UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra organické chemie

Divergentně orientovaná syntéza nových polycyklických isochinolinů a tetrahydrobenzo[*d*]azepinů pomocí syntézy na pevné fázi

Rigorózní práce

Autor:	Mgr. Petra Králová, Ph.D.
Studijní obor:	Organická chemie
Typ studia:	Rigorózní
Konzultant práce:	doc. RNDr. Miroslav Soural, Ph.D.

Olomouc 2023

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou závěrečnou práci vypracovala samostatně a že jsem přiložila a uvedla všechny informační zdroje a literaturu na konci práce. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne 23. srpna 2023

.....

Mgr. Petra Králová, Ph.D.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala doc. RNDr. Miroslavu Souralovi, Ph.D. za cenné rady, veškeré předané vědomosti a nápomocnost v průběhu celé naší spolupráce, která trvá již více než 11 let. Dále děkuji Dr. Přibylkovi za měření HRMS analýz připravených látek, Lence Pospíšilové za měření antimikrobiální aktivity a kolektivu Ústavu molekulární a translační medicíny (ÚMTM), především MUDr. Džubákovi a Dr. Gurské za měření cytotoxické aktivity a také kolektivu Katedry organické chemie a naší výzkumné skupině, ve které mám možnost už řadu let pracovat. Nakonec chci poděkovat za finanční podporu grantu Czech Science Foundation (project 21-06553S), bez které by tato práce nemohla vzniknout.

Bibliografická identifikace

Autor:	Mgr. Petra Králová, Ph.D.
Název práce:	Divergentně orientovaná syntéza nových polycyklických isochinolinů a tetrahydrobenzo[*d*]azepinů pomocí syntézy na pevné fázi
Typ práce:	Rigorózní
Pracoviště:	Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
Konzultant:	doc. RNDr. Miroslav Soural, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2023

Abstrakt:

Předložená rigorózní práce se zabývá divergentně orientovanou syntézou isochinolinů a tetrahydrobenzo[*d*]azepinů pomocí syntézy na pevné fázi. Principem této metodiky byla příprava společného intermediátu, jež byl dále modifikován za různých podmínek vhodnými acylačními činidly, jako například *α*-/*β*-aminokyselinami či jodoctovou kyselinou. Přičemž klíčový intermediát byl připraven z výchozího Fmoc-allylglycinu pomocí sedmi krokové syntézy zahrnující dvě zásadní reakce, a to metatézi a [4+2] Diels-Alderovu cykloadici, jež byly postupně optimalizovány pro modelový substrát. Po vývoji metodiky bylo přistoupeno ke stanovení limitů a omezení navrhované metodiky otestováním celkem dvanácti alkynolů, čtyřech dienofilů a třech elektrofilů, což vedlo celkem ke dvaceti finálním derivátům. Připravené látky byly podrobeny cytotoxickému a antimikrobiálnímu screeningu vůči vybraným nádorovým liniím a bakteriálním kmenům. Jedenáct derivátů vykazovalo mikromolární cytotoxickou aktivitu a pět derivátů dosahovalo antibakteriálních vlastností proti *M. lutteus* a *S. aureus*. Výsledky výzkumy byly publikovány v impaktovaném časopise a diskutovaná publikace je součástí předložené rigorózní práce.

Klíčová slova:	isochinoliny, syntéza na pevné fázi, metatéze, Diels-Alderova cykloadice, Fmoc-allylglycin
Počet stran:	63
Počet stran příloh:	62
Jazyk:	čeština, angličtina

Bibliographic identification

Autor:	Mgr. Petra Králová, Ph.D.
Název práce:	Diversity-oriented solid-phase synthesis of novel polycyclic isoquinoines and tetrahydrobenzo[*d*]azepines
Type of thesis:	Rigorous (RNDr. thesis)
Department:	Department of Organic chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc
Consultant:	doc. RNDr. Miroslav Soural, Ph.D.
Year of presentation:	2023

Abstract:

This thesis is devoted to the reagent-based diversity oriented solid-phase synthesis of isoquinoline and tetrahydrobenzo[*d*]azepine derivatives. The main deal of the methodology was preparation of common intermediate, which could be further modified under various reaction conditions using appropriate acylating agents, e. g. *α*-/*β*-aminoacids or iodoacetic acid. The key intermediate was synthesized from the starting Fmoc-allylglycine in seven steps including two ring-closure enyne methathesis and Diels-Alder reaction. Both of these reactions were gradually optimized for model substrate and after that, the developed conditions were applied to determine limitations and scopes of the suggested methodology. We tested twelve alkynols, fourth dienophiles and three electrophiles. In total, twenty final derivatives were successfully prepared. All prepared derivatives were subjected to cytotoxic and antimicrobial screening against selected cytotoxic cell lines and bacterial strains. More than twelve derivatives exhibited micromolar cytotoxic activity against at least one or more tumor cell lines and five derivatives had antibacterial activity against *M. lutteus* and *S. aureus*. The outcome of this research was published in the impacted journal (Journal of Organic Chemistry) and the discussed publication is also included in this thesis.

Keywords:	isoquinolines, soid-phase synthesis, methathesis, Diels-Alder cycloaddition, Fmoc-allylglycine
Number of pages:	63
Number of attached appendices:	62
Language:	Czech, English

OBSAH

Seznam zkratek **7**

1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE **10**

2. SEZNÁMENÍ S PROBLEMATIKOU **13**

3.1 RCEM a [4+2] DAC 13

3.2 Vybrané syntetické přístupy vedoucí k TIC a SIC derivátům a jejich fúzovaným analogům 17

3.2.1 Syntéza TIC derivátů 17

3.2.1.1 Částečná oxidace oktahydroisochinolinů *17*

3.2.1.2 Heckův cross coupling *17*

3.2.1.3 Pictet-Spenglerova reakce *18*

3.2.1.4 Bischler-Napieralskiho reakce *19*

3.2.1.5 [2+2+2] a [4+2] cykloadice *19*

3.2.2 Syntéza TIC derivátů 20

3.2.3 Syntéza fúzovaných TIC a SIC derivátů 20

3. KOMENTÁŘ K PŘEDKLÁDANÉ PRÁCI **21**

3.3 Příprava alkylačních činidel pomocí Sonogashira couplingu 21

3.4 Vývoj a optimalizace syntetické cesty 21

3.4.1 Syntéza alkylovaného intermediátu 2 22

3.4.2 Metatéze (RCEM) 23

3.4.3 [4+2] Diels-Alderova cykloadice (DAC) 25

3.4.4 Modifikace 2-Ns skupiny vedoucí k fúzovaným derivátům 35

3.4.5 Štěpení 4-Ns skupiny, tzv. denosylace 36

3.4.6 Výstavba západní části molekuly pomocí DOS 36

3.5 Cytotoxický a antimikrobiální screening 40

3.5.1 Cytotoxický screening 40

3.5.2 Antimikrobiální screening 42

4. SHRNUTÍ **43**

5. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY **44**

6. PUBLIKACE K PŘEDKLÁDANÉ PRÁCI **49**

7. DOPLŇUJÍCÍ INFORMACE K PUBLIKACI (SUPPORTING INFORMATION) **64**

7.1 NMR a HRMS spktra připravených alkynolů 64

7.2 NMR a HRMS spektra finálních sloučenin 77

Seznam zkratek

1D, 2D NMR	jedno- a dvoudimenzionální NMR spektra
Ala	alanin
AmAc	octan amonný
APT	uhlíkové spektrum (Attached Proton Test NMR)
aq	vodný roztok
bezv.	bezvodý
Boc	*tert*-butyloxykarbonyl
BB test	test s bromfenolovou modří
Bn	benzyl
C18	oktadecyová reverzní fáze
Cbz	benzyl-chlorformiát
COSY	2D NMR spektrum (Correlated Spectroscopy)
Cy	cyklohexyl
DAC	Diels-Alderova cykloadice
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
DCE	1,2-dichloroethane
DDQ	2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinon
DIAD	diisopropyl azodicarboxylate
DIPEA	*N*,*N*-diisopropylethylamid
DIC	*N,N´*-diisopropylkarbodiimid
DOS	divergentně orientovaná syntéza
DMAP	4-(*N*,*N*-dimethylamino)pyridin
DMF	*N*,*N*-dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
dr	diastereomerní poměr
E_a	aktivační energie
EA	ethylacetát
EDG	elektron-donorní skupiny (electron-donating group)
EDCI	ethyl(dimethylaminopropyl)karbodiimid
ekv./equiv.	ekvivalent
ESI	ionizace elektrosprejem
et al.	a kolektiv, *et alli* (z latiny)
EWG	elektron-akceptorní skupina (electron-withdrawing group)
Fmoc-OSu	*N*-(9*H*-fluoren-9-ylmethoxykarbonyloxy)sukcinimid
HBTU	hexafluorofosfát benzotriazolu tetramethyl uronia
HOBt	1-hydroxybenzotriazole
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HMBC	2D NMR spektrum (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (High-Revolution Mass Spectrometry)

HMQC	2D NMR spektrum (Heteronuclear Miltiple Quantum Coherence)
Hz	Hertz
IC_{50}	poloviční maximální inhibiční koncentrace
in situ	na místě (z latiny)
LC	kapalinová chroamtografie (Liquid Chromatography)
M	molarita roztoku
MCE	2-merkaptoethanol
Mes	2,4,6-trimethylfenyl
mp	teplota tání (melting point)
Ms	mesyl
MS	hmotnostní spektrometrie (Mass Chromatography)
Naph	naftyl
NI	neizolováno (not isolated)
NO	nepozorováno (not obtained)
NMR	nukleární magnetická rezonance (Nuclear Magnetic Resonance)
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Ns	nitrobenzensulfonyl
Phe	fenylalanin
PIP	piperidin
PTSA	*p*-toluensulfonová kyselina
RCEM	metatéze využívající uzavření cyklu z enynu (Ring-Closure Enyne Metathesis)
ROESY	2D NMR spektrum s Overhausovým efektem (Rotating-Frame Overhauser Effect Correlation Spectroscopy)
rozp.	rozpouštědlo
RP	reverzní fáze (Reverse Phase)
rt	pokojová teplota (room temperature)
Ru	Grubbsův katalyzátor
RVO	rotační vakuová odparka
SPS	syntéza na pevné fázi
TBAHS	tetrabutylammonium bisulfát
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran
TIC	deriváty 1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-karboxylové kyseliny
TPP	trifenylfosfin
UV	ultrafialové záření
VL	výchozí látka

Seznam nádorových linií

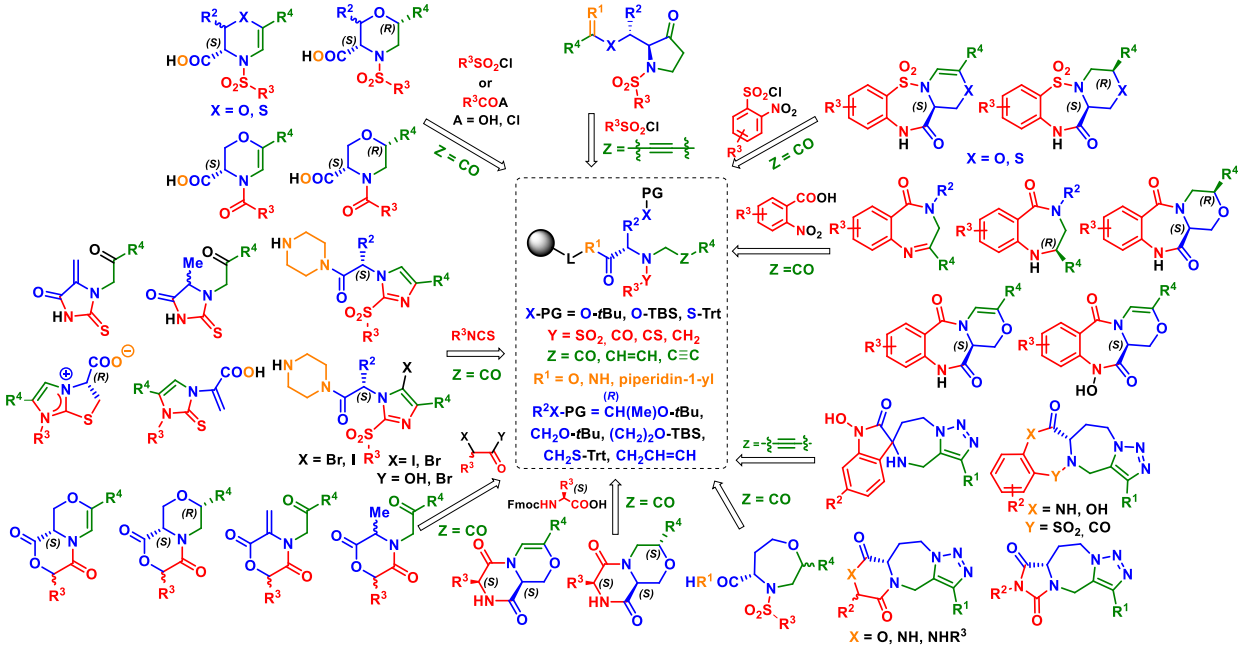
A549	lidský plicní adenokarcinom
BJ	zdravý lidský fibroblast
CCRF-CEM	T-lymfoblastická leukémie
CEM-DNR	T-lymfoblastická leukémie rezistentní na daunorubicin
HCT116	lidský kolorektální karcinom
HCT116p53-/-	lidský kolorektální karcinom deficitní na p53
K562	akutní myeloidní leukémie
K562-TAX	akutní myeloidní leukémie rezistentní na paklitaxel
MRC-5	fetální lidský fibroblast
U2OS	lidský osteosarkom

Zkratky v NMR spektrech

br./d	široký singlet/dublet
s	singlet
d	dublet
dd	dublet dubletu
ddd	dublet dubletu dubletu
dddd	dublet dublet dubletu dubletu
t	triplet
td	triplet dubletu
m	multiplet

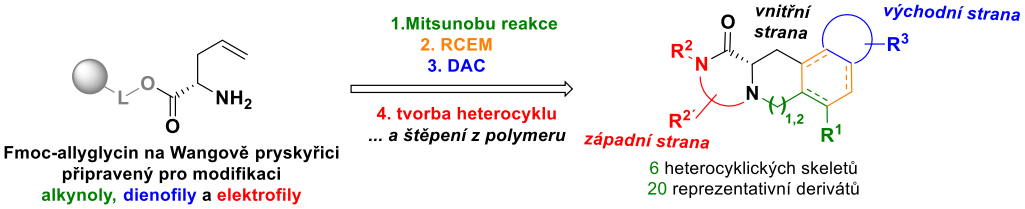
1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE

Předkládaná rigorózní práce navazuje na předchozí výzkum (**Obrázek 1**) ve výzkumné skupině doc. Sourala, ve kterým jsem se zabývala divergentně orientovanou syntézou (DOS) nových dusíkatých heterocyklů vycházející s 2/4-nitrobenzensulfonamidů (Ns-amidů) jako klíčových intermediátů.[1] Tato práce se zabývá přípravou strukturně nových polycyklických tetrahydroisochinolinů a tetrahydrobenzo[*d*]azepinů (**Obrázek 2**).



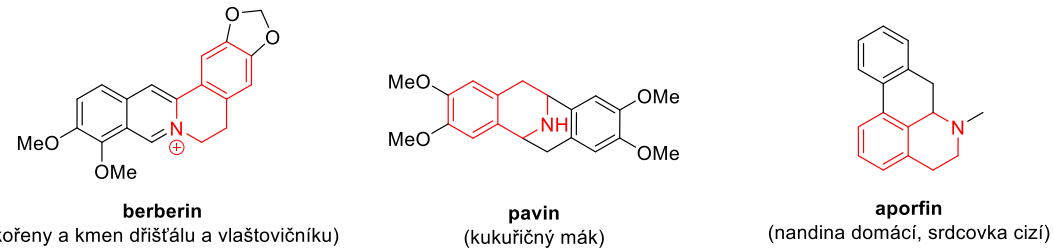
Obrázek 1. Předchozí výzkum ve výzkumné skupině doc. Sourala vycházející z imobilizovaných Ns-amidů a/nebo *α*-aminoketonů a jejich následná modifikace na různé typů dusíkatých heterocyklů (převzato a upraveno)[1]

Navrhovaná metoda vycházela z imobilizovaného Fmoc-allylglycinu ukotveného na Wangovu pryskyřici ve formě esteru. Pro její vývoj a aplikovatelnost bylo otestováno celkem dvanáct různě diversifikovaných alkynolů, pět dienofilů a tři elektrofily (**Obrázek 2**). Příprava žádaných heterocyklů byla provedena pomocí syntézy na pevné fázi (SPS) v kombinaci s DOS a cykloizomeračními a cykloadičními reakcemi, tj. metatézi enynů (RCEM) a [4+2] Diels-Alderovou cykloadici (DAC). Navrhované spojení metod umožnilo rychlou a efektivní syntézu chemické knihovny se snadnou izolací všech reakčních intermediátů a cílových produktů.[1,2]



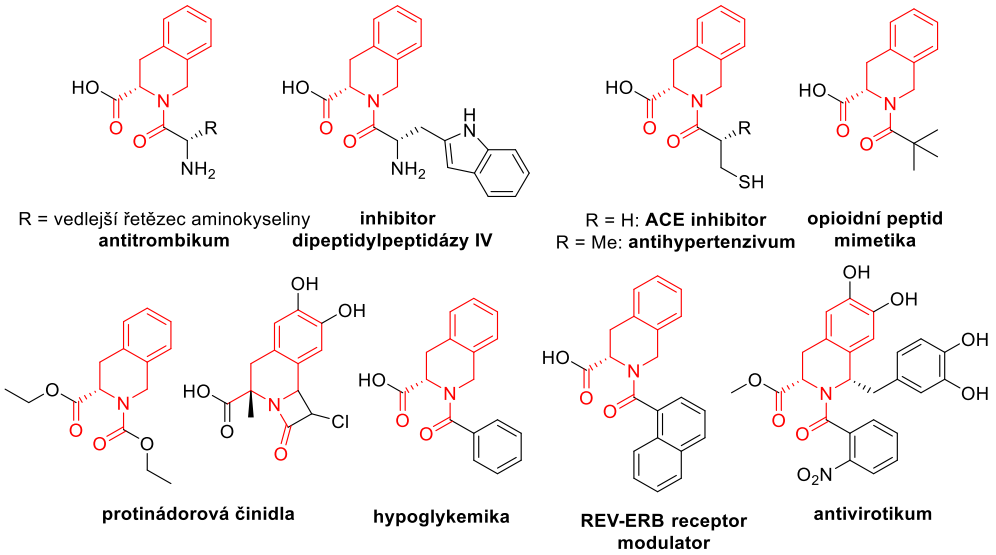
Obrázek 2. Výchozí komponenty pro přípravu finálních heterocyklů připravených pomocí SPS a DOS

Sloučeniny nesoucí isochinolinovou jednotku patří do skupiny přírodních a syntetických alkaloidů. Významné biologické účinky pak vykazují především 1,2,3,4-tetrahydroisochinoliny, například alkaloidy berberinu,[3] pavinu[4] a apofinu[5] (**Obrázek 3**) a jejich analoga nesoucí karboxylovou skupinu v poloze C3 na tetrahydroisochinolinovém skeletu označovaná jako TIC deriváty (**Obrázek 4**).



Obrázek 3. Příklady přírodních alkaloidů s 1,2,3,4-tetrahydroisochinolinovou jednotkou[3–5]

Mnohé z těchto látek vykazují celou řadu zajímavých farmakologických vlastností, jako například antitrombické, protinádorové, hypoglykemické či antivirotické účinky.[6–15] Přičemž biologické vlastnosti tetrahydrobenzo[*d*]azepinů (SIC) či fúzovaných analogů tetrahydroisochinolinů nebyly doposud studovány. Z tohoto důvodu se předkládaná práce zaměřuje na přípravu a studium biologických účinků strukturně nových tetrahydroisochinolinových polycyklických sloučenin mající ve své struktuře TIC jednotku. Připravené deriváty byly otestovány vůči vybraným nádorovým liniím a bakteriálním kmenům, jejichž soupis je uveden v podkapitole 3.5 této práce, v které jsou zároveň shrnuty i výsledky biologického testování.



Obrázek 4. Farmakologicky příbuzné *N*-acyl-TIC deriváty a jejich biologické vlastnosti[6–15]

Předkládaná práce je standardně členěna do sedmi kapitol a podkapitol. V první kapitole Seznámení s problematikou je stručně představena RCEM a DAC včetně jejich mechanismů a nároků na reaktivitu. Detailnější popis pojednávající o SPS a DOS není součástí práce, neboť tyto metody byly diskutovány dříve v závěrečných pracích uchazečky vykonávaných na Katedře organické chemie

v letech 2011–2020.[1,16,17] Další kapitola popisuje vybrané syntetické přístupy vedoucí k TIC a SIC derivátům a jejich fúzovaným analogům, přičemž v celé kapitole 2. je využito arabského číslování struktur. Následuje Komentář k předkládané práci (3. kapitola), kde je stručně rozebrána optimalizace vyvinuté metody a výsledky cytotoxického a antimikrobiálního screeningu připravených látek, jež jsou doplněny o doposud nepublikované výsledky. Celý provedený výzkum je shrnut v kapitole Shrnutí (4. kapitola), následované kapitolami Přehled použité literatury (5. kapitola), Publikace k předkládané práci (6. kapitola) a Přílohy, tzv. Supporting Information (7. kapitola). Poslední dvě kapitoly jsou převzaty z přiložené publikace. Pro lepší orientaci bylo v 3.–7. kapitole ponecháno původní arabské číslování z publikace, začínající opět od struktury 1.

2. SEZNÁMENÍ S PROBLEMATIKOU

Klíčovými reakcemi předkládané práce je uzavření chinolinového cyklu pomocí metatéze enynů a [4+2] Diels-Alderova cykloadice (DAC), které jsou rozebrány v následujících podkapitolách.

3.1 RCEM a [4+2] DAC

Metatéze patří v organické syntéze mezi široce využívané cykloizomerační reakce, které lze rozdělit na olefinickou, tj. reakci mezi dvěma alkeny a enynovou metatézi, tzv. RCEM (z angličtiny ring-closure enyne methathesis). RCEM spočívá v intramolekulárním uzavření cyklu z enynu, tj. látky obsahující jak C-C dvojnou, tak C-C trojnou vazbu. Podle typu koordinace karbenu kovu na alkyn může reakce poskytovat buďto exocyklický **5a** nebo endocyklický 1,3-dien **5b**. Ze stereochemického hlediska jsou pro RCEM výhodnější exocyklické dieny **5a**, kterých je možno využít pro následnou [4+2] DAC. Podrobnější mechanismus vzniku těchto 1,3-dienů je znázorněn ve **Schéma 1** a liší se svou regioselektivitou, tj. velikosti vznikajícího cyklu. V případě exocyklického dienu dochází po koordinaci karbenu kovu na vnitřní uhlík alkynu (látka **1**) ke vzniku metalcyklobutenu **2a**, jehož čtyřčlenný cyklus může podléhat cykloreverzi zpět na výchozí komponentu **1**, nebo naopak otevření cyklobutenového kruhu na vinyl-metalkarbenový komplex **3a**. Ten dále podléhá intramolekulární [2+2] cykloadici a dochází k následnému otevření metalcyklobutanového kruhu **4a** na žádaný exocyklický 1,3-dien **5a** a k regeneraci karbenu kovu. V případě endocyklického 1,3-dienu **5b** je mechanismus téměř totožný s tím rozdílem, že po koordinaci karbenu kovu na terminální konec alkynu **1** (intermediát **2b**) a následné intramolekulární [2+2] cykloadici dochází ke vzniká metalcyklobutanu **4b**, který je dále konvertován na žádaný endocyklický dien **5b** a karben kovu. [18]

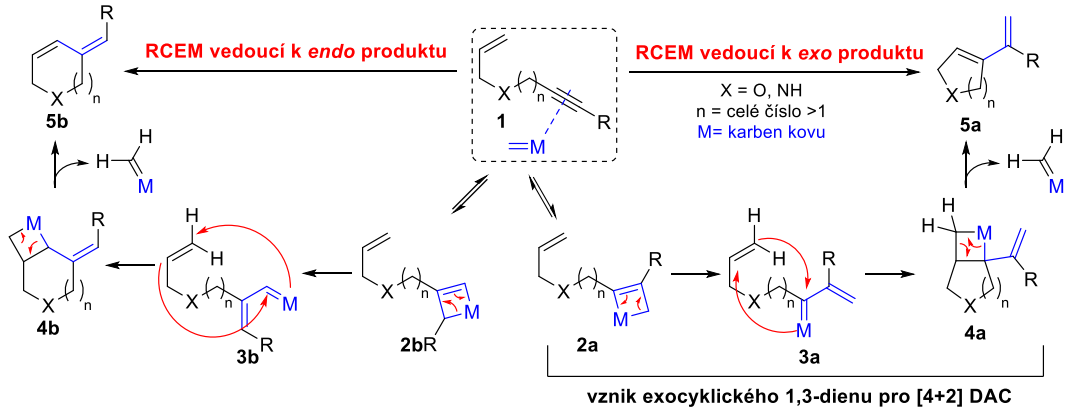
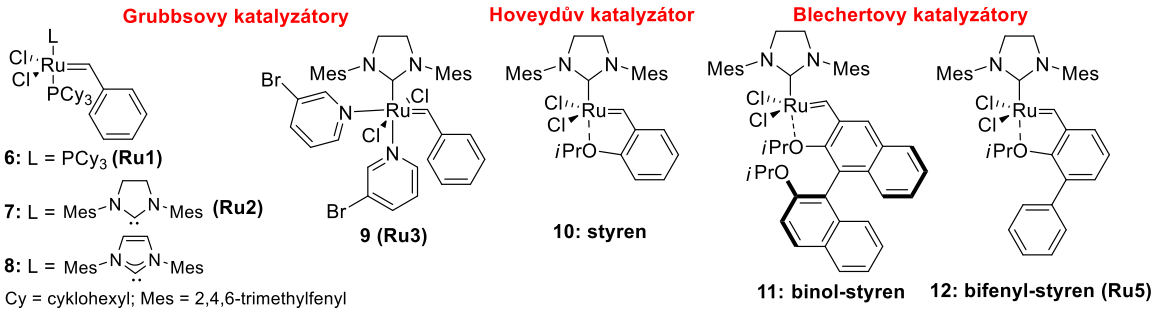


Schéma 1. Mechanismu RCEM: Vazba karbenu kovu na vnitřní a terminální uhlík alkynu vedoucí k exocyklickému **5a** a endocyklickému 1,3-dienu **5b**[18]

RCEM byla poprvé popsána v roce 1985 Timothym M. Sisavecem a Thomasem J. Katzem jako karbenem wolframu katalyzovaná polymerizace acetylenu a olefinu probíhající s vysokou stereoselektivitou.[19] Další používané katalyzátory byly na bázi karbenu molybdenu či ruthenia, například Grubbsův katalyzátor první generace (Ru1) **6**, který byl termálně labilní a vykazoval nízkou

reaktivitu. Později byly objeveny stabilnější a aktivnější Ru-alkylidenové komplexy, tzv. Grubbsovy katalyzárory druhé generace (Ru2) **7–8**, jež reagovaly i s eneny nesoucími elektron-akceptorní skupiny. Podobného využití měly i Grubbsovy katalyzátory třetí generace **9** (Ru3) a katalyzátory na bázi styrenu (Hoveydův katalyzátor, Ru4) **10**a tzv. Blechertovy katalyzátory, kde patří binol-styrenu **11** nebo bifenyl-styrenu **12** (Ru5; **Obrázek 5**).[18,20]



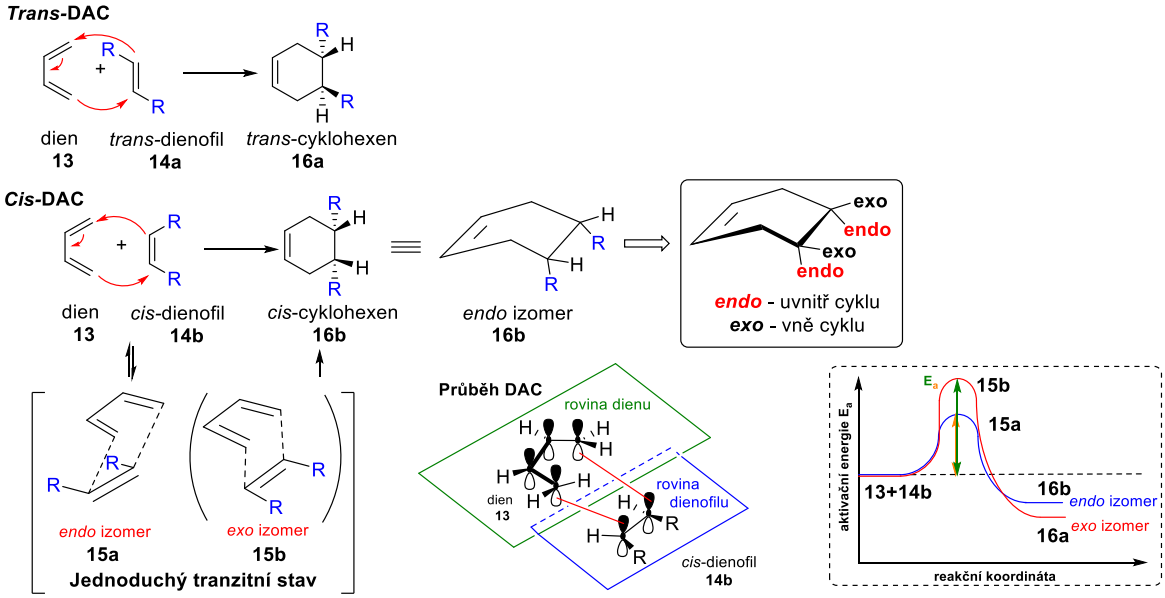
Obrázek 5. Vybrané katalyzátory pro metatézi na bázi ruthenia[18,20]

Pro RCEM se hojně využívají Grubbsovy katalyzátory Ru1 a Ru2 o koncentraci 3–20 mol% v závislosti na typu výchozího substrátu. Reakce probíhají za inertních a mírných podmínek (pokojová teplota až 50 °C)[21–25] i vyšších teplot (70–110 °C)[26–28] v bezvodých rozpouštědlech, jako například CH_2Cl_2,[18,22–25] toluenu[26–28] nebo benzenu.[29] V případě výchozího substrátu nesoucího elektron-akceptorní skupiny bývá reakce akcelerována, a to například roztokem chloridu lithného v *N*,*N*-dimethylformaidu (DMF).[30] Kromě syntézy v roztoku lze RCEM provést i na polymerním nosiči pomocí SPS.[31–34] Hlavní výhodou RCEM na pevné fázi oproti tradiční roztokové syntéze je jednoduché odstranění vznikajících vedlejších produktů a katalyzátoru z reakční směsi, a to odfiltrováním reakčního roztoku pomocí injekční stříkačky s porózní fritou a promytím čerstvým rozpouštědlem. Toto je i jeden z důvodů, proč se předkládaná práce zabývá RCEM na SPS.

Produkty RCEM, konkrétně exocyklické 1,3-dieny reagující s vhodnými dienofily, mohou být konvertovány pomocí [4+2] DAC na polycyklické heterocyklické sloučeniny, jako například bicyklické či polycyklické *β*-laktamy,[22] indolizidiny,[24] tetrahydropyridiny,[35] hexahydroisoindoly,[29] aza- a oxa-steroidy,[29] azapinony[34] peptidy a peptidomimetika[36] a mnohé další. Existují i přístupy, kdy byla RCEM a [4+2] DAC provedena v jednom kroku jako tzv. „ope-pot“ reakce.[23]

[4+2] DAC stejně jako RCEM je hojně využívána v organické syntéze. Jedná se o cykloadici 4π-elektronů planárního konjugovaného dienu **13** a 2π-elektronů dienofilu **14a–b** (alkenu či alkynu) reagujících přes tzv. jednoduchý cyklický tranzitní stav **16a–b** za vzniku nových energeticky stabilnějších *σ*-vazeb oproti *π*-vazbám nenasyceného šestičlenného cyklu **16a–b** (**Obrázek 6**). Reakce byla poprvé objevena a popsána v roce 1928 Otto Dielsem a Kurtem Alderem, po nichž je pojmenována a za níž v roce 1950 dostali Nobelovu cenu.[37] Oblíbenost DAC spočívá ve vzniku nových stereocenter na obou koncích vytvořených jednoduchých vazeb, ale zároveň v zachování stereocentra dienofilu (tj. stereospecifitě) a selektivitě reakce.[23,28] Existují však výjimky, kdy DAC probíhala nestereospecificky

a poskytovala směr diastereomerů,[22,26] vše totiž závisí na typu východního dienu a dienofilu a jejich substitucích. Tyto parametry jsou zásadní pro očekávaný průběh reakce. K zachování stereochemie, tzn. stereospecifitě reakce, obecně dochází vlivem planárního uspořádání dienu **13** a dienofilu **14a–b**. Pokud se dienofil **14a** nachází v *trans* konformaci, pak se v této konformaci nachází i substituenty na vznikajícím cyklohexenovém kruhu, tzn. že v případě *trans*-dienofilu **14a** vzniká *trans*-cyklohexen **16a**, zatímco *cis*-dienofil **14b** poskytuje cyklohexen v *cis*-konformaci **16b** (**Obrázek 6**).[38]



Obrázek 6. Mechanismus, stereospecifita a stereoselektivita DAC

Výše diskutované parametry se pak využívají k hodnocení selektivity DAC uváděné jako tzv. *endo* a *exo* izomery **16a–b**, jejichž vznik odkazuje na bicyklické norbonany. *Endo* pozice na bicyklu souvisí s pozici uvnitř šestičlenného cyklu a *exo* s pozici vně něj (**Obrázek 6**). Přičemž majoritním produktem DAC bývá *endo* izomer **16b** a jeho vznik souvisí s překryvem orbitalu dienu **13** a dienofilu **14b** přes tranzitní stav **15a** a maximální akumulaci dvojných vazeb, i za předpokladu, že je toto uspořádání často stericky náročnější. Překryv orbitalu dienu **13** a dienofilu **14b** je tím větší, čím více leží substituenty na dienofilu přímo pod dienem (tranzitní stavy **15a–b**). Tato interakce mezi π-systémem dienu **13** a dienofilu **14b** je popisovaná jako sekundární orbitální efekt, který je vysvětlován tím, že orbitaly spojené se skupinou v konjugaci s dienofilní vazbou se překrývají s vnitřními orbitaly dienu, což je specifické pro *endo* selektivitu (látka **16b**). Ta je charakteristická pro rigidní dienofily, například pro anhydrid kyseliny maleinové či benzochinon, naopak v případě akrylátů, krotonátů, polysubstituovaných dienů, velmi objemných dienofilů či irreverzibilních reakcí (například v případě furanu a dienu) bývá *endo* selektivita potlačena ve prospěch *exo* izomeru.[38] V těchto případech pak mluvíme o tzv. kinetickém a termodynamickém produktu DAC. Kinetickým produktem reakce bývá *endo* izomer, který vzniká rychle při ireverzibilní reakci a může vykazovat nižší stabilitu než termodynamicky stabilnější *exo* produkt vznikající pomaleji (**Obrázek 6**). Vše souvisí s tranzitním stavem této reakce, substituci dienu a objemnosti substituentů dienofilu.[38]

Co se týká charakteristiky výchozích komponent, výchozí exocyklický 1,3-dien může nést jak elektron-donorní (EDG), tak elektron-akceptorní skupiny (EWG), jejichž přítomnost pak ovlivňuje reaktivitu s daným dienem, který rovněž může nést jak EDG (například dienofily 1,2-cyklohexen či furan aj), tak EWG skupiny (například dienofily maleimid, *N*-fenylmaleimid, diethylfuramát dimethylacetylendikarboxylát, 4-fenyl-1,2,4-triazolin-3,5-dion aj.). Obecně platí, že dieny s EDG jsou reaktivnější než dieny s EWG skupinami a bezpodmínečně musejí zaujímat *cis*-konformaci (*syn*), aby mohlo dojít k cykloadici mezi dienem a dienofilem. Ačkoli mnoho acyklických dienů bývá přítomno ve své stabilnější *trans*-konformaci, exocyklické 1,3-dieny získané RCEM zaujímají přesně požadovanou konformaci pro DAC, a tudíž jsou pro tuto reakci vhodnými substráty, jež jsou použitelné bez dalších transformací. Dienofily musí splňovat tři parametry, a to typ konformace v jaké se nachází a její dopad na vznikající cyklohexenový cyklus a dále přítomnost EDG a EWG skupin, jež mohou zásadně ovlivňovat/zpomalovat rychlost reakce.[39]

Podle typu dienofilu lze rozlišit normální a inverzní DAC. U tzv. normální DAC nese dienofil skupinu přitahující elektrony (EWG) a je v konjugaci s dienem, což usnadňuje průběh reakce. V případě inverzní DAC je dienofil konjugován se skupinou darující elektrony (EDG) a její průběh bývá často znemožněn/ztížen,[40] a proto je potřeba reakci urychlit/aktivovat pomocí Lewisovy kyseliny, například diethylzinku[41] či fluoridu boritého;[42] nebo použitím mikrovlnného záření.[41] DAC probíhají převážně za vyšších teplot (>50 °C),[22,23,29,35] existují i výjimky, kde bylo využito laaboratorní teploty v závislosti na typu použitého dienofilu, například 4-fenyl-1,2,4-triazolinu-3,5-dionu,[22] anebo chlazení při katalýze Lewisovou kyselinou.[34,42] Nejčastějšími rozpouštědly pak bývají CH_2Cl_2,[22] toluen,[23,26,28,29] THF,[41] benzen[35] nebo DMSO. Kromě tradiční roztokové syntézy lze [4+2] DAC uplatnit i na pevné fázi,[29,43–45] což s sebou přináší opět řadu výhod, zvláště jednoduché odstranění nadbytku dienofilu, který se na pevné fázi využívá a reakčního roztoku.

V závislosti na výchozím dienu/dienofilu a substitucích v molekule vznikajícího cyklohexenu, mohou cílové produkty podléhat *in situ* oxidaci,[42,46] tj. aromatizaci, například na nenasycený naftalen-1,4-dionový kruh **22** (**Schéma 2**).[46] Oxidace však může být dosaženo i dodatečně, například pomocí 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu (DDQ),[28,47] MnO_2,[48] $KMnO_4$ a TFA,[49] palladium-katalyzované oxidativní dehydrogenace[50] nebo bromace za následné eliminace pomocí 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-enu (DBU).[51]

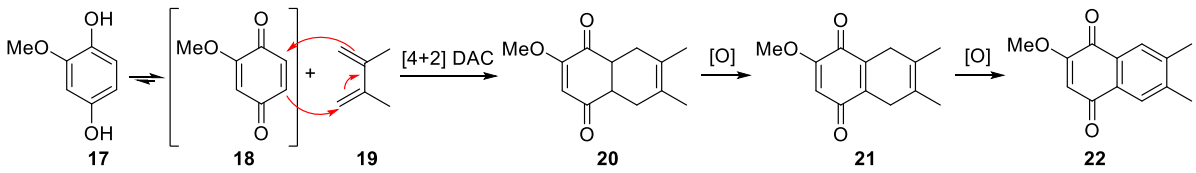


Schéma 2. Příklad spontánní oxidace při DAC[46]

3.2 Vybrané syntetické přístupy vedoucí k TIC a SIC derivátům a jejich fúzovaným analogům

Tato kapitola je rozdělena do třech podkapitol pojednávajících postupně o 1,2,3,4-tetrahydroisochinolinech nesoucí karboxylovou skupinu v poloze C3 (TIC deriváty), derivátech tetrahydrobenzo[*d*]azepin-2-karboxylové kyseliny (SIC deriváty) a jejich fúzovaných analogách.

3.2.1 Syntéza TIC derivátů

TIC deriváty je možno připravit několika syntetickými cestami, například částečnou oxidaci oktahydroisochinolinů,[52] Heckovým cross couplingem,[53] pomocí Pictet-Spenglerovy[54–57] nebo Bischler-Napieralskiho reakce[58] či [2+2+2] a [4+2] cykloadicemi, které jsou diskutovány dále v práci.[28] Existují však i přístupy využívající organokovových sloučenin,[59] oxidativní Pictet-Spenglerovu reakci,[60] Friedel-Craftsovu cyklizaci[61] či Ritterovu reakci.[62]

3.2.1.1 Částečná oxidace oktahydroisochinolinů

Výchozí oktahydroisochinolin **23** byl podroben částečné oxidaci pomocí hydroxidu sodného na vzdušném kyslíku. Reakce poskytovala směs od sebe izolovatelných izomerů, tj. (9*S*)-hexahydro- **24** a tetrahydroisochinolinů **25** (**Schéma 3**).[52]

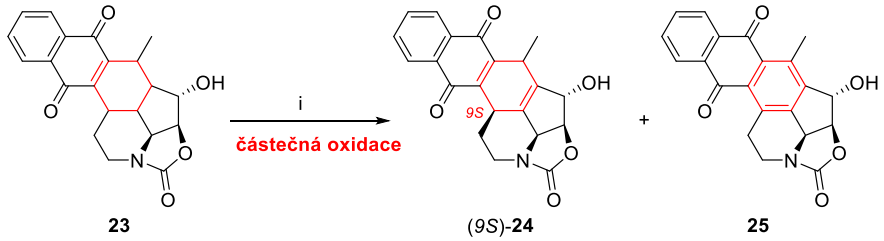
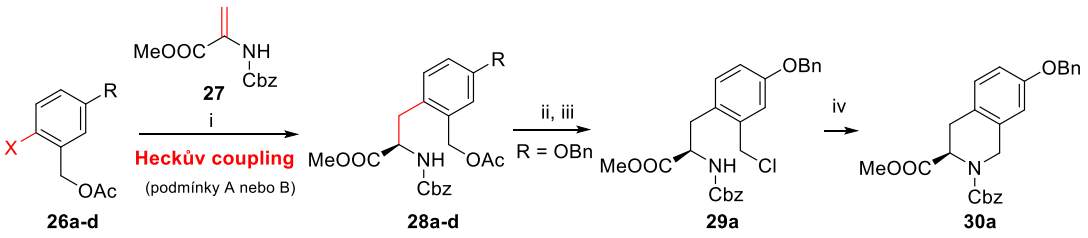


Schéma 3. Částečná oxidace oktahydroisochinolinu **23** na tetrahydroisochinolin **25**
Podmínky a činidla: (i) NaOH, O_2, 15 min, rt.[52]

3.2.1.2 Heckův cross coupling

Příprava TIC derivátu **30a** spočívala v Heckově cross couplingu aryl jodidu **26a–d** s dehydroaminokyselinou **27** za katalýzy sloučeninami palladia (**podmínky A a B**) v závislosti na typu použitého aryl jodidu **26a–d** (**Schéma 4**). V případě aryl bromidů **26a–c** byla Heckova reakce uskutečněna pomocí tetrabutylamonium chloridu, octanu paladnatého a triethylaminu jako báze. Naopak aryl jodidy **26a** a **26d** reagovaly na odpovídající produkty **28a** a **28d** v přítomnosti *N*,*N*-dicyklohexylmethylaminu a bis(tri-*terc*-butylfosfinu)paladia.

Připravené *O*-acetylované prekurzory **28a–d** pak byly dále podrobeny bazické deprotekci, chloraci a bazicky katalyzované cyklizaci na finální TIC derivát **30a**, který byl připraven v 99% enantiomerní čistotě (stanoveno pomocí chirální HPLC chromatografie).[53]



28a: R = OBn, X = Br (podmínky A, 74 %), I (podmínky B, 92 %)
28b: R = Me, X = Br (podmínky B, 66 %)
28c: R = NO_2, X = Br (podmínky B, 89 %)
28d: R = Br, X = I (podmínky A, 45 %)

Schéma 4. Syntéza tetrahydroisochinolinu **30a** pomocí Heckova cross couplingu

Podmínky a činidla: (i) **podmínky A:** Bu_4NCl, 5 mol% $Pd(OAc)_2$, Et_3N, THF, 4,5 h, 70 °C (45 % a 74 %); **podmínky B:** *N*,*N*-dicyklohexylmethylamin, bis(tri-*terc*-butylfosfin)palladia, dioxan, 12 h, 100 °C (66 %, 89 % a 92 %); (ii) K_2CO_3, MeOH (95 %; ee 99,4 %); (iii) MsCl, *N*,*N*-diisopropylethylamin (DIPEA), CH_2Cl_2 (99 %; ee 97,7 %); (iv) Cs_2CO_3, *N*,*N*-dimethylformamid (DMF), (93 %; ee 97,0 %).[53]

3.2.1.3 Pictet-Spenglerova reakce

Ke konstrukci TIC skeletu je hojně využívána Pictet-Spenglerova reakce.[54–57] Jedná se o kondenzaci alifatického primárního aminu s aldehydem či ketonem za kyselé katalýzy. Tento typ reakce byl aplikován například k přípravě dvou různých izomerů TIC derivátů **34** a **38** odvozených od *meta*-tyrosinu **31** (**Schéma 5**). Metoda byla nejprve využita k přípravě 6-hydroxy TIC izomeru **34**, jenž byl získán po esterifikovaci a *N*-acylaci základní TIC struktury **32**. 8-hydroxy izomer **38** byl připraven bromací *meta*-tyrosinu **31** za následné Pictet-Spenglerovy cyklizace skrz vakantní *ortho*-pozici a dále pomocí esterifikace, *N*-acylace a odredukováním atomu bromu pomocí vodíku a palladia na aktivním uhlí (Pd/C).[54]

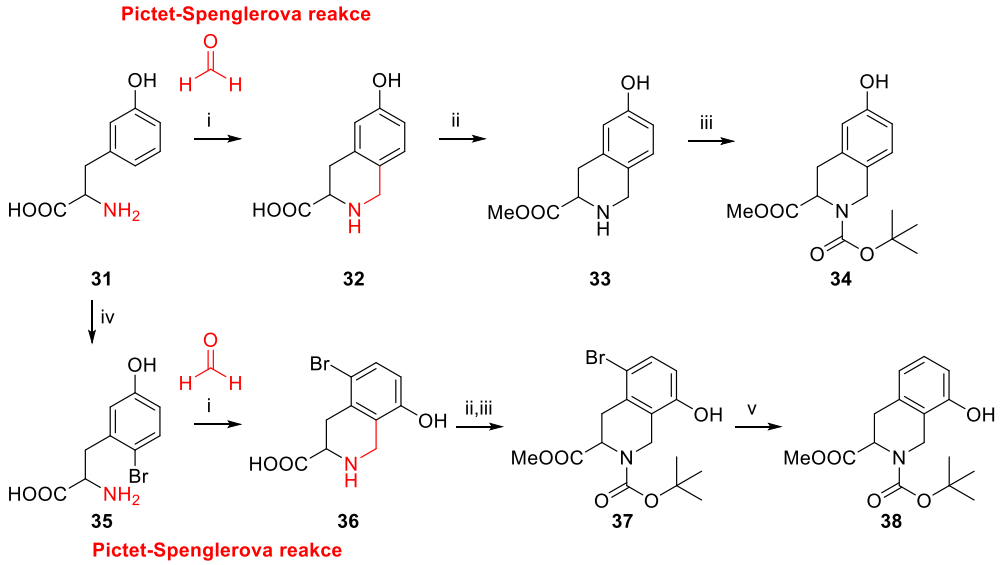


Schéma 5. Syntéza 6- a 8-hydroxy izomerů TIC derivátů **34** a **38** pomocí Pictet-Spenglerovy reakce

Podmínky a činidla: (i) HCl, 45 min, 90 °C; (ii) CH_2N_2,CH_2Cl_2, 24 h, rt ; (iii) Boc_2O, CH_2Cl_2; (iv) Br_2, AcOH, 30 min, 5 °C, poté 1 h, rt; (v) H_2, Pd/C, EtOAc.[54]

3.2.1.4 Bischler-Napieralskiho reakce

Jedná se o intramolekulární elektrofilní aromatickou substituci *β*-arylethylamidů nebo *β*-arylethylkarbamátů v přítomnosti trichloridu fosforylu, která je často využívaná k syntéze dihydroisochinolinů. Zajímavá alternativa metody byla publikována v roce 1995, kdy byl výchozí Boc-protekovaný (L)-3,4-dimethoxyfenylalanin ukotvený na Merrifildově pryskyřici **39** podroben kysele katalyzované deprotekci Boc protektivní skupiny za následné acylace deriváty kyseliny octové. Připravený intermediát **40** byl dále využit pro Bischler-Napieralskiho reakci poskytující klíčový dihydroisochinolin **41**. Redukcí dvojné vazby pomocí kyanoborohydridu sodného a uvolněním z polymeru pomocí fluorovodíkové kyseliny byl získán žádaný tetrahydroisochinolin **42** (**Schéma 6**).[58]

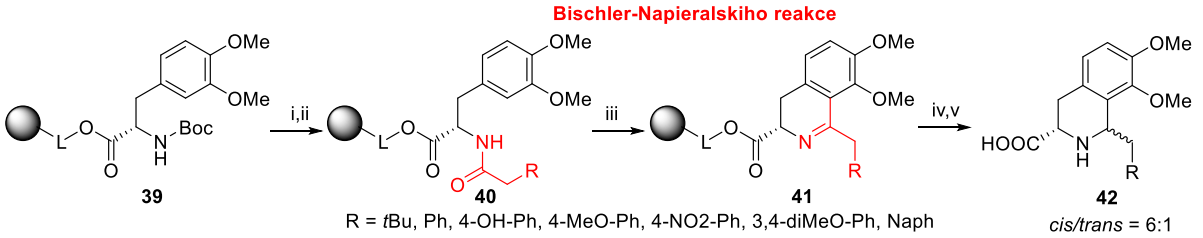


Schéma 6. Syntéza tetrahydroisochinolinu **42** pomocí Bischler-Napieralskiho reakce

Podmínky a činidla: (i) TFA, CH_2Cl_2, 10 min, rt; (ii) RCH_2COOH, *N*,*N*-diisopropylethylamin (DIPEA), hexafluorofosfát benzotriazolu tetramethyl uronia (HBTU), *N*,*N*-dimethylformamid (DMF), 10 min, rt; (iii) $POCl_3$, $PhCH_3$, 8 h, 80 °C; (iv) $NaBH_3CN$, MeOH/HCl; (v) HF, *p*-kresol, 1 h, 0 °C (25–30 %).[58]

3.2.1.5 [2+2+2] a [4+2] cykloadice

Cykloadiční reakce při konstrukci heterocyklických sloučenin nabývají stále větší popularity. Jednou z možnosti výstavby TIC skeletu jsou [2+2+2] ko-trimerizace vycházející z odpovídajícího diynu **43** reagujícího s vhodným monoynem. V případě [4+2] Diles-Alderovy cykloadice (DAC) je pak možno vycházet z 1,3-dienů s vnitřním či vnějším kruhem **44–45**. Stručné znázornění aplikace těchto cykloadičních reakcí pro přípravu tetrahydroisochinolinů **46** je zobrazeno ve **Schéma 7**.[28]

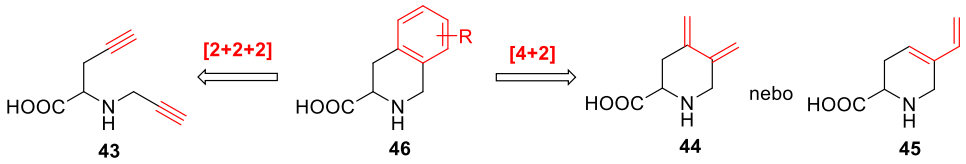


Schéma 7. Syntéza tetrahydroisochinolinu **46** pomocí cykloadičních reakcí[28]

Podobné metody vedoucí k fúzovaných TIC derivátům **48** bylo využito i v předkládané práci vycházející z imobilizovaného Fmoc-allylglycinu **47** jako výchozí látky, spočívající ve výstavbě finální molekuly pomocí RCEM a DAC (**Schéma 8**). Podrobnější informace k syntéze jsou diskutovány v samostatné kapitole 3.–7. této práce.[63]

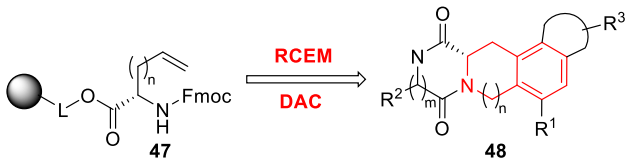


Schéma 8. Syntéza tetrahydroisochinolinů **48** pomocí RCEM a [4+2] cykloadice[63]

3.2.2 Syntéza SIC derivátů

Homologické deriváty tetrahydrobenzo[*d*]azepin-2-karboxylové kyseliny (SIC) jsou nejčastěji připravovány intramolekulárním Heckovým cross couplingem. V tomto případě byla klíčová komponenta **51** připravena reduktivní aminaci aldehydu **49** s (±)methylesterem serinu za následné Boc protekce sekundárního aminu a zavedení dvojné vazby potřebné pro Heckovu reakci najednou. Získaný Heckův produkt **51** byl dále reagován s octanem palladnatým (intermediát **52**) za následné hydrogenace dvojné vazby pomocí Pd/C poskytující žádaný tetrahydrobenzo[*d*]azepin **53**.[64]

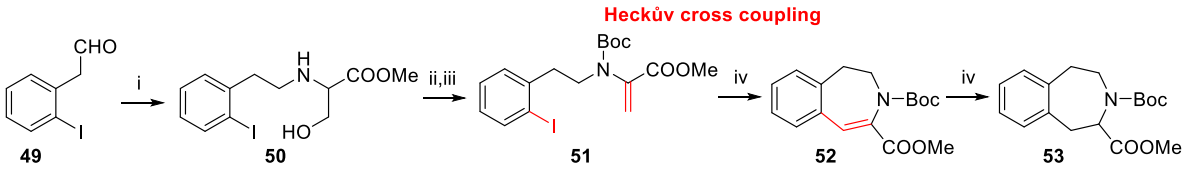


Schéma 9. Syntéza tetrahydrobenzo[*d*]azepinů **53** pomocí Heckova cross couplingu

Podmínky a činidla: (i) (±)methylester serinu.HCl, KOAc, $NaBH_3CN$, 2-isopropylalkohol, molekulární síta 3 Å, 15 h, rt (53 %); (ii) Boc_2O, bezvodý CH_2Cl_2, 20 h, 0 °C; (iii) TsCl, Et_3N, 12 h, rt, okyselení HCl (pH 3; 78 % po dvou krocích); (iv) $Pd(OAc)_2$, Bu_4NCl, $NaHCO_3$, bezvodý DMF, molekulová síta 3 Å, 16 h, 110 °C (55 %).[64]

3.2.3 Syntéza fúzovaných TIC a SIC derivátů

Jedním ze známých fúzovaných TIC derivátů je *β*-laktam **58**, další příbuzná analoga nebyla doposud zkoumána. Základní skelet dihydroisochinolinu **56** byl připraven z 2-amino-3-(3,4-dihydroxyfenyl)-2-methylpropanové kyseliny **54** ve dvou krocích. Jeho následná Pictet-Spenglerova reakce, modifikace chloroacetyl chloridem a OBn deprotekce za podmínek debenzylace poskytla produkt **58** (**Schéma 10**).[65]

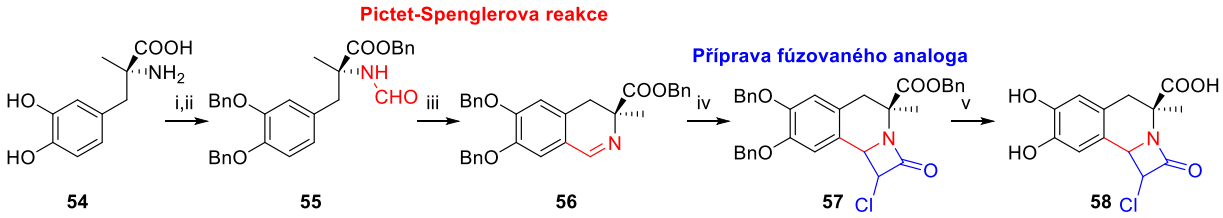


Schéma 10. Syntéza fúzovaného TIC derivátu **58** pomocí Heckova cross couplingu

Podmínky a činidla: (i) $OHCOCH_2CN$, DMSO, 3 dny, rt (64 %); (ii) BnBr, K_2CO_3, bezvodý CH_3CN, 16 h, 60 °C (48 %); (iii) $POCl_3$, CH_3CN, 1,5 h, 60 °C (88 %); (iv) $ClCH_2COCl$, Et_3N, CH_2Cl_2, 20 h, rt (47 %); (v) H_2, Pd/C, EtOH, 3 h, rt, atmosférický tlak (85 %).[65]

3. KOMENTÁŘ K PŘEDKLÁDANÉ PRÁCI

Číslování struktur bylo převzato z publikace a využívá arabských číslic začínajících od 1: Králová, P.; Soural, M. Synthesis of Polycyclic Tetrahydroisoquinolines and Tetrahydrobenzo[*d*]Azepines from Polymer-Supported Allylglycine. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (8), 5242–5256.

3.3 Příprava alkylačních činidel pomocí Sonogashira couplingu

Alkylační činidla byla připravena z odpovídajících aryljodidů **b** nesoucích elektron-akceptorní a elektron-donorní skupiny, a propargyl alkoholu či but-3-yn-1-olu **a** (n = 1, 2) použitých v závislosti na délce raménka označeného písmenem „n“ pomocí Sonogashira couplingu (**Schéma 11**) podle postupu převzatého z literatury.[66] Daná činidla byla získána v 61–93% výtěžcích a následně použita pro přípravu intermediátů **2a–m** pomocí Mitsunobu alkylací (viz podkapitola 3.5.1).

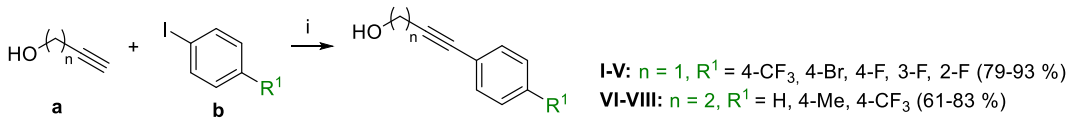


Schéma 11. Příprava alkylačních činidel

Podmínky a činidla: (i) $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (1 mol%), CuI (2 mol%), degasovaný Et_3N, 20 h, 60 °C (61–93 %).

3.4 Vývoj a optimalizace syntetické cesty

Cílové deriváty měly být připraveny z Fmoc-allylglycinu ukotveného přes esterovou vazbu na Wangovu pryskyřici **1** pomocí čtyřech reakcí, tj. Mitsunobu alkylace, metatéze, Diels-Alderovy cykloadice (DAC) a acylace s vhodnými elektrofily. Obecné schéma syntézy je znázorněno ve **Schéma 12**. Klíčové alkylované meziprodukty **2** byly připraveny ve třech krocích podle postupu převzatého z literatury,[66] zahrnujících deprotekci Fmoc protektivní skupiny imobilizované aminokyseliny, sulfonylaci pomocí 2/4-nitrobenzensulfonyl (Ns) chloridů a následnou Mitsunobu alkylaci s vhodnými alkynoly. Tyto intermediáty **2** byly dále použity k výstavbě vnitřní části cílové molekuly sestávající z piperidinu či azepinu pomocí RCEM metatéze s Grubbsovým katalyzátorem (Ru; intermediáty **3**) a dále k výstavbě východní části molekuly tetrahydroisochinolinového a tetrahydrobenzo[*d*]azepinového skeletu pomocí DAC s vhodnými dienofily (intermediáty **4** nebo **7**). Odštěpením Ns skupiny, tzn. denosylaci byly získány klíčové meziprodukty pro divergentně orientovanou syntézu (DOS) a výstavbu západní části molekuly pomocí acylace s vhodnými elektrofily, jako například *α*-/*β*-aminokyselinami (deriváty **11**, **13–14**) či jodoctovou kyselinou (intermediáty **15a–g**). Získané intermediáty **15a–g** byly dále modifikovány pomocí vhodných reakčních podmínek včetně uvolnění z polymeru, jež vedly k derivátům **19** nesoucích laktonovou či *terc*-amidovou jednotku (deriváty **16–17** připravené pomocí vybraných alifatických aminů). Optimalizace jednotlivých kroků jsou specifikovány v následujících podkapitolách a přehled testovaných synthonů na **Obrázku 7**.

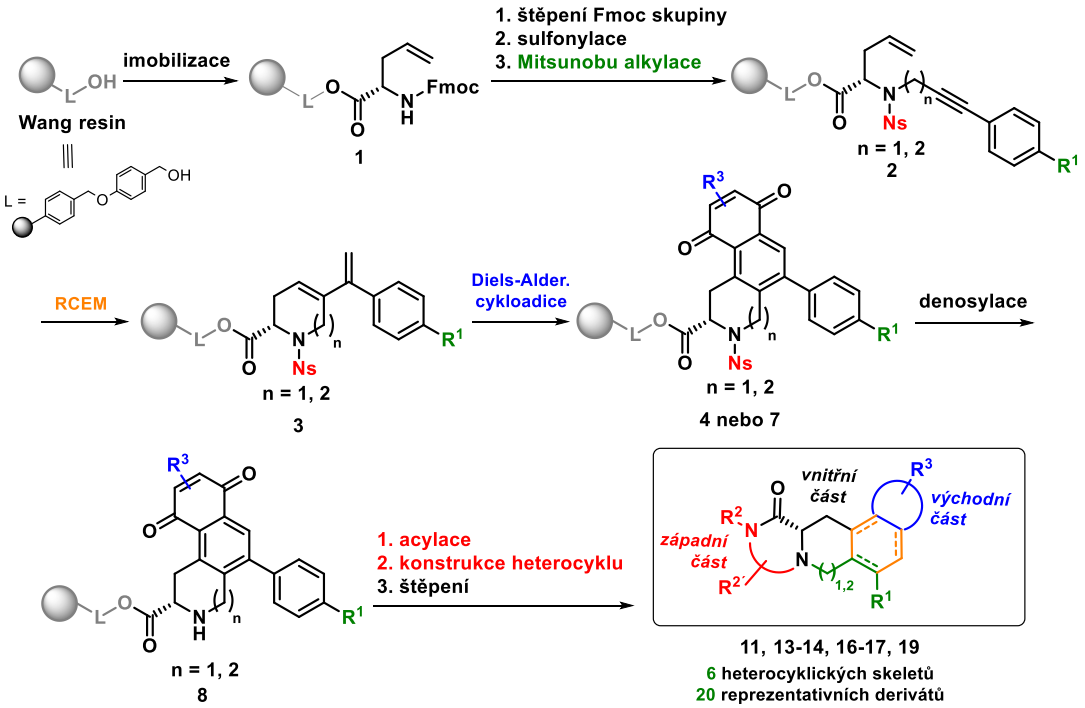
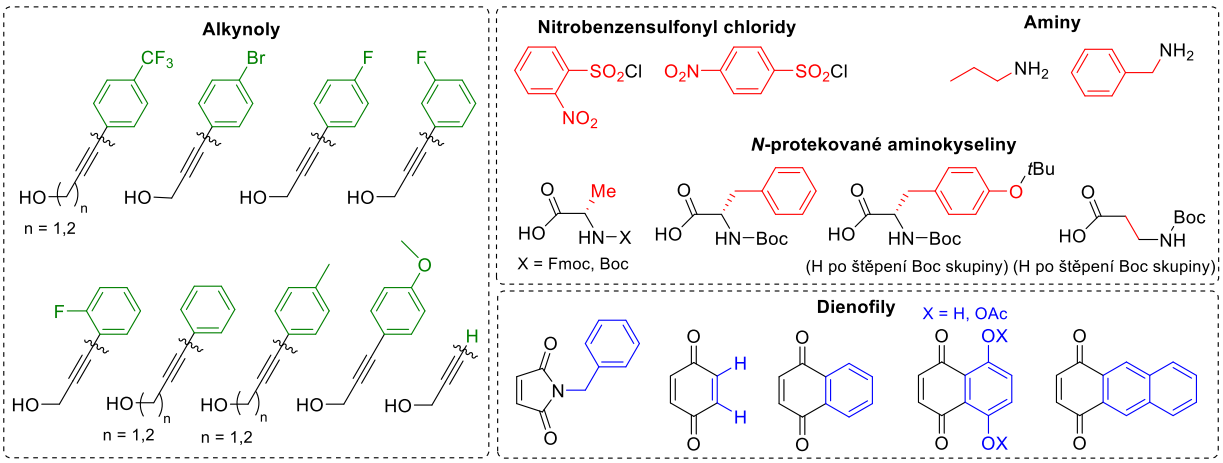


Schéma 12. Obecné schéma syntézy cílových derivátů



Obrázek 7. Přehled testovaných synthonů pro přípravu finálních heterocyklů

3.4.1 Syntéza alkylovaného intermediátu 2

Pro zavedení substituce R^1 a následné stanovení limitu a omezení navrhované metody bylo otestováno celkem dvanáct různých alkynolů pro Mitsunobu alkylaci v kombinaci se dvěma sulfonyl chloridy, tj. 2-/4-NsCl, jenž jsou vyobrazeny na **Obrázku 5**. Přičemž 2-Ns deriváty byly zařazeny za účelem následného rozšíření navrhované metodiky, jež by vedla k fúzovaným analogům **21**[67] (**Schéma 13**). Mitsunobu alkylace poskytovala intermediáty **2a–m** v 93–98% surové čistotě (stanoveno pomocí HPLC-UV analýzy po uvolnění z polymeru).

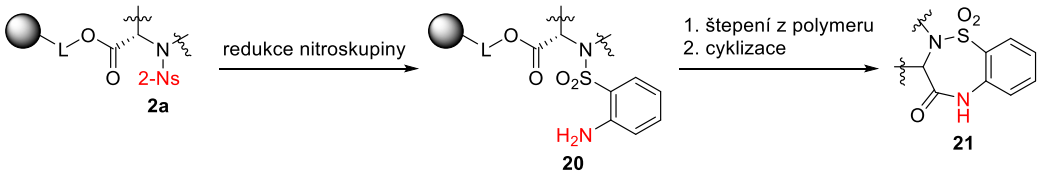


Schéma 13. Využití 2-Ns skupiny pro přípravu fúzovaných analogů (podle podmínek z literatury)[67]

3.4.2 Metatéze (RCEM)

Pro otestování použitelnosti navrhované metody bylo přistoupeno k vývoji podmínek pro RCEM pro dvě modelové sloučeniny **2a–b** nesoucí 2/4-Ns skupinu a (4-(trifluoromethyl)fenyl)prop-2-yn-1-yl jako R^1 (**Schéma 14**). V obou případech byl testován Grubssův katalyzátor druhé generace (Ru2) v kombinaci s roztokem LiCl v *N*,*N*-dimethylformaidu (DMF) pro akceleraci reakce.[30] Jak se ukázalo, RCEM byla závislá na pořadí přídavku jednotlivých reagentů (viz kapitola 6., experimentální část), velikosti použitého míchadla a rychlosti míchání, kdy v případě velkého míchadla a při otáčkách vyšších jak 100 rpm docházelo k rozemletí pryskyřice, což znemožňovalo další syntézu. Po optimalizaci podmínek byl derivát **3a** nesoucí 2-Ns získán po 24 h zahřívání v kónické tlakové ampuli v olejové lázni, naproti tomu úplné konverze na derivát **3b** nesoucí 4-Ns skupinou bylo dosaženo až po čtyřech dnech. Pomocí těchto podmínek byla připravena analoga **2c–m** nesoucí různé alkynylové zbytky v poloze R^1 odvozené od 3-fenylprop-2-yn-1-ylu (n = 1) a 4-fenylbut-3-yn-1-ylu (n = 2) za účelem stanovení vztahů mezi strukturou a reaktivitou (**Tabulka 1**).

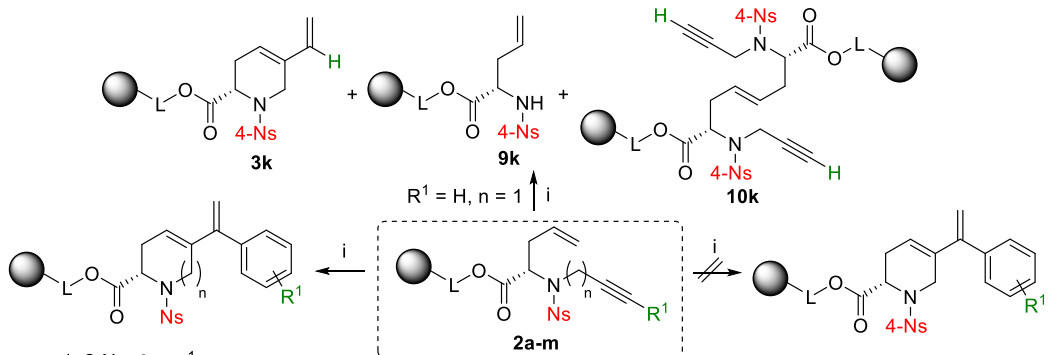


Schéma 14. Reaktivita intermediátů **2a–m** pro RCEM

Podmínky a činidla: (i) Grubbsův katalyzátor druhé generace (5 mol%), 0.4 M lithium chlorid (LiCl) v DMF, bezvodý $PhCH_3$, 24 h (pro **2a, e–g, i–k,** and **m**), 3 dny (pro **2d**), 4 dny (pro **2b**), 12 dnů (pro **2c** a **l**), 110 °C.

Tabulka 1. Optimalizace RCEM pro intermediáty **2**

VL	R^1	R^2	n	typ Ru	Ru [mol %]	LiCl/ DMF [M]	extra bezv. rozp.	tep-lota [°C]	čas [h]	2 [%][a]	3 [%][a]	3-K [%][a]	9 [%][a]	10 [%][a]
2a	4-CF_3-Ph	2-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	0	94	0	0	0
2b	4-CF_3-Ph	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	93	5	0	0	0
									48	72	26	0	0	0
									72	36	60	0	0	0
									96	0	96	0	0	0
2c	Ph	4-Ns	2	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	87	9	0	0	0
									96	58	38	0	0	0
									144	28	59	0	0	0
									216	15	76	0	0	0
									288	0	90	0	0	0
2d	4-Br	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	84	9	0	0	0
									48	21	72	0	0	0
									72	0	93	0	0	0
2e	4-F	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	0	98	0	0	0
2f	3-F	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	0	98	0	0	0
2g	2-F	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	0	94	0	0	0
2h	Ph	4-Ns	1	Ru1	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	54	3	0	4	0
				Ru2	5				24	38	33	0	0	0
									72	38	33	0	0	0
					10				24	63	30	0	0	0
									72	60	31	0	0	0
2i	4-Me-Ph	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	40	5	52	0	0
									48	21	5	71	0	0
					10				24	44	5	44	0	0
									48	16	5	72	0	0
2j	4-MeO-Ph	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	35	2	57	0	0
2k	H	4-Ns	1	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	1	33	0	6	53
						0.2			24	94	0	0	1	5
									48	94	0	0	5	4
					10	0.4			24	17	22	0	22	10
						0.2			24	42	21	0	25	7
									48	34	28	0	31	7
					20	-		50	24	95	0	0	0	0
								80	24	95	0	0	0	0
								110	24	95	0	0	0	0
						0.4		110	24	91	0	0	3	1
									24	32	20	0	26	6
									24	42	14	0	26	3
									48	1	24	0	26	44
					20	-	CH_2Cl_2	50	24	95	0	0	0	0
						0.4			24	20	29	0	2	35
									48	29	25	0	2	27
					10	0.4	DCE	80	24	92	0	0	4	1
					20				24	42	21	0	17	5
				Ru1	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	13	30	0	13	24
									48	1	44	0	13	36
2l	4-CF_3-Ph	4-Ns	2	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	90	8	0	0	0
									144	73	25	0	0	0
									288	0	98	0	0	0
2m	4-Me-Ph	4-Ns	2	Ru2	5	0.4	$PhCH_3$	110	24	43	9	26	0	0
									48	21	9	47	0	0

*[a]Surová čistota stanovena pomocí HPLC-UV při 205–400 nm. Červeně znázorněna úplné konverze na produkt **3**.*
Zkratky: VL = výchozí látka; Ru = Grubbsův katalyzátor; bezv. rozp. = bezvodé rozpouštědlo.

Z **Tabulky 1** je patrné, že průběh RCEM závisí na typu použité substituce R^1 a délce řetězce alkynolu, tzn. počtu methylenových skupin „n“ v řetězci 3-fenylprop-2-yn-1-ylu či 4-fenylbut-3-yn-1-ylu. V případě 3-fenylprop-2-yn-1-yl analogů s jednou methylenovou skupinou (n = 1) nesoucích skupiny R^1 se záporným indukčním efektem (Br a F) bylo kvantitativní konverze na **3e**–**g** (R^1 = 2-/3-4-F-Ph) dosaženo po 24 h, zatímco u derivátu **3d** s 4-bromofenylem jako R^1 byly vyžadovány tři dny. Nesubstituovaný fenyl analog **3h** (R^1 = Ph) byl získán pouze v omezené surové čistotě (33 %) a stejné výsledky byly pozorovány i po třech dnech. Lepší konverze nebylo dosaženo ani pomocí 10 mol% Ru2, ani po záměně Ru2 za Grubbsův katalyzátor první generace (Ru1). Zhoršená reaktivita byla pozorována i u látek **2i–j** s elektron-donorními skupinami (R^1 = 4-Me-Ph and 4-MeO-Ph), jejichž přeměna na látky **3i–j** zcela selhala. V obou případech byl pozorován vznik odpovídajících ketonů **3i-K** a **3j-K** (**Schéma 4, Tabulka 1**). V případě propargyl derivátu **2k** byla pozorována směs tři sloučenin; majoritní „cross-linking“ produkt **10k**, žádaný dien **3k** a dealkylovaný produkt **9k** v 53%, 33% a 6% surových čistotách. Další optimalizace, spočívající například ve snížení koncentrace LiCl v DMF, zvýšení počtu použitých ekvivalentů Ru2, jeho záměna za Ru1, použití různých rozpouštědel, teplot a časů, neměly žádný vliv na průběh reakcí a od dalších optimalizací bylo upuštěno.

U derivátů majících 4-fenylbut-3-yn-1-ylovou skupinu (n = 2, deriváty **2c, 2l–m**; **Tabulka 1**) byla RCEM možná pouze pro nesubstituovaný fenyl analog **3c** (R^1 = Ph) a derivát s elektron-akceptorní skupinou **3l** (R^1 = 4-CF_3-Ph). Syntéza sloučeniny **2m** s elektron-donorní skupinou (R^1 = 4-Me-Ph) selhala z důvodu vzniku ketonu **3m-K** (47% surová čistota). Struktura těchto ketonů **3i-K**, **3j-K** a **3m-K** byla navržena pomocí MS spekter, protože dané deriváty neměly významnější význam v této syntetické metodě, nebyly tyto látky izolovány a podrobeny plné charakterizaci pomocí konvenčních analytických metod.

Obecně lze říci, že RCEM pro deriváty nesoucí 3-fenylprop-2-yn-1-ylovou a 4-fenylbut-3-yn-1-ylovou jednotku závisí na typu použité substituce R^1 a je možná pouze pro látky nesoucí elektron-akceptorní skupinu (R^1 = 4-CF_3-Ph), mající záporný indukční efekt (R^1 = 4-Br-Ph a 2-/3/-4-F-Ph) a v případě 4-fenylbut-3-yn-1-ylem derivátů také pro nesubstituovaný fenyl (R^1 = Ph). Délka 3-fenylprop-2-yn-1-ylového a 4-fenylbut-3-yn-1-ylového řetězce neměla na RCEM zásadnější vliv.

3.4.3 [4+2] Diels-Alderova cykloadice (DAC)

Východní část molekuly navrhovaných derivátů byla vystavěna pomocí [4+2] DAC. Původní plán syntézy spočíval v přípravě dekahydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*f*]isochinolinu **4a**, jenž by byl dále oxidován na tetrahydroisochinolin **6a** a jeho převedení/odstranění 2-/4-Ns skupin by mohly umožnit modifikaci s vhodnými elektrofily podle podmínek převzatých z literatury[66–69] vedoucích k fúzovaným heterocyklům (**Schéma 15**). Jak se později ukázalo, že Diels-Alderova reakce s *N*-fenylmaleimidem poskytovala směs tří diastereomerů, jejichž oxidace na tetrahydroisochinolin **6a** zcela selhaly, a proto bylo přistoupeno k alternativní cestě. Ta spočívala v záměně dienofilu, tzn. *N*-fenylmaleimidu za 1,4-naftochinon, popřípadě jeho analoga 1,4-benzochinon a 1,4-antrachinon (diskutováno dále).

