t, *J* = 8.2 Hz, 1 H), 6.52 (dd, *J* = 1.2, 8.2 Hz, 1 H), 6.33 (dd, *J* = 1.2, 8.4 Hz, 1 H), 4.86 (t, *J* = 6.2 Hz, 1 H), 4.33 (d, *J* = 6.2 Hz, 2 H), 3.80 (s, 3 H), 3.77 (s, 3 H), 3.72 (s, 3 H), 3.60 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.1, 148.4, 141.6, 135.0, 131.9, 127.9, 124.2, 119.5, 114.4, 113.8, 104.7, 101.6, 61.2, 59.5, 55.9, 55.5, 42.2

N-[2-(Benzyloxy)-6-brom-3-methoxybenzyl]-3,4-dimethoxyanilin (VIIe)

Sekundární amin **VIIe** byl připraven obdobným způsobem jako amin **VIIa** za použití benzylovaného brombenzaldehydu **Vb** (1 g; 3,11 mmol), anilinu **Va** (491 mg; 3,21 mmol) a NaBH(OAc)₃ (1,98 g; 9,4 mmol) v bezvodém toluenu (50 ml). Odparek byl krystalizován z MeOH. Byla získána lehce narůžovělá semikrystalická látka ve výtěžku 1157 mg (81 %).

C₂₃H₂₄BrNO₄ (M = 458,34 g/mol)

T_f = 79–81 °C (MeOH), R_f = 0,3 (hexan/EtOAc; 10/3), narůžovělá semikrystalická látka

MS (APCI *m/z*): 457,9; 459,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.44 - 7.38 (m, 2 H), 7.36 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.35 - 7.29 (m, 3 H), 7.03 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.69 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.39 (d, *J* = 2.6 Hz, 1 H), 6.15 (dd, *J* = 2.6, 8.6 Hz, 1 H), 5.10 (t, *J* = 5.6 Hz, 1 H), 4.99 (s, 2 H), 4.17 (d, *J* = 5.4 Hz, 2 H), 3.86 (s, 3 H), 3.61 (s, 6 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.2, 149.8, 147.1, 143.7, 140.3, 137.1, 132.4, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 115.0, 114.4, 113.6, 103.0, 98.7, 75.1, 56.6, 56.0, 55.1, 42.9

***N*-[2-(Benzyloxy)-6-brom-3-methoxybenzyl]-1,3-benzodioxol-5-amin (VIIf)**

Sekundární amin **VIIf** byl připraven obdobným způsobem jako amin **VIIa** za použití benzylovaného brombenzaldehydu **Vb** (600 mg; 1,87 mmol), anilinu **IVb** (263 mg; 1,93 mmol) a NaBH(OAc)₃ (1,19 g; 5,6 mmol) v bezvodém toluenu (33 ml). Odparek byl krystalizován ze směsi MeOH/aceton/voda. Byl získán světle hnědý prášek ve výtěžku 791 mg (96 %).

C₂₂H₂₀BrNO₄ (M = 442,30 g/mol)

T_f = 77–80 °C (MeOH/aceton/voda), R_f = 0,5 (hexan/EtOAc; 10/3), světle hnědý prášek

MS (APCI *m/z*): 441,9; 443,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.41 - 7.35 (m, 3 H), 7.34 - 7.29 (m, 3 H), 7.04 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 6.64 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H), 6.38 (d, *J* = 2.3 Hz, 1 H), 6.08 (dd, *J* = 2.3, 8.3 Hz, 1 H), 5.82 (s, 2 H), 5.23 (s, 1 H), 4.98 (s, 2 H), 4.12 (d, *J* = 5.4 Hz, 2 H), 3.86 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.2, 147.7, 147.2, 144.6, 138.1, 137.1, 132.2, 128.3, 128.3, 128.1, 127.9, 115.1, 113.7, 108.4, 103.2, 99.9, 95.3, 75.0, 56.1, 43.2

***N*-[2-(Benzyloxy)-6-brom-3-methoxybenzyl]-2,3-dimethoxyanilin (VIIg)**

Sekundární amin **VIIg** byl připraven obdobným způsobem jako amin **VIIa** za použití brombenzaldehydu **Vb** (900 mg; 2,80 mmol), anilinu **IVc** (442 mg; 2,89 mmol) a NaBH(OAc)₃ (1,78 g; 8,4 mmol) v bezvodém toluenu (45 ml). Odparek byl krystalizován z horkého EtOH. Byl získán nahnědlý prášek ve výtěžku 758 mg (75 %).

C₂₃H₂₄BrNO₄ (M = 458,34 g/mol)

T_f = 86–87 °C (EtOH), R_f = 0,5 (hexan/EtOAc; 10/3), světle hnědý prášek

MS (APCI *m/z*): 457,9; 459,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.45 - 7.40 (m, 2 H), 7.39 - 7.31 (m, 4 H), 7.02 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.81 (t, *J* = 8.2 Hz, 1 H), 6.46 (d, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 6.32 (dd, *J* = 1.0, 8.3 Hz, 1 H), 5.01 (s, 2 H), 4.85 (t, *J* = 6.2 Hz, 1 H), 4.27 (d, *J* = 4.9 Hz, 2 H), 3.85 (s, 3 H), 3.71 (s, 3 H), 3.55 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.2, 152.1, 147.0, 141.5, 137.1, 135.1, 132.2, 128.3, 128.2, 128.1, 128.0, 124.1, 114.4, 113.7, 104.6, 101.6, 74.9, 59.4, 56.0, 55.5, 42.4

2-[(1,3-Benzodioxol-4-ylimino)methyl]-3-brom-6-methoxyfenol (VIIh)

K roztoku Schiffovy báze **VIIb** (500 mg; 1,43 mmol) v bezvodém EtOH (13 ml) byl přidán NaBH₄ (54 mg; 1,43 mmol). Po 2 hodinách míchání při laboratorní teplotě byla reakční směs zneutralizována přidáním vodného roztoku 10% AcOH (cca 1 ml). Suspenze přešla v roztok, který byl na RVO zahuštěn. Odparek byl extrahován DCM (25 ml) a vodou (2x15 ml). Vodná fáze byla promyta DCM (20 ml). Ke spojeným organickým podílům, ze kterých se vyloučila jemná sraženina, byl přidán aceton (20 ml) do vzniku roztoku. Organická fáze byla vysušena Na₂SO₄, zfiltrována a zakoncentrována na RVO. Byla získána čistá látka medovité konzistence nažloutlé barvy ve výtěžku 500 mg (99 %). Po 3 dnech se na stěnách baňky utvořilo několik bílých krystalků.

C₁₅H₁₄BrNO₄ (M = 352,18 g/mol)

T_t = 89–90 °C, bílá krystalická látka

MS (APCI, *m/z*): 351,9; 353,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7.07 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.75 (t, *J* = 7.8 Hz, 1 H), 6.68 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.59 (dd, *J* = 1.0, 7.3 Hz, 1 H), 6.36 (dd, *J* = 1.0, 7.8 Hz, 1 H), 5.90 (s, 2 H), 4.59 (s, 2 H), 3.87 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 147.2, 146.2, 145.6, 134.6, 132.2, 123.9, 123.3, 122.2, 115.7, 111.1, 107.8, 100.6, 99.8, 56.1, 43.7

3-Brom-2-[[3,4-dimethoxyfenyl]amino]methyl}-6-methoxyfenol (VIIi)

Sekundární amin **VIIi** byl získán obdobným způsobem jako sloučenina **VIIh**. Pro reakci byla použita Schiffova báze **VIa** (921 mg; 2,51 mmol), NaBH₄ (95 mg; 2,51 mmol) a bezvodý EtOH (25 ml). Po extrakcích byly organické podíly vysušeny Na₂SO₄, zfiltrovány a zakoncentrovány na RVO. Byla získána čistá látka medovité konzistence ve výtěžku 737 mg (80 %).

C₁₆H₁₈BrNO₄ (M = 368,22 g/mol)

Nažloutlá látka medovité konzistence

MS (APCI *m/z*): 367,9; 369,8 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7.05 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 6.74 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H), 6.66 (d, *J* = 8.3 Hz, 1 H), 6.47 (d, *J* = 2.1 Hz, 1 H), 6.37 (dd, *J* = 2.1, 8.3 Hz, 1 H), 5.89 (br. s, 2 H), 4.53 (s, 2 H), 3.85 (s, 3 H), 3.83 (s, 3 H), 3.80 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 149.7, 146.6, 146.2, 142.7, 141.7, 123.4, 123.2, 115.1, 112.7, 111.2, 106.1, 100.5, 56.5, 56.1, 55.7, 45.8

2,3,7,8-Tetramethoxyfenanthridin (VIIIa)

K roztoku sekundárního aminu **VIIa** (600 mg; 1,57 mmol) a tributylcín hydridu (845 μl ; 3,14 mmol) v bezvodém toluenu (30 ml) byl při 70 °C přidán AIBN (387 mg; 2,36 mmol). Pod inertní atmosférou argonu byla teplota olejové lázně zvýšena a udržována na 104–108 °C. Po 3 hodinách byla reakční směs pozvolna ochlazena na laboratorní teplotu a byl přidán aktivovaný MnO_2 ⁷⁹ (409 mg; 4,71 mmol). Reakční směs s MnO_2 byla míchána přes noc, následně zfiltrována a zakoncentrována na RVO. K odparku byl přidán cyklohexan (8 ml), načež došlo k vyloučení hnědé sraženiny. Suspenze byla ponechána přes noc při teplotě 5 °C. Druhý den byla zfiltrována, promyta 2 ml studeného cyklohexanu a rekrystalizována ze směsi DCM/hexan. Bylo získáno 185 mg béžové krystalické látky ve výtěžku 39 %.

$\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ (M = 299,32 g/mol)

T_f = 154–158 °C (DCM/hexan), R_f = 0,1 (DCM/MeOH; 40/1), béžová krystalická látka

MS (APCI m/z): 300,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.35 (s, 1 H), 8.51 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 7.74 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.51 (s, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 4.00 (s, 6 H), 3.94 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 150.1, 149.6, 148.9, 145.0, 144.1, 139.0, 126.4, 120.2, 118.9, 118.5, 117.6, 109.8, 102.6, 61.4, 56.6, 56.0, 55.6

3,4-Dimethoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin (VIIIb)

(7,8-Dimethoxy-2,3-methylenedioxyfenanthridin)

Fenanthridin **VIIIb** byl připraven obdobným způsobem jako látka **VIIIa**. Pro reakci bylo použito sekundárního aminu **VIIb** (265 mg; 0,72 mmol), tributylcín hydridu (390 μl ; 1,45 mmol), AIBN (178 mg; 1,09 mmol) a MnO_2 (189 mg; 2,17 mmol). Reakce byla provedena v bezvodém toluenu (13 ml). První krystalický podíl, který byl získán přidávkem cyklohexanu, byl zfiltrován, suspendován v MeOH (2 ml) a krátce ultrazvukován. Pevný podíl byl odsát a vysušen. Výtěžek reakce činil 55 mg (27 %).

$\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{NO}_4$ (M = 283,28 g/mol)

T_f = 172–174 °C, R_f = 0,2 (DCM/MeOH; 40/1), hnědožlutý prášek

MS (APCI m/z): 284,0 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.33 (d, J = 0.5 Hz, 1 H), 8.45 (dd, J = 1.0, 9.3 Hz, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 7.73 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 7.47 (s, 1 H), 6.23 (s, 2 H), 3.99 (s, 3 H), 3.98 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 149.0, 148.4, 148.1, 145.2, 143.9, 140.2, 126.9, 119.5, 119.5, 119.1, 118.7, 107.0, 102.0, 100.0, 61.4, 56.6

3,4,7,8-Tetramethoxyfenanthridin (VIIIc)

Fenanthridin **VIIIc** byl připraven obdobným způsobem jako látka **VIIIa**. Pro reakci byl použit surový amin **VIIc** (467 mg; 1,22 mmol) ve formě odparku po reduktivní aminaci. Dále bylo použito tributylcín hydridu (660 μ l; 2,44 mmol), AIBN (301 mg; 1,83 mmol) a MnO₂ (318 mg; 3,66 mmol). Reakce byla provedena v bezvodém toluenu (23 ml). Rekrystalizace nebyla nutná. Byla získána béžová krystalická látka ve výtěžku 150 mg (41 %; NMR čistota 92 %; HPLC čistota 100 %). Pro druhou NMR analýzu byla látka rekrystalizována ze směsi DCM/hexan.

C₁₇H₁₇NO₄ (M = 299,32 g/mol)

T_f = 142–144 °C (DCM/hexan), R_f = 0,1 (DCM/MeOH; 40/1), béžová krystalická látka

MS (APCI m/z): 300,0 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.47 (s, 1 H), 8.46 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 8.42 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.75 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.52 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 4.01 (s, 3 H), 3.99 (s, 3 H), 3.96 (s, 6 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 151.2, 149.3, 147.5, 144.5, 144.0, 138.0, 126.7, 119.3, 118.4, 118.2, 117.8, 114.6, 61.5, 61.3, 56.5, 56.4

6,7-Dimethoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]fenanthridin (VIIIId)

(7,8-Dimethoxy-3,4-methylenedioxyfenanthridin)

Fenanthridin **VIIIId** byl připraven obdobným způsobem jako látka **VIIIa**. Pro reakci byl použit surový amin **VIIId** (478 mg; 1,31 mmol) ve formě odparku po reduktivní aminaci. Dále bylo použito tributylcín hydridu (700 μ l; 2,61 mmol), AIBN (322 mg; 1,96 mmol) a MnO₂ (340 mg; 3,92 mmol). Reakce byla provedena v bezvodém toluenu (23 ml). Po rekrystalizaci byla získána hnědá krystalická látka ve výtěžku 135 mg (37 %).

C₁₆H₁₃NO₄ (M = 283,28 g/mol)

$T_f = 163\text{--}166\text{ }^\circ\text{C}$ (DCM/hexan), hnědá krystalická látka

MS (APCI m/z): 284,0 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) $\delta = 9.40$ (d, $J = 0.5$ Hz, 1 H), 8.42 (dd, $J = 0.8, 9.3$ Hz, 1 H), 8.23 (d, $J = 8.8$ Hz, 1 H), 7.75 (d, $J = 9.3$ Hz, 1 H), 7.39 (d, $J = 8.6$ Hz, 1 H), 6.27 (s, 2 H), 4.00 (s, 3 H), 3.99 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) $\delta = 149.5, 148.1, 146.2, 144.7, 142.3, 129.1, 126.4, 122.3, 119.8, 119.5, 118.3, 115.7, 109.7, 102.1, 61.5, 56.5$

7-(Benzyloxy)-2,3,8-trimethoxyfenanthridin (VIIIe)

Fenanthridin **VIIIe** byl připraven obdobným způsobem jako fenanthridin **VIIIa**. Pro reakci bylo použito sekundárního aminu **VIIe** (1272 mg; 2,78 mmol), tributylcín hydridu (1495 μ l; 5,55 mmol), AIBN (684 mg; 4,16 mmol) a MnO₂ (724 mg; 8,33 mmol). Reakce byla provedena v bezvodém toluenu (50 ml). Po rekrystalizaci byla získána krémově bílá krystalická látka ve výtěžku 240 mg (23 %).

C₂₃H₂₁NO₄ (M = 375,42 g/mol)

$T_f = 155\text{--}156\text{ }^\circ\text{C}$ (DCM/hexan), $R_f = 0,2$ (DCM/MeOH; 40/1), krémově bílá krystalická látka

MS (APCI m/z): 376,0 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) $\delta = 9.25$ (s, 1 H), 8.51 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 8.01 (s, 1 H), 7.76 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 7.53 - 7.49 (m, 2 H), 7.46 (s, 1 H), 7.41 - 7.30 (m, 3 H), 5.25 (s, 2 H), 4.04 (s, 3 H), 4.01 (s, 3 H), 3.92 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) $\delta = 150.0, 149.5, 149.0, 145.2, 142.6, 138.9, 137.1, 128.6, 128.4, 128.2, 126.3, 120.5, 118.7, 118.5, 117.5, 109.8, 102.6, 75.0, 56.7, 56.0, 55.5$

4-(Benzyloxy)-3-methoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin (VIIIf)

(7-(Benzyloxy)-8-methoxy-2,3-methylendioxyfenanthridin)

Fenanthridin **VIII f** byl připraven obdobným způsobem jako fenanthridin **VIIIa**. Pro reakci bylo použito sekundárního aminu **VII f** (730 mg; 1,65 mmol), tributylcín hydridu (890 μ l; 3,30 mmol), AIBN (407 mg; 2,48 mmol) a MnO₂ (430 mg; 4,95 mmol). Reakce byla provedena v bezvodém toluenu (29 ml). Po rekrystalizaci byla získána hnědá krystalická látka ve výtěžku 280 mg (47 %).

C₂₂H₁₇NO₄ (M = 359,37 g/mol)

$T_f = 129\text{--}131\text{ }^\circ\text{C}$ (DCM/hexan), $R_f = 0,3$ (DCM/MeOH; 40/1), hnědá krystalická látka

MS (APCI m/z): 360,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta = 9.25$ (s, 1 H), 8.43 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 7.76 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 7.53 - 7.49 (m, 2 H), 7.43 - 7.31 (m, 5 H), 6.21 (s, 2 H), 5.24 (s, 2 H), 4.04 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) $\delta = 149.1, 148.4, 148.0, 145.4, 142.4, 140.0, 137.0, 128.6, 128.4, 128.2, 126.7, 120.6, 119.3, 118.9, 118.6, 106.9, 101.9, 99.9, 75.0, 56.6$

7-(Benzyloxy)-3,4,8-trimethoxyfenanthridin (VIIIg)

Fenanthridin **VIIIg** byl připraven obdobným způsobem jako fenanthridin **VIIIa**. Pro reakci bylo použito sekundárního aminu **VIIg** (950 mg; 2,07 mmol), tributylcín hydridu (1115 μl ; 4,15 mmol), AIBN (511 mg; 3,11 mmol) a MnO_2 (541 mg; 6,22 mmol). Reakce byla provedena v bezvodém toluenu (37 ml). Odparek, ke kterému byl přidán cyklohexan, byl podchlazen a dekantován. Pevný podíl byl rekrystalizován ze směsi DCM/hexan. Byl získán šedozelený prášek ve výtěžku 233 mg (30 %).

$\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_4$ ($M = 375,42$ g/mol)

$T_f = 153\text{--}155\text{ }^\circ\text{C}$ (DCM/hexan), $R_f = 0,2$ (DCM/MeOH; 40/1), šedozelený prášek

MS (APCI m/z): 376,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) $\delta = 9.38$ (s, 1 H), 8.45 (d, $J = 8.8$ Hz, 1 H), 8.40 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 7.77 (d, $J = 9.1$ Hz, 1 H), 7.55 - 7.48 (m, 3 H), 7.42 - 7.30 (m, 3 H), 5.26 (s, 2 H), 4.04 (s, 3 H), 3.96 (s, 3 H), 3.93 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) $\delta = 151.2, 149.4, 147.6, 143.9, 143.0, 137.9, 137.0, 128.7, 128.4, 128.2, 126.6, 120.1, 119.1, 118.3, 118.2, 117.8, 114.5, 75.1, 61.3, 56.6, 56.4$

7-Methoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]fenanthridin-6-ol (VIIIh)

(8-Methoxy-3,4-methyldioxyfenanthridin-7-ol)

Příprava hydroxyfenanthridinu **VIIIh** byla založena na podobném postupu vedoucím k přípravě látky **VIIIa**. K roztoku sekundárního aminu **VIIIh** (300 mg; 0,85 mmol) a tributylcín hydridu (460 μl ; 1,70 mmol) v bezvodém toluenu (15 ml) byl při $70\text{ }^\circ\text{C}$ přidán AIBN (210 mg; 1,28 mmol). Pod inertní atmosférou argonu byla teplota olejové lázně zvýšena a udržována na $104\text{--}108\text{ }^\circ\text{C}$. Z důvodu dále se neměící konverze výchozí látky 3H8H byl k reakční směsi po 3 hodinách přidán další podíl tributylcín hydridu (160 μl ; 0,60 mmol) a

AIBN (50 mg; 0,30 mmol) a zahřívání pokračovalo další hodinu. Poté byla reakční směs ochlazená na laboratorní teplotu, byl přidán aktivovaný MnO₂ (222 mg; 2,56 mmol) a míchání pokračovalo přes noc. Suspenze byla zfiltrována a filtrát zahuštěn na RVO. K odparku byl přidán cyklohexan (10 ml), načež došlo k vyloučení rudě zbarvené sraženiny (114 mg), která byla odsáta, promyta cyklohexanem (3 ml), rozpuštěna ve směsi hexan/EtOAc (10/1) a podrobena sloupcové chromatografii s gradientovou elucí (hexan/EtOAc 5/1 – 1/2) ve výtěžku 30 mg (13 %).

C₁₅H₁₁NO₄ (M = 269,25 g/mol)

T_f = 246–248 °C, R_f = 0,1 (DCM/MeOH; 40/1), hnědočervený prášek

MS (APCI *m/z*): 270,0 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.99 (s, 1 H), 9.44 (s, 1 H), 8.16 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 8.08 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.35 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.25 (s, 2 H), 3.95 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 149.1, 146.6, 145.0, 143.9, 142.9, 129.8, 127.0, 120.0, 118.9, 116.3, 116.2, 113.2, 109.9, 102.5, 57.2

2,3,7,8-Tetramethoxy-5-methylfenanthridinium jodid (IXa)

Volná báze **VIIIa** (280 mg; 0,94 mmol) byla rozpuštěna v minimálním množství MeCN (14 ml) a k výslednému roztoku byl přidán MeI (230 μl; 3,74 mmol). Reakční směs byla ponechána bez míchání ve tmě. Po týdnu byl vyloučený krystalický podíl zfiltrován a promyt ledovým MeCN (0,5 ml). Byla získána špatně rozpustná látka v podobě sytě oranžových jehlicovitých krystalů ve výtěžku 372 mg (90 %).

C₁₈H₂₀INO₄ (M = 441,26 g/mol)

T_f = 263–266 °C (MeCN), oranžová krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 314,1 [M]⁺; 316,1 [M+2]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.96 (s, 1 H), 8.84 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.20 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 7.73 (s, 1 H), 4.70 (s, 3 H), 4.13 (s, 6 H), 4.10 (s, 6 H)

Elementární analýza: Vypočteno: N, 3,17; C, 48,99; H, 4,57. Naměřeno: N, 3,12; C, 48,92; H, 4,15.

3,4-Dimethoxy-6-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin-6-ium jodid (IXb)

(7,8-Dimethoxy-5-methyl-2,3-methylendioxyfenanthridinium jodid)

Kvartérní sůl **IXb** byla připravena obdobným způsobem jako látka **IXa**. Pro reakci bylo použito volné báze **VIIIb** (30 mg; 0,11 mmol), MeI (25 μ l; 0,42 mmol) a MeCN (6 ml). Byla získána jasně žlutá krystalická látka ve výtěžku 40 mg (89 %).

C₁₇H₁₆INO₄ (M = 425,22 g/mol)

T_f > 300 °C (MeCN), R_f = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), jasně žlutá krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 298,1 [M]⁺; 300,0 [M+2]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.97 (s, 1 H), 8.71 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.58 (s, 1 H), 8.19 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 6.44 (s, 2 H), 4.62 (s, 3 H), 4.11 (s, 3 H), 4.08 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 151.1, 150.4, 150.0, 147.2, 145.5, 130.6, 128.1, 125.5, 122.8, 119.1, 118.7, 103.9, 101.2, 98.5, 62.1, 57.0, 46.4

3,4,7,8-Tetramethoxy-5-methylfenanthridinium jodid (IXc)

Kvartérní sůl **IXc** byla připravena obdobným způsobem jako látka **IXa**. Pro reakci bylo použito volné báze **VIIIc** (60 mg; 0,20 mmol), MeI (50 μ l; 0,80 mmol) a MeCN v minimálním množství. Byla získána oranžová krystalická látka ve výtěžku 42 mg (47 %).

C₁₈H₂₀INO₄ (M = 441,26 g/mol)

T_f = 186–188 °C (MeCN), R_f = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), oranžová krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 314,0 [M]⁺; 316,0 [M+2]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.95 (s, 1 H), 8.81 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.70 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.19 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 7.89 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 4.81 (s, 3 H), 4.13 (s, 3 H), 4.09 (s, 3 H), 4.08 (s, 3 H), 3.99 (s, 3 H)

6,7-Dimethoxy-4-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]fenanthridin-4-ium jodid (IXd)

(7,8-Dimethoxy-5-methyl-3,4-methylendioxyfenanthridinium jodid)

Kvartérní sůl **IXd** byla připravena obdobným způsobem jako látka **IXa**. Pro reakci bylo použito volné báze **VIIIId** (90 mg; 0,32 mmol), MeI (80 μ l; 1,27 mmol) a MeCN (5 ml). Byla získána krystalická látka ve výtěžku 26 mg (19 %).

C₁₇H₁₆INO₄ (M = 425,22 g/mol)

T_f = 223–224 °C (MeCN), R_f = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), krvavě rudá krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 298,0 [M]⁺; 300,1 [M+2]⁺

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.95 (s, 1 H), 8.64 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 8.59 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.16 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 7.76 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 6.42 (s, 2 H), 4.71 (s, 3 H), 4.11 (s, 3 H), 4.07 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 152.1, 150.2, 149.1, 146.7, 138.2, 127.6, 126.0, 120.9, 120.2, 118.7, 118.6, 118.0, 112.8, 103.3, 62.2, 56.9, 48.7

7-(Benzyloxy)-2,3,8-trimethoxy-5-methylfenanthridinium jodid (IXe)

Kvartérní sůl **IXe** byla připravena obdobným způsobem jako sloučenina **IXa**. Pro reakci bylo použito volné báze **VIIIe** (91 mg; 0,24 mmol), MeI (60 μl ; 0,97 mmol) a MeCN (9 ml). Byla získána krystalická látka ve výtěžku 77 mg (61 %).

C₂₄H₂₄INO₄ (M = 517,36 g/mol)

T_{t} = 207–210 °C (MeCN), jasně žlutá krystalická látka

MS (APCI m/z): 390,0 $[\text{M}]^+$; 392,0 $[\text{M}+2]^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.79 (s, 1 H), 8.83 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 8.30 (s, 1 H), 8.20 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 7.58 (d, J = 7.5 Hz, 2 H), 7.43 - 7.30 (m, 3 H), 5.40 (s, 2 H), 4.68 (s, 3 H), 4.12 (s, 6 H), 4.09 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 152.0, 151.5, 150.2, 146.7, 143.9, 136.3, 128.9, 128.9, 128.4, 128.3, 127.5, 125.0, 120.7, 119.4, 119.1, 103.9, 100.7, 75.4, 57.0, 56.7, 56.6, 46.2

4-(Benzyloxy)-3-methoxy-6-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin-6-ium jodid (IXf)

(7-(Benzyloxy)-8-methoxy-5-methyl-2,3-methylenedioxyfenanthridinium jodid)

Kvartérní sůl **IXf** byla připravena obdobným způsobem jako sloučenina **IXa**. Pro reakci bylo použito volné báze **VIII f** (91 mg; 0,25 mmol), MeI (60 μl ; 1,0 mmol) a MeCN (8 ml). Byla získána krystalická látka ve výtěžku 77 mg (61 %).

C₂₃H₂₀INO₄ (M = 501,31 g/mol)

T_{t} = 198–201 °C (MeCN), R_{f} = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), jasně žlutá krystalická látka

MS (APCI m/z): 372,1 $[\text{M}]^+$; 374,1 $[\text{M}+2]^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.81 (s, 1 H), 8.69 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 8.55 (s, 1 H), 8.19 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 8.01 (s, 1 H), 7.61 - 7.56 (m, 2 H), 7.42 - 7.31 (m, 3 H), 6.44 (s, 2 H), 5.38 (s, 2 H), 4.60 (s, 3 H), 4.10 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 151.1, 150.4, 150.2, 147.0, 143.7, 136.3, 130.5, 128.9, 128.4, 128.3, 128.0, 125.3, 122.8, 119.2, 119.2, 103.9, 101.3, 98.5, 75.4, 56.9, 46.7

7-(Benzyloxy)-3,4,8-trimethoxy-5-methylfenanthridinium jodid (IXg)

Kvartérní sůl **IXg** byla připravena obdobným způsobem jako sloučenina **IXa**. Pro reakci bylo použito volné báze **VIIIg** (150 mg; 0,40 mmol), MeI (100 μ l; 1,6 mmol) a minimálního množství MeCN. Reakční směs byla 2 dny zahřívána při 50 °C. Poté byla zvolna ochlazená na teplotu -35 °C, vyloučená sraženina byla zfiltrována, promyta etherem (1 ml) a vysušena. Byl získán první krystalický podíl ve výtěžku 61 mg (30 %). Filtrát byl zahuštěn na RVO a krystalizován ze směsi MeOH/voda. Byl získán druhý krystalický podíl ve výtěžku 62 mg (30 %). Celková výtěžnost tedy činila 123 mg (60 %).

C₂₄H₂₄INO₄ (M = 517,36 g/mol)

T_f = 169–173 °C (MeCN), R_f = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), žlutohnědá mikrokrystalická látka

MS (APCI *m/z*): 390,1 [M]⁺; 392,1 [M+2]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.79 (s, 1 H), 8.80 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.70 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 8.20 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 7.89 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 7.59 (d, *J* = 7.0 Hz, 2 H), 7.48 - 7.26 (m, 3 H), 5.41 (s, 2 H), 4.79 (s, 3 H), 4.10 (s, 3 H), 4.08 (s, 3 H), 3.98 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 154.4, 153.5, 150.3, 144.6, 140.1, 136.3, 128.9, 128.4, 128.3, 128.2, 127.9, 126.0, 120.4, 120.2, 118.8, 118.5, 117.0, 75.6, 61.8, 57.0, 56.9, 51.3

6-Hydroxy-7-methoxy-4-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]fenanthridin-4-ium jodid (IXh)

(7-Hydroxy-8-methoxy-5-methyl-3,4-methylenedioxyfenanthridinium jodid)

Kvartérní sůl **IXh** byla připravena obdobným způsobem jako sloučenina **IXa**. Pro reakci bylo použito cyklizačního produktu **VIIIh** (10 mg; 0,25 mmol), MeI (1,01; 65 μ l) a MeCN (8 ml). Byla získána krystalická látka ve výtěžku 77 mg (61 %).

C₁₆H₁₄INO₄ (M = 411,19 g/mol)

T_f = 236–239 °C (MeCN), R_f = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), červená krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 284,2 [M]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 11.52 (br. s, 1 H), 9.90 (s, 1 H), 8.49 (d, *J* = 8.6 Hz, 1 H), 8.26 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.69 (dd, *J* = 1.0, 8.8 Hz, 1 H), 6.38 (s, 2 H), 4.65 (s, 3 H), 4.04 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.0, 148.8, 147.4, 145.7, 138.1, 126.9, 124.2, 120.9, 120.0, 118.4, 113.7, 113.0, 112.4, 103.1, 56.8, 48.2

2,3,7,8-Tetramethoxy-5-methylfenanthridinium perchlorát (XIa)

Suspenze kvartérní amoniové soli **IXa** (287 mg; 0,65 mmol) v EtOH (40 ml) byla po přidavku 1,25M vodného roztoku NaOH (1,04 ml; 1,30 mmol) zahřívána na 50 °C, přičemž po 10 minutách vznikl žlutý roztok. Reakce pokračovala přes noc za vyloučení žlutooranžové sraženiny, která byla zfiltrována, a lehce nažloutlý filtrát byl rozdělen na čtvrtiny. K jedné čtvrtině byl přidán 70% vodný roztok HClO₄ (0,5 ml), načež došlo k okamžitému vyloučení sraženiny, která byla po 10 minutách stání při teplotě 5 °C zfiltrována, promyta vodou (0,5 ml) a vysušena. Byla získána oranžová krystalická látka.

C₁₈H₂₀ClNO₈ (M = 413,81 g/mol)

T_t > 300 °C, oranžová krystalická látka

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.93 (s, 1 H), 8.80 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.17 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 7.70 (s, 1 H), 4.69 (s, 3 H), 4.12 (s, 3 H), 4.12 (s, 3 H), 4.09 (s, 6 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.0, 151.5, 149.9, 146.8, 145.6, 129.1, 127.6, 125.2, 120.8, 119.1, 118.6, 103.9, 100.6, 62.1, 57.0, 56.7, 56.6, 46.0

2,3,7,8-Tetramethoxy-5-methylfenanthridinium hydrogensulfát (XIb)

Hydrogensíran **XIb** se podařilo připravit obdobným způsobem jako chloristan **XIa**. Přidavkem 98% vodného roztoku H₂SO₄ došlo k vyloučení žlutooranžové sraženiny.

C₁₈H₂₁NO₈S (M = 411,43 g/mol)

T_t = 272–280 °C, žlutá mikrokrytalická látka

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.91 (s, 1 H), 8.78 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 8.26 (s, 1 H), 8.14 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 7.68 (s, 1 H), 4.66 (s, 3 H), 4.08 (s, 3 H), 4.08 (s, 3 H), 4.06 (s, 3 H), 4.05 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 152.0, 151.5, 149.9, 146.9, 145.7, 129.1, 127.7, 125.3, 120.8, 119.1, 118.6, 103.9, 100.7, 62.1, 57.0, 56.7, 56.6, 46.0

2,3,7,8-Tetramethoxy-5-methylfenanthridinium nitrát (XIc)

Nitrát **XIc** se podařilo připravit obdobným způsobem jako chloristan **XIa**. Přidavkem 68% vodného roztoku HNO₃ došlo k vyloučení oranžové sraženiny.

C₁₈H₂₀N₂O₇ (M = 411,43 g/mol)

T_t = 266–269 °C, oranžová mikrokrytalická látka

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.95 (s, 1 H), 8.83 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 8.19 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 4.70 (s, 3 H), 4.16 - 4.11 (m, 6 H), 4.10 (s, 6 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 152.0, 151.5, 149.9, 146.9, 145.7, 129.1, 127.7, 125.3, 120.8, 119.1, 118.7, 103.9, 100.7, 62.1, 57.0, 56.7, 56.6, 46.0

2,3,7,8-Tetramethoxy-5-methylfenanthridinium chlorid (XIId)

Chlorid **XIId** se podařilo připravit obdobným způsobem jako chloristan **XIa**. Přídavkem 36% vodného roztoku HCl došlo k vyloučení žluté sraženiny.

