

Studium kondenzace *N*-substituovaných cyklických iminů s malonáty

Lenka Tatarková

Bakalářská práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lenka Tatarková**
Osobní číslo: **T15597**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Studium kondenzace N-substituovaných cyklických iminů s malonáty**

Zásady pro vypracování:

Teoretická část:

1. Na základě dostupné literatury zpracovat literární rešerši zahrnující syntézu derivátů pyridonu, jejich biologické účinky a výskyt v přírodě.

Praktická část:

1. Pokusit se nalézt vhodnou metodu pro přípravu různých cyklických iminů.
2. Za předpokladu pozitivních výsledků definovaných v prvním bodě, provést několik tepelně indukovaných kondenzací iminů s malonáty.
3. Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
4. Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat bakalářskou práci

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. Dle provedení literární rešerše s využitím databáze Chemical Abstracts.

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

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **18. května 2018**

Ve Zlíně dne 5. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: TATARKOVA LENKA

Obor: TVTKD

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 14.5.2018

Tatarová Lenka

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Předmětem teoretické části v předložené bakalářské práci se staly deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu a 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu, a to jak po stránce biologické aktivity, tak i po stránce jejich možností syntézy. V praktické části jsou rozebírány postupné kroky syntézy, které přes anil jako meziprodukt vedly k vytvoření finálních sloučenin. Méně úspěšnými syntézami anilu se ukázaly reakce vedoucí přes Streckerův meziprodukt. Nejvíce vhodná se ukázala přímá kondenzace ketonů s anilinem za použití molekulového síta. Z řady připravených anilů se podařilo připravit tři cyklické deriváty pyridin-2(1*H*)-onu, z nichž dva byly podrobeny tuberkulostatickým testům.

Klíčová slova: 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-on, 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on, Streckerův meziprodukt, tuberkulostatické účinky, biologická aktivita.

ABSTRACT

Theoretical part of this bachelor thesis deals with the biological activity and possibilities of synthesis of 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-one derivatives and 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-one. Practical part analyses successive steps of synthesis leading to the formation of the final compounds via anil as an intermediate product. Reactions through Strecker intermediate were proved less successful. Direct condensation of ketones with aniline using molecular sieve was the most suitable. Three cyclic derivatives of pyridin-2(1*H*)-one of the anilines series were prepared, two of them were also subjected to tuberculostatic assays.

Keywords: 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-one, 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-one, Strecker's intermediate, tuberculostatic effects, biological activity.

Na tomto místě bych především velmi ráda poděkovala Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D., vedoucímu mé bakalářské práce, za trpělivost, odborné rady a čas věnovaný práci v laboratoři, za pomoc při zpracování i interpretaci výsledků. Nemalý dík taktéž patří prof. Janezi Košmrljovi za změření NMR spekter izolovaných sloučenin a Ing. Lence Trhíkové za provedení množství GC-EI-MS analýz, díky kterým bylo možno sledovat průběh jednotlivých reakcí. Ráda bych zde poděkovala i kolektivu pracovníků Ústavu chemie Fakulty technologické UTB ve Zlíně za ochotu pomoci, poradit a tvorbu příjemného pracovního prostředí. Nemalé díky patří mé rodině a mému příteli za veškerou podporu při studiu a dokončování mé bakalářské práce.

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

OBSAH

1	BIOAKTIVITA A PŘÍRODNÍ ZDROJE.....	10
1.1	ANTIMIKROBIÁLNÍ A ANTIVIROVÉ PŮSOBNÍ VYBRANÝCH DERIVÁTŮ 4-HYDROXYPYRIDIN-2(1 <i>H</i>)-ONU.....	10
1.2	TUBERKULOSTATICKÉ A OSTATNÍ FARMAKOLOGICKÉ VYUŽITÍ VYBRANÝCH DERIVÁTŮ 4-HYDROXYCHINOLIN-2(1 <i>H</i>)-ONU	13
1.3	TUBERKULOSTATICKÉ A DALŠÍ BIOLOGICKÉ ÚČINKY VYBRANÝCH DERIVÁTŮ 4-HYDROXYPYRIDIN-2(1 <i>H</i>)-ONU S PŘIKONDENZOVANÝM NASYCENÝM KRUHEM.....	16
2	SYNTÉZA DERIVÁTŮ PIRIDIN-2-ONOVÉHO KRUHU	18
2.1	PŘÍPRAVA KETIMINŮ RESPEKTIVE TAUTOMERNÍCH ENIMINŮ	18
2.2	KONDENZACE ANILŮ S MALONÁTY	20
3	VÝSLEDKY A DISKUSE.....	24
3.1	SYNETICKÉ PŘÍSTUPY K PŘÍPRAVĚ ANILŮ.....	24
3.2	KONDENZACE ANILŮ S MALONÁTY	31
3.3	VÝSLEDKY TUBERKULOSTATICKÝCH TESTŮ KAFROVÝCH DERIVÁTŮ.....	33
4	DESKRIPCE PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD .	35
5	DETAILNÍ POPIS SYNETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN	36
5.1	PŘÍPRAVA 1-(FENYLAMINO)CYKLOHEXANKARBONITRILU	36
5.2	NEÚSPĚŠNÉ POKUSY O PŘÍPRAVU <i>N</i> -CYKLOHEXYLIDENBENZENAMINU.....	37
5.2.1	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem KOH ve vodném ethanolu	37
5.2.2	Test stability aminonitrilu ve vodném ethanolu.....	37
5.2.3	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem KOH ve vodném ethanolu v přítomnosti Na ₂ SO ₄	37
5.2.4	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem K ₂ CO ₃ v suchém DMF.....	37
5.2.5	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem <i>t</i> -BuO ⁻ K ⁺ v suchém <i>t</i> -BuOH.....	38
5.2.6	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem <i>t</i> -BuO ⁻ K ⁺ v suchém benzenu	38
5.2.7	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem Et ₃ N v suchém benzenu.....	38
5.2.8	Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu indukovaný teplem	38
5.2.9	Přímá kondenzace cyklohexanonu a anilinem s využitím azeotropické destilace.....	39
5.3	PŘÍMÁ KONDENZACE CYKlickÝCH KETONŮ S ANILINEM ZA PŘÍTOMNOSTI MOLEKULOVÉHO SÍTA	39
5.4	KONDENZACE ANILŮ S MALONÁTY	40
5.4.1	Kondenzace kafroanilu s „magic“ malonáty.....	40
5.4.2	Kondenzace nečištěného <i>N</i> -cyklohexylidenbenzenaminu s fenylnalonátem	42

ÚVOD

Prvotní impuls, jež inicioval vznik této bakalářské práce, podali vědečtí pracovníci z Laboratoří Mikrobiologie, Parazitologie a Hygieny na Antverpské univerzitě v Belgii, kteří oslovili Ústav chemie Fakulty technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně a požádali doc. Kafku, zdali by byl ochoten dodat libovolné množství derivátů pro testování tuberkulostatických účinků. V závislosti na tomto požadavku byly poslány veškeré vzorky nacházející se v danou dobu v archivu Ústavu chemie. Jednalo se o sloučeniny rozmanitých struktur. Pro představu to byly například deriváty furochinolindionů, ketoacylanthranilových kyselin, benzoxazinonů, hydrazidů, dioxindiolů, 2-hydroxyindoxylenů, triazolů, adamantylchinolinů, purinů, thiazolochinolindionů, chinolinyldenů, azolů, pyrazolů, 4-glykosilchinolinonů, 4-hydroxychinolinonů, 3-hydroxy-, 3-halogen- a 3-azidochinolindionů. Po základních screeningových testech vyhodnotili, že největší potenciál, v souvislosti s tuberkulostatickými účinky, v sobě skrývají deriváty 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu, proto byly jejich účinky na mikroorganismy způsobující tuberkulózu zkoumány detailněji. Otázka léčby tuberkulózy se stává čím dál tím důležitější. Důvodem je značná adaptabilnost bakterií způsobující tohle onemocnění, což je velmi úzce spjato s hledáním stále nových chemických individuů působících alespoň inhibičně na daný typ mikroorganismů. Jelikož jsme i my chtěli na tomto poli přispět, pokoušeli jsme se o přípravu analogických sloučenin k 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu. Syntetický přístup k těmto analogům je rozebírán v praktické části této práce.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOAKTIVITA A PŘÍRODNÍ ZDROJE

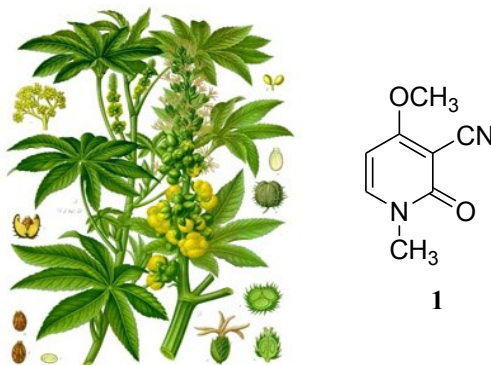
1.1 Antimikrobiální a antivirové působení vybraných derivátů

4-hydroxypyridin-2(1H)-onu

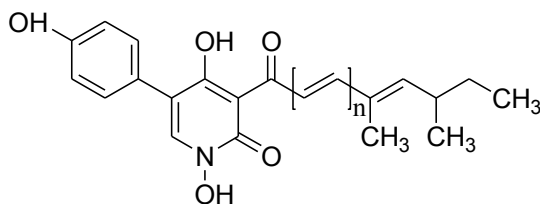
Obecně je možné říci, že pyridinový kruh je často součástí velmi zajímavých sloučenin s rozmanitými účinky na živé organismy. Pyridin je aromatická, heterocyklická sloučenina, díky své struktuře velmi podobná benzenu, která má v šestičlenném kruhu zabudovaný jeden atom dusíku. Ten s jádrem sdílí dva elektrony, jež jsou ve stejné hybridizaci jako atomy uhlíků v aromatickém jádře, a to tedy v sp^2 . Současně volný elektronový pár na atomu dusíku dává pyridinu vlastnosti slabé báze.¹

Zaměříme-li se ovšem na více konkrétní derivát pyridinu, 4-hydroxypyridin-2(1H)-on, dojdeme k poznatku, že je součástí alkaloidů a antibiotik, které, jakožto skupiny přírodních produktů, často bývají sloučeniny s bohatou diverzitou biologických účinků.

Již v 19. století byla z ricínových bobů izolována jedovatá krystalická látka nazvaná ricinin (**1**). Později se ukázalo, že je to významný insekticidní a hepatotoxický alkaloid produkovaný rostlinou *Ricinus communis* a je ve velkých koncentracích nacházen ve všech částech této rostliny.^{2,3}

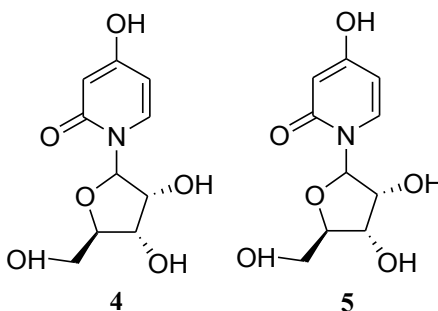


Hlavním přírodním zdrojem velkého množství derivátů pyridin-2(1H)-onu jsou mikroorganismy, nejčastěji houby. Například z parazitické houby *Beauveria tanella* a *Beauveria bassiana* byly izolovány složitější deriváty pyridonu, tanellin (**2**) a bassianin (**3**). V jedné studii prokázali, že jsou pro hmyz patogenními,² čehož je možné využít při přípravě insekticidů.

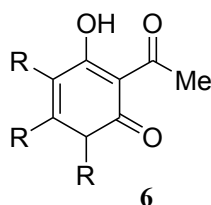


n = 1: tannelin (2); n = 2: bassianin (3)

Sloučeniny 3-deazauridin (4) a 3-dezacytidin (5) jsou další pyridinové analogy v přírodě se vyskytujícími pyrimidinovými nukleosidy, cytidinu a uridinu. Jsou to nejvíce biologicky zajímavé sloučeniny této strukturní modifikace. Oba jsou účinné proti růstu nádorových buněk, jak *in vivo*, tak *in vitro*. Pozitivně účinkují také na kožní léze u pacientů s bazálními karcinomy a také mají široké spektrum účinnosti proti RNA virům.⁴

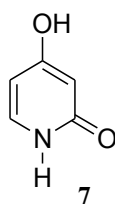


Některé 3-acyl-4-hydroxypyridin-2(1H)-ony 6 patří do skupiny látek, které hrají významnou roli v zemědělské chemii jako součást tzv. agrochemikálií.⁵



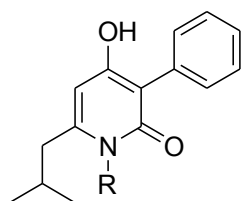
R = H, Acyl, Aryl

Deriváty 4-hydroxypyridin-2(1H)-onu (7) si již dříve, díky svým antimikrobiálním, antivirovým a protirakovinovým vlastnostem získaly pozornost hlavně ve farmaceutickém odvětví.⁶



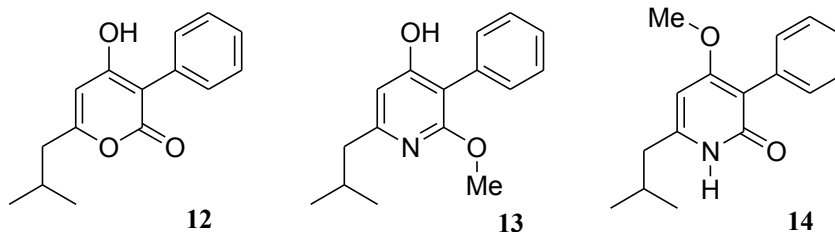
Mnoho derivátů pyridonu zastává významnou pozici v oblasti výzkumu tuberkulostatických preparátů, která vyplynula z jejich jednoduchosti syntézy a z výrazných účinků proti bakteriím rodu *Mycobacterium* způsobujících celosvětově nebezpečné onemocnění, tuberkulózu. Roku 2015 byla tuberkulóza organizací WHO prohlášena za jednu z nejběžnějších příčin smrti způsobenou jediným faktorem, napadením bakterií *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*).^{6,7} Jelikož jsou tyto bakterie značně adaptabilní, s postupem času si vytváří vysokou rezistenci vůči běžně používaným léčivům (isoniazidu, rifampicinu či fluorochinolonovým derivátům) a tak je stále vynakládáno mnoho úsilí pro hledání dalších účinných derivátů.⁸

Například 3-fenyl-4-hydroxy-6-isobutylpyridin-2(1*H*)-on (**8**) vykazuje inhibici růstu patogenních bakterií *Mtb* H37Rv.



R	
8	H
9	Me
10	isopropyl
11	benzyl

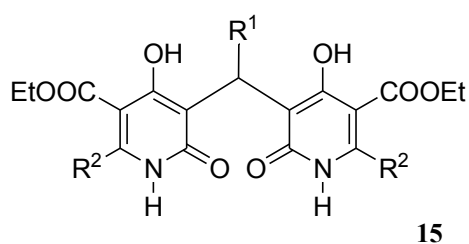
Po přípravě jeho analogů a vystavení stejným testům, bylo zjištěno, že nahrazením NH skupiny v cyklu sloučeniny **8** atomem kyslíku (slouč. **12**) nebo alkylací hydroxylové skupiny (slouč. **14**) dochází k poklesu účinnosti. Podobný výsledek poskytuje taktéž plně aromatická sloučenina **13**.