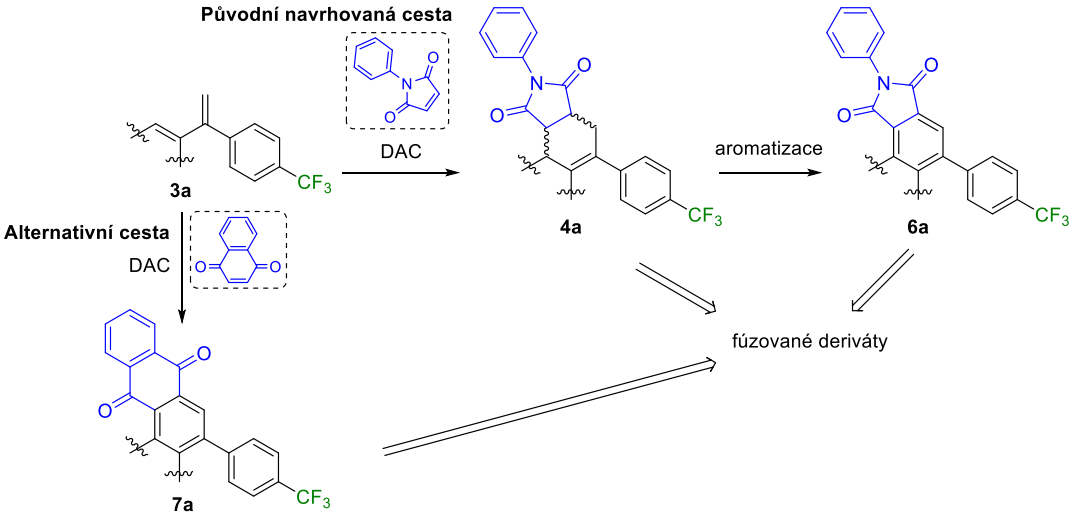


Schéma 15. Původní a alternativní syntetická cesta vedoucí k prekurzorům pro přípravu fúzovaných cyklů

Jak již bylo zmíněno, pro DAC dienu **3a** byl nejprve testován *N*-fenylmaleimid jako modelový dienofil a reakce byla provedena v přítomnosti bezvodého dimethylsufoxidu (DMSO) při 120 °C v kónické tlakové ampuli v olejové lázni (**Schéma 16**). Po uvolnění získané látky **4a** z polymerního nosiče pomocí směsi trifluoroctové kyseliny (TFA) v CH_2Cl_2 byly pozorovány tři diastereomery v celkové surové čistotě 95 % v poměru 3:5:2. Pomocí MS analýzy bylo určeno, že se jedná o dekahydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*f*]isochinolin-8-karboxylovou kyselinu **5a**. Pro určení konfigurace nově vzniklých stereocenter bylo přistoupeno k separaci jednotlivých diastereomerů pomocí HPLC chromatografie na reverzních fázích (RF-HPLC) s mobilní fázi tvořenou CH_3CN a octanem amonným (AmAc), jež umožnila izolaci dvou majoritních izomerů **5a-I** a **5a-II** ve finální HPLC čistotě >98 %. Třetí izomer byl kontaminován izomerem **5a-II**, což znesnadnilo jeho strukturní identifikaci a jeho strukturní analýza není součásti předkládané práce. Kompletní 1D a 2D NMR analýza byla provedena pomocí ^{1}H, $^{13}C\{^{1}H\}$, APT, ^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{1}H NOESY, ^{1}H-^{13}C HMQC, ^{1}H-^{13}C HMBC a ^{1}H-^{15}N HMBC NMR spekter pro izomery **5a-I** (**Obrázek 8–9**) a **5a-II** (**Obrázek 10–11**). K práci jsou připojeny i detailní tabulky jednotlivých ^{1}H, ^{13}C a ^{15}N NMR korelací pro oba izomery (**Tabulka 2–3**).

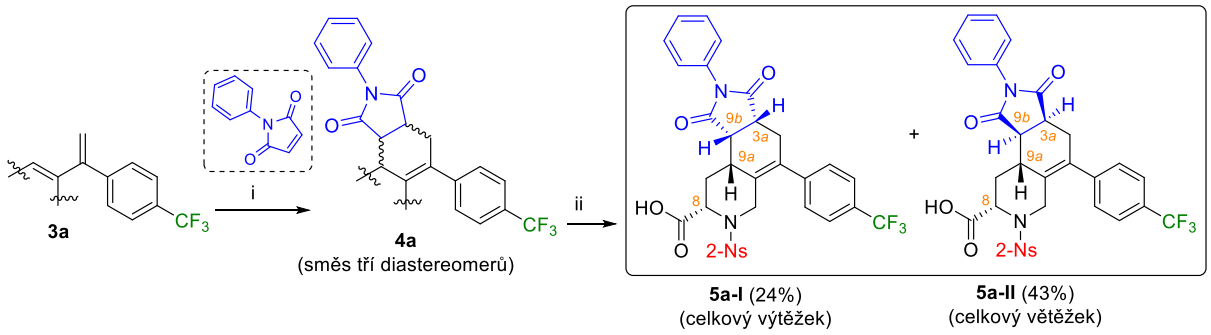
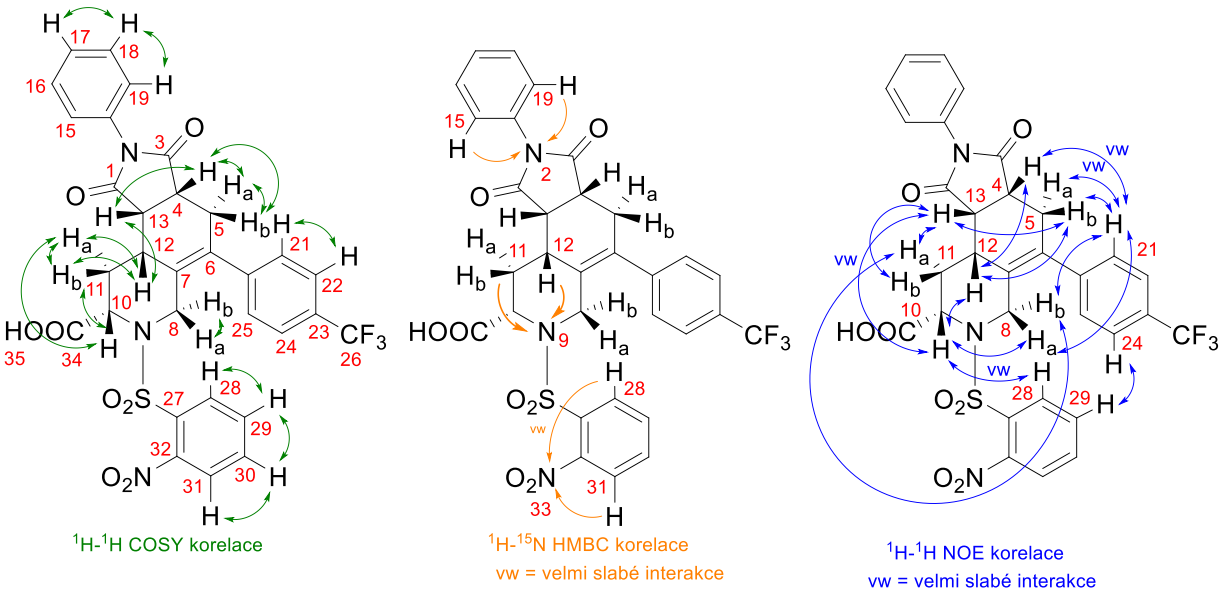
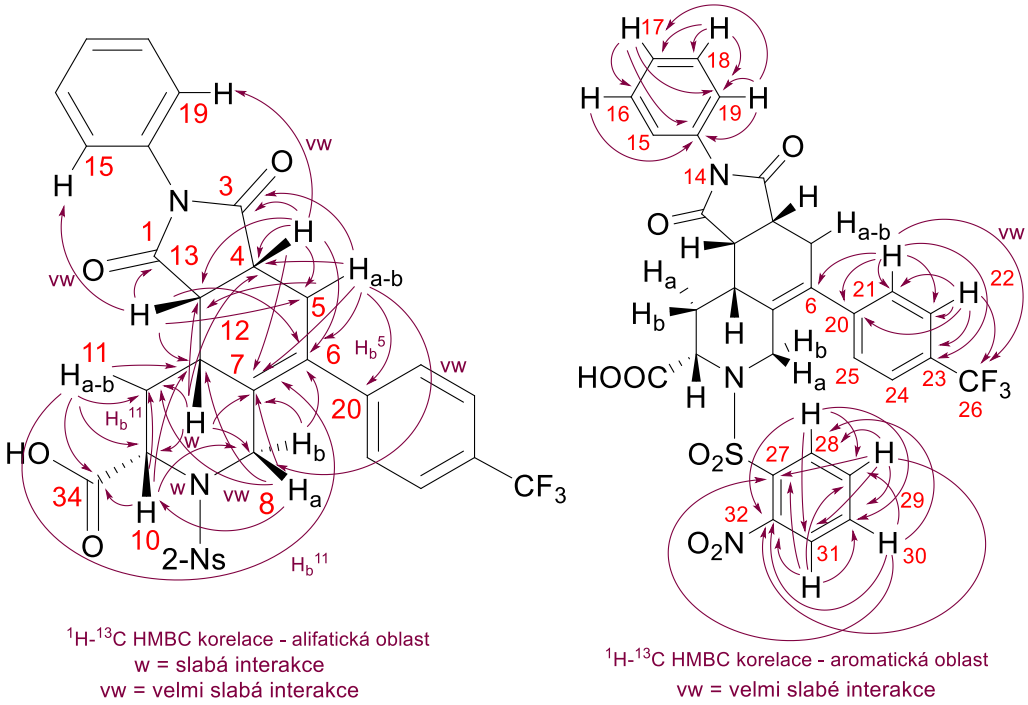


Schéma 16. [4+2] DAC intermediátu **3a** a jeho štěpení z polymeru

Podmínky a činidla: (i) bezvodý DMSO, 24 h, 120 °C; (ii) 50% trifluoroctová kyselina (TFA)/CH_2Cl_2, 1 h, rt a následná HPLC chromatografie na reverzních fázích (RF–HPLC) pomocí octanu amonného (AmAc).



Obrázek 8. Detailní COSY, ^{1}H-^{15}N HMBC a NOE NMR analýza isochinolinu **5a-I**



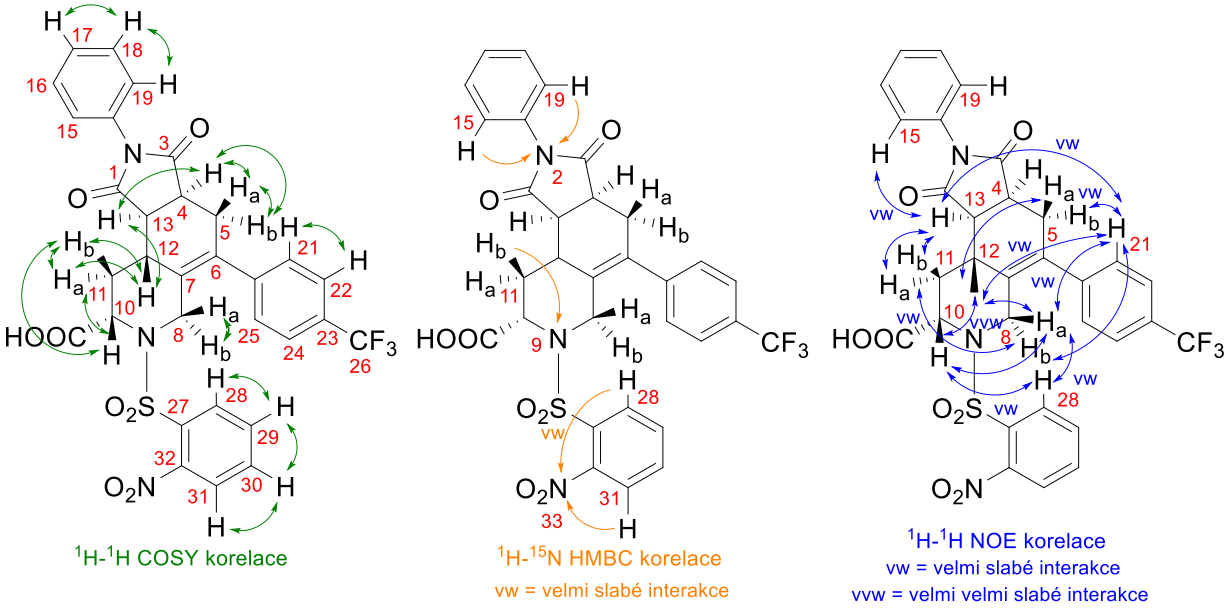
Obrázek 9. Detailní ^{1}H-^{13}C HMBC NMR analýza isochinolinu **5a-I**

Tabulka 2. ^{1}H (500 MHz) a ^{13}C{^{1}H} (126 MHz) NMR spektra včetně detailních COSY, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC a NOE korelací pro isochinolin **5a-l**[a]

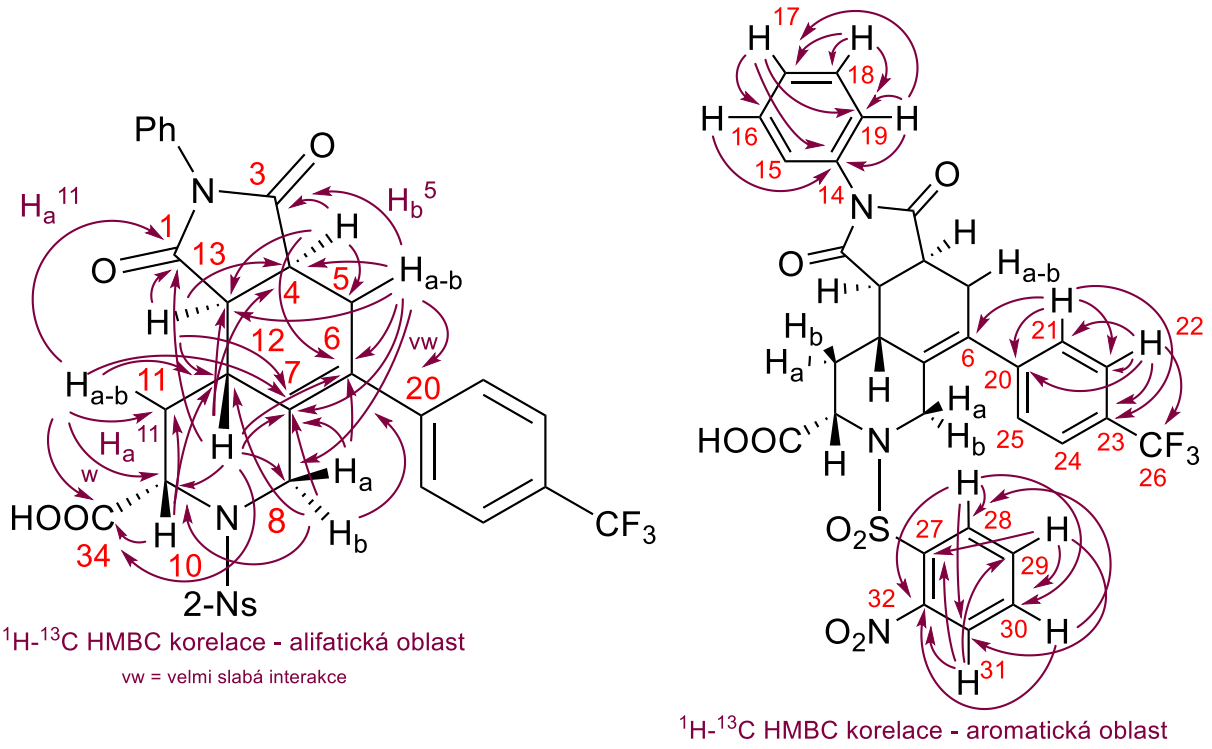
pozice	^{1}H NMR δ_H [ppm]	multiplicita, J [Hz], integrace	^{13}C{^{1}H} NMR δ_C [ppm], $^{4}J_{C\text{-}F}$ [Hz]	^{15}N NMR δ_N [ppm]	COSY korelace	^{1}H-^{13}C HMBC korelace	^{1}H-^{15}N HMBC korelace	NOE korelace
1	-	-	176.5	-	-	-	-	-
2	-	-	-	193.1 (N2)	-	-	$H^{15,19}$	-
3	-	-	178.2	-	-	-	-	-
4	3.45	dd, J = 3.0, 1.5 Hz, 1H	39.7	-	H_a^5, H_b^5, H^{13}	C3, C4, C5, C6, C7, C13, C14 (velmi slabá int.)	-	H^{12}, $H^{21,25}$ (velmi slabá int.)
5	H_a: 2.35	dd, J = 8.7, 3.0 Hz, 1H	29.4	-	H^4, H_b^5	C3, C4, C6, C8 (velmi slabá int.), C12, C13	-	$H^{21,25}$ (velmi slabá int.)
	H_b: 2.67	dd, J = 14.2, 1.5 Hz, 1H		-	H^4, H_a^5	C3, C4, C6, C7, C8, C12 (slabá int.), C13, C20	-	H^{12}, H^{13}, $H^{21,25}$
6	-	-	132.1	-	-	-	-	-
7	-	-	133.0	-	-	-	-	-
8	H_a: 4.06	d, J = 16.2 Hz, 1H	41.71	-	H_b^8	C7, C10, C11 (velmi slabá int.), C12	-	H^{10} (velmi slabá int.), $H^{21,25}$
	H_b: 4.25	d, J = 16.2 Hz, 1H		-	H_a^8	C6, C7	-	H_a^{11}, $H^{21,25}$
9	-	-	-	94.3 (N9)	-	-	H_b^{11}, H^{12}	-
10	4.41	dd, J = 12.1, 6.1 Hz, 1H	56.9	-	H_a^{11}, H_b^{11}	C8 (slabá int.), C11, C12 (slabá int.), C34	-	H_a^8 (velmi slabá int.), H^{12}, H^{13} (velmi slabá int.), H^{28}
11	H_a: 2.45	q, J = 12.1 Hz, 1H	26.7	-	H^{10}, H_b^{11}, H^{12}	C10, C12, C34	-	H_b^8, H^{13}
	H_b: 2.57	dd, J = 6.1, 3.0 Hz, 1H		-	H^{10}, H_a^{11}, H^{12}	C7, C11 (velmi slabá int.), C12	N9	H^{13}
12	2.49	ddd, J = 12.1, 3.0, 1.5 Hz, 1H	33.9	-	H_a^{11}, H_b^{11}, H^{13}	C1 (velmi slabá int.), C4, C7, C8, C10, C11, C13	N9	H^4, H_b^5, H^{10}
13	3.43	dd, J = 3.0, 1.5 Hz, 1H	41.68	-	H^4, H^{12}	C1, C5, C6, C12, C14 (velmi slabá int.)	-	H_b^5, H^{10} (velmi slabá int.), H_a^{11}, H_b^{11}
14	-	-	132.2	-	-	-	-	-
15, 19	7.12-7.17	m, 2H	127.1	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C17	N2	-
16, 18	7.41-7.48	m, 2H	128.9	-	$H^{15,19}$, H^{17}	C14, C15,19, C16,18, C17	-	-
17	7.35-7.41	m, 1H	128.4	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C16,18	-	-
20	-	-	142.6	-	-	-	-	-
21, 25	7.07-7.12	br. d, J = 8.0 Hz, 2H	128.2	-	$H^{22,24}$	C6, C20, C21,25, C22,24, C23, C26 (velmi slabá int.)	-	H^4 (velmi slabá int.), H_a^5 (velmi slabá int.), H_a^5, H_a^8, H_b^8

22, 24	7.67	br. d, *J* = 8.0 Hz, 2H	125.1, *J* = 3.2 Hz	-	$H^{21,25}$	C20, C21,25, C22,24, C23, C26	-	H^{29}
23	-	-	127.8, *J* = 31.9 Hz	-	-	-	-	-
26	-	-	124.2, *J* = 271.8 Hz	-	-	-	-	-
27	-	-	131.1	-	-	-	-	-
28	7.62	dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H	129.4	-	H^{29}	C28, C29, C30, C31, C32	N33 (velmi slabá int.)	H^{10}
29	7.71	ddd, *J* = 8.4, 7.4, 1.2 Hz, 1H	131.8	-	H^{28}, H^{30}	C27, C28, C30, C31, C32	-	$H^{22,24}$
30	7.85	ddd, *J* = 7.9, 7.3, 1.0 Hz, 1H	124.0	-	H^{29}, H^{31}	C28, C29, C30, C32	-	-
31	7.79	dd, *J* = 7.9, 1.0 Hz, 1H	134.5	-	H^{30}	C27, C28, C29, C30, C31, C32	N33	-
32	-	-	147.5	-	-	-	-	-
33	-	-	-	373.0 (N33)	-	-	H^{28} (velmi slabá int.), H^{31}	-
34	-	-	172.9	-	-	-	-	-
35	13.13	br. s, 1H	-	-	-	-	-	-

[a]Přiřazení vychází z 1D a 2D NMR analýz (^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{13}C HMQC, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC a ^{1}H-^{1}H NOESY); měřeno v DMSO-d_6; int = interakce.



Obrázek 10. Detailní COSY, ^{1}H-^{15}N HMBC a NOE NMR analýza isochinolinu **5a-II**



Obrázek 11. Detailní ^{1}H-^{13}C HMBC NMR analýza isochinolinu **5a-II**

Tabulka 3. ^{1}H (500 MHz) a ^{13}C{^{1}H} (126 MHz) NMR spektra včetně detailních COSY, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC a NOE korelací pro isochinolin **5a-II**[a]

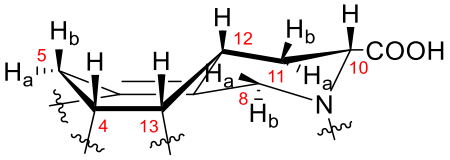
pozice	^{1}H NMR δ_H [ppm][b]	multiplicita, J [Hz], integration	^{13}C{^{1}H} NMR δ_C [ppm], $^4J_{C\text{-}F}$ [Hz]	^{15}N NMR δ_N [ppm]	COSY korelace	^{1}H-^{13}C HMBC korelace	^{1}H-^{15}N HMBC korelace	NOE korelace
1	-	-	176.8	-	-	-	-	-
2	-	-	-	199.9 (N2)	-	-	$H^{15,19}$	-
3	-	-	178.5	-	-	-	-	-
4	3.51	ddd, J = 15.2, 8.7, 1.5 Hz, 1H	40.4	-	H_a^5, H_b^5, H^{13}	C3,C5, C6, C13	-	-
5	H_a: 2.73	ddd, J = 15.2, 5.5, 2.8 Hz, 1H	30.7	-	H^4, H_b^5	C4, C6, C7, C8 (slabá int.), C13, C20 (slabá int.)	-	-
	H_b: 2.80	dd, J = 15.2, 1.5 Hz, 1H		-	H^4, H_a^5	C3, C4, C6, C7, C8 (slabá int.), C12 (slabá int.), C13, C20	-	$H^{21,25}$ (velmis labá int.)
6	-	-	132.6	-	-	-	-	-
7	-	-	131.7	-	-	-	-	-
8	H_a: 3.70	dd, J = 14.5, 1.5 Hz, 1H	42.4	-	H_b^8	C6, C7	-	H^{10}, H^{12}, $H^{21,25}$ (velmi slabá int.), H^{28} (velmi slabá int.)
	H_b: 4.17	d, J = 14.5 Hz, 1H		-	H_a^8	C6, C7, C10, C12	-	H_a^{11} (velmi slabá int.), $H^{21,25}$
9	-	-	-	92.8 (N9)	-	-	H_b^{11}	-

10	4.66	dd, *J* = 4.7, 2.8 Hz, 1H	55.8	-	H_a^{11}, H_b^{11}	C11, C12, C34	-	H_a^{8}, H^{12} (velmi slabá int.), H^{28} (velmi slabá int.)
11	H_a: 2.46	dd, *J* = 8.7, 2.8 Hz, 1H	26.6	-	H^{10}, H_a^{11}, H^{12}	C7, C10 (slabá int.), C12, C34	-	H_b^{8}, H^{13}
	H_b: 2.66	dd, *J* = 8.7, 4.7 Hz, 1H		-	H^{10}, H_b^{11}, H^{12}	C1, C7, C10, C11 (slabá int.), C34	N9	H^{13}
12	2.67	ddd, *J* = 11.9, 8.7, 4.7 Hz, 1H	32.5	-	H_a^{11}, H_b^{11}, H^{13}	C1, C4, C6, C7, C8, C10, C11 (slabá int.), C12, C13, C34	-	H_a^{5}, H_a^{8}, H^{10} (velmi slabá int.), $H^{21,25}$ (velmi slabá int.)
13	3.47	ddd, *J* = 11.9, 8.7, 5.5 Hz, 1H	42.3	-	H^{4}, H^{12}	C1, C4, C7, C12	-	H_a^{11}, H_b^{11}, $H^{15,19}$ (velmi slabá int.), $H^{21,25}$ (velmi slabá int.)
14	-	-	132.1	-	-	-	-	-
15, 19	7.08-7.10	m, 2H	127.0	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C17	N2	H^{13} (velmi slabá int.)
16, 18	7.43-7.47	m, 2H	128.9	-	$H^{15,19}$, H^{17}	C14, C5,19, C16,18, C17	-	-
17	7.37-7.41	m, 1H	128.4	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C16,18	-	-
20	-	-	143.3	-	-	-	-	-
21, 25	7.29	br. d, *J* = 8.1 Hz, 2H	128.3	-	$H^{22,24}$	C6, C20, C22,24, C23	-	H_b^{5} (velmi slabá int.), H_a^{8} (velmi salbá int.), H_b^{8}, H^{12} (velmi slabá int.), H^{13} (velmi slabá int.)
22, 24	7.70	br. d, *J* = 8.2 Hz, 2H	125.4, *J* = 3.1 Hz	-	$H^{21,25}$	C20, C21,25, C22,24, C26	-	-
23	-	-	127.7, *J* = 31.6 Hz	-	-	-	-	-
26	-	-	125.2, *J* = 271.8 Hz	-	-	-	-	-
27	-	-	130.8	-	-	-	-	-
28	8.14	dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H	130.2	-	H^{29}	C28, C30 (slabá int.), C31, C32	N33 (velmi slabá int.)	H_a^{8} (velmi slabá int.), H^{10} (velmi slabá int.)
29	7.76	ddd, *J* = 8.8, 7.9, 1.4 Hz, 1H	132.3	-	H^{28}, H^{30}	C27, C30	-	-
30	7.80	ddd, *J* = 8.8, 7.9, 1.4 Hz, 1H	124.0	-	H^{29}, H^{31}	C28, C32	-	-
31	7.86	dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H	134.4	-	H^{30}	C27, C29, C32	N33	-
32	-	-	147.9	-	-	-	-	-
33	-	-	-	373.4 (N33)	-	-	H^{28} (velmi slabá int.), H^{31}	-
34	-	-	172.2	-	-	-	-	-

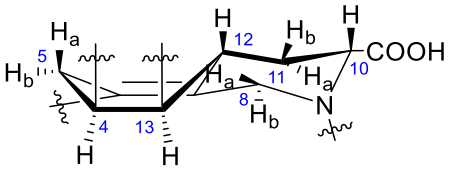
[a]Přiřazení vychází z 1D a 2D NMR analýz (^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{13}C HMQC, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC a ^{1}H-^{1}H NOESY); měřeno v DMSO-d_6; int = interakce.

K určení 3D architektury obou izomerů **5a-I** a **5a-II**, tj. konfigurace stereocenter C4, C12 a C13 stereocenter bylo využito ^{1}H-^{1}H interakčních konstant a NOE korelací isochinolinového kruhu (**Tabulka 4, Obrázek 12**). Konfigurace stereocentra C10 byla odvozena z výchozí (*S*)-aminokyseliny. V případě izomeru **5a-I** byla konfigurace nově vzniklých stereocenter C4, C12 a C14 určena jako *R*, *R*, a *S* a jednalo se o tzv. *endo* izomer. Naopak v případě izomeru **5a-II** byla určena konfigurace stereocenter jako C4 *S*, C12 *R* a C13 *R*, což naznačovalo vznik *exo* izomeru. Ve zkratce, ačkoli bývá *endo* izomer za normálních podmínek preferovanějším produktem DAC, není tak termodynamicky stabilní jako *exo* izomer vznikající za reverzních podmínek, a zároveň je potřeba k jeho vzniku překonat mnohem větší stérickou překážku než v případě *exo* izomeru. Za normálních podmínek by měl být kinetickým produktem dané reakce *endo* izomer **5a-I**, avšak termodynamickým, stabilnějším a zároveň majoritním produktem této DAC je *exo* izomer **5a-II**. Vysvětlení spočívá v uspořádání piperidinového a ftalimidového kruhu. V případě *exo* izomeru **5a-II** je přední rovina piperidinového kruhu tvořená atomy C11 a C12 (**Obrázek 12 – vpravo**) v zástinu s ftalimidovým kruhem vytvářejícím s atomy C11 a C12 pomyslnou formaci ve tvaru písmene „*Z*“, díky čemuž má daný izomer menší sterickou zábranu než *endo* izomer **5a-I**, jehož přední rovina piperidinového kruhu s atomy C11 a C12 zaujímá formaci ve tvaru písmene „U“ (**Obrázek 12 – vlevo**) a musí tak překonat mnohem větší stérickou zábranu, a tudíž je daný izomer zastoupen minoritně.[70]

Tabulka 4. Srovnání ^{1}H chemických posunů, multiplicity a ^{2}J a ^{3}J homonukleáních couplingů obou izomerů **5a-I** a **5a-II**

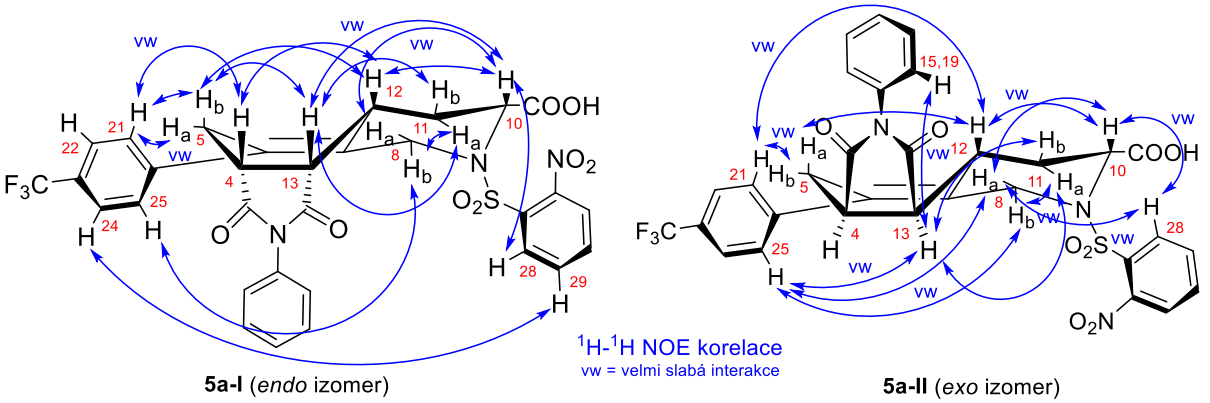


minorirní izomer 5a-I



hlavní izomer 5a-II

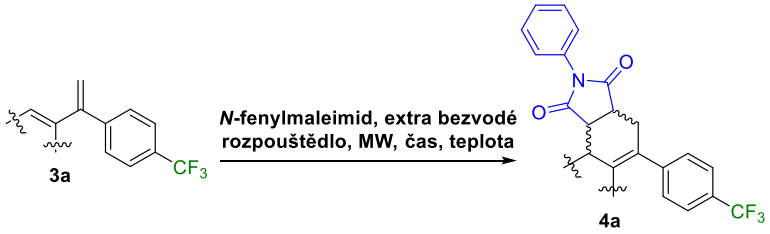
pozice	minoritní izomer 5a-I			majoritní izomer 5a-II		
	^{1}H NMR δ_H [ppm]	**multiplicita**	***J* [Hz]**	**^{1}H NMR δ_H [ppm]**	**multiplicita**	***J* [Hz]**
H^{4}	3.45	dd	3.0, 1.5	3.51	ddd	15.2, 8.7, 1.5
H_a^{5}	2.35	dd	8.7, 3.0	2.73	ddd	15.2, 5.5, 2.8
H_b^{5}	2.67	dd	14.2, 1.5	2.80	dd	15.2, 1.5
H_a^{8}	4.06	d	16.2	3.70	dd	14.5, 1.5
H_b^{8}	4.25	d	16.2	4.17	d	14.5
H^{10}	4.41	dd	12.1, 6.1	4.66	dd	4.7, 2.8
H_{a11}	2.45	q	12.1	2.46	dd	8.7, 2.8
H_b^{11}	2.57	dd	6.1, 3.0	2.66	dd	8.7, 4.7
H^{12}	2.49	ddd	12.1, 3.0, 1.5	2.67	ddd	11.9, 8.7, 4.7
H^{13}	3.43	dd	3.0, 1.5	3.47	ddd	11.9, 8.7, 5.5



Obrázek 12. Detailní ^{1}H-^{1}H NOE NMR analýza isochinolinu **5a-I** (vlevo) a **5a-II** (vpravo)

Protože produkty **4a**, respektive **5a** byly pozorovány jako směs diastereomerů, bylo přistoupeno k optimalizaci reakčních podmínek za účelem zlepšení stereoselektivity DAC. Bylo testováno mikrovlnné záření, různá rozpouštědla, časy a teploty (**Tabulka 5**). Žádné z testovaných podmínek však neposkytly dané izomery v lepším poměru, a protože použití mikrovlnných vln nemělo žádný výraznější vliv na průběh reakce, byly pro syntézu dalších analogů zvoleny červeně znázorněné podmínky v **Tabulce 5** bez mikrovln.

Tabulka 5. Testované podmínky DAC pro zlepšení její stereoselektivity



extra bezvodé rozpouštědlo	MW [W]	teplota [°C]	čas [h]	3a [%][a]	4a [%][a]	dr 4a [%][a]
$PhCH_3$	-	80	24	30	63	3:5:2
	-	100	24	28	66	3:5:2
DCE	-	90	24	7	89	3:5:2
DMSO	-	90	24	16	78	3:5:2
	-	120	16	16	88	3:5:2
	-	**120**	**24**	**0**	**95**	**3:5:2**
	150	50	1	13	82	3:5:2
	150	80	1	5	90	3:5:2
	150	**110**	**1**	**0**	**95**	**3:5:2**
	150	**140**	**1**	**0**	**95**	**3:5:2**
CH_3CN	-	80	24	46	44	3:5:2
	150	50	1	10	87	3:5:2
	150	**80**	**1**	**0**	**94**	**3:5:2**
	150	**110**	**1**	**0**	**94**	**3:5:2**

[a]Surová čistota po RCEM určena pomocí HPLC-UV analýzy při 205–400 nm. dr = poměr diastereomerů. Červeně znázorněné podmínky jsou použity pro syntézu dalších analogů; tučně znázorněné podmínky charakterizují všechny nejlepší výsledky získané při optimalizacích včetně porovnání surové čistoty a dr poměrů.

Jak již bylo zmíněno výše DAC poskytovala směs diastereomerů už na polymerním nosiči (intermediát **4a**), a proto bylo od snah připravit fúzované heterocykly odvozené od 2-Ns intermediátu, jenž jsou znázorněny ve **Schéma 3**, upuštěno. Další pozornost byla věnována možné aromatizaci polymerně ukotveného intermediátu **4a** na **6a** (**Schéma 17**). Pro tento účel bylo vyzkoušeno několik dříve publikovaných metod, jako například oxidace pomocí MnO_2,[48] $KMnO_4$, TFA,[49] 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinonu (DDQ),[47] palladium-katalyzované oxidativní dehydrogenace[50] nebo bromace a následné eliminace pomocí 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU).[51] Všechny testované metody poskytovaly pouze výchozí látku **4a**, a proto bylo od dalších pokusů upuštěno.

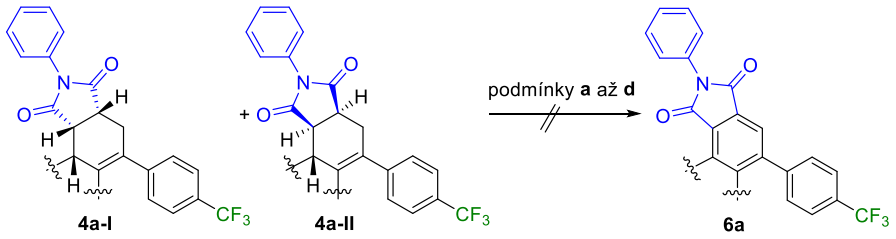
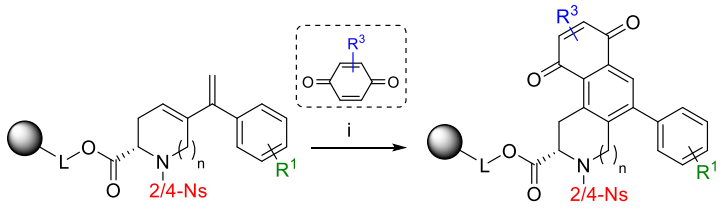


Schéma 17. Oxidace intermediátu **4a**

Podmínky a činidla: (a) MnO_2, bezvodý $PhCH_3$ (0,86 M), 24 h, 120 °C; (b) $KMnO_4$, bezvodý aceton (0,1 M), 4,5–24 h, rt; (c) 2,3-dichlor-5,6-dikyano-1,4-benzochinon (DDQ) (0,18-0,35 M), 5–24 h, 70–110 °C; (d) $Pd(TFA)_2$, PhCl, anthrachinon-2-sulfonát sodný, O_2, 24 h, 110 °C.

Na řadu přišla alternativní cesta vedoucí k tetrahydroisochinolinovému derivátu **7a**, spočívající v záměně *N*-fenylmaleimidu za 1,4-naftochinon a následné spontánní aromatizaci (**Schéma 18**).[46] Žádaný produkt **7a** byl připraven v excelentní surové čistotě (>95 %) a nalezené podmínky byly využity pro přípravu dalších analogů **7b–k** s různými dienofily (substituce R^3 na **Obrázku 7**), tj. 1,4-benzochinionu či 1,4-anthrachinonu či 5,8-dihydroxy-1,4-naftochinonu. V případě posledně zmíněného



n = 1, 2-Ns: **3a:** R^1 = 4-CF_3
n = 1, 4-Ns: **3b:** R^1 = 4-CF_3
3d: R^1 = 4-Br
3e: R^1 = 4-F
3f: R^1 = 3-F
3g: R^1 = 2-F
n = 2, 4-Ns: **3c:** R^1 = H
3l: R^1 = 4-CF_3

n = 1, 2-Ns: **7a:** R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph
n = 1, 4-Ns: **7b:** R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph
7c: R^1 = 4-Br, R^3 = Ph
7d: R^1 = 4-F, R^3 = Ph
7e: R^1 = 3-F, R^3 = Ph
7f: R^1 = 2-F, R^3 = Ph
7g: R^1 = 4-F, R^3 = H
7h: R^1 = 4-F, R^3 = *para*-diOH-Ph nebo *para*-diOAc-Ph (NP)
7i: R^1 = 4-F, R^3 = Naph
n = 2, 4-Ns: **7j:** R^1 = H, R^3 = Ph
7k: R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph
NP = nepřipraveno

Schéma 18. [4+2] cykloadice intermediátů **3a–g, 3l**

Podmínky a činidla: (i) bezvodý DMSO, 24 h, 120 °C.

5,8-dihydroxy-1,4-naftochinonu syntéza látky **7h** zcela selhala, a to i po otestování DAC s komerčně dostupným *O*-acetylovaným analogem. Ostatní deriváty **7b–g** a **7i–k** byly získány v surové čistotě >90 % (stanoveno pomocí HPLC-UV analýzy po odštěpení analytického množství pryskyřice z polymeru pomocí směsi TFA/CH_2Cl_2).

3.4.4 Modifikace 2-Ns skupiny vedoucí k fúzovaným derivátům

Derivát **7a** nesoucí 2-Ns skupinu byl dále podroben redukci na pryskyřici pomocí dithioničitanu sodného za následného uvolnění z polymeru pomocí TFA/CH_2Cl_2 a cyklizace na (*S*)-12,12*a*-dihydro-7*H*-benzo[6,7][1,2,5]thiadiazepino[2,3-*b*]isochinolin-13(14*H*)-on 5,5-dioxid podle podmínek převzatých z literatury (**Schéma 19**).[67] Redukovaný intermediát **20a** byl získán v nižší surové čistotě 55 % (stanoveno po odštěpení látky z polymeru) a jeho cyklizace pomocí *p*-toluensulfonové kyseliny (PTSA) v 1,2-dichloroethanu (DCE) za refluxu poskytovala očekávaný produkt **21a** v omezené surové čistotě 38 %. S ohledem na nízkou surovou čistotu produktu a předchozí zkušenost s obtížnou separaci a kontaminaci tetrabutylammonium bisulfátem (TBAHS) v NMR spektrech,[67] nebylo přistoupeno k izolaci produktu. Alternativní cestou bylo odštěpení intermediátu **7a** z polymerního nosiče a následná hydrogenace nitroskupiny a cyklizace v roztoku.[67] Během hydrogenace látky **22a** pomocí Pd/C i PtO_2 však docházelo k postupné redukci chinolinového kruhu přes tetrahydro-, hexahydro- a oktahydroisochinolin detekované podle MS spektra v poměru 3:3:2 (struktura **23a** znázorněno přerušovanými vazbami), a proto bylo od dalších experimentů upuštěno.

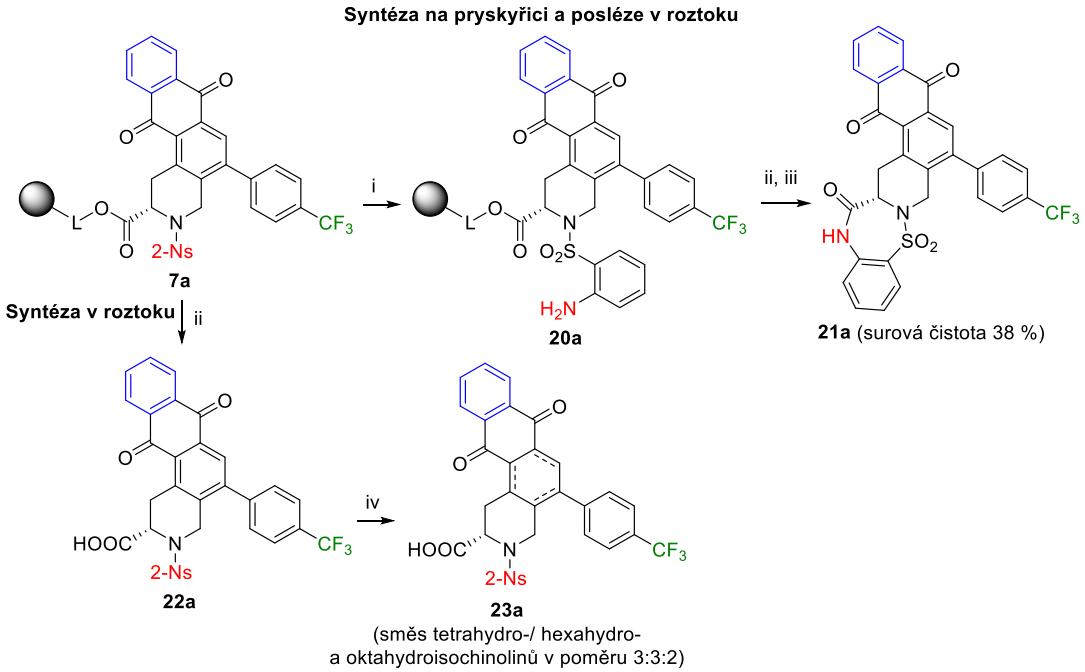
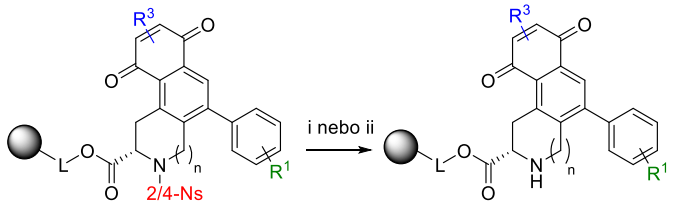


Schéma 19. Využití 2-Ns skupiny pro přípravu fúzovaných analogů

Podmínky a činidla: (i) $Na_2S_2O_4.2H_2O$, K_2CO_3, tetrabutylammonium bisulfát (TBAHS), CH_2Cl_2/H_2O, 2–24 h, rt; (ii) 50% TFA/CH_2Cl_2, 1 h, rt; (iii) *p*-toluensulfonová kyselina (PTSA), bezvodý 1,2-dichlorethan (DCE), 24 h, 90 °C; (iv) H_2, Pd/C nebo PtO_2 (5–35 mol%), 2-isopropanol, atmosférický tlak, 2–24 h, rt.

3.4.5 Štěpení 4-Ns skupiny, tzv. denosylace

Látky **7b–g** a **7i–k** byly podrobeny tzv. denosylaci, tedy odštěpení 4-Ns skupiny pomocí 2-merkaptoethanolu (MCE) a DBU (**Schéma 20**). Žádané intermediáty **8a–e** a **8g–i** připravované z 1,4-naftochinonu a 1,4-anthrachinonu byly získány v excelentní surové čistotě (>90 %). Příprava látky **8f** z intermediátu **7g** nesoucího tetrahydrobenzo[*f*]isochinolin-7,10-dionovou jednotku zcela selhala. Podle LC-MS analýzy docházelo přednostně ke vzniku produktů Michaelovy adice (neizolovány) pocházejících z reakce thiolátu a benzochinonu. K potlačení těchto nežádoucích produktů byl MCE/DBU zaměněn za thiofenol/DBU sloužící jako mírnější nukleofil, avšak očekávaný produkt **8f** byl získán v nízké surové čistotě (11 %), kvůli které nebyl izolován.



n = 1, 4-Ns: **7b:** R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph; **7c:** R^1 = 4-Br, R^3 = Ph; **7d:** R^1 = 4-F, R^3 = Ph; **7e:** R^1 = 3-F, R^3 = Ph; **7f:** R^1 = 2-F, R^3 = Ph; **7g:** R^1 = 4-F, R^3 = H; **7i:** R^1 = 4-F, R^3 = Naph

n = 2, 4-Ns: **7j:** R^1 = H, R^3 = Ph; **7k:** R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph

n = 1: **8a:** R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph; **8b:** R^1 = 4-Br, R^3 = Ph; **8c:** R^1 = 4-F, R^3 = Ph; **8d:** R^1 = 3-F, R^3 = Ph; **8e:** R^1 = 2-F, R^3 = Ph; **8f:** R^1 = 4-F, R^3 = H (NP); **8g:** R^1 = 4-F, R^3 = Naph

n = 2: **8h:** R^1 = H, R^3 = Ph; **8i:** R^1 = 4-CF_3-Ph, R^3 = Ph

NP = nepřipraveno

Schéma 20. Štěpení 4-Ns skupiny

Podmínky a činidla: (i) 2-merkaptoethanol (MCE), DBU, 40 min, rt; (ii) PhSH, DBU, 10 min–1 h, rt.

3.4.6 Výstavba západní části molekuly pomocí DOS

Západní část molekuly mající ve své struktuře 6-ti nebo 7-mi členné cykly byla konstruována pomocí třech typů elektrofilů, tj. *α-/β*-aminokyselin a jodoctové kyseliny, jež byly použity k acylaci sekundárních aminů **8a–e** a **8g–i** (**Schéma 21–23**).

Nejprve byl připraven 1,4-diazepino[1,2-*b*]isochinolin-dion **11** (**Schéma 21**) acylací intermediátu **8b** pomocí Boc-*β*-Ala-OH anhydridu, připraveného *in situ* z Boc-*β*-Ala-OH a *N,N´*-diisopropylkarbodiimidu (DIC) za následného kysele katalyzovaného štěpení intermediátu **9** z polymeru a cyklizace pomocí HBTU, DIPEA a hydroxybenzotriazolu (HOBt) v DMF. Žádaný produkt byl detekován (HPLC-UV analýza) v limitující surové čistotě (< 25 %), a proto byla vyzkoušena druhá metoda. Tato alternativní cyklizace pomocí 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimidu (EDCI) poskytla očekávaný produkt opět v nižší surové čistotě (43 %), ta však byla vyšší než v předchozím případě, a proto byla látka izolována a plně charakterizována (**Tabulka 6** – Přehled připravených derivátů).

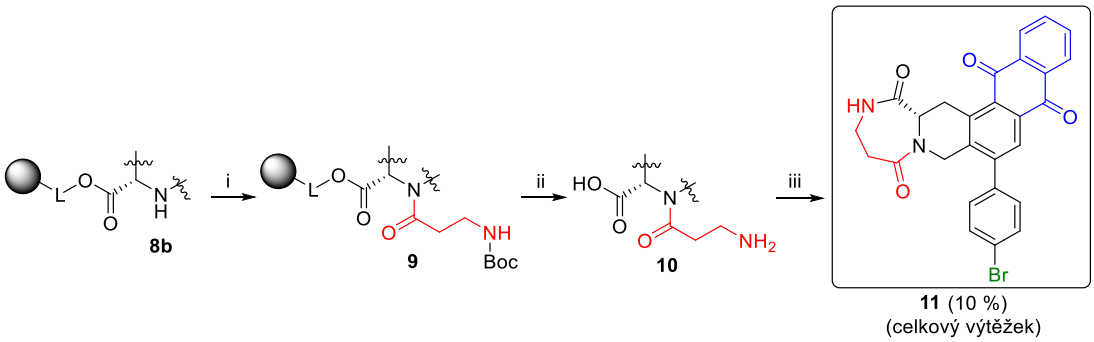
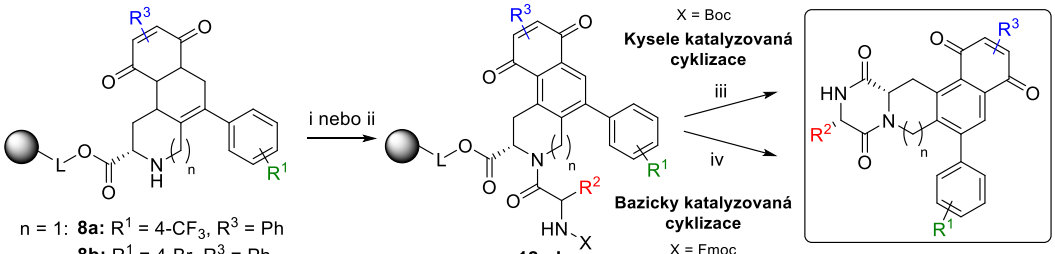


Schéma 21. Syntéza diazepino[1,2-*b*][1,4]isochinolin-dionu **11**

Podmínky a činidla: (i) Boc-*β*-Ala-OH, DIC, CH_2Cl_2, 30 min, rt, poté přidáno k pryskyřici **8b**, 24 h, rt; (ii) 50% TFA/CH_2Cl_2, 1 h, rt; (iii) 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)-karbodiimid (EDCI), CH_2Cl_2, 24 h, rt.

Dále byla vyzkoušena acylace látek **8a** a **8e** pomocí Fmoc-Ala-OH za aktivace DIC/HOBt poskytující produkty **12a** a **12f** v nízké surové čistotě (40 % a 47 %; **Schéma 22**). Bazická deprotekce Fmoc protektivní skupiny látky **12f** pomocí piperidinu (PIP) v DMF poskytla pyrazino-isochinolin-dion **13f** v 15% celkovém výtěžku. Proto byla vyzkoušena alternativní cesta s Boc-aminokyselinami za následné kysele katalyzované cyklizace na pyrazino-isochinolin-diony **13a–h** a **14a–c**, jež probíhaly přes noc.[66] Látka **13a** nesoucí methyl jako R^2 však ke kompletaci vyžadovala 7 dnů (30% celkový výtěžek). Další analoga Boc-Phe-OH a Boc-Tyr(*t*Bu)-OH (látky **13b–h** a **14a–c**) byla získána v celkových výtěžcích v rozmezí 27–53 % (**Tabulka 6** – Přehled připravených derivátů). V případě látky **13i** (připravené z 1,4-anthrachinonu a Boc-Phe-OH) byl celkový výtěžek výrazně nižší (9 %).



n = 1: **8a:** R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph
8b: R^1 = 4-Br, R^3 = Ph
8c: R^1 = 4-F, R^3 = Ph
8d: R^1 = 3-F, R^3 = Ph
8e: R^1 = 2-F, R^3 = Ph
8g: R^1 = 4-F, R^3 = Naph
n = 2: **8i:** R^1 = H, R^3 = Ph
8j: R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph

n = 1: **13a:** R^1 = 4-CF_3, R^2 = Me, R^3 = Ph (30 %)
13b: R^1 = 4-CF_3, R^2 = Bn, R^3 = Ph (19 %)
13c: R^1 = 4-Br, R^2 = Bn, R^3 = Ph (24 %)
13d: R^1 = 4-Br, R^2 = 4-OH-Bn, R^3 = Ph (35 %)
13e: R^1 = 4-F, R^2 = Bn, R^3 = Ph (39 %)
13f: R^1 = 2-F, R^2 = Me, R^3 = Ph (15 % a 29 %)
13g: R^1 = 2-F, R^2 = Bn, R^3 = Ph (53 %)
13h: R^1 = 2-F, R^2 = 4-OH-Bn, R^3 = Ph (27 %)
13i: R^1 = 4-F, R^3 = Naph (9 %)
n = 2: **14a:** R^1 = H, R^2 = Bn, R^3 = Ph (54 %)
14b: R^1 = H, R^2 = 4-OH-Bn, R^3 = Ph (15 %)
14c: R^1 = 4-CF_3, R^2 = Bn, R^3 = Ph (33 %)
(celkové výtěžky)

Schéma 22. Syntéza pyrazino-isochinolin-dionů a pyrazino-benzo[*d*]azepinů **13–14**

Podmínky a činidla: (i) Boc-aminokyselina, DIC, CH_2Cl_2, 30 min, rt, poté přidáno k pryskyřici **8**, 24 h, rt; (ii) Fmoc-aminokyselina, HOBt, DIC, DMF, CH_2Cl_2, 24 h, rt; (iii) X = Boc: TFA, 20 h (látky **13b–i** a **14a–c**) nebo 7 dnů (látka **13a**), 80 °C; (iv) X = Fmoc: 50% PIP/DMF, 24 h, rt (látka **13f**; celkový větěžek 15 %).

Dalšími studovanými analogy byly *N*-substituované pyrazino-isochinolin-diony **16** a pyrazino-benzo[*d*]azepiny **17** (**Schéma 23**), získané z intermediátů **8b–e** a **8h–i** pomocí acylace anhydridem kyseliny jodoctové (připraven *in situ* z jodoctové kyseliny a DIC) a jejich následné nukleofilní substituce 5% roztokem aminu v DMSO, což vedlo ke spontánnímu cyklickému štěpení finálních látek z polymeru, z angličtiny tzv. „cyclative cleavage“[71,72] na produkty **16a–b**, **16d** a **17a–c**. Látka **17c** byla připravena v nízké surové čistotě (36 %), a proto nebyla izolována (**Tabulka 6** – Přehled připravených derivátů). Příprava látky **16c** nesoucí 3-fluorofenyl jako R^1 zcela selhala.

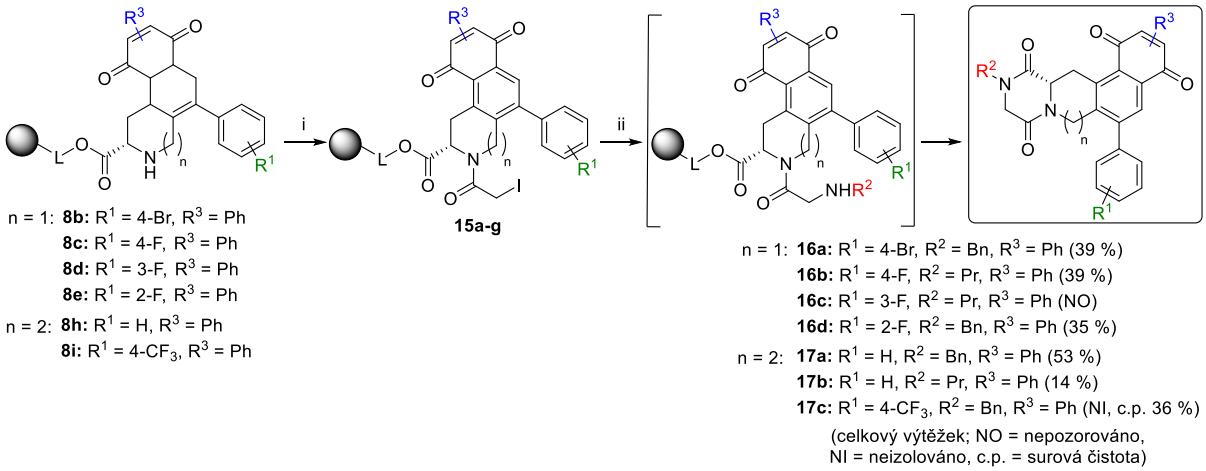


Schéma 23. Syntéza *N*-substituovaných pyrazino-isochinolin-dionů **16** a pyrazino-benzo[*d*]azepinů **17**

Podmínky a činidla: (i) jodoctová kyselina, DIC, CH_2Cl_2, 30 min, rt, poté přidáno k pryskyřici **8**, 24 h, rt; (ii) 5% amin/bezvodý DMSO, 24 h, rt.

Protože příprava látky **16c** nesoucí 3-fluor jako R^1 zcela selhala, byl intermediát **15c** odštěpen z polymeru a purifikován pomocí RF-HPLC chromatografie (meziprodukt **18a**; **Schéma 24**). Po izolaci této látky byla pomocí MS analýzy potvrzena její laktonizace na oxazino-isochinolin-dion **19a**. Alternativní metodou přípravy těchto diketomorfolinů pak vycházela z bazicky katalyzované cyklizace látky **18b** na **19b**.

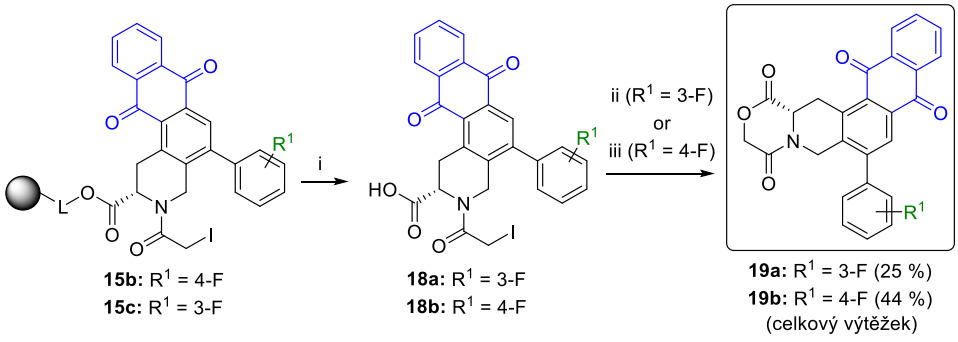
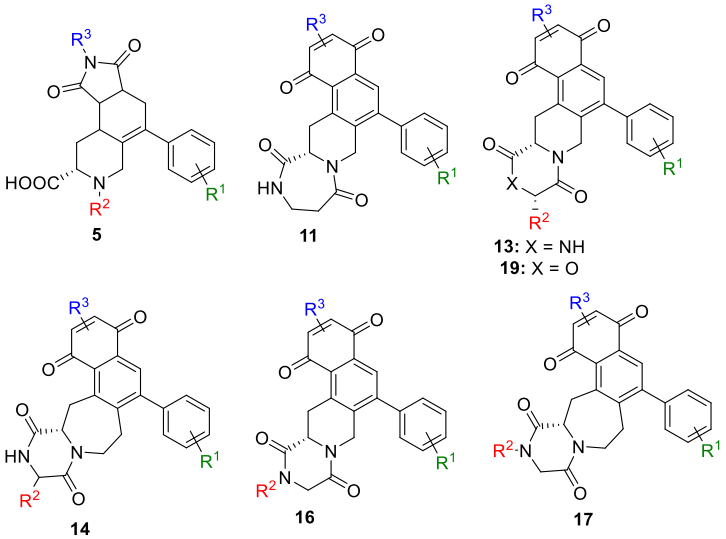


Schéma 24. Syntéza oxazino-isochinolin-dionů **19**

Podmínky a činidla: (i) 50% TFA/CH_2Cl_2, 1 h, rt; (ii) semipreparativní RF–HPLC chromatografie pomocí AmAc pufru/CH_3CN/DMSO za následné lyofilizace; (iii) *N*,*N*-diisopropylethylamin (DIPEA), DMSO, 24 h, rt.

Tabulka 6. Tabulka připravených a plně charakterizovaných sloučenin



slouč.	X	R^1	R^2	R^3	surová čistota [%][a]	celkový výtěžek [%][b]
5a-I	-	4-CF_3	2-Ns	Ph	26	24
5a-II	-	4-CF_3	2-Ns	Ph	48	43
11	-	4-Br	-	Ph	43	10
13a	NH	4-CF_3	Me	Ph	57	30
13b	NH	4-CF_3	Bn	Ph	50	19
13c	NH	4-Br	Bn	Ph	75	24
13d	NH	4-Br	4-OH-Bn	Ph	80	35
13e	NH	4-F	Bn	Ph	85	15[c] 39[d]
13f	NH	2-F	Me	Ph	49	29
13g	NH	2-F	Bn	Ph	75	53
13h	NH	2-F	4-OH-Bn	Ph	51	27
13i	NH	4-F	Bn	Naph	50	9
14a	-	H	Bn	Ph	75	54
14b	-	H	4-OH-Bn	Ph	52	15
14c	-	4-CF_3	Bn	Ph	70	33
16a	-	4-Br	Bn	Ph	85	39
16b	-	4-F	Pr	Ph	88	39
16c		3-F	Pr	Ph	NO	NO
16d	-	2-F	Bn	Ph	66	35
17a	-	H	Bn	Ph	95	53
17b	-	H	Pr	Ph	59	14
17c	-	4-CF_3	Bn	Ph	36	NI
19a	O	3-F	H	Ph	64	25
19b	O	4-F	H	Ph	95	44

[a]Celková surová čistota po skončení reakční sekvence stanovena pomocí HPLC-UV analázy při 205–400 nm; [b]Celkový výtěžek stanoven po purifikaci sloučenin po odštěpení látek z polymeru a stanoven k loadingu pryskyřice; [c]Připraveno z Fmoc-aminokyseliny; [d]Připraveno z Boc-aminokyseliny; NO = nepozorováno; NI = neizolováno.

3.5 Cytotoxický a antimikrobiální screening

Finální deriváty byly otestovány na cytotoxickou (MUDr. Džubák a Dr. Gurská, Ústav molekulární a translační medicíny, Olomouc) a antimikrobiální aktivitu (Lenka Pospíšilová, Katedra organické chemie, PřF UPOL).

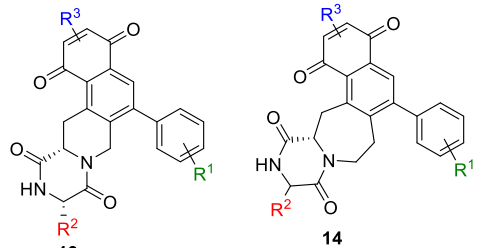
3.5.1 Cytotoxický screening

Cytotoxická aktivita byla otestována pomocí MTT kolorimetrických testů vůči devíti vybraným nádorovým liniím, a to na linii plicního adenokarcinomu (A549), T-lymfoblastické leukémie (CCRF-CEM), T-lymfoblastické leukémie rezistentní na daunorubicin (CEM-DNR), lidského kolorektálního karcinomu (HCT116), lidského kolorektálního karcinomu deficitního na p53 (HCT116p53-/-), akutní myeloidní leukémie (K562), akutní myeloidní leukémie rezistentní na paklitaxel (K562-TAX), lidských fetálních plicních fibroblastů (MRC-5) a lidského osteosarkomu (U2OS). Kontrolní linií byl nemaligní lidský fibroblast (BJ), vůči kterému byl stanoven terapeutický index (TD_{50}), který udává kolikrát jsou maligní buňky nádorových linií aktivnější než nemaligní buňky BJ. Obecně platí přímá úměra, čím má látka vyšší TD_{50}, tím je biologicky zajímavější. Výsledky cytotoxicity (**Tabulka 7**) jsou využity ke zhodnocení míry aktivity dané látky a jsou uvedeny jako tzv. poloviční inhibiční koncentrace (IC_{50}) vyjádřené v mikromolech (μM). Obecně platí, že čím nižších hodnot IC_{50} daná látka nabývá, tím vyšší má cytotoxickou aktivitu.

Finální deriváty byly otestovány vůči vybraným nádorovým liniím a byl zhodnocen vztah mezi jejich strukturou a biologickou aktivitou. Výsledky cytotoxického screeningu jsou shrnuty v **Tabulce 7** zobrazující pouze cytotoxicitu látek s IC_{50} <50 μM. Přičemž jedenáct látek vykazovalo mikromolární cytotoxickou aktivitu v rozmezí IC_{50} = 0,83–10,16 μM, a to minimálně vůči jedné až sedmi nádorovým liniím zároveň, z toho se jednalo o tři tetrahydrobenzo[*d*]azepinové deriváty **14a–c**. Obecně lze říci, že deriváty připraveny z Boc-aminokyselin (látky **13–14**) dosahují podstatně lepších výsledků než deriváty terciární amidy **16–17**, přičemž analoga **16** byla zcela neaktivní. Nejlepších výsledků cytotoxicity bylo dosaženo pro tetrahydroisochinolinový derivát **13h** (R^1 = 2-F a R^2 = 4-OH-Bn) působící proti šesti nádorovým liniím: HCT116 p53- (IC_{50} = 0,83 μM), CCRF-CEM (IC_{50} = 1,28 μM), HCT116 (IC_{50} = 1,81 μM), K562 (IC_{50} = 1,70 μM), K562-TAX (IC_{50} = 1,95 μM) a 2UOS (IC_{50} = 3,33 μM). Ostatní připravené deriváty, které nejsou uvedeny v **Tabulce 7** byly zcela neaktivní, a proto nejsou součásti této tabulky.

Esenciální části molekuly zodpovídající za cytotoxickou aktivitu byl atom *o*-/*p*-fluoru, *p*-bromu či *p*-trifluoromethylová skupina v poloze R^1 a dále alifatický substituent v poloze R^2. Míra cytotoxicity závisela také na substituci R^3 použité při výstavbě východní části molekuly a odvozené od 1,4-naftochinonu či 1,4-anthrachinonu, přičemž derivát **13e** nesoucí 1,4-naftochinonový zbytek dosahoval 3,4× lepší aktivity vůči CCRF-CEM než 1,4-anthrachinonový derivát **13i**, který byl aktivní pouze vůči jedné nádorové buněčné linii, a to K562-Tax (IC_{50} = 9,27 μM).

Tabulka 7. Vybrané výsledky cytotoxického screeningu (IC_{50} < 10 μM)



slouč.	R^1	R^2	R^3	IC_{50} [μM]									
				A549	CCRF-CEM	CEM-DNR	HCT 116	HCT 116 p53-	K562	K562-Tax	MRC-5	U2OS	BJ
13a	4-CF_3	Me	Ph	28,93	15,95	15,40	32,72	31,99	22,30	-	>50	23,53	>50
13b	4-CF_3	Bn	Ph	>50	**5,32**	**8,79**	37,28	26,40	>50	13,07	>50	19,80	>50
13c	4-Br	Bn	Ph	>50	**4,27**	**10,16**	41,79	38,25	>50	12,80	>50	21,09	>50
13d	4-Br	4-OH-Bn	Ph	20,73	**5,47**	10,99	26,11	19,17	23,72	-	29,61	20,20	26,23
13e	4-F	Bn	Ph	>50	**5,32**	**5,65**	11,31	11,59	-	**7,28**	>50	12,36	>50
13f	2-F	Me	Ph	**7,47**	**2,87**	**1,49**	**2,76**	**2,89**	**4,00**	-	23,61	**10,04**	26,21
13g	2-F	Bn	Ph	12,67	**4,26**	**3,84**	**9,33**	**5,03**	**7,67**	**2,28**	15,06	13,34	>50
13h	2-F	4-OH-Bn	Ph	19,98	**1,28**	15,52	**1,61**	**0,83**	**1,70**	**1,95**	>50	**3,33**	>50
13i	4-F	Bn	Naph	>50	18,07	28,35	>50	>50	>50	**9,27**	>50	>50	>50
14a	H	Bn	Ph	32,12	**3,92**	**6,93**	35,40	26,46	31,29	**7,93**	>50	15,23	>50
14b	H	4-OH-Bn	Ph	>50	**4,51**	16,06	>50	>50	37,87	7,88	>50	19,03	>50
14c	4-CF_3	Bn	Ph	28,52	**4,63**	12,35	28,70	17,71	17,01	17,09	>50	15,72	>50

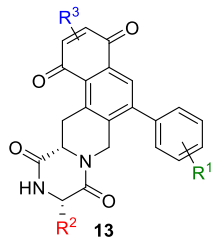
Ostatní připravené deriváty vykazovaly IC_{50} >50 μM a nejsou uvedeny v prezentované tabulce.

3.5.2 Antimikrobiální screening

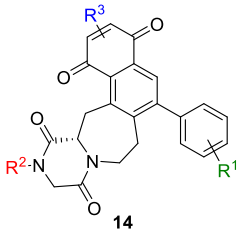
Antimikrobiální aktivita byla hodnocena na šesti bakteriálních kmenech, a to *Bacillus subtillis*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium vaccae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli*. Bakteriální kmeny byly kultivovány podle standardního protokolu. Roztok agaru (9,5 g/100 ml H_2O) vytemperovaný v autoklávu při 125 °C po dobu 15 min byl nalít do sterilních Petriho misek (průměr 8 cm), ponechán ztuhnout a ze starší šarže bakteriálních kmenů na něj byla přenesena starší kolonie. Kultivace probíhala v inkubátoru při 37 °C po dobu 24 h, poté byl do šesti kultivačních zkumavek přidán vytemperovaný bujón (10 ml do jedné misky; koncentrace 2,3 g/100 ml H_2O; temperace v autoklávu při 125 °C po dobu 15 min) a do každé zkumavky vpravena jedna bakteriální kolonie z předchozí kultivace. Kultivace zkumavek probíhala v inkubátoru při 37 °C po dobu 24 h. Agarovým difuzním testem byla stanovena inhibiční zóna pro každou látku. Z kultivovaných bakterií v bujónu byla připravena suspenze o odpovídající koncentraci $1{,}5 \cdot 10^8$ CFU/ml, tzn. standardní roztok bakterií (1 ml) a tekutý agar (34 ml; vytemperovaný v autoklávu při 125 °C po dobu 15 min), která byla promíchána a přelita do sterilních Petriho misek (průměr 13,5 cm). Do ztuhlého agaru byly vyříznuty jamky (průměr 1 cm) a do nich byl napipetován testovací roztok (40 μl) připravený z roztoku vzorku v DMSO (40 μl, 20 *n*M) a MeOH (360 μl). Standardem byl ciprofloxacin a slepým pokusem roztok DMSO/MeOH (400 μl, 1/9, v/v). Po inkubaci Petriho misek v inkubátoru při 37 °C po dobu 24 h byly změřeny inhibiční zóny (mm). V případě látek, jejichž inhibiční zóny byly větší než 22 mm byla stanovena minimální inhibiční koncentrace (MIC), vyjadřující nejnižší látkovou koncentraci bránící růstu bakterií, která je uvedena v mikromolech (μM; **Tabulka 8**).

Pomocí výše uvedeného postupu byla naměřena bakteriální aktivita u čtyřech látek vůči *M. lutteus* (**Tabulka 8**). Nejaktivnějším analogem byl derivát **13e** se střední bakteriální aktivitou (MIC = 25 μM). Ostatní analoga byla zcela neaktivní, a proto nejsou v tabulce ukázána.

Tabulka 8. Vybrané výsledky antimikrobiálního testování: zóna (> 22 mm)/MIC (μM)



13



14

slouč.	R^1	R^2	R^3	*B. subtillis* zóna [mm]	*M. lutteus* zóna [mm]/ MIC [μM]	*M. vaccae* zóna [mm]	*S. aureus* zóna mm	*P. aeruginosa* zóna [mm]	*E. coli* zóna [mm]
13e	4-F	Bn	Ph	17	**24/25**	10	18	18	18
13f	2-F	Me	Ph	16	**23/100**	10	16	16	19
16b	4-F	Pr	Ph	16	**24/100**	10	17	16	19
16d	2-F	Bn	Ph	16	**25/200**	10	16	17	19

MIC [μM] = MIC(látka)/MIC(ciprofloxycin – standard)

4. SHRNUTÍ

V rámci překládané práce byla vyvinuta syntetická cesta vedoucí k novým polycyklickým tetrahydroisochinolinům a pěti novým tetrahydrobenzo[*d*]azepinům připravených pomocí syntézy na pevné fázi a divergentně orientované syntézy. Výstavba těchto derivátů zahrnovala tři modifikace. Nejprve byla pomocí RCEM vystavěna vnitřní část cílové molekuly na bázi piperidinu či azepinu, což vedlo k odpovídajícím tetrahydroisochinolinovým a tetrahydrobenzo[*d*]azepiným skeletům. Ty byly dále modifikovány za podmínek Diels-Alderovy cykloadice s *N*-fenylmaleinimidem jako dienofilem. Reakce poskytovala směs separovatelných diastereomerů, jež se podařilo izolovat, plně charakterizovat a určit konfigurace jednotlivých stereocenter pomocí pokročilých 2D NMR experimentů, respektive NOE korelací. Dále byla zkoušena aromatizace těchto diastereomerů, jež měly potlačit jejich vznik. Tyto pokusy zcela selhaly a bylo přistoupeno k záměně *N*-fenylmaleinimidu za jiné vhodnější dienofily, jako například 1,4-benzochinon, 1,4-naftochinon a 1,4-anthrachinon, jenž umožnily konstrukci východní části molekuly tetrahydroisochinolinu a tetrahydrobenzo[*d*]azepinu. Následovalo odštěpení nosylové skupiny poskytující klíčový intermediát pro DOS. Tento intermediát byl dále využit k výstavbě západní části molekuly pomocí acylačních reakcí s vhodnými elektrofily, jako například *α-/β*-aminokyselinami (deriváty **11**, **13–14**) či jodoctovou kyselinou. V případě intermediátů připravených z jodoctové kyseliny byly připraveny buďto odpovídající laktony (deriváty **19a–b**), nebo reakcí s alifatickými aminy terciární amidy (deriváty **16–17**). Ačkoli RCEM vykazovala značné limity ve své aplikovatelnosti a byla použitelná pouze pro nesubstituované fenylalkynoly či jejich analoga nesoucí elektronakceptorní skupiny, vyvinutá metodika vedla k šesti skeletálně odlišným heterocyklům a dvaceti reprezentativním finálním derivátům připravených z různých fenylalkynolů, primárních aminů či aminokyselin.

Všechny finální deriváty byly dále otestovány vůči vybraným nádorovým liniím a bakteriálním kmenům a byl zhodnocen vztah mezi jejich strukturou a biologickou aktivitou. Podle výsledků cytotoxického screeningu vykazovalo jedenáct látek mikromolární cytotoxickou aktivitu $IC_{50} < 10\ \mu M$, a to minimálně vůči jedné až sedmi nádorovým liniím. Tři z těchto derivátů byly tetrahydrobenzo[*d*]azepiny **14a–c** a zbytek tetrahydroisochinolinové deriváty **13b–i**, které dosahovaly obecně vyšší cytotoxicity než jejich analoga **17a–c**. Látky **16a–b, d** byly zcela neaktivní. Nejúčinnějšími kandidáty z této chemické knihovny nesli ve své struktuře atom *o-*/*p*-fluoru, *p*-bromu či *p*-trifluoromethylová skupina v poloze R^1, dále alifatický substituent v poloze R^2 a zbytek z 1,4-naftochinonu v poloze R^3. Příprava derivátu odvozeného od 1,4-benzochinonu selhala při štěpení 4-Ns skupiny, a tudíž závislost tohoto zbytku v poloze R^3 nebyla posuzována.

V případě antimikrobiálních testů byla detekována mírná bakteriální aktivita u čtyřech finálních látek vůči *M. lutteus*. Nejúčinnějším derivátem byla látka **13e** s MIC = 25 μM. Ostatní připravené deriváty byly neaktivní. Obecně lze říci, že tyto účinky byly pozorovány u látek nesoucích atom fluoru v *ortho*- a *para*-poloze jako R^1 a dále alifatický substituent v poloze R^2 na diketopiparazinovém kruhu.

5. PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

(1) Králová, P. Diversity-Oriented Synthesis Using Immobilized 2/4-Nitrobenzensulfonamides As The Key Intermediates. Disertation Thesis. Palacký University Olomouc, **2020**.

(2) Lemrová, B.; Fülöpová, V. *Praktické Aspekty Syntézy Na Pevné Fázi. Skripta.*; Zatloukal, M., Soural, M., Eds.; UP Olomouc, **2015**.

(3) Vennerstrom, J. L.; Klayman, D. L. Protoberberine Alkaloids as Antimalarials. *J. Med. Chem.* **1988**, *31* (6), 1084–1087.

(4) Gözler, B. Chapter 7 Pavine and Isopavine Alkaloids; Brossi, A. B. T.-T. A. C. and P., Ed.; Academic Press, **1987**, *31*, 317–389.

(5) Mahiou, V.; Roblot, F.; Hocquemiller, R.; Cavé, A.; De Arias, A. R.; Inchausti, A.; Yaluff, G.; Fournet, A.; Angelo, A. New Aporphine Alkaloids from Guatteria Foliosa. *J. Nat. Prod.* **1994**, *57* (7), 890–895.

(6) Zheng, M.; Zhang, X.; Zhao, M.; Chang, H. W.; Wang, W.; Wang, Y.; Peng, S. (3S)-N-(l-Aminoacyl)-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolines, a Class of Novel Antithrombotic Agents: Synthesis, Bioassay, 3D QSAR, and ADME Analysis. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16* (21), 9574–9587.

(7) Zhang, X.; Wang, W.; Cheng, S.; Zhao, M.; Zheng, M.; Chang, H. W.; Wu, J.; Peng, S. 2,3-Diamino Acid Modifying 3S-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acids: Leading to a Class of Novel Agents with Highly Unfolded Conformation, Selective in Vitro Anti-Platelet Aggregation and Potent in Vivo Anti-Thrombotic Activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18* (4), 1536–1554.

(8) Miller, K. E.; Huang, C. T.; Portlock, D. E.; Wright, G. C. Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitors Containing Unnatural Alpha-Amino Acid Analogues of Phenylalanine. *Life Sci.* **1987**, *40* (1), 63–70.

(9) Yamada, M.; Okagaki, C.; Higashijima, T.; Tanaka, S.; Ohnuki, T.; Sugita, T. A Potent Dipeptide Inhibitor of Dipeptidyl Peptidase IV. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8* (12), 1537–1540.

