

# Syntéza vysoce substituovaných chinolinů jako dále použitelných stavebních kamenů pro výstavbu kombinatoriálních knihoven

Vojtěch Kandrát

 **APIGENEX**



STŘEDOŠKOLSKÁ ODBORNÁ ČINNOST

Obor SOČ: obor číslo 3 – Chemie

## Syntéza vysoce substituovaných chinolinů jako dále použitelných stavebních kamenů pro výstavbu kombinatoriálních knihoven

Synthesis of highly substituted quinolines like next up usable building blocks for development combinatorial libraries

Autor: Vojtěch Kunderát

Škola: Střední průmyslová škola chemická akademika Heyrovského a Gymnázium, Ostrava

Konzultant: RNDr. Ladislav Drož, Ph.D. (Apigenex)



Praha 2010



## **Prohlášení**

*Prohlašuji, že jsem svou práci vypracoval samostatně, použil jsem pouze podklady citované v práci a uvedené v příloženém seznamu a postup při zpracování práce je v souladu se zákonem č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) v platném znění.*

V Ostravě dne ..... podpis: .....

## **Poděkování**

Tímto bych chtěl poděkovat panu RNDr. Ladislavu Drožovi Ph.D. za obětavou pomoc a konzultaci, panu Ing. Markovi Kořínkovi za praktické rady a panu řediteli Ing. Jiřímu Kaličinskému za vstřícný přístup.

## **Anotace**

Cílem práce je syntéza vysoce substituovaných derivátů chinolinu biologicky aktivními funkčními skupinami. Produkty byly charakterizovány (<sup>1</sup>HNMR, HPLC, bod tání), testovány na biologickou aktivitu a poskytnuty jako výchozí látky pro následující kombinatoriální syntézu. V rámci práce jsem také vyzkoušel novou jedнокrokovou syntézu chinolinových derivátů, která byla dále aplikována kombinatoriálně.

### **Klíčová slova:**

Chinolin, kyselina kynurenová, KYNA, kombinatoriální syntéza, diethyloxalacetát, dimethyl ester kyseliny but-2-yndiové, substituovaný anilín

## **Anotation**

The main objective of this work is synthesis of highly substituted derivatives of quinolines by bioactivated functional groups. Products were characterized (<sup>1</sup>HNMR, HPLC, melting point), tested for biological activity and provided like reactants for next up combinatorial synthesis. Within the frame of my work I also tested new one-step synthesis of quinoline derivatives, that was applied further combinatorial.

### **Key words:**

Quinoline, kynurenic acid, KYNA, combinatorial synthesis, diethyloxalacetate, dimethyl but-2-yndionate, substituted aniline

## Seznam zkratek

$^1\text{HNMR}$  – spektroskopie nukleární magnetická rezonance vodíkových jader [7]

AcOH – kyselina octová

$b_v$  – bod varu

Bz – benzen

DMAD – dimethyl acetylen dikarboxylát

DMF – dimethylformamid

DMSO – dimethylsulfoxide

ELS HPLC detector - evaporative light scattering HPLC detector [8]

EtOAc – ethyl acetát

eq - ekvivalent

Hex – hexan

HPLC – Kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography ) [8]

KYNA – kyselina kynurenová

PPA – polyfosforečná kyselina

TLC – tenkovrstvá chromatografie (thin layer chromatography)

TMSCl – trimethylsilyl chlorid

$t_r$  – retenční čas

$t_t$  – teplota tání

UV/VIS HPLC detector – ultrafialový/viditelný HPLC detektor (ultraviolet/visible HPLC detector) [8]

# Obsah

1. Úvod .....	- 8 -
1.1. Cíle práce .....	- 8 -
1.2. Úvod do syntetické problematiky .....	- 8 -
1.3. Fyzikální a chemické vlastnosti kynurenové kyseliny .....	- 9 -
1.4. Příklady využití derivátů chinolinu [35] .....	- 11 -
1.5. Úvod do kombinatoriální chemie [9] .....	- 12 -
2. Teoretická část .....	- 14 -
2.1. Zvolený syntetický přístup .....	- 14 -
2.2. Reakční mechanismus vzniku Schiffovy báze [24] .....	- 15 -
2.3. Reakční mechanismus adice na trojnou vazbu [21] .....	- 15 -
2.4. Volba vhodných derivátů anilínu .....	- 16 -
2.5. Cyklizace .....	- 16 -
2.6. Hydrolyza esteru .....	- 17 -
2.7. Princip kombinatoriální syntézy derivátů 2-aryl-3-benzyl chinolinu .....	- 17 -
3. Metodika a výsledky .....	- 18 -
3.1. Použité chemikálie .....	- 18 -
3.2. Použité měřicí přístroje a pomůcky .....	- 18 -
3.3. Princip <sup>1</sup> HNMR spektroskopie [7] .....	- 19 -
3.4. Princip HPLC detekce [8] .....	- 19 -
3.5. Syntéza komerčně a technicky nedostupných derivátů anilínu .....	- 21 -
3.6. Syntéza derivátů kynurenové kyseliny .....	- 25 -
3.7. Kombinatoriální syntéza derivátů 2-aryl-3-benzyl chinolinu .....	- 49 -
3.7.2. Anilíny: .....	51
3.7.3. Tabulka produktů kombinatoriální syntézy .....	52
3.7.4. Analýzy produktů kombinatoriální syntézy .....	53
4. Diskuze .....	56
5. Závěr .....	67
6. Seznam použité literatury .....	68
7. Fotografická příloha .....	70

# 1. Úvod

Metoda kombinatoriální syntézy je v praxi používána od 90. let 20. Století [9]. Tento postup umožňuje syntetizovat s minimálním úsilím a v minimálním čase značné množství nových sloučenin [9]. Kombinatorální chemie našla uplatnění především ve farmacii při hledání farmakologicky aktivních látek [9]. Ve své práci jsem se zaměřil na syntézu základních kamenů, které budou následně použity pro kombinatoriální syntézu. Práce se zabývá syntézou sloučenin se základním chinolinovým skeletem. Tato struktura byla zvolena z důvodu využití derivátů chinolinu jako funkčních antimalarik [1], antibiotik [2], látek s protizánětlivými [3] a baktericidními účinky [4], potenciálními léky proti mozkové mrtvici [5] a především je na chinoliny zaměřena pozornost hlavně díky jejich účinku na nádorová onemocnění [6].

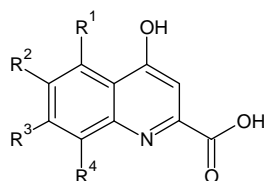
## 1.1. Cíle práce

Cílem práce je syntéza chinolinových derivátů, především jako látek dále použitelných v dalších reakcích. Se syntetizovanými produkty budou následně provedeny kombinatoriální syntézy, Jedná se tedy o syntézu základních stavebních kamenů. Byly vytyčeny následující konkrétní cíle:

- Syntéza a charakterizace derivátů 4-hydroxy-2-chinolin karboxylové kyseliny dvěma odlišnými syntetickými přístupy
- Paralelní syntéza malé kombinatoriální knihovny derivátů 2-aryl-3-benzyl chinolinu
- Optimalizace reakčních podmínek syntéz a molárních poměrů výchozích reaktantů
- Porovnání jednotlivých syntetických přístupů ze stránky chemické a technické

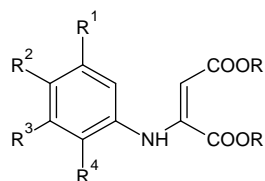
## 1.2. Úvod do syntetické problematiky

Cílem první části (syntézy stavebních kamenů) byla příprava vysoce substituovaných derivátů kynurenové kyseliny (obr. 1).

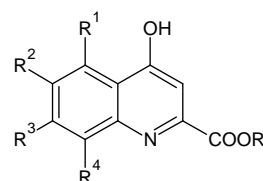


(obr. 1 – struktura derivátů kyseliny kynurenové)

Jednalo se o kondenzační produkt reakce mezi výchozím anilínem a diethylloxal acetátem, popřípadě s dimethyl esterem kyseliny but-2-yndiové (obr.2) a ethyl/methyl ester výsledné kynurenové kyseliny (obr.3).



(obr. 2 – kondenzační produkt)



(obr. 3 - ester kyseliny kynurenové)



Cílem druhé části (kombinatoriální syntéza) bylo vyzkoušet novou jedнокrokovou syntézu chinolinových derivátů, přičemž ale tato část nenavazuje na část první, ale jedná se o samostatné doplnění práce. Výsledné látky byly charakterizovány pouze pomocí metody HPLC, protože manipulace s celkovým množstvím produktu (miligramy) nebyla technicky proveditelná u takového množství vzorků. Principem syntézy byla reakce dle schématu (obr. 4)

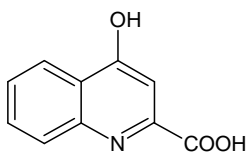


(obr. 4 – princip kombinatoriální syntézy)

Požadovaný výsledek tedy byl, ať už v jakékoliv části, syntéza derivátů chinolinu, tak aby byly použitelné pro další reakce, jejich charakterizace a testování na biologickou aktivitu vůči nádorovým onemocněním.

### 1.3. Fyzikální a chemické vlastnosti kynurenové kyseliny

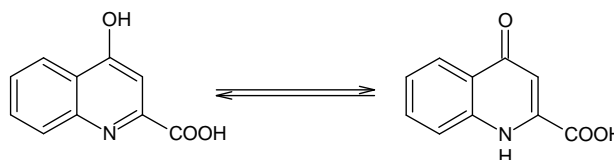
Kyselina kynurenová, 4-hydroxychinolin-2-karboxylová kyselina, (obr.5) je žlutohnědá pevná látka o bodu tání 275°C [10].



(obr. 5 – kyselina kynurenová)

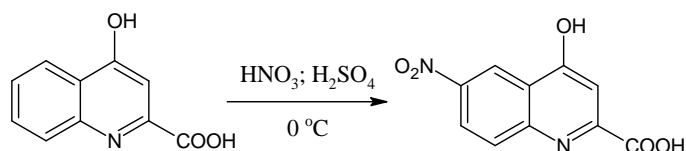
Hmotnost jednoho molu látky je 189,17 g.mol<sup>-1</sup>. Kyselina je nerozpustná ve vodě, zato dobře rozpustná v organických rozpouštědlech.

Kynurenová kyselina vykazuje dvě tautomerní formy, kde migrující vodík přechází z HO- skupiny na heterocyklický dusík (obr. 6).



(obr. 6 – tautomerie kynurenové kyseliny)

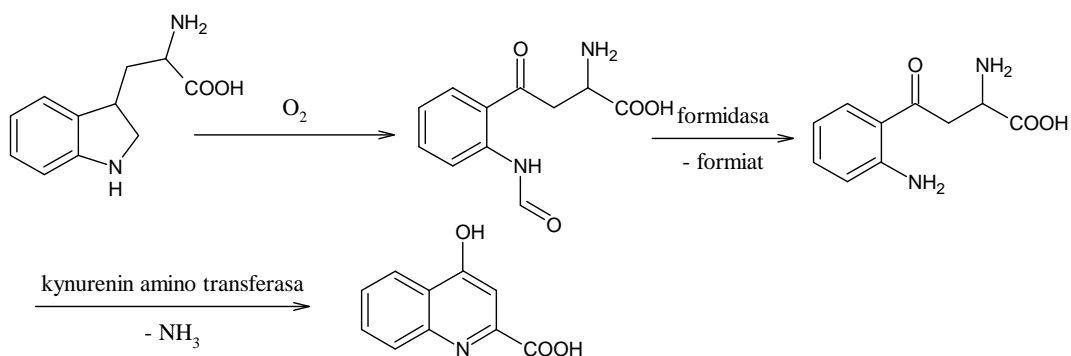
Substituční elektrofilní reakce je možná pouze na kondenzovaném neheterocyklickém kruhu kvůli přítomnosti karboxylové skupiny, jež odčerpává ze systému elektrony. Příkladem může být nitrace, kde nitroskupina je vedena do 6 polohy [11] (obr. 7).



(obr. 7 – nitrace kynurenové kyseliny)

-OH a -COOH skupina jsou na chinolinovém skeletu výborným nosičem potenciálních reakcí, např. halogenací a následných couplingů [12, 13, 14, 15].

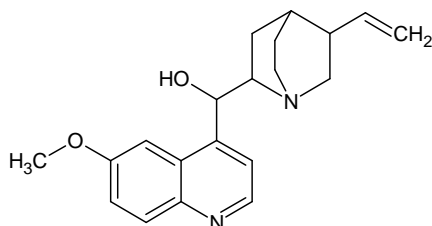
Kyselina kynurenová (KYNA) je biochemickým produktem odbourávání tryptofanu, kdy tato aminokyselina je za pomoci tryptofan-2,3-dioxygenasy přeměněna na N-formylkynurenin, z něhož je následně odštěpen formiát a dochází k syntéze kynureninu, ten bývá převeden jednak na anthranilovou kyselinu (katalyzováno kynureninázou), dále na 3-hydroxykynurenin (katalyzováno kynurenin 3-hydroxylasou) a také na sledovanou kyselinu kynurenovou (katalyzováno kynurenin amino-transferásou) (obr. 8) [16]. Právě tyto přeměny stály za objevem kynurenové kyseliny Justem von Liebigem v psí moči [16]. Celkový metabolismus tryptofanu je daleko rozsáhlejší a toto schéma je pouhý výňatek.



(obr. 8 – výňatek ze schématu odbourávání tryptofanu)

## 1.4. Příklady využití derivátů chinolinu [35]

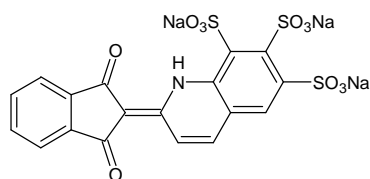
Deriváty chinolinu nás obklopují denodenně v podobě léčiv, barviv, aditivních přísad a chuťových emulgátorů v potravinářství. Nejběžnějším využitím chinolinových derivátů je již od starověku použití chininu jako léku proti malárii. Odvar z vrbové kůry kde se chinin taktéž nachází doporučoval ke konzumaci už Hippokrates. Skutečný rozvoj použití chininu jako léčiva byl zaznamenán v 19. století koloniálními mocnostmi. Získávání chininu bylo prováděno extrakcí z kůry chinovníku. V podobě rozpustných solí byl podáván v roztoku. Chinin (obr. 9) se jako léčivo používá dodnes. Uplatnění taktéž nalezl v potravinářském průmyslu jako dochucovadlo nápojů [36].



(obr. 9 – struktura chininu)

Deriváty odvozené od chinolinového skeletu se využívají na léčbu široké škály nemocí. Pyrvinium je léčivo aplikovatelné jako antihelmentikum. Endiaron (broxyquinoline) je velmi známé léčivo při poruchách zažívacího ústrojí. Řada léčiv působí antimikrobiálně, protiparaziticky či vykazuje destruktivní působení na prvokové kultury. Příkladem budiž léčiva: Chiniofon; Chlorquinaldol; Amodiaquine. Samotná kyselina kynurenová, která je v literatuře označována jako „léčivo budoucnosti“, vykazuje významnou aktivitu při blokaci glutamátových receptorů, toto působení zastaví zvyšování koncentrace vápníku v buňkách. Vápenaté kationty o vysoké koncentraci způsobují v prvních fázích mozkové mrtvice odumírání mozkových buněk. Většina léků na léčbu mozkové mrtvice, které jsou nyní ve vývoji nebo procházejí klinickými zkouškami, je od struktury kyseliny kynurenové odvozena.

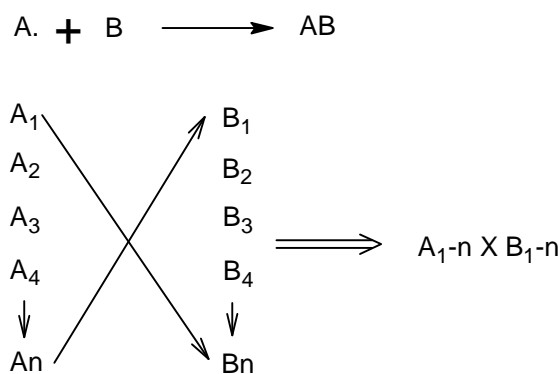
Jako přídatné barvivo do potravin, ale i jako nátěrová hmota a pigment se používá chinolinová žluť (obr. 10).



(obr. 10 – struktura chinolinové žluti)

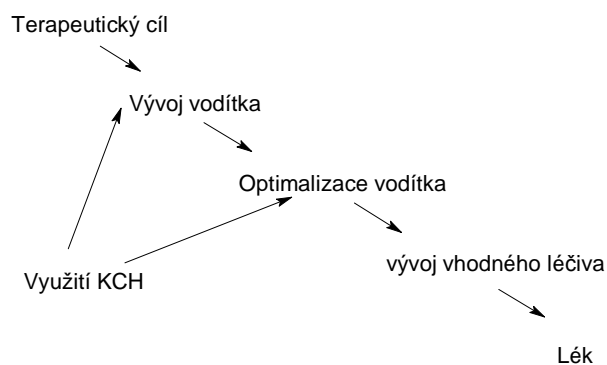
## 1.5. Úvod do kombinatoriální chemie [9]

Kombinatoriální chemii můžeme definovat jako systematické a cyklizační kovalentí spojování vhodných typů stavebních bloků různé struktury, které vede ke vzniku velkých souborů různých chemických sloučenin. Tyto soubory se nazývají chemické knihovny. Podstatou kombinatoriální syntézy je tedy velký počet vzniklých analogických sloučenin, které byly připraveny použitím stejného reakčního postupu. Touto aplikací můžeme připravit tisíce produktů, kdežto použitím běžných metod bychom jich připravili za stejný čas pouze několik. Porovnání účinnosti klasických metod a kombinatoriální syntézy je znázorněno na následujícím schématu (obr.11).



(obr. 11 – obecný princip kombinatoriálních syntéz)

Vůbec první kombinatoriálně vystavěnou chemickou knihovnou byla knihovna peptidů profesora Roberta Merrifielda vystavěná metodou syntézy na pevné fázi. Právě syntéza peptidů se naskýtala jako ideální schéma, protože možností kombinací polypeptidických sloučenin je prakticky nekonečné a využitelnost v oblasti farmakologie je mimořádně rozsáhlé. Od doby první výstavby chemické knihovny (1962) se již mnoho změnilo a kombinatoriální chemie našla uplatnění nejen v syntéze peptidů, která se již zautomatizovala, ale prakticky zasáhla i běžnou organickou syntézu. Hlavním rozvojem prochází kombinatoriální chemie od 90. let 20. Století a tento trend se stále stupňuje. Především se uplatňuje v hledání biologicky aktivních látek a potenciálních léčiv. Vývoj takového léčiva se dá popsat následující cestou (obr.12)[18], oblast vývoje kde se uplatňuje kombinatoriální syntéza je označena šipkami.



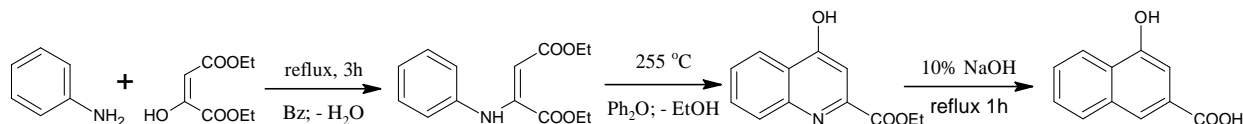
(obr. 12 – využití kombinatoriální chemie ve vývoji nových léků)

V předchozím schématu lze vidět, že kombinatoriální syntéza se používá při hledání prvotního skeletu nového léku. Rozhoduje se o umístění různých funkčních substituentů a testováním biologické aktivity rozdílných derivátů se ukazuje, které substituenty ve kterých polohách jsou pro účinnost a selektivitu léku nezbytné. Poté až se toto vodítko nalezne začíná zdoluhavá cesta samotného vývoje léku, a poté finální výsledek v podobě účinného léku s minimem vedlejších efektů. Za zmínku stojí i fakt, že vývoj nového léku průměrně trvá 10 až 15 let a náklady s ním spojené se vyšplhají na částku 897 miliónů až 2 miliardy amerických dolarů [19]. Širší aplikace kombinatoriální chemie ve vývoji nových léků, může významně tuto statistiku ovlivnit v ekonomický prospěch.

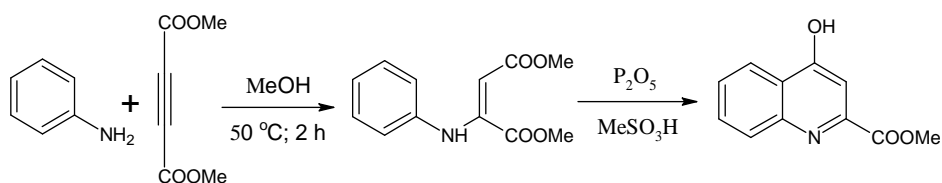
## 2. Teoretická část

### 2.1. Zvolený syntetický přístup

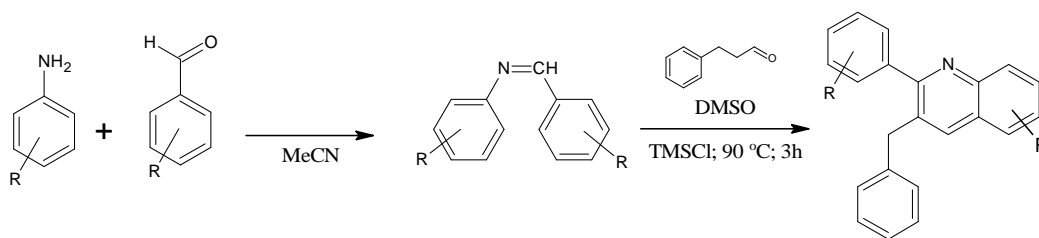
Pro syntézu derivátů kynurenové kyseliny je často volena reakce derivátů anilinu a diethyloxalacetátu a následná cyklizace kondenzačního produktu (obr.13). Následujícím krokem je hydrolýza ethyl esteru kynurenové kyseliny [20, 13].



Při literární rešerši byla jako schůdnější syntéza s většími výtežky a za použití méně drastických podmínek nalezena reakce substituovaného anilínu a dimethyl esteru kyseliny but-2-yndiové (obr. 14) [21]. Adicí amino skupiny na trojnou vazbu vzniká enamin podobný meziproduktu v předchozí reakci, až na esterovou skupinu která je tvořena methylovým zbytkem. Kondenzační produkt je následně cyklizován v tzv. Eatonově činidlo, což je 7,6% roztok  $P_2O_5$  v methansulfonové kyselině [21].

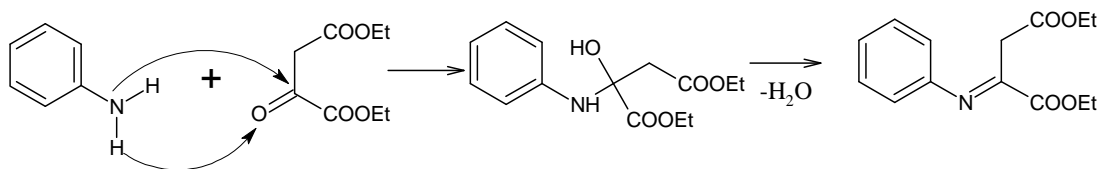


Řešeným syntetickým problémem je taktéž syntéza derivátů 2-aryl-3-benzyl chinolinu (obr. 15) [22, 23]. Vychází se z reakce mezi deriváty anilínu a benzaldehydu. Vzniklá Schiffova báze reakcí s 3-fenylpropanalem za přítomnosti TMSCl v DMSO dává vzniknout derivátům 3-benzyl-2-arylchinolinu.



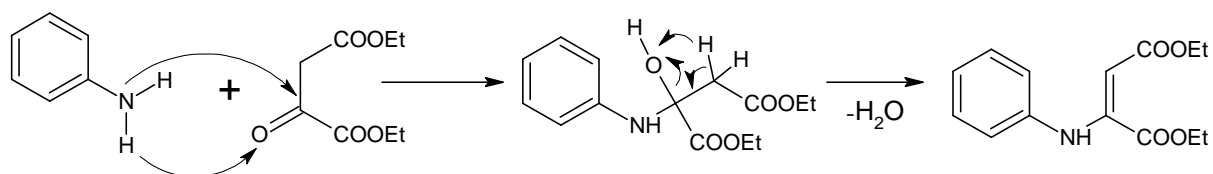
## 2.2. Reakční mechanismus vzniku Schiffovy báze [24]

Schiffova báze vzniká při prvním kroku syntézy chinolinových derivátů. Podmínkou vzniku je uvolněný diethyl oxalacetát v tautomerní keto podobě. Vznik báze probíhá ve dvou krocích, adicí amino skupiny na dvojnou vazbu C=O a následným odštěpením vody za vzniku C=N vazby (obr. 16).



(obr. 16 – mechanismus vzniku Schiffovy báze 1)

Další možný průběh je odštěpení vody v druhém kroku z OH skupiny a z vodíku vázaném na alifatickém uhlíku v postranním řetězci (obr. 17). Struktura vzniklého kondenzátu je snadno zjistitelná z  $^1\text{HNMR}$  spekter.

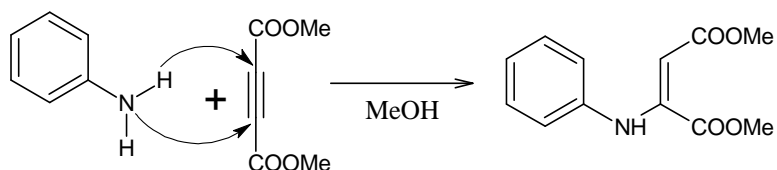


(obr. 17 – mechanismus vzniku Schiffovy báze 2)

Pro rychlost reakce je klíčová aktivita  $-\text{NH}_2$  skupiny, která se docílí vhodným výběrem substituentů, které zvyšují elektronovou hustotu systému (vykazují kladný mezomerní efekt), příkladem jsou např.:  $-\text{NR}_2$ ,  $-\text{OR}$ ,  $-\text{F}$ ,  $-\text{Cl}$ ,  $-\text{Br}$ ,  $-\text{I}$  atd.

## 2.3. Reakční mechanismus adice na trojnou vazbu [21]

Adice volné amino skupiny na trojnou vazbu se uplatňuje při vzniku enamínu jako meziprojektu při syntéze chinolinu z DMAD a substituovaných derivátů anilinu (obr. 18).

