UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA

Regioselektívna syntéza dihydrochinoxalinónových kinázových inhibítorov

Diplomová práca

Študijný program:	Chémia
Študijný odbor:	4.1.14. Chémia
Školiace pracovisko:	Katedra organickej chémie, PRIF UK
Školiteľ:	doc. RNDr. Andrej Boháč, PhD.
Konzultant:	Mgr. Juraj Dobiaš

Bratislava 2016

Bc. Marek Ondruš



študent

Univerzita Komenského v Bratislave Prírodovedecká fakulta

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko študenta: Študijný program: Študijný odbor: Typ záverečnej práce: Jazyk záverečnej práce: Sekundárny jazyk:		Bc. Marek Ondruš organická a bioorganická chémia (Jednoodborové štúdium, magisterský II. st., denná forma) chémia diplomová slovenský anglický	
Názov:	Regioselektívna Regioselective s	syntéza dihydrochinoxalinónových kinázových inhibítorov vnthesis of dihydroquinoxalinone kinase inhibitors	
Literatúra:	pôvodné a prehľadové články vo vedeckých časopisoch, vedecké monografie, J. Med. Chem., Eur J. Med. Chem., databázy Reaxys, SciFinder Scholar, Discovery Studio		
Ciel':	Syntéza počítačom predpovedaných kinázových inhibítorov a štúdium jej regioselektívneho priebehu.		
Kľúčové			
slová:	organická syntéz	a, medicínska chémia, Mer TK, inhibítor	
Vedúci:	doc. RNDr	Andrei Boháč CSo	
Oponent:	Mgr. Henri	eta Stankovičová PhD	
Katedra:	PriF.KOrCl	1 - Katedra organickej chémie	
PriF vedúci	doc. RNDr	Martin Putala CSc	
katedry:		in the second seco	
Dátum zadania	a: 10.04.2015	Mr. Reale	
Dátum schvále	nia: 26.04.2016	doc. RNDr. Martin Putala, CSc. vedúci katedry	
mult	Y	A. C	

as

vedúci práce

Prehlásenie

Čestne prehlasujem, že som predloženú diplomovúprácu vypracoval samostatne s použitím uvedenej literatúry a ďalších informačných zdrojov.

V Bratislave 1.5.2016

.....

podpis autora práce

Zo srdca ďakujem každému, ktorý ma akýmkoľvek spôsobom podporil pri vypracovaní tejto diplomovej práce. Ďakujem vedúcemu diplomovej práce doc. RNDr. **Andrejovi Boháčovi**, PhD. za jeho odborné konzultácie a spoločnosti Biomagi za koncept práce a štruktúry predpovedaných Mer TK inhibítorov. Samostatné poďakovanie patrí kolegovi Mgr. **Jurajovi Dobiašovi** za jeho odbornú a metodickú pomoc a za usmerňovanie pri experimentálnej práci. Za pomoc pri vysvetľovaní reakčných mechanizmov chcem taktiež osobitne poďakovať Mgr. **Matejovi Žabkovi**. A za nezabudnuteľnú atmosféru ďakujem aj kolegom **Ivanovi**, **Matúšovia Petrovi**. Svojej **rodine** a blízkym ďakujem za psychickú podporu a ohľaduplnosť pri mojom vysokoškolskom štúdiu.

OBSAH

Gr	afický a	bstrakt	9
Gr	afický a	bstrakt ¹ H-NMR spektier	11
Po	užité sk	ratky	13
Ú١	/ OD		15
1	Ciele	nagisterskej diplomovej práce	15
2	Teore	ická časť	16
	2.1. V	astnosti, biologické funkcie a inhibícia Mer TK receptora	16
	2.1.1.	Vlastnosti Mer TK receptora	16
	2.1.2.	Biologické funkcie Mer TK receptora	17
	2.1.3.	Glioblastoma multiforme (GBM)	18
	2.1.4.	Inhibícia aktivácie a následnej agregácie trombocytov	19
	2.1.5.	Inhibícia Mer TK receptora	20
	2.1.6.	Vývoj inhibítorov Mer TK receptora	22
	2.2. D	hydrochinoxalinónové deriváty	32
	2.2.1.	Vlastnosti a príprava chinoxalinónových derivátov	32
	2.2.2.	Regioselektívna heterocyklizácia dihydrochinoxalinónov	35
3	Exper	mentálna časť	38
	3.1. M	ateriál a použité metódy	38
	3.2. SA	AR štúdia potenciálnych inhibítorov Mer TK receptorov	38
	3.3. Pi	íprava potenciálneho inhibítora 7 Mer TK receptora	40
	3.3.1.	Syntéza etyl esteru kyseliny p-chlórbenzoyl pyrohroznovej (3)	41
	3.3.2. 2(1H)-	Syntéza kyseliny (Z) 3-[2-(4-chlórfenyl)-2-oxoetylidén],4-dihydro ón-6-karboxylovej (5a)	chinoxalín 42
	3.3.3. 2(1H)-	Syntéza kyseliny (Z) 3-[2-(4-chlórfenyl)-2-oxoetylidén],4-dihydro ón-7-karboxylovej (5)	chinoxalín 44
	3.3.4. dihydr	Syntéza <i>N</i> -(2-(dietylamino)etyl) (<i>Z</i>) 3-[2-(4-chlórfenyl)-2-oxoetyli ochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxamidu (7)	dén],4- 45
	3.4. P	íprava potenciálneho inhibítora 12 Mer TK receptora	46
	3.4.1.	Syntéza 2-(pyrolidino)-acetofenónu (9)	47

3.4 48	4.2. -	Syntéza etyl-esteru kyseliny o-(pyrolidín-1-yl)benzoyl pyrohroznovej (10)
3.4 dih	4.3. 1ydro	Syntéza kyseliny (Z) 3-[2-(o-arylpyrolidín)-2-oxoetylidén],4- chinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxylovej (11)	50 -
3.4 dih	1.4. 1ydro	Syntéza N-(2-(dietylamino)etyl) (Z) 3-[2-(o-arylpyrolidín)-2-oxoetylidé chinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxamidu (12)	en],4- 51 -
3.5.	Prí	prava potenciálneho inhibítora 18 Mer TK receptora	53 -
3.5	5.1.	Syntéza kyseliny tetralín-5-karboxylovej (14)	54 -
3.5	5.2.	Syntéza 5-acetoxytetralínu (15)	55 -
3.5	5.3.	Syntéza etyl esteru kyseliny 4-(5-tetralín)-2,4-dioxobutánovej (16)	56 -
3.5 2(1	5.4. 1H)-ó	Syntéza kyseliny (Z) 3-[2-(tetralín)-2-oxoetylidén],4-dihydrochinoxalín n-7-karboxylovej (17)	n- 58 -
3.5 dih	5.5. 1ydro	Syntéza <i>N</i> -(2-(dietylamino)etyl) (<i>Z</i>) 3-[2-(5-tetralín)-2-oxoetylidén],4- chinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxamidu (18)	59 -
3.6.	Prí	prava potenciálneho inhibítora 26 Mer TK receptora	61 -
3.6	5.1.	Syntéza benzyl N-(4-acetylfenyl)sulfamoylkarbamátu (21)	62 -
3.6	5.2.	Syntéza 1-(1-hydroxyetyl)-4-(sulfamoylamino)benzénu (22)	63 -
3.6	5.3.	Syntéza N-(4-acetylfenyl)sulfamidu (23)	64 -
4 Dis	skusi	a	65 -
4.1.	Prí	prava východiskových acetofenónov	65 -
4.2.	Prí	prava α,γ-diketoesterov 3, 10 a 16	68 -
4.3.	Reg	gioselektivita cyklokondenzačnej reakcie <i>o</i> -PDA a benzoylpyruátov	69 -
4.4.	Spe	ektrálne charakteristiky ANTI a SYN regioizomérov	74 -
4.5. vodíl	Ta kov	utomérna rovnováha dihydrochinoxalinónov a chemická výmena NH	(76 -
4.6.	Prí	prava prekurzorov Mer TK inhibítorov 5, 11, 17 a 24	77 -
47	Prí	prava zlúčenín 7, 12, 18 a 26 s predpovedanou Mer TK aktivitou	77 -
•• / •			
5 ZÁ	ÍVE F	R	78 -

Abstrakt

Marek Ondruš: Regioselektívna syntéza dihydrochinoxalinónových kinázových inhibítorov

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra organickej chémie Magisterskádiplomová práca, 79 strán, 2016

Mer tyrozín kináza (TK) je dôležitým mediátorom prirodzených bunkových procesov (fagocytóza) a súvisí aj s progresiou onkologických ochorení (prežívanie, migrácia, invázia, metastázy a chomosenzitivita). Aj napriek mnohým úspechom v terapii tumorov je veľký dopyt po účinnejších a selektívnejších inhibítoroch s lepšími stále farmakokinetickými vlastnosťami. Priaznivý výsledok inhibičného účinku zlúčeniny firmy Biomagi BM01014 (IC₅₀: 2 750 nM) voči Mer TK nás inšpiroval k vývoju nových derivátov tohto dihydrochinoxalinónového inhibítora. Prídavné interakcie meniacej sa aroyolovej časti majú zlepšiť afinitu predpovedaného inhibítora k aktívnemu miestu Mer tyrozín kinázy a N,N-dietyletylénový fragment inhibítora bol navrhnutý s cieľom zlepšenia jeho rozpustnosti. V experimentálnej časti sa venujeme hlavne regioselektívnej príprave nosného skeletu požadovaného ANTI regioizoméru vznikajúceho v cyklokondenzačnej reakcii o-fenyléndiamínu (o-PDA) s benzoylpyruátom. Tématika regioselektívnej heterocyklizácie poskytujúcej dihydrochinoxalinóny je v literatúre málo diskutovanou témou, pričom sa vyskytujú tvrdenia, ktoré si protirečia. V práci sme vyriešili spôsob, akým je možné prepínať regioselektivitu prípravy ANTI alebo SYN regioizomérov. Navrhli sme tiež mechanizmus vysvetľujúci selektivitu týchto reakcii. Na potvrdenie všeobecnej platnosti mechanizmu boli uskutočnené heterocyklizačné reakcie s rôzne substituovanými o-PDA. Tie odzrkadľujú vplyv elektrónových efektov na regioselektivitu. Podmienky vyvinutej regioselektívnej reakcie sme využili na prípravu navrhnutých Mer TK inhibítorov. Štruktúry regioizomérnych produktov sme potvrdili 2D NMR technikami.

Kľúčové slová:Mer TK, tyrozín kináza, inhibičná koncentrácia, regioselektivita, cyklokondenzácia,*o*-PDA, dihydrochinoxalinón

Abstract

Marek Ondruš: Regioselective synthesis of dihydroquinoxalinone kinase inhibitors

Comenius University in Bratislava, Faculty of Natural Sciences, Department of Organic Chemistry Master diploma work, 79 pages, 2016

Mer tyrosine-kinase (TK) is an important mediator of natural cell processes (phagocytosis) and is also linked with the progression of oncologic diseases (survival, migration, invasion, metastasis and chemosensitivity). Despite many achievements in the treatment of tumors, it is still a great demand for effective and selective inhibitors with improved pharmacokinetic outcome of the effect of Biomagi The favourable inhibition properties. compoundBM01014(IC₅₀: 2750 nM) to Mer TK ispired us to develop new derivatives of this dihydroquinoxalinone inhibitor. Additional interactions invariablearoyl part should improve affinity of the inhibitor toactive site of the Mer tyrosine kinase and N, Ndiethylethylene fragment of the inhibitor was designed to improveits water solubility. In experimental part we discuss regioselective preparation of desired ANTI regioisomer formed by the cyclocondenzation of o-phenylenediamine (o-PDA) with benzoylpyruate. Topic of regioselective heterocyclization providing dihydroquinoxalinones is rarelydiscussed in literature, even some contradictory results are presented. Within this work we have also solved the methodology to switch regioselectivity for production of ANTI or SYN regioizomers. We proposed a mechanism explaining the selectivity of the reaction. We performed heterocyclisazion reactions with various substituted o-PDAs to confirm the generality of the mechanism. These reflect the impact of electronic effects on regioselectivity. We utilized found conditions for regioselective reaction to prepare the proposed Mer TK inhibitors. Structures of regioizomeric products were confirmed by different 2D NMR techniques.

Key words:Mer TK, tyrosine-kinase, inhibition concentration, regioselectivity, cyclocondenzation, *o*-PDA, dihydroquinoxalinone

Grafický abstrakt



Regioselektívna syntéza dihydrochinoxalinónových kinázových inhibítorov

Schéma 1. Syntetická cesta "A" vedúca k príprave zlúčeniny7.



Schéma 2. Syntetická cesta "B" vedúca k príprave zlúčeniny 12.



Schéma 3. Syntetická cesta "C" vedúca k príprave zlúčeniny 18.



Schéma 4. Syntetická cesta "D" vedúca k príprave zlúčeniny 26.

Grafický abstrakt ¹H-NMR spektier





Použité skratky

Ala	Alanín
ALL	Akútna lymfoblastická leukémia
АМК	Aminokyselina
AML	Akútna myeloidná leukémia
Arg	Arginín
Asp	Aspartát
ATP	Adenozíntrifosfát
CL	"Clearance"
СММР	Kyanometyléntrimetylfosforan ("Cyanomethylentrimethylphosphorane")
DCM	Dichlórmetán
DFG	"Aspartát-fenylalanín-glycín"
DIC	Diizopropylkarbodiimid
DIPEA	N,N-diizopropyletylamín
DMAP	4-N,N-dimetylaminopyridín
DMF	Dimetylformamid
DMSO	Dimetylsulfoxid
EA	Etyl-acetát
EDC	1-Etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)karbodiimid
ERG	Elektrón donorná skupina ("Electrone Releasing Group")
EWG	Elektrón akceptórna skupina ("Electrone Withdrawing Group")
F	Orálna biodostupnosť
FDA	Úrad pre kontrolu potravín a liečiv ("Food and Drug Administration Office")
FK	Farmakokinetické vlastnosti
FLC	"Flash Liquid Chromatography"
GBM	"Glioblastoma Multiforme"
Glu	Glutamín
Н	Hexán
HB	Vodíková väzba ("Hydrogen Bond")
hERG	Iónový srdcový kanál ("Human Ether-a-go-go Related Gene")
HOBt	Hydroxybenzotriazol
HTVS	"Hight Throughput Virtual Screening"
HV	Vákum vytvorené olejovou vývevou, olejová výveva ("High Vacuum")
IČ	Infračervená spektroskopia

Ile	Izoleucín
Leu	Leucín
МеОН	Metanol
Met	Metionín
М.р.	Teplota topenia ("Melting Point")
MS	Hmotnostná spektrometria ("Mass Spectrometry")
NSCLC	"Non-Small Cell Lung Cancer"
<i>o</i> -PDA	o-Fenyléndiamín ("ortho-Phenylendiamine")
PtdSer	Fosfatidylserín
PPIX	Protoporfyrín IX
Pro	Prolín
RF	Retenčný faktor
RT	Laboratórna teplota ("Room Temperature")
RTK	Receptorové tyrozín kinázy
RVO	Rotačná vákuová odparka
SA	Kyselina sulfámová (NH ₂ SO ₃ H)
SAR	"Structure-Activity Relationship"
ТАМ	Rodina receptorov tyrozín kinázy ("Tyro3-Axl-Mer")
TBS	Terc-butyldimetylsilyléter
^t BuOH	Terc-butanol
TEA	Trietylamín
THF	Tetrahydrofurán
ТК	Tyrozín kináza
TLC	Chromatografia na tenkej vrstve ("Thin Layer Chromatoraphy")
TMZ	Temozolomid
ТѕОН	Kyselina p-toluénsulfónová
UV	Ultrafialové žiarenie ("Ultraviolet")
vWF	Von Willbrandov faktor

ÚVOD

Zameranie vedcov na biologické dráhy, receptory a ligandy ako ovládacie prvky tumorových tkanív, predstavuje nádejnú časť vývoja liečby nádorových ochorení za posledných 10 rokov. Jedným z kľúčových prístupov je vývoj a identifikácia inhibítorovorganických molekúl, ktoré sú schopné blokovať nadmerne exprimovanú biologickú dráhu a tak premeniť smrtiace ochorenie v chronický, ale zvládnuteľný problém. Premena bunky na nádorovú môže byť spôsobená mutáciami v protoonkogénoch. Takto transformovaná bunka získava nové vlastnosti. Má tendenciu sa vymykať fyziologickému mechanizmu kontroly bunkového delenia, invazívne rásť a prenikať do okolitých tkanív, kde metastázovaním vytvára sekundárne nádory. V dôsledku porúch bunkových receptorov má totiž transformovaná bunka znížené požiadavky na prítomnosť hormónov či rastových faktorov, čím sa stáva takmer nezávislou. Zvýšená produkcia proteínov blokujúcich bunkovú smrť navodzuje odolnosť nádorovej bunky aj voči apoptóze. Jedným z protoonkogénov je aj MER TK. Proteín kódovaný týmto génom sa podieľa práve na metabolickom odstraňovaní apoptických buniek. Strata alebo zmena funkcie takýchto faktorov udržiavajúcich bunkovú rovnováhu je dôvodom vzniku viacerých typov nádorových ochorení.

Súčasná liečba je zameraná na jednotlivé znaky a vlastnosti buniek. Rutinná, konvenčná liečba zahŕňajúca chirurgické odstránenie tkaniva, rádio a chemoterapiu je nedostatočná. Efektívnosť liečby eliminácie nádorov pomocou cielenej inhibície onkoproteínov je v posledných rokoch rozvíjajúci sa prístup k danej problematike. Mer tyrozín kinázový receptor je z tohto hľadiska považovaný za zaujímavý terapeutický cieľ liečby nádorových ochorení.

1 Ciele magisterskej diplomovej práce

- a) Spracovať literatúru ohľadom vlastností a biologických funkcií Mer TK receptora.
- b) Spracovať literatúru týkajúcu sa vývoja Mer TK inhibítorov.
- c) Navrhnúť metodiku syntézy a pripraviť inhibítory 7, 12, 18 a 26.