$\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{ClNO}_4$ (M = 349,81 g/mol)

T_f = 220–222 °C, žlutá mikrokrytalická látka

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.96 (s, 1 H), 8.83 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 8.29 (s, 1 H), 8.17 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 7.72 (s, 1 H), 4.71 (s, 3 H), 4.12 (s, 3 H), 4.12 (s, 3 H), 4.10 (s, 3 H), 4.09 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 152.0, 151.5, 149.9, 146.9, 145.6, 129.1, 127.7, 125.2, 120.8, 119.2, 118.6, 103.9, 100.7, 62.1, 57.0, 56.8, 56.6, 46.0

4-Hydroxy-3-methoxy-6-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin-6-ium chlorid (XIe)

(7-Hydroxy-8-methoxy-5-methyl-2,3-methyldioxyfenanthridinium chlorid)

K suspenzi kvartérní soli **IXf** (54 mg; 0,11 mmol) v EtOH (18 ml) byl přidán 1,25M vodný roztok NaOH (170 μl ; 0,22 mmol). Suspenze během několika minut přešla ve žlutý roztok, jehož zabarvení se v průběhu hodin měnilo přes oranžovou po růžovou. Po 20 hodinách byla směs zakoncentrována na RVO na objem cca 3 ml za současného vyloučení bílé krystalické látky, která nebyla izolována. K suspenzi byl přilít 6M vodný roztok HCl (15 ml) a směs byla refluxována po dobu 1 hodiny. Poté byla ochlazená na teplotu cca 0 °C a zfiltrována. Filtrační koláč byl promyt ledovou vodou (2 ml) a vysušen. Byl získán oranžový prášek ve výtěžku 26 mg (75 %).

$\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{ClNO}_4$ (M = 319,74 g/mol)

T_f = 252–255 °C, R_f = 0,1 (DCM/MeOH; 15/1), oranžový prášek

MS (APCI m/z): 284,0 $[\text{M}]^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 11.36 (br. s, 1 H), 9.95 (s, 1 H), 8.46 (s, 1 H), 8.32 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 8.02 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.95 (s, 1 H), 6.39 (s, 2 H), 4.55 (s, 3 H), 4.02 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 150.6, 150.0, 147.4, 145.7, 145.2, 130.1, 127.5, 124.0, 122.6, 114.6, 113.4, 103.7, 101.3, 98.5, 56.9, 46.1

7-Hydroxy-3,4,8-trimethoxy-5-methylfenanthridinium chlorid (XI f)

Kvartérní sůl **XI f** byla připravena obdobným způsobem jako sloučenina **XI e** za použití kvartérní soli **IX g** (62 mg; 0,12 mmol), 6M vodného roztoku NaOH (190 μl ; 0,24 mmol) a EtOH (8 ml). Po přidavku roztoku NaOH vzniká okamžitě růžový roztok. Směs byla míchána při laboratorní teplotě dalších 20 hodin, zakoncentrována a 7 hodin refluxována s nadbytkem 6M vodného roztoku HCl (15 ml). Obdobným způsobem izolace byla získána krystalická látka ve výtěžku 9 mg (22 %).

C $_{17}$ H $_{18}$ ClNO $_4$ (M = 335,78 g/mol)

T_f = 222–226 °C, R $_f$ = 0,2 (DCM/MeOH; 15/1), hnědooranžová krystalická látka

MS (APCI m/z): 300,0 [M] $^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 11.53 (br. s, 1 H), 9.93 (s, 1 H), 8.72 (d, J = 9.6 Hz, 1 H), 8.34 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 8.04 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.83 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 4.74 (s, 3 H), 4.07 (s, 3 H), 4.05 (s, 3 H), 3.97 (s, 3 H)

2,3,7,8-Tetramethoxyfenanthridin hydrochlorid (XI a)

Volná báze **VIII a** (30 mg; 0,10 mmol) byla rozpuštěna v minimálním množství dioxanu. K výslednému nasycenému roztoku byl přidán 4M roztok HCl v dioxanu (1,5 ml; 6,00 mmol) za současného vyloučení žluté sraženiny. K suspenzi byl přidán ether (4 ml). Sraženina byla následně zfiltrována, promyta etherem (1,5 ml) a vysušena. Výtěžek reakce činil 32 mg (95 %).

C $_{17}$ H $_{18}$ ClNO $_4$ (M = 335,78 g/mol)

T_f = 197–198 °C, R $_f$ = 0,4 (DCM/MeOH; 15/1), žlutá krystalická látka

^1H NMR (400MHz, D $_2$ O) δ = 8.65 (s, 1 H), 7.33 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 7.17 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 6.34 (s, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.79 (s, 3 H), 3.60 (s, 3 H), 3.56 (s, 3 H)

3,4,7,8-Tetramethoxyfenanthridin hydrochlorid (XIIb)

Hydrochlorid **XIIb** byl připraven obdobným postupem jako sůl **XIIa**. Pro reakci byl použit produkt cyklizace **VIIIc** (15 mg; 0,05 mmol) a 4M roztok HCl v dioxanu (1 ml). Výtěžnost činila 12 mg (72 %).

C₁₇H₁₈ClNO₄ (M = 335,78 g/mol)

T_f = 156-158 °C, žlutá krystalická látka

¹H NMR (400MHz, D₂O) δ = 9.14 (s, 1 H), 7.75 (dd, *J* = 2.5, 9.2 Hz, 2 H), 7.72 - 7.64 (m, 1 H), 7.37 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 3.97 (s, 3 H), 3.95 (s, 3 H), 3.93 (s, 3 H)

6,7-Dimethoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]fenanthridin hydrochlorid (XIIc)

(7,8-Dimethoxy-3,4-methylenedioxyfenanthridin hydrochlorid)

Hydrochlorid **XIIc** byl připraven obdobným postupem jako sůl **XIIa**. Pro reakci byl použit produkt cyklizace **VIII d** (20 mg; 0,07 mmol) a 4M roztok HCl v dioxanu (1 ml). Výtěžnost činila 15 mg (66 %).

C₁₇H₁₈ClNO₄ (M = 335,78 g/mol)

T_f = 174 - 179 °C, R_f = 0,49 (DCM/MeOH; 15/1), červená krystalická látka

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.40 (s, 1 H), 8.43 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 8.24 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 7.76 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 7.40 (d, *J* = 8.8 Hz, 1 H), 6.27 (s, 2 H), 4.00 (s, 3 H), 3.99 (s, 3 H)

7-(Benzyloxy)-2,3,8-trimethoxyfenanthridin hydrochlorid (XII d)

Hydrochlorid **XII d** byl připraven obdobným postupem jako sůl **XIIa**. Pro reakci byla použita sloučenina **VIII e** (64 mg; 0,17 mmol) a 4M roztok HCl v dioxanu (3 ml). Výtěžnost činila 61 mg (87 %).

C₂₃H₂₂ClNO₄ (M = 411,88 g/mol)

T_f = 182–186 °C, žlutá krystalická látka

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9.29 (s, 1 H), 8.63 (d, *J* = 9.1 Hz, 1 H), 8.05 (s, 1 H), 8.06 (d, *J* = 9.3 Hz, 2 H), 7.70 (s, 1 H), 7.56 - 7.51 (m, 2 H), 7.41 - 7.32 (m, 3 H), 5.35 (s, 2 H), 4.10 (s, 3 H), 4.05 (s, 3 H), 3.92 (s, 3 H)

4-(Benzyloxy)-3-methoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin hydrochlorid (XIIe)

(7-(Benzyloxy)-8-methoxy-2,3-methylenedioxyfenanthridin hydrochlorid)

Hydrochlorid **XIIe** byl připraven obdobným postupem jako sůl **XIIa**. Pro reakci byla použita sloučenina **VIII f** (70 mg; 0,17 mmol) a 4M roztok HCl v dioxanu (3 ml). Výtěžnost činila 61 mg (79 %).

C₂₂H₁₈ClNO₄ (M = 395,84 g/mol)

T_t = 183–186 °C, R_f = 0,7 (DCM/MeOH; 15/1), žlutá krystalická látka

¹H NMR (400MHz, ACETIC_ACID-*d*₄) δ = 9.60 (s, 1 H), 8.41 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.06 (d, *J* = 9.3 Hz, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 7.85 (s, 1 H), 7.51 (dd, *J* = 1.0, 7.8 Hz, 2 H), 7.39 - 7.27 (m, *J* = 7.3 Hz, 3 H), 6.30 (s, 2 H), 5.47 (s, 2 H), 4.16 (s, 3 H)

2,3,8-Trimethoxyfenanthridin-7-ol hydrochlorid (XII f)

K suspenzi hydrochloridu **XII d** (68 mg; 0,17 mmol) v MeOH (10 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (7 mg) a směs byla míchána za atmosférického tlaku vodíku. Po 30 minutách byla směs zfiltrována a filtrát odpařen na RVO za vyloučení oranžového prášku ve výtěžku 54 mg (88 %).

C₁₆H₁₆ClNO₄ (M = 321,76 g/mol)

T_t = 248–251 °C, R_f = 0,4 (DCM/MeOH; 15/1), oranžový prášek

MS (APCI *m/z*): 286,1 [M]⁺

¹H NMR (400MHz, D₂O) δ = 8.12 (s, 1 H), 6.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 1 H), 6.50 (d, *J* = 6.5 Hz, 1 H), 6.05 (s, 1 H), 5.92 (s, 1 H), 3.61 (s, 3 H), 3.47 (s, 3 H), 3.44 (s, 3 H)

4-Hydroxy-3-methoxy-[1,3]dioxolo[4,5-*b*]fenanthridin hydrochlorid (XII g)

(8-Methoxy-2,3-methylenedioxyfenanthridin-7-ol hydrochlorid)

Látka **VIII f** (20 mg; 0,06 mmol) byla suspendována v 6M vodném roztoku HCl (4 ml; 24 mmol) a za vzniku roztoku refluxována 5 hodin. Reakční směs poté byla ochlazena na laboratorní teplotu a vyloučená sraženina zfiltrována, promyta ledovou vodou (1 ml) a vysušena. Výtěžek reakce činil 10 mg (59 %).

C₁₅H₁₂ClNO₄ (M = 305,71 g/mol)

T_t > 300 °C, R_f = 0,4 (DCM/MeOH; 15/1), žlutá krystalická látka

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 10.87 (br. s, 1 H), 9.64 (s, 1 H), 8.37 (s, 1 H), 8.30 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.95 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.61 (s, 1 H), 6.33 (s, 2 H), 4.02 (s, 3 H)

2,3,8-Trimethoxyfenanthridin-7-ol (XIIIa)

K suspenzi benzylovaného fenanthridinu **VIIIe** (52 mg; 0,14 mmol) v MeOH (8 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (5 mg) a směs byla intenzivně míchána za atmosférického tlaku vodíku po dobu 4 hodin. Poté byla zfiltrována a odpařena na RVO za vyloučení pevné látky ve výtěžku 28 mg (71 %).

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ (M = 285,29 g/mol)

T_f = 212–215 °C, Rf = 0,2 (DCM/MeOH; 40/1), cihlově červený prášek

MS (APCI m/z): 286,1 [M+H] $^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.88 (br. s., 1 H), 9.40 (s, 1 H), 8.18 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.98 (s, 1 H), 7.64 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.47 (s, 1 H), 4.00 (s, 3 H), 3.95 (s, 3 H), 3.93 (s, 3 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 149.9, 149.3, 145.5, 143.7, 142.7, 138.7, 126.4, 118.0, 117.7, 116.4, 112.8, 109.7, 102.7, 56.9, 55.9, 55.5

3,4,8-Trimethoxyfenanthridin-7-ol (XIIIb)

Báze **XIIIb** byla připravena obdobným způsobem jako báze **XIIIa**. Bylo vycházeno z látky **VIIIg** (20 mg; 0,09 mmol). Po 4 hodinách míchání za atmosférického tlaku vodíku byla reakční směs zfiltrována. Filtrát obsahoval debenzylovaný produkt jak v plně aromatizované, tak i v redukované formě. Z tohoto důvodu byl míchán za přítupu vzduchu dokud nedošlo k úplné oxidaci (cca 2 hodiny). Z filtrátu, který byl přes noc ponechán při teplotě -20 °C, došlo k vyloučení červenooranžových krystalů ve výtěžku 10 mg (66 %).

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ (M = 285,29 g/mol)

T_f = 199–202 °C, červenooranžová krystalická látka

MS (APCI m/z): 285,9 [M+H] $^+$

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 9.88 (s, 1 H), 9.52 (d, J = 0.5 Hz, 1 H), 8.35 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 8.11 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.63 (d, J = 9.1 Hz, 1 H), 7.48 (d, J = 9.3 Hz, 1 H), 3.96 (s, 3 H), 3.95 (s, 6 H)

^{13}C NMR (101MHz, DMSO- d_6) δ = 151.0, 147.9, 144.2, 144.0, 143.1, 138.0, 126.6, 118.6, 118.2, 117.7, 115.8, 114.3, 112.5, 61.2, 56.7, 56.4

2-Methoxy-6-nitrofenol (XVI)

Nitrofenol **XVI** vznikal jako vedlejší produkt při přípravě sloučeniny **IIIa**. Izolace spočívala v přidavku solanky (8 ml) k reakční směsi a extrakci etherem (4x40 ml). Organická fáze byla dále extrahována 10% vodným roztokem NaOH (3x30 ml). Etherická fáze v tuto chvíli obsahovala pouze dimethoxy derivát **IIIa**. Vodná fáze byla zneutralizována 10% AcOH, extrahována EtOAc (3x40 ml), vysušena Na₂SO₄ a zakoncentrována na RVO za vyloučení krystalické látky ve výtěžku 334 mg (30 %).

C₇H₇NO₄ (M = 169,13 g/mol)

T_f = 57–59 °C, rezavě hnědá krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 168,1 [M-H]⁻; 140,1 (intenzivní iont v kladném módu)

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.42 (dd, *J* = 1.6, 8.3 Hz, 1 H), 7.25 (dd, *J* = 1.3, 8.0 Hz, 1 H), 6.89 (t, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 3.86 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 149.7, 143.1, 137.2, 118.1, 116.1, 116.0, 56.5

4-(1,3-Benzodioxol-4-yl-*NNO*-azoxy)-1,3-benzodioxol (XIX)

Azoxid **XIX** byl získán při jedné z redukcí nitroskupiny sloučeniny **IIIb** na anilin **IVd**. Reakce v tomto případě probíhala pomalu a reakční směs byla proto ponechána pod atmosférou vodíku přes noc. Z reakční směsi se již po několika hodinách začala vylučovat zelená sraženina, která byla druhý den společně s katalyzátorem zfiltrována a oranžově zbarvený filtrát byl ponechán přes noc při 5 °C. Z filtrátu vyloučená žlutá sraženina byla druhý den odsáta, promyta malým množstvím ledového MeOH (2 ml) a vysušena. Výtěžek reakce činil 122 mg (13 %).

C₇H₇NO₄ (M = 286,24 g/mol)

T_f = 174–177 °C, žlutá mikrokryalická látka

MS (APCI *m/z*): 287,0 [M+H]⁺; 271,0 [M-16+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7.59 (dd, *J* = 1.3, 8.3 Hz, 1 H), 7.53 (dd, *J* = 1.0, 8.6 Hz, 1 H), 7.19 (dd, *J* = 1.0, 7.8 Hz, 1 H), 7.05 - 6.98 (m, 3 H), 6.93 (t, *J* = 8.3 Hz, 1 H), 6.24 (s, 2 H), 6.12 (s, 2 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 149.7, 148.2, 141.3, 141.2, 131.1, 127.1, 121.7, 121.3, 115.9, 115.9, 111.3, 109.1, 102.7, 101.7

3-Aminobenzen-1,2-diol (XX)⁶⁸

K roztoku diolu **I** (150 mg; 5,03 mmol) v MeOH (7 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (15 mg). Suspenze byla za atmosférického tlaku vodíku míchána přes noc, za inertních podmínek zfiltrována a zahuštěna na RVO. Byla získána kovově šedá krystalická látka ve výtěžku 119 mg (98 %).

C₆H₇NO₂ (M = 125,13 g/mol)

T_t = 154–157 °C, kovově šedá krystalická látka

MS (APCI, *m/z*): 125,9 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8.19 (br. s, 2 H), 6.36 (t, *J* = 8.0 Hz, 1 H), 6.10 (dd, *J* = 1.0, 8.0 Hz, 1 H), 6.07 (dd, *J* = 1.0, 7.8 Hz, 1 H), 4.41 (br. s, 2 H)

¹³C NMR (101MHz, DMSO-*d*₆) δ = 145.4, 137.7, 131.6, 119.2, 106.5, 104.6

N-(2,3-Dimethoxybenzyl)-2,3-dimethoxyanilin (XXXIII)

Debromovaný amin **XXXIII** vznikal při radikálové cyklizaci **VIc** za vzniku **VIIf**. První krystalický podíl, který byl získán přidáním cyklohexanu k odpařené reakční směsi, byl zfiltrován, suspendován a krátce ultrazvukován v MeOH za vyloučení **VIIf**. Po odsátí cyklizátu **VIIf** bylo k filtrátu přidáno malé množství DCM a sloučenina **XXXIII** byla krystalizována přidáním hexanu v podobě bílých krystalů ve výtěžku 24 mg (10 %).

C₁₇H₂₁NO₄ (M = 303,35 g/mol)

T_t = 98–99 °C, bílá krystalická látka

MS (APCI *m/z*): 304,0 [M+H]⁺

¹H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7.02 (t, *J* = 7.8 Hz, 1 H), 6.95 (dd, *J* = 1.0, 7.8 Hz, 1 H), 6.90 (t, *J* = 8.2 Hz, 1 H), 6.86 (dd, *J* = 1.6, 8.0 Hz, 1 H), 6.37 (dd, *J* = 1.3, 8.3 Hz, 1 H), 6.32 (dd, *J* = 1.3, 8.3 Hz, 1 H), 4.75 (t, *J* = 6.0 Hz, 1 H), 4.40 (d, *J* = 6.0 Hz, 2 H), 3.89 (s, 3 H), 3.89 (s, 3 H), 3.85 (s, 3 H), 3.82 (s, 3 H)

¹³C NMR (101MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 152.6, 152.4, 147.0, 142.4, 135.3, 133.2, 124.3, 124.0, 120.7, 111.4, 104.6, 101.2, 60.7, 59.8, 55.7, 55.7, 42.8

6-Ethoxy-2,3,7,8-tetramethoxy-5-methyl-5,6-dihydrofenanthridin (Xa)

K suspenzi NaH (16 mg; 0,68 mmol) v bezvodém EtOH (4 ml) byla přidána suspenze kvartérní soli **IXa** (30 mg; 0,07 mmol) v bezvodém EtOH (3 ml). Po několika minutách

míchání za laboratorní teploty suspenze přešla v nažloutlý roztok. Po 4 hodinách byla reakční směs odpařena a macerována DCM (2x10 ml). Spojené organické fáze byly odpařeny za vyloučení nažloutlého odparku medovité konzistence ve výtěžku 24 mg (98 %). NMR čistota 88 %.

^1H NMR (400MHz, CHLOROFORM-*d*) δ = 7.49 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 7.36 (s, 1 H), 7.04 (d, J = 8.8 Hz, 1 H), 6.44 (s, 1 H), 6.06 (s, 1 H), 3.95 (s, 6 H), 3.92 (s, 3 H), 3.92 (s, 3 H), 3.31 (s, 3 H), 1.04 (t, J = 7.0 Hz, 3 H)

7 SEZNAM ZKRATEK

Ac	Acetyl
AIBN	Azobisisobutyronitril
APCI	Chemická ionizace za atmosférického tlaku
Atm. t.	Atmosférický tlak
BA	Benzo[c]fenanthridinové alkaloidy
Bn	Benzyl
Bu	Butyl
DCM	Dichlormethan
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dikyan-1,4-benzochinon
DMA	Dimethylacetamid
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Et	Ethyl
HMPA	Hexamethylfosforamid
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LAH	Lithium aluminium hydrid
LCMS	Kapalinová chromatografie – hmotnostní spektrometrie
LDA	Lithium diisopropylamid
mCPBA	3-Chlorperoxobenzoová kyselina
Me	Methyl
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
NMO	<i>N</i> -Methylmorfolin- <i>N</i> -oxid
NMP	<i>N</i> -methyl-2-pyrrolidon
NMR	Nukleární magnetická rezonance
Ph	Fenyl

PPTS	Pyridinium 4-methylbenzensulfonát
PTC	Katalyzátor fázového přenosu
pTsOH	4-Methylbenzensulfonová kyselina
QBA	Kvartérní benzo[c]fenanthridinové alkaloidy
Ra-Ni	Raneyův nikl
Rf	Retenční faktor
RT	Pokožová teplota
TEBAC	Benzyltriethylamonium chlorid
TLC	Chromatografie na tenké vrstvě
THF	Tetrahydrofuran
UV	Ultrafialové záření
VIS	Viditelné záření
XPhos	2-Dicyklohexylfosfino-2',4',6'-triisopropylbifenyl

8 ZÁVĚR

Úkolem této práce byla příprava analogů benzo[*c*]fenanthridinových alkaloidů. Princip modifikace těchto sloučenin byl založen na přípravě podobně substituovaných fenanthridinů, které by se od zmíněných alkaloidů lišily absencí benzenového jádra.

Důležitou součástí těchto syntéz byla příprava výchozích anilinů **IVc** a **IVd**, které byly díky své vhodné substituci nezbytné pro syntézu cílových sloučenin (**VIII** – **XIII**), jež by věrně imitovaly strukturu biologicky aktivních benzo[*c*]fenanthridinů. Tyto výchozí látky se přes značné obtíže, nejen díky systematickému přístupu k jednotlivým reakčním krokům, nakonec podařilo připravit. Za podmínek reduktivní aminace byly připraveny redukované Schiffovy báze **VII**, na kterých byly zkoumány rozličné přístupy, jež by teoreticky mohly vést k uzavěru fenanthridinového skeletu. Nakonec se nejvíce osvědčila radikálová cyklizace za účasti AIBN a Bu₃SnH. Bylo zjištěno, že následná oxidace aktivovaným MnO₂ zajistí kvantitativní přechod redukované formy cyklizátu v plně aromatický produkt **VIII**. Takto získané volné báze byly dále modifikovány za vzniku *N*-methyl kvartérních solí **IX** a hydrochloridů **XII**. Za účelem zvýšení rozpustnosti byly z vybraných kvartérních jodidů **IX** výměnou aniontu, která se uskutečnila skrze pseudobázi **X**, připraveny rozpustnější soli **XI**. V průběhu syntézy jsme se náhodně setkali s benzylačními schopnostmi katalyzátoru fázového přenosu TEBAC. Jeho výhoda, oproti běžným benzylačním činidlům, tkví v jeho selektivitě a výlučnému vzniku produktů *O*-benzylace, a to i v přítomnosti neochráněných amino skupin. Tato jeho vlastnost je v této práci popsána vůbec poprvé.

Pečlivou volbou reakčních podmínek se tak nakonec podařilo připravit celkem 41 nových sloučenin, z toho 31 produktů (**VIII** – **XIII**), které můžeme považovat za cílové, jelikož jejich struktury obsahují motiv fenanthridinu. Všechny tyto sloučeniny byly charakterizovány dostupnými fyzikálně chemickými instrumentálními metodami (NMR, MS, teplota tání). U některých byla také provedena elementární analýza.

Všechny nově připravené sloučeniny byly testovány na antibakteriální aktivitu. 21 z nich postoupilo do druhého kola antibakteriálního testování. Byly tak stanoveny jejich hodnoty MIC pro reprezentativní bakteriální kultury *Bacillus subtilis* a *Micrococcus luteus*. Tři z těchto sloučenin (**VIII**f, **IX**e, **IX**f) vykazovaly proti *Micrococcus luteus* v porovnání se standardem (ciprofloxacin) srovnatelnou hodnotu MIC. Sloučenina **IX**g byla v tomto ohledu dokonce lepší než standard a proti *Micrococcus luteus* byla účinná již v nanomolární

koncentraci. Tyto struktury se tak nabízejí pro studium SARs a případné další modifikace za účelem zvýšení jejich biologické aktivity. Kromě antibakteriální aktivity byly sloučeniny testovány na cytostatickou aktivitu na řadě nádorových linií, avšak výsledky těchto testů ještě nejsou k dispozici. V rámci testování biologické aktivity bude také studována interkalace připravených sloučenin do DNA, která je pro benzo[*c*]fenanthridinové alkaloidy známá.

Kromě nadějně antibakteriální aktivity byly u některých sloučenin zaznamenány zajímavé fluorescenční vlastnosti, které budou postoupeny detailnímu spektrofotometrickému měření.

9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

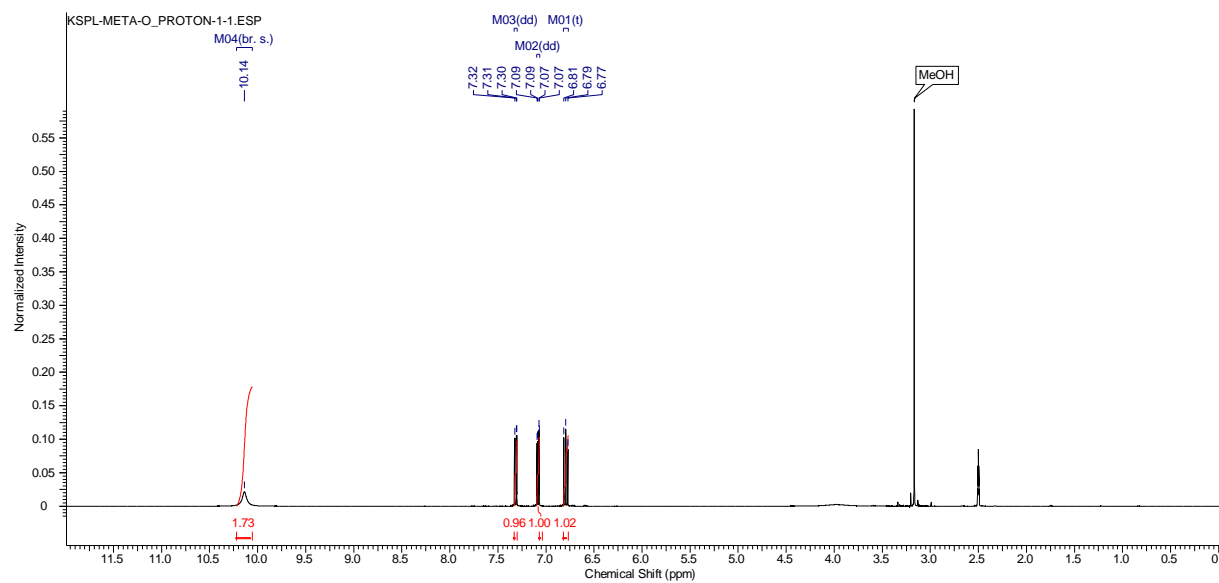
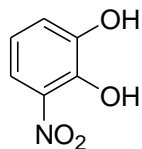
- (1) Šimánek, V. *The alkaloids* **1985**, 26, 185–239.
- (2) Slaninová, I.; Pěňčíková, K.; Urbanová, J.; Slanina, J.; Tábořská, E. *Phytochem. Rev.* **2014**, 13, 51–68.
- (3) Kanzawa, F.; Nishio, K.; Ishida, T.; Fukuda, M.; Kurokawa, H.; Fukumoto, H.; Nomoto, Y.; Fukuoka, K.; Bojanowski, K.; Saijo, N. *Br. J. Cancer* **1997**, 76, 571–81.
- (4) De, S.; Mishra, S.; Kakde, B. N.; Dey, D.; Bisai, A. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 7823–44.
- (5) Arayama, T. H.; Kiyama, T. A.; Akano, Y. N.; Ishioka, H. N.; Be, H. A. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, 50, 519–22.
- (6) Takeda, S.; Abe, H.; Takeuchi, Y.; Harayama, T. *Tetrahedron* **2007**, 63, 396–408.
- (7) Linsenmeier, A. M.; Williams, C. M.; Bräse, S. *European J. Org. Chem.* **2013**, 2013, 3847–56.
- (8) Stýskala, J.; Hlaváč, J.; Cankař, P. *Tetrahedron* **2013**, 69, 4670–8.
- (9) Tatton, M. R.; Simpson, I.; Donohoe, T. J. *Chem. Commun.* **2014**, 50, 11314–16.
- (10) Kerry, M. A.; Duval, O.; Waigh, R. D.; Mackay, S. P. *J. Pharm. Pharmacol.* **1998**, 50, 1307–15.
- (11) Nakanishi, T.; Suzuki, M.; Mashiba, A.; Ishikawa, K. *J. Org. Chem.* **1998**, 3263, 4235–39.
- (12) Dostál, J.; Potáček, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1990**, 55, 2840–73.
- (13) Schmeller, T.; Latz-Brüning, B.; Wink, M. *Phytochemistry* **1997**, 44, 257–66.
- (14) Dostál, J.; Slavík, J. *Chem. List.* **2000**, 94, 15–20.
- (15) Thorne, E. M.; Boulware, R. T.; Harkrader, R. J.; Southard, G. L. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1986**, 37, 279–86.
- (16) Tinland, B.; Bernard. *Tetrahedron* **1969**, 25, 583–90.
- (17) Labriola, R. A.; Kuck, A. M.; Comin, J. *An. Asoc. Quim. Argent.* **1966**, 54, 29–36.
- (18) Bunting, J. W. *Heterocycl. Chem.* **1979**, 25, 1–85.
- (19) Šimánek, V.; Preininger, V. *Heterocycles* **1977**, 6, 475–97.
- (20) Walterová, D.; Preininger, V.; Grambal, F.; Šimánek, V.; Šantavý, F. *Heterocycles* **1980**, 14, 597–600.
- (21) Nakanishi, T.; Suzuki, M. *J. Nat. Prod.* **1998**, 61, 1263–7.
- (22) Arthur, H. R.; Hui, W. H.; Ng, Y. L. *J. Chem. Soc.* **1959**, 1840–5.
- (23) Haisová, K.; Slavík, J.; Dolejš, L. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **1973**, 38, 3312–20.
- (24) Tin-Wa, M.; Bell, C. L.; Bevelle, C.; Fong, H. H. S.; Farnsworth, N. R. *J. Pharm. Sci.* **1974**, 63, 1476–7.
- (25) Scheuer, P. J.; Chang, M. Y.; Swanholm, C. E. *J. Org. Chem.* **1962**, 27, 1472–3.
- (26) Simeon, S.; Rios, J. L.; Villar, A. *Pharmazie* **1989**, 44, 593–7.
- (27) Olugbade, T. A.; Waigh, R. D. *Pharm. Sci.* **1996**, 2, 259–64.

- (28) Caolo, M. A.; Stermitz, F. R. *Heterocycles* **1979**, *12*, 11–5.
- (29) Shaw, K.; Zhang, M. US7531550 B2, 2009.
- (30) Lenfeld, J.; Kroutil, M.; Maršálek, E.; Slavík, J.; Preininger, V.; Šimánek, V. *Planta Med.* **1981**, *43*, 161–5.
- (31) Tolkachev, O. N.; Vichkanova, S. A. *Farmatsiya (Moscow, Russ. Fed.* **1978**, *27*, 38–41.
- (32) Hejtmánková, N.; Walterová, D.; Preininger, V.; Šimánek, V. *Fitoterapia* **1984**, *55*, 291–4.
- (33) Adgina, V. V.; Vichkanova, S. A.; Lasskaya, O. E. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal* **1976**, *10*, 64–7.
- (34) Ulrichová, J.; Walterová, D.; Vavrečková, C.; Kamarád, V.; Šimánek, V. *Phyther. Res.* **1996**, *10*, 220–3.
- (35) Southard, G. L.; Boulware, R. T.; Walborn, D. R.; Groznik, W. J.; Thorne, E. E.; Yankell, S. L. *J. Am. Dent. Assoc.* **1984**, *108*, 338–41.
- (36) Zdařilová, A.; Vrublová, E.; Vostálová, J.; Klejdus, B.; Stejskal, D.; Prosková, J.; Kosina, P.; Svobodová, A.; Večera, R.; Hrbáč, J.; Černochová, D.; Vicar, J.; Ulrichová, J.; Šimánek, V. *Food Chem. Toxicol.* **2008**, *46*, 3721–6.
- (37) Nakanishi, T.; Suzuki, M. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 985–8.
- (38) Nakanishi, T.; Suzuki, M.; Saimoto, A.; Kabasawa, T. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 864–7.
- (39) Stýskala, J.; Cankař, P.; Sural, M.; Hlaváč, J.; Hradil, P.; Vičar, J.; Šimánek, V. *Heterocycles* **2007**, *73*, 769–75.
- (40) Lv, P.; Huang, K.; Xie, L.; Xu, X. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 3133–5.
- (41) Blanchot, M.; Candito, D. A.; Larnaud, F.; Lautens, M. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1486–9.
- (42) Ishihara, Y.; Azuma, S.; Choshi, T.; Kohno, K.; Ono, K.; Tsutsumi, H.; Ishizu, T.; Hibino, S. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 1320–33.
- (43) Kohno, K.; Azuma, S.; Choshi, T.; Nobuhiro, J.; Hibino, S. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 590–2.
- (44) Dyke, S. F.; Moon, B. J.; Sainsbury, M. *Tetrahedron Lett.* **1968**, *36*, 3933–4.
- (45) Hanaoka, M.; Yoshida, S.; Annen, M.; Mukai, C. *Chem. Lett.* **1986**, 739–42.
- (46) Gupta, Y. P.; Balakrishnan, P.; Sawal, K. K.; Mohammad, T.; Dutt, M. *J. Org. Chem.* **1988**, 1708–13.
- (47) Kociánová, E.; Stýskala, J. Syntéza isodecarinu, studium struktury v závislosti na pH a jeho inkorporace do cyklodextrinů, 2015.
- (48) Pilgrim, B. S.; Gatland, A. E.; Mcternan, C. T.; Procopiou, P. A.; Donohoe, T. J. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2–5.
- (49) Bamberger; Czerkis. *J. fuer Prakt. Chemie* **1903**, *68*, 480–5.
- (50) Omura, K.; Matsuura, T. *Tetrahedron* **1970**, *26*, 255–66.
- (51) Verma, S.; Pandita, S.; Jain, S. L. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55*, 1320–22.
- (52) Lalitha, a.; Sivakumar, K. *Synth. Commun.* **2008**, *38*, 1745–52.
- (53) XIAO, D.; Cheng, L. WO2012/92880 A1, 2012.

