

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Katedra organické a jaderné chemie



Syntéza biologicky aktivních látek na bázi kyseliny etakrynové

**Synthesis of new biologically active ethacrynic
acid derivatives**

Stanislav Opekar

Diplomová práce
Obor: Organická chemie
Praha 2008/2009

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně pod vedením školitele Prof. RNDr. Martina Kotory, CSc a uvedl všechny použité literární prameny.

V Praze dne

Obsah

Seznam zkratek.....	4
1. Úvod do problematiky.....	6
1.1. Biologická aktivita kyseliny etakrynové.....	6
1.1.1. Diuretické vlastnosti kyseliny etakrynové.....	6
1.1.2. Souvislost metabolismu kyseliny etakrynové, glutathionu a enzymů třídy glutathion transferáz.....	9
1.1.3. Léčba glaukomu, další metabolické souvislosti a toxicita etakrynové kyseliny.....	13
1.1.4. Virus vakcinie a antivirotické účinky etakrynové kyseliny...	14
1.2. Způsoby přípravy etakrynové kyseliny a jejích esterů.....	18
1.3. Příprava a vlastnosti esterů.....	22
1.3.1. Přehled základních esterifikačních metod.....	23
1.3.2. Esterifikace pomocí karbodiimidů a dimethylaminopyridinu..	27
2. Cíl práce.....	31
3. Výsledky práce a diskuze.....	32
3.1. Příprava esterů pomocí Steglichovy esterifikace.....	32
3.1.1. Příprava esterů z nasycených alifatických alkoholů.....	33
3.1.2. Příprava esterů z nenasycených alifatických alkoholů.....	36
3.1.3. Příprava esterů z fluorovaných alkoholů.....	37
3.1.4. Příprava esterů z alkoholů odvozených od ferrocenu.....	39
3.2. Příprava esterů jinými metodami.....	41
3.3. Derivatizace α,β -nenasyceného ketonu.....	44
3.3.1. Derivatizace dvojně vazby methylesteru EA pomocí metathese.	44
3.3.2. Derivatizace dvojně vazby methylesteru EA pomocí Heckovy reakce.....	45
3.4. Metathetické derivatizace esterů.....	46
3.4.1. Zkřížené metathese na dvojných vazbách s allylesterem EA....	46
3.4.2. Zkřížené metathese na trojných vazbách s pent-3-yn-1-ylesterem EA.....	49
3.5. Příprava výchozích látek.....	51
3.6. Testování získaných látek na biologickou aktivitu.....	53
4. Experimentální část.....	54

4.1. Obecné metody.....	54
4.2. Syntéza esterů kyseliny etakrynové.....	56
4.3. Příprava esterů jinými metodami.....	70
4.4. Derivatizace esterů kyseliny etakrynové.....	72
4.5. Příprava výchozích látek.....	78
5. Závěr.....	80
6. Seznam použité literatury.....	81
Poděkování.....	89

Seznam použitých zkratk a symbolů

Ac	acetyl
AK	aminokyselina
Ar	aryl
Bu	butyl
bs	„broad singlet“, široký singlet
CAN	„ceric-ammonium nitrate“, dusičnan diamonno-ceričitý
CP	cystein proteáza
CDV	cidofovir
<i>cis</i> -DDP	<i>cis</i> -platina
d	dublet
dd	dublet dubletu
DCC	„N, N'-dicyclohexylcarbodiimide“, N,N'-dicyklohexyl karbodiimid
DCU	„N, N'-dicyclohexylurea“, N-N'-dicyklohexyl močovina
ddq	dublet dubletu kvartetu
dq	dublet kvartetu
dt	dublet tripletu
DEAD	„diethyl azodicarboxylate“, diethyl-azodikarboxylát
DEBC	„diethyl bicarbamate“, diethyl-bikarbamát
DMAP	<i>p</i> -(dimethylamino)pyridin
DRIFT	„diffuse reflectance infra-red Fourier transform“, infračervená spektroskopie
DR 5	„death receptor 5“
EA	„etacrylic acid“, etakrynová kyselina
EI	elektronová ionizace, hmotnostní spektroskopie
ESI	ionizace elektrosprejem, hmotnostní spektrometrie
Et	ethyl
EWG	„electron withdrawing group“, elektron-odtahující skupina
FAB	„fast atom bombardment“, hmotnostní spektrometrie
FDA	„US food and drug administration“, americký státní úřad pro kontrolu potravin a léků
GC	plynová chromatografie
GSH	redukováná forma glutathionu

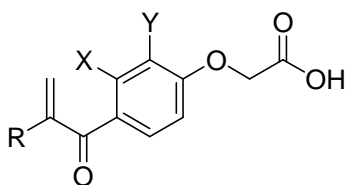
GST	glutathion-S-transferáza
H-G II	Hoveydův-Grubbsův katalyzátor
HL-60	lidská promyelocytická leukemie
HR-MS	„high resolution“ hmotnostní spektrometrie
IOP	„intraocular pressure“, nitrooční tlak
IR	„infrared spectroscopy“, infračervená spektroskopie
<i>J</i>	interakční konstanta
kat	katalyzátor
LA	α -lipoic acid, α -lipoová kyselina
m	multiplet
MCPBA	„ <i>m</i> -(chloro)peroxybenzoic acid“, <i>m</i> -(chlor)peroxobenzoová kyselina
Me	methyl
MDR	„multi drug resistance“, mnohočetná léková rezistence
MS	hmotnostní spektroskopie
PET	polyethylenglykol-tereftalát
Ph	fenyl
Pr	propyl
q	kvartet
<i>R_f</i>	retenční faktor
RVO	rotační vakuová odparka
s	singlet
δ	chemický posun
t	triplet
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstevná chromatografie
tt	triplet tripletu
ν	vlnočet (cm^{-1})
VACV	„vaccinia virus“, virus vakcinie
VIG	„vaccinia immune globulin“, hyperimunní globulin
WHO	„world health organization“, světová zdravotnická organizace

1. Úvod do problematiky

1.1. Biologická aktivita kyseliny etakrynové

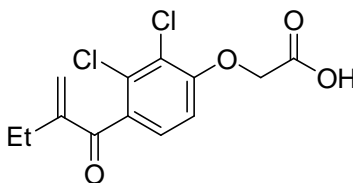
1.1.1. Diuretické vlastnosti kyseliny etakrynové

Na přelomu 50. a 60. let byla vyvíjena nová léčiva skupiny diuretik na bázi derivátů aryloxyoctové kyseliny substituované α,β -nenasyceným ketonem **I**. Do klinické praxe pronikla z této skupiny látek především kyselina etakrynová (EA) **II**, která se v 60. letech začala vyrábět a používat například pod obchodním názvem Edecrin® pro perorální aplikaci nebo Sodium Edecrin® pro infuzní podání. Do té doby se používaly jako diuretika především sulfonamidy thiazidového typu (např. chlorthiazid **III**), které však v mnohých případech vyvolávaly alergickou reakci a znemožňovaly tak širokou aplikaci¹.

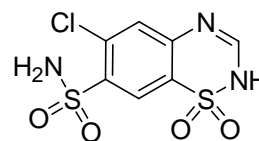


R = Me, Et, Pr, n-Bu, atd.
X, Y = H, Me, Cl, Br

I



II



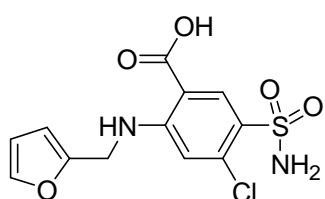
III

Etakrynová kyselina (EA) **II** patří například spolu s furosemidem **IV** do skupiny tzv. kličkových diuretik, která inhibují zpětnou resorpci sodných a chloridových iontů ve vzestupném tlustém raménku Henleovy kličky. Kličková diuretika mají v porovnání s ostatními výrazně větší účinek a způsobují též zvýšené vylučování vápenatých a hořečnatých iontů. Chronické užívání kličkových diuretik může tudíž způsobovat hypomagnesemii. Výrazné vylučování vápníku při užívání kličkových diuretik může být využito k léčbě akutní hyperkalcemie^{2,3,4}.

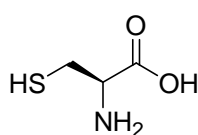
Ohledně molekulárního mechanismu diuretického účinku etakrynové kyseliny byly navrženy různé teorie již v 70. letech⁵. Je známo, že různé nukleofily (mimo jiné látky s volnými SH skupinami) mohou reagovat s α,β -nenasyceným ketonovým

uskupením EA ve smyslu Michaelovy adice⁵. Jedna z teorií diuretického účinku je založena na reakci kyseliny etakrynové s SH skupinami proteinů v ledvinové tkáni⁵.

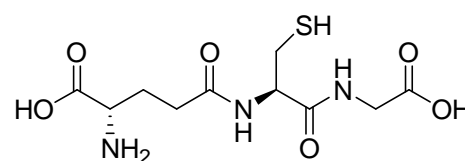
Další možnost předpokládá reakci EA (metabolickou aktivaci) s nukleofilem, jako je AK cystein **V** nebo redukovaný tripeptid glutathion (GSH) **VI**. Tuto teorii podporují následující zjištění: rychlost *in vitro* reakce cysteinu s kyselinou etakrynovou koreluje s rychlostí diuretické odpovědi organismu po intravenózním podání EA. Dále EA a její Michaelovský adukt s cysteinem **VII** mají stejný diuretický účinek. V neposlední řadě bylo zjištěno *in vivo*, pomocí uhlíkem značené EA, že detoxikace probíhá přes její cysteinový adukt **VII**⁵.



IV

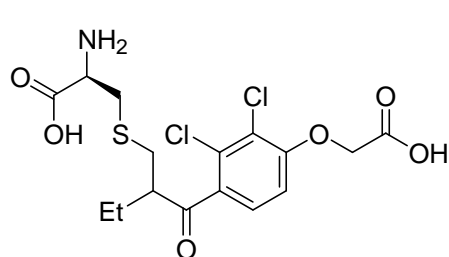


V

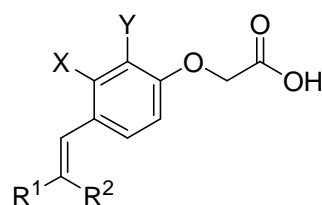


VI

Nedá se ovšem ani vyloučit možnost, že v ledvinové tkáni dochází k substituci cysteinu v příslušném aduktu **VII** za jiné nukleofilní částice (například SH skupiny proteinů ledvinové tkáně) nebo k retro-Michaelově adici a aktivní částicí je kyselina etakrynová. Cystein by tak fungoval pouze jako transportér EA ke tkáni a z těla ven⁵.



VII



R^{1,2} = H, Me, Ac, NO₂, apd.
X, Y = H, Cl, OMe

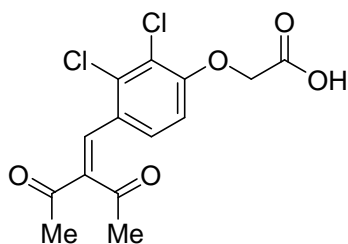
VIII

Existují i další studie, kde je diuretický účinek kyseliny etakrynové vysvětlován její metabolickou aktivací cysteinem. *In vitro* testy byla zkoumána změna transepitelárního elektrického potenciálu králíčích ledvin. Michaelovský adukt cysteinu

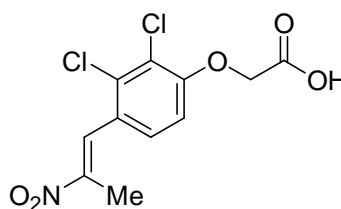
s etakrynovou kyselinou vykazoval stejný pokles potenciálu jako několikanásobně větší množství EA⁶.

I teorie přímého účinku EA ve formě α,β -nenasyceného ketonu, bez metabolické aktivace, je podporována některými studiemi. *In vivo* testy byla zkoumána diuretická aktivita různých analogů EA u psů. Pouze analoga, u kterých se dala očekávat metabolická transformace na etakrynovou kyselinu, vykazovala diuretický účinek. EA a jejímu cysteninovému aduktu příbuzné látky, které nebyly schopné metabolické aktivace v α,β -nenasycenou strukturu, příslušný diuretický účinek nevykazovaly^{5,7,8}.

Byly připraveny látky odvozené od EA, které vykazují třikrát až pětkrát větší diuretickou odpověď. Jedná se o látky se základním skeletem (vinylaryloxy)octové kyseliny **VIII**. Stejnou diuretickou reakci při méně jak poloviční dávce vykazovala například (*E*)-[2,3-dichlor-4-(2,2-diacetylvinyl)-fenoxy]octová kyselina **IX**, nebo (*E*)-[2,3-dichlor-4-(2-nitropropenyl)-fenoxy]octová kyselina **X**⁹.



IX



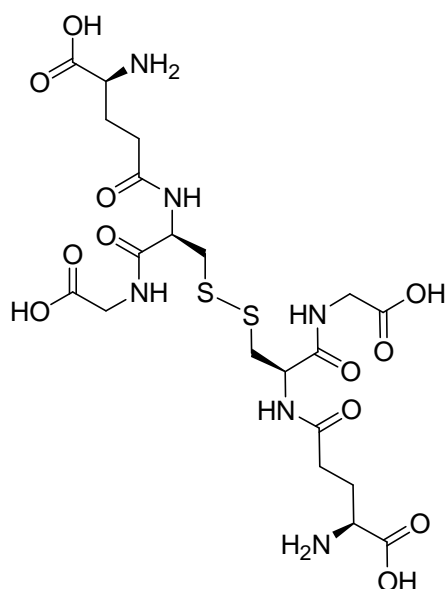
X

Obě teorie vysvětlení diuretického účinku EA, jak přes metabolickou aktivaci, tak přes přímý efekt α,β -nenasyceného ketonu, se vyskytují i v nedávno vydané odborné knize farmakologie¹⁰.

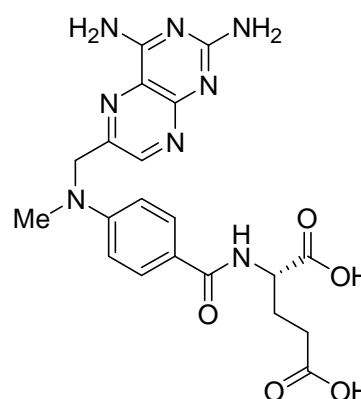
V současné době není EA diuretikem 1. volby, především proto, že nová diuretika jeví menší ototoxicitu a hepatotoxicitu. Přesto jsou látky odvozené od EA neustále předmětem zájmu při léčbě nejrůznějších druhů rakoviny, glaukomu, zánětů nebo i virových onemocnění. V následujících podkapitolách je tato problematika detailněji rozebrána.

1.1.2. Souvislost metabolismu kyseliny etakrynové, glutathionu a enzymů třídy glutathion transferáz

Metabolismus etakrynové kyseliny (EA) je úzce spjatý s metabolismem glutathionu. Glutathion se nachází v buňkách živočichů a většiny rostlin i bakterií v poměrně vysoké koncentraci (0,1 - 10 mmol/l), a to buď ve své redukované **VI**, nebo neredukované formě **XI**. Glutathion hraje důležitou roli v mnoha metabolických pochodech. Například působí jako kofaktor důležitých oxidoreduktáz, podílí se na transportu některých aminokyselin do buňek, svůj význam má i při syntéze leukotrienů. V neposlední řadě konjugace glutathionu s reaktivními endogenními látkami v organismu a xenobiotiky je jedna z nejběžnějších, zejména detoxikačních, reakcí, se kterými se můžeme v organismu setkat^{11,12}.



XI



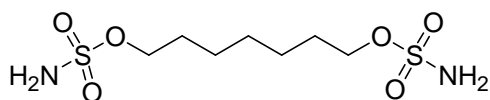
XII

Glutathion je substrát třídy enzymů glutathion S-transferáz (GST, EC 2.5.1.18), která má klíčový význam při metabolických a především detoxikačních reakcích. GST mohou být rozlišeny do čtyř různých skupin (α , μ , π a θ) podle specifické struktury substrátu¹³. Xenobiotika, zejména elektrofilní povahy, reagují za katalýzy GST s glutathionem a ve většině případů následně dochází k jejich exkreci^{14,15}.

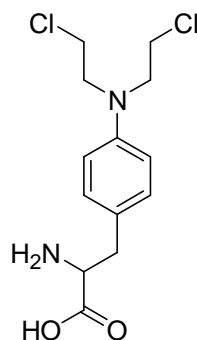
Právě tento detoxikační mechanismus souvisí s mnohočetnou lékovou rezistencí (MDR)^{16,17,18,19}. Zejména skupina μ GST a α GST je spojována s MDR²⁰. S jistotou

bylo zjištěno, že π glutathion S-transferáza P1-1 je produkována v nadbytku v různých rakoviných buňkách, včetně kolorektální rakoviny (rakovina tlustého střeva), rakoviny žaludku, pankreatu, plic, dělohy, děložního hrdla, prsu, dále též u různých druhů leukémie a rakoviny kůže^{17,18}.

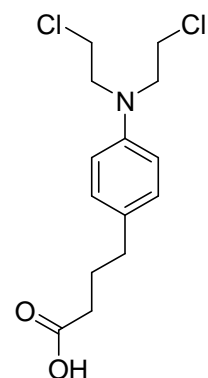
Rakovinná buňka se pomocí mnohočetné lékové rezistence zřejmě snaží zabránit buněčné smrti tak, že chemoterapeutika, jako jsou například alkylační léčiva nebo některá antimetabolitická léčiva, jsou pomocí GST odstraněny z buňky a vyloučeny z organismu²¹. Byla zaznamenána zvýšená aktivita π GST P1-1 u rakoviných buněk rezistentních vůči chemoterapii chlorambucilem²², dusíkatými yperity²³, adriamycin²⁴, doxorubicin²⁴, mitomycin C²⁵, melfalan²⁶, *cis*-DDP²⁷ a hepsulfamu²⁸. Následně byla prokázána tvorba konjugátů GST s různými chemoterapeutiky, například s methotrexátem **XII**²⁹, hepsulfamem **XIII**²⁸, melfalanem **XIV**³⁰ a chlorambucilem **XV**³¹.



XIII

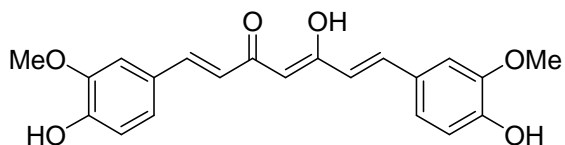


XIV

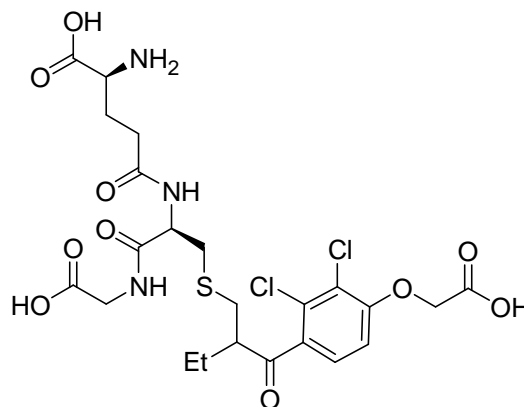


XV

Do dnešní doby bylo syntetizováno velké množství GST-inhibitorů, ale navzdory velkému potenciálu těchto látek se jich málo ukázalo být vhodnými pro klinické testy³². Velmi slibné inhibiční výsledky vykazoval kurkumin **XVI**, obsahová látka v indickém koření kari. α,β -nenasyčené deriváty karbonylových sloučenin a mezi nimi EA i látky odvozené od EA jsou v této souvislosti neustále předmětem zájmu³³.



XVI

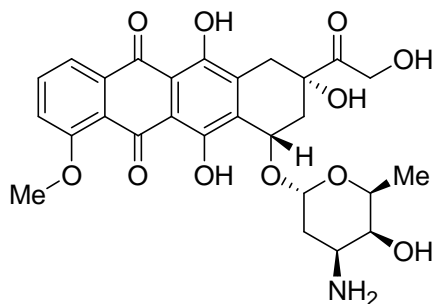


XVII

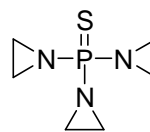
EA je inhibitor α , μ a π třídy glutathion S-transferáz³⁴. Mnoho výzkumných záměrů souviselo s otestováním kyseliny etakrynové jako inhibitoru GST a s překonáním mnohočetné lékové rezistence. EA inhibuje GST *in vitro*^{33,34,35,36,37} a též *in vivo*³⁸. Pomocí rentgenové analýzy byla popsána struktura lidské π glutathion transferázy P1-1 nejenom v komplexu s EA, ale i v komplexu s konjugátem EA s glutathionem **XVII**³². Mechanismus tvorby konjugátu EA s glutathionem byl též předmětem zájmu³⁹.

V této souvislosti je zajímavým zjištěním fakt, že EA je méně toxická pro krysí organismy postižené rakovinou. Rezistence na toxicitu EA zřejmě souvisí se zvýšeným výskytem krysí varianty enzymu GST P1-1 v rakovinných buňkách^{40,41}.

Mnohočetnou lékovou rezistenci se podařilo významně potlačit pomocí etakrynové kyseliny u alkylačního cytostatika yperitového typu chlorambucilu **XV** i u nepostradatelného cytostatika doxorubicinu **XVIII** na rezistentních rakovinných buňkách různých druhů leukemie^{22b,42}. Inhibice π GST P1-1 etakrynovou kyselinou byla zaznamenána při užívání alkylačního cytostatika yperitového typu melfalanu **XIV** při léčbě melanomů u rakoviny kůže³⁷.



XVIII



XIX

V této souvislosti byla EA dokonce použita v klinické praxi u 27 pacientů s pokročilým stadiem rakoviny při léčbě aziridinovým kancerostatikem „thiotepa“ **XIX**. Opět byla pozorována inhibice enzymu π GST P1-1 a též větší senzitivita nádorů k léčivu „thiotepa“ **XIX**. Přes tyto pozitivní účinky kyselina etakrynová stále působila svým diuretickým efektem, způsobovala u pacientů extrémní diurézu, hyperglycemii, hypokalcemii a hypomagnesemii⁴³. Především tyto obtíže znemožnily kyselině etakrynové proniknout do dalších fází testování a klinické praxe jako GST inhibitor^{37,44}. Některé deriváty EA by mohly být specifickými inhibitory GST, a tudíž by se jednalo o látky specificky potlačující mnohočetnou lékovou rezistenci.

Byly zjištěny souvislosti mezi strukturou derivátů EA a jejich antiproliferačním účinkem buněčné linie HL-60, přičemž bylo mimo jiné ukázáno, že esterifikace karboxylové skupiny EA zvyšuje schopnost omezit nádorové bujení¹⁹. Velmi zajímavé výsledky vykazoval butylester etakrynové kyseliny. Tato látka vyvolávala apoptózu v buněčné linii HL-60, související se zvýšenou hladinou reaktivních kyslíkových částic, „death receptoru 5“ (DR 5) a zvýšenou kaspázovou aktivitu (enzym třídy cystein proteáz (CP)). Snížení potenciálu mitochondriální membrány je též připisováno účinkům butylesteru EA. Měření intracelulárních koncentrací buněčné linie HL-60 prokázalo větší schopnost této látky proniknout do buňky oproti samotné etakrynové kyselině. Poslední zjištění zřejmě souvisí s větší lipofilitou esterů EA oproti kyselině etakrynové. Z těchto poznatků autoři usuzují, že butylester EA není pouze látka k překonání MDR, ale sama o sobě je schopná indukovat zvýšenou hladinu kyslíkových částic, které pak způsobí apoptózu rakovinných buněk⁴⁵.

1.1.3. Léčba glaukomu, další metabolické souvislosti a toxicita etakrynové kyseliny

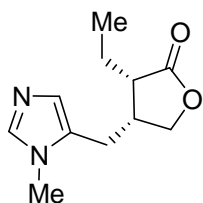
Hepatotoxicita etakrynové kyseliny je známa od počátku klinického užívání této látky⁴⁶. Některé články uvádějí informace o spojení metabolismu etakrynové kyseliny s glutathionem ve smyslu tvorby Michaelovských aduktů **XVII** v játrech⁴⁷. *In vitro* testy izolovaných krysích jater prokázaly souvislost mezi podáním etakrynové kyseliny a radikálovou peroxidací lipidů v jaterní tkáni⁴⁷. Je vysoce pravděpodobné, že hepatotoxicita EA souvisí s odčerpáváním mitochondriálních zásob GSH etakrynovou kyselinou⁴⁸. Dále bylo zjištěno, že se EA v nižších koncentracích, než použitých pro studium hepatotoxicity, váže na cytoskeletální komponenty, a zmírňuje se tak její toxicita^{49,50}. Detailní metabolické souvislosti jsou stále předmětem zkoumání^{47,50}.

Odčerpávání mitochondriálních zásob ATP bylo pozorováno při buněčné smrti indukované etakrynovou kyselinou^{48,51}.

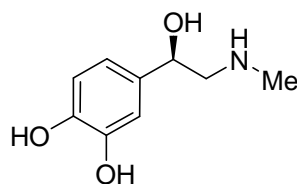
Na konci 60. let byla publikována studie o protizánětlivých účincích EA u krys⁵². V 90. letech byla prokázána inhibice tvorby oxidu dusnatého⁵³ a uvolnění interleukinu IL-6 pomocí EA⁵⁴. Některé protizánětlivé účinky EA mohou být přisuzovány metabolismu leukotrienů⁵⁴, avšak je možné, že EA má tyto účinky díky ovlivnění přepisu DNA do RNA při transkripci. Některé studie mluví o inhibici syntézy transkripčního faktoru NF- κ -B, který je zodpovědný za regulaci exprese více jak 150 genů⁵⁵.

Exo-methylenová skupina konjugovaná ke karbonylu v etakrynové kyselině **II** je opět s nejvyšší pravděpodobností odpovědná za alkylaci thiolových skupin buď přímo NF- κ -B proteinu, nebo nepřímo glutathionu, jehož metabolismus je spjatý s NF- κ -B^{56,57}.

Zvýšený nitrooční tlak (IOP) velmi často souvisí s glaukomem (zelený zákal), který bez terapie často vede k nenávratným poruchám vidění až k oslepnutí⁵⁸. V současné době je stále vyvíjena chemoterapie k snížení nitroočního tlaku. Za těmito účely byl zkoumán pilokarpin **XX**, β -adrenergní antagonisté, epinefrin **XXI** a jeho deriváty, různé prostaglandiny a inhibitory třídy enzymů karboanhydráz⁵⁹.

