

**Studium přípravy nových heterocyklických
sloučenin vycházejících z
3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů**

Kamila Čechová

Bakalářská práce
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kamila Čechová**
Osobní číslo: **T16347**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Studium přípravy nových heterocyklických sloučenin vycházejících z 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1H,3H)-dionů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Zpracovat literární rešerši zaměřenou na přípravu a biologické účinky analogů k připraveným derivátům v rámci BP.

II. Praktická část

1. Z vybraných 3-chlorchinolin-2,4(1H,3H)-dionů syntetizovat v dostatečném množství různé 3-(propylamino)chinolin-2,4(1H,3H)-diony.
2. Vhodnou metodou provést redukci karbonylové skupiny v poloze 4 chinolin-2,4(1H,3H)-dionového skeletu připravených sloučenin.
3. Pokusit se o intramolekulární cyklizační reakce postranního alifatického řetězce.
4. Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
5. Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat bakalářskou práci.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] KOVÁŘ, J.; HUDLICKÝ M.; ERNEST I. Preparativní reakce v organické chemii – VIII.

Molekulární přesmyky, 1964, 1. vyd., Nakladatelství Československé akademie věd.

[2] KOVÁČ, J.; KRUTOŠÍKOVÁ, A.; KADA, R. Chémia heterocyklických zlúčenin, 1982, 1. vyd., Bratislava: VEDA, vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied.

[3] ČERVINKA, O.; a kolektiv. Mechanismy organických reakcí, 1981, 2. vyd., SNLT-Nakladatelství technické literatury.

[4] McMurry, J. Organická chemie, 2005, 1. vyd., VŠCHT Praha.

[5] Vědecké zdroje uvedené v databázích Web of Science, SCOPUS.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**

Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **2. února 2019**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15. května 2019**

Ve Zlíně dne 2. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Jiří Miček, Ph.D.
ředitel ústavu

Přijetí a jméno:

Obor:

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně

.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávalečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně pasudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlédnutí veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

¹¹ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užit či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

V rámci teoretické části bakalářské práce je rozebrána problematika derivátů na bázi oxazepinu a oxazinu a jejich biologická aktivita. Tyto sloučeniny vynikají především antihelmintickými, antikarcinogenními a antimikrobními účinky. Dále je uvedena jak příprava základního skeletu s případnými substituenty, tak syntéza biologicky aktivních sloučenin. Praktická část se zaměřuje na přípravu 3-(3-propylamino)chinolin-2,4-(1*H*,3*H*)-dionových derivátů, vycházejících z 3-chlor-1,3-difenylchinolin-2,4-(1*H*,3*H*)-dionu. Následně je nastíněna redukce propylaminového derivátu účinkem tetrahydridoboritanu sodného za vzniku sekundárního alkoholu, který je vhodným prekursorem pro vznik heterocyklického oxazepinu, avšak cyklizace prozatím nebyla provedena.

Klíčová slova: oxazepin, oxazin, propylaminochinolindion, redukce, cyklizace, biologická aktivita

ABSTRACT

In the theoretical part of this bachelor thesis, the issue is based on oxazepine and oxazine derivatives and their biological activity is discussed. These compounds possess great antihelmintic, anticarcinogenic and antimicrobial effects. Furthermore, the preparation of the basic skeleton with optional substituents and the synthesis of biologically active compounds are presented. The practical part focuses on the preparation of 3-(3-propylamino)quinoline-2,4-(1*H*,3*H*)-dione derivatives starting from 3-chloro-1,3-diphenylquinoline-2,4-(1*H*,3*H*)-dion. Subsequently, the reduction of the propylamine derivative with sodium borohydride is outlined to give a secondary alcohol which is a suitable precursor for the formation of a heterocyclic oxazepine.

Keywords: oxazepine, oxazine, PropylaminoQuinolinedione, reduction, cyclization, biological activity

Mé poděkování patří především vedoucímu práce Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D. za odborné rady, pomoc a věnovaný čas jak při psaní, tak při práci v laboratoři. Obzvláště za jeho podporu, trpělivost, vstřícnost, energii a horu optimismu, která napomohla vytvořit příjemné pracovní prostředí. Dále děkuji Ing. Lence Trhlíkové za pomoc při měření elementární analýzy, prof. Dr. Janezi Košmrljovi z Univerzity v Ljubjaně za měření NMR spekter. Poslední díky patří mé rodině a příteli za veškerou podporu během studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 OXAZEPINOVÉ SLOUČENINY	11
1.1 STRUKTURA OXAZEPINŮ.....	11
1.2 BIOLOGICKÉ ÚČINKY OXAZEPINŮ.....	12
1.2.1 Inhibice lidských parazitů.....	12
1.2.2 Protinádorová aktivita.....	13
1.2.3 Inhibiční účinky mikroorganismů.....	14
1.2.4 Léčiva s oxazepinovým kruhem.....	15
1.3 SYNTÉZA OXAZEPINŮ.....	16
2 OXAZINOVÉ SLOUČENINY	20
2.1 STRUKTURA OXAZINŮ.....	20
2.2 BIOLOGICKÉ ÚČINKY OXAZINŮ.....	20
2.3 SYNTÉZA OXAZINŮ.....	22
II PRAKTICKÁ ČÁST	26
3 VÝSLEDKY A DISKUSE	27
4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD	32
5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A CHARAKTERISTIKA PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN	33
5.1 SYNTÉZA 3-CHLOR-1,3-DIFENYLCHINOLIN-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-DIONU.....	33
5.1.1 3-Chlor-1,3-difenylchinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dion (II).....	33
5.2 AMINOLÝZA 3-CHLOR-1,3-DIFENYLCHINOLIN-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-DIONU.....	33
5.2.1 1,3-Difenyl-3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dion (III).....	34
5.3 NUKLEOFILNÍ SUBSTITUCE HYDROXYLOVÉ SKUPINY SLOUČENINY III.....	35
5.3.1 3-(3-Chlorpropylamino)-1,3-difenylchinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dion (IV).....	35
5.4 REDUKCE OXOSKUPINY DERIVÁTŮ III A IV.....	36
5.4.1 1,3-Difenyl-3,4-dihydro-4-hydroxy-3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2(1 <i>H</i>)-on (V).....	36
ZÁVĚR	38
SEZNAM ZKRATEK	39
SEZNAM OBRÁZKŮ	40
SEZNAM SCHÉMAT	41
SEZNAM TABULEK	42
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	43

ÚVOD

V dnešní době se stále hojněji vyskytují nové typy onemocnění, což je pravděpodobně způsobeno buď novými diagnostickými technikami, způsobem životního stylu nebo mutací různých činitelů vyvolávajících zdravotní obtíže. Tato změna genotypu je úzce spjata se vznikající rezistencí vůči běžně využívaným léčivům, a proto stále roste potřeba hledání nových aktivních derivátů, které budou vůči těmto nemocem účinné.

Oxazinové i oxazepinové deriváty díky svým příznivým účinkům na živé organismy, které jsou mimo jiné podrobněji popsány v rešeršní části této práce, nacházejí uplatnění při vývoji nových syntetických medikamentů. Jedním takovým příkladem je 4-tolyl-7-(4-pyridinyl)dihydrobenzoxazepin-3-on, u kterého byla zjištěna významná inhibice růstu hlístice *Trichuris muris* žijící v myším hostiteli, čímž se zařadil do skupiny antihelmintik potenciálně využitelných k léčbě proti lidským hlísticím *Trichuris trichuria*. Dále jsou u těchto sloučenin pozorovány i antipsychotické, antimikrobní, či antikarcinogenní účinky.

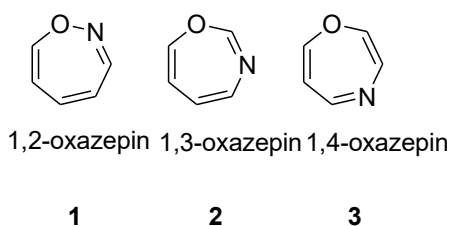
Tyto zajímavé vlastnosti a skutečnost, že nejsou známy žádné sloučeniny obsahující oxazepinové uskupení spojené přímo, anebo přes nějaký, libovolně dlouhý řetězec s deriváty chinolinu, a že v literatuře byl nalezen pouze jeden zástupce z řady oxazinů, který je tímto způsobem přímo spojen s chinolinem, iniciovaly téma a náplň mé bakalářské práce, jejímž cílem bylo pokusit se syntetizovat nové chinolonové sloučeniny s přikondenzovaným oxazepinovým kruhem. Tyto sloučeniny budou jistě zajímavé nejen z hlediska jejich následujícího syntetického využití, ale i z pohledu jejich biologických účinků, zejména v oblasti inhibice mikroorganismů a enzymů souvisejících s rakovinovým bujením.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OXAZEPINOVÉ SLOUČENINY

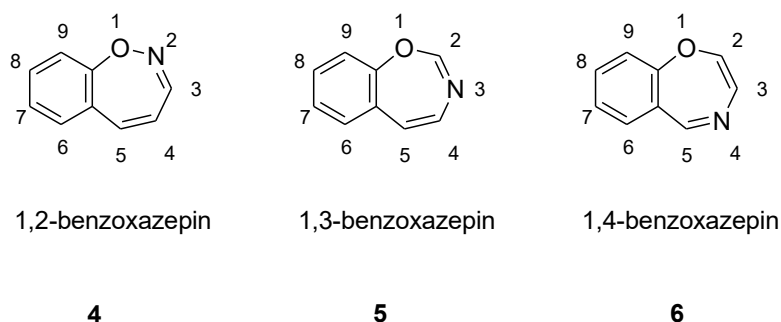
1.1 Struktura oxazepinů

Oxazepiny jsou sedmičlenné heterocyklické sloučeniny obsahující ve svém kruhu atom kyslíku a atom dusíku. Tyto heteroatomy mohou být od sebe různě vzdáleny. Podle jejich polohy je označujeme jako 1,2-oxazepin, 1,3-oxazepin a 1,4-oxazepin, kde atom kyslíku má vždy v názvoslovných principech hlavní prioritu a tudíž je vždy v poloze 1 a atom dusíku zaujímá polohy 2, 3 nebo 4.^{1,2}



Obrázek 1. Struktura oxazepinů.

Kondenzací benzenového a oxazepinového kruhu vznikají bicyklické sloučeniny benzoxazepiny, které jsou zajímavé nejenom z hlediska jejich biologické aktivity, ale také pro své specifické číslování. To totiž, na rozdíl od oxazepinů, nepočíná vždy kyslíkem, nýbrž členem heterocyklu, který je nejbližší benzenovému kruhu, ale není společný oběma cyklům. Tímto členem však nemusí být pouze heteroatom, ale i uhlodík. Pokud se nejbližší benzenového kruhu nachází dusík, dochází tak ke změně názvosloví na 2,1-benzoxazepin, 3,1-benzoxazepin a 4,1-benzoxazepin.²



Obrázek 2. Struktura a číslování benzoxazepinů.