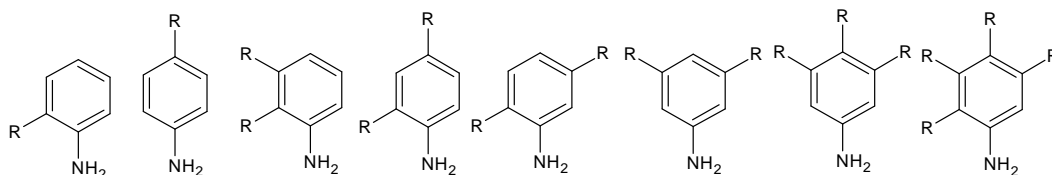


(obr. 18 – mechanismus adice na trojnou vazbu)

DMAD je efektivní elektrofilní reagent, reakci iniciuje volný elektronový pár na amino skupině. Klíčová je tedy pro rychlost a úspěšnost elektronová hustota na amidickém dusíku. Té se docílí výběrem vhodně substituovaného anilínu stejně jako v předešlém případě.

## 2.4. Volba vhodných derivátů anilínu

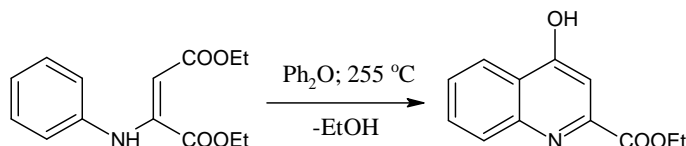
Důležitým kritériem při výběru reagujícího substituovaného anilínu je umístění substituentů. U monosubstituovaných derivátů anilínu jsou vybírány sloučeniny se substituentem v ortho či para poloze, u disubstituovaných derivátů v polohách 1 a 2, 3 nebo 4 nebo v polohách 2 a 4 pokud se jednalo o stejné substituenty. U tri a tetrasubstituovaných derivátů se postupuje dle stejných kritérií, tedy buďto zablokovaná poloha 2 a volná poloha 6 nebo symetrický derivát se substituenty v polohách 3, 4, 5. Možné polohy jsou znázorněny níže (obr. 19). Vhodnou volbou se zamezí vzniku směsných produktů.



(obr. 19 – struktury volitelných anilínů pro selektivní syntézu)

## 2.5. Cyklizace

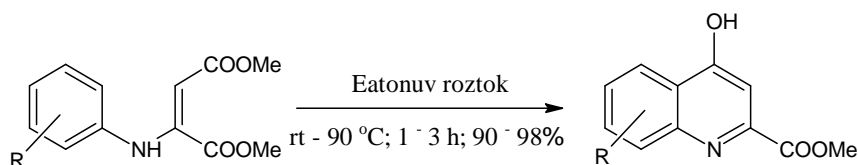
Vzniklý enamin se podrobuje cyklizaci. Možností cyklizace je více a je možno je řadit do dvou skupin. První skupina zahrnuje cyklizaci ve vysokovroucím rozpouštědle za velmi vysokých teplot. Použitá rozpouštědla mohou být např.: glykol ( $b_v = 198\text{ }^\circ\text{C}$ ), kyselina polyfosforečná ( $b_v = 255\text{ }^\circ\text{C}$ ), n-hexadekan ( $b_v = 287\text{ }^\circ\text{C}$ ), difenyl ether ( $b_v = 255\text{ }^\circ\text{C}$ ), pyrrolid-2-on ( $b_v = 245\text{ }^\circ\text{C}$ ), 1-chlornaftalen ( $b_v = 263\text{ }^\circ\text{C}$ ) [20]. Tento druh cyklizace (obr. 20) však obecně poskytuje malé výtěžky reakce (30-40 %) [21], zpracování reakční směsi je však jednodušší a po ochlazení většina produktů vykristalizuje ze směsi.



(obr. 20 – klasická cyklizační reakce)

Cyklizace v polyfosforečné kyselině pracuje s menšími teplotami ( $140\text{ }^\circ\text{C}$ ), avšak velká viskozita neumožňuje reakce provádět ve větším objemu, výtěžky taktéž nejsou uspokojivé a izolace snižuje celkovou výtěžnost na 20 % [21].

Rešerší bylo zjištěno že vhodnější je pro cyklizaci použít Eatonovo činidlo (7,6 % roztok  $\text{P}_2\text{O}_5$  v  $\text{MeSO}_3\text{H}$ ) kdy se pro cyklizaci se používají relativně mírné podmínky ( $<90\text{ }^\circ\text{C}$ ) v časovém rozmezí 1 – 3 hodiny za 90 – 98 % výtěžku (obr. 21) [21].



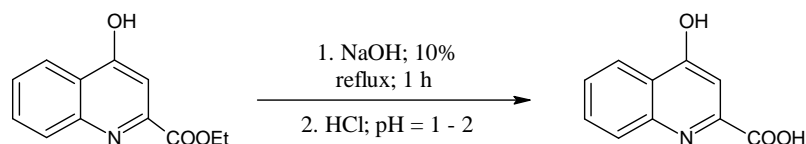
(obr. 21 – moderní cyklizační reakce)



Mechanismus účinku Eatonova činidla není znám, ale přítomnost oxidu fosforečného je pro účinek klíčová. Bylo zjištěno, že nedošlo k cyklizaci ani po zahřívání o-methoxy derivátu enamínu na 50 °C po dobu 15 hodin bez přítomnosti P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, tedy pouze v methansulfonové kyselině [21]. Eatonovo činidlo dále nachází uplatnění při Friedel-Craftsově acylační reakci a dalších druzích cyklizace [25].

## 2.6. Hydrolýza esteru

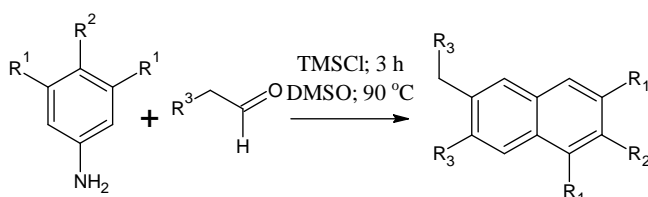
Hydrolýza se obvykle provádí refluxací v 10 % roztoku NaOH a následnou úpravou pH kyselinou chlorovodíkovou na hodnotu 1-2. Okyselením roztoku dojde k vysrážení nerozpustné kyseliny (obr. 22).



(obr. 22 – hydrolýza esteru)

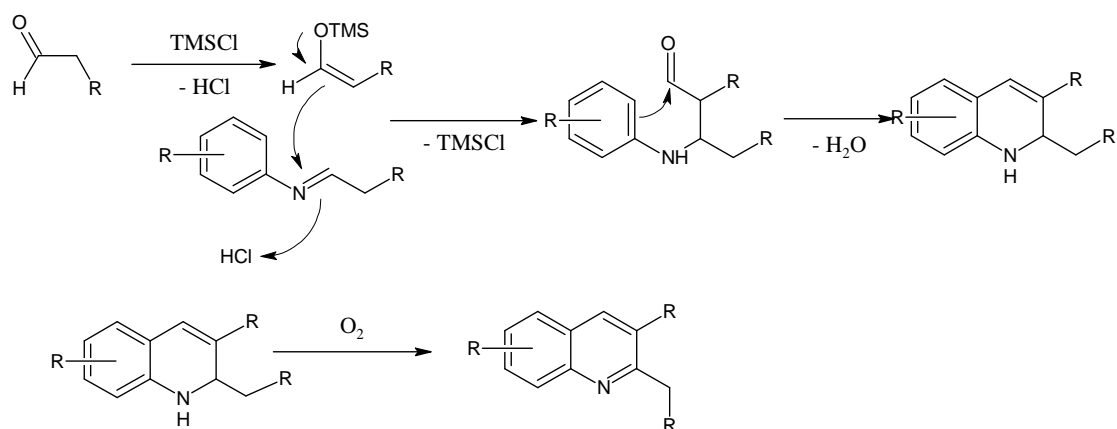
## 2.7. Princip kombinatoriální syntézy derivátů 2-aryl-3-benzyl chinolinu

Dalším řešeným syntetickým problémem je syntéza derivátů chinolinu vycházející ze článku [23], kde podstatou je reakce Schiffovy báze (vzniklé in situ) a aldehydu (obr. 23).



(obr. 23 – syntéza dle [23])

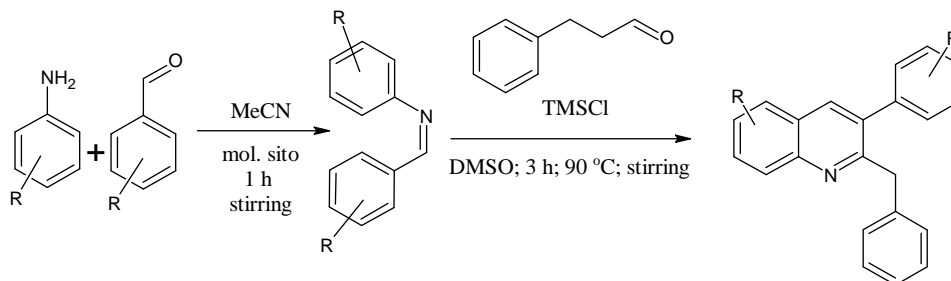
TMSCl zde vystupuje jako účinný katalyzátor atakující enolizovatelný aldehyd. Reakce probíhá následujícím mechanismem (obr. 24) [23].



(obr. 24 – reakční mechanismus dle [23])

Z reakčního schématu je zřejmé, že ke správnému průběhu je nutný přístup vzdušného kyslíku pro oxidaci derivátu 1,2-dihydrochinolinu na finální chinolin.

Reakce byla uskutečněna v modifikaci (obr. 22), při které se vycházelo ze článku [22]. Schiffova báze je syntetizována předem v prvním kroku reakce. Dále reakce probíhá již podle zmiňovaného mechanismu (obr. 25).



(obr. 25 – modifikace dle [22])

### 3. Metodika a výsledky

#### 3.1. Použité chemikálie

Použité komerční chemikálie byly pořízeny u firem Fluka, Sigma-Aldrich a Lachner.

#### 3.2. Použité měřicí přístroje a pomůcky

Pro měření bodu tání byl použit Bodotávek B-545 od firmy Büchi, v rozsahu měření 0 – 400 °C. Pro získání <sup>1</sup>HNMR spekter byl použit spektrometr Bruker Avance o základní frekvenci 300 MHz. Standardizace byla provedena na Me<sub>4</sub>Si. Informace o průběhu reakce a čistotě produktu byly získány za pomoci autopurifikačního systému HPLC Waters pracující jak v analytickém tak preparativním módu. Pro dělení byla použita HPLC kolona (RP-C18, Sunfire 100 x 4,6 mm). Detekce byla provedena ELS detektorem, UV/VIS detektorem a hmotnostním spektrometrem. Doba jedné analýzy byla 10 minut. Objem nástřiku činil 5-10 μl. Složení mobilní fáze charakterizuje níže uvedená tabulka. Kapalina A je 0,1 % roztok kyseliny mravenčí v H<sub>2</sub>O. Kapalina B je 0,1 % roztok kyseliny mravenčí v acetonitrilu. Rychlost mobilní fáze byla 1 ml / min.

Čas /min	% A	% B
1	40	60
3	5	95
8	5	95
8,5	0	100
9	40	60
10	40	60

#### HPLC v souhrnu:

HPLC – Waters - ELSD, UV/VIS, LC/MS – použitá kolona – Sunfire 100 x 4,6 mm

- Waters – 2767
- Waters hplc pump 515
- Waters 2420 ELS Detector
- Waters 2996 photo diode detector

TLC zkoušky byly prováděny na hliníkových fóliích s naneseným silikagelem 60 F<sub>254</sub>; 0,2 mm. Indikace TLC zkoušek byly provedeny za pomoci UV lampy o vlnové délce 254 nm.

Pro indikaci -NH<sub>2</sub> skupiny byla TLC destička vystavena působení 1 % roztoku ninhydrinu v ethanolu a následně zahřáta horkovzdušnou pistolá cca na 200 °C po dobu 30 sekund.

### **3.3. Princip <sup>1</sup>HNMR spektroskopie [7]**

Jev magnetické rezonance vychází z interakce jader atomů mající magnetický moment s vnějším magnetickým polem. Dochází k magnetické indukci. K tomuto javu dochází taktéž u <sup>1</sup>H jader. V nepřítomnosti vnějšího magnetického pole jsou jaderné spiny v prostoru orientovány nahodile. V přítomnosti magnetického pole dochází k natočení spinů do určitých dvou opačných směrů. Tyto orientační stavy nejsou energeticky ekvivalentní. Ozařujeme-li tedy orientovaná jádra elektromagnetickým zářením vhodné frekvence, dojde k absorpci energie a k přeorientování spinu. Dojde k rezonanci s použitým zářením. Magnetické pole je vytvořeno supravodivými magnety, což si vyžaduje chlazení kapalným heliem. Ve struktuře molekul nejsou rezonanční frekvence neekvivalentních vodíkových jader stejné. Všchna atomová jádra jsou obklopena elektronovými oblaky. Působením vnějšího magnetického pole dojde k cirkulaci elektronů a vytvoření lokálního magnetického pole. Magnetická indukce tohoto pole zeslabuje vnější magnetické pole. Jádrům, které podléhají tomuto javu říkáme jádra stíněná. Neekvivalentní jádra jsou stíněna odlišně a z těchto rozdílů je možno rozlišit jednotlivé protony.

### **3.4. Princip HPLC detekce [8]**

#### ELS detektor

Slouží především k detekci sloučenin, které ve své struktuře neobsahují žádný chromofor, či fluorofor. Mobilní fáze vstupuje do detektoru, kde se vlivem vstupu inertního plynu zmlží a následně odpaří. Méně těkavé složky mobilní fáze jsou do fotokomory, kde dojde k rozptylu světla a detekci fotodetektoem. Odezva fotodetektoru je přímo úměrná hmotě detekované látky. Fotodetektor je tvořen citlivou fotodiodou.

#### Princip UV/VIS detektoru

Spektrofotometrické detektory jsou založeny na principu absorpce záření v oblasti vlnových délek od 190 do 800 nm. Kvantitativní vyhodnocení je založeno na Lambert-Beerově zákoně.

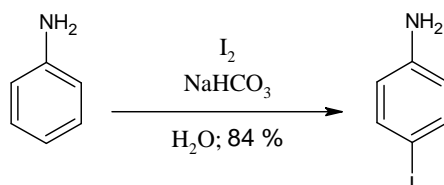
### Princip LC/MS detektoru

Hmotnostní spektrometrie je metoda stanovující molekulovou hmotnost a poskytuje cenné informace o struktuře z hmotností fragmentů, na které se molekula rozpadá. V spektrometru se vypaří malé množství vzorku a páry jsou bombardovány elektrony o vysoké energii. Z molekuly je vyražen valenční elektron a vytvoří se kationradikál. Kationradikál se dále fragmentuje, kladně nabitě fragmenty se urychlí a procházejí magnetickým polem. Dochází k vykřivení dráhy v závislosti na hmotnosti k náboji ( $m/z$ ). Fragmenty dopadají na detektor, který je rozlišuje jako píky o určitých hodnotách  $m/z$ .

## Experimentální část, obsahující vykonané syntézy, včetně provedených analýz

### 3.5. Syntéza komerčně a technicky nedostupných derivátů anilínu

#### 4-jodoanilín (obr. 26) [26]

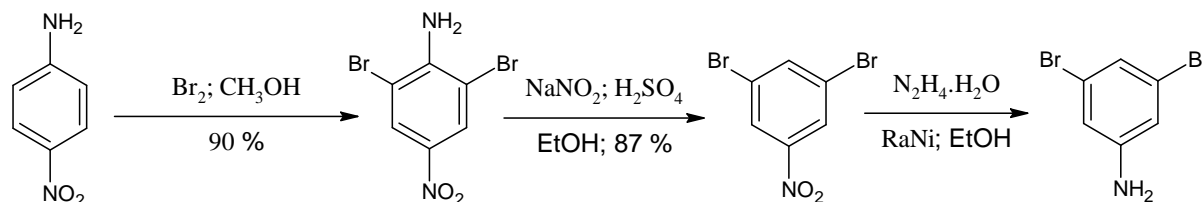


(obr. 26 – syntéza 4-jodoanilínu)

V 500 ml baňce bylo rozpuštěno 15 g  $\text{NaHCO}_3$  ve 100 ml  $\text{H}_2\text{O}$ , poté bylo přidáno 11 g anilínu (10,78 ml; 118,3 mmol). Směs se ochladila přidáním několika kousků ledu a za míchání byl po dávkách (1 g) přidáván najemno nadrcený jód (celkem 25,4 g; 100,4 mmol). Po 1,5 h je reakce zkončena a vyloučený produkt byl odfiltrován za sníženého tlaku na Buchnerově nálevce. K surovému produktu bylo následně přidáno 200 ml hexanu a 50 ml heptanu. Roztok se refluxoval při 80 °C po dobu 0,5 h přičemž došlo k jeho částečnému rozpuštění. Dekantací od nerozpustných zbytků (černý olej) a po ochlazení. Po ochlazení zdekantovaného roztoku vypadl ze směsi nažloutlý 4-jodoanilín (18,5 g; 84,4 %).  $t_f = 63\text{ °C}$

$^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,09–7,04 (d,  $J = 5,47$  Hz, 2H) 6,63–6,57 (d,  $J = 5,47$  Hz, 2H)

#### 3,5-dibromanilín (obr. 27) [27]



(obr. 27 – syntéza 3,5-dibromanilínu)

**Bromace** - V 0,5 l tříhrdlé baňce opatřené teploměrem, magn. míchadlem a zpětným chladičem bylo rozpuštěno 20,7 g (150 mmol; 1 eq) *p*-nitroanilínu v 120 ml MeOH. Kvůli špatné rozpustnosti byl roztok zahřán na 50 °C a po úplném rozpuštění zchlazen na 20 °C. Do vzniklého roztoku byl přidán vychlazený roztok bromu (15,2 ml; 47,6g; 297,5 mmol; 2 eq) v 60 ml MeOH. Směs se samovolně zahřála na 45 °C. Reakční směs byla dále míchána 3 h. Po této době došlo k vyloučení žlutých jehliček které byly za sníženého tlaku na skleněné fritě (S3) odsáty a následně dosušeny stáním na vzduchu. Výtěžek 40,5 g (89,9 %).

TLC (Hex:EtOAc 4:1):  $R_f = 0,5$ ;  $^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,08 (s, 2H)

**Diazotace** – v 1 l tříhrdlé baňce opatřené magn. míchadlem, zpětným chladičem, teploměrem a přikapávací nálevkou se v 540 ml EtOH částečně rozpustil 2,6-dibrom-4-nitroanilín (40,5 g; 137 mmol; 1 eq). Za míchání se po kapkách do směsi přidává 54 ml konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (98 %) a směs se vyhřála k refluxu.

Po částech se přidalo 26,96 g  $\text{NaNO}_2$  (391 mmol; 3 eq), dochází přitom k silnému pění. Poté 3 h reflux. Po uplynutí reakčního času se ochlazením vysráží bílý  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Směs byla zfiltrována a k filtrátu bylo přidáno 50 ml vody. Z roztoku vypadly žluté krystalky. Krystaly byly odsáty a zbylý filtrát byl ochlazen uložením do lednice. Z roztoku po ochlazení byl získán další podíl produktu. Oba podíly byly spojeny a dosušeny stáním na vzduchu

Výtěžek 33,4 g (86,6 %).

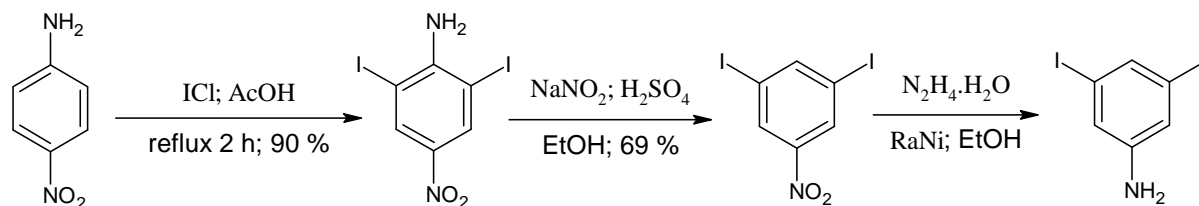
TLC (Hex:EtOAc 4:1):  $R_f = 0,7$ ;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,95 (s, 2H) 7,65 (s, 1H)

**Redukce** – v 0,5 l tříhrdlé baňce opatřené zpětným chladičem, teploměrem a magn. míchadlem bylo rozpuštěno 33,4 g 3,5-dibromnitrobenzenu (118,9 mmol; v 250 ml EtOH a přidáno 24 ml hydrazin hydrátu (80% roztok ve vodě) . Dále byla přidána v malých dávkách suspenze 10 g aktivovaného Rayneho niklu v 110 ml EtOH. Směs se refluxovala 1,5 h. Výtěžek 17 g (57 %) směsný produkt. Obsah 3,5-dibromanilínu ( $M_r = 250,9$ ) a 3,5-dibromfenolu ( $M_r = 251,9$ ).

TLC (Hex: EtOAc 1:1): 2 skvrny;  $R_{F1} = 0,4$ ;  $R_{F2} = 0,5$ ; MS:  $m/z = 251,8$  ( $M^+$ ); 252,8;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,09 (s, 0,27H) 7,04 (s, 1H) 6,77 (s, 2H); hnědá voskovitá látka

Použitý pro další reakce bez čištění.

### **3,5-dijodoanilín** (obr. 28) [28, 29]



(obr. 28 – syntéza 3,5-jodoanilínu)

**Příprava jodačního činidla** – Ve dvojhrdlé baňce bylo naváženo 254 g  $\text{I}_2$  (1 mol), zazátkováno zátkami s odvodem a přívodem plynu . Byla zapojena hadice na bombu s  $\text{Cl}_2$ . Odvod plynu vedl do digestoře. Po přívodu chloru do baňky začala reakční směs kapalnit a rychle se zahřívát až k destilaci. Aplikováno chlazení suchým ledem. Reakce ukončena při přírůstku hmoty o 71 g. Vznikla směs  $\text{ICl}$  a  $\text{ICl}_3$ .

**Jodace** – ve dvoulitrové tříhrdlé baňce opatřené přikapávací nálevkou, zpětným chladičem a mechanickým míchadlem bylo rozpuštěno 106 g *p*-nitroanilínu (768 mmol) v 284 ml vroucí ledové kyseliny octové. Do reakční směsi byl pomalu přikapáván roztok 250 g jodačního činidla ve 100 ml AcOH. Přikapávání probíhalo 0,5 h. Poté 2 h refluxování. Po zchlazení došlo k vykrystalování produktu z roztoku. Krystaly byly odsáty a rozmíchány v 5 % roztoku  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  pro odstranění nezreagovaného  $\text{ICl}$  a  $\text{I}_2$ . Poté byly promývány 2 x 1 l vody a sušeny na vzduchu.

$t_f = 155,7$  °C (251-256 °C) Nedojojováno.; TLC (Hex:EtOAc 1:3): 2 skvrny ;  $R_{F1} = 0,7$ ;  $R_{F2} = 0,8$

Dojojováno 111 g produktu v 300 ml AcOH s 190 g jodačního činidla. Reflux 2 h.

$t_f = 249,5$  °C (251-256 °C); TLC (Hex:EtOAc 1:3): 1 skvrna ;  $R_f = 0,8$ ;  $^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,58 (s, 2H)

Diazotace – v litrové tříhrdlé baňce opatřené magn. míchadlem, zpět. chladičem, teploměrem a prikapávací nálevkou se v 590 ml EtOH částečně rozpustil 2,6-dijodo-4-nitroanilín (58,5 g). Za míchání se po kapkách do směsi přidal 59 ml konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a směs se vyhřála k refluxu. Po částech se přidalo 29,49 g NaNO<sub>2</sub>, směs silně pěnila. Poté 3 h reflux. Po uplynutí reakčního času se ochlazením vysráží bílý Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Směs byla zfiltrována, k filtrátu bylo přidáno 50 ml vody. Z roztoku vykrystalizovaly žluté krystalky. Zbylý roztok byl dán do lednice a poté byla odebrána další část krystalů. Výtěžek 38,8 g (69 %).

t<sub>i</sub> = 102 °C (103 °C); TLC (Hex:EtOAc 1:3): 1 skvrna; R<sub>F</sub> = 0,9; <sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,84 (s, 2H) 6,9 (s, 1H)

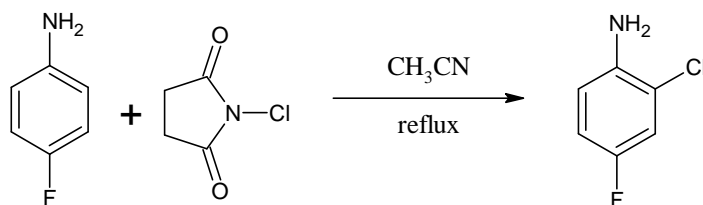
Redukce – 20 g 3,5-dijodonitrobenzenu bylo rozpuštěno v 100 ml EtOH, přidáno 11,6 ml hydrazin hydrátu a vyhřáto na 40 °C. Poté přidána suspenze 10 g Ra-Ni v 75 ml EtOH. Refluxováno po dobu 1,5 h. Vznik černé tuhé hmoty, neváženo. Extrakce hexan : EtOAc ( 9 : 1 ); 50 ml.

TLC (Hex:EtOAc 4:1) 4 skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,1; R<sub>F2</sub> = 0,4 R<sub>F3</sub> = 0,5; R<sub>F4</sub> = 0,6; TLC detekce ninhydrinem: přítomnost anilínu v 1 a 2

Sloupcová chromatografie: rozpouštědlo Hex:EtOAc 9:1 (500 ml) -> 8,5:1,5 (500 ml) -> 8:2 (1000ml): 22 frakcí: odebráno 7 – 15, odpařeno, výtěžek z extraktu (1,5 g), oranžové krystaly

TLC (Hex:EtOAc 4:1) 1 skvrna: R<sub>F</sub> = 0,4; <sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,14 – 6,99 (s, 2H) 6,86 – 6,70 (s, 1H) 5,00 – 3,46 (br.s., 2H)

#### 4-fluoro-2-chloroanilín (obr. 29) [30]



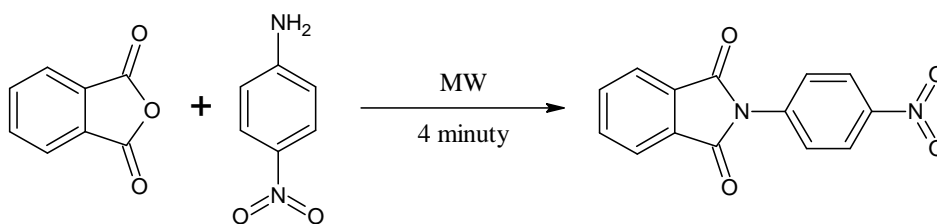
(obr. 29 – syntéza 4-fluoro-2-chloroanilínu)

V 1 l baňce opatřené mag. míchadlem a zpětným chladičem bylo rozpuštěno 34,71 g (30 ml) 4-fluoroanilínu v 500ml MeCN. Směs vyhřáta k refluxu. Pomalu bylo po dávkách zhora přidáváno 40,94 g N-chlorsukcinimidu a následně chladič byl opláchnut 125 ml MeCN. Refluxováno 2 h. Reakční směs zřívověla. Roztok odpařen a následně rozpuštěn v 300 ml CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Promyto 200 ml 5 % NaOH. 150 ml 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 100 ml nas. roztokem NaCl, 3 x 100 ml H<sub>2</sub>O. Organická fáze byla odpařena.

