Příprava methyl-3-benzodiazepinylpropanoátů a průzkum možností jejich přeměn na pyrrolobenzodiazepintriony

Bc. Pavlína Bártková

Diplomová práce
2024

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav chemie

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Bc. Pavlína Bártková**
Osobní číslo:	**T22402**
Studijní program:	**N0721A210005 Chemie potravin a bioaktivních látek**
Forma studia:	**Prezenční**
Téma práce:	**Příprava methyl-3-benzodiazepinylpropanoátů a průzkum možností jejich přeměn na pyrrolobenzodiazepintriony.**

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. V prvé řadě zajistit dostatečné množství několika benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů v poloze 4 substituovaných 3-methoxy-3-oxopropylovou skupinou.
2. V následujících experimentech se věnovat postupné transformaci esterové skupiny postranního řetězce na skupinu acylhalogenidovou.
3. V případě úspěšné přípravy derivátů 3-benzodiazepinylpropanoylchloridů se pokusit o jejich intramolekulární cyklizaci směřovanou k pyrrolobenzodiazepin-1,5,11-trionovým sloučeninám.
4. Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
5. Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat diplomovou práci.

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

Seznam doporučené literatury:

1. McMurry, J. *Organická chemie*, 2005, 1. vyd., VŠCHT Praha.
2. Tietze, L. F.; Eicher, T.; Diederichsen, U.; Speicher, A.; Schützenmeister, N. *Reactions and Syntheses: In the Organic Chemistry Laboratory*, 2015, 2. vyd., Wiley-VCH Verlag GmbH. ISBN: 978-3-527-33814-6
3. Witt, A.; Gustavsson, A.; Bergman, J. *J. Heterocyclic. Chem.* 2003, *40*, 29–35.
4. Křemen, F.; Gazvoda, M.; Kafka, S.; Proisl, K.; Srholcová, A.; Klásek, A.; Urankar, D.; Košmrlj, J. *J. Org. Chem.* 2017, *82*, 715–722.
5. Fotso, S. *Mini-Rev. Org. Chem.* 2010, *7*, 68–74.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2024**
Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 20. února 2024

PROHLÁŠENÍ AUTORKY
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 na diplomové práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studentky:

…….
podpis studentky

ABSTRAKT

Diplomová práce spadá do problematiky pyrrolobenzodiazepinových derivátů, což jsou významné heterocyklické sloučeniny s potenciálními biologickými vlastnostmi. Hlavním cílem této práce bylo vyvinout efektivní syntetickou metodu zahrnující substituci a expanzi pyridinové části chinolin-2,4-dionů pro přípravu pyrrolobenzodiazepintrionů. Teoretická část práce obsahuje shrnutí důležitosti biologických účinků těchto sloučenin, které je následované přehledem současných metod syntézy benzodiazepinů a pyrrolobenzodiazepinů. V praktické části je prezentován návrh nového syntetického postupu včetně komentářů k jednotlivým reakčním krokům a experimentální sekce podrobně popisuje přípravu a charakterizaci jednotlivých intermediátů.

Klíčová slova: benzodizaepindion, pyrrolobenzodiazepintrion, syntéza, biologické účinky

ABSTRACT

The thesis falls within the scope of pyrrolobenzodiazepine derivatives, which are significant heterocyclic compounds with potential biological properties. The main aim of this work was to develop an effective synthetic method involving the substitution and expansion of the pyridine moiety of quinolin-2,4-diones to prepare pyrrolobenzodiazepinetriones. The theoretical part of the thesis includes a summary of the biological significance of these compounds, followed by an overview of current methods for synthesizing benzodiazepines and pyrrolobenzodiazepines. In the practical section, a proposal for a new synthetic approach is presented, along with comments on individual reaction steps, and the experimental section provides a detailed description of the preparation and characterization of each intermediate.

Keywords: benzodiazepinedione, pyrrolobenzodiazepinetrione, synthesis, biological effects

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D., za cenné rady, podnětné připomínky a konstruktivní kritiku, kterou mi při vedení práce poskytl. Dále děkuji celému kolektivu Ústavu chemie a mým nejlepším spolužačkám za psychickou oporu. V neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za podporu a trpělivost během mého studia.

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

OBSAH

ÚVOD **8**
I TEORETICKÁ ČÁST **9**
1 BENZODIAZEPINY **10**
1.1 HISTORIE 11
1.2 SYNTETICKÉ CESTY VEDOUCÍ KE KONSTRUKCI BENZODIAZEPINOVÉHO SKELETU 12
1.2.1 Metody syntézy derivátů 1,5-benzodiazepinu 12
1.2.2 Metody syntézy 1,4-benzodiazepinů 15
2 PYRROLOBENZODIAZEPINY **19**
2.1 METODY SYNTÉZY PBD 20
II PRAKTICKÁ ČÁST **25**
3 VÝSLEDKY A DISKUZE **26**
3.1 INTRO 26
3.2 DISKUZE VÝSLEDKŮ 26
4 POUŽITÉ ZAŘÍZENÍ A PŘÍSTROJE **34**
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST **35**
5.1 PŘÍPRAVA PREKURZORŮ A CÍLOVÝCH LÁTEK 35
5.2 NEZDAŘENÉ POKUSY SMĚŘOVANÉ K PŘÍPRAVĚ PYRROLOBENZODIAZEPINU II 40
ZÁVĚR **42**
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY **43**
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK **46**
SEZNAM OBRÁZKŮ **47**
SEZNAM SCHÉMAT **48**

ÚVOD

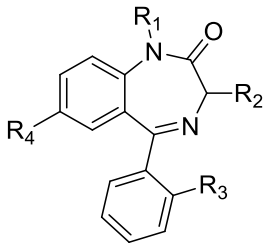
Benzodiazepiny (BZD) a pyrrolobenzodiazepiny (PBD) představují dva zajímavé hráče ve světě heterocyklických sloučenin, kteří lákají pozornost vědců a farmakologů svou různorodostí a potenciálem. Zatímco BZD jsou pro své účinky v léčbě úzkosti a dalších neurologických poruch již dlouho známé, PBD se teprve nedávno začínaly prosazovat jako nadějná třída sloučenin s potenciálem v boji proti rakovině. Přestože jsou BZD osvědčenými léčivy, jejich dlouhodobé užívání často s sebou přináší vznik závislosti související se snižováním jejich účinnosti a výskyt vedlejších účinků, mezi něž patří ospalost, závratě a problémy s pamětí. Syntéza BZD je založena na řadě organických reakcí, které umožňují vytváření této důležité třídy sloučenin. Jedním z nejběžnějších postupů je kondenzace mezi kyselinami a aminy za přítomnosti vhodného katalyzátoru. Pyrrolobenzodiazepiny otevírají nové perspektivy v boji proti rakovině díky svým slibným protinádorovým vlastnostem. Jejich syntéza a výzkum se stává středem pozornosti v lékařské chemii a farmakologii.

Právě zde leží důležitost této práce, která se zaměřuje na detailní zkoumání syntetických postupů pro přípravu těchto zajímavých látek. Pozornost byla směřována k syntéze pyrrolobenzodiazepintrionů z benzodiazepindionů, které měly v poloze 4 navázaný 3-oxopropylový řetězec. Pro dosažení tohoto cíle bylo využito široké škály chemických činidel a rozpouštědel, umožňujících manipulaci s molekulárními strukturami a reakcemi nezbytnými k vytvoření požadovaných produktů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BENZODIAZEPINY

Benzodiazepiny, jež spadají do třídy psychoaktivních sloučenin, mají široký a rozmanitý vliv na centrální nervový systém, což z nich činí jedny z nejčastěji předepisovaných léků v oblasti psychiatrie a neurologie. Po objevu jejich vlastností, to je přibližně od druhé poloviny 20. století, se benzodiazepiny s obecnou strukturou uvedenou na **Obrázku 1** staly nezbytným nástrojem v léčbě úzkosti, nespavosti, epilepsie a dalších neurologických poruch.[1] Tato třída sloučenin ovlivňuje neurotransmitery v mozku, především inhibiční neurotransmiter GABA (kyselina γ-aminomáselná). Mechanismus účinku spočívá v modulaci GABAergního systému, což vede k inhibici neuronální aktivity a následnému uvolnění svalů, zmírnění úzkosti a zlepšení spánku.[2, 3]

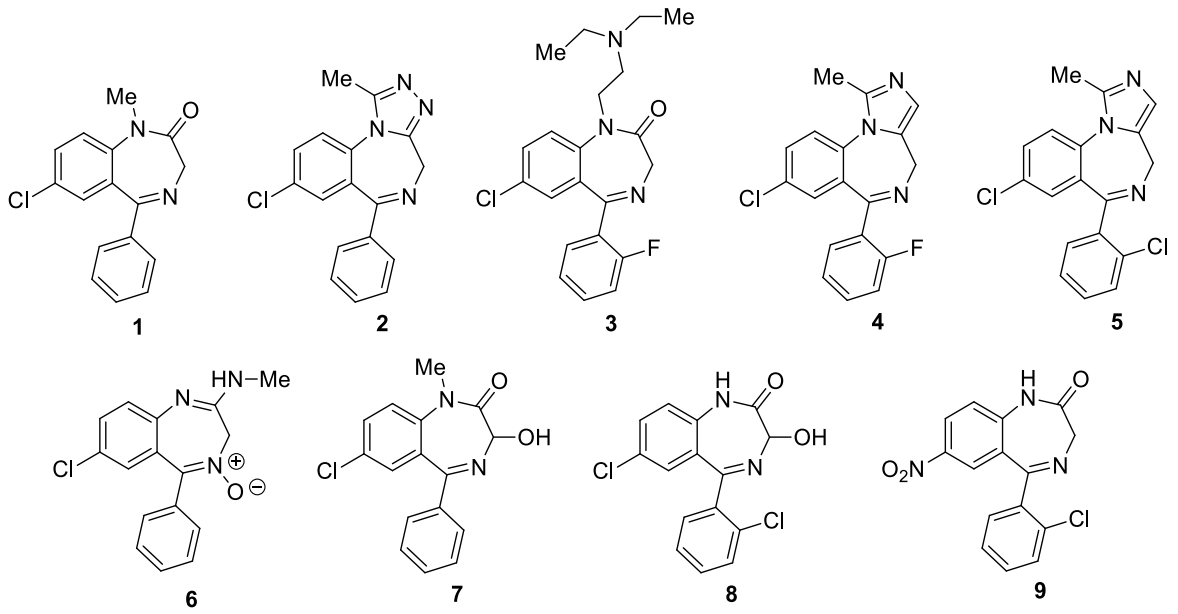


Obrázek 1. Obecná struktura benzodiazepinových terapeutik.

Benzodiazepiny mohou být systematicky rozděleny podle několika klíčových kritérií. Z pohledu farmakologických vlastností můžeme oddělit diazepam (**1**) nebo alprazolam (**2**), jež jsou pro své známé účinky působící proti úzkostným stavům využívány jako anxiolytika od triazolamu (**5**) nebo flurazepamu (**3**), které mají spíše hypnotické účinky a jsou tedy předepisovány při poruchách spánku.[4] K dalším účelům se benzodiazepiny používají také jako antikonvulziva (lorazepam **8**), nebo myorelaxancia, kde hraje důležitou roli diazepam (**1**).[5] Zajímavým kritériem může být i selekce receptorů GABA, kde některé benzodiazepiny jsou vysoce selektivní pro specifické receptorové podtypy GABA-A, což ovlivňuje jejich farmakologické účinky.

Druhým hlediskem pro klasifikaci benzodiazepinů může být doba trvání jejich účinku. Je možné se setkat s krátce působícími benzodiazepiny, jakými jsou např. midazolam (**4**) či triazolam (**5**), anebo naopak s dlouhodobě působícími, kde je možné zahrnout například diazepam (**1**) nebo chlordiazepoxid (**6**).[2]

Posledním kritériem je chemická struktura, což nás vede k rozlišení mezi diazepamovými (klonazepam **9**), oxazepamovými (např. temazepam **7**), imidazolovými (např. triazolam **5**) nebo triazolovými deriváty (např. alprazolam **2**).[2]



Obrázek 2. Chemické struktury vybraných benzodiazepinových léčiv.

1.1 Historie

Počátek historie léčiv na bázi benzodiazepinových sloučenin je datován k začátku druhé poloviny 20. století. Prvním objeveným benzodiazepinem byl chlordiazepoxid (**6**), který byl syntetizován v roce 1955 chemikem Leo Sternbachem v laboratoři firmy Hoffman-La Roche ve Švýcarsku. Tento objev byl náhodný a pan Sternbach brzy zjistil, že chlordiazepoxid má výrazné sedativní účinky, což ho vedlo k dalšímu výzkumu této sloučeniny. Chlordiazepoxid byl později uveden na trh pod názvem Librium a stal se jedním z prvních komerčně dostupných benzodiazepinů.[6] Dalším důležitým objevem byl diazepam (**1**), který byl představen v roce 1963 a získal obchodní název Valium. Diazepam se rychle stal jedním z nejprodávanějších léků na světě a byl používán k léčbě úzkosti, nespavosti a k uvolnění svalových křečí. Po objevu chlordiazepoxidu a diazepamu následovalo mnoho dalších benzodiazepinů, včetně alprazolamu (**2**) (Xanax), lorazepamu (**8**) (Ativan) a mnoha dalších.[7] Později bylo zjištěno, že dlouhodobé užívání benzodiazepinů může vést k fyzické a psychické závislosti, což vyvolalo zájem o regulaci a kontrolu jejich používání. I přes rizika závislosti zůstávají benzodiazepiny důležitými léky používanými k léčbě úzkosti, nespavosti, epilepsie a dalších psychických poruch.[8]

1.2 Syntetické cesty vedoucí ke konstrukci benzodiazepinového skeletu

1.2.1 Metody syntézy derivátů 1,5-benzodiazepinu

Obecně známé syntézy 1,5-benzodiazepinů jsou založené na kondenzaci *o*-fenylendiaminů s α,β-nenasycenými karbonylovými sloučeninami, *o*-halogenketony, *o*-aminoketony, ketony anebo alkyny. V závislosti na stále neuhasínající zájem o tyto sloučeny Korbekandi *et al.* popsali přípravu nového organokovového katalyzátoru na bázi nikotinu poutaného k nanočásticím oxidu křemičitého, kterého následně využili v syntéze různých 1,5-benzodiazepinů (**Schéma 1**). Prezentovaná syntéza je v podstatě tandemová reakce, ve které po přídavku aldehydu k meziproduktu kondenzace *o*-fenylendiaminu (**10**) s dimedonem (nebo 1,3-cyklohexandionem) v přítomnosti Fe(III)-NicTC@nSiO$_2$ dochází při laboratorní teplotě k formování diazepinového kruhu. Tento způsob nevyžadující přítomnost organických rozpouštědel nabízí vynikající výtěžky a selektivitu, krátkou reakční dobu, mírné podmínky a opětovnou použitelnost katalyzátoru.[9]

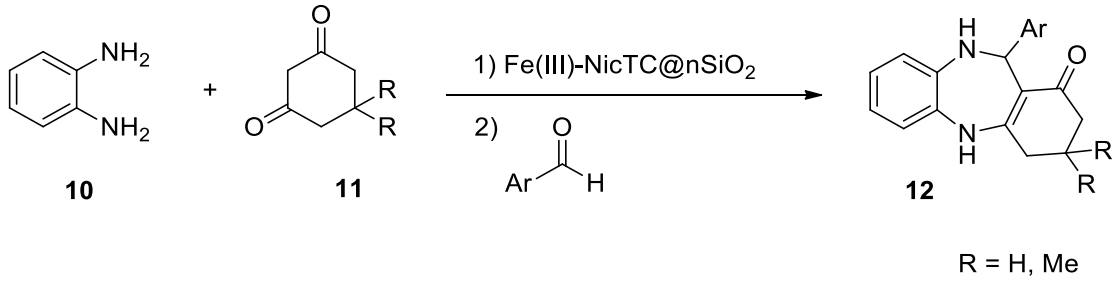


Schéma 1. Metoda syntézy 1,5-benzodiazepinů v přítomnosti Fe(III)-NicTC@nSiO$_2$.

