

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie



**Rhodium(III)-katalyzovaná syntéza neolignanů
s benzofuranovým skeletem**

Diplomová práce

Autor:	Bc. Roksolana Ilnycka
Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Bioorganická chemie a chemická biologie
Typ studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracovala samostatně pod vedením školitele doc. RNDr. Jiřího Pospíšila, Ph.D., všechny použité zdroje jsem řádně citovala a práce nebyla předložena jiné instituci k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Olomouci, dne 6. 8. 2024

Bc. Roksolana Ilnycka

Poděkování:

První poděkování patří v první řadě mému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Pospíšilovi, Ph.D., který mne nadchl pro hlubší pátrání po pravidlech organické chemie stejně jako pro práci v jeho skupině, sdílel zkušenosti z oblasti vědy a díky jeho charakteru a vlídnosti dokázal vytvořit v naší skupině skvělé pracovní prostředí. A nevzdal se myšlenky na dokončení této práce ani při mých slabších chvílích. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině a všem, kteří pro mne měli vlídné slovo, posouvají mne životem nebo diskutují nad otázkami života, vesmíru a vůbec. Jmenovitě patří dík Jakubovi, Zuzaně, Zuze a Dítě za jejich podporu a důvěru. Děkuji také za finanční podporu Interní Grantové Agentuře PrF UP (IGA_PrF_2024_28) a Katedře organické chemie za vstřícnost a možnost zpracovávat experimentální část v jejích prostorách.

Bibliografická identifikace:

Jméno a příjmení autora:	Bc. Roksolana Ilnycka
Název práce:	Rhodium(III)-katalyzovaná syntéza neolignanů s benzofuranovým skeletem
Typ práce:	Diplomová práce
Pracoviště:	Katedra organické chemie
Školitel:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.
Rok obhajoby práce:	2024
Abstrakt:	Diplomová práce se zaměřuje na rozvoj nové metody syntézy benzofuranového skeletu, který využívá katalýzy tranzitního kovu – rhodia(III). Teoretická část se zabývá obecným popisem sekundárních metabolitů a následně jsou rozebrány biologické aktivity vybraných zástupců neolignanů se zaměřením na různá onemocnění. Dále jsou popsány možnosti aplikace rhodia při syntéze přírodních látek a také je shrnuta přecházející práce na tématu neolignanů v naší výzkumné skupině. Experimentální část popisuje aplikaci a optimalizaci Rh-katalyzované annulace pro syntézu benzofuranového skeletu neolignanů z aldehydu a vybraných diazosloučenin.
Klíčová slova:	neolignany, fenyylpropanoidy, benzofurany, biologická aktivita, anthelmintická aktivita, diazosloučeniny, katalýza tranzitními kovy, rhodium
Počet stran:	76
Počet stran příloh:	10
Jazyk:	Český

Bibliographical identification:

Author's first name and surname:	Bc. Roksolana Ilnycka
Title:	Rhodium(III)-catalyzed synthesis of benzofuran skeleton neolignans
Type of thesis:	Master thesis
Department:	Department of Organic Chemistry
Advisor:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.
The year of presentation:	2024
Abstract:	This presented thesis is focused on the development of a new method for the synthesis of benzofuran skeleton using rhodium(III) transition metal catalysis. The theoretical part brings a general description of secondary metabolites and then the biological activities of selected representatives of neolignans are discussed with a focus on various diseases. Furthermore, the possible applications of rhodium in the synthesis of natural compounds are described and the ongoing work on the topic of neolignans in our research group is summarized. The experimental part describes the application and optimization of Rh-catalyzed annulation for the synthesis of benzofuran skeleton of neolignans from aldehyde and selected diazo compounds.
Keywords:	neolignans, phenylpropanoids, benzofuranes, biological activities, anthelmintic activity, diazocompounds, transition metal catalyzed reactions, rhodium
Number of pages:	76
Number of pages of appendixes:	10
Language:	Czech

„Život přinese výzvy, které budou vyžadovat řešení. Ta řešení přicházejí s lidmi.“

Jiří Pospíšil

Obsah

Seznam použitých zkratk	9
1. Úvod	12
1.1 Cíle	13
2. Teoretická část	14
2.1 Sekundární metabolity	14
2.1.1 Biosyntéza fenylpropanoidů	14
2.1.2 Benzofurany – tvorba a výskyt v přírodě	16
2.2 Biologická aktivita benzofuranů	18
2.2.1 Neuroprotektivní	18
2.2.2 Protinádorové	19
2.2.3 Protizánětlivá a antioxidační aktivita	21
2.2.4 Antimikrobiální a antivirální aktivita	22
2.2.5 Antidiabetické účinky	23
2.2.6 Antiparazitické účinky	23
2.3 Využití rhodia při syntéze přírodních látek	25
2.3.1 Rhodium – historie, vlastnosti a využití	25
2.3.2 Aplikace komplexů rhodia při syntéze přírodních látek	26
2.3.3 Aplikace Rh při syntéze benzofuranů	27
2.4 Dosavadní výsledky ve skupině zabývající se neolignany	29
2.4.1 Radikálový zkřížený dehydrogenační coupling	30
2.4.2 Esterový coupling	31
2.4.3 Suzuki-Miyaura coupling	32
3. Výsledky a diskuze	34
3.1 Syntetický přístup	34
3.2 Syntéza výchozích látek pro cyklizační reakce	35
3.2.1 Příprava ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (83a)	35
3.2.2 Příprava ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b)	36
3.2.3 Příprava ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)	37
3.3 Cyklizační reakce katalyzovaná Rh(III) – syntéza benzofuranového skeletu (82) ...	38

3.3.1	Rh(III)-katalyzovaná cyklizace – literatura.....	38
3.4	Sumarizace výsledků	50
4.	Závěr	51
5.	Experimentální část.....	52
5.1	Obecné informace.....	52
5.1.1	Vizualizační roztoky pro TLC.....	53
5.2	Postup organické syntézy	53
5.2.1	Syntéza výchozích diazoslučenin.....	53
5.2.2	Syntéza látek s benzofuranovým skeletem.....	56
6.	Seznam použité literatury.....	59
7.	Přílohy	67

Seznam použitých zkratek

A β	amyloid β
Ac	acyl
AD	Alzheimerova nemoc (<i>Alzheimer's Disease</i>)
AgNTf ₂	bis(trifluoromethansulfonyl)imid stříbrný
ATP	adenosintrifosfát (<i>adenosine triphosphate</i>)
CC	sloupcová chromatografie (<i>column chromatography</i>)
CDC	křížený dehydrogenační coupling (<i>cross dehydrogenative coupling</i>)
CDCl ₃	deuterovaný chloroform
Cp*	pentamethylcyklopentadienyl (ligand)
CO	oxid uhelnatý
DAHP	3-deoxy- <i>D</i> -arabino-heptulosonát-7-fosfát
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DCM	dichlormethan
DHQ	3-dehydrochinát
DMP	Dess-Martinův perjodinan
DNA	deoxyribonukleová kyselina (<i>deoxyribonucleid acid</i>)
dppf	1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen
EC	Číslo Evropské komise (<i>European Community number</i>)
EDG	elektronově donorní skupina (<i>electron donor group</i>)
ekviv.	ekvivalent
EPSP	5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát
Et	ethyl
EtOAc	ethylacetát
FADH	redukovaný flavinadenindinukleotid
hIAPP	(<i>human islet amyloid polypeptide</i>)
HIV-1	virus lidské imunitní nedostatečnosti (<i>Human immunodeficiency virus 1</i>)
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (<i>high-resolution mass spectrometry</i>)

HUVEC	lidské endotelové buňky pupečnickové žíly (<i>Human Umbilical Vein Endothelial Cells</i>)
IC ₅₀	polovina maximální inhibiční koncentrace
EC ₅₀	polovina maximální účinné koncentrace
<i>J</i>	štěpící konstanta
kat.	katalýza/katalyzátor
KHMDS	hexamethyldisilazan draselný
LC-MS/MS	spojení kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i>)
Me	methyl
MOM	methoxymethyl ether
m. p.	bod tání (<i>melting point</i>)
n. a.	neanalyzováno (<i>not analyzed</i>)
n. d.	nedetekováno (<i>not detected</i>)
NAD	nikotinamidadenindinukleotid
NL3	neolignany s (dihydro)benzofuranovým skeletem
NMR	nukleární magnetická resonance (<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
NO	oxid dusný
<i>p</i> ABSA	azid 4-acetamidobenzensulfonylu (<i>para-acetamidobenzenesulfonyl azide</i>)
PE	petrolether
PEP	fosfoenolpyruvát
Phe	fenylalanin
PMA	Hannesianův roztok
prekat.	prekatalyzátor
PTC	katalyzátor fázovým přenosem (<i>phase-transfer catalyst</i>)
PZQ	praziquantel
<i>R_f</i>	retenční faktor
<i>R_t</i>	retenční čas
RT	laboratorní teplota (<i>room temperature</i>), 23 °C
RVO	rotační vakuová odparka

S3P	šikimát-3-fosfát
SM	sekundární metabolity
TBS	tercbutyldimethylsilyl
TLC	chromatografie na tenké vrstvě (<i>thin-layer chromatography</i>)
TSQ	<i>Thermo Scientific Quantis</i>
Tyr	tyrosin
UV	ultra fialové záření
VS	vnitřní standard
δ	chemický posun

1. Úvod

Význam přírodních látek, popisu jejich biologické aktivity a vlivu na lidský organismus je neodmyslitelně spjat s lidskou civilizací již od nepaměti. Kdo by si totiž nechtěl ulevit od bolesti, srazit vysokou horečku, či pročistit hlavu po náročném dni. A tak naši předci, ať již náhodou či cílenými experimenty, přišli na to, že například oškrábáním žlutého prášku ze zadní strany kůry břízy či vrby a jeho rozsuspendováním ve vodě mohou srazit horečnaté stavy a zmírnit bolesti kloubů či při žvýkání listů koky mohou „rozjasnit mysl“ a zůstat delší dobu při smyslech. Tento „cíleně náhodný výzkum“ vlivu přírodních látek na lidský organismus pak na konci 19. století vedl k cílenému výzkumu vlivu chemických sloučenin na lidský organismus a farmakologický průmysl mohl být zrozen.

V obdobném duchu však pokračujeme i nyní o více jak století později. Zkoumáme vliv chemických substancí na lidský organismus a cíleně vyvíjíme nový typ léků a léčiv. A ani v této době nezůstáváme odděleni od přírody a jejich zdrojů a v mnohých případech se při tomto typu výzkumu soustředíme na vývoj přírodních anebo přírodou inspirovaných přírodních látek a jejich derivátů.

Ve své diplomové práci jsem se zaměřila na prozkoumání nového typu přístupu k syntéze benzofuranového skeletu, motivu, jež je tak často obsažen v přírodních látkách, neolignanového typu. Některé látky tohoto typu vykazují vysokou biologickou aktivitu a mohou tak poskytnout medicíně zajímavý zdroj léčiv pro široké spektrum onemocnění či problémů způsobených patogeny (víry, bakterie, jednobuněční i mnohobuněční parazité).

Z obecného pohledu by syntéza látek navržených potenciálně pro terapeutické účely měla být v ideálním případě co nejefektivnější a měla by zohlednit otázky ceny, rychlosti a její bezpečnosti. Využití tranzitních kovů jako katalyzátorů je v organické syntéze značně využívána od třicátých let dvacátého století¹, protože často přispívá ke snížení počtu reakčních kroků, k lepší kontrole chemo- i stereoselektivity, případně dovoluje provedení reakcí, které jsou standardními metodami nevyužívajícími tranzitních kovů nedosažitelné anebo dosažitelné v omezené míře. Limitem tohoto postupu je mnohdy cena katalyzátoru a také fakt, že rezidua použitého katalyzátoru nesmí přesáhnout přísně stanovený limit ve finálním produktu. Tranzitní kovy, resp. jejich soli, jsou totiž v mnoha případech samy o sobě cytotoxické, a tak by mohly zkreslit výsledky testů biologické aktivity nebo v horším případě negativně ovlivnit zdraví pacienta.

Teoretická část práce vás nejprve uvede do problematiky sekundárních metabolitů rostlin s důrazem na aktuální poznatky o biologické aktivitě produktů Šikimátové dráhy – neolignanů. O využití rhodiových katalyzátorů při syntéze přírodních látek bude pojednávat část druhá. Ve výsledcích diskusi pak budou popsány syntetické postupy zaměřené na přípravu benzofuranového skeletu. Dosažené výsledky, pak budou diskutovány v části Diskuse a výsledky a využití postupy popsány v experimentální části této práce.

1.1 Cíle

1. Literární rešerše na téma: syntéza opticky aktivních neolignanů s benzofuranovým skeletem a jejich biologická aktivita zaměřená zejména na anthelmintické účinky.
2. Vývoj a aplikace rhodiem-katalyzované syntetické metody umožňující přípravu centrálního strukturního motivu neolignanů – benzofuranového skeletu.
3. Charakterizace připravených látek pomocí dostupných fyzikálně-chemických metod.

2. Teoretická část

2.1 Sekundární metabolity

Ačkoli by se mohlo na první pohled zdát, že sekundární metabolity (SM) jsou z názvu „druhotné“ metabolity, opak je pravdou. Oproti primárním metabolitům se v rostlinách², houbách³ a bakteriích⁴ sice nepodílejí na hlavních biologických procesech nezbytných k bazálnímu přežití organismu, ale hrají nezastupitelnou roli v kvalitě života organismu. Jejich biosyntéza je mj. indukována v reakci na biotický i abiotický stres⁵ (např. patogeny, okus živočichy, teplota, UV záření, salinita půdy), účastní se adaptačních procesů a dokážou obecně velmi efektivně a rychle reflektovat aktuální potřeby celého organismu.⁶

Specifita sekundárního metabolomu⁷ může být místní, časová i druhová, kdy můžeme sledovat rozdíly v koncentracích a typu SM například z pohledu tkáňové specifity nebo ji využijeme při taxonomii.⁸ Pozornost zkoumání je v současné době zaměřena nejen na jednotlivé látky (konkrétní biologická aktivita), ale i na jejich synergii a tím pádem i na účinek kombinací SM, bavíme-li se o případném terapeutickém potenciálu této skupiny látek.

Celkově rozeznáváme tři hlavní třídy SM: alkaloidy, isoprenoidy a fenoly.⁹ Neolignan, o kterých se bude následně důkladněji zabývat teoretická část mé diplomové práce, jsou podskupinou fenolických látek, resp. dimerů fenylypropanoidů – jednoho ze základních staveních kamenů fenolických látek.

2.1.1 Biosyntéza fenylypropanoidů

Propojením mezi primárním a sekundárním metabolismem u fenolů fenylypropanoidového typu je Šikimátová dráha, nesoucí název po kyselině šikimové **6**, jež byla izolována roce 1885 z rostliny *Illicium religiosum* (japonsky „Shikimi-no-ki“).¹⁰ Tato látka je prekurzorem pro tvorbu esenciálních aromatických aminokyselin, ze kterých se následně tvoří základní stavební jednotka lignanů a neolignanů – fenylypropanoid s C₆C₃ skeletem¹¹.

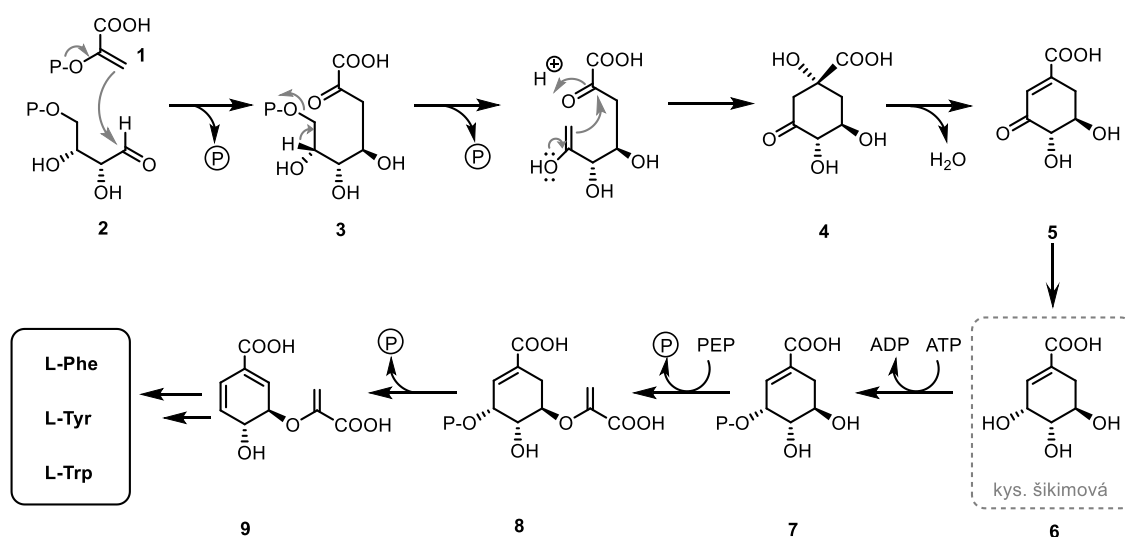
2.1.1.1 Šikimátová dráha

Vznik kyseliny šikimové **6** (Obr. 1) začíná kondenzací fosfoenolpyruvátu **1** (PEP, z glykolýzy) a erythrosy-4-fosfátu **2** (z pentosafosfátové dráhy) za vzniku 3-deoxy-*D*-arabino-heptulosonát-7-fosfátu **3** (DAHP) katalyzovaný DAHP synthasou (EC 2.5.1.54).

V druhém kroku je eliminován fosfát (P) za vzniku 3-dehydrochinátu **4** (DHQ) pomocí DHQ synthasy (EC 4.2.3.4) a katalytického množství nikotinamidadeninukleotidu (NAD) jako kofaktoru. Tento krok zahrnuje oxidaci, β -eliminaci anorganického fosfátu (*syn* stereochemie), redukci, otevření kruhu a intramolekulární aldolovou kondenzaci.

Následná dehydratace a dehydrogenace DHQ meziproductu **4** je u rostlin zajištěna bifunkčním enzymem DHQ dehydratasou-šikimátdehydrogenasou (EC 4.2.1.10/EC 1.1.1.25) za spotřeby kofaktoru nikotinadeninukleotidfosfátu (NADP). U mikroorganismů a hub bychom našli dva oddělené enzymy. Pátým krokem je fosforylace vzniklého šikimátu **6** enzymem šikimátkinasou (EC 2.7.1.71) v poloze 3 za spotřeby adenosintrifosfátu (ATP). V předposledním kroku vstupuje do reakce druhý PEP **1** a ze šikimát-3-fosfátu **7** (S3P) je vytvořen 5-enolpyruvylšikimát-3-fosfát **8** (EPSP). Enzym EPSP synthasa (EC 2.5.1.19), katalyzující tento krok, je také cílem herbicidu glyfosátu (obch. Roundup), který se váže na komplex [enzym-S3P] a chová se jako kompetitivní inhibitor k PEP **1**.

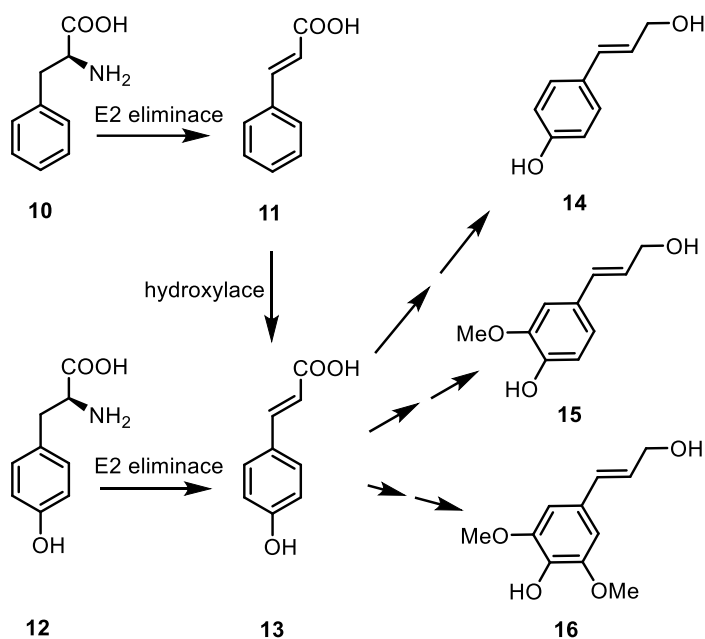
Posledním krokem Šikimátové dráhy je tvorba kyseliny chorismové **9**. *Trans*-1,4-eliminace fosfátu je indukována enzymem chorismátsynthasou (EC 4.2.3.5) za vzniku druhé dvojné vazby cyklu. Pro tuto reakci je zapotřebí redukovaný flavinadeninukleotid (FADH), jelikož slouží jako donor elektronů a iniciuje přerušení vazby C-O.^{12,13} Chorismová kyselina **9** se v tomto bodě stává výchozím metabolitem k tvorbě aromatických aminokyselin dalšími enzymatickými přeměnami v plastidech a ty jsou poté transportovány do cytoplasmy.



Obr. 1: Schematické znázornění biosyntézy aromatických aminokyselin.

2.1.1.2 Tvorba fenylpropanoidů

Aminokyseliny fhenylalanin (L-Phe) **10** a tyrosin (L-Tyr) **12** následně podstupují E2 eliminaci dusíku aminolyasami, která vede ke společné kyselině 4-hydroxykumarové **13**. Ta je poté sledem hydroxylačních, methylačných a dehydrogenačních reakcí přeměněna na aromatické alkoholy – monolignoly, jež slouží jako základní C₆C₃ skelet (fenylpropanoid) pro biosyntézu lignanů a neolignanů. Konkrétně se jedná o 4-hydroxycinnamyl alkohol **14**, koniferyl alkohol **15** a sinapyl alkohol **16**. Zjednodušené schéma jejich biosyntézy je na Obr. 2.



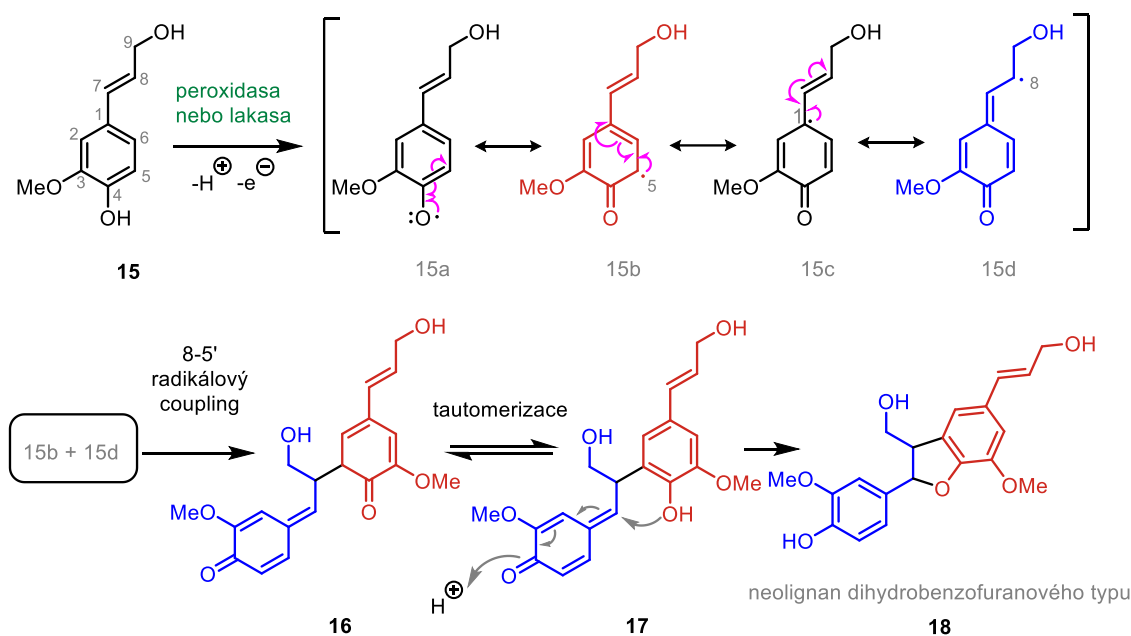
*Obr. 2: Schematické znázornění tvorby látek se základním C₆C₃ stavebním skeletem z aromatických aminokyselin fhenylalaninu a tyrosinu. Dimerizace látek **14**, **15** a **16** vede ke vzniku SM (lignanů a neolignanů).*

2.1.2 Benzofurany – tvorba a výskyt v přírodě

Varianta dimerizace základních podjednotek fenylpropanoidů je několik a závisí na možnostech vazby stabilizovaných radikálových intermediátů. Tento fakt spojený s postdimerizačními procesy (oxidace, methylace) zajišťuje produkci ohromného množství SM fenylpropanoidového typu v závislosti na aktuální potřebě organismu.

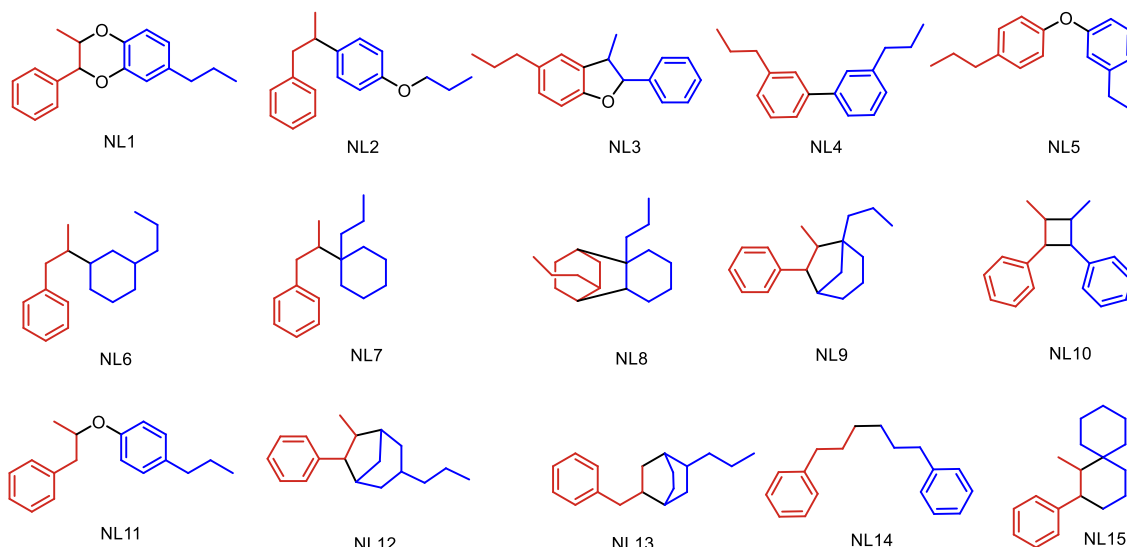
Pokud je vytvořena vazba mezi uhlíky C₈-C_{8'} mluvíme pak o tzv. lignanech a pokud jsou spojeny jiné než C₈-C_{8'} uhlíky, pak o produktech mluvíme jako o neolignanech.¹⁴ Na Obr. 3 (převzato a upraveno¹⁵) je schematicky popsána radikálová dimerizace koniferyl alkoholu **15** za vzniku neolignanu **18** (dihydro)benzofuranového typu s vazbou uhlíků C₈-C_{5'}. Tvorba radikálu je v prvním kroku iniciována enzymy

peroxidasou nebo lakasou, ty v mnoha případech za přítomnosti tzv. dirigentních proteinů (cytochrom P450 dependentních), umožňují tvorbu následných dimerů s vysokou regio- a stereochemií.^{16,17} Vzniklé lignany a neolignany pak primárně slouží ke tvorbě ligninu (opěrný systém rostlin) ale daný organismu je může využít i jinak.¹⁸



Obr. 3: Příklad tvorby neolignanů benzofuranového typu z koniferyl alkoholu **15** s vazbou mezi uhlíky C₈ a C₅ pomocí radikálové homodimerizace.

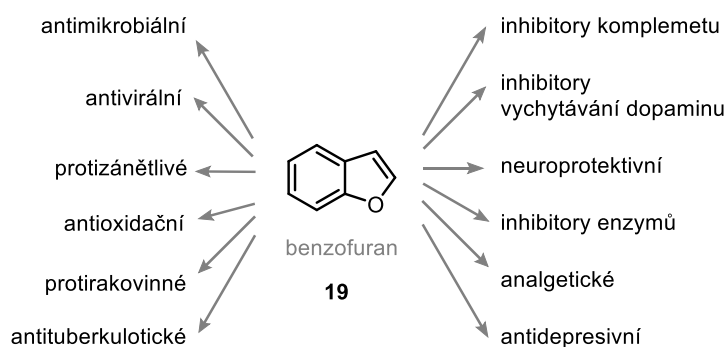
Doposud izolované a identifikované neolignany se dají rozdělit do 15 tříd podle jejich základních strukturních skeletů (Obr. 4).¹⁹ V přírodě nalezneme neolignany ve vyšších rostlinách čeledí *Lauraceae* (vavřínovité),²⁰ *Labiatae* (hluchavkovité),²¹ *Rosaceae* (růžovité), *Krameriaceae* (krameriovité), *Pinaceae* (borovicovité), *Magnoliaceae* (šácholanovité), *Myristicaceae* (muškátovníkovité), *Styracaceae* (sturačovité)²² a v mnoha dalších. Přehledně zpracovaný seznam rostlinných zdrojů dihydrobenzofuranů (typ NL3) a jejich 455 struktur známých do r. 2020 je k nalezení v kapitole 2 knihy *Benzofuran: Production and Applications* (Dias *et. al.*, 2020, editor *Murilo Souza Barros*).²³



Obr. 4: Různé možnosti strukturálních typů neolignanů.