2 Teoretická časť

2.1. Vlastnosti, biologické funkcie a inhibícia Mer TK receptora

2.1.1. Vlastnosti Mer TK receptora

Kinóm je označenie pre súbor 518 proteín-kináz kódovaných ľudským genómom, z ktorých 58 sú transmembránové TK receptory. Tie sú na základe podobnosti sekvencie intracelulárnej kinázovej domény roztriedené do 20 rodín.¹ Mer TK (tyrozín-kináza) je spolu s receptorom Axl a Tyro3 súčasťou rodiny TAM, v rámci ktorej zdieľajú aspoň jeden spoločný ligand – Gas6. Tieto tri proteíny sú zapojené do mnohých bunkových funkcií v závislosti od typu bunky.

Mer TK pozostávajúca z 999 AMK má veľkosť 110 249 Da.Je to ľudský enzým, ktorého patogenita spočíva v bodovej mutácii. Takouto abnormálnou aktiváciou (aktivácia mutáciou) vzniká hyperaktívna onkogénna forma proteínu. Gény kódujúce TAM proteíny sú však mutované, alebo amplifikované len zriedka. Avšak, transkripcia takýchto proteínov môže byť podporovaná mikroprostredím tumoru. Transkripcia Mer proteínu je stimulovaná 27-hydroxycholesterolom, ktorý je produkovaný bunkami obklopujúcimi tumor (Obrázok 1).²



Obrázok 1.27-Hydroxycholesterol.

¹ Robinson, D.R.; Wu, Y.; Lin, S.F. Oncogene2000, 19, 5548-5557.

² Graham, D.K.; DeRyckere, D.; Davies, K.D.; Earp, H.S.; Nat. Rev. Cancer2014, 14, 769-785.

2.1.2. Biologické funkcie Mer TK receptora

Mer TK je dôležitým mediátorom prirodzených bunkových procesov, okrem toho aj vzniku onkologických ochorení. Jedna z najviac preštudovaných funkcií proteínu Mer, ktorú za normálnych fyziologických podmienok sprostredkováva, je eferocytóza.³ Ide o proces, ktorým sú apoptické resp. nekrotické bunky prostredníctvom membrány fagocytov uložené do vezikúl (eferozómov) a odstránené (Obrázok 2). Eferocytózu môžu vykonávať nie len "profesionálne" fagocytické bunky ako makrofágy a dendrické bunky, ale aj iné typy buniek vrátane epiteliálnych buniek a fibroblastov. Na odlíšenie apoptickej od živej bunky sa využíva prítomnosť fosfatidylserínu (PtdSer), ktorý sa nachádza na vonkajšej fosfolipidovej dvojvrstve apoptických buniek. Mer TK receptor sprostredkováva rozpoznanie a väzbu medzi PtdSer mŕtvych buniek a fagocytmi.⁴ Eferocytózou sa spúšťajú špecifické signálne dráhy, ktoré majú za následok proti-zápalové a rast podporujúce účinky. Problém vzniká pri poruchách eferocytózy, v dôsledku čoho dochádza k nahromadeniu apoptických buniek a vzniku autoimunitných ochorení.



Obrázok 2. Eferocytóza.

Výskyt ektopickej expresie Mer kinázy bol viackrát nezávisle potvrdený v niekoľkých typoch zhubných nádorových tkanív vrátane krvotvorby, pľúc, prsníka, prostaty a mozgu (bunky ALL, AML, NSCLC, GBM). Na väčšinu foriem spomínaných ochorení je vyvinutá efektívna liečba. Stále však existujú formy, ktoré sú liečiteľne len

³ Baladi, T.; Abet, V.; Piguel, S. Eur. J. Med. Chem. 2015, 105, 220-237.

⁴ Moller-Tank, S.; Maury, W. *Virology***2014**, *468-470*, 656-580.

čiastočne, resp. s možnými vedľajšími účinkami a postupným vytváraním rezistencie na aplikovanú liečbu. Práve účinná inhibícia proteínu Mer TK, ktorý je ektopicky v týchto tkanivách exprimovaný, vedie k eliminácii nádorových tkanív.

2.1.3. Glioblastoma multiforme (GBM)

GBM je najčastejší a najagresívnejší typ zhubného nádora v ľudskom mozgu. Gén kódujúci Mer kinázu bol identifikovaný ako jeden z kandidátnych génov významne upregulovaných v GBM. Liečba tejto invazívnej choroby je nedostatočná a Mer proteín sa tak stáva jedným z terapeutických cieľov zhubných gliómov. Gliómy sú podporné nervové bunky predstavujúce až 90 % všetkých buniek nervového systému. Plnia okrem podpornej funkcie, aj funkciu vyživovaciu, regeneračnú a ochrannú. Problém nastáva pri nadobúdaní postupnej odolnosti na chemoterapiu. Druhým problémom je, že gliómové bunky ľahko prenikajú do susedných tkanív, z čoho vznikajú nové metastatické miesta a v dôsledku toho dochádza do jedného roka k úmrtiu až 50 % pacientov. V *in vitro* testoch bolo preukázané, že inhibícia Mer TK zvyšuje chemosenzitivitu buniek GBM.⁵

Štandardná liečba zahŕňa chirurgickú sekciu, chemo/rádioterapiu, ktorá však zvyšuje tumorovú agresivitu. Priemerný tumor GBM obsahuje 10¹¹ buniek. Po chirurgickom zákroku je ich počet zredukovaný na 10⁹ (zníženie o 99 %). Používa sa najmä na odstránenie objemnej hmoty tlačiacej na mozog. Je možná aj tzv. celková resekcia, tzn. že sa chirurgicky odstráni celý nádor. Pri tejto operácii riadenej fluorescenciou sa používa liek Gliolan, ktorého účinnou látkou je prirodzene sa vyskytujúca látka v tele - hydrochlorid kyseliny 5-aminolevulínovej (Obrázok 3).⁶ Ide o senzibilizátor, ktorý je absorbovaný bunkami v tele, kde sa prostredníctvom enzýmov mení na fluorescenčné chemické látky, najmä protoporfyrín IX (PPIX). Keďže bunky gliómu príjmu viac účinnej látky a rýchlo ju premenia na PPIX, v nádorových bunkách sa akumulujú vyššie hladiny PPIX ako v normálnom tkanive. Následne sa PPIX osvieti modrým svetlom špecifickej vlnovej dĺžky, vďaka čomu PPIX v tumore žiari intenzívne červeno, zatiaľ čo normálne mozgové tkanivo sa javí modré. Z tohto dôvodu môže chirurg odstrániť tumor presnejšie a tiež ušetriť zdravé tkanivo mozgu. U väčšiny pacientov sa

⁵ Wang, Y.; Moncayo, G.; Morin Jr, P.; Xue, G.; Grzmil, M.; Lino, M.M.; Clément-Schatlo, V.; Frank, S.; Merlo, A. Oncogene 2013, 32, 872-882.

⁶ Stummer, W.; Pichlmeier, U.; Meinel, T.; Wiestler, O.D.; Zanella, F.; Reulen, H.J. *Lancet Oncol.***2006**, *7*, 392-401.

však neskôr vyvinie nový nádor v pôvodnom mieste tumoru, alebo v blízkom okolí z dôvodu vysokej infiltračnej kapacity zvyšných GBM buniek. Štatistiky hovoria, že 72 hodín po operácii sa v prípade 64% pacientov, ktorí dostali Gliolan, nezistil na snímke mozgu viditeľný tumor v porovnaní s 38% pacientov, ktorí Gliolan nedostali. Po 6 mesiacoch bolo stále nažive bez progresie 21% pacientov, ktorá Gliolan dostali, v porovnaní s 11% pacientov, ktorí liek nedostali.

Mer TK je zodpovedná taktiež za udržanie prirodzenej morfológie gliómových buniek. Jeho nefunkčnosť premieňa pôvodný guľovitý tvar na predĺžený a ovplyvňuje tiež inváziu GBM buniek do okolitého tkanivového prostredia. Po chirurgickom zákroku je takmer vždy súčasťou liečby aj rádioterapia znižujúca percento úmrtia až na polovicu. Po rádioterapii (60-65 Gy) má pacient s GBM cca 10⁷ nádorových buniek. Problematické sú tzv. hypoxie, čo sú miesta so zníženým obsahom kyslíka a teda viac rezistentné voči rádioterapii. Posledným štádiom liečby je chemoterapia, ktorá sa využíva v kombinácii s orálne aplikovaným temozolomidom (TMZ) (Obrázok 3). Ten zvyšuje citlivosť tumoru voči radiačnému žiareniu a alkyluje (metyluje) guanínové zvyšky DNA. Takéto poškodenie DNA nádorových buniek vedie k ich apoptóze.



Obrázok 3. Zľava štruktúry kyseliny 5-aminolevulínovej, protoporfirínu IXa temozolomidu.

2.1.4. Inhibícia aktivácie a následnej agregácie trombocytov

Zrážanie krvi (hemokoagulácia) je komplexný proces zhlukovania krvných doštičiek (trombocytov) za účelom vytvorenia krvnej zrazeniny pri poranení ciev (Obrázok 4). Cievným poškodením sa odkrýva kolagén nachadzajúci sa zvyčajne pod vrstvou endotelu. Dostičky prítomné v krvi sa na kolagén následne viažu svojim povrchovo špecifickým receptorom vytvarajúc prvotnú hemostatickú zrazeninu (primárna hemostáza).

Väzby medzi trombocytovými glykoproteínmi a kolagénovými vláknami sú sprostredkované kľúčovým adhezívnym proteínom, známym ako von Willebrandov faktor (vWF). Tieto väzby sa spájajú s aktiváciou trombocytov, pričom dochádza k prenosu intracelulárneho signálu – fosforylácia tyrozín-kinázy. Trombokináza uvolňovaná z krvných doštičiek premieňa protrombín na aktívnu formu enzýmu – trombín, ktorý následne štiepi fibrinogén z krvnej plazmy na vláknitý fibrín. Ten vzniknutú zrazeninu zosilnía vzniká tzv. sekundárna hemostáza.



Obrázok 4. Snímka erytrocytu, trombocytu a leukocytu z elektrónového mikroskopu.

V roku 2013 bola prvýkrát demonštrovaná funkčná inhibícia kolagénom indukovanej aktivácie trombocytov a ich následnej agregácie sprostredkovaná selektívnym Mer tyrozín-kinázovým inhibítorom.⁷ Fyziologická prokoagulačná aktivita krvných doštičiek bráni nadmernému krvácaniu, pričom hyperaktívna koagulácia môže viesť k vzniku patologickej trombózy so smrteľným následkom. Výsledky *in vivo* testov na myšiach potvrdili zníženú agregáciu pri inhibovanej Mer kináze. Účasť Mer kinázy pri regulácii aktivácie je prevenciou vzniku krvnej zrazeniny. Antiagregačné zlúčeniny sú zo spomínaných dôvodov dôležitou a potrebnou súčasťou liečiv kardiovaskulárnych ochorení a inhibítory Mer kináz majú potenciál takéhoto antikoagulačného liečiva.

2.1.5. Inhibícia Mer TK receptora

TAM rodina tyrozín-kinázových receptorov je stále študovanou skupinou terapeutických cieľov overených viacerými génovými experimentami. Dizajn a vývoj

⁷Kola, I.; Landis, J. Nat. Rev. Drug Discovery2004, 3, 711–716.

selektívnych inhibítorov je náročný, nakoľko štruktúrna podobnosť medzi jednotlivými členmi TAM rodiny ale aj ostatnými kinázami ľudského kinómu je pomerne vysoká. Nízka selektivita spojená s ovplyvňovaním ďalších biologických cieľov sa spája s *target-off*toxicitou potenciálneho liečiva.

Za posledných 20 rokov bolo agentúrou FDA schválených viac ako 20 kinázových inhibítorov.⁸ Väčšina známych inhibítorov fosforylačnej aktivity TAM proteínov boli vedľajším produktom vývoja inhibítorov iných kináz. Testovaním ich selektivity v rámci kinómu však bola zistená selektivita práve voči TAM receptorom. Intracelulárne kinázové domény majúniekoľko možných konformácii, ktoré sú závislé od stavu fosforylácie tejto domény. Po naviazaní sa natívneho receptorového ligandu na extracelulárnu doménu RTK, dochádza k dimerizácii receptora a následnej trans-autofosforylácii tyrozínových zvyškov. Táto autofosforylácia vedie k DFG-*in* konformácii, ktorá je následne schopná fosforylovať aj ostatné cytoplazmatické substráty (Obrázok 5).⁹



Obrázok 5. Aktívna a inaktívna konformácia TK komplexu (farebne vyznačená aktivačná slučka s fenylalanínovým zvyškom, ktorý v neaktívnej DFG-*out* konformácii bráni naviazaniu ATP do TK).

Rozlišujeme aj viacero typov inhibítorov. Najväčšou skupinou známych kinázových inhibítorov sú inhibítory typu I. Ide o ATP-kompetetívne inhibítory interagujúce v ATP väzbovom mieste kinázy. Selektivitu takýchto inhibítorov zlepšujú špecifické interakcie so zvyškami AMK z väzbového miesta TK. Podstata selektivity inhibície Mer proteínu v rámci TAM rodiny spočíva v interakcii ligandu s Ile650, ktorý je pre Mer voči ostatným kinázam rodiny TAM špecifický. Proteíny Axl a Tyro3 majú na

⁸ Laufer, S.; Bajorath, J. J. Med. Chem. 2014, 57, 2167-2168.

⁹Schlessinger, J. Cell2000, 103, 211-215.

tejto pozícii namiesto Ile Met alebo Ala. Tieto zistenia boli dobrým odrazovým bodom pre vývoj selektívnych inhibítorov voči jednotlivým TAM receptorom.

Jedným z ďalších typov inhibítorov sú inhibítory typu II. Tie interagujú s DFG-out konformáciou receptoru a okrem ATP väzbového miesta zasahujú aj do alosterického miesta kinázy. ATP väzbové miesto je už ale pre prirodzený substrát (ATP) v tejto konformácii nedostupné vzhľadom k tomu, že inhibítor aj fenylalanín z DFG fragmentu stéricky bráni jeho naviazaniu. Nakoľko je alosterické väzbové miesto TK menej konzervované, tento typ inhibítorov má potenciál dosiahnuť vyššiu selektivitu v rámci kinómu v porovnaní s inhibítormi typu I. Pre niektoré kinázy nemusí byť tento typ inhibítora dostupný, v prípade, že alosterické miesto nie je dostupné kvôli objemným AMK zvyškom gatekeeper-ov.¹⁰Gatekeeper je charakteristický AMK zvyšok kinázy, ktorý sa nachádza pri vstupe do alosterického miesta.

2.1.6. Vývoj inhibítorov Mer TK receptora

Relatívne rýchly vývoj špecificky profilovaných inhibítorov fosforylačnej aktivity Mer kinázy nastal od roku 2009, kedy bola publikovaná kryštálová štruktúra intracelulárnej kinázovej domény ľudského Mer TK proteínu so ligandom C52 (Obrázok 7).¹¹ Virtuálnym skríningom bolo z knižnice obsahujúcej 157 štruktúr kinázových inhibítorov vybraných 5 potenciálnych zlúčenín, ktorým bola stanovená inhibičná koncentrácia (IC_{50}) v rozmedzí od 11,3 po 0,03 µM, pričom tri z nich sú analógy purínu (Obrázok 6).



Obrázok 6.Päť inhibitorov Mer tyrozín-kinázy s ich hodnotou *IC*₅₀ aktivity.

¹⁰Zhao, Z.; Wu, H.; Wang, L.; Liu, Y.; Knapp, S.; Liu, Q.; Gray, N.S. *ACS Chem. Biol.*2014, *9*, 1230-1241.
¹¹Huang, X.; Finerty, P.J.; Walker, J.R.; Butler-Cole, C.; Vedadi, M. Schapira, M.; Parker, S.A.; Turk, B.E.;

Thompson, D.A.; Dhe-Paganon, S. J. Struct. Biol. 2009, 165, 88-96.



Obrázok 7. Časť rtg.analýzy komplexu ligandu C52 v aktívnom mieste Mer TK (PDB ID: 3BPR).

Rtg. štruktúrna analýza odhalila vodíkovú väzbu ligandu s Met674, ktorý sa nachádza v závesnej oblasti. Hydroxylová skupina zlúčeniny C52 je orientovaná do rozpúšťadla a vytvára vodíkovú väzbu so zvyškom Asp678. N(9)-Izopropylová skupina smeruje do hydrofóbneho vrecka k Mer aminokyselinovému zvyšku Ile650. O 3 roky neskôr bola publikovaná SAR štúdia trisubstituovaných pyrazolopyrimidínov (odvodených z C52), kde zo série biologicky testovaných zlúčenín boli najúspešnejšie štruktúry 1 a 2 (Obrázok 8).¹²



Obrázok 8. Štruktúry a *IC*₅₀ hodnoty inhibítorov 1 a 2.

¹²Liu, J.; Yang, C.; Simpson, C.; DeRyckere, D.; Van Deusen, A.; Miley, M.J.; Kireev, D.; Norris-Drouin, J.; Sather, S.; Hunter, D.; Korboukh, V.K.; Patel, H.S.; Janzen, W.P.; Machius, M.; Johnson, G.L.; Earp, H.S.; Graham, D.K.; Frye, S.V. Wang, X. ACS Med. Chem. Lett. **2012**, *3*, 129-134.

NH vodík pri butylovom reťazci štruktúr **1** a **2** vytvára kľúčovú interakciu s Leu671, ktorá vystupuje ako *gatekeeper* ovplyvňujúci vstup do alosterického miesta. SAR štúdia odhalila, že predlžovaním tohto n-alkykového reťazca začala inhibičná aktivita voči cieľovej molekule klesať. Dôvodom je, že tento reťazec smeruje do priestorovo obmedzeného vrecka. Hoci pyrazolpyrimidínové skelety už boli opísané ako ATP-kompetetívne inhibítory iných kináz, zlúčeniny **1** a **2** preukázali dobrú selektivitu v rámci 72 kináz (vrátane Axl a Tyro3). Inhibítory proteínu Tyro3 môžu byť v porovnaní s inhibítormi proteínu Mer TK hlbšie inkorporované vo väzbovom mieste (Obrázok 9). Zlúčenina **2** mala aj sľubné farmakokinetické vlastnosti, avšak v enzymatických testoch preukázala inhibíciu *antitarget* cieľa (hERG). Ide o iónový srdcový kanál, ktorého inhibícia by mohla spôsobiť náhlu smrť pacienta.¹³



Obrázok 9. Inkorporácia inhibítorov (modré) v aktívnych miestach proteínov Mer (vľavo) a Tyro3 (vpravo).