Z připravené série byla při testování inhibice kmenu *Mtb* H37Rv nejúspěšnější látka **9**, jejíž účinnost sice nebyla tak vysoká, jako u výchozí sloučeniny **8**, ovšem oproti dalším testovaným sloučeninám **12–14** byla vyšší přibližně o deset procent.⁸

Taktéž analogická sloučenina mající pouze přikondenzovaný benzenový kruh, 3-fenyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on (**19**), má účinek na sledovanou bakterii nižší.

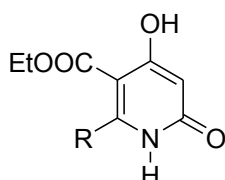
Na patentovaném panelu 60 buněk z NCI (National Cancer Institut) byly testovány protirakovinné účinky sloučenin **15**. Všechny zkoumané sloučeniny vykazovaly jistou aktivitu, která byla značně ovlivňována typem substituce. Nejúčinnější byly deriváty **15**, které nesly na obou heterocyklech morfolinový zbytek. Ten, co měl na alifatickém můstku vázaný 2,6-dichlorfenylový substituent ($R^1 = 2,6\text{-ClPh}$), pozitivně účinkoval na celém vybraném panelu 60 buněk. Záměnou za 4-chlor-3-nitrofenylovou skupinu ($R^1 = 4\text{-Cl-3-NO}_2\text{Ph}$) došlo k omezení účinnosti na 43 rakovinových buněk.



$R^1 = 2,6\text{-ClPh}, 4\text{-Cl-3-NO}_2\text{Ph}, \text{Ph}, 4\text{-MePh}, 4\text{-MeOPh}, \text{furan-2-yl}$

$R^2 = \text{pyrrolidin-2-yl}, \text{morfolin-4-yl}$

Analogické deriváty **15** s pyrrolidinovým zbytkem byly účinné velmi málo a sloučeniny **16** a **17**, jež sloužily jako výchozí materiál v přípravě výše diskutovaných molekul, nevykazovaly aktivitu vůbec žádnou.⁹



R	
16	pyrrolidin-2-yl
17	morfolin-4-yl

1.2 Tuberkulostatické a ostatní farmakologické využití vybraných derivátů 4-hydroxychinolin-2(1H)-onu

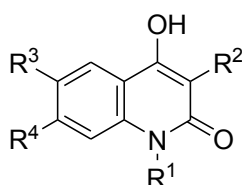
Chinolin tvoří součást struktury chininu, léku proti malárii. Chinolony, které jsou analogické s pyridony, obsahující např. karbonylovou skupinu v poloze 3 bývají považovány za užitečná antibiotika.¹⁰

Chinolony se od objevení svých účinků v šedesátých letech 20. století staly vědecky velmi zajímavými. První deriváty chinolonů úspěšně působily proti Gram-negativním bakteriím, čímž si vysloužily svou pozornost ve farmaceutickém odvětví, což logicky vedlo ke značnému úsilí syntetizovat jeho další analogy.¹⁰ Zjistilo se, že nabízí mnoho atributů,

jak se stát například dobrými chemoterapeutiky s vysokou účinností, širokým spektrem použití a velmi malým množstvím vedlejších účinků.¹¹

Velmi slibnými se ukázaly být deriváty 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu, které si získaly pozornost díky širokému spektru farmakologických vlastností. Už dříve byly zkoumány jejich antivirová aktivita, zahrnující i aktivitu proti viru HIV, antibakteriální aktivita proti Gram-pozitivním i Gram-negativním bakteriím, antifungální a dokonce i antimykotická aktivita.⁶

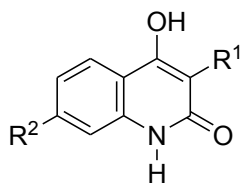
Podobně jako deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu byly sloučeniny **18–23** testovány pro jejich potenciální schopnost inhibice kmenu *Mtb* H37Ra^{lux}. Obecně by se dalo říci, že jejich schopnost omezit růst vybraného kmenu byla vysoká. Inhibice růstu (GI) dosahovala hodnot od 92,4 % (u sloučeniny **19**) až po 99,5 % (u sloučeniny **23**) při koncentraci 10 μM. Při stonásobném zředění vzorků, jedny z nejlepších výsledků vykazovaly deriváty **18** (59,2 %) a **21** (56,5 %).



	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
18	H	Et	H	H
19	H	Ph	H	H
20	Ph	Ph	H	H
21	H	Ph	H	OMe
22	H	Ph	H	OH
23	H	Ph	F	H

U žádné z uvedených sloučenin, při *in vitro* testech, nebyla pozorována žádná významná genotoxicita. Vybrané sloučeniny taktéž vykazovaly dobré výsledky GI na kmenech *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium* a *Mycobacterium smegmatis*.⁶

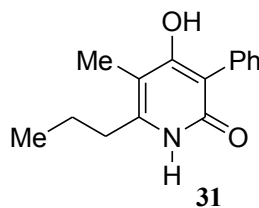
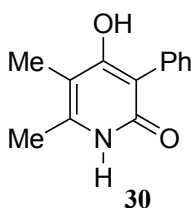
Antagonisté glycinu na *N*-methyl-*D*-aspartátu (NMDA), kteří dokáží penetrovat do mozku, mají antikonvulzivní a neuroprotektivní vlastnosti.¹² Mohou být využity k léčbě různých neurologických a neurodegenerativních onemocnění. Současně nemusíme mít důvod se obávat, že by způsobovaly vedlejší účinky, jako např. blokaci kalciových kanálů, tj. kanálů vedoucích draselné ionty přes buněčnou membránu. Hledání antagonistů glycinu s lepší penetrací přes hematoencefalickou bariéru vedlo autory k syntéze 3-substituovaných-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů **24–29**.^{13,14}



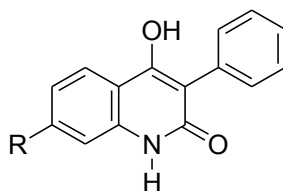
	R ¹	R ²
24	Ph	Cl
25	COcPr	Cl
26	CO ₂ CH ₂ CCPhOH-3	Cl
27	Ph	Cl
28	3-(PhO)Ph	Cl
29	3-(PhO)Ph	Me

Zatímco sloučeniny **24–27** se ukázaly jako selektivní antagonisté glycinového místa na NMDA receptoru, jejich analogy **28** a **29**, z důvodu velké afinity ke glycinu, nevykazovaly velkou *in vivo* aktivitu.

To se prokázalo i v případě, kdy byl aromatický kruh nahrazen pouze alkylovými zbytky a to methylovým a propylovým, konkrétně u sloučenin (**30**) a (**31**). V této studii bylo dosaženo určitých výsledků pouze u sloučenin s chinolonovým skeletem, které jsou uvedeny dále (**40**, **41**), kde hrála velkou roli přítomnost substituentu R², který afinitu zlepšuje.¹⁴



Další důležitou možností využití strukturně podobných sloučenin, konkrétně látek **32–35**, je jejich schopnost inhibovat syntasy mastných kyselin (FAS). FAS katalyzuje syntézu dlouhých řetězců mastných kyselin, nejčastěji z acetyl-CoA a malonyl-CoA. Jelikož FAS je výrazně aktivnější u nádorových buněk než v normální tkáni, můžeme její inhibicí způsobit četnou apoptózu rakovinových buněk.

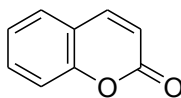


	R
32	NO ₂
33	H
34	Cl
35	F

Z provedených testů byl učiněn závěr, že odstraněním nitroskupiny z molekuly látky **32** je schopnost inhibice FAS úplně potlačena, naopak navázáním atomu chloru (sloučenina **34**)

nebo atomu fluoru (sloučenina **35**) do polohy 7, je schopnost inhibice desetkrát větší. Stejně tak je ztracena schopnost inhibice odstraněním fenylového kruhu z polohy 3. Jeho nahrazením skupinou jinou, např. 2,4-dichlorfenylovou, schopnost inhibice nepatrně vzroste. Jak dokázaly i *in vivo* testy, sloučeniny nezpůsobují výraznější buněčnou toxicitu, kterou lze však ještě více snížit nahrazením nitroskupiny skupinou nitrilovou.¹⁵

Za zmínku, alespoň okrajově, jistě stojí bioisosterní sloučenina, kumarin (**36**). Jeho deriváty jsou hojně nacházeny v rostlinách jako produkty jejich metabolismu. Jsou obsaženy například v čeledích miříkovité, hvězdnicovité, bobovité, lilkovité a routovité.¹⁶



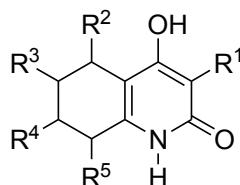
36

Z poslední jmenovité čeledi bylo izolováno až 178 různých modifikací kumarinu.¹⁷ Velké uplatnění nacházejí ve farmaceutickém průmyslu například jako součást léků na spaní, diuretik či antikoagulantů, jako forma antimikrobiálního a insekticidního činidla,¹⁸ či látka pomáhající snížit cholesterol v krvi.¹⁹ V posledních letech se také začala rozvíjet možnost použití určitých derivátů kumarinu jako inhibitorů proteázy HIV.^{18,20}

1.3 Tuberkulostatické a další biologické účinky vybraných derivátů 4-hydroxypyridin-2(1H)-onu s přikondenzovaným nasyceným kruhem

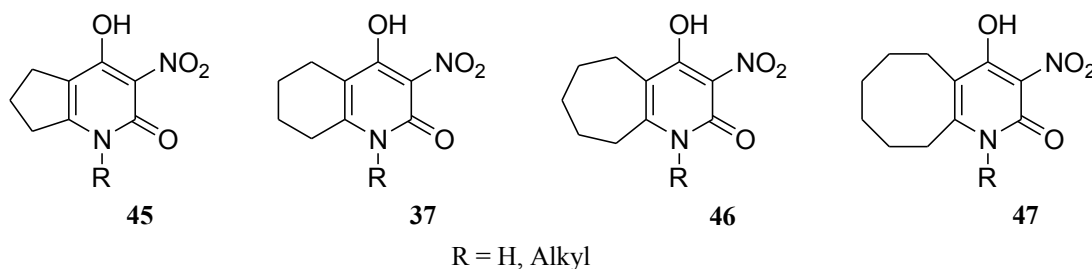
U sloučenin **37–42** byla sledována schopnost inhibovat homocytotropní protilátky indukované pasivní kožní anafylaktickou reakcí (PCA) u potkanů. Zmiňovaná skupina látek byla porovnávána s kromoglykátém sodným, běžně užívaným lékem proti různým alergickým projevům, posouzením jejich relativní schopností inhibovat krysí PCA.²¹

Ze získaných dat bylo zjištěno, že bioaktivita není výrazně změněna nahrazením atomu dusíku v kruhu za atom kyslíku, ani zvětšením heterocyklického kruhu. Je ovšem ovlivněna velikostí přikondenzovaného nasyceného kruhu a velikostí substituentů navázaných k heteroatomu. Se zvětšující velikostí skupiny poutané k heteroatomu, PCA aktivita rapidně klesala. Je možné, že tuto skutečnost způsobuje sterický efekt substituentu.²¹

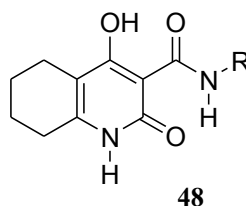


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
37	H	NO ₂	H	H	H
38	H	NO ₂	Me	H	Me
39	H	NO ₂	H	Me	H
40	H	NO ₂	H	H	Me
41	Et	NO ₂	H	H	H
42	Et	NO ₂	H	H	Me
43	H	Ph	H	H	Me
44	H	3-(PhO)Ph	H	H	H

Aktivita byla největší v případě cyklohexanového derivátu **37**. Cyklopentanový derivát **45** nevykazoval žádnou aktivitu ani v dávkách až do 100 mg/kg váhy testovaného subjektu. Rozdíl může být způsoben vysokým úhlovým pnutím v molekule cyklopentanového derivátu, kde vnitřní úhly vytvořené cyklopentanovým kruhem svírají úhel 108° (u cyklohexanového derivátu je 120°). Cykloheptanové a cyklooktanové homology (**46** a **47**) vykazovaly téměř stejnou aktivitu jako cyklohexanový derivát **37**.²¹



U několika sloučenin **48** byly radiometrickou metodou zkoumány jejich antituberkulární vlastnosti. Metoda je obecně založena na detekci ¹⁴CO₂ uvolněného metabolismem mykobakterií, které získávají radioaktivní uhlík ¹⁴C ze substrátu. Přítomnost metabolického produktu je přímo úměrná růstu bakterií.²² Z mikrobiologických screeningů vyplynulo, že hydrogenací benzenového kruhu chinolonu aktivita rapidně klesá, a proto byly sloučeniny s obdobnou strukturou považovány za neúčinné. Za povšimnutí stojí snad pouze derivát sloučeniny **48**, kde R je 5-isopropyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl, který jako jediný i při malé koncentraci dokázal potlačit růst *Mtb. H37Rv* z 98 %.²³



2 SYNTÉZA DERIVÁTŮ PIRIDIN-2-ONOVÉHO KRUHU

Deriváty pyridinu se prakticky vůbec nezískávají obměnou samotného heterocyklu, protože nesubstituovaný pyridin je při elektrofilních aromatických substitucích velmi málo reaktivní. Největším problémem je acidobazická reakce mezi atomem dusíku, který se, jelikož má volný elektronový pár, chová bazicky, a elektrofilem atakujícím molekulu. Elektronegativní dusík taktéž snižuje elektronovou hustotu na ostatních atomech uhlíku. Nukleofilní aromatické substituce na jádře probíhají o poznání snadněji. Reaktivita a chemické vlastnosti chinolinu, známého kondenzovaného heterocyklu s benzenovým a pyridinovým jádrem, pak odpovídají reaktivitě jednotlivých cyklů, benzenu a pyridinu.¹ Z tohoto důvodu se deriváty pyridin-2(1*H*)-onu nejčastěji připravují kondenzací ketiminů popř. eniminů s estery kyseliny malonové.

Jelikož je tato bakalářská práce směřována ke hledání vhodných podmínek syntézy pyridonů spojených s nasyceným kruhem, bude pozornost v následující části věnována tvorbě pyridin-2(1*H*)-onového kruhu.

2.1 Příprava ketiminů respektive tautomerních eniminů

Ketiminy odvozené od aromatických aminů jsou obecně na vzduchu stálé a nazývají se Schiffovy báze. Všechny obsahují vazbu $R^1C=NR^2$, kde R^2 jsou arylové zbytky. Jejich redukcí hydridovými činidly ($LiAlH_4$, $NaBH_4$, $NaBH_3CN$, ...) mohou poskytovat aminy. Zmíněná stabilita Schiffových bází je způsobena konjugací iminové skupiny s aromatickým jádrem.²⁴

V dostupné literatuře jsou známé prakticky pouze dva možné způsoby přípravy ketiminů popř. tautomerních eniminů, které mají několik různých modifikací.