(10) Mannekens, E.; Crisma, M.; Van Cauwenberghe, S.; Tourwé, D. Synthesis of 1-(m-Hydroxybenzyl)-Substituted 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid Derivatives as Opioid Peptide Mimetics − Unexpected Amide Bond Cleavages under Mild Conditions. *European J. Org. Chem.* **2003**, *2003* (17), 3300–3307.

(11) Fuchter, M. J.; Huarte, A. U.; Brady, H. J. M. Natural Killer Cells. WO2020002911A1, 2nd January, 2020.

(12) Ziemska, J.; Guśpiel, A.; Jarosz, J.; Nasulewicz-Goldeman, A.; Wietrzyk, J.; Kawęcki, R.; Pypowski, K.; Jarończyk, M.; Solecka, J. Molecular Docking Studies, Biological and Toxicity Evaluation of Dihydroisoquinoline Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24* (21), 5302–5314.

(13) Shinkai, H.; Toi, K.; Kumashiro, I.; Seto, Y.; Fukuma, M.; Dan, K.; Toyoshima, S. N-Acylphenylalanines and Related Compounds. A New Class of Oral Hypoglycemic Agents. *J. Med. Chem.* **1988**, *31* (11), 2092–2097.

(14) Kamenecka, T. M.; Burris, T. Preparation of Tertiary Amines as REV-ERB Receptors Modulators. WO2013033310A1, 7th March, 2013.

(15) Song, G.; Liao, Y.; Li, H.; Li, S.; Chen, J. Polyphenol Compound Containing Tetrahydropapaverine-3-Carboxylic Acid Methyl Ester and Preparation Method and Application Thereof. CN110724102A, 24th January, 2020.

(16) Králová, P. Příprava Nových Derivátů Benzodiazepin-5-Onu Pomocí Syntézy Na Pevné Fázi. Bakalářská Práce. Palackého univerzita, **2014**.

(17) Králová, P. Příprava Nových Derivátů Morfolin/Thiomorfolin-3-Karboxylových Kyselin Pomocí Syntézy Na Pevné Fázi. Diplomová Práce. Palackého univerzita v Olomouci, **2016**.

(18) Villar, H.; Frings, M.; Bolm, C. Ring Closing Enyne Metathesis: A Powerful Tool for the Synthesis of Heterocycles. *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36* (1), 55–66.

(19) Katz, T. J.; Sivavec, T. M. Metal-Catalyzed Rearrangement of Alkene-Alkynes and the Stereochemistry of Metallacyclobutene Ring Opening. *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107* (3), 737–738.

(20) Grela, K.; Harutyunyan, S.; Michrowska, A. A Highly Efficient Ruthenium Catalyst for Metathesis Reactions. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2002**, *41* (21), 4038–4040.

(21) Connon, S. J.; Blechert, S. Recent Developments in Olefin Cross-Metathesis. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2003**, *42* (17), 1900–1923.

(22) Desroy, N.; Robert-Peillard, F.; Toueg, J.; Duboc, R.; Hénaut, C.; Rager, M.-N.; Savignac, M.; Genêt, J.-P. An Efficient Route to 4/5/6 Polycyclic β-Lactams. *European J. Org. Chem.* **2004**, *2004* (23), 4840–4849.

(23) Ben-Othman, R.; Othman, M.; Coste, S.; Decroix, B. One-Pot Enyne Metathesis/Diels–Alder Reaction for the Construction of Highly Functionalized Novel Polycyclic Aza-Compounds. *Tetrahedron* **2008**, *64* (3), 559–567.

(24) Lamberto, M.; Kilburn, J. D. Synthesis of Indolizidines from Dialkylated Isocyanides: A Novel Radical Cyclisation/N-Alkylation/Ring Closing Metathesis Approach. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (44), 6364–6367.

(25) Maechling, S.; Norman, S. E.; McKendrick, J. E.; Basra, S.; Köppner, K.; Blechert, S. Ring-Rearrangement Metathesis of Bicyclic Amino Acid Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47* (2), 189–192.

(26) Mailyan, A. K.; Krylov, I. M.; Bruneau, C.; Dixneuf, P. H.; Osipov, S. N. Access to Cyclic α-CF3-Substituted α-Amino Acid Derivatives by Ring-Closing Metathesis of Functionalized 1,7-Enynes. *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013* (24), 5353–5363.

(27) Kotha, S.; Sreenivasachary, N. A New Synthetic Approach to 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid (Tic) Derivatives via Enyne Metathesis and the Diels–Alder Reaction. *Chem. Commun.* **2000**, *6*, 503–504.

(28) Kotha, S.; Sreenivasachary, N. Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid (Tic) Derivatives by Cycloaddition Approaches. *European J. Org. Chem.* **2001**, *2001* (17), 3375–3383.

(29) Heerding, D. A.; Takata, D. T.; Kwon, C.; Huffman, W. F.; Samanen, J. Combinatorial Chemistry. Use of an Intramolecular Ruthenium Catalyzed Olefin/Alkyne Metathesis Reaction in Tandem with a Diels-Alder Cycloaddition Reaction to Construct Functionalized Hexahydroisoindoles. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (38), 6815–6818.

(30) Robinson, A. J.; Elaridi, J.; Van Lierop, B. J.; Mujcinovic, S.; Jackson, W. R. Microwave-Assisted RCM for the Synthesis of Carbocyclic Peptides. *J. Pept. Sci.* **2007**, *13* (4), 280–285.

(31) Fürstner, A. Olefin Metathesis and Beyond. *Angew. Chemie Int. Ed.* **2000**, *39* (17), 3012–3043.

(32) Schuster, M.; Lucas, N.; Blechert, S. Ruthenium-Catalysed Cross Metathesis Binding of Functionalized Olefins to Polystyrene Resin via a Novel Allylsilyl Linker Suitable for Electrophilic Cleavage. *Chem.*

Commun. **1997**, No. 9, 823–824.

(33) Schuster, M.; Blechert, S. Ruthenium-Catalyzed Yne-Ene Cross Metathesis Immobilization of Functionalized Alkynes. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (16), 2295–2298.

(34) Schürer Siegfried, S. C. B. Sequences of Yne-Ene Cross Metathesis and Diels-Alder Cycloaddition Reactions - Modular Solid Phase Synthesis of Substituted Octahydrobenzazepinones. *Synlett* **1999**, *1999* (12), 1879–1882.

(35) Mori, M.; Sakakibara, N.; Kinoshita, A. Remarkable Effect of Ethylene Gas in the Intramolecular Enyne Metathesis of Terminal Alkynes. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (18), 6082–6083.

(36) Gisemba, S. A.; Aldrich, J. V. Optimized Ring Closing Metathesis Reaction Conditions To Suppress Desallyl Side Products in the Solid-Phase Synthesis of Cyclic Peptides Involving Tyrosine(O-Allyl). *J. Org. Chem.* **2020**, *85* (3), 1407–1415.

(37) Diels–Alder Reaction: General Remarks. In *The Diels–Alder Reaction*; **2001**, 1–28.

(38) Houk, K. N.; Luskus, L. J. Influence of Steric Interactions on Endo Stereoselectivity. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, *93* (18), 4606–4607.

(39) Layne Morsch. Rules of the Diels–Alder Reaction https://chem.libretexts.org/Courses/University_of_Illinois_Springfield/UIS%3A_CHE_269_(Morsch_and_Andrews)/Chapters/Chapter_16%3A_Conjugation%2C_Resonance%2C_and_Dienes/16.11_Rules_of_the_Diels–Alder_Reaction.

(40) Libby, R. D. Advanced Organic Chemistry, Part A: Structure and Mechanism, 4th Edition by Francis A. Carey and Richard J. Sundberg. *J. Chem. Educ.* **2001**, *78* (3), 314.

(41) Teyssot, M.-L.; Lormier, A.-T.; Chataigner, I.; Piettre, S. R. Cross-Diels−Alder Reactions of 6-Oxo-1-Sulfonyl-1,6-Dihydropyridine-3-Carboxylates. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (7), 2364–2373.

(42) Gelman, D. M.; Forsyth, C. M.; Perlmutter, P. Lewis Acid Catalyzed Diels−Alder Reactions of 1,2-Naphthoquinones. *Org. Lett.* **2009**, *11* (21), 4958–4960.

(43) Pagel, M.; Meier, R.; Braun, K.; Wiessler, M.; Beck-Sickinger, A. G. On-Resin Diels–Alder Reaction with Inverse Electron Demand: An Efficient Ligation Method for Complex Peptides with a Varying Spacer to Optimize Cell Adhesion. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (21), 4809–4816.

(44) Graven, A.; Meldal, M. Peptido-Organic Diels–Alder Reactions on Hydrophilic Resin: Scope for Combinatorial Chemistry. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **2001**, No. 23, 3198–3203.

(45) Paulvannan Tao; Jacobs, Jeffrey W, K. C. Solid Phase Synthesis of Tricyclic Nitrogen Heterocycles via Intramolecular Diels-Alder Reaction of Furans. *Synlett* **1999**, *1999* (10), 1609–1611.

(46) Witayakran, S.; Ragauskas, A. J. One-Pot Synthesis of 1,4-Naphthoquinones and Related Structures with Laccase. *Green Chem.* **2007**, *9* (5), 475–480.

(47) Hudkins, R. L.; Johnson, N. W. Fused Isoindolones as Inhibitors of Protein Kinase c. WO9721677A1, 19th June, 1997.

(48) Wang, W. L.; Ho, S. Y.; Alam, J.; Poulsen, A.; Duraiswamy, A. J. Phthalimide Derivatives as Modulators of Wnt Pathway. WO2015187094A1, 10th December, 2015.

(49) Conchon, E.; Anizon, F.; Golsteyn, R. M.; Léonce, S.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. Synthesis, in Vitro Antiproliferative Activities, and Chk1 Inhibitory Properties of Dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]Carbazole-Triones. *Tetrahedron* **2006**, *62* (48), 11136–11144.

(50) Iosub, A. V; Stahl, S. S. Palladium-Catalyzed Aerobic Oxidative Dehydrogenation of Cyclohexenes to Substituted Arene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (10), 3454–3457.

(51) Tan, A.; Koc, B.; Sahin, E.; Kishali, N. H.; Kara, Y. Synthesis of New Cantharimide Analogues Derived from 3-Sulfolene. *Synthesis (Stuttg).* **2011**, *2011* (07), 1079–1084.

(52) Grabley, S.; Kluge, H.; Hoppe, H. U. Diels Alder Reaction of Streptazoline with Naphthoquinone. *Angew. Chemie* **1987**, *99* (7), 692–693.

(53) Chaturvedula, P. V; Mercer, S. E.; Guernon, L.; Macor, J. E.; Dubowchik, G. M. Enantioselective Synthesis of Constrained Phenylalanine Analogues. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (42), 5588–5591.

(54) Decker, H.; Becker, P. Syntheses of Tetrahydroisoquinoline Derivatives. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1913**, *395*, 342–362.

(55) Chen, H. G.; Goel, O. P. Pictet-Spengler Cyclization of 3,3-Diphenylalanine (DIP) (III), Synthesis of Optically Pure 1,2,3,4-Tetrahydro-4-Phenyl-3-Isoquinolinecarboxylic Acids, Novel α-Amino Acids for Peptides of Biological Interest. *Synth. Commun.* **1995**, *25* (1), 49–56.

(56) McKenna, J. M.; Moliterni, J.; Qiao, Y. The Scope and Limitations of the Suzuki–Miyaura Cross-Coupling Reactions of 6- and 8-Substituted 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylates. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (34), 5797–5800.

(57) Kotha, S.; Misra, S.; Krishna, N. G.; Devunuri, N.; Hopf, H.; Keecherikunnel, A. Diversity-Oriented Approach to 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid (TIC) Derivatives Using Diethyl Acetamidomalonate as a Glycine Equivalent: Further Expansion by Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reaction. *Heterocycles* **2010**, *80* (2), 847–854.

(58) Meutermans, W. D. F.; Alewood, P. F. The Solid Phase Synthesis of Dihydro- and Tetrahydroisoquinolines. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (42), 7709–7712.

(59) Pedrosa, R.; Andrés, C.; Iglesias, J. M. A Novel Straightforward Synthesis of Enantiopure Tetrahydroisoquinoline Alkaloids. *J. Org. Chem.* **2001**, *66* (1), 243–250.

(60) Kim, H. J.; Yoon, U. C.; Jung, Y.-S.; Park, N. S.; Cederstrom, E. M.; Mariano, P. S. Oxidative Pictet−Spengler Cyclizations. *J. Org. Chem.* **1998**, *63* (3), 860–863.

(61) Locher, C.; Peerzada, N. Synthesis of Some N -Methyl-1 , 2 , 3 , 4-Tetrahydroisoquinolines by Friedel – Crafts Cyclisation Using Benzotriazole Auxiliary. **1999**, 179–184.

(62) Ho, T.-L.; Chein, R.-J. Intervention of Phenonium Ion in Ritter Reactions. *J. Org. Chem.* **2004**, *69* (2), 591–592.

(63) Králová, P.; Soural, M. Synthesis of Polycyclic Tetrahydroisoquinolines and Tetrahydrobenzo[d]Azepines from Polymer-Supported Allylglycine. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (8), 5242–5256.

(64) E. Gibson (née Thomas), S.; Guillo, N.; J. Middleton, R.; Thuilliez, A.; J. Tozer, M. Synthesis of Conformationally Constrained Phenylalanine Analogues via 7-, 8- and 9-Endo Heck Cyclisations. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1997**, No. 4, 447–456.

(65) Solecka, J.; Guśpiel, A.; Postek, M.; Ziemska, J.; Kawęcki, R.; Łęczycka, K.; Osior, A.; Pietrzak, B.; Pypowski, K.; Wyrzykowska, A. New Derivatives of 3,4-Dihydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid with Free-Radical Scavenging, D-Amino Acid Oxidase, Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity. *Molecules*. 2014, pp 15866–15890.

(66) Králová, P.; Soural, M. Reagent-Based Diversity-Oriented Synthesis of Triazolo[1,5-a][1,4]Diazepine

Derivatives from Polymer-Supported Homoazidoalanine. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (12), 7963–7974.

(67) Králová, P.; Maloň, M.; Volná, T.; Ručilová, V.; Soural, M. Polymer-Supported Stereoselective Synthesis of Benzoxazino[4,3-b][1,2,5]Thiadiazepinone 6,6-Dioxides. *ACS Comb. Sci.* **2017**, *19* (10), 670–674.

(68) Ručilová, V.; Králová, P.; Soural, M. Synthesis of Disubstituted Pyrazino-Oxazine Derivatives with Controlled Stereochemistry. *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *2017* (47), 7034–7039.

(69) Králová, P.; Benická, S.; Soural, M. Polymer-Assisted Synthesis of Single and Fused Diketomorpholines. *ACS Comb. Sci.* **2019**, *21* (3), 154–157.

(70) Sauer, J. Diels-Alder Reactions II: The Reaction Mechanism. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1967**, *6* (1), 16–33.

(71) Cankařová, N.; Schütznerová, E.; Krchňák, V. Traceless Solid-Phase Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (24), 12089–12207.

(72) McMaster, C.; Fülöpová, V.; Popa, I.; Grepl, M.; Soural, M. Solid-Phase Synthesis of Anagrelide Sulfonyl Analogues. *ACS Comb. Sci.* **2014**, *16* (5), 221–224.

6. PUBLIKACE K PŘEDKLÁDANÉ PRÁCI

V této podkapitole je přiložena daná publikace včetně přístrojového vybavení a experimentální částí.

JOC The Journal of Organic Chemistry

pubs.acs.org/joc Article

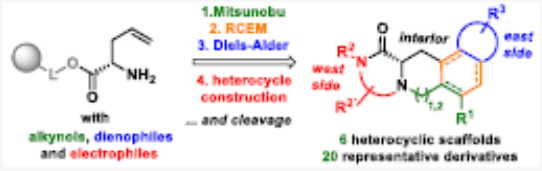
Synthesis of Polycyclic Tetrahydroisoquinolines and Tetrahydrobenzo[*d*]azepines from Polymer-Supported Allylglycine

Petra Králová and Miroslav Soural*

Cite This: *J. Org. Chem.* 2022, 87, 5242−5256 Read Online

ACCESS | Metrics & More | Article Recommendations | Supporting Information

ABSTRACT: Herein, we report a multistep synthesis of polycyclic tetrahydroisoquinolines and tetrahydrobenzo[*d*]azepines starting from Wang resin-immobilized allylglycine. After sulfonylation with 2/4-nitrobenzenesulfonyl chlorides, Mitsunobu alkylation with various phenylalkynols yielded the corresponding (phenylprop-2-yn-1-yl)-sulfonamides. "Interior" ring-closure enyne metathesis (RCEM) using a Grubbs catalyst second generation (Ru2) yielded functionalized tetrahydroisoquinoline/tetrahydrobenzo[*d*]azepine intermediates. "East-side" [4 + 2] cycloaddition with representative dienophiles was followed by the "west-side" construction of different heterocycles using various electrophiles to finally furnish a set of novel molecular frameworks bearing fused [6 + 6] or [6 + 7] rings. The developed methodology enables the facile parallel synthesis of novel, pharmacologically promising compounds derived from privileged scaffolds.



INTRODUCTION

Compounds containing isoquinoline scaffolds constitute one of the largest known groups of alkaloids. To date, more than six hundred natural isoquionolines with a wide range of biological properties have been identified. Consequently, several synthetic pharmaceuticals have been derived from this type of heterocycle, with praziquantel[1] and nomifensin[2] being the best-known examples. More specifically, one the most remarkable inherent groups of isoquinolines consists of 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolines (e.g., alkaloids of the proto-berberine,[3] pavine-[4] and aporphine-types[5]) and their derivatives bearing a carboxylic group in the C3 position (TIC). TICs and their *N*-acyl analogs have been frequently studied, and numerous derivatives have been reported as antithrombotic, anticancer, hypoglycemic, and antiviral agents (Figure 1).[6−15] Interestingly, in contrast to TIC, the biological properties of the corresponding homological tetrahydrobenzo-[*d*]azepines-2-carboxylic acids and their derivatives are practically unknown.

TIC scaffolds can be constructed by different approaches, such as partial oxidation of octahydro-analogs,[16] Heck[17] or Suzuki−Miyaura cross couplings,[18,19] [2 + 2 + 2] and [4 + 2] cycloadditions,[20,21] or classical Pictet−Spengler[22,23] and Bischler−Napieralski[24] reactions (Figure 2).

In contrast to the synthesis of simple TIC derivatives, the preparation of their analogs with fused cycles has only rarely been reported.[25] Recently, we have been focused on the synthesis of novel heterocyclic scaffolds using side-chain-functionalized Fmoc-α-amino acids as starting materials.[26−28] Solid-phase synthesis (SPS) was used for its well-known advantages, especially the fast and simple isolation of intermediates in multistep synthetic pathways and the facile application of parallel synthesis. In this article, the multistep SPS of complex isoquinolines from Fmoc-L-allylglycine is reported, with ring-closure enyne metathesis (RCEM)[20,29] and Diels−Alder cycloaddition[29,30] as the key reaction steps.

RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis started from readily available Fmoc-L-allylglycine (Fmoc-Gly(allyl)-OH) and Wang resin. Hydroxybenzotriazole (HOBt)-mediated immobilization yielded the resin **1** with a good average loading of 0.3 mmol/g (Scheme 1). Subsequently, the intermediates **2a−c** were prepared in three steps[28] consisting of Fmoc cleavage, sulfonylation with 2-nitrobenzenesulfonyl or 4-nitrobenzenesulfonyl chloride (2-/4-Ns-Cls),[31] and Mitsunobu alkylation with representative alkynols (4-(trifluoromethyl)phenyl)prop-2-yn-1-ol to yield intermediates **2a** and **2b** or 4-phenylbut-3-yn-1-ol to yield intermediate **2c**). The reaction pathway was followed by ring-closure enyne metathesis (RCEM), which required extensive optimization (see Table S1 in the Supporting Information). Finally, the quantitative conversion was achieved using a Grubbs catalyst second generation (Ru2; 5 mol %) with the addition of lithium chloride (LiCl) to accelerate the reaction,[32] yielding the resin-bound diene **3a** (2-Ns, n = 1) after 24 h in excellent crude purity (94%, calculated from LC−UV traces

Received: January 8, 2022
Published: March 28, 2022

ACS Publications © 2022 American Chemical Society

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

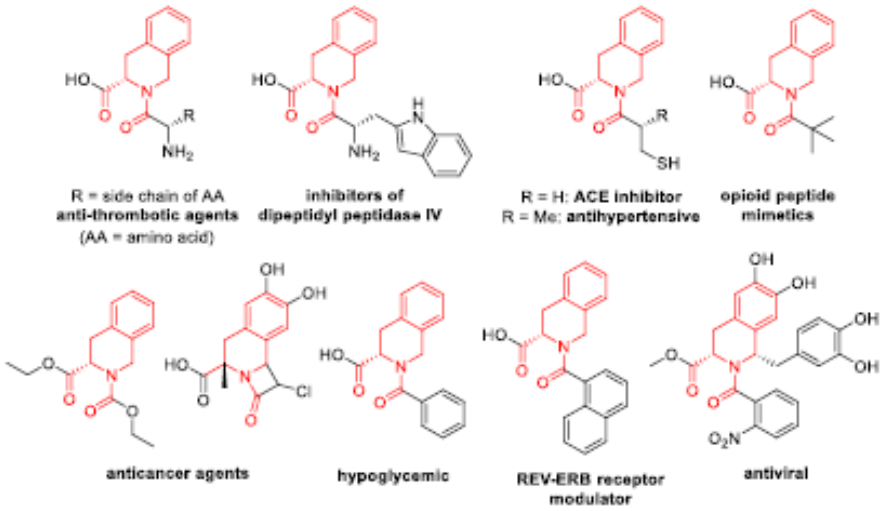


Figure 1. Pharmacologically relevant derivatives bearing *N*-acyl-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid.

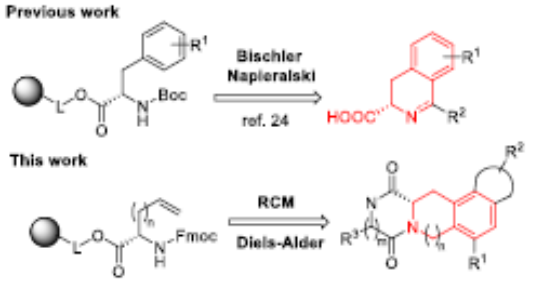


Figure 2. Previously reported solid-phase synthesis of simple TICs.

after cleavage from the polymer support). Interestingly, quantitative formation of diene **3b** (4-Ns, n = 1) required a considerably longer reaction time (4 days), with cyclization of the seven-membered diene **3c** (4-Ns, n = 2) requiring even 12 days for completion.

For the subsequent Diels–Alder reaction, *N*-phenylmaleimide was chosen as the model dienophile. Reaction with the diene **3a** in anhydrous dimethyl sulfoxide (DMSO) at a high temperature yielded (after cleavage from the resin) three compounds in a combined crude purity of 95% and mutual ratio of 3:5:2. MS analysis indicated that all three derivatives were isomers of decahydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*f*]isoquinoline-8-carboxylic acid **5a**. To investigate the stereochemical outcome in detail, the obtained mixture was submitted to reversed-phase semipreparative HPLC (RP-HPLC), which enabled the quantitative separation of the two major components **5a-I** and **5a-II** in purities above 98%; however, the third isomer was considerably contaminated with **5a-II**, precluding its detailed structural analysis. With pure compounds **5a-I** and **5a-II** in hand, we recorded and analyzed ^{1}H, ^{13}C{^{1}H}, APT, ^{1}H–^{1}H COSY, ^{1}H–^{1}H NOESY, ^{1}H–^{13}C HMQC, ^{1}H–^{13}C HMBC, and ^{1}H–^{15}N HMBC NMR data to determine the precise structures. Complete assignment of the ^{1}H, ^{13}C, and ^{15}N signals is shown in the Supporting Information (Figures S27–S29, S31–S37 and Table S3). In brief, we confirmed scaffold **5a-I**, followed by elucidation of the 3D architecture from the ^{1}H–^{1}H NOESY spectrum (Figures 3, S29–30, and S38). The configuration of the C4, C12, and C13 stereocenters was determined by analyzing the ^{1}H–^{1}H coupling constants and NOE correlations of the isoquinoline ring (Figure 3). The configuration of the C10 stereocenter was adopted from the starting material (*S*), and the configuration of the newly formed C4, C12, and C13 stereocenters was assigned as *R*, *R*, and *S*, respectively. Consequently, the **5a-I** was proposed as the endo isomer.

A similar data analysis of **5a-II** (Figure S40–S51 and Table S4) revealed the relative configuration of the corresponding stereocenters as C4 *S*, C12 *R*, and C13 *R* and indicated the existence of an exo isomer (Figure 4).

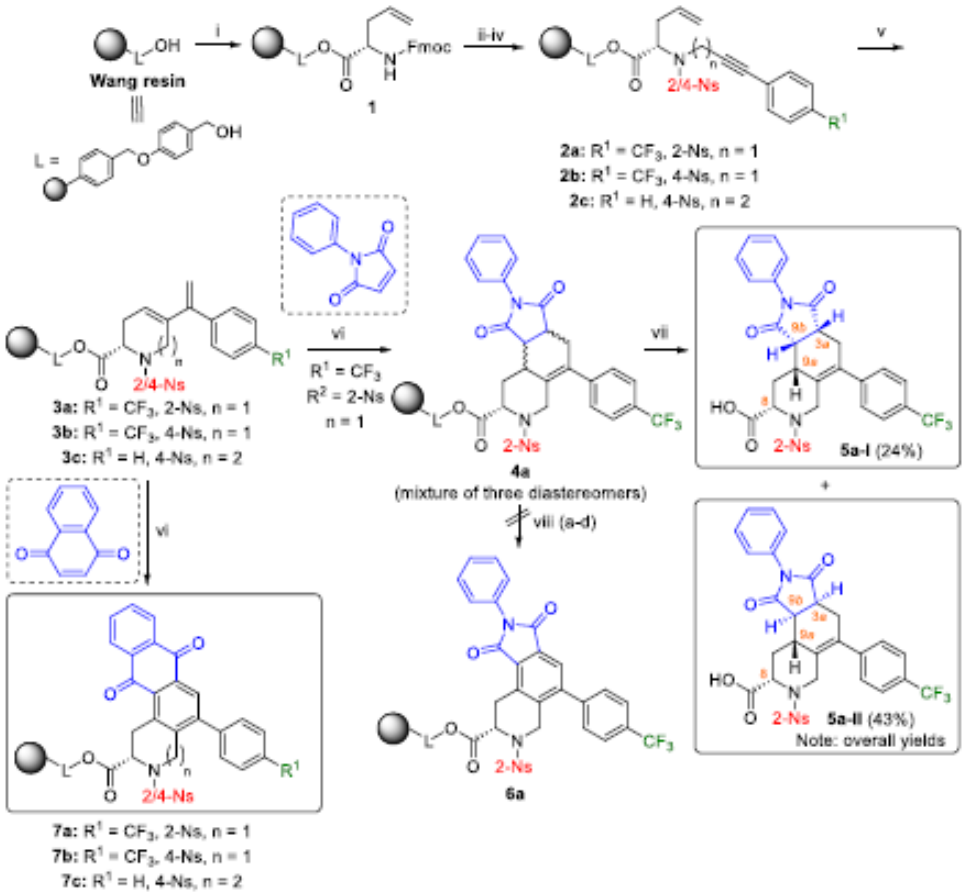
The chemical shifts, splitting patterns, and ^{2}J and ^{3}J homonuclear couplings for both isomers **5a-I** and **5a-II** are comprehensively compared in the Supporting Information (Table S5).

Although the separation and structural elucidation of the Diels–Alder products **5a-I** and **5a-II** were successful, which indicated the feasibility of using analogical dienophiles, the formation of the mixture disfavored completion of the reaction sequence on the solid support because the resin-bound isomers **4a** were inseparable. Consequently, we tried to control the stereoselectivity using different conditions (microwave irradiation, different solvents, times and temperature; Table S2), but the isomer ratio remained unchanged. We then explored the possible aromatization of the resin-bound intermediates **4a** to **6a** (Scheme 1) using previously reported approaches, e.g., oxidation with MnO_2,[33] $KMnO_4$, TFA,[34] 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ),[35] palladium-catalyzed oxidative dehydrogenation,[36] or bromination and subsequent 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU)-mediated elimination,[37] but only recovered the starting material. Finally, to prevent the formation of a mixture of stereoisomers, *N*-phenylmaleimide was replaced with 1,4-naphthoquinone. In this case, the [4 + 2] cycloaddition to **3a** was followed by spontaneous aromatization,[38] and the reaction yielded intermediate **7a** as a single product with excellent crude purity.

Having determined the optimized conditions for the RCEM and Diels–Alder reaction starting from **3a**, we decided to test the limitation and scope of this part of the reaction sequence.

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242–5256

Scheme 1. Synthesis of Isoquinolines 4−7[a]



[a]Reagents and conditions: (i) Fmoc-L-allyl glycine (Fmoc-Gly(allyl)-OH), 1-hydroxybenzotriazole (HOBt), 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP), diisopropylcarbodiimide (DIC), *N*,*N*-dimethylformamide (DMF), CH_2Cl_2, 24 h, rt; (ii) 50% piperidine (PIP)/*N*,*N*-dimethylformamide (DMF), 30 min, rt; (iii) 2/4-nitrobenzenesulfonyl chloride (2/4-Ns-Cls), 2,6-lutidine, CH_2Cl_2, 24 h, rt; (iv) 3-(4-trifluoromethyl)phenyl)prop-2-yn-1-ol or 4-phenylbut-3-yn-1-ol, triphenylphosphine (TPP), diisopropyl azodicarboxylate (DIAD), anhydrous tetrahydrofuran (THF), 24 h, rt; (v) Grubbs catalyst second generation (Ru2, 5 mol %), 0.4 M lithium chloride (LiCl) in DMF, anhydrous $PhCH_3$, 24 h (for 3a), 4 days (for 3b) and 12 days (for 3c), 110 °C; (vi) anhydrous DMSO, 24 h, 120 °C; (vii) 50% trifluoroacetic acid (TFA)/CH_2Cl_2, 1 h, rt, followed by RP-HPLC purification using ammonium acetate (AmAc) buffer; (viii) (a) MnO_2, anhydrous $PhCH_3$ (0.86 M), 24 h, 120 °C; (b) $KMnO_4$, anhydrous acetone (0.1 M), 4.5−24 h, rt; (c) 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) (0.18−0.35 M), 5−24 h, 70−110 °C; (d) $Pd(TFA)_2$, PhCl, sodium anthraquinone-2-sulfonate, O_2, 24 h, 110 °C.

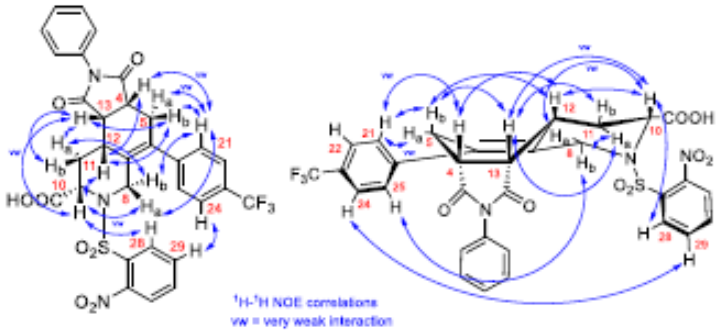


Figure 3. NOE correlations used to determine the constitution and configuration of isomer **5a-I**.

A set of intermediates **2** with variable R^1 were synthesized from phenylprop-2-yn-1-ols and 4-phenylbut-3-yn-1-ols (see the list of starting materials in Figure 5). Unsubstituted phenylalkynol (R^1 = H) and its analogs bearing electron-donating (R^1 = Me

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

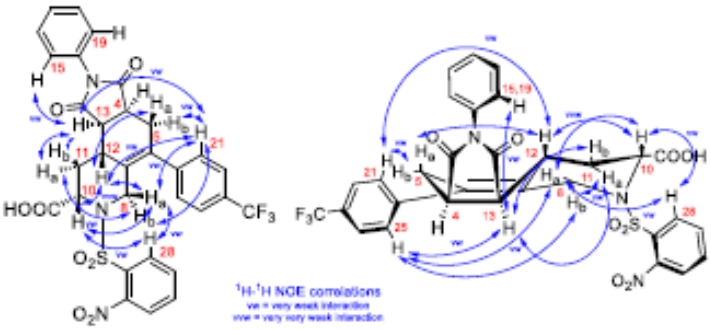


Figure 4. NOE correlations to identify the configuration of isoquinoline derivatives **5a-l**.

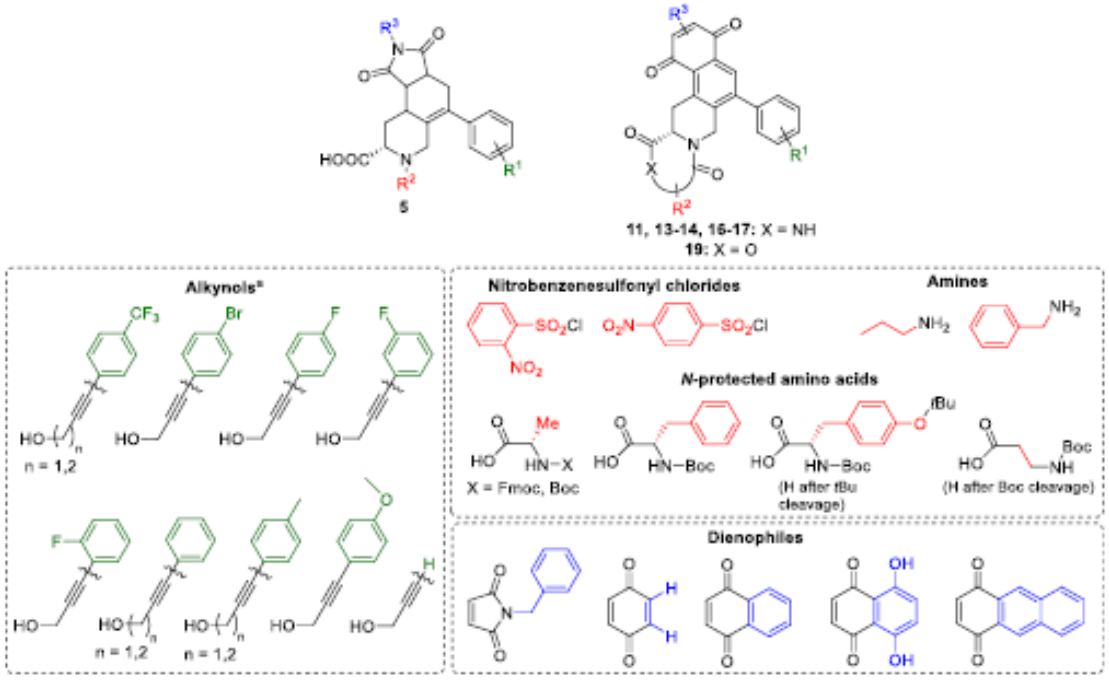


Figure 5. List of all tested building blocks. [a]Prepared according to the modified Sonogashira protocol (see Experimental Section)

and MeO) or electron-withdrawing groups (R^1 = CF_3, Br, F) in different positions were selected. Propargyl alcohol was also included as a reactant.

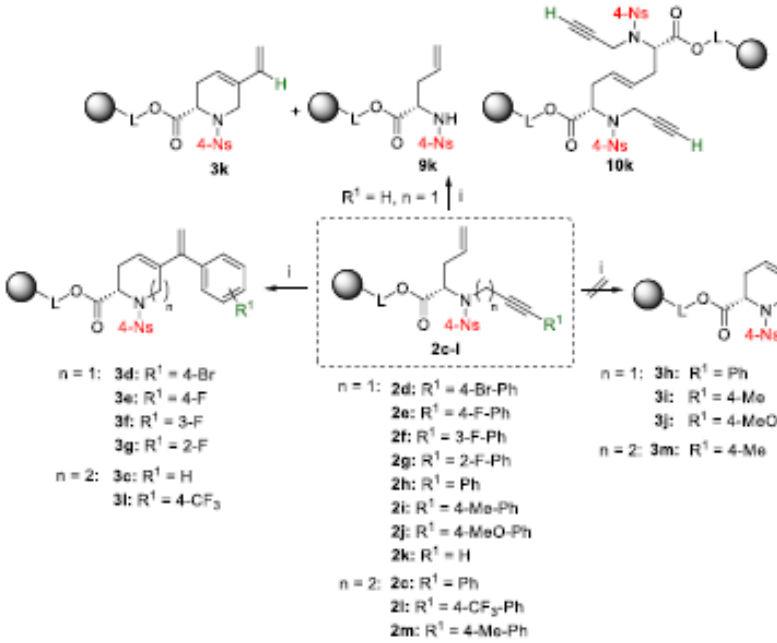
The synthesis of the intermediates **2d–m** (Scheme 2) was successful in each case and yielded the corresponding resin-bound compounds in excellent crude purities ranging from 93% to 98%. The structure–reactivity relationship for the RCEM stage was determined. The quantitative conversion of **2d** bearing 4-bromophenyl as R^1 was feasible but required 3 days for completion, whereas using *o*-, *m*-, and *p*-fluorophenyl as R^1 in **2e–g** shortened the reaction time to 1 day. The unsubstituted phenyl analog **2h** furnished the corresponding diene in only limited crude purity (33%), even under various conditions (see Table S1). Interestingly, the RCEM of **2i–j** bearing electron-donating groups (R^1 = 4-Me-Ph and 4-MeO-Ph) completely failed. The propargyl derivative **2k** afforded a mixture of three compounds, with the major product being the intermediate **10k** (53% crude purity) originating from the cross-linking reaction and the desired diene **3k** in only 33% crude purity. In summary, the RCEM of 3-phenylprop-2-yn-1-yls was practically limited to intermediate **2** having electron-withdrawing R^1 groups. In the case of 4-phenylbut-3-yn-1-yl derivatives (intermediates **2c**, **l–m**), RCEM of **2c** (unsubstituted) and **2l** (R^1 = 4-CF_3–Ph) was feasible, whereas RCEM of **2m** (R^1 = 4-Me-Ph) failed, which followed the trend observed for the phenylprop-2-yn-1-yl derivatives.

In the next stage, resins **3b–g** and **l** were subjected to [4 + 2] cycloaddition with 1,4-naphthoquinone, which yielded the corresponding compounds **7a–e** and **i–j** (Scheme 3) in excellent crude purities >90%. At this step, using alternative dienophiles (i.e., *p*-benzoquinone, 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone, and 1,4-anthraquinone; Figure 5, Scheme 3) yielded the desired resins **7f** and **7h**. By contrast, using 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone failed to produce the intermediate **7g**.

Having constructed the "interior" and "east-side" rings, we synthesized the "west-side" heterocycle. For this purpose, resins **7a–f** and **h–j** were subjected to 4-Ns cleavage using 2-mercaptoethanol (MCE)/DBU. Using **8a–e** and **g–i** synthe-

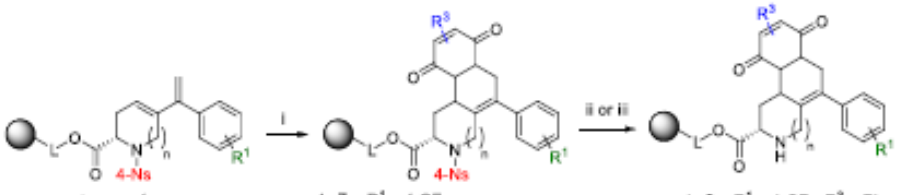
https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

Scheme 2. Reactivity of Key Intermediates 2c−m for RCEM[a]



[a]Reagents and conditions: (i) Grubbs catalyst second generation (5 mol %), 0.4 M lithium chloride (LiCl) in DMF, anhydrous $PhCH_3$, 24 h (for **2e−g**, **i−k**, and **m**), 3 days (for **2d**), 12 days (for **2c** and **l**), 110 °C.

Scheme 3. [4 + 2] Cycloaddition of 3b−g and l and Their 4-Ns Cleavage[a]



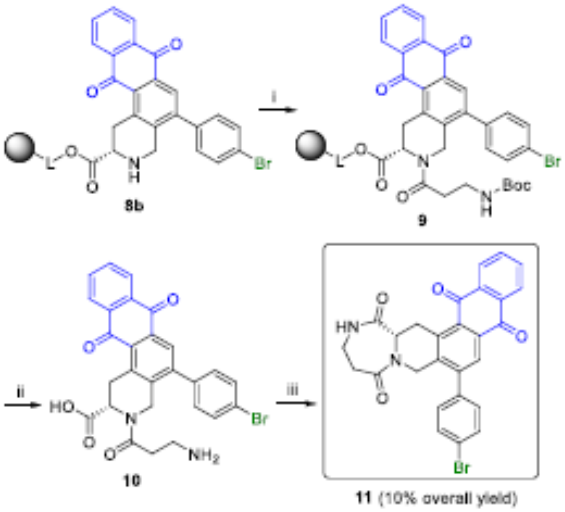
[a]Reagents and conditions: (i) dienophile (Figure 5), anhydrous DMSO, 24 h, 120 °C; (ii) 2-mercaptoethanol (MCE), DBU, 40 min, rt; (iii) PhSH, DBU, 10 min−1 h, rt.

sized from naphthoquinone and anthraquinone yielded all the desired intermediates in excellent crude purities (>90%). By contrast, the MCE/DBU-mediated deprotection of **7f** bearing a tetrahydrobenzo[*f*]isoquinoline-7,10-dione moiety (the intermediate **8f**) afforded a mixture of compounds. LC−MC analysis indicated the formation of Michael addition products (not isolated) originating from the reaction of thiolate with benzoquinone. We attempted to suppress the reaction by replacing MCE/DBU with thiophenol/DBU; however, the desired product was obtained in very low crude purity (11%) and therefore it was not isolated.

Having liberated the secondary amine, heterocycles of different sizes were constructed. First, intermediate **8b** was used to prepare 1,4-diazepino[1,2-*b*]isoquinoline-diones **11** (Scheme 4). Acylation of the intermediate with Boc-*β*-Ala-OH anhydride (prepared *in situ* from Boc-*β*-Ala-OH and DIC) quantitatively yielded intermediate **9**, which was cleaved from the resin and cyclized with 1-ethyl-3-(3-(dimethylamino)-

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

Scheme 4. Synthesis of Diazepino[1,2-*b*][1,4]isoquinoline-dione 11[a]



[a]Reagents and conditions: (i) Boc-β-Ala-OH, DIC, CH_2Cl_2, 30 min, rt followed by addition to resin 8, 24 h, rt; (ii) 50% TFA/CH_2Cl_2, 1 h, rt; (iii) 1-ethyl-3-(3-(dimethylamino)propyl)-carbodiimide (EDCI), CH_2Cl_2, 24 h, rt.

propyl)carbodiimide (EDCI) to yield the product **11** (Table 1).

The intermediates **8a** and **8e** were then acylated with Fmoc-Ala-OH by activation with DIC/HOBt to yield resins **12a** and **12f** (Scheme 5) in limited crude purities (40% and 47%). Nevertheless, base-catalyzed cyclization of **12f** furnished the final pyrazino-isoquinoline-dione **13f** in an acceptable 15% overall yield. To increase the purity, we replaced Fmoc-Ala-OH with Boc-Ala-OH to afford the intermediates **12a** in a crude purity above 57%. A similar outcome was obtained using Boc-Phe-OH and Boc-Tyr(*t*Bu)-OH. Finally, TFA-catalyzed cyclization of **12a−e** and **g−l** furnished the desired products **13a−e**, **g−i** and **14a−c** in good overall yields (Table 1). Interestingly, cyclization of **12a** bearing methyl as R^2 required 7 days for completion.

To further modify the target scaffold, the intermediates **8b** and **8h** were acylated with iodoacetic acid anhydride (prepared *in situ* from iodoacetic acid and DIC) and then used to construct the diketopiperazine (Scheme 6). Treating the resulting intermediates **15a** and **15e** with 5% benzyl amine in DMSO led to nucleophilic substitution followed by spontaneous cyclative cleavage[39,40] of products **16a** and **17a** from the resin. The developed protocol was successfully tested for six compounds (derivatives **16a−b**, **d** and **17a−c**).

Intermediate **15c** bearing 3-fluor as R^1 failed to react with propylamine. However, when starting material **15c** was cleaved from the resin and the liberated intermediate **18a** (Scheme 7) was purified by HPLC, the isolated compound lactonized to oxazino-isoquinoline-dione **19a**. Alternatively, diketomorpholine **19b** was prepared from **18b** by base-catalyzed cyclization with *N*,*N*-diisopropylethylamine (DIPEA).

CONCLUSION

In conclusion, we developed a simple SPS strategy to prepare novel, advanced heterocyclic scaffolds derived from pharmaceutically privileged isoquinolines. The synthesis is based on preparing immobilized key intermediates for their parallel conversion to different types of molecule frameworks bearing six- or seven-membered rings (Scheme 8).

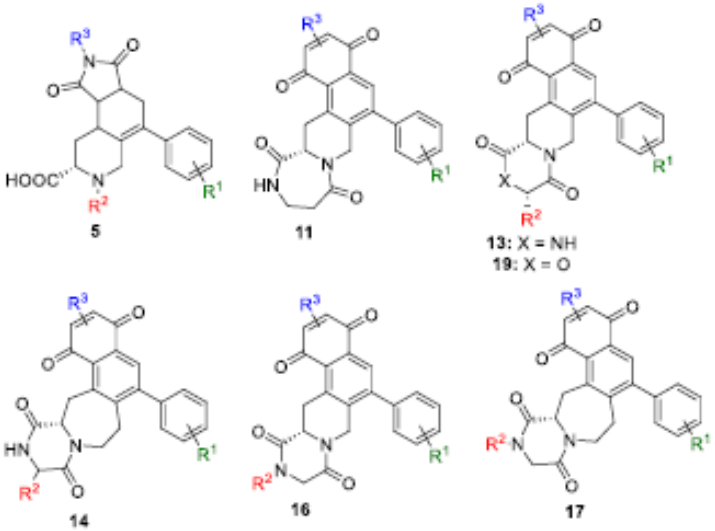
"Interior" cycle formation enables the formation of piperidine or azepane scaffolds; thus, the methodology is generally feasible for both tetrahydroisoquinolines and tetrahydrobenzo[*d*]azepines. An "east-side" cycle was successfully formed by a Diels−Alder reaction using both quinoidal and heterocyclic dienophiles, although the cycloaddition with the latter could not be controlled and provided the desired intermediate as a mixture of corresponding, separable diastereomers. A "west-side" heterocyclization was developed for diazepines, diketodiazepines, diketomorpholines, and diketopiperazines as highly relevant bioactive scaffolds.[41] Apart from skeletal diversity, the proposed strategy was studied in terms of structure−reactivity relationships, and despite some limitations of the RCEM (the applicability of only electron-poor dienes), the substitution of target scaffolds can be extensively modified by using readily available phenylalkynols, primary amines, and amino acids. Consequently, the developed protocols enable rapid synthesis of collections of novel drug-like molecules.

EXPERIMENTAL SECTION

General Information. Solvents and chemicals were purchased from Sigma−Aldrich (Milwaukee, WI, www.sigmaaldrich.com), Acros Organic (Geel, Belgium, www.acros.com), and Fluorochem (Hadfield, United Kingdom, www.fluorochem.co.uk). Wang resin (100−200 mesh, 1% DVB, 0.9 mmol/g) was obtained from AAPPTec (Louisville, KY, www.aapptec.com). Solid-phase synthesis was carried out in plastic reaction vessels (syringes, each equipped with a porous disk) using a manually operated synthesizer (Torviq, Niles, MI, www.torviq.com). All reactions were carried out at ambient temperature (23 °C) unless stated otherwise. The synthesis of *N*-(3-phenylprop-2-yn-1-yl)-nitrobenzenesulfonamides **2a−m** was performed according to the reported protocol.[27] The LC−MS analyses were carried out on a UHPLC-MS system consisting of UHPLC chromatograph Acuity with a photodiode array detector and single quadrupole mass spectrometer (Waters), using an X-Select C18 column with the mobile phase consisting of 10 mM ammonium acetate (AmAc) in H_2O and CH_3CN. The ESI source operated at a discharge current of 5 μA, vaporizer temperature of 350 °C, and capillary temperature of 200 °C. For the LC−MS analysis, a sample of resin (~5 mg) was treated with TFA in CH_2Cl_2, the cleavage cocktail was evaporated under a stream of nitrogen, and cleaved compounds were extracted into CH_3CN/H_2O (20% or 50%; 1 mL). Purification was carried out by C18 semipreparative reversed phase (RP)-HPLC chromatography with the gradient of 10 mM aqueous AmAc and CH_3CN, flow rate 15 mL/min or by normal phase by silica gel chromatography. Residual solvents (H_2O and AmAc buffer) were lyophilized by the ScanVac Coolsafe 110-4 working at −110 °C. All 1D and 2D NMR experiments were performed with using an ECX500 spectrometer (JEOL RESONANCE, Tokyo, Japan) at a magnetic field strength of 11.75 T corresponding to ^1H and ^{13}C resonance frequencies of 500.16 and 125.77 MHz at 27 °C. Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm), and coupling constants (*J*) are reported in hertz (Hz). The signals of DMSO-d_6, $CDCl_3$ were set at 2.50 ppm, 7.26 ppm in ^1H NMR spectra and at 39.50 ppm, 77.0 ppm in ^{13}C NMR spectra, respectively. ^{15}N chemical shifts were referenced to external 90% formamide in DMSO-d_6 (112.00 ppm).[42] Acetate salt (residual agent from the RP-HPLC purification) was detected as a singlet at 1.90−1.91 ppm in the ^1H NMR spectrum. Abbreviations in NMR spectra: br. s, broad singlet; br. d, broad doublet; s, singlet; d, doublet; dd, doublet of doublets; ddd, doublet of doublets of doublets; dddd, doublet of doublets of doublets of doublets; t, triplet; td, triplet of doublets; m, multiplet. HRMS analysis was performed using LC−MS

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

Table 1. List of Synthesized and Fully Characterized Compounds



compd	X	R^1	R^2	R^3	crude purity [%][a]	final purity [%][b]	overall yield [%][c]
5a-I	–	4-CF_3	2-Ns	Ph	26	98	24
5a-II	–	4-CF_3	2-Ns	Ph	48	99	43
11	–	4-Br	–	Ph	43	95	10
13a	NH	4-CF_3	Me	Ph	57	98	30
13b	NH	4-CF_3	Bn	Ph	50	98	19
13c	NH	4-Br	Bn	Ph	75	99	24
13d	NH	4-Br	4-OH-Bn	Ph	80	98	35
13e	NH	4-F	Bn	Ph	85	99	39
13f	NH	2-F	Me	Ph	49	98	29
13g	NH	2-F	Bn	Ph	75	99	53
13h	NH	2-F	4-OH-Bn	Ph	51	98	27
13i	NH	4-F	Bn	Naph	50	99	9
14a	–	H	Bn	Ph	75	96	54
14b	–	H	4-OH-Bn	Ph	52	99	15
14c	–	4-CF_3	Bn	Ph	70	99	33
16a	–	4-Br	Bn	Ph	85	98	39
16b	–	4-F	Pr	Ph	88	99	39
16c	–	3-F	Pr	Ph	NO	NO	NO
16d	–	2-F	Bn	Ph	66	99	35
17a	–	H	Bn	Ph	95	99	53
17b	–	H	Pr	Ph	59	99	14
17c	–	4-CF_3	Bn	Ph	36	NI	NI
19a	O	3-F	H	Ph	64	99	25
19b	O	4-F	H	Ph	95	98	44

[a]Overall crude purity after completion of the entire reaction sequence calculated from HPLC-UV traces at 205−400 nm. [b]Calculated from HPLC-UV traces at 205−400 nm after RP-HPLC purification. [c]Calculated after purification from the loading of the starting resin; NO = not obtained; NI = not isolated.

(Dionex Ultimate 3000, Thermo Fischer Scientific, MA, USA) with an Exactive Plus Orbitrap high-resolution mass spectrometer (Thermo Exactive plus, Thermo Fischer Scientific, MA, USA) operating at positive or negative full scan mode (120 000 FWMH) in the range 100−750 m/z (the range was correlated to expected mass) with (a) electrospray ionization (ESI) working at 150 °C and the source voltage of 3.6 kV or (b) atmospheric pressure chemical ionization (APCI) orbitrap working at transfer capillary temperature 320 °C, corona discharge current 3−5 μA, vaporizer temperature 400 °C, and sheath gas pressure 40 psi. Chromatographic separation was performed on column Phenomenex Gemini (C18, 50 mm × 2 mm, 3 μm particle) with isocratic elution and mobile phase (MP) containing (a) CH_3CN/10 mM AmAc (80/20; v/v) and (b) MeOH/H_2O (95/5) + 0.1% HCOOH with a flow of 0.4 mL/min. The samples were dissolved in CH_3CN/H_2O (80/20; v/v). Melting points (not corrected) were measured by a Thermovar apparatus (Reichert, Vienna, Austria) and reported in Celsius degree (°C). IR spectra were measured by DRIFT (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform) on a Thermo Nicolet AVATAR 370 FTIR spectrometer. Absorbance peaks (wavenumbers) are reported in reciprocal centimeters (cm^{-1}), and transmittances (T) are reported in percentages (%).

1. General Procedure for Sonogashira Coupling To Prepare Alkylating Agents. $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (129 mg, 0.18 mmol, 1 mol %) and CuI (70 mg, 0.36 mmol, 2 mol %) were suspended in degassed TEA (18 mL) under nitrogen. Then aryl iodide (18.38 mmol, 1.0 equiv)

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

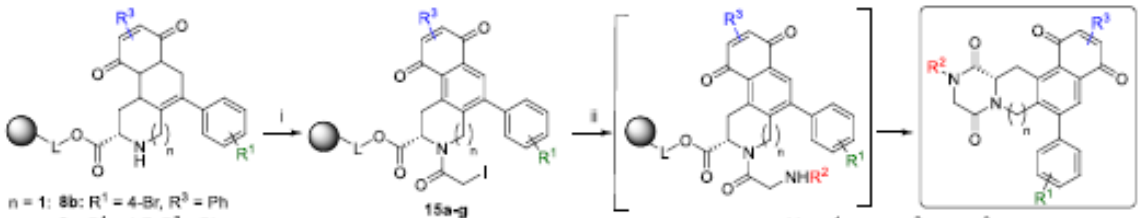
Scheme 5. Synthesis of Pyrazino-isoquinoline-diones and Pyrazino-benzo[*d*]azepines 13, 14[a]

n = 1: **8a**: R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph
8b: R^1 = 4-Br, R^3 = Ph
8c: R^1 = 4-F, R^3 = Ph
8d: R^1 = 3-F, R^3 = Ph
8e: R^1 = 2-F, R^3 = Ph
8g: R^1 = 4-F, R^3 = Naph
n = 2: **8i**: R^1 = H, R^3 = Ph
8j: R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph

n = 1: **13a**: R^1 = 4-CF_3, R^2 = Me, R^3 = Ph (30%)
13b: R^1 = 4-CF_3, R^2 = Bn, R^3 = Ph (19%)
13c: R^1 = 4-Br, R^2 = Bn, R^3 = Ph (24%)
13d: R^1 = 4-Br, R^2 = 4-OH-Bn, R^3 = Ph (35%)
13e: R^1 = 4-F, R^2 = Bn, R^3 = Ph (39%)
13f: R^1 = 2-F, R^2 = Me, R^3 = Ph (29%)
13g: R^1 = 2-F, R^2 = Bn, R^3 = Ph (53%)
13h: R^1 = 2-F, R^2 = 4-OH-Bn, R^3 = Ph (27%)
13i: R^1 = 4-F, R^3 = Naph (9%)
n = 2: **14a**: R^1 = H, R^2 = Bn, R^3 = Ph (54%)
14b: R^1 = H, R^2 = 4-OH-Bn, R^3 = Ph (15%)
14c: R^1 = 4-CF_3, R^2 = Bn, R^3 = Ph (33%)
Note: overall yields

[a]Reagents and conditions: (i) Boc-amino acid, DIC, CH_2Cl_2, 30 min, rt followed by addition to resin 8, 24 h, rt; (ii) Fmoc-amino acid, HOBt, DIC, DMF, CH_2Cl_2, 24 h, rt; (iii) X = Boc: neat TFA, 20 h (for **13b**−**e**, **g**−**i** and **14a**−**c**) or 7 days (for **13a**), 80 °C; (iv) X = Fmoc: 50% PIP/DMF, 24 h, rt (for **13f**).

Scheme 6. Synthesis of *N*-Substituted Pyrazino-isoquinoline-diones and Pyrazino-benzo[*d*]azepines 16, 17[a]



n = 1: **8b**: R^1 = 4-Br, R^3 = Ph
8c: R^1 = 4-F, R^3 = Ph
8d: R^1 = 3-F, R^3 = Ph
8e: R^1 = 2-F, R^3 = Ph
n = 2: **8h**: R^1 = H, R^3 = Ph
8i: R^1 = 4-CF_3, R^3 = Ph

n = 1: **16a**: R^1 = 4-Br, R^2 = Bn, R^3 = Ph (39%)
16b: R^1 = 4-F, R^2 = Pr, R^3 = Ph (39%)
16c: R^1 = 3-F, R^2 = Pr, R^3 = Ph (NO)
16d: R^1 = 2-F, R^2 = Bn, R^3 = Ph (35%)
n = 2: **17a**: R^1 = H, R^2 = Bn, R^3 = Ph (53%)
17b: R^1 = H, R^2 = Pr, R^3 = Ph (14%)
17c: R^1 = 4-CF_3, R^2 = Bn, R^3 = Ph (NI, c.p. 36%)
Note: overall yields; NO = not obtained, NI = not isolated, c.p. = crude purity

[a]Reagents and conditions: (i) iodoacetic acid, DIC, CH_2Cl_2, 30 min, rt, followed by addition to resin 8, 24 h, rt; (ii) 5% amine/anhydrous DMSO, 24 h, rt.

was added followed by propargyl alcohol (1.2 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv) or but-2-en-1-ol (1.5 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv), and the reaction was stirred intensively at 60 °C in an oil bath for 22 h. Then the reaction mixture was filtrated over Celite, quantitatively washed with Et_2O, concentrated *in vacuo*, and purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane.

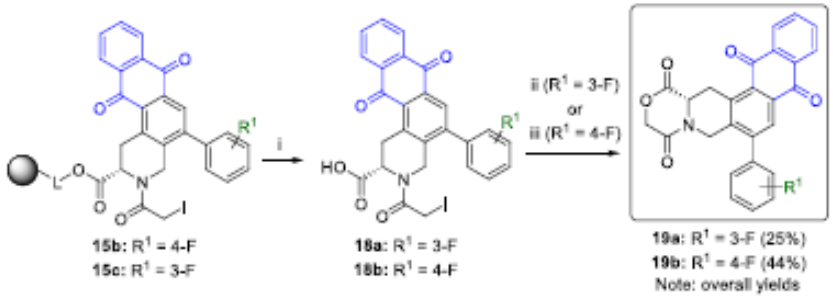
3-(4-Trifluoromethyl)phenyl)prop-2-yn-1-ol I. The product was prepared according to the above-described procedure starting from 4-iodobenzotrifluoride (2.7 mL, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and propargyl alcohol (1.2 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (3/7; v/v), R_f = 0.5. Waxy yellow-orange solid (3.43 g, 17.150 mmol, 93%). HPLC purity 99%. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.57 (br. d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.53 (br. d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.52 (s, 2H), 1.80 (br. s, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 132.3, 130.6 (q, $^2J_{C-F}$ = 32.8 Hz), 126.7, 125.6 (q, $^3J_{C-F}$ = 3.6 Hz), 124.2 (q, $^1J_{C-F}$ = 271.8 Hz), 90.0, 84.7, 51.9. HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M - H]^-$ calcd for $C_{10}H_6F_3O$ 199.0365, found 199.0359. Mp 40−42 °C.

3-(4-Bromophenyl)prop-2-yn-1-ol II. The product was prepared according to the above-described procedure starting from 1-bromo-4-iodobenzene (5.2 g, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and propargyl alcohol (1.2 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (3/7; v/v), R_f = 0.3. Pale yellow solid (3.10 g, 14.832 mmol, 80%). HPLC purity 99%. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.44 (br. d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.29 (br. d, J = 8.6 Hz, 2H), 4.48 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 1.84 (t, J = 6.0 Hz, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 133.1, 131.6, 122.8, 121.5, 88.3, 84.7, 51.6. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for C_9H_8BrO 210.9753, found 210.9749. Mp 80−83 °C.

3-(4-Fluorophenyl)prop-2-yn-1-ol III. The product was prepared according to the above-described procedure starting from 1-fluoro-4-iodobenzene (2.1 mL, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and propargyl alcohol

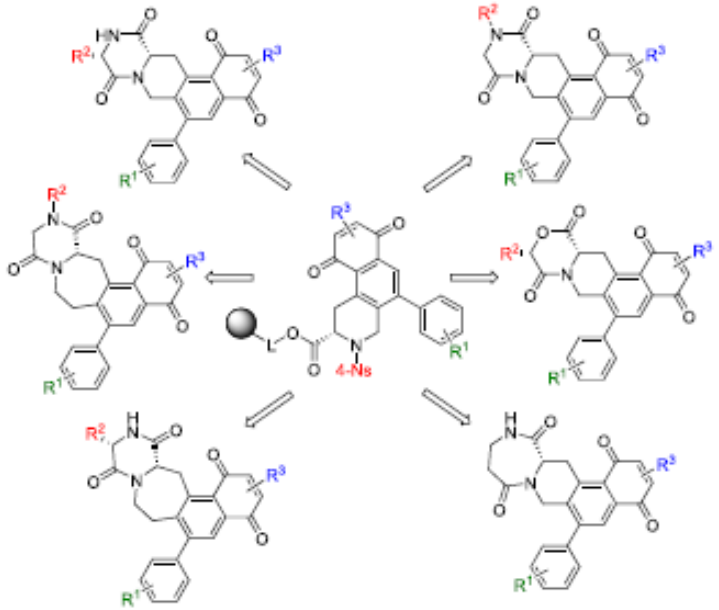
https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

Scheme 7. Synthesis of Oxazino-isoquinoline-diones 19[a]



[a]Reagents and conditions: (i) 50% TFA/CH_2Cl_2, 1 h, rt; (ii) semipreparative RP-HPLC chromatography using AmAc buffer/CH_3CN DMSO, followed by freeze−drying; (iii) *N,N*-diisopropylethylamine (DIPEA), DMSO, 24 h, rt.

Scheme 8. Overview of Accessible Final Scaffolds



(1.2 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (3/7; v/v), R_f = 0.3. Orange liquid (2.31 g, 15.395 mmol, 84%). HPLC purity 99%. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.39−7.43 (m, 2H), 6.97−7.02 (m, 2H), 4.48 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 2.00 (br. s, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 162.6 (d, $^1J_{C-F}$ = 250.1 Hz), 133.6 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.5 Hz), 118.6 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 115.6 (d, $^2J_{C-F}$ = 22.3 Hz), 86.9, 84.6, 51.5. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for C_9H_8FO 151.0554, found 151.0551.

3-(3-Fluorophenyl)prop-2-yn-1-ol ***IV***. The product was prepared according to the above-described procedure starting from 3-fluoro-4-iodobenzene (2.1 mL, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and propargyl alcohol (1.2 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (3/7; v/v), R_f = 0.4. Orange oil (2.52 g, 16.824 mmol, 92%). HPLC purity 99%. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.24−7.28 (m, 1H), 7.20 (dt, J = 7.7, 1.4 Hz, 1H), 7.12 (ddd, J = 9.4, 2.6, 1.4 Hz, 1H), 7.02 (dddd, J = 16.7, 9.4, 2.6, 1.1 Hz, 1H), 4.49 (s, 2H), 2.20 (br. s, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 162.3 (d, $^1J_{C-F}$ = 246.9 Hz), 129.9 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.5 Hz), 127.5 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 124.3 (d, $^3J_{C-F}$ = 9.5 Hz), 118.4 (d, $^2J_{C-F}$ = 22.3 Hz), 115.8 (d, $^2J_{C-F}$ = 21.2 Hz), 88.1, 84.4 (d, $^5J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 51.4. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for C_9H_8FO 151.0554, found 151.0551.

3-(2-Fluorophenyl)prop-2-yn-1-ol ***V***. The product was prepared according to the above-described procedure starting from 2-fluoro-4-iodobenzene (2.1 mL, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and propargyl alcohol (1.2 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (3/7; v/v), R_f = 0.4. Yellow liquid (2.18 g, 14.533 mmol, 79%). HPLC purity 99%. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.41 (td, J = 7.4, 1.9 Hz, 1H), 7.27 (dddd, J = 9.4, 8.2, 5.3, 1.9 Hz, 1H), 7.02−7.07 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 2.53 (s, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 162.7 (d, $^1J_{C-F}$ = 251.1 Hz), 133.6, 130.1 (d, $^2J_{C-F}$ = 8.5 Hz), 123.9 (d, $^3J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 115.4 (d, $^2J_{C-F}$ = 21.2 Hz), 111.1 (d, $^3J_{C-F}$ = 15.9 Hz), 92.5 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 78.9, 51.4. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for C_9H_8FO 151.0554, found 151.0551.

4-Phenylbut-3-yn-1-ol ***VI***. The product was prepared according to the above-described procedure starting from iodobenzene (2.0 mL, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and but-3-yn-1-ol (1.5 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (1/1; v/v), R_f = 0.8. Orange oil (3.01 g, 20.635 mmol, 83%). HPLC purity 99%. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.39−7.42 (m, 2H), 7.25−7.28 (m, 3H), 3.78 (t, J = 6.4 Hz,

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

2H), 2.66 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 2.56 (s, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 131.9, 128.5, 128.1, 123.6, 86.8, 82.6, 61.4, 24.0. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{10}H_{11}O$ 147.0804, found 147.0801.

4-(p-Tolyl)but-3-yn-1-ol ***VII.*** The product was prepared according to the above-described procedure starting from 4-iodotoluene (4.0 g, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and but-3-yn-1-ol (1.5 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (3/7; v/v), R_f = 0.4. Orange oil (2.40 g, 15.019 mmol, 81%). HPLC purity 99%. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.32 (br. d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.08 br. (d, J = 7.9 Hz, 2H), 3.79 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.98 (br. s, 1H), 2.66 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.32 (s, 3H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 137.7, 131.3, 128.8, 120.2, 85.6, 82.1, 60.9, 23.5, 21.1. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{11}H_{13}O$ 161.0961, found 161.0960.

4-(4-(Trifluoromethyl)phenyl)but-3-yn-1-ol ***VIII.*** The product was prepared according to the above-described procedure starting from 4-iodobenzotrifluoride (2.7 mL, 18.38 mmol, 1.0 equiv) and but-3-yn-1-ol (1.5 mL, 20.21 mmol, 1.1 equiv). The crude product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (4/6; v/v), R_f = 0.4. Pale yellow solid (2.39 g, 11.165 mmol, 61%). HPLC purity 99%. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 7.54 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 3.83 (q, J = 6.0 Hz, 2H), 2.69−2.72 (m, 2H), 2.05 (br. s, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 131.9, 129.7 (q, $^2J_{C-F}$ = 32.8 Hz), 127.2, 125.2 (q, $^3J_{C-F}$ = 3.9 Hz), 123.9 (q, $^1J_{C-F}$ = 271.7 Hz), 122.8, 89.3, 81.2, 61.0, 23.8. HRMS (APCI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{11}H_{10}F_3O$ 215.0678, found 215.0673. Mp 38−41 °C.

2. Immobilization of Fmoc-L-allylglycine to Wang Resin (Intermediate ***1****).* Wang resin (1 g) was washed three times with CH_2Cl_2, DMF, and a solution of Fmoc-L-allylglycine (675 mg, 2.0 mmol), HOBt (306 mg, 2.1 mmol), DMAP (61 mg, 0.5 mmol), and DIC (312 μL, 2.0 mmol) in DMF/CH_2Cl_2 (10 mL, 50%) was added to the resin. After shaking for 24 h at room temperature, the resin **1** was washed three times with DMF and CH_2Cl_2. Calculated loadings of immobilized Fmoc-L-allylglycine: 0.321−0.432 mmol/g.

3. Synthesis of Intermediates ***2****: Cleavage of Fmoc Protecting Group, Sulfonylation with Ns-Cls and Mitsunobu Alkylation with Alkynols.* The polymer-supported intermediate **1** (500 mg), prewashed three times with DMF, was shaken with piperidine/DMF (5 mL, 50%) for 30 min at room temperature. Then the resin was washed three times with DMF and CH_2Cl_2, and a solution of appropriate Ns-Cl (1.50 mmol) and 2,6-lutidine (191 μL, 1.7 mmol) in CH_2Cl_2 (5 mL) was added. The reaction was shaken for 24 h at room temperature. Then the resin was washed three times with DMF and three times with anhydrous CH_2Cl_2, anhydrous DMF, and anhydrous THF, and a solution of appropriate alkynol (1.5 mmol) and TPP (393 mg, 1.5 mmol) in anhydrous THF (2.5 mL; for **2a−k, m**) or a solution of 4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)but-3-yn-1-ol (642 mg, 3.0 mmol) and TPP (786 mg, 3.0 mmol) in anhydrous THF (2.5 mL; for **2l**) was added. The syringe was connected by a plastic clutch with the second syringe containing a solution of DIAD (295 μL, 1.5 mmol; for **2a−k, m**) or (590 μL, 3.0 mmol; for **2l**) in anhydrous THF (2.5 mL). The syringes were cooled to −20 °C, and their content was mixed together and shaken for 24 h (for **2a−k, m**) or 7 days (for **2l**) at room temperature. Resulting resins **2a−m** were washed three times with anhydrous THF and CH_2Cl_2.

4. Ring-Closure Enyne Metathesis (Intermediates ***3****).* The polymer-supported intermediates **2a−m** (500 mg) were washed three times with anhydrous CH_2Cl_2 and toluene, and then added to the vial with a conical mixer. Anhydrous toluene (12.5 mL) was added, and then a solution of 0.4 M LiCl (4.25 mg, 0.1 mmol) in anhydrous DMF (250 μL), Grubbs catalyst second generation (5 mol %, calculated to the loading of resin) in the second portion of anhydrous toluene (1.25 mL) were added into the vial exactly in that order. The reaction mixture was degassed under a stream of nitrogen, and the vial was closed with a cap and heated at 110 °C in an oil bath for 24 h (for **3a, e−h, i−k, m**), 3 days (for **3d**), 4 days (for **3b**), or 12 days (for **2c, l**). Then resins **3a−m** were washed three times with toluene and CH_2Cl_2.

5. Diels−Alder Cycloaddition (DAC, Intermediates ***4a*** *and* ***7a−f, h−j****).* The polymer-supported intermediates **3a−g, l** (500 mg) were prewashed three times with anhydrous CH_2Cl_2 and DMSO, and then added to the vial with a conical mixer. To a vial, anhydrous DMSO (2.5 mL) and appropriate dienophile (5 mmol) were added and heated at 120 °C in an oil bath for 24 h. Then resins **4a** and **7a−f, h−j** were washed three times with DMSO and CH_2Cl_2.

6. TFA-Cleavage from the Resin (Intermediates ***5a****,* ***10****, and* ***18a−b****).* The resins **4a**, **9**, and **15b−c** (500 mg) were shaken with TFA/CH_2Cl_2 (5 mL, 50%) for 1 h at room temperature. Then the cleavage cocktail was collected, and the resins were washed three times with the fresh cleavage cocktail (5 mL). The combined washes were evaporated using a stream of nitrogen and dried under a vacuum to dryness.

(3aR,8S,9aR,9bS)-7-((2-Nitrophenyl)sulfonyl)-1,3-dioxo-2-phenyl-5-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-2,3,3a,4,6,7,8,9,9a,9b-decahydro-1H-pyrrolo[3,4-f]isoquinoline-8-carboxylic Acid ***5a-I.*** White amorphous solid (24.7 mg, 0.038 mmol, 24%). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. HPLC purity 98%. Cleaved from 488 mg of resin (0.329 mmol/g, 0.161 mmol of substrate). ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 13.13 (br. s, 1H, H^{35}), 7.85 (ddd, J = 7.9, 7.3, 1.0 Hz, 1H, H^{30}), 7.79 (dd, J = 7.9, 1.0 Hz, 1H, H^{31}), 7.71 (ddd, J = 8.4, 7.4, 1.2 Hz, 1H, H^{29}), 7.67 (br. d, J = 8.0 Hz, 2H, $H^{22,24}$), 7.62 (dd, J = 8.4, 1.2 Hz, 1H, H^{28}), 7.48−7.41 (m, 2H, $H^{16,18}$), 7.41−7.35 (m, 1H, H^{17}), 7.17−7.12 (m, 2H, $H^{15,19}$), 7.07−7.12 (br. d, J = 8.0 Hz, 2H, $H^{21,25}$), 4.41 (dd, J = 12.1, 6.1 Hz, 1H, H^{10}), 4.25 (d, J = 16.2 Hz, 1H, H_b^8), 4.06 (d, J = 16.2 Hz, 1H, H_a^8), 3.45 (dd, J = 3.0, 1.5 Hz, 1H, H^4), 3.43 (dd, J = 3.0, 1.5 Hz, 1H, H^{13}), 2.67 (dd, J = 14.2, 1.5 Hz, 1H, H_b^5), 2.57 (dd, J = 6.1, 3.0 Hz, 1H, H_b^{11}), 2.49 (ddd, J = 12.1, 3.0, 1.5 Hz, 1H, H^{12}), 2.45 (q, J = 12.1 Hz, 1H, H_a^{11}), 2.35 (dd, J = 8.7, 3.0 Hz, 1H, H_a^5). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 178.2 (C3), 176.5 (C1), 172.9 (C34), 147.5 (C32), 142.6 (C20), 134.5 (C31), 133.0 (C7), 132.2 (C14), 132.1 (C6), 131.8 (C29), 131.1 (C27), 129.4 (C28), 128.9 (C16,18), 128.4 (C17), 128.2 (C15,19), 127.8 (q, $^2J_{C-F}$ = 31.9 Hz, C23), 127.1 (C21,25), 125.1 (d, $^3J_{C-F}$ = 3.2 Hz, C22,24), 124.2 (q, $^1J_{C-F}$ = 271.8 Hz, C26), 124.0 (C30), 56.9 (C10), 41.71 (C8), 41.68 (C13), 39.7 (C4), 33.9 (C12), 29.4 (C5), 26.7 (C11). HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M - H]^-$ calcd for $C_{31}H_{23}F_3N_3O_8S$ 654.1152, found 654.1171. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3073, 2960, 2864, 1699, 1551, 1494, 1455, 1359, 1325, 1164, 1198, 1123, 1000, 1024, 825, 805, 758, 694 cm^{-1}.

(3aR,8S,9aS,9bS)-7-((2-Nitrophenyl)sulfonyl)-1,3-dioxo-2-phenyl-5-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-2,3,3a,4,6,7,8,9,9a,9b-decahydro-1H-pyrrolo[3,4-f]isoquinoline-8-carboxylic Acid ***5a-II.*** White amorphous solid (45.2 mg, 0.069 mmol, 43%). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. HPLC purity 99%. Cleaved from 488 mg of resin (0.329 mmol/g, 0.161 mmol of substrate). ^1H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 8.14 (dd, J = 7.9, 1.4 Hz, 1H, H^{28}), 7.86 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 1H, H^{31}), 7.80 (ddd, J = 8.8, 7.9, 1.4 Hz, 1H, H^{30}), 7.76 (ddd, J = 8.8, 7.8, 1.4 Hz, 1H, H^{29}), 7.70 (br. d, J = 8.2 Hz, 2H, $H^{22,24}$), 7.43−7.47 (m, 2H, $H^{16,18}$), 7.37−7.41 (m, 1H, H^{17}), 7.29 (br. d, J = 8.1 Hz, 2H, $H^{21,25}$), 7.08−7.10 (m, 2H, $H^{15,19}$), 4.66 (dd, J = 4.7, 2.8 Hz, 1H, H^{10}), 4.17 (d, J = 14.5 Hz, 1H, H_b^8), 3.70 (dd, J = 14.5, 1.5 Hz, 1H, H_a^8), 3.51 (ddd, J = 15.2, 8.7, 1.5 Hz, 1H, H^4), 3.47 (ddd, J = 11.9, 8.7, 5.5 Hz, 1H, H^{13}), 2.80 (dd, J = 15.2, 1.5 Hz, 1H, H_b^5), 2.73 (ddd, J = 15.2, 5.5, 2.8 Hz, 1H, H_a^5), 2.67 (ddd, J = 11.9, 8.7, 4.7 Hz, 1H, H^{12}), 2.66 (dd, J = 8.7, 4.7 Hz, 1H, H_b^{11}), 2.46 (dd, J = 8.7, 2.8 Hz, 1H, H_a^{11}). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 178.5 (C3), 176.8 (C1), 172.2 (C34), 147.9 (C32), 143.3 (C20), 134.4 (C31), 132.6 (C6), 132.3 (C29), 132.1 (C14), 131.7 (C7), 130.8 (C27), 130.2 (C28), 128.9 (C16,18), 128.4 (C17), 128.3 (C21,25), 127.7 (q, $^2J_{C-F}$ = 31.6 Hz, C23), 127.0 (C15,19), 125.4 (q, $^3J_{C-F}$ = 3.1 Hz, C22,24), 125.2 (q, $^1J_{C-F}$ = 271.8 Hz, C26), 124.0 (C30), 55.8 (C10), 42.4 (C4), 42.3 (C13), 40.4 (C4), 32.5 (C12), 30.7 (C5), 26.6 (C11). HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M - H]^-$ calcd for $C_{31}H_{23}F_3N_3O_8S$ 654.1152, found 654.1171. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3072, 2959, 2864, 1703, 1545, 1495, 1455, 1360, 1325, 1164, 1121, 1024, 1000, 852, 825, 758, 694 cm^{-1}.