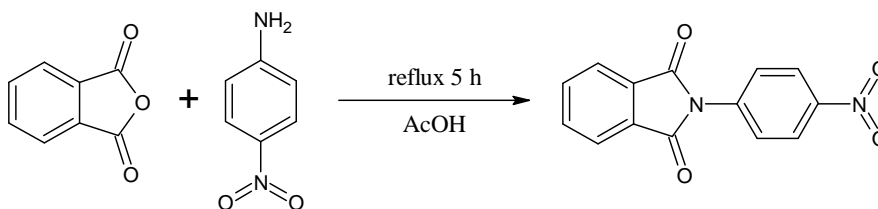
TLC (Hex:EtOAc 1:1): 5 skvrn po celé délce plastinky; sloupcová chromatografie: rozpouštědlo Hex:EtOAc 9:1, na 400 g silikagelu; 13 frakcí: odebráno 7 – 13, odpařeno, výtěžek 16 g (35,2 %). Narůžovělá kapalina.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,06 - 6,98 (dd, J = 8,38; 2,73 Hz, 1H), 6,86 - 6,78 (t, J = 8,38; 8,38 Hz, 1H), 6,75 – 6,68 (d, J = 8,38 Hz, 1H), 3,70 – 3,38 (br.s., 1H)

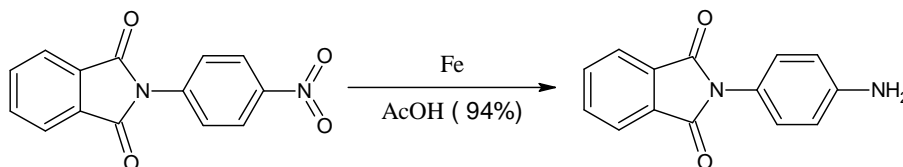
### N-4-aminofenyl isoindol-1,3-dion (obr. 30, 31, 32) [31, 32, 33]



(obr. 30 – syntéza N-4-nitrofenyl isoindol-1,3-dionu za asistence mikrovln)



(obr. 31 – klasická syntéza N-4-nitrofenyl isoindol-1,3-dionu)



(obr. 32 – redukce na N-4-aminofenyl isoindol-1,3-dion)

V 100 ml Erlenmayerově baňce bylo naváženo 6 g (41 mmol) ftalanhydridu a 6,7 g (49 mmol) p-nitroanilínu. Reakce probíhala bez rozpouštědla po dobu 4 minut v mikrovlnné troubě. Roztavená směs ztuhla, částečně přesublimovala na stěny mikrovlnné trouby. Větší část reakční směsi zuhelnatěla. Provedena extrakce v 50 ml EtOH. (obr. 65)

TLC ( Aceton:MeOH 1:1) 2 skvrny  $R_{F1} = 0,8$ ;  $R_{F2} = 0,9$ , shodné s výchozími látkami.

2 x opakováno – neúspěch

Ve 100 ml baňce byla refluxována směs 6 g acetanhydridu, 6,7 g p-nitroanilínu a 30 ml ledové kyseliny octové po dobu 5 h. Po vychladnutí směsi zaznamenán vznik slabě žluté sraženiny, směs byla nalita do 500 ml studené vody. Pevná látka byla zfiltrována, promyta 2 x 50 ml  $H_2O$ . K nažloutlé látce přidáno 200 ml DMF. Odsáta bílá látka, promyto 100 ml methanolu. (10,86 g; 99,9 %)  $b_t = 274,5$  °C. (obr. 66)

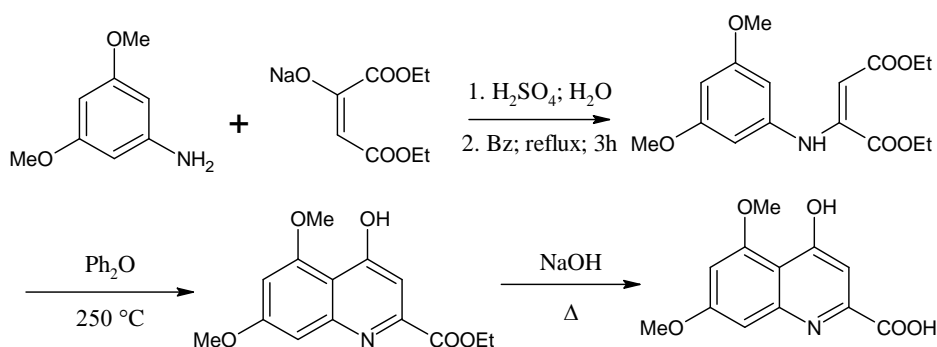
$^1H$ NMR (300 MHz;  $CDCl_3$ ):  $\delta$  8,42 – 8,36 (d,  $J = 9,23$  Hz, 2H) 8,05 – 7,98 (dd,  $J = 5,46$ ; 3,01 Hz, 2H) 7,90 – 7,84 (dd,  $J = 5,37$ ; 3,11 Hz, 2H) 7,82 – 7,76 (d,  $J = 9,23$  Hz, 2H)

Redukce: V 250 ml varné baňce opatřené zpětným přímým chladičem bylo 9,86 g nitroderivátu rozpuštěno v 150 ml vroucí ledové kyseliny octové, do reakce bylo následně přidáno po částech 20 g Fe pilin. Směs silně zpočátku pěnila, reakce probíhala 2 h. Po ukončení reakce byl ještě horký roztok zbaven magneticky nezreagovaného železa (magnetickou tyčinkou v teflonovém obalu). Po ochlazení se vysrážela ze směsi narůžovělá látka. Suspenze nalita do 500 ml studené vody. Odsátá narůžovělá látka (8,23 g; 94 %) . Kvůli špatné rozpustnosti nebylo možné získat žádná analytická data, látka je rozpustná pouze ve vroucím DMF a AcOH po schlazení okamžitě vykrytalizovává. Pro další reakce nepoužita.



### 3.6. Syntéza derivátů kynurenové kyseliny

#### Kyselina 5,7-dimethoxy kynurenová (obr. 33)



(obr. 33)

#### Diethyl ester kyseliny 2-[(3,5-dimethoxyfenyl)amino]but-2-endiové

Naváženo 10,5 g (50 mmol; 1 eq) sodné soli diethyl oxalacetátu, rozpuštěno v 50 ml vody. Směs přelita do 250 ml dělicí nálevky a přidáno 25 ml 10 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Roztok se bíle zakalil. Extrakce do 120 ml benzenu. Třepáno 0,5 h. Došlo k uvolnění samotného diethyl oxalacetátu. Benzenová vrstva byla promyta 2 x 50 ml vody.

Do 250 ml baňky bylo naváženo 7,65 g 3,5-dimethoxyanilínu (50 mmol; 1 eq) a přidán benzenový roztok diethyl oxalacetátu. Opatřeno magnetickým míchadlem, refluxováno tři hodiny v aparatuře s odlučovačem vody a zpětným chladičem. Po ukončení reakce provedena TLC zkouška:

(Hex:EtOAc 4:1): 3 skvrny R<sub>F1</sub> = 0,1 (výchozí anilín); R<sub>F2</sub> = 0,4 (výchozí oxalacetát) R<sub>F3</sub> = 0,8 (produkt); TLC vyvinuta v ninhydrinu pro indikaci anilínu

Směs promyta 2 x 20 ml 5% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, poté vysušena pomocí 25 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Síran odfiltrován, odpařeno na rotační vakuové odparce. Vznik hustého oranžového oleje. Rozpuštěno v 20 ml Hex: EtOAc 1:1. Filtrace přes 50 g flaschového silikagelu. Došlo k odstranění výchozích nezreagovaných látek. Odpařeno, zváženo (9,81 g; 60,7 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,59 (s, 1H) 6,21 (s, 1H) 6,08 (s, 2H) 5,36 (s, 1H) 4,30-4,11 (q, J = 7,16; 7,16 Hz, 4H) 3,75 (s, 6H) 1,38-1,22 (t, J = 7,06 Hz, 3H) 1,22-1,10 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 324 (M<sup>+</sup>); oranžová kapalina

#### Ethylester kyseliny 5,7-dimethoxykynurenové

9,41 g (29,1 mmol) kondenzátu z předchozí reakce bylo rozpuštěno v 70 ml difenyletheru. 250 ml baňka byla opatřena vzdušným chladičem a magnetickým míchadlem. Směs byla míchána po dobu 0,75 h při 225 °C. Po vychladnutí baňky bylo do roztoku přidáno 140 ml hexanu. Ze směsi vykristalizovaly hnědé krystalky. Odsáto, promyto 3x 30 ml hexanu. Zváženo 5,58 g (69,1 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,39 (s, 1H) 7,15 (s, 1H) 6,69 (s, 1H) 4,32-4,12 (q, J = 7,16; 7,16 Hz, 2H) 3,88 (s, 6H) 1,39-1,23 (t, J = 7,06 Hz, 3H); MS: m/z = 278 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 211,9 °C

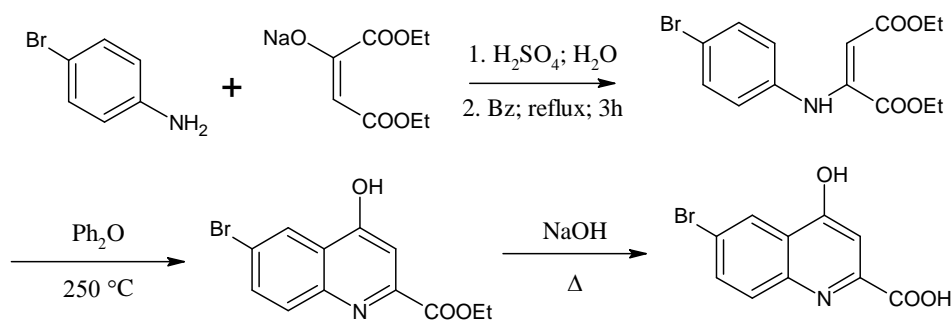
#### Kyselina 5,7-dimethoxy kynurenová

5,53 g ethylesteru žádané kyseliny bylo refluxováno v 100 ml 10% NaOH po dobu 1 h. Po proběhnutí reakce zředěno vodou do rozpuštění sodné soli. Poté okyseleno 1M HCl do pH = 2. Kyselina odsáta, promyta MeOH, sušena na vzduchu, filtrát na noc do lednice. Z filtrátu odsáta další frakce produktu. Výtěžek 4,2 g (84 %).

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz; DMSO):  $\delta$  7,25 (s, 1H) 7,07 (s, 1H) 6,62 (s, 1H) 3,88 (s, 6H); MS:  $m/z = 250$  ( $\text{M}^+$ );  $b_t = 289$  °C; béžová látka

Předložený postup je v dalších případech stejný, u dalších pokusů jsou již uvedeny jen reakční podmínky a poměry, výchozí látky a výsledky

### Kyselina 6-brom kynurenová (obr. 34)



(obr. 34)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-bromfenyl)amino]but-2-endiové

*Diethyloxalacetát sodná sůl*;  $m = 10,5$  g;  $n = 50$  mmol;  $M = 210$  g.mol $^{-1}$ ; *p-Bromanilín*;  $m = 8,6$  g;  $n = 50$  mmol;  $M = 172,03$  g.mol $^{-1}$ ; *Benzen*;  $V = 100$  ml; *Reakční čas* = 3 h; *Výtěžek*: 7,83 g (45,8 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): 2 skvrny  $R_{F1} = 0,1$  (výchozí anilín);  $R_{F2} = 0,7$  (produkt); TLC vyvinuta v ninhydrinu pro indikaci anilínu

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,62 (s, 1H) 7,44-7,35 (d,  $J = 8,67$  Hz, 2H) 6,84-6,74 (d,  $J = 8,67$  Hz, 2H) 5,46 (s, 1H) 4,27-4,13 (dq,  $J = 7,06$ ; 6,81 Hz, 4H) 1,37-1,27 (t,  $J = 7,06$  Hz, 3H) 1,22-1,11 (t,  $J = 7,16$  Hz, 3H); MS:  $m/z = 342$  ( $\text{M}^+$ ); oranžová kapalina

### Ethylester kyseliny 6-brom kynurenové

*Kondenzát*;  $m = 7,43$  g;  $n = 22$  mmol;  $M = 342,2$  g.mol $^{-1}$ ; *Difenylether*;  $V = 70$  ml; *Reakční čas* = 0,75 h; *Reakční teplota* = 225 °C; *Výtěžek*: 3,21 g (49,9 %)

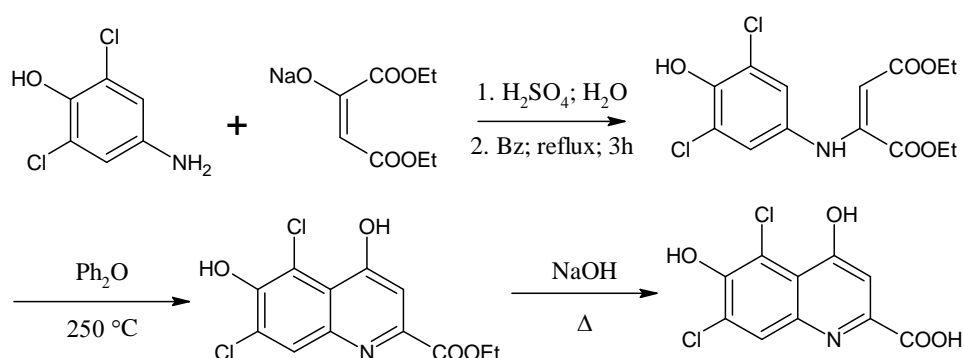
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,16 (s, 1H) 7,94-7,84 (q,  $J = 8,79$  Hz, 2H) 6,67 (s, 1H) 4,24-4,12 (q,  $J = 7,06$ ; 6,81 Hz, 2H) 1,37-1,27 (t,  $J = 7,06$  Hz, 3H); MS:  $m/z = 296$  ( $\text{M}^+$ );  $b_t = 258,9$  °C; Béžová látka

### Kyselina 6-brom kynurenová

*Ethylester*;  $m = 2,81$  g;  $M = 296$  g.mol $^{-1}$ ;  $n = 9,5$  mmol; 10 % NaOH;  $V = 100$  ml; *Reakční doba* = 1 h; *Výtěžek* = 1,39 g (54,7 %)

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz; DMSO):  $\delta$  8,16 (s, 1H) 7,94-7,84 (q,  $J = 8,79$  Hz, 2H) 6,67 (s, 1H); MS:  $m/z = 268$  ( $\text{M}^+$ );  $b_t = 280$  °C; bílá látka

### Kyselina 6-hydroxy-5,7-dichlorkynurenová (obr. 35)



(obr. 35)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-hydroxy-3,5-dichlorfenyl)amino]but-2-endiové

*Diethyloxalacetát sodná sůl*;  $m = 8,85\text{ g}$ ;  $n = 42,12\text{ mmol}$ ;  $M = 210\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; *4-amino-3,5-dichlor fenol*;  $m = 5\text{ g}$ ;  $n = 28,08\text{ mmol}$ ;  $M = 178,02\text{ (M}^+)$ ; *Benzen*;  $V = 100\text{ ml}$ ; *Reakční čas* = 3 h

$\text{TLC}_{\text{reakční směsi}}$  (Hex:EtOAc 4:1): 4 skvrny;  $R_{F1} = 0,1$ ;  $R_{F2} = 0,2$   $R_{F3} = 0,3$ (výchozí oxalacetát);  $R_{F4} = 0,5$  (produkt). Vyvinuto v ninhydrinu.

Chromatografie 250 g flasche, 8 frakcí, odebrána 1-4.

*Výtěžek*: 8,42 g (86 %)

$^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,52 (s, 1H) 6,91 (s, 2H) 5,76 (brs, 1H) 5,47 (s, 1H) 4,31-4,15 (qd,  $J = 7,13\text{ Hz}$ ; 7,13; 4,05, 4H) 1,36-1,29 (t,  $J = 7,06\text{ Hz}$ , 3H) 1,24-1,17 (t,  $J = 7,06\text{ Hz}$ , 3H);  $\text{MS}$ :  $m/z = 348\text{ (M}^+)$ ; žlutá hustá kapalina

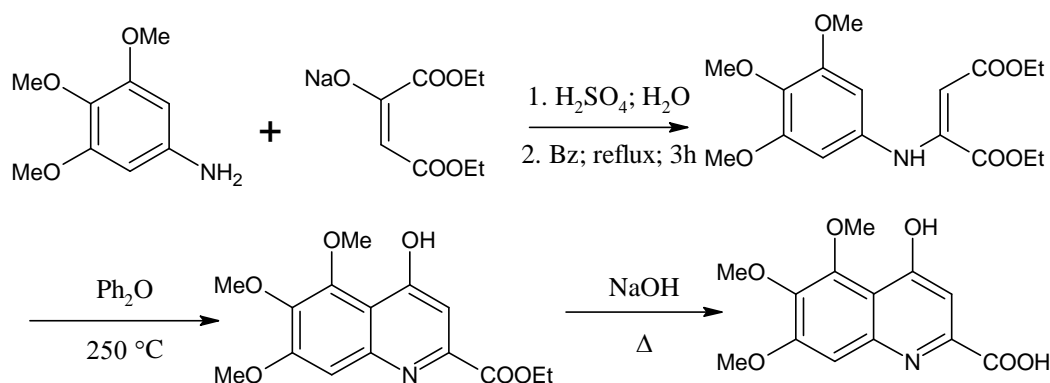
### Ethylester kyseliny 6-hydroxy-5,7-dichlorkynurenové

*Kondenzát*;  $m = 8,02\text{ g}$ ,  $n = 22,4\text{ mmol}$ ;  $M = 348,2\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; *Difenylether*;  $V = 100\text{ ml}$ ; *Reakční čas* = 0,75 h; *Reakční teplota* =  $225\text{ }^\circ\text{C}$

Cyklizace neproběhla úspěšně, došlo k zuhelnatění kondenzátu. Vliv vysoké teploty.

$\text{TLC}_{\text{EtOH, extraktu}}$  (Hex: EtOAc 3:1): podlouhlá skvrna celou plastinkou

### Kyselina 5,6,7-trimethoxykynurenová (obr. 36)



(obr. 36)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(3,4,5-trimethoxyfenyl)amino]but-2-endiové

Diethyloxalacetát sodná sůl;  $m = 22,94\text{ g}$ ;  $n = 109,16\text{ mmol}$ ;  $M = 210\text{ g.mol}^{-1}$ ; 3,4,5-trimethoxyanilín;  $m = 10\text{ g}$ ;  $n = 54,58\text{ mmol}$ ;  $M = 183,2\text{ g.mol}^{-1}$ ; Benzen;  $V = 100\text{ ml}$ ; Reakční čas = 3 h; Výtěžek: 18,17 g (94,2 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): 2 skvrny;  $R_{F1} = 0,3$  (nezreagovaný oxalacetát);  $R_{F2} = 0,8$  (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

$^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,6 (s, 1H) 6,18 (s, 2H) 5,35 (s, 1H) 5,47 (s, 1H) 4,31-4,12 (dq,  $J = 8,67$ ; 7,16 Hz; 4H) 3,82-3,79 (s, 9H) 1,34-1,28 (t,  $J = 7,16\text{ Hz}$ , 3H) 1,17-1,10 (t,  $J = 7,16\text{ Hz}$ , 3H); MS:  $m/z = 353$  ( $\text{M}^+$ ); hnědý olej

### Ethyl ester kyseliny 5,6,7-trimethoxykynurenové

Kondenzát;  $m = 17,77\text{ g}$ ,  $n = 50,3\text{ mmol}$ ,  $M = 353,4\text{ g.mol}^{-1}$ ; Difenyloether;  $V = 100\text{ ml}$ ; Reakční čas = 0,75 h; Reakční teplota =  $225\text{ }^\circ\text{C}$ ; Výtěžek: 5,68 g (36,8%)

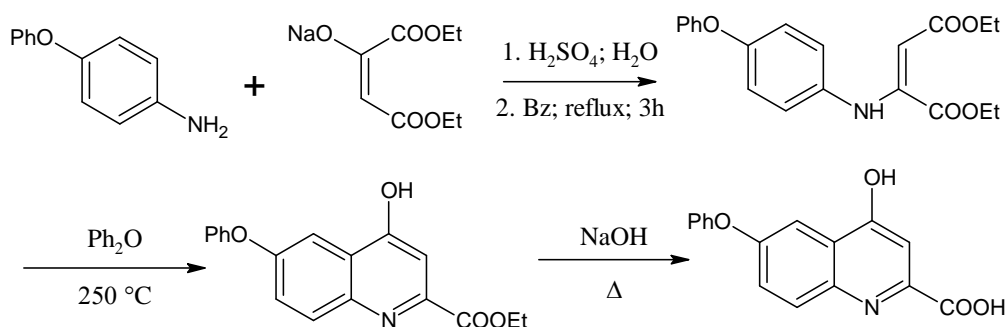
$^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,43 (s, 1H) 7,38 (s, 1H) 4,58-4,46 (q,  $J = 7,16\text{ Hz}$ , 2H) 4,19 (s, 3H) 4,01 (s, 3H) 3,99 (s, 3H) 1,52-1,43 (t,  $J = 7,16\text{ Hz}$ , 3H); MS:  $m/z = 307$  ( $\text{M}^+$ );  $b_t = 289,3\text{ }^\circ\text{C}$ ; hnědá látka

### Kyselina 5,6,7-trimethoxykynurenová

Ethylester;  $m = 5,68\text{ g}$ ;  $M = 307,3\text{ g.mol}^{-1}$ ;  $n = 18,5\text{ mmol}$ ; 10 % NaOH;  $V = 150\text{ ml}$ ; Reakční doba = 1 h; Výtěžek = 4,1g (79,5 %)

$^1\text{HNMR}$  (300 MHz; DMSO):  $\delta$  7,59 (s, 1H) 7,15 (s, 1H) 3,92 (s, 3H) 3,82 (s, 6H); MS:  $m/z = 279$  ( $\text{M}^+$ );  $b_t = 283\text{ }^\circ\text{C}$

### Kyselina 6-fenoxykynurenová (obr. 37)



(obr. 37)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-fenoxyfenyl)amino]but-2-endiové

Diethyloxalacetát sodná sůl;  $m = 22,68 \text{ g}$ ;  $n = 107,96 \text{ mmol}$ ;  $M = 210 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; 4-fenoxy anilín;  $m = 10 \text{ g}$ ;  $n = 53,98 \text{ mmol}$ ;  $M = 185,23 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; Benzen;  $V = 100 \text{ ml}$ ; Reakční čas = 3 h; Výtěžek: 17,4 g (89,6 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): 2 skvrny;  $R_{F1} = 0,3$  (nezreagovaný oxalacetát);  $R_{F2} = 0,7$  (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  9,64 (s, 1H) 7,38-7,30 (t,  $J = 7,91$ , 2H) 7,15-7,08 (t, 1H) 7,03-7,00 (d, 1H) 6,99-6,96 (d, 1H) 6,96-6,92 (d, 4H) 5,38 (s, 1H) 4,26-4,14 (dq,  $J = 9,18$ ; 7,16, 4H) 1,36-1,28 (t,  $J = 7,16$ , 3H) 1,19-1,12 (t,  $J = 7,16$ , 3H); MS:  $m/z = 355$  (M<sup>+</sup>); bílé krystaly

### Ethyl ester kyseliny 6-fenoxykynurenové

Kondenzát;  $m = 17 \text{ g}$ ;  $n = 47,8 \text{ mmol}$ ;  $M = 355,4 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; Difenyloether;  $V = 100 \text{ ml}$ ; Reakční čas = 0,75 h; Reakční teplota = 225 °C; Výtěžek: 8,1 g (54,8 %)

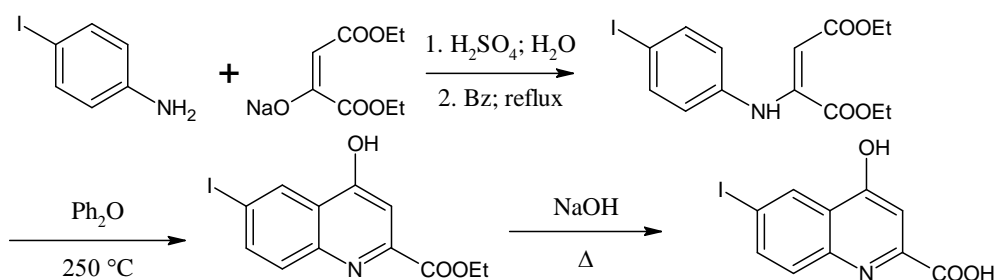
<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO):  $\delta$  8,07–7,99 (d, 1H) 7,58-7,51 (d, 1H) 7,48-7,39 (t+s, 3H) 7,25-7,17 (t, 1H) 7,13-7,06 (d, 2H) 6,61 (s, 1H) 3,49-3,39 (q,  $J = 7,16 \text{ Hz}$ , 2H) 1,09-1,01 (t,  $J = 7,16 \text{ Hz}$ , 3H); MS:  $m/z = 309$  (M<sup>+</sup>);  $b_t = 215,3 \text{ }^\circ\text{C}$ ; bílá voskovitá látka

### Kyselina 6-fenoxykynurenová

Ethylester;  $m = 8,1 \text{ g}$ ;  $M = 309,3 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $n = 26,2 \text{ mmol}$ ; 10 % NaOH;  $V = 150 \text{ ml}$ ; Reakční doba = 1 h; Výtěžek = 5,7g (77,3 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO):  $\delta$  8,07–7,99 (d, 1H) 7,58-7,51 (d, 1H) 7,48-7,39 (t+s, 3H) 7,25-7,17 (t, 1H) 7,13-7,06 (d, 2H) 6,61 (s, 1H); MS:  $m/z = 281$  (M<sup>+</sup>);  $b_t = 297 \text{ }^\circ\text{C}$

### Kyselina 6-jodokynurenová (obr. 38)



(obr. 38)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-jodofenyl)amino]but-2-endiové

*Diethyl oxalacetát sodná sůl*; m = 19,2 g; n = 91,3 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; *4-jodoanilín*; m = 10 g; n = 45,66 mmol; M = 219 g.mol<sup>-1</sup>; *Benzen*; V = 100 ml; *Reakční čas* = 3 h; *Výtěžek*: 16,2 g (91,2 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,3 (nezreagovaný oxalacetát); R<sub>F2</sub> = 0,9 (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,61 (s, 1H) 7,43-7,34 (d, J = 8,67 Hz, 2H) 6,83-6,73 (d, J = 8,67 Hz, 2H) 5,45 (s, 1H) 4,26-4,12 (dq, J = 7,06; 6,81 Hz, 4H) 1,36-1,26 (t, J = 7,06 Hz, 3H) 1,21-1,10 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 389 (M<sup>+</sup>); Hnědý olej