2.2 Biologická aktivita benzofuranů

Velké množství látek s biologickou aktivitou (Obr. 5) obsahuje ve své struktuře benzofuranový skelet **19**.²⁴ Z přírodních látek byly následně odvozeny semisyntetické a syntetické deriváty, které jsou nyní hojně využívány jako klinicky schválená léčiva (např. Naloxon, Galantamin, Morfin, Rifampicin, Griseofulvin, Psoralen, Citalopram).²⁵



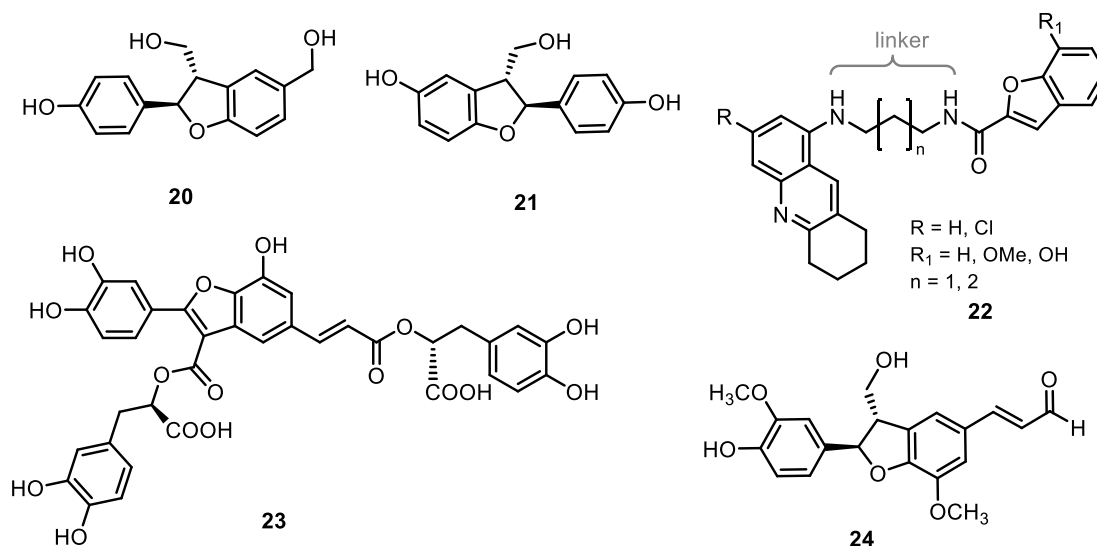
Obr. 5: Příklad všestranných biologických aktivit neolignanů s benzofuranovým skeletem **19**.

2.2.1 Neuroprotektivní

Se zvyšujícím se věkem dožití člověka se také zvyšuje riziko rozvoje neurodegenerativních onemocnění jako je Alzheimerova choroba (AD)²⁶ nebo Parkinsonova choroba.²⁷ V současné době lze využít pouze symptomatickou léčbu, která však neřeší samotnou degeneraci mozkové tkáně.²⁸ V přírodě lze ale nalézt několik zástupců neolignanů, jež vykazují neuroprotektivní aktivitu a mohli by v budoucnu být slibnými kandidáty pro farmaceutický průmysl. Struktury vybraných zástupců jsou na obr. 6.

Senilní plaky tvořené typickými strukturami amyloidu β ($A\beta$) jsou jednou z příčin rozvoje AD. Indukce samovolné tvorby agregátů $A\beta$ může být potlačena působením neolignanů (7S,8R)-rubussinu A **20** a (7R,8S)-rubussinu B **21** izolovaných z ovoce rostliny *Rubus ideaus*.²⁹ Na agregaci $A\beta$ cílí i některé nové syntetické multi-target deriváty, například takrin-benzofuran **22**, slibující navíc inhibici acetylcholinesterasy, antioxidační účinky a chelataci iontů kovů.³⁰ Další nově izolovanou látkou bojující proti agregaci $A\beta$ je schizotenuin A **23** s aktivitou $IC_{50} = 2,93 \mu M$.³¹

Další příčinou rozpadu neuronů je zvýšené množství volných radikálů. Například mikroglie BV-2 aktivované lipopolysacharidy produkují zvýšené množství molekul oxidu dusnatého (NO), což může vést až k neurozánětu v mozku. 7S,8R-balanophonin **24** izolovaný ze stromu *Firmiana simplex* se ukázal jako slibný kandidát s aktivitou $IC_{50} = 7,07 \mu M$ proti vysoké produkci NO.³²



Obr. 6: Chemické struktury (7S,8R)-rubussinu A **20**, (7R,8S)-rubussinu B **21**, takrin-benzofuranu **22**, schizotenuinu A **23** a (7S,8R)-balanophoninu **24**.

2.2.2 Protinádorové

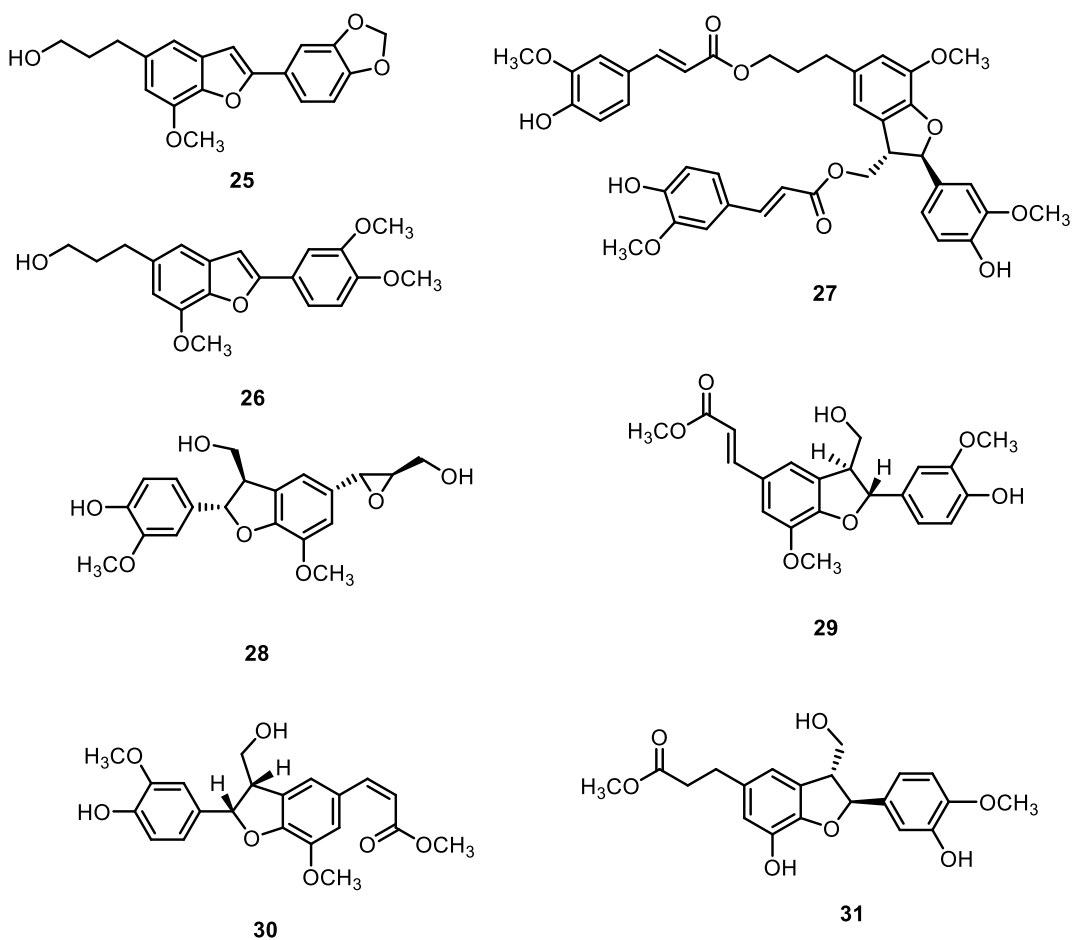
Výčet neolignanů vykazující vysokou aktivitu proti nádorovým buňkám je velmi vysoký.¹⁹ Např. egonol **25** izolovaný z rostliny *Styrax camporum* (z čeledi sturačovité) vykazuje aktivitu proti buněčné linii hepatocelulárního karcinomu Hep2G ($IC_{50} = 11,2 \pm 0,4 \mu M$). V kombinaci s homoegonolem **26** působí cytotoxicky i proti MCF-7 linii adenokarcinomu prsu s $IC_{50} = 13,3 \pm 0,6 \mu M$.³³

Proti nádorové linii buněk lidského spinocelulárního karcinomu A431 působí např. boehmenan **27** s aktivitou $IC_{50} = 1,6 \mu M$. Inhibice proliferace je zajištěna blokadí

přechodu z G2 do M fáze buněčného cyklu, zvýšením intracelulární produkce reaktivních forem kyslíku a indukci apoptosy (řízené buněčné smrti).³⁴

Neolignan lyciumnan **28**, jež obsahuje epoxidovou skupinu, izolovaný z listů rostliny *Lycium barbarum*, byl testován na cytotoxickou aktivitu proti nádorovým buněčným liniím rakoviny plic (A549, $IC_{50} = 37,1 \pm 3,3 \mu\text{M}$), prostaty (PC-3, $IC_{50} = 51,7 \pm 3,6 \mu\text{M}$) a epiteliálními buňkami HeLa ($IC_{50} = 54,7 \pm 3,9 \mu\text{M}$).³⁵ Gardenofoliny A-H izolované z *Gardenia ternifolia* vykazovaly střední účinek proti HeLa buňkám, z nich nejúčinnější se ukázaly být gardenofolin D **29** a gardenofolin E **30** s $IC_{50} = 21,0 \mu\text{M}$ resp. $IC_{50} = 32,5 \mu\text{M}$.³⁶ V případě buněčné linie lidské leukémie HL-60 byl testován např. trogopterin A **31** (izolován z výkalů poletuchy horské *Trogopterus xanthipes*) s aktivitou $IC_{50} = 45,68 \pm 3,25 \mu\text{M}$.³⁷

U následující látky izolované ze semen rostliny *Crataegus pinnatifida* byl zkoumán vliv přítomnosti dvojné vazby v poloze C₇-C₈ poblíž aromatického jádra benzofuranu. Redukce této konkrétní dvojné vazby vede až k 10násobnému snížení cytotoxické aktivity. Balanophonin **24** vykazuje silnou inhibiční aktivitu ($IC_{50} = 8,86 \mu\text{M}$) také proti buněčné linii HT-1080 sarkomu fibroblastu v porovnání s kontrolním 5-fluorouracilem ($IC_{50} = 35,62 \mu\text{M}$).³⁸ Struktury zmíněných látek jsou na obr. 7.



Obr. 7: Struktury egnonolu **25**, homoegonolu **26**, boehmenanu **27**, lyciumnanu **28**, gardenofolinu D **29**, gardenofolinu E **30** a trogopterinu A **31**.

2.2.3 Protizánětlivá a antioxidační aktivita

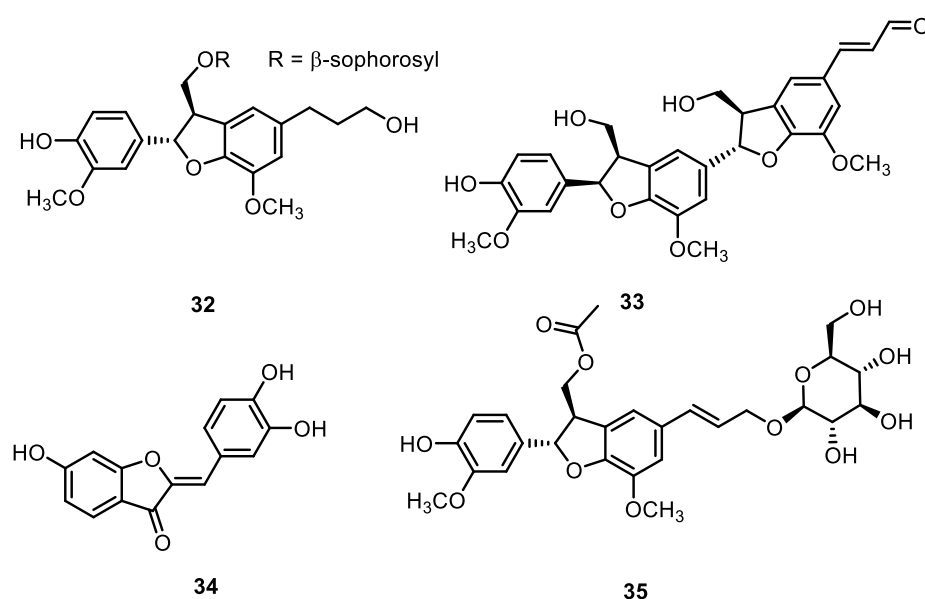
Zánětlivá reakce je první odpovědí organismu na poškození tkáně, přítomnost patogenu nebo toxické látky.³⁹ Přírodní zdroje neolignanů mohou poskytnout mnoho látek s antioxidačním účinkem. Např. byl z javorové mízy *Acer saccharum* extrahován glykosid saposidu B **32** s antioxidační aktivitou $IC_{50} = 260 \mu M$ proti superoxiddismutase (EC 1.15.1.1).⁴⁰

Dále byl zjištěn inhibiční efekt na produkci NO indukovanou lipopolysacharidy u makrofágů RAW 264,7 u neolignanů z ovoce rostliny *Canarium Album*. Bylo zjištěno, že picrasmaligan **33** ($IC_{50} = 14,3 \pm 2,2 \mu M$) napomáhá redukci exprese prozánětlivých faktorů COX-2, IL-1 β , IL-6 a iNOS.⁴¹

Sulfuretin **34**, další flavonoid nacházející se v mnoha rostlinných druzích (např. *Rhus verniciflua*, *Dahlia*, *Dipterx lacunifera*), vykazuje široké spektrum biologické aktivity. Zde bych chtěla však zmínit studii antioxidační aktivity této látky jako zhášече radikálu hydroxyperoxyly HOO•. Výpočty diskrétní Fourierovou transformací vyčíslily

celkovou rychlostní konstantu $k = 4,47 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ve vodě při $\text{pH} = 7,4$, kdy se tvoří anion ($\text{p}K_a = 7,47$). V nepolárním lipidovém prostředí byla jeho účinnost dokonce 530x rychlejší než u paklitaxelu (cytostatikum, obch. název Taxol) a srovnatelná s kyselinou askorbovou nebo resveratrolem.^{42,43}

Nově izolované benzofurany z rostliny *Ligustrum lucidum* byly testovány na aktivitu proti tvorbě prozánětlivého cytokinu IL-6 a tvorbě NO v lipopolysacharidy-indukovaných buňkách RAW 264,7, nicméně z nich pouze ligustlignanosit C **35** vykazoval aktivitu proti IL-6 v hodnotě $\text{IC}_{50} = 49,37 \pm 0,23 \text{ } \mu\text{M}$. U dalších spoluizolovaných látek byla přítomnost hydroxylové skupiny v poloze C₄ a C₉ podstatná pro snížení produkce IL-6.⁴⁴ Obr. 8 shrnuje jejich chemické struktury.



Obr. 8: Chemické struktury glykosidu saposidu B **32**, picrasmalignanu **33**, sulfuretinu **34** a ligustlignanositu C **35**.

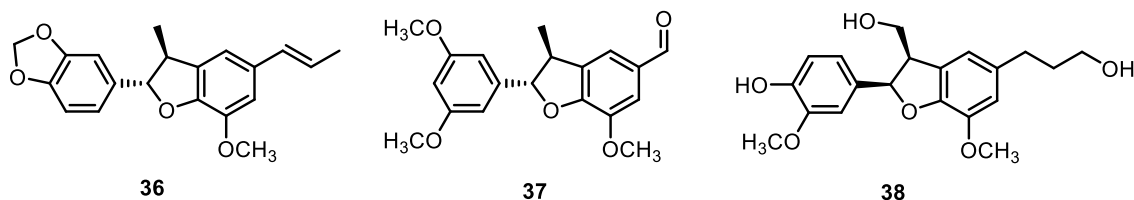
2.2.4 Antimikrobiální a antivirální aktivita

Strategie boje proti bakteriálním infekcím musí obcházet stále se zvyšující rezistenci bakterií na již známé antibakteriální přípravky.⁴⁵ V případě bakteriální meningitidy, způsobované gram-pozitivní bakterií *Streptococcus pneumoniae*, je možnost cílit na enzym sialidasu (jinak také známá jako neuraminidasa, EC 3.2.1.18). Ta je zodpovědná za tvorbu biofilmu a adhezi bakterie na buňku. Licarin B **36** proti variantě NanA enzymu působí nekompetitivně a vykazuje aktivitu $\text{IC}_{50} = 1,5 \pm 0,4 \text{ } \mu\text{M}$.^{46,47}

To, že některé benzofurany nevykazují konkrétní biologickou aktivitu ještě neznamená, že je nemůžeme využít. Je zjištěno, že např. kombinace myticaganalu C **37** a již používaného β-laktamového antibiotika ampicilinu, zvyšuje účinnost tohoto

antibiotika proti bakterii *E. Coli* (nejspíše díky lipofilnímu charakteru látky **37**, který pomáhá s difúzí léku skrze buněčnou membránu).⁴⁸

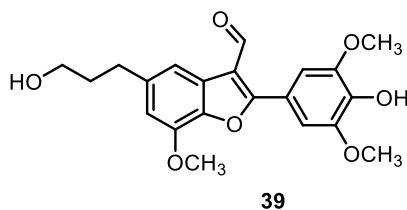
Antivirální účinky můžeme sledovat např. proti viru HIV-1 u vladinolu F **38** (izolovaného ze *Schisandra micrantha*) s $EC_{50} = 9,75 \mu\text{M}$ a ještě lepší aktivitu vykazuje balaphonin **24** s $EC_{50} = 8,34 \mu\text{M}$.⁴⁹ Struktury popsáných molekul jsou na obr. 9.



Obr. 9: Chemické struktury Licarinu B **36**, myticaganalu C **37** a vladinolu F **38**.

2.2.5 Antidiabetické účinky

U selamoelleninu A **39** (Obr. 10), extrahovaného ze *Selaginella moellendorffii*, byl *in vitro* studován jeho protektivní vliv na poškození cévních endoteliálních buněk HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) vysokou koncentrací glukosy.⁵⁰



Obr. 10: Chemická struktura selamoelleninu A **39**.

Výše zmíněný schizotenuin A **23** působí účinně nejen proti agregaci filament $A\beta$ v mozku, aktivitu ($IC_{50} = 0,58 \mu\text{M}$) vykazuje i proti tvorbě shluků fibril proteinu hIAPP (human islet amyloid polypeptide) u pacientů diabetu druhého typu, které se ukládají v ostrůvcích pankreatu.^{31,51}

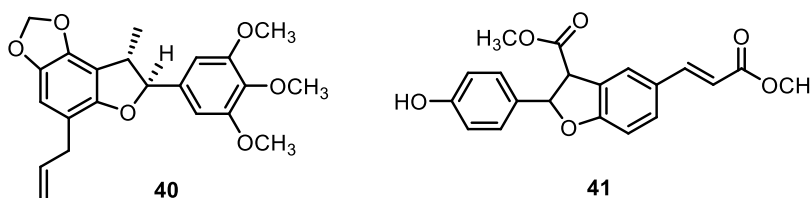
2.2.6 Antiparazitické účinky

Moderní medicína se potýká se závažným problémem zvyšující se rezistence patogenních parazitů na léčbu.^{52,53} Hledání léčiv s novým mechanismem účinku je velkou výzvou, jež čelí časovému tlaku a právě inspirace účinky přírodních látek může napomoci rychlejšímu vývoji vhodných kandidátů na účinná léčiva.

2.2.6.1 Antiprotozoální aktivita

Oblastí, kde mohou benzofurany také nabídnout slibné kandidáty pro inspiraci k novým léčivům, je účinek antiprotozoální (Obr. 11). Ococymosin **40**, extrahovaný z *Ocotea cymosa*, endemického stromu Madagaskaru, vykazuje antiparazitickou aktivitu proti Dd2 kmeni prvoka *Plasmodium falciparum* s $IC_{50} = 0,45 \pm 0,02 \mu M$.⁵⁴

Proti amastigotům *Trypanosoma cruzi* (kmen Y) byl testován syntetický benzofuran **41**, jež vykazoval téměř stejný účinek ($IC_{50} = 3,26 \mu M$) jako benznidazol ($IC_{50} = 3,56 \mu M$) – lék používaný proti Chagasově nemoci. U této studie byly esterová skupina na uhlících C₉ a C_{9'} a dvojná vazba mezi uhlíky C₇ a C₈ označeny za podstatné pro antitrypanosomální aktivitu testované látky.^{55,56}



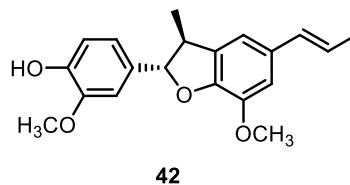
Obr. 11: Chemické struktury ococymosinu **40** a syntetického benzofuranu **41**.

2.2.6.2 Anthelmintické

Jedním z nejrozšířenějších parazitů je krevnička střešní (*Schistosoma mansoni*), která způsobuje onemocnění schistosomiázu, ohrožující celosvětově populaci čítající podle Světové zdravotnické organizace až 800 milionů lidí (převážně v subsaharské Africe). Zatím jedinou široce užívanou preventivní látkou je praziquantel (PZQ),⁵⁷ čímž se lidstvo vystavuje riziku blížící se vysoké rezistence parazita na tento způsob chemoterapie.

Přírodní zdroje poskytují mnoho slibných kandidátů potenciálních léčiv, nicméně málo z nich postoupí do testování *in vivo*. Licarin A **42** (Obr. 12) z listů *Nectandra oppositifolia* (rod *Lauraceae*), jež vykazuje mj. i antibakteriální, protinádorovou či antileishmaniální aktivitu, byl testován i proti krevničce. *In vivo* studie na myších modelech porovnávala orální podání efektivní dávky 400mg/kg PZQ a licarinu A **42** po 42 dnech inkubace parazita v těle hostitele. Bylo dosaženo mírného snížení produkce vajíček, takže bylo ovlivněno dospívání a plodnost jedince. Licarin A **42** tak může sloužit jako slibný kandidát studia vztahu struktury-aktivity dalších látek s benzofuranovým skeletem.⁵⁸ Nutno však zmínit, že doplňkové studie zaměřené na účinky enantiomerů

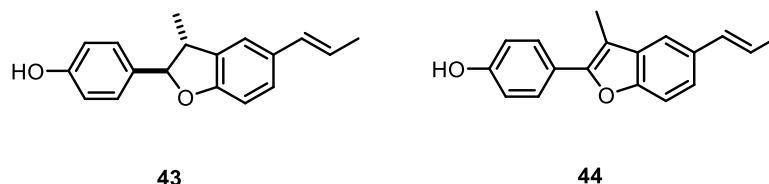
molekuly podporují teorii, že je důležitá i synergie jednotlivých enantiomerů pro požadovaný účinek.⁵⁹ Terapeutickým cílem může být v případě *Schistosoma mansoni* inhibice glukosového transportéru 4 (*in silico* studie).⁶⁰



Obr. 12: Chemická struktura licarinu A (42).

2.2.6.3 Antileishmaniální aktivita

Z listů brazilské rostliny *Piper rivinoides* (čeleď pepřovníkovité) bylo vyizolováno několik benzofuranů a dihydrobenzofuranů (Obr. 13), z nichž látka conocarpan **43** vykazovala aktivitu proti dvěma testovaným druhům zástupců rodu *Leishmania*. V případě *L. amazonensis* byla $IC_{50} = 10,80 \pm 0,04$ mM, u rodu *L. chagasi* byla hodnota $IC_{50} = 24,50 \pm 0,01$ mM. Tato studie rovněž zdůraznila důležitost volné hydroxylové skupiny v poloze C₄ na příkladu výsledků testování biologické aktivity conocarpanu **43** a současně izolovaného eupamatenoidu-6 (**44**).^{61,62}



Obr. 13: Chemické struktury conocarpanu 43 a eupamatenoidu-6 44.

2.3 Využití rhodia při syntéze přírodních látek

2.3.1 Rhodium – historie, vlastnosti a využití

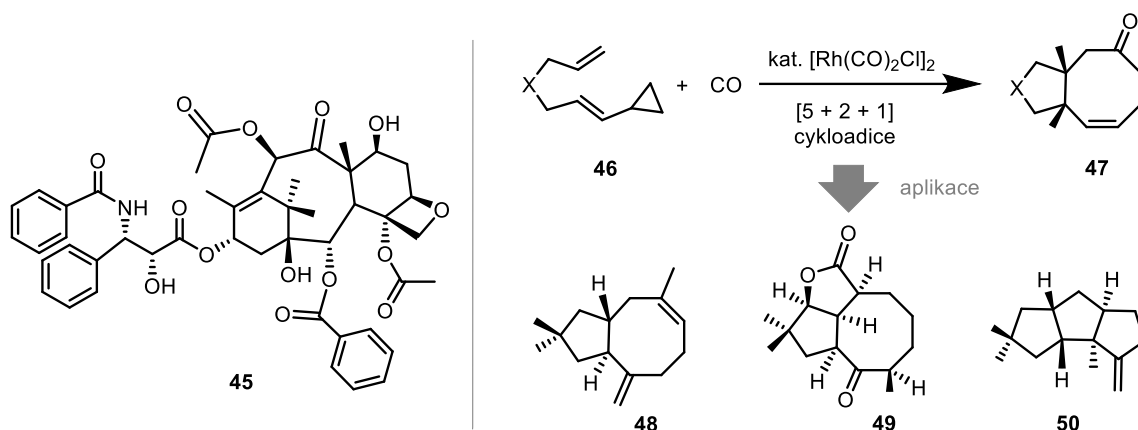
První zmínka o objevení rhodia (Rh) pochází z roku 1804, kdy William Hyde Wollaston (1766-1828) publikoval článek, ve kterém popisoval izolaci nového, zatím neznámého, kovu. Ten pojmenoval po řeckém výrazu pódoú (česky růže), jelikož byl získán z růžovo-červeného hydrátu $Na_3[RhCl_6] \cdot nH_2O$, který zůstal po vysrážení ostatních kovů (platina, palladium, měď a olovo) ze surové platinové rudy. V 19. století se rhodium využívalo zpočátku např. ve slitině s cínem pro odolné hroty per nebo spolu s iridiem, stříbrem a ocelí pro výrobu břitev.^{63,64} V dnešní době najdeme Rh v katalyzátorech aut, v obalech optických vláken nebo v optických zrcadlech.⁶⁵

Současné využití Rh se v chemii orientuje na katalýzu, jež využívá vlastností oxidačních stavů Rh(I) a Rh(III) a s pomocí specifických ligandů je možné na základě jejich vlastností ovlivňovat jak stabilitu komplexů (a tedy jejich reaktivitu) tak i prostorové uspořádání (a tedy umožnit stereoselektivní přístup katalyzátoru k substrátu). Vlivem ligandů pak dané komplexy umožňují (katalyzují) různé syntetické transformace s exkluzivní stereoselektivitou (enantioselektivita či regioselektivita). Příklady reakcí, kde je využívána katalýza Rh, jsou následující: hydroborace, hydroformylace, dekarbonylace, cross-couplingy, tvorba C-S vazeb, metathese, annulace, Oppenauerova oxidace, asymetrická C-H aktivace a mnoho dalších.^{66,67}

Některé sloučeniny rhodia jsou testovány i v rámci jejich biologických vlastností. Stručně lze zmínit, že vybrané Rh(II) a Rh(III) komplexy, jež jsou aktivně zkoumány jako inhibitory enzymů [např. enzym aktivující NEDD8 (EC 6.2.1.64) nebo proto-onkogenní thyrosin-proteinová Src kinasa (EC 2.7.10.2)], látky cílící na deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) anebo jiné komplexy s protinádorovým účinkem.^{68,69}

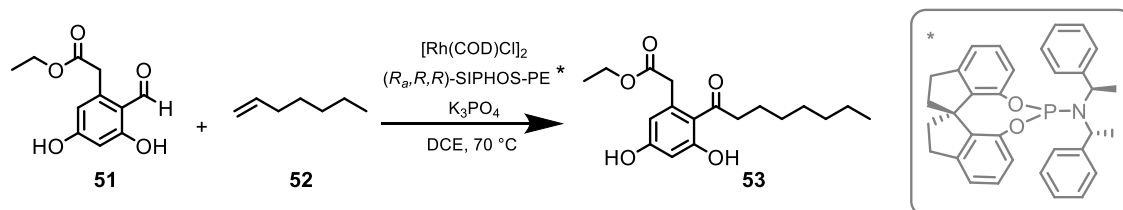
2.3.2 Aplikace komplexů rhodia při syntéze přírodních látek

V přírodě se setkáme i se složitějšími molekulami. Mezi takové patří např. i paklitaxel (**45**), jedno z nejúčinnějších cytostatik (mitotický inhibitor), jehož struktura osahuje tetracyklický základní skelet složený z osmičlenného, dvou šestičlenných a jednoho čtyřčlenného uhlíkatého cyklu.⁷⁰ Syntéza těchto konkrétních vícečlenných kruhů má své limity, jež vycházejí z enthalpických nebo entropických vlastností tranzitního stavu při cyklizaci. Jedním ze způsobů, jak vytvořit požadovanou velikost kruhu **47**, je $[\text{Rh}(\text{CO})_2\text{Cl}]_2$ -katalyzovaná $[5+2+1]$ cykloadice vinylyklopropanu **46** a oxidu uhelnatého (CO). Navržená hypotéza byla ověřena na syntéze mj. následujících přírodních látek: bicyklického asterisca-3-(15)-6-dienu **48** a tricyklických (+)-asteriscanolidu **49** a (\pm)-hirsutenu **50** (Obr. 14).⁷¹



Obr. 14: Chemická struktura paklitaxelu **45**, jež obsahuje vícečetný uhlíkatý cyklus. Pro syntézu přírodních látek astericsa-3-(15)-6-dienu **48**, asteriscanolidu **49** a (\pm)-hirsutenu **50** byla využita Rh-katalyzovaná cykloadice vinylycyklopropanu **46**.

