

UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA

**Návrh a syntéza potenciálneho *N*-arylaminooxazolového VEGFR2
inhibítora so stéricky vynútenou konformáciou**

Diplomová práca

Študijný program: Organická a bioorganická chémia
Študijný odbor: 4. 1. 14 Chémia
Školiace pracovisko: Katedra organickej chémie, PriF UK
Školiteľ: doc. RNDr. Andrej Boháč, PhD.
Konzultant: Mgr. Juraj Dobiaš



Univerzita Komenského v Bratislave
Prírodovedecká fakulta

ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE

Meno a priezvisko študenta: Bc. Ivan Mäsiar
Študijný program: organická a bioorganická chémia (Jednoodborové štúdium, magisterský II. st., denná forma)
Študijný odbor: chémia
Typ záverečnej práce: diplomová
Jazyk záverečnej práce: slovenský
Sekundárny jazyk: anglický

Názov: Návrh a syntéza potenciálneho N-arylaminoxazolového VEGFR2 inhibítora so stericky vynútenou konformáciou
Development of potential N-arylaminoxazole VEGFR2 inhibitor possessing sterically restricted conformation

Literatúra: pôvodné a prehľadové články vo vedeckých časopisoch, vedecké monografie, J. Med. Chem., Eur. J. Med. Chem., databázy Reaxys, SciFinder Scholar, Discovery Studio

Cieľ: Syntéza počítačom navrhnutého KDR TK inhibítora s vynútenou konformáciou

Kľúčové slová: organická syntéza, KDR, tyrozín kináza, inhibitor

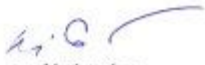
Vedúci: doc. RNDr. Andrej Boháč, CSc.
Katedra: PriF.KOrCh - Katedra organickej chémie
PriF vedúci katedry: doc. RNDr. Martin Putala, CSc.

Dátum zadania: 10.04.2015

Dátum schválenia: 26.04.2016


študent


doc. RNDr. Martin Putala, CSc.
vedúci katedry


vedúci práce

Prehlásenie

Čestne prehlasujem, že som predloženú diplomovú prácu spracoval samostatne s použitím uvedenej literatúry a ďalších informačných zdrojov.

V Bratislave, dňa 01. 05. 2016

podpis autora práce

PodĎakovanie

Chcel by som sa poĎakovať všetkým, ktorí mi akokoľvek pomohli pri spracovaní mojej diplomovej práce. Moja veľká vĎaka patrí vedúcemu diplomovej práce doc. RNDr. Andrejovi Boháčovi, PhD. za ľudský prístup a pomoc pri riešení problémov ako aj Mgr. Jurajovi Dobiašovi za poskytnutú zlúčeninu pre syntézu, odbornú pomoc a odovzdanie skúseností s prácou v organickom laboratóriu. Ďakujem spoločnosti Biomagi za koncept DP a predpovedané štruktúry potenciálnych VEGFR2 inhibítorov. Ďalej ďakujem Mgr. Miroslavovi Murárovi a Mgr. Ambrózovi Almassymu, PhD. za poskytnuté zlúčeniny pre syntézu, pani laborantke Mirke Matejovej za priateľskú spoluprácu, ako aj ostatným pracovníkom Katedry organickej chémie PriF UK. Osobitné poĎakovanie patrí mojim najbližším za ich podporu a motiváciu počas celého štúdia.

Obsah

Abstrakt	8
1 Grafický abstrakt k experimentálnej časti	10
2 Abstrakt ¹H-NMR spektier.....	12
3 Abstrakt ¹³C-NMR spektier	14
4 Použité skratky	16
5 Úvod.....	17
6 Ciele diplomovej práce.....	18
7 Teoretická časť	19
7.1 Vlastnosti VEGFR2 TK receptorov a konformácia predpovedaných inhibítorov typu I.....	19
7.2 Vývoj chinoxalínových VEGFR2 TK inhibítorov typu II a konformácia kináz.....	23
7.3 Vývoj tiazolkarboxamidových derivátov, nových potenciálnych duálnych VEGFR inhibítorov a špecifických VEGFR2 TK inhibítorov	27
7.4 Aktivita vybraných aminochinazolínových zlúčenín s inhibičným účinkom voči VEGFR TK receptorom	31
8 Experimentálna časť	34
8.1 Materiál a použité metódy	34
8.2 Príprava intermediátu 3-amino- <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxybenzénsulfónamidu (4)	35
8.2.1 Príprava 4-metoxy-3-nitrobenzén-1-sulfonyl chloridu (2)	35
8.2.2 Príprava <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-nitrobenzénsulfónamidu (3)	37
8.2.3 Príprava cieľového benzénsulfónamidového intermediátu (4).....	40
8.3 Syntéza 2-(5-(<i>N</i> -(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)- <i>N</i> -fenyloxazol-5-karboxamidu (10).....	43

8.3.1	Príprava metyl 2-(5-(<i>N</i> -(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylátu (7).....	43
8.3.2	Príprava kyseliny 2-(5-(<i>N</i> -(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylovej (8).....	46
8.3.3	Syntéza cieľového fenyloxazolkarboxamidu (10).....	48
8.4	Syntéza <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-fenyloxazol-2-ylamino)benzén-sulfónamidu (13)	51
8.4.1	Príprava <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-3-izotiokyanáto-4-metoxybenzénsulfónamidu (11).....	51
8.4.2	Syntéza cieľového fenyloxazolu (13)	54
8.5	Syntéza <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(6-metoxynaftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (15)	57
8.5.1	Syntéza cieľového metoxynaftalénoxazolu (15).....	57
8.6	Syntéza <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(naftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (19)	60
8.6.1	Príprava 2-bróm-1-(naftalén-2-yl)etanónu (17).....	60
8.6.2	Príprava 2-azido-1-(naftalén-2-yl)etanónu (18).....	62
8.6.3	Syntéza cieľového naftalénoxazolu (19)	63
8.7	Príprava 3-amíno-4-metoxy- <i>N</i> -(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (4B)	66
8.7.1	Príprava 4-metoxy-3-nitro- <i>N</i> -(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (3B)	66
8.7.2	Príprava cieľového Click intermediátu (4B).....	69
9	Výsledky a diskusia	72
9.1	Syntéza 3-amíno- <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxybenzénsulfónamidu (4).....	73
9.2	Syntéza 2-(5-(<i>N</i> -(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)- <i>N</i> -fenyloxazol-5-karboxamidu (10).....	77
9.3	Syntéza <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-fenyloxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (13)	80

9.4	Syntéza <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(6-metoxynaftalén-2-yl)oxazol-2-ylamíno)benzénsulfónamidu (15)	82
9.5	Syntéza <i>N</i> -(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(naftalén-2-yl)oxazol-2-ylamíno)benzénsulfónamidu (19)	83
9.6	Príprava 3-amíno-4-metoxy- <i>N</i> -(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (4B)	84
10	Záver	86
11	Prílohy	87

Abstrakt

Bc. Ivan Mäsiar: Návrh a syntéza potenciálneho *N*-arylaminooxazolového VEGFR2 inhibítora so stéricky vynútenou konformáciou

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra organickej chémie
Diplomová práca, 87 strán, 2016

Projekt sa zaoberá vývojom stéricky bránených predpovedaných VEGFR2 tyrozín kinázových *2-(5-(N-(cyklopropylmetyl)sulfamoyl)-2-metoxifenylamino)oxazolových* inhibítorov. Nedávno bolo zistené, že existuje nový typ konformácie VEGFR2 tyrozín kinázy, ktorá predstavuje prechod medzi bežne známymi DFG-in a DFG-out usporiadaniami kináz. Uvedená nová kinázová konformácia obsahuje dosiaľ na interakcie nevyužitú doménu (SBCP). Z toho dôvodu boli pripravené amidové inhibítory odvodené z komplexu PDB: 1Y6A TK s potenciálom využiť SBCP doménu. Bohužiaľ, tieto zlúčeniny nevykazujú očakávanú aktivitu. Jednou z príčin môže byť existencia nevhodného konforméru ligandu s amidovou skupinou. Cieľom tohto projektu je dokázať túto hypotézu prípravou zlúčenín so stérickým vynútením správneho konforméru. Hypotéza môže byť dokázaná vyššou aktivitou pripravených konformačne vynútených analógov.

Kľúčové slová: VEGFR2 inhibícia, vynútená konformácia, tyrozín kináza, oxazol.

Abstract

Bc. Ivan Mäsiar: Development of potential *N*-arylaminooxazole VEGFR2 inhibitor possessing sterically restricted conformation

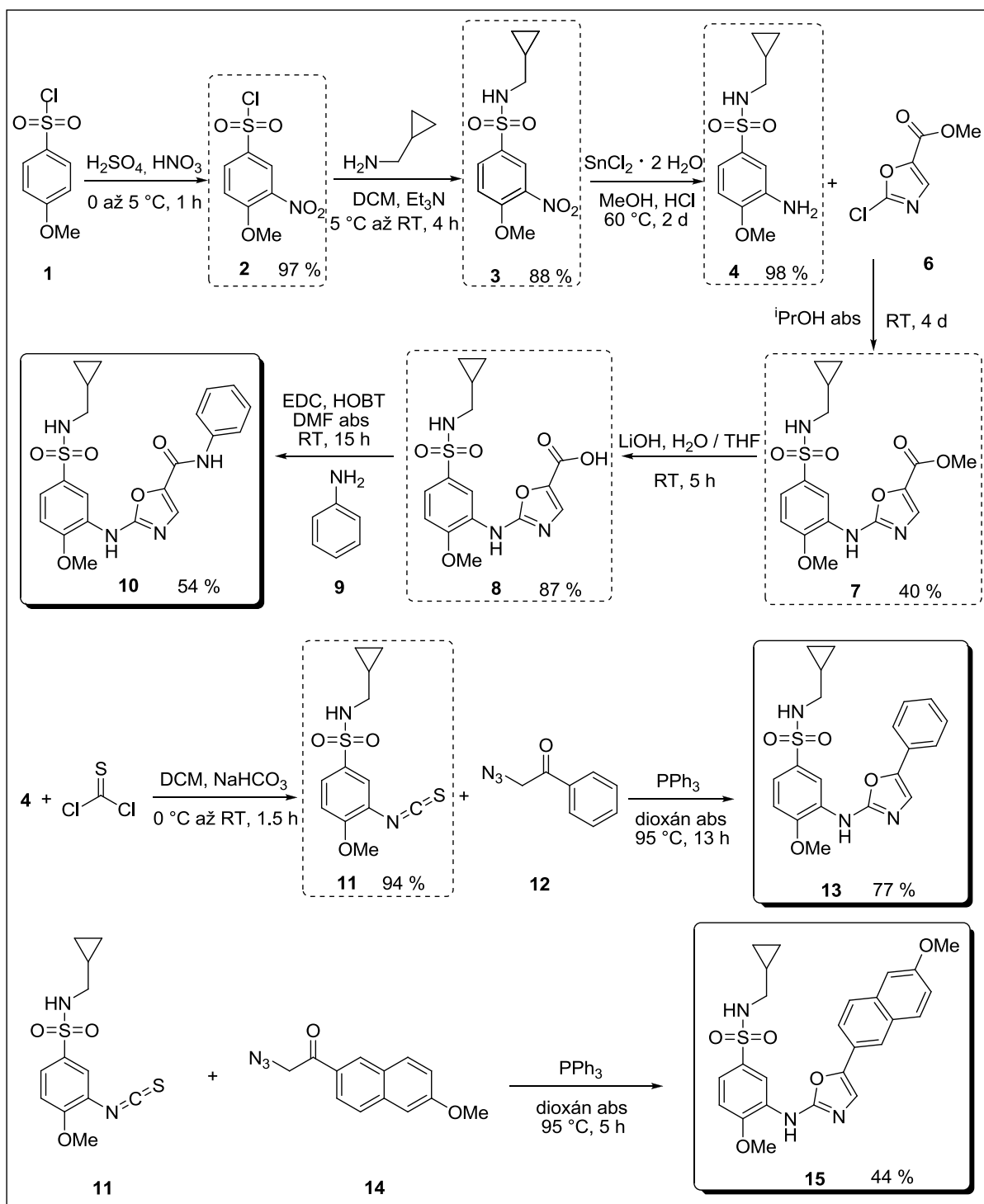
Comenius University in Bratislava, Faculty of Natural Sciences, Department of Organic Chemistry

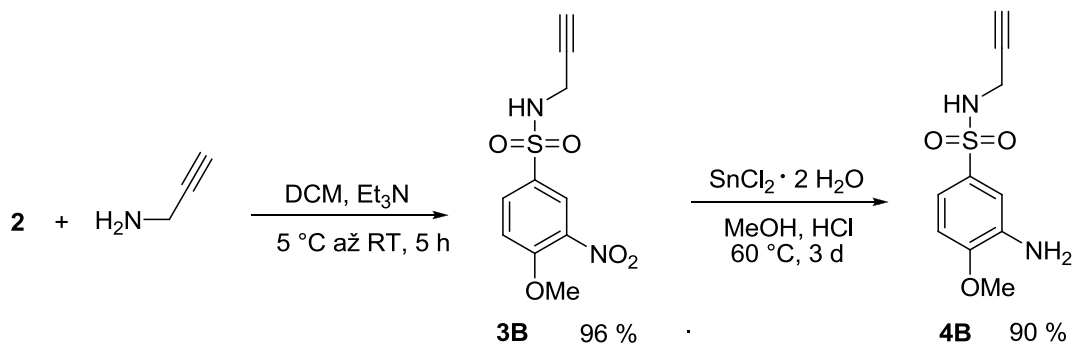
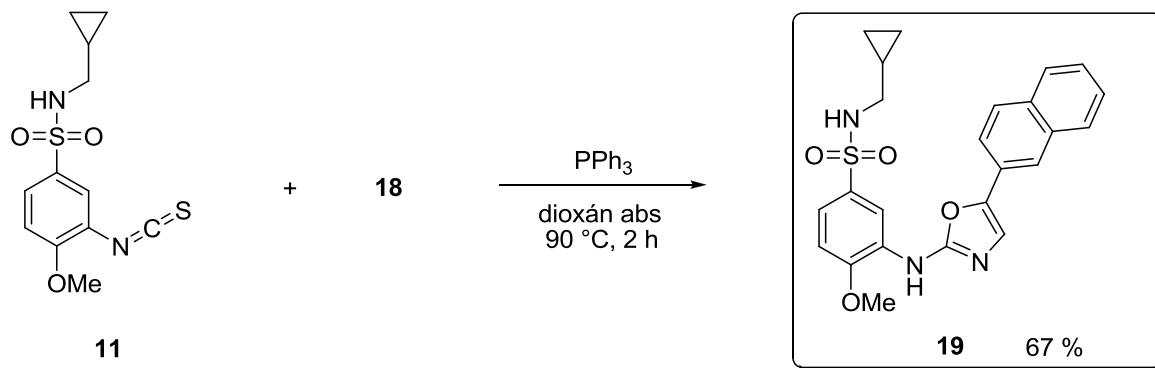
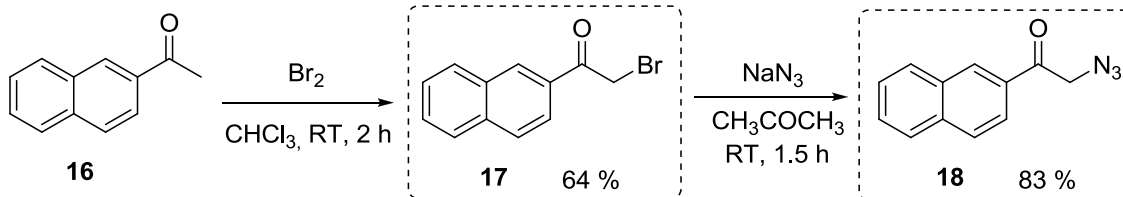
Diploma thesis, 87 pages, 2016

The project deals with the development of the predicted hindered VEGFR2 tyrosine kinase 2-(5-(*N*-(cyclopropylmethyl)sulfamoyl)-2-methoxyphenylamino)oxazole inhibitors. Recently, the new type of conformation of the VEGFR2 tyrosine kinase was found, which is intermediate between known DFG-in and DFG-out configurations. This new conformation comprises new domain (SBCP) that is not utilized by ligand yet. Therefore, we prepared amide inhibitors derived from complex PDB: 1Y6A TK with the potential of exploiting SBCP domain. Unfortunately, these compounds did not show the expected activities. One reason may be the existence of inappropriate ligand conformer at an amide group. This project aims to prove this hypothesis by sterically restricting right conformer. The hypothesis can be evidenced by the higher activity of prepared analogues.

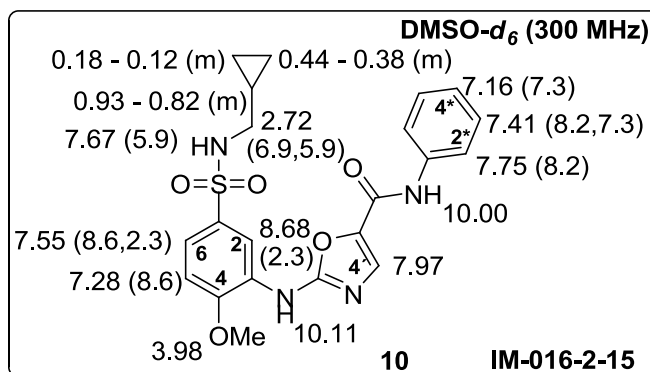
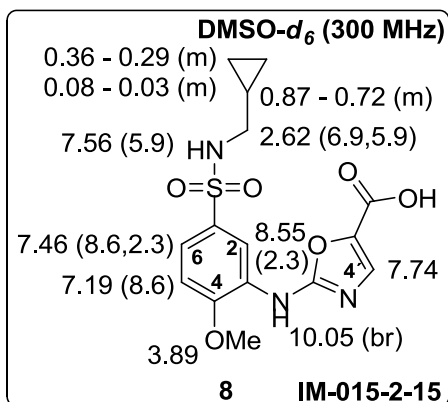
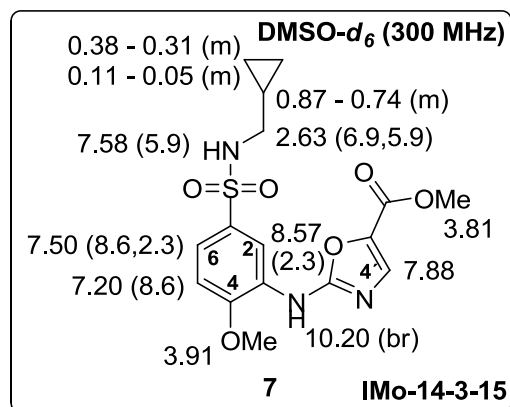
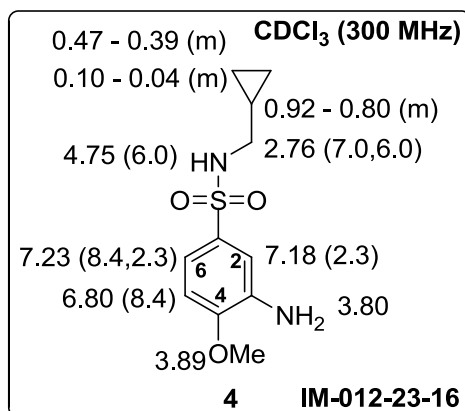
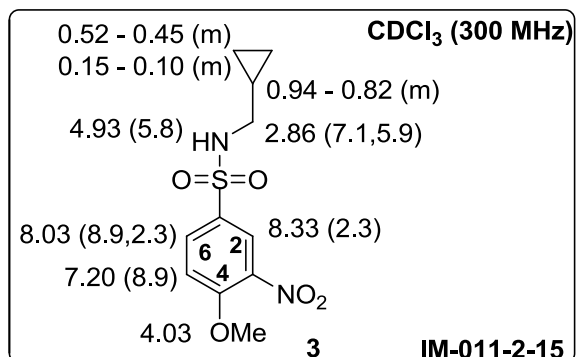
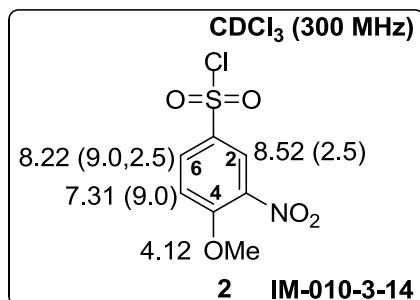
Key words: VEGFR2 inhibition, restricted conformation, tyrosine kinase, oxazole.

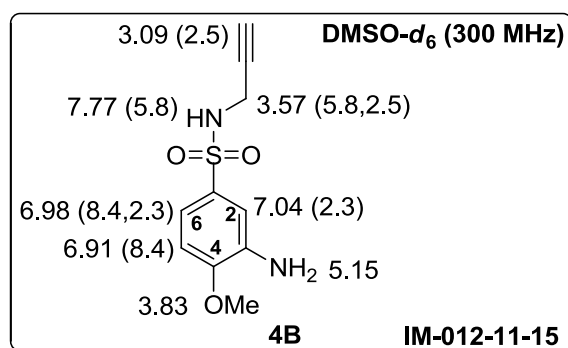
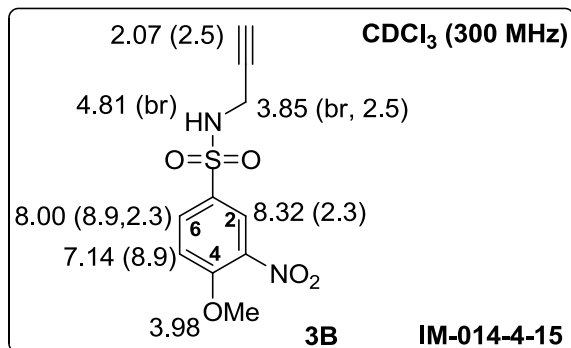
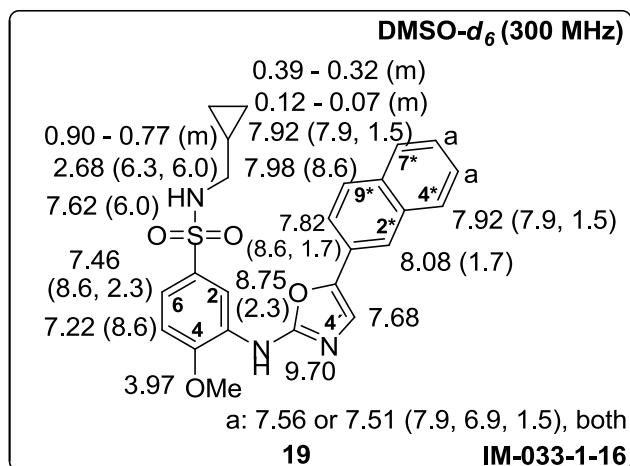
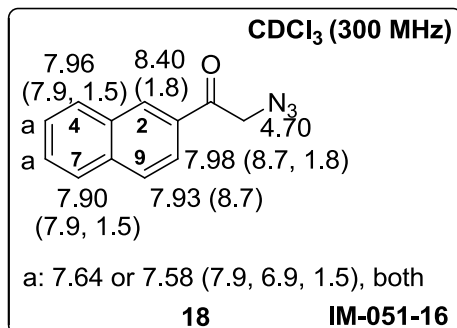
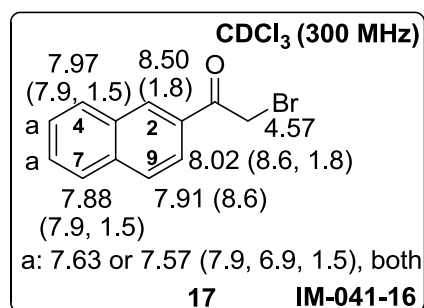
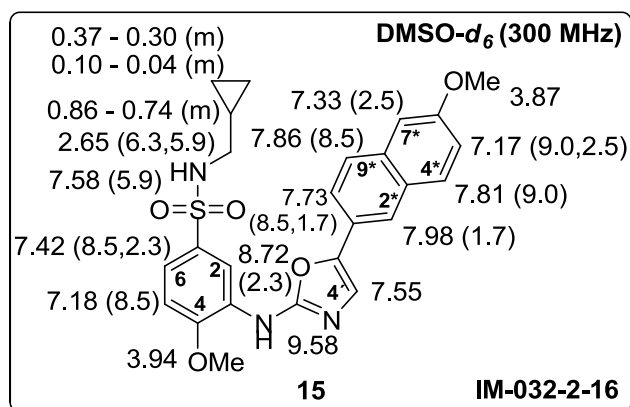
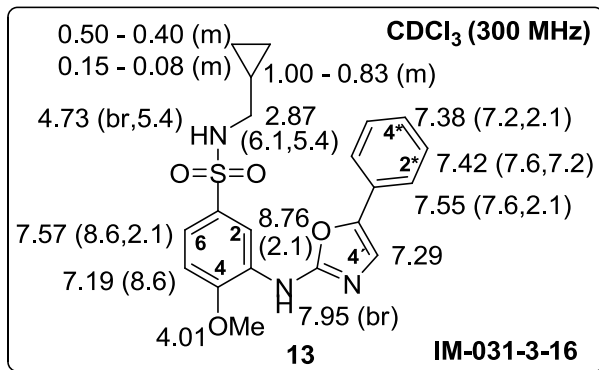
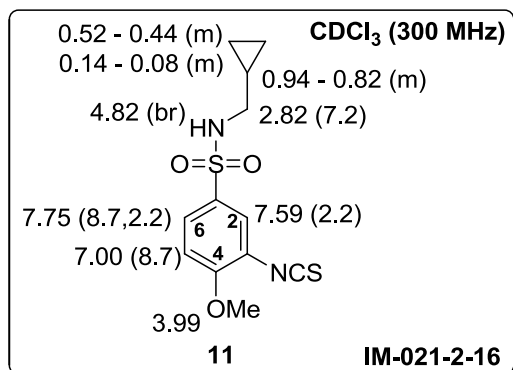
1 Grafický abstrakt k experimentálnej časti



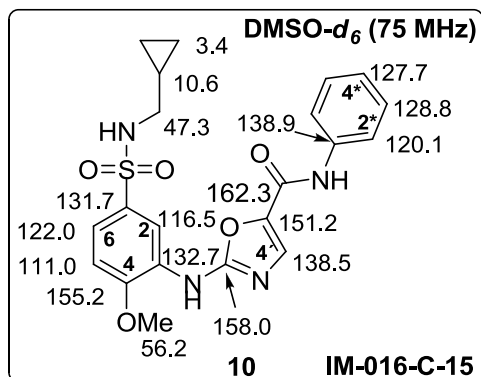
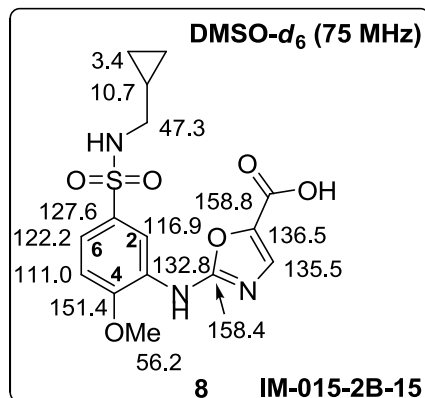
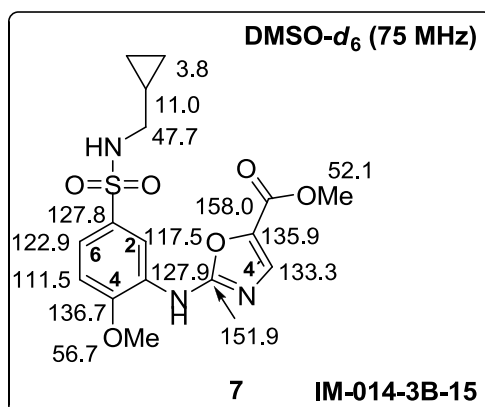
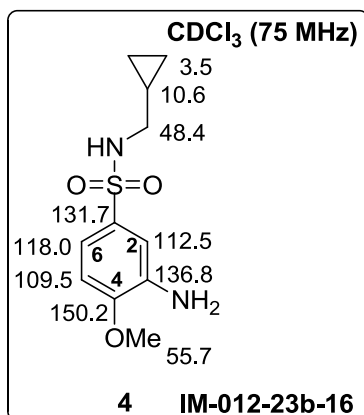
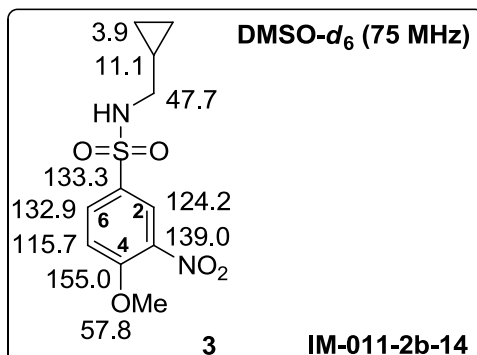
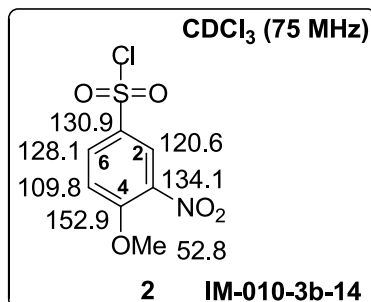


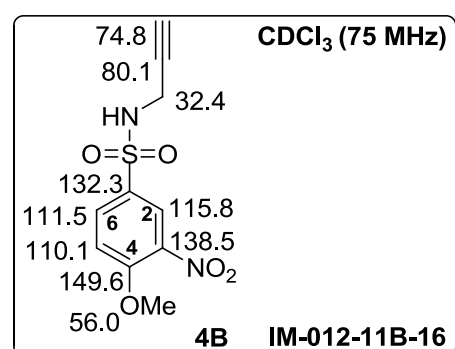
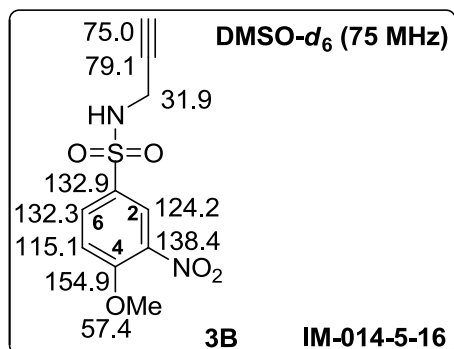
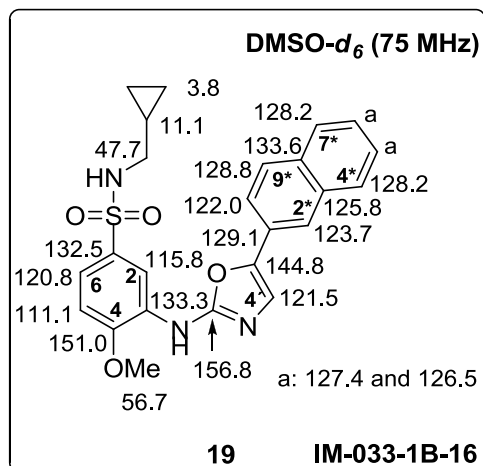
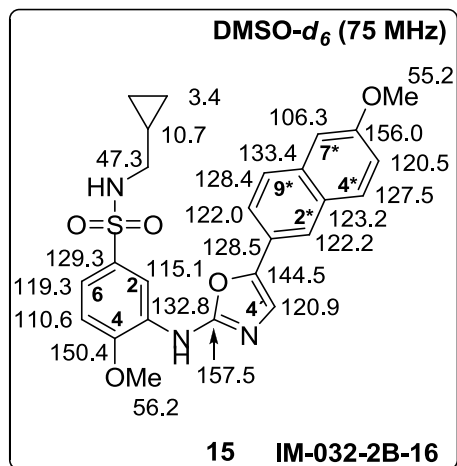
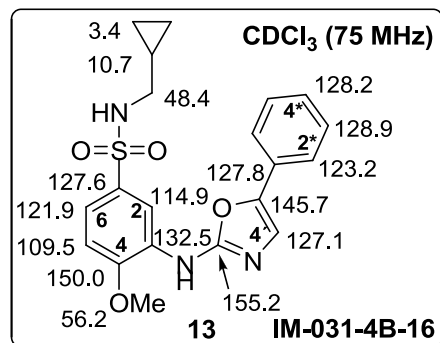
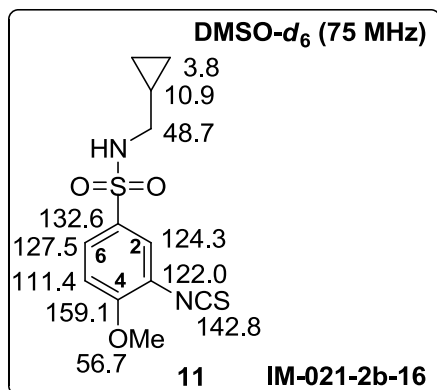
2 Abstrakt ^1H -NMR spektier





3 Abstrakt ^{13}C -NMR spektier





4 Použité skratky

Abs	absolútny, suchý
DCM	dichlórmétán
DMF	dimetylformamid
DMSO	dimetylsulfoxid
EA	etylacetát
EDC	1-etyl-3-(3-dimetylamínopropyl)karbodiimid
FLC	rýchla kvapalinová chromatografia (<i>Flash Liquid Chromatography</i>)
Hex	zmes hexánov
HOBT	hydroxybenzotriazol
HV	vákuum olejovej vývevy (<i>High Vacuum</i>)
IC₅₀	koncentrácia inhibítora, pri ktorej klesne aktivita receptora na polovicu (<i>Half Maximal Inhibition Concentration</i>)
IČ	infračervená spektroskopia
M. p.	teplota topenia (<i>Melting Point</i>)
MS (ESI+/-)	hmotnostná spektroskopia (<i>Mass Spectroscopy</i>) pozitívny mód / negatívny mód
MW	molekulová hmotnosť (<i>Molecular Weight</i>)
NMR	nukleárna magnetická rezonancia (<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>)
R_F	retenčný faktor
RT	laboratórna teplota (<i>Room Temperature</i>)
RVO	rotačná vákuová odparka
RZ	reakčná zmes
THF	tetrahydrofurán
TLC	tenkovrstvová chromatografia (<i>Thin Layer Chromatography</i>)
TMS	tetrametylsilán
UV	ultrafialové žiarenie („ <i>Ultraviolet</i> “)
VEGF	vaskulárny endoteliálny rastový faktor (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)
VEGFR2	transmembránový receptor vaskulárneho endoteliálneho rastového faktora, typ 2 (<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor</i>)

5 Úvod

Súčasná medicína a farmaceutický priemysel poznajú široké spektrum nádorových ochorení, ktorých liečba si na počiatku vyžaduje správnu diagnostiku. Mnohé výskumné skupiny sa zameriavajú na vývoj inhibítorov kinázových receptorov rastových faktorov priamo ovplyvňujúcich progresiu a disemináciu nádorov. Alternatívnym, alebo doplnujúcim prístupom je inhibícia tumorovej angiogenézy, pri ktorej sa už z existujúceho cievneho systému vytvárajú nové tumor vyživujúce cievy.¹

Tyrozín-kinázové (TK) receptory angiogenézy sú receptory, ktorých funkciu je možné inhibovať prostredníctvom vhodných nízkomolekulových zlúčenín. Jedným zo spomínaných TK receptorov je aj VEGFR2 (receptor vaskulárneho endotelového rastového faktora), ktorý zohráva dôležitú úlohu v procese endotelovej bunkovej angiogenézy a regulácie cievnej (vaskulárnej) priepustnosti. VEGFR2 je aktivovaný naviazaním VEGF (vaskulárneho endotelového rastového faktora) na jeho extracelulárnu časť. Dôležitým faktorom pri racionálnom vývoji tyrozín-kinázových inhibítorov je aj konformácia samotných kináz. Charakterizuje ju usporiadanie DFG fragmentu a pozícia aktivačnej slučky. Bežne známymi sú DFG-in (aktívna) TK, s aktívnym miestom prístupným pre naviazanie ATP a opačná DFG-out (neaktívna) konformácia kinázy. Prípravou špeciálneho karboxamidového VEGFR2 TK inhibítora sa pokúsime dokázať existenciu nového typu konformácie tyrozín-kinázy, ktorý predstavuje prechod medzi jej aktívnou a neaktívnou formou.²

¹ Holmes, K.; Roberts, O.L.; Thomas, A.M.; Cross, M.J. *Cell Signal.* **2007**, 19, 2003 – 2012.

² Liu, Y.; Gray, N.S *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 358 – 364.

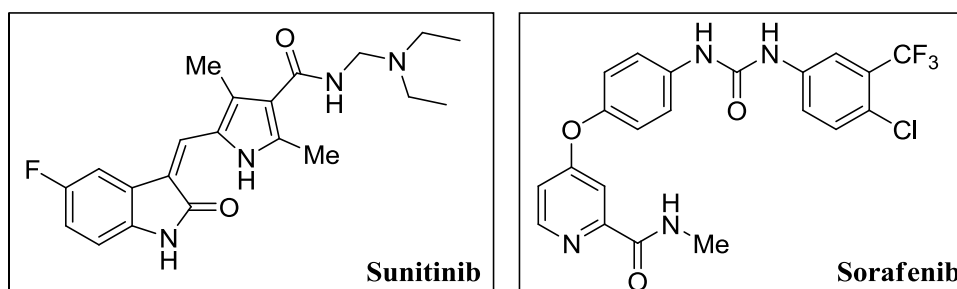
6 Ciele diplomovej práce

1. Spracovanie vybranej literatúry týkajúcej sa konformačných vlastností VEGFR2 TK inhibítorov
2. Spracovanie vybranej literatúry týkajúcej sa vývoja VEGFR2 tyrozín kinázových inhibítorov
3. Syntéza uvedených intermediátov **2, 3, 4, 7, 8, 11, 17, 18** a predpovedaných VEGFR2 TK inhibítorov **10, 13, 15 a 19**
4. Príprava alkínového sulfónamidu **4B** využiteľného v „Click“ chémii v rámci výskumnej skupiny

7 Teoretická časť

7.1 Vlastnosti VEGFR2 TK receptorov a konformácia predpovedaných inhibítorov typu I

Pod pojmom VEGFR2 TK rozumieme tyrozín-kinázovú časť receptora vaskulárneho endotelového rastového faktora. VEGFR2 je kľúčovým receptorom v procese angiogenézy (neovaskularizácie) a reguluje vaskulárnu (cievnu) priepustnosť, proliferáciu, migráciu a diferenciáciu endotelových buniek.³ Angiogenéza je vo fyziologických podmienkach sprevádzaná aktiváciou prostredníctvom VEGF (vaskulárny endoteliálny rastový faktor, ktorý je ligandom pre VEGFR2). Po aktivácii ligandom sa VEGFR2 dimerizuje, autofosforyluje a aktivuje signálnu dráhu vedúcu k angiogenéze (tvorbe nových krvných kapilár z existujúcich ciev), čím podporuje prežívanie tumoru, jeho rast a migráciu (metastázy). Existuje predpoklad, že zablokovaním tejto signálnej dráhy je možné redukovať tvorbu nádorov, inhibovať ich rast a disemináciu. Mnohé farmaceutické spoločnosti sa zaoberajú vývojom nízkomolekulových inhibítorov obsahujúcich karboxamidový farmakofór. Niektoré z nich sú v súčasnosti používané ako liečivá proti rôznym typom tumorových ochorení (Obrázok 1).⁴



Obrázok 1. VEGFR2 inhibítory obsahujúce karboxamidový farmakofór, v súčasnosti používané VEGFR2 TK liečivá proti rakovine (Sunitinib – obličky, Sorafenib – pľúca a pečeň).

VEGFR2 je dôležitým mediátorom angiogenézy a ovplyvňuje osud mnohých rakovinových buniek. Na základe štruktúrnej analýzy komplexov známych ligandov s receptormi, **AAZ**/VEGFR2 TK (PDB: 1Y6A) a **AAX**/VEGFR2 TK (PDB: 1Y6B) sme

³ Shibuya, M.; Claesson-Welsh, L. *Exp. Cell Res.* **2006**, 312, 549 – 560.

⁴ Olsson, A.K.; Dimberg, A.; Kreuger, J.; Claesson-Welsh, L. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, 7, 359-371.

navrhli nový potenciálny *N*-arylaminooxazolkarboxamidový VEGFR2 TK inhibítor **10** a *N*-arylaminooxazolové inhibítory **13**, **15** a **19** s cyklopropylmetylsulfamidovou a anilidovou skupinou.⁵

Taktiež boli vyvinuté deriváty malých molekúl potenciálnych inhibítorov, ktoré vykazujú dobrú tyrozín-kinázovú aktivitu (Schéma 1).

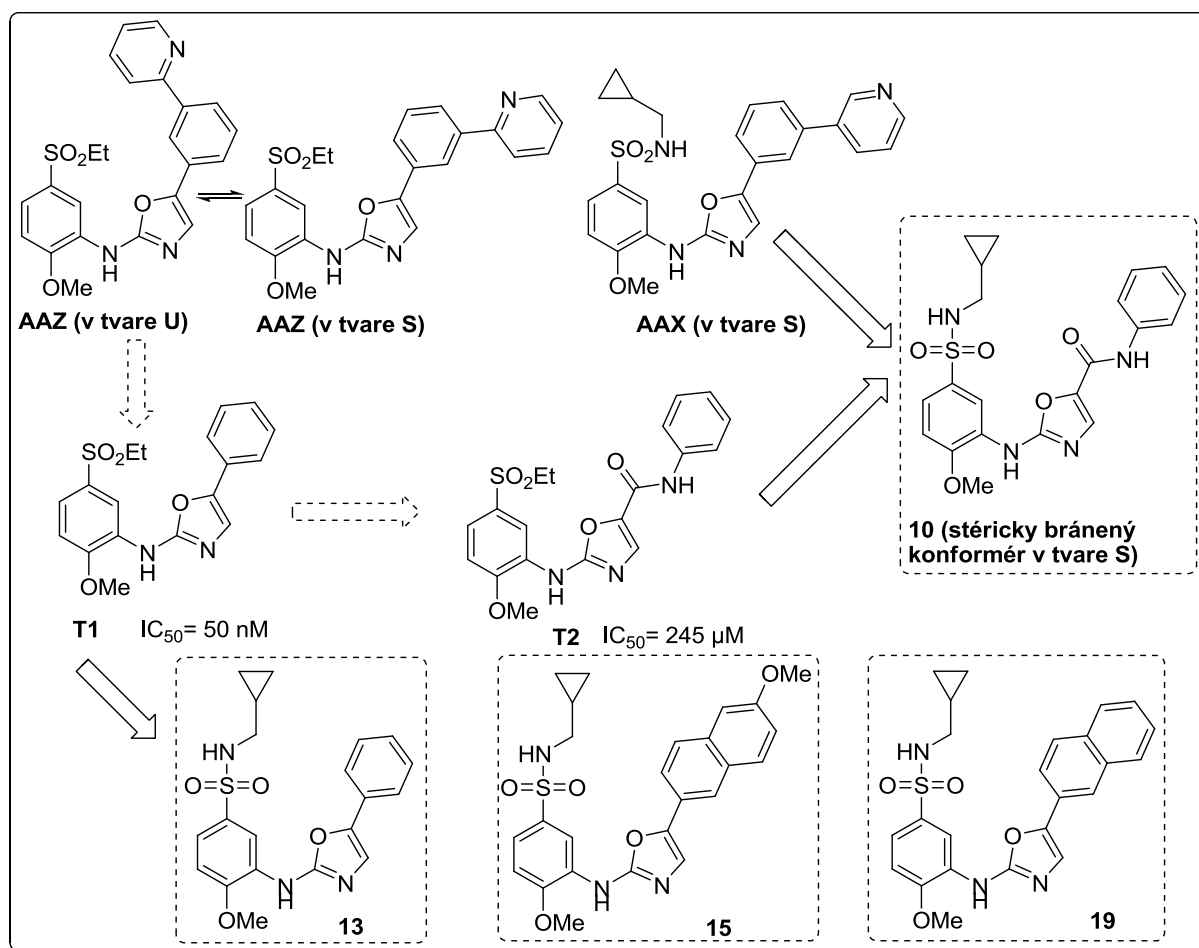
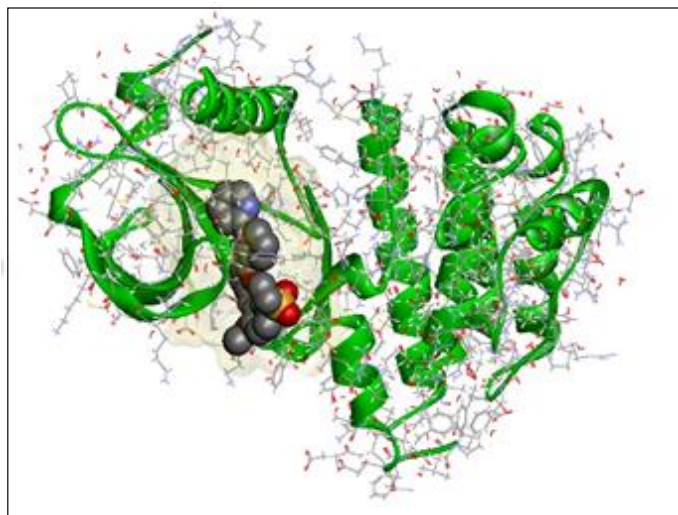


Schéma 1. Štruktúra navrhnutého karboxamidového inhibítora **10**, aminooxazolových inhibítorov **13**, **15** a **19**, pripravené zlúčeniny **T1** a **T2** a VEGFR2 TK inhibítory **AAZ** a **AAX**.