### Ethyl ester kyseliny 6-jodokynurenové

*Kondenzát*; m = 16,2 g; n = 41,6 mmol; M = 389,2 g.mol<sup>-1</sup>; *Difenyylether*; V = 100 ml; *Reakční čas* = 0,75 h; *Reakční teplota* = 225 °C; *Výtěžek*: 5,87 g (41,1 %)

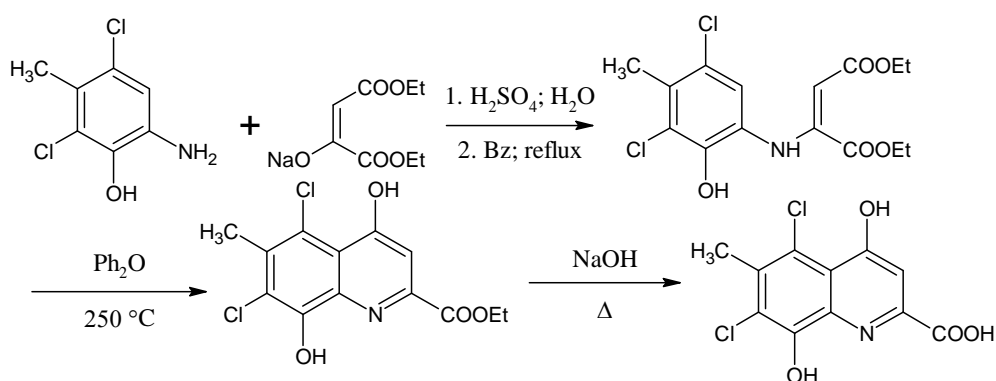
<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 8,34 (s, 1H) 8,01-7,95 (d, J = 8,48 Hz, 1H) 7,79-7,73 (d, J = 8,48 Hz, 1H) 6,66 (s, 1H) 4,24-4,12 (q, J = 7,06; 6,81 Hz, 2H) 1,36-1,26 (t, J = 7,06 Hz, 3H); MS: m/z = 343 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 233,1 °C; hnědé krystaly

### Kyselina 6-jodokynurenová

*Ethylester*; m = 5,87 g; M = 343,1 g.mol<sup>-1</sup>; n = 38 mmol; 10 % NaOH; V = 200 ml; *Reakční doba* = 1 h; *Výtěžek* = 4,685 g (86,9%)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 8,34 (s, 1H) 8,01-7,95 (d, J = 8,48 Hz, 1H) 7,79-7,73 (d, J = 8,48 Hz, 1H) 6,66 (s, 1H); MS: m/z = 315 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 278,5 °C

### Kyselina 8-hydroxy-5,7-dichlor-6-methyl kynurenová (obr. 39)



(obr. 39)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(6-hydroxy-3,5-dichlor-4-methylfenyl)amino]but-2-endiové

Diethyl oxalacetát sodná sůl; m = 21,9 g; n = 104,2 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; 2-amino-4,6-dichlor-4-methylfenol; m = 10 g; n = 52,1 mmol; M = 192 g.mol<sup>-1</sup>; Benzen; V = 120 ml; Reakční čas = 3 h; Výtěžek: 18,07 g (95,8 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,3 (nezreagovaný oxalacetát); R<sub>F2</sub> = 0,9 (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 10,66 (s, 1H) 6,95 (s, 1H) 5,99 (s, 1H) 4,30-4,20 (q, J = 7,10 Hz, 4H) 2,45 (s, 3H) 1,38-1,29 (t, J = 7,16 Hz, 6H); MS: m/z = 362 (M<sup>+</sup>); žlutý olej

### Ethyl ester kyseliny 8-hydroxy-5,7-dichlor-6-methylkynurenové

Kondenzát; m = 18,07 g; n = 49,9 mmol; M = 362,2 g.mol<sup>-1</sup>; Difenylether; V = 150 ml; Reakční čas = 0,75 h; Reakční teplota = 250 °C; Výtěžek: 4,2 g (26,2 %)

Přidáním 100 ml n-heptanu nedošlo k vykrystalizování produktu. Do roztoku (Ph<sub>2</sub>O; reakční směs) přidáno 900 ml Hexanu. Vyloučení sraženiny, filtrát zahuštěn, další krok sloupcová chromatografie (250 g flaschového silikagelu; Hex 1000 ml; poté 500 ml acetonu; produkt zůstal na startu, poté vyplaven acetonem) .

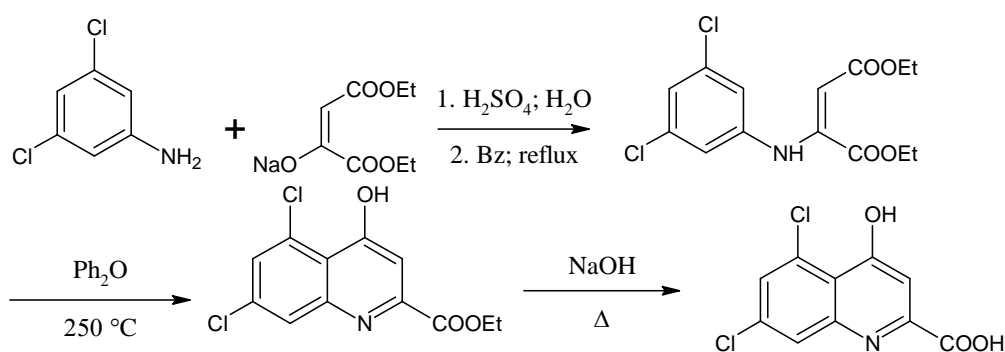
<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 7,46 (s, 1H) 4,29-4,19 (q, J = 7,10 Hz, 2H) 6,91 (s, 3H) 1,38-1,29 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 316 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 241,2 °C; červená látka

### Kyselina 8-hydroxy-5,7-dichlor-6-methylkynurenová

Ethylester; m = 4,2 g; M = 316,1 g.mol<sup>-1</sup>; n = 13,3 mmol; 10 % NaOH; V = 100 ml; Reakční doba = 1 h; Výtěžek = 1,44 g (37,6 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 7,25 (s, 1H) 2,34 (s, 3H); MS: m/z = 288 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 279,0 °C; oranžová látka

### Kyselina 5,7-dichlorkynurenová (obr. 40)



(obr. 40)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(3,5-dichlorofenyl)amino]but-2-endiové

*Diethyl oxalacetát sodná sůl*; m = 58,5 g; n = 278 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; *3,5-dichloranilín*; m = 30 g; n = 185 mmol; M = 162 g.mol<sup>-1</sup>; *Benzen*; V = 200 ml; *Reakční čas* = 3 h; *Výtěžek*: 52,2 g (84,9 %)

TLC<sub>reakční směsí</sub> (Hex:EtOAc 4:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,3 (nezreagovaný oxalacetát); R<sub>F2</sub> = 0,6 (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,54 (s, 1H) 7,74 (s, 1H) 7,18 (s, 2H) 5,54 (s, 1H) 4,18-4,06 (dq, J = 7,06; 6,81 Hz, 4H) 1,37-1,27 (t, J = 7,06 Hz, 3H) 1,22-1,11 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 332 (M<sup>+</sup>); žluté krystaly

### Ethyl ester kyseliny 5,7-dichlorkynurenové

*Kondenzát*; m = 52,2 g; n = 157,1 mmol; M = 332,2 g.mol<sup>-1</sup>; *Difenylether*; V = 250 ml; *Reakční čas* = 0,75 h; *Reakční teplota* = 225 °C; *Výtěžek*: 26,1 g (58,1 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,99 (s, 1H) 7,41 (s, 1H) 6,57 (s, 1H) 4,52-4,43 (q, J = 7,16, 2H) 1,49-1,40 (t, J = 7,03, 3H); MS: m/z = 286 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 267,7 °C; žlutá látka

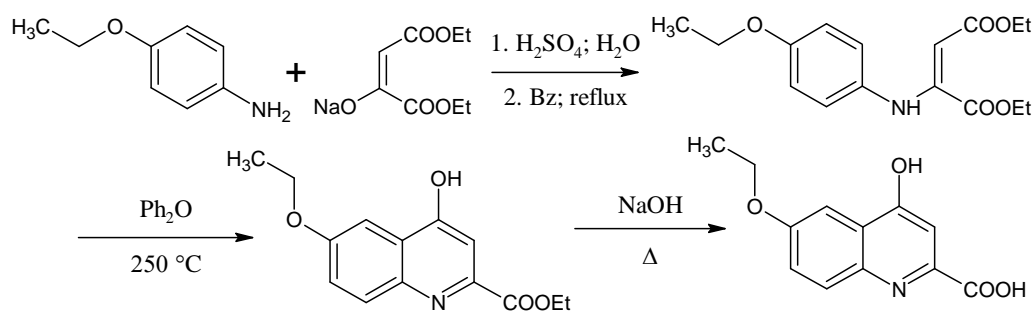
### Kyselina 5,7-dichlorkynurenová

*Ethylester*; m = 25,7 g; M = 286,1 g.mol<sup>-1</sup>; n = 89,8 mmol; 10 % NaOH; V = 300 ml; *Reakční doba* = 1 h; *Výtěžek* = 21,89 g (94,4 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 7,99 (s, 1H) 7,41 (s, 1H) 6,57 (s, 1H); MS: m/z = 258 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 287,9 °C; žlutá látka



### Kyselina 6-ethoxykynurenová (obr. 41)



(obr. 41)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-ethoxyfenyl)amino]but-2-endiové

Diethyloxalacetát sodná sůl; m = 32,34 g; n = 154 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; 4-ethoxyanilín; m = 10,6 g; n = 77 mmol; M = 137 g.mol<sup>-1</sup>; V = 10 ml; Benzen; V = 100 ml; Reakční čas = 3 h; Výtěžek: 19,98 g (84,1 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,3 (nezreagovaný oxalacetát); R<sub>F2</sub> = 0,9 (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,57 (s, 1H) 6,91-6,85 (d, J = 8,67, 2H) 6,84-6,77 (d, J = 8,67, 2H) 5,28 (s, 1H) 4,23-4,08 (dq, J = 19,64; 7,14; 7,14, 4H) 4,04-3,95 (q, J = 7,03, 2H) 1,43-1,35 (t, J = 6,97 Hz, 3H) 1,33-1,24 (t, J = 7,06 Hz, 3H) 1,12-1,05 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 307 (M<sup>+</sup>); Červená kapalina

### Ethyl ester kyseliny 6-ethoxykynurenové

Kondenzát; m = 19,98 g; n = 65,01 mmol; M = 307,3 g.mol<sup>-1</sup>; Difenyloether; V = 100 ml; Reakční čas = 0,75 h; Reakční teplota = 225 °C; Výtěžek: 10,7 g (62,98 %)

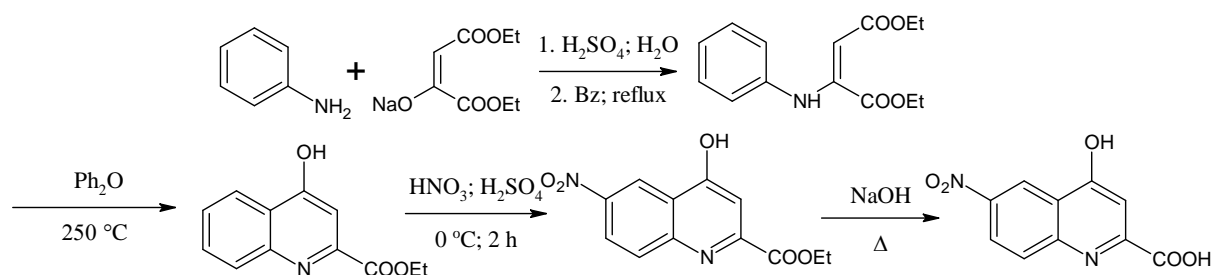
<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,73–7,67 (d, J = 2,64 Hz, 1H) 7,52-7,45 (d, J = 9,04 Hz, 1H) 7,34-7,28 (dd, J = 9,04; 2,83 Hz, 1H) 7,00 (s, 1H) 4,52-4,43 (q, J = 7,16 Hz, 2H) 4,20-4,10 (q, J = 6,97 Hz, 2H) 1,50-1,40 (q, J = 7,03; 7,03 Hz, 6H); MS: m/z = 261 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 217,2 °C; hnědá látka

### Kyselina 6-ethoxykynurenová

Ethylester; m = 9,78 g; M = 261 g.mol<sup>-1</sup>; n = 37,5 mmol; 10 % NaOH; V = 200 ml; Reakční doba = 1 h; Výtěžek = 7,72 g (88,4 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 7,95–7,89 (d, J = 9,04 Hz, 1H) 7,46-7,42 (d, J = 2,64 Hz, 1H) 7,39-7,33 (dd, J = 9,04; 2,83 Hz, 1H) 6,65 (s, 1H) 4,15-4,06 (q, J = 6,84 Hz, 2H) 1,41-1,33 (t, J = 6,97 Hz, 3H); MS: m/z = 233 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 285,1 °C

### Kyselina 6-nitrokynurenová (obr. 42)



(obr. 42)

### Diethyl ester kyseliny 2(fenylamino)but-2-endiové

*Diethyloxalacetát sodná sůl*; m = 34,5 g; n = 164,5 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; *anilín*; m = 10,2 g; n = 109,7 mmol; M = 93 g.mol<sup>-1</sup>; V = 10 ml; *Benzen*; V = 75 ml; *Reakční čas* = 3 h; *Výtěžek*: 13,27 g (45,9 %)

TLC<sub>reakční směsí</sub> (Hex:EtOAc 4:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,3 (nezreagovaný oxalacetát); R<sub>F2</sub> = 0,5 (anilín); R<sub>F2</sub> = 0,8 Vyvinuto v ninhydrinu.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,67 (s, 1H) 7,32-7,24 (t, J = 7,82 Hz, 2H+1H (CDCl<sub>3</sub>)) 7,13-7,06 (t, J = 7,35 Hz, 1H) 6,96-6,90 (d, J = 7,72 Hz, 2H) 6,92 (d, J = 7,72 Hz, 2H) 5,39 (s, 1H) 1,34-1,27 (t, J = 7,16 Hz, 3H) 1,13-1,06 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 263 (M<sup>+</sup>); hnědá kapalina

### Ethyl ester kyseliny kynurenové

*Kondenzát*; m = 13,27 g; n = 50,4 mmol; M = 263,3 g.mol<sup>-1</sup>; *Difenylether*; V = 75 ml; *Reakční čas* = 0,75 h; *Reakční teplota* = 225 °C; *Výtěžek*: 7,23 g (66,1 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 8,36 (d, J=8,10 Hz, 1H) 7,68 (t, J=7,63 Hz, 1H) 7,49 (d, J=8,29 Hz, 1H) 7,39 (t, J=7,54 Hz, 1H) 7,01 (s, 1H) 4,49 (q, J=7,16 Hz, 2H); MS: m/z = 217 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 217,7 °C; hnědá látka

### Ethyl ester kyseliny 6-nitrokynurenové

Ethylester kyseliny kynurenové byl rozpuštěn v 44,5 ml vychlazené kyseliny sírové. Poté byla přidána vychlazená směs 2,6 ml kyseliny dusičné a 2,78 ml kyseliny sírové. Směs byla míchána za chladu 2 h. Po ukončení reakce byla směs zředěna v 600 ml ledové vody. Vysrážel se nitrát, odsáto, promyto 2 x 100 ml vody, poté 2 x 100 ml 5 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, poté 1 x 200 ml vody a 2 x 100 ml hexanu.

*Ethylester*; m = 7,23 g; M = 217,22 g.mol<sup>-1</sup>; n = 33,3 mmol; HNO<sub>3</sub> (65 %); V = 2,6 ml; H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%); V = 47,28 ml; *Reakční doba* = 2 h; *Reakční teplota* = 0 °C; *Výtěžek* = 8,56 g (98,1 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CD<sub>3</sub>COOD): δ 8,92 (s, 1H) 8,35 (dd, J=8,89; 1,76 Hz, 1H) 7,98 (dd, J=8,89; 0,79 Hz, 1H) 7,79 (s, 1H) 4,14 (q, J=7,12 Hz, 2H) 1,28 (t, J=7,12 Hz, 3H); MS: m/z = 262 (M<sup>+</sup>)

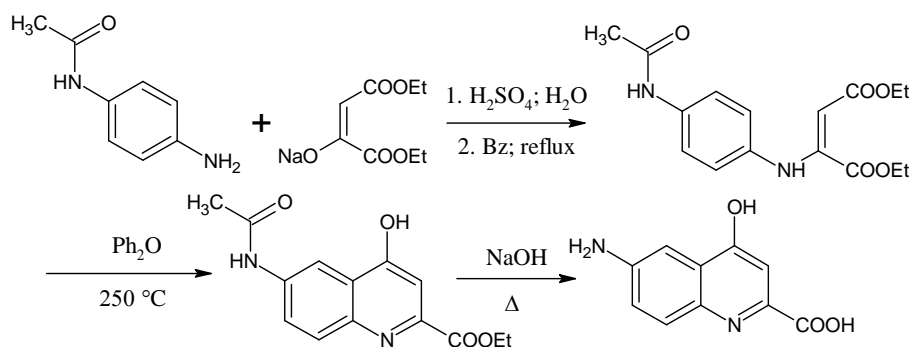
b<sub>t</sub> = 276,5 °C

### Kyselina 6-nitrokynurenová

*Ethylester*; m = 8,56 g; M = 262,2 g.mol<sup>-1</sup>; n = 32,6 mmol; 10 % NaOH; V = 200 ml; *Reakční doba* = 1 h; *Výtěžek* = 5,21 g (68,2%)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CD<sub>3</sub>COOD): δ 8,92 (s, 1H) 8,35 (dd, J=8,89; 1,76 Hz, 1H) 7,98 (dd, J=8,89; 0,79 Hz, 1H) 7,79 (s, 1H); MS: m/z = 234 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 286,3 °C

### Kyselina 6-aminokynurenová (obr. 43)



(obr. 43)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-acetamidofenyl)amino]but-2-endiové

*Diethyloxalacetát sodná sůl*; m = 27,72 g; n = 132 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; *4-fenoxy anilín*; m = 10 g; n = 66 mmol; M = 150,2 g.mol<sup>-1</sup>; *Benzen*; V = 100 ml; *Reakční čas* = 3 h; *Výtěžek*: 5,23g (24,5 %)

Odpařeno po ukončení reakce, rozpuštěno v Hex:EtOAc 1:1, vykrystalizovaly ze směsi žluté krystalky

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,62 (s, 1H) 7,46-7,38 (d, J = 8,67 Hz, 2H) 6,91-6,84 (d, J = 8,67 Hz, 2H) 5,36 (s, 1H) 4,24-4,12 (dq, J = 10,71; 7,10 Hz, 4H) 3,44 (s, 3H), 1,34-1,26 (t, J = 7,16 Hz, 3H) 1,18-1,10 (t, J = 7,06 Hz, 3H); MS: m/z = 320 (M<sup>+</sup>); žluté krystaly; b<sub>t</sub> = 122 °C

### Ethyl ester kyseliny 6-acetamidokynurenové

*Kondenzát*; m = 4,93 g; n = 15,4 mmol; M = 320,3 g.mol<sup>-1</sup>; *Difenylether*; V = 80 ml; *Reakční čas* = 0,75 h; *Reakční teplota* = 225 °C; *Výtěžek*: 4 g (94,8 %)

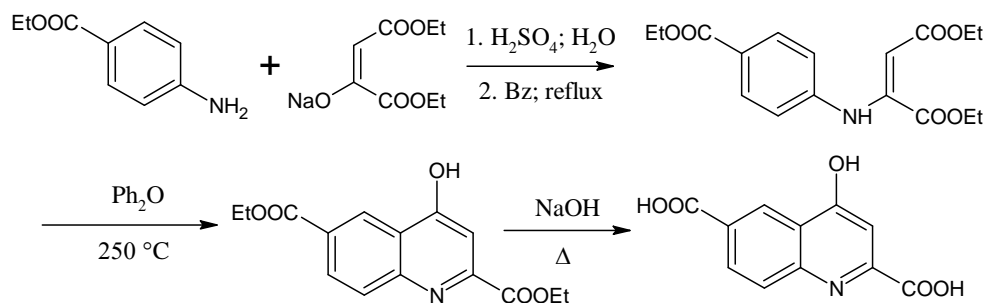
<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 12,05 (s, 1H, N-H) 10,18 (s, 1H, N-H) 8,34 (s, 1H) 7,88 (s, 2H) 6,58 (s, 1H) 4,46-4,35 (q, J = 7,16 Hz, 2H) 2,07 (s, 3H) 1,39-1,32 (t, J = 7,06 Hz, 3H); MS: m/z = 274 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 311,6 °C; hnědá látka

### Kyselina 6-aminokynurenová

*Ethylester*; m = 4 g; M = 274,3 g.mol<sup>-1</sup>; n = 14,6 mmol; 10 % NaOH; V = 100 ml; *Reakční doba* = 1 h; Extrakce vodného roztoku 100 ml EtOAc, odpaření.; *Výtěžek* = 2,42 g (81,2 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 9,03–8,76 (br.s., 2H) 8,18-8,09 (d, J = 8,89 Hz, 1H) 8,04-7,93 (d, J = 8,89 Hz, 1H) 7,38-7,32 (s, 1H) 7,23-7,10 (s, 1H); MS: m/z = 204 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 302,5 °C

### Kyselina 6-karboxylkynurenová (obr. 44)



(obr. 44)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-ethoxykarbonylfenyl)amino]but-2-endiové

Diethyloxalacetát sodná sůl;  $m = 37,8\text{ g}$ ;  $n = 180\text{ mmol}$ ;  $M = 210\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; Ethylester kyseliny 4-aminobenzoové;  $m = 15\text{ g}$ ;  $n = 90,8\text{ mmol}$ ;  $M = 165,2\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; Benzen;  $V = 100\text{ ml}$ ; Reakční čas = 3 h; Výtěžek: 4,65 g (15,3 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 4:1): 3 skvrny;  $R_{F1} = 0,3$  (nezreagovaný oxalacetát);  $R_{F2} = 0,5$  (nezreagovaný anilín)  $R_{F3} = 0,8$  (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,75 (s, 1H) 8,00-7,94 (d,  $J = 8,48\text{ Hz}$ , 2H) 6,93-6,86 (d,  $J = 8,48\text{ Hz}$ , 2H) 5,54 (s, 1H) 4,41-4,31 (q,  $J = 7,1$ ; 7,1 Hz, 2H) 4,27-4,17 (q,  $J = 7,1$ ; 7,1 Hz, 4H) 1,42-1,28 (t,  $J = 7,06$ ; 7,06 Hz, 3H) 1,21-1,14 (t,  $J = 7,16$ ; 7,16 Hz, 3H); MS:  $m/z = 335\text{ (M}^+)$ ; žlutá kapalina

### Diethyl ester kyseliny 6-karboxylkynurenové

Kondenzát;  $m = 4,25\text{ g}$ ;  $n = 12,7\text{ mmol}$ ;  $M = 335,4\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; Difenyloether;  $V = 80\text{ ml}$ ; Reakční čas = 0,75 h; Reakční teplota =  $225\text{ }^\circ\text{C}$ ; Výtěžek: 3,35 g (91,4 %)

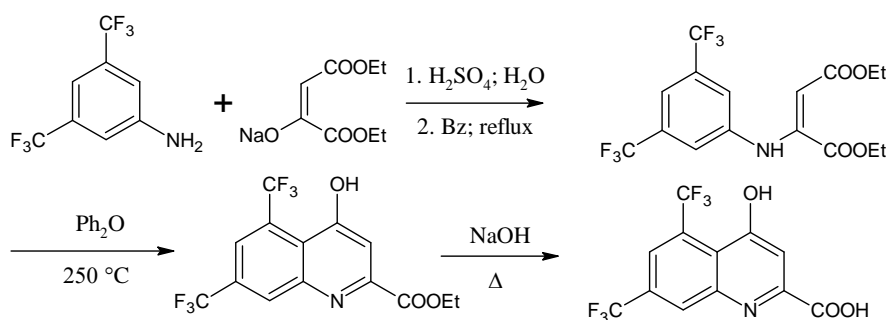
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz; DMSO):  $\delta$  9,04 (s, 1H) 8,35-8,29 (dd,  $J = 8,76$ ; 1,79 Hz, 1D) 7,62-7,56 (d,  $J = 8,67\text{ Hz}$ , 1H) 7,07 (s, 1H) 4,55-4,38 (q,  $J = 7,10\text{ Hz}$ , 2H) 4,55-4,38 (q,  $J = 7,03\text{ Hz}$ , 2H) 1,49-1,39 (t,  $J = 8,10\text{ Hz}$ , 6H); MS:  $m/z = 289\text{ (M}^+)$ ;  $b_t = 245,3\text{ }^\circ\text{C}$ ; zelená látka

### Kyselina 6-karboxylkynurenová

Ethylester;  $m = 3,35\text{ g}$ ;  $M = 289,3\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ;  $n = 11,6\text{ mmol}$ ; 10 % NaOH;  $V = 150\text{ ml}$ ; Reakční doba = 1 h; Výtěžek = 1,78 g (65,9 %)

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz; DMSO):  $\delta$  8,66 (s, 1H) 8,18-8,13 (d,  $J = 9,04\text{ Hz}$ , 1H) 8,02 -7,97 (d,  $J = 9,04\text{ Hz}$ , 1H) 6,68 (s, 1H); MS:  $m/z = 233\text{ (M}^+)$ ;  $b_t = 305,7\text{ }^\circ\text{C}$

### Kyselina 5,7-bis(trifluoromethyl)kynurenová (obr. 45)



(obr. 45)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(3,5-bis(trifluoromethyl)fenyl)amino]but-2-endiové

Diethyl oxalacetát sodná sůl; m = 20,3 g; n = 96,69 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; 3,5-bis(trifluoromethyl)anilín; m = 14,77 g; n = 64,46 mmol; M = 229,13 g.mol<sup>-1</sup>; Benzen; V = 150 ml; Reakční čas = 3 h; Výtěžek: 1,56 g (6,1 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 3:1): 3 skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,1 (nezreagovaný anilín); R<sub>F2</sub> = 0,5 (nezreagovaný oxylacetát) R<sub>F3</sub> = 0,8 (produkt), Vyvinuto v ninhydrinu.

Chromatografie: 250 g flaschového silikagelu, 1000 ml Hex: EtOAc 9:1, 500 ml Hex: EtOAc 8:1), 15 frakcí, odebrána 1-3, odpařeno.

