

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra organické chemie



**Využití benzothiazolsulfonyl fluoridu při syntéze
benzothiazolsulfonylamidů**

Bakalářská práce

Autor: Šťastná Nikola

Studijní obor: Bioorganická chemie a chemická biologie

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D.

Olomouc 2021

Prohlášení

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

V Olomouci dne:

.....

Poděkování

Chtěla bych velice poděkovat Mgr. Františku Zálešákovi za cenné rady, trpělivost a ochotu vždy se vším pomoci. Také bych chtěla poděkovat KOCH za možnost vykonávat bakalářskou práci v laboratoři a za skvělou atmosféru, díky které jsem se tam ráda vracela. Velké poděkování patří také mému vedoucímu doc. RNDr. Jiřímu Pospíšilovi Ph.D. za odborné vedení. Další poděkování patří Mgr. Aleně Kadlecové Ph.D. za odborné vedení při biologickém testování. Ráda bych také poděkovala Interní Grantové Agentuře Univerzity Palackého v Olomouci (grant IGA_PrF_2021_024) za finanční podporu mého výzkumu.

Bibliografické údaje

Jméno a příjmení autora:	Nikola Šťastná
Název práce:	Využití benzothiazolsulfonyl fluoridu při syntéze benzothiazolsulfonylamidů
Typ práce:	Bakalářská
Pracoviště:	Katedra Organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Palackého Univerzita v Olomouci
Školitel:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D
Rok obhajoby:	2021
Abstrakt:	<p>Moje bakalářská práce se zaměřuje na popis přípravy benzothiazolsulfonyl fluoridu a následně na jeho využití při přípravě sulfonamidů. Náš zájem o sulfonamidy pramení primárně z jejich značného využití v medicíně. V práci se zaměřuji na optimalizaci podmínek při přípravě primárních, sekundárních aminů a anilinů pomocí SuFEx protokolu. Cílem je nalézt takové podmínky, které by nám umožnily snadnou a rychlou přípravu heterocyklických sulfonamidů. Teoretická část se zabývá teoretickým přehledem sulfonyl fluoridů a sulfonamidů z pohledu jejich přípravy, reaktivity a využití.</p>
Klíčová slova:	sulfonamidy, sulfonyl fluoridy, klik chemie, aminy, organická syntéza
Počet stran:	61
Počet stran příloh:	12
Počet příloh:	1
Jazyk:	Čeština

Bibliographical identification

Author's first name and surname:	Nikola Šťastná
Title:	Benzothiazolesulfonyl fluorides and their use in benzothiazole sulfonamide synthesis
Type of thesis:	Bachelor
Department:	Department of Organic chemistry, Faculty of Science, Palacky University
Advisor:	doc. RNDr. Jiří Pospíšil, Ph.D
The year of presentation:	2021

Abstract:

My bachelor thesis is focused on the benzothiazolesulfonyl fluoride synthesis and the use of such reagent in the preparation of sulfonamides. Our interest in sulfonamide chemistry is primarily driven by their extensive use in the field of medicinal chemistry. In this work I focus on the optimization of reaction conditions required for the preparation of primary and secondary sulfonamides and anilines via the SuFEx protocol. The aim is to find such conditions that would allow us to prepare targeted sulfonamides in quick and straightforward manner. The theoretical part deals with a theoretical overview of sulfonyl fluorides and sulfonamides in terms of their preparation, reactivity and use.

Key words:	sulfonamides, sulfonyl fluorides, click Chemistry, amines, organic synthesis
Number of pages:	61
Number of appendix pages:	12
Number of appendices:	1
Language:	Czech

Seznam použitých zkratek

BT	benzothiazol
SF	sulfonyl fluorid
CC	Click Chemistry
ESF	vinyl sulfonyl fluorid
KF	fluorid draselný
PMSF	fenylmethyl sulfonyl fluorid
SuFEx	sulphur fluoride Exchange
KFHF	bifluorid draselný
NHAS	N-heterocyklické aren sulfonamidy
NBS	N-brom sukcinimid
MeOH	methanol
CH₂Cl₂	dichlormethan
NaHCO₃	hydrogenuhličitan sodný
NaOH	hydroxid sodný
THF	tetrahydrofuran
H₂O	voda
CH₃CN	acetonitril
Et₃N	trimethylamin
HCl	kyselina chlorovodíková
NMR	nukleární magnetická resonance
DABCO	1,4-diazobicyklo[2.2.2]oktan
DMAP	4-(dimethyl)amino pyridin
NaCl	chlorid sodný
MgSO₄	síran hořečnatý
Na₂HPO₄ · 12 H₂O	dodeka hydrát hydrogen fosforečnanu sodného
RVO	rotační vakuová odparka
EtOAc	ethyl acetát
PE	petroleum ether
TLC	tenkovrstevná chromatografie
<i>t</i>-BuOH	<i>tert</i> -butanol
DBU	1,8-diazobicyklo[5.4.0]undek-7-en
<i>C. elegans</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>

KH₂PO₄	dihydrogenfosforečnan draselný
MgSO₄ · 7H₂O	hepta hydrát síranu hořečnatého
KOH	hydroxid draselný
Na₂EDTA	sodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
MnCl₂ · 4H₂O	tetra hydrát chloridu manganatého
ZnSO₄ · 7H₂O	hepta hydrát síranu zinečnatého
CuSO₄	síran měďnatý
EtOH	ethanol
CaCl₂	chlorid vápenatý
NaClO	chlornan sodný
DMSO	dimethyl sulfoxid
NMG agar	Nematode Growth Medium agar
LB	Lysogeny Broth
BI₃	jodid boritý
BBr₃	bromid boritý
TMSI	jodotrimethylsilan
TBAI	tetrabutylamoiium jodid
l.t.	laboratorní teplota
B.t.	bod tání
ddH₂O	deionizovaná voda

Obsah

1	Úvod	10
1.1	Cíle práce	11
2	Teoretická část	12
2.1	Sulfonyl fluoridy	12
2.2	Příprava sulfonyl fluoridů	13
2.2.1	Syntéza sulfonyl fluoridů ze sulfonyl chloridů	13
2.3	Reaktivita sulfonyl fluoridů	18
2.3.1	Ortogonální reaktivita	19
2.3.2	SuFEx reakce	21
2.4	Click Chemistry	22
2.5	Sulfonamidy	25
2.5.1	Sulfonamidy v medicíně	26
2.6	Příprava sulfonamidů	29
2.7	Cíle práce	31
3	Experimentální část	32
3.1	Obecné informace	32
3.1.1	Vizualizační roztoky pro TLC	33
3.2	Reakční cesta k přípravě BT-sulfonyl fluoridu	33
3.2.1	Příprava sulfinového esteru 2	33
3.2.2	Příprava soli 3	34
3.2.3	Příprava sulfonyl fluoridu 4	34
3.3	Příprava sulfonamidů	35
3.3.1	Obecný postup přípravy	35
3.4	Biologické testování na anthelmintickou aktivitu	39
3.4.1	Obecné informace	39
3.4.2	Složení použitých pufrů a médií	39

3.4.3	Kultivace <i>C.elegans</i> na NGM miskách.....	40
3.4.4	Hodnocení Anthelmintické aktivity	41
4	Výsledky a diskuze.....	44
4.1	Syntéza sulfonamidů	44
4.1.1	Příprava benzothiazol sulfonyl fluoridu 4	44
4.1.2	Optimalizace podmínek pro syntézu sulfonamidů.....	46
4.1.3	Aplikace optimalizovaných podmínek	47
4.2	Testování sulfonamidů na biologickou aktivitu.....	51
4.2.1	Vyhodnocení naměřených hodnot	51
5	Závěr	53
6	Seznam použité literatury	54
7	Přílohy.....	62

1 Úvod

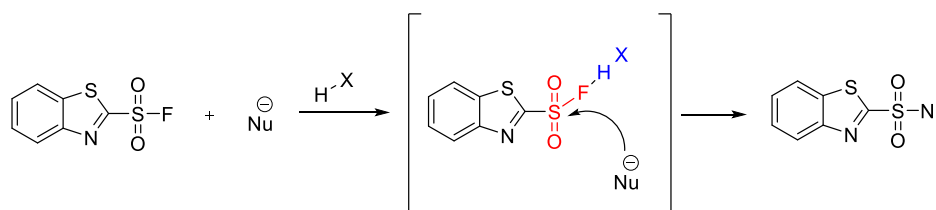
Sloučeniny obsahující sulfonamidickou funkční skupinu vykazují širokou škálu biologických aktivit. Chemie sulfonamidů, a tedy sulfonamidy obecně, hrají důležitou roli při medicínálním výzkumu a přípravě nových sloučenin se zajímavými biologickými vlastnostmi. Výhodou sulfonamidů je, že jsou značně inertní a lze je tedy využít jako pomyslné spojky mezi několika léčivy resp. biologicky aktivními sloučeninami a vytvořit tak jednu látku, která může zároveň působit na několik molekulárních cílů zároveň. Sulfonamidy, chemická třída obsahující motiv $-SO_2NR_2$ ve své struktuře, je jednou ze skupin, které se právě na takovýto typ úkolů hodí. Jejich uplatnění se tak zaobírá nejenom oblastí léčby onemocnění bakteriálního původu (sulfonamidická antibiotika), ale sahá až po moderní oblasti spojování s léčbou rakoviny. Ale hlavně, sulfonamidické léky jsou velmi často využívány v léčbě v kombinaci s jinými látkami z důvodu jejich antimikrobiální aktivity.

Od roku 1940 se aplikace sulfonamidů zaměřuje na léčbu různých stavů, jako jsou antibakteriální, antifungální, antivirové a v poslední době také protinádorové stavy. Sulfonamidické léky jsou oblíbené zejména pro jejich hojně zastoupení, kdy jednotlivé sulfonamidy mají různé biologické aktivity. Nové deriváty se navrhuje tak, aby jejich aktivita byla výrazná již v nízkých koncentracích. Využití derivátů sulfonamidů lze vystopovat například při léčbě Alzheimerovy choroby, při poruše centrálního nervového systému, psychóze, diabetu a různých typech rakoviny. V poslední dekádě se pak hodně dbá na to, aby nově syntetizované látky byli „multitarget“ kandidáty proti různým onemocněním (cílům). Tento „multitargetový“ přístup byl zaveden kvůli léčbě komplexních onemocnění, jelikož se ukázalo, že kombinace několika léčiv vede k jejich kompetitivní interakci, která jejich účinky mnohdy zcela vyruší. V dnešní době samozřejmě existuje mnoho nových biologicky aktivních látek, které ve svém skeletu neobsahují žádnou sulfonamidickou skupinu, ale i tak sulfonamidy hrají stále velice důležitou roli na poli medicínální chemie, jelikož existuje obrovská knihovna biologicky aktivních a synteticky flexibilních sulfo – léků, které mohou být efektivně, rychle a levně upraveny tak aby poskytly medicínálním chemikům látky s multitargetovými vlastnostmi.¹ V naší skupině se dlouhodobě zabýváme přípravou benzothiazol sulfonů a jejich derivátů. Nedávno se nám podařilo vyvinout novou metodu přípravy benzothiazolsulfonamidů, která není bohužel vhodná pro přípravu *N*-aryl substituovaných derivátů. Z tohoto důvodu

jsme se zaměřili na vývoj nových metod primárně vhodných pro přípravu *N*-alkyl a *N*-aryl substituovaných sulfonamidů. Jedním z takovýchto přístupů, jež jsme si vyhlédli jako možnou alternativu k již známým metodám, byla příprava sulfonamidů *via* sulfonyl fluoridový intermediát. Obecně jsou sulfonyl fluoridy značně nereaktivní sloučeniny, které ale v přítomnosti *N*- nebo *O*-silylovaných látek reagují s daným silylovaným aminem/alkoholem velmi rychle a kvantitativně. Z tohoto důvodu jsem se já ve své práci zaměřila zejména na tento typ reakcí. Tedy na reakce BT-sulfonyl fluoridů s aminy.

1.1 Cíle práce

Cílem této bakalářské práce je optimalizovat podmínky pro reakce BT-sulfonyl fluoridu s aminy za vzniku BT sulfonyl amidů *via* SuFEx protokolu (obrázek 1).² V této práci se dozvíte, co to vlastně sulfonyl fluoridy jsou, jak se připravují, a k čemu se využívají. Také shrnu, jak se obecně sulfonyl amidy připravují, proč je o ně tak velký zájem a nakonec nastíním jaké sulfonyl amidy jsem připravila a charakterizovala pomocí fyzikálně - chemických metod.



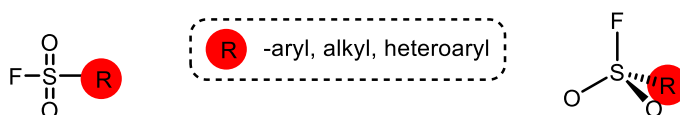
Obrázek 1. Reakce podle SuFEx protokolu.

2 Teoretická část

2.1 Sulfonyl fluoridy

Chemie vyšších organosulfurových sloučenin má dlouhou historii a lze ji vystopovat až do poloviny 19. století. Nicméně klíčová práce vedoucí k opravdovému využití a následnému rozšíření sulfonyl fluoridů byla až Steinkopfova práce ve 20. letech 20. století.³ V této práci Steinkopf popsal na tu dobu až neuvěřitelné vlastnosti organosírných fluoridů (stabilita, reaktivita, rozpustnost). Vlastnosti, jež téměř o století později umožnily využití sulfonyl fluoridů v rámci SuFEx Click chemie.

Z pohledu geometrie tvoří sulfonyl fluoridy tetraedrické sloučeniny (centrum na atomu síry v oxidačním stavu 6), kde v jednotlivých vrcholech zabírají místo atomy kyslíku (2x), fluoru (1x) a uhlíku (zbytek řetězce) (Obrázek 2).

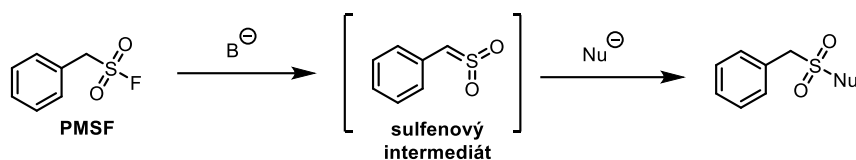


Obrázek 2. Obecný vzorec sulfonyl fluoridu

Alkyl anebo (hetero)aryl sulfonyl fluoridové sloučeniny patří z pohledu jejich využití mezi velmi zajímavé látky s velkým potenciálem do budoucna. Předpokládá se jejich slibné využití v oblasti léčiv, agrochemikálii a materiálu. Její hlavní předností je vysoká selektivita při tvorbě nových kovalentních vazeb za přesně definovaných podmínek s aminy či alkoholy. Těchto vlastností se pak dá velice dobře využít např. při studiu mechanismů biologických transformací či vychytávání definovaných reakčních center. V posledních letech tak bylo připraveno a úspěšně aplikováno několik molekulárních „sond“, jež byly substituovány sulfonyl fluoridovou funkční skupinou a v kombinaci s primárním molekulárním skeletem byly využity k identifikaci cílených enzymů. Sulfonyl fluoridová skupina pak během interakce s enzymem vytvořila kovalentní vazbu a daný enzym tak mohl být úspěšně identifikován a jeho vazebné místo popsáno.⁴

Z pohledu reaktivity jsou aryl sulfonyl fluoridy výrazně méně reaktivní (stabilnější vůči hydrolýze) než jejich alkylové ekvivalenty. Z pohledu substituce na arylových zbytcích se pak reaktivita sulfonyl fluoridu zvyšuje pokud je aryl substituovaný elektronakceptorními substituenty, které tak zvyšují elektrofilicitu atomu síry(VI) v sulfonyl fluoridu.⁵ Alkyl sulfonyl fluoridy s α -vodíky pak často podléhají eliminačním reakcím,

jež vedou ke vzniku velmi reaktivních sulfenuů. Jako typický příklad tohoto chování by mohl posloužit fenylmethylsulfonyl fluorid (PMSF), inhibitor serinové proteázy, který je široce využíván při přípravě buněčných lyzátů. Tento typ transformace, tvorba sulfenu, je však možná pouze za přítomnosti báze, což umožňuje, aby PMSF (Obrázek 3) a jiné alifatické sulfonyl fluoridy byly stabilní a selektivně modifikovali např. proteiny ve vodných roztocích při mírném pH.⁶



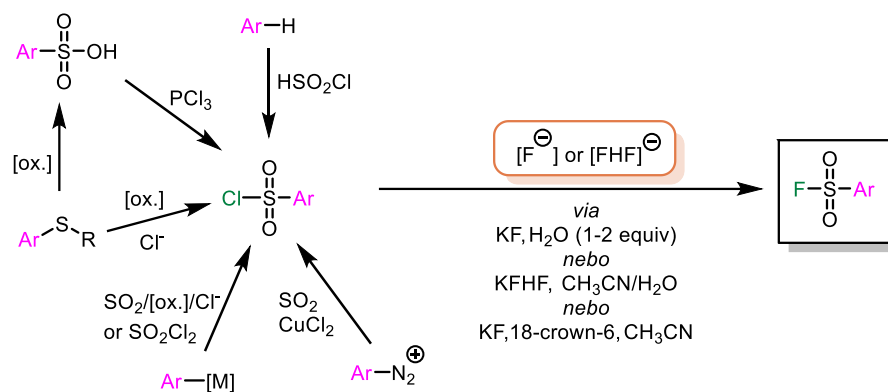
Obrázek 3. Struktura PMSF

2.2 Příprava sulfonyl fluoridů

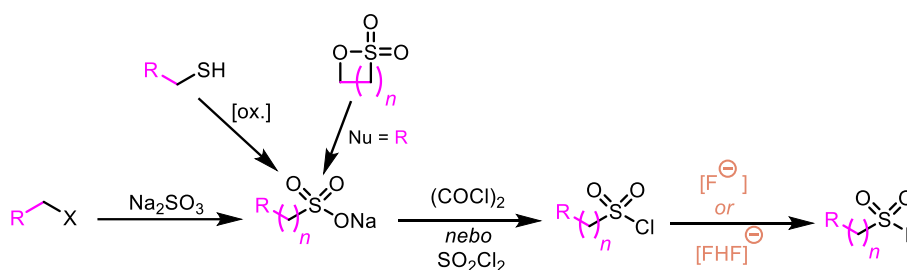
Sulfonyl fluoridy lze připravit různými způsoby a z různých typů výchozích látek (např. heteroaromatických thiolů,⁷ kyseliny sulfonové,⁸ benzensulfonátu sodného,⁹ sulfonylhydrazidu,¹⁰ brombenzenu,¹¹ jodobenzenu,¹² benzenthiosulfonátu,¹³ diarylsulfidů,¹³ sulfonyl chloridu¹⁴ a mnoho dalších). Volba výchozích látek pro přípravu odpovídajícího sulfonyl fluoridu tak více než na syntetické cestě závisí na ceně a dostupnosti výchozích látek. V následujících několika podkapitolách bych ráda představila ty nejznámější, nejčastější a nejpoužívanější metody přípravy sulfonyl fluoridů.

2.2.1 Syntéza sulfonyl fluoridů ze sulfonyl chloridů

Nejběžnější způsob přípravy sulfonyl fluoridů vychází z odpovídajících sulfonyl chloridů. Syntetický problém se tak redukuje v podstatě na přípravu cílových sulfonyl chloridů. Ty mohou být připraveny v případě aryl sulfonyl chloridů (a následně i fluoridů) ze sulfidů, sulfonových kyselin, přímou sulfonylací aromatických jader, nebo odpovídajících aryl-organokovů či diazoslučenin (**Obrázek 4**). U alifatických sulfonyl fluoridů pak syntéza vychází z odpovídající sulfinové soli, která je rovněž snadno dostupná z alifatických sulfidů, halogenidů nebo cyklických sulfonátů (Obrázek 5). Tato snadná a univerzální příprava je také jedním z důvodů proč sulfonyl fluoridy patří k jedněm z nejvíce dostupných a nejlevnějších základních building bloků pro organickou syntézu. Následná výměna atomu chloru za fluor je obecně velmi rychlá.²



Obrázek 4. Syntéza aryl sulfonyl fluoridů z odpovídajících sulfonyl chloridů.

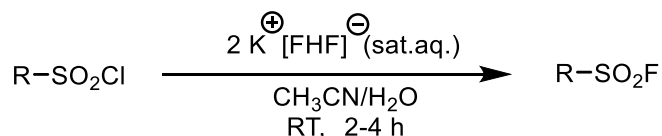


Obrázek 5. Syntéza alifatických sulfonyl fluoridů.

Na základě těchto informací tedy může být až s podivem, že i když první dokumentovaná transformace sulfonyl chloridu na sulfonyl fluorid pochází ze 40. let 20. století, je stále v nezměněné formě využívána. Tento „původní“ protokol byl založen na reakci sulfonyl chloridu s fluoridovými solemi draslíku, sodíku, amoniaku či zinku.¹⁵ Při této studii se také zjistilo, že transformace je značně urychlena přítomností vody, a že vzniklý sulfonyl fluorid se za přítomnosti vody nehydrolyzuje na odpovídající kyselinu. Typické reakční podmínky tak zahrnovaly reflux výše zmíněných anorganických solí se sulfonyl chloridem ve dvoufázové směsi voda-organické rozpouštědlo.¹⁶ Výtěžnost vzniklých sulfonyl fluoridů sice málokdy přesáhla 80 %, ale i tak v podstatě šlo o „blbovzdorné“ podmínky, a tak našly značného rozšíření. Následný vývoj však přeci jenom postupem času přinesl reakční podmínky, kde odpovídající sulfonyl fluoridy mohly být připraveny v téměř kvantitativních výtěžcích. Za těchto podmínek se ponechal reagovat „nahý“ fluoridový anion (KF/18-crown-6) v acetonitrilu. Nevýhoda tohoto postupu však tkvěla ve značné bazicitě takto generovaného fluoridového aniontu, který v případě na bázi citlivých látek vedla k tvorbě celé palety vedlejších produktů (vedlejší bazicky iniciované eliminační reakce atp.). Řešením tohoto problému pak bylo zavedení hydrogendifluoridu draselného jako fluoračního činidla (viz kapitola 2.2.1.1).¹⁷

2.2.1.1 Reakce sulfonyl chloridu s hydrogendifluoridem draselným

Použití hydrogendifluoridu draselného je nejlepší využitelnou alternativou z pohledu používaných činidel vhodných pro přeměnu sulfonyl chloridů na jejich fluoridy. V těchto transformacích reaguje anion hydrogendifluoridu $[\text{FHF}]^-$, vzniklý disociací KHF_2 , na již zmíněný anion a draselný kation. Anion $[\text{FHF}]^-$ má silnou vodíkovou vazbu mezi dvěma atomy fluoru, která zvyšuje nukleofilitu jednoho z fluoridů a zároveň snižuje jeho bazicitu (Obrázek 6). Použití tohoto typu aniontu tak umožňuje provádět danou reakci za velmi mírných reakčních podmínek, zvyšuje toleranci reakčních podmínek vůči na bázi citlivým substrátům, zjednodušuje izolaci (sulfonyl fluoridy jsou často nerozpustné ve vodě), a také umožňuje snadný up-scale reakce. Hydrogendifluorid je tak opravdu ten nejlepší reagent pro tento typ transformace, v případě, že sledovaná reakce může probíhat za stálého a rychlého míchání (například pomocí mechanického míchadla). Jestliže je potřeba zvýšit nukleofilitu fluoridového aniontu (nedostatečná reaktivita vůči substrátu), stačí přidat do reakční směsi silnou anorganickou Brønstedtovu kyselinu (HX). Její přítomnost naruší vnitřní vodíkovou vazbu mezi atomy fluoru a vodíkem, a umožní fluoridovému nukleofilu reagovat rychleji.^{2,18}

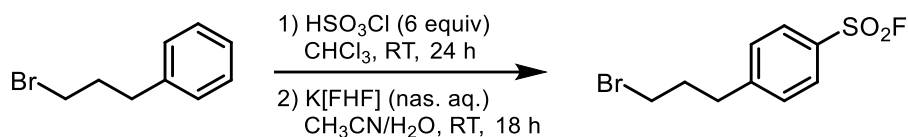


Obrázek 6. Reakce sulfonyl chloridu s hydrogendifluoridem draselným ve dvoufázovém systému $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$.