1.2 Biologické účinky oxazepinů

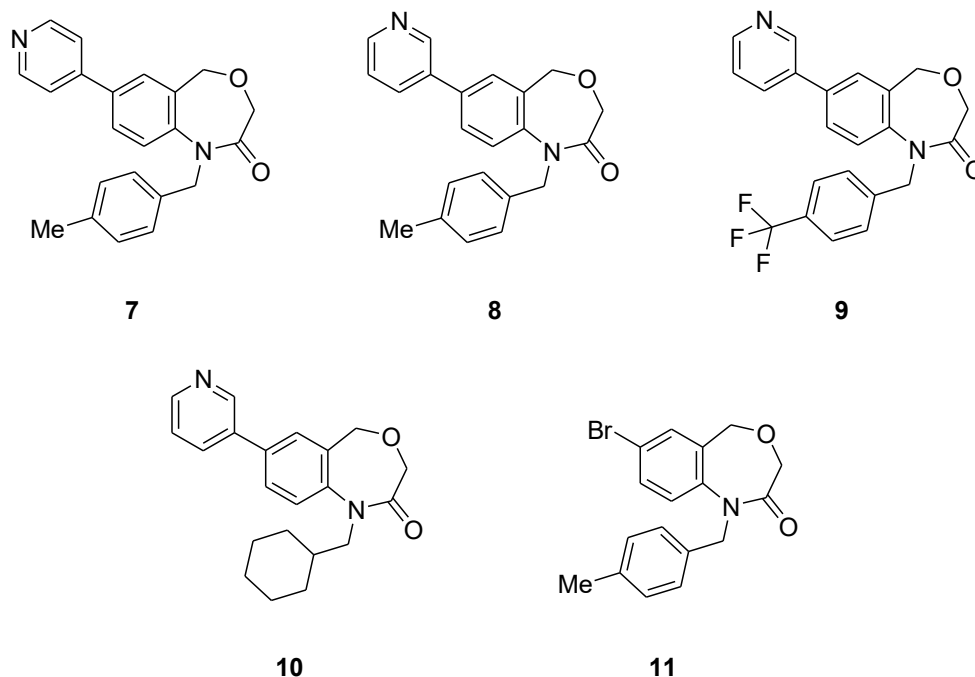
1.2.1 Inhibice lidských parazitů

Deriváty dihydrobenzoxazepinonů mají prokázanou biologickou aktivitu, působí proti parazitární hlístici *Trichuris muris*, což je cizopasný červ vyvolávající trichuriózu u myší. Slouží jako experimentální model, jelikož je velmi podobný lidskému Tenkohlavci *Trichuris trichuria*. Z tohoto důvodu se hojně využívá jako model pro syntézu nových derivátů, jelikož se předpokládá, že by tyto analogy mohly působit i proti Tenkohlavci lidskému.^{3,4}

Trichuris trichuria – Tenkohlavec lidský je původce, jež patří do rodu hlístic způsobující onemocnění zvané trichurióza. Řadí se ke střevním parazitům, kteří střevní onemocnění způsobují nejčastěji. Samice vyprodukuje denně 2 000–14 000 vajíček, která se dostávají do půdy, kontaminují vodu, půdní plodiny, maso a následně potravinu. K přenosu na člověka dochází nejčastěji orofekální cestou, a to pozřením nemyté zeleniny, ovoce, tepelně neupraveného masa nebo kontaminovanou vodou, kdy se do jeho gastrointestinálního traktu dostanou vajíčka hlístice s infekčními larvami, které se uvolní v tenkém střevě a následně přechází do střeva tlustého. Výkaly se dostanou zpět do půdy, a tak tvoří koloběh.⁵

Účinek stávajících sloučenin není dost silný, a proto je tendence syntetizovat analogy k těmto sloučeninám, které by mohly působit lépe. Syntéza nových sloučenin tohoto typu je taky žádoucí v prevenci proti rezistenci hlístice vůči těmto antiparazitikům. Mezi nově substituované dihydrobenzoxazepinony, patří skupina pěti derivátů (**Obrázek 3**), u kterých byly zjištěny antihelmintické účinky proti hlístici *Trichuris muris*.⁴

Antihelmintické účinky mohou vykazovat určité přírodní nebo syntetické látky, které působí proti parazitárním červům, čímž dochází k jejich vyloučení z těla. Různé anthelmintika účinkují různým mechanismem. Nejběžněji se uplatňuje poškození nervosvalové koordinace, tedy neschopnost aktivovat sval za účelem provedení úkonu,^{6,7} zásah do energetického metabolismu, především do metabolismu glukózy a zásah do enzymatického systému.⁶



Obrázek 3. Deriváty dihydrobenzoxazepinonů vykazující antihelmintické účinky proti hlístici *Trichuris muris*.

Antihelmintické účinky

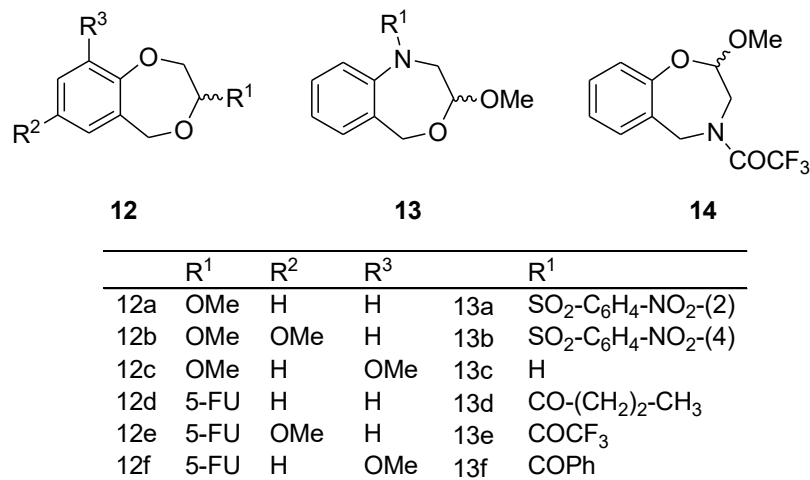
Při aplikaci benzoxazepinonů na Tenkohlavce, dochází k paralýze dospělého jedince *Trichuris muris*, čímž dojde ke snížení, či zastavení pohyblivosti v závislosti na koncentraci, až k usmrcení jedince. Zároveň tak dojde k zabránění dalšího vývoje larválního stádia.⁴

Nově syntetizovaný derivát **7** je zajímavý z hlediska schopnosti snižovat infekčnost vyvolanou larvami *Trichuris muris*. Aplikací benzoxazepinového derivátu na vajíčka Tenkohlavce dochází ke snížení infekčnosti těchto vajíček v myším hostiteli. Ostatní deriváty nejsou tak významné. Skupina nově syntetizovaných oxazepinonů vykazuje příznivé farmakokinetické účinky proti oběma stádiím, avšak pro vyvinutí léčiva je nutná jejich optimalizace.⁴

1.2.2 Protinádorová aktivita

U derivátů 3-methoxybenzo[*e*][1,4]oxazepinu **13** a 2-methoxybenzo[*e*][1,4]oxazepinu **14**, byla sledována jejich protinádorová aktivita vůči rakovinným buňkám prsu, konkrétně

proti buněčné linii MCF-7. Tato buněčná linie slouží jako experimentální model pro testování účinnosti sloučenin, které by mohly vykazovat jistou antiproliferační, či apoptotickou aktivitu.⁸



Obrázek 4. Struktura derivátů benzodioxepinů a benzoxazepinů.

Autoři publikace srovnávali inhibiční aktivitu molekul **13a–f** a **14** s hodnotami jejich bioisosterových analogů **12** (Tabulka 1) pro zdůraznění významu *N*-substituovaného fragmentu v benzoxazepinovém kruhu. Bylo zjištěno, že sloučeniny, které obsahují v heterocyklu atom dusíku, vykazují lepší antiproliferační aktivitu vůči buněčné linii MCF-7 a nižší toxicitu, oproti jejich benzodioxepinovým analogům **12**. Ukázalo se, že nejvíce účinná je sloučenina **13e**, jejíž inhibiční koncentrace je $27,39 \pm 0,71$ mM a sloučenina **14** s inhibiční koncentrací $27,85 \pm 0,64$ mM.⁸

Tabulka 1. Antiproliferační aktivita sloučenin **12**, **13** a **14** vůči buněčné linii MCF-7.

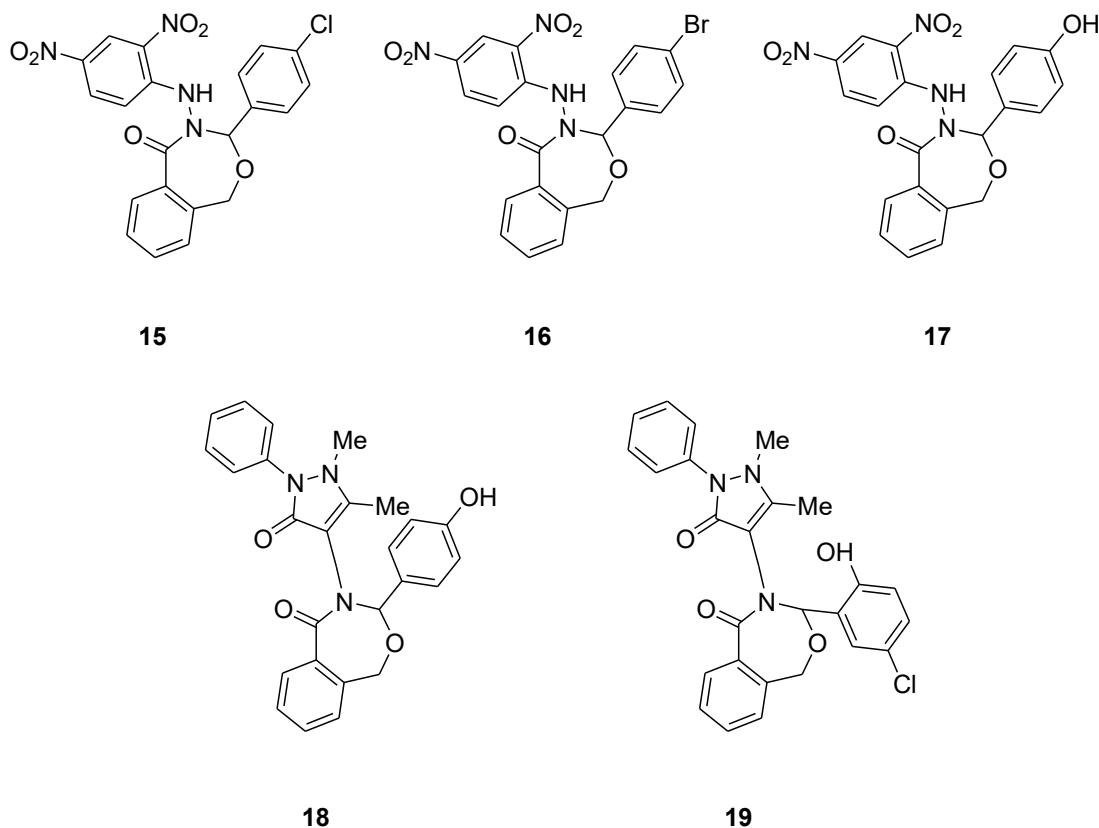
	13a	13b	13c	13d	13e	13f	14	12
IC ₅₀ ^a (mM) _a	51,78	44,80	81,05	39,84	27,39	36,70	27,85	151,28