Cytosporony (látky ze skupiny oktaketidů) mohou být připraveny cestou intermolekulární hydroacylace alkenů (např. **52**) s deriváty salicylaldehydu **51**. Navržený postup využívající katalýzy rhodiového katalyzátoru s chirálním ligandem (R_a,R,R)-SIPHOS-PE (Obr. 15) byl aplikován na syntézu osmi látek, mezi nimiž byl i cytosporon B **53**, kandidát na cytostatikum a hypoglykemikum.^{72,73}



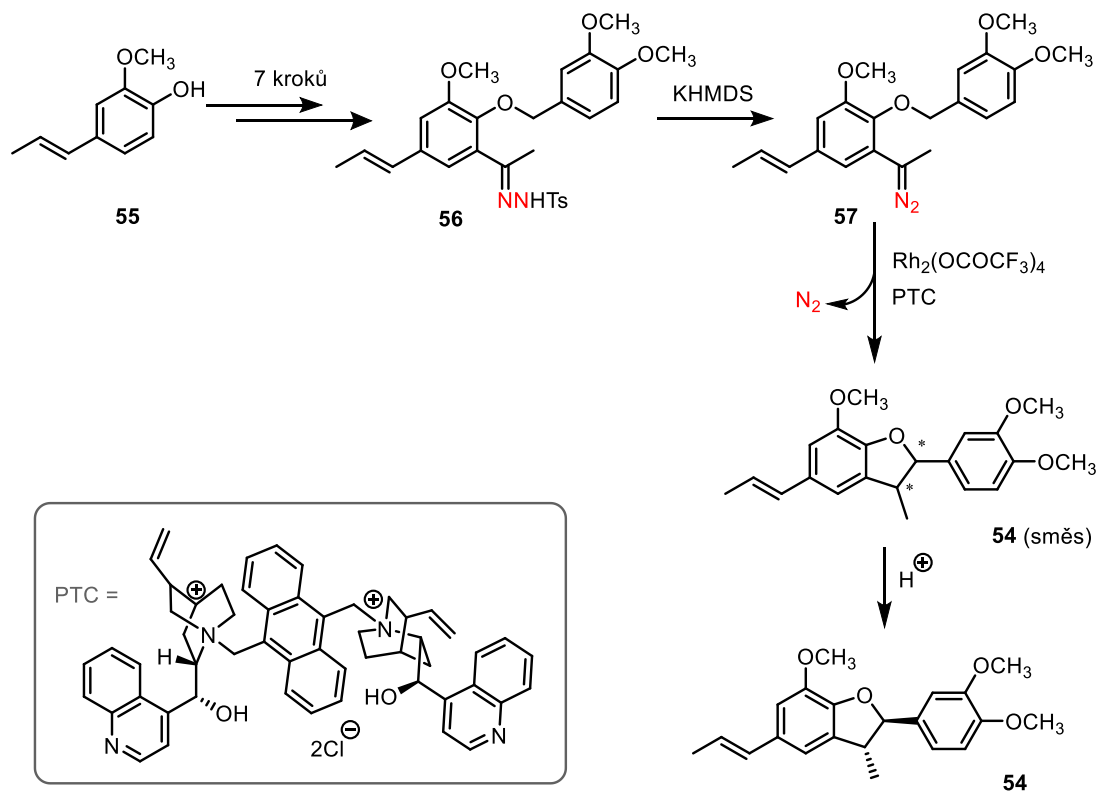
Obr. 15: Schéma Rh-katalyzované syntézy cytosporonu B **53** s využitím chirálního ligandu na centrálním Rh atomu.

2.3.3 Aplikace Rh při syntéze benzofuranů

Dalším příkladem je enantioselektivní syntéza neolignanů (+)-*trans*-akuminatinu **54**, při které byla využita katalýza Rh(II).⁷⁴ Látka byla poprvé izolována v roce 1972 z kůry kořenů šácholanu přišpičatělého (*Magnolia acuminata*).⁷⁵ Akuminatin **54** vykazuje mj. inhibici DNA-topoisomerasy I a II (typ I: EC 5.99.1.2, typ II: EC 5.99.1.3) nebo fosfolipasy C γ 1 (EC 3.1.4.11; IC₅₀ = 26,0 \pm 1,5 μ M), která se účastní proliferačního mechanismu rakovinných buněk u člověka.⁷⁶

Výchozí látkou byl *trans*-isoeugenol **55**, který byl v sedmi krocích přetransformován na tosylhydrazon **56**, jež reakcí s hexamethyldisilazanem draselným (KHMDS) vytvořil diazo-meziprodukt **57**. Ten iniciací Rh(II)-karbenoidu reagoval cestou 1,5 C-H inserce. Reakce byla navíc optimalizována přidáním chirální kvartérní

amoniové soli odvozené od cinchonidinu (působí jako katalyzátor transferu mezi fázemi, PTC), jež umožnila provést tuto reakci stereoselektivně. Výsledný produkt vzniká jako směs *cis/trans* izomerů, takže je nutná následná izomerizace (+)-*cis*-akuminatinu na *trans* izomer **54** za kyselých podmínek (Obr. 16).⁷⁴ Většina biologicky aktivních neolignanů se v přírodě totiž nachází právě ve své *trans* formě.

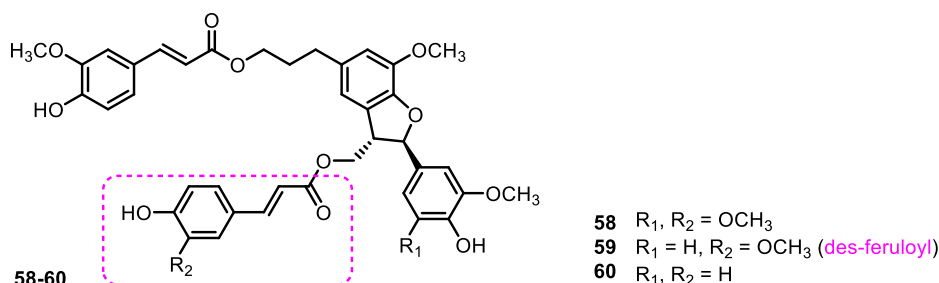


Obr. 16: Rh(II)-katalyzovaná asymetrická intramolekulární C-H inserce diazo-meziproduktu **57** vede ke směsi *cis/trans* izomerů (+)-akuminatinu **54**.

Obecně je problém u Rh(II) komplexů jejich nižší stabilita, a proto se nyní ve výzkumu zaměřujeme na využití stabilnějších komplexů založených na využití rhodia v oxidačním stavu III (Rh(III)). Proto jsem se ve své práci pomyslně „odpíchla“ od práce Peng Suna *et al.*, jenž se ve svém výzkumu věnoval syntéze chromonů a benzofuranů. V jeho případě pak konkrétně šlo o syntézu benzofuranových skeletů založených na Rh-katalyzované C-H aktivaci/annulaci mezi aldehydem a různými diazolétkami.⁷⁷ V přehledovém článku shrnul Chiumminto *et al.* vývoj do roku 2020 v oblasti inter-molekulární a intra-molekulární cyklizační syntézy různě substituovaných benzofuranů.⁷⁸

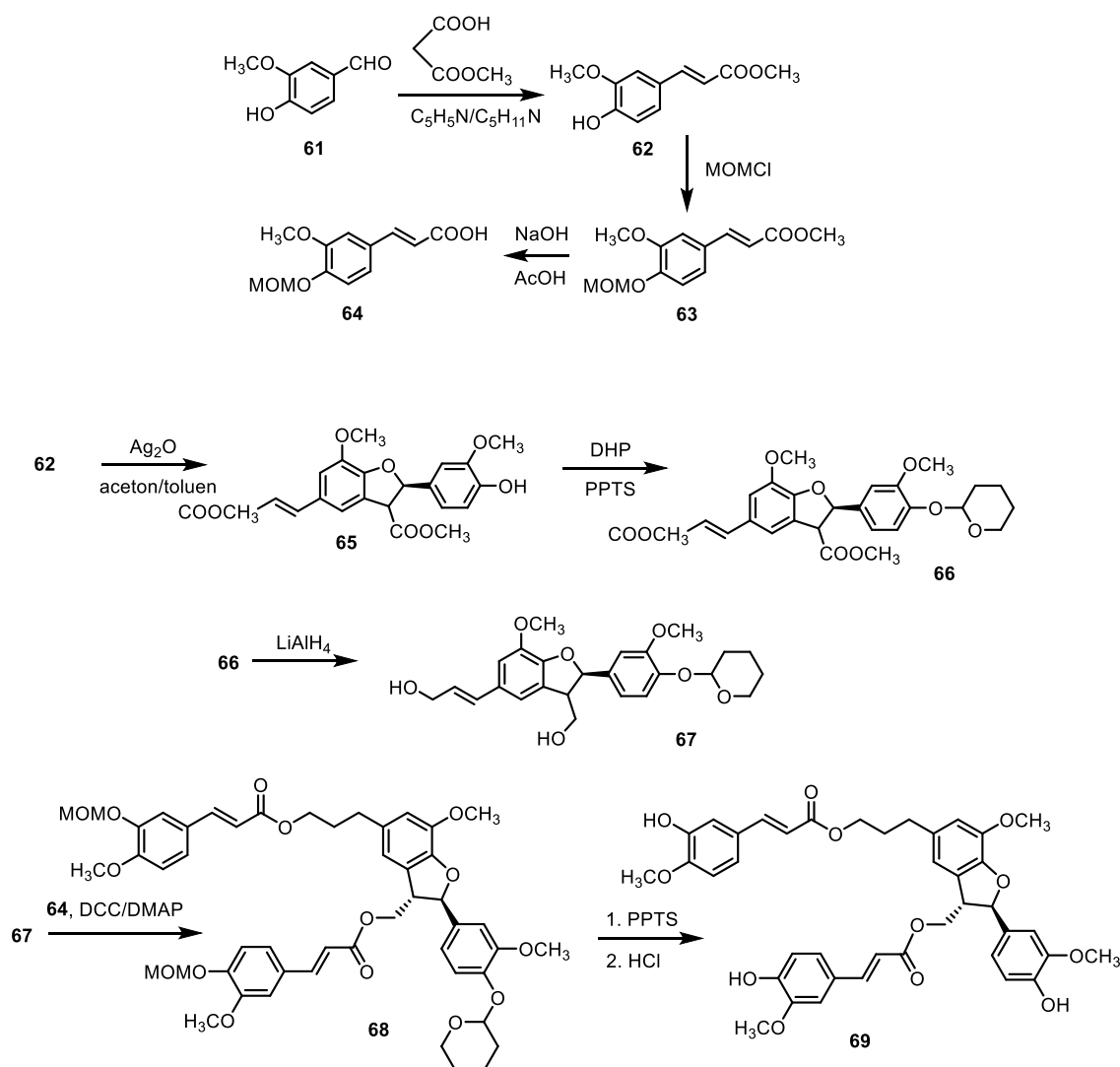
2.4 Dosavadní výsledky ve skupině zabývající se neolignany

Jedním z klíčových cílů naší výzkumné skupiny je syntéza boehmenanů. Struktury tří nejvýznamnějších (boehmenan D **58**, boehmenan H **59**, boehmenan X **60**) jsou zobrazeny na obr. 17.⁷⁴



*Obr. 17: Chemické struktury boehmenanu D **58**, boehmenanu H **59** a boehmenanu X **60**.*

První totální syntéza boehmenanu **69**, jež vycházela z vanilinu **61**, byla publikována v roce 2014 za využití biomimetického oxidativního couplingu jako klíčového kroku (Obr. 18).⁷⁹ Naším cílem ale bylo nalézt jednoduchou a efektivní syntézu benzofuranového skeletu, jež by nám umožnila syntézu tohoto typu látek s možností jejího zobecnění a rozšíření na další deriváty. Tedy metodu, jež by na rozdíl od biomimetického přístupu byla potenciálně aplikovatelná na přípravu derivátů benzofuranů využitelných při SAR studiích jejich biologických účinků. Za uplynulou dekádu byly v naší skupině vyzkoušeny mnohé postupy, z nichž některé byly více či méně úspěšné. V této části bude prezentován stručný přehled dosavadních syntetických přístupů pro zástupce neolignanů s benzofuranovým skeletem, kterým se věnovali mí předchůdci ve skupině.



Obr. 18: Schéma první totální syntézy boehmenanu 69 vycházející z vanilinu 61.

2.4.1 Radikálový zkřížený dehydrogenační coupling

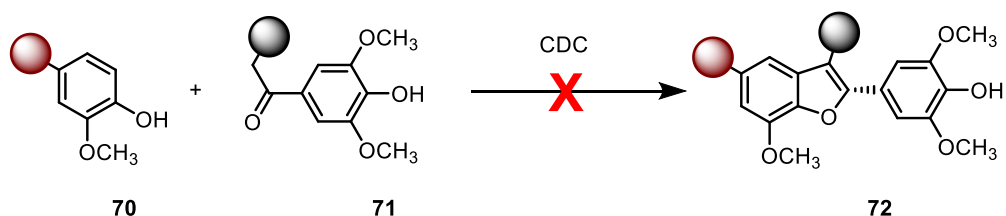
Syntéza skeletu boehmenanů 72 může být provedena více způsoby. Prvním studovaným přístupem byl radikálový křížený dehydrogenační coupling (CDC; cross dehydrogenative coupling) využívající radikálové reakce substituovaného fenolu 70 a β -ketoesteru 71 (Obr. 19).

Práce Mgr. Barbušákové se zabývala návrhem syntézy boehmenanu X 60 a využila heterodimerizaci β -ketoesteru MOM-chráněné kyseliny ferulové s acetalem vanilinu. Již příprava prekurzorů ale narazila na problematické místo. β -ketoester kyseliny ferulové měl být připraven z β -hydroxyesteru, který ovšem nebyl získán v dostatečném množství pro optimalizaci následné oxidační reakce. Důvodem mohla být sterická zábrana na benzenovém jádře vanilinu, která znemožnila vhodnou orientaci při cyklickém mechanismu reakce katalyzovaného Fe(III) solí, nebo kladný mezomerní

efekt substituentů na benzenovém jádře vanilinu, čímž byla ztížena nukleofilní adice na aldehydické skupině.⁸⁰

Molekula boehmenanu H **59** byla dalším cílem aplikace CDC couplingu na radikálovou reakci mezi MOM-chráněným vanilinem a MOM-kyselinou ferulovou. Syntéza se však zabrdila již při přípravě prekurzorů. Byly připraveny fenoly s různými chránícími skupinami (acetal, MOM) a v případě β -ketoesteru bylo také využito více postupů syntézy. Finální pokusy o radikálový coupling však byly neúspěšné a otázka použití vybraného postupu zůstala otevřená i po snaze Bc. Lachetové.⁸¹

Bakalářská práce Bc. Tuny pokračovala v plánu využití CDC couplingu k syntéze dalšího neolignanů – boehmenanu D **58**. Jako prekurzory byly použity vanilin chráněný TBDMS a β -ketoester kyseliny ferulové připravený ze syringaldehydu. Při testovacím couplingu s různě substituovaným fenolem byla potvrzena hypotéza, že reakce je ovlivněna polohou substituentů na benzenovém jádře β -ketoesteru. Elektronodonní substituenty v poloze *meta* couplingovou reakci zpomalují. U použitého fenolu je nežádoucí elektronodonní substituent v poloze *ortho*. Poloha *para* je v obou případech nemá vliv na reaktivitu. Studium vlivu substituentů na výchozích substrátech tak vedlo k odklonu od CDC couplingu, jelikož je methoxy skupina v poloze *ortho* nutná pro syntézu boehmenanu D **58**.⁸²

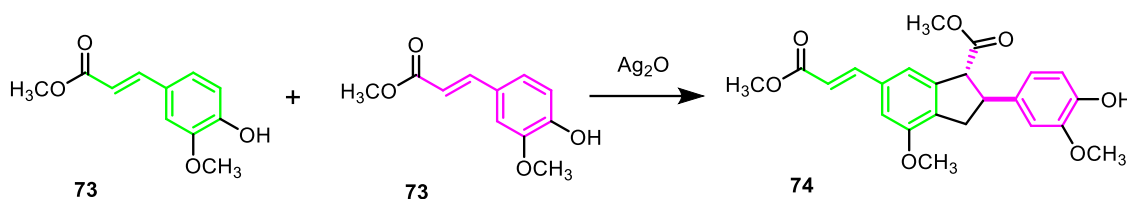


Obr. 19: Schématické znázornění CDC couplingu vedoucího ke skeletu boehmenanů **72**, kdy charakter zvláštních postranních skupin negativně ovlivnil průběh reakce.

2.4.2 Esterový coupling

Mgr. Barbušáková se pokusila připravit boehmenan X **60** ještě jiným způsobem, a to cestou esterového homocouplingu methylestetru kyseliny ferulové **73** (Obr. 20). Výchozími látkami zde byli Wittigova sůl, MOM-chráněná (methoxymethyl-chráněná) kyselina kumarová a chráněný L-prolin, který měl úlohu chirální pomocné skupiny. Syntéza byla zahájena Wittigovou reakcí vanilinu s Wittigovou solí s pomocí mikrovlnného záření. Radikálová reakce dalšího kroku (homodimerizace) probíhala za přítomnosti Ag_2O a poskytla racemický benzofuran **74**. Vzhledem k malým výtěžkům

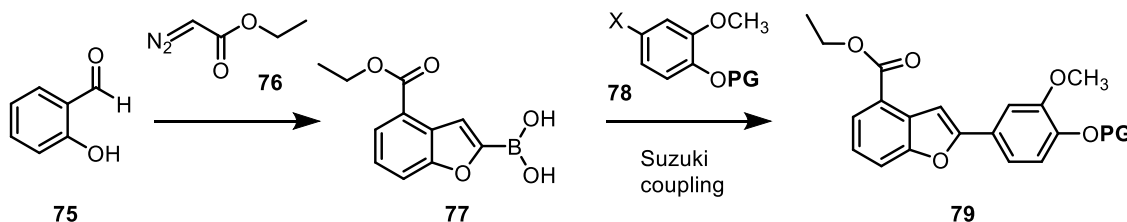
tohoto kroku bylo nutné reakci několikrát opakovat pro získání dostatečného množství meziprojektu. Reaktivní fenolický hydroxyl byl v dalším kroku ochráněn TBS skupinou. Původní plán použití chirální pomocné skupiny pro oddělení enantiomerů nebyl realizován vzhledem k neúspěšné syntéze chráněného L-prolinu, byla však navíc navržena cesta k selektivnímu zavedení odlišného postranního řetězce. Ani esterový coupling neposkytl uspokojivé výsledky syntézy neolignanů s benzofuranovým skeletem, jelikož cílové látky mají odlišné postranní řetězce a tato navržená metoda poskytovala pouze homodimery.⁸⁰



Obr. 20: Schematické znázornění homodimerizační reakce methylesterů kyseliny ferulové **73** vedoucí k benzofuranu se strukturou **74**.

2.4.3 Suzuki-Miyaura coupling

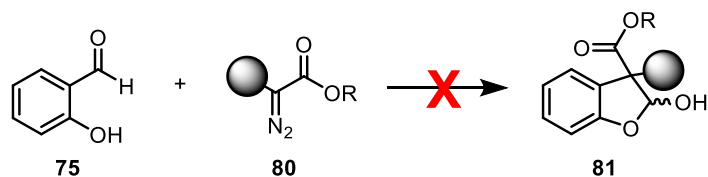
Zcela jiný přístup k syntéze benzofuranového skeletu neolignanů byl zvolen v bakalářské práci Mgr. Vysloužilové (Obr. 21). Látka **79** měla být připravena pomocí Suzuki-Miyaura couplingu boronové kyseliny **77** s arylhalogenidem **78**. Výhodou použitého couplingu bylo využití stabilních reakčních partnerů a možnost práce v protickém prostředí. Katalyzátorem byl komplex palladia v ox. stavu 0 (připraven z prekatalyzátoru PdCl₂(dppf)·CH₂Cl₂). Po úspěšné syntéze benzofuranového skeletu **79** byla proveden pokus o *trans*-selektivní redukci dvojně vazby benzofuranu kovovým hořčíkem. Tato redukce se však ukázala jako obtížně reprodukovatelná.⁸³



Obr. 21: Schematické znázornění syntézy látky **79** s benzofuranovým skeletem pomocí Suzuki-couplingu za přítomnosti boronové kyseliny **77**, jejíž příprava vycházela z aldehydu **75** a diazolatky **76**.

Navržený postup byl poté rozšířen na studium cyklizace salicylaldehydu **75** s α -substituovanými diazosloučeninami **80** v bakalářské práci Bc. Střížové. I zde se ale ukázalo, že vyvíjená metoda je velice úzce aplikovatelná (limitace z pohledu sterické a elektronické substituce) a není vhodná pro přípravu širokého množství (z pohledu

substituce) cílových derivátů. Původně navržená hypotéza o potenciální tvorbě benzofuranu **81** s kvarterním centrem se nepotvrdila (Obr. 22).⁸⁴



Obr. 22: Schematické znázornění potenciální tvorby benzofuranu **81** s kvarterním centrem reakcí aldehydu **75** s diazolátkou **80**.

Jelikož žádný z předchozích postupů nepřinesl uspokojivé výsledky, rozhodli jsme se vyzkoušet nový – rhodium katalyzovaný – přístup k neolignanům a navázat na využití komerčně dostupného aldehydu a připravených diazosloučenin jako výchozích látek.

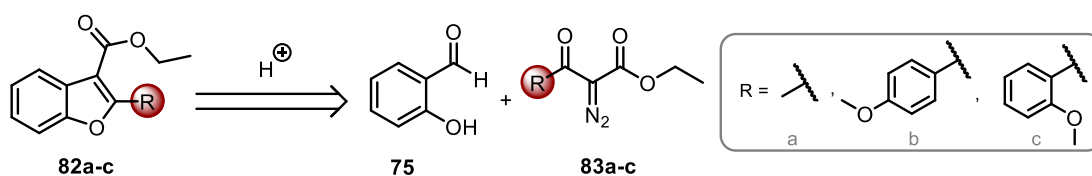
3. Výsledky a diskuze

Cesta za jednoduchou syntézou zdánlivě nesložité látky může být mnohdy klikatá. Jak bylo nastíněno v kapitole 2.4, práce několika mých předchůdců se zaměřila na hledání vhodného přístupu k syntéze benzofuranového skeletu neolignanů, avšak ne zcela ideálním výsledkem. Jak nám připomíná Google Scholar: „stůjte na ramenu obrů“, jala jsem se pokračovat v jejich snaze a v předložené diplomové práci jsem se snažila o rozšíření možností přístupu k univerzální syntéze benzofuranového skeletu s vyhlídkou, že tentokráte bude zakončení úspěšnější. Z tohoto důvodu jsem se rozhodla vyzkoušet nový přístup, který by, obdobně jako předcházející přístupy, umožňoval divergentní syntézu benzofuranových skeletů.

3.1. Syntetický přístup

Jak již bylo řečeno, cílem mého přístupu bylo navázat na předchozí práce ve skupině. Jako vzor vhodný následování byl vybrán projekt Bc. Michaely Střížové, který byl založen na syntéze benzofuranových skeletů z *o*-hydroxybenzaldehydu (a jeho derivátů) a α -aza-1,3-dikarbonylových sloučenin (Schéma 1 A). V rámci této diplomové práce jsem se pak zaměřila na využití stejných výchozích látek v kontextu Rh(III) katalyzované cyklizační reakce (Schéma 1A). Moji práci jsem založila na již publikovaném reportu, který naznačoval, že takováto transformace je více než aplikovatelná v daném kontextu z pohledu široké substrátové tolerance.⁷⁷ Jak se následně ukázalo, tento předpoklad byl více než mylný, ale to předbívám.

A. Předcházející přístup M. Střížové



B. Cíl diplomové práce

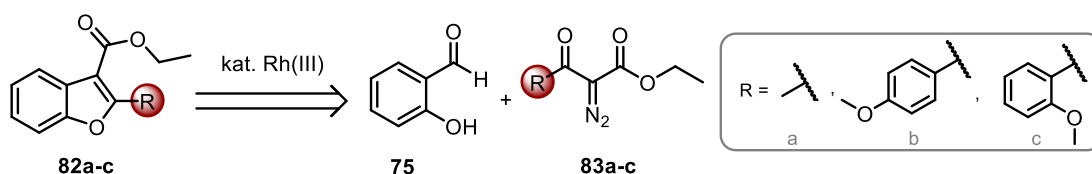


Schéma 1: (A) Původní přístup M. Střížové k benzofuranovému skeletu 82a-c, a nově navržený přístup (B) vycházející ze stejných výchozích látek založený na Rh(III) katalyzované reakci.

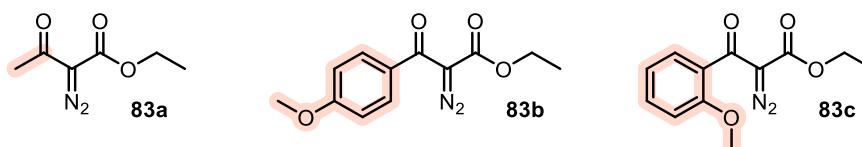
3.2 Syntéza výchozích látek pro cyklizační reakce

V rámci této kapitoly se zaměřím na popis přípravy výchozích látek nezbytných k annulačním (cyklizačním) reakcím katalyzovaných Rh(III). Původně jsme plánovali využít různě substituovaných derivátů salicylaldehydu, ale z důvodu neplánovaných problémů s reakcí a jejich optimalizací jsme zůstali pouze u látky **75**. V rámci této podkapitoly bude diskutována syntéza β -keto- α -diazooesterů. Ve své práci jsem se nejprve zaměřila na přípravu tří vhodně vybraných diazosloučenin **83a-c** (Obr. 23). Tyto látky byly vybrány z následujících důvodů:

Látka **83a** zavede na cílový produkt alifatický substituent. Syntéza tohoto derivátu je popsána v původní literatuře,⁷⁷ takže měla sloužit jako proof-of-concept substrát pro reakci. Z pohledu cílových sloučenin – přírodních sekundárních metabolitů, neolignanů – je ovšem „neužitečná“, protože je známo pouze minimum přírodních látek tohoto typu.

Látka **83b** obsahující 4-methoxyfenylovou skupinu. Důležitá skupina z pohledu přírodních neolignanů, neboť obsahuje elektronově donorní skupinu (EDG), jež je přítomna ve valné většině přírodních látek neolignanového typu.

Látka **83c** obsahující 2-methoxyfenylovou skupinu. Očekávali jsme, že v případě methoxy (EDG) skupiny v *ortho* poloze na fenylu by mohlo dojít k ovlivnění katalytického cyklu (vliv na stabilitu/nestabilitu jednotlivých intermediátů, resp. na proveditelnost reakce z pohledu potenciálního sterického bránění cyklizace). Kdyby nedošlo, produkt **82c** by mohl sloužit jako intermediát k syntéze další přírodní látky s biologickým účinkem – kumestanu.



Obr. 23: Cílové diazosloučeniny **83a-c** nezbytné pro následné annulační reakce.

3.2.1 Příprava ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (**83a**)

Nejjednodušší výchozí diazolatka **83a** s alifatickým postranním řetězcem byla připravena reakcí ethyl 3-oxobutanoátu **84** s azidem 4-acetamidobenzensulfonylu (*p*ABSA) **85**. Reakce byla prováděna pomocí diazotransferu diaz skupiny pomocí *p*ABSA v prostředí slabé báze (triethylaminu) (Schéma 2). Použitý *p*ABSA je bezpečnější alternativou k více využívanému tosylazidu, který může být potenciálně explozivní při vyšších teplotách.⁸⁵

Cílová látka **83a** je stabilní na SiO₂, a tak mohla být čištěna pomocí sloupcové chromatografie. Lipofilní charakter struktury dovolil její rychlou eluci z chromatografické kolony (frakce 5-10 u reakce/řádku č.1, Tab. 1) a produkt byl již při první syntéze získán ve velmi vysokém výtěžku 92 % při navážce 103 mg. Reakce probíhá v 76% izolovaném výtěžku v preparativním měřítku (Tab. 1, řádek č .2).

