


Reakce 4-hydroxypyridin-2-onů s halogenačními činidly a reakce získaných halogenderivátů s nukleofily

Bc. Adéla Karteczková

Diplomová práce
2023

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav chemie

Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Adéla Karteczková
Osobní číslo: T21450
Studijní program: N0721A210005 Chemie potravin a bioaktivních látek
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Reakce 4-hydroxypyridin-2-onů s halogenačními činidly a reakce získaných halogenderivátů s nukleofily

Zásady pro vypracování

- Zpracujte literární rešerši zaměřenou na výskyt 4-hydroxypyridin-2-onů a pyridin-2,4-dionů v přírodě a jejich biologické účinky.
- Připravte známým postupem alespoň dva 4-hydroxypyridin-2-ony.
- Proveďte reakce 4-hydroxypyridin-2-onů se sulfurylchloridem, bromem, jodem, případně s jiným halogenačním činidlem a izolujte produkty.
- Studujte reakce získaných halogenderivátů s nukleofily, zejména s azidovým iontem a s aminy.

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

Seznam doporučené literatury:

1. McMurry, J.: Organická chemie. 2015, Praha: VŠCHT.
2. Joule, J. A., Mills, K.: Heterocyclic chemistry at a glance, 2013, Chichester: Wiley.
3. Jessen, H. J., Gademann, K.: 4-Hydroxy-2-pyridone alkaloids: Structures and synthetic approaches. Nat. Prod. Rep. 2010, 27, 1168-1185.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Stanislav Kafka, CSc.**
Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání diplomové práce: **12. května 2023**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 28. února 2023

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – diplomovou 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);
- pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové 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.

Prohlašuji,

- že jsem diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

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

(1) Vysoká škola nevýdělečně 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.

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

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

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

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

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo 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

Kondenzací bis(2,4,6-trichlorfenyl)esterů substituované kyseliny malonové s anily methylketonů připravenými eliminací kyanovodíku z odpovídajících α -aminonitrilů, byly připraveny čtyři deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu. Dva z nich byly reakcí se sulfurylchloridem převedeny na odpovídající 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-diony. Z jednoho 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu byl reakcí s azidem sodným připraven 3-azido-5-chlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Klíčová slova: syntéza, 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-on, 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion, 3-azido-5-chlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion

ABSTRACT

By the condensation of bis(2,4,6-trichlorophenyl)esters of substituted malonic acids with methylketone aniles, which were prepared by elimination of hydrogen cyanide from the corresponding α -aminonitriles, four derivatives of 4-hydroxypyridine-2(1*H*)-one were synthesized. Two of them were then converted to corresponding 3,5-dichloropyridine-2,4(1*H*,3*H*)-diones by reaction with sulfuryl chloride. One of the 3,5-dichloropyridine-2,4(1*H*,3*H*)-diones was transformed to 3-azido-5-chloropyridine-2,4(1*H*,3*H*)-dione by reaction with sodium azide.

Keywords: synthesis, 4-hydroxypyridine-2(1*H*)-one, 3,5-dichloropyridine-2,4(1*H*,3*H*)-dione, 3-azido-5-chloropyridine-2,4(1*H*,3*H*)-dione

Nejprve bych chtěla věnovat velké poděkování panu doc. Ing. Stanislavu Kafkovi, CSc., a to za jeho odborné vedení mé diplomové práce, také za rady a zkušenosti při práci v laboratoři. Jsem panu docentovi vděčná za jeho čas, který semnou trávil v laboratoři při praktické části mé diplomové práce, ale také za čas, který mi věnoval při konzultaci této práce.

Děkuji paní prof. RNDr. Leoně Buňkové, Ph.D. za její ochotu a čas, při testování antimikrobiální aktivity vybraných látek na ústavu UÍOŽP.

A především bych chtěla poděkovat celé mé rodině a přátelům ze studijní skupiny, kteří mne v průběhu celého studia drželi nad vodou a vždy tady pro mě byli, když jsem to nejvíce potřebovala.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 PYRIDINY	12
1.1 4-HYDROXY-PYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ONY	12
1.1.1 1. skupina	13
1.1.2 2. skupina	14
1.1.3 3. skupina	15
1.1.4 4. skupina	16
1.2 PYRIDIN-2,4-DIONY	17
1.3 METODY PŘÍPRAV 4-HYDROXYPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ONŮ	18
II PRAKTICKÁ ČÁST	20
2 VÝSLEDKY A DISKUZE	21
2.1 PŘÍPRAVA α -AMINONITRILŮ	21
2.2 PŘÍPRAVA IMINŮ	22
2.3 PŘÍPRAVA 4-HYDROXYPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ONŮ	23
2.4 CHLORACE 4-HYDROXYPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ONŮ	24
2.5 PŘÍPRAVA AZIDOSLOUČENINY 17	25
2.6 TESTOVÁNÍ ANTIMIKROBIÁLNÍ AKTIVITY	26
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	28
2-ETHYLMALONOVÁ KYSELINA (1) ³⁰	28
2-FENYL-2-(FENYLAMINO)PROPANNITRIL (2)	29
2-((2,3-DICHLORFENYL)AMINO)-2,3-DIMETHYLBUTANNITRIL (3)	30
2,4-DIMETHYL-2-(FENYLAMINO)PENTANNITRIL (4)	30
2-(4-ETHYLFENYL)-2-FENYLAMINOPROPANONITRIL (5)	31
<i>N</i> -(4-METHYLPENTAN-2-YLIDEN)ANILIN (6)	32
BIS(2,4,6-TRICHLORFENYL)-2-ETHYLMALONÁT (7)	32
FENYL(1-FENYLETHYLIDEN) AMIN (9)	33
3-BUTYL-4-HYDROXY-1,6-DIFENYLPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ON (10)	33
3.1.1 Metoda A	33
3.1.2 Metoda B	34
4-ETHYL- <i>N</i> -(1-FENYLETHYLIDEN)ANILIN (11)	35
3-BUTYL-1-(4-ETHYLFENYL)-4-HYDROXY-6-FENYLPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ON (12)	35
1-(4-ETHYLFENYL)-4-HYDROXY-3,6-DIFENYLPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ON (13)	36
3-ETHYL-1-(4-ETHYLFENYL)-4-HYDROXY-6-FENYLPYRIDIN-2(<i>1H</i>)-ON (14)	37
3,5-DICHLORO-1-(4-ETHYLFENYL)-3,6-DIFENYLPYRIDIN-2,4(<i>1H,3H</i>)-DION (15)	38

3,5-DICHLORO-3-ETHYL-1-(4-ETHYLFENYL)-6-FENYLPYRIDIN-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-DION (16)	38
3-AZIDO-5-CHLORO-1-(4-ETHYLFENYL)-3,6-DIFENYLPYRIDIN-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-DION (17)	39
3-BUTYL-3,5-DICHLORO-1,6-DIFENYLPYRIDIN-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-DION (18).....	39
ZÁVĚR	40
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	41
SEZNAM OBRÁZKŮ	42
SEZNAM TABULEK	43
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44

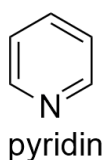
ÚVOD

V současné době jsou jedním z velkých témat ve vědě a zdravotnictví nedostačující účinky antibiotik a také nedostatek léčiv vůči bakteriím, které si na léky, především na antibiotika, vytvořily za léta jejich užívání rezistenci. Nadužíváním antibiotik se rezistence vůči nim v dnešní době rozšiřuje čím dál více a časem tak hrozí neúčinnost všech typů antibiotik. Látky izolované z biologických materiálů, například hub a řas, mají často různé bioaktivní, hlavně antimikrobiální účinky. Proto se mnoho vědeckých studií zabývá syntézou nových heterocyklických sloučenin, které jsou podobné těm obsaženým v biologických materiálech, u nichž lze předpokládat různé biologické účinky. Mezi takovéto heterocyklické sloučeniny se řadí také látky, se skeletem 4-hydroxypyridin-2-onu nebo pyridin-2,4-dionu. U těchto struktur již byly prokázány různé biologické účinky, a to například antibakteriální, insekticidní nebo cytotoxické. Je tedy žádoucí syntetizovat deriváty látek s tímto skeletem, jelikož je zde potenciál bioaktivních účinků, a to zejména antibakteriálních.

I. TEORETICKÁ ČÁST

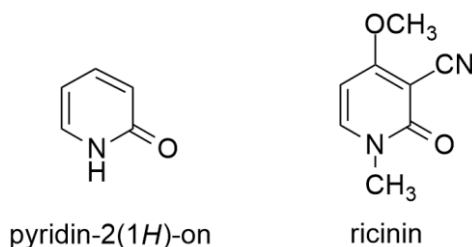
1 PYRIDINY

Pyridiny jsou heterocyklické analogy derivátů benzenu obsahující atom dusíku. Jsou to aromatické sloučeniny s bazičnou povahou. Jsou rozpustné ve vodě a dalších organických rozpouštědlech a tato vlastnost je důvodem, proč se pyridiny využívají k výrobě různých produktů, jako jsou pesticidy, vitamíny a podobně. Jsou také využívány jako prekurzory pro výrobu farmaceutik. Pyridinový motiv je často součástí biologicky aktivních sloučenin vyskytujících se v přírodě. Tyto sloučeniny mohou mít celou řadu biologicky aktivních účinků, mimo jiné také například antimikrobiální aktivitu. Deriváty pyridinu, kterých existuje celá řada, mají také své zajímavé biologicky aktivní účinky¹.



1.1 4-Hydroxy-pyridin-2(1H)-ony

Tyto deriváty pyridinu mají různé biologické účinky od antibakteriálních, insekticidních po cytotoxické. Jako první pyridon byl izolován ricinin Tusonem² v devatenáctém století, a to ze semen skočce obecného (*Ricinus communis*). Struktura byla potvrzena v roce 1904 Maquennem a Philipem, kteří určili skelet ricininu jako substituovaný pyridin-2(1H)-on³.



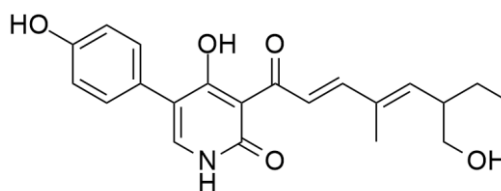
Později ve dvacátém století bylo z přírodních zdrojů izolováno mnoho dalších sloučenin s tímto strukturním motivem. Mezi nimi také tenellin, flavipucin nebo kirromycin⁴.

Bioaktivní látky, které obsahují skelet 4-hydroxy-pyridin-2(1H)-onu, jako jsou antibiotika a další významné alkaloidy, jsou z hlediska jejich struktury členěny do čtyř skupin⁴.

1.1.1 1. skupina

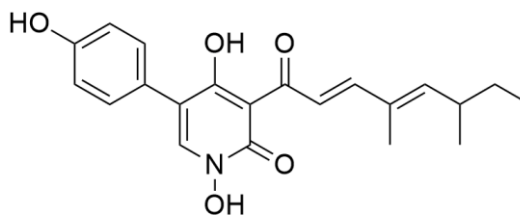
První skupina bioaktivních látek obsahující skelet 4-hydroxy-pyridin-2(1*H*)-onu jsou modifikované 4-hydroxy-3-acylpyridin-2(1*H*)-ony. Také je do této skupiny řazen ricinin. Ricinin je insketidní a hepatotoxický alkaloid, který je obsažen ve všech částech rostliny *Ricinnus communis*, nebo-li skočce obecného⁵. U lidí tento alkaloid způsobuje selhání ledvin a jater a může mít tedy za následek i smrtící otravu.

Pyridovericin je sloučenina, která byla izolována v roce 1998 z entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*. Tato sloučenina působí jako inhibitor tyrosin kinázy. Absolutní konfigurace této látky byla určena v roce 2002⁶.