^aUdávaná chyba byla v rozmezí 0,5-2,0 mM

1.2.3 Inhibiční účinky mikroorganismů

U několika sloučenin **15–19** na bázi 1,3-oxazepin-5(1*H*)-onu, znázorněných na **Obrázku 5**, byly na základě diskových difuzních testů zjištěny relativně silné inhibiční účinky vůči kvasinkám rodu *Candida*. Konkrétně byly sledovány antifungální účinky

na druhy *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii* a *Candida zeylanoides*.⁹



Obrázek 5. Struktury testovaných derivátů 1,3-oxazepin-5(1*H*)-onu na kvasinky rodu *Candida*.

Z této skupiny byly nejvíce účinné sloučeniny **15–18**, které vykazovaly celkově silnější inhibici proti všem vybraným druhům kvasinek rodu *Candida*. Po aplikaci napuštěného disku jejich roztoky na agary s nanesenou mikrobiální suspenzí a po jejich inkubaci se v místě pod přiloženým diskem netvořilo mycelium, dokonce ani v jeho blízkém okolí. Průměrně docházelo k tvorbě inhibičních zón o vzdálenosti 13–15 mm od okraje disku.⁹

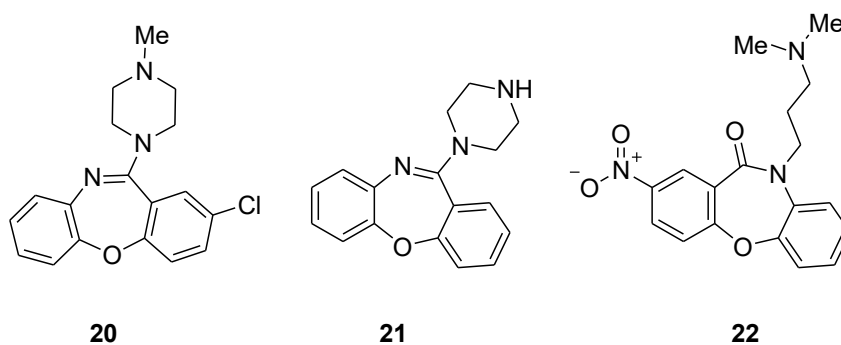
1.2.4 Léčiva s oxazepinovým kruhem

Nejznámějším léčivem majícím ve své struktuře oxazepinový kruh je loxapin (**20**), jež se řadí mezi antipsychotika. Od ostatních derivátů spadajících do této skupiny léčiv se vyznačuje nižší neurotoxickou¹⁰ a současně se liší svým mechanismem účinku, který nebyl

přesně stanoven. Bylo ovšem prokázáno,¹¹ že loxapin je antagonist dopaminu a také blokátor serotoninu 5-HT₂, díky čemuž dochází ke změnám dráždivosti ve spojení s navozením klidu. Těchto vlastností se využívá při léčbě schizofrenie.¹²

Demetylovaný derivát loxapinu, který je rovněž používán v klinické praxi k léčbě neuroleptické bolesti,¹³ se nazývá amoxapin (**21**). Ve studiích bylo prokázáno, že má antidepresivní aktivitu v obvyklých dávkách 200–400 mg denně.¹⁴

Dalším dibenzoxazepinovým medikamentem je nitroxazepin (**22**), který byl rovněž zkoumán pro svou antidepresivní aktivitu s pozitivními výsledky. Kladnou odpověď vykazovalo 73 % pacientů s různými typy deprese, avšak byly zaznamenány i negativní vedlejší účinky.^{15,16}



Obrázek 6. Struktury neuroleptických dibenzoxazepinových chemoterapeutik.

1.3 Syntéza oxazepinů

Jedním z nejčastěji používaných způsobů syntézy 1,4-benzoxazepinů je reakce alifatického dihalogenderivátu s molekulou, která současně obsahuje aminovou a hydroxylovou skupinu. Příkladem takovéto syntézy je reakce 2-aminofenolu s 1,3-dibrompropanem.¹⁷

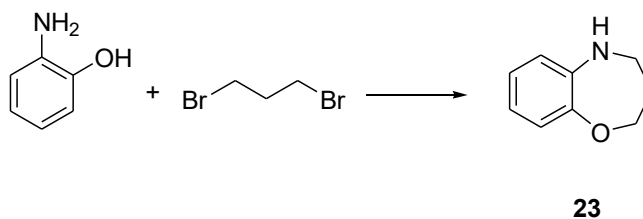


Schéma 1. Syntéza benzo[*b*][1,4]oxazepinu z 2-aminofenolu.

Zajímavým příkladem tvorby oxazepinového kruhu může být reakce 4-acylpyridazin-3(2*H*)-onu, potažmo jeho enolformy, s 2-aminoethanolem. Tato kondenzace provedená ve vroucí kyselině octové poskytla pyridazino[4,3-*f*][1,4]oxazepin.¹⁷

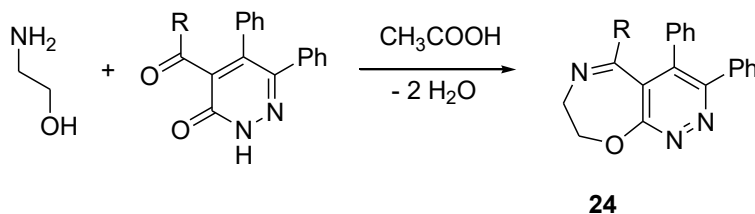


Schéma 2. Syntéza substituovaného pyridazino[4,3-*f*][1,4]oxazepinu.

Příprava derivátů dihydrobenzoxazepinonu, které byly dříve v práci popisovány jako sloučeniny s antihelmintickými účinky, vycházela ze substituovaného esteru kyseliny anthranilové.⁴

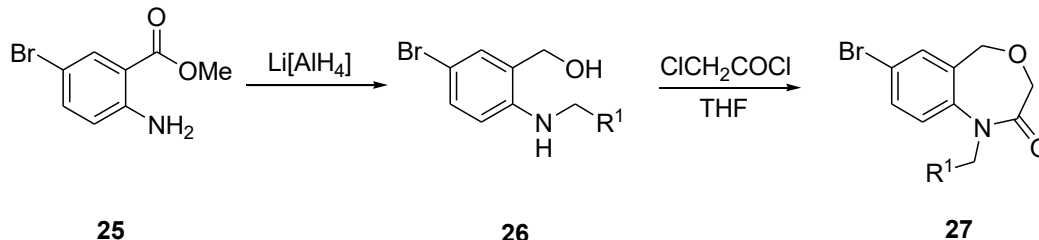
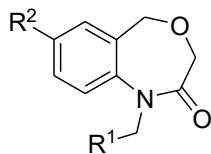


Schéma 3. Syntéza dihydrobenzoxazepinonových derivátů s antihelmintickými účinky.

V prvním kroku několikastupňové syntézy byla provedena vhodná substituce primární aminové skupiny, kterou následovala redukce esterové skupiny tetrahydrohlinitanem lithným u sloučeniny **25** za vzniku primárního alkoholu **26**, který byl, jakožto vhodný prekursor pro tvorbu benzoxazepinonových derivátů, během 16 hodin zacyklen prostřednictvím 2-chloracetylchloridu v THF při teplotě 0 °C za vzniku derivátu **27**. Případné další obměny atomu bromu na benzenovém kruhu heterocyklu **28** byly uskutečněny substitucí příslušnými alifatickými, popř. aromatickými aminy v bazickém prostředí. Substituenty R¹ a R² finální sloučeniny jsou uvedeny níže v tabulce.⁴

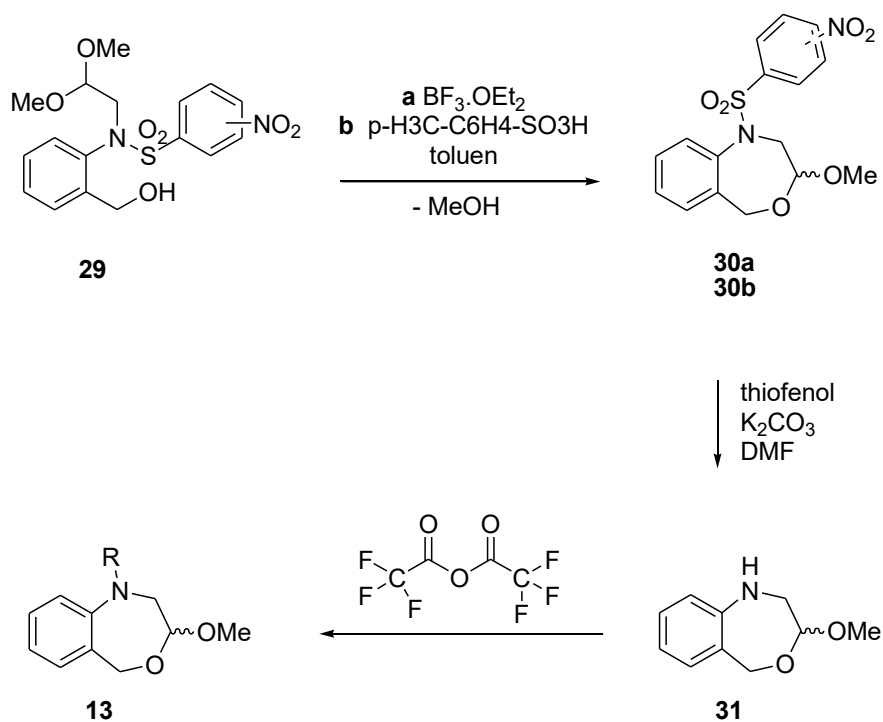


28

R ¹	R ²
Cyklohexan	4-pyridin
4-CF ₃ -Ph	4-pyridin
Tol	4-pyridin
Tol	3-pyridin

Obrázek 7. Deriváty dihydrobenzoxazepionu.