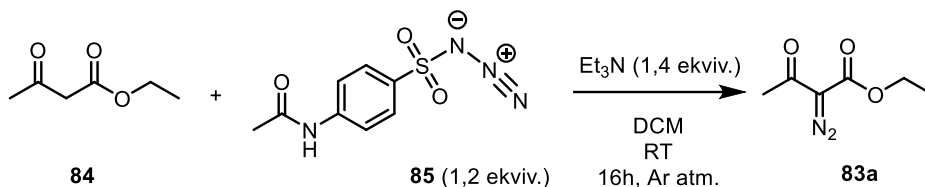


Schéma 2: Příprava diazolátky **83a** s využitím pABSAs **85** a β -ketoesteru **84**.

Řádek č.	Látka 84			Látka 85	Látka 83a
	(ekviv.)	(mg)	(mmol)	(ekviv.)	Výtěžek ^{a)}
1	1	103	7,76	1,2	92 %
2	1	515	38,8	1,2	76 %
3	1	206	15,5	1,2	79 %

^{a)} Výtěžek stanoven po purifikaci pomocí sloupcové chromatografie na SiO₂. Pro látku s čistotou 95 %+.

Tab. 1: Příprava výchozí diazolátky **83a**, srovnání výtěžků při různých navážkách výchozího β -ketoesteru **84**.

3.2.2 Příprava ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (**83b**)

Další připravovaná diazolátka **83b** obsahovala aromatickou skupinu s methoxy skupinou v poloze *para* na fenylu, jež reprezentovala kladný mezomerní efekt, avšak bez vlivu na sterickou náročnost (*ortho* efekt) v následujících cyklizačních reakcích. Postup byl obdobný jako při přípravě předchozí látky **83a** (Schéma 3). Diazotransfer na ethyl 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **86** byl opět zajištěn reakcí s pABSAs **85** a následné zpracování a purifikace ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu **83b** byly uskutečněny stejným způsobem jako v případě látky **83a** a látka **83b** byla připravena v 96% výtěžku.

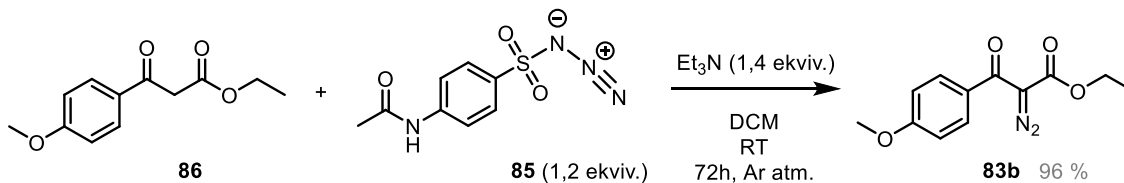


Schéma 3: Příprava diazolátky **83b** s využitím azidu sulfonylu **85** a substituovaného β -ketoesteru **86**.

3.2.3 Příprava ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)

Pro studium vlivu substituce na reakční mechanismus (studium *ortho* efektu) jsme si připravili také diazolátku obsahující methoxy skupinu v poloze *ortho* **83c**. Protože odpovídající β -ketoester nebyl k dispozici, využili jsme k přípravě **83c** jinou strategii nevyužívající diazotransfer. Pro tuto syntézu byl využit odlišný přístup skládající se ze dvou částí – tvorba α -diazo- β -hydroxykarbonylu **95** pomocí adice na karbonyl a jeho následná selektivní oxidace (Schéma 4).

V prvním kroku byl 2-methoxybenzaldehyd **87** reagován s ethyl 2-diazoacetátem **88**, přičemž jako organokatalyzátor byl použit nenukleofilní 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), dovolující využití mírnějších reakčních podmínek. Vzniklý ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **95** byl přečištěn pomocí CC a poté byl podroben oxidaci pomocí Dess-Martinova perjodinanu (DMP), při které byl sekundární alkohol přeměněn na keton za laboratorní teploty.^{86,87,88} DMP je využívám pro svou schopnost selektivně komplexovat hydroxylovou skupinu v molekule. Po navázání alkoholu (záměna za jednu acetátovou skupinu v DMP) vzniká diacetoxyaloxyperjodinan, který následnou reakcí s acetátem deprotonuje α vodík z „původního“ alkoholu. Vzniká jodinan, octová kyselina a žádaný keton. Výsledný ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83c** byl po purifikaci na CC izolován s celkovým výtěžkem 35 % (po dvou krocích) při navážce 500 mg výchozího aldehydu **87**. Ačkoli byla příprava této výchozí látky časově náročnější, její uplatnění v následujících katalytických reakcích nemělo dlouhého trvání.

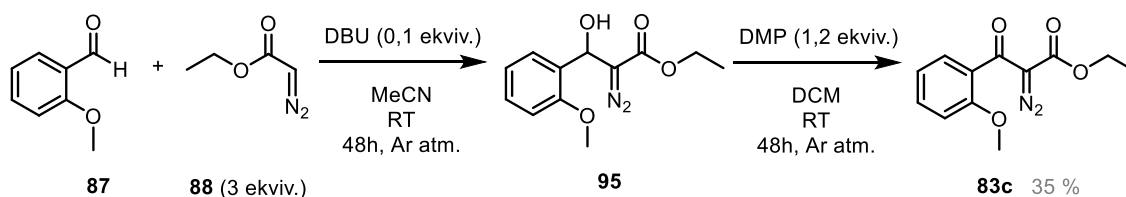


Schéma 4: Příprava diazolátky **83c** ve dvou krocích, kdy byl hydroxy-meziprodukt **95** oxidován pomocí DMP.

Řádek č.	Látka 87 (mmol)	Výtěžek látky 95 ^{a)}	Výtěžek látky 83c ^{a)}
1	3,60	67 %	35 %
2	7,20	39 %	degradace ^{b)}
3	4,32	78 %	32 %

^{a)} Výtěžek stanoven po purifikaci pomocí sloupcové chromatografie na SiO₂. Pro látku s čistotou 95 %+.

^{b)} Určeno na základě analýzy ¹H NMR spektra surové reakční směsi. **83c** n.d..

Tab. 2: Příprava β -ketoesteru **83c** vedla k menším výtěžkům, než se předpokládalo.

3.3 Cyklizační reakce katalyzovaná Rh(III) – syntéza benzofuranového skeletu (82)

Po přípravě výchozích 2-diazo-3-ketoesterů **83a-c** bylo možné pokračovat ve zkoumání dalšího kroku mé experimentální práce, jež zahrnoval optimalizaci cyklizační reakce připravených diazosloučenin se salicylaldehydem **75**, jež by měla probíhat v přítomnosti katalyzátoru založeném na Rh(III).⁷⁷ I přes vyšší pořizovací cenu jsou Rh(III) katalyzátory využívány pro C-H aktivaci díky jejich vysoké selektivitě a široký záběr tolerance funkčních skupin.⁸⁹

3.3.1 Rh(III)-katalyzovaná cyklizace – literatura

Jak již bylo zmíněno v teoretické části, inspirací pro využití zvoleného přístupu pro syntézu neolignanů s benzofuranovým skeletem byla publikace popisující cestu derivatizace dostupného salicylaldehydu **75** pomocí diazolátek cestou C-H aktivace, dekarboxylace a následné annulace v jednom katalytickém cyklu. Autory navržený mechanismus tohoto cyklu je vyobrazen na schématu 5. Katalytický cyklus využívá posunu rovnováhy směrem k produktu **82** pomocí odstupujících plynných molekul CO a N₂, což lze detekovat pozorováním vzniklých bublinek v reakční směsi.

V prvním kroku zobrazuje tvorbu aktivního kationického katalyzátoru [Cp*Rh(III)]⁺⁺ z prekatalyzátoru [RhCp*Cl₂]₂ [dimer dichlor(pentamethylcyklopentadienyl) rhodia(III)] (struktura na schématu 5B) po přidavku bis(trifluoromethylsulfonyl)imidu stříbrného (AgNTf₂) (struktura na schématu 5 C), který favorizuje právě tvorbu benzofuranu **82** (narozdíl od AcOH, kdy je produktem annulační reakce chromon). Přítomné (NTf₂)⁻ anionty jsou kvůli objemné struktuře v katalyzátoru více vzdálené od atomu Rh, proto se formálně značí dvě valenční sféry. Jelikož je Rh silně oxofilní, dochází v dalším kroku ke koordinaci na hydroxylovou skupinu aldehydu a následně k C-H inerci, přičemž dochází ke tvorbě penta-metallo cyklu **89**. Následné odstoupení plynné molekuly (CO) posune rovnováhu k dalšímu kroku, kdy vznikne tetra-metallo cyklus **90**. Po vstupu diazolátky **83a-c**, jako další reakční složky, dojde k odstoupení další plynné složky – molekuly N₂ – tím se opět posune rovnovážná reakce k meziprojektu **91** a v dalším kroku je vzniklý komplex reorganizován interní migrací tak, že je favorizován stabilnější penta-metallo cyklus **92**. Protonace v dalším kroku vede k regeneraci aktivního katalyzátoru a následná intramolekulární dehydratace vzniklé molekuly **93** k požadovanému benzofuranovému derivátu **82**.

Optimalizace reakčních podmínek dovolila autorům publikace vyzkoušet syntézu mnoha variant benzofuranových derivátů s výtěžky 57-90 %, avšak zde nebyly vyzkoušeny deriváty obsahující substituovanou fenyl skupinu.⁷⁷ S přihlédnutím k výběru přírodních neolignanů **20-44**, o nichž pojednávala teoretická část mé práce, je zřejmé, že přírodní zdroje poskytují mj. deriváty neolignanů se substituovaným aromatickým postranním řetězcem **R**. Abychom se tedy pokusili přiblížit přírodním derivátům, zvolili jsme, jak již bylo popsáno výše, výchozí diazolatky **83b** a **83c** dle tohoto kritéria.

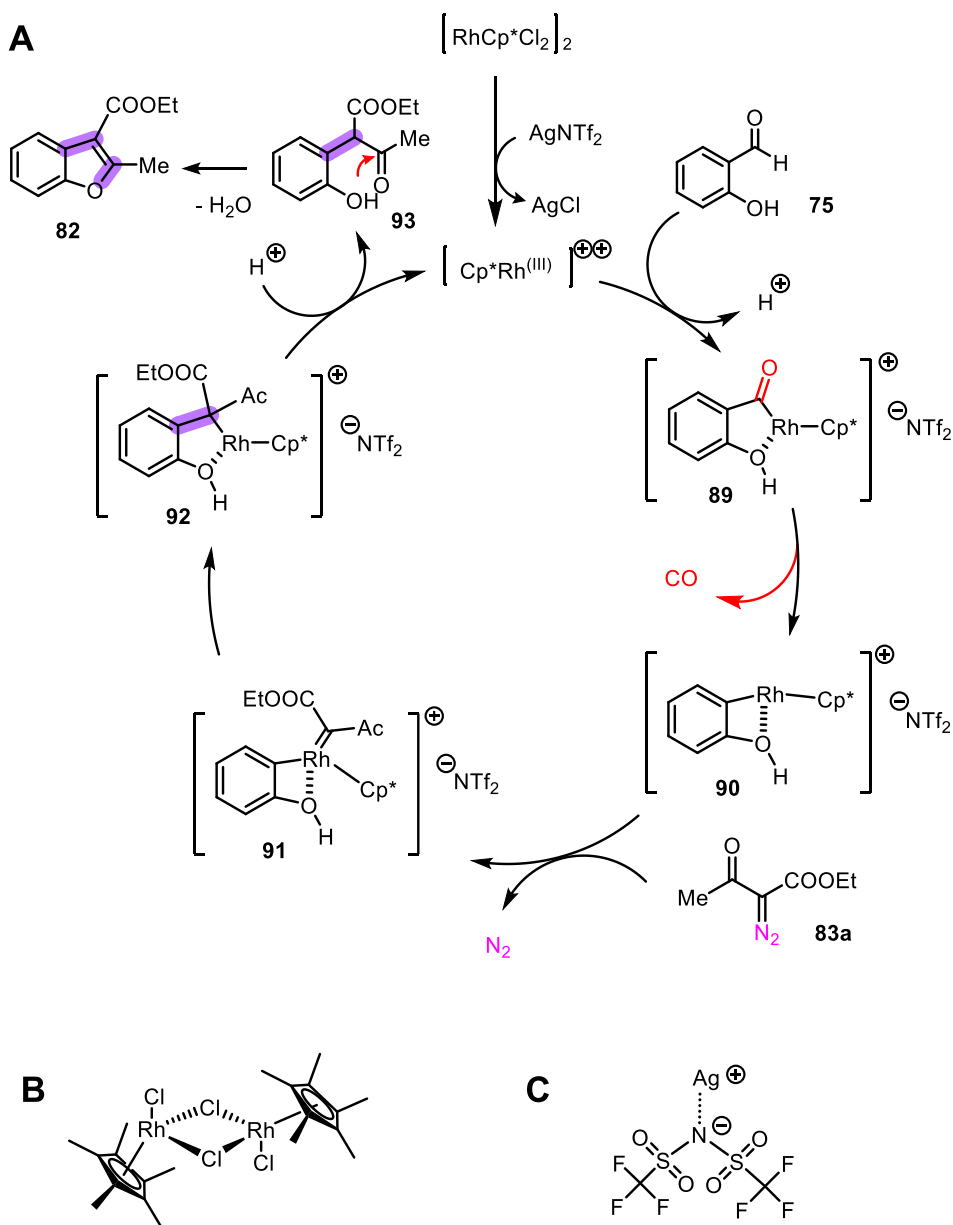


Schéma 5: (A) Navržený katalytický cyklus pro transformaci výchozích látek **75** a **83a** na benzofuran **82** (**82a**). Nově vzniklé vazby furanového kruhu jsou vyznačeny fialovou barvou. [CP* = (pentamethylcyklopentadienyl), Ac = acetyl] (B) Struktura prekatalyzátoru. (C) Struktura aktivátoru katalyzátoru AgNTf₂

3.3.1.1 Optimalizace Rh(III)-katalyzované reakce

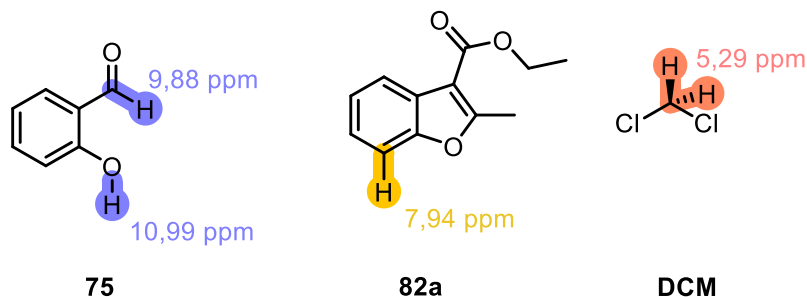
3.3.1.1.1 Závislost konverze výchozích látek na tvorbu produktu

První pokusy o reprodukci rhodiem katalyzované reakce nás nejen, že nepotěšily, nicméně také podnítily naši zvědavost. Proč nezískáváme požadované množství produktu **82a**? Výsledkům jsme nerozuměli. Pro lepší (ale stále omezené) pochopení, co se v reakci děje, jsme využili sledování závislosti přeměny výchozích látek na produkt v čase pomocí dostupné metody NMR (Obr. 25). Uvažujeme též fakt, že s ohledem na přesnost NMR (statistická nebo náhodná chyba) a omezený počet měření, přesné stanovení průběhu reakce (neboli reakční kinetika) nebylo cílem této práce. Zajímalo nás pouze pochopení vlivu množství jednotlivých komponent na reakční výtěžek, resp. při extrapolaci, vliv na kroky navrženého mechanismu katalytického cyklu (Schéma 5).

Objem alikvotu surové reakční směsi (100 μ l), který sloužil pro NMR studii, jsme zvolili tak, abychom co nejméně narušili katalytický cyklus. Odebíráním reakční směsi můžeme např. lokálně změnit poměr reagujících látek a zvýšili bychom pravděpodobnost vzniku vedlejších nežádoucích reakcí. Měření surové reakční směsi probíhalo následujícím způsobem: z reakční směsi byly postupně (na začátku reakce, přibližně každých 20-30 minut, vždy 5 minut před a po přidavku diazolatky, před ukončením reakce; přesné časování odběru specifikováno pro každou reakci zvlášť) odebírány automatickou mikropipetou alikvoty (100 μ l) tak, abychom získali data o průběhu katalyzované reakce a sledovali, jak se vyvíjí úbytek výchozího salicylaldehydu **75** a přibývá produktu reakce. Alikvot surové reakční směsi byl vždy ihned rozpuštěn ve 450 μ l 0,1M DCM (bezvodý, funkce vnitřního standardu) v CDCl_3 . Vnitřní standard (VS) slouží jako referenční hodnota, ke které se vztahují chemické posuny ostatních sledovaných peaků experimentu a kontroluje se reprodukovatelnost měření. Každý takto připravený vzorek byl vzápětí měřen na NMR při rychlosti 32 skenů (čas 2 minuty a 50 sekund na jedno měření).

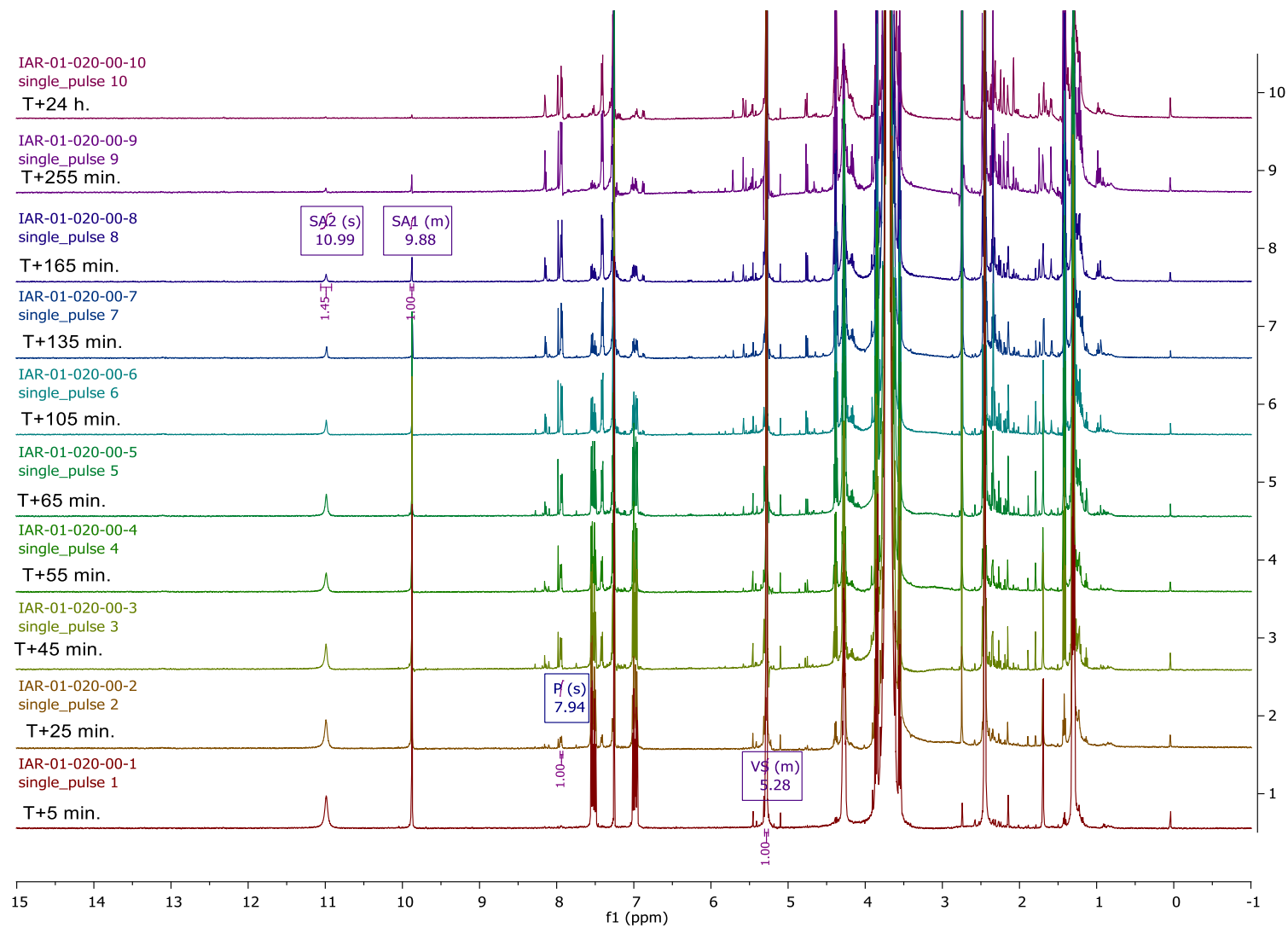
Získaná ^1H NMR spektra byla zpracována pomocí softwaru MestReNova verze 6.0.2. Bylo provedeno sjednocení kalibrací na hodnotu 7,25 ppm. Byly sledovány peaky odpovídající látkám: salicylaldehyd **75** (9,88 ppm a 10,99 ppm; pro sledování trendu úbytku výchozí látky) a produkt (konkrétní peak vybrán s ohledem na produkt sledované reakce). Hodnoty integrací jednotlivých peaků a jejich normalizace na počet protonů byly zadány do přepočtové tabulky, jež zaznamenávala konverzi výchozích látek na produkt. Pro lepší představu je vložen příklad tabulky (viz Přílohy), ze které byl vytvořen výsledný

Graf 2 pro látku **82a**. Vzhledem k počtu měření a opakování NMR studií budou v grafech níže diskutovány pouze trendy konverze, nejedná se o standardní a tím pádem i přesné kinetické měření. Cílem bylo získání alespoň základního „vhledu“ do průběhu katalytické reakce při různých reakčních podmínkách.



*Obr. 24: Chemické posuny, jež byly hodnoceny při sledování průběhu reakce syntézy látky **82a**: salicylaldehyd **75** (9,88 ppm a 10,99 ppm), produkt cyklizační reakce **82a** (7,94 ppm), DCM (vnitřní standard; 5,29 ppm).*

Jak je patrné z obr. 25, v průběhu měření lze sledovat, jak v reakční směsi ubývá výchozího salicylaldehydu **75** a postupně přibývá signálu produktu **82a**, přičemž vidíme stabilní signál vnitřního standardu DCM. V čase T+25 min. již vidíme malý ale rozeznatelný signál produktu, který v následujících 140 minutách kontinuálně roste. Současně pozorujeme stabilní pokles signálů aldehydu, což svědčí o optimální regeneraci katalyzátoru Rh(III). V čase T+24 h. již signál produktu slábl a reakce byla ukončena. Jak již však bylo zmíněno výše, u malých alikvotů může hrát významnější roli právě lokální koncentrace látek v prostoru reakční směsi, ze kterého byl odebrán vzorek (aliquot) pro NMR studii.



Obr. 25: ^1H NMR studie vzniku látky **82a** v čase s vyznačenými peaky pro salicylaldehyd **75** (SA₁, SA₂), produkt **82a** (P), vnitřní standard (VS).

3.3.1.1.2 Syntéza ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu (82a)

Prvním úkolem při testu nového typu syntetické reakce je pokus o reprodukci podmínek, jež byly publikovány.⁷⁷ S využitím doporučených reakčních podmínek byla však výtěžnost produktu **82a** nižší, než uváděla publikace. Byla provedena série optimalizačních reakcí (Tab. 3), kde byly otestovány různé poměry výchozích látek **75** a **83a** nebo byl sledován vliv rychlosti přidavku diazolatky **83a** do reakční směsi. Dvojnásobný přidavek **83a** nevedl k vyššímu výtěžku (Tab. 3, řádek č. 2). V dalších experimentech byly dva ekvivalenty **83a** rozděleny. Jeden byl přidán na začátku reakce, druhý ekvivalent diazolatky byl rozpuštěn v 5 ml DCM a do reakční směsi přidáván postupně pomocí automatické jehly rychlostí 2,5 ml/h (Tab. 3, řádek č. 3-5). Vyzkoušen byl také vliv dvojnásobného přidavku prekatalyzátoru [RhCp*Cl₂]₂ (Tab. 1, reakce č. 4-5) nebo jeho aktivátoru AgNTf₂ (Tab. 3, řádek č. 7-8). V tomto případě byla provedena NMR studie konverze výchozích látek na produkt **82a** (bude popsáno dále).

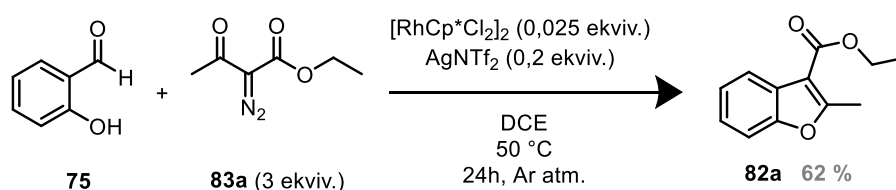


Schéma 6: Optimální reakční podmínky pro syntézu ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82a**.

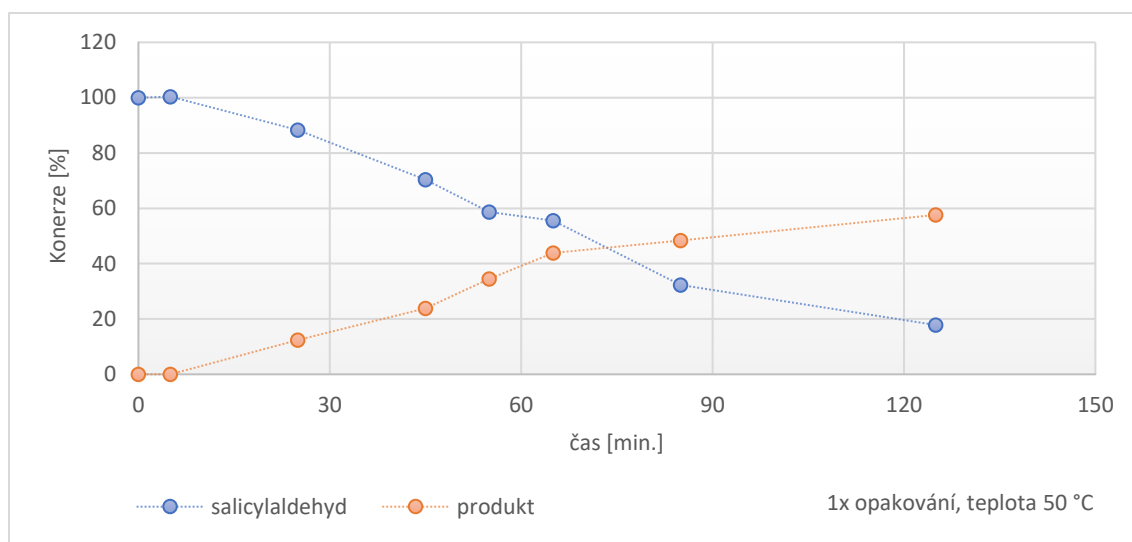
Řádek č.	83a (ekviv.)	prekat. (ekviv.)	AgNTf ₂ (ekviv.)	poměr ¹ H signálů 75:82a v surové směsi	Výtěžek 82a ^{a)}
1	2	0,025	0,2	-	58 %
2	4	0,025	0,2	-	56 %
3	2	0,025	0,2	1:6,0	n. a. ^{b)}
4	2	0,050	0,2	1:4,6	n. a. ^{b)}
5	2	0,050	0,4	1:3,6	n. a. ^{b)}
6	3	0,025	0,2	1:69,0	n. a. ^{b)}
7	3	0,025	0,2	1:49,0	62 %
8	3	0,025	0,4	1:41,0	n. d. ^{c)}

a) Výtěžek stanoven po purifikaci pomocí sloupcové chromatografie na SiO₂. Pro látku s čistotou 95 %+.

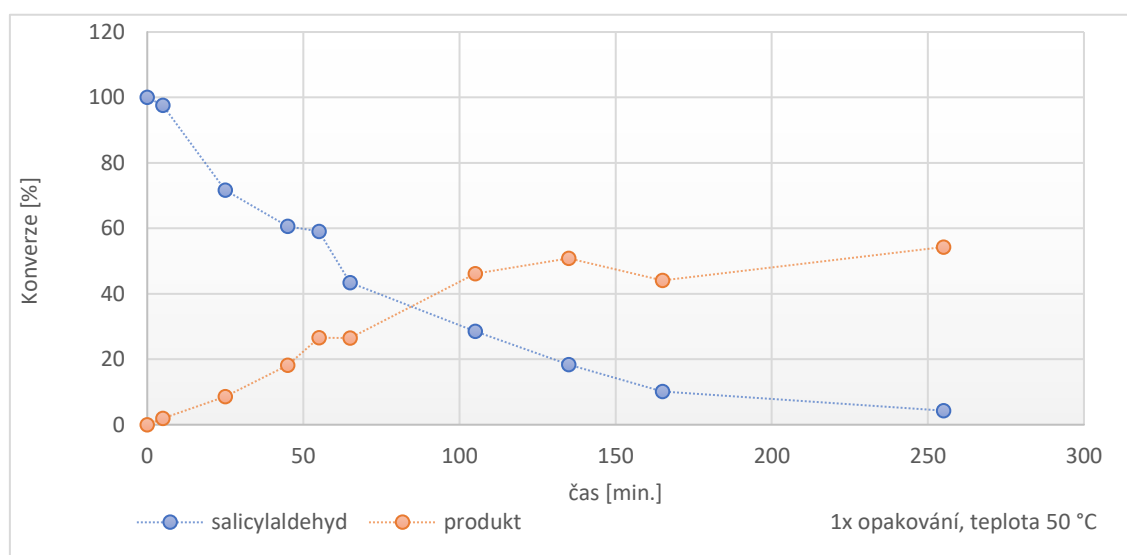
b) Purifikace nebyla provedena, sledován pouze poměr vybraných ¹H signálů pro látky **75** a **82a**.

c) Po purifikaci pomocí sloupcové chromatografie na SiO₂ jsou podle ¹H NMR dvě látky, které se nepodařilo oddělit.