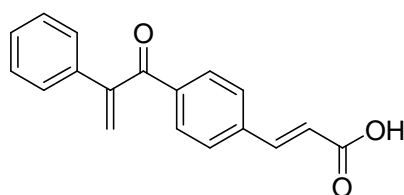


XX

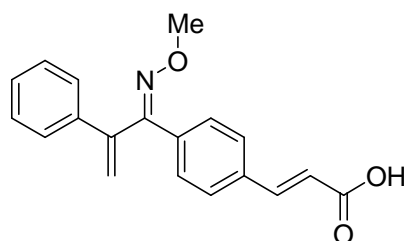


XXI

Při chemoterapii etakrynovou kyselinou byl pozorován zvýšený oční odtok u telat a u opic^{60,61,62}. Přestože etakrynová kyselina byla již testována v klinické praxi při léčbě glaukomu se slibnými výsledky⁶³, její vedlejší účinky, ale i snaha o větší efektivitu, vyvolávají zájem o deriváty EA^{61,62,64}. Byl vyvinutý nový netoxický derivát EA, SA9000 **XXII**⁶⁵, který měl při aplikaci u koček a opic širší terapeutický index^{66,67}. SA12590 **XXIII**, derivát látky SA9000, má ještě slibnější výsledky⁶⁸. Mechanismus účinku těchto látek ale stále zůstává nejasný⁶⁸.



XXII



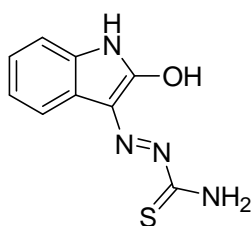
XXIII

1.1.4. Virus vakcinie a antivirotické účinky etakrynové kyseliny

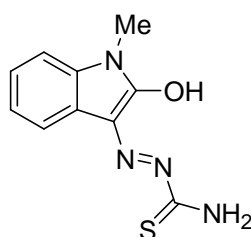
Pravé neštovice (*variola*) nejsou v současné době běžná choroba, a to díky úspěšnému projektu WHO, který se týkal plošného očkování celé populace a následného vymýcení pravých neštovic v roce 1980⁶⁹. Přesto v poslední době znovu stoupá v souvislosti s bioterorismem zájem o znovuzavedení očkování proti tomuto virovému onemocnění.

Virus vakcinie (*vaccinia*, VACV), zástupce poxvirů a jeden z rozměrově největších virů (200-300 nm), je známý především svou úlohou, kterou sehrál při přípravě očkovacích látek proti pravým neštovicím. Nicméně dříve používané vakcíny (virový kmen *vaccina*) a téměř určitě i nové vakcíny (založené na stejném virovém

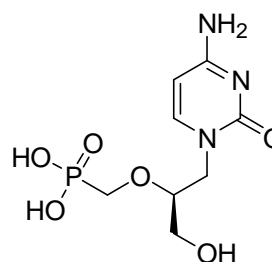
kmenu, ale na jiném druhu vývojové tkáňové kultury ACAM2000) představují riziko svými postvakcinálními komplikacemi⁷⁰. Nejzávažnějšími potížemi popsány při očkování byla progresivní vakcinie (*vaccinia necrosum*), postvakcinační encefalitida a vakcinii zapříčiněné ekzémy (*eczema vaccinatum*)⁷¹. Další komplikace, myoperikarditida, byla popsána nejen při vakcinaci pomocí dříve používané tkáňové kultury u příslušníků americké armády⁷², ale i při vakcinaci s využitím nové tkáňové kultury ACAM2000⁷⁰.



XXIV



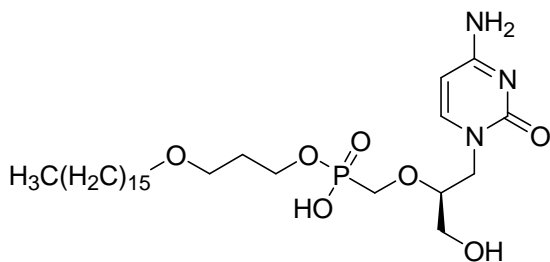
XXV



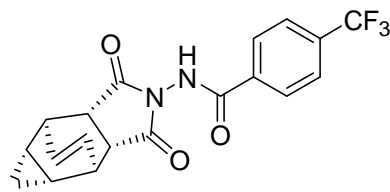
XXVI

Současné možnosti poxvirové terapie jsou velmi omezené. V minulosti byly využity v poxvirové prevenci i chemoterapii deriváty thiosemikarbazonů, ale jejich efektivita nebyla nikdy hodnocena v placebo zkouškách^{73,74}. Nedávné studie spíše naznačují, že ani isatin- β -thiokarbazon **XXIV**, ani jeho derivát methisazon **XXV** nejsou při poxvirové terapii příliš užitečné⁷⁵. Pasivní imunizace se provádí hyperimunním globulinem (VIG), toto preventivní opatření proti infekci však trvá 2-3 týdny. VIG se dá využít i při léčbě postvakcinálních komplikací, ale efektivita této metody nebyla dosud stanovena v klinických zkouškách⁷⁶. Jedinou oficiálně FDA povolenou látkou proti vakcinii tak zatím zůstává cidofovir (CDV) **XXVI**^{77,78}. Nevýhodou látky CDV je nutnost intravenózního podání a její nefrotoxicita⁷⁹.

Analog cidofoviru CMX001 **XXVII** se dá aplikovat orálně, je výrazně méně toxický a přitom přibližně stejně účinný jako CDV⁸⁰. Tato látka se v současné době hodnotí v klinických testech. Další látka, ST-246 (Tecovirimat) **XXVIII**, inhibuje jistý krok v pozdní fázi morfogeneze VACV. Tato látka je také v současné době hodnocena v klinických testech. Látka ST-246, spolu s VIG a CDV, byla již jednou výjimečně použita v případě výskytu *eczema vaccinatum*⁸¹.



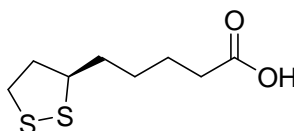
XXVII



XXVIII

U EA **II** a α -lipoové kyseliny (LA) **XXIX** byla zjištěna schopnost inhibovat růst VACV *in vitro*. Inhibiční efekty růstu VACV způsobené EA a LA byly dále potvrzeny na různých buněčných kulturách embryonálního původu, epitelu, fibroblastů, makrofágů a T-lymfocytů. Jak EA, tak LA působily mechanismem inhibice exprese pozdních genů viru. EA ani LA neinhibovaly vstup viru do buňky, expresi časných genů nebo syntézu DNA⁸².

Je velmi obtížné zjistit molekulární mechanismus účinku EA při inhibici růstu VACV, ale je vysoce pravděpodobné, že EA i LA interagují (každá nejspíše jiným způsobem) s thiolovými funkcemi a ovlivňují tak výše zmíněnou expresi pozdních genů viru⁸². V následujících odstavcích jsou naznačeny metabolické souvislosti EA s infekčním projevem VACV. Jedná se opět zejména o inhibici různých enzymů spojených s buněčným cyklem virů.



XXIX

Velice nedávno bylo zjištěno, že EA inhibuje cystein proteázu (CP)⁸³. Jedná se o enzym, který se podílí na zpracování proteinů v organismech savců. Klíčovou roli však CP hraje v buněčném cyklu infekčních částic, jako jsou prvoci a viry. CP se podílí na proteolýze virových peptidů a maturaci některých DNA-virových částic včetně VACV^{84,85}. Účinná inhibice cystein proteázy je nyní v popředí zájmu ve vývoji nových antivirotik⁸³. Jedna z možností, jak inhibovat CP, je použít látky obsahující elektrofilní skupiny, které se kovalentně vážou k cysteinovému zbytku aktivní strany cílové proteázy. Bylo zjištěno, že α,β -nenasyčené ketony, jako je třeba EA, jsou vhodné

elektrofilní látky, a že deriváty etakrynové kyseliny jsou nové nepeptidické CP inhibitory⁸³. Bylo zjištěno, že různé amidy EA vykazují inhibici hlavní proteázy koronavirů M^{pro} (z angl. „main protease“), která patří do skupiny CP⁸⁵. Je tudíž možné, že EA ovlivňuje růst VACV v této fázi⁸².

Bylo ovšem též pozorováno, že EA aktivuje kaspázu, která se řadí též do skupiny cystein proteáz⁴⁵ (viz oddíl 1.1.2). Dále je známo, že virus vakcinie kóduje proteázu I7L⁸⁵, která patří do skupiny CP. Nedávné molekulární počítačové studie naznačují, že některé aldehydy a ketony inhibují proteázu I7L⁸⁷. Nedá se vyloučit, že EA působí jako inhibitor I7L⁸². Je též možné, že EA i LA ovlivňují metabolismus redoxní cyklizace thioredoxinu, glutaredoxinu a podobných látek⁸². EA i LA inhibují tvorbu transkripčního faktoru NF- κ -B (viz oddíl 1.1.3)^{55,82}. Virus vakcinie sám o sobě ovšem také inhibuje syntézu NF- κ -B⁸⁸.

Morfogeneze VACV zahrnuje cytoplazmatické redoxní cesty, jako je například tvorba disulfidických můstků v proteinech viru, katalyzovaná několika virovými enzymy^{89,90}. Inhibice těchto enzymů může způsobit poruchu tvorby nové virové částice nebo poruchu její maturace⁹¹. Vzhledem k SH reaktivitě etakrynové kyseliny je možno uvažovat o ovlivnění cyklu viru tímto způsobem⁸².

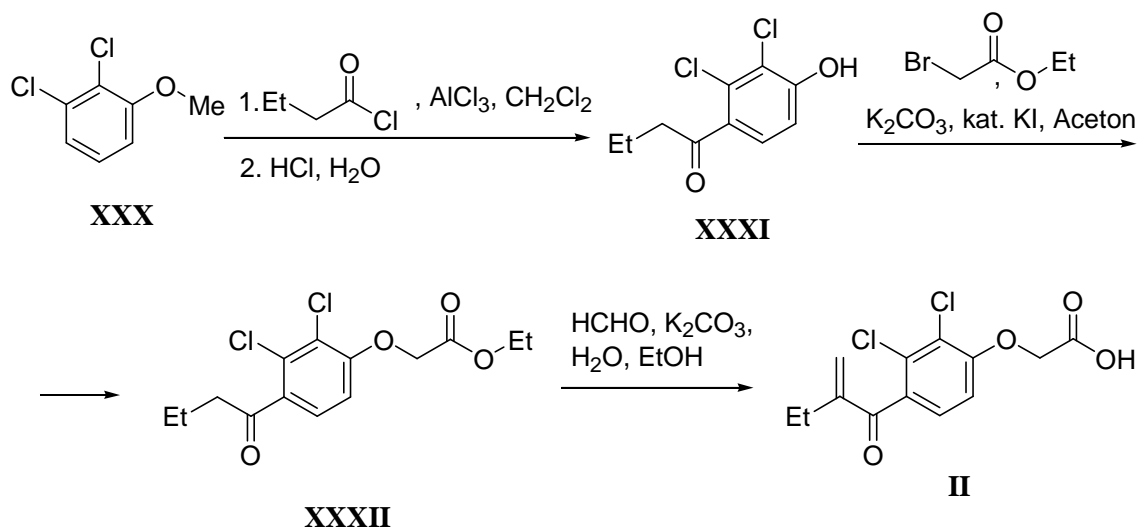
Dosavadní výsledky testování etakrynové kyseliny ukazují nový směr ve vývoji chemoterapie poxvirových infekcí. Poodhalení molekulárního mechanismu antivirového účinku EA je spojeno s přípravou nových derivátů EA a s mnoha dalšími testy těchto látek jak *in vitro*, tak *in vivo*⁸². Virus vakcinie se dá považovat za jistý druh modelového DNA viru a získané výsledky mohou přispět k pochopení souvislostí mezi strukturou antivirotik a jejich účinkem.

1.2. Způsoby přípravy etakrynové kyseliny a jejích esterů

Etakrynová kyselina (EA) (**II**), systematickým názvem [2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]octová kyselina, sumárním vzorcem $C_{13}H_{12}Cl_2O_4$, je komerčně dostupnou, bílou sypkou látkou s molekulovou hmotností 303,1 g/mol a bodem tání 122,5 °C. CAS číslo kyseliny etakrynové je 58-54-8.

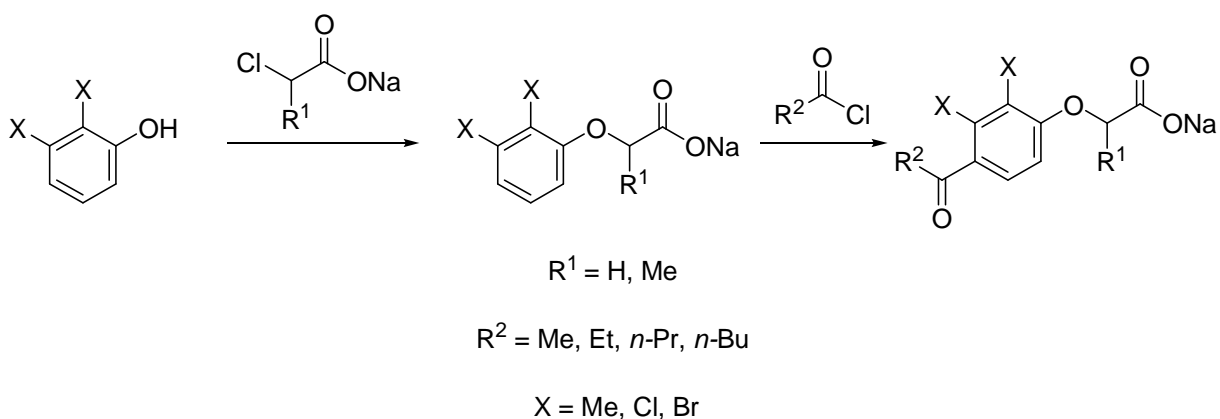
Příprava EA byla popsána ve třech krocích^{86,92}. Výchozí látkou byl 2,3-dichloranisol **XXX**. Pomocí Friedlovy-Craftsovy acylace byla zavedena butanoylová skupina do *para* polohy vůči methoxy skupině na aromatickém jádře a následně došlo ke kyselému odchránění methoxyskupiny na volný hydroxyl s výtěžkem 69 %^{86,92}. Dalším krokem byla reakce ethylesteru kyseliny bromoctové s připraveným 2,3-dichlor-4-(butanoyl)fenolem **XXXI** v bazickém prostředí. Tímto způsobem vznikl ethylester [2,3-dichlor-4-(butanoyl)fenoxy]octové kyseliny **XXXII** s výtěžkem 80 %. Poslední krok představovalo zavedení methylenové skupiny na α -uhlík ke karbonylové skupině. Smíšená aldolová kondenzace formaldehydu s látkou **XXXII** a následná dehydratace poskytla α,β -nenasycený keton. Zároveň došlo k bazické hydrolýze esterové skupiny a vznikla tak kyselina etakrynová **II** (Schema 1.2.1). Výtěžek posledního kroku byl ovšem pouze 20 %^{86,92}.

Schema 1.2.1



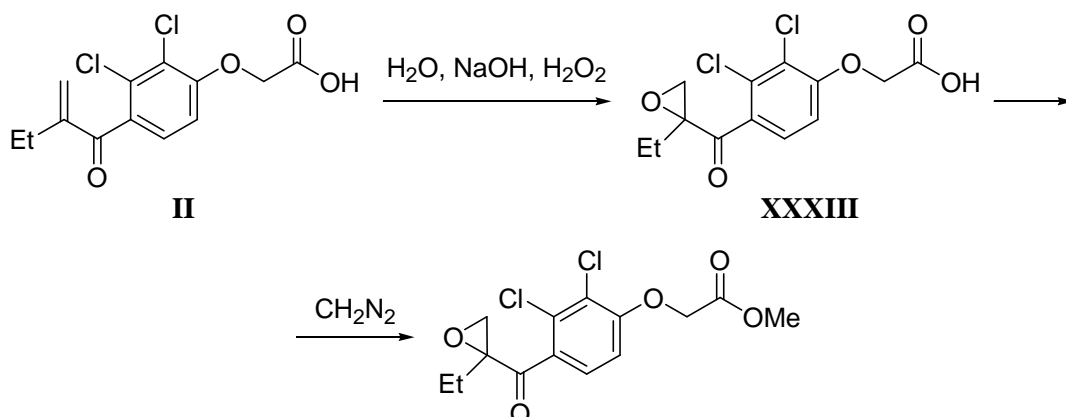
Bylo připraveno široké spektrum derivátů kyseliny etakrynové mnoha postupy^{9,65,68,93,94}, včetně výše popsané třístupňové syntézy. V ní se někdy využívá záměny prvního a druhého kroku. Nejprve se zavádí zbytek kyseliny octové (resp. propionové) na 2,3-disubstituovaný fenol a až v druhém kroku se provádí Friedlova-Craftsova acylace (Schema 1.2.2)^{1,21}.

Schema 1.2.2



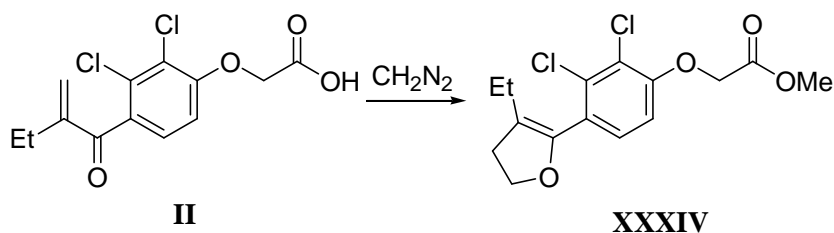
Postupy přípravy nových derivátů etakrynové kyseliny vycházejí v některých případech z kyseliny samotné. Již na přelomu 60. a 70. let byl připraven například epoxy-derivát EA **XXXIII** i jeho methylester pomocí diazomethanu (Schema 1.2.3)⁷.

Schema 1.2.3



Esterifikací samotné etakrynové kyseliny diazomethanem ovšem nevzniká methylester EA. Díky reaktivnímu α,β -nenасыcěnému ketonu vzniká methylester dihydrofuranového derivátu kyseliny etakrynové **XXXIV** (Schema 1.2.4)⁹⁵.

Schema 1.2.4



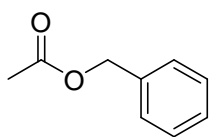
Často byly zkoumány produkty Michaelovské adice různých látek, především s SH skupinami, na etakrynovou kyselinu^{5,34}. Michaelovskou adicí byl připraven například konjugát etakrynové kyseliny s cysteinem **VII**⁵ a s glutathionem **XVII**³⁴.

Byly také syntetizovány některé jednoduché estery etakrynové kyseliny. Jedná se například o methylester²¹ nebo *n*-butylester EA⁴⁵. V případě *n*-butylesteru etakrynové kyseliny byla využita metoda kysele katalyzované esterifikace EA *p*-toluensulfonovou kyselinou s nadbytkem *n*-butanolu v toluenu a výtěžkem 95 %⁴⁵. Methylestery etakrynové kyseliny a některých jejích derivátů byly syntetizovány také pomocí výše zmiňované metody (Schema 1.2.5)²¹.

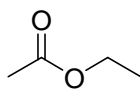
1.3. Příprava a vlastnosti esterů

Estery patří mezi nejrozšířenější přírodní látky. Mnohé jednoduché estery jsou příjemně vonící kapaliny, charakteristické pro aroma některých druhů ovoce a květů rostlin. Například vůně pomerančů je způsobena přítomností asi třiceti různých esterů⁹⁷. Benzyl-acetát **XXXVIII** je spoluzodpovědný za charakteristickou vůni jasmínu⁹⁸. Některé hmyzí feromony jsou poměrně jednoduché estery nebo laktony. S esterovými vazbami se setkáváme také v živočišných tucích a v mnoha biologicky významných molekulách.

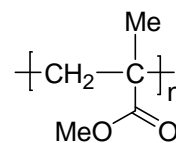
V chemickém průmyslu nalezy estery mnohostranné využití, například ethyl-acetát **XXXIX** je běžně používané rozpouštědlo. V chemii plastů mají estery nezastupitelnou funkci. Methyl-metakrylát je monomerem polymethyl-metakrylátu **XL** a polyester PET **XLI** se skládá z molekul ethylenglykolu a kyseliny tereftalové. Dialkyl ftaláty **XLII** se používají jako látky pro změkčování plastů⁹⁹.



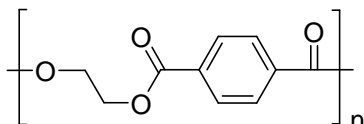
XXXVIII



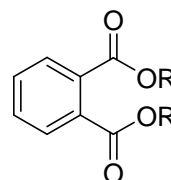
XXXIX



XL



XLI



R = alkyl

XLII

Estery hrají v organické syntéze významnou úlohu, využívají se například ke chránění karboxylové skupiny. Převedením kyseliny na ester se dá docílit změny reaktivity nebo fyzikálních vlastností.

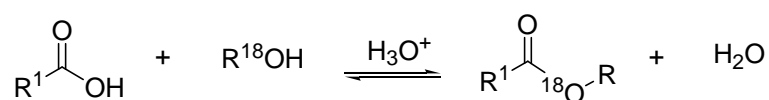
Karboxylové kyseliny jsou oproti svým esterům méně těkavější, což je způsobeno vodíkovými můstky, a proto se kyseliny většinou nedají analyzovat pomocí plynové chromatografie. Převedení kyseliny na ester a jeho následná GC analýza je možný postup při stanovení karboxylových kyselin¹⁰⁰. V infračerveném spektru je

vlnočet signálu karbonylové skupiny v esterech posunut k vyšším hodnotám oproti kyselinám a ^{13}C NMR spektra esterů vykazují posun signálu karbonylu k nižším hodnotám. Estery jsou ve srovnání s karboxylovými kyselinami také výrazně lipofilnější látky, a tudíž se liší i jejich rozpustnost, nebo také například biologická aktivita.

1.3.1. Přehled základních esterifikačních metod

Obvyklé metody přípravy esterů vychází z karboxylových kyselin a alkoholů. Fischerova esterifikace poskytuje alkylestery karboxylových kyselin s jednoduchými alkoholy v přítomnosti minerální kyseliny jako katalyzátoru. Tato esterifikační metoda byla objevena v roce 1895 významným chemikem Emilem Fischerem, ovšem použití tohoto postupu není univerzální. Alkohol se většinou používá jako rozpouštědlo, a proto musí být snadno dostupný a levný. Navíc prostředí silné minerální kyseliny za zvýšené teploty není vhodné pro všechny alkoholy a karboxylové kyseliny. Fischerova esterifikace je rovnovážná reakce, která může na základě reakčních podmínek probíhat oběma směry. Metoda izotopového značení potvrdila mechanismus reakce, při kterém značený atom kyslíku ^{18}O z alkoholu přechází do esteru (Schema 1.3.1.1)⁹⁹.

Schema 1.3.1.1

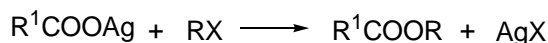


R^1 = alkyl, aryl, vinyl, atd.

R = I., nebo II. alkyl

Karboxylové kyseliny lze převést přímo na estery $\text{S}_{\text{N}}2$ reakcí solí karboxylových kyselin s primárními alkylhalogenidy (Schema 1.3.1.2)⁹⁹.

Schema 1.3.1.2



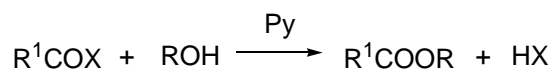
R^1 = alkyl, aryl, vinyl, atd.

R = I. alkyl

X = Cl, Br, atd.

Estery lze též získat reakcí alkoholů s acylhalogenidy v přítomnosti vhodné báze. Například pyridin lze v tomto postupu využít přímo jako rozpouštědlo¹⁰¹. Báze má zřejmě v této metodě za úkol pouze vázat vzniklý halogenovodík. Na podobném principu je založen způsob přípravy esterů z anhydridů karboxylových kyselin (Schema 1.3.1.3).

Schema 1.3.1.3



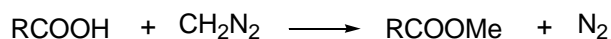
R^1 , R = alkyl, aryl, atd.

X = Cl, Br, acyl, atd.

Py = pyridin

Jedním z nejsnazších způsobů přípravy esterů je reakce karboxylových kyselin s diazouhlovodíky. Například příprava methylesterů pomocí diazomethanu je velice rozšířená (Schema 1.3.1.4)¹⁰⁰.

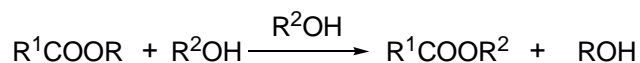
Schema 1.3.1.4



R = alkyl, aryl, atd.

Alkoholové části esterů se dají snadno obměňovat pomocí transesterifikačních (též reesterifikačních) reakcí. Mechanismus reakce je obdobný hydrolýze esterů (Schema 1.3.1.5)¹⁰⁰.

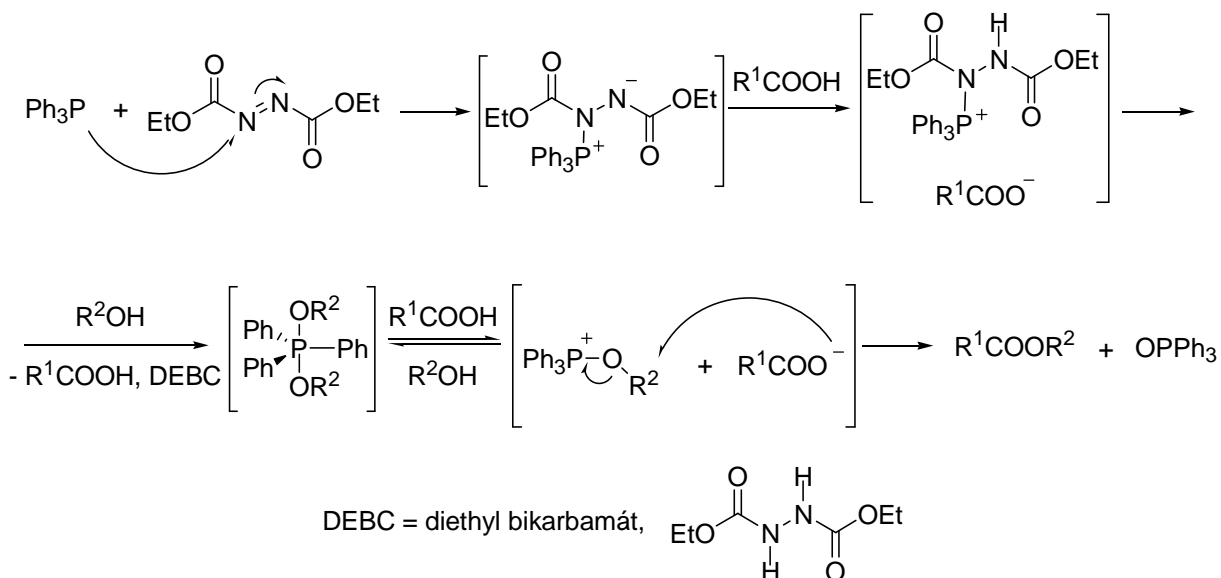
Schema 1.3.1.5



R, R¹, R² = alkyl, aryl, atd.

