

# Syntéza 4-(3-hydroxypropyl)-1*H*-benzo[1,4]diazepin-2,5-dionů a studium jejich přeměn

Bc. Zuzana Máčalová

---

Diplomová práce  
2019



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav chemie  
akademický rok: 2018/2019

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Bc. Zuzana Máčalová  
Osobní číslo: T17256  
Studijní program: N2901 Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Chemie potravin a bioaktivních látek  
Forma studia: prezenční

Téma práce: Syntéza  
4-(3-hydroxypropyl)-1H-benzole[1,4]diazepin-2,5-dionů  
a studium jejich přeměn

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

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

### II. Praktická část

1. Vybrané 4-hydroxychinolin-2(1H)-ony převést účinkem sulfurychloridu na 3-chlorchinolin-2,4(1H,3H)-diony a ty následně podrobit reakcím s 3-aminopropan-1-olem.
2. Nalézt vhodné reakční podmínky pro převedení 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1H,3H)-dionů na 4-(3-hydroxypropyl)-1H-benzole[1,4]diazepin-2,5-diony.
3. Po přípravě dostatečného množství vybraných benzole[1,4]diazepin-2,5-dionů se pokusit o jejich modifikace směřované k dalšímu syntetickému využití.
4. Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
5. Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat diplomovou práci.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. KOVÁŘ, J., HUDLICKÝ, M., ERNEST, I.: Preparativní reakce v organické chemii. VIII. Molekulární přesmyky. 1. vyd. Nakladatelství Československé akademie věd. 1964.
2. McMURRY, J.: Organická chemie. 1. vyd. VŠCHT Praha. 2015.
3. LÓPEZ-MUNOZ, F., ÁLAMO, C., GARCÍA-GARCÍA, P.: The discovery of chlordiazepoxide and the clinical introduction of benzodiazepines: Half a century of anxiolytic drugs. *Journal of Anxiety Disorders* 2011, 25, 554-562.
4. GRIFFIN, C., KAYE, M. A., RIVERA, B. F., KAYE, D. A.: Benzodiazepine pharmacology and central nervous system-mediated effects. *Ochsner Journal* 2013, 13, 214-223. 2013.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**

Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce:

**1. února 2019**

Termín odevzdání diplomové práce:

**17. května 2019**

Ve Zlíně dne 28. února 2019

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*

Ing. Michal Rouchal, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení 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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít 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 .....

.....

<sup>1)</sup> 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 nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků 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 nahlížení 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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). Odpirá-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 užít 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 přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## ABSTRAKT

Celý obsah předložené diplomové práce je zaměřen na problematiku benzodiazepinových a pyrrolobenzodiazepinových sloučenin. I přesto, že od jejich objevení uplynulo více než 50 let, představuje tato oblast stále velmi živé a zajímavé odvětví nejen z pohledu organické chemie, ale i farmacie. Rešeršní část současně shrnuje jak využití a praktické aplikace těchto významných bioaktivních látek, tak i jejich publikované metody syntéz využívané k jejich přípravě. Experimentální část představuje hned několik jednoduchých přístupů vedoucích k syntéze benzodiazepinů a pyrrolobenzodiazepinů ze snadno dostupných a laciných výchozích látek. Práce zpočátku popisuje optimalizaci podmínek přípravy 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů. Tyto vhodné prekursorů, po vystavení účinkům thionylchloridu, tetramethylguanidinu a hydridu sodného v různém pořadí, poskytly benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-diony a benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5,11-diony. Průběhy a výsledky reakcí jsou podpořeny výsledky analytických instrumentálních metod, jejichž spektra jsou komentována ve výsledkové a diskusní části.

**Klíčová slova:** chinolindion, benzodiazepin, pyrrolobenzodiazepin, tetramethylguanidin, biologická aktivita, cyklizace, expanze kruhu

## ABSTRACT

The entire content of the submitted thesis is focused on the problems of benzodiazepine and pyrrolobenzodiazepine compounds. Despite the fact that more than 50 years have passed since their discovery, the area is still a very current and interesting industry not only in terms of organic chemistry but also pharmacy. At the same time, the research part summarizes both the use and practical application of these important bioactive substances and their published methods of synthesis used for their preparation. The experimental part presents several simple approaches leading to the synthesis of benzodiazepines and pyrrolobenzodiazepines from readily available and cheap starting materials. The work initially describes the optimization of the preparation conditions of 3-(3-hydroxypropylamino)quinoline-2,4(1*H*,3*H*)-dione. After exposure to thionyl chloride, tetramethylguanidine and sodium hydride in different order, these suitable precursors yielded benzo[*e*][1,4]diazepine-2,5-diones and benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepine-5,11-diones. The course and results of the reactions are supported by the results of analytical instrumental methods, whose spectra are commented on in the results and discussion sections.

**Keywords:** quinolindione, benzodiazepine, pyrrolobenzodiazepine, tetramethylguanidine, biological activity, cyclization, ring expansion

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucímu mé diplomové práce Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D. za praktickou pomoc, odborné vedení a trpělivost. Mé poděkování patří i doc. Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. za pomoc při výběru monokrystalů pro rentgenovou difrakci, jejíž výsledky bohužel nemáme ještě k dispozici. Též děkuji Ing. Lence Trhlíkové za provedené elementární analýzy. Děkuji i prof. Dr. Janezi Košmrljovi z Univerzity v Ljubjaně za měření části NMR spekter a Dr. Damijaně Urankar za měření hmotnostních spekter s vysokým rozlišením. V neposlední řadě děkuji za finanční podporu poskytnutou z prostředků projektů Interní grantové agentury Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně (č. projektu IGA/FT/2019/010 a IGA/FT/2018/007).

Prohlašuji, že jsem svoji diplomovou práci vypracovala samostatně s využitím informačních zdrojů, které jsou v práci citovány.

Ve Zlíně 11. května 2019

.....

Zuzana Máčalová



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>5</b>
<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>6</b>
<b>1 BENZODIAZEPINY</b> .....	<b>7</b>
1.1 HISTORICKÝ ÚVOD BENZODIAZEPINOVÝCH MEDIKAMENTŮ .....	8
1.2 MECHANISMUS ÚČINKU BENZODIAZEPINOVÝCH LÉČIV .....	9
1.3 FARMAKOKINETIKA BENZODIAZEPINOVÝCH LÉČIV .....	10
1.3.1 Farmakokinetická klasifikace.....	11
1.4 METODY SYNTÉZY BENZODIAZEPINOVÝCH DERIVÁTŮ .....	12
1.4.1 Příprava benzodiazepinů vycházejících z kyseliny anthranilové.....	13
1.4.2 Fotolýza azidochinolinu .....	14
1.4.3 Mikrovlnná syntéza .....	14
1.4.4 Syntéza katalyzovaná kyselinou hexachlorplatičitou.....	15
<b>2 PYRROLOBENZODIAZEPINY</b> .....	<b>16</b>
2.1 MONOMERNÍ PYRROLOBENZODIAZEPINY .....	16
2.2 DIMERNÍ PYRROLOBENZODIAZEPINY .....	18
2.3 KONJUGOVANÉ PYRROLOBENZODIAZEPINY.....	19
2.4 METODY SYNTÉZY .....	21
2.4.1 Cyklizace methyl- <i>N</i> -(2-azidobenzoyl)pyrrolidin-2-karboxylátu .....	21
2.4.2 Reakce anhydridu kyseliny isatoové s aminy .....	23
2.4.3 Biosyntéza tilivallinu .....	24
<b>PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>26</b>
<b>3 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>27</b>
3.1 SHRNTÍ DŘÍVE DOSAŽENÝCH VÝSLEDKŮ .....	27
3.2 MOTIVACE A VYMEZENÍ CÍLŮ PRÁCE.....	28
3.3 DISKUSE VÝSLEDKŮ PŘI ŘEŠENÍ DANÉ PROBLEMATIKY .....	28
3.4 EXPERIMENTY PLÁNOVANÉ DO BUDOUCNA.....	43
<b>4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD</b> .....	<b>45</b>
<b>5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN</b> .....	<b>46</b>
5.1 POPIS LABORATORNÍCH POSTUPŮ .....	46
5.1.1 Příprava výchozích látek .....	46
5.1.2 Přeměny výchozích látek 4 a 12 vedoucí k pyrrolobenzodiazepindionům 8.....	47
5.2 STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN .....	49
5.2.1 Deriváty chinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i> )-dionu .....	49
5.2.2 Deriváty benzodiazepin-2,5-dionu .....	53
5.2.3 Deriváty pyrrolobenzodiazepin-5,11(10 <i>H</i> ,11 <i>aH</i> )-dionů.....	58

<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>61</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>63</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>64</b>

## ÚVOD

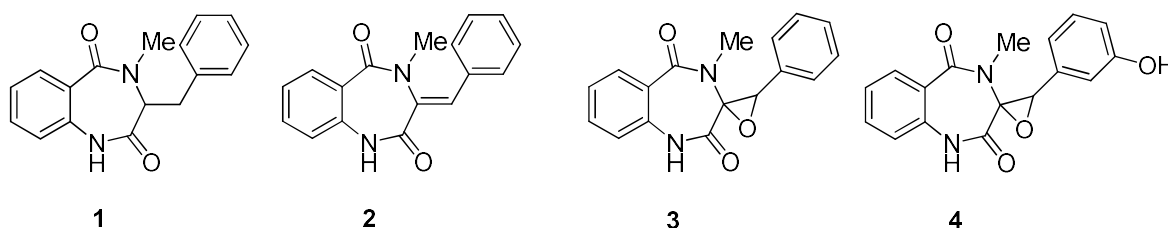
Již mnoho let jsou známy rozmanité účinky benzodiazepinových sloučenin na živé organismy, kterých se velmi často vyžívá v klinické medicíně. Jelikož v dnešní době, kdy každý někam ustavičně spěchá a dostává se tak do psychického stresu, je četnost předepisování benzodiazepinových terapeutik, které obecně způsobují zklidnění až spánek a odstraňují či rozpouštějí úzkost, stále vyšší. Myslím si, že když se užívají se proti úzkosti (anxiolytika), na uklidnění (sedativa), na spaní (hypnotika) nebo na snížení svalového napětí (myorelaxancia), prakticky každý dospělý jedinec se s nimi ve svém životě minimálně jednou setkal. Protože jsou tyto cenné látky výhradně syntetického původu, je kladen velký význam zvláště na vývoj nových strukturních analogů a na hledání nových metod jejich přípravy. Z velké části jsou v literatuře k nim uváděny dva hlavní přístupy, které buď zahrnují reakce kyseliny anthranilové popř. jejích derivátů (např. isatoového anhydridu) s aminokyselinami, anebo je využíváno principů čtyřkomponentní Ugiho reakce.

Mnoho sloučenin obsahujících pyrrolbenzodiazepinový (PBD) skelet je možné izolovat z různých druhů mikroorganismů. Převážně jsou tvořeny bakteriemi rodu *Streptomyces*, které tyto deriváty vylučují jako produkty sekundárního metabolismu. Zásadní vliv na biosyntézu PBD mají enzymy neribosomální peptidové syntetázy, které způsobují kondenzaci dvou prekurzorů, derivátů anthranilové kyseliny a prolinu, za vzniku odpovídající tricyklické molekuly PBD. Tato skupina sekundárních metabolitů vykazuje sice slabé antimikrobiální účinky, nicméně jsou značně atraktivní z hlediska jejich protinádorových účinků, které vedou řadu vědců z celého světa ke studiu jejich vlastností a možností jejich přípravy. V literatuře jsou syntetické přístupy k PBD ve většině omezeny jen na pár výchozích látek. Z velké části autoři publikací vychází z benzoylových derivátů pyrrolu, které podléhají následné cyklizaci, anebo je jejich syntéza prováděna reakcí isatoových anhydridů s deriváty prolinu. I když je možné v komerčním sektoru sehnat rozmanitě substituované reakční komponenty, jsou ve většině případů pro jejich relativně vysokou cenu připravovány v laboratořích, čímž se výrazně při syntéze konkrétních PBD zvyšuje počet reakčních kroků a snižuje celkový výtěžek. Tyto důvody, a to jak biologické účinky těchto látek, tak i jejich metody přípravy omezené na několik málo výchozích látek, nás vedly k navržení a studování nových syntetických cest vycházejících z běžně dostupných a levných surovin, ze kterých je možné benzodiazepindiony a především pyrrolbenzodiazepindiony připravit.

## TEORETICKÁ ČÁST

## 1 BENZODIAZEPINY

Benzodiazepiny (BZD) jsou obecně sloučeniny skládající se ze vzájemně kondenzovaného šestičlenného benzenového a sedmičlenného diazepinového kruhu. Z této velmi rozmanité, a pro jejich biologické účinky hojně studované skupiny látek, je známo pouze několik sloučenin izolovaných jak živých, tak i z neživých přírodních zdrojů. Doposud byly izolovány pouze jako produkty metabolismu plísní rodu *Penicillium*. Z vláknité houby *Penicillium cyclopium* byly izolovány dva deriváty BZD, později označeny jako cyklopeptin (**1**) a dehydrocyklopeptin (**2**). Posléze byla objevena řada enzymatických pochodů vedoucích k dalším BZD derivátům. Působením dehydrogenázy může cyklopeptin reverzibilně přecházet na dehydrocyklopeptin (**2**), který je pak epoxidací transformován na cyklopenin (**3**), který po hydroxylaci poskytuje cyklopenol (**4**).<sup>1</sup>



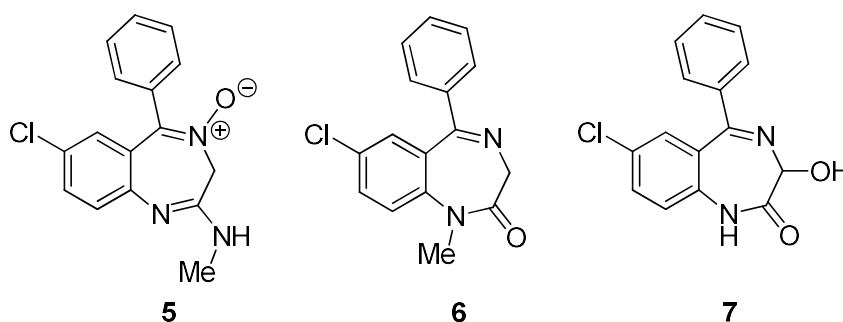
Obrázek 1. Benzodiazepinové alkaloidy.

Od prvních pozorovaných biologických účinků, bylo odlišnými syntetickými přístupy připraveno ohromné množství různých derivátů BZD lišících se polohou dusíkových atomů v sedmičlenném kruhu a typem, respektive polohou substituentů na bicyklickém systému.<sup>2</sup> Postupem času bylo zjištěno, že z farmakologického hlediska jsou nejcennější deriváty 1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2(3*H*)-onu, protože mohou značně ovlivňovat různé biologické pochody v živých organismech i v relativně nízkých koncentracích. Z tohoto důvodu podnítily u vědecké komunity značný zájem o jejich studium, a tudíž jsou oproti svým izomerům skupinou nejpočetnější. Jejich význam je značný nejen v psychofarmakologii, ale i při vývoji léčiv na onemocnění jako je diabetes, obezita nebo HIV.<sup>3</sup>

## 1.1 Historický úvod benzodiazepinových medikamentů

Do první poloviny 20. století byla léčba úzkostných poruch omezena na velmi málo léků s velmi omezenou účinností. Mezi nimi byly například alkaloidy z opia a jiných narkotických rostlin, bromid draselný a především barbituráty. Dalším průlomem v léčbě úzkosti bylo zavedení meprobamátu. Ten byl na rozdíl od barbiturátů méně návykový a anxiolytický účinek byl dosažen jen s velmi malou změnou fyzického výkonu a intelektuální schopnosti. Nicméně jeho anxiolytický účinek byl poměrně omezený, a proto byly i nadále hledány sloučeniny s lepšími účinky, což vedlo až k objevu BZD.

Uvedení chlordiazepoxidu (5) do klinické léčby v roce 1960 pod názvem Librium<sup>®</sup> švýcarskou farmaceutickou firmou Hoffmann-LaRoche bylo jedním z hlavních průlomů historie psychofarmakologie. Následné studie švýcarské farmaceutické firmy pak vedly k objevu více účinné sloučeniny, která byla získána drobnou modifikací postranních skupin a eliminací *N*-oxidového radikálu z molekuly chlordiazepoxidu. Získaná sloučenina dostala název diazepam (6), nebo-li Valium<sup>®</sup>, který byl komercializován v roce 1963. Ten má oproti chlordiazepoxidu kratší dobu působení, anxiolytické i sedativní účinky. Prvním BZD, který nebyl vyvinut firmou Hoffman-LaRoche, a třetím uvedeným na trh, byl oxazepam (7). Kromě účinků sedativních a anxiolytických, které byly sledovány již u předchozích dvou léčiv, byly pozorovány i účinky hypnotické a amnézie.<sup>4</sup>



Obrázek 2. Základní struktury BZD chemoterapeutik.

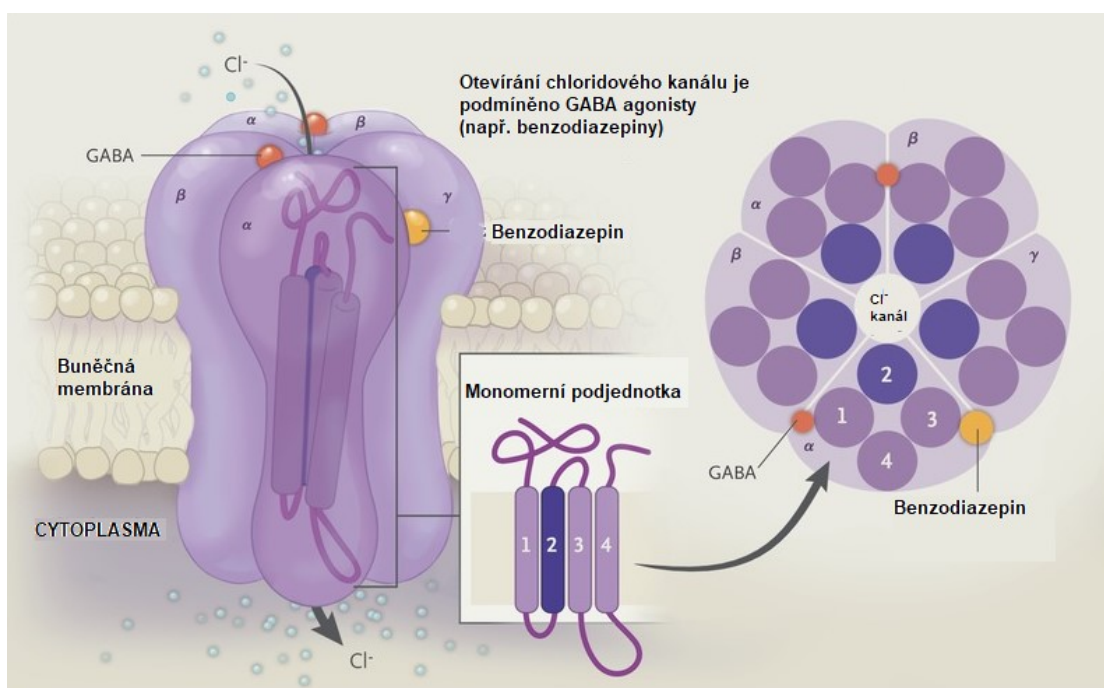
Obecně je možné říci, že od druhé poloviny 20. století byla započata „psychofarmakologická revoluce“ a BZD se tak staly nejhojněji předepisovanými léky po celém světě. BZD zajistily účinnou léčbu slabších forem neuróz a v klinickém výzkumu umožnily vývoj nových etiopatogenních teorií úzkostných poruch.<sup>5</sup> Od té doby bylo

syntetizováno tisíce derivátů BZD a více než stovka z nich pak byla využívána pro jejich anxiolytické či sedativní účinky.

## 1.2 Mechanismus účinku benzodiazepinových léčiv

První pokusy o objasnění mechanismu působení BZD jsou spjaty se studiem neurotransmiterů, konkrétně s  $\gamma$ -aminomáselnou kyselinou (GABA). GABA je hlavním inhibičním neurotransmiterem. GABA je uvolňována z presynaptického neuronu do synaptické štěrby a na postsynaptickém neuronu se váže na GABA specifický receptor  $GABA_A$  nebo  $GABA_B$ . Receptor je tvořen pěti proteinovými podjednotkami poskládanými do kruhu a tvořícími tak centrální pór, jež prochází skrz membránu.<sup>6</sup> Po aktivaci receptoru se pór stává propustný pro chloridové ionty, čímž vzniká koncentrační gradient. To vede k hyperpolarizaci, čímž se neuronální membrána stává méně excitabilní a neurotransmise je inhibována.

Mechanismus působení spočívá ve vazbě BZD do vazebného místa na receptoru  $GABA_A$  (**Obrázek 3**). Tímto dojde ke zvýšení afinity GABA k receptoru, což vede ve výsledku ke snížení množství potřebné endogenní GABA k aktivaci receptoru.<sup>7</sup> BZD tedy působí jako alosterické modulátory  $GABA_A$  receptorů.<sup>8</sup>



**Obrázek 3.** Vázání BZD na receptory  $GABA_A$ .

Samotný GABA<sub>A</sub> receptor lze též rozdělit do několika skupin v závislosti na izoformách jednotlivých podjednotek.<sup>9</sup> Receptor nazývaný BZ1 obsahuje izoformu  $\alpha 1$ . Tento typ receptoru je koncentrovaný v mozkové kůře, talamu a malém mozku. Je zodpovědný za sedativní a antikonvulzivní účinky. Asi 60 % GABA<sub>A</sub> obsahuje podjednotku  $\alpha 1$ , která je navíc zodpovědná za amnézii, která je častým vedlejším účinkem při užívání BZD. Receptory BZ2 obsahují izoformu  $\alpha 2$  a zprostředkovávají anxiolytické a myorelaxační účinky. Tento typ receptoru je koncentrovaný v oblastech limbického systému, motorických neuronů a hřbetním rohu míchy. Ne všechny BZD interagují se stejným typem receptoru a se stejnou afinitou ke specifickému receptoru. Tyto rozdíly jsou pak zodpovědné za různé účinky jednotlivých BZD.<sup>10</sup>

Kromě GABA, či BZD, se na GABA<sub>A</sub> receptor váže i řada dalších látek ovlivňujících transport chloridových iontů. Příkladem mohou být neurosteroidy nebo barbituráty. Deriváty kyseliny barbiturové, které mají velmi podobné účinky jako BZD, se však odlišují mechanismem působení. Barbituráty se též vážou na GABA<sub>A</sub>, ale způsobují jeho aktivaci přímo a chloridový kanál zůstává otevřený po mnohem delší dobu. Tento rozdíl v působení na GABA<sub>A</sub> receptor zapříčiňuje, že BZD mají mnohem širší bezpečnostní rezervu a nižší potenciál pro smrtelné předávkování oproti barbiturátům.<sup>11</sup>

### 1.3 Farmakokinetika benzodiazepinových léčiv

Ačkoliv všechny BZD sdílejí společný mechanismus působení a rozsah klinických účinků je podobný, lze je rozdělit do různých skupin na základě chemické struktury a farmakokinetických vlastností. Na základě jejich klinických účinků je nelze jednoznačně rozdělit na anxiolytika nebo hypnotika. V zásadě však mají všechny BZD anxiolytické, hypnotické, antikonvulzivní a amnestické účinky. Používají se i jako sedativa a k léčbě abstinenčních příznaků při odvykání pití alkoholu.<sup>8</sup>

Primárně jsou BZD léčiva dělena dle poločasu eliminace z organismu.<sup>12</sup> Obvykle jsou děleny do tří skupin podle délky působení: krátce působící (< 12 hodin), středně dlouho působící (12–24 hodin) a dlouho působící (> 24 hodin). Krátce působící léčiva jsou určeny především k léčbě nespavosti a poruch spánku. Tyto léčiva umožňují pacientovi rychlý nástup spánku a přitom způsobují ráno jen omezenou ospalost. Oproti tomu déle působící léčiva se aplikují při léčbě úzkostí. Je důležité poznamenat, že různé doby působení těchto



léčiv jsou způsobeny zejména přítomností jednoho nebo více metabolitů s farmakologickou aktivitou, přičemž některé z těchto metabolitů (např. oxazepam (7), lorazepam (8), nordazepam (9)) jsou uváděny na trh jako takové.<sup>13</sup>

V první fázi biotransformace se většina BZD xenobiotik působením cytochromu P450 oxiduje za vzniku aktivních metabolitů, které jsou následně přeměněny na deriváty glukuronových kyselin, které jsou poté vyloučeny z organismu. Z mnoha BZD (např. diazepam) se ovšem tvoří metabolity, které se při opakovaném dávkování akumulují v těle. To je pozorováno zejména u starších osob a pacientů s genetickými vadami způsobující nízkou aktivitu enzymů cytochromu P450 vůči BZD medikamentům.<sup>8</sup>

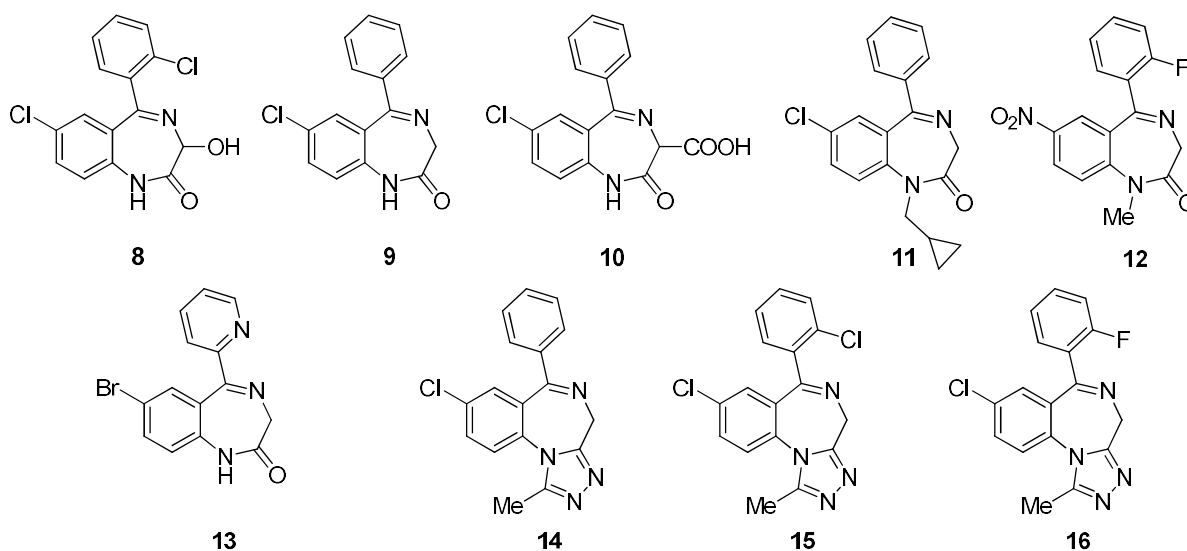
### 1.3.1 Farmakokinetická klasifikace

BZD s dlouhodobým účinkem mají biochemický poločas 24 hodin nebo i více. Endogenní biotransformace BZD s dlouhodobým účinkem vede většinou k farmakologicky aktivním metabolitům. Desmethyldiazepam (nordazepam (9)), jehož poločas eliminace dosahuje až 200 hodin, je metabolitem hned několika BZD s dlouhodobým účinkem (diazepamu (6), chlordiazepoxidu (5), klorazepanu (10), prazepamu (11)).<sup>14</sup> Diazepam je druhým nejstarším BZD léčivem uvedeným na trh, přesto je stále jedním z nejvíce užívaných na celém světě. Používá se při léčbě úzkostí, epileptických záchvatech i jako předoperační anestezie. Působí též sedativně a má i myorelaxační účinky.<sup>10</sup> Zajímavostí může být používání diazepamu při léčbě alkoholové závislosti, kdy potlačuje abstinenci příznaky a výrazně tak zkracuje průběh odvykání.<sup>15</sup> V České republice je dostupný pod názvem diazepam pro perorální podání, apaurin jako injekční roztok pro intramuskulární a intravenózní aplikaci nebo jako diazepam desitin jako rektální roztok.

Pro BZD se středně dlouhou dobou eliminace nejsou aktivní metabolity typické. Výjimkou jsou flunitrazepam neboli Rohypnol<sup>®</sup>(12) a bromazepam (13). U ostatních je biologická aktivita dána samotnou mateřskou sloučeninou. Se zkracující se dobou eliminace se mění i vlastnosti BZD léčiv. Předepisují se ke krátkodobé léčbě úzkostí, chronické anxiозity a pro své hypnotické účinky.<sup>13</sup> Poměrně běžně předepisovaným léčivem řadí se do této kategorie je alprazolam (14), známý jako Helex<sup>®</sup> nebo Neurol<sup>®</sup>. Mezi jeho hlavní terapeutické využití patří léčba panické poruchy s agorafobií. Dalším léčivem se středně dlouhou dobou působení je bromazepam (13), v České republice

registrovaný jako Lexaurin<sup>®</sup>. Jedná se o pyridinylbenzodiazepin, používaný hlavně jako anxiolytikum, ale také při gastrointestinálních spasmech a enurese.<sup>12</sup>

Nejkratší dobu eliminace, přibližně asi 5 hodin, mají triazolam (**15**) a midazolam (**16**). Vzhledem k rychlé eliminaci nedochází k jejich akumulaci v organismu. Triazolam je užíván především jako hypnotikum, zatímco midazolam je používán jako krátkodobé anestetické činidlo. Midazolam patří mezi nejvíce lipofilní BZD. Vysoká lipofilita způsobuje rychlou absorpci a překonání hematoencefalické bariéry, což se projevuje jeho rychlým, ale krátkodobým účinkem.<sup>10</sup>



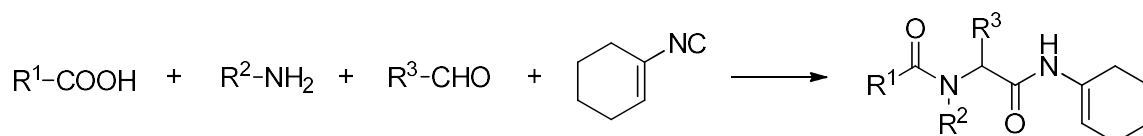
Obrázek 4. Struktury vybraných BZD medikamentů.

#### 1.4 Metody syntézy benzodiazepinových derivátů

Jak již bylo výše naznačeno, BZD sloučeniny hrají významnou roli ve farmaceutickém průmyslu, a tudíž bylo a stále je vynakládáno mnoho finančních prostředků k hledání nových, více efektivních derivátů s menším množstvím vedlejších účinků. Jelikož prakticky každá konkrétní sloučenina vyžaduje svůj specifický sled reakčních kroků, bylo vyvinuto mnoho různých postupů chemických syntéz, ze kterých je v následujících kapitolách stručně uvedeno pouze několik zajímavých příkladů.

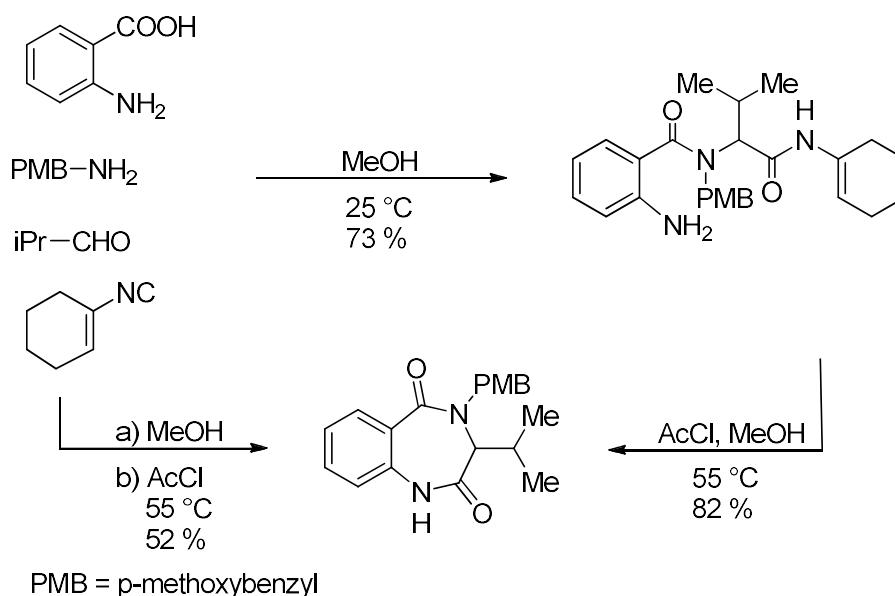
### 1.4.1 Příprava benzodiazepinů vycházejících z kyseliny anthranilové

Jistě zajímavý přístup k tvorbě BZD derivátů je syntéza využívající princip Ugiho reakce. Obecně se jedná o multikomponentní kondenzaci karboxylových kyselin, aminů, aldehydů nebo ketonů a isokyanidů, tzv. 4CC reakce (four-component condensation), za vzniku bis-amidu (**Schéma 1**).



**Schéma 1.** Obecné znázornění Ugiho reakce.

V případech, kdy byly při laboratorní teplotě míchány kyselina anthranilová, 2-methylpropanal, 4-methoxybenzylamin a isokyanocyklohexen v methanolu, byl získán prakticky pouze očekávaný „bis-amid“, z kterého byl následně při teplotě 55 °C účinkem acetylchloridu v methanolu úspěšně získán 1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion. Bylo taktéž zjištěno, že když je na počátku do reakční směsi přidán acetylchlorid a vše je ihned zahříváno na 55 °C, vzniká identický benzodiazepindion bez izolace odpovídajícího „bis-amidu“ (**Schéma 2**).<sup>16,17</sup>



**Schéma 2.** Multikomponentní kondenzace vedoucí k benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionům.

### 1.4.2 Fotolýza azidochinolinu

Sashida a kol. publikovali metody syntézy BZD fotochemickou expanzí 4-azidochinolinů, ke které dochází ozářením jejich roztoků ve smíšeném rozpouštědle methanol / dioxan (1 / 1, v / v) v přítomnosti methoxidu sodného vysokotlakou rtuťovou výbojkou (400 W). Výtěžky reakcí se pohybovaly okolo 40 % (Schéma 3).<sup>18</sup>

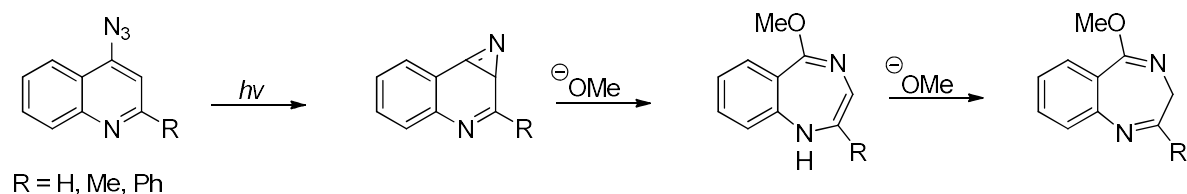


Schéma 3. Fotochemická expanze heterocyklu 4-azidochinolinů.