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

*7. Cleavage of 4-Ns Group (Intermediates **8a–e, g–l**).* The resin **7a–f, h–j** (500 mg) was washed three times with DMF, and a solution of 2-mercaptoethanol (210 μL, 3.0 mmol) and DBU (150 μL, 1.0 mmol) in degassed DMF (5 mL) was added. After shaking for 40 min at room temperature, the resin was washed three times with DMF and CH_2Cl_2.

*8. Acylation with Boc-Amino Acids (Intermediates **9** and **12a–e, g–l**).* Boc-amino acid (3.0 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (5 mL), and DIC (232 μL, 1.5 mmol) was added. The reaction mixture was shaken for 30 min at room temperature, the precipitated diisopropylurea was filtered, and the remaining solution was added to resin 8 (500 mg). After shaking for 24 h at room temperature, the resulting resins **9** and **12a–e, g–l** were washed three times with CH_2Cl_2.

*9. EDCI-Mediated Coupling (Product **11**).* The crude cleaved intermediate **10** (calculated to the theoretical quantity of the starting material) was dissolved in CH_2Cl_2 (2.5 mL), and then EDCI·HCl (87 mg, 0.194 mmol, 1.2 equiv) was added. The reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature and monitored by LC–MS analysis. After completion, the reaction was washed with water (2.5 mL) and collected organic phases were dried using $MgSO_4$, filtered, and evaporated to dryness *in vacuo*. The crude product was purified by semipreparative RP-HPLC.

*(S)-8-(4-Bromophenyl)-3,4,16,16a-tetrahydro-[1,4]diazepino-[1,2-b]naphtho[2,3-f]isoquinoline-1,5,10,15(2H,7H)-tetraone **11**.* Pale orange amorphous solid (8.2 mg, 0.016 mmol, 10%). HPLC purity 95%. Cleaved from 474 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.162 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.31–8.26 (m, 2H), 8.23 (s, 1H), 7.82–7.74 (m, 3H), 7.65 (br. d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.28–7.26 (m, 1H), 5.83 (br. s, 1H), 4.97 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 4.74 (dd, *J* = 7.1, 6.2 Hz, 1H), 4.57 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 4.32–4.22 (m, 2H), 3.62–3.55 (m, 1H), 3.48–3.41 (m, 1H), 3.09 (ddd, *J* = 16.0, 9.9, 4.7 Hz, 1H), 2.75 (ddd, *J* = 16.0, 7.1, 4.7 Hz, 1H). ^{13}C {^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 185.2, 183.0, 170.3, 170.2, 143.7, 140.3, 140.1, 136.8, 135.0, 134.4, 133.8, 133.6, 132.8, 132.1, 130.7, 129.9, 127.5, 127.4, 126.8, 123.2, 53.7, 40.6, 39.2, 35.5, 26.6. HRMS (ESI, neg.) *m*/*z*: [M − H]$^-$ calcd for $C_{27}H_{18}BrN_2O_4$ 513.0444, found 513.0458. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 2963, 2924, 2854, 1668, 1261, 1156, 1099, 1072, 1010, 820, 800, 751 cm^{-1}.

*10. Cyclization (Products **13a–e, g–i** and **14a–c**).* The resins **12a–e, g–l** (500 mg) were shaken with neat TFA (5 mL) for 20 h (for **13b–e, g–i** and **14a–c**) or 7 days (for **13a**) at 80 °C. Then the cleavage cocktail was collected, and the resins were washed three times with CH_2Cl_2 (5 mL). The combined washes were evaporated using a stream of nitrogen and dried under a vacuum to dryness, and crude products were purified by semipreparative RP-HPLC or silica gel chromatography.

*(3S,15aS)-3-Methyl-7-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13a**.* Pale yellow amorphous solid (7.5 mg, 0.015 mmol, 30%). HPLC purity 98%. Cleaved from 124 mg of resin (0.326 mmol/g, 0.050 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.28–8.26 (m, 2H), 8.18 (s, 1H), 7.85–7.78 (m, 4H), 7.50–7.48 (br. d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.33 (br. s, 1H), 5.23 (d, *J* = 17.9 Hz, 1H), 4.42 (dd, *J* = 17.9, 3.9 Hz, 1H), 4.24–4.16 (m, 3H), 3.65 (dd, *J* = 17.9, 11.8 Hz, 1H), 1.55 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.6, 182.8, 166.5, 165.4, 144.6, 141.9, 137.2 (q, $^4J_{C-F}$ = 36.9 Hz), 134.8, 134.6, 133.9, 133.6, 133.5, 132.5, 131.1, 130.9, 129.0, 127.7, 127.5, 126.8, 126.0 (q, $^4J_{C-F}$ = 3.3 Hz), 124.0 (q, $^4J_{C-F}$ = 271.8 Hz), 55.2, 51.2, 43.7, 33.3, 21.3. HRMS (ESI, pos.) *m*/*z*: [M + H]$^+$ calcd for $C_{28}H_{20}F_3N_2O_4$ 505.1370, found 505.1371. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3400, 2951, 1705, 1671, 1456, 1375, 1325, 1163, 1121, 998, 804 cm^{-1}.

*(3S,15aS)-3-Benzyl-7-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13b**.* Pale brown amorphous solid (12.2 mg, 0.021 mmol, 19%). HPLC purity 98%. Cleaved from 252 mg of resin (0.432 mmol/g, 0.109 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.26 (dd, *J* = 7.4, 1.4 Hz, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.85–7.78 (m, 4H), 7.50 (br. d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.24–7.18 (m, 4H), 7.13–7.10 (m, 1H), 6.46 (br. s, 1H), 5.31 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 4.37–4.37 (m, 1H), 4.06–4.03 (m, 3H), 3.21–3.12 (m, 2H), 2.44 (dd, *J* = 18.4, 13.5 Hz, 1H). ^{13}C {^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.1, 182.8, 166.3, 163.4, 144.5, 142.0, 137.0, 136.4, 134.8, 134.8, 134.6, 133.8, 133.5, 132.4, 131.0 (q, $^2J_{C-F}$ = 32.8 Hz), 130.6, 129.9, 128.9, 128.9, 127.7, 127.44, 127.42, 126.7, 126.0 (q, $^3J_{C-F}$ = 3.4 Hz), 123.9 (q, $^1J_{C-F}$ = 271.2 Hz), 56.5, 55.0, 43.7, 41.0, 33.5. HRMS (ESI, neg.) *m*/*z*: [M − H]$^-$ calcd for $C_{34}H_{22}F_3N_2O_4$ 579.1526, found 579.1545. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3223, 2922, 1689, 1671, 1650, 1316, 1296, 1276, 1094, 1069, 1052, 1033, 1019, 820, 801, 750, 713 cm^{-1}.

*(3S,15aS)-3-Benzyl-7-(4-bromophenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13c**.* Creamy amorphous solid (29.8 mg, 0.051 mmol, 24%). HPLC purity 98%. Cleaved from 455 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.156 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$ + DMSO): δ (ppm) = 8.25–8.23 (m, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.83–7.76 (m, 2H), 7.65 (br. d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.24–7.17 (m, 6H), 7.11–7.08 (m, 1H), 6.71 (br. s, 1H), 5.31 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 4.38–4.36 (m, 1H), 4.05–3.98 (m, 3H), 3.16 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 2.40–2.34 (m, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.1, 182.9, 166.5, 163.4, 144.8, 137.1, 136.9, 136.5, 134.8, 134.8, 134.5, 133.7, 133.4, 132.4, 132.2, 130.3, 130.1, 129.9, 128.8, 127.6, 127.4, 127.4, 126.7, 123.1, 56.5, 54.9, 43.8, 40.9, 33.5. HRMS (ESI, neg.) *m*/*z*: [M − H]$^-$ calcd for $C_{33}H_{22}BrN_2O_4$ 589.0757, found 589.0776. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3217, 2922, 1689, 1671, 1648, 1316, 1276, 1254, 1193, 1069, 1051, 1032, 1011, 848, 820, 750, 737, 712, 698 cm^{-1}.

*(3S,15aS)-7-(4-Bromophenyl)-3-(4-hydroxybenzyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13d**.* Pale green-yellow solid (15.7 mg, 0.026 mmol, 35%). HPLC purity 98%. Cleaved from 229 mg of resin (0.326 mmol/g, 0.075 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in CH_2Cl_2/MeOH (9/1; v/v), R_f = 0.4 and then crystallized from MeOH. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = δ 8.69 (s, 1H), 8.37 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 8.15 (ddd, *J* = 12.0, 7.7, 1.2 Hz, 2H), 7.93–7.88 (m, 3H), 7.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.41 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.70 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 6.26 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.01 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 4.22–4.22 (m, 1H), 4.10 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H), 4.06 (dd, *J* = 12.1, 4.8 Hz, 1H), 3.65 (dd, *J* = 18.5, 4.8 Hz, 1H), 2.98 (dd, *J* = 13.7, 3.6 Hz, 1H), 2.70 (dd, *J* = 13.7, 4.5 Hz, 1H), 1.71 (dd, *J* = 18.5, 12.0 Hz, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 183.2, 182.5, 165.5, 163.0, 156.3, 143.6, 137.6, 137.6, 136.6, 134.6, 134.5, 133.7, 132.7, 131.8, 131.8, 130.7, 130.6, 129.2, 127.2, 125.9, 125.9, 124.9, 122.1, 114.6, 114.5, 55.5, 53.5, 42.5, 38.5, 32.7. HRMS (ESI, neg.) *m*/*z*: [M − H]$^-$ calcd for $C_{33}H_{23}BrN_2O_5$ 605.0707, found 605.0727. Mp 108–111 °C. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3175, 2918, 2849, 1687, 1669, 1648, 1315, 1326, 1276, 1254, 1096, 1053, 819, 739, 713 cm^{-1}.

*(3S,15aS)-3-Benzyl-7-(4-fluorophenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13e**.* Pale yellow solid (19.4 mg, 0.037 mmol, 39%). HPLC purity 99%. Cleaved from 292 mg of resin (0.325 mmol/g, 0.095 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in CH_2Cl_2/MeOH (18/1; v/v), R_f = 0.4 and then crystallized from MeOH. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.25 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.83–7.77 (m, 2H), 7.35–7.32 (m, 2H), 7.25–7.18 (m, 6H), 7.13–7.10 (m, 1H), 6.68–6.65 (br. s, 1H), 5.33 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 4.39–4.36 (m, 1H), 4.08–4.01 (m, 3H), 3.21–3.13 (m, 2H), 2.44–2.42 (m, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.1, 183.0, 166.5, 163.4, 162.9 (d, ^1J = 248.6 Hz), 145.1, 136.9, 136.7, 134.9, 134.8, 134.5, 134.3 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 133.7, 133.4, 132.4, 130.3 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.5 Hz), 130.2, 129.9, 128.9, 127.7, 127.4, 126.7, 116.1 (d, $^2J_{C-F}$ = 21.2 Hz), 56.5, 55.0, 43.9, 41.0, 33.5. HRMS (ESI, pos.) *m*/*z*: [M + H]$^+$ calcd for $C_{33}H_{24}FN_2O_4$ 531.1715, found 531.1719. Mp 249–251 °C. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3222, 2921, 1690, 1670, 1648, 1326, 1276, 1254, 1193, 1070, 1052, 1011, 820, 750, 737, 713 cm^{-1}.

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

(3S,15aS)-3-Benzyl-7-(2-fluorophenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13g**. Creamy amorphous solid (40.9 mg, 0.077 mmol, 53%). HPLC purity 99%. Cleaved from 422 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.144 mmol of substrate). The product was purified by semi-preparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$ + DMSO): δ (ppm) = 8.26−8.24 (m, 2H), 8.16 (s, 1H), 7.83−7.76 (m, 2H), 7.49−7.46 (m, 1H), 7.35−7.31 (m, 2H), 7.22−7.20 (m, 5H), 7.11−7.09 (m, 1H), 6.82 (br. s, 1H), 5.26 (d, J = 17.0 Hz, 1H), 4.37 (ddd, J = 7.4, 5.5, 2.2 Hz, 1H), 4.11−4.00 (m, 3H), 3.17 (s, 2H), 2.40−2.30 (m, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.1, 182.9, 166.5, 163.3, 159.3 (d, ^1J = 246.2 Hz), 139.9, 137.8, 136.6, 134.8 (d, ^3J = 6.6 Hz), 134.4, 133.7, 133.3, 132.4, 131.0 (d, ^3J = 8.0 Hz), 130.6, 130.0, 128.8, 128.1, 127.6, 127.4, 126.7, 125.7 (d, ^2J = 16.1 Hz), 125.1, 124.6, 116.0 (d, ^2J = 18.7 Hz), 56.5, 55.0, 43.3, 41.0, 33.7. HRMS (ESI, neg.) m/z: [M − H]$^-$ calcd for $C_{33}H_{22}FN_2O_4$ 529.1558, found 529.1570. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3221, 2922, 1690, 1670, 1650, 1316, 1296, 1276, 1254, 1094, 1070, 1053, 1033, 1011, 820, 750, 737, 713 cm^{-1}.

(3S,15aS)-7-(2-Fluorophenyl)-3-(4-hydroxybenzyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13h**. Creamy amorphous solid (27.8 mg, 0.051 mmol, 27%). HPLC purity 98%. Cleaved from 544 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.186 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 8.69 (br. s, 1H), 8.37 (br. s, 1H), 8.16 (ddd, J = 14.4, 7.7, 1.1 Hz, 2H), 7.95−7.87 (m, 3H), 7.64−7.59 (m, 1H), 7.47−7.42 (m, 3H), 6.71 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 6.25 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.01 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 4.22 (dd, J = 3.5, 2.7 Hz, 1H), 4.12−4.04 (m, 1H), 3.93 (d, J = 17.4 Hz, 1H), 3.67 (dd, J = 18.3, 3.0 Hz, 1H), 3.00 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 2.69 (dd, J = 13.6, 4.3 Hz, 1H), 1.70 (m, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 183.3, 182.5, 165.5, 163.0, 158.3 (d, $^1J_{C-F}$ = 243.2 Hz), 156.3, 138.5, 137.5, 134.6, 134.5, 133.7, 132.7 (d, $^3J_{C-F}$ = 3.7 Hz), 131.9, 131.2 (d, $^3J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 130.89, 130.86, 130.7, 129.6, 127.2, 126.5, 125.9, 125.6 (d, $^2J_{C-F}$ = 15.6 Hz), 125.0, 116.0 (d, $^2J_{C-F}$ = 20.4 Hz), 114.6, 55.5, 53.5, 40.4, 38.6, 32.6. HRMS (ESI, neg.) m/z: [M − H]$^-$ calcd for $C_{33}H_{22}FN_2O_5$ 545.1507, found 545.1521. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 2963, 2926, 1668, 1448, 1326, 1265, 1250, 1048, 1024, 821, 761, 713 cm^{-1}.

(3S,17aS)-3-Benzyl-7-(4-fluorophenyl)-17,17a-dihydro-2H-anthra[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,16(3H,6H)-tetraone **13i**. Orange-brown amorphous solid (5.0 mg, 0.009 mmol, 9%). HPLC purity 99%. Cleaved from 276 mg of resin (0.344 mmol/g, 0.095 mmol of substrate). The product was purified by semi-preparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.81 (d, J = 9.5 Hz, 2H), 8.22 (s, 1H), 8.14−8.10 (m, 2H), 7.73−7.70 (m, 2H), 7.37−7.34 (m, 2H), 7.25−7.15 (m, 6H), 6.12 (br. s, 1H), 5.34 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 4.38−4.35 (m, 1H), 4.16−4.06 (m, 3H), 3.21 (dd, J = 13.9, 3.9 Hz, 1H), 3.12 (dd, J = 13.9, 7.3 Hz, 1H), 2.60 (dd, J = 18.0, 12.5 Hz, 1H), 2.09 (s, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.1, 183.0, 166.3, 163.4, 162.8 (d, $^1J_{C-F}$ = 247.4 Hz), 145.2, 137.0, 136.8, 135.5, 135.0, 134.8, 134.4, 134.3 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.4 Hz), 131.4, 131.0, 130.3 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.0 Hz), 130.15, 130.10, 129.8, 129.7, 129.6, 129.4, 129.03, 129.00, 128.0, 127.8, 116.1 (d, $^2J_{C-F}$ = 21.0 Hz), 56.6, 55.1, 44.0, 41.2, 33.8. HRMS (ESI, neg.) m/z: [M − H]$^-$ calcd for $C_{37}H_{24}FN_2O_4$ 579.1715, found 579.1748. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3405, 2957, 2925, 2853, 1701, 1626, 1346, 1283, 1188, 1144, 1099, 1082, 805, 744, 729, 711 cm^{-1}.

(3S,16aS)-3-Benzyl-8-phenyl-2,3,6,7,16,16a-hexahydroanthra-[1,2-d]pyrazino[1,2-a]azepine-1,4,10,15-tetraone **14a**. Creamy amorphous solid (31.3 mg, 0.122 mmol, 54%). HPLC purity 99%. dr 95:5. Cleaved from 362 mg of resin (0.357 mmol/g, 0.129 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.29 (dd, J = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 8.22−8.20 (m, 2H), 7.79−7.73 (m, 2H), 7.51−7.48 (m, 2H), 7.46−7.43 (m, 1H), 7.36 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.24−7.21 (m, 2H), 7.17−7.14 (m, 1H), 7.11−7.09 (m, 2H), 6.58 (br. s, 1H), 4.81 (ddd, J = 14.1, 8.1, 5.1 Hz, 1H), 4.24 (ddd, J = 14.1, 8.6, 5.1 Hz, 2H), 4.17 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 3.13 (ddd, J = 15.3, 8.1, 4.9 Hz, 2H), 3.04 (dd, J = 13.6, 3.6 Hz, 1H), 2.84−2.84 (m, 1H), 2.69−2.66 (m, 1H), 2.61−2.58 (m, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 185.5, 182.9, 166.8, 164.5, 147.5, 146.3, 141.0, 139.9, 135.3, 135.3, 134.3, 133.6, 132.7, 132.6, 131.5, 130.0, 128.9, 128.8, 128.62, 128.59, 128.1, 127.7, 127.4, 126.5, 59.7, 56.4, 42.4, 41.4, 34.4, 30.9. HRMS (ESI, pos.) m/z: [M + H]$^+$ calcd for $C_{34}H_{27}N_2O_4$ 527.1965, found 527.1971. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3222, 2923, 2864, 2844, 1688, 1671, 1652, 1315, 1275, 1254, 1194, 1070, 1053, 1033, 1012, 820, 750, 737, 713, 699 cm^{-1}.

(3S,16aS)-3-(4-Hydroxybenzyl)-8-phenyl-2,3,6,7,16,16a-hexahydroanthra[1,2-d]pyrazino[1,2-a]azepine-1,4,10,15-tetraone **14b**. Creamy amorphous solid (13.5 mg, 0.025 mmol, 15%). HPLC purity 99%. Cleaved from 477 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.163 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 9.13 (br. s, 1H), 8.17−8.11 (m, 3H), 7.96−7.87 (m, 3H), 7.57−7.54 (m, 2H), 7.51−7.48 (m, 1H), 7.40−7.38 (m, 2H), 6.78 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.58 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 4.54 (ddd, J = 13.3, 7.7, 3.9 Hz, 1H), 4.34 (dd, J = 15.3, 3.9 Hz, 1H), 4.08−4.05 (m, 1H), 4.01 (dd, J = 6.9, 3.9 Hz, 1H), 3.08 (ddd, J = 14.9, 7.7, 3.6 Hz, 1H), 2.73 (ddd, J = 13.3, 7.7, 3.6 Hz, 1H), 2.64−2.55 (m, 4H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, DMSO-d_6): δ (ppm) = 184.9, 182.2, 165.7, 164.2, 156.2, 146.7, 146.4, 142.5, 139.7, 135.1, 134.7, 134.0, 132.2, 132.0, 131.0, 130.9, 128.8, 128.7, 128.1, 127.1, 127.0, 126.0, 125.7, 114.9, 59.3, 55.4, 41.1, 40.4, 33.4, 30.9. HRMS (ESI, pos.) m/z: [M + H]$^+$ calcd for $C_{34}H_{27}N_2O_5$ 543.1914, found 543.1916. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 2865, 2844, 2827, 1668, 1323, 1310, 1267, 1052, 1033, 1020, 815, 799, 761, 704 cm^{-1}.

(3S,16aS)-3-Benzyl-8-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-2,3,6,7,16,16a-hexahydroanthra[1,2-d]pyrazino[1,2-a]azepine-1,4,10,15-tetraone **14c**. Pale gray-green amorphous solid (29.0 mg, 0.049 mmol, 33%). HPLC purity 99%. Cleaved from 431 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.148 mmol of substrate). The product was purified by purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.33 (dd, J = 7.6, 1.0 Hz, 1H), 8.23 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.83−7.76 (m, 4H), 7.55 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.20−7.15 (m, 3H), 7.02−7.00 (m, 2H), 6.14 (br. s, 1H), 4.83−4.77 (m, 1H), 4.26 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.16 (ddd, J = 8.8, 5.7, 3.2 Hz, 1H), 4.08 (dd, J = 15.0, 6.1 Hz, 1H), 3.61 (dd, J = 15.0, 3.2 Hz, 1H), 3.10−3.04 (m, 1H), 3.01 (dd, J = 13.5, 3.5 Hz, 1H), 2.89−2.83 (m, 1H), 2.78−2.73 (m, 1H), 2.32 (dd, J = 13.5, 8.8 Hz, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 185.5, 182.7, 166.5, 164.7, 146.1, 145.8, 143.5, 140.7, 135.3, 135.2, 134.5, 133.8, 133.0, 132.6, 132.1, 130.5 (q, $^2J_{C-F}$ = 33.7 Hz), 129.8, 129.4, 128.9, 128.4, 127.8, 127.2, 126.7, 125.7 (q, $^3J_{C-F}$ = 3.3 Hz), 124.0 (q, $^1J_{C-F}$ = 272.2 Hz), 59.5, 56.4, 41.9, 41.6, 34.0, 30.7. HRMS (ESI, neg.) m/z: [M − H]$^-$ calcd for $C_{35}H_{24}F_3N_2O_4$ 593.1683, found 593.1700. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3231, 2923, 2865, 2844, 1671, 1668, 1652, 1315, 1275, 1254, 1211, 1094, 1108, 1053, 1033, 1013, 993, 820, 738, 750, 713 cm^{-1}.

11. Acylation with Fmoc-Amino Acids (Intermediates **12f***).* To resin **8e** (250 mg) prewashed with DMF and CH_2Cl_2 a solution of Fmoc-Ala-OH (273 mg, 0.875 mmol), HOBt (119 mg, 0.875 mmol), and DIC (0.875 mmol) in DMF/CH_2Cl_2 (2.5 mL, 50%) was added. After shaking for 24 h at room temperature, the resulting resin **12f** was washed three times with DMF and CH_2Cl_2.

12. Base-Mediated Cyclization (Product **13f***).* To the resin **12f** (500 mg) piperidine/DMF (5 mL, 50%) was added, and the reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature. Then the reaction solution was lyophilized overnight, and the crude product **13f** was purified by semipreparative RP-HPLC.

(3S,15aS)-7-(2-Fluorophenyl)-3-methyl-15,15a-dihydro-2H-naphtho[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **13f**. Pale yellow amorphous solid (10.7 mg, 0.024 mmol, 29%). HPLC purity 98%. Cleaved from 247 mg of resin (0.325 mmol/g, 0.080 mmol of substrate). The product was purified by semi-preparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.22−8.19 (m, 2H), 8.14 (s, 1H), 7.79−7.73 (m, 2H), 7.45−7.41 (m, 1H), 7.28 (br. s, 1H), 7.26−7.26 (m, 2H), 7.17−7.16 (m, 1H), 5.13 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 4.43−4.21 (m, 1H), 4.17 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 4.07 (dd, J = 13.8, 6.8 Hz, 1H), 3.59−3.47 (m, 1H), 2.81 (d, J = 12.5 Hz, 1H), 1.47 (d, J = 6.2 Hz, 3H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.7, 182.9, 166.7, 165.5,

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

159.0 (d, ^1J = 246.8 Hz), 140.1, 138.4, 134.7, 134.4, 133.8, 133.4 (d, $^3J_{C-F}$ = 7.9 Hz), 132.4, 131.0, 130.9, 130.8, 130.4 (d, $^3J_{C-F}$ = 4.3 Hz), 128.3, 127.3, 126.6, 125.3 (d, $^2J_{C-F}$ = 17.1 Hz), 125.0 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.9 Hz), 115.9 (d, $^2J_{C-F}$ = 23.6 Hz), 55.2, 50.9, 43.3, 33.9, 21.4. HRMS (ESI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{27}H_{20}FN_2O_4$ 455.1402, found 455.1404. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3219, 2923, 1690, 1670, 1650, 1452, 1316, 1276, 1254, 1159, 1094, 1011, 806, 750, 737 cm^{-1}.

*13. Acylation with Iodoacetic Acid (Intermediates **15a–g**).* 2-Iodoacetic acid (560 mg, 3.0 mmol) was dissolved in CH_2Cl_2 (5 mL), and DIC (232 μL, 1.5 mmol) was added. The reaction mixture was shaken for 30 min at room temperature, the precipitated diisopropylurea was filtered, and the remaining solution was added to resin 8 (500 mg). After shaking for 24 h at room temperature, resulting resins **15a–g** were washed three times with CH_2Cl_2, DMF, and CH_2Cl_2.

*14. Cyclative Cleavage with Amines (Products **16a–d** and **17a–c**).* To the resins **15a–g** (500 mg) prewashed in anhydrous DMSO, a solution of appropriate amine/anhydrous DMSO (5 mL, 5%) was added. The reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature, then the resin was filtered, and the filtrate was collected. Resins were washed three times with DMSO, and the combined washes were lyophilized overnight. The residual material was purified by semipreparative RP-HPLC or silica gel chromatography.

(S)-2-Benzyl-7-(4-bromophenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho-[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone ***16a***. Orange-yellow solid (18.5 mg, 0.031 mmol, 39%). HPLC purity 98%. Cleaved from 248 mg of resin (0.326 mmol/g, 0.080 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in CH_2Cl_2/MeOH (9/1; v/v), R_f = 0.7 and then crystallized from MeOH. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.26–8.24 (m, 2H), 8.11 (s, 1H), 7.83–7.77 (m, 2H), 7.63 (br. d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.39–7.36 (m, 2H), 7.34–7.31 (m, 3H), 7.20 (br. d, J = 8.6 Hz, 2H), 5.27 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 4.72 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 4.62 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 4.40 (dd, J = 18.0, 3.8 Hz, 1H), 4.25 (dd, J = 12.0, 3.8 Hz, 1H), 4.15 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 3.92 (s, 2H), 3.58 (dd, J = 18.0, 12.0 Hz, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.6, 182.8, 164.5, 162.0, 144.9, 137.1, 136.9, 134.9, 134.8, 134.5, 133.8, 133.5, 132.4, 132.2, 130.7, 130.0, 129.0, 128.6, 128.5, 128.3, 127.6, 127.4, 126.7, 123.1, 55.4, 49.4, 48.7, 43.6, 33.9. HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M - H]^-$ calcd for $C_{33}H_{22}BrN_2O_4$ 589.0754, found 589.0776. Mp 145–148 °C. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3222, 2923, 1690, 1670, 1650, 1316, 1296, 1276, 1254, 1159, 1094, 1070, 1052, 1033, 1011, 820, 804, 750, 737, 713, 698 cm^{-1}.

(S)-7-(4-Fluorophenyl)-2-propyl-15,15a-dihydro-2H-naphtho-[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone ***16b***. Pale yellow amorphous solid (21.7 mg, 0.045 mmol, 39%). HPLC purity 99%. Cleaved from 349 mg of resin (0.325 mmol/g, 0.113 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.25–8.23 (m, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.82–7.76 (m, 2H), 7.33–7.29 (m, 2H), 7.22–7.17 (m, 2H), 5.29 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 4.32 (dd, J = 18.0, 3.8 Hz, 1H), 4.19 (dd, J = 2.6, 1.1 Hz, 1H), 4.16 (dd, J = 3.8, 1.1 Hz, 1H), 4.05 (dd, J = 18.0, 1.1 Hz, 1H), 4.00 (dd, J = 18.0, 1.1 Hz, 1H), 3.55 (dd, J = 18.0, 12.0 Hz, 1H), 3.43 (dt, J = 7.0, 1.6 Hz, 2H), 1.65 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 0.97 (t, J = 7.5 Hz, 3H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.6, 182.9, 164.5, 162.9 (d, ^1J = 248.1 Hz), 162.3, 145.2, 137.3, 137.0, 134.8, 134.4, 134.2 (d, $^4J_{C-F}$ = 4.2 Hz), 133.8, 133.4, 132.5, 130.6, 130.2 (d, $^3J_{C-F}$ = 7.4 Hz), 127.8, 127.4, 126.7, 116.1 (d, $^2J_{C-F}$ = 21.2 Hz), 55.5, 49.5, 47.8, 43.6, 33.7, 19.9, 11.1. HRMS (ESI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{29}H_{24}FN_2O_4$ 483.1715, found 483.1718. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3221, 2923, 1689, 1670, 1650, 1316, 1296, 1276, 1254, 1094, 1070, 1052, 1033, 1011, 805, 750, 737 cm^{-1}.

(S)-2-Benzyl-7-(2-fluorophenyl)-15,15a-dihydro-2H-naphtho-[2,3-f]pyrazino[1,2-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone ***16d***. Pale yellow solid (16.5 mg, 0.031 mmol, 35%). HPLC purity 99%. Cleaved from 270 mg of resin (0.325 mmol/g, 0.088 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in CH_2Cl_2/MeOH (9/1; v/v), R_f = 0.5 and then crystallized from MeOH. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.28–8.25 (m, 2H), 8.18 (s, 1H), 7.84–7.77 (m, 2H), 7.49–7.44 (m, 1H), 7.39–7.36 (m, 2H), 7.33–7.29 (m, 5H), 7.20–7.19 (m, 1H), 5.23 (d, J = 18.0 Hz, 1H), 4.73 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 4.62 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 4.52–4.08 (m, 3H), 3.91 (s, 2H), 3.65–3.58 (m, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.7, 182.8, 164.6, 161.9, 159.0 (d, $^1J_{C-F}$ = 246.3 Hz), 140.1, 138.2, 136.5, 135.0, 134.8, 134.5, 133.8, 133.5 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.1 Hz), 132.5, 131.0, 130.8, 130.5 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 129.0, 128.5, 128.3, 128.2, 127.4, 126.7, 125.6 (d, $^2J_{C-F}$ = 16.3 Hz), 125.2 (d, $^3J_{C-F}$ = 3.3 Hz), 116.0 (d, $^2J_{C-F}$ = 20.4 Hz), 55.6, 49.4, 48.7, 43.2, 29.7. HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M - H]^-$ calcd for $C_{33}H_{22}FN_2O_4$ 529.1558, found 529.1563. Mp 242–245 °C. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3221, 2922, 2844, 1690, 1670, 1651, 1316, 1276, 1254, 1159, 1094, 1069, 1053, 1033, 820, 805, 750, 713, 699 cm^{-1}.

(S)-2-Benzyl-8-phenyl-2,3,6,7,16,16a-hexahydroanthra[1,2-d]-pyrazino[1,2-a]azepine-1,4,10,15-tetraone ***17a***. Yellow solid (35.8 mg, 0.068 mmol, 53%). HPLC purity 99%. Cleaved from 360 mg of resin (0.357 mmol/g, 0.129 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in CH_2Cl_2/MeOH (18/1; v/v), R_f = 0.5 and then crystallized from MeOH. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.31–8.29 (m, 1H), 8.25–8.23 (m, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.83–7.77 (m, 2H), 7.50–7.40 (m, 5H), 7.27–7.20 (m, 5H), 4.88 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 4.64 (ddd, J = 16.5, 9.1, 7.2 Hz, 1H), 4.59 (dd, J = 14.6, 3.7 Hz, 1H), 4.53 (dd, J = 8.4, 3.7 Hz, 1H), 4.41 (d, J = 14.6 Hz, 1H), 3.85 (dd, J = 14.6, 8.4 Hz, 1H), 3.62 (d, J = 17.5 Hz, 1H), 3.41 (d, J = 17.5 Hz, 1H), 3.09–3.00 (m, 2H), 2.95 (ddd, J = 13.2, 6.4, 4.0 Hz, 1H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 185.7, 182.8, 166.2, 164.2, 147.7, 145.1, 139.9, 139.5, 135.2, 135.0, 134.3, 133.7, 132.9, 132.8, 131.7, 128.8, 128.7, 128.6, 128.1, 127.9, 127.6, 126.7, 58.8, 49.5, 48.4, 41.6, 34.2, 29.9. HRMS (ESI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{34}H_{27}N_2O_4$ 527.1965, found 527.1972. Mp 160–163 °C. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 2981, 2923, 2865, 2844, 1688, 1671, 1652, 1315, 1276, 1253, 1094, 1053, 1033, 1013, 820, 766, 750, 737, 699 cm^{-1}.

(S)-8-Phenyl-2-propyl-2,3,6,7,16,16a-hexahydroanthra[1,2-d]-pyrazino[1,2-a]azepine-1,4,10,15-tetraone ***17b***. Creamy amorphous solid (12.2 mg, 0.026 mmol, 14%). HPLC purity 99%. Cleaved from 535 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.183 mmol of substrate). The product was purified by semipreparative RP-HPLC chromatography. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.27–8.22 (m, 3H), 7.81–7.75 (m, 2H), 7.51–7.42 (m, 5H), 4.65 (ddd, J = 16.2, 9.1, 6.7 Hz, 1H), 4.53 (dd, J = 14.9, 3.4 Hz, 1H), 4.44 (dd, J = 8.7, 3.4 Hz, 1H), 3.78 (dd, J = 14.9, 8.7 Hz, 1H), 3.69 (d, J = 17.5 Hz, 1H), 3.57 (dd, J = 17.5, 0.5 Hz, 1H), 3.43–3.32 (m, 2H), 3.09–2.99 (m, 2H), 2.96 (ddd, J = 12.9, 6.7, 3.6 Hz, 1H), 1.69–1.48 (m, 2H), 0.89 (t, J = 7.4 Hz, 3H). ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 185.8, 182.9, 166.2, 164.6, 147.8, 145.1, 140.0, 139.6, 135.4, 134.4, 133.8, 133.0, 132.9, 131.9, 128.8, 128.7, 128.2, 127.6, 126.7, 58.8, 49.5, 48.1, 41.8, 34.3, 30.0, 19.8, 11.4. HRMS (ESI, pos.) m/z: $[M + H]^+$ calcd for $C_{30}H_{27}N_2O_4$ 479.1965, found 479.1968. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 2980, 2966, 2937, 2923, 2871, 2843, 2826, 1668, 1660, 1653, 1269, 1085, 1051, 1033, 1021, 822, 775, 767, 708 cm^{-1}.

*15. Cyclization to Diketomorpholines (Product **19a–b**).* Method A: The crude intermediate **18a** was dissolved in water/CH_3CN/DMSO (20 mL; 14/6/1; v/v/v) and then purified by semipreparative RP-HPLC. The combined organic fractions were evaporated *in vacuo*, freeze-dried and the resulting material was dissolved in CH_3CN/DMSO (3 mL; 50%) and kept for 3 h at room temperature. Then it was freeze-dried and purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (8/2; v/v). Method B: To the crude intermediate **18b**, a solution of DIPEA (435 μL, 2.5 mmol) in DMSO (5 mL) was added and the reaction mixture was stirred for 24 h at room temperature. Then it was freeze–dried and the residual material was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (8/2; v/v).

(S)-7-(3-Fluorophenyl)-15,15a-dihydronaphtho[2,3-f][1,4]-oxazino[4,3-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone ***19a***. Yellow amorphous solid (14.1 mg, 0.032 mmol, 25%). HPLC purity 99%. Cleaved from 360 mg of resin (0.342 mmol/g, 0.124 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (8/2; v/v), R_f = 0.7. ^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.29–8.26 (m, 2H), 8.22 (s, 1H), 7.85–7.78 (m, 2H),

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242–5256

7.52–7.48 (m, 1H), 7.19 (dddd, J = 2.5, 9.2, 2.5, 0.9 Hz, 1H), 7.11 (ddd, J = 7.6, 1.6, 0.9 Hz, 1H), 7.05 (ddd, J = 9.2, 2.5, 1.6 Hz, 1H), 5.01 (d, J = 17.1 Hz, 1H), 4.82 (s, 2H), 4.52–4.45 (m, 2H), 4.38 (dd, J = 10.7, 4.5 Hz, 1H), 3.88 (ddd, J = 17.1, 10.7, 0.6 Hz, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.7, 182.6, 165.8, 162.5, 162.8 (d, $^1J_{C-F}$ = 248.3 Hz), 144.6, 139.9 (d, $^3J_{C-F}$ = 7.6 Hz), 137.2, 136.4, 134.7, 134.6, 134.0, 133.7, 132.5, 130.8 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.6 Hz), 130.4, 128.0, 127.6, 126.8, 124.4, 116.0 (d, $^2J_{C-F}$ = 16.7 Hz), 115.8 (d, $^2J_{C-F}$ = 17.3 Hz), 67.4, 52.9, 42.1, 30.2. HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M-H]^-$ calcd for $C_{26}H_{15}FNO_5$ 440.0929, found 440.0941. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 3222, 2923, 2865, 2844, 1689, 1670, 1651, 1316, 1296, 1276, 1254, 1158, 1094, 1070, 1053, 1033, 1012, 820, 737 cm^{-1}.

(S)-7-(4-Fluorophenyl)-15,15a-dihydronaphtho[2,3-f][1,4]-oxazino[4,3-b]isoquinoline-1,4,9,14(3H,6H)-tetraone **19b**. Orange oil (38.5 mg, 0.087 mmol, 44%). HPLC purity 98%. Cleaved from 556 mg of resin (0.357 mmol/g, 0.199 mmol of substrate). The product was purified by silica gel chromatography in EtOAc/hexane (8/2; v/v), R_f = 0.8. ^1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 8.27–8.24 (m, 2H), 8.19 (s, 1H), 7.82–7.78 (m, 2H), 7.33–7.30 (m, 2H), 7.23–7.19 (m, 2H), 4.98 (d, J = 17.2 Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.51–4.43 (m, 2H), 4.36 (dd, J = 10.5, 4.6 Hz, 1H), 3.86 (dd, J = 17.2, 10.5 Hz, 1H). $^{13}C\{^1H\}$ NMR (126 MHz, $CDCl_3$): δ (ppm) = 184.6, 182.6, 165.9, 162.9 (d, $^1J_{C-F}$ = 250.5 Hz), 162.6, 144.9, 137.4, 136.4, 134.7, 134.5, 133.9, 133.8 (d, $^4J_{C-F}$ = 3.2 Hz), 133.6, 132.4, 130.4 (d, $^3J_{C-F}$ = 8.4 Hz), 130.1, 128.2, 127.5, 126.7, 116.2 (d, $^2J_{C-F}$ = 21.7 Hz), 67.4, 52.8, 42.1, 30.0. HRMS (ESI, neg.) m/z: $[M-H]^-$ calcd for $C_{26}H_{15}FNO_5$ 440.0929, found 440.0939. IR (DRIFT): $\tilde{\nu}$ = 2922, 2864, 2844, 1688, 1671, 1652, 1314, 1276, 1254, 1094, 1070, 1053, 1033, 1013, 820, 737 cm^{-1}.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.2c00039.

^1H, ^{13}C, IR, and HRMS spectra of the synthesized compounds (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Miroslav Soural — *Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University, 771 46 Olomouc, Czech Republic; Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, 779 00 Olomouc, Czech Republic;* orcid.org/0000-0001-7288-8617; Email: miroslav.soural@upol.cz

Author

Petra Králová — *Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University, 771 46 Olomouc, Czech Republic*

Complete contact information is available at: https://pubs.acs.org/10.1021/acs.joc.2c00039

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a grant from Czech Science Foundation (Project 21-06553S).

■ REFERENCES

(1) Cioli, D.; Pica-Mattoccia, L. Praziquantel. *Parasitol. Res.* **2003**, *90* (1), S3–S9.

(2) Hunt, P.; Kannengiesser, M.-H.; Raynaud, J.-P. Nomifensine: A New Potent Inhibitor of Dopamine Uptake into Synaptosomes from Rat Brain Corpus Striatum. *J. Pharm. Pharmacol.* **2011**, *26* (5), 370–371.

(3) Vennerstrom, J. L.; Klayman, D. L. Protoberberine Alkaloids as Antimalarials. *J. Med. Chem.* **1988**, *31* (6), 1084–1087.

(4) Gözler, B. *Chapter 7 Pavine and Isopavine Alkaloids*; Brossi, A. B. T.-T. A. C. P., Ed.; Academic Press: 1987; Vol. *31*, pp 317–389.

(5) Mahiou, V.; Roblot, F.; Hocquemiller, R.; Cavé, A.; De Arias, A. R.; Inchausti, A.; Yaluff, G.; Fournet, A.; Angelo, A. New Aporphine Alkaloids from Guatteria Foliosa. *J. Nat. Prod.* **1994**, *57* (7), 890–895.

(6) Zheng, M.; Zhang, X.; Zhao, M.; Chang, H. W.; Wang, W.; Wang, Y.; Peng, S. (3S)-N-(l-Aminoacyl)-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolines, a Class of Novel Antithrombotic Agents: Synthesis, Bioassay, 3D QSAR, and ADME Analysis. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16* (21), 9574–9587.

(7) Zhang, X.; Wang, W.; Cheng, S.; Zhao, M.; Zheng, M.; Chang, H. W.; Wu, J.; Peng, S. 2,3-Diamino Acid Modifying 3S-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acids: Leading to a Class of Novel Agents with Highly Unfolded Conformation, Selective in Vitro Anti-Platelet Aggregation and Potent in Vivo Anti-Thrombotic Activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18* (4), 1536–1554.

(8) Miller, K. E.; Huang, C. T.; Portlock, D. E.; Wright, G. C. Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitors Containing Unnatural Alpha-Amino Acid Analogues of Phenylalanine. *Life Sci.* **1987**, *40* (1), 63–70.

(9) Yamada, M.; Okagaki, C.; Higashijima, T.; Tanaka, S.; Ohnuki, T.; Sugita, T. A Potent Dipeptide Inhibitor of Dipeptidyl Peptidase IV. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8* (12), 1537–1540.

(10) Mannekens, E.; Crisma, M.; Van Cauwenberghe, S.; Tourwé, D. Synthesis of 1-(m-Hydroxybenzyl)-Substituted 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid Derivatives as Opioid Peptide Mimetics - Unexpected Amide Bond Cleavages under Mild Conditions. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *2003* (17), 3300–3307.

(11) Fuchter, M. J.; Huarte, A. U.; Brady, H. J. M. Natural Killer Cells. WO2020002911 A1, 2nd January, 2020.

(12) Ziemska, J.; Guśpiel, A.; Jarosz, J.; Nasulewicz-Goldeman, A.; Wietrzyk, J.; Kawęcki, R.; Pypowski, K.; Jarończyk, M.; Solecka, J. Molecular Docking Studies, Biological and Toxicity Evaluation of Dihydroisoquinoline Derivatives as Potential Anticancer Agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24* (21), 5302–5314.

(13) Shinkai, H.; Toi, K.; Kumashiro, I.; Seto, Y.; Fukuma, M.; Dan, K.; Toyoshima, S. N-Acylphenylalanines and Related Compounds. A New Class of Oral Hypoglycemic Agents. *J. Med. Chem.* **1988**, *31* (11), 2092–2097.

(14) Kamenecka, T. M.; Burris, T. Preparation of Tertiary Amines as REV-ERB Receptors Modulators. WO2013033310 A1, 7th March, 2013.

(15) Song, G.; Liao, Y.; Li, H.; Li, S.; Chen, J. Polyphenol Compound Containing Tetrahydropapaverine-3-Carboxylic Acid Methyl Ester and Preparation Method and Application Thereof. CN110724102 A, 24th January, 2020.

(16) Grabley, S.; Kluge, H.; Hoppe, H. U. Diels Alder Reaction of Streptazoline with Naphthoquinone. *Angew. Chem.* **1987**, *99* (7), 692–693.

(17) Chaturvedula, P. V.; Mercer, S. E.; Guernon, L.; Macor, J. E.; Dubowchik, G. M. Enantioselective Synthesis of Constrained Phenylalanine Analogues. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (42), 5588–5591.

(18) McKenna, J. M.; Moliterni, J.; Qiao, Y. The Scope and Limitations of the Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reactions of 6- and 8-Substituted 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylates. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42* (34), 5797–5800.

(19) Kotha, S.; Misra, S.; Krishna, N. G.; Devunuri, N.; Hopf, H.; Keecherikunnel, A. Diversity-Oriented Approach to 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid (TIC) Derivatives Using Diethyl Acetamidomalonate as a Glycine Equivalent: Further Expansion by Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reaction. *Heterocycles* **2010**, *80* (2), 847–854.

(20) Kotha, S.; Sreenivasachary, N. Synthesis of 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid (Tic) Derivatives by Cycloaddition Approaches. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *2001* (17), 3375−3383.
(21) Desroy, N.; Robert-Peillard, F.; Toueg, J.; Duboc, R.; Hénaut, C.; Rager, M.-N.; Savignac, M.; Genêt, J.-P. An Efficient Route to 4/5/6 Polycyclic β-Lactams. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, *2004* (23), 4840−4849.
(22) Decker, H.; Becker, P. Syntheses of Tetrahydroisoquinoline Derivatives. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1913**, *395*, 342−362.
(23) Chen, H. G.; Goel, O. P. Pictet-Spengler Cyclization of 3,3-Diphenylalanine (DIP) (III), Synthesis of Optically Pure 1,2,3,4-Tetrahydro-4-Phenyl-3-Isoquinolinecarboxylic Acids, Novel α-Amino Acids for Peptides of Biological Interest. *Synth. Commun.* **1995**, *25* (1), 49−56.
(24) Meutermans, W. D. F.; Alewood, P. F. The Solid Phase Synthesis of Dihydro- and Tetrahydroisoquinolines. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (42), 7709−7712.
(25) Solecka, J.; Guśpiel, A.; Postek, M.; Ziemska, J.; Kawęcki, R.; Łęczycka, K.; Osior, A.; Pietrzak, B.; Pypowski, K.; Wyrzykowska, A. New Derivatives of 3,4-Dihydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid with Free-Radical Scavenging, D-Amino Acid Oxidase, Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Activity. *Molecules.* **2014**, *19*, 15866−15890.
(26) Králová, P.; Fülöpová, V.; Maloň, M.; Volná, T.; Popa, L.; Soural, M. Stereoselective Polymer-Supported Synthesis of Morpholine- and Thiomorpholine-3-Carboxylic Acid Derivatives. *ACS Comb. Sci.* **2017**, *19* (3), 173−180.
(27) Králová, P.; Maloň, M.; Pospíšil, J.; Soural, M. Rearrangement of Threonine and Serine-Based N-(3-Phenylprop-2-Yn-1-Yl) Sulfonamides Yields Chiral Pyrrolidin-3-Ones. *J. Org. Chem.* **2020**, *85* (2), 985−993.
(28) Králová, P.; Soural, M. Reagent-Based Diversity-Oriented Synthesis of Triazolo[1,5-a][1,4]Diazepine Derivatives from Polymer-Supported Homoazidoalanine. *J. Org. Chem.* **2021**, *86* (12), 7963−7974.
(29) Kotha, S.; Deodhar, D.; Khedkar, P. Diversity-Oriented Synthesis of Medicinally Important 1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline-3-Carboxylic Acid (Tic) Derivatives and Higher Analogs. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12* (45), 9054−9091.
(30) Kratzel, M. Diels-Alder-Produkte von Tetrahydropyridin-Dienen Mit Naphthochinonen Und Deren Oxidationsprodukte, Verfahren Zu Ihrer Herstellung Und Ihre Verwendung Zur Herstellung von Arzneimitteln. AT407636 B, 25th May, 2001.
(31) Fülöpová, V.; Soural, M. Mining the Chemical Space: Application of 2/4-Nitrobenzenesulfonamides in Solid-Phase Synthesis. *ACS Comb. Sci.* **2015**, *17* (10), 570−591.
(32) Robinson, A. J.; Elaridi, J.; Van Lierop, B. J.; Mujcinovic, S.; Jackson, W. R. Microwave-Assisted RCM for the Synthesis of Carbocyclic Peptides. *J. Pept. Sci.* **2007**, *13* (4), 280−285.
(33) Wang, W. L.; Ho, S. Y.; Alam, J.; Poulsen, A.; Duraiswamy, A. J. Phthalimide Derivatives as Modulators of Wnt Pathway. WO2015187094 A1, 10th December, 2015.
(34) Conchon, E.; Anizon, F.; Golsteyn, R. M.; Léonce, S.; Pfeiffer, B.; Prudhomme, M. Synthesis, in Vitro Antiproliferative Activities, and Chk1 Inhibitory Properties of Dipyrrolo[3,4-a:3,4-c]Carbazole-Triones. *Tetrahedron* **2006**, *62* (48), 11136−11144.
(35) Hudkins, R. L.; Johnson, N. W. Fused Isoindolones as Inhibitors of Protein Kinasec. WO9721677 A1, 19th June, 1997.
(36) Iosub, A. V.; Stahl, S. S. Palladium-Catalyzed Aerobic Oxidative Dehydrogenation of Cyclohexenes to Substituted Arene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (10), 3454−3457.
(37) Tan, A.; Koc, B.; Sahin, E.; Kishali, N. H.; Kara, Y. Synthesis of New Cantharimide Analogues Derived from 3-Sulfolene. *Synthesis (Stuttg).* **2011**, *2011* (07), 1079−1084.
(38) Witayakran, S.; Ragauskas, A. J. One-Pot Synthesis of 1,4-Naphthoquinones and Related Structures with Laccase. *Green Chem.* **2007**, *9* (5), 475−480.
(39) Cankařová, N.; Schütznerová, E.; Krchňák, V. Traceless Solid-Phase Organic Synthesis. *Chem. Rev.* **2019**, *119* (24), 12089−12207.
(40) McMaster, C.; Fülöpová, V.; Popa, L.; Grepl, M.; Soural, M. Solid-Phase Synthesis of Anagrelide Sulfonyl Analogues. *ACS Comb. Sci.* **2014**, *16* (5), 221−224.
(41) Borthwick, A. D. 2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products. *Chem. Rev.* **2012**, *112* (7), 3641−3716.
(42) Martin, G. E.; Hadden, C. E. Long-Range $^{1}H-^{15}N$ Heteronuclear Shift Correlation at Natural Abundance. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63* (4), 543−585.

Recommended by ACS

[2 + 2] Cycloaddition/Retro-Electrocyclization/Decarboxylation Reaction Sequence: Access to 4-Aminopyridines from Methylideneisoxazolone...
Ekaterina E. Galenko, Alexander F. Khlebnikov, *et al.*
JUNE 23, 2023
THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY
READ

Chromium-Catalyzed Diastereoselective Synthesis of Conformationally Constrained Spirotetrahydroquinolines
Changpeng Chen, Xiaoming Zeng, *et al.*
JUNE 05, 2023
ORGANIC LETTERS
READ

Racemic Synthesis of a Key 1,4-Dihydro-2*H*-spiro[isoquinoline-3,4′-piperidin]-3′-ol Building Block
David A. Candito, Michelle R. Machacek, *et al.*
NOVEMBER 08, 2022
ORGANIC PROCESS RESEARCH & DEVELOPMENT
READ

Synthesis of Pyrazolidinone-Fused Benzotriazines through C–H/N–H Bond Functionalization of 1-Phenylpyrazolidinones with Oxadiazolones
Na Li, Xuesen Fan, *et al.*
JUNE 09, 2023
THE JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY
READ

Get More Suggestions >

https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00039
J. Org. Chem. 2022, 87, 5242−5256

7. PŘÍLOHY (SUPPORTING INFORMATION)

Tato kapitola byla převzata z originální publikace přiložené v kapitole 6. a její text a číslování obrázku jako „**Figure S“** byl ponechán v angličtině: Králová, P.; Soural, M. Synthesis of Polycyclic Tetrahydroisoquinolines and Tetrahydrobenzo[*d*]Azepines from Polymer-Supported Allylglycine. *J. Org. Chem.* **2022**, *87* (8), 5242–5256.

7.1 NMR a HRMS spktra připravených alkynolů

7.1.1 3-(4-trifluoromethyl)phenyl)prop-2-yn-1-ol I

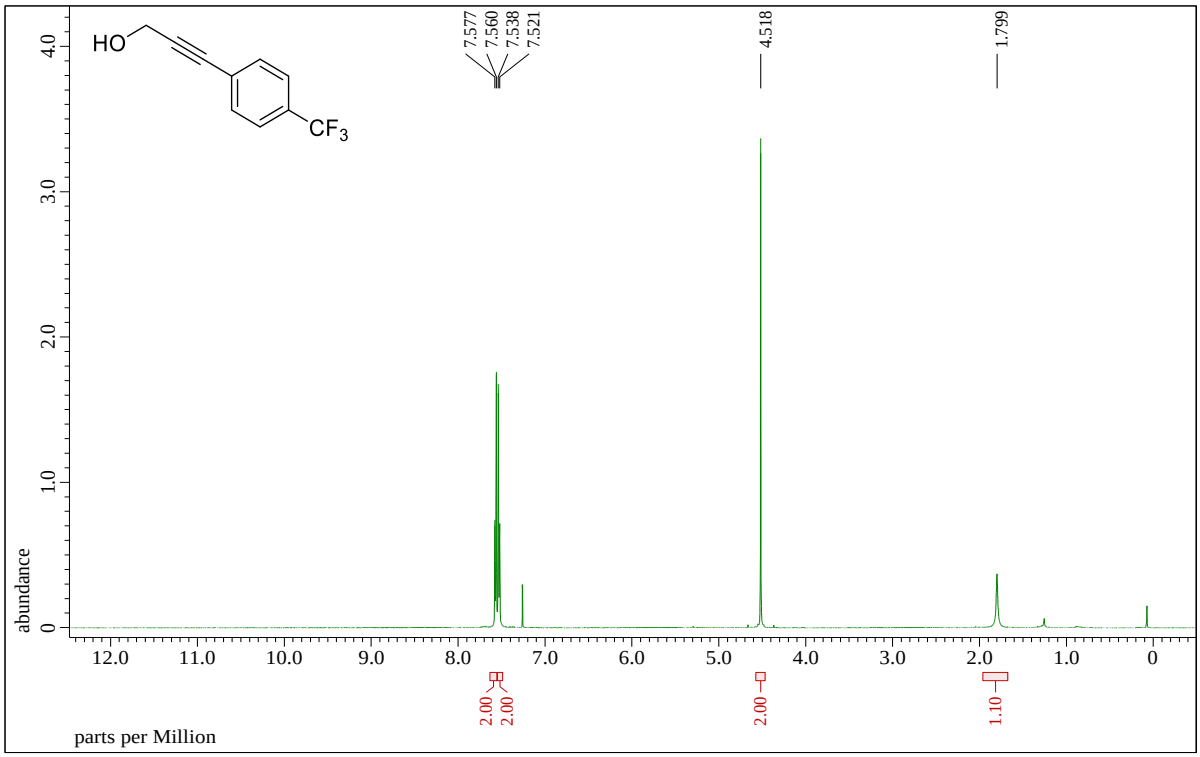


Figure S1. ^{1}H NMR spectrum of **I** (500 MHz, $CDCl_3$)

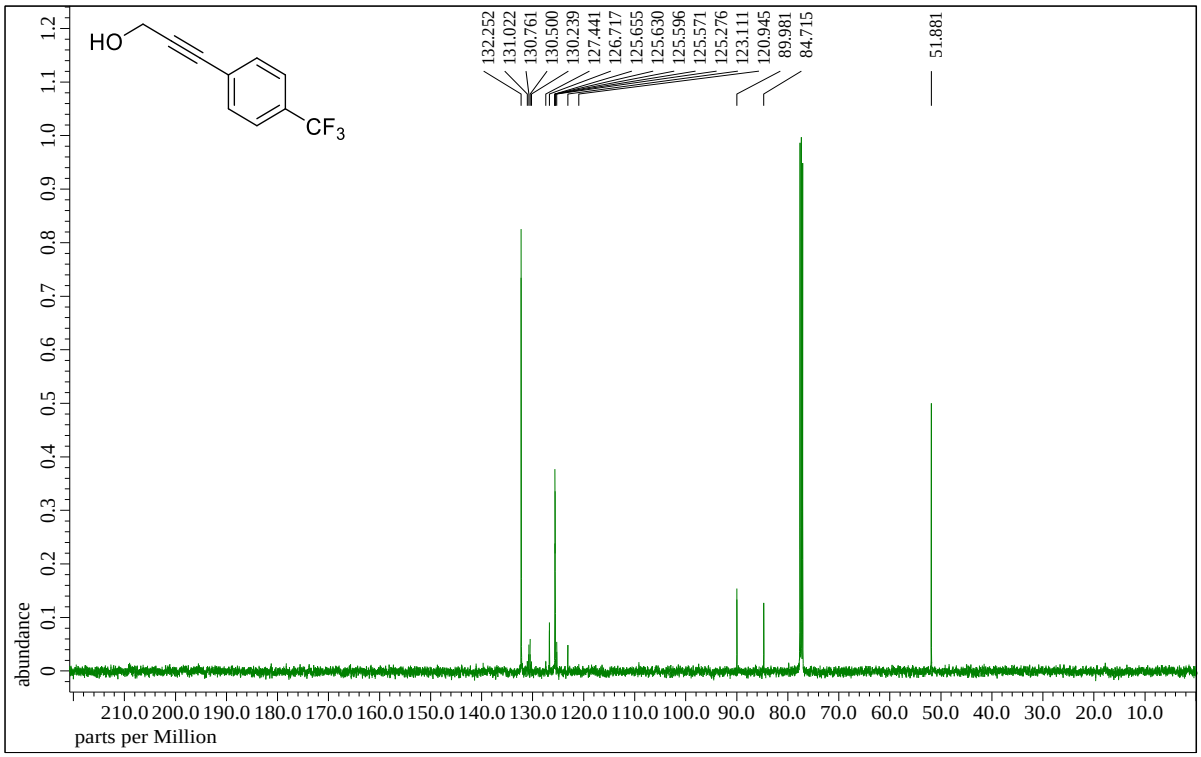


Figure S2. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **I** (126 MHz, $CDCl_3$)

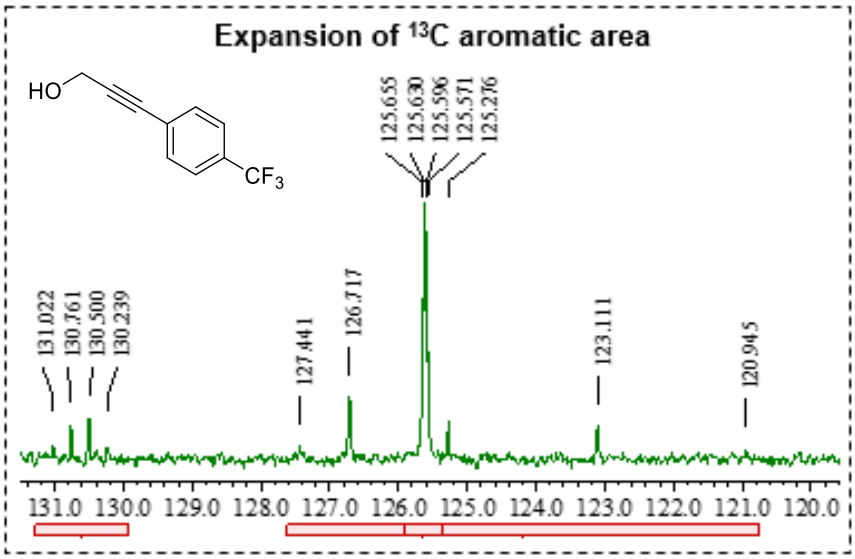


Figure S3. Expansion of $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **I** (126 MHz, $CDCl_3$)

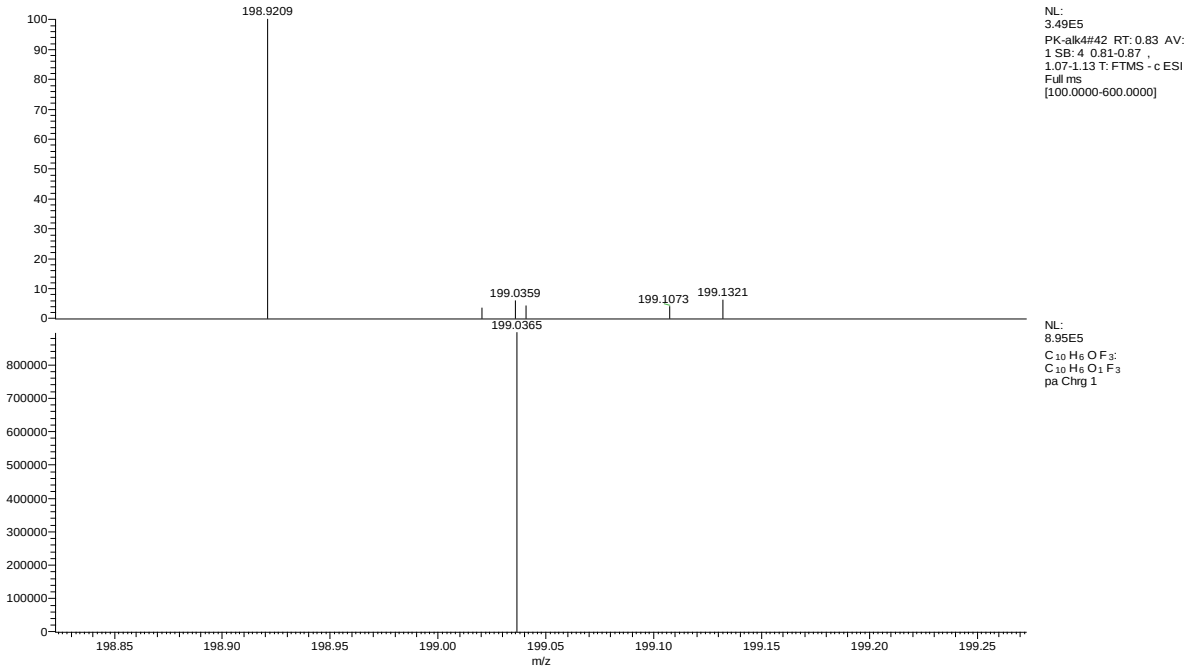


Figure S4. HRMS spectrum of **I**

7.1.2 3-(4-bromophenyl)prop-2-yn-1-ol II

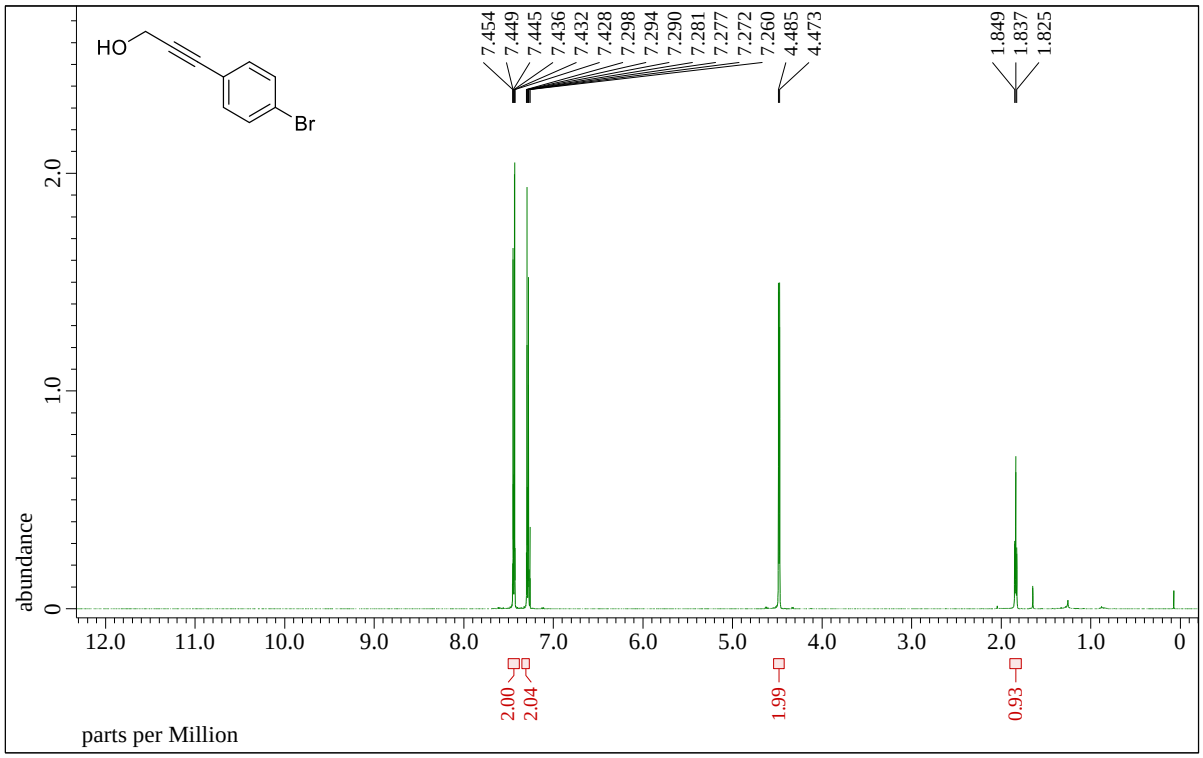


Figure S5. ^{1}H NMR spectrum of **II** (500 MHz, $CDCl_3$)

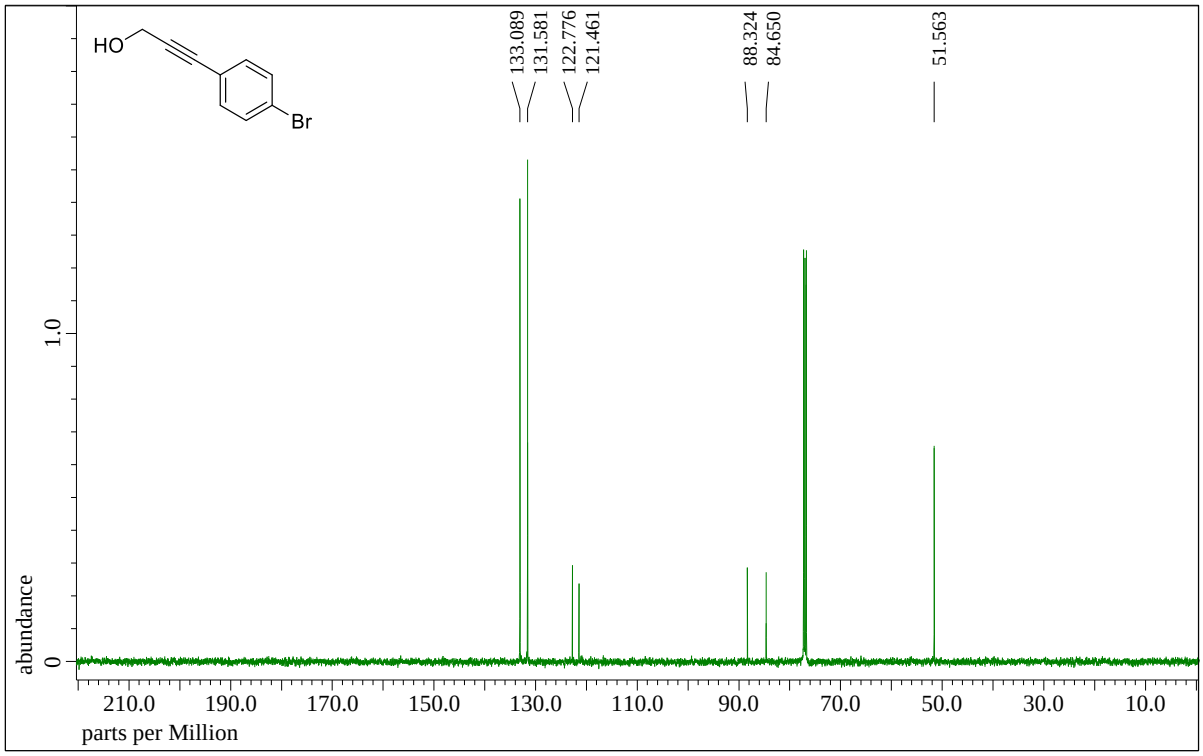


Figure S6. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **II** (126 MHz, $CDCl_3$)

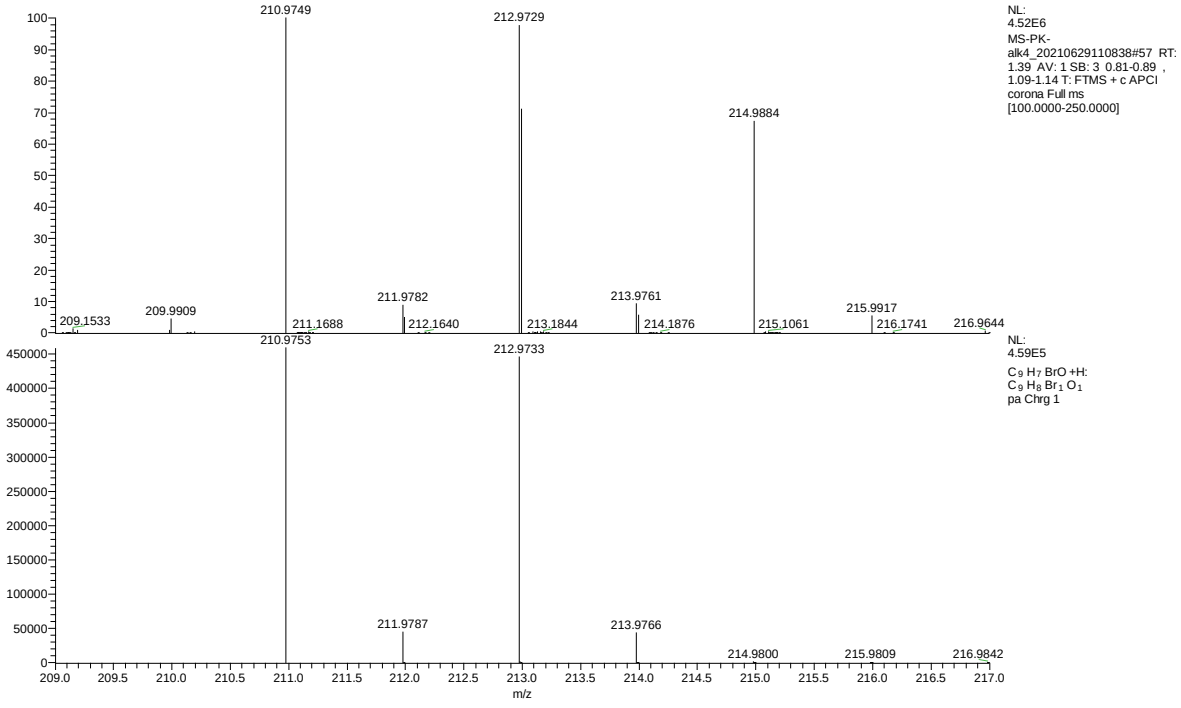


Figure S7. HRMS spectrum of **II**

7.1.3 3-(4-fluorophenyl)prop-2-yn-1-ol III

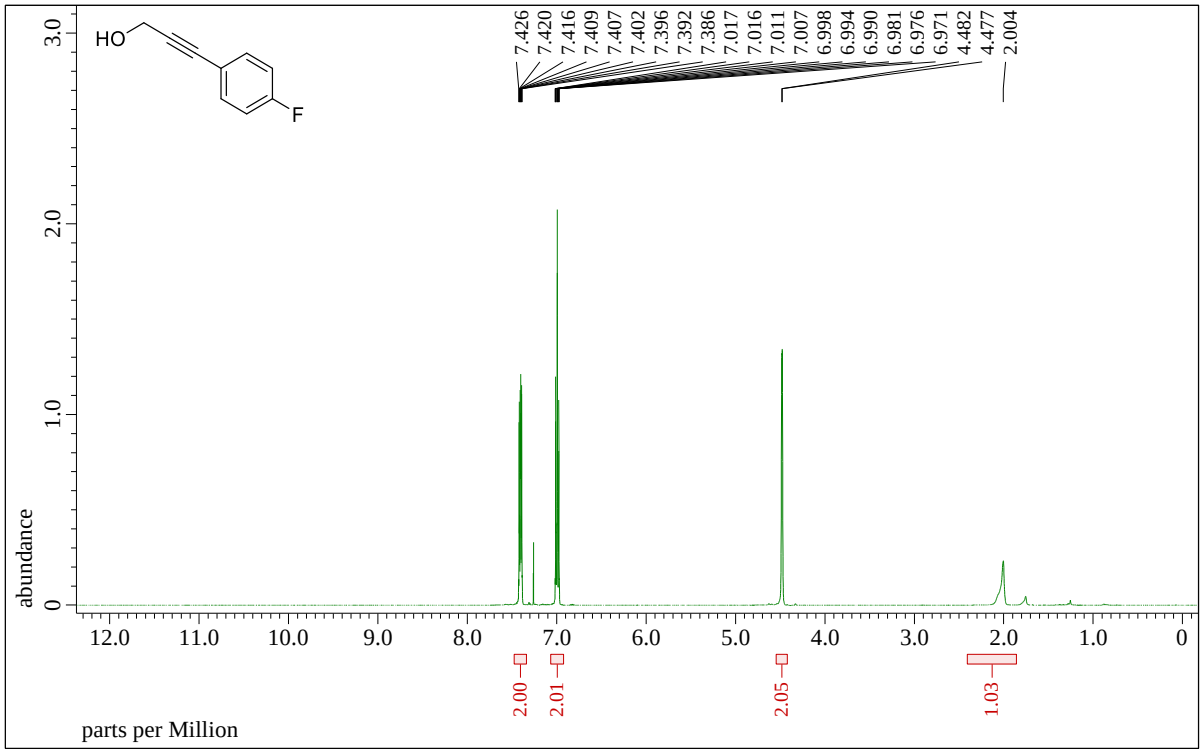


Figure S8. ^{1}H NMR spectrum of **III** (500 MHz, $CDCl_3$)

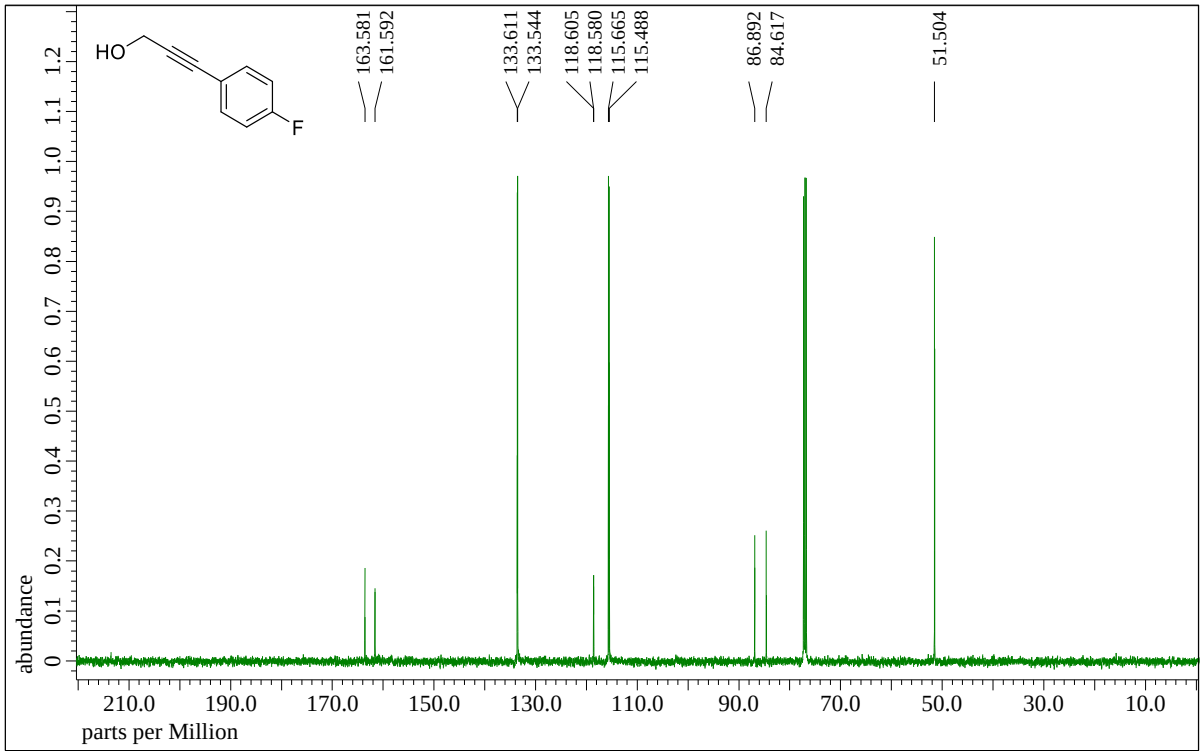


Figure S9. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **III** (126 MHz, $CDCl_3$)