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): 9,82 (s, 1H) 7,55 (s, 1H) 7,28 (s, 2H (+ 1H CDCl<sub>3</sub>)) 5,68 (s, 1H) 4,29-4,19 (dq, J = 7,10; 2,26 Hz, 4H) 1,36-1,29 (t, J = 7,16 Hz, 3H) 1,23-1,16 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 399 (M<sup>+</sup>); žlutá látka; b<sub>t</sub> = 61,5 °C

### Ethyl ester kyseliny 5,7-bis(trifluoromethyl)kynurenové

Kondenzát; m = 1,16 g; n = 2,7 mmol; M = 399,3 g.mol<sup>-1</sup>; Difenylether; V = 100 ml; Reakční čas = 0,75 h; Reakční teplota = 225 °C; Výtěžek: 0,91 g (88,7 %)

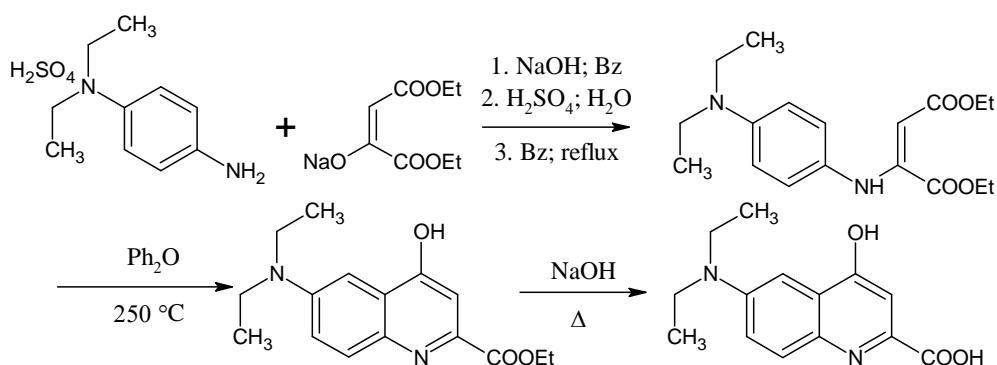
<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CD<sub>3</sub>OD): δ 8,51 (s, 1H) 7,97 (s, 1H) 6,99 (s, 1H) 4,56-4,46 (q, J = 7,54; 2,18 Hz, 2H) 1,50-1,41 (t, J = 7,16 Hz, 3H); MS: m/z = 353 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 251,7 °C; Stříbrné krystalky (šupiny, destičky)

### Kyselina 5,7-bis(trifluoromethyl)kynurenová

Ethylester; m = 0,91 g; M = 353,2 g.mol<sup>-1</sup>; n = 2,5 mmol; 10 % NaOH; V = 50 ml; Reakční doba = 1 h; Výtěžek = 0,72 g (86,0 %);

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; DMSO): δ 8,75 (s, 1H) 7,91 (s, 1H) 6,75 (s, 1H); MS: m/z = 325,2 (M<sup>+</sup>); b<sub>t</sub> = 298,5 °C; bílá látka

### Kyselina 6-(N,N-diethylamino)kynurenová (obr. 46)



(obr. 46)

### Diethyl ester kyseliny 2-[(4-N,N-diethylaminofenyl)amino]but-2-endiové

Před reakcí byl uvolněn z podoby síranu samotný anilín, za pomoci 50 ml 10% NaOH, následně extrahován do 50 ml Bz.

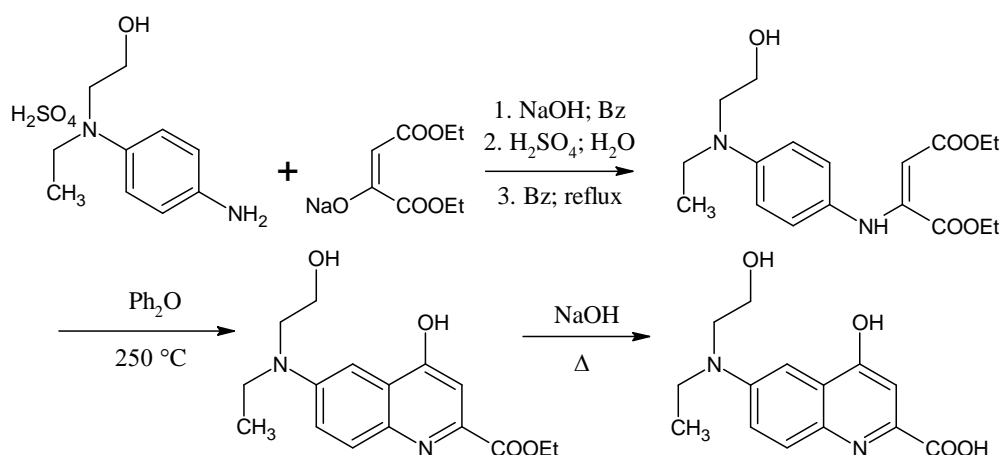
*Diethyloxalacetát sodná sůl*; m = 5,67 g; n = 27 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; *2-[(4-aminofenyl)(ethyl)amino]ethanol*; m = 5 g; n = 18 mmol; M = 278 g.mol<sup>-1</sup>; *Benzen*; V = 150 ml; *Reakční čas* = 3 h; Vznik černého oleje, TLC, LC/MS

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 3:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,1 (nezreagovaný anilín); R<sub>F2</sub> = 0,5 (nezreagovaný oxalacetát), Vyvinuto v ninhydrinu.

*Výtěžek*: 0 g (0 %); MS: m/z = 211; 165 (M<sup>+</sup>)

Reakce neproběhla. Opakováno, stejný výsledek i při větší pozornosti na uvolnění anilínu ze síranu. Špatný reakční přístup.

**Kyselina 6-[N,N-(2-hydroxyethyl)(ethyl)amino] kynurenová (obr. 47)**



(obr. 47)

**Diethyl ester kyseliny 2-[(4-[(2-hydroxyethyl)(ethyl)]fenyl)amino]but-2-endiové**

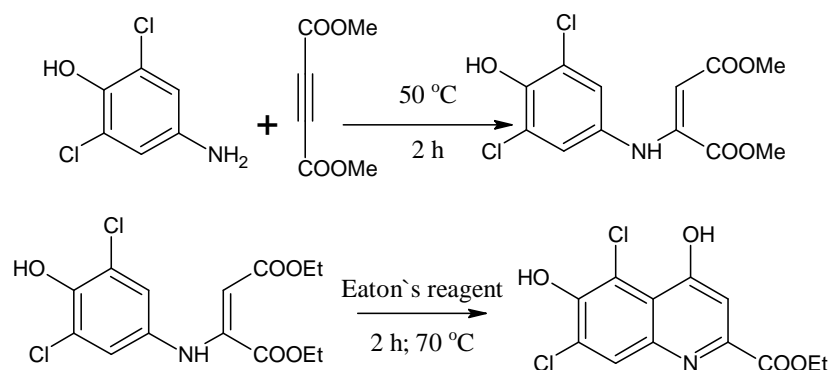
*Diethyloxalacetát sodná sůl*; m = 5,67 g; n = 27 mmol; M = 210 g.mol<sup>-1</sup>; *2-[(4-aminofenyl)(ethyl)amino]ethanol*; m = 5 g; n = 18 mmol; M = 278 g.mol<sup>-1</sup>; *Benzen*; V = 150 ml; *Reakční čas* = 3 h; Vznik fialového oleje, TLC; *Výtěžek*: 0 g (0 %)

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 3:1): skvrny; R<sub>F1</sub> = 0,1 (nezreagovaný anilín); R<sub>F2</sub> = 0,5 (nezreagovaný oxalacetát) Vyvinuto v ninhydrinu.

MS: m/z = 181; 211 (M<sup>+</sup>)

Reakce neproběhla. Opakováno, stejný výsledek i při větší pozornosti na uvolnění anilínu ze síranu. Špatný reakční přístup.

### Methylester kyseliny 6-hydroxy-5,7-dichlorkynurenové (obr. 48)



(obr. 48)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(4-hydroxy-3,5-dichlorfenyl)amino]but-2-endiové

V 3 ml MeOH byl rozpuštěn výchozí anilín (0,04 g; 0,23 mmol), následně přidán dimethyl acetylen dikarboxylát (0,034 g; 0,033 ml; 0,27 mmol). Došlo k mírnému ohřátí roztoku. Mícháno při 50 °C, 2 h.

TLC (Hex:EtOAc 3:1) 2 skvrny:  $R_{F1} = 0,3$  (nezreagovaný anilín);  $R_{F2} = 0,8$  (produkt)

Odpařeno, oranžový olej.

LC/MS: nalezeno 320+1 (RČ: 5,8/10 min) 320+1 (RČ: 6,8/10 min)

Tato reakce sloužila pouze jako testující reakce, nebyla prováděna NMR analýza, kvůli nedostatku analyzovatelného materiálu. Pro další reakce bylo použito již připraveného kondenzátu z výchozího anilínu a diethyloxalacetátu.

### Ethylester kyseliny 6-hydroxy-5,7-dichlorkynurenové

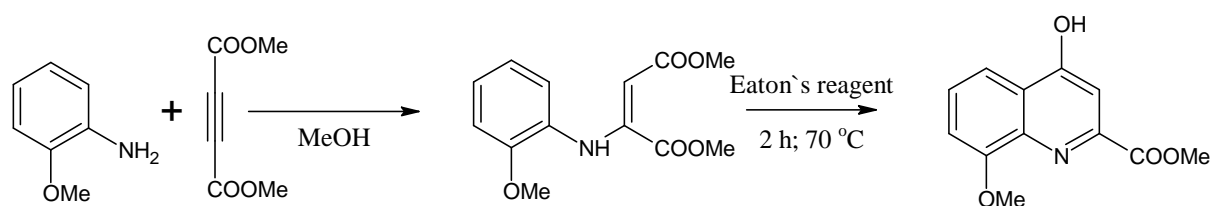
Kondenzát (0,1 g; 0,287 mmol) byl rozpuštěn v 3 ml Eatonova roztoku. Opatřeno míchadlem a při 70 °C bylo mícháno po dobu 2 h. Neutralizace  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , odsátý pevný produkt oranžové barvy.

$^1\text{H}$ NMR (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,74 (s, 1H) 7,25 (s, 1H(+1H  $\text{CDCl}_3$ )) 4,20-4,10 (q,  $J = 7,10$  Hz, 2H) 1,37-1,24 (t,  $J = 7,16$  Hz, 3H)

LC/MS: nalezeno 302+1; dále 274+1



### Methyl ester kyseliny 8-methoxy kynurenové (obr. 49)



(obr. 49)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(2-methoxyfenyl)amino]but-2-endiové

1 g (8,12 mmol) o-methoxyanilínu bylo rozpuštěno v 10 ml MeOH, poté přidáno 1,4 g dimethylacetylen diakrboxylátu. Samovolné zahřátí. Mícháno přes noc. Po proběhnutí reakce vymrazeno. Po narušení kapaliny skleněnou tyčinkou došlo ke krystalizaci. Vznik žlutých krystalů. Filtrace, promyty hexanem, sušeno na vzduchu. Filtrát zahuštěn a LC/MS.

LC/MS<sub>krystalu</sub>: nalezeno 265 (RČ: 8,05/10 min)

LC/MS<sub>olej</sub>: nalezeno 265 (RČ: 7,14/10 min) 265 (RČ: 8,18/10 min)

Výtěžek<sub>krystalu</sub> 1,34 g (62,1 %)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,64 (br. s, 1H) 7,09-7,02 (t, 1H) 6,92-6,85 (d, J = 7,72 Hz, 2H) 6,82-6,77 (d, 1H) 5,41 (s, 1H) 3,87 (s, 3H) 3,76 (s, 3H) 3,74 (s, 3H)

### Methyl ester kyseliny 8-methoxy kynurenové

V 6 ml Eatonova roztoku byl rozpuštěn 1 g kondenzátu (3,77 mmol). Poté byla směs míchána po dobu 2 h při 70 °C. Po vychladnutí směsi, neutralizace v nasyceném roztoku Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Odsátý produkt

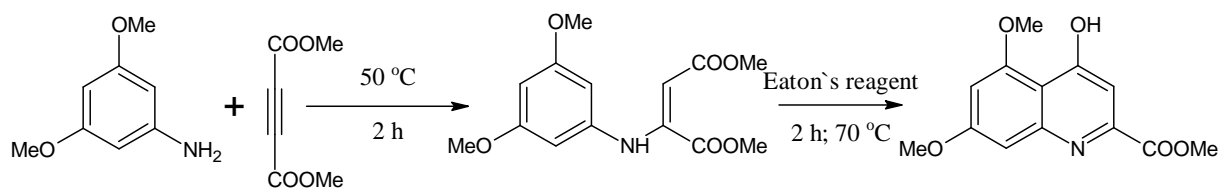
Výtěžek 0,34 g (38,7 %)

Nažloutlá látka

LC/MS: 233 (RČ: 5/10 min)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,94–7,89 (d, J = 8,29 Hz, 1H) 7,36-7,30 (t, J = 8,01; 8,01 Hz, 1H) 7,14-7,07 (d, J = 7,91 Hz, 1H) 7,08 (s, 1H) 6,69 (s, 6H)

### Methyl ester kyseliny 5,7-dimethoxy kynurenové (obr. 50)



(obr. 50)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(3,5-dimethoxyfenyl)amino]but-2-endiové

V 10 ml MeOH byl rozpuštěn 1 g výchozího anilínu (6,53 mmol) a následně přidáno 1,11 g (0,96 ml, 7,83 mmol) dimethyl acetylen dikarboxylátu. Reakční směs se mírně zahřála. Mícháno při 50 °C po dobu 2 h. Po reakci byla reakční směs schlazena a odpařena.

TLC (Hex:EtOAc 3:1) 3 skvrny:  $R_{F1} = 0,1$  (nezreagovaný anilín);  $R_{F2} = 0,3$  (dimethylacetylen);  $R_{F3} = 0,7$  (produkt)

LC/MS: nalezeno 295+1 (RČ: 6,4/10 min) 295+1 (RČ: 7,4/10 min)

Chromatografie: 100 g flaschového silikagelu, 500 ml Hex:EtOAc 4:1

Odparek:  $m = 1,04$  g (53,9 %)

Nedostatečné reakční podmínky. V dalších pokusech zvýšení reakční teploty a odebrání rozpuštědla.

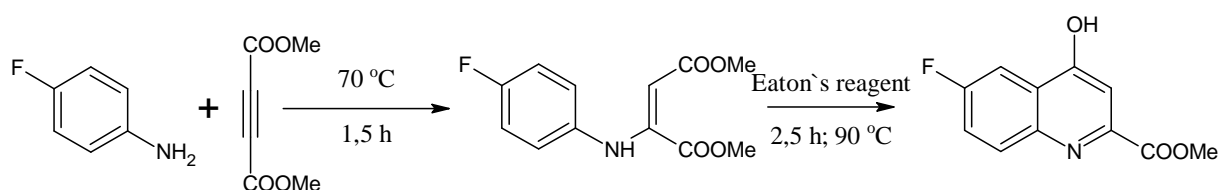
### Methyl ester kyseliny 5,7-dimethoxy kynurenové

V 5 ml Eatonova roztoku bylo rozpuštěno 0,9 g kondenzátu. Při 70 °C mícháno po dobu 2 h. Zpracování: reakční směs nalita do 1M roztoku NaOH. Produkt se nevysrážel, zůstal v roztoku. Extrakce 100 ml EtOAc, neúspěch (TLC monitoring). Následně odpařen vodný roztok a provedena extrakce pevné látky (anorganické soli) 300 ml EtOH.

LC/MS: negativní, nalezeno 255,9

Neúspěch v cyklizačním kroku. Následně změněny neutralizačních podmínek.

### Methyl ester kyseliny 6-fluor kynurenové (obr. 51)



(obr. 51)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(4-fluorfenyl)amino]but-2-endiové

V 50 ml varné baňce byl smíchán 1 g výchozího anilínu (8,99 mmol; 0,8525 ml) a 1,53 g dimethyl acetylendikarboxylátu (10,79 mmol; 1,325 ml) Smícháním došlo k uvolnění velkého množství tepla, míchání po dobu 1,5 h při 70 °C. Po ukončení reakce, TLC

TLC (Hex: EtOAc 4:1): 2 skvrny;  $R_{F1} = 0,1-0,3$  (dimethylacetylen);  $R_{F2} = 0,6$  (produkt)

Chromatografie: 200 g flaschového silikagelu, 1000 ml Hex:EtOAc 9:1

Výtěžek: 2,28 g (99,6 %)

LC/MS: 253+1 (RČ: 6,1/10 min), 253+1 (RČ: 7,1/10 min), 223+11

$^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,59 (br.s, 1H) 7,03-6,95 (t,  $J = 8,57$  Hz, 2H) 6,93-6,86 (d,  $J = 4,71$  Hz, 1H) 6,93-6,86 (d,  $J = 4,71$  Hz, 1H) 5,41 (s, 1H) 3,75 (s, 3H) 3,69 (s, 3H)

### Methyl ester kyseliny 6-fluor kynurenové

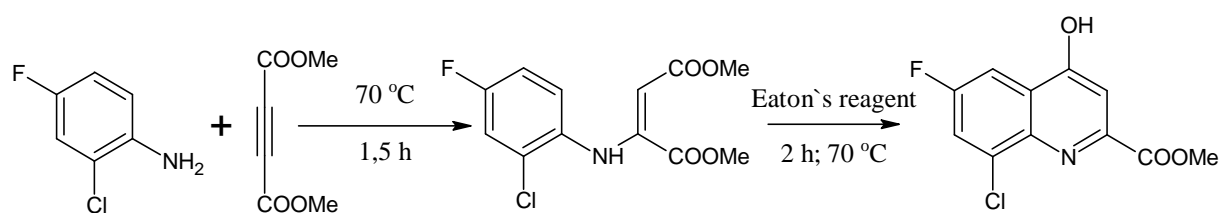
K 2,28 g kondenzátu bylo přidáno 8 ml Eatonova roztoku, mícháno při 90 °C 2 h. Po ukončení reakce neutralizace v 100 ml 5 % roztoku  $\text{Et}_3\text{N}$  ve vodě. Dále neutralizace čistým  $\text{Et}_3\text{N}$  do neutrálního pH. Vysrážel se produkt.

Výtěžek 1,8 g (90,5 %)

LC/MS: 221+1; dále 206+1

$^1\text{HNMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,08–8,04 (t,  $J = 8,57$ ; 4,71 Hz, 1H) 8,04-8,02 (d,  $J = 8,57$  Hz, 1H) 7,92-7,84 (d,  $J = 4,71$  Hz, 1H) 7,65 (s, 1H) 3,70 (s, 3H)

### Methyl ester kyseliny 6-fluor-8-chlor kynurenové (obr. 52)



(obr. 52)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(2-chloro-4-fluorofenyl)amino]but-2-endiové

Navážen 1 g syntetizovaného 4-fluor-2-chloroanilínu (6,87 mmol) do 50 ml baňky. Opatřeno magnetickým míchadlem, přidáno 1,17 g dimethyl acetylen dikarboxylátu (8,24 mmol; 1,01 ml). Došlo k silnému samovolnému zahřátí. Mícháno 1,5 h při 70 °C bez rozpouštědla. Po ochlazení, krystalizace, zelenožluté krystalky. Výtěžek 1,85 g (93,4 %).

TLC<sub>reakční směsi</sub> (Hex:EtOAc 3:1): 1 skvrna;  $R_{F1} = 0,7$

LC/MS: 288+1; dále štěp 255+1; detekce za pomoci UV/VIS detektoru

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,64 (s, 1H) 7,20-7,14 (dd,  $J = 8,10; 2,83$  Hz, 1H) 6,95-6,87 (dd,  $J = 7,54; 2,83$  Hz, 1H) 6,84-6,78 (d,  $J = 5,27$  Hz, 1H) 6,82 (s, 1H) 3,77 (s, 3H) 3,72 (s, 3H)

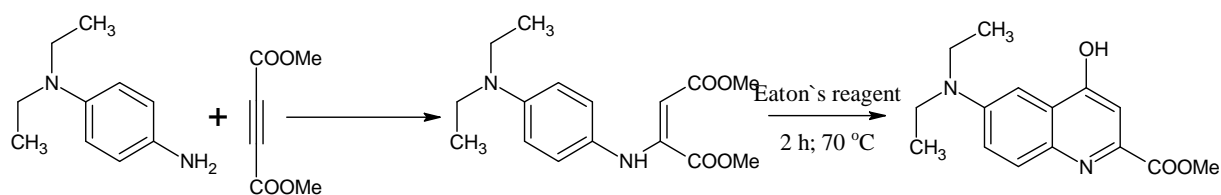
### Methyl ester kyseliny 6-fluoro-8-chlorokynurenové

1 g kondenzátu navážen do 50 ml baničky, opatřeno míchadlem a vyhřáto na 70 °C, mícháno 2 h. Po ukončení schlazeno, neutralizace roztoku  $\text{Et}_3\text{N}$  do neutrálního pH. Odsáto, promyto vodou. Žlutá látka (0,78 g; 88,6 %)

LC/MS: 255+1; dále 229,9; 227,9; 195,9, detekce pomoci UV/VIS detektoru

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{COOD}$ ):  $\delta$  8,07-8,01 (d,  $J = 2,83$  Hz, 1H) 7,85-7,80 (d,  $J = 2,83$  Hz, 1H) 7,24 (s, 1H) 4,11 (s, 3H)

### Methyl ester kyseliny 6-N,N-diethylamino kynurenové (obr. 53)



(obr. 53)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(4-N,N-diethylaminofenyl)amino]but-2-endiové

Bylo naváženo 1,59 g síranu příslušného anilínu. Následně uvolněno (50 ml 10 % NaOH) a extrahováno (50 EtOAc). Po odpaření EtOAc bylo k anilínu přidáno 1,04 g dimethylacetylen diakrboxylátu. Reakční směs se silně zahřála. Zkouška TLC

TLC (Hex:EtOAc 4:1): 2 skvrny:  $R_{F1} = 0,3$ ;  $R_{F2} = 0,8$  (produkt)

Směs rozpuštěna v 10 ml Hex:EtOAc 9:1. Chromatografie 200 g silikagelu, 1000 ml Hex:EtOAc 9:1.

Výtěžek 1,7 g (91,4 %)

LC/MS: nalezeno 306+1 (RČ: 1,19/10 min) 306+1 (RČ: 1,75/10 min)

### Methyl ester kyseliny 6-N,N-diethylamino kynurenové

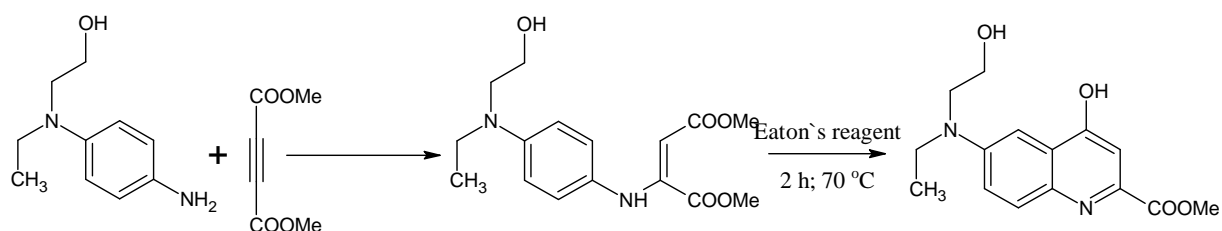
1,7 g kondenzátu bylo rozpuštěno v 7 ml Eatonova roztoku. Mícháno při teplotě 70 °C po dobu 2 h. Po ukončení reakce, reakční směs nalita do 100 ml 5 % roztoku Et<sub>3</sub>N ve vodě. Poté neutralizace Et<sub>3</sub>N do neutrální reakce. Vysrážel se produkt.

Výtěžek: 1,33 g (87,3 %)

LC/MS: nalezeno 274+1 (RČ: 1,88/10 min)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  7,46–7,36 (d, J = 2,83 Hz, 1H) 7,46–7,36 (d, J = 9,04 Hz, 1H) 7,21–7,15 (dd, J = 9,23; 3,01 Hz, 1H) 6,93 (s, 1H) 4,02 (s, 3H) 3,51–3,42 (q, J = 7,03 Hz, 4H) 1,24–1,15 (t, J = 7,06 Hz, 6H)

### Methyl ester kyseliny 6-N,N-(2-hydroxyethyl)(ethyl)amino kynurenové (obr. 54)



(obr. 54)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(4-N,N-(2-hydroxyethyl)(ethyl)fenyl)amino]but-2-endiové

Bylo naváženo 1,54 g síranu příslušného anilínu. Následně uvolněno (50 ml 10 % NaOH) a extrahováno (50 EtOAc). Po odpaření EtOAc bylo kanilínu přidáno 0,94 g dimethyl acetylen diakrboxylátu. Reakční směs se silně zahřála. Zkouška TLC

TLC (Hex:EtOAc 4:1): 2 skvrny:  $R_{F1} = 0,2$ ;  $R_{F2} = 0,9$  (produkt)

Směs rozpuštěna v 10 ml Hex:EtOAc 9:1. Chromatografie 200 g silikagelu, 1000 ml Hex:EtOAc 9:1.

Výtěžek 1,5 g (97,4 %)

LC/MS: nalezeno 322+1 (RČ: 1,18/10 min) 322+1 (RČ: 1,62/10 min)

### Methyl ester kyseliny 6-N,N-(2-hydroxyethyl)(ethyl)amino kynurenové

1,5 g kondenzátu bylo rozpuštěno v 7 ml Eatonova roztoku. Následně byla směs míchána po dobu 2 h při teplotě 70 °C. Po ukončení reakce byla směs nalita do 100 ml 5 % roztoku  $\text{Et}_3\text{N}$  ve vodě. Poté neutralizace  $\text{Et}_3\text{N}$  do neutrální reakce. Vysrážel se produkt.

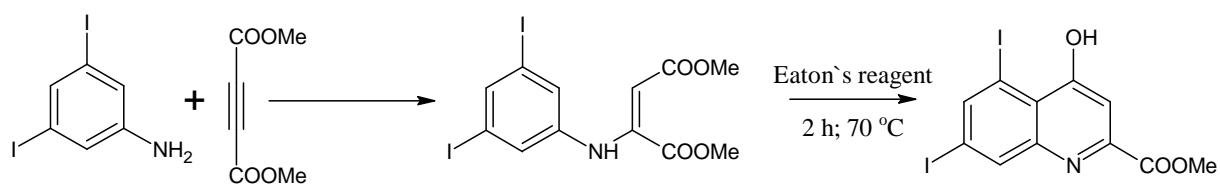
LC/MS: nalezeno 290+1 (RČ: 2,66/10 min) – nečisté

Chromatografie: 150 g silikagelu;  $\text{CDCl}_3$ :MeOH 7:1, 1000 ml

Výtěžek 1,08 g (80,2 %)

$^1\text{H}$ NMR (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,44–7,34 (d,  $J = 2,83$  Hz, 1H) 7,44–7,34 (d,  $J = 9,04$  Hz, 1H) 7,19–7,13 (dd,  $J = 9,23$ ; 3,01 Hz, 1H) 6,91 (s, 1H) 4,0 (s, 3H) 3,51–3,42 (q,  $J = 7,03$  Hz, 2H) 3,42–3,33 (t,  $J = 7,03$  Hz, 2H) 3,12–3,03 (t,  $J = 7,03$  Hz, 2H) 1,24–1,15 (t,  $J = 7,06$  Hz, 3H)

### Methyl ester kyseliny 5,7-dijodo kynurenové (obr. 55)



(obr. 55)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(3,5-dijodofenyl)amino]but-2-endiové

1 g (2,889 mmol) připraveného 3,5-dijodoanilínu byl smíchán s 0,494 g (0,427 ml) dimethyl acetylen dikarboxylátu. Došlo k prudkému zahřátí reakční směsi.