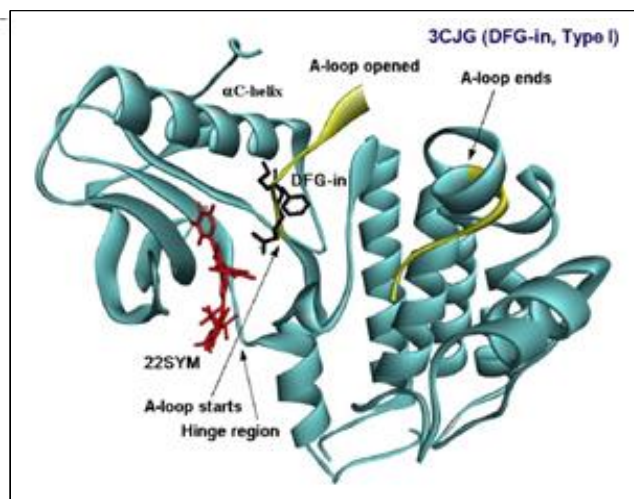
⁵ Harris, P.A.; Cheung, M.; Hunter, R.N.; Brown, M.L.; Veal, J.M.; Nolte, R.T.; Wang, L.; Liu, W.; Crosby, R.M.; Johnson, J.H.; Epperly, A.H.; Kumar, R.; Luttrell, D.K.; Stafford, J.A. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 1610 – 1619.

Ligand **AAZ** sa viaže s VEGFR2 TK (Obrázok 2) vo forme dvoch konformérov (v tvare písmena U a S). Na rozdiel od toho, inhibítor **AAX** môže byť prítomný len v jednej z týchto konformácii (S-shaped) kvôli prítomnosti objemnej cyklopropylmetylovej skupiny.⁵ Práve tento poznatok nás inšpiroval pripraviť nový inhibítor obsahujúci takúto cyklopropylmetylsulfónamidovú skupinu.



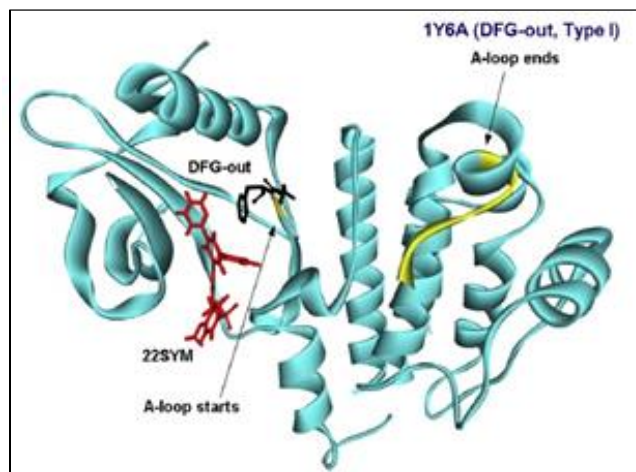
Obrázok 2. Komplex inhibítora **AAZ** s VEGFR2 TK receptorom (PDB:1Y6A).

Tyrozín-kinázy sa môžu na základe ich 3D štruktúry nachádzať v aktívnej a neaktívnej konformácii, pre ktoré je charakteristické usporiadanie prvých troch aminokyselinových zvyškov z aktivačnej slučky (A-loop), tzv. DFG fragmentu. Aktívne kinázy (DFG-in) majú fenylový zvyšok DFG fragmentu umiestnený pod α C-závitnicou a kyselina asparágová smeruje do ATP väzobného vrečka (Obrázok 3).



Obrázok 3. Aktívna VEGFR2 TK z PDB: 3CJG (DFG-in, ligand Typ I).

Ak sa DFG fragment preklopí do neaktívnej DFG-out konformácie, vedľajší fenylový reťazec z Phe sa vzdiali od α -helixu a smeruje do kinázového ATP vrečka (Obrázok 4).⁶



Obrázok 4. Neaktívna (DFG-out) VEGFR2 TK konformácia v komplexe PDB: 1Y6A.

Inhibítory typu I sa zvyčajne viažu do aktívnej konformácie a súperia s prirodzeným substrátom ATP. Prechod na DFG-out (neaktívnu) konformáciu kinázy nastáva otočením DFG fragmentu, čím sa sprístupní nové hydrofóbne vrečko susediace s ATP väzobným miestom.⁷

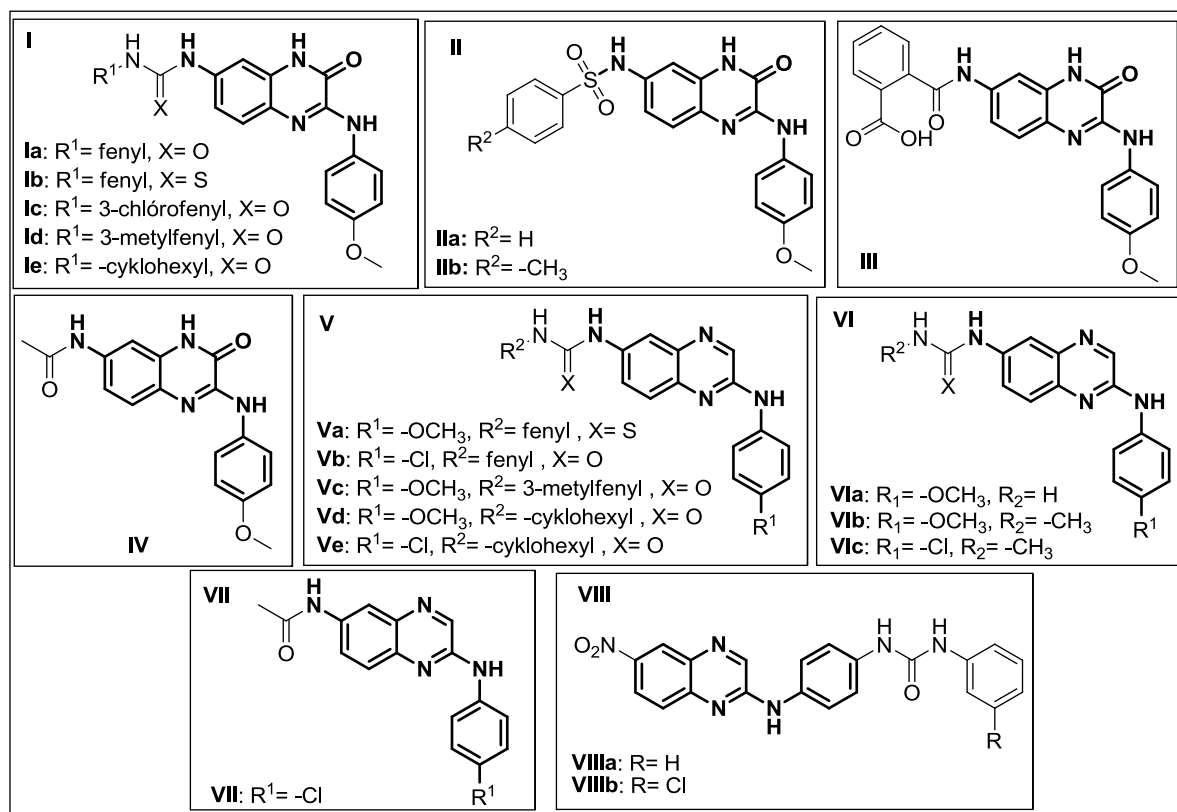
⁶ Lintnerová, L.; García-Caballero, M.; Gregáň, F.; Melicherčík, M.; Quesada, A.R.; Dobiaš, J.; Lác, J.; Sališová, M.; Boháč, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, 72, 146 – 159.

⁷ Kroe, R.R.; Regan, J.; Proto, A.; Peet, G.W.; Roy, T.; Landro, L.D.; Fuschetto, N.G.; Pargellis, C.A.; Ingraham, R.H. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 4669 – 4675.

7.2 Vývoj chinoxalínových VEGFR2 TK inhibítorov typu II a konformácia kináz

Vývoj účinných a selektívnych angiogénnych inhibítorov vyžaduje poznanie kľúčových signálnych dráh, ktoré majú sľubný účinok s minimálnym toxickým pôsobením.⁸

Inhibícia TK aktivity môže byť dosiahnutá cez stabilizáciu neaktívnej konformácie (DFG-out) použitím inhibítora typu II. Inhibítory typu II sú kineticky stabilnejšie v porovnaní s inhibítormi typu I tým, že sa viažu hlbšie do štruktúry proteínu. Po opustení väzbového miesta ligandom sa môže ATP naviazať do DFG-in konformácie až po preusporiadaní proteínu.⁹ Týmto bol motivovaný vývoj nových chinoxalínových derivátov, obsahujúcich karboxamidový fragment, ako VEGFR2 inhibítorov typu II založených na SAR (Structure-Activity Relationship) štúdií inhibítorov typu I a II (Obrázok 5).¹⁰



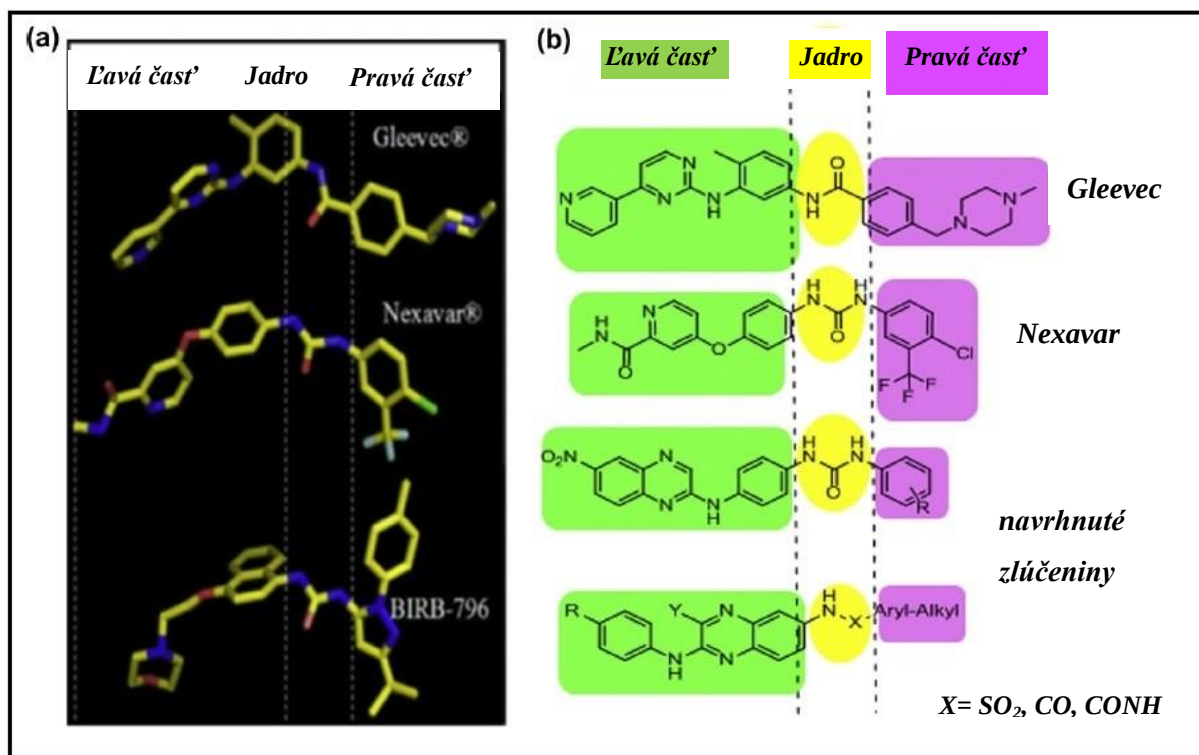
Obrázok 5. Štruktúry pripravených chinoxalínových derivátov.

⁸ Levitzki, A.; Klein, S. *Mol. Aspects Med.* **2010**, 31, 287 – 329.

⁹ Traxler, P.; Furet, P. *Pharmacol. Ther.* **1999**, 82, 195 – 206.

¹⁰ Shahin, M.I.; Abou El Ella, D.A., Ismail, N.S.M.; Abouzid, K.A.M. *Bioorg. Chem.* **2014**, 56, 16 – 26.

Autori článku navrhli štruktúry nových zlúčenín na základe podobnosti s overenými TK inhibítormi ako sú imatinib (Gleevec), sorafenib (Nexavar) a BIRB-796 (Obrázok 6). Známe inhibítory rozdelili na 2 časti, pričom ľavá sa viaže do ATP väzbového miesta a pravá do alosterického miesta.¹¹



Obrázok 6. (a) Obrázok ilustrujúci spoločné črty medzi zlúčeninami imatinib (Gleevec), sorafenib (Nexavar) a BIRB-796 ako inhibítorov typu II. (b) Štruktúrne charakteristiky týchto zlúčenín: hlavný skelet viazaný v aktívnom mieste kinázy (zelená), močovínové, amidové alebo sulfónamidové jadro (žltá) a extra časť viažuca sa do alosterického miesta (ružová).

V skúmaných chinoxalínových inhibítoroch sa plochý aromatický kruhový systém hlavného skeletu nachádza na rovnakom mieste ako býva purínový cyklus z ATP (Obrázok 6, zelené zvýraznenie). Taktiež je prítomná vodíková väzba s cysteínom Cys919 v závesnom regióne kinázy.¹² Pre návrh inhibítora typu II je potrebná centrálna časť viažuca sa do ATP väzobného miesta s dvojicou donora a akceptora vodíkovej väzby: jedna vodíková väzba s bočným reťazcom kyseliny glutámovej z α -helixu (Glu883) a druhá s amidom zo zvyšku kyseliny asparágovej z DFG časti kinázy, predstavujúca vstup do hydrofóbného vrečka DFG-

¹¹ Lowinger, T.B.; Riedl, B.; Dumas, J.; Smith, R.A. *Curr. Pharm. Des.* **2002**, 8 (25), 2269 – 2278.

¹² Dietrich, J.; Hulme, C.; Hurley, L.H. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 5738 – 5748.

out VEGFR2 TK, (*Asp1044*) (Obrázok 6, žlté zvýraznenie). Všetky inhibítory typu II využívajú taktiež hydrofóbne alosterické miesto (Obrázok 6, fialové zvýraznenie).²

Pripravené zlúčeniny boli testované na inhibičnú aktivitu voči viacerým vybraným kinázam (VEGFR2, c-Met, PDGFR β), pričom percento inhibície týchto kináz bolo vyhodnotené pri rovnakej 10 μ M koncentrácii inhibítora. Päť zlúčenín ukázalo relatívne vysokú inhibičnú aktivitu voči VEGFR2 TK, pričom zlúčenina **III** poskytla pri tejto kináze najvyšší pokles jej aktivity (69 %) (Tabuľka 1).

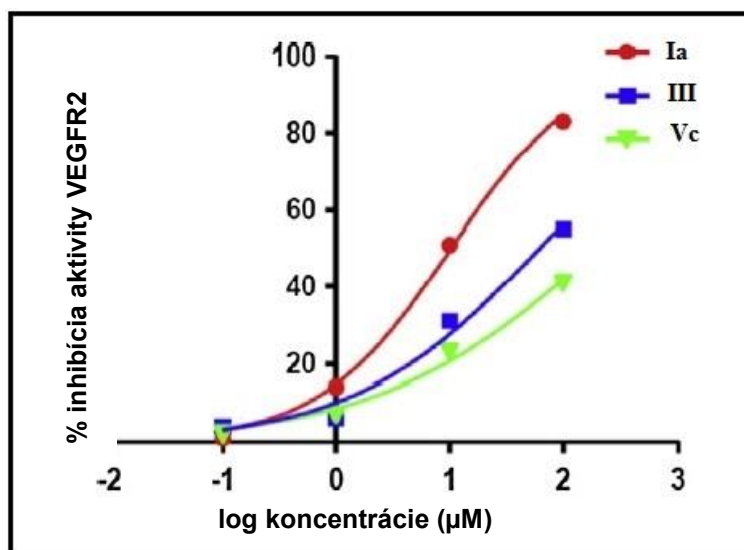
Tabuľka 1. Percento zmeny aktivity troch kináz pripravenými zlúčeninami pri ich 10 μ M koncentrácií (NT – netestované).

Zlúčenina	VEGFR2	c-Met	PDGFR β	Zlúčenina	VEGFR2	c-Met	PDGFR β
Ia	-62	-43	NT	Vb	3	-1	NT
Ib	-23	-47	-8	Vc	-66	-6	NT
Ic	-17	2	-10	Vd	6	-33	NT
Id	3	-15	-2	Ve	-11	-5	NT
Ie	-52	1	-1	VIa	-18	-13	NT
IIa	-10	-58	NT	VIb	-29	-26	NT
IIb	-29	-16	NT	VIc	-27	-27	NT
III	-69	-14	NT	VII	-5	0	NT
IV	-23	-18	NT	VIIIa	-65	-34	NT
Va	4	-15	NT	VIIIb	-61	3	NT

Zlúčeniny s vysokou inhibičnou aktivitou boli taktiež testované na získanie IC₅₀ hodnôt voči VEGFR2 TK (Tabuľka 2). Najlepšia IC₅₀ hodnota bola získaná pri zlúčenine **Ia** (10,3 μ M) (Obrázok 7).

Tabuľka 2. IC₅₀ hodnoty zlúčenín testovaných na pokles aktivity VEGFR2 TK z Tabuľky 1.

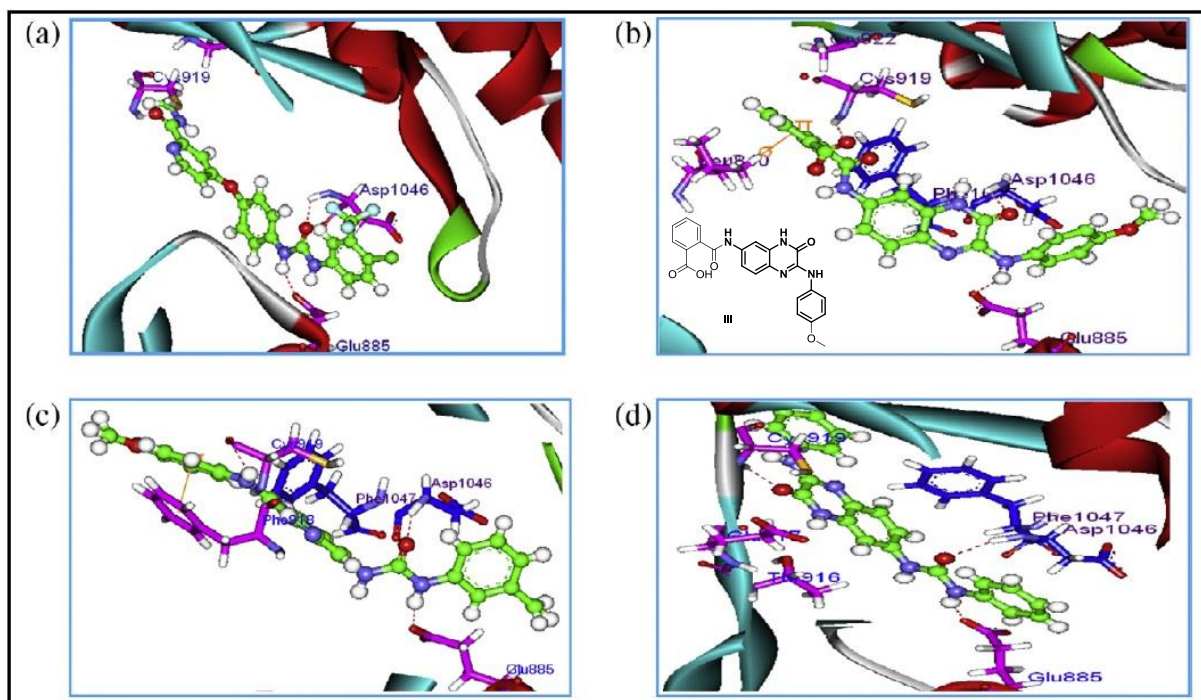
Zlúčenina	IC ₅₀ (μ M)
Ia	10,3
III	61,8
Vc	210,4
VIIIa	268,2
VIIIb	85,4



Obrázok 7. Graf závislosti logaritmu koncentrácie zlúčenín Ia, III a Vc k % inhibícii aktivity VEGFR2 TK.

Na preskúmanie možných väzobných polôh jednotlivých zlúčenín v ATP väzobnom mieste VEGFR2 TK bola uskutočnená dokovacia štúdia, v ktorej bol použitý Sorafenib ako referenčná zlúčenina. V jeho prípade sa uplatňuje vodíková väzba s Cys919 v závesnom regióne kinázy, pričom močovínová časť sorafenibu interaguje s proteínom prostredníctvom dvoch vodíkových väzieb (*Glu885* a *Asp1046*). Substituovaný fenylový kruh je umiestnený hlboko v hydrofóbnom vrecku. Všetky zlúčeniny s vysokou inhibičnou aktivitou podľa predikcie poskytovali spomínané významné interakcie v ATP väzobnom mieste, avšak pri zlúčenine III bola spozorovaná aj nová vodíková väzba *Glu917* s $-COOH$ z ligandu v závesnom regióne kinázy, čo vysvetľuje jej zistenú lepšiu inhibičnú aktivitu. Zlúčeninám, ktoré preukazujú slabú až strednú aktivitu, chýba jedna interakcia (*Glu885*, alebo *Asp1046*) nevyhnutná na to, aby sa stali inhibítormi typu II. Niektoré dokonca strácajú interakciu s Cys919 a interagujú s inými aminokyselinovými zvyškami v závesnom regióne kinázy (*Glu917* alebo *Thr916*) (Obrázok 8).

Na predikciu ADME vlastností (absorpcia, distribúcia, metabolizmus a exkrécia) novo pripravených zlúčenín bola vykonaná kinetická štúdia, v ktorej zlúčeniny III a Ia preukázali stredne dobrú a dobrú absorpciu. Od zlúčeniny III sa očakáva dobrá rozpustnosť, na rozdiel od zlúčeniny Ia, ktorá by ju mala mať nízku.

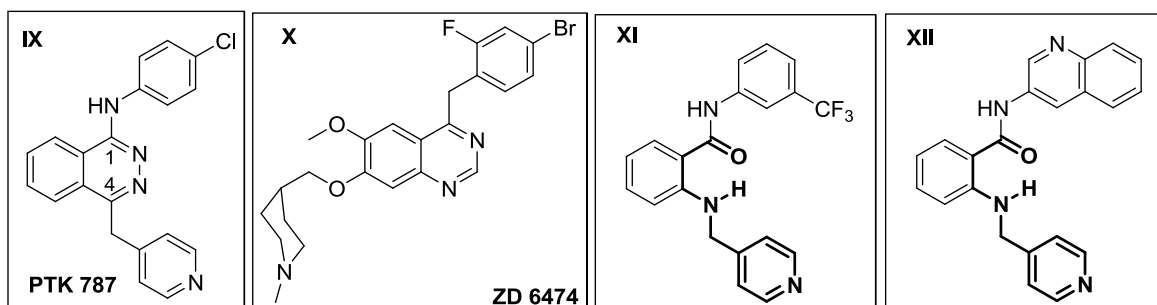


Obrázok 8. (a) Dokovaním zistená poloha Sorafenibu s vyznačenými kľúčovými interakciami. (b) Zlúčenina **III** s väzbovosťou na VEGFR2 väzobné miesto v konformácii kinázy. (c, d) Zlúčeniny **Vc** a **Ia** a ich predpovedaná poloha v kináze potvrdzujúca predpoklady pre inhibítory sorafenibového typu II.

7.3 Vývoj tiazolkarboxamidových derivátov, nových potenciálnych duálnych VEGFR inhibítorov a špecifických VEGFR2 TK inhibítorov

Ako už bolo spomínané, VEGFR2 a jeho rodina TK receptorov sú kľúčové proteíny kontrolujúce angiogenézu. Ďalšími kandidátmi liečiv inhibujúcich VEGFR2 TK sú aj látky PTK 787 (**IX**) a ZD 6474 (**X**), ktoré sa nachádzajú vo fáze klinického testovania, pričom ak bol 6-článkový kruh ftalazínového templátu v **IX** zamenený za izostérny antranilovo-amidový skelet, hovoríme o zlúčeninách **XI** a **XII** (Obrázok 9). Za optimálnu priestorovú orientáciu farmakofórov sú v prípade **XI** a **XII** zodpovedné vnútromolekulové vodíkové väzby.¹³

¹³ Manley, P.W.; Bold, G.; Fendrich, G.; Furet, P.; Mestan, J.; Meyer, T.; Meyhack, B.; Strauss, A.; Wood, J. *Cell. Mol. Biol. Lett.* **2003**, 8, 532 – 533.



Obrázok 9. Štruktúry známych a potenciálnych inhibítorov VEGFR2 TK.

Hlavnými farmakofórmami pre VEGFR2 inhibičnú aktivitu ftalazínov **IX** a ich analógov sú:

- spojené aromatické systémy
- 4- alebo 3,4-substituované anilínové skupiny v pozícii 1 ftalazínu
- akceptory vodíkových väzieb (voľný el. pár dusíkového alebo kyslíkového atómu, ktoré sú pripojené v polohe 4 cez vhodný linker (heteroaryl alebo spojené heteroarylové skupiny)¹⁴

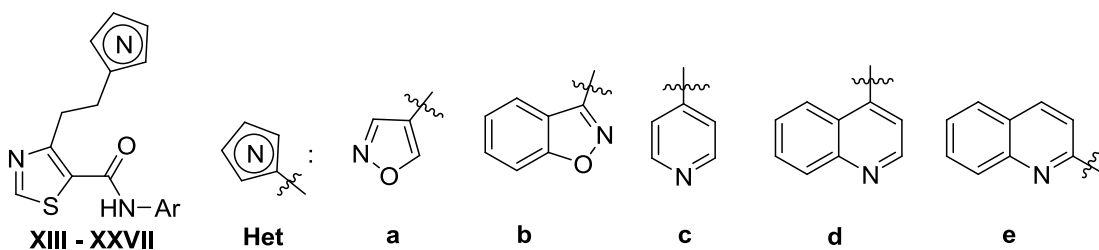
S cieľom vytvoriť duálne inhibítory voči VEGFR1 a VEGFR2 boli pripravené substituované *N*-(aryl)-4-(heteroaryletyl)thiazol-5-karboxamidové zlúčeniny **XIII-XXVII** (Tabuľka 3), ktoré nemajú vo svojej štruktúre ftalazínový skelet (Obrázok 9, IX) ako ani žiadne vnútramolekulové vodíkové väzby (Obrázok 9, XI a XII). Zlúčeniny **XIII-XXIII** boli testované *in vitro* voči VEGFR1 a VEGFR2 kinázam.

Výsledky v Tabuľke 3 indikujú dobrú aktivitu voči týmto TK receptorom, čo môže byť výhodné v klinickom prostredí, nakoľko oba receptory sú schopné riadiť VEGF angiogénne signálne dráhy. Autori zistili, že najlepšiu aktivitu voči VEGFR2 TK má 4-pyridyletylový derivát **XIIIc** s hodnotou $IC_{50} = 0,13 \mu M$, pričom aj niektoré jeho disubstituované deriváty s anilínovým fragmentom dávali dobrú aktivitu, napr. **XXc** ($IC_{50} = 0,18 \mu M$). Voči VEGFR1 boli hodnoty najúčinnějších zlúčenín v rozmedzí $0,37 - 0,54 \mu M$. Zlúčeniny obsahujúce objemné lipofilné substituenty v 5-karboxamidovom farmakofóre (**XIVc**, **XVc**, **XVIc**) dávali 6 – 7 násobne vyššiu selektivitu voči VEGFR2, čo znamená, že je možné vyvinúť aj špecifické

¹⁴ Bold, G.; Altmann, K.H.; Jorg, F.; Lang, M.; Manley, P.W.; Traxler, P.; Wietfeld, B.; Bruggen, J.; Buchdunger, E.; Cozens, R.; Ferrari, S.; Pascal, F.; Hofmann, F.; Martiny - Baron, G.; Mestan, J.; Rosel, J.; Sills, M.; Stover, D.; Acemoglu, F.; Boss, E.; Emmenegger, R.; Lasser, L.; Masso, E.; Roth, R.; Schlachter, C.; Vetterli, W.; Wyss, D.; Wood, J.M. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 2310 – 2323.

VEGFR2 inhibítory potlačením ich aktivity voči VEGFR1 TK.¹⁵ Pripravené aktívne *in vitro* inhibítory boli ďalej testované aj na bunkách, pričom dobre korelujúca aktivita bola zistená pri zlúčeninách **XIIIc**, **XIVc**, **XVIc** a **XXc** s hodnotami inhibičnej aktivity v rozmedzí **0,073 – 0,095 μ M**.

Tabuľka 3. Aktivity substituovaných tiazol-5-karboxamidov **XIII-XXVII** voči VEGF receptorom. ^a IC₅₀ hodnoty, ^b IC₅₀ hodnoty zodpovedajúce inhibícii VEGF-indukovanej fosforylácii VEGFR2 v bunkách, ND-nemerané.

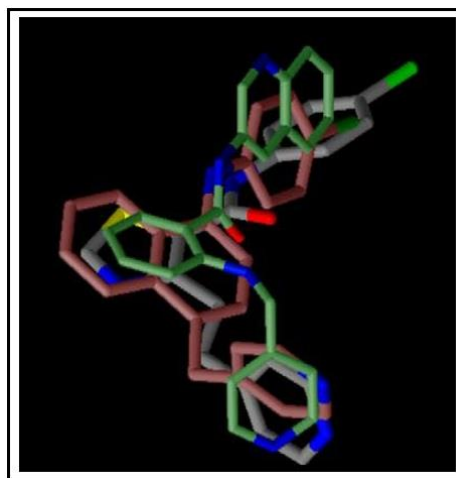


Zlúčenina	Ar	VEGFR2, enzymatické, IC ₅₀ (μ M) ^a	VEGFR1, enzymatické, IC ₅₀ (μ M) ^a	VEGFR2, bunkovo založený test ELISA, IC ₅₀ (μ M) ^b
IX	-	0,054 $\pm$ 0,006	0,14 $\pm$ 0,02	0,021 $\pm$ 0,03
X	-	0,022 $\pm$ 0,003	0,10 $\pm$ 0,01	1,66 $\pm$ 0,11
XI	-	0,032 $\pm$ 0,005	0,17 $\pm$ 0,05	0,09 $\pm$ 0,01
XII	-	0,015 $\pm$ 0,004	0,16 $\pm$ 0,05	0,05 $\pm$ 0,01
XIIIa		1,85 $\pm$ 0,35	4,60 $\pm$ 0,65	2,30 $\pm$ 0,55
XIIIb		>10	>10	>10
XIIIc	4-Cl-C ₆ H ₄	0,13 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,04	0,095 $\pm$ 0,01
XIIId		3,38 $\pm$ 0,34	6,85 $\pm$ 0,64	>10
XIIIe		>10	>10	>10
XIVa		1,45 $\pm$ 0,32	>10	1,63 $\pm$ 0,46
XIVb		>10	>10	>10
XIVc	4- ^t Bu-C ₆ H ₄	0,11 $\pm$ 0,01	0,72 $\pm$ 0,08	0,073 $\pm$ 0,01
XIVd		2,51 $\pm$ 0,42	5,46 $\pm$ 0,55	>10
XIVe		>10	>10	>10
XVa		1,61 $\pm$ 0,46	6,41 $\pm$ 0,57	ND

¹⁵ Kiselyov, A.S.; Piatnitski, E.; Semenova, M.; Semenov, V.V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 602 – 606.

XVc	4- ⁱ Pr-C ₆ H ₄	0,14 ± 0,02	0,84 ± 0,09	0,12 ± 0,03
XVIa		1,77 ± 0,31	>10	2,25 ± 0,37
XVIc	4-ClF ₂ CO-C ₆ H ₄	0,11 ± 0,02	0,76 ± 0,08	0,085 ± 0,01
XVIIa		>10	>10	>10
XVIIc	3-CH ₃ -C ₆ H ₄	0,56 ± 0,08	4,66 ± 0,54	ND
XIXa		3,68 ± 0,48	>10	ND
XIXc	4-N-morfolino-C ₆ H ₄	0,71 ± 0,08	2,33 ± 0,35	0,58 ± 0,05
XXa		1,25 ± 0,22	5,42 ± 0,56	ND
XXc	3,4-Cl-C ₆ H ₄	0,18 ± 0,02	0,59 ± 0,07	0,093 ± 0,01
XXIa		2,12 ± 0,33	5,32 ± 0,57	ND
XXIc	4-Cl-3-CF ₃ -C ₆ H ₃	0,27 ± 0,03	0,72 ± 0,09	0,19 ± 0,03
XXIIa		1,66 ± 0,25	3,02 ± 0,45	2,75 ± 0,53
XXIIc	2-F-4-CH ₃ -C ₆ H ₃	0,31 ± 0,05	0,63 ± 0,06	0,23 ± 0,02
XXIIIc	3,4-metyléndioxy	0,37 ± 0,02	0,75 ± 0,09	0,33 ± 0,04
XXIVc	4-Br-C ₆ H ₄	0,86 ± 0,11	3,85 ± 0,62	1,02 ± 0,08
XXVc	4-Ph-C ₆ H ₄	1,08 ± 0,18	>10	ND
XXVIc	4-PhO-C ₆ H ₄	1,92 ± 0,43	>10	ND
XXVIIc	4-Bn-C ₆ H ₄	>10	>10	ND

Na Obrázku 10 môžeme vidieť prekryv štruktúr pripraveného inhibítora **XIIIc** so známymi zlúčeninami, potvrdzujúci jeho príbuznú priestorovú orientáciu.

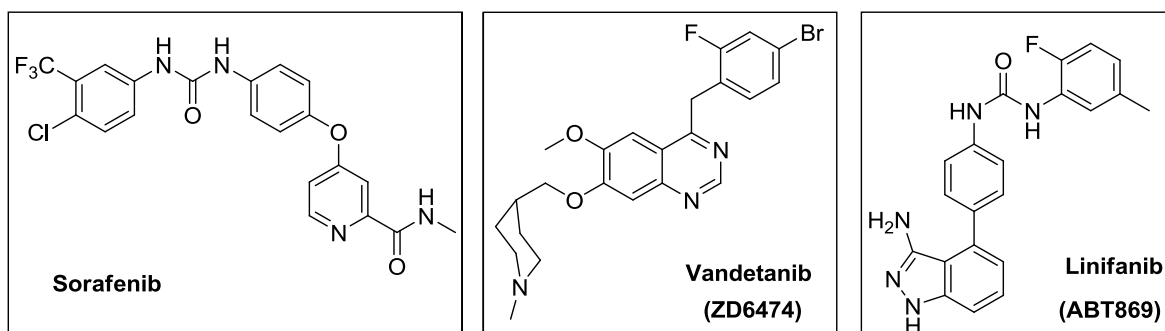


Obrázok 10. Štruktúrny prekryv počítačom predpovedaných polôh medzi inhibítorm **XIIIc** (sivá), **IX** (hnedá) a zlúčeninou **XI** (zelená).

7.4 Aktivita vybraných aminochinazolínových zlúčenín s inhibičným účinkom voči VEGFR TK receptorom

Antiangiogénna terapia bola navrhnutá ako možnosť, aby sa predišlo získanej rezistencii chemoterapeutikám. Okrem toho, inhibítory angiogenézy zvyšujú účinnosť chemoterapeutických liečiv ich lepšou dostupnosťou pre nádor. Po ukončení chemoterapie, ožarovania alebo po operácií môže antiangiogénna terapia pokračovať dlhodobo, pretože je relatívne málo toxická, predlžuje obdobie latentného stavu a stabilizuje ochorenie.¹⁶

V poslednom čase boli uvedené na trh viaceré zlúčeniny, ktoré boli preukázané ako potenciálne inhibítory VEGFR TK receptorov, avšak niektoré z nich majú aj isté nedostatky. Napr. rozpustnosť sorafenibu a linifanibu (ABT-869) vo vode je nízka, zatiaľ čo vandetanib (ZD6474) (Obrázok 11) má dobré fyzikálno-chemické vlastnosti, ako aj dobrú rozpustnosť vo vode najmä vplyvom protonizovateľnosti *N*-metylpiperidínu ($pK_a = 8,1$).¹⁷



Obrázok 11. Príklady známych VEGFR2 TK inhibítorov.

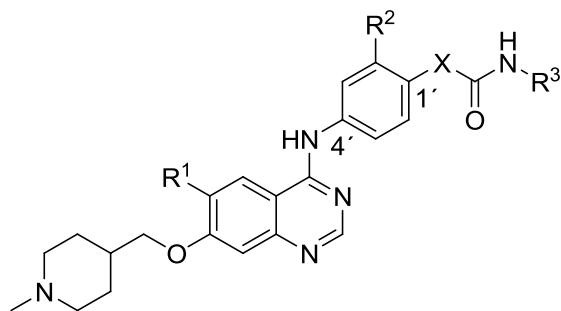
Podľa štruktúrnej analýzy komplexov ligandov s VEGFR2 TK, sorafenib a linifanib obsahujú arylmočovinovú fragment, ktorý sa nachádza v zadnom hydrofóbnom vrecku kinázy a prispieva k aktivite ligandu prídavnými interakciami.

Novo pripravené zlúčeniny obsahovali chinazolínové jadro modifikované v polohe 4 na aryle rôznymi objemnými substituentami akými sú: amid, karbamát alebo močovina. Takéto skupiny sú vhodné kvôli zvýšeniu inhibičnej účinnosti voči VEGFR2 TK (Tabuľka 4).

¹⁶ Kaban, K.; Herbst, R.S. *Hemato. Oncol. Clin. North Am.* **2002**, *16*, 1125 – 1171.

¹⁷ Ederhy, S.; Cohen, A.; Dufaitre, G.; Izzedine, H.; Massard, C.; Meuleman, C.; Besse, B.; Berthelot, E.; Boccarda, F.; Soria, J.C. *Target Oncol.* **2009**, *4*, 89 – 97.

Tabuľka 4. Inhibičná aktivita chinazolínov **XXVIII-XXXI** voči VEGFR2 TK a HUVEC bunkám.



	X	R ¹	R ²	R ³	VEGFR2 IC ₅₀ (nM)	HUVEC-v IC ₅₀ (nM)
XXVIIIa	CH ₂	H	H	3-CF ₃ -4-Cl-C ₆ H ₃	87	258
XXVIIIb	CH ₂	H	H	3-F-C ₆ H ₄	65	237
XXVIIIc	CH ₂	H	H	3-F-4-F-C ₆ H ₃	73	308
XXIXa	NH	H	H	Etyl	105	587
XXIXb	NH	H	H	cyklopropyl	98	324
XXIXc	NH	H	H	cyklohexyl	237	-
XXIXd	NH	H	H	3-CF ₃ -4-Cl-C ₆ H ₃	23	92
XXIXe	NH	H	H	3-F-C ₆ H ₄	5,5	52
XXIXf	NH	H	H	3-F-4-F-C ₆ H ₃	25	89
XXIXg	NH	H	H	4-CH ₃ -3-C ₆ H ₃	45	196
XXIXh	NH	H	H	2-F-4-Br-C ₆ H ₃	50	233
XXXa	NH	H	F	3-F-C ₆ H ₄	15	67
XXXb	NH	H	Cl	3-F-C ₆ H ₃	17	132
XXXIa	NH	OCH ₃	H	3-F-C ₆ H ₃	16	179
XXXIb	NH	OCH ₃	F	3-F-C ₆ H ₃	17	185
ZD6474	-	-	-	-	35	187

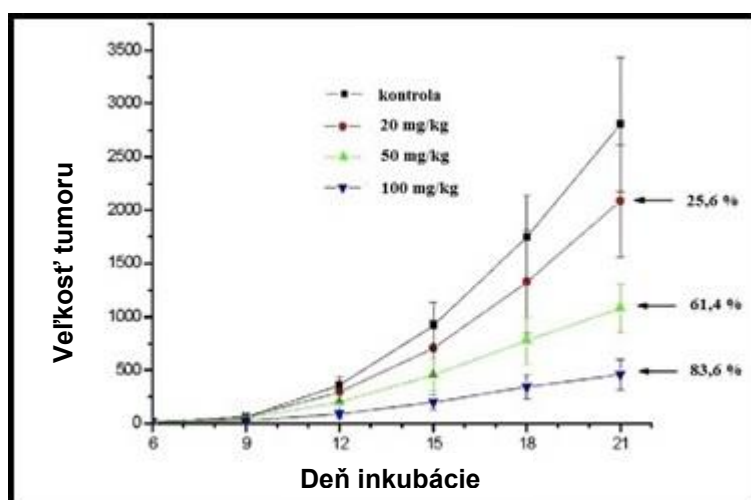
Na nájdenie potenciálnych inhibítorov spomedzi týchto zlúčenín bol vykonaný test bunkovej proliferácie, aby sa zistila schopnosť látok inhibovať VEGF- stimulovanú proliferáciu ľudských endotelových buniek z pupočníka (HUVEC - Human Umbilical Vein Endothelial Cells). Významné vzťahy boli pozorované medzi jednotlivými štruktúrami a ich inhibičnými aktivitami. Močovínové deriváty (X = NH) vykazovali vyššiu aktivitu ako zodpovedajúce amidy (X = CH₂). Zlúčenina **XXIXe** bola vybraná ako potenciálny inhibítor

s výbornou aktivitou voči VEGFR2, ako aj HUVEC bunkám a bola testovaná aj voči iným kinázam (Tabuľka 5), pričom bola vyhodnotená ako silný nanomolárny inhibítor selektívny voči VEGFR2 a VEGFR3 TK.

Tabuľka 5. Kinázová selektivita zlúčeniny **XXIXe**.

Kináza	IC ₅₀ (nM)	Kináza	IC ₅₀ (nM)
VEGFR1	1920	Tie-2	>10 000
VEGFR2	5,5	EGFR	>10 000
VEGFR3	9,6	HER2	>10 000
PDGFR α	1355	AKT	8710
PDGFR β	2788	CDK1	10 000
FGFR1	>10 000	Aurora A	2680

Objavený inhibítor bol podrobený aj *in vivo* štúdií na bunkách ľudského hepatocelulárneho karcinómu (xenograftový model BALB/c-nu myši). Bol podávaný orálne v troch dávkach počas 15 dní. Tumorový rast bol inhibovaný (% TGI) o 26 %, 61 % a 84 % v závislosti od podanej dávky inhibítora **XXIXe** (20, 50 a 100 mg/kg) (Obrázok 12). Orálnym podávaním inhibítora neboli pozorované žiadne výrazné nežiadúce účinky alebo strata hmotnosti.¹⁸



Obrázok 12. Graf závislosti veľkosti tumoru od počtu dní aplikácie inhibítora **XXIXe**.

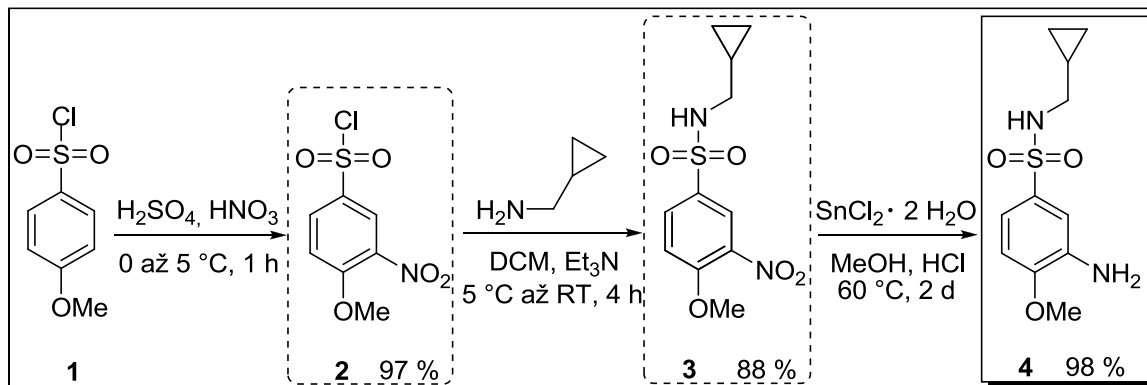
¹⁸ Yu, B.; Tang, L.; Li, Y.; Song, S.; Ji, X.; Lin, M.; Wu, Ch.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 110 – 114.