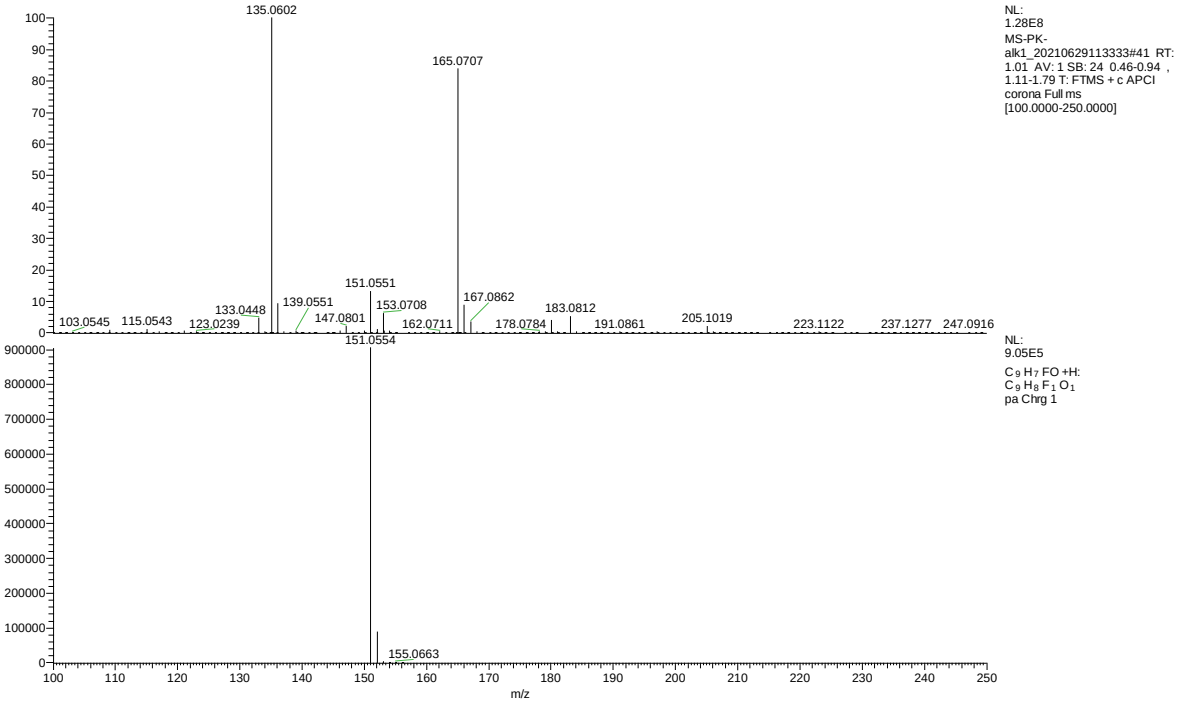


Figure S10. HRMS spectrum of **III**

7.1.4 3-(3-fluorophenyl)prop-2-yn-1-ol IV

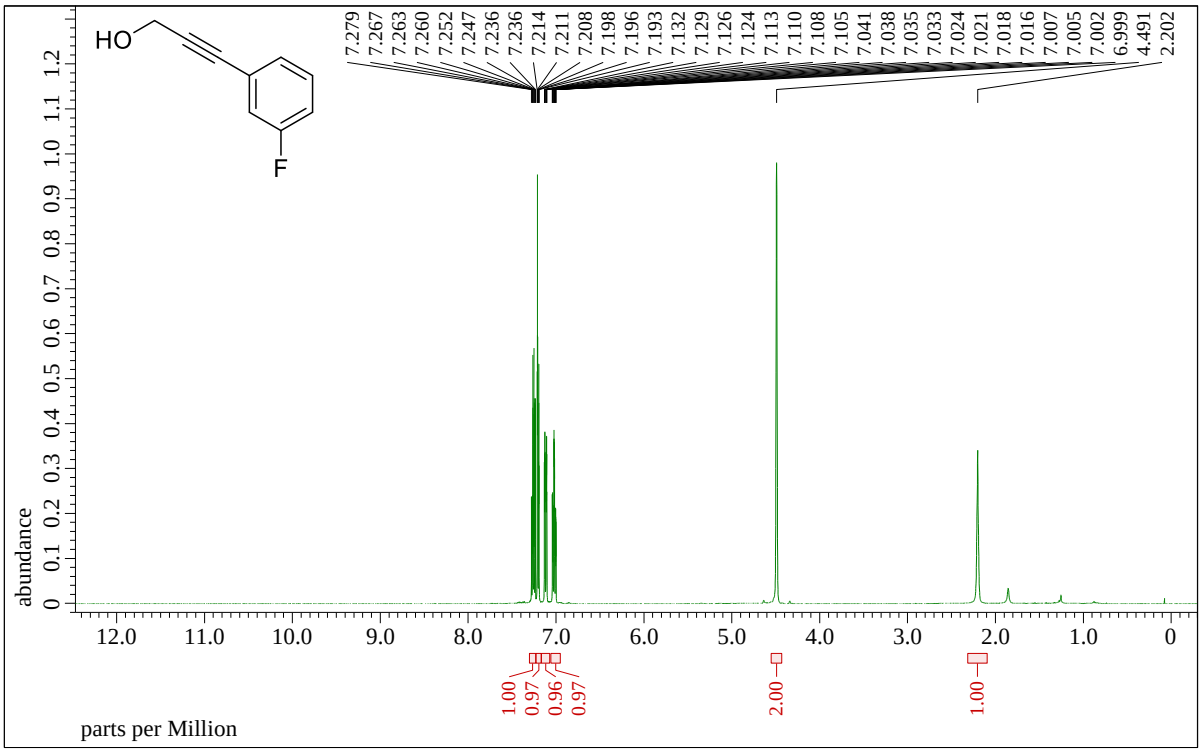


Figure S11. ^{1}H NMR spectrum of **IV** (500 MHz, $CDCl_3$)

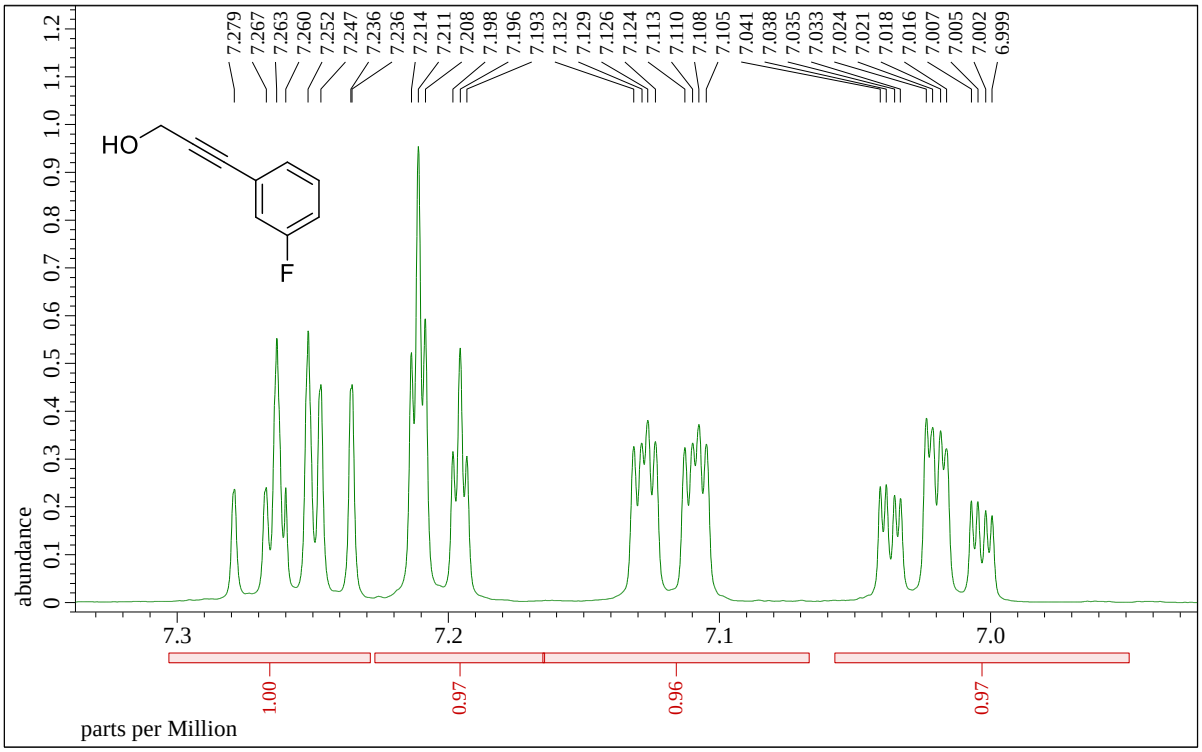


Figure S12. Detailed ^{1}H NMR spectrum of **IV** – aromatic area (500 MHz, $CDCl_3$)

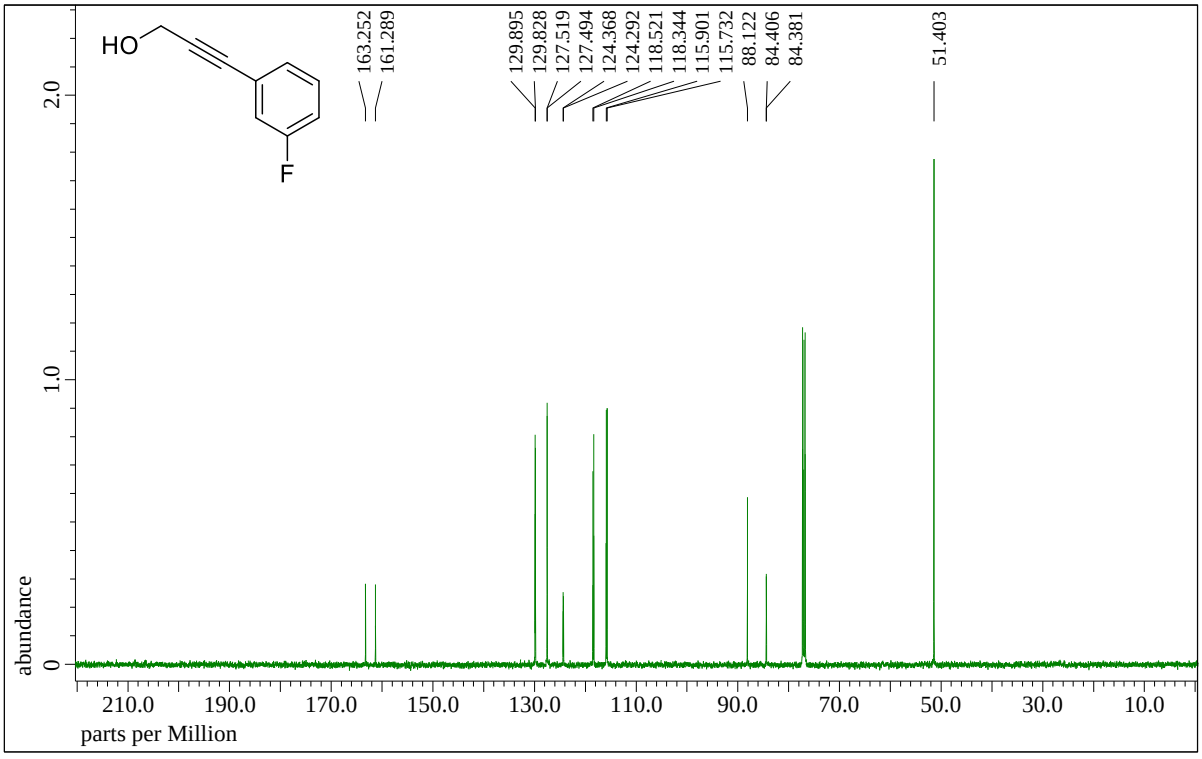


Figure S13. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **IV** (126 MHz, $CDCl_3$)

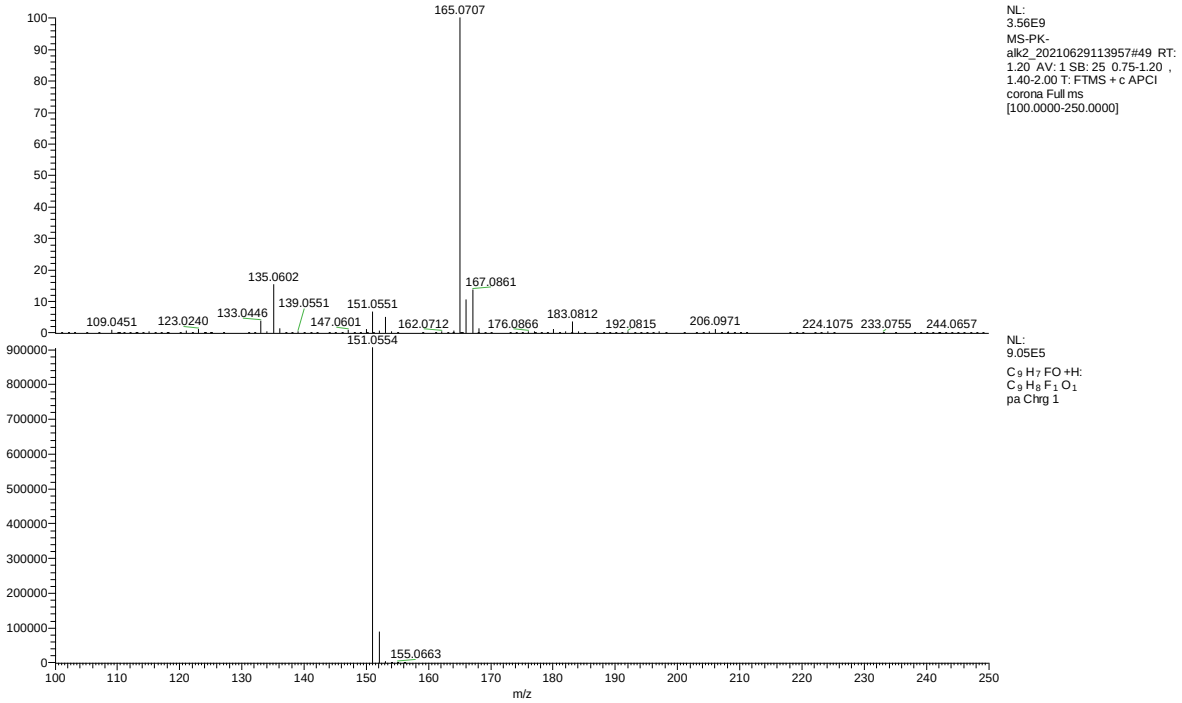


Figure S14. HRMS spectrum of **IV**

7.1.5 3-(2-fluorophenyl)prop-2-yn-1-ol V

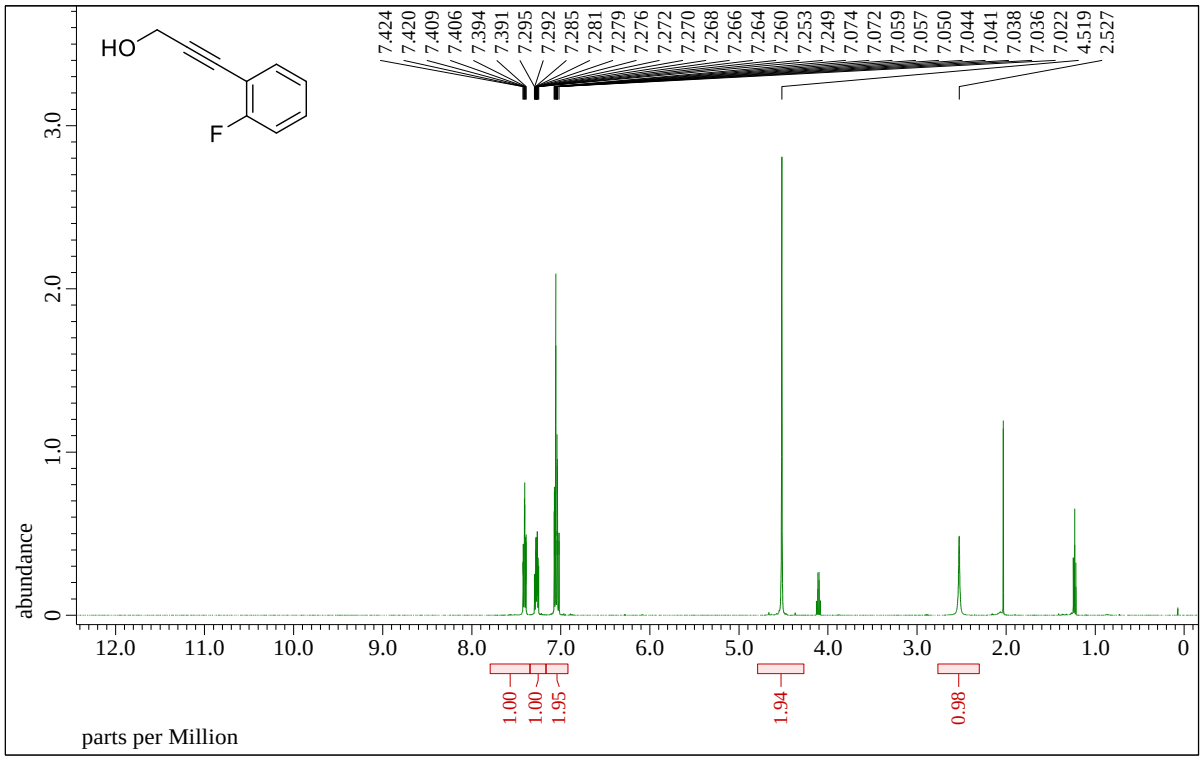


Figure S15. ^{1}H NMR spectrum of **V** (500 MHz, $CDCl_3$). Note: Residual signals of EtOAc at 1.23 ppm (t), 2.03 ppm (s) and 4.11 ppm (q).

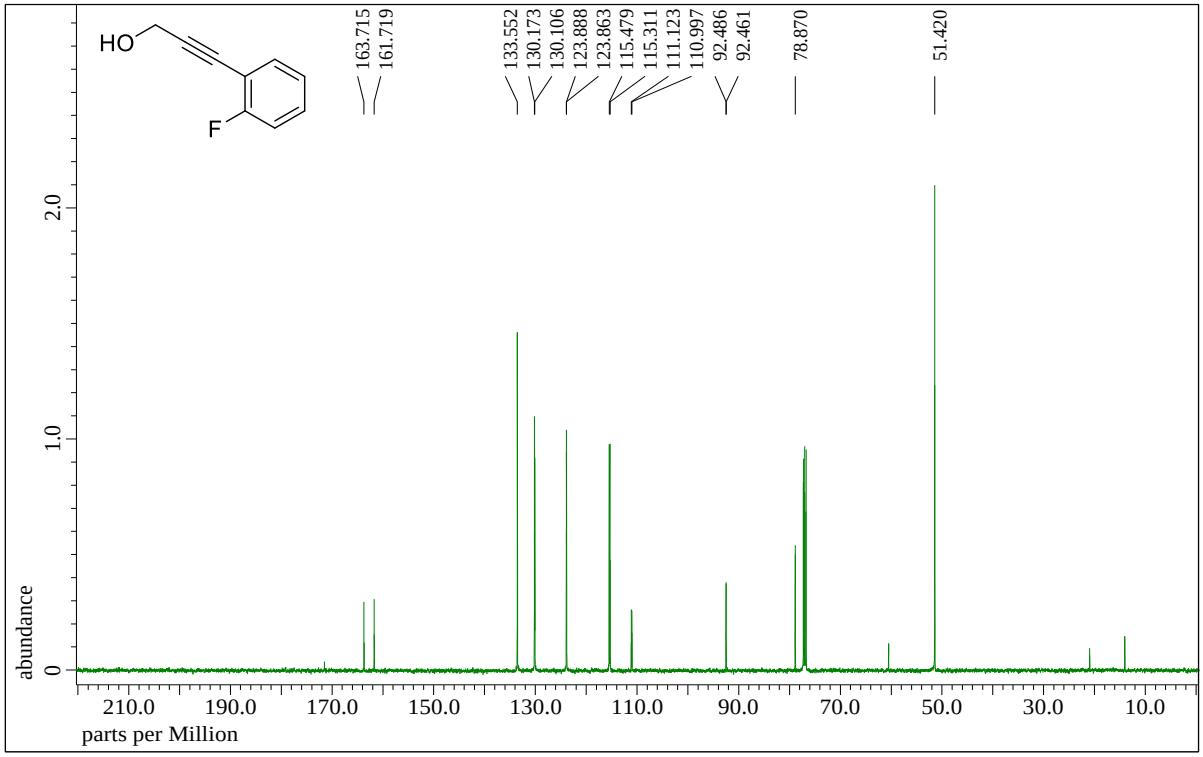


Figure S16. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **V** (126 MHz, $CDCl_3$). Note: Residual signals of EtOAc at 20.9, 60.5 and 171.5 ppm, and *n*-hexane at 14.0 ppm.

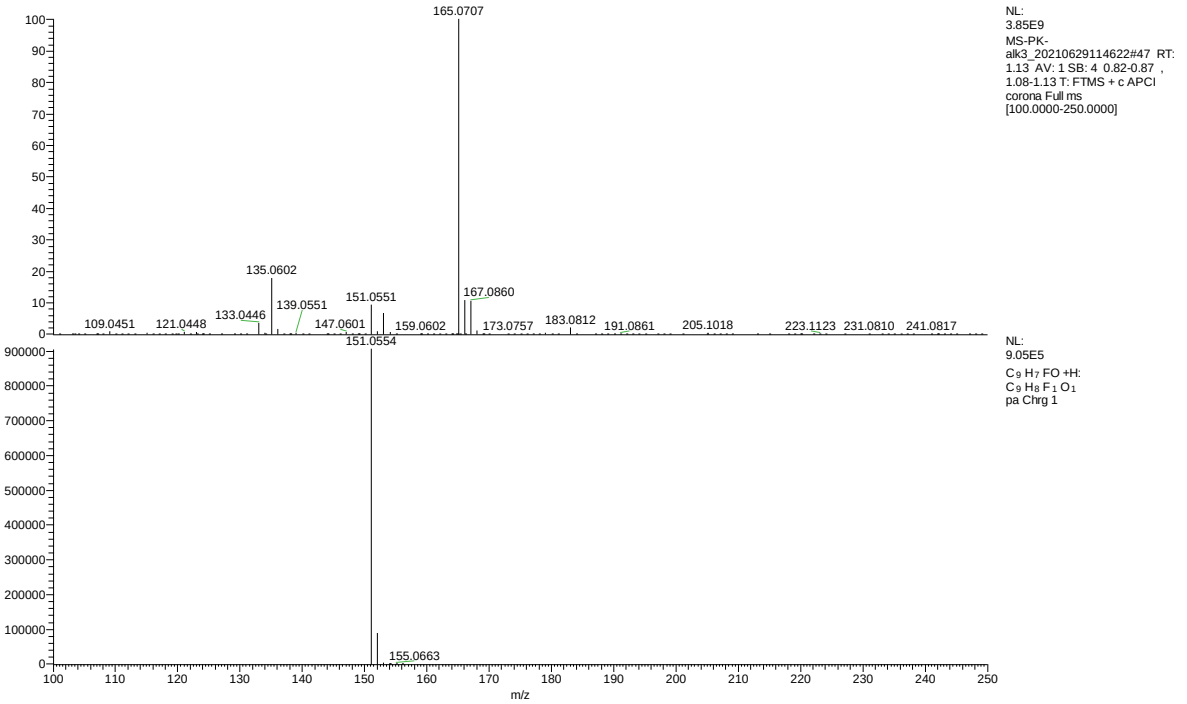


Figure S17. HRMS spectrum of **V**

7.1.6 4-phenylbut-3-yn-1-ol VI

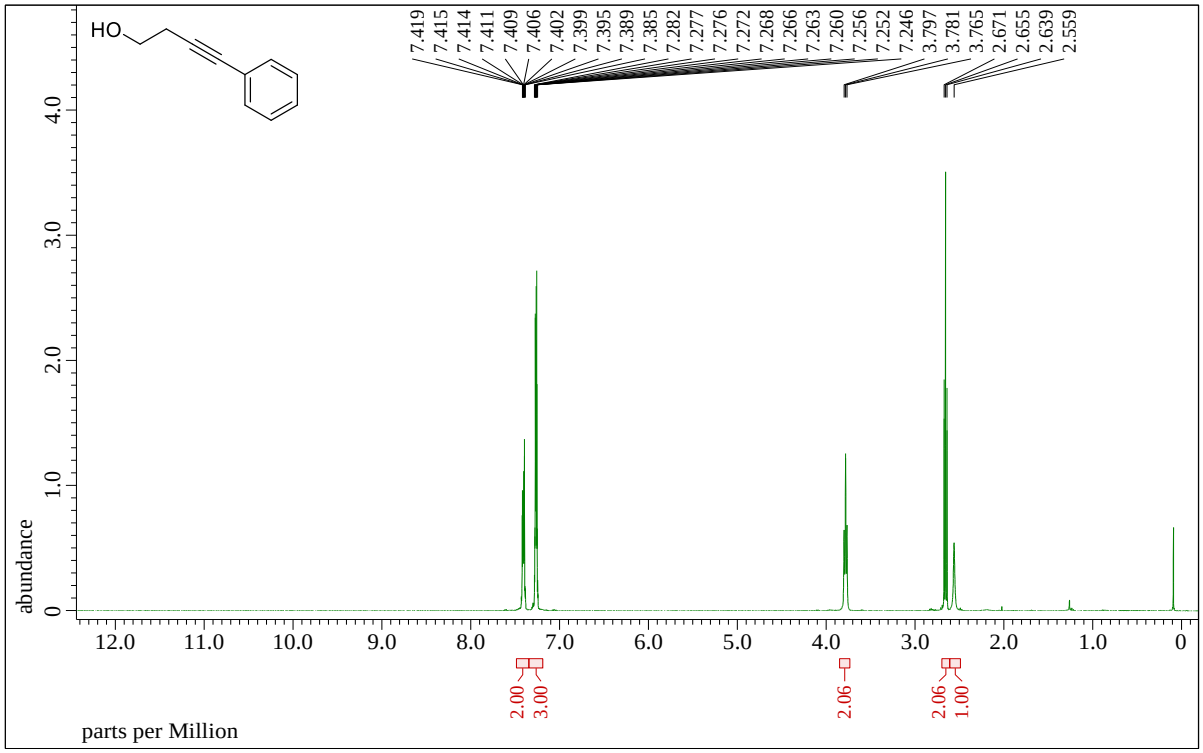


Figure S18. ^{1}H NMR spectrum of **VI** (500 MHz, $CDCl_3$)

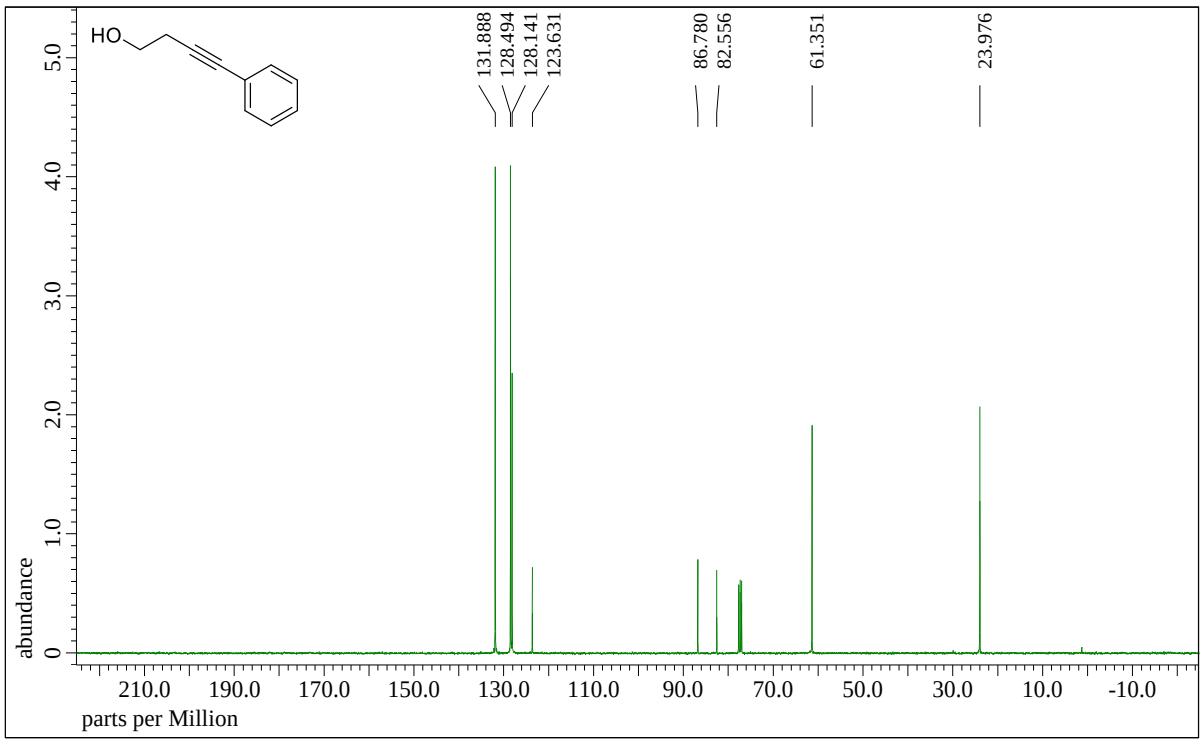


Figure S19. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **VI** (126 MHz, $CDCl_3$)

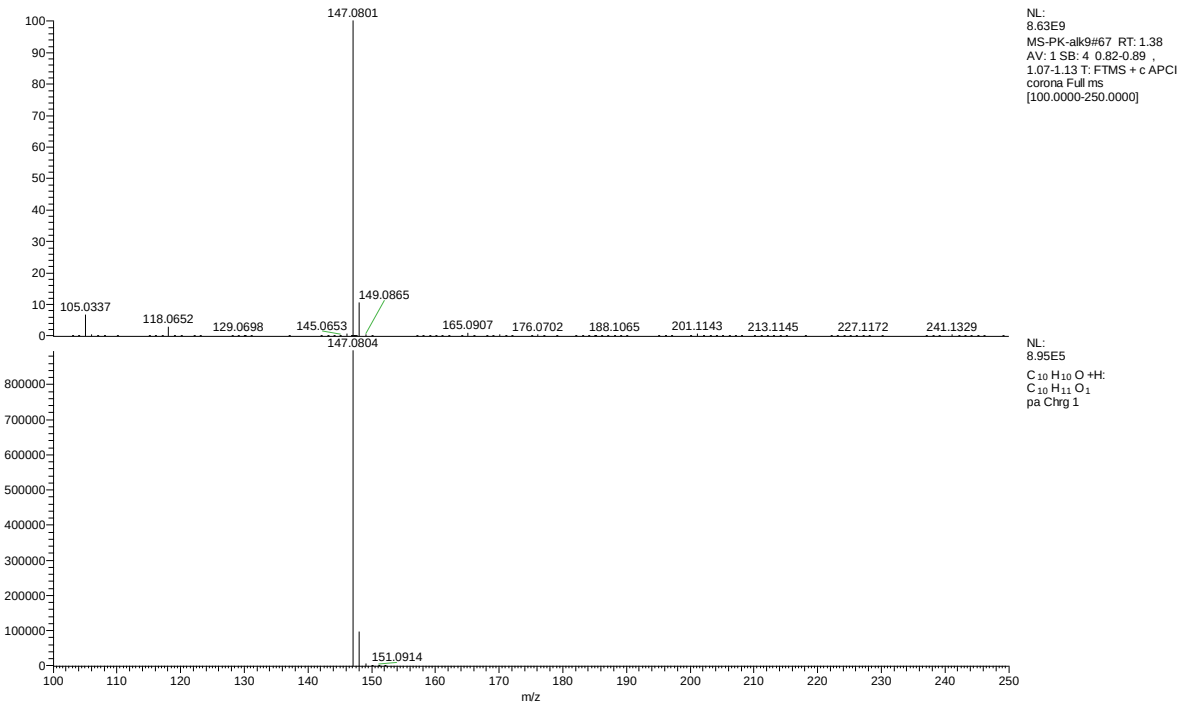


Figure S20. HRMS spectrum of **VI**

7.1.7 4-(p-tolyl)but-3-yn-1-ol VII

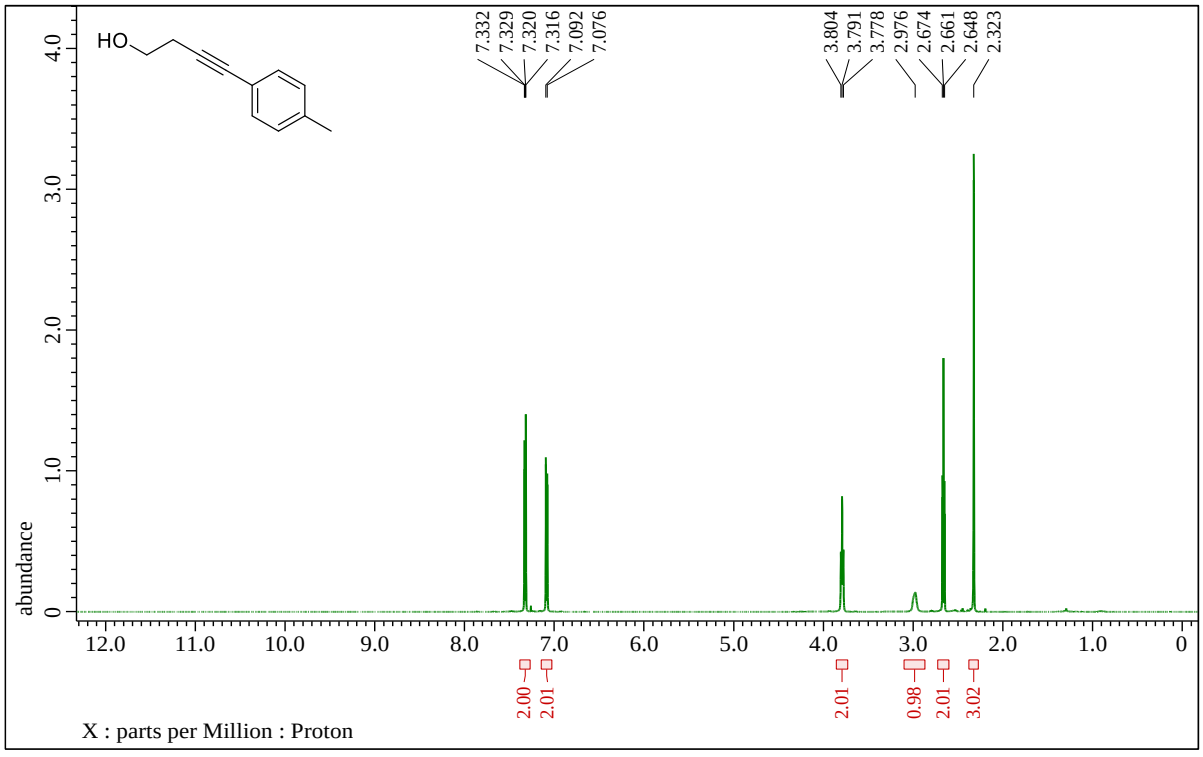


Figure S21. ^{1}H NMR spectrum of **VII** (500 MHz, $CDCl_3$)

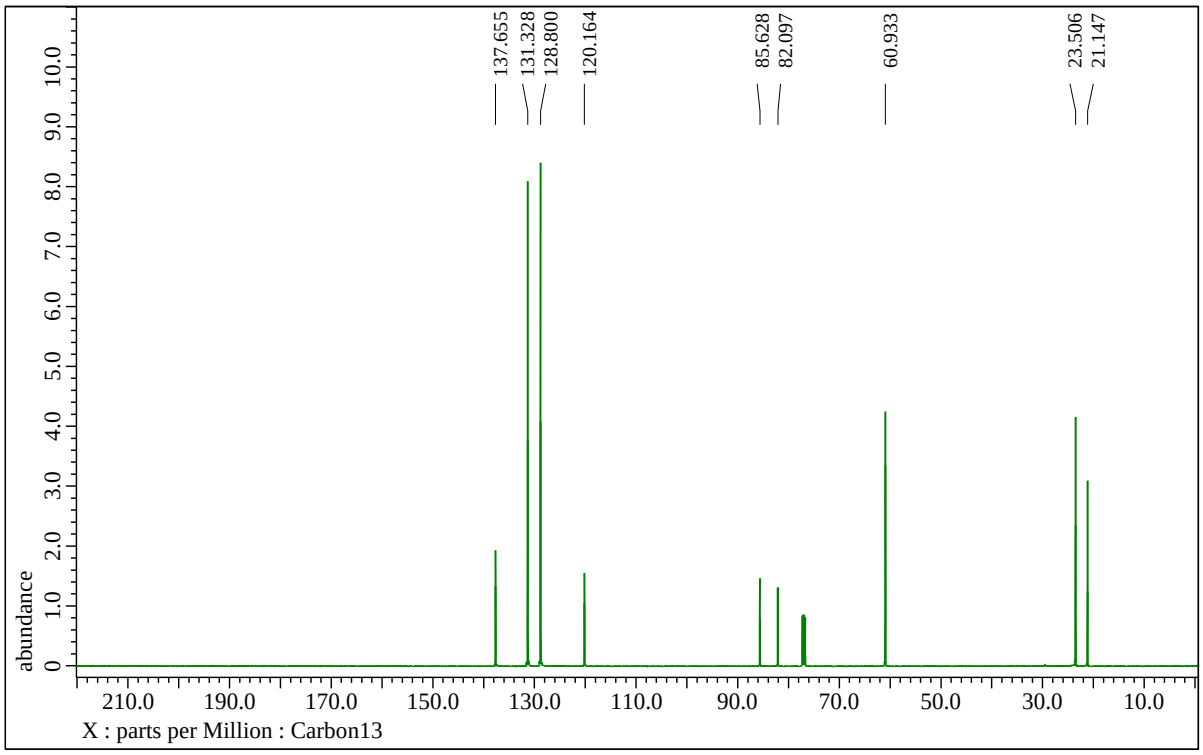


Figure S22. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **VII** (126 MHz, $CDCl_3$)

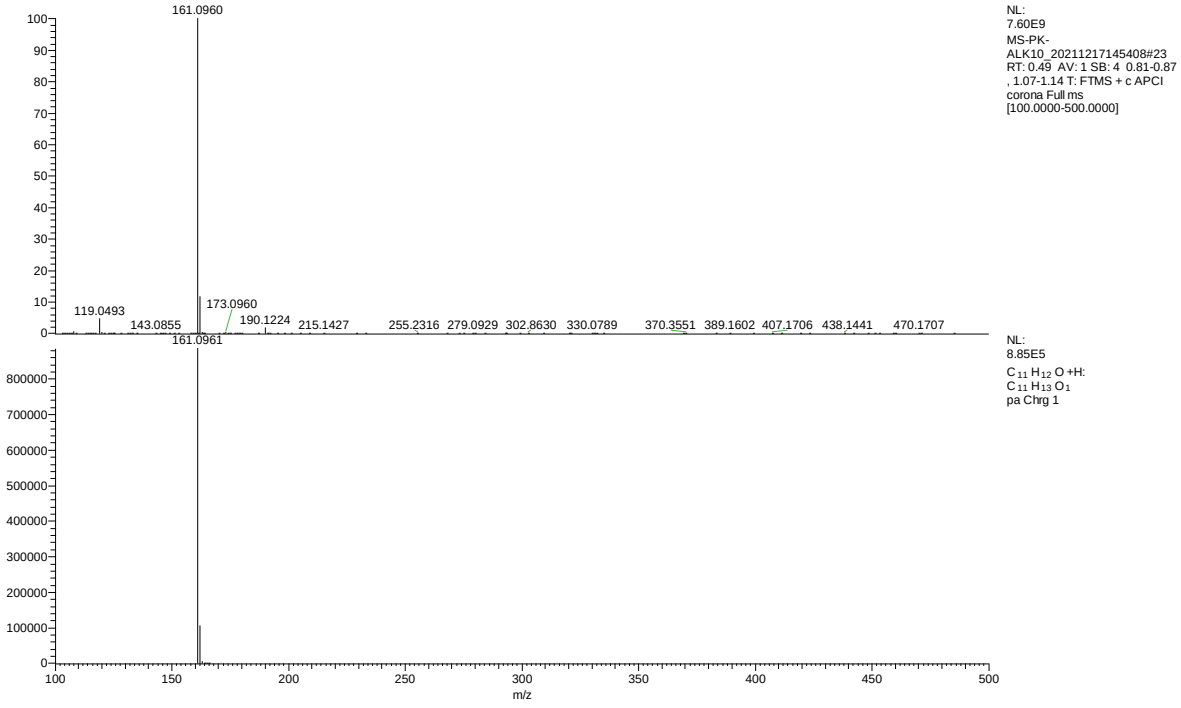


Figure S23. HRMS spectrum of **VII**

7.1.8 4-(4-(trifluoromethyl)phenyl)but-3-yn-1-ol VIII

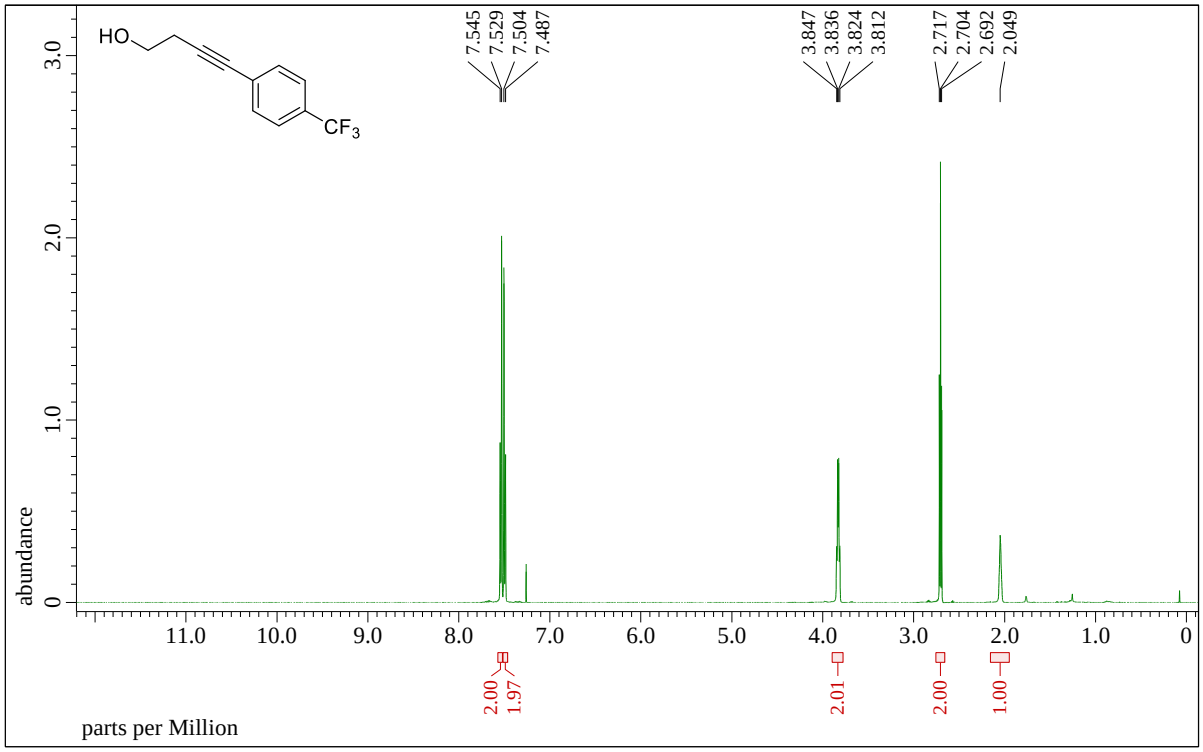


Figure S24. ^{1}H NMR spectrum of **VIII** (500 MHz, $CDCl_3$)

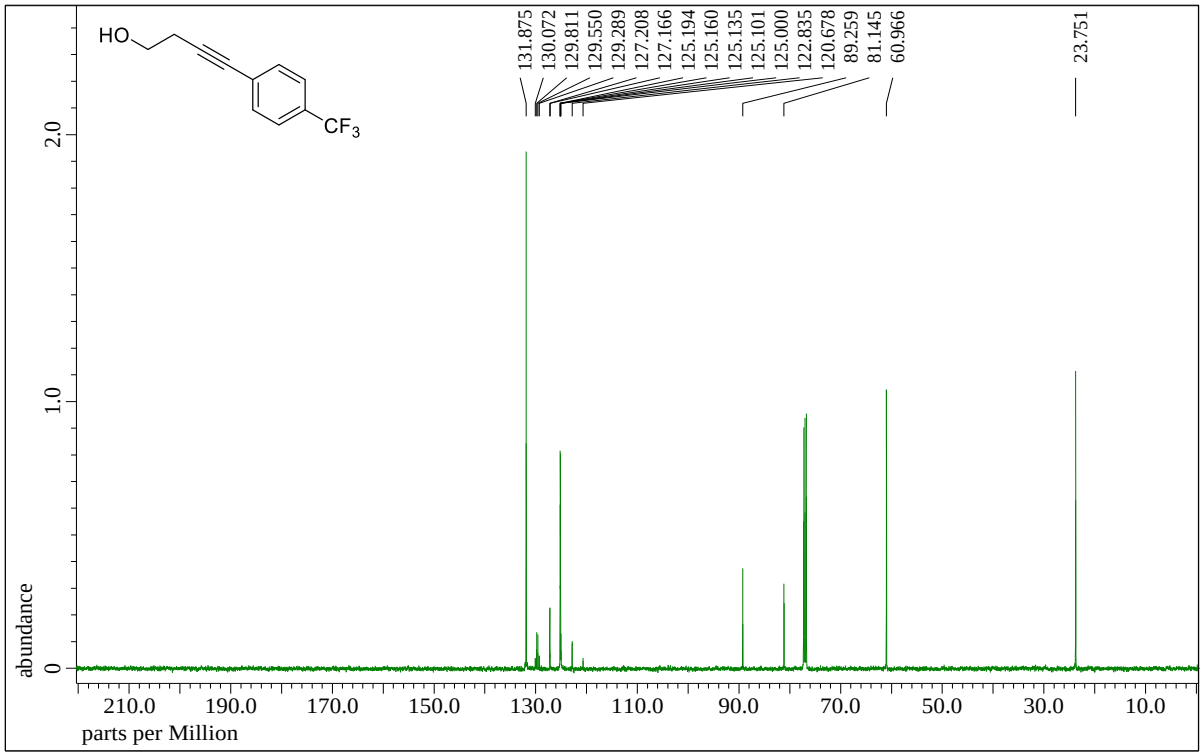


Figure S25. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **VIII** (126 MHz, $CDCl_3$)

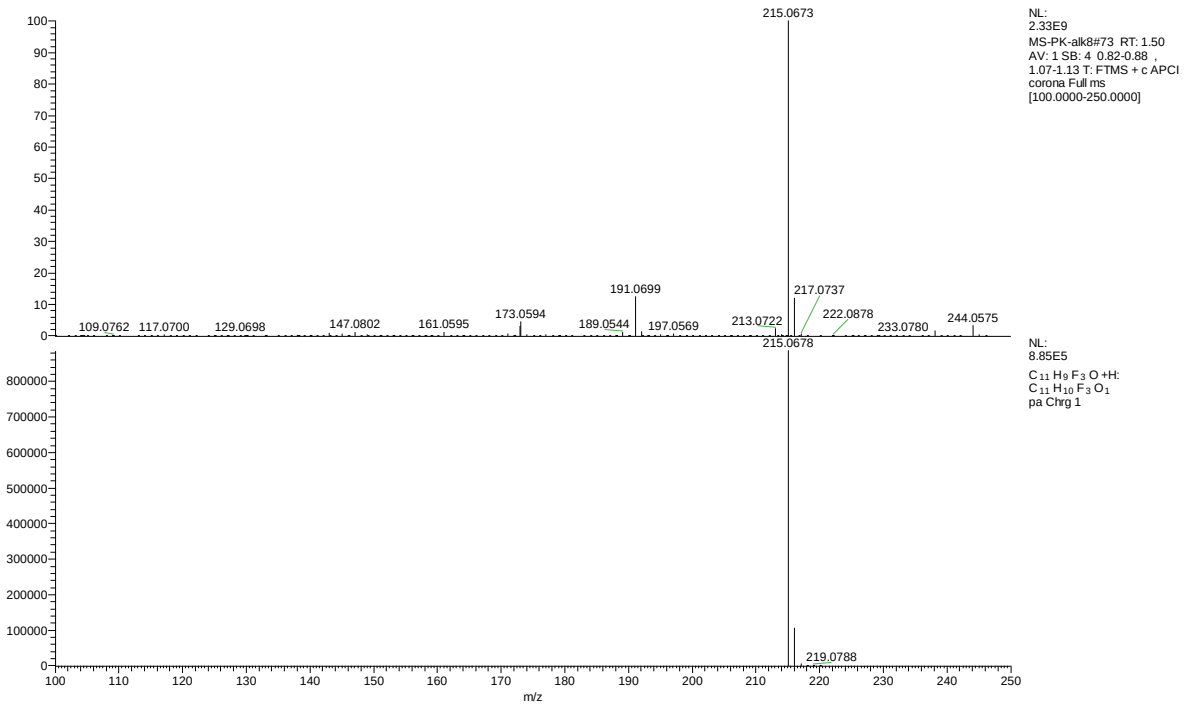


Figure S26. HRMS spectrum of **VIII**

7.2 NMR a HRMS spektra finálních sloučenin

7.2.1 (3a*R*,8*S*,9a*R*,9b*S*)-7-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,3-dioxo-2-phenyl-5-(4-(trifluoromethyl) phenyl)-2,3,3a,4,6,7,8,9,9a,9b-decahydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*f*]isoquinoline-8-carboxylic acid 5a-I

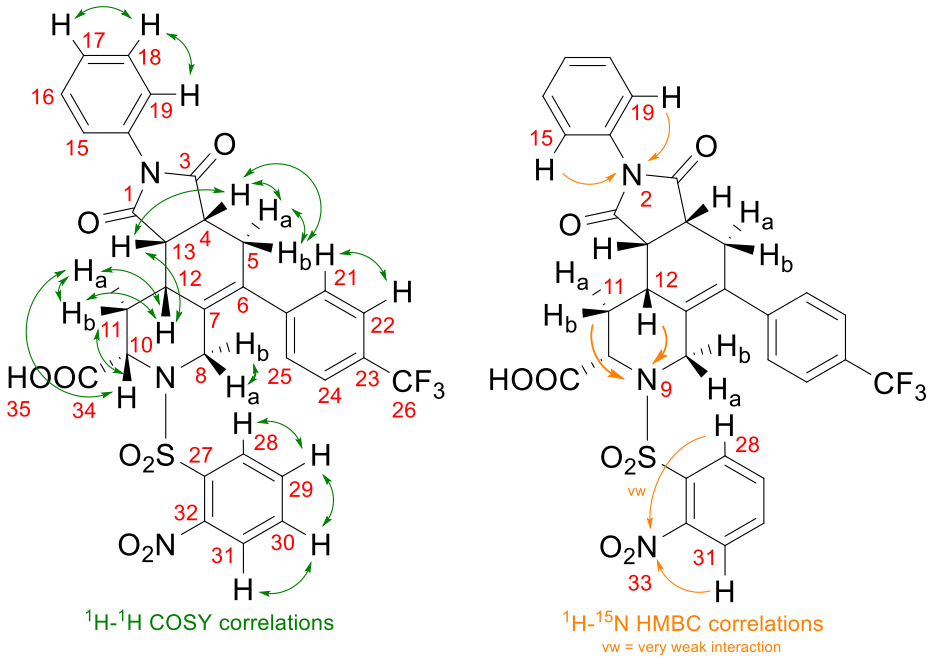


Figure S27. Detailed COSY and ^{1}H-^{15}N HMBC NMR analysis of isoquinoline **5a-I**

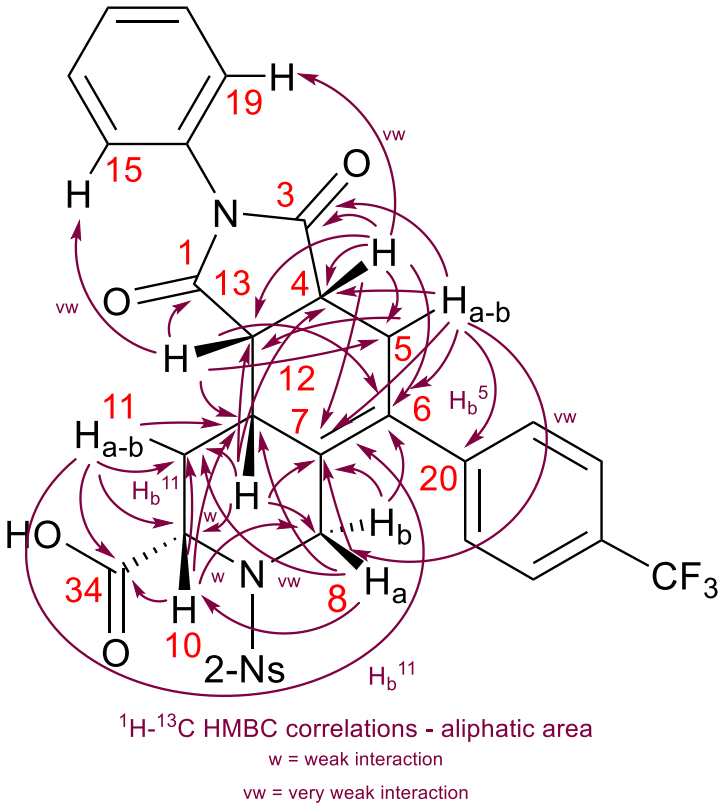


Figure S28. Detailed ^{1}H-^{13}C HMBC NMR analysis (aliphatic area) of isoquinoline **5a-I**

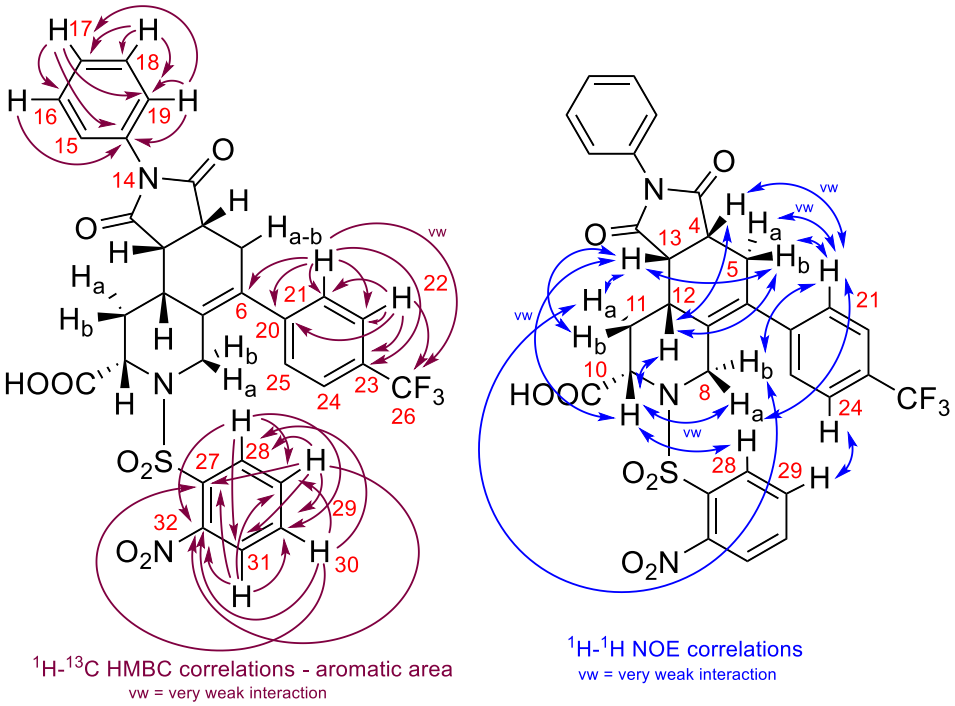
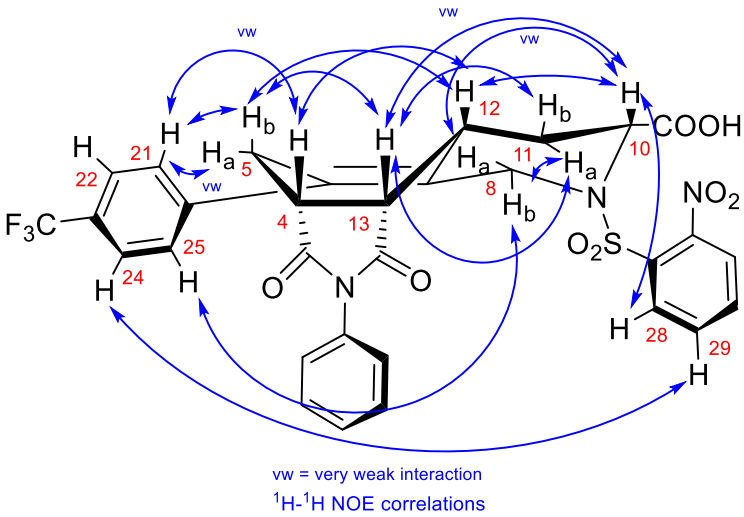


Figure S29. Detailed ^{1}H-^{13}C HMBC (aromatic area) and ^{1}H-^{1}H NOE NMR analysis of isoquinoline **5a-I**


vw
vw
vw
vw
H
H
H

14	-	-	132.2	-	-	-	-	-
15,19	7.12-7.17	m, 2H	127.1	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C17	N2	-
16,18	7.41-7.48	m, 2H	128.9	-	$H^{15,19}$, H^{17}	C14, C15,19, C16,18, C17	-	-
17	7.35-7.41	m, 1H	128.4	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C16,18	-	-
20	-	-	142.6	-	-	-	-	-
21,25	7.07-7.12	br. d, *J* = 8.0 Hz, 2H	128.2	-	$H^{22,24}$	C6, C20, C21,25, C22,24, C23, C26 (very low int.)	-	H^4 (very low int.), H_a^5 (very low int.), H_a^8, H_b^8,
22,24	7.67	br. d, *J* = 8.0 Hz, 2H	125.1, *J* = 3.2 Hz	-	$H^{21,25}$	C20, C21,25, C22,24, C23, C26	-	H^{29}
23	-	-	127.8, *J* = 31.9 Hz	-	-	-	-	-
26	-	-	124.2, *J* = 271.8 Hz	-	-	-	-	-
27	-	-	131.1	-	-	-	-	-
28	7.62	dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H	129.4	-	H^{29}	C28, C29, C30, C31, C32	N33 (very low int.)	H^{10}
29	7.71	ddd, *J* = 8.4, 7.4, 1.2 Hz, 1H	131.8	-	H^{28}, H^{30}	C27, C28, C30, C31, C32	-	$H^{22,24}$
30	7.85	ddd, *J* = 7.9, 7.3, 1.0 Hz, 1H	124.0	-	H^{29}, H^{31}	C28, C29, C30, C32	-	-
31	7.79	dd, *J* = 7.9, 1.0 Hz, 1H	134.5	-	H^{30}	C27, C28, C29, C30, C31, C32	N33	-
32	-	-	147.5	-	-	-	-	-
33	-	-	-	373.0 (N33)	-	-	H^{28} (very low int.), H^{31}	-
34	-	-	172.9	-	-	-	-	-
35	13.13	br. s, 1H	-	-	-	-	-	-

[a]Assignments are based on extensive 1D and 2D NMR analysis (^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{13}C HMQC, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC and ^{1}H-^{1}H NOESY); measured in DMSO-d_6; correl. = correlations; int = interaction.

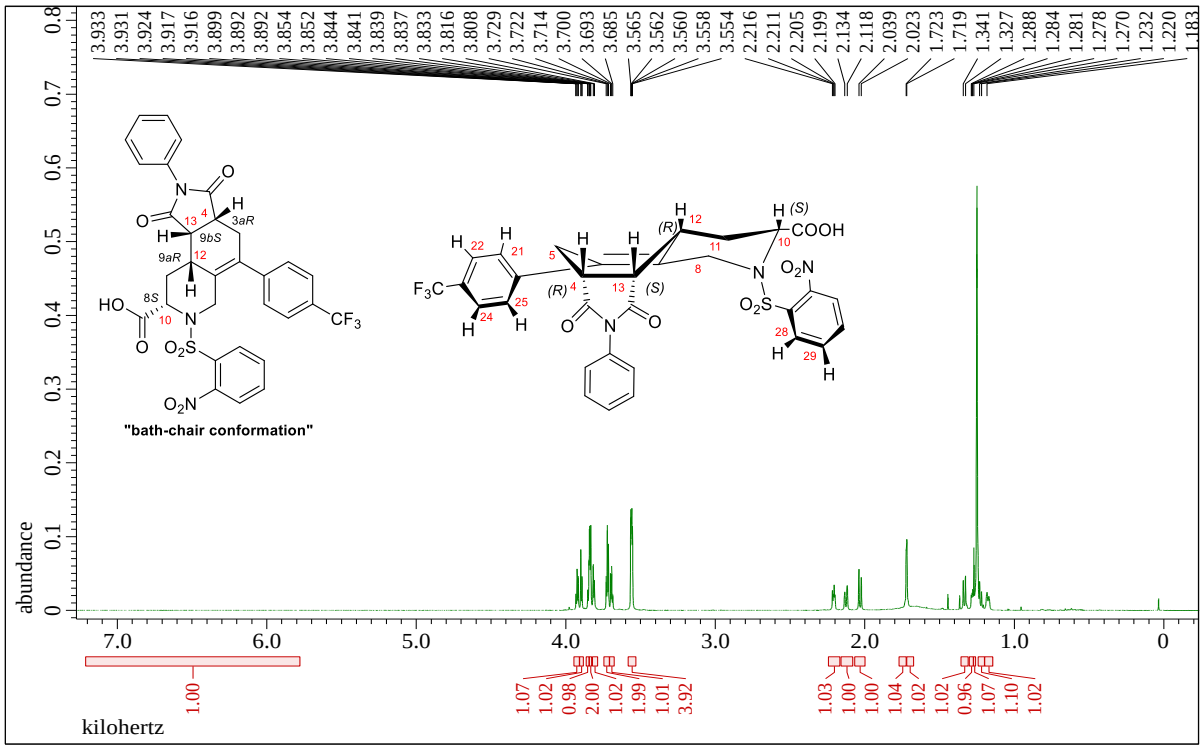


Figure S31. ^{1}H NMR spectrum of **5a-I** (500 MHz, DMSO-d_6)

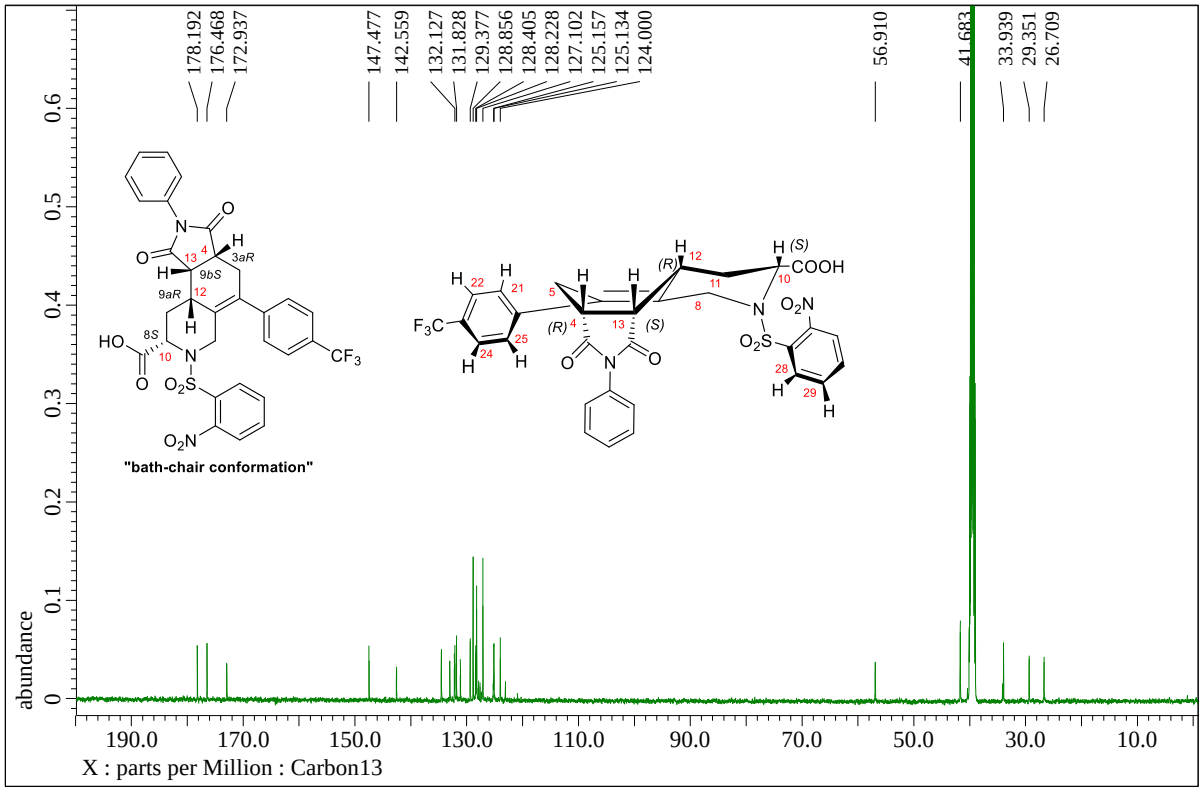


Figure S32. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **5a-I** (126 MHz, DMSO-d_6)

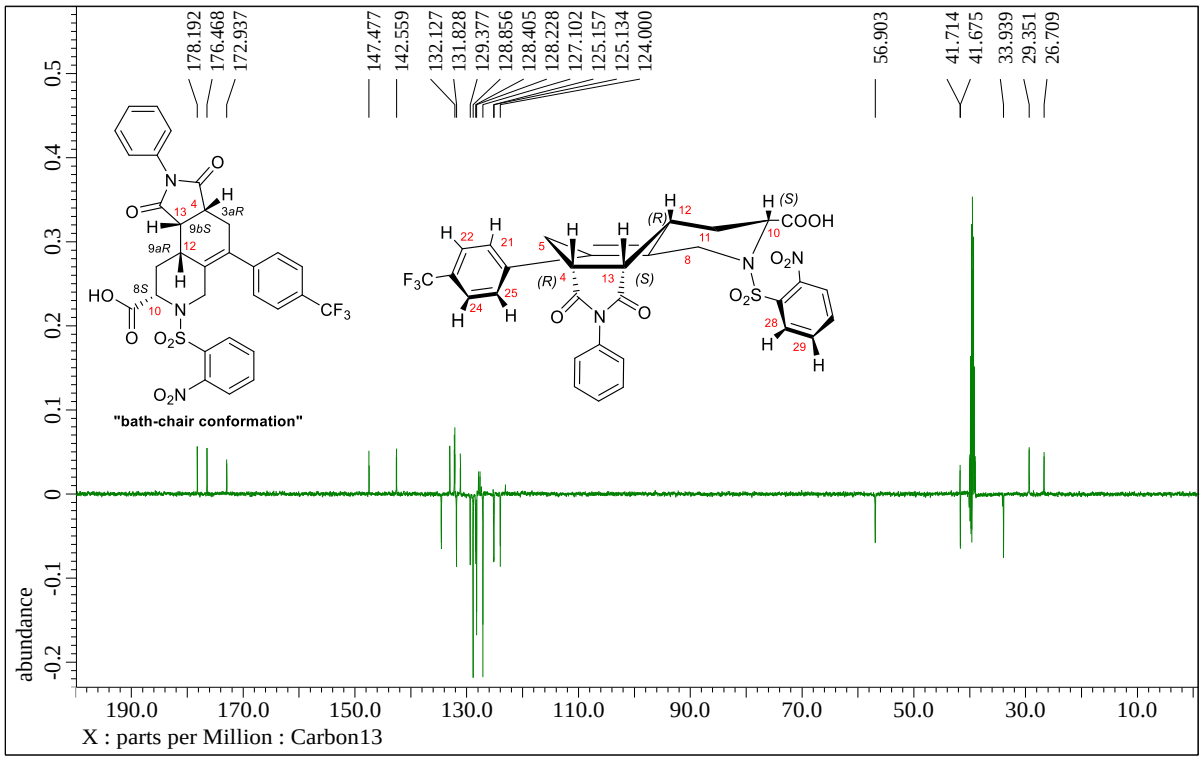


Figure S33. ^{13}C APT NMR spectrum of **5a-I** (126 MHz, DMSO-d_6)

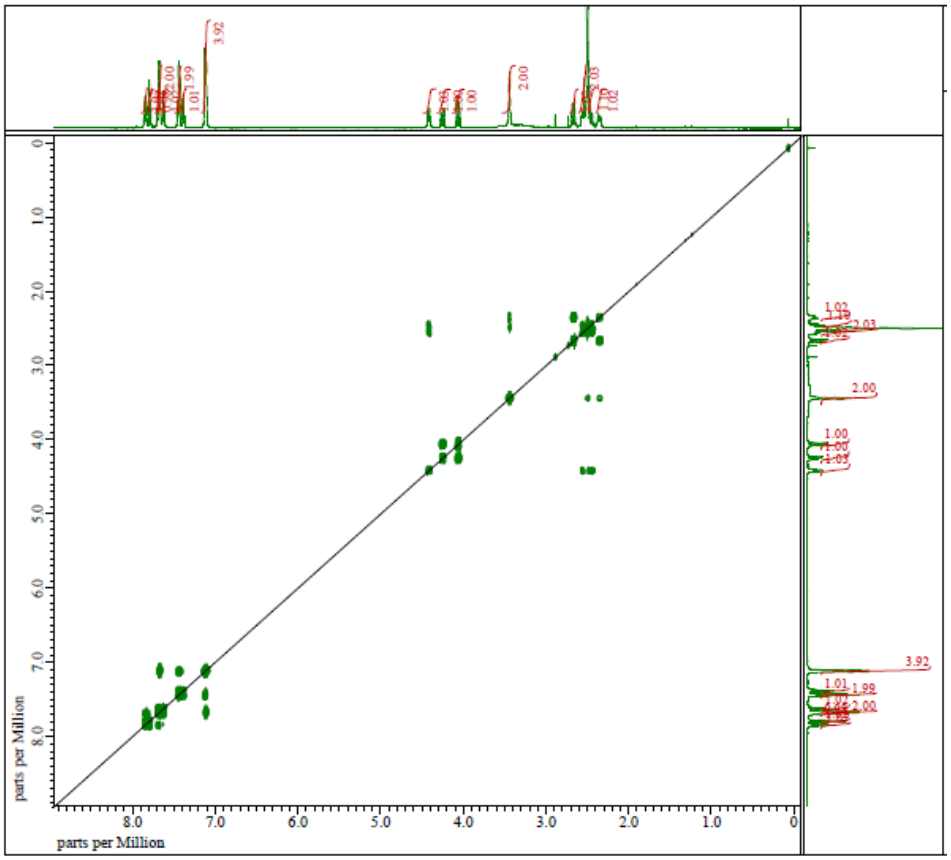


Figure S34. ^{1}H-^{1}H COSY NMR spectrum of **5a-I** (500 MHz, DMSO-d_6)

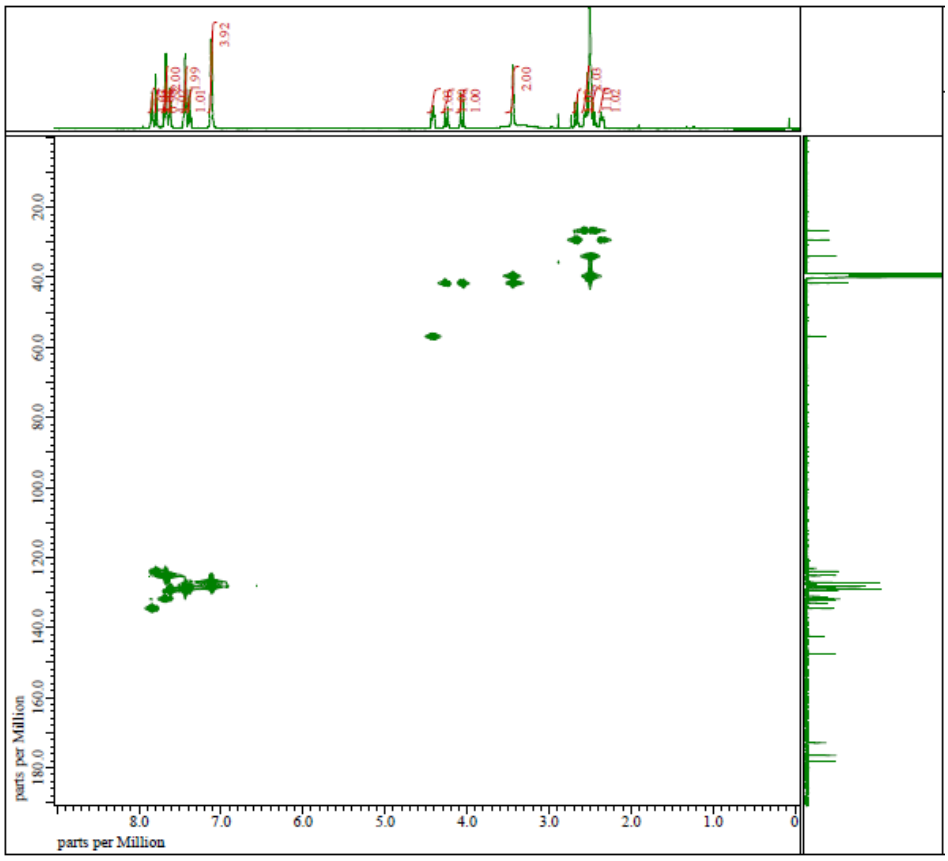


Figure S35. ^{1}H-^{13}C HMQC NMR spectrum of **5a-I** (DMSO-d_6)

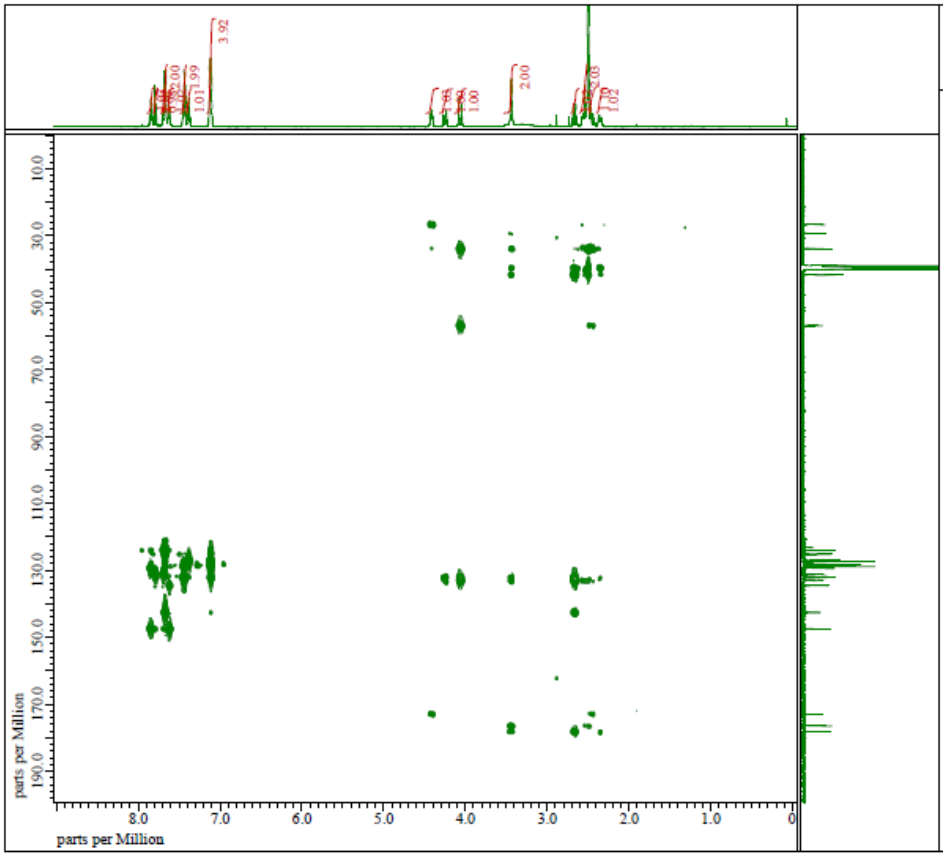


Figure S36. ^{1}H-^{13}C HMBC NMR spectrum of **5a-I** (DMSO-d_6)

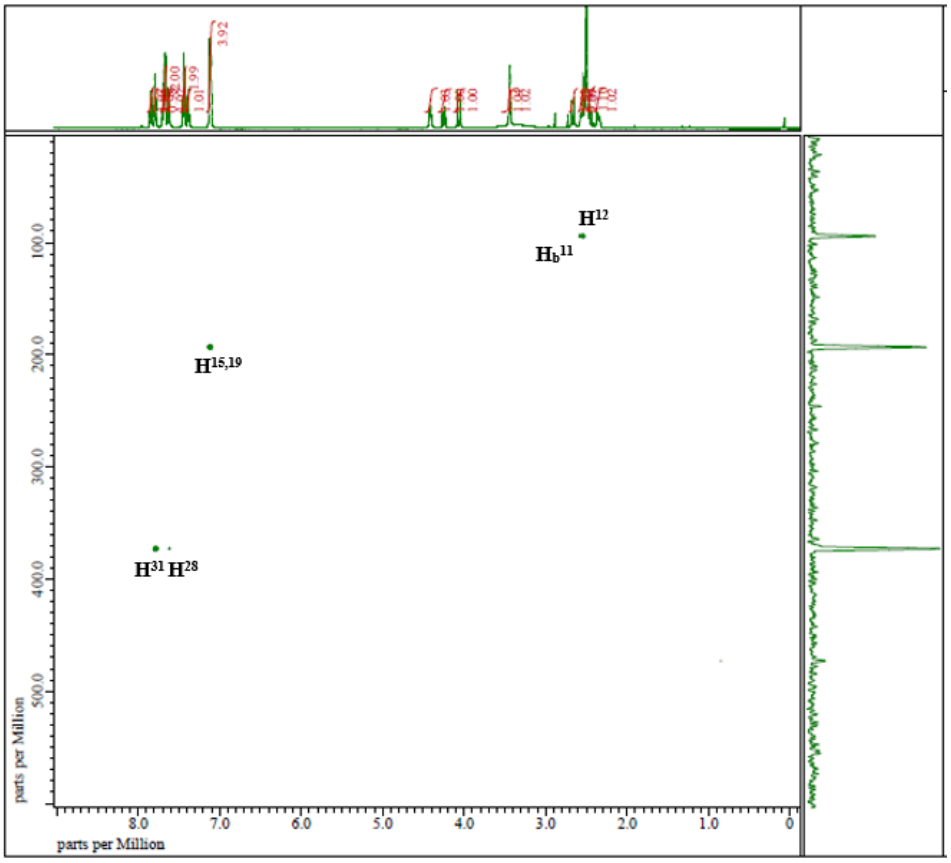


Figure S37. ^{1}H-^{15}N HMBC NMR spectrum of **5a-I** (DMSO-d_6)