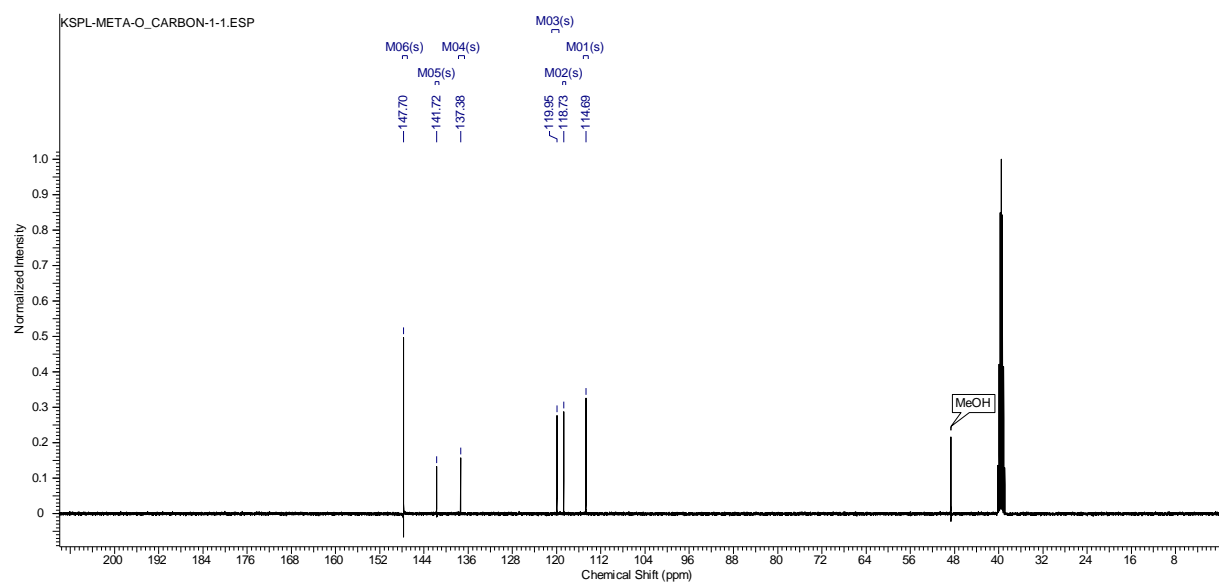
- (54) Cambie, R. C.; Clark, G. R.; Coombe, S. L.; Coulson, S. A.; Rutledge, P. S.; Woodgate, P. D. *J. Organomet. Chem.* **1996**, *507*, 1–21.
- (55) Palumbo, A.; Napolitano, A.; D'Ischia, M. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 13–6.
- (56) Weselsky; Benedikt. *Monatshefte fuer Chemie* **1882**, *3*, 386–93.
- (57) Bashall, A. P.; Collins, J. F. *Tetrahedron Lett.* **1975**, *40*, 3489–90.
- (58) Starks, C. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93*, 195.
- (59) Bonthron, W.; Cornforth, J. *J. Chem. Soc.* **1969**, 1202–4.
- (60) McKillop, A.; Fiaud, J.; Hug, R. P. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 1379–82.
- (61) Cousin, H. *Ann. Chim.* **1898**, *1*, 497.
- (62) Vermeulen, H. *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* **1906**, *25*, 12–31.
- (63) Takakis, J.; Hadjimihalakis, P. *J. Heterocycl. Chem.* **1991**, *28*, 625–34.
- (64) Meisels, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 6328–33.
- (65) Orús, L.; Pérez-Silanes, S.; Oficialdegui, A.-M.; Martínez-Esparza, J.; Del Castillo, J.-C.; Mourelle, M.; Langer, T.; Guccione, S.; Donzella, G.; Krovat, E. M.; Poptodorov, K.; Lasheras, B.; Ballaz, S.; Hervías, I.; Tordera, R.; Del Río, J.; Monge, A. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4128–39.
- (66) Vermeulen. *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* **1929**, *48*, 970.
- (67) Chien, S. L.; Adams, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1934**, *56*, 1787–92.
- (68) Teruo, O.; Hiroshi, K. US6083961 A1, 2000.
- (69) Majumdar, K.; Taher, A.; Debnath, P. *Synthesis (Stuttg)*. **2009**, *5*, 793–800.
- (70) Harayama, T.; Akiyama, T. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. **1996**, *44*, 1634–6.
- (71) Campeau, L. C.; Parisien, M.; Leblanc, M.; Fagnou, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9186–7.
- (72) Ohrai, K.; Kondo, K.; Sodeoka, M.; Shibasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 11737–48.
- (73) Ackermann, L. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1315–45.
- (74) Maras, N.; Polanc, S.; Kocevar, M. *Acta Chim. Slov.* **2010**, *57*, 29–36.
- (75) Balint, E.; Greiner, I.; Keglevich, G. *Lett. Org. Chem.* **2011**, *8*, 22–7.
- (76) Liu, J.; Song, W.; Yue, Y.; Liu, R.; Yi, H.; Zhuo, K.; Lei, A. *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 17576–79.
- (77) Dewanji, A.; Murarka, S.; Curran, D. P.; Studer, A. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 6102–6105.
- (78) Thomson, P. F.; Parrish, D.; Pradhan, P.; Lakshman, M. K. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7435–46.
- (79) Carpino, L. A. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 3971–3972.
- (80) Slaninová, I.; Slanina, J.; Táborská, E. *Chem. List.* **2008**, *102*, 427–33.
- (81) Motyka, K.; Stýskala, J.; Cankař, P. *J. Fluoresc.* **2014**, *24*, 1177–82.

10 PŘÍLOHY

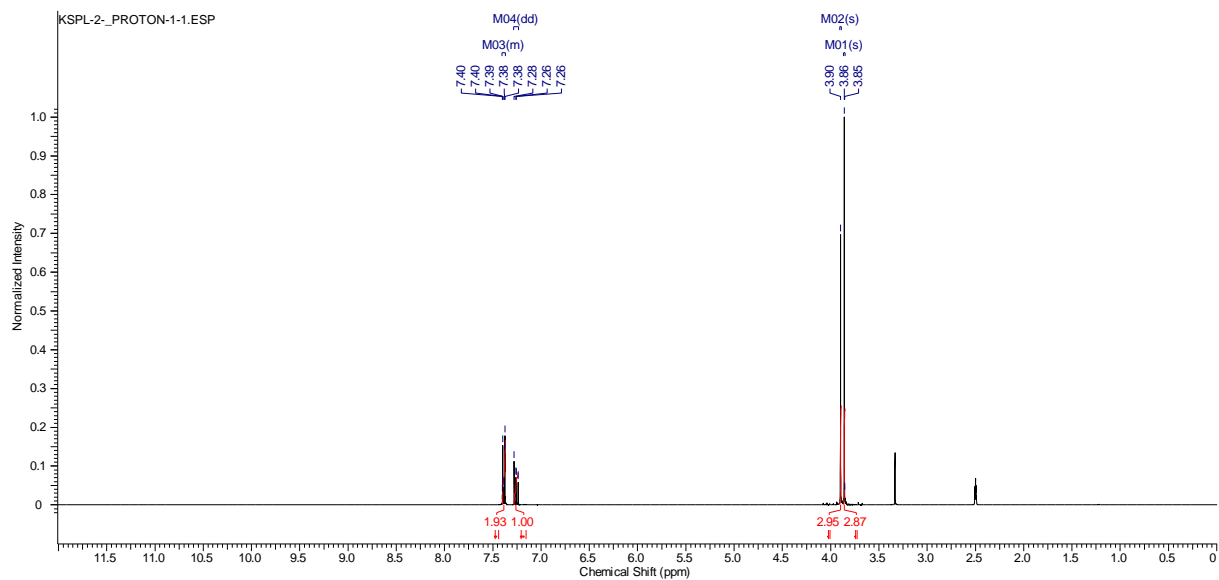
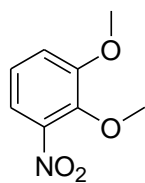
¹H NMR spektrum sloučeniny II



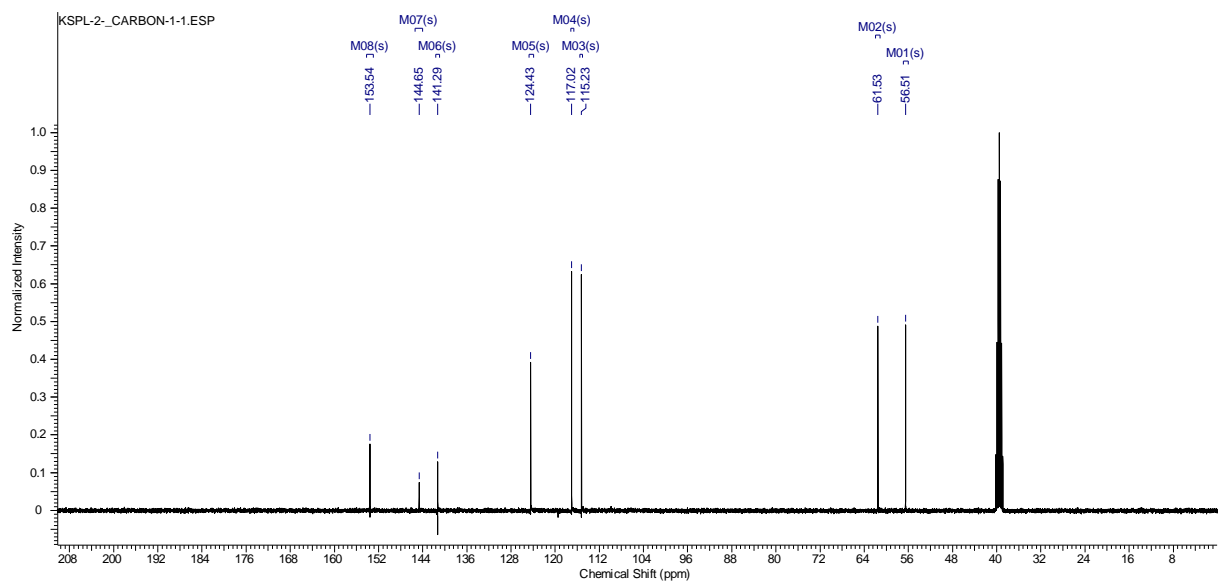
¹³C NMR spektrum sloučeniny II



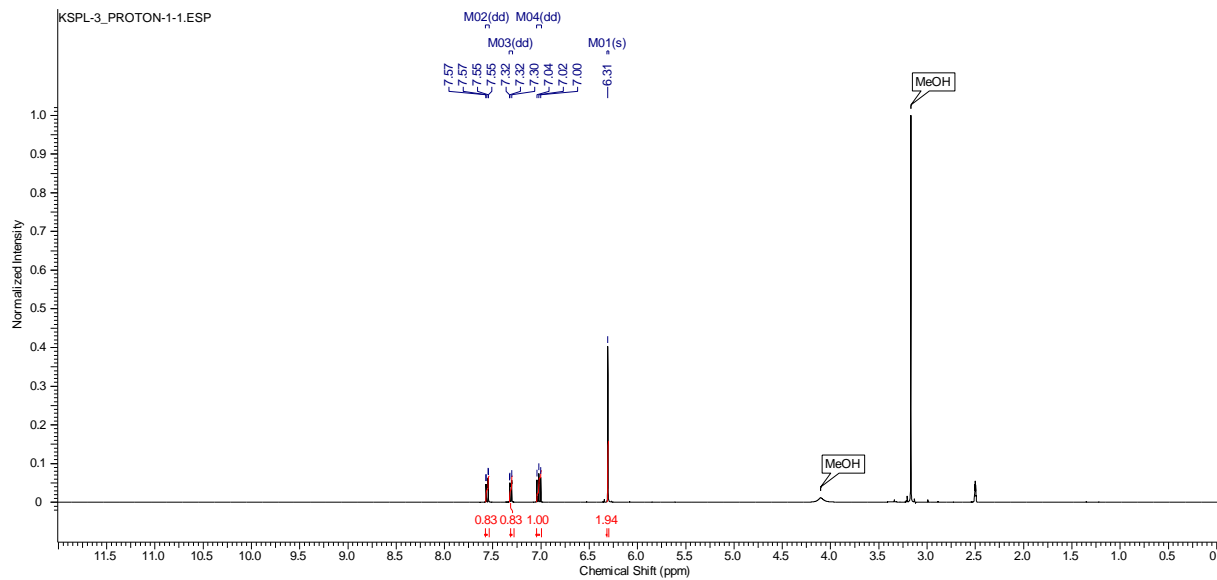
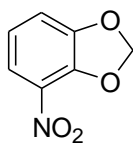
^1H NMR spektrum sloučeniny **IIIa**



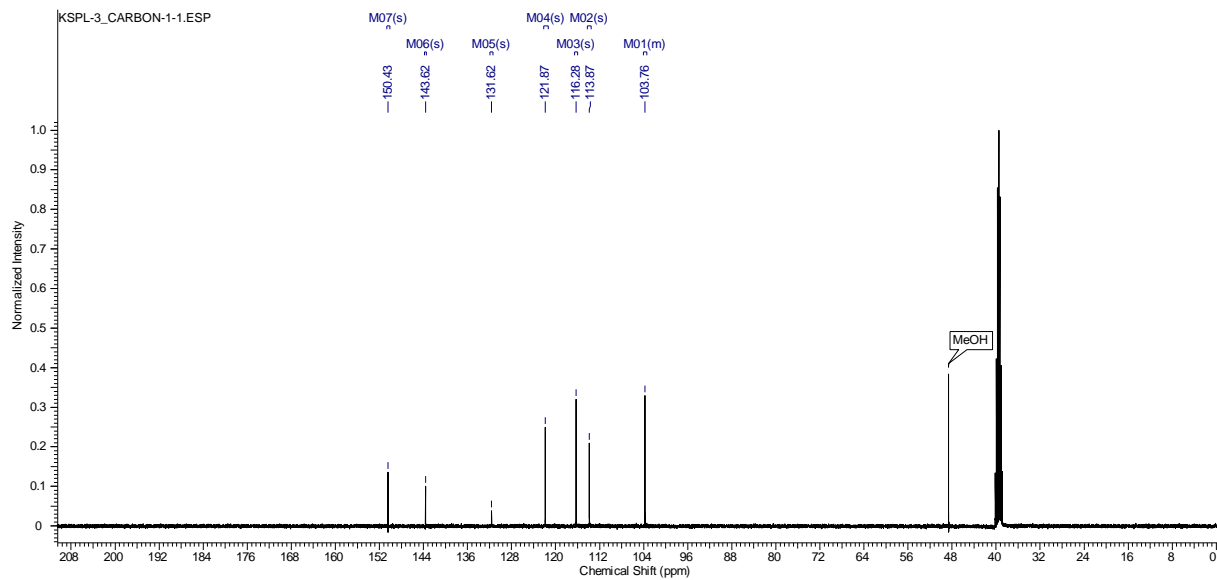
^{13}C NMR spektrum sloučeniny **IIIa**



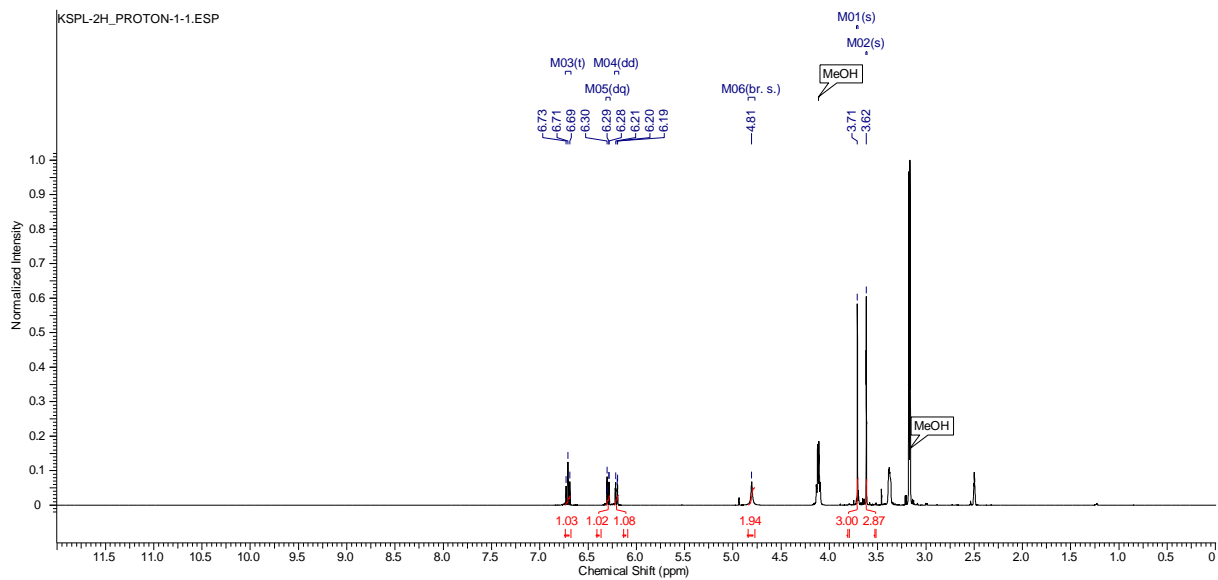
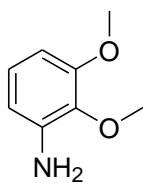
¹H NMR spektrum sloučeniny **IIIb**



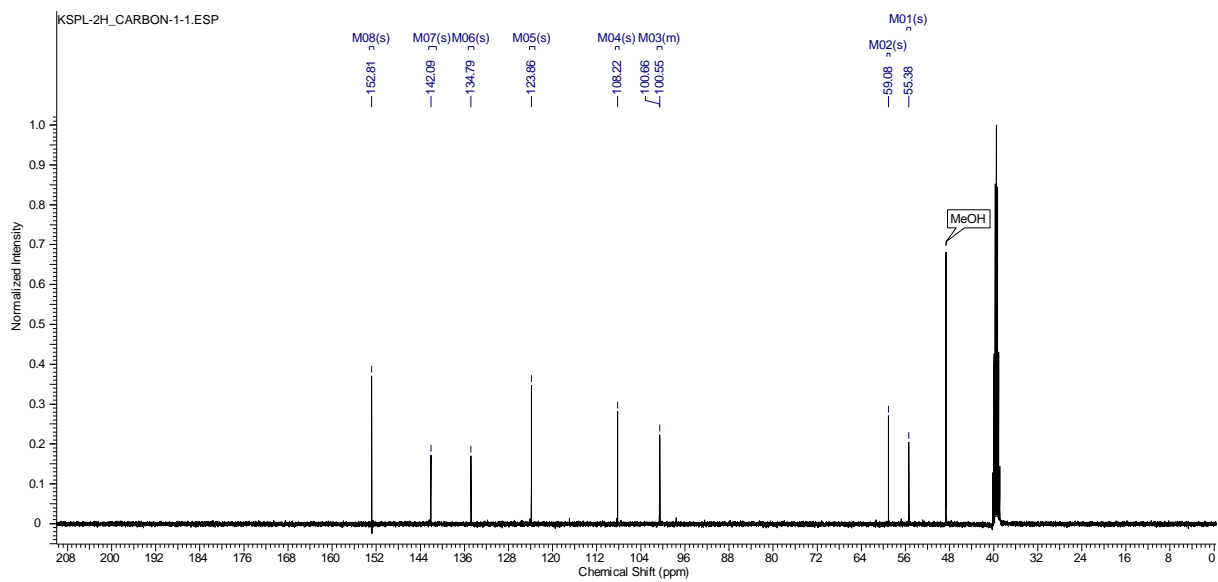
¹³C NMR spectrum sloučeniny **IIIb**



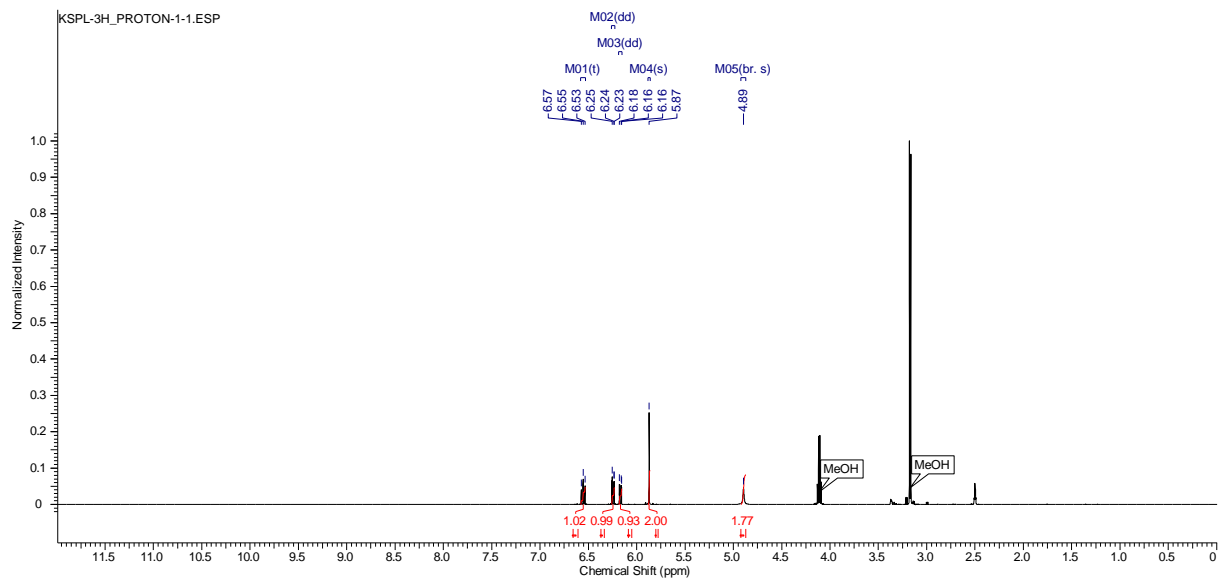
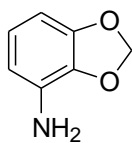
¹H NMR spektrum sloučeniny IVc



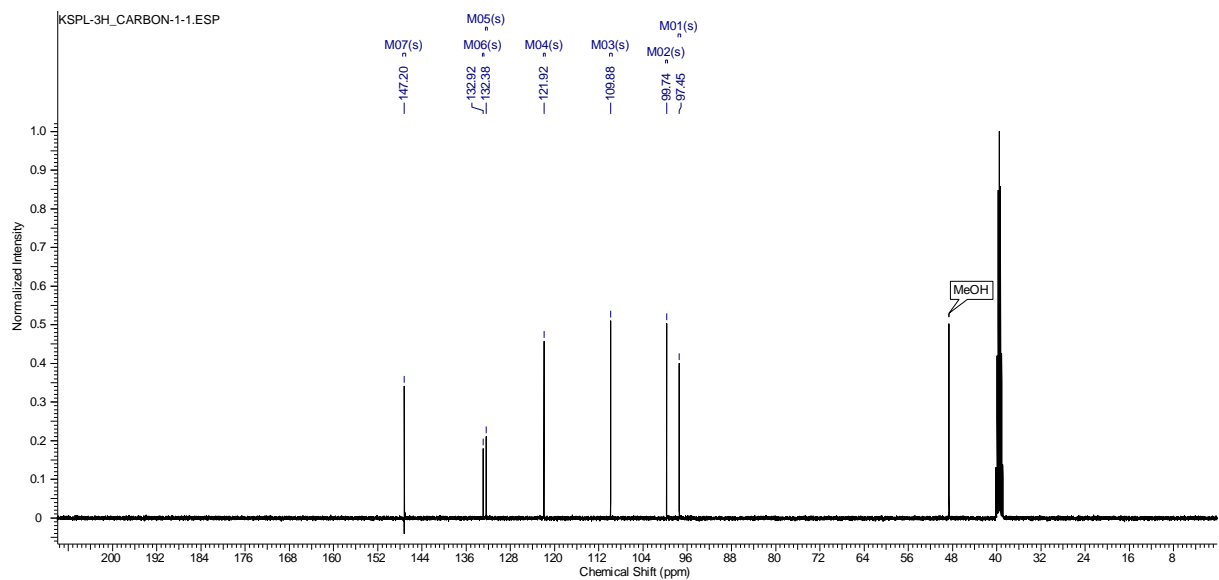
¹³C NMR spektrum sloučeniny IVc



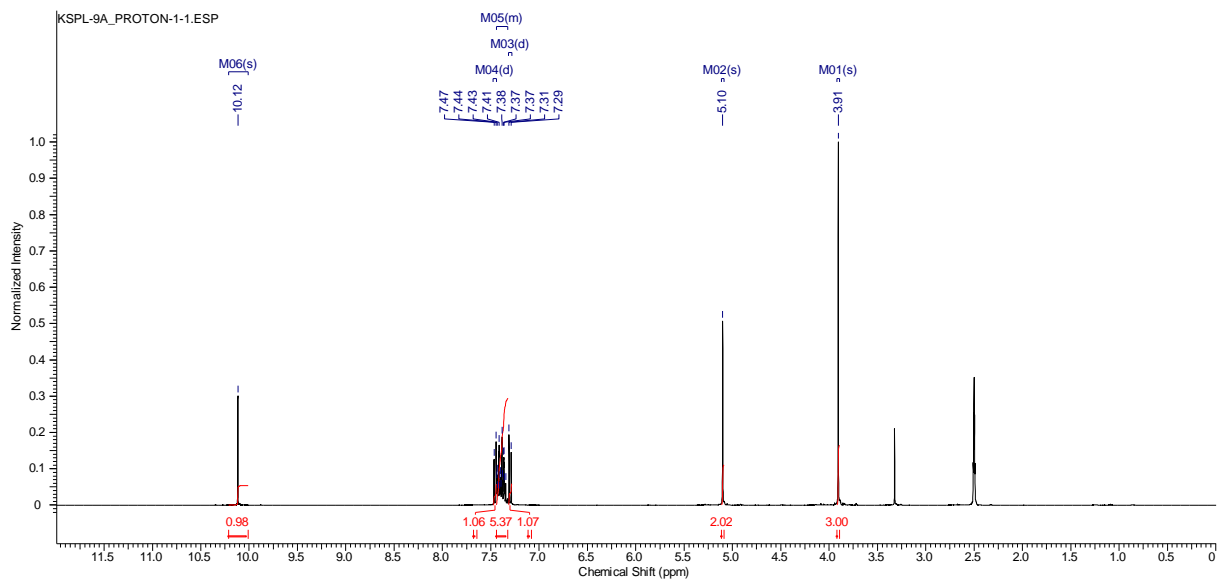
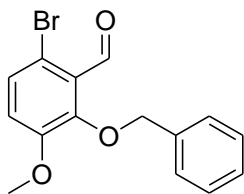
¹H NMR spektrum sloučeniny IVd



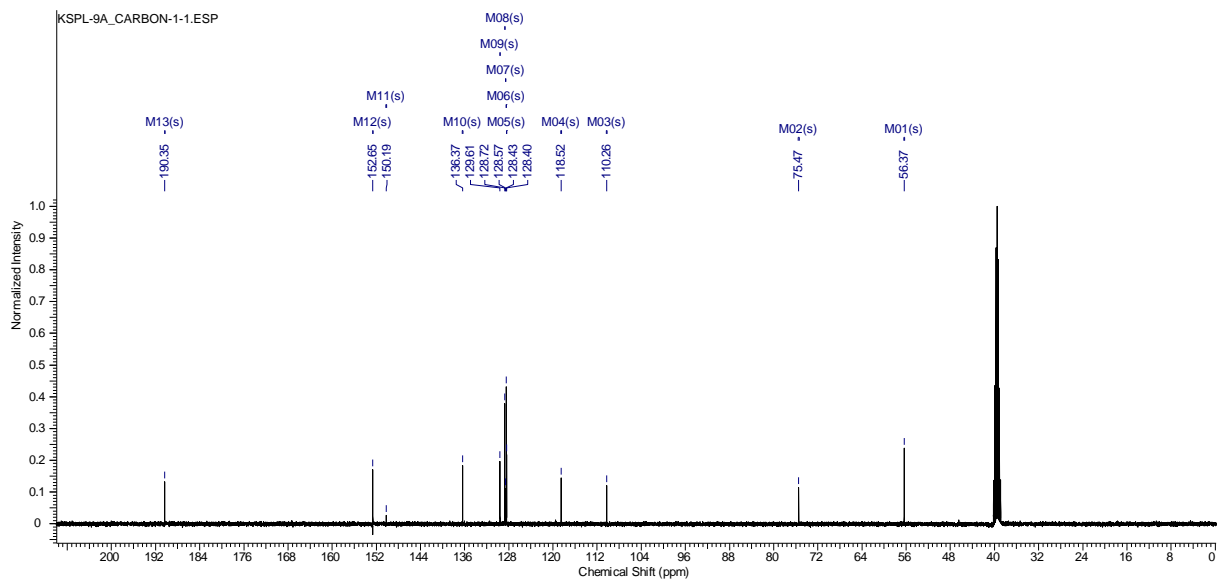
¹³C NMR spectrum sloučeniny IVd



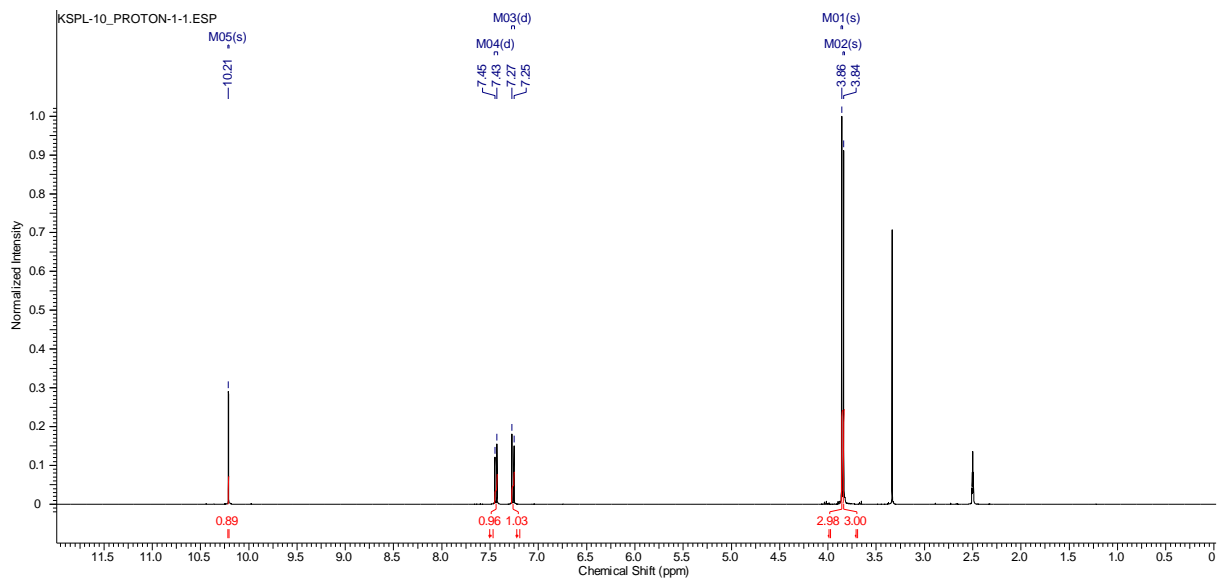
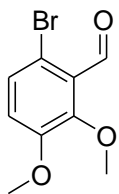
¹H NMR spektrum sloučeniny Vb