Inhibícia iónového srdcového kanálu bola zapríčinená aminoskupinou cyklohexylového zvyšku pôvodného inhibítora **2**. SAR štúdia ale potvrdila, že prítomnosť donoru vodíkovej väzby v *trans* pozícii cyklohexánového kruhu je pre väzbovosť s cieľovou molekulou dôležitá. Zámenou NH₂ skupiny v zlúčenine **2** za OH skupinu bol o rok neskôr pripravený derivát **3** (UNC1062), v ktorom sa inhibičný účinok voči hERG odstránil.¹¹Problémom štruktúry **3** však zostali jej nevhodné farmakokinetické (FK) vlastnosti a slabá rozpustnosť.

Farmakokinetické vlastnosti sú označované ako jedny z majoritných dôvodov zlyhania účinku potenciálneho liečiva. Prieskum z roku 1991 ukázal, že až 39 %

¹³Xi, S.; Li, Y.; Li, X.; Wang, L.; Yang, N.; Wang, Y.; Wei, H. Oncotarget2015, 6, 9206-9219.

klinických zlyhaní je výsledkom nepriaznivých farmakokinetických vlastností.⁷Odvtedy sa pozornosť upriamila na zlepšenie FK vlastností už na začiatku vývoja liečiv, čím sa eliminovali nevhodné zlúčeniny. Touto zmenou boli v roku 2000 zaznamenané zlyhania inhibičného účinku z dôvodu nevhodných FK vlastností pod 10 %.

Realizáciou ďalších nápadov na zmenu štruktúry zlúčeniny **3** s cieľom zlepšenia FK vlastností boli po SAR štúdii pripravené inhibítory **4** a **5**(Obrázok 10). Ich spoločnou odlišnosťou od zlúčeniny **3** je zmena pyrazolového kruhu na tzv. pseudokruh stabilizovaný vnútromolekulovou vodíkovou väzbou, pričom ide o dva rôzne typy pseudokruhov. SAR štúdie vychádzali v oboch prípadoch z kryštálových štruktúr, pričom zlúčenina **4** bola navrhnutá na základe komplexu jej derivátu **6** s nesubstituovaným pyridínovým kruhom.¹⁴ V druhom prípade bola použitá zlúčenina **7**, analóg od zlúčeniny **5**, ktorý mal namiesto terminálneho imidazolu sulfónamidovú skupinu (Obrázok 11).¹⁵



Obrázok 10. Štruktúry a TAM TK aktivity zlúčenín **4** a **5** s pseudokruhom stabilizovaným vnútromolekulovou vodíkovou väzbou.

Pri príprave analógu **5** vychádzali autori z chloridu kyseliny 2,4-dichlórpyrimidínkarboxylovej **8**. Jeho reakciou s primárnym amínom vznikol amid **9**, ktorého následné aromatické nukleofilné substitúcie viedli k produktu **5** so pseudokruhom (Schéma 5).

¹⁴Zhang, W.; Zhang, D.; Stashko, M.A.; DeRyckere, D.; Hunter, D.; Kireev, D.; Miley, M.J.; Cummings, Ch.; Lee, M.; Norris-Drouin, J.; Stewart, W.M.; Sather, S.; Zhou, Y.; Kirkpatrick, G.; Machius, M.; Janzen, W.P.; Earp, H.S.; Graham, D.K.; Frye, S.V.; Wang, X. J. Med. Chem. 2013, 56, 9683-9692.

¹⁵ Zhang, W.; McIver, A.L.; Stashko, M.A.; DeRyckere, D.; Branchford, B.R.; Hunter, D.; Kireev, D.; Miley, M.J.; Norris-Drouin, J.; Stewart, W.M.; Lee, M.; Sather, S.; Zhou, Y.; Di Paola, J.A.; Machius, M.; Janzen, W.P.; Earp, H.S.; Graham, D.K.; Frye, S.V.; Wang, X. J. Med. Chem. 2013, 56, 9693-9700.



Skrátenie *trans*-aminocyklohexánového reťazca o metylénovú skupinu a náhrada NH₂ za OH spôsobili, že štruktúra **4** už nevytvára vodíkovú väzbu s Arg727, ktorú v komplexe Mer/**2** vytvárala primárna aminoskupina. Hydroxylová skupina zlúčeniny **4** vytvára novú vodíkovú väzbu s karboxylovou skupinou aminokyseliny Glu595. Okrem toho, 2-aminopyrimidínová časť zlúčeniny vytvára v aktívnom miester Mer kinázy interakcie s Met674 a Pro672 (Obrázok 11). *In vivo* farmakokinetický profil zlúčeniny **4** po intravenóznej aj orálnej aplikácii myšiam vykazoval nízku metabolickú stabilitu a orálnu biodostupnosť: $t_{1/2} = 1.59$ h; CL = 62.2 ml/min/kg; F = 25 %.



Obrázok 11. Rtg. štruktúrna analýza komplexu proteínu Mer s nesubstituovaným pyridínovým derivátom **6** (PDB: 4M3Q, hore) a sulfoxamidovým analógom **7** (PDB: 4MHA, dole).

SAR štúdia, ktorej súčasťou bola aj príprava zlúčenín**5** potvrdila výsledkami biologických testov dôležitosť vnútromolekulovej vodíkovej väzby pre udržiavanie potrebnej konformácie zlúčeniny, čo demonštruje zlúčenina **11**,s opačným amidovým zoskupením, ktorá stratila inhibičnú aktivitu. Z hodnôt inhibičnej koncentrácie (IC_{50}) taktiež vyplýva, že NH vodík amidovej skupiny je dôležitý, resp. jeho substitúcia nie je žiadúca nakoľko metylová skupina prítomná v analógu **12** bráni tvorbe vodíkovej väzby s Pro672 a zlúčenina tak stráca inhibičnú aktivitu (Tabuľka 1).

Objemnosť tejto skupiny taktiež môže meniť orientáciu aminopyrimidínovej časti, ktorá vytvára s cieľovou molekulou dve neväzbové interakcie. Problémom zlúčeniny 5 (rovnako ako pri zlúčenine 4) bola nízka metabolická stabilita a biodostupnosť: $t_{1/2}$ =0.8 h, *CL* =94.5 ml/min/kg, *F* = 14 %.

	Zlúčenina	\mathbb{R}^1	<i>IC</i> ₅₀ (µM)		
			Mer	Axl	Tyro3
	7	S NH2	0,0052	0,26	0,28
	н 11]	P P P P P P	>30	>30	>30
ŌĦ	12	S S O N	5,9	>30	>30

Tabul'ka 1.IC50 hodnoty vybraných analógov 5SAR štúdieso pseudokruhom.

Ďalšou snahou o prípravu analógu zlúčeniny **3** s lepšími FK vlastnosťami bola zámena pyrazolového N(2) atómu, ktorý nevytvára žiadne neväzbové interakcie, za atóm uhlíka (Obrázok 12). Štruktúra **3** pôsobí duálnym inhibičným účinkom voči Mer a Flt3 kinázam aj napriek len 42 % homologickej podobnosti v rámci ich katalytických kinázových domén.¹⁶ Nakoľko je Flt3 TK nadmerne exprimovaná v AML a Mer TK

¹⁶Zhang, W.; DeRyckere, D.; Hunter, D.; Liu J.; Stashko, M.A.; Minson, K.A.; Cummings, C.T.; Lee, M.; Glaros, T.G.; Newton, D.L.; Sather, S.; Zhang, D. Kireev, D.; Janzen, W.P.; Earp, H.S.; Graham, D.K.; Frye, S.V.; Wang, X. J. Med. Chem. 2014, 57, 7031-7041.

v ALL, vznikla myšlienka kombinovanej liečby leukémie. Hoci je medzi štruktúrami **3** a **13** len jedna štrukturálna zmena (N vs CH), ich príprava je odlišná, nakoľko *N*-alkylácia pre zavedenie *trans*-4-hydroxycyklohexylovej skupiny neprebiehala. Z toho dôvodu bol navrhnutý nový syntetický prístup s cieľom pripraviť zlúčeninu **13** (Schéma 6).¹⁶



Obrázok 12. Štruktúra inhibítora **3** a z neho odvodená zlúčenina **13**, ktorá má namiesto pyrazolopyrimidínového skeletu pyrolopyrimidínový heterocyklus.



Schéma 6.Syntéza zlúčeniny 13.

Pri príprave zlúčeniny **13** vychádzali z pyrolpyrimidínu **14**, ktorý reagoval s mono *terc*-butyldimetylsilyléterom (TBS) chráneným diolom **15**. V tejto reakcii reaguje CMMP vo forme ylidu. Oxofilný atóm fosforu je atakovaný atómom kyslíka z alkoholu **15** za uvoľnenia acetonitrilu. Následným S_N2 nukleofilným atakom pyrolopyrimidínu **14** a uvoľnenia Me₃PO vzniká medziprodukt **16** (Schéma 7).



Schéma 7. Mechanizmus alkylácie pyrolopyrimidínu 14 alkoholom15 pomocou CMMP.

Substitúciou atómu chlóru v 16s BuNH₂získali autori zlúčeninu 17, ktorá po Suzukiho reakcii viedla k izolácii zlúčeniny 19 a táto v kyslom prostredí poskytla finálnu látku 13 v 36 % výťažku.

V prvom kroku Suzukiho couplingovej reakcii po pridaní halogenidu k Pd⁰ vzniká v oxidačnej adícii organopaládnatý (Pd^{II}) komplex. Hydroxidový anión v ďalšom stupni vymieňa atóm brómu, pričom vzniká intermediát, ktorý v následnom kroku reaguje s boronátovým komplexom získaným po aktivácii borónovej kyseliny bázou. Po uvoľnení tetrahydroxoboritanového aniónu je posledným krokom redukčná eliminácia za vzniku produktu **19** a regenerácia Pd⁰katalyzátora (Schéma 8).



Schéma 8. Všeobecný mechanizmus Pd katalyzovanej Suzukiho couplingovej reakcie medzi organoborónovými kyselinami a alkylhalogenidmi.

Zmenou typu jadra v zlúčenine **13** sa podľa výsledkov biologických testov zlepšili farmakokinetické vlastnosti oproti pôvodnej štruktúre **3** (Tabuľka 2). Kvôli optimalizácii rýchlosti metabolického odbúravania (*clearance* = *CL*) autori navrhli ďalšiu SAR štúdiu zlúčeniny **13** a pripravili štruktúry **20**, **21** a **22** (Obrázok 13).¹⁶



Obrázok 13. Štruktúry **20**, **21** a **22** zo SAR štúdie substitúcie v polohách C^3 a C^6 .

Optimálne farmakokinetické vlastnosti získali až pri testovaní zlúčeniny **22**. Tá preukázala dobrú metabolickú stabilitu ($t_{1/2} = 3,8$ h, CL = 9,2 ml/min/kg), orálnu biodostupnosť (F = 100 %) a veľmi dobrú rozpustnosť (28 mg/l) za fyziologických podmienok (Tabuľka 2). Zlúčenina **22** sa týmto stala doteraz najúčinnejším inhibítorom Mer kinázy s najvhodnými farmakokinetickými vlastnosťami.

Zlúčenina	Dávka	$t_{1/2}$	CL	F
	(mg/kg)	(h)	(ml/min/kg)	(%)
13	3	0,23	70	8,4
20	3	0,80	103	25
21	3	1,20	76	67
22	3	3,80	9,2	100

Tabul'ka 2. Farmakokinetické parametre zlúčenín 13, 20, 21 a 22 získané in vivo testovaním.

In vivo štúdie vyžadujú gramové množstvá testovaných zlúčenín. Z tohto hľadiska bola syntetická cesta na prípravu zlúčeniny **22** prispôsobená tak, aby bola realizovateľná aj v potrebnom multigramovom meradle (*scale up*). Využitím Sonogashirovej *cross*-

coupling-ovej reakcie pre tvorbu väzby C-C medzi terminálnym alkínom a arylbromidom z látky**24** získali intermediát **25** (Schéma 9 a 10). Jeho cyklizáciou po odchránení TMS získali analóg **26** s pyrolovým kruhom. Po chránení OH skupiny, nukleofilnej aromatickej substitúcii a Suzukiho-Miyaurovej *coupling*-ovej reakcii bol izolovaný finálny produkt **22**(Schéma 10).



Schéma 9. Mechanizmus Sonogashirovej couplingovej reakcie. Pd⁰ vytvára v reakcii s arylhalogenidom organopaládnatý Pd^{II} komplex, ktorý v transmetalačnej reakcii reaguje s Cu-acetylidom za vzniku C-C väzby



Schéma 10. Prípravy zlúčeniny 22 s celkovým 25 % výťažkom.

Vzhľadom k tomu, že biologické funkcie TAM tyrozín-kinázových receptorov stále nie sú plne preskúmané, ďalšie štúdie nadväzujúce na už zistené poznatky môžu priniesť širšie porozumenie štruktúrnych a biologických aspektov týkajúcich sa problematiky terapeutickej liečby. V rámci TAM rodiny, jedine proteín Axl TK nemá dosiaľ vyriešenú jeho kryštálovú štruktúru, ktorá by mohla priniesť kľúčové informácie pre dizajn a vývoj selektívnych inhibítorov TAM rodiny TK receptorov. Avšak, ani detailná znalosť aktívnych miest nespraví z molekulového dizajnu selektívnych inhibítorov triviálnu záležitosť, nakoľko sa predpokladá štruktúrna diverzita len v jednej AMK pre proteíny Axl, Mer a Tyro3 (Met595, Ile650 a Ala571, vzťažne). Alternatívnou možnosťou sú inhibítory typu III, ktoré vytvárajú interakcie výhradne s alosterickým miestom proteínu.

2.2. Dihydrochinoxalinónové deriváty

2.2.1. Vlastnosti a príprava chinoxalinónových derivátov

Chinoxalíny (benzopyrazíny) sú heterocyklické štruktúry obsahujúce prikondenzované benzénové a pyrazínové jadro. Takýto skelet obsahuje viacero prírodných látok s vysokou biologickou aktivitou, ako napr. Echinomycín a Karbadox s antibiotickými účinkami (Obrázok 14).¹⁷



Obrázok 14. Štruktúra antibiotík Echinomycínu a Karbadoxu.

Deriváty chinoxalínov – dihydrochinoxalinóny **32a** a **32b** s prikondenzovaným aroylomprostredníctvom vinylovej skupiny boli identifikované ako štruktúry s inhibičným

¹⁷ Abu-Hashem, A.A. J. Org. Chem. 2015, 5, 14-56.

účinkom voči Mer TK s možným terapeutickým využitím. Takéto štruktúry vznikajú 2stupňovou cyklokondenzačnou reakciou difunkčných derivátov *o*-fenyléndiamínu (*o*-PDA) **33** s polykarbonylovými kyselinami **34**, resp. jej estermi (Schéma 11). V prípade nesymetricky substituovanej molekuly *o*-PDA prebieha cyklokondenzačná reakcia za vzniku zmesi *ANTI* a *SYN*regioizomérov.



R1: EVVG/EDG; R2: OH, OEt, OMe.

Schéma 11. Neselektivita cyklokondenzačnej reakcie za vzniku zmesi ANTI a SYN regioizomérov.

Už v roku 1961 bolo uvedené, že aza heterocykly s β -karbonylovou skupinou na uhlíku susediacom s atómom dusíka majú tendenciu izomerizovať. Štruktúra dihydrochinoxalinónu s prikondenzovaným aroylom cez vinylový fragment môže zaujať tritautomérne formy, ketoimínovú, ketoenamínovú a enolimínovú (Obrázok 15). Dostupná literatúra a výpočty uvádzajú, že tautomérna rovnováha je výhradne posunutá na stranu ketoenamínovej formy, tj. násobná väzba z C=N je posunutá na postranný reťazec na C=C za vzniku α,β -nenasýteného karbonylového systému.¹⁸Jedným z dôvodov, prečo je táto tautomérna forma prevládajúca je tiež stabilizácia intramolekulovou vodíkovou väzbou medzi sekundárnou amino skupinou a priestorovo dostupnou karbonylovou skupinou.



Obrázok 15. Tautomérne formy dihydrochinoxalinónového skeletu.

¹⁸ Iwanami, Y. Nippon Kagaku Zasshi**1961**, 82, 778-780.

Rtg. štruktúrnou analýzou sa na dihydrochinoxalinónovom deriváte zistilaväčšia vzdialenosť atómov karbonylovej C₁₀-O₃ skupiny benzoylového fragmentu v porovnaní so štandardnou dĺžkou takejto väzby (1.25 Å vz. 1.20 Å) (Obrázok 16). Väčšiu väzbovú vzdialenosť má taktiež exocyklická násobná väzba C₈-C₉ (1.36Å vz. 1.34Å). Naopak, väzby C₈-N₁ (1.35 Å) a C₉-C₁₀ (1.43 Å) boli svojou dĺžkou kratšie ako sú štandardné dĺžky väzieb C-N (1.47 Å) a C-C (1.54 Å). Týmto sa skôr charakterovo podobajú dĺžke heteroatomatickej C=N (1.34Å) a aromatickej C=C (1.40Å) väzbe enolimínovej formy. Tátoto skutočnosť naznačuje delokalizáciu elektrónov po väzbách pričom molekula má dominantne zaujímať ketoenamínovú tautomérnu formu.



Obrázok 16. Rtg. štruktúrna analýza dihydrochinoxalinónového derivátu s OMe skupinou na fenyle. Prvá hodnota dĺžky väzby je nameraná, v zátvorke je uvedená dĺžka analogickej bežnej väzby daného typu.