V případě, kdy se pro reakci používá sulfonyl chlorid, jež je za normálních podmínek kapalinou, stačí, když se vodný roztok substrátu ponechá reagovat přímo s vodným roztokem $\text{K}[\text{FHF}]$. Vzniklý surový produkt, sulfonyl fluorid, je ve většině případů izolován přímo z reakční směsi (vysráží se, protože není rozpustný v H_2O) v >98% čistotě. Pokud je nezbytné, cílová molekula může být dále purifikována pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu.²

Při syntéze sulfonyl fluoridů se nemusí vždy vycházet z jednoduchých sloučenin, které jsou následně transformovány na sulfonyl chloridy za drastických metod. Obrázek 7 znázorňuje jeden z mnoha příkladů, kde tvorba sulfonyl fluoridu začíná u jednoduchého alkyl bromidu, jež je *in situ* sulfonylován a generovaný intermediát, sulfonyl chlorid, je okamžitě transformován na očekávaný sulfonyl fluorid. Generace sulfonyl fluoridu z odpovídajícího chloridu je tak provedena *in situ* pouhým přidáním nasyceného vodného

roztoku K[FHF] do reakční směsi. Tento „trik“ pak našel ještě více uplatnění při přípravě heterocyklických sulfonyl fluoridů, ale o tom až v příští kapitole.^{2,7}

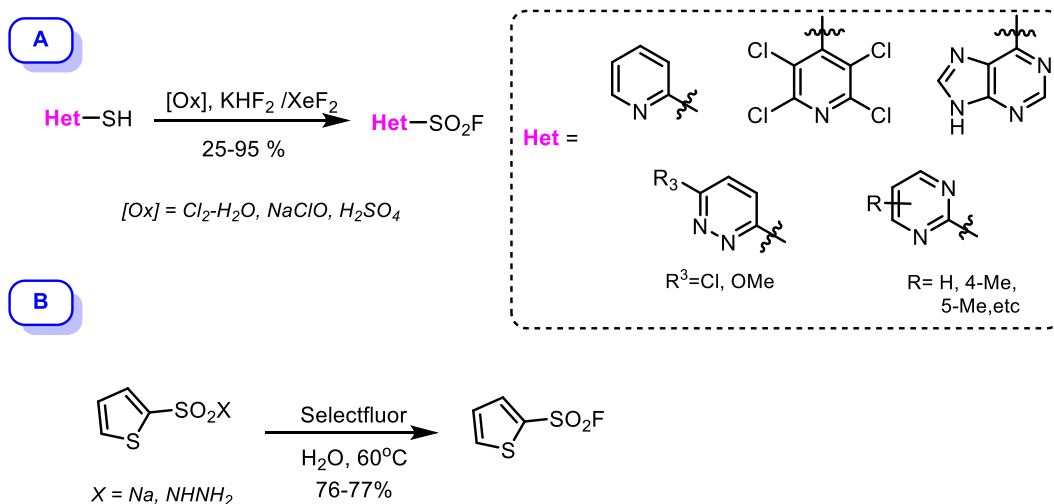


Obrázek 7. Syntéza substituovaného aryl sulfonyl fluoridu z fenyl alkyl bromidu

2.2.1.2 Syntéza heteroaryl sulfonyl fluoridů

Heteroaryl sulfonyl fluoridy jsou z pohledu syntézy připravovány v literatuře pomocí poněkud odlišných metod, než je tomu u aryl sulfonyl fluoridů. Důvodem je, že přítomnost heteroatomů v heterocyklu transformuje arylové substituenty do role (a) značně elektrofilních sulfonyl substituentů (šesti členné heterocykly), anebo (b) značně elektron donorní heterocykly (pětičlenné heterocykly). Obecně se známé metody syntézy heteroaryl sulfonyl fluoridů dají přiřadit do jedné z následujících pěti kategorií:

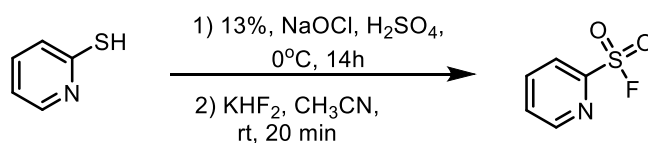
- 1) Elektrofilní substituce za použití kyseliny sulfinové.
- 2) Reakce sulfonyl chloridů s fluoridovým aniontem.
- 3) Oxidativní chlorace thiolů (Obrázek 8A) a sulfidů následována *in situ* nukleofilní substitucí aniontem fluoru.
- 4) Elektrofilní fluorace sulfonátů nebo sulfonyl hydrazidů. Nedávno vyvinutá modifikace tohoto přístupu se opírá o tvorbu sulfinátu *in situ* reakcí arylhalogenidů katalyzovanou paladiem za přítomnosti DABSO, následovaná reakcí se Selectfluorem[®] (Obrázek 8B) nebo NFSI (*N*-fluorobenzen sulfonamidem).
- 5) Cykloadiční a heterocyklizační reakce.



Obrázek 8. Příprava heteroaryl sulfonyl fluoridů z (A) thiolu a (B) pomocí Selectfluoru®

K těmto typům reakcí pak můžeme přidat dále práci Cherepakha a spol., kteří v roce 2018 popsali syntézu nových pětičlenných a šestičlenných heteroaromatických sulfonyl fluoridů, nesoucích atom bromu v různých polohách heterocyklického kruhu (pyridinu, furanu, thiofenu).¹⁹ Takto generované sulfonyl fluoridy mohou být dále využity v dalších couplingových reakcích (Suzuki, Stille a Nagishi), což značně zvyšuje jejich využití a možnosti jejich diverzifikace. Couplingové reakce na těchto skeletech probíhají s exkluzivní chemoselektivitou (Ar-Br) a dávají produkty couplingu s 69-98% výtěžky. Tolerance skupiny SO_2F vůči podmínkám byla ve většině experimentů téměř 100%.

Heteroaryl sulfonyl fluoridy jsou známé jako deoxy fluorační činidla. Zejména pak komerčně dostupný 2-pyridin sulfonyl fluorid (PyFluor) se velmi osvědčil v této roli. Deoxy fluorační činidla využíváme k přípravě organofluorových sloučenin.²⁰ Tyto organofluorové sloučeniny jsou díky svým jedinečným vlastnostem (bioisoster atomu vodíku (sterické vlastnosti), který ale může tvořit dodatečné interakce přes vodíkovou vazbu) více a více zastoupeny v nově akceptovaných farmaceutických substancích a agrochemikáliích. Navíc zavedení fluoru také zvyšuje metabolickou stabilitu, rozpustnost a již zmíněnou aktivitu kandidátů, díky nově ustanovené vazbě uhlík-fluor. Deoxygenační fluorace alkoholů je pak jednou z nejatraktivnějších metod instalace alifatických C-F vazeb (množství a dostupnost prekurzorů – hydroxy sloučenin). PyFluor lze také snadno syntetizovat v multigramovém měřítku (Obrázek 9).²¹



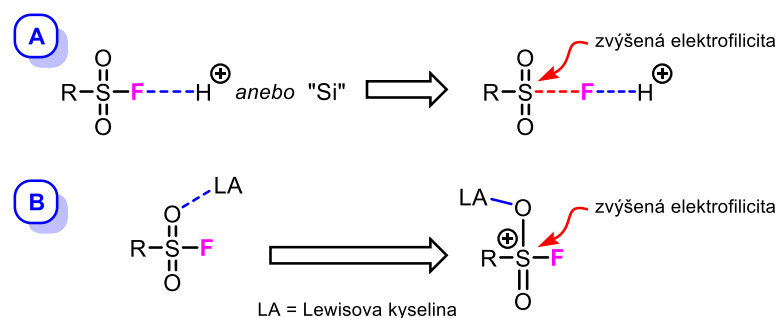
Obrázek 9. Syntéza PyFluoru

2.3 Reaktivita sulfonyl fluoridů

Aryl, heteroaryl a alkyl sulfonyl fluoridy se vyznačují vysokou termodynamickou stabilitou zejména v protických rozpouštědlech. Za tuto situaci je plně zodpovědná vodíková vazba mezi atomy vodíku rozpouštědla (δ^+) a atomu fluoru v sulfonyl fluoridu (δ^-). Na druhé straně, reaktivita sulfonyl fluoridů také není špatná. Jde jen o to, že vazba síra-fluor je velmi silná a tedy stabilní. V okamžiku, kdy dojde k jejímu porušení (aktivace fluoru k odstoupení, dodatečná stabilizace δ^+ na atomu síry), tak dojde k velmi rychlé reakci, neboť se systém potřebuje stabilizovat. Tedy, jakmile je vazba narušena, sulfonyl fluoridy reagují velmi rychle virtuálně s jakýmkoliv nukleofily za vzniku nové vazby S-cokoliv. Obecně tedy síla a stabilita vazby S(VI)-F závisí jak na dalších substituentech, tak i na přítomných rozpouštědlech.²² Na druhou stranu, stabilita vazby SO₂-F je obvykle tak silná, že nepodléhá hydrolyze anebo solvolýze (ve velkém kontrastu s vazbou SO₂-Cl). Tato skutečnost pak umožňuje využít tuto funkční skupinu k cílené modifikaci (reaguje pouze kde chci a kdy chci) složitých cílů anebo substrátů, jako jsou třeba biopolymery. Výhodou sulfonyl fluoridů je i nemožnost degradace radikálovou cestou (standartní degradace sulfonyl chloridů,²³ či sulfoniových solí)²⁴ z důvodu energetické nedostupnosti F-radikálu, který by musel při reakci vzniknout.

Nabízí se tedy dva způsoby, jak aktivovat vazbu SO₂-F, tak aby reagovala v přítomnosti nukleofilů. Jedním a tím nejjednodušším způsobem je mít atom vodíku ve formě protonu. Nově vytvořená vodíková vazba H-F tak generuje potřebnou aktivaci fluoridového aniontu k odstoupení. Nevýhodou je, že je ve směsi přítomná velká koncentrace vodíkových protonů, které nejenom aktivují fluoridový atom k odstoupení, ale zároveň anihilují jakoukoliv reaktivitu přítomných nukleofilů. Z tohoto pohledu se tedy mnohem více osvědčila aktivace atomu fluoru přidáním silylovaných sloučenin, u které dojde k vytvoření nové vazby Si-F, což je jedna z nejsilnějších vazeb známých v chemii.² Druhá možná aktivace vazby SO₂-F probíhá nepřímo atomy kyslíku sulfonylové skupiny. V tomto případě pak stačí pouze přídavek Lewisovy kyseliny, který následně zvýší reaktivitu atomu síry (zvýší δ^+ na atomu síry(VI)) a tím destabilizuje vazbu S-F (Obrázek 10).

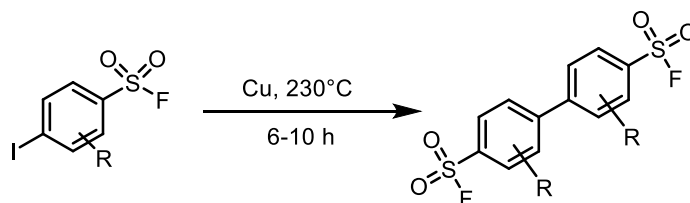
I když máme pouze dva typy aktivace, tak reaktivita sulfonyl fluoridů je velice rozmanitá. Některé zajímavé příklady uvedu v následujících podkapitolách.



Obrázek 10. Dva způsoby aktivace sulfonyl fluoridů. **A** aktivace fluoridového aniontu jako odstupující skupina. **B** aktivaci přes kyslíkové atomy na sulfonylové skupině.

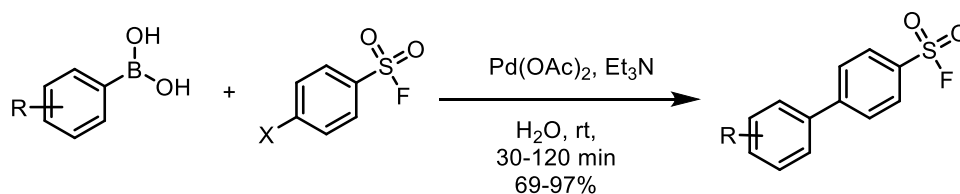
2.3.1 Ortogonální reaktivita

Ortogonální reaktivitu definujeme jako selektivní chemickou transformaci jedné funkční skupiny v přítomnosti jiných funkčních skupin. V případě sulfonyl fluoridů je tento typ reakce více než omnipřítomný a z tohoto důvodu velice využívaným konceptem nejenom v oblasti organické syntézy, ale také v oblasti chemické biologie,²⁵ supramolekulární chemie²⁶ či polymerní chemie.²⁶ Tento fenomén byl například využit u dříve zmíněné cross-couplingové reakce, kde coupling (tvorba nové C-C vazby) byl proveden v přítomnosti sulfonyl fluoridu, který zůstal v reakční směsi (na substrátu) nezreagován. Obecně sloučeniny obsahující sulfonyl fluoridy mohou podléhat tranzitními kovy katalyzovaným reakcím jako jsou cross-couplingové reakce (viz výše) nebo například mědi katalyzovaných couplingů (Ullmannův coupling, Obrázek 11).²⁷



Obrázek 11. Syntéza biaryl disulfonyl difluoridu pomocí Ullmannova couplingu.

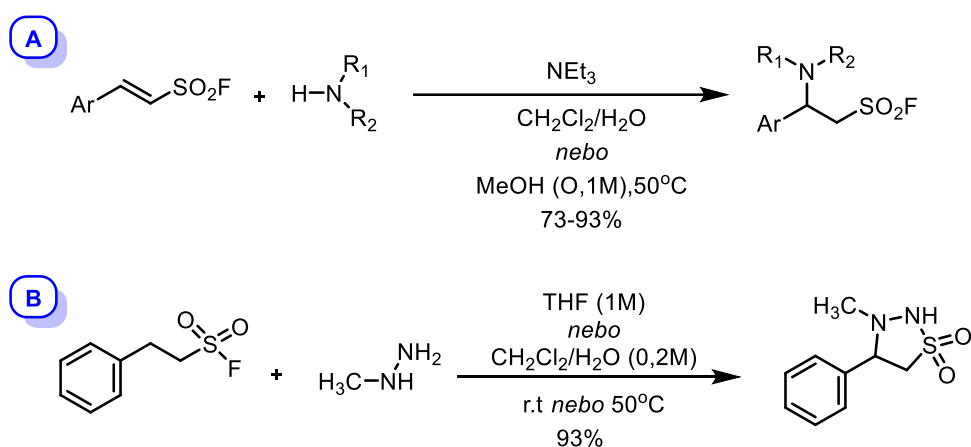
Obdobně se podařilo v roce 2016 vyvinout syntézu biaryl sulfonyl fluoridů, které vznikaly z odpovídajících halogenphenyl sulfonyl fluoridů a odpovídajících boronových kyselin v přítomnosti $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ a Et_3N ve vodě (Suzuki–Miyaura coupling). Reakce probíhaly během 0,5 až 2 h za laboratorní teploty a produkovaly cílené produkty v dobrých až vynikajících výtěžcích (Obrázek 12).²⁸



Obrázek 12. Syntéza biaryl sulfonyl fluoridů pomocí Suzuki-Miyaura couplingu

2.3.1.1 Bifunkční reaktivita α,β -nenasycených sulfonyl fluoridů

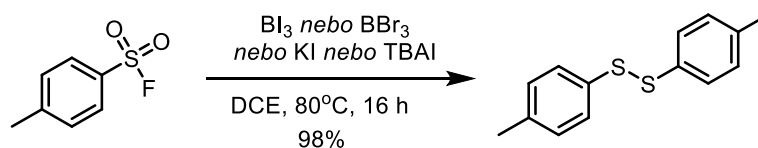
Další zajímavou skupinou sulfonyl fluoridů jsou α,β -nenasycené sulfonyl fluoridy. Tento typ reagentů umožňuje nejenom reaktivitu jako sulfonylačního činidla, ale zejména umožňuje reakci na nenasyceném systému (Michaelova adice) bez toho, aniž by sulfonylační skupina (SO_2F) podlehla kompetitivní reakci s přítomným nukleofilem. Takto rozdílnou reaktivitou pak lze dosáhnout přípravy některých jinak nedostupných sloučenin.²⁹ Lze tedy kombinovat několik kroků, kdy například můžeme ponechat sulfonyl fluorid reagovat pouze jako Michaelův akceptor (Obrázek 13A), anebo změnou nukleofilu dojde nejprve k nukleofilní adici, aby pak došlo k následné cyklizaci (Obrázek 13B).³⁰



Obrázek 13. Orthogonální reaktivita vinylsulfonyl fluoridů: **A** Michaelova adice aminů na β -arylethensulfonyl fluoridy, **B** syntéza cyklické formy sulfonylhydrazidu z β -arylethensulfonyl fluoridů

2.3.1.2 Redukce sulfonyl fluoridů

Sulfonyl fluoridy mohou také být redukovány na odpovídající disulfidy za přítomnosti málo používaných redukčních činidel, které jsou zároveň silnými Lewisovými kyselinami jako jsou BI_3 (jodid boritý), BBr_3 (bromid boritý), či TMSI (jodotrimethylsilan) (Obrázek 14). Dále je možné sulfonyl fluoridy redukovat na příslušné disulfidy pomocí KI (jodid draselný) nebo TBAI (tetrabutylamonium jodid) (jód vystupuje jako oxidační činidlo). Ovšem vůči ostatním standartním redukčním činidlům jako je např. Sn/HCl , Zn/HCl nebo BH_3 , jsou sulfonyl fluoridy odolné.³¹



Obrázek 14. Redukce sulfonyl fluoridu na odpovídající disulfid.

2.3.2 SuFEx reakce

SuFEx (Sulphur Fluoride Exchange) reakce patří do nové skupiny tzv. „Click reakcí“ (viz níže), která byla poprvé popsána Barry Sharplessem² v roce 2014 (koncept Click chemie byl uveden taktéž Barry Sharplessem ale již v roce 2001³²). SuFEx našlo rychle využití v různých odvětvích od chemické syntézy³³, přes materiálovou vědu³⁴, chemickou biologii³⁵ až po výrobu léčiv.³⁶ SuFEx metoda tvoří robustní intermolekulární spojení mezi dvěma jinak nereaktivními molekulárními celky. Velká stabilita nově vzniklé vazby pramení ze schopnosti, jinak velmi stabilních fluoridů síry s vysokým oxidačním číslem, vytvořit na úkor vazby S-F v přítomnosti vhodného nukleofilu a vhodných podmínek silnou vazbu S(VI)-O nebo S(VI)-N.³⁷ Selektivitu nově vytvořené vazby (vytvoří se právě taková vazba) pak zaručují podmínky resp. zvolený způsob destabilizace původní vazby S(VI)-F (viz. Kapitola 2.3).

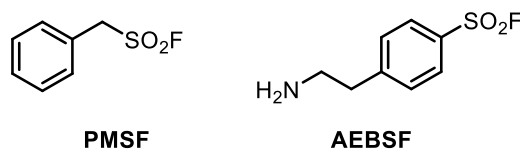
Z pohledu chemické biologie je například velmi výhodné využívat sulfonyl fluoridy jako molekulární sondy, jež se mohou selektivně vázat kovalentní vazbou do molekulárních cílů např. enzymů. V takovém případě pak „tvar“ molekuly umožňuje, aby daná molekulární sonda byla rozeznána aktivním místem a následně přítomnost funkčních skupin ve vazebném místě, jež aktivují sulfonyl fluoridovou funkční skupinu, pak umožní vytvoření nové vazby S(VI)-O nebo S(VI)-N.²⁷ V materiálové chemii toho pak můžeme dosáhnout tak, že použijeme např. silylem chráněné alkoholy resp. aminy, které pak reagují se sulfonyl fluoridy za vzniku nové vazby. Reakce je velice specifická.

V dnešní době se k takto designovaným konektivním spojení využívá mnoha nově vyvinutých „spojek“, jež umožňují selektivní propojení dvou molekulárních celků pomocí SuFEx metody. Nejčastěji využívané jsou následující spojky: sulfonyl fluoridy (R-SO₂F), sulfuryl fluorid (SO₂F₂), thionyl tetra fluorid (SOF₄) a 1-bromethen-1-sulfonyl fluorid (BESF).³⁸ Ale je předpoklad, že tento typ reagentů bude postupem času růst a mnohé nové typy budou vyvinuty.

2.3.2.1 Příklad využití SuFEx v chemické biologii

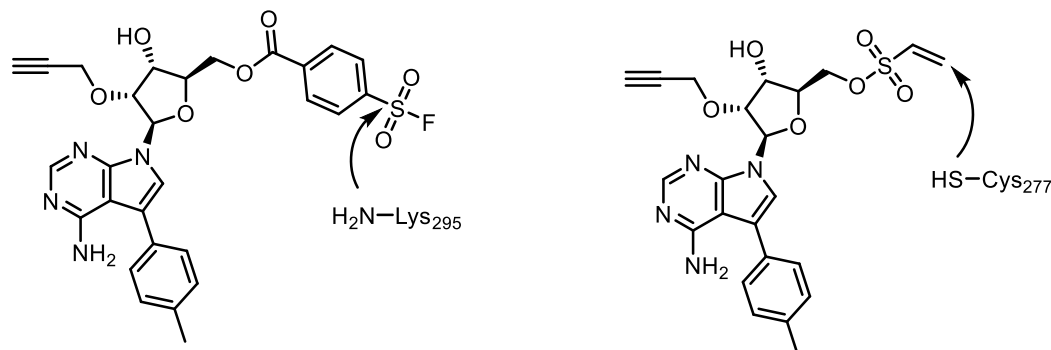
Fahrney a Gold v roce 1963 zkoumali aktivitu několika sulfonyl fluoridů na sadě esteráz (acetylcholinesteráza, α -chymotrypsin a trypsin), poté identifikovali vysoce reaktivní fenylmethylsulfonylfluorid (PMSF) jako nespecifický inhibitor serinové proteázy. Od tohoto objevu, dva sulfonyl fluoridy (PMSF, AEBSF (4-(2-aminoethyl)benzen sulfonyl fluorid, Obrázek 15) začaly být široce využívány v biochemii a buněčné biologii jako nespecifické inhibitory serinových proteáz v proteáz-inhibitorových koktejlech k

zamezení degradace buněčných lyzátů bílkovinami. PMSF je nestabilní ve vodě, zatímco AEBSF je stabilnějším analogem k PMSF. PMSF reaguje stechiometricky s α -chymotrypsinem a produkuje neaktivní monosulfonylovaný enzym a jeden ekvivalent volné kyseliny. Titrace enzymu inhibitorem vede k téměř úplné inaktivaci, pokud je přítomno ekvivalentní množství inhibitoru. Nevratně inhibovaný chymotrypsin a chymotrypsinogen nereagují a ani neinteragují s dalšími inhibitory, jestliže jsou k nim přidány.³⁹



Obrázek 15. Nespecifické inhibitory serinových proteáz **PMSF** a **AEBSF**

Taunton a spol. prokázali vysokou selektivitu aryl sulfonyl fluoridů k nukleofilům v aktivním místě proteinkináz z rodiny Src. Označené molekuly sulfonyl fluoridů reagovaly výhradně s katalytickým lysinem (Lys²⁹⁵), zatímco označené molekuly vinyl sulfonátu reagovali s blízkým cysteinem (Cys²⁷⁷) (Obrázek 16). Vědci také ukázali schopnost konkurenčního profilování těchto dvou sond oproti podmožinám kináz nacházejících se v živých buňkách.⁴⁰



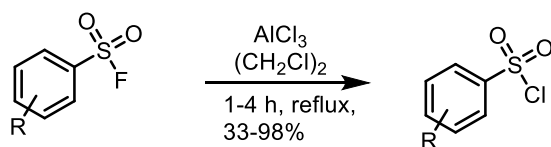
Obrázek 16. Reaktivita sulfonyl fluoridových sond v aktivním místě proteinkinás rodiny Src

2.4 Click Chemistry

Click Chemistry (CC)⁴¹ se zabývá procesy chemických reakcí, které fungují za provozně jednoduchých podmínek, které jsou velice tolerantní vůči O₂ a H₂O. Základním postulátem CC je, že při reakcích musí být vytvořeny produkty ve vysokých výtěžcích a s minimálním požadavkem na čištění (kvazi neexistující vedlejší produkty). Tyhle reakce mají vždy neobvyklou kombinaci silných hnacích termodynamických sil (více než 20 kcal/mol) a dobře kontrolovatelných reakčních mechanismů. Díky těmto schopnostem

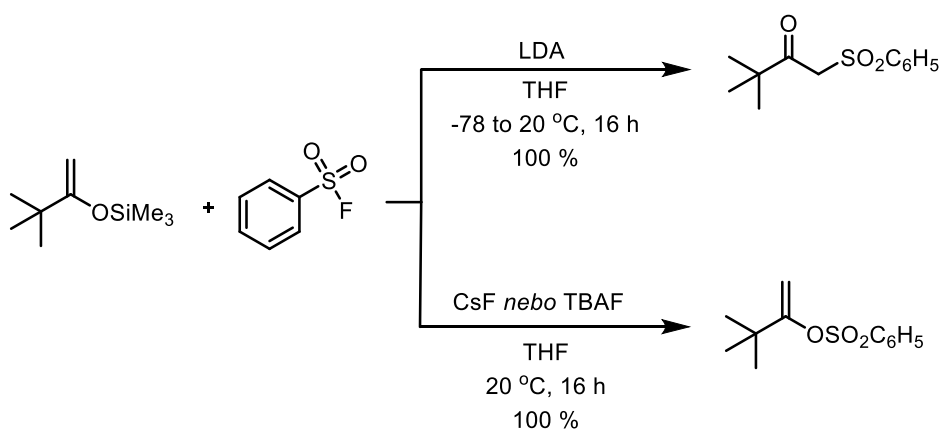
je možné je využít na značném množství různých substrátů. CC většinou značně akcentuje tvorbu vazeb mezi uhlíkem a heteroatomem. CC tak umožnila transfer mnohých čistě organických reakcí (myšleno prováděných v „baňkách“) do oblastí biologie, medicíny a materiálové vědy. Důvodem je, že tento typ reakcí lze provádět nejenom selektivně, ale také např. *in vivo* přímo v buňkách. Obecně je ovšem velice obtížné najít vhodné funkční skupiny anebo experimentální podmínky, které by umožňovali selektivní „click“ reakci. Shrnutí podtrženo: CC reakce musí být rychlé, spontánní a musí probíhat s vysokými výtěžky.³²