Pravděpodobný mechanismus syntézy 1,5-benzodiazepinu v přítomnosti katalyzátoru Fe(III)-NicTC@nSiO$_2$ je znázorněn ve **Schématu 2**. Mechanismus zahrnuje aktivaci karbonylové skupiny dimedonu katalyzátorem za vzniku meziproduktu A, který reaguje s jednou ze dvou přítomných aminoskupin *o*-fenylendiaminu za vzniku meziproduktu B. Karbonylová skupina aldehydu je poté aktivována katalyzátorem, následuje reakce s aminoskupinou meziproduktu B za vzniku meziproduktu C. Nakonec intramolekulární cyklizace meziproduktu C poskytuje požadovaný 1,5-benzodiazepin (D), ze kterého uvolňuje katalyzátor, jež vstupuje do dalšího cyklu.[9]

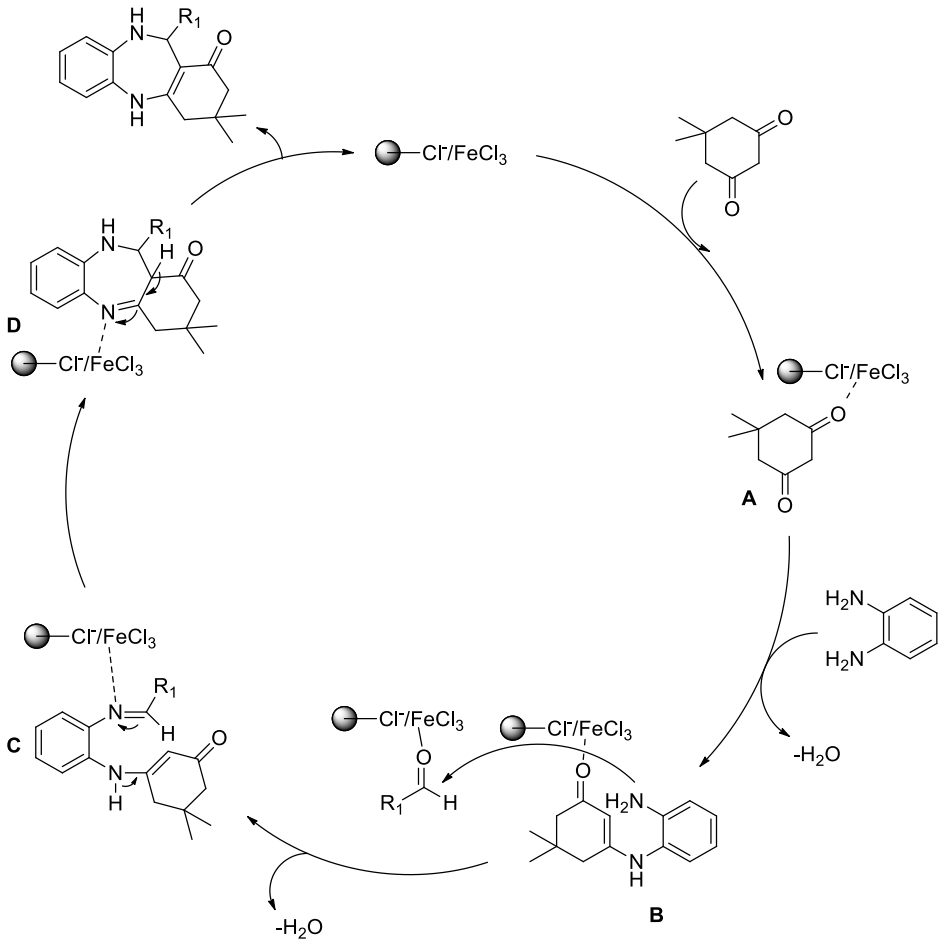


Schéma 2. Mechanismus syntézy 1,5-benzodiazepinu v přítomnosti Fe(III)-NicTC@nSiO$_2$.

Studie Isaeva a kolegů zkoumala katalytické vlastnosti nových nanoporézních materiálů (MIL/K-SO$_3$H a MIL/Ks-CN), které byly vytvořeny enkapsulací *p*-sulfonatokalixarenu (K-SO$_3$H) a *p*-terc-butylthiokalix[4]arenu (Ks-CN) do organokovového komplexu NH$_2$-MIL-101(Al). Tyto materiály byly následně využity k mikrovlnně asistované syntéze 1,5-benzodiazepinů (**Schéma 3**), kde byly testovány katalytické vlastnosti nových kompozitních materiálů při kondenzaci *o*-fenylendiaminu (**10**) a různých ketonů za teploty 50 °C. Kompozit MIL/Ks-CN vykazoval vyšší aktivitu než MIL/K-SO$_3$H, což lze přičíst povaze funkčních skupin v molekulách kalix[4]arenu. Přítomnost silně kyselých funkčních skupin v K-SO$_3$H vedla k vysoké aciditě, což ovlivnilo interakci mezi protony skupin SO$_3$H a atomy dusíku NH$_2$ skupin v NH$_2$-MIL-101(Al). Naopak přítomnost slabší kyselé povahy Ks-CN vedla k menším interakcím mezi těmito protony, což následně vedlo ke zvýšení katalytických vlastností.[10]

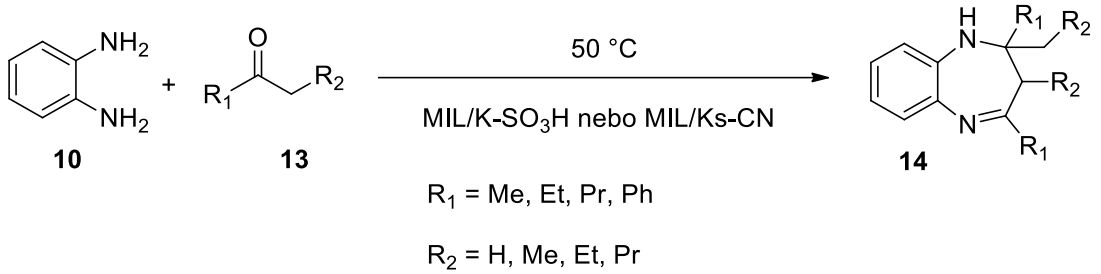


Schéma 3. Syntéza 1,5-benzodiazepinů pomocí MIL/K-SO_3H nebo MIL/Ks-CN.

Misra a spol. představili syntézu a molekulární dokování nového pyrimidinového analogu 1,5-benzodiazepinu potencionálně využitelného jako antibakteriální léčivo. V podstatě byly stejným postupem připraveny dva různé deriváty, jejichž syntézy vycházely z benzoylacetonitrilu (**15**) a pyruvonitrilu (**20**) (**Schéma 4**). Jejich několika stupňová syntéza zahrnuje tvorbu nitrilových benzodiazepinů, jejich následnou konverzi na amidoximy **18** a **23**, které po reakci s diesterem poskytují jisté meziprodukty, z nichž po proběhnutí několika intramolekulárních reakcí vznikají konečného pyrimidinového deriváty **19** a **24**. Dále zkoumali potenciální antibakteriální aktivitu těchto sloučenin pomocí řady *in vitro* testů. Výsledky sloučenin ukázaly slibné dokovací skóre a silné interakce mezi receptorem a ligandem. Toto zjištění naznačuje, že uvedené sloučeniny mohou cílit na receptor HER-2 a potenciálně inhibovat růst rakovinných buněk, což zdůrazňuje jejich potenciál pro další vývoj jako nových terapeutik proti rakovině.[11]

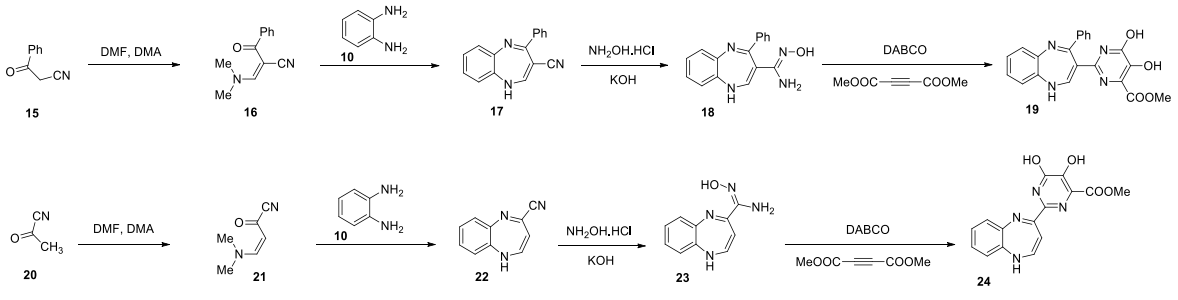


Schéma 4. Syntézy antimikrobiálního derivátu 1,5-benzodiazepinu.

1.2.2 Metody syntézy 1,4-benzodiazepinů

I přes mnoho existujících metodologií pro syntézu těchto výjimečných sloučenin se využívají čtyři nejčastější přístupy (**Schéma 5**) a to cyklokondenzační reakce 2-halogenobenzoových kyselin nebo 2-halogenovaných benzofenonů a jejich analogů s 1,2-diaminy (**Metoda A**), cyklizační reakce 2-aminobenzoových kyselin nebo 2-aminobenzofenonů a jejich derivátů s α-aminokarbonylovými sloučeninami (**Metoda B**), reakce *N*-fenyl-1,2-diaminů s bis-elektrofily (**Metoda C**) a reakce aminu s aldehydy dle Pictetovy-Spenglerovy syntézy (**Metoda D**).[12]

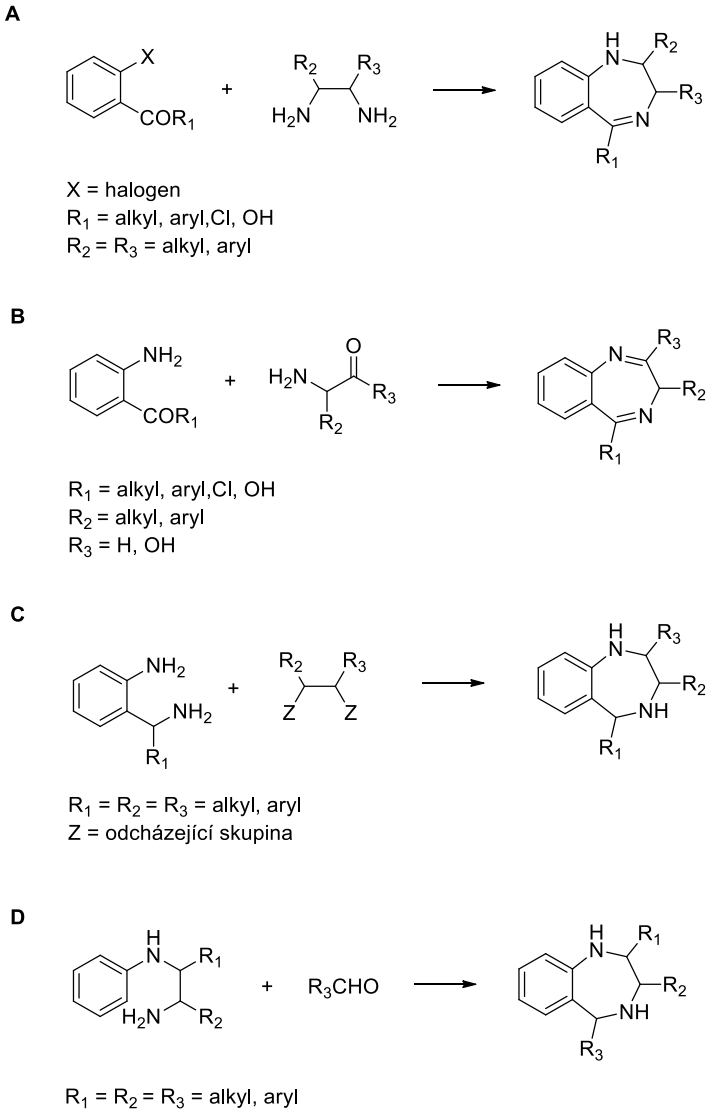


Schéma 5. Obecné syntetické přístupy vedoucí k 1,4-benzodiazepinům.

Bylo prokázáno, že 1,4-benzodiazepinony obsahující karbonylovou skupinu na diazepinovém kruhu jsou základními kameny většiny předepisovaných anxiolytik.[13] Na **Schématu 6** je popsán čtyřstupňový přístup k syntéze benzodiazepin-2-onu **30** z běžně dostupných výchozích materiálů. Prvním krokem byla nitrace methyl-4-(brommethyl)benzoátu (**25**) účinkem nitrační směsi při 10 °C. Vzniklý methyl-4-(brommethyl)-3-nitrobenzoát (**26**) byl následně klasickou nukleofilní substitucí s methylesterem sarkosinu (**27**) převeden na sloučeninu **28**, která redukcí vyvolanou směsí zelené skalice s chloridem amonným poskytla odpovídající amin **29**. Ten byl v závěrečném kroku v prostředí kyseliny octové zacyklen na požadovaný produkt **30**.[14]

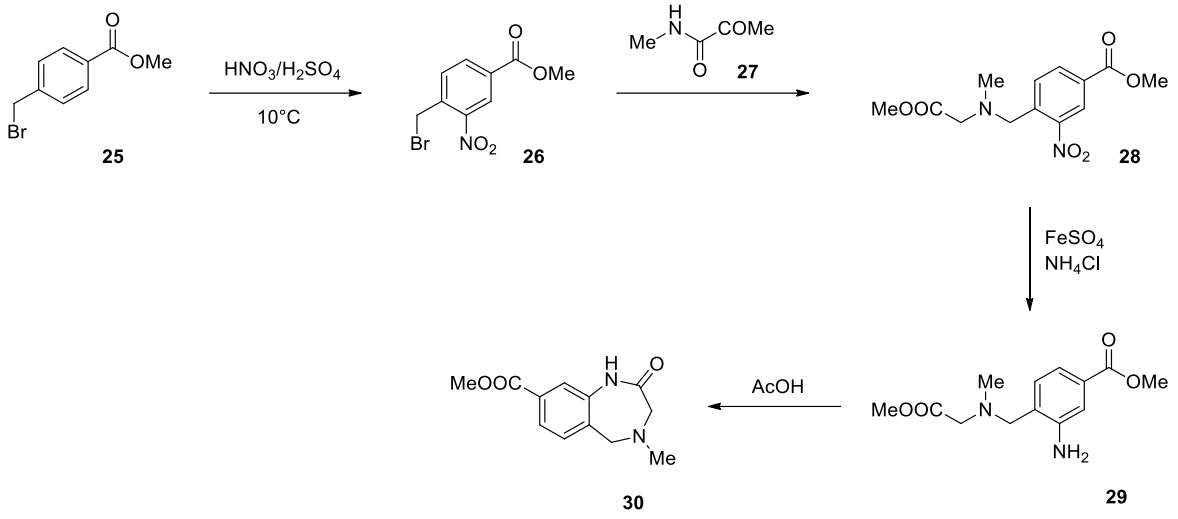


Schéma 6. Syntéza 1,4-benzodiazepin-2-onového karboxylátu.