8 Experimentálna časť

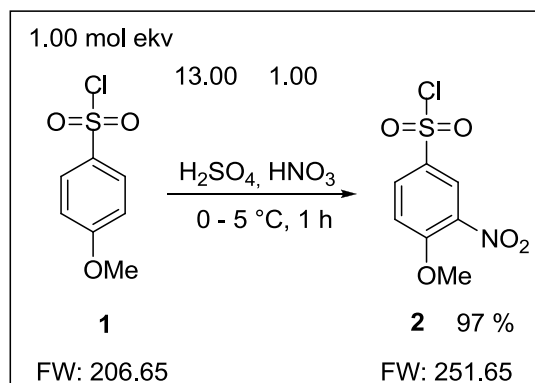
8.1 Materiál a použité metódy

^1H a ^{13}C NMR spektrá boli merané v $\text{DMSO-}d_6$ a CDCl_3 na prístrojoch Varian Gemini (300 MHz pre ^1H a 75 MHz pre ^{13}C). 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. Zlúčeniny pripravené v rámci našej výskumnej skupiny: chlór oxazol **6** bol poskytnutý Mgr. Jurajom Dobiašom, azidofenón **12** Mgr. Ambrózom Almassym, PhD. a azidonaftón **14** Mgr. Miroslavom Murárom.

8.2 Príprava intermediátu 3-amíno-*N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxybenzénsulfónamidu (4)



8.2.1 Príprava 4-metoxy-3-nitrobenzén-1-sulfonyl chloridu (2)



Literatúra:¹⁹ (v práci je použitý rovnaký substrát, rovnaká teplota, nie je uvedený reakčný čas, autori dosiahli 54 % výt'azok).

Experimentálny postup: K 10.00 g (48.40 mmol, 1.00 mol ekv) sulfonyl chloridu **1** sme pri teplote 0 °C prikvapkali 34 mL (61.66 g, 0.62 mol, 13.00 mol ekv) kyseliny sírovej (96 %, d: 1.836 g/mL). Následne sme k zmesi pridali 3.30 mL (3.04 g, 48.40 mmol, 1.00 mol ekv) konc. kyseliny dusičnej (65 %, d: 1.42 g/mL) pri zachovaní reakčnej teploty 5 °C. Po ukončení pridávania sme reakčnú zmes miešali v chladiacom kúpeli ešte 1 h a následne sme ju vyliali do

¹⁹ BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY WO2004/22349 A1, 2014.

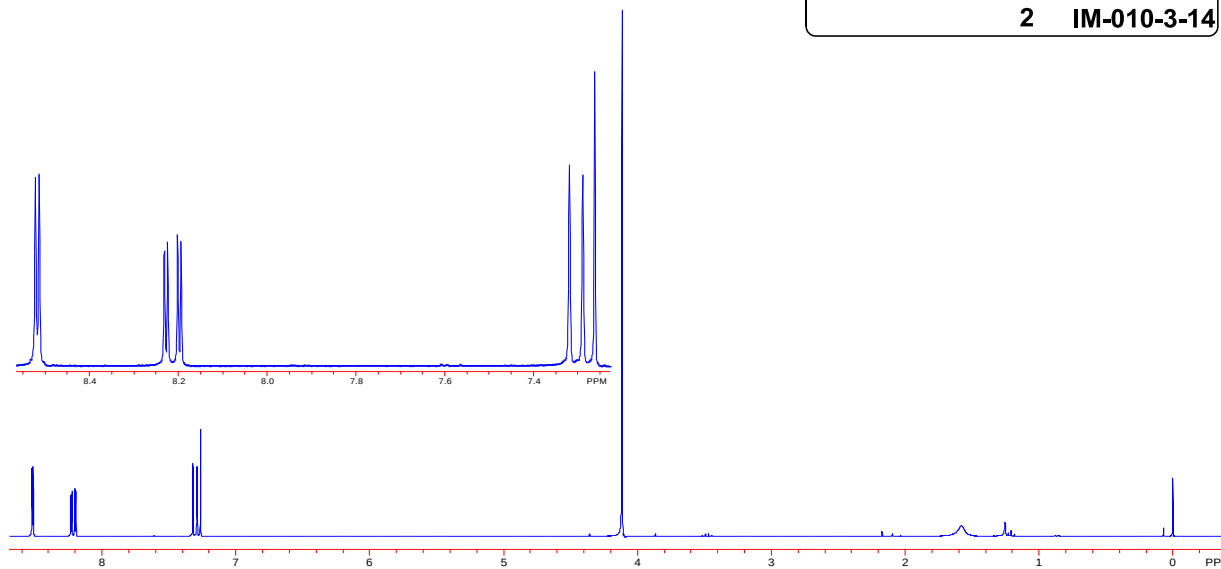
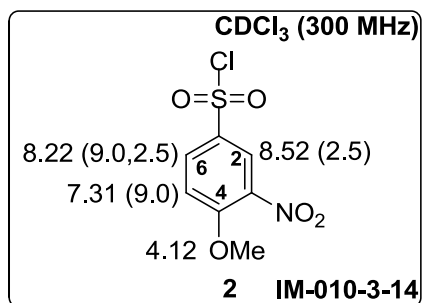
zmesi drveného ľadu s 30 ml Et₂O. Fázy sme oddelili a zmes prefiltrovali. Získali sme 8.05 g vyzrážaného produktu. Vodnú vrstvu sme extrahovali Et₂O (2 x 25 mL). Spojené organické fázy po extrakcii sme vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili na RVO. Po kryštalizácii zo zmesi Et₂O / Hex sme získali 3.85 g produktu. Po dosušení pomocou HV sme získali spolu 11.80 g (46.89 mmol, 97 %) slabožltej kryštalickej látky **2**.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **2** je v literatúre opísaná nasledovnými charakteristikami: M.p.,²⁰ ¹H-NMR,²⁰ MS.¹⁹

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (2 / 1), 1 x vyvolané), R_F = 0.38 (UV₂₅₄).

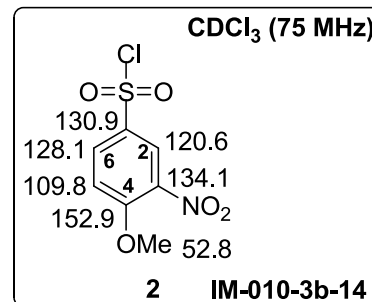
M. p.: 65.0 – 67.0 °C [Et₂O], (lit. 62.0 – 64.0 °C [Et₂O / Hex]),²⁰ žltá kryštaliclá látka.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, IM-010-3-14.fid): δ 8.52 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.5 Hz, H-C(2)), 8.22 (dd, 1H, *J*(5,6) = 9.0 Hz, *J*(2,6) = 2.5 Hz, H-C(6)), 7.31 (d, 1H, *J*(5,6) = 9.0 Hz, H-C(5)), 4.12 (s, 3H, -OCH₃). (Príloha 1a)



²⁰ Carpino, L.A.; Cohen, B.J.; Lin, Y.Z.; Stephens, K.E.; Triolo, S.A. *J Org Chem* **1990**, 55, 251 – 259.

^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3 , IM-010-3b-14.fid): δ 152.9 (s, C(4)), 134.1 (s, C(3)), 130.9 (s, C(1)), 128.1 (d, C(6)), 120.6 (d, C(2)), 109.8 (d, C(5)), 52.8 (q, $-\text{OCH}_3$). (Príloha 1b)

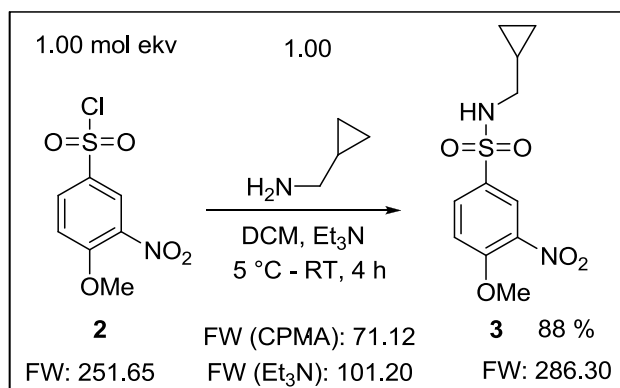


FT IR (solid, cm^{-1}): 3446 (w), 3105 (s), 3077 (s), 3003 (m), 2954 (m), 1604 (s), 1569 (m), 1528 (s, NO_2 , asym.), 1493 (m), 1462 (w), 1436 (m), 1375 (s), 1348 (s, NO_2 , sym.), 1281 (s), 1171 (s), 1158 (s), 1110 (s, $-\text{O}-\text{CH}_3$), 1075 (s), 1040 (w), 997 (s), 920 (m), 887 (s), 829 (s), 803 (m), 762 (m), 718 (w), 692 (m), 649 (s), 611 (m). (Príloha 1c)

MS (ESI-): 232.2 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), produkt hydrolýzy počas merania: zámena $-\text{Cl}$ za $-\text{OH}$. (Príloha 1d)

Anal. Calcd for $\text{C}_7\text{H}_6\text{ClNO}_5\text{S}$ (250.97): C, 33.41; H, 2.40; Cl, 14.09; N, 5.57; S, 12.74. Found: C, 33.04; H, 2.43; N, 5.62; S, 12.66.

8.2.2 Príprava *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxi-3-nitrobenzénsulfónamidu (3)



Literatúra:²¹ (rovnaký substrát, reaktant - metylamín, THF, reflux, 45 min., neuvedený výťažok reakcie).

²¹ Wang, A.; Zhang, Y.; Leonard, K.A.; Hawkins, M.; Tounge, B.A.; Maharoor, U.S.M.; Barbay, J.K. *US2012/129811 A1*, **2012**.

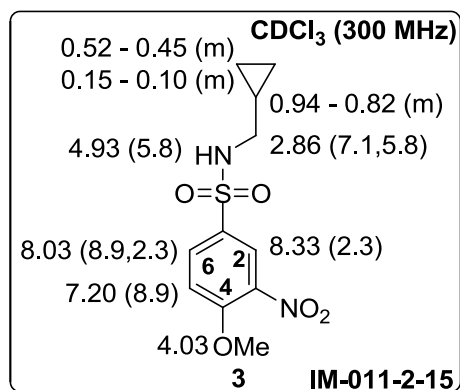
Experimentálny postup: 10.00 g (39.74 mmol, 1.00 mol ekv) sulfonylchloridu **2** sme rozpustili v 20 ml DCM. K roztoku sme za chladenia (5 °C) po kvapkách počas 15 min pridávali 3.45 mL (2.83 g, 39.74 mmol, 1.00 mol ekv) cyklopropylmetylamínu a následne 6.10 mL (4.42 g, 43.71 mmol, 1.10 mol ekv) Et₃N. Reakčnú zmes sme vybrali z chladiaceho kúpeľa a miešali počas 4 h pri RT. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po prebehnutí reakcie sme do zmesi pridali 10 mL nasýteného roztoku NaHCO₃. Po neutralizácii do mierne bázického pH (8-9) sme DCM fázu oddelili a vodnú vrstvu extrahovali EA (3 x 10 mL). Spojené organické fázy sme vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili na RVO. Po dosušení pomocou HV sme získali 9.98 g (34.86 mmol, 88 %) žltej látky **3**.

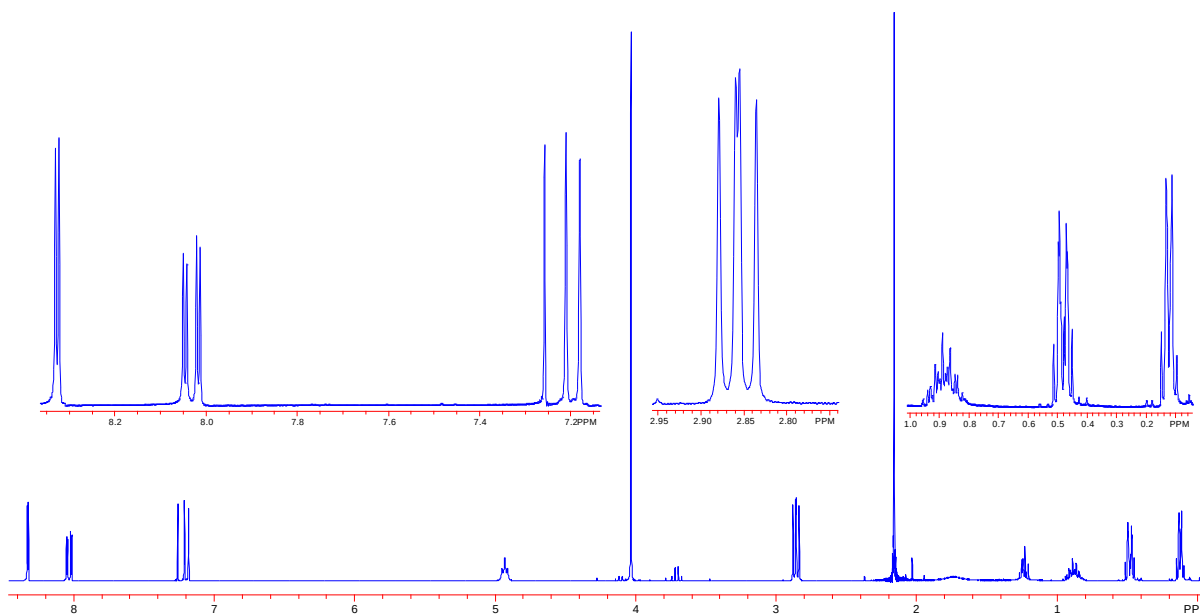
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **3** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (2 / 1), 1 x vyvolané), R_F = 0.31 (UV₂₅₄).

M. p.: 101.0 – 103.0 °C [Et₂O], žltá kryštalická látka.

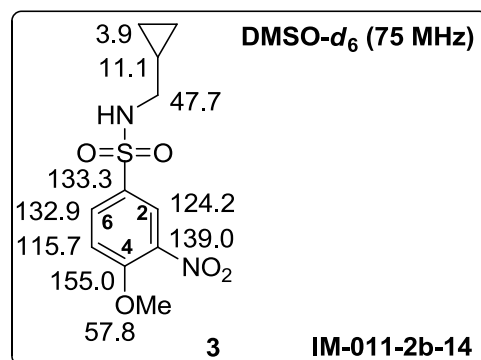
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, IM-011-2-15.fid): δ 8.33 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(2)), 8.03 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.9 Hz, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.20 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.9 Hz, H-C(5)), 4.93 (t, 1H, *J*(NH,CH₂) = 5.8 Hz, -NH-CH₂-), 4.03 (s, 3H, -OCH₃), 2.86 (dd, 2H, *J*(CH,CH₂) = 7.1 Hz, *J*(NH,CH₂) = 5.8 Hz, -NH-CH₂-), 0.94 – 0.82 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.52 – 0.45 (m, 2H, 2 x CH_A or 2x CH_B), a 0.15 – 0.10 (m, 2H, 2 x CH_A or 2 x CH_B). (Príloha 2a)





^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, IM-011-2b-14.fid):

δ 155.0 (s, C(4)), 139.0 (s, C(3)), 133.3 (s, C(1)), 132.9 (d, C(6)), 124.2 (d, C(2)), 115.7 (d, C(5)), 57.8 (q, $-\text{OCH}_3$), 47.7 (t, $-\text{NHCH}_2-$), 11.1 (d, $-\text{CH}_{(\text{CP})}-$), 3.9 (2 x dd, 2 x $-\text{CH}_{2(\text{CP})}-$). (Príloha 2b)

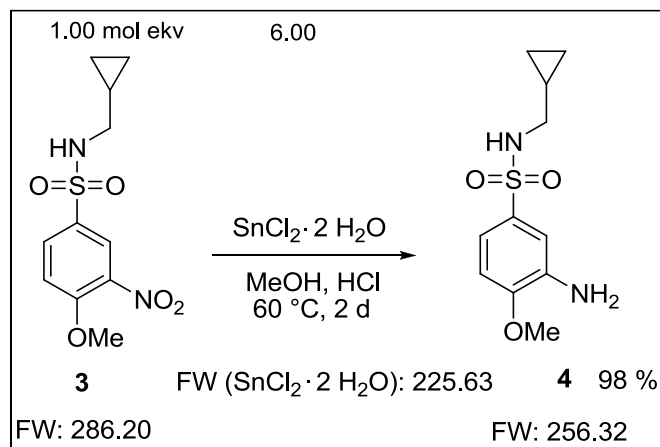


FT IR (solid, cm^{-1}): 3288 (s, $-\text{NH}$), 3084 (m), 2998 (m), 2951 (m), 2849 (w), 1606 (s), 1570 (w), 1529 (s, NO_2 , asym.), 1489 (m), 1463 (m), 1418 (m), 1358 (s, NO_2 , sym.), 1320 (s), 1284 (s), 1260 (m), 1157 (s), 1112 (s, $-\text{O}-\text{CH}_3$), 1078 (m), 1040 (m), 1010 (s), 941 (w), 892 (m), 865 (w), 824 (m), 798 (m), 762 (w), 725 (w), 702 (w), 668 (m), 623 (w). (Príloha 2c)

MS (ESI-): 285.2 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). (Príloha 2d)

Anal. Calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (286.06): C, 46.15; H, 4.93; N, 9.78; S, 11.20. Found: C, 45.86; H, 4.91; N, 9.61; S, 10.92.

8.2.3 Príprava cieľového benzénsulfónamidového intermediátu (4)



Literatúra:²² (substrát: 3-amíno-*N*-(metyl)-4-metoxybenzénsulfónamid, reaktant: H₂, Pd/C, EtOH, RT, cez noc, 57 % výťažok).

Experimentálny postup: K 40 ml MeOH sme pridali 0.57 g (1.99 mmol, 1.00 mol ekv) nitrosulfónamidu **3**. K tomuto roztoku sme pridali 2.70 g (11.95 mmol, 6.00 mol ekv) SnCl₂ · 2 H₂O a 1.71 ml (2.03 g, 55.53 mmol, 28.00 mol ekv) HCl konc. Reakčnú zmes sme nechali reagovať 2 d pri 60 °C a priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po spotrebovaní východiskovej látky a ochladení reakčnej aparatury sme do RZ pridali 0.70 ml 5 M NaOH. Po neutralizácii sme vodnú vrstvu extrahovali s EA (3 x 10 ml). Spojené organické vrstvy sme vysušili státím nad Na₂SO₄ a sušidlo sme odfiltrovali. Rozpúšťadlo sme odparili pomocou RVO a surový produkt sme dosušili prostredníctvom HV. Po triturácii z hexolu sme získali produkt **4** ako svetloružovú tuhú látku o hmotnosti 500 mg (1.95 mmol, 98 %).

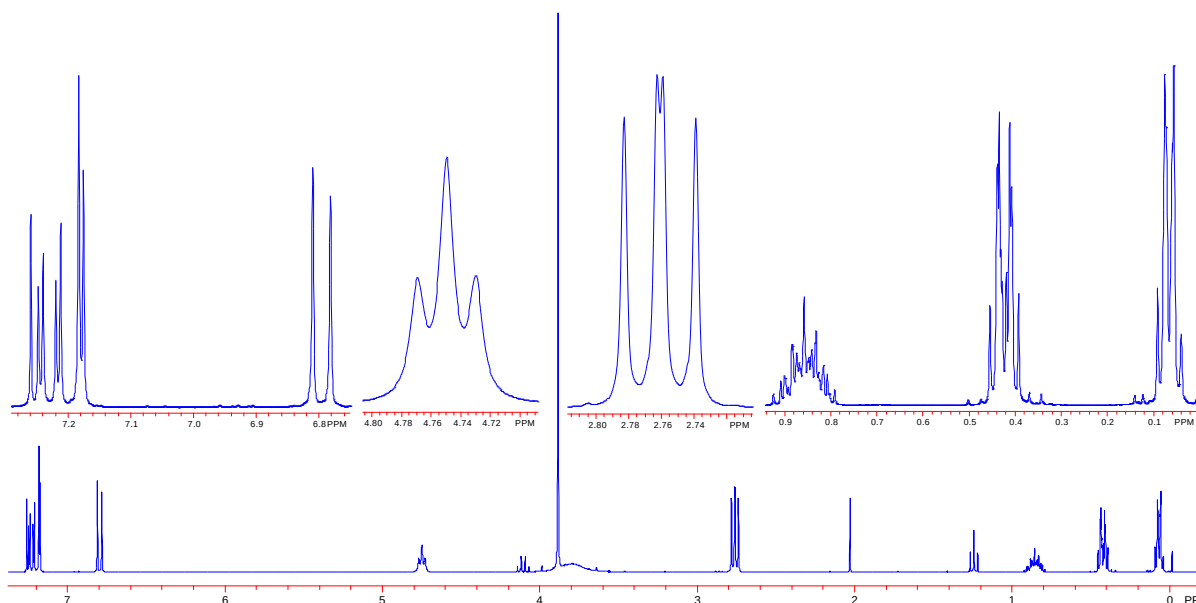
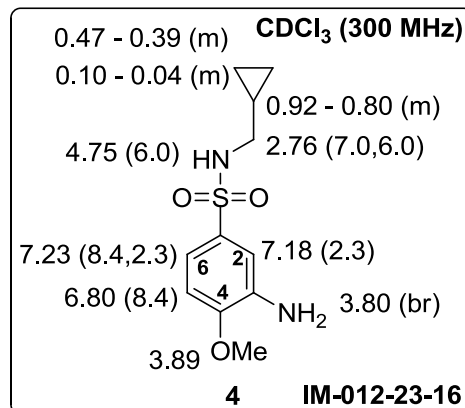
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **4** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (1 / 1), 1 x vyvolané), R_F = 0.51 (UV₂₅₄ a pary I₂).

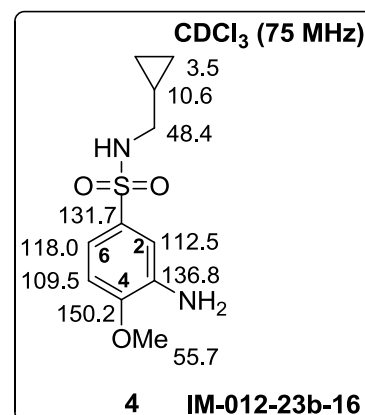
M. p.: 73.0 – 75.0 °C [Hex], svetloružová tuhá látka.

²² Hammond, M.; Zhao, Y.; GLAXOSMITHKLINE LLC. WO2011/56739 A1, 2011.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , IM-012-23-16.fid): δ 7.23 (dd, 1H, $J(5,6) = 8.4$ Hz, $J(2,6) = 2.3$ Hz, H-C(6)), 7.18 (d, 1H, $J(2,6) = 2.3$ Hz, H-C(2)), 6.80 (d, 1H, $J(5,6) = 8.4$ Hz, H-C(5)), 4.75 (t, 1H, $J(\text{CH}_2, \text{NH}) = 6.0$ Hz, -NH-CH₂-), 3.89 (s, 3H, -OCH₃), 3.80 (br s, 2H, -NH₂), 2.76 (dd, 2H, $J(\text{CH}, \text{CH}_2) = 7.0$ Hz, $J(\text{CH}_2, \text{NH}) = 6.0$ Hz, -NH-CH₂-), 0.92 – 0.80 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.47 – 0.39 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.10 – 0.04 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 3a)



^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3 , IM-012-23b-16.fid): δ 150.2 (s, C(4)), 136.8 (s, C(3)), 131.7 (s, C(1)), 118.0 (d, C(6)), 112.5 (d, C(2)), 109.5 (d, C(5)), 55.7 (q, -OCH₃), 48.4 (t, -NHCH₂-), 10.6 (d, -CH_(CP)-), 3.5 (2 x dd, 2 x -CH_{2(CP)}-). (Príloha 3b)

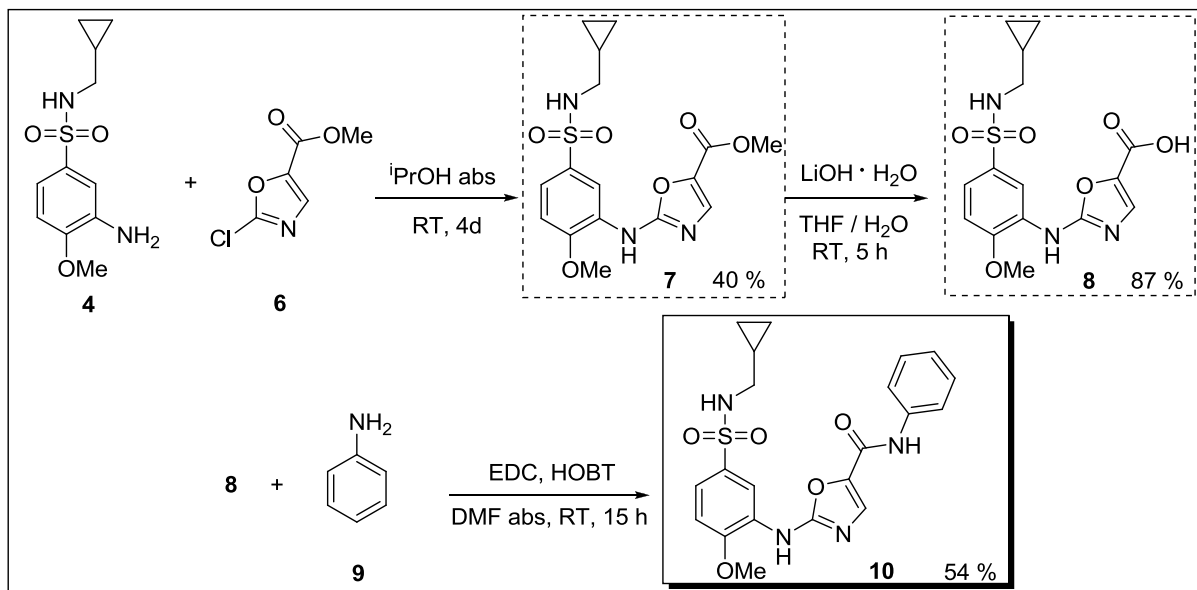


FT IR (solid, cm^{-1}): 3473 (m, -NH-), 3372 and 3274 (s, -NH₂), 3080 (m), 3005 (m), 2933 (m), 2842 (m), 1278 (m), 1614 (s), 1581 (m), 1508 (s), 1462 (m), 1426 (m), 1374 (w), 1312 (s), 1280 (s), 1235 (s), 1142 (s, -OCH₃), 1103 (m), 1064 (m), 1047 (m), 1021 (m), 922 (m), 863 (m), 795 (m), 761 (m), 668 (m), 622 (m). (Príloha 3c)

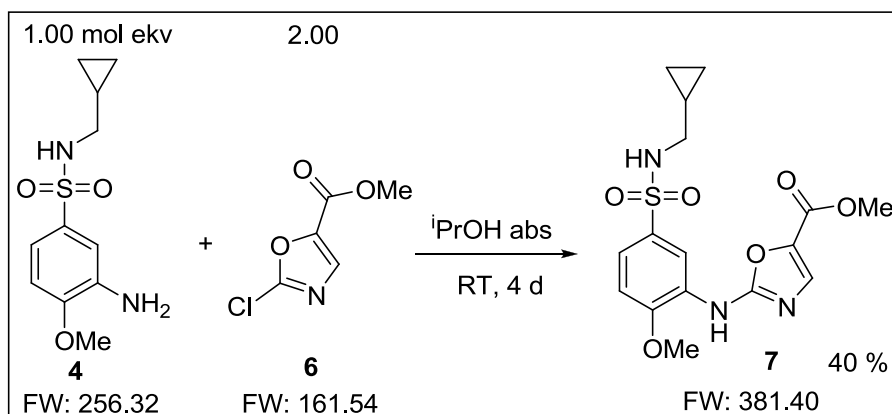
MS (ESI+): 257.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). (Príloha 3d)

Anal. Calcd for C₁₁H₁₆N₂O₃S (256.09): C, 51.54; H, 6.29; N, 10.93; S, 12.51. Found: C, 51.79; H, 6.29; N, 10.49; S, 12.56.

8.3 Syntéza 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-*N*-fenyloxazol-5-karboxamidu (10)



8.3.1 Příprava metyl 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylátu (7)



Literatúra:⁵ (substrát: 3-amíno-*N,N*-(dietyl)-4-metoxybenzénsulfónamid, reaktant: 2-chlóro-5-fenyloxazol, PrOH, 80 °C, 18 h, 40 % výtěžok).

Experimentálny postup: Do roztoku pripraveného rozpustením 500 mg (1.95 mmol, 1.00 mol ekv) sulfónamidu **4** v 7.8 ml ¹PrOH abs sme za stáleho miešania pod Ar atmosférou po kvapkách pridávali 630 mg (3.90 mmol, 2.00 mol ekv) metyl 2-chlóroxazol-5-karboxylátu (**6**) rozpusteného v 3.0 ml ¹PrOH abs. Túto RZ sme nechali reagovať pri RT počas 4 dní. Po prvých dvoch dňoch sme na TLC pozorovali produkt **7**, východiskový amid **4**, ako aj ester **6**, pričom sme RZ nechali reagovať ďalej. Po 4 dňoch sme na TLC už nepozorovali prítomnosť východiskového amidu **4**, avšak boli ešte prítomné stopy esteru **6**, pričom došlo k výraznému zakaleniu RZ. Do banky sme pridali 6 ml nasýteného roztoku NaHCO₃ a 10 ml vody, pričom sme vodnú vrstvu extrahovali s EA (3 x 10 ml). Spojené organické vrstvy sme vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili pomocou RVO a HV. Získali sme ester **7** v podobe hnedej tuhej látky o hmotnosti 300 mg (0.79 mmol, 40 %).

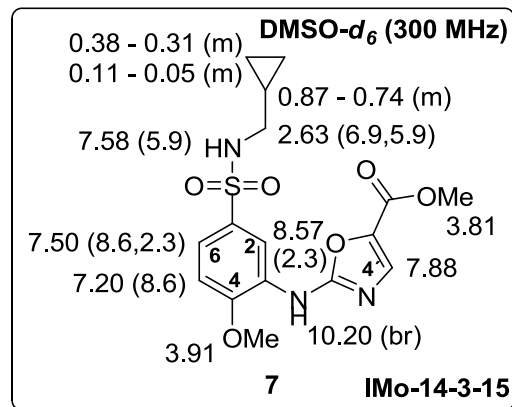
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **7** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (2 / 3), 1 x vyvolané), R_F = 0.53 (UV₂₅₄).

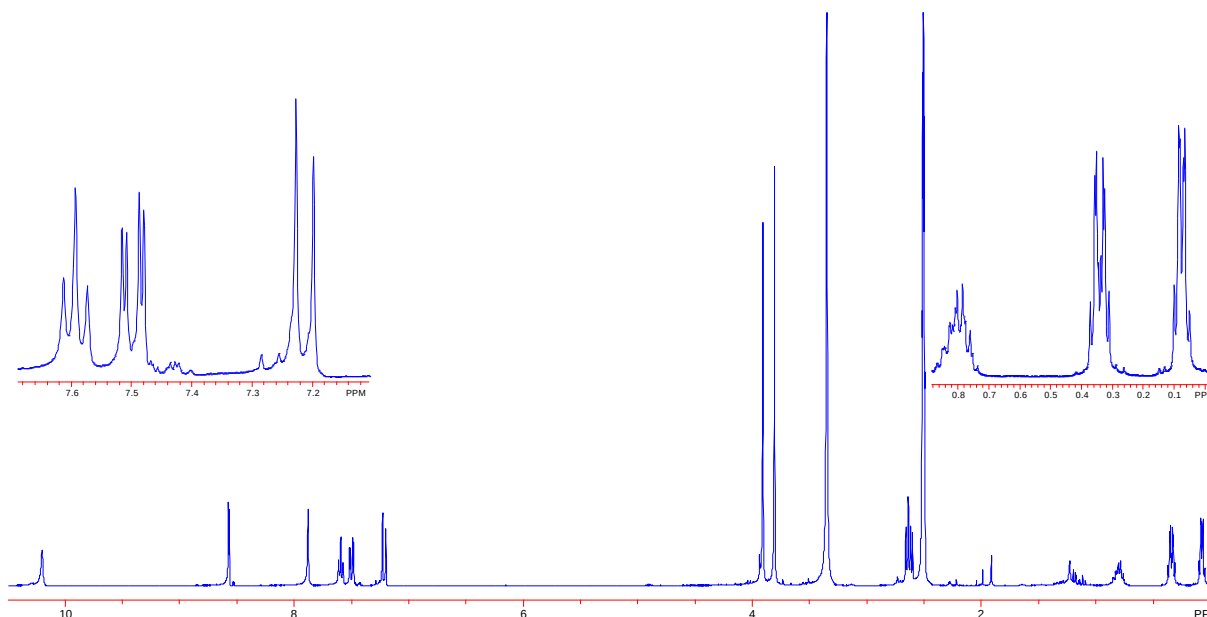
M. p.: 172.5 – 175.0 °C [EA], hnedá tuhá látka.

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, IMo-14-3-15.fid):

δ 10.20 (br s, 1H, -NH-), 8.57 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(2)), 7.88 (s, 1H, H-C(4')), 7.58 (t, 1H, *J*(CH₂,NH) = 5.9 Hz, -NH-CH₂-), 7.50 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.6 Hz, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.20 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.6 Hz, H-C(5)), 3.91 (s, 3H, -OCH₃), 3.81 (s, 3H, -COOCH₃), 2.63 (dd, 2H, *J*(CH,CH₂) = 6.9 Hz, *J*(CH₂,NH) = 5.9 Hz, -NHCH₂-), 0.87 –

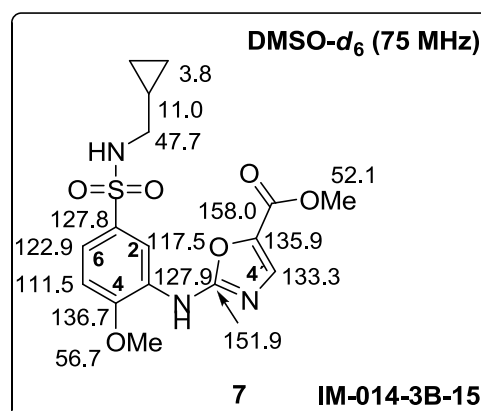


0.74 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.38 – 0.31 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.11 – 0.05 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 4a)



^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, IM-014-3B-15.fid):

δ 158.0 (s, $-\text{COOCH}_3$), 151.9 (s, C(2')), 136.7 (s, C(4)), 135.9 (d, C(5')), 133.3 (d, C(4')), 128.1 (s, C(3)), 127.8 (s, C(1)), 122.9 (d, C(6)), 117.5 (d, C(2)), 111.5 (d, C(5)), 56.7 (q, $-\text{OCH}_3$), 52.1 (q, $-\text{COOCH}_3$), 47.7 (t, $-\text{NHCH}_2-$), 11.0 (d, $-\text{CH}_{(\text{CP})-}$), 3.8 (2 x dd, 2 x $-\text{CH}_{2(\text{CP})-}$). (Príloha 4b)

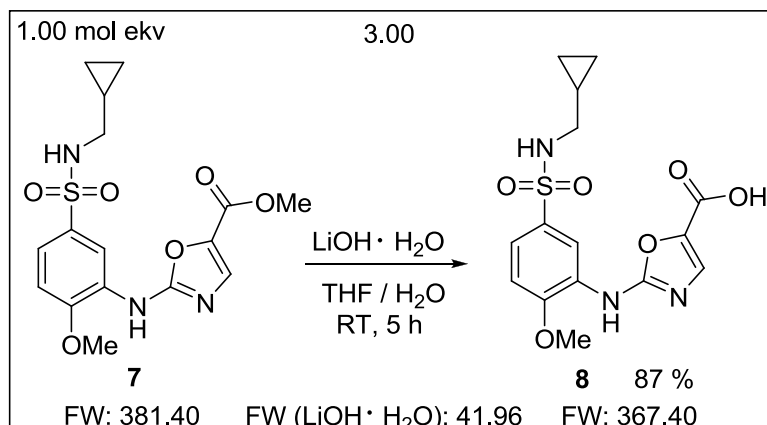


FT IR (solid, cm^{-1}): 3408 (s, $-\text{NH}_{(\text{OX})-}$), 3273 (s, $-\text{SO}_2\text{NH}-$), 3002 (m), 2951 (m), 1733 (s, $-\text{COOCH}_3$), 1642 (m), 1615 (m), 1574 (s), 1516 (m), 1488 (w), 1455 (w), 1430 (s), 1378 (w), 1320 (s, $-\text{COOCH}_3$), 1267 (m), 1194 (m), 1149 (s), 1129 (s, $-\text{PhOCH}_3$), 1098 (w), 1064 (m), 1019 (m), 990 (m), 930 (w), 876 (w), 821 (w), 794 (m), 762 (w), 725 (m), 669 (m), 628 (w). (Príloha 4c)

MS (ESI-): 380.1([M-H] $^-$). (Príloha 4d)

Anal. Calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_6\text{S}$ (381.10): C, 50.39; H, 5.02; N, 11.02; S, 8.41. Found: C, 50.21; H, 5.03; N, 11.17; S, 8.56.

8.3.2 Príprava kyseliny 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylovej (**8**)



Literatúra:²³ (substrát: metyl 2-(7-fenylheptanoyl)oxazol-5-karboxylát, THF / H_2O , RT, 2 h, 88 % výťažok).

Experimentálny postup: 215.0 mg (0.56 mmol, 1.00 mol ekv) esteru **7** sme rozpustili v 20 ml zmesi THF / H_2O (12 ml / 8 ml). K roztoku sme pridali 71.0 mg (1.69 mmol, 3.00 mol ekv) $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Reakčnú zmes sme miešali počas 5 h pri RT. Po prebehnutí reakcie (TLC) sme do zmesi pridali 5 ml HCl konc. a 10 ml H_2O . Zmes sme extrahovali EA (3 x 10 mL). Spojené organické fázy sme vysušili státím nad Na_2SO_4 , sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili na RVO. Po dosušení na HV sme získali 180.0 mg (0.49 mmol, 87 %) slabo žltej kryštalickej látky **8**.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **8** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

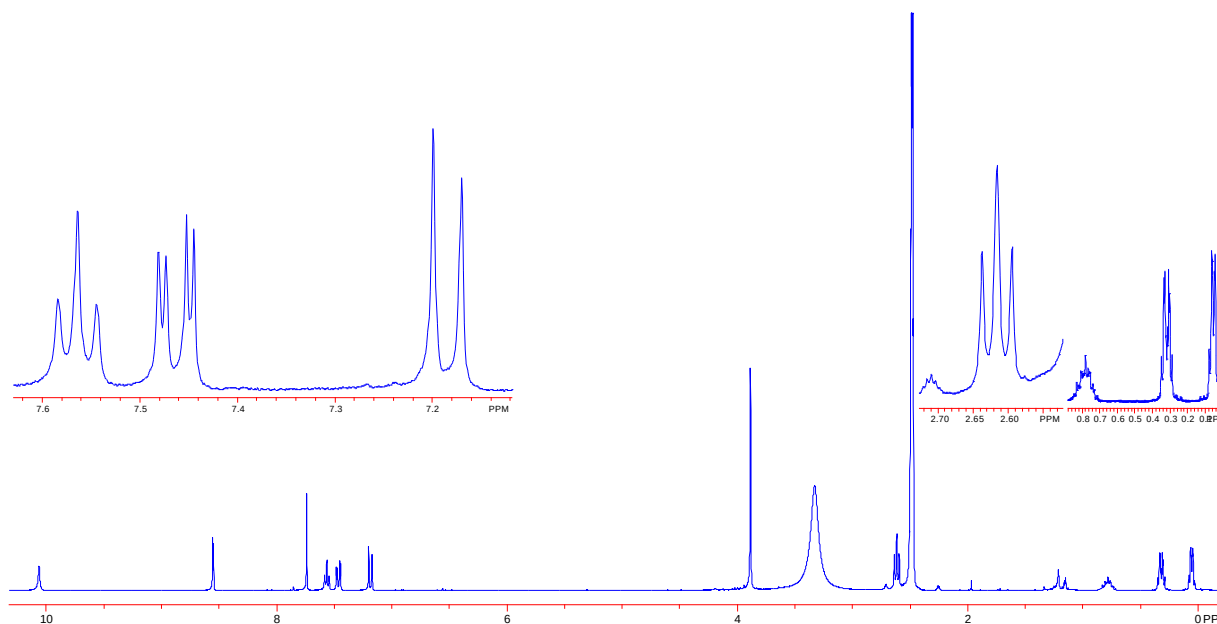
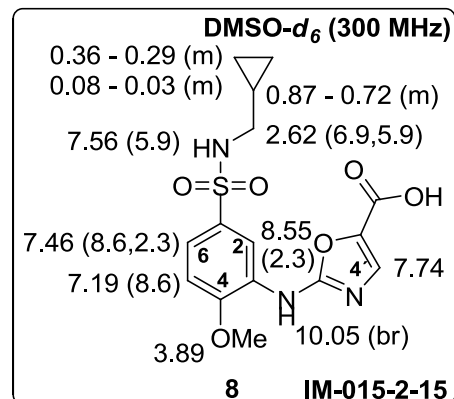
TLC analýza: (SiO_2 , Hex / EA (2 / 3), 1 x vyvolané), $R_F = 0.08$ (UV_{254}).

M. p.: 182.5 – 185.5 °C [EA], slabo žltá kryštalická látka.

²³ Romero, F.A.; Du, W.; Hwang, I.; Rayl, T.J.; Kimball, F.S.; Leung, D.; Hoover, H.S.; Apodaca, R.L.; Breitenbucher, J.G.; Cravatt, B.F.; Boger, D.L. *J. Med. Chem.* **2007**, 50, 1058 – 1068.

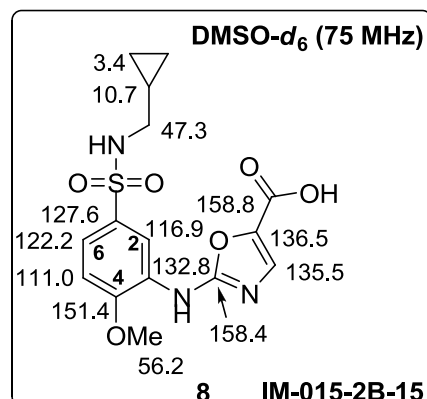
^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , IM-015-2-15.fid): δ

10.05 (br s, 1H, $-\text{NH}_{(\text{OX})}-$), 8.55 (d, 1H, $J(2,6) = 2.3$ Hz, H-C(2)), 7.74 (s, 1H, H-C(4')), 7.56 (t, 1H, $J(\text{CH}_2, \text{NH}) = 5.9$ Hz, $-\text{NHCH}_2-$), 7.46 (dd, 1H, $J(5,6) = 8.6$ Hz, $J(2,6) = 2.3$ Hz, H-C(6)), 7.19 (d, 1H, $J(5,6) = 8.6$ Hz, H-C(5)), 3.89 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 2.62 (dd, 2H, $J(\text{CH}, \text{CH}_2) = 6.9$ Hz, $J(\text{CH}_2, \text{NH}) = 5.9$ Hz, $-\text{NHCH}_2-$), 0.87 – 0.72 (m, 1H, $-\text{CH}_{(\text{CP})}-$), 0.36 – 0.29 (m, 2H, 2 x $\text{CH}_{\text{A}(\text{CP})}$ or 2 x $\text{CH}_{\text{B}(\text{CP})}$), 0.08 – 0.03 (m, 2H, 2 x $\text{CH}_{\text{A}(\text{CP})}$ or 2 x $\text{CH}_{\text{B}(\text{CP})}$). (Príloha 5a)



^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , IM-015-2B-15.fid): δ

158.8 (s, $-\text{COOH}$), 158.4 (s, C(2')), 151.4 (s, C(4)), 136.5 (s, C(5')), 135.5 (d, C(4')), 132.8 (s, C(3)), 127.6 (s, C(1)), 122.2 (d, C(6)), 116.9 (d, C(2)), 111.0 (d, C(5)), 56.2 (q, $-\text{OCH}_3$), 47.3 (t, $-\text{NHCH}_2-$), 10.7 (d, $-\text{CH}_{(\text{CP})}-$), 3.4 (2 x dd, 2 x $-\text{CH}_2(\text{CP})-$). (Príloha 5b)

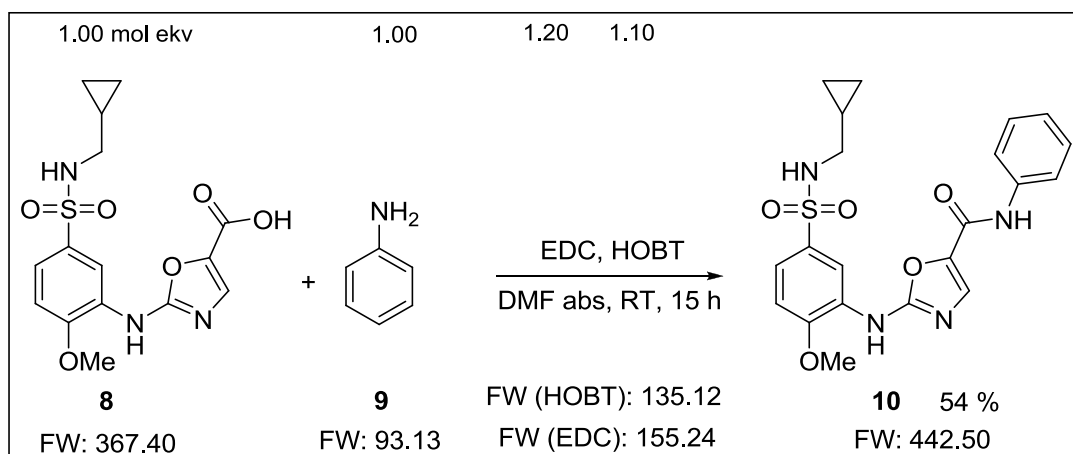


FT IR (solid, cm⁻¹): 3265 (s, -SO₂NH-), 3150 (m), 3000 and 2958 (m, -OH), 2846 (w), 1693 (s, -CO-), 1626 (s), 1591 (s), 1577 (s), 1504 (m), 1425 (m), 1323 (s, -OCOH), 1273 (m), 1200 (w), 1151 (s), 1129 (s, -PhOCH₃), 1092 (m), 1053 (w), 1015 (w), 923 (w), 869 (w), 819 (w), 729 (w), 669 (w). (Príloha 5c)

MS (ESI-): 366.0 ([M-H]⁻). (Príloha 5d)

Anal. Calcd for C₁₅H₁₇N₃O₆S (367.08): C, 49.04; H, 4.66; N, 11.44; S, 8.73. Found: C, 49.31; H, 4.98; N, 11.59; S, 8.32.