Mezi tento typ reakcí patří například Huisgenova cykloadice anebo, v rámci SuFEx typu reakcí, Halexová reakce (Obrázek 17). Pomocí této reakce dochází k přeměně stabilních aromatických sulfonyl fluoridů na reaktivní sulfonyl chloridy.⁴²



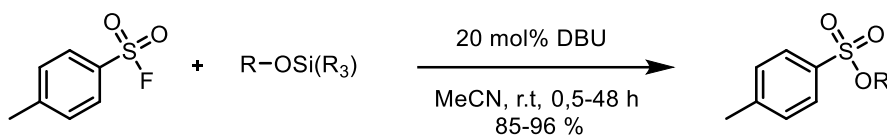
Obrázek 17. Halexová reakce

Reaktivita SF se silyl enoláty (Obrázek 18) se ukázala velmi selektivní a C nebo O alkylace může být při těchto reakcích dosaženo v závislosti na reakčních podmínkách. C sulfonylace probíhá za předpokladu, že se *in situ* TMS-enol ether přesmykne Brookovým přesmykem na C-silyl keton, který následně reaguje se sulfonyl fluoridem. K O sulfonylaci pak dojde pokud se využije CsF (fluorid cesný) anebo TBAF (tetrabutylamonium fluorid) k aktivaci silylové funkční skupiny. U obou těchto reakcí vznikají produkty s vysokým výtěžkem a hnací silou je tvorba termodynamicky stabilní vazby Si-F.⁴³



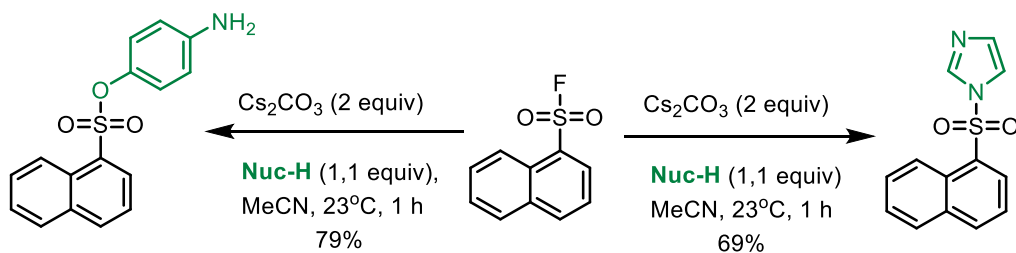
Obrázek 18. Reaktivita sulfonyl fluoridů se silyl enolátem. Selektivní tvorba C-S anebo O-S vazby

Vazba S-F v sulfonyl fluoridech může být také aktivována pro CC reakci pomocí vodíkové vazby. Těto schopnosti vazby S-F se využívá například při enzymatických reakcích, kde sulfonyl fluoridy interagují s nukleofilními aminokyselinami za vzniku kovalentních aduktů, anebo jsou při reakcích aktivovány pomocí silylové skupiny (často je využíván TBS - *tert*-butyldimethylsilylová skupina). Při těchto reakcích vznikají odpovídající sulfonamidy nebo sulfonové estery (Obrázek 19).⁴⁴



Obrázek 19. Syntéza sulfonátových esterů ze sulfonyl fluoridu

Reakce sulfonyl fluoridů s aromatickými pětičlennými aminy (např. imidazolem a pyrazolem) za přítomnosti Cs_2CO_3 vede ke vzniku sulfonamidů (Obrázek. 20). Pokud ponecháme reagovat odpovídající hydroxyanilin, produktem reakce budou sulfonátové estery. Vzniklé produkty jsou izolovány ve vysokých výtěžcích.¹²



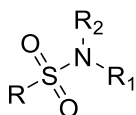
Obrázek 20. Syntéza sulfonových esterů a sulfonamidů ze sulfonyl fluoridů

No ale abychom se vrátili zpět na úplný počátek. První popsanou reakcí nesoucí označení CC reakcí byla Cu(I) katalyzovaná azid-alkyn cykloadiční reakce (CuAAC, 2002), která produkovala odpovídající triazolový produkt. CuAAC je bezpochybně jednou z nejlepších kondenzačních reakcí s neuvěřitelně širokou všestranností a aplikabilitou, která ji přinesla značného rozšíření do všech oblastí výzkumu počínaje materiálovou vědou až po medicínskou chemii. Je zajímavé, že i když tato reakce zde byla již od poloviny 20. století (Huisgen), tak ji syntetiční chemici nevěnovali téměř žádnou pozornost, neboť se obávali nestability azidických prekurzorů. I tak se tato reakce od počátku 21. století prosadila, protože umožňuje rychlou a regioselektivní reakci umožňující tvorbu triazolových heterocyklů (zavedení tříatomového linkeru). Navíc při této reakci naprosto chybí jakékoliv vedlejší produkty a výchozí látky (azidy) jsou velmi stabilní vůči H_2O a O_2 .⁴⁵

2.5 Sulfonamidy

V přírodě byla nalezena jen hrstka sloučenin obsahujících sulfonamidovou funkční skupinu. Sulfonamidy jsou ale velice populární mezi syntetickými chemiky, kteří pracují na návrhu a syntéze biologicky aktivních sloučenin ve farmaceutickém a agrochemickém průmyslu.⁴⁶

Sulfonamidická funkční skupina $S=(O)_2N(R)_2$ (Obrázek 21) je v podstatě sulfonová skupina připojená k aminové skupině. Obecně vzato je tato skupina nereaktivní. Vazba S-N se štěpí jen velice obtížně. A vzhledem k rigiditě sulfonamidické funkční skupiny jsou sulfonamidy typicky krystalické látky. Z tohoto důvodu se využívá příprava sulfonamidů k identifikaci aminů (identifikace *via* bod tání).

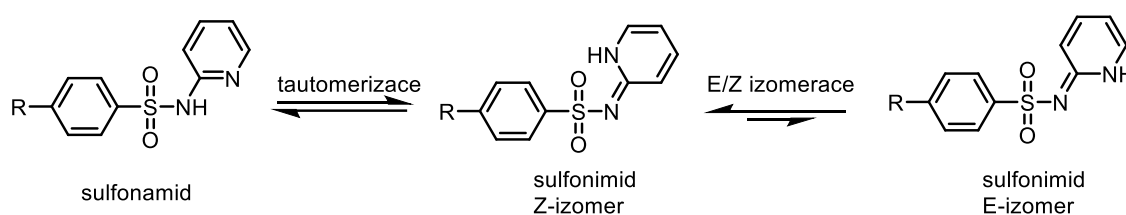


Obrázek 21. Struktura sulfonamidu

Sulfonamidy jsou široce využívané a vyhledávané bioisostery v medicíně. Bioisostery jsou chemická analoga jiných funkčních skupin, jež mají podobné fyzikálně-chemické vlastnosti jako nahrazovaná skupina (vyvolávají stejnou biologickou aktivitu/interakce), ale obecně jsou metabolicky stabilnější. Obecně isostery jsou molekuly nebo ionty s podobným tvarem a často i podobnými elektronovými vlastnostmi. Bioisostery bývají rozpoznávány a přijímány tělem, ale jejich funkce je v těle ve srovnání s původní molekulou pozměněna. Koncept isosteru byl formulován Irvingem Langmuirem v roce 1919.⁴⁷ Hans Erlenmeyer rozšířil tento koncept na biologické systémy v roce 1932.⁴⁸ Jako zajímavý koncept bioisosterie se ukázaly aza analogy šestmocných derivátů síry. Sloučeniny obsahující sulfonamid se v medicínské chemii po dlouhou dobu široce používají například jako antibiotika, diuretika a antivirotika a lze je považovat za bioisostery amidů s lepší stabilitou vůči proteolytické hydrolyze v plazmě a ve střevech. Obdobně jsou acylsulfonamidy široce používány jako bioisostery karboxylových kyselin ke zlepšení farmakologických vlastností, jako je vazba na plasmatické bílkoviny a propustnost.⁴⁶

Sulfonamidy jsou důležitou třídou sloučenin s různými terapeutickými účinky. *N*-heterocyklické aren sulfonamidy (NHAS) patří do speciální třídy látek s různými biologickými aktivitami, jako jsou antimikrobiální, antidiabetické, antiobezitní, vazodilatační, anti-HIV, protirakovinné a antialergické aktivity. Molekuly NHAS

vykazují tautomerii sulfonamidu se sulfonimidem (Obrázek 22). Oba tyto tautomery jsou pravděpodobně stejně důležité pro terapeutickou aplikaci těchto látek. Rovněž neexistuje jasná informace o rozdílech v chemické reaktivitě mezi těmito dvěma tautomery. Sulfonimidové tautomery jsou uznávány pro různé aplikace, včetně asymetrické syntézy např. derivátů chirálních piperidinů. Možnost tautomerie sulfonamidu a sulfonimidu byla zkoumána mnoha různými metodami a *in silico* pomocí metody DFT metod (DFT – density functional theory). Rozdíl energií mezi těmito dvěma tautomery byl v plynné fázi malý (< 6 kcal/mol), a sulfonamidový tautomer byl upřednostňován. Avšak se zvýšením polaroty rozpouštědla se v mnoha příkladech zvýšila preference vůči sulfonimidovým tautomerům.⁴⁹



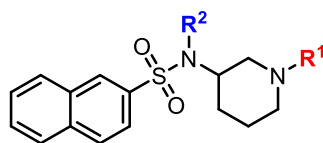
Obrázek 22. Tři možné izomery NHAS

2.5.1 Sulfonamidy v medicíně

Od roku 1935, kdy bylo Gerhardem Domagkem objeveno azobarvivo Prontosil,⁵⁰ začala „zlatá éra“ sulfonamidů v medicíně. Z historického kontextu: Domagk dostal od svých kolegů Mietzscha a Klarera azobarvivo s číslem KL695. Domagk na tomto azobarvivu dělal různé substituce a jednotlivé produkty zkoušel na myších, které byli infikovány streptokokem. Až vzniklý produkt číslo KL730 jevil antibakteriální efekt. Později dostala tato sloučenina název Prontosil. Domagk strávil další tři roky objevováním přesných antibakteriálních vlastností Prontosilu a za tento objev obdržel dokonce Nobelovu cenu. A od té doby se rozšířilo využití sulfa-léků do všech oblastí medicíny. Často se uznává, že sulfonamidová skupina má obdobnou reaktivitu jako sulfony, sulfoxidy a sulfonátové estery. Ale mezi těmito typy funkčních skupin existují mnohé kontrasty, ať již spojené s jejich reaktivitou nebo biologickými vlastnostmi.⁵¹

V uplynulé dekádě došlo k rozsáhlému posunu v léčbě demence a Alzheimerovy nemoci a použití derivátů sulfonamidů má v tomto posunu mnoho na svědomí. V návaznosti na práci Bowerse a spol.⁵² se stali *N*-můstkové bicyklické sulfonamidické inhibitory γ -sekretázy novými kandidáty na úspěšná léčiva proti Alzheimerově nemoci. Pozornost vědců se zde soustředila na sledování inhibice γ -sekretázy (zabránění akumulace

amyloidu- β) a zároveň na sledování inhibice dvou cholinesterázových enzymů cholinergního systému, které jsou zodpovědné za neurotransmisi a souvisí s pamětí a jinými kognitivními činnostmi. Bylo zjištěno, že hydrolýza neurotransmiteru acetylcholinu (ACh) ukončuje cholinergní neurotransmisi v mozku a je katalyzována acetylcholinesterázou (AChE) a butyrylcholinesterázou (BChE). Akumulace tau a amyloid- β proteinu a oxidační stres pak přispívají ke snížení množství AChE při Alzheimerově nemoci. Z tohoto důvodu se zaměřili na vývoj AChE a BChE inhibitorů. V roce 2016 Košak a spol.⁵³ uvedli několik sulfonamidových derivátů aktivního cymserinového léčiva inhibitoru BChE. Jedna z testovaných sloučenin (Obrázek 23) prokázala, že je nejúčinnějším kandidátem na nový typ léčiva proti lidskému BChE. Tato sloučenina dokázala úspěšně inhibovat aktivitu BChE a zároveň chránit neuronální buňky před toxickými efekty amyloidu- β a měla také nízkou cytotoxicitu a vysokou plasmatickou vazbu (dlouhý poločas rozpadu v lidské plasmě).

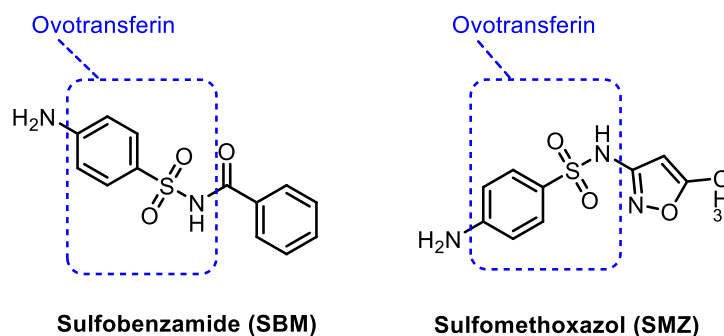


R^1 = benzyl, 2,3-dihydro-1H-inden-2-yl

R^2 = $(CH_2)_nOCH_3$, $n = 2, 3$, CH_2NCH_3

Obrázek 23. Struktura kandidáta na inhibitory AChE a BChE odvozených od sulfonamidu

Dalším důležitým využitím sulfonamidů je jejich využití jako antimikrobiálních léčiv. Důležitými faktory, jimiž se vědci řídí při vývoji sulfonamidů jako antibiotik, jsou jejich aktivity vůči bakteriálním kmenům, jež se neustále přizpůsobují novým antibiotikům. Nevýhodou sulfa-léků je pak jejich nerozpustnost ve vodě, která značně omezuje/komplikuje jejich dávkování, neboť tyto látky mohou např. krystalizovat v ledvinách.¹ Ibrahim a spol.⁵⁴ ukázali, že sulfa-léky sulfamethoxazole (SMZ) a sulfobenzamid (SBM) mohou interagovat s ovotransferinem (Obrázek 24), transferinovými proteiny. Takto cílené molekuly měli mnohem vyšší šanci se dostat na místo určení, a mohlo tak dojít ke snížení jejich administrované dávky. Sulfa-léky se zaměřily přímo na cílené patogeny, když byly použity jako antimikrobiální léky. Tato kombinace byla testována na známých cílových sloučeninách triclosanu (TCS) a antimikrobiálních látkách, které inhibují syntézu mastných kyselin inhibicí enoyl-ACP reductázy. V tomto případě došlo k zesílení pozorované antimikrobiální aktivity.



Obrázek 24. Struktury SBM a SMZ antibiotik spojené s ovotransferinem

Chinolinové a isochinolinové deriváty sulfonamidických skupin spolu s dalšími typy sulfonamidů byly také zkoumány pro jejich potenciál jako cílená psychotika. V poslední době byly popsány nové azinsulfonamidické deriváty cyklických aminů s „multitarget“ vlastnostmi. Podrobnou SAR analýzou byl (*S*)- 4((2-(4-(benzothiofyrn-4-yl)piperazin-1-yl)ethyl)pyrrolidin-1-yl)sulfonyl) isoquinolin vybrán jako potenciální kandidát na léčivou látku. „Multitarget“ vlastnosti molekuly byly zkoumány testováním parciálního agonismu 5-HT_{1A}R, antagonismu 5-HT_{2A}/5-HT₇/D₂/D₃R a blokováním SERT, což snížilo pozitivní a negativní příznaky psychózy. Bylo tedy zjištěno, že tato sloučenina s 4-isoquinolyl a benzoisoxazolem má vyšší aktivitu pro parciální agonismus 5-HT_{1A}R a antagonismus k 5-HT_{2A}/5-HT₇/D₂/D₃R a ve srovnání s jinými členy knihovny vykazovaly také mnohem nižší toxicitu.⁵⁵

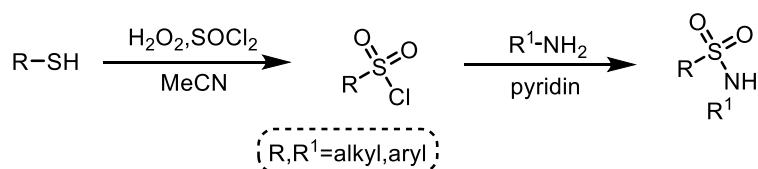
Sulfonamidové deriváty s „multitarget“ vlastnostmi byly také použity u jiných komplexních onemocnění jako například při léčbě mnohočetných nádorů. V roce 2010. Marques a spol.⁵⁶ reportovali použití konjugátu pteridin-sulfonamidu jako protinádorového léčiva se schopností inhibovat jak karbonanhydrázy, tak i dihydrofolát reduktázy. Dále pak testovali diaminopteridin benzosulfonamidové deriváty proti buněčným plicním karcinomům A549 a karcinomu prostaty PC-3. Později byly některé deriváty thioureido benzosulfonamidu testovány *in vitro* na různé protinádorové aktivity a bylo zjištěno, že dvě velmi účinné sloučeniny vykazují ještě vyšší aktivity vůči různým buněčným liniím lidské rakoviny než doxorubicin, známý protinádorový lék. V poslední době Sabt a spol.⁵⁷ vyvinul užití kumarin-6-sulfonamidů v kontextu jejich apoptotických a antiproliferálních účinků. Testované protinádorové *in vitro* aktivity na třech typech rakovinných buněčných linií HepG2 (hepatocelulární karcinom), MCF-7 (rakovina prsu) a Caco-2 (rakovina tlustého střeva) pak ukázali, že některé z testovaných molekul jsou aktivní na všech třech buněčných liniích.

Podle nedávných studií mohou mít sulfonamidové deriváty metforminu taktéž antikoagulační a antifibrinolytické vlastnosti, a proto je lze testovat při vývoji potenciálních kandidátů na léčbu nemoci diabetes mellitus typu 2 (T2DM), který je nejen omezen obvyklými známkami hyperglykémie, ale také jeho narušenou rovnováhou mezi koagulací a fibrinolýzou. Ji a spol.⁵⁸ připravili řadu acylsulfonamidových derivátů chinoxalinonu a prokázali silnou „multitarget“ inhibici aldózreduktázy (ALR2) a aledhydreduktázy (ALR1). Tento vývoj je důležitý pro léčbu diabetes mellitus, protože ALR2 je enzym určující rychlost, kterou je glukóza fosforylovaná za euglykemických podmínek. U pacientů s metabolickou acidózou, hyperglykemií a zvýšeným obsahem ketolátek v krvi dochází ke glykemickým stavům, i když mají hladinu glukózy v séru stále v normálních mezích.

2.6 Příprava sulfonamidů

Vzhledem k široké použitelnosti sulfonamidů je stále žádoucí nacházet nové obecné metody jejich syntézy, tudíž pro syntetické chemiky je toto téma stále zajímavé. K dnešnímu dni je známa spousta metod přípravy sulfonamidů. Niže pár metod shrnu.

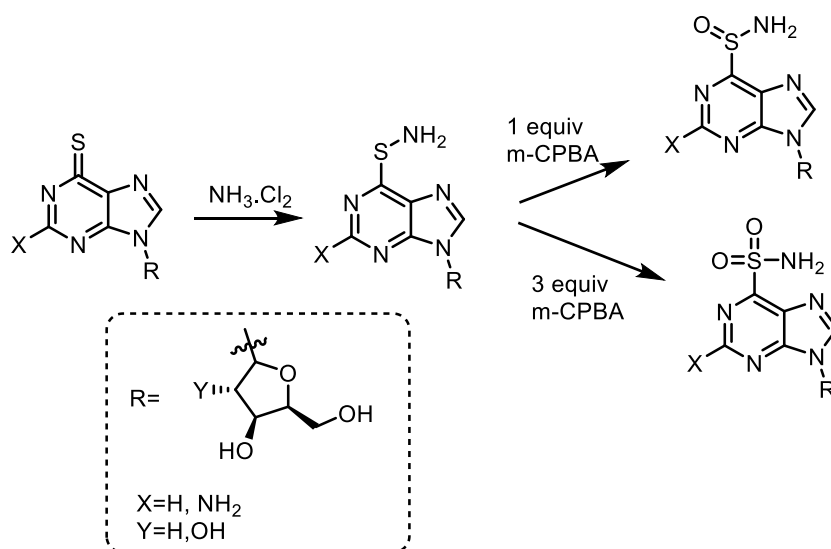
Nejtypičtějším způsobem přípravy sulfonamidů je sulfonylace aminů chloridy v přítomnosti báze. Tato metoda zahrnuje nukleofilní atak amoniaku, primárního nebo sekundárního aminu se sulfonylchloridy v přítomnosti báze. I když je tato metoda velice efektivní, vyžaduje dostupnost některých sulfonylchloridů, které jsou někdy obtížně skladovatelné anebo je problém s nimi manipulovat. Na druhé straně mohou být sulfonylchloridy připraveny z odpovídajících thiolů pomocí řady metod, běžně probubláváním plynného chlóru roztokem vodné kyseliny nebo přes směs obsahující thiol. Sulfonylchloridy se připravují také zpracováním sulfonové kyseliny s chloračními činidly, jako je SOCl_2 , POCl_3 , anebo PCl_5 . Nedávno došlo k přímé oxidační přeměně thiolů na sulfonamidy s pomocí H_2O_2 a SOCl_2 (Obrázek 25),⁵⁹ kde jsou sulfonamidy získány ve vynikajících výtěžcích a za velmi krátkých reakčních dob.



Obrázek 25. Přeměna thiolu na sulfonamid přes sulfonyl chlorid

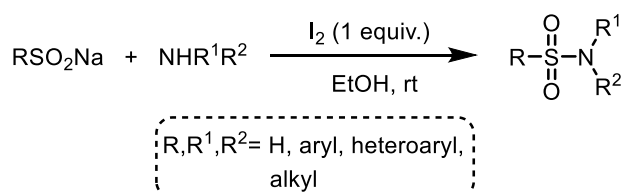
Další inovativní příklad syntézy sulfonamidů je ilustrován syntézou 2-amino-9H-purin-6-sulfonamidu. Revankar a spol.⁶⁰ nejprve provedli transformaci thiopurinu v přítomnosti

chloraminu (chloramin byl připraven z komerčně dostupného chlornanu sodného (clorox) a roztoku hydroxidu amonného) za laboratorní teploty. Vzniklý sulfenamid byl čištěn na chromatografické koloně s výsledným výtěžkem 85 %. Následně se provedla oxidace sulfenamidu (Obrázek 26) pomocí 1.0 ekvivalentu *m*-CPBA (3-chlorobenzoová kyselina) v ethanolu při 0°C a vznikl sulfoxamid s výtěžkem 46 %. Při oxidaci se 3.0 ekvivalenty *m*-CPBA došlo k úplné transformaci na sulfonamid s výtěžností 41 %.



Obrázek 26. Příprava sulfonamidu přes sulfenamid

Yang a spol.⁶¹ připravili sulfonamidy ze solí kyseliny sulfinové pomocí jodem katalyzované oxidace za laboratorní teploty (Obrázek 27). Reakce se zdá být také lehce aplikovatelná na širokou paletu substrátů počínaje různými sodnými solemi sulfinových kyselin, a to včetně aromatických, heteroaromatických nebo alifatických, a také na mnoho aminů (aromatické, heteroaromatické nebo alifatické), přirozeně se vyskytujících amino esterů, anebo dokonce na využití vodného amoniaku.



Obrázek 27. Příprava sulfonamidů pomocí soli kyseliny sulfinové a jodu

2.7 Cíle práce

Cílem našeho výzkumu ve skupině je najít vhodné metody přípravy benzothiazol (BT) sulfonamidů. Náš zájem o tyto látky je zaměřen na jejich biologickou aktivitu stejně jako na možnost je využít jako H-bonding akceptory v organické syntéze.

V naší skupině se již podařilo navrhnout přípravu BT-sulfonamidů, která se ale ukázala jako nevhodná pro *N*-aryl substituované sloučeniny. Proto jsme chtěli zkusit přípravu tohoto typu produktů z BT-sulfonyl fluoridů, jelikož bylo zjištěno, že BT-sulfonyl fluoridy jsou narozdíl od BT-sulfonyl chloridů stabilní za laboratorní teploty. Za normálních okolností se převážně při syntéze sulfonamidů vychází ze sulfonyl chloridů. Reakce sulfonyl fluoridu s aminy spadá do SuFEx protokolu, kdy se jedná o rychlé a selektivní reakce s vysokými výtěžky. Takže (1) prvním cílem je příprava výchozí látky BT-sulfonyl fluoridu ve vysokém výtěžku, (2) takto připravený sulfonyl fluorid pak měl být ponechán reagovat s různými aminy. Rozsah a aplikabilita vyvinutých podmínek tak měla být ohodnocena.