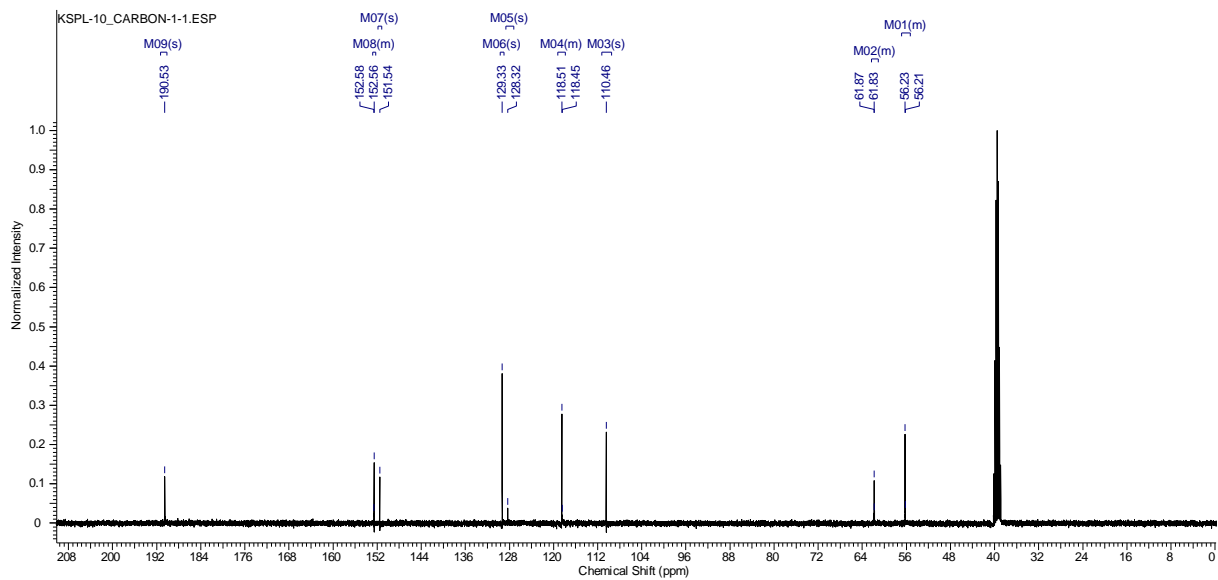
¹³C NMR spektrum sloučeniny Vb



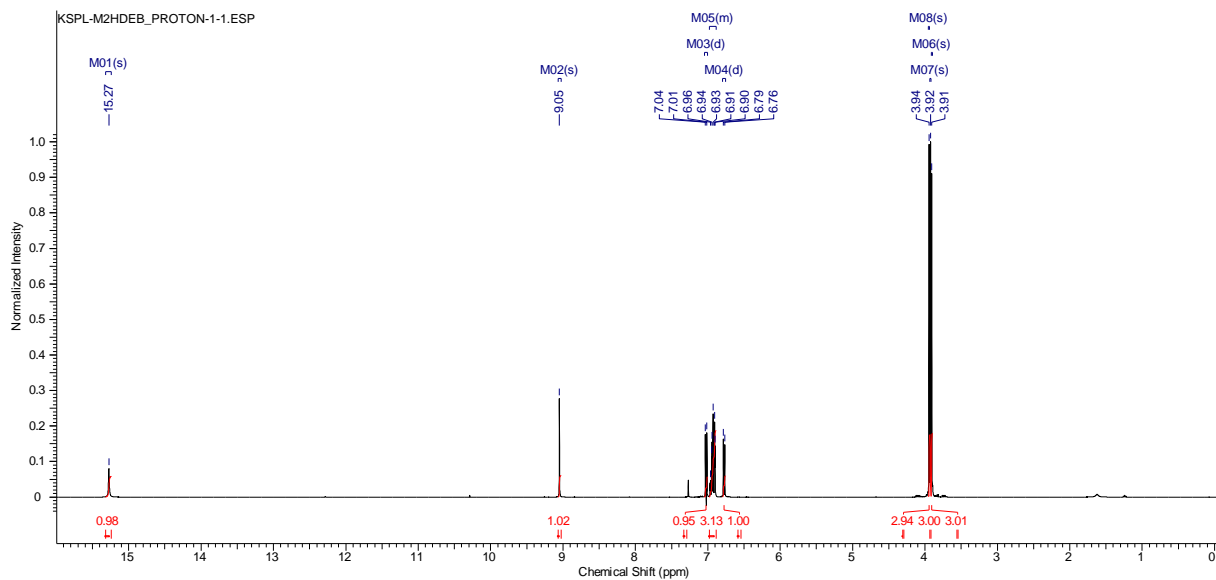
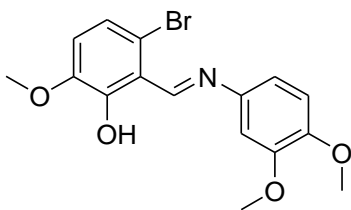
^1H NMR spektrum sloučeniny Vc



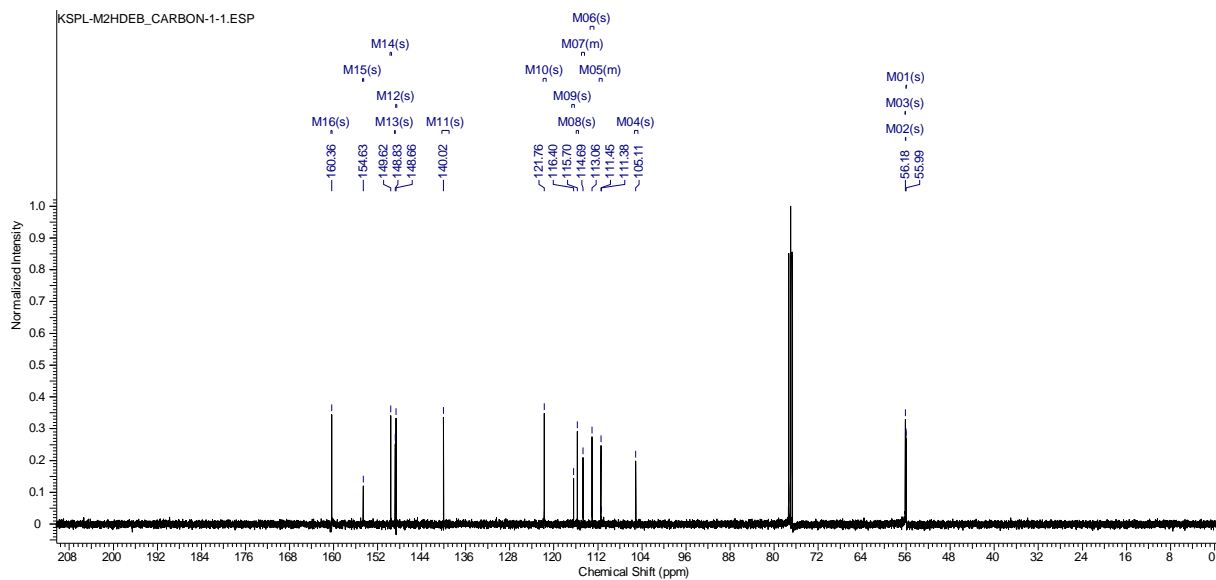
^{13}C NMR spektrum sloučeniny Vc



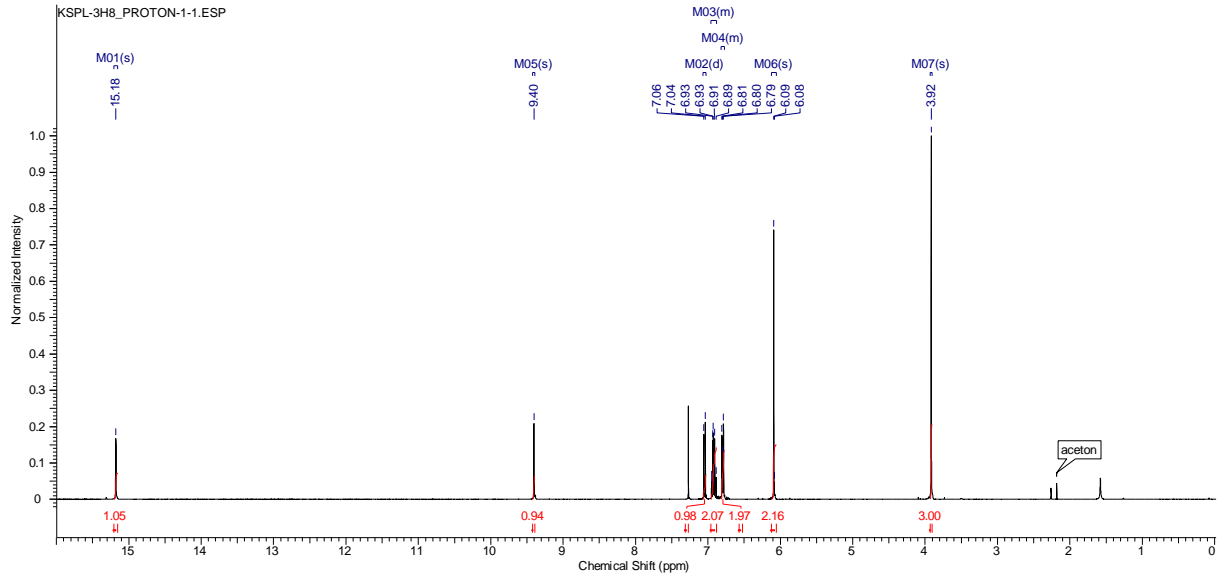
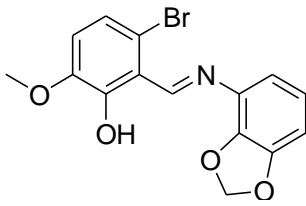
¹H NMR spektrum sloučeniny VIa



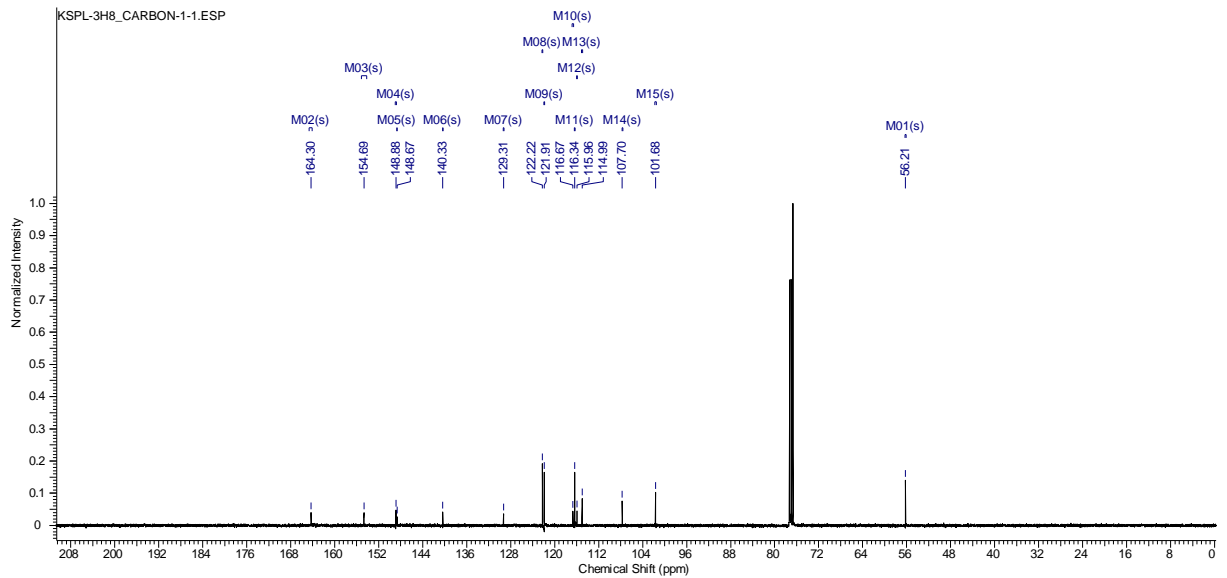
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIa



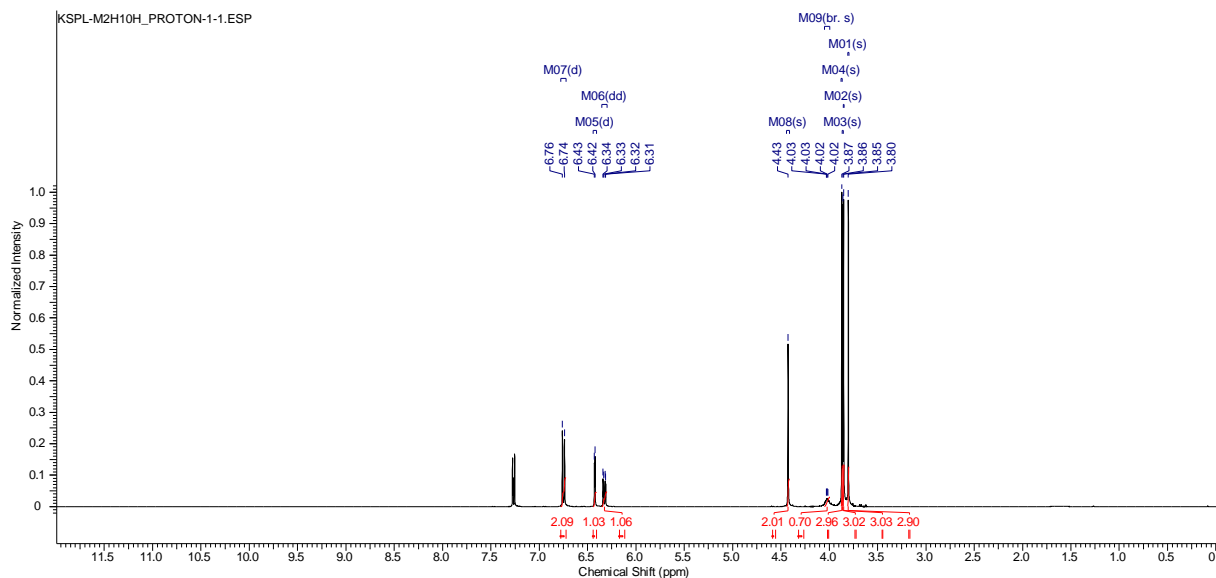
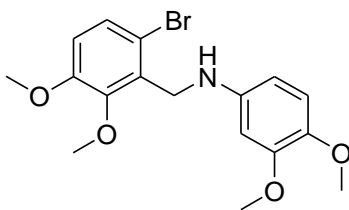
¹H NMR spektrum sloučeniny **VIb**



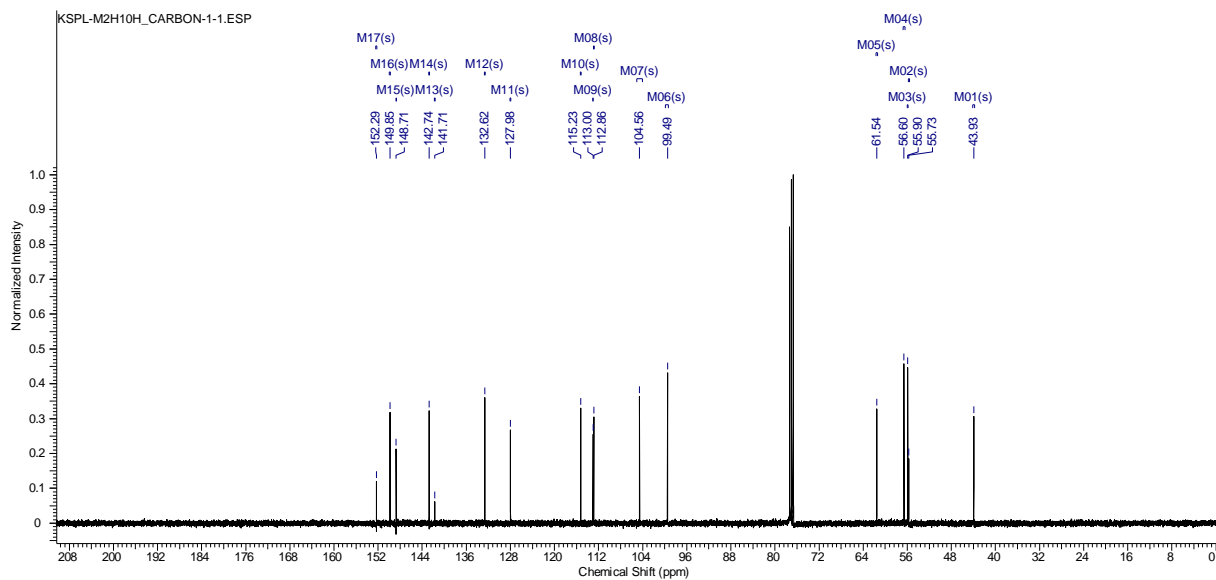
¹³C NMR spektrum sloučeniny **VIb**



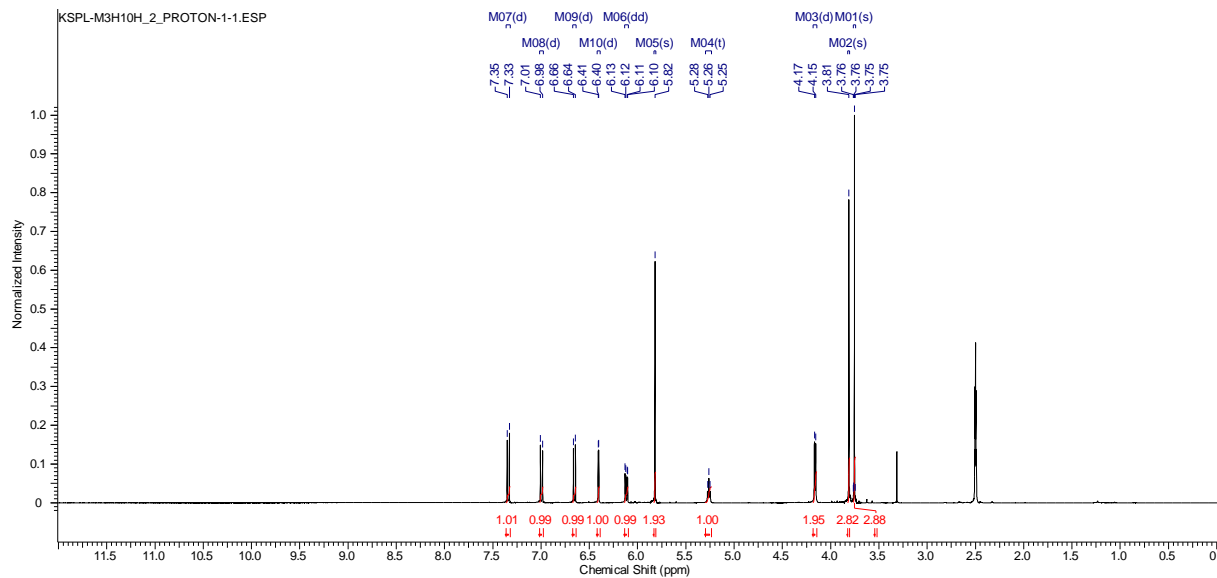
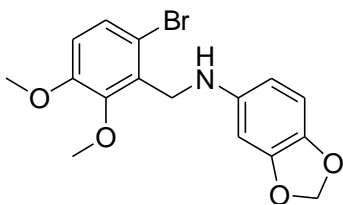
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIa



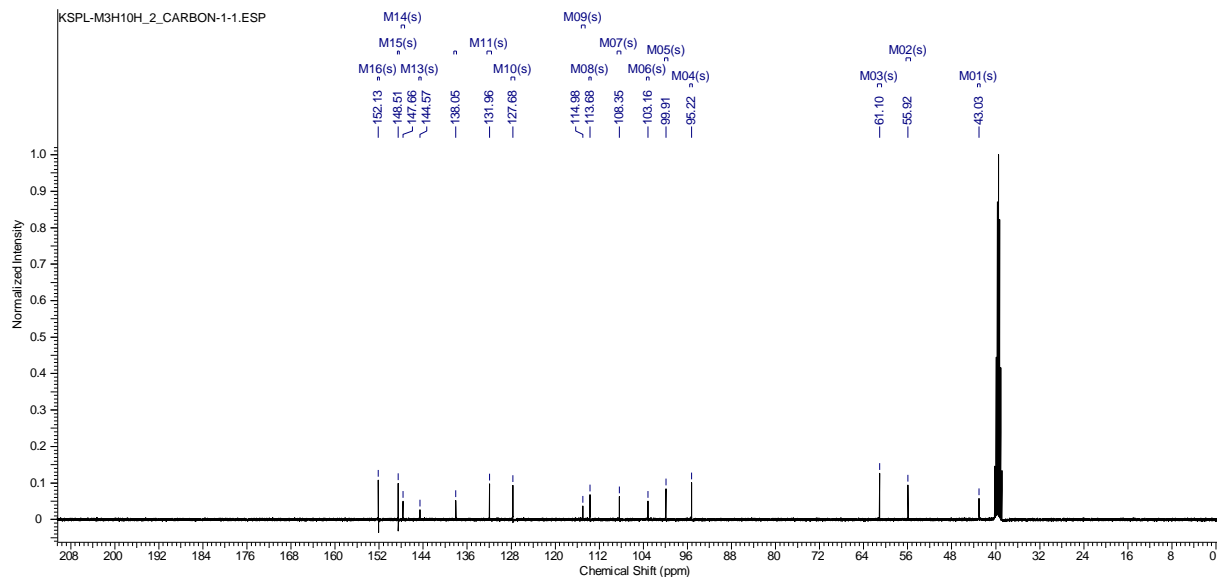
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIa



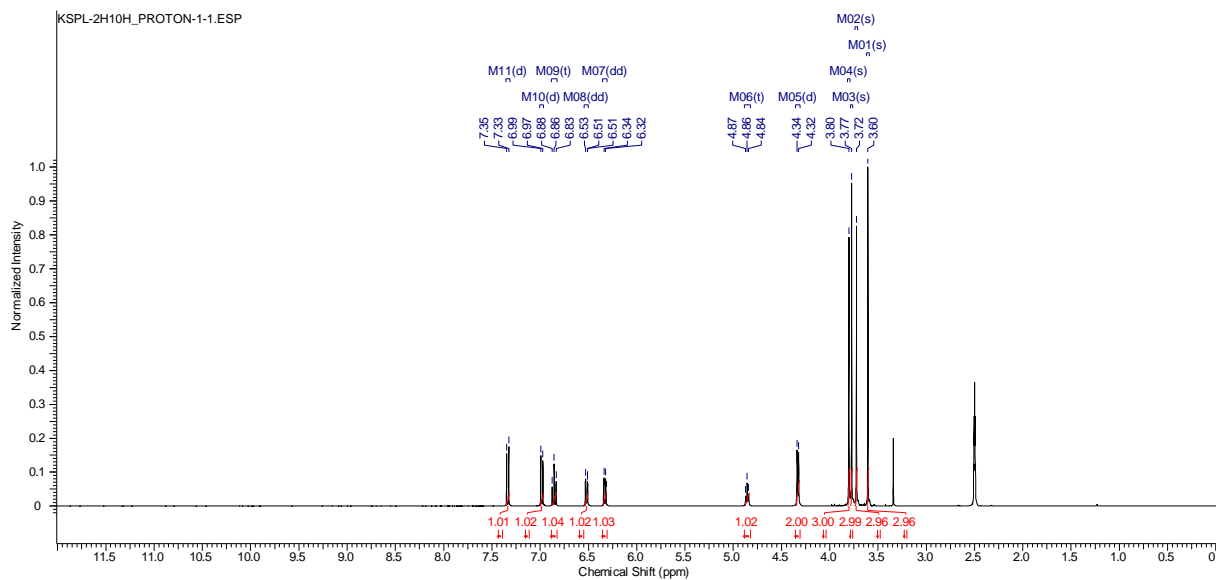
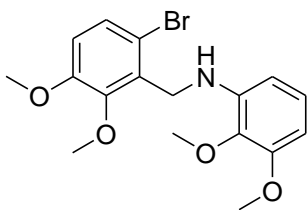
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIb



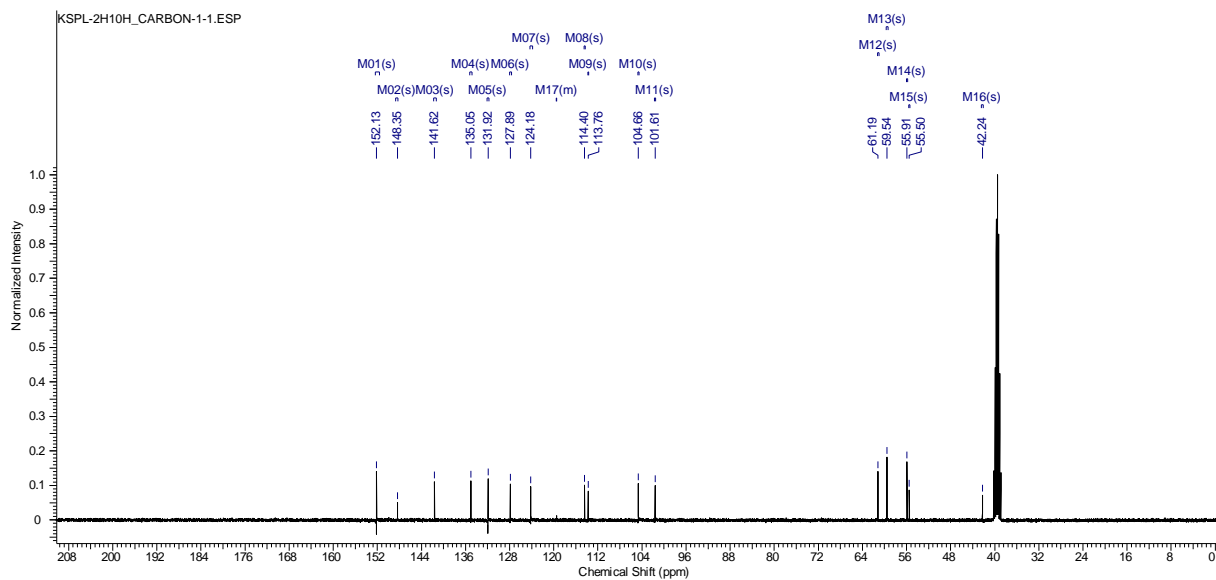
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIb



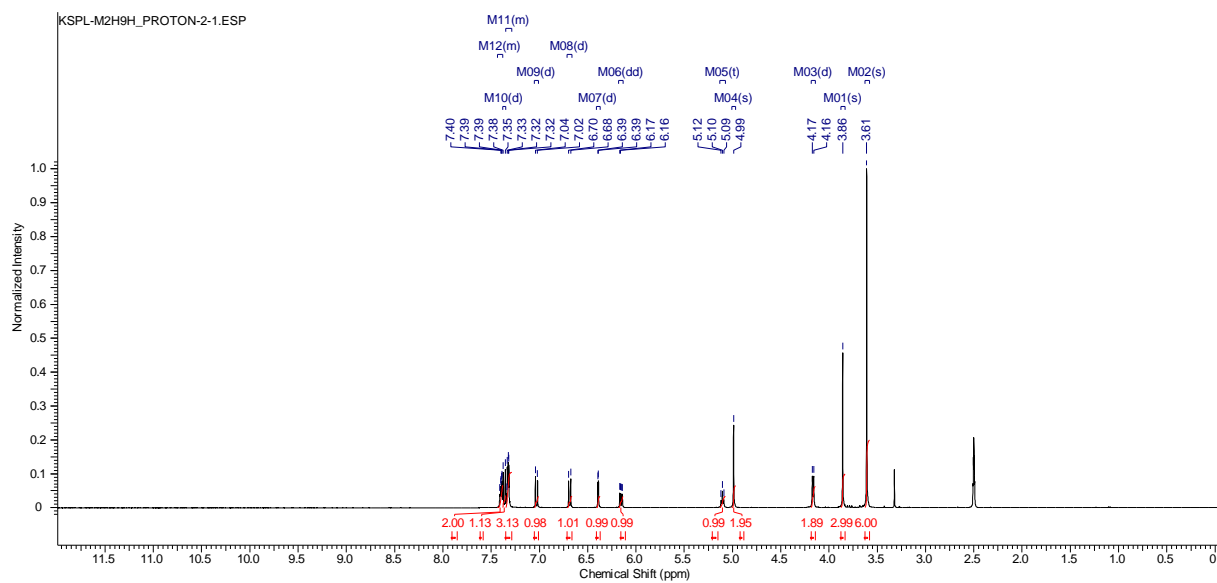
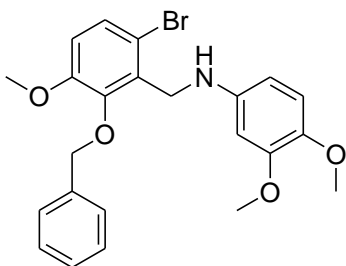
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIc



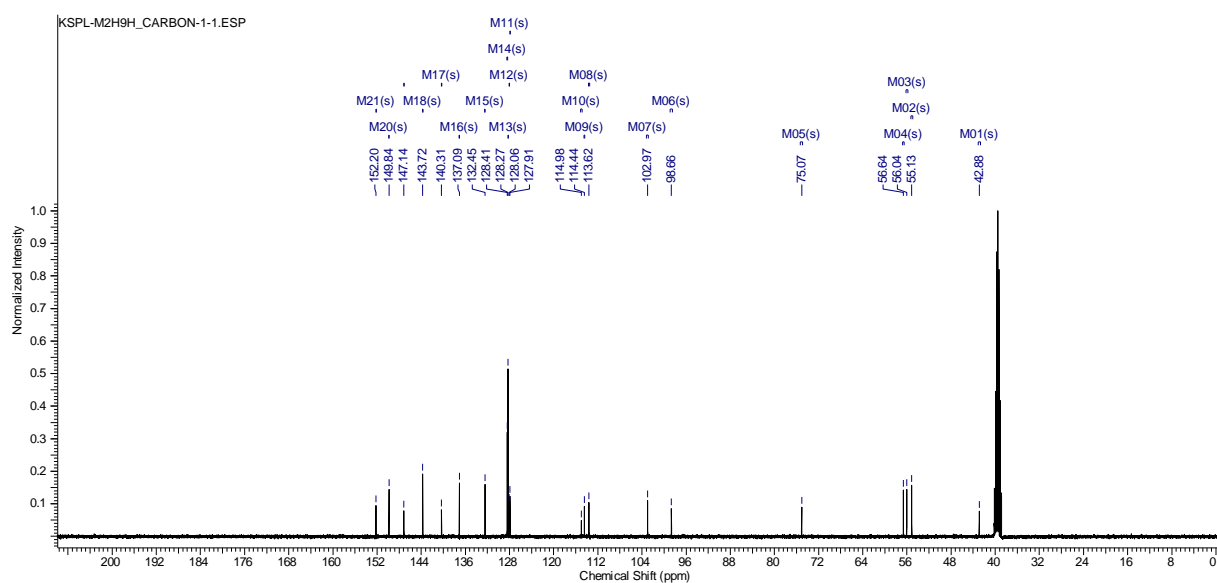
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIc



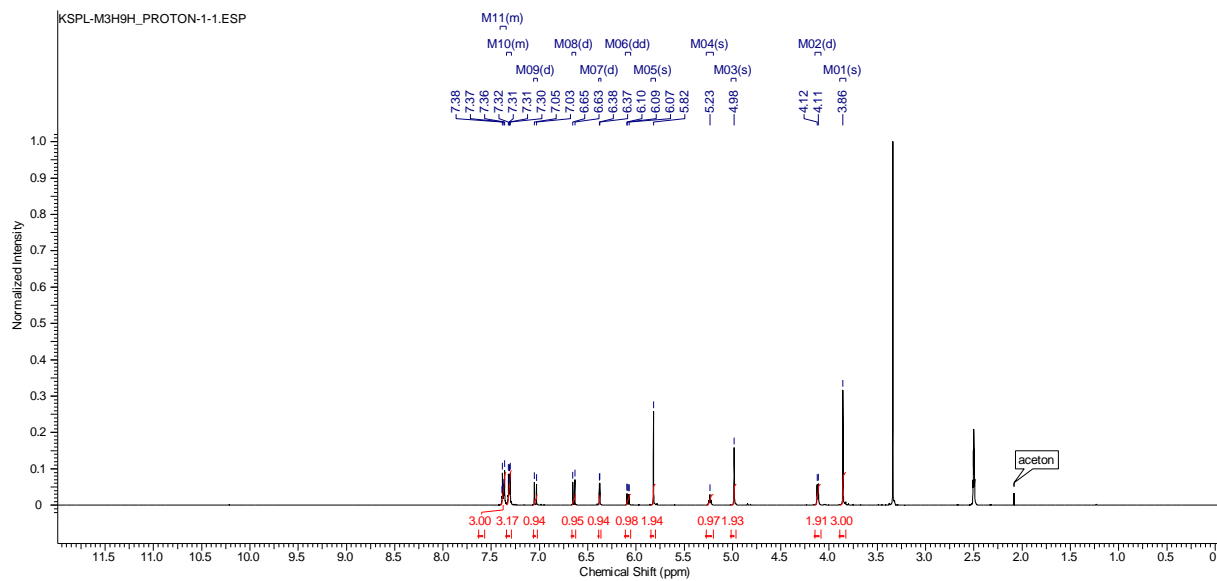
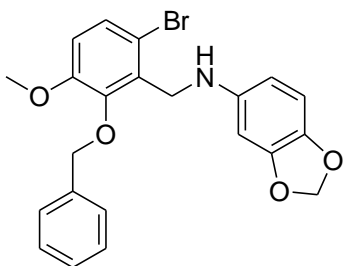
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIe



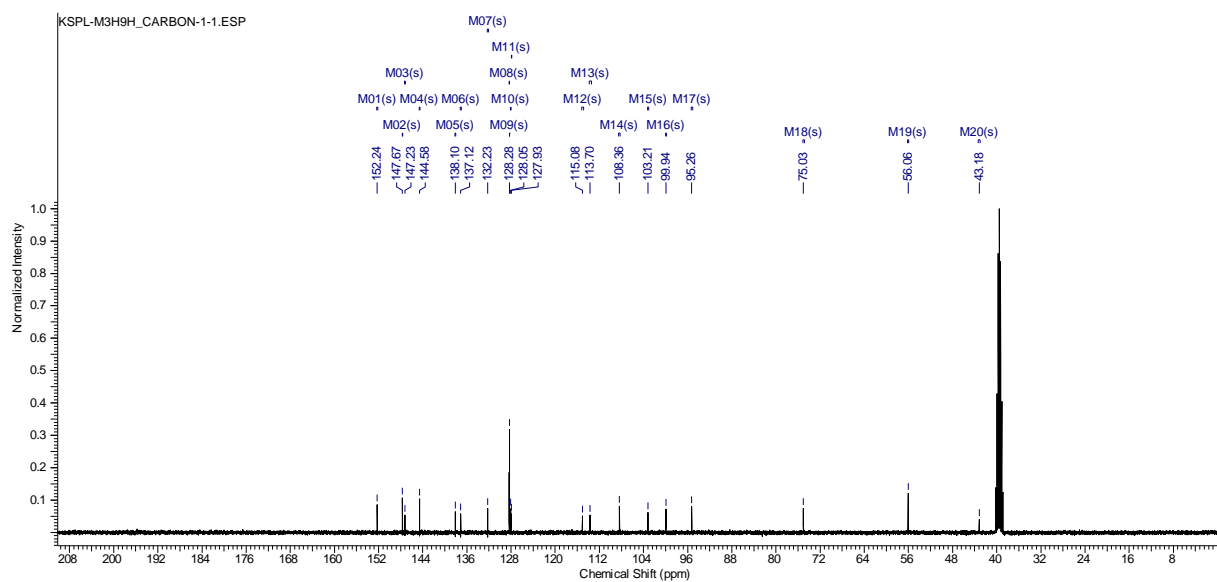
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIe



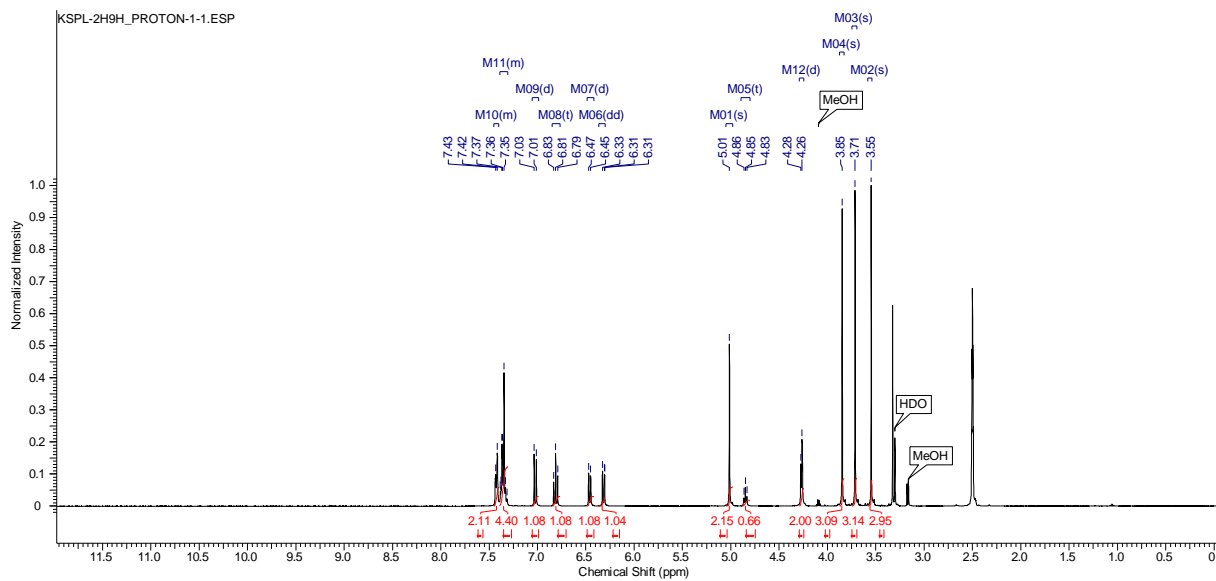
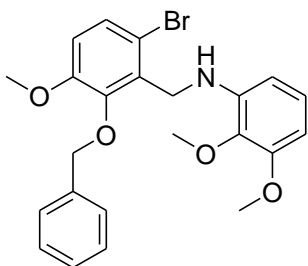
¹H NMR spektrum sloučeniny **VIIIf**



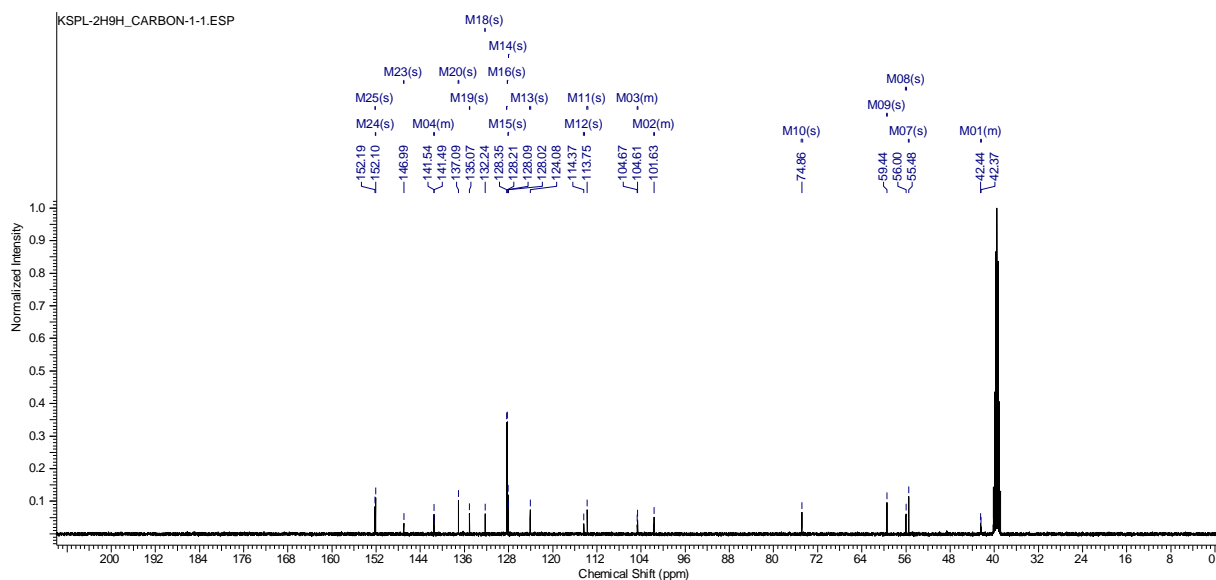
¹³C NMR spektrum sloučeniny **VIIIf**



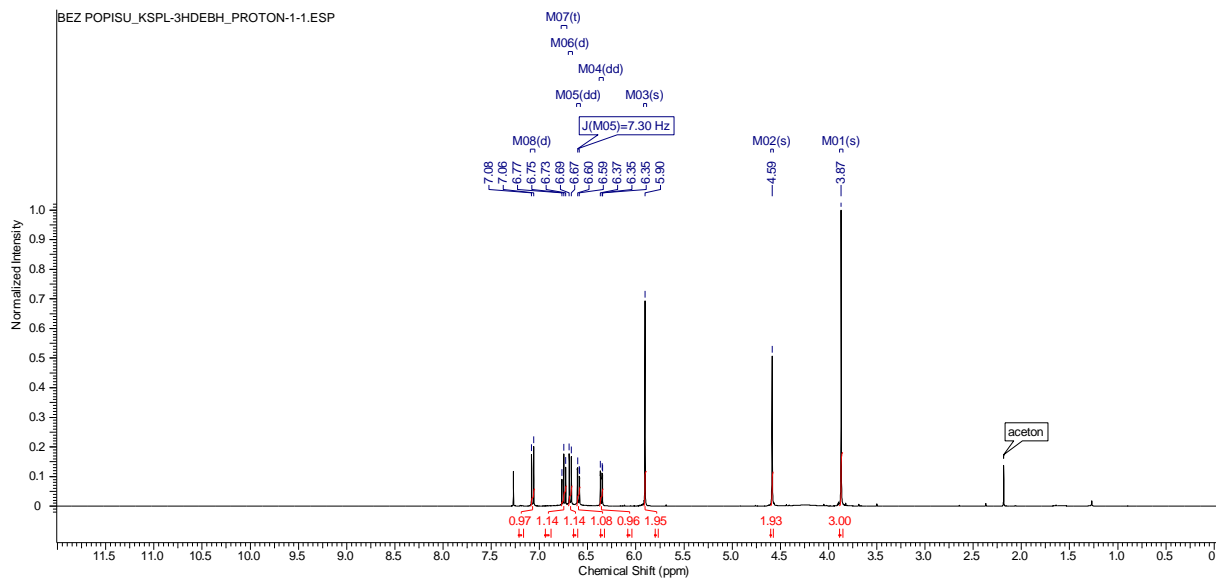
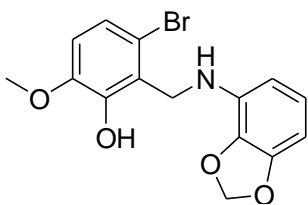
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIg



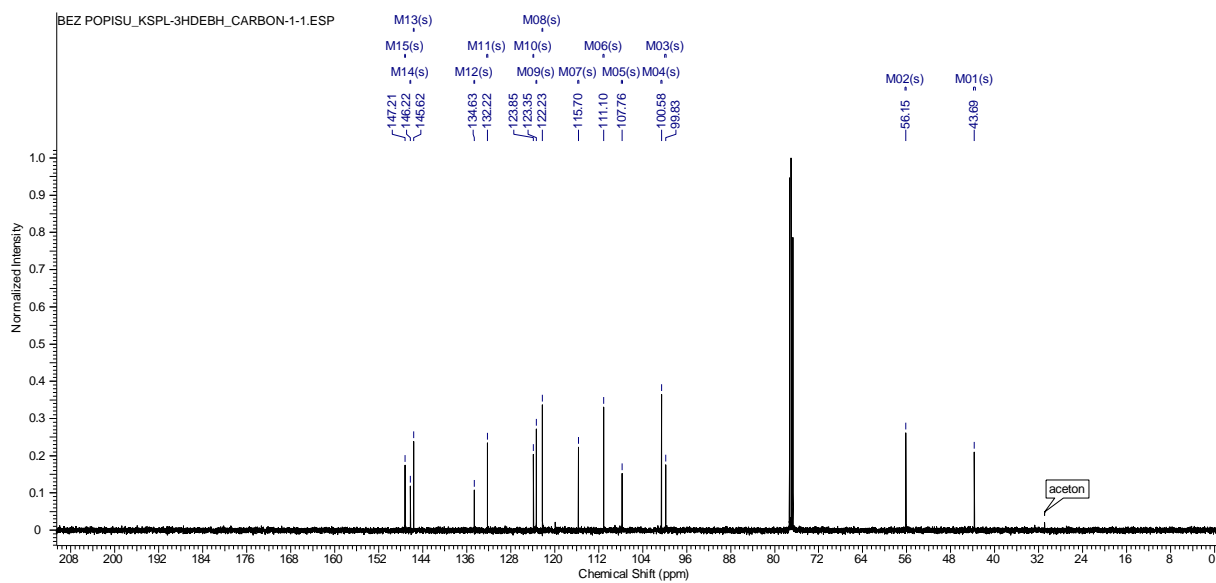
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIg



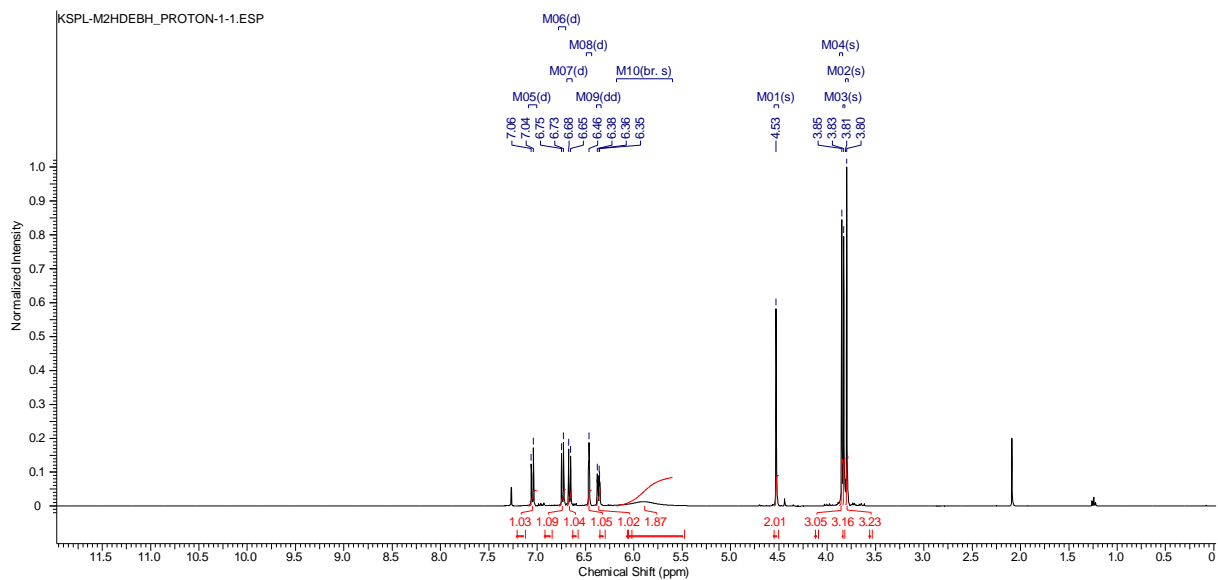
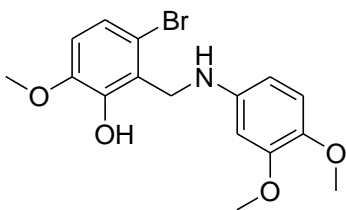
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIh



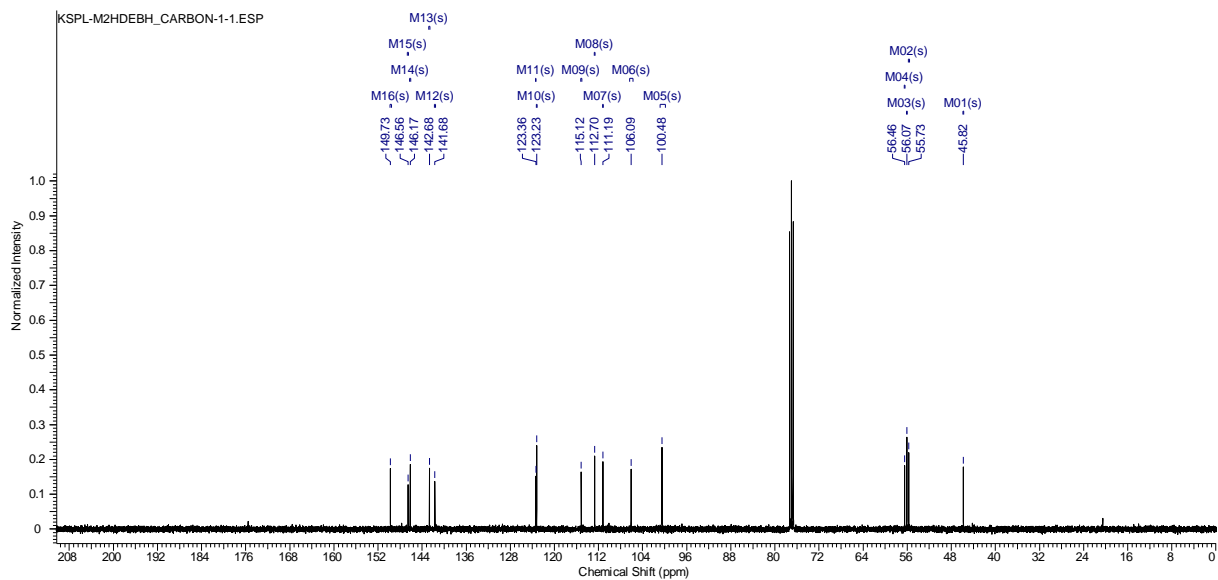
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIh



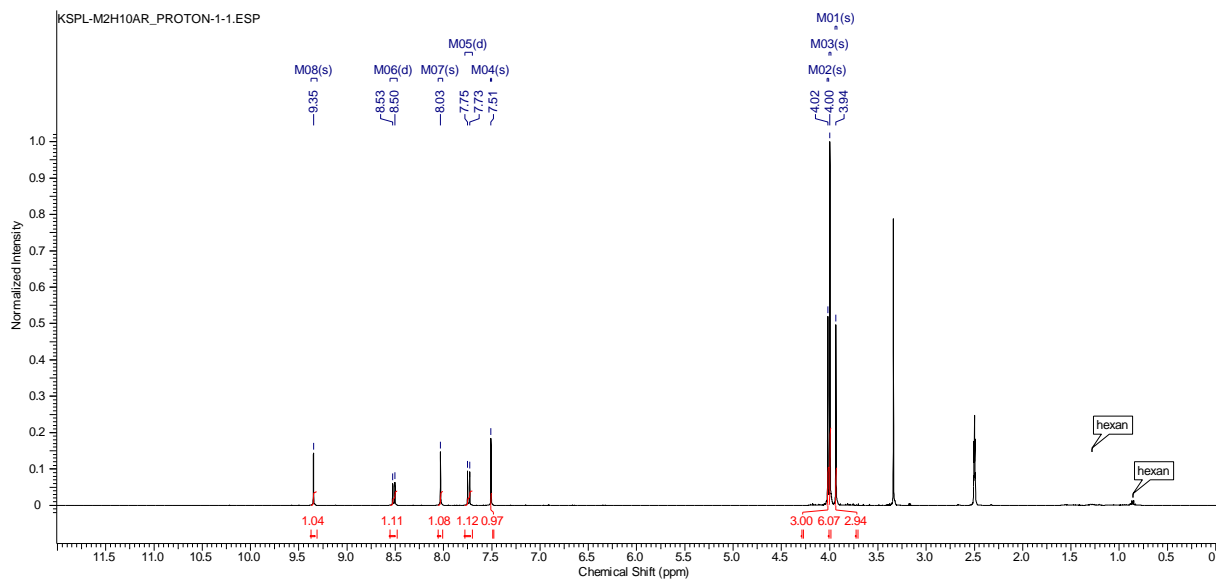
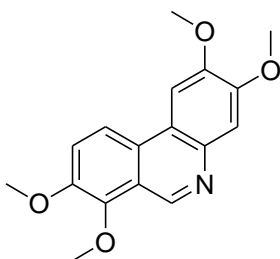
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIi



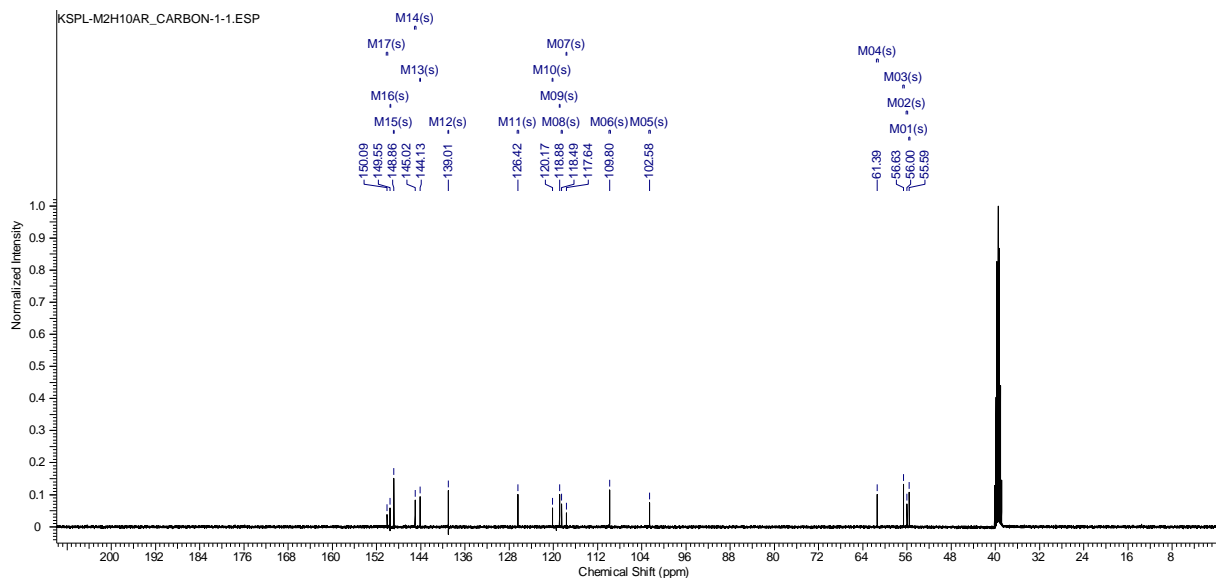
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIi



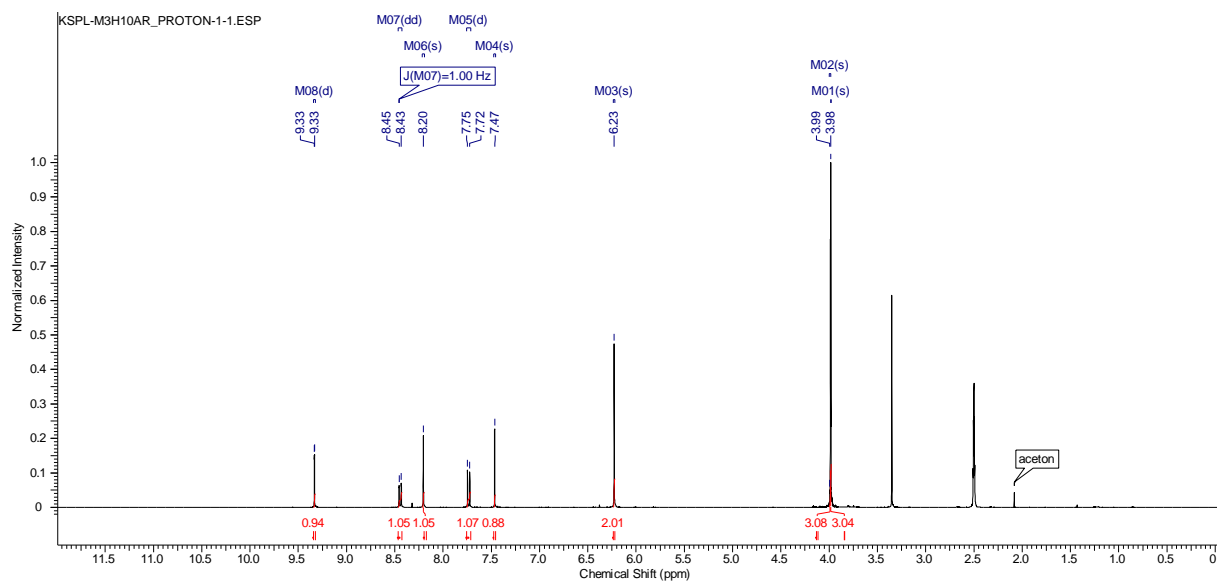
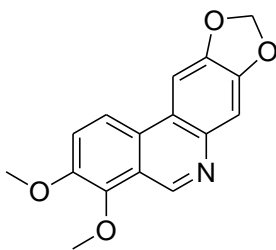
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIa



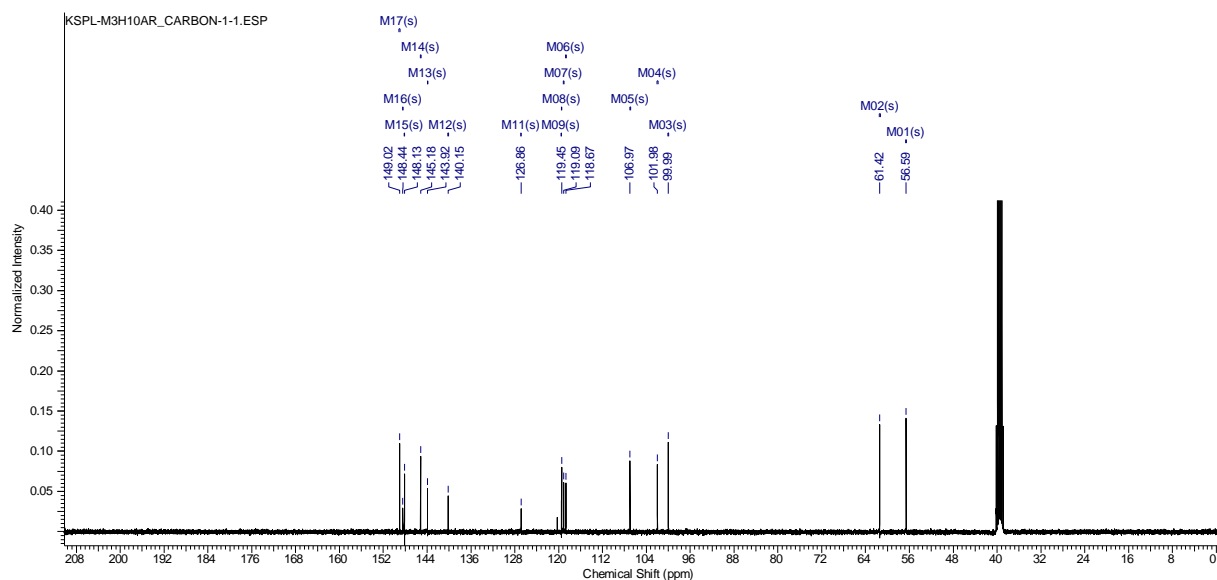
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIa



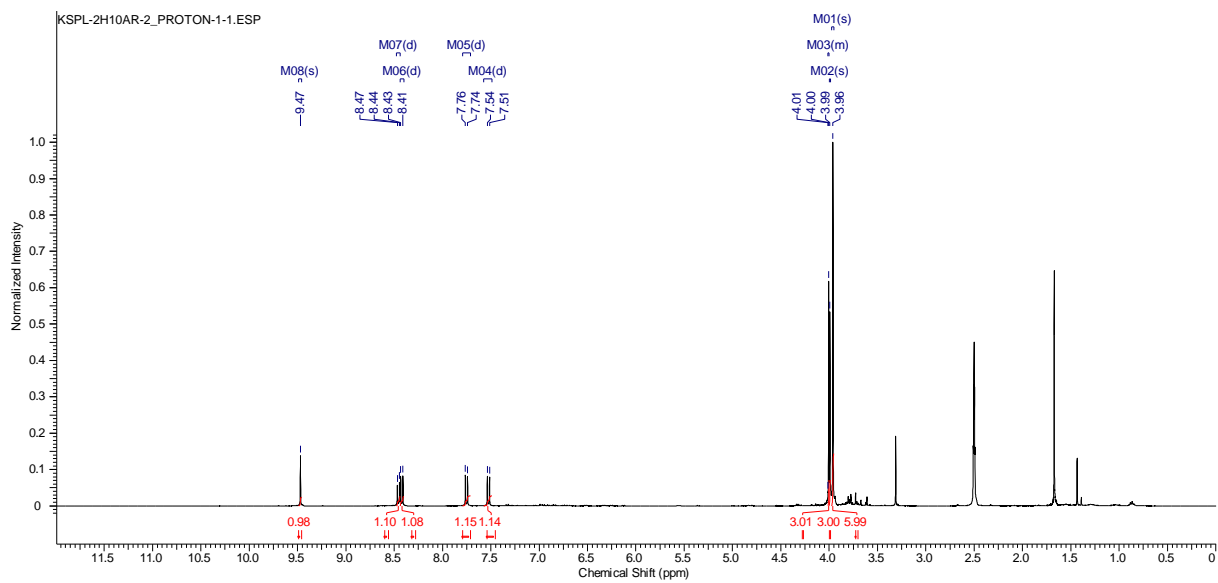
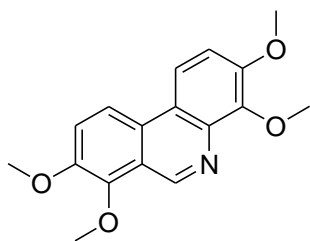
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIb



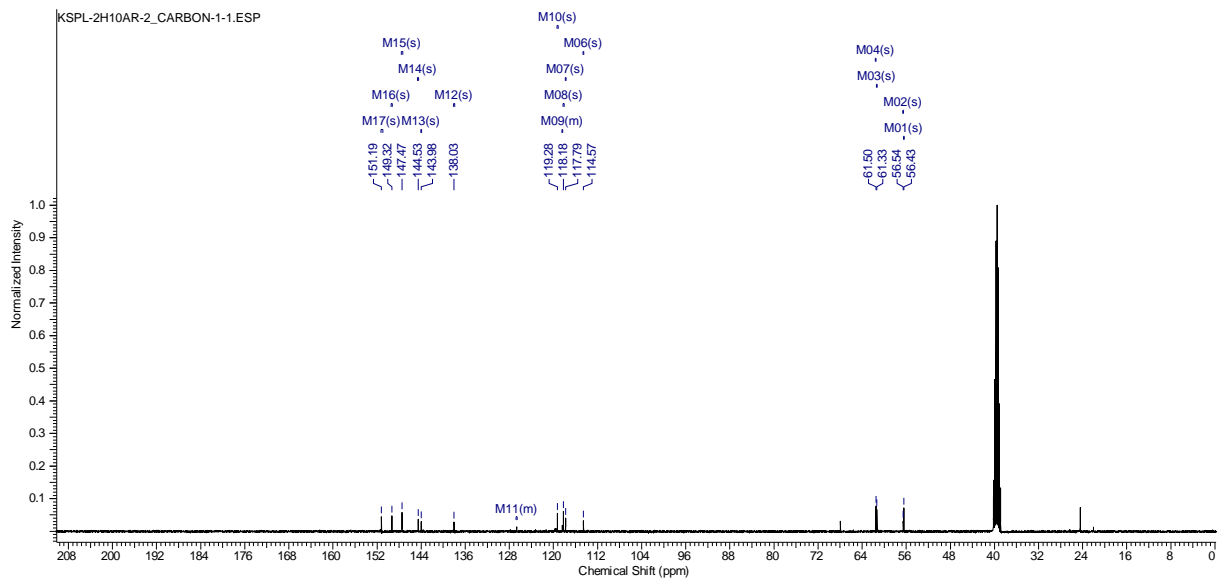
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIb



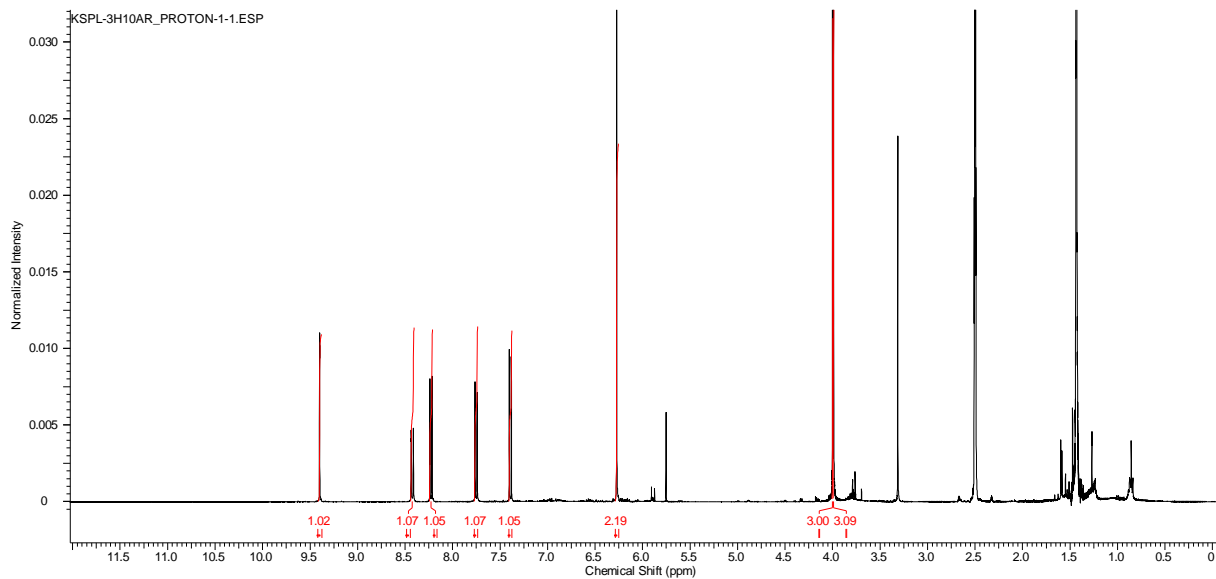
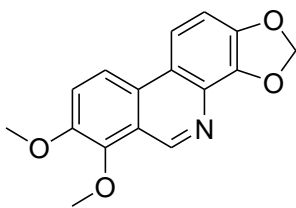
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIc



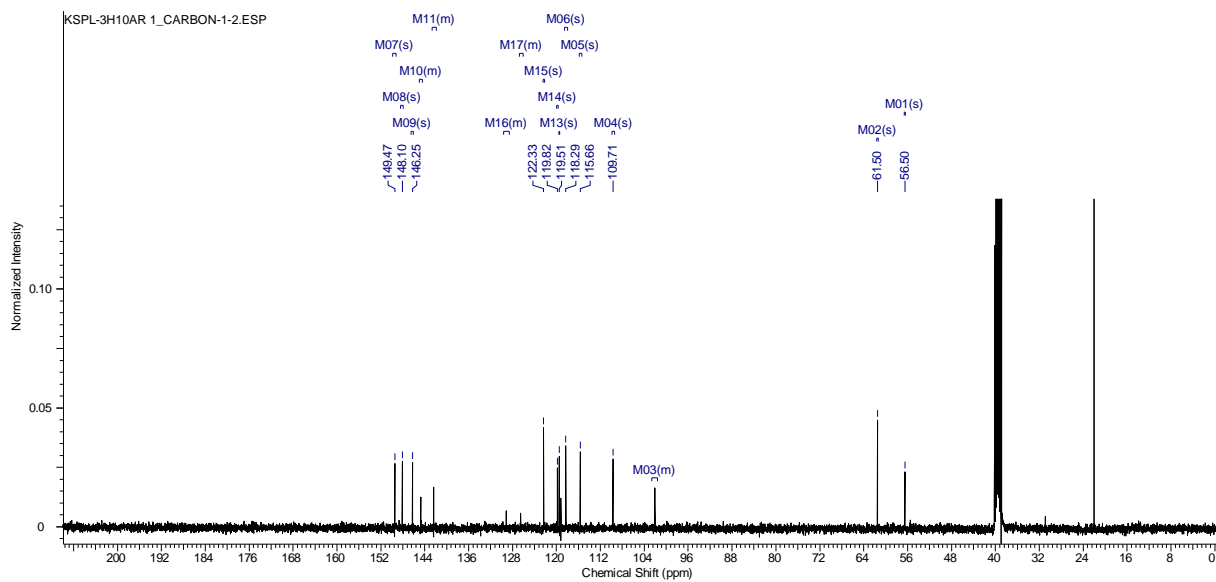
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIc



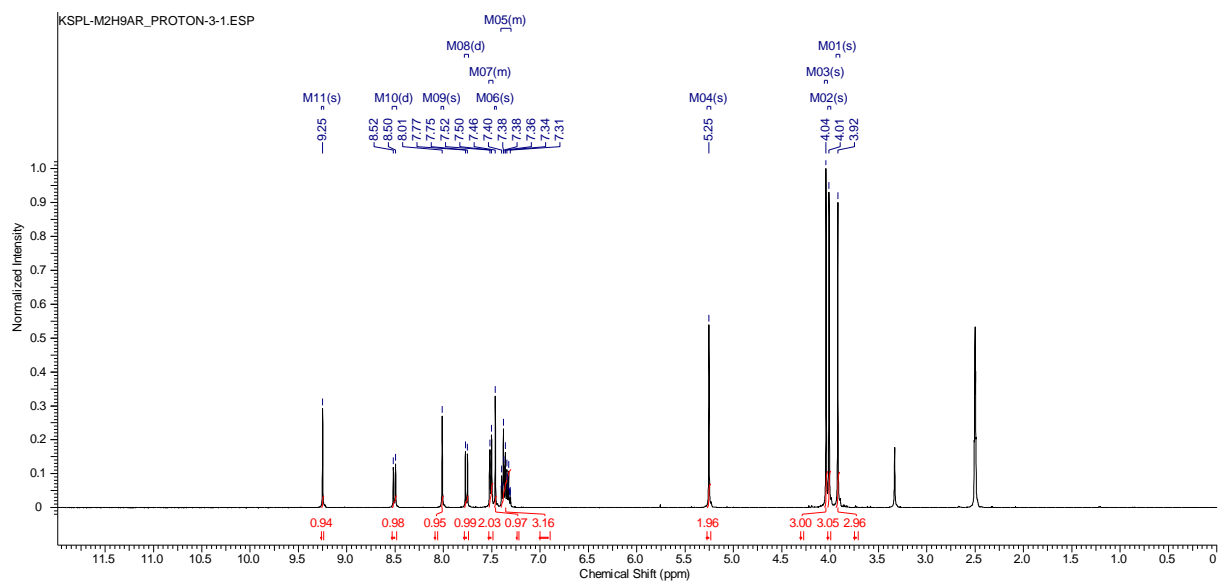
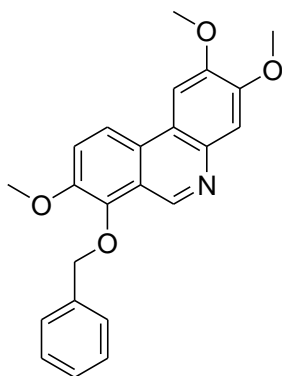
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIId



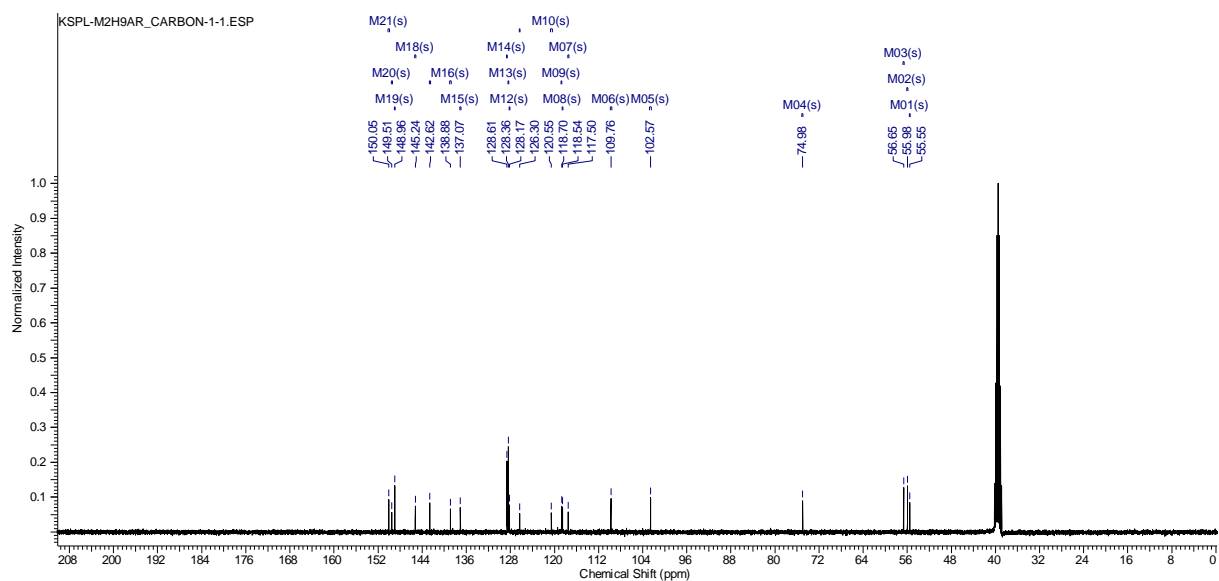
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIId



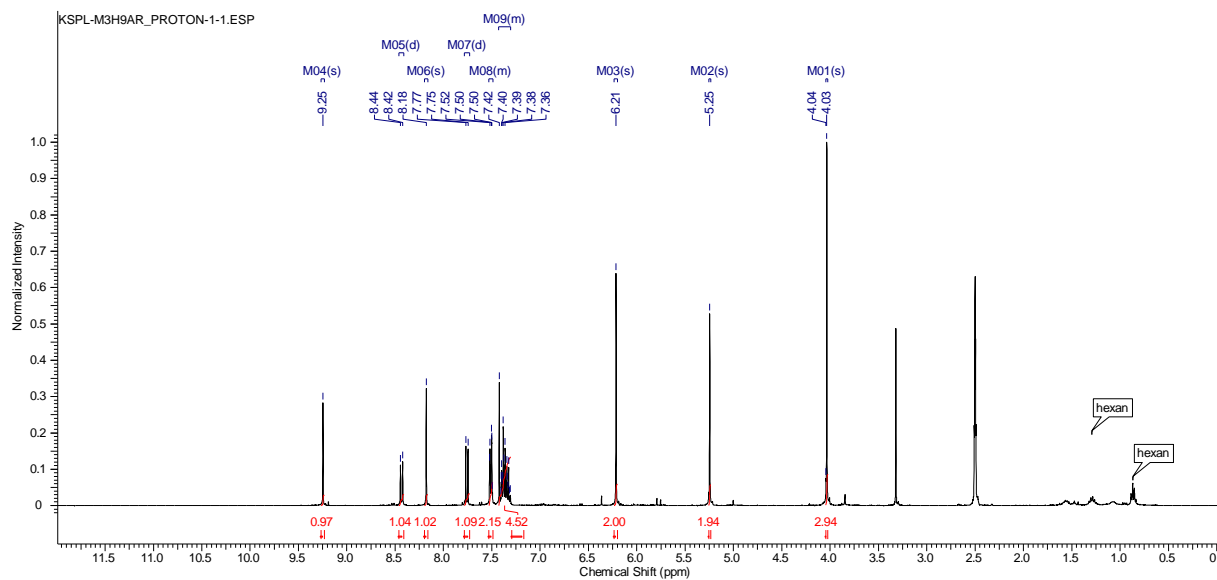
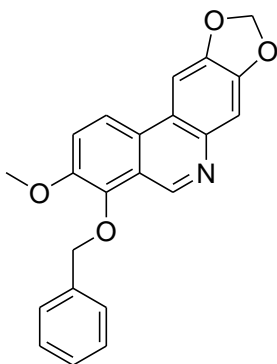
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIe



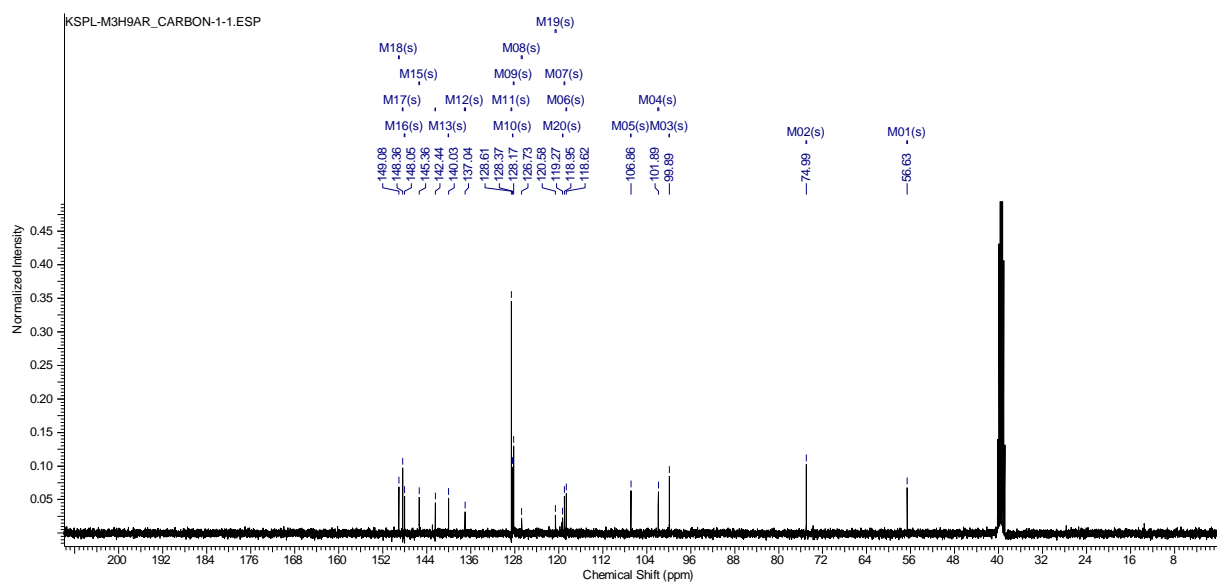
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIe



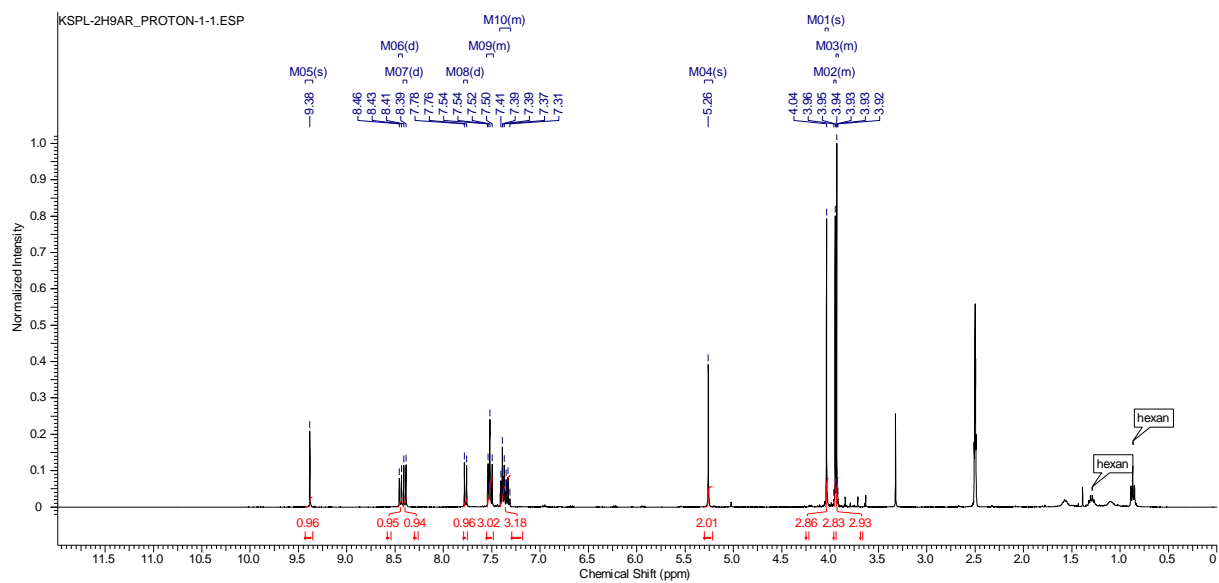
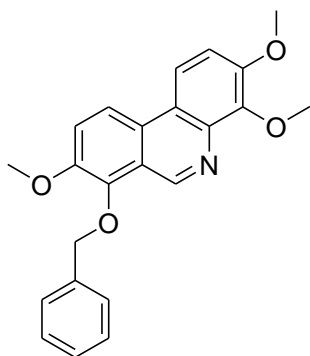
¹H NMR spektrum sloučeniny VIII f



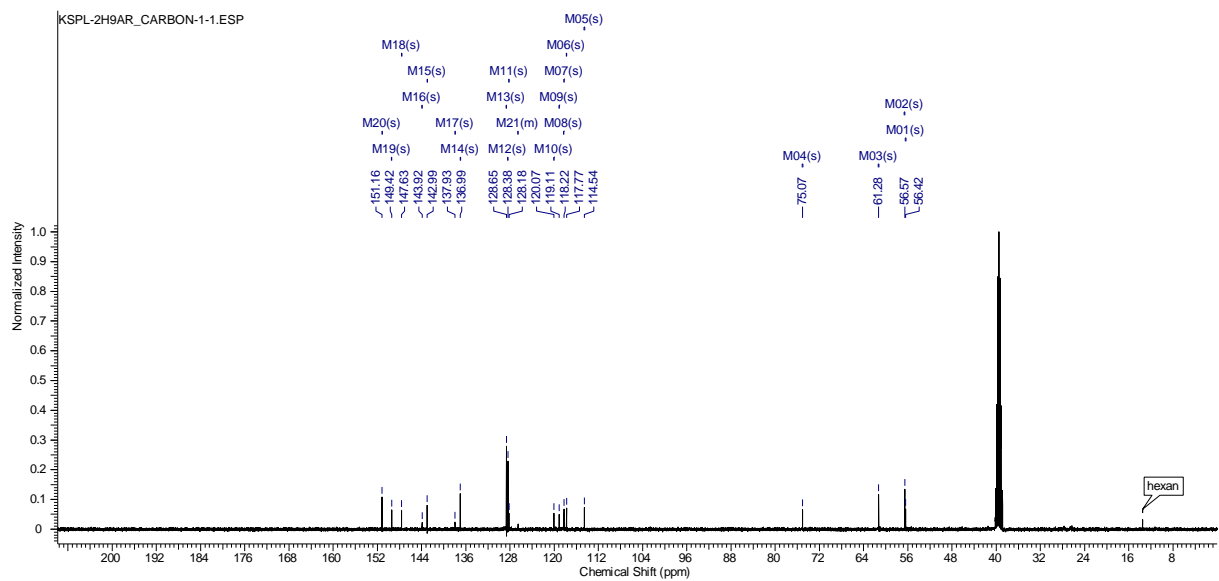
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIII f



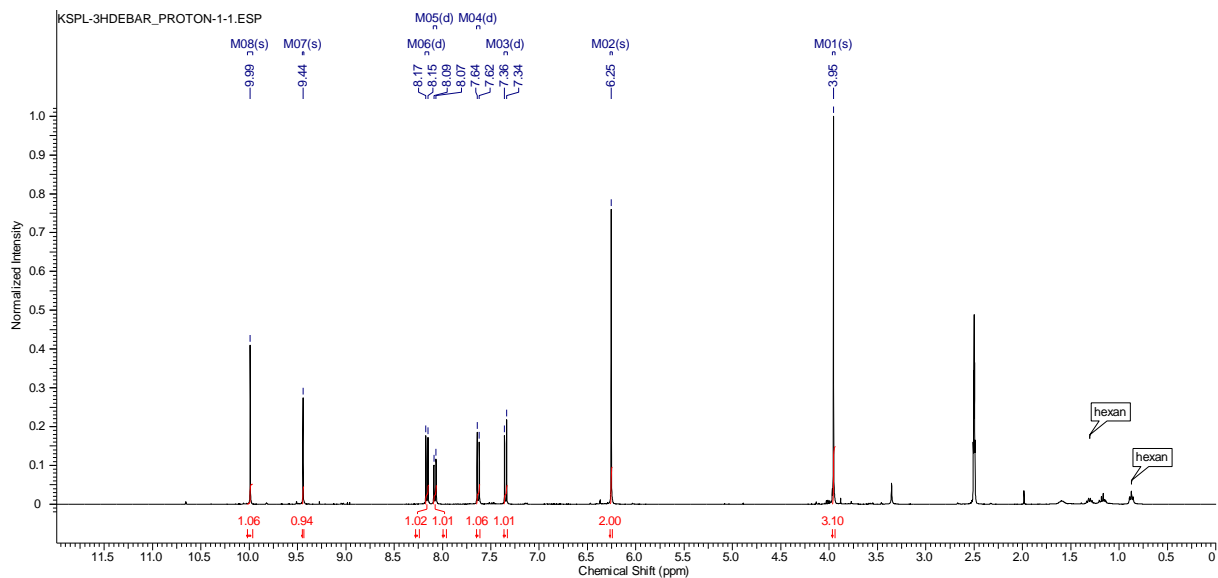
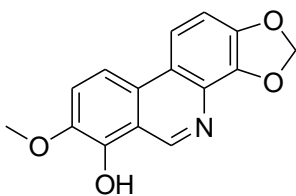
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIg



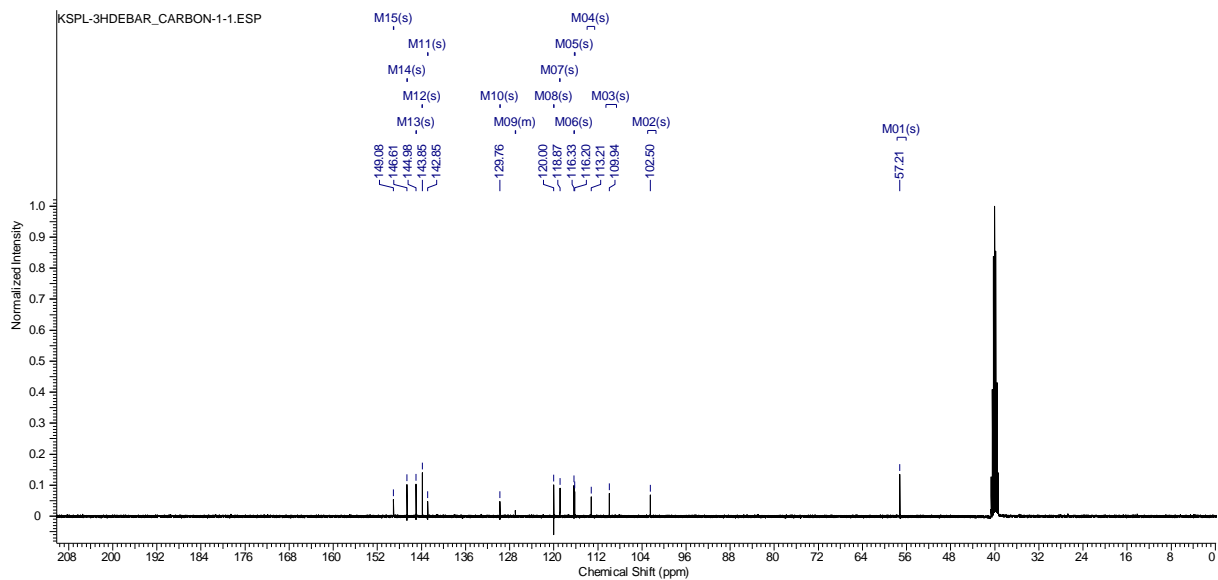
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIg



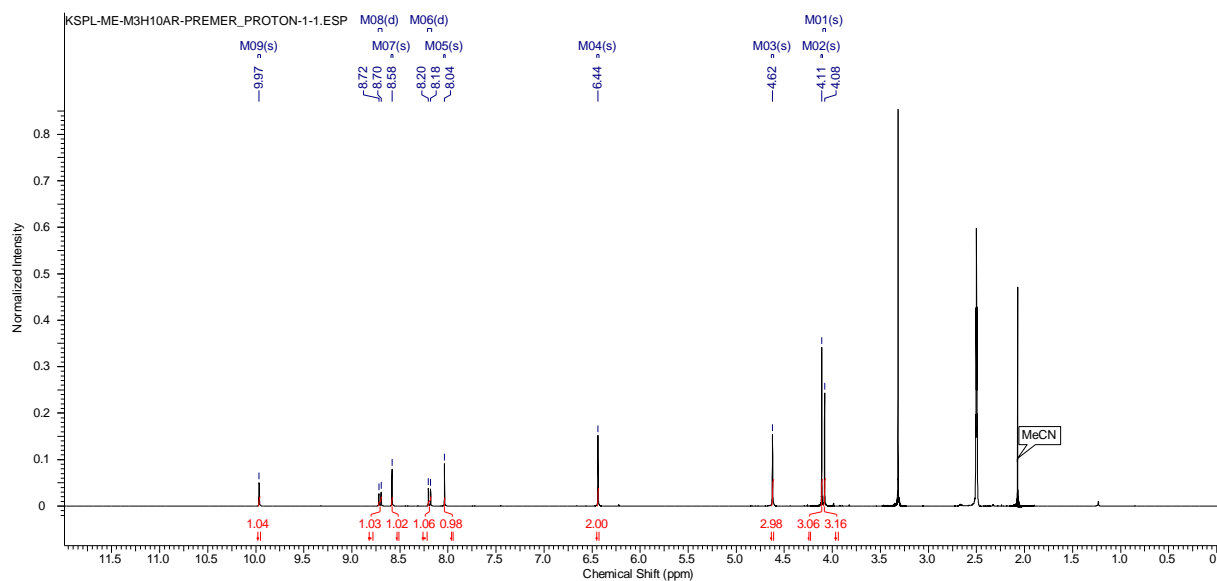
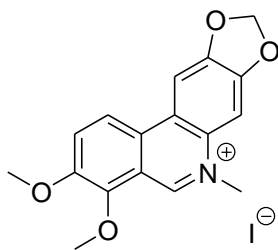
¹H NMR spektrum sloučeniny VIIIh



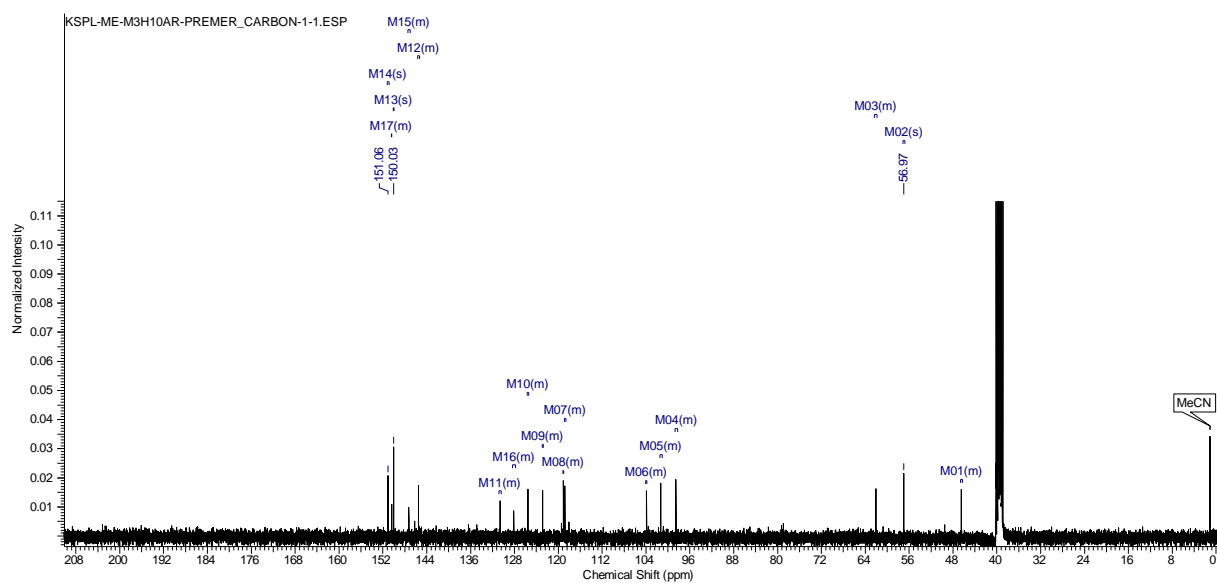
¹³C NMR spektrum sloučeniny VIIIh



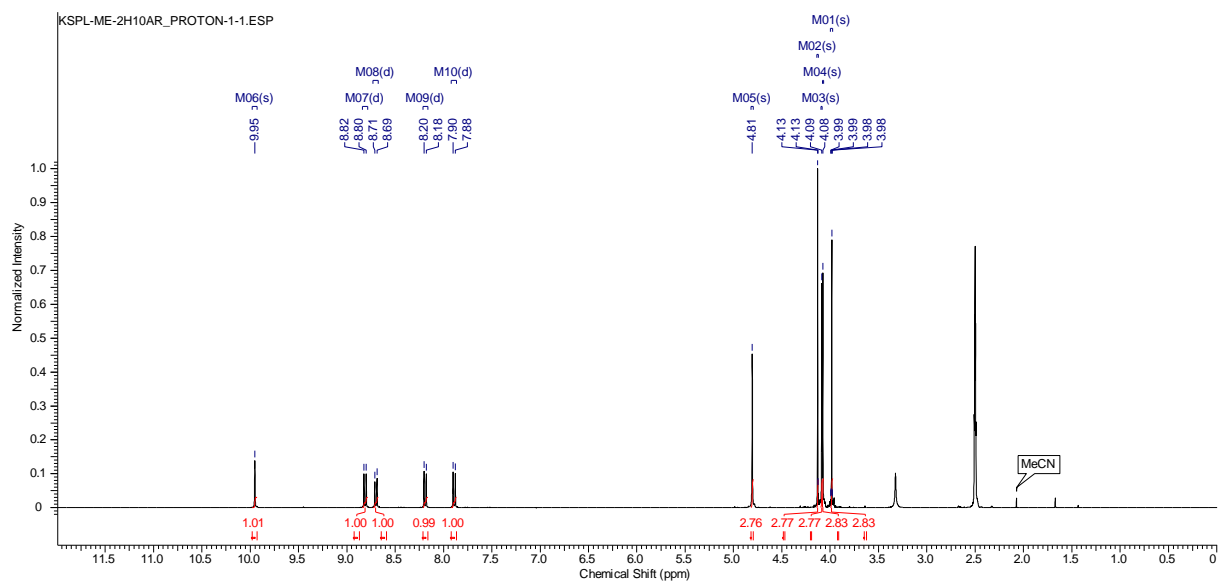
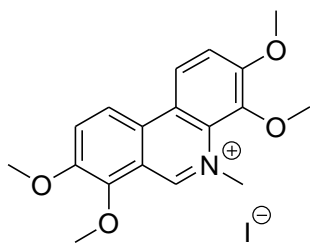
¹H NMR spektrum sloučeniny IXb



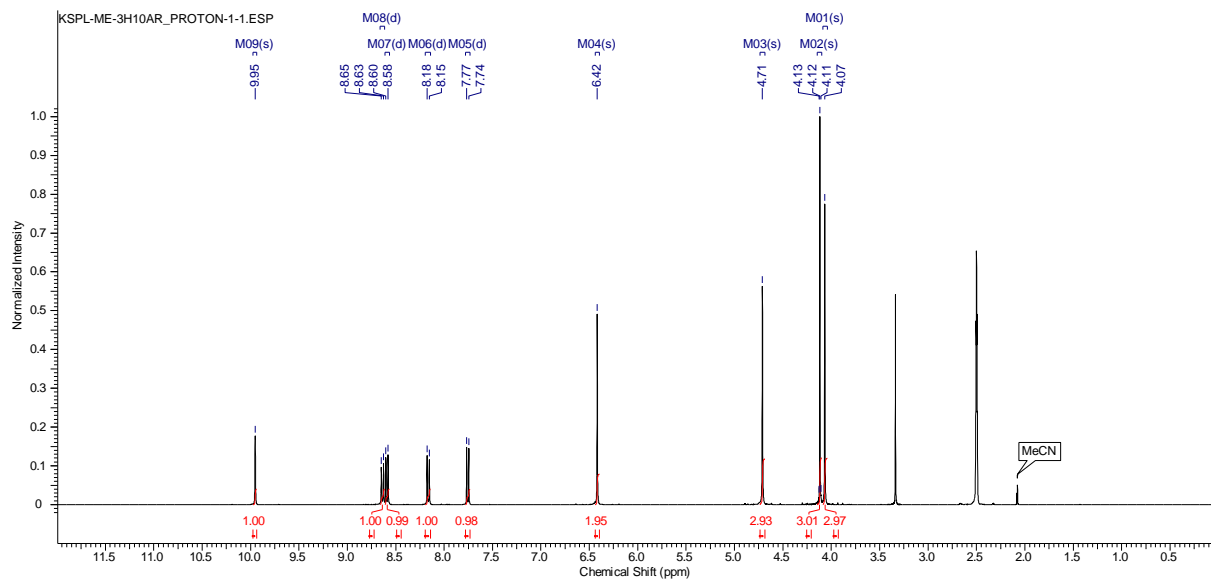
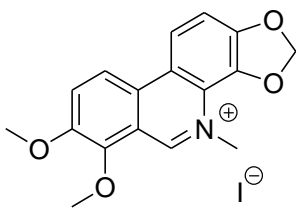
¹³C NMR spectrum sloučeniny IXb



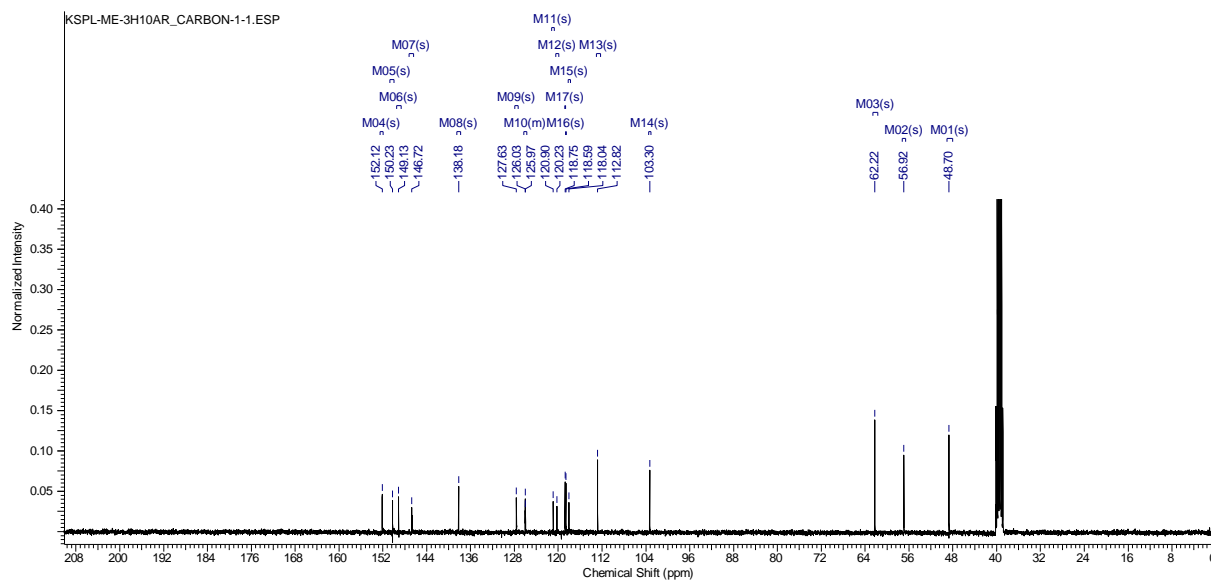
¹H NMR spektrum sloučeniny IXc



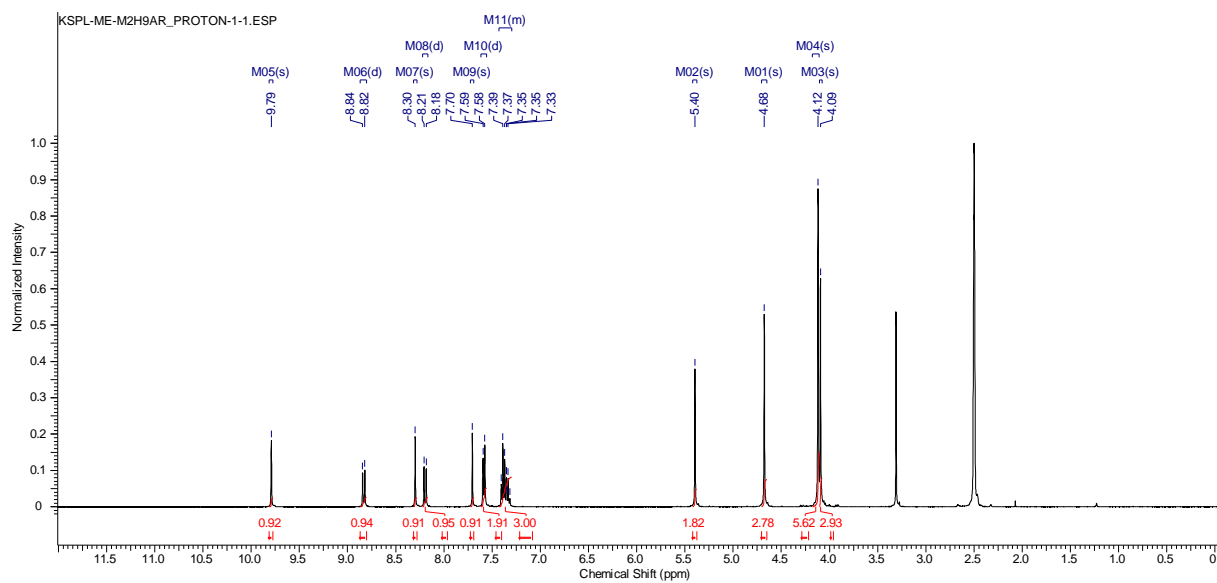
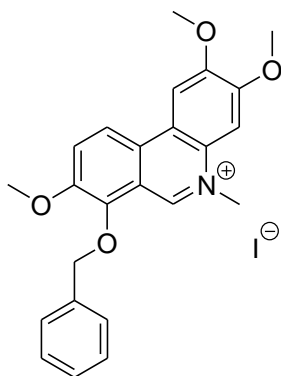
¹H NMR spektrum sloučeniny IXd