8.3.3 Syntéza cieľového fenyloxazolkarboxamidu 10



Literatúra:²⁴ (substrát: kyselina 2-(fenylamíno)oxazol-5-karboxylová; reaktant: etyl 2-[4-(4-amínofenyl)cyklohexyl]acetát; pomocné činidlá: EDC, HOBT, DIPEA; DMF, RT, 16 h, 59 % výtťažok).

Experimentálny postup: Kyselinu **8** 130.0 mg (0.354 mmol, 1.00 mol ekv) sme rozpustili v 4 ml DMF abs. K roztoku sme pridali 32.0 µl (33.0 mg, d: 1.0217 g/ml, 0.354 mmol, 1.00 mol ekv) anilínu **9**, 66.0 mg (0.425 mmol, 1.20 mol ekv) EDC a 52.6 mg (0.39mmol, 1.10 mol ekv) HOBT. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Reakčnú zmes sme miešali

²⁴ ASTRAZENECA, UK LTD. WO2007/141502 A1, 2007.

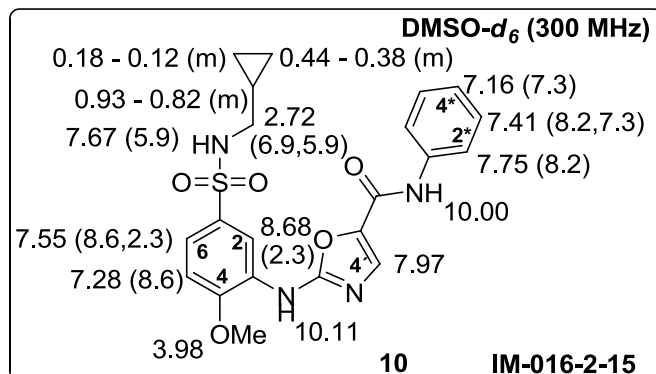
po dobu 15 h pri RT. Potom sme do zmesi pridali 40 ml H₂O a vodnú fázu sme extrahovali do EA (3 x 15 ml). Spojené organické fázy sme vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili na RVO. Po dosušení na HV sme získali 145.0 mg produktu vo forme tmavohnedého oleja. Kryštalickú formu žiadaného karboxamidu **10** sme získali po triturácii tmavohnedého oleja s Hexolom, pričom sme získali 85.0 mg (0.192 mmol, 54 %) svetlooranžovej látky.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **10** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

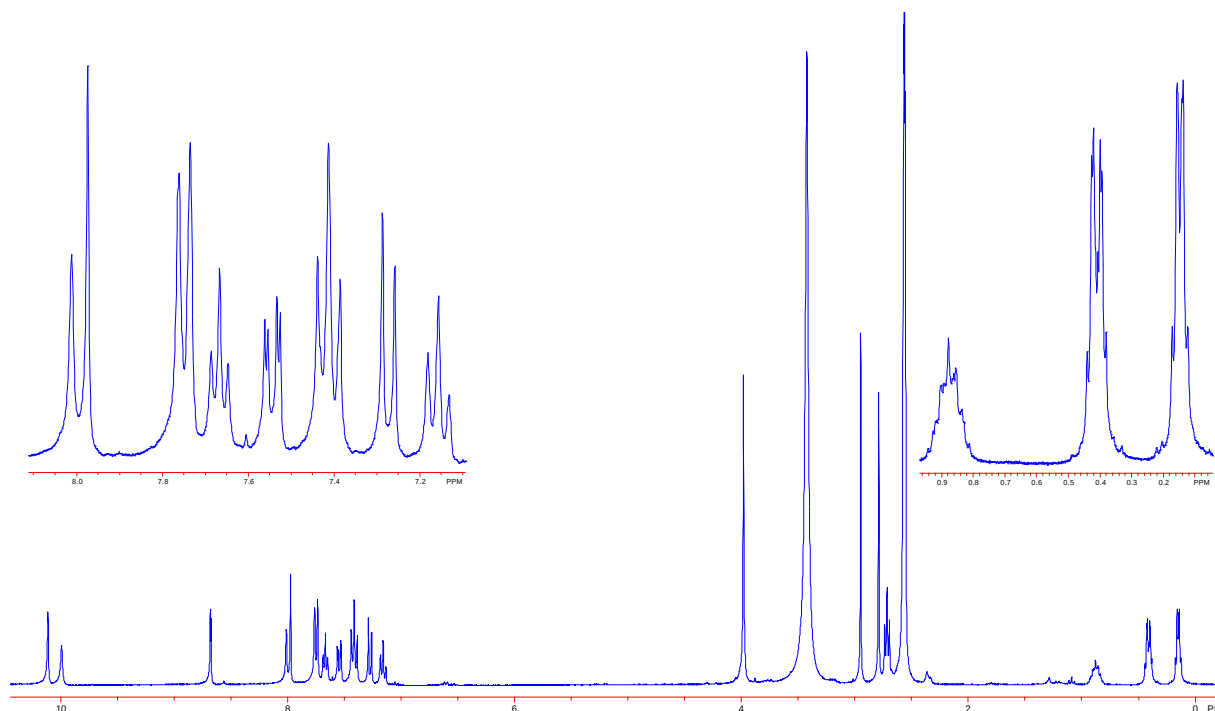
TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (1 / 2), 1 x vyvolané), R_F = 0.44 (UV₂₅₄).

M. p.: 83.5 – 86.0 °C [Hex], svetlooranžová kryštalická látka.

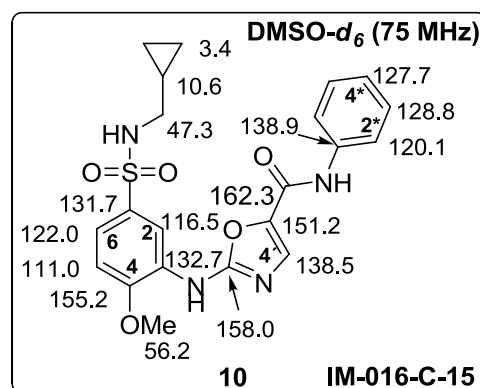
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, IM-016-2-15.fid): δ 10.11 (br s, 1H, -NH(OX)-), 10.00 (br s, 1H, -CONH-), 8.68 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(2)), 7.97 (s, 1H, H-C(4')), 7.75 (d, 2H, *J*(2*,3*) = 8.2 Hz, H-C(2*)), 7.67 (t, 1H, *J*(CH₂,NH) = 5.9 Hz, -NH-CH₂-),



7.55 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.6 Hz, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.41 (dd, 2H, *J*(2*,3*) = 8.2 Hz, *J*(3*,4*) = 7.3 Hz H-C(3*)), 7.28 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.6 Hz, H-C(5)), 7.16 (t, 1H, *J*(3*,4*) = 7.3 Hz, H-C(4')), 3.98 (s, 3H, -OCH₃), 2.72 (dd, 2H, *J*(CH,CH₂) = 6.9 Hz, *J*(CH₂,NH) = 5.9 Hz, -NHCH₂-), 0.93 – 0.82 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.44 – 0.38 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.18 – 0.12 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 6a)



^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, IM-016-C-15.fid): δ
 162.3 (s, -CO-NH), 158.0 (s, C(2')), 155.2 (s, C(4)),
 151.2 (s, C(5')), 138.9 (s, C(1*)), 138.5 (d, C(4')),
 132.7 (s, C(3)), 131.7 (s, C(1)), 128.8 (d,
 C(3*)), 127.7 (d, C(4*)), 122.0 (d, C(6)), 120.1 (d,
 C(2*)), 116.5 (d, C(2)), 111.0 (d, C(5)), 56.2 (q, -
 OCH₃), 47.3 (t, -NHCH₂-), 10.6 (d, -CH_(CP)-), 3.4 (2 x
 dd, 2 x -CH₂(CP)-). (Príloha 6b)

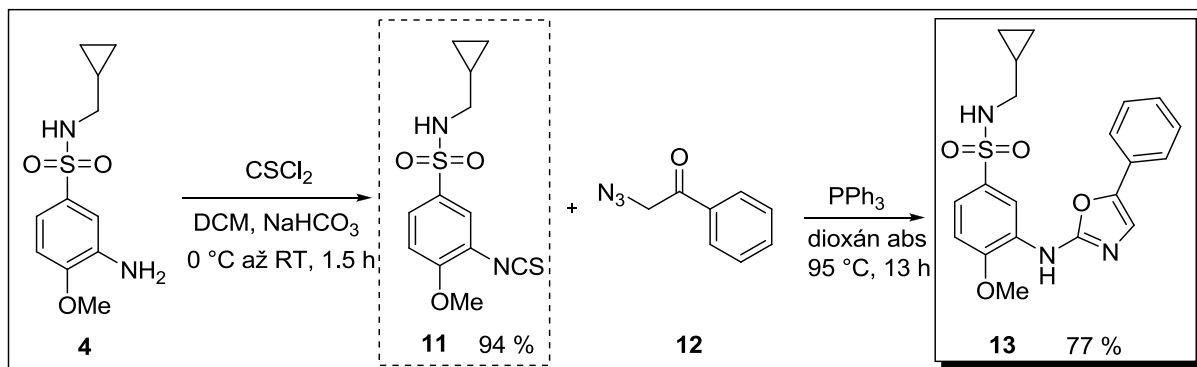


FT IR (solid, cm^{-1}): 3428 (m, -NH_(OX)-), 3273 (s, -SO₂NH-), 3188 (m), 3131 (m), 3081 (m),
 2938 (m), 2844 (m), 1651 (s), 1614 (s), 1588 (s), 1567 (s), 1548 (s), 1496 (m), 1458 (w), 1442
 (m), 1428 (m), 1388 (m), 1335 (m), 1269 (m), 1248 (m), 1212 (m), 1164 (m), 1150 (s), 1129
 (s, -PhOCH₃), 1089 (m), 1060 (w), 1023 (m), 984 (w), 923 (w), 873 (w), 803 (m), 747 (m),
 688 (w), 630 (w). (Príloha 6c)

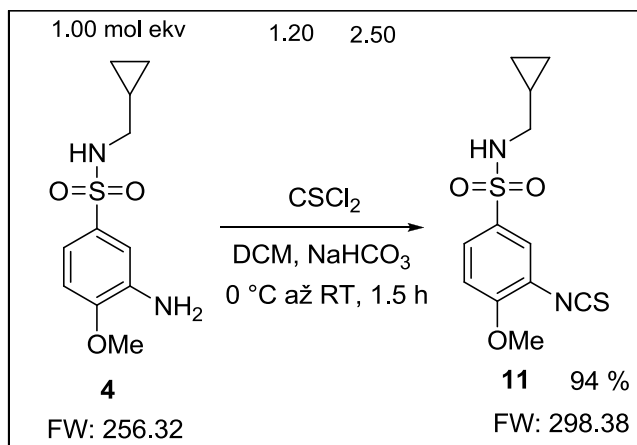
MS (ESI-): 441.1([M-H]⁻). (Príloha 6d)

Anal. Calcd for C₂₁H₂₂N₄O₅S (442.13): C, 57.00; H, 5.01; N, 12.66; S, 7.25. Found: C, 56.82; H, 5.13; N, 12.94; S, 7.38.

8.4 Syntéza *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-fenyloxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (13)



8.4.1 Příprava *N*-(cyklopropylmetyl)-3-izotiokyanáto-4-metoxybenzénsulfónamidu (11)



Literatúra:²⁵ (substrát: 5-(etylsulfonyl)-2-metoxyanilín, rovnaký reaktant: tiofosgén, DCM, RT, 3 h, 99 % výťažok).

²⁵ Khatik, G.L.; Pal, A.; Mobin, S.M.; Nair, V.A. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 3654–3657.

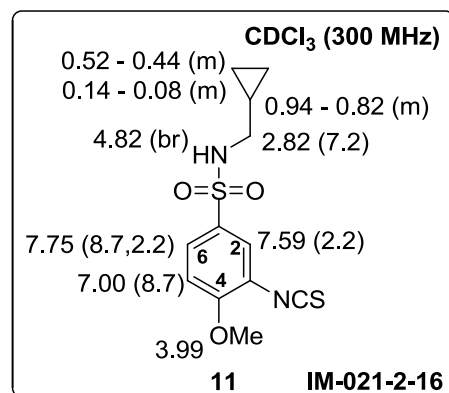
Experimentálny postup: Zmes 200.0 mg (0.78 mmol, 1.00 mol ekv) anilínu **4**, DCM (5.0 ml) a 1.70 ml (164.0 mg, 1.95 mmol, 2.50 mol ekv) nasýteného roztoku NaHCO₃ sme ochladili na 0 °C a za intenzívneho miešania sme prikvapkávali 72 µl (108.0 mg, 0.94 mmol, 1.20 mol ekv) CCl₄ počas 30 min. Zmes sme ohriali na RT a miešali počas 1.5 h, pričom po tejto dobe bola konverzia východiskovej látky úplná. Vrstvy sme oddelili a vodnú fázu sme extrahovali s DCM (3 x 5 ml). Spojené organické fázy sme vysušili nad Na₂SO₄ a prchavé podiely sme opatrne odparili na RVO. Produkt sme izolovali dosušením pomocou HV, pričom sme získali 219.7 mg (94 %) slabo oranžovej tuhej látky **11**.

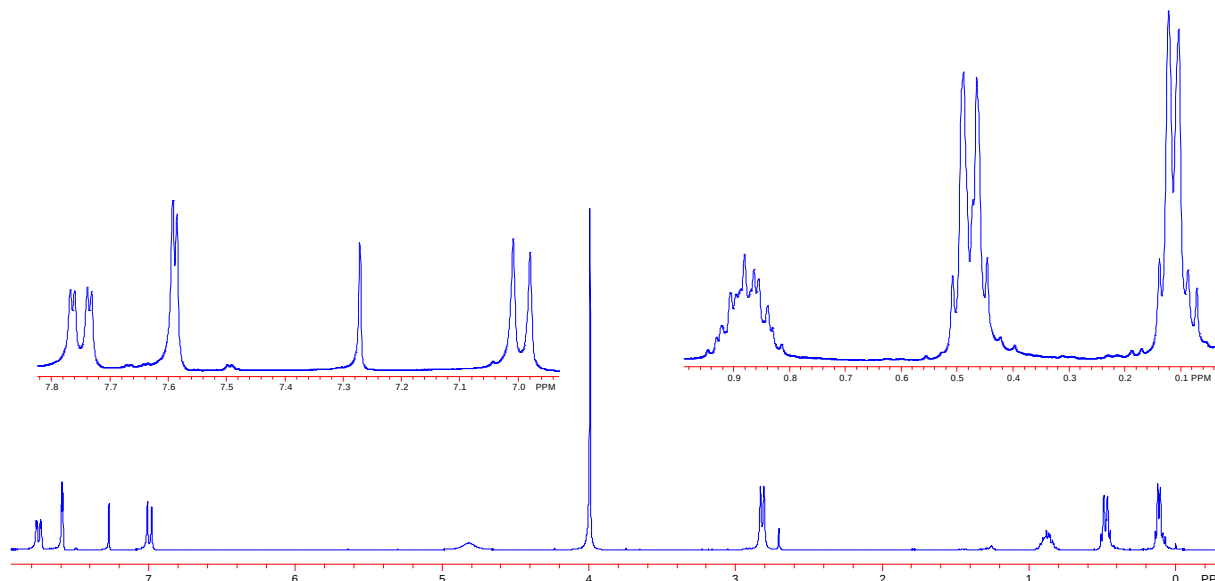
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **11** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO₂, DCM / MeOH (97/3 %), 1 x vyvolané), R_F = 0.60 (UV₂₅₄).

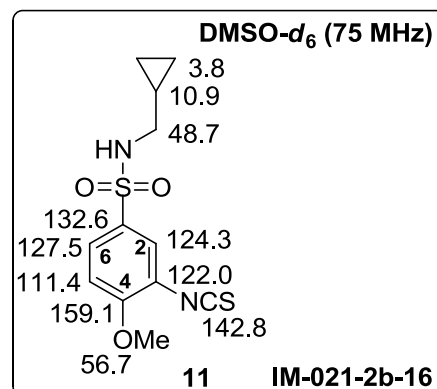
M. p.: 95.5 – 97.5 °C [DCM], slabo oranžová tuhú látku.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, IM-021-2-16.fid): δ 7.75 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.7 Hz, *J*(2,6) = 2.2 Hz, H-C(6)), 7.59 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.2 Hz, H-C(2)), 7.00 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.7 Hz, H-C(5)), 4.82 (br s, -NH-CH₂-), 3.99 (s, 3H, -OCH₃), 2.82 (d, 2H, *J*(CH,CH₂) = 7.2 Hz, -NHCH₂-), 0.94 – 0.82 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.52 – 0.44 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.14 – 0.08 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 7a)





^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3 , IM-021-2B-16.fid): δ 159.1 (s, C(4)), 142.8 (s, -NCS), 132.6 (s, C(1)), 127.5 (d, C(6)), 124.3 (d, C(2)), 122.0 (s, C(3)), 111.4 (d, C(5)), 56.7 (q, - OCH_3), 48.7 (t, - NHCH_2 -), 10.9 (d, - $\text{CH}_{(\text{CP})}$ -), 3.8 (2 x dd, 2 x - $\text{CH}_2(\text{CP})$ -). (Príloha 7b)

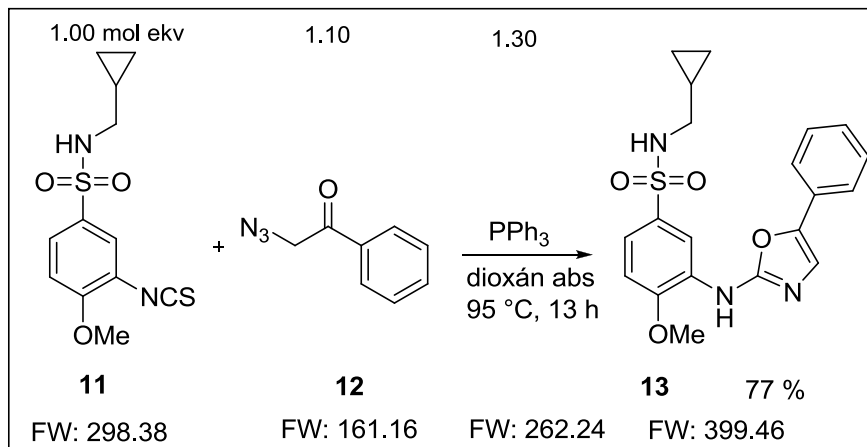


FT IR (solid, cm^{-1}): 3251 (s, - SO_2NH -), 3077 (m), 2943 (m), 2242 (w), 2201 (w), 2030 (s, -NCS), 1724 (m), 1593 (m), 1491 (s), 1455 (m), 1434 (s), 1413 (m), 1320 (s), 1303 (m), 1264 (s), 1227 (w), 1183 (w), 1136 (s, - PhOCH_3), 1086 (s), 1049 (s), 1019 (s), 971 (m), 947 (w), 896 (m), 867 (m), 813 (s), 792 (m), 711 (m), 676 (m), 607 (m). (Príloha 7c)

MS (ESI-): 297.1 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), 329.1 ($[\text{M}+\text{MeOH}-\text{H}]^-$). (Príloha 7d)

Anal. Calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_2$ (298.04): C, 48.30; H, 4.73; N, 9.39; S, 21.49. Found: C, 48.67; H, 4.84; N, 8.94; S, 21.04.

8.4.2 Syntéza cieľového fenylloxazolu (13)



Literatúra:²⁶ (substrát: 4-hydroxyfenylizotiokyanát, rovnaký reaktant: 2-azido-1-fenyletanón, dioxán, 80 °C, 1 h, 56 % výt'azok).

Experimentálny postup: V suchej banke sme rozpustili 420.0 mg (1.41 mmol, 1.00 mol ekv) izotiokyanátu **11**, 250.0 mg (1.55 mmol, 1.10 mol ekv) azidu **12** a 480.0 g (1.83 mmol, 1.30 mol ekv) PPh_3 v 13 ml dioxánu abs. Pripravenú reakčnú zmes sme nechali miešať a zahrievať 13 h pod Ar ponorením do 95 °C predhriateho olejového kúpeľa. Po tomto čase TLC analýza ukázala prítomnosť viacerých produktov. Z reakčnej zmesi sme pomocou RVO odparili dioxán a získali sme 1.44 g tmavohnedej olejovitej látky, ktorú sme čistili pomocou FLC (SiO_2 , eluent Hex / EA (1 / 1)). Po čistení sme izolovali 430.0 mg (1.08 mmol, 77 %) svetlo béžovej tuhej látky. $^1\text{H-NMR}$ analýza potvrdila prítomnosť požadovaného sulfónamidu **13**.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **13** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO_2 , Hex / EA (1 / 1), 1 x vyvolané), $R_F = 0.42$ (UV_{254}).

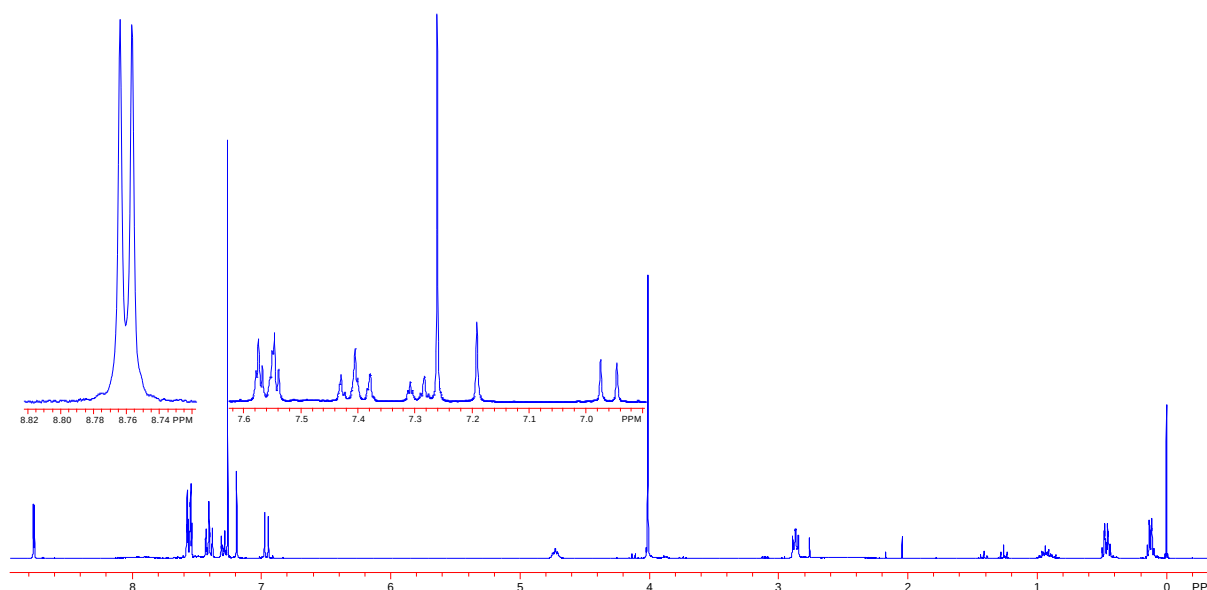
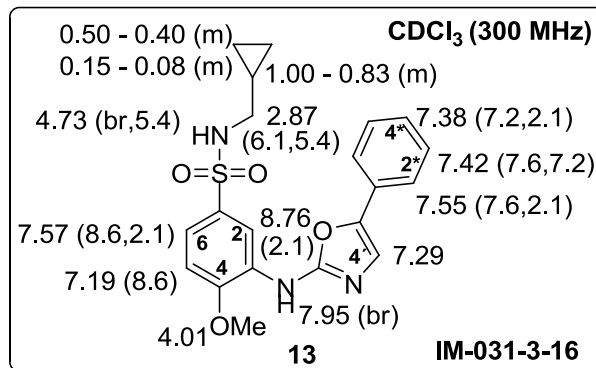
M. p.: 170.5 – 172.5 °C [Hex/EA], svetlo béžová tuhá látka.

²⁶ Suh, J.H.; Yum, E.K.; Cho, Y.S. *Biol. Pharm. Bull.* **2015**, 63, 573 – 578.

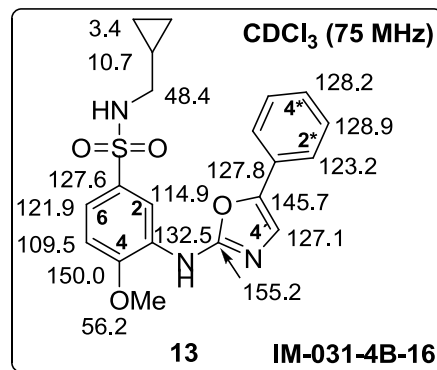
¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, IM-031-3-

16.fid): δ 8.76 (d, 1H, $J(2,6) = 2.1$ Hz, H-C(2)), 7.95 (br s, 1H, -NH_{(OX)-}), 7.57 (dd, 1H, $J(5,6) = 8.6$ Hz, $J(2,6) = 2.1$ Hz, H-C(6)), 7.55 (dd, 2H, $J(2^*,3^*) = 7.6$ Hz, $J(2^*,4^*) = 2.1$ Hz, H-C(2^{*})), 7.42 (dd, 2H, $J(2^*,3^*) = 7.6$ Hz, $J(3^*,4^*) = 7.2$ Hz, H-

C(3^{*})), 7.38 (dd, 1H, $J(3^*,4^*) = 7.2$ Hz, $J(2^*,4^*) = 2.1$ Hz, H-C(4^{*})), 7.29 (s, 1H, H-C(4')), 7.19 (d, 1H, $J(5,6) = 8.6$ Hz, H-C(5)), 4.73 (br t, 1H, $J(\text{CH}_2, \text{NH}) = 5.4$ Hz, -NHCH₂-), 4.01 (s, 3H, -OCH₃), 2.87 (dd, 2H, $J(\text{CH}, \text{CH}_2) = 6.1$ Hz, $J(\text{CH}_2, \text{NH}) = 5.4$ Hz, -NHCH₂-), 1.00 – 0.83 (m, 1H, -CH_{(CP)-}), 0.50 – 0.40 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.15 – 0.08 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 8a)



^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3 , IM-031-4B-16.fid): δ 155.2 (s, C(2')), 150.0 (s, C(4)), 145.7 (s, C(5')), 132.5 (s, C(3)), 128.9 (2 x d, 2 x C(3*)), 123.2 (2 x d, 2 x C(2*)), 128.2 (d, C(4*)), 127.8 (s, C(1*)), 127.6 (s, C(1)), 121.9 (d, C(6)), 114.9 (d, C(2)), 127.1 (d, C(4')), 109.5 (d, C(5)), 56.2 (q, $-\text{OCH}_3$), 48.4 (t, $-\text{NHCH}_2-$), 10.7 (d, $-\text{CH}_{(\text{CP})-}$), 3.4 (2 x dd, 2 x $-\text{CH}_2(\text{CP})-$). (Príloha 8b)



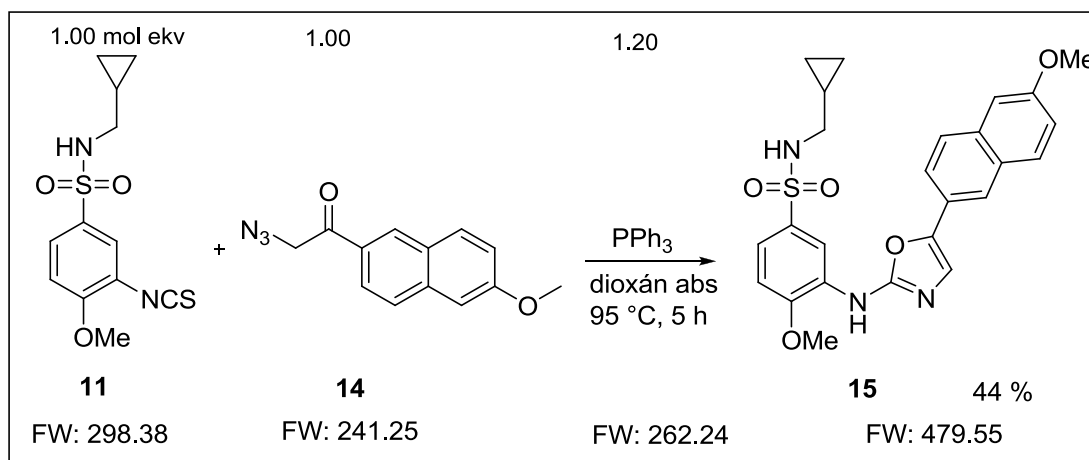
FT IR (solid, cm^{-1}): 3429 (s, $-\text{NH}_{(\text{OX})-}$), 3284 (s, $-\text{SO}_2\text{NH}-$), 3007 (w), 1614 (s), 1603 (s), 1579 (s), 1526 (m), 1493 (m), 1484 (m), 1463 (w), 1429 (s), 1329 (m), 1314 (s), 1264 (s), 1222 (w), 1185 (w), 1157 (m), 1145 (s), 1128 (s, $-\text{OCH}_3$), 1088 (m), 1070 (s), 1052 (m), 1017 (s), 944 (w), 920 (w), 898 (w), 870 (m), 825 (m), 803 (s), 756 (s), 729 (w), 713 (s), 683 (s), 670 (s), 600 (s). (Príloha 8c)

MS (ESI-): 398.1 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). (Príloha 8d)

Anal. Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (399.13): C, 60.13; H, 5.30; N, 10.52; S, 8.03. Found: C, 60.48; H, 5.45; N, 10.16; S, 8.45.

8.5 Syntéza *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(6-metoxynaftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (**15**)

8.5.1 Syntéza cieľového metoxynaftalénoxazolu **15**



Literatúra:²⁶ (substrát: 4-hydroxyfenylizotiokyanát, reaktant: 2-azido-1-(4-metoxyfenyl)etanón, dioxán, 80°C , 1 h, 56 % výtťažok).

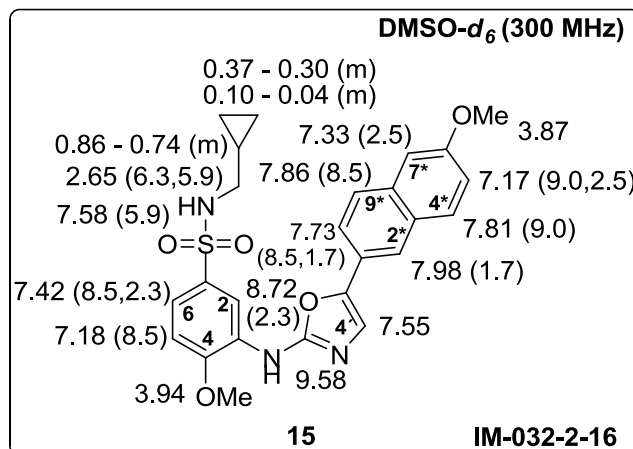
Experimentálny postup: V suchej banke sme rozpustili 416.0 mg (1.39 mmol, 1.00 mol ekv) izotiokyanátu **11**, 335.7 mg (1.39 mmol, 1.00 mol ekv) azidu **14** a 437.7 mg (1.67 mmol, 1.20 mol ekv) PPh_3 v 8 ml dioxánu abs. Takto pripravenú reakčnú zmes sme ponorili do predhriateho kúpeľa na 95°C a nechali miešať 5 h pod Ar. Po tomto čase TLC analýza ukázala prítomnosť viacerých produktov. Z reakčnej zmesi sme pomocou RVO odparili dioxán a získali sme tmavooranžovú olejovitú zmes, ktorú sme čistili pomocou FLC (SiO_2 , eluent Hex / EA (1 / 1)). Po čistení sme izolovali 295.0 mg (0.62 mmol, 44 %) svetlo oranžovej tuhej látky. ^1H -NMR analýza potvrdila prítomnosť požadovaného sulfónamidu **15**.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **15** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

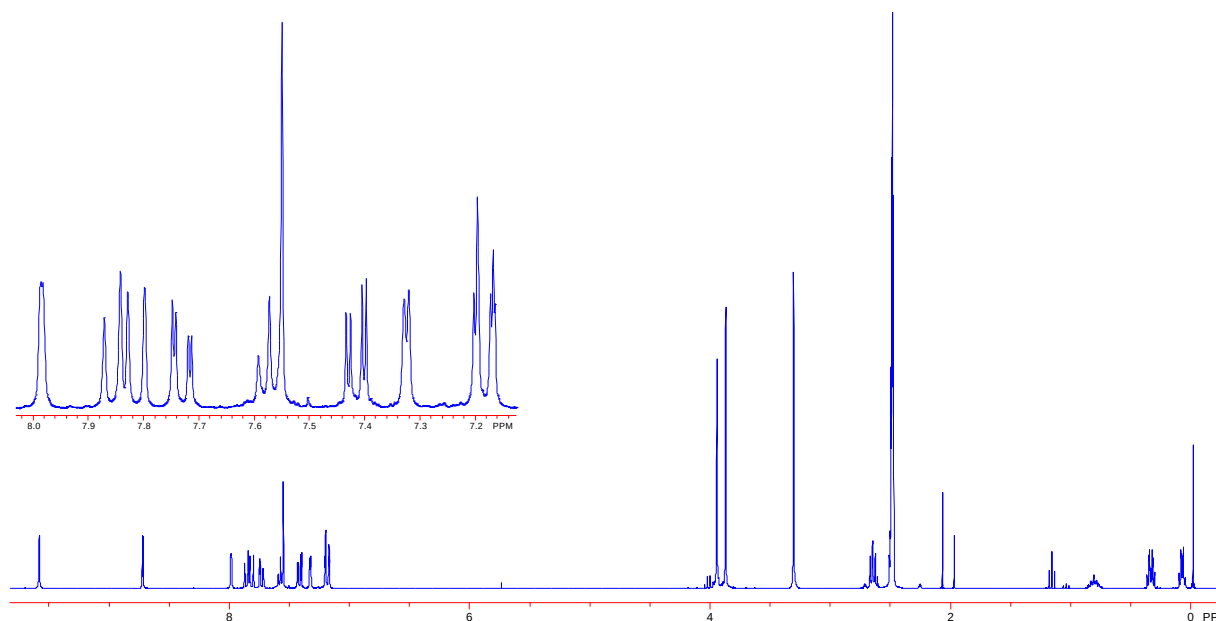
TLC analýza: (SiO_2 , Hex / EA (1 / 1), 1 x vyvolané), $R_F = 0.45$ (UV_{254}).

M. p.: 215.5 – 217.5 °C [Hex/EA], svetlo oranžová tuhá látka.

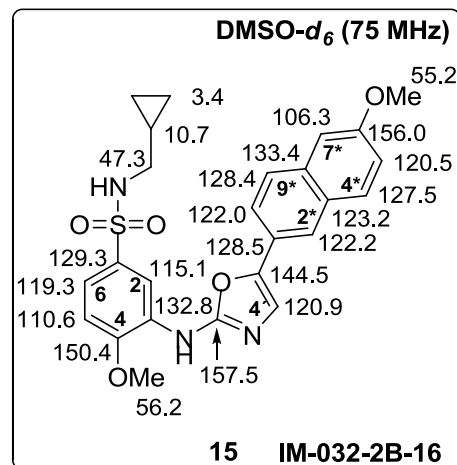
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, IM-032-2-16.fid): δ 9.58 (s, 1H, -NH_(OX)-), 8.72 (d, 1H, $J(2,6)$ = 2.3 Hz, H-C(2)), 7.98 (d, 1H, $J(2^*,10^*)$ = 1.7 Hz, H-C(2^{*})), 7.86 (d, 1H, $J(9^*,10^*)$ = 8.5 Hz, H-C(9^{*})), 7.81 (d, 1H, $J(4^*,5^*)$ = 9.0 Hz, H-C(4^{*})), 7.73 (dd, 1H, $J(9^*,10^*)$ = 8.5 Hz, $J(2^*,10^*)$ = 1.7 Hz, H-C(10^{*})), 7.58 (t, 1H, $J(\text{CH}_2, \text{NH})$ = 5.9 Hz, -NHCH₂-), 7.55



(s, 1H, H-C(4')), 7.42 (dd, 1H, $J(5,6)$ = 8.5 Hz, $J(2,6)$ = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.33 (d, 1H, $J(5^*,7^*)$ = 2.5 Hz, H-C(7^{*})), 7.18 (d, 1H, $J(5,6)$ = 8.5 Hz, H-C(5)), 7.17 (dd, 1H, $J(4^*,5^*)$ = 9.0 Hz, $J(5^*,7^*)$ = 2.5 Hz, H-C(5^{*})), 3.94 (s, 3H, -PhOCH₃), 3.87 (s, 3H, -NfOCH₃), 2.65 (dd, 2H, $J(\text{CH}, \text{CH}_2)$ = 6.3 Hz, $J(\text{CH}_2, \text{NH})$ = 5.9 Hz, -NHCH₂-), 0.86 – 0.74 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.37 – 0.30 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.10 – 0.04 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 9a)



^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , IM-032-2B-16.fid): δ
 157.5 (s, C(2')), 156.0 (s, C(6*)), 150.4 (s, C(4)), 144.5 (s, C(5')), 133.4 (s, C(8*)), 132.8 (s, C(3)), 129.3 (s, C(1)), 128.5 (s, C(1*)), 128.4 (d, C(9*)), 127.5 (d, C(4*)), 123.2 (s, C(3*)), 122.2 (d, C(2*)), 122.0 (d, C(10*)), 120.9 (d, C(4')), 120.5 (d, C(5*)), 119.3 (d, C(6)), 115.1 (d, C(2)), 110.6 (d, C(5)), 106.3 (d, C(7*)), 56.2 (q, -PhOCH₃), 55.2 (q, -NfOCH₃), 47.3 (t, -NHCH₂-), 10.7 (d, -CH_(CP)-), 3.4 (2 x dd, 2 x -CH₂(CP)-). (Príloha 9b)

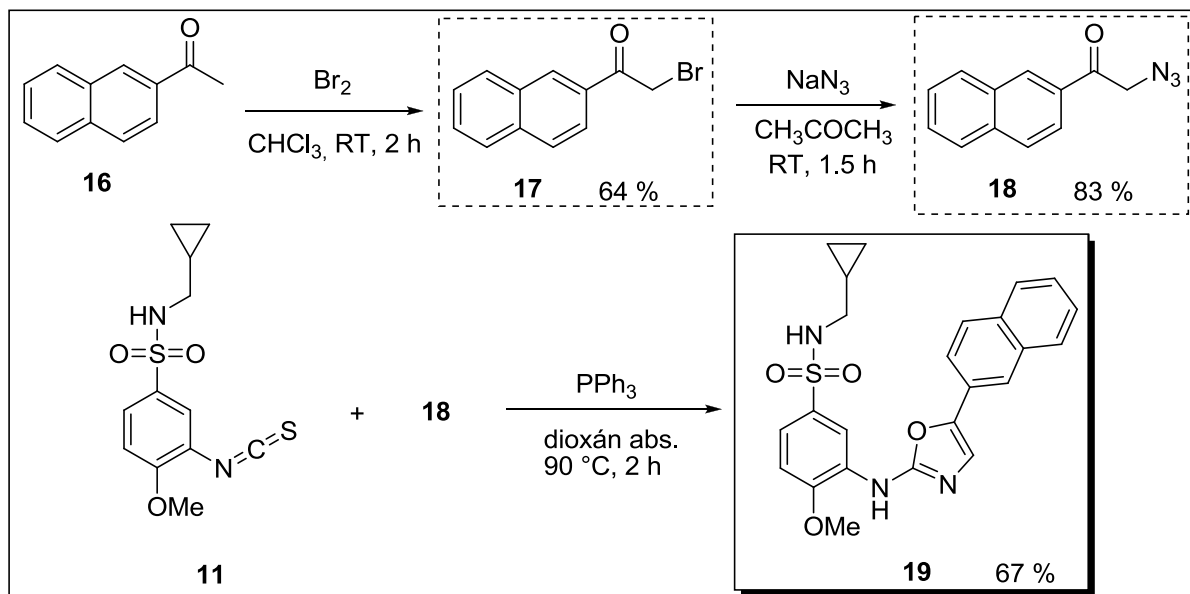


FT IR (solid, cm⁻¹): 3421 (s, -NH_(OX)-), 3279 (s, -SO₂NH-), 2938 (m), 1734 (w), 1616 (s), 1600 (s), 1578 (s), 1525 (m), 1506 (w), 1481 (m), 1463 (w), 1428 (m), 1392 (w), 1347 (w), 1315 (m), 1264 (m), 1214 (w), 1201 (m), 1186 (w), 1144 (s, -NfOCH₃), 1126 (s, -PhOCH₃), 1085 (m), 1072 (m), 1045 (w), 1015 (m), 973 (w), 920 (w), 901 (m), 884 (m), 845 (m), 816 (m), 803 (m), 793 (m), 728 (w), 715 (m), 669 (m), 649 (w), 632 (w). (Príloha 9c)

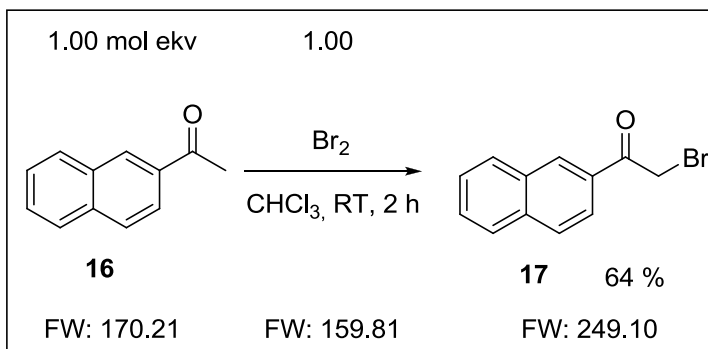
MS (ESI+): 480.3 ([M+H]⁺). (Príloha 9d).

Anal. Calcd for C₂₅H₂₅N₃O₅S (479.15): C, 62.61; H, 5.25; N, 8.76; S, 6.69. Found: C, 62.19; H, 5.41; N, 8.21; S, 6.98.

8.6 Syntéza *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(naftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (19)



8.6.1 Príprava 2-bróm-1-(naftalén-2-yl)etanónu (17)



Literatúra:²⁷ (rovnaký substrát, rovnaký reaktant, chloroform, RT, 2.5 h, 82 % výtťažok).