Nejhojněji je využívána přímá syntéza, tj. reakce ketonu s aminem. Nevýhodou této přípravy je, že se jedná o reakci zvratnou, při které poměrně rychle v reakční směsi nastane chemická rovnováha. To znamená, že při reakci uvolňovaná voda hydrolyzuje vznikající ketimin na původní směs aminu a ketonu. Proto je nutné pro dosažení uspokojivého výtěžku titulních sloučenin, vznikající vodu odstraňovat. Za tímto účelem mnoho vědeckých pracovníků do aparatury začleňuje azeotropický, tzv. Deanův-Starkův nástavec. Ten, jelikož je obvykle cejchovaný, umožňuje průběžně odměřovat množství

uvolňované vody a sledovat tak stupeň konverze výchozích látek.²⁵

Ketiminy mohou být pohodlně připravovány reakcí roztoku příslušného ketonu a aminu za přítomnosti aktivovaného molekulového síta, které je následně ze směsi snadno odstraněno pouhou filtrací. Tato elegantnější varianta, jež je ve **Schématu 1** prezentována na reakci cyklohexanonu a anilinu, je v podstatě všeobecně použitelná, dokonce i na ketony se středně velkým kruhem, u kterých je reakci běžně bráněno. Jelikož tato metoda poskytuje produkty často s vysokými výtěžky za laboratorních podmínek, může být aplikována i v případech, kdy za jiných, poněkud drsnějších podmínek intenzivně vznikají vedlejší produkty.²⁶

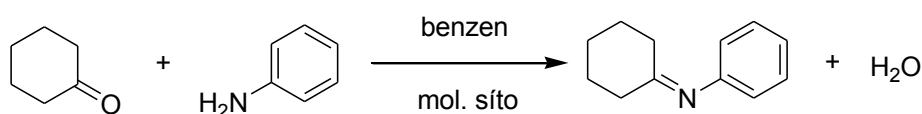


Schéma 1. Kondenzace cyklohexanonu a anilinu.

Ve dvou recentních pracích, ve kterých připravovali ketiminy z anilinu a z různě velikých cyklických ketonů, *N*-cyklopentanonu až *N*-cyklooktanonu, přidávali do benzenových nebo xylenových roztoků Lewisovy kyseliny (ZnCl₂, TiCl₄ nebo AlCl₃), které způsobovaly i při laboratorní teplotě vznik vedlejších produktů. Ovšem i přes tuto skutečnost byly žádané produkty izolovány s dobrými výtěžky pohybujícími se v rozmezí 74–88 % (**Schéma 2**).^{26,27}

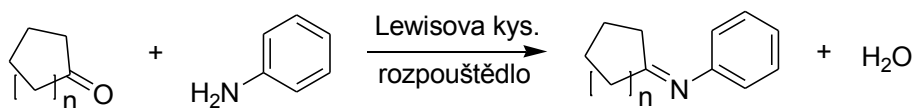


Schéma 2. Kondenzace cyklických ketonů a anilinu s využitím Lewisovy kyseliny.

Druhá typově odlišná metoda vedoucí k přípravě cyklických ketiminů využívá známé Streckerovy syntézy, která se nejčastěji využívá k získání α -aminokyselin. V prvním stupni uvažované syntézy je snaha připravit odpovídající aminonitrilový derivát. Ten obecně vzniká reakcí aminu, ketonu a kyanidového aniontu v kyselém prostředí. V podstatě v reakční směsi prvně dochází k adici kyseliny kyanovodíkové generované *in situ* například z kyanidu draselného a kyseliny octové na karbonylovou skupinu ketonu a následně

vznikající intermediát interaguje s přítomným aminem za uvolňování molekuly vody, čímž dochází selektivně ke vzniku aminonitrilu (NC-R-NH-R), ze kterého lze eliminací kyanovodíku získat odpovídající anil. Eliminaci je možné indukovat silnou bází, nejčastěji alkoholovými roztoky anorganických hydroxidů, anebo teplotou. Jelikož se jedná o vratnou reakci, je nezbytné kyanovodík z reakční nádoby odvádět. Tímto narušováním chemické rovnováhy se dosahuje vyšších výtěžků keto-anilu.

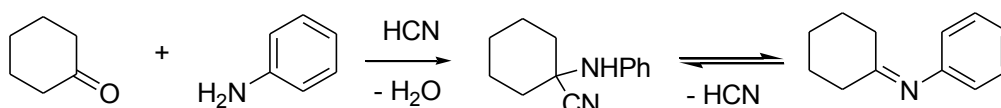


Schéma 3. Kondenzace cyklohexanonu a anilinu za přítomnosti kys. kyanovodíkové.

Oba uvedené způsoby uvolnění kyanovodíku má svá úskalí. K rozpuštění anorganických hydroxidů v absolutních alkoholech není prakticky možné. Je nutné dodat malé množství vody, která u vznikajících, více labilních anilů může způsobovat jejich hydrolyzu na směs původního ketonu a aminu. Při sledování štěpení kyanovodíku iniciovaného teplem, bylo zjištěno, že je-li aminonitril pozvolna zahříván, nastává brzy chemická rovnováha mezi eliminací kyanovodíku z aminonitrilu a jeho zpětnou adicí. Ovšem, je-li tavení provedeno rychle a efektivně, a za současného odvádění kyanovodíku, je rovnováha posunuta směrem ke vznikajícímu keto-anilu a výtěžky jsou vyšší.²⁸

V ojedinělých případech se můžeme setkat s přímou kondenzací anilinu a ketonu za přítomnosti kyseliny chlorovodíkové nebo jodu, které s ostatními výchozími látkami vytváří meziproducty, jež je možné alkalickou hydrolyzou přeměnit na dané iminy. Ovšem často dochází ke vzniku složitých směsí.²⁸

2.2 Kondenzace anilů s malonáty

V poloze 3 substituované 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-ony lze poměrně hladce získat reakcí alifatického nebo cykloalifatického ketiminu respektive eniminu se substituovaným diesterem kyseliny malonové. Aby byly ochotny dialkyl-malonáty s anily reagovat, je nezbytné do reakční směsi přidávat alespoň katalytické množství organické báze,

například *N,N*-dimethylaminopyridin. Ovšem ani taková kombinace není ideální. Dosahuje se výtěžků menších jak 10 %.³

Mnohem častěji se používají tzv. „Magic Malonáty“, jejichž esterová skupina obsahuje 2,4,6-trichlorfenylový zbytek, který velmi snadno odstupuje v podobě trichlorfenolu.

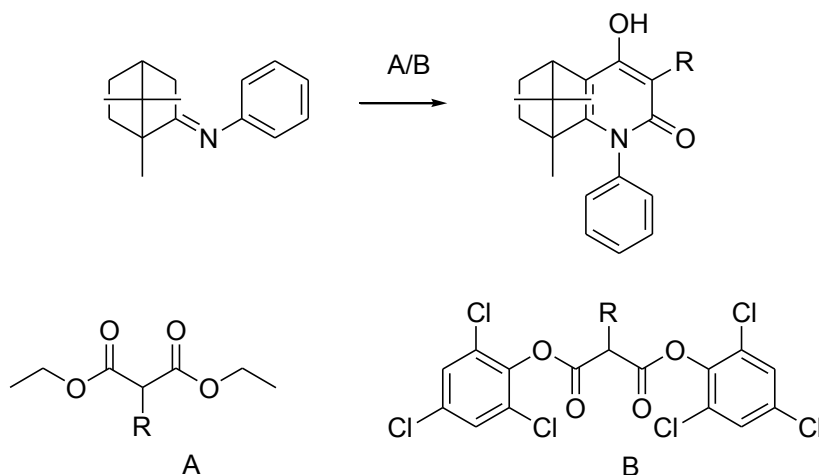


Schéma 4. Příprava pyridonového derivátu kafru.

Jako příklad je možné uvést reakci purifikovaného iminu kafru, který byl při 250°C taven se substituovaným bis(2,4,6-trichlorophenyl)-malonátem. Z důvodu značně vyšší reaktivity „Magic Malonátů“ je kondenzace výchozích látek během 30 min u konce a výtěžky požadovaných produktů se pohybují okolo 80 %.

V případě, že je použit nesubstituovaný ester kyseliny malonové, sice dochází analogicky k tvorbě 4-hydroxypyridin-2-onového kruhu, který však dále reaguje s další molekulou malonátu za vzniku 4-hydroxypyrano[3,2-*c*]chinolin-2,5(6*H*)-dionu. Chceme-li tento produkt přeměnit na nesubstituovaný 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-on, je nutné jej vystavit, jak je znázorněno na **Schématu 5**, podmínkám dvojnásobné, prvně alkalické a následně kyselé, hydrolýzy.³

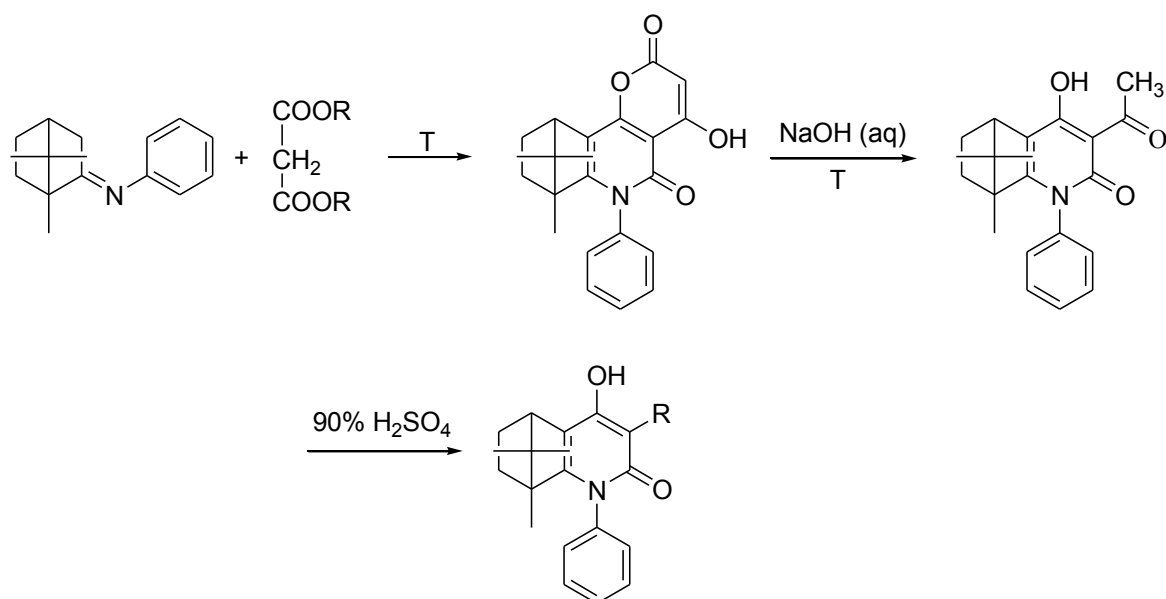


Schéma 5. Kondenzace kafroanilu s esterem kyseliny malonové.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Jak již bylo naznačeno v úvodu, z předcházejícího výzkumu na Antverpské univerzitě v Belgii vyplynulo, že pozitivní tuberkulostatické výsledky poskytly různě substituované 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony. Konkrétně nejlepší výsledky ze všech testovaných sloučenin poskytovaly 3-fenyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony.

Tamní odborní pracovníci vznesli otázku, jestli by bylo možné připravit jejich analogy, které by místo aromatického benzenového kruhu ve své struktuře obsahovaly nasycené alifatické kruhy.

Analogického, nám již dobře prozkoumaného postupu, jako při syntéze samotných 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů, to je tepelně indukovanou kondenzací anilinů s diestery kyseliny malonové, nelze využít. První stupeň kondenzace cyklohexylaminu s diethylmalonátem, tím je myšlena reakce aminoskupiny se skupinou esterovou, by probíhal jistě se stejnou ochotou jako u aminu aromatického, ovšem, následná cyklizace vyžaduje odtržení protonu z *ortho* polohy cykloalifatického kruhu, což za daných podmínek není běžné (**Schéma 6**).

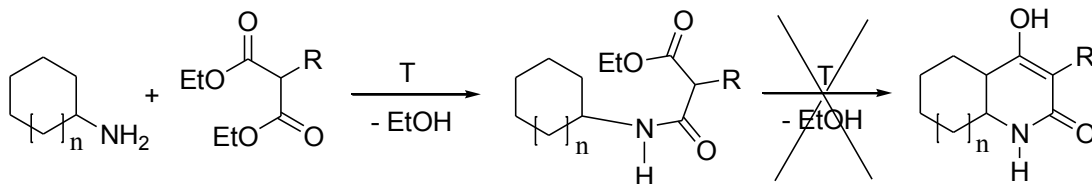


Schéma 6. Znárodná nevhodná syntetická cesta.

3.1 Syntetické přístupy k přípravě anilů

Proto jako první byla zvolena osvědčený sled reakcí, kterými byl prvně v roce 2006 připraven kafrový analog 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu. Tento postup v prvním stupni využíval Streckerova meziprojektu. Za tímto účelem byl aminokarbonitril, jak je uvedeno ve **Schématu 7**, připraven kondenzací cyklohexanonu s anilinem v kyselině octové v přítomnosti KCN při laboratorní teplotě. Při reakci v podstatě dochází účinkem kyseliny octové na kyanid draselný k uvolnění kyanovodíku, který se aduje na karbonylovou skupinu cyklohexanonu za vzniku kyanhydrinu, který dále reaguje s anilinem za současného oštěpení molekuly vody.