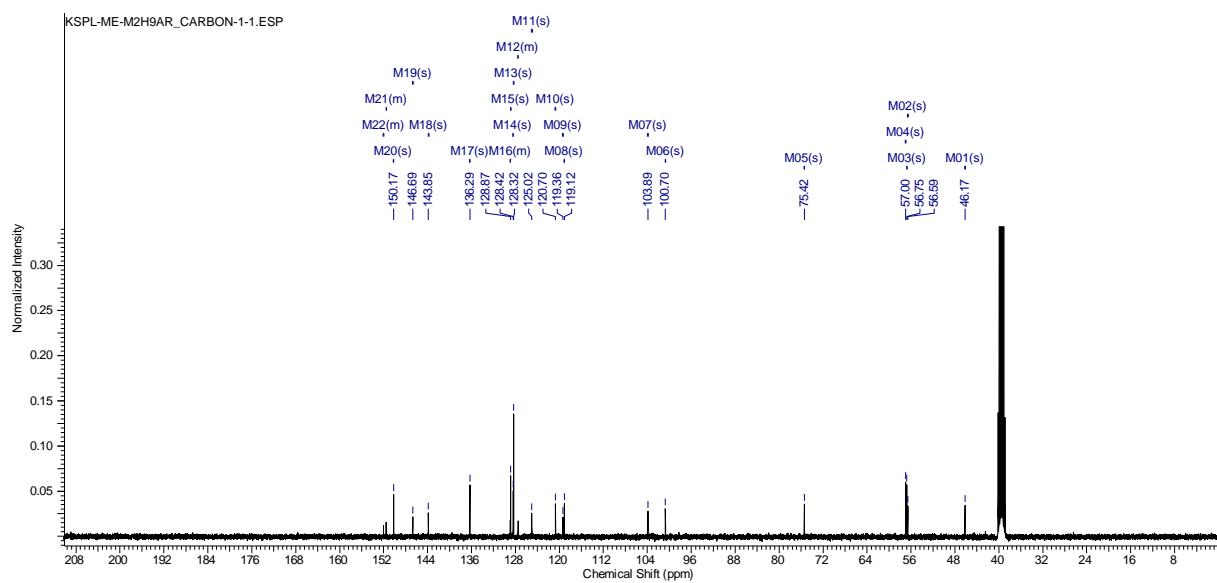
¹³C NMR spektrum sloučeniny IXd



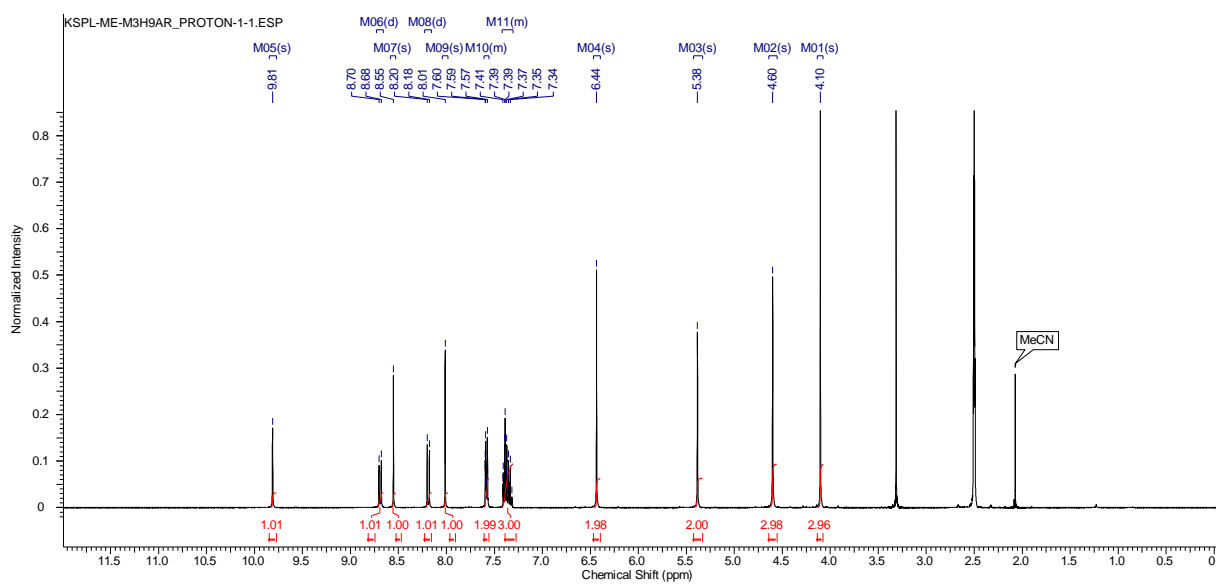
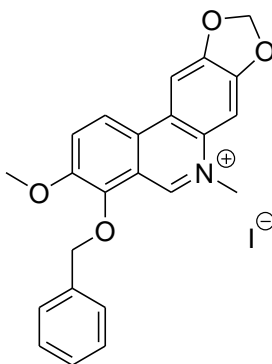
¹H NMR spektrum sloučeniny IXe



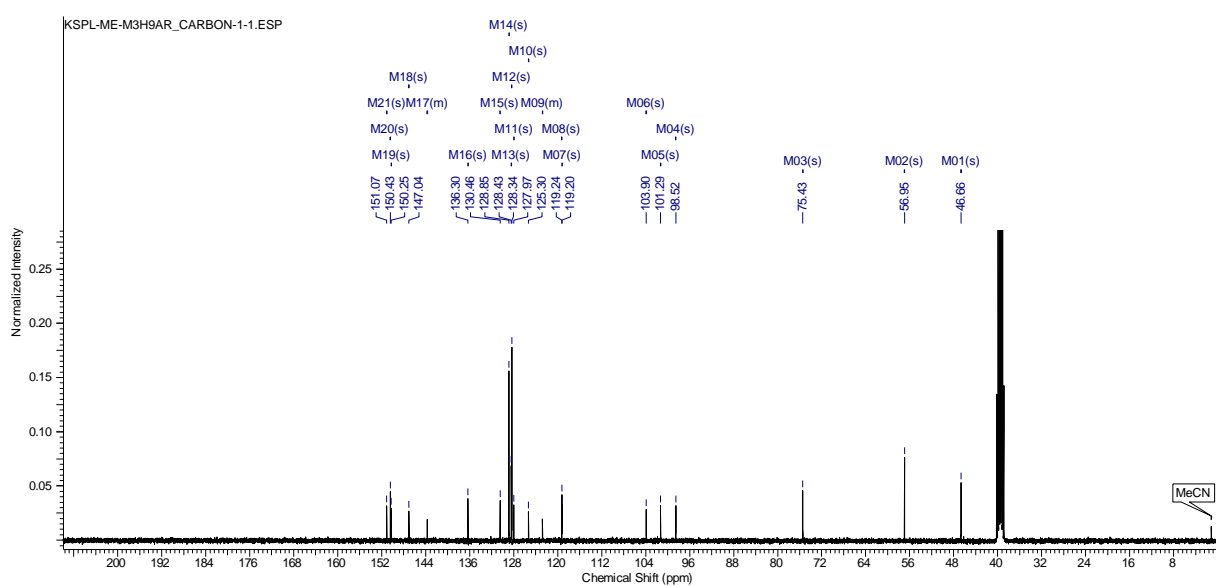
¹³C NMR spektrum sloučeniny IXe



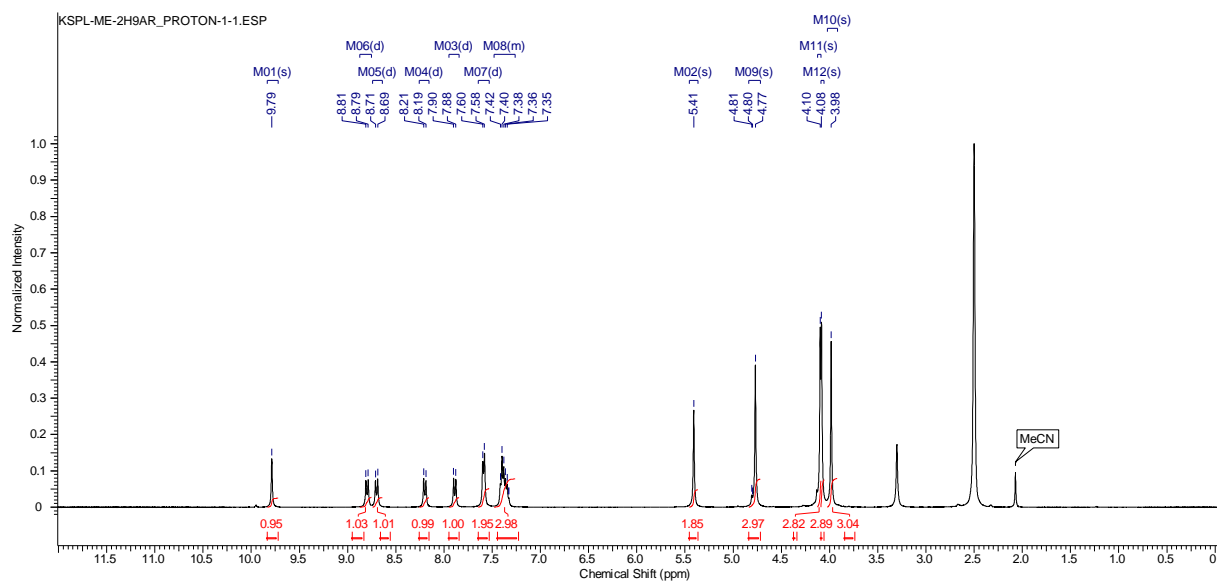
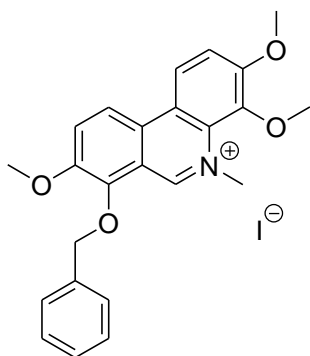
¹H NMR spektrum sloučeniny IXf



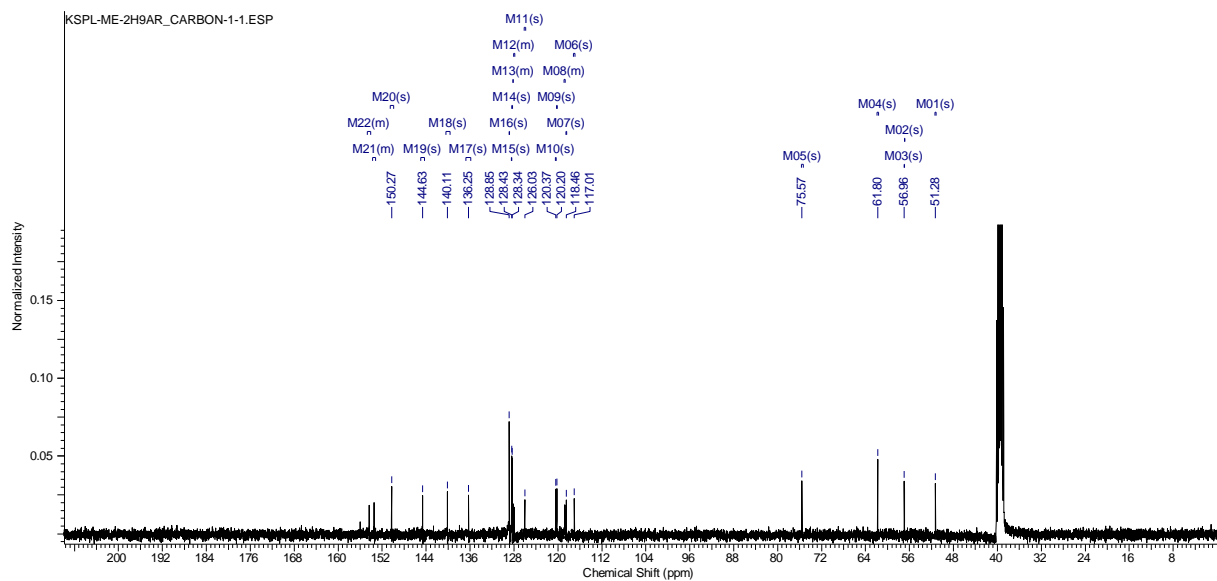
¹³C NMR spektrum sloučeniny IXf



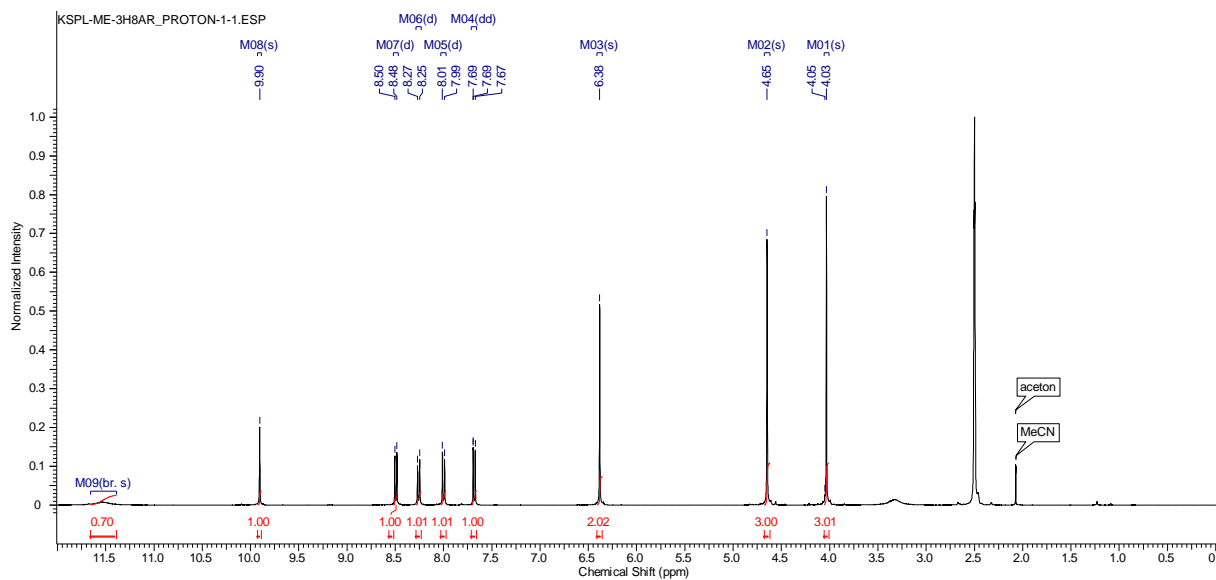
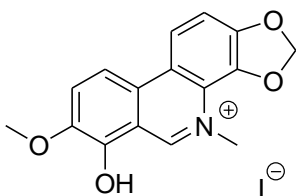
¹H NMR spektrum sloučeniny IXg



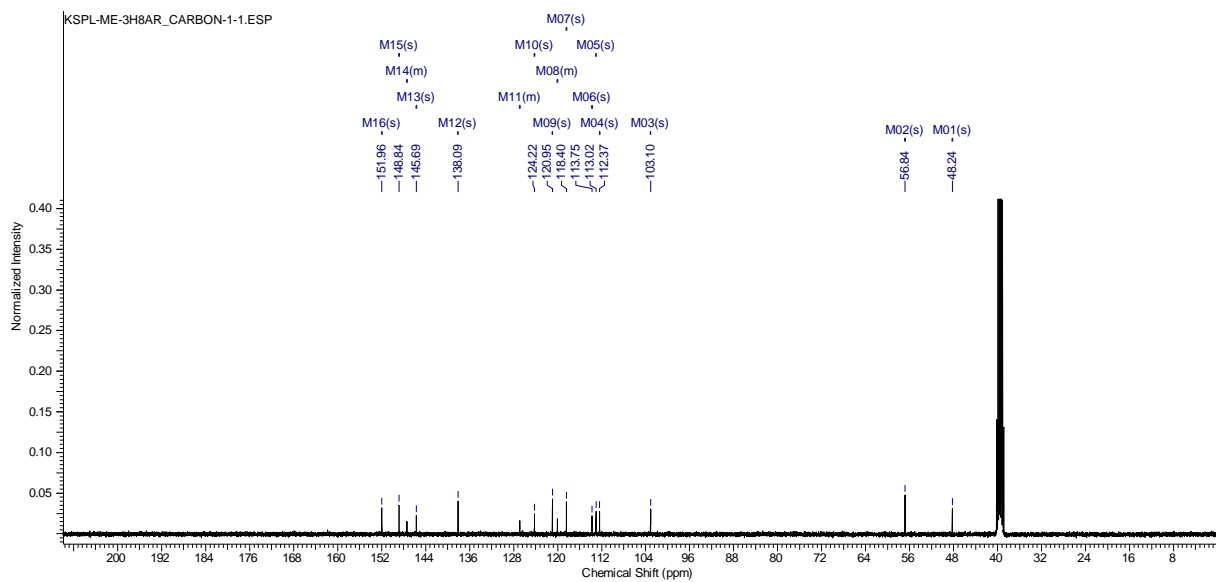
¹³C NMR spektrum sloučeniny IXg



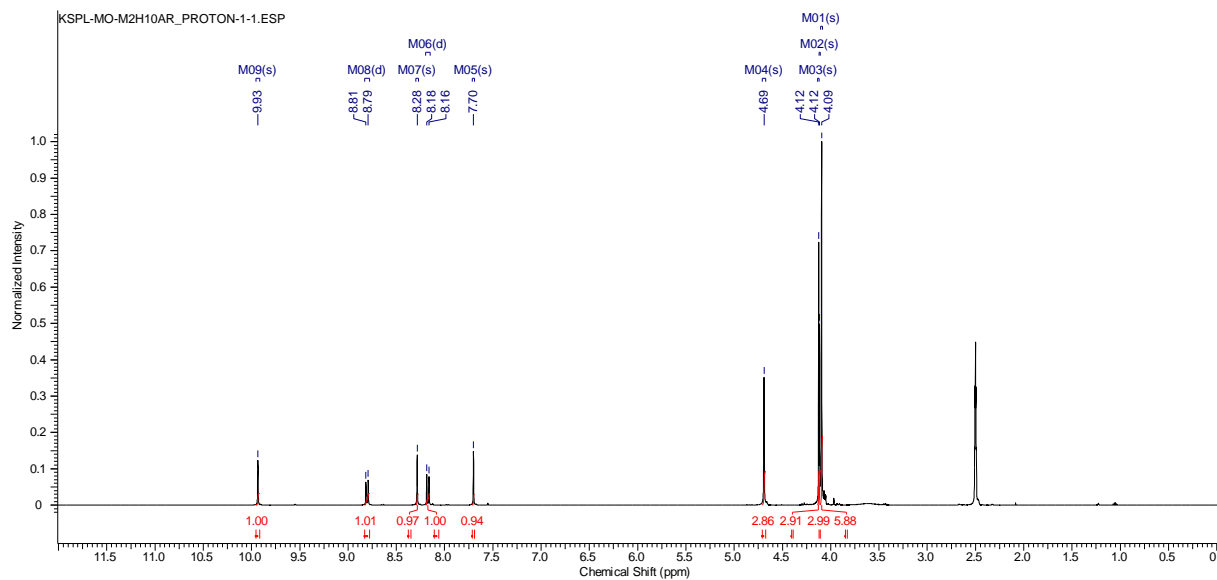
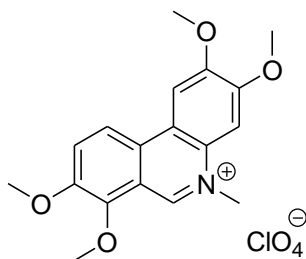
¹H NMR spektrum sloučeniny IXh



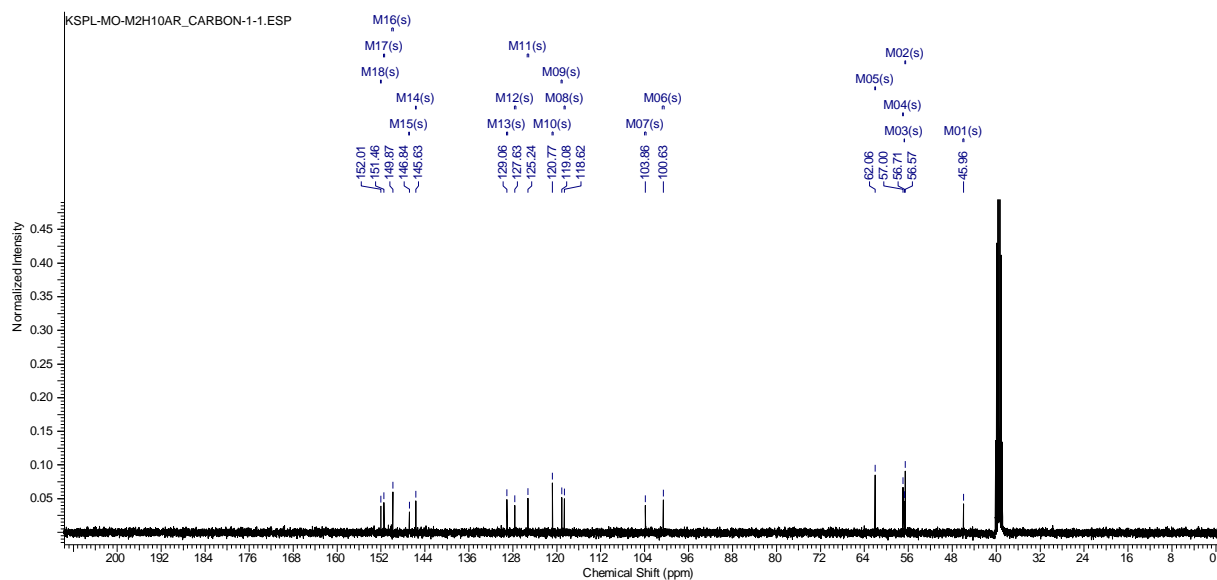
¹³C NMR spektrum sloučeniny IXh



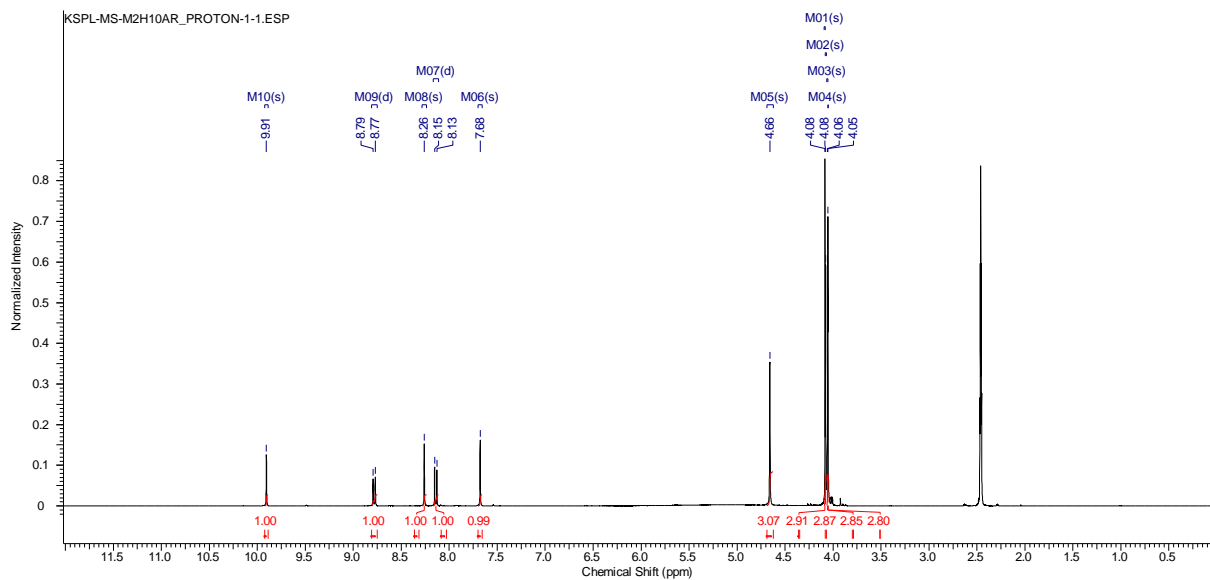
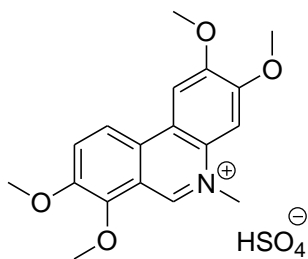
¹H NMR spektrum sloučeniny **XIa**



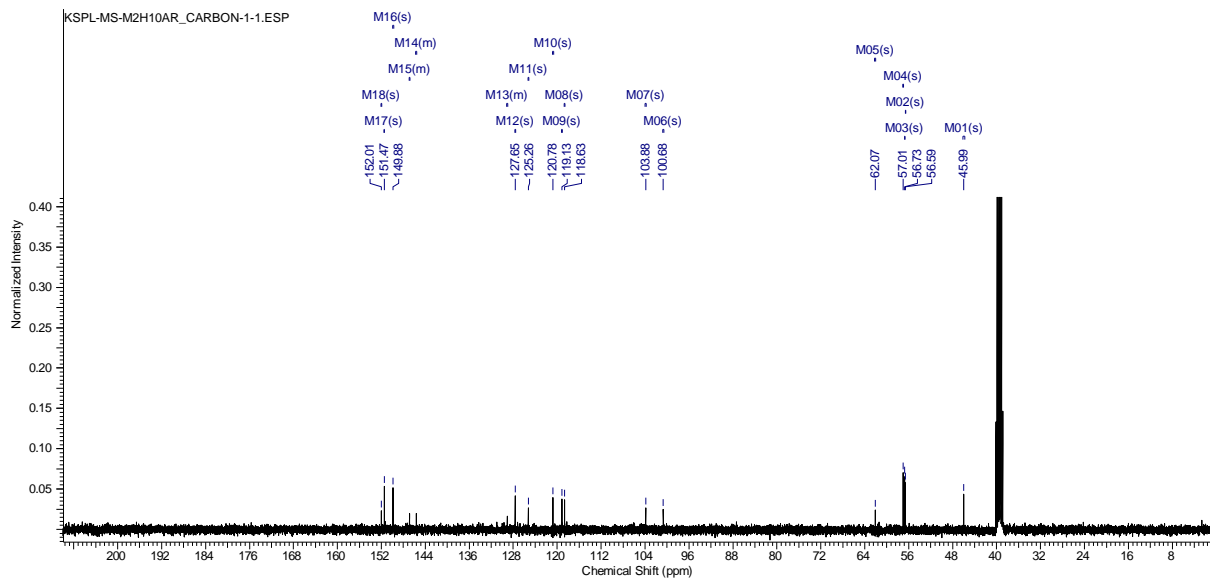
¹³C NMR spektrum sloučeniny **XIa**



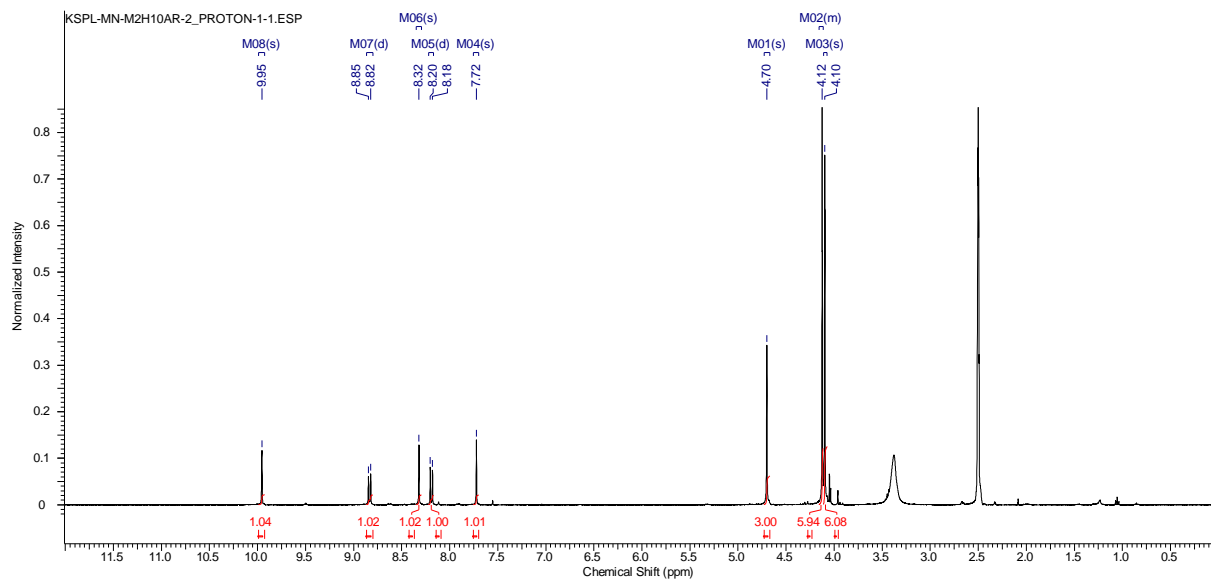
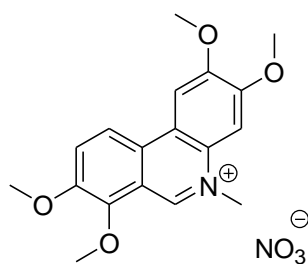
¹H NMR spektrum sloučeniny **XIb**



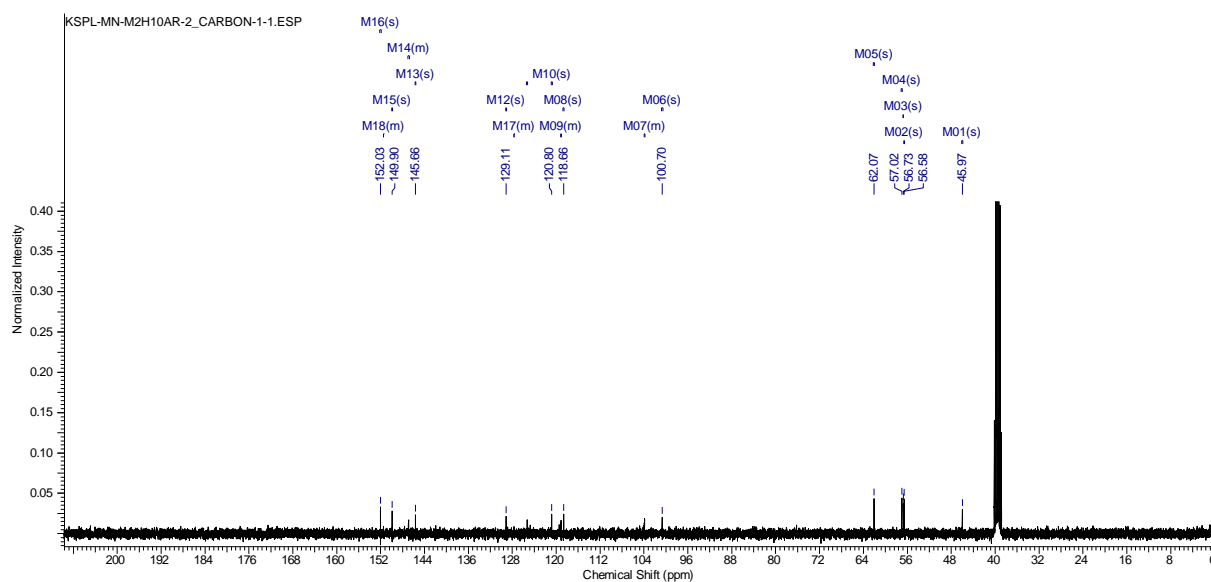
¹³C NMR spektrum sloučeniny **XIb**



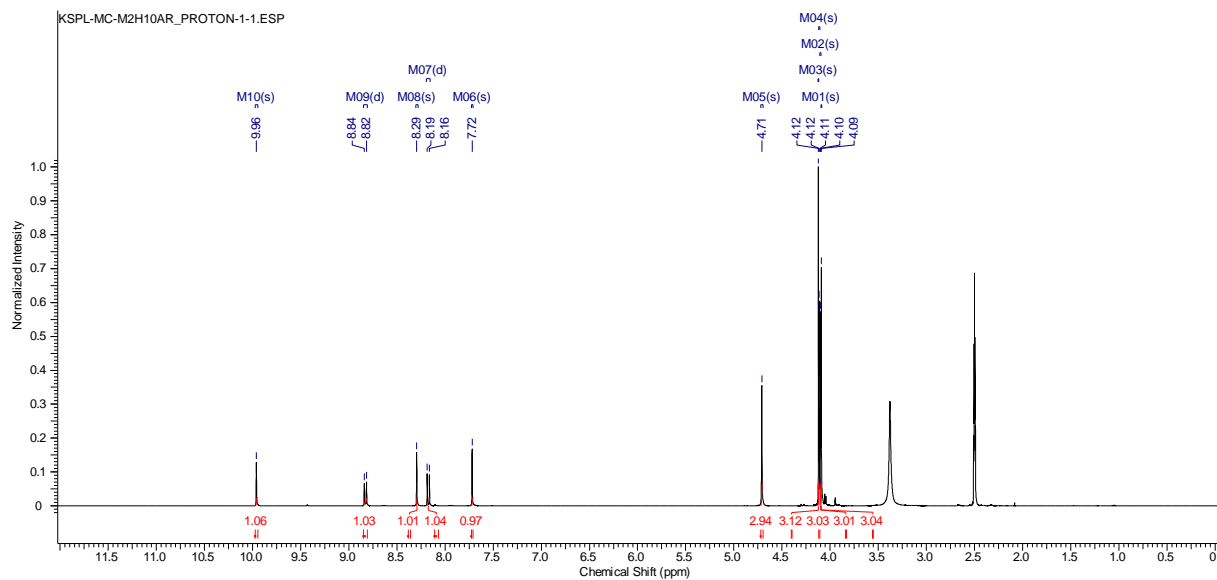
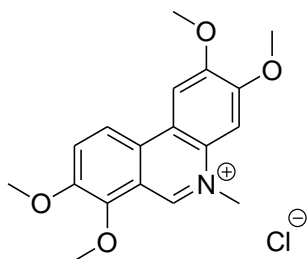
¹H NMR spektrum sloučeniny XIc