Experimentálny postup: 500 mg (2.94 mmol, 1.00 mol ekv) acetonaftónu **16** sme rozpustili v 5 ml CHCl_3 . Do takto pripravenej zmesi sme za stáleho miešania pri RT pridali 2.5 ml roztoku, ktorý obsahoval 151 μL (469.5 mg, 2.94 mmol, 1.00 mol ekv) Br_2 rozpusteného

²⁷ Kourounakis, A.P.; Matralis, A.N.; Alexios, N.; Nikitakis, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 7402 – 7412.

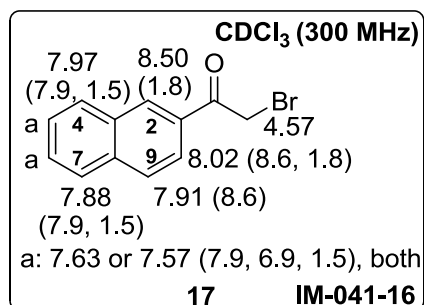
v CHCl_3 . Po krátkom čase sa RZ odfarbila, pričom sa uvoľňoval HBr. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy, ktorá po 1 h potvrdila prítomnosť novej látky, pričom VL nebola úplne zreagovaná. Po 2 h sme pomocou TLC pozorovali len stopové množstvo VL. RZ sme premyli 2 krát 5 ml H_2O a vodnú fázu extrahovali do EA. Spojené organické fázy sme odfarbili a vysušili státím nad $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a Na_2SO_4 , sušidlo sme odfiltrovali, rozpúšťadlo odparili pomocou RVO a produkt získali kryštalizáciou z Et_2O . Po dosušení na HV sme získali 466.6 mg (1.87 mmol, 64 %) bielej kryštalickej látky **17**.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **17** je v literatúre opísaná nasledovnými charakteristikami: M. p.,²⁷ ^1H -NMR,²⁷ ^{13}C -NMR,²⁸ IR,²⁸ HRMS (EI).²⁸

TLC analýza: (SiO_2 , Hex / CHCl_3 (5 / 2), 1 x vyvolané), R_F = 0.45 (UV_{254}).

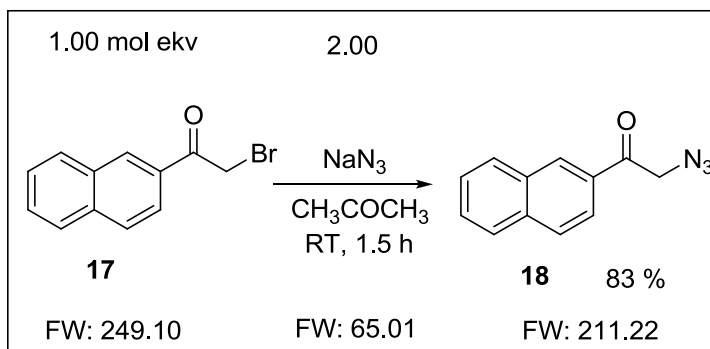
M. p.: 79.5 – 81.5 °C [Et_2O], (lit. 81.0 – 83.0 °C [Et_2O]),²⁷ biela kryštalická látka.

^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3 , IM-041-16.fid): δ 8.50 (d, 1H, $J(2,8) = 1.8$ Hz, H-C(2)), 8.02 (dd, 1H, $J(9,10) = 8.6$ Hz, $J(2,10) = 1.8$ Hz, H-C(10)), 7.97 (dd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(4,6) = 1.5$ Hz H-C(4)), 7.91 (d, 1H, $J(9,10) = 8.6$ Hz, H-C(9)), 7.88 (dd, 1H, $J(6,7) = 7.9$ Hz, $J(4,7) = 1.5$ Hz, H-C(7)), 7.63 and 7.57 (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(4,6) = 6.9$ Hz, $J(4,7) = 1.5$ Hz, H-C(5)) and (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(4,6) = 6.9$ Hz, $J(4,7) = 1.5$ Hz, H-C(6)), 4.57 (s, 2H, CH_2). (Spektrum zhodné s literatúrou, Príloha 10a)



²⁸ Su, Q.; Zhao, Z.J.; Xu, F.; Lou, P.C.; Zhang, K.; Xie, D.X.; Shi, L.; Cai, Q.Y.; Peng, Z.H.; An, D-L. *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 8, 1551 – 1557.

8.6.2 Príprava 2-azido-1-(naftalén-2-yl)etanónu (18)



Literatúra:²⁹ (rovnaký substrát, rovnaký reaktant, acetón, RT, 1 h, 71 % výťažok).

Experimentálny postup: 380.0 mg (1.53 mmol, 1.00 mol ekv) acetonaftónu **17** sme rozpustili v 5 ml acetónu. Do takto pripravenej zmesi sme prisypali 199.0 mg (3.05 mmol, 2.00 mol ekv) NaN₃ a miešali pri RT počas 1.5 h. Reakciu sme sledovali pomocou TLC analýzy, ktorá nám potvrdila prítomnosť novej látky. Do RZ sme následne pridali 10 ml vody a túto extrahovali 3 x 5 ml EA. Spojené organické fázy sme vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo odfiltrovali, zmes zahustili na RVO a prchavé podiely odstránili pomocou HV. Následne sme surový produkt prečistili pomocou FLC, pričom sme získali 265.0 mg (1.25 mmol, 83 %) slabožltej tuhej látky **18**.

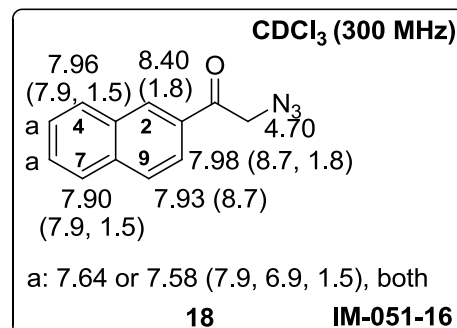
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **18** je v literatúre opísaná nasledovnými charakteristikami: M. p.,²⁹ ¹H-NMR,²⁹ ¹³C-NMR,²⁹ IR,²⁹ MS (ESI).²⁹

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (9 / 1), 1 x vyvolané), R_F = 0.24 (UV₂₅₄).

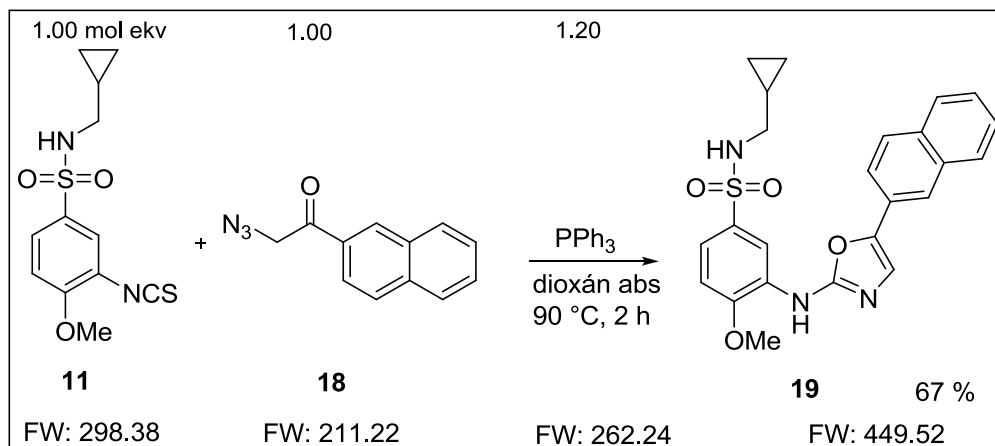
M. p.: 61.0 – 62.5 °C [Hex], (lit. 60.0 – 62.0 °C [Hex]),²⁹ slabožltá tuhá látka.

²⁹ Moumne, R.; Larue, V.; Seijo, B.; Lecourt, T.; Micouin, L.; Tisne, C. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1154 – 1159.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, IM-041-16.fid): δ 8.40 (d, 1H, $J(2,10) = 1.8$ Hz, H-C(2)), 7.98 (dd, 1H, $J(9,10) = 8.7$ Hz, $J(2,10) = 1.8$ Hz, H-C(10)), 7.96 (dd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(4,6) = 1.5$ Hz H-C(4)), 7.93 (d, 1H, $J(9,10) = 8.7$ Hz, H-C(9)), 7.90 (dd, 1H, $J(6,7) = 7.9$ Hz, $J(5,7) = 1.5$ Hz, H-C(7)), 7.64 and 7.58 (ddd, 1H, $J(4,5) = 7.9$ Hz, $J(5,6) = 6.9$ Hz, $J(5,7) = 1.5$ Hz, H-C(5)) and (ddd, 1H, $J(6,7) = 7.9$ Hz, $J(5,6) = 6.9$ Hz, $J(4,6) = 1.5$ Hz, H-C(6)), 4.70 (s, 2H, CH₂). (Spektrum zhodné s literatúrou, Príloha 11a)



8.6.3 Syntéza cieľového naftalénoxazolu 19



Literatúra:²⁶ (substrát: 4-hydroxyfenylizotiokyanát, reaktant: 2-azido-1-(4-metoxifenyl)etanón, dioxán, 80 °C, 1 h, 56 % výtťažok).

Experimentálny postup: V suchej banke sme rozpustili 213.0 mg (0.71 mmol, 1.00 mol ekv) izotiokyanátu **11**, 150.8 mg (0.71 mmol, 1.00 mol ekv) azidu **18** a 224.7 mg (0.86 mmol, 1.20 mol ekv) PPh₃ v 5 ml dioxánu abs. Takto pripravenú reakčnú zmes sme ponorili do predhriateho kúpeľa na 90 °C a nechali miešať 2 h pod Ar. Po tomto čase TLC analýza ukázala prítomnosť novej látky a RZ obsahovala len stopové množstvo východiskových látok. Z reakčnej zmesi sme pomocou RVO odparili dioxán a získali sme tmavožltú olejovitú zmes,

ktorú sme čistili pomocou FLC (SiO₂, eluent Hex / EA (1 / 1)). Po čistení sme izolovali 216.2 mg (0.48 mmol, 67 %) **19** ako svetlooranžovú tuhú látku. ¹H-NMR analýza potvrdila prítomnosť požadovaného sulfónamidu **19**.

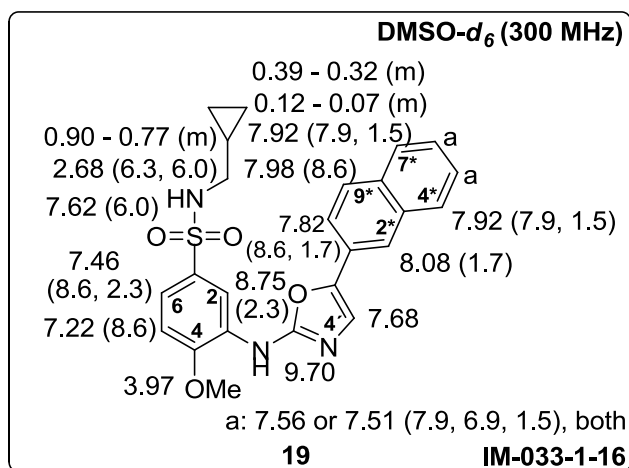
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **19** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (1 / 1), 1 x vyvolané), R_F = 0.28 (UV₂₅₄).

M. p.: 183.0 – 184.5 °C [Hex/EA], svetlooranžová tuhá látka.

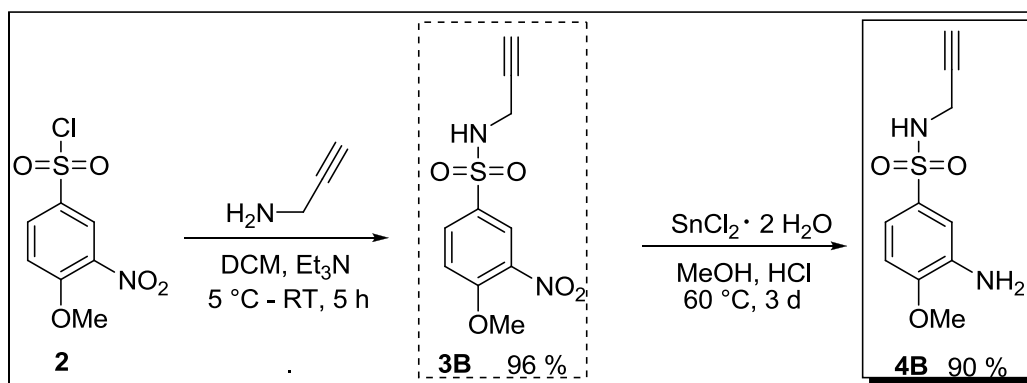
¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆, IM-033-

1-16.fid): δ 9.70 (s, 1H, -NH_(OX)-), 8.75 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(2)), 8.08 (d, 1H, *J*(2*,10*) = 1.7 Hz, H-C(2*)), 7.98 (d, 1H, *J*(9*,10*) = 8.6 Hz, H-C(9*)), 7.92 (2 x dd, 2H, *J*(4*,5*) or *J*(6*,7*) = 7.9 Hz, *J*(4*,6*) or *J*(5*,7*) = 1.5 Hz, H-C(4*) or H-C(7*)), 7.82 (dd, 1H, *J*(9*,10*) = 8.6 Hz, *J*(2*,10*) = 1.7 Hz, H-C(10*)), 7.68

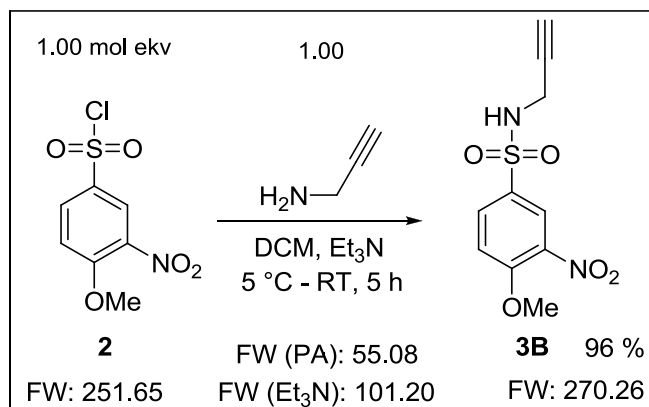


(s, 1H, H-C(4')), 7.62 (t, 1H, *J*(CH₂,NH) = 6.0 Hz, -NHCH₂-), 7.56 and 7.51 (2 x ddd, 2H, *J*(4*,5*) or *J*(6*,7*)) = 7.9 Hz, *J*(5*,6*) = 6.9 Hz, *J*(5*,7*) or *J*(4*,6*) = 1.5 Hz, H-C(5*) or H-C(6*)), 7.46 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.6 Hz, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.22 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.6 Hz, H-C(5)), 3.97 (s, 3H, -PhOCH₃), 2.68 (dd, 2H, *J*(CH,CH₂) = 6.3 Hz, *J*(CH₂,NH) = 6.0 Hz, -NHCH₂-), 0.90 – 0.77 (m, 1H, -CH_(CP)-), 0.39 – 0.32 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}), 0.12 – 0.07 (m, 2H, 2 x CH_{A(CP)} or 2 x CH_{B(CP)}). (Príloha 12a)

8.7 Príprava 3-amíno-4-metoxy-N-(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (4B)



8.7.1 Príprava 4-metoxy-3-nitro-N-(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (3B)



Literatúra:³⁰ (substrát – 4-metoxybenzén-1-sulfonyl chlorid, rovnaký reaktant – propargylamín, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$ až RT, 10 h, 98 % výťažok).

Experimentálny postup: 3.00 g (11.92 mmol, 1.00 mol ekv) sulfonylchloridu 2 sme rozpustili v 20 ml DCM. K roztoku sme za chladenia ($5\text{ }^\circ\text{C}$) po kvapkách počas 15 min. pridávali 0.76 mL (656.55 mg, 11.92 mmol, 1.00 mol ekv) propargylamínu a následne 2.50 mL (1.81g, 17.88mmol, 1.50 mol ekv) Et_3N . Reakčnú zmes sme vybrali z chladiaceho kúpeľa a miešali počas 5 h pri RT. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po

³⁰ Peng, H.M.; Zhao, J.; Li, X. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 1371 – 1377.

prebehnutí reakcie sme do zmesi pridali 25 mL nasýteného roztoku NaHCO₃. Po neutralizácii do bázického pH (8-10) sme DCM fázu oddelili a vodnú vrstvu extrahovali EA (3 x 15mL). Spojené organické fázy sme vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili na RVO. Po dosušení pomocou HV sme získali 3.09 g (11.43 mmol, 96 %) oranžovej tuhej látky **3B**.

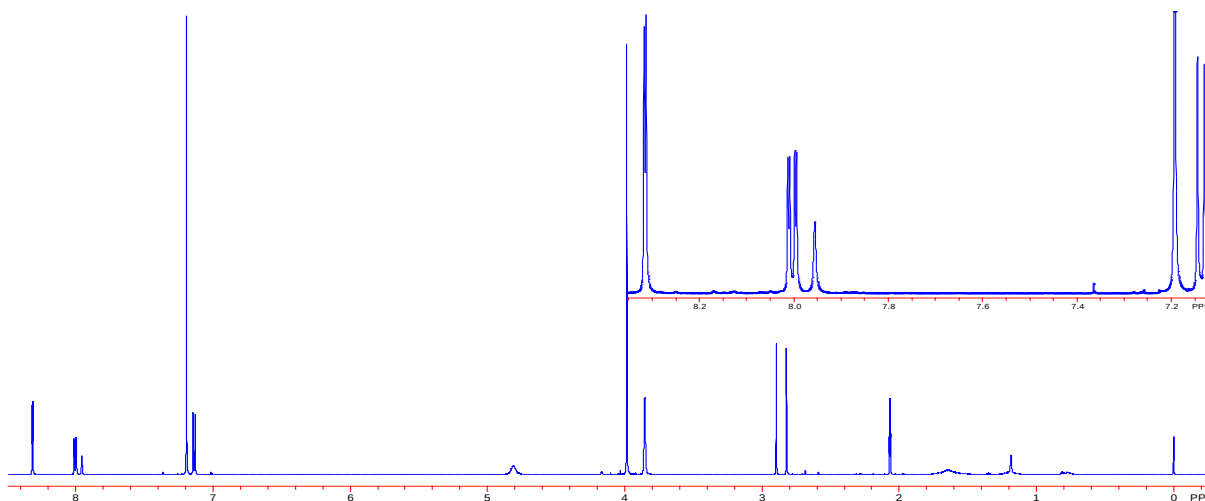
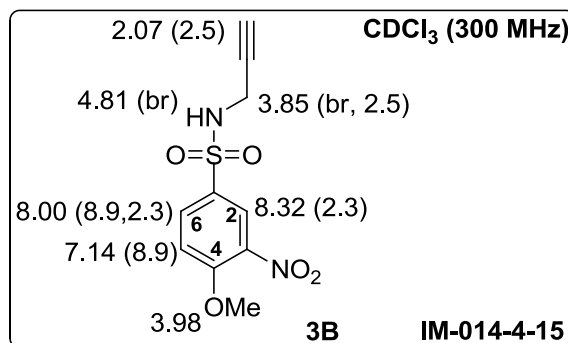
Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **3B** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

TLC analýza: (SiO₂, Hex / EA (2 / 1), 1 x vyvolané), R_F = 0.21 (UV₂₅₄).

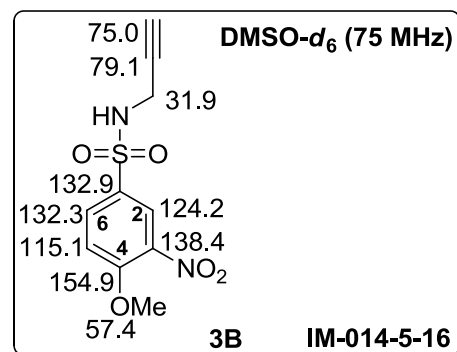
(SiO₂, DCM / MeOH (97/3 %), 1 x vyvolané), R_F = 0.59 (UV₂₅₄).

M. p.: 108.0 – 110.0 °C [EA], oranžová tuhá látka.

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃, IM-014-4-15.fid): δ 8.32 (d, 1H, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(2)), 8.00 (dd, 1H, *J*(5,6) = 8.9 Hz, *J*(2,6) = 2.3 Hz, H-C(6)), 7.14 (d, 1H, *J*(5,6) = 8.9 Hz, H-C(5)), 4.81 (br s, 1H, -NHCH₂-), 3.98 (s, 3H, -OCH₃), 3.85 (br d, 2H, *J*(CH,CH₂) = 2.5 Hz), 2.07 (t, 1H, *J*(CH,CH₂) = 2.5 Hz, -CH₂-C≡CH). (Príloha 13a)



^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , IM-014-5B-16.fid): δ 154.9 (s, C(4)), 138.4 (s, C(3)), 132.9 (s, C(1)), 132.3 (d, C(6)), 124.2 (d, C(2)), 115.1 (d, C(5)), 79.1 (s, $-\text{C}\equiv$), 75.0 (d, $\equiv\text{CH}$). 57.4 (q, $-\text{OCH}_3$), 31.9 (t, $-\text{NHCH}_2-$). (Príloha 13b)

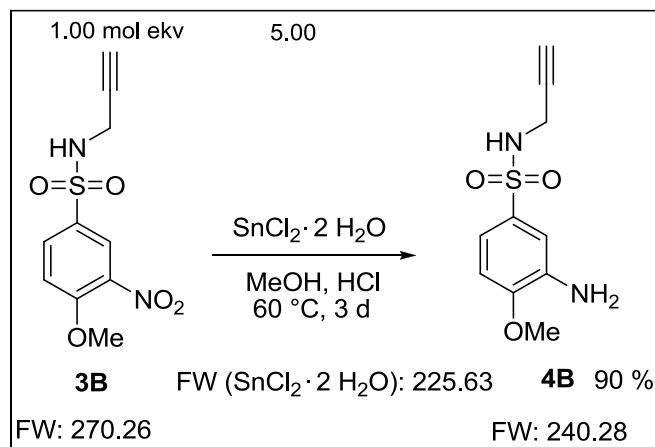


FT IR (solid, cm^{-1}): 3280 (s, $-\text{SO}_2\text{NH}-$), 1607 (s), 1570 (w), 1530 (s, NO_2 , asym.), 1491 (m), 1459 (w), 1438 (w), 1421 (w), 1348 (s, NO_2 , sym.), 1323 (s), 1285 (s), 1262 (m), 1161 (s, $-\text{PhOCH}_3$), 1113 (m), 1079 (m), 1044 (m), 1006 (s), 894 (s), 828 (s), 806 (m), 762 (w), 727 (w), 700 (m), 656 (m), 623 (w). (Príloha 13c)

MS (ESI-): 269.2 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). (Príloha 13d)

Anal. Calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (270.03): C, 44.44; H, 3.73; N, 10.37; S, 11.86. Found: C, 44.73; H, 3.89; N, 10.65; S, 11.47.

8.7.2 Príprava cieľového Click intermediátu 4B



Literatúra:²² (substrát: 3-amíno-*N*-(metyl)-4-metoxybenzénsulfónamid, reaktant: H₂, Pd/C, EtOH, RT, cez noc, 57 % výťažok).

Experimentálny postup: K 30 ml MeOH sme pridali 500 mg (1.85 mmol, 1.00 mol ekv) nitrosulfónamidu **15**. K tomuto roztoku sme pridali 2.09 g (9.25 mmol, 5.00 mol ekv) SnCl₂ · 2 H₂O a 3.78 ml (4.43 g, 42.55 mmol, 23.00 mol ekv) HCl konc. Reakčnú zmes sme nechali reagovať 3 d pri 60 °C a priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po spotrebovaní východiskovej látky a ochladení sme do RZ pridali 3 ml 5 M NaOH. Po neutralizácii do bázičného pH (8-10) sme anorganickú zrazeninu odfiltrovali, premyli ju EA (10 ml) a vodnú vrstvu sme extrahovali EA (3 x 10 mL). Spojené organické fázy sme premyli nasýteným roztokom NaCl, vysušili státím nad Na₂SO₄, sušidlo sme odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili na RVO. Po vysušení pomocou HV sme získali 400 mg (1.66 mmol, 90 %) produktu **16** vo forme oranžovo hnedej tuhej látky.

Novosť zlúčeniny: Zlúčenina **4B** nie je dosiaľ opísaná v literatúre.

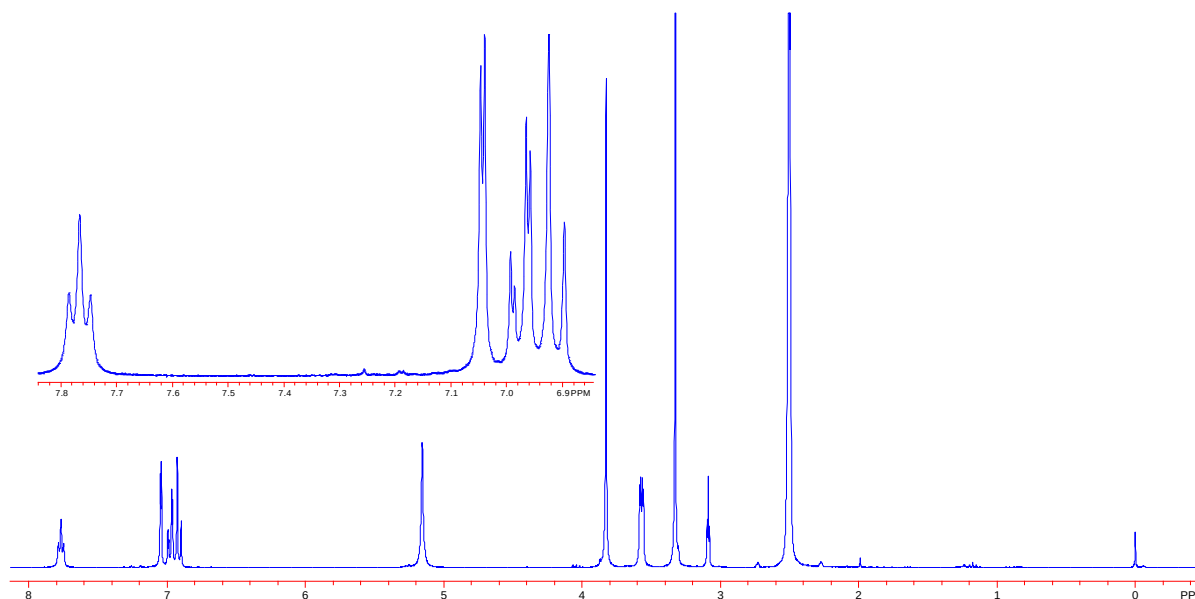
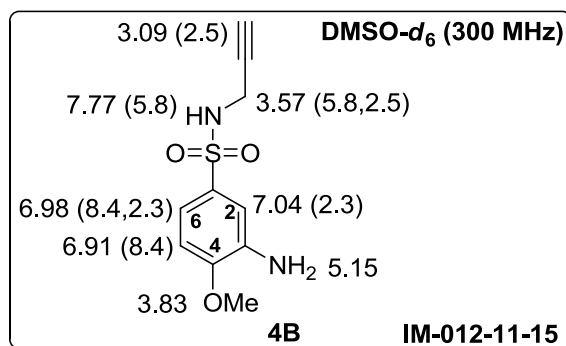
TLC analýza: (SiO₂, DCM / MeOH (97/3 %), 1 x vyvolané), R_F = 0.46 (UV₂₅₄).

M. p.: 96.5 – 98.5 °C [EA], oranžovo hnedá tuhá látka.

^1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6 , IM-012-11-

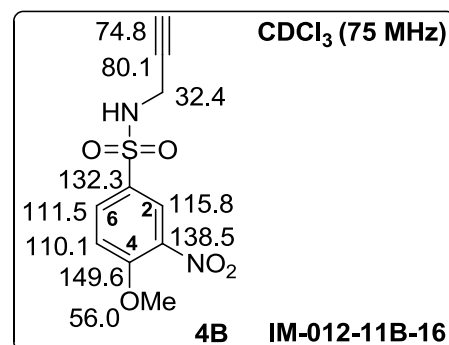
15.fid): δ 7.77 (t, 1H, $J(\text{NH}, \text{CH}_2) = 5.8$ Hz, -NHCH $_2$ -), 7.04 (d, 1H, $J(2,6) = 2.3$ Hz, H-C(2)), 6.98 (dd, 1H, $J(5,6) = 8.4$ Hz, $J(2,6) = 2.3$ Hz, H-C(6)), 6.91 (d, 1H, $J(5,6) = 8.4$ Hz, H-C(5)), 5.15 (s, 2H, -NH $_2$), 3.83 (s, 3H, -OCH $_3$), 3.57 (dd, 2H, $J(\text{NH}, \text{CH}_2) = 5.8$ Hz,

$J(\text{CH}, \text{CH}_2) = 2.5$ Hz, -NH-CH $_2$ -), 3.09 (t, 1H, $J(\text{CH}, \text{CH}_2) = 2.5$ Hz, -CH $_2$ -C $\equiv$ CH). (Príloha 14a)



^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6 , IM-012-11B-16.fid): δ

149.6 (s, C(4)), 138.5 (s, C(3)), 132.3 (s, C(1)), 115.8 (d, C(2)), 111.5 (d, C(6)), 110.1 (d, C(5)), 80.1 (s, -C $\equiv$), 74.8 (d, $\equiv$ CH). 56.0 (q, -OCH $_3$), 32.4 (t, -NHCH $_2$ -) (Príloha 14b)



FT IR (solid, cm^{-1}): 3383 and 3316 (s, $-\text{NH}_2$), 3269 (s, $-\text{SO}_2\text{NH}-$), 3170 (m), 2935 (w), 2121 (w), 1586 (m), 1507 (s), 1461 (w), 1430 (m), 1318 (s), 1274 (s), 1235 (m), 1144 (s, $-\text{OCH}_3$), 1114 (m), 1078 (s), 1023 (m), 924 (m), 877 (m), 841 (m), 809 (s), 761 (m), 728 (w), 717 (m), 662 (s). (Príloha 14c)

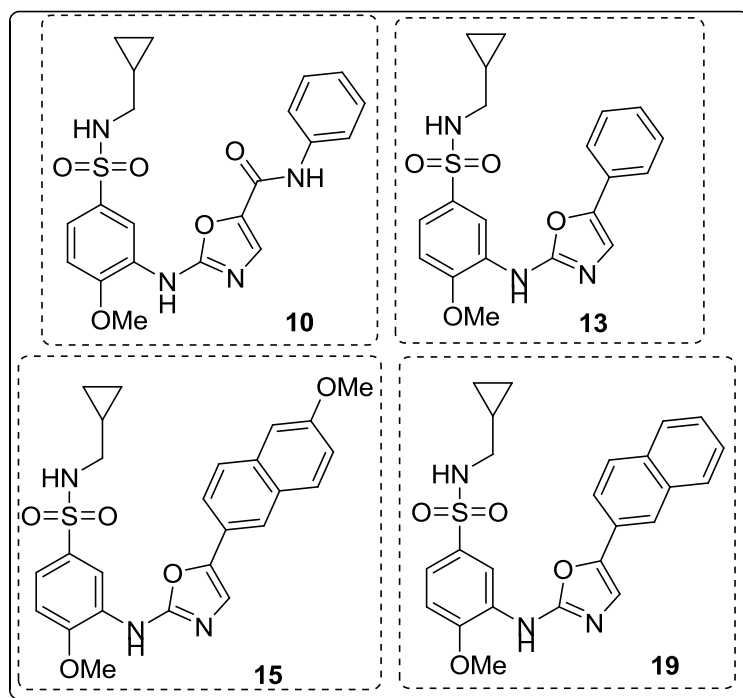
MS (ESI-): 239.3 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). (Príloha 14d)

Anal. Calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (240.06): C, 49.99; H, 5.03; N, 11.66; S, 13.34. Found: C, 50.32; H, 5.02; N, 11.61; S, 13.00.

9 Výsledky a diskusia

Cieľom teoretickej časti bolo spracovanie literatúry týkajúcej sa vlastností a biologickej aktivity vybraných karboxamidových inhibítorov zameraných na liečbu rakoviny, ktoré sú schopné zablockovať VEGF signálne dráhy prostredníctvom interakcie s jeho receptorom (VEGFR2). Zaoberali sme sa taktiež spracovaním konformačných vlastností týchto zlúčenín a samotných kináz, ako aj návrhom nových potenciálnych inhibítorov zameraných na potláčanie tumorovej angiogenézy. Navrhnutých bolo niekoľko derivátov, ktoré sa vďaka prítomnosti objemnej cyklopropylmetylovej skupine nachádzajú vo vynútenej S-konformácii, lebo nie je možné natočenie aromatických substituentov do U-konformácie práve vďaka stérickému bráneniu.

Cieľom experimentálnej práce bolo pripraviť navrhnuté medziprodukty **2**, **3**, **4**, **7**, **8**, **11**, **17**, **18** ako aj predpovedaný, cyklopropylmetylovou skupinou bránený, *N*-arylaminooxazolkarboxamidový inhibítor **10** a *N*-arylaminooxazolové inhibítory **13**, **15** a **19**. Štruktúry pripravených potenciálnych VEGFR2 TK inhibítorov sú zobrazené na Obrázku 13.



Obrázok 13. Štruktúry pripravených zlúčenín **10**, **13**, **15** a **19**.

9.1 Syntéza 3-amíno-*N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxybenzénsulfónamidu (4)

Pri syntéze sulfónamidu **4** sme vychádzali z komerčne dostupného 4-metoxybenzén-1-sulfonyl chloridu (**1**). Pôvodnou myšlienkou bola príprava sulfónamidu **5** z chloridu **1** a jeho následná nitrácia za vzniku sulfónamidu **3**, ktorého redukciou by sme získali sulfónamid **4**. Na overenie reakčných podmienok sme použili dostupnejší metylamín hydrochlorid (modelová reakcia – dávajúca produkt **M2**). Reakciu sme uskutočnili v DMF abs za prítomnosti Et₃N abs. Po prebehnutí reakcie sme do zmesi pridali H₂O a vodnú fázu sme extrahovali EA. Žiadaný produkt **M2** sme získali po odparení rozpúšťadla na RVO a dosušení pomocou HV. Rovnakým spôsobom bol pripravený aj sulfónamid **5** (reakčný čas 2h, Schéma 2).

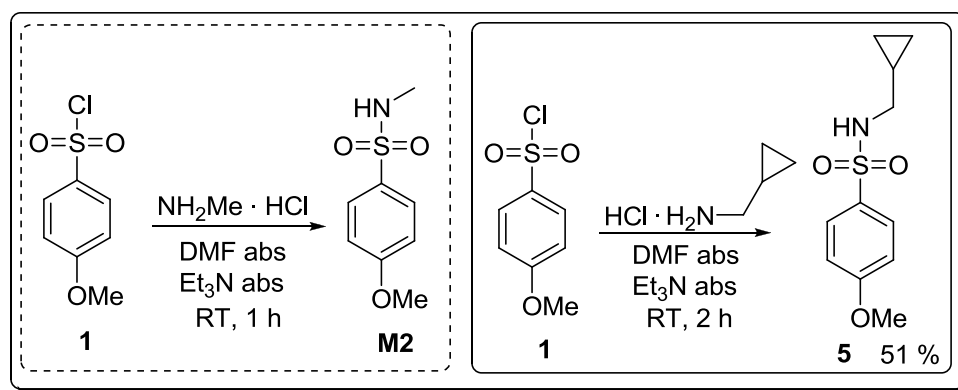


Schéma 2. Príprava sulfónamidov z chloridu **1**.

¹H-NMR spektrum sulfónamidu **5**: IM-003-1-14 (DMSO-*d*₆). (Príloha 15a)

Nitráciu sulfónamidu **M2** sme uskutočnili pôsobením koncentrovanej kyseliny dusičnej. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po spotrebovaní VL sme na platničke pozorovali prítomnosť jedinej novej látky, pričom sme očakávali produkt nitrácie na aromatickom jadre. Spracovanie reakčnej zmesi spočívalo v jej neutralizácii roztokom NaOH, pričom po bázeickej extrakcii sme rozpúšťadlo vysušili, odfiltrovali a odparili pomocou RVO. Po získaní NMR spektra z tejto látky sme boli prekvapení, nakoľko v porovnaní s očakávaným produktom bolo v spektre prítomné iné aromatické štiepenie (iná substitúcia), chýbajúci signál

pre -NH- vodík, vyšší posun metylovej skupiny a jej chýbajúce štiepenie na dublet. Na základe týchto pozorovaní sme navrhli vznik neočakávaného produktu 4-metoxy-*N*-metyl-*N*-nitrobenzénsulfónamidu (**V3**) ($^1\text{H-NMR}$ spektrum sulfónamidu **V3**: IM-002-3-14 (DMSO- d_6), Príloha 16a). (Schéma 3) Dôvodom nitrácie na amidickom dusíku môže byť prítomnosť aktivujúcej (elektrónodonornej) metoxy skupiny v para polohe voči sulfónovej skupine, ktorá môže zvyšovať nukleofilitu dusíka. V tomto prípade teda prebehla nitrácia prednostne na amidickom dusíku a nie na benzénovom jadre. V literatúre sme našli veľmi podobnú reakciu, v ktorej vystupovala metylová skupina namiesto metoxy skupiny (produkt **V3B**).³¹ (Schéma 3)

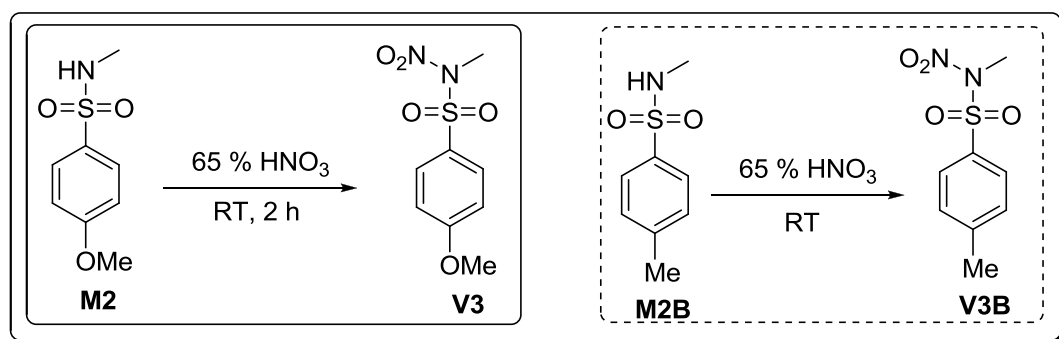


Schéma 3. Príprava *N*-metyl-*N*-nitrobenzénsulfónamidov (reakcia opísaná v literatúre).

Prípravu sulfónamidu **3** sme teda na základe predchádzajúcich poznatkov nerealizovali podľa uvedenej syntetickej cesty. Navrhnutý bol ďalší spôsob prípravy sulfónamidu **4**, kde sme vymenili poradie prvých dvoch krokov, aby sme počas nitrácie nemali prítomnú netolerovanú sulfónamidovú skupinu. Navyše sme zistili, že nitrácia arylsulfonylchloridu je známa reakcia.¹⁹ Druhým krokom mal byť vytvorenie sulfónamidu **3** a jeho redukciou získaný požadovaný sulfónamid **4**.

Prípravu nitro derivátu **2** z chloridu **1** sme uskutočnili podľa postupu uvedeného v literatúre. Teplota v reakčnej zmesi musela byť počas reakcie udržiavaná v rozmedzí 0 až 5 °C. Po extrakcii zmesi Et₂O ukázala TLC analýza prítomnosť 3 látok: východiskovej látky **1**, dinitro derivátu **V2** a žiadaného produktu **2**. Koncentrácie východiskovej látky a neželaného produktu boli natoľko nízke, že už po jednej kryštalizácii (Et₂O / Hex) sme získali čistý produkt – žltý kryštalický chlorid **2** v 83 % výťažku.

³¹ Gillibrand, M.I.; Lamberton, A.H. *J Chem Soc* **1949**, 1883 – 1887.

Pri príprave sulfónamidu **3** sme vychádzali z nami pripraveného chloridu **2** podľa Schémy 4, pričom sme cyklopropylmetylamín ako voľnú bázu a Et₃N pridávali k rozotku VL v DCM po kvapkách za chladenia. Po ich pridaní sme RZ miešali počas 4 h pri RT. Spracovanie RZ spočívalo v neutralizácii do mierne bázického pH (8-9) pomocou nasýteného roztoku NaHCO₃ a následnej extrakcii vodnej fázy. Spojené organické fázy boli vysušené nad Na₂SO₄, sušidlo odfiltrované a rozpúšťadlo odparené na RVO. Dosušením pomocou HV sme získali požadovaný sulfónamid **3** v 88 % výtlačku.

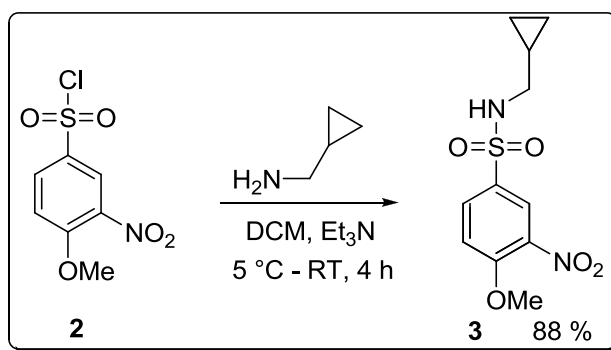


Schéma 4. Príprava sulfónamidu **3**.

Veľmi dôležitým krokom v tejto reakcii je výber správneho reakčného prostredia. Spočiatku sme reakciu uskutočnili v DMF abs, avšak výtlačok reakcie v tomto rozpúšťadle bol nižší v porovnaní s DCM (60 / 88 %, vzťazne). Ak sme ako rozpúšťadlo použili s vodou miešateľný DMF, požadovaný produkt sme získali len v tom prípade, že bol dostatočne vysušený. Aj nízky obsah vody v ňom dokázal posunúť reakciu v prospech hydrolýzy sulfonyl chloridu **2** na jemu zodpovedajúcu kyselinu 4-metoxy-3-nitrobenzénsulfónovú (**3K**, ¹H-NMR: IM-034-1-16, DMSO-*d*₆). Preto sme neskôr používali DCM ako rozpúšťadlo. (Schéma 5)

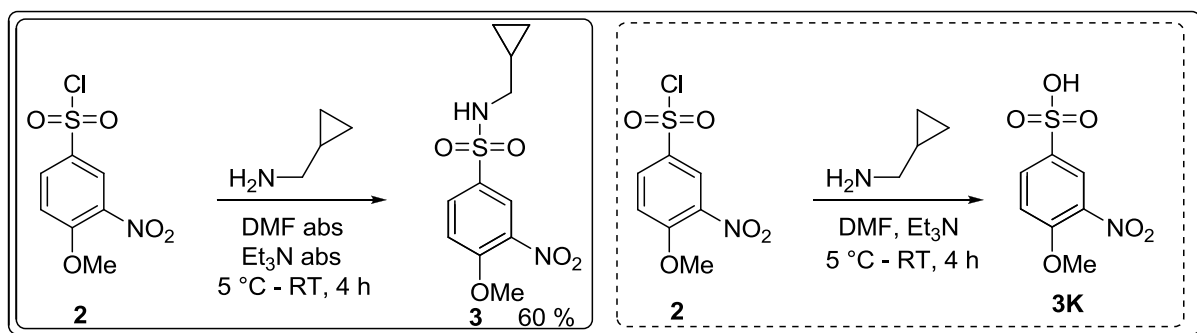


Schéma 5. Vplyv reakčných podmienok na priebeh reakcie.