### 1.4.3 Mikrovlnná syntéza

Poslední dobou značně vzrostlo použití mikrovlnného záření jako aktivačního prvku pro syntézu organických sloučenin. Výhoda spočívá hlavně ve zkrácení reakčních časů a tím mnohdy nedochází k tvorbě většího množství vedlejší produktů, což ve výsledku vede ke snazší purifikaci produktu. Pro syntézu derivátů benzodiazepin-2,5-dionu byly použity  $\alpha$ -aminokyseliny s hydrofobními postranními řetězci a anhydrid kyseliny isoctoové. Teplota 130 °C a doba záření 3 minuty se pro tuto reakci ukázaly jako optimální podmínky. Použití aprotických rozpouštědel vedlo k nízkým výtěžkům, zatímco při provedení experimentů v ledové kyselině octové byly získány požadované sloučeniny s výtěžky v rozsahu 61–71 % (Schéma 4).<sup>19</sup>

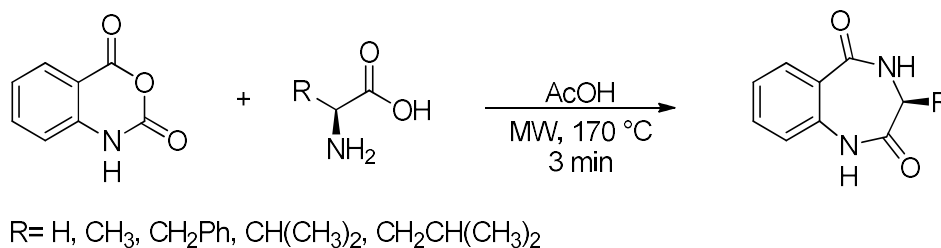


Schéma 4. Syntéza benzodiazepindionů z anthranilové kyseliny za asistence mikrovln.

#### 1.4.4 Syntéza katalyzovaná kyselinou hexachlorplatičitou

Podobně jako při mikrovlnné syntéze uvedené výše, i tato syntetická metoda vychází z anhydridu kyseliny isatoové a methylesterů aminokyselin. V těchto případech byl sledován vliv přídavku hexachlorplatičité kyseliny jako katalyzátoru a současně byl zaměřen mikrovlnný ohřev za konvenční. Obecně bylo zjištěno, že postupné zvyšování množství katalyzátoru až do 15 molárních procent vedlo ke zvyšování výtěžku produktu (86 %, pozn. uvedené výtěžky se vztahují na autory zvolený modelový substrát, kdy  $R = \text{Me}$ ) i ke zkrácení reakční doby. Další zvyšování koncentrace katalyzátoru již nemělo na průběh reakce žádný vliv. Je tedy zřejmé, že kyselina hexachlorplatičitá napomáhá uzavření kruhu. Pro porovnání byly provedeny i analogické reakce s platinou, respektive s  $\text{PtO}_2$ , které ovšem poskytovaly mnohem nižší výtěžky benzodiazepin-2,5-dionů (36 %, resp. 56 %). Z těchto pokusů je možné vyvodit, že účinnost cyklizace je závislá na kyselém charakteru katalyzátoru (Schéma 5).<sup>20</sup>

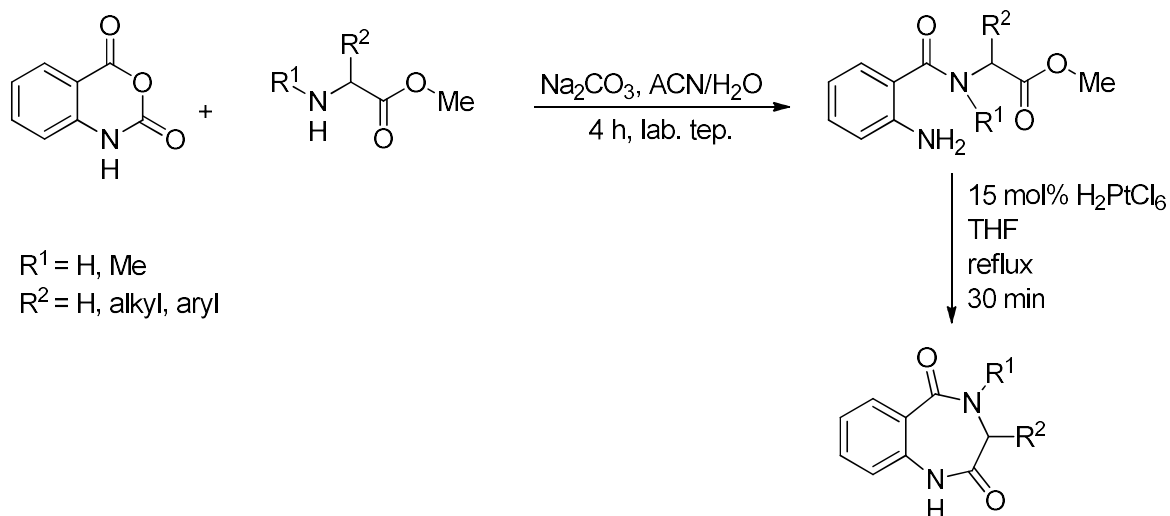


Schéma 5. Syntéza benzodiazepindionů z anthranilové kyseliny katalyzovaná  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ .

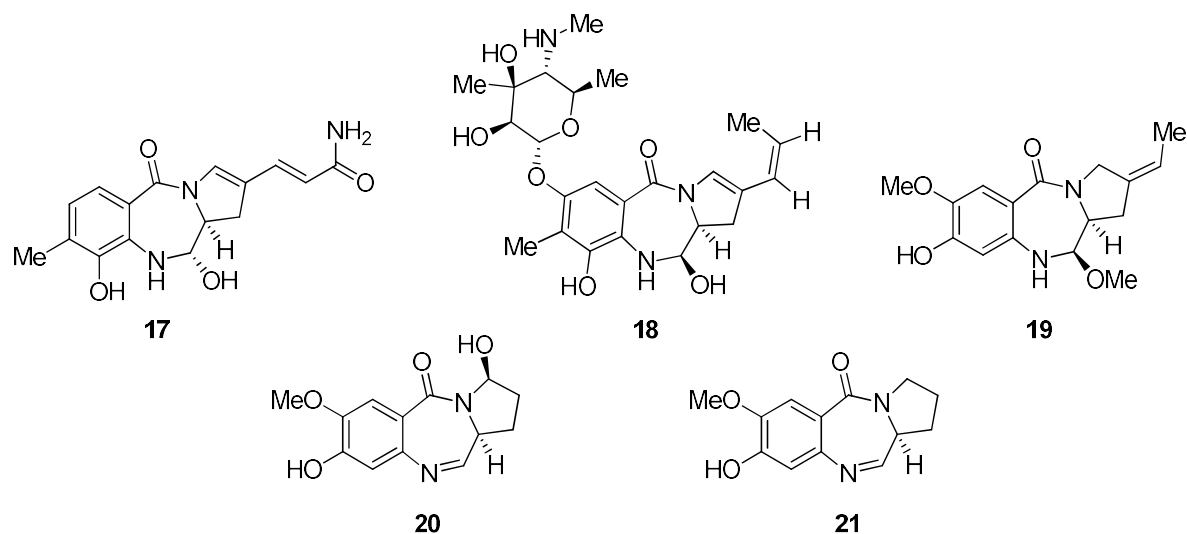
## 2 PYRROLOBENZODIAZEPINY

Pyrrrolobenzodiazepiny (PBD) patří do skupiny tricyklických sloučenin, které jsou tvořeny vzájemně spojenými benzenovými, diazepinovými a pyrrolidinovými nebo pyrrolovými kruhy. Rozdílný stupeň a typ substituce poskytuje řadu chemicky odlišných derivátů, s čímž je i logicky spjata jejich rozdílná biologická aktivita. Značný vliv na biologickou aktivitu má konfigurace na atomu uhlíku C-11. Derivátům s konfigurací *S*, jež dává sloučeninám pravotočivý charakter, je umožněna interakce s dvoušroubovicí DNA, zatímco synteticky připravené PBD s *R* konfigurací tuto schopnost postrádají.<sup>21</sup>

Podle struktury jsou PBD děleny do několika skupin, a to na monomery, dimery a konjugované.

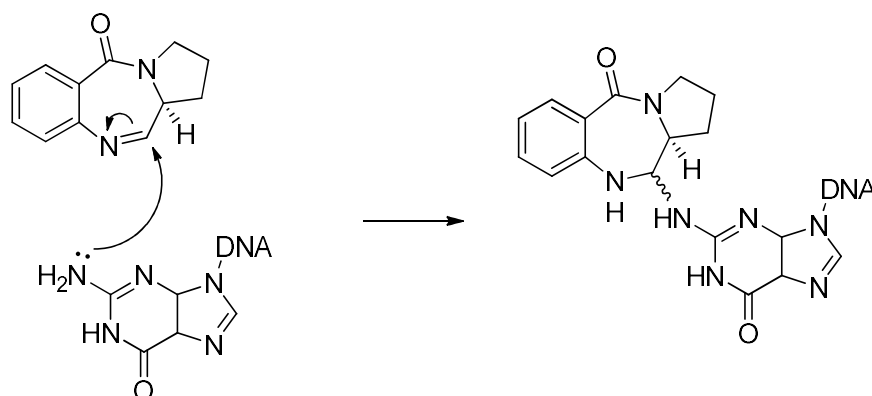
### 2.1 Monomerní pyrrrolobenzodiazepiny

Prvním PBD získaným z přírodní matrice byl anthramycin (17). Roku 1960 byl izolován z bakteriální kultury rodu *Streptomyces* ssp. Od té doby byla zejména ze *Streptomyces* species, a následně i z *Micrococcus* sp., izolována celá řada přirozeně se vyskytujících PBD. Ty zahrnují například sibiromycin (18), tomaymycin (19), neotramycin (20) a DC-81 (21).<sup>22</sup> Celkem bylo doposud izolováno i z dalších organismů více než dvacet sloučenin z této rodiny, což naznačuje, že PBD jsou v přírodě hojněji distribuované, než se dříve předpokládalo.



Obrázek 5. Struktury vybraných PBD izolovaných z mikroorganismů.

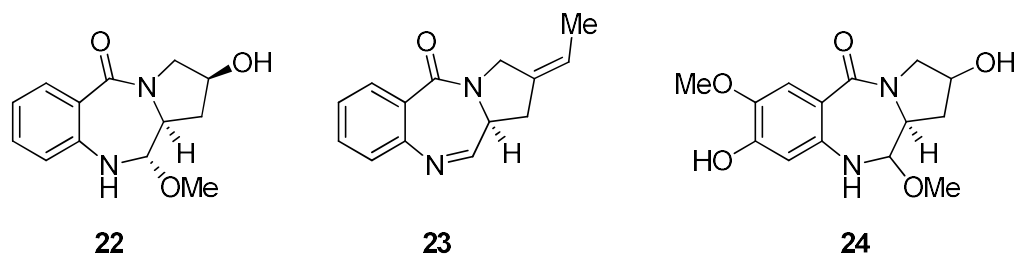
PBD představují skupinu sekvenčně selektivních DNA vazebných činidel, které tvoří kovalentní vazbu mezi atomem uhlíku C-11 a atomem dusíku aminoskupiny guaninu v malém žlábků DNA (**Obrázek 6**). Kineticky preferovaná sekvence DNA je 5'-Py-G-Py-3' (Py = pyrimidin, G = guanin).<sup>23</sup> Bylo prokázáno, že tvorba aduktu s DNA inhibuje řadu biologických procesů včetně vazby transkripčních faktorů na DNA, funkci enzymů (např. endonukleázy) a RNA-polymerázu. Mnoho molekul má též významnou antimikrobiální aktivitu.<sup>24</sup>



**Obrázek 6.** Tvorba kovalentní vazby PBD s guaninem.

Mnoho přirozeně produkovaných monomerních PBD vykazovalo protinádorovou aktivitu. Klinické testy anthramycinu (**17**) potvrdily aktivitu proti nádorům gastrointestinálního traktu, rakovině prsu, lymfomu a sarkomu. Nicméně klinické využití anthramycinu (**17**) i sibiromycinu (**18**) bylo limitováno kardiotoxicitou, která je způsobená přítomností atomu kyslíku na atomu uhlíku C-9. Tomaymycin (**19**), neotramycin (**20**) a další přirozeně se vyskytující PBD, které neobsahují hydroxylovou skupinu v poloze 9, kardiotoxické účinky nemají.<sup>25</sup>

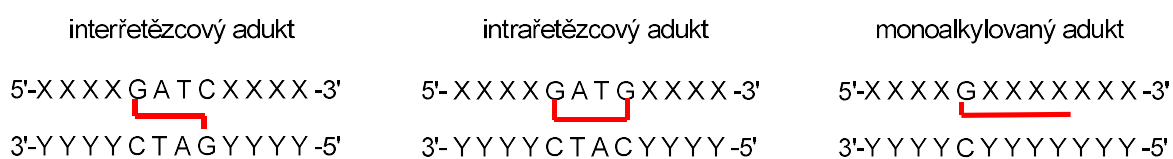
Mimo protinádorové působení byly u PBD sledovány i slabé antibakteriální účinky. Abbeymycin (**22**) vykazoval *in vitro* aktivitu proti řadě anaerobních bakterií, jakými jsou například *Bacteroides fragilis* a *Bacteroides loescheii*. Aktivita proti gram-pozitivním (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) i gram-negativním (*Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Shigella sonnei*) bakteriím byla zjištěna u prothracarcinu (**23**). Slabé účinky proti gram-pozitivním bakteriím vykazoval i chycamycin (**24**). Aktivita byla sledována u *Streptococcus pyogenes*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus flavus* a u kmene *Mycobacterium*.<sup>26</sup>



**Obrázek 7.** Struktury dalších přirozeně se vyskytujících PBD.

## 2.2 Dimerní pyrrolobenzodiazepiny

Všechny dimerní PBD jsou striktně syntetického původu. Vzhledem k tomu, že se PBD vážou výhradně na duplexní DNA, Sugges a jeho spolupracovníci vycházely z předpokladu, že molekuly se dvěma anthramycinovými jednotkami spojenými pružnou vazbou mohou vykazovat nové zesíťovací vlastnosti DNA, což je vedlo k tomu, že v roce 1988 připravili první PBD dimer.<sup>27</sup> Tento princip je obecně využíván celou řadou různých látek způsobujících zastavení, popř. zpomalení nádorového bujení.<sup>28</sup> Většina připravených PBD dimerů je složena ze dvou analogů tomamycinu spojených alifatickým, různě dlouhým linkerem. Dimerní PBD mají schopnost tvořit interřetězcové, intrařetězcové i monoalkylované adukty s DNA (**Obrázek 8**), čímž způsobí jednak její deformaci prostorové struktury a jednak tvorbou pevného interřetězcového aduktu zabraňuje jejímu rozplétání a replikaci.<sup>29</sup>



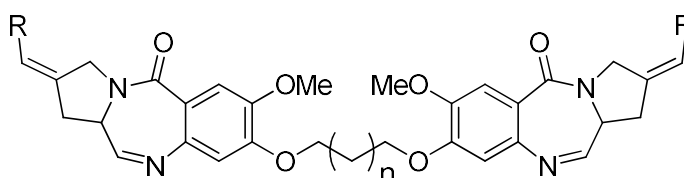
**Obrázek 8.** Možnost vazby PBD do molekuly DNA.

Schopnost PBD tvořit adukty s DNA závisí na několika parametrech. Hlavní roli hrají délka spojovacího řetězce mezi PBD jednotkami, vhodné umístění, a vzdálenost dvou reaktivních guaninových bází na stejných nebo protichůdných vláknech DNA. Na základě znalostí struktury a sekvence bází DNA je možné navrhovat PBD dimery za konkrétním účelem<sup>30</sup> Také byla sledována souvislost mezi délkou spojovacího řetězce a cytotoxickým působením. Jednotlivé dimery, jejichž spojovací řetězec obsahoval lichý počet ( $n = 3, 5$ )



methylenových jednotek, vykazovaly výrazně vyšší cytotoxicitu.<sup>23</sup>

Nejlépe doposud charakterizovaným PBD dimerem je látka označovaná jako SJG-136 (**25**), která jako jediná prošla do II. fáze klinického testování u pacientů s leukémií a rakovinou vaječníků.<sup>31</sup> U dimerních PBD byly také zjištěny antibakteriální účinky, které jsou omezeny pouze na gram-pozitivní bakterie. Neúčinnost vůči gram-negativním bakteriím je dána přítomností vnější membrány, která působí jako bariéra. Testován byl nejen již zmíněný SJG-136, ale i ELB-21 (**26**), který dosahoval významně lepších účinků proti methicilin-rezistentním *Staphylococcus aureus* (MRSA).<sup>32</sup> Třetí, v literatuře zmiňovaný dimer DRG-16 (**27**) vykazoval nejvyšší aktivitu vůči mykobakteriím.<sup>33</sup>



**25** (SJG-136):  $n = 1$ ;  $R = H$

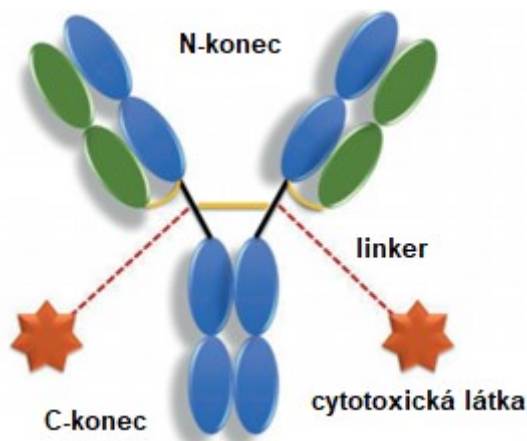
**26** (ELB-21):  $n = 3$ ;  $R = Me$

**27** (DRG-16):  $n = 3$ ;  $R = H$

**Obrázek 9.** Struktury dimerních PBD.

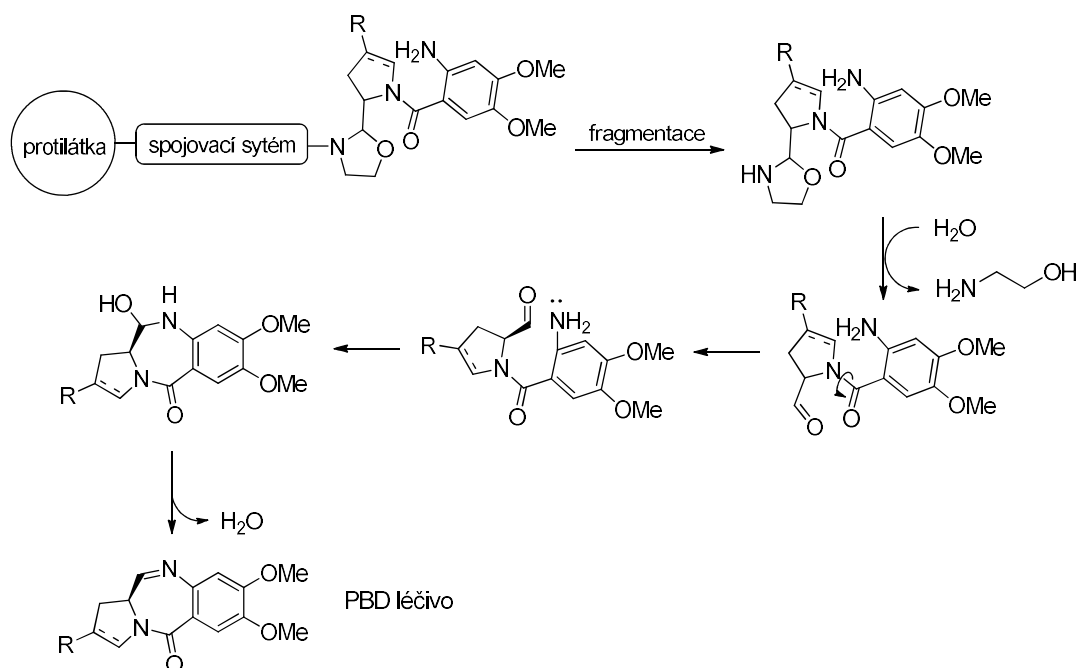
### 2.3 Konjugované pyrrolobenzodiazepiny

V současné době je pozornost ve vývoji chemoterapeutik směřována k vývoji konjugátů protilátka-léčivo (antipody-drug conjugates, ADC). V posledních třiceti letech velice vzrůstá význam monoklonálních protilátek, které specificky interagují s antigenními biomarkery na povrchu rakovinných buněk. Alternativním přístupem je připojení cytotoxické látky k protilátce pomocí vhodného linkeru (**Obrázek 10**).



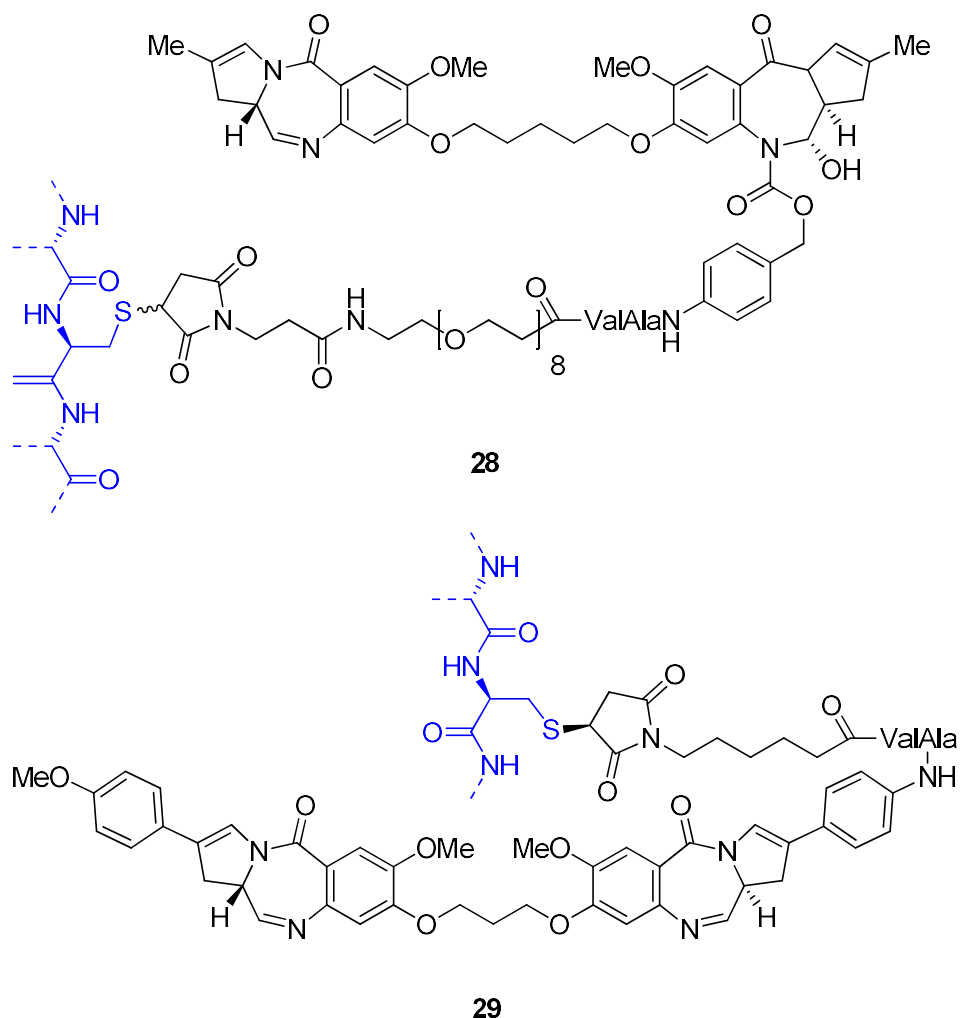
**Obrázek 10.** Schematické znázornění konjugovaných PBD.

Často pozorovaným problémem, při použití malých molekul léčiv, jsou vážné vedlejší účinky, které zabraňují zvyšování dávky. Jako elegantní řešení dle Vlahova a jeho kolektivu se například nabízí konjugované proléčivo s diazepinovým kruhem bez iminové skupiny. Po vstupu konjugátu do cílového místa dojde ke štěpení spojovacího systému a ke spuštění tvorby reaktivního aldehydu a aromatického aminu. Následnou intramolekulární reakcí dojde k uzavření kruhu a tvorbě PBD (**Obrázek 11**).<sup>34</sup>



**Obrázek 11.** Koncept působení PBD proléčiva.

Prvními konjugáty protilátky s PBD využívanými v klinické praxi je rovalpituzumab tesirine (**28**), cílený na nádory plic a vadastuximab talirine (**29**) pro léčbu akutní myeloidní leukémie (**Obrázek 12**). V různých etapách klinického testování se v současné době nachází i další řady konjugátů.<sup>35</sup>



**Obrázek 12.** Struktury vybraných konjugátů PBD pro léčiv.

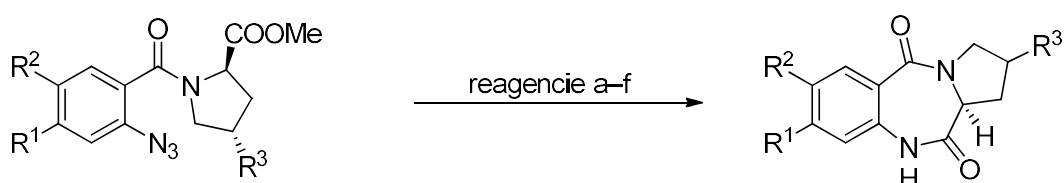
## 2.4 Metody syntézy

### 2.4.1 Cyklizace methyl-*N*-(2-azidobenzoyl)pyrrolidin-2-karboxylátu

Kamal a jeho spolupracovníci, za účelem syntézy PBD, publikovali řadu metodik založených na redukční cyklizaci methyl-*N*-(2-azidobenzoyl)pyrrolidin-2-karboxylátů,<sup>36</sup> které byly připraveny reakcí *N*-(2-nitrobenzoyl)pyrrolidinových derivátů s azidem sodným

v hexamethylfosforamidu při laboratorní teplotě. V podstatě dochází účinkem různých činidel, jako jsou např. bis(trimethylsilyl)sulfid, trimethylsilyljodid, anebo dalších jiných uvedených ve **Schématu 6**,<sup>37</sup> k redukci azidové skupiny na primární aminovou skupinu, jejíž atom dusíku je po proběhnuté aminolýze součástí diazepinového heterocyklu.

Tato reakční cesta je obecně vhodná jak pro syntézu monomerních, tak i dimerních PBD.<sup>38</sup> Vysokých výtěžků (80–92%) je možné dosáhnout také za použití mikrovlnného záření ve spojení s boridem niklu (Ni<sub>2</sub>B) v okyseleném methanolu.<sup>39</sup>



R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> = H, Me, OMe, OBn, Cl

R<sup>3</sup> = H, OH, N<sub>3</sub>

variabilita reakčních činidel: a) TMSCl, NaI, CH<sub>3</sub>CN, lab. tep., 45 min (80–85 %)

b) HI, lab. tep., 3,5 h (90–95 %)

c) NaI, AcOH, reflux, 2 h (92–96 %)

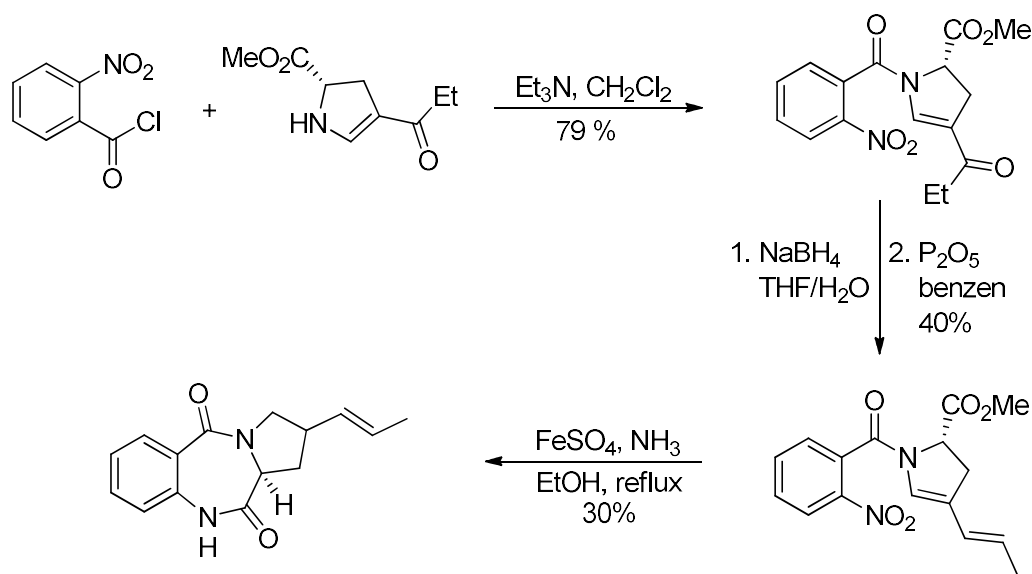
d) FeCl<sub>3</sub>-NaI, CH<sub>3</sub>CN, lab. tep., 15 min (80–85 %)

e) Ni<sub>2</sub>B, MeOH-HCl, MW, 2 min (80–92 %)

f) Zn, HCOONH<sub>4</sub>, MeOH, lab. tep., (85–95 %)

**Schéma 6.** Syntéza pyrrolobenzodiazepindionů redukční cyklizací (2-azidobenzoyl)-pyrrolidin-2-karboxylátů.

Zahraniční autoři v roce 2018, pro syntézu PBD s nenasyceným kruhem, zaujali velmi podobnou strategii jako je znázorněná ve **Schématu 6**. Jako výchozí látku použili methyl-4-propionyl-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-2-karboxylát, který v dichlormethanu při laboratorní teplotě ponechali reagovat v přítomnosti triethylaminu s 2-nitrobenzoylchloridem. Získaný 2-nitrobenzoylový derivát 1*H*-pyrrolu, pomineme-li transformaci postranního propionylového řetězce na propenylový, byl po redukci nitroskupiny účinkem zelené skalice a amoniaku v ethanolu za zvýšené teploty převeden na 1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5,11(10*H*,11*aH*)-dion (**Schéma 7**).<sup>40</sup>

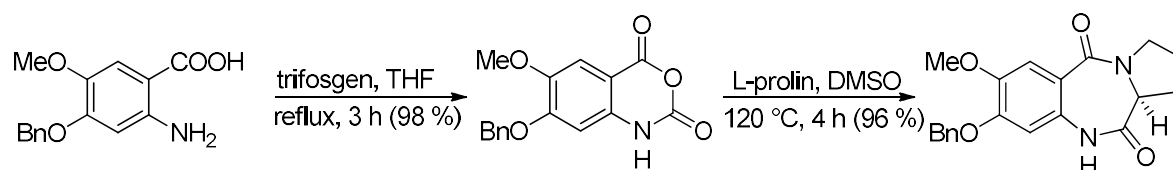


**Schéma 7.** Syntéza nenasyceného PBD vycházející z reakce substituovaného 1*H*-pyrrolu s derivátem benzoylchloridu.

#### 2.4.2 Reakce anhydridu kyseliny isoové s aminy

Cyklokondenzační reakce anhydridu kyseliny isoové vedoucí k syntéze PBD jsou možné provést jak s cyklickými (substituované proliny), tak i s acyklickými aminokyselinami (např. kyselina L-glutamová).

Autoři, jež publikovali<sup>41</sup> přípravu PBD vznikajících reakcí kyseliny isoové s deriváty L-prolinu, sledovali vliv dvou rozdílných polárních rozpouštědel a zjistili, že experimenty provedené v dimethylsulfoxidu (DMSO) při teplotě 120 °C poskytují po 4 hodinách žádané produkty téměř v kvantitativním výtěžku, zatímco reakce uskutečněné ve vroucím dimethylformamidu (DMF) dávají PBD s výtěžky mnohem nižšími (63 %). Ve farmaceutickém průmyslu je využíván i způsob syntézy bez použití rozpouštědla, kdy je jemně mletý anhydrid kyseliny isoové taven s L-prolinem při teplotě 150 °C po dobu 18 hodin. Za těchto podmínek je produkt izolován ve výtěžku 91 %.<sup>42</sup>



**Schéma 8.** Reakce isoového anhydridu s L-prolinem.

Jadidi a kolektiv v roce 2004 studovali tutéž syntézu v mikrovlnném reaktoru, ve kterém byl roztok anhydridu kyseliny isatoové a prolinu v DMSO zahříván po dobu 5 minut. Výtěžek reakce byl 68 %.<sup>43</sup> O několik let později vědecká skupina de la Cruze optimalizovala tutéž reakci v mikrovlnném reaktoru a dospěla k závěru, že je-li experiment prováděn v roztoku kyseliny octové při teplotě 130 °C, je dostačující doba 3 minuty a výtěžnost reakce je v rozsahu 61–71 %.<sup>19</sup>

Kondenzace s acyklickými aminy byla provedena dvoustupňovou reakcí isatoového anhydridu s kyselinou glutamovou a triethylaminem jako bází. Po 24 hodinách byla směs okyselena směsí trifluoracetanhydridu a kyseliny trifluoroctové. Po 2 hodinovém ohřívání reakčního roztoku na 120 °C, byla získána racemická směs 1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-3,5,11(2*H*,10*H*,11*aH*)-trionů s výtěžkem 75 % (Schéma 9).<sup>44</sup>

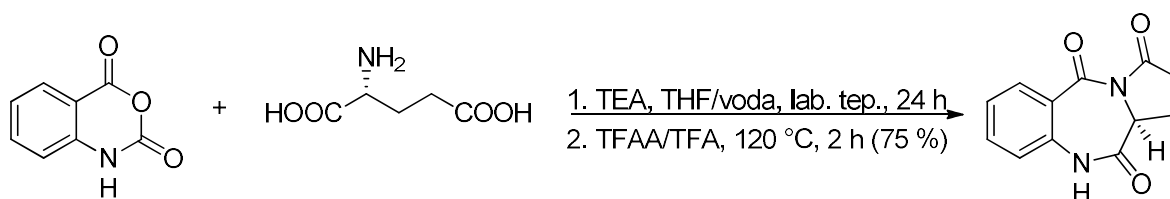


Schéma 9. Reakce isatoového anhydridu s L-glutamovou kyselinou.

### 2.4.3 Biosyntéza tilivallinu

Enterotoxin tilivallin je prvním přírodním PBD spojovaným s lidským onemocněním. Tilivallin je produkován gram-negativní bakterií *Klebsiellou oxytoca*, která je přirozenou součástí střevní mikroflóry. U některých pacientů užívajících penicilin, dochází k rychlému množení tohoto mikroorganismu, jehož následkem je hemoragická kolitida. Obecně jsou přirozené PBD produkovány gram-positivními bakteriemi, a proto zjištění, že tilivallin je tvořen gram-negativními bakteriemi, bylo překvapivé.