Tab. 3: Optimalizace reakčních podmínek pro katalytickou cyklizaci vedoucí k produktu **82a**.



Graf 1: Přídavek 0,2 ekviv. AgNTf₂; reakce č. 7 v Tab. 3.



Graf 2: Přídavek 0,4 ekviv. AgNTf₂; nezvyšuje konverzi; reakce č. 8 v Tab. 3.

Pro rychlejší postup při optimalizaci jsme u reakcí (Tab. 3, řádky č. 3-6) vyhodnotili, že po ukončení reakce nebudeme provádět purifikaci na CC – pouze budeme sledovat poměr ¹H signálů výchozí látky **75** a produktu **82a** při zvolení různých reakčních podmínek. U reakce na řádku č. 4 bylo použito dvojnásobného množství prekatalyzátoru na původně doporučené 2 ekviv. **83a**, nicméně nebyl pozorován výrazný vzrůst signálu produktu **82a**. Po ukončení reakce po byl poměr signálů (hodnoty peaků na obr. 24) **75:82a** produkt pouze 1:4,6. Jakmile jsme se odklonili od původních podmínek a v reakci použili 3 ekviv. výchozí látky **83a**, sledovali jsme prudký růst signálu produktu v reakci (Tab. 3, řádek č. 6), kdy se poměr signálů zvýšil na 1:69. Podmínky této reakce byly zopakovány v reakci č. 7 s tím, že byla provedena purifikace pomocí CC s uspokojivým výtěžkem. Po zjištění, že je vhodné použít 3 ekviv. **83a** jsme provedli studii vlivu

množství přítomného AgNTf₂ na vznik produktu **82a**. Analýza průběhu reakce spočívala ve sledování konverze výchozích látek na produkt v čase pomocí ¹H NMR. Jak bylo popsáno v kapitole výše, byly postupně odebírány alikvoty surové reakční směsi, přičemž se sledovaly charakteristické peaky pro látky **75** (9,88 ppm a 10,99 ppm) a **82a** (7,9 ppm). Graficky je studie v čase znázorněna na Obr. 25 v předchozí kapitole pro vybranou reakci na řádku č. 8. Z hodnot integrací vybraných peaků byly sestaveny grafy 1 a 2, ze kterých vyplývá, že dvojnásobný přídavek AgNTf₂ nezvyšuje konverzi výchozích látek na produkt. Jinak řečeno, více AgNTf₂ netvoří více aktivního katalyzátoru, který by více nebo rychleji spotřeboval dostupné výchozí látky. Použité 3 ekviv. výchozí látky byly v reakcích č. 7 a č. 8. přidány po částech – 2 ekviv. na začátku reakce a 1 ekviv. po hodině od začátku reakce.

Výsledkem optimalizace je vyhodnocení reakčních podmínek reakce č. 7 jako nejvhodnějších, jelikož není třeba přidávat více AgNTf₂ při přídavku 3 ekviv. **83a**. Izolovaný celkový výtěžek ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82a** byl po optimalizaci reakčních podmínek 62 % (Schéma 6).

3.3.1.1.3 Syntéza ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu (**82b**)

Po optimalizaci reakčních podmínek byla katalytická reakce aplikována na další výchozí diazolatce **83b**. Při prvním nasazení reakce byl (dle původních podmínek z publikace) sice výtěžek **82b** pouze 16 %, nicméně při purifikaci reakční směsi byl poprvé a jedinkrát úspěšně izolován a poté charakterizován neočekávaný vedlejší produkt reakce, látka **94**. Určení struktury látky nebylo na první pokus z ¹H NMR spekter jednoduché a byly potřeba i pokročilé 2D NMR analýzy. Když bylo známo, co můžeme očekávat v opakovaných reakcích, bylo zjištěno, že vedlejší produkt **94** se ve směsi s produktem **82b** vyskytuje vždy. V průběhu optimalizačních reakcí se však bohužel podařilo vedlejší produkt **94** úspěšně izolovat pouze jednou, u ostatních purifikací na CC jsem nedosáhla oddělení těchto dvou látek.

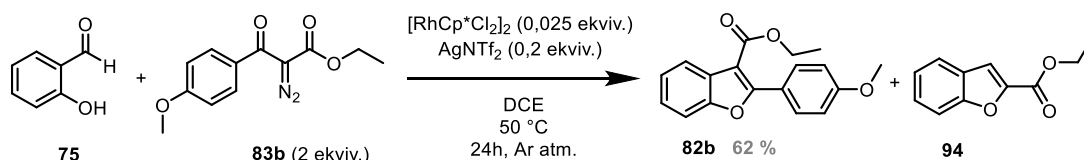


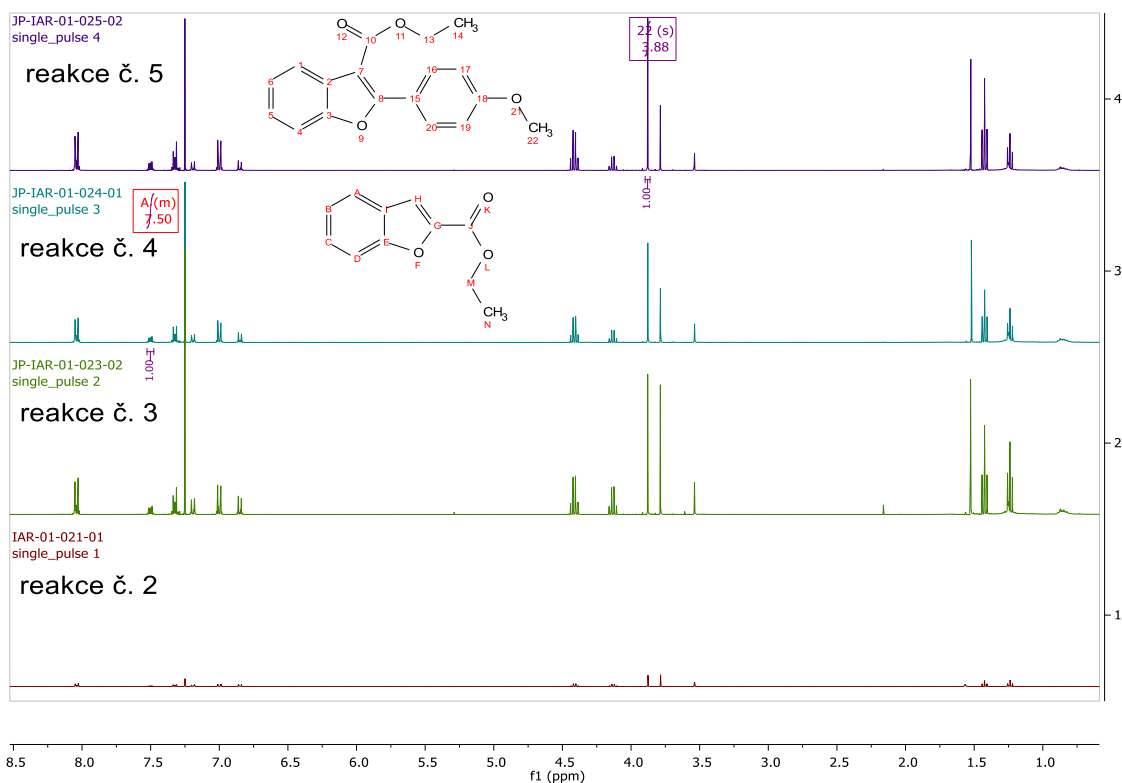
Schéma 7: Optimalizované podmínky pro syntézu ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu **82b** s vyobrazením struktury vedlejšího produktu **94**.

Řádek č.	83b (ekviv.)	prekat. (ekviv.)	AgNTf ₂ (ekviv.)	poměr ¹ H signálů 75:82b v surové směsi	Výtěžek 82b ^{a)}	Přítomnost látky 94
1	2	0,025	0,2	n. a.	16 %	Izolována ve výtěžku 4 %
2	3	0,025	0,2	1:6,59	35 %	neizolováno
3	1	0,025	0,2	n. a.	39 %	V produktu směs dvou látek dle ¹ H NMR
4	2	0,025	0,2	n. a.	33 %	V produktu směs dvou látek dle ¹ H NMR
5	2	0,025	0,2	n. a.	62 % ^{b)}	Poměr ¹ H signálů 82b:94 = 3:1

^{a)} Výtěžek stanoven po purifikaci pomocí sloupcové chromatografie na SiO₂. Pro látku s čistotou 95 %+.

^{b)} Výtěžek reakce po přečištění byl 83 %, nicméně jedná se o směs dvou látek v poměru 3:1, tj. vedlejší produkt **94** je přítomen ve 20% zastoupení.

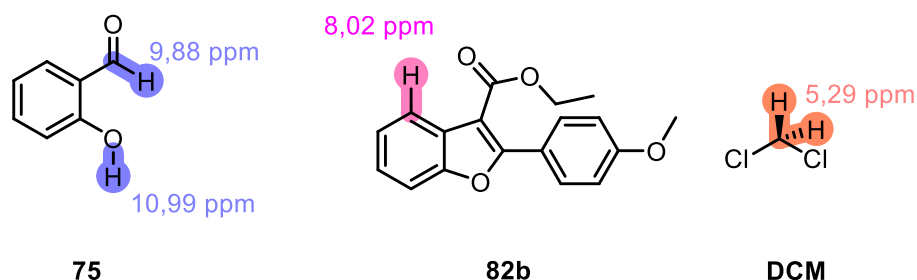
Tab. 4: Optimalizace reakčních podmínek pro katalytickou cyklizaci vedoucí k produktu **82b**, současně byla zjištěna přítomnost vedlejšího produktu **94**.



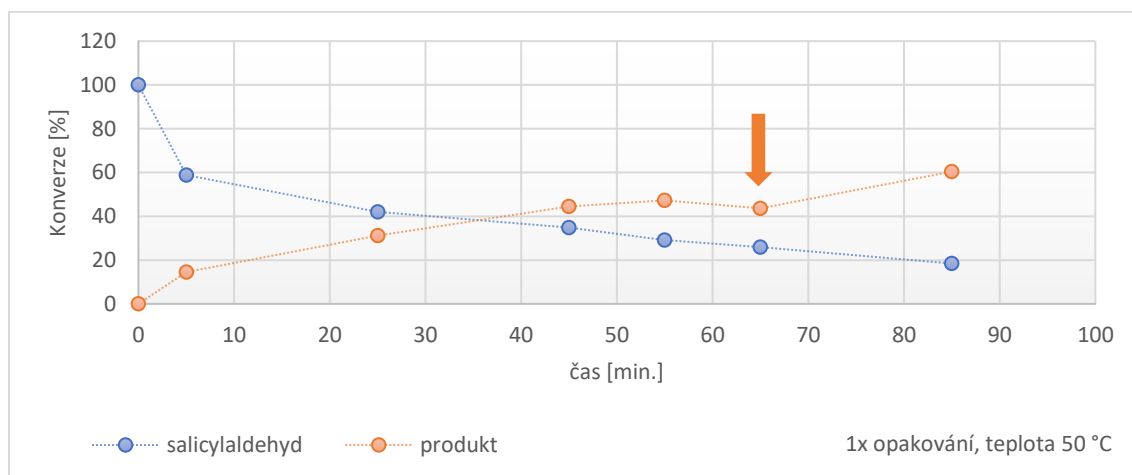
Obr. 26: Srovnání ¹H NMR spekter reakce vzniku produktu **82b** s vyznačením chemických posunů peaků pro produkt **82b** (22, 3,88 ppm) a vedlejší produkt **94** (A, 7,50 ppm). Při CC se nedařilo oddělit vzniklé produkty a výtěžky reakcí jsou tedy s obsahem vedlejšího produktu.

Když už jsme měli „nástroj“ pro sledování průběhu konverze výchozích látek na produkt **82a** předchozí reakce, aplikovali jsme tuto metodu analýzy také na zkoumání vzniku produktu **82b**. Z reakční směsi byly postupně odebírány alikvoty surové reakční směsi, přičemž se sledovaly charakteristické peaky pro látky **75** (9,88 ppm nebo 10,99 ppm)

a **82b** (8,02 ppm) (Obr. 27), jejichž integrace byla zadána do přepočtové tabulky (viz Přílohy), která na základě normalizace na počet ekvivalentních vodíků určila hodnotu konverze (v %) v daném čase odběru (Graf 3).



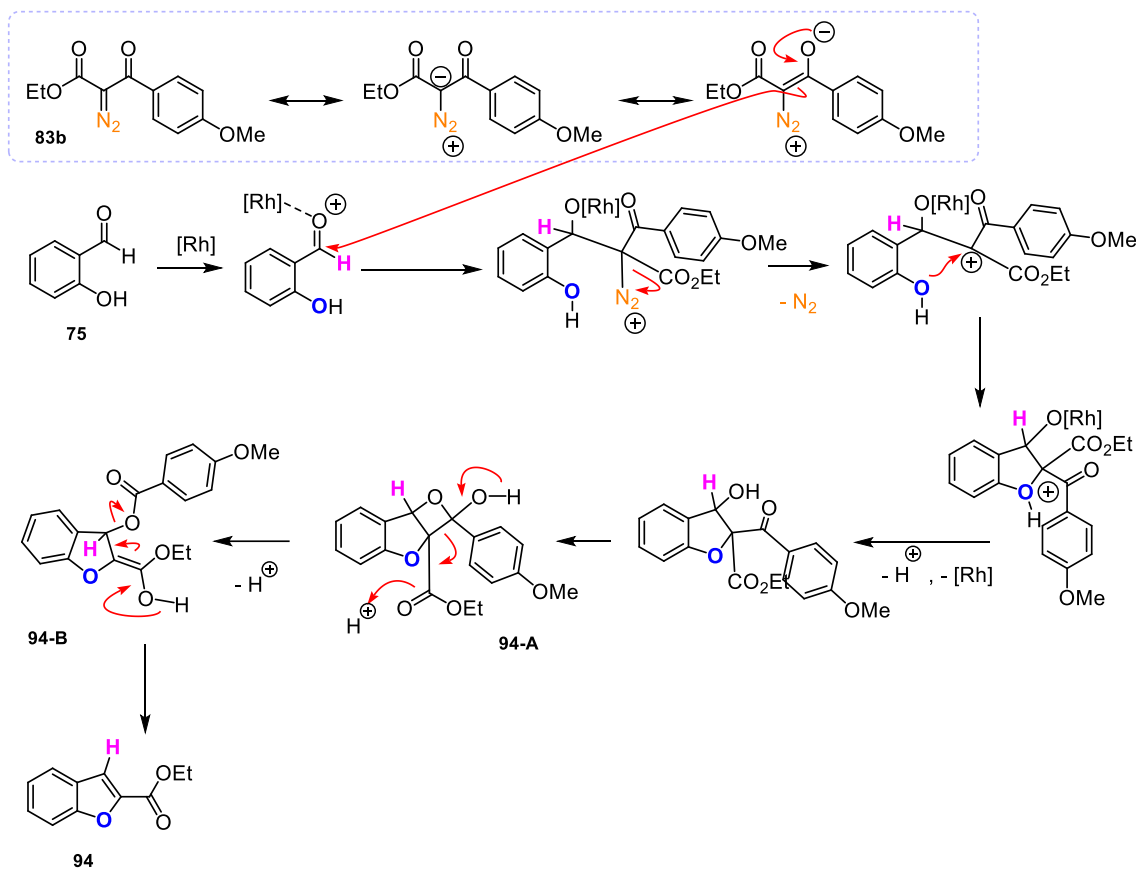
Obr. 27: Chemické posuny, jež byly hodnoceny při sledování průběhu reakce syntézy látky **82a**: salicylaldehyd **75** (9,88 ppm a 10,99 ppm), produkt cyklizační reakce **82b** (8,02 ppm), DCM (vnitřní standard; 5,29 ppm).



Graf 3: V čase 65 min. dochází ke spotřebě látky **75**, nicméně sledujeme pokles tvorby produktu **82b**. Je možné, že se katalytický cyklus na chvíli „uspí“ po přidavku dalšího ekvivalentu **83b** do reakční směsi v čas 60 min.

Izolovaný vedlejší produkt **94** nebyl v původní publikaci nikde zmíněn, byl proto navržen pravděpodobný mechanismus vzniku vedlejšího produktu (Schéma 8), který konkuruje hlavní syntetické reakci. Místo toho, aby docházelo k C-H inserci, může být díky oxofilmím vlastnostem rhodia upřednostněn kyslík aldehydu, čímž dochází k aktivaci příslušného karbonylu. Následuje atak výchozí diazolatku **83b**, jejíž reaktivita vychází z její dvojité aktivace (tj. vzniklý enolát atakuje aktivovaný aldehyd). Po odstoupení molekuly dusíku je vzniklý karbokation atakován hydroxylovou skupinou, čímž dochází k cyklizaci. Vniklý ether je stabilizován odstoupením kationtu vodíku. Odstoupením rhodia vzniká volná hydroxylová skupina atakující karbonyl, čímž vzniká nestabilní

tricycklý meziprodukt **94-A** obsahující tetracyklus se značným pnutím. Ten se následně po odstoupení vodíku reorganizuje za vzniku stabilnějšího meziproduktu **94-B**, který po následné další stabilizaci, tj. eliminaci kyseliny, přechází na vedlejší produkt **94**.

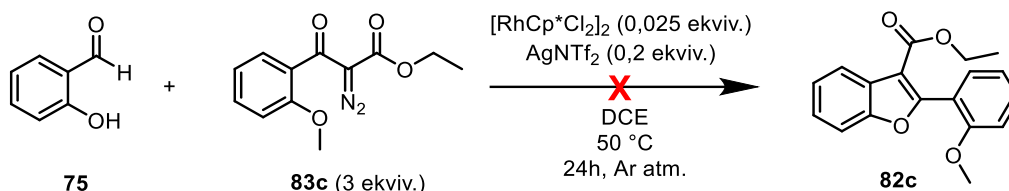


*Schéma 8: Navržený mechanismus vzniku vedlejšího produktu **94**, který doprovází hlavní katalytickou cyklizační reakci při syntéze látky **82b**.*

3.3.1.1.4 Syntéza ethyl 2-(2-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu (**82c**)

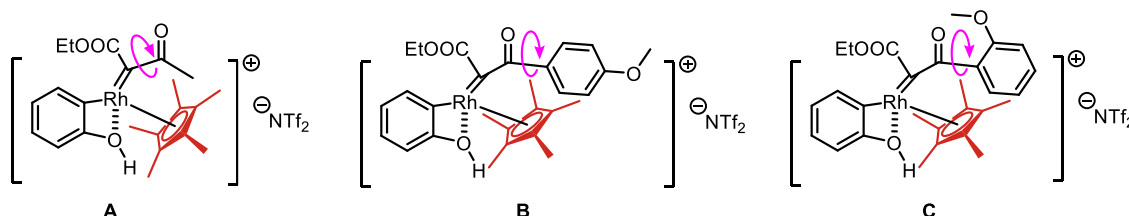
Snaha co nejvíce se přiblížit struktuře přírodních neolignanů nás motivovala vyzkoušet i další výchozí diazolátky, které nebyly využity v originální publikaci. S využitím (optimalizovaného) syntetického protokolu byl dvakrát proveden pokus o syntézu ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82c** (Schéma 9). Tento produkt mohl dále sloužit pro syntézu kumestanu, přírodní látky, jejíž syntézu provedla úspěšně Mgr. Vysloužilová. Do DCE (4,61 ml; 0,921 mmol; 1 ekviv.) byly za laboratorní teploty a za stálého míchání postupně přidány následující výchozí látky: salicylaldehyd **75** (100 μ l; 0,921 mmol; 1 ekviv.), prekatalyzátor $[RhCp^*Cl_2]_2$ (14,4 mg; 0,023 mmol; 0,025 ekviv.) a $AgNTf_2$ (73,7 mg; 0,184 mmol; 0,2 ekviv.). Poté byl přidán ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83c** (457 μ l; 1,84 mmol; 2 ekviv., resp. 3 ekviv.) a reakční směs byla zahřívána pomocí olejové lázně na teplotu 50 °C a míchána po dobu 12 hodin.

Po ukončení reakce se směs nechala ochladit na laboratorní teplotu a byl přidán EtOAc (20 ml). Následovala vakuová filtrace přes křemelinu a organické rozpouštědlo z filtrátu bylo odpařeno na RVO. NMR analýza odparku nedetekovala ani v jednom ze dvou syntéz přítomnost produktu ethyl 2-methylbenzofuran-3-karbobxylátu **82c**.



*Schéma 9: Reakční schéma pro syntézu látky **82c** s využitím diazolátky **83c**.*

Předpokládáme, že právě sterická náročnost methoxy skupiny v poloze *ortho*, kterou jsme očekávali při použití výchozí látky **83c**, je důvodem bránění vzniku produktu **82c**. Srovnáním sterické situace v mezikroku katalytického mechanismu (Schéma 5 A, meziprodukt **91**) pro použité výchozí látky **83a-c** je možné vyvodit hypotézu, že při otáčení jednoduché vazby (růžová šipka, schéma 10) dochází u příkladu **C** k největšímu sterickému bránění vzniku furanového kruhu. U příkladů **A** a **B** (Schéma 10) produkty vznikají.



*Schéma 10: Srovnání sterické náročnosti výchozích látek v mezikroku katalytického cyklu syntézy benzofuranového skeletu. **A** pro produkt **82a**; **B** pro produkt **82b**; **C** pro nevznikající produkt **82c**.*

3.4 Sumarizace výsledků

Přehledové schéma 11 shrnuje níže celou experimentální část mé diplomové práce. Izolované výtěžky pro produkty **82a** a **82b** se shodovaly, přičemž v případě syntézy **B** byl izolován a charakterizován vedlejší produkt reakce – látka **94**. Pro jeho vznik byl navržen hypotetický mechanismus (Schéma 8), který konkuruje hlavní cyklizační reakci. Syntéza **C** bohužel nebyla úspěšně dokončena, jelikož nebyl detekován produkt **82c**. Příčina byla diskutována na schématu 10 v předchozí kapitole a nejspíše souvisí se sterickými efekty postranní skupiny výchozí diazolatky **83c**.

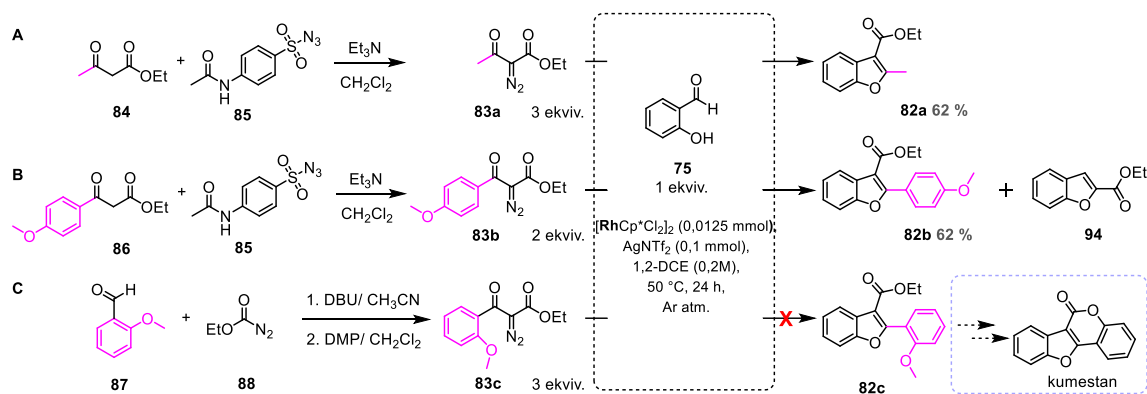


Schéma 11: Vizuální přehled práce.

4. Závěr

V této diplomové práci jsem se zaměřila na přípravu látek s benzofuranovým skeletem za pomoci Rh(III)-katalyzované annulace, jež vycházela ze salicylaldehydu a diazolaték s různými postranními řetězci tak, abychom výsledné produkty přiblížili přírodním látkám, které byly inspirací pro tuto práci (boehmenany). Optimalizace reakčních podmínek Rh(III)-katalyzované reakce vedla k částečně uspokojivým výtěžkům, nicméně při syntéze ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu **82b** byl detekován ještě vznik vedlejšího produktu **94**, o kterém nebylo referováno v původní publikaci, což podnítilo naši zvědavost v dalším zkoumání, jaký jiný vedlejší mechanismus by mohl vést ke vzniku vedlejšího produktu této reakce, pokud vzniká při každé reakci. Pro lepší pochopení vlivu reakčních komponent na konverzi výchozích látek na produkt, jsme provedli ¹H NMR studie. Pomohlo nám to ujistit se, že vyšší přídavek aktivátoru katalyzátoru nezvyšuje konverzi výchozích látek na produkt. NMR sledování reakce jsme nejprve aplikovali při zkoumání průběhu reakce syntézy ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu **82a**. Poslední cílový produkt ethyl 2-(2-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylát **82c** nebyl bohužel připraven, nejspíše kvůli znemožnění průběhu katalytické reakce – sterické zábraně postranní methoxy-skupiny v poloze *ortho* na aromatickém postranním řetězci výchozí diazolatky. Závěrem je nutno podotknout, že přírodní látky stále zůstávají inspirací pro syntetické chemiky, i když je pole základního výzkumu zatíženo mnoha překážkami na cestě k látkám, které by mohly pomoci s různými bakteriálními nebo virovými rezistencemi, nabídly by alternativu ke komerčně užívaným léčivům či se zařadily do seznamu látek pro personalizovanou medicínu.

5. Experimentální část

5.1 Obecné informace

Všechny popsané reakce byly provedeny v bezvodém prostředí pod inertní atmosférou argonu a použité aparatury byly před zahájením syntéz žíhány plamenem.

Měření NMR spekter bylo prováděno za laboratorní teploty na spektrometru JEOL EXA400II při frekvencích 400 MHz (^1H) a 101 MHz (^{13}C) nebo JEOL 500 ECA s frekvencemi 500 MHz (^1H) a 126 MHz (^{13}C). Vzorky pro měření byly rozpuštěny v deuterovaném rozpouštědle CDCl_3 , pro nějž jsou chemické posuny zbytkového nedeuterovaného rozpouštědla následující: 7.27 ppm (^1H) a 77.16 ppm (^{13}C). Protonové vazebné vzory jsou označeny následovně: singlet (s), dublet (d), dublet dubletů (dd), triplet (t), triplet tripletů (tt), quartet (q) a multiplet (m).

Na spektrometru TSQ Quantum ACCES (Thermo Scientific, USA) s ionizačním zdrojem ESI+ byla prováděna měření hmotnostních spekter. Pro měření hmotnostních spekter s vysokým rozlišením (HRMS) byl využit hmotnostní spektrometr Agilent 6230 s vysokým rozlišením s ionizací elektrosprejem (ESI) a analyzátozem doby letu pracujícím v pozitivním nebo negativním režimu plného skenování v rozsahu 100-1700 m/z.

Pro sloupcovou chromatografii (CC) byl využit silikagel (velikost pórů 60 Å, velikost částic 230–400 mesh) jako stacionární fáze a směs hexan:EtOAc nebo petrolether (PE) : EtOAc (V/V) jako fáze mobilní. Při dělení CC bylo použito postupného gradientu, kdy polárnější část mobilní fáze byla skokově přidávána do mobilní fáze (například byl poměr hexan:EtOAc = 40:1 → 20:1 → 10:1 → 4:1 → 2:1). Eluované frakce byly odebírány po 10 - 30ml frakcích a jejich obsah byl průběžně monitorován pomocí TLC na silikagelu. Byly použity aluminiové desky pokryté silikagelem 60 SIL G/UV254 s fluorescentním indikátorem (Sigma-Aldrich nebo Machery-Nagel). Jednotlivé sloučeniny přítomné v reakční směsi byly detekovány pomocí UV záření ($\lambda = 256 \text{ nm}$ nebo 366 nm) a dále byly vizualizovány pomocí vizualizačních roztoků. Frakce obsahující stejný produkt byly spojeny a následně odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO).

Teploty tání byly měřeny na přístroji SMP 30 (Stuart) a nejsou korigovány.