Posledným krokom syntézy anilínu **4** bola redukcia pripraveného nitrosulfónamidu **3**. Reakciu sme uskutočnili pôsobením rôznych činidiel v metanole. Priebeh reakcií sme sledovali pomocou TLC analýzy. Jedným zo spôsobov redukcie nitro skupiny na aromatickom systéme bola redukcia hydrazínom v prítomnosti hydrogenačného katalyzátora (Pd / C). Reakčnú zmes sme nechali reagovať počas rôznych reakčných časov (1 h, 24 h, 48 h) a pri rôznych teplotách (25 °C, 60 °C), avšak v každom prípade sme na TLC pozorovali prítomnosť východiskovej látky. Alternatívnym spôsobom redukcie bola redukcia plynným vodíkom v prítomnosti Pd / C, avšak aj v tomto prípade sme na platničke pozorovali len VL. Úspech priniesla redukcia NO₂ skupiny pomocou SnCl₂ · 2H₂O. (Schéma 6) Reakciu sme uskutočnili tak, že k roztoku VL v metanole sme pridali reakčné činidlá v nadbytku a RZ nechali reagovať 2 d pri 60 °C. Po spotrebovaní VL sme RZ ochladili a pridali 5 M NaOH (pH = 8-10). Po neutralizácii nasledovala extrakcia EA, pričom po jeho odparení sme tritiráciou z hexolu získali produkt **4** ako ružovo hnedú tuhú látku v 98 % výťažku. Podľa horeuvedeného sme sa spočiatku domnievali, že žiadna zo spomínaných metód nevedie k jeho vzniku. Problémom však neboli činidlá ako také, ale spôsob identifikácie produktu na TLC platničke. Použitím bežnej elučnej zmesi (EA/Hex : 1/1, vrátane iných pomerov) nebolo možné tieto látky odlíšiť (R_F = 0.50). Produkt bol jednoznačne rozlíšiteľný (R_F = 0.59) od VL (R_F = 0.69) až v kvalitatívne odlišnej elučnej zmesi DCM / MeOH (97 / 3), ktorú sme vyskúšali až pri poslednom spôsobe redukcie.

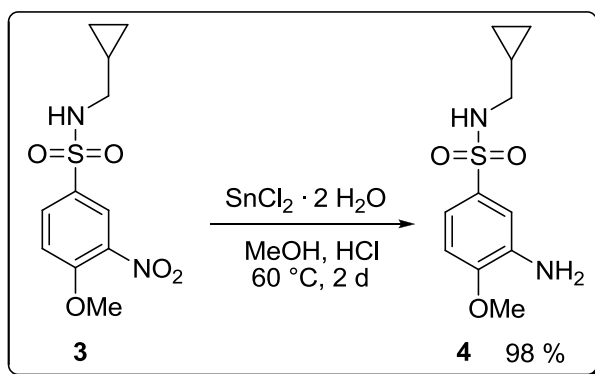


Schéma 6. Redukcia sulfónamidu **3** za vzniku požadovaného anilínu **4**.

9.2 Syntéza 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-*N*-fenyloxazol-5-karboxamidu (10)

Syntéza karboxamidu **10** pozostávala z troch krokov. Vychádzali sme z nami pripraveného anilínu **4**, ktorý reagoval s chlórloxazolom **6** za vzniku esteru **7**. Z neho sme bázičkou hydrolyzou získali kyselinu **8**, ktorá reagovala s anilínom poskytujúc karboxamid **10**.

V prvom kroku sme vychádzali z nami pripraveného anilínu **4**. Do jeho roztoku v *i*PrOH abs sme pod inertným prostredím (Ar) pridávali roztok chlórloxazolu **6** (syntéza jeho analógu bola vyvinutá v rámci našej výskumnej skupiny)³² v *i*PrOH abs. (Schéma 7) Rozpúšťadlo musí byť dostatočne vysušené z dôvodu možnej hydrolyzy a následného rozkladu chlórloxazolu **6**. Reakciu sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po prvých dvoch dňoch boli v zmesi prítomné obe VL. Po štyroch dňoch sme nepozorovali prítomnosť východiskového anilínu, avšak boli prítomné stopy chlórloxazolu **6**. Po výraznom zakalení RZ sme pri spracovaní reakcie použili nasýtený roztok NaHCO₃ na uvoľnenie vzniknutej soli, pričom sme následne vodnú fázu extrahovali EA. Po odparení rozpúšťadla a dosušení pomocou HV sme získali produkt **7** v 40 % výťažku.

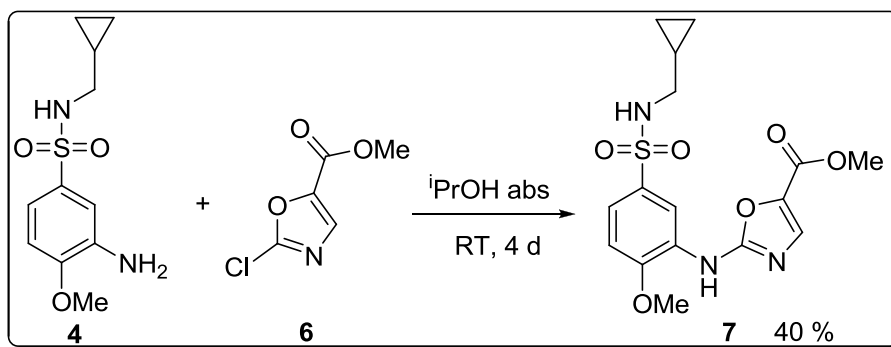


Schéma 7. Príprava karboxylátu **7**.

Ďalším krokom bola príprava kyseliny **8**. Ester **7** bol rozpustený v zmesi THF / H₂O (3 / 2) a k roztoku bol následne pridaný 3 molárny nadbytok hydroxidu lítneho. Reakciu sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po prebehnutí reakcie (5 h) sme do zmesi pridali HCl konc. a H₂O. Túto zmes sme extrahovali EA, pričom po vysušení, odfiltrovaní a odparení sme po

³² Kušnierová - Kováčiková, L. *Dizertačná práca*, Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta, Bratislava **2010**, 110 – 112.

dosušení na HV získali kyselinu **8** vo forme slabo žltej kryštalickej látky v 87 % výťažku. (Schéma 8). Pri bázeickej hydrolyze vzniká pri reakcii hydroxidu s esterom **7** v prvom kroku lítina soľ kyseliny, pričom po okyslení vzniká samotná karboxylová kyselina (**8**).

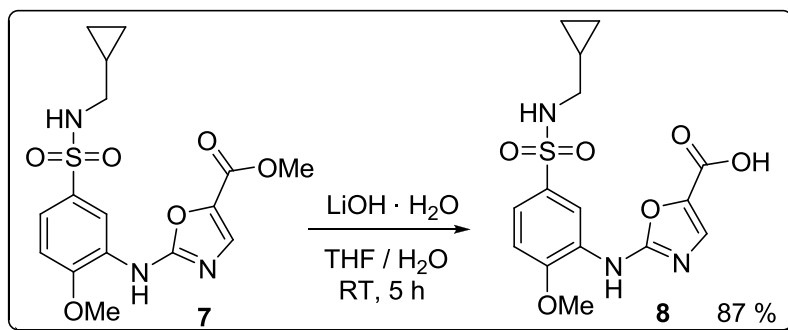


Schéma 8. Hydrolyza karboxylátu **7** za vzniku kyseliny **8**.

Posledným krokom v tejto syntéze bola príprava finálneho stéricky bráneného karboxamidu **10**, pričom po rozpustení východiskovej kyseliny **8** sme do roztoku pridali EDC, HOBT a komerčne dostupný anilín **9**. EDC sme použili ako aktivačné činidlo kyseliny **8**. HOBT následne reaguje s aduktom EDC a kyseliny **8**, pričom vytvára aktivovaný ester, ktorý reaguje s prítomným anilínom (**9**). Reakcia vytvorenia amidovej väzby prebiehala pri RT. (Schéma 9). Podmienky reakcie boli prebraté zo syntézy uskutočnenej na pyrimidínovom deriváte.³³ Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy, pričom po prebehnutí reakcie sme do zmesi pridali H₂O, a zmes sme extrahovali s EA. Po odparení rozpúšťadla a triturácii v Hexole sme získali karboxamid **10** vo forme svetlooranžovej kryštalickej látky v 54 % výťažku.

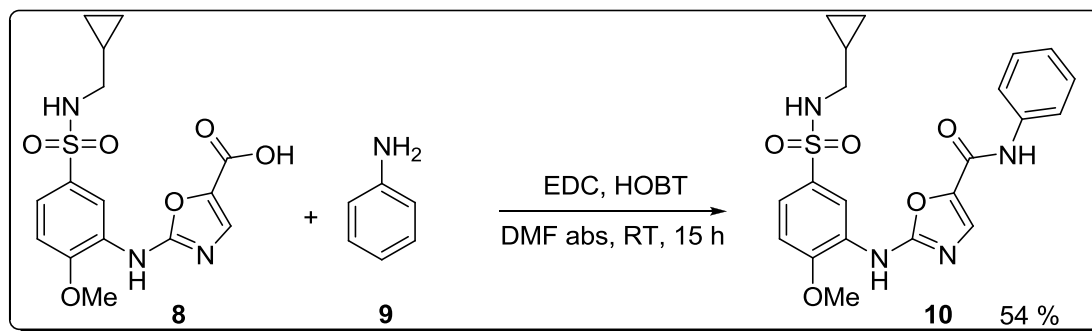


Schéma 9. Reakcia kyseliny **8** a anilínu (**9**) za vzniku karboxamidu **10**.

³³ Ribar, P. Mgr. *Diplomová práca*, Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta, Bratislava **2013**, 54 – 64.

Na Schéme 10 je zobrazený predpokladaný mechanizmus vzniku karboxamidu **10**.

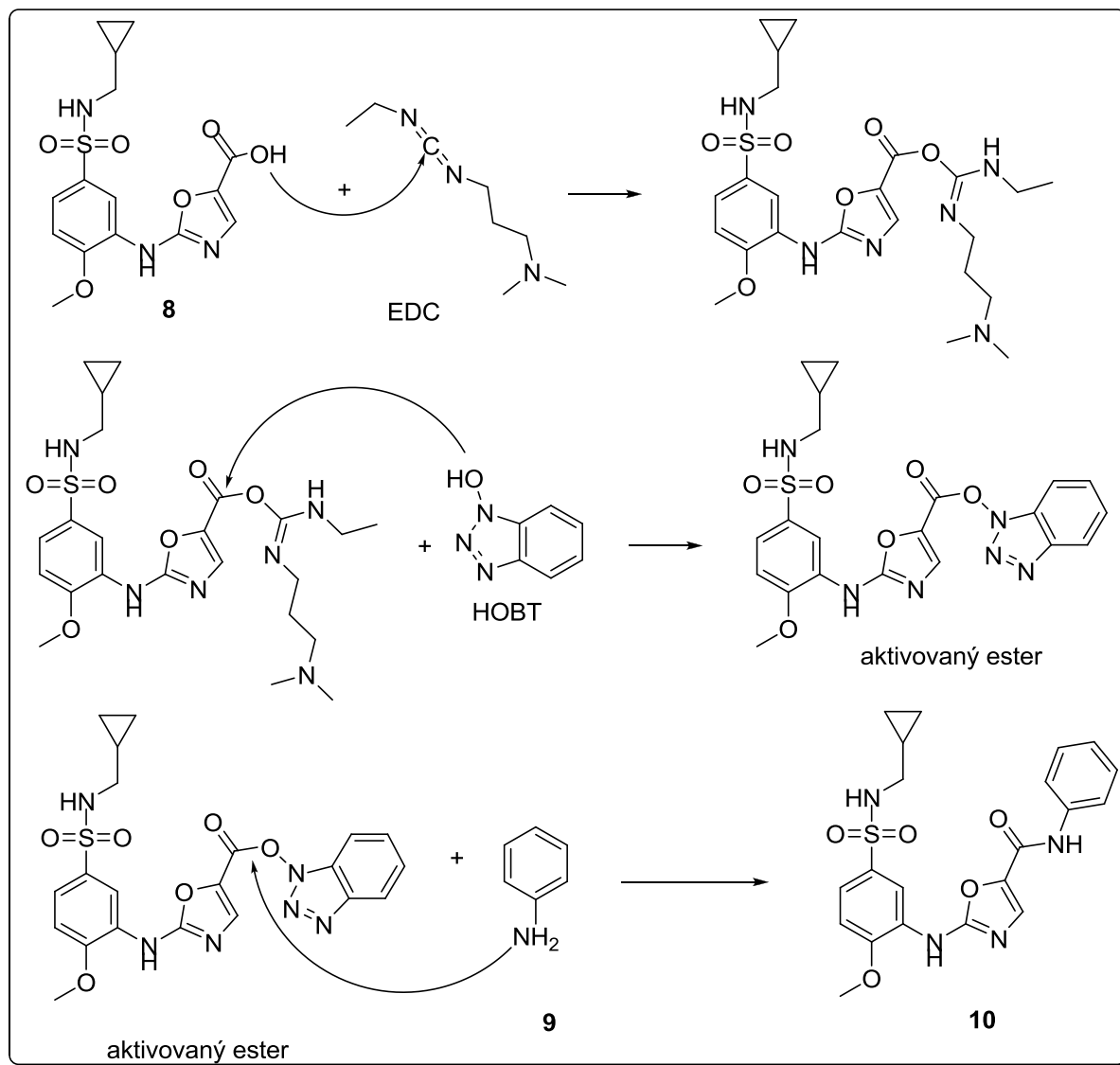


Schéma 10. Predpokladaný mechanizmus vzniku karboxamidu **10**.

9.3 Syntéza *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-fenyloxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (**13**)

Syntéza sulfónamidu **13** pozostávala z dvoch krokov, pričom sme vychádzali z nami pripraveného anilínu **4**, z ktorého bol v prvom kroku pripravený izotiokyanát **11**. Ten ďalej reagoval s azidom **12** (pripravený v rámci našej výskumnej skupiny) za vzniku požadovaného produktu **13**.

V prvom kroku sme anilín **4** rozpustili v DCM a pridali nasýtený roztok NaHCO₃, pričom sme teplotu RZ udržiavali po celý čas pri 0 °C. Za intenzívneho miešania sme prikvapávali CSCI₂ počas 30 min. Po jeho prikvapkaní sme RZ ohriali na RT. Reakcia bola sledovaná pomocou TLC analýzy. Po prebehnutí reakcie (1.5 h) sme vodnú vrstvu extrahovali DCM. Po vysušení organickej fázy, odparení prchavých podielov na RVO a dosušení pomocou HV sme získali slabo oranžový izotiokyanát **11** v 94 % výťažku. (Schéma 11)

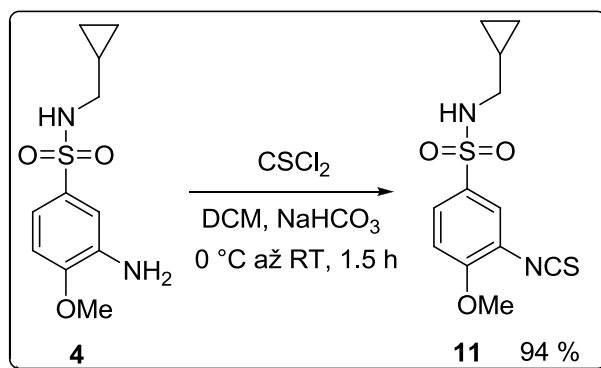


Schéma 11. Príprava izotiokyanátu **11** z anilínu **4** pôsobením CSCI₂.

V druhom kroku sme vychádzali z nami pripraveného izotiokyanátu **11**, ktorý reagoval s azidom **12** (pripraveným v rámci našej výskumnej skupiny) za vzniku sulfónamidu **13**. VL spolu s PPh₃ sme rozpustili v dioxáne abs. Takto pripravenú zmes sme miešali v 95 °C olejovom kúpeli počas 13 h pod Ar atmosférou. Po tomto čase ukázala TLC analýza prítomnosť viacerých škvn. Po odparení dioxánu sme získali tmavohnedú olejovitú látku, ktorú sme čistili pomocou FLC. Po izolácii sme získali sulfónamid **13** vo forme svetlo béžovej tuhej látky v 77 % výťažku. (Schéma 12)

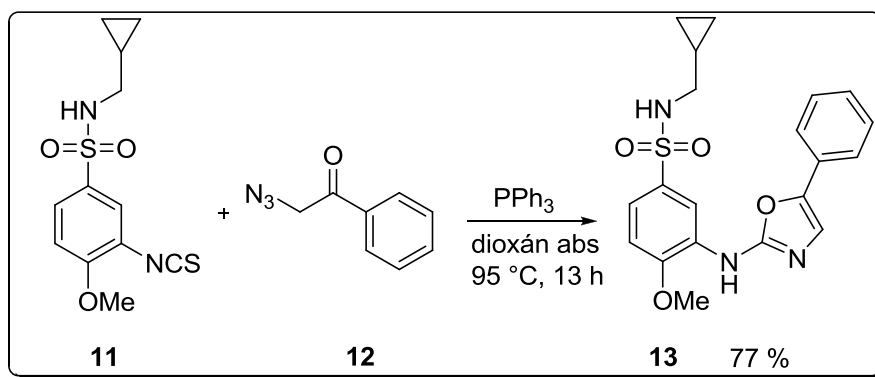


Schéma 12. Príprava sulfónamidu **13** z izotiokyanátu **12**.

Na Schéme 13 je navrhnutý predpokladaný mechanizmus tvorby oxazolu, kde PPh_3 reaguje s α -azidoacetofenónom **12** za vytvorenia azaylidu. Tento atakuje izotiokyanát **11** a vytvára karbodiimid. Rýchlosť vytvorenia oxazolového jadra je založená na schopnosti vytvoriť enolový intermediát, ktorý vedie k požadovanému produktu.³⁴

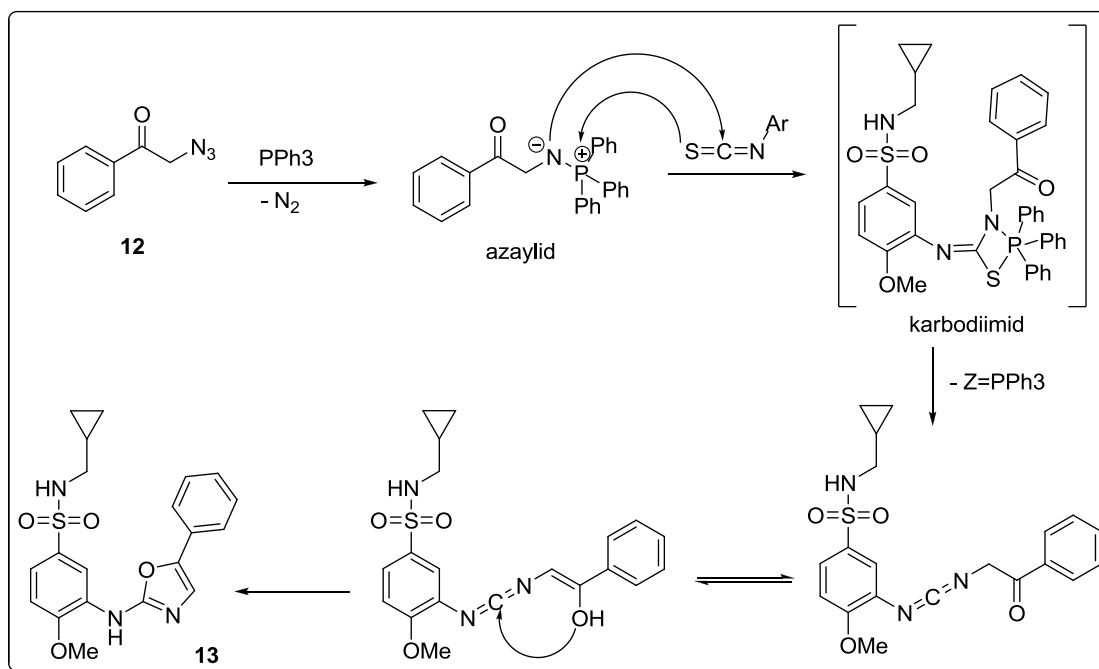


Schéma 13. Predpokladaný mechanizmus vzniku sulfónamidu **13**.

³⁴ Lintnerová, L.; Kováčiková, L.; Hanquet, G.; Boháč, A. *J. Heterocyclic Chem* **2015**, 52, 426 – 427.

9.4 Syntéza *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(6-metoxynaftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (15)

Pri syntéze sulfónamidu **15** sme vychádzali z izotiokyanátu **11**, ktorý reagoval s α -azidonaftónom **14** (pripraveným v rámci našej výskumnej skupiny) rovnakým spôsobom ako je znázornené na Schéme 12, pričom sme VL nechali reagovať počas 5 h pri 95 °C. (Schéma 14) Spracovanie reakcie sme uskutočnili totožným spôsobom ako u sulfónamidu **13**. Po prečistení pomocou FLC sme získali sulfónamid **15** vo forme svetlo oranžovej tuhej látky v 44 % výťažku.

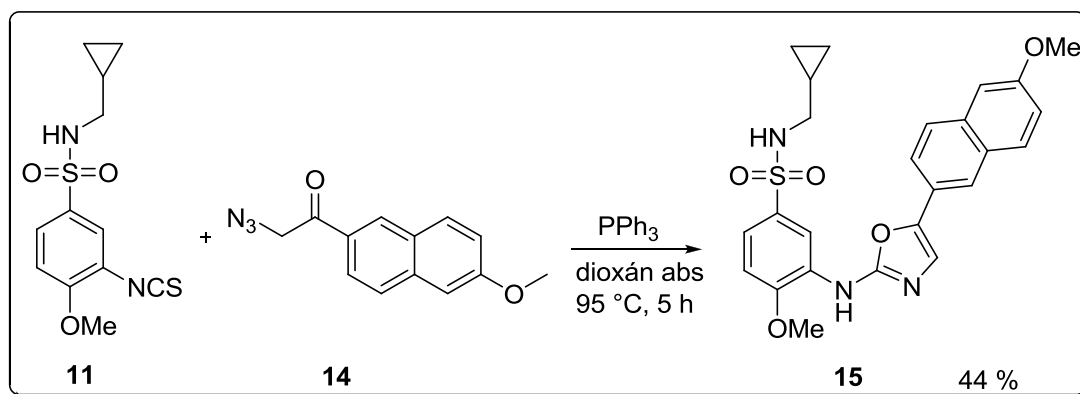


Schéma 14. Syntéza sulfónamidu **15**.

9.5 Syntéza *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(naftalén-2-yl)oxazol-2-ylamíno)benzénsulfónamidu (19)

Syntéza posledného predpovedaného VEGFR2 TK inhibítora pozostávala z troch krokov. (Schéma 15)

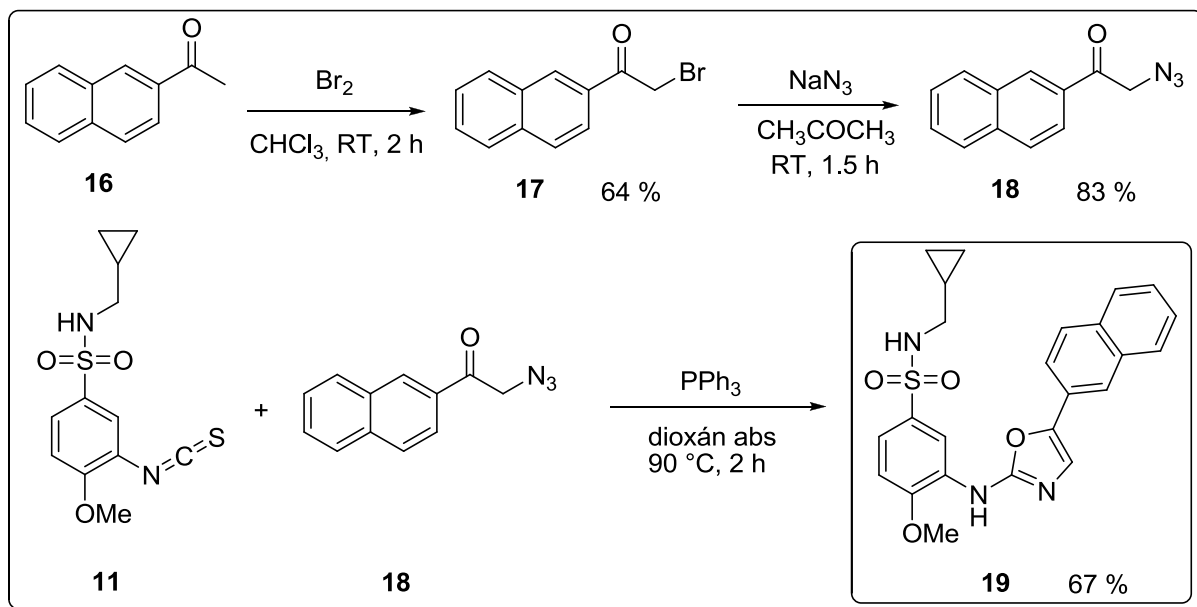


Schéma 15. Príprava acetonaftónu **17**, azidonaftónu **18** a samotná syntéza sulfónamidu **19**.

V prvom kroku sme vychádzali z α -acetonaftónu **16**, ktorý sme rozpustili v CHCl_3 a do takto pripravenej zmesi sme pri RT pridávali roztok Br_2 v CHCl_3 . Po krátkom čase sa RZ odfarbila, pričom sa uvoľňoval HBr . Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po 2 hodinách sme pozorovali prítomnosť novej látky a stopové množstvo VL. Po premytí RZ vodou sme organickú fázu vysušili, odfiltrovali a rozpúšťadlo odparili pomocou RVO. Acetonaftón **17** sme získali v 64 % výťažku po kryštalizácii z Et_2O vo forme bielej kryštalickej látky.

Ďalšou reakciou v poslednej syntéze bola príprava azidonaftónu **18** z acetonaftónu **17**, ktorý sme rozpustili v acetóne a do takto pripravenej zmesi sme pridali NaN_3 . TLC analýza po 1.5 h potvrdila prítomnosť novej látky. Po prebehnutí reakcie sme do RZ pridali vodu a extrahovali ju EA. Po vysušení a odfiltrovaní rozpúšťadla sme zmes zahustili na RVO

a prchavé podiely odstránili pomocou HV. Po prečistení surového produktu pomocou FLC sme získali azidonaftón **18** ako slabožltú tuhú látku v 83 % výťažku.

Posledný krok syntézy sme uskutočnili rovnakým spôsobom ako je uvedené na Schéme 14, pričom v tomto prípade reagoval izotiokyanát **11** s nami pripraveným azidonaftóm **18** v dioxáne abs po dobu 2 h pri 90 °C. Po spracovaní RZ a prečistení produktu pomocou FLC sme získali oxazolsulfónamid **19** ako svetlooranžovú tuhú látku v 67 % výťažku. VL sme nechali reagovať len počas 2 h pri 90 °C na porovnanie výťažku s predchádzajúcim produktom **15**, čo mohlo mať pozitívny vplyv na výťažok reakcie, pričom reakčný čas bol skráteneý na polovicu.

9.6 Príprava 3-amíno-4-metoxy-*N*-(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (**4B**)

V záujme našej výskumnej skupiny bol pripravený sulfónamid **4B** ako VL využiteľná v tvorbe organických makrocýklov použitím „Click“ chémie, ktorého príprava pozostávala z dvoch krokov. Prvým krokom bola reakcia chloridu **2** s propargylamínom za vzniku sulfónamidu **3B**, z ktorého sme v druhom kroku redukciou získali požadovaný produkt. (Schéma 16)

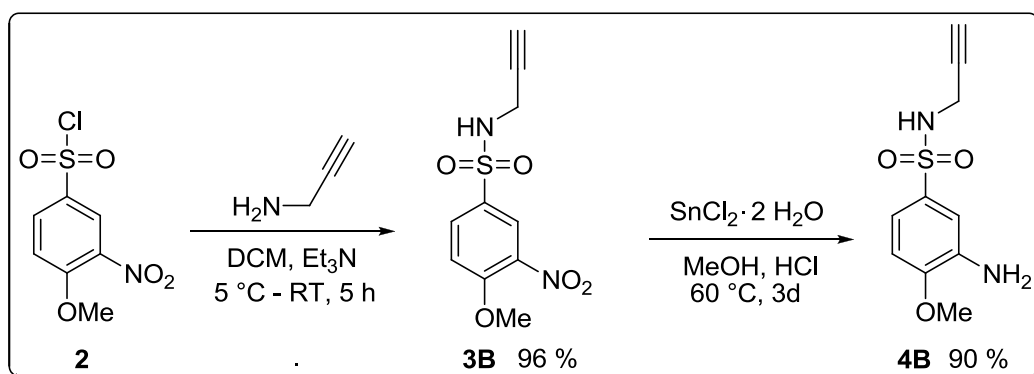


Schéma 16. Príprava sulfónamidu **3B** a jeho následná redukcia na sulfónamid **4B**.

Pri príprave sulfónamidu **3B** sme vychádzali z nami pripraveného chloridu **2** ako je uvedené vyššie, pričom sme propargylamín ako voľnú bázu a Et_3N pridávali k rozotku VL v DCM po kvapkách za chladenia. Po ich pridaní sme RZ miešali počas 5 h pri RT. Priebeh reakcie sme sledovali pomocou TLC analýzy. Po prebehnutí reakcie bola RZ

spracovaná neutralizáciou do mierne bázičného pH (8-10) pomocou nasýteného roztoku NaHCO_3 a následnou extrakciou s EA. Po vysušení organickej fázy bolo sušidlo odfiltrované a rozpúšťadlo odparené pomocou RVO. Dosušením na HV sme získali požadovaný sulfónamid **3B** ako oranžovú tuhú látku v 96 % výťažku.

Redukciou sulfónamidu **3B** pôsobením dihydrátu chloridu cínateho v kyslom prostredí sme pripravili požadovaný produkt **4B**. Reakcia prebiehala pri 60 °C počas 3 d. Po spotrebovaní VL bola RZ ochladená a zneutralizovaná (pH = 8-10). Po odfiltrovaní ciničitej zrazeniny sme vodnú vrstvu extrahovali EA, pričom po vysušení a odfiltrovaní sušidla sme ho odparili pomocou RVO. Sulfónamid **4B** sme získali po vysušení na HV ako oranžovo hnedú tuhú látku v 90 % výťažku.

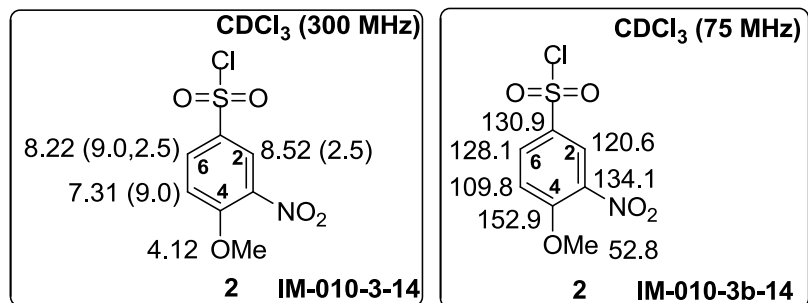
10 Záver

V rámci diplomovej práce sme sa v teoretickej časti oboznámili so známymi liečivami používanými v súčasnosti ako inhibítory VEGFR2 TK receptoru. Významnú úlohu v účinnosti nových inhibítorov zohráva aj ich samotná konformácia, preto bolo navrhnutých niekoľko derivátov s vynútenou štruktúrnou konformáciou pomocou objemnej cyklopropylmetylovej skupiny.

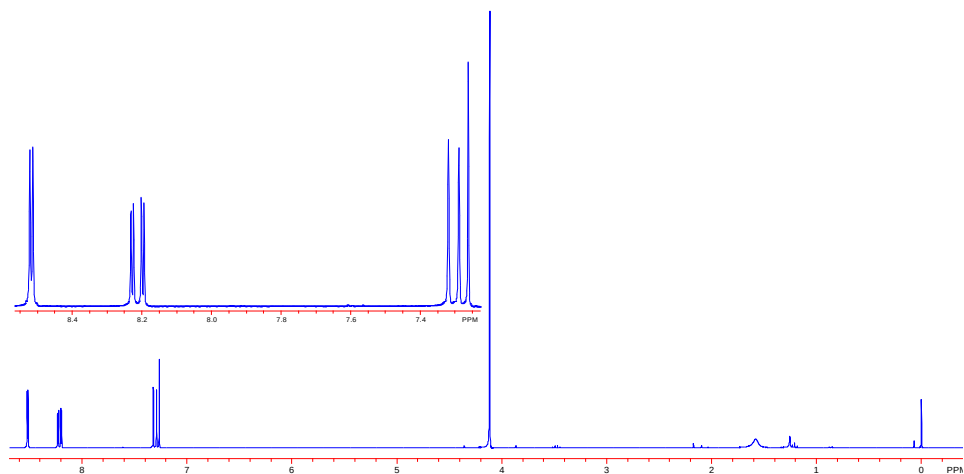
V experimentálnej časti sme navrhli a zrealizovali syntézu štyroch predpovedaných *N*-arylaminooxazolových (**10**, **13**, **15** a **19**) VEGFR2 TK inhibítorov. V syntéze stéricky bráneného karboxamidového derivátu **10** boli úspešne pripravené prekursorily sulfonyl chlorid **2**, sulfónamid **3**, anilín **4**, ester **7** a kyselina **8**. V syntéze stéricky bránených oxazolových derivátov **13**, **15** a **19** boli úspešne pripravené nasledovné prekursorily: izotiokyanát **11**, α -brómacetonaftón **17** a α -azidoacetonaftón **18**. Všetky štyri navrhnuté predpovedané inhibítory **10**, **13**, **15** a **19** boli tiež úspešne pripravené a úplne spektrálne charakterizované, podobne, ako aj dosiaľ v literatúre neopísané medziprodukty. Pripravené deriváty budú v dohľadnej dobe podrobené biologickým testom a budú zistené ich IC₅₀ hodnoty voči cieľovej VEGFR2 kináze. Bolo pripravených a charakterizovaných 11 dosiaľ v literatúre neopísaných látok z celkového počtu 17 syntetizovaných zlúčenín. Nad rámec zamerania DP sme pripravili aj propargylový arylsulfónamid **4B**, ktorý bude využitý v ďalšom projekte “makrocyclické inhibítory” prebiehajúcim v rámci našej výskumnej skupiny.

11 Prílohy

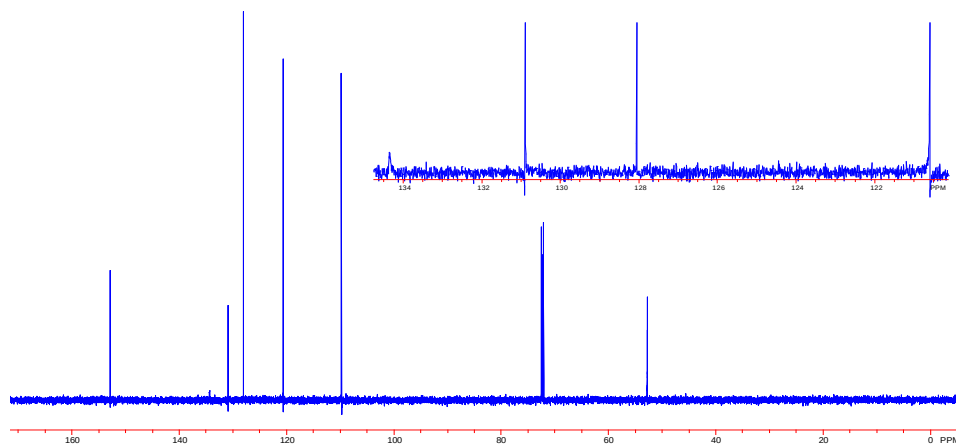
11.1 4-metoxy-3-nitrobenzén-1-sulfonyl chlorid (2)



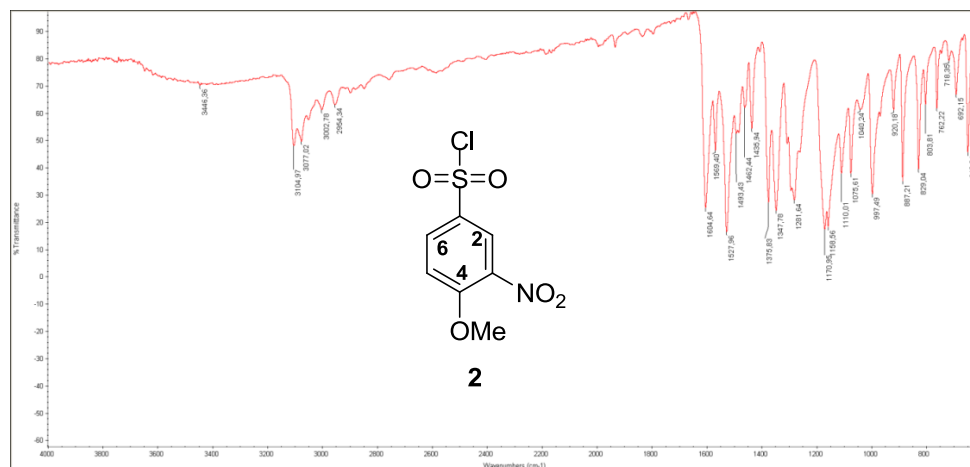
Príloha 1: Spektrálne abstrakty ^1H - a ^{13}C -NMR spektier zlúčeniny 2.



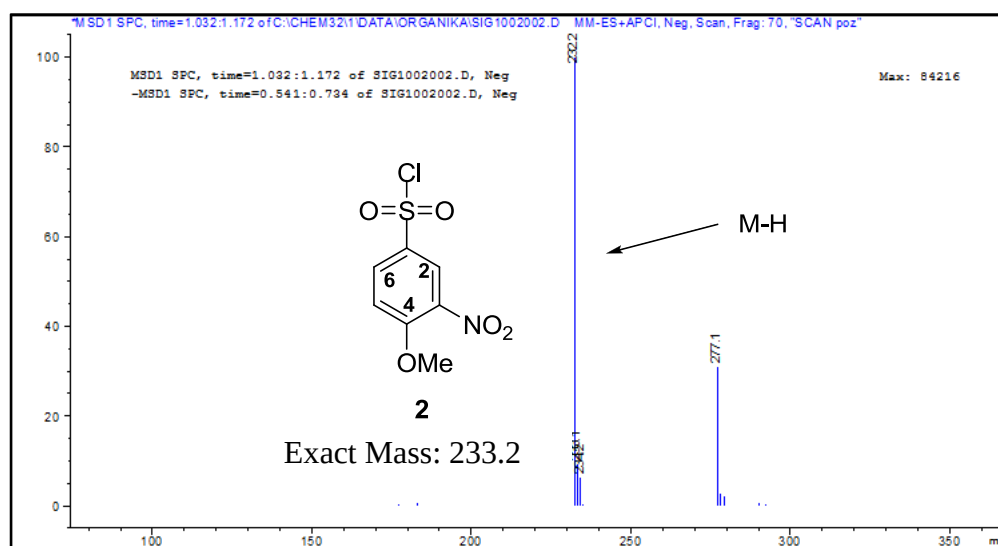
Príloha 1a: ^1H -NMR (300 MHz, CDCl_3) spektrum zlúčeniny 2.



Príloha 1b: ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) spektrum zlúčeniny 2.

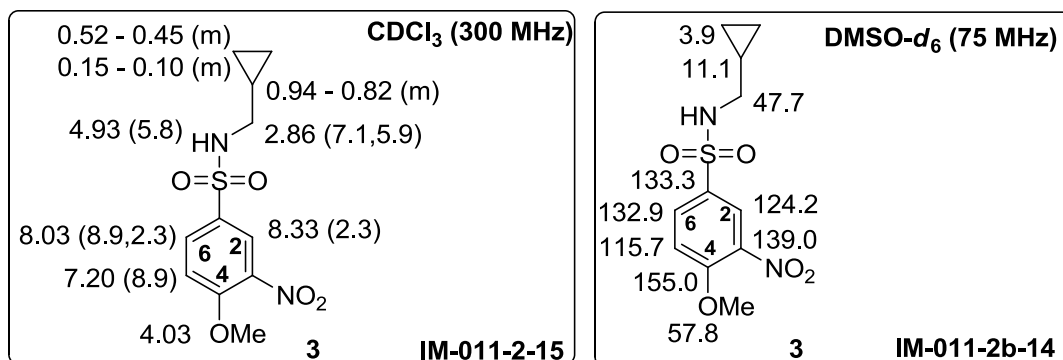


Príloha 1c: IČ spektrum (neat, ν cm⁻¹) zlúčeniny 2.

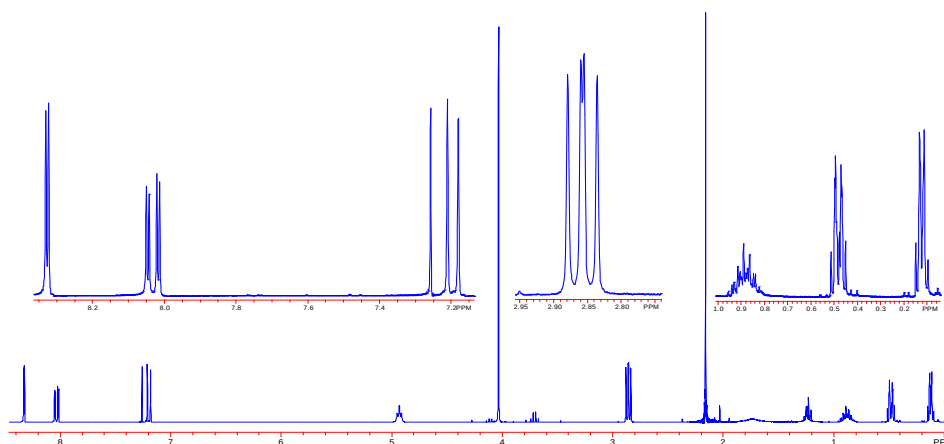


Príloha 1d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny 2 (po hydrolyze).

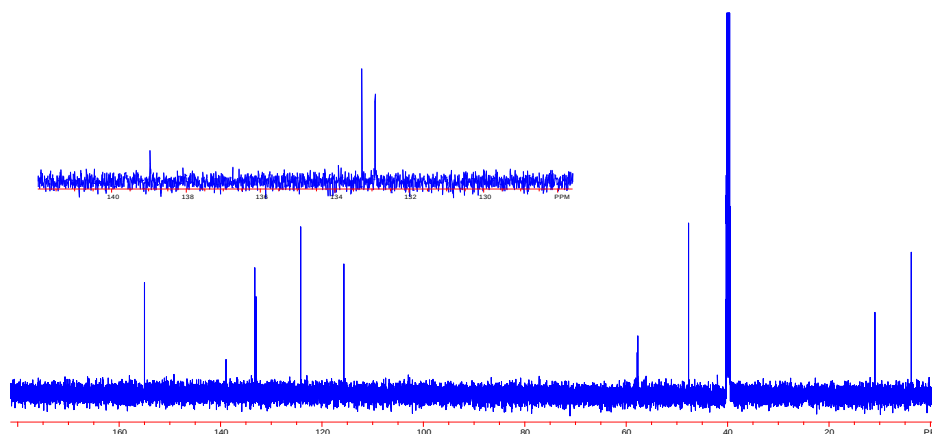
11.2 *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-nitrobenzénsulfónamid (3)



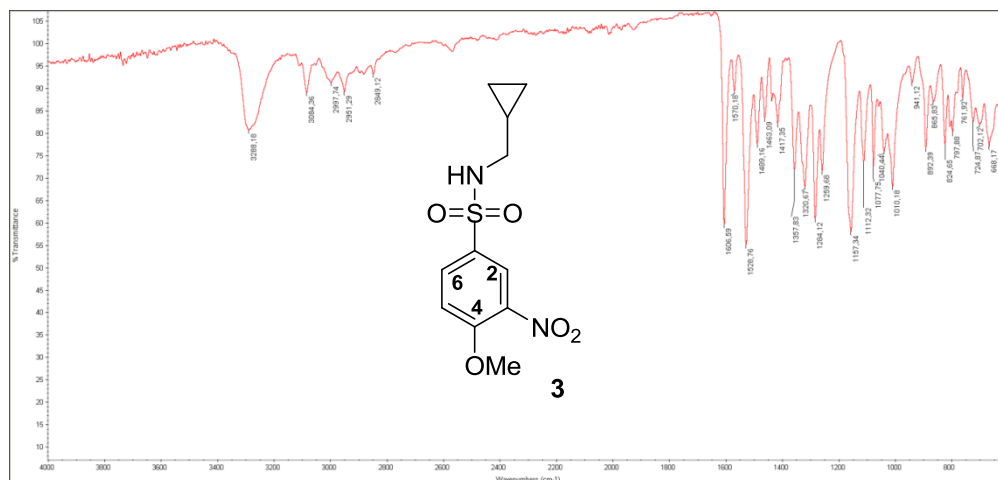
Príloha 2: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny 3.