Podobně jako řada dalších polypeptidových antibiotik je produkován v cytoplazmě pomocí řady složitých enzymatických komplexů. Meziproduktem této neribosomální syntézy je PBD, též s cytotoxickými vlastnostmi, tilimycin. Tilivallin je pak výsledkem neenzymatické spontánní reakce tylimycinu s biogeneticky generovaným indolem (Schéma 10).<sup>45</sup>

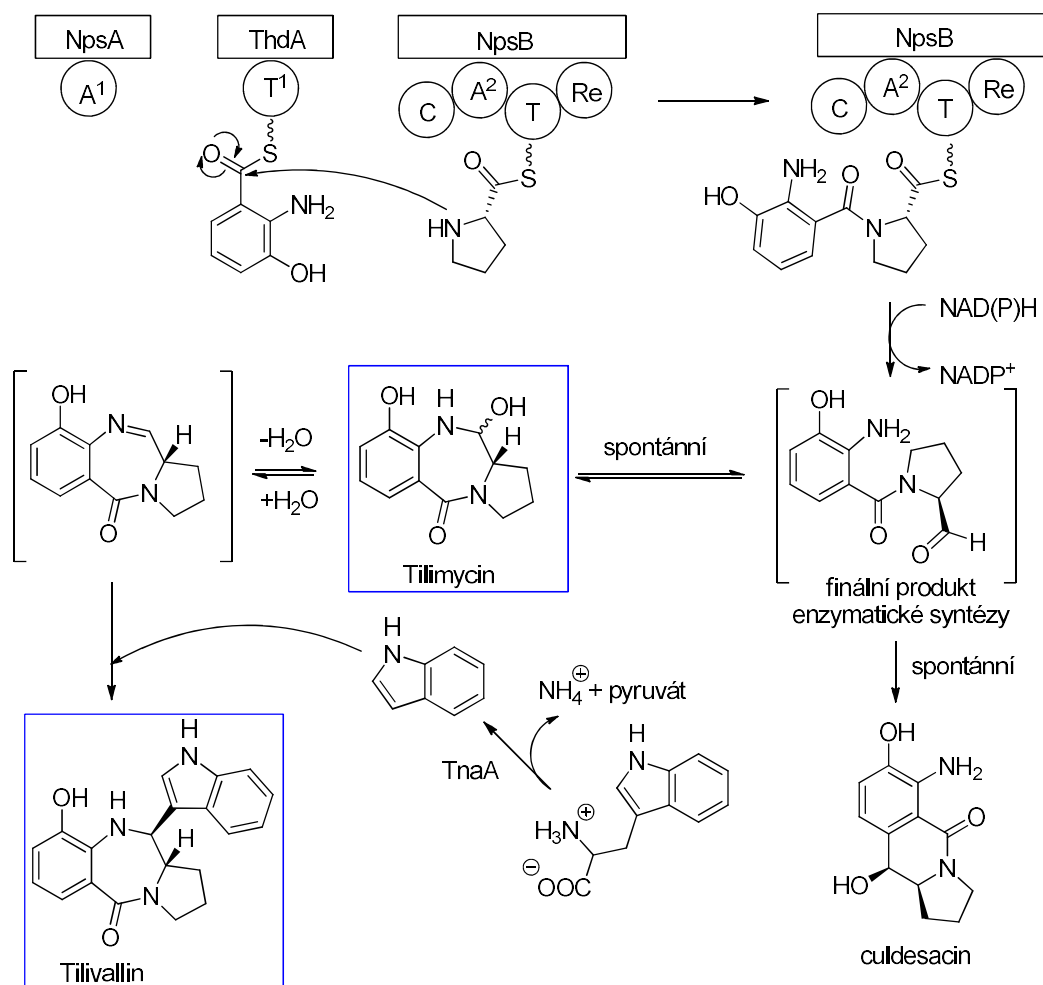


Schéma 10. Bakteriální biosyntéza tilimycinu a tilivallinu.

## **PRAKTICKÁ ČÁST**



### 3 VÝSLEDKY A DISKUZE

#### 3.1 Shrnutí dříve dosažených výsledků

Již v dřívějším období byly na Ústavu chemie prováděny bazicky indukované intramolekulární přesmyky 3-(propargylamino)chinolindionů. Je nutné podotknout, že studium této problematiky nebylo původním záměrem, a jak už tomu nejen v chemii, ale i v jiných vědních disciplínách bývá, nemalou roli zde sehrála náhoda. Prvotním úmyslem<sup>46</sup> bylo totiž zavedení druhého prop-2-yn-1-ylového řetězce na sekundární aminovou skupinu chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **1** v prostředí DMF s uhličitánem draselným. V případech, kdy byl atom dusíku v poloze 1 chinolindionu substituován alkylovým nebo arylovým substituentem, k žádné reakci nedocházelo. Proto byla vyzkoušena možnost nahradit slabší bázi (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) bázemi silnějšími, kterými byly tetramethylguanidin (TMG) a hydrid sodný.

Použití silnějších bází vedlo k tvorbě dvou produktů, které měly dle hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací (ESI-MS) vzájemně, ale i s výchozím 3-(propargylamino)chinolindionem, stejnou hodnotu *m/z*. Všechny tři látky se lišily jak retenčním faktorem při chromatografii na tenké vrstvě (TLC) i při plynové chromatografii s hmotnostní detekcí (EI-GC-MS), tak i rozdílnou fragmentační dráhou při ESI-MS i při EI-GC-MS, z čehož bylo postupem času usouzeno, že se jedná o isomery.

Světlo do problému vnesla až dvoudimenzionální spektra jednotlivých chemických individuů poskytnutá nukleární magnetickou rezonancí (NMR), na základě kterých vyplynulo, že v případě použití TMG došlo k expanzi pyridinového kruhu chinolindionu na sedmičlenný 1,4-diazepinový kruh (sloučenina **2**). Působením ještě silnější báze, hydridu sodného, vedlo k navíc i k cyklizaci postranního propargylového řetězce za vzniku PBD **3** (Schéma 11). Na základě tohoto pozorování bylo mou předešlou kolegyní, Adélou Lajdovou, připraveno několik sloučenin typu **2** a **3**.<sup>46</sup>

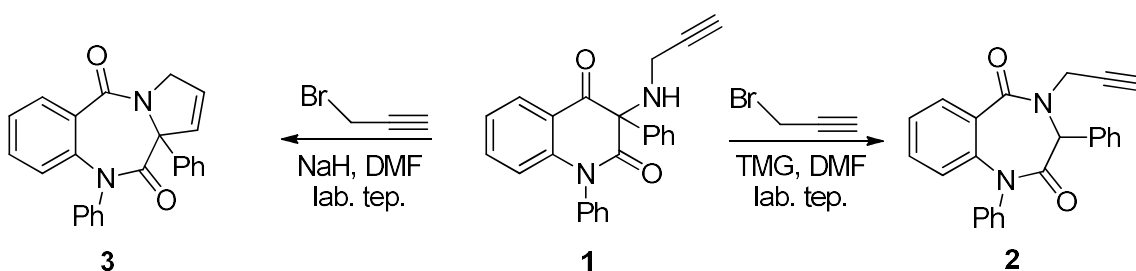


Schéma 11. Dříve pozorované přeměny 3-(propargylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **1**.

### 3.2 Motivace a vymezení cílů práce

Na tomto místě bych ráda čtenáře seznámila s hlavní myšlenkou a cíli této práce. Jak je možné vypořádat z rešeršní části, řada vědeckých skupin se, pro rozmanité účinky BZD a PBD derivátů na živé organismy, věnuje jejich syntéze. Stejný impuls podnítl i zadání této práce, která si kladla za cíl navrhnout vhodnou syntetickou dráhu vedoucí k jejich syntéze, a to pokud možno, jak už to v chemii chodí, jednoduchými kroky se snadnými postupy zpracování reakční směsi vedoucí k očekávaným produktům s co nejvyššími výtěžky.

### 3.3 Diskuse výsledků při řešení dané problematiky

Již na počátku práce, ještě před jejím započítím, byly navrženy tři syntetické strategie směřující k požadovaným sloučeninám **8**, přičemž všechny vycházejí ze substituovaných 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **4** (Schéma 12).

Dvě z nich pak směřují k 1,4-benzodiazepinům nesoucím 3-chlorpropylový řetězec v poloze 4 (sloučeniny **7**). Ty je možné teoreticky připravit postupným působením TMG a thionylchloridu v různém pořadí na 3-(3-hydroxypropylamino)chinolindiony **4**. Závěrečným krokem v obou případech je poté cyklizace postranního řetězce za vzniku PBD **8**.

Třetí reakční varianta předpokládá tandemovou intramolekulární přeměnu 3-(3-chlorpropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **5** vyvolanou účinkem silné báze, která by měla vést přímo k PBD **8** bez předchozích izolací BZD derivátů **7**.

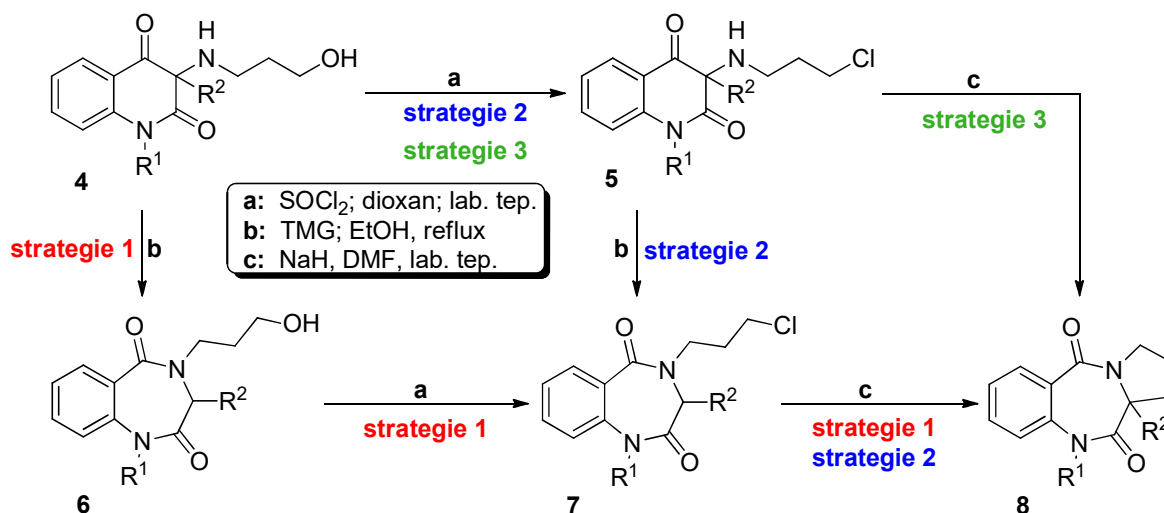
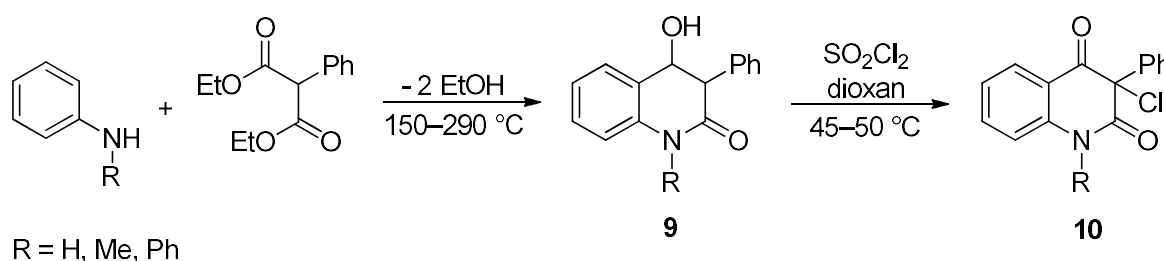


Schéma 12. Přehled navržených syntetických variant.

Základním předpokladem pro návržení atraktivní syntetické cesty nejen pro nás, ale i pro ostatní vědecké pracovníky, je používat snadno dostupné výchozí látky, běžné a levné reagenty, které budou společně interagovat při nenáročných podmínkách (nepříliš vysoká teplota, bez nutnosti použití suchých rozpouštědel a inertní atmosféry). V našem případě byly výchozími sloučeninami pro přípravu PBD 1,3-disubstituované 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-diony **10**. Jejich dvoukroková syntéza byla na Ústavu chemie optimalizována<sup>47</sup> již před řadou let (Schéma 13), a vzhledem k tomu, že jsou tyto látky prekurzory pro řadu jiných sloučenin studovaných v naší skupině, jsou připravovány do zásob. Jelikož jsem i já tyto deriváty získala z laboratorních zdrojů, bude dále jejich syntéza uvedena jen stručně a podrobnější popis je pak věnován až následujícím reakcím.

Základní suroviny, 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony **9** získané několikahodinovou termální kondenzací anilinů s diethyl-malonáty, byly chlorovány účinkem sulfurylchloridu v dioxanu při teplotě do 50 °C.

Schéma 13. Příprava výchozích surovin **10**.

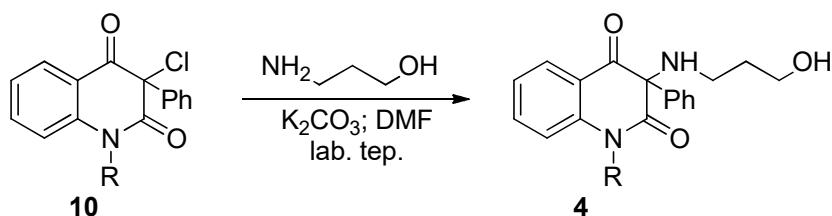
Primárním úkolem mé diplomové práce bylo připravit několik derivátů 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **4** v dostatečném množství, jež by umožňovalo následné studium jejich reaktivity. Pro tyto účely byly připraveny deriváty **4**, které v poloze 3 nesly fenylový substituent. Tato skupina byla vybrána proto, že na rozdíl od alkylových skupin neposkytovala, při dříve pozorovaných cyklizacích propargylového řetězce vázaného k BZD vyvolaných hydridem sodným, spoustu degračních produktů. Víceméně se jednotlivé deriváty lišily pouze substitucí na atomu dusíku chinolindionu. Jeden byl v poloze 1 nesubstituovaný a další pak nesly fenylový či methylový substituent.

Pro přípravu sloučenin **4** se jako vhodný způsob jevily reakce 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **10** s propanolaminem v polárním rozpouštědle. Na základě inspirace z publikace <sup>47</sup> prof. Kláska a jeho spolupracovníků zabývajících se přípravou 3-aminochinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů, byla na počátku provedena reakce halogenderivátu **10** s trojnásobným molárním množstvím propanolaminu v roztoku DMF při laboratorní teplotě. Poloviční přebytek reagentu vedl k rychlé přeměně výchozí látky. Přestože v průběhu reakce dle TLC nevznikalo významnější množství nečistot, produkt nebyl ochotný vůbec krystalizovat, tudíž bylo vyžadováno surový produkt přečistit sloupcovou chromatografií. Nicméně i po této čistící operaci, i když se produkt na TLC tvářil jako absolutně čistý, nebylo možné získat větší množství krystalického podílu. Dalším nepříznivým aspektem bylo i spotřebované množství propanolaminu. Vzhledem k jeho relativně vysoké ceně a potřebě připravit 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-diony v množství několika gramů nás vedlo k optimalizaci reakčních podmínek.

V popsaném experimentu se jedna molekula propanolaminu nukleofilní substitucí váže k výchozí sloučenině **10** do polohy 3, přičemž dochází k uvolňování chlorovodíku, který je „vychytáván“ druhou molekulou propanolaminu. Aby bylo možné snížit množství propanolaminu v reakční směsi, který se dle NMR nedařil ani sloupcovou chromatografií spolehlivě od produktu oddělit, je nutné přidávat druhou bázi.

Proto byly následně vyzkoušeny reakce 3-chlorderivátů **10a,b** s dvojnásobným množstvím uhličitanu draselného a s 5% nebo 10% přebytkem propanolaminu v DMF při laboratorní teplotě. V případě nižšího nadbytku propanolaminu je složení reakční směsi již po 2 h neměnné, ovšem ani po 24 h nebyla konverze úplná. Naproti tomu mírným navýšením reagujícího aminu, na 1,1 ekvivalentu vůči výchozí látce, zapříčinilo absolutní spotřebování výchozí látky již po 2–3 h. Navíc oproti předchozím experimentům nebylo

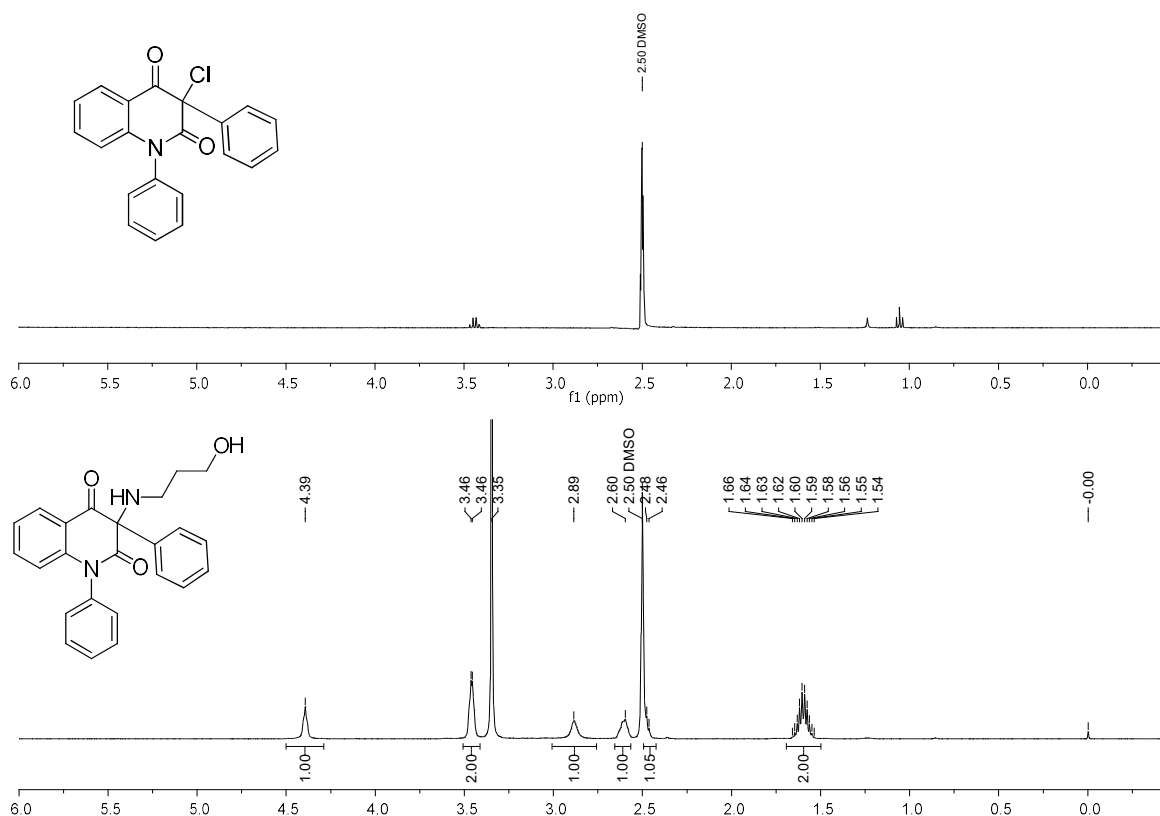
nutné surovinou směs chromatograficky přečišťovat, očekávaný produkt **4** byl získán ve vysoké kvalitě pouhým překrystalizováním z EtOAc (**Schéma 14**).



Vých. l. (10)	R	Propanolamin (ekviv.)	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (ekviv.)	R. doba (h)	Výtěžek 4 (%) chrom. čisté l.	Výtěžek 4 (%) krystal.
<b>a</b>	Ph	3,00	-	0,25	83	41
		1,10	2	2,5	90	76
		1,05	2	2,5	77	59
<b>b</b>	Me	1,10	2	3,0	86	-
		1,05	2	2,0	89	-
<b>c</b>	H	1,10	2	20,0	-	94

**Schéma 14.** Aminolýza 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **10a–c**.

Rychlým a nezvratným důkazem o úspěšně provedených nukleofilních substitucích poskytla změřená <sup>1</sup>H NMR spektra. Jelikož při těchto reakcích byl na chinolindionový skelet navázán pouze alifatický řetězec, je ze spekter zajímavá pouze část od 1 ppm do 6 ppm, která je uvedena na **Obrázku 13**.



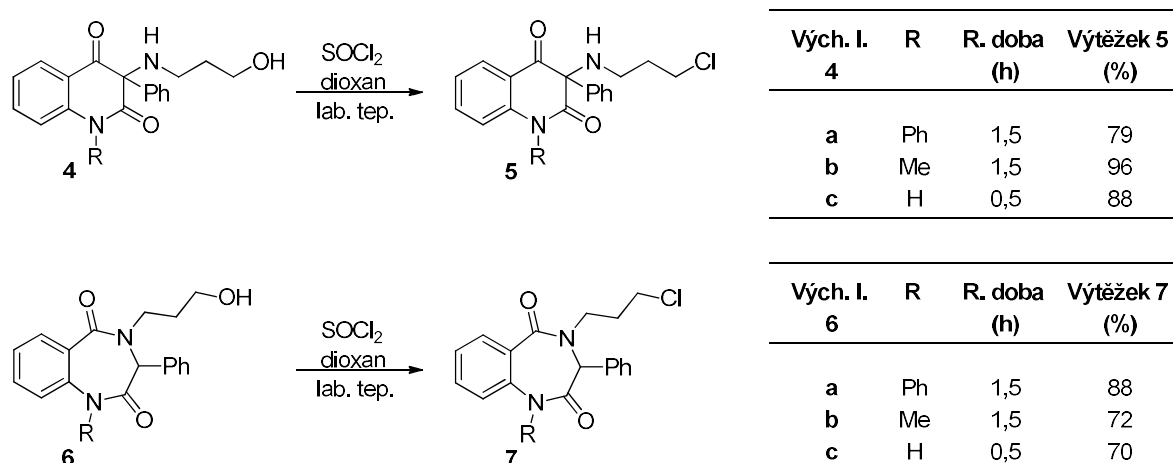
**Obrázek 13.** Výřez spekter výchozí látky **10a** (nahore) a produktu substituce **4a** (dole).

Jak je možné vidět v alifatické části spektra sloučeniny **4a** přibylo 6 nedostatečně tvarově rozlišených signálů (malé interakční konstanty), jejichž součet integrálních ploch prezentuje osm protonů, což naznačuje, že do molekuly výchozí látky byl navázán propanolaminový zbytek. Molekula propanolaminu má ve své struktuře dvě funkční skupiny schopné štěpit proton. Ačkoliv je aminová skupina více nukleofilní než skupina hydroxylová, bylo nezbytné i na základě 2D NMR spekter potvrdit předpoklad, že je molekula propanolaminu vázána k heterocyklu přes atom dusíku. Pouze dva signály s chemickým posunem 2,89 ppm a 4,39 ppm dle HC-HSQC NMR spekter nejsou vázány k atomu uhlíku. Z korelací v HC-HMBC NMR spektru vyplynulo, že signál s nižší hodnotou ppm koreluje s atomem uhlíku chinolindionu v poloze 3 a současně signál s hodnotou 4,39 ppm koreluje pouze s uhlíky z propylenového řetězce. Z těchto skutečností je usuzováno, že signál, který rezonuje při vyšších frekvencích, odpovídá hydroxylové skupině a druhý z diskutovaných odpovídá sekundární aminové skupině. Toto tvrzení podporuje i chemický posun atomu uhlíku, na který je hydroxylová skupina vázána. Vlivem menšího stínění, způsobeného atomem kyslíku, vykazuje jeho signál vyšší

chemický posun (59,56 ppm) než atom uhlíku alifatického řetězce (42,60 ppm) sousedící s aminoskupinou. Tentýž efekt je pozorován v  $^1\text{H}$  NMR spektru, kde je signál protonu z hydroxylové skupiny posunut až k hodnotě 4,39 ppm.

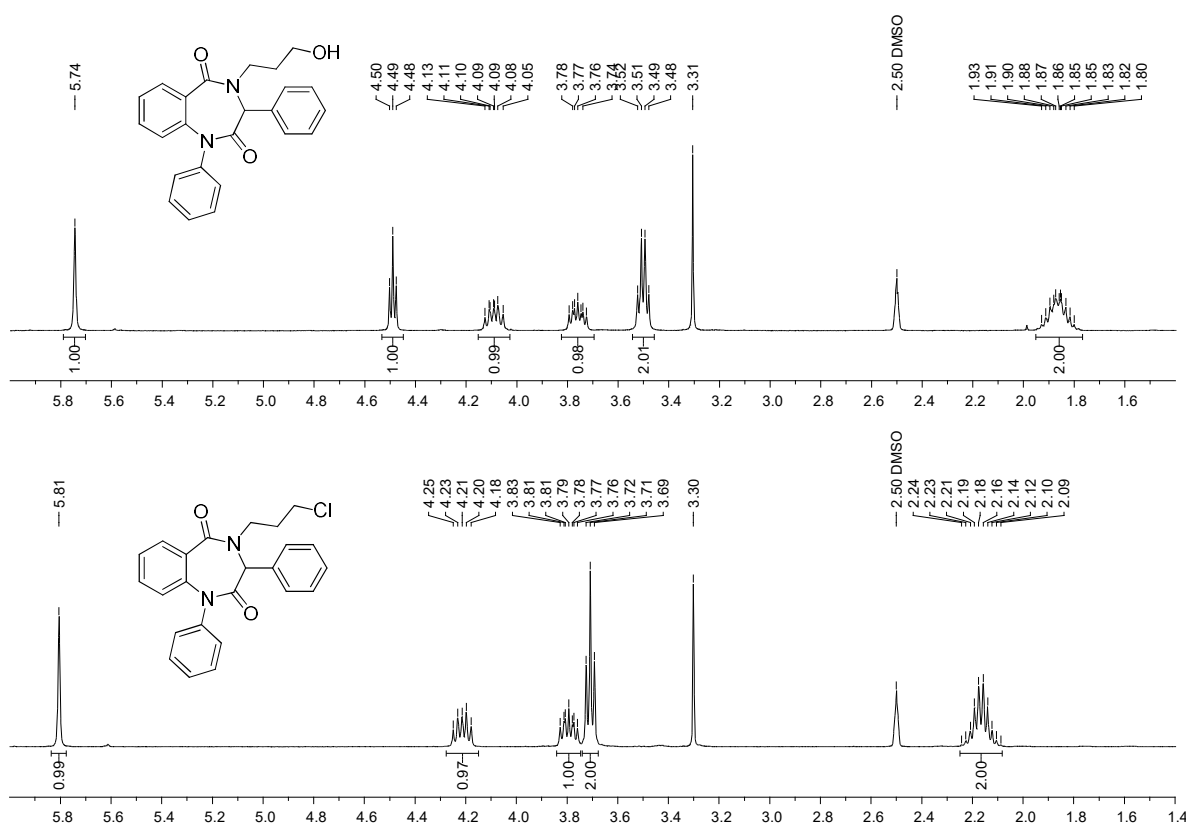
Jelikož byly následné kroky dvou syntetických cest směřované k přípravě 4-(3-chlorpropyl)benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů **7** provedeny za stejných podmínek, budou jednotlivé typy reakcí popsány společně.

Nukleofilní substituce hydroxylové skupiny postranních řetězců jak 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **4**, tak i 4-(3-hydroxypropyl)benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů **6** byly uskutečněny účinkem thionylchloridu v dioxanu při laboratorní teplotě. Žádná z reakcí znázorněných ve **Schématu 15** podle předpokladů nečinila obtíže. Obě výchozí látky byly za krátkou dobu převedeny na odpovídající chlorované deriváty **5**, **7** s vysokými a srovnatelnými výtěžky.



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

$^1\text{H}$  NMR spektra výchozích látek **4** a **6** se od sloučenin **5** a **7** podle předpokladů výrazně liší pouze v jedné části. U produktů po nukleofilní substituci hydroxylové skupiny chloridovým iontem ve spektrech vymizí charakteristický triplet (v některých spektrech slabě rozlišený může vypadat téměř jako široký singlet) vyskytující se v oblasti 4,2–4,6 ppm (**Obrázek 14**). Signály v  $^{13}\text{C}$  NMR charakterizující atomy uhlíku připojené k atomu chloru se oproti výchozí látce posunuly směrem k vyššímu magnetickému poli o 16 jednotek ppm. Důvodem tohoto diamagnetického posunu je nižší elektronegativita atomu chloru, což ve výsledku vede k většímu stínění  $\alpha$  uhlíku.

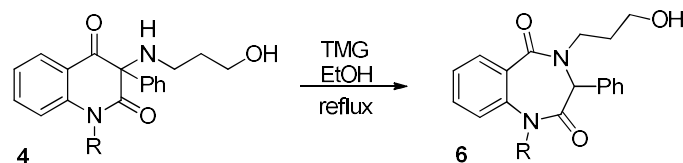


**Obrázek 14.** Výřez spekter hydroxyderivátu **6a** (nahore) a chlorderivátu **7a** (dole).

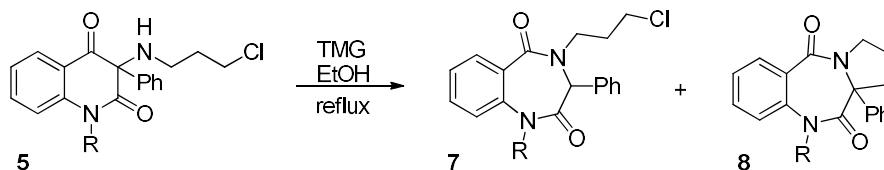
Rozdílné výsledky byly pozorovány v pokusech o expanzi šestičlenného pyridinového kruhu na sedmičlenný diazepinový. Vařením ethanolových roztoků látek **4** s dvojnásobným molárním nadbytkem TMG nastala, v závislosti na typu substituce, expanze heterocyklu za rozdílnou dobu, která je uvedena v tabulce **Schématu 16**. Jelikož při reakcích nevznikalo významné množství vedlejších látek, byly očekávané produkty jednotlivých derivátů získány ve velmi dobrých výtěžcích (67–81 %).

Byly-li však stejným podmínkám vystaveny sloučeniny **5**, došlo k tvorbě dvou látek. Z počátku a během reakcí byly průběhy shodné, to znamená, že se dle TLC původní deriváty měnily pouze na jedny typy produktů, které svými retenčními faktory odpovídaly BZD. Nicméně v průběhu zahušťování roztoku na rotační vakuové odparce byla na tenké vrstvě detekována i další významnější skvrna odpovídající druhému produktu s nižším retenčním faktorem. Tyto dva produkty byly od sebe separovány sloupcovou chromatografií a následně pomocí NMR bylo určeno, že se jedná o 4-(3-chloropropyl)benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion **7** a benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5,11-dion **8** (**Schéma 16**).





Vých. I. 4	R	R. doba (h)	Výtěžek 6 (%)
a	Ph	5,5	67
b	Me	3,0	81
c	H	1,5	79



Vých. I. 5	R	R. doba (h)	Výtěžek 7 (%)	Výtěžek 8 (%)
a	Ph	1,5	8	68
b	Me	1,0	41	21
c	H	4,0	23	27

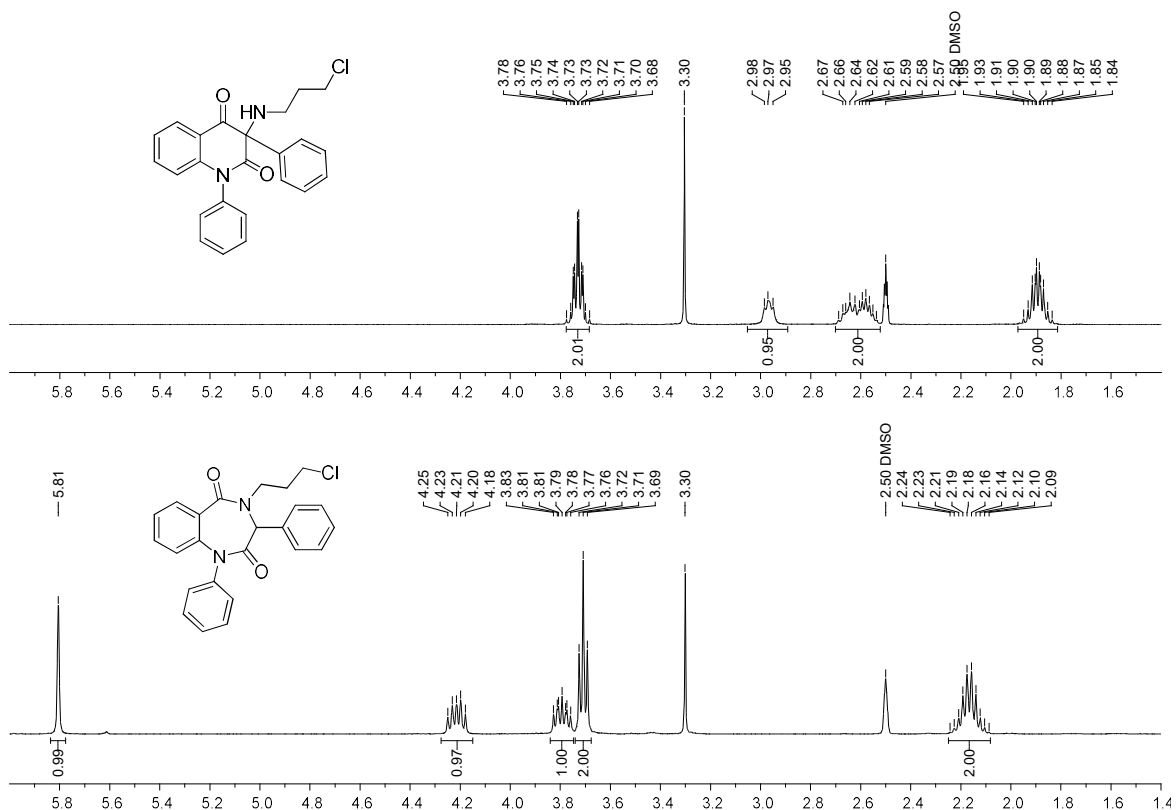
**Schéma 16.** Isomerizace 3-aminochinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **4**, **5**.

Při těchto experimentech, jak je možné vyčíst z tabulky **Schématu 16**, byly mezi jednotlivými deriváty sledovány významnější rozdíly v poměrech vznikajících látek **7**, **8**. V případě fenylového substituentu byla reakce výrazně posunutá ve prospěch PBD **8a**. Oproti tomu, v případě methylového derivátu bylo získáno téměř dvojnásobné množství BZD **7b** ku PBD **8b**. Proto možná není až takovým překvapením výsledek reakce s nesubstituovaným derivátem, která poskytla téměř srovnatelné množství obou produktů.