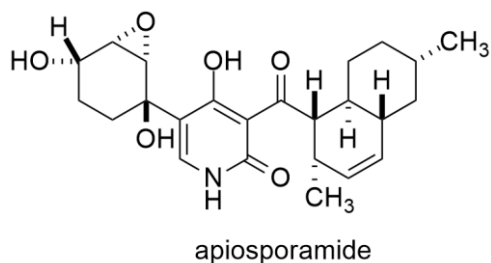
pyridovericin

Další sloučenina, která se řadí do této skupiny je tenellin. Tato sloučenina byla poprvé izolována z houby *Beauveria tenella* v roce 1968. Tenellin se ukázal být inhibitorem ATPázy v buněčných membránách a také jako funkční insekticid⁷.



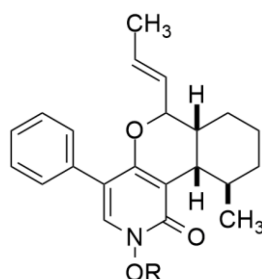
tenellin

Sloučenina Apiosporamide, která byla izolována z houby *Apiospora montagnel* v roce 1994 vykazuje antimikrobiální aktivitu vůči mikroorganismům *Bacillus subtilis* a *Staphylococcus aureus*. Zároveň také antifungální aktivitu vůči houbě *Ascoiboius furfuraceus*⁸.



1.1.2 2. skupina

Tricyklický biaryl Leporin A a Leporin B byl poprvé izolován z *Aspergillus leporis* v roce 1991 a poté i v roce 2003. Leporin A vykazuje insekticidní aktivitu vůči červu, který napadá kukuřici, a to *Helicoverpa zea* a také antimikrobiální aktivitu vůči *Bacillus subtilis*^{9 10}. Zatímco Leporin B je induktorem hexokinázy II (HKII), která indukuje tvorbu genu luciferázy. Tohoto se využívá při bioluminiscenci, kdy se díky bio-značení tkání v nich usnadňuje orientace. Takovéto využití se využívá hojně u pacientů, kteří trpí onkologickým onemocněním, kdy se můžou označit a poté sledovat při magnetické rezonanci jednotlivé napadené tkáně v těle¹¹.

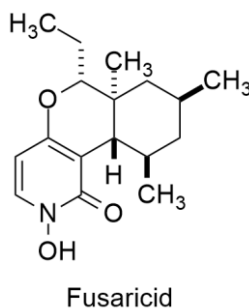


R=CH₃ : Leporin A

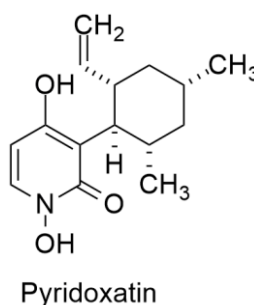
R= H : Leporin B

Fusaricid byl v roce 1996 izolován z plísně *Fusarium sp.* . Vykazuje antivirální aktivitu a také má antimikrobiální aktivitu vůči mikroorganismům *Candida albicans* a *Penicillium*

chrysogenum. Také byla *in vitro* prokázána protinádorová aktivita proti buněčné linii plicního karcinomu M109, nikoliv však *in vivo*¹².



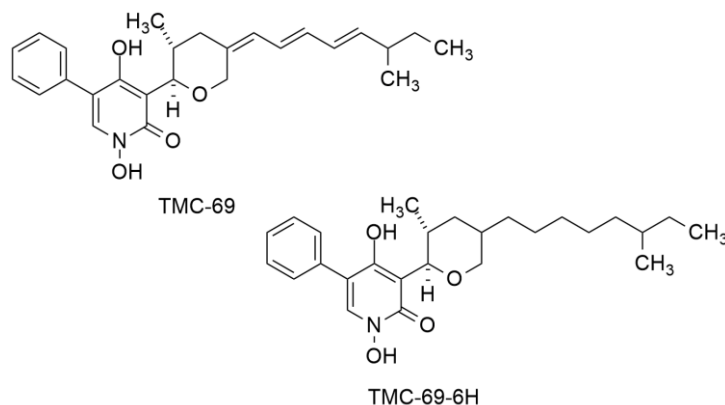
Sloučenina pyridoxatin, která je obsažena v houbě *Acremonium sp.*, vykazuje lepší antioxidační aktivitu, než vitamin E a to až 20krát více¹³.



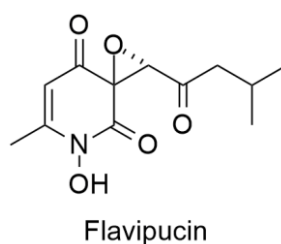
1.1.3 3. skupina

V této skupině látek se nachází několik významných biologicky aktivních alkaloidů.

Sloučenina TMC-69 je látka, která vykazuje slabou cytotoxicitu. Byla izolována z *Chrysosporium sp.* Nicméně je málo stabilní, a proto byla výzkumnou skupinou Kohno a kol. převedena na její stabilní formu TMC-69-6H. Tato sloučenina byla cytotoxická vůči rakovinným buňkám melanomu a leukemii, kdy látka indukovala prolongaci života laboratorních myši, které byly těmito nádorovými buňkami infikovány¹⁴.

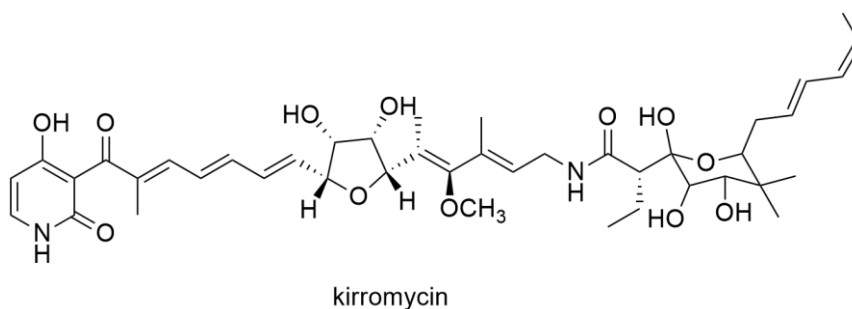


Flavipucin je sloučenina, která vykazuje antibiotickou aktivitu vůči gram negativním a gram pozitivním organismům. Dále vykazuje také fytoxicitu. Předpokládá se, že za tyto bioaktivní vlastnosti je odpovědný spiro-epoxidový motiv, který tato sloučenina obsahuje¹⁵.



1.1.4 4. skupina

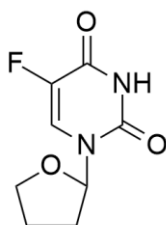
Tato skupina antibiotických látek je zatím málo prozkoumána. Mají totiž špatnou rozpustnost a tato skutečnost zabraňuje těmto látkám být využívány jako terapeutika. Tyto látky působí na elongační faktor EF-Tu, který působí na buněčné ribosomy. Tento faktor umožňuje ribozomům jejich přenos při translaci podél mRNA vlákna. Určitý druh antibiotik funguje tak, že se vážou právě na ribosomy, nicméně tyto typy antibiotik fungují tak, že se zaměřují přímo na elongační faktor¹⁶. Jedna z látek, které se řadí do této skupiny je kirromycin.



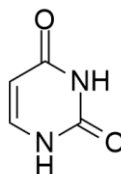
1.2 Pyridin-2,4-diony

Sloučeniny se skeletem pyridin-2,4-dionu jsou součástí mnoha významných látek. Například je to základní motiv pro dvě nukleové báze. A to pro uracil a thymin.

Uracil je jedna ze čtyř nukleových bází tvořící nukleovou kyselinu RNA. Další tři jsou adenin, cytosin a guanin. V RNA se uracil páruje s komplementární bází adeninem, kdy spolu tvoří dvě vodíkové vazby. Uracil se používá i jako chemoterapeutikum v kombinaci s proléčivem Tegafur, kdy se podává jako léčivo při rakovině střeva¹⁷.

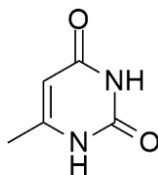


Tegafur



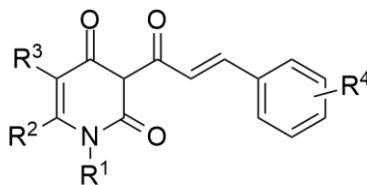
Uracil

Tento skelet je součástí i další nukleové báze a to thyminu. Tato nukleová báze je jedna ze čtyř, které jsou obsaženy v nukleové kyselině DNA, společně s adeninem, guaninem a cytosinem. V DNA thymin vytváří komplementární pár s bází adeninem, se kterými se stejně jako uracil spojuje dvěma vodíkovými můstky. Thymin nahrazuje uracil v RNA a naopak.



Thymin

Existuje nespočet látek obsahující skelet pyridin-2,4-dionu, které mají rozličné bioaktivní nebo terapeutické účinky. Existují také analogy chalkonů s tímto motivem, které vykazují cytotoxickou aktivitu například vůči lidskému jaternímu, nebo prsnímu karcinomu, tyto poznatky byly prováděny *in vitro* na buněčných liniích¹⁸.



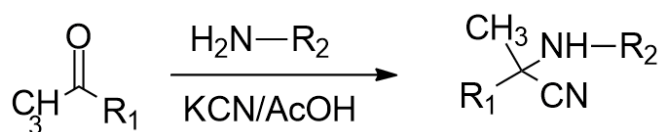
Analog chalkonu s motivem pyridin-2,4-dionu

1.3 Metody příprav 4-hydroxypyridin-2(1H)-onů

Metody příprav 4-hydroxypyridin-2-onů jsou různé a existuje množství postupů. Obecný postup je jejich příprava pomocí odpovídajících 4-hydroxy-2-pyranonů, které reagují s amoniakem, či primárním aminem za vzniku 4-hydroxypyridon-2-onu^{19,20}. Další možnost, jak syntetizovat tyto sloučeniny jsou postupy, které vycházejí z reakce iminů, nebo jejich tautomerů enamínů, společně s deriváty kyseliny malonové. Často se využívá reaktivnějších derivátů kyseliny malonové, jako jsou malonylchlorid²¹, nebo bis(2,4,6-trichlorfenyl)- ester kyseliny malonové. Tyto jsou označovány jako kouzelné malonáty²². Kondenzace iminů s esterem kyseliny fenyl-malonové za získání 4-hydroxypyridin-2(1H)-onů provedl mezi prvními Kappe a kol²³. Tento postup se ukázal jako efektivní, díky dostatečné reaktivitě takzvaných kouzelných malonátů.

1.4 Syntéza α -aminonitrilů

Příprava α -aminonitrilů je klíčová pro syntézu iminů nepřímou cestou. Tyto α -aminonitrily jsou významné meziprodukty pro další organické syntézy, nebo jako intermediáty pro syntézu různých typů léčiv²⁴. Existuje několik typů reakcí, kterými lze tyto sloučeniny připravit, a to například pomocí reakce Streckerova typu, nebo α -kyanace²⁵. V Streckerově reakci dochází ke kondenzaci amoniaku s aldehydem, kdy se vytvoří imin. Poté dochází k nukleofilní adici kyanidu na uhlík iminu, což má za následek tvorbu α -aminonitrilu. Reakce probíhá v kyselém prostředí a kyanovodík je generován *in situ* díky přítomnosti kyanidové soli²⁶.

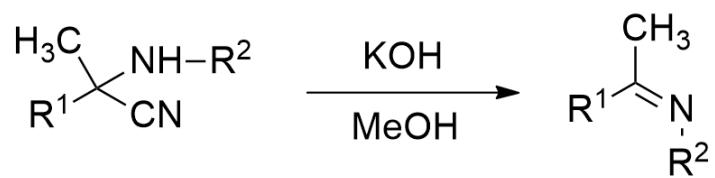


Reakce Streckerova typu

Tyto dva postupy jsou nejvíce využívány, pro jejich jednoduchost a nízké náklady. Ovšem je snaha nacházet nové postupy, které by nezahrnovaly toxické sloučeniny, nebo drahé katalyzátory^{27,28}.