K přípravě esterů lze také využít Mitsunobuovu reakci, která byla publikována v roce 1967. Tento postup využívá jako esterifikační činidla trifenyfosfin a dialkylazadikarboxylát, přičemž reakční mechanismus probíhá nejprve přes aktivaci atomu fosforu v trifenyfosfinu diethyl-azadikarboxylátem a následnou aktivaci alkoholu i kyseliny na atomu fosforu (Schema 1.3.1.6). Ze schematu je patrné, že atom kyslíku z molekuly alkoholu přechází na trifenyfosfin oxid. Mitsunobuova esterifikace je tudíž v tomto smyslu poněkud odlišná od ostatních esterifikací^{102,103}.

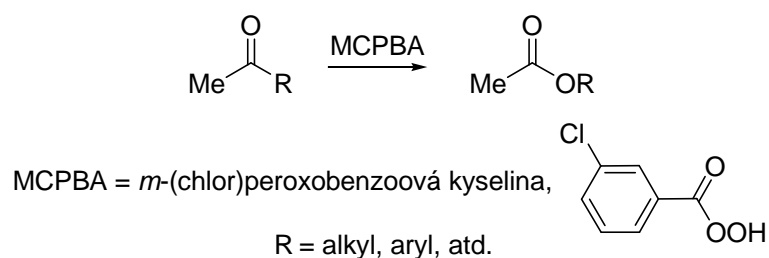
Schema 1.3.1.6



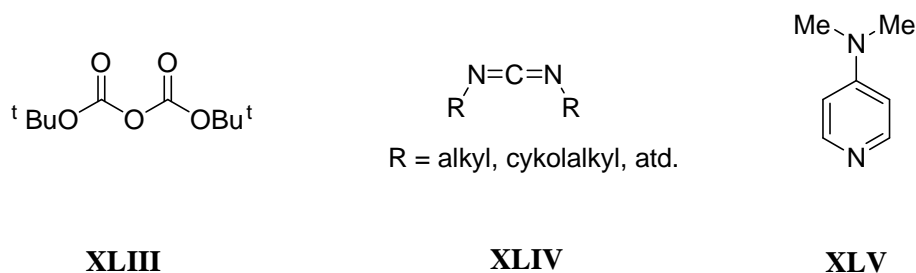
R¹, R² = alkyl, aryl, atd.

Mezi základní esterifikační metody se dá zařadit i Baeyerova-Villigerova oxidace ketonů pomocí peroxokyselin. Objemnější skupina substituované karbonylové funkce v ketonu snadněji migruje a ve výsledném esteru tvoří alkoholovou část, například oxidací methylketonů vznikají estery kyseliny octové (Schema 1.3.1.7)⁹⁷.

Schema 1.3.1.7



Existuje mnoho dalších metod pro přípravu esterů¹⁰⁴. Jedná se vesměs buď o nejrůznější způsoby aktivace karboxylu, kde OH skupina je nahrazena lépe odstupující skupinou, a nebo se jedná o různé aktivace alkoholů, například pomocí chlorsilanů¹⁰⁵. Kyseliny se aktivují činidly, jako je dusičnan diamonno-ceričitý (CAN)¹⁰⁶, di-*t*-butyl-dikarbonát **XLIII**¹⁰⁷ a další¹⁰⁴. Esterifikace pomocí karbodiimidů **XLIV** a 4-(dimethylamino)pyridinu (DMAP) **XLV** probíhají také přes aktivaci karboxylové kyseliny. Tento postup je detailně rozebrán v následující kapitole 1.3.2.



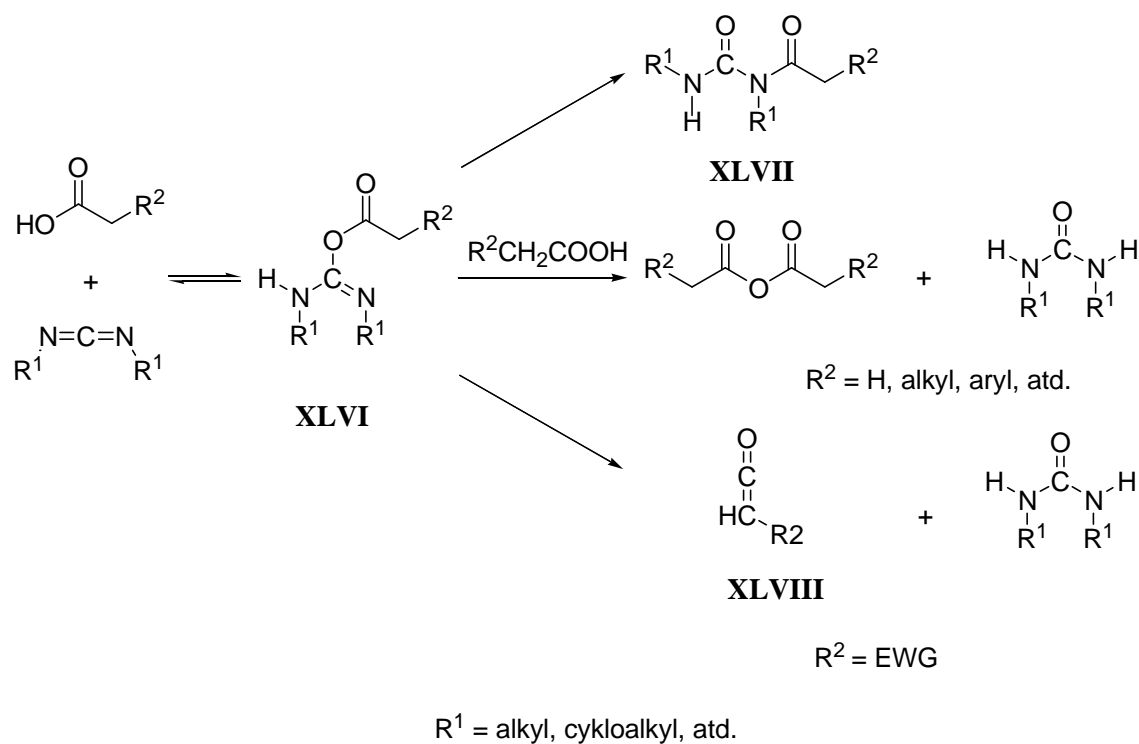
Důležitou úlohu hrají v poslední době enzymaticky katalyzované esterifikační a transesterifikační reakce v bezvodém prostředí. Těmito katalyzátory jsou lipázy, které se v organismech podílejí na hydrolýze lipidů. Lipázy jsou vhodné pro široké spektrum substrátů, přičemž vhodnými podmínkami lze regulovat stereoselektivitu nebo regioselektivitu reakce. Lipázy se též využívají k rozdělení racemických směsí karboxylových kyselin. Je možno využít jednak přístup enantioselektivní esterifikace (resp. reesterifikace) racemické směsi kyseliny (resp. esteru), druhou možností je provést chirální hydrolýzu racemických esterů. Lipázy mají v dnešní době nezastupitelné místo v syntéze cukerných esterů, biologicky aktivních látek, dále různých esterů pro kosmetický průmysl a nezbytné jsou i v chemii mastných kyselin a lipidů. Mnoho těchto metod jsou dnes již běžnou praxí v průmyslu¹⁰⁸.

1.3.2. Esterifikace pomocí karbodiimidů a 4-(dimethylamino)pyridinu

Karbodiimidy **XLIV** jsou známé látky již od 19. století¹⁰⁹. Jejich reaktivita, zejména vůči karboxylovým kyselinám, je dlouho zkoumaná problematika, ale přesto se stále objevují nové poznatky ve vědecké literatuře^{110,111}. V organické syntéze se karbodiimidy dají využít například při syntéze peptidů nebo v chemii karboxylových kyselin, mají tedy své uplatnění i mezi esterifikačními metodami¹⁰⁹.

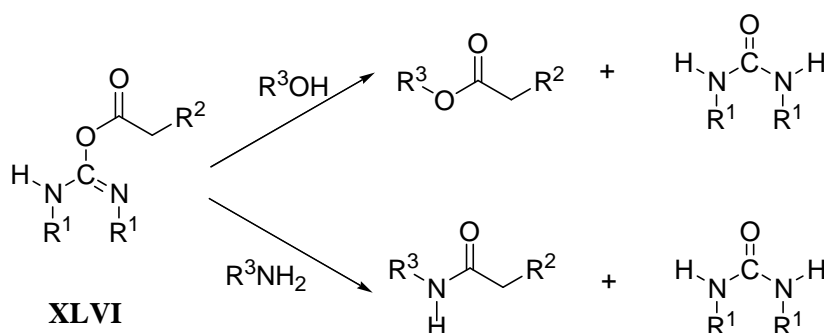
Karboxylové kyseliny reagují ochotně s karbodiimidy, dochází k aktivaci kyseliny za vzniku *O*-(acyl)isomočoviny **XLVI**, ovšem látky tohoto typu bývají často nestálé. Konkrétní podmínky (rozpuštědlo, reakční teplota, doba reakce, struktura karboxylové kyseliny a konkrétního karbodiimidu) určují další přeměnu *O*-(acyl)isomočoviny¹⁰⁹. Častými produkty bývají buď *N*-(acyl)močoviny **XLVII**, nebo anhydridy karboxylových kyselin (Schema 1.3.2.1)^{109,111}. Bylo zjištěno, že karboxylové kyseliny se silnou elektron odtahujícící (EWG) skupinou v α -pozici ke karboxylu poskytují reakci s karbodiimidy keteny **XLVIII** (Schema 1.3.2.1)¹¹⁰.

Schema 1.3.2.1



Je-li v reakční směsi přítomno nukleofilní činidlo, jako například amin nebo alkohol, může dojít k transformaci aktivované kyseliny na příslušný amid či ester (Schema 1.3.2.2)¹⁰⁹. Esterifikace se stericky bráněnými alkoholy neprobíhá s vysokými výtěžky a reakce se často zastaví na výše zmiňovaných látkách, jako jsou *N*-(acyl)močoviny **XLVII** nebo anhydridy karboxylových kyselin, a proto tato metodika není zcela obecná¹¹².

Schema 1.3.2.2

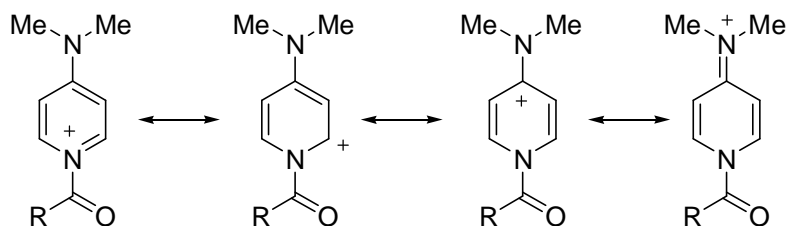


$\text{R}^2, \text{R}^3 = \text{H}, \text{alkyl}, \text{aryl}, \text{atd.}$

$\text{R}^1 = \text{alkyl}, \text{cykloalkyl}, \text{atd.}$

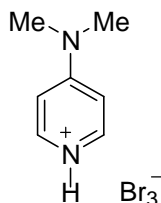
4-Dimethylaminopyridin (DMAP) **XLV** je již od 70. let známý acylační katalyzátor a používá se v esterifikačních reakcích již nejméně 30 let. DMAP reaguje především s aktivovanými karboxylovými kyselinami ve formě anhydridů nebo halogenidů kyselin. Při reakci dochází k rezonanční stabilizaci vznikající *N*-acylové struktury (Schema 1.3.2.3), která je ovšem dostatečně labilní na to, aby mohlo dojít k nukleofilní substituci (například pomocí alkoholu) na karbonylovém uhlíku¹¹³.

Schema 1.3.2.3



R = alkyl, aryl, atd.

DMAP se dá využít jako katalyzátor nejen při esterifikacích, ale i při transesterifikacích, ovšem v tomto případě je třeba posouvat rovnovážné složení reakční směsi žádoucím směrem. Dále DMAP katalyzuje Baylisovu-Hillmanovu reakci, selektivní oxidaci benzylových a allylových alkoholů nebo i α -bromaci ketonů v podobě 4-dimethylaminopyridinia hydrobromid-perbromidu **XLIX**. Chirální analogy DMAP mají pak význam v enantioselektivních acylacích nebo při štěpení směsi chirálních alkoholů a aminů¹¹³.

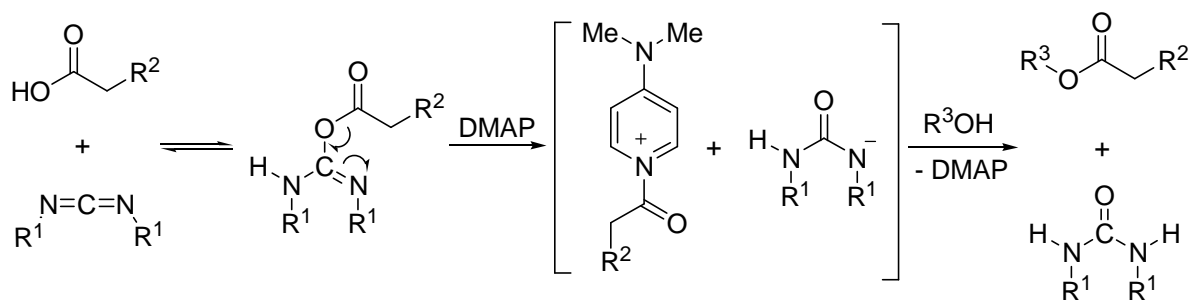


XLIX

Německý chemik Wolfgang Steglich spojil předchozí dvě metody (aktivaci karboxylové kyseliny pomocí karbodiimidů a následně DMAP katalyzovanou nukleofilní substituci) v jednu efektivní esterifikační metodiku^{114,115}, někdy nazývanou Steglichova esterifikace¹¹⁶. Jako karbodiimid se často volí *N,N'*-dicyklohexylkarbodiimid (DCC), který se během reakce přeměňuje na sraženinu dicyklohexylmočoviny (DCU). Výhoda DCC spočívá v jednoduchosti zpracování reakční směsi, nejčastěji stačí DCU odfiltrovat a v případě potřeby kýžený ester přečistit destilací, krystalizací, nebo chromatograficky. Mechanismus Steglichovy esterifikace lze snadno znázornit (Schema 1.3.2.4)^{112,114,116}. Nejprve dochází k adici karboxylové kyseliny na dvojnou vazbu karbodiimidu za vzniku *O*-acyl-(*N,N'*-dicyklohexyl)isomočoviny, která se přemění buď přímo, nebo nepřímo (přes anhydrid

karboxylové kyseliny nebo jiný intermediát) na *N*-acyl-4-(dimethylamino)pyridinium. Tato struktura je stabilizována rezonancí (Schema 1.3.2.3). Další postup je nukleofilní substituce na *N*-acyl(4-dimethylamino)pyridiniu alkoholem (Schema 1.3.2.4)

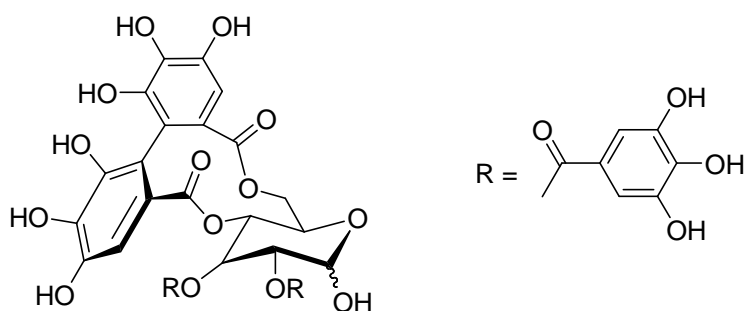
Schema 1.3.2.4



$R^2, R^3 = \text{H, alkyl, aryl, atd.}$

$R^1 = \text{cyklohexyl}$

Metoda Steglichovy esterifikace byla využita k přípravě biologicky aktivních¹¹⁷ a přírodních látek¹¹⁸. Například jeden z hlavních kroků při syntéze přírodní látky tellimagrandinu **L** byl tímto způsobem velmi efektivní i přes poměrně výrazné sterické bránění galloylových skupin¹¹⁸.



L

2. Cíl práce

Hlavním úkolem bylo zvolit obecnou metodiku pro přípravu série různých esterů kyseliny etakrynové, dále tyto estery izolovat a předat na testování biologické aktivity. V této souvislosti je třeba zdůraznit, že tato diplomová práce je součástí širšího projektu 1. lékařské fakulty (Ústav mikrobiologie a imunologie), který se zabývá výzkumem viru vakcinie.

Dále byla předmětem zájmu reaktivita vybraných esterů kyseliny etakrynové vůči organometalickým transformacím. Cílem bylo jednak vyzkoušet reaktivitu α,β -nenasyceného ketonu methylesteru etakrynové kyseliny vůči Heckově reakci a metathesi na dvojnou vazbu, dále připravit estery obsahující dvojnou a trojnou vazbu a vyzkoušet metodiku zkřížených metathesí na dvojných a trojných vazbách.

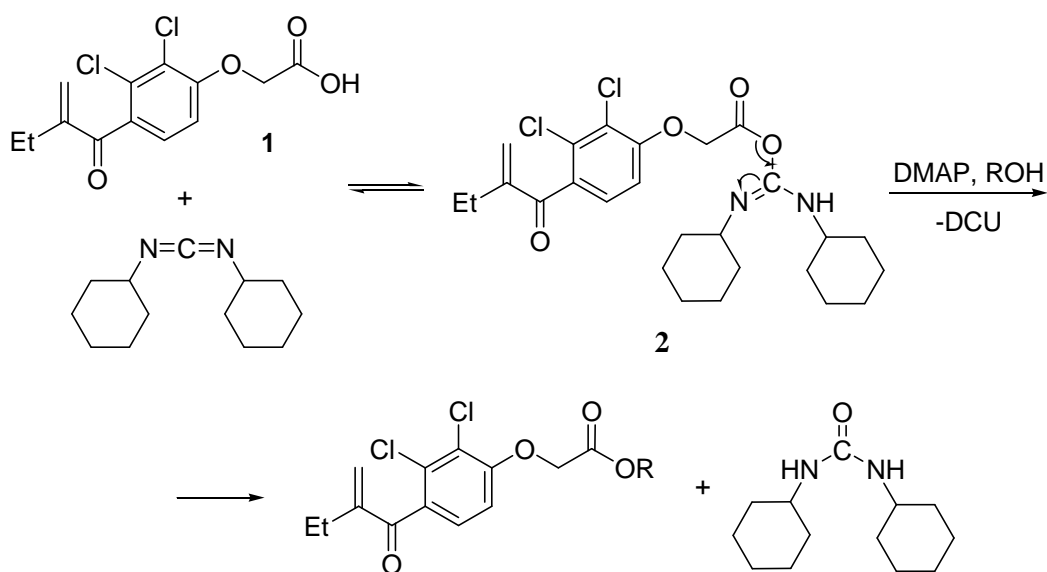
3. Výsledky práce a diskuze

3.1. Příprava esterů pomocí Steglichovy esterifikace

Pro přípravu řady různých esterů kyseliny etakrynové byla vybrána metodika Steglichovy esterifikace (kapitola 1.3.2). Bylo sice známo, že některé primární alifatické alkoholy reagují s kyselinou etakrynovou na kýžené estery v kyselém prostředí *p*-toluensulfonové kyseliny s výbornými výtěžky (kapitola 1.2), avšak tato metodika postrádá obecný charakter pro přípravu stericky bráněných esterů. Je nutné zdůraznit, že i jednoduchost zpracování reakční směsi a izolace esteru bylo důležité kritérium pro výběr Steglichovy metodiky.

Obecný postup Steglichovy esterifikace byl vždy stejný. Etakrynová kyselina (1) byla rozpuštěna v THF, dále byl přidán příslušný alkohol (pokud není uvedeno jinak, byly použity 3 ekvivalenty). Při 0 °C byl nejprve přidán DMAP (50 mol. %) a následně DCC (1,1 ekvivalentu) (Schema 3.1). Reakční směs byla ponechána 5-10 minut za 0 °C a po dvou až čtyřech hodinách za laboratorní teploty byla reakční směs zpracována. Je vysoce pravděpodobné, že i v případě výrazně nižšího množství katalyzátoru a delšího reakčního času by reakce probíhala se stejnými výsledky.

Schema 3.1



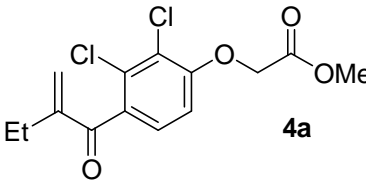
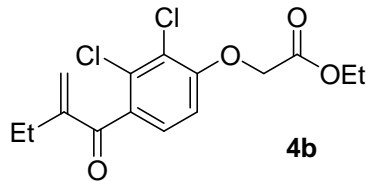
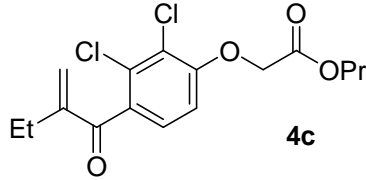
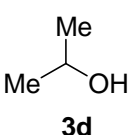
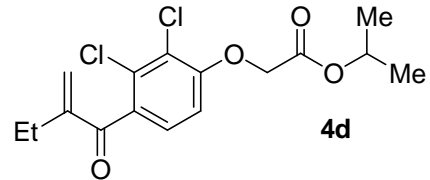
V průběhu reakce (někdy již během chlazení) byl pozorován vznik bílé sraženiny dicyklohexylmočoviny (DCU). Ve všech reakcích vznikal adukt kyseliny etakrynové na *N,N'*-dicyklohexylkarbodiimid (**2**) jako vedlejší produkt esterifikace (Schema 3.1). Z tohoto důvodu bylo nutno provádět přečištění vzniklého esteru sloupcovou chromatografií na silikagelu spojenou s odfiltrováním sraženiny DCU. V ojedinělých případech byly připravené estery znečištěny dalšími látkami a bylo nutné je překrystalizovat (jednalo-li se o krystalický ester), nebo využít další sloupcové chromatografie na alumině nebo silikagelu.

Přípravu esterů kyseliny etakrynové lze rozčlenit podle struktury výchozích alkoholů do několika skupin. Jednalo se zejména o esterifikace primárních, sekundárních a terciárních nasycených alifatických a cyklických alkoholů (Tabulka 3.1.1.1, 3.1.1.2 a 3.1.1.3), dále nenasyčených alifatických alkoholů obsahujících dvojnou nebo trojnou vazbu (Tabulka 3.1.2), fluorovaných alkoholů (Tabulka 3.1.3) a alkoholů odvozených od ferrocenu (Tabulka 3.1.4). Příslušné estery jsou v tabulkách řazeny podle počtu uhlíků.

3.1.1. Příprava esterů z nasycených alifatických alkoholů

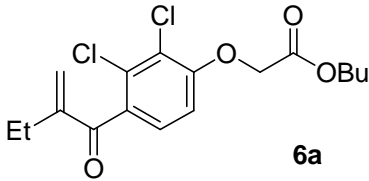
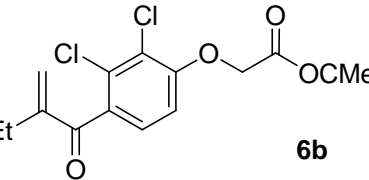
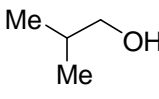
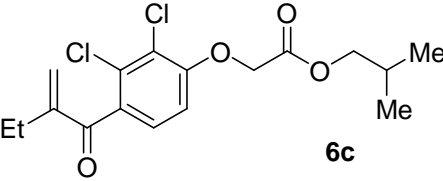
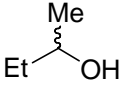
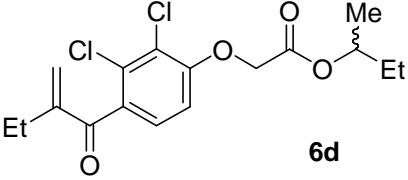
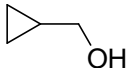
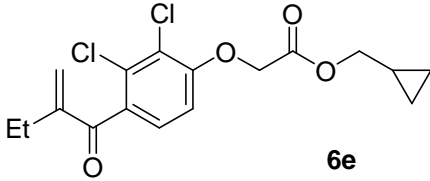
Estery **4a** až **4d** byly snadno připravitelné a izolované výtěžky esterů byly poměrně vysoké, pouze ethylester EA **4b** byl získán ve výtěžku pod 80 % (Tabulka 3.1.1.1). V C₄ řadě alkoholů byly připraveny estery **6a** až **6e** opět ve vysokých výtěžcích poměrně snadno, pouze *tert*-butylester EA (**6b**) byl izolován ve výtěžku pod 80 % (Tabulka 3.1.1.2). V C₅ řadě alkoholů byly izolované výtěžky esterifikací opět velmi vysoké se všemi použitými alkoholy kromě *n*-pentylalkoholu (**7a**). Izolace *n*-pentylesteru EA (**8a**) byla komplikovaná, po první sloupcové chromatografii byla látka znečištěna výchozím DCC. Až druhá sloupcová chromatografie pomohla získat *n*-pentylester EA (**8a**) čistý, přičemž vzniklo několik směsných frakcí esteru **8a** s DCC. Snadná byla příprava i izolace cyklohexylesteru EA (**8f**) (Tabulka 3.1.1.3).