Zajímavý způsob přípravy 1,4-benzodiazepinonů je založen na intra/intermolekulární alkendiaminační reakci katalyzovanou měďnatými ionty. Tato metoda využívá 2-ethylhexanoát měďnatý jako promotor k usnadnění kondenzace externích aminů s 2-sulfonamido-*N*-allylbenzamidy **31**, což vede k tvorbě aminomethyl-substituovaných 1,4-benzodiazepinonů **32** v dobrých výtěžcích (**Schéma 7**). Tyto významné bioaktivní sloučeniny nalézají své uplatnění nejen v lékařské chemii, ale jsou také využívány jako ligandy nebo katalyzátory při organických a organokovových transformacích jiných látek.[15]

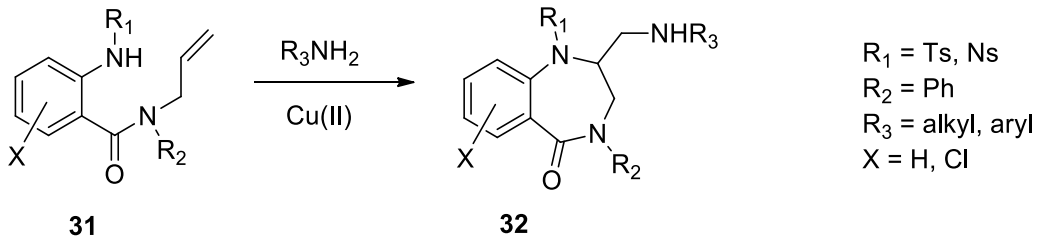


Schéma 7. Syntéza 2-aminomethyl-1,4-benzodiazepin-5-onu katalyzovaná měďnatou solí.

Dalším popisovaným postupem syntézy je příprava potencionálně antituberkulárních 1,4-benzodiazepin-2,5-dionů **36** z aminokyselin. Proces začíná syntézou vhodně substituovaných prekurzorů, 2-aminobenzamidomethylesterů **35**, z komerčně dostupného anhydridu kyseliny isatoové (**33**) a hydrochloridu methylesteru L-aminokyseliny **34**. Získané meziprodukty byly intramolekulární cyklizací vyvolanou katalytickým účinkem hexachloroplatičité kyseliny převedeny na 1,4-benzodiazepin-2,5-diony **36** (**Schéma 8**). U syntetizovaných sloučenin byly testovány jejich inhibiční účinky na mykobakteriální tuberkulózu (anti-TB). Sledované 1,4-benzodiazepin-2,5-diony **36** oproti jejich nezacykleným prekurzorům **35** vykázaly výrazně lepší výsledky.[16]

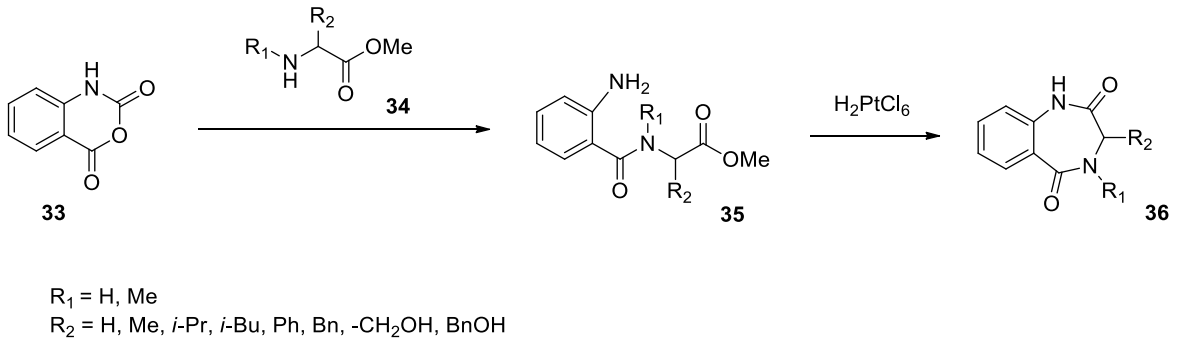
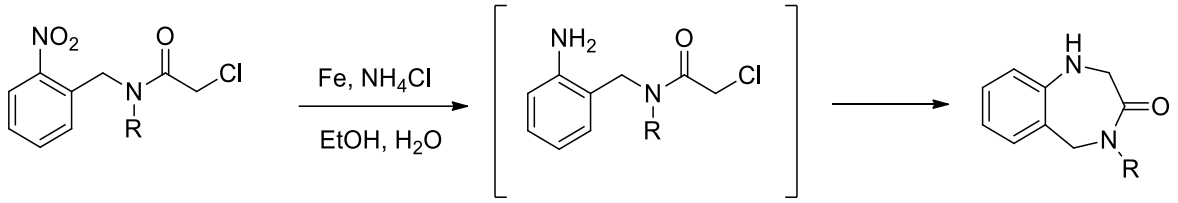


Schéma 8. Příprava tuberkulostatických 1,4-benzodiazepin-2,5-dionů **36**.

Sloučeniny s 1,4-benzodiazepin-3-onovým skeletem **39** lze úspěšně syntetizovat metodou redukční cyklizace halogenovaných *o*-nitroacetamidů (**Schéma 9**). Tyto dvoukrokové reakce byly zahájeny substitucí *N*-(2-nitrobenzyl)aminů s chloracetylchloridem ve vroucím toluenu a u vzniklých 2-chloracetamidů **37** byly v ethanolovém roztoku obsahujícím železný prach a chlorid amonný vyvolány intramolekulární cyklizace alifatických řetězců. Jelikož

tato metoda využívá cenově dostupné prekurzory a jednotlivé reakční stupně jsou prováděny za mírných podmínek na aparaturách nenáročných na výbavu laboratoře, je dozajista zajímavým syntetickým přístupem vedoucím ke sloučeninám s 1,4-benzodiazepin-3-onovým motivem.[17]



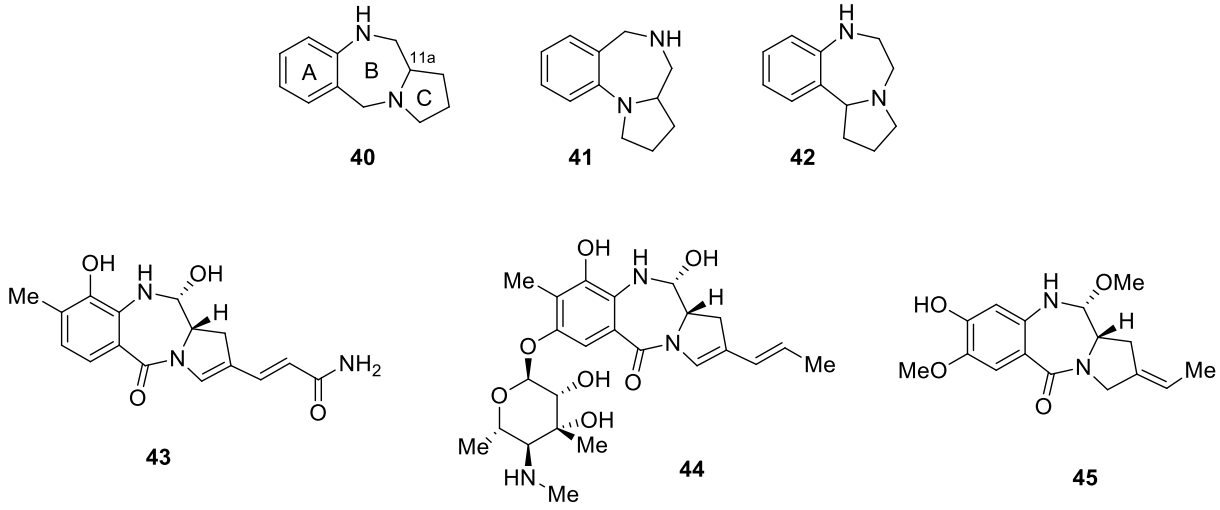
37 **38** **39**

R = Me, Et, Pr, *i*-Pr, Ph, 4-fluorobenzyl, 2-fenylethyl, 4-bromfenyl

Schéma 9. Syntéza 1,2,4,5-tetrahydro-1,4-benzodiazepin-3-onů **39**.

2 PYRROLOBENZODIAZEPINY

Pyrrolobenzodiazepiny (PBD) představují skupinu přirozeně se vyskytujících sloučenin s výraznými biologickými účinky a zajímavou strukturou. Strukturně se PBD skládají z tricyklického skeletu, kde aromatický (A), pyrrolový (C) a diazepinový (B) kruh tvoří centrální strukturu a je reprezentován třemi možnými strukturními izomery pyrrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin (**40**), pyrrolo[1,2-*a*][1,4]benzodiazepin (**41**) a pyrrolo[1,2-*d*][1,4]benzodiazepin (**42**) (**Obrázek 3**). Takové spojení heterocyklických kruhů poskytuje PBD vysokou stabilitu a schopnost specifické interakce s biologickými makromolekulami.[18,19] První izolovanou a následně charakterizovanou molekulou PBD byl Anthramycin (**43**). Od té doby byla identifikována celá řada přirozeně se vyskytujících PBD, které pocházejí ze *Streptomyces*. Mezi ně patří například Sibiromycin (**44**) a Tomamycin (**45**).[20]



Obrázek 3. Struktura PBD izomerů a vybraných zástupců PBD izolovaných z bakterií.

Závislost farmakologických vlastností na struktuře PBD sloučenin je značně ovlivněna konfigurací na atomu uhlíku v poloze 11a. Je-li na tomto chirálním místě konfigurace *S*, molekula má v trojrozměrném prostoru tvar pravotočivé šroubovice, díky čemuž PBD dokonale zapadají do malé drážky DNA s minimálním zkreslením tvaru původní šroubovice DNA.[21,22] Díky tomu, že se PBD vážou pevnou kovalentní vazbou k DNA, vykazují cytotoxickou aktivitu vůči nádorovým buňkám, čímž jsou nominovány mezi zajímavé kandidáty k léčbě rakoviny. Jejich mechanismus účinku spočívá v navazování na DNA a interferenci s replikačními procesy. Tím je narušena buněčná proliferace a dochází k

apoptóze nádorových buněk.[23] Buněčná apoptóza může být účinně posílena použitím PBD dimerů (dvě PBD jednotky vázané přes alkylendioxylové linkery). Díky tomu, že se každá PBD jednotka tohoto dimeru váže kovalentní vazbou k jinému vláknu dvoušroubovice DNA, je zabráněno jejímu rozplétání, čímž je znemožněna její replikace.[24] Bylo zjištěno, že PBD mají významné pozitivní účinky, proti rakovině slinivky břišní[25], rakovině prsu[26], rakovině prostaty[27], rakovině žaludku[28], melanomu[29] a leukémii[30].

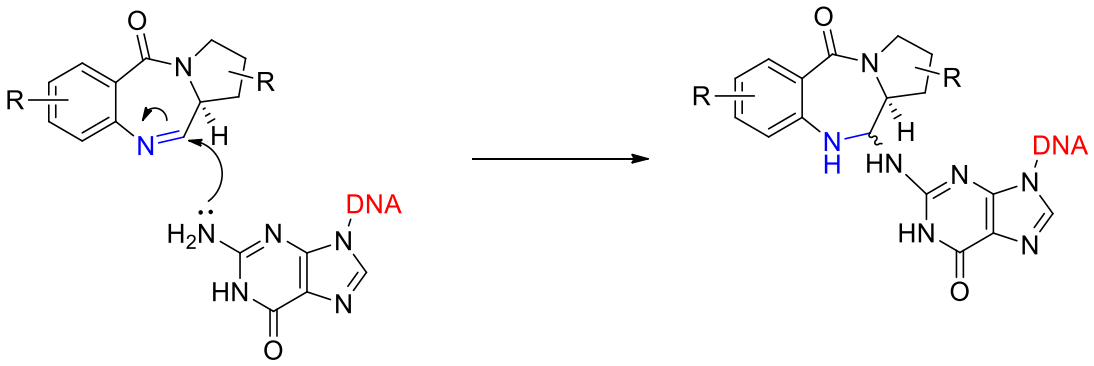


Schéma 10. Navrhovaný mechanismus tvorby kovalentní vazby mezi PBD a guaninem.