1.5 Syntéza iminů

Některé iminy lze připravovat přes intermediát Streckerova typu, tedy α -aminonitril. Druhý stupeň této reakce spočívá v tom, že dochází k eliminaci kyanovodíku pomocí hydroxidu draselného v methanolu za vzniku příslušného iminu. Při této reakci nevznikají žádné vedlejší produkty a imin, bez potřeby destilace, je analyticky čistý. Pro sérii α -aminonitrilů, kdy z nich byly připraveny iminy, jsou v literatuře uvedeny uspokojivé výtěžky v rozmezí 85 do 98 %²⁹.



Příprava iminů přes intermediát Streckerova typu

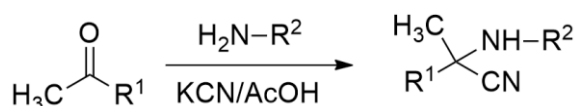
II. PRAKTICKÁ ČÁST

2 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem této práce bylo připravit alespoň dva deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu známým postupem²⁹, a to kondenzací bis(2,4,6-trichlorfenyl)esterů substituované kyseliny malonové s anily methylketonů připravenými eliminací kyanovodíku z odpovídajících α -aminonitrilů, a provést reakci se sulfurylchloridem, nebo jiným halogenačním činidlem. Dále bylo cílem studovat reakce získaných halogenderivátů s nukleofilním činidlem, a to zejména s azidem sodným, a izolovat produkty. Dále byl proveden test na antimikrobiální aktivitu u vybraných α -aminonitrilů.



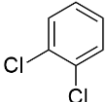


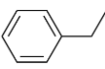
2.1 Příprava α -aminonitrilů

Pro přípravu příslušných α -aminonitrilů byla zvolena známá metoda²⁹ spočívající v reakci ketonů s primárním aromatickým aminem a kyanovodíkem. (Obrázek 1). Připravené α -aminonitrily a jejich výtěžky jsou uvedeny v Tabulce 1.



2-5

Obrázek 1 Příprava α -aminonitrilů

R ¹	R ²	Sloučenina, výtěžek
		2, 93 %
<i>i</i> -Pr		3, 1,5 %
<i>i</i> -Bu		4, 75 %
		5, 93 %

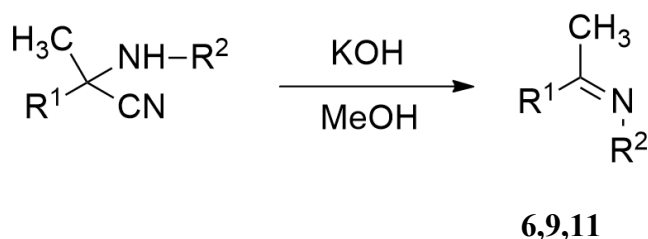
Sustituenty R¹ a R² korespondují s Obrázkem 1.

Tabulka 1 Přehled připravených α -aminonitrilů a jejich výtěžků




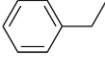

Struktura sloučenin **2-5** byla potvrzena NMR spektry. V jejich IČ spektrech je přítomen velmi slabý absorpční pás v oblasti 2227 až 2233 cm^{-1} , tj v oblasti, v níž je očekávaný vlnočet valenční vibrace kyanskupiny.

2.2 Příprava iminů

Příslušné iminy byly připravovány α -aminonitrilů účinkem hydroxidu draselného v methanolu za varu. Za těchto podmínek byl z α -aminonitrilů eliminován kyanovodík za vzniku iminů (**Obrázek 2**), které byly následně izolovány jednoduchým extrakčním postupem. Takto získané iminy byly dostatečně čisté a nemusely být destilovány. Struktura těchto iminů byla potvrzena pomocí NMR spekter. Imin **9**, byl popsán již dříve, jeho ^1H -NMR spektrum uvedené v literatuře³⁰ je shodné se spektrem mého preparátu.



Obrázek 2 Příprava iminů

R ¹	R ²	Sloučenina, výtěžek
		9 , 91 %
		11 , 91 %
<i>i</i> -Bu		6

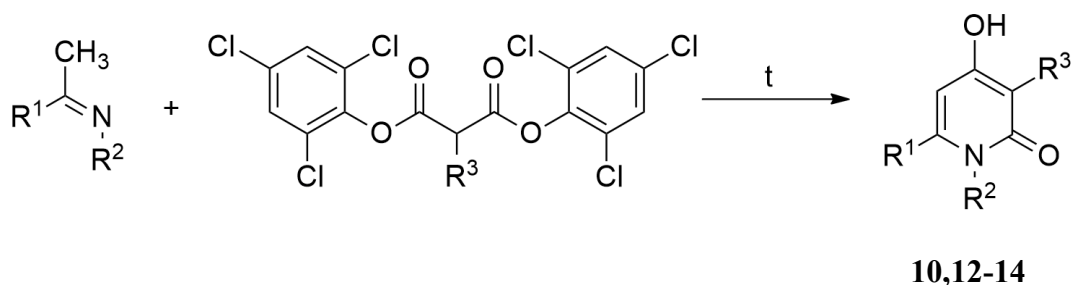
Sustituenty R¹ a R² korespondují s Obrázkem 2.

Tabulka 2 Přehled připravených iminů a jejich výtěžky

Při pokusu o přípravu sloučeniny **6** uvedeným postupem byla získána kapalina, která podle ^1H -NMR byla směs obsahující výchozí látku.

2.3 Příprava 4-hydroxypyridin-2(1H)-onů

4-Hydroxypyridin-2-ony byly připraveny reakcemi iminů **9** a **11** s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-estery kyseliny malonové.



Obrázek 3 Příprava 4-hydroxypyridin-2(1H)-onů

Jako první byla připravena kyselina 2-ethylmalonová (**1**). Postup její přípravy je uveden v experimentální části. Kyselina 2-ethylmalonová byla následně známým postupem³¹ převedena na bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-ethylmalonát, jehož struktura potvrzena ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektry. Dále byly k syntézám využity bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-fenylmalonát a bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-butylmalonát, které byly k dispozici v laboratoři.




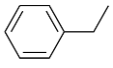
4-Hydroxypyridin-2-ony byly připravovány dvěma metodami, jednak s konvenčním (metoda A), jednak s mikrovlnným (metoda B) ohřevem reakční směsi. Metoda B byla efektivnější a komfortnější než metoda A.

R ¹	R ²	R ³	Sloučenina, výtěžek
		Bu	10 , 24 %
			13 , 69 %, 74 %
		Et	14 , 45 %

Sustituenty R¹, R² a R³ korespondují s Obrázkem 3.

Tabulka 3 Připravené deriváty 4-hydroxypyridin-2(1H)-onu Metodou A

Pro efektivní přípravu hydroxypyridonů metodou B bylo třeba nejprve optimalizovat reakční podmínky. Podmínky byly optimalizovány pro přípravu hydroxypyridonu **10** a optimální podmínky pak byly uplatněny při přípravě hydroxypyridonu **12**. Výsledky pokusů provedených k optimalizaci reakčních podmínek jsou shrnuty v tabulce v experimentální části.

R ¹	R ²	R ³	Sloučenina (%)
		Bu	Sloučenina 10
		Bu	Sloučenina 12

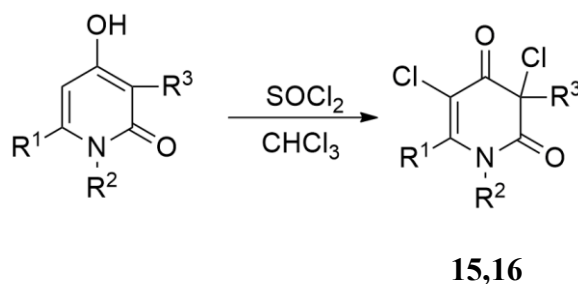
Sstituenty R¹, R² a R³ korespondují s Obrázkem 3.

Tabulka 4 Připravené deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu metodou B


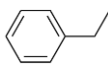


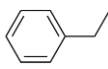
Byly připraveny celkem čtyři 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-ony, které zatím v literatuře uvedeny nebyly. Jejich struktury byly potvrzeny ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektry a elementární analýzou byla potvrzena poměrná zastoupení uhlíku, vodíku a dusíku v jejich složení.

2.4 Chlorace 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onů

Pro převedení 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onů na odpovídající 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-diony byl zvolen popsáný²⁹ postup spočívající v reakci výchozích sloučenin s chloridem sulfurylu v chloroformu. Tímto způsobem byly z hydroxypyridonů **13** a **14** připraveny dosud nepopsané 3,5-dichlorpyridin-2,4-diony **15** a **16**. Jejich struktury byly potvrzeny ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektry. Elementární složení sloučeniny **15** bylo potvrzeno elementární analýzou.



Obrázek 4 Příprava 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů

R ¹	R ²	R ³	Sloučenina, výtěžek
			15 , 66 %
		Et	16 , 24 %; 36 %

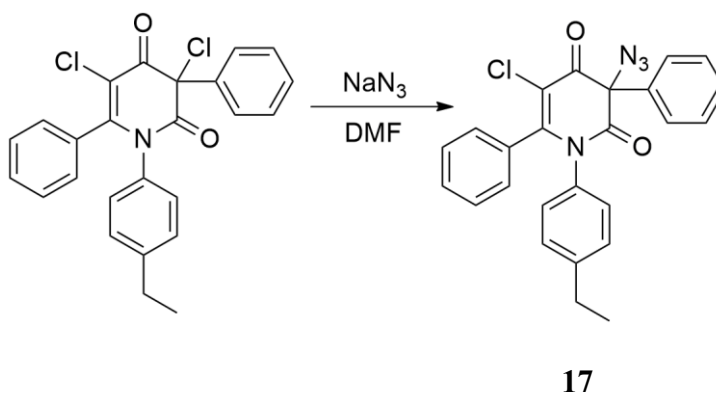
Sustituenty R¹, R² a R³ korespondují s Obrázkem 4.

Tabulka 5 Připravené 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-diony a jejich výtěžky

2.5 Příprava azidosloučeniny 17

Za použití azidu sodného v *N,N*-dimethylformamidu byla z 3,5-dichlorpyridin-2,4-dionu **15** mechanismem nukleofilní substituce připravena azidosloučenina **17** – atom chloru v poloze 3 výchozí sloučeniny byl nahrazen azidoskupinou. Podle očekávání atom chloru v poloze 5 zůstal.

Struktura sloučeniny **17** byla potvrzena ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektry a elementární analýzou bylo potvrzeno její složení. IČ spektrum sloučeniny **17** vykazuje charakteristický absorpční pás azidoskupiny při 2116 cm⁻¹.