TLC (Hex:EtOAc 4:1) 5 skvrn: R<sub>F1</sub> = 0,1; R<sub>F2</sub> = 0,3; R<sub>F3</sub> = 0,35; R<sub>F4</sub> = 0,5; R<sub>F5</sub> = 0,7 (produkt)

Chromatografie; 150 g flaschového silikagelu; Hex:EtOAc 9:1 (1000 ml) – 8:1 (500 ml) – 4:1 (500 ml):  
23 frakcí, odebrány 3-15, odpařeny

Výtěžek 1,1 g (78 %)

LC/MS: 487+1 (RČ: 4,58/10 min) 487+1 (RČ: 5,49/10 min)

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 9,54 (br.s, 1H) 7,74 (s, 1H) 7,18 (s, 2H) 5,54 (s, 1H) 3,78 (s, 3H) 3,76 (s, 3H)

### Methyl ester kyseliny 5,7-dijodo kynurenové

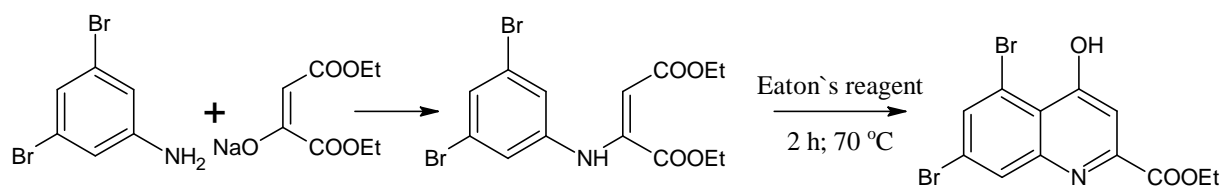
1 g kondenzátu byl rozpuštěn v 10 ml Eatonova roztoku. Při 70 °C mícháno po dobu 2 h. Poté neutralizace Et<sub>3</sub>N v H<sub>2</sub>O. Odsáta pevná látka.

Výtěžek 0,79 g (84,6 %)

LC/MS: 455+1

<sup>1</sup>HNMR (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>): δ 7,74 (s, 1H) 7,18 (s, 1H) 6,62 (s, 1H) 3,73 (s, 3H)

### Methyl ester kyseliny 5,7-dibromo kynurenové (obr. 56)



(obr. 56)

### Dimethyl ester kyseliny 2-[(3,5-dibromofenyl)amino]but-2-endiové

V prvním kroku byl uvolněn samotný diethyl oxalacetát již podle zmiňovaného postupu (bylo použito 14,8 g oxalacetátu Na soli – 70 mmol) Naváženo 11,71 g vytvořeného anilínu (46,66 mmol). Přidáno 100 ml roztoku oxalacetátu v benzenu. Opatřeno míchadlem, refluxováno po dobu 3 h. Poté TLC

TLC (Hex:EtOAc 3:1) 2 skvrny:  $R_{F1} = 0,1-0,7$ ;  $R_{F2} = 0,9$  (produkt)

Chromatografie: 300 g silikagelu; Hex:EtOAc 9:1; 2000 ml; 28 frakcí, 7-15 odpařeny

Výtěžek: 4,58 g (23,2 %)

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,62 (s, 1H) 7,39-7,34 (t,  $J = 1,51$  Hz, 1H) 7,00-6,96 (d,  $J = 1,13$  Hz, 2H) 5,56 (s, 1H) 4,31-4,18 (dq,  $J = 13,09$ ; 7,06 Hz, 4H) 1,35-1,19 (t,  $J = 7,16$  Hz, 3H) 1,35-1,19 (t,  $J = 7,16$  Hz, 3H)

LC/MS: 421+1

### Methyl ester kyseliny 5,7-dibromo kynurenové

2 g kondenzátu byly rozpuštěny v 10 ml Eatonova roztoku. Mícháno 2 h při teplotě 70 °C. Po ukončení reakce, nalito do 200 ml 5% roztoku  $\text{Et}_3\text{N}$  ve vodě. Poté neutralizace  $\text{Et}_3\text{N}$  do neutrální reakce. Vysrážel se produkt, odsáto, promyto hexanem, sušeno.

Výtěžek 1,54 g (86,5 %)

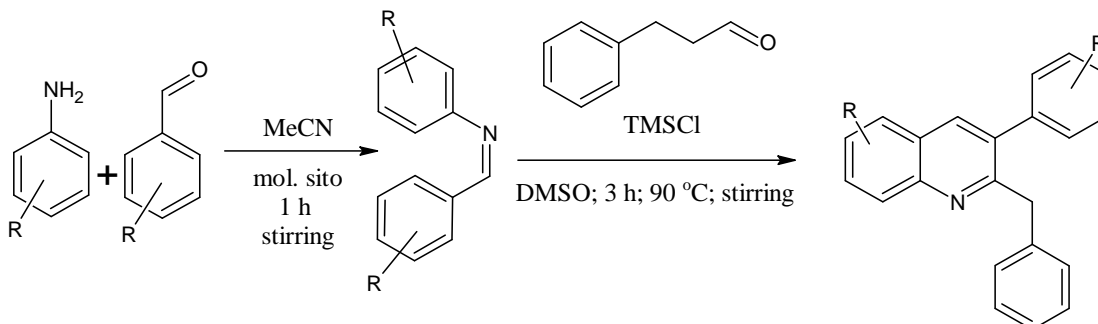
$^1\text{H NMR}$  (300 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7,8 (s, 1H) 7,22 (s, 1H) 6,66 (s, 1H) 4,72-4,59 (q,  $J = 7,06$ ; 2,83 Hz, 2H) 1,71-1,62 (t,  $J = 7,16$  Hz, 3H)

LC/MS: 375+1



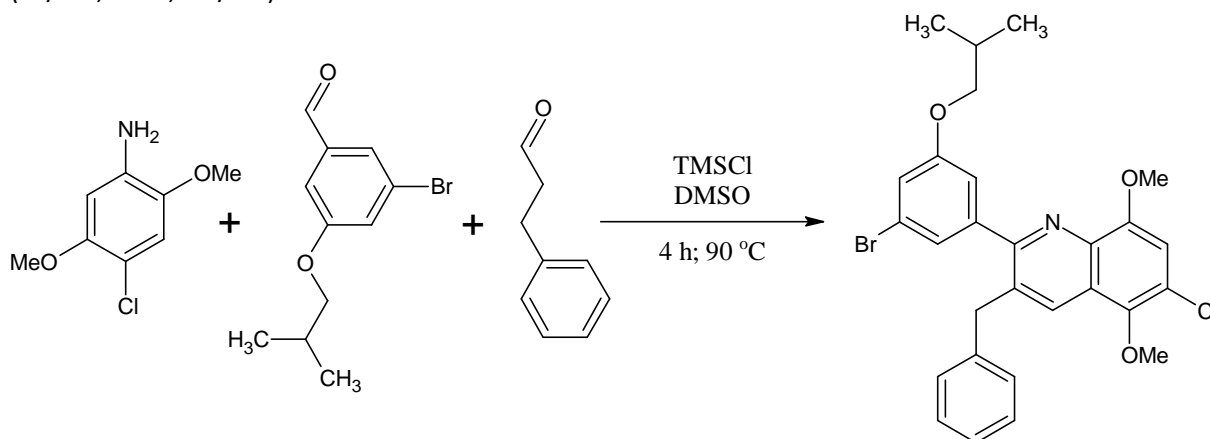
### 3.7. Kombinatoriální syntéza derivátů 2-aryl-3-benzyl chinolinu

Reakce probíhala dle schématu (obr. 57).



(obr. 57)

Reakce byla ozkoušena na modelovém příkladě (obr. 58). Průběh byl monitorován pomocí HPLC (LC/MS, ELSD, UV/VIS).



(obr. 58)

**Postup:** V 1 ml DMSO bylo rozpuštěno 18,8 mg (0,1 mmol) 2,5-dimethoxy-4-chloroanilínu a 25,7 mg (0,1 mmol) 3-bromo-5-isobutoxybenzaldehydu. Poté bylo přidáno 18,8 mg 3-fenylpropanalu (0,083 mmol). Jako katalyzátor bylo použito 0,632  $\mu$ l TMSCl. Vialka byla opatřena magnetickým míchadlem a v olejové lázni byla směs míchána při teplotě 90 °C po dobu 4 h. Průběh byl monitorován pomocí HPLC (LC/MS, ELSD, UV/VIS).

#### 1. Analýza – 2 h/ 4 h

HPLC: 4 píky (ELSD): RČ1 = 0,92/10 min; 658+1, 14 %; RČ2 = 6,28/10 min; 441+1, 13 %; RČ3 = 7,29/10 min; 413+1, 52 %; RČ4 = 8,77/10 min; 541+1, 21 % (produkt)

UV/VIS: Produkt (541), minimum 245 Nm, maximum 213,7; 257,7 Nm

#### 2. Analýza – 3 h/ 4 h

HPLC: 4 píky (ELSD): RČ1 = 0,94/10 min; 658+1, 8 %; RČ2 = 6,36/10 min; 441+1, 10 %; RČ3 = 7,22/10 min; 413+1, 55 %; RČ4 = 8,78/10 min; 541+1, 27 % (produkt)

UV/VIS: Produkt (541), minimum 245 Nm, maximum 213,7; 257,7 Nm

### 3. Analýza – 4 h/ 4 h

HPLC: 4 píky (ELSD): RČ1 = 0,92/10 min; 658+1, 8 %; RČ2 = 6,34/10 min; 441+1, 12 %; RČ3 = 7,27/10 min; 413+1, 56 %; RČ4 = 8,77/10 min; 541+1, 24 % (produkt)

UV/VIS: Produkt (541), minimum 245 Nm, maximum 213,7; 257,7 Nm

Po 3 h nejvyšší výtěžek dle ELS detektoru. Reakční podmínky změněny do následujícího stavu:

1. krok – Příprava Schiffovy báze v acetonitrilu, za přítomnosti molekulových sít pro odstranění reakční vody. Následné odpaření acetonitrilu.
2. krok – Rozpuštění Schiffovy báze v DMSO, přidán TMSCl a 3-fenylpropanal. Mícháno při 90 °C po tři hodiny.
3. Analýza

#### Obecný postup použitý u kombinatoriální syntézy:

V 1 ml acetonitrilu bylo rozpuštěno 0,1 mmol výchozího anilínu a 0,1 mmol výchozího aldehydu. Do roztoku byly přidány 3 kuličky molekulových sít a vialka byla opatřena magnetickým míchadlem. Při teplotě 50 °C byla směs míchána po dobu 1 h. Poté byla teplota zvýšena na 80 °C a odpařování acetonitrilu bylo podpořeno navíc i horkovzdušnou pistolí. Po odpaření rozpouštědla byla Schiffova báze rozpuštěna v 1 ml DMSO a do směsi bylo přidáno 11,2 mg 3-fenylpropanalu (0,833 mmol) a 0,632 µl TMSCl. Poté byla směs míchána při teplotě 90 °C po dobu 3 h. Poté analýza HPLC (LC/MS, ELSD, UV/VIS).

Bylo provedeno 24 paralelních reakcí, kde výchozích anilínů bylo 6 a výchozích aldehydů byly 4 druhy. Kombinatoriální syntéza byla provedena ve vyfrézovaném hliníkovém bloku s místem pro 24 vzorků a otvorem pro vložení digitálního teploměru.

### **3.7.1. Aldehydy:**

#### 3-bromo-5-isobutoxybenzaldehyd

M = 257,12 g.mol<sup>-1</sup>; m = 25,7 mg; n = 0,1 mmol

#### 4-(dimethylamino)benzaldehyd

M = 149,19 g.mol<sup>-1</sup>; m = 14,9 mg; n = 0,1 mmol

#### Isonikotinaldehyd

M = 107,11 g.mol<sup>-1</sup>; m = 10,7 mg; n = 0,1 mmol

#### 4-methylimidazole-5-karbaldehyd

M = 110,11 g.mol<sup>-1</sup>; m = 11,01 mg; n = 0,1 mmol

### **3.7.2. Anilíny:**

#### 4-chloro-2,5-dimethoxyanilín

M = 187,62 g.mol<sup>-1</sup>; m = 18,8 mg; n = 0,1 mmol

#### 5-chloro-2-methoxyaniline

M = 157,6 g.mol<sup>-1</sup>; m = 15,8 mg; n = 0,1 mmol

#### N-(4-aminophenyl)acetamide

M = 150,18 g.mol<sup>-1</sup>; m = 15,02 mg; n = 0,1 mmol

#### 5-fluoro-2-methoxyaniline

M = 141,14 g.mol<sup>-1</sup>; m = 14,1 mg; n = 0,1 mmol

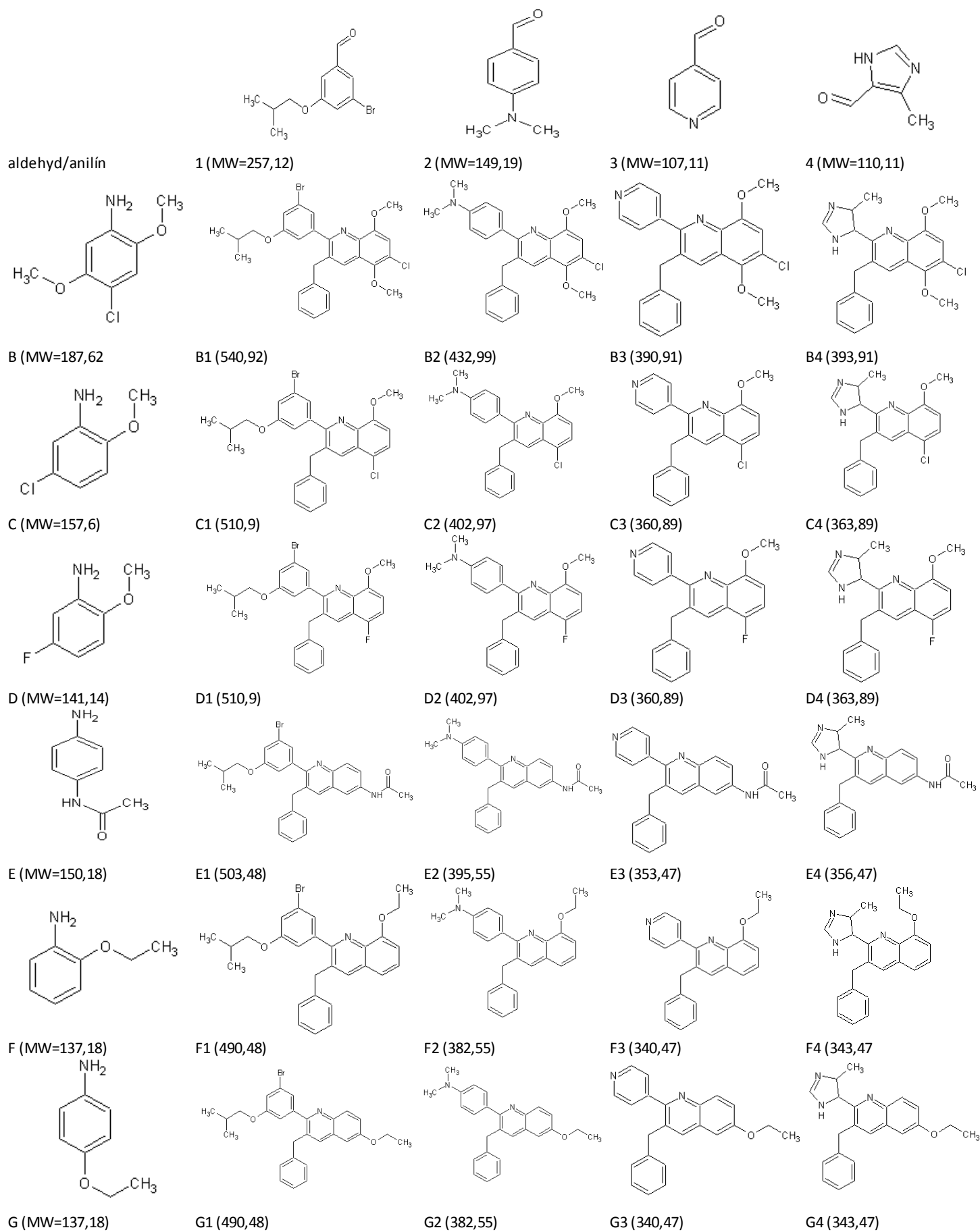
#### 2-ethoxyaniline

M = 137,18 g.mol<sup>-1</sup>; m = 13,7 mg; n = 0,1 mmol

#### 4-ethoxyaniline

M = 137,18 g.mol<sup>-1</sup>; m = 13,7 mg; n = 0,1 mmol

### 3.7.3. Tabulka produktů kombinatoriální syntézy



### **3.7.4. Analýzy produktů kombinatoriální syntézy**

Každý z produktů má pro srozumitelnost a přehlednost kód vyplývající z kódů výchozích látek.

#### **1B** m/z = 542 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (ELSD): t<sub>r1</sub> = 0,93/10 min; 659 (M<sup>+</sup>), 4 %; t<sub>r2</sub> = 6,32/10 min; 442 (M<sup>+</sup>), 8 %; t<sub>r3</sub> = 7,22/10 min; 414 (M<sup>+</sup>), 60 %; t<sub>r4</sub> = 8,71/10 min; 542 (M<sup>+</sup>), 28 % (produkt); UV/VIS: Produkt (8,71/10 min), maximum 257,7 nm

#### **1C** m/z = 511 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,94/10 min; 213 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 7,05/10 min; 160 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 8,63/10 min; 302 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 9,83/10 min; 456 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (9,83/10 min), maximum 216,7 nm

#### **1D** m/z = 495 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 0,69/10 min; 495 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r2</sub> = 0,76/10 min; 153 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 9,83/10 min; 496 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (0,69/10 min), maximum 212,7 nm

#### **1E** m/z = 504 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 3 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 1,07/10 min; 152 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,42/10 min; 383 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 9,84/10 min; 504 (M<sup>+</sup>) (produkt); UV/VIS: Produkt (9,84/10 min), maximum 258,7 nm

#### **1F** m/z = 491 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 5 píků (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 3,02/10 min; 139 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,71/10 min; 610 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 7,50/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 8,14/10 min; 491 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r5</sub> = 9,82/10 min; 426 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (8,14/10 min), neměřeno

#### **1G** m/z = 491 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 3 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,30/10 min; 491 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r2</sub> = 7,49/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 9,83/10 min; 579 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (6,30/10 min), neměřeno

#### **2B** m/z = 434 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 3 píky (ELSD): t<sub>r1</sub> = 0,94/10 min; 537 (M<sup>+</sup>), 7 %; t<sub>r2</sub> = 5,81/10 min; 468 (M<sup>+</sup>), 4 %; t<sub>r3</sub> = 7,29/10 min; 442 (M<sup>+</sup>), 87 %; UV/VIS: (441+1), maximum 252,7 nm

#### **2C** m/z = 404 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,26/10 min; 521 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,88/10 min; 151 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 7,04/10 min; 160 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 8,62/10 min; 300 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: (150+1), maximum 336,7 nm

**2D** m/z = 387 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 5 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,23/10 min; 505 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,89/10 min; 151 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 8,05/10 min; 298 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 9,31/10 min; 387 (M<sup>+</sup>) (produkt) t<sub>r5</sub> = 9,86/10 min; 498 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (386+1), maximum 337,7 nm

**2E** m/z = 397 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 4,96/10 min; 201 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,46/10 min; 383 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 6,70/10 min; 409 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 6,89/10 min; 151 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: (150+1), maximum 329,7 nm

**2F** m/z = 384 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 3 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,20/10 min; 265 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,89/10 min; 384 (M<sup>+</sup>), 13 %; t<sub>r3</sub> = 7,51/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: (383+1), maximum 333,7 nm

**2G** m/z = 384 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 3 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,28/10 min; 250 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,88/10 min; 151 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 7,48/10 min; 370 (M<sup>+</sup>)  
UV/VIS: (150+1), maximum 340,7 nm

**3B** m/z = 392 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 5,97/10 min; 659 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,62/10 min; 442 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 6,84/10 min; 414 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 7,22/10 min; 392 (M<sup>+</sup>) (produkt); UV/VIS: Produkt (391+1) maximum 209,7; 255,7 nm

**3C** m/z = 362 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 5,94/10 min; 225 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 7,05/10 min; 523 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 7,30/10 min; 362 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r4</sub> = 8,63/10 min; 287 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (361) maximum 216,7; 254,7 nm

**3D** m/z = 345 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 5,94/10 min; 225 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,60/10 min; 489 (M<sup>+</sup>), 13 %; t<sub>r3</sub> = 6,80/10 min; 345 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r4</sub> = 8,03/10 min; 321 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (344), maximum 253,7 nm

**3E** m/z = 354 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 3 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 4,96/10 min; 278 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 5,71/10 min; 354 (M<sup>+</sup>) (produkt) ; t<sub>r3</sub> = 5,96/10 min; 497 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (353), maximum 338,7 nm

**3F** m/z = 341 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 3 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 6,01/10 min; 225 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 6,72/10 min; 341 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r3</sub> = 7,57/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (340), maximum 249,7 nm

**3G** m/z = 341 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 2 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 7,30/10 min; 341 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r2</sub> = 7,71/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (340), maximum 337,7 nm

**4B** m/z = 395 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 5 píků (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 1,04/10 min; 112 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 5,55/10 min; 395 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r3</sub> = 5,76/10 min; 420 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 6,61/10 min; 338 (M<sup>+</sup>); t<sub>r5</sub> = 6,84/10 min; 697 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (394), maximum 260,7 nm

**4C** m/z = 365 (M<sup>+</sup>) nenalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 0,69/10 min; 392 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 1,04/10 min; 112 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 7,05/10 min; 160 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 9,44/10 min; 393 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: (111+1), maximum 248,7 nm

**4D** m/z = 348 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 1,07/10 min; 113 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 5,46/10 min; 348 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r3</sub> = 6,52/10 min; 250 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 9,31/10 min; 375 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (347+1), maximum 255,7 nm

**4E** m/z = 357 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 1,03/10 min; 112 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 4,95/10 min; 377 (M<sup>+</sup>); t<sub>r3</sub> = 5,10/10 min; 357 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r4</sub> = 6,44/10 min; 508 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (356), maximum 250,7 nm

**4F** m/z = 344 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 1,02/10 min; 112 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 5,49/10 min; 344 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r3</sub> = 6,71/10 min; 460 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 7,51/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (343+1), maximum 252,7 nm

**4G** m/z = 344 (M<sup>+</sup>) nalezeno

HPLC: 4 píky (LC/MS): t<sub>r1</sub> = 1,06/10 min; 112 (M<sup>+</sup>); t<sub>r2</sub> = 5,50/10 min; 344 (M<sup>+</sup>) (produkt); t<sub>r3</sub> = 6,30/10 min; 485 (M<sup>+</sup>); t<sub>r4</sub> = 7,49/10 min; 370 (M<sup>+</sup>); UV/VIS: Produkt (343), maximum 248,7 nm

## 4. Diskuze

### Diskuze k syntéze komerčně a technicky nedostupných derivátů anilínu

Bylo syntetizováno 5 nedostupných nebo vzácných derivátů anilínu, z čehož jeden nakonec nebyl pro následující reakce použit.

Pro syntézu p-jodoanilínu byla zvolena klasická cesta, poskytující vysoké výtěžky, reakce je prověřená a proběhla bezproblémově.

Při syntéze 3,5-dibrom anilínu byla provedena několikastupňová syntéza. Výsledná směs použitá pro reakci obsahovala vedle použitelného aminoderivátu pravděpodobně i 3,5-dibrom fenol. Uspokojivé vysvětlení nebylo nalezeno, směs byla použita pro další reakce bez přečištění, což si vyžádalo v dalších krocích syntézy chinolinových derivátů chromatografickou operaci.

Syntéza 3,5-dijodoanilínu si vyžádala přípravu jodačního činidla. Složení tohoto reaktantu bylo následující,  $\text{ICl}$ ;  $\text{ICl}_3$ ;  $\text{I}_2$ . Příprava probíhala přímou chlorací pevného jódu. Došlo ke zkapalnění reaktantů. Přítomnost  $\text{ICl}_3$  byla zjištěna vizuálním pozorováním oranžových krystalů v suspenzi. Samotná jodace byla provedena dvakrát, protože v prvním provedení nebyl 4-nitroanilín dojodován úplně. Diazotací a následnou redukcí byla získána směs produktů. 3,5-dijodoanilín byl získán extrakcí a následným chromatografickým oddělením.