Pyrrolobenzodiazepinové dimery se využívají i jako ADC (konjugáty protilátka-lék), což představuje slibnou strategii v oblasti cílené léčby rakoviny. ADC je typ biologického léku, který kombinuje monoklonální protilátku (antibody) s cytotoxickou látkou (léčivem). V případě, že jsou PBD navázány na protilátku, která cíleně rozpoznává a váže se na specifické receptory exprimované na povrchu rakovinných buněk. Po navázání na buňku dochází k vnitrobuněčnému uvolnění PBD, který zprostředkovává cytotoxické účinky, vedoucí k zničení rakovinné buňky. Tato strategie umožňuje selektivní ničení rakovinných buněk s minimálními vedlejšími účinky na normální tkáně, což zvyšuje účinnost léčby a snižuje toxicitu pro pacienta.[31]

2.1 Metody syntézy PBD

V roce 2017 byla vyvinuta nová metoda syntézy PBD **46**, známá jako Ugi/Cyklizační sekvence. Jedná se o vícesložkovou organickou reakci, při které reaguje aldehyd nebo keton, amin, isokyanid a karboxylová kyselina, což umožňuje provádět tuto reakci v jedné nádobě. Pro přípravu odpovídajícího iminu byl 2-nitrobenzylamin smíchán s roztokem glyoxalu v methanolu, následně byl přidán alkylisokyanid a kyselina 3-brompropionová. Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě až do vysrážení produktu. V druhém kroku reakce byl produkt **46** redukován chloridem cínatým za kyselých podmínek a teploty

50 °C. Během této reakce vzniklá aminoskupina reagovala s karbonylovou skupinou ketonu za vzniku očekávaného PBD **48**. Při zvýšení teploty na 120 °C pak aminoskupina reagovala s karbonylovou skupinou amidu, čímž vznikl pyrrolochinazolin **49** (**Schéma 11**).[32]

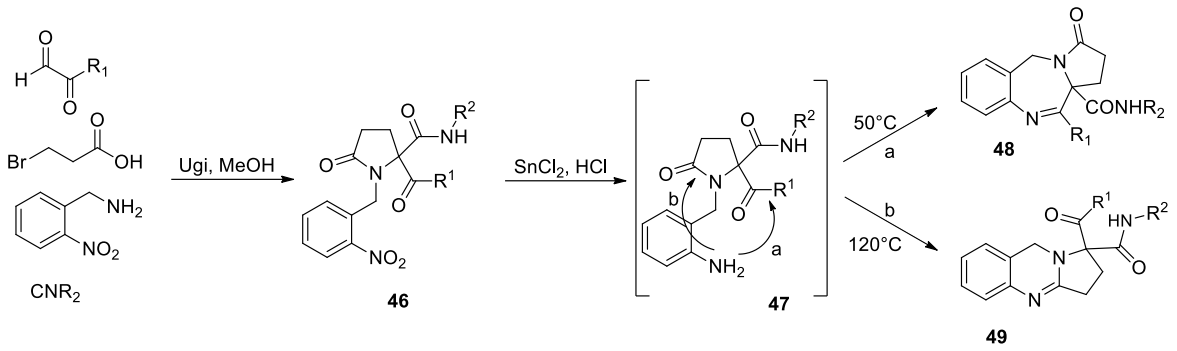


Schéma 11. Syntéza PBD Ugi/Cyklizační sekvencí.

Pro získání enantiomerně čistého PBD **54** využili Abás a spol. sublimaci při 100 °C, které se podrobila výchozí látka **51** (**Schéma 12**). Během tohoto procesu se projevil efekt selektivní disproporcionace (SDE), což je jev, při němž dochází k nerovnovážnému přerozdělení enantiomerů určité látky. To znamená, že jeden z enantiomerů je preferován a získáván ve větší míře než druhý. Základní princip oddělení enantiomerů spočívá v tvorbě homo- a heterochirálních druhů, které se liší interakcemi mezi molekulami a tudíž vykazují různé tlaky par. Reakcí enantiomerně čistého karboxylátu **51** s 2-nitrobenzoylchloridem (**50**) byla získána sloučenina **52** v 79% výtěžku, která po redukci oxoskupiny a po dehydrataci poskytla sloučeninu **53** s výtěžností 40 %. V závěrečné fázi této multistepové reakce, která zahrnovala redukci a cyklizaci, byl dosažen celkový výtěžek 30 % požadovaného PBD **54**. Stereochemická identita konečného produktu byla ověřena prostřednictvím srovnání HPLC chromatogramů racemického a enantiomerně čistého dilaktamu, což potvrdilo stabilitu stereocentra v průběhu syntetické sekvence.[33]

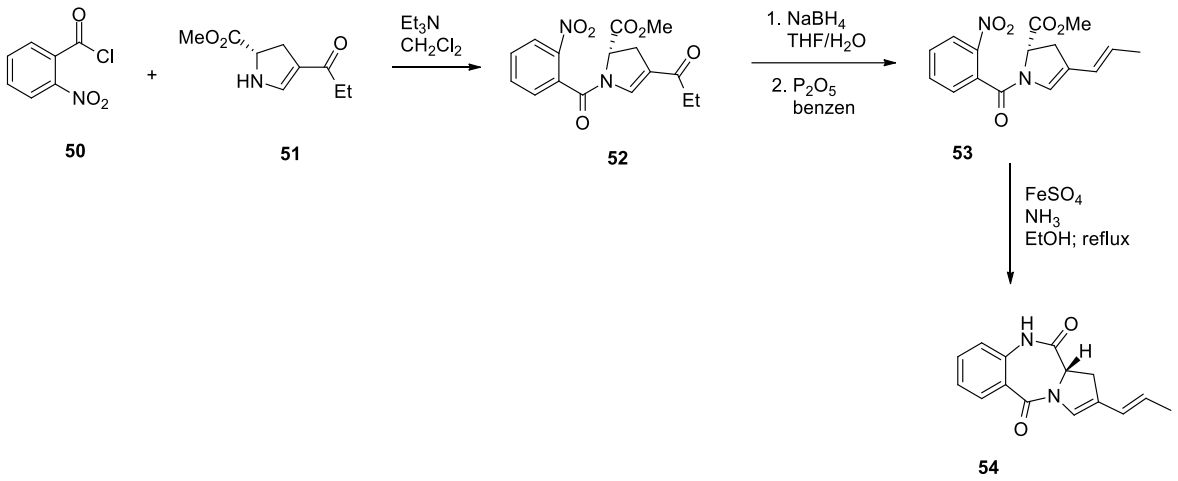


Schéma 12. Syntéza PBD dilaktamu.

K přípravě pyrrolo[1,2-*d*][1,4]benzodiazepinů **59** a **60** byly využity sice tři různé strategie, ovšem všechny z nich využívaly stejný typ výchozí látky (sloučeninu **55**). Meziprodukt **56** byl syntetizován deprotekcí skupiny Boc pomocí plynného chlorovodíku v dichlormethanu (DCM). Následně byla za použití triethylaminu v přítomnosti 4 Å molekulárních sít v DCM získána neutrální forma meziproduktu **56**, která byla dále přečištěna chromatografií na křemičitém gelu. Látka **57** byla získána oxidací olefinu **55** pomocí kombinace oxidu osmičelého (OsO_4) a jodistanu sodného ($NaIO_4$) při pokojové teplotě po dobu 45 hodin, tím se vytvořil 4-ketoaldehyd, který byl následně izolován chromatografickou purifikací. Pro syntézu látky **58** byla látka **55** v prostředí $PdCl_2$ a CuCl v DMF/H_2O za přítomnosti kyslíku při pokojové teplotě za 38 hodin zoxidována. Vzniklý 1,4-dion byl oddělen a přečištěn kolonovou chromatografií, což umožnilo odstranění nečistot a získání čistého produktu. Následně byly zkoumány různé podmínky pro syntézu pyrrolobenzodiazepinonů pomocí intramolekulárních Paal-Knorrových reakcí. Pod reakcí s tímto názvem je možné si představit kondenzaci aldehydu nebo ketonu s primárním aminem za vzniku α-aminoketonu, který se následně cyklizuje za vzniku pyrrolu. Chránící skupina (Boc) u sloučeniny **58** byla odstraněna pomocí kyseliny trifluoroctové (TCA) v DCM v poměru 1:2. Výsledné trifluoracetáty byly uvolněny pomocí iontoměničové pryskyřice a kyselina *p*-toluensulfonová DCM při 45 °C poskytla pyrrolo[1,2-*d*][1,4]benzodiazepinony **60** s výtěžky 46–63 %. Pyrroly **59** byly připraveny dvěma způsoby. V prvním případě byly izolovány v 52–83 % výtěžcích z mikrovlnně ohřívané vodné směsi 1,4-ketoaldehydů **57**, kdy došlo k odstranění Boc skupiny a zároveň k efektu *in situ* Paal-Knorrovy cyklizace při 150 °C po dobu 5–10 minut. Ve druhém případě byly připraveny z benzodiazepinonů **56**

s výtěžky 44–77 % ozonolýzou v DCM/MeOH (1:1) při -78 °C, kde vzniklý ozonid byl redukován nadbytkem dimethylsulfidu (**Schéma 13**). [34]

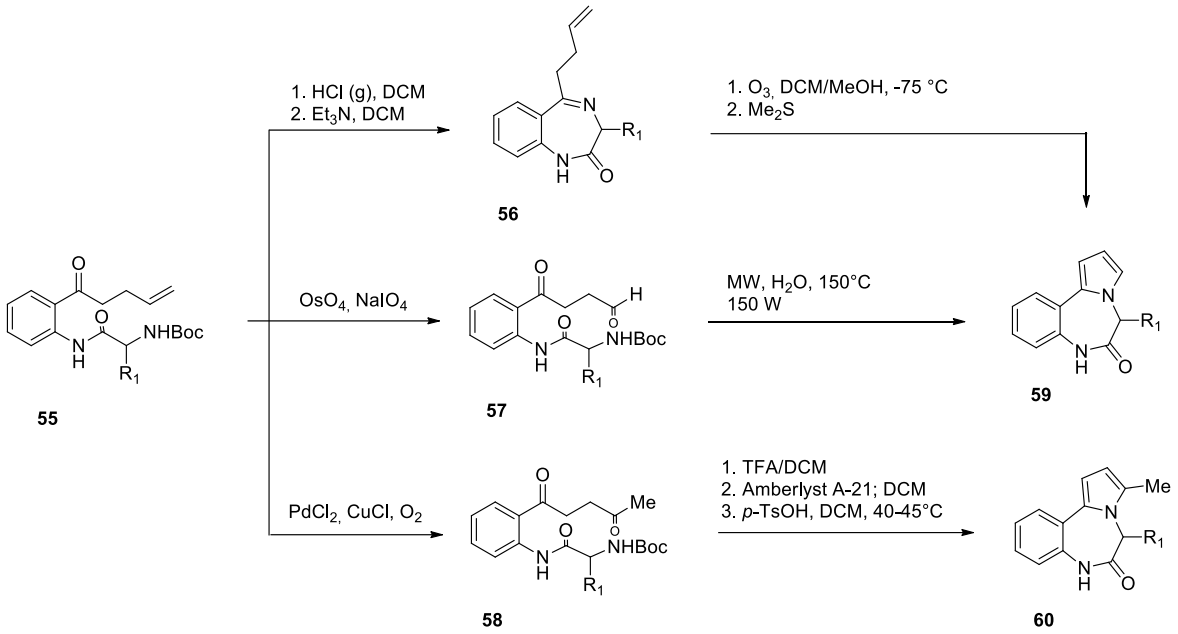


Schéma 13. Syntéza pyrrolobenzodiazepinu **59** a **60**.

Pyrrolobenzodiazepintriony **63** byly připraveny z benzodiazepinového prekurzoru (**62**), který byl syntetizován z dostupných a cenově příznivých vstupních látek, jako je anhydrid kyseliny isatové (**61**) a kyselina glutamová (Glu). Tento prekurzor **62** byl poté podroben cyklizaci, která byla provedena jeho zahřátím v acetanhydridu nebo *N,N*-dimethylacetamidu. Získaný pyrrolobenzodiazepintrion **63** byl izolován s 57% výtěžkem (**Schéma 14**).[35]

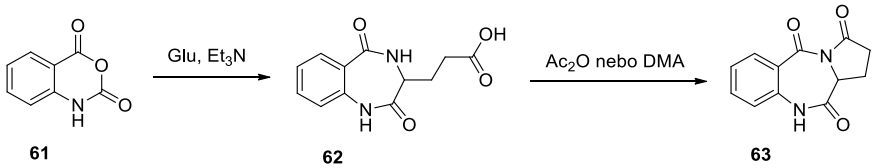


Schéma 14. Syntéza pyrrolobenzodiazepintrionu.

V roce 2014 Hussain a spol. (**Metoda A**) syntetizovali pyrrolobenzodiazepiny **63** pomocí $Sc(OTf)_3$ jako katalyzátoru v acetonitrilu (**Schéma 15**). Jako první provedli elektrofilní substituci, kterou následovala takzvaná Huisgenova cyklizace, což je chemická reakce, při které dochází k tvorbě cyklické sloučeniny (triazolu) z azidu a alkynu.[36]

Na základě této studie se Saquip a spol. (**Metoda B**) rozhodli přejít k ekologičtější syntéze této sloučeniny s důrazem na její udržitelnost. Tento nový postup využívá synergický katalytický systém jodu a [Bmim]BF_4, což je typ iontové kapaliny používané jako rozpouštědlo. V případě, kdy byla reakční směs ohřátá na teplotu 40 °C míchána ultrazvukovými vlnami, bylo po 2 hodinách dosaženo výtěžku až 90 %, zatímco míchání na běžné míchačce za stejných podmínek mělo za následek pokles výtěžku až na „pouhých" 70 % (**Schéma 15**).[37]

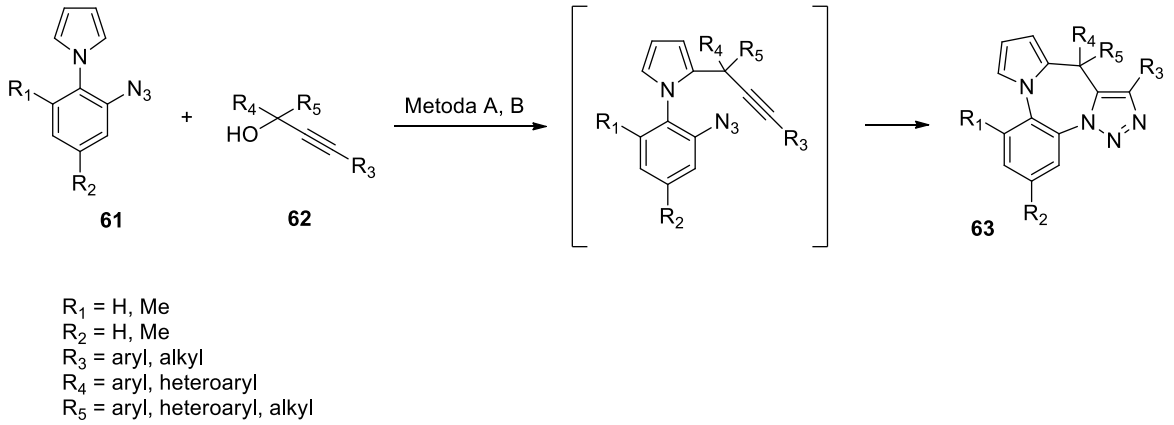
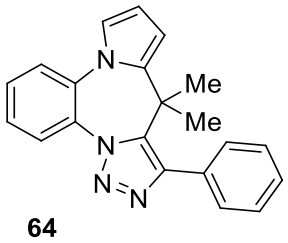


Schéma 15. Metody syntézy pyrrolobenzodiazepin-triazolů.