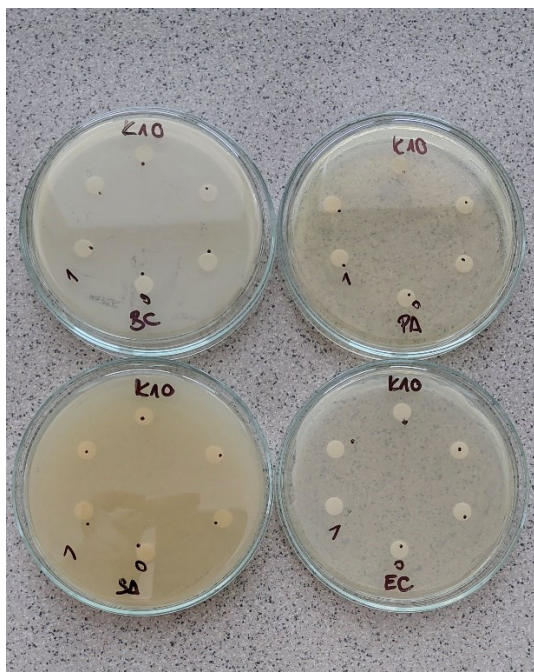
Obrázek 5 Příprava 3-azido-5-chloro-1-(4-ethylfenyl)-3,6-difenylpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu

2.6 Testování antimikrobiální aktivity

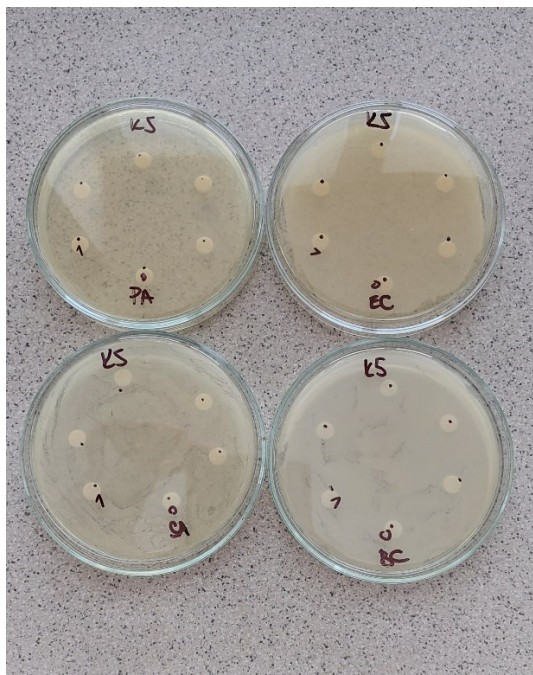
Testování antimikrobiální aktivity bylo prováděno na ÚIOŽP Fakulty technologické UTB pod vedením prof. RNDr. Leony Buňkové, Ph.D.

Testovány byly celkem tři α -aminonitrily a to sloučeniny **2,4** a **5**. Testování bylo provedeno pomocí diskového difúzního testu na celkem 4 mikroorganismech, a to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus cereus*. Jelikož byly již známy některé aminonitrily, které vykazovaly antimikrobiální aktivitu vůči těmto mikroorganismům, bylo za hodno to zkusit i u těchto sloučenin^{32,33}.

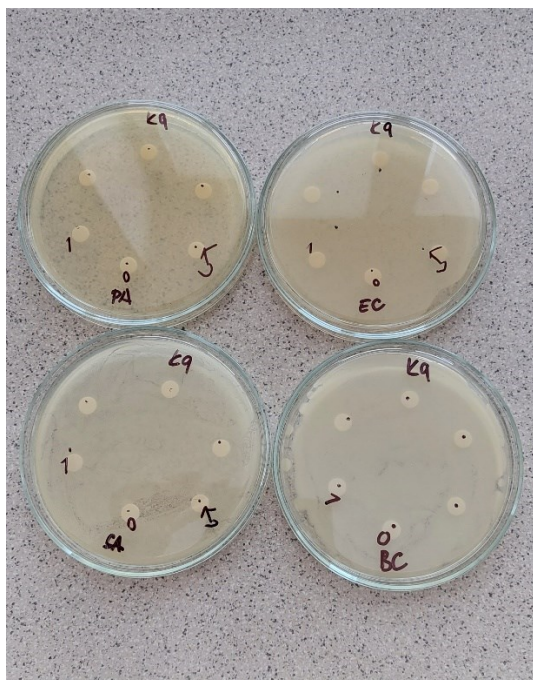
Vždy bylo testováno celkem pět koncentrací u každé sloučeniny na každém mikroorganismu, a to v rozmezí 100-500 $\mu\text{g/ml}$. Kolonie bakterií byly naředěny na 0,5 stupně turbidity McFarland. Vzniklá suspenze byla pipetována na Müller-Hintonův agar o objemu suspenze 100 μl . Poté byly nanесeny disky na půdu pomocí aplikátoru a na každý disk bylo napipetováno 10 μl inhibiční látky. Inkubace probíhala při 30 °C v inkubátoru po dobu 24 hodin. Po uplynutí inkubační doby byly odečítány jednotlivé inhibiční zóny. Bohužel ani jedna z látek při těchto koncentracích nevykazovala inhibiční antimikrobiální aktivitu.



Obrázek 6 Testování antimikrobiální aktivity sloučeniny 5



Obrázek 7 Testování antimikrobiální aktivity sloučeniny 2



Obrázek 8 Testování antimikrobiální aktivity sloučeniny 4

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

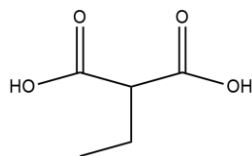
Rozpouštědla s činidly byly zakoupeny z běžných komerčních zdrojů. Pro sloupcovou chromatografii byl používán silikagel značky Fluka Silica gel 60, 220-240 mesh s velikostí částic 35-57 μ , o velikosti pórů 60 Å. Pro TLC chromatografii byly využity komerční hliníkové destičky s nanesenou vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel), který byl opatřen fluorescenčním indikátorem pro UV 254 nm. Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku.

Infračervená spektra byla měřená na FT-IR spektrometru Alpha (Brucker Optic GmbH Ettlingen, Germany) technikou ATR.

NMR spektra byla měřena na spektrometru JEOL ECZ400R/S3 při frekvenci 400 MHz u $^1\text{H-NMR}$ a 126 MHz u $^{13}\text{C-NMR}$ při teplotě 30 °C. Chemické posuny signálů ve spektrech jsou uváděny v jednotkách ppm. Jako interní standardy v $^1\text{H-NMR}$ spektrech byly využity residuální signál rozpouštědla DMSO- d_6 s chemickým posunem δ 2,50 ppm a residuální signál rozpouštědla CDCl_3 s chemickým posunem δ 7,26 ppm. U $^{13}\text{C-NMR}$ spekter byla kalibrace prováděna na signál DMSO- d_6 s chemickým posunem δ 39,52 ppm, nebo na signál rozpouštědla CDCl_3 s chemickým posunem δ 77,16 ppm. Multiplicity signálů jsou uváděny zkratkami, a to s (singlet), d (dublet), dd(dublet dubletu), t (triplet), td (triplet dubletu), m (multiplet), br s (široký signál). Je-li uvedeno přiřazení signálů ve $^{13}\text{C-NMR}$ spektrech, bylo v nich i v $^1\text{H-NMR}$ spektrech provedeno pomocí 2D a případně DEPT-135 spekter. V označování DEPT-135 spekter je signál s nejnižším posunem označován kladně (+), signály poté kladně (+) nebo záporně (-) dle jejich fáze.

Reakce za využití mikrovlnného reaktoru byly provedeny na přístroji CEM Discover.

2-Ethylmalonová kyselina (1) ³¹

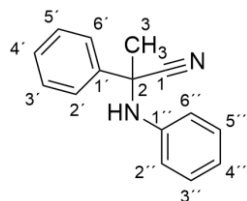


Byly připraveny dva roztoky. Roztok KOH (6,54 g; 116 mmol) v ethanolu (35 ml) a roztok diethyl-2-ethylmalonátu (9,53 g; 50 mmol) v ethanolu (35 ml). První z uvedených roztoků byl během 1 hodiny po malých částech za míchání přidán ke druhému z nich. Reakční směs byla dále míchána ještě přes noc a poté byla ponechána 7 dní v klidu. Vzniklá bílá sraženina byla rozpuštěna přidáním 20 ml destilované vody. Roztok byl zahuštěn ve vakuu na hmotnost 20 až 30 g a vytřepán diethyletherem (3 \times 10 ml). Vodná fáze byla ochlazená v mrazicím boxu a následně byla okyselena do zřetelně kyselé reakce na univerzální indikátorový papír postupným

přidáním koncentrované HCl (8 ml) za protřepávání, přičemž byla její teplota udržována pod 15 °C pomocí ledové lázně. Vyloučená sůl (KCl) byla rozpuštěna přidáním 10 ml destilované vody. Roztok byl poté vytřepán diethyletherem (5 × 10 ml). Z organické fáze bylo po vysušení (Na₂SO₄) a filtraci přes skládaný filtr do předem zvážené baňky ve vakuu na rotační odparce odpařeno rozpouštědlo, čímž bylo získáno 6,31 g (95%) sloučeniny **1** s teplotou tání 101-109 °C. V literatuře³⁴ je uvedena t.t. 108-110 °C.

IČ spektrum (ATR, cm⁻¹): 2979 (w), 2942 (w), 2883 (w), 1696 (s), 1416 (w), 1296 (m), 1266 (m), 1229 (m), 1199 (m), 1091 (w), 911 (m), 780 (m), 671 (w), 503 (w), 454 (w).

2-Fenyl-2-(fenylamino)propanitril (**2**)



Acetofenon (12,32 g; 100 mmol) byl smíchán s kyselinou octovou (45 ml) a anilinem (10,33 g; 110 mmol). Směs byla ochlazená v ledové lázni pod 10 °C a za míchání byl přidán KCN (9,34 g; 140 mmol) po malých dávkách tak, aby teplota nepřesáhla 10 °C. Směs pak byla v uzavřené baňce bez chlazení míchána přes noc. Vzniklá hustá směs byla zředěna 80 ml vody a zfiltrována přes fritu. Filtrační koláč byl promyt 150 ml vody a 100 ml petroletheru. Filtrační koláč byl nechán vyschnout v digestoři do konstantní hmotnosti. Tímto bylo získáno 21,24 g (93 %) sloučeniny **2** s teplotou tání 166-168 °C. V literatuře³⁵ je uvedena teplota tání 158-160 °C.

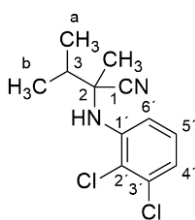
IČ spektrum (ATR, cm⁻¹): 3385 (w), 2989 (w), 2227 (w), 1598 (m), 1510 (m), 1488 (m), 1368 (w), 1312 (m), 1259 (m), 1218 (m), 1075 (w), 862 (w), 746 (s), 691 (s), 509 (m).

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,95 (s, 3H, H-3), 4,28 (s, 1H, NH), 6,53–6,58 (m, 2H, H-2'', H-w6''), 6,81 (tt, 1H, *J* = 7,4, 1,0 Hz, H-4''), 7,09-7,15 (m, 2H, H-3'', H-5''), 7,35 (tt, 3H, *J* = 6,7, 1,8 Hz, H-4'), 7,38-7,44 (m, 2H, H-3', H-5'), 7,61-7,66 (m, 2H, H-2', H-6').

DEPT-135 NMR (CDCl₃) δ 33,3 (+), 115,8 (+), 119,9 (+), 124,8 (+), 128,5 (+), 128,9 (+), 129,1 (+).

NMR spektra jsou ve velmi dobré shodě se spektry uvedenými v literatuře³⁶.