Rozdílné výsledky nás stále evokují k úvaze. Víím, že na základě takového malého množství provedených pokusů činit závěry je irelevantní, ale i přesto bych ráda sdělila můj úhel pohledu. Vzhledem k tomu, že jsou všechny deriváty **5** shodně substituovány v blízkosti reakčního místa (v poloze 3), pravděpodobně se projevují, i když na značnou vzdálenost, elektronové vlivy substituentů v poloze 1. Elektronakceptorní fenylyl z BZD systému odčerpává elektrony, čímž dochází k zeslabení vazby mezi atomem uhlíku C-3 a atomem vodíku H-3, tudíž se tento atom vodíku stává snadno štěpitelný a ve výsledku to vede k zacyklení postranního řetězce za vzniku PBD **8a**. Zatímco elektrondonorní methylová skupina dotuje tuto vazbu elektrony, vazba je pevnější a reakce z velké části

končí po přeměně chinolindionu **5b** na BZD **7b**. Jelikož derivát **5c** nemá na atomu dusíku v poloze 1 žádný z diskutovaných substituentů a nemá tedy na BZD systém žádný výrazný vliv, vznikají oba produkty **7c** a **8c** prakticky ve stejném poměru.

Pro názornost v rozdílnostech NMR spekter 3-(propylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů a jejich isomerních 4-propylbenzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů byla vybrána <sup>1</sup>H NMR spektra sloučenin **5a** a **7a** (Obrázek 15). Významné strukturální změny, které se odehrály při expanzi pyridinového kruhu chinolindionu, jsou pozorovatelné ve spektrech v oblasti od 1,4 ppm do 6 ppm. Jedny z podstatných rozdílů, i když ne tak zásadních při identifikaci struktury, je daleko výraznější separace signálů diastereotopních protonů (označených H-1<sup>A</sup>) a jejich paramagnetický posun a taktéž změna tvaru signálu charakterizujícího protony H-3<sup>A</sup>, který v původní látce vypadal jako multiplet a v produktu jako pravý triplet.

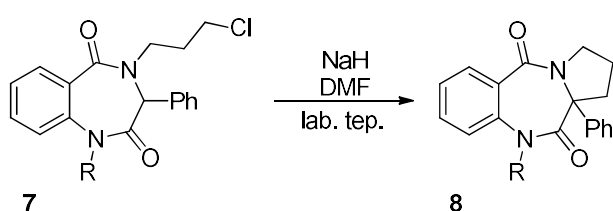


Obrázek 15. Výřez spekter látky **5a** (nahore) a jejího isomeru **7a** (dole).

Podstatnou odlišností je, že ze spektra produktu vymizel signál protonu sekundárního aminu. Současně se objevil nový výrazný singlet s chemickým posunem 5,81 ppm, který v HC-HMBC spektru má silné korelace s karbonylovými atomy uhlíku (C-2 a C-5), s atomy uhlíku v aromatické oblasti pocházející z fenylového substituentu (C-1<sup>B</sup>, C-2<sup>B</sup>

a C-6<sup>B</sup>) a s methylenovou skupinou propylenového řetězce C-1<sup>A</sup>. Z těchto indicií bylo usouzeno, že došlo k přesmyku chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **5** na odpovídající benzodiazepin-2,5-dion **7**. Tohle tvrzení bylo ještě podpořeno korelacemi pozorovanými v HN HMBC spektru, kde diskutovaný singlet interagoval s oběma atomy dusíku (N-1 a N-4). Další nepochybný důkaz o začlenění původně aminového atomu dusíku do kruhu poskytují <sup>13</sup>C NMR spektra, ve kterých, mimo jiné drobné změny, dochází k posunu signálu atomu uhlíku původní oxoskupiny (192,82 ppm) k hodnotě 166,01 ppm, což odpovídá posunu karbonylového atomu uhlíku amidové skupiny. Taktéž je možné u produktů **7** pozorovat posun atomu uhlíku C-3 k vyššímu magnetickému poli, který je vyvolaný jeho umístěním mezi dvěma amidovými skupinami. Podobný trend byl pozorován i u ostatních, a to jak u hydroxylových derivátů, tak i u jejich chlorovaných analogů.

Závěrečným krokem v uvažovaném sledu reakcí vedoucích k PBD **8**, je cyklizace 3-chlorpropylového řetězce BZD účinkem silné báze (**Schéma 17**). První experiment, kde byl sledován vliv 1,1 ekvivalentu (vztaženo k výchozí látce) hydridu sodného na roztok BZD **7a** při laboratorní teplotě, v krátkém čase poskytl uspokojivý výsledek. V průběhu reakce nevznikala nikterak složitá směs produktů, a tudíž i přečištění surové směsi sloupcovou chromatografií bylo snadné. Proto byly ostatní deriváty připraveny analogickým způsobem. Purifikované PBD **8** velmi ochotně krystalizovaly z běžných rozpouštědel jako je benzen i ethyl-acetát.



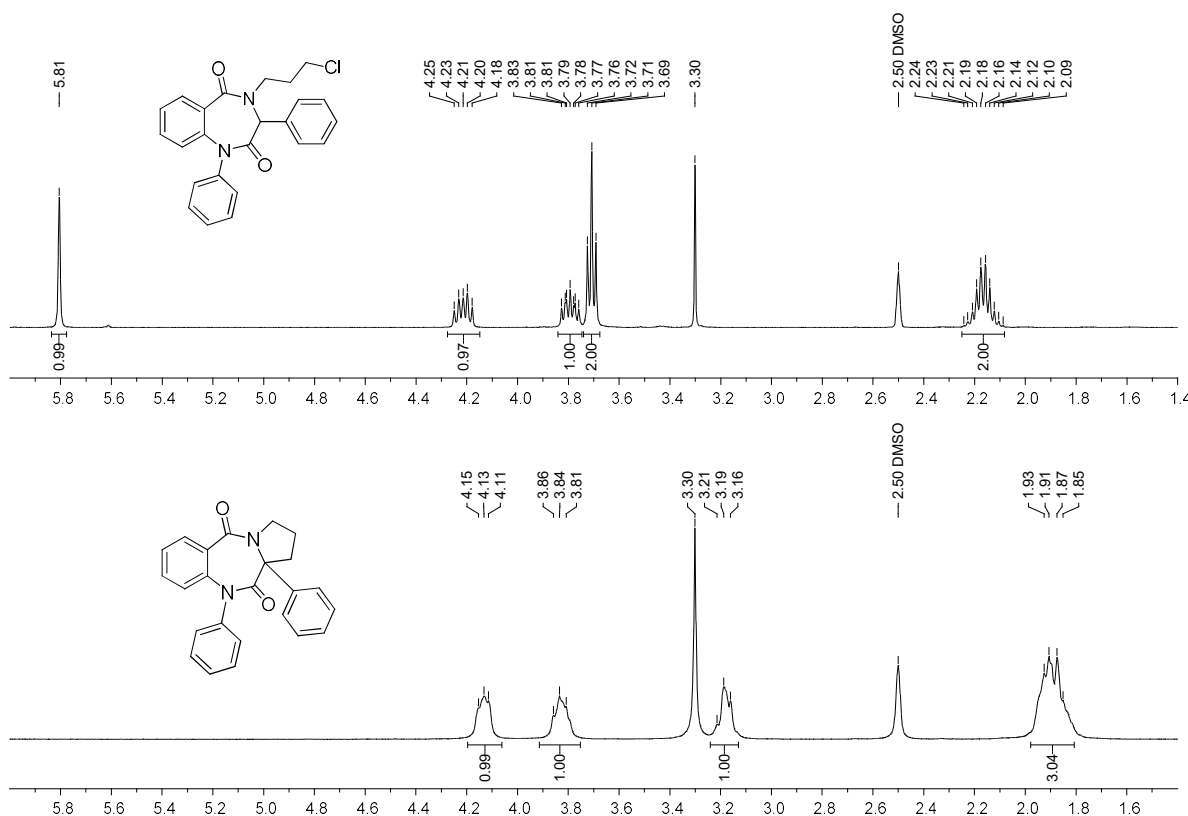
Vých. I. <b>7</b>	R	R. doba (h)	Výtěžek <b>8</b> (%)
<b>a</b>	Ph	5,5	77
<b>b</b>	Me	3,0	91
<b>c</b>	H	4,5	73

**Schéma 17.** Cyklizace 3-chlorpropylového řetězce benzodiazepinů **7**.

Na základě pozorování a výsledků experimentů směřovaných k expanzi heterocyklů látek **5**, byl vyzkoušen i vliv TMG na vroucí roztok 4-(3-chlorpropyl)benzodiazepinu **7a**

v ethanolu. Je zajímavé, když působení TMG na látku **5a** po dobu 1,5 h poskytlo 68 % derivátu **8a**, že po 16 h varu ethanolového roztoku BZD **7a** s dvojnásobným molárním množstvím TMG byla v reakčním roztoku stále přítomna výchozí látka. I přes tuto skutečnost byla směs zpracována běžným způsobem, to je odpařením rozpouštědla na RVO a purifikací na sloupci silikagelu. Reakce ve výsledku, mimo pestrou paletu vedlejších látek znesnadňujících čistící proces, poskytla pouze 24 % žádaného produktu **8a**. Rozdíly mezi uvedenými reakcemi evidentně musí způsobovat nějaký intermediát vznikající při samotné expanzi heterocyklu, který je pravděpodobně hnací silou pro následnou cyklizaci 3-chlorpropylového řetězce.

Nejvýraznější změnou ve spektrech látek **8** vzniklých působením NaH na molekulu 4-(3-chlorpropyl)benzodiazepindionů **7** je absence ostrého singletu v oblastech 5,45-5,81 ppm, který je pro diazepinový kruh typický. Další změny byly zaznamenány v signálech protonů propylenové části molekuly. V případech chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů i benzodiazepin-2,5-dionů vykazovaly diastereotopní chování jen protony H-1<sup>A</sup>. Oproti tomu, byly u produktů získaných bazickým účinkem NaH na deriváty **7** vzájemně separované signály protonů dvou methylenových skupin (**Obrázek 16**). Světlo do problému vnesly až 2D NMR experimenty, obzvláště HC-HMBC NMR spektra, ve kterých nově vzniklé diastereotopní atomy vodíku (v původním BZD označeny jako H-3<sup>A</sup>) mimo obvyklé korelace interagovaly i s atomy uhlíku amidové skupiny (v původním BZD označeny jako C-2), s *ipso*-uhlíkem fenylové skupiny i s atomem uhlíku na kterém je připojen. Tyto popsání skutečnosti jasně vypovídají o zacyklení propylenového řetězce do polohy 3 vedoucí ke vzniku nového pětičlenného kruhu.

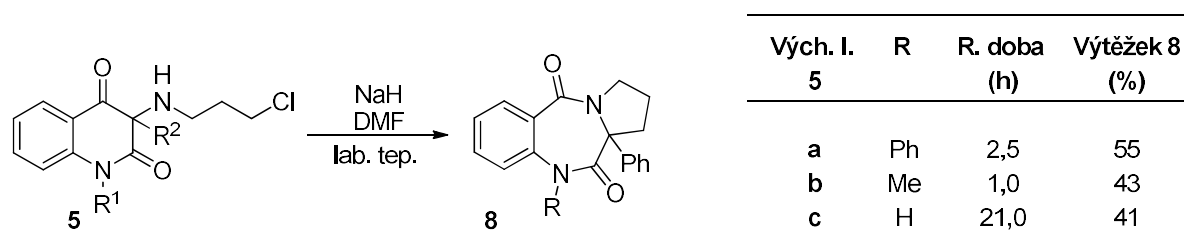


**Obrázek 16.** Část spekter benzodiazepinu **7a** (nahore) a pyrrolobenzodiazepinu **8a** (dole).

Třetí, o jeden reakční krok kratší, varianta předpokládá, že je možné účinkem silné báze převést tandemovou reakcí (expanze kruhu následovaná cyklizací postranního řetězce) 3-(chlorpropylamino)chinolindiony **5** přímo na pyrrolobenzodiazepindiony **8** (Schéma 18).

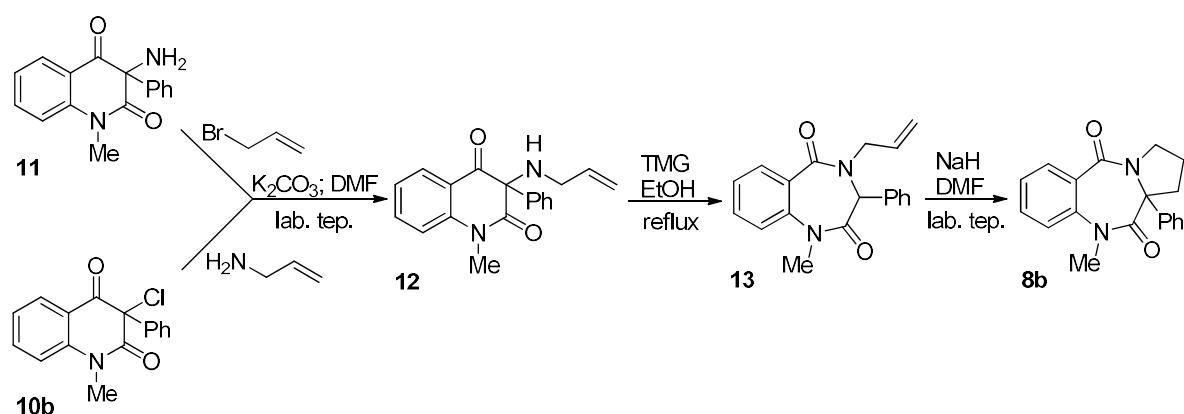
Prvotní experiment byl proveden za podobných podmínek jako při transformaci sloučenin **7** na **8**, to znamená, že bylo na roztok derivátu **5a** v DMF působeno 1,5 molárním přebytkem hydridu sodného při laboratorní teplotě. Za těchto podmínek po půl hodině bylo v roztoku přítomno malé množství produktu a značné množství nezreagované výchozí látky. Jejich poměr dle TLC zůstal i po 3 h neměnný, proto byla k reakční směsi přidána další, stejná porce NaH, která po půl hodině způsobila absolutní doreagování výchozí látky. Po zpracování reakční směsi byl získán očekávaný produkt **8a** s výtěžkem 31 %. Dále byl vyzkoušen vliv dvojnásobného látkového množství NaH vůči výchozí látce, který taktéž ani po 5 h nezpůsobil absolutní konverzi původního benzodiazepindionu, nicméně výtěžek produktu **8a** byl vyšší (44 %). Proto bylo dále množství NaH navýšeno až na 3 ekvivalenty (vztaženo k **5a**), které přeměnily výchozí chinolindion **5a** na očekávaný produkt **8a** v krátkém čase (2 h) a s nejvyšším izolovaným

výtěžkem (55 %). Na základě výsledků optimalizačních reakcí bylo vyvozeno, že v závislosti na reakčním čase, snadnosti purifikace produktu a výtěžku reakce je vhodné oproti výchozí sloučenině **5a** používat hydrid sodný v trojnásobném molárním množství. Tento poměr interagujících složek reakce byl použit i pro ostatní deriváty **5b,c**. Čas reakcí se pohyboval v rozmezí 1–2,5 hodiny. Výjimkou byla reakce v případě derivátu **5c**, která probíhala značně pomalu. Byla-li však reakční směs míchána přes noc, bylo ve výsledku dosaženo velmi obdobných výtěžků jako v případě dalších derivátů **5a,b**.



**Schéma 18.** Přímá přeměna sloučenin **5** na pyrrolobenzodiazepindiony **8**.

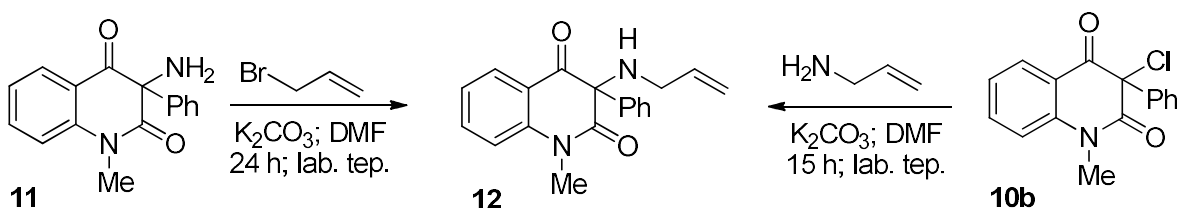
V návaznosti na experimenty provedené v předchozích letech, kdy byly Adélou Lajdovou studovány isomerizace 4-propargyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů na 3*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5,11(10*H*,11*aH*)-diony,<sup>46</sup> byla navržena ještě další samostatná reakční cesta (**Schéma 19**), i když od počátku byl její poslední krok považován za nejistý.



**Schéma 19.** Idea nové potenciální syntézy pyrrolobenzodiazepindionů **8**.

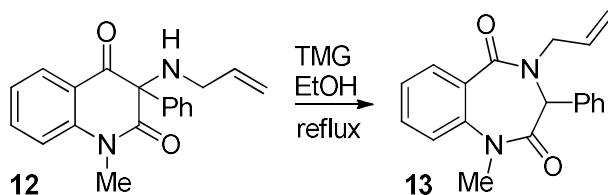
V tomto uvažovaném sledu syntéz je v podstatě výchozí látkou 3-(allylamino)chinolindion **12**, který byl připraven dvěma způsoby. V podstatě se v obou případech jedná o reakce halogenderivátu s aminem v přítomnosti báze (**Schéma 20**).

V první variantě byla využita jako vstupní látka 1,3-disubstituovaný 3-aminochinolindion **11**, který reagoval s 3-brompropenem v DMF za přítomnosti uhličitanu draselného jako báze. Vzhledem k pomalému průběhu reakce byla směs míchána přes noc. Po takto dlouhé době sice výchozí látka z reakční směsi vymizela, nicméně však vznikla řada vedlejších produktů, které musely být od produktu **12** separovány sloupcovou chromatografií přes neobvykle velké množství silikagelu. V opačném případě byl za stejných podmínek ponechán reagovat 1,3-disubstituovaný 3-chlorchinolindion **10b** s allylaminem. Reakce taktéž nebyla nikterak bouřlivá a směs byla míchána přes noc, ale dle TLC vznikal pouze jeden produkt, který měl stejný retenční faktor jako v předešlém případě. Po oddělení nadbytečného 3-aminopropenu na krátkém sloupci silikagelu byl izolován produkt **12** ve výtěžku 91 %. Tento výrazně efektivnější přístup byl následně ve větších navážkách opakován s obdobným výsledkem.



**Schéma 20.** Dvě varianty přípravy 3-(allylamino)chinolindionu **12**.

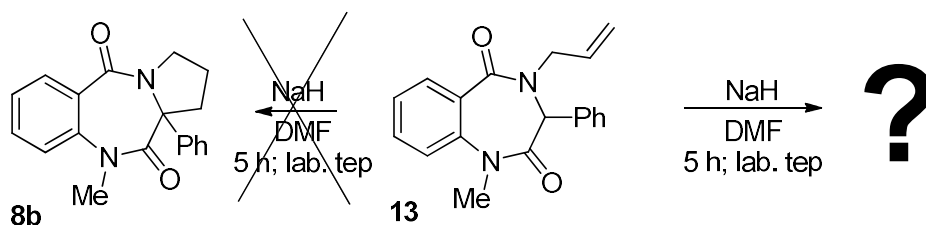
Následující syntetický krok byl udělán známou, v této práci již mnohokrát popisovanou metodikou (**Schéma 21**). 3-(Allylamino)chinolindion **12** byl bez jakýchkoliv obtíží působením TMG při teplotě varu ethanolu přeměněn za 2,5 h na isomerní 4-allyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion **13** ve výborné kvalitě.



**Schéma 21.** Přeměna 3-aminochinolindionů **12** na 4-allylbenzodiazepindiony **13**.

V NMR spektrech jednotlivých allylových derivátů byl pozorován stejný trend jako u jejich analogů, jejichž spektra jsou popsána výše, a proto zde nebudou rozebírána.

V závěrečném kroku v uvažovaném sledu experimentů byl BZD derivát **13** vystaven účinkům 1,1 molárního přebytku hydridu sodného (**Schéma 22**). Jelikož i po 4 h bylo dle TLC v reakční směsi značné množství výchozí látky, bylo množství NaH navýšeno až na 2,1 násobku látkového množství derivátu **13**. Toto kvantum NaH již po 1 h míchání způsobilo absolutní konverzi původní matrice, ale vznikla relativně složitá směs produktů, z nichž dva s nejvyšším zastoupením byly izolovány pomocí sloupcové chromatografie. Nicméně dle TLC a NMR analýzy bylo potvrzeno, že se ani v jednom případě nejedná o kýžený PBD **8b**. V tomto okamžiku máme k dispozici „pouze“ změřená 2D NMR spektra (COSY, HC-HMBC, HN-HMBC a HC-HSQC), která na základě interakcí měřených prvků, jež sloučenina v magnetickém poli vykazuje, neposkytuje zcela jasnou představu o strukturách izolovaných sloučenin. V jednom případě se podařilo vypěstovat monokrystal pro měření rentgenové difrakce. Poněvadž na UTB nejsme na takovou analytickou metodu zařízeni, byl monokrystal odeslán na spřátelenou Univerzitu v Ljublaně, ale bohužel výsledek doposud nebyl obdržen. V brzké době budou diskutované sloučeniny analyzovány na EI-GC-MS a na ESI-MS. Tyto analytické nástroje při řešení struktury sloučenin přináší velmi cenné informace.



**Schéma 22.** Bazický účinek hydridu sodného na 4-allylbenzodiazepindion **13**.

Jelikož tato reakce byla z důvodu nedostatku času do odevzdání této práce provedena pouze jednou, není zcela patrné, jestli použité množství NaH je pro úplnou přeměnu výchozí látky minimální, anebo naopak je zbytečně vysoké a způsobuje tak množství nežádoucích produktů.



### 3.4 Experimenty plánované do budoucna

Jednou z mnoha krásných věcí na chemii je, že se před vámi stále otvírají nové cesty kudy se dál vydat. Přestože bylo v rámci této diplomové práce dosaženo řady výsledků, ještě více dalších úkolů před námi vyvstalo. Prvním z nich je pokusit se o optimalizaci reakce 4-allylbenzodiazepindionu **13** s NaH (Schéma 22 na str. 42), která by vedla, byť i v malých výtěžcích, k požadovanému PBD, anebo selektivněji k produktu s dosud neznámou strukturou. Taktéž by bylo zajímavé pozorovat vliv NaH na tutéž sloučeninu s nesubstituovaným atomem dusíku v poloze 1, a to z důvodu, že se mnohdy liší jejich reaktivita od analogů v poloze 1 substituovaných.

Dalším plánem je provedení několika experimentů s 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-diony nesoucími v poloze 3 methylovou skupinu, které by vhodně doplnily sérii derivátů presentovanou v tomto díle.

V předchozích experimentech provedených Ing. Adélou Lajdovou docházelo reakcí 3-methyl-4-propargyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů s hydridem sodným k tvorbě řady štěpných produktů, ze kterých nebylo možné, ani opakovanou sloupcovou chromatografií, izolovat jediné chemické individuum. Pravděpodobně, přítomnost elektrondonorní methylové skupiny, jež dotvořila heterocyklický systém elektrony, způsobovala jeho strukturní nestabilitu a působení rapidně silné báze vyvolalo dle výsledků EI-GC-MS štěpení propargylové skupiny a heterocyklu v různých místech (převážně mezi atomem dusíku v poloze 4 a atomem uhlíku v poloze 5). V souvislosti s nynějšími dosaženými výsledky by bylo jistě zajímavé vyzkoušet, jestli by vařením ethanolového roztoku 3-methyl-3-(propargylamino)chinolindionů s TMG docházelo alespoň ke vzniku směsi BZD a PBD jako v našem případě. Pakliže ano, mohlo by to podpořit i naši teorii, že právě v průběhu tvorby BZD dochází ke vzniku nějakého intermediátu, který umožňuje i následnou cyklizaci za vzniku PBD.

V tomto okamžiku posledním a současně nejobtížnějším cílem bude pokusit se objasnit mechanismy cyklizace jak 3-chlorpropylového, tak i propargylového řetězce. Na základě experimentů provedených s propargylovými deriváty byly již dříve navrženy jak pravděpodobný mechanismus reakce cyklizace (<sup>46</sup>, str. 49), tak i její znemožnění v případě přítomnosti atomu vodíku v poloze 1 chinolindionu (<sup>46</sup>, str. 50).

Aby byly tyto hypotézy potvrzeny, bylo záměrně i v našem případě pozorováno chování derivátů, které nebyly v poloze 1 substituovány. I když je zcela zřejmé, že mechanismy

cyklizací propargylového a 3-chlorpropylového řetězce budou naprosto rozdílné, bylo značným překvapením, že derivát **7c** poskytoval odpovídající PBD velmi ochotně a s velmi vysokým výtěžkem. Otázkou pak je, zda-li byl původně navržený nepravděpodobný stav jen scestná myšlenka, anebo v případě látky **7c** je cyklizace jejího postranního řetězce upřednostňována před štěpením protonu z atomu dusíku v poloze 1, potažmo z hydroxylové skupiny tautomerní enolformy.

## 4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Používané reagenty a rozpouštědla byly zakoupeny z běžných komerčních zdrojů (Sigma Aldrich, VWR, Fisher Scientific). Průběh reakcí byl monitorován chromatografií na tenké vrstvě (TLC). Použity byly komerční hliníkové destičky s vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV<sub>254</sub>; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) s fluorescenčním indikátorem pro UV 254 nm. Na sloupcovou chromatografii byl použit silikagel Fluka Silica gel 60, 220–240 mesh s velikostí částic 35–75 μm, velikost pórů 60 Å. Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Infračervená spektra byla naměřena metodou KBr tablet na FT-IR spektrometru Alpha (Brucker Optik GmbH Ettlingen). NMR spektra byla měřena na spektrometru Bruker Avance III při frekvenci 500 MHz (<sup>1</sup>H), 126 MHz (<sup>13</sup>C) a 51 MHz (<sup>15</sup>N) při 303 K a na spektrometru JEOL ECZ 400 při frekvenci 399,75 MHz (<sup>1</sup>H) a 100,55 MHz (<sup>13</sup>C) a 41 (<sup>15</sup>N). Měření byla provedena při teplotě 303 K. <sup>1</sup>H NMR spektra byla kalibrována na residuální DMSO-*d*<sub>5</sub> s chemickým posunem δ 2,50 ppm. <sup>13</sup>C NMR spektra byla korigována na <sup>13</sup>C signál DMSO-*d*<sub>6</sub> 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.). Hmotností spektra s vysokým rozlišením byla změřena na spektrometru Agilent 6224 Accurate-Mass TOF LC/MS s elektrosprejovou ionizací.

## 5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN

Celkové uspořádání této kapitoly je sepsáno netradičním způsobem. Obvyklý způsob nejen pro práce tohoto typu, ale i pro odborné publikace, je popsat obecný postup přípravy několika derivátů, po kterém následují strukturní charakteristiky jednotlivých sloučenin. Nicméně, v této DP v mnoha případech vede ke stejným sloučeninám vícero syntetických cest, a tudíž není zcela zřejmé, kde by měly být konkrétní charakteristiky derivátů řazeny. Proto jsou zde prvně uvedeny všechny laboratorní postupy využitě při syntéze prezentovaných sloučenin, jejichž popisy vlastností souvisejících s jejich strukturou jsou, dle jejich základního skeletu, následně chronologicky uvedeny.

### 5.1 Popis laboratorních postupů

#### 5.1.1 Příprava výchozích látek

##### *Syntéza 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1H,3H)-dionů 4*

Ke směsi 3-chlorchinolindionu **10** (30 mmol) a  $K_2CO_3$  (60 mmol, 2 ekviv.) v 90 ml DMF byl během 1 min přikapán roztok 3-aminopropanolu (33 mmol, 1,10 ekviv.) v 5 ml DMF. Získaná žlutá reakční suspenze byla míchána při laboratorní teplotě po dobu uvedenou ve **Schématu 14**. Po ukončení reakce byla reakční směs nalita na ledovou vodu (1500 ml), vyloučený pevný podíl byl odfiltrován přes fritu a promyt vodou. Zbylý vodný podíl byl opakovaně ( $9 \times 100$  ml) extrahován EtOAc. Jednotlivé organické podíly byly spojeny, vysušeny  $Na_2SO_4$ , přefiltrovány a odpařeny na RVO. Surové produkty byly za horka rozpuštěny v organickém rozpouštědle, přefiltrovány a ponechány volně krystalizovat. V případě, kdy ke krystalizaci nedocházelo, byl surový produkt chromatograficky čištěn na sloupci silikagelu vhodnou mobilní fází a krystalizovány byly až odpařené spojené frakce.

##### *Syntéza 3-(allylamino)-1-methyl-3-fenylchinolin-2,4(1H,3H)-dionu 12*

##### *Metoda A*

K suspenzi 3-chlor-3-fenyl-1-methylchinolin-2,4(1H,3H)-dionu **10b** (4,5 mmol) a  $K_2CO_3$  (9 mmol, 2 ekviv.) v 8 ml DMF byl během 1 min přikapán roztok allylaminu (6,75 mmol, 1,5 ekviv.) v 18 ml DMF. Reakce byla míchána přes noc při teplotě místnosti,

poté byla suspenze nalita do ledové vody (400 ml). Získaný vodný roztok byl opakovaně ( $7 \times 30$  ml) extrahován EtOAc. Organické podíly byly spojeny, vysušeny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a odpařeny na RVO. Surový produkt byl chromatograficky přečištěn na sloupci silikagelu směsí PE/EtOAc (5/2; v/v) a následně krystalizován z benzenu.

### **Metoda B**

K suspenzi 3-amino-3-fenyl-1-methylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **11** (2 mmol) a  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (4 mmol, 2 ekviv.) v 8 ml DMF byl během 1 min přikapán roztok allylbromidu (3 mmol, 1,5 ekviv.) v 8 ml DMF. Reakce byla míchána přes noc při teplotě místnosti, poté byla suspenze nalita do ledové vody (150 ml). Získaný vodný roztok byl opakovaně ( $5 \times 20$  ml) extrahován EtOAc. Organické podíly byly spojeny, vysušeny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a odpařeny na RVO. Surový produkt byl chromatograficky přečištěn na sloupci silikagelu směsí PE/EtOAc (5/2; v/v) a následně krystalizován z benzenu.

## **5.1.2 Přeměny výchozích látek 4 a 12 vedoucí k pyrrolobenzodiazepindionům 8**

### **Chlorace 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4-dionů 4 a 4-(3-hydroxypropyl)benzodiazepin-2,5-dionů 6**

K roztoku 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4-dionu **4** (5 mmol) nebo 4-(3-hydroxypropyl)benzodiazepin-2,5-dionu **6** v 10 ml dioxanu byl za laboratorní teploty během 1 minuty přikapán thionylchlorid (5,5 ml, 14,62 ekviv.), čímž docházelo k samovolnému zahřívání reakční směsi. Reakční směs byla dále míchána po dobu uvedenou ve **Schématu 15** a poté byla nalita do ledové vody (800 ml). Získaný silně kyselý roztok byl mírně zalkalizován nasyceným roztokem  $\text{NaHCO}_3$ . Případně vyloučená sraženina byla odsáta přes fritu a promyta vodou. Následně byl vodný roztok s bílým zákalem opakovaně ( $5 \times 90$  ml) extrahován EtOAc. Jednotlivé organické podíly byly spojeny, vysušeny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , přefiltrovány a odpařeny na RVO. Surový produkt byl poté chromatograficky čištěn na sloupci silikagelu vhodnou mobilní fází a následně krystalizován z vhodného organického rozpouštědla.

***Přesmyky 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4-dionů 4, 3-(3-chlorpropylamino)chinolin-2,4-dionů 5 a 3-(allylamino)chinolin-2,4-dionu 12***

Do roztoku 3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4-dionu **4** (8 mmol), 3-(3-chlorpropylamino)chinolin-2,4-dionu **5** (8 mmol) nebo 3-(allylamino)chinolin-2,4-dionu **12** (8 mmol) v ethanolu (80 ml) byl při laboratorní teplotě během 1 minuty přikapán roztok TMG (16 mmol, 2 ekviv.) v 5 ml EtOH, čímž původní roztok pouze více zežloutl. Získaný roztok byl nadále po dobu uvedenou ve **Schématu 16** nebo ve **Schématu 21** vařen pod zpětným chladičem. Po ochlazení byl reakční roztok odpařen na RVO, rozpuštěn ve 40 ml EtOAc a extrahován 5% HCl (4 × 10 ml). Organický podíl byl vysušen Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrován a odpařen na RVO. Surový produkt byl s využitím vhodné mobilní fáze chromatograficky čištěn přes sloupec silikagelu a následně krystalizován z vhodného organického rozpouštědla.

***Cyklizace 3-chlorpropylové skupiny benzodiazepin-2,5-dionů 7 účinkem NaH***

K roztoku 4-(3-chlorpropyl)benzodiazepin-2,5-dionu **7** (1 mmol) v 5 ml DMF byl přidán 1,1 mmol NaH (1,1 ekviv.). Suspenze byla míchána při laboratorní teplotě po dobu uvedenou ve **Schématu 17** a poté byla nalita na ledovou vodu (100 ml). Získaný mléčně zakalený vodný roztok byl opakovaně (6 × 20 ml) extrahován EtOAc. Jednotlivé organické podíly byly spojeny, vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, přefiltrovány a odpařeny na RVO. Surový produkt byl poté chromatograficky čištěn na sloupci silikagelu vhodnou mobilní fází a následně krystalizován z vhodného organického rozpouštědla.

***Přesmyky 3-(3-chlorpropylamino)chinolin-2,4-dionů 5 účinkem hydridu sodného***

K roztoku 3-(3-chlorpropylamino)chinolin-2,4-dionu **5** (0,5 mmol) v 5 ml DMF byl při laboratorní teplotě přisypán NaH (1,5 mmol, 3 ekviv.). Po ukončení reakce, jejíž doba je uvedena ve **Schématu 18**, byla suspenze nalita do ledové vody (80 ml), ze které byl produkt převeden opakovanou (6 × 20 ml) extrakcí do EtOAc. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a odpařeny na RVO. Surový produkt byl chromatograficky přečištěn na sloupci silikagelu a následně krystalizován z vhodného organického rozpouštědla.

### Přesmyk 4-allylbenzodiazepin-2,5-dionu 13

K bezbarvému roztoku 4-allylbenzodiazepin-2,4-dionu **13** (0,5 mmol) v 5 ml DMF byl přidán NaH (1,05 mmol, 2,1 ekviv.). Suspenze byla po 5,5 hodinách nalita do ledové vody (100 ml), ze které byl produkt převeden opakovanou (9 × 20 ml) extrakcí do EtOAc. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a odpařeny na RVO. Surový produkt byl s využitím směsi PE/EtOAc (5/2, v/v) chromatograficky přečištěn na sloupci silikagelu a následně krystalizován z benzenu.

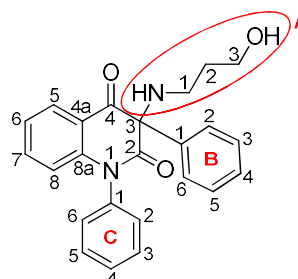
## 5.2 Strukturní charakteristiky připravených sloučenin

### 5.2.1 Deriváty chinolin-2,4(1H,3H)-dionu

#### 1,3-Difenyl-3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1H,3H)-dion (4a)

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 146\text{--}148\text{ }^\circ\text{C}$  (EtOAc);  
výťažek 90 %;  $R_f = 0,26$  (5 % EtOH v CHCl<sub>3</sub>),  $R_f = 0,41$   
(12 % EtOAc v CHCl<sub>3</sub>),  $R_f = 0,64$  (10 % EtOH v CHCl<sub>3</sub>).

IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3262, 3067, 2957, 2933,  
2875, 2848, 1713, 1679, 1600, 1492, 1462, 1337, 1251,  
1065, 762, 697, 569, 444.



<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 500 MHz), ppm:  $\delta$  1,50–1,69 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,44–2,47 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 2,57–2,66 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 2,89 (br s, 1H, NH); 3,41–3,51 (m, 2H, H-3<sup>A</sup>); 4,39 (br s, 1H, –OH); 6,34 (d, 1H, H-8,  $J = 8,3$  Hz); 7,14 (dd, 1H, H-6,  $J = 7,4; 7,4$  Hz); 7,30–7,35 (m, 1H, H-4<sup>B</sup>); 7,36–7,51 (m, 7H, H-2<sup>B</sup>, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>, H-2<sup>C</sup>, H-6<sup>C</sup>, H-7); 7,54–7,59 (m, 1H, H-4<sup>C</sup>); 7,60–7,71 (m, 2H, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>); 7,82 (dd, 1H, H-5,  $J = 7,7; 1,3$ ).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 126 MHz), ppm:  $\delta$  33,26 (C-2<sup>A</sup>); 42,60 (C-1<sup>A</sup>); 59,56 (C-3<sup>A</sup>); 77,40 (C-3); 116,60 (C-8); 120,45 (C-4a); 123,34 (C-6); 126,75 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,50 (C-5); 128,64 (C-4<sup>B</sup>); 128,92 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 128,94 (C-4<sup>C</sup>); 129,04 (C-2<sup>C</sup> a C-6<sup>C</sup>); 130,32 (C-3<sup>C</sup> a C-5<sup>C</sup>), 135,87 (C-7); 137,39 (C-1<sup>C</sup>); 137,48 (C-1<sup>B</sup>); 143,01 (C-8a); 171,26 (C-2); 192,92 (C-4).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 51 MHz), ppm:  $\delta$  48,54 (NH), 151,81 (N-1).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>24</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 387,1703; nalezené: 387,1708.

Pro C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: vypočítané: 74,59 % C 5,74 % H 7,25 % N

stanovené: 74,56 % C 5,82 % H 7,31 % N

### 3-Fenyl-3-(3-hydroxypropylamino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (4c)

Bezbarvá krystalická látka; *t*<sub>f</sub> = 126–130 °C (benzen);

výtěžek 94 %; *R*<sub>f</sub> = 0,22 (5 % EtOH v CHCl<sub>3</sub>), *R*<sub>f</sub> = 0,25

(20 % PE v EtOAc).

IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3398, 3297, 2914, 2863,

1702, 1670, 1612, 1447, 1438, 1354, 1107, 1063, 1034,

768, 697, 544, 440.

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 1,55–1,65 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,43–2,49 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 2,81 (br s, 1H, NH); 3,46 (td, 1H, H-3<sup>A</sup>, *J* = 5,3; 5,3 Hz); 4,36 (t, 1H, OH); 7,06–7,14 (m, 2H, H-6 a H-8); 7,27–7,34 (m, 3H, H-3<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup> a H-5<sup>B</sup>); 7,35–7,42 (m, 2H, H-2<sup>B</sup> a H-6<sup>B</sup>); 7,60 (ddd, 1H, H-7, *J* = 8,7; 7,4; 1,5 Hz); 7,71 (dd, 1H, H-5, *J* = 7,8; 1,4 Hz); 11,21 (s, 1H, H-1).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 33,21 (C-2<sup>A</sup>); 42,66 (C-1<sup>A</sup>); 59,52 (C-3<sup>A</sup>); 76,56 (C-3); 116,43 (C-8); 119,09 (C-4a); 122,89 (C-6); 126,45 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,14 (C-5); 128,42 (C-4<sup>B</sup>); 128,66 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 136,40 (C-7); 137,93 (C-1<sup>B</sup>); 141,20 (C-8a); 171,69 (C-2); 194,09 (C-4).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm: δ 133,37 (N-1), 184,32 (NH).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 311,1390; nalezené: 311,1387.

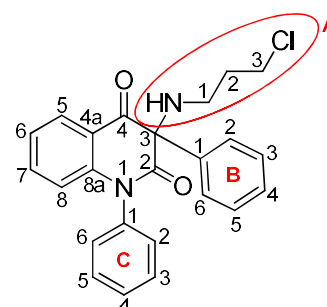
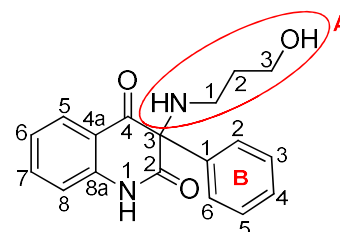
Pro C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>: vypočítané: 69,66 % C 5,85 % H 9,03 % N

stanovené: 69,37 % C 5,79 % H 8,95 % N

### 3-(3-Chlorpropylamino)-1,3-difenylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (5a)

Bezbarvá krystalická látka; *t*<sub>f</sub> = 114–118 °C (benzen);

výtěžek 79 %; *R*<sub>f</sub> = 0,52 (38 % EtOAc v PE), *R*<sub>f</sub> = 0,63





(30% EtOAc v CHCl<sub>3</sub>).

IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3311, 2856, 1706,1667, 1600, 1494, 1460, 1346, 1301, 1155, 1113, 984, 912, 750, 719, 605, 518, 496, 449.

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 1,81–1,97 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,52–2,70 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 2,89–3,05 (m, 1H, NH); 3,69–3,77 (m, 2H, H-3<sup>A</sup>); 6,34 (d, 1H, H-8, *J* = 8,1 Hz); 7,13 (ddd, 2H, H-6, *J* = 7,7; 7,7; 0,9 Hz); 7,30–7,35 (m, 1H, H-4<sup>B</sup>); 7,36–7,50 (m, 7H, H-2<sup>B</sup>, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>, H-2<sup>C</sup>, H-6<sup>C</sup>, H-7); 7,54–7,59 (m, 1H, H-4<sup>C</sup>); 7,60–7,70 (m, 2H, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>); 7,82 (dd, 1H, H-5, *J* = 7,7; 1,5 Hz).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 33,40 (C-2<sup>A</sup>); 42,17 (C-1<sup>A</sup>); 43,58 (C-3<sup>A</sup>); 77,45 (C-3); 116,55 (C-8); 120,55 (C-4a); 123,28 (C-6); 126,79 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,44 (C-5); 128,67 (C-4<sup>B</sup>); 128,91 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 129,02 (C-2<sup>C</sup> a C-6<sup>C</sup>); 129,07 (C-4<sup>C</sup>); 130,28 (C-3<sup>C</sup> a C-5<sup>C</sup>); 135,76 (C-7); 137,30 (C-1<sup>B</sup>); 137,40 (C-1<sup>C</sup>); 142,94 (C-8a); 171,09 (C-2); 192,82 (C-4).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm: δ 147,20 (N-1); nebyl detekován (N-4).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 405,1364; nalezené: 405,1363.

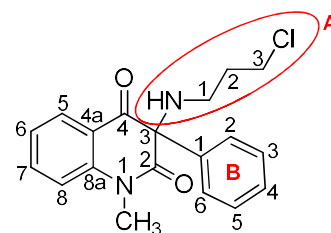
Pro C <sub>24</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	vypočítané:	71,19 % C	5,23 % H	6,92 % N
	stanovené:	71,05 % C	5,46 % H	6,97 % N

### 3-(3-Chlorpropylamino)-3-fenyl-1-methylchinolin-2,4(1H,3H)-dion (5b)

Tmavě žlutá viskosní látka; výtěžek 96 %; *R*<sub>f</sub> = 0,14 (30 %

EtOAc v CHCl<sub>3</sub>), *R*<sub>f</sub> = 0,32 (29 % EtOAc v PE).

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 1,82–1,96 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,51–2,59 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 2,92 (br s, 1H, NH); 3,52 (s, 3H, N-1-CH<sub>3</sub>); 3,73 (t, 2H, H-3<sup>A</sup>); 7,17 (ddd, 1H, H-6, *J* = 7,6; 7,6; 0,9 Hz); 7,25–7,32 (m, 5H, H-2<sup>B</sup>, H-3<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,37 (d, 1H, H-8, *J* = 8,2 Hz); 7,68 (ddd, 1H, H-7, *J* = 8,4; 7,3; 1,7 Hz); 7,76 (dd, 1H, H-5, *J* = 7,7; 1,5 Hz).



<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 29,93 (N-1-CH<sub>3</sub>); 33,34 (C-2<sup>A</sup>); 42,23 (C-1<sup>A</sup>); 43,56 (C-3<sup>A</sup>); 77,19 (C-3); 115,84 (C-8); 120,69 (C-4a); 123,17 (C-6); 126,64 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,32 (C-5); 128,58 (C-4<sup>B</sup>); 128,70 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 136,26 (C-7); 137,61

(C-1<sup>B</sup>); 142,13 (C-8a); 170,97 (C-2); 192,89 (C-4).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  43,24 (NH), 126,40 (N-1).

### 3-(3-Chlorpropylamino)-3-fenylchinolin-2,4(1H,3H)-dion (5c)

Bezbarvá pevná látka;  $t_f = 87\text{--}92$  °C (benzen); výtěžek 88 %;

$R_f = 0,24$  (38 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,40$  (30 % EtOAc v CHCl<sub>3</sub>).

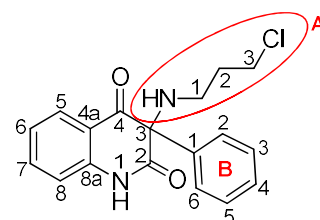
IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3337, 3259, 3086, 2918, 2847, 1694, 1669, 1613, 1485, 1349, 1232, 1160, 1113, 1019, 903, 754, 739, 677, 519, 439.

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,86–1,93 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,46–2,59 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 2,92 (t, 1H, NH,  $J = 7,0$ ); 3,73 (t, 2H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,6$ ); 7,06–7,14 (m, 2H, H-6, H-8); 7,26–7,42 (m, 5H, H-2<sup>B</sup>, H-3<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,55–7,61 (m, 1H, H-7); 7,70 (dd, 1H, H-5,  $J = 7,7$ ; 0,9 Hz); 11,21 (s, 1H, H-1).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  33,30 (C-2<sup>A</sup>); 42,22 (C-1<sup>A</sup>); 43,55 (C-3<sup>A</sup>); 76,61 (C-3); 116,40 (C-8); 119,15 (C-4a); 122,86 (C-6); 126,52 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,14 (C-5); 128,47 (C-4<sup>B</sup>); 128,66 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 136,34 (C-7); 137,72 (C-1<sup>B</sup>); 141,12 (C-8a); 171,51 (C-2); 193,96 (C-4).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 329,1051; nalezené: 329,1052.

C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	vypočítané:	65,75 % C	5,21 % H	8,52 % N
	stanovené:	65,97 % C	5,30 % H	8,36 % N



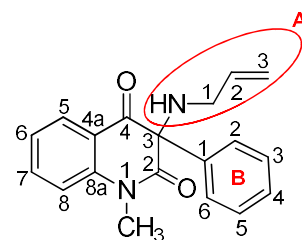
### 3-(Allylamino)-3-fenyl-1-methylchinolin-2,4(1H,3H)-dion (12)

Bezbarvá pevná látka,  $t_f = 95\text{--}97$  °C (benzen), výtěžek 91 %,

$R_f = 0,32$  (29 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,38$  (12 % EtOAc v CHCl<sub>3</sub>).

IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3316, 2848, 1702, 1672, 1602, 1471, 1354, 1304, 1102, 1044, 997, 925, 768, 748, 706, 612, 534, 455.

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  2,83 (br s, 1H, NH); 3,03 (dd, 1H, H-1<sup>A</sup>,



$J = 13,4; 5,7$  Hz); 3,13–3,24 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 3,52 (s, 3H, N-1-CH<sub>3</sub>); 4,98 (dddd, 1H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 10,3; 1,3; 1,3; 1,3$  Hz); 5,10 (dddd, 1H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 17,3; 1,7; 1,7; 1,7$  Hz); 5,88 (dddd, 1H, H-2<sup>A</sup>,  $J = 16,3; 10,3; 5,9; 5,9$  Hz); 7,14–7,20 (m, 1H, H-6); 7,25–7,33 (m, 5H, H-2<sup>B</sup>, H-3<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,38 (d, 1H, H-8,  $J = 8,3$  Hz); 7,68 (ddd, 1H, H-7,  $J = 8,9; 7,3; 1,7$  Hz); 7,76 (dd, 1H, H-5;  $J = 7,7; 1,6$  Hz).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  29,93 (N-1-CH<sub>3</sub>); 47,56 (C-1<sup>A</sup>); 76,55 (C-3); 115,26 (C-3<sup>A</sup>); 115,85 (C-8); 120,64 (C-4a), 123,18 (C-6); 126,60 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>), 127,32 (C-5); 128,60 (C-4<sup>B</sup>); 128,75 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 136,27 (C-7); 137,33 (C-2<sup>A</sup>); 137,61 (C-1<sup>B</sup>); 142,13 (C-8a); 171,12 (C-2); 192,73 (C-4).

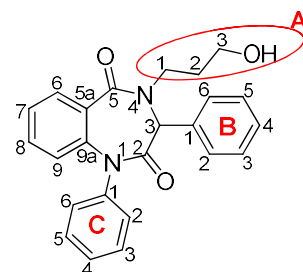
HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 307,1441; nalezené: 307,1435.

## 5.2.2 Deriváty benzodiazepin-2,5-dionu

### 1,3-Difenyl-3,4-dihydro-4-(3-hydroxypropyl)-1H-benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dion (6a)

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 167\text{--}168$  °C (EtOAc); výtěžek 67 %;  $R_f = 0,34$  (5% EtOH v CHCl<sub>3</sub>),  $R_f = 0,14$  (50 % EtOAc v PE).

IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3509, 3065, 2935, 2863, 1676, 1643, 16,03, 1493, 1472, 1450, 1357, 1244, 1156, 1077, 949, 751, 713, 695, 562.



<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,77–1,95 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 3,50 (td, 2H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,2; 6,2$  Hz); 3,70–3,82 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 4,03–4,15 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 4,49 (t, 1H, OH,  $J = 5,2$  Hz); 5,74 (s, 1H, H-3); 6,36 (d, 1H, H-9,  $J = 7,8$  Hz); 6,93–6,99 (m, 1H, H-7); 7,03–7,10 (m, 4H, H-8, H-2<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,12–7,18 (m, 2H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>); 7,29–7,34 (m, 2H, H-2<sup>C</sup>, H-6<sup>C</sup>); 7,38–7,43 (m, 1H, H-4<sup>C</sup>); 7,46–7,53 (m, 3H, H-6; H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  31,05 (C-2<sup>A</sup>); 47,41 (C-1<sup>A</sup>); 58,38 (C-3<sup>A</sup>); 66,84 (C-3); 123,37 (C-9); 123,88 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 124,99 (C-7); 127,18 (C-4<sup>B</sup>); 127,71 (C-4<sup>C</sup>); 128,35 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 128,45 (C-2<sup>C</sup> a C-6<sup>C</sup>); 129,47 (C-3<sup>C</sup> a C-5<sup>C</sup>); 129,79 (C-6); 130,09 (C-5a); 131,33 (C-8); 134,29 (C-1<sup>B</sup>); 138,64 (C-9a); 140,72 (C-1<sup>C</sup>); 165,91 (C-5); 168,59 (C-2).

$^{15}\text{N}$  NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  125,35 (N-4); 141,14 (N-1).

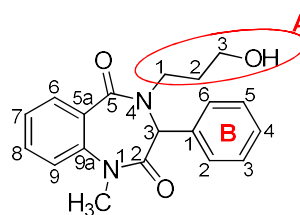
HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro  $\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3^+$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) vypočítané: 387,1703; nalezené: 387,1702.

$\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ :	vypočítané:	74,59 % C	5,74 % H	7,25 % N
	stanovené:	74,41 % C	6,02 % H	7,33 % N

### 3-Fenyl-3,4-dihydro-4-(3-hydroxypropyl)-1-methyl-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion (6b)

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 120\text{--}123$  °C (EtOAc);  
výtěžek 81 %;  $R_f = 0,17$  (67 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,18$  (22 % EtOAc v  $\text{CHCl}_3$ ).

IČ spektrum (tableta KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3372, 2922, 2874, 1669, 1616, 1480, 1420, 1371, 1306, 1237, 1158, 1076, 907, 773, 717, 544.



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,73–1,94 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 3,39 (s, 3H, N-1–CH<sub>3</sub>); 3,45–3,53 (m, 2H, H-3<sup>A</sup>); 3,69 (ddd, 1H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 13,5; 8,8; 5,6$  Hz); 4,02 (ddd, 1H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 13,4; 8,8; 6,5$  Hz); 4,49 (t, 1H, OH,  $J = 5,2$  Hz); 5,61 (s, 1H, H-3); 6,82–6,88 (m, 2H, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 6,93–6,99 (m, 1H, H-7); 6,99–7,05 (m, 1H, H-4<sup>B</sup>); 7,05–7,11 (m, 3H, H-7, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>); 7,24 (ddd, 1H, H-8,  $J = 8,4; 7,3; 1,7$  Hz); 7,39 (dd, 1H, H-6,  $J = 7,8; 1,6$  Hz).

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  31,13 (C-2<sup>A</sup>); 35,15 (N-1–CH<sub>3</sub>); 47,30 (C-1<sup>A</sup>); 58,37 (C-3<sup>A</sup>); 66,66 (C-3); 120,88 (C-9); 123,86 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 124,68 (C-7); 127,03 (C-4<sup>B</sup>); 128,18 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 129,41 (C-5a); 129,57 (C-6); 131,52 (C-8); 134,52 (C-1<sup>B</sup>); 139,08 (C-9a); 166,02 (C-5); 169,69 (C-2).

$^{15}\text{N}$  NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  119,46 (N-1); 126,20 (N-4).

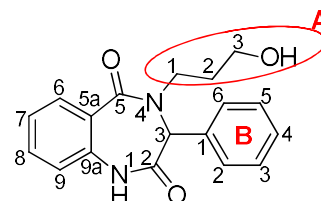
HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3^+$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) vypočítané: 325,1547; nalezené: 325,1549.

$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ :	vypočítané:	70,35 % C	6,21 % H	8,64 % N
	stanovené:	70,13 % C	6,22 % H	8,60 % N

**3-Fenyl-3,4-dihydro-4-(3-hydroxypropyl)-1H-benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dion (6c)**

Bezbarvá pevná látka;  $t_f = 171\text{--}172\text{ }^\circ\text{C}$  (benzen); výtěžek 79 %;  $R_f = 0,20$  (5 % EtOH v  $\text{CHCl}_3$ );  $R_f = 0,56$  (10 % EtOH v  $\text{CHCl}_3$ ).

IČ spektrum (tableta KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3413, 2948, 2901, 1677, 1623, 1484, 1417, 1383, 1302, 1225, 1073, 1062, 919, 881, 755, 724, 704, 631, 523, 492.



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,71–1,95 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 3,50 (td, 2H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,1; 6,1$  Hz); 3,59–3,69 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 4,01–4,20 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 4,50 (t, 1H, OH,  $J = 5,2$  Hz); 5,45 (s, 1H, H-3); 6,84 (d, 1H, H-9,  $J = 8,0$  Hz); 6,91 (dd, 1H, H-7,  $J = 7,6; 7,6$  Hz); 6,94–7,03 (m, 2H, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,06 (t, 1H, H-4<sup>B</sup>,  $J = 7,2$  Hz); 7,15 (dd, 2H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>,  $J = 7,5; 7,5$  Hz); 7,17–7,23 (m, 1H, H-8); 7,48 (d, 1H, H-6,  $J = 7,1$  Hz); 10,67 (s, 1H, H-1).

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  31,28 (C-2<sup>A</sup>); 47,69 (C-1<sup>A</sup>); 58,38 (C-3<sup>A</sup>); 66,39 (C-3); 119,86 (C-9); 123,53 (C-7); 124,17 (br, C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,20 (C-5a); 127,29 (C-4<sup>B</sup>); 128,33 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 130,21 (C-6); 131,61 (C-8); 134,33 (C-1<sup>B</sup>); 135,10 (C-9a); 166,16 (C-5); 170,67 (C-2).

$^{15}\text{N}$  NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  123,24 (N-4); 130,91 (N-1).

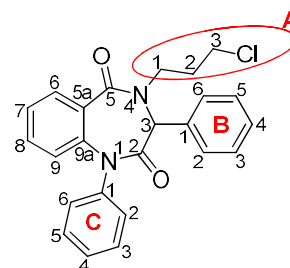
HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro  $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_3^+$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) vypočítané: 311,1390; nalezené: 311,1386.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$ :	vypočítané:	69,66 % C	5,85 % H	9,03 % N
	stanovené:	69,43 % C	5,80 % H	8,93 % N

**4-(3-Chlorpropyl)-1,3-difenyl-3,4-dihydro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dion (7a)**

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 173\text{--}175\text{ }^\circ\text{C}$  (benzen); výtěžek 88 %;  $R_f = 0,34$  (38 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,65$  (5 % EtOH v  $\text{CHCl}_3$ ).

IČ spektrum (tableta KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3053, 2943, 1676, 1647, 1493, 1475, 1451, 1356, 1298, 1270, 1247, 1158, 983, 810, 756, 711, 665, 554.



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  2,08–2,25 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 3,71 (t, 2H,

H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,6$  Hz); 3,79 (ddd, 1H, H-1<sup>A</sup>;  $J = 13,6; 8,0; 5,9$  Hz); 4,15–4,28 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 5,81 (s, 1H, H-3); 6,37 (d, 1H, H-9,  $J = 8,2$  Hz); 6,96 (dd, 1H, H-7,  $J = 7,5; 7,5$  Hz); 7,04–7,10 (m, 4H, H-8, H-2<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,13–7,18 (m, 2H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>); 7,32 (d, 2H, H-2<sup>C</sup>, H-6<sup>C</sup>,  $J = 7,8$  Hz); 7,40 (t, 1H, H-4<sup>C</sup>,  $J = 7,3$  Hz); 7,47–7,54 (m, 3H, H-6, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  30,87 (C-2<sup>A</sup>); 42,66 (C-3<sup>A</sup>); 47,70 (C-1<sup>A</sup>); 66,77 (C-3); 123,41 (C-9); 123,84 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 125,04 (C-7); 127,22 (C-4<sup>B</sup>); 127,74 (C-4<sup>C</sup>); 128,39 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 128,44 (C-2<sup>C</sup> a C-6<sup>C</sup>); 129,48 (C-3<sup>C</sup> a C-5<sup>C</sup>); 129,81 (C-6); 129,89 (C-5a); 131,44 (C-8); 134,16 (C-1<sup>B</sup>); 138,65 (C-9a); 140,69 (C-1<sup>C</sup>); 166,01 (C-5); 168,59 (C-2).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  123,82 (N-4); 141,35 (N-1).

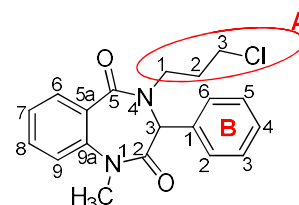
HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 405,1364; nalezené: 405,1365.

C <sub>24</sub> H <sub>21</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	vypočítané:	71,19 % C	5,23 % H	6,92 % N
	stanovené:	70,83 % C	5,40 % H	6,90 % N

#### 4-(3-Chlorpropyl)-3-fenyl-3,4-dihydro-1-methyl-1H-benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dion (7b)

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 110\text{--}113$  °C (benzen); výtěžek 72 %;  $R_f = 0,26$  (38 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,68$  (12 % EtOAc v CHCl<sub>3</sub>).

IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3063, 3004, 2960, 1666, 1647, 1603, 1477, 1426, 1375, 1281, 1243, 1152, 1046, 825, 755, 720, 711, 654, 608, 539.



<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  2,03–2,24 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 3,39 (s, 3H, N-1–CH<sub>3</sub>); 3,66–3,77 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 3,70 (t, 2H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,6$  Hz); 4,15 (ddd, 1H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 13,6; 8,3; 6,6$  Hz); 5,66 (s, 1H, H-3); 6,82–6,88 (m, 2H, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 6,95–7,00 (m, 1H, H-7); 7,00–7,05 (m, 1H, H-4<sup>B</sup>); 7,05–7,11 (m, 3H, H-9, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>); 7,25 (ddd, 1H, H-8,  $J = 8,7; 7,4; 1,6$  Hz); 7,40 (dd, 1H, H-6;  $J = 7,8; 1,6$  Hz).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  30,93 (C-2<sup>A</sup>); 35,22 (N-1–CH<sub>3</sub>); 42,68 (C-3<sup>A</sup>); 47,58 (C-1<sup>A</sup>); 66,62 (C-3); 120,98 (C-9); 123,83 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 124,75 (C-7); 127,07 (C-4<sup>B</sup>); 128,22 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 129,25 (C-5a); 129,58 (C-6); 131,63 (C-8); 134,40

(C-1<sup>B</sup>); 139,13 (C-9a); 166,14 (C-5); 169,62 (C-2).

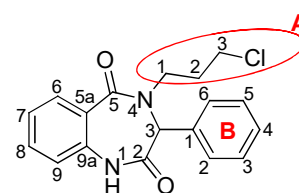
<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  119,64 (N-1), 126,63 (N-4).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 343,1208; nalezené: 343,1206

C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	vypočítané:	66,57 % C	5,59 % H	8,17 % N
	stanovené:	66,72 % C	5,61 % H	8,14 % N

#### 4-(3-Chlorpropyl)-3-fenyl-3,4-dihydro-1H-benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dion (7c)

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 174\text{--}176$  °C (benzen); výtěžek 70 %;  $R_f = 0,30$  (3 % EtOH v CHCl<sub>3</sub>),  $R_f = 0,53$  (5 % EtOH v CHCl<sub>3</sub>).



IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 3324, 2367, 2884, 1713, 1695, 1605, 1557, 1507, 1445, 1376, 1302, 1263, 1134, 1095, 1040, 932, 790, 757, 726, 704, 595, 521.

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  2,02–2,24 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 3,63–3,74 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 3,70 (t, 2H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,7$  Hz); 4,14–4,30 (m, 1H, H-1<sup>A</sup>); 5,50 (s, 1H, H-3); 6,85 (d, 1H, H-9,  $J = 8,0$  Hz); 6,92 (dd, 1H, H-7,  $J = 7,4; 7,4$  Hz); 6,94–7,03 (m, 2H, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,07 (t, 1H, H-4<sup>B</sup>,  $J = 7,1$  Hz); 7,15 (dd, 2H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>,  $J = 7,5; 7,5$  Hz); 7,18–7,23 (m, 1H, H-8); 7,48 (dd, 1H, H-6,  $J = 7,8; 1,1$  Hz); 10,71 (s, 1H, H-1).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  31,08 (C-2<sup>A</sup>); 42,66 (C-3<sup>A</sup>); 47,94 (C-1<sup>A</sup>), 66,31 (C-3); 119,93 (C-9); 123,59 (C-7); 124,15 (br C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 127,02 (C-5a); 127,34 (C-4<sup>B</sup>); 128,37 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 130,22 (C-6); 131,73 (C-8); 134,19 (C-1<sup>B</sup>); 135,12 (C-9a); 166,27 (C-5); 170,59 (C-2).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  121,80 (N-4); 131,08 (N-1).

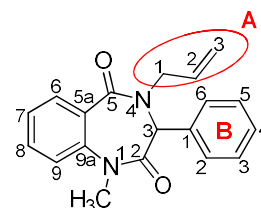
HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 329,1051; nalezené: 329,1046.

C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	vypočítané:	65,75 % C	5,21 % H	8,52 % N
	stanovené:	65,95 % C	5,19 % H	8,38 % N

**4-Allyl-3-fenyl-3,4-dihydro-1-methyl-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion (13)**

Bezbarvá pevná látka;  $t_f = 108\text{--}110\text{ }^\circ\text{C}$  (benzen); výtěžek 95 %;  
 $R_f = 0,20$  (29 %, EtOAc v PE),  $R_f = 0,61$  (12 %, EtOAc v  $\text{CHCl}_3$ ).

IČ spektrum (tableta KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3087, 3025, 2926, 1661, 1638, 1601, 1478, 1448, 1413, 1378, 1330, 1298, 1278, 1169, 1047, 975, 908, 758, 717, 631, 544.



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  3,39 (s, 3H, N-1- $\text{CH}_3$ ); 4,37 (dd, 1H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 14,9; 6,0$  Hz); 4,52 (dd, 1H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 14,9; 6,3$  Hz); 5,25 (d, 1H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 10,1$  Hz); 5,35 (d, 1H, H-2<sup>A</sup>,  $J = 17,1$  Hz); 5,54 (s, 1H, H-3); 5,89–6,03 (m, 1H, H-2<sup>A</sup>), 6,86 (d, 2H, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>,  $J = 7,8$  Hz); 6,98 (dd, 1H, H-7,  $J = 7,5; 7,5$  Hz); 7,01 (t, 1H, H-4<sup>B</sup>,  $J = 6,98$  Hz); 7,05–7,11 (m, 3H, H-9, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>); 7,23–7,29 (m, 1H, H-8); 7,41 (dd, 1H, H-6;  $J = 7,8; 1,2$  Hz).

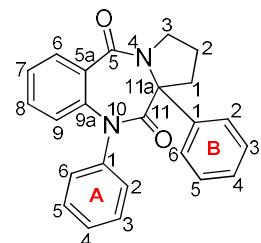
$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  35,19 (N-1- $\text{CH}_3$ ); 52,04 (C-1<sup>A</sup>); 66,05 (C-3); 118,85 (C-3<sup>A</sup>); 120,93 (C-9); 123,95 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>), 124,71 (C-7); 127,08 (C-4<sup>B</sup>), 128,17 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 129,10 (C-5a); 129,60 (C-6); 131,66 (C-8); 132,53 (C-2<sup>A</sup>); 134,39 (C-1<sup>B</sup>); 139,17 (C-9a); 165,83 (C-5); 169,45 (C-2)

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2^+$  ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ ) vypočítané: 307,1441; nalezené: 307,1441

**5.2.3 Deriváty pyrrolobenzodiazepin-5,11(10*H*,11*aH*)-dionů****10,11a-Difenyl-2,3-dihydro-1*H*-benzo[*e*]pyrrolo[1,2-*a*][1,4]diazepin-5,11(10*H*,11*aH*)-dion (8a)**

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 226\text{--}230\text{ }^\circ\text{C}$  (benzen); výtěžek 77 %;  $R_f = 0,12$  (29 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,37$  ( $\text{CHCl}_3$ ).

IČ spektrum (tableta KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 3051, 2884, 1694, 1626, 1601, 1491, 1457, 1407, 1330, 1310, 1243, 1143, 1107, 1075, 1009, 846, 762, 750, 709, 699, 607. 577, 536.



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,80–1,95 (m, 3H, H-1, 2  $\times$  H-2); 3,12–3,24 (m, 1H, H-1); 3,75–3,92 (m, 1H, H-3); 4,07–4,20 (m, 1H, H-3); 6,30 (d, 1H, H-9,  $J = 8,0$  Hz); 6,95 (dd, 1H, H-7,  $J = 7,3; 7,3$  Hz); 6,98–7,14 (m, 6H, H-8, H-2<sup>B</sup>, H-3<sup>B</sup>, H-4<sup>B</sup>,



H-5<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,28 (d, 2H, H-2<sup>A</sup>, H-6<sup>A</sup>,  $J = 7,5$  Hz); 7,35–7,41 (m, 1H, H-4<sup>A</sup>); 7,44–7,56 (m, 3H, H-6, H-3<sup>A</sup>, H-5<sup>A</sup>).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  22,26 (C-2); 42,52 (C-1); 49,32 (C-3); 70,84 (C-11a); 123,53 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 124,00 (C-9); 124,80 (C-7); 126,95 (C-4<sup>B</sup>); 127,52 (C-4<sup>A</sup>); 128,33 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 128,57 (C-2<sup>A</sup> a C-6<sup>A</sup>); 129,16 (C-6); 129,34 (C-3<sup>A</sup> a C-5<sup>A</sup>); 130,03 (C-5a); 131,38 (C-8); 139,00 (C-9a); 140,26 (C-1<sup>B</sup>); 141,74 (C-1<sup>A</sup>); 164,57 (C-5); 169,32 (C-11).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  nebyl detekován (N-4), 140,90 (N-10).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 369,1598; nalezené: 369,1599.

C <sub>24</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	vypočítané:	78,24 % C	5,47 % H	7,60 % N
	stanovené:	77,92 % C	5,37 % H	7,51 % N

### 11a-Fenyl-2,3-dihydro-10-methyl-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-dion (8b)

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 183$ – $186$  °C (benzen); výtěžek 91 %;  $R_f = 0,49$  (12 % EtOAc v CHCl<sub>3</sub>),  $R_f = 0,16$  (38 % EtOAc v PE).

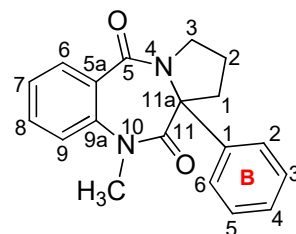
IČ spektrum (tableta KBr), cm<sup>-1</sup>: 2983, 2872, 1666, 1636, 1603, 1492, 1463, 1402, 1354, 1240, 1153, 1098, 1052, 996, 851, 754, 704, 598, 527.

<sup>1</sup>H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,77–1,97 (m, 3H, H-1, 2 × H-2); 3,12–3,24 (m, 1H, H-1); 3,39 (s, 3H, N-10–CH<sub>3</sub>); 3,70–3,83 (m, 1H, H-3); 3,99–4,11 (m, 1H, H-3); 6,80 (d, 2H, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>,  $J = 7,3$  Hz); 6,93–6,99 (m, 2H, H-7, H-4<sup>B</sup>); 6,99–7,06 (m, 3H, H-9, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>); 7,18–7,25 (m, 1H, H-8); 7,42 (dd, 1H, H-6,  $J = 7,7; 1,3$  Hz).

<sup>13</sup>C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  22,29 (C-2); 36,47 (N-10–CH<sub>3</sub>); 42,60 (C-1); 49,22 (C-3); 70,87 (C-11a); 121,47 (C-9); 123,46 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 124,56 (C-7); 126,80 (C-4<sup>B</sup>); 128,15 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 128,88 (C-6); 129,44 (C-5a); 131,59 (C-8); 139,57 (C-9a); 140,53 (C-1<sup>B</sup>); 164,74 (C-5); 170,46 (C-11).

<sup>15</sup>N NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  118,84 (N-10); 140,91 (N-4).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ([M+H]<sup>+</sup>) vypočítané: 307,1441; nalezené: 307,1443.