Tabulka 3.1.1.1. Příprava esterů EA z C₁, C₂ a C₃ alifatických alkoholů

ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
MeOH 3a	 4a	94
EtOH 3b	 4b	72
PrOH 3c	 4c	84
 3d	 4d	81

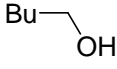
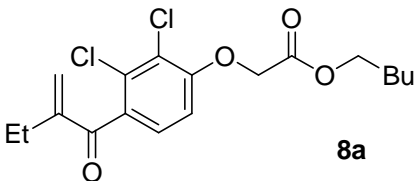
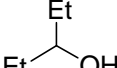
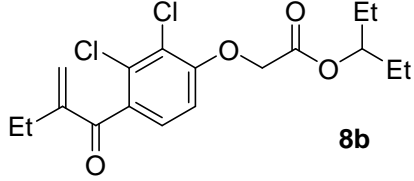
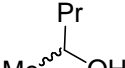
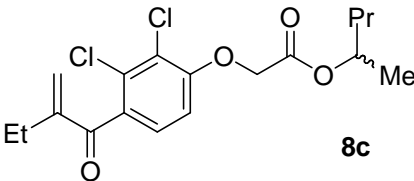
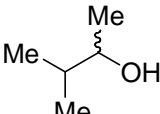
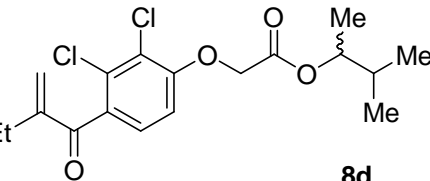
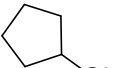
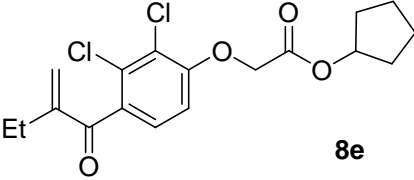
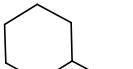
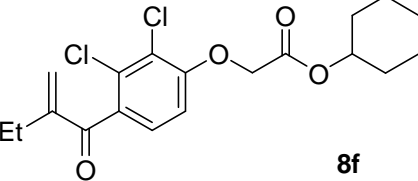
^a Izolovaný výtěžek esteru.

Tabulka 3.1.1.2. Příprava esterů EA z C₄ alifatických alkoholů

ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
BuOH 5a	 6a	93
Me ₃ COH 5b	 6b	76
 5c	 6c	91
 5d	 6d	86
 5e	 6e	84

^a Izolovaný výtěžek esteru.

Tabulka 3.1.1.3 Příprava esterů EA z C₅ a C₆ alifatických alkoholů

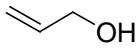
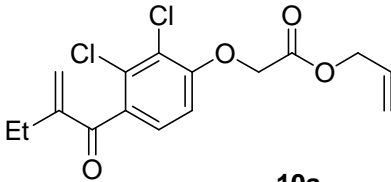
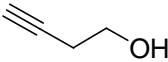
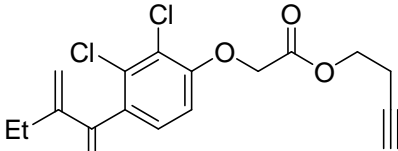
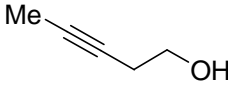
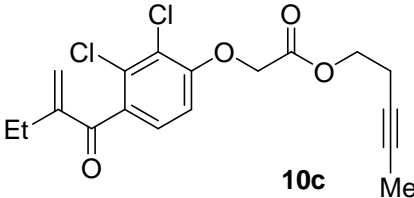
ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
 7a	 8a	53 ^b
 7b	 8b	91
 7c	 8c	82
 7d	 8d	81
 7e	 8e	81
 7f	 8f	93

^a Izolovaný výtěžek esteru. ^b Komplikovaná izolace zapříčinila nižší výtěžek.

3.1.2. Příprava esterů z nenasyčených alifatických alkoholů

Estery EA s nenasyčeným alkoholovým řetězcem (**10a** až **10c**) byly snadno připraveny a izolovány ve vysokých výtěžcích (Tabulka 3.1.2). Tyto látky byly předmětem zájmu zejména pro přípravu složitějších esterů EA pomocí organometalických transformací.

Tabulka 3.1.2 Příprava esterů EA z nenasycených alifatických alkoholů

ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
 <p>9a</p>	 <p>10a</p>	90
 <p>9b</p>	 <p>10b</p>	90
 <p>9c</p>	 <p>10c</p>	83

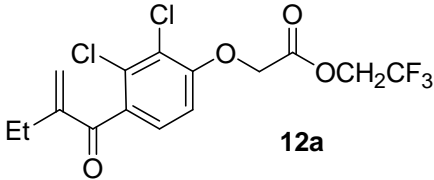
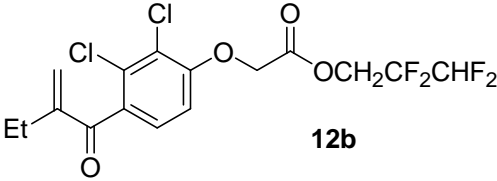
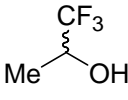
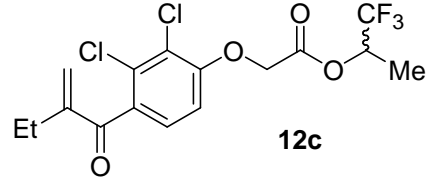
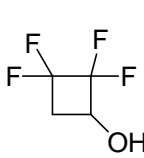
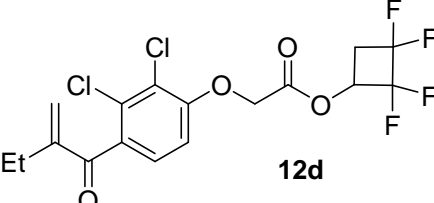
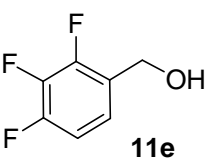
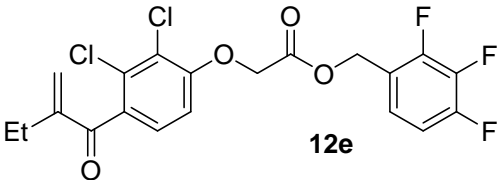
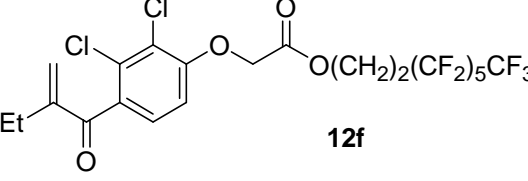
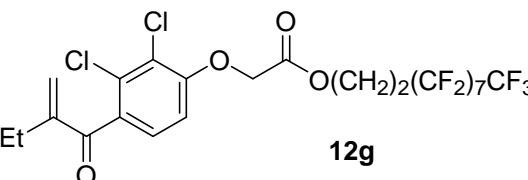
^a Izolovaný výtěžek esteru.

3.1.3. Příprava esterů z fluorovaných alkoholů

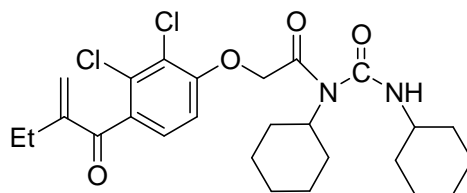
Estery **12a** až **12d** byly všechny izolovány čisté jednou sloupcovou chromatografií (Tabulka 3.1.3). Důvod nižšího výtěžku těchto látek lze přisuzovat následujícímu pozorování. Při izolaci všech výše zmiňovaných esterů (**12a** až **12d**) sloupcovou chromatografií byla izolována poměrně velká frakce, která obsahovala jednak adukt EA na DCC (**2**), ale i další nečistotu, která ovšem byla izolována a charakterizována pouze ve směsi s látkou **2**. Na základě ¹H NMR spektra a znalosti reakčního mechanismu (Schema 1.3.2.1) lze usuzovat, že se jednalo o *N*-etakrynyl-(dicyklohexyl)močovinu (**13**), izomer látky **2**. Není zcela jasné z jakého důvodu byl pozorován přesmyk látky **2** na její *N*-acyl izomer a z toho plynoucí snížení výtěžku pouze v těchto případech. Příprava a izolace esterů **12e** a **12g** probíhala bez potíží. Nízký výtěžek 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-perfluoroktylesteru EA (**12f**) byl způsoben potížemi při dělení směsi kýženého esteru **12f** a DCC. V tomto případě se nakonec osvědčila

jednoduchá krystalizace esteru **12f** (Et₂O/pentan), přičemž matečný louh nebyl dále zpracováván.

Tabulka 3.1.3 Příprava esterů EA z fluorovaných alkoholů

ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
<p>CF₃CH₂OH</p> <p>11a</p>	 <p>12a</p>	53
<p>CHF₂CF₂CH₂OH</p> <p>11b</p>	 <p>12b</p>	61
 <p>11c</p>	 <p>12c</p>	54
 <p>11d</p>	 <p>12d</p>	37
 <p>11e</p>	 <p>12e</p>	92
<p>CF₃(CF₂)₅(CH₂)₂OH</p> <p>11f</p>	 <p>12f</p>	39 ^b
<p>CF₃(CF₂)₇(CH₂)₂OH</p> <p>11g</p>	 <p>12g</p>	85

^a Izolovaný výtěžek esteru. ^b Komplikovaná izolace zapříčinila nižší výtěžek.

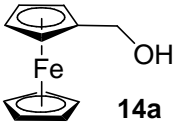
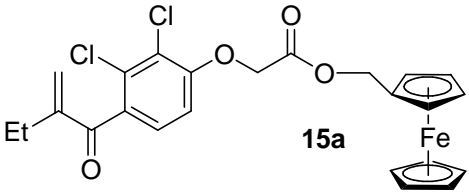
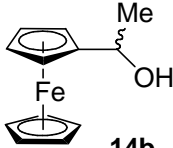
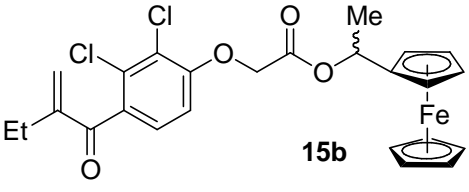
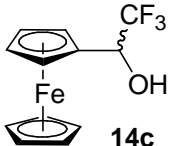
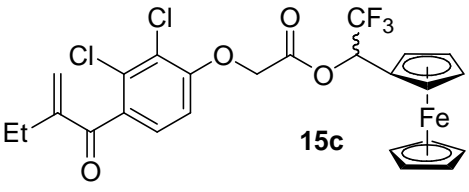
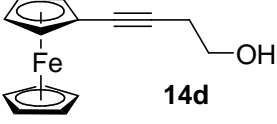
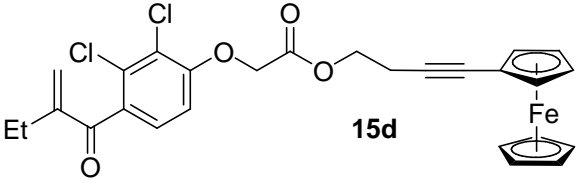


13

3.1.4. Příprava esterů z alkoholů odvozených od ferrocenu

Steglichova metodika překvapivě selhávala v případě syntézy esterů z alkoholů s ferrocenylovou skupinou na α atomu uhlíku (Tabulka 3.1.4). Ferrocenylmethanol (**14a**), ani 1-ferrocenylethanol (**14b**) neposkytly kýžené produkty **15a**, ani **15b**. Pouze 1-ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanol (**14c**) poskytl produkt **15c**, ovšem pouze ve stopovém množství a navíc ve směsi s výchozím alkoholem **14c**, dle ^1H NMR se jednalo o molární poměr přibližně 2/1 v neprospěch esteru **15c**. Příprava látky **15c** byla později uskutečněna jinou metodou (kapitola 3.2). Reakce vedoucí k přípravě esteru **15d** byla úspěšně provedena s nadbytkem kyseliny etakrynové (1.5 ekvivalent vzhledem k výchozímu alkoholu **14d**) pomocí Steglichovy esterifikace a kýžený produkt **15d** byl následně izolován ve výtěžku 86 % vzhledem k výchozímu alkoholu **14d**.

Tabulka 3.1.4. Příprava esterů EA z alkoholů odvozených od ferrocenu

ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
 <p>14a</p>	 <p>15a</p>	0
 <p>14b</p>	 <p>15b</p>	0
 <p>14c</p>	 <p>15c</p>	10 ^b
 <p>14d</p>	 <p>15d</p>	86 ^c

^a Izolovaný výtěžek esteru. ^b Látka byla izolována ve směsi s výchozím alkoholem **14c**.

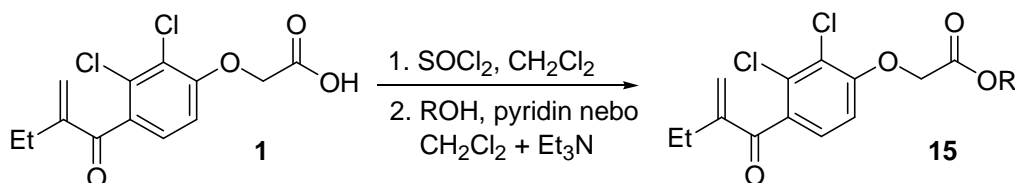
^c Výtěžek je vztažen k výchozímu alkoholu **14d**.

3.2. Příprava esterů jinými metodami

Bylo vhodné vyzkoušet i jiné esterifikační postupy v souvislosti se selháním aktivace etakrynové kyseliny pomocí DCC a DMAP při reakcích s některými alkoholy odvozenými od ferrocenu.

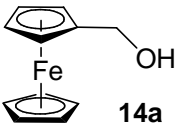
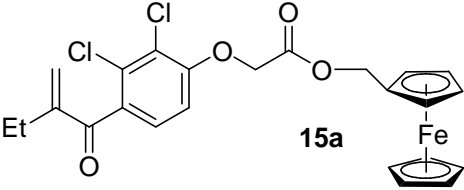
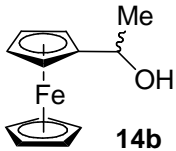
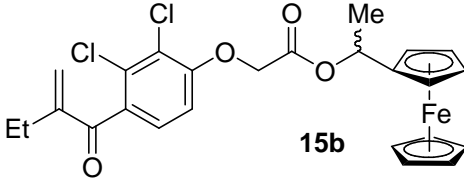
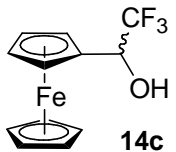
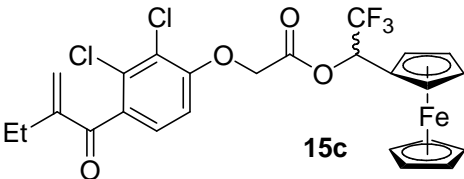
Aktivace karboxylových kyselin thionylchloridem a následná esterifikace ferrocenylmethanolem v pyridinu je klasickým postupem pro přípravu ferrocenylmethylesterů¹¹⁹. Obměnou tohoto postupu jsou esterifikace chloridů kyselin alkoholy v přítomnosti triethylaminu a dichlormethanu jako rozpouštědla. Tato varianta esterifikace chloridu EA byla použita v případě reakce s alkoholy **14b** a **14c** (Tabulka 3.2) (Schema 3.2.1), ferrocenylmethanol (**14a**) byl podroben klasické esterifikaci v pyridinu¹¹⁹ (Schema 3.2.1). Aktivace EA na její chlorid byla prováděna s 0.9 ekvivalenty thionylchloridu v dichlormethanu při 40 °C.

Schema 3.2.1



Vznik esterů **15a** ani **15b** nebyl pozorován, ester **15c** byl izolován čistý ve výtěžku 7 % dvěma sloupcovými chromatografiemi, klíčové bylo využití sloupcové chromatografie na alumině s vhodnou mobilní fází (směs toluenu a dichlormethanu).

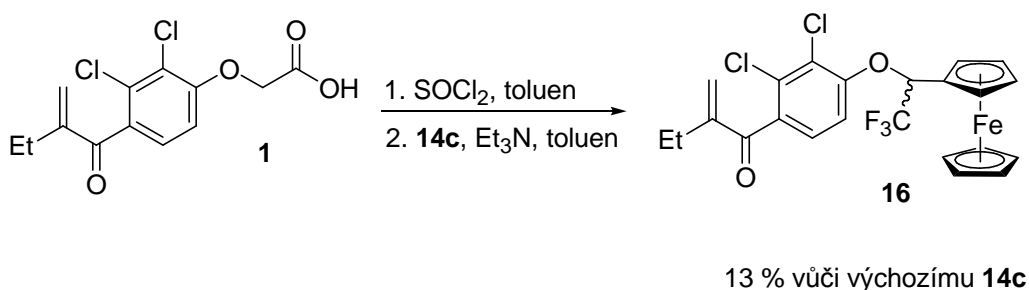
Tabulka 3.2 Příprava esterů EA z alkoholů odvozených od ferrocenu

ROH	Ester	Výtěžek (%) ^a
 <p>14a</p>	 <p>15a</p>	0 ^b
 <p>14b</p>	 <p>15b</p>	0
 <p>14c</p>	 <p>15c</p>	7

^a Izolovaný výtěžek esteru. ^b Esterifikace byla provedena v pyridinu.

Zajímavým výsledkem skončila esterifikace 1-ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanolu (**14c**) při aktivaci EA dvěma ekvivalenty thionylchloridu v toluenu za refluxu (120 °C) (Schema 3.2.2). Při této reakci bylo použito 0.7 ekvivalentu alkoholu **14c** vůči kyselině etakrynové. Kromě stopového množství kýženého esteru **15c** vznikal jako hlavní produkt {1-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]-2,2,2-trifluorethyl}ferrocen (**16**) v izolovaném výtěžku 13 % vůči výchozímu alkoholu **14c**.

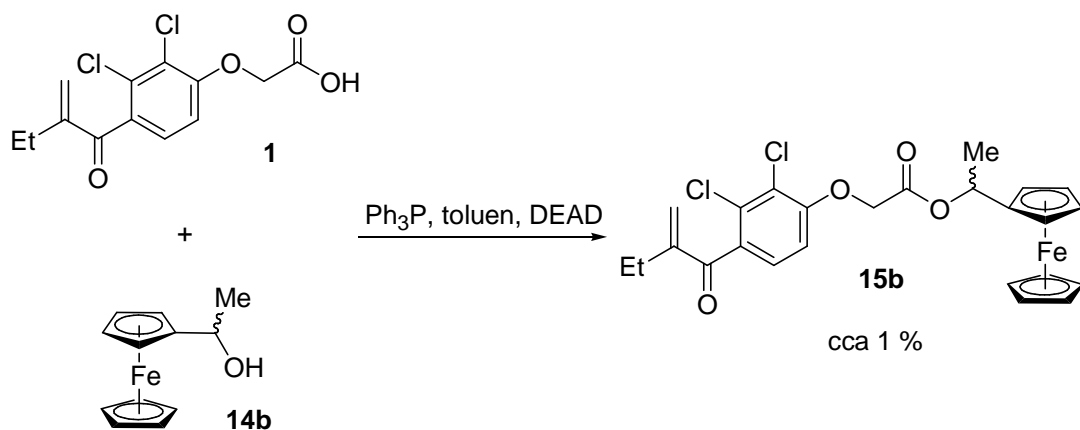
Schema 3.2.2



Ester **15b** nebyl úspěšně připraven ani při standardním provedení Mitsunobuovy esterifikace v toluenu (Schema 3.2.3). Po zpracování reakční směsi byla pravděpodobně kýžená látka **15b** izolována ve směsi s výchozím 1-ferrocenylethanolem

(**14b**), ovšem přibližně v molárním poměru 1/9 v neprospěch esteru **15b** (dle ^1H NMR spektra), navíc ve stopovém množství. Dalším přečištěním se nepodařilo izolovat kýženou látku v požadovaném množství a čistotě pro spektrální charakterizaci.

Schema 3.2.3

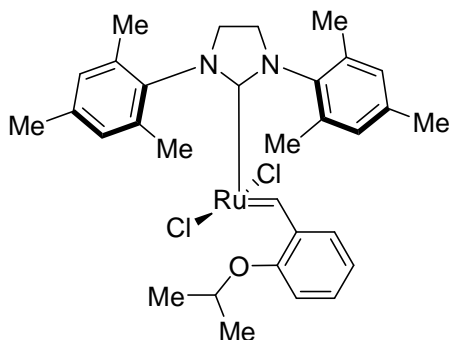


3.3. Derivatizace α,β -nenasyceného ketonu

Biologická aktivita kyseliny etakrynové souvisí se vši pravděpodobností zejména s reaktivitou strukturního motivu α,β -nenasyceného ketonu (kapitola 1.1). Především z tohoto důvodu bylo záměrem modifikovat terminální dvojnou vazbu kyseliny etakrynové. Je známo, že některé α,β -nenasycené estery mohou být derivatizovány pomocí zkřížených metathetických reakcí na dvojných vazbách¹²⁰, a Heckova reakce, v syntetické chemii jedna z nejpoužívanějších organometallických transformací dvojných vazby, byla popsána i u α,β -nenasycených ketonů¹²¹. Oba tyto přístupy derivatizace dvojných vazeb byly testovány na methylesteru kyseliny etakrynové (**4a**).

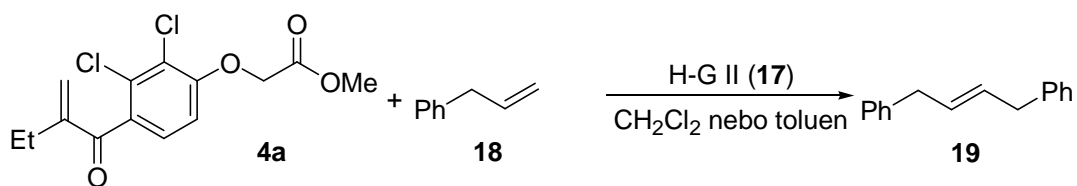
3.3.1. Derivatizace dvojných vazeb methylesteru EA pomocí metathese

Metathetické transformace methylesteru kyseliny etakrynové (**4a**) pomocí Hoveyda-Grubbsova katalyzátoru II. generace (**17**) neposkytly kýžené produkty zkřížené metathese (Schema 3.3.1). Reakce byla nejprve prováděna s 1,5 ekvivalentem allylbenzenu v dichlormethanu při 40 °C, TLC prokázalo přítomnost nových látek, ale také velké množství výchozího methylesteru EA (**4a**). Z reakční směsi byl izolován hlavní produkt (*2E*)-1,4-difenylbut-2-en (**19**) zřejmě ve směsi s jeho *Z*-izomerem a dalšími neznámými nečistotami. Tyto látky byly společně izolovány v celkovém výtěžku 75 %. Obdobný výsledek poskytla ta samá reakce v toluenu při 80 °C. Ani změna substrátu z allylbenzenu na hex-1-en nepřinesla kýžený produkt zkřížené metathese, přičemž jako rozpouštědlo byl opět použit toluen při 80 °C.



17

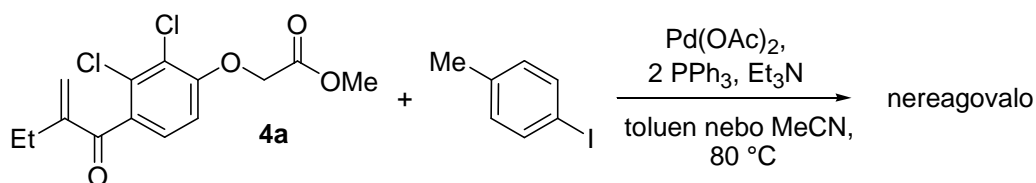
Schema 3.3.1



3.3.2. Derivatizace dvojné vazby methylesteru EA pomocí Heckovy reakce

Ani v případě Heckovy reakce nebyla derivatizace dvojné vazby methylesteru kyseliny etakrynové **4a** úspěšná. Reakce byla provedena za standardních podmínek Heckovy reakce (Schema 3.3.2) v toluenu (5 hodin) a také v acetonitrilu (20 hodin), v obou případech za teploty 80 °C. Při reakci nedocházelo k žádným změnám výchozích látek, v acetonitrilu byl pouze pozorován vznik redukováného palladiového katalyzátoru (palladiového zrcátka) na stěně baňky. Ani změna halogenderivátu ze 4-jodtoluenu na (*E*)-bromstyren nepřinesla úspěch, reakční směs zůstala beze změny i při zahřívání v acetonitrilu na 80 °C po dobu 20 hodin.

Schema 3.3.2



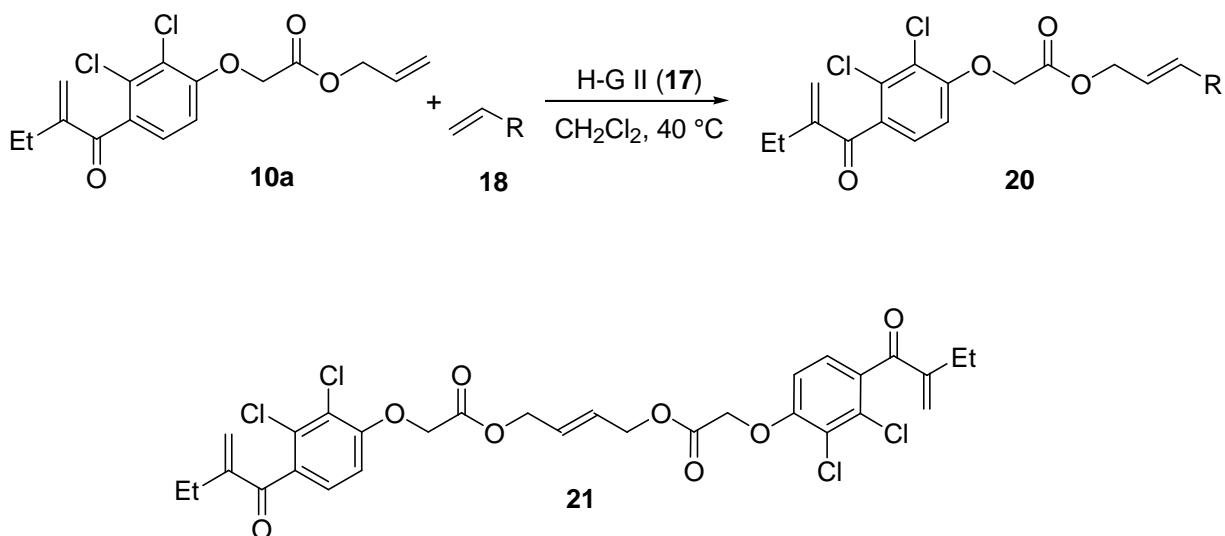
3.4. Metathetické derivatizace alkoholových částí esterů kyseliny etakrynové

Allylester kyseliny etakrynové (**10a**) a pent-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové (**10c**) byly využity pro přípravu složitějších esterů EA pomocí zkřížených metathesí na dvojných a trojných vazbách.

3.4.1. Zkřížené metathese na dvojných vazbách s allylesterem EA

V tomto případě bylo použití metodiky zkřížených metathesí poměrně úspěšné pro přípravu nových látek odvozených od allylesteru EA (Tabulka 3.4.1). Reakce s různými alkeny byly prováděny s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (**17**) v dichlormethanu při 40 °C (Schema 3.4.1).