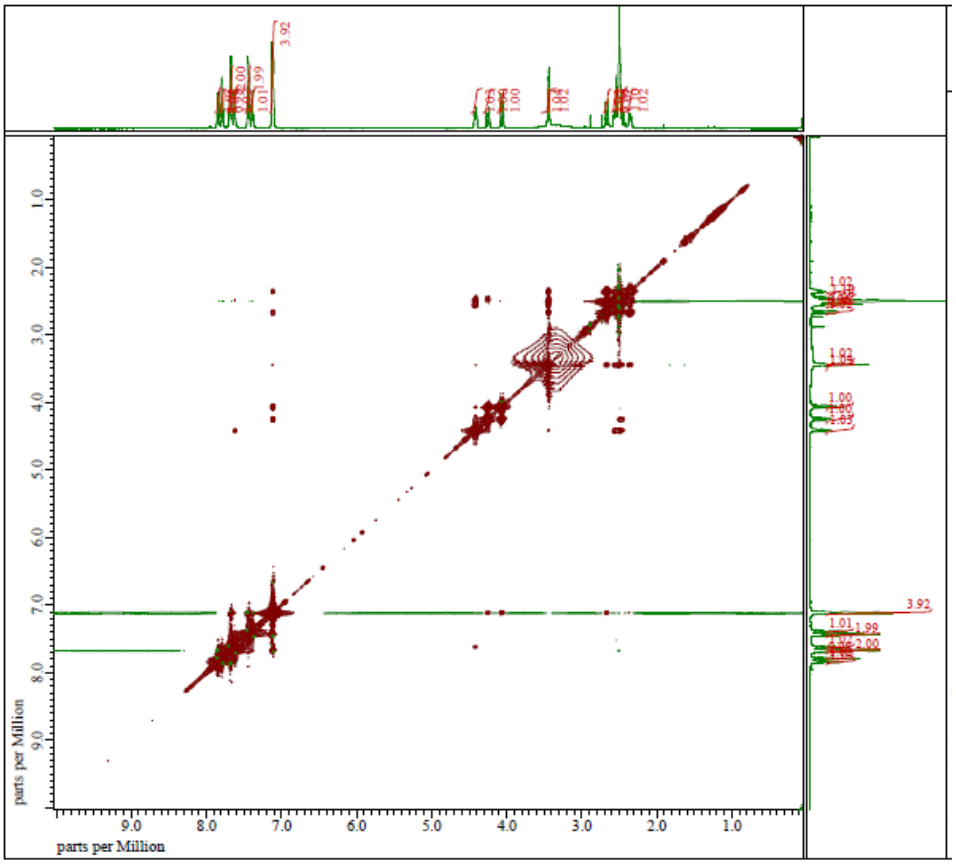


Figure S38. ^{1}H-^{1}H NOESY NMR spectrum of **5a-I** (DMSO-d_6)

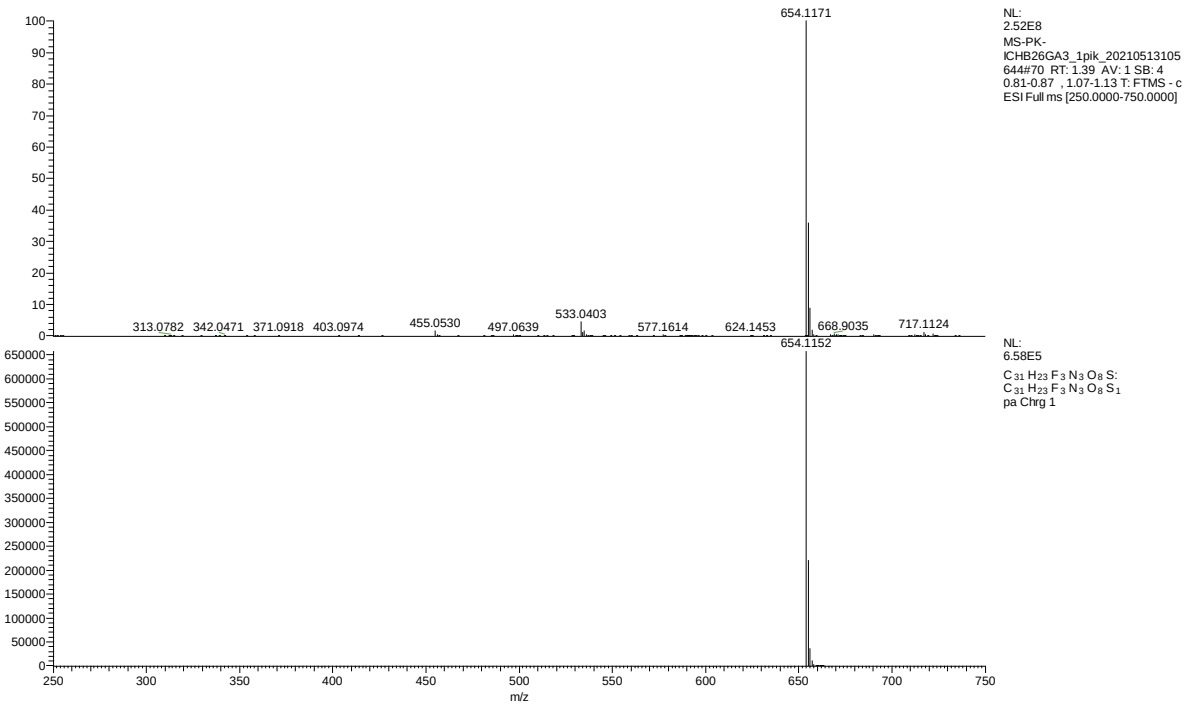


Figure S39. HRMS spectrum of **5a-I**

7.2.2 (3a*S*,8*S*,9a*R*,9*bR*)-7-((2-nitrophenyl)sulfonyl)-1,3-dioxo-2-phenyl-5-(4-(trifluoromethyl) phenyl)-2,3,3a,4,6,7,8,9,9a,9b-decahydro-1*H*-pyrrolo[3,4-*f*]isoquinoline-8-carboxylic acid 5a-II

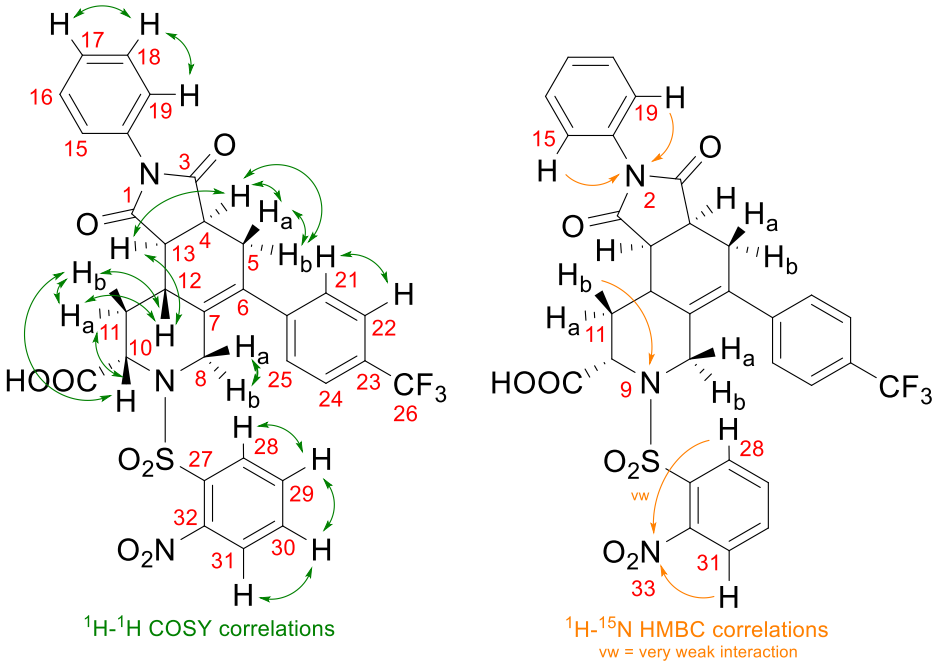


Figure S40. Detailed COSY and ^{1}H-^{15}N HMBC NMR analysis of isoquinoline **5a-II**

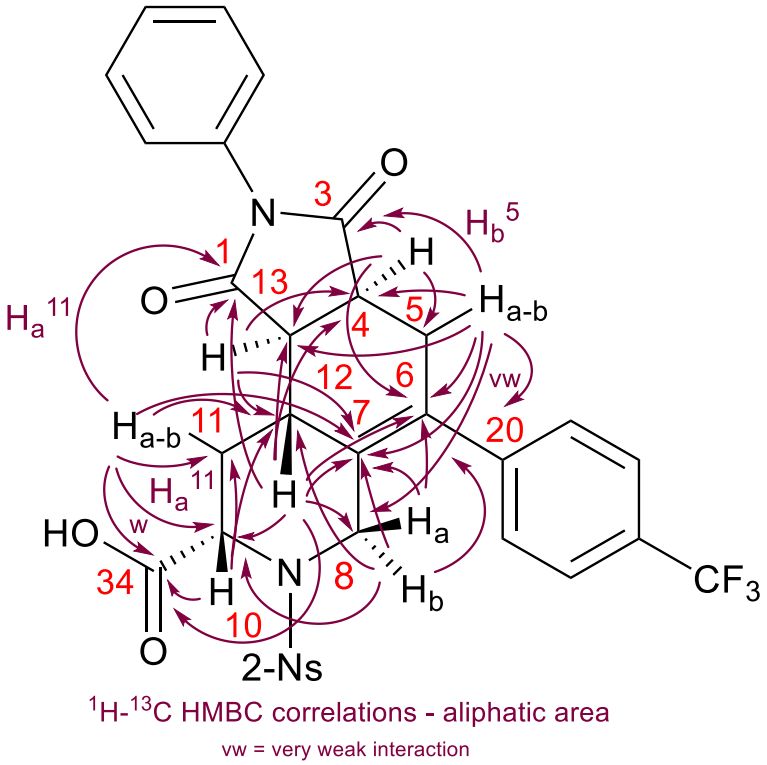


Figure S41. Detailed ^{1}H-^{13}C HMBC NMR analysis (aliphatic area) of isoquinoline **5a-II**

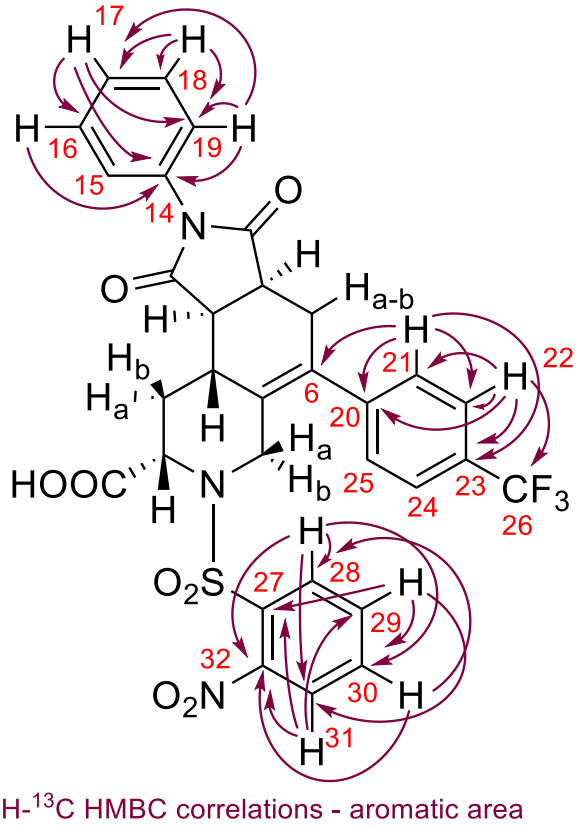


Figure S42. Detailed ^{1}H-^{13}C HMBC NMR analysis (aromatic area) of isoquinoline **5a-II**

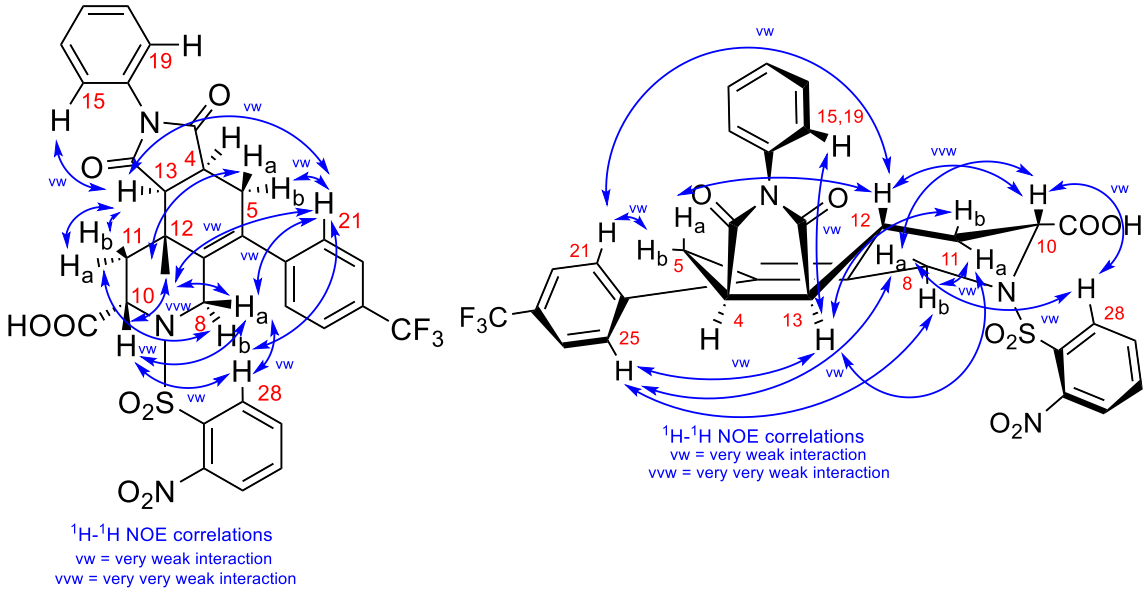


Figure S43. Detailed ^{1}H-^{1}H NOE NMR analysis of isoquinoline **5a-II**

Table S2. ^{1}H NMR (500 MHz) and ^{13}C{^{1}H} NMR (126 MHz) spectral data, including detailed COSY, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC and NOE correlations for isoquinoline **5a-II**

pos.	^{1}H NMR δ_H [ppm][b]	splitting pattern, J [Hz], integration	^{13}C{^{1}H} NMR δ_C [ppm], $^{4}J_{C\text{-}F}$ [Hz]	^{15}N NMR δ_N [ppm]	COSY correl.	^{1}H-^{13}C HMBC correl.	^{1}H-^{15}N HMBC correl.	NOE correl.
1	-	-	176.8	-	-	-	-	-
2	-	-	-	199.9 (N2)	-	-	$H^{15,19}$	-
3	-	-	178.5	-	-	-	-	-
4	3.51	ddd, J = 15.2, 8.7, 1.5 Hz, 1H	40.4	-	H_a^5, H_b^5, H^{13}	C3,C5, C6, C13	-	-
5	H_a: 2.73	ddd, J = 15.2, 5.5, 2.8 Hz, 1H	30.7	-	H^4, H_b^5	C4, C6, C7, C8 (low int.), C13, C20 (low int.)	-	-
	H_b: 2.80	dd, J = 15.2, 1.5 Hz, 1H		-	H^4, H_a^5	C3, C4, C6, C7, C8 (low int.), C12 (low int.), C13, C20	-	$H^{21,25}$ (very low int.)
6	-	-	132.6	-	-	-	-	-
7	-	-	131.7	-	-	-	-	-
8	H_a: 3.70	dd, J = 14.5, 1.5 Hz, 1H	42.4	-	H_b^8	C6, C7	-	H^{10}, H^{12}, $H^{21,25}$ (very low int.), H^{28} (very low int.)
	H_b: 4.17	d, J = 14.5 Hz, 1H		-	H_a^8	C6, C7, C10, C12	-	H_a^{11} (very low int.), $H^{21,25}$
9	-	-	-	92.8 (N9)	-	-	H_b^{11}	-
10	4.66	dd, J = 4.7, 2.8 Hz, 1H	55.8	-	H_a^{11}, H_b^{11}	C11, C12, C34	-	H_a^8, H^{12} (very low), H^{28} (very low int.)
11	H_a: 2.46	dd, J = 8.7, 2.8 Hz, 1H	26.6	-	H^{10}, H_a^{11}, H^{12}	C7, C10 (low int.), C12, C34	-	H_b^8, H^{13}
	H_b: 2.66	dd, J = 8.7, 4.7 Hz, 1H		-	H^{10}, H_b^{11}, H^{12}	C1, C7, C10, C11 (low int.), C34	N9	H^{13}

12	2.67	ddd, *J* = 11.9, 8.7, 4.7 Hz, 1H	32.5	-	H_a^{11}, H_b^{11}, H^{13}	C1, C4, C6, C7, C8, C10, C11 (low int.), C12, C13, C34	-	H_a^5, H_a^8, H^{10} (very low), $H^{21,25}$ (very low int.)
13	3.47	ddd, *J* = 11.9, 8.7, 5.5 Hz, 1H	42.3	-	H^4, H^{12}	C1, C4, C7, C12	-	H_a^{11}, H_b^{11}, $H^{15,19}$ (very low int.), $H^{21,25}$ (very low int.)
14	-	-	132.1	-	-	-	-	-
15,19	7.08-7.10	m, 2H	127.0	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C17	N2	H^{13} (very low int.)
16,18	7.43-7.47	m, 2H	128.9	-	$H^{15,19}$, H^{17}	C14, C5,19, C16,18, C17	-	-
17	7.37-7.41	m, 1H	128.4	-	$H^{16,18}$	C14, C15,19, C16,18	-	-
20	-	-	143.3	-	-	-	-	-
21,25	7.29	br. d, *J* = 8.1 Hz, 2H	128.3	-	$H^{22,24}$	C6, C20, C22,24, C23	-	H_b^5 (very low int.), H_a^8 (very low int.), H_b^8, H^{12} (very low int.), H^{13} (very low int.)
22,24	7.70	br. d, *J* = 8.2 Hz, 2H	125.4, *J* = 3.1 Hz	-	$H^{21,25}$	C20, C21,25, C22,24, C26	-	-
23	-	-	127.7, *J* = 31.6 Hz	-	-	-	-	-
26	-	-	125.2, *J* = 271.8 Hz	-	-	-	-	-
27	-	-	130.8	-	-	-	-	-
28	8.14	dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H	130.2	-	H^{29}	C28, C30 (low int.), C31, C32	N33 (very low int.)	H_a^8 (very low int.), H^{10} (very low int.)
29	7.76	ddd, *J* = 8.8, 7.9, 1.4 Hz, 1H	132.3	-	H^{28}, H^{30}	C27, C30	-	-
30	7.80	ddd, *J* = 8.8, 7.9, 1.4 Hz, 1H	124.0	-	H^{29}, H^{31}	C28, C32	-	-
31	7.86	dd, *J* = 7.9, 1.4 Hz, 1H	134.4	-	H^{30}	C27, C29, C32	N33	-
32	-	-	147.9	-	-	-	-	-
33	-	-	-	373.4 (N33)	-	-	H^{28} (very low int.), H^{31}	-
34	-	-	172.2	-	-	-	-	-

[a]Assignments are based on extensive 1D and 2D NMR analysis (^{1}H-^{1}H COSY, ^{1}H-^{13}C HMQC, ^{1}H-^{13}C HMBC, ^{1}H-^{15}N HMBC and ^{1}H-^{1}H NOESY); measured in DMSO-d_6; correl. = correlations; int = interaction.

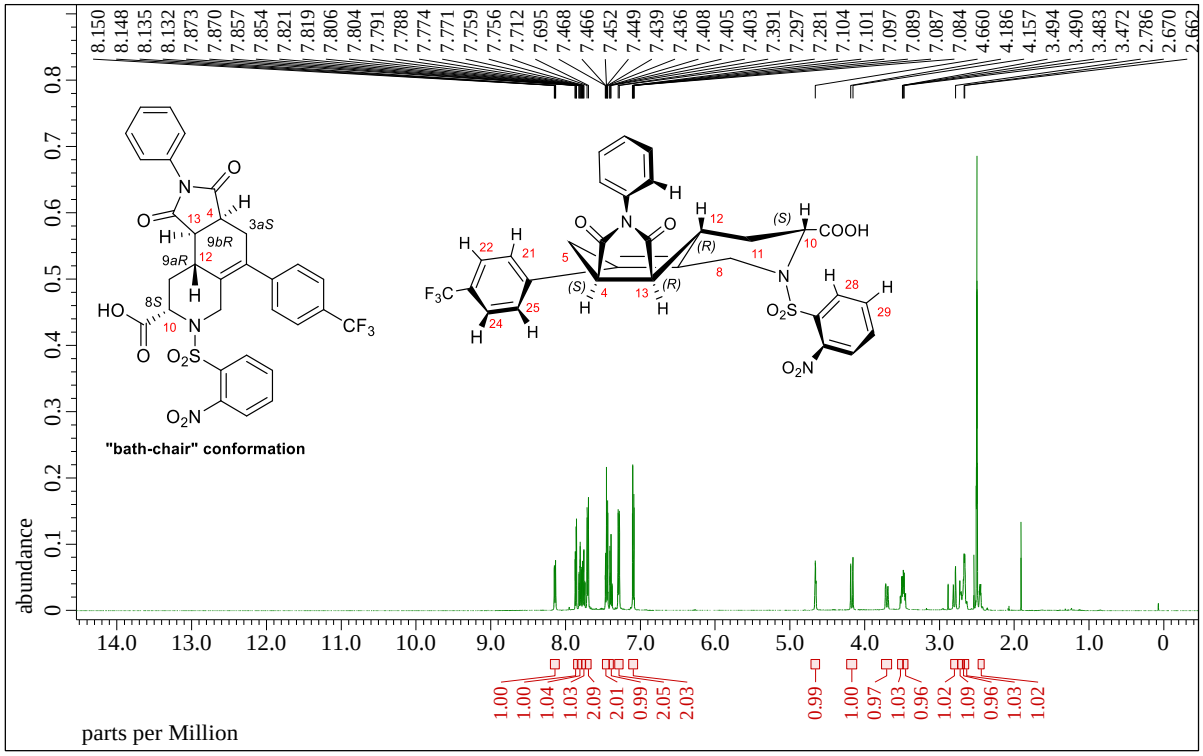


Figure S44. ^{1}H NMR spectrum of **5a-II** (500 MHz, DMSO-d_6)

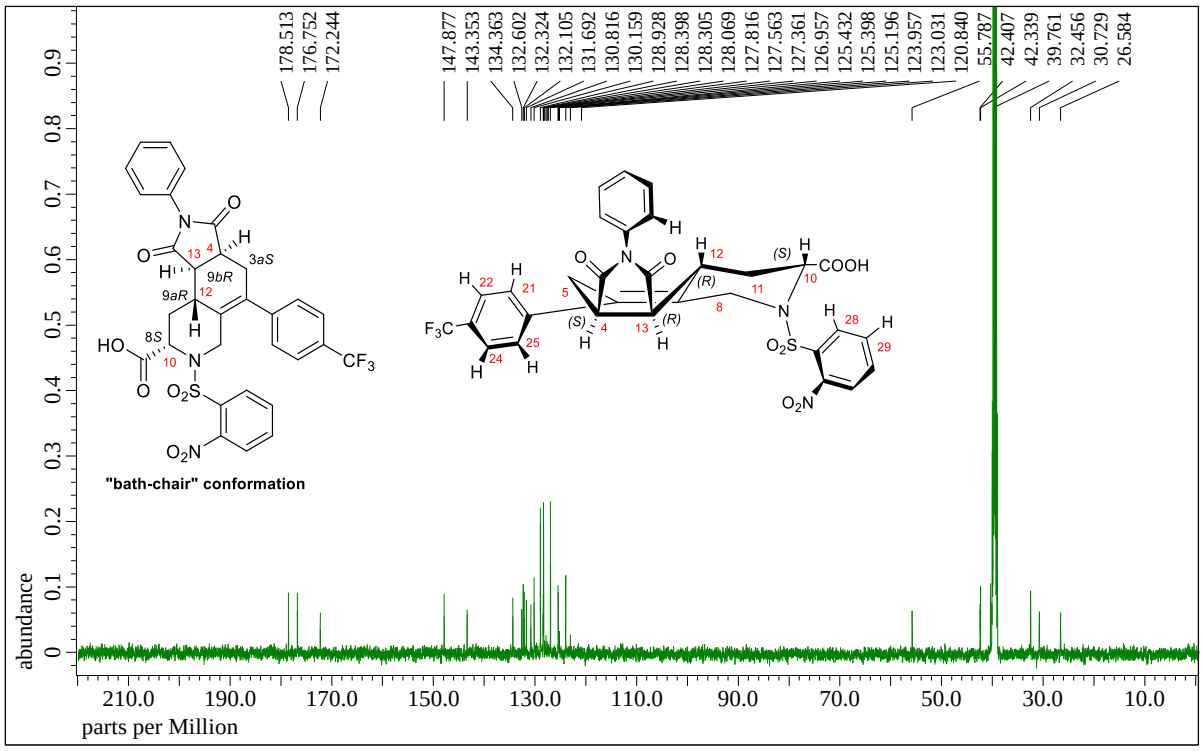


Figure S45. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **5a-II** (126 MHz, DMSO-d_6)

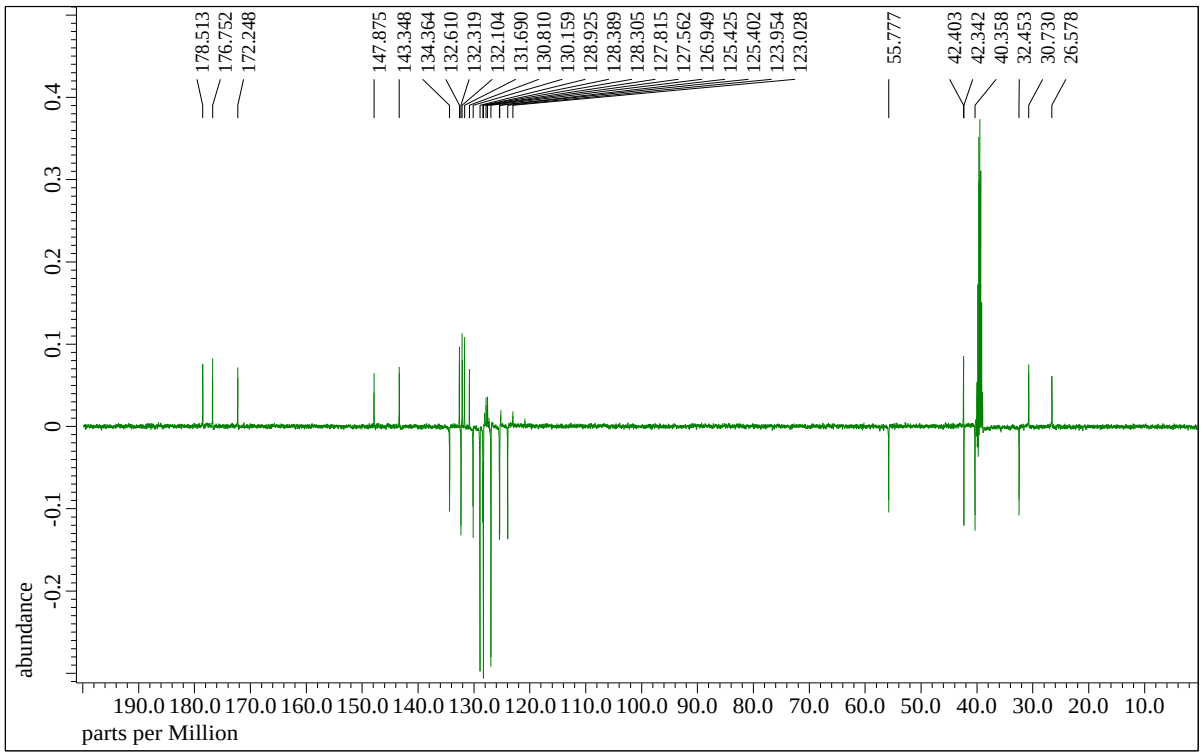


Figure S46. ^{13}C APT NMR spectrum of **5a-II** (126 MHz, DMSO-d_6)

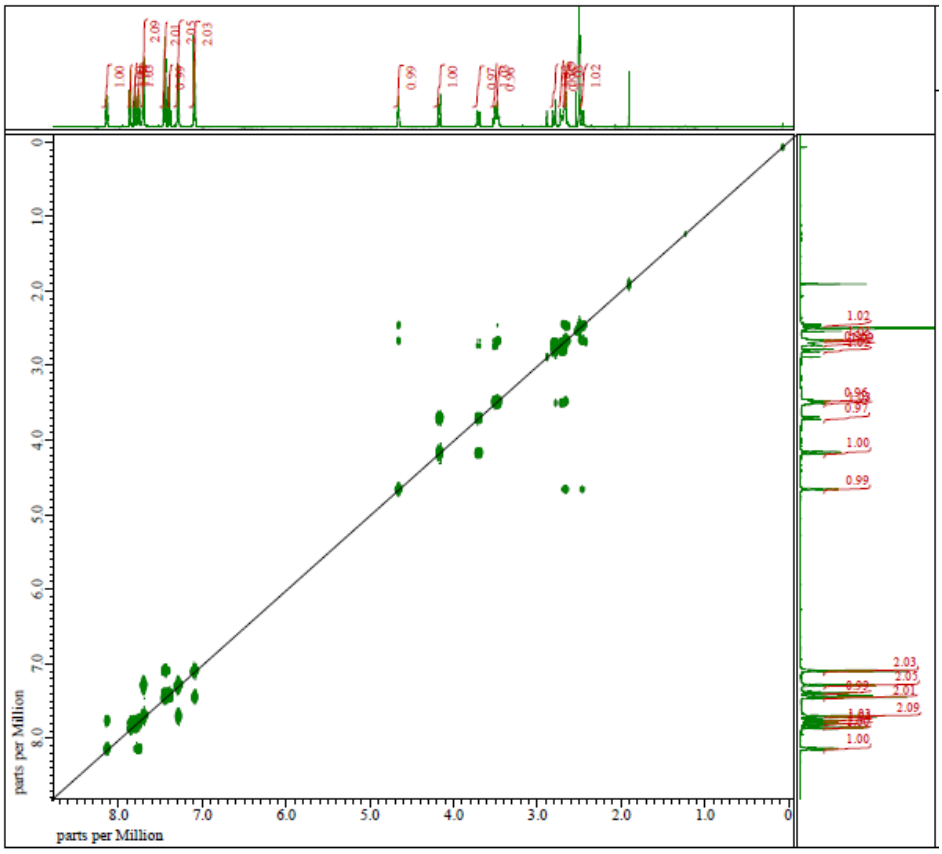


Figure S47. ^{1}H-^{1}H COSY NMR spectrum of **5a-II** (500 MHz, DMSO-d_6)

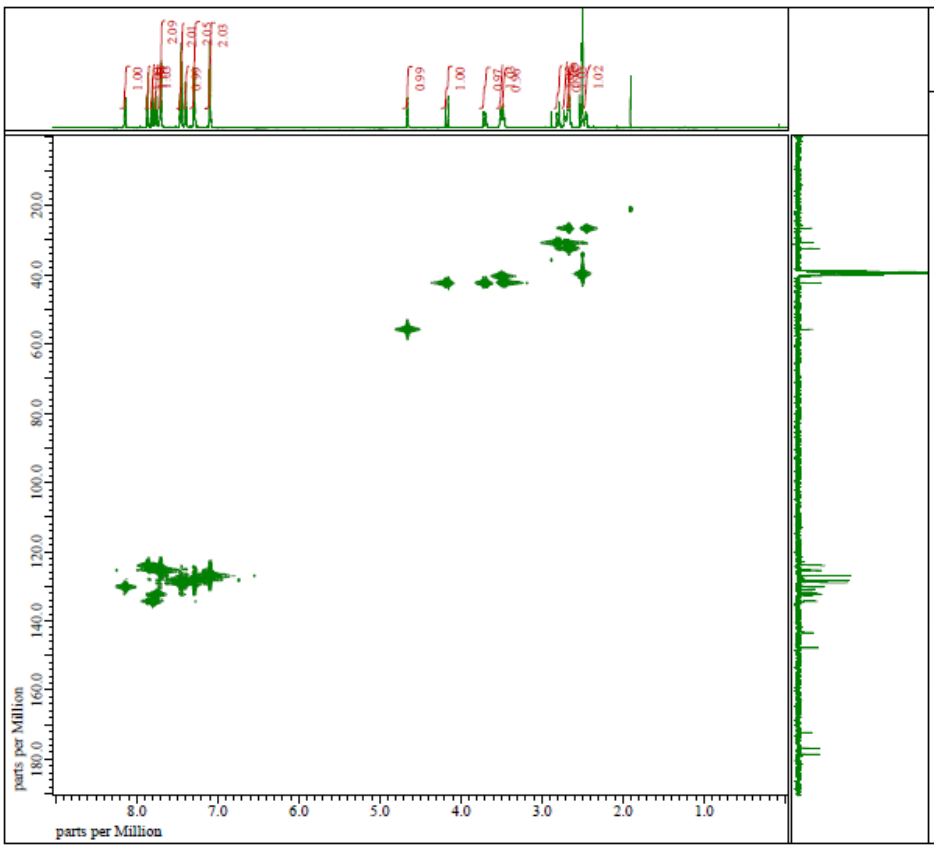


Figure S48. ^{1}H-^{13}C HMQC NMR spectrum of **5a-II** (DMSO-d_6)

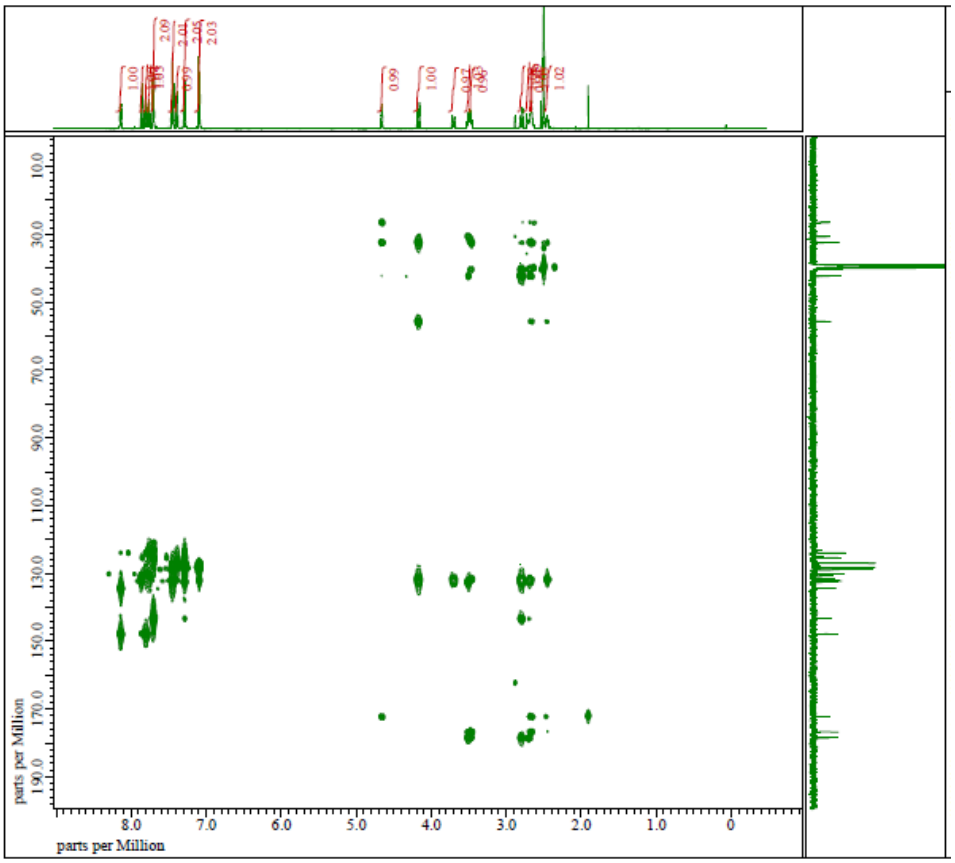


Figure S49. ^{1}H-^{13}C HMBC NMR spectrum of **5a-II** (DMSO-d_6)

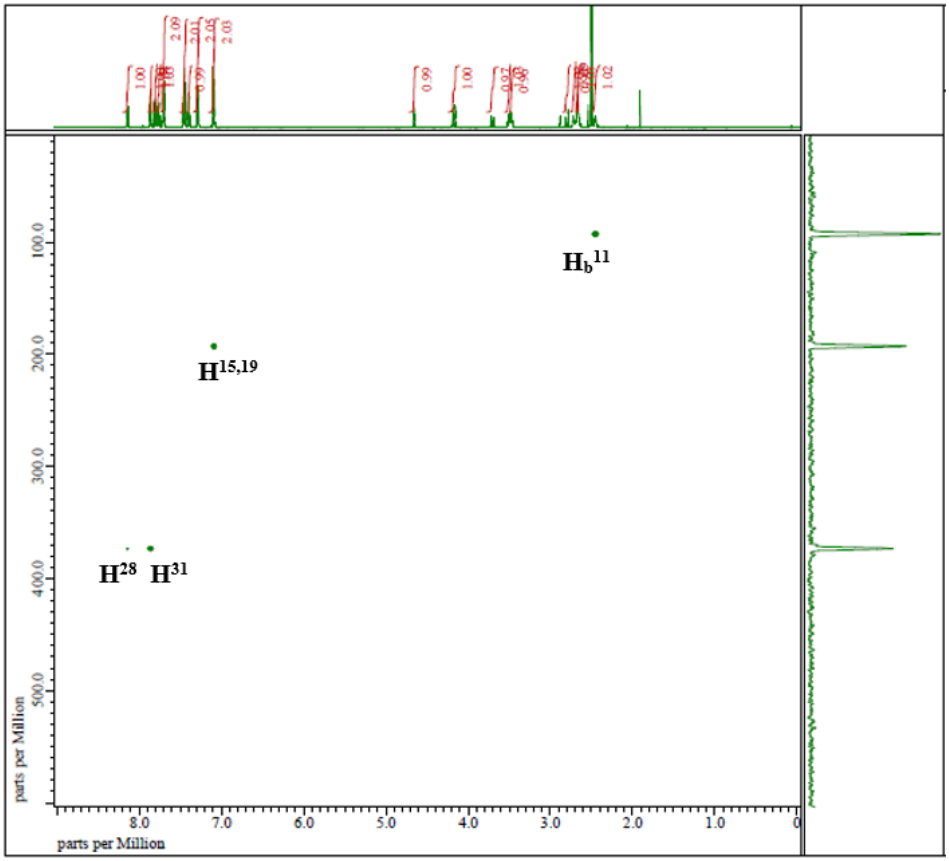


Figure S50. ^{1}H-^{15}N HMBC NMR spectrum of **5a-II** (DMSO-d_6)

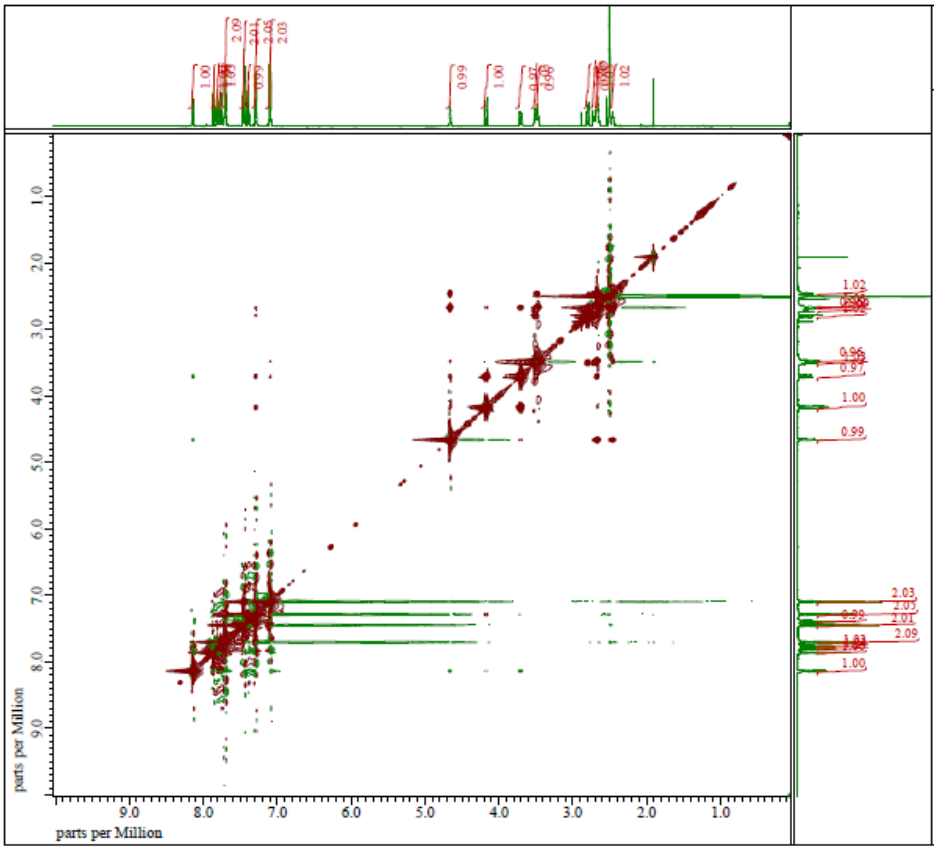


Figure S51. ^{1}H-^{1}H NOESY NMR spectrum of **5a-II** (DMSO-d_6)

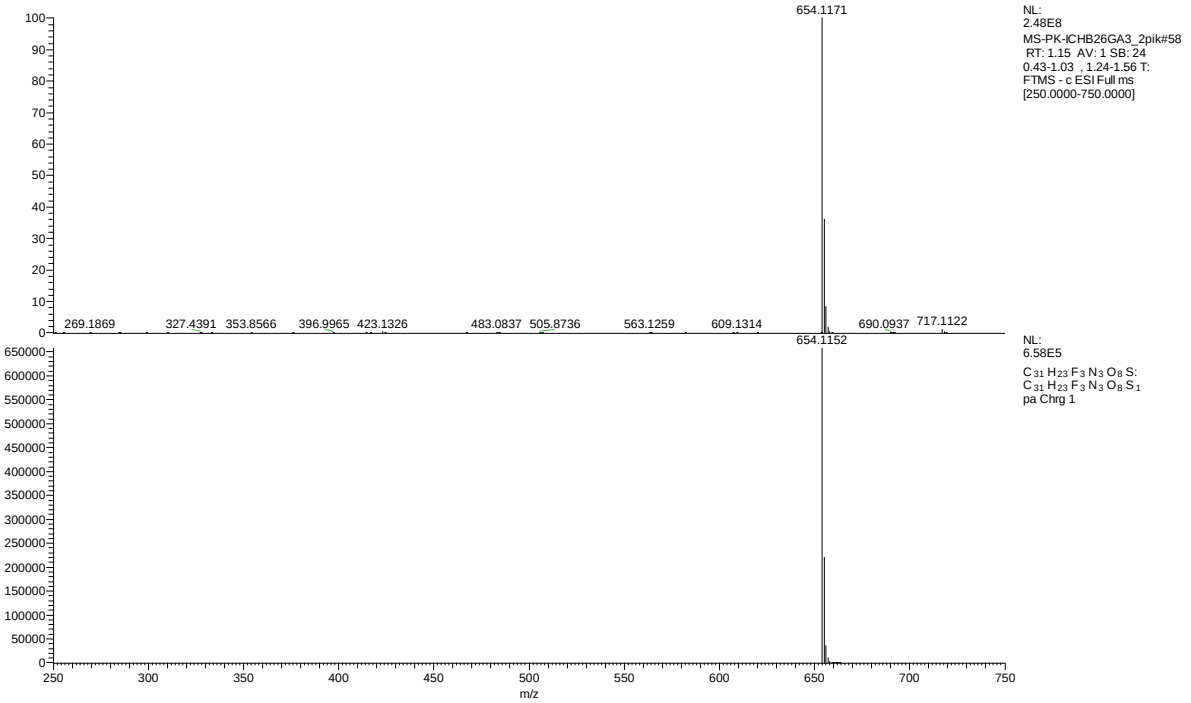
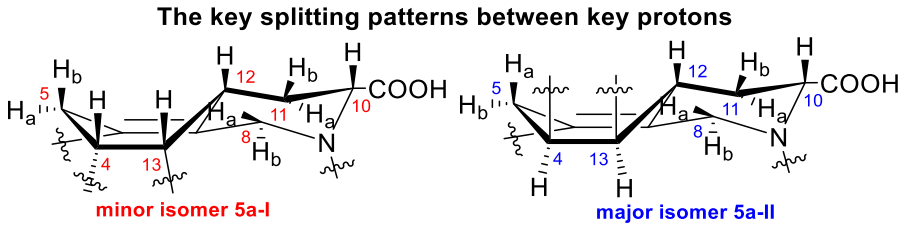


Figure S52. HRMS spectrum of **5a-II**

Table S3. Comparison of ^{1}H chemical shifts, splitting patterns, and ^{2}J and ^{3}J homonuclear couplings for **5a-I** and **5a-II**



position	minor isomer 5a-I			major isomer 5a-II		
	^{1}H NMR δ_H [ppm]	splitting pattern	J [Hz]	^{1}H NMR δ_H [ppm]	splitting pattern	J [Hz]
H^{4}	3.45	dd	3.0, 1.5	3.51	ddd	15.2, 8.7, 1.5
H$_a^{5}$	2.35	dd	8.7, 3.0	2.73	ddd	15.2, 5.5, 2.8
H$_b^{5}$	2.67	dd	14.2, 1.5	2.80	dd	15.2, 1.5
H$_a^{8}$	4.06	d	16.2	3.70	dd	14.5, 1.5
H$_b^{8}$	4.25	d	16.2	4.17	d	14.5
H^{10}	4.41	dd	12.1, 6.1	4.66	dd	4.7, 2.8
H$_{a11}$	2.45	q	12.1	2.46	dd	8.7, 2.8
H$_b^{11}$	2.57	dd	6.1, 3.0	2.66	dd	8.7, 4.7
H^{12}	2.49	ddd	12.1, 3.0, 1.5	2.67	ddd	11.9, 8.7, 4.7
H^{13}	3.43	dd	3.0, 1.5	3.47	ddd	11.9, 8.7, 5.5

7.2.3 (*S*)-8-(4-bromophenyl)-3,4,16,16*a*-tetrahydro-[1,4]diazepino[1,2-*b*]naphtho[2,3-*f*] isoquinoline-1,5,10,15(2*H*,7*H*)-tetraone 11

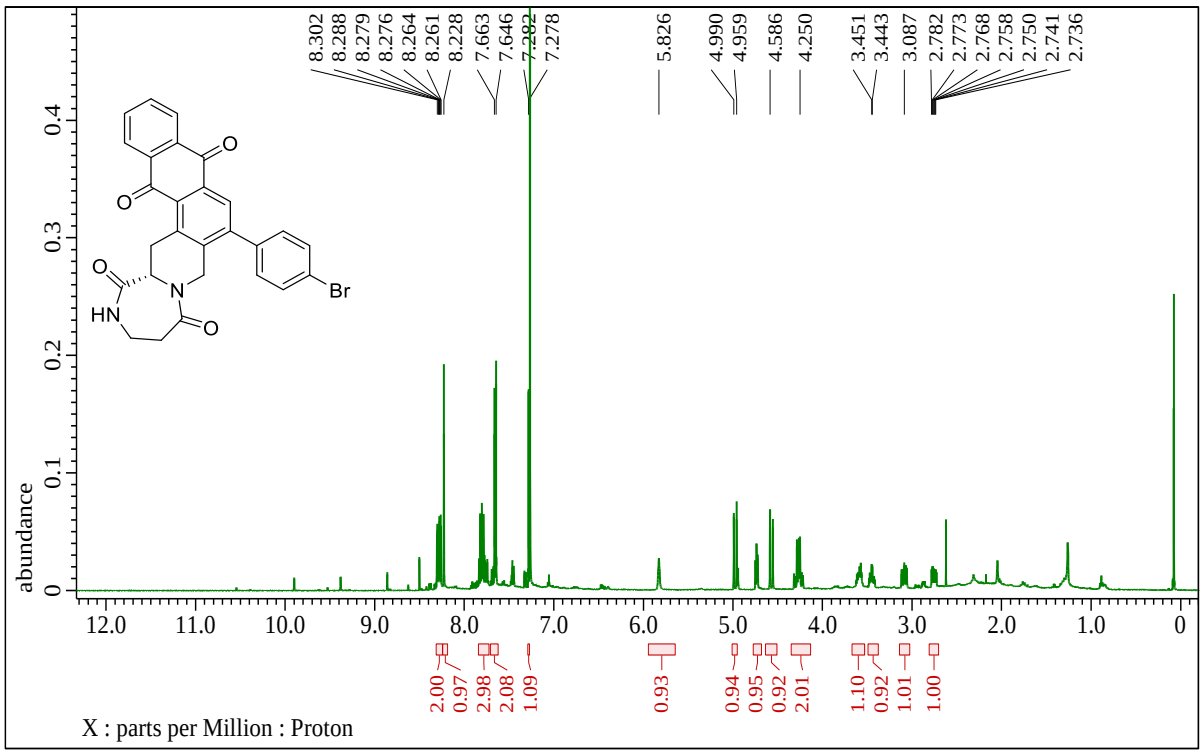


Figure S53. ^{1}H NMR spectrum of **11** (500 MHz, $CDCl_3$)

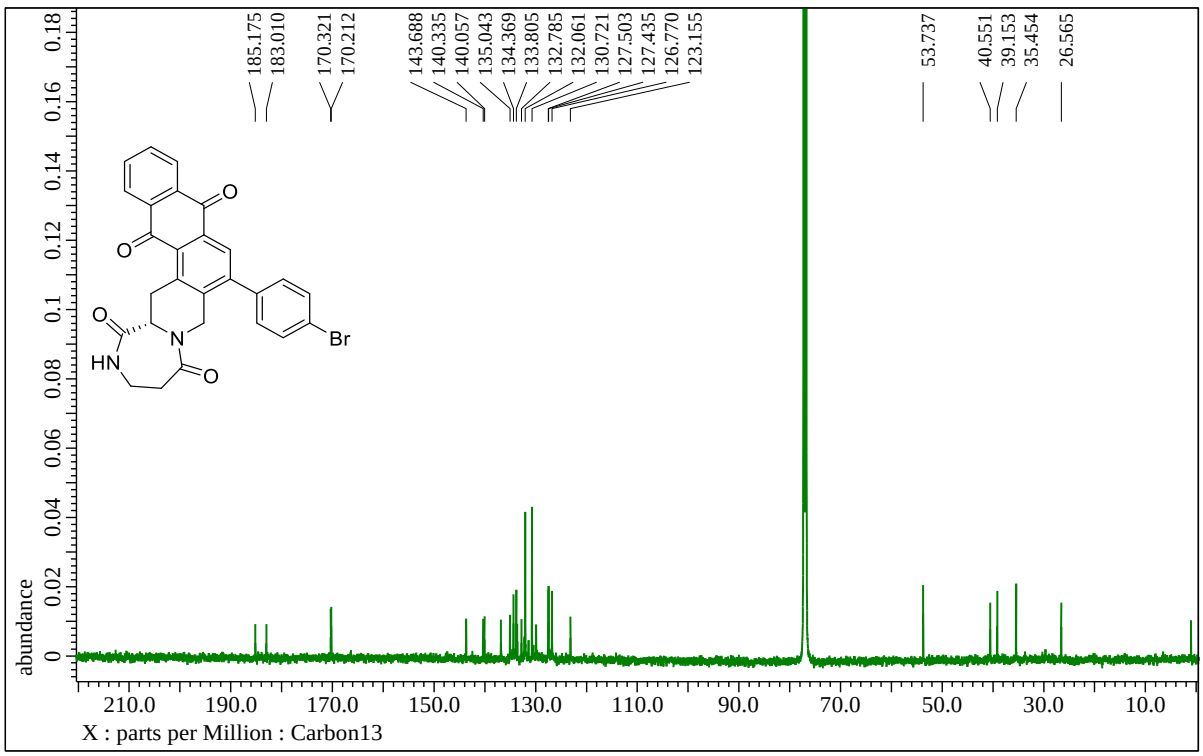


Figure S54. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **11** (126 MHz, $CDCl_3$)

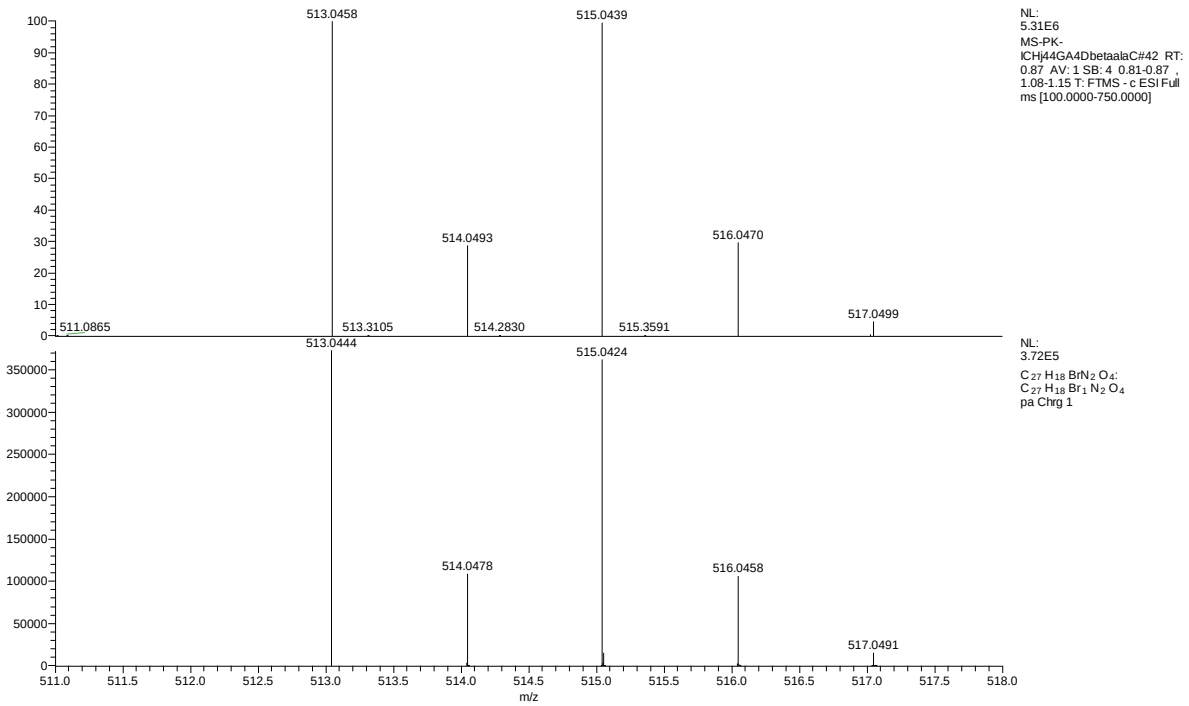


Figure S55. HRMS spectrum of **11**

7.2.4 (3*S*,15*aS*)-3-methyl-7-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13a

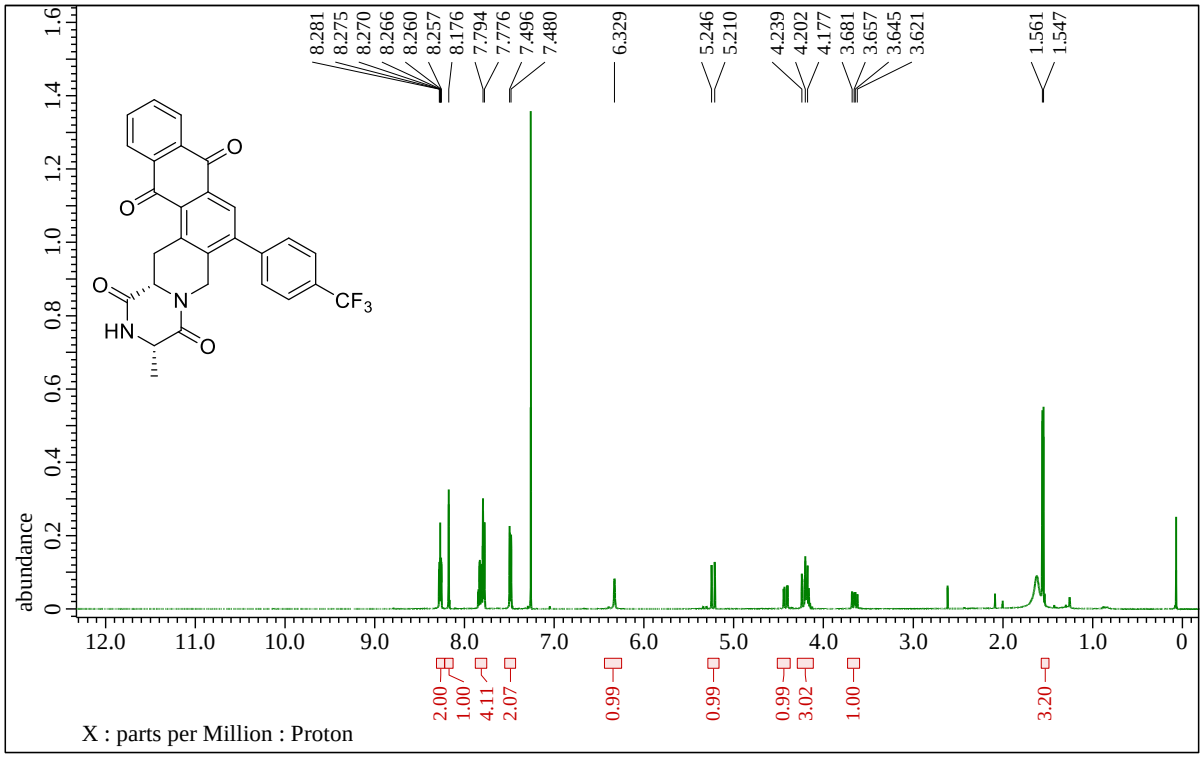


Figure S56. ^{1}H NMR spectrum of **13a** (500 MHz, $CDCl_3$)

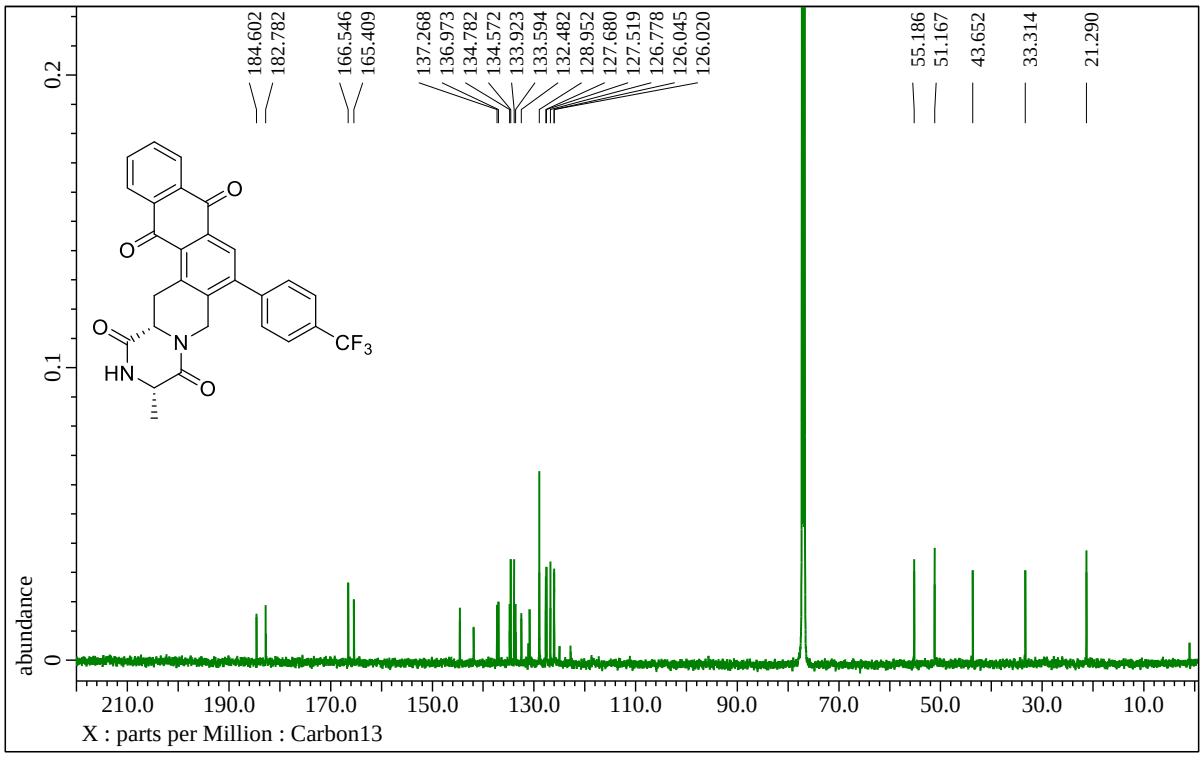


Figure S57. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **13a** (126 MHz, $CDCl_3$)

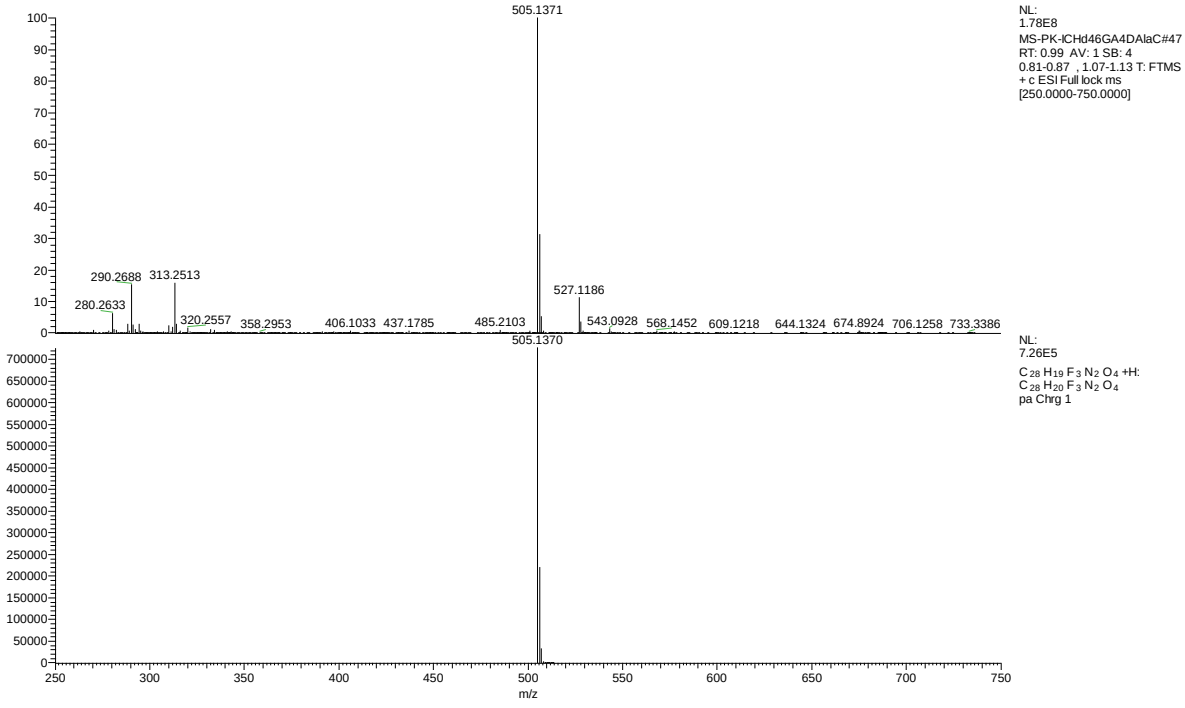


Figure S58. HRMS spectrum of **13a**

7.2.5 (3*S*,15a*S*)-3-benzyl-7-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13b

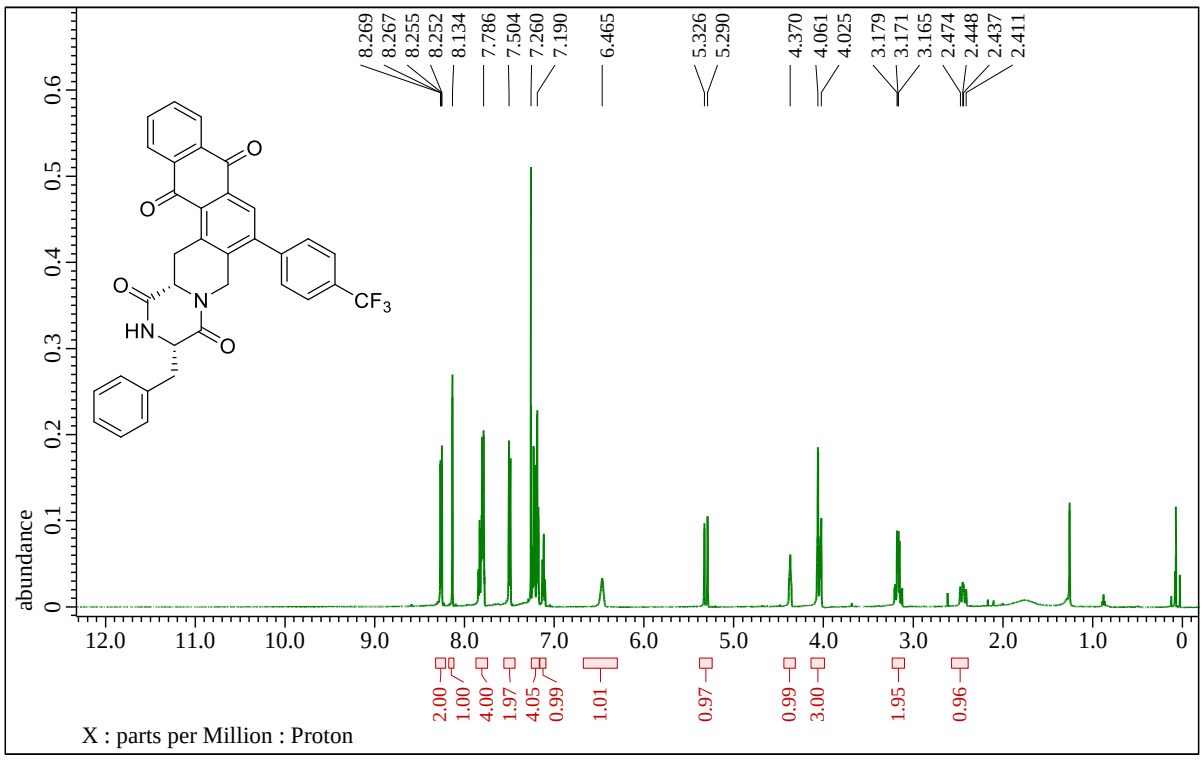


Figure S59. ^{1}H NMR spectrum of **13b** (500 MHz, $CDCl_3$)

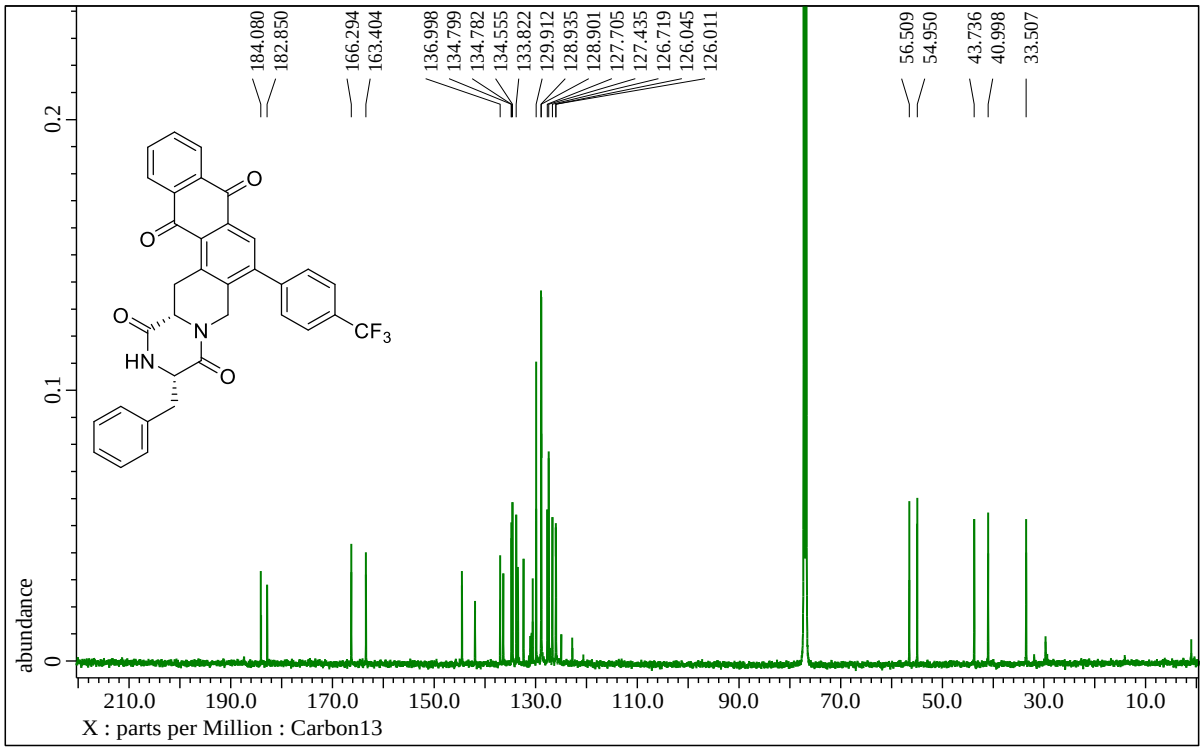


Figure S60. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **13b** (126 MHz, $CDCl_3$)

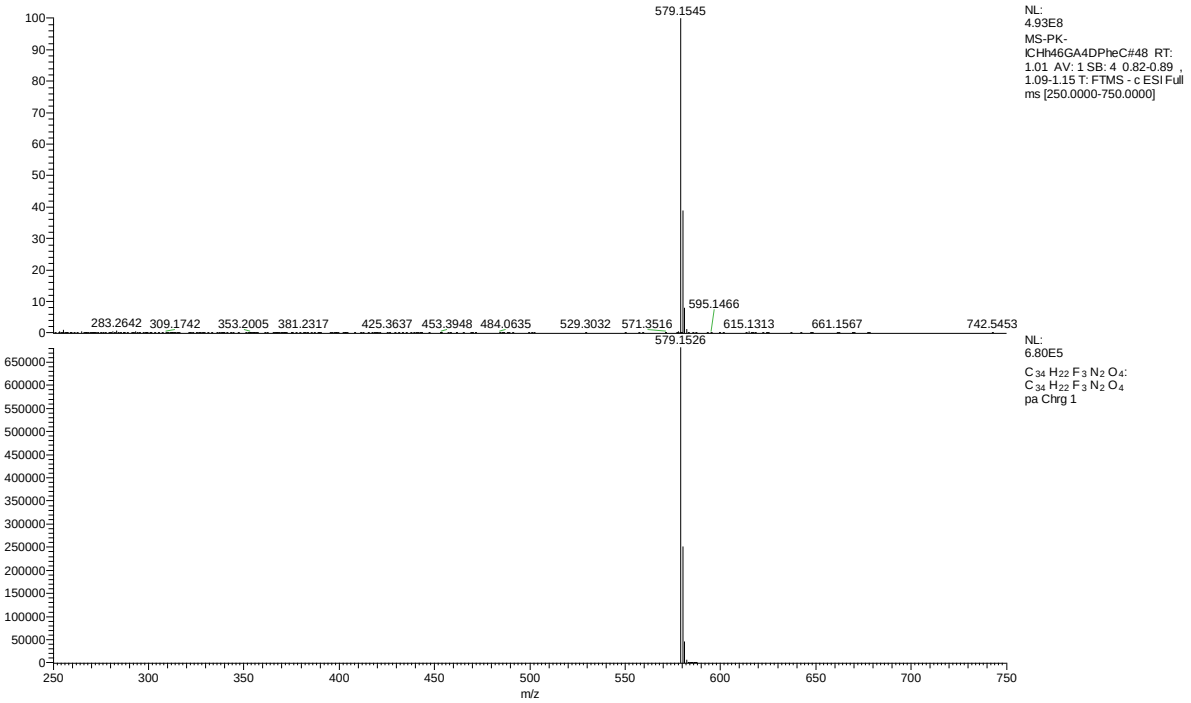


Figure S61. HRMS spectrum of **13b**

7.2.6 (3*S*,15*aS*)-3-benzyl-7-(4-bromophenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13c

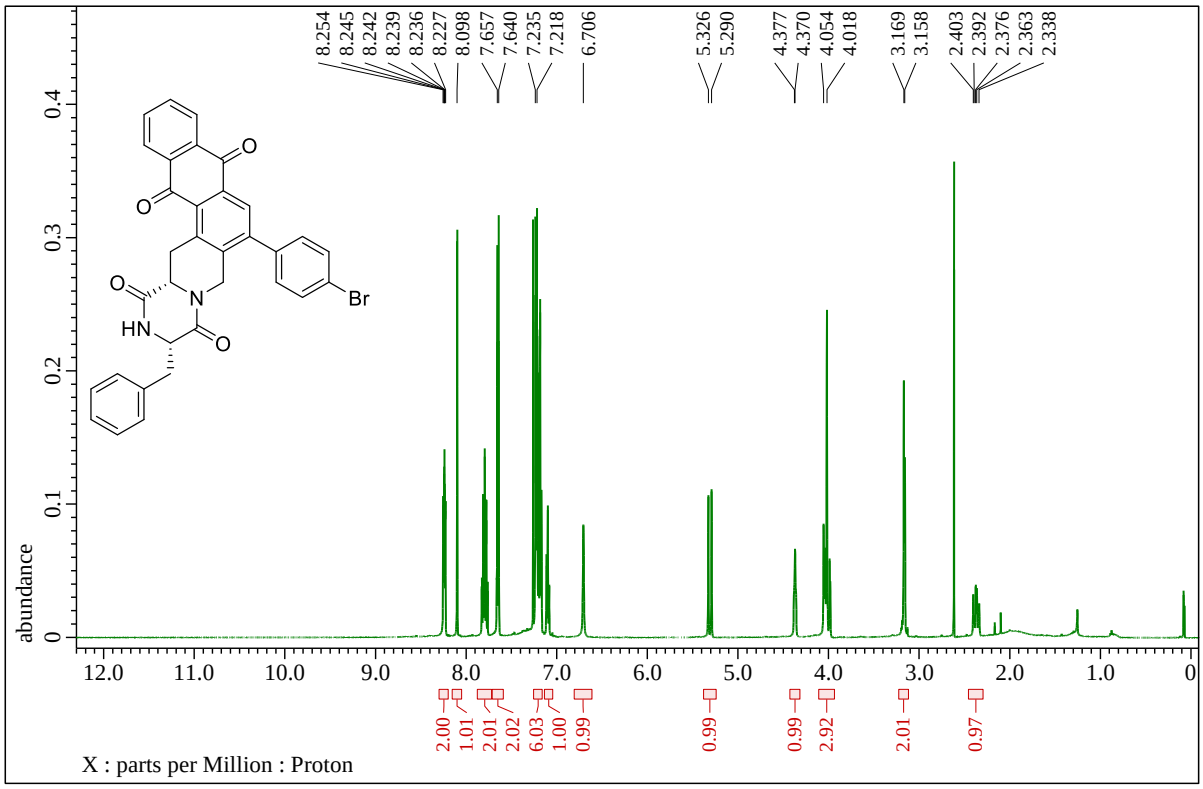


Figure S62. ^{1}H NMR spectrum of **13c** (500 MHz, $CDCl_3$+DMSO)

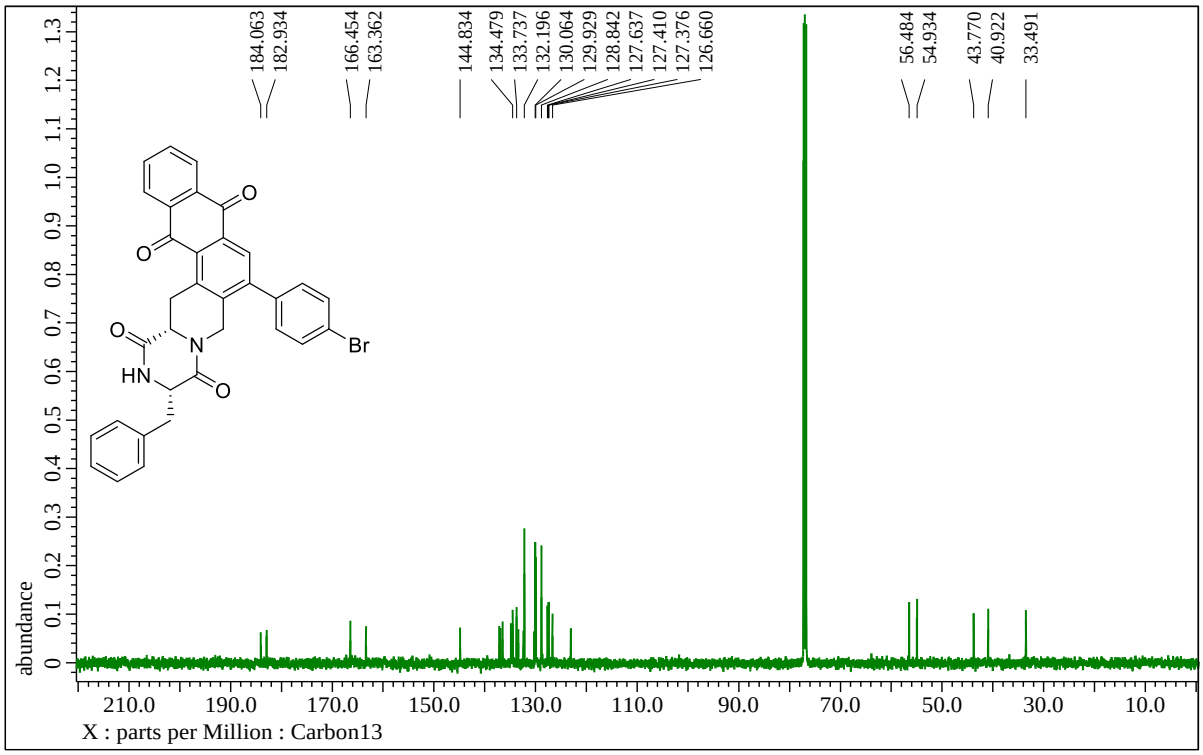


Figure S63. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **13c** (126 MHz, $CDCl_3$)