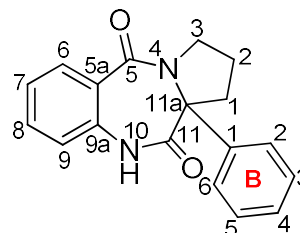


$C_{19}H_{18}N_2O_2$ :	vypočítané:	74,49 % C	5,92 % H	9,14 % N
	stanovené:	74,57 % C	5,25 % H	9,04 % N

**11a-Fenyl-2,3-dihydro-1H-benzo[e]pyrrolo[1,2-a][1,4]diazepin-5,11(10H,11aH)-dion (8c)**

Bezbarvá krystalická látka;  $t_f = 242\text{--}247\text{ }^\circ\text{C}$  (benzen);  
výtěžek 73 %;  $R_f = 0,18$  (50 % EtOAc v PE),  $R_f = 0,42$  (30 %  
EtOAc v  $CHCl_3$ ).

IČ spektrum (tableta KBr),  $cm^{-1}$ : 3219, 2883, 1698, 1605,  
1574, 1481, 1445, 1415, 1341, 1257, 1226, 1149, 1009, 690,  
877, 795, 762, 700, 642, 527.



$^1H$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm:  $\delta$  1,74–1,97 (m, 3H, H-1, 2  $\times$  H-2); 3,09–  
3,23 (m, 1H, H-1); 3,75–3,90 (m, 1H, H-3); 3,95–4,08 (m, 1H, H-3); 6,81 (d, 1H, H-9,  
 $J = 8,0$  Hz); 6,86–6,96 (m, 3H, H-7, H-2<sup>B</sup>, H-6<sup>B</sup>); 7,00 (t, 1H, H-4<sup>B</sup>,  $J = 7,2$  Hz); 7,09 (dd,  
2H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>,  $J = 7,5$ ; 7,5 Hz); 7,14–7,20 (m, 1H, H-8); 7,48 (d, 1H, H-6,  $J = 7,7$  Hz);  
10,66 (s, 1H, H-10).

$^{13}C$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm:  $\delta$  22,12 (C-2); 41,65 (C-1); 49,78 (C-3);  
70,29 (C-11a); 120,07 (C-9); 123,38 (C-7); 123,73 (C-2<sup>B</sup> a C-6<sup>B</sup>); 126,79 (C-5a); 127,06  
(C-4<sup>B</sup>); 128,27 (C-3<sup>B</sup> a C-5<sup>B</sup>); 129,52 (C-6); 131,64 (C-8); 135,28 (C-9a); 140,36 (C-1<sup>B</sup>);  
165,02 (C-5); 171,18 (C-11).

$^{15}N$  NMR spektrum (DMSO, 41 MHz), ppm:  $\delta$  130,84 (N-10); 208,75 (N-4).

HRMS (ESI<sup>+</sup>) pro  $C_{18}H_{17}N_2O_2^+$  ( $[M+H]^+$ ) vypočítané: 293,1285; nalezené: 293,1284.

$C_{18}H_{16}N_2O_2$ :	vypočítané:	73,95 % C	5,52 % H	9,58 % N
	stanovené:	73,78 % C	5,45 % H	9,55 % N

## ZÁVĚR

Jak již bylo v průběhu textu této práce jistě mnohokrát konstatováno, prezentovaná problematika plynule navazuje na předešlý výzkum, který byl věnován studiu bazicky indukovaným intramolekulárním přesmykům 3-(propargylamino)chinolindionů. Tyto izomerizační reakce v konečném důsledku vedly k PBD s nenasyceným pětičlenným kruhem. Ovšem po prostudování dostupné literatury zaměřené na biologickou aktivitu PBD bylo zjištěno, že mnohem více zajímavých účinků poskytují tyto tricyklické sloučeniny mající pětičlenný kruh zcela nasycený.

Řada publikovaných metod věnujících se této problematice využívá jako výchozí sloučeniny poměrně složité deriváty pyrrolu, respektive pyrrolidinu, anthranilových kyselin, anebo isatoových anhydridů. Tato skutečnost nás vedla k myšlence navrhnout jednoduchou syntetickou dráhu vedoucí k syntéze PBD s nasyceným pětičlenným kruhem a ověřit její proveditelnost. Hlavní snahou bylo vycházet z lehce dostupných výchozích látek s možností pestré variability substituentů, jejichž příprava je možná ve větších množstvích s vysokými výtěžky a finančně nenákladná. Další podmínkou bylo, aby pro jednotlivé proměny výchozího substrátu nebyly používány nikterak speciální činidla, reagenty, katalyzátory a aparatury. Poněvadž se naše výzkumná skupina na UTB na Ústavu chemie dlouhodobě věnuje studiu reaktivity chinolindionů a současně v odborné literatuře není o jejich přeměně na pyrrolobenzodiazepindiony žádné zmínky, byly vybrány jako základní materiál. V experimentální části práce jsou diskutovány celkem čtyři navržené syntetické strategie vycházející z chinolindionů, a to jak z pohledu jednoduchosti či výtěžnosti jednotlivých syntetických mezistupňů, tak i z pohledu spektrální interpretace presentovaných struktur.

Z provedených experimentů a jejich výsledků není možné učinit obecný, jednoznačný závěr, která navržená syntetická strategie je pro přípravu pyrrolobenzodiazepindionů z chinolindionů nejvíce výhodná, protože dosti závisí na typu substituentu v poloze 1, i přesto, že je poměrně vzdálen od reakčního místa. Jejich vliv na průběh reakcí byl pozorován především v posledních krocích syntézy.

Jelikož žádná syntetická cesta nečinila výrazné potíže, je možné je zhodnotit pouze na základě celkového výtěžku, v němž jsou zahrnuty relativní výtěžky jednotlivých reakčních kroků počínaje od syntézy výchozích 3-(3-hydroxypropylamino)chinolindionů až po pyrrolobenzodiazepindiony.

Pro *N*-fenylový derivát se jako nejlepší cesta s nejvyšším výtěžkem PBD ukázala původně zamýšlená čtyřkroková syntéza (ve **Schématu 12** na str. 29 označena jako **strategie 2**), která v posledním stupni konverze účinkem TMG nečekaně poskytovala PBD **8a** a jen nepatrné množství původně očekávaného BZD **7a**. Celkový výtěžek izolovaného PBD **8a** činil 49 %. Další dvě cesty, označené jako **strategie 1** a **strategie 3**, i když jedna z nich byla o jeden reakční stupeň delší, poskytly prakticky stejný celkový výtěžek (41) % PBD **8a**.

Rozdílné výsledky vyvstaly v případech *N*-methylového a *N*-nesubstituovaného derivátu. U těchto sloučenin bylo paradoxně dosaženo nejvyšších výtěžků delší čtyřkrokovou cestou (ve **Schématu 12** na str. 29 označena jako **strategie 1**), která vedla ve výsledku k celkovému výtěžku 46 % PBD **8b** a 38 % **8c**. Nižší výtěžky tříkrokové cesty, označené jako **strategie 3**, pohybující se okolo 35 % PBD **8b** a **8c**, jsou vykoupeny potřebou kratšího času nutného pro realizaci syntézy s menším počtem reakčních stupňů. Pro oba deriváty byla nejhorší varianta **strategie 2**, která dávala prakticky poloviční množství žádaných produktů **8b** a **8c**.

Přestože poslední uvedená reakční cesta vycházející z 3-(allylamino)chinolindionu navrhovala syntézu PBD jen ve třech krocích, vzhledem k neúspěšnosti posledního stěžejního kroku, byla tato reakční cesta pro syntézu požadovaného typu sloučenin nevhodná. Nicméně se nám třeba otvírá cesta k novým derivátům, o kterých jsme původně ani neuvažovali.

Podarí se zjistit, o jaké sloučeniny se jedná? Syntetizoval jejich deriváty již někdo před námi? Budou tyto sloučeniny v nějakém ohledu lepší než ty, co jsme záměrně připravili? Že by zase nějaká náhoda?

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

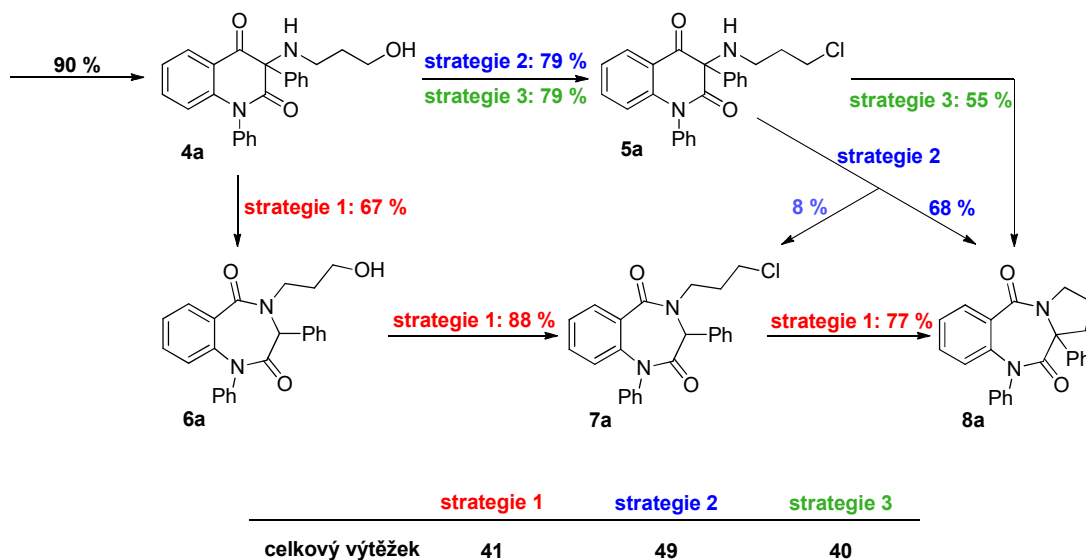
ACN	acetonitril
ADC	konjugát protilátka-léčivo
BZD	benzodiazepin
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ESI-GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
EtOAc	ethylester kyseliny octové
EtOH	ethanol
G	guanin
GABA	$\gamma$ -aminomáselná kyselina
HIV	virus lidské imunodeficiency
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením
i-Pr	isopropyl
Me	methyl
MRSA	methicilin-rezistentním <i>Staphylococcus aureus</i>
NMR	nukleární magnetická rezonance
PBD	pyrrolobenzodiazepin
PE	petrolether
Ph	fenyl
Py	pyrimidinová báze
RVO	rotační vakuová odparka
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
TMG	1,1,3,3-tetramethylguanidin

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

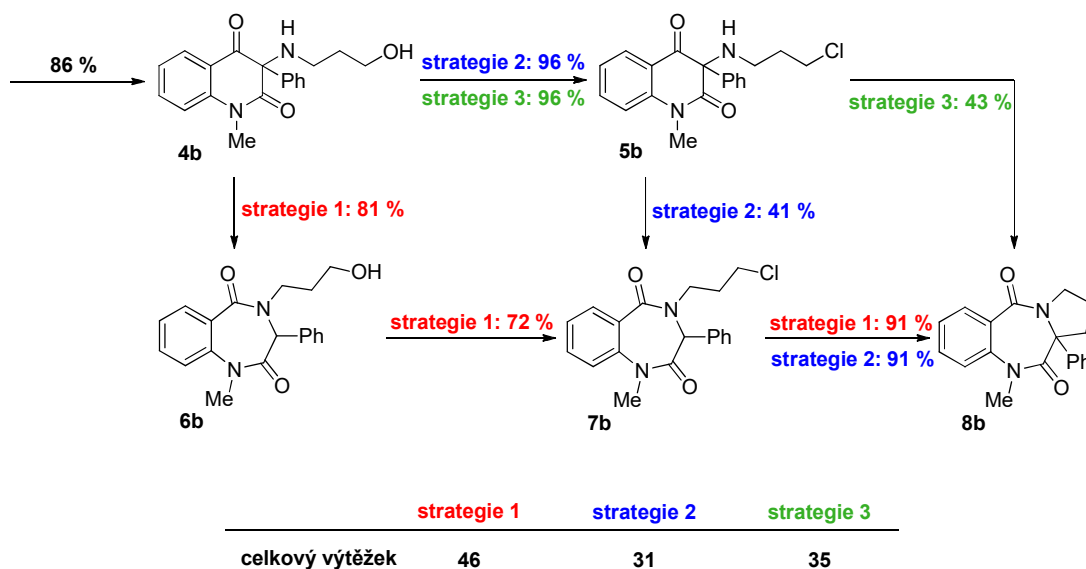
- <sup>1</sup> Framm, J.; Nover, L. *Eur. J. Biochem.* **1973.** *37,* 78–85.
- <sup>2</sup> Dinis-Oliveira, R. J. *Drug. Metab. Rev.* **2017.** *49,* 451–463.
- <sup>3</sup> Anil, S. M.; Shobith, R. *New J. Chem.* **2019.** *43,* 182–187.
- <sup>4</sup> Dassanayake, T.; Michie, P. *Drug Saf.* **2011.** *34,* 125.
- <sup>5</sup> López-Munoz, F.; Álamo, C. *J. Anxiety Disord.* **2011.** *25,* 554–562.
- <sup>6</sup> Nayeem, N.; Green, T. P. *J. Neurochem.* **1994.** *62,* 815–818.
- <sup>7</sup> Dubovsky, S. L. *J. Clin. Psychiatry.* **1993.** *54,* 75–83.
- <sup>8</sup> Baldwin, D. S.; Aitchison, K. *J. Psychopharmacol.* **2013.** *27,* 967–971.
- <sup>9</sup> Rudolph, U.; Crestani, F. *Nature.* **1999.** *401,* 796–800.
- <sup>10</sup> Griffin, Ch. E.; Kaye, A. M. *Ochsner J.* **2013.** *13,* 214–223.
- <sup>11</sup> Gallagher, C. *Dental Update.* **2016.** 83–89.
- <sup>12</sup> Mandrioli, R.; Mercolini, L. *Curr. Drug. Metab.* **2008.** *9,* 827–844.
- <sup>13</sup> Greenblatt, D. J.; Shader, R. I. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1981.** *11,* 11–16.
- <sup>14</sup> de Haro, L.; Valli, M. *Vet. Hum. Toxicol.* **2001.** *43,* 174–175
- <sup>15</sup> Weintraub, S. J. *CNS Drugs.* **2017.** *31,* 87–95.
- <sup>16</sup> Keating, T. A.; Armstrong, R. W. *J. Org. Chem.* **1996.** *61,* 8935–8939.
- <sup>17</sup> Keating, T. A.; Armstrong, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1996.** *118,* 2574–2583
- <sup>18</sup> Sashida, H.; Fujii, A. *Chem. Pharm. Bull.* **1987.** *35,* 4110–4116.
- <sup>19</sup> De La Cruz, A.; Vega-Acevedo, C. *J. Braz. Chem. Soc.* **2018.** *29,* 1607–1611.
- <sup>20</sup> Anil, S. M.; Shobith, R. *New J. Chem.* **2019.** *43,* 182–187.
- <sup>21</sup> Annor-Gyamfi, J. K.; Jarrett, J. M. *Heliyon.* **2018.** *4.*
- <sup>22</sup> Tyagi, P.; Pechenov, S. *J. Pharm. Sci.* **2018.** *108,* 1590–1597.
- <sup>23</sup> Mantaj, J.; Jackson, P. J. M. *Agew. Chem. Int. Ed.* **2017.** *56,* 462–488.
- <sup>24</sup> Rahman, K. M.; Corcoran, D. B. *PLoS ONE.* **2014.** *9,* e105021.
- <sup>25</sup> Hartley, J. A. *Expert Opin. Invesig.* **2011.** *20,* 733–744.
- <sup>26</sup> Fotso, S. *Mini Rev. Org. Chem.* **2010.** *7,* 68–74.
- <sup>27</sup> Farmer, J. D.; Rudnicki, S. M. *Tetrahedron Lett.* **1988.** *29,* 5105–5108.
- <sup>28</sup> Deans, A. J.; West, S. C. *Nat. Rev. Cancer.* **2011.** *11,* 467–480.
- <sup>29</sup> Jackson, P. J.; Kay, S. M. *Drug. Discov. Today. Technol.* **2018.** *30,* 71–83.

- <sup>30</sup> Rahman, K. M.; James, C. H. *Nucleic Acids Res.* **2011.** *39*, 5800–5812.
- <sup>31</sup> Puzanov, I.; Lee, W. *Clin. Cancer Res.* **2011.** *17*, 3794–3802.
- <sup>32</sup> Hadjivassileva, T.; Stapleton, P. D. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **2007.** *29*, 672–678.
- <sup>33</sup> Hadjivassileva, T.; Thurston, D. E. *J. Antimicrob. Chemother.* **2005.** *56*, 513–518.
- <sup>34</sup> Vlahov, I. R.; Qi, L. *Bioconjug. Chem.* **2017.** *28*, 2921–2931.
- <sup>35</sup> Jackson, P. J.; Kay, S. *Drug Discov. Today Technol.* **2018.** *30*, 71–83.
- <sup>36</sup> Antonow, D.; Thurston, D. E. *Chem. Rev.* **2011.** *111*, 2815–2864.
- <sup>37</sup> Kamal, A.; Reddy, S. *Tetrahedron Lett.* **1996.** *37*, 6803
- <sup>38</sup> Kamal, A.; Ramana, V. *Tetrahedron Lett.* **2004.** *45*, 8187–8190.
- <sup>39</sup> Shankaraiah, N.; Markandeya, N. *Synthesis.* **2009.** *13*, 2163–2170.
- <sup>40</sup> Abás, S.; Arróniz, C. *Tetrahedron.* **2018.** *74*, 867–871.
- <sup>41</sup> Katsifis, A. G.; McPhee, M. E. *Aust. J. Chem.* **1998.** *51*, 1121–1130.
- <sup>42</sup> Hoffmann/LaRoche. **2000.** International Patent WO 00/69835
- <sup>43</sup> Jadidi, K.; Aryan, R. *J. Mol. Struct.* **2004.** *692*, 37–42.
- <sup>44</sup> Roos, G. H. P.; Dastlik, K. A. *Heterocycles.* **2003.** *60*, 2023–2044.
- <sup>45</sup> Dornisch, E.; Pletz, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017.** *56*, 14753–14757.
- <sup>46</sup> Lajdová, A. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. **2017.** 91 str.
- <sup>47</sup> Kafka, S.; Klásek, A. *Heterocycles.* **2002.** *57*, 1659–1682.

**PŘÍLOHA P I: STRATEGICKÉ CESTY 1–3 S UVEDENÝMI VÝTĚŽKY  
PRO JEDNOTLIVÉ DERIVÁTY A–C**

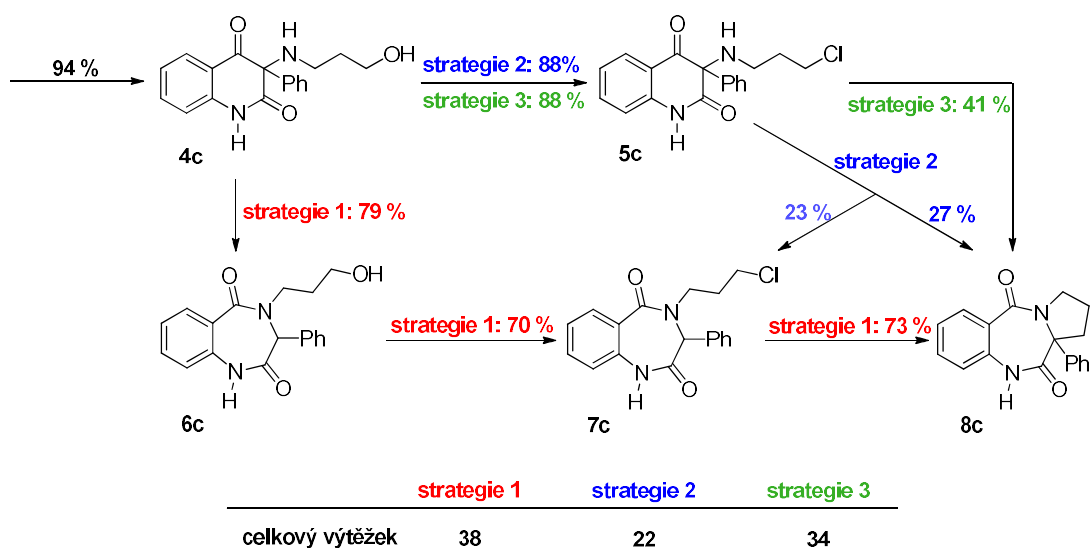


V celkovém výtěžku **Strategie 2** není započítán výtěžek sloučeniny **7a**, z důvodu přímé přeměny sloučeniny **5a** na **8a** vyvolané účinkem TMG.



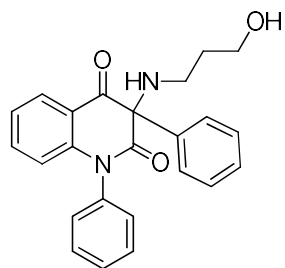
V celkovém výtěžku **Strategie 2** je zahrnut výtěžek produktu **7b** a následně i výtěžek jeho přeměny na **8b** vyvolané účinkem NaH.



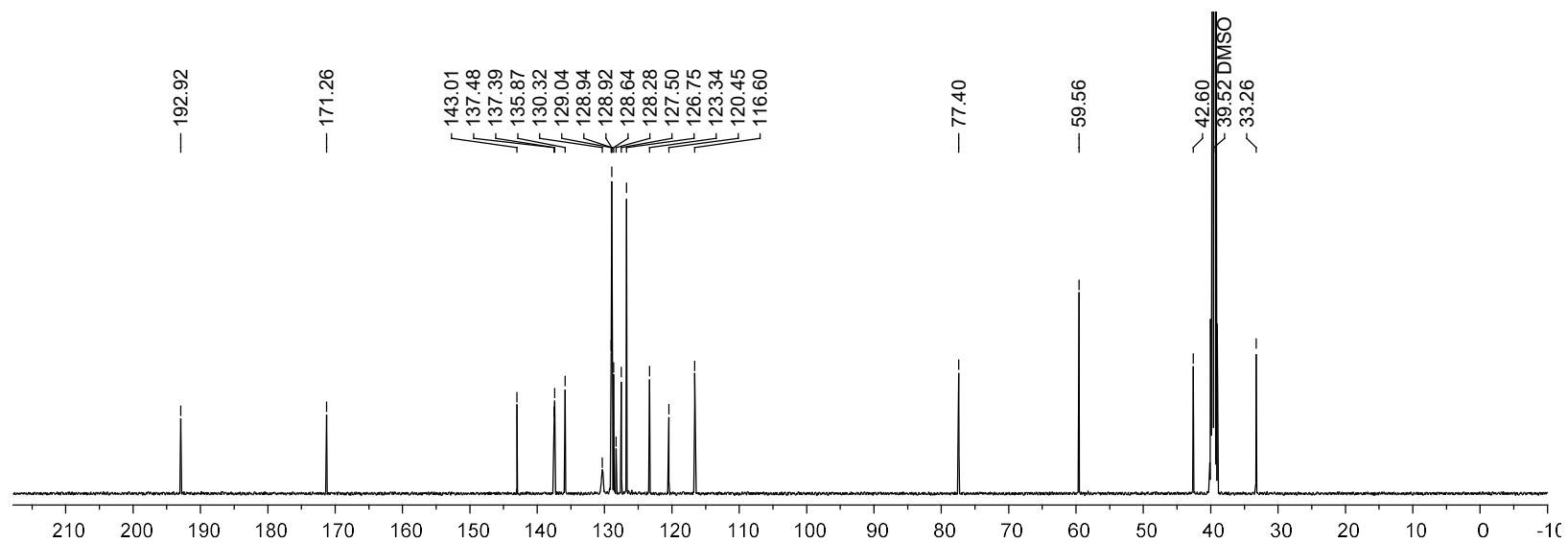
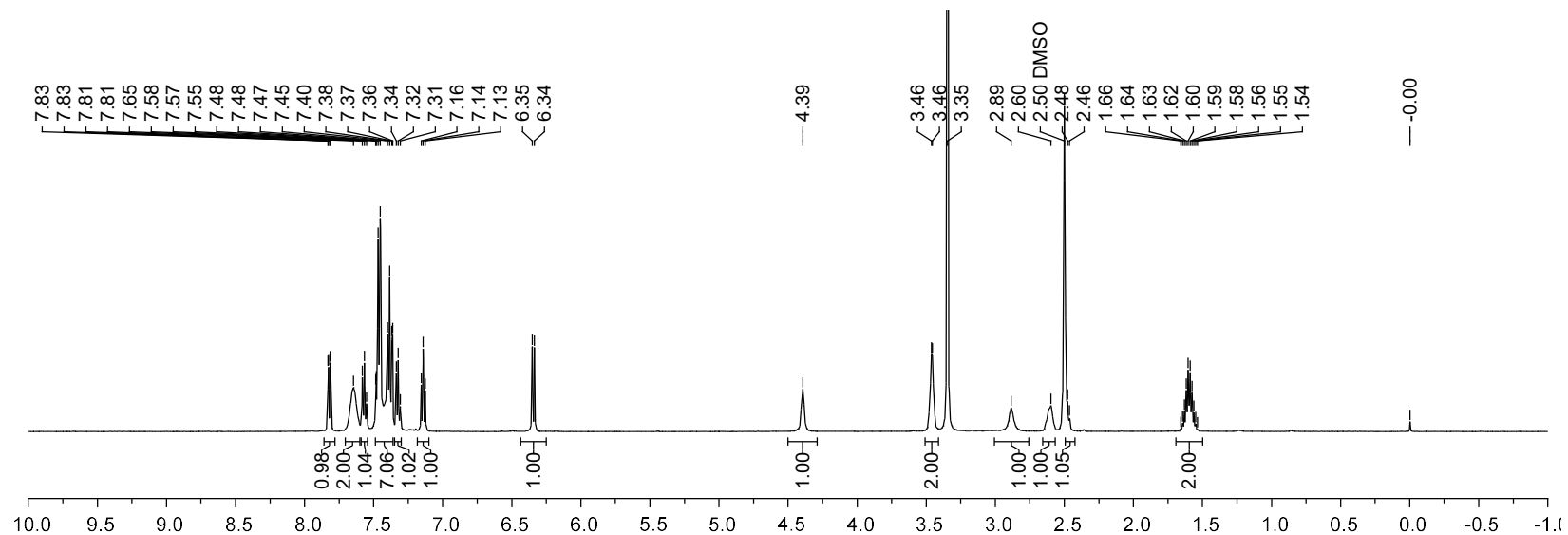


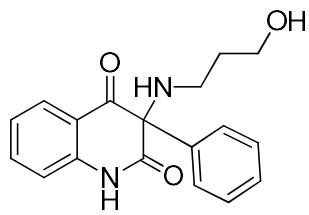
V celkovém výtěžku **Strategie 2** není započítán výtěžek sloučeniny **7c**, z důvodu přímé přeměny sloučeniny **5c** na **8c** vyvolané účinkem TMG.

PŘÍLOHA P II:  $^1\text{H}$  A  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRA IZOLOVANÝCH SLOUČENIN

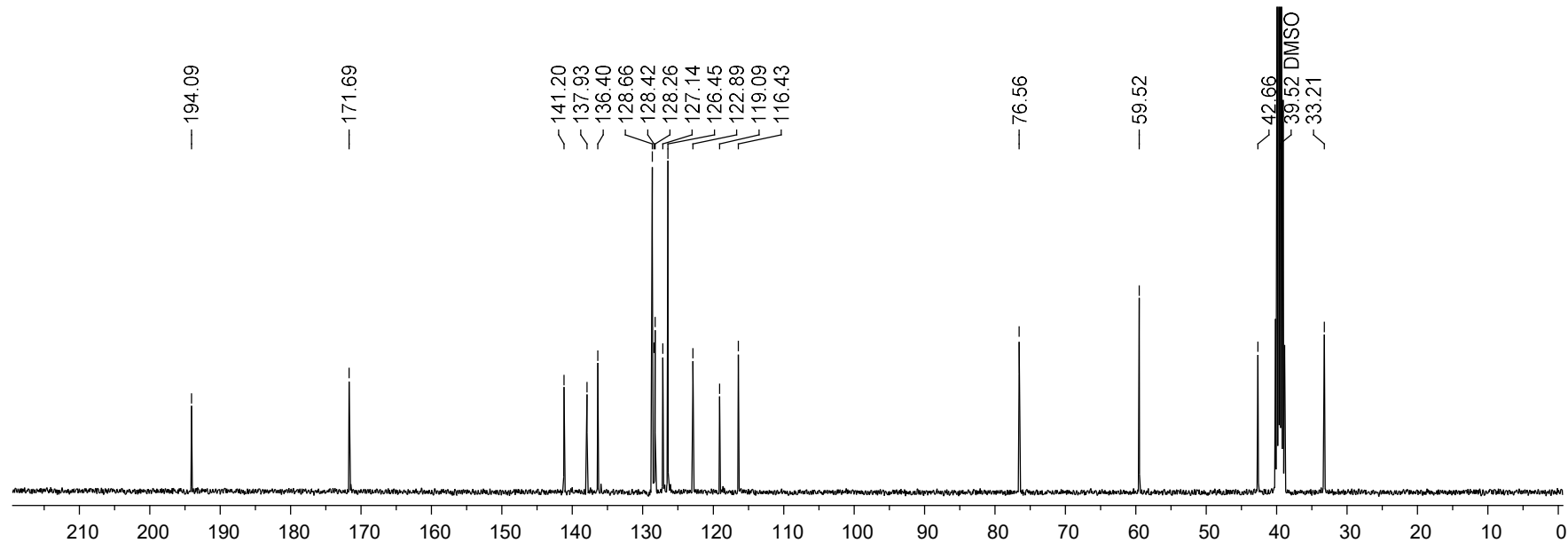
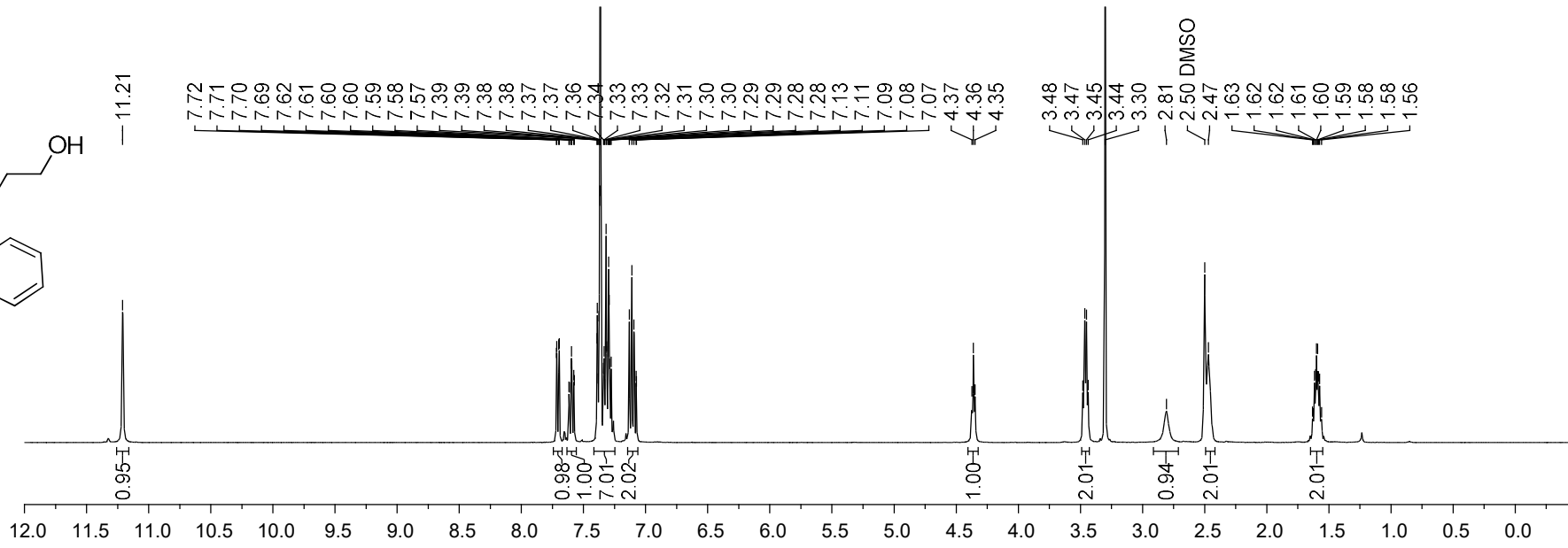


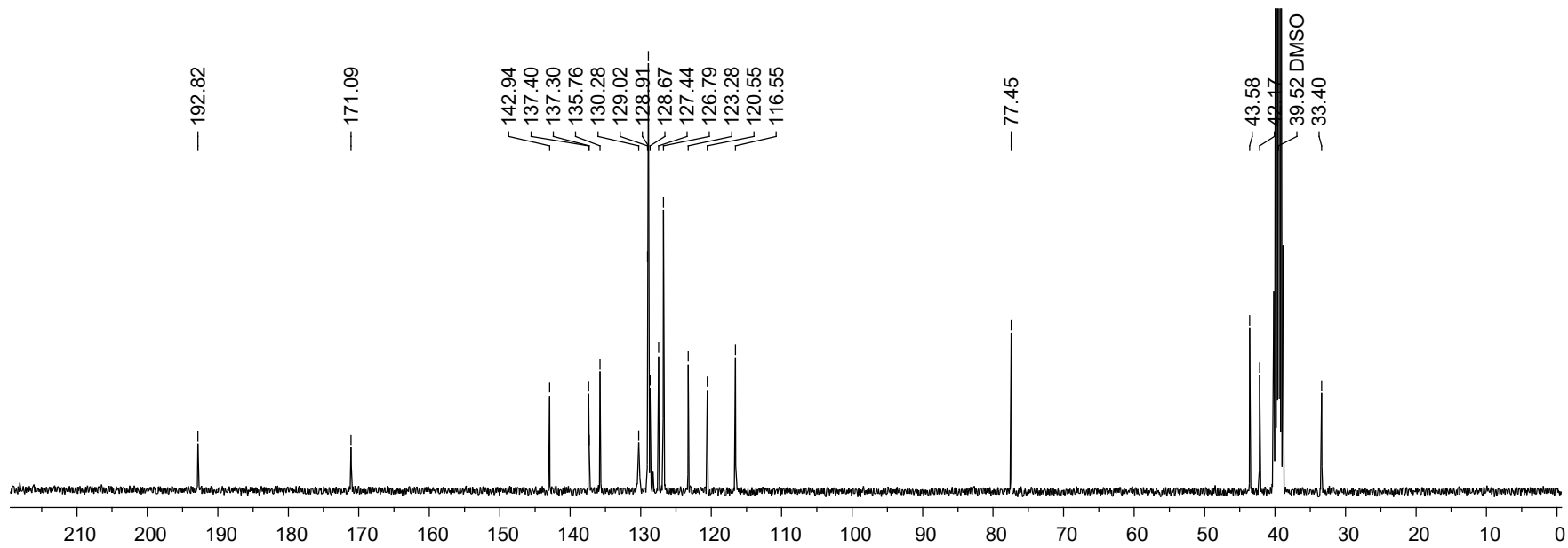
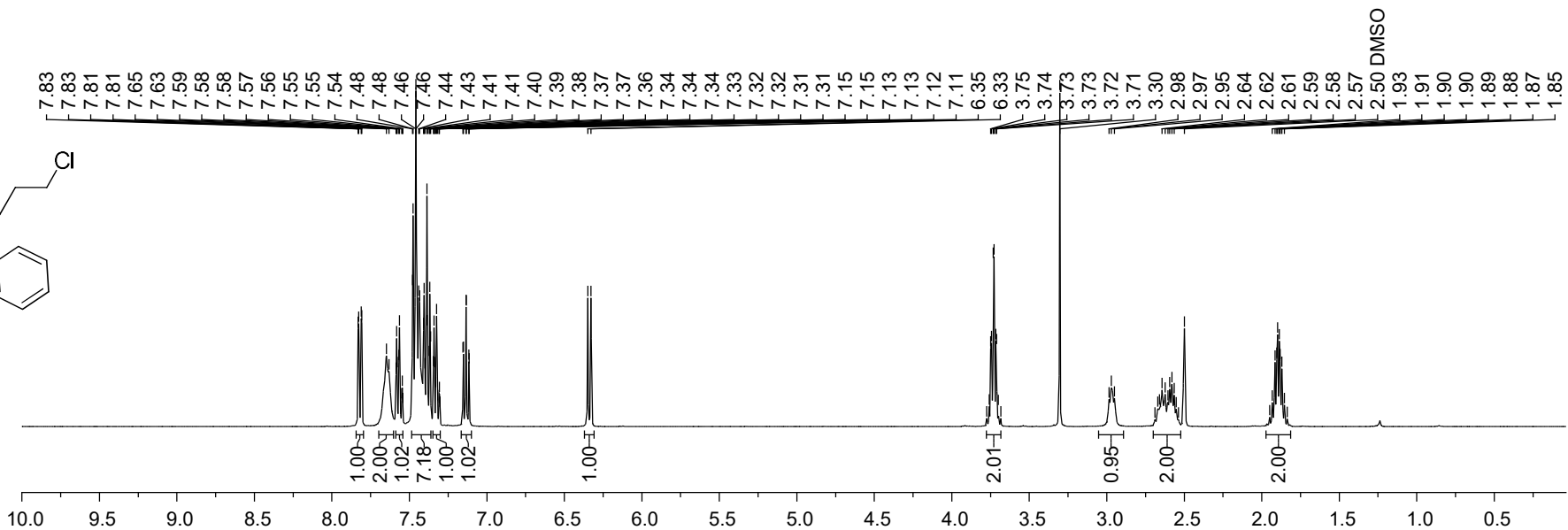
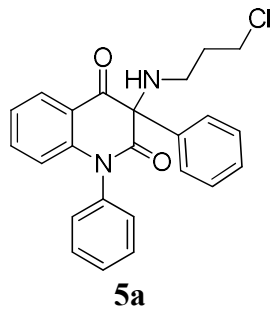
4a