Z publikovaných štruktúr tohto skeletu sa dá pozorovať niekoľko tautomérnych aspektov. α-Karbonylová skupina aroylového fragmentu posúva chemické posuny aromatických orto vodíkov do oblasti 7.9-8.2 ppm, vinylových 6.8-7.1 ppm, prípadne metylénových vodíkov ketoimínovej oblasti okolo formy do 4-5 ppm.¹⁹Relevantný dôkaz na prítomnosť ketoenamínovej formy by bol výskyt dvoch NH skupín v¹H-NMR spektre s chemickým posunom okolo 12-14 ppm. V¹³C-NMR teito formy sa chemický posun nenasýteného karbonylového uhlíka (185-191 ppm) zapojeného do intramolekulovej vodíkovej väzby výrazne charakterovo líši od karbonylu intramolekulovej amidovej väzby (155-165 ppm). Taktiež vinylový typ uhlíka má na rozdiel od metylénového typu (50 ppm) chemický posun v ¹³C-NMR spektre okolo 90-100 ppm.

Tautomérna forma v tuhom stave sa dá tiež identifikovať podľa IČ spektroskopie. Odozva α,β -nenasýteného ketónu môžme z dôvodu zapojenia do vodíkovej väzby

¹⁹ Iwanami, Y.; Seki, T. Bull. Chem. Soc. Jpn. 1971, 44, 1316-1321.

očakávať pri nižšom vlnočte (1623-1620 cm⁻¹) v porovnaní s vlnočtom typického nenasýteného systému (1670-1663 cm⁻¹).

2.2.2. Regioselektívna heterocyklizácia dihydrochinoxalinónov

Príprava takéhoto typu diazínového heterocyklického skeletu selektívnym spôsobom je v literatúre málo diskutovanou témou. Niekoľko odborných článkov opisuje cyklokondenzačné reakcie tohto typu, autori však často uvádzajú vznik zmesi produktov.²⁰ regioizomérnych Jedna práca opisuje selektívnu prípravu dihydrochinoxalinónových analógov s elektrón-akceptornou karbonitrilovou skupinou.²¹Regioselektivitu autori vynútili pomocou rozdielnej reaktivity Claisenového esteru 35 a laktónu 36. Atak nukleofilnejšej*meta*-NH₂ skupiny karbonitrilu 37 na jednotlivé štruktúry laktónu 36alebo esteru 35poskytuje dva rôzne regioizomérne produkty (38 a 39) s dihydrochinoxalinónovým skeletom(Schéma 12).



Schéma 12. Selektívna príprava regioizomérnych produktov 38 a 39.

Opísaná je taktiež príprava dihydrochinoxalinónu **42** substituovaného s nitro skupinou zahrievaním *o*-PDA **40** s metylesterom kyseliny benzoyl pyrohroznovej **41** (Schéma 13).²² Autori opisujú získanie regioizoméru s *ANTI* konfiguráciou po kryštalizácii z DMSO. Tento výsledok je ale protichodný s výsledkami uvedenými v ostatnej literatúre.

²⁰ Korin, E.; Cohen, B.; Bai, Y.; Zeng, Ch.; Becker, J.Y. *Tetrahedron***2012**, *68*, 7450-7455.

²¹ Andreichikov, Y.S.; Nekrasov, D.D.; Pitirimova, S.G.; Zaks, A.S.; Korsheninnikova, M.I.; Plaksina, P.N.; Semenova, Z.N.; Kopeikin, V.A. *Khim Farm Zh***1989**, *23*, 946-949.

²² Mashevskaya, I.V.; Makhmudov, R.R.; Aleksandrova, G.A.; Golovnina, O.V.; Duvalov, A.V.; Maslivets, A.N. *Pharm. Chem. J.***2001**, *4*, 196-198.

Atakom z nukleofilnejšej *m*-NH₂ skupiny, rovnako ako v prípadekarbonitrilového derivátu **37** na α -karbonyl esteru **41** by mal vzniknúť *SYN* regioizomér a nie deklarovaný *ANTI* izomér. Vzhľadom na uvedené, považujeme autormi opísaný produkt **42** ako chybne štruktúrne priradený.



Schéma 13. Selektívna príprava regioizomérnej štruktúry 42.

Z elektrón donorných skupín (ERG) na fenyléndiamínovom fragmente je v literatúre opísaná selektívna príprava *ANTI* regioizoméru **45** s metoxy skupinou.²³ Metoxy skupina svojim elektrónovým účinkom zvyšuje nukleofilitu *p*-NH₂ skupiny *o*-fenyléndiamínu **43**, ktorá po reakcii s nesubstituovaným Claisenovým esterom **44** poskytne po 16 hodinách refluxu regioizomér **45**v 83 % výťažku (Schéma 14).



Schéma 14. Selektívna príprava regioizomérnej štruktúry 45.

Opísaný je tiež syntetický prístup prípravy takýchto aza heterocyklov v reakcii bez rozpúštadla s použitím katalyzátora kyseliny sulfámovej (SA, NH₂SO₃H). Na reakcii rôzne substituovaných aroylpyruátov **47** s nesubstituovaným *o*-PDA**46** je opísaný vznik dihydrochinoxalinónových štruktúr (Schéma 15).²⁴ V kratšom reakčnom čase, za miernych podmienok (RT) a bez použitia rozpúšťadla uvádzajú prípravu produktov tejto reakcie v lepšom výťažku v porovnaní s referenčnou reakciou uskutočnenou v MeOH(Tabuľka 3).

²³ Qi-Chao, Y.; Ding-Er, W.; Ru-Zheng, M.; Min, X. J. Organomet. Chem. 2013, 743, 1-9.

²⁴ Xia, M.; Wu, B.; Xiang, G.F. Synth. Commun. 2008, 38, 1268-1278.


Schéma 15. Syntéza dihydrochinoxalinónových štruktúr pomocou katalýzy SA.

Za efektívne katalytické množstvo sa ukázalo 10 mol % SA, kedy sa výťažok v reakcii bez rozpúšťadla zvýšil o 43%. Taktiež pozorovali, že v prípade benzoyl pyruátu substituovaného v para pozícii EWG skupinou, sa výťažky znížili o 20%. Naopak, v prípade substitúcie s ERG skupinou sa výťažky o 10% zvýšili.

Čas (min) Podmienky *Teplota (°C)* Výťažok (%) MeOH 30 RT 38 Bez rozpúšťadla RT 5 61 Bez rozpúšťadla / SA (5 mol %) 5 RT 73 5 Bez rozpúšťadla / SA (10 mol %) RT 81 5 83 Bez rozpúšťadla / SA (15 mol %) RT

Tabuľka 3. Reakčné podmienky a výťažky cyklokondenzačných reakcii.

3 Experimentálna časť

3.1. Materiál a použité metódy

¹H a ¹³C NMR spektrá boli merané v DMSO- d_6 a CDCl₃ na prístrojoch Varian Gemini (300 MHz pre ¹H a 75 MHz pre ¹³C). Chemické posuny sú udávané v jednotkách ppm, pričom ako vnútorný štandard (0 ppm) bol použitý tetrametylsilán. Teploty topenia boli stanovené pomocou prístroja Büchi The Melting Point M-565. Infračervené spektrá boli merané na prístroji FT-IR Thermo Scientific Nicolet iS10. Namerané hodnoty neboli korigované. Hmotnostné spektrá (MS) boli merané na prístroji Shimadzu LC MS-IT-TOF (Combined LC/MS system). Na stĺpcovú kvapalinovú chromatografiu (FLC) bol použitý silikagél Merck 60 (40 – 63 µm). Priebeh reakcií sme sledovali pomocou TLC analýzy (Merck Silica gel 60 F₂₅₄), a na vizualizáciu škvŕn sme používali UV lampu (254 nm). Použité rozpúšťadlá boli sušené pomocou štandardných postupov uvedených v literatúre. Komerčne dostupné zlúčeniny boli zakúpené od spoločnosti Sigma-Aldrich.

3.2. SAR štúdia potenciálnych inhibítorov Mer TK receptorov

Na základe virtuálneho skríningu (HTVS), *docking*u a vizuálnej selekcie bolo firmou Biomagi z komerčne dostupných zlúčenín vybraných 11 štruktúr rôznych skeletov, z ktorých 7 vykazovalo inhibičnú aktivitu voči proteínu Mer TK. **BM01014** mal spomedzi nich najlepšiu inhibičnú aktivitu (IC₅₀ = 2750 nM) (Obrázok 17). Tento výsledok nás inšpiroval k vývoju nových derivátov tohto inovatívneho dihydrochinoxalinónového inhibítora. Za účelom zvýšenia potencie a rozpustosti pôvodného inhibítora boli*docking*om určené pozície jeho derivátov, ktoré na základe interakcii a dokovacieho skóre vyzerali vierohodne. Z analýz bolo zistené, že mastná 3-metylfenyletylová skupina smeruje do vodného prostredia, preto bola pre SAR štúdiu nahradená hydrofilnejším terciárnym amínom, ktorý by mohol zvýšiť rozpustnosť derivátov vo vodnom prostredí (Obrázok 18). Na opačnej strane štruktúry boli na aromatické jadro zavedené fragmenty, ktoré majú vypĺňať hydrofóbne vrecko (zlúčeniny **12 a 18**), alebo interagovať so soľným mostíkom DFG fragmentu (zlúčenina **26**) (Obrázok 19). Navyše, objemné skupiny v *orto* polohe v štruktúrach **12 a 18** vytáčajú aromatický kruh z roviny a narúšajú tak π - π stohovacie interakcie v kryštalickej mriežke samotného ligandu, čo môže taktiež prispieť k zlepšeniu rozpustnosti navrhnutých derivátov.



Obrázok 17. Štruktúra **BM01014**, jej IC₅₀ aktivita, skóre a schematicky znázornený HTVS.

Na prípravu potenciálnych inhibítorov **7**, **12**, **18** a **26** sme navrhli syntézu, ktorá zahŕňa Claisenovú kondenzáciu rôzne substituovaných východiskových acetofenónov s dietyl-oxalátom. Získané α , γ -diketoestery majú v následnej cyklokondenzačnej reakcii s kyselinou *3*,*4*-diaminobenzoovou selektívne poskytnúť nosný dihydrochinoxalinónový skelet, na ktorý sa v poslednom syntetickom kroku pripojí *N*,*N*-dietyléndiamínový retazec.



Obrázok 18. Nové deriváty pôvodneho objaveného dihydrochinoxalinónového inhibítora BM01014.



Obrázok 19.Predpovedanápoloha substituovaných arylových fragmentov štruktúr7, **12**, **18** a **26** v aktívnom mieste Mer TK.

3.3. Príprava potenciálneho inhibítora 7 Mer TK receptora



Schéma 16. Syntetická cesta "A" vedúca k príprave zlúčeniny 7.

3.3.1. Syntéza etyl esteru kyseliny *p*-chlórbenzoyl pyrohroznovej (3)



Literatúra:²⁵Literatúra uvádza reakčné podmienky pre identický substrát so 71 % výťažkom.

Experimentálny postup: Do vychladeného roztoku EtONa (-20°C) pripraveného rozpustením 1.03 g (45.0mmol, 1.50 mol ekv) Na v 40 ml EtOH abs sme počas 1 h pod Ar atmosférou prikvapkávali zmes 3.89 ml (4.64 g, 30.0mmol, 1.00 mol ekv, d=1.192 g/ml) acetofenónu 1a 6.11 ml (6.58 g, 45.0mmol, 1.50 mol ekv, d=1.076 g/ml) dietyl-oxalátu 2,pričom sa z reakčnej zmesipo 2 h miešania na RT vyzrážavala sodná soľ esteru 3. Zrazeninu sme odfiltrovali, premyli etanolom, rozsuspendovali v 100 ml 1M HCl, odfiltrovali a nechali na vzduchu vysušiť. Získali sme 6.34g (25.0mmol, 83 %) esteru 3. M.p.: 62 -63°C [EtOH],bledožltá tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 3:Zlúčenina 3 je v literatúre opísaná: M.p., ¹H-NMR, ¹³C-NMR.²⁵



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, MO01-01-14.fid): δ 7.94 (d, 2H, J(2,3) = 8.6 Hz, H-C(2)), 7.49 (d, 2H, J(2,3) = 8.6 Hz, H-C(3)), 7.04 (s, 1H, -CH=), 4.41 (q, 2H, $J(CH_2,CH_3) = 7.2$ Hz, -CH₂-), 1.42 (t, 3H, $J(CH_2,CH_3) = 7.2$ Hz, -CH₃). Enolický OH má chemický posun mimo rozsah meraného spektra.

²⁵ Geffken, D.; Soliman, R.; Soliman, F.S.D.; Abdel-Khalek, M.M.; Issa, A.E. Med. Chem. Res. 2011, 20, 408-420.

¹³C-NMR:²⁵

IR v(solid, cm⁻¹): 3413 (s, OH), 2986 (m), 1727 (m, C=O), 1718 (m, C=O), 1588 (s, C=O), 1479 (m), 1447 (w), 1397 (w), 1366 (m), 1265 (s), 1175 (m), 1135 (w), 1106 (m), 1088 (s), 1007 (s), 935 (w), 857 (m), 831 (m), 778 (m), 766 (s), 667 (m), 628 (m). **MS (ESI-):** 253.2 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C12H11ClO4(254.67): C, 56.59; H, 4.35; Cl, 13.92. Found: C, 56.60; H, 4.31.

3.3.2. Syntéza kyseliny (*Z*) 3-[2-(4-chlórfenyl)-2-oxoetylidén],4-dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-6-karboxylovej (5a)



Literatúra:²⁶Literatúra uvádza reakčné podmienky pre reakciu *o*-diaminopyridínu s arylpyrolidíntriónmi v AcOH pri teplote 70°C.

Experimentálny postup: Do roztoku 192.0 mg (1.26 mmol, 1.00 mol ekv)kyseliny **4** v 5 ml DMF abs sme pridali 240.0 mg (1.26 mmol, 1.00 mol ekv) TsOH a 320 mg (1.26 mmol, 1.00 mol ekv) esteru **3**a reakčnú zmes sme miešali 24 h pri RT. Vzniknutú zrazeninu sme odfiltrovali, premyli s EA a Et₂O a vysušili pomocou RVO a HV. Kryštalizáciou z DMSO sme získali 157.0 mg (0.46 mmol, 36 %) chinoxalinónu **5**a.

M.p.: 363-366 °C [DMSO], žltá kryštalická látka.

Novosť zlúčeniny 5a:Zlúčenina 5a nie je v literatúre opísaná.

²⁶Ostrowska, K.; Szymoniak, K.; Szczurek, K.J.; Rapala-Kozik, M. Tetrahedron. 2011, 67, 5219-5227.



¹**H-NMR (600 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 02-11-14.fid):** δ 13.48 (s, 1H, H-N_A(4)), 12.92 (br s, 1H, -COOH), 12.26 (s, 1H, H-N_A(1)), 8.04 (d, 1H, *J*(A₅,A₇) = 1.5 Hz, H-C_A(5)), 7.99 (d, 2H, *J*(B₂,B₃) = 8.4 Hz, H-C_B(2)), 7.69 (dd, 1H, *J*(A₇,A₈) = 8.3, *J*(A₅,A₇) = 1.5 Hz, H-C_A(7)), 7.57 (d, 2H, *J*(B₂,B₃) = 8.4 Hz, H-C_B(3)), 7.18 (d, 1H, *J*(A₇,A₈) = 8.3 Hz, H-C_A(8)), 6.79 (s, 1H, -CH=).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆, MO 02-11-14.fid): δ 187.7 (s, C_B(1)<u>C</u>=O), 167.0 (s, -COOH), 156.4 (s, C_A(2)), 145.8 (s, C_A(3)), 137.7 (s, C_B(1)), 137.3 (s, C_B(4)), 130.8 (s, C_A(8a)), 129.4 (d, C_B(2)), 129.3 (d, C_B(3)), 126.4 (s, C_A(6)), 125.6 (d, C_A(7)), 124.4 (s, C_A(4a)), 118.3 (d, C_A(5)), 115.8 (d, C_A(8)), 90.0 (d, -CH=).

IR v(solid, cm⁻¹): 3184 (s, OH), 2925 (m), 1732 (w), 1688 (s, C=O), 1615 (s), 1586 (s), 1550 (w), 1526 (w), 1486 (w), 1457 (w), 1366 (m), 1247 (m), 1218 (m), 1165 (w), 1095 (m), 1065 (w), 1011 (w), 787 (w), 750 (m), 719 (w), 628 (w).

MS (ESI-): 341.2 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C₁₇H₁₁ClN₂O₄(342.73): C, 59.57; H, 3.23; Cl, 10.34; N, 8.17. Found: C, 59.60; H, 3.31; Cl, 10.33; N, 8.14.

3.3.3. Syntéza kyseliny (Z) 3-[2-(4-chlórfenyl)-2-oxoetylidén],4-dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxylovej (5)



Experimentálny postup: Do roztoku 300.0 mg (1.97 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny **4** v 20 ml DMF abs sme pridali 241.0 mg (1.97 mmol, 1.00 mol ekv) DMAP, 502.0 mg (1.97 mmol, 1.00 mol ekv) esteru **3**a miešali 72 h pri RT. Vypadnutú zrazeninu sme odfiltrovali, triturovali s EA a Et₂O a vysušili pomocou RVO a HV. Po kryštalizácii z DMSO sme získali produkt vo forme DMAP-ovej soli. Miešaním s 1 M HCl sme po 1 h získali 305.0 mg (0.89 mmol, 45 %) kyseliny **5**.

M.p.: 391-392°C [DMSO], žltá kryštalická látka.

Novosť zlúčeniny 5:Zlúčenina 5 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (300 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 18-22-15.fid):** δ 13.44 (s, 1H, H-N_A(4)), 12.95 (br s, 1H, -COOH), 12.14 (s, 1H, H-N_A(1)), 8.02 (d, 2H, *J*(B₂,B₃) = 8.6 Hz, H-C_B(2)), 7.73 (d, 1H, *J*(A₆,A₈) = 1.6 Hz, H-C_A(8)), 7.67 (dd, 1H, *J*(A₅,A₆) = 8.4 Hz, *J*(A₆,A₈) = 1.6 Hz, Hz, H-C_A(6)), 7.61 (d, 1H, *J*(A₅,A₆) = 8.4 Hz, H-C_A(5)), 7.60 (d, 2H, *J*(B₂,B₃) = 8.6 Hz, H-C_B(3)), 6.87 (s, 1H, -CH=).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆, MO 18-11-14.fid): δ 188.3 (s, C_B(1)<u>C</u>=O), 167.0 (s, -COOH), 156.1 (s, C_A(2)=O), 145.6 (s, C_A(3)), 137.6 (2 x s, C_B(1) a C_B(4)), 128.1 (s, C_A(4a)), 129.5 (d, C_B(2)), 129.4 (d, C_B(3)), 126.9 (2 x s, C_A(8a) a C_A(7)), 125.2 (d, C_A(6)), 116.9 (2 x d, C_A(5) a C_A(8)), 90.8 (d, -CH=).