Deriváty vycházející ze sloučeniny **29** byly syntetizovány na základě Mitsunobuovy reakce, což je univerzální metoda pro přeměnu alifatických alkoholů (Schéma 4).⁸

Schéma 4. Reakční cesta vedoucí k cílovým derivátům **13**.

Sloučenina **29** kvantitativně poskytla cyklické sloučeniny **30** za odštěpení MeOH. Vzniklý heterocyklus byl získán dvěma cestami. Cesta **a** byla provedena použitím etherátu fluoridu boritého, cesta **b** kyselinou p-toluensulfonovou v prostředí bezvodého toluenu. Rozštěpení sulfonamidové skupiny u sloučeniny **30** bylo provedeno působením thiofenolu a uhličitanu draselného v DMF za vzniku sekundárního cyklického aminu **31**. Následující

krok zahrnoval acetylaci sloučeniny **31** prostřednictvím chloridů nebo anhydridu kyseliny trifluoroctové. Tento postup poskytuje deriváty **13**.⁸

Dostí netradiční způsob, který je znázorněn ve **Schématu 5**, byl využit při přípravě derivátů benzo[*e*][1,3]oxazepin-5(1*H*)-onu **32**. Jako výchozí látku použili isobenzofuranon, který za kyselé katalýzy kyseliny octové relativně snadno podléhá nukleofilnímu ataku zvoleného iminu, čímž přechodně dochází k otevření laktonového kruhu doprovázeného následující intramolekulární cyklizací.¹⁸

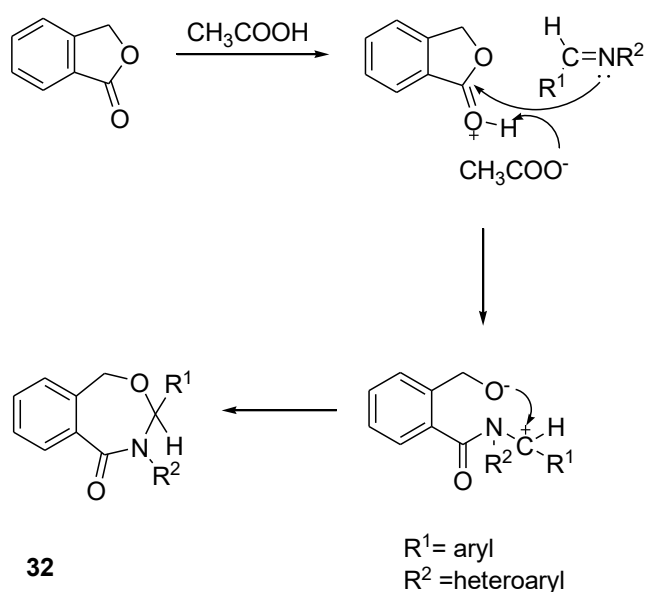
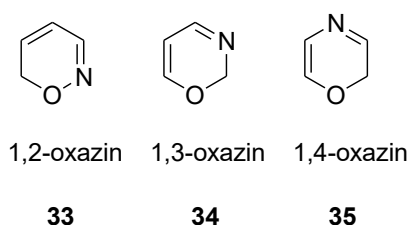


Schéma 5. Mechanismus vzniku benzo[*e*][1,3]oxazepin-5(1*H*)-onů.

2 OXAZINOVÉ SLOUČENINY

2.1 Struktura oxazinů

Oxaziny, analogické sloučeniny k oxazepinům, jsou šestičlenné heterocyklické sloučeniny, které ve své molekule současně obsahují atomy dusíku a kyslíku. Tyto heteroatomy se mohou vyskytovat ve třech různých polohách, z čehož plyne, že rozlišujeme 1,2-oxaziny, 1,3-oxaziny a 1,4-oxaziny. Číslování těchto sloučenin, jak je obvyklé pro cyklické sloučeniny obsahující různé heteroatomy, začíná vždy od atomu kyslíku. To znamená, že atom kyslíku se vyskytuje vždy v poloze 1 a atom dusíku zaujímá polohu 2, 3 nebo 4.¹⁹

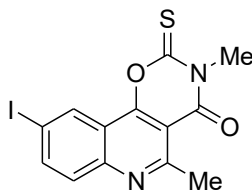


Obrázek 8. Struktury isomerních oxazinů.

2.2 Biologické účinky oxazinů

Po průzkumu dostupné literatury bylo zjištěno, že bylo doposud připraveno sice větší množství sloučenin, jež mají ve své struktuře zabudované chinolinové jádro s přikondenzovaným oxazinovým kruhem, avšak velká část z nich nevykazuje buď žádnou, nebo nevýznamnou biologickou aktivitu.

Nicméně byly nalezeny dvě studie, ve kterých jsou diskutovány strukturně podobné sloučeniny derivátům námi syntetizovaným s dobrou biologickou aktivitou. U první studie²⁰ byly presentovány antimikrobiální účinky sloučeniny obsahující ve svém skeletu vzájemně spojené kruhy chinolinu a 2-thioxo-1,3-oxazin-4(3*H*)-onu (sloučenina **36**).



36

Obrázek 9. Struktura antimikrobiálního derivátu oxazinochinolinu.

Účinky sloučeniny uvedené na **Obrázku 9** byly vyhodnoceny na základě výsledků diskových difuzních testů provedených na šesti druzích mikroorganismů, kterými byli *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* a *Candida albicans*. K porovnání byly jako standardy použity čtyři typy komerčních a relativně pro své dobré účinky hojně využívaných „antibiotik“.²⁰

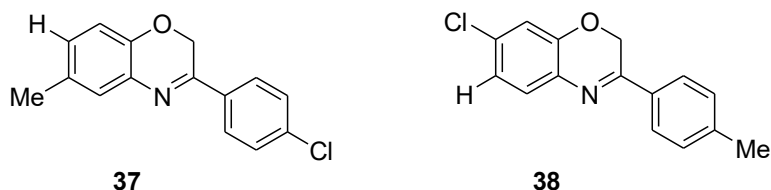
Tabulka 2. Antimikrobiální aktivita oxazinochinolinového derivátu a referenčních léčiv.

	Inhibiční zóna [mm]					
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>
Oxazinový derivát	16	20	12	16	10	35
Piperacillin	7	7	20	27	20	-
Cefaloxim	32	29	22	31	26	-
Amikacin	13	15	18	19	18	-
Mycostatin	-	-	-	-	-	40

Z výsledků testů, jež jsou uvedeny v **Tabulce 2**, jasně plyne, že na všechny sledované mikroorganismy oxazinový derivát chinolinu působí silně inhibičně a dokonce ve všech případech byla v okolí místa aplikace disku napuštěného účinnou látkou patrná tvorba inhibiční zóny. Nejlepší inhibiči vykazoval tento derivát proti kvasince *Candida albicans*, kde průměr inhibiční zóny se přibližoval k hodnotě Mycostatinu, což je specializované terapeutikum k léčbě onemocnění způsobených houbami. Naopak nejméně působil proti bakterii *Bacillus cereus*. V porovnání se širokospektrým „antibiotikem“ Cefaloximem,

který měl prakticky ve všech případech účinek největší, měl oxazinochinolinový derivát (**Obrázek 9**) oproti němu inhibiční zónu téměř vždy poloviční.²⁰

Druhá studie²¹ se zabývala inhibičními účinky 2*H*-benzo [*b*][1,4] oxazinových derivátů (**Obrázek 10**) na rakovinou tvorné hepatocelulární²² buňky HepG2 za normoxických (normální hladina kyslíku) a hypoxických (snížená hladina kyslíku) podmínek. Hypoxie, resp. nádorová hypoxie je stav, kdy v nádoru vznikají hypoxická mikroprostředí se sníženou koncentrací kyslíku vlivem nepravidelného cévního zásobení.²³



Obrázek 10. Struktura 2*H*-benzo [*b*][1,4] oxazinových derivátů.

Ze screeningu bylo zjištěno, že sloučeniny **37** a **38** specificky inhibují růst hypoxických rakovinných buněk. Inhibiční koncentrace sloučeniny **37** byla $IC_{50} = 87 \pm 1,8 \mu M$ a inhibiční koncentrace sloučeniny **38** byla $IC_{50} = 10 \pm 3,7 \mu M$. Za normoxických podmínek je inhibice nevýznamná z důvodu potřeby vysoké koncentrace účinné látky, a to až 600M. Autoři publikace uvádí, že mechanismus tohoto účinku není doposud objasněn.²¹

2.3 Syntéza oxazinů

Většina syntéz různých derivátů oxazinu vychází z vhodně substituovaných 2-hydroxyethan-1-onů. Jedním takovým příkladem je reakce difenacyl etheru, nebo acetonyl(fenacyl)etheru s amoniakem rozpuštěným v ethanolu. Prezentovaná aminolýza poskytla žádané 3,5-disubstituované 1,4-oxaziny **40**.²⁴

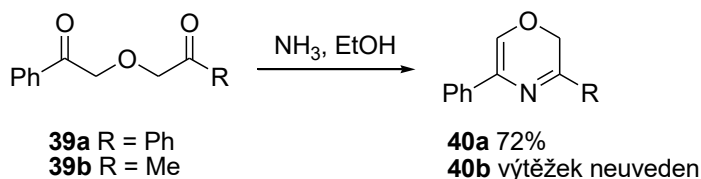


Schéma 6. Syntéza 3,5-disubstituovaných 1,4-oxazinů.

K získání 2,4,6-trisubstituovaných 1,4-oxazinů **41** byl zvolen analogický přístup jako v předchozím případě, pouze s tím rozdílem, že výchozí sloučenina již obsahuje atom dusíku, který je po dehydrataci (z jiného úhlu pohledu po dehydrohalogenaci) *N,N*-difenacylanilinufosforylchloridem v pyridinu (**Schéma 7**) součástí oxazinového kruhu. Je překvapivé, že tato poměrně snadná reakce poskytuje nižší výtěžky (55%) produktů než komplikovanější aminolýza.²⁴

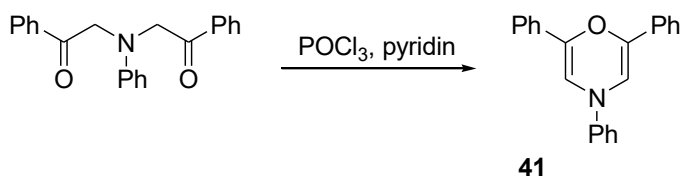


Schéma 7. Syntéza 2,4,6-trifenyl-4*H*-1,4-oxazinu.