3 Experimentální část

3.1 Obecné informace

Veškeré reakce byly prováděny v bezvodém prostředí v aparaturách žíhaných plamenem pod neustálým pozitivním tlakem inertního plynu (argon). Veškerá rozpouštědla použitá pro reakce byla, jestliže není uvedeno jinak, zbavena přítomné vlhkosti pomocí standartních sušících kolon dle protokolu vyvinutého H. C. Grubsem a jeho spolupracovníky.⁶²

Pro sloupcovou chromatografii (CC) bylo využito silikagelu jako stacionární fáze a směsi petrolether (P.E.):EtOAc (V/V) jako mobilní fáze. Při dělení sloupcovou chromatografií bylo použito postupného gradientu, kdy polárnější frakce mobilní fáze byla skokově přidávána do mobilní fáze (například dle následujícího postupu: P.E.:EtOAc=20:1->10:1->4:1->2:1). Eluované frakce byly jímány po 5 - 30 mL frakcích a jejich obsah byl monitorován pomocí TLC. Frakce obsahující stejný produkt byly spojeny a následně odpařeny na rotační vakuové odparce (RVO).

K měření NMR spekter byl použit spektrometr JEOL ECA400II pracující při frekvenci 399,78 MHz (¹H) a 100,53 MHz (¹³C). Měření byla prováděna za laboratorní teploty, přičemž vzorky byly rozpuštěny a následně měřeny v jednom z následujících rozpouštědel: aceton-d₆, DMSO-d₆ anebo CDCl₃. Chemické posuny zbytkového signálu nedeuterovaného, resp. ne zcela deuterovaného rozpouštědla sloužily ke kalibraci měřených ¹H NMR spekter. Chemické posuny zbytkových nedeuterovaných resp. částečně nedeuterovaných rozpouštědel v daném rozpouštědle jsou následující: aceton-d₆ (2,17 ppm); DMSO (2,50); CDCl₃ (7,27 ppm).⁶³ Ve spektrech ¹³C bylo využito ke kalibraci charakteristického signálu atomu ¹³C substituovaného atomy vodíku ²H. Chemické posuny jsou následující: aceton-d₆ (29,84 ppm, prostřední signál); DMSO-d₆ (39,52 ppm, prostřední signál); CDCl₃ (77,23 ppm, prostřední signál). Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na přístroji značky Waters (Q-TOF MICRO). Elementární analýzy byly provedeny na přístroji EA1112 Flash analyser (Thermo-Finnigan). Teploty tání byly měřeny na přístroji SMP 30 (Stuart[®]) a jsou nekorigovány. Průběh reakcí byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC) na silikagelu. Pro tento typ operace byly použity aluminiové desky pokryté silikagelem 60 SIL G/UV²⁵⁴

s fluorescentním indikátorem (Machery-Nagel nebo Sigma-Aldrich). Jednotlivé sloučeniny přítomné v reakční směsi byli dále vizualizovány pomocí vizualizačních roztoků.

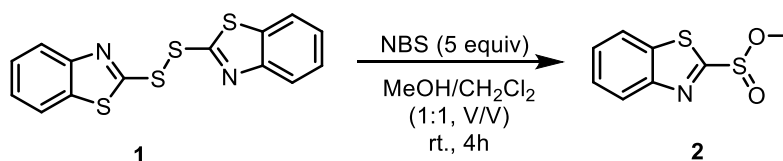
3.1.1 Vizualizační roztoky pro TLC

Metody přípravy:

- Zásaditý roztok KMnO_4 byl připraven rozpuštěním 9 g KMnO_4 a 20 g K_2CO_3 ve 150 mL 10% NaOH .
- Vanilinový roztok byl připraven rozpuštěním 2 g vanilinu ve 100 mL ethanolu obsahující 1 mL koncentrované H_2SO_4 .
- Roztok p-anisaldehydu byl připraven rozpuštěním 2,5 mL koncentrované H_2SO_4 a 15 mL p-anisaldehydu v 250 mL 95% ethanolu.

3.2 Reakční cesta k přípravě BT-sulfonyl fluoridu

3.2.1 Příprava sulfinového esteru 2



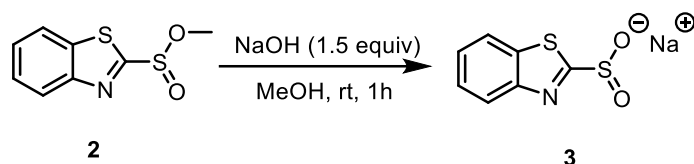
Disulfid **1** (2 g, 6,02 mmol, 1.0 equiv) byl rozpuštěn v MeOH (25 mL) a CH_2Cl_2 (25 mL) za laboratorní teploty. NBS (5,36 g, 30,01 mmol, 5.0 equiv) byl přidán do reakční směsi v deseti porcích. Směs byla ponechána za l.t. míchána na elektromagnetické míchačce. Reakční směs přecházela ze žluté do oranžové suspenze, až nakonec vznikl čirý oranžový roztok, tento přechod trval 4 hodiny. Reakce byla po celou dobu míchána v baňce bez víčka. Po uběhnutí reakce byl do směsi přidán nasycený roztok NaHCO_3 (25 mL) na ukončení reakce. Reakční směs byla poté extrahována pomocí CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organická fáze byla poté promyta přesyceným roztokem NaCl (25 mL). Pak byla organická fáze dosušena pomocí MgSO_4 , zfiltrována a odpařena na RVO. Surový produkt byl tmavě oranžová olejovitá látka. Výťažnost surového produktu byla v kvantitativním množství >99 %, hmotnost 2,78 g. Produkt nebyl dostatečně čistý, proto se musela udělat chromatografická kolona (EtOAc/P.E. = 1:3). Výsledný produkt **2** (1.36g, 99 %) byl bílá krystalická látka.

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-*d*) δ 8.19 – 8.17 (m, 1H), 8.03 – 8.00 (m, 1H), 7.62 – 7.52 (m, 2H), 3.75 (s, 3H).

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, Chloroform- d) δ 175.1, 153.8, 136.3, 127.4, 127.3, 125.1, 122.5, 51.5.

HRMS (ESI $^+$) *calcd.* pro $\text{C}_8\text{H}_8\text{NO}_2\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 213.9991, nalezeno 213.9994.

3.2.2 Příprava soli 3

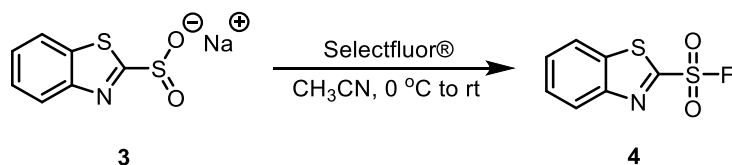


Ester **2** (1,34 g, 6,28 mmol, 1.0 equiv) byl rozpuštěn v MeOH (15,7 mL, 0,4 mol/l). Následně byl přidán vodný roztok NaOH (9,42 mL, 1 mol/l, 1.5 equiv). Reakční směs se nechala míchat za l.t. Po 15 minutách byla reakce odreagována (TLC). Reakční směs se dala odpařit na RVO a poté ponechala na lyofilizátoru přes noc. Výsledný produkt **3** byl bílá krystalická látka. Výtěžnost produktu byla 80 %. Hmotnost 1,1 g.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.04 – 8.02 (m, 1H), 7.92 – 7.90 (m, 1H), 7.47 – 7.35 (m, 2H).

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 194.8, 153.9, 134.9, 125.6, 124.9, 122.9, 122.6.

3.2.3 Příprava sulfonyl fluoridu 4



Sůl **3** (1,11 g, 5,02 mmol, 1.0 equiv) byla rozpuštěna v CH_3CN (50 mL) za vzniku krémově bílé suspenze a reakční směs byla ochlazená v ledové lázni (voda/led). Selectfluor $^{\text{®}}$ (3,56 g, 10,04 mmol, 2.0 equiv) byl přidán do reakční směsi a výsledná směs byla míchána ještě 5 minut v ledové lázni. Po 5 minutách byla ledová lázeň oddělena a výsledná směs byla míchána za l.t. další dvě hodiny. Po dvou hodinách byla do reakční směsi přidána voda (50mL). Výsledná směs byla extrahována pomocí CH_2Cl_2 (2 x 25 mL). Organické fáze byly spojeny a protřepány s vodným nasyceným roztokem NaCl (25 mL), dosušeny pomocí bezvodého MgSO_4 , zfiltrány a odpařeny na RVO. Výsledný produkt **4** (1,03g, 73%) byl izolován jako krémově žlutá krystalická látka dostatečně čistá pro další reakce.

B.t. = 87 – 91 °C

^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 8.35 – 8.32 (m, 1H), 8.08 – 8.05 (m, 1H), 7.75 – 7.68 (m, 2H).

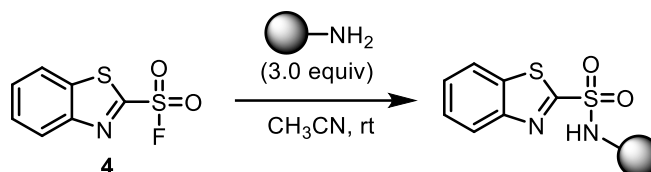
^{13}C { ^1H } NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 156.2 (d, $J=38.02$ Hz), 152.1, 137.2, 129.5, 128.6, 126.5, 122.4.

^{19}F NMR (376 MHz, Chloroform-d) 64.14.

HRMS (ESI $^+$) *calcd.* pro $\text{C}_7\text{H}_5\text{FNO}_2\text{S}_2$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 217.9740, nalezeno 217.9755

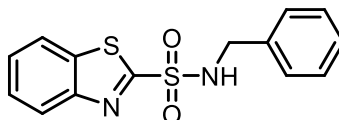
3.3 Příprava sulfonamidů

3.3.1 Obecný postup přípravy



Sulfonyl fluorid **4** (0,2302 mmol, 1.0 equiv) byl rozpuštěn v CH_3CN (2,3 mL, 0,1 M vůči **4**) za laboratorní teploty. Poté byl přidán amin (0,69 mmol, 3.0 equiv). Reakční směs byla míchána přes noc. Po proběhnutí reakce a kontrole na TLC, jestli vznikal výsledný produkt, byla reakční směs dána odpařit na RVO. Poté byla provedena purifikace pomocí sloupcové chromatografie s mobilní fází: P.E./EtOAc.

N-benzylbenzo[d]thiazole-2-sulfonamide (**6**)



6

Chemical Formula: $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$

Exact Mass: 304.03

Molecular Weight: 304.38

Surový sulfonamid **6** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 ; EtOAc/hexane = 1:4) a izolován jako bílá krystalická látka (65 %).

B.t.= 106-110 °C

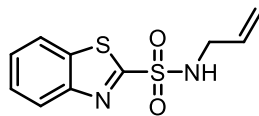
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.17 – 8.14 (m, 1H), 7.99 – 7.96 (m, 1H), 7.62 (ddd, $J = 8.1, 7.2, 1.5$ Hz, 1H), 7.57 (ddd, $J = 7.8, 7.2, 1.4$ Hz, 1H), 5.46 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H), 4.44 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H).

^{13}C { ^1H } NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 166.0, 152.4, 136.5, 135.7, 128.9, 128.3, 128.2, 127.8, 127.6, 125.2, 122.3, 48.2.

MS (ESI), m/z (%): 239 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (100), 303 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (60)

HRMS (ESI $^+$) *calcd.* pro $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 305.0413, nalezeno 305.0412.

N-allylbenzo[d]thiazole-2-sulfonamide (7)



7

Chemical Formula: C₁₀H₁₀N₂O₂S₂

Exact Mass: 254.02

Molecular Weight: 254.32

Surový sulfonamid **7** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂; EtOAc/hexane = 1:1) a izolován jako bílá krystalická látka (72 %).

B.t.= 104-108 °C

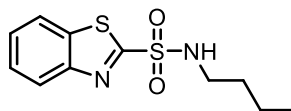
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.16 (ddd, *J* = 8.2, 1.3, 0.7 Hz, 1H), 7.96 (ddd, *J*=7.8, 1.5, 0.7 Hz, 1H), 7.60 (ddd, *J* = 8.0, 7.2, 1.4 Hz, 1H), 7.55 (ddd, *J* = 8.1, 7.3, 1.5 Hz, 1H), 5.79 (ddt, *J* = 17.1, 10.2, 5.9 Hz, 1H), 5.46 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H), 5.24 (dq, *J* = 17.1, 1.5 Hz, 1H), 5.11 (dq, *J* = 10.2, 1.3 Hz, 1H), 3.88 (tt, *J* = 6.0, 1.5 Hz, 2H).

¹³C {¹H} NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 166.2, 152.5, 136.5, 132.6, 127.8, 127.6, 125.2, 122.3, 118.5, 46.6.

MS (ESI), *m/z* (%): 255 [M+H]⁺ (100).

HRMS (ESI⁺) *calcd.* pro C₁₀H₁₁N₂O₂S₂ [M+H]⁺: 255.0256, nalezeno 255.0257.

N-butylbenzo[d]thiazole-2-sulfonamide (8)



8

Chemical Formula: C₁₁H₁₄N₂O₂S₂

Exact Mass: 270.05

Molecular Weight: 270.37

Surový sulfonamid **8** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂; EtOAc/hexane = 1:3) a izolován jako světle žlutá krystalická látka (67 %).

B.t.= 82-86 °C

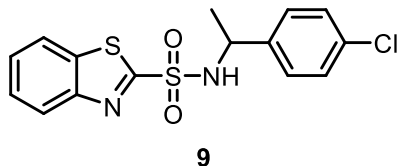
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.18 – 8.16 (m, 1H), 7.99 – 7.96 (m, 1H), 7.56 (ddd, *J* = 8.1, 7.2, 1.4 Hz, 1H), 7.61 (ddd, *J* = 8.2, 7.2, 1.4 Hz, 1H), 5.18 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H), 3.25 (td, *J* = 7.1, 6.1 Hz, 2H), 1.58 – 1.51 (m, 2H), 1.40 – 1.30 (m, 2H), 0.88 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H).

¹³C {¹H} NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 166.2, 152.5, 136.5, 127.7, 127.6, 125.1, 122.3, 43.9, 31.8, 19.7, 13.6.

MS (ESI), *m/z* (%): 271 [M+H]⁺ (100).

HRMS (ESI⁺) *calcd.* pro C₁₁H₁₅N₂O₂S₂ [M+H]⁺: 271.0569, nalezeno 271.0569

N-(1-(4-chlorophenyl)ethyl)benzo[d]thiazole-2-sulfonamide (9)



9

Chemical Formula: C₁₅H₁₃ClN₂O₂S₂

Exact Mass: 352.01

Molecular Weight: 352.85

Surový sulfonamid **9** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂; EtOAc/hexane = 1:10) a izolován jako nažloutlá krystalická látka (24 %).

B.t.= 120-122 °C

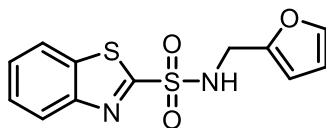
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.07 (ddd, *J* = 8.2, 1.3, 0.6 Hz, 1H), 7.92 (ddd, *J* = 7.8, 1.3, 0.6 Hz, 1H), 7.60 (ddd, *J* = 8.2, 7.2, 1.4 Hz, 1H), 7.55 (ddd, *J* = 8.4, 7.3, 1.3 Hz, 2H), 7.12 (dt, *J* = 8.8, 2.0 Hz, 2H), 7.05 (dt, *J* = 8.9, 2.4 Hz, 2H), 5.74 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 4.77 (p, *J* = 7.0 Hz, 1H), 1.53 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H).

¹³C {¹H} NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 166.6, 152.3, 139.9, 136.6, 133.7, 128.7, 127.9, 127.8, 127.6, 125.0, 122.2, 54.2, 23.3.

MS (ESI), *m/z* (%): 351 [M-H]⁻ (100).

HRMS (ESI⁺) *calcd.* pro C₁₅H₁₄ClN₂O₂S₂ [M+H]⁺: 353.0180, nalezeno 353.0179

N-(furan-2-ylmethyl)benzo[d]thiazole-2-sulfonamide (10)



10

Chemical Formula: C₁₂H₁₀N₂O₃S₂

Exact Mass: 294.01

Molecular Weight: 294.34

Surový sulfonamid **10** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂; EtOAc/hexane = 1:1) a izolován jako světle žlutá krystalická látka (45 %).

B.t.= 104-108 C

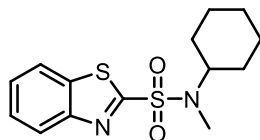
¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.14 – 8.13 (m, 1H), 7.97 – 7.96 (m, 1H), 7.56 (ddd, *J* = 8.3, 7.3, 1.3 Hz, 1H), 7.61 (ddd, *J* = 8.3, 7.2, 1.3 Hz, 1H), 7.17 (m, 1H), 6.16 (dd, *J* = 3.1, 0.7 Hz, 1H), 6.13 (dd, *J* = 3.2, 1.9 Hz, 1H), 5.56 – 5.54 (m, 1H), 4.46 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H).

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 165.9, 152.5, 148.9, 143.0, 136.5, 127.8, 127.6, 125.2, 122.3, 110.5, 109.0, 40.9.

MS (ESI), m/z (%): 229 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (100), 293 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (40)

HRMS (ESI $^+$) *calcd.* pro $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2\text{K}$ $[\text{M}+\text{K}]^+$: 332.9764, nalezeno 332.9767

N-cyclohexyl-N-methylbenzo[d]thiazole-2-sulfonamide (11)



11

Chemical Formula: $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$

Exact Mass: 310.08

Molecular Weight: 310.43

Surový sulfonamid **11** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 ; EtOAc/hexane = 1:3) a izolován jako světle žlutá krystalická látka (22 %).

B.t. = 80-82 °C

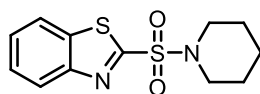
^1H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.18 – 8.16 (m, 1H), 7.97 – 7.95 (m, 1H), 7.59 (ddd, $J = 8.3, 7.2, 1.4$ Hz, 1H), 7.56 – 7.52 (m, 1H), 3.98 (tt, $J = 11.6, 3.8$ Hz, 1H), 2.98 (s, 3H), 1.77 – 1.59 (m, 5H), 1.43 – 1.29 (m, 4H), 1.07 – 0.98 (m, 1H).

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 166.4, 152.8, 136.4, 127.5, 127.4, 125.3, 122.2, 58.1, 30.6, 29.5, 25.8, 25.4.

MS (ESI), m/z (%): 229 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100), 311 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (50)

HRMS (ESI $^+$) *calcd.* pro $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2\text{K}$ $[\text{M}+\text{K}]^+$: 349.0446, nalezeno 349.0441

2-(piperidin-1-ylsulfonyl)benzo[d]thiazole (12)



12

Chemical Formula: $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$

Exact Mass: 282.05

Molecular Weight: 282.38

Surový sulfonamid **12** byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 ; EtOAc/ CHCl_3 = 1:1->0:1) a izolován jako bílá krystalická látka (13 %).

B.t. = 109 – 113 °C

^1H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 8.20 (ddd, $J = 8.2, 1.3, 0.7$ Hz, 1H), 7.98 (ddd, $J = 7.9, 1.4, 0.7$ Hz, 1H), 7.61 (ddd, $J = 8.2, 7.2, 1.4$ Hz, 1H), 7.56 (ddd, $J = 7.9, 7.2, 1.4$ Hz, 1H), 3.40 – 3.37 (m, 4H), 1.71 – 1.66 (m, 4H), 1.56 – 1.50 (m, 2H).

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ NMR (101 MHz, Chloroform-d) δ 164.3, 152.8, 136.4, 127.6, 127.4, 125.3, 122.2, 47.6, 25.4, 23.6.

MS (ESI), m/z (%): 283 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (100).

HRMS (ESI $^+$) *calcd.* pro $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 283.0569, nalezeno 283.0570.

3.4 Biologické testování na anthelmintickou aktivitu

3.4.1 Obecné informace

C. elegans linie a bakterie (Bacteria. Uracil auxotroph. *E. coli*, B. Biosafety Level : BSL- 1) jsou z Caenorhabditis genetic center. *C. elegans* byly izolovány z kompostu poblíž Bristolu v Anglii panem L. N. Stanilandem. Byly pěstovány W. L. Nicholasem a následně kultivovány C.E. Doughertym. Substrát chitinázy a pozitivní kontrola byla z Merck, základní chemikálie byly ve většině případů z LachNer. Kvasnicový extrakt, trypton a pepton byly z VWR. Na stáčení látek se používala centrifuga Jouan BR4i. Všechny operace se prováděly ve sterilním prostředí v horizontálním laminárním boxu pro proudění vzduchu aura HZ 72 T od firmy BIOAIR. Bakterie byly inkubovány v inkubátoru Medline. Inkubátor na kultivaci červů byl použit Q-CELL. Mikroskopy se používaly dva, prvním byl mikroskop Bresser Researcher ICD a druhým mikroskop Leica. Na stočení malých ampulek se používala mini centrifuga od firmy Labnet. Pro pipetování se používala multikanálová mikropipeta Transferpette® S- 12, pipetor SWIFTPET PRO a pipety značky Finnpipette® o různých objemech. Intenzita fluorescence byla měřena na readeru TECAN M200 PRO. Termoshaker byl použit Mixing Block MB-102. Na neustálé protřepávání vzorků se používala třepačka IKA® KS 260 basic.

3.4.2 Složení použitých pufřů a médií

- **M9** : 15 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 3 g KH_2PO_4 , 5 g NaCl , 0.25 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, doplnit ddH₂O (deionizovaná voda) do 1 L, dát autoklávovat
- **Fosfátový pufr (PPB)** : 136 g KH_2PO_4 , Přidat ddH₂O do 900 mL, upravit pH na 6.0 s použitím 5M KOH, doplnit ddH₂O do 1 L, dát autoklávovat
- **Stopové prvky** : 1.86 g Na_2EDTA , 0.69 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.20 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.29 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.016 g CuSO_4 , doplnit ddH₂O do 1 L, dát autoklávovat

- **Citrátový pufr** : 268.8 g citrát sodný, 26.3 g monohydrát kyseliny citronové, doplnit ddH₂O do 900mL, srovnat pH na 6.0 s pomocí 5M KOH, doplnit ddH₂O do 1 L, dát autoklávovat
- **S basal**: 5.9 g NaCl, 50 mL fosfátového pufru (nesterilní), přidat 1 mL cholesterolu (5mg / mL v EtOH), doplnit ddH₂O do 1 L, dát autoklávovat
- **S-complete medium** : Do 1l S basal přidat: 10 mL citrátový pufr (sterilní), 10 mL stopových prvků (sterilní), 3 mL 1M-CaCl₂ (sterilní), 3 mL 1M-MgSO₄ (sterilní)
- **NGM agar (Nematode Growth Medium) (400 mL)** : 1.2g NaCl, 1g Pepton, 7.8g Agar, doplnit ddH₂O do 400 mL, přidat 400 µL cholesterolu (5mg/mL v EtOH), dát autoklávovat. Po autoklávování necháme médium trochu zchladnout a přidáme: 200 µL 1M CaCl₂ (sterilní), 400 µL 1M MgSO₄ (sterilní), 10 mL fosfátový pufr pH 6.0 (sterilní), médium všechno rozlijeme.
- **LB (Lysogeny Broth)** : 10g trypton, 5g kvasnicový extrakt, 10g NaCl, chceme-li pevné médium (15g agar), doplnit ddH₂O do 1 L, dát autoklávovat
- **Mrazící roztok** : 5.85g NaCl, 6.8g KH₂PO₄, 300g glycerol, 5.6 mL 1M NaOH, doplnit ddH₂O do 1 L, dát autoklávovat
- **Roztok na bleaching**: Na 10 mL : 8 mL voda, 1.5 mL roztok NaClO, 0.5 mL 10M NaOH
- **Pufr na chitinásovou assay** : 40g NaOH, 75g glycin, Doplnit H₂O do 1L, srovnat pH na 10.6

3.4.3 Kultivace *C.elegans* na NGM miskách

Nejprve si pomocí křížového roztěru nasadíme na novou LB misku 1 kolonii ze staré misky. Kultivujeme přes noc při 37 °C. Poté nabereme 1 kolonii a pomocí ní infikujeme sterilní tekuté LB medium. Nakonec suspenzi přeneseme do Erlenmeyerovy baňky.

Dále si musíme připravit NGM misky. Nejprve si na Petriho misky rozpipetujeme teplé a tekuté medium. Po zchladnutí a ztuhnutí media přidáme do Petriho misky 100 uL suspenze *E. coli* v LB mediu. Nasazené bakterie rozetřeme pomocí sterilní hokejky, zavěříme misku a chvíli necháme stát v boxu, dokud se medium nevstřebá. Kultivujeme opět buď přes noc při 37 °C nebo dva dny za pokojové teploty.

Poté z misky, obsahující dobře narostlou populaci *C.elegans*, pomocí sterilizovaného skalpelu vyřízneme čtvereček NGM, a tím přeneseme malou část populace na misku s novým zdrojem potravy, kde se mohou dále množit.