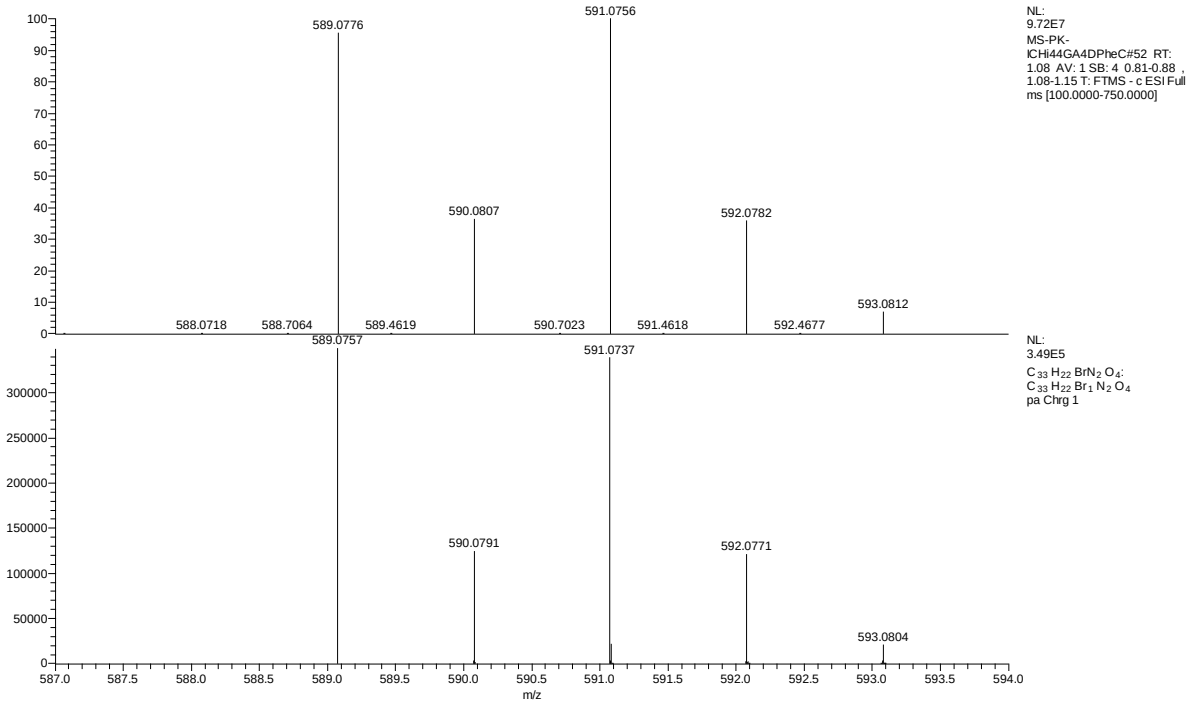


Figure S64. HRMS spectrum of **13c**

7.2.7 (3*S*,15*aS*)-7-(4-bromophenyl)-3-(4-hydroxybenzyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13d

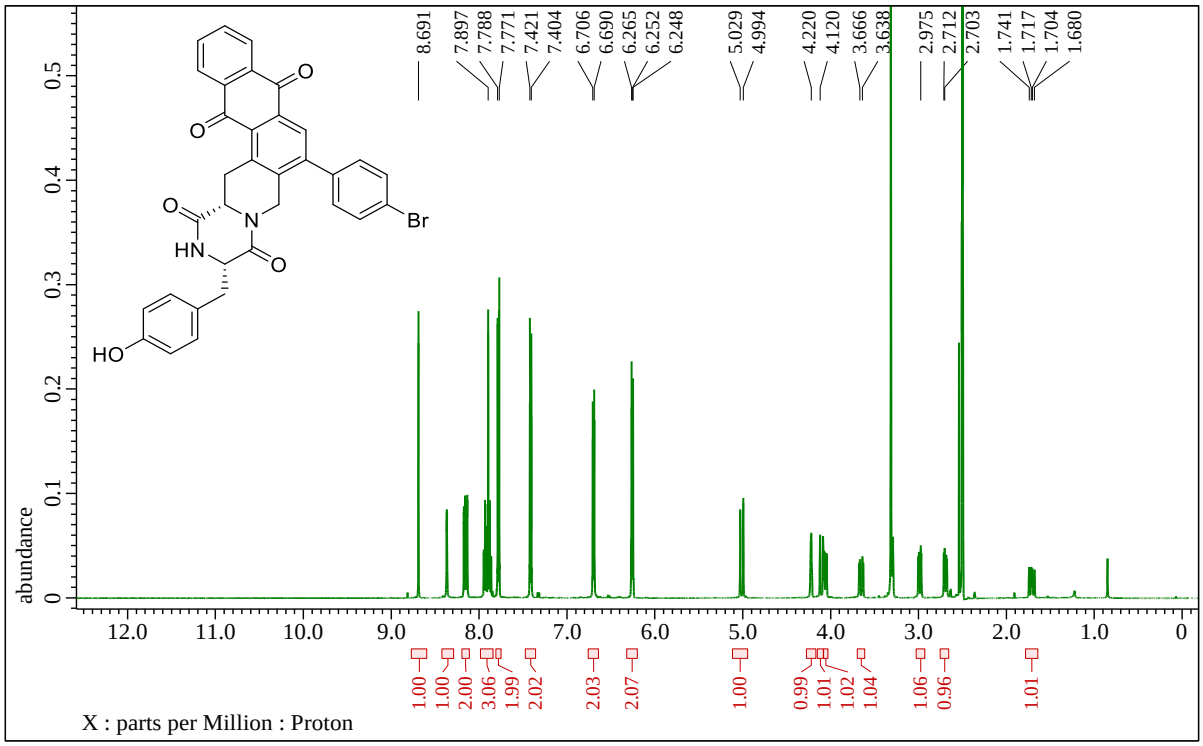


Figure S65. ^{1}H NMR spectrum of **13d** (500 MHz, DMSO-d_6)

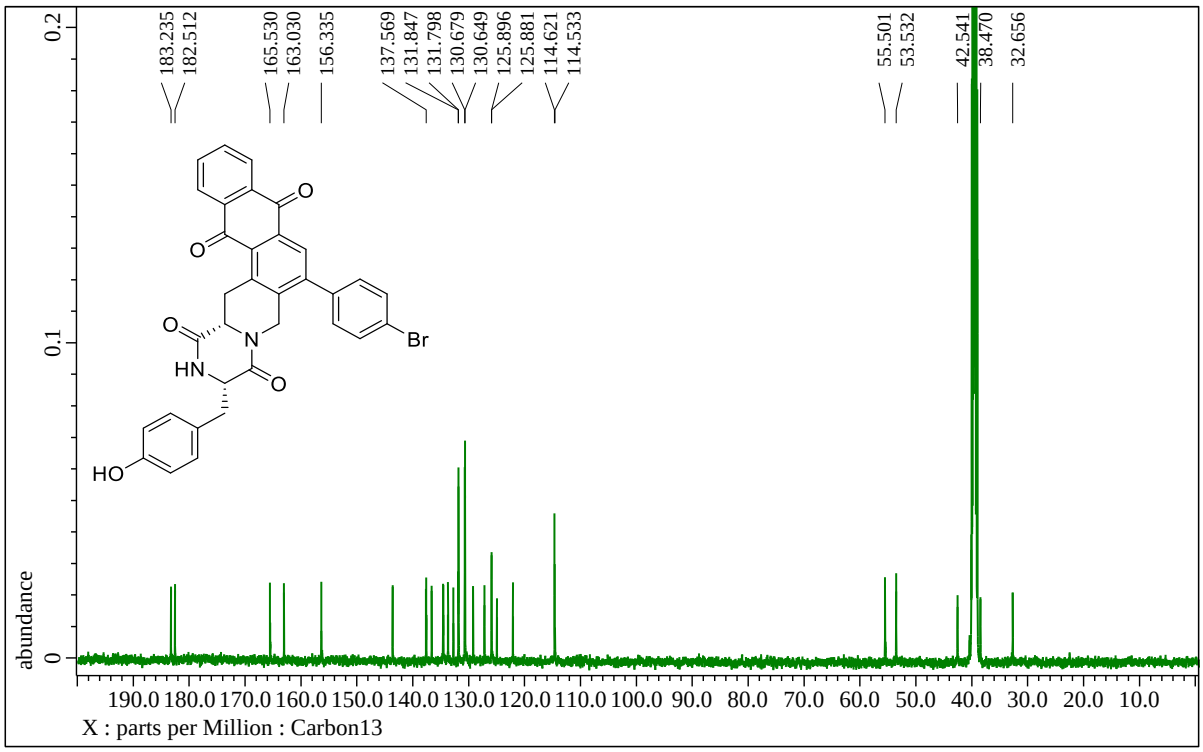


Figure S66. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **13d** (126 MHz, DMSO-d_6)

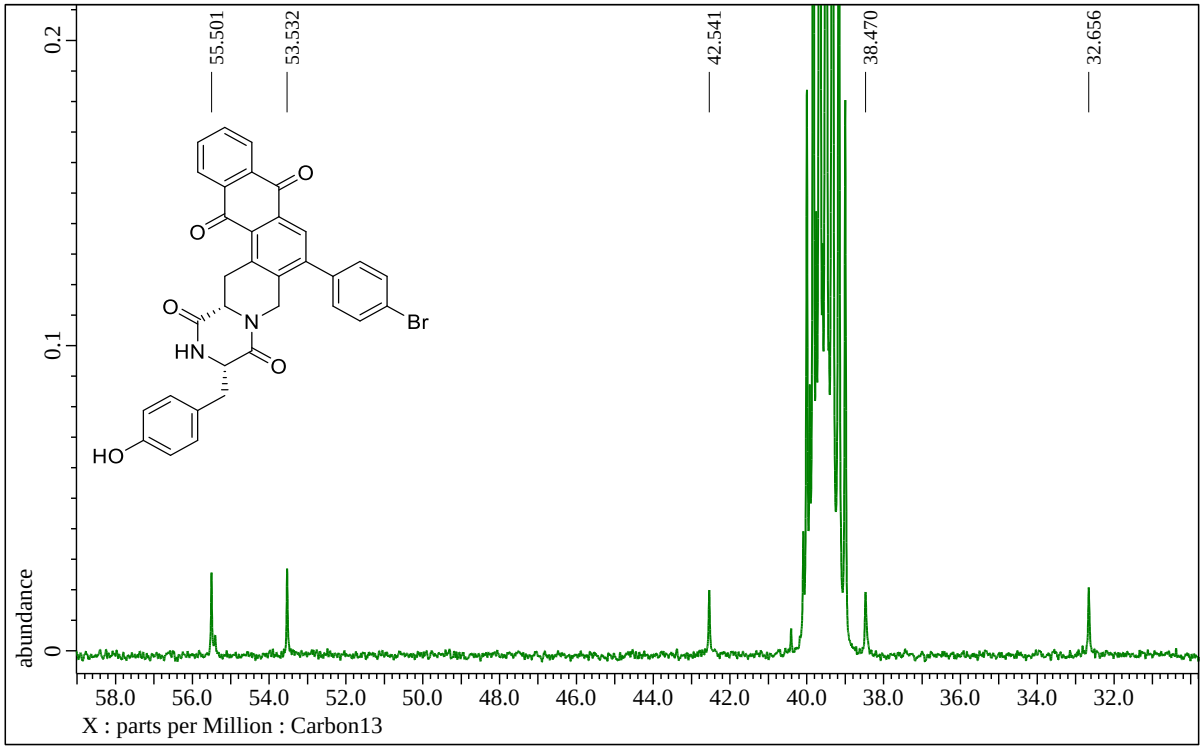


Figure S67. Detailed $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **13d** – aliphatic area (126 MHz, DMSO-d_6)

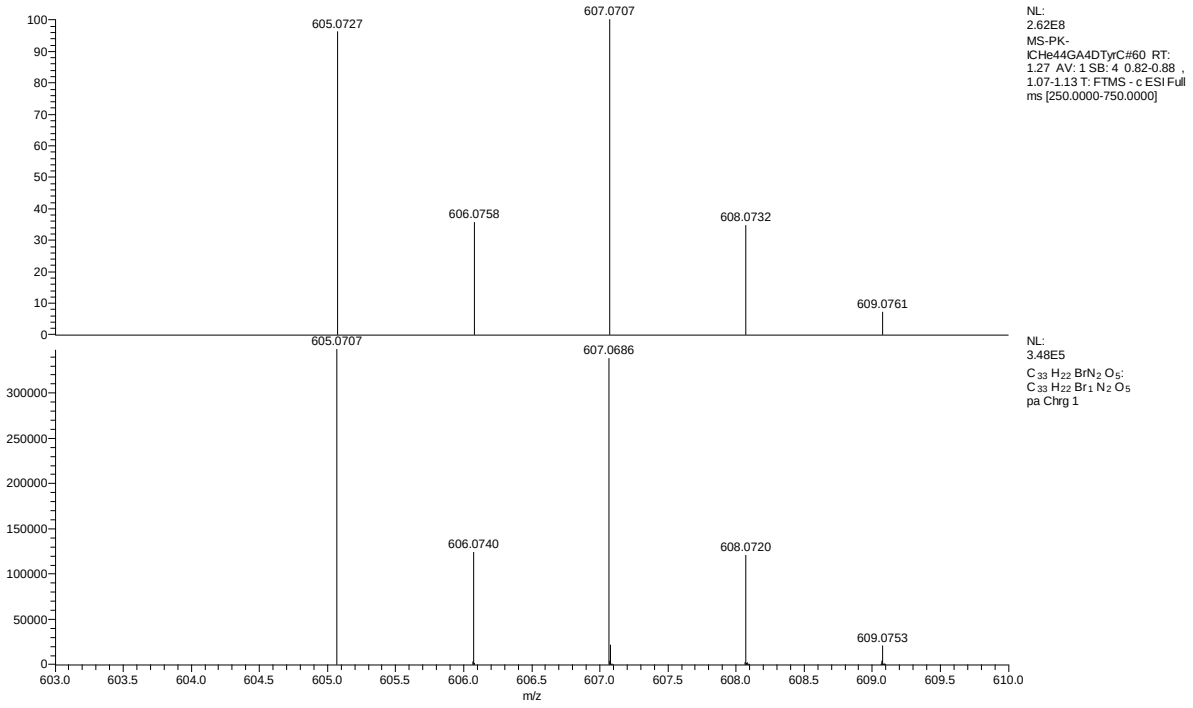


Figure S68. HRMS spectrum of **13d**

7.2.8 (3*S*,15*aS*)-3-benzyl-7-(4-fluorophenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13e

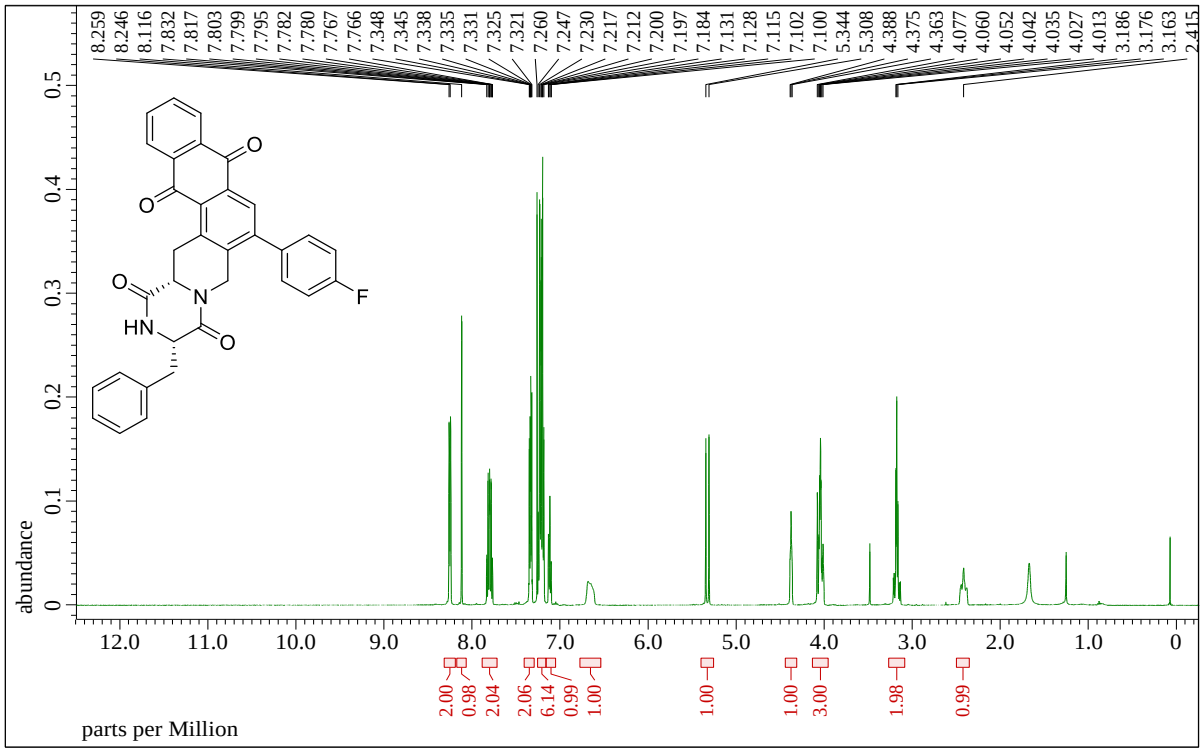


Figure S69. ^{1}H NMR spectrum of **13e** (500 MHz, $CDCl_3$)

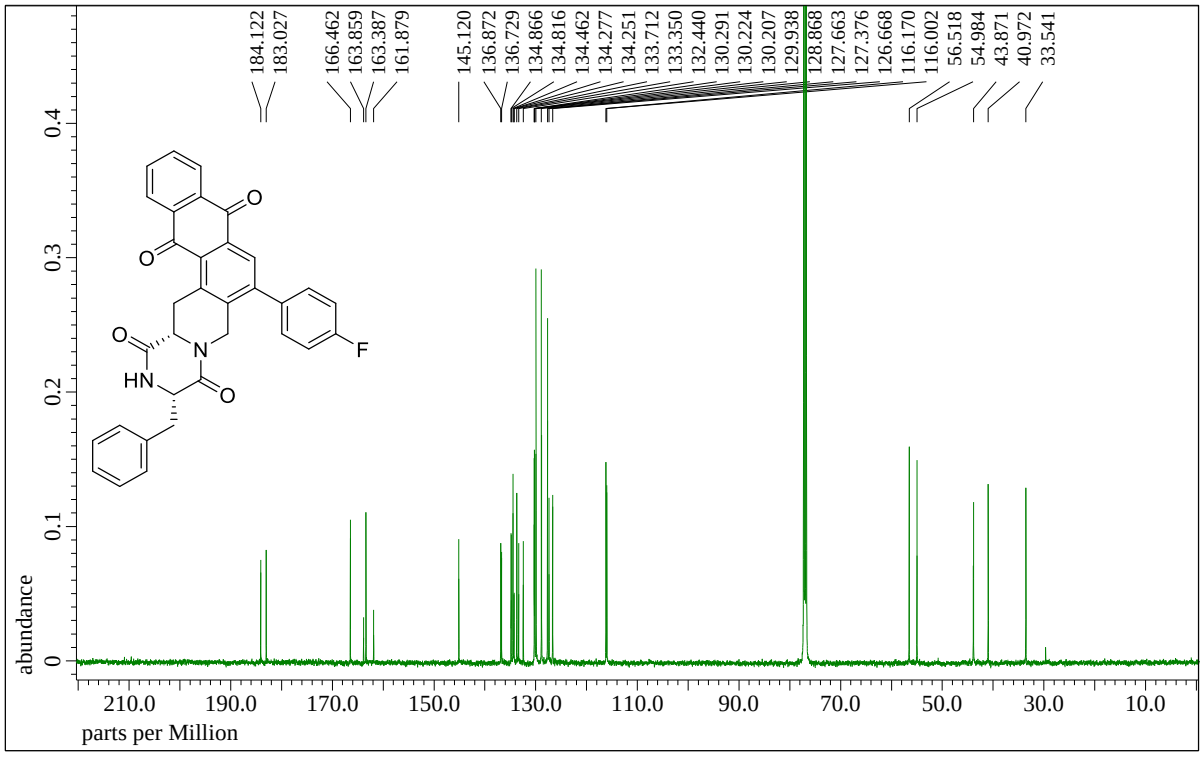


Figure S70. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **13e** (126 MHz, $CDCl_3$)

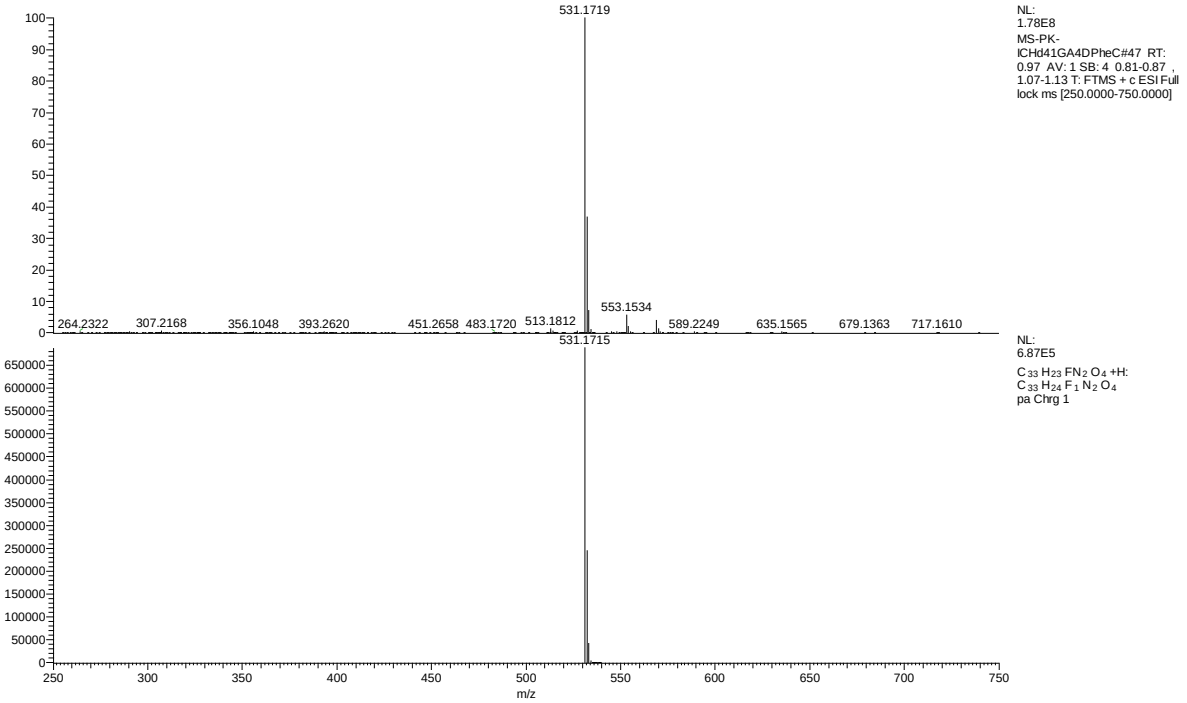


Figure S71. HRMS spectrum of **13e**

7.2.9 (3*S*,15*aS*)-7-(2-fluorophenyl)-3-methyl-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*] isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13f

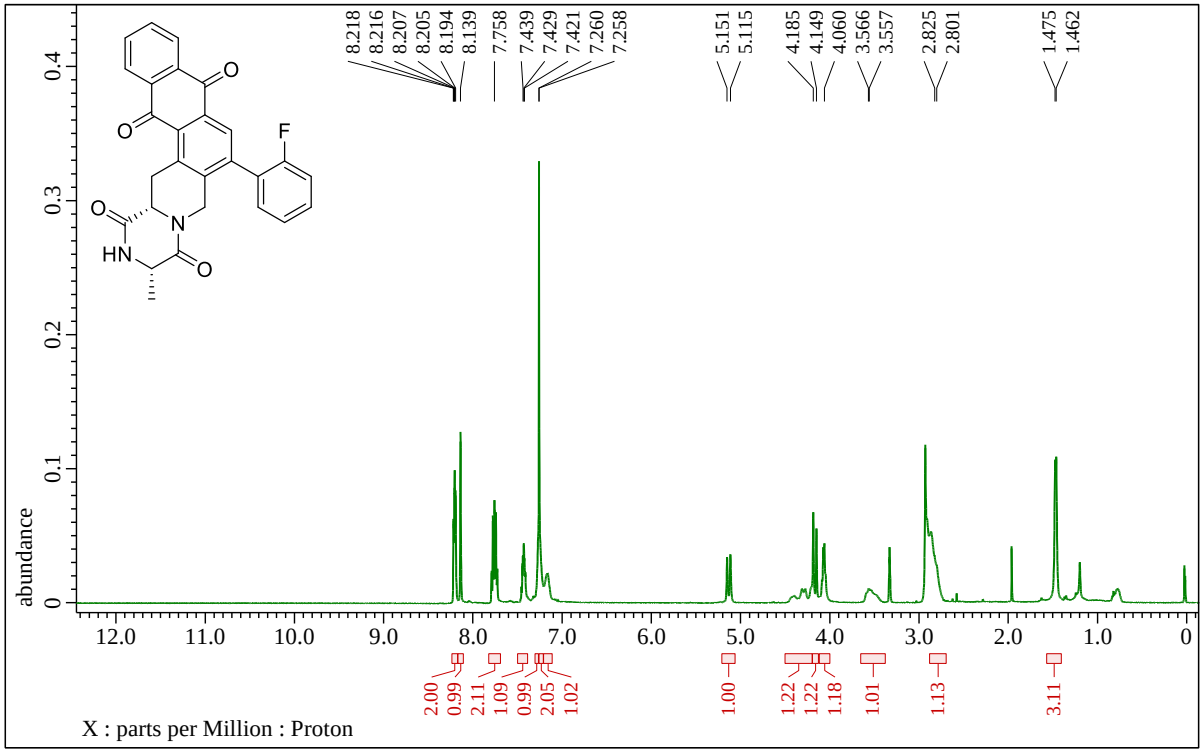


Figure S72. ^{1}H NMR spectrum of **13f** (500 MHz, $CDCl_3$+MeOH-d_4): Note: Residual signals of DMF at 2.88 ppm (s) and 2.96 ppm (s).

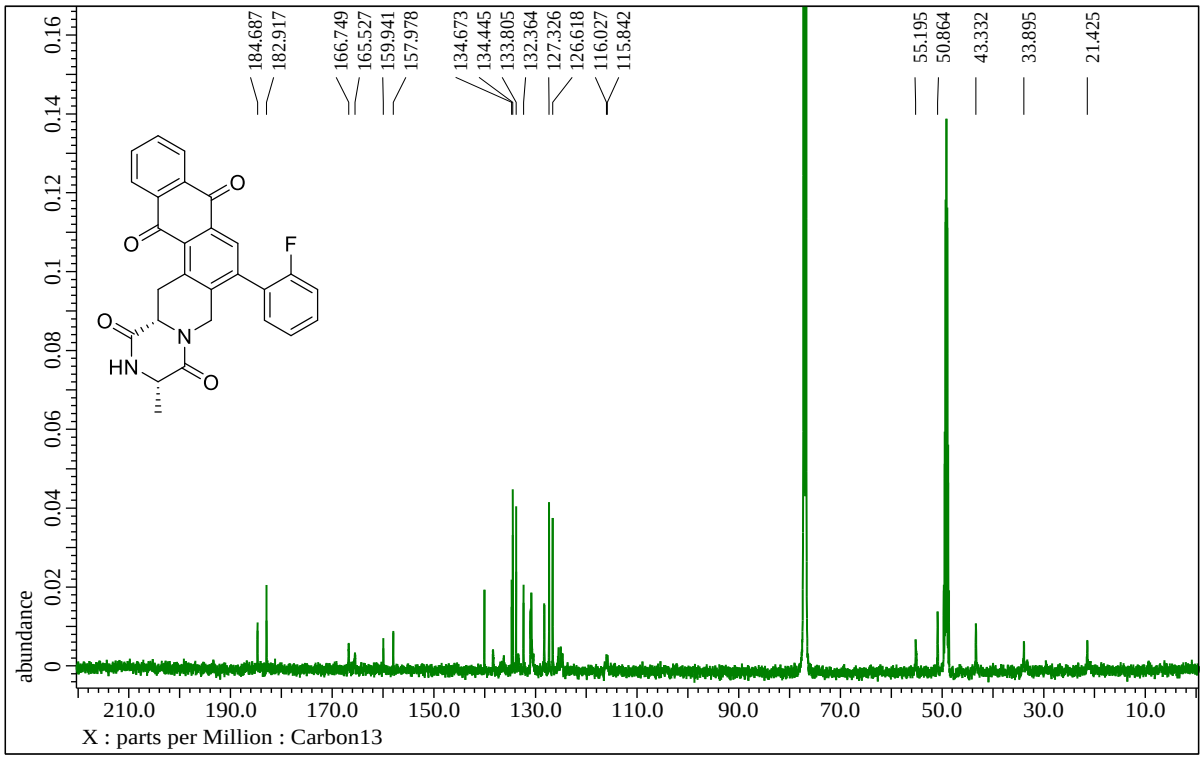


Figure S73. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **13f** (126 MHz, $CDCl_3$+MeOH-d_4)

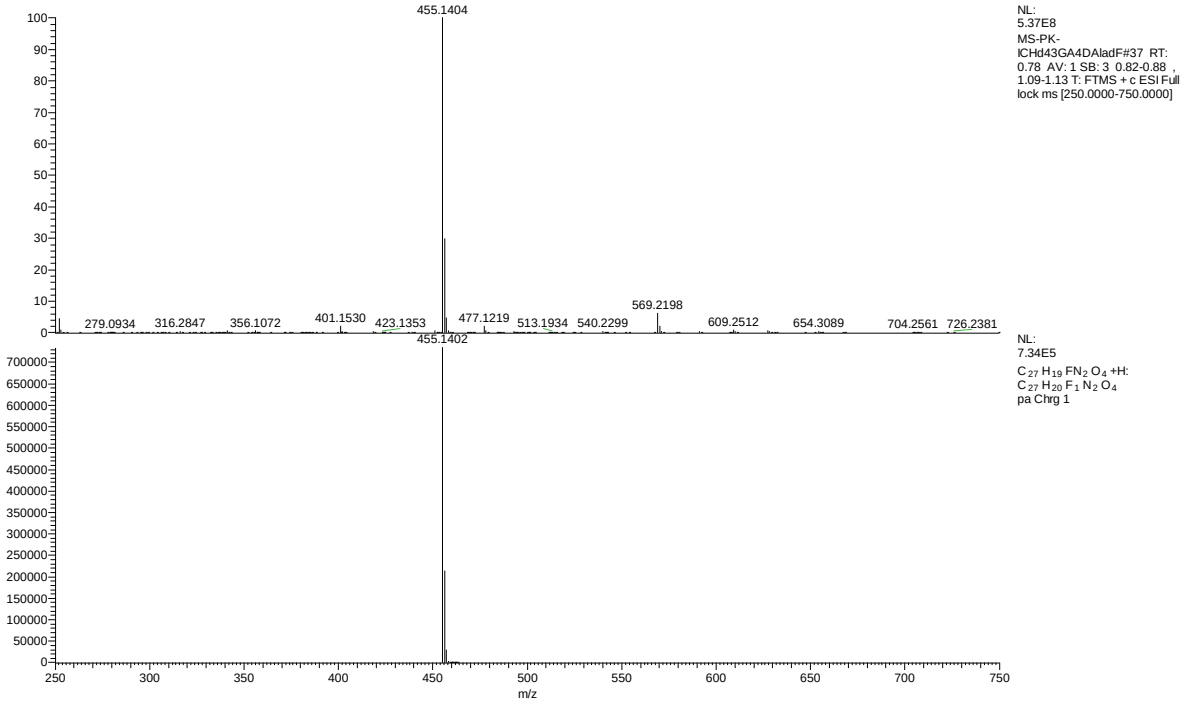


Figure S74. HRMS spectrum of **13f**

7.2.10 (3*S*,15*aS*)-3-benzyl-7-(2-fluorophenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13g

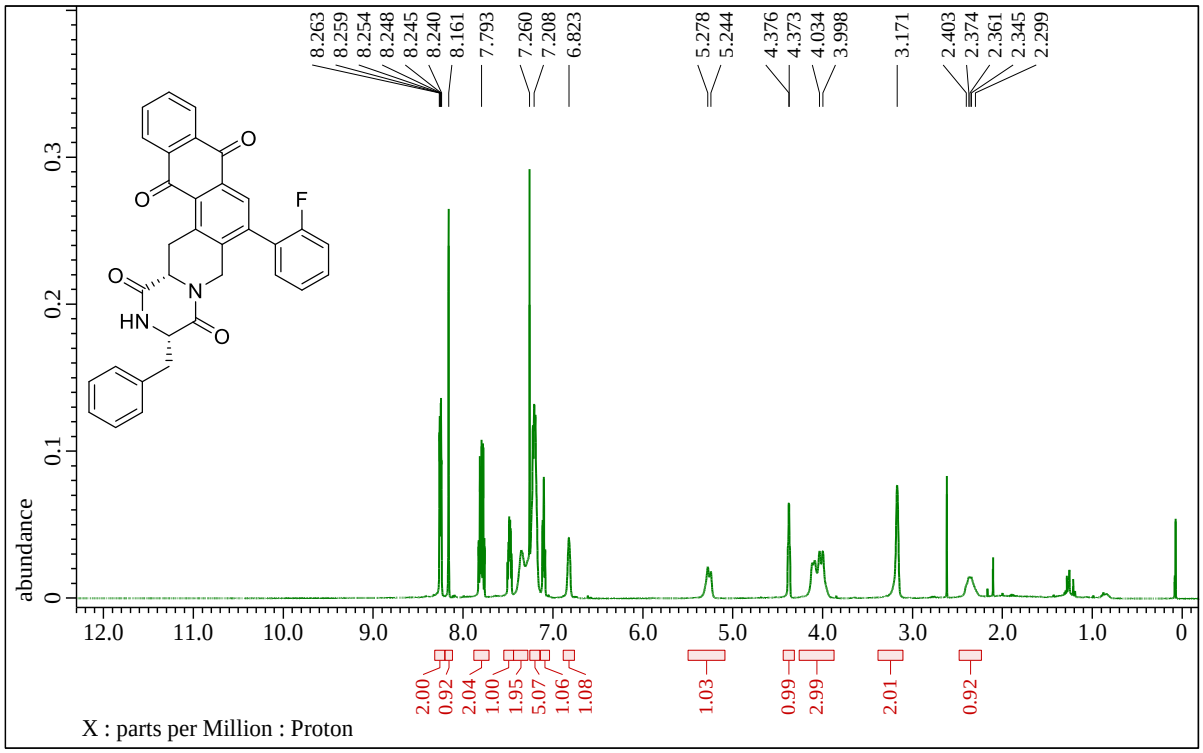


Figure S75. ^{1}H NMR spectrum of **13g** (500 MHz, $CDCl_3$+DMSO)

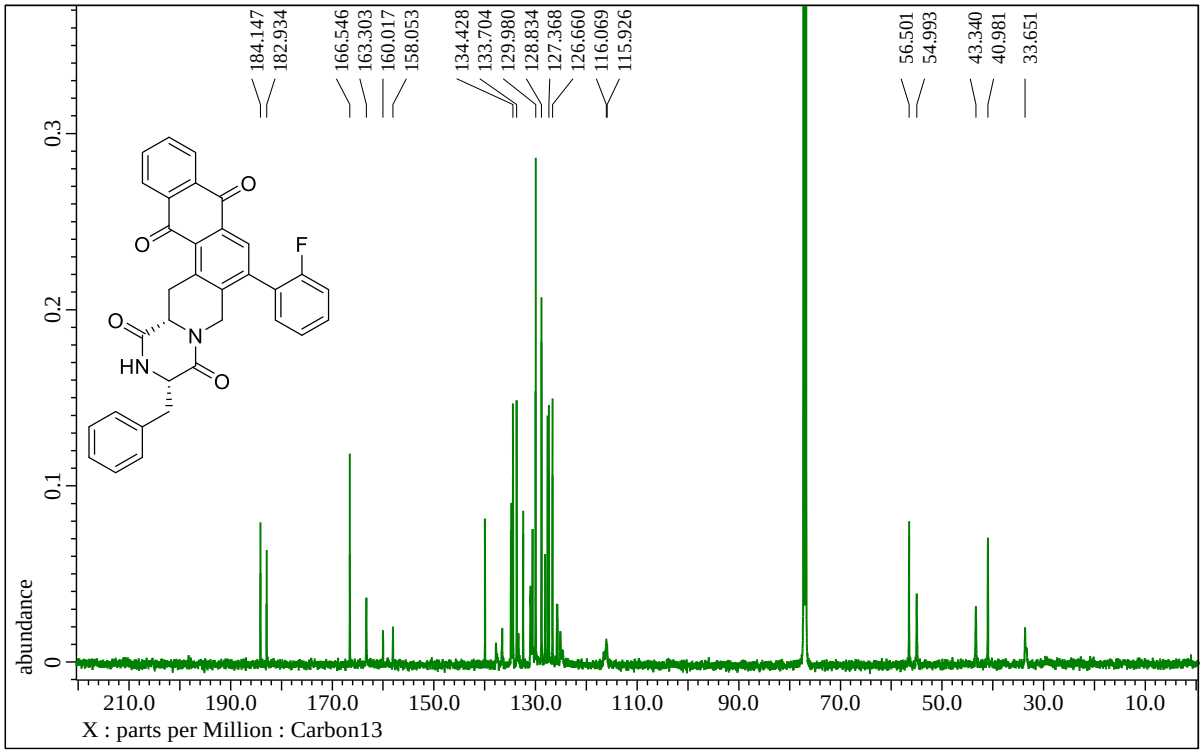


Figure S76. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **13g** (126 MHz, $CDCl_3$)

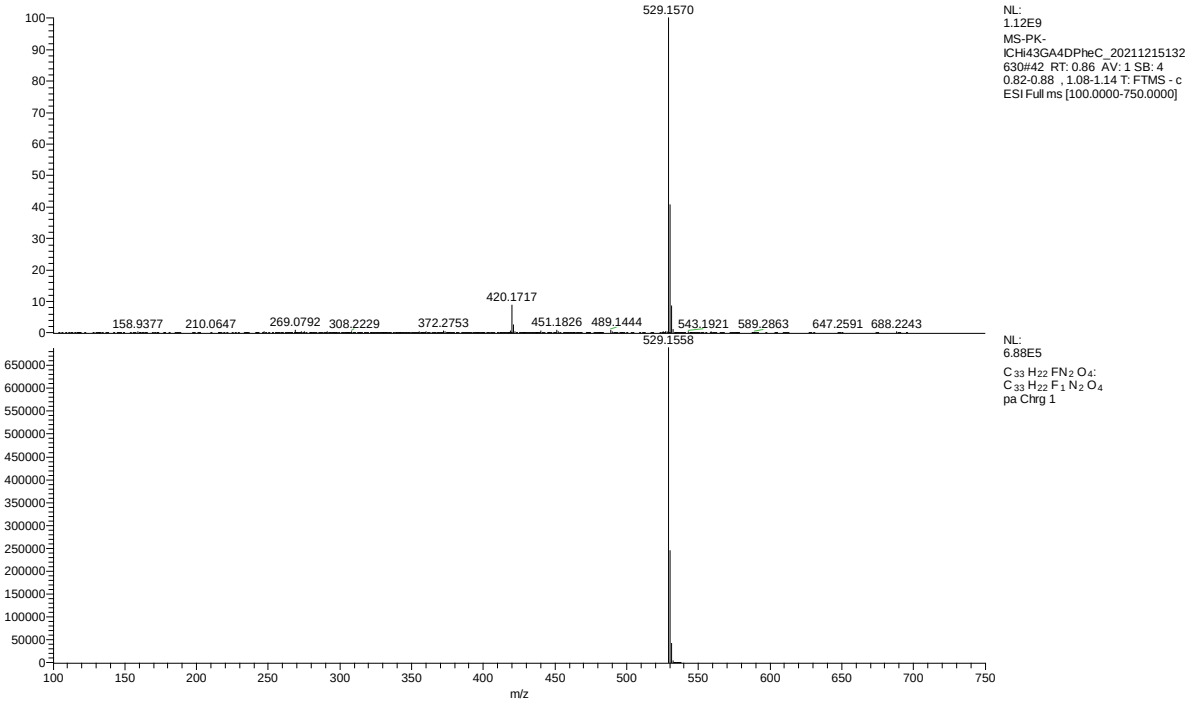


Figure S77. HRMS spectrum of **13g**

7.2.11 (3*S*,15*aS*)-7-(2-fluorophenyl)-3-(4-hydroxybenzyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*] pyrazino[1,2-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 13h

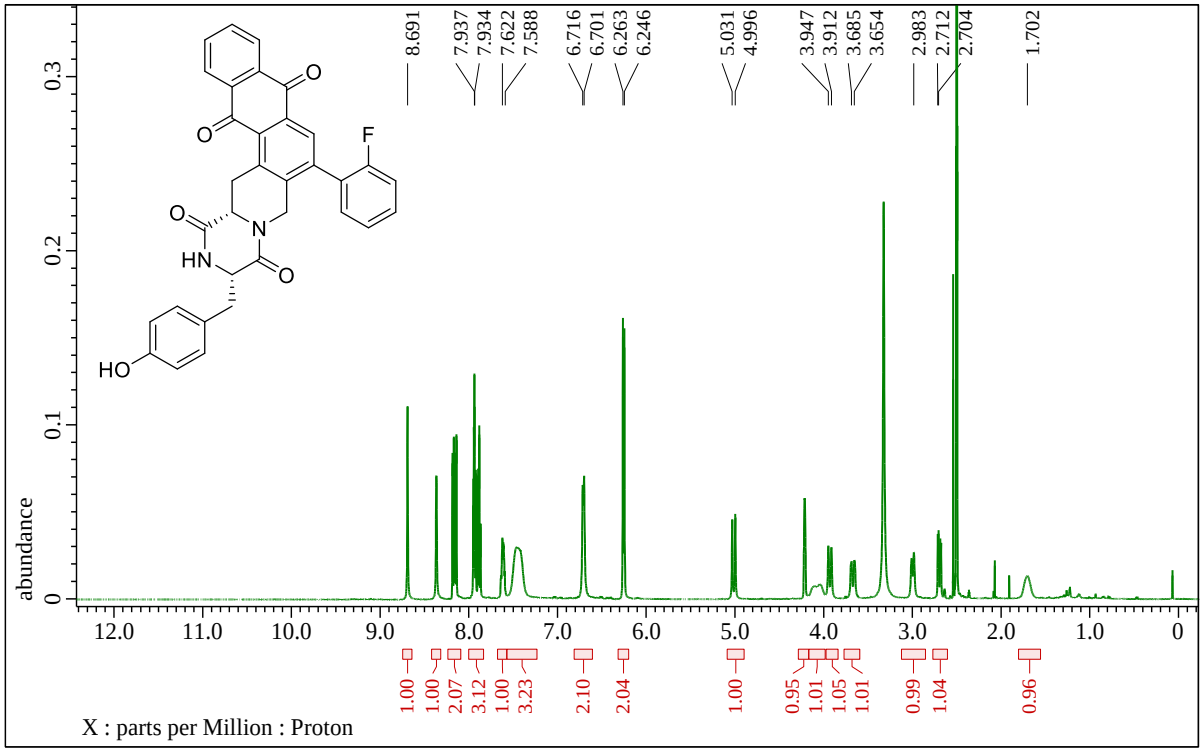


Figure S78. ^{1}H NMR spectrum of **13h** (500 MHz, DMSO-d_6)

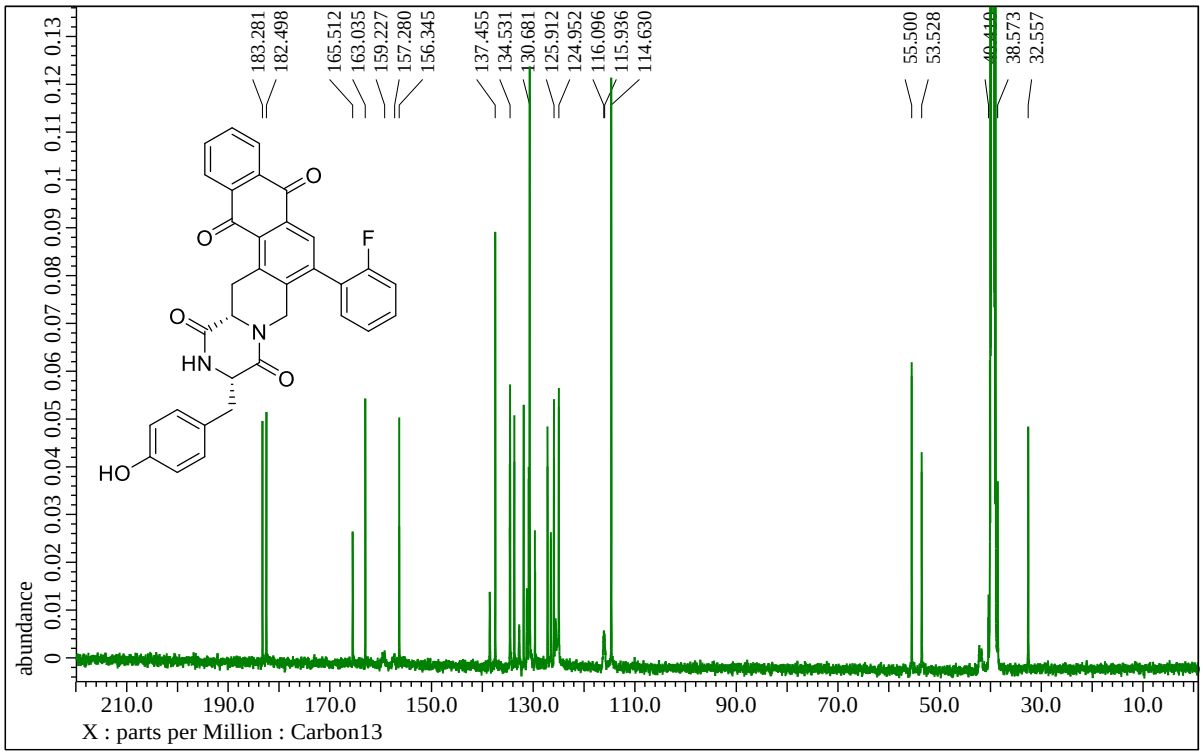


Figure S79. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **13h** (126 MHz, DMSO-d_6)

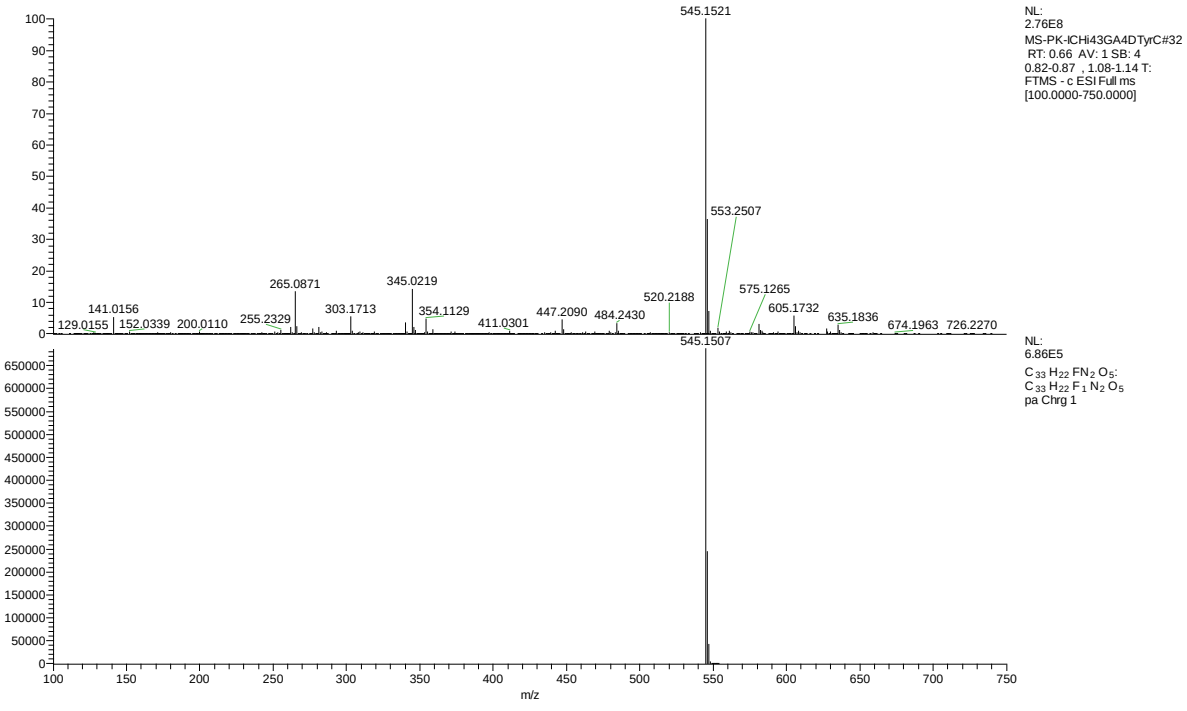


Figure S80. HRMS spectrum of **13h**

7.2.12 (3*S*,17*aS*)-3-benzyl-7-(4-fluorophenyl)-17,17*a*-dihydro-2*H*-anthra[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*] isoquinoline-1,4,9,16(3*H*,6*H*)-tetraone 13i

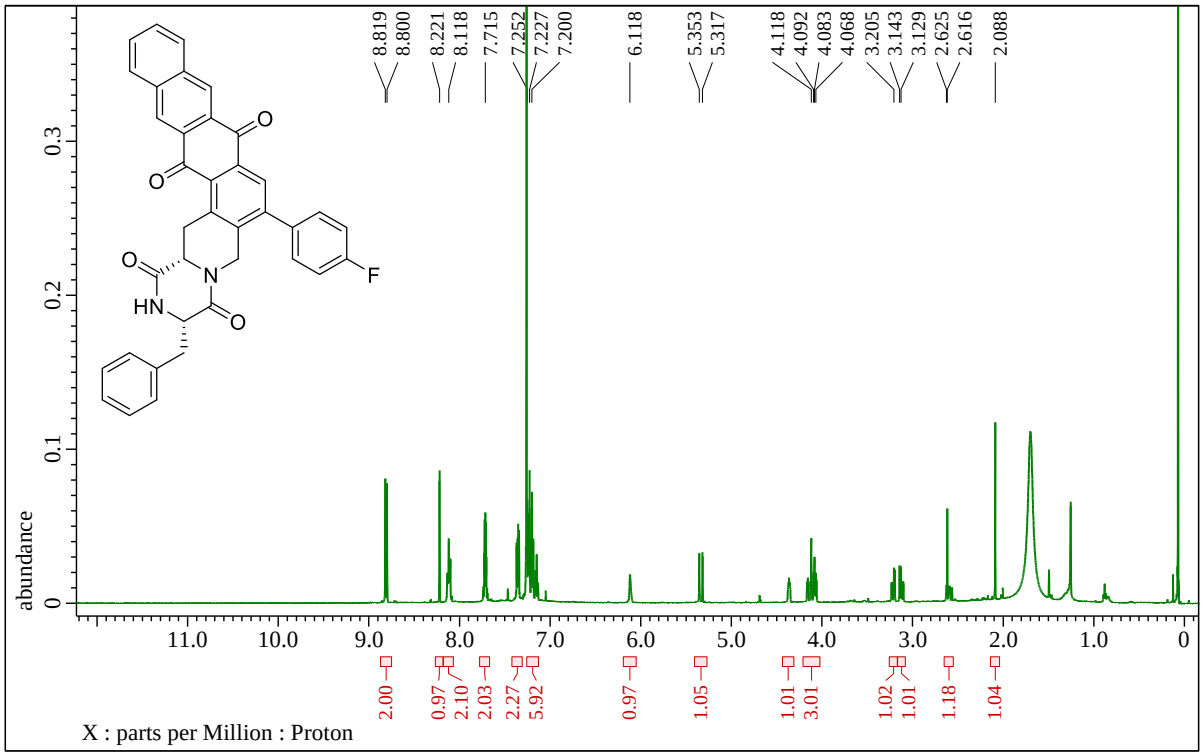


Figure S81. ^{1}H NMR spectrum of **13i** (500 MHz, $CDCl_3$)

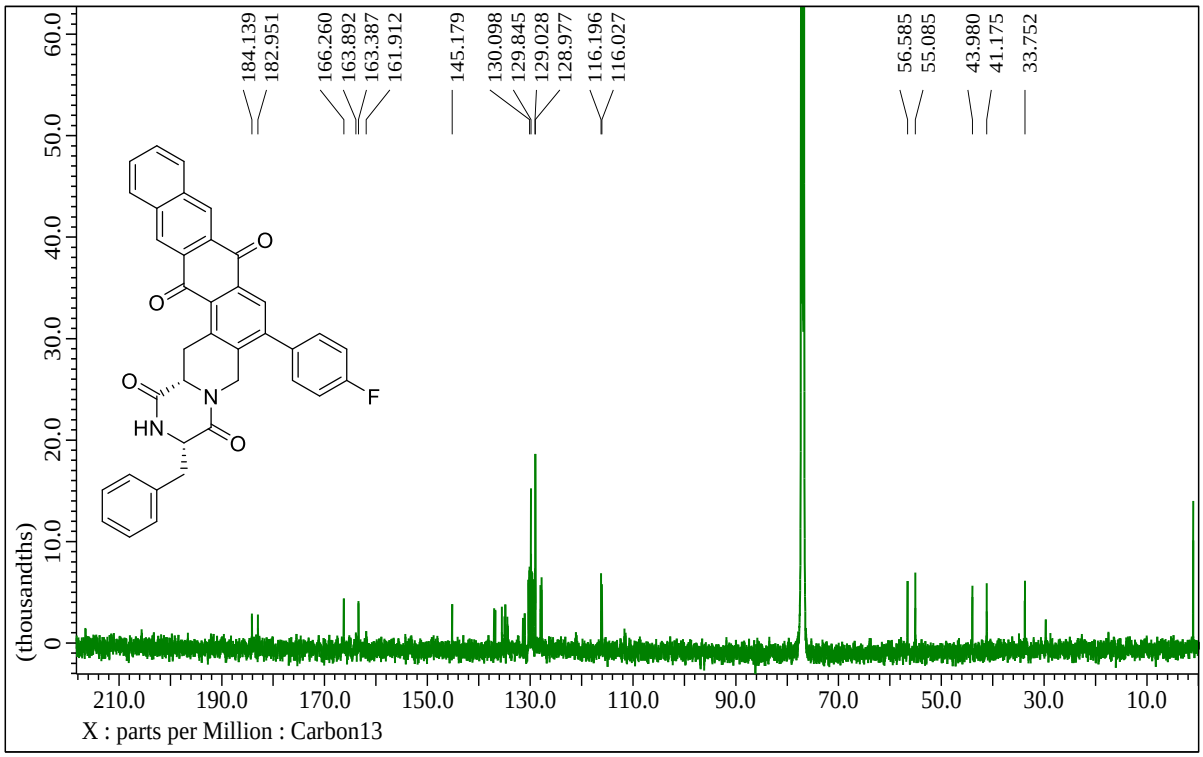


Figure S82. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **13i** (126 MHz, $CDCl_3$)

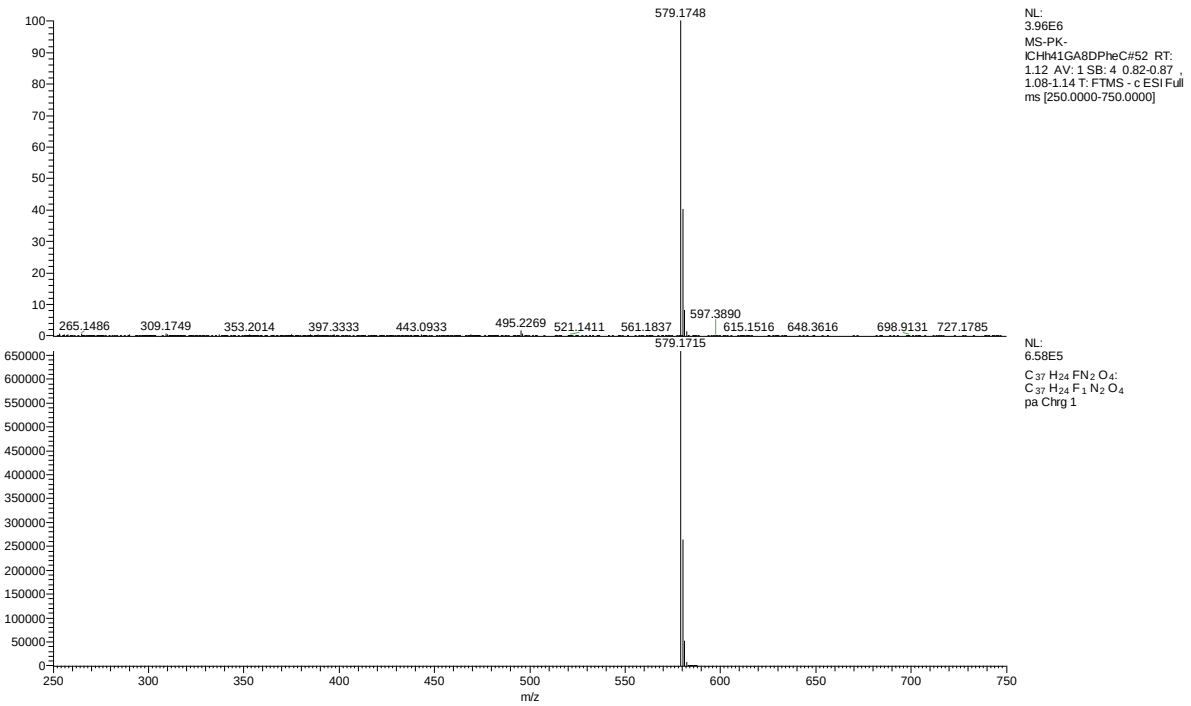


Figure S83. HRMS spectrum of **13i**

7.2.13 (3*S*,16a*S*)-3-benzyl-8-phenyl-2,3,6,7,16,16*a*-hexahydroanthra[1,2-*d*]pyrazino[1,2-*a*] azepine-1,4,10,15-tetraone 14a

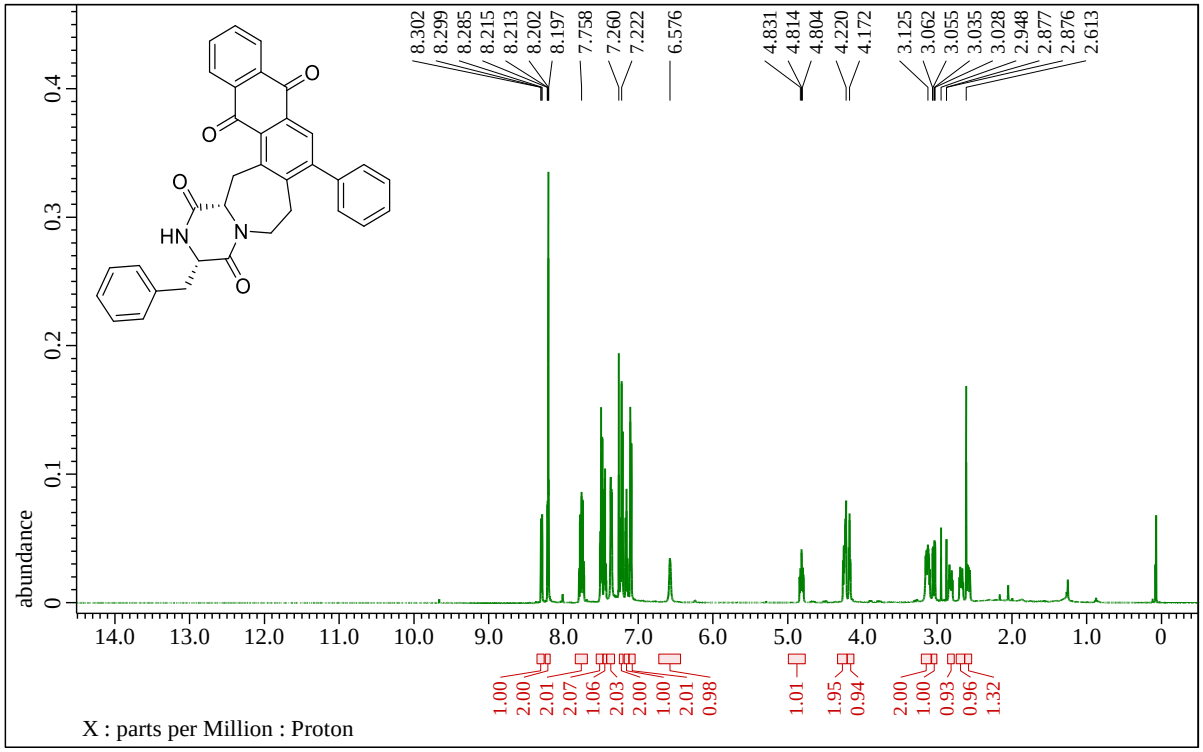


Figure S84. ^{1}H NMR spectrum of **14a** (500 MHz, $CDCl_3$)

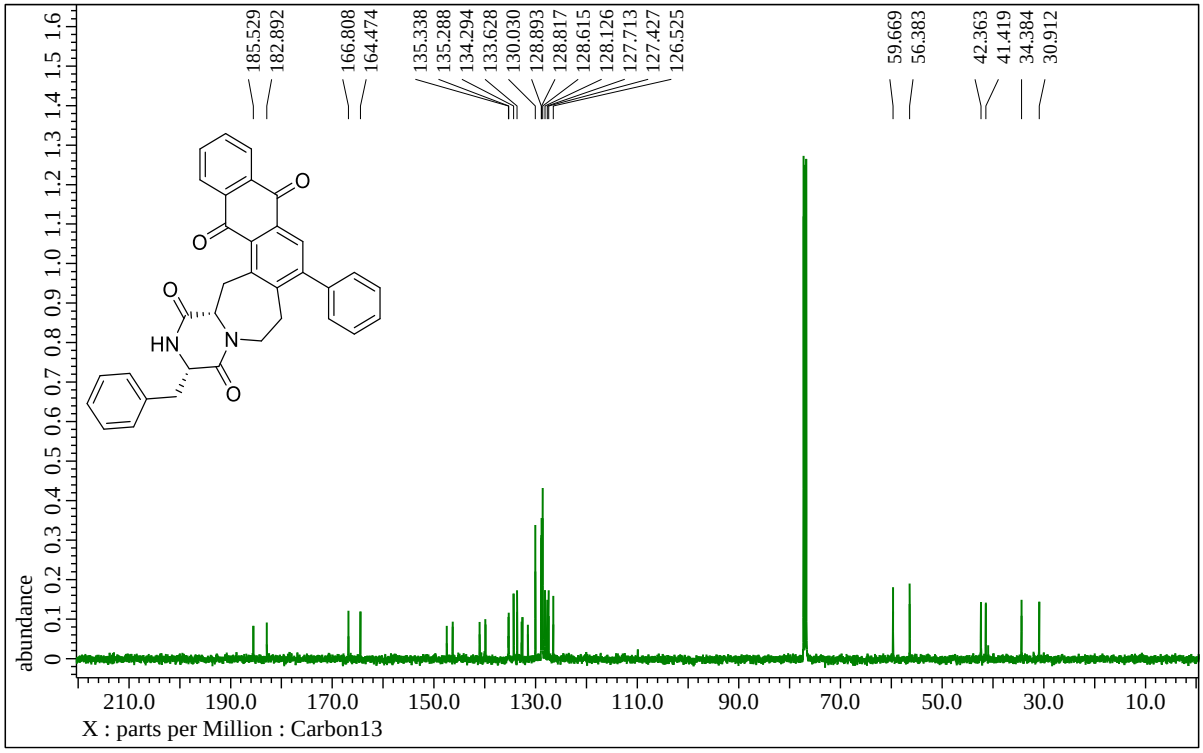


Figure S85. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **14a** (126 MHz, $CDCl_3$)

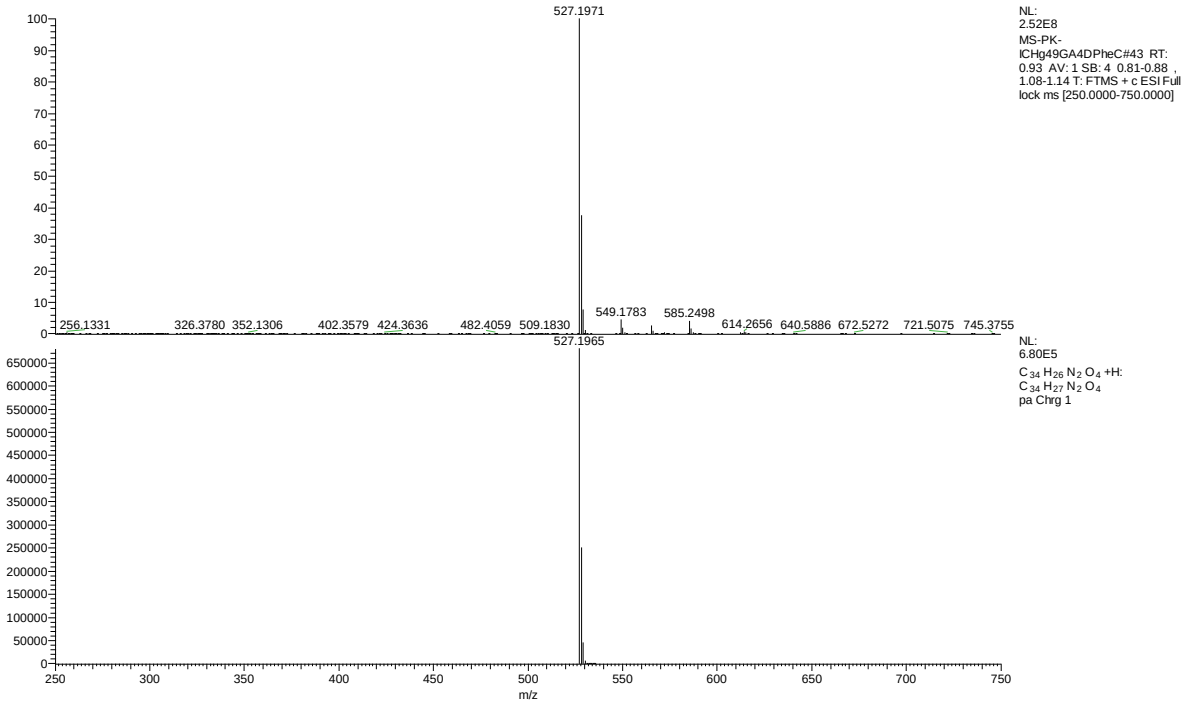


Figure S86. HRMS spectrum of **14a**

7.2.14 (3*S*,16a*S*)-3-(4-hydroxybenzyl)-8-phenyl-2,3,6,7,16,16*a*-hexahydroanthra[1,2-*d*] pyrazino[1,2-*a*]azepine-1,4,10,15-tetraone 14b

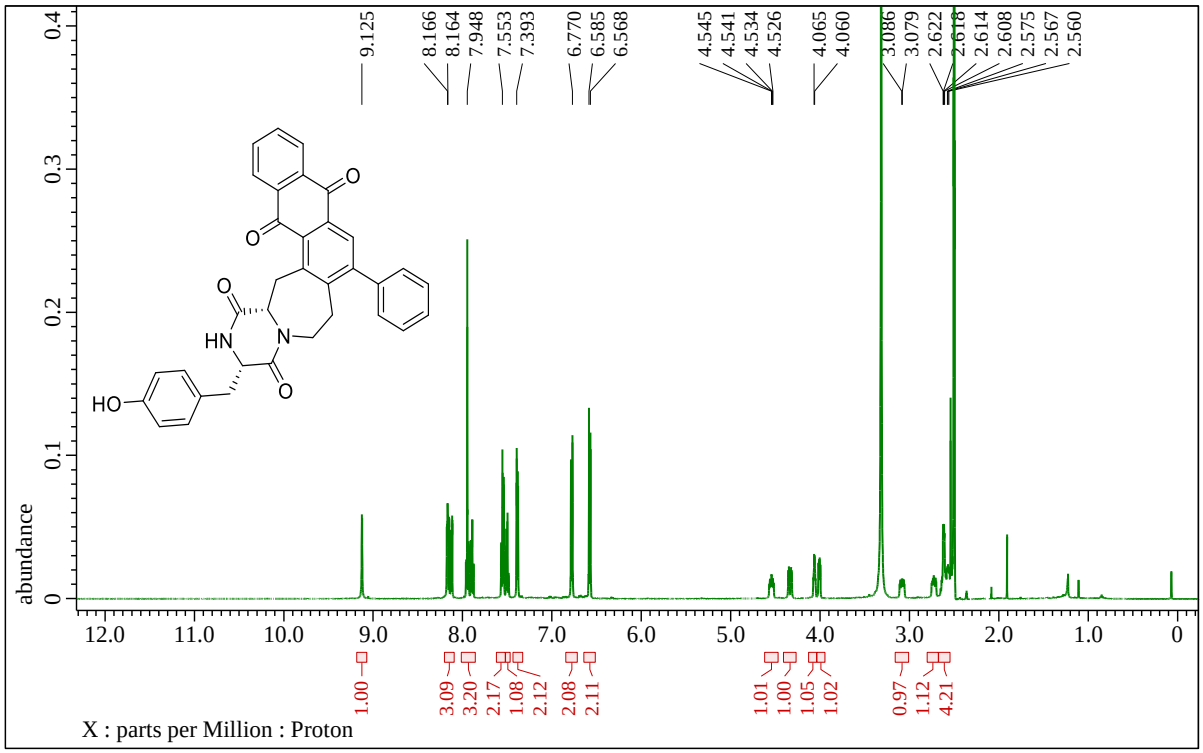


Figure S87. ^{1}H NMR spectrum of **14b** (500 MHz, DMSO-d_6)

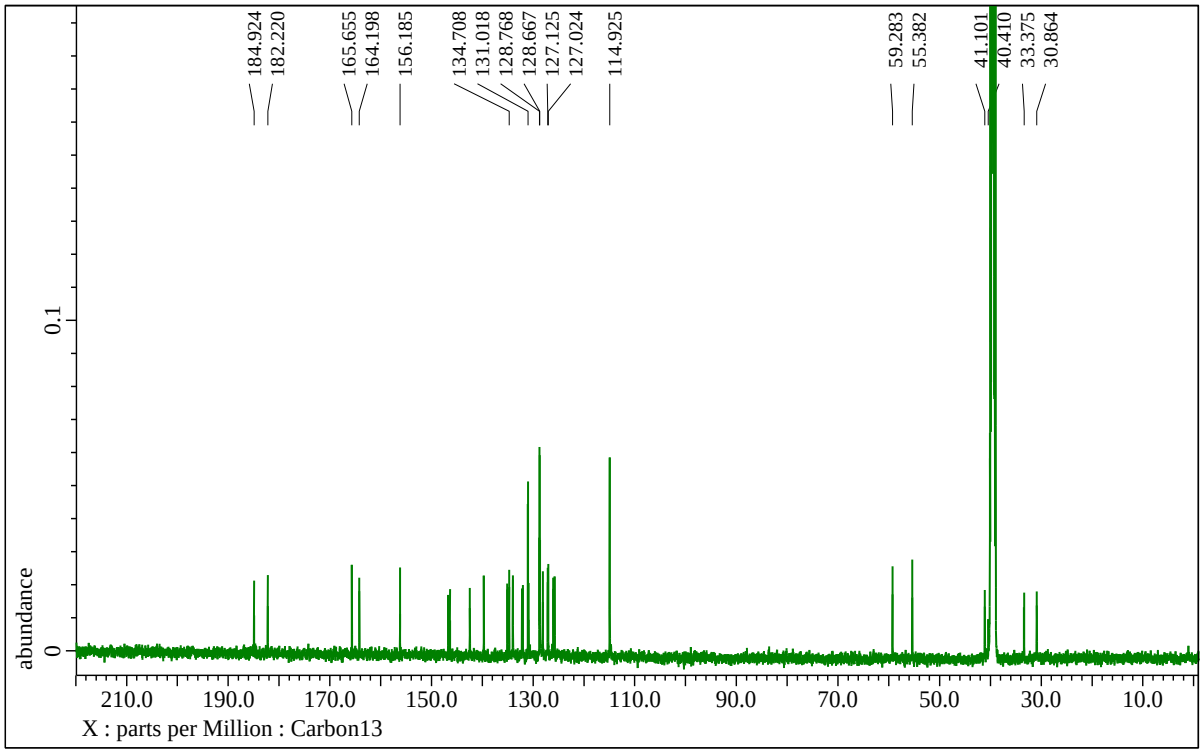


Figure S88. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **14b** (126 MHz, DMSO-d_6)

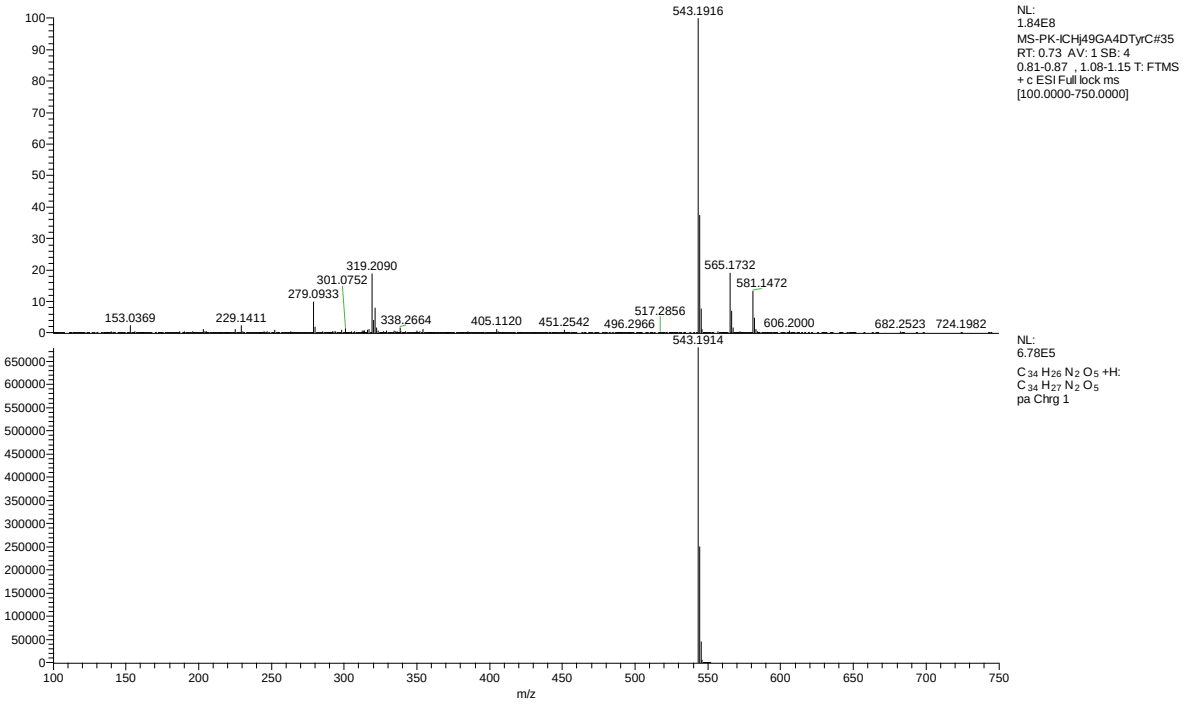


Figure S89. HRMS spectrum of **14b**

7.2.15 (3*S*,16a*S*)-3-benzyl-8-(4-(trifluoromethyl)phenyl)-2,3,6,7,16,16*a*-hexahydroanthra[1,2-*d*]pyrazino[1,2-*a*]azepine-1,4,10,15-tetraone 14c