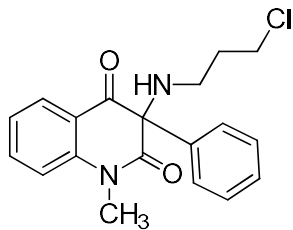




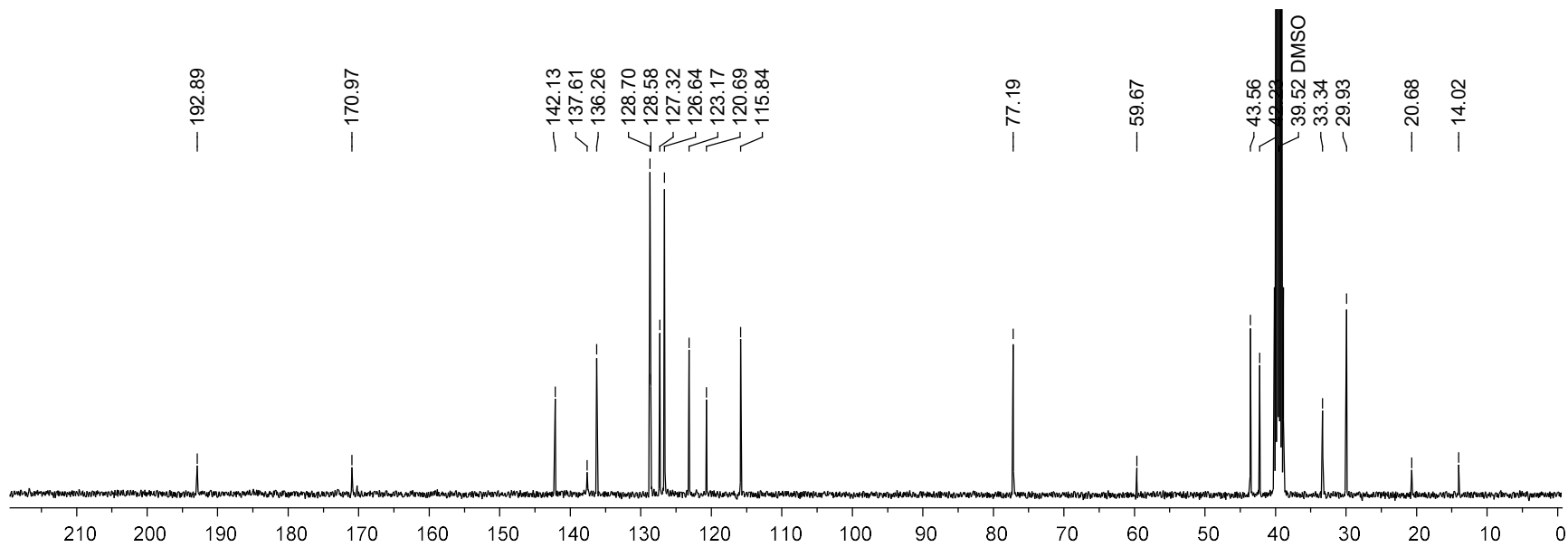
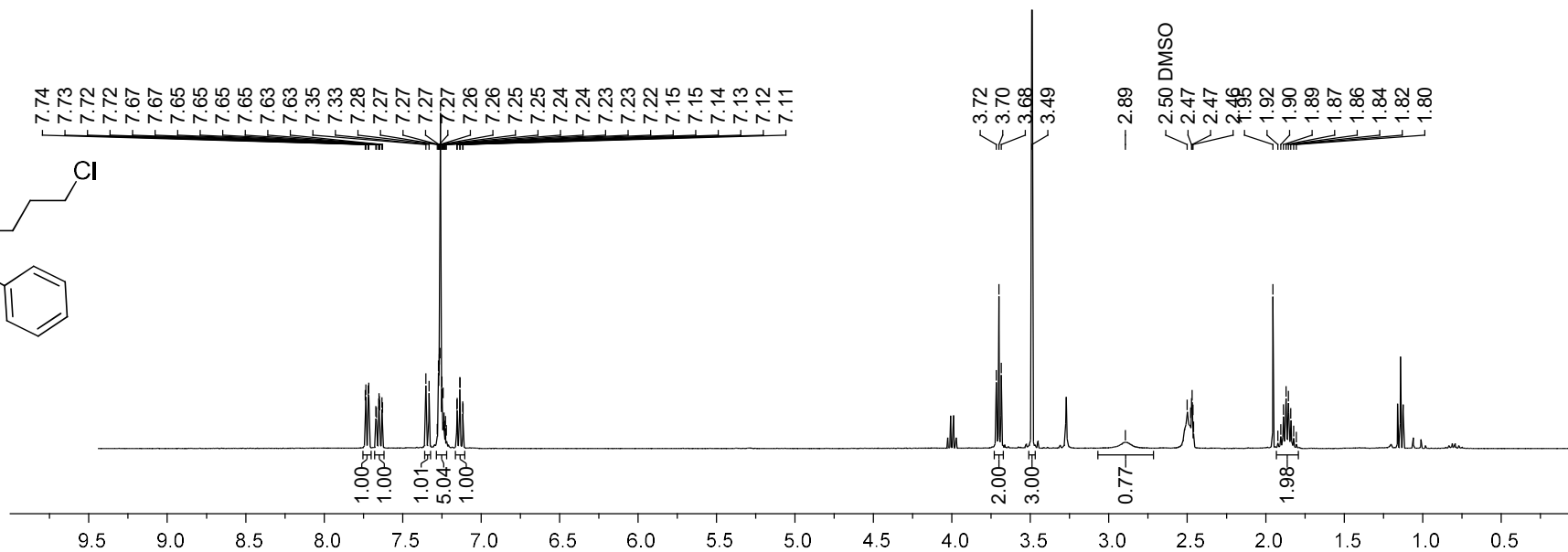
4c

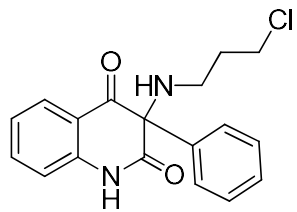




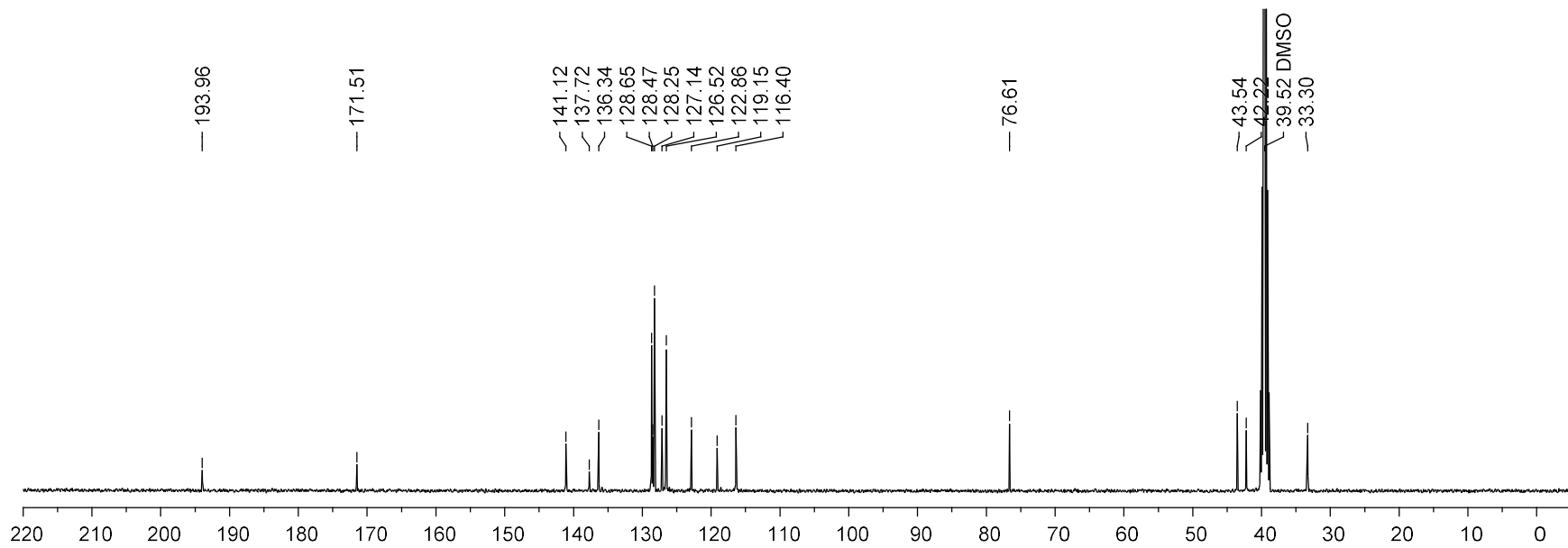
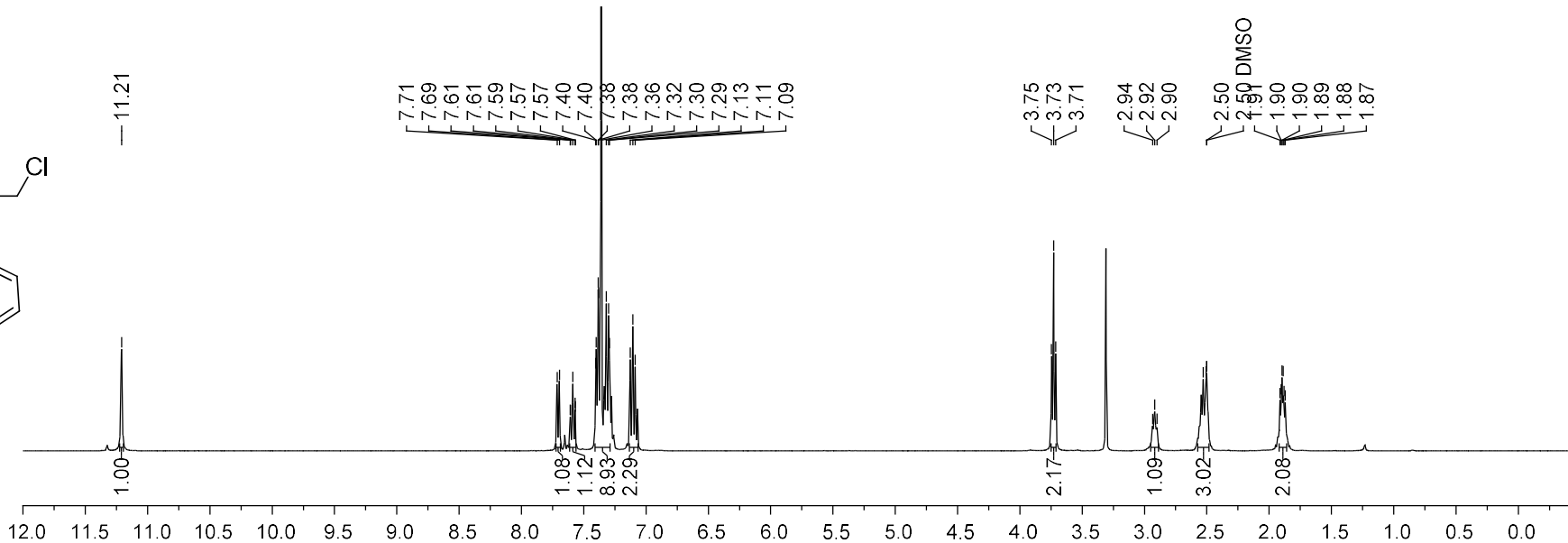


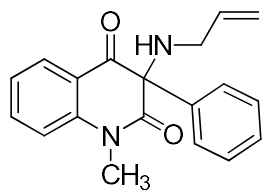
5b



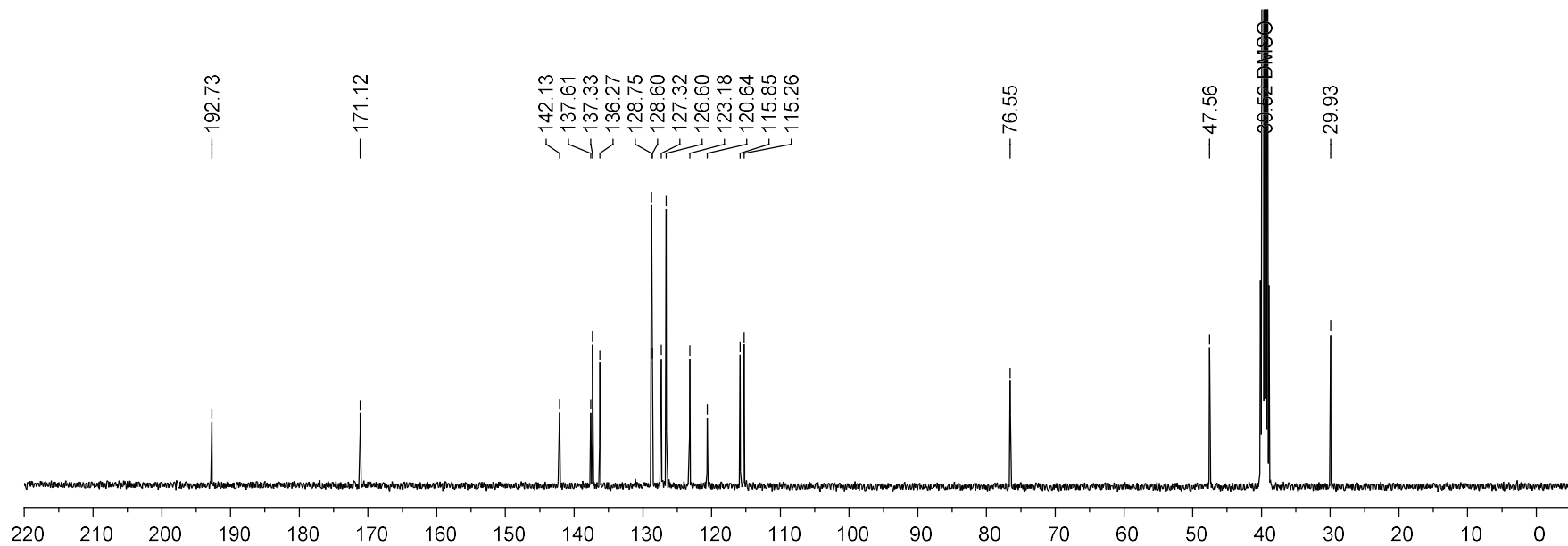
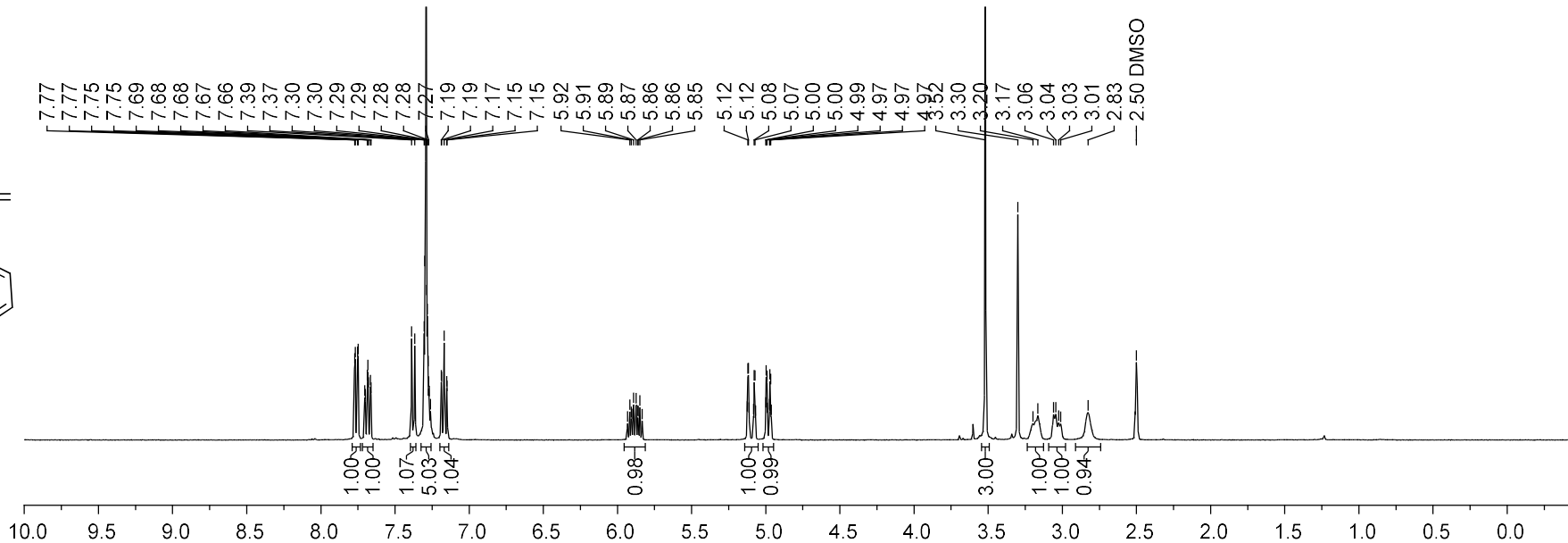


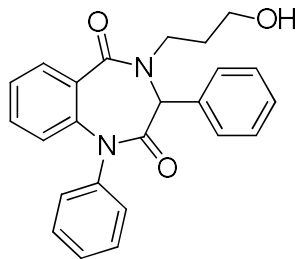
5c



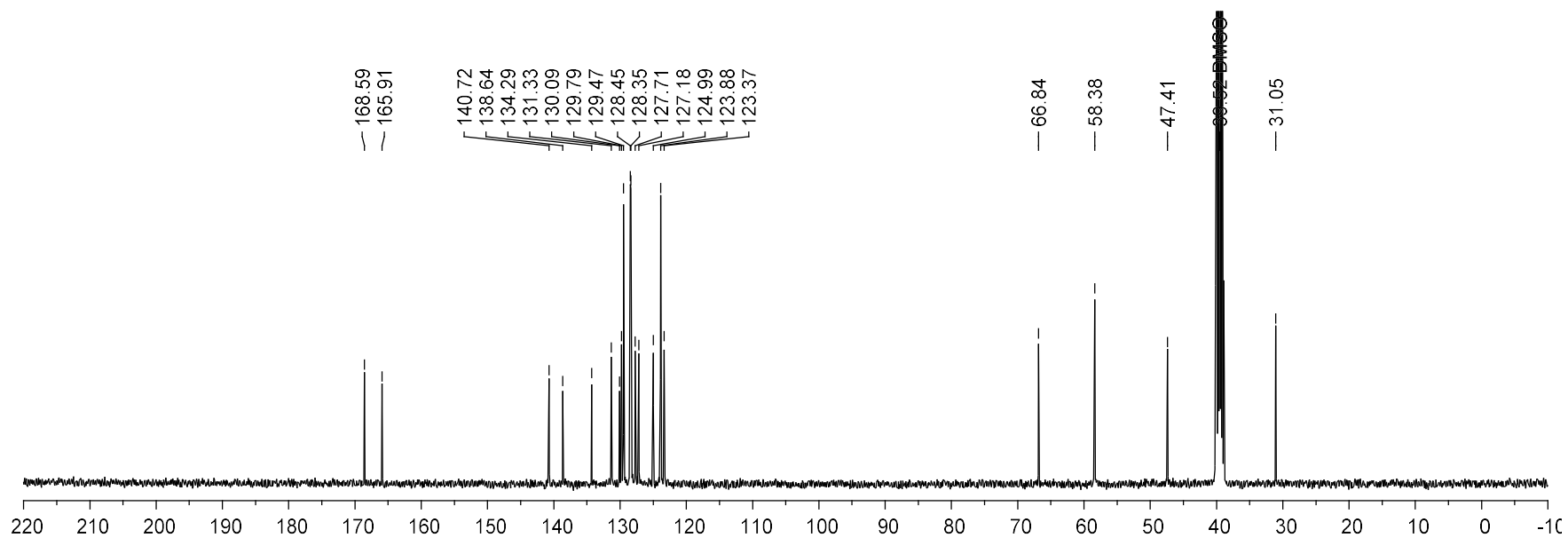
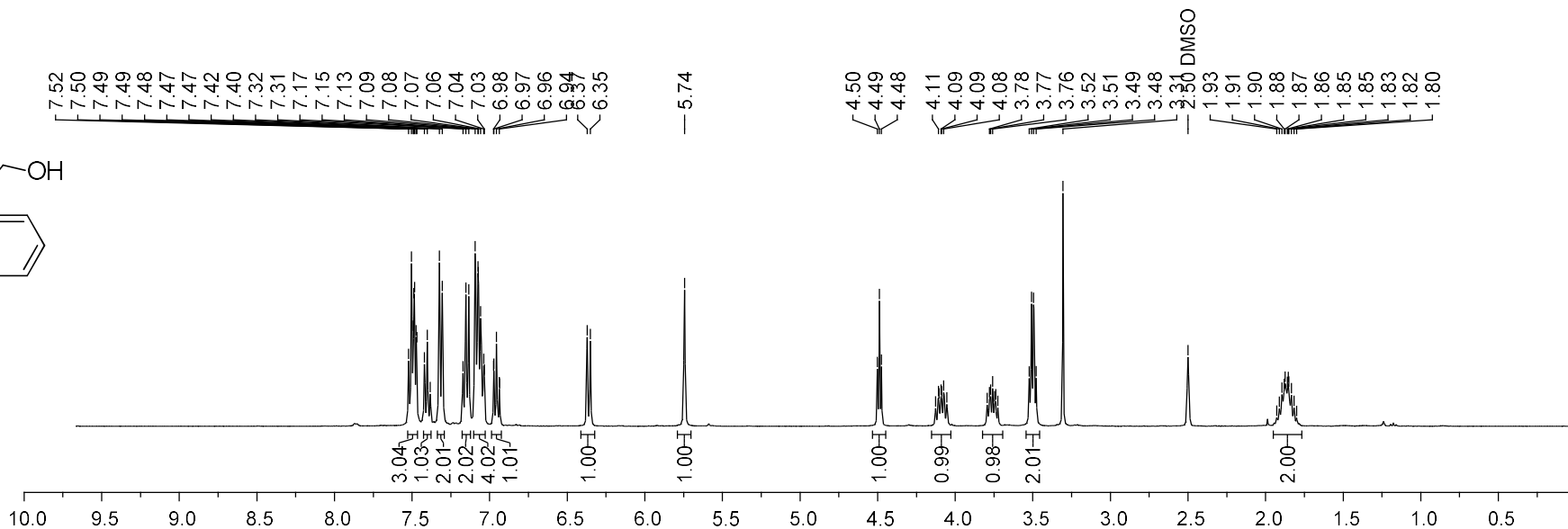


12

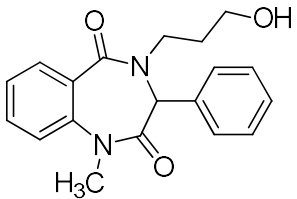




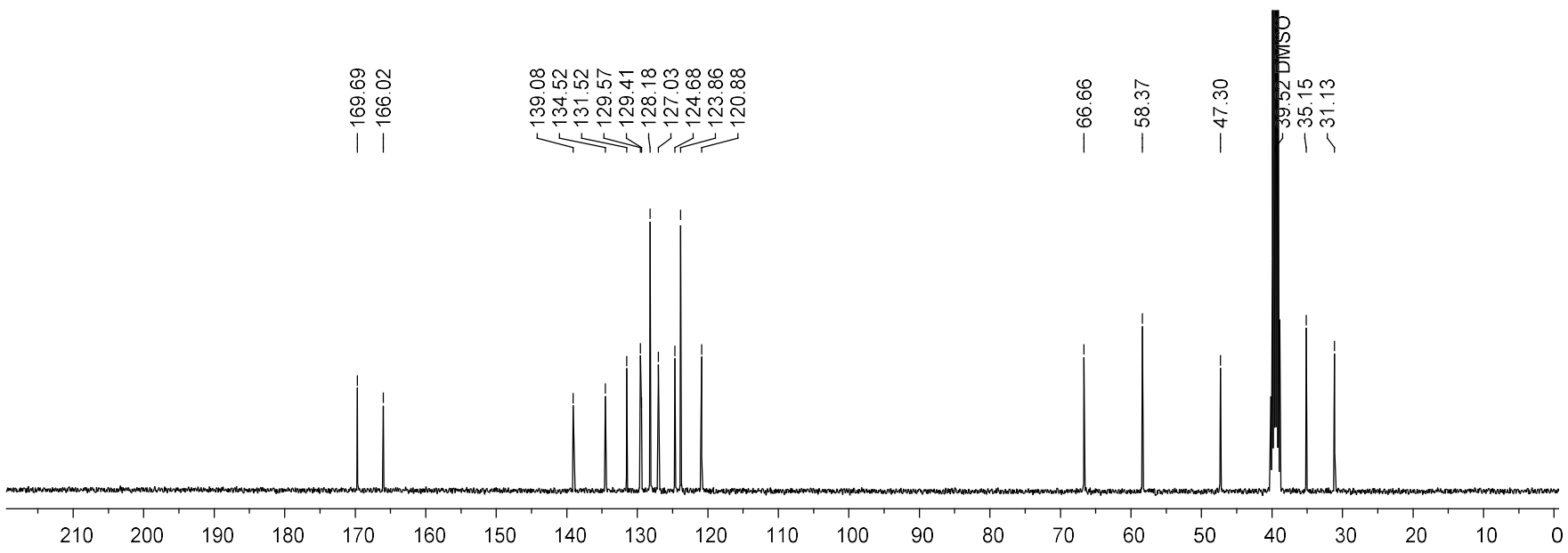
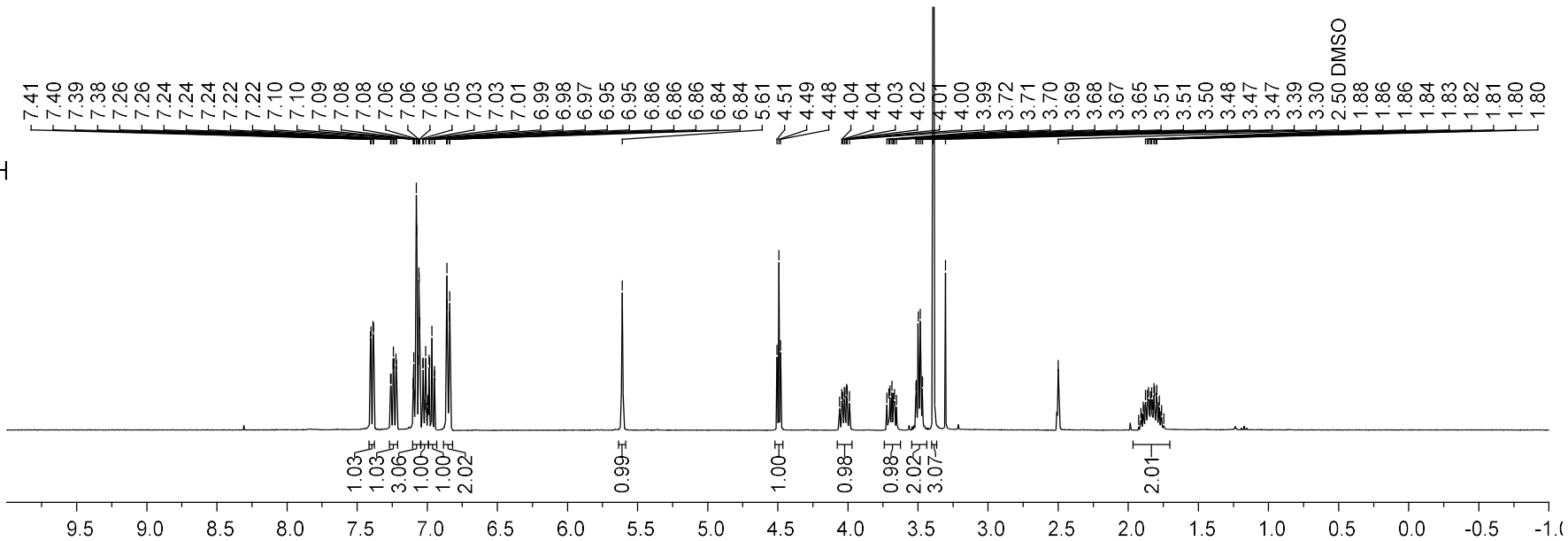
6a

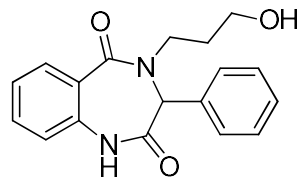




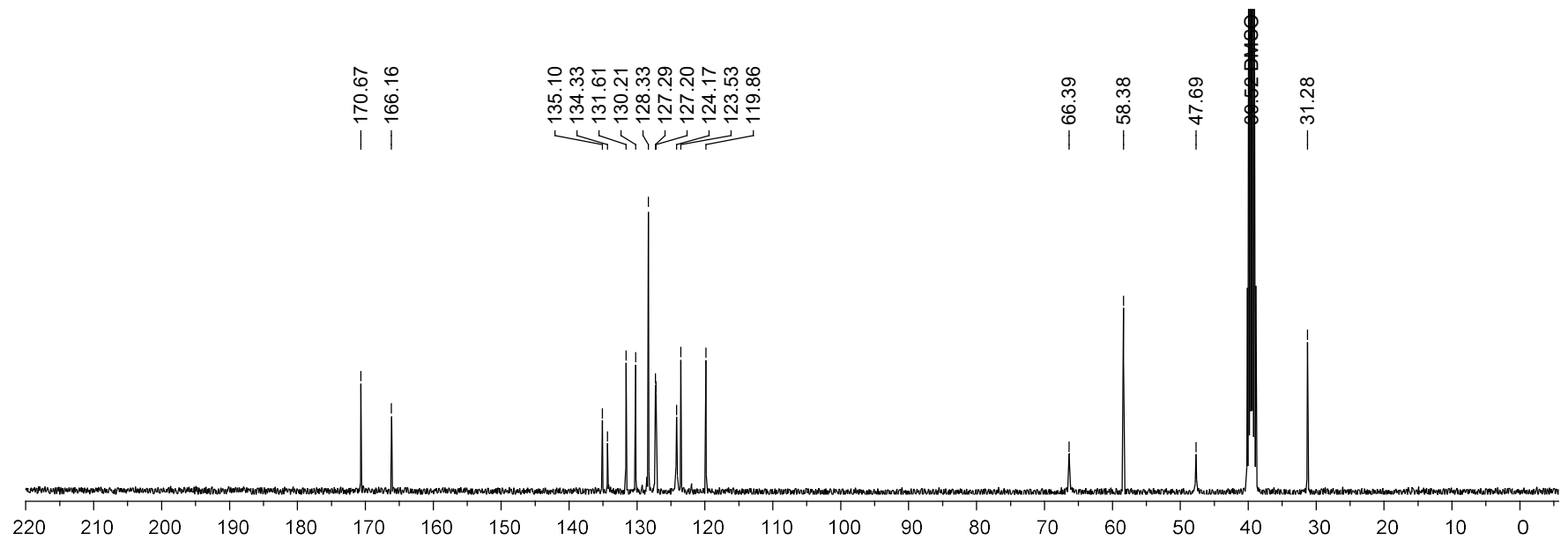
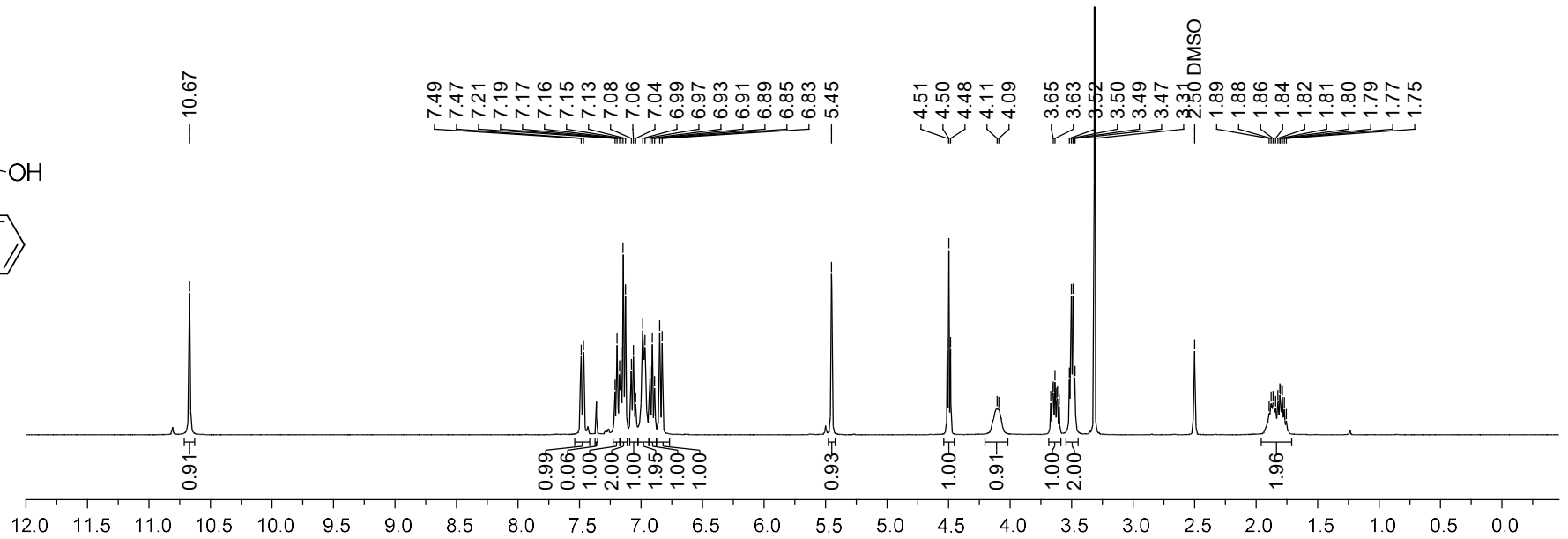