IR v(solid, cm⁻¹): 3486 (m), 3206 (s, OH), 2634 (w), 1706 (m, C=O), 1661 (w), 1628 (m), 1586 (s, C=O), 1522 (w), 1398 (m), 1374 (w), 1291 (m), 1248 (m), 1184 (m), 1093 (w), 1056 (m), 1009 (w), 899 (w), 781 (w), 764 (w), 721 (w).

MS (ESI-): 341.0 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C₁₇H₁₁ClN₂O₄(342.73): C, 59.57; H, 3.23; Cl, 10.34; N, 8.17. Found: C, 59.50; H, 3.20; Cl, 10.36; N, 8.20.

3.3.4. Syntéza*N*-(2-(dietylamino)etyl) (*Z*) 3-[2-(4-chlórfenyl)-2-oxoetylidén],4dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxamidu (7)



Literatúra:²⁷Reakcia uskutočnéná v DMF pri RT.

Experimentálny postup: Do roztoku 500.0 mg (1.46 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny **5** v 5 ml DMF abs sme pridali 206 μ l(169.5 mg, 1.46 mmol, 1.00 mol ekv, d=0.82 g/ml)amínu**6**, 236.5 mg(1.75 mmol, 1.20 mol ekv) HOBt a 335.6 mg(1.75 mmol, 1.20 mol ekv) EDC.HCl a reakčnú zmes sme miešali 24 h pri RT. Vzniknutú zrazeninu sme prefiltrovali, premyli s EA a Et₂O a vysušili pomocou RVO a HV. Získali sme 360.0 mg (0.82 mmol, 56 %) amidu**7**.

M.p.: 339–342°C [DMF], žltá kryštalická látka.

²⁷Kohda, K.; Kouketsu, A.; Matsuura, A.; Miyata, N.; Suzuki, T.; Kohara, A.; Ninomiya, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3313-3317.

Novosť zlúčeniny 7:Zlúčenina 7 nie je v literatúre opísaná.



¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, MO 17-02-15.fid): δ 13.52 (s, 1H, H-N_A(4)), 12.13 (br s, 1H, H-N_A(1)), 8.36 (t, 1H, *J*(NH, CH₂) = 5.6 Hz, -NHC(=O)C_A(6)-), 8.02 (d, 2H, *J*(B₂,B₃) = 8.6 Hz, H-C_B(2)), 7.57-7.64 (m, 3H, H-C_A(5), H-C_A(6), H-C_A(8)), 7.60 (d, 2H, *J*(B₂,B₃) = 8.6 Hz, H-C_B(3)), 6.85 (s, 1H, -CH=), 3.30 (br td, 2H, -C<u>H₂</u>NH-), 2.55 (br t, 2H, *J*(CH₂, CH₂) = 7.2 Hz, -CH₂N-), 2.52 (q, 4H, *J*(CH₂, CH₃) = 7.1 Hz, -C<u>H₂</u>CH₃), 0.97 (t, 6H, *J*(CH₂, CH₃) = 7.1 Hz, -CH₂C<u>H₃</u>).

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆, MO 17-02-15C.fid): δ 187.6 (s, -C_B(1)<u>C</u>=O), 165.1 (s, -C_A(7)<u>C</u>=ONH), 155.7 (s, C_A(2)), 145.4 (s, C_A(3)), 137.2 (2 x s, C_B(1) a C_B(4)), 129.0 (2 x d, C_B(2) a C_B(3)), 128.9 (s, C_A(4a)), 126.6 (s, C_A(8a)), 126.2 (s, C_A(7)), 124.8 (d, C_A(6)), 116.2 (d, C_A(8)), 114.9 (d, C_A(5)), 89.9 (d, -CH=), 51.4 (t, -NCH₂-), 46.8 (t, -<u>C</u>H₂CH₃), 40.3 (t, -CH₂NH-), 11.9 (q, -CH₃).

IR v(solid, cm⁻¹): 3316 (m), 3154 (s), 2968 (s), 1685 (s), 1629 (m), 1602 (s), 1535 (s), 1462 (m), 1412 (w), 1371 (m), 1350 (w), 1289 (w), 1253 (w), 1233 (m), 1204 (w), 1092 (m), 1011 (w), 876 (w), 845 (w), 792 (m), 751 (w).

MS (ESI-): 439.2 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C₂₃H₂₅ClN₄O₃(440.92): C, 62.65; H, 5.71; Cl, 8.04; N, 12.71. Found: C, 62.66; H, 5.71; Cl, 8.00; N, 12.70.

3.4. Príprava potenciálneho inhibítora 12 Mer TK receptora



Schéma 17. Syntetická cesta "B" vedúca k príprave zlúčeniny12.

3.4.1. Syntéza 2-(pyrolidino)-acetofenónu (9)



Literatúra:²⁸Reakčné podmienky prevzaté z literatúry. Pracovný postup nebol opísaný. Experimentálny postup: Do roztoku 1.00 ml (1.112 g, 8.227 mmol, 1.00 mol ekv, d=1.112 g/ml)acetofenónu 8v 5 ml toluénu abs sme pridali 3.73 ml (6.75 g, 31.264 mmol, 3.80 mol ekv, d=1.808 g/ml) 1,4-dibrómbutánu, 4.30 ml(3.190 g, 24.682 mmol, 3.00 mol ekv, d=0.742 g/ml)DIPEA, 273 mg (1.645 mmol, 0.20 mol ekv) KI a reakčnú zmes sme miešali 10 h pri 110°C. Reakčnú zmes sme premyli vodou a extrahovali do EA. Spojené

²⁸ Verboom, W.; Hamzink, M.R.J.; Reinhoudt, D.N.; Visser, R. Tetrahedron Lett. 1984, 25, 4309-4312.

organické fázy sme ešte premyli nasýteným roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Rozpúšťadlo a zvyšky prchavých podielov sme odstránili pomocou RVO a HV. Získali sme 1.25 g (0.983 µmol, 88 %) acetofenónu **9** vo forme hnedej olejovitej látky. **Novosť zlúčeniny** 9:Zlúčenina **9** je v literatúre opísaná: IR²⁹



¹**H-NMR (300 MHz, CDCl₃, MO 22-19-15.fid):** δ 7.51 (dd, 1H, *J*(5,6) = 7.8 Hz, *J*(4,6) = 1.7 Hz, H-C(6)), 7.33 (ddd, 1H, *J*(3,4) = *J*(4,5) = 8.5 Hz, *J*(4,6) = 1.7 Hz, H-C(4)), 6.85 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.5 Hz, H-C(3)), 6.75 (dd, 1H, *J*(4,5) = 8.5 Hz, *J*(5,6) = 7.8 Hz, H-C(5), 3.14 (t, 4H, *J*(CH₂,CH₂) = 6.6 Hz, -CH₂CH₂N-), 2.59 (s, 3H, -CH₃), 1.96 (t, 4H, *J*(CH₂,CH₂) = 6.6 Hz, -CH₂CH₂N-).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, MO 22-19C-15.fid): δ 200.5 (s, -C=O), 146.7 (s, C(2)), 131.5 (s, C(1)), 129.1 (d, C(4)), 126.7 (d, C(6)), 115.1 (d, C(3)), 113.9 (d, C(5)), 51.1 (t, -CH₂N-), 29.3 (q, -CH₃), 25.3 (t, -<u>C</u>H₂CH₂N-).

IR:²⁹

MS (ESI+): 190.1 ([M+H]⁺).

Anal. Calcd for C12H15NO(189.25): C, 76.16; H, 7.99; N, 7.40. Found: C, 76.18; H, 7.99; N, 7.38.

3.4.2. Syntéza etyl-esteru kyseliny o-(pyrolidín-1-yl)benzoyl pyrohroznovej (10)

²⁹ Nijhuis, W.H.; Verboom, W.; El-Fadl, A.A.; Harkema, S.; Reinhoudt, D.N. J. Org. Chem. 1989, 54, 199-209.



Literatúra:³⁰Literatúra uvádza reakčné podmienky na *p*-chlóracetofenónovom substráte. Experimentálny postup: Do vychladeného roztoku EtONa (-20°C) v EtOH pripraveného rozpustením 242.9 mg (10.568 mol, 2.00 mol ekv) Na v 40 ml EtOH abs sme počas 1 h pod Ar atmosférou prikvapkávali zmes 1.00 g (5.284 mmol, 1.00 mol ekv) acetofenónu **9** a 1.44 ml (1.54 g, 10.568 mmol, 2.00 mol ekv, d=1.076 g/ml) dietyl-oxalátu **2**.Po ukončení pridávania sme reakčnú zmes miešali 30 min pri 80°C. Z reakčnej zmesi sa vyzrážala sodná soľ esteru **10**. Po odparení rozpúšťadla sme surovú zmes rozdelili v zmesi EA / 1M HCl. pH oddelenej vodnej fázy sme upravili na pH=10 a extrahovali do EA. Organickú fázu sme potom premyli nasýteným roztokom NaCl, vysušili nad bezvodým Na₂SO₄ a sušidlo odfiltrovali. Rozpúšťadlo a zvyšky prchavých podielov sme odstránili pomocou RVO a HV a získali sme 1.20 g (4.148 mmol, 78 %) esteru**10**vo forme žltej tuhej látky. Novosť zlúčeniny 10:Zlúčenina **10** nie je v literatúre opísaná.



¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, MO 25-07B-15.fid): δ 7.58 (dd, 1H, *J*(5,6) = 7.9 Hz, *J*(4,6) = 1.6 Hz, H-C(6)), 7.39 (ddd, 1H, *J*(3,4) = *J*(4,5) = 8.6 Hz, *J*(4,6) = 1.6 Hz, H-C(4)), 6.97 (dd, 1H, *J*(3,4) = 8.6 Hz, H-C(3)), 6.85 (dd, 1H, *J*(4,5) = 8.6 Hz,*J*(5,6) = 7.9 Hz, H-C(5), 6.89 (s, 1H, -CH=), 4.38 (q, 2H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.2 Hz,-C<u>H₂</u>CH₃), 3.20 (t, 4H, *J*(CH₂,CH₂) = 6.6 Hz, -CH₂CH₂N-), 1.92 (t, 4H, *J*(CH₂,CH₂) = 6.6 Hz, -C<u>H₂</u>CH₂N-), 1.39 (t, 3H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.2 Hz,-CH₂CH₂N-), 1.39 (t, 3H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.2 Hz,-CH₂CH₃). Enolický OH je mimo rozsah meraného spektra.

³⁰ Geffken, D.; Soliman, R.; Soliman, F.S.D.; Abdel-Khalek, M.M.; Issa, A.E. *Med. Chem. Res.***2011**, *20*, 408-420.

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, MO 25-07C-15.fid): δ 196.3 (s, C(1)<u>C</u>=O), 163.5 (s, =C(OH)-), 162.6 (s, -<u>C</u>OOEt), 147.7 (s, C(2)), 133.0 (s, C(1)), 130.6 (d, C(4)), 123.9 (d, C(6)), 116.9 (d, C(3)), 115.0 (d, C(5)), 103.2 (-CH=), 62.4 (t, -<u>C</u>H₂CH₃), 52.4 (t, -CH₂N-), 25.8 (t, -<u>C</u>H₂CH₂N-), 14.1 (q, -CH₃).

IR υ(solid, cm⁻¹): 3119 (w), 2962 (s), 2923 (s), 2867 (s), 2824 (s), 1742 (s, C=O), 1599 (s, C=O), 1543 (m), 1495 (m), 1479 (m) 1466 (m), 1445 (m), 1370 (m), 1353 (m), 1299 (w), 1251 (s), 1210 (s), 1173 (m), 1120 (s), 1014 (s), 872 (w), 798 (m), 748 (s), 629 (w). **MS (ESI-):** 290.1 ([M+H]⁺).

Anal. Calcd for C₁₆H₁₉NO₄(289.33): C, 66.42; H, 6.62; N, 4.84. Found: C, 66.40; H, 6.60; N, 4.80.

3.4.3. Syntéza kyseliny (*Z*) 3-[2-(*o*-arylpyrolidín)-2-oxoetylidén],4dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxylovej (11)



Experimentálny postup: Do roztoku 131.5 mg (0.86 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny 4 v 20 ml DMF abs sme pridali 105.6 mg (0.86 mmol, 1.00 mol ekv) DMAP, 250.0 mg (0.86 mmol, 1.00 mol ekv) esteru **10**a reakčnú zmes sme miešali 72 h pri RT. Vzniknutú zrazeninu sme odfiltrovali, triturovali s EA a Et_2O a vysušili pomocou HV. Získali sme produkt vo forme DMAP-ovej soli. Miešaním s 1 M HCl sme po 1 h získali 165.0 mg (0.44 mmol, 51 %) kyseliny **11**.

M.p.: 273-275°C [DMF], oranžová tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 11:Zlúčenina 11 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (600 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 26-02D-15.fid):** δ 13.12 (s, 1H, H-N_A(4)), 12.12 (s, 1H, H-N_A(1)), 7.75 (d, 1H, *J*(A₆,A₈) = 1.7 Hz, H-C_A(8)), 7.67 (dd, 1H, *J*(A₅,A₆) = 8.4 Hz, *J*(A₆,A₈) = 1.7 Hz, H-C_A(6)), 7.56 (d, 1H, *J*(A₅,A₆) = 8.4 Hz, H-C_A(5)), 7.57 (br d, H-C_B(6)), 7.43 (br dd, H-C_B(4)), 7.14 (br d, 1H, H-C_B(3)), 6.98 (br dd, 1H, H-C_B(5)), 6.58 (s, 1H, -CH=), 3.33 (br t, 4H, -CH₂C<u>H₂</u>N-), 1.95 (br t, 4H, -C<u>H₂CH₂N-).</u>

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆, MO 26-02D-15.fid): δ 193.7 (C_B(1)<u>C</u>=O), 167.0 (s, -C_A(7)<u>C</u>=OOH), 156.2 (s, C_A(2)), 145.9 (s, C_B(2)), 143.9 (s, C_A(3)), 139.5 (s, C_B(1)), 132.0 (d, C_B(4)), 129.9 (d, C_B(6)), 128.9 (d, C_B(3)), 128.3 (s, C_A(4a)), 126.7 (s, C_A(7)), 125.8 (s, C_A(8a)), 125.2 (d, C_A(6)), 124.9 (d, C_B(5)), 116.9 (d, C_A(8)), 116.5 (d, C_A(5)), 95.4 (d, -CH=), 53.5 (t, -CH₂N-), 25.5 (t, -<u>C</u>H₂CH₂N-).

IR v(solid, cm⁻¹): 2776 (s, OH), 1686 (m, C=O), 1597 (s, C=O), 1581 (s, C=O), 1523 (m), 1506 (m), 1400 (w), 1335 (m), 1245 (m), 1194 (m), 1131 (m), 1050 (w), 907 (w), 810 (w), 752 (m), 702 (w), 670 (w).

MS (ESI-): 376.1 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C₂₁H₁₉N₃O₄(377.39): C, 66.83; H, 5.07; N, 11.13. Found: C, 66.81; H, 5.12; N, 11.12.

3.4.4. Syntéza*N*-(2-(dietylamino)etyl) (*Z*) 3-[2-(*o*-arylpyrolidín)-2-oxoetylidén],4dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxamidu (12)



Literatúra:²⁷ Literatúra uvádza reakčné podmienky pre reakciu substituovaného amínu a alifatickú dikarboxylovú kyselinu v DMF pri RT.

Experimentálny postup: Do roztoku 130.0 mg (0.34 mmol, 1.00 mol ekv)kyseliny **11**v 5 ml DMF abs sme pridali 48.8 μ l(40.0 mg, 0.34 mmol, 1.00 mol ekv, d=0.82 g/ml) amínu**6**,55.9 mg (0.41 mmol, 1.20 mol ekv)HOBt, 70.2 mg (0.41 mmol, 1.20 mol ekv) EDC.HCl a reakčnú zmes sme miešali 24 h pri RT. pH reakčnej zmesi sme upravili na hodnotu pH=12 pomocou 5M roztoku NaOH a vzniknutú zrazeninu sme prefiltrovali, triturovali s EA a Et₂O avysušili pomocou HV. Po kryštalizácii surového produktuz MeOH sme získali 98.0 mg (0.21 mmol, 60 %) amidu**12**.