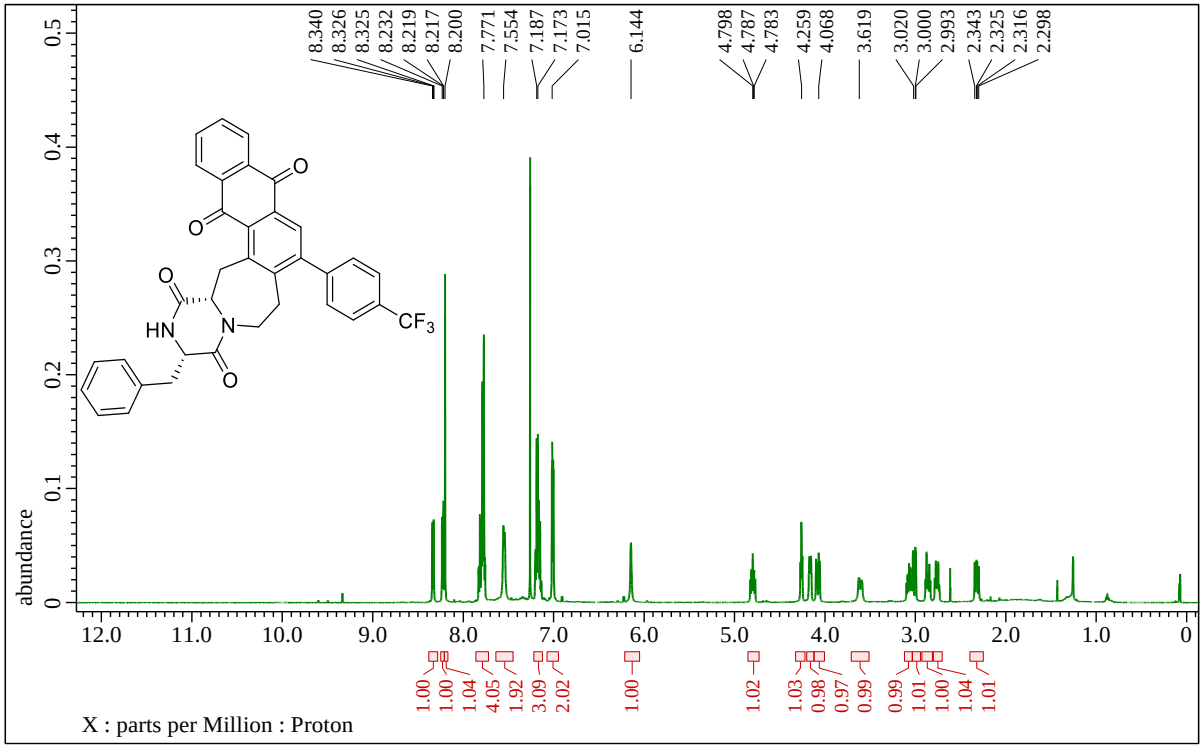


Figure S90. ^{1}H NMR spectrum of **14c** (500 MHz, $CDCl_3$)

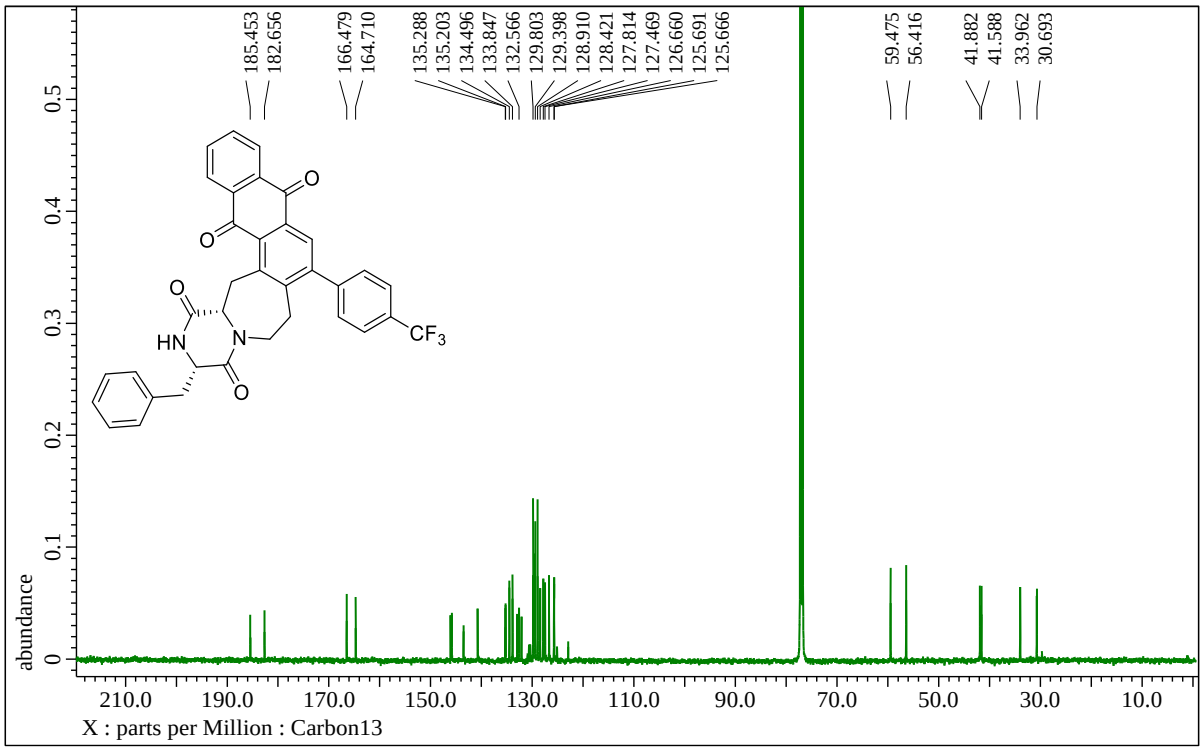


Figure S91. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **14c** (126 MHz, $CDCl_3$)

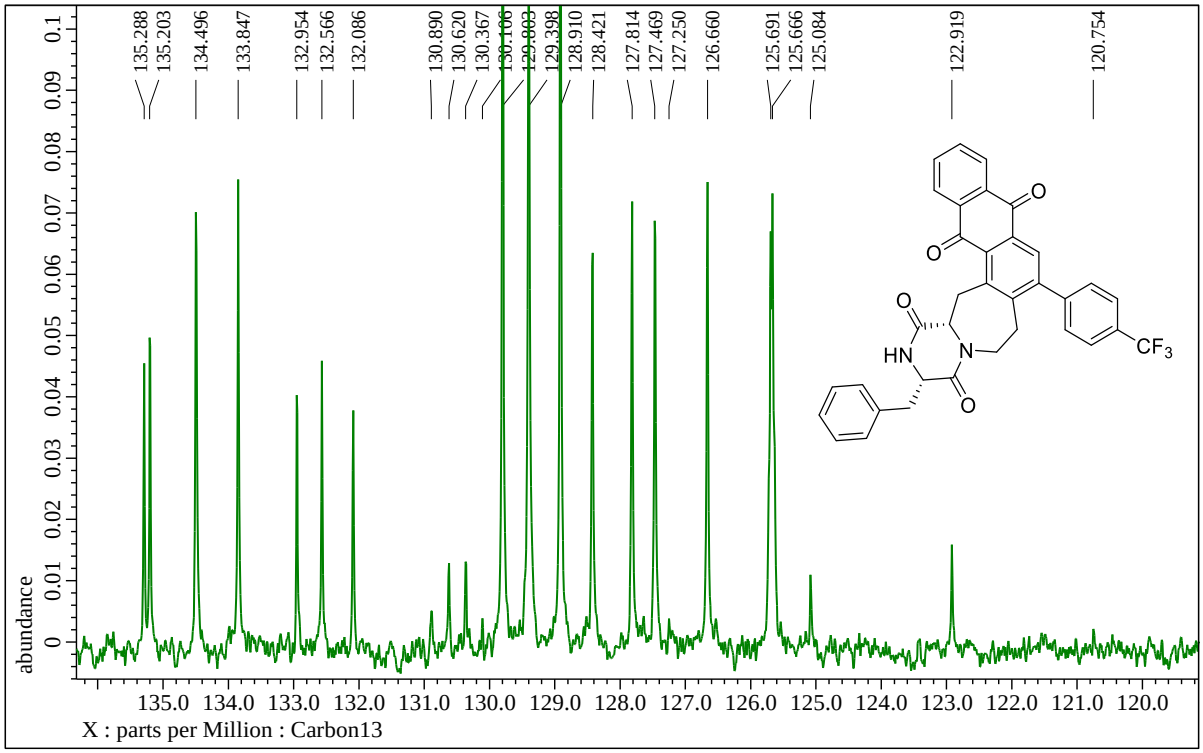


Figure S92. Detailed $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **14c** – aromatic area (126 MHz, $CDCl_3$)

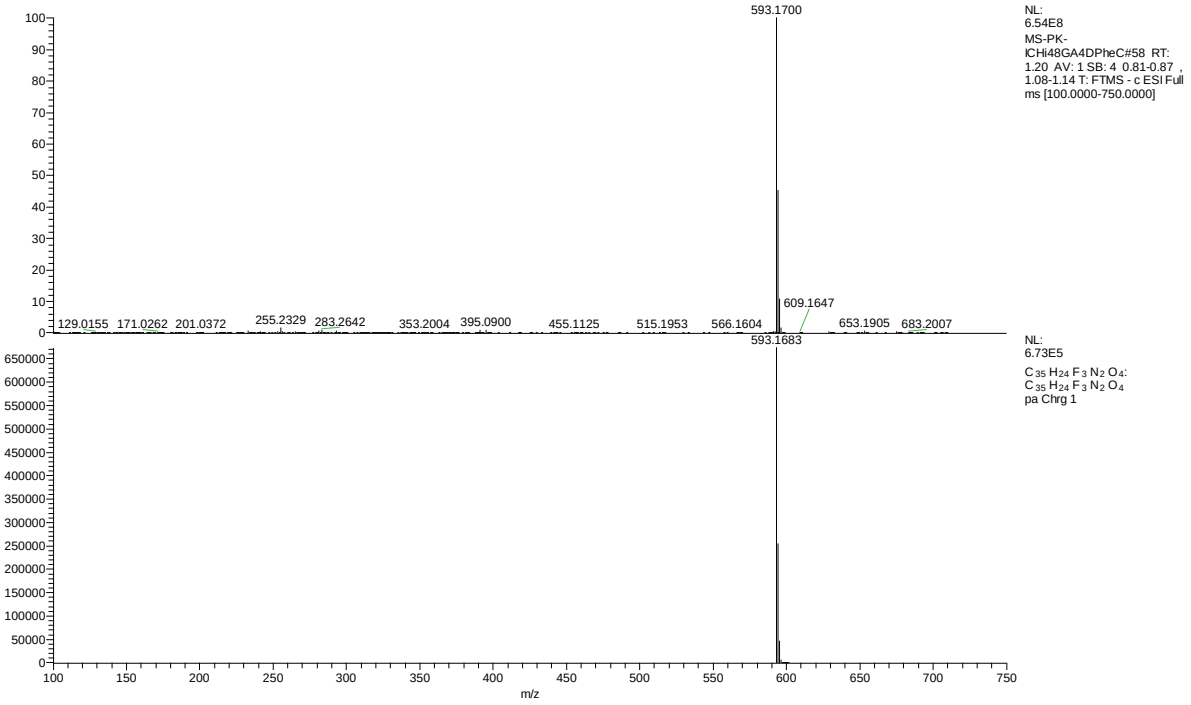


Figure S93. HRMS spectrum of **14c**

7.2.16 (*S*)-2-benzyl-7-(4-bromophenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*] isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 16a

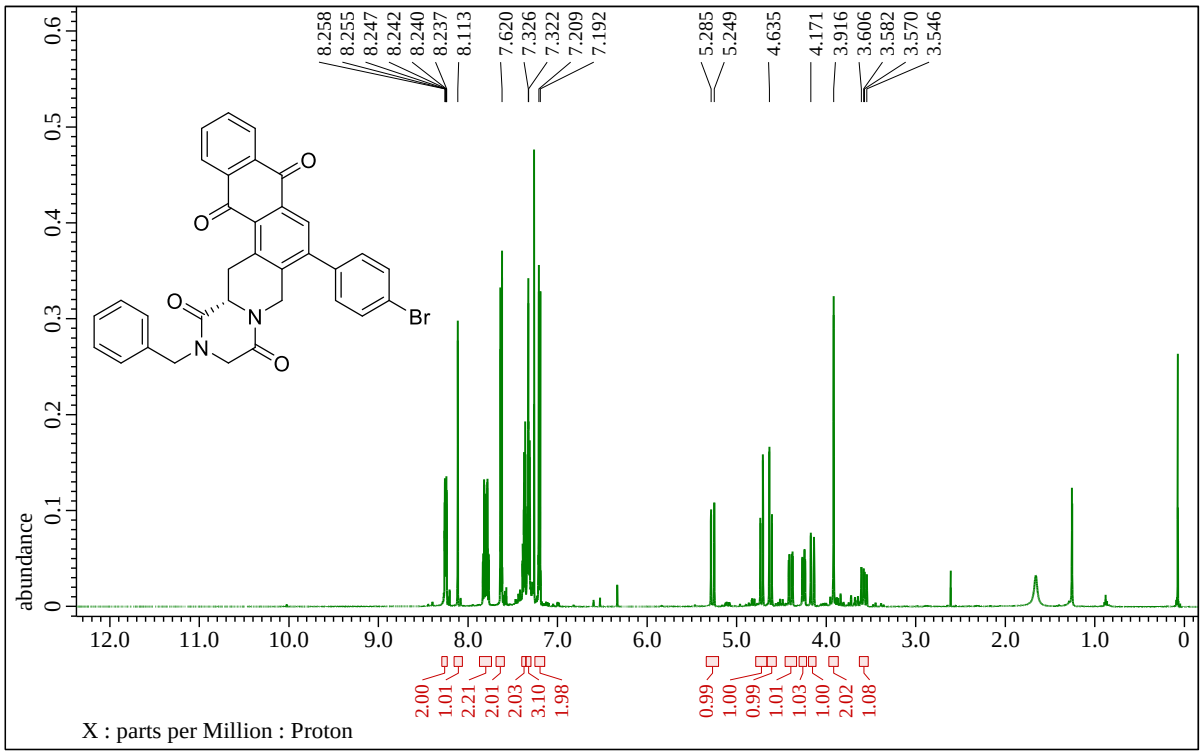


Figure S94. ^{1}H NMR spectrum of **16a** (500 MHz, $CDCl_3$)

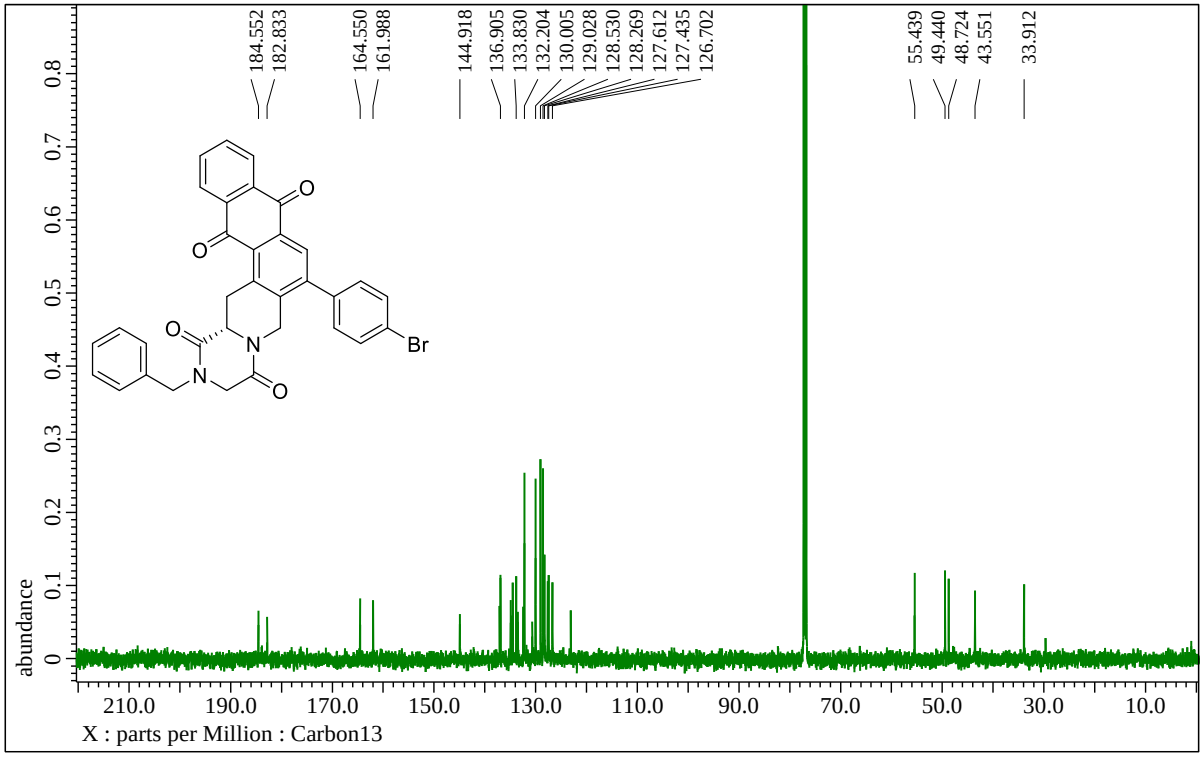


Figure S95. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **16a** (126 MHz, $CDCl_3$)

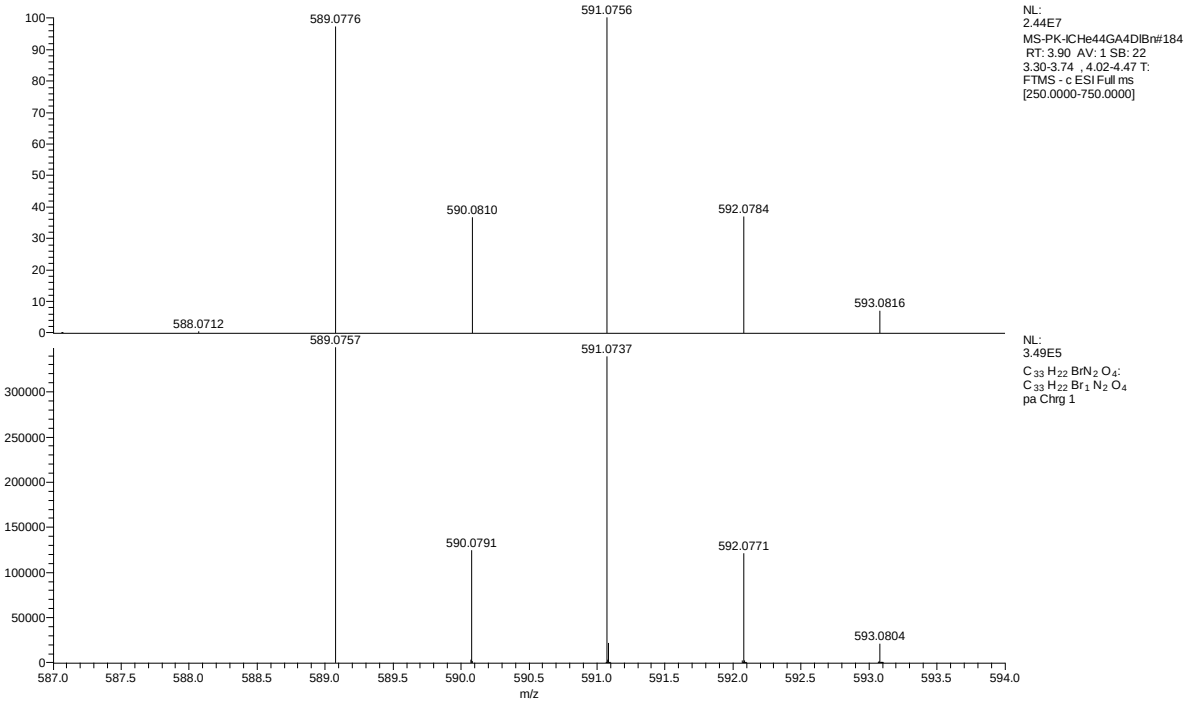


Figure S96. HRMS spectrum of **16a**

7.2.17 (*S*)-7-(4-fluorophenyl)-2-propyl-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*] isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 16b

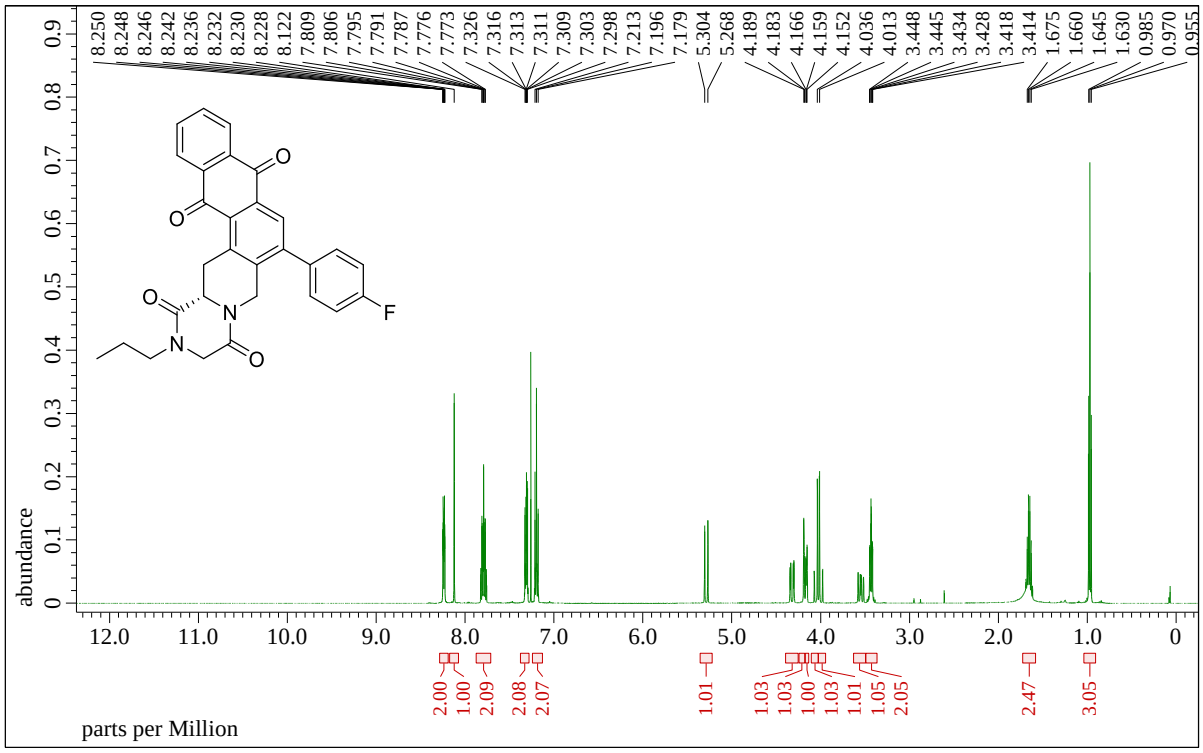


Figure S97. ^{1}H NMR spectrum of **16b** (500 MHz, $CDCl_3$)

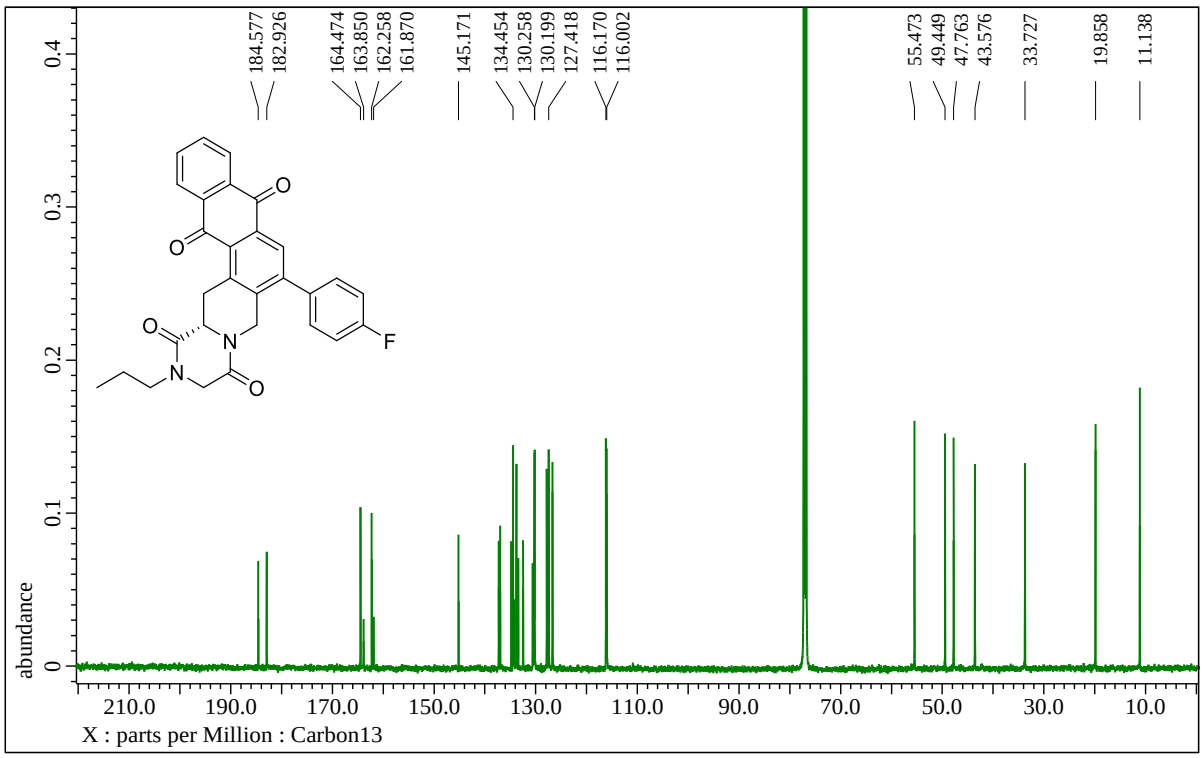


Figure S98. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **16b** (126 MHz, $CDCl_3$)

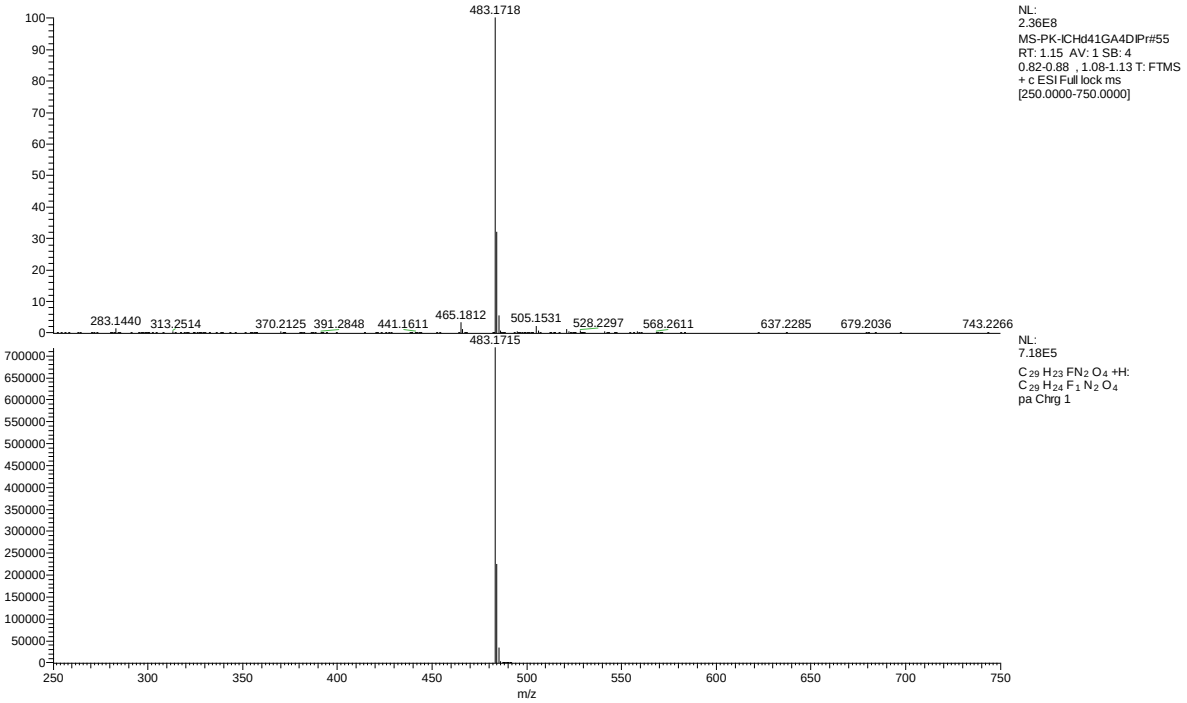


Figure S99. HRMS spectrum of **16b**

7.2.18 *(S)*-2-benzyl-7-(2-fluorophenyl)-15,15*a*-dihydro-2*H*-naphtho[2,3-*f*]pyrazino[1,2-*b*] isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 16d

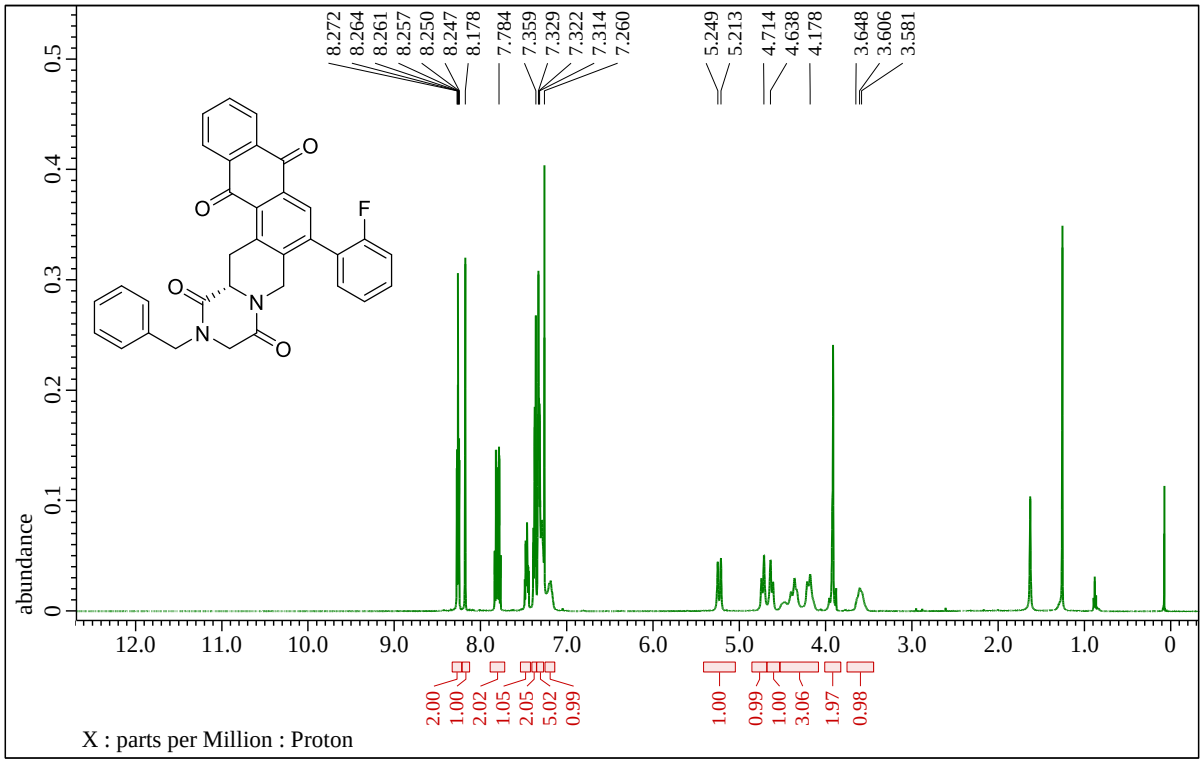


Figure S100. ^{1}H NMR spectrum of **16d** (500 MHz, $CDCl_3$)

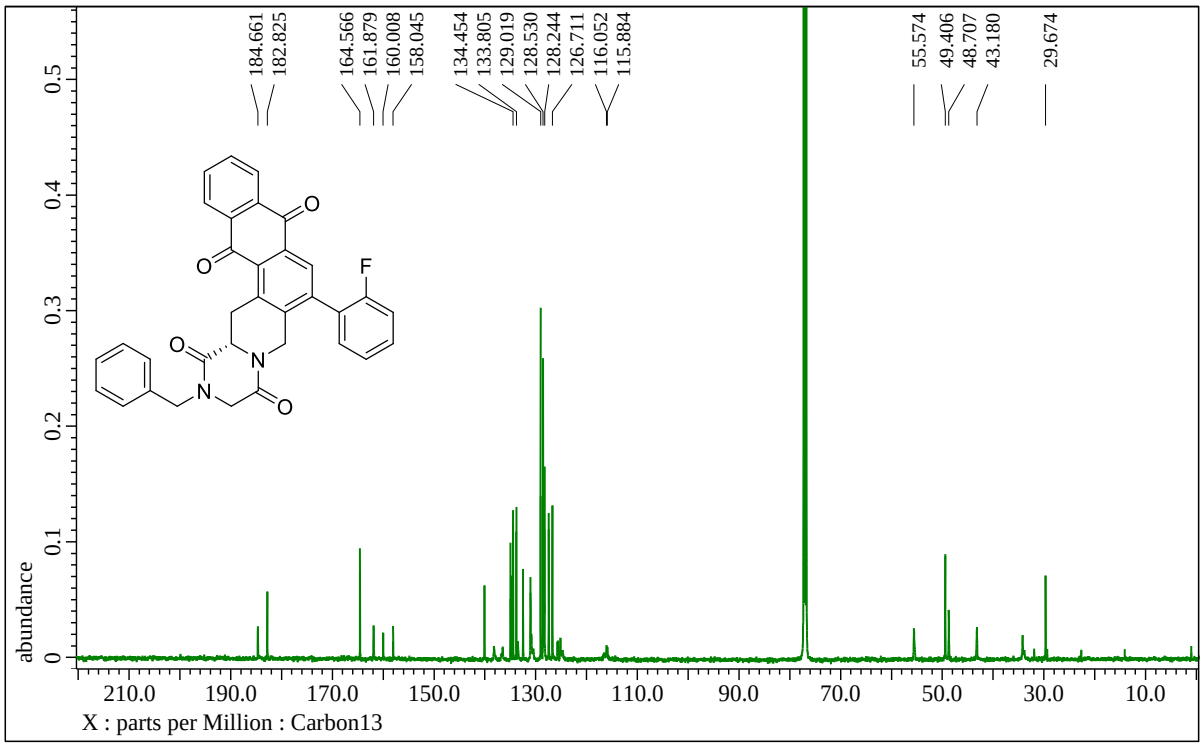


Figure S101. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **16d** (126 MHz, $CDCl_3$)

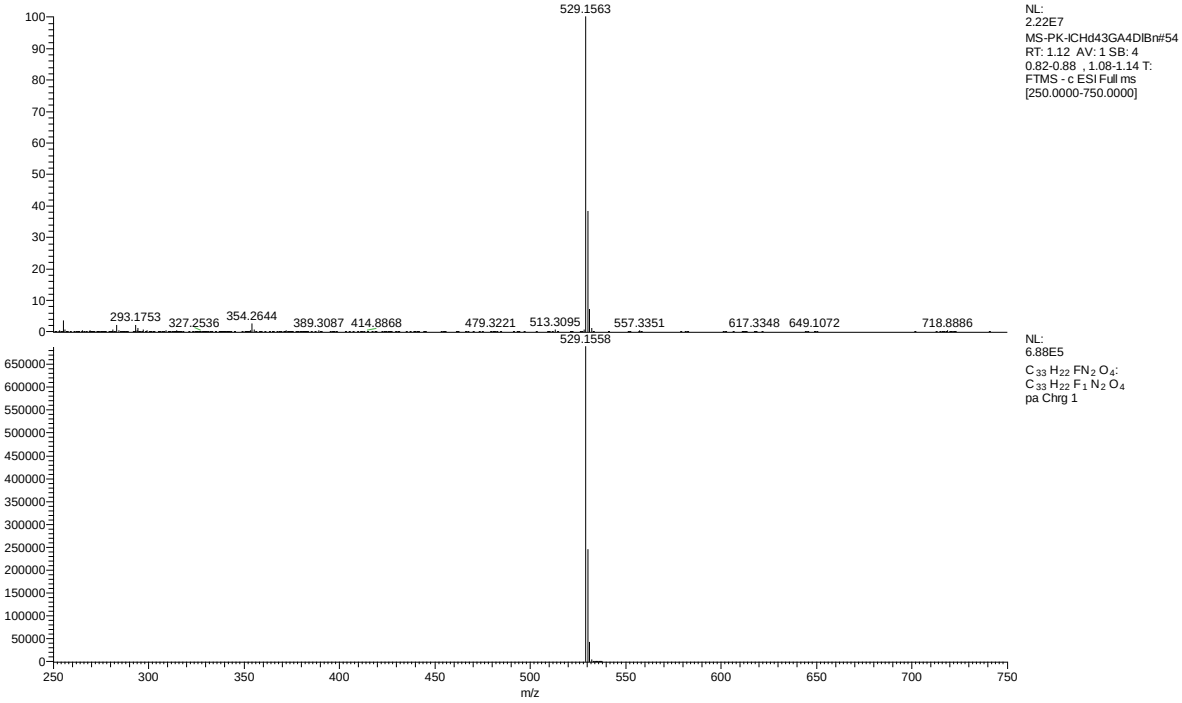


Figure S102. HRMS spectrum of **16d**

7.2.19 (*S*)-2-benzyl-8-phenyl-2,3,6,7,16,16*a*-hexahydroanthra[1,2-*d*]pyrazino[1,2-*a*]azepine-1,4,10,15-tetraone 17a

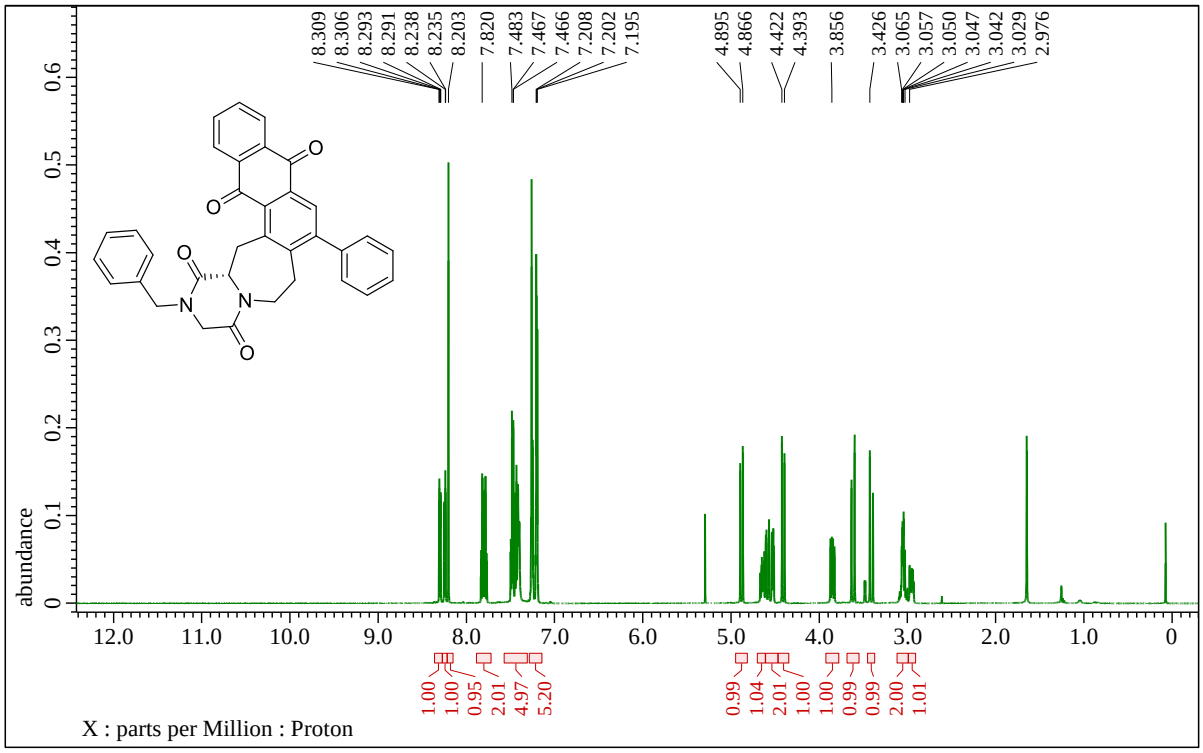


Figure S103. ^{1}H NMR spectrum of **17a** (500 MHz, $CDCl_3$).

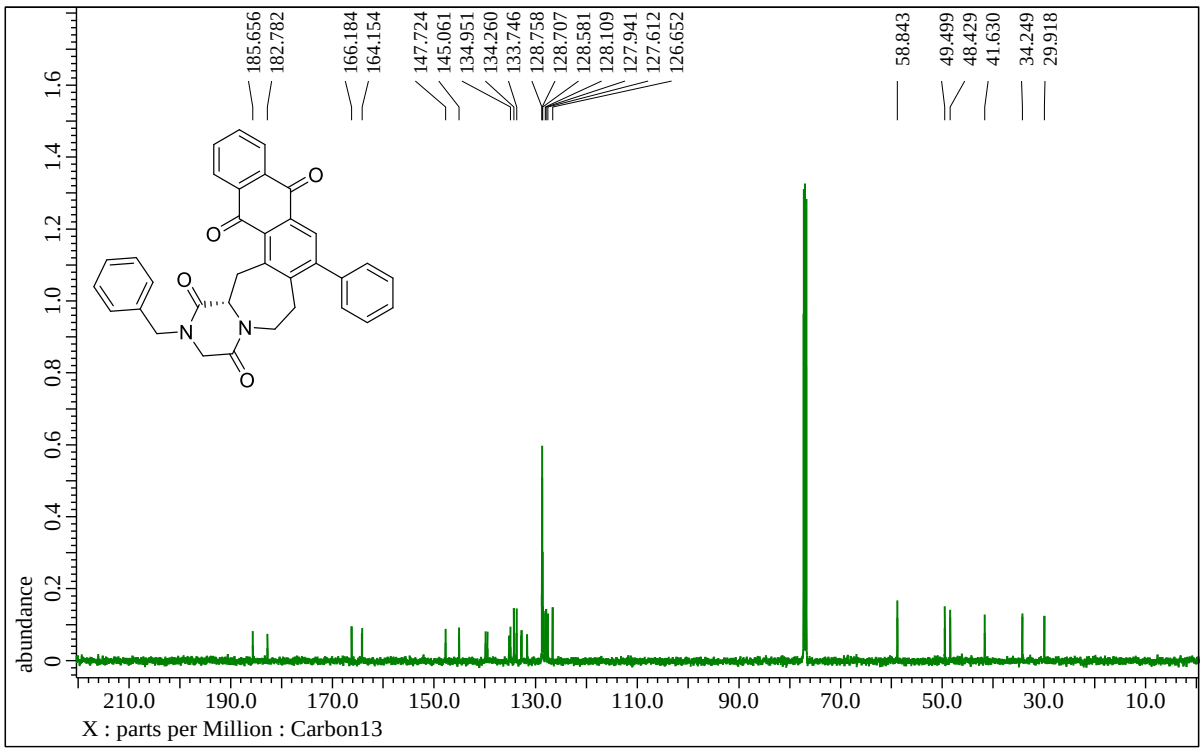


Figure S104. ^{13}C{^{1}H} NMR spectrum of **17a** (126 MHz, $CDCl_3$)

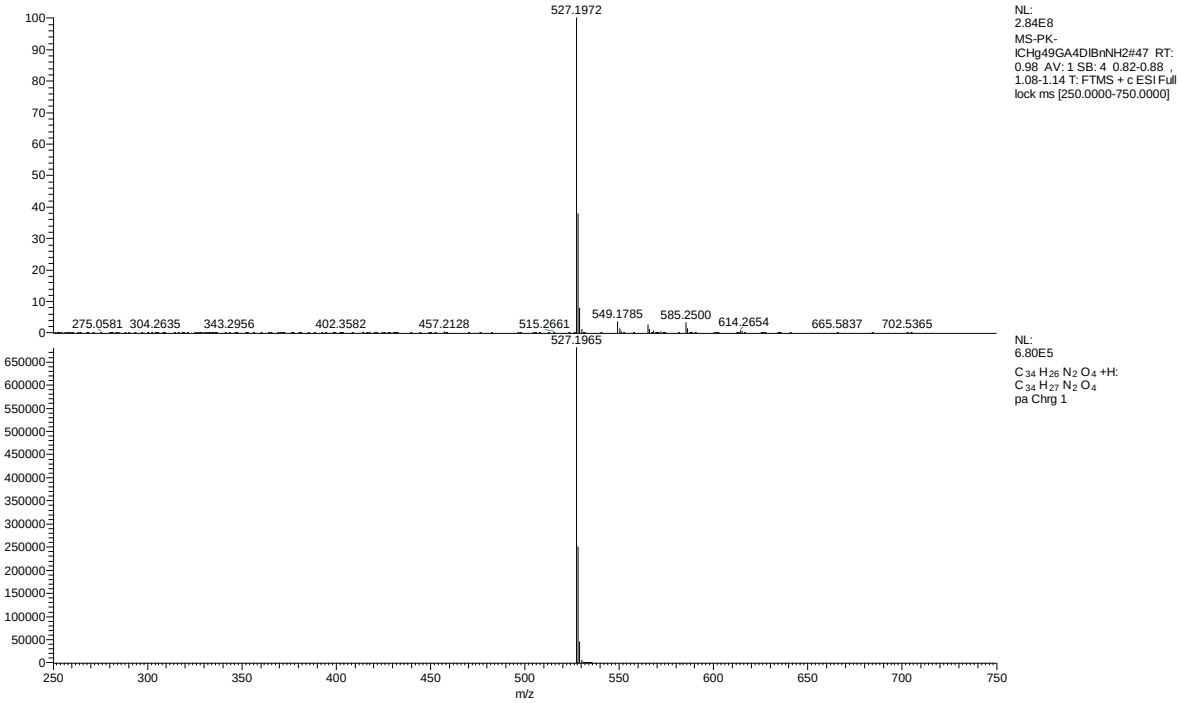


Figure S105. HRMS spectrum of **17a**

7.2.20 (*S*)-8-phenyl-2-propyl-2,3,6,7,16,16*a*-hexahydroanthra[1,2-*d*]pyrazino[1,2-*a*]azepine-1,4,10,15-tetraone 17b

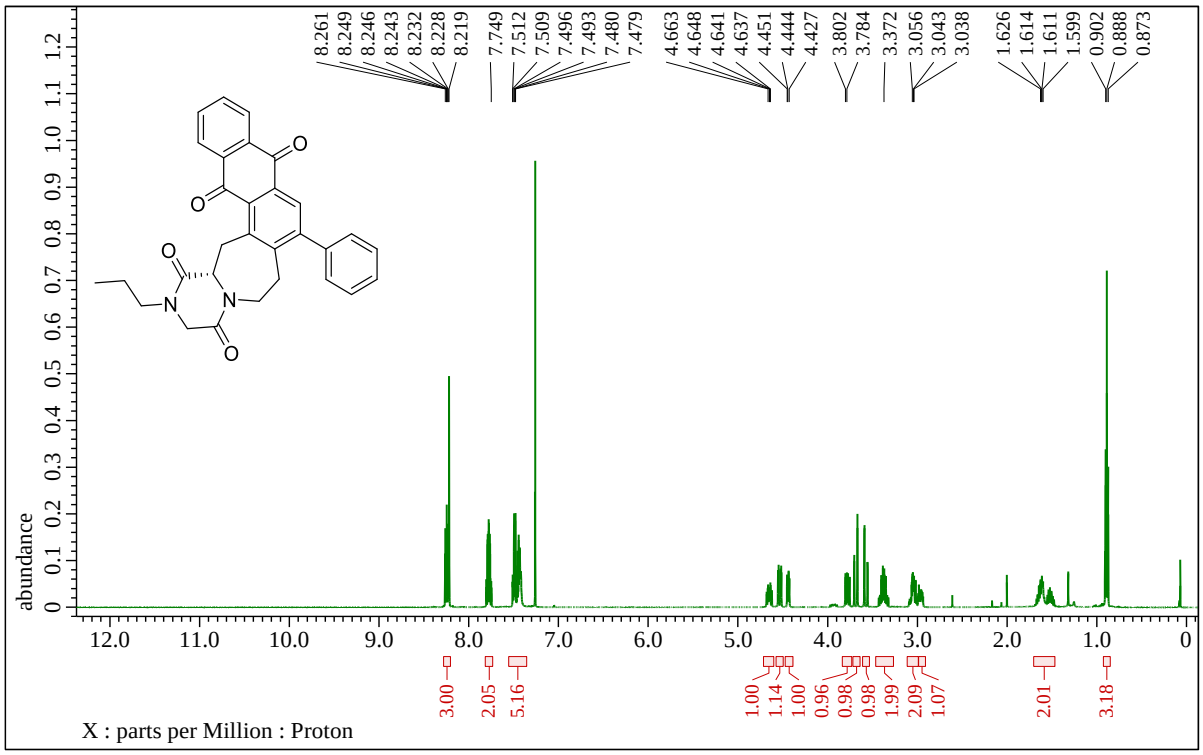


Figure S106. ^{1}H NMR spectrum of **17b** (500 MHz, $CDCl_3$)

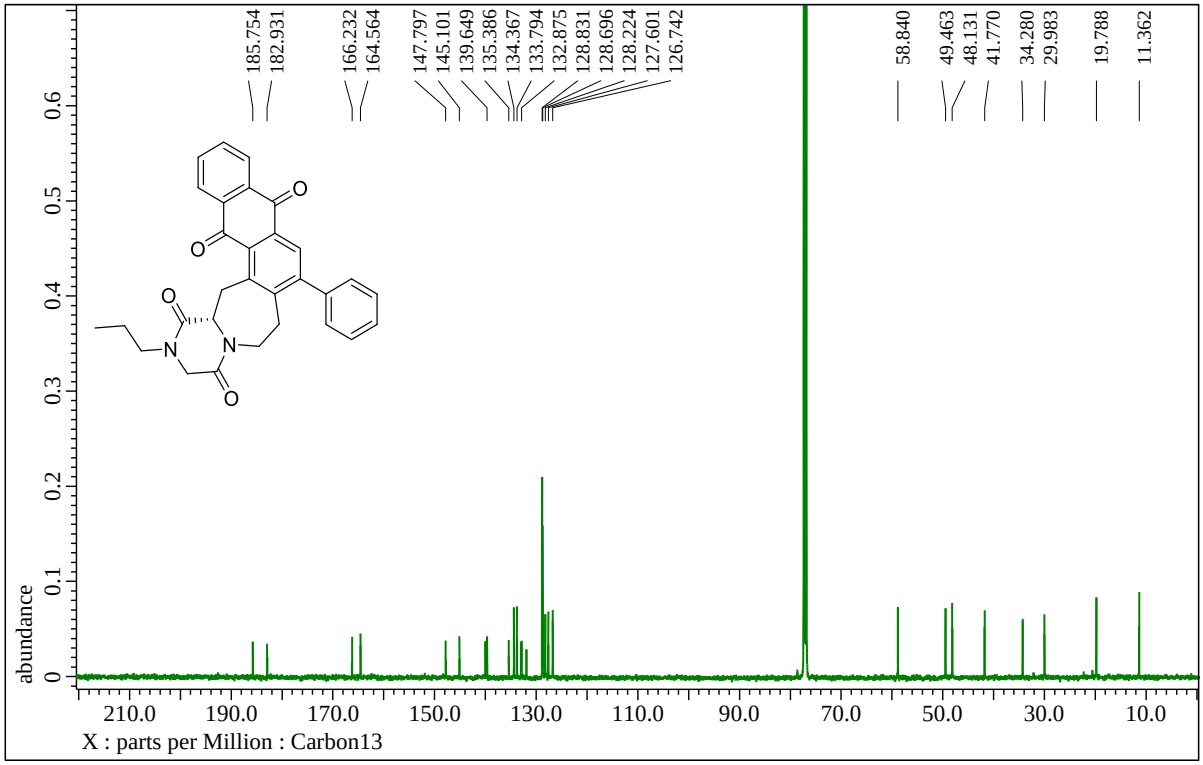


Figure S107. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **17b** (126 MHz, $CDCl_3$)

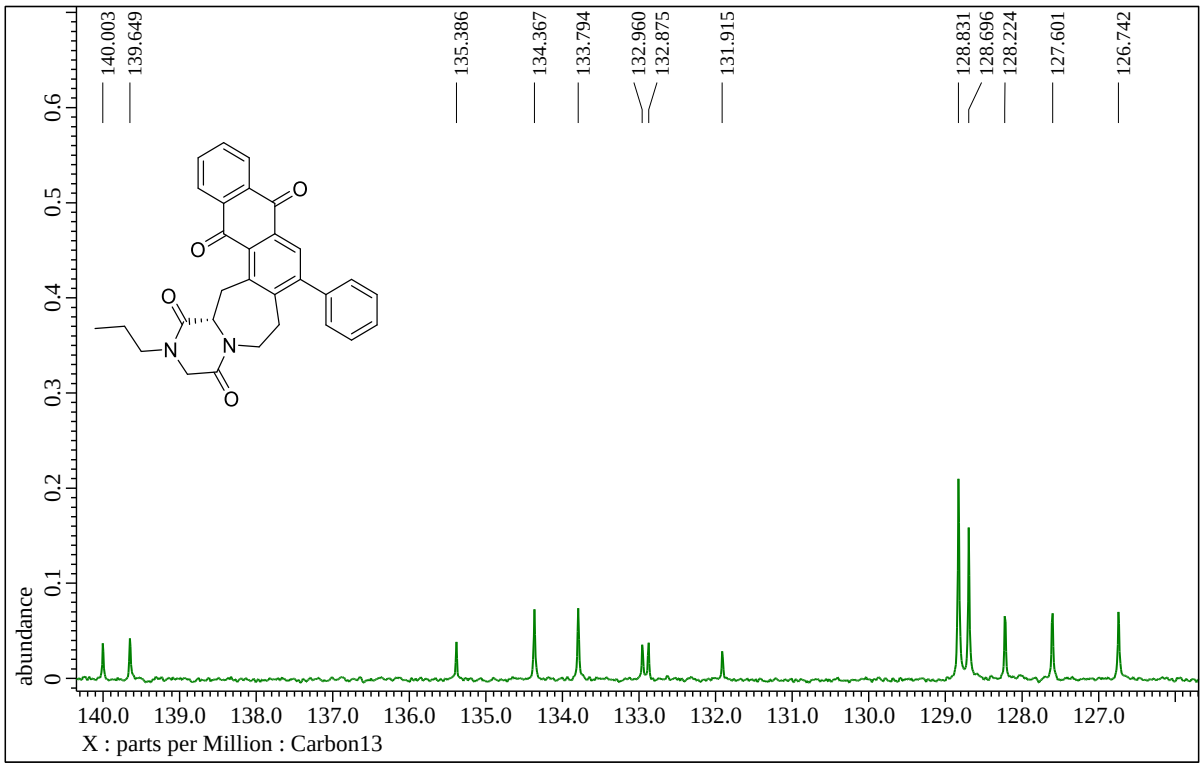


Figure 108. Detailed $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **17b** – aromatic area (126 MHz, $CDCl_3$)

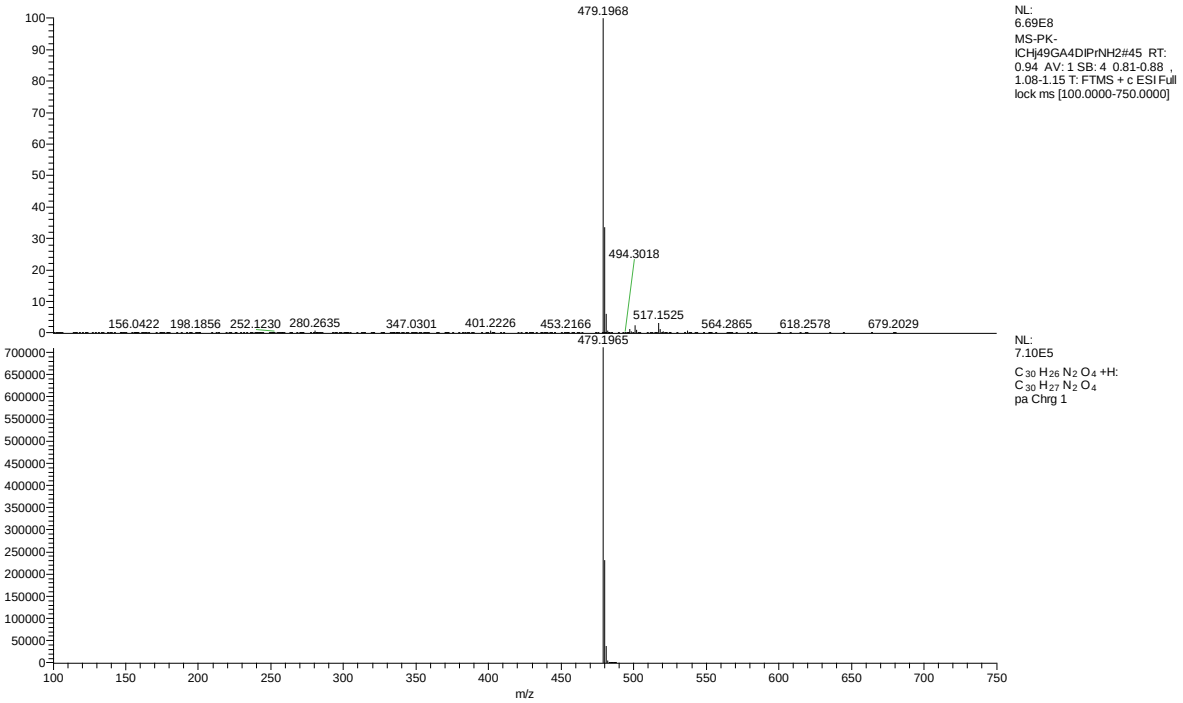


Figure S109. HRMS spectrum of **17b**

7.2.21 (*S*)-7-(3-fluorophenyl)-15,15*a*-dihydronaphtho[2,3-*f*][1,4]oxazino[4,3-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 19a

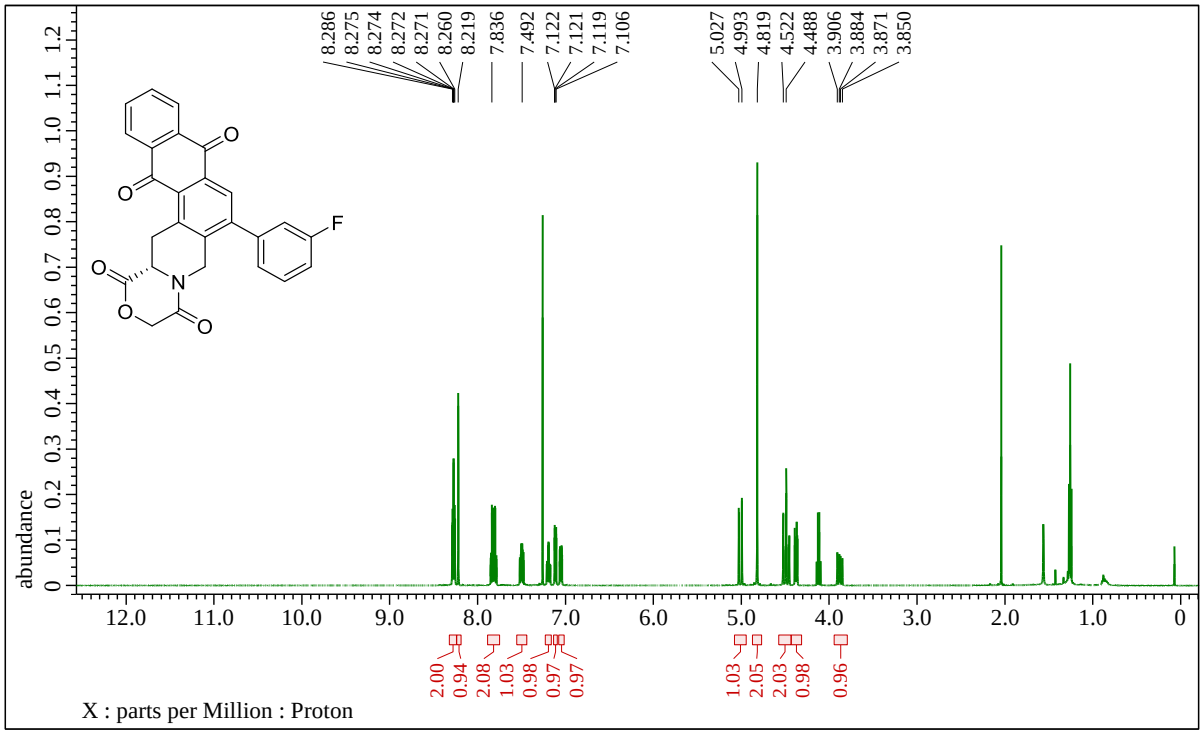


Figure S110. ^{1}H NMR spectrum of **19a** (500 MHz, $CDCl_3$). Note: Residual signals of EtOAc at 4.12 (q), 2.04 ppm (s) and 1.25 ppm (t).

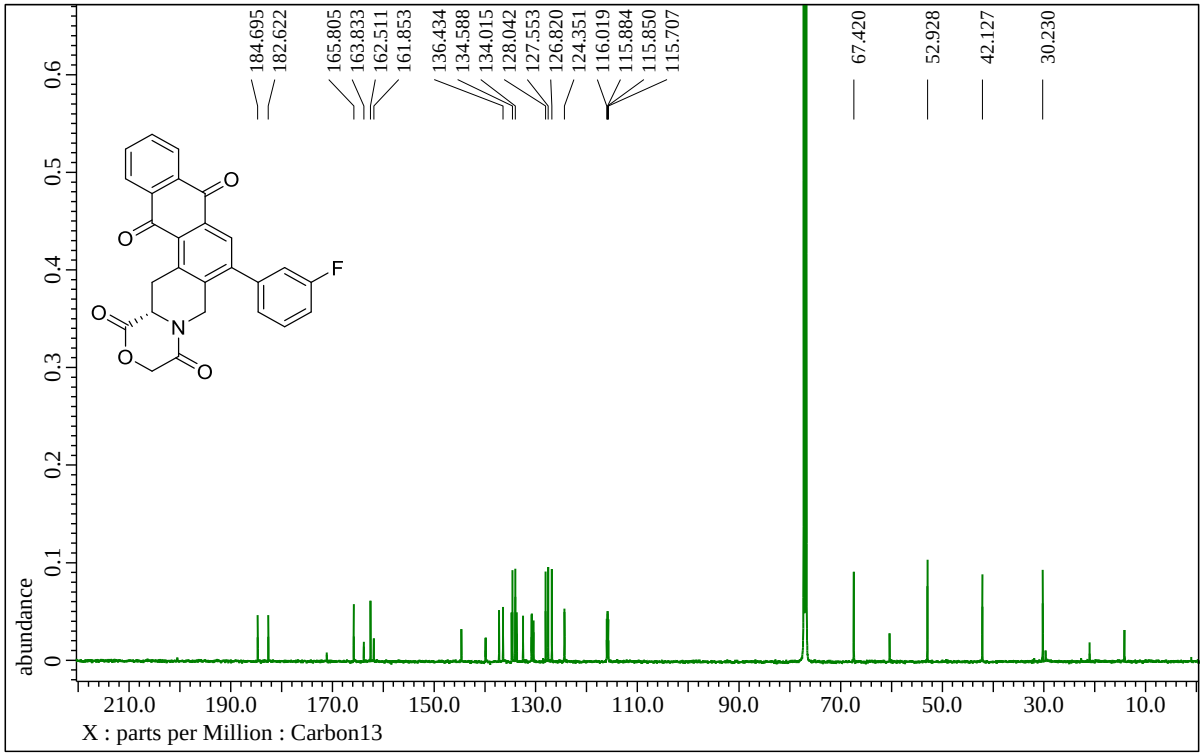


Figure S111. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **19a** (126 MHz, $CDCl_3$)

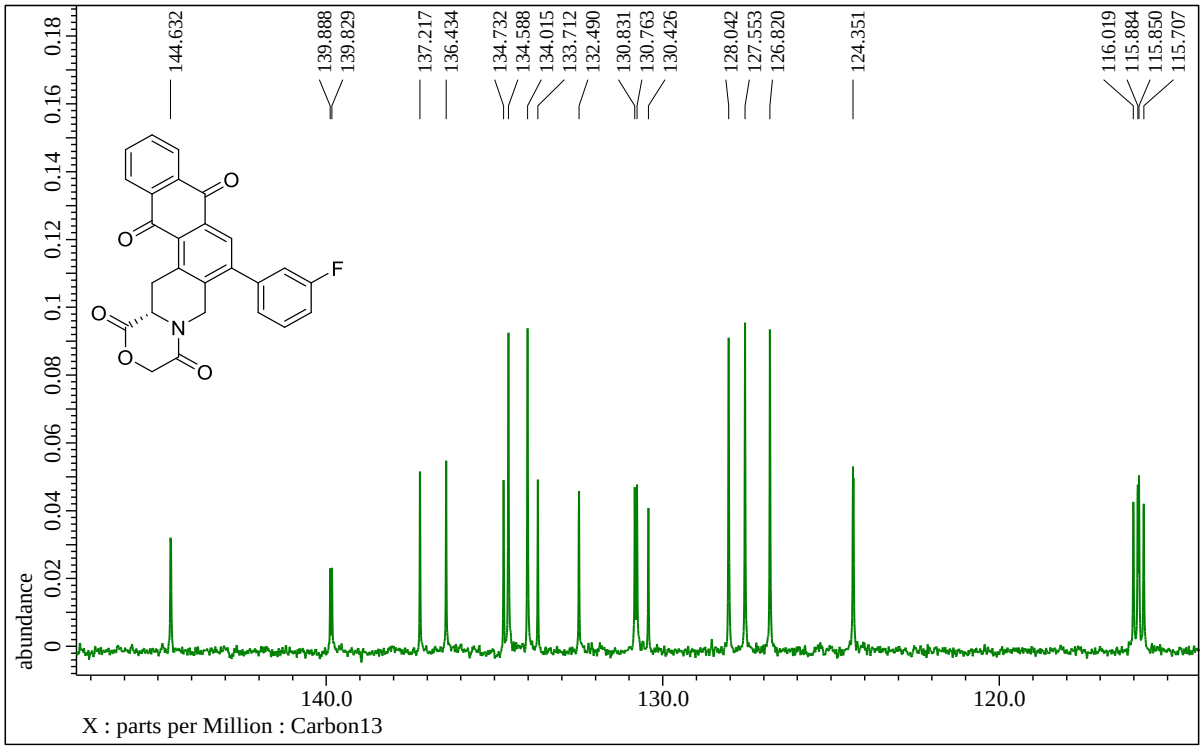


Figure S112. Detailed $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **19a** – aromatic area (126 MHz, $CDCl_3$)

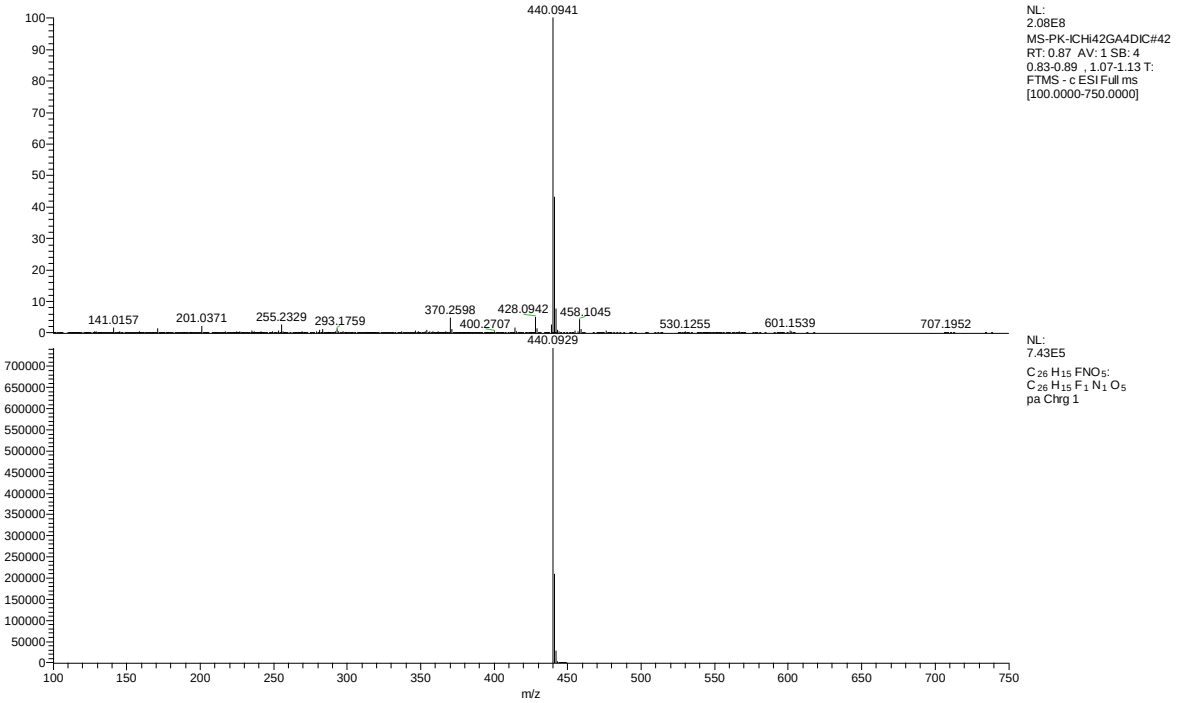


Figure S113. HRMS spectrum of **19a**

7.2.22 (*S*)-7-(4-fluorophenyl)-15,15*a*-dihydronaphtho[2,3-*f*][1,4]oxazino[4,3-*b*]isoquinoline-1,4,9,14(3*H*,6*H*)-tetraone 19b

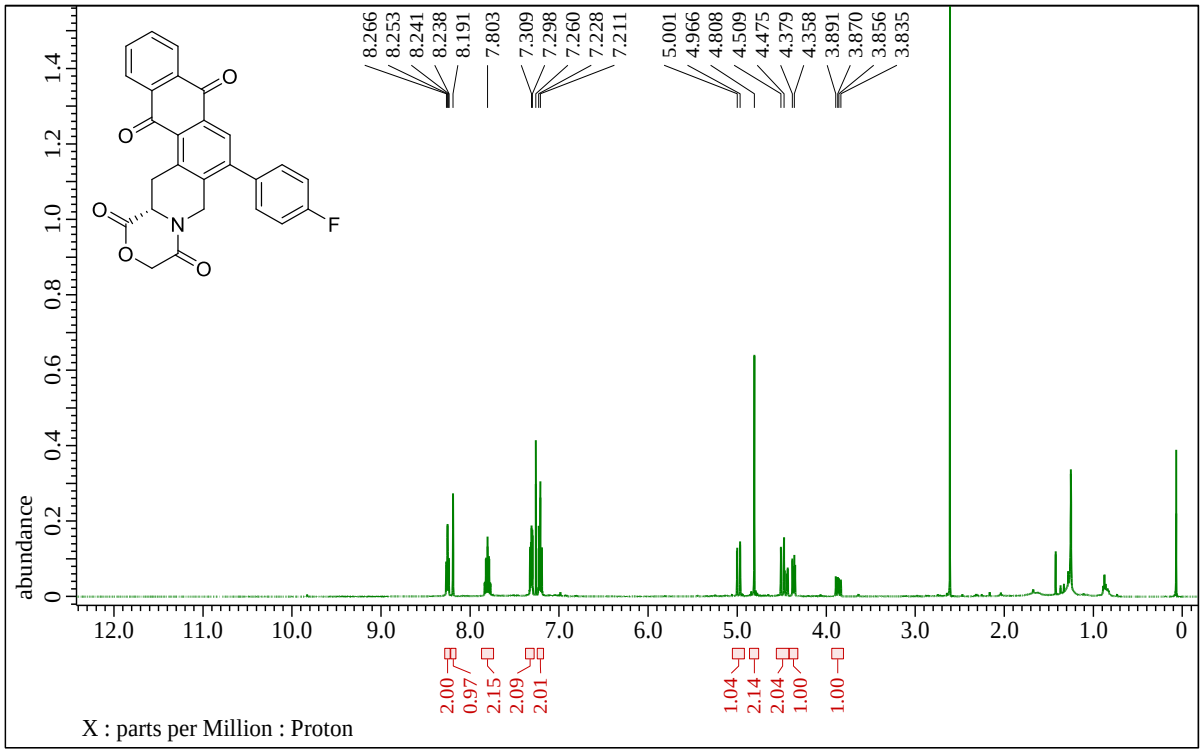


Figure S114. ^{1}H NMR spectrum of **19b** (500 MHz, $CDCl_3$). Note: Residual signals of DMSO at 2.61 ppm (s) and H grease at 0.88 ppm (m) and 1.25 ppm (br. s).

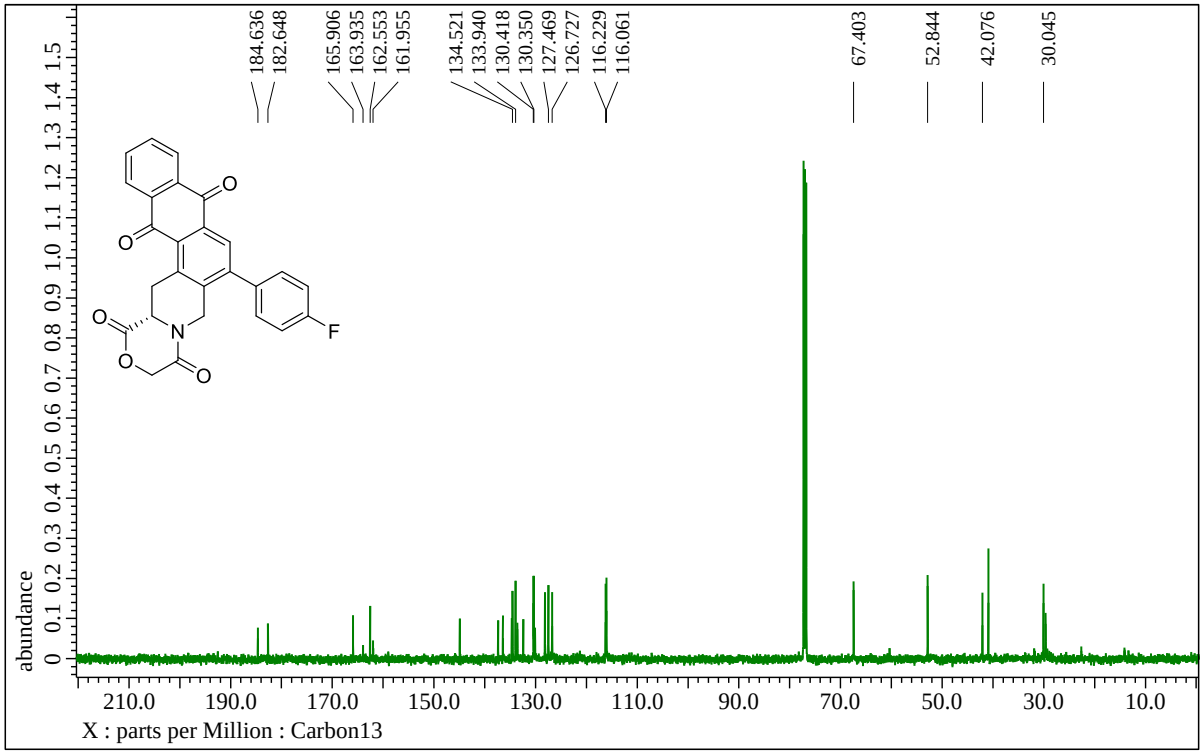


Figure S115. $^{13}C\{^{1}H\}$ NMR spectrum of **19b** (126 MHz, $CDCl_3$). Note: Residual signals of DMSO at 40.9 ppm and H grease 29.6 ppm.

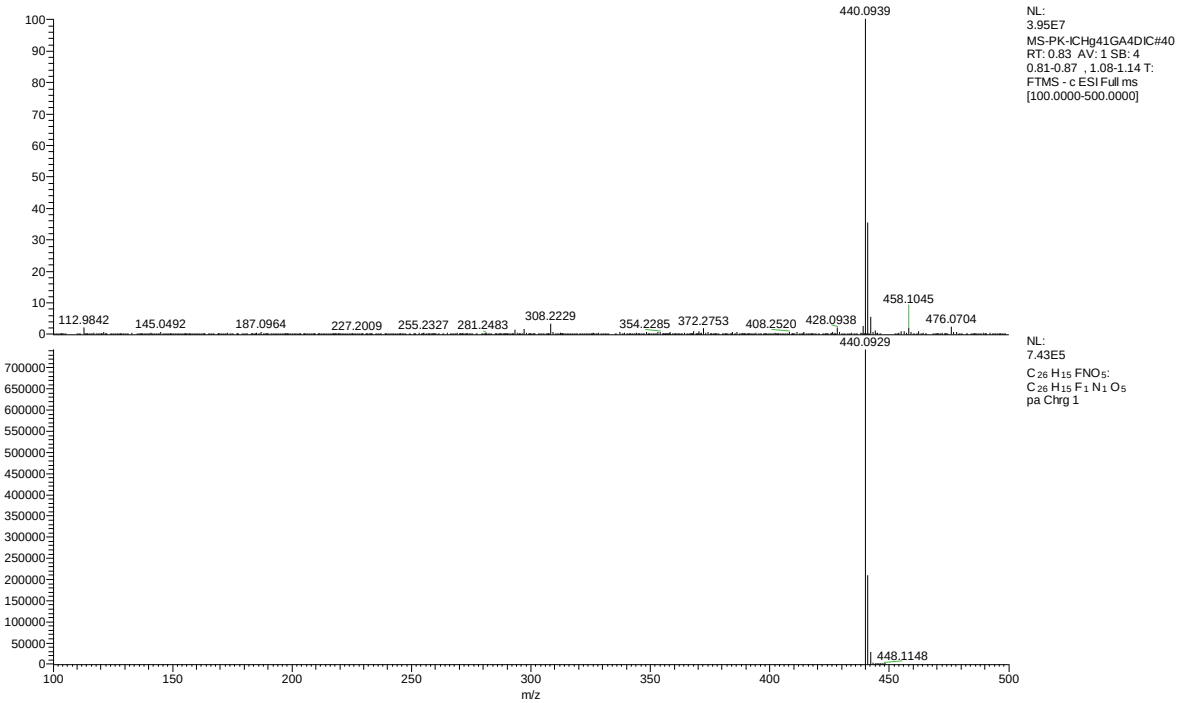


Figure S116. HRMS spectrum of **19b**