Opět prakticky identickou metodou, jako je uvedena na počátku této kapitoly, je možné připravit i benzoxaziny. Jejich syntéza byla zahájena redukcí nitroskupiny 2-(2-nitrofenoxy)-1-fenylethanonu chloridem cínatým v kyselém prostředí na aminovou skupinu, která po interakci s karbonylovou skupinou postranního řetězce poskytla 3-fenyl-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin (**42**) (**Schéma 8**).²⁴

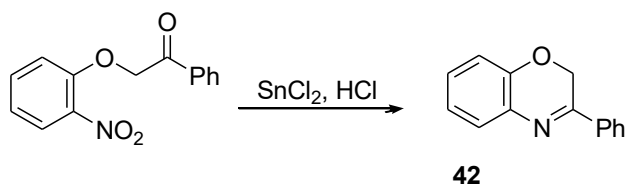


Schéma 8. Syntéza benzo[*b*][1,4]oxazinu.

V závislosti na podmínkách reaktivní cyklizace 2-(2-nitrofenoxylových) derivátů kyseliny octové (**Schéma 9**) je možné připravit typově různé benzoxazinony. Jsou-li výchozí látky vystaveny redukčním podmínkám v neutrálním prostředí, to je účinku chloridu amonného a zinku v ethanolu, poskytují 4-hydroxy-2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-3(4*H*)-ony (**43**). V případě redukcí provedených kovem v kyselině, jsou výhradně získávány 2*H*-benzo[*b*][1,4]oxazin-3(4*H*)-ony (**44**).²⁴

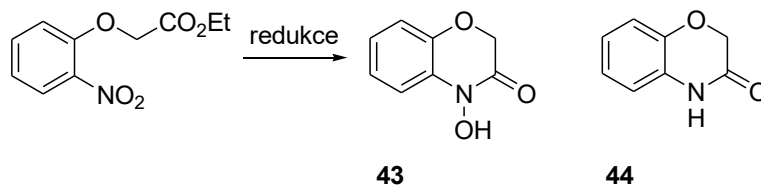


Schéma 9. Reduktivní cyklizace 2-(2-nitrofenoxylových) derivátů.

Jak již bylo dříve napsáno, v dostupné literatuře se vyskytuje omezený počet oxazinových derivátů s biologickými účinky. Nicméně zahraniční autoři, kteří prezentovali antimikrobiální účinky 9-jod-3,5-dimethyl-2-thioxo-2*H*-[1,3]oxazino[5,6-*c*]chinolin-4(3*H*)-onu (**36**), připravili tuto sloučeninu reakcí substituovaného 4-hydroxychinolin-3-karboxylátu s methylisokyanátem ve vroucím toluenu (**Schéma 10**). Výtěžek produktu byl 62 %.²⁰

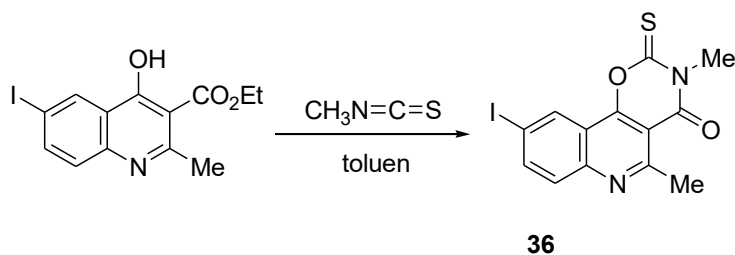


Schéma 10. Příprava oxazino[5,6-*c*]chinolin-4(3*H*)-onu.

Autoři, kteří se zabývali inhibičními účinky 2*H*-benzo [*b*][1,4] oxazinových derivátů **45** na rakovinou tvorné hepatocelulární buňky HepG2, tyto deriváty syntetizovali reakcí substituovaného 2-aminofenolu v dichlormethanu s hydrogensíranem tetrabutylamonným v prostředí potaše (**Schéma 11**). Po dvou hodinách byl přidán 2-brom-4-chloracetofenon. Reakce probíhala při laboratorní teplotě a poskytovala výtěžek přesahující 85 %.²³

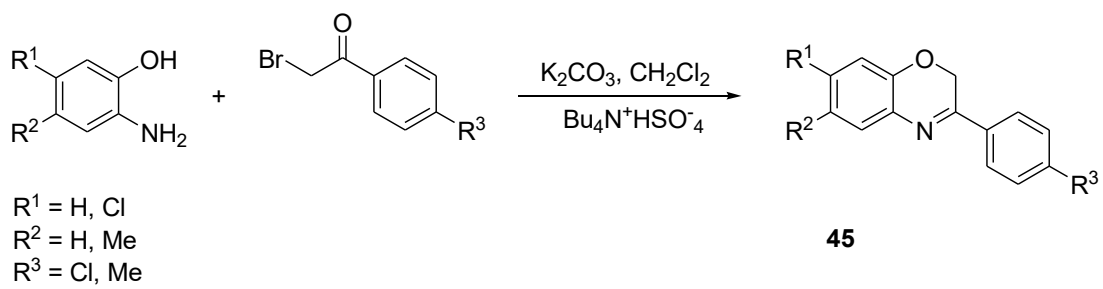


Schéma 11. Syntéza 2H-benzo [b][1,4] oxazinových derivátů.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

V rámci bakalářské práce byla vyvíjena snaha syntetizovat nové chinolinové sloučeniny s přikondenzovaným oxazepinovým kruhem, k čemuž nás motivovala pestrost zajímavých vlastností obou zmiňovaných derivátů. Jak naznačuje **Schéma 12**, vhodnými prekursory pro přípravu požadovaných sloučenin se jevíly 3-(3-chlorpropylamino)-4-hydroxy-3,4-dihydrochinolin-2(1*H*)-ony, které je možné teoreticky získat, má-li syntéza vycházet ze snadno dostupných 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů, čtyřstupňovým procesem s postupnou izolací jednotlivých intermediátů. Pro studii proveditelnosti syntetického plánu, byl vybrán pouze jeden derivát a to konkrétně s fenylovým substituentem vázaným k chinolonu v poloze 1 a 3.

V praktické části jsou sloučeniny značeny římskými číslicemi kvůli lepší přehlednosti a orientaci v textu.

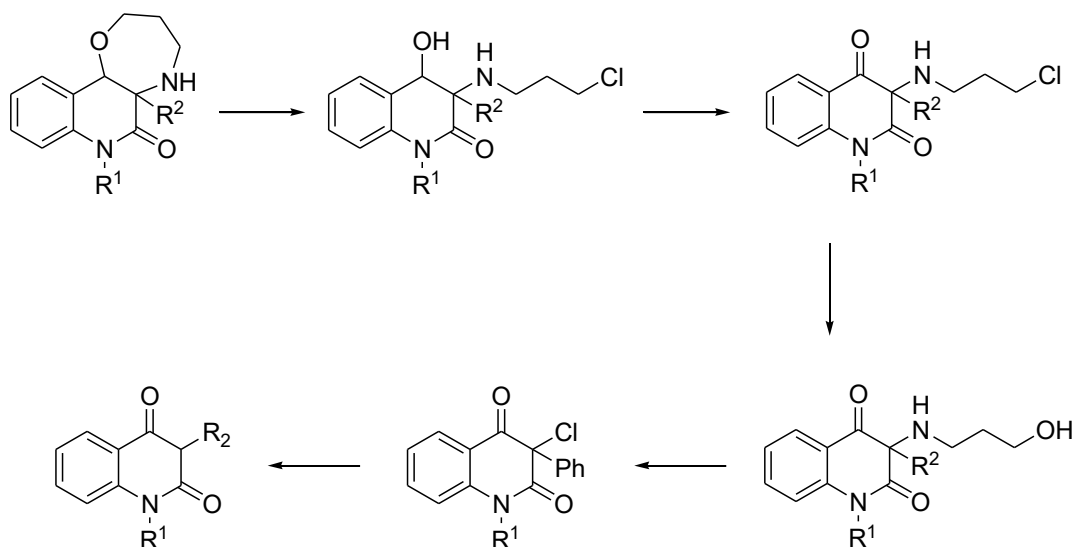


Schéma 12. Retrosyntetická analýza přípravy [1,4]oxazepino[3,2-*c*]chinolin-6(2*H*)-onů.

Výchozí sloučenina **II**, 3-chlorchinolin-2,4-dion, byla připravena podle známého postupu z literatury.²⁵ Zavedení atomu chloru do molekuly 4-hydroxychinolin-2-onu bylo provedeno během několika minut chloridem sulfurylu v dioxanu při laboratorní teplotě (**Schéma 13**). O sulfurylchloridu je sice obecně známo, že se jedná o činidlo, u kterého je

možné očekávat více reakčních mechanismů, nicméně v tomto případě panuje předpoklad, že se štěpí na SO_2 a Cl_2 a reakce v první fázi běží jako adice chloru na dvojnou vazbu 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onového kruhu za vzniku nestabilního 3,4-dichlor-4-hydroxy-3,4-dihydrochinolin-2(1*H*)-onu, ze kterého spontánně odstupuje molekula chlorovodíku a dochází k tvorbě 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **II**.

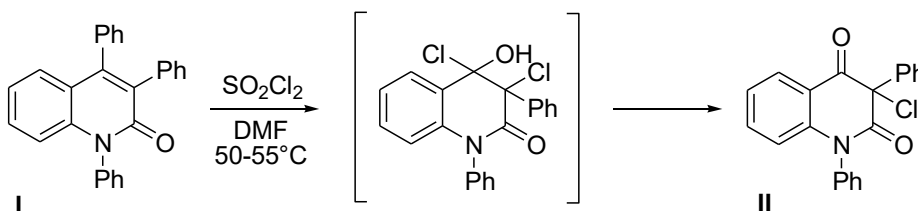
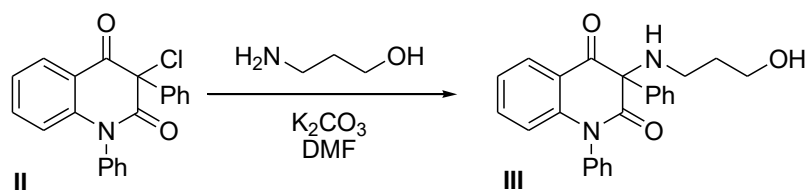


Schéma 13. Příprava 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu.

V dalších krocích bylo nutné 3-chlorchinolindion transformovat na derivát nesoucí v poloze 3 atom dusíku, na kterém bude navázaný dostatečně dlouhý alifatický řetězec s vhodnou substitucí umožňující jeho cyklizaci do polohy 4. Za tímto účelem byla sloučenina **II** ponechána při laboratorní teplotě reagovat s různě vysokým nadbytečným množstvím propanolaminu v dimethylformamidu (DMF).



Metoda	Propanolamin ekv.	K_2CO_3 ekv.	Čas min.	Výtěžek %
A	3	0	15	83
C	1,05	2	150	77
B	1,1	2	150	89

Schéma 14. Aminolýza 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **II**.