Připravíme si bakterie v S-complete. Nejprve si předvážíme centrifugační zkumavky, pak do zkumavek přepipetujeme 50 mL bakteriální suspenze v LB a stočíme (4100 rpm, 15 min). Vymyjeme stěny zkumavky několika mL S basal nebo sterilní vodou a opláchneme i víčko. Poté na buničinu nalejeme 70% EtOH, tímto buničinu sterilizujeme. Přebytečnou tekutinu ze zkumavek a víček potom vyklepneme na tuto sterilizovanou buničinu. Zkumavky necháme v boxu vyschnout, ale nesmí vyschnout peletka, jen nesmí být ve zkumavce viditelné kapky tekutin. Zvážíme zkumavky s mokrou peletkou, odečteme váhu čisté zkumavky a spočítáme váhu peletky. Poté resuspendujeme v takovém množství S-complete, abychom získali suspenzi o koncentraci 60 mg bakterií/mL. Skladuje se to v lednici.

Věková synchronizace *C.elegans* neboli tzv. Bleaching se provádí tak, že populaci s vysokým obsahem dospělých, těhotných jedinců smyjeme pomocí M9 pufru do mikrozkušavek. Mikrozkušavky stočíme (asi 10s). Odpipetujeme co největší množství supernatantu, přidáme 1 mL čerstvě připraveného roztoku na Bleaching a umístíme do termoshakeru, který je nastaven na pokojovou teplotu a nejvyšší otáčky (1500 rpm). Třepeme, dokud nejsou okem vidět červi (obvykle 5-10 minut). Mikrozkušavky stočíme na 10 s, případně déle, pokud není peletka ještě usazená. Odsajeme roztok na Bleaching a 3x promyjeme M9 a pak ještě 1x S-complete. Na závěr přidáme podruhé S-complete, stočíme, odsajeme peletku a přepipetujeme ji do 15 mL zkumavky s 5 mL S-complete. Po tomto Bleachingu jsou přítomny v populaci pouze vajíčka, která necháme vylíhnout přes noc na třepače a druhý den je nakrmíme a použijeme k experimentům. Při kultivaci *C. elegans* nejprve populaci, která je věkově synchronizovaná, přepipetujeme do Petriho misky. Přidáme požadované množství S-complete a bakteriální suspenze. Do experimentu obvykle chceme 3 mg/mL, bakteriální suspenzi v S-complete ředíme 20x. Populace chováme na třepače v tekutém mediu, aby měly dostatečnou distribuci vzduchu.

3.4.4 Hodnocení Anthelmintické aktivity

Nejprve si musíme připravit desky na testování. Začneme tím, že čerstvě vylíhnuté L1 larvy připravené Bleachingem spočítáme. Je potřeba aby v jedné jamce bylo mezi 15-30 červy, to odpovídá 150-300 ks/mL. Pro testování ve dvou koncentracích, tzv. screening potřebujeme 10 mL suspenze na 1 desku s 3 mg/mL bakterií. Suspenzi nachystáme do sterilního rezervoáru, ať se s ní lépe pracuje. Do sloupce 1 a 7 jamkové desky napipetujeme 330 µL suspenze. Do sloupce 4 a 10 napipetujeme 270 µL suspenze. Naše

látky budeme chtít testovat v koncentracích 50 μM a 5 μM , k 330 μL suspenze tedy přidáme 0,33 μL 50 mM zásobního roztoku DMSO (dimethyl sulfoxide). Poslední dvě jamky ve sloupci 7 jsou vyhrazeny pro kontroly. Ivermectin 0,1 μM použijeme jako pozitivní kontrolu (Obrázek 28) a DMSO jako negativní kontrolu (Obrázek 29). Poté pomocí multikanálové pipety přeneseme 30 μL suspenze ze sloupce 1 do sloupce 4 a ze sloupce 7 do sloupce 10. Tímto se látky zředí 10x. Momentálně máme 300 μL otrávené suspenze ve všech 4 sloupcích. Připravíme technický triplikát rozpipetováním 100 μL suspenze do vedlejších sloupců (tzn. ze sloupce 1 půjde 100 μL do sloupce 2 a 3, atd.). Na desku dáme fólii a necháme inkubovat na třepačce po dobu 4 dní, dokud červi nedospějí a nezačnou se množit. Až dospějí, provedeme skórování. Skórování se provádí tak, že desky prohlédneme pod mikroskopem a každá jamka dostane skóre od 1-5 (1-vše je v pořádku, 2- méně potomstva, 3- zpomalení vývoje, 4- zastavení vývoje, 5- vše je mrtvé). Skórování se provádí před provedením chitinázového testu.

Chitinázový test⁶⁴ se provede tak, že desky stočíme (1500 rpm, 2 min), abychom se zbavili kondenzace na fólii. Do desky přidáme substrát pro chitinázu (4- Methylumbelliferyl β -D-N,N',N''-triacetylchitotriosid, 0,8 mM, v -20°C). Přidáme 2,5 μL zásobního roztoku o koncentraci 0,8 mM. Desky necháme inkubovat hodinu při 37°C . Až uběhne inkubační doba přidáme „alkaline buffer“. Desky měříme na TECANu (excitace 360, emise 460, gain 65, horní měření). Naměřené hodnoty vyhodnotíme.



Obrázek 28. Jamka s pozitivní kontrolou Ivermectinem. Jedná se o 4 dny staré červy, kdy je ivermectin (v koncentraci 1 μM) silně paralyzoval, díky čemuž se dále nevyvíjeli a zůstali v L1 larválním stádiu.



Obrázek 29. Populace z negativní kontroly v DMSO. Jedná se o 4 dny staré dospělé a jejich potomky-vajíčka a čerstvě vylíhlé L1 larvální stádium.

4 Výsledky a diskuze

Moje bakalářská práce se dá v podstatě shrnout do jednoho schématu (Schéma 1). Nejprve jsem se pokusila připravit BT-sulfonyl fluorid **4**, který jsem následně nechala reagovat s aminy za vzniku BT-sulfonamidů **6-12**. Bohužel metoda se ukázala být méně obecná, než jsme doufali, a tak jsem nepřípravila dost zajímavých sulfonamidů pro jejich testování na *C. elegans*. Hodilo se mi, že strukturně obdobné BT-sulfonamidy připravil Mgr. Zálešák jiným postupem v rámci své doktorské práce. Tyto připravené sulfonamidy Mgr. Zálešákem jsem poté otestovala na *C. elegans*.

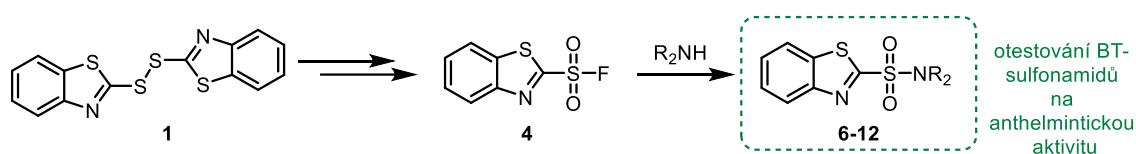


Schéma 1. Obecné schéma pokrývající principiální náplň mé bakalářské práce

Samozřejmě, že cesta nebyla tak snadná a přímočará, jak to popisuji, a proto bych vám její trnitost teď chtěla přiblížit na příštích pár stránkách.

4.1 Syntéza sulfonamidů

4.1.1 Příprava benzothiazol sulfonyl fluoridu 4

Příprava BT-sulfonyl fluoridu **4** vede přes tři kroky. Prvním krokem je příprava prvního meziprojektu sulfinového esteru **2** (Schéma 2), kde je potřebná výchozí látka disulfid **1**. Normálně se pro přípravu látky **2** využívá kyselina sulfinová, sulfinyl chloridy nebo sulfonamidy. Jenomže tyto deriváty síry (IV) nejsou moc komerčně dostupné a ani nejsou zvláště jednoduché na syntézu. Proto obecně nejméně drahé a dostupné organosírové sloučeniny jsou deriváty síry (II), thioly a disulfidy, z nichž jsme jako první výchozí látku zvolili disulfid **1**. Rozhodli jsme se následovat článek, který publikoval Brownbridge a spol.⁶⁵, ve kterém je přímo popsána reakce vzniku sulfinového esteru z disulfidu pomocí NBS (*N*-bromsukcinimid) a alkoholu. Je zde uvedeno, že reakce probíhá až s 90% výtěžností. My jsme smíchali MeOH s CH₂Cl₂ v poměru 1:1 a přidali 5 equiv. NBS. Podle TLC jsme zjistili, zdali vzniká požadovaný produkt a reakci jsme zastavili pomocí NaHCO₃ (neutralizace vznikající HBr). Surový produkt byl izolován po work-upu jako oranžová olejovitá látka. Vzniklý produkt podle NMR nebyl čistý, musela se provést

chromatografická kolona. Čistý produkt **2** vznikal v kvantitatívnom množstve s výtěžností >99 %. Tato reakce probíhala bez problému.

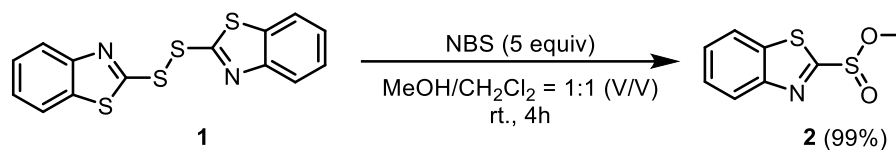
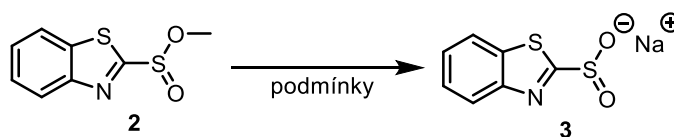


Schéma 2. Příprava látky **2** z disulfidu **1**

Druhým krokem byla příprava soli **3** z látky **2** (Tabulka 1). Nejprve jsme zkusili provést hydrolyzu podle článku od Daye a spol.⁶⁶ Šlo o reakci látky **2** v rozpouštědle THF/H₂O v poměru 1:1 za přídavku 1.0 ekvivalentu NaOH (řádek 1). Je zde uvedeno, že reakce probíhá za vysokých výtěžků a za rychlého reakčního času. Pokusili jsme se tedy přesně dodržet podmínky podle článku, jenomže nám to vůbec nereagovalo. Následně (řádek 2) jsme zkusili zvětšit reakční čas, a nechali jsme reakci probíhat přes víkend. Tato reakce už byla úspěšná, ale stále byla malá výtěžnost 23 %. Následně (řádek 3) jsme nechali stejný reakční čas jako v řádku 2, jen jsme přidali více NaOH. Výtěžnost se výrazně nezlepšila. Poté jsme přidali ještě více NaOH (řádek 4) a reakce již proběhla rychleji ale pouze s výtěžností 30 %. Tyto reakce byly pro nás velice nevýhodné, jelikož jsme potřebovali látku **3** do dalších reakcí. Proto jsme zkusili reakci podle patentu od Coopera a spol.,⁶⁷ kde připravil sulfinát sodný pomocí 1M-NaOH roztoku a MeOH (řádek 5). Uvádí, že reakce probíhá až v 90 % výtěžku. Reakci jsme provedli za stejných podmínek, jak bylo popsáno v patentu, reakce proběhla do hodiny a s výtěžkem 80 %. Výsledný produkt byla bílá krystalická látka.

Tabulka 1. Příprava látky **3** z látky **2**



	Podmínky	Výtěžek [%]
1	NaOH (1.0equiv), THF/H ₂ O, rt., 1 h	>5 %
2	NaOH (1.0equiv) THF/ H ₂ O, rt., 72 h	23 %
3	NaOH (1.4equiv) THF/ H ₂ O, rt., 72 h	25 %
4	NaOH (1.7equiv) THF/ H ₂ O, rt., 14 h	30 %
5 ⁶⁷	1M-NaOH (1.5 equiv), MeOH, 1 h	80 %

Třetím a posledním krokem při přípravě BT-sulfonyl fluoridu **4** je reakce látky **3** se Selectfluorem[®] (Schéma 3). Reakce zprvu probíhá za chlazení, ale pak se odebere

chladicí lázeň a reakce probíhá za laboratorní teploty. Selectfluor[®] nám v této reakci slouží jako donor "F⁺". Výsledný produkt měl výtěžnost 70 % a podle ¹H NMR byl dostatečně čistý, tudíž jej nebylo nezbytné dále čistit před dalším použitím. Tato reakce probíhala bez problému. Výsledný produkt byla světle žlutá krystalická látka.

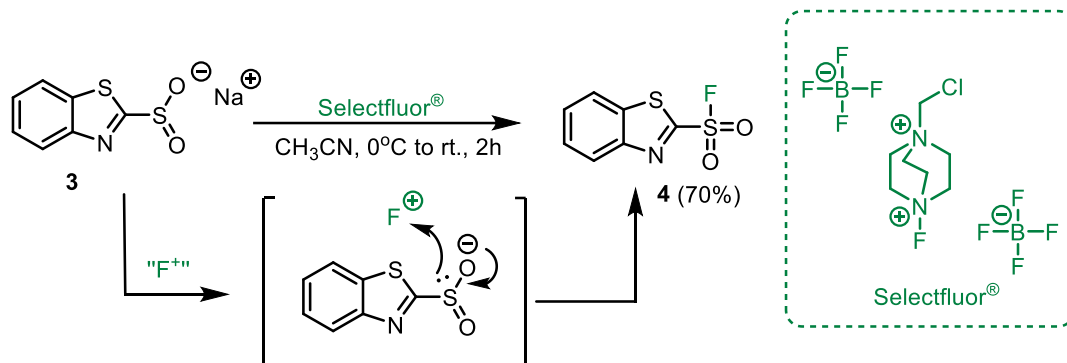


Schéma 3. Příprava BT-sulfonyl fluoridu **4** pomocí selectfluoru[®]

4.1.2 Optimalizace podmínek pro syntézu sulfonamidů

Při syntéze BT-sulfonamidů jsme jako první chtěli nalézt vhodné reakční podmínky pro reakci sulfonyl fluoridu **4** s benzylaminem (Tabulka 2). Zaměřili jsme se na roli rozpouštědla. Vyzkoušeli jsme tyto rozpouštědla: CH₂Cl₂ (řádek 1), CH₂Cl₂ s Et₃N (řádek 2, aktivace pomocí terciálního aminu), CH₃CN s H₂O (řádek 3, aktivace pomocí vodíkové vazby) a čistý CH₃CN (řádky 4-6). Ve všech případech docházelo k úplné konverzi výchozí látky, jenomže místo vzniku námi chtěného produktu u podmínek v řádcích 1-3 vznikaly neidentifikovatelné vedlejší produkty spolu s benzo[d]thiazol-2-olem (**5**). Předpokládáme, že tato látka vznikla při reakci jako vedlejší produkt, kdy pravděpodobně benzyl amin, jakožto nukleofil, atakoval fluoridový atom a následně molekula vody hydrolyzovala takto vzniklý intermediát při zpracování reakční směsi za vzniku látky **5** (Schéma 4).

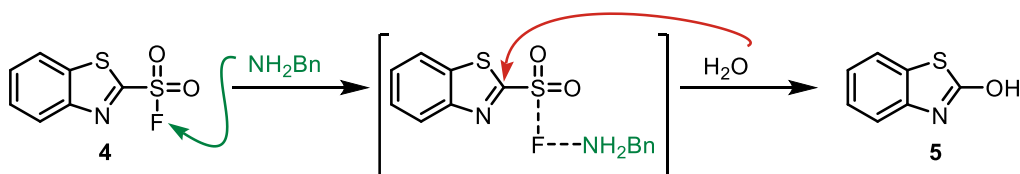
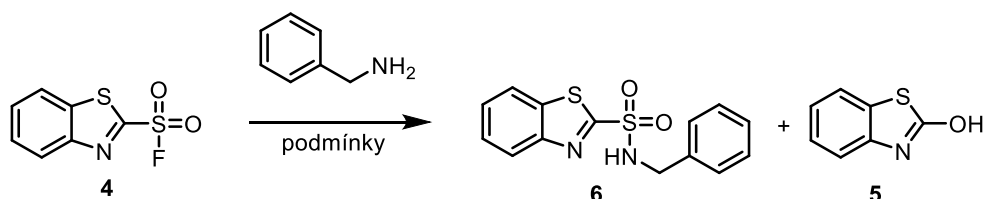


Schéma 4. Předpokládaná vedlejší reakce pozorovaná při kondenzační reakci sulfonyl fluoridu **4** s benzyl aminem

Jako nejlepší se nám tedy jevilo použití CH₃CN jako rozpouštědla, protože pouze v tomto případě nám vznikal cílený produkt **6**. Následně jsme se pokoušeli zvýšit výtěžek této reakce změnou délky reakčního času a ekvivalentů benzylaminu. Nakonec se ukázalo, že pokud budeme provádět reakci při l.t. po dobu 14 h a s 3.0 ekvivalenty benzylaminu,

reprodukovatelně získáme produkt s výtěžkem 65 %. Tyto podmínky znázorněné v řádku 6 se nám tedy jevily jako nejlepší. Jestliže jsme zvýšili reakční čas (řádek 7), ekvivalenty benzylaminu (řádek 8), anebo reakční teplotu (řádek 9), tak produkt nebyl izolován v lepším výtěžku. Nejlepší podmínky (řádek 5) jsme se tedy rozhodli použít jako standartní pro ostatní reakce BT-sulfonyl fluoridu **4** s aminy.

Tabulka 2. Optimalizace reakce sulfonyl fluoridu **4** s benzylaminem



	Benzylamin	Reakční podmínky	Konverze látky 4 [%] ^{a)}	Izolovaný výtěžek látky 6 [%]	Přítomnost látky 5 [%] ^{a)}
1	1.0 equiv	CH ₂ Cl ₂ , r.t., 12h	>99 %	<5 %	~45
2	1.0 equiv	CH ₂ Cl ₂ , Et ₃ N, 0 °C – r.t., 12h	>99 %	<5 %	~55
3	1.0 equiv	CH ₃ CN:H ₂ O (1:1), r.t, 12h	>99 %	<5 %	~50
4	2.0 equiv	CH ₃ CN, r.t., 12h	>99 %	37%	~25
5	3.0 equiv	CH ₃ CN, r.t., 3h	>99 %	38%	~40
6	3.0 equiv	CH ₃ CN, r.t., 14h,	>99 %	65%	~20
7	3.0 equiv	CH ₃ CN, r.t., 24h,	>99 %	64%	n.d. ^{b)}
8	4.0 equiv	CH ₃ CN, r.t., 14h,	>99 %	60%	n.d. ^{b)}
9	3.0 equiv	CH ₃ CN, 40°C, 12h,	>99 %	31%	n.d. ^{b)}

a) Dle ¹H NMR spekter surové reakční směsi

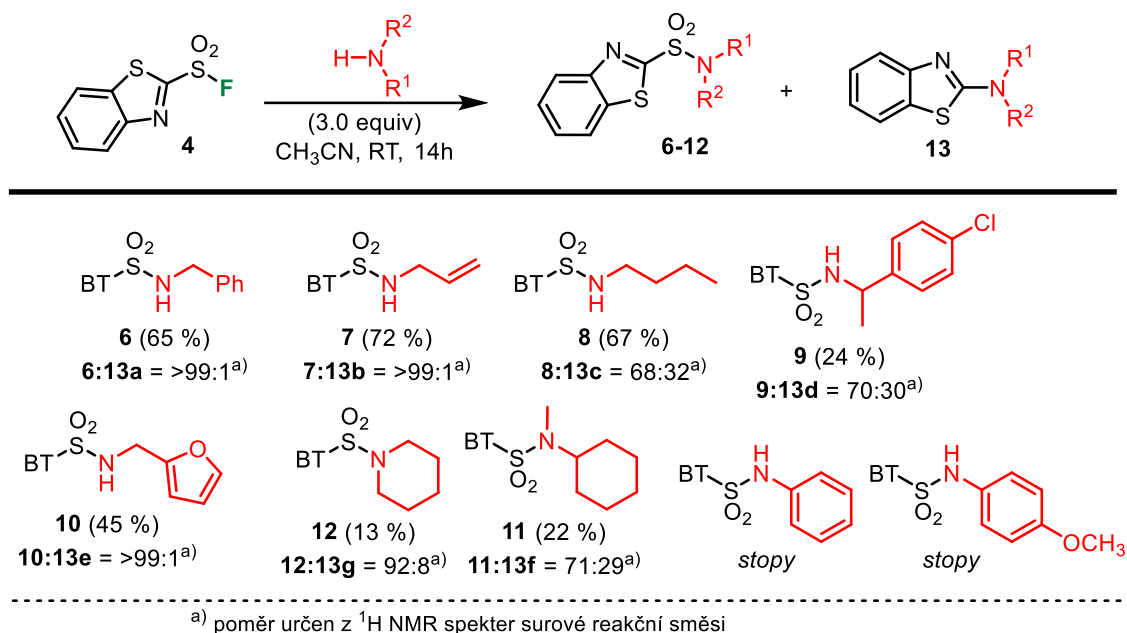
b) n.d. – nebyl detekován

4.1.3 Aplikace optimalizovaných podmínek

Majíce v rukou optimalizované reakční podmínky, rozhodli jsme se je aplikovat na primární, sekundární a aromatické aminy (Tabulka 3). Ukázalo se, že primární α -monosubstituované aminy reagují za těchto podmínek velmi dobře a cílené sulfonamidy byly izolovány v dobrých výtěžcích (látky **6-8**, **10**; 45-72%). Bohužel jsme si také všimli, že jakmile začne narůstat sterická náročnost v okolí aminu, v reakční směsi se začíná tvořit nový vedlejší produkt **13**, který byl na základě typických chemických posunů známých z literatury určen jako přímý adukt aminů na aktivovaný sulfonyl fluorid

4 (Schéma 5). Typicky mají *N*-alkylbenzo[d]thiazol-2-aminy **13** charakteristický pík (triplet. $J \sim 7,6$ Hz) mezi 7,05 a 7,10 ppm v ^1H NMR spektru (pro CDCl_3).⁶⁸ Tento signál pak odpovídá aromatickému atomu vodíku na benzenovém jádře benzothiazolového kruhu.

Tabulka 3. Připravené sulfonamidy



Vznik vedlejšího produktu **13** se pak stal zejména patrným v okamžiku, kdy stericky náročnější α -disubstituované aminy a *N,N*-disubstituované aminy byly reagovány s BT-sulfonyl fluoridem **4**. V tomto okamžiku sulfonamidy **9**, **11** a **12** byly izolovány pouze v 13-24% výtěžcích. Překvapivě poměr vedlejších produktů **13** vzniklých v reakční směsi se nezvýšil, a tedy nám neukrojil z našeho výtěžku. Zbytek látky **4** tak podlehl degradaci. V tomto okamžiku jsme podleli dojmu, že tedy látky **13** pravděpodobně vznikají degradací cílových sulfonamidů přímo v reakční směsi. Abychom otestovali tuto hypotézu, tak jsme ponechali reagovat sulfonamid **8** za daných reakčních podmínek (Schéma 6). Překvapivě jsme zjistili, že sulfonamid **8** je za daných reakčních podmínek stabilní a nedochází k jeho degradaci (látky **8** byla re-izolována v 95 % výtěžku). Následně jsme ještě otestovali využití arylaminů jako substrátů pro naši reakci, ale reakce neprobíhala (možná stopy produktů jsme viděli v ^1H NMR spektrech).

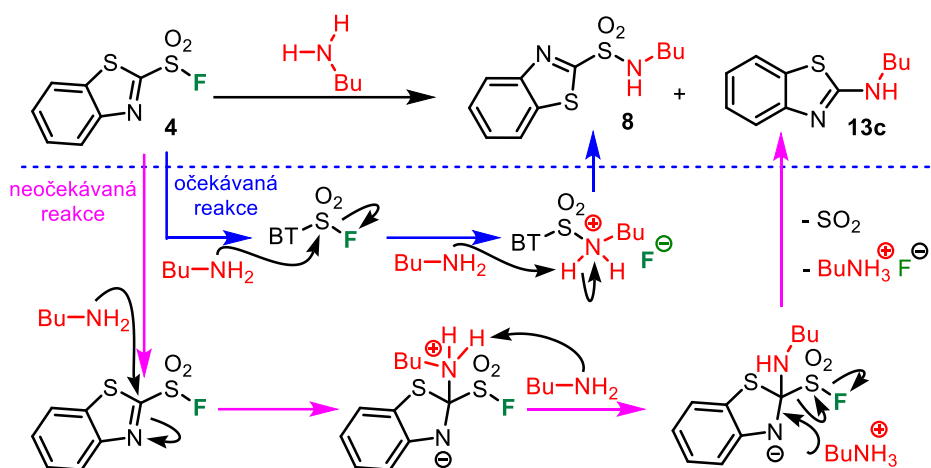


Schéma 5. Navržený mechanismus tvorby neočekávaného vedlejšího produktu **13c**

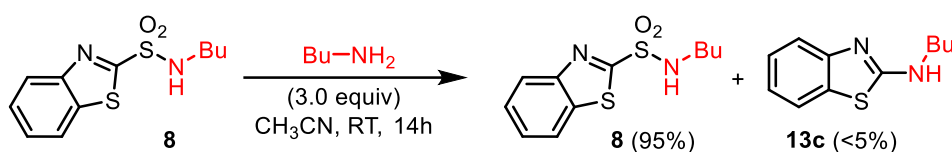


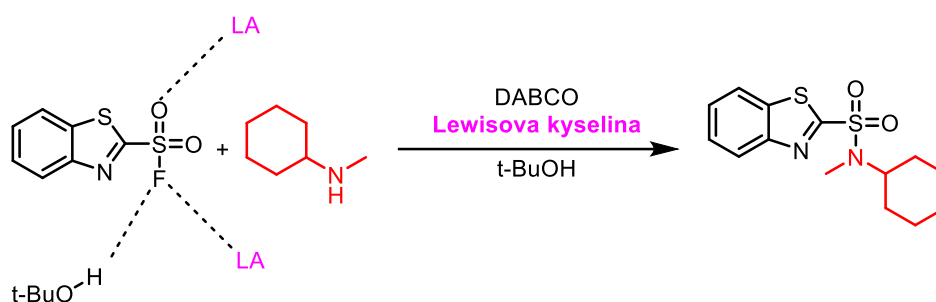
Schéma 6. Testování stability látky **8** za couplingových reakčních podmínek

Protože konverze sulfonyl fluoridu byla >95 % a neviděli jsme po work upu příliš vedlejších produktů, řekli jsme si, že možná problém bude se zpracováním reakčních směsí po reakci (velké ztráty). Proto jsme u reakcí produkující látky **6**, **7** a **8** zkusili provést work up okyselením na $\text{pH} = 2-3$ pomocí 10% HCl a výslednou reakční směs následně extrahovat do CH_2Cl_2 . Výtěžnost reakcí se ale nezvýšila.