2-((2,3-Dichlorfenyl)amino)-2,3-dimethylbutannitril (3)

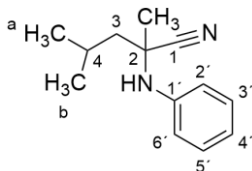


3-Methylbutan-2-on (4,42 g; 50 mmol) byl smíchán s 2,3-dichloranilinem (9,09 g; 55 mmol) a kyselinou octovou (22 ml). Směs byla míchána a chlazená v ledové lázni pod 10 °C. Po ustálení teploty byl přidáván KCN (4,66 g; 70 mmol) po malých přídavicích tak, aby teplota nepřesáhla 10 °C (45 min). Poté byla směs vytemperována na pokojovou teplotu a ponechána míchat přes noc. Ke směsi bylo přidáno 40 ml vody s ledem a směs byla zfiltrována přes fritu. Na fritě nebyla zachycena žádná pevná fáze. Filtrát tvořený bezbarvou horní vodnou fází a dolní hnědou olejovitou fází byl vytřepán petroletherem (50 ml) a extrakt byl promyt vodou (2 × 40 ml). Vodná fáze byla vytřepána petroletherem (20 ml). Spojená organická fáze vykazovala na TLC (PE – EtOAc 10:1) dvě skvrny, z nichž jedna odpovídala výchozímu dichloranilinu a její ochlazení v mrazicím boxu nevedlo k vyloučení krystalů, ale vyloučila se těžká hnědá kapalná fáze. Vytemperováním na teplotu místnosti byla organická fáze zhomogenizována, načež byla sušena (Na₂SO₄), zfiltrována do zvážené odpařovací baňky a ve vakuu na rotační odparce byly odpařeny těkavé látky. Z odparku byla chromatografií na sloupci silikagelu (15 g, PE – EtOAc 19:1) izolována kapalná sloučenina **3** čistá podle TLC (*R_f* 0,75, PE – EtOAc 10:1), 213 mg (42 %).

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,10 (d, 3H, *J* = 6,8 Hz, CH₃-3-a), 1,25 (d, 3H, *J* = 6,8 Hz, CH₃-3-b), 1,62 (s, 3H, CH₃-2), 3,32 (qq, 1H, *J* = 6,8, 6,8 Hz, H-3), 4,56 (s, 1H, NH), 6,92–6,97 (m, H-5'), 7,10–7,16 (m, 2H, H-4', H-6').

¹³C NMR (CDCl₃) δ 16,5 (CH₃-3-a), 17,8 (CH₃-3-b), 21,7 ((CH₃-2), 36,1 (C-3), 56,7 (C-2), 112,7 (C-6'), 119,4 (C-2'), 120,5 (C-5'), 120,5 (CN), 127,7 (C-4'), 133,5 (C-3'), 141,8 (C-1').

2,4-Dimethyl-2-(fenylamino)pentannitril (4)



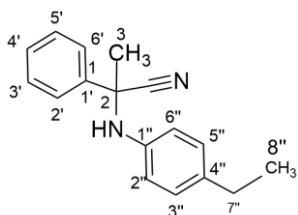
Isobutyl methyl keton (10,06 g; 100 mmol) byl smíchán s kyselinou octovou (45 ml) a anilinem (10,13 g; 110 mmol). Směs byla míchána ochlazená v ledové lázni pod 10 °C a za míchání byl po malých dávkách přidán KCN (9,13 g; 140 mmol) tak, aby teplota nepřesáhla 10 °C (45 min). Směs pak byla bez chlazení nechána míchat v uzavřené baňce přes noc. Vzniklá hustá suspenze byla zředěna 80 ml vody a zfiltrována přes fritu. Filtrační koláč byl promyt 150 ml vody a 100 ml petroletheru a pak nechán vyschnout v digestoři do konstantní hmotnosti. Tímto bylo získáno 15,27 g (75 %) sloučeniny **4** s teplotou tání 45–48 °C. V literatuře uveden bod tání 52–53 °C^{37,38}.

IČ spektrum (ATR, cm^{-1}): 3351 (m), 2954 (w), 2232 (w), 1600 (m), 1524 (m), 1497 (m), 1381 (w), 1362 (w), 1316 (m), 1254 (m), 1176 (m), 880 (w), 745 (s), 695 (s), 514 (m)

Pro $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2$ (202,15): vypočteno: 77,17 % C, 8,91 % H, 13,85 % N

nalezeno: 76,44 % C, 9,08 % H, 13,87 % N

2-(4-Ethylfenyl)-2-fenylaminopropanonitril (5)



Acetofenon (12,20 g; 100 mmol) byl smíchán s kyselinou octovou (45 ml) a anilinem (13,64 g; 110 mmol). Směs byla ochlazena v ledové lázni pod $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a za stálého míchání byl po malých dávkách přidán KCN (9,53 g; 140 mmol) tak, aby teplota nepřesáhla $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Směs pak byla bez chlazení nechána míchat v uzavřené baňce přes noc. Vzniklá hustá suspenze byla zředěna 80 ml vody a zfiltrována přes fritu. Filtrační koláč byl promyt postupně 150 ml vody a 100 ml petroletheru a nechán vyschnout v digestoři do konstantní hmotnosti, čímž bylo získáno 23,75 g (93 %) sloučeniny **5** s teplotou tání $149\text{-}153\text{ }^{\circ}\text{C}$.

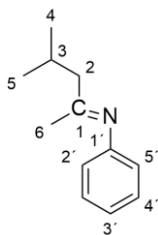
IČ spektrum (ATR, cm^{-1}): 3388 (m), 2960 (w), 2228 (w), 1617 (m), 1518 (s), 1370 (w), 1304 (m), 1264 (m), 1218 (m), 1170 (w), 912 (w), 813 (s), 761 (m), 695 (s), 509 (m)

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,16 (t, 3H, $\text{CH}_3\text{-}8''$), 1,93 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-}3$), 2,52 (q, 2H, $\text{CH}_2\text{-}7''$), 4,18 (s, 1H, NH), 6,50 (d, 2H, $3'',5''$), 6,96 (d, 2H, $2'',6''$), 7,43-7,34 (m, 3H, $3',4',5'$), 7,65 (d, 2H, $2',6'$)

DEPT-135 NMR (CDCl_3) δ 15,62 (+), 27,97 (-), 33,37 (+), 116,26 (+), 125,06 (+), 128,43 (+), 129,26 (+)

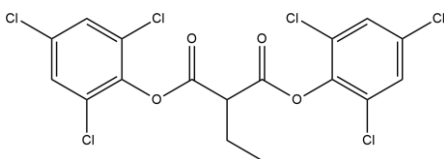
Pro $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2 \cdot 0,13\text{ H}_2\text{O}$ (250,15): vypočteno 80,81 % C, 7,28 % H, 11,09 % N

nalezeno: 80,73 % C, 7,11 % H, 11,22 % N

N-(4-Methylpentan-2-yliden)anilin (6)

Roztok hydroxidu draselného (2,97 g; 53 mmol) v methanolu (25 ml) methanolu (25 ml) byl po několika dávkách přidán přes zpětný chladič k vařící suspenzi aminonitrilu **4** (7,07 g; 35 mmol) v methanolu (43 ml). Směs pak byla vařena pod zpětným chladičem ještě 1 hodinu. Poté byla vytemperována na teplotu místnosti a nalita do vody s ledem (75 ml). Vzniklý roztok byl vytřepán 5 × 25 ml petroletheru, organická fáze byla promyta 3 × 25 ml vody a sušena (Na₂SO₄). Po vysušení byl roztok zfiltrován přes skládaný filtr do předem zvažené odpařovací baňky a ve vakuu na rotační odparce z něj bylo odpařeno rozpouštědlo. Tímto bylo získáno 5,68 g sloučeniny **6** (93%).

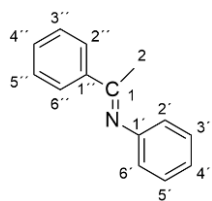
IČ spektrum (ATR, cm⁻¹): 3061 (w), 3029 (w), 2956 (m), 2870 (w), 1656 (m), 1594 (m), 1484 (m), 1366 (m), 1253 (w), 1188 (w), 1168 (w), 1071 (w), 900 (w), 745 (s), 696 (s), 514 (w).

Bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-ethylmalonát (7)

Kyselina ethylmalonová **1** (6,31 g; 48 mmol) byla smíchána s trichlorfenolem (16,16 g; 83 mmol). Do této směsi byl poté po částech přidán chlorid fosforylu (15,30 g; 100 mmol). Reakční směs byla následně zahřívána na vroucí vodní lázni pod zpětným chladičem opatřeným sušicí trubicí s vatou, až téměř ustal vývoj chlorovodíku sledovaný pomocí vlhkého indikátorového papíru (7 hodin). Po vychladnutí byla vzniklá viskózní směs nalita do vody s ledem (200 g). Po roztání ledu byl k vytvořené suspenzi přidán toluen (100 ml), čímž se pevná fáze rozpustila. Organická fáze byla vytřepávána 6% roztokem NaHCO₃, dokud vodná fáze z protřepávání nezůstala zřetelně alkalická. Původní vodná fáze byla vytřepána toluenem (10 ml) a extrakt byl rovněž vytřepáván 6% roztokem NaHCO₃, dokud vodná fáze z protřepávání nezůstala zřetelně alkalická. Organické fáze byly spojeny a sušeny (Na₂SO₄). Z roztoku odfiltrovaného ze sušidla přes skládaný filtr odpařovací baňky bylo ve vakuu na rotační odparce odpařeno rozpouštědlo. Viskózní odparek byl suspendován v malém množství hexanu. Pevná fáze byla odsáta a nechána vyschnout na vzduchu při teplotě místnosti. Tímto bylo získáno 18,2 g (88%) sloučeniny **7** s teplotou tání 90-96 °C. V literatuře se uvádí teplota tání 101-102 °C³⁹.

IČ spektrum (ATR, cm⁻¹): 3083 (w), 2979 (w), 1794 (m), 1562 (m), 1445 (m), 1358 (m), 1289 (w), 1235 (m), 1114 (m), 1072 (m), 943 (w), 856 (s), 820 (m), 561 (w), 430 (w)

Fenyl(1-fenylethyliden) amin (9)



V methanolu (25 ml) byl rozpuštěn hydroxid draselný (3,10 g; 55 mmol). Tento roztok byl poté přes chladič přidán k vařící suspenzi aminonitrilu **2** (7,43 g; 33 mmol) v methanolu (45 ml). Směs byla vařena pod zpětným chladičem ještě 1 hodinu, načež byla vytemperována na teplotu místnosti a vylita do vody s ledem (75 ml). Směs byla vytřepána 5 × 25 ml petroletheru a organická fáze byla poté znovu vytřepána 3 × 25 ml vody. Vyloučené krystaly z organické fáze byly odsáty na fritě a identifikovány jako výchozí nitril **2** (0,115 g; 1,8 %). Matečný louh byl sušen (Na₂SO₄), zfiltrován přes skládaný filtr do předem zvážené odpařovací baňky a ve vakuu na rotační odparce z něj bylo odpařeno rozpouštědlo. Odparek byl identifikován jako imin **9** (5,93 g; 91%), teplota tání 37-41 °C.

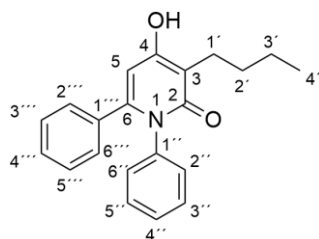
¹H NMR (CDCl₃) δ 1,10 (d, 3H, *J* = 6,8 Hz, CH₃-3-a), 1,25 (d, 3H, *J* = 6,8 Hz, CH₃-3-b), 1,62 (s, 3H, CH₃-2), 3,32 (qq, 1H, *J* = 6,8, 6,8 Hz, H-3), 4,56 (s, 1H, NH), 6,92–6,97 (m, H-5'), 7,10–7,16 (m, 2H, H-4', H-6').

NMR spektrum je shodné se spektrem uvedené v literatuře³⁰.