Při pohledu na výtěžky uvedené v tabulce, jež je součástí **Schématu 14**, by se dala navodit mylná představa, že prakticky na množství 3-aminopropanolu nezávisí. Ovšem není tomu tak. V případě 50% přebytku propanolaminu (**Metoda A**) je sice reakce během pár minut u konce, ale je velmi problematické jeho zbylé množství ze vzniklé směsi

odstranit. Při sloupcové chromatografii se vleče kolonou téměř po celém jejím objemu a navíc neabsorbuje UV záření a není tudíž na TLC vidět. Zvolíme-li jako čisticí operaci krystalizaci, je možné získat pouze malý podíl krystalů (nízký výtěžek) a zbylé matečné louhy při jejich pozvolném zahušťování tvoří medovité hmoty. V případě opačném, kdy byl použit pouze 5% nadbytek propanolaminu (**Metoda C**), bylo od 2,5 h do 24 h složení rekcí směsi neměnné. Stále byla přítomna výchozí látka, kterou bylo nutné od produktu dělit na sloupci silikagelu. Z provedených experimentů se jako nejvíce výhodná ukázala **Metoda B**, která poskytla pouhou krystalizací surového produktu očekávanou sloučeninu **III** ve výborné kvalitě a s nejvyšším ziskem.

Následně byla, obvyklou metodou pro konverzi alkoholů na halogenderiváty, účinkem thionylchloridu v dioxanu při laboratorní teplotě provedena nukleofilní substituce hydroxylové skupiny postranního řetězce 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **III**. Reakce podle předpokladů nezpůsobovala žádné problémy, vznikal prakticky čistý produkt, který ochotně krystalizoval z benzenu.

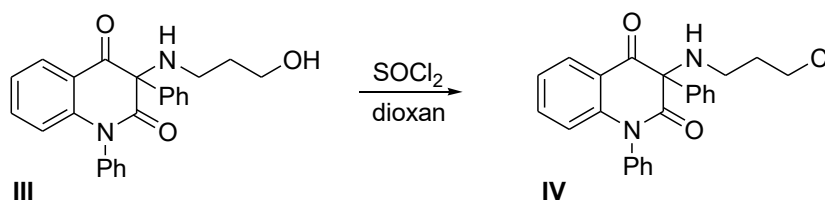


Schéma 15. Nukleofilní substituce hydroxylové skupiny látky **III**.

Poslední modifikací molekuly před samotnými pokusy o cyklizaci byla redukce oxoskupiny v poloze 4 chinolindionu. K redukci ketonů na sekundární alkoholy se velmi často využívá účinků komplexních hydridů, nejčastěji tetrahydridoboritanu sodného nebo tetrahydridohlinitanu lithného. V podstatě při těchto reakcích dochází k adici nukleofilního hydridového iontu na kladně polarizovaný elektrofilní atom uhlíku karbonylové skupiny. Primárně vzniká alkoxidový ion, jehož protonace H₃O⁺ ve druhém kroku reakce vede ke konečnému produktu, alkoholu (**Schéma 16**).

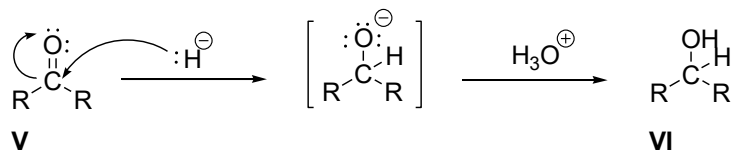
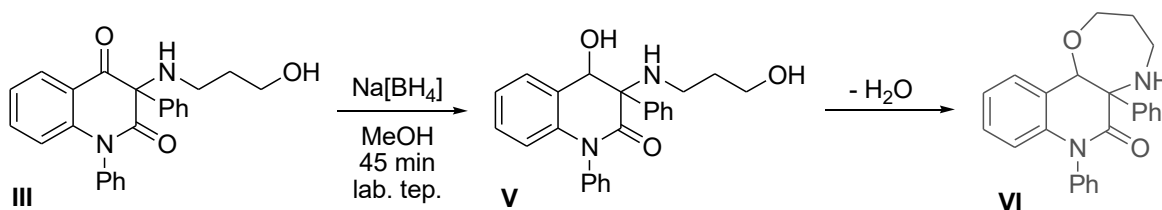


Schéma 16. Mechanismus redukce ketonů na alkoholy.

V našem případě byl z důvodu bezpečnosti a snazší manipulace (je možné s ním manipulovat na vzduchu a pracovat v ne absolutně suchých rozpouštědlech) jako redukční činidlo vybrán tetrahydridoboritan sodný. Pro modelový experiment redukce oxoskupiny byl vybrán keton **III**. Jeho volba měla několik opodstatnění. Protože od něj nebyly očekávány žádné vedlejší reakce, byl vhodný pro zjištění potřebného množství použitého hydridu a taktéž v případě úspěšné redukce by bylo teoreticky možné produkt vystavit látkám s dehydratačními účinky (např. P_2O_5 , H_2SO_4) a získat tak požadované [1,4]oxazepino[3,2-c]chinolin-6(2*H*)-ony **VI** (Schéma 16).

Schéma 17. Modelový experiment redukce oxoskupiny chinolindionu **III**.

Na Schématu 17 naznačená redukce sloučeniny **III** vlivem 1,5 násobku látkového množství $\text{Na}[\text{BH}_4]$ vůči výchozí látce v metanolu při laboratorní teplotě proběhla během několika minut. Po zpracování reakční směsi byl získán pouze jeden produkt, jehož výtěžek po krystalizaci přesahoval 80 %.

Na základě zkušeností a ochoty redukce oxoskupiny v poloze 4 modelového substrátu, byly pro přípravu alkoholu **VII** i pro jeho izolaci z reakční směsi zvoleny stejné podmínky (Schéma 18).

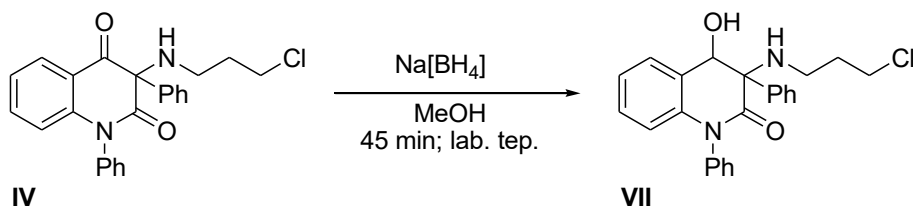


Schéma 18. Redukce sloučeniny **IV** směřovaná k tvorbě příslušného alkoholu **VII**.

Celkový průběh reakce byl analogický jako předchozím případě. Výchozí látka byla dle TLC během 30 minut přeměněna na jeden produkt. Po zpracování reakční směsi jejím nalitím do vody a po úpravě pH, extrakci organických látek do ethyl-acetátu, vysušení a po odpaření rozpouštědla na RVO, byl zbylý amorfní prášek překrystalizován z benzenu. Následně byly získané krystalky charakterizovány infračervenou spektroskopií, plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí a nukleární magnetickou resonancí. Z těchto instrumentálních analytických metod překvapivě vyplynulo, že získaný krystalický podíl, i když se na TLC vyvíjených v charakterně odlišných mobilních fázích jevil stále čistý, je směsí přibližně tří látek, u kterých se doposud nepodařilo zjistit, o jaké sloučeniny se jedná. Z nedostatku času zbývajícího do odevzdání bakalářské práce, i když nás to blízké době jistě nemine, nebyl tento pokus opakován. Jelikož se doposud nepodařilo v syntéze [1,4]oxazepino[3,2-c]chinolin-6(2*H*)-onu stěžejní intermediát připravit, nebyly ani studovány podmínky cyklizačních reakcí postranního 3-chlorpropylaminového řetězce.

4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Použité reagenty a rozpouštědla, pro přípravu produktů, byly získány z komerčních zdrojů (Fluka, Sigma Aldrich). Retenční faktory, uvedené u připravených derivátů, byly stanoveny metodou chromatografie na tenké vrstvě (TLC), pro kterou byly použity komerční hliníkové destičky potažené vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV 254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) s fluorescenčním indikátorem pro UV $\lambda = 254$ nm. Teploty tání byly stanoveny pomocí mikroskopu na Koflerově bloku (výrobce Helmut Hund GmbH, Wetzlar), který nebyl před jednotlivými měřeními kalibrován. Sloupcová chromatografie byla prováděna na silikagelu (Fluka Silica gel 60 s velikostí částic 0,063–0,2 mm). FT-IR spektrometrem Alpha (Brucker Optic GmbH Ettlingen, Germany) byla měřena infračervená spektra technikou KBr tablet. NMR spektra byla měřena při frekvenci 500 MHz (^1H), 126 MHz (^{13}C) a 51 MHz (^{15}N) na spektrometru Bruker Avance III, na spektrometru JEOL ECZ 400 byla měřena spektra při frekvenci 399,75 MHz (^1H), 100,55 MHz (^{13}C) a 41 (^{15}N). U obou spektrometrů bylo měření prováděno při teplotě 303 K. ^1H NMR spektra byla kalibrována na residuální DMSO- d_5 s chemickým posunem δ 2,50 ppm. ^{13}C NMR spektra byla korigována na ^{13}C signál DMSO- d_6 s chemickým posunem 39,52 ppm. Chemické posuny jsou uvedeny v jednotkách ppm. Interakční konstanta J je uvedena v jednotkách Hz. Multiplicita signálů je značena zkratkami s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubletu), ddd (dublet dubletů dubletů), t (triplet), td (triplet dubletu), m (multiplet), br (široký signál). Elementární analýzy byly provedeny na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elementar Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc.)

5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A CHARAKTERISTIKA PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN

5.1 Syntéza 3-Chlor-1,3-difenylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu

V olejové lázni vytemperované na 45–50 °C bylo k suspenzi 4-hydroxychinolonu (50 mmol) ve 150 ml dioxanu za stálého míchání přikapáno 10,2 ml (125 mmol) SO₂Cl₂, přičemž se původní suspenze po přidavku sulfurylchloridu rozpustila. Reakční roztok byl míchán 30 minut a sledován prostřednictvím TLC až do zreagování výchozí látky. Po ochlazení byl reakční roztok nalit do 700 ml ledové vody, ve které se vyloučilo značné množství pevné látky, která byla přefiltrována přes fritu, promyta destilovanou vodou a vysušena. Vodné podíly byly extrahovány 3 x 100 ml CHCl₃. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány a odpařeny na RVO. Krystalizací surového produktu v benzenu byla získána čistá sloučenina **II**.