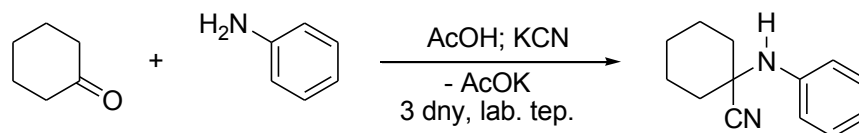
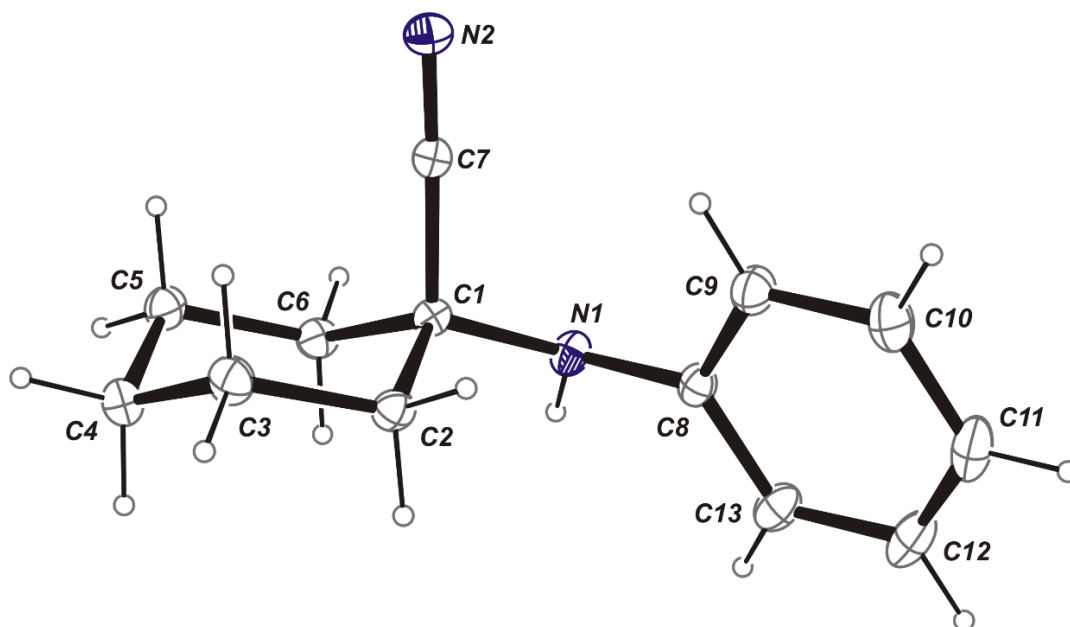


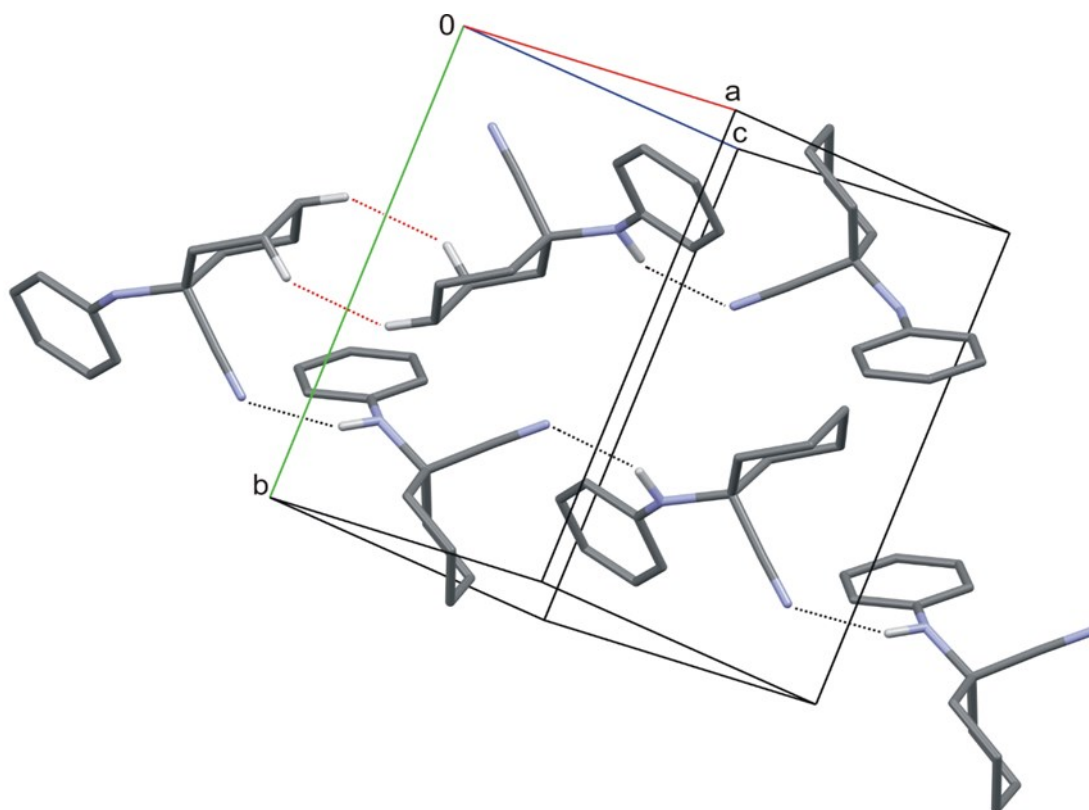
Schéma 7. Příprava Streckerova meziproduktu.

Diskutovaná reakce proběhla dle očekávání s vysokým výtěžkem 85 %. Daný produkt výborně krystalizoval z ethanolu, a dokonce se podařil vypěstovat monokrystal vhodný pro měření rentgenové difrakční analýzy, jejíž výsledek v podobě ORTEP diagramu je možné vidět na **Obrázku 1**.



Obrázek 1. ORTEP diagram získaný RTG difrakční analýzou monokrystalu látky 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu.

Jak je možné vidět na **Obrázku 2**, molekuly 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu jsou v krystalu uspořádány do řetězců rovnoběžných s rovinou ac (010) ve směru [101] pomocí slabých interakcí $\text{N-H}\cdots\text{N}\equiv\text{C}$. Vzdálenost mezi atomy dusíku je 3,267 Å. Ke stabilizaci těchto řetězců dále přispívají disperzní interakce mezi vodíkovými atomy cykloalifatického kruhu.



Obrázek 2. Uspořádání molekul látky 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu v krystalu (vodíkové atomy neúčastnící se mezimolekulárních interakcí nejsou pro lepší přehlednost zobrazeny).

Z molekuly připraveného aminonitrilu, za účelem syntézy anilu, který se jevil jako vhodný kandidát pro kondenzaci s diesterem malonové kyseliny, bylo nutné odštěpit kyanovodík. Jelikož se jedná o eliminační reakci, je nutné na sloučeninu působit silnou bází. Jako první byl vyzkoušen účinek rozpuštěného hydroxidu draselného ve vodném ethanolu. Po dvanáctihodinovém ohřevu reakční směsi na olejové lázni, jež měla teplotu 90 °C, TLC analýza indikovala absenci výchozí látky. Po běžném zpracování reakční směsi, to je jejím nalitím do ledové vody, extrakcí organických látek do petroletheru a odpařením rozpouštědel, byl ze surového produktu odebrán vzorek pro GC-MS analýzu, ze které vyplynulo, že ve směsi má produkt relativní zastoupení 3 %, výchozí látka 1,5 % a anilin 85 %. Ostatní sloučeniny nebylo možné na základě GC-MS spekter možné identifikovat. Je pravděpodobné, že vedle anilinu vznikal také cyklohexanon, jeho identifikace však díky zvolené metodě analýzy nebyla potvrzena (velmi nízký retenční čas).

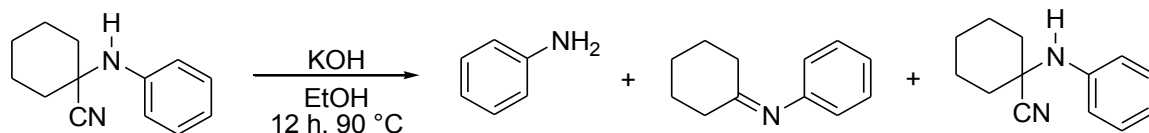


Schéma 8. Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem silné anorg. báze.

Nestabilita anilu za výše popsaných podmínek, oproti kafroanilu připraveného stejným postupem popsaným v literatuře,³ byla zarážející. Proto byl proveden test stability aminonitrilu v ethanolu s malým množstvím vody při laboratorní teplotě. Již po jedné hodině bylo z TLC analýzy jasné, že se výchozí látka rozpadá opět na anilin. Tímto experimentem bylo potvrzeno, že za nestabilitu očekávaného produktu a současně ani výchozího materiálu není vinen pouze účinek KOH, ale velký podíl na ní nese vodné prostředí.

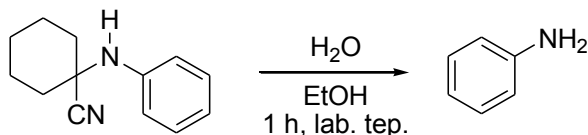


Schéma 9. Test stability aminonitrilu ve vodném prostředí.

Následně byla původní reakce s KOH opakována se stejným poměrem reakčních komponent, ovšem za laboratorní teploty a s přidavkem čerstvě vyžíhaného síranu sodného, který měl plnit funkci vázání vody a tím snižovat riziko rozkladu. Ani v tomto případě nebyl podle TLC analýzy indikován téměř žádný jiný produkt než anilin. Pravděpodobným druhým produktem této reakce byl cyklohexanon, který ovšem není TLC analýzou, z důvodu absence konjugovaných vazeb, pozorovatelný. Z těchto faktů plyne, že síran sodný není natolik účinný, aby byl schopen veškerou vodu na sebe vázat.

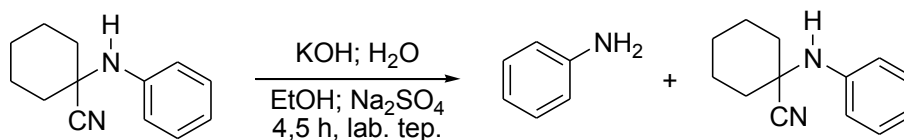


Schéma 10. Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem KOH s přidavkem Na₂SO₄.

I za předpokladu, že bude reakce probíhat pozvolněji, byla vyzkoušena také možnost zaměnit dříve používanou silnou bázi (KOH) za bázi slabší. V tomto případě jsme nechali působit čerstvě vyžíhaný uhličitán draselný v suchém dimethylformamidu při teplotě 100 °C.

Jelikož během jedné hodiny v reakční suspenzi nenastávaly žádné změny, byla směs dále 3,5 h vařena pod zpětným chladičem. Během tohoto varu nastala výrazná změna barvy reakční suspenze, kterou dle tenkovrstvé chromatografie i dle GC-MS analýzy způsoboval vznikající anilin. Mimo něj v reakčním roztoku převažovala výchozí látka.

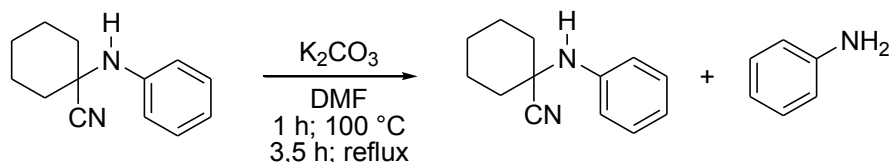


Schéma 11. Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem K_2CO_3 v suchém DMF.

V dalších experimentech byly dříve použité anorganické báze zaměněny za velmi silnou organickou bázi. Rozpuštěná výchozí látka v suchém terciálním butanolu byla ponechána reagovat s terciálním butanolátem draselným při teplotě $50\text{ }^\circ\text{C}$ v atmosféře inertního plynu. Za těchto podmínek byla absolutně vyloučena přítomnost vody. Z monitoringu reakční směsi tenkovrstvou chromatografií vyplývalo, že substrát je vůči *tert*-butoxidu rezistentní. Tuto skutečnost potvrdila i GC-MS analýza izolovaného surového produktu.

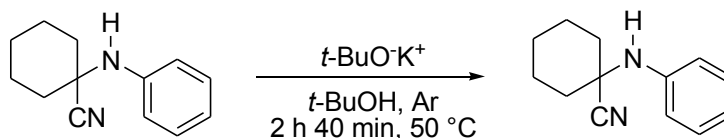


Schéma 12. Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem silné org. báze v alkoholu.

Je zajímavé, že záměnou terciálního butanolu jako rozpouštědla za suchý benzen, již reakce pod inertní atmosférou argonu při laboratorní teplotě jistým způsobem probíhala. Po třech hodinách byla reakční směs zpracována a izolovaný surový produkt byl podroben GC-MS analýze. Na chromatogramu byly viděny pouze dva peaky z nichž jeden s relativním zastoupením 68 % odpovídal anilinu a druhý s relativním zastoupením 32 % znázorňoval žádaný anil. Jelikož jeden z hlavních produktů reakce byl anilin, je téměř jisté, že mezi produkty musí figurovat i cyklohexanon, který za podmínek analýzy není detekovatelný.

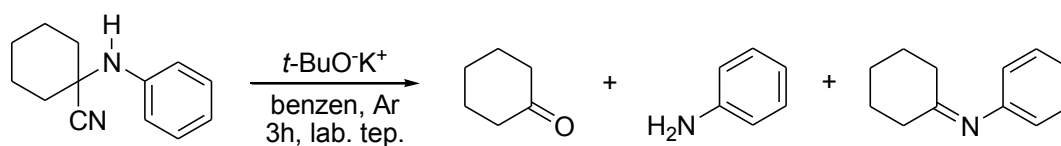


Schéma 13. Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem silné org. báze v benzenu.

Protože reakce aminonitrilu s použitým alkoholátem nesplnila očekávání, byl zkoumán vliv triethylaminu. Jeho roztok s výchozí látkou v bezvodém benzenu byl míchán 4 dny při laboratorní teplotě pod atmosférou inertního plynu. Za těchto zvolených podmínek byl v roztoku indikován pouze nezměněný aminonitril. Ani po následném 4,5 h varu nedocházelo ke vzniku jakéhokoli produktu.

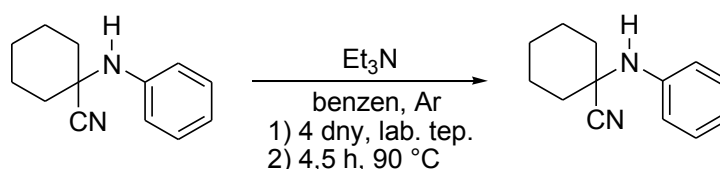


Schéma 14. Netečnost Et₃N k aminonitrilu v suchém benzenu.

Jelikož zkoušení bazických indukovaných eliminačních reakcí nebylo úspěšné, bylo přikročeno k poslední naději, kterou nabízely dva odborné články.^{28,29} Autoři v nich publikovali termicky iniciovanou eliminaci kyanovodíku z aminokarbonitrilů poskytující žádoucí anily ve středně vysokých až vysokých výtěžcích. V našem případě byl proveden pokus o pyrolýzu 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu při teplotě 250 °C po dobu 3 hodin. I když autoři²⁸ prezentovali, že po čtvrt hodině ze stejné výchozí látky izolovali 79 % anilu, CG-MS analýza surové směsi z našeho pokusu ukázala, že relativně obsahuje 89 % nezměněného výchozího materiálu a 5 % anilinu.

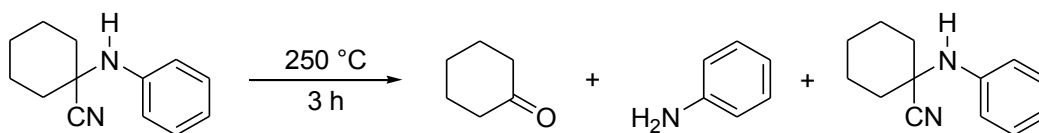


Schéma 15. Zahřívání aminonitrilu na teplotu 250 °C.