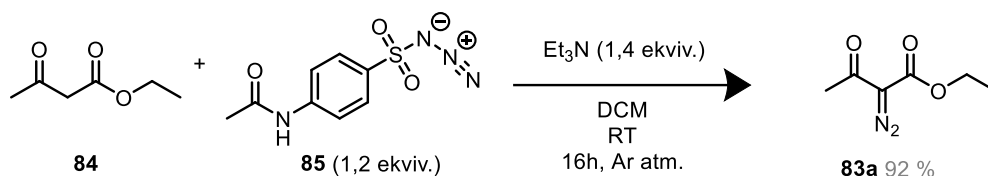
5.1.1 Vizualizační roztoky pro TLC

Zásaditý roztok KMnO_4 byl připraven rozpuštěním 9 g KMnO_4 a 20 g K_2CO_3 ve 200 ml vody s 1,25 ml 10% NaOH . Vanilinový roztok byl připraven rozpuštěním 2 g vanilinu ve 100 ml ethanolu obsahujícím 1 ml koncentrované H_2SO_4 . Hannesianův roztok (PMA) byl připraven rozpuštěním 12 g kyseliny fosfomolybdenové v 250 ml ethanolu.

5.2 Postup organické syntézy

5.2.1 Syntéza výchozích diazoslučenin

5.2.1.1 Syntéza ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (83a)



Ethyl 3-oxobutanoát **84** (1,03 g; 7,76 mmol; 1,0 ekviv.) byl za laboratorní teploty rozpuštěn v dichlormethanu (DCM) (31 ml) a následně byl k němu přidán trimethylamin (Et_3N ; 1,52 ml; 10,9 mmol; 1,4 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Poté byl do směsi přidán azid 4-acetamidobenzensulfonylu **85** (2,31 g; 9,31 mmol; 1,2 ekviv.) a výsledná suspenze se nechala míchat po dobu 16h. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno ze směsi pomocí rotační vakuové odparky (RVO) a oranžový odparek byl následně purifikován na CC (SiO_2 ; PE:EtOAc = 4:1). Hledaný produkt reakce byl na TLC detekovatelný pouze pomocí UV záření, ostatní vizualizační činidla produkt nezobrazila. Frakce obsahující produkt **83a** byly spojeny a odpařeny na RVO. Výsledný produkt byl získán jako žlutá olejovitá kapalina (1109,2 mg; 92 %).

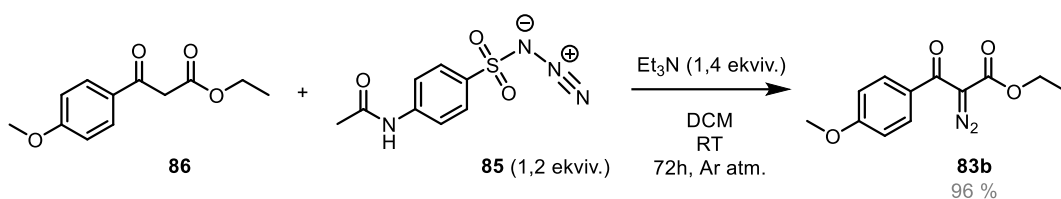
$R_f = 0,5$ (SiO_2 , PE : EtOAc 4:1)

^1H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 4.29 (q, $J = 11.8, 0.8$ Hz, 4H), 2.48 (s, 4H), 1.33 (t, $J = 16.6, 0.0$ Hz, 6H)

^{13}C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 190.5, 161.6, 61.6, 28.4, 14.5

MS (APCI), m/z (%): $[\text{M}+\text{H}]^+$ 156.0535

5.2.1.2 Syntéza ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b)



Ethyl 3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **86** (2,32 g; 10,2 mmol; 1,0 ekviv.) byl za laboratorní teploty rozpuštěn DCM (40,9 ml) a následně byl k němu přidán Et₃N (1,99 ml; 14,3 mmol; 1,4 ekviv.). Vzniklá směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 5 minut. Poté byl do směsi přidán ve třech částech azid 4-acetamidobenzensulfonylu **85** (3,04 g; 12,3 mmol; 1,2 ekviv.) a výsledná suspenze se nechala míchat po dobu 72h. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno ze směsi pomocí RVO a odparek byl následně purifikován na CC (SiO₂; PE:EtOAc = 4:1). Hledaný produkt reakce byl na TLC detekovatelný pouze pomocí UV záření. Frakce obsahující produkt ethyl-2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83b** byly spojeny a odpařeny na RVO. Výsledný produkt byl získán jako žlutá krystalická látka (2434,7 mg; 96 %).

R_f = 0,4375 (SiO₂, PE : EtOAc 4:1)

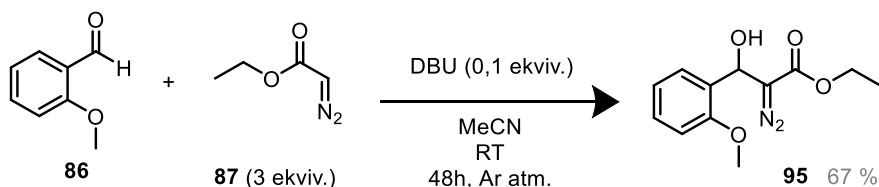
m. p. = 40,2 – 40,5 °C

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 7.67 (dt, *J* = 27.4, 2.4, 0.0 Hz, 4H), 6.90 (dt, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.26 (q, 9H), 3.86 (s, 6H), 1.29 (t, *J* = 12.2 Hz, 7H)

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 185.5, 163.3, 161.5, 131.2, 129.5, 113.3, 61.7, 55.6, 14.4

MS (ESI+), m/z (%) [M+H]⁺: 249,1 (97%)

5.2.1.3 Syntéza ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (95)



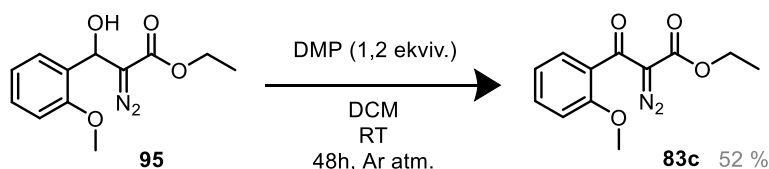
Ethyl 2-diazoacetát **87** (7,57 ml; 10,8 mmol; 3,0 ekviv.) byl rozpuštěn v acetonitrilu (MeCN; 26 ml) a míchán 5 minut při teplotě 0 °C v ledové lázni. 2-methoxybenzaldehyd **86** (500 mg; 3,6 mmol; 1,0 ekviv.) byl spolu s DBU (0,0548 ml; 0,36 mmol; 0,1 ekviv.) rozpuštěn v MeCN (16ml) a tento roztok byl po kapkách přidán do reakční směsi, která

se poté nechala oteplít na laboratorní teplotu. Takto byla míchána po dobu 21 hodin. Reakce byla následující den ukončena přidáním roztoku NaHCO₃ (40 ml) a meziprodukt **95** byl extrahován do CH₂Cl₂ (3x20 ml). Před poslední extrakcí byl do směsi přidán nasycený roztok NaCl. Sloučené organické fáze byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a přečištěny vakuově přes fritu. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl následně purifikován na CC (SiO₂; PE:EtOAc = 4:1). Získaný ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **95** je žlutá olejovitá kapalina (607 mg; 67 %).

R_f = 0,26 (SiO₂, hexan:EtOAc 4:1)

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): δ 7.77 (dd, 1H), 7.48 (td, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.23 (td, 1H), 6.84 (d, 1H), 5.88 (s, 1H), 4.15 (q, 4H), 3.79 (s, 3H), 1.23 – 1.19 (m, 8H).

5.2.1.4 Syntéza ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (**83c**)



Ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **95** (607 mg; 2,42 mmol; 1 ekviv.) byl za laboratorní teploty rozpuštěn v DCM (4,83 ml) a poté byl přidán DMP (1290 mg; 2,9 mmol; 1,2 ekviv.). Vzniklá reakční směs byla míchána po dobu 48 hodin. Pro ukončení oxidační reakce byl do směsi přidán roztok NaHCO₃ (20 ml) a produkt **83c** byl extrahován do CH₂Cl₂ (3x20 ml). Před poslední extrakcí byl do směsi přidán nasycený roztok NaCl. Sloučené organické fáze byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a přečištěny vakuově přes fritu. Organické rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl následně purifikován na CC (SiO₂; PE:EtOAc = 4:1). Získaný ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83c** je žlutá olejovitá kapalina (310,6 mg; 52 %).

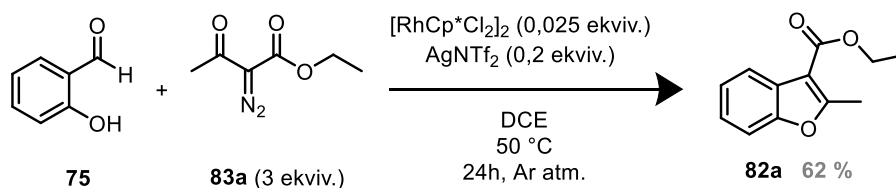
R_f = 0,625 (SiO₂, PE:EtOAc 1:1)

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 7.38 – 7.33 (m, 2H), 7.26 – 7.22 (m, 1H), 6.96 – 6.91 (m, 4H), 4.12 (q, *J* = 7.4 Hz, 7H), 3.75 (s, 4H), 1.13 (t, 6H).

LC Rt= 18,42 min.

5.2.2 Syntéza látek s benzofuranovým skeletem

5.2.2.1 Syntéza ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu (**82a**)



Do 1,2-DCE (4,75 ml; 0,95 mmol; 1 ekviv.) byly za laboratorní teploty a za stálého míchání postupně přidány následující výchozí látky: salicylaldehyd **75** (100 μl ; 0,95 mmol; 1 ekviv.), prekatalyzátor $[\text{RhCp}^*\text{Cl}_2]_2$ (14,8 mg; 0,0237 mmol; 0,025 ekviv.) a AgNTf_2 (76 mg; 0,19 mmol; 0,2 ekviv.). Poté byly přidán ethyl 2-diazo-3-oxobutanoát **83a** (262 μl ; 1,90 mmol; 2 ekviv.) a reakční směs byla zahřívána pomocí olejové lázně na teplotu 50 °C. Po hodině od začátku reakce byl do míchané reakční směsi přidán ještě jeden díl ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu **83a** (131 μl ; 0,95 mmol; 1 ekviv.) a reakce pokračovala za stejných podmínek dalších 24 hodin. Pro sledování závislosti přeměny výchozích látek na produkt **82a** byly z reakční směsi postupně odebírány automatickou mikropipetou alikvoty reakční směsi o objemu 100 μl . Odběry proběhly v časech:

- 1) T+0 min (před přidáním 2 ekviv. **83a**)
- 2) T+5 min (po přidání 2 ekviv. **83a**)
- 3) T+25 min
- 4) T+45 min
- 5) T+55 min (před přidáním 3. ekviv. **83a**)
- 6) T+65 min (po přidání 1 ekviv. **83a**)
- 7) T+85 min
- 8) T+105 min
- 9) T+125 min
- 10) T+24h (před ukončením reakce)

Surový alikvot reakční směsi byl vždy ihned rozpuštěn ve 450 μl 0,1M DCM (bezvodý, funkce vnitřního standardu) v CDCl_3 . Každý takto připravený vzorek byl vzápětí měřen na NMR (32 skenů) a na získaném ^1H spektru byly sledovány peaky odpovídající látkám **75** (9,88 ppm) a **82a** (7,94 ppm). Integrace jednotlivých peaků byly zadány do přepočtové tabulky (Příloha 7.2.), jež zaznamenávala konverzi výchozích látek na produkt **82a** v čase.

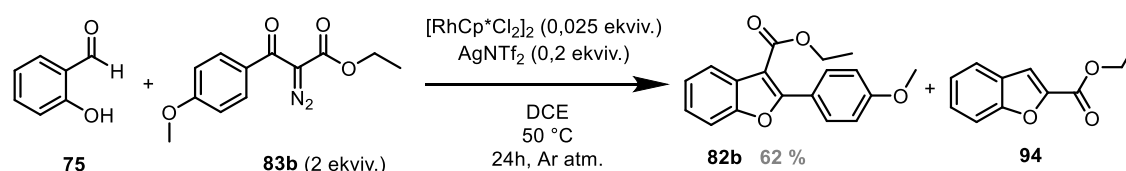
Po ukončení reakce se směs nechala ochladit na laboratorní teplotu a workup byl proveden pomocí EtOAc (3x20 ml). Následovala vakuová filtrace přes křemelinu a filtrát byl odpařen na RVO. Odparek byl poté purifikován na gradientové CC (SiO_2 ; PE:EtOAc = 40:1 \rightarrow 20:1). Získaný ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylát **82a** (120 mg; 62 %) byl získán jako bílá krystalická látka.

$R_f = 0,82$ (SiO_2 , PE:EtOAc 2:1)

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 7.89 – 7.85 (m, 0H), 7.35 – 7.30 (m, 0H), 7.25 – 7.13 (m, 1H), 4.31 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H), 2.67 (s, 1H), 1.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 164.7, 163.8, 153.8, 126.4, 124.4, 123.9, 121.9, 110.9, 109.3, 60.4, 14.6.

5.2.2.2 Syntéza ethyl 2-(4-methoxyfenyl)benzofuran-3-karboxylátu (**82b**)



Do DCE (4,62 ml; 0,924 mmol; 1 ekviv.) byly za laboratorní teploty a za stálého míchání postupně přidány následující výchozí látky: salicylaldehyd **75** (100 μl ; 0,924 mmol; 1 ekviv.), prekatalyzátor $[\text{RhCp}^*\text{Cl}_2]_2$ (14,4 mg; 0,0231 mmol; 0,025 ekviv.) a AgNTf_2 (73,9 mg; 0,185 mmol; 0,2 ekviv.). Poté byl přidán ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83b** (262 μl ; 1,90 mmol; 2 ekviv.) a reakční směs byla zahřívána pomocí olejové lázně na 50 °C. Po hodině od začátku reakce byl do míchané reakční směsi přidán ještě jeden díl ethyl 2-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-oxopropanoát **83b** (131 μl ; 0,95 mmol; 1 ekviv.) a reakce pokračovala za stejných podmínek dalších 24 hodin.

Pro sledování závislosti přeměny výchozích látek na produkt **82b** byly z reakční směsi postupně odebírány automatickou mikropipetou alikvoty reakční směsi o objemu 100 μl . Odběry proběhly v časech:

- 1) T+0 min (před přidáním 2 ekviv. **83b**)
- 2) T+5 min (po přidání 2 ekviv. **83b**)
- 3) T+25 min
- 4) T+45 min
- 5) T+55 min (před přidáním 1 ekviv. **83b**)
- 6) T+65 min (po přidání 1 ekviv. **83b**)
- 7) T+85 min
- 8) T+24h (před ukončením reakce)

Surový alikvot reakční směsi byl vždy ihned rozpuštěn ve 450 μl 0,1M DCM (bezvodý, funkce vnitřního standardu) v CDCl_3 . Každý takto připravený vzorek byl vzápětí měřen na NMR (32 skenů) a na získaném ^1H spektru byly sledovány peaky odpovídající látkám

75 (9,88 ppm) a **82b** (8,02 ppm). Integrace jednotlivých peaků byly zadány do přepočtové tabulky, jež zaznamenávala konverzi výchozích látek na produkt **82b** v čase.

Po ukončení reakce se směs nechala ochladit na laboratorní teplotu a workup byl proveden pomocí EtOAc (3x20 ml). Následovala vakuová filtrace přes křemelinu a filtrát byl odpařen na RVO. Odparek byl poté purifikován na gradientové CC (SiO₂; PE:EtOAc = 40:1 → 20:1). Získaný ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylát **82a** (120 mg; 62 %) byl doprovázen vedlejším produktem ethyl benzofuran-2-karboxylátem **94** (20 % podle NMR signálu při reakci č. 6). Při první a jediné úspěšné izolaci látky **94** byl její výtěžek 4 mg (4,2 %).

Hodnoty pro **82b**:

R_f = 0,73 (SiO₂, PE:EtOAc 4:1)

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 8.01 – 7.96 (m, 2H), 7.47 – 7.41 (m, 1H), 7.29 – 7.24 (m, 4H), 6.94 (dt, 1H), 4.35 (q, 1H), 4.11 – 4.03 (m, 0H), 3.82 (s, 1H), 1.16 (q, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 164.4, 131.3, 130.4, 127.4, 126.3, 124.0, 122.7, 114.0, 113.6, 111.1, 60.8 (d, *J* = 29.3 Hz), 55.42 (d, *J* = 16.9 Hz), 14.36 (d, *J* = 18.6 Hz).

Hodnoty pro **94**:

¹H NMR (500 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 7.63 – 7.60 (m, 1H), 7.55 – 7.51 (m, 1H), 7.41 – 7.36 (m, 1H), 7.26 – 7.21 (m, 1H), 4.38 (q, 2H), 1.37 (d, *J* = 7.4 Hz, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, Chloroform-*d*) δ (ppm): 159.7, 155.8, 145.8, 127.7, 127.0, 123.9, 122.9, 113.9, 112.5, 61.7, 14.4.

HRMS (ESI+) *m/z*: vypočteno pro C₁₈H₁₆O₄ [M+H]: 297,1121, nalezeno 297,1120

LC Rt = 27, 96 min

6. Seznam použité literatury

- (1) Reagents, T. M.; Tsuji, J. *Transition Metal Reagents and Catalysts Transition Metal Reagents and Catalysts*; 2000; Vol. 0.
- (2) Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. Production of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. *Plant Sci.* **2001**, *161* (5), 839–851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3).
- (3) Keller, N. P. Fungal Secondary Metabolism: Regulation, Function and Drug Discovery. *Nat. Rev. Microbiol.* *2018* **17** (3), 167–180. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0121-1>.
- (4) Mohan, C. D.; Rangappa, S.; Nayak, S. C.; Jadimurthy, R.; Wang, L.; Sethi, G.; Garg, M.; Rangappa, K. S. Bacteria as a Treasure House of Secondary Metabolites with Anticancer Potential. *Semin. Cancer Biol.* **2022**, *86*, 998–1013. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2021.05.006>.
- (5) Akula, R.; Aswathanarayana Ravishankar, G. Plant Signaling & Behavior Influence of Abiotic Stress Signals on Secondary Metabolites in Plants. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>.
- (6) Yang, L.; Wen, K. S.; Ruan, X.; Zhao, Y. X.; Wei, F.; Wang, Q. Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Mol.* *2018*, *Vol. 23*, Page 762 **2018**, *23* (4), 762. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23040762>.
- (7) Breitling, R.; Cenicerros, A.; Jankevics, A.; Takano, E. Metabolomics for Secondary Metabolite Research. *Metabolites* **2013**, *3* (4), 1076. <https://doi.org/10.3390/METABO3041076>.
- (8) Wink, M. Evolution of Secondary Metabolites from an Ecological and Molecular Phylogenetic Perspective. *Phytochemistry* **2003**, *64* (1), 3–19. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00300-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00300-5).
- (9) BENNETT, R. N.; WALLSGROVE, R. M. Secondary Metabolites in Plant Defence Mechanisms. *New Phytol.* **1994**, *127* (4), 617–633. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.1994.TB02968.X>.
- (10) Bochkov, D. V.; Sysolyatin, S. V.; Kalashnikov, A. I.; Surmacheva, I. A. Shikimic Acid: Review of Its Analytical, Isolation, and Purification Techniques from Plant and Microbial Sources. *J. Chem. Biol.* **2012**, *5* (1), 5. <https://doi.org/10.1007/S12154-011-0064-8>.
- (11) Dewick, P. M. *Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach Second Edition*.
- (12) Herrmann, K. M.; Weaver, L. M. THE SHIKIMATE PATHWAY. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **1999**, *50*, 473–503.
- (13) Dewick, P. M. Covering: 1995 and 1996 Previous Review. **1995**, *12*, 579.
- (14) Moss, G. P. Nomenclature of Lignans and Neolignans (IUPAC Recommendations 2000). *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72* (8), 1493–1523. <https://doi.org/10.1351/PAC200072081493/MACHINEREADABLECITATION/RIS>.

- (15) Yonekura-Sakakibara, K.; Yamamura, M.; Matsuda, F.; Ono, E.; Nakabayashi, R.; Sugawara, S.; Mori, T.; Tobimatsu, Y.; Umezawa, T.; Saito, K. Seed-Coat Protective Neolignans Are Produced by the Dirigent Protein AtDP1 and the Laccase AtLAC5 in Arabidopsis. *Plant Cell* **2021**, *33* (1), 129–152. <https://doi.org/10.1093/PLCELL/KOAA014>.
- (16) Pickel, B.; Constantin, M.-A.; Pfannstiel, J.; Conrad, J.; Beifuss, U.; Schaller, A. Enzyme Catalysis An Enantiocomplementary Dirigent Protein for the Enantioselective Laccase-Catalyzed Oxidative Coupling of Phenols**. <https://doi.org/10.1002/anie.200904622>.
- (17) Davin, L. B.; Lewis, N. G. An Historical Perspective on Lignan Biosynthesis: Monolignol, Allylphenol and Hydroxycinnamic Acid Coupling and Downstream Metabolism. *Phytochem. Rev.* **2003**, *2*, 257–288.
- (18) Chapple, C.; Weng, J.-K. Tansley Review The Origin and Evolution of Lignin Biosynthesis. *New Phytol.* **2010**, *187*, 273–285. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03327.x>.
- (19) Zálešák, F.; Bon, D. J. Y. D.; Pospíšil, J. Lignans and Neolignans: Plant Secondary Metabolites as a Reservoir of Biologically Active Substances. *Pharmacol. Res.* **2019**, *146*, 104284. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2019.104284>.
- (20) Li, Y.; Xie, S.; Ying, J.; Wei, W.; Gao, K. Chemical Structures of Lignans and Neolignans Isolated from Lauraceae. *Molecules* **2018**, *23* (12). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES23123164>.
- (21) Ryu, J. H.; Ja Son, H.; Hyun Lee, S.; Hwan Sohn, D. Two Neolignans from *Perilla frutescens* and Their Inhibition of Nitric Oxide Synthase and Tumor Necrosis Factor- α Expression in Murine Macrophage Cell Line RAW 264.7. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12* (4), 649–651. [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(01\)00812-5](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(01)00812-5).
- (22) Son, N. T.; Linh, N. T. T.; Tra, N. T.; Ha, N. T. T.; Anh, L. T. T.; Cham, B. T.; Anh, D. T. T.; Van Tuyen, N. Genus *Styrax*: A Resource of Bioactive Compounds. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2021**, *69*, 299–347. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819487-4.00008-2>.
- (23) Crotti, A. E. M.; Dias, H. J.; Silva, E. O. Dihydrobenzofuran Neolignans: An Overview of Their Chemistry And Biological Activities.
- (24) Kamal, M.; Shakya, A. K.; Jawaid, T. Benzofurans: A New Profile of Biological Activities Pharmacological and Phytochemical Investigations View Project Nanomaterials View Project. **2011**.
- (25) Nevagi, R. J.; Dighe, S. N.; Dighe, S. N. Biological and Medicinal Significance of Benzofuran. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97* (1), 561–581. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2014.10.085>.
- (26) Tahami Monfared, A. A.; Byrnes, M. J.; White, L. A.; Zhang, Q. Alzheimer's Disease: Epidemiology and Clinical Progression. *Neurol. Ther.* **2022**, *11* (2), 553–569. <https://doi.org/10.1007/S40120-022-00338-8/TABLES/4>.
- (27) Dong-Chen, X.; Yong, C.; Yang, X.; Chen-Yu, S. T.; Li-Hua, P. Signaling Pathways in Parkinson's Disease: Molecular Mechanisms and Therapeutic

- Interventions. *Signal Transduct. Target. Ther.* **2023**, *8* (1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01353-3>.
- (28) Verma, A.; Kumar Waiker, D.; Bhardwaj, B.; Saraf, P.; Shrivastava, S. K. The Molecular Mechanism, Targets, and Novel Molecules in the Treatment of Alzheimer's Disease. *Bioorg. Chem.* **2022**, *119*, 105562. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2021.105562>.
- (29) Zhou, L.; Wang, J.; Guo, R.; Lin, B.; Wang, X. B.; Huang, X. X.; Song, S. J. Discovery of Dihydrobenzofuran Neolignans from *Rubus Ideaus* L. with Enantioselective Anti-A β 1–42 Aggregation Activity. *Bioorg. Chem.* **2018**, *80*, 64–69. <https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2018.05.016>.
- (30) Fancellu, G.; Chand, K.; Tomás, D.; Orlandini, E.; Piemontese, L.; Silva, D. F.; Cardoso, S. M.; Chaves, S.; Santos, M. A. Novel Tacrine–Benzofuran Hybrids as Potential Multi-Target Drug Candidates for the Treatment of Alzheimer's Disease. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2020**, *35* (1), 211–226. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1689237>.
- (31) Sun, J.; Murata, T.; Shigemori, H. Inhibitory Activities of Phenylpropanoids from *Lycopus Lucidus* on Amyloid Aggregation Related to Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes. *J. Nat. Med.* **2020**, *74* (3), 579–583. <https://doi.org/10.1007/S11418-020-01398-6/FIGURES/4>.
- (32) Woo, K. W.; Suh, W. S.; Subedi, L.; Kim, S. Y.; Kim, A.; Lee, K. R. Bioactive Lignan Derivatives from the Stems of *Firmiana Simplex*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26* (3), 730–733. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2016.01.008>.
- (33) de Oliveira, P. F.; Damasceno, J. L.; Bertanha, C. S.; Araújo, A. R. B.; Pauletti, P. M.; Tavares, D. C. Study of the Cytotoxic Activity of *Styrax Camporum* Extract and Its Chemical Markers, Egonol and Homoegonol. *Cytotechnology* **2016**, *68* (4), 1597–1602. <https://doi.org/10.1007/S10616-015-9864-Y/TABLES/1>.
- (34) Pan, L. L.; Wang, X. L.; Luo, X. L.; Liu, S. Y.; Xu, P.; Hu, J. F.; Liu, X. H. Boehmenan, a Lignan from the Chinese Medicinal Plant *Clematis Armandii*, Inhibits A431 Cell Growth via Blocking P70S6/S6 Kinase Pathway. *Integr. Cancer Ther.* **2017**, *16* (3), 351–359. https://doi.org/10.1177/1534735416669803/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1534735416669803-FIG2.JPG.
- (35) Wang, Y.; Li, J.; Ma, H. R.; Numonov, S. R.; Aisa, H. A. New Neolignan from *Lycium Barbarum*. *Chem. Nat. Compd.* **2016**, *52* (3), 396–398. <https://doi.org/10.1007/S10600-016-1657-9/TABLES/2>.
- (36) Tshitenge, D. T.; Feineis, D.; Awale, S.; Bringmann, G. Gardenifolins A-H, Scalemic Neolignans from *Gardenia Ternifolia*: Chiral Resolution, Configurational Assignment, and Cytotoxic Activities against the HeLa Cancer Cell Line. *J. Nat. Prod.* **2017**, *80* (5), 1604–1614. https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.7B00180/ASSET/IMAGES/NP-2017-00180A_M001.GIF.
- (37) Baek, S.; Xia, X.; Min, B. S.; Park, C.; Shim, S. H. Trogopterins A-C: Three New Neolignans from Feces of *Trogopterus Xanthipes*. *Beilstein J. Org. Chem.* **2014**, *10*, 2955–2962. <https://doi.org/10.3762/BJOC.10.313>.

- (38) Huang, X.-X.; Zhou, C.-C.; Li, L.-Z.; Peng, Y.; Lou, L.-L.; Liu, S.; Li, D.-M.; Ikejima, T.; Song, S.-J. Cytotoxic and Antioxidant Dihydrobenzofuran Neolignans from the Seeds of *Crataegus Pinnatifida*. **2013**. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.09.011>.
- (39) Chen, L.; Deng, H.; Cui, H.; Fang, J.; Zuo, Z.; Deng, J.; Li, Y.; Wang, X.; Zhao, L. Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases in Organs. *Oncotarget* **2018**, *9* (6), 7204. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.23208>.
- (40) Yoshikawa, K.; Tani, S.; Baba, C.; Hashimoto, T. Phenylpropanoid, Sapnol A, Lignan and Neolignan Sophorosides, Saposides A and B, Isolated from Canadian Sugar Maple Sap. *Mol. 2013, Vol. 18, Pages 9641-9649* **2013**, *18* (8), 9641–9649. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES18089641>.
- (41) Li, J.; Wang, R.; Wang, Y.; Zeng, J.; Xu, Z.; Xu, J.; He, X. Anti-Inflammatory Benzofuran Neolignans from the Fruits of *Canarium Album* (Chinese Olive). *J. Agric. Food Chem.* **2022**, *70* (4), 1122–1133. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.1C06457/SUPPL_FILE/JF1C06457_SI_001.PDF.
- (42) Hoa, N. T.; Hang, D. T. N.; Hieu, D. P.; Van Truong, H.; Hoang, L. P.; Mechler, A.; Vo, Q. V. The Hydroperoxyl Radical Scavenging Activity of Sulfuretin: Insights from Theory. *R. Soc. Open Sci.* **2021**, *8* (7). <https://doi.org/10.1098/RSOS.210626>.
- (43) Brito, D. A.; Yang, Z.; Rieder, C. L. Microtubules Do Not Promote Mitotic Slippage When the Spindle Assembly Checkpoint Cannot Be Satisfied. *J. Cell Biol.* **2008**, *182* (4), 623. <https://doi.org/10.1083/JCB.200805072>.
- (44) Sim, D. H.; Khanh Vu, N.; Le, D. D.; Kim, H. R.; Ma, E. S.; Min, B. S.; Woo, M. H. Anti-Inflammatory Lignan and Triterpenoid Compounds from the Twigs of *Ligustrum Lucidum*. *Phytochem. Lett.* **2023**, *54*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOL.2023.01.007>.
- (45) Li, T.; Wang, Z.; Guo, J.; De La Fuente-Nunez, C.; Wang, J.; Han, B.; Tao, H.; Liu, J.; Wang, X. Bacterial Resistance to Antibacterial Agents: Mechanisms, Control Strategies, and Implications for Global Health. *Sci. Total Environ.* **2023**, *860*, 160461. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160461>.
- (46) Parker, D.; Soong, G.; Planet, P.; Brower, J.; Ratner, A. J.; Prince, A. The NanA Neuraminidase of *Streptococcus Pneumoniae* Is Involved in Biofilm Formation. *Infect. Immun.* **2009**, *77* (9), 3722. <https://doi.org/10.1128/IAI.00228-09>.
- (47) Park, J. Y.; Hwan Lim, S.; Ram Kim, B.; Jae Jeong, H.; Kwon, H. J.; Song, G. Y.; Bae Ryu, Y.; Song Lee, W. Sialidase Inhibitory Activity of Diarylnonanoid and Neolignan Compounds Extracted from the Seeds of *Myristica Fragrans*. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2017**, *27* (14), 3060–3064. <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2017.05.055>.
- (48) Keawchai, K.; Chumkaew, P.; Permpoonpattana, P.; Srisawat, T. Synergistic Effect of Ampicillin and Dihydrobenzofuran Neolignans (Myticaganal C) Identified from the Seeds of *Myristica Fragrans* Houtt. against *Escherichia Coli*. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* **2021**, *12* (1), 79. https://doi.org/10.4103/JAPTR.JAPTR_85_20.