IČ: 3384 (w), 3052 (w), 3026 (w), 1750 (w), 1623 (m), 1589 (m), 1574 (m), 1445 (m), 1211 (m), 1165 (m), 1074 (m), 810 (w), 759 (s), 732 (m), 690 (s), 571 (m), 527 (w)

3-butyl-4-hydroxy-1,6-difenylpyridin-2(1H)-on (10)

3.1.1 Metoda A



Směs daného iminu **9** (0,9667 g; 5 mmol) a bis(2,4,6-trichlorfenyl) 2-butylmalonátu (2,5786 g; 5 mmol) byla v baňce, která byla opatřena přívodem argonu do reakční směsi, zahřívána do kompletního rozpuštění. Poté byla směs zahřívána na kovové lázni po dobu 15 minut v rozmezí teploty 230-245 °C. Po uplynutí reakční doby byla směs v baňce vytemperována na pokojovou teplotu. Po vychladnutí byla ztuhlá směs rozmíchána v diethyletheru (3 ml). Vyloučila se bílá látka, která byla zfiltrována na fritě. Po krystalizaci v ethanolu bylo získáno 0,3739 g (24 %) bílé sloučeniny **10a** s bodem tání 244-267°C.

IČ: 3061 (w), 2956 (w), 2919 (w), 2643 (w), 1632 (m), 1585 (m), 1544 (s), 1399 (s), 1265 (m), 1130 (m), 919 (w), 761 (m), 697 (s), 660 (w), 580 (m), 504 (w)

3.1.2 Metoda B

Byla provedena série pokusů se snahou dosáhnout nejvyššího výtěžku reakce, vždy při výkonu 200W.

Teplota (°C)	Čas (min)	Výtěžek
150	15	0,022 g (22 %)
230	15	0,067 g (67 %)
200	10	0,075 g (75 %)
200	13	0,065 g (65 %)
200	8	0,078 (78 %)

Tabulka 6 Reakční podmínky s výtěžky pro sérii optimalizačních pokusů při přípravě 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu **10** za využití mikrovlnného ohřevu

Po optimalizaci metody byla snaha připravit co nejvíce této sloučeniny za využití mikrovlnného reaktoru. Zpracování reakční směsi bylo prováděno stejně, jako u konvenční metody. Byla připravena sloučenina **10b** s bodem tání 243-261 °C.

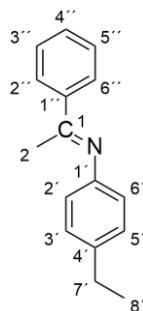
IČ: 2921 (w), 2650 (w), 1633 (m), 1586 (m), 1544 (s), 1488 (w), 1400 (s), 1305 (w), 1265 (m), 1130 (m), 1074 (w), 921 (w), 844 (w), 759 (w), 697 (s), 660 (w), 580 (m), 504 (w)

¹H NMR (DMSO-d₆) δ 0,9 (t, 3H, 4'), 1,28-1,48 (m, 4H, 2',3'), 2,43 (t, 2H, 1'), 5,98 (s, 1H, 5), 7,04-7,23 (m, 10H, 2''-6'';2'''-6'''), 10,32 (s, 1H, OH)

¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 139,90 (C-4'), 22,36 (C-2'), 23,05 (C-3'), 29,99 (C-1'), 101,24 (C-5), 109,87 (C-3), 127,15 (C-4''), 127,7 (C-3'';5'), 128,02 (C-6'';2'')128,05 (C-4'''), 128,75 (C-3''' ;5'''), 129,66 (C-6''' ;2'''), 135,65 (C-1''), 139,21 (C-1''), 146,21 (C-6), 161,31 (C-2), 163,56 (C-4)

Pro C₂₁H₂₁NO₂·¹/₂ H₂O (319,16): vypočteno 76,80 % C, 6,75 % H, 4,27 % N
naměřeno: 76,60 % C, 6,46 % H, 4,23 % N

4-ethyl-*N*-(1-fenylethyliden)anilin (11)



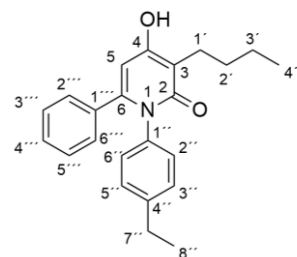
V methanolu (25 ml) byl rozpuštěn hydroxid draselný (3,2 g; 55 mmol). Tento roztok byl poté přes chladič přiléván k vařící suspenzi aminonitrilu **2** (7,63 g; 30 mmol) v methanolu (45 ml). Směs byla vařena pod zpětným chladičem 1 hodinu. Poté byla směs vytemperována na teplotu místnosti a byla vylita na vodu s ledem (75 ml). Roztok vytřepán 5 × 25 ml petroletheru a organická fáze poté znovu vytřepána 3 × 25 ml vody. Organická fáze byla sušena sušidlem. Po vysušení byl roztok přefiltrován přes skládaný filtr do předem zvážené odpařovací baňky a pod vakuem na rotační odparce bylo odpařeno rozpouštědlo. Tímto bylo získáno 6,17 g (92 %) sloučeniny **11**.

IČ: 3022 (w), 2962 (w), 2871 (w), 1893 (w), 1631 (s), 1578 (w), 1503 (m), 1446 (m), 1365 (m), 1287 (m), 1214 (s), 1026 (w), 920 (w), 845 (s), 761 (s), 690 (s), 626 (w), 570 (m)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,27 (t, 3H, 8'), 2,25 (s, 3H, 2), 2,67 (q, 2H, 7'), 6,74 (d, 2H 3';5'), 7,19 (d, 2H, 2';6'), 7,44-7,47 (m, 3H, 2'',6'',4''), 7,97-8,00 (m, 2H, 3'',5'')

¹³C NMR (CDCl₃) δ 15,76 (C-8'), 17,39 (C-2), 28,37 (C-7'), 119,49 (C-2',6'), 127,23 (C-2'';6''), 128,35 (C-3'';5''), 128,40 (C-3';5'), 130,40 (C-4''), 139,15 (C-1''), 139,80 (C-4'), 149,35 (C-1'), 165,44 (C-1)

3-butyl-1-(4-ethylfenyl)-4-hydroxy-6-fenylpyridin-2(1*H*)-on (12)



V reakční zkumavce pro metodu pomocí mikrovlnného ohřevu (metoda B) bylo vždy naváženo příslušné množství iminu **11** a bis(2,4,6-trichlorfenyl) 2-butylmalonátu. Reakce byla prováděna při 200 °C, 8 minut při výkonu 200 W. Byly provedeny dva pokusy, přitom bylo celkem získáno 1,01 g sloučeniny **12**.

Teplota (°C)	Čas (min)	Výtěžek
200	10	0,062 g; 62 %
200	10	0,989 g; 66 %

Tabulka 7 Reakční podmínky s výtěžky pro pokusy při přípravě 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu **12** za využití mikrovlnného ohřevu

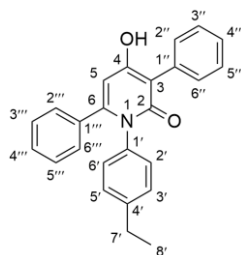
IČ: 3032 (w), 2956 (w), 2926 (w), 2870 (w), 2660 (w), 1634 (w), 1547 (s), 1494 (m), 1401 (s), 1266 (m), 1162 (w), 1131 (m), 922 (w), 765 (m), 697 (m), 573 (m), 522 (w)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 0,97 (t, 3H, 4'), 1,17 (t, 3H, 8''), 1,35-1,54 (m, 4H, 2', 3'), 2,54-2,6 (m, 2H, 1'+7''?), 6,04 (s, 1H, 5), 7,01 (d, 2H, 3''; 5''), 7,11 (d, 2H, 2''; 6'') 7,19-7,25 (m, 5H, 2'''-6'''), 10,35 (s, 1H, OH)

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 13,9 (C-4'), 15,38 (C-8''), 22,35 (C-1'), 23,06 (C-3'), 27,58 (C-7''), 30,00 (C-2'), 101,21 (C-5), 109,83 (C-3), 127,36 (C-3''; 5''), 127,69 (C-4'''), 128,00 (C-2''; 6''), 128,71 (C-2''' ; 6'''), 129,41 (C-3''' ; 5''') (, 135,76 (C-1''), 136,81 (C-1'''), 142,58 (C-4''), 146,32 (C-6), 161,25 (C-2), 163,66 (C-4)

Pro $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_2 \cdot 1/5 \text{H}_2\text{O}$ (347,19): vypočteno 78,69 % C, 7,29 % H, 3,99 % N
naměřeno: 78,61 % C, 7,24 % H, 4,02 % N

1-(4-ethylfenyl)-4-hydroxy-3,6-difenylpyridin-2(1H)-on (13)



Směs daného iminu **11** a bis(2,4,6-trichlorfenyl) 2-fenylmionátu byla v baňce, která byla opatřena přívodem argonu do reakční směsi, zahřívána do kompletního rozpuštění. Poté byla směs zahřívána na kovové lázni po dobu 15 minut v rozmezí teploty 230-245 °C. Po uplynutí reakční doby byla směs v baňce vytemperována na pokojovou teplotu. Po vychladnutí byla ztuhlá směs rozmíchána v diethyletheru (3 ml). Vyloučila se bílá látka, která byla zfiltrována na fritě. Bylo provedeno několik pokusů. Celkem bylo získáno 2,91 g sloučeniny **13** v podobě nažloutlého prášku s bodem tání 293,2 – 304 °C.

Teplota (°C)	Čas (minuty)	Výtěžek
235-240	15	0,693 g; 69 %
235-240	15	2,213 g; 74 %

Tabulka 8 Reakční podmínky s výtěžky pro sérii pokusů při přípravě 4-hydroxypyridin-2(1H)-onu konvenčně

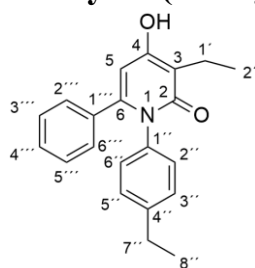
IČ: 3054 (w), 2965 (w), 2874 (w), 2650 (w), 2613 (w), 1544 (m), 1391 (s), 1349 (m), 1270 (m), 1203 (m), 1112 (w), 1065 (w), 1007 (w), 855 (w), 754 (m), 694 (s), 587 (m)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 1,09 (t, 3H, 8'), 2,50-2,53 (m, 2H, 7'), 6,11 (s, 1H, 5), 7,01-7,07 (m, 4H, 2'-6') 7,21-7,23 (m, 6H, 2''-6''; 4'') 7,30-7,34 (m, 2H, 3''' ; 5'''), 7,44-7,46 (m, 2H, 2''' ; 6''')

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 15,42 (C-8'), 27,65 (C-7'), 101,49 (C-5), 109,83 (C-3), 126,15 (C-126,15- 130,87 (C-2''-6''; 4''), 134,07-136,76 (C-2'''-6'''), 142,83 (C-1'), 148,22 (C-6), 161,55 (C-2), 162,88 (C-4)

Pro $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{NO}_2$ (367,16): vypočteno 80,72 % C, 5,76 % H, 3,81 % N
naměřeno: 80,72 % C, 5,71 % H, 3,88 % N

3-ethyl-1-(4-ethylfenyl)-4-hydroxy-6-fenylpyridin-2(1H)-on (14)



Směs daného iminu **11** (0,6333 g ; 3,13 mmol) a bis(2,4,6-trichlorfenyl) 2-ethylmalonátu (1,5368 g ; 3,13 mmol) byla v baňce, která byla opatřena přívodem argonu do reakční směsi, zahřívána do kompletního rozpuštění. Poté byla směs zahřívána na kovové lázni po dobu 15 minut v rozmezí teploty 230-245 °C. Po uplynutí reakční

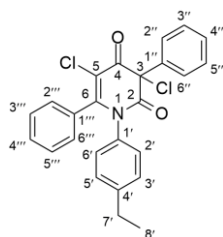
doby byla směs v baňce vytemperována na pokojovou teplotu. Po vychladnutí byla ztuhlá směs rozmíchána v diethyletheru (3 ml). Vyloučila se bílá látka, která byla zfiltrována na fritě. Celkem bylo získáno 0,4542 g (45 %) oranžového prášku s bodem tání 270 – 283,3 °C.