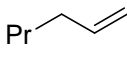
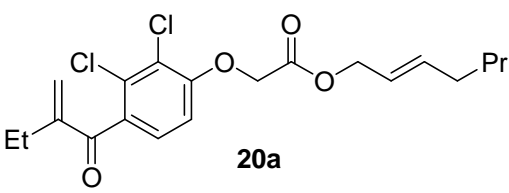
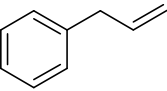
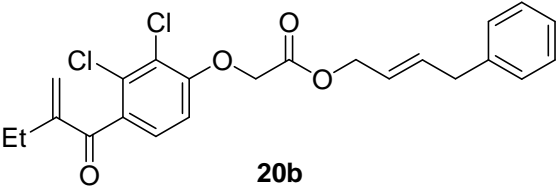
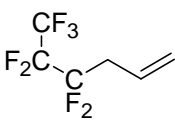
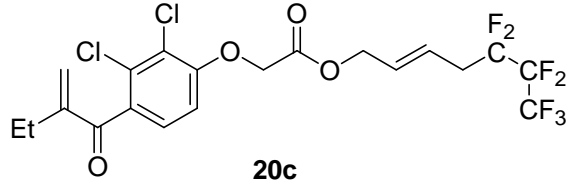
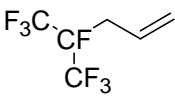
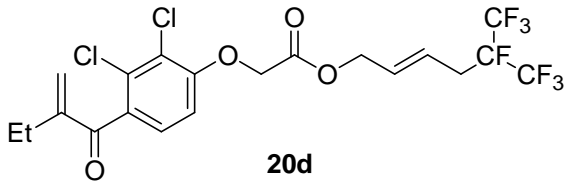
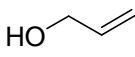
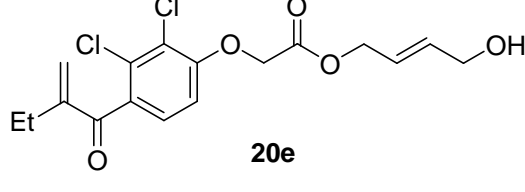
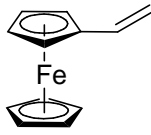
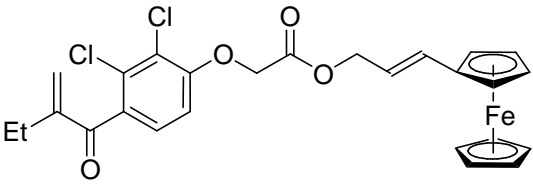
Schema 3.4.1



Metathese s jedním ekvivalentem hex-1-enu (**18a**) vůči výchozí látce **10a** byla úspěšně provedena jak v dichlormethanu při 40 °C, tak v toluenu při 80 °C (Tabulka 3.4.1). V obou rozpouštědlech vznikal jak produkt zkřížené metathese **20a**, tak produkt homometathese allylesteru EA (**21**). Při reakci v dichlormethanu došlo k částečným ztrátám produktu, ale pro sérii dalších reakcí bylo použito toto rozpouštědlo, protože v něm docházelo při reakci s hex-1-enem k úplné konverzi výchozí látky **10a**. Do dalších reakcí byly použity 2 ekvivalenty alkenů vůči výchozí látce **10a**, protože

v prvních reakcích v dichlormethanu i v toluenu docházelo ke vzniku velkého množství produktu homometathese allylesteru EA (**21**). Při vzniku látek **20b** až **20d** se metathetickou reakcí vytvářel dle TLC také produkt homometathese allylesteru EA (**21**), avšak v těchto případech nebyl izolován. Ve všech případech (u látek **20a** až **20e** a **21**) byly zaznamenány v ^1H NMR spektru signály méně stabilních *Z*-izomerů. Jednalo se většinou o stopová množství, pouze v případě esteru **20b** byl zaznamenán poměr *E* a *Z*-izomerů méně selektivní, z ^1H NMR spektra byl vyčten molární poměr přibližně 10:1 ve prospěch stabilnějšího *E*-izomeru. Látka **20b** byla izolována pouze ve směsi s výchozím allylesterem EA (**10a**) a tudíž je výsledný izolovaný výtěžek poněkud zkreslený. Jednalo se přibližně o molární poměr 3:1 ve prospěch směsi *E* a *Z*-izomerů látky **20b** oproti allylesteru **10a** (dle ^1H NMR spektra). Ve shodě s dřívějšími poznatky¹²² byly snadno připraveny produkty zkřížených metathetických reakcí s fluorovanými terminálními alkeny (látky **20c** a **20d**) v dobrých výtěžcích a byly též izolovány čisté (Tabulka 3.4.1). Metathese byla úspěšná i v případě reakce allylalkoholu s allylesterem EA, křížená látka **20e** byla izolována ve výtěžku 27 %. V tomto případě byl izolován i produkt homometathese allylesteru EA (**21**) ve výtěžku 16 % (Tabulka 3.4.1). Při experimentu s vinylferrocenem zůstával allylester EA (**10a**) z velké části nezreagovaný, vznikala pouze látka **21** v 9% výtěžku a křížený produkt zkřížené metathese nebyl pozorován.

Tabulka 3.4.1. Příprava derivátů EA pomocí zkřížené metathesí na dvojných vazbách

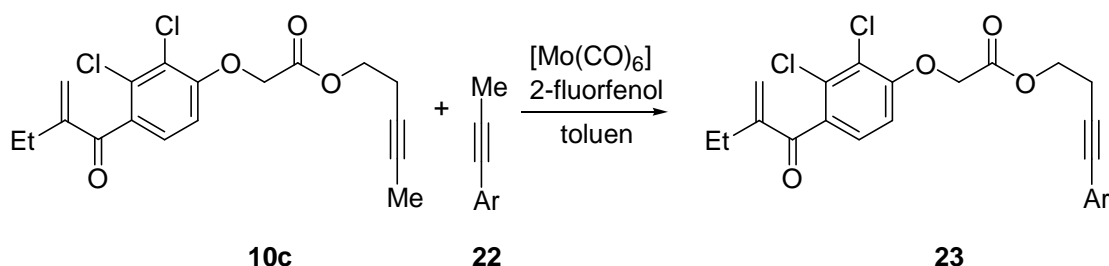
Výchozí alken	Produkt zkřížené metathese	20, Výtěžek (%) ^a	21, Výtěžek (%) ^a
 18a	 20a	42 ^{b,c} 42 ^{c,d}	34 ^c 30 ^{c,d}
 18b	 20b	85 ^e	
 18c	 20c	43	
 18d	 20d	50	
 18e	 20e	27	16
 18f	 20f	0	9

^a Izolovaný výtěžek produktu. ^b Komplikovaná izolace zapříčinila nižší výtěžek. ^c Byl použit 1 ekvivalent výchozího alkeny (**18**). ^d Metathese byla provedena v toluenu (80 °C). ^e Látka byla izolována ve směsi s výchozí allylesterem EA (**10a**).

3.4.2 Zkřížené metathese na trojných vazbách s pent-3-yn-1-ylesterem EA

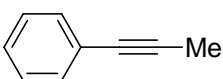
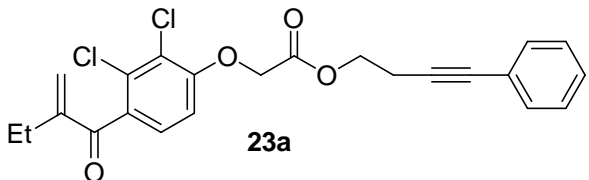
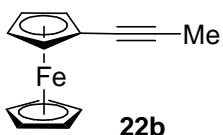
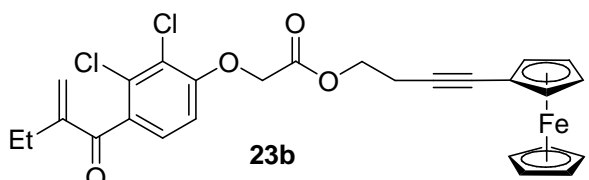
Metathese na trojných vazbách jsou především využívány k uzavírání kruhů s trojnou vazbou, například při syntéze mnoha přírodních látek¹²³. Zkřížené metathese na trojných vazbách jsou ale též užitečné v organické syntéze¹²⁴. Pent-3-yn-1-ylester EA (**10c**) byl výchozí látkou pro dvě zkřížené metathese, jednak s 1-fenylprop-1-ynem (**22a**) a též s prop-1-yn-1-ylferrocenem (**22b**). Jako katalytický systém byl využíván $[\text{Mo}(\text{CO})_6]$ v kombinaci s 2-fluorfenolem (Schema 3.4.2). Reakce byla prováděna vždy v toluenu za refluxu (přibližně 118-120 °C), přičemž teplota hrála zřejmě klíčovou roli. Při teplotě nižší než 115 °C reakce neprobíhala a v případě jednoho experimentu s 1-fenylprop-1-ynem (**22a**), kdy teplota reakční směsi překročila 125 °C, vznikl z reakční směsi „gel“ (pravděpodobně polymerní struktury), který nebyl dále zkoumán.

Schema 3.4.2



Reakční teplota ovšem nebyla jediným problémem. Izolace produktu **23b** provázely značné komplikace a reakce byla proto několikrát opakována. Sloupcová chromatografie nedokázala poskytnout v žádné soustavě zcela čistý produkt **23b**, vždy se ve spektru vyskytovaly příměsi pent-3-yn-1-ylesteru EA (**10c**). K jakémukoliv přečištění látky **23b** nevedla ani krystalizace v různých soustavách. Nejlepšího výsledku bylo dosaženo trojnásobnou sloupcovou chromatografií, kterou byla nakonec získána směs látek **10c** a **23b** v molárním poměru přibližně 9:1 ve prospěch produktu **23b** (Tabulka 3.4.2). Nakonec byla látka **23b** připravena velmi čistá přímou esterifikací alkoholu **14d** (kapitola 3.1.4). Látka **23a** byla i přes komplikace s reakční teplotou připravena a izolována jednou sloupcovou chromatografií ve výtěžku 35 % (Tabulka 3.4.2).

Tabulka 3.4.2. Příprava derivátů EA pomocí zkřížených metathesí na trojných vazbách

Výchozí alkyň	Produkt zkřížené metathese	Výtěžek (%) ^a
 <p>22a</p>	 <p>23a</p>	35
 <p>22b</p>	 <p>23b</p>	13 ^{b,c}

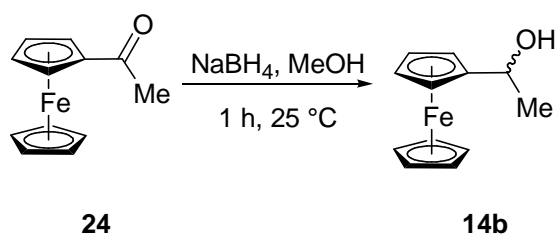
^a Izolovaný výtěžek. ^b Komplikovaná izolace zapříčinila nízký výtěžek. ^c Látka byla izolována ve směsi s výchozí látkou **10c**.

3.5. Příprava výchozích látek

Příprava esterů kyseliny etakrynové v některých případech zahrnovala více reakčních kroků. Některé alkoholy použité k přípravě esterů nebyly komerčně dostupné látky a bylo nutné je syntetizovat. Též výchozí látku prop-1-yn-1-ylferrocen, užitečný pro organometalické transformace jednoho z esterů EA, nebylo možno zakoupit.

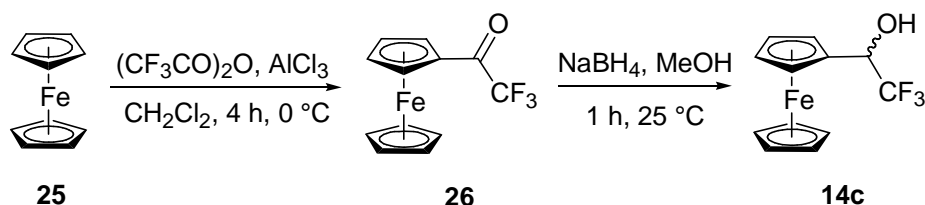
Redukcí acetylferrocenu (**24**) tetrahydridoboritanem sodným v methanolu byl připraven 1-ferrocenylethanol (**14b**)¹²⁵ (Schema 3.5.1). Zpracováním reakční směsi a krystalizací byl izolován kýžený alkohol **14b** (74 %).

Schema 3.5.1



K přípravě 1-ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanolu¹²⁵ byl využit dvoustupňový syntetický postup. Prvním krokem byla Friedlova-Craftsova acylace komerčně dostupného ferrocenu (**25**) trifluoroacetanhydridem v dichlormethanu v přítomnosti chloridu hlinitého, výtěžek reakce činil 16 %. Druhý krok byla redukce vzniklého (trifluoroacetyl)ferrocenu (**26**) tetrahydridoboritanem sodným v methanolu za vzniku příslušného alkoholu (**14c**) (88 % po sloupcové chromatografii) (Schema 3.5.2)¹²⁵.

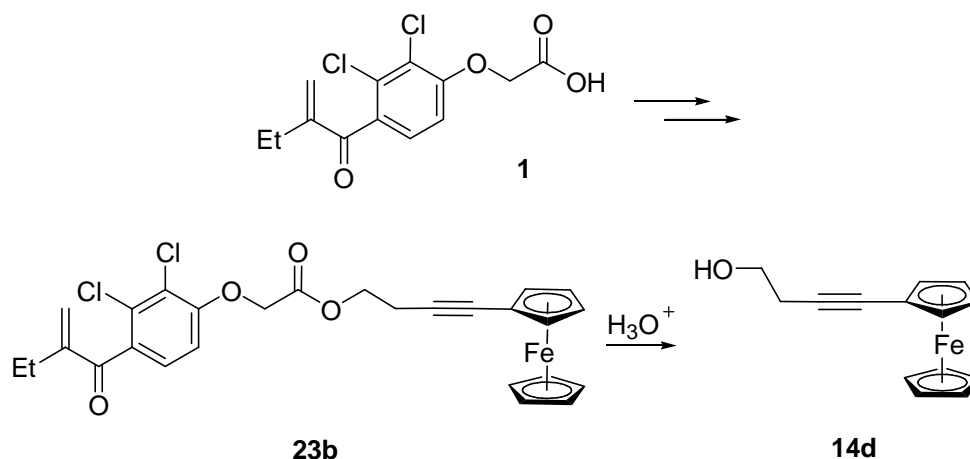
Schema 3.5.2



Příprava 4-(ferrocenyl)but-3-yn-1-olu (**14d**) pomocí metathetické reakce na trojně vazbě nebyla primárním záměrem tohoto syntetického přístupu. Výchozí látkou

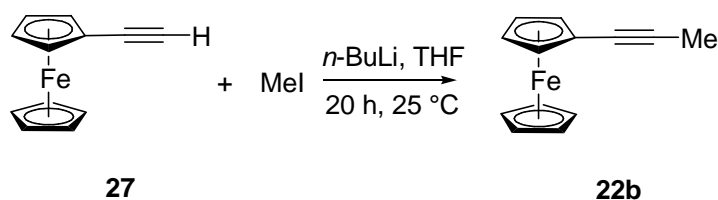
byla kyselina etakrynová (**1**), k jejíž esterifikaci byl využit pent-3-yn-1-ol (**9c**) (kapitola 3.1). Zkříženou metathetickou reakcí na trojně vazbě pent-3-yn-1-ylesteru EA (**10c**) s prop-1-yn-1-ylferrocenem (**22b**) byl připraven a izolován příslušný 4-(ferrocenyl)but-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové (**23b**), ovšem vždy ve směsi s výchozím pent-3-yn-1-ylesterem EA (**10c**) (kapitola 3.4.2). Pravděpodobně dlouhodobé přechovávání esteru **23b** v roztoku chloroformu způsobilo kyselou hydrolyzu esteru na 4-(ferrocenyl)but-3-yn-1-ol (**14d**) (Schema 3.5.3). Vzhledem k obsahu nečistot v produktu zkřížené metathese (**23b**) je obtížné určit výtěžek reakce.

Schema 3.5.3



K přípravě prop-1-yn-1-ylferrocenu¹²⁶ bylo využito reakce methyljodidu s ferrocenylethyнем (**27**) pomocí *n*-butyllithia v THF (Schema 3.5.4). Zpracováním reakční směsi byl získán prop-1-yn-1-ylferrocen (**22b**) (95 %).

Schema 3.5.4



3.6. Testování získaných látek na biologickou aktivitu

Jelikož byla tato studie udělána jako společný projekt s Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF a VFN, byla biologická aktivita většiny získaných látek zkoumána na výše uvedeném pracovišti. Estery byly testovány na inhibici růstu viru vakcinie a také na cytotoxicitu. Předběžné vyhodnocení naměřených dat naznačuje, že některé z připravených esterů mohly by mohly být zajímavými kandidáty na další podrobnější výzkum.

Vzhledem k potenciálnímu patentování získaných výsledků zde nejsou na žádost spolupracujícího pracoviště (ÚIM 1. LF a VFN) uvedeny výsledky biologického testování.

4. Experimentální část

4.1. Obecné metody

^1H NMR, ^{13}C NMR a ^{19}F NMR spektra byla měřena přístrojem Varian VNMRs300 (^1H při 300 MHz, ^{13}C při 75 MHz, ^{19}F při 282 MHz) a Varian^{Unity} Inova (^1H při 400 MHz, ^{13}C při 100 MHz). Jako vnitřní standard byl používán tetramethylsilan pro ^1H NMR ($\delta = 0$ ppm) a CDCl_3 pro ^{13}C NMR ($\delta = 77.0$ ppm). ^{19}F NMR spektra byla automaticky referencována na chlortrifluormethan ($\delta = 0$ ppm). Infračervená spektra byla měřena na spektrofotometru Nicolet Avatar 370FTIR technikou DRIFT. Hmotnostní spektra a hmotnostní spektra s vysokým rozlišením (HRMS) byla získána na ORBITRAP THERMO analytickém spektrometru. Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na plastinkách fy Merck Silica Gel 60 F₂₅₄, fy Merck Aluminium oxide 60. Pro TLC detekci byla využívána UV-lampa firmy Camag při 254 nm, ve vyjíměčných případech bylo pro detekci využito fosfomolybdenové kyseliny v ethanolu (10%), nebo roztoku H_2SO_4 (30%).

Pro preparativní sloupcovou chromatografii byl použit silikagel fy Fluka (Silica gel 60), v některých případech bazická alumina (*Aluminium oxydatum siccum*, Lachema Brno), v obou případech přibližně šedesátinásobek hmotnosti chromatografované směsi. Rozpouštědla byla sušena a destilována, pokud není v návodu uvedeno jinak. THF a toluen byly předestilovány z benzofenonketylu sodíku a uchovávány pod argonem. Dichlormethan byl předestilován z CaH_2 a uchováván pod argonem. Ostatní rozpouštědla, určená především pro sloupcové chromatografie (hexan, ethyl-acetát, ether, nebo chloroform), byla vždy použita bez dalších úprav.

Většina výchozích látek byla komerčně dostupná. Následující chemikálie byly zakoupeny u firmy Sigma Aldrich (resp. Fluka): Etakrynová kyselina, *N,N'*-dicyklohexylkarbodiimid, 4-dimethylaminopyridin, allylalkohol, hex-1-en, allylbenzen, Hoveydův-Grubbsův katalyzátor II. generace, diethyl-azadikarboxylát, ferrocen, trifenyfosfin, triethylamin, but-3-yn-1-ol, pent-3-yn-1-ol, 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-perfluoroktanol, trifluoracetanhydrid, *n*-butyllithium, hexakarbonylmolybden, 2-fluorfenol, 1-fenylpropyn, ethynylferrocen, 4-jodtoluen, 2-methylpropan-1-ol, *iso*-butanol, *terc*-butanol, thionylchlorid, tetrahydridoboritan sodný, pentan-3-ol, pentan-2-ol, 3-methyl-butan-2-ol, cyklopropanmethanol a methyljodid. Firma Alfa Aesar

poskytla tyto látky: Vinylferrocen, ferrocenylmethanol, 2,3,4-trifluorbenzylalkohol, 1,1,1-trifluorpropan-2-ol, 2,2,3,3-tetrafluorbutanol, 2,2,2-trifluorethanol, 2,2,3,3-tetrafluorpropanol, 1*H*,1*H*,2*H*,2*H*-perfluordekanol, (*E*)-bromstyren. Methanol, *iso*-propanol, *n*-pentanol, chlorid hlinitý, ethanol (99.5 %), butanol, cyklohexanol, cyklopentanol a propanol pocházely ze starších zásob laboratoře č. 142. Octan palladnatý byl dodán firmou Wako. K některým popisovaným transformacím byly využity látky dříve připravené v naší laboratoři, jednalo se o: acetylferrocen¹²⁵, (perfluorpropyl)prop-1-en, (perfluorisopropyl)prop-1-en¹²².

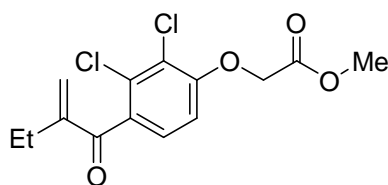
4.2. Příprava esterů pomocí Steglichovy esterifikace

[2,3-Dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetyl *N,N'*-dicyklohexylkarbamimidát (2). *O*-Etakrynoyl-*N,N'*-dicyklohexylisomočovina. Kyselina etakrynová (101 mg, 0.33 mmol) byla rozpuštěna ve 2 ml THF (nedestilován), následně ochlazená na teplotu 0 °C a při této teplotě byl přidán DCC (72 mg, 0.38 mmol). Reakční směs byla ještě 5 minut chlazená na 0 °C a pak ponechána za laboratorní teploty 3 hodiny. Během reakce se vytvářel bílý zákal, průběh reakce byl monitorován na TLC. Poté byla reakční směs zakoncentrována na RVO. Dvěma sloupcovými chromatografiemi na silikagelu, nejprve v soustavě 1/2 hexan/dichlormethan a následně v soustavě 1/5 hexan/dichlormethan bylo získáno 20 mg (12 %) viskózní kapaliny: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.14 (t, *J*_{vic} = 7.5 Hz, 3H), 1.11-1.38 (m, 8H), 1.60-1.98 (m, 12H), 2.46 (q, *J*_{vic} = 7.2 Hz, 2H), 3.61-3.73 (m, 1H), 3.95-4.00 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 5.60 (s, 1H),

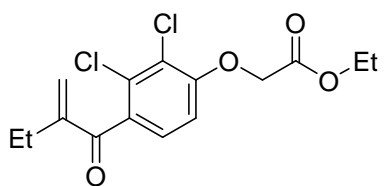
5.93 (s, 1H), 6.49 (bs, 1H), 6.85 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.7, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 12.36, 23.40, 24.66 (2C), 25.20, 25.35, 26.14 (2C), 30.85 (2C), 32.59 (2C), 50.22, 55.98, 68.59, 110.87, 122.95, 126.90, 128.58, 131.36, 133.66, 150.17, 153.05, 155.56, 167.23, 195.82; IR (KBr) ν 3305, 2934, 2857, 1713, 1664, 1585, 1524, 1467, 1079 cm⁻¹; MS (ESI, m/z (rel. %)) 531 (M⁺ + Na, 100), 437 (26); HR-MS (ESI) vypočítáno pro C₂₆H₃₄O₄N₂Cl₂Na [M⁺ + Na] 531.1788, nalezeno 531.1789. R_f(4/1 hexan/EtOAc) = 0.12.

Obecný postup přípravy esterů kyseliny etakrynové s alifatickými alkoholy pomocí DCC a DMAP. Kyselina etakrynová byla rozpuštěna v THF (5 ml na 1 mmol EA) (nedestilován) a k tomuto roztoku byl přidán příslušný alkohol (3 ekv. vzhledem k EA, pokud není uvedeno jinak). Reakční směs byla ochlazená na teplotu 0 °C a při této teplotě byl přidán DMAP (50 mol. % vzhledem k EA) a DCC (1.1 ekv. vzhledem k EA). Reakční směs byla ještě 5 minut chlazená na 0 °C a pak ponechána za laboratorní teploty 2-4 hodiny. Během reakce se vytvářel bílý zákal. Průběh reakce byl monitorován na TLC. Poté byla reakční směs zakoncentrována na RVO a zakotvena na silikagel. Sloupcovou chromatografií odparku na silikagelu byly získány produkty.

Methyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (4a). Methylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), methanolem (0.19 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 297 mg (94 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (ddq, $J_{vic} = 7.5$ Hz, $J_{trans} = 1.5$ Hz, $J_{cis} = 0.6$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 4.77 (s, 2H), 5.61 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.27, 23.29, 52.38, 66.02, 110.66, 123.19, 126.69, 128.60, 131.32, 133.74, 150.01, 155.30, 168.09, 195.67; IR (KBr) ν 3088, 2968, 2933, 2857, 1768, 1670, 1584, 1081 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 316 (M^+ , 17), 261 (100), 243 (42), 45 (39); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 316.026915, nalezeno 316.026377. $R_f(4/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.19$.

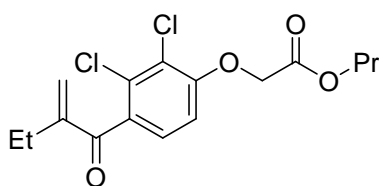


Ethyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (4b). Ethylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), ethanolem (0.18 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 120 mg (72 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 3H), 1.30 (t, $J_{vic} = 7.2$ Hz, 3H), 2.47 (dq, $J_{vic} = 7.6$ Hz, $J_{trans} = 0.8$ Hz, 2H), 4.28 (q, $J_{vic} = 7.2$ Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.38, 14.11, 23.40, 61.73, 66.31, 110.79, 123.19, 126.73, 128.58, 131.48, 133.86, 150.17, 155.49, 167.71, 195.80; IR (KBr) ν 3088, 2971, 2936, 1758, 1666, 1584, 1470, 1084 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 330 (M^+ , 17), 275 (100), 243 (44); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 330.042565, nalezeno 330.042105. $R_f(4/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.26$.



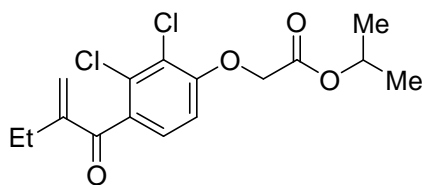
Propyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (4c). Propylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), propanolem (0.26 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227

mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 290 mg (84 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.93 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 1.69 (sextet, $J_{vic} = 7.2$ Hz, 2H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 4.18 (t, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.76 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 10.21, 12.37, 21.85, 23.40, 66.26, 67.24,



110.72, 123.37, 126.72, 128.54, 131.49, 133.84, 150.19, 155.48, 167.81, 195.80; IR (KBr, THF) ν 3089, 2969, 2937, 1758, 1667, 1585, 1467, 1082 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 345 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 45), 289 (100), 257 (35), 189 (30), 83 (70); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 345.066040, nalezeno 345.066882. R_f (4/1 hexan/EtOAc) = 0.52.