Neúspěch při eliminacích kyanovodíku z aminonitrilu nás přivedl k myšlence vyzkoušet přímou kondenzací cyklického ketonu s anilinem. Za tímto účelem bylo provedeno několik reakcí, z nichž první směřovala k azeotropické destilaci roztoku anilinu v toluenu s 3% nadbytkem cyklohexanonu při teplotě 140–150 °C. Destilační aparatura obsahovala Deanův-Starkův nástavec, který umožňuje průběžně odměřovat množství uvolňované vody a sledovat tak stupeň konverze výchozích látek. I po 14 hodinách reakce byl ve směsi detekován pomocí TLC nezreagovaný anilin. I přes tuto skutečnost byla reakce ukončena a bylo přistoupeno k vakuové destilaci reakční směsi. Pro nedostatek zkušeností s vakuovou destilací a pro absenci účinné olejové vývěvy byla destilace časově náročná, a ne zcela

účinná. Bylo získáno několik frakcí, z nichž žádná neobsahovala čistý produkt. Všechny obsahovaly větší či menší množství anilinu, který je pro uvažované následné kondenzace nežádoucí. Je zcela možné, že anilin v destilované, stále zahřívané směsi vzniká rozpadem nestabilního anilu.

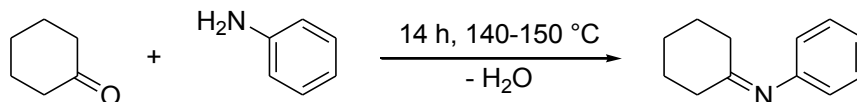


Schéma 16. Přímá kondenzace cyklohexanonu a anilinu při vysoké teplotě.

Z předchozích provedených experimentů lze učinit jednoznačný závěr, že vznikající anil je termolabilní a ve vodném prostředí se hydrolyzuje na původní suroviny, to je na anilin a cyklohexanon. Z těchto důvodů byl proveden experiment, ve kterém byl ponechán reagovat anilin s 5% nadbytkem cyklohexanonu za přítomnosti aktivovaného molekulového síta (4 Å) za laboratorní teploty. Molekulové síto bylo, ve vztahu k teoretickému množství uvolněné vody, dáno ve dvojnásobném nadbytku jeho sorpční schopnosti uváděné výrobcem. Protože dle TLC nebyl průběh analýzy prokazatelný, tak byla reakční směs analyzována metodou GC-MS, podle níž bylo největší zastoupení žádaného produktu po 167 hodinách. Podle GC-MS analýzy v surové směsi měl produkt relativní zastoupení 74 %, cyklohexanon 6 % a nezreagovaný anilin 6 %.

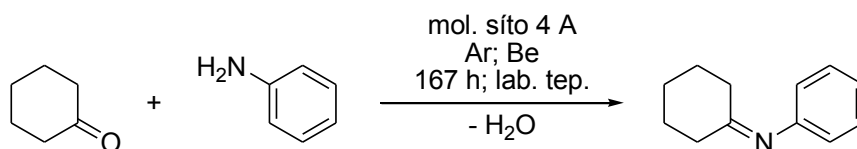


Schéma 17. Přímá kondenzace cyklohexanonu a anilinu při lab. teplotě.

Zvolenou metodou s molekulovým sítem byl získán zatím největší podíl žádaného anilu a proto jsme již další varianty reakcí nebrali v potaz. Reakce byla ještě jednou opakována. Rozdíl byl pouze v době reakce, která nyní byla 193 hodin. Z GC-MS analýzy vyplynulo, že zvyšování reakčního času nemá zásadní vliv na finální zastoupení produktů.

Po opětovné analýze metodou GC-MS v identickém vzorku uskladněném pod inertním plynem přibližně dva měsíce v lednici, bylo zjištěno, že obsah anilu se z původních 78,5 % snížil na 41 % relativního zastoupení. Jediné logické vysvětlení je, že anil i přes uskladnění i v temnu při nízké teplotě podléhá rozkladu.

Výše popsaná, úspěšná kondenzace cyklohexanonu s anilinem v přítomnosti molekulového síta nás podnítila k vyzkoušení analogických reakcí, za identických podmínek, s dalšími různě velkými cykloalifatickými ketony s anilinem. Jako ketony byly vybrány cyklopentanon, cyklohexanon a cyklododekanon. Směsi reakčních roztoků byly ponechány reagovat při laboratorní teplotě různě dlouhou dobu uvedenu v tabulce pod **Schématem 18**. Reakce byly opět monitorovány s využitím GC-MS.

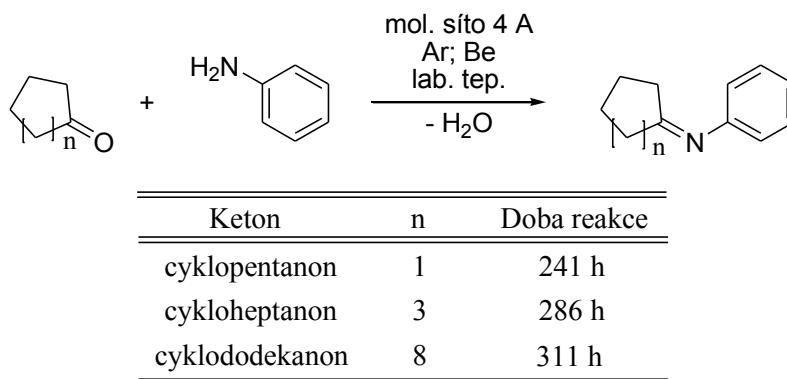


Schéma 18. Přímé kondenzace cyklických ketonů a anilinu při lab. teplotě.

Z provedených GC-MS analýz je možné říci, že ketony se středně velkým kruhem reagují s anilinem mnohem ochotněji než ketony s malým či velkým kruhem. Jak je možné vidět v tabulce **Schématu 18**, cykloheptanon poskytuje prakticky stejný výsledek jako cyklohexanon. Cyklododekanon má mírně nižší stupeň konverze na očekávaný anil. V reakčním roztoku cyklopentanonu a anilinu i po 10 dnech nebylo dle GC-MS více než 11,5 % relativního zastoupení produktu.

Požadované vznikající produkty z reakcí popsaných na **Schématech 17 a 18** nebyly ze surových produktů separovány od anilinu, cyklohexanonu a dalších vedlejších vznikajících látek, jelikož by rozdělení bylo velice nesnadné a nezaručovalo by zachování žádaného produktu. Do dalších reakcí byly tudíž použity jako surové produkty a byly ponechány reagovat s malonáty ve víře, že bude možné odizolovat až finální produkty reakcí.

3.2 Kondenzace anilů s malonáty

V prvních experimentech směřovaných k přípravě 4-hydrxypyridin-2(1*H*)-onů spojených v poloze 5 a 6 s nasyceným kruhem byl jako výchozí látka využit racemický, přečištěný

kafroanil, který byl získán z laboratorních zásob doc. Kafky. Pětiprocentní molární nadbytek kapalného kafroanilu byl smísen s „magic“ malonáty, konkrétně s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-fenylmalonátem nebo s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-butylmalonátem a vzniklá směs byla tavená na kovové lázni při teplotě 220 °C po dobu uvedenou v tabulce **Schématu 19**.

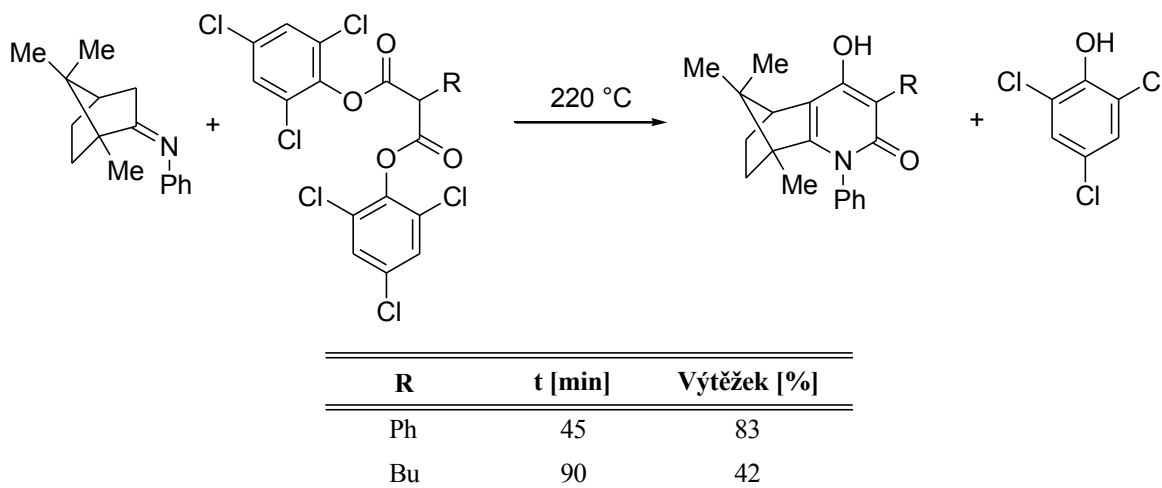


Schéma 19. Kondenzace kafroanilů s „magic“ malonáty.

Z tvrdého, pryskyřičnatého surového produktu bylo nutné odstranit nezreagované výchozí látky a vzniklý 2,4,6-trichlofenol. Tyto sloučeniny byly od žádaného produktu odděleny opakovanou macerací petroletherem. Nízký výtěžek butylového derivátu byl pravděpodobně způsoben, ve srovnání s fenylovým analogem, jeho výrazně vyšší rozpustností v různých rozpouštědlech. Struktura obou získaných bezbarvých krystalických produktů byla potvrzena nukleární magnetickou rezonancí.

Pro přípravu 1,3-difenyl-5,6,7,8-tetrahydro-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu byl využit, z důvodu velké lability při vyšších teplotách i na silikagelu, nečištěný *N*-cyklohexylidenbenzenamin, který byl syntetizován výše popsaným způsobem, to je přímou kondenzací anilinu s cyklohexanonem v přítomnosti molekulového síta. Surový anil byl obdobně, jako kafrový derivát, taven s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-fenylmalonátem při teplotě 250 °C po dobu 45 minut.

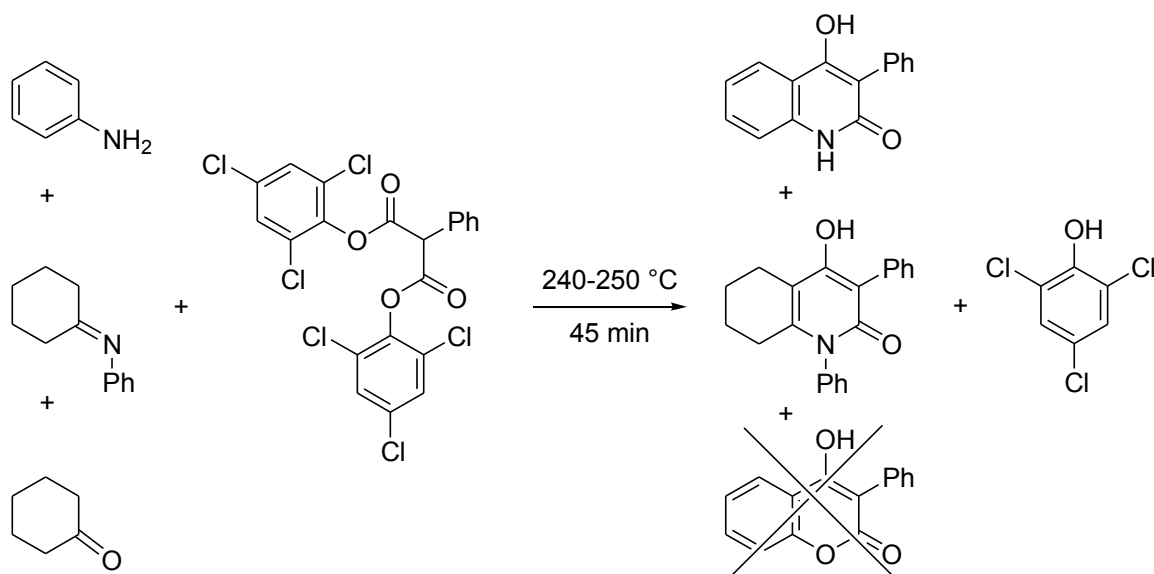


Schéma 20. Kondenzace nečištěného *N*-cyklohexylidenbenzenaminu s fenylmalonátem.

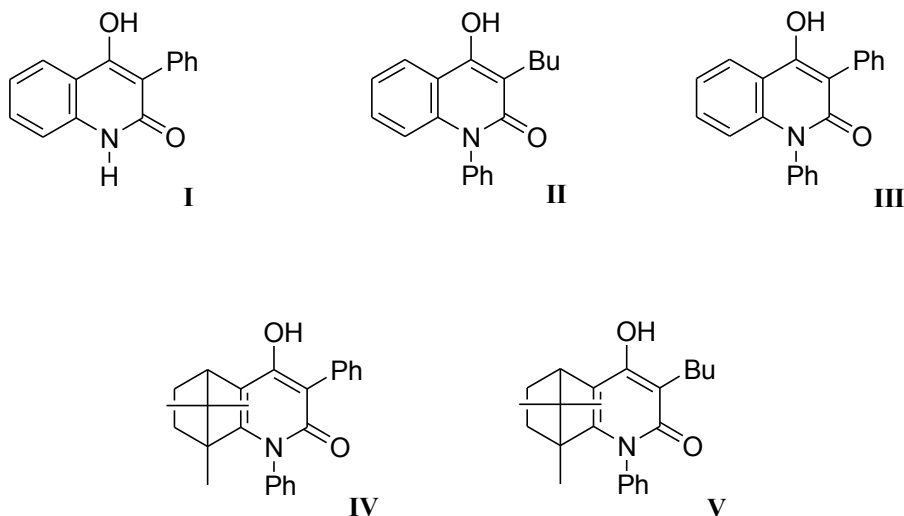
Z provedené reakce bylo mimo očekávaný produkt, který byl izolován s výtěžkem 52 %, získáno i 14 % 3-fenyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu vznikajícího konkurenční reakcí ve výchozí směsi přítomného anilinu s fenylmalonátem. Je ovšem zajímavé, že se nepodařilo izolovat ani stopové množství 3-fenyl-4-hydroxykumarin-2-onu, který, z důvodu přítomnosti cyklohexanonu, by se dal očekávat.

3.3 Výsledky tuberkulostatických testů kafrových derivátů

U připravených kafrových derivátů 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu byly sledovány Laboratoří Mikrobiologie, Parazitologie a Hygieny na Antverpské univerzitě v Belgii tuberkulostatické účinky na bakteriích kmenu *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra^{lux}. Metodika a vyhodnocení biologických testů je detailně popsána v odborném, prestižním periodiku,⁶ ve kterém jsou výsledky shrnuty.

Pro představu byly metodou *in vitro* testovány roztoky sloučenin v DMSO o koncentracích 10, 1 a 0,1 μM. I když metoda *in silico* naznačovala podobný účinek používaných terapeutik k léčbě tuberkulózy, získané výsledky tak pozitivní nebyly. Oba sledované kafrové deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu vykazovaly velmi slabé účinky inhibice růstu kmenu bakterie *Mtb* H37Ra^{lux}. Výsledky inhibice růstu jsou shrnuty v tabulce **Obrázku 3**, kde jsou pro srovnání uvedeny i tři 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony,

které z celkového počtu 52 sloučenin vykázaly inhibici mnohem vyšší.