4.1.3.1 Vývoj dodatečných alternativních podmínek

Pro malé výtěžky našich reakcí jsme se rozhodli vyvinout nové reakční podmínky, jež by místo aktivace fluoridu jakožto odstupující skupiny (vodíková vazba s CH_3CN) aktivovaly sulfonovou skupinu. Inspirovali jsme se publikací Mahapatra a spol.⁶⁹ který využíval reakce sekundárních aminů s 1.0 ekvivalentem Lewisové kyseliny (aktivace) za přítomnosti 1.5 ekvivalentu DABCO v $t\text{-BuOH}$ při 35°C (Tabulka 4). Pokusili jsme se tedy aplikovat dané reakční podmínky a otestovali i několik různých Lewisových kyselin. Bohužel ve všech případech jsme pozorovali pouze degradaci výchozího sulfonyl fluoridu. Kýžený produkt nebyl za žádných podmínek pozorován.

Tabulka 4. Reakce sulfonyl fluoridu **4** se sekundárním aminem za přítomnosti DABCO, Lewisových kyselin a *t*-BuOH



	Podmínky	Výtěžek [%]
1.	CaCl ₂ (1.0 equiv), DABCO (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %
2.	Zn(CF ₃ SO ₃) ₂ (1.0 equiv), DABCO (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %
3.	Sc(CF ₃ SO ₃) ₃ (1.0 equiv), DABCO (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %
4.	AgBF ₄ (1.0 equiv), DABCO (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %
5.	Bi(CF ₃ SO ₃) ₃ (1.0 equiv), DABCO (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %
6.	CaCl ₂ (1.0 equiv), Et ₃ N (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %
7.	CaCl ₂ (1.0 equiv), DBU (1.5 equiv), <i>t</i> -BuOH, 35 °C	<5 %

Zkoušeli jsme také aplikovat naše podmínky na aniliny, ale ukázalo se, že je pro ně tato metoda velice nevhodná. Nevznikal požadovaný produkt, i když jsme postupně z laboratorní teploty zvyšovali teplotu postupně až na 50 °C (od 30 °C vždy po 10 °C po dobu 1 h) a následně až na 100 °C po dobu 12 h. Produkty, které jsme očekávali však nevznikly (Schéma 7). Reakce produkovaly pouze neidentifikovatelnou směs látek.

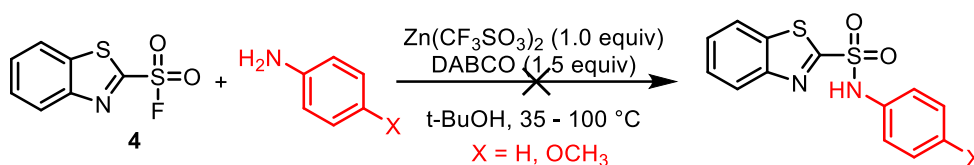


Schéma 7. Testované podmínky reakce sulfonyl fluoridu **4** s aryl aminy

Zkusili jsme tedy reakci s Lewisovou bází DMAP (aktivace fluoridu k odstoupení). Ani v tomto případě reakce neproběhla, a to ani za zvýšených teplot (l.t., 50 °C, a 70 °C). Sulfonyl fluorid pouze podlehl rozkladu na látku **5**.

Dále jsme zkusili, jestli nemohou původní reakční podmínky v případě aminoalkoholů vést k reakci. Spekulovali jsme, že hydroxy skupina v aminoalkoholu může při reakci vytvořit vodíkovou vazbu s fluoridem a tak zajistit jeho *in situ* aktivaci. Nejprve jsme zkusili reakci s 3.0 equiv valinolu (Schéma 8). Dle ¹H NMR jsme konstatovali, že námi

hledaný sulfonamid při reakci nevzniká. V reakci vznikalo pouze početné množství vedlejších produktů, které jsme ale nebyli schopni identifikovat a nepodařilo se je ani izolovat.

Obdobná situace nastala při pokusu reagovat sulfonyl fluorid **4** s dalšími aminoalkoholy, methyl esterem phenylglycinu a salmiakem.

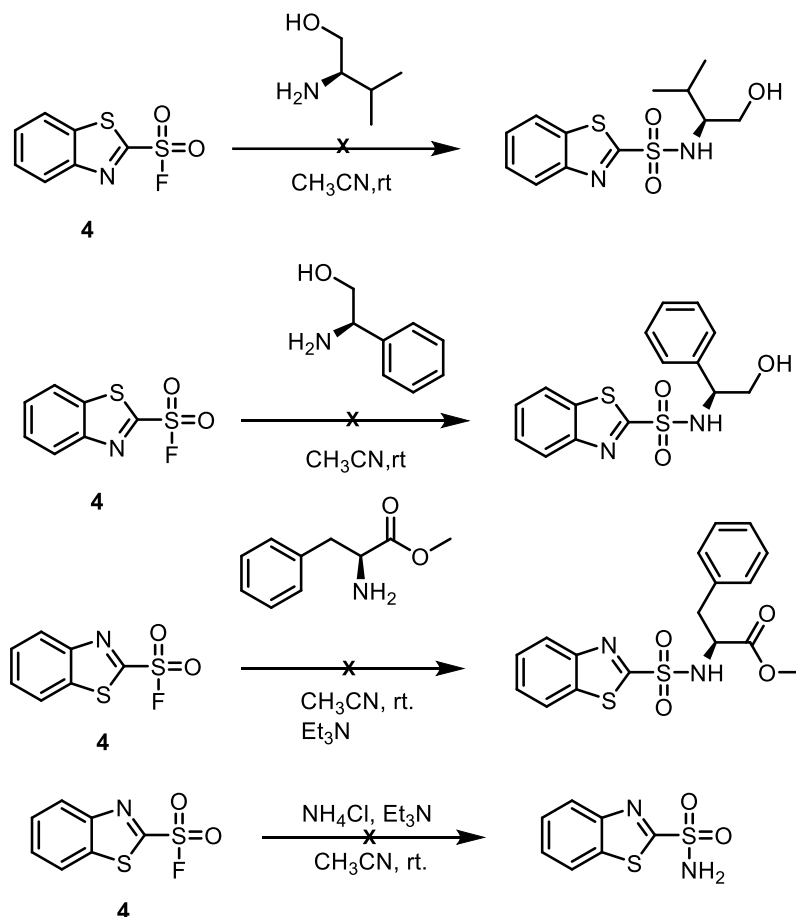


Schéma 8. Další testované reakce s aminoalkoholy, estery aminokyselin a salmiakem

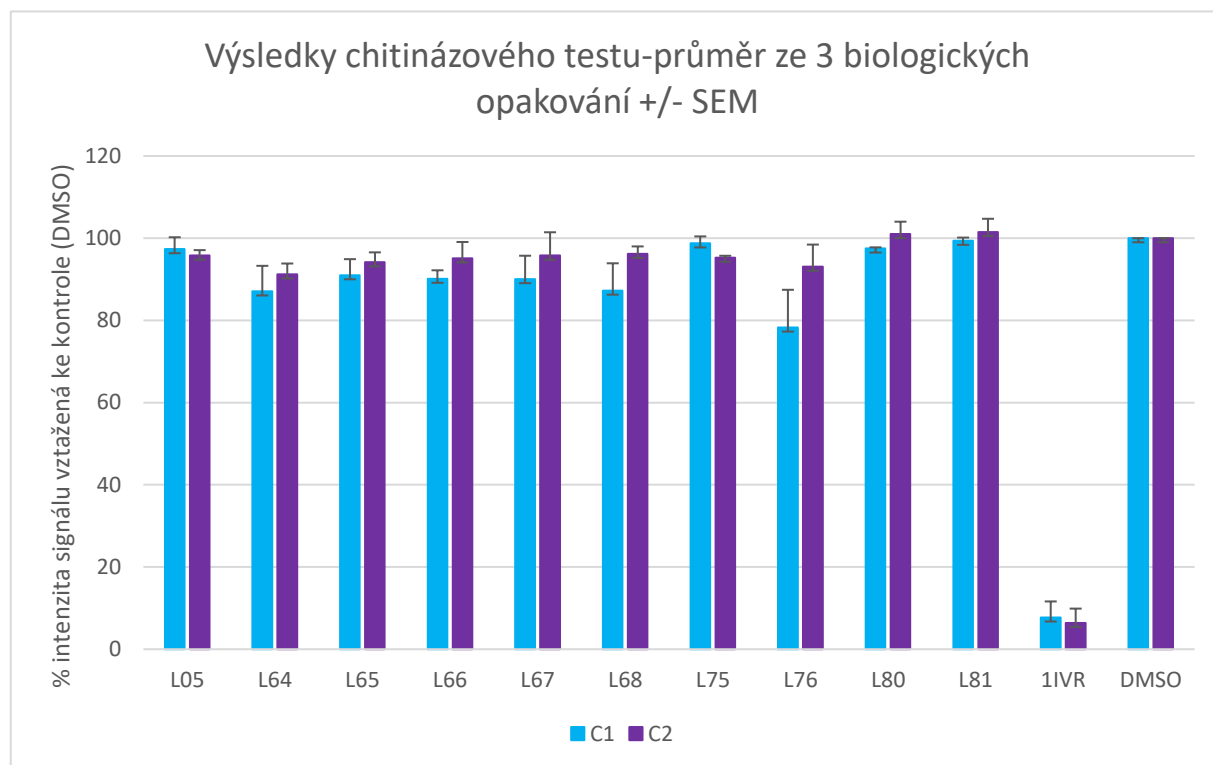
4.2 Testování sulfonamidů na biologickou aktivitu

Testovali jsme sulfonamidy, připravené Mgr. Františkem Zálesákem, na červech *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Zkoumali jsme, jestli naše látky vykazují toxicitu.

4.2.1 Vyhodnocení naměřených hodnot

Před chitinázovým testem jsme nejprve provedli skórování jamek. Destičky jsme si vložily pod mikroskop a prohlédli jsme každou jamku zvlášť. Podle našeho skórování látky neměly efekt a populace se podobaly neotráveným populacím v negativní kontrole. Výsledky námi naměřených hodnot chitinázového testu jsou zobrazeny v grafu 1. V grafu můžete vidět výsledný průměr naměřených hodnot pro dvě koncentrace. Graf znázorňuje

průměrnou hodnotu intenzity signálu vztaženou k DMSO ze 3 nezávislých biologických replikátů. Chybové úsečky se značí SEM (standard error of the mean). Porovnáním vypočítané procentové intenzity signálu s negativní kontrolou DMSO jsme zjistili, že žádná z látek nevykazuje výrazný toxický efekt v *C.elegans*, a proto jsme se rozhodli dále nezkoumat jejich potenciální anthelmintickou aktivitu.



Graf 1: Výsledky chitinázového testu sulfonamidů spolu s pozitivní (IVR-ivermectin) a negativní (DMSO) kontrolou. Koncentrace C1 byla 50 μ L pro testované látky, 0,1% pro DMSO a 1 μ M pro ivermectin. Koncentrace C2 byla 10x menší.

Tabulka 5. Seznam testovaných sulfonamidů prezentovaných v grafu 1

 L05	 L64	 L65 (11)	 L66 (8)
 L67 (7)	 L68	 L75 (12)	 L76
 L80		 L81 (10)	

5 Závěr

Ve své bakalářské práci jsem se zaměřila na sulfonamidy a sulfonyl fluoridy, zejména na přípravu BT-sulfonamidů z BT-sulfonyl fluoridu **4**. V teoretické části jsem rozebrala nejhlavnější typy příprav sulfonyl fluoridů a jejich reaktivitu. Následně jsem se zaměřila na přípravu sulfonamidů a na jejich využití, jelikož sulfonamidy jsou často biologicky aktivní látky. Cílem této práce bylo optimalizování metody příprav BT-sulfonamidu z BT-sulfonyl fluoridu **4** s využitím protokolu SuFEx.

Reakce podle protokolu SuFEx jsou v literatuře už sice popsány, ale ne přímo na naši látku. K tomu abych tuto reakci mohla vyzkoušet, jsem si musela nejprve připravit výchozí látku BT-sulfonyl fluorid. Příprava BT-sulfonyl fluoridu se skládala ze tří kroků, kdy první krok a třetí krok byly bez problému, ale u druhého už vznikl problém, tudíž jsme vyzkoušeli různé způsoby přípravy. Kýženeho produktu jsme se dočkali hydrolyzou 1M-NaOH v MeOH.

Po úspěšné přípravě výchozí látky, jsme tedy zkusili přijít na rychlou a selektivní reakci podle SuFEx protokolu. Rozhodli jsme se optimalizovat podmínky, kdy jsme největší důraz kladli na roli rozpouštědla. Nejlepší podmínky byly ty, kde výchozí látka **4** reagovala v CH₃CN se 3,0 ekvivalenty aminů. Bohužel tyto reakční podmínky se ukázaly jako ne příliš obecné a daly se aplikovat pouze na stericky nebráněné primární aminy. Se sekundárními aminy byly již výtěžky mizerné a s aniliny nereagovaly vůbec. Následné pokusy dodatečně optimalizovat reakční podmínky využitím jiných způsobů aktivace sulfonyl fluoridu **4** se ukázaly jako naprosto zbytečné, neb za žádných podmínek kýžené produkty nevznikaly.

Nakonec se ještě otestovaly vzniklé BT-sulfonamidy (částečně i sulfonamidy připravené Mgr. Zálešákem jiným způsobem) na jejich anthelmintickou aktivitu. Bohužel žádnou aktivitu našich látek jsme nepozorovali.

6 Seznam použité literatury

- (1) Oudah, K. H.; Najm, M. A. A.; Roomi, A. B.; Al-Sa'idy, H. A.; Awadallah, F. M. The Recent Progress of Sulfonamide in Medicinal Chemistry. *Syst. Rev. Pharm.* **2020**, *11* (12), 1473–1477. <https://doi.org/10.31838/srp.2020.12.218>.
- (2) Dong, J.; Krasnova, L.; Finn, M. G.; Barry Sharpless, K. Sulfur(VI) Fluoride Exchange (SuFEx): Another Good Reaction for Click Chemistry. *J. Org. Chem.* **2014**, *53* (36), 9430–9448. <https://doi.org/10.1002/anie.201309399>.
- (3) Steinkopf, W.; Ton, M.; Buahheim, K.; Beythien, K.; Dudek, H.; Eisold, J.; Qall, J.; Jaeger, P.; Renmuth, H.; Semenoff, A. Uber Aromatische Sulfofluoride. *Prakt. Chem.* **1927**, *117*, 1–85. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/prac.19271170101>.
- (4) Li, C.; Zheng, Y.; Rakesh, K. P.; Qin, H.-L. But-3-Ene-1,3-Disulfonyl Difluoride (BDF): A Highly Selective SuFEx Clickable Hub for the Quick Assembly of Sultam-Containing Aliphatic Sulfonyl Fluorides †. *Chem. Commun* **2020**, *56*, 8075. <https://doi.org/10.1039/d0cc03248d>.
- (5) Aberlin, M. E.; Bunton, C. A. The Spontaneous Hydrolysis of Sulfonyl Fluorides. *J. Org. Chem.* **1970**, *35* (6), 1825–1828. <https://doi.org/10.1021/jo00831a024>.
- (6) Fahreny, D. E.; Gold, A. M. Sulfonyl Fluorides as Inhibitors of Esterases. *Biochemistry* **1963**, *2016* (6), 997–1000. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/bi00894a009>.
- (7) Wright, S. W.; Hallstrom, K. N. A Convenient Preparation of Heteroaryl Sulfonamides and Sulfonyl Fluorides from Heteroaryl Thiols. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (3), 1080–1084. <https://doi.org/10.1021/jo052164+>.
- (8) Kim, J. G.; Jang, D. O. A Convenient, One-Pot Procedure for the Preparation of Acyl and Sulfonyl Fluorides Using Cl₃CCN, Ph₃P, and TBAF(t-BuOH)₄. *Synlett* **2010**, *2010* (20), 3049–3052. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1259051>.
- (9) Banks, R. E.; Besheesh, M. K.; Mohialdin-Khaffaf, S. N.; Sharif, I. N-Halogeno Compounds.1-Alky1-4-Fluoro-1,4= Diazoniabic Yclo [2.2.21 Octane Salts: User-Friendl y Si Te-Selec Tive Electrophilic Fluorinating Agents of the N-Fluoroammonium Class. *J. Chem. Soc.* **1996**, *53* (9), 2069–2076.
- (10) Tang, L.; Yang, Y.; Wen, L.; Yang, X.; Wang, Z. Catalyst-Free Radical Fluorination of Sulfonyl Hydrazides in Water. *Green Chem.* **2016**, *18* (5), 1224–1228. <https://doi.org/10.1039/c5gc02755a>.

- (11) Davies, A. T.; Curto, J. M.; Bagley, S. W.; Willis, M. C. One-Pot Palladium-Catalyzed Synthesis of Sulfonyl Fluorides from Aryl Bromides. *Chem. Sci.* **2017**, *8* (2), 1233–1237. <https://doi.org/10.1039/c6sc03924c>.
- (12) Tribby, A. L.; Rodríguez, I.; Shariffudin, S.; Ball, N. D. Pd-Catalyzed Conversion of Aryl Iodides to Sulfonyl Fluorides Using SO₂ Surrogate DABSO and Selectfluor. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (4), 2294–2299. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00051>.
- (13) Kirihaara, M.; Naito, S.; Ishizuka, Y.; Hanai, H.; Noguchi, T. Oxidation of Disulfides with SelectfluorTM: Concise Syntheses of Thiosulfonates and Sulfonyl Fluorides. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (24), 3086–3089. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2011.03.132>.
- (14) Bianchi, T. A.; Cate, L. A. Phase Transfer Catalysis. Preparation of Aliphatic and Aromatic Sulfonyl Fluorides. *J. Org. Chem.* **1977**, *42* (11), 2031–2032. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jo00431a054>.
- (15) Davies, W.; Dick, J. H. Aromatic Sulphonyl Fluorides. A Convenient Method of Preparation. *J. Chem. Soc.* **1930**, No. 2104, 2104–2109.
- (16) Boiko, V. N.; Filatov, A. A.; Yagupolskii, Y. L.; Tyrra, W.; Naumann, D.; Pantenburg, I.; Fischer, H. T. M.; Schulz, F. A Convenient Synthetic Route to 2,4,6-Tris(Chlorosulfonyl)- and 2,4,6-Tris(Fluorosulfonyl)Phenol, Aniline and Chlorobenzene. *J. Fluor. Chem.* **2011**, *132* (12), 1219–1226. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2011.06.045>.
- (17) Bianchi, T. A.; Cate, L. A. Phase Transfer Catalysis. Preparation of Aliphatic and Aromatic Sulfonyl Fluorides. *J. Org. Chem.* **1977**, *42* (11), 2031–2032. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/jo00431a054>.
- (18) Wang, Y. T.; Hodas, N. O.; Jung, Y. S.; Marcus, R. A. On the Theory of Organic Catalysis “on Water.” *J. Am. Chem. Soc.* **1897**, *6* (133), 73–85. <https://doi.org/10.1126/science.6.133.73>.
- (19) Cherepakha, A. Y.; Stepannikova, K. O.; Vashchenko, B. V.; Gorichko, M. V.; Tolmachev, A. A.; Grygorenko, O. O. Hetaryl Bromides Bearing the SO₂F Group – Versatile Substrates for Palladium-Catalyzed C–C Coupling Reactions. *European J. Org. Chem.* **2018**, *2018* (47), 6682–6692. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201801270>.
- (20) Reddy, V. P. Nucleophilic Reactions in the Synthesis of Organofluorine Compounds. In *Organofluorine Chemistry*; Elsevier, 2020; pp 1–42.

<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813286-9.00001-8>.