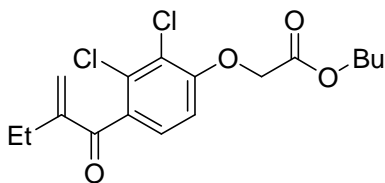
Prop-2-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (4d). *iso*-Propylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), *iso*-propanolem (0.23 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 278 mg (81 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 1.28 (d, $J_{vic} = 6.3$ Hz, 6H), 2.47 (ddq, $J_{vic} = 7.5$ Hz, $J_{trans} = 1.2$ Hz, $J_{cis} = 0.9$ Hz, 2H), 4.72 (s, 2H), 5.14 (septet, $J_{vic} = 6.3$ Hz, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.37, 21.69



(2C), 23.41, 66.47, 69.68, 110.77, 123.37, 126.70, 128.53, 131.47, 133.78, 150.19, 155.54, 167.22, 195.81; IR (KBr, THF) ν 3087, 2980, 2935, 1753, 1665, 1584, 1466, 1080 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 345 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 70), 289 (100), 257 (52), 189 (40), 83 (85), 55 (82); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 345.066040, nalezeno 345.065507. R_f (4/1 hexan/EtOAc) = 0.43.

Butyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (6a). Butylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), butanolem (0.29 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 335

mg (93 %) tuhé bílé látky: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.92 (t, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 3H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 3H), 1.36 (sextet, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 2H), 1.59-1.67 (m, 2H), 2.47 (ddq,

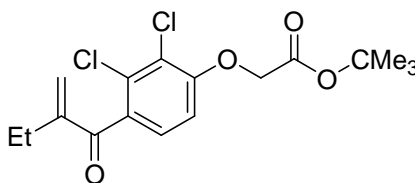


$J_{vic} = 7.6$ Hz, $J_{trans} = 1.2$ Hz, $J_{cis} = 0.8$ Hz, 2H), 4.22 (t, $J_{vic} = 6.8$ Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ

12.37, 13.57, 18.96, 23.40, 30.45, 65.54, 66.28, 110.73, 123.38, 126.72, 128.52, 131.50, 133.85, 150.20, 155.49, 167.81, 195.79; IR (KBr, THF) ν 3087, 2963, 2873, 1758, 1667, 1584, 1468, 1083 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 359 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 42), 303 (100), 257 (35), 189 (31), 83 (59), 55 (88); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 359.081690, nalezeno 359.081599. $R_f(4/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.47$.

tert-Butyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (6b). tert-Butyl-

ester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), *tert*-butanolem (0.29 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) získáno 273 mg (76 %) bílé tuhé látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 1.49 (s, 9H), 2.47 (ddq, $J_{vic} = 7.2$ Hz, $J_{trans} = 1.2$ Hz, $J_{cis} = 0.9$ Hz, 2H), 4.64 (s,

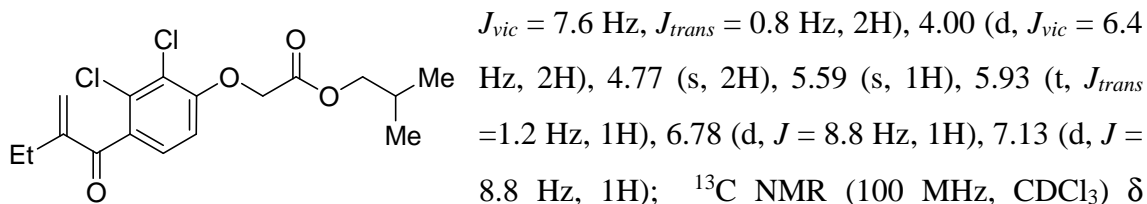


2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.38, 23.42, 28.01 (3C), 66.58, 83.06, 110.56, 123.19, 126.71, 128.47, 131.48,

133.61, 150.21, 155.59, 166.71, 195.87; IR (KBr) ν 3110, 2974, 2876, 1749, 1660, 1584, 1470, 1078 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 358 (M^+ , 8), 257 (10), 57 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 358.073865, nalezeno 358.074154. $R_f(4/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.50$.

2-Methylpropyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (6c). iso-

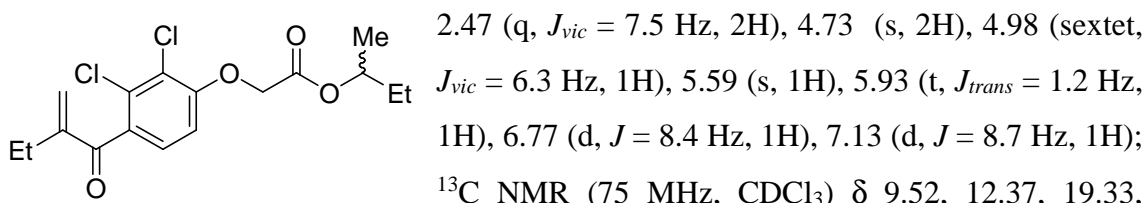
Butylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), *iso*-butanolem (0.28 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 325 mg (91 %) čiré kapalně látky: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.91 (d, $J_{vic} = 6.8$ Hz, 6H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 3H), 1.95 (m, 1H), 2.47 (dq,



Hz, 2H), 4.77 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.93 (t, $J_{trans} = 1.2 \text{ Hz}$, 1H), 6.78 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 1H), 7.13 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.38, 18.90 (2C), 23.41, 27.64, 66.22, 71.64, 110.65, 123.36, 126.73, 128.50, 131.52, 133.83, 150.21, 155.47, 167.80, 195.78; IR (KBr, THF) ν 3088, 2964, 2875, 1759, 1667, 1585, 1468, 1082 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 359 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 16), 315 (100), 303 (52), 181 (51), 73 (46); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 359.081690, nalezeno 359.082005. $R_f(4/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.47$.

But-2-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (6d). *sek*-Butylester

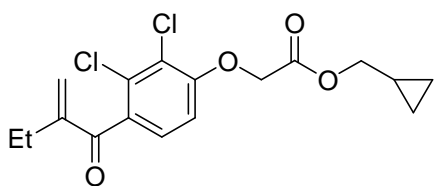
kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), butan-2-olem (0.28 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 307 mg (86 %) tuhé bezbarvé látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.88 (t, $J_{vic} = 7.5 \text{ Hz}$, 3H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5 \text{ Hz}$, 3H), 1.25 (d, $J_{vic} = 6.3 \text{ Hz}$, 3H), 1.54-1.66 (m, 2H),



23.41, 28.63, 66.42, 74.22, 110.68, 123.36, 126.70, 128.50, 131.49, 133.77, 150.20, 155.54, 167.41, 195.80; IR (KBr) ν 3071, 2970, 2877, 1756, 1664, 1587, 1469, 1084 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 359 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 44), 303 (57), 257 (34), 189 (25), 83 (56), 57 (100); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 359.081690, nalezeno 359.082365. $R_f(4/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.60$.

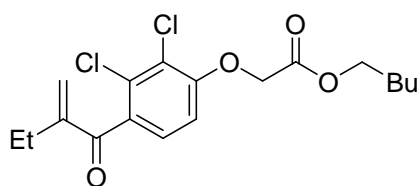
Cyklopropylmethyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (6e).

Cyklopropylmethylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), cyklopropylmethanolem (0.24 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 301 mg (84 %) čiré kapalné látky: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.28-0.31 (m, 2H), 0.56-0.61 (m, 2H), 1.09-1.20 (m, 1H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.6 \text{ Hz}$, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.6 \text{ Hz}$, 2H), 4.05 (d, $J_{vic} =$



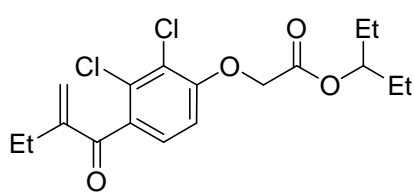
7.6 Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.79 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 3.37 (2C), 9.69, 12.37, 23.41, 66.33, 70.48, 110.83, 123.41, 126.71, 128.54, 131.48, 133.85, 150.19, 155.50, 167.84, 195.81; IR (KBr, THF) ν 3312, 3087, 2959, 2886, 1755, 1723, 1666, 1585, 1467, 1071 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 356 (M^+ , 12), 301 (41), 243 (15), 189 (12), 55 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 356.058215, nalezeno 356.057282. $R_f(4/1 \text{ hexan}/\text{EtOAc}) = 0.40$.

Pentyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (8a). **Pentylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), pentanolem (0.33 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) a následném přečištění sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/2 hexan/ Et_2O) bylo získáno 196 mg (53 %) čiré olejovité látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 0.90 (t, $J_{vic} = 6.9$ Hz, 3H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 1.26-1.36 (m, 4H), 1.61-1.68 (m, 2H), 2.47



(ddq, $J_{vic} = 7.5$ Hz, $J_{trans} = 1.2$ Hz, $J_{cis} = 0.3$ Hz, 2H), 4.21 (t, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.76 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.37, 13.89, 22.19, 23.40, 27.87, 28.13, 65.83, 66.27, 110.70, 123.37, 126.72, 128.52, 131.49, 133.83, 150.19, 155.47, 167.80, 195.77; IR (KBr, THF) ν 3089, 2960, 2872, 1758, 1668, 1584, 1469, 1082 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 373 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 50), 317 (97), 257 (38), 189 (29), 83 (69), 55 (100); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 373.097340, nalezeno 373.096813. $R_f(4/1 \text{ hexan}/\text{EtOAc}) = 0.51$.

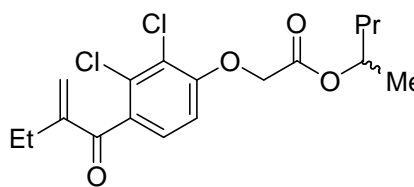
Pent-3-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (8b). **Pent-3-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), pentan-3-olem (0.32 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) a následném přečištění sloupcovou chromatografií na silikagelu (2/1 hexan/ Et_2O) bylo získáno 339 mg (91 %) tuhé bezbarvé látky: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.87 (t, J_{vic}



= 7.2 Hz, 6H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.2$ Hz, 3H), 1.58-1.62 (m, 4H), 2.47 (ddq, $J_{vic} = 7.2$ Hz, $J_{trans} = 1.2$ Hz, $J_{cis} = 0.4$ Hz, 2H), 4.76 (s, 2H), 4.89 (pentet, $J_{vic} = 6.4$ Hz, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.93 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 9.48 (2C), 12.37, 23.41, 26.28 (2C), 66.33, 78.74, 110.61, 123.36, 126.70, 128.47, 131.50, 133.76, 150.21, 155.55, 167.62, 195.78; IR (KBr) ν 3097, 2970, 2879, 1753, 1662, 1587, 1471, 1087 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 372 (M^+ , 29), 317 (37), 243 (53), 189 (25), 43 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 372.089515, nalezeno 372.089147. $R_f(4/1 \text{ hexan}/\text{EtOAc}) = 0.53$.

Pent-2-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)phenoxy]acetát (8c). Pent-2-ylester

kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), pentan-2-olem (0.33 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc), následným přečištěním sloupcovou chromatografií na silikagelu (2/1 hexan/Et₂O) a znovu na silikagelu (3/1 hexan/Et₂O) bylo získáno 307 mg (82 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 0.90 (t, $J_{vic} = 7.2$ Hz, 3H), 1.15 (t, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 3H), 1.25 (d, $J_{vic} = 6.0$ Hz, 3H), 1.25-1.40 (m, 2H), 1.44-1.53 (m, 1H), 1.56-

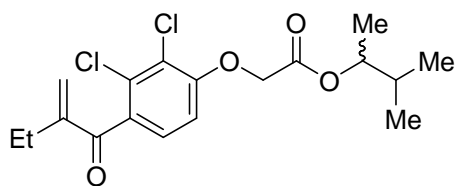


1.66 (m, 1H), 2.47 (ddq, $J_{vic} = 7.6$ Hz, $J_{trans} = 1.6$ Hz, $J_{cis} = 0.8$ Hz, 2H), 4.73 (s, 2H), 5.05 (sextet, $J_{vic} = 6.4$ Hz, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.38, 13.78, 18.49, 19.85, 23.42, 37.82, 66.41, 72.85, 110.69, 123.38, 126.70, 128.49, 131.50, 133.78, 150.22, 155.54, 167.39, 195.80; IR (KBr, THF) ν 1752, 1667, 1586, 1468, 1072 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 372 (M^+ , 13), 317 (21), 301 (15), 243 (26), 189 (13), 83 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 372.089515, nalezeno 372.088939. $R_f(4/1 \text{ hexan}/\text{EtOAc}) = 0.55$.

3-Methyl-but-2-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)phenoxy]acetát (8d). iso-

Pent-2-ylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), iso-pentan-2-olem (0.32 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1

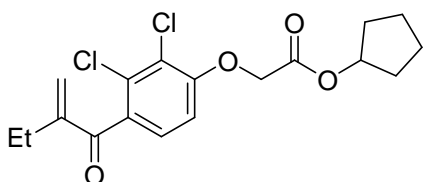
hexan/EtOAc), následným přečištěním sloupcovou chromatografií na silikagelu (3/1 hexan/Et₂O) bylo získáno 303 mg (81 %) čiré viskózní kapaliny: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.88 (d, *J*_{vic} = 6.9 Hz, 6H), 1.15 (t, *J*_{vic} = 7.5 Hz, 3H), 1.20 (d, *J*_{vic} = 6.3 Hz,



3H), 1.72-1.88 (m, 1H), 2.47 (q, *J*_{vic} = 7.5 Hz, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.87 (pentet, *J*_{vic} = 6.0 Hz, 1H), 5.58 (s, 1H), 5.93 (t, *J*_{trans} = 1.2 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H); ¹³C NMR (75

MHz, CDCl₃) δ 12.37, 16.58, 17.73, 17.92, 23.41, 32.53, 66.36, 110.57, 123.31, 126.70, 128.46, 131.50, 133.73, 150.21, 155.52, 167.38, 195.78; IR (KBr, THF) ν 1755, 1731, 1667, 1585, 1469, 1076 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 372 (M⁺, 32), 317 (31), 301 (42), 247 (23), 189 (19), 43 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₁₈H₂₂O₄Cl₂ [M⁺] 372.089515, nalezeno 372.089000. *R*_f(4/1 hexan/EtOAc) = 0.48.

Cyklopentyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (8e). Cyklopentylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), cyklopentanolem (0.27 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 302 mg (81 %) tuhé bílé látky: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.15 (t, *J*_{vic} = 7.6 Hz, 3H), 1.59-1.73 (m, 6H), 1.82-1.89 (m, 2H), 2.47 (ddq,

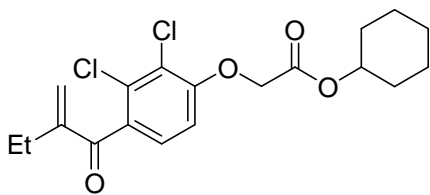


*J*_{vic} = 7.6 Hz, *J*_{trans} = 1.2 Hz, *J*_{cis} = 0.4 Hz, 2H), 4.72 (s, 2H), 5.27-5.32 (m, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.94 (t, *J*_{trans} = 1.2 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ

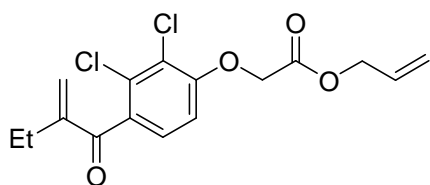
12.38, 23.41, 23.54 (2C), 32.61 (2C), 66.47, 78.85, 110.73, 123.37, 126.70, 128.49, 131.47, 133.77, 150.21, 155.54, 167.46, 195.80; IR (KBr) ν 3090, 2967, 2872, 1751, 1658, 1584, 1469, 1082 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 370 (M⁺, 27), 315 (41), 243 (61), 189 (31), 69 (83), 41 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₁₈H₂₀O₄Cl₂ [M⁺] 370.073865, nalezeno 370.074294. *R*_f(4/1 hexan/EtOAc) = 0.46.

Cyklohexyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (8f). Cyklohexylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), cyklohexanolem (0.31 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc)

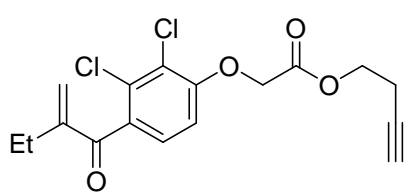
bylo získáno 357 mg (93 %) tuhé bílé látky: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.2$ Hz, 3H), 1.22-1.54 (m, 6H), 1.64-1.74 (m, 2H), 1.80-1.88 (m, 2H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.91 (septet, $J_{vic} = 3.6$ Hz, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.93 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.37, 23.44, 23.44, 25.15 (2C), 31.37 (2C), 66.47, 74.37, 110.73, 123.35, 126.70, 128.47, 131.46, 133.74, 150.21, 155.56, 167.16, 195.81; IR (KBr) ν 2957, 2855, 1735, 1656, 1585, 1467, 1075 cm^{-1} ; MS (FAB, m/z (rel. %)) 385 ($\text{M}^+ + \text{H}$, 12), 329 (20), 247 (17), 189 (16), 83 (75), 55 (100); HR-MS (FAB) vypočítáno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 385.097340, nalezeno 385.097931. $R_f(4/1 \text{ hexan}/\text{EtOAc}) = 0.53$.



Prop-2-en-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (10a). **Allyl-ester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (1.85 g, 6 mmol), THF (25 ml), allylalkoholem (1.5 ml, 18 mmol), DMAP (0.3 g, 3 mmol) a DCC (1.35 g, 7 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/2 hexan/dichlormethan) bylo získáno 1.88 g (90%) nažloutlé viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.14 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.46 (ddq, $J_{vic} = 7.5$ Hz, $J_{trans} = 1.2$ Hz, $J_{cis} = 0.9$ Hz, 2H), 4.69-4.72 (m, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.25-5.37 (m, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.86-5.96 (m, 2H), 6.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.35, 23.38, 66.11, 66.19, 110.77, 119.37, 123.37, 126.72, 128.57, 131.08, 131.47, 133.88, 150.14, 155.38, 167.38, 195.75; IR (KBr) ν 3088, 2969, 1759, 1666, 1585, 1468, 1082 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 342 (M^+ , 50), 301 (44), 287 (100), 243 (92), 229 (21), 189 (28); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 342.0426, nalezeno 342.0423. $R_f(1/2 \text{ hexan}/\text{dichlormethan}) = 0.30$.



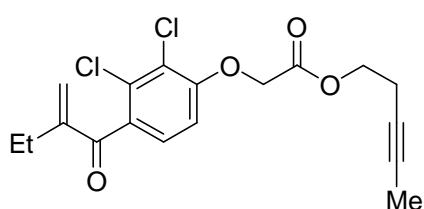
But-3-yn-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (10b). **But-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), but-3-yn-1-olem (0.23 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (2/1 hexan/ Et_2O) bylo získáno 320 mg (90 %) tuhé bílé látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3)



δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.01 (t, $J = 2.7$ Hz, 1H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 2.57 (dt, $J_{vic} = 6.6$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 2H), 4.33 (t, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.79 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.37, 18.92, 23.39, 63.08, 66.11, 70.29, 79.35, 110.85, 123.44, 126.72, 128.61, 131.50, 133.97, 150.17, 155.36, 167.51, 195.78; IR (KBr) ν 2976, 1749, 1660, 1588, 1469, 1081 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 354 (M^+ , 34), 299 (75), 243 (70), 189 (37), 43 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 354.042565, nalezeno 354.041827. $R_f(2/1 \text{ hexan}/\text{Et}_2\text{O}) = 0,22$.

Pent-3-yn-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)phenoxy]acetát (10c). Pent-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové.

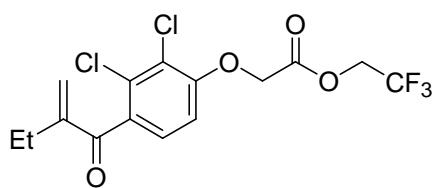
Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (303 mg, 1 mmol), THF (5 ml), pent-3-yn-1-olem (0.28 ml, 3 mmol), DMAP (65 mg, 0.5 mmol) a DCC (227 mg, 1.1 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 307 mg (83 %) tuhé bílé látky: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 3H), 1.77 (s, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.6$ Hz, 2H), 2.44-2.52



(m, 2H), 4.28 (t, $J_{vic} = 6.8$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.80 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 3.41, 12.37, 19.18, 23.40, 63.80, 66.17, 74.07, 77.68, 110.84, 123.40, 126.71, 128.57, 131.47, 133.91, 150.16, 155.41, 167.52, 195.77; IR (KBr) ν 2988 1744, 1660, 1589, 1469, 1080 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 368 (M^+ , 21), 313 (48), 243 (57), 189 (49), 83 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 368.058215, nalezeno 368.058746. $R_f(4/1 \text{ hexan}/\text{EtOAc}) = 0.37$.

2,2,2-Trifluorethyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)phenoxy]acetát (12a).

2,2,2-Trifluorethylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (225 mg, 0.75 mmol), THF (3 ml), 2,2,2-trifluorethanolem (0.14 ml, 1.9 mmol), DMAP (40 mg, 0.4 mmol) a DCC (190 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/1 hexan/dichlormethan) bylo získáno 153 mg (53%) nažloutlé viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 4.60 (q, $J_{vicF} = 8.1$ Hz, 2H), 4.87 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.95 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75

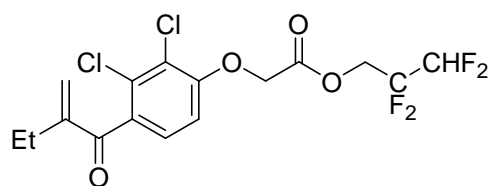


MHz, CDCl₃) δ 12.38, 23.38, 60.84 (q, J_{vicF} = 36.8 Hz), 65.73, 110.96, 124.30, 126.72, 128.72, 131.66, 134.40, 150.14, 155.03, 166.36, 195.66; ¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ -73.75 (t, J_{vicH} = 8.7 Hz, 3F);

IR (KBr) ν 3543, 3314, 3097, 3073, 2971, 2935, 2881, 1780, 1669, 1587, 1473, 1095 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 384 (M⁺, 20), 349 (30), 329 (100), 243 (96), 227 (36), 188 (32), 113 (37); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₁₅H₁₃O₄F₃Cl₂ [M⁺] 384.0143, nalezeno 384.0156. R_f(1/1 hexan/dichlormethan) = 0.27.

2,2,3,3-Tetrafluorpropyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (12b).

2,2,3,3-Tetrafluorpropylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (225 mg, 0.75 mmol), THF (3 ml), 2,2,3,3-tetrafluorpropan-1-olem (0.17 ml, 1.9 mmol), DMAP (40 mg, 0.4 mmol) a DCC (190 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/1 hexan/dichlormethan) bylo získáno 190 mg (61 %) nažloutlé viskózní kapaliny: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.15 (t, J_{vic} = 7.5 Hz, 3H), 2.47 (q, J_{vic} = 7.5 Hz, 2H), 4.62 (tt, J_{vicF} = 12.9 Hz, J_F = 1.2 Hz, 2H), 4.86 (s,



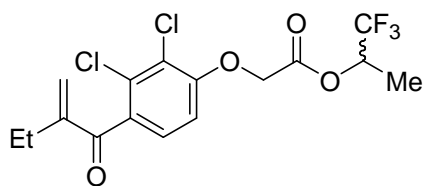
2H), 5.59 (s, 1H), 5.86 (tt, J_{gemF} = 53.1 Hz, J_{vicF} = 3.3 Hz, 1H), 5.95 (t, J_{trans} = 1.2 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.14 (d, J = 8.4 Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 12.38, 23.39,

60.07 (t, J_{vicF} = 28.6 Hz), 65.76, 110.83, 123.55, 126.74, 128.69, 131.66, 134.36, 150.16, 155.02, 166.49, 195.66; ¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ -136.86 až -136.67 (m, 2F), -123.02 až -122.92 (m, 2F); IR (KBr, aceton) ν 3319, 3090, 2971, 2936, 2879, 2852, 1781, 1666, 1586, 1469, 1088 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 416 (M⁺, 10), 381 (15), 361 (100), 243 (51), 227 (13), 188 (10); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₁₆H₁₄O₄F₄Cl₂ [M⁺] 416.0205, nalezeno 416.0203. R_f(1/1 hexan/dichlormethan) = 0.27.

1,1,1-Trifluorprop-2-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (12c).

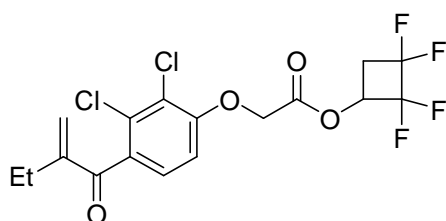
1,1,1-Trifluorprop-2-ylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (225 mg, 0.75 mmol), THF (3 ml), 1,1,1-trifluorpropan-2-olem (0.17 ml, 1.9 mmol), DMAP (40 mg, 0.4 mmol) a DCC (190 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (3/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 160 mg (54

%) tuhé bílé látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 3H), 1.46 (d, $J_{\text{vic}} = 6.3$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 2H), 4.83 (s, 2H), 5.35-5.48 (m, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{\text{trans}} = 1.5$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.38, 13.44, 23.39, 65.87, 67.93 (q, $J_{\text{vicF}} = 34.1$), 110.87, 123.60, 126.72, 128.67, 131.63, 134.29, 150.16, 155.10, 166.23, 195.68; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -78.67 (d, $J_{\text{vicH}} = 5.9$ Hz, 3F); IR (KBr) ν 3100, 3072, 2999, 2975, 2927, 2881, 1779, 1668, 1589, 1473, 1097 cm^{-1} ; MS (ESI, m/z (rel. %)) 421 ($\text{M}^+ + \text{Na}$, 100), 399 (M^+ , 50), 301 (8), 257 (10), 247 (13); HR-MS (ESI) vypočítáno pro $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{O}_4\text{F}_3\text{Cl}_2\text{Na}$ [$\text{M}^+ + \text{Na}$] 421.0192, nalezeno 421.0190. $R_f(3/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.47$.