IČ: 3032 (w), 2959 (w), 2927 (w), 2871 (w), 2648 (w), 1634 (w), 1546 (s), 1400 (s), 1293 (m), 1265 (m), 1127 (m), 1061 (w), 851 (m), 762 (m), 699 (m), 563 (m), 541 (w)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ 1,03 (t, 3H, 2'), 1,10 (t, 3H, 8''), 2,42-2,48 (m, 2H, 1'), 5,97 (s, 1H, 5) 6,95 (d, 2H, 3'''' ; 5'') 7,05 (d, 2H, 2''' ; 6'''), 7,12-7,18 (m, 5H, 4'''' ; 2'' ; 3'' ; 5'' ; 6'')

^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 12,80 (C-2'), 15,45 (C-8''), 16,73 (C-1), 27,66 (C-7''), 101,32 (C-5), 111,15 (C-3), 127,46-129,51 (C-2''', 3'', 5'', 6'' ; 2, 3, 5, 6'''), 135,84 (1''), 136,66 (C-1'''), 142,69 (C-4''), 146,48 (C-6), 161,13 (C-2), 163,58 (C-4)

Pro $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{NO}_2 \cdot \frac{1}{8} \text{H}_2\text{O}$ (319,16): vypočteno 78,42 % C, 6,66 % H, 4,35 % N
naměřeno: 78,41 % C, 6,68 % H, 4,34 % N

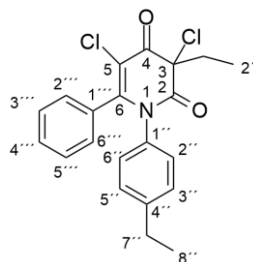
3,5-dichloro-1-(4-ethylfenyl)-3,6-difenylypyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (15)

Do suspenze příslušného hydroxypyridonu **13** (1,36 mmol) a chloroformu (5 ml) byl po kapkách během několika minut přidán sulfurylchlorid (0,5278 g, 4 mmol), a vzniklý žlutý roztok byl míchán ještě dalších 15 minut. Přidána voda s ledem, organická fáze oddělena od vodné fáze. Vodná fáze dále třepána 2×2 ml chloroformu a následně byly organické vrstvy spojeny. Organická fáze vysušena sušidlem a přefiltrována přes skládaný filtr. Následně byla pomocí vakuové rotační odparky odpařeny zbytková rozpouštědla a odparek byl vložen do mrazícího boxu na 24 h, kdy látka vykryštovala. Pokus byl opakován. Po krystalizaci v methanolu bylo získáno celkem z obou reakcí 1,086 g žlutých krystalů s bodem tání 124,5-128 °C.

IČ: 3064 (w), 2965 (w), 2933 (w), 2872 (w), 1730 (s), 1683 (s), 1569 (m), 1508 (w), 1488 (w), 1348 (w), 1288 (m), 1135 (m), 1083 (w), 889 (w), 749 (s), 710 (s), 692 (s), 571 (s), 516 (w)

¹H NMR (CDCl₃) δ 1,12 (t, 3H, 8'), 2,49-2,55 (m, 2H, 7'), 6,84-7,02 (m, 4H, 2'-6') 7,18-7,19 (m, H₃, 2'';6'';4''') 7,46-7,56 (m, 5H, 3'';5'';3''' ;5''' ;4''')

Pro C₂₅H₁₉Cl₂NO₂ (435,08): vypočteno 68,82 % C, 4,39 % H, 3,21 % N
naměřeno: 68,78 % C, 4,37 % H, 3,16 % N

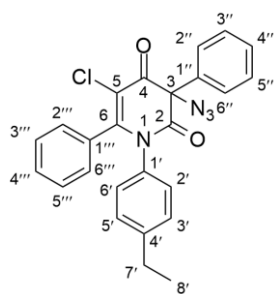
3,5-dichloro-3-ethyl-1-(4-ethylfenyl)-6-fenylypyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (16)

Do suspenze příslušného hydroxypyridonu **14** (1,26 mmol) a chloroformu (5 ml) byl po kapkách během několika minut přidán sulfurylchlorid (0,5278 g, 3,76 mmol), a vzniklý žlutý roztok byl míchán ještě dalších 15 minut. Přidána voda s ledem, organická fáze oddělena od vodné fáze. Vodná fáze dále třepána 2x2 ml chloroformu a následně byly organické vrstvy spojeny. Organická fáze vysušena sušidlem a přefiltrována přes skládaný filtr. Následně byly pomocí vakuové rotační odparky odpařeny zbytková rozpouštědla a odparek byl vložen do mrazícího boxu na 24 h. Vytvořené krystaly byly rozmíchány s pár kapkami methanolu a zchlazeny. Krystaly byly odsáty. Po krystalizaci v methanolu bylo získáno 0,0419 g žlutých krystalů s bodem tání 89 – 94 °C

IČ: 3058 (w), 2973 (w), 1898 (w), 1719 (m), 1671 (s), 1569 (m), 1509 (w), 1356 (m), 1301 (m), 1186 (m), 1133 (s), 1020 (w), 918 (w), 716 (m), 701 (m), 645 (m), 527 (w), 503 (w)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,12 (t, 3H, 8'), 2,49-2,55 (m, 2H, 7'), 6,84-7,02 (m, 4H, 2'-6') 7,18-7,19 (m, H3, 2'';6'';4'') 7,46-7,56 (m, 5H, 3'';5'';3''';5''';4''),

3-Azido-5-chloro-1-(4-ethylfenyl)-3,6-difenylpyridin-2,4(1H,3H)-dion (17)



Suspenze dichloriderivátu **15** (0,2181 g; 0,5 mmol) v DMF (3 ml) byla míchána při laboratorní teplotě v baňce obalené hliníkovou fólií tak, aby se zabránilo přístupu světla. K této suspenzi byl po malých dávkách přidáván azid sodný (0,0985 g; 1,52 mmol). Směs byla poté míchána ještě 90 minut. Po uplynutí reakční doby byla směs vylit do vody s ledem (13 ml) a vyloučená tuhá fáze byla poté odsáta na fritě a promyta vodou. Poté byla sloučenina sušena na temném místě na vzduchu. Tímto bylo získáno 0,2126 g (96%) světle žlutého prášku s bodem tání 57,3 – 62,5 °C.

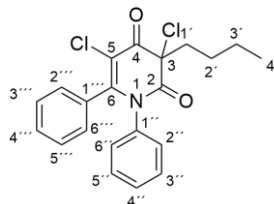
IČ: 3061 (w), 2965 (w), 2931 (w), 2116 (m), 1723 (m), 1679 (m), 1569 (m), 1489 (w), 1351 (m), 1300 (m), 1138 (m), 1090 (w), 899 (w), 723 (m), 697 (s), 569 (w), 507 (w)

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 1,12 (t, 3H, 8'), 2,52 (q, 2H, 7'), 6,85-7,03 (m, 4H, 2'-6') 7,16-7,17 (m, H3, 2'';6'';4'') 7,54 (m, 5H, 3'';5'';3''';5''';4'')

Pro $\text{C}_{25}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{O}_2$ (442,12): vypočteno 67,80 % C, 4,32 % H, 12,65 % N

naměřeno: 67,40 % C, 4,40 % H, 12,59 % N

3-butyl-3,5-dichloro-1,6-difenylpyridin-2,4(1H,3H)-dion (18)



Do suspenze příslušného hydroxypyridonu **10** (5 mmol) a chloroformu (15 ml) byl po kapkách během několika minut přidán sulfurylchlorid (2,1 g; 15,5 mmol), a vzniklý žlutý roztok byl míchán ještě dalších 15 minut. Přidána voda s ledem, organická fáze oddělena od vodné fáze. Vodná fáze dále třepána 2×2 ml chloroformu a následně byly organické vrstvy spojeny. Organická fáze vysušena sušidlem a přefiltrována přes skládaný filtr. Následně byly pomocí vakuové rotační odparky odpařeny zbytková rozpouštědla a odparek byl vložen do mrazícího boxu na 24 h. Vytvořila se velmi viskózní žlutá látka, která podle NMR analýzy neobsahovala předpokládanou sloučeninu **18**.

ZÁVĚR

Ve shodě se zadáním diplomové práce byla napsána literární rešerše zaměřená na výskyt 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onů a pyridin-2,4-dionů v přírodě a jejich biologické účinky. Dále byly připraveny dva aromatické anily **9** a **11**, kdy anil **11** byla nová látka, eliminací kyanovodíku přes odpovídající α -aminonitrily **2** a **5**, kdy α -aminonitril **5** zatím nebyl uveden v literatuře. Následovala kondenzace bis(2,4,6-trichlorfenyl)esterů substituované kyseliny malonové s anily methylketonů za vzniku derivátů 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu **10** a **12-14**, které dosud nebyly připraveny. Ze dvou derivátů 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu bylo reakcí se sulfurylchloridem připraveny dva 3,5-dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-diony **15** a **16**. Ve shodě se zadáním diplomové práce byla poté zkoušena nukleofilní reakce těchto dichlorderivátů s nukleofilem azidem sodným za vzniku 3-azido-5-chloro-1-(4-ethylfenyl)-3,6-difenylypyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **17**. 3,5-Dichlorpyridin-2,4(1*H*,3*H*)-diony **15**, **16** a 3-azido-5-chloro-1-(4-ethylfenyl)-3,6-difenylypyridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion **17** dosud nebyly připraveny.

Byla testována antimikrobiální aktivita α -aminonitrilů **2**, **4**, a **5** na mikroorganismech *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus cereus* diskovou difúzní metodou. Tyto α -aminonitrily nevykazovaly při zvolených koncentracích 100-500 $\mu\text{g/ml}$ antimikrobiální aktivitu.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
mRNA	Mediátorová ribonukleová kyselina
ATR	Zeslabená úplná reflektance (Attenuated Total Reflectance)
CDCl ₃	Deuterovaný chloroform
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO-d ₆	Deuterovaný dimethylsulfoxid
EF-Tu	Termonestabilní elongační faktor
IČ	Infračervená spektrometrie
J	Interakční konstanta
MHz	Megahertz
NMR	Nukleární magnetická rezonance
Ppm	Parts per million
R _f	Retenční faktor
TLC	Chromatografie na tenké vrstvě
UV	Ultrafialové záření
μl	Mikrolitr
ml	Mililitr
μg	Mikrogram
g	Gram
cm	Centimetr
nm	Nanometr
mmol	milimol
HCl	kyselina chlorovodíková
KCl	chlorid draselný

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Příprava α -aminonitrilů	21
Obrázek 2 Příprava iminů.....	22
Obrázek 3 Příprava 4-hydroxypyridin-2(1 <i>H</i>)-onů.....	23
Obrázek 4 Příprava 3,5-dichlorpyridin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dionů	24
Obrázek 5 Příprava 3-azido-5-chloro-1-(4-ethylfenyl)-3,6-difenyropyridin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dionu.....	25
Obrázek 6 Testování antimikrobiální aktivity sloučeniny 5	26
Obrázek 7 Testování antimikrobiální aktivity sloučeniny 2	27
Obrázek 8 Testování antimikrobiální aktivity sloučeniny 4	27

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Přehled připravených α -aminonitrilů a jejich výtěžků	21
Tabulka 2 Přehled připravených iminů a jejich výtěžky	22
Tabulka 3 Připravené deriváty 4-hydroxypyridin-2(1 <i>H</i>)-onu Metodou A.....	23
Tabulka 4 Připravené deriváty 4-hydroxypyridin-2(1 <i>H</i>)-onu metodou B	24
Tabulka 5 Připravené 3,5-dichlorpyridin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-diony a jejich výtěžky	25
Tabulka 6 Reakční podmínky s výtěžky pro sérii optimalizačních pokusů při přípravě 4-hydroxypyridin-2(1 <i>H</i>)-onu 10 za využití mikrovlnného ohřevu	34
Tabulka 7 Reakční podmínky s výtěžky pro pokusy při přípravě 4-hydroxypyridin-2(1 <i>H</i>)-onu 12 za využití mikrovlnného ohřevu	35
Tabulka 8 Reakční podmínky s výtěžky pro sérii pokusů při přípravě 4-hydroxypyridin-2(1 <i>H</i>)-onu konvenčně	36