M.p.: 237-239 °C [MeOH], oranžová tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 12:Zlúčenina 12 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (600 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 29-01U-15.fid):** δ 13.11 (s, 1H, H-N_A(4)), 11.92 (br s, 1H, H-N_A(1)), 8.20 (t, 1H, *J*(NH,CH₂) = 5.6 Hz, -NH-), 7.59 (d, 1H, *J*(A₆,A₈) = 1.8 Hz, H-C_A(8)), 7.56 (dd, 1H, *J*(A₅,A₆) = 8.4, *J*(A₆,A₈) = 1.8 Hz, H-C_A(6)), 7.51 (d, 1H, *J*(A₅,A₆) = 8.4 Hz, H-C_A(5)), 7.39 (dd, 1H, *J*(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(6)), 7.29 (dd, 1H, *J*(B₃,B₄) = 8.6 Hz, *J*(B₄,B₅) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, *J*(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 7.4 Hz, *J*(B₄,B₆) = 1.7 Hz, H-C_B(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 1.7 Hz, H-C₆(4)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 1.7 Hz, H-C₆(A)), 6.84 (d, 1H, J(B₅,B₆) = 1.7 Hz, H

 $J(B_3,B_4) = 8.6 \text{ Hz}, \text{H-C}_B(3)), 6.74 \text{ (dd, 1H, } J(B_4,B_5) = J(B_5,B_6) = 7.4 \text{ Hz}, \text{H-C}_B(5)), 6.46 \text{ (s, 1H, -CH=)}, 3.31 \text{ (td, 2H, } J(CH_2,CH_2) = 7.2 \text{ Hz}, J(NH,CH_2) = 5.6 \text{ Hz}, -C\underline{H_2}NH-), 3.16 \text{ (t, 4H, } J(CH_2,CH_2) = 6.4 \text{ Hz}, -C\underline{H_2}C\underline{H_2}N-), 2.54 \text{ (t, 2H, } J(CH_2,CH_2) = 7.2 \text{ Hz}, -NC\underline{H_2}CH_2NH-), 2.51 \text{ (q, 2H, } J(CH_2,CH_3) = 7.0 \text{ Hz}, -C\underline{H_2}CH_3), 1.86 \text{ (t, 4H, } J(CH_2,CH_2) = 6.4 \text{ Hz}, -C\underline{H_2}CH_2N-), 0.97 \text{ (t, 6H, } J(CH_2,CH_3) = 7.0 \text{ Hz}, -C\underline{H_2}C\underline{H_3}).$

¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆, MO 29-01U-15.fid): δ 194.6 (s, -C_B(1)<u>C</u>=O), 165.6 (s, -C_A(7)<u>C</u>=O-NH-), 156.5 (s, C_A(2)), 147.4 (s, C_B(2)), 143.3 (s, C_A(3)), 131.3 (d, C_B(4)), 129.8 (d, C_B(6)), 129.7 (s, C_A(7)), 128.3 (s, C_B(1)), 127.1 (s, C_A(4a)), 126.5 (s, C_A(8a)), 122.4 (d, C_A(6)), 116.3 (d, C_B(5)), 115.9 (d, C_A(5)), 115.3 (d, C_A(8)), 114.5 (d, C_B(3)), 95.6 (d, -CH=), 51.9 (t, -<u>C</u>H₂NEt₂), 51.5 (t, -CH₂N- z pyrolidinu), 47.2 (t, -N<u>C</u>H₂CH₃), 38.1 (t, -<u>C</u>H₂NHCO-), 25.8 (t, -<u>C</u>H₂CH₂N-z pyrrolidinu), 12.4 (q, -CH₃).

IR v(solid, cm⁻¹): 3107 (w), 2965 (s, OH), 2865 (m), 1690 (m, C=O), 1592 (s, C=O), 1569 (m), 1537 (m), 1494 (m), 1481 (m), 1440 (m), 1397 (w), 1352 (s), 1207 (s), 1178 (m), 1113 (m), 1055 (m), 1036 (m), 961 (w), 908 (w), 826 (m), 744 (s), 724 (s).

MS (ESI-): 474.3 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C₂₇H₃₃N₅O₃(475.58): C, 68.19; H, 6.99; N, 14.73. Found: C, 68.20; H, 7.01; N, 14.70.

3.5. Príprava potenciálneho inhibítora 18 Mer TK receptora



Schéma 18. Syntetická cesta "C" vedúca k príprave zlúčeniny 18.

3.5.1. Syntéza kyseliny tetralín-5-karboxylovej (14)



Literatúra:³²Literatúra uvádza reakčné podmienky na kyseline α-naftyloctovej.

Experimentálny postup: Do roztoku 5.00 g (29.04 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny **13**v 50 ml AcOH sme pridali katalytické množstvo PtO_2 . H_2O a atmosféru sme nasýtili s H_2 . Po TLC kontrole sme reakčnú zmes zriedili s H_2O , extrahovali do EA. Spojené organické fázy sme premyli nasýteným roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Rozpúštadlo a zvyšky prchavých podielov sme odstránili pomocou RVO a HV. Surový produkt sme kryštalizovali z EA, pričom sme získali 3.31 g (18.78 mmol, 65 %) kyseliny **14**. **M.p.**: 148–150°C [EA], biela tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 14:Zlúčenina 14 je v literatúre opísaná: M.p., ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, MS.³¹



¹**H-NMR (300 MHz, CDCl₃, MO 24-03-15.fid):** δ 11.38 (br s, 1H, -OH), 7.86 (d, 1H, J(2,3) = 7.6 Hz, H-C(2)), 7.28 (d, 1H, J(3,4) = 7.6 Hz, H-C(4)), 7.18 (dd, 1H, J(2,3) = J(3,4) = 7.6 Hz, H-C(3)), 3.16 (t, 2H, J(7,8) = 6.3 Hz, J(6,8) = 5.0 Hz, C(8)H₂), 2.84 (t, 2H, J(5,6) = 6.3 Hz, J(5,7) = 5.0 Hz, C(5)H₂), 1.81 (tt, 4H, J(5,6) a J(7,8) = 6.3 Hz, J(5,7) a J(6,8) = 5.0 Hz, C(6)H₂ a C(7)H₂).

3.5.2. Syntéza 5-acetoxytetralínu (15)



Literatúra:³²Literatúra uvádza reakčné podmienky pre kyselinu β-metylnaftolovú.

Experimentálny postup: Do ľadom vychladeného roztoku 500.00 mg (2.838 mmol, 1.00 mol ekv)kyseliny **14** v 5 ml Et₂O abs sme pod inertnou Ar atmosférou pridali 3.90 ml (6.243 mmol, 2.20 mol ekv) 1.6 M roztoku MeLi v Et₂O. Reakčnú zmes sme miešali 1 h pri RT, pričom vznikla oranžovú zrazenina. Reakciu sme ukončili prídavkom H₂O a následne sme reakčnú zmes extrahovali do EA. Spojené organické fázy sme premyli nasýteným roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Rozpúšťadlo a zvyšky

³¹ Connolly, T. J.; Durst, T. Tetrahedron1997, 53, 15969-15982.

³² Amin, S.; Hecht, S.S.; LaVoie, E.; Hoffman, D. J. Med. Chem. 1979, 22, 1336-1340.

prchavých podielov sme odstránili pomocou RVO a HV. Získali sme 450.0 mg (2.58 mmol, 91 %) ketónu15 vo forme čírej olejovitej látky.

Novosť zlúčeniny 15:Zlúčenina 15 je v literatúre opísaná M.p., ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, MS, HRMS.³³



¹**H-NMR (300 MHz, CDCl₃, MO 24-01-15.fid):** δ 7.44 (dd, 1H, J(2,3) = 7.0 Hz, J(2,4) = 1.9 Hz,H-C(2)), 7.19 (dd, 1H, J(3,4) = 7.6 Hz, J(2,4) = 1.9 Hz, H-C(4)), 7.15 (dd, 1H, J(3,4) = 7.6 Hz, J(2,3) = 7.0 Hz, H-C(3)), 2.95 (t, 2H, J(7,8) = 6.4 Hz, J(6,8) = 3.3 Hz, C(8)H₂), 2.81 (t, 2H, J(5,6) = 6.4 Hz, J(5,7) = 3.3 Hz, C(5)H₂), 2.55 (s, 3H, -CH₃), 1.77 (tt, 4H, J(5,6) = 4.4 Hz, J(5,7) = 3.3 Hz, C(6)H₂ a C(7)H₂).

3.5.3. Syntéza etyl esteru kyseliny 4-(5-tetralín)-2,4-dioxobutánovej (16)





Experimentálny postup: Do vychladeného roztoku (-20°C) EtONa pripraveného rozpustením 105.6 mg (4.591 mmol, 2.00 mol ekv) Na v 5 ml EtOH abs sme počas 1 h pod

³³ Kido, Y.; Yonehara, F.; Yamaguchi, M. *Tetraheron***2001**, *57* (5), 827-833.

³⁴ Geffken, D.; Soliman, R.; Soliman, F.S.D.; Abdel-Khalek, M.M.; Issa, A.E. Med. Chem. Res.2011, 20, 408-420.

Ar atmosférou prikvapkávali zmes 400.00 mg (2.296 mmol, 1.00 mol ekv) acetyltetralínu 15a 623 μ l (670.8 mg, 4.591 mmol, 2.00 mol ekv, d=1.076 g/ml) dietyl-oxalátu 2.Po ukončení pridávania a samovoľnom vystúpení teploty na RT sme reakčnú zmes miešali ešte 1 h. Po odparení rozpúšťadla sme surový produkt miešali s 1 M HCl a následne extrahovali s EA. Spojené organické fázy sme premyli nasýteným roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Rozpúšťadlo a zvyšky prchavých podielov sme odstránili pomocou RVO a HV. Po FLC (Hexol / EA; 20/1) sme získali 520.0 mg (1.896 mmol, 83 %) esteru 16 vo forme oleja, ktorý v chlade vykryštalizoval.

M.p.: 60.7–61.9°C [EA], žltá tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 16:Zlúčenina 16 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (300 MHz, CDCl₃, MO 27-02C-15.fid):** δ 14.96 (br s, 1H, -OH), 7.31 (dd, 1H, J(2,3) = 7.3 Hz, J(2,4) = 1.6 Hz, H-C(2)), 7.16 (dd, 1H, J(3,4) = 7.7 Hz, J(2,4) = 1.6 Hz, H-C(4)), 7.11 (dd, 1H, J(3,4) = 7.7 Hz, J(2,3) = 7.3 Hz, H-C(3)), 6.69 (s, 1H, -CH=), 4.31 (q, 2H, $J(\text{CH}_2,\text{CH}_3) = 7.2 \text{ Hz}, -\text{C}\underline{\text{H}}_2\text{CH}_3$), 2.89 (t, 2H, $J(7,8) = 6.1 \text{ Hz}, J(6,8) = 5.1 \text{ Hz}, C(8)\text{H}_2$), 2.76 (t, 2H, $J(5,6) = 6.1 \text{ Hz}, J(5,7) = 5.1 \text{ Hz}, C(5)\text{H}_2$), 1.72 (tt, 4H, $J(5,6) \text{ a } J(7,8) = 6.1 \text{ Hz}, J(5,7) \text{ a } J(6,8) = 5.1 \text{ Hz}, C(6)\text{H}_2 \text{ a } C(7)\text{H}_2$), 1.32 (t, 3H, $J(\text{CH}_2,\text{CH}_3) = 7.2 \text{ Hz}, -\text{CH}_3$).

¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃, MO 27-02U-15.fid): δ 196.8 (s, C(1)<u>C</u>=O), 168.1 (s, =C(OH)-), 162.4 (s, -<u>C</u>OOEt), 138.9 (s, C(1)), 137.2 (s, C(4a)), 136.5 (s, C(8a)), 133.4 (d, C(4)), 126.6 (d, C(3)), 125.5 (d, C(2)), 102.7 (d, -CH=), 62.7 (t, -OCH₂-), 30.2 (t, C(5)), 27.8 (t, C(8)), 23.2 (t, C(6)), 22.6 (t, C(7)), 14.3 (q, -CH₃).

IR v(solid, cm⁻¹): 3126 (w), 2985 (w), 2925 (s, OH), 2877 (m), 2856 (m), 1739 (s, C=O), 1614 (s, C=O), 1577 (s), 1455 (m), 1367 (w), 1335 (w), 1245 (s), 1178 (m), 1131 (m), 1110 (m), 1091 (m), 1019 (m), 996 (m), 900 (w), 864 (w), 770 (m), 748 (m), 668 (w). **MS (ESI-):** 273.1 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C16H18O4(274.31): C, 70.06; H, 6.61. Found: C, 68.99; H, 6.78.

3.5.4.Syntéza kyseliny (Z) 3-[2-(tetralín)-2-oxoetylidén],4-dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxylovej (17)



Experimentálny postup: Do roztoku 130.6 mg (0.857 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny 4v 5 ml DMF abs sme pridali 104.7 mg (0.857 mmol, 1.00 mol ekv) DMAP, 235.0 mg (0.857 mmol, 1.00 mol ekv) esteru **3**a reakčnú zmes sme miešali 1 h pri RT. Vzniknutú zrazeninu sme centrifugovali a vysušili pomocou RVO a HV. Kryštalizáciou surového produktu z MeOH sme získali štruktúru **17** vo forme DMAP-ovej soli. Jej miešaním s 1 M HCl sme po 1 h získali 175.0 mg (0.483 mmol, 56 %) kyseliny**17**.

M.p.: 322-324 °C [MeOH], žltá tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 17:Zlúčenina 17 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (300 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 28-02-15.fid):** δ 13.18 (s, 1H, H-N_A(4)), 12.91 (br s, 1H, -OH), 12.06 (s, 1H, H-N_A(1)), 7.72 (d, 1H, *J*(A₆,A₈) = 1.7 Hz, H-C_A(8)), 7.66 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.4 Hz, *J*(6,8) = 1.7 Hz, H-C_A(6)), 7.58 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.4 Hz, H-C_A(5)), 7.30

(dd, 1H, J(2,3) = 5.4 Hz, J(2,4) = 3.7 Hz, H-C_B(2)), 7.19 (dd, 1H, J(2,3) a J(3,4) = 5.4 Hz, H-C_B(7)), 7.17 (dd, 1H,J(3,4) = 5.4 Hz, J(2,4) = 3.7 Hz, H-C_B(8)), 6.39 (s, 1H, -CH=), 2.86 (t, 2H,J(7,8) = 6.1 Hz, J(6,8) = 5.2 Hz, C_B(8)H₂), 2.78 (t, 2H,J(5,6) = 6.1 Hz, J(5,7) = 5.2 Hz, C_B(5)H₂), 1.72 (tt, 4H,J(5,6) a J(7,8) = 6.1 Hz, J(5,7) a J(6,8) = 5.2 Hz, C_B(6)H₂ a C_B(7)H₂).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, MO 28-03-15.fid): δ 195.6 (s, C_B(1)<u>C</u>=O), 167.0 (s, -COOH), 156.1 (s, C_A(2)), 144.3 (s, C_A(3)), 141.0 (s, C_B(1)), 138.2 (s, C_B(4a)), 135.2 (s, C_B(8a)), 131.6 (d, C_B(4)), 128.2 (s, C_A(4a)), 126.8 (s, C_A(8a)), 125.9 (s, C_A(7)), 125.8 (d, C_B(3)), 125.3 (d, C_B(2)), 125.2 (d, C_A(6)), 116.9 (d, C_A(8)), 116.7 (d, C_A(5)), 95.4 (d, -CH=), 29.7 (t, C_B(8)), 27.4 (t, C_B(8)), 23.0 (t, C_B(6)), 22.6 (t, C_B(7)).

IR v(solid, cm⁻¹): 2928 (s, OH), 2853 (s), 1678 (m, C=O), 1629 (m), 1605 (s, C=O), 1589 (s), 1531 (m), 1424 (m), 1366 (m), 1298 (m), 1239 (m), 1133 (w), 1106 (m), 1055 (w), 1000 (w), 895 (w), 755 (w).

MS (ESI-): 361.0 ([M-H]⁻).

Anal. Calcd for C₂₁H₁₈N₂O₄(362.38): C, 69.60; H, 5.01; N, 7.73. Found: C, 69.59; H, 5.01; N, 7.72.

3.5.5. Syntéza*N*-(2-(dietylamino)etyl) (*Z*) 3-[2-(5-tetralín)-2-oxoetylidén],4dihydrochinoxalín-2(1H)-ón-7-karboxamidu (18)



Literatúra:²⁷ Literatúra uvádza reakčné podmienky pre reakciu substituovaného amínu a alifatickú dikarboxylovú kyselinu v DMF pri RT.

Experimentálny postup: Do roztoku 400.0 mg (1.10 mmol, 1.00 mol ekv) kyseliny **17**v 5 mL DMF abs sme pridali 156 μ l(128.3 mg, 1.10 mmol, 1.00 mol ekv, d=0.82 g/ml), amínu**6**,179.0 mg (1.32 mmol, 1.20 mol ekv) HOBt, 253.9 mg (1.32 mmol, 1.20 mol ekv) EDC.HCl a reakčnú zmes sme miešali 24 h pri RT. Do reakčnej zmesi sme pridali nasýtený roztok NaHCO₃ a vyextrahovali do EA. Spojené organické fázy sme premyli nasýteným roztokom NaCl a vysušili nad bezvodým Na₂SO₄. Rozpúšťadlo a zvyšky prchavých podielov sme odstránili pomocou RVO a HV. Surový produkt sme prekryštalizovali z MeOH, pričom sme získali 335.0 mg (0.727 mmol, 66 %) amidu**18**. **M.p.**: 222-224°C [MeOH], žltá tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 18:Zlúčenina 18 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (300 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 30-02C-15.fid):** δ 13.25 (s, 1H, H-N_A(4)), 12.08 (br s, 1H, H-N_A(1)), 8.36 (t, 1H, *J*(NH,CH₂) = 5.5 Hz, -NHCO-), 7.61 (br m, 1H, C_A(8)), 7.59 (br m, 2H, H-C_A(5) a H-C_A(6)), 7.30 (dd, 1H,*J*(2,3) = 5.6 Hz, *J*(2,4) = 3.6 Hz, H-C_B(2)), 7.20 (dd, 1H,*J*(2,3) a *J*(3,4) = 5.6 Hz, H-C_B(3)), 7.18 (dd, 1H,*J*(3,4) = 5.6Hz, *J*(2,4) = 3.6 Hz, H-C_B(4)), 6.37 (s, 1H, -CH=), 3.31 (m, 2H, -CH₂NH-), 2.87 (t, 2H, *J*(7,8) = 6.0 Hz, *J*(6,8) 5.4 Hz, C_B(8)H₂), 2.79 (t, 2H, *J*(5,6) = 6.0 Hz, *J*(5,7) = 5.4 Hz, C_B(5)H₂), 2.55 (m, 2H, Et₂NCH₂-), 2.52 (q, 4H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.1 Hz, -C<u>H₂</u>CH₃), 1.73 (tt, 4H, *J*(5,6) a *J*(7,8) = 6.0 Hz, *J*(5,7) a *J*(6,8) = 5.4 Hz, C_B(6)H₂ a C_B(7)H₂), 0.98 (t, 6H, *J*(CH₂,CH₃) = 7.1 Hz, -CH₂CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, MO 30-02U-15.fid): δ 194.8 (s, C_B(1)<u>C</u>=O), 165.1 (s, -C_A(7)<u>C</u>ONH-), 155.7 (s, C_A(2)), 144.0 (s, C_A(3)), 140.6 (s, C_B(5)), 137.6 (s, C_B(5a)), 134.6 (s, C_B(8a)), 130.9 (d, C_B(4)), 129.7 (s, C_A(4a)), 126.3 (s, C_A(8a)), 126.2 (s, C_A(7)), 125.2 (d, C_B(3)), 124.7 (d, C_B(2)), 121.9 (d, C_A(6)), 115.9 (d, C_A(8)), 114.8 (d, C_A(5)), 94.4 (d, -CH=), 51.3 (t, Et₂N<u>C</u>H₂-), 46.7 (t, -<u>C</u>H₂CH₃), 37.4 (t, -CH₂NH-), 29.2 (t, C_B(5)), 26.9 (t, C_B(8)), 22.5 (t, C_B(7)), 22.1 (t, C_B(6)), 11.7 (q, -CH₃).