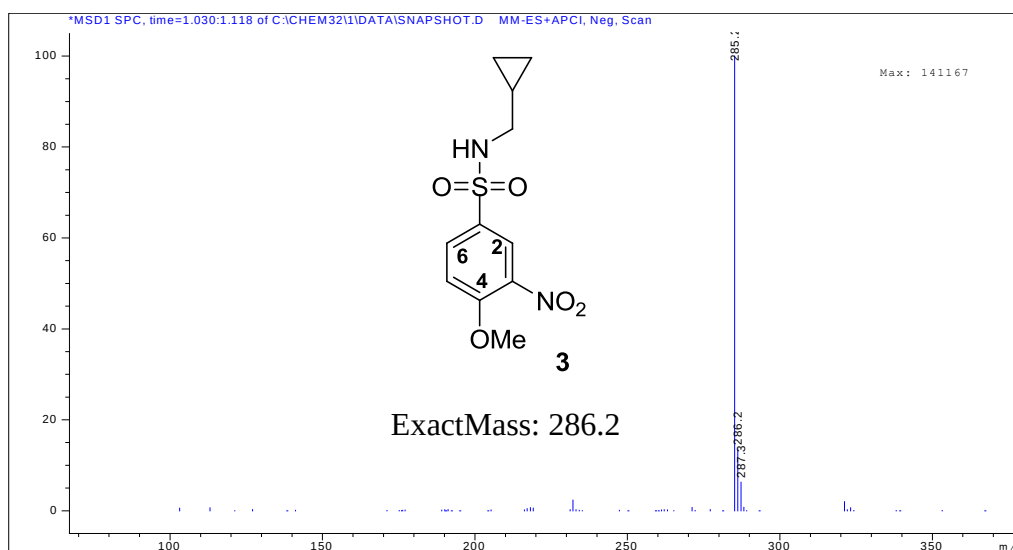
Príloha 2a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny 3.



Príloha 2b: ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny 3.

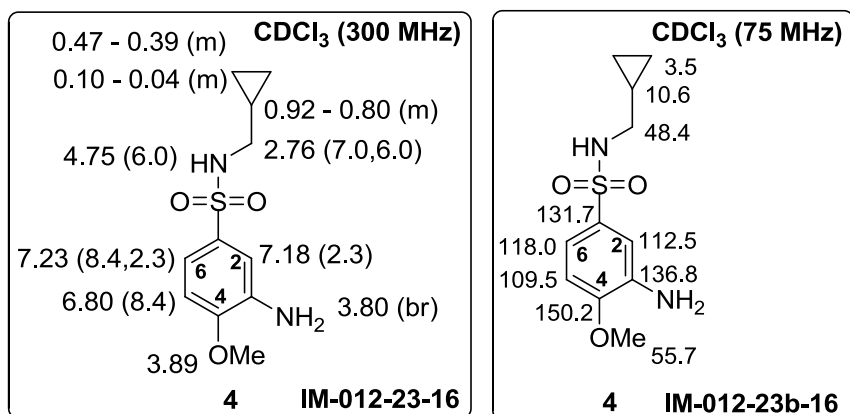


Príloha 2c: IČ spektrum (neat, ν cm⁻¹) zlučiny **3**.

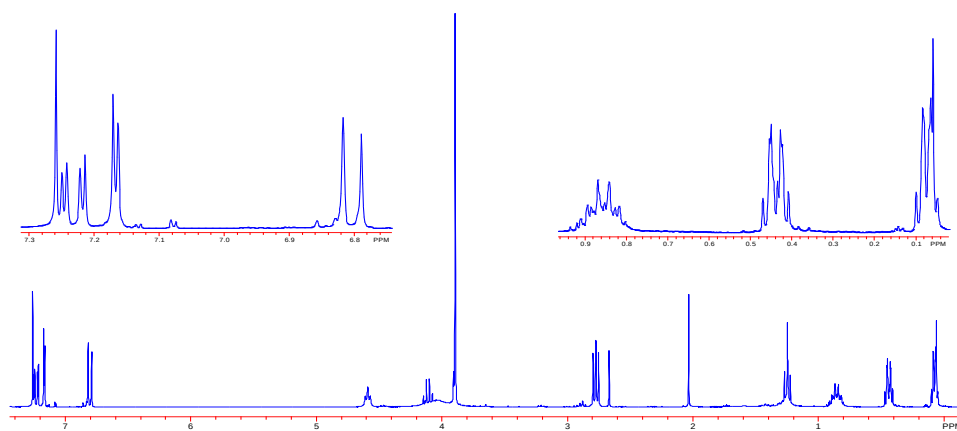


Príloha 2d: MS (ESI-) spektrum zlučiny **3**.

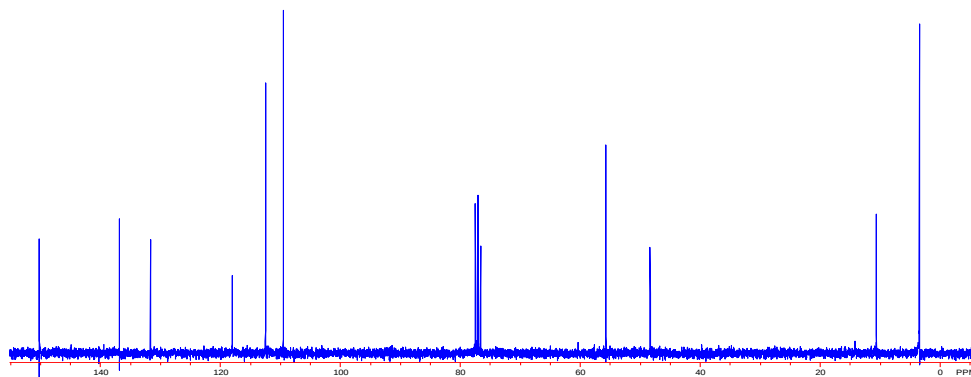
11.3 3-amino-N-(cyklopropylmetyl)-4-metoxybenzénsulfónamid (4)



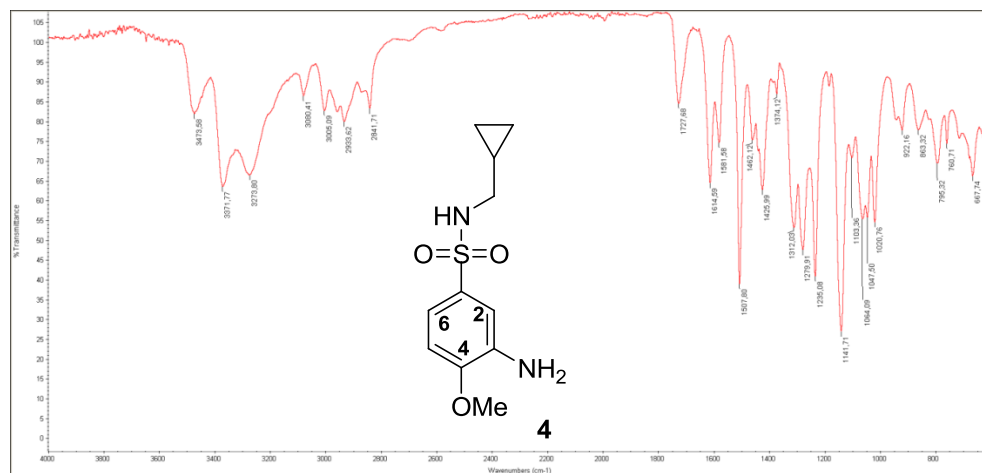
Príloha 3: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **4**.



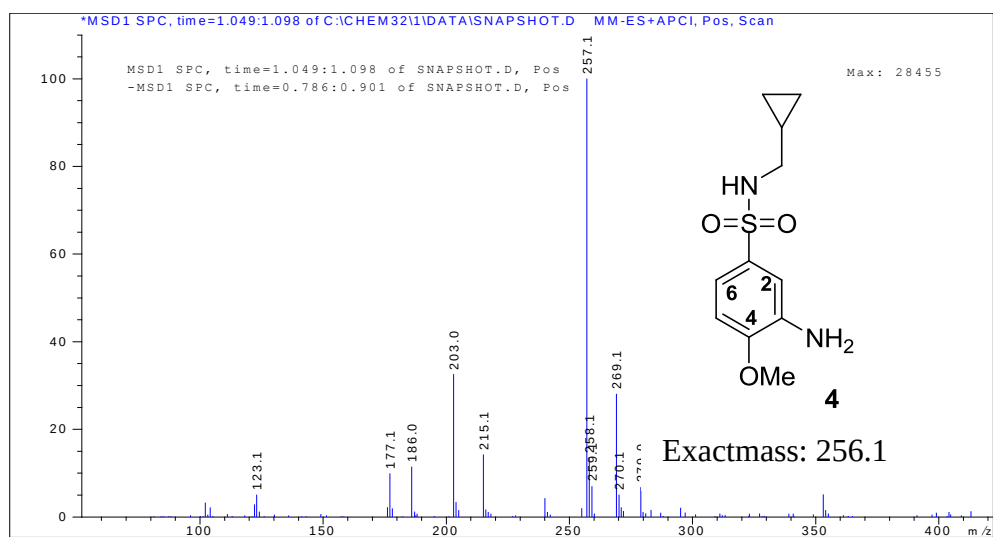
Príloha 3a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **4**.



Príloha 3b: ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **4**.

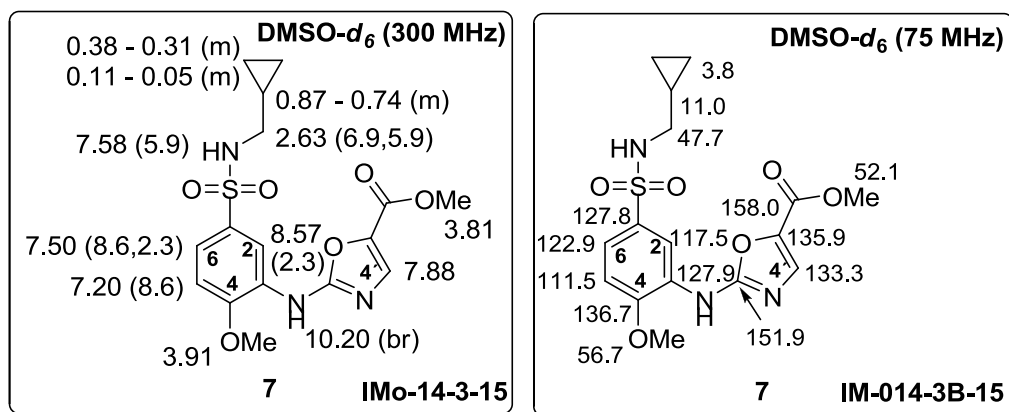


Príloha 3c: IČ spektrum (neat, ν cm⁻¹) zlučény 4.

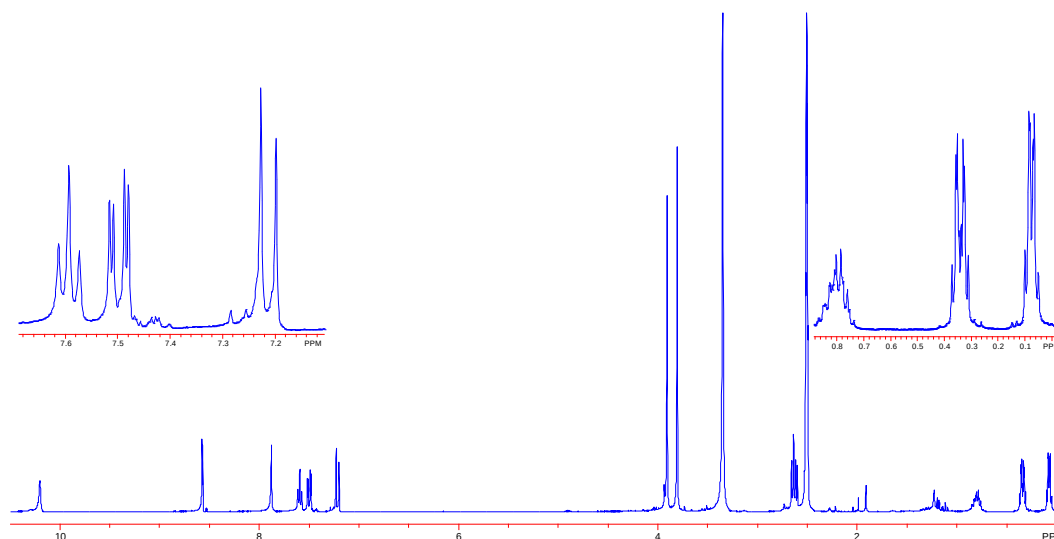


Príloha 3d: MS (ESI+) spektrum zlučény 4.

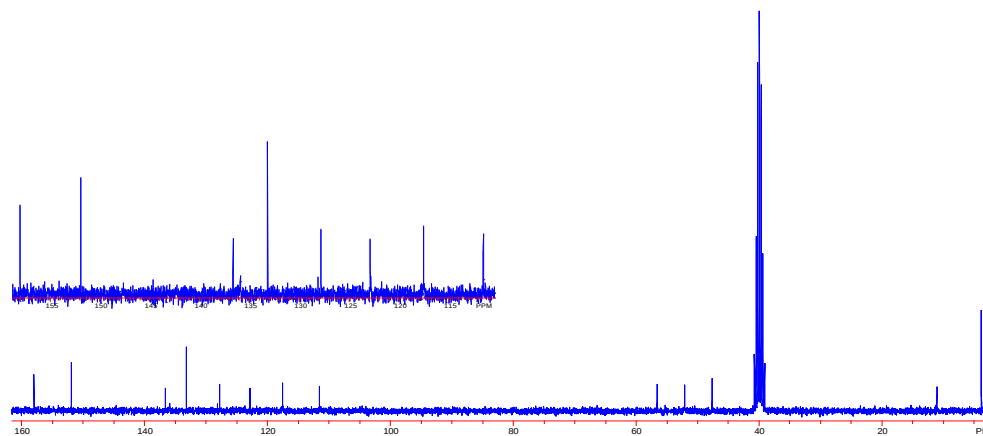
11.4 Metyl 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylát (7)



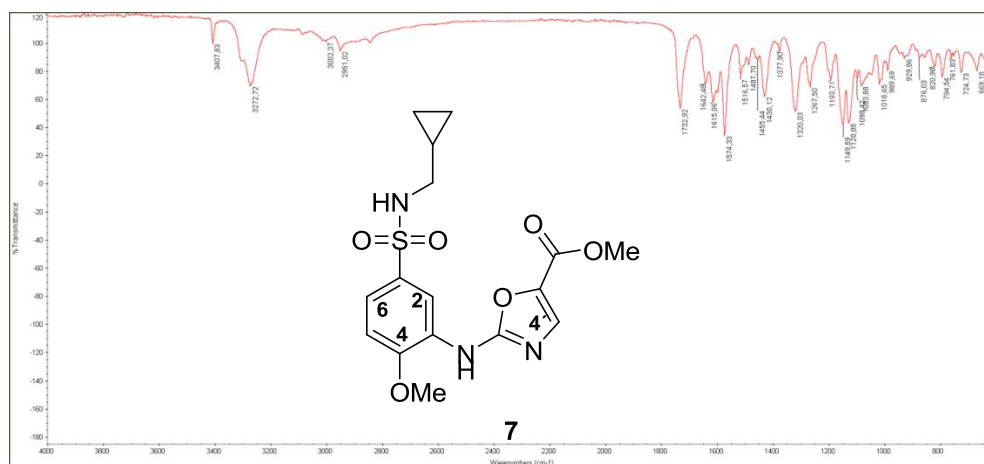
Príloha 4: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny 7.



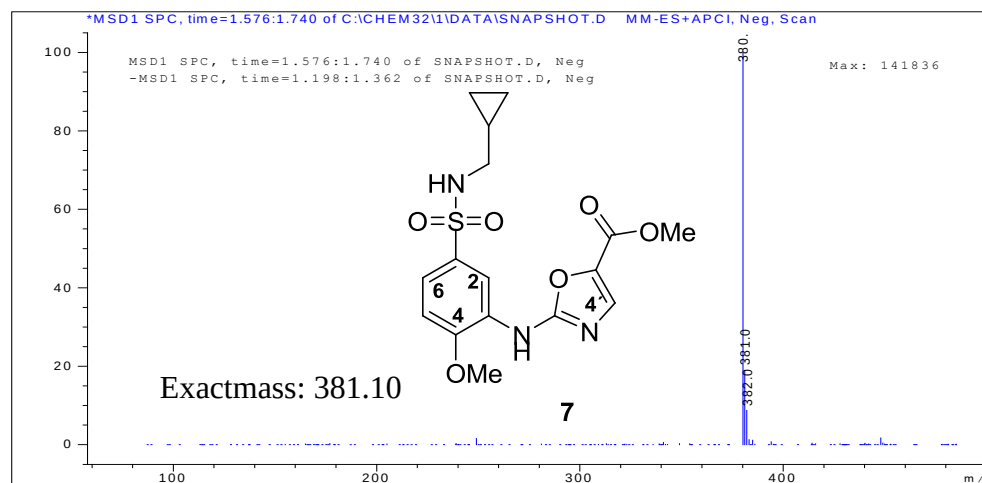
Príloha 4a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny 7.



Príloha 4b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny 7.

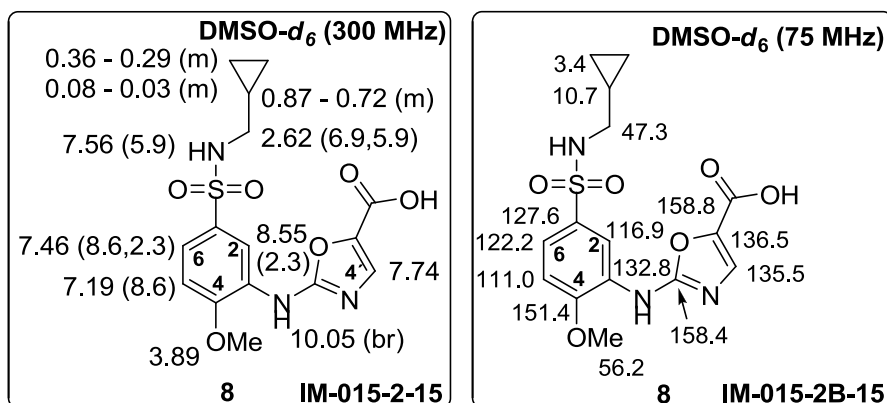


Príloha 4c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny 7.

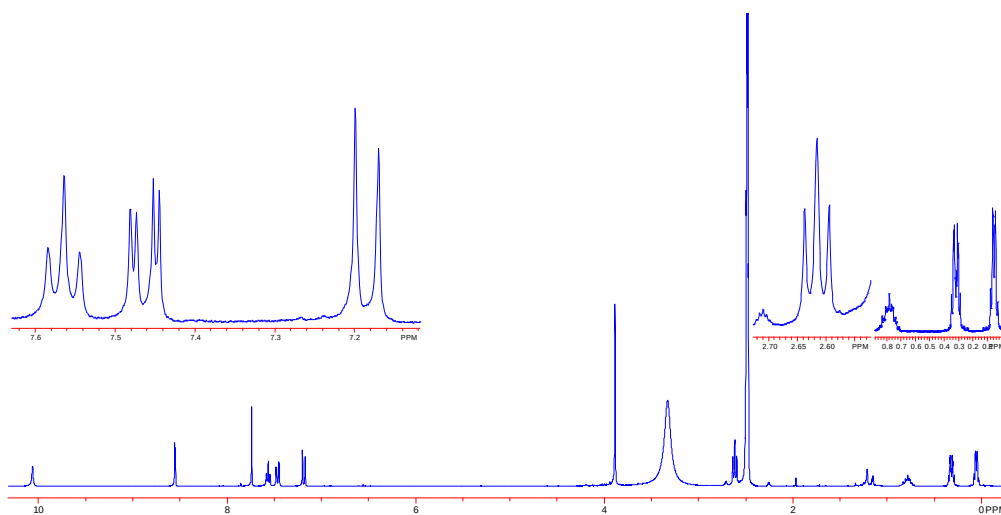


Príloha 4d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny 7.

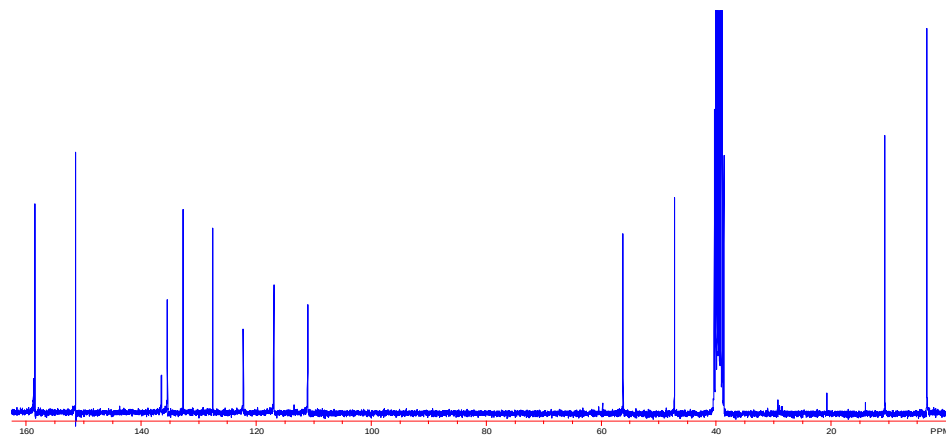
11.5 Kyselina 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)oxazol-5-karboxylová (8)



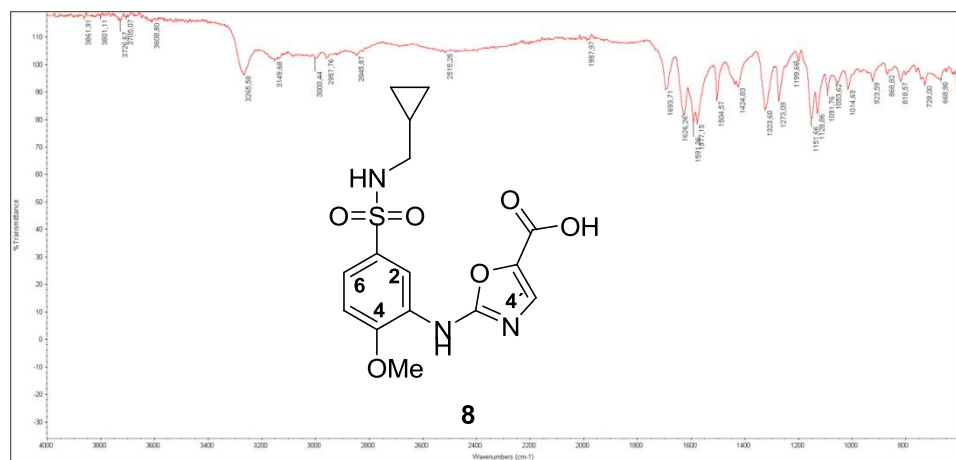
Príloha 5: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **8**.



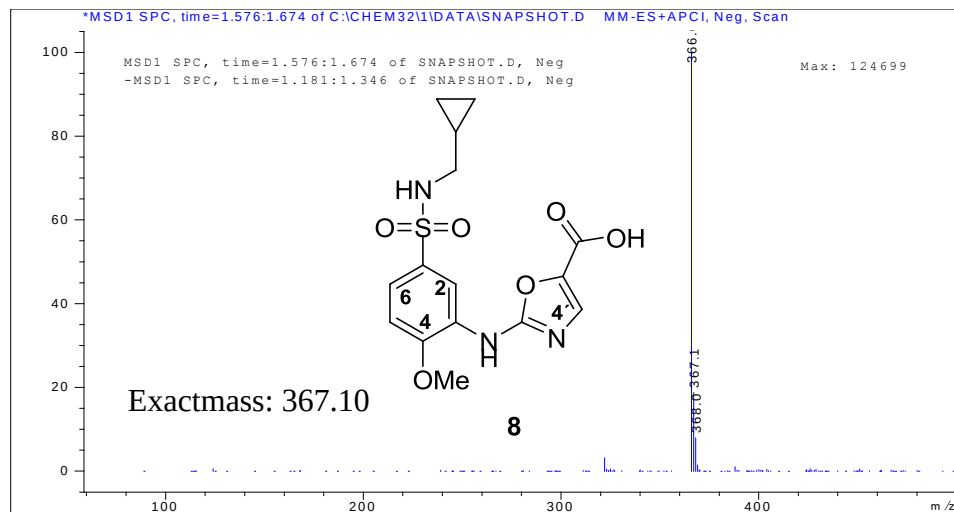
Príloha 5a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **8**.



Príloha 5b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny **8**.

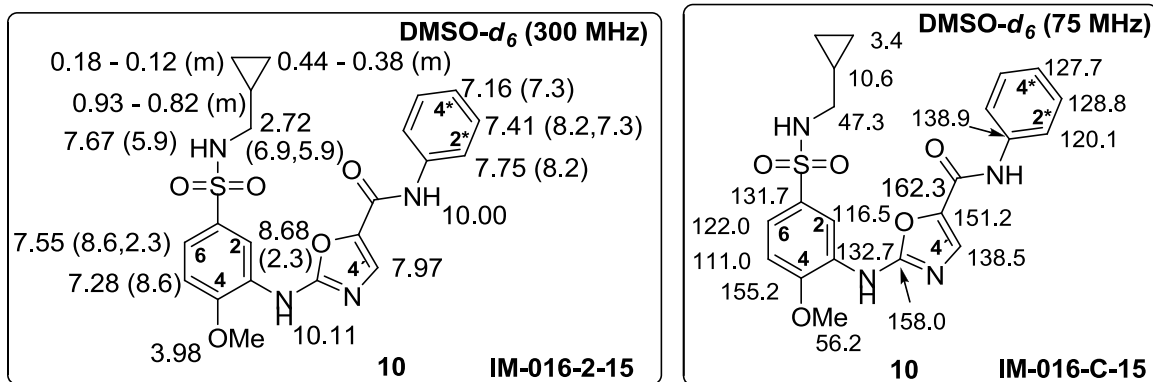


Príloha 5c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **8**.

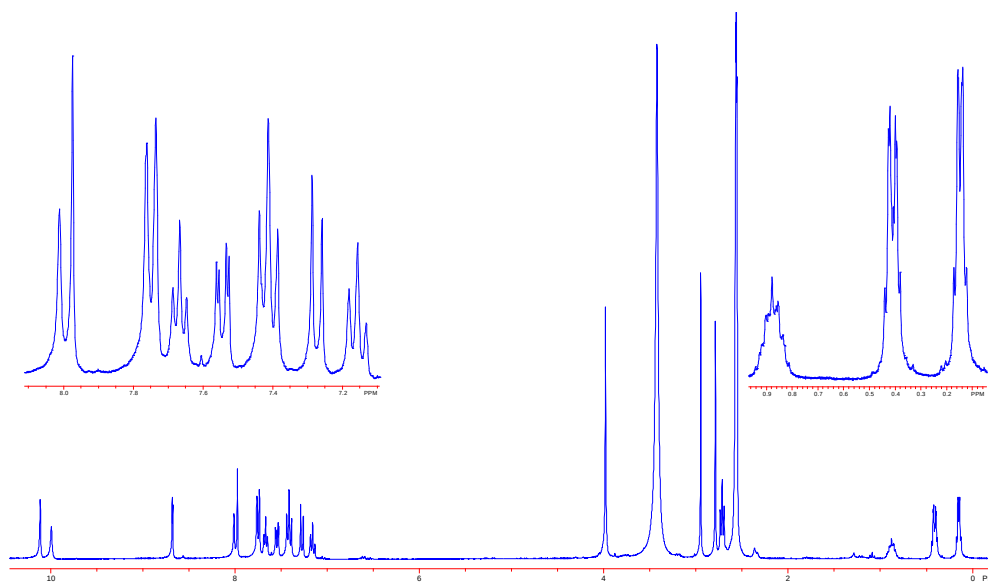


Príloha 5d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **8**.

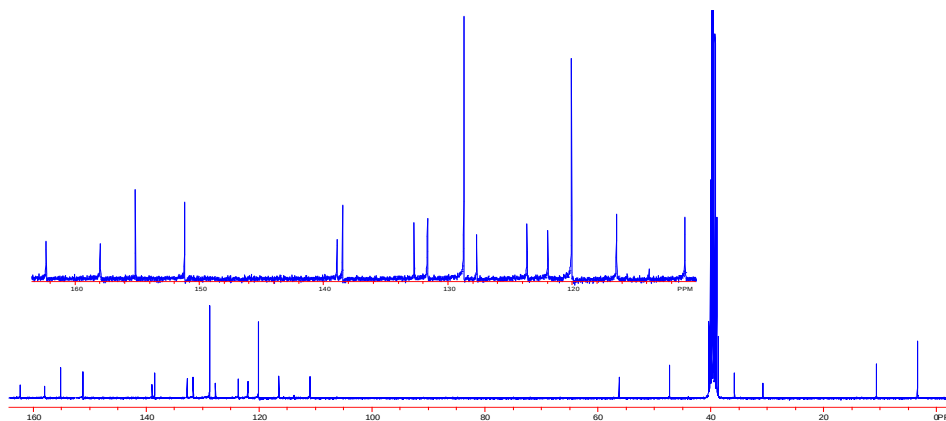
11.6 2-(5-(*N*-(cyklopropylmetyl)sulfonyl)-2-metoxyfenylamino)-*N*-fenyloxazol-5-karboxamid (10)



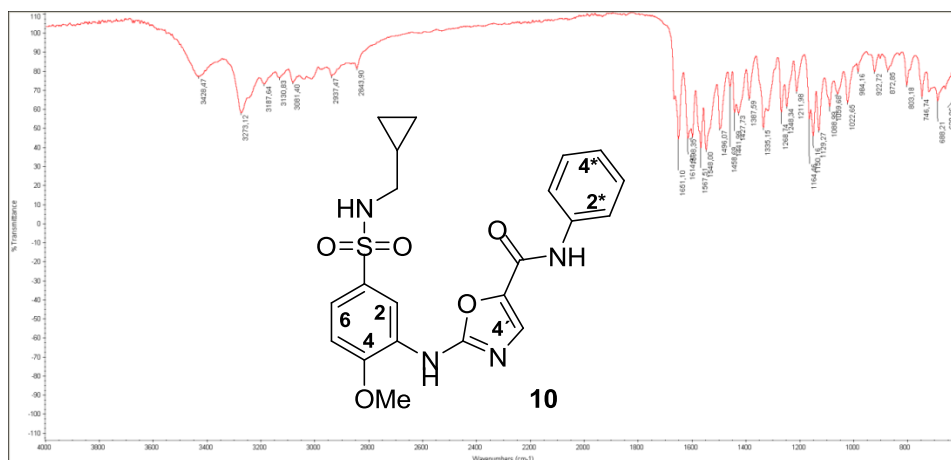
Príloha 6: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **10**.



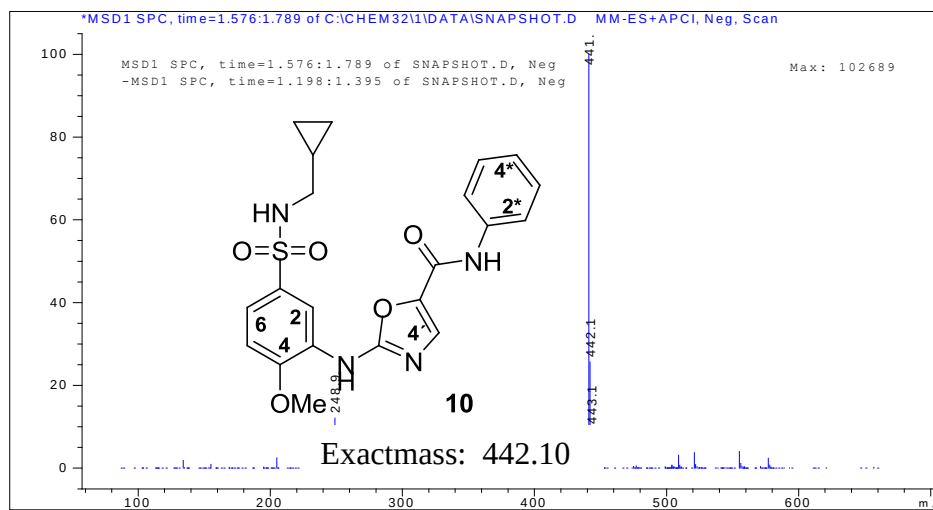
Príloha 6a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **10**.



Príloha 6b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny **10**.

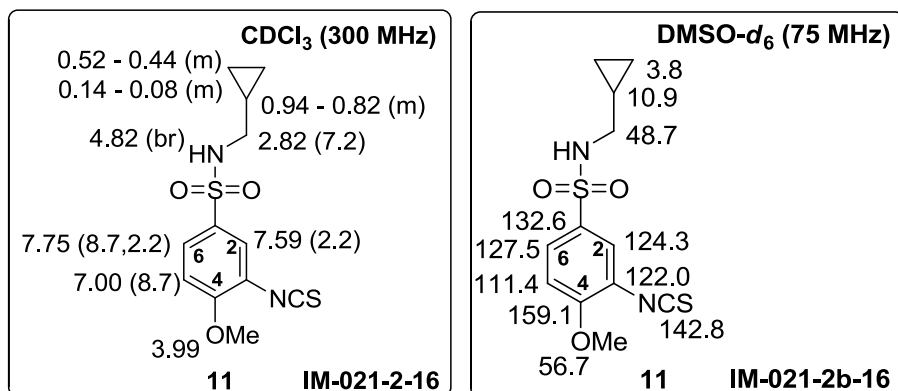


Príloha 6c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **10**.

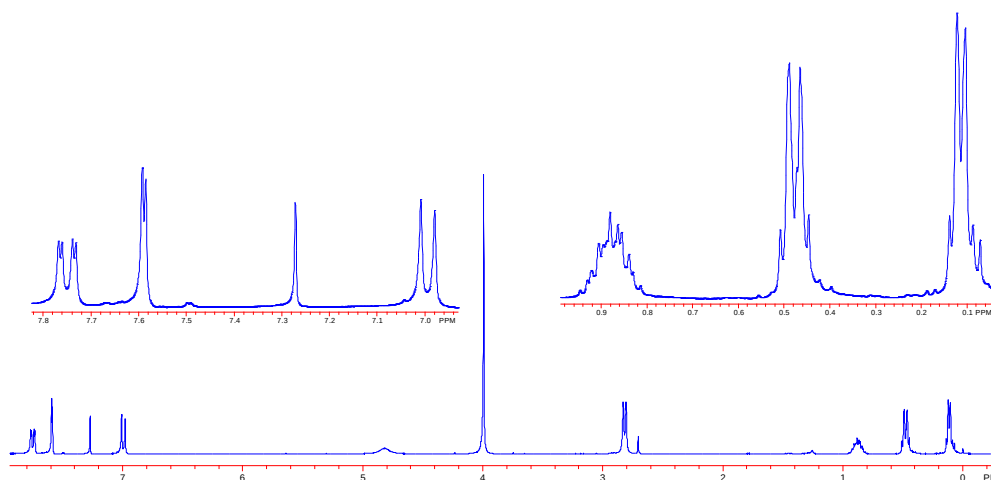


Príloha 6d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **10**.

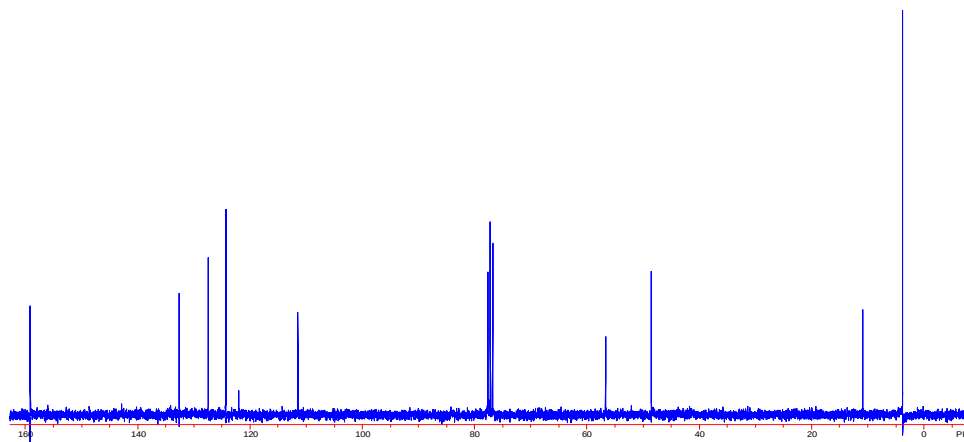
11.7 *N*-(cyklopropylmetyl)-3-izotiokyanáto-4-metoxybenzénsulfónamid (11)



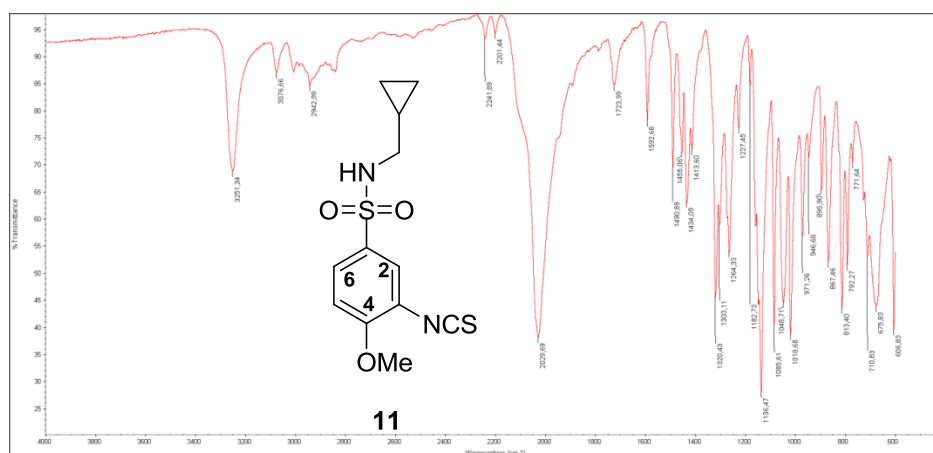
Príloha 7: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **11**.



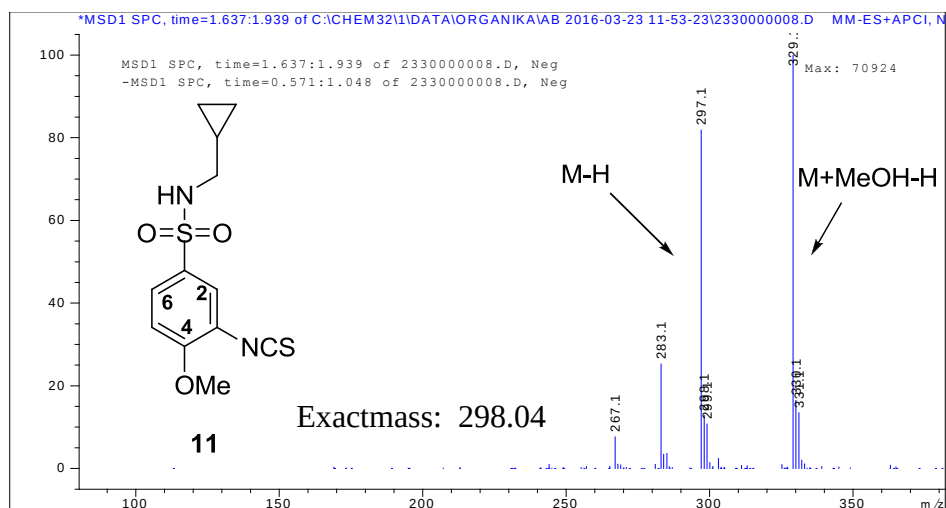
Príloha 7a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **11**.



Príloha 7b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny **11**.

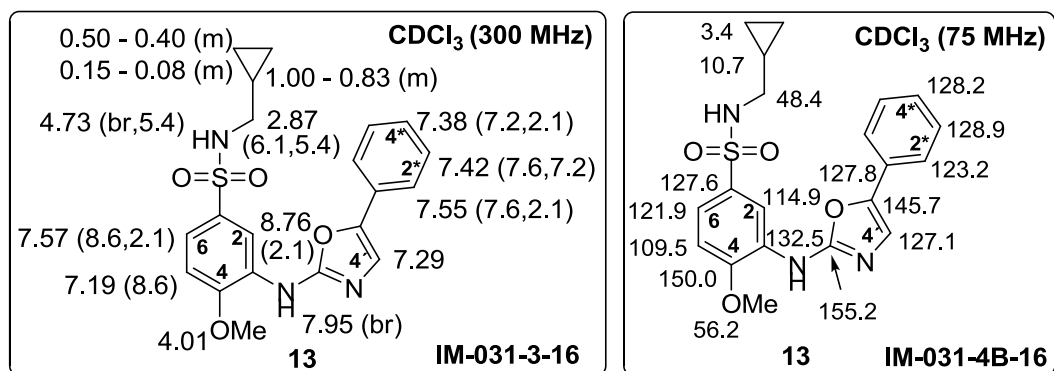


Príloha 7c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **11**.

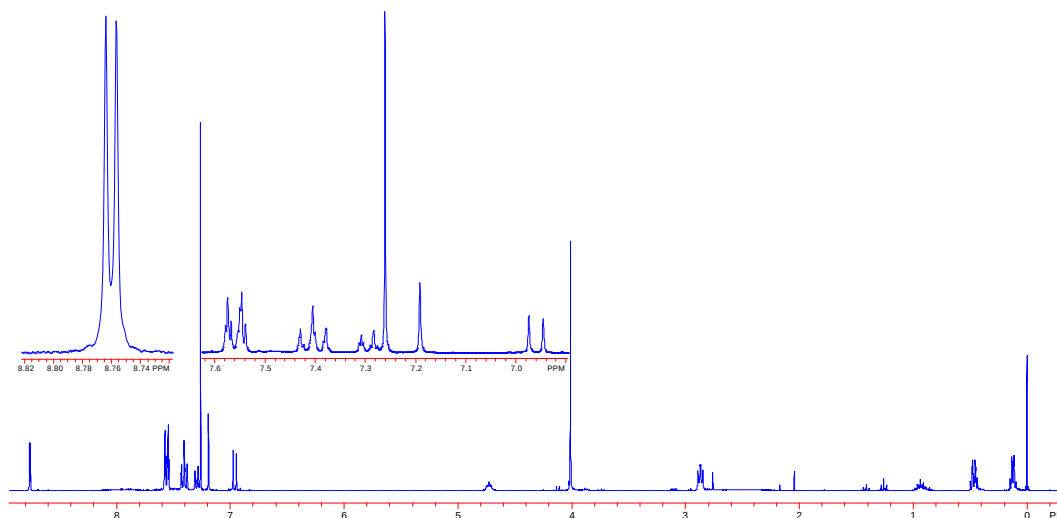


Príloha 7d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **11**.

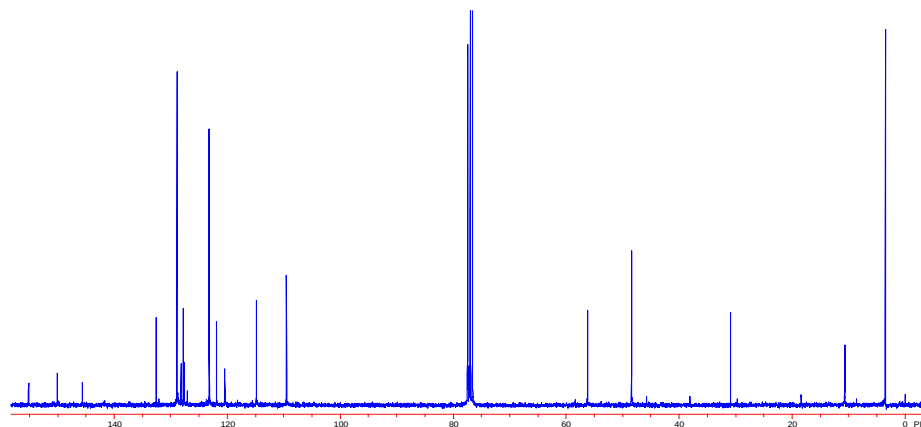
11.8 *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-fenyloxazol-2-ylamino)benzénsulfónamid (13)



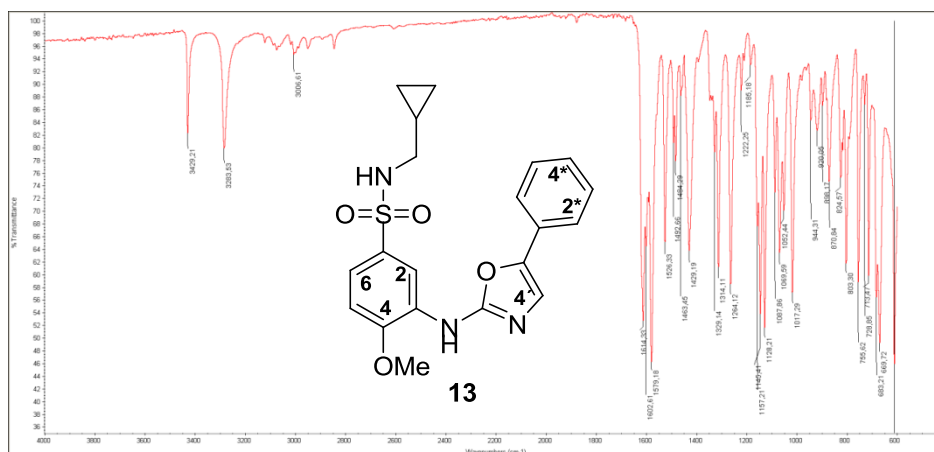
Príloha 8: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **13**.