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1 Pandey, P., *Pyridine*. 1., IntechOpen, London, **2018** ISBN 978-1-78923-423-7.
- 2 Tuson, R. V. Note on an alkaloid contained in the seeds of the *Ricinus communis*, or castor-oil plant. *J. Chem. Soc., Trans.* **1864**, 195–197.
- 3 Maquenne, L.; Philippe, L. Over the Constitution of the Ricinine. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1904**, 139, 840–843.
- 4 Jessen, H. J.; Gademann, K. 4-Hydroxy-2-pyridone alkaloids: Structures and synthetic approaches. *Natural Product Reports*. **2010**, 27, 1168-1185. Dostupné z: doi:10.1039/b911516c
- 5 Sousa, N.L.; Cabral, G.B.; Vieira, P.M. *et al.* Bio-detoxification of ricin in castor bean (*Ricinus communis* L.) seeds. *Scientific Reports*. **2017**, 7, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15636-7>
- 6 Zhang, Q.; Rivkin, A.; Curran, D. P. Quasiracemic Synthesis: Concepts and Implementation with a Fluorous Tagging Strategy to Make Both Enantiomers of Pyridovericin and Mappicine. *Journal of the American Chemical Society*. **2010**, 124, 5774-5781. Dostupné z: doi:10.1021/ja025606x
- 7 Eley, K. L.; Halo, L. M.; Song, Z.; Powles, H.; Cox, R. J.; Bailey, A. M.; Simpson, T. J. 2007. Biosynthesis of the 2-Pyridone Tenellin in the Insect Pathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *ChemBioChem*. **2007**, 8, 289-297. Dostupné z: doi:10.1002/cbic.200600398
- 8 Alfatafta, A. A.; Gloer, J. B.; Scott, J. A.; Malloch, D. 1994. Apiosporamide, a New Antifungal Agent from the Coprophilous Fungus *Apiospora montagnei*. *Journal of Natural Products*. **1994**, 57, 1696-1702. Dostupné z: doi:10.1021/np50114a012
- 9 TePaske, M. R.; Gloer, J. B.; Wicklow, D. T.; Dowd, P. F. 1991. Leporin A: an antiinsectan N-alkoxypyridone from the sclerotia of *Aspergillus leporis*. *Tetrahedron Letters*. **1991**, 32, 5687-5690. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4039(00)93530-5
- 10 Snider, B. B.; Lu, Q. 1996. Total Synthesis of (±)-Leporin A. *The Journal of Organic Chemistry*. **1996**, 61, 2839-2844. Dostupné z: doi:10.1021/jo952053i
- 11 Zhang, C.; Jin, L.; Mondie, B.; Mitchell, S. S.; Castelhana, A. L.; Cai, W.; Berghem, N. 2003. Leporin B: a novel hexokinase II gene inducing agent from an unidentified fungus. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2003, 13, 1433–1435. [Dostupné z: doi:10.1016/S0960-894X(03)00153-7

- 12 Li, M.; Yu, R.; Bai, X.; Wang, H.; Zhang, H. Fusarium: a treasure trove of bioactive secondary metabolites. *Natural Product Reports*. **2020**, *37*, 1568-1588. Dostupné z: doi:10.1039/D0NP00038H
- 13 Teshima, Y.; Shin-ya, K.; Shimazu, A.; Furihata, K.; Chul, H. S.; Furihata, K.; Seto, H. 1991. Isolation and structural elucidation of pyridoxatin, a free radical scavenger of microbial origin. *The Journal of Antibiotics*. **1991**, *44*, 685-687. Dostupné z: doi:10.7164/antibiotics.44.685
- 14 Kohno, J.; Hirano, N.; Sugawara, K.; Nishio, M.; Hashiyama, T.; Nakanishi, N.; Komatsubara, S. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 1731–1735.
- 15 Sassa, T. 2014. Structure and Absolute Configuration of Macrophoma Fruit Rot Toxin. *A. Agricultural and Biological Chemistry*. **2014**, *47*, 1417-1418. Dostupné z: doi:10.1080/00021369.1983.10858527
- 16 Hall, C. C.; Watkins, J. D.; Georgopapadakou, N. H. Comparison of the Tu elongation factors from *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*: possible basis for elfamycin insensitivity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **1991**, *35*, 2366-2370. [Dostupné z: doi:10.1128/AAC.35.11.2366
- 17 Akasu, T.; Moriya, Y.; Ohashi, Y.; Yoshida, S.; Shirao, K.; Kodaira, S. Adjuvant Chemotherapy with Uracil–Tegafur for Pathological Stage III Rectal Cancer after Mesorectal Excision with Selective Lateral Pelvic Lymphadenectomy: A Multicenter Randomized Controlled Trial*. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. **2006**, *36*, 237-244. Dostupné z: doi:10.1093/jjco/hyl014
- 18 Khlebnicova, T. S.; Rubinov, D. B.; Baranovsky, A. V.; Lakhvich, F. A.; Pashkovsky, F. S.; Chukarina, T. V.; Ogurtsova, S. E. Synthesis and Cytotoxic Activity of Novel Chalcone Analogues with Pyridine-2,4(1H,3H)-dione Fragment. *Russian Journal of General Chemistry*. **2023**, *93*, 476-484. Dostupné z: doi:10.1134/S1070363223030039
- 19 Wang, C. S.; Easterly, J. P.; Skelly, N. E. Reaction of dehydroacetic acid with ammonia. *Tetrahedron*. **1971**, *27*, 2581-2589. Dostupné z: doi:10.1016/S0040-4020(01)98046-9
- 20 Groutas, W. C., Stanga, M. A., Brubaker, M. J., Huang, T. L., Moi, M. K., & Carroll, R. T. Substituted 2-pyrones, 2-pyridones, and other congeners of elasnin as potential agents for the treatment of chronic obstructive lung diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*. **1985**, *28*, 1106-1109. Dostupné z: doi:10.1021/jm00146a023

- 21 Elvidge, J. A.; Zaidi, N. A. 1968. Heterocyclic syntheses with malonyl chloride. Part IX. 2-Substituted 4-chloro-6-pyrimidones from certain nitriles. *Journal of the Chemical Society C: Organic*. **1968**, 2188-2198. Dostupné z: doi:10.1039/j39680002188
- 22 Kappe T. Use of Magic Malonates, AME', Bis-(2,4,6-trichlorophenyl)-malonates. In *Encyclopedia of Reagents in Organic Synthesis (EROS)*; Pacquette, L. A., Ed.;
- 23 Kappe, T.; Ajili, S.; Stadlbauer, W. Active malonate esters as synthons for heterocycles: preparation of 4-hydroxy-2(1H)-pyridones. *J. Heterocycl. Chem.* **1988**, *25*, 463–468.
- 24 Grundke, C.; Vierengel, N.; Opatz, T. α -Aminonitriles: From Sustainable Preparation to Applications in Natural Product Synthesis. *The Chemical Record*. **2020**, *20*, 989-1016. Dostupné z: doi:10.1002/tcr.202000066
- 25 Kouznetsov, V. V.; Galvis, C. E. P. Strecker reaction and α -amino nitriles: Recent advances in their chemistry, synthesis, and biological properties. *Tetrahedron*. **2018**, *74*, 773-810. Dostupné z: doi:10.1016/j.tet.2018.01.005
- 26 McMurry, J. *Organic chemistry*. 8th, international ed. [Florence, Ky.]: Brooks/Cole Cengage Learning. 2012. ISBN 978-0-8400-5453-1.
- 27 Ramsperger, C. A. *et al.*, 2022. Sustainable and Chemoselective Synthesis of α -Aminonitriles Using Lewis and Brønsted Acid-Functionalized Nanoconfined Spaces. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2022**, *14*, 49957-49964. Dostupné z: doi:10.1021/acami.2c13945
- 28 Bandyopadhyay, D.; Velazquez, J. M.; Banik, B. K. 2011. A truly green synthesis of α -aminonitriles via Strecker reaction. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*. **2011**, *1*. Dostupné z: doi:10.1186/2191-2858-1-11
- 29 Kafka, S.; Kappe, T. Synthesis of 4-hydroxy-2(1H)-pyridones from azomethines and substituted dialkyl malonates. *Monatsh. Chem.* **1997**, *128*, 1019–1031. Dostupné z: doi.org/10.1007/BF00806968
- 30 Shen, H.; Wu, Q.; Malola, S.; Han, Y.-Z.; Xu, Z.; Qin, R.; Tang, X.; Chen, Y.-B.; Teo, B. K.; Hakkinen, H.; Zheng, N. N-Heterocyclic Carbene-Stabilized Gold Nanoclusters with Organometallic Motifs for Promoting Catalysis. *J. Am. Chem. Soc.* **2022**, *144*, 10844-10853. DOI: 10.1021/jacs.2c02669
- 31 Kappe, T. (2001). Bis(2,4,6-trichlorophenyl) Malonate. *Encyclopedia Of Reagent for Organic Synthesis*.
- 32 Shaikh, I. N.; Hosamani, K. M.; Kurjogi, M. M. 2018. Design, synthesis, and evaluation of new α -aminonitrile-based benzimidazole biomolecules as potent antimicrobial and

- antitubercular agents. *Archiv der Pharmazie*. **2018**, 351. Dostupné z: doi:10.1002/ardp.201700205
- 33 Héliida, A.;Oliveira, I.; Ferreira, S. 2022. Aminonitrile Potential in Terms of Pharmacological and Clinical Applicability. *Basel, Switzerland: MDPI*. **2021** Dostupné z: doi:10.3390/mol2net-07-09258
- 34 Lee, H. S.; Kim, D. H.; Synthesis and evaluation of α,α -disubstituted-3-mercaptopropanoic acids as inhibitors for carboxypeptidase A and implications with respect to enzyme inhibitor design. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11, 4685-4691. DOI: 10.1016/j.bmc.2003.08.017
- 35 Nikam, B. P.; Kappe, T.2015. Synthesis of 3-Acetyl-4-hydroxy-1-phenylpyridin-2(1H)-one Derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2015**, 52, 215-220. Dostupné z: doi:10.1002/jhet.2030
- 36 Hamachi, Y.; Katano, M.; Ogiwara, Y.; Sakai, N. Production of Quaternary α -Aminonitriles by Means of Indium-Catalyzed Three-Component Reaction of Alkynes, Amines, and Trimethylsilyl Cyanide.. *Org. Lett.* **2016**, 18, 1634-1637. DOI: 10.1021/acs.orglett.6b00508
- 37 Jenner, G.; Ben Salem, R.; Kim, J. C.; Matsumoto, K. Effect of pressure on the Strecker synthesis of hindered α -amino nitriles from ketones and aromatic amines. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 447-449. DOI: 10.1016/s0040-4039(02)02598-4
- 38 Ainley, A. D.; Sexton, W. A. Chemical constitution and insecticidal action. II. Substituted α -aminonitriles. *Biochem. J.* **1948**, 43, 468-474. DOI: 10.1042/bj0430468
- 39 Kappe, T. Synthesen von Heterocyclen, 95. Mitt.: Chinolizine und Indolizine I: Eine Synthese von 2-Hydroxychinolizinonen-(4). *Monatsh Chem.* **1967**,98, 874–886. <https://doi.org/10.1007/BF00901390>