IR v(solid, cm⁻¹): 3421 (w), 3137 (m), 2933 (s), 2798 (m), 1694 (s, C=O), 1645 (w), 1600 (s, C=O), 1588 (s), 1531 (s), 1496 (s), 1469 (m), 1394 (w), 1345 (s), 1325 (m), 1290 (m), 1251 (s), 1211 (s), 1176 (m), 1110 (s), 1066 (m), 998 (m), 972 (w), 914 (w), 815 (s), 803 (s), 786 (s), 756 (s), 723 (m), 698 (m).

MS (ESI-): 461.1 ([M+H]⁺).

Anal. Calcd for C₂₇H₃₂N₄O₃(460.57): C, 70.41; H, 7.00; N, 12.16. Found: C, 70.40; H, 7.00; N, 12.15.

3.6. Príprava potenciálneho inhibítora 26 Mer TK receptora



Schéma 19. Syntetická cesta "D" vedúca k príprave zlúčeniny 26.

3.6.1. Syntéza benzyl N-(4-acetylfenyl)sulfamoylkarbamátu (21)



Literatúra:³⁵ Reakčné podmienky použité na nesubstituovanom anilíne.

Experimentálny postup: Do roztoku 644 μ l (1.047 g, 7.40 mmol, 1.00 mol ekv, d=1.626 g/ml) izokyanátu **20**v 5 ml DCM abs sme za chladenia ľadom pridali 752 μ l(800 mg, 7.40 mmol, 1.00 mol ekv, d=1.064 g/ml) BnOH a reakčnú zmes sme miešali 30 min pri RT. Takto pripravený roztok sme za chladenia (0°C) prikvapkali do roztoku 1.00 g (7.40 mmol, 1.00 mol ekv) acetofenónu **19**v 5 ml DCM abs. Reakčnú zmes sme miešali 24 hod pri RT. Po odparení rozpúšťadla sme surový produkt triturovali s CHCl₃ a dočisli na FLC elučnou zmesou DCM/MeOH (20/1). Získali sme 1.795 g (5.153 mmol, 70 %) karbamátu**21**. **M.p.** chýba pre nedostatok látky**21**.

Novosť zlúčeniny 21:Zlúčenina 21 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (300 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 32-04I-15.fid):** δ 12.06 (br s, 1H, CONH), 11.11 (s, 1H, C_A(1)NH), 7.91 (d, 2H, *J*(A₂,A₃) = 8.7 Hz, H-C_A(2)), 7.25 (d, 2H, *J*(A₂,A₃) = 8.7 Hz, H-C_A(3)), 7.30-7.20 (m, 5H, H-C_B(2, 3, 4)), 5.09 (s, 2H, -CH₂-), 2.53 (s, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, MO 32-04U-15.fid): δ 197.0 (s, C_A(4)<u>C</u>=O), 151.4 (s, -NH(<u>C</u>=O)), 142.4 (s, C_A(1)), 117.7 (d, C_A(2)), 67.3 (t, -CH₂-), 26.9 (q, -CH₃), a (C_A(3,4), C_B(1,2,3,4)).

IR a Anal. chýba pre nedostatok látky 21.

³⁵ Lee, Ch.; Kohn, H. J. Org. Chem. 1990, 55. 6098-6104.

3.6.2. Syntéza 1-(1-hydroxyetyl)-4-(sulfamoylamino)benzénu (22)



Literatúra:³⁶ Identické reakčné podmienky na inom substráte.

Experimentálny postup: Do roztoku 300 mg (0.861 mmol, 1.00 mol ekv) karbamátu **21** v 10 ml MeOH sme pridali katalytické množstvo 10% Pd/C a atmosféru nasýtili plynným H₂. Reakčnú zmes sme miešali 24h pri RT. Zvyšné Pd sme odfiltrovali cez krátky stĺpec silikagélu a rozpúšťadlo sme odparili pomocou RVO a HV. Získali sme 155 mg (0.717 mmol, 83%) sulfamidu**22**.

Novosť zlúčeniny 22:Zlúčenina 22 nie je v literatúre opísaná.



¹**H-NMR (300 MHz, DMSO-***d*₆, **MO 32-05-15.fid):** δ 9.34 (br s, 1H, C(4)NH), 7.22 (d, 2H, *J*(H₂,H₃) = 8.6 Hz, H-C(3)), 7.10 (d, 2H, *J*(H₂,H₃) = 8.6 Hz, H-C_A(2)), 7.01 (br s, 2H, - NH₂), 5.03 (d, 1H, *J*(OH,CH) = 4.1 Hz, -OH), 4.65 (dq, 1H, *J*(OH,CH) = 4.1 Hz, *J*(CH,CH₃) = 6.4 Hz, -CH-), 1.29 (d, 3H, *J*(CH,CH₃) = 6.4 Hz, -CH₃).

Intermediát 22 bol bez ďalšej charakterizácie použitý na reoxidáciu na látku 23.

³⁶ Krueger, A.Ch.; Madigan, D.L.; Jiang, W.W.; Kati, W.M.; Liu, D.; Liu, Y.; Maring, C. J.; Masse, S.; McDaniel, K.F.; Keith, F.; Middleton, T.; Mo, H.; Molla, A.; Montgomery, D.; Pratt, J.K.; Rockway, T.W.; Zhang, R.; Kempf, D.J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.***2006**, *16*, 3367-3370.

3.6.3. Syntéza N-(4-acetylfenyl)sulfamidu (23)



Literatúra:³⁷ Literatúra uvádza použitie MnO₂ na inom substráte v Et₂O pri RT.

Experimentálny postup: Do roztoku 200 mg (0.925 mmol, 1.00 mol ekv) sulfamidu **22**v 5 ml DMF abs sme pridali 201 mg (2.312 mmol, 2.50 mol ekv) MnO₂a reakčnú zmes sme miešali 72h pri RT. Surový produkt sme zriedili s EA a zvyšný MnO₂ sme odfiltrovali cez krátky stĺpec silikagélu. Rozpúšťadlo sme odparili pomocou RVO a HV a získali sme 183 mg (0.854 mmol, 92%) sulfamidu**23**.

M.p.: 159-161°C [DMF], hnedá tuhá látka.

Novosť zlúčeniny 23:Zlúčenina 23 je v literatúre opísaná: M.p.:(160-162 °C)³⁸



¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, MO 36-01-16.fid): δ 10.11 (br s, 1H, C(1)NH), 7.88 (d, 2H, *J*(H₂,H₃) = 8.9 Hz, H-C(3)), 7.36 (br s, 2H, -NH₂), 7.22 (d, 2H, *J*(H₂,H₃) = 8.9 Hz, H-C_A(2)), 2.51 (s, 3H, -CH₃).

¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆, MO 36-02-16.fid): δ 196.9 (s, C=O), 144.5 (s, C(1)), 130.6 a 130.1 (d and s, C(3) a C(4), 116.6 (d, C(2)), 26.8 (q, -CH₃).

³⁷ Therkelsen, F.D.; Hansen, A.L.; Pederson, E.B.; Nielsen, C. Org. Biomol. Chem. 2003, 16, 2908-2918.

³⁸ Catt, J.D.; Matier, W.L. J. Org. Chem. 1974, 39, 566-568.

4 Diskusia

4.1. Príprava východiskových acetofenónov

Na prípravu potenciálnych Mer TK inhibítorov sme navrhli syntézu tak, že východiskovými látkami sú rôzne substituované acetofenóny. Acetofenón 1 bol komerčne dostupný, ostatné sme pripravili jedno resp. dvojkrokovými syntézami. Acetofenón 9 sme pripravili cyklizačnou reakciou z *o*-aminoacetofenónu 8s 1,4-dibrómbutánom v prítomnosti bázy DIPEA a katalytického množstva KI. Reakcia bez KI dosiahla v najlepšom prípade 80% konverziu za vzniku jediného produktu 9. Po pridaní KI, ktorý *in situ* generuje reaktívnejší jód derivát, sme cyklický produkt 9 s pyrolidínovým kruhom získali v 88 % výťažku. Ak sme reakciu neukončili do 10 hodín, pozorovali sme aj vznik vedľajšieho produktu 9b (Obrázok 20).



Obrázok 20. Štruktúry hlavného 9a následného produktu 9b cyklizačnej reakcie.

Produkty 9 a 9b boli oddeliteľné pomocou FLC, pričom na identifikáciu štruktúry vedľajšieho produktu 9b s rovnakou molekulovou hmotnosťou sme využili 2D-NMR analýzy. Vedľajší produkt 9bvzniká v dôsledku javu, ktorý sa v literatúre nazýva *terc*-amino efekt. Už v roku 1983 bol uverejnený článok, ktorý opisuje aplikácie *terc*-amino efektu v chémii heterocyklov pri syntéze benzoxazínov.³⁹ Zahrievaním derivátu *o*-aminoacetofenónu v butanole autori dostali zmes izomérov 9c a 9d v pomere 1:4. Majoritne zastúpený izomér 9d sa im podarilo z MeOH vykryštalizovať a pomocu rtg. štruktúrnej analýzy mu priradiť *syn* konfiguráciu (Obrázok 21).

³⁹ Verboom, W.; Van Dijk, B.G.; Reinhoudt, D.N. Tetrahedroan Lett. 1983, 24, 3923-3926.



Obrázok 21. Diastereoizomérne štruktúry9c a 9da niektoré chemické posunyich CH vodíkov.

Príčinou tohto efektu a vzniku produktu **9b** je prítomnosť *N*-metylénovej skupiny na *N*,*N*-dialkyanilínovom fragmente a karbonylový uhlík v *orto*polohe. Vedľajší produkt **9b** obsahuje vo svojej štruktúre novo vzniknutý 6-článkový kruh získaný po [1,5] sigmatropnom prešmyku a následnej intramolekulovej adícii kyslíkatého nukleofilu na imíniovú násobnú väzbu (Schéma 20). Pri látkach typu **9**musí byť preto priebeh cyklizačnej reakcie sledovaný, aby sa zabránilo následnej konverzii na vedľajší produkt**9b**. Informatívne uvádzame aj ¹H-NMR spektrum látky **9b**(Obrázok 21a).



Schéma 20. Mechanizmus vzniku vedľajšieho produktu 9b intramolekulovou redox cyklizáciou.



Obrázok 21a. ¹H-NMR spektrum látky 9b.

Acetofenón **15** sme pripravili v dvoch syntetických stupňoch. Prvým bola redukcia elektrónovo bohatšieho nesubstituovaného aromatického jadra kyseliny 1-naftolovej **13** s H₂ na Pt katalyzátore. V surovej reakčnej zmesi sme taktiež pozorovali vedľajší produkt s oboma zredukovanými jadrami. Majoritnú (90 % v NMR), parciálne zredukovanú kyselinu **14** sme zo zmesi získali kryštalizáciou. Druhým syntetickým krokom bola konverzia karboxylovej skupiny na acetylovú. Literatúra opisuje použitie 2 mol ekv MeLi.⁴⁰ Reakcia prebieha selektívne bez vzniku terciálneho alkoholu, kvôli vzniku stabilnej dilítnej soli, ktorá po spracovaní s H₂O poskytuje acetylovaný produkt **15**(Schéma 21). V prípade použitia 5 mol ekv MeLi už vzniká zmes acetylovaného produktu v zmesi s terciárnym alkoholom. Podľa literatúry použitím 10 mol ekv MeLi prebehne reakcia selektívne až na terciárny alkohol.



Schéma 21. Reakčný mechanizmus adície 2 mol ekv MeLi na kyselinu 14.

Acetofenón 23 s aminosulfoamidovou skupinou sme nakoniec získali troma krokmi z *p*-aminoacetofenónu 19. Nakoľko sa v štruktúre izokyanátu 20 nachádzajú 2 elektrofilné centrá (atómy C a S), selektivitu reakcie sme vynútili adíciou BnOH, ktorý ako tvrdé centrum prednostne atakuje tvrdší atóm uhlíka za vzniku benzyl karbámového sulfonyl chloridu. Z takto *in situ* pripraveného intermediátu bola nukleofilným atakom acetofenónu 19 selektívne pripravená aminosulfonamidová zlúčenina21. Katalytickou hydrogenolýzou sa okrem benzylovej skupiny neželanezredukovala aj acetylová skupina na benzénovom jadre22. Látku 22 sme následne oxidovali za vzniku požadovaného acetofenónu 23(Schéma 22).

⁴⁰ Tegner, C. Achta. Chem. Scand. 1952, 6, 782-790.



Schéma 22. Reakčný mechanizmus selektívnej prípravy acetofenónu 23.

4.2. Príprava α, γ-diketoesterov 3, 10 a 16

Acetofenóny 1, 9, 15 a 23 sme Claisenovou kondenzáciou premenili na príslušné α,γ -diketoestery3, 10 a 16. Posledný diketoester 24 sa nám pre krátkosť času pripraviť nepodarilo. V bázických podmienkach a v prítomnosti dietyl-oxalátu vznikajú sodné soli diketoesterov, ktoré sme okyslením s HCl premenili na požadované diketoestery (Schéma 23). Všetky pripravené produkty Claisenovej kondezácie sa náchadzali výlučne v enol formách (viď ich NMR spektrá).



Schéma 23. Všeobecný mechanizmus Claisenovej kondenzácie.

4.3. Regioselektivita cyklokondenzačnej reakcie *o*-PDA a benzoylpyruátov

Kľúčovým krokom zamýšlanej syntézy Mer TK inhibítorov boli cyklokondenzačné reakcie *α*,*γ*-diketoesterov s nesymetricky substituovanou kyselinou 3,4-diaminobenzoovou **4**. Reakcia týchto substrátov je neselektívna a poskytuje zmes regioizomérnych produktov (*ANTI* a *SYN*)s nosným dihydrochinoxalinónovým skeletom. Zmene izomérie je pridružená taktiež zmena priority číslovania skeletu týchto štruktúr. Oba vznikajúce regioizoméry sa vyznačujú veľmi podobnou polaritou a vysokými teplotami topenia (nad 250°C). Sú slabo rozpustné v bežných organických rozpúšťadlách ako EA, DCM, DMF či THF. V prípade, že sú jednotlivé regioizoméry v surovej zmesi zastúpené vo výhodnom pomere, je možné majoritne zastúpený izomér vykryštalizovať (väčšinou z MeOH alebo DMSO).

Selektivitu cyklizačnej reakcie sme chceli overiť aj na elektrónovo podobnom 3,4diaminobenzokarbonitrilovom analógu **37**, ktorý podľa literatúry reaguje s identickým substrátom selektívne.¹⁵ Princíp selektivity reakcie je založený na rozdielnej reaktivite karbonylových skupín v estere **35** a v cyklickom laktóne **36**. Kým v prípade laktónu **36** dochádza k nukleofilnému ataku s nukleofilnejšou NH₂ skupinou na esterickom karbonyle, ester **35** reaguje opačne na α -karbonyle(Schéma 24).



Schéma 24. Mechanizmy regioselektívnych príprav zlúčenín 38 a 39.

Avšak, postupom z uvedenej literatúry sa nám podarilo pripraviť karbonitrilový *SYN* regioizomér **39** len s 81% selektivitou, čo nie je v súlade s publikovanými výsledkami, ktoré uvádzajú úplnú selektivitu (Tabuľka 4). Cyklický laktón **36**, potrebný na vynútenie regioselektivity a vzniku opačného *ANTI* regioizoméru **38**, sa nám nepodarilo pripraviť.

Pomery regioizomérov sú získané z ¹H-NMR spektier surovej zmesi po odparení rozpúšťadla, pričom prvá hodnota vždy prislúcha požadovanému *ANTI*regioizoméru. Nakoľko selektivitu reakcie benzoylpyruátová časť veľmi neovplyvnuje, sú pomery vznikajúcich produktov uvádzané len reakcious *p*-Cl benzoylpyruátom**35**. Všetky reakcie boli uskutočnené paralelne, tj. v rovnakom rozpúšťadle (DMF abs), za rovnakej teploty (RT) a spracované po rovnako dlhom reakčnom čase (72 hodín). V zátvorkách sú uvedené konverzie tj. zánik východiskových látok, *o*-PDA **4** resp. **37** a diketoesteru **35**(Tabuľka 4).

Natívne ^a	1.00TsOH	1.00TEA	2.00TEA	1.00 DMAP	2.00 DMAP	1.00 TEA 1.00 DMAP
40 : 60 (100%) ^b	15 : <mark>85</mark> (100%)	77 : 23 (70%)	70 : <mark>30</mark> (80%)	85 : 15(70%)	85 : 15 (50%)	82 :18 (65%)
19 : <mark>81</mark> (100%)	15 : <mark>85</mark> (100%)	53 : 47 (20%)		100 : 0(10%)	100 : <mark>0</mark> (20%)	75 :25 (30%)

Tabul'ka 4. Pomery vznikajúcich ANTI a SYN regioizomérov zistené pri optimalizácii reakčných podmienok.

^aNatívne: DMF abs, 72 h, RT.

^bKonverziavzťažne na východiskový *o*-PDA **4** resp. **37**.

Súhlasne s literatúrou si vznik *SYN* regioizoméru pri derivátoch *o*-PDA s EWG skupinou vysvetľujeme atakom nukleofilnejšej *m*-NH₂ skupiny na reaktívnejší α-karbonyl, v porovnaní s karboxylovým karbonylom. Vznik imínu resp. enamínu je reverzibilný krok a až vytvorením intramolekulovej amidovej väzby, v dôsledku reakcie voľnej amino skupiny s esterovým zvyškom, vzniká stabilný *SYN* produkt s novým 6-článkovým kruhom (Schéma 25).