- (49) Xu Dong-Ying Wang Yi-Ping Li Stephen Deyrup Hong-Jie Zhang, X.-Y. T.; Xu, X.-Y.; Wang contributed equally X-Y Xu Á D-Y Wang Á H-J Zhang, D.-Y.; Xu, X.; Wang, D.; Li, Y.; Deyrup, S. T. Plant-Derived Lignans as Potential Antiviral Agents: A Systematic Review. *Phytochem. Rev.* 2021 211 **2021**, 21 (1), 239–289. <https://doi.org/10.1007/S11101-021-09758-0>.
- (50) Medina-Leyte, D. J.; Domínguez-Pérez, M.; Mercado, I.; Villarreal-Molina, M. T.; Jacobo-Albavera, L. Use of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) as a Model to Study Cardiovascular Disease: A Review. <https://doi.org/10.3390/app10030938>.
- (51) Roy, R.; Paul, S. HIAPP-Amyloid-Core Derived d -Peptide Prevents HIAPP Aggregation and Destabilizes Its Protofibrils. *J. Phys. Chem. B* **2022**, 126 (4), 822–839. https://doi.org/10.1021/ACS.JPCB.1C10395/ASSET/IMAGES/LARGE/JP1C10395_0013.JPEG.
- (52) Capela, R.; Moreira, R.; Lopes, F. An Overview of Drug Resistance in Protozoal Diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **2019**, 20 (22). <https://doi.org/10.3390/IJMS20225748>.
- (53) Ouellette, M. Biochemical and Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Parasites. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2001.00777.x>.
- (54) Rakotondraibe, L. H.; Graupner, P. R.; Xiong, Q.; Olson, M.; Wiley, J. D.; Krai, P.; Brodie, P. J.; Callmander, M. W.; Rakotobe, E.; Ratovoson, F.; Rasamison, V. E.; Cassera, M. B.; Hahn, D. R.; Kingston, D. G. I.; Fotso, S. Neolignans and Other Metabolites from *Ocotea Cymosa* from the Madagascar Rain Forest and Their Biological Activities¹. *J. Nat. Prod.* **2015**, 78 (3), 431–440. <https://doi.org/10.1021/NP5008153>.
- (55) Pagotti, M. C.; Dias, H. J.; Candido, A. C. B. B.; Oliveira, T. A. S.; Borges, A.; Oliveira, N. D.; Lopes, C. D.; Orenha, R. P.; Parreira, R. L. T.; Crotti, A. E. M.; Magalhães, L. G. Exploring Synthetic Dihydrobenzofuran and Benzofuran Neolignans as Antiprotozoal Agents against *Trypanosoma Cruzi*. *Pharmaceutics* **2023**, 15 (3), 754. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS15030754/S1>.
- (56) Müller Kratz, J.; Garcia Bournissen, F.; Forsyth, C. J.; Sosa-Estani, S. Clinical and Pharmacological Profile of Benznidazole for Treatment of Chagas Disease. *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2018**, 11 (10), 943–957. <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1509704>.
- (57) Kokaliaris, C.; Garba, A.; Matuska, M.; Bronzan, R. N.; Colley, D. G.; Dorkenoo, A. M.; Ekpo, U. F.; Fleming, F. M.; French, M. D.; Kabore, A.; Mbonigaba, J. B.; Midzi, N.; Mwinzi, P. N. M.; N’Goran, E. K.; Polo, M. R.; Sacko, M.; Tchuem Tchuente, L. A.; Tukahebwa, E. M.; Uvon, P. A.; Yang, G.; Wiesner, L.; Zhang, Y.; Utzinger, J.; Vounatsou, P. Effect of Preventive Chemotherapy with Praziquantel on Schistosomiasis among School-Aged Children in Sub-Saharan Africa: A Spatiotemporal Modelling Study. *Lancet Infect. Dis.* **2022**, 22 (1), 136–149. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00090-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00090-6).
- (58) Mengarda, A. C.; Silva, M. P.; Cirino, M. E.; Morais, T. R.; Geanne, |; Conserva, A. A.; Ao, J. ~; Lago, H. G.; Josué De Moraes, |. Licarin A, a Neolignan Isolated from *Nectandra Oppositifolia* Nees & Mart. (Lauraceae), Exhibited Moderate Preclinical Efficacy against *Schistosoma Mansoni* Infection. **2016**.

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

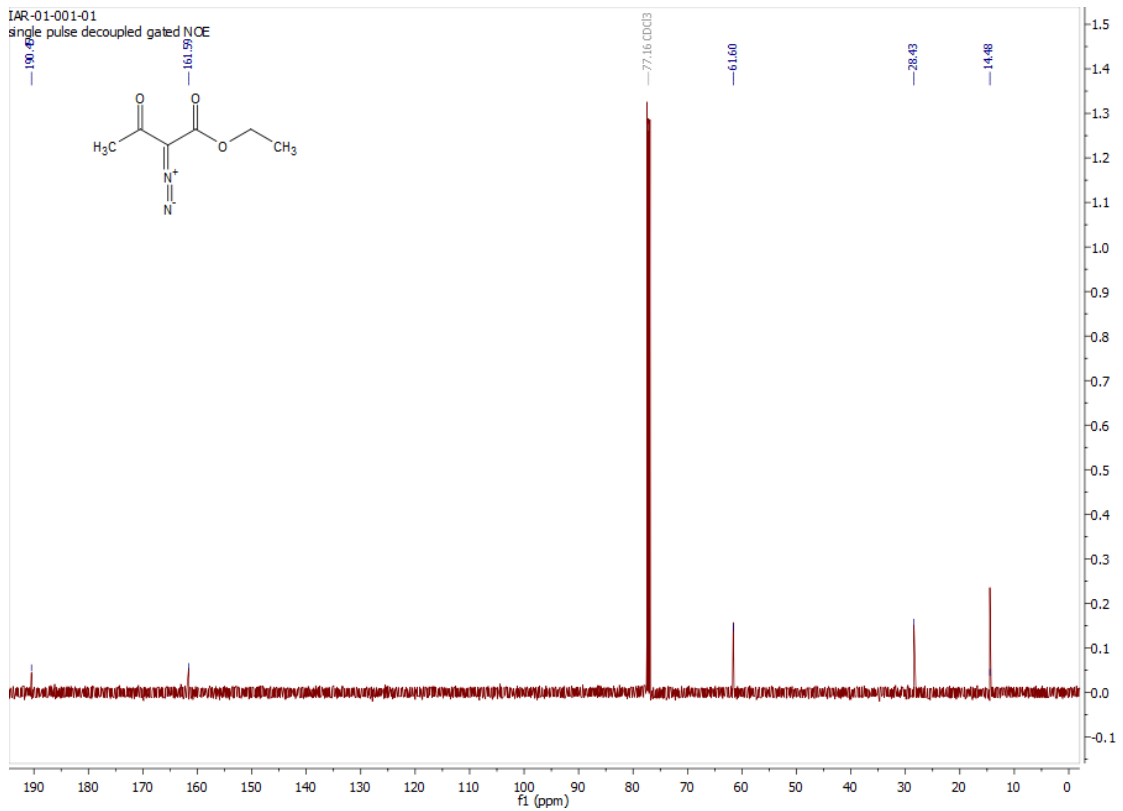
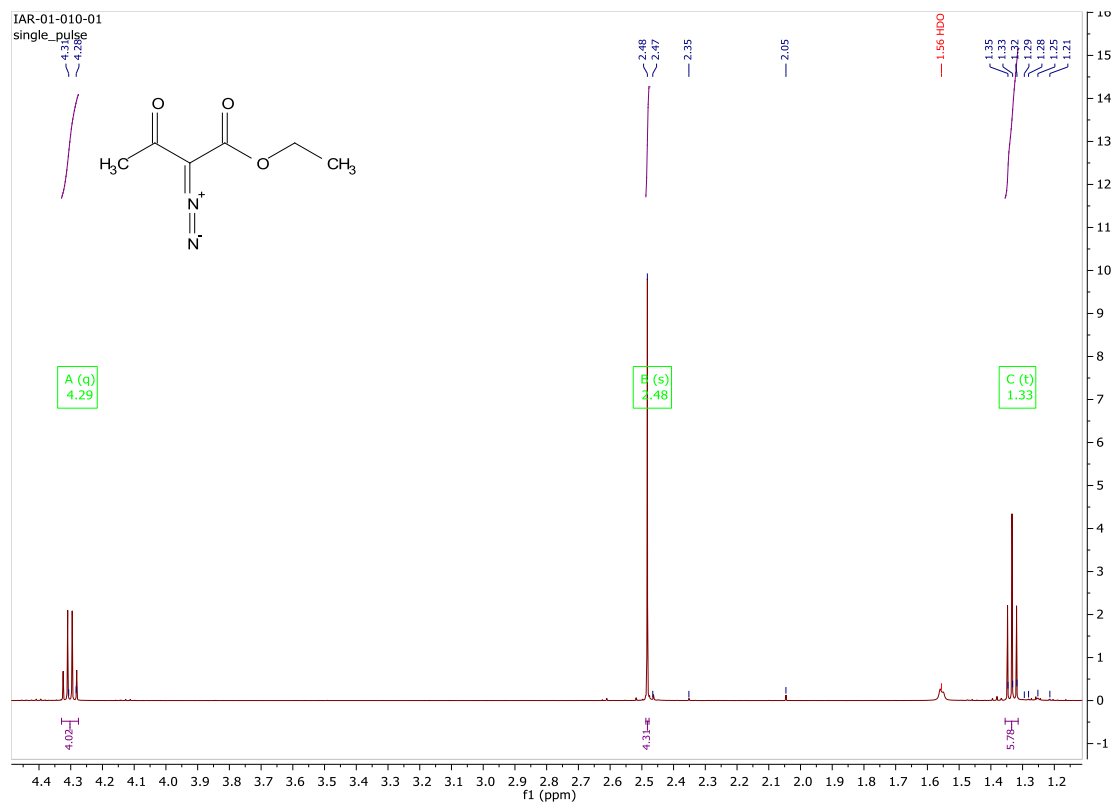
- (59) Alvarenga, D. J.; de Figueiredo Peloso, E.; Marques, M. J.; de Souza, T. B.; Hawkes, J. A.; Carvalho, D. T. Natural and Semi-Synthetic Licarins: Neolignans with Multi-Functional Biological Properties. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2021**, *31* (3), 257–271. <https://doi.org/10.1007/S43450-021-00144-7/METRICS>.
- (60) Adekiya, T. A.; Aruleba, R. T.; Klein, A.; Fadaka, A. O. In Silico Inhibition of SGTP4 as a Therapeutic Target for the Treatment of Schistosomiasis. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1850363> **2020**, *40* (8), 3697–3705. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1850363>.
- (61) Fundação, A. M.; Cruz, O.; Borges, R. M.; Barreto, A. L.; Da, J. A.; Curvelo, R.; De Lima Moreira, D.; Alves De Paiva, R.; Mesquita Marques, A.; Moreira Borges, R.; Léa, A.; Barreto, S.; Alexandre Da, J.; Cavalcanti, J. F.; Teresa, M.; Romanos, V.; Maria, R.; Soares, A.; Auxiliadora, M.; Kaplan, C. Bioactive Neolignans from the Leaves of Piper Rivinoides Kunth (Piperaceae) Novel Approaches for Very Precise and Accurate Quantification of Organic Compounds Using Nuclear Magnetic Resonance View Project Rational Optimization of Process in Drug Discovery from Natural Products View Project Bioactive Neolignans from the Leaves of Piper Rivinoides Kunth (Piperaceae). *Nat. Prod* **2016**, *10*, 472–484.
- (62) Mohd, W.; Hakimi, N.; Salleh, W.; Tawang, A.; Jauri, M. H. Mini-Review on Phytochemistry and Pharmacological Studies of Piper Regnellii (Miq.) C.DC. *Review* **2022**, *12* (2), 1791–1802. <https://doi.org/10.33263/BRIAC122.17911802>.
- (63) Griffith, W. P. Bicentenary of Four Platinum Group Metals. *Platin. Met. Rev.* **2003**, *47* (4), 175–183.
- (64) Wollaston, W. H. On a New Metal, Found in Crude Platina. *Philos. Trans. R. Soc. London* **1804**, *94*, 419–430.
- (65) Emsley, J. *Nature's Building Blocks: An a-Z Guide to the Elements*; Oxford University Press, Incorporated: New York, 2011. https://doi.org/10.1002/cind.7812_4.x.
- (66) Claver, C. *Rhodium Catalysis*; Claver, C., Ed.; Springer Nature, 1954; Vol. 32. <https://doi.org/10.1021/cen-v032n001.p085>.
- (67) Li, Y.; Xu, J.; Oliveira, J. C. A.; Scheremetjew, A.; Ackermann, L. Electrochemical Enantioselective C–H Annulation by Achiral Rhodium(III)/Chiral Brønsted Base Domino Catalysis. *ACS Catal.* **2024**, *14*, 8160–8167. <https://doi.org/10.1021/ACSCATAL.4C01886>.
- (68) Li, R.; Dalton, /; Ohata, J.; Ball, Z. T. Rhodium at the Chemistry–Biology Interface. *Dalt. Trans.* **2018**, *47*, 14855. <https://doi.org/10.1039/c8dt03032d>.
- (69) Swords, R. T.; Kelly, K. R.; Smith, P. G.; Garnsey, J. J.; Mahalingam, D.; Medina, E.; Oberheu, K.; Padmanabhan, S.; O'Dwyer, M.; Nawrocki, S. T.; Giles, F. J.; Carew, J. S. Inhibition of NEDD8-Activating Enzyme: A Novel Approach for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Blood* **2010**, *115* (18), 3796–3800. <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-11-254862>.
- (70) Singla, A. K.; Garg, A.; Aggarwal, D. Paclitaxel and Its Formulations. *Int. J. Pharm.* **2002**, *235*, 179–192.

- (71) Wang, Y.; Yu, Z. X. Rhodium-Catalyzed [5 + 2 + 1] Cycloaddition of Ene-Vinylcyclopropanes and CO: Reaction Design, Development, Application in Natural Product Synthesis, and Inspiration for Developing New Reactions for Synthesis of Eight-Membered Carbocycles. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48* (8), 2288–2296. https://doi.org/10.1021/ACS.ACCOUNTS.5B00037/ASSET/IMAGES/MEDIUM/AR-2015-000375_0022.GIF.
- (72) Von Delius, M.; Le, C. M.; Dong, V. M. Rhodium-Phosphoramidite Catalyzed Alkene Hydroacylation: Mechanism and Octaketide Natural Product Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (36), 15022–15032. https://doi.org/10.1021/JA305593Y/SUPPL_FILE/JA305593Y_SI_004.PDF.
- (73) Zhan, Y.; Du, X.; Chen, H.; Liu, J.; Zhao, B.; Huang, D.; Li, G.; Xu, Q.; Zhang, M.; Weimer, B. C.; Chen, D.; Cheng, Z.; Zhang, L.; Li, Q.; Li, S.; Zheng, Z.; Song, S.; Huang, Y.; Ye, Z.; Su, W.; Lin, S. C.; Shen, Y.; Wu, Q. Cytosporone B Is an Agonist for Nuclear Orphan Receptor Nur77. *Nat. Chem. Biol.* **2008**, *4* (9), 548–556. <https://doi.org/10.1038/NCHEMBIO.106>.
- (74) López-Sánchez, C.; Álvarez-Corral, M.; Jiménez-González, L.; Muñoz-Dorado, M.; Rodríguez-García, I. Rh(II)-Catalyzed Enantioselective Synthesis of Acuminatin through a C–H Insertion Reaction of a Non-Stabilized Carbenoid. *Tetrahedron* **2013**, *69* (26), 5511–5516. <https://doi.org/10.1016/J.TET.2013.04.086>.
- (75) Duskotch, R. W.; Flom, M. S. Acuminatin, a New Bis-Phenylpropide from *Magnolia Acuminata* L. *Tetrahedron* **1972**, *28* (18), 4711–4717. [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(72\)88079-7](https://doi.org/10.1016/0040-4020(72)88079-7).
- (76) Lee, J. S.; Kim, J.; Uck Yu, Y.; Kim, Y. C. Inhibition of Phospholipase C γ 1 and Cancer Cell Proliferation by Lignans and Flavans from *Machilus Thunbergii*. *Arch Pharm Res* **2004**, *27* (10), 1043–1047.
- (77) Sun, P.; Gao, S.; Yang, C.; Guo, S.; Lin, A.; Yao, H. Controllable Rh(III)-Catalyzed Annulation between Salicylaldehydes and Diazo Compounds: Divergent Synthesis of Chromones and Benzofurans. *Org. Lett* **2016**, *18*, 37. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.6b03355>.
- (78) Chiummiento, L.; D'orsi, R.; Funicello, M.; Lupattelli, P. Molecules Last Decade of Unconventional Methodologies for the Synthesis of Substituted Benzofurans. <https://doi.org/10.3390/molecules25102327>.
- (79) Xia, Y.; Dai, X.; Liu, H.; Chai, C. *First Total Synthesis of Boehmenan*; 2014; Vol. 126.
- (80) Zuzana Barbušáková. Syntetické Štúdie Majúce Za Úlohu Zmapovať Cestu Smerom Ku Príprave Prírodných Látok s Neolignanovou Kostrou, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2018. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=64313677462>.
- (81) Lachetová, E. Syntéza Neolignanů s Benzofuranovým Skeletem, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2019. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=56477144082>.
- (82) Tuna, P. Syntéza a Biologická Aktivita Fenylypropanoidových Derivátů: Vývoj

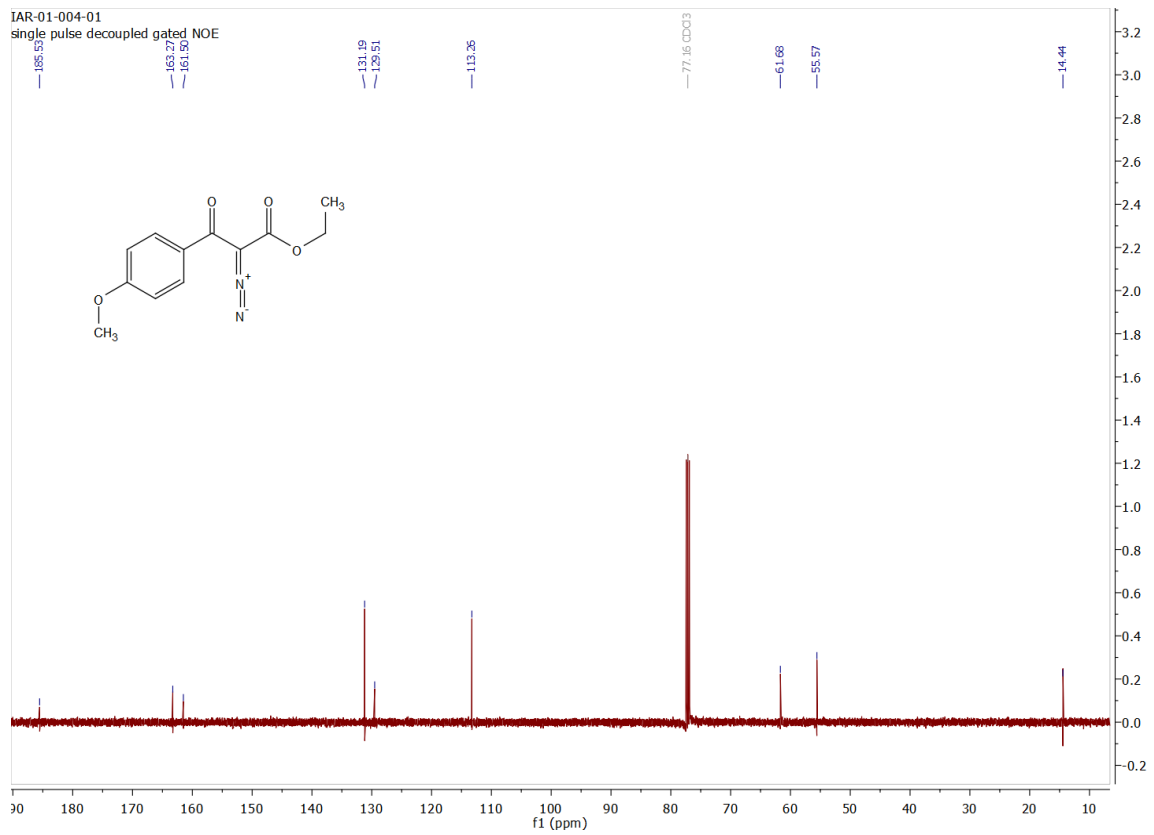
- Syntézy Boehmenanu D, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2019. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=34574225696>.
- (83) Vysloužilová, D. Modulární Syntéza a Biologická Aktivita Fenylypropanoidových Dimerů: Syntéza Benzofuranového Skeletu, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2021. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=13912739958>.
- (84) Střížová, M. Nový Přístup k Neolignanovému Skeletu Odvozenému Od Licarinu A, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, 2022. <https://library.upol.cz/arl-upol/cs/csg/?repo=upolrepo&key=19844986301>.
- (85) Green, S. P.; Wheelhouse, K. M.; Payne, A. D.; Hallett, J. P.; Miller, P. W.; Bull, J. A. Thermal Stability and Explosive Hazard Assessment of Diazo Compounds and Diazo Transfer Reagents. **2019**. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.9b00422>.
- (86) Ford, A.; Miel, H.; Ring, A.; Slattery, C. N.; Maguire, A. R.; Anthony McKerverey, M. Modern Organic Synthesis with α -Diazocarbonyl Compounds. **2015**. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00121>.
- (87) Tetrahedron Lett, A. Readily Accessible 12-I-51 Oxidant for the Conversion of Primary and Secondary Alcohols To. 5927. (*i*)*Organic Synth.* **1983**, 48 (2), 242.
- (88) Burtoloso, A. C. B.; Momo, P. B.; Novais, G. L. Traditional and New Methods for the Preparation of Diazocarbonyl Compounds. *An. Acad. Bras. Cienc.* **2018**, 90 (1), 859–893. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170768>.
- (89) Kumar, S.; Nunewar, S.; Oluguttula, S.; Nanduri, S.; Kanchupalli, V. Organic & Biomolecular Chemistry Recent Advances in Rh(III)/Ir(III)-Catalyzed C-H Functionalization/Annulation via Carbene Migratory Insertion. *Org. Biomol. Chem* **2021**, 19, 1438. <https://doi.org/10.1039/d0ob02309d>.

7. Přílohy

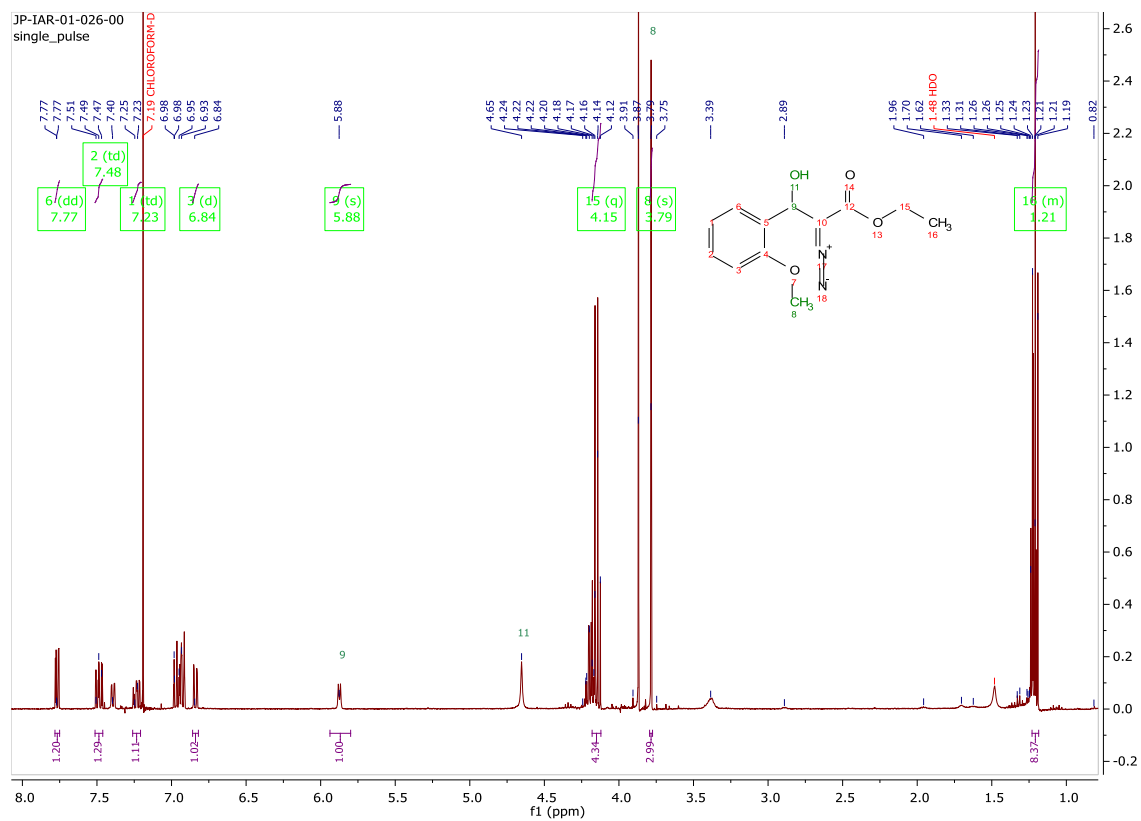
^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl 2-diazo-3-oxobutanoátu (**83a**)



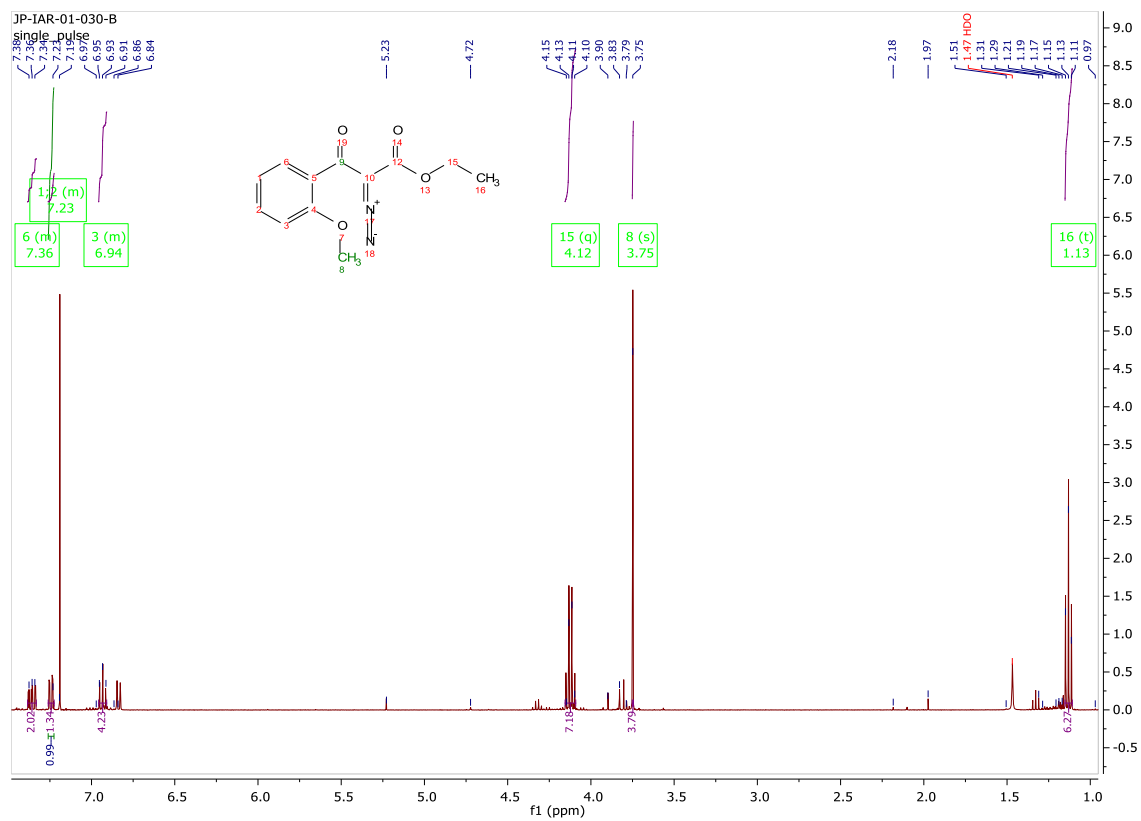
^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl 2-diazo-3-(4-metoksyfenyl)-3-oxopropanoátu (83b)