Všechny syntetizované sloučeniny byly hodnoceny z hlediska *in vitro* antiproliferační aktivity proti různým nádorovým buněčným liniím. Ze syntetizovaných sloučenin bylo zjištěno, že sloučenina **64** na **Obrázku 4** je nejaktivnější sloučeninou vykazující velmi dobré hodnoty IC_{50} proti nádorovým buněčným liniím karcinomu prsu, vaječníků a plic. Taktéž bylo zjištěno, že sloučeniny jsou netoxické proti normální buněčné linii lidských embryonálních ledvin (HEK-293).[37]



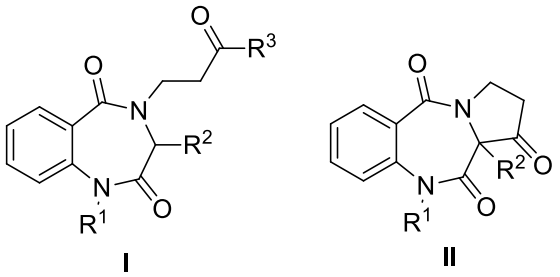
Obrázek 4. Struktura nejaktivnější sloučeniny proti nádorovým buněčným liniím.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Intro

Jak již bylo prezentováno v obsahu rešeršní části, mnoho sloučenin s BDZ a PBD motivem nalézají široké uplatnění ve farmaceutickém průmyslu, čímž je úzce spjata i zvýšená aktivita organických chemiků v oblasti jejich syntézy. Nejen na externích institucích, ale i na mé *alma mater*, konkrétně v odborné skupině doc. Kafky, je dlouhodobě věnovaná pozornost syntéze těchto sloučenin. Hlavním cílem této práce bylo navázat na tuto dlouholetou problematiku a doplnit tak portfolio již v dřívější době připravených sloučenin o benzodiazepintriony **I** a pyrrolobenzodiazepintriony **II**, jejichž základní struktury jsou znázorněné na **Obrázku 5**. Pro lepší orientaci v textu bylo v praktické části zvoleno číslování sloučenin římskými číslicemi.



Obrázek 5. Strukturní vzorce očekávaných sloučenin.

3.2 Diskuze výsledků

K přípravě PBD sloučenin je možné využívat různé strategie lišící se typem výchozích látek a jejich pořizovací cenou a samozřejmě i počtem reakčních kroků skrývajících v sobě různá úskalí. Při tvorbě našeho syntetického plánu, jež je prezentován ve **Schéma 16**, byl kladen důraz na snadnou dostupnost výchozích látek a potřebných reaktantů k jejich přeměnám a také na to, aby syntetická cesta zapadala do oblastí výzkumu odborné skupiny, jejímž členem jsem momentálně i já.

Základní myšlenkou bylo připravit několik derivátů 3-(3-methoxy-3-oxopropylamino)chinolin-2,4-dionů **III** a ty následně převést účinkem tetramethylguanidinu (TMG) na benzodiazepindiony **IV**. Dále pak konvertovat esterovou skupinu lokalizovanou na volném konci postranního řetězce na reaktivnější acylhalogenidovou skupinu, která by

měla intramolekulární nukleofilní substitucí na atomu uhlíku C-3 diazepinového kruhu způsobovat vznik nového pětičlenného kruhu.

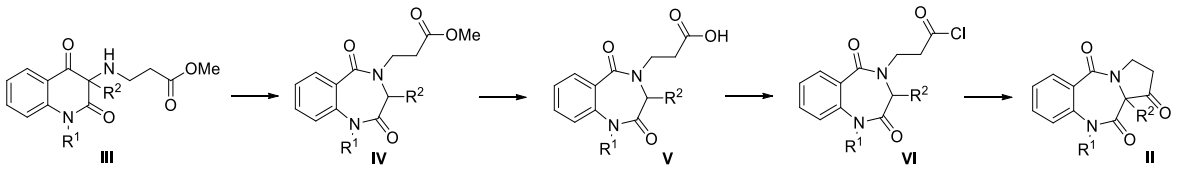


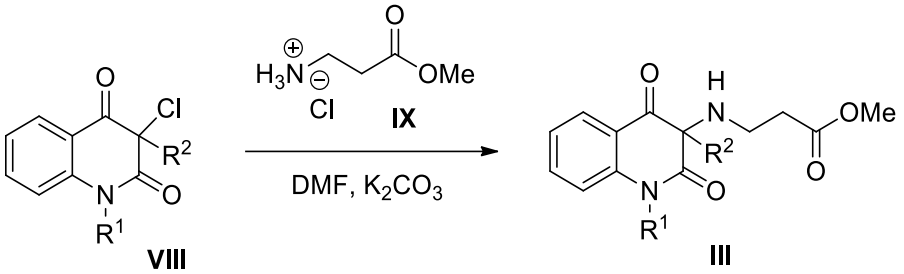
Schéma 16. Navržené reakční kroky přípravy požadovaných sloučenin.

Před samotným zahájením prací na zamýšlené čtyřkrokové syntéze směřované k PBD sloučeninám, bylo nezbytně nutné nashromáždit dostatečné kvantum tří vybraných derivátů 3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)chinolin-2,4-dionu **III**. Jelikož příprava těchto látek a jejich jednotlivých prekurzorů byla optimalizována již během mého předešlého studia a detailní popis výsledků závislých na zvolených reakčních podmínkách je uveden v mé bakalářské práci[38], bude v následujícím odstavci uveden pouze stručný postup, kterým byly získány sloučeniny **III** v dostatečném množství pro následující experimenty.

Již dříve bylo zjištěno, že 1,3-disubstituované 3-chlorchinolin-2,4-diony **VIII** nepodléhají nukleofilní substituci β-alaninem, což je pravděpodobně způsobeno tím, že se tato aminokyselina vyskytuje v podobě zwitterionu a není ochotna se rozpouštět v žádném z běžných organických rozpouštědel a to ani za horka. Z tohoto důvodu, bylo pro zavedení (3-methoxy-3-oxopropyl)aminové skupiny na chinolindionový skelet nutné připravit methyl-3-aminopropanoát **IX**, který byl ve formě hydrochloridu získán klasickou Fischerovou esterifikací β-alaninu methanolem katalyzovanou koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou.

Esenciální sloučeniny navrženého syntetického plánu, 3-aminochinolindiony **III**, byly tedy získány nukleofilní substitucí 3-chlorchinolin-2,4-dionů **VIII** hydrochloridem methyl-3-aminopropanoátu v prostředí DMF za přítomnosti K_2CO_3 jako báze (**Schéma 17**). Ve všech případech se po 4 hodinách míchání reakční směsi při laboratorní teplotě všechny výchozí látky selektivně přeměnily na jediný produkt. Úspěšnost nukleofilní substituce byla, po odstranění drobných nečistot od surových produktů sloupcovou chromatografií s použitím mobilní směsi Pe/EtOAc (1/1; *v/v*), potvrzena pomocí NMR spektroskopie. Jelikož tyto reakce, které byly u všech derivátů prováděny v různých množstvích několikrát, poskytly

prakticky identické relativní výtěžky izolovaného produktu s odchylkou ±2 %, je možné je označit jako zcela reprodukovatelné.

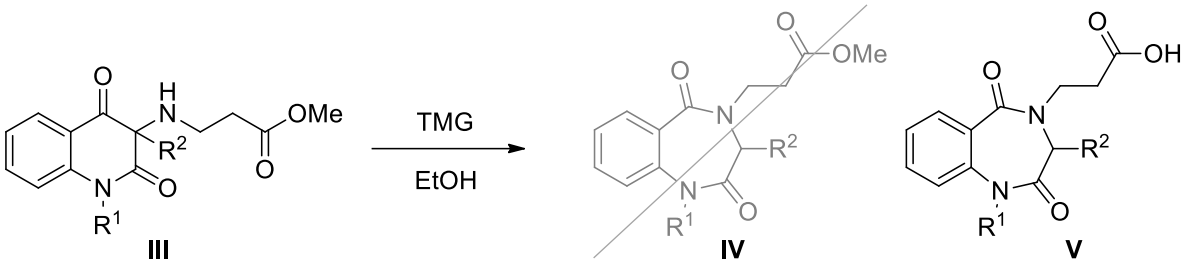


Vých. látka	R^1	R^2	R. doba (h)	Výtěžek (%)
VIIIa	Me	Ph	4	68
VIIIb	Ph	Me	4	66
VIIIc	H	Ph	4	78

Schéma 17. Nukleofilní substituce sloučenin **VIIIa–c** methyl-3-aminopropanoátem **IX**.

První experimentální kroky vedoucí do neznáma byly pokusy o expanzi šestičlenného pyridinového kruhu na sedmičlenný diazepinový kruh (**Schéma 18**). K tomuto účelu byly zvoleny oblíbené podmínky, to znamená, že výchozí látka **IIIa** rozpuštěná v ethanolu byla vystavena vlivu dvojnásobného molárního přebytku TMG. Reakce probíhala po dobu 48 hodin a byla sledována pomocí tenkovrstvé chromatografie. Při prvním pokusu o zpracování byl reakční roztok odpařen na RVO a následně byl surový produkt podroben sloupcové chromatografii s použitím mobilní směsi Pe/EtOAc (1/1; *v/v*). Pravděpodobně v důsledku interakce s křemičitým gelem došlo k přeměně na karboxylovou kyselinu, což vyžádalo eluci čistým ethanolem. Při druhém pokusu byla sloupcová chromatografie vynechána a místo toho byl surový produkt rozpuštěn v 5% HCl a následně extrahován do ethyl-acetátu. Organická fáze byla odpařena na RVO a NMR spektra taktéž potvrdila vznik produktu **V**.

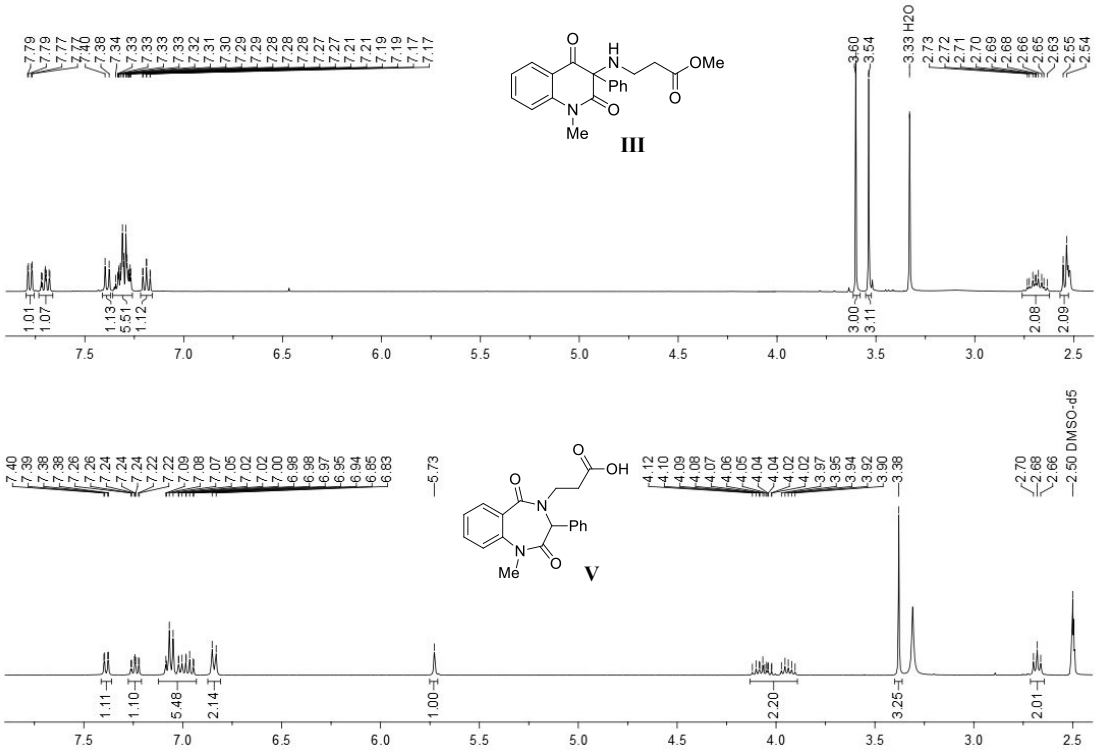
Tento průběh událostí představoval ideální situaci, jelikož umožnil přeskočení jednoho kroku z plánované syntézy. Derivát **Vb** se z neznámého důvodu nepodařilo úspěšně připravit. Při zpracování surového produktu docházelo opakovaně ke změně zbarvení a NMR spektra naznačovala přítomnost několika neidentifikovatelných látek.



Vých. látka **III**	R^1	R^2	R. doba (h)	Výtěžek **V** (%)
a	Me	Ph	48	65
b	Ph	Me	48	–
c	H	Ph	48	62

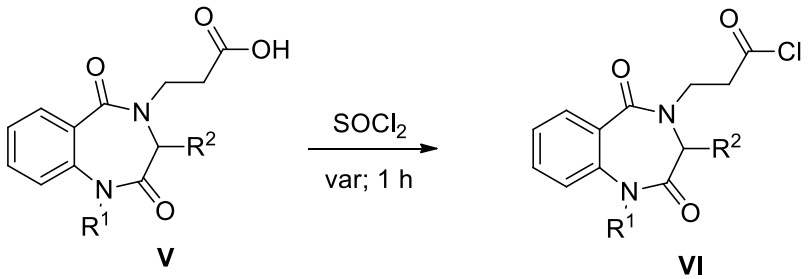
Schéma 18. Syntéza benzodiazepinových sloučenin **Va–c**.

Při srovnání ^{1}H NMR spekter výchozí látky **IIIa** (horní polovina **Obrázku 6**) a produktu **Va** (dolní polovina **obrázku 6**) lze snadno vypozorovat, že výrazné změny se odehrály v oblasti pravých částí spekter, to jest v místech výskytu signálů charakterizujících protony, jež jsou součástí alifatických částí molekul. Singlet při 5,73 ppm v dolním spektru potvrzuje úspěšnou expanzi kruhu, přičemž tento signál patří protonu diazepinového kruhu vázaného k atomu uhlíku C-3. Dále pak je možné zaznamenat výrazný posun multipletu popisující protony methylenové skupiny karboxyethylového řetězce sloučeniny **Va** k vyšším hodnotám ppm, což je způsobeno její bezprostřední blízkostí k nově vzniklému dilaktamovému kruhu. Jasným důkazem o proběhlé hydrolýze esterové skupiny je vymizení singletu při 3,60 ppm.



Obrázek 6. Výřez ^{1}H NMR spekter výchozí látky **IIIa** (nahoře) a produktu **Va** (dole).

Před finální cyklizací postranního řetězce bylo na základě navržené syntetické strategie nezbytné převést karboxylovou skupinu na acylhalgenidovou (**Schéma 19**). Tato transformace byla provedena klasickým způsobem, to je vařením sloučenin **V** s thionylchloridem pod inertní atmosférou argonu. Po jedné hodině refluxu a zpracování reakčních směsí pouhým odpařením přebytečných těkavých látek na RVO byly NMR analýzou potvrzeny struktury a čistoty požadovaných látek **VI**.