Schéma 25. Mechanizmus cyklokondenzačnej reakcie za vzniku SYN regioizoméru.

Na porozumenie regioselektivity a jej zvýšenie sme do reakčných zmesi začali pridávať rôzne aditíva.Použitím kyslých podmienok (TsOH ako aditívum) sme na molekule kyseliny **4** predpokladali protonizáciu bázickejšej *m*-amino skupiny a v dôsledku zmeny nukleofility amino skupín preferenčne vznik*ANTI* regioizoméru (Schéma 26).



Schéma 26. Predpokladaná zmena regioselektivity vplyvom prídavku kyseliny TsOH.

Výsledok nás prekvapil, nakoľko v reakcii vznikol s vysokou selektivitou práve opačný *SYN* izomér. Jedno z možných vysvetlení je, že kyselina TsOH môže protonizovať karbonylv α-pozícii etylesteru benzoylpyruátu**35**, čo by zvýšilo jeho elektrofilitu a selektivitu reakcie posunulo v prospech *SYN* regioizoméru (Schéma 27).



Schéma 27. Predpokladané zvýšenie reaktivitya-karbonylového uhlíka v dôsledku protonizácie.

Po výsledkoch z reakcie s TsOH vznikla myšlienka použiť naopak bázické podmienky. Predpokladali sme, že DMAP ako báza vytvorí s kyselinou 4 soľ a v dôsledku zmeny –M a –I efektu karboxylovej skupiny na +I efekt karboxylátovej skupiny sa ovplyvní nukleofilita amino skupín a že po reakcii s α -karbonylom získame viac*ANTI* regioizoméru (Schéma 28).



Schéma 28. Predpokladaná zmena regioselektivity vplyvom DMAP-u ako bázy.

Použitie DMAP-u síce vo všeobecnosti znížilo konverzie reakcií, avšak v prípade karboxylového4 aj benzonitrilového derivátu *o*-PDA37 sme získali očakávaný *ANTI* izomér s vysokou selektivitou (Tabuľka 1). Zníženie konverzie si vysvetľujeme deprotonizáciou dikarbonylového systému za vzniku enolátu z benzoylpyruátu 35, čím sa výrazne zníži elektrofilita α -karbonylu a reakcia prebieha hlavne cezdeaktivovaný karboxyl, čo zníži celkovú rýchlosť reakcie (Schéma 29).



Schéma 29. Mezomérne formy diketo systému po deprotonizácii bázou.

Reakcia s DMAP-om však poskytla inú, kľúčovú myšlienku v ovplyvňovaní selektivity cyklizačnej reakcie, a to, že DMAP neplní len úlohu bázy ale aj acylačného katalyzátora. DMAP by v tom prípade vytvorením dobre odstupujúcej skupiny aktivoval karboxyl a atakom zo strany *o*-PDA na takto aktivovaný karboxylátový karbonyl preferoval viac*ANTI* regioizomér (Schéma 30).Ďalším zásadným rozdielom pri vzniku regioizomérov je, že v prípade vzniku *ANTI* regioizoméru je prvotný vznik amiduireverzibilným reakčným krokom, na rozdiel od tvorby imínu pri *SYN* regioizoméry. Väčšie molárne nadbytky acylačného katalyzátora DMAP selektivitu cyklokondenzačnej reakcie už nezvýšili.



- 72 -
Schéma 30. Mechanizmus ANTI heterocyklizácie acylačnou katalýzou pomocou DMAP.

Na základe výsledkov bázických aditív sme navrhli aktivovať karboxyl cezHOBt ester (Schéma 31). Podobná myšlienka aktivácie bola použitá v literatúre, kde bol atak na karboxyl vynútený reaktivitou laktónu **36**.²¹Ten sa nám však pripraviť nepodarilo. -OBt je dobre odstupujúcou skupinou kvôli stabilizácii negatívneho náboja delokalizáciou na aromatické jadro a taktiež vďaka elektrón akceptórnym účinkom dusíkatých atómov benzotriazolu. Generovaním takéhoto aktivovaného esteru *in situ* sme dosiahli výrazne lepšie selektivity aj konverzie cyklizačných reakcií(Tabuľka 5). Za esenciálny faktor v chemickom prepínaní regioselektivity v rámci molekuly benzoylpyruátov preto považujeme vynútenie primárneho ataku nukleofilu na karboxylový karbonyl.



Schéma 31. Mechanizmus heterocyklizácie prostredníctvom aktivovaného OBt esteru.

Po optimalizácii reakčných podmienok sme uskutočnili aj reakcie opísané literatúrou. Cieľom bolo potvrdiť naše podozrenia na chybu v publikovanej práci s nitro derivátom40.²²My sme v prípade nitro analógu izolovali v 81 % nadbytku *SYN*izomér, opačný ako v literatúre(Tabuľka 5). Izomériu dihydrochinoxalinónového nitro derivátusme potvrdili aj priestorovými interakciami z NOE/NMRexperimentu (Obrázok 23). Autori v článku vznik *ANTI*regioizoméru nezdôvodňujú.

V prípade metoxy derivátu **43**sme izolovali *ANTI* izomér rovnako, ako opisuje literatúra.²³ V štruktúre *o*-PDA s elektrón donornou OMe skupinou je nukleofilita amino skupín opačná ako pri NO₂*o*-PDA. V dôsledku toho sme za rovnakých reakčných podmienok získali opačný izomér, ako v prípade *o*-PDA substituovaného elektrón akceptórnou skupinou.

Neuvedené spektrálne charakteristiky 6 pripravených dihydrochinoxalinónových analógov *ANTI*(CN), *SYN*(CN), *ANTI*(NO₂), *SYN*(NO₂), *ANTI*(OMe), *SYN*(OMe) sú súčasťou experimenálnej časti pripravovanej publikácie.

		CI OBt
HOOC 4 NH ₂	40 : 60 (100%) ^b	92 : <mark>08</mark> (70%)
	19 : <mark>81</mark> (100%)	93 : <mark>07</mark> (100%)
O ₂ N 40 NH ₂	19 : 81 (50%)	97 : <mark>03</mark> (100%)
	85 : <mark>15</mark> (100%)	15 : 85 (100%)

Tabuľka 5.Pomery vznikajúcich *ANTI* a *SYN* regioizomérov pri prepínaní selektivity cyklokondenzácie cez aktivovaný OBt ester.

^aAktivovaný ester pripravený *in situ*.

^bPomer ANTI/SYN regioizomérov a % konverzie východiskových *o*-PDA 4, 37, 40 resp. 43.

4.4. Spektrálne charakteristiky ANTI a SYN regioizomérov

Na jednoznačné priradenie *ANTI* a *SYN* izomérnych produktov sme spočiatku používali komplikovanejšie 2D-NMR metódy (HMBC, NOESY). Pomocou väzbových a neväzbových (priestorových) interakcii medzi atómami H,C a H,H sme priradili regioizomérne štruktúry niektorých produktov reakcii **5**, **5**a, **11**, **12** a **17** (Obrázok 22).



 $\mathbf{Z} = 4$ -chlórfenyl; $\mathbf{Y} = N, N$ -dietyletylén.



Zapojením NH vodíka do intramolekulovej vodíkovej väzby s priestorovo blízkou C=O skupinou aroylového fragmentu molekuly dihydrobenzochinolinónu zvyšuje elektrónové zriedenie na H jednej NH skupine, čo sa prejaví vyšším chemickým posunom δ tohto signálu oproti signálu druhej NH skupiny. Zistili sme, že štruktúry regioizomérov*ANTI / SYN* ovplyvňujú chemické posuny signálov H-C(5), H-C(8), H-N(1) a H-N(4). Preto vieme jednoduchým NOE experimentom zistiť priestorový vzťah NH a H s charakteristickým štiepením dubletu s veľkou alebo malou interakciou (Obrázok 23). Týmto spôsobom môžme jednoduchšie priradiť regioizomérnu štruktúru produktu bez merania komlikovaných 2D-NMR spektier.Taktiež rozdielny charakter HB väzbou viazanej a voľnej NH skupiny štruktúry dihydrochinoxalinónu je zreteľný aj v IČ spektrách.



Obrázok 23.Číslovanie skeletu, charakteristické štiepenia a NOE interakcie regioizomérnych *ANTI / SYN*štruktúr.

4.5. Tautomérna rovnováhadihydrochinoxalinónov a chemická výmena NH vodíkov

Z NMR spektier a integrálov jednotlivých signálov môžme jednoznačne vylúčiť prítomnosť ketoimínovej tautomérnej formy. Rtg. analýza preukázala, že rovnováha je posunutá na ketoenamínovú formu (Schéma 32).¹⁸V ¹H-NMR sa nachádza singlet okolo 7 ppm, ktorý zodpovedá exocyklickému vinylovému typu vodíka. Chemický posun dvoch rozšírených singletových signálov v oblasti 12-14ppm je odozvou na prítomnosť dvoch sekundárnych amínov.



Schéma 32. Tautomérna rovnováha dihydrochinoxalinónových štruktúr.

NH vodíky piperazinónového kruhu sú v rýchlej chemickej výmene, čo niekedy predstavovalo problémpri meraní NOE experimentu (napr. pri ožarovaní signálu NH pri 14

ppm). Až použitím kratšej ožarovacej periódy sa tento problém vyriešil (ožiarenie pri 12 ppm) (Obrázok 24).



Obrázok 24. Rýchla chemická výmena NH vodíkov v NOE experimente.

4.6. Príprava prekurzorov Mer TK inhibítorov 5, 11, 17 a 24

Prekurzory 5, 11 a 17 s *ANTI* konfiguráciou sme pripravili cyklokondenzačnou reakciou kyseliny 4 s prislušnými etyl-benzoylpyruátmi (napr. Schéma 30).Syntézu sulfonamidového prekurzoru 24sme pre nedostatok času nedokončili. Ako aditívum sme do cyklizačných reakcii použili DMAP. Po centrifugácii zrazeniny vypadnutého surového produktu a jeho následnej triturácii sme pri všetkých derivátoch 5, 11 a 17izolovali dihydrochinoxalinóny vo forme DMAP-ových solí. Zatiaľ čo sme po odparení rozpúštadla zo surových zmesí vždy izolovali zmesi*ANTI* a *SYN* regioizomérov, odcentrifugovaním po reakcii získanej zrazeniny, jej triturácii rospúšťadlom a okyslení, sme získali dihydrochinoxalinóny 5, 11 a 17 vo forme čistého*ANTI* regioizoméru. *ANTI* konfigurácia všetkých prekurzorov5, 11 a 17 bola dokázaná na základe 2D-NMR analýz (Obrázok 22).

4.7. Príprava zlúčenín 7, 12, 18 a 26 s predpovedanou Mer TK aktivitou

Posledným reakčným stupňombola reakcia prekurzorov 5, 11 alebo 17s *N*,*N*-dietyletylamínom 6, v ktorej sme získali zlúčeniny7, 12 a 18.V tejto reakcii smeopäť využili aktiváciu karboxylupomocou HOBt a EDC. Finálne produkty sme po viac stupňovej syntéze izolovali v celkových výťažkoch 21% (p-Cl derivát 7), 26% (pyrolidínový derivát 12) a 18% (naftylový derivát 18). Štruktúra inhibítora 12bola (podobne ako prekurzory 5, 11 a 17)potvrdená 2D-NMR experimentom (Obrázok 22).

5 ZÁVER

Diplomová práca naplnila takmer všetky stanovené ciele. V teoretickej časti sme opisovali vlastnosti, biologické funkcie a charakteristiky Mer tyrozín-kinázy. V experimentálnej časti sme uviedli optimalizované syntetické postupy na prípravu počítačom navrhnutých analógov inhibítora *BM01014*. V diskusii uvádzame aj objavenú regioselektívnu prípravu dihydrochinoxalinónových heterocyklov. Taktiež uvádzame spôsob chemického prepínania regioselektivity s navrhnutými mechanizmami. Našli a dokázali sme chybu priradenia produktu cyklizácie v literatúre. Podarilo sa nám pripraviť 3 zo 4 analógov aktívneho inhibítora *BM01014*, ktorých biologickú aktivitu budeme testovať. Celkovo sme pripravili 16 zlúčenín, z toho 11v literatúre neopísaných. Ďalšie látky, ktoré sme pripravili ale nie sú z dôvodu rozsahu práce uvedené v experimentálnej časti je nasledovných 10 látok dihydrochinoxalinónových ANTI / SYN štruktúr substituované s –OMe, -Cl, -F, -CN, -NO₂ a hydrolyzovaná 4-chlórbenzoylpyrohroznová kyselina využitá pro príprave OBt aktivovaných esterov. Z uvedených 11 látok sú 2 v literatúre dosiaľ opísané. V rozpracovanej publikácii objasnujeme vplyv substituentov štruktúry dihydrochinoxalinónov na regioselektivitu cyklokondenzácie *o*-PDA.

6 PRÍLOHA - spektrálne charakteristiky pripravených zlúčenín

6 PRÍLOHA - spektrálne charakteristiky pripravených zlúčenín

6.1. Zlúčenina 3(diketoester)



Obrázok 1. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny **3**.



Obrázok 1a.¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **3**.

Zlúčenina **3** je v literatúre opísaná: M.p., ¹H-NMR, ¹³C-NMR.¹

¹Qi-Chao, Y.; Ding-Er, W.; Ru-Zheng, M.; Min, X. J. Organomet. Chem. 2013, 743, 1-9.



Obrázok 1b. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **3**.



Obrázok 1c. MS spektrum zlúčeniny 3.

6.2. Zlúčenina 5(ANTI dihydrochinoxalinónkarboxylát)



Obrázok 2. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **5**.



Obrázok 2b.¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) spektrum zlúčeniny 5.



Obrázok 2c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **5**.



Obrázok 2d. MS spektrum zlúčeniny 5.

6.3. Zlúčenina 5a(SYN dihydrochinoxalinónkarboxylát)



Obrázok 3. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **5a**.



Obrázok 3b.¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **5a**.



Obrázok 3c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **5a**.



Obrázok 3d. MS spektrum zlúčeniny 5a.

6.4. Zlúčenina 7(ANTI chlórfenylový finálny produkt)



Obrázok 4. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny 7.







Obrázok 4c. IR (solid, cm⁻¹) spektrum zlúčeniny 7.



Obrázok 4d. MS spektrum zlúčeniny 7.

6.5. Zlúčenina 9(pyrolidínový acetofenón)



Obrázok 5. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny 9.



Obrázok 5a.¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **9**.



Obrázok 5b.¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **9**.

Zlúčenina 9 je v literatúre opísaná: IR^2

²Verboom, W.; Hamzink, M.R.J.; Reinhoudt, D.N.; Visser, R. Tetrahedron Lett. 1984, 25, 4309-4312.



Obrázok 5c. MSspektrum zlúčeniny 9.

Zlúčenina 10(pyrolidínový diketoester) 6.6.



Obrázok 6. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **10**.



Obrázok 6a.¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny 10.



Obrázok 6b.¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny 10.



Obrázok 6c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **10**.



Obrázok 6d. MS spektrum zlúčeniny 10.

6.7. Zlúčenina 11(ANTI pyrolidínovýkarboxylát)



Obrázok 7. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **11**.



Obrázok 7a.¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) spektrum zlúčeniny 11.



Obrázok 7b.¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **11**.



Obrázok 7c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **11**.



Obrázok 7d. MS spektrum zlúčeniny 11.



Obrázok 8. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **12**.



Obrázok 8a.¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) spektrum zlúčeniny 12.



Obrázok 8b.¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **12**.



Obrázok 8c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **12**.



Obrázok 8d. MS spektrum zlúčeniny 12.

6.9. Zlúčenina 14(kyselina tetrahydronaftalén-1-karboxylová)



Obrázok 9. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny 14.



Obrázok 9a.¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny 14.

Zlúčenina 14 je v literatúre opísaná: M.p., ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, MS.³

³Connolly, T. J.; Durst, T. Tetrahedron1997, 53, 15969-15982.

6.10. Zlúčenina 15(tetrahydronafto-etanón)



Obrázok 10. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny **15**.



Obrázok 10a.¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **15**.

Zlúčenina 15 je v literatúre opísaná M.p., ¹H-NMR, ¹³C-NMR, IR, MS, HRMS.⁴

⁴Kido, Y.; Yonehara, F.; Yamaguchi, M. *Tetraheron***2001**, *57* (5), 827-833.

6.11. Zlúčenina 16(tetrahydronaftyldiketoester)



Obrázok 11. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **16**.



Obrázok 11a.¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **16**.



Obrázok 11b.¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny 16.



Obrázok 11c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny **16**.



Obrázok 11d. MS spektrum zlúčeniny 16.

6.12. Zlúčenina 17(ANTI tetrahydronaftylkarboxylát)



Obrázok 12. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **17**.



Obrázok 12a.¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **17**.



Obrázok 12b.¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **17**.



Obrázok 12c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny 17.



Obrázok 12d. MS spektrum zlúčeniny 17.





Obrázok 13. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **18**.



Obrázok 13a.¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **18**.







Obrázok 13c. IR(solid, cm⁻¹)spektrum zlúčeniny 18.



Obrázok 13d. MS spektrum zlúčeniny 18.

6.14. Zlúčenina 21(N-arylsulfamoylkarbamát)



Obrázok 14. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **21**.





IR, MS a Anal. chýba pre nedostatok látky 21.

6.15. Zlúčenina 22(redukovaný N-arylaminosulfónamid)



Obrázok 15. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny **22**.



Obrázok 15a.¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **22**.

Intermediát 22 bol bez ďalšej charakterizácie použitý na reoxidáciu na látku 23.

6.16. Zlúčenina 23(aminosulfónamidový acetofenón)



Obrázok 16. Spektrálny abstrakt ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **23**.







Zlúčenina **23** je v literatúre opísaná: M.p.: $(160-162 \ ^\circ C)^5$ IR, MS a Anal. chýba pre nedostatok látky **23**.

⁵Catt, J.D.; Matier, W.L. J. Org. Chem. 1974, 39, 566-568.