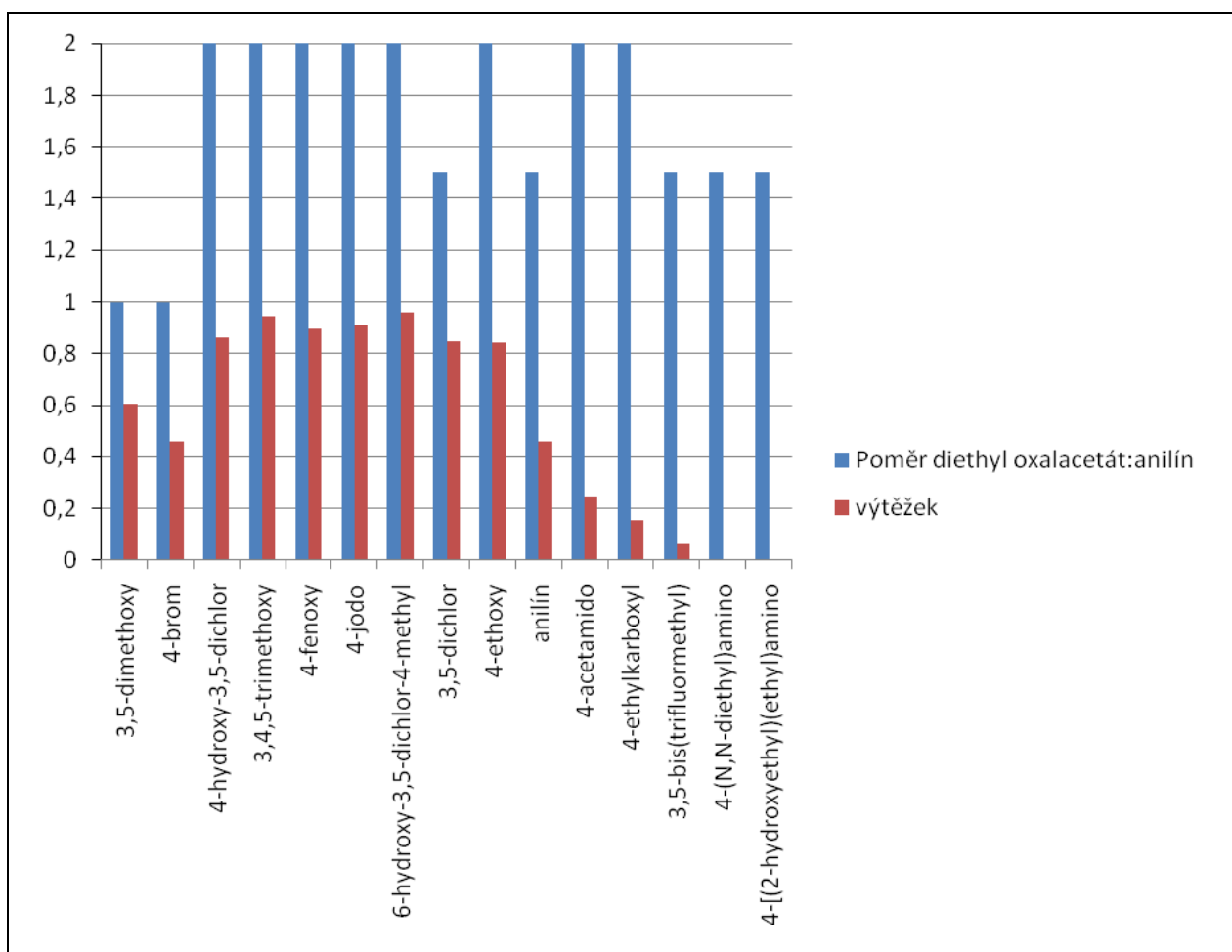
Syntéza 2-chlor-4-fluoranilínu probíhala radikálovým mechanismem za účinku N-chlorsukcinimidu. Produktem reakce byla fialová kapalina o směsné složení. Samotný substituovaný anilín byl získán chromatografickým dělením.

Pro získání N-4-aminofenyl isoindol-1,3-dionu byla zvolena nová, a efektivně vypadající cesta. V mikrovlnném reaktoru mělo dojít ke kýžené reakci, ale i při pečlivém dodržení literárně uvedených reakčních podmínek opakovaně došlo k neúspěchu. Následně byla zvolena klasická cesta, která poskytla produkt ve skoro stoprocentním výtěžku. Krok redukce pravděpodobně poskytl požadovanou sloučeninu, ale provedení analýzy nebylo technicky možné z důvodu nerozpustnosti produktu. Pro další syntézy nebyla látka použita.

### Diskuze k syntéze derivátů kyseliny kynurenové

V první části práce bylo syntetizováno několik substituovaných derivátů kyseliny kynurenové. Hlavním syntetickým přístupem byla reakce derivátu anilínu s uvolněným diethyl oxalacetátem. V prvně provedených syntézách se pracuje s ekvimolárním množstvím výchozích reaktantů. Kvůli malým výtěžkům v prvním kroku reakce, tedy syntézy kondenzátu, byl zvýšen molární poměr z 1:1 na 2:1 (diethyl oxalacetát: anilín). Výtěžky prvních kroků se podstatně zvýšily. V následujících syntézách byl volen molární poměr 2:1, až na zvláštní případy, kdy syntézy byly prováděny ve větších gramážích, kde molární poměr byl ustanoven na 3:2. Především tak bylo učiněno proto, že uvolnění diethyl oxalacetátu pravděpodobně neprobíhalo úplně, navíc výtěžek uvolnění byl snížen i následnou extrakcí do benzenu. Graf výtěžnosti (obr. 59) prvního kroku poukazuje na závislost molárního poměru a výtěžnosti, taktéž lze vyčíst, které deriváty anilínu vykazují v reakci kladný mezomerní efekt. Výjimku tvoří 4-acetamidoanilín a samotný anilín, kde při ukončení reakce nebyla správně zpracována reakční směs, a proto byla zaznamenána malá výtěžnost.



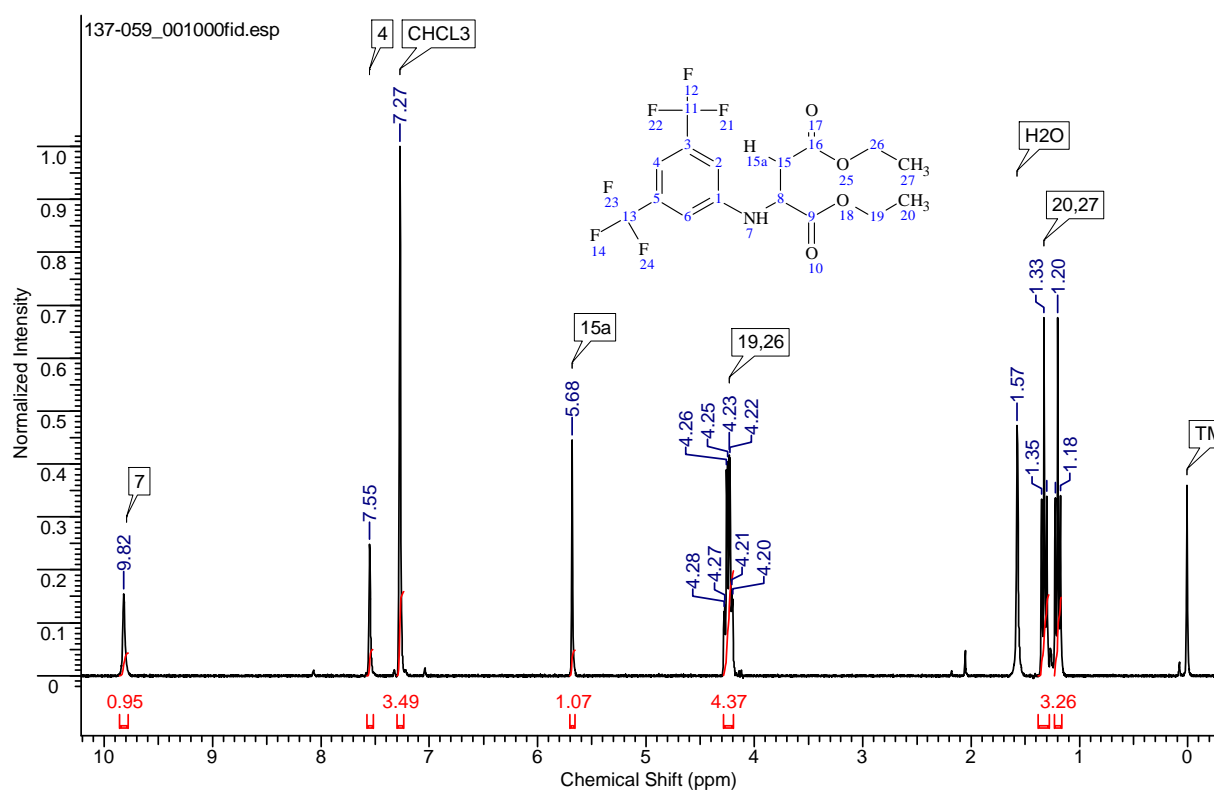


(obr. 59 – graf výtěžnosti vzhledem k ekvivalentu reaktantů; červené sloupce v %; modré v eq)

K reakci nedošlo v případě použití 4-(N,N-diethylamino)anilínu a 4-[(2-hydroxyethyl)(ethyl)]anilínu, které se dodávají v podobě síranu. Prvním vysvětlením neúspěchu bylo špatné uvolnění vázaného anilínu ze síranové podoby. Opakování reakce, kdy byl kladen důraz na uvolnění anilínu, na jeho čistotu a taktéž na čistotu uvolněného diethyloxalacetátu, ale domněnku vyvrátila a reakce neproběhly ani v tomto případě. Pro získání produktu byl zvolen odlišný syntetický přístup.

Byla provedena LC/MS analýza za podpory UV/VIS a ELS detektorů, která sloužila jako kontrolní analýza čistoty a průběhu reakce. Kondenzát se projevuje jako látka v jediné čisté formě, u které nebyla zaznamenána cis-trans izomerie.

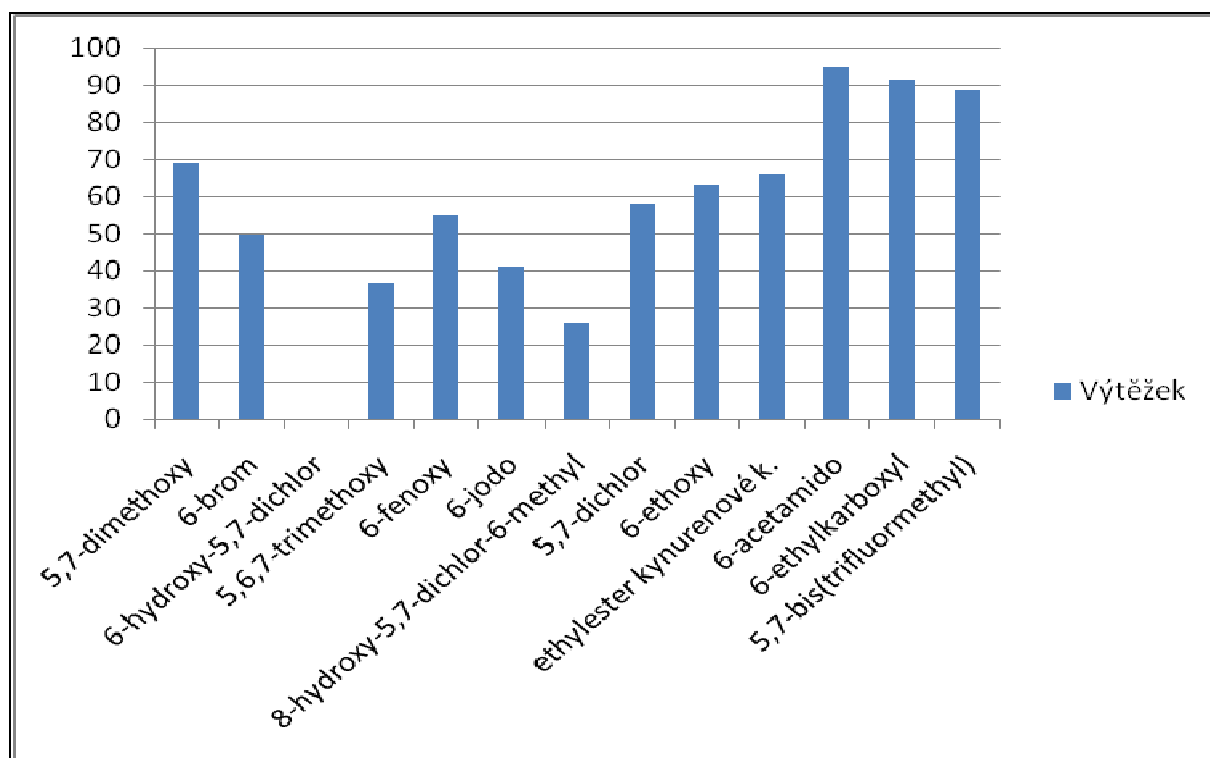
<sup>1</sup>HNMR analýza sloužila pro ověření struktury vzniklé látky. Společným znakem spekter měřených kondenzačních produktů jsou signály značící vodík vázaný na dusíku v oblasti kolem 10-9 ppm, vodík vázaný na nearomatickém uhlíku v oblasti kolem 5 ppm, kvartet, či dublet kvartetu, v oblasti 4,5-4,0 ppm, charakteristický pro -CH<sub>2</sub>- skupiny ve dvou ethylech a dva triplety, či jeden triplet o dvojnásobné intenzitě v oblasti 1,5-1,0 pro -CH<sub>3</sub> skupinu v ethylových zbytcích. Pro ukázkou je ukázáno spektrum kondenzátu vzniklého z 3,5-bis(trifluormethyl) anilínu a diethyl oxalacetátu (obr. 60).



(obr. 60 – ukázka <sup>1</sup>HNMR spektra kondenzátu; osa x chemický posun v ppm)

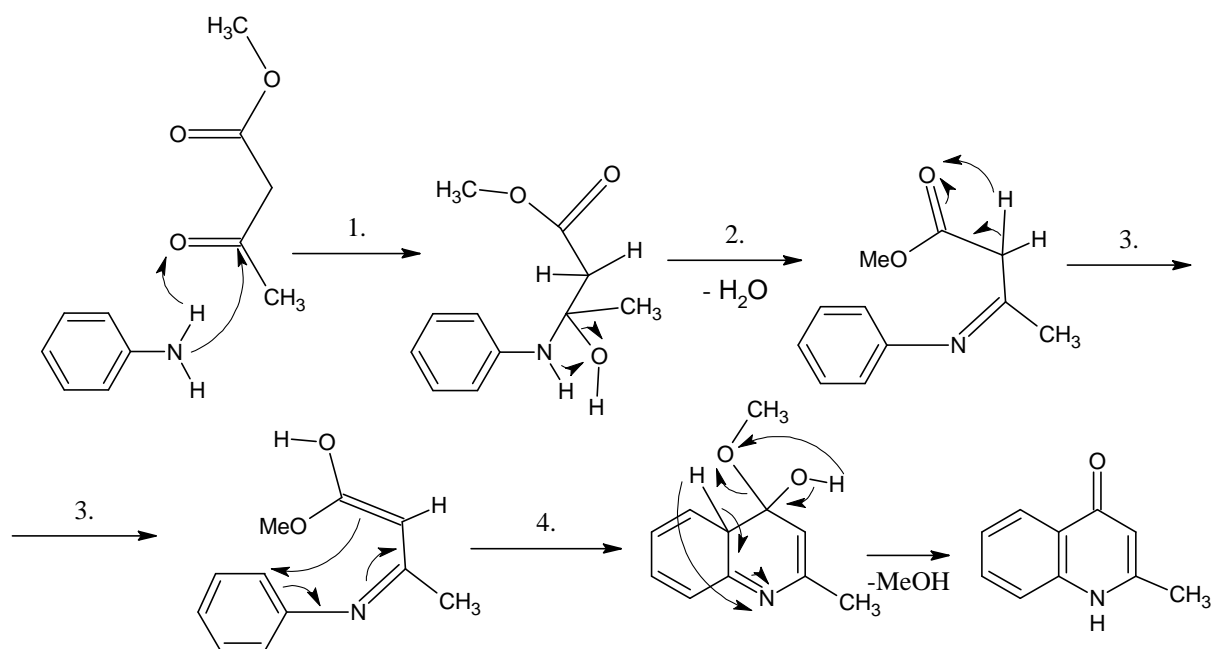
<sup>13</sup>CNMR nebylo pořizováno vzhledem k časové náročnosti analýz a počtu produktů a meziproduktů.

Dalším krokem byla cyklizace kondenzátu. V prvním syntetickém přístupu byla zvolena klasická cesta cyklizace, tedy ve vysokovroucím rozpouštědle difenyletheru. Vysoké teploty bylo dosaženo zahříváním baňky v topném hnízdě. Baňka byla opatřena vzdušným chladičem. Tento druh cyklizace obecně poskytuje nízké výtěžky. Následující graf přibližuje celou situaci (obr. 61).



(obr. 61 – graf výtěžků cyklizační reakce klasickým způsobem; y osa v %)

Proti předpokladu se staví pokusy vycházející z kondenzátů 4-acetamido anilínu, 4-amino ethyl esteru benzoové kyseliny a 3,5-bis(trifluormethyl) anilínu s diethylal acetátem, kde výtěžky cyklizačních reakcí překročily hranici 80 %. Určité vysvětlení by mohla podat povaha substituentů, které vykazují mezomerní záporný efekt, ačkoliv acetamidická skupina vykazuje efekt opačný a výtěžnost cyklizační reakce byla více než uspokojivá. Vysokou výtěžnost u derivátů s aktivními skupinami vykazující záporný mezomerní efekt můžeme vysvětlit na základě mechanismu Conrad-Limpachovy syntézy (obr. 62), která vychází z reakce anilínu s methyl esterem kyseliny 3-oxobutanové. Použitá reakce je analogií Conrad-Limpachovy syntézy [34], kde na 3. uhlíku je navázaná ethylkarboxylová skupina.



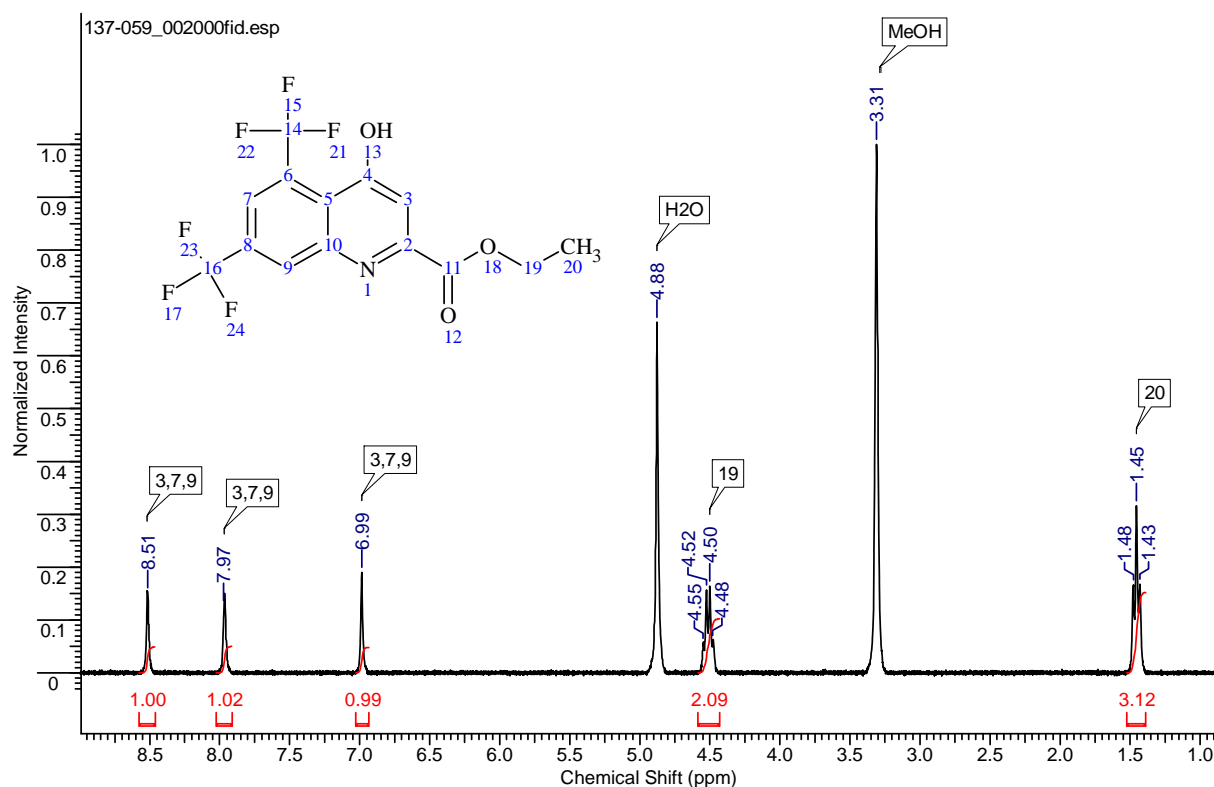
(obr. 62 – mechanismus Conrad-Limpachovy syntézy)

Ve čtvrtém kroku reakčního mechanismu dochází k napojení postranního řetězce na aromatické jádro. Dochází k migraci vazeb, kde na aromatickém jádře vzniká částečně kladný náboj umožňující propojení s vazbou na postranním řetězci. Pokud na aromatickém jádře zvolíme substituenty zvyšující elektronovou hustotu v aromatickém systému (např.  $-OR$ ;  $-X$ ;  $-OH$  apod.) reakční krok bude probíhat obtížněji. Zvolením skupin vykazující záporný mezomerní efekt by tedy mělo dojít ke snadnějšímu zacyklení. Tato hypotéza by vysvětlovala malé výtěžky prvních pokusů i relativně velké výtěžky pokusů pozdějších. Tato domněnka, ale není ještě dostatečně podpořena důkazy. Pro získání těchto důkazů by bylo potřeba vypracovat další experimenty.

K cyklizační reakci nedošlo v případě syntézy ethyl esteru kyseliny 5,7-dichlor-6-hydroxy kynurenové. Reakce, ačkoliv byla dvakrát opakována, neposkytla kýžený produkt. Ve všech případech došlo k zuhelnatění směsi již při teplotě podstatně nižší ( $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) než je teplota reakční ( $225\text{--}255\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Pro získání produktu byl změněn reakční přístup.

LC/MS analýza cyklizačních produktů poskytla jeden signál, tedy poukazuje na výskyt látky pouze v jedné tautomerní formě.

$^1\text{H}$ NMR analýza vykazuje odpovídající počet píků v aromatické sféře ( $9\text{--}6,5\text{ ppm}$ ) a ethylový zbytek esterové skupiny. Jako příklad slouží zacyklený kondenzát z předešlého příkladu, vznikl tedy ethyl ester kyseliny 5,7-bis(trifluormethyl)kynurenové (obr. 63)



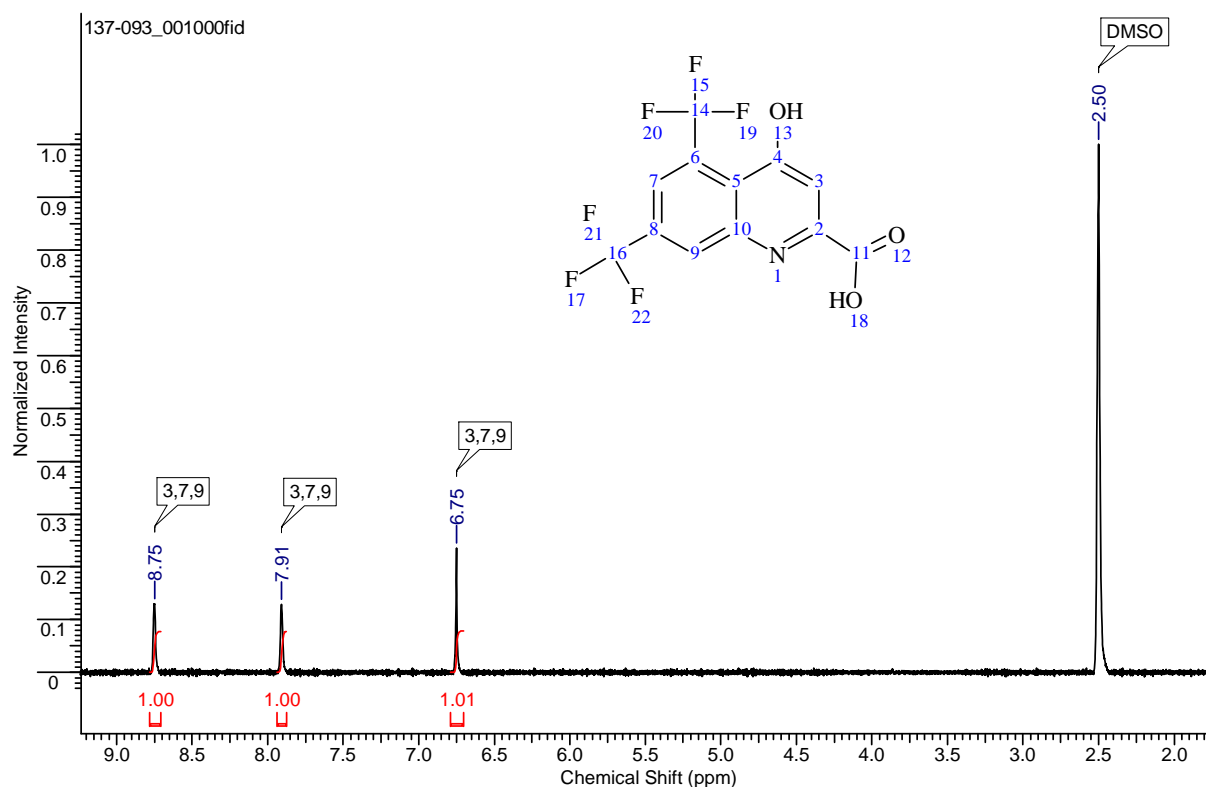
(obr. 63 ukázka  $^1\text{H}$ NMR spektra derivátu esteru kyseliny kynurenové; osa x chemický posun v ppm)

Hydrolýza esteru poskytla volnou kyselinu. Původní předpoklad, že se vysrážejí po okyselení, se v některých případech nepotvrdila (6-aminokynurenová kyselina) a bylo potřeba extrakce a následného odpaření organické vrstvy.

LC/MS analýza poskytla jeden signál.

$^1\text{H}$ NMR analýza podává pouze odpovídající počet signálů v aromatické sféře. Vodík z COOH a OH skupiny se na spektru nezobrazuje. Příkladem spektra je 5,7-bis(trifluormethyl) kynurenová kyselina (obr. 64).

Zajímavým syntetickým problémem je syntéza 6-nitrokynurenové kyseliny, kde není možno přistupovat k syntéze produktu přímo, ale je třeba zvolit boční cestu, tedy nitraci ethyl esteru kynurenové kyseliny. Předpoklad že při nitraci dojde k odštěpení ethyl esteru kyseliny se ukázal jako mylný a pro získání samotné 6-nitrokynurenové kyseliny bylo potřeba ještě hydrolýzy esteru v 10 % NaOH.