Inhibice růstu při zředění 10 μ M, 1 μ M a 0,1 μ M			
Sloučenina	Inhibice růstu (<i>Mtb</i> H37Ra ^{lux}) %		
	10 μ M	1 μ M	0,1 μ M
I	92,4	59,2	56,0
II	47,3	46,3	34,4
III	98,3	53,7	30,4
IV	12,5	8,1	0
V	7,5	1,2	0

Obrázek 3. Přehled testovaných sloučenin na tuberkulostatické účinky s výsledky jejich působení.

Z těchto faktů plyne, že připravené kafrové deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu nejsou nejvhodnějšími inhibitory bakterií způsobujících tuberkulózu. Srovnáme-li strukturu účinných 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů uvedených na **Obrázku 3** se strukturou derivátů kafru, je evidentní, že je pouze výrazný rozdíl v kruhu připojenému k 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu. Pravděpodobné je, že kafrový cyklus je buď příliš objemný, nebo rigidní. Je však škoda, že v dobu testování tuberkulostatických účinků nebyl připraven 1,3-difenyl-5,6,7,8-tetrahydro-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on, který je svou strukturou mnohem blíže podobný značně účinnému 1,3-difenyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu.

4 DESKRIPCE PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Použitá rozpouštědla a reagenty byly získané z komerčních zdrojů (Fluka, Sigma Aldrich). Uvedené retenční faktory u připravených derivátů pyridin-2(1*H*)-onu byly stanoveny pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC), pro kterou byly použity komerční hliníkové destičky s nanesenou vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV 254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) s fluorescenčním indikátorem pro UV 254 nm.

Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Infračervená spektra byla měřená na FT-IR spektrometru Alpha (Brucker Optic GmbH Ettlingen, Germany) technikou KBr tablet. Dále byl použit plynový chromatograf Shimadzu QP-2010 s kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (GC-EI-MS), který je opatřen knihovnou spekter NIST 02 a s kolonou Supelco SLB-5ms (30 m; 0,25 mm). Nosným plynem bylo helium s konstantním průtokem 38 cm³.s⁻¹. Teplotní program byl nastaven: 100 °C/7 min, 25 °C/min při zvýšení na teplotu 250 °C, jež byla držena po celou dobu měření. Teplota nástřiku: 250 °C. Iontový zdroj: 200 °C. Při vypisování hmotnostních spekter byly vybrány signály s relativním zastoupením alespoň 10 %.

NMR spektra byla měřena na přístroji Bruker Avance III při frekvenci 500 MHz (¹H) a 126 MHz (¹³C) při 300 K. Chemické posuny jsou uvedeny ve stupnici δ ppm. Interakční konstanty (*J*) jsou uvedeny v Hz. Multiplicita signálů byla označena takto: s (singlet), d (dublet), ddd (dublet dubletu dubletů), t (triplet), m (multiplet). Přiřazení jednotlivých signálů ke konkrétním atomům vodíku a uhlíku bylo provedeno pomocí 2D NMR spektrálních analýz (1H–1H gs-COSY, 1H–13C gs-HSQC a gs-HMBC). Pro identifikaci signálu je číslování atomů následující: základní skelet, prostá čísla (př. 1, 2, ...); fenylový substituent v poloze 1 základní sloučeniny, čísla s písmenem A (př. A1, A2, ...), fenylový substituent v poloze 3 základní sloučeniny, čísla s písmenem B (př. B1, B2, ...); rozlišené signály geminálních protonů jsou označené řeckými písmeny (α, β).

Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením byla měřená na přístrojích Agilent 6224 Accurate Mass TOF LC/MS s elektrosprejovou ionizací. Elementární analýza (C, H, N) byla uskutečněna na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elemental analyzer (Thermo Fischer Scientific). Výsledky z rentgenostrukturní analýzy byly řešeny a graficky zpracovány v programu Mercury a Corel DRAW graphic Suite 12.

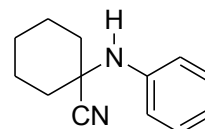
5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN

5.1 Příprava 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu

K na ledu vytemperovanému (pod 5 °C) roztoku cyklohexanonu (9,8171 g; 100 mmol; 1 ekviv.) a anilinu (11,179 g; 120 mmol; 1,2 ekviv.) v kyselině octové (45 ml) byl během 10 min po částech přidán KCN (7,814 g; 120 mmol; 1,2 ekviv.). Dále byla směs ještě 10 min míchána na ledové lázni a následně 3 dny při laboratorní teplotě. Prakticky ihned po ohřátí reakční směsi na laboratorní teplotu docházelo k intenzivnímu uvolňování HCN (reakcí KCN s AcOH) a ke vzniku velmi husté suspenze, která byla po cca 1 h zředěna, z důvodu nemožnosti jejího účinného míchání, 10 ml AcOH. Po ukončení reakce byla směs nalita do 150 ml destilované vody a získaná suspenze byla přefiltrována přes fritu. Pevný podíl byl promyt 3 × 50 ml vody, následně 3 × 50 ml petroletheru a vysušen. Získaný surový produkt byl následně rozpuštěn ve 100 ml vroucího ethanolu, za horka přefiltrován, zahuštěn asi na 50 ml a ponechán samovolně krystalizovat.

1-(Fenylamino)cyklohexankarbonitril

Bezbarvá, krystalická látka, t.t. = 72–74 °C (EtOH), t.t._{lit}³⁰ = 71–72 °C (MeOH), výtěžek: 85 %, $R_f = 0,45$ (17 % EtOAc v PE), $R_f = 0,80$ (10 % EtOH v CHCl₃).



IČ spektrum (tableta KBr), cm⁻¹: 3354 (–NH–), 2951, 2933, 2858, 2228 (–C≡N), 1601, 1511, 1496, 1451, 1255, 765, 748, 709, 693, 500.

GC-EI-MS, m/z (%): 41(12), 51(17), 77(58), 117(26), 130(100), 131(12), 144(15), 172(12), 173(44), 200(M⁺, 2), 201([M+1]⁺, 0,4).

EA pro C ₁₃ H ₁₆ N ₂	vypočtené:	77,96 % C	8,05 % H	13,99 % N
	nalezené:	77,61 % C	8,34 % H	14,14 % N

5.2 Neúspěšné pokusy o přípravu *N*-cyklohexylidenbenzenaminu

5.2.1 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem KOH ve vodném ethanolu

K roztoku nitrilu (207,6 mg; 1 mmol; 1 ekvív.) v ethanolu (3 ml) byl přidán roztok KOH (178,2 mg; 3 mmol; 3 ekvív.) v H₂O (100 µl) a EtOH (3 ml). Získaný roztok byl vařen na olejové lázni při teplotě 90 °C po dobu 12 hodin. Ochlazený reakční roztok byl následně nalit do 30 ml ledové vody a ihned byla vodná vrstva extrahována 5 × 15 ml petroletheru. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány a odpařeny na rotační vakuové odparce do sucha. Získaný surový produkt byl podroben GC-MS analýze, podle které směs obsahovala 85 % anilinu, 3 % anilu a 2 % výchozího nitrilu.

5.2.2 Test stability aminonitrilu ve vodném ethanolu

K roztoku nitrilu (20,1 mg; 0,1 mmol) v EtOH (6 ml) bylo přidáno malé množství H₂O (100 µl; 5,5 mmol). Získaný bezbarvý roztok byl míchán při laboratorní teplotě 1 h, během které dle TLC nastal absolutní rozklad na anilin a pravděpodobně na cyklohexanon.

5.2.3 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem KOH ve vodném ethanolu v přítomnosti Na₂SO₄

K bezbarvému roztoku nitrilu (200,1 mg; 1 mmol; 1 ekvív.) v EtOH (1 ml) byl přidán roztok KOH (168 mg; 3 mmol; 3 ekvív.) v H₂O (75 µl; 4,2 mmol) a EtOH (3 ml). Po 5 min bylo do reakční směsi přidáno 500 mg (3,5 mmol) čerstvě vyžíhaného Na₂SO₄ (pro eventuální vychytání vznikající vody). Získaný roztok byl míchán při laboratorní teplotě 4,5 h, během kterých nastal dle TLC částečný rozklad výchozí látky na anilin a pravděpodobně na cyklohexanon.

5.2.4 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem K₂CO₃ v suchém DMF

K bezbarvému roztoku nitrilu (200,2 mg; 1 mmol; 1 ekvív.) v 6 ml suchého DMF byl přisypán vyžíhaný K₂CO₃ (1,3820 g; 10 mmol; 10 ekvív.) a získaná směs byla zahřívána na olejové lázni při teplotě 100 °C po dobu 1 h. Jelikož po této době byla v reakční směsi přítomna pouze výchozí látka, byla teplota zvýšena na 180 °C a vše bylo refluxováno 3,5 h. Po této době byla v reakční směsi přítomna výchozí látka a stopy anilinu.

5.2.5 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem $t\text{-BuO}^-\text{K}^+$ v suchém $t\text{-BuOH}$

K bezbarvému roztoku nitrilu (50 mg; 0,25 mmol; 1 ekvív.) v bezvodém $t\text{-BuOH}$ (4,5 ml) byl přidán $t\text{-BuO}^-\text{K}^+$ (42 mg; 0,375 mmol; 1,5 ekvív.) a směs byla míchána na vodní lázni při teplotě 50 °C po dobu 90 minut. Jelikož byla dle TLC v reakční směsi stále přítomna výchozí látka a vznikala jemná suspenze, bylo do reakční směsi přidáno další množství $t\text{-BuOH}$ (5 ml) a $t\text{-BuO}^-\text{K}^+$ (43 mg; 0,375 mmol; 1,5 ekvív.) a opět vše mícháno při stejné teplotě dalších 70 minut. Následně bylo do reakční směsi přidáno 35 ml nasyceného roztoku NaHCO_3 a vše extrahováno 3 × 15 ml DCM. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na_2SO_4 , přefiltrovány a odpařeny na RVO. Izolovaný surový produkt odpovídal GC-MS i IČ spektry výchozí látky.

5.2.6 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem $t\text{-BuO}^-\text{K}^+$ v suchém benzenu

K bezbarvé suspenzi nitrilu (50 mg; 0,25 mmol; 1 ekvív.) v bezvodém Be (4,5 ml) byl přidán $t\text{-BuO}^-\text{K}^+$ (42 mg; 0,375 mmol; 1,5 ekvív.) a směs byla pod ochrannou atmosférou argonu míchána při laboratorní teplotě 3 h. Následně byl reakční roztok odpařen na RVO. Získaný surový produkt byl podroben GC-MS analýze, podle které směs obsahovala 68 % anilinu a 32 % anilu.

5.2.7 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu účinkem Et_3N v suchém benzenu

Bezbarvý roztok nitrilu (53 mg; 0,25 mmol; 1 ekvív.) v bezvodém Be (4,5 ml) a Et_3N (82 mg; 0,75 mmol; 3 ekvív.) byl pod ochrannou atmosférou argonu míchán 4 dny při laboratorní teplotě. Jelikož v roztoku byla dle TLC i po takto dlouhé době přítomna pouze výchozí látka, byla směs dále 4,5 h vařena na olejové lázni při teplotě 95 °C pod zpětným chladičem.

5.2.8 Pokus o eliminaci HCN z aminonitrilu indukovaný teplem

Baňka s naváženým výchozím nitrilem (50 mg; 0,25 mmol) byla opatřena malým zpětným chladičem a v digestoři 3 h ohřívána v kovové lázni, jejíž teplota byla udržována v rozmezí 250–255 °C. Prakticky okamžitě po začátku ohřevu výchozí látka roztála a vznikla bezbarvá, postupně tmavnoucí tavenina, která po 1,5 h ztuhla. Po 2 h dle TLC vznikalo malého množství nové látky, jejíž množství se do ukončení ohřevu neměnilo. Po ukončení

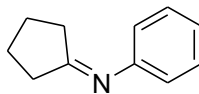
ohřevu byl chladič vmyt CHCl_3 , který byl přidán k ochlazené reakční směsi a vše na RVO odpařeno do sucha. Získaný surový produkt byl podroben GC-MS analýze, podle které směs obsahovala 89 % nezměněného výchozího materiálu a 5 % anilinu.

5.2.9 Přímá kondenzace cyklohexanonu a anilinem s využitím azeotropické destilace

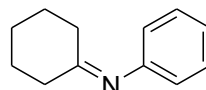
Roztok cyklohexanonu (38,7412 g; 395 mmol; 1,03 ekviv.) a anilinu (35,3759 g; 380 mmol; 1 ekviv.) v toluenu (60 ml) byl vařen v olejové lázni (120 °C), a jelikož kapky kondenzovaly dříve, než stačily vystoupat do chladiče, byla teplota olejové lázně zvýšena na teplotu 140–150 °C, při které již byla destilace toluenu a uvolňované vody z reakční směsi značná. Při této teplotě byla reakční směs vařena 14 h, během kterých bylo z reakční směsi oddestilováno 6,5 ml vody (teoretické množství vzniklé vody bylo 6,85 ml). Surový roztok byl pro odstranění nezreagovaných výchozích látek a přečištění produktu vakuově destilován. Směs byla ohřívána pod maximálním vakuem (cca 13 torr) membránové vývěvy asi 5 dní a každý den byla nadestilována jedna frakce. U všech frakcí bylo změřeno GC-EI-MS. Všechny obsahovaly větší či menší množství anilinu, který je pro uvažované následné kondenzace nežádoucí.

5.3 Přímá kondenzace cyklických ketonů s anilinem za přítomnosti molekulového síta

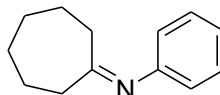
K roztoku cyklického ketonu (10,5 mmol; 1,05 ekviv.) a anilinu (936,5 mg; 10 mmol; 1 ekviv.) v suchém benzenu (10 ml) bylo přisypáno 1,8594 g molekulového síta (4 Å; výrobce uvádí sorpční kapacitu 20 %; navážka byla vypočtena na sorpční kapacitu 10 % - teoreticky se mělo reakcí uvolnit 181,2 mg H_2O). Připravená směs byla míchána při laboratorní teplotě pod inertní atmosférou argonu po dobu uvedenou ve **Schématech 16** a **17**. Po ukončení reakce byla suspenze filtrována přes fritu. Poté byla organická (Be) vrstva vysušena Na_2SO_4 , přefiltrována, odpařena na RVO.

N-Cyklopentylidenbenzenamin

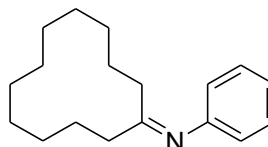
Hnědý olej

GC-EI-MS, $m/z(\%)$: 51(15), 77(37), 130(100), 131(18), 159(M^+ , 41), 160($[M+1]^+$, 5).**N-Cyklohexylidenbenzenamin**

Žlutohnědý řídký olej

GC-EI-MS, $m/z(\%)$: 51(16), 77(57), 117(26), 130(100), 131(12), 172(13), 173(M^+ , 48), 174($[M+1]^+$, 6).**N-Cykloheptylidenbenzenamin**

Oranžový řídký olej

GC-EI-MS, $m/z(\%)$: 41(14), 51(17), 77(61), 96(16), 117(18), 130(100), 131(15), 144(23), 158(28), 159(12), 186(15), 187(M^+ , 46), 188($[M+1]^+$, 7).**N-Cyklododecylidenbenzenamin**

Žlutý řídký olej

GC-EI-MS, $m/z(\%)$: 41(21), 5(11), 77(39), 93(32), 117(19), 118(11), 130(30), 132(38), 133(100), 134(10), 144(10), 146(43), 158(15), 173(12), 257(M^+ , 17), 258($[M+1]^+$, 3).