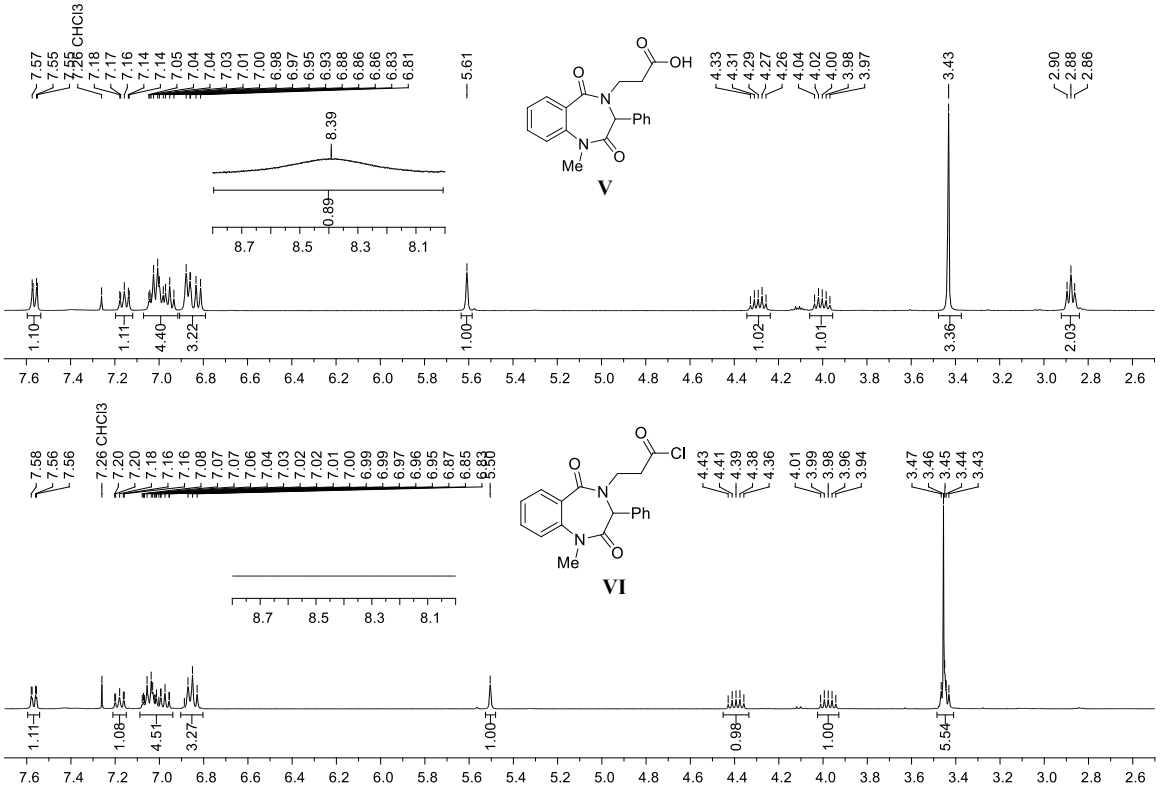


V **VI**

Vých. látka **V**	R^1	R^2	R. doba (h)	Výtěžek **VI** (%)
a	Me	Ph	1	86
c	H	Ph	1	84

Schéma 19. Syntéza sloučenin s 3-chlor-3-oxopropylovým řetězcem.

Při chloraci látek **V** došlo pouze k substituci hydroxylu karboxylové skupiny za chloridový ion, což se v NMR spektrech (**Obrázek 7**) acylchloridů **VI** projevilo absencí širokého singletu při 8–8,8 ppm a současně významným posunem (o cca 0,6 ppm) signálů náležících methylenové skupině, jež je bezprostředně připojena ke skupině karbonylové. Rezonance těchto protonů v nižším magnetickém poli související s posunem jejich signálů k vyšším hodnotám ppm je vyvolána výrazně větším záporným indukčním efektem zavedeného chloru než původní hydroxylové skupiny.

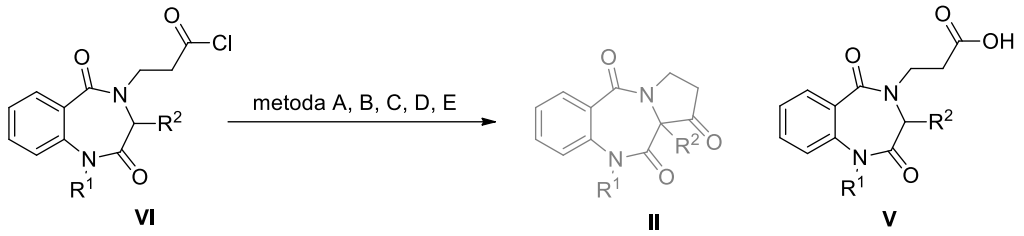


Obrázek 7. ^{1}H NMR spektrum výchozí látky **Va** (nahoře) a produktu **VIa** (dole).

Posledním krokem navrhované syntézy byla tvorba pyrrolového kruhu (**Schéma 20**). Za tímto účelem bylo vyzkoušeno pět různých metod s variací rozpouštědel a použitých bází. Všechny experimenty byly prováděny za laboratorní teploty, v suchých rozpouštědlech a pod inertní atmosférou argonu, neboť chlorid **VI** je, v podstatě jako každý acylhalogenid, velmi citlivý na vlhkost, která by způsobovala jeho nežádoucí přeměnu zpět na původní kyselinu. Monitorování průběhu reakcí bylo prováděno pomocí tenkovrstvé chromatografie. Z reakce označené jako **Metoda A**, která spočívala v bazickém účinku triethylaminu v tetrahydrofuranu (THF), byla po 24 hodinách izolována pouze původní kyselina **Va** a triethylamonium chlorid. **Metody B** a **C**, jež byly prováděny ve stejném rozpouštědle,

kterým byl DMF, se lišily pouze v použitém druhu báze. **Metoda B** využívala hydrid sodný a probíhala po dobu 48 hodin, zatímco **Metoda C** spoléhala na třídenní expozici 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu (DABCO). Přeměna byla pouze na výchozí substrát ve formě kyseliny **V**. Jelikož bylo zprvu při těchto metodách pracováno v suchých a později ještě v sušších rozpouštědlech a činidlech a pod inertní atmosférou, je tato hydrolýza výchozích látek **VI**, která nastávala prakticky ihned po přídavku báze, doposud záhadou.

Metoda D a **Metoda E** zkoumala vliv 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-enu (DBU) a benzyltriethylamonium hydroxidu (TRITON B) na roztoky výchozí látky **VI** v THF. V podstatě obě reakce dopadly velmi podobně. Tím je myšleno, že ihned po přídavku báze reakční směs zčernala a ve výsledku, po spotřebování původní látky, vznikla komplikovaná směs produktů, ze kterých se nepodařilo izolovat ani identifikovat žádné chemické individuum.

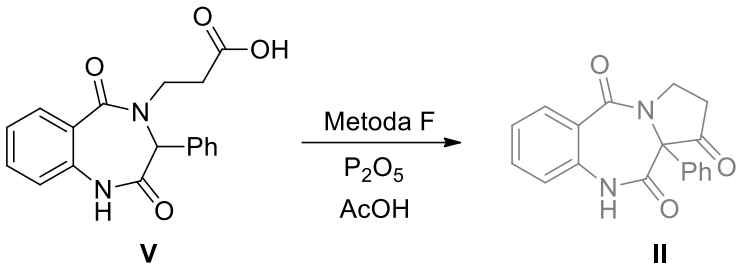


VI **II** **V**

Metoda	R^1	R^2	Rozpouštědlo	Báze	R. doba (h)	Výtěžek **V** (%)
A	Me	Ph	THF	Et_3N	24	53
B	Me	Ph	DMF	NaH	48	7
C	H	Ph	DMF	DABCO	72	27
D	H	Ph	THF	DBU	120	–
E	Me	Ph	THF	TRITON B	48	–

Schéma 20. Provedené pokusy o cyklizaci postranního řetězce.

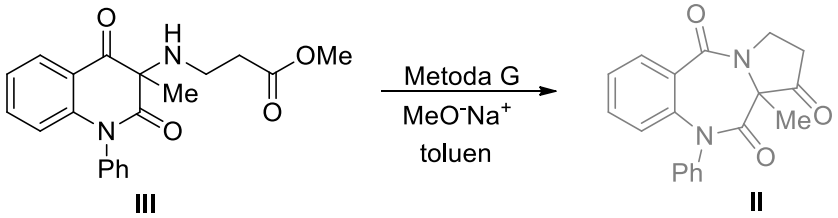
Těchto pět neúspěšných reakcí nás vedly k nutnosti přemýšlet nad náhradními přístupy k syntéze požadovaných sloučenin. Proto bylo upuštěno od původně plánované reakce a byla vyzkoušena alternativní metoda, která si kladla za cíl, vyzkoušet připravit PBD teoreticky možnou cyklodehydratační reakcí kyseliny **V**. Jako dehydratační činidlo byl zvolen oxid fosforečný v ledové kyselině octové, který po dvoudenním míchání reakční směsi při laboratorní teplotě vytvořil černou olejovitou směs látek, které se nepodařilo vzájemně separovat.



V **II**

Schéma 21. Pokus o cyklodehydratační reakci sloučeniny **V**.

Po neúspěchu z předchozích pokusů byla provedena další syntéza podle literárního postupu[39], která měla analogii s navrženou syntézou na **Schématu 22**. V literatuře byla popsána cyklizace pomocí methoxidu sodného v toluenu, která měla vést k vytvoření pyrrolového kruhu. Při pozorování této směsi tenkovrstvou chromatografií bylo zjištěno, že ani po 24 hodinách míchání při laboratorní teplotě, ani po 12 hodinách jejího zahřívání na 50 °C nepociťovala výchozí látka žádné změny. Proto reakce byla ukončena a bez dalšího zkoumání zklikvidována.



III **II**

Schéma 22. Pokus o reakci se sloučeninou **III**.

4 POUŽITÉ ZAŘÍZENÍ A PŘÍSTROJE

Reagenty a rozpouštědla byly zakoupeny z běžných komerčních zdrojů (Sigma Aldrich, Fisher Scientific, VWR). Retenční faktory v průběhu reakcí byly sledovány chromatografií na tenké vrstvě (TLC). Pro tento účel byly použity komerční hliníkové destičky s vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) a s fluorescenčním indikátorem pro UV 254 nm. Na sloupcovou chromatografii byl použit silikagel 60, 220–240 mesh s velikostí částic 35–75 μm, velikost pórů 60 Å. Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nebyly korigovány.

Infračervená spektra byla měřena metodou KBr tablet na FT-IR spektrometru Alpha (Brucker Optik GmbH Ettlingen).

NMR spektra byla měřena spektrometrem JEOL ECZ 400 při frekvenci 399,75 MHz (^{1}H) a 100,55 MHz (^{13}C). Měření spekter bylo provedeno při teplotě 303 K v DMSO-d_6 a $CDCl_3$. ^{1}H NMR spektra byla kalibrována na residuální $CHCl_3$ s chemickým posunem δ 7,25 ppm a ^{13}C NMR spektra byla korigována na ^{13}C signál $CDCl_3$ s chemickým posunem 77,16 ppm. U deuterovaného dimethylsulfoxidu byla ^{1}H NMR spektra kalibrována na residuální DMSO-d_5 s chemickým posunem 2,50 ppm. ^{13}C NMR spektra byla korigována na ^{13}C signál DMSO-d_6 s chemickým posunem 39,52 ppm. Chemické posuny jsou uváděny v jednotkách ppm. Interakční konstanta *J* je uváděna v jednotkách Hz. Multiplicita signálů je značena zkratkami s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubletu), t (triplet), td (triplet dubletu), m (multiplet).

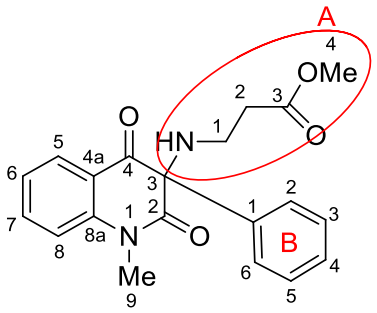
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Příprava prekurzorů a cílových látek

Syntéza 3-(3-methoxy-3-oxo-propylamino)chinolin-2,4(*1H*,*3H*)-dionu (III)

Směs 3-chlorchinolindionu (**VIII**, 5 mmol), K_2CO_3 (13 mmol) a hydrochloridu methyl-3-aminopropanoátu (**IX**, 6,5 mmol) ve 20 ml DMF byla za laboratorní teploty míchána po dobu 4 h. Poté byla většina DMF odstraněna odpařováním na RVO s přídavky toluenu. Zbylý olejovitý odparek byl rozpuštěn v 15 ml vody, která byla následně vytřepána EtOAc (4 × 20 ml). Ze spojených a vysušených (Na_2SO_4) organických podílů byly na RVO odpařeny přebytečné těkavé látky. Získaný surový produkt **III** byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s použitím mobilní směsi Pe/EtOAc (1/1, *v/v*).

3-Fenyl-3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)-1-methylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (IIIa)



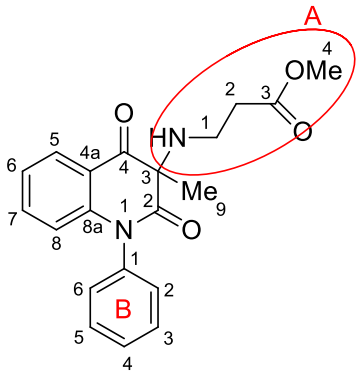
Žlutá olejovitá látka: výtěžek = 68 %, Rf = 0,29 (1/1 Pe v EtOAc)

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1}: 1772, 1735, 1677, 1615, 1541, 1242, 1041, 878, 763, 726, 589, 523, 424.

^{1}H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 2,55 (t, 2H, H-2^A, *J* = 5.0 Hz); 2,73–2,63 (m, 2H, H-1^A); 3,54 (s, 3H, H-9); 3,60 (s, 3H, H-4^A); 7,19 (td, 1H, H-6, *J* = 7,7; 0,8 Hz); 7,27–7,33 (m, 5H, H-2^B, H-3^B, H-4^B, H-5^B, H-6^B); 7,39 (d, 1H, H-8, *J* = 8.2 Hz); 7,72 – 7,68 (m, 1H, H-7); 7,78 (dd, 1H, H-5, *J* = 7,7; 1,6 Hz).

^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 29,95 (C-9); 34,89 (C-2^A); 40,55 (C-1^A); 51,18 (C-4^A); 76,99 (C-3); 115,86 (C-8); 120,69 (C-4a); 123,20 (C-6); 126,68 (C-2^B, C-6^B); 127,30 (C-5); 128,61 (C-7, C-3^B, C-5^B); 128,79 (C-4^B); 132,15 (C-1^B); 142,14 (C-8a); 170,86 (C-2); 172,30 (C-3^A); 192,91 (C-4).