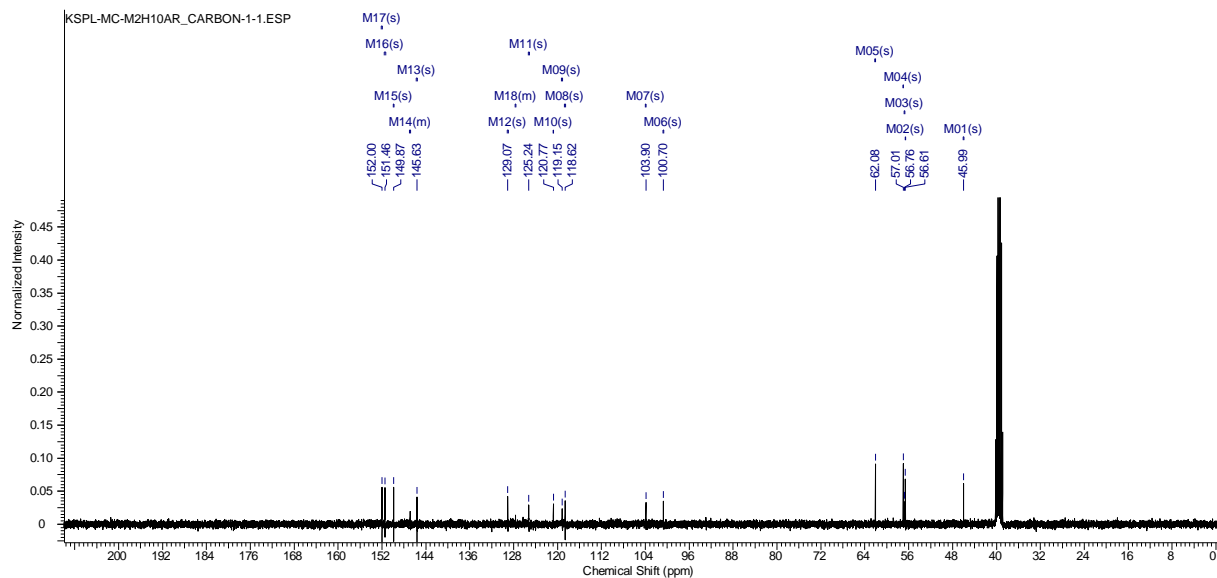
¹³C NMR spektrum sloučeniny XIc



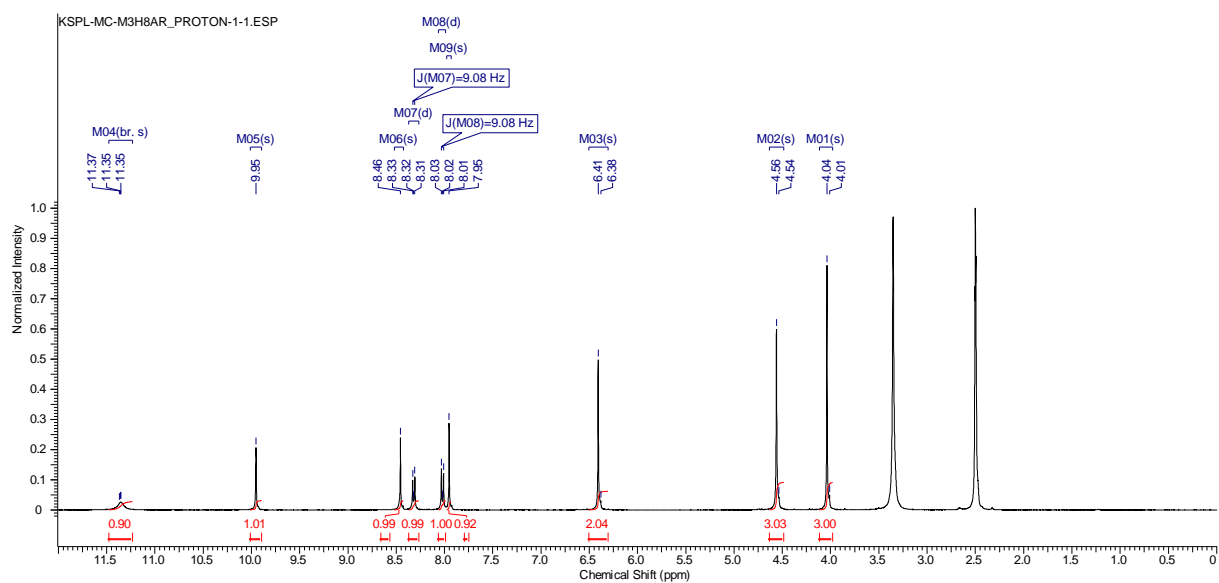
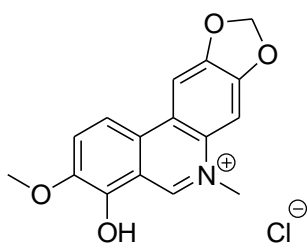
¹H NMR spektrum sloučeniny **XId**



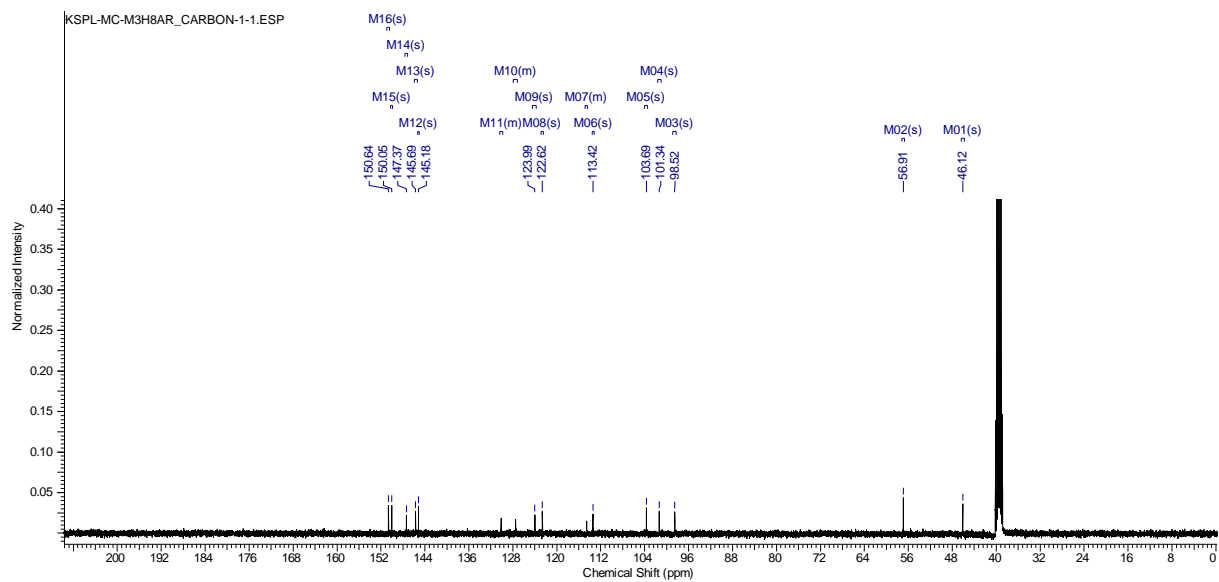
¹³C NMR spektrum sloučeniny **XId**



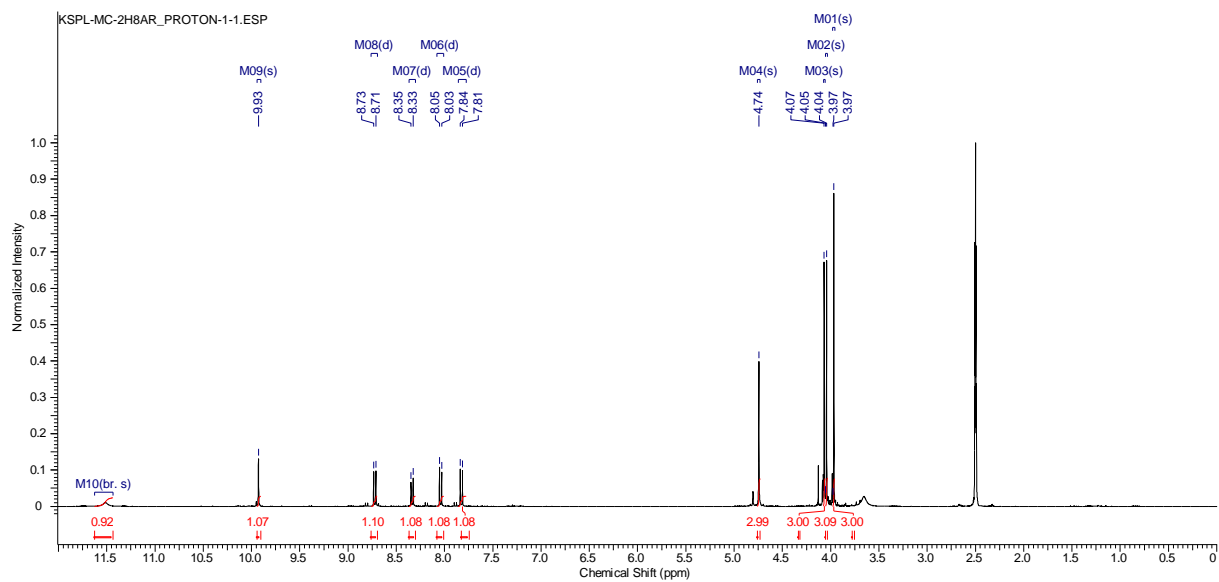
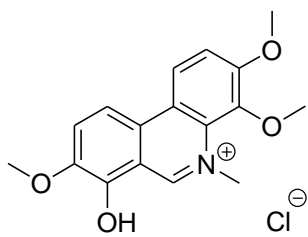
¹H NMR spektrum sloučeniny XIe



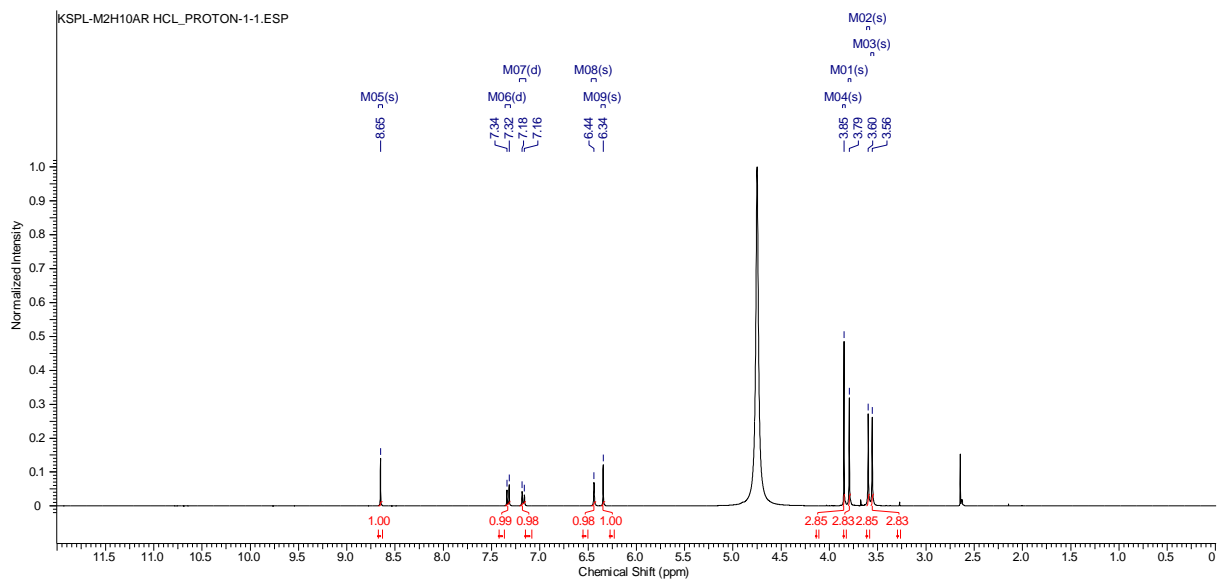
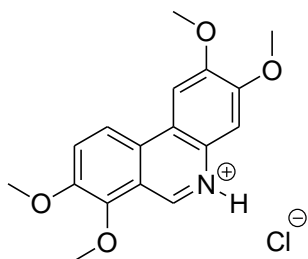
¹³C NMR spectrum sloučeniny XIe



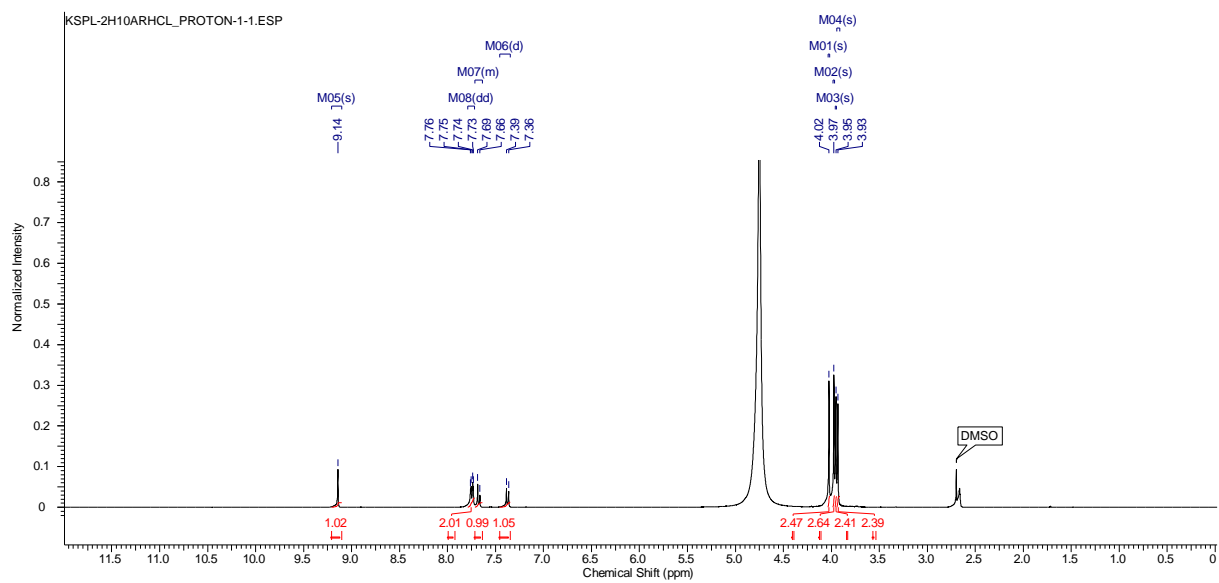
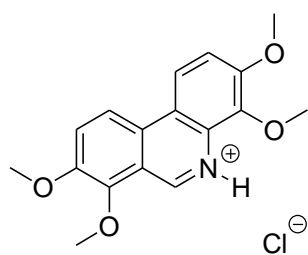
^1H NMR spektrum sloučeniny **XI**f



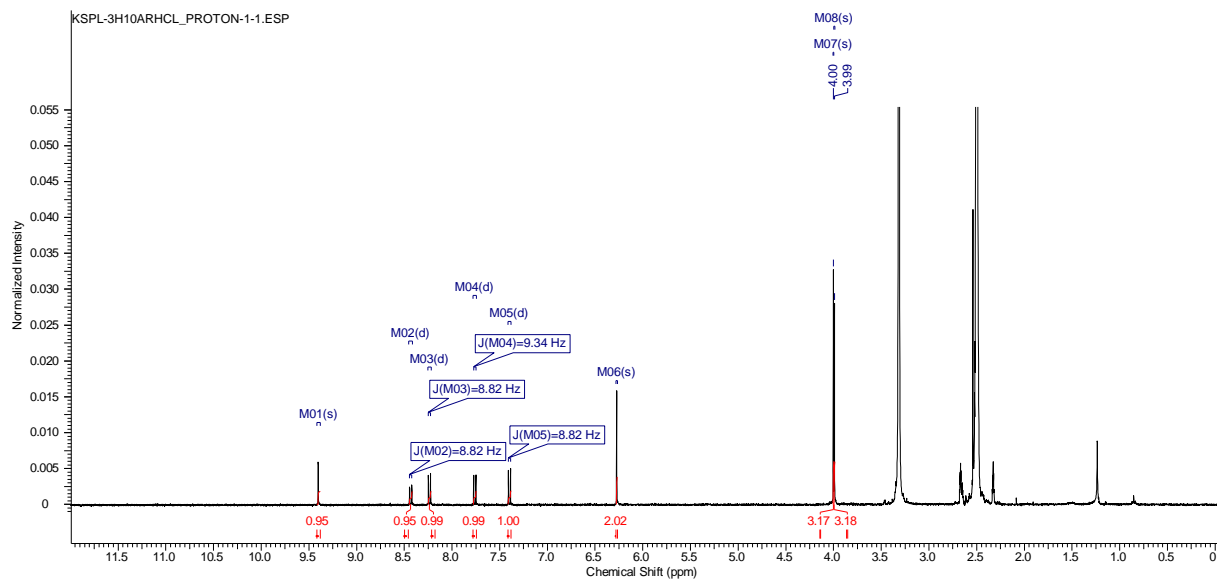
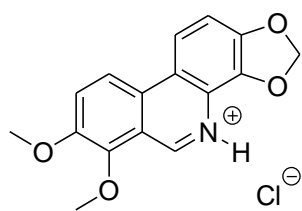
¹H NMR spektrum sloučeniny **XIIa**



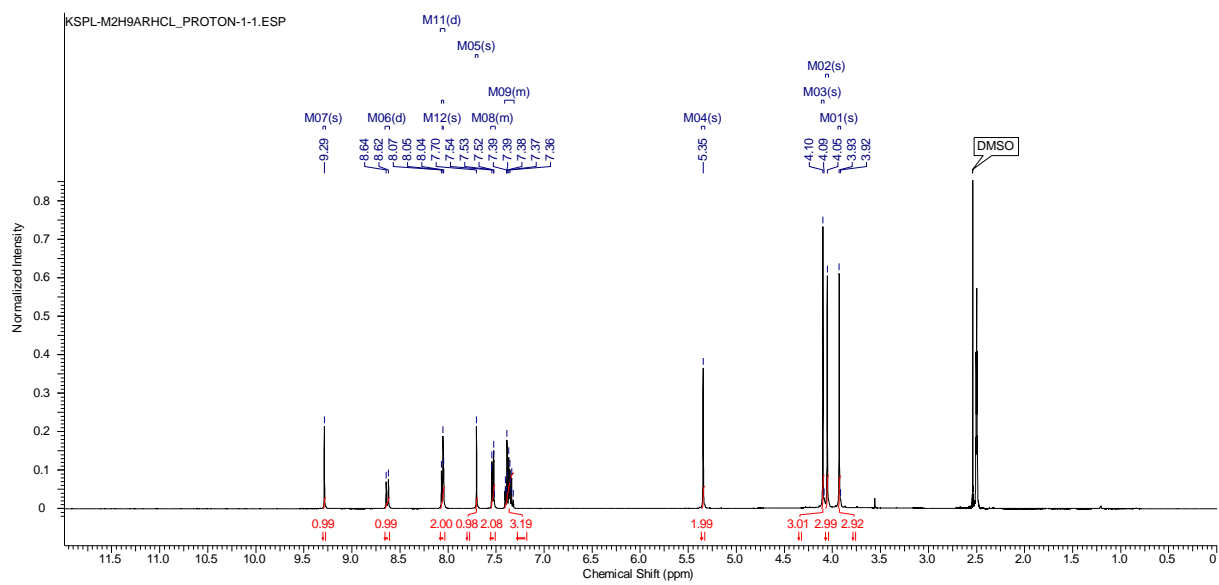
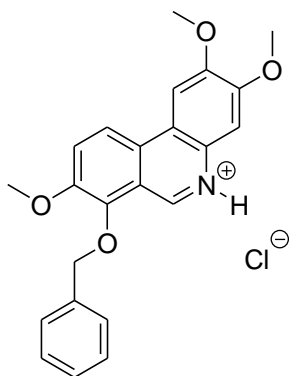
¹H NMR spektrum sloučeniny **XIIIb**



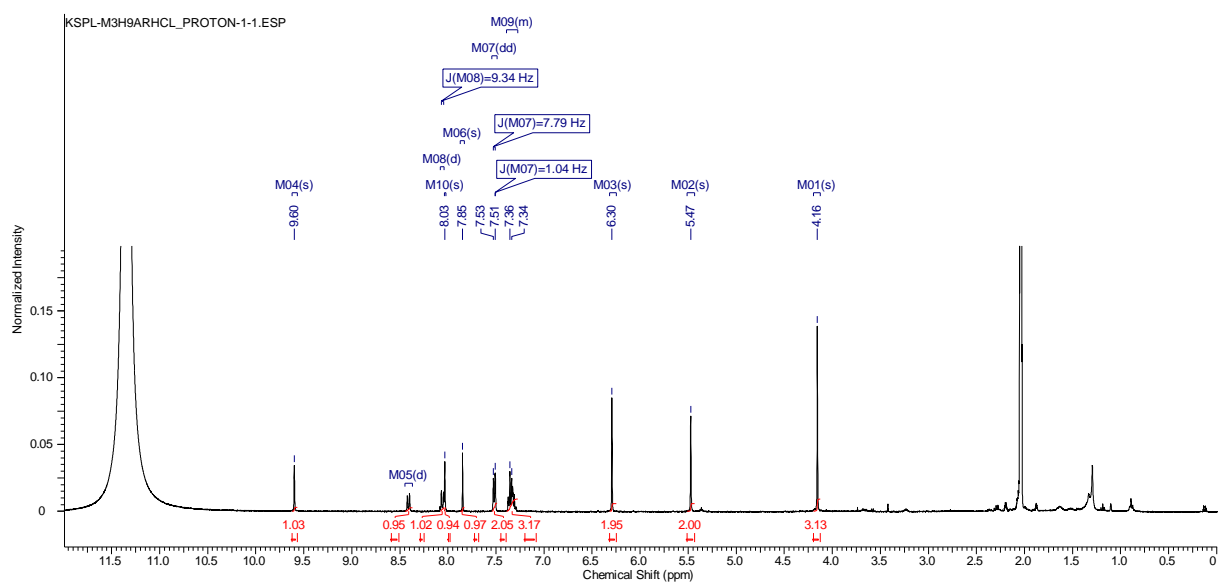
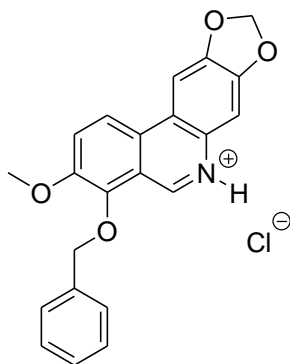
^1H NMR spektrum sloučeniny **XIIc**



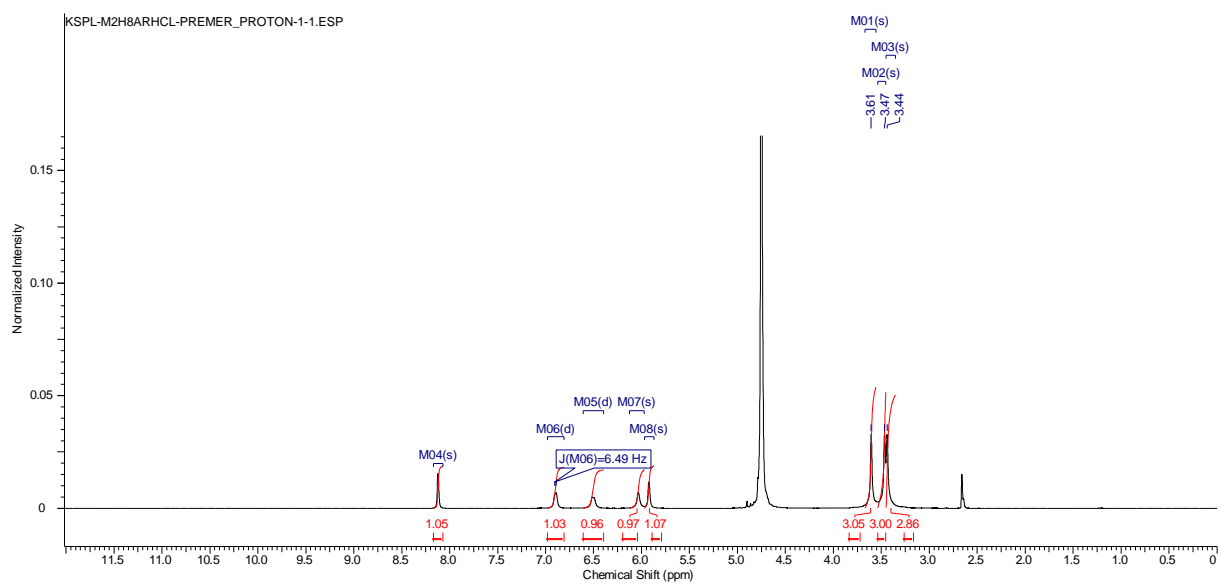
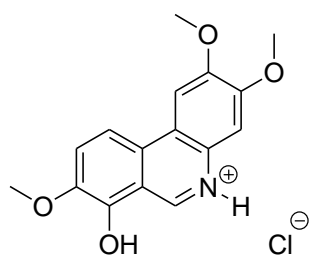
¹H NMR spektrum sloučeniny **XIIId**



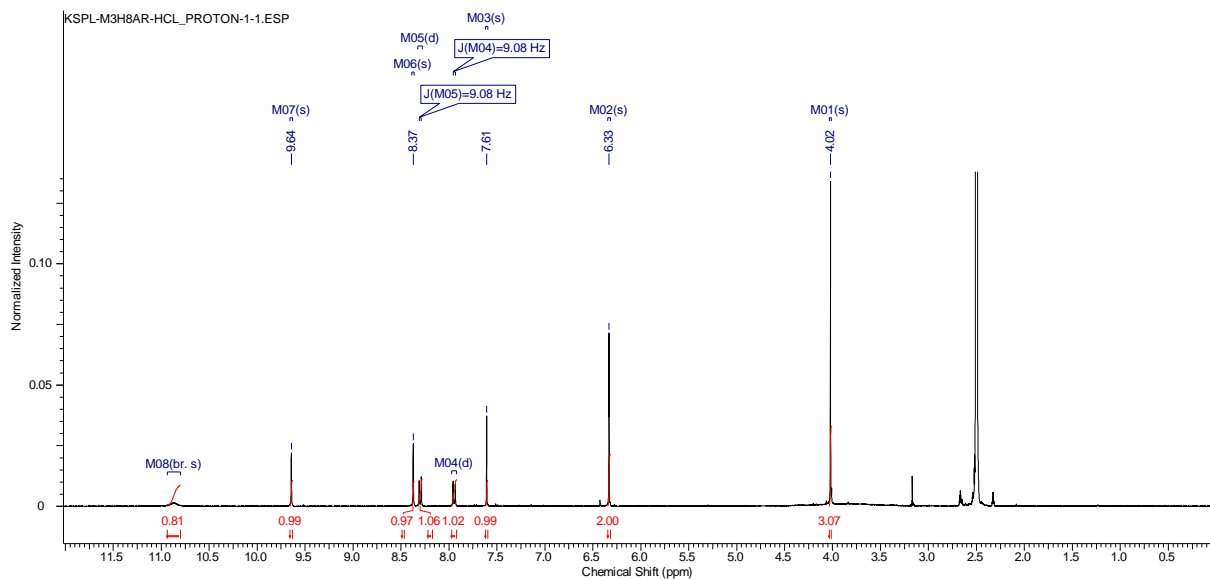
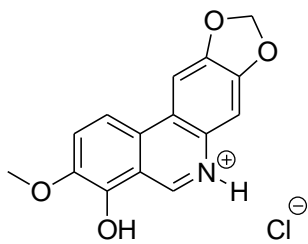
^1H NMR spektrum sloučeniny **XIIe**



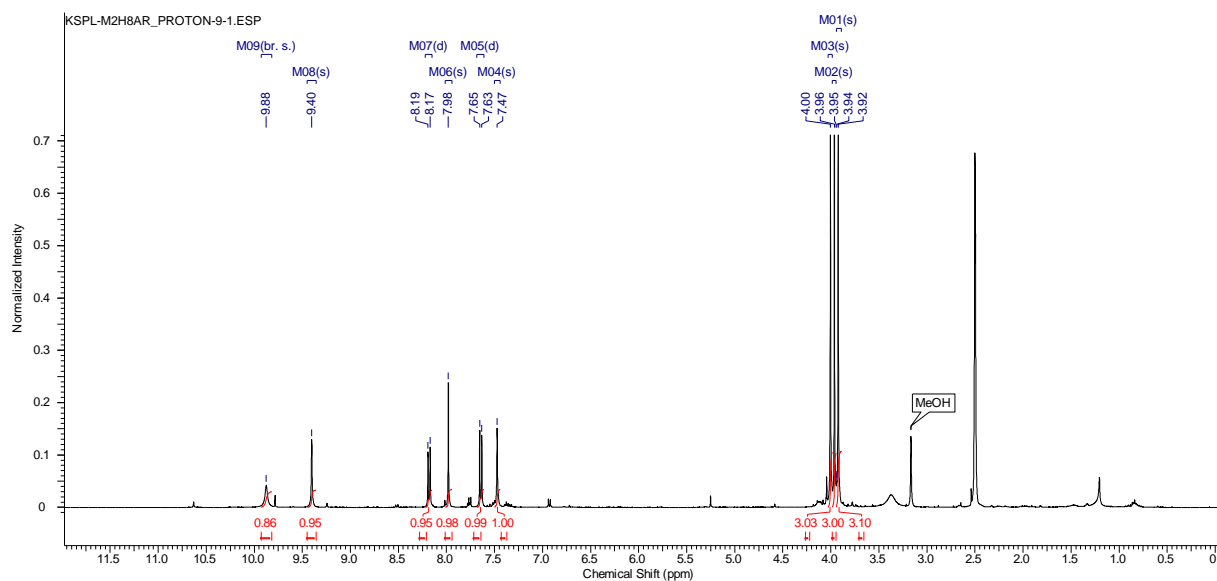
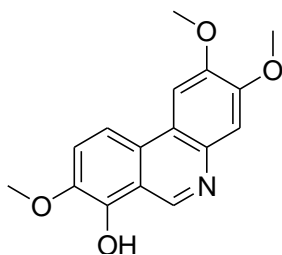
^1H NMR spektrum sloučeniny **XIIf**



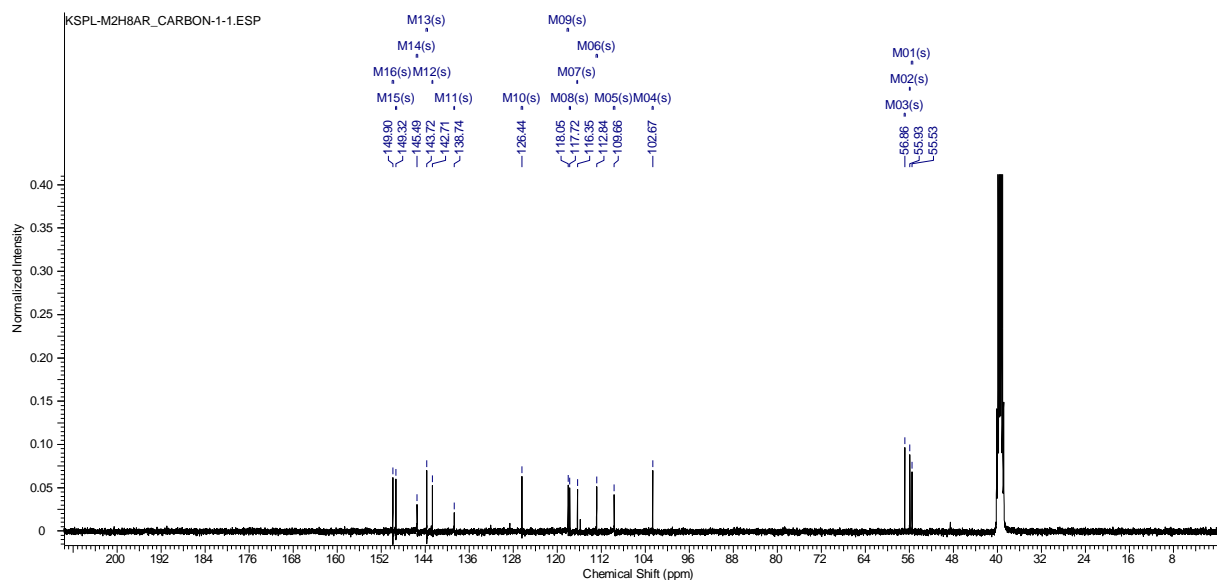
^1H NMR spektrum sloučeniny **XIIg**



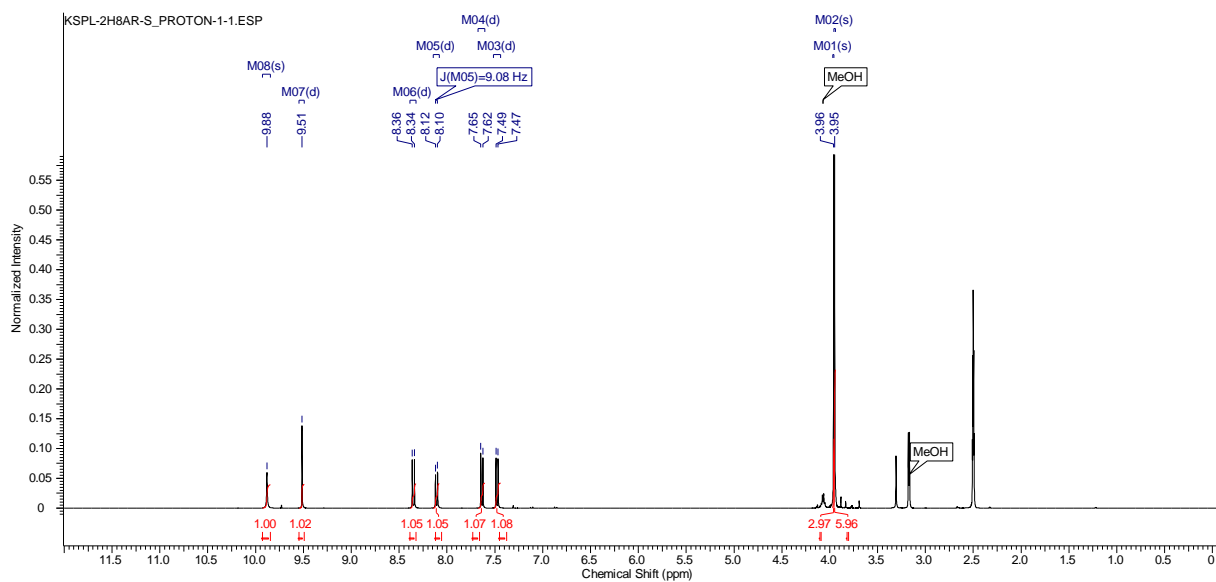
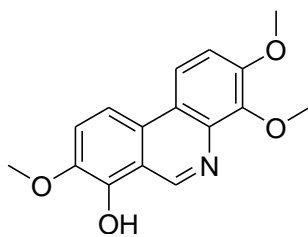
¹H NMR spektrum sloučeniny XIIIa



¹³C NMR spectrum sloučeniny XIIIa



¹H NMR spektrum sloučeniny **XIIIb**



¹³C NMR spectrum sloučeniny **XIIIb**