5.4 Kondenzace anilů s malonáty

5.4.1 Kondenzace kafroanilu s „magic“ malonáty

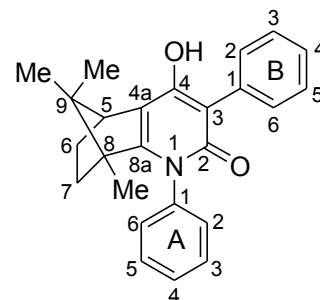
K (14,25 mmol; 1 ekviv.) bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátu byl za laboratorní teploty přikapán čistý racemický kafroanil (3,4138 g; 15 mmol; 1,05 ekviv.). Směs byla zahřívána na vytemperované kovové lázni (220 °C) po dobu uvedenou ve **Schématu 18**. Po ochlazení

bylo do baňky přidáno 30 ml petroletheru, čímž vznikla z původně snadno rozmělnitelného materiálu značně tvrdá hmota, která byla s pomocí skleněné tyčinky a ultrazvuku (UZ) rozdrčena na jemnou suspenzi, která byla přefiltrována přes fritu. Pevný podíl byl promyt petroletherem, opětovně převeden do kádinky a opakovaně macerován 1 × 30 ml petroletherem a následně 2 × 30 ml Et₂O.

Surový fenylový derivát byl rozpouštěn v 500 ml vroucího EtOH, získaná bílá suspenze byla za horka přefiltrována přes fritu, pevný podíl na fritě byl promyt EtOH a vysušen. Filtrát byl za horka zkoncentrován na cca 100 ml, ponechán samovolně krystalizovat. Původně ve vroucím EtOH nerozpuštěný pevný podíl byl stejné kvality jako získané krystaly. Surový butylový derivát byl rozpuštěn v 70 ml vroucího EtOH, za horka přefiltrován, mírně zahuštěn a ponechán samovolně krystalizovat.

3-Fenyl-4-hydroxy-8,9,9-trimetyl-1-fenyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,8-methanochinolin-2(1H)-on

Bílé jemné krystaly, t.t. = 286 °C část tmavne – nastává rozklad, 315 °C část taje, 356 °C ještě pevný podíl, (EtOH), t.t._{lit}³ = 358–361 °C (vyvaření v EtOH), výtěžek: 84 %, $R_f = 0,06$ (10 % EtOH v CHCl₃), $R_f = 0,41$ (30 % EtOAc v CHCl₃).



IČ spektrum (tableta KBr), cm⁻¹: 3048, 2978, 2961, 2874, 1616, 1599, 1568, 1536, 1451, 1430, 1389, 1295, 1269, 1205, 1183, 764, 742, 695.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆), ppm: δ 0,25 (s, 3H, CH₃-C-8), 0,78 (s, 3H, H₃C-C-9-CH₃), 0,82 (s, 3H, H₃C-C-9-CH₃), 1,11–1,21 (m, 1H, H-6α), 1,37–1,48 (m, 1H, H-7α), 1,55–1,66 (m, 1H, H-7β), 1,93–2,03 (m, 1H, H-6β), 3,17 (d, 1H, $J_{H-5,H-6} = 2,7$ Hz, H-5), 7,16 (t, 1H, $J_{H-B4,H-B3} = 7,0$ Hz, H-B4), 7,22–7,30 (m, 4H, H-B3, H-B5, 2 × H-A), 7,38 (d, 2H, $J_{H-B2,H-B3} = 7,8$ Hz, H-B2, H-B6), 7,42–7,52 (m, 3H, H-A3, H-A5, H-A), 9,68 (s, 1H, -OH).

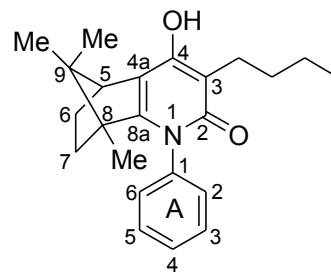
¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆), ppm: δ 11,98 (CH₃-C-8), 19,03 (H₃C-C-9-CH₃), 19,72 (H₃C-C-9-CH₃), 26,20 (C-6), 32,05 (C-7), 46,92 (C-5), 56,15 (C-8), 56,37 (C-9), 108,22 (C-3), 114,08 (C-4a), 125,68 (C-B4), 127,00 (C-B3, C-B5), 131,08 (C-B2, C-B6), 134,78 (C-B1), 138,69 (C-A1), 128,37 (C-A), 128,63 (C-A), 128,64 (C-A), 128,82 (C-A), 129,95 (C-A), 153,02 (C-8a), 158,72 (C-4), 162,68 (C-2).

EA pro C ₂₅ H ₂₅ NO ₂	vypočtené:	80,83 % C	6,78 % H	3,77 % N
	nalezené:	80,79 % C	6,88 % H	3,55 % N

3-Butyl-4-hydroxy-8,9,9-trimetyl-1-fenyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,8-methanochinolin-2(1H)-on

Bílá jemná vata, t.t. = 296–299 °C (EtOH), t.t._{lit}³ = 289–291 °C (BuOH), výtěžek: 21%, R_f = 0,51 (30 % EtOAc v CHCl₃).

IČ spektrum (tableta KBr), cm⁻¹: 3061, 3040, 2955, 2931, 2872, 1619, 1567, 1535, 1434, 1388, 1246, 1209, 1165, 1114, 768, 693, 622.



¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆), ppm: δ 0,21 (s, 3H, CH₃-C-8), 0,74 (s, 6H, H₃C-C-9-CH₃), 0,86 (t, 3H, $J_{\text{CH}_3, \text{CH}_2} = 7,2$ Hz, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1,01–1,10 (m, 1H, H-6 α), 1,22–1,39 (m, 5H, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₃, H-7 α), 0,86 (t, 3H, $J_{\text{CH}_3, \text{CH}_2} = 7,2$ Hz, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1,54 (ddd, 1H, $J_{\text{H-7}\beta, \text{H-7}\alpha} = 12,4$ Hz, $J_{\text{H-7}\beta, \text{H-6}\alpha} = 9,1$ Hz, $J_{\text{H-7}\beta, \text{H-6}\beta} = 3,6$ Hz, H-7 β), 1,88–1,98 (m, 1H, H-6 β), 2,36 (tt, 2H, $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2, \text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2} = 8,2$ Hz, $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2, \text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2} = 4,2$ Hz, -CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 3,06 (d, 1H, $J_{\text{H-5}, \text{H-6}} = 3,3$ Hz, H-5), 7,13–7,22 (m, 2H, H-A), 7,40–7,51 (m, 3H, H-A), 9,52 (s, 1H, -OH).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆), ppm: δ 12,01 (CH₃-C-8), 13,99 (-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 19,03 (H₃C-C-9-CH₃), 19,64 (H₃C-C-9-CH₃), 22,36 (-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 23,45 (-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 26,19 (C-6), 30,40 (-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 32,05 (C-7), 46,83 (C-5), 56,00 (C-8), 56,14 (C-9), 107,98 (C-3), 113,95 (C-4a), 128,20 (C-A), 128,57 (C-A), 128,62 (C-A), 128,72 (C-A), 129,92 (C-A), 138,91 (C-A1), 150,63 (C-8a), 158,70 (C-4), 163,46 (C-2).

HRMS (ESI⁺) pro C₂₃H₃₀NO₂⁺ ([M+H]⁺): vypočítané: 352,2271, nalezené: 352,2271.

EA pro C ₂₃ H ₂₉ NO ₂	vypočtené:	78,59 % C	8,32 % H	3,99% N
	nalezené:	78,38 % C	8,64 % H	3,72 % N

5.4.2 Kondenzace nečištěného *N*-cyklohexylidenbenzenaminu s fenylmalonátem

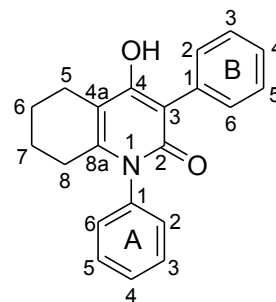
K bis(2,4,6-trichlorfenyl)fenyl-malonátu (2,6824 g; 4,98 mmol) byl za laboratorní teploty přikapán nečištěný anil (5,05 mmol). Směs byla 30 minut zahřívána na vytemperované kovové lázni o teplotě 250 °C. Po ochlazení byla vzniklá viskózní hmota macerována 5 × 25 ml PE, čímž postupně vznikal béžový amorfni prášek, který byl dále přefiltrován přes fritu,

promyt 30 ml PE a vysušen. Získaný surový produkt byl následně rozpuštěn ve 20 ml vroucího EtOH, za horka přefiltrován, mírně zahuštěn a ponechán samovolně krystalizovat.

1,3-Difenyl-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochinolin-2(1H)-on

Světle hnědý amorfni prášek, t.t. = 235–238 °C (EtOH), výtěžek: 52%, $R_f = 0,59$ (5 % EtOH v CHCl_3).

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1} : 3059, 2942, 1633, 1599, 1570, 1542, 1386, 1298, 1250, 1185, 1165, 1092, 747, 716, 693.



^1H NMR (500 MHz, CDCl_3), ppm: δ 1,65–1,79 (m, 4H, H-6, H-7), 2,16 (t, 2H, $J = 5,6$ Hz, H-8), 2,58 (t, 2H, $J = 5,5$ Hz, H-5), 5,95 (s, 1H, OH), 7,17–7,25 (m, 2H, H-A2, H-A6), 7,34 (ddd, 1H, $J = 8,6, 4,4, 2,0$ Hz, H-B4), 7,37–7,42 (m, 1H, H-A4), 7,42–7,53 (m, 6H, H-A3, H-A5, H-B2, H-B3, H-B5, H-B6).

^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3), ppm: δ 21,66 (C-6), 21,89 (C-5), 22,54 (C-7), 28,91 (C-8), 107,64 (C-4a), 110,26 (C-3), 128,21 (C-B4), 128,40 (C-A4), 128,72 (C-A2, C-A6), 129,40 (C-B3, C-B5), 129,54 (C-A3, C-A5), 130,79 (C-B2, C-B6), 131,73 (C-B1), 138,90 (C-A1), 143,64 (C-8a), 159,96 (C-4), 162,68 (C-2).

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce vznikla na základě požadavků Laboratoře Mikrobiologie, Parazitologie a Hygieny na Antverpské univerzitě v Belgii, která v tu dobu testovala tuberkulostatické účinky mnoha různých sloučenin, jejichž základní motivy jsou popsány v úvodu práce, připravených na ústavu chemie. Jelikož nejvíce pozitivní výsledky poskytly 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-ony, chtěli taktéž vyzkoušet jejich analogy, které by neobsahovaly benzenový aromatický kruh. Z tohoto důvodu byla náplň bakalářské práce směřována k přípravě několika 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onů spojených s nasyceným kruhem.

Prakticky jedinými vhodnými prekurzory pro jejich syntézu, jak naznačovaly vyhledané literární zdroje, jsou iminy cyklických uhlovodíků. Nalezené postupy přípravy nám navozovali milnou představu, že se bude jednat o jednoduchou syntézu, ovšem při přikročení k praktickým experimentům, jsme se setkali s různými překážkami. Prvně byly zkoušeny pokusy o přípravu anilu přes Streckerův meziproduct, získaný reakcí cyklohexanonu s anilinem a kyanidem draselným v kyselině octové, ze kterého se, z důvodu vysoké nestability vznikajícího anilu, při různých podmínkách nepodařilo eliminovat kyanovodík. Proto byly vyzkoušeny různé způsoby přímé kondenzace cyklohexanonu s anilinem. Z nich se nejvíce osvědčila reakce v přítomnosti molekulového síta za laboratorní teploty, kterou bylo možné, dle GC-MS analýzy, přeměnit výchozí látku na žádaný anil, jež měl v surové směsi relativní zastoupení 74 %.

Během značného úsilí vynaloženého v laboratoři ÚCH se úspěšně podařilo syntetizovat 3 cyklické deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu. Dva z nich, kafrové deriváty, se poměrně snadno připravily tavením čistého racemického kafroanilu s trichlorfenylovými estery substituované malonové kyseliny při teplotě 220 °C. Z důvodu neúspěšné separace *N*-cyklohexylidenbenzenaminu od vedlejších produktů a výchozích látek byla pro kondenzaci s fenylnalonátem použita surová směs. Z reakce byl, vedle 3-fenyl-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onu vzniklého konkurenční reakcí přítomného anilinu ve výchozí směsi, 1,3-difenyl-5,6,7,8-tetrahydro-4-hydroxychinolin-2(1*H*)-on izolován v dobrém výtěžku.

Na základě získaných, ne příliš pozitivních výsledků tuberkulostatických testů na kmeni bakterie *Mtb* H37Ra^{lux}, nebyly kafrové deriváty 4-hydroxypyridin-2(1*H*)-onu blíže studovány z hlediska genotoxicity a cytotoxicity.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ McMurry, J.. *Organická chemie*. V Brně: VUTIUM [2007]. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-3291-8.
- ² Jessen, H. J.; Gademann K.. *Natural Product Reports*, [2010], vol. 27, 1168–1185.
DOI: 10.1039/b911516c
- ³ Kafka, S.; Aigner, R.; Kappe, T.. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [2006], vol. 43, 1105–1109.
- ⁴ Cook, P. D.; Day, R. T.; Robins, R. K.. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, [1977] vol. 14, 1295–1298. DOI:10.1002/jhet.5570140801
- ⁵ Kappe, T.; Schnell B.. *Journal of Heterocyclic Chemistry* [1996], vol. 33, 663–670.
- ⁶ De Macedo, M. B.; Kimmel, R.; Urankar, D.; Gazvoda, M.; Peixoto, A.; Cools, F.; Torfs, E.; Verschaeve, L.; Lima, E. S.; Lyčka, A.; Miličević, D.; Klásek, A.; Cos, P.; Kafka, S.; Košmrlj, J.; Cappoen, D.. *European Journal of Medicinal Chemistry*, [2017], vol. 138, 491–500
- ⁷ Ukrainets, I. V.; Kolesnik, E. V.; Sidorenko, L. V.; Gorokhova, O. V.; Turov, A. V.. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* [2006], vol. 42, 765–775. DOI: 10.1007/s10593-006-0159-2
- ⁸ Ng, P.S.; Manjunatha U. H.; Rao, S. P. S.; Camacho, L. R.; Ma, N. L.; Herve, M.; Noble, C. G.; Goh, A.; Peukert, S.; Diagana, T. T.; Smith, P. W.; Kondreddi, R. R.. *European Journal of Medicinal Chemistry* [2015], vol. 106, 144–156.
DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.10.008
- ⁹ Cocco, M. T.; Congiu, C.; Onnis V.. *European Journal of Medicinal Chemistry* [2000], vol. 35, 545–552. DOI: 10.1016/S0223-5234(00)00149-5
- ¹⁰ HAMPL, F., RÁDL, S., PALEČEK, J. *Farmakochemie*. 2. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, [2011], 450 s. ISBN 978-80-7080-639-5.
- ¹¹ ANDERSSON, M., MACGOWAN, A. P. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. [2003], vol. 51, 1–11.
- ¹² Kemp, J. A ; Leeson, P. D.. *Trends in Pharmacological Sciences*. [1993], vol. 14, 20–25.