- (21) Nielsen, M. K.; Ugaz, C. R.; Li, W.; Doyle, A. G. PyFluor: A Low-Cost, Stable, and Selective Deoxyfluorination Reagent. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (30), 9571–9574. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b06307>.
- (22) Barrow, A. S.; Smedley, C. J.; Zheng, Q.; Li, S.; Dong, J.; Moses, J. E. The Growing Applications of SuFEx Click Chemistry. *Chem. Soc. Rev.* **2019**, *48* (17), 4731–4758. <https://doi.org/10.1039/c8cs00960k>.
- (23) Horowitz, A.; Rajbenbach, L. A. Free Radical Mechanism of the Decomposition of Alkylsulfonyl Chlorides in Liquid Cyclohexane. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97* (1), 10–13. <https://doi.org/10.1021/ja00834a003>.
- (24) Liang, S.; Hofman, K.; Friedrich, M.; Manolikakes, G. Recent Advances in the Synthesis and Direct Application of Sulfinates. *European J. Org. Chem.* **2020**, *2020* (30), 4664–4676. <https://doi.org/10.1002/ejoc.202000403>.
- (25) Patterson, D. M.; Nazarova, L. A.; Prescher, J. A. Finding the Right (Bioorthogonal) Chemistry. *ACS Chem. Biol.* **2014**, *9* (3), 592–605. <https://doi.org/https://doi.org/10.1021/cb400828a>.
- (26) Ho Wong, C.; Zimmerman, S. C. Orthogonality in Organic, Polymer, and Supramolecular Chemistry: From Merrifield to Click Chemistry. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (17), 1679–1695. <https://doi.org/10.1039/c2cc37316e>.
- (27) Chinthakindi, P. K.; Arvidsson, P. I. Sulfonyl Fluorides (SFs): More Than Click Reagents? *European J. Org. Chem.* **2018**, *2018* (27), 3648–3666. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201800464>.
- (28) Chinthakindi, P. K.; Kruger, H. G.; Govender, T.; Naicker, T.; Arvidsson, P. I. On-Water Synthesis of Biaryl Sulfonyl Fluorides. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (6), 2618–2623. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b02770>.
- (29) Krutak, J. J.; Burpit, R. D.; Moore, W. H.; Hyatt, J. A. Ethenesulfonyl Fluoride. Fluorosulfonylethylation. *J. Org. Chem.* **1979**, *44* (223), 3847–3859. <https://doi.org/10.1021/JO01336A022>.
- (30) Qin, H. L.; Zheng, Q.; Bare, G. A. L.; Wu, P.; Sharpless, K. B. A Heck–Matsuda Process for the Synthesis of β -Arylethenesulfonyl Fluorides: Selectively Addressable Bis-Electrophiles for SuFEx Click Chemistry. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2016**, *55* (45), 14155–14158. <https://doi.org/10.1002/anie.201608807>.
- (31) George A. Olah, Subhash C. Narang, Leslie D. Field, A.; Karpeles, R. Synthetic Methods and Reactions. Reduction of Sulfonic Acids and Sulfonyl Derivatives to

- Disulfides with Iodide in the Presence of Boron Halides. *J. Org. Chem.* **1981**, *46* (11), 2408–2410. <https://doi.org/10.1021/jo00324a046>.
- (32) Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2001**, *40* (11), 2004–2021. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5).
- (33) Schimler, S. D.; Cismesia, M. A.; Hanley, P. S.; Froese, R. D. J.; Jansma, M. J.; Bland, D. C.; Sanford, M. S. Nucleophilic Deoxyfluorination of Phenols via Aryl Fluorosulfonate Intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139* (4), 1452–1455. <https://doi.org/10.1021/jacs.6b12911>.
- (34) Yatvin, J.; Brooks, K.; Locklin, J. SuFEx on the Surface: A Flexible Platform for Postpolymerization Modification of Polymer Brushes. *A J. Ger. Chem. Soc.* **2015**, *54* (45), 13370–13373. <https://doi.org/10.1002/anie.201506253>.
- (35) Baranczak, A.; Liu, Y.; Connelly, S.; Du, W. G. H.; Greiner, E. R.; Genereux, J. C.; Wiseman, R. L.; Eisele, Y. S.; Bradbury, N. C.; Dong, J.; Noodleman, L.; Sharpless, K. B.; Wilson, I. A.; Encalada, S. E.; Kelly, J. W. A Fluorogenic Aryl Fluorosulfate for Intraorganellar Transthyretin Imaging in Living Cells and in *Caenorhabditis Elegans*. *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137* (23), 7404–7414. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b03042>.
- (36) Mortenson, D. E.; Brighty, G. J.; Plate, L.; Bare, G.; Chen, W.; Li, S.; Wang, H.; Cravatt, B. F.; Forli, S.; Powers, E. T.; Sharpless, K. B.; Wilson, I. A.; Kelly, J. W. “inverse Drug Discovery” Strategy to Identify Proteins That Are Targeted by Latent Electrophiles As Exemplified by Aryl Fluorosulfates. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140* (1), 200–210. <https://doi.org/10.1021/jacs.7b08366>.
- (37) Zheng, Q.; Woehl, J. L.; Kitamura, S.; Santos-Martins, D.; Smedley, C. J.; Li, G.; Forli, S.; Moses, J. E.; Wolan, D. W.; Barry Sharpless, K. SuFEx-Enabled, Agnostic Discovery of Covalent Inhibitors of Human Neutrophil Elastase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2019**, *116* (38), 18808–18814. <https://doi.org/10.1073/pnas.1909972116>.
- (38) Zheng, Q.; Woehl, J. L.; Kitamura, S.; Santos-martins, D.; Smedley, C. J.; Forli, S.; Moses, J. E.; Wolan, D. W.; Sharpless, K. B. “Sleeping Beauty” Phenomenon : SuFEx-Enabled Discovery of Selective Covalent Inhibitors of Human Neutrophil Elastase. *ChemRxiv* **2019**, *116* (2). <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.7842020.v1>.
- (39) Fahrney, D. E.; Gold, A. M. Sulfonyl Fluorides as Inhibitors of Esterases. *J. Am.*

- Chem. Soc.* **1963**, 85 (7), 997–1000.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1021/ja00890a037>.
- (40) Gushwa, N. N.; Kang, S.; Chen, J.; Taunton, J. Selective Targeting of Distinct Active Site Nucleophiles by Irreversible Src-Family Kinase Inhibitors. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134* (50), 20214–20217. <https://doi.org/10.1021/ja310659j>.
- (41) Van Der Eycken, E.; Sharpless, K. B. Click Chemistry. *QSAR Comb. Sci.* **2007**, *26* (11–12), 1115. <https://doi.org/10.1002/qsar.200790024>.
- (42) Norris, T. The Reaction of Atenesulphonyl Fluorides with Anhydrous Aluminium. *J. Chem. Soc.* **1978**, No. 11, 1378–1380.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1039/P19780001378>.
- (43) Hirsch, E.; Hiinig, S.; Ulrich, H.-. Darstellung von Enolsulfonsäureestern Aus Trimethylsilylenolethern — Synthetische Konsequenz Eines Bemerkenswerten Kationeneffekts. *Chem. Ber.* **1982**, *115*, 3687–3696.
<https://doi.org/ttps://doi.org/10.1002/cber.19821151202>.
- (44) Vincent, G.; Marsais, F.; Levacher, V. An Efficient Organocatalyzed Interconversion of Silyl Ethers to Tosylates Using DBU and p -Toluenesulfonyl Fluoride. *Synlett* **2008**, *2008* (10), 1463–1466. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1078407>.
- (45) Rostovtsev, V. V.; Green, L. G.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective “Ligation” of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2002**, *41* (14), 2596–2599.
[https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4).
- (46) Chinthakindi, P. K.; Naicker, T.; Thota, N.; Govender, T.; Kruger, H. G.; Arvidsson, P. I. Sulfonimidamides in Medicinal and Agricultural Chemistry. *A J. Ger. Chem. Soc.* **2017**, *56* (15), 4100–4109.
<https://doi.org/10.1002/anie.201610456>.
- (47) Langmuir, I. ISOMORPHISM, ISOSTERISM AND COVALENCE. *J. Am. Chem. Soc.* **1919**, *41* (10), 1543–1559. <https://doi.org/10.2307/937105>.
- (48) Erlenmeyer, H.; Willi, E. Zusammenhänge Zwischen Konstitution Und Wirkung Bei Pyrazolonderivaten. *J. Chem. Inf. Model.* **1935**, *18* (1), 740–743.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/hlca.193501801101>.
- (49) Chourasiya, S. S.; Patel, D. R.; Nagaraja, C. M.; Chakraborti, A. K.; Bharatam, P. V. Sulfonamide: Vs. Sulfonimide: Tautomerism and Electronic Structure Analysis

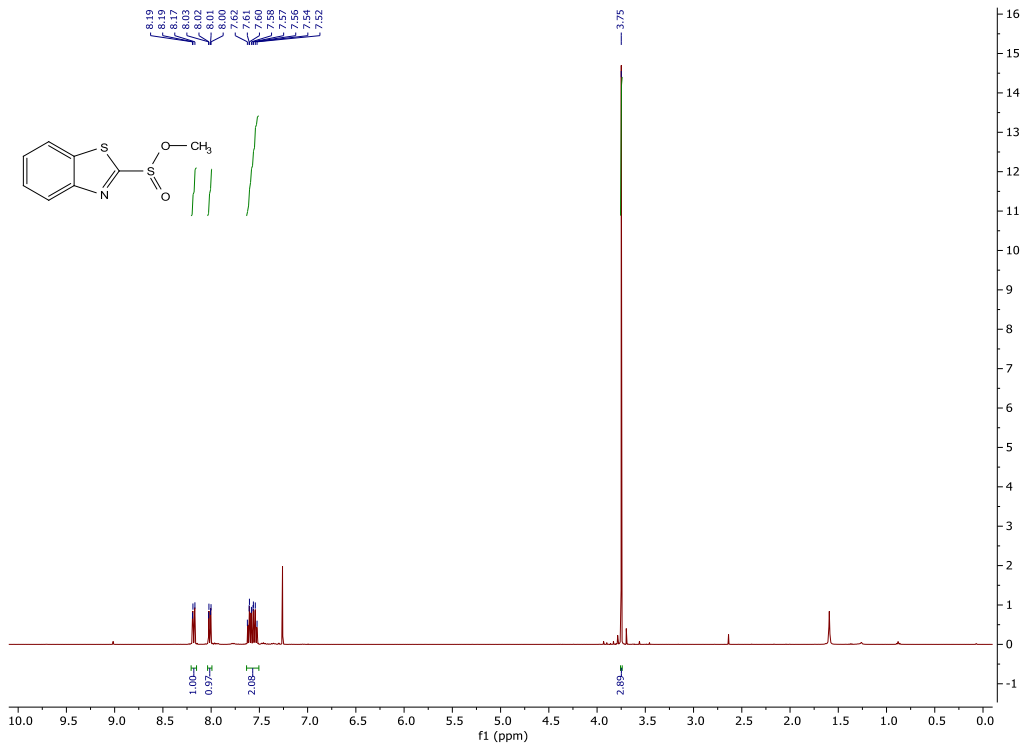
- of N-Heterocyclic Arenesulfonamides. *New J. Chem.* **2017**, *41* (16), 8118–8129. <https://doi.org/10.1039/c7nj01353a>.
- (50) Domagk, G. Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. *Dtsch Med Wochenschr* **1935**, *61* (07), 250–253.
- (51) van Ameijde, J.; Slot, T. K.; Liskamp, R. M. J. Towards the Synthesis of Sulfonamide-Based RNA Mimetics. *Tetrahedron Asymmetry* **2010**, *21* (4), 469–475. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2010.02.005>.
- (52) Bowers, S.; Probst, G. D.; Truong, A. P.; Hom, R. K.; Konradi, A. W.; Sham, H. L.; Garofalo, A. W.; Wong, K.; Goldbach, E.; Quinn, K. P.; Sauer, J. M.; Wallace, W.; Nguyen, L.; Hemphill, S. S.; Bova, M. P.; Basi, G. S. N-Bridged Bicyclic Sulfonamides as Inhibitors of γ -Secretase. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2009**, *19* (24), 6952–6956. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.10.060>.
- (53) Košak, U.; Brus, B.; Knez, D.; Šink, R.; Žakelj, S.; Trontelj, J.; Pišlar, A.; Šlenc, J.; Gobec, M.; Živin, M.; Tratnjek, L.; Perše, M.; Sašat, K.; Podkova, A.; Filipek, B.; Nachon, F.; Brazzolotto, X.; Więckowska, A.; Malawska, B.; Stojan, J.; Raščan, I. M.; Kos, J.; Coquelle, N.; Colletier, J. P.; Gobec, S. Development of an In-Vivo Active Reversible Butyrylcholinesterase Inhibitor. *Sci. Rep.* **2016**, *6* (39495), 1–16. <https://doi.org/10.1038/srep39495>.
- (54) Ibrahim, H. R.; Tatsumoto, S.; Hajime, O.; Van Immerseel, F.; Raspoet, R.; Miyata, T. A Novel Antibiotic-Delivery System by Using Ovotransferrin as Targeting Molecule. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2015**, *66*, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2014.10.005>.
- (55) Zajdel, P.; Kos, T.; Marciniak, K.; Satała, G.; Canale, V.; Kamiński, K.; Hołuj, M.; Lenda, T.; Koralewski, R.; Bednarski, M.; Nowiński, L.; Wójcikowski, J.; Daniel, W. A.; Nikiforuk, A.; Nalepa, I.; Chmielarz, P.; Kuśmierczyk, J.; Bojarski, A. J.; Popik, P. Novel Multi-Target Azinesulfonamides of Cyclic Amine Derivatives as Potential Antipsychotics with pro-Social and pro-Cognitive Effects. *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *145*, 790–804. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.002>.
- (56) Marques, S. M.; Enyedy, É. A.; Supuran, C. T.; Krupenko, N. I.; Krupenko, S. A.; Amélia Santos, M. Pteridine-Sulfonamide Conjugates as Dual Inhibitors of Carbonic Anhydrases and Dihydrofolate Reductase with Potential Antitumor Activity. *Bioorganic Med. Chem.* **2010**, *18* (14), 5081–5089. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2010.05.072>.
- (57) Sabt, A.; Abdelhafez, O. M.; El-Hagggar, R. S.; Madkour, H. M. F.; Eldehna, W.

- M.; El-Khrisy, E. E. D. A. M.; Abdel-Rahman, M. A.; Rashed, L. A. Novel Coumarin-6-Sulfonamides as Apoptotic Anti-Proliferative Agents: Synthesis, in Vitro Biological Evaluation, and QSAR Studies. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2018**, *33* (1), 1095–1107. <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1477137>.
- (58) Ji, Y.; Chen, X.; Chen, H.; Zhang, X.; Fan, Z.; Xie, L.; Ma, B.; Zhu, C. Designing of Acyl Sulphonamide Based Quinoxalinones as Multifunctional Aldose Reductase Inhibitors. *Bioorganic Med. Chem.* **2019**, *27* (8), 1658–1669. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.03.015>.
- (59) Bahrami, K.; Khodaei, M. M.; Soheilzad, M. Direct Conversion of Thiols to Sulfonyl Chlorides and Sulfonamides. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (24), 9287–9291. <https://doi.org/10.1021/jo901924m>.
- (60) Revankar, G. R.; Hanna, N. B.; Ramasamy, K.; Donald, S. B. L.; Smee, F.; Finch, R. A.; Avery, T. L.; Robins, R. K. Synthesis and In Vivo Antitumor and Antiviral Activities of 2'-deoxyribofuranosyl and Arabinofuranosyl Nucleosides of Certain Purine-6-sulfenamides, Sulfinamides and Sulfonamides. *J. Heterocycl. Chem.* **1990**, *27* (4), 909–918. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jhet.5570270417>.
- (61) Yang, K.; Ke, M.; Lin, Y.; Song, Q. Sulfonamide Formation from Sodium Sulfinates and Amines or Ammonia under Metal-Free Conditions at Ambient Temperature. *Green Chem.* **2015**, *17* (3), 1395–1399. <https://doi.org/10.1039/c4gc02236j>.
- (62) Pangborn, A. B.; Giardello, M. A.; Grubbs, R. H.; Rosen, R. K.; Timmers, F. J. Safe and Convenient Procedure for Solvent Purification. *Organometallics* **1996**, *15* (5), 1518–1520. <https://doi.org/10.1021/om9503712>.
- (63) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, *62* (21), 7512–7515. <https://doi.org/10.1021/jo971176v>.
- (64) Milišiūnaitė, V.; Kadlecová, A.; Žukauskaitė, A.; Doležal, K.; Strnad, M.; Voller, J.; Arbačiauskienė, E.; Holzer, W.; Šačkus, A. Synthesis and Anthelmintic Activity of Benzopyrano[2,3-c]Pyrazol-4(2H)-One Derivatives. *Mol. Divers.* **2020**, *24* (4), 1025–1042. <https://doi.org/10.1007/s11030-019-10010-3>.
- (65) Brownbridge, P.; Jowett, I. C. “One-Pot” Synthesis of Sulphinic Esters from Disulphides. *Synthesis (Stuttg.)* **1988**, *1988* (03), 252–254. <https://doi.org/10.1055/s-1988-27535>.
- (66) Day, J. J.; Yang, Z.; Chen, W.; Pacheco, A.; Xian, M. Benzothiazole Sulfinates: A

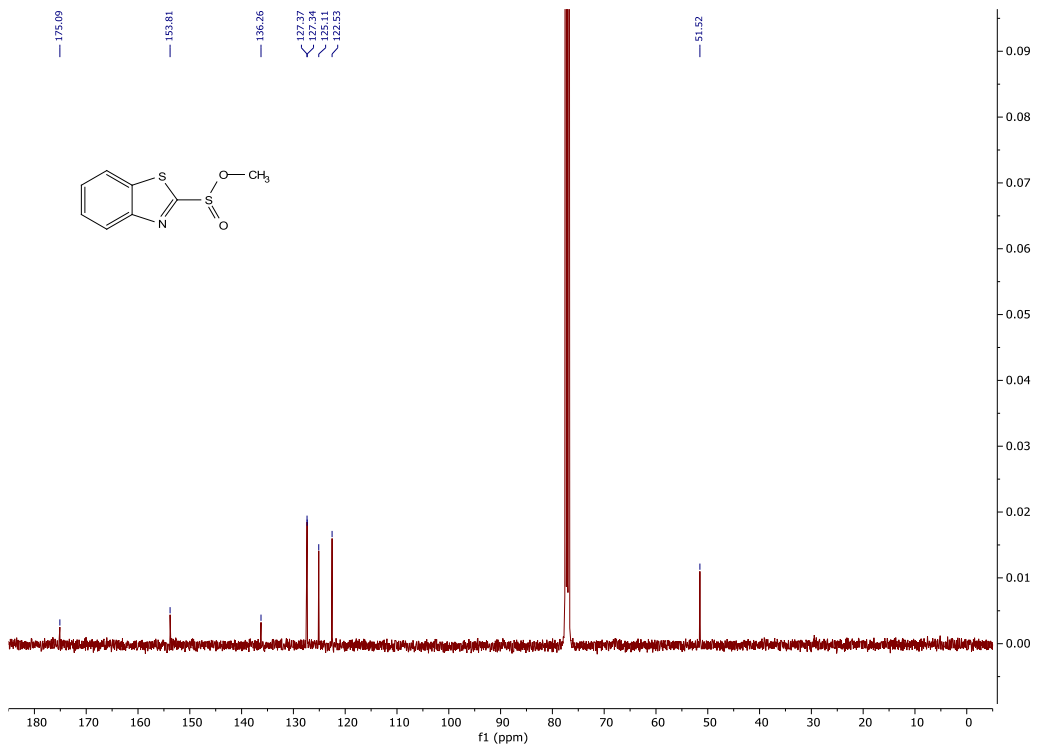
- Water-Soluble and Slow-Releasing Sulfur Dioxide Donor. *ACS Chem. Biol.* **2016**, *11* (6), 1647–1651. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.6b00106>.
- (67) COOPER, M.; MILLER, D.; MACLEOD, A.; SHANNON, J.; THOM, S.; STRUTT, I.; CASTAGNA, D.; CARRILLO ARREGUI, J.; VAN WILTENBURG, J. NLRP3 INHIBITORS, 2020.
- (68) Dumonteil, G.; Hiebel, M. A.; Scherrmann, M. C.; Berteina-Raboin, S. Iodine-Catalyzed Formation of Substituted 2-Aminobenzothiazole Derivatives in PEG400. *RSC Adv.* **2016**, *6* (77), 73517–73521. <https://doi.org/10.1039/c6ra15971k>.
- (69) Mahapatra, S.; Woroch, C. P.; Butler, T. W.; Carneiro, S. N.; Kwan, S. C.; Khasnavis, S. R.; Gu, J.; Dutra, J. K.; Vetelino, B. C.; Bellenger, J.; am Ende, C. W.; Ball, N. D. SuFEx Activation with Ca(NTf₂)₂: A Unified Strategy to Access Sulfamides, Sulfamates, and Sulfonamides from S(VI) Fluorides. *Org. Lett.* **2020**, *22* (11), 4389–4394. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c01397>.