5.1.1 3-Chlor-1,3-difenylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (**II**)

Žlutá látka; $t_f = 104\text{--}108\text{ }^\circ\text{C}$ (benzen), výtěžek 90 %, $R_f = 0,66$ (30 % EtOAc v CHCl₃), 0,60 (5 % EtOH v CHCl₃).

IČ spektrum (tableta KBr), cm⁻¹: 3042, 3018, 2942, 1709, 1671, 1607, 1471, 1307, 1192, 1097, 972, 765, 625, 533, 440.

¹H NMR spektrum shodné s literaturou²⁶

¹³C NMR spektrum shodné s literaturou²⁶

¹⁵N NMR spektrum shodné s literaturou²⁶

5.2 Aminolýza 3-chlor-1,3-difenylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu

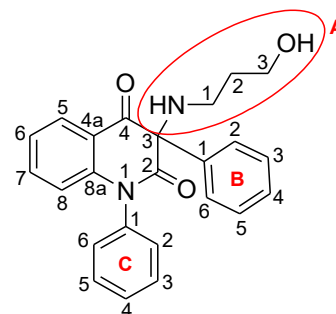
K suspenzi 3-chlorchinolindionu **II** (10 mmol, 1 ekv.) a K₂CO₃ (20 mmol, 2 ekv.) ve 30 ml DMF byl za laboratorní teploty během 1 min přikapán roztok propanolaminu (11 mmol, 1,1 ekv.) v 5 ml DMF. Získaná reakční suspenze byla 2,5 h míchána při laboratorní teplotě. Následně byla suspenze nalita do 750 ml ledové vody. Vyloučená bílá látka byla přefiltrována přes fritu, promyta vodou a vysušena. Veškeré vodné podíly byly

extrahovány 7×50 ml EtOAc a poté zlikvidovány. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na_2SO_4 , přefiltrovány a odpařeny do sucha. Veškeré surové produkty byly spojeny, rozpuštěny v 30 ml vroucího EtOAc, za horka přefiltrovány a ponechány samovolně krystalizovat.

5.2.1 1,3-Difenyl-3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1H,3H)-dion (III)

Bezbarvé krystaly, $t_f = 146\text{--}149^\circ\text{C}$ (EtOAc), výtěžek 89 %, $R_f = 0,68$ (10 % CHCl_3 v EtOAc), 0,28 (5 % EtOH v CHCl_3).

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1} : 3262, 2933, 1972, 1679, 1462, 1337, 1251, 1165, 1030, 957, 808, 762, 604, 569, 444



^1H NMR spektrum ($\text{DMSO-}d_6$, 500 MHz), ppm: δ 1,52–1,71 (m, 2H, H-2^A); 2,46–2,49 (m, 1H, H-1^A); 2,59–2,68 (m, 1H, H-1^A); 2,91 (br s, 1H, NH); 3,43–3,53 (m, 2H, H-3^A); 4,41 (br s, 1H, –OH); 6,36 (d, 1H, H-8, $J = 8,3$ Hz); 7,16 (dd, 1H, H-6, $J = 7,4; 7,4$ Hz); 7,32–7,37 (m, 1H, H-4^B); 7,38–7,53 (m, 7H, H-2^B, H-3^B, H-5^B, H-6^B, H-2^C, H-6^C, H-7); 7,56–7,61 (m, 1H, H-4^C); 7,62–7,73 (m, 2H, H-3^C, H-5^C); 7,84 (dd, 1H, H-5, $J = 7,7; 1,3$).

^{13}C NMR spektrum ($\text{DMSO-}d_6$, 126 MHz), ppm: δ 33,28 (C-2^A); 42,62 (C-1^A); 59,58 (C-3^A); 77,42 (C-3); 116,62 (C-8); 120,47 (C-4a); 123,36 (C-6); 126,77 (C-2^B a C-6^B); 127,52 (C-5); 128,66 (C-4^B); 128,94 (C-3^B a C-5^B); 128,96 (C-4^C); 129,06 (C-2^C a C-6^C); 130,34 (C-3^C a C-5^C), 135,89 (C-7); 137,41 (C-1^C); 137,50 (C-1^B); 143,03 (C-8a); 171,28 (C-2); 192,94 (C-4).

^{15}N NMR spektrum ($\text{DMSO-}d_6$, 51 MHz), ppm: δ 48,56 (NH), 151,83 (N-1).

HRMS (ESI^+) pro $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3^+$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) vypočítané: 387,1703; nalezené: 387,1728.

Pro $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$:	vypočítané:	74,59% C	5,74% H	7,25% N
	stanovené:	74,58% C	5,84% H	7,32% N

5.3 Nukleofilní substituce hydroxylové skupiny sloučeniny III

K roztoku 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **III** (15 mmol, 1 ekv.) v 30 ml dioxanu byl za laboratorní teploty během 5 min přikapán thionylchlorid (219 mmol, 14,63 ekv.). Získaný reakční roztok byl 2 hodiny míchán při laboratorní teplotě a poté byl nalit do 2 l ledové vody. Získaná směs byla zalkalizována nasyceným roztokem NaHCO₃ přibližně na pH 8, čímž došlo k vyloučení bílé látky, která byla přefiltrována přes fritu, promyta vodou a vysušena. Veškeré vodné podíly byly extrahovány 9 x 50 ml CHCl₃ a poté zlikvidovány. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány a odpařeny do sucha. Veškeré surové byly spojeny a od drobných nečistot přečištěny sloupcovou chromatografií s využitím mobilní fáze PE/EtOAc (5/1, 5/3, v/v). Čisté spojené frakce byly překrystalizovány z benzenu.

5.3.1 3-(3-Chlorpropylamino)-1,3-difenylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (**IV**)

Bezbarvé lesklé krystaly, *t_f* 123–127°C (benzen), výtěžek 73 %, *R_f* = 0,66 (10 % EtOH v CHCl₃).

IČ spektrum (tableta KBr), cm⁻¹: 3311, 2856, 1964, 1666, 1460, 1343, 1252, 1154, 911, 749, 605, 496

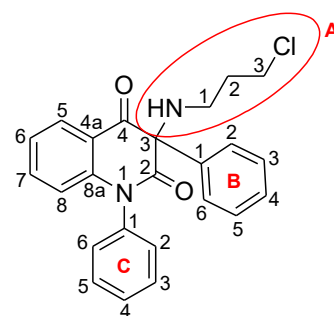
¹H NMR spektrum (DMSO-*d*₆, 400 MHz), ppm: δ 1,83–1,99 (m, 2H, H-2^A); 2,54–2,72 (m, 2H, H-1^A); 2,91–3,07 (m, 1H, NH); 3,71–3,79 (m, 2H, H-3^A); 6,36 (d, 1H, H-8, *J* = 8,1 Hz);

7,15 (ddd, 2H, H-6, *J* = 7,7; 7,7; 0,9 Hz); 7,32–7,37 (m, 1H, H-4^B); 7,38–7,52 (m, 7H, H-2^B, H-3^B, H-5^B, H-6^B, H-2^C, H-6^C, H-7); 7,56–7,61 (m, 1H, H-4^C); 7,62–7,72 (m, 2H, H-3^C, H-5^C); 7,84 (dd, 1H, H-5, *J* = 7,7; 1,5 Hz).

¹³C NMR spektrum (DMSO-*d*₆, 101 MHz), ppm: δ 33,40 (C-2^A); 42,19 (C-1^A); 43,60 (C-3^A); 77,47 (C-3); 116,57 (C-8); 120,57 (C-4a); 123,30 (C-6); 126,81 (C-2^B a C-6^B); 127,46 (C-5); 128,69 (C-4^B); 128,93 (C-3^B a C-5^B); 129,04 (C-2^C a C-6^C); 129,09 (C-4^C); 130,30 (C-3^C a C-5^C); 135,78 (C-7); 137,32 (C-1^B); 137,42 (C-1^C); 142,96 (C-8a); 171,11 (C-2); 192,84 (C-4).

¹⁵N NMR spektrum (DMSO-*d*₆, 41 MHz), ppm: δ 147,22 (N-1); nebyl detekován (N-4).

HRMS (ESI⁺) pro C₂₄H₂₂ClN₂O₂⁺ ([M+H]⁺) vypočítané: 405,1364; nalezené: 405,1383.



Pro C ₂₄ H ₂₁ ClN ₂ O ₂ :	vypočítané:	71,19 % C	5,23 % H	6,92 % N
	stanovené:	71,07 % C	5,48 % H	6,99 % N

5.4 Redukce oxoskupiny derivátů III a IV

Ke směsi 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4-dionu **III** (1 mmol, 1 ekv.) nebo 3-(3-chlorpropylamino)chinolin-2,4-dionu **IV** v 5 ml MeOH byl za laboratorní teploty během 15 min ve třech dávkách přisypán Na[BH₄] (1,5 mmol, 1,5 ekv.), čímž docházelo k uvolňování bublinek a mírnému zahřátí. Reakční směs byla dále míchána 45 min při laboratorní teplotě. Poté bylo k bílé suspenzi přidáno 30 ml ledové vody a 5 ml 0,5 M-HCl. Nato byl roztok alkalizován NaHCO₃ přibližně na pH 8, čímž došlo k zakalení směsi, která byla v dělicíce extrahována 3 × 30 ml EtOAc. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány, odpařeny na RVO dosucha. Surový produkt byl krystalizován z EtOAc nebo z benzenu.

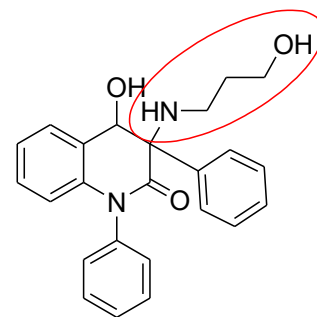
5.4.1 1,3-Difenyl-3,4-dihydro-4-hydroxy-3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2(1H)-on (V)

Bezbarvé krystaly, $t_f = 165\text{--}168\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOAc), výtěžek: 81 %, $R_f = 0,2$ (5 % EtOH v CHCl₃).