- ¹³ Kulagowski, J. J.; Baker, R.; Curtis, N. R.; Leeson, P. D.; Mawer, I. M.; Moseley, A. M.; Ridgill, M. P.; Rowley, M.; Stansfield, I.; Foster, A. C.; Grimwood, S.; Hill, R. G.; Kemp, J. A.; Marshall, G. R.; Saywell, K. L.; Tricklebank, M. D.. *Journal of Medicinal Chemistry*. [1994], vol. 37, 1402–1405
- ¹⁴ Rowley, M.; Leeson P.; Grimwood S.; Marshall G.; Saywell K.. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, [1995], vol. 5, 2089–2092. DOI: 10.1016/0960-894X(95)00374-3
- ¹⁵ Rivkin, A.; Kim Y. R.; Goulet M. T.; Bays, N.; Hill, A. D.; Kariv, I.; Krauss, S.; Ginanni, N.; Strack, P. R.; Kohl, N. E.; Chung, C. C.; Varnerin, J. P.; Goudreau, P. N.; Chang, A.; Tota, M. R.; Munoz, B.. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* [2006], vol. 16, 4620–4623. DOI: 10.1016/j.bmcl.2006.06.014
- ¹⁶ Smyth, W. F.; Morgan, J. L.; O’Kane, E.; Millar, T. J.; Ramachandran, V. N.. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. [2011], vol. 25, 1308–1314.
- ¹⁷ Grey, A. I.; Waterman, P. G.. *Phytochemistry*. [1978], vol. 17, 845–864.
- ¹⁸ Smodiš, J.; Stanovnik B.. *Tetrahedron* [1998], vol. 54, 9799–9810 . DOI: 10.1016/S0040-4020(98)00534-1
- ¹⁹ Witiak, D. T.; Kim, S. K.; Tehim, A. K.; Sternitzke, K. D.; McCreery, R. L.; Kim, S. U.; Feller, D. R.; Romstedt, K. J.; Kamanna, V. S.; Newman, H. A. I.. *Journal of Medicinal Chemistry*. [1988], vol. 31, 1437–1445.
- ²⁰ Thaisrivongs, S.; Watenpaugh, K. D.; Jeffrey Howe, W.; Tomich, P. K.; Dolak, L. A.; Chong, K. T.; Tomich, Ch. S. C.; Tomasselli, A. G.; Turner, S. R.. *Journal of Medicinal Chemistry*. [1995], vol. 38, 3624–3637
- ²¹ Buckle, D. R.; Cantello, B. C. C.; Smith, H.; Spicer, B. A.. *Journal of Medicinal Chemistry*. [1975], vol. 18, 726–732
- ²² Garcia, L. S.. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, Volumes 1-3 (3rd Edition). American Society for Microbiology (ASM). [2010] Online version available at: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpCMPHVE03/clinical-microbiology/clinical-microbiology>
- ²³ Ukrainets, I. V.; Kolesnik, E. V.; Sidorenko, L. V.; Gorokhova, O. V.; Turov, A. V.. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* [2006], vol. 42, 765–775. DOI: 10.1007/s10593-006-0159-2

- ²⁴ SVOBODA, Jiří. Organická syntéza I. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2000. ISBN isbn80-7080-385-1.
- ²⁵ Sell, M. S.; Klein, W. R.; Rieke, R. D.. *The Journal of Organic Chemistry*. [1995], vol. 60, 1077–1080.
- ²⁶ Taguchi, K.; Westheimer, F. H.. *The Journal of Organic Chemistry*. [1971], vol. 36, 1570–1572.
- ²⁷ Botta, M.; De Angelis, F.; Gambacorta, A.; Labbiento, L.; Nicoletti, R.. *The Journal of Organic Chemistry*. [1985], vol. 50, 1916–1919.
- ²⁸ Drew, E. W.; Ritchie, P. D.. *Chemistry and Industry*. [1952], vol. 8, 1104.
- ²⁹ Bain, W. C.; Ritchie, P. D.; Wright, A. E.. *Journal of the Chemical Society*. [1964], vol. 0, 1454–1463.
- ³⁰ Arora, P.; Rajput, J. K.; Singh, H.. *RSC Advances*, [2015], vol. 5, 97212–97223

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AcOH	Kyselina octová
AcOK	Octan draselný
Be	Benzen
Bu	Butyl
CoA	Koenzym A
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimetylsulfoxid
EA	Elementární analýza
ekviv.	Ekvivalent
Et	Ethyl
Et ₂ O	Diethylether
Et ₃ N	Triethylamin
EtOAc	Ethyl-acetát
EtOH	Ethanol
FAS	Syntáza mastných kyselin (Fatty acid synthase)
GC-EI-MS	Plynová chromatografie s hmotnostním detektorem
GI	Inhibice růstu (Growth inhibition)
HIV	Virus lidské imunitní nedostatečnosti (Human Immunodeficiency Virus)
HRMS	Vysoce rozlišující hmotnostní spektrometrie (High resolution mass spektrometry)
IČ	Infračervená spektroskopie
Me	Methyl
MeOH	Methanol
<i>Mtb</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NCI	National cancer institut
NMDA	<i>N</i> -Methyl- <i>D</i> -aspartát
NMR	Nukleární magnetické resonance
PCA	Pasivní kožní anafylaxe
PE	Petrolether
Ph	Fenyl
<i>R_f</i>	Retenční faktor
RNA	Ribonukleová kyselina
RTG	Rentgen
RVO	Rotační vakuová odparka
t.t.	Teplota tání
<i>t</i> -BuOH	Terciální butanol

$t\text{-BuO}^-\text{K}^+$	Terciální butanolát draselný
TLC	Tenkvrstvá chromatografie
UZ	Ultrazvuk
WHO	Světová zdravotnická organizace

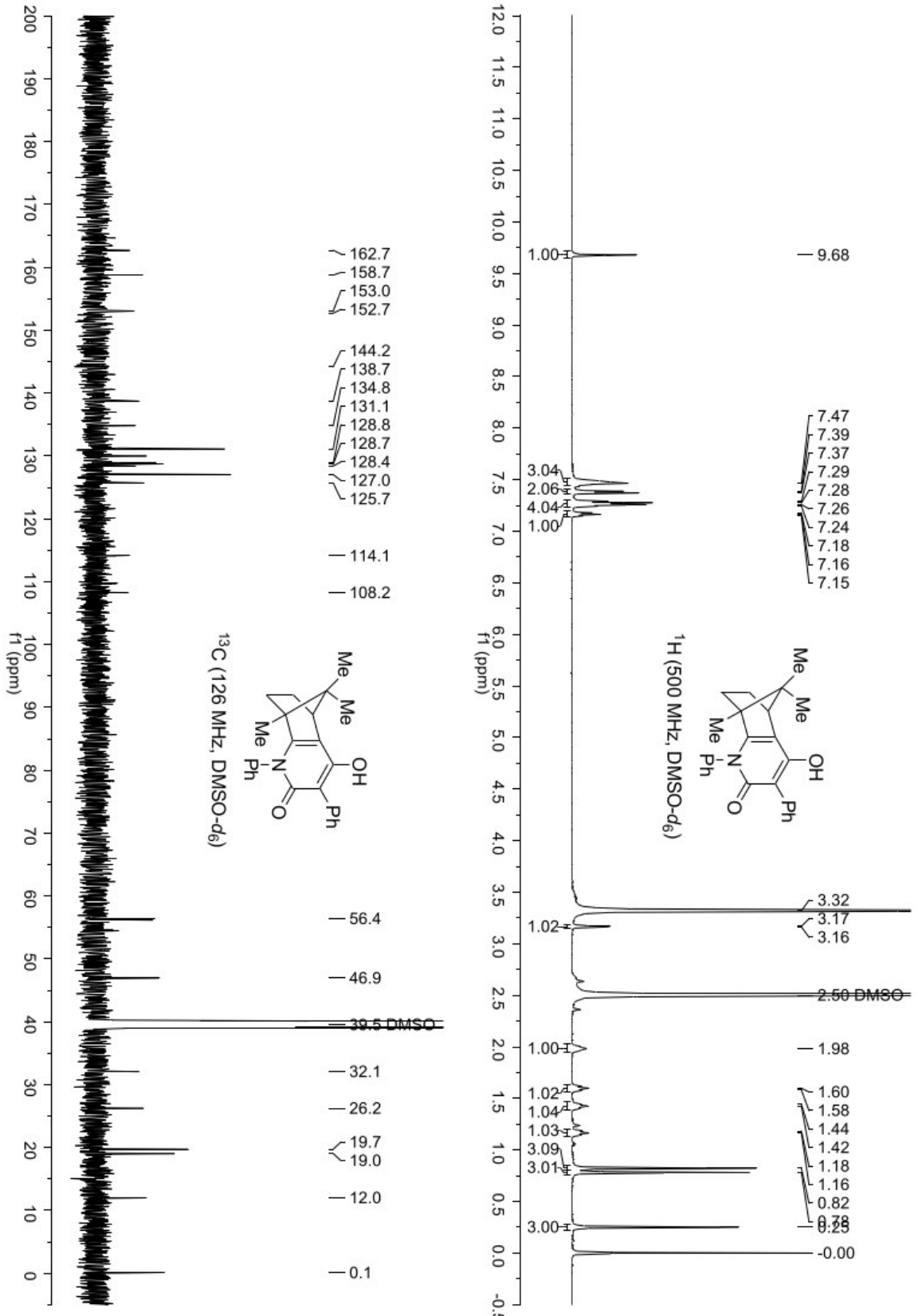
SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. ORTEP diagram získaný RTG difrakční analýzou monokrystalu látky 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu.....	25
Obrázek 2. Uspořádání molekul látky 1-(fenylamino)cyklohexankarbonitrilu v krystalu (vodíkové atomy, které se neúčastní mezimolekulárních interakcí, nejsou pro lepší přehlednost zobrazeny)	26
Obrázek 3. Přehled testovaných sloučenin na tuberkulostatické účinky s výsledky jejich působení	34

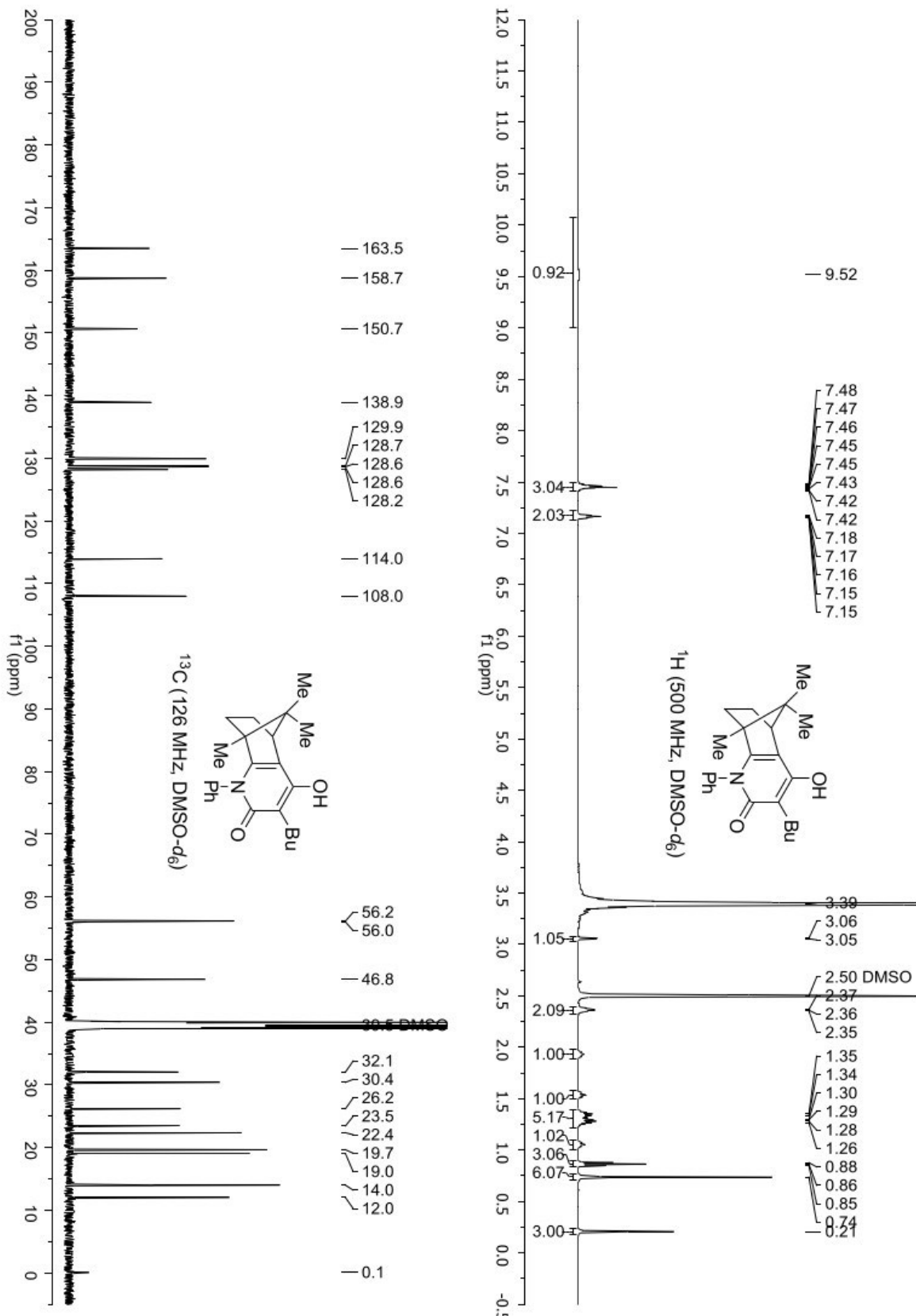
SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1. ^1H NMR a ^{13}C NMR sloučeniny 3-fenyl-4-hydroxy-8,9,9-trimetyl-1-fenyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,8-methanochinolin 2(1 <i>H</i>)-onu	52
Příloha 2. ^1H a ^{13}C NMR sloučeniny 3-butyl-4-hydroxy-8,9,9-trimetyl-1-fenyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,8-methanochinolin 2(1 <i>H</i>)-onu	53
Příloha 3. ^1H a ^{13}C NMR sloučeniny 1,3-Difenyl-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochinolin-2(1 <i>H</i>)-on	54

Příloha 1. ^1H NMR a ^{13}C NMR sloučeniny 3-fenyl-4-hydroxy-8,9,9-trimetyl-1-fenyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,8-methanochinolin 2(1*H*)-onu



Příloha 2. ^1H a ^{13}C NMR sloučeniny 3-butyl-4-hydroxy-8,9,9-trimetyl-1-fenyl-5,6,7,8-tetrahydro-5,8-methanochinolin 2(1*H*)-onu



Příloha 3. ^1H a ^{13}C NMR sloučeniny 1,3-Difenyl-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochinolin-2(1*H*)-on