7 Přílohy

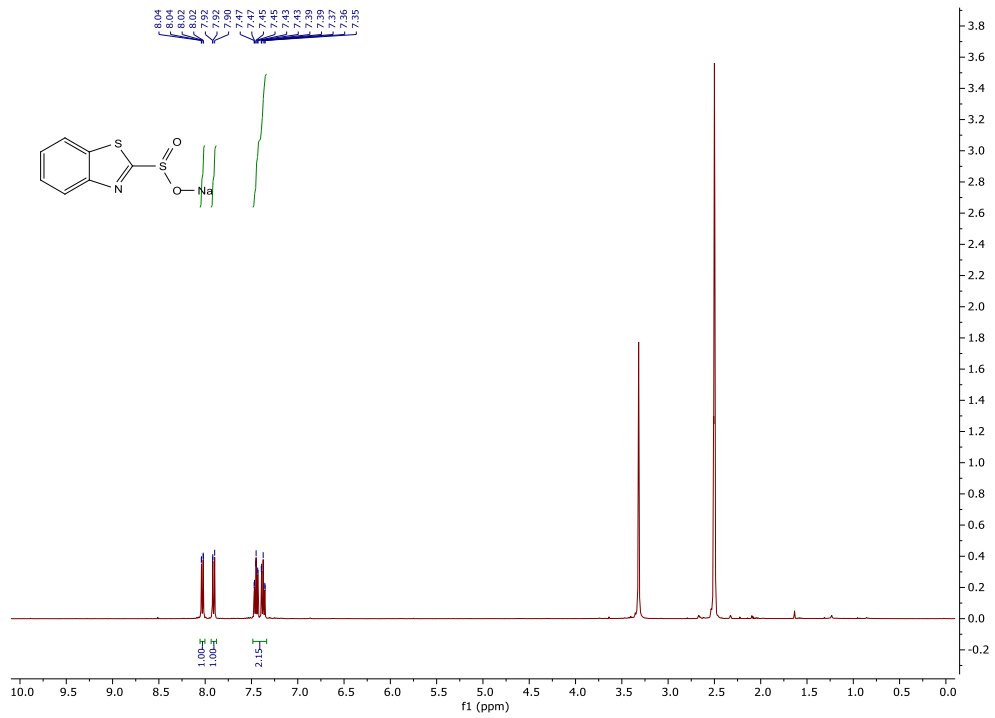
Spektrum 1: ¹H spektrum látky 2



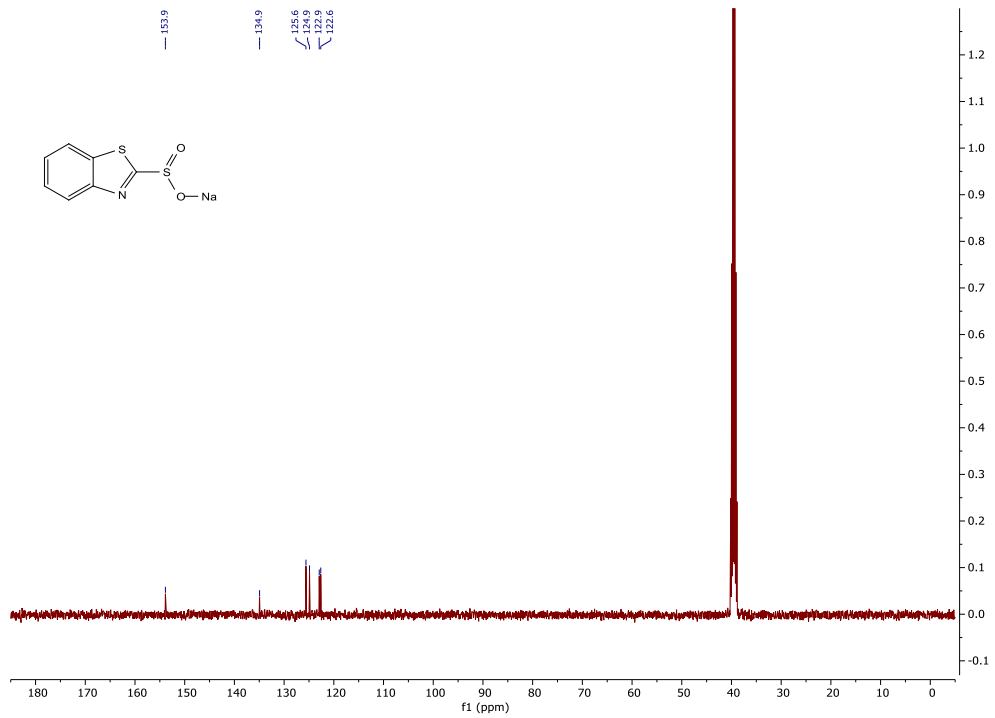
Spektrum 2: ¹³C spektrum látky 2



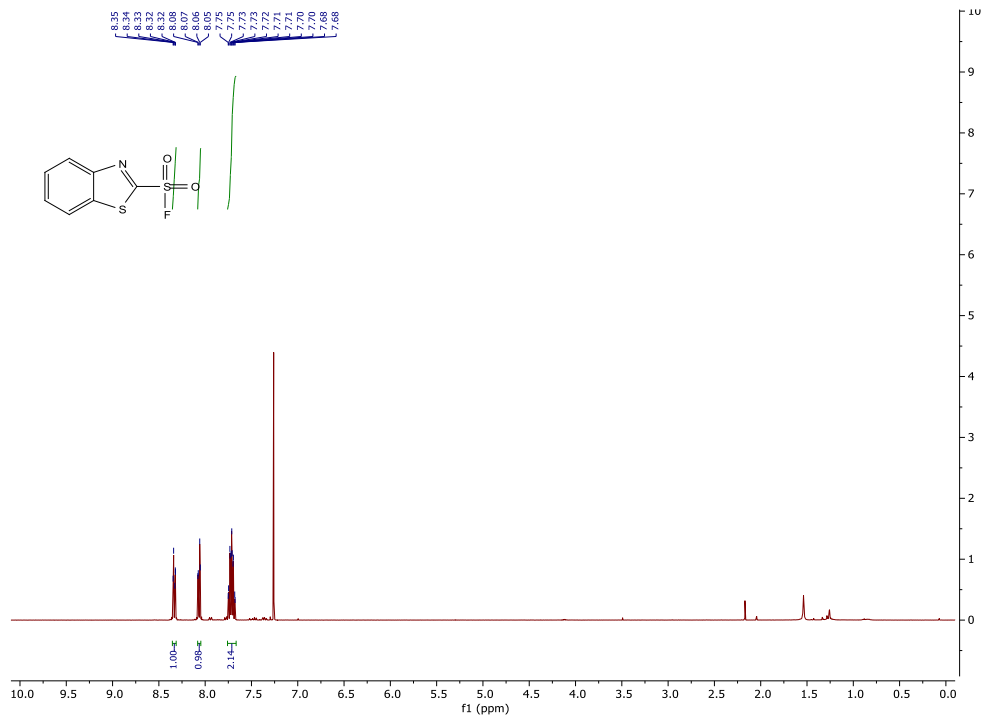
Spektrum 3: ^1H spektrum látky 3



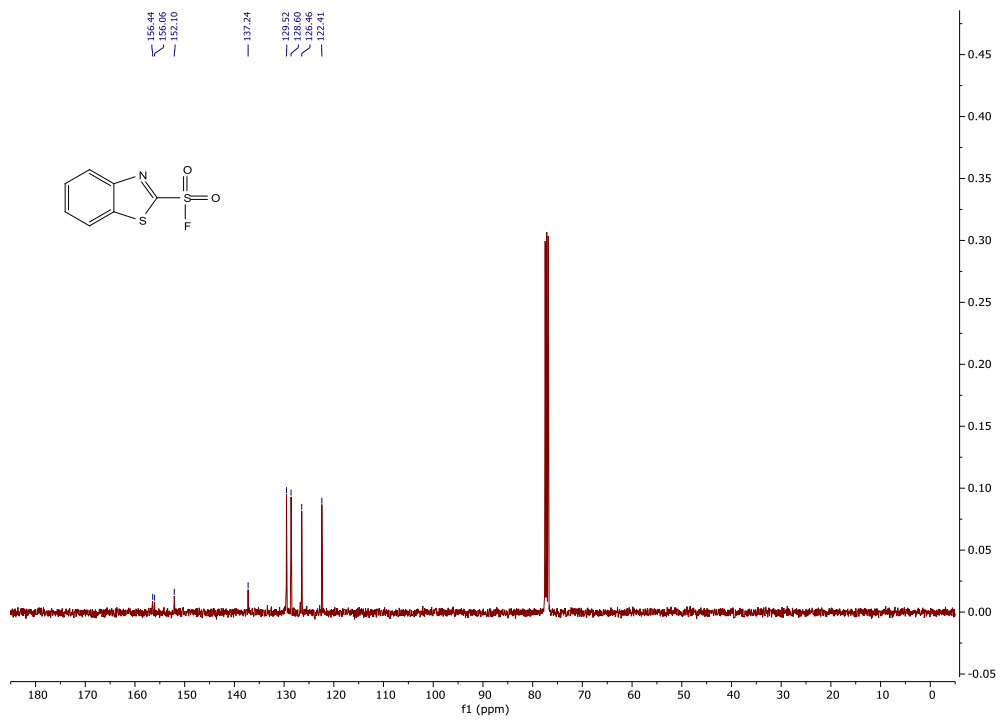
Spektrum 4: ^{13}C spektrum látky 3



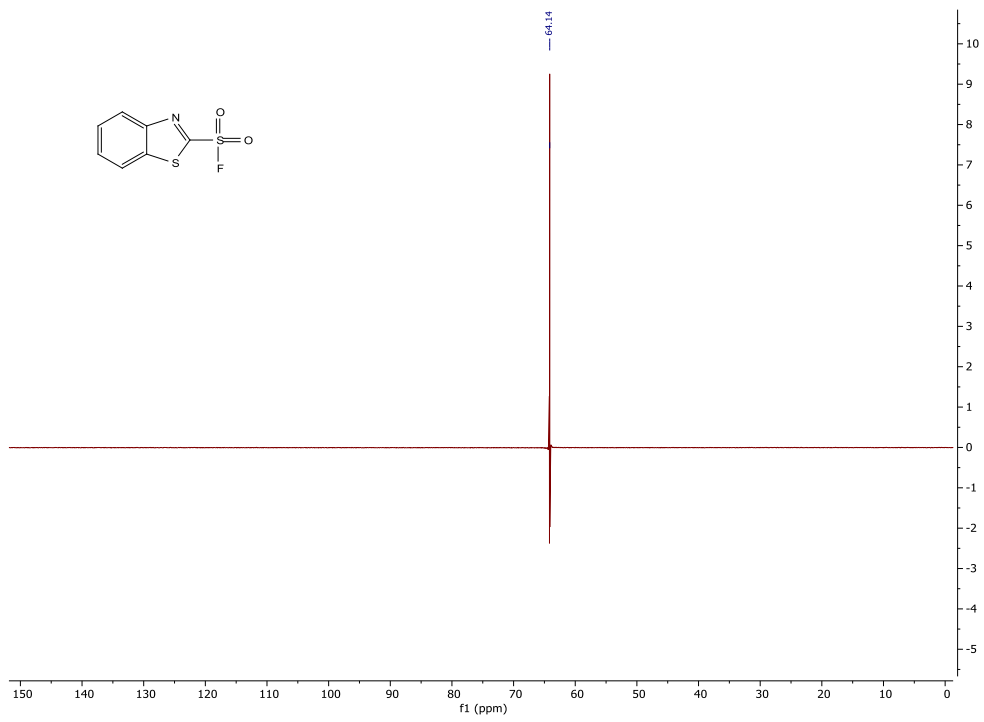
Spektrum 5: ¹H spektrum látky 4



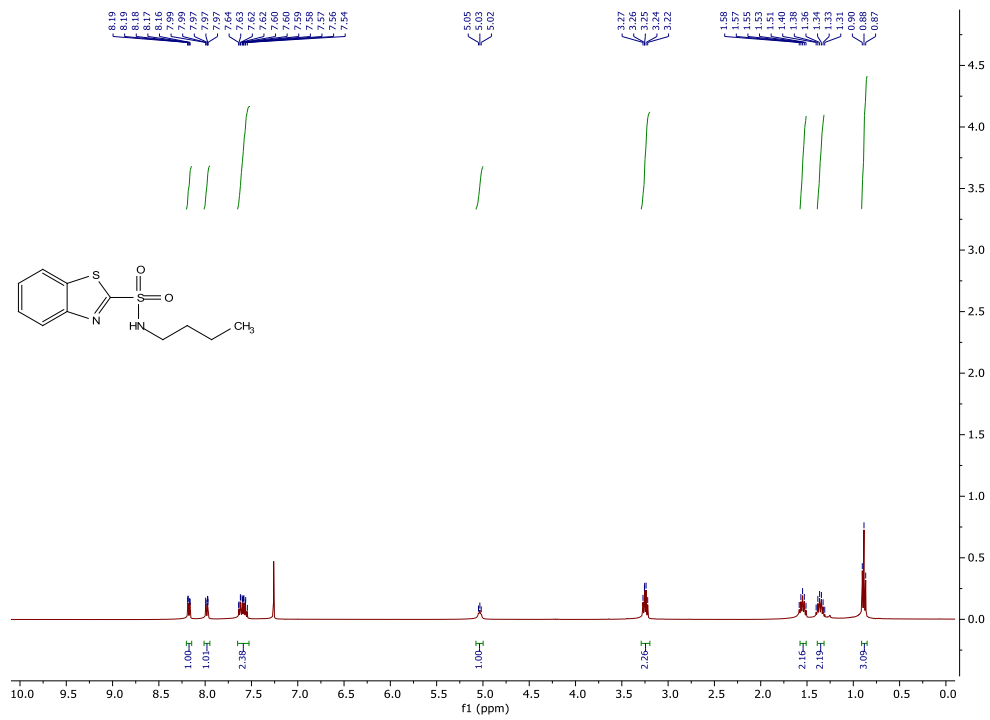
Spektrum 6: ¹³C spektrum látky 4



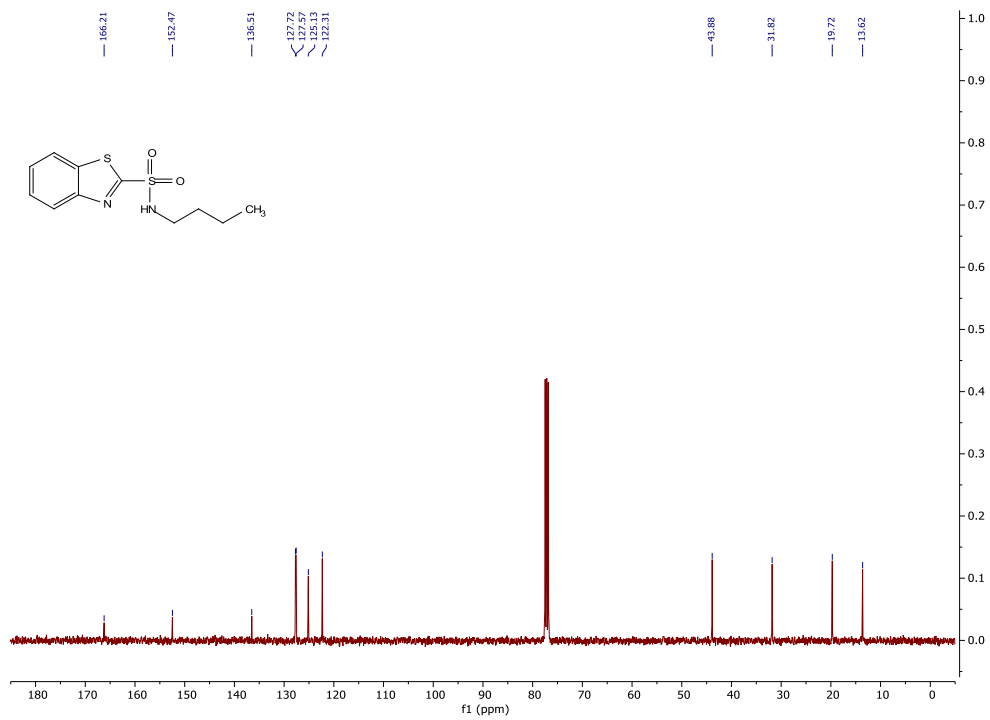
Spektrum 7: ^{19}F spektrum látky 4



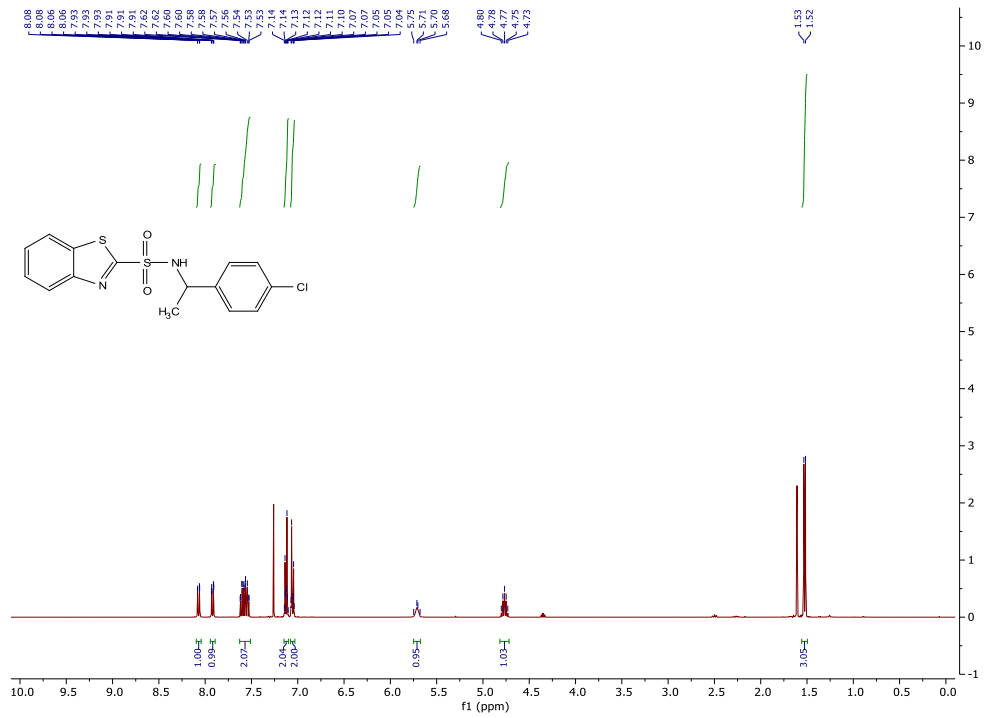
Spektrum 12: ¹H spektrum látky 8



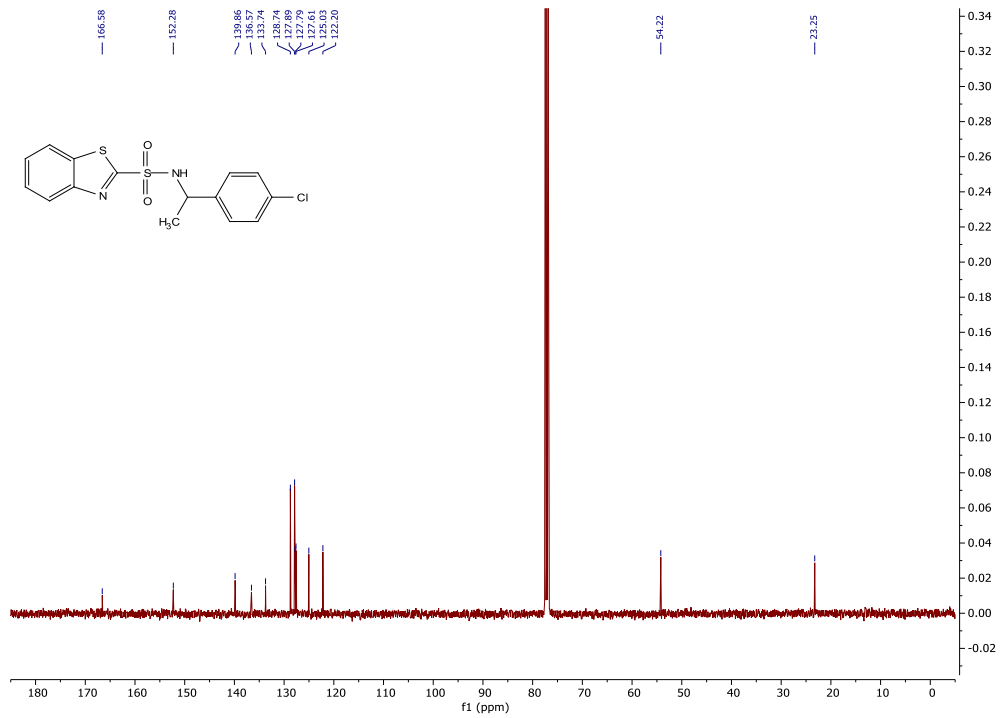
Spektrum 13: ¹³C spektrum látky 8



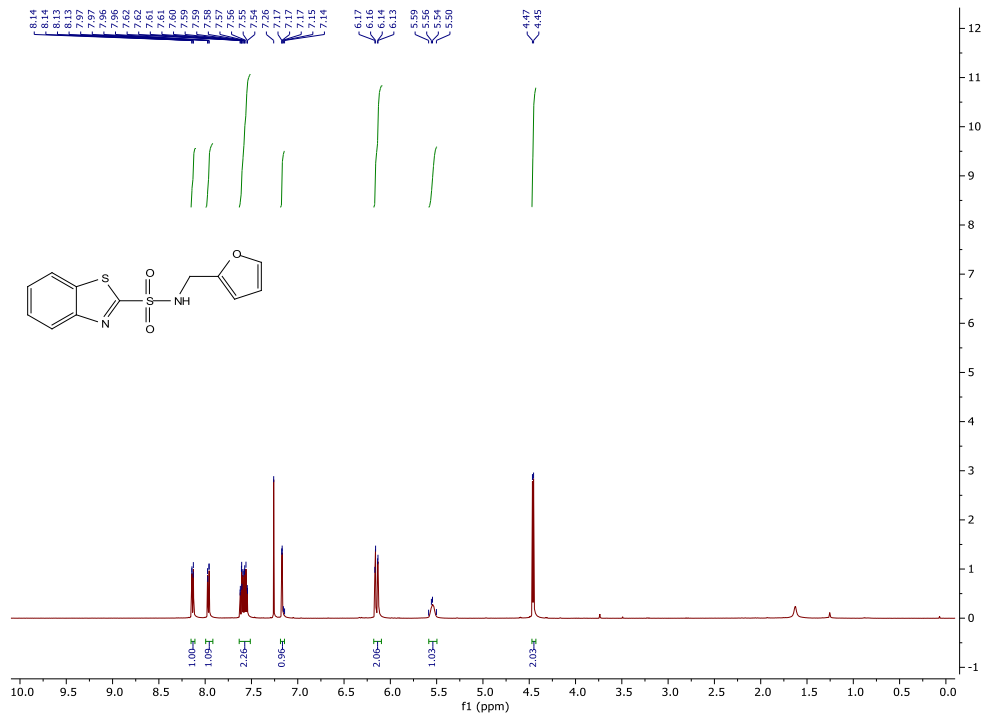
Spektrum 14: ¹H spektrum látky 9



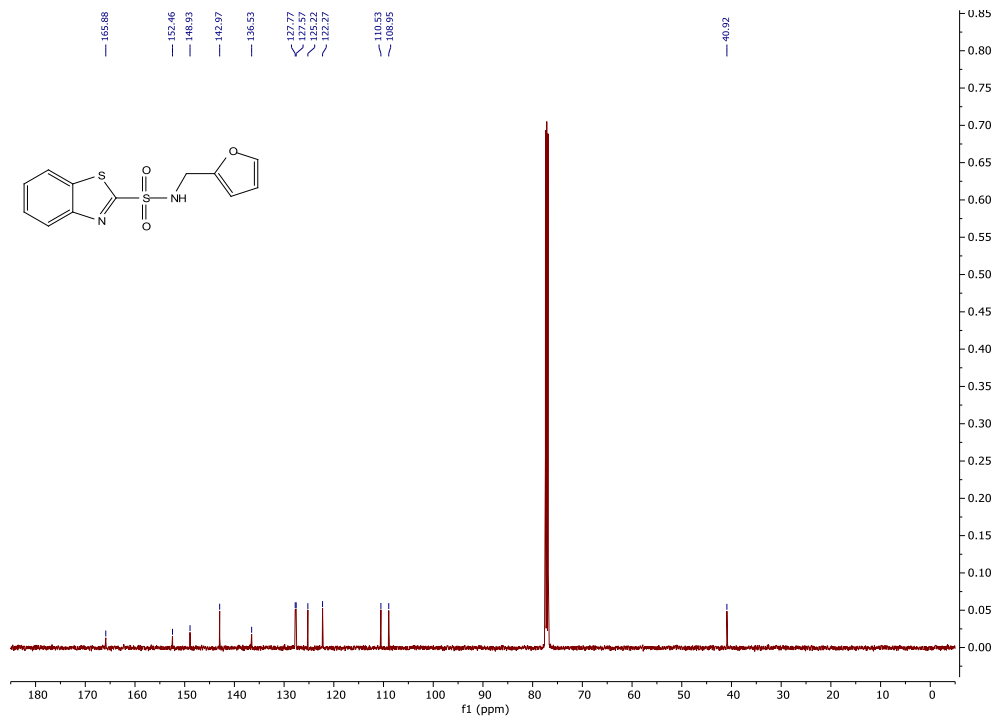
Spektrum 15: ¹³C spektrum látky 9



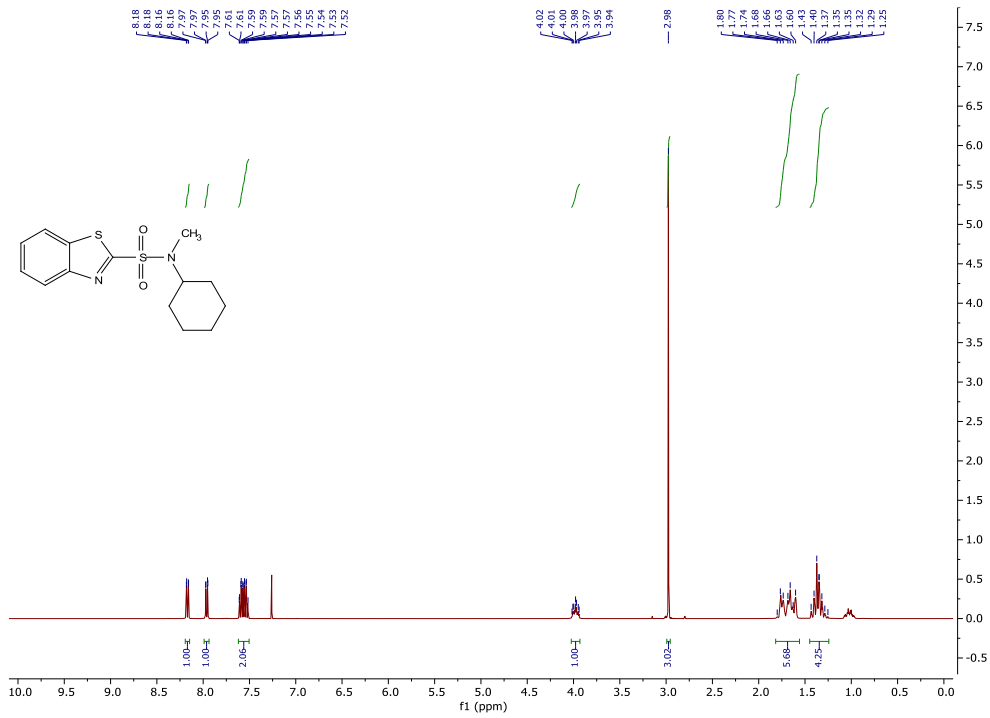
Spektrum 16: ¹H spektrum látky 10



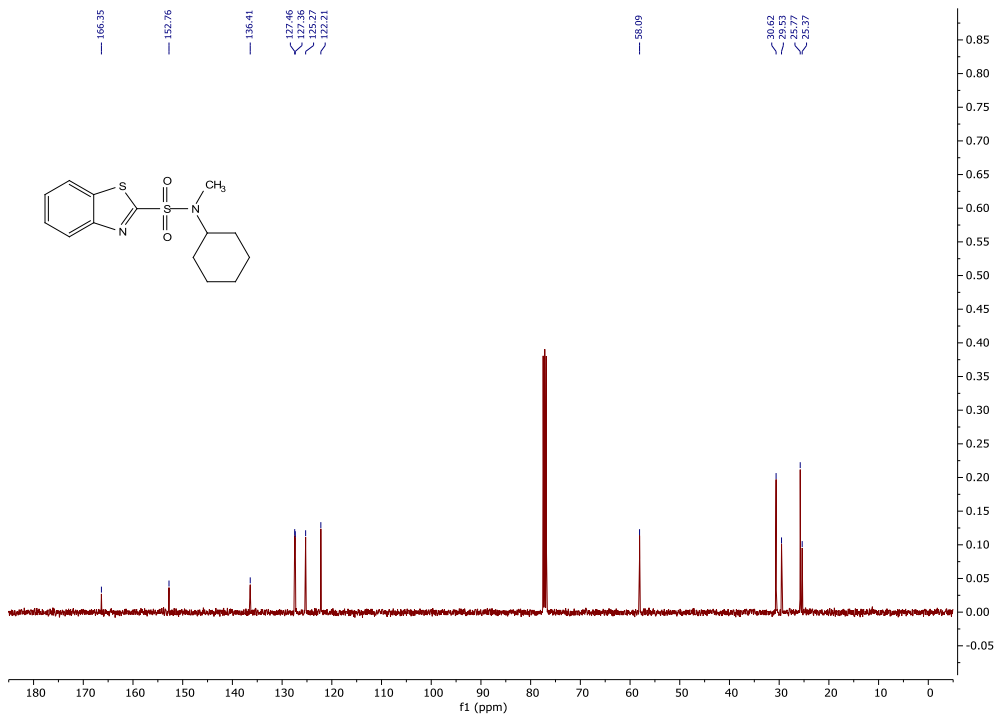
Spektrum 17: ¹³C spektrum látky 10



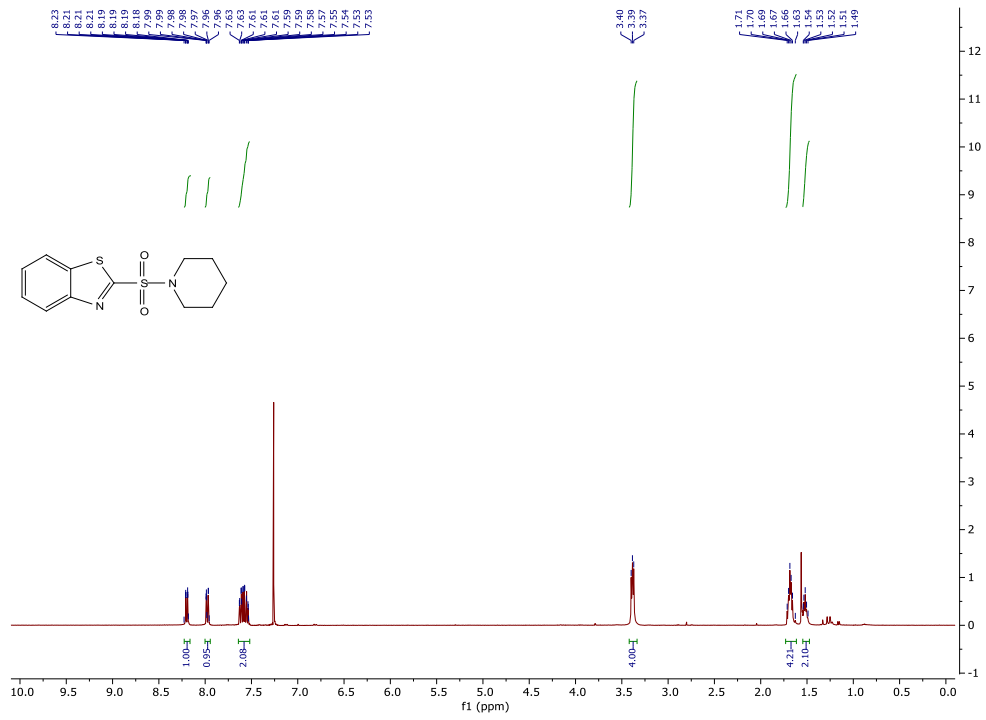
Spektrum 18: ¹H spektrum látky 11



Spektrum 19: ¹³C spektrum látky 11



Spektrum 20: ¹H spektrum látky 12



Spektrum 21: ¹³C spektrum látky 12