IČ spektrum (tableta KBr), cm⁻¹: 3255, 2856, 1673, 1600, 1455, 1342, 1262, 1055, 764, 697, 596, 512

¹H NMR spektrum (DMSO-*d*₆, 400 MHz), ppm: δ 1,45–1,62

(m, 2H, H-2^A); 2,34–2,45 (m, 1H, NH); 2,44–2,56 (m, 1H, H-1^A); 2,58–2,71 (m, 1H, H-1^A); 3,42 (td, 2H, H-3^A, $J = 5,9, 5,9$ Hz); 4,35 (t, 1H, C-3^A-OH, $J = 4,7$ Hz); 4,94 (d, 1H, H-4, $J = 5,1$ Hz); 5,89 (d, 1H, C-4-OH, $J = 5,2$ Hz); 6,15 (dd, 1H, H-8, $J = 7,9, 0,9$ Hz); 6,99 (ddd, 1H, H-6 $J = 7,4, 7,4, 1,1$ Hz); 7,05 (ddd, 1H, H-7 $J = 7,7, 7,7, 1,6$ Hz); 7,14–7,20 (m, 1H, H-4^B); 7,20–7,26 (m, 2H, H-3^B, H-5^B); 7,27–7,32 (m, 2H, H-2^C, H-6^C); 7,38 (d, 1H, H-5, $J = 6,6$ Hz); 7,4–7,51 (m, 1H, H-4^C); 7,51–7,55 (m, 2H, H-2^B, H-6^B); 7,55–7,61 (m, 2H, H-3^C, H-5^C).



^{13}C NMR spektrum (DMSO- d_6 , 101 MHz), ppm: δ 33,17 (C-2^A); 41,08 (C-1^A); 59,41 (C-3^A); 68,31 (C-3); 71,51 (C-4); 115,42 (C-8); 122,73 (C-6); 126,50 (C-5); 126,81 (C-4^B); 127,07 (C-3^B, C-5^B); 127,69 (C-7); 128,08 (C-4^C); 128,39 (C-4a); 128,92 (C-2^B a C-6^B); 129,12 (C-2, C-6); 129,79 (C-3^C, C-5^C); 137,95 (C-1^B); 138,54 (C-8a); 138,56 (C-1^C); 170,20 (C-2).

^{15}N NMR spektrum (DMSO- d_6 , 41 MHz), ppm: δ 42,24 (NH); 144,40 (N-1).

ZÁVĚR

Jak již bylo jistě na různých místech této práce mnohokrát zmíněno, náplň bakalářské práce byla věnována pokusům směřujícím k přípravě tricyklických sloučenin, ve kterých je současně obsažen chinolonový a oxazepinový motiv. K této myšlence nás evokoval jednak díky zajímavým biologickým účinkům neustávající zájem široké veřejnosti o oxazepinové a chinolinové deriváty a jednak skutečnost, že se v literatuře nevyskytují žádné zmínky o sloučeninách podobného typu.

Na počátku práce byl navržený, nikterak složitý plán syntézy, který zahrnoval pět reakčních kroků. Vycházel z velmi snadno dostupných 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů, jejichž příprava je v dnešní době značně prozkoumána a je možné je získat rozmanitě substituované, což je taktéž, při cílené syntéze sloučenin s konkrétní strukturou, velká výhoda. Syntetická dráha byla navržena tak, aby k jednotlivým přeměnám výchozího substrátu nebylo nutné využívat nikterak speciální činidla, reagenty, katalyzátory a aparatury, protože jenom tak se postup, poskytuje-li alespoň dobré celkové výtěžky, stává pro organické chemiky atraktivní.

Z výsledků a pozorování provedených experimentů je možné říci, že většina jednotlivých reakčních stupňů zahrnující konverzi 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů na 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-diony a jejich aminolýzu 3-aminopropanolem následovanou nukleofilní substitucí hydroxylové skupiny chloridovým iontem proběhla bez výrazných obtíží a poskytovala jednotlivé meziprodukty ve vysokých výtěžcích. První a dosud nepochopitelný nezdár nastal při, po teoretické rovině snadné, redukci oxoskupiny 3-(3-chlorpropylamino)-1,3-difenylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu účinkem tetrahydridoboritanu sodného. Tento neúspěch a taktéž nedostatek času do odevzdání bakalářské práce zapříčinil, že se nepodařilo dosáhnout touženého cíle. Nicméně není všem dnům konec.

SEZNAM ZKRATEK

4-CF ₃ -Ph	4-(trifluormethyl)fenyl
Bu ₄ N ⁺ HSO ₄ ⁻	hydrogensíran tetrabutylamonný
CO ₂ Et	diethylkarbonát
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
ekv.	ekvivalent
EtOAc	ethyl-acetát
EtOH	ethanol
IČ	infračervená spektroskopie
Me	methyl
MeOH	methanol
NMR	nukleární magnetická resonance
OMe	methylester
PE	petrolether
Ph	fenyl
R _f	retenční faktor
RVO	rotační vakuová odparka
UV	ultrafialové záření
THF	tetrahydrofuran
Tol	toluen
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
t _i	teplota tání

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Struktura oxazepinů.	11
Obrázek 2. Struktura a číslování benzoxazepinů.	11
Obrázek 3. Deriváty dihydrobenzoxazepinonů vykazující antihelmintické účinky proti hlístici <i>Trichuris muris</i>	13
Obrázek 4. Struktura derivátů benzodioxepinů a benzoxazepinů.	14
Obrázek 5. Struktury testovaných derivátů 1,3-oxazepin-5(1 <i>H</i>)-onu na kvasinky rodu <i>Candida</i>	15
Obrázek 6. Struktury neurolepticích dibenzoxazepinových chemoterapeutik.	16
Obrázek 7. Deriváty dihydrobenzoxazepionu.	18
Obrázek 8. Struktury isomerních oxazinů.	20
Obrázek 9. Struktura antimikrobiálního derivátu oxazinochinolinu.	21
Obrázek 10. Struktura 2 <i>H</i> -benzo [<i>b</i>][1,4] oxazinových derivátů.	22

SEZNAM SCHÉMÁT

Schéma 1. Syntéza benzo[<i>b</i>][1,4]oxazepinu z 2-aminofenolu	16
Schéma 2. Syntéza substituovaného pyridazino[4,3- <i>f</i>][1,4]oxazepinu.	17
Schéma 3. Syntéza dihydrobenzoxazepinonových derivátů s antihelmintickými účinky.	17
Schéma 4. Reakční cesta vedoucí k cílovým derivátům 13	18
Schéma 5. Mechanismus vzniku benzo[<i>e</i>][1,3]oxazepin-5(1 <i>H</i>)-onů.....	19
Schéma 6. Syntéza 3,5-disubstituovaných 1,4-oxazinů.	22
Schéma 7. Syntéza 2,4,6-trifenyl-4 <i>H</i> -1,4-oxazinu.....	23
Schéma 8. Syntéza benzo[<i>b</i>][1,4]oxazinu.....	23
Schéma 9. Reduktivní cyklizace 2-(2-nitrofenoxylových) derivátů.	24
Schéma 10. Příprava oxazino[5,6- <i>c</i>]chinolin-4(3 <i>H</i>)-onu.....	24
Schéma 11. Syntéza 2 <i>H</i> -benzo [b][1,4] oxazinových derivátů.....	25
Schéma 12. Retrosyntetická analýza přípravy [1,4]oxazepino[3,2- <i>c</i>]chinolin-6(2 <i>H</i>)- onů.	27
Schéma 13. Příprava 3-chlorchinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dionu.....	28
Schéma 14. Aminolýza 3-chlorchinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dionu II.	28
Schéma 15. Nukleofilní substituce hydroxylové skupiny látky III.	29
Schéma 16. Mechanismus redukce ketonů na alkoholy.....	30
Schéma 17. Modelový experiment redukce oxoskupiny chinolindionu III.	30
Schéma 18. Redukce sloučeniny IV směřovaná k tvorbě příslušného alkoholu VII.	31

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Antiproliferační aktivita sloučenin **12**, **13** a **14** vůči buněčné linii MCF-7..... 14

Tabulka 2. Antimikrobiální aktivita oxazinochinolinového derivátu a referenčních
léčiv. 21

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ Lévai A., *HETEROCYCLES*. **2008**, 75, 1–2.
- ² Liška, F. Konstituce, konformace, konfigurace v názvech organických sloučenin. Praha: VŠCHT, **2008**, 131-143, ISBN: 978-80-7080-640-1
- ³ Klementowicz, J. E.; Travis M. A.; Grecis R. K. *Seminars in Immunopathology*. **2012**, 34, 815-828.
- ⁴ Partridge, F. A., a ostatní. *PLOS Neglected Tropical Diseases*. **2017**, 11.
- ⁵ Jíra, J., **1998**. Lékařská helmintologie. Praha: Galén, 346–350. ISBN 80-85824-82-5.
- ⁶ Vardanyan R., Hruby V. *Elsevier Science*. **2006**, 583. ISBN 9780080462127.
- ⁷ Rutherford, O. M. *SportsMedicine*. **1988**, 5, 196–202.
- ⁸ Díaz-Gavilán, M. a ostatní. *Tetrahedron*. **2004**, 60, 11547–11557.
- ⁹ Muslim, R. F., a ostatní. *ACTA Pharmaceutica Scientia*. **2018**, 56.
- ¹⁰ Meltzer, H., *Current Opinion in Pharmacology*. **2004**, 4, 53–57.
- ¹¹ Loxapine, *PubChem* [online]. National Center of Biotechnology Information [cit. 2019-05-13]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/loxapine#section=2D-Structure>
- ¹² Chakrabarti, A., a ostatní. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. **2007**.
- ¹³ *Vše o léčbě bolesti: příručka pro sestry*. Sestra Grada, **2006**, 83. ISBN 80-247-1720-4.
- ¹⁴ UE, S. G.; Dawson G. W.; Brodgen R. N. *Drugs*. **1982**, 2, 1–23.
- ¹⁵ Gupta, R. *Indian journal of psychiatry*. **1989**, 31.
- ¹⁶ Nitroxazepine, *PubChem* [online]. National Center of Biotechnology Information [cit. 2019-05-14]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/27857>
- ¹⁷ Dehaen, W.; Ngo, T. H. *Elsevier*. **2008**, 255–298. ISBN 9780080449920.

- ¹⁸ Abid, O. H.; Tawfeeq, H. M.; Muslim, R. F. *ACTA Pharmaceutica Scientia*. **2017**, *55*.
- ¹⁹ DeRosa, T. F. Oxazine. *Science Direct*. **2006**. [online]. Elviesier Information [cit. 2019-05-13]. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/oxazine>
- ²⁰ Ghorab, M. M.; Abdel-Hamide, S. G.; Farrag, H. A. *Acta Pol Pharm*. **2001**, *58*, 175–184.
- ²¹ Das, B. C., a ostatní. Elviesier. **2009**, *19*, 4204–4206.
- ²² Yagasaki, K. Kluwer Academic. **2003**, ISBN 14-020-1970-X.
- ²³ Gilkes, D. M.; Semenza, G. L.; Wirtz D. *Nature Reviews Cancer*, **2014**, *14*, 430–439.
- ²⁴ Houben-Weyl. *Methods of Organic Chemistry, E 9A*, 134–148.
- ²⁵ Klásek, A., a ostatní. *HETEROCYCLES*. **2002**, *57*.
- ²⁶ Molnářová, M. Diplomová práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2015, 43–44.