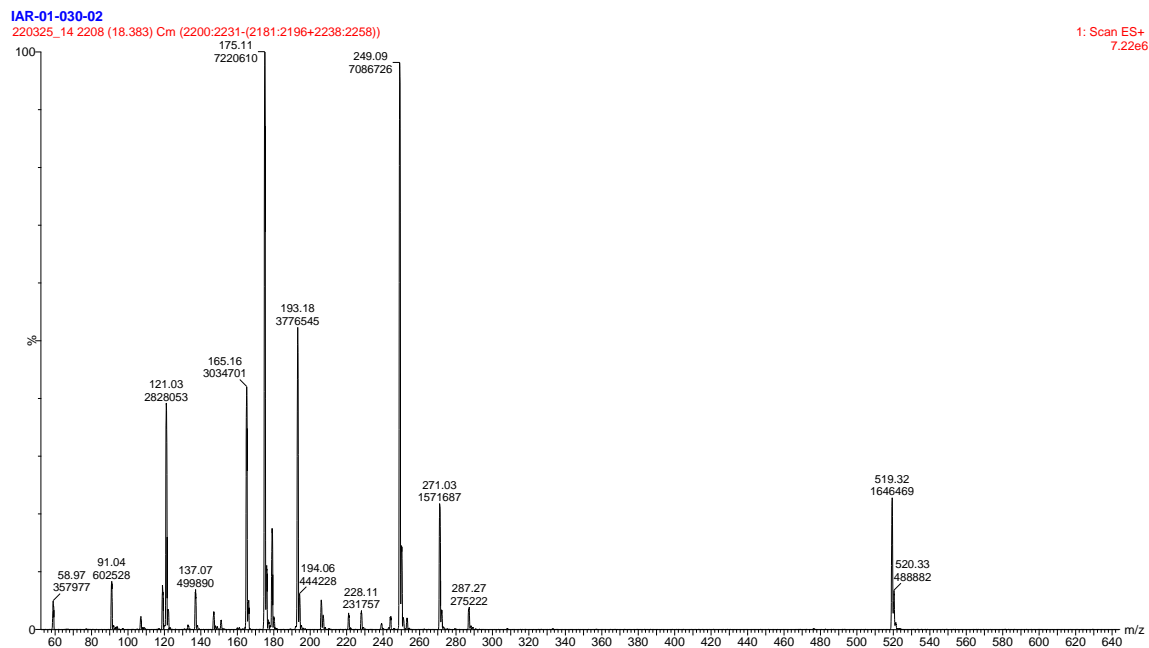
¹H NMR spektrum ethyl 2-diazo-3-hydroxy-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (95)



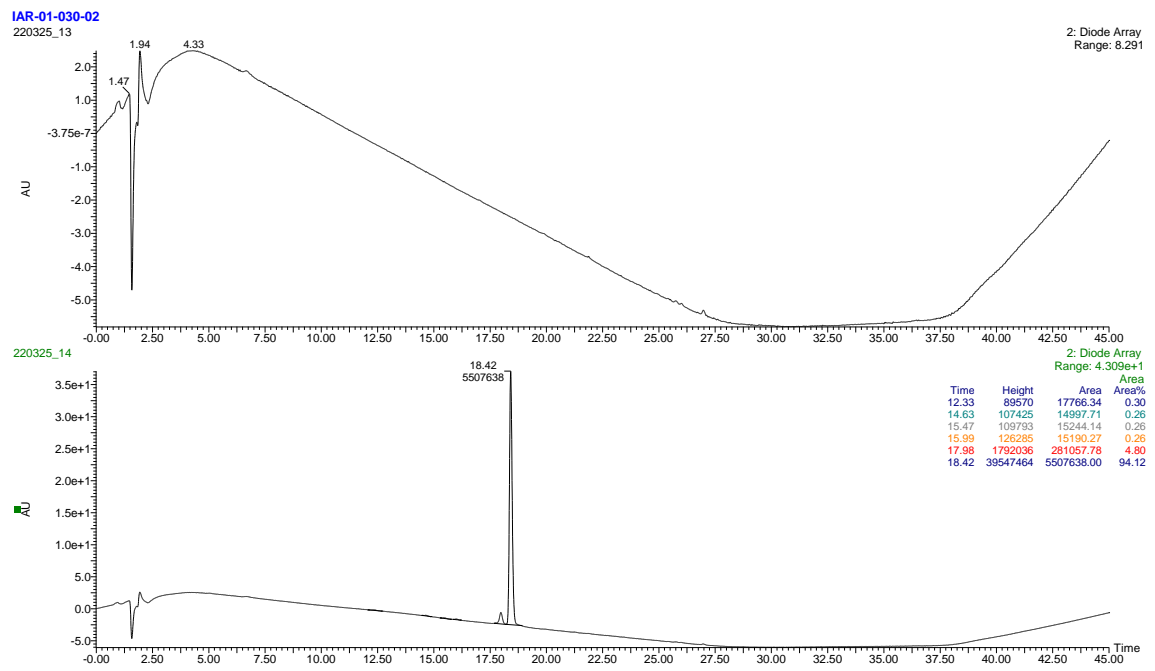
¹H NMR spektrum ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)



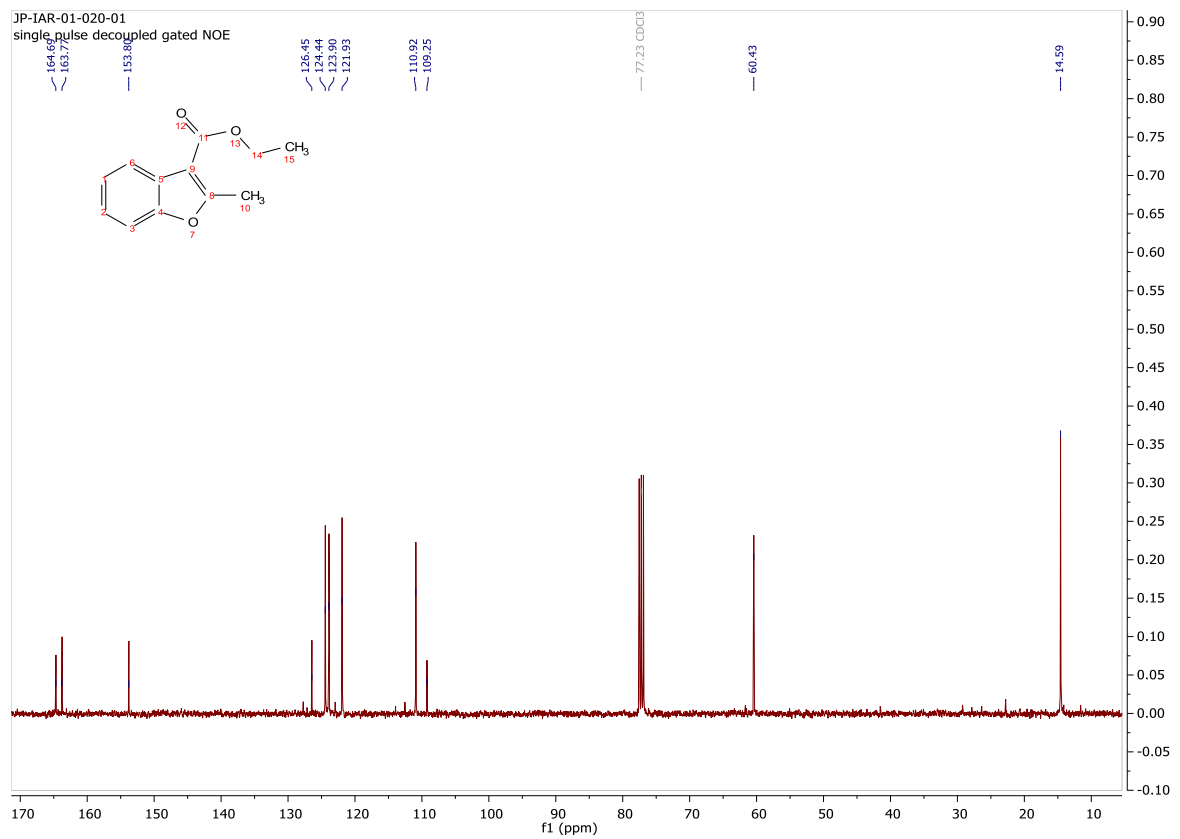
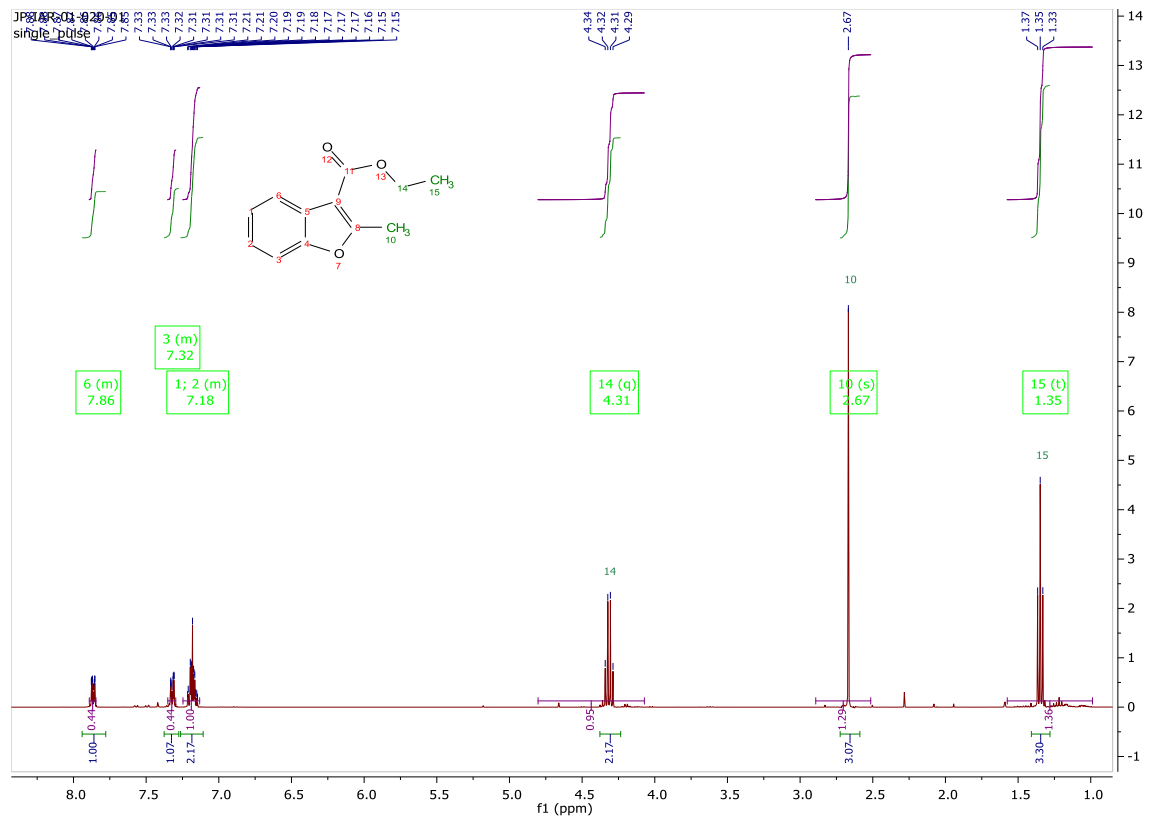
LC-MS spektrum ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)



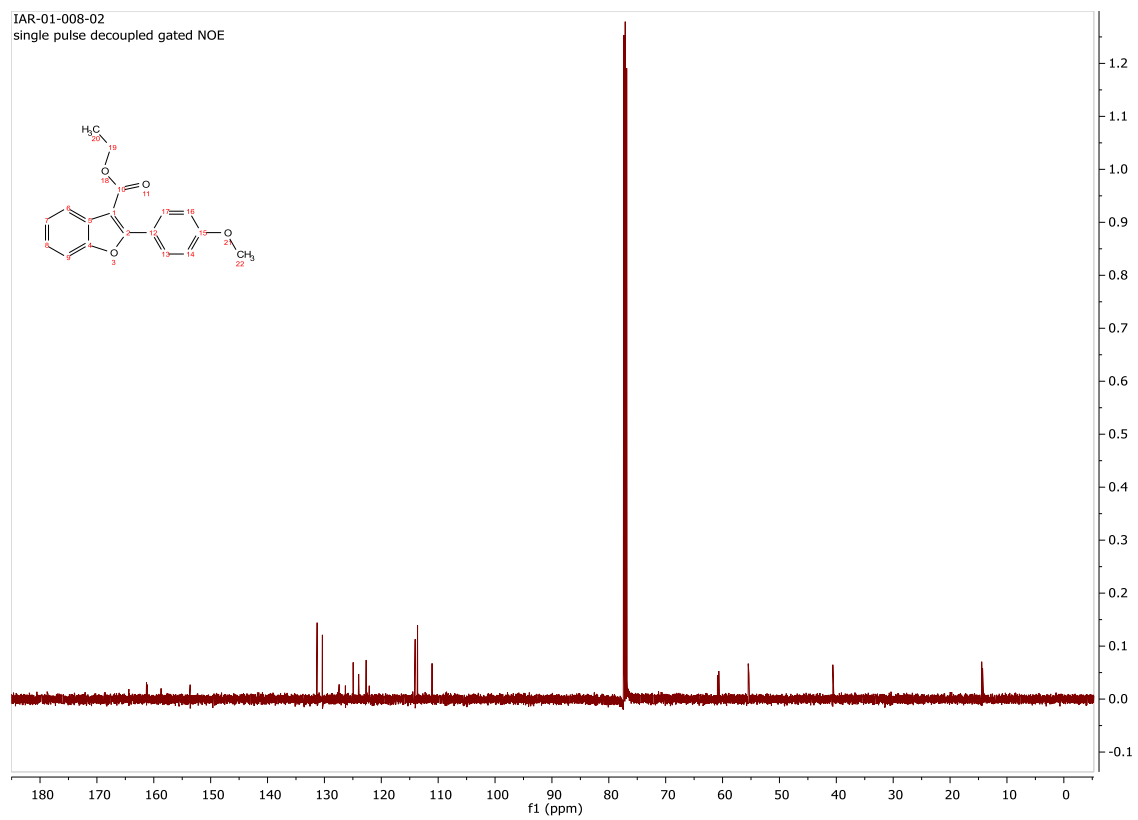
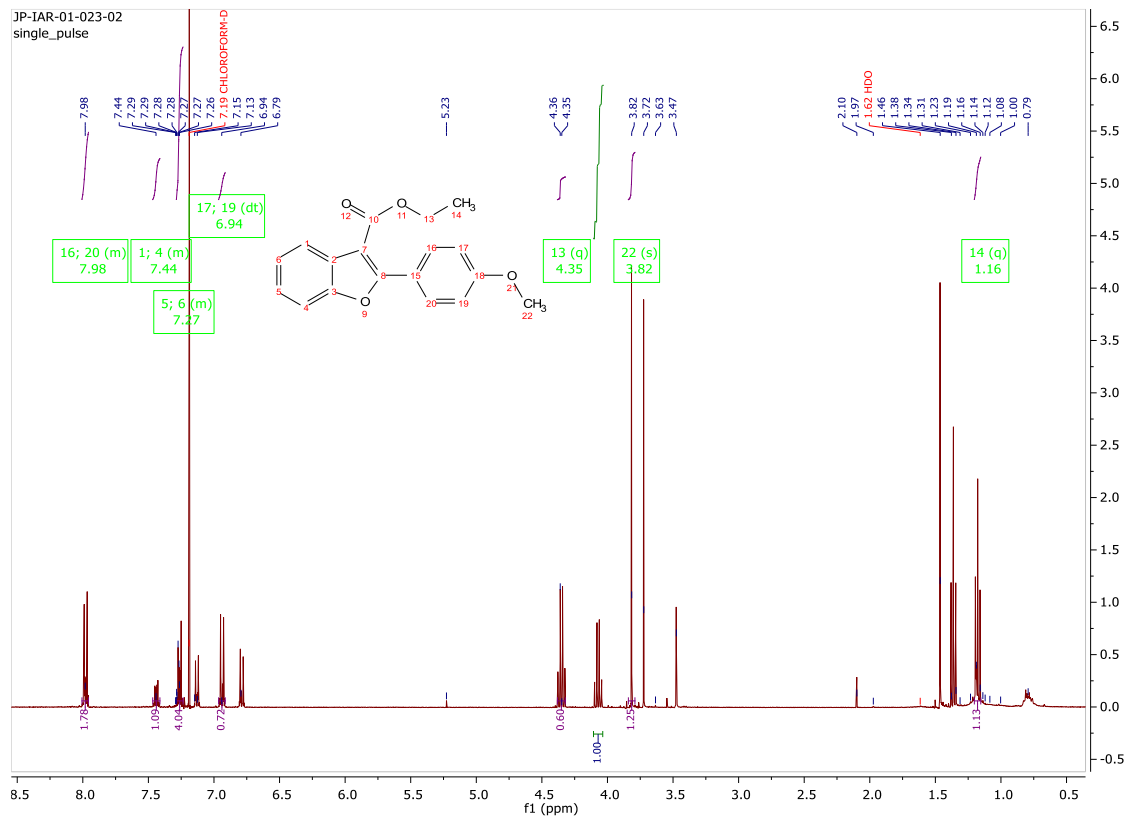
LC-MS spektrum ethyl 2-diazo-3-(2-methoxyfenyl)-3-oxopropanoátu (83c)



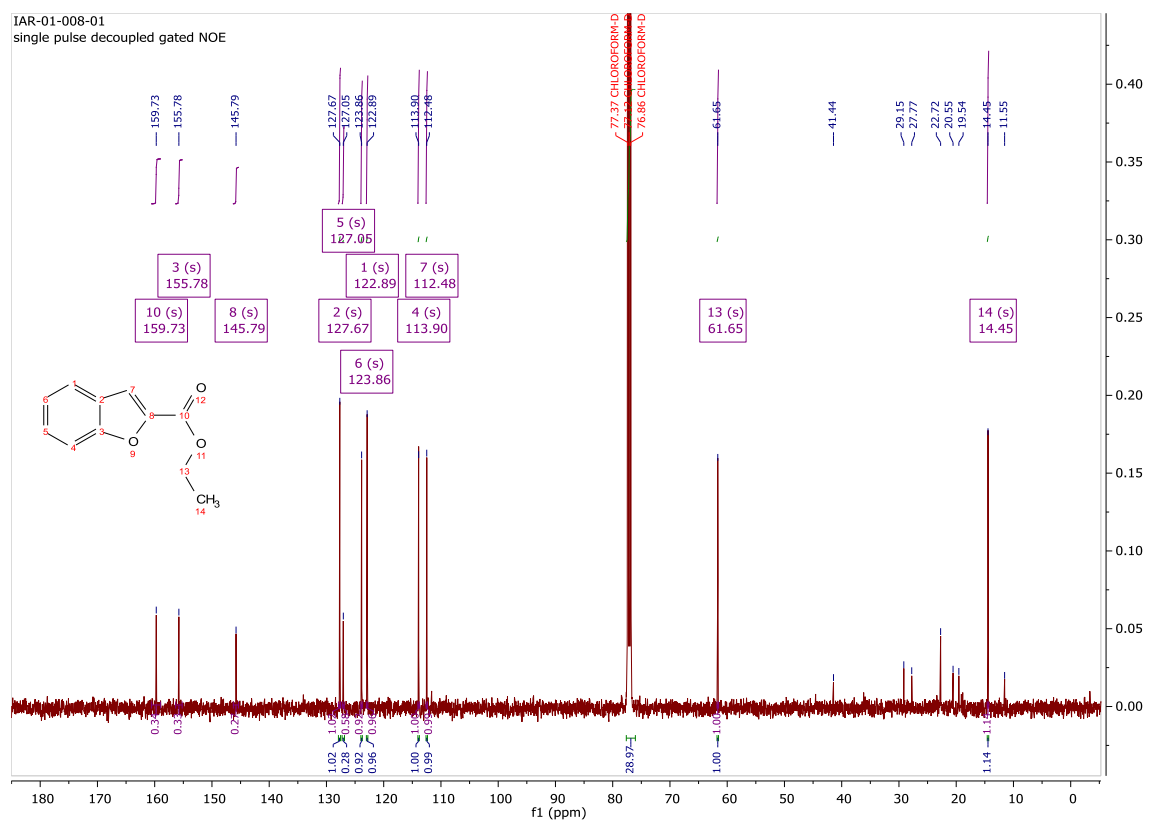
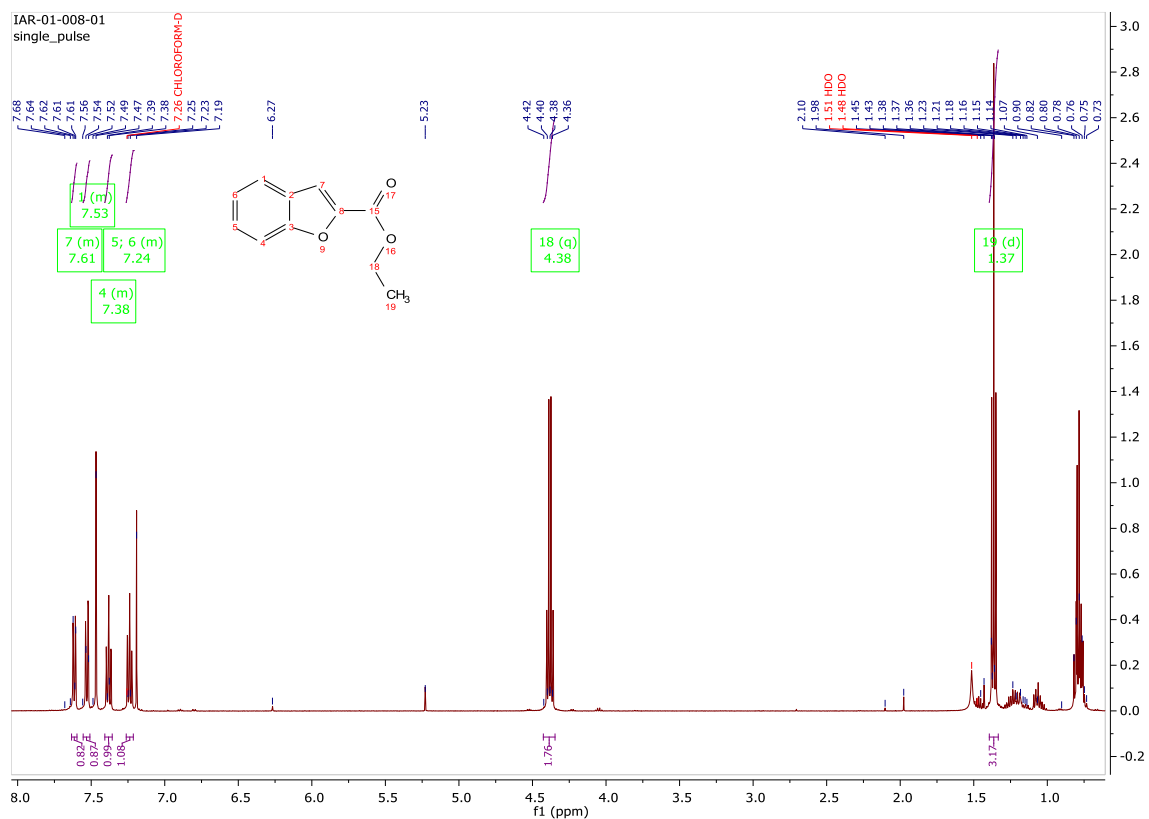
^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl 2-methylbenzofuran-3-karboxylátu (82a)



^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl 2-(4-metoxifenyl)benzofuran-3-karboxylátu (**82b**)



^1H a $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spektra ethyl benzofuran-2-karboxylátu (94)



Tabulka závislosti konverze výchozích látek na produkt (pro reakci tvorby produktu **82a**, Graf 2)

čas	standardní množství [mmol] v NMR kyvetě	(koncentrace = 0.2M, objem 0.45 mL)					
	NMR kyveta	V = 0.55 mL					
			ve směsi	T=0	T = +1 min	aliquot	
T = 0 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	4.75	2.105263158	
	Molární množství	chemický posun	integrace	počet ekv. protonů	normalizovaný integrál	mmol v NMR kyvetě	% v NMR kyvetě
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	4.9	2	2.45	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.018367347	100
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)		1	0	0	0
Přídavek 2 ekv. diazolatky 83a							
T = +5 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	4.791666667	2.086956522	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	5.02	2	2.51	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.017928287	97.60956175
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	0.02	1	0.02	0.000358566	1.952191235
T = +25 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	5.9	1.694915254	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	6.84	2	3.42	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.013157895	71.6374269
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	0.12	1	0.12	0.001578947	8.596491228
T = +45 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	7.05	1.418439716	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	8.08	2	4.04	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.011138614	60.64356436
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	0.3	1	0.3	0.003341584	18.19306931
T = +55 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	8.2	1.219512195	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	8.3	2	4.15	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.010843373	59.03614458
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	0.45	1	0.45	0.004879518	26.56626506
Přídavek 1 ekv. diazolatky 83a							
T = +65 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.35	1.069518717	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	11.29	2	5.645	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.007971656	43.40124004
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	0.61	1	0.61	0.00486271	26.47475642
T = +105 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.25	1.081081081	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	17.19	2	8.595	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.005235602	28.50494474
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	1.62	1	1.62	0.008481675	46.17801047
T = +135 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.15	1.092896175	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	26.69	2	13.345	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.003372049	18.35893593
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	2.77	1	2.77	0.009340577	50.85425253
T = +165 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.05	1.104972376	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	48.48	2	24.24	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.001856436	10.10726073
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	4.36	1	4.36	0.008094059	44.06765677
T = +255 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.05	1.104972376	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	116.68	2	58.34	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.00077134	4.302365444
benzofuran Ar-H 82a	204.22	7.94 ppm (dt)	12.62	1	12.62	0.009734316	54.2958519

Tabulka závislosti konverze výchozích látek na produkt (pro reakci tvorby produktu **82b**, Graf 3)

čas	standardní množství [mmol] v NMR kyvetě	(koncentrace = 0.2M, objem 0.45 mL)					
	NMR kyveta	V = 0.55 mL					
			<i>ve směsi</i>	<i>T=0</i>	<i>T = +1 min</i>	<i>aliquot</i>	
T = 0 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	4.75	2.105263158	
	Molární množství	chemický posun	integrace	počet ekviv. protonů	normalizovaný integrál	mmol v NMR kyvetě	% v NMR kyvetě
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	5.74	2	2.87	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.015679443	100
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)		1	0	0	0
Přídavek 2 ekviv. diazolatky 83b							
T = +5 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	4.791666667	2.086956522	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	7.51	2	3,755	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	0.77	1	0,77	0.009227696	58.8521971
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)	0.19	1	0.19	0.002276964	14.5219707
T = +25 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	5.9	1.694915254	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	12.86	2	6.43	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	0.94	1	0.94	0.006578538	41.9564541
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)	0.7	1	0.7	0.004898911	31.244168
T = +45 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	7.05	1.418439716	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	16.49	2	8.246	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	1	1	1	0.005457853	34.8089751
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)	1.28	1	1.28	0.006986052	44.5554882
T = +55 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	8.2	1.219512195	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	16.17	2	8.085	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	0.82	1	0.82	0.004564007	29.1082251
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)	1.33	1	1.33	0.007402597	47.2121212
Přídavek 1 ekviv. diazolatky 83b							
T = +65 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.35	1.069518717	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	18.4	2	9.2	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	0.83	1	0.83	0.004059783	25.8923913
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)	1.4	1	1.4	0.006847826	43.673913
T = +85 min	aliquot (0.1 mL)	4.75 mL		4.75	9.25	1.081081081	
CH ₂ Cl ₂	84.93	5.29 ppm (s)	27.08	2	13.54	0.045	
RCHO z aldehydu 75	122.12	9.88 ppm (d)	0.87	1	0.87	0.002891433	18.4409158
benzofuran Ar- H 82b	204.22	8.02 ppm (dq)	2.85	1	2.85	0.009471935	60.4098966