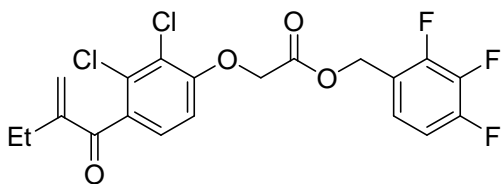
2,2,3,3-Tetrafluorocyclobutyl-[2,3-dichloro-4-(2-methylidenbutanoyl)phenoxy]acetát

(12d). **2,2,3,3-Tetrafluorocyclobutylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (225 mg, 0.75 mmol), THF (3 ml), 2,2,3,3-tetrafluorocyclobutanol (0.19 ml, 1.9 mmol), DMAP (40 mg, 0.4 mmol) a DCC (190 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (2/3 hexan/dichlormethan) bylo získáno 120 mg (37 %) nažloutlé tuhé látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.14 (t, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 3H), 2.46 (q, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 2H), 2.50-2.72 (m, 1H), 2.92-3.10 (m, 1H), 4.86 (s, 2H), 5.22-5.36 (m, 1H), 5.59 (s, 1H), 5.95 (t, $J_{\text{trans}} = 1.5$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.32, 23.33, 35.79-36.55 (m), 65.59, 67.32-68.15 (m), 110.92, 123.51, 126.73, 128.78, 131.56, 134.34, 150.06, 154.96, 166.48, 195.61; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -132.39 až -131.60 (m, 1F), -116.01 až -114.47 (m, 2F), -112.41 až -112.35 (m, 1F); IR (KBr) ν 3098, 3080, 3038, 2977, 2945, 2884, 1772, 1670, 1587, 1470, 1089 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 428 (M^+ , 16), 393 (25), 373 (100), 257 (46), 243 (66), 227 (28), 189 (18); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_4\text{F}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 428.0205, nalezeno 428.0208. $R_f(2/3 \text{ hexan/dichlormethan}) = 0.30$.



2,3,4-Trifluorbenzyl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (12e).

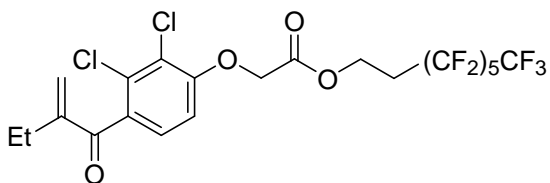
2,3,4-Trifluorbenzylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (225 mg, 0.75 mmol), THF (3 ml), 2,3,4-trifluorbenzylalkoholem (350 mg, 2.25 mmol), DMAP (40 mg, 0.4 mmol) a DCC (190 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/2 hexan/dichlormethan) bylo získáno 313 mg (92 %) nažloutlé viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.14 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.46 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.27 (s, 2H), 5.57 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.2$



Hz, 1H), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.93-7.04 (m, 1H), 7.06-7.13 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.35, 23.36, 60.33, 66.07, 110.76, 112.28 (d, $J_{vicF} = 17.0$ Hz), 112.33 (d, $J_{2vicF} = 17.0$ Hz), 123.43, 124.63, 126.69, 128.62, 131.53, 134.07, 150.14, 155.22, 167.33, 195.67; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -159.69 až -159.52 (m, 1F), -137.50 až -137.36 (m, 1F), -132.42 až -132.26 (m, 1F); IR (KBr, aceton) ν 3084, 2971, 2937, 2877, 1763, 1666, 1585, 1469, 1083 cm^{-1} ; MS (ESI, m/z (rel. %)) 425 (9), 315 (11), 265 (10), 243 (7); HR-MS (ESI) vypočítáno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{F}_3\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+ + \text{H}$] 447.0372, nalezeno 447.0373. $R_f(1/2 \text{ hexan/dichlormethan}) = 0.35$.

1H,1H,2H,2H-Perfluorokt-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (12f).

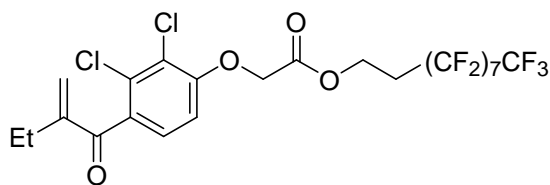
1H,1H,2H,2H-Perfluorokt-1-ylester kyseliny etakrynové. Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (150 mg, 0.5 mmol), THF (3 ml), 1H,1H,2H,2H-perfluoroktan-1-olem (0.35 ml, 1.5 mmol), DMAP (35 mg, 0.25 mmol) a DCC (112 mg, 0.55 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) a následnou krystalizací (Et_2O /pentan) bylo získáno 125 mg (39 %) bílé krystalické látky: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 2.52 (tt, $J_{vicF} = 18.3$ Hz, $J_{vicH} = 6.6$ Hz, 2H), 4.54 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.36, 23.40, 30.38 (t, $J_{vicF} = 21.6$ Hz), 58.22, 66.02, 110.75, 123.51, 126.71, 128.61, 131.63, 134.17, 150.18, 155.23, 167.39, 195.72; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -126.16 až -126.03 (m, 2F), -123.72 až -123.44 (m, 2F), -122.98 až -122.65 (m, 2F), -121.95 až -121.63 (m, 2F), -113.75 až -113.47 (m, 2F), -80.75 (tt, J_{vicF}



= 18.3 Hz, $J_{vicH} = 6.6$ Hz, 2H), 4.54 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.94 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 12.36, 23.40, 30.38 (t, $J_{vicF} = 21.6$ Hz), 58.22, 66.02, 110.75, 123.51, 126.71, 128.61, 131.63, 134.17, 150.18, 155.23, 167.39, 195.72; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -126.16 až -126.03 (m, 2F), -123.72 až -123.44 (m, 2F), -122.98 až -122.65 (m, 2F), -121.95 až -121.63 (m, 2F), -113.75 až -113.47 (m, 2F), -80.75 (tt, J_{vicF}

= 10.4 Hz, $J_F = 2.5, 3F$); IR (KBr) ν 3101, 3081, 2971, 2920, 2881, 1775, 1663, 1584, 1465, 1087 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 648 (M^+ , 18), 593 (100), 243 (74); HR-MS (EI) vypočítáno pro $C_{21}H_{15}O_4F_{13}Cl_2$ [M^+] 648.0140, nalezeno 648.0155. $R_f(1/2 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.56$.

1H,1H,2H,2H-Perfluordec-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (12g). **1H,1H,2H,2H-Perfluorodec-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (225 mg, 0.75 mmol), THF (3 ml), 1H,1H,2H,2H-perfluorodekan-1-olem (930 mg, 2 mmol), DMAP (40 mg, 0.4 mmol) a DCC (190 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/1 hexan/dichlormethan) bylo získáno 475 mg (85 %) bílé krystalické látky: 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.14 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.46 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 2.51 (tt, $J_{vicF} = 18.0$ Hz, $J_{vicH} = 6.3$ Hz, 2H), 4.53 (t, $J = 6.3$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H),



5.59 (s, 1H), 5.93 (t, $J_{trans} = 1.2$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ

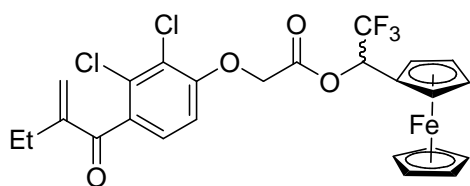
12.33, 23.39, 30.39 (t, $J_{vicF} = 21.7$ Hz), 57.42, 66.01, 110.75, 123.50, 126.71, 128.60, 131.61, 134.16, 150.18, 155.23, 167.39, 195.72; ^{19}F NMR (376 MHz, $CDCl_3$) δ -126.65 až -126.52 (m, 2F), -123.84 až -122.14 (m, 2F), -123.34 až -123.03 (m, 2F), -122.68 až -121.96 (m, 6F), -114.18 až -113.97 (m, 2F), -81.28 (tt, $J_{vicF} = 9.8$ Hz, $J_F = 2.2$ Hz, 3F); IR (KBr) ν 3082, 2976, 2925, 1776, 1662, 1585, 1467, 1088 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 748 (M^+ , 18), 713 (18), 693 (100), 243 (77); HR-MS (EI) vypočítáno pro $C_{23}H_{15}O_4F_{17}Cl_2$ [M^+] 748.0076, nalezeno 748.0072. $R_f(1/1 \text{ hexan/dichlormethan}) = 0.25$.

[4-([2,3-Dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetyl)oxy]but-1-yn-1-yl]ferrocen (15d). **4-Ferrocenylbut-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s kyselinou etakrynovou (50 mg, 0.15 mmol), THF (1 ml), 4-ferrocenylbut-3-yn-1-olem (29 mg, 0.11 mmol), DMAP (10 mg, 0.05 mmol) a DCC (42 mg, 0.2 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (3/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 51 mg (86 % vzhledem k výchozímu 4-ferrocenylbut-3-yn-1-olu) načervenalé krystalické látky: 1H NMR spektrum odpovídalo látce **23b** (kapitola 4.3).

4.3. Příprava esterů jinými metodami

[1-([2,3-Dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetyl)oxy)-2,2,2-trifluorethyl]-ferrocen (15c). 1-Ferrocenyl-2,2,2-trifluorethylester kyseliny etakrynové.

K roztoku kyseliny etakrynové (230 mg, 0.75 mmol) v dichlormethanu (3 ml) byl přikapán thionylchlorid (50 μ l, 0.7 mmol) a tato směs byla jednu hodinu refluxována při 40 °C. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl po kapkách přidán roztok 1-ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanolu (**14c**) (227 mg, 0.8 mmol) v dichlormethanu (3 ml) s přidavkem triethylaminu (0.13 ml, 0.9 mmol) a reakční směs byla ponechána 2 hodiny za laboratorní teploty. Dle TLC došlo ke vzniku nových látek. Reakční směs byla zhašena vodou a vytřepána do etheru. Po extrakci, sušení organické fáze síranem hořečnatým a filtraci byl filtrát zakoncentrován na RVO. Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/Et₂O) a následným přečištěním sloupcovou chromatografií na alumině (4/1 toluen/dichlormethan) bylo získáno 28 mg (7 %) nahnědlé viskózní kapaliny: ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 4.17 (s, 5H), 4.27 (t, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.27-4.40 (m, 2H), 4.92 (s, 2H), 5.58 (s, 1H), 5.94 (s, 1H),

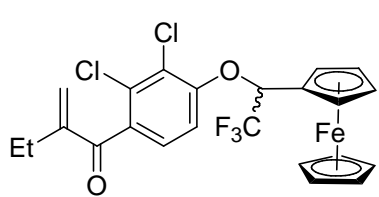


6.25 (q, $J_{vicF} = 6.3$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ¹³C NMR (75MHz, CDCl₃) δ 12.37, 23.38, 65.95, 67.05, 68.18, 68.79, 69.03 (2C), 69.10 (5C), 70.20 (q, $J_{vicF} = 33.6$ Hz), 110.90, 122.34 (q, $J_{gemF} = 279.8$ Hz), 123.60, 126.74, 128.71, 131.68, 134.35, 150.14, 155.08, 166.20, 195.64; IR (KBr, aceton) ν 3093, 2957, 2924, 2853, 1774, 1667, 1584, 1467, 1084 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 568 (M⁺, 100), 510 (11), 267 (63), 248 (17), 149 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₂₅H₂₁O₄Cl₂F₃Fe [M⁺] 568.0118, nalezeno 568.0126. R_f(3/1 toluen/dichlormethan) = 0.38.

{1-[2,3-Dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]-2,2,2-trifluorethyl}ferrocen (16).

K roztoku kyseliny etakrynové (157 mg, 0.5 mmol) v toluenu (2 ml) byl přikapán thionylchlorid (75 μ l, 1 mmol) a tato směs byla jednu hodinu refluxována při 120 °C. Po ochlazení na laboratorní teplotu byly těkavé složky reakční směsi oddestilovány vakuovou pumpou (za laboratorní teploty), přičemž vymrazovací prst byl chlazen tekutým dusíkem. V druhém reakčním kroku byl po kapkách přidán k vzniklé reakční směsi roztok 1-ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanolu (**14c**) (98 mg, 0.35 mmol) v toluenu

(1.5 ml) s přidavkem triethylaminu (0.13 ml, 0.9 mmol) a výsledná reakční směs byla ponechána 30 minut za laboratorní teploty. Dle TLC došlo ke vzniku nových látek. Dále byla reakční směs zhašena vodou a vytřepána do etheru. Po extrakci, sušení organické fáze síranem hořečnatým a filtraci byl filtrát zakonzentrován na RVO. Dvěma následnými sloupcovými chromatografiemi na alumině (5/1 toluen/dichlormethan) a konečným přečištěním na silikagelu (3/1 toluen/dichlormethan) bylo získáno 24 mg (13 % vzhledem k výchozímu 1-ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanolu) tmavě hnědé viskózní kapaliny: ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 1.16 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.49 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 4.07 (s, 5H), 4.25-4.35 (m, 3H), 4.58-4.59 (m, 1H), 5.48



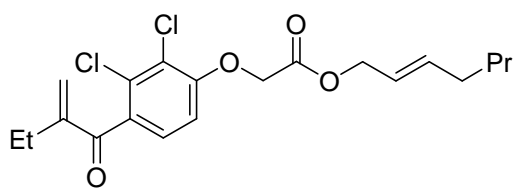
(q, $J_{vicF} = 5.7$ Hz, 1H), 5.61 (s, 1H), 5.96 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75MHz, CDCl_3) δ 12.40, 23.41, 67.62 (q, $J_{vicF} = 30.2$ Hz), 68.85 (2C), 68.90 (2C), 69.04 (5C), 78.85, 112.16, 122.95 (q, $J_{gemF} = 282.1$ Hz), 124.20, 126.78, 128.78, 131.88, 134.55, 150.15, 155.14, 195.64; IR (KBr, aceton) ν 3095, 2967, 2927, 2853, 1668, 1583, 1462 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 510 (M^+ , 58), 267 (100), 248 (16), 189 (17), 127 (61); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{O}_2\text{Cl}_2\text{F}_3\text{Fe}$ [M^+] 510.0064, nalezeno 510.0058. $R_f(3/1$ toluen/dichlormethan) = 0.58.

4.4. Derivatizace esterů kyseliny etakrynové

(2E)-1,4-Difenylbut-2-en (19). Do suché Schlenckovy nádoby pod argonovou atmosférou s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (**17**) (16 mg, 0.03 mmol) byl přidán methylester kyseliny etakrynové (**4a**) (175 mg, 0.55 mmol) v dichlormethanu (2 ml). K tomuto roztoku byl přidán allylbenzen (0.11 ml, 0.8 mmol). Reakční směs byla ihned po nasazení zahřáta na 40 °C a ponechána za této teploty 5 hodin. TLC prokázalo přítomnost nových látek v reakční směsi. Následně byla reakční směs zakoncentrována na RVO a sloupcovou chromatografií odparku (4/1 hexan/dichlormethan) bylo získáno 65 mg (75 %) čiré viskózní kapaliny: ¹H NMR spektrum odpovídalo publikovaným datům¹²⁷.

Obecná metodika metathetických reakcí na dvojně vazbě s allylesterem EA: Do suché Schlenckovy nádoby pod argonovou atmosférou s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (**17**) (5 mol. % vůči látce **10a**) byl přidán allylester kyseliny etakrynové (**10a**) v dichlormethanu (6 ml na 1 mmol esteru **10a**). K tomuto roztoku byl přidán příslušný alken (2 ekvivalenty vzhledem k allylesteru EA, není-li uvedeno jinak). Reakční směs byla ihned po nasazení zahřáta na 40 °C a ponechána za této teploty 5 hodin. TLC prokázalo přítomnost nových látek v reakční směsi. Následně byla reakční směs zakoncentrována na RVO a sloupcovou chromatografií odparku byly získány produkty.

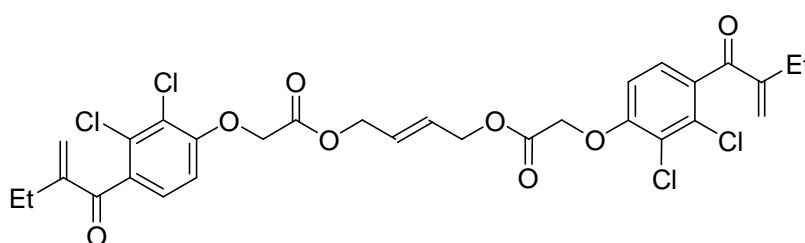
(2E)-Hept-2-en-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát (20a) a (2E)-But-2-en-1,4-diyl-bis{[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxyl]acetát} (21). **(2E)-Hept-2-en-1-ylester kyseliny etakrynové a (2E)-1,4-Bis(etakrynoyl)but-2-en.** Reakce byla prováděna s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (19 mg, 0.03 mmol), allylesterem kyseliny etakrynové (206 mg, 0.6 mmol), dichlormethanem (3 ml) a hex-1-enem (80 µl, 0.6 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (4/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 100 mg (42 %) nažloutlé viskózní kapaliny (**20a**) a 67 mg (34 %) tuhé bílé látky (**21**). **20a:** ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 0.90 (t, *J*_{vic} = 6.9 Hz, 3H), 1.15 (t, *J*_{vic} = 7.5 Hz, 3H), 1.25-1.42 (m, 4H), 2.03-2.09 (m, 2H), 2.47 (q, *J*_{vic} = 7.5 Hz, 2H), 4.65 (d, *J*_{vic} = 6.6 Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 5.48-5.59 (m, 1H), 5.60 (s, 1H), 5.77-5.85 (m, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.77 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.13 (d, *J* =



8.7 Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.38, 13.86, 22.14, 23.41, 30.90, 31.87, 66.30, 66.41, 110.81, 122.66, 123.58, 126.72, 128.54, 131.49, 133.86, 138.09, 150.18,

155.46, 167.53, 195.80; IR (KBr, acetone) ν 3090, 3027, 2960, 2929, 2872, 2857, 1759, 1668, 1625, 1585, 1468, 1080 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 398 (M^+ , 10), 218 (44), 176 (22), 133 (100), 120 (41); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 398.1052, nalezeno 398.1048. $R_f(3/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.71$.

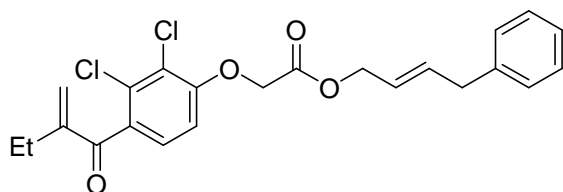
21: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 6H), 2.46 (q, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 4H), 4.72 (dd, $J_{\text{vic}} = 5.4$ Hz, $J = 1.2$ Hz, 4H), 4.78 (s, 4H), 5.60 (s, 2H), 5.86-5.89 (m, 2H),



5.94 (t, $J_{\text{trans}} = 1.2$ Hz, 2H), 6.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ

12.39 (2C), 23.41 (2C), 64.66 (2C), 66.21 (2C), 110.84 (2C), 123.42 (2C), 126.76 (2C), 127.98 (2C), 128.65 (2C), 131.56 (2C), 134.06 (2C), 150.19 (2C), 155.34 (2C), 167.37 (2C), 195.78 (2C); IR (KBr, acetone) ν 3088, 2967, 2936, 2876, 1759, 1666, 1624, 1585, 1469, 1081 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 656 (M^+ , 9), 301 (21), 257 (54), 247 (100), 189 (71); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{30}\text{H}_{28}\text{O}_8\text{Cl}_4$ [M^+] 656.0538, nalezeno 656.0520. $R_f(2/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.28$.

(2E) a (2Z)-4-Fenylbut-2-en-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (20b). **(2E) a (2Z)-4-Fenylbut-2-en-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s Hoveydoým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (19 mg, 0.03 mmol), allylesterem kyseliny etakrynové (206 mg, 0.6 mmol), dichlormethanem (3 ml) a allylbenzenem (0.16 ml, 1.2 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/2 hexan/dichlormethan) bylo získáno 226 mg (85 %) nažloutlé viskózní kapaliny. Jednalo se o směs **(2E)-20b/(2Z)-20b** v poměru 10/1. **(2E)-20b:** ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.14 (t, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{\text{vic}} = 7.5$ Hz, 2H), 3.40 (d, $J_{\text{vic}} = 6.6$ Hz, 2H), 4.68 (d, $J_{\text{vic}} = 6.9$ Hz, 2H), 4.75 (s, 2H), 5.57 (s, 1H), 5.57-5.68 (m, 1H), 5.87-6.02 (m, 1H), 5.93 (s, 1H), 6.75 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.06-7.32 (m, 6H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.37, 23.39, 38.56, 65.91, 66.24, 110.79, 119.39, 123.37, 126.31, 126.72,

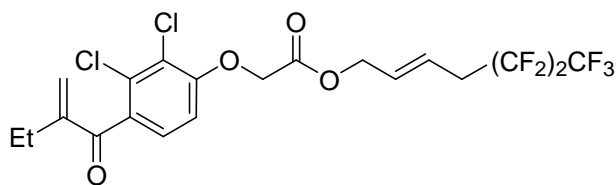


128.28 (2C), 128.53, 128.57 (2C), 131.47, 133.86, 135.92, 139.18, 150.14, 155.41, 167.42, 195.76; IR (KBr, aceton) ν 3084, 3061, 3026, 2967, 2933, 2874, 1758, 1667, 1623, 1586, 1470, 1082 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 432 (M^+ , 20), 330 (17), 296 (28), 247 (15), 189 (16), 130 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Cl}_2$ [M^+] 432.0895, nalezeno 432.0905. $R_f(1/2 \text{ hexan/dichlormethan}) = 0.40$.

(2Z)-20b: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 3.48 (d, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.87 (d, $J_{vic} = 6.9$ Hz, 2H).

(2E)-4,4,5,5,6,6,6-Heptafluorhex-2-en-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)-fenoxy]acetát (20c). **(2E)-4-Perfluorpropylbut-2-en-1-ylester kyseliny etakrynové.**

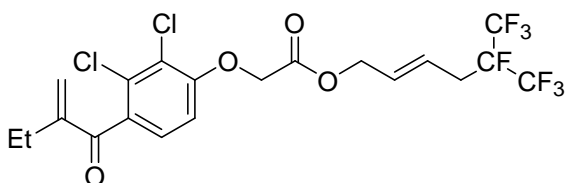
Reakce byla prováděna s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (5 mg, 0.008 mmol), allylesterem kyseliny etakrynové (52 mg, 0.15 mmol), dichlormethanem (0.8 ml) a 3-perfluorpropylprop-1-en (63 mg, 0.3 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/2 hexan/dichlormethan) bylo získáno 34 mg (43 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 2.87 (dt, $J_{vicF} = 17.7$ Hz, $J_{vicH} = 6.0$ Hz, 2H), 4.73 (d, $J_{vic} = 5.4$ Hz, 2H), 4.78



(s, 2H), 5.60 (s, 1H), 5.74-5.92 (m, 2H), 5.94 (s, 1H), 6.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.35, 23.39, 34.16 (t, $J_{vicF} = 22.6$ Hz), 64.85, 66.18, 110.76, 122.45 (t, $J_F = 4.4$ Hz), 123.44, 126.72, 128.60, 130.98, 131.56, 134.02, 150.17, 155.34, 167.36, 195.75; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -127.42 až -127.23 (m, 2F), -114.09 až -113.91 (m, 2F), -80.58 (t, $J_{vicF} = 10.4$ Hz, 3F); IR (KBr, aceton) ν 3090, 2971, 2939, 2880, 1762, 1668, 1625, 1585, 1469, 1083 cm^{-1} ; MS (ESI, m/z (rel. %)) 525 ($\text{M}^+\text{+H}$, 59), 457 (31), 307 (50), 210 (8); HR-MS (ESI) vypočítáno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{F}_7\text{Cl}_2$ [$\text{M}^+\text{+H}$] 525.0465, nalezeno 525.0467. $R_f(1/2 \text{ hexan/dichlormethan}) = 0.36$.

(2E)-4,5,5,5-Tetrafluor-4-(trifluormethyl)pent-2-en-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (20d). **(2E)-4-Perfluorisopropylbut-2-en-1-ylester ky-**

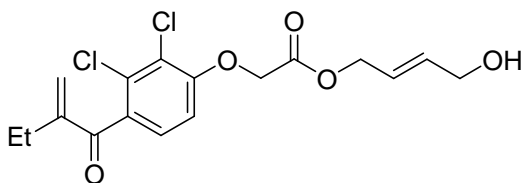
seliny etakrynové. Reakce byla prováděna s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (8 mg, 0.01 mmol), allylesterem kyseliny etakrynové (70 mg, 0.2 mmol), dichlormethanem (1 ml) a 3-perfluorisopropylprop-1-en (95 mg, 0.4 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (1/2 hexan/dichlormethan) bylo získáno 53 mg (50 %) čiré viskózní kapaliny: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 2.87 (dd, $J_{vicF} = 19.8$ Hz, $J_{vicH} = 5.7$ Hz, 2H), 4.71 (d, $J_{vic} = 5.4$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.59 (s, 1H), 5.73-5.89 (m, 2H), 5.94 (s, 1H), 6.77 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.36,



23.39, 31.98 (d, $J_{vicF} = 20.9$ Hz), 64.78, 66.17, 110.75, 123.48 (d, $J_F = 5.6$ Hz), 123.60, 126.72, 128.58, 130.32, 131.56, 134.02, 150.18, 155.34, 167.35, 195.75; ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ -182.61 až -182.37 (m, 1F), -76.06 (d, $J_{vicF} = 7.05$ Hz, 6F); IR (KBr, aceton) v 3089, 2971, 2937, 2880, 2854, 1763, 1668, 1624, 1586, 1469, 1083 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 524 (M^+ , 14), 489 (11), 469 (100), 301 (57), 243 (43), 189 (37); HR-MS (EI) vypočítáno pro $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_4\text{F}_7\text{Cl}_2$ [M^+] 524.0392, nalezeno 524.0380. R_f (1/2 hexan/dichlormethan) = 0.38.