1-Fenyl-3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)-3-methylchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (IIIb)



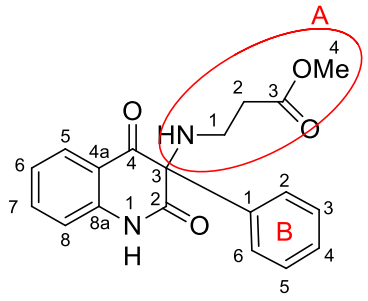
Žlutá olejovitá látka: výtěžek = 66 %, R_f = 0,19 (1/1 Pe v EtOAc)

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1}: 1715, 1650, 1593, 1489, 1463, 1365, 1330, 1247, 1189, 1072, 754, 708, 519.

^{1}H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 1,48 (s, 3H, H-9); 2,45 (t, 2H, H-2^A, *J* = 6,9 Hz); 2,73 (td, 2H, H-1^A, *J* = 7,0; 2,7 Hz); 3,58 (s, 3H, H-4^A); 6,34 (d, 1H, H-4^B, *J* = 8,2 Hz) 7,21–7,13 (m, 1H, H-6); 7,41–7,34 (m, 2H, H-2^B, H-6^B); 7,58–7,48 (m, 2H, H-3^B, H-5^B); 7,64–7,60 (m, 2H, H-5, H-8); 7,92 (dd, 1H, H-7, *J* = 7,8; 1,5 Hz).

^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 24,05 (C-9); 34,84 (C-2^A); 51,13 (C-1^A); 59,71 (C-4^A); 69,54 (C-3); 116,34 (C-8); 119,66 (C-4a); 122,84 (C-2^B, C-6^B); 127,22 (C-5); 128,74 (C-4^B); 129,18 (C-7, C-3^B, C-5^B); 130,10 (C-6); 135,61 (C-1^B); 137,57 (C-8a); 143,55 (C-2); 172,22 (C-3^A); 194,86 (C-4).

3-Fenyl-3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (IIIc)



Žlutá olejovitá látka: výtěžek = 78 %, R_f = 0,29 (1/1 Pe v EtOAc)

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1}: 1764, 1680, 1617, 1524, 1487, 1391, 1325, 1320, 1233, 1146, 931, 808, 724

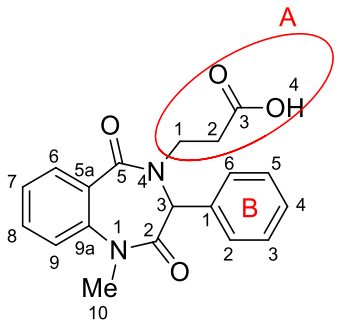
^{1}H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 2,56–2,52 (m, 2H, H-2^{A}); 2,70 (t, 2H, H-1^{A}, *J* = 6,7 Hz); 3,57 (s, 3H, H-4^{A}); 7,15–7,05 (m, 2H, H-5, H-8); 7,44–7,31 (m, 5H, H-2^{B}, H-3^{B}, H-4^{B}, H-5^{B}, H-6^{B}); 7,62 (ddd, 1H, H-7, *J* = 8,8; 7,3; 1,6 Hz); 7,74 (dd, 1H, H-6, *J* = 7,8; 1,3 Hz).

^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 34,88 (C-2^{A}); 40,55 (C-1^{A}); 51,19 (C-4^{A}); 76,39 (C-3); 116,35 (C-8); 119,19 (C-4a); 122,84 (C-5); 126,62 (C-2^{B}, C-6^{B}); 127,15 (C-4^{B}); 128,58 (C-7); 128,77 (C-6, C-3^{B}, C-5^{B}); 136,30 (C-8a); 137,33 (C-1^{B}); 171,35 (C-2); 172,34 (C-3^{A}); 193,86 (C-4).

Syntéza 4-(2-karboxyethyl)-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů V

Výchozí látka 3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)chinolin-2,4-dion (**III**, 4 mmol) s TMG (8 mmol) byla rozpuštěna v 15 ml ethanolu. Tato reakční směs se míchala za laboratorní teploty 2 dny. Po spotřebování výchozí látky byly přebytečná těkavá rozpouštědla odpařena na RVO. Odparek byl rozpuštěn v 15 ml 5% HCl a třepán do chloroformu. Ze spojených a vysušených (Na_2SO_4) organických podílů byly na RVO odpařeny přebytečné těkavé látky a přidáním cyklohexanu byly získány krystaly.

3-Fenyl-4-(2-karboxyethyl)-1-methyl-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion (Va)



Žlutá krystalická látka: výtěžek = 65 %, R_f = 0,47 (EtOH), t_t = 170–173°C (cyklohexan)

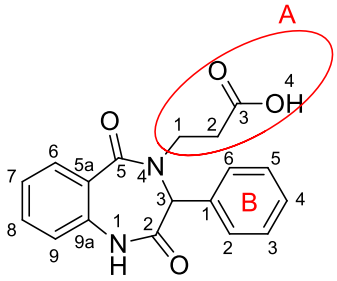
IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1}: 2960, 1720, 1668, 1601, 1567, 1475, 1371,1214, 1050, 838, 712, 529.

^{1}H NMR spektrum ($CDCl_3$, 400 MHz), ppm: δ 2,87 (t, 2H, H-2^{A}, *J* = 6,9Hz); 3,43 (s, 3H, H-10); 4,03–3,96 (m, 1H, H-1^{A}); 4,32–4,25 (m, 1H, H-1^{A}); 5,6 (s, 1H, H-3); 7,07–6,78 (m,

7H, H-2^{B}, H-3^{B}, H-4^{B}, H-5^{B}, H-6^{B}, H-7, H-9); 7,19 – 7,12 (m, 1H, H-8); 7,56 (dd,1H, H-6, *J* = 7,9; 1,5 Hz); 8,39 (s, 1H, H-4^{A}).

^{13}C NMR spektrum ($CDCl_3$, 101 MHz), ppm: δ 32,95 (C-10); 36,02 (C-2^{A}); 47,44 (C-1^{A}); 68,68 (C-3); 120,80 (C-9); 124,17 (C-2^{B}; C-6^{B}); 125,47 (C-7); 127,59 (C-4^{B}); 128,47 (C-3^{B}; C-5^{B}); 129,72 (C-5a); 130,46 (C-6); 131,98 (C-8); 133,75 (C-1^{B}); 139,55 (C-9a); 167,57 (C-5); 170,44 (C-2); 175,24 (C-3^{A}).

3-Fenyl-4-(2-karboxyethyl)-3,4-dihydro-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion (Vc)



Žlutá krystalická látka: výtěžek = 62 %, R_f = 0,51 (EtOH), t_t = 168–174°C (cyklohexan)

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1}: 2981, 1728, 1682, 1606, 1484, 1390, 1200, 1156, 1028, 826, 753, 703, 522

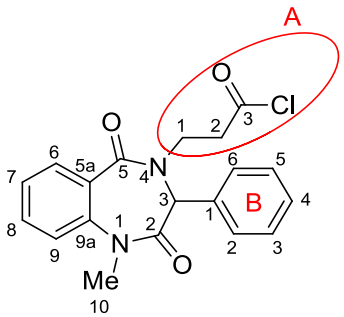
^{1}H NMR spektrum ($CDCl_3$, 400 MHz), ppm: δ 2,86 (t, 2H, H-2^{A}, *J* = 6,7 Hz); 4,01 (m, 1H, H-1^{A}); 4,33 (m, 1H, H-1^{A}); 5,51 (s, 1H, H-3); 6,69 (d, 1H, H-9, *J* = 8,0 Hz); 7,20–6,92 (m, 7H, H-2^{B}, H-3^{B}, H-4^{B}, H-5^{B}, H-6^{B}, H-7, H-8); 7,7 (dd, 1H, H-6, *J* = 7,8; 1,2 Hz); 8,36 (s, 1H, H-1) 8,64 (s, 1H, H-4^{A}).

^{13}C NMR spektrum ($CDCl_3$, 101 MHz), ppm: δ 32,89 (C-10); 35,96 (C-2^{A}); 47,38 (C-1^{A}); 68,62 (C-3); 120,74 (C-9); 124,12 (C-2^{B}; C-6^{B}); 125,41 (C-7); 127,53 (C-4^{B}); 128,41 (C-3^{B}; C-5^{B}); 129,66 (C-5a); 130,40 (C-6); 131,93 (C-8); 133,69 (C-1^{B}); 139,49 (C-9a); 167,51 (C-5); 170,39 (C-2); 175,19 (C-3^{A}).

Syntéza 4-(3-chlor-3-oxopropyl)-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dionů VI

Směs 4-(2-karboxyethyl)benzodiazepin-2,5-dionu (**V**, 1 mmol) s $SOCl_2$ (123 mmol) byla 1 hodinu vařena pod inertní atmosférou. Po ukončení reakce byl přebytečný thionylchlorid odpařen na RVO a zbylý produkt ve formě viskosního oleje byl poté analyzován na NMR.

4-(3-Chlor-3-oxopropyl)-3-fenyl-1-methyl-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion (VIa)

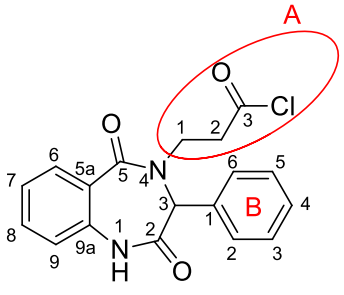


Žlutá olejovitá látka: výtěžek = 86 %, R_f = 0,32 (9/1 $CHCl_3$ v EtOH)

^{1}H NMR spektrum ($CDCl_3$, 400 MHz), ppm: δ 3,49–3,41 (m, 5H, H-10, H-2^A); 3,98 (dt, 1H, H-1^A, *J* = 13,8; 6,7 Hz); 4,39 (dt, 1H, H-1^A, *J* = 14,2; 7,2 Hz); 5,50 (s, 1H, H-3); 7,10–6,80 (m, 7H, H-2^B, H-3^B, H-4^B, H-5^B, H-6^B, H-7, H-9); 7,22–7,15 (m, 1H, H-8); 7,57 (dd, 1H, H-6, *J* = 7,9; 1,5 Hz).

^{13}C NMR spektrum ($CDCl_3$, 101 MHz), ppm: δ 36,03 (C-10); 45,49 (C-2^A); 47,15 (C-1^A); 69,04 (C-3); 120,91 (C-9); 124,09 (C-2^B; C-6^B); 125,54 (C-7); 127,80 (C-4^B); 128,60 (C-3^B; C-5^B); 129,52 (C-5a); 130,46 (C-6); 132,19 (C-8); 133,43 (C-1^B); 139,63 (C-9a); 167,53 (C-5); 169,96 (C-2); 172,07 (C-3^A).

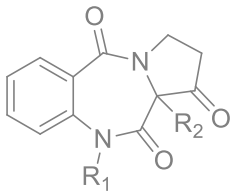
4-(3-Chlor-3-oxopropyl)-3-fenyl-1*H*-benzo[*e*][1,4]diazepin-2,5-dion (VIc)



Žlutá olejovitá látka: výtěžek = 84 %, R_f = 0,39 (9/1 $CHCl_3$ v EtOH)

^{1}H NMR spektrum ($CDCl_3$, 400 MHz), ppm: δ 3,50–3,39 (m, 2H, H-2A); 3,91–4,05 (m, 2H, H-1A); 5,50 (s, 1H, H-3); 7,25–6,90 (m, 7H, H-2B, H-3B, H-4B, H-5B, H-6B, H-7, H-9); 8,27–8,12 (m, 1H, H-8); 8,34 (dd, 1H, H-6, *J* = 4,5; 3,5 Hz).

5.2 Nezdařené pokusy směřované k přípravě pyrrolobenzodiazepinu II



Metoda A

Po smíchání 4-(3-chlor-3-oxopropyl)benzodiazepindionu **VIa** (444,3 mg; 1,25 mmol) s THF (5 ml) a s triethylaminem (1,375 mmol; 0,19 ml; 10% nadbytek) byla reakční směs pod inertní atmosférou argonu míchána 24 hodin při laboratorní teplotě. Po přidání triethylaminu vznikla sraženina, která byla po ukončení reakce odfiltrována přes fritu a analyzována pomocí NMR, kde bylo potvrzeno, že se jedná o triethylamin hydrochlorid. Získaný filtrát byl odpařen na RVO. Ke zbylému odparku bylo přidáno 25 ml vody a vzniklá směs byla extrahována ethyl-acetátem (4 × 15ml). Organický podíl byl vysušen (Na_2SO_4) a odpařen na RVO. Po změření NMR vykazoval surový produkt pouze signály původní kyseliny **Va**.

Metoda B

Suspenze 4-(3-chlor-3-oxopropyl)benzodiazepindionu **VIa** (577,8 mg; 1,62 mmol) a NaH (3,25 mmol; 130 mg) v 5 ml DMF byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě pod inertní atmosférou argonu. Jelikož dle TLC nevznikal žádný produkt, bylo do reakční směsi přidáno dalších 130 mg NaH a opět vše mícháno 24 h. Po ukončení reakce byla směs nalita do 30 ml vody, která byla vytřepána do ethyl-acetátu (4 × 15 ml). Organický podíl byl vysušen (Na_2SO_4) a odpařen na RVO. Odparek byl dán na kolonu s mobilní směsí $CHCl_3$/EtOAc (7/1, *v/v*). Frakce byly změřeny na NMR spektrometru, kde byla identifikována pouze jedna čistá frakce, kterou tvořila původní kyselina **Va**.

Metoda C

K 4-(3-chlor-3-oxopropyl)benzodiazepindionu **VIc** (242,8 mg; 0,7 mmol) rozpuštěnému v DMF (5 ml) bylo jako báze přidáno DABCO (1,2 mmol; 134,60 mg). Roztok byl míchán při laboratorní teplotě 1 den, během kterého nedocházelo k výrazným změnám původní směsi, proto bylo přidáno další množství DABCO (0,5 mmol) a reakční roztok byl nadále 2 dny zahříván na 50 °C. Dle TLC prokazatelně vzniklo více produktů, ze kterých se běžným zpracováním reakční směsi, to je odpařením přebytečného množství DMF, extrakcí organických látek z vody do EtOAc (4 × 15ml) následovanou chromatografií na silikagelu směsí $CHCl_3$/EtOH (9/1, *v/v*), podařilo izolovat a identifikovat pouze původní kyselinu **Vc**.

Metoda D

K 4-(3-chlor-3-oxopropyl)benzodiazepindionu **VIc** (324,11 mg; 1 mmol) rozpuštěnému v THF (5 ml) byl při laboratorní teplotě přikapán DBU (1,5 mmol; 0,21 ml). Při přidání DBU došlo ke vzniku černé olejovité hmoty, která měla dle TLC stejné složení jako původní roztok. Výchozí látka se sice během 5 dní spotřebovala, ovšem tak komplikovanou směs nebylo smyslné ani zkoušet separovat.