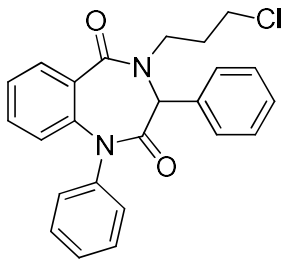
6b



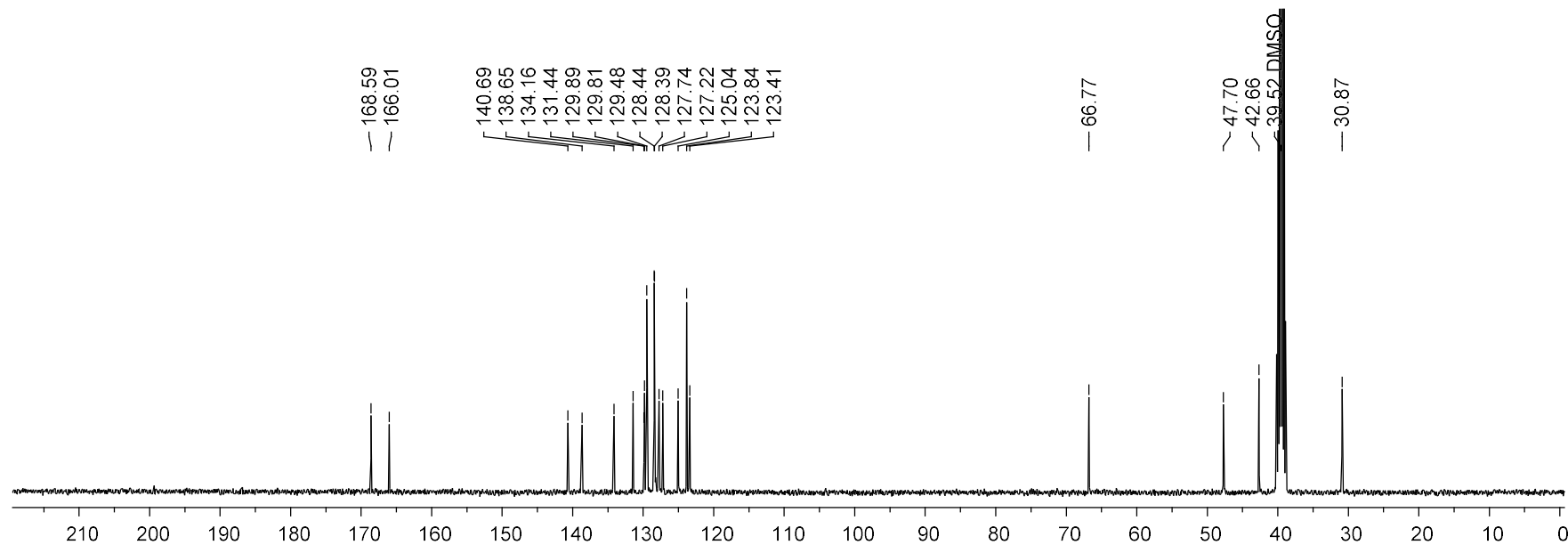
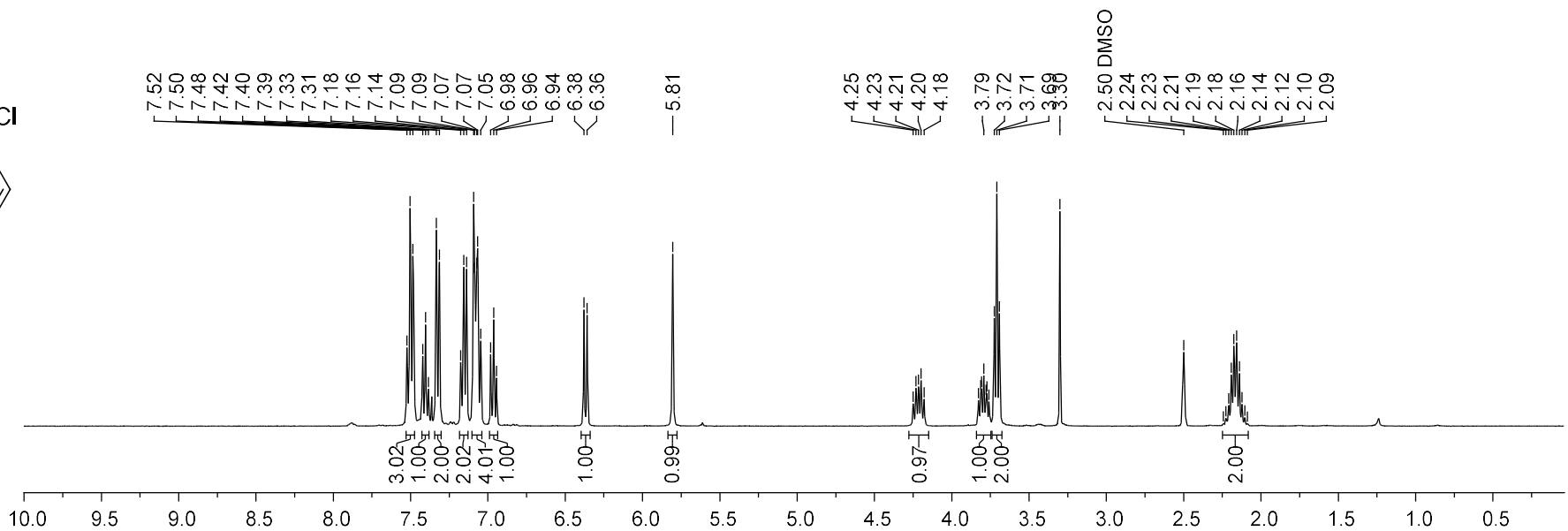


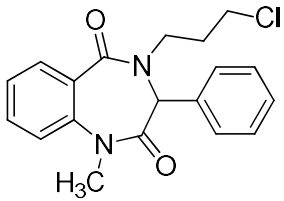
**6c**



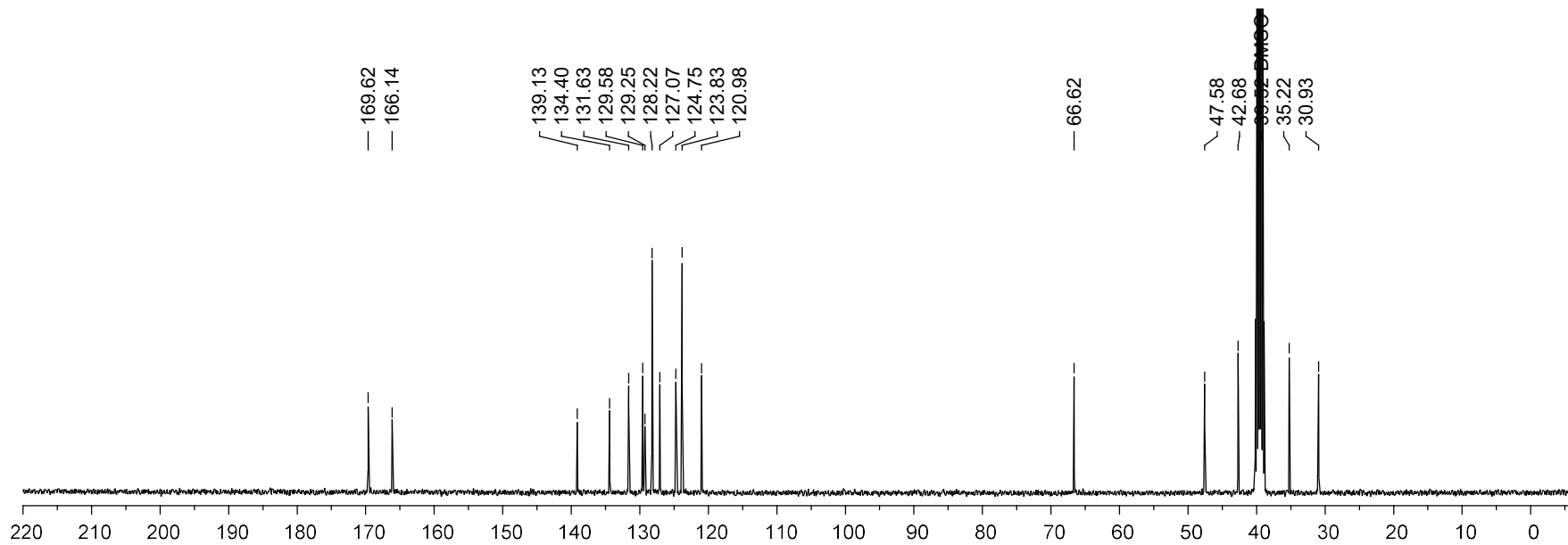
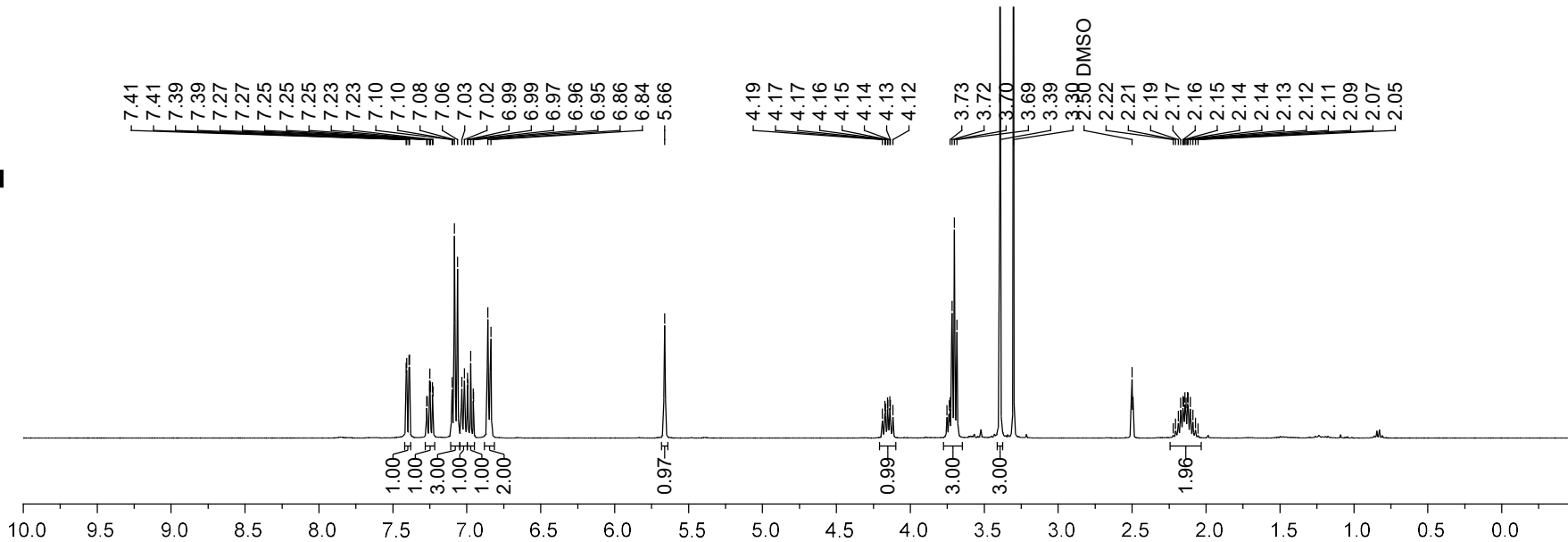


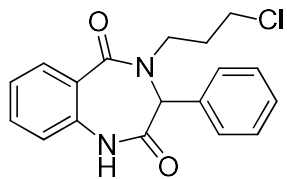
7a



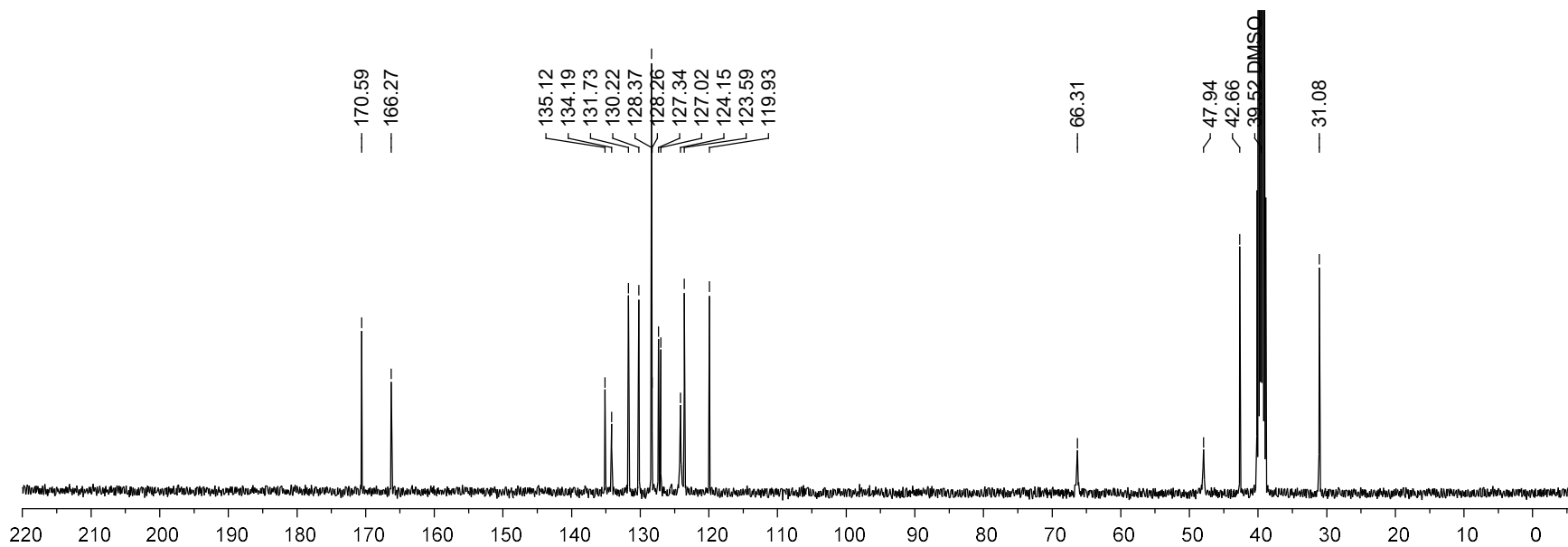
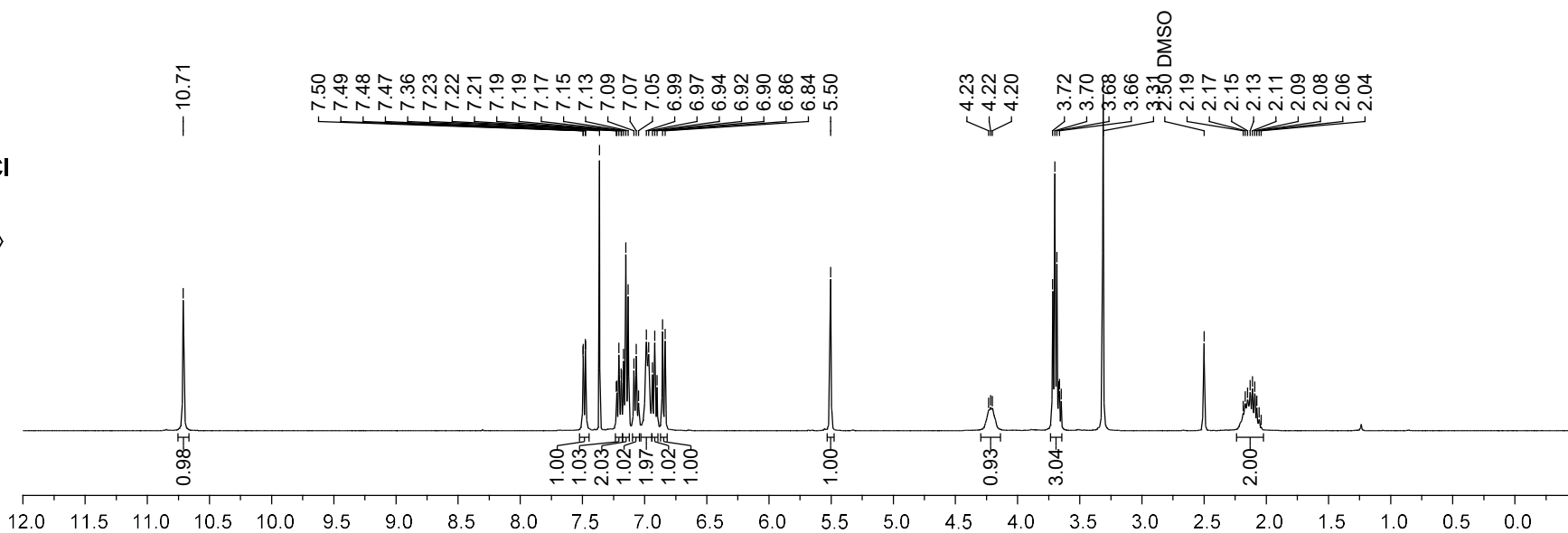


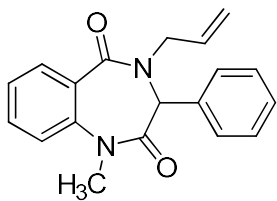
7b



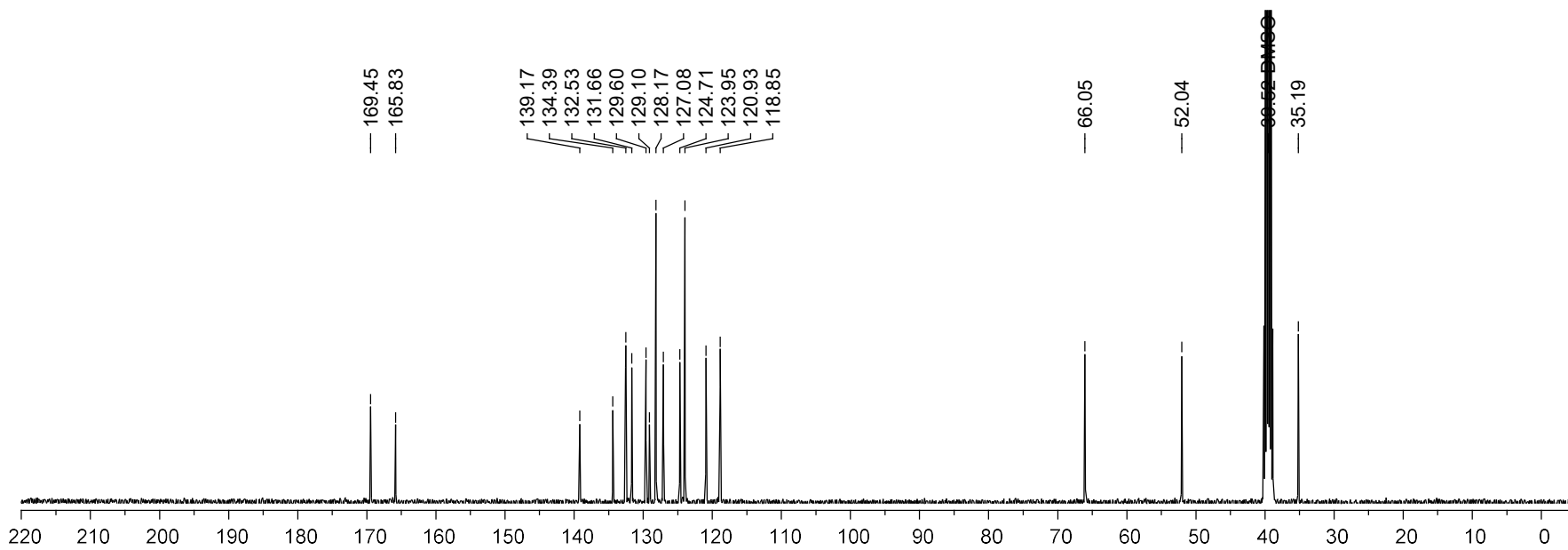
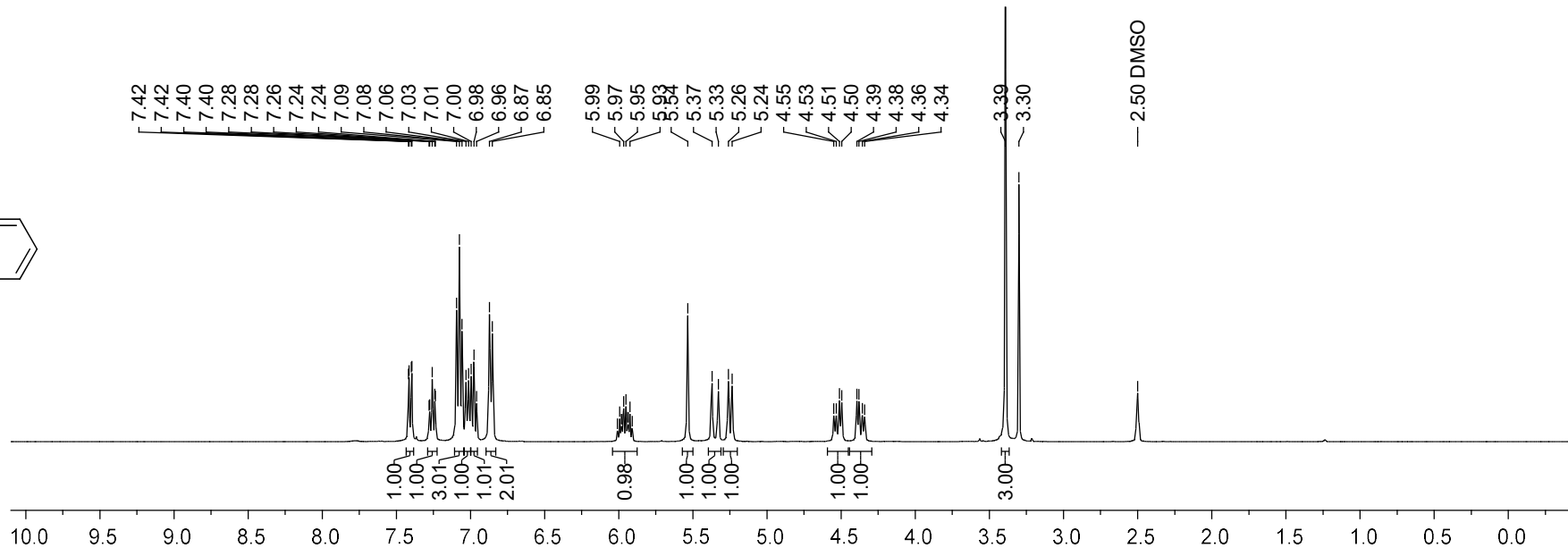


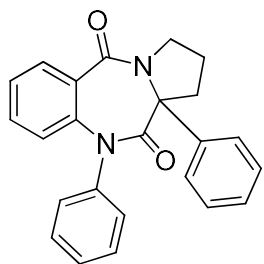
7c



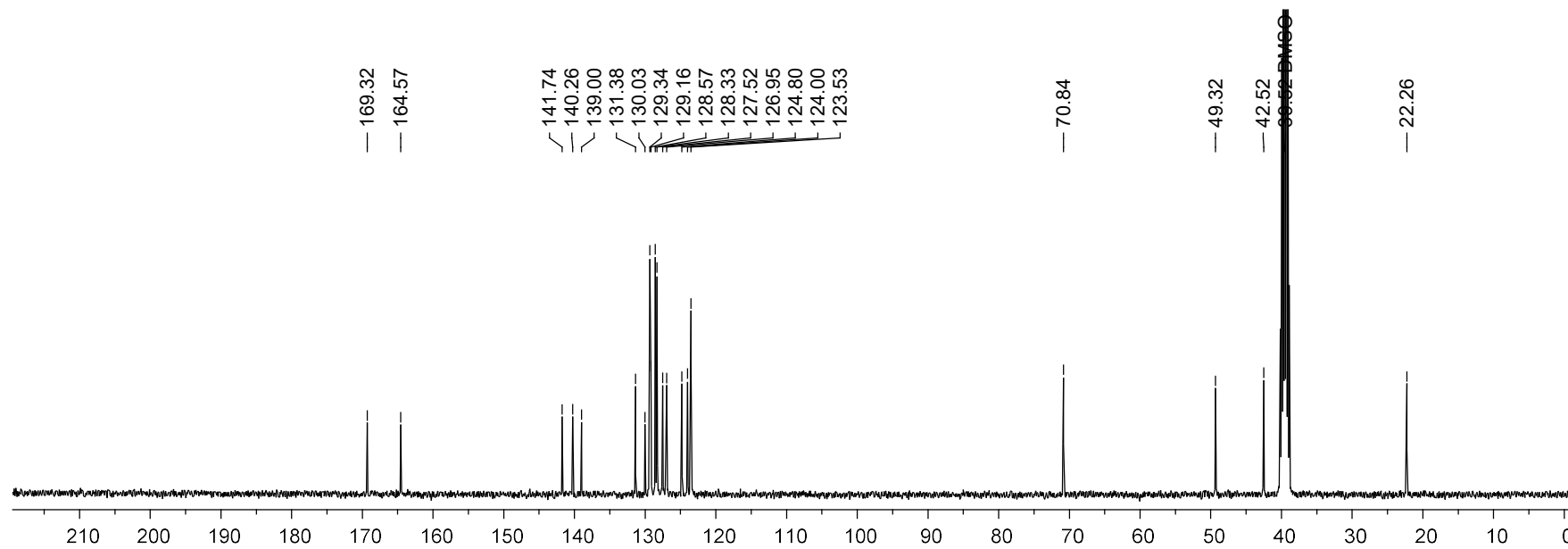
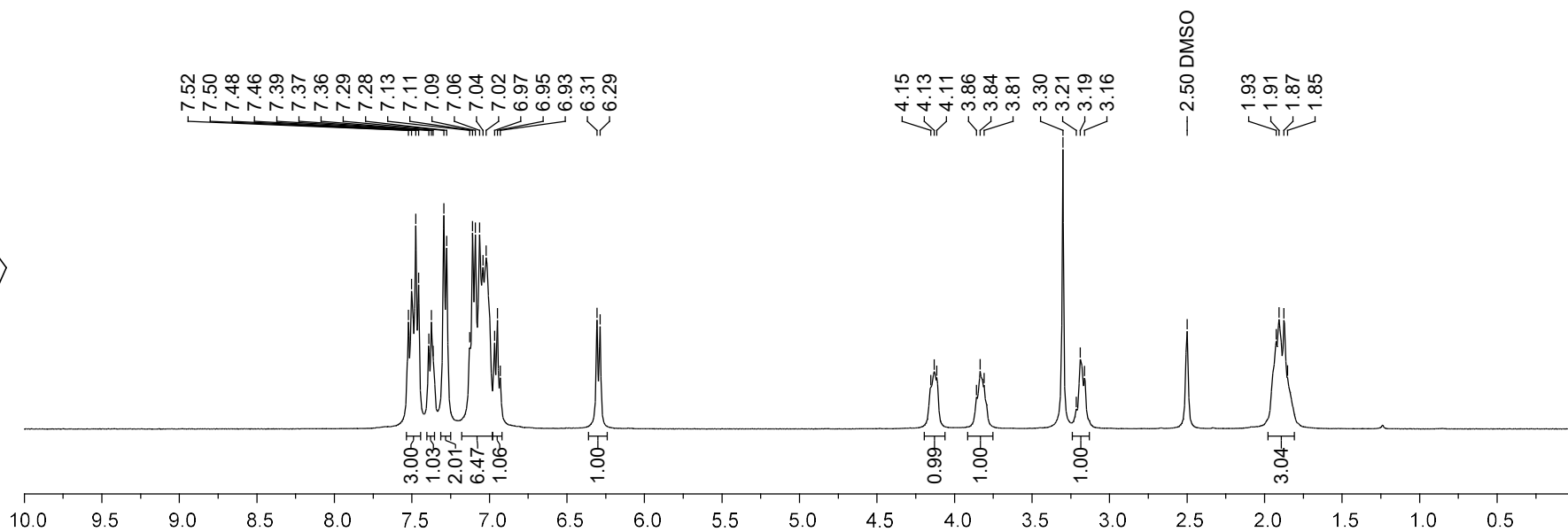


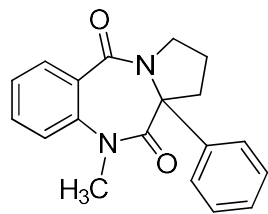
13



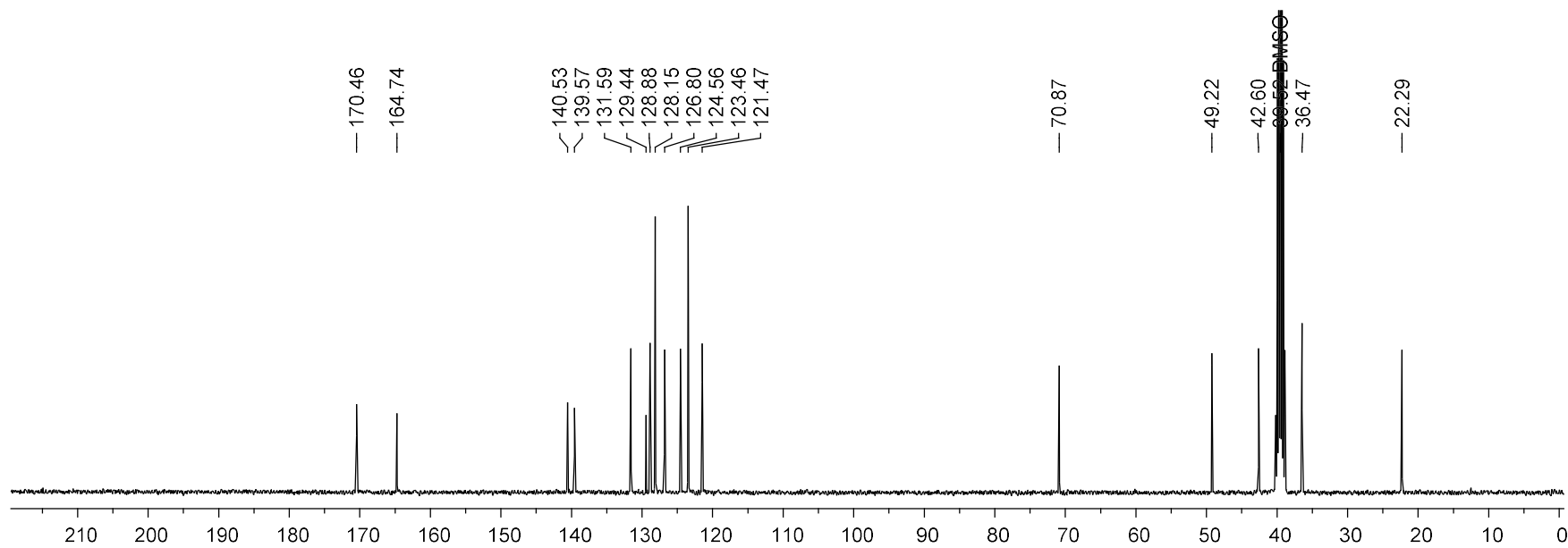
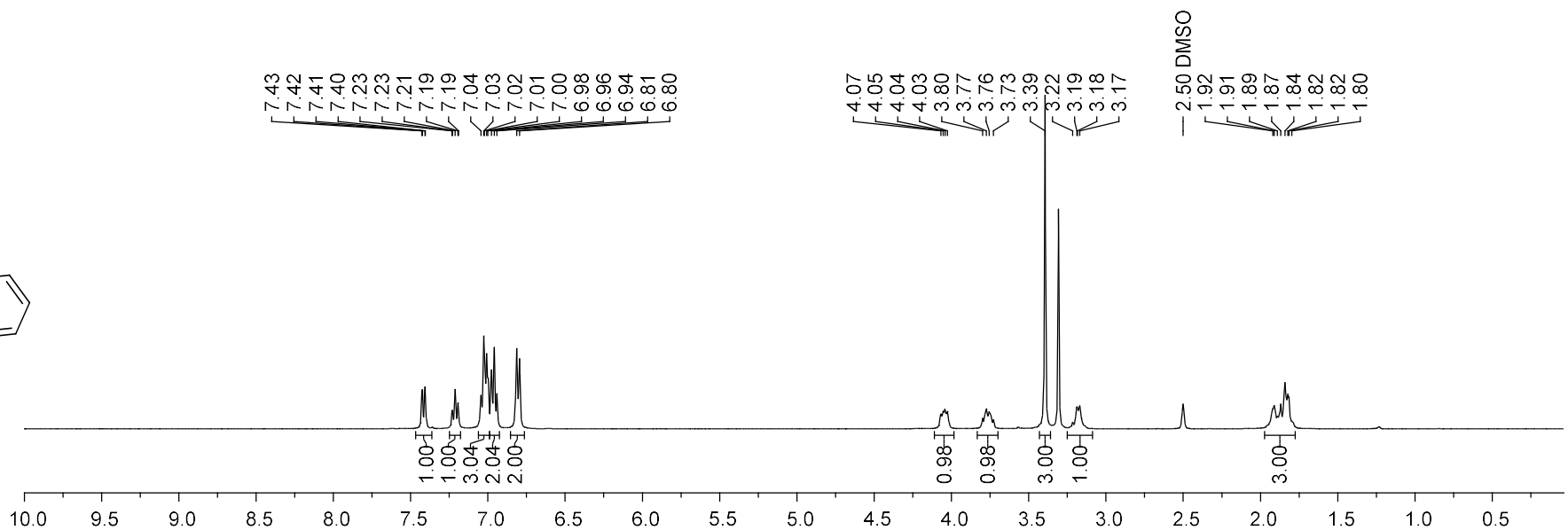


**8a**

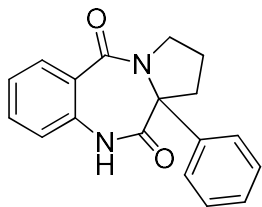




**8b**







8c