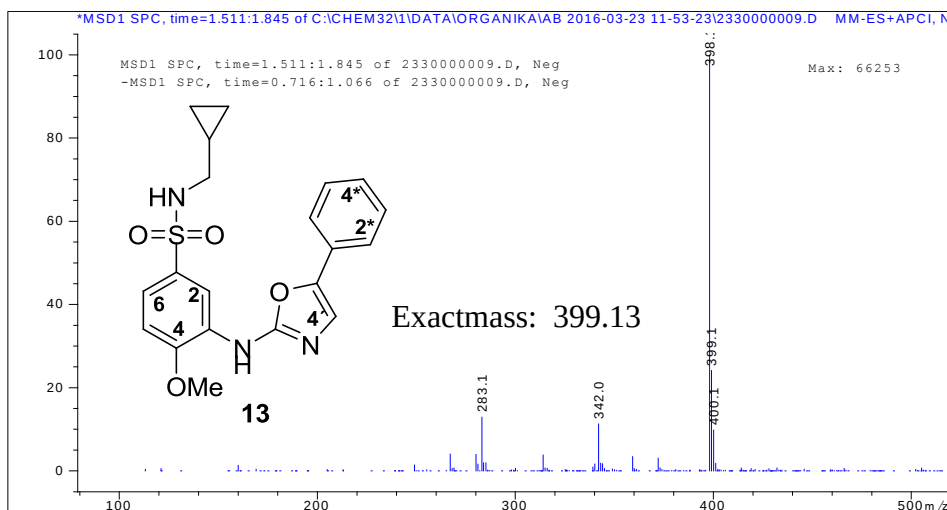
Príloha 8a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **13**.



Príloha 8b: ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) spektrum zlúčeniny **13**.

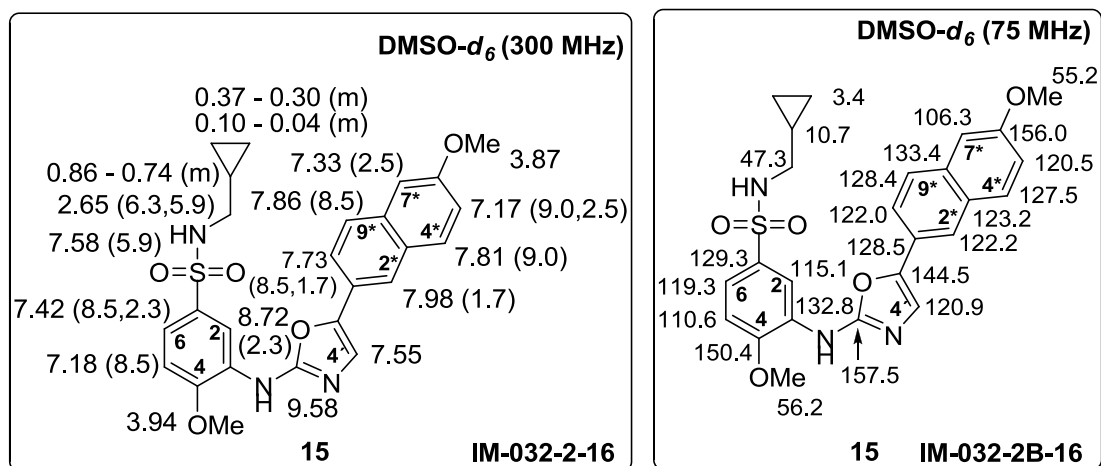


Príloha 8c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **13**.

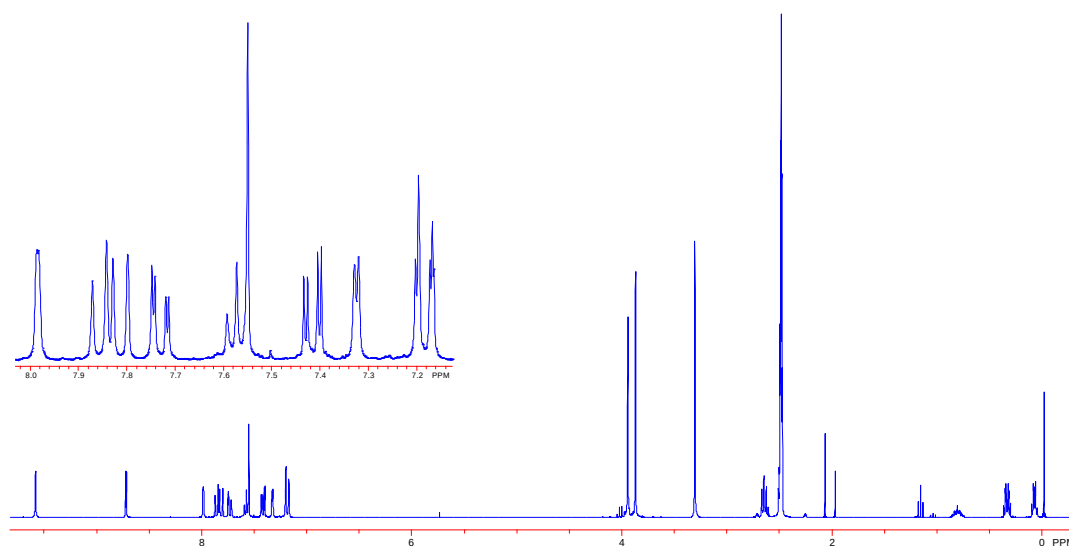


Príloha 8d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **13**.

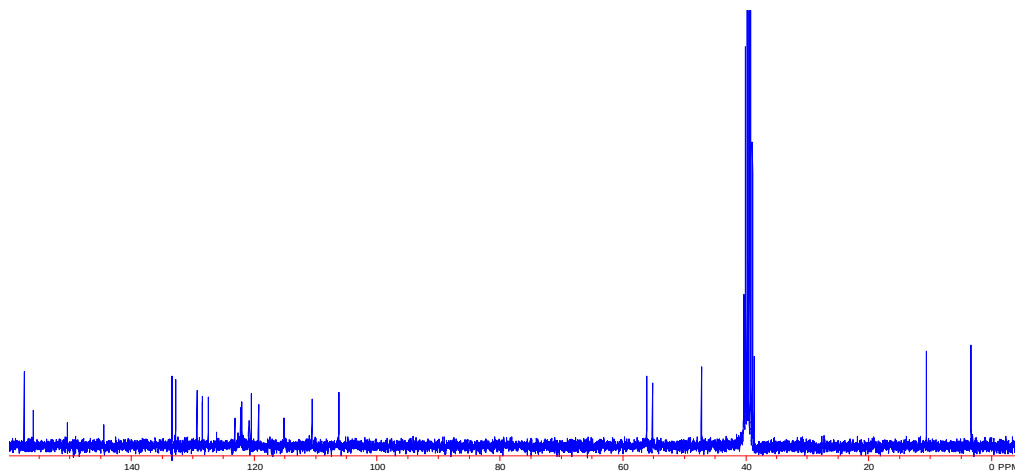
11.9 N-(cyklopropylmetyl)-4-metoxy-3-(5-(6-metoxynaftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamid (15)



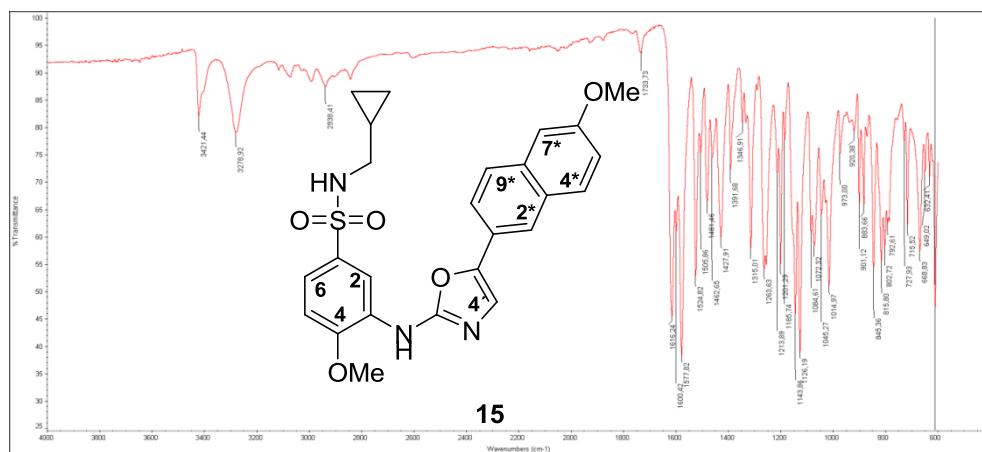
Príloha 9: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny 15.



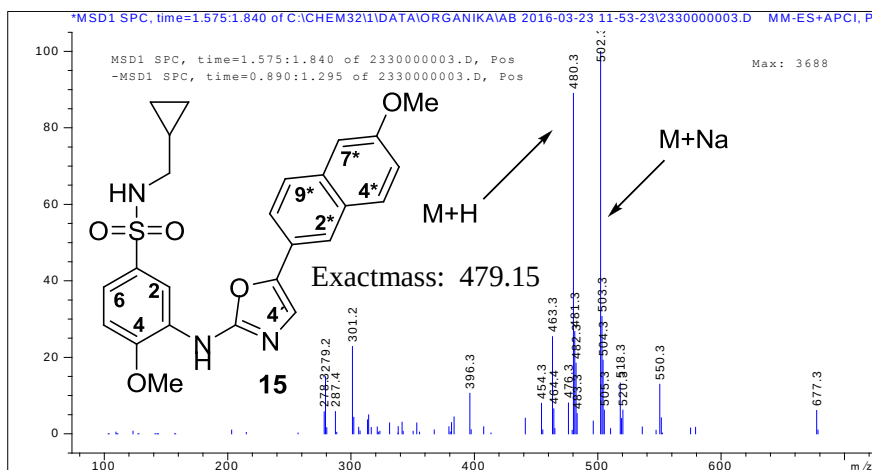
Príloha 9a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny 15.



Príloha 9b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny **15**.

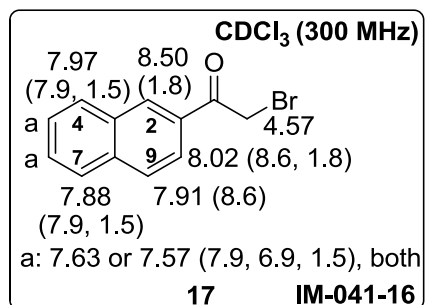


Príloha 9c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **15**.

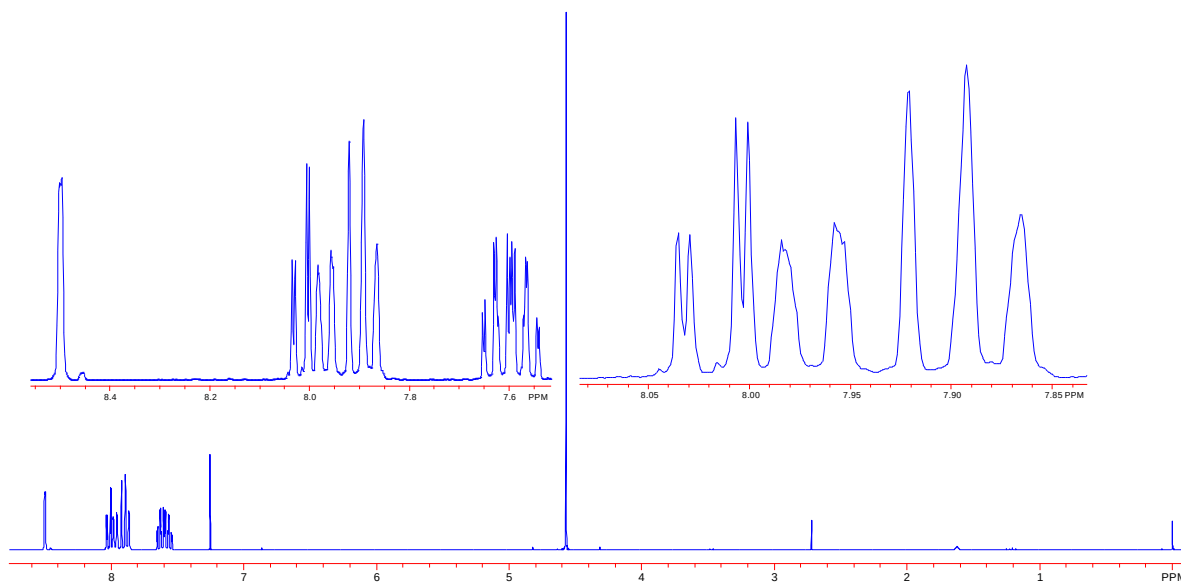


Príloha 9d: MS (ESI+) spektrum zlúčeniny **15**.

11.10 2-bróm-1-(naftalén-2-yl)etanón (17)

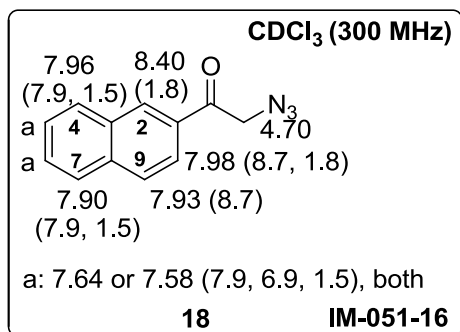


Príloha 10: Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny **17**.

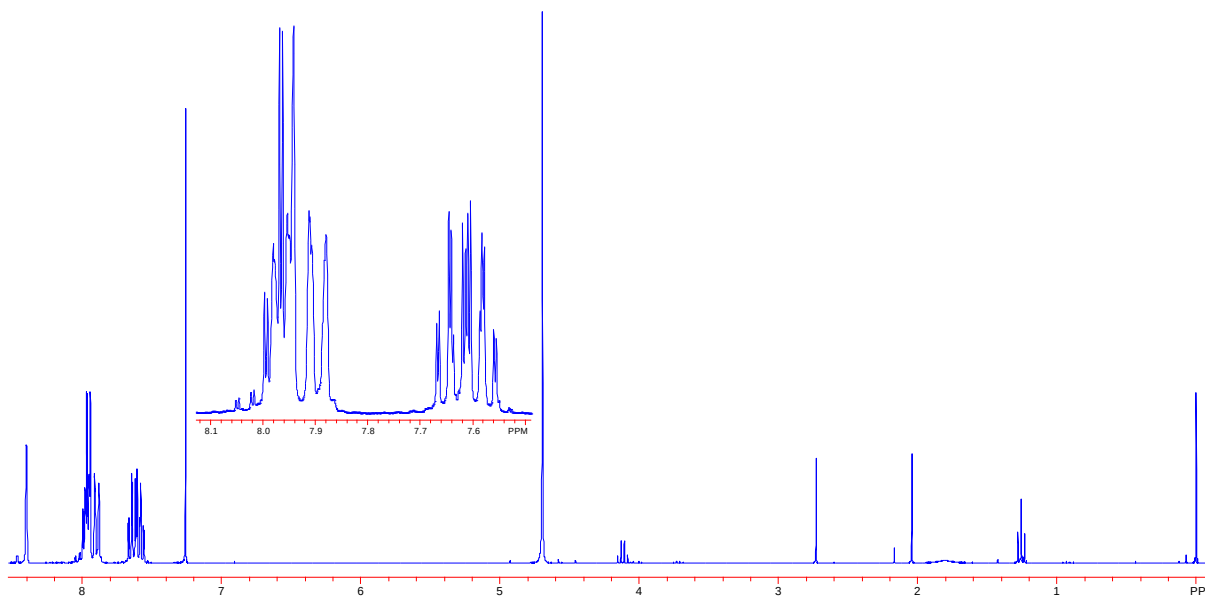


Príloha 10a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **17**.

11.11 2-azido-1-(naftalén-2-yl)etanón (18)

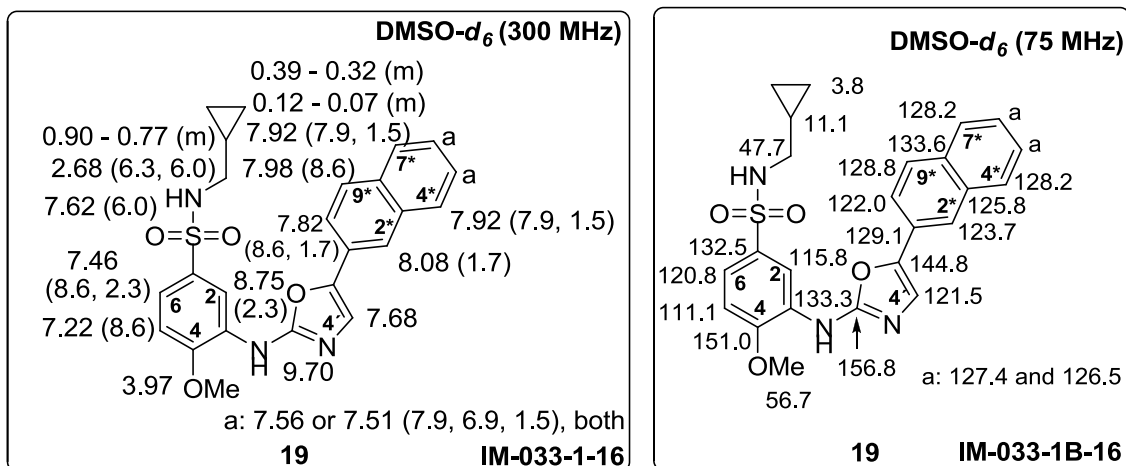


Príloha 11: Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny **18**.

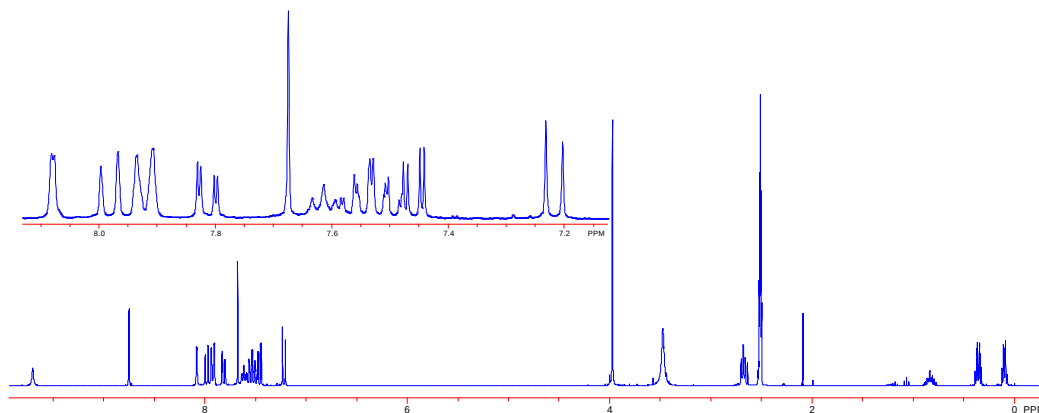


Príloha 11a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **18**.

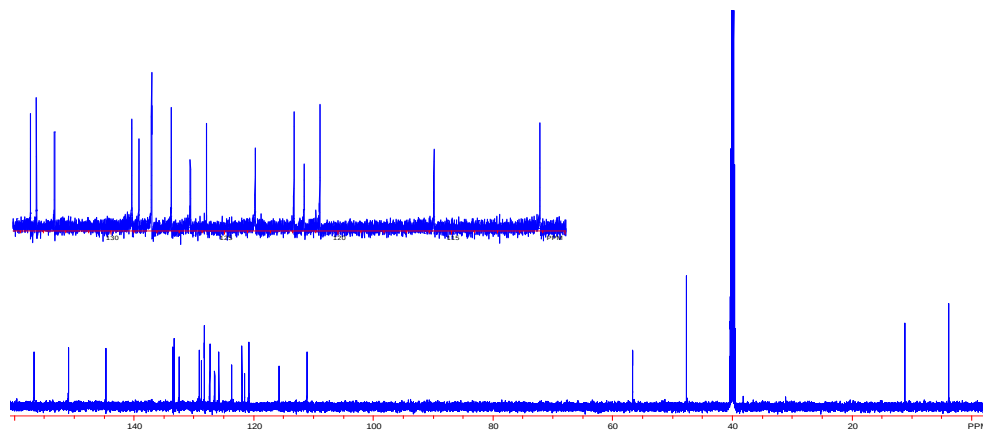
11.12 N-(cyklopropylmetyl)-4-metoxi-3-(5-(naftalén-2-yl)oxazol-2-ylamino)benzénsulfónamidu (19)



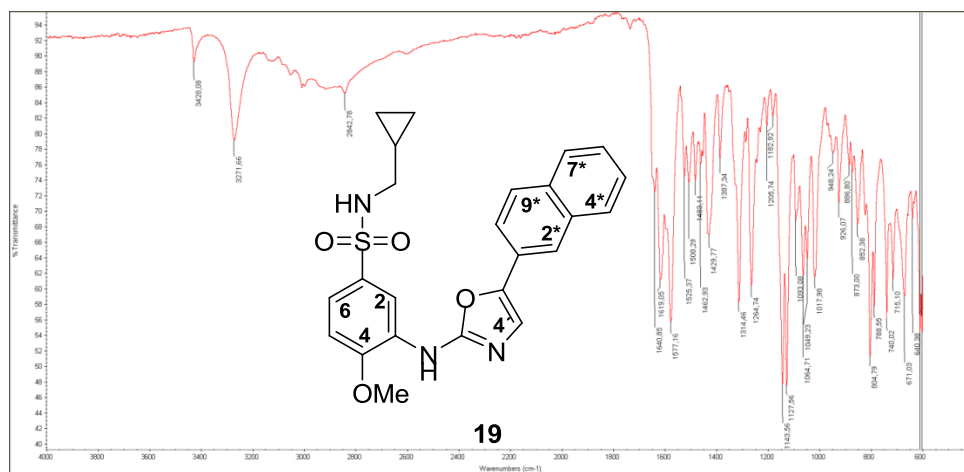
Príloha 12: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **19**.



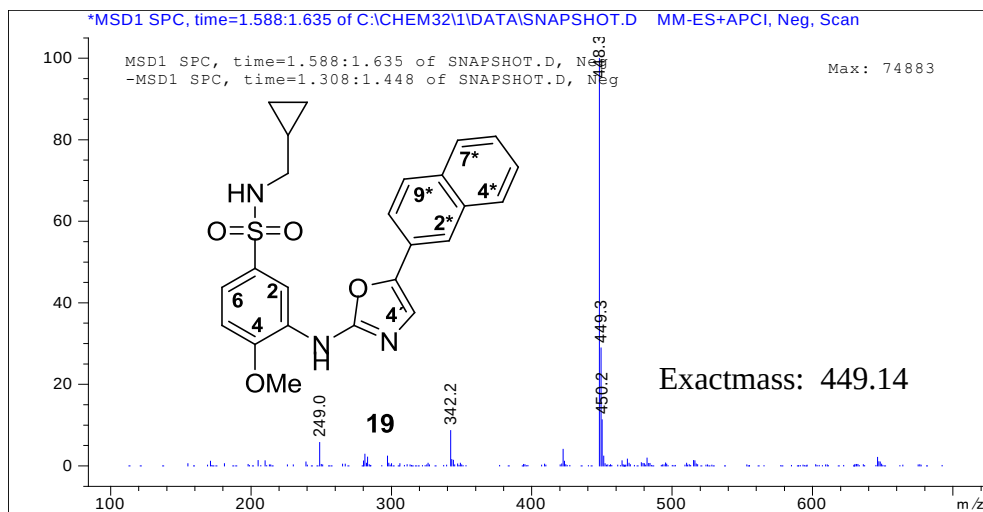
Príloha 12a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **19**.



Príloha 12b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny **19**.

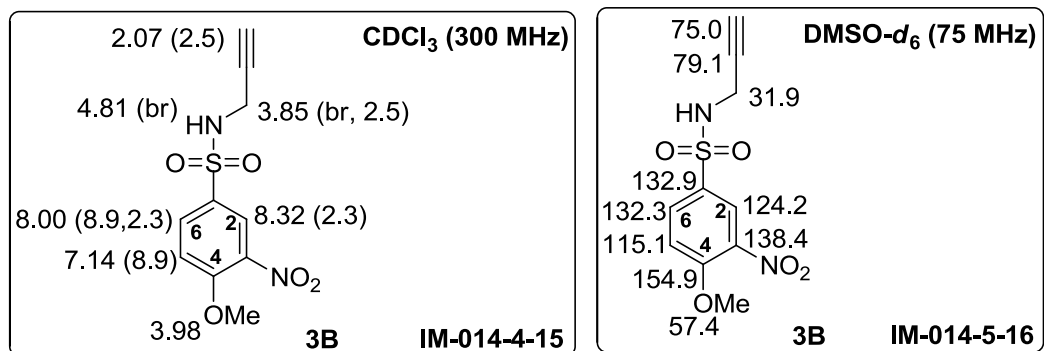


Príloha 12c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **19**.

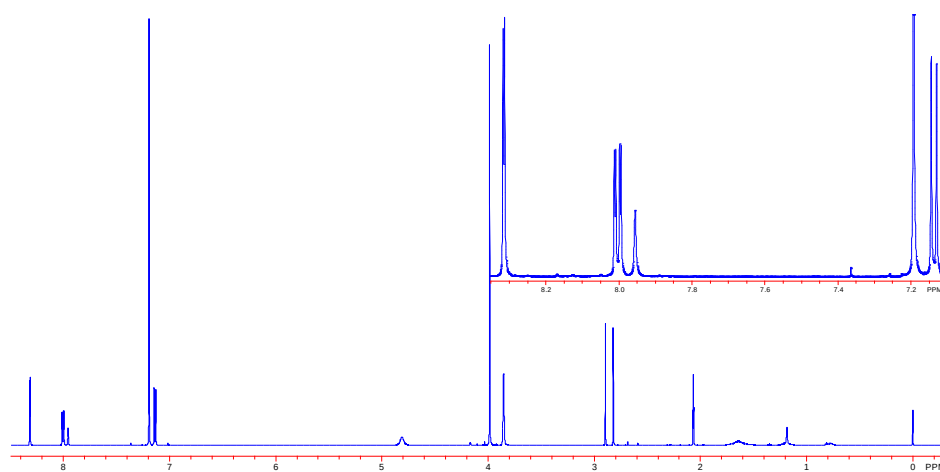


Príloha 12d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **19**.

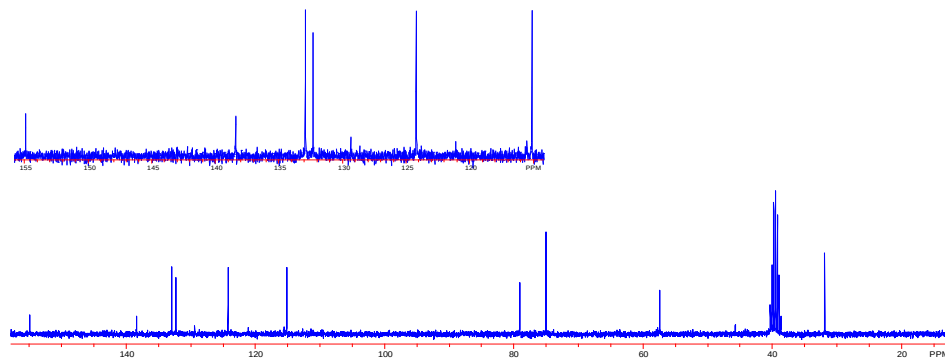
11.13 4-metoxy-3-nitro-*N*-(prop-2-ynyl)benzénsulfónamidu (3B)



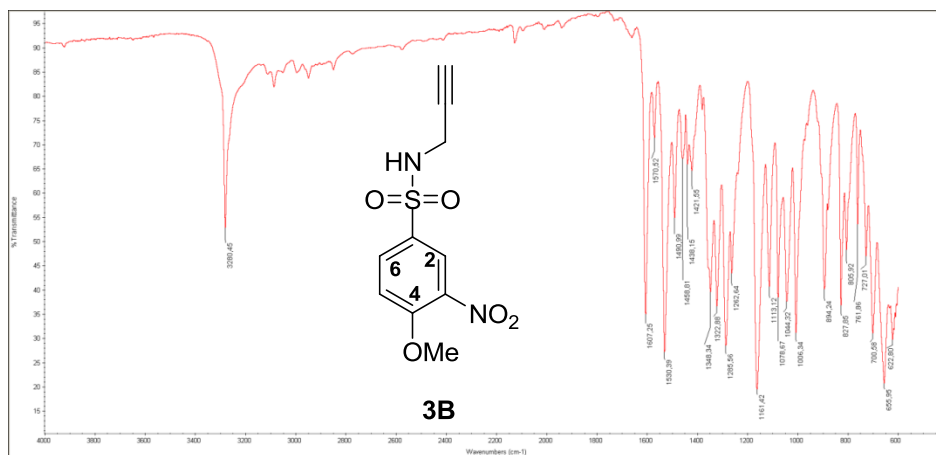
Príloha 13: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **3B**.



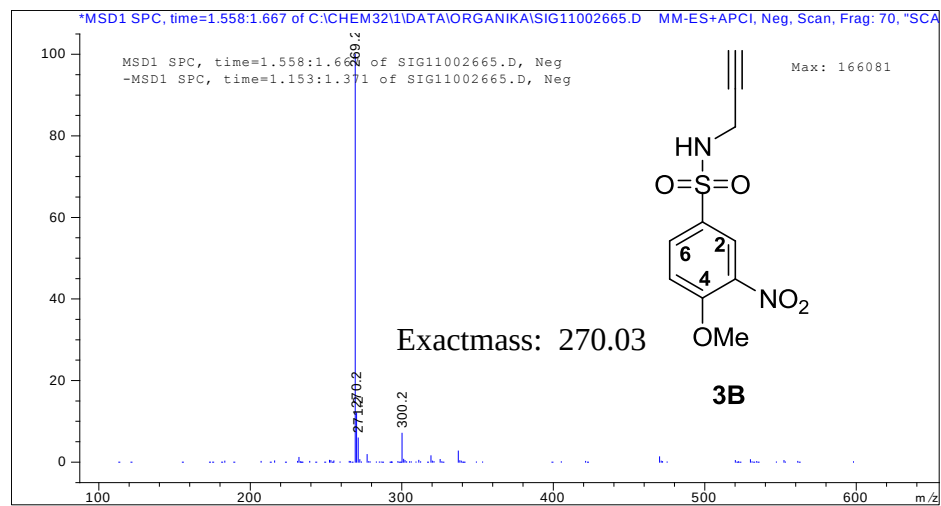
Príloha 13a: ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) spektrum zlúčeniny **3B**.



Príloha 13b: ^{13}C -NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektrum zlúčeniny **3B**.

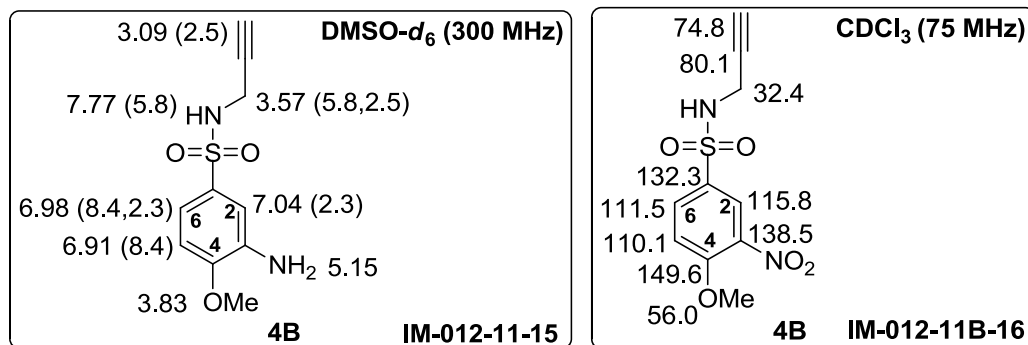


Príloha 13c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **3B**.

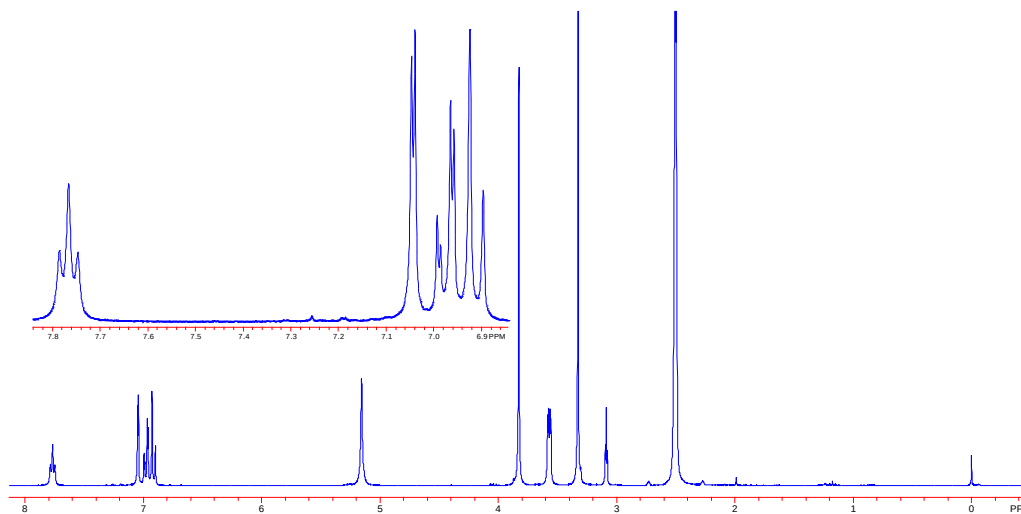


Príloha 13d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **3B**.

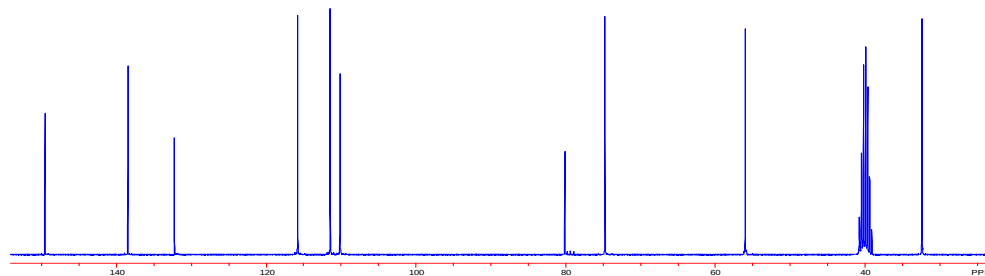
11.14 3-amíno-4-metoxy-*N*-(prop-2-ynyl)benzénsulfónamid (4B)



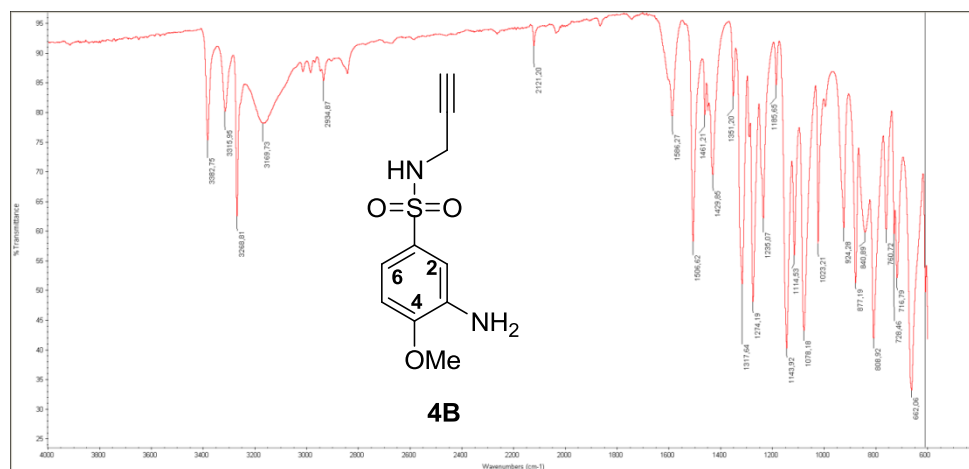
Príloha 14: Spektrálne abstrakty ¹H- a ¹³C-NMR spektier zlúčeniny **4B**.



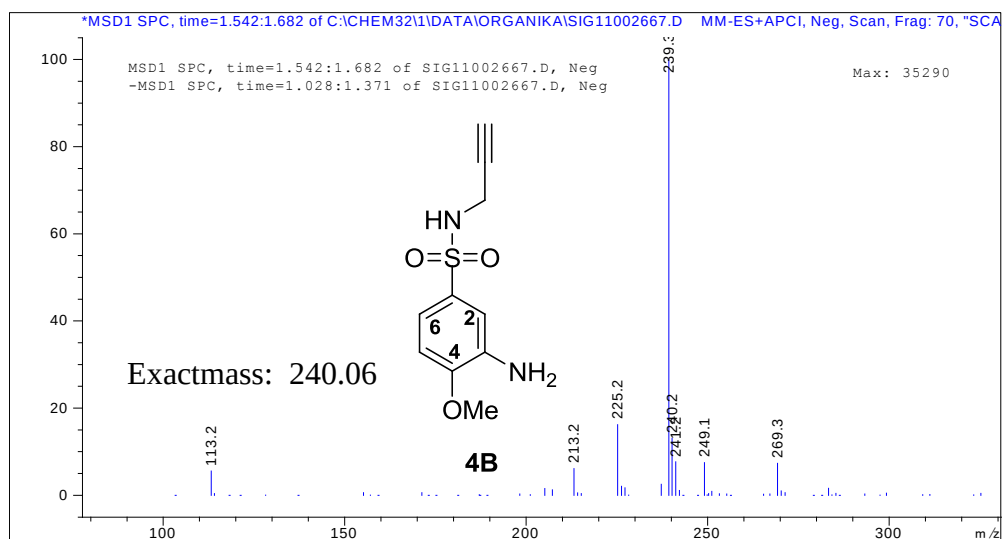
Príloha 14a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **4B**.



Príloha 14b: ^{13}C -NMR (75 MHz, CDCl_3) spektrum zlúčeniny **4B**.

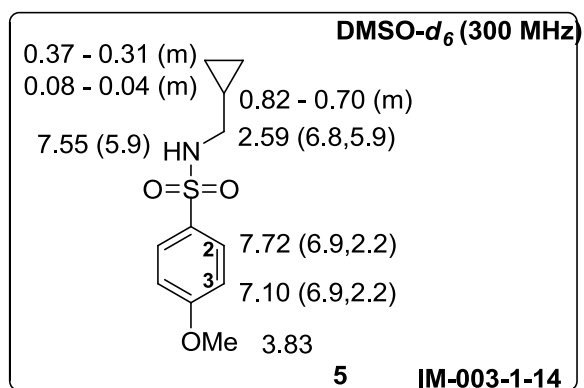


Príloha 14c: IČ spektrum (neat, $\nu \text{ cm}^{-1}$) zlúčeniny **4B**.

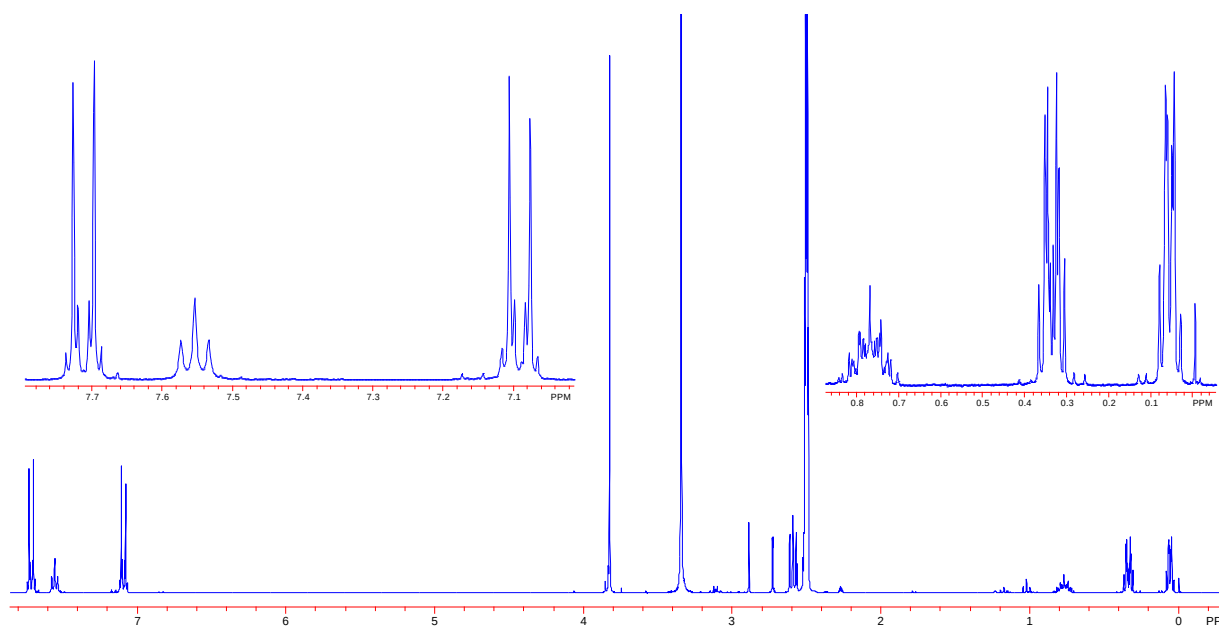


Príloha 14d: MS (ESI-) spektrum zlúčeniny **4B**.

11.15 *N*-(cyklopropylmetyl)-4-metoxybenzénesulfónamid (5)

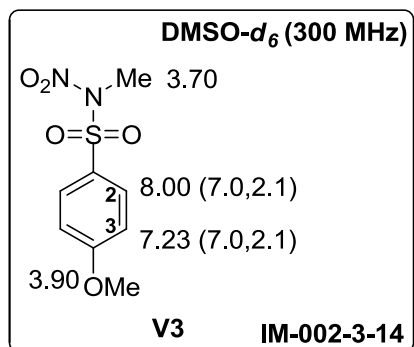


Príloha 15: Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny 5.

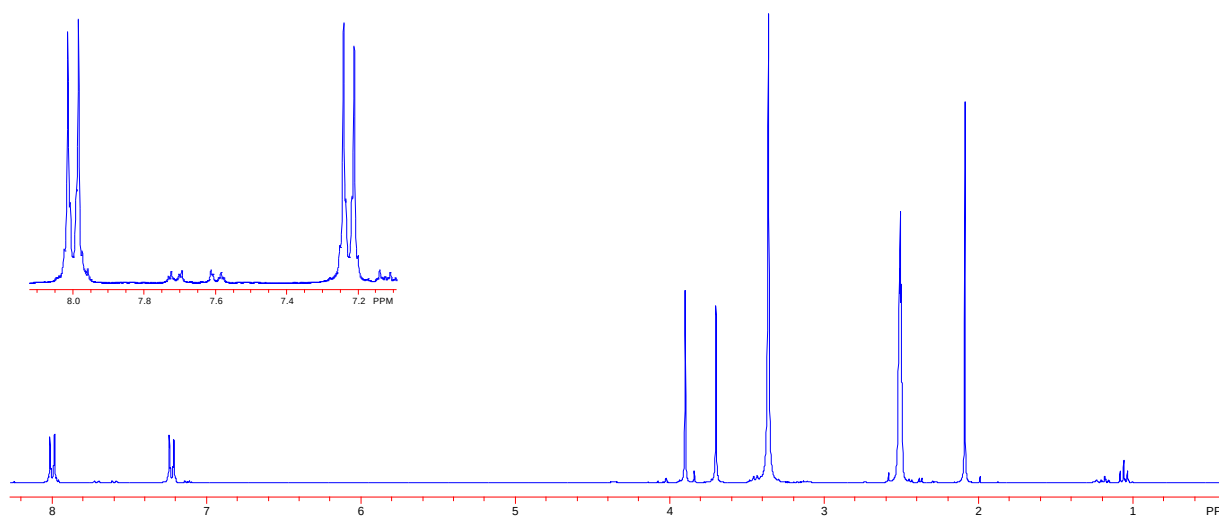


Príloha 15a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny 5.

11.16 4-metoxy-*N*-metyl-*N*-nitrobenzénsulfónamidu (V3)



Príloha 16: Spektrálny abstrakt ¹H-NMR spektra zlúčeniny **V3**.



Príloha 16a: ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) spektrum zlúčeniny **V3**.