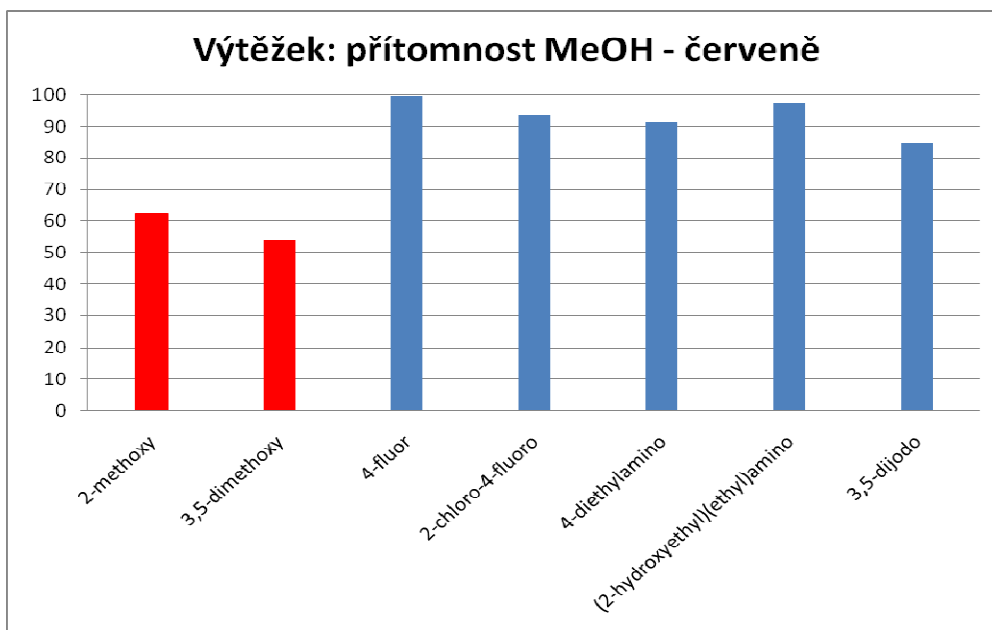


(obr. 64 - ukázka  $^1\text{H}$ NMR spektra derivátu kyseliny kynurenové; osa x chemický posun v ppm)

Pro další experimenty byl zvolen nový nezkoušený postup vycházející z reakce anilínu a DMAD. Pracovalo se v molárním poměru 1,2 DMAD: 1 anilín. První experiment jehož výsledkem měl být kondenzát z 4-hydroxy-3,5-dichlor anilín a DMAD byl uskutečněn pouze v experimentálním měřítku, protože už byl zaznamenán nedostatek výchozího anilínu.

V prvních experimentech se pracuje v methanolu coby rozpouštědla. Posléze bylo rozpouštědlo odebráno což způsobilo navýšení výtěžku. V následujícím grafu je vidět závislost výtěžnosti reakce vzhledem k přítomnosti rozpouštědla (obr. 65).

Reakce bez rozpouštědla se silně samovolně zahřívají a reakce probíhají velmi rychle ve velkých výtěžcích. V případech silně aktivovaných anilínů (diethylamino, (2-hydroxyethyl((ethyl) amino skupinou) bylo dle TLC zkoušky zaznamenáno ukočení reakce už po 5 minutách. U 4-fluor a 2-chlor-4-fluoroanilínů byla situace podobná, ale reakce po pěti minutách neproběhla úplně, proto bylo v zahřívání a míchání pokračováno. U zmiňovaných anilínů bylo výhodou kapalný stav anilínů. U 3,5-dijodo anilínu byl zaznamená nižší výtěžek pravděpodobně proto, že zmiňovaný anilín se za normálních podmínek vyskytuje v pevném skupenství.

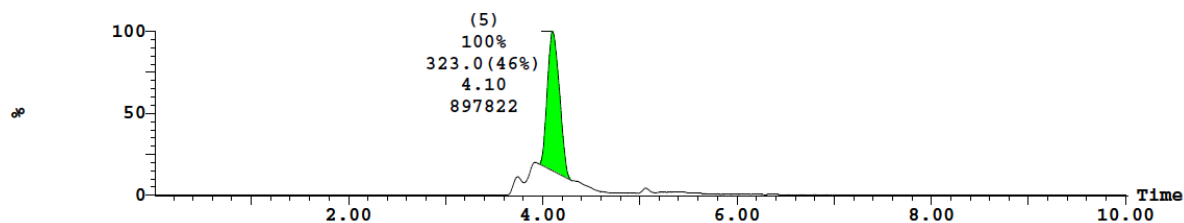


(obr. 65 – graf výtěžnosti kondenzační reakce vzhledem k přítomnosti rozpouštědla; osa y v %)

Pro LC/MS analýzu kondenzačních produktů je charakteristická přítomnost dvou signálů otěže molární hmotnosti. Jako pravděpodobné vysvětlení je přítomnost dvou izomerních forem cis a trans. Porovnáním s kondenzačním produktem z předchozího reakčního přístupu zjistíme, že u kondenzátů vzniklých z diethyl oxalacetátu tento stav není přítomen. Vysvětlením je rozdílná velikost ethylového a methylového zbytku. Pro porovnání je vložena ukázka LC/MS spekter kondenzátů z 3,5-dimethoxy anilínu, první (obr. 66) se týká způsobu z diethyl oxalacetátu a druhý (obr. 67) je kondenzát vytvořený z DMAD.

1: MS ES+ :324+346 Smooth (Mn, 2x2)

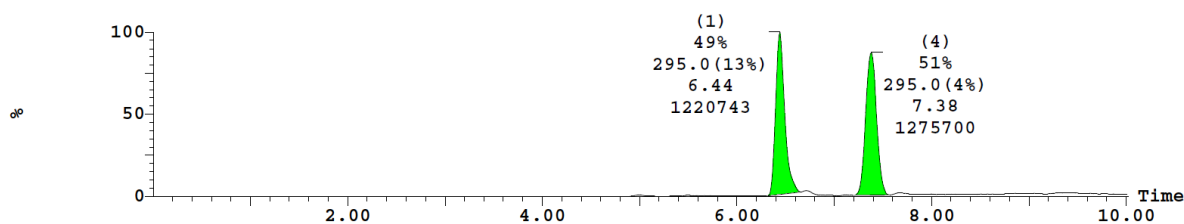
7.3e+006



(obr. 66 – ukázka LC/MS analýzy kondenzačního produktu z anilínu a diethyl oxal-acetátu; osa x v minutách; osa y v %)

1: MS ES+ :296+318 Smooth (Mn, 2x2)

1.1e+007



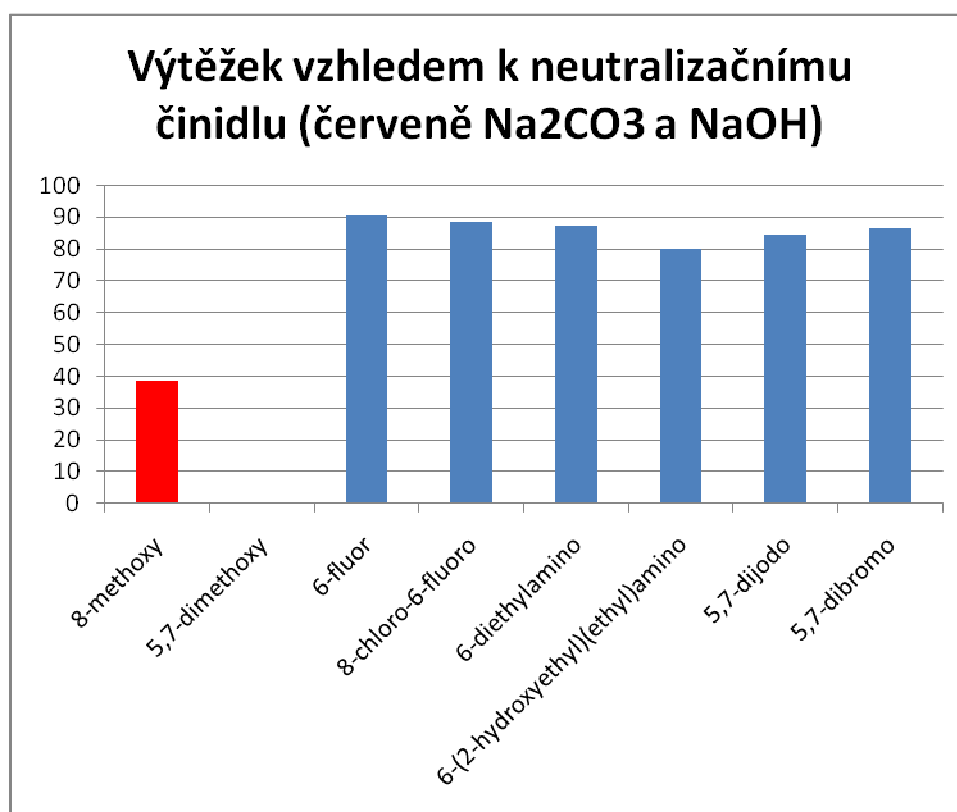
(obr. 67 ukázka LC/MS analýzy kondenzačního produktu z anilínu a DMAD; osa x v minutách; osa y v %)

V druhém případě nebyly izomery od sebe oddělovány a pro následující reakci byly použity ve směsné podobě.

Cyklizace ve vysokovroucím rozpouštědle je osvědčeným postupem, avšak pro určité kondenzáty postupem nevhodným (kondenzát z 3,5-dichlor-4-hydroxy anilínu). Byl vyzkoušen nový postup cyklizace v tzv. Eatonově činidle, což je 7,6% roztok oxidu fosforečného v methasulfonové kyselině. Samotná cyklizace v Eatonově roztoku se zdá být vysoce výtěžná, ale zpracování směsi neutralizací koncentrovaným roztokem  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  se ukázalo být nevhodné vzhledem k vytvoření velkého objemu pěny a následné špatné manipulaci.

Bylo změněno neutralizační činidlo na roztok NaOH o koncentraci  $1 \text{ mol.l}^{-1}$ . Při použití NaOH se ovšem nevysrážel ester, a ani po okyselení se nevysrážela volná kyselina. Extrakce EtOAc nebyla úspěšná.

Jako nejvhodnějším neutralizačním činidlem se ukázal triethylamin, který nevytváří obtížně rozpustné anorganické soli. Následující graf ukazuje výtěžnost cyklizační reakce vzhledem k použitému neutralizačnímu činidlu (obr. 68)



(obr. 68 – graf výtěžnosti cyklizační reakce v Eatonově činidle vzhledem k typu neutralizačního činidla; osa y v %)

Eatonův roztok se při správné volbě neutralizačního činidla ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) ukazuje jako lepší volba oproti vysokovroucím rozpouštědlům.



## Diskuze k syntéze malé kombinatoriální knihovny o strukturním základu 2-aryl-3-benzylchinolinu

V kombinatoriální části práce byla syntetizována řada látek s zajímavě větvenými strukturami. Nejdříve byl vyzkoušen pokus za jakých podmínek reakce probíhá v nejlepším výtěžku. Výtěžnost byla monitorována za pomoci ELS detektoru. Poté byla reakce nasazena kombinatoriálně.

Reakční přístup byl vypracován kombinací dvou rozdílných informačních pramenů [22,23]. Konkrétní změny a inovace jsou uvedeny v metodické části.

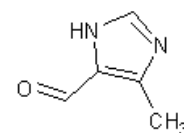
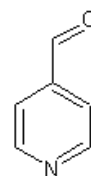
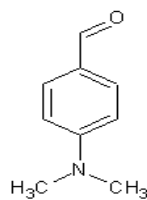
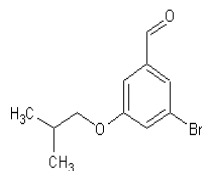
Výběr vhodných anilínů byl směřován k co největší aktivitě ze strany mezomerního kladného efektu. Aldehydy použité v reakci byly až na 4-(N,N-dimethylamino) benzaldehyd voleny podle nízké elektronové hustoty na aldehydové skupině. 4-(N,N-dimethylamino) benzaldehyd byl zvolen z důvodu ověření předloženého reakčního mechanismu.

V následující tabulce (obr. 69) jsou barevně znázorněny produkty, které byly nalezeny podle HPLC analýzy. Zelená barva značí pozitivní nález, červená negativní.

Výsledky dokazují, že reakce probíhá uvedeným reakčním mechanismem, protože k syntéze produktů z 4-(N,N-dimethylamino) benzaldehydu a příslušného anilínu došlo pouze v jednom případě, kdy výsledek analýzy D2 není jednoznačný.

V případě použití pyridin-4-karbaldehydu došlo k reakci ve všech případech. Překvapivá je i reaktivita 3-bromo-5-isobutoxy benzaldehydu, kde použitý benzaldehyd není aktivovaný žádoucím způsobem.

Výsledky druhé části poslouží jako vodítko k syntézám o větším objemu a jako návod pro volbu vhodných reaktantů. Následujícím krokem bude chromatografické rozdělení reakčních směsí.



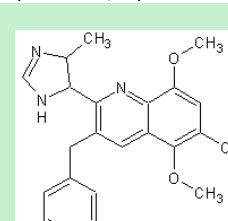
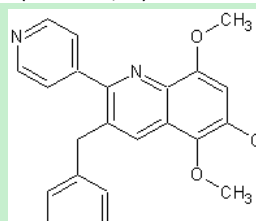
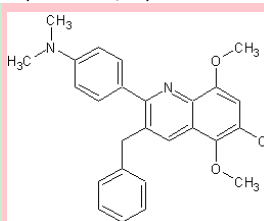
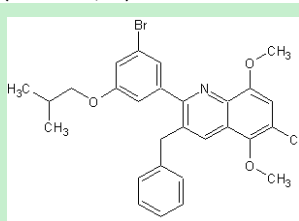
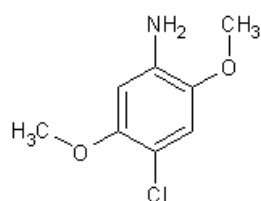
aldehyd/anilín

1 (MW=257,12)

2 (MW=149,19)

3 (MW=107,11)

4 (MW=110,11)



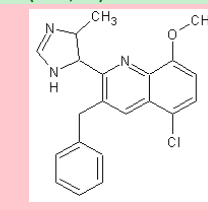
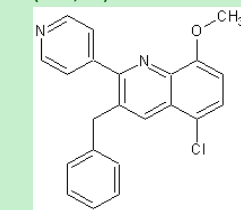
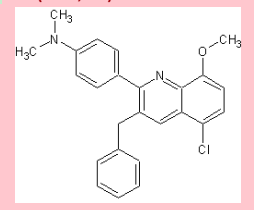
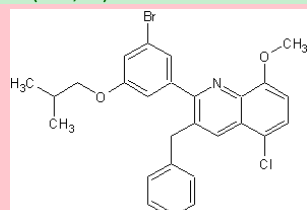
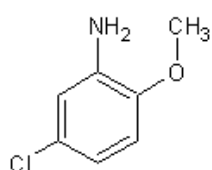
B (MW=187,62)

B1 (540,92)

B2 (432,99)

B3 (390,91)

B4 (393,91)



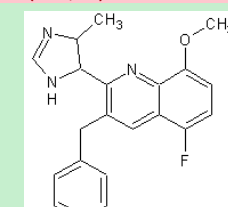
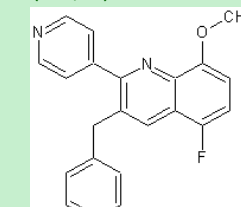
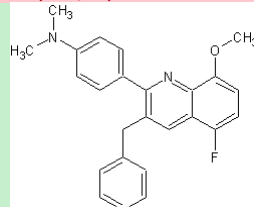
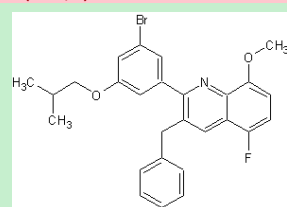
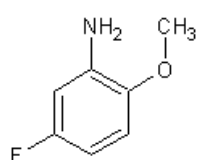
C (MW=157,6)

C1 (510,9)

C2 (402,97)

C3 (360,89)

C4 (363,89)



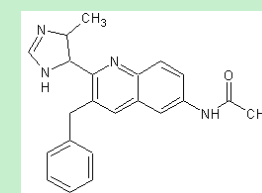
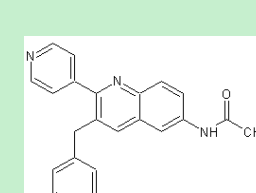
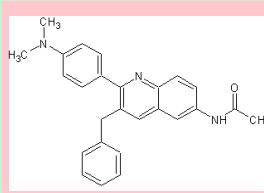
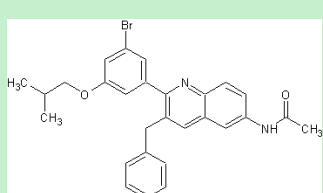
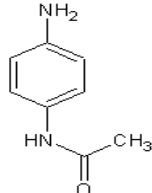
D (MW=141,14)

D1 (510,9)

D2 (402,97)

D3 (360,89)

D4 (363,89)



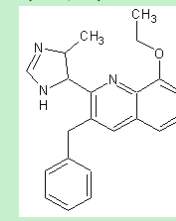
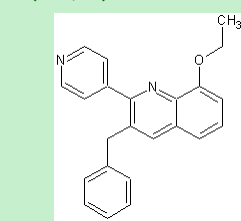
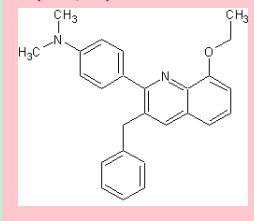
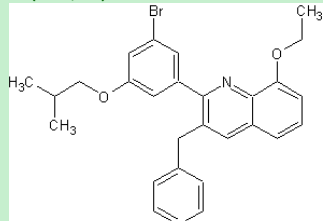
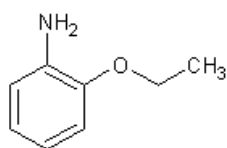
E (MW=150,18)

E1 (503,48)

E2 (395,55)

E3 (353,47)

E4 (356,47)



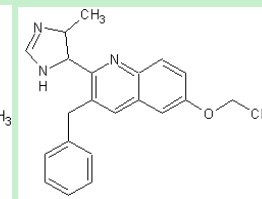
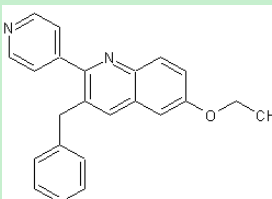
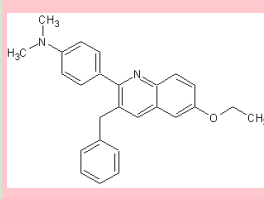
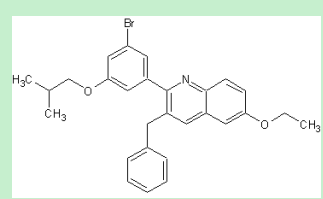
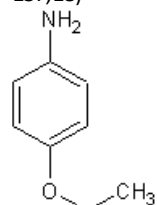
F (MW=137,18)

F1 (490,48)

F2 (382,55)

F3 (340,47)

F4 (343,47)



G (MW=137,18)

G1 (490,48)

G2 (382,55)

G3 (340,47)

G4 (343,47)

## 5. Závěr

V první části práce bylo syntetizováno 54 látek včetně meziproductů. Při testech na protinádorové účinky byla zjištěna významná selektivní aktivita jednoho z produktů. Tyto finální produkty byly poskytnuty jako reaktanty pro následné kombinatoriální syntézy. V následujících syntézách bude zaměřena pozornost na reaktivitu karboxylové a hydroxy skupiny vzhledem k spojovacím reakcím. Byly vhodně upraveny reakční podmínky a poměry tak, aby reakce poskytovaly nejvyšší výtěžek a byla navržena hypotéza vysvětlující na základě reakčního mechanismu a obecně platných poznatků o mezomerním efektu vysokou, či naopak nízkou výtěžnost reakcí.

V druhé části byla navržena a vyzkoušena nová syntéza derivátů o základním chinolinovém skeletu. Kombinací syntetických přístupů byla vypracována nová, efektivní metoda preparace. Následně byla aplikována kombinatoriálně. Paralelní kombinatoriální syntéza zahrnovala 24 unikátních reakcí. Výsledky analýz dokázaly průběh reakce literárně předkládaným způsobem. K pozitivním nálezům došlo v 17 případech z celkového množství 24 syntéz. Proběhlé reakce poslouží jako vodítko při výběru vhodných reaktantů a reakčních podmínek při následujících syntézách ve větším objemu.

## 6. Seznam použité literatury

- [1] – Larsen, R. D., Shinkai, King, A. O.; *Org. Chem.* **1996**, 61, 3398
- [2] – Pazharskii, A. F., Soldatenkov, A. T., Katritzky, A. R., *Heterocycles in Life and Society*; John Wiley: Chichester, **1997**, 147
- [3] – Chen, Z.L. J. , Fang, K.-C., Sheu, J.-Y., Hsu, S.-L., Tzeng, C.-C.; *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2374
- [4] – Roma, G., Braccio, M. D., Grossi, G., Mattioli *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 1021
- [5] – Urbańska, E. M., Luchowski, P., Luchowska, E., Pniewski, J.; *Pharmacol. Rep.* **2006**, 58, 507
- [6] – Xia, Y.; Yang, Z.-Y.; Xia, P.; Bastow, K. F.; Nakanishi, Y.; Nampoothiri, P.; Hamel, E.; Brossi, A.; Lee, K.-H.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, 13, 4396
- [7] – McMurry, J., *Organic chemistry*, 6. Vydání, **2004**, Brook/Cole, kap. 13; kap. 12.1 (Hmotnostní spektrometrie)
- [8] – Douša, Michal, Typy detektorů v HPLC, vystaveno 5. 6. 2008, citováno 22. 3. 2010; dostupné z < <http://hplc.cz/> >
- [9] - Havránek M. ve skriptech *Nové metody a cíle organické syntézy* (Kohout L., Hniličková J., Slavíková B., red.), svazek 28, kap. 13, str. 267. ÚOCHB, Praha **2003**
- [10] – Aldrich – *Handbook of Fine Chem. and Lab. Eqp.*, **2003 – 2004**, ČR
- [11] – Kermack, W. O.; Weatherhead, A. P., *JCS*, **1940**, 218, 1164
- [12] – Glasnov, T. N., Stadlbauer, W., Kappe, C.O., *J. Org. Chem.*, **2005**, 70, 3864
- [13] – Surrey, A. R.; Cutler, R. A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68 (12), 2570
- [14] – Höglund, P. J., *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 6351
- [15] – Ke Ding, *J. Med. Chem.*, **2005**, 48 (9), 3171
- [16] – Musil, J.; Nováková, O., *Biochemie v obrazech a schématech*, 2. Vydání, **1990**, Praha, str. 99
- [17] - Liebig, J., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1853**, 86: 125
- [18] – 2004-2010 Combinatorial Chemistry review, citováno 18. 3. 2010; dostupné z <<http://combichemistry.com/principle.html> >
- [19] - 2004-2010 Combinatorial Chemistry review, citováno 18. 3. 2010; dostupné z <<http://combichemistry.com/drug-discovery.html>>
- [20] – UK Pat 1 334 705. Evans, D. P.; Gilman, D. J.; O'Mant, D. M.; Thomson, D. S. : *Pharmaceutical compositions containing kynurenic acid derivatives*, **19. 6. 1970**

- [21] – Zewge, D., Chen, Ch., *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 4276
- [22] – Tanaka, S.; Yasuda, M.; Baba, A., *J. Org. Chem.*, **2006**, 71, 800
- [23] – Bian, X.; Liu, L.; *J. Chem. Res.*, **2009**, 2, 81
- [24] - Červinka, O. : *Mechanismy organických reakcí*. Praha, SNTL/AIFA **1976**, s. 355
- [25] - Eaton, P. E.; Carlson, G. R.; Lee, J. T.; *J. Org. Chem.*, **1973**, 38, 4071
- [26] – Brewster, R. Q.; *Org. Syn.*, **1943**, 2, 347
- [27] – Chanteau, S. H.; Tour, J. M.; *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 8750
- [28] – Sandin, R. B.; Drake, W. V., Leger F.; *Org. Syn.*, **1943**, 2, 196
- [29] – Höger, S.; Bonrad, K.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 5651–5659 /Supporting Material
- [30] – Davis, M. C.; *Syntetic communications*, **2009**, 39, 1100
- [31] – Li, H-Z.; Zhang; *Syntetic communications*, **2002**, 32, 927
- [32] – Vidal, T.; *Tetrahedron*, **2000**, 56, 5473
- [33] – Perry, Ch. J.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, 512
- [34] – Li, J-J.; *Name Reactions in Heterocyclic Chemistry*, **2005**, John Wiley, 398
- [35] – Stone, T.; Darlington, G., *Pills, Potions and Poisons*, 1. Vydání, **2000**, Ox. U. Press, str. 238
- [36] – Citováno z < <http://cs.wikipedia.org/wiki/Chinin>>

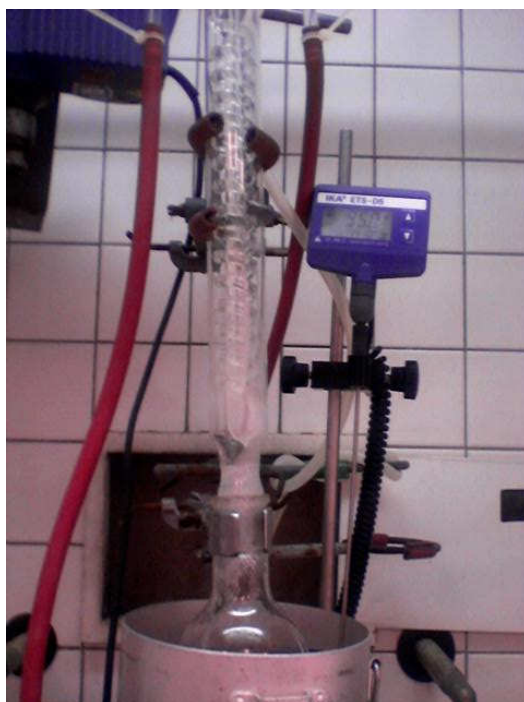
## 7. Fotografická příloha

Následující fotografie jsou pouze informačního charakteru a nevztahují se konkrétně na předešlý psaný text.

Aparatura použitá k syntéze kondenzátu z derivátu anilínu a diethyloxal acetátu.



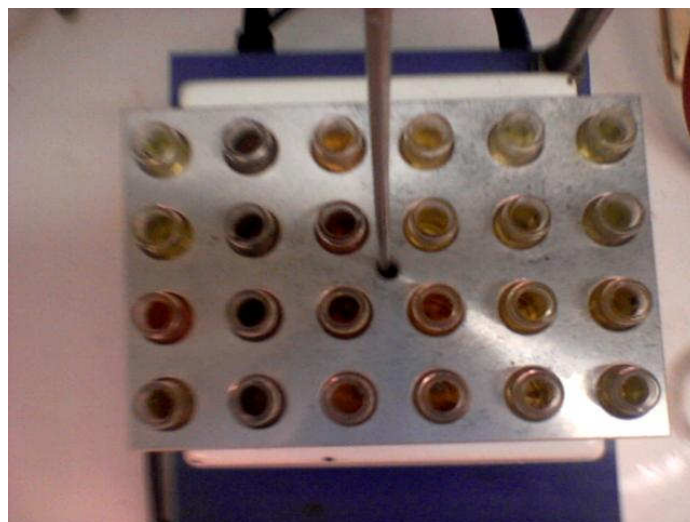
Aparatura použitá v cyklizačním kroku (cyklizace v Ph<sub>2</sub>O)



Kombinatoriální syntéza



Kombinatoriální syntéza podruhé



### Příprava ICl



### Syntéza 3,5-dijodonitrobenzenu





Produkty a meziprodukty



Vzorky jdoucí na testování biologické aktivity