Metoda E

Roztok složený z 4-(3-chlor-3-oxopropyl)benzodiazepindionu **VIa** (167,2 mg; 0,48 mmol) TRITON B (246,8 mg; 0,72 mmol) a THF (5 ml) byl míchán pod inertním plynem 48 hodin při laboratorní teplotě. Poté bylo přebytečné rozpouštědlo odpařeno na RVO. Černý olejovitý odparek byl rozpuštěn ve vodě, který byl extrahován do EtOAc (4 × 15 ml). Organický podíl byl vysušen (Na_2SO_4) a odpařen. Surový produkt byl podroben chromatografii na sloupci silikagelu, při které byly využívány směsi $CHCl_3$/EtOH (9/1, *v/v*) a $CHCl_3$/EtOH (19/1, *v/v*). Bohužel, žádné látky se nepodařilo úspěšně oddělit.

Metoda F

Výchozí 4-(2-karboxyethyl)benzodiazepindion **Vc** (114,1 mg; 0,3 mmol) byl rozpuštěn v kyselině octové a do vzniklého roztoku byl přidán P_2O_5 (43 mg; 0,3 mmol). Reakční roztok byl míchán 24 hodin při laboratorní teplotě. Jelikož dle TLC v roztoku nedocházelo k žádným změnám, bylo přidáno další množství P_2O_5 (43 mg; 0,3 mmol), které během 48 hodinách míchání způsobilo vznik černé olejovité látky, ze které se nepodařilo izolovat žádné sloučeniny, proto byla reakční směs zlikvidována.

Metoda G

K roztoku 3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)chinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionu **IIIa** (107,3 mg; 0,3 mmol) v 5 ml toluenu byl přidán methoxid sodný (32,41 mg; 0,6 mmol). Protože po 24 hodinovém míchání při laboratorní teplotě byla v reakční směsi přítomna pouze výchozí látka, byl přidán další podíl methoxidu sodného (32,35 mg; 0,6 mmol), se kterým byla reakční směs 12 hodin zahřívána na 50 °C. Jelikož i za těchto podmínek byla v roztoku pouze výchozí látka, byla směs bez zpracování zlikvidována.

ZÁVĚR

Náplň této práce spočívala v analýze literatury zabývající se vlastnostmi BDZ a PBD sloučenin a různými metodami jejich přípravy. Dále je v práci zahrnut návrh předpokládaného experimentálního postupu pro syntézu pyrrolobenzodiazepintronů z benzodiazepindionů s navázaným řetězcem v poloze 4 a provedení samotných syntéz v laboratorních podmínkách.

Navržená syntetická cesta vycházela z derivátů 3-((3-methoxy-3-oxopropyl)amino)chinolin-2,4-dionů **III**, které byly s více než dobrým výtěžkem získány reakcí hydrochloridu methyl-3-aminopropanoátu (**IX**) s 3-chlorchinolin-2,4-diony **VIII** v prostředí DMF a uhličitanu draselného. Při následných expanzích šestičlenného pyridinového kruhu na sedmičlenný diazepinový pomocí TMG v ethanolu se objevilo překvapivé, avšak vítané zjištění, že po zpracování reakčních směsí a identifikaci surových produktů byly namísto očekávaných esterů **IV** získány rovnou kyseliny **V**. Díky těmto tandemovým hydrolýzám byl elegantně přeskočen jeden reakční stupeň a bylo možné přistoupit rovnou k chloraci sloučenin **V**, které selektivně poskytly pouze produkty nukleofilních substitucí hydroxylů karboxylových skupin za chloridový ion. Dále byly získané 4-benzodiazepindiony **VI**, za účelem intramolekulární cyklizace 3-chlor-3-oxopropylového řetězce směřované k přípravě pyrrolobenzodiazepintrionů **II**, vystaveny účinkům různých bází. Bohužel, žádný z provedených experimentů nás nepřenesl do cíle navrženého plánu, ba naopak, nás vrátil o krok zpět. V případech, kdy se podařilo izolovat nějaké chemické individuum, jednalo se vždy o původní kyselinu **V**. V reakci na tyto neúspěchy byly vyzkoušeny ještě dvě alternativní metody a to cyklodehydratace kyseliny **Vc** oxidem fosforečným a reakce sloučeniny **III** s methoxidem sodným. Ovšem i v těchto případech měla příroda nad osamělým badatelem přesilu a opět nám očekávaný PBD nedovolila připravit.

V závěru této diplomové práce lze konstatovat, že i přes veškeré vynaložené úsilí se nepodařilo syntetizovat pyrrolobenzodiazepintriony. Experimentální část práce poskytla důležité poznatky o reaktivitě a interakcích mezi různými chemickými činidly, avšak nedostatečná účinnost a selektivita reakcí vedla k neúspěchu v přípravě požadovaných produktů. Tento výsledek poskytuje důležitou zkušenost pro budoucí výzkum v oblasti syntézy PBD a poukazuje na potřebu dalšího zkoumání optimalizace syntetických postupů a vývoje nových reakčních metod.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Málek L. Málek J., *Netradiční způsoby aplikace anestetik: možnosti jejich využití v urgrentní medicíně a medicíně katastrof*. Praha: Nakladatelství Karolinum, 55–58, (**2016**), ISBN 978-80-246-3450-0

[2] Griffin E. C., Kaye M. A., Bueno R. F., Kaye D. A, *Ochsner J*., 13(2), 214–223 (**2013**)

[3] Goldschen-Ohm P. M., *Biomolecules*, 12(12), 1784 (**2022**)

[4] Ballenger J. C., Burrows G. D., DuPont Jr R. L., *Arch Gen Psychiatry*, 45, 413–422 (**1988**)

[5] Silveira L. C., Almeida A. N., Carrilho C., *Saúde e Sociedade*, 28, 107–119, (**2019**)

[6] Mehdi T. *BJMP* 5(1**)** (**2012**)

[7] Dassanayake, T.; Michie, P. *Drug Saf*., 34, 125 (**2011**)

[8] Lader M., *JSAT*, 8, 53–59 (**1991**)

[9] Mehri Moeini K., Nasr-Esfahani M., Mohammadpoor-Baltork I., Majid M., Shahram T., Valiollah M. *Catal. Lett*., 149, 1057–1066 (**2019**)

[10] Isaeva I. V., Timofejevová N. M., Pančenko N. V., Lukojanov A. I., Černyšev V. V., Kapustin I. G., Davshan A. N., Kustov M. L., *JOURNAL OF CATALYSIS*, 369, 60–71 (**2019**)

[11] Misra A., Sharma S., Sharma D., Dubey S., Mishra A., Kishore D., Dwivedi J., *Journal of Chemical Sciences*, 130, 31 (**2018**)

[12] Farzad Zamani, Ramin Javahershenas, Fatemeh M. Arlan, Christopher J.T. Hyland, Esmail Doustkhah, Chapter 3 *Synthesis of 1,4-benzodiazepines and 1,4-benzothiazepines*. V Benzodiazepine-Based Drug Discovery, Heterocyclic Drug Discovery, (**2022**) ISBN 9780128245163, 35–76

[13] Gill K. R., Kuashik O. S., Chugh J., Bansal S., *Medicinal Chemistry*, 14, 229–256 (**2014**)

[14] Voskressensky L.G., Borisova T.N., Babakhanova M.I., *Russ Chem Bull,* 61, 1220–1230 (**2012**)

[15] Karyakarte D. S., Sequeira C. F., Zibreg H. G., Huang G., Matthew P. J., Ferreira M. M. M., Chemler R. S., *Tethrahedron Letters,* 56, 3686–3689 (**2015**)

[16] Anil M. a., Shobith R., Kiran R. K., Swaroop R. T., Mallesha N., SadashivaP. M., *New Journal of Chemistry*, 43,182–187 (**2019**)

[17] Sasiambarrena D. L., Barri A. I., Fraga G. G., Bravo D. R., Ponzinibbio A., *Tetrahedron Letters*, 60, 264–267 (**2019**)

[18] Varvounis G., *Molecules* 21(2), 154–209 (**2016**)

[19] Mantaj J., Jackson M. J. P., Rahman M. K., Thurston E. D., *Angewandte Chemie International Edition,* 56, 462–488 (**2016**)

[20] Hartley J., *Expert Opin. Investig. Drugs.,* 20, 733–744 (**2011**)

[21] Antonow D., Barata T., Jenkins T. C., Parkinson G. N., Howard P. W., Thurston D. E., *M. Biochemistry*, 47, 11818–11829 (**2008**)

[22] Thurston D. E., Bose D. S., *Chem. Rev*., 94, 433–465 (**1994**)

[23] Seifert O., Pezeshki S., Kamal A., Weisz K., *Organic & Biomolecular Chemistry*, 10, 6850–6860 (**2012**)

[24] Mantaj J., Jackson P. J., Rahman K. M., Thurston D. E., *Angew Chem Int Ed*., 56, 62–88 (**2017**)

[25] Moore, K.M., Desai, A., Delgado, B.d.L., Trabulo, S.M.D., Reader, C., Brown, N.F., Murray, E.R., Brentnall, A., Howard, P., Masterson, L., Zammarchi, F., Hartley, J.A., van Berkel, P.H., Marshall, J.F., *Theranostics*, 10(7), 2930–2942 (**2020**)

[26] Cho S., Zammarchi F., Williams D. G., Havenith C. E., Monks N. R., Tyrer P., et al., *Mol Cancer Ther*. 17, 76–86 (**2018**)

[27] Huang Y., Del Nagro C. J., Balic K., Mylott W. R., Ismaiel O. A., Ma E., *Anal Chem*., 92, 35–44 (**2020**)

[28] Hinrichs M. J., Ryan P. M., Zheng B., Afif-Rider S., Yu X. Q., Gunsior M., *Clin Cancer Res*., 23, 58–68 (**2017**)

[29] Hartley J. A., Hamaguchi A., Coffils M., Martin C. R., Suggitt M., Chen Z., *Cancer Res*., 70, 49–58 (**2010**)

[30] Seaman S., Zhu Z., Saha S., Zhang X. M., Yang M. Y., Hilton M. B., *Cancer cell*, 31, 1–15 (**2017**)

[31] Staben R. L., Chen J., Cruz-Chuh J., Rosario G., Go A. M., Guo J., Khojateh C. S., Kozak R. K., Li G., et al., *J. Med. Chem.*, 63(17), 9603–9622 (**2020**)

[32] Pertejo P., Peña-Calleja P., Carreira-Barral I., Quesada R., Cordero N. A., Rodríguez F. J., *Org Biomol Chem*., 15(75), 49–57 (**2017**)

[33] Abás S., Arróniz C., Molins E., Escolano C., *Tetrahedron*, 74, 867–871 (**2018**)

[34] Dörr a. a., Lubell D. W., *Org. Lett*., 17(14), 3592–3595 (**2015**)

[35] Witt A., Gustavsson A., Bergman J., *J. Heterocyclic Chem*., 40, 29–35 (**2002**)

[36] Hussain K. M., Ansari I. M., Kant R., Hajela K., *Org. Lett.*, 16(2), 560–563 (**2014**)

[37] Saquib M., Ahamad S., Khan F. M., Khan I. M., Hussain K . M., *Front. Pharmacol*., 14, 1–11 (**2023**)

[38] Bártková P., Bakalářská práce, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, fakulta technologická, 30 (**2022**)

[39] Yang S., Wang F., Liu Y., Jiang R., Zhang J., Jiangu baju pharmaceutical CO LTD, patent C07D207/24 (CN), **2018**

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

GABA	kyselina γ-aminomáselná
PBD	pyrrolobenzodiazepin
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ADC	konjugáty protilátka-lék
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
DCC	dicyklohexylkarbodiimid
DMAP	dimethylaminopyridin
DCM	dichlormethan
TFA	kyselina trifluoroctová
TMG	tetramethylguanidin
DMF	dimethylformamid
THF	tetrahydrofuran
DABCO	1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktan
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
TRITON B	benzyltrimethylammonium hydroxid
Pe	petrolether
EtOAc	ethylacetát
Boc	terc-butyloxykarbonyl
NMR	nukleární magnetická rezonance
RVO	rotační vakuová odparka
AcOH	kyselina octová
TLC	chromatografie na tenké vrstvě

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Obecná struktura benzodiazepinových terapeutik. 10
Obrázek 2. Chemické struktury vybraných benzodiazepinových léčiv. 11
Obrázek 3. Struktura PBD izomerů a vybraných zástupců PBD izolovaných z bakterií. .. 19
Obrázek 4. Struktura nejaktivnější sloučeniny proti nádorovým buněčným liniím. 24
Obrázek 5. Strukturní vzorce očekávaných sloučenin. 26
Obrázek 6. Výřez ^{1}H NMR spekter výchozí látky **IIIa** (nahoře) a produktu **Va** (dole). ... 30
Obrázek 7. ^{1}H NMR spektrum výchozí látky **Va** (nahoře) a produktu **VIa** (dole). 31

SEZNAM SCHÉMAT

Schéma 1. Metoda syntézy 1,5-benzodiazepinů v přítomnosti Fe(III)-NicTC@nSiO_2.....12

Schéma 2. Mechanismus syntézy 1,5-benzodiazepinu v přítomnosti Fe(III)-NicTC@nSiO_2. 13

Schéma 3. Syntéza 1,5-benzodiazepinů pomocí MIL/K-SO_3H nebo MIL/Ks-CN. 14

Schéma 4. Syntézy antimikrobiálního derivátu 1,5-benzodiazepinu. 14

Schéma 5. Obecné syntetické přístupy vedoucí k 1,4-benzodiazepinům. 15

Schéma 6. Syntéza 1,4-benzodiazepin-2-onového karboxylátu. 16

Schéma 7. Syntéza 2-aminomethyl-1,4-benzodiazepin-5-onu katalyzovaná měďnatou solí. 17

Schéma 8. Příprava tuberkulostatických 1,4-benzodiazepin-2,5-dionů **36**.....17

Schéma 9. Syntéza 1,2,4,5-tetrahydro-1,4-benzodiazepin-3-onů **39**. 18

Schéma 10. Navrhovaný mechanismus tvorby kovalentní vazby mezi PBD a guaninem..20

Schéma 11. Syntéza PBD Ugi/Cyklizační sekvencí. 21

Schéma 12. Syntéza PBD dilaktamu.....22

Schéma 13. Syntéza pyrrolobenzodiazepinu **59** a **60**.....23

Schéma 14. Syntéza pyrrolobenzodiazepintrionu. 23

Schéma 15. Metody syntézy pyrrolobenzodiazepin-triazolů. 24

Schéma 16. Navržené reakční kroky přípravy požadovaných sloučenin.....27

Schéma 17. Nukleofilní substituce sloučenin **VIIIa–c** methyl-3-aminopropanoátem **IX**..28

Schéma 18. Syntéza benzodiazepinových sloučenin **Va–c**.....29

Schéma 19. Syntéza sloučenin s 3-chlor-3-oxopropylovým řetězcem. 30

Schéma 20. Provedené pokusy o cyklizaci postranního řetězce. 32

Schéma 21. Pokus o cyklodehydratační reakci sloučeniny **V**.....33

Schéma 22. Pokus o reakci se sloučeninou **III**. 33