(2E)-4-Hydroxybut-2-en-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl) fenoxyl]acetát

(20e). **(2E)-4-(Hydroxy)but-2-en-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s Hoveydovým-Grubbsovým katalyzátorem II. generace (19 mg, 0.03 mmol), allylesterem kyseliny etakrynové (206 mg, 0.6 mmol), dichlormethanem (3 ml) a allylalkoholem (90 μl , 1.2 mmol). Sloupcovou chromatografií na silikagelu (10/1 hexan/EtOAc) bylo získáno 32 mg (16 %) tuhé bílé látky (**21**) a polárnější soustavou (1/1 hexan/EtOAc) 60 mg (20 %) nažloutlé tuhé látky (**20e**): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1.15 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 1.8 (bs, 1H), 2.47 (q, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 2H), 4.17 (d, $J_{vic} = 3.9$ Hz, 2H), 4.72 (dd, $J_{vic} = 5.4$ Hz, $J = 0.9$ Hz, 2H), 4.78 (s, 2H), 5.61 (s, 1H), 5.75-5.96 (m, 2H), 5.95 (s, 1H), 6.79 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 12.33, 23.35, 62.35, 65.29, 66.21, 110.84, 123.39, 123.58, 126.70, 128.76, 131.43, 133.87, 134.86, 150.09, 155.37, 167.45, 195.89; IR (KBr, aceton) v 3380, 3086, 2967, 2932, 2875, 1757, 1665, 1624, 1585, 1469, 1083 cm^{-1} ; MS (EI, m/z

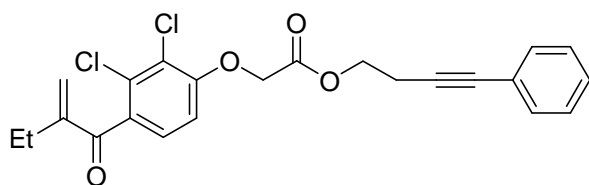


12.33, 23.35, 62.35, 65.29, 66.21, 110.84, 123.39, 123.58, 126.70, 128.76, 131.43, 133.87, 134.86, 150.09, 155.37, 167.45, 195.89; IR (KBr, aceton) v 3380, 3086, 2967, 2932, 2875, 1757, 1665, 1624, 1585, 1469, 1083 cm^{-1} ; MS (EI, m/z

(rel. %) 372 (M^+ , 8), 317 (53), 303 (58), 257 (77), 247 (85), 243 (81), 221 (33), 189 (100), 127 (31); HR-MS (EI) vypočítáno pro $C_{17}H_{18}O_5Cl_2$ [M^+] 372.0531, nalezeno 372.0525. $R_f(1/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.32$.

Obecná metodika zkřížených metathetických reakcí na trojné vazbě: Do suché Schlenckovy nádoby pod argonovou atmosférou s pent-3-yn-1-ylesterem kyseliny etakrynové (185 mg, 0.5 mmol) (**10c**), komplexem $[Mo(CO)_6]$ (26 mg, 0.1 mmol) a příslušným alkynem (**22**) (1 mmol) byl přidán 2-fluorfenol (56 mg, 0.5 mmol) a toluen (3 ml). Reakční směs byla ihned po nasazení zahřáta na olejové lázni na 118 °C a ponechána za této teploty 5 hodin. TLC prokázalo přítomnost nových látek v reakční směsi. Následně byla reakční směs zakoncentrována na RVO a sloupcovou chromatografií odparku byly získány produkty.

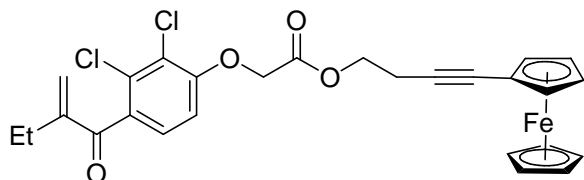
4-Fenylbut-3-yn-1-yl-[2,3-dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetát (23a). **4-Fenylbut-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s 1-fenylpropynem (0.13 ml, 1 mmol). Sloupcová chromatografie na silikagelu (6/1 hexan/EtOAc) poskytla 75 mg (35 %) nažloutlé viskózní kapaliny:



1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 1.14 (t, $J_{vic} = 7.5$ Hz, 3H), 2.47 (ddq, $J_{vic} = 7.5$ Hz, $J_{trans} = 1.5$ Hz, $J_{cis} = 0.6$ Hz, 2H), 2.80 (t, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.42 (t, $J_{vic} = 6.6$ Hz, 2H), 4.80 (s, 2H), 5.56 (d, $J_{cis} = 0.6$ Hz, 1H), 5.92 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.28- 7.31 (m, 3H), 7.35- 7.40 (m, 2H); ^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 12.38, 19.96, 23.39, 63.29, 66.19, 82.34, 84.75, 110.82, 123.04, 123.38, 126.74, 128.11 (2C), 128.30, 128.59 (2C), 131.49, 131.61, 133.91, 150.11, 155.40, 167.58, 195.74; IR (KBr, THF) ν 2957, 2886, 1760, 1721, 1665, 1586, 1458, 1066 cm^{-1} ; MS (EI, m/z (rel. %)) 430 (M^+ , 2), 313 (6), 243 (12), 189 (12), 128 (100); HR-MS (EI) vypočítáno pro $C_{23}H_{20}O_4Cl_2$ [M^+] 430.073865, nalezeno 430.073559. $R_f(6/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.13$.

[4-([2,3-Dichlor-4-(2-methylidenbutanoyl)fenoxy]acetyl)oxy]but-1-yn-1-yl]ferrocen (23b). **4-Ferrocenylbut-3-yn-1-ylester kyseliny etakrynové.** Reakce byla prováděna s prop-1-yn-1-ylferrocenem (200 mg, 0.9 mmol). Sloupcovou

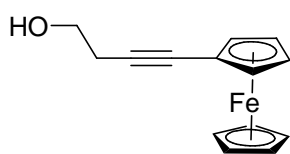
chromatografií na silikagelu (6/1 hexan/EtOAc), další sloupcovou chromatografií (1/2 hexan/dichlormethan) a následným přečištěním sloupcovou chromatografií na silikagelu (2/1 hexan/Et₂O) bylo získáno 35 mg (13 %) tmavě hnědé tuhé směsi výchozí látky pent-3-yn-1-ylesteru etakrynové kyseliny a **23b**. **23b**: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ



(m, 2H), 4.19 (s, 5H), 4.35- 4.37 (m, 2H), 4.37 (t, $J_{vic} = 6.9$ Hz, 2H), 4.79 (s, 2H), 5.58 (s, 1H), 5.93 (t, $J_{trans} = 1.5$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.08 (d, J

= 8.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 12.39, 20.07, 23.40, 63.43, 65.22, 66.19, 68.43 (2C), 69.83 (5C), 71.25 (2C), 80.48, 80.71, 110.86, 123.40, 126.80, 128.63, 131.48, 133.91, 150.11, 155.39, 167.53, 195.75; IR (KBr) ν 3092, 2966, 2928, 2874, 2854, 1760, 1664, 1583, 1466, 1083 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 538 (M⁺, 100), 435 (7), 348 (14), 236 (50), 121 (28); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₂₇H₂₄O₄Cl₂Fe [M⁺] 538.0401, nalezeno 538.0409. $R_f(3/1 \text{ hexan/EtOAc}) = 0.29$.

(4-Hydroxybut-1-yn-1-yl)ferrocen (14d). 4-Ferrocenylbut-3-yn-1-ol. 4-(Ferrocenyl)but-3-yn-1-ylester etakrynové kyseliny (ve směsi s pent-3-yn-1-ylesterem etakrynové kyseliny) byl v rámci čištění podroben krystalizaci z různých rozpouštědel (hexan, toluen, ether, methanol, ethanol, acetonitril, isopropanol), také byl přechováván v roztoku chloroformu. Bohužel, kontrola krystalizačních směsí pomocí TLC prokázala rozklad připravených sloučenin. Sloupcovou chromatografií spojených krystalizačních směsí na alumině (3/1 hexan/Et₂O) byla získána nová červená krystalická látka: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1.88 (bs, 1H), 2.58 (t, $J_{vic} = 6.0$ Hz, 2H), 3.76 (t, $J_{vic} = 6.0$



Hz, 2H), 4.16 (t, $J_{vic} = 1.8$ Hz, 2H), 4.19 (s, 5H), 4.37 (t, $J_{vic} = 1.8$ Hz, 2H); ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 23.97, 61.16, 65.54, 68.31 (5C), 69.79 (2C), 71.23 (2C), 80.56, 82.26; IR (KBr) ν

3310, 2854, 1460, 1041 cm⁻¹; MS (EI, m/z (rel. %)) 254 (M⁺, 100), 224 (47), 121 (50); HR-MS (EI) vypočítáno pro C₁₄H₁₄OFe [M⁺] 254.0394, nalezeno 254.0398. $R_f(2/1 \text{ hexan/ether}) = 0.19$.

4.5. Příprava výchozích látek

(1-Hydroxyethyl)ferrocen (14b). 1-Ferrocenylethanol. Acetylferrocen (1.00 g, 4.4 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (40 ml), roztok byl ochlazen na 0 °C a při této teplotě byl po částech přidán tetrahydridoboritan sodný (238 mg, 6 mmol). Při přidávání redukčního činidla se měnila barva reakční směsi z červené na žlutočervenou a vzniklý roztok šuměl. Reakční směs byla ohřáta na laboratorní teplotu a po 30 minutách TLC vykazovala úplnou konverzi výchozího acetylferrocenu. Reakční směs byla naředěna vodou (30 ml) a extrahována do etheru. Spojené etherické extrakty byly sušeny Na₂SO₄ a po filtraci byl vzniklý roztok zakoncentrován na RVO. Odparek byl sušen pod vakuem a vzniklý produkt překrytalizován ze směsi ether/hexan. Bylo získáno celkem 731 mg (74%) žlutooranžových jehlicovitých krystalů. ¹H NMR spektrum a teplota tání látky odpovídaly publikovaným datům¹²⁵.

(2,2,2-Trifluor-1-hydroxyethyl)ferrocen (14c). 1-Ferrocenyl-2,2,2-trifluorethanol. (Trifluoracetyl)ferrocen (**25**) (600 mg, 2.1 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (20 ml), roztok byl ochlazen na 0 °C a při této teplotě byl přidán tetrahydridoboritan sodný (38 mg, 1 mmol). Při přidávání redukčního činidla se měnila barva reakční směsi z višňově červené na žlutou. Reakční směs vykazovala (dle TLC) po přidání veškerého NaBH₄ úplnou konverzi výchozího (trifluoracetyl)ferrocenu. Reakční směs byla naředěna vodou (15 ml) a extrahována do etheru. Spojené etherické extrakty byly sušeny Na₂SO₄ a po filtraci byl vzniklý roztok zakoncentrován na RVO. Sloupcovou chromatografií odparku na alumině (6/1 hexan/acetone) a sušením pod vakuem bylo získáno 525 mg (88%) žluté sytké látky. ¹H NMR spektrum a teplota tání látky odpovídaly známým datům^{125a}.

Prop-1-yn-1-ylferrocen (22b). Do Schlenckovy nádoby pod argonovou atmosférou s ethynylferrocenem (210 mg, 1 mmol) byl přidán THF (5 ml) a roztok byl ochlazen na -70 °C. K reakční směsi bylo při -70 °C přidáno po kapkách *n*-butyllithium (1 ml, 1.6 M roztok v hexanu, 1.6 mmol) během 30 minut. Vzniklá směs byla na 30 minut odstavena od chladicí lázně a ohřáta tak na laboratorní teplotu a opět ochlazená na -70 °C. K této směsi byl při -70 °C přikapán methyljodid (284 mg, 2 mmol), reakční směs byla ponechána 20 hodin za laboratorní teploty a poté opatrně naředěna vodou. Vzniklá směs byla extrahována dichlormethanem, spojené organické fáze byly promyty

nasyčeným roztokem NaHCO_3 , sušeny MgSO_4 a po filtraci byl vzniklý roztok zakoncentrován na RVO. Odparek byl sušen pod vakuem. Bylo získáno 215 mg (95 %) sypké červené látky. ^1H NMR spektrum látky odpovídalo publikovaným datům¹²⁰.

(Trifluoracetyl)ferrocen (26). Do suchého dichlormethanu (20 ml) byl přisypán bezvodý AlCl_3 (27 mmol, 3.6 g) a tato suspenze byla za chlazení na $0\text{ }^\circ\text{C}$ míchána 15 minut. Poté byl k suspenzi přikapán trifluoracetanhydrid (1.9 ml, 13.5 mmol) za $0\text{ }^\circ\text{C}$ a po 2 hodinách míchání za stejné teploty byl přikapán roztok ferrocenu (2.5 g, 13.4 mmol) v suchém dichlormethanu (9 ml). Po 4 hodinách za $0\text{ }^\circ\text{C}$ byla reakční směs rozložena vodou (5 ml) a přidán hexan (8 ml). Vzniklá směs byla extrahována do hexanu, spojené hexanové extrakty byly vysušeny Na_2SO_4 a po filtraci byl vzniklý roztok zakoncentrován na RVO. Sloupcová chromatografie na silikagelu (9/1 hexan/ether), následná sloupcová chromatografie na silikagelu (12/1 hexan/ether) a konečně sloupcová chromatografie na Al_2O_3 (15/1 hexan/ether) poskytla 625 mg (16 %) višňově červené viskózní kapaliny. R_f odpovídal publikovaným datům^{125b}.

5. Závěr

V rámci diplomové práce se podařilo především zvolit vhodnou metodiku pro přípravu mnoha esterů kyseliny etakrynové. Metodou Steglichovy esterifikace bylo připraveno více než 25 esterů kyseliny etakrynové, jak z mnoha nasycených a nenasycených alifatických alkoholů, tak z mnoha fluorovaných a perfluorovaných alkoholů. Jednalo se v naprosté většině o dosud nepublikované látky. Osvědčená metoda Steglichovy esterifikace selhávala pouze v případech, kde ani jiné použité postupy nebyly efektivní.

Většina připravených látek byla testována na biologickou aktivitu, ovšem ucelené výsledky tohoto zkoumání zatím nejsou k dispozici.

Dvojná vazba v konjugaci ke karbonylové skupině v methylesteru etakrynové kyseliny se ukázala jako nereaktivní vůči zvoleným základním organometalickým transformacím Heckovy reakce a metathese. Podařilo se prokázat účinnost metody zkřížených metathesí na dvojných a částečně na trojných vazbách. Především metodou zkřížených metathesí olefinů bylo připraveno několik nových derivátů kyseliny etakrynové.

6. Seznam použité literatury

1. Schultz, E. M.; Cragoe, E. J.; Bicking, J. B.; Bolhofer, W. A.; Sprague, J. M. *J. Med. Pharm. Chem.* **1962**, *5*, 660-662.
2. a) Sigler, M. H.; Teehan, B. P.; Daugirdas, J. T.; Ing, T. S. *Slow Continuous Therapies, in Handbook of Dialysis*, 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, **1994**, str. 169-197; b) Canaud, B.; Mion, C. *Adv. Nephrol.* **1995**, *24*, 271-313.
3. Russo, D.; Memoli, B.; Andreucci, V. E. *Clin. Nephrol.* **1992**, *38*, Suppl. 69-73.
4. Gemba, M. *Japan. J. Pharmacol.* **1974**, *24*, 213-218.
5. Koechel, D. A.; Cafruny E. J. *J. Med. Chem.* **1973**, *16*, 1147-1152.
6. Burg, M.; Green, N. *Kidney Int.* **1973**, *4*, 301-308.
7. Koechel, D. A.; Gisvold, O.; Cafruny, E. J. *J. Med. Chem.* **1971**, *14*, 628-629.
8. Koechel, D. A.; Rankin, D. O. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 764-769.
9. a) Bicking, J. B.; Holtz, W. J.; Watson, L. S.; Cragoe Jr., E. J. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 530-535; b) Bicking, J. B.; Robb, Ch. M.; Watson, L. S.; Cragoe Jr., E. J. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 544-547; c) Schultz, E. M.; Bicking, J. B.; Deana, A. A.; Gould, N. P.; Strobaugh, T. P.; Watson, L. S.; Cragoe Jr., E. J. *J. Med. Chem.* **1976**, *19*, 783-787.
10. Lüllman, H.; Mohr, K.; Wehling, M.; Wenke, M. *Farmakologie a toxikologie*, něm. překlad, 15. vydání, Grada Publishing a.s., **2004**, str. 257.
11. Kulkarni, A. P.; Sajan, M. P. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1997**, *143*, 179-188.
12. Wilce, M. C. J.; Parker, M. W. *Biochim. Biophys. Acta* **1994**, *1205*, 1-18.
13. a) Mannervik, B.; Alin, P.; Guthenberg, C.; Jensson, H.; Tahir, M. K.; Warholm, M.; Jornvall, H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1985**, *82*, 7202-7206; b) Meyer, D. J.; Coles, B.; Pemble, S. E.; Gilmore, K. S.; Fraser, G. M.; Ketterer, B. *Biochem. J.* **1991**, *274*, 409-414.
14. Kodíček, M. *Biochemické pojmy*, VŠCHT Praha, **2007**.
15. Nosková, V.; Hajdúch, M.; Mihál, V.; Cwiertka, K. *Klinická onkologie* **2000**, *13*, 10-17.
16. a) Waxman, D. J. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 6449-6454; b) Hayes, J. D.; Pulford, D. *J. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1995**, *30*, 445-600.
17. Coles, B.; Ketterer, B. *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1990**, *25*, 47-70.
18. Tsuchida, S.; Sato, K. *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* **1992**, *27*, 337-384.

19. a) Puchalski, R. B.; Fahl, W. E. *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.* **1990**, *87*, 2443-2447; b) Black, S. M.; Beggs, J. D.; Bartszek, A.; Muramatsu, M.; Sakai, M.; Wolf, C. R. *Biochem. J.* **1990**, *268*, 309-315.
20. Black, S. M.; Wolf, C. R. *Pharmacol. Therap.*, **1991**, *51*, 139-154.
21. Zhao, G.; Liu, Ch.; Wang, R.; Song, D.; Wang, S.; Lou, H.; Jing, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2701-2707.
22. a) Wang, A. L.; Tew, K. D. *Cancer. Treat. Rep.* **1985**, *69*, 677-682; b) Yang, W. Z.; Begleiter, A.; Johnston, J. B.; Israels, L. G.; Mowat, M. R. *Mol. Pharmacol.* **1992**, *41*, 625-630.
23. Buller, A. L.; Clapper, M. L.; Tew, K. D. *Mol. Pharmacol.* **1987**, *31*, 575-578.
24. Batist, G.; Tulpule, A.; Sinha, B. K.; Katki, A. G.; Meyers, C. E.; Cowan, K. H. *J. Biol. Chem.* **1986**, *261*, 15544-15549.
25. Taylor, C. W.; Brittain, M. G.; Yeoman, L. C. *Cancer Res.* **1985**, *45*, 4422-4427.
26. Gupta, V.; Singh, S. V.; Ahmad, H.; Medh, R. D.; Awasthi, Y. C. *Biochem. Pharmacol.* **1989**, *38*, 1993-2000.
27. Teichner, B. A.; Holden, S. A.; Kelly, M. J.; Shea, T. C.; Cucchi, C. A.; Rosowsky, A.; Henner, W. D.; Frei, E. *Cancer Res.* **1987**, *47*, 388-393.
28. Armstrong, D. K.; Gordon, G. B.; Hilton, J.; Streeper, R. T.; Colvin, O. M.; Davidson, N. E. *Cancer Res.* **1992**, *52*, 1416-1421.
29. Henderson, G. B.; Hughes, T. R.; Saxena, M. *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 13382-13389
30. Dulik, D. M.; Fenselau, C.; Hilton, J. *Biochem. Pharmacol.* **1986**, *35*, 3405-3409.
31. Pallante, S. L.; Lisek, C. A.; Dulik, D. M.; Fenselau, C. *Drug. Metab. Dispos.* **1986**, *14*, 313-318.
32. Okaley, A. J.; Rossjohn, J.; Lo Bello, M.; Caccuri, A. M.; Federici, G.; Parker, M. W. *Biochemistry* **1997**, *36*, 576-585.
33. a) van Iersel, M. L. P. S.; Ploemenb, J.-P. H. T. M.; Struik, I.; van Amersfoort, Ch.; Keyzerb, A. E.; Schefferlieb, J. G.; van Bladeren, P. J. *Chem. Biol. Interact.* **1996**, *102*, 117-132; b) van Iersel, M. L. P. S.; Ploemenb, J.-P. H. T. M.; Bello, M. L.; Federici, G.; van Bladeren, P. J. *Chem. Biol. Interact.* **1997**, *108*, 67-78.
34. Ploemen, J. H. T. M.; van Ommen, B.; van Bladeren, P. J. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, *40*, 1631-1635.

35. Ahokas, J. T.; Nicholls, F. A.; Ravenscroft, P. J.; Emmerson, B. T. *Biochem. Pharmacol.* **1985**, *34*, 2157-2161.
36. Ploemen, J. H. T. M.; Bogaards, J. J. P.; Veldink, G. A.; van Ommen, B.; Jansen, D. H. M.; van Bladeren, P. J. *Biochem. Pharmacol.* **1993**, *45*, 633-639.
37. Hansson, J.; Berhane, K.; Castro, V. M.; Jungnelius, U.; Mannervik, B.; Ringborg, U. *Cancer Res.* **1991**, *51*, 94-98.
38. O'Dwyer, P. J.; LaCreta, F.; Nash, S.; Tinsley, P. W.; Schilder, R.; Clapper, M. L.; Tew, K. D.; Panting, L.; Litwin, S.; Comis, R. L.; Ozols, R. F. *Cancer Res.* **1991**, *51*, 6059-6065.
39. Kulkarni, A. P.; Sajan, M. P. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1997**, *143*, 179-188.
40. Black, S. M.; Wolf, C. R. *Pharmacol. Therapeut.* **1991**, *51*, 139-154.
41. a) Moscow, J. A.; Townsend, A. J.; Cowan, K. H. *Molecular Pharmacol.* **1989**, *36*, 22-28; b) Nakagawa, K.; Saijo, N.; Tsuchida, S.; Sakai, M.; Tsunokawa, Y.; Yokota, J.; Muramatsu, M.; Sato, K.; Tereda, M.; Tew, K. D. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 4296-4301.
42. Nagourney, R. A.; Messenger, J. C.; Kern, D. H.; Weisenthal, L. M. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **1989**, *30*, 574-580.
43. Gate, L.; Tew, K. D. *Expert Opin. Ther. Targets* **2001**, *5*, 477-489.
44. Tew, K. D. *Cancer Res.* **1994**, *54*, 4313-4320.
45. Wang, R.; Li, Ch.; Song, D.; Zhao, G.; Zhao, L.; Jing, Y. *Cancer Res.* **2007**, *67*, 7856-7864.
46. Datey, K. K.; Deshmukh, S. N.; Dalvi, C. P.; Purande, N. M. *Br. Med. J.* **1967**, *3*, 152-153.
47. Yamamoto, K.; Masubuchi, Y.; Narimatsu, S.; Kobayashi, S.; Horie, T. *Toxicol. Vitro.* **2002**, *16*, 151-158.
48. Meredith, M. J.; Reed, D. J. *J. Biol. Chem.* **1982**, *257*, 3747-3753.
49. Erickson-Lamy, K.; Schroeder, A.; Epstein, D. L. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1992**, *33*, 2631-2640.
50. Warholm, M.; Stenius, U.; Stahl, A.; Högberg, J. *Toxicol. Vitro* **1995**, *9*, 937-943.
51. Redegeld, F. A. M.; Moison, R. M. W.; Koster, A. S.; Noordhoek, J. *Eur. J. Pharmacol.* **1992**, *228*, 229-236.
52. Oronsky, A. L.; Triner, L.; Steinsland, O. S.; Nahas, G. G. *Nature* **1969**, *223*, 619-621.

53. Ryoyama, K.; Nomura, T.; Nakamura, S. *Cancer Immunol. Immunother.* **1993**, *37*, 385-391.
54. Spangelo, B. L.; Jarvis, W. D.; Judd, A. M.; MacLeod, R. M. *Endocrinology* **1991**, *129*, 2886-2894.
55. Pahl, H. L. *Oncogene* **1999**, *18*, 6853-6866.
56. Han, Y.; Englert, J.A.; Delude, R. L.; Fink, M. P. *Shock* **2005**, *23*, 45-53.
57. Brennan, P.; Bowie, A.; O'Neill, L. A. J. *Biochem. Soc. Trans.* **1993**, *21*, S390.
58. a) Maepea, O.; Bill, A. *Exp. Eye Res.* **1989**, *49*, 645-663; b) Quigley, H. A. *New Engl. J. Med.*, **1993**, *328*, 1097-1106; c) Kaufman, P. L.; Gabelt, B. T.; Cynader, M. *Surv. Ophthalmol.* **1999**, *43* (Suppl. 1), S89-S90.
59. a) Nardin, G. F.; Zimmerman, T. J.; Mittag, T. W.; Gieser, S. C.; Juzych, M.; Robin, A. L.; Schwartz, G. F.; Camras, C. B.; Lippa, E. A. *The Glaucomas*, 2nd edition, C. V. Mosby, **1996**, str. 1399-1481; b) Hoyng, P. F.; van Beek, L. M. *Drugs* **2000**, *59*, 411-434.
60. a) Liang, L. L.; Epstein, D. L.; de Kater, A. W.; Shahsafaei, A.; Ericson-Lamy, K. A.; *Arch. Ophthalmol.* **1992**, *110*, 106-109; b) Epstein, D. L.; Freddo, T. F.; Bassett-Chu, S.; Chung, M.; Karageuzian, L. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1987**, *28*, 2067-2075; c) Tingey, D. P.; Ozment, R. R.; Schroeder, A.; Epstein, D. L. *Am. J. Ophthalmol* **1992**, *113*, 706-711.
61. Epstein, D. L.; Roberts, B. C.; Skinner, L. L. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1997**, *38*, 1526-1534.
62. Epstein, D. L.; Hooshmand, L. B.; Epstein, M. P. M. *Curr. Eye Res.* **1992**, *11*, 253-258.
63. Melamed, S.; Kotas-Neumann, R.; Barak, A.; Epstein, D. L. *Am. J. Ophthalmol.* **1992**, *113*, 508-512.
64. Cynkowska, G.; Cynkowski, T.; Al-Ghananeem, A. A.; Guo, H.; Ashton, P.; Crooks, P. A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3524-3527.
65. Shimazaki, A.; Ichikawa, M.; Rao, P. V.; Kirihara, T.; Konomi, K.; Epstein, D. L.; Hara, H. *Biol. Pharm. Bull.* **2004**, *27*, 1019-1024.
66. Shimazaki, A.; Suhara, H.; Ichikawa, M.; Matsugi, T.; Konomi, K.; Takagi, Y.; Hara, H.; Rao, P. V.; Epstein, D. L. *Biol. Pharm. Bull.* **2004**, *27*, 846-850.
67. Rao, P. V.; Shimazaki, A.; Ichikawa, M.; Alvarado, J. A.; Epstein, D. L. *Biol. Pharm. Bull.* **2005**, *28*, 2189-2196.

68. Shimazaki, A.; Kirihara, T.; Rao, P. V.; Tajima, H.; Matsugi, T.; Epstein, D. L. *Biol. Pharm. Bull.* **2007**, *30*, 1445-1449.
69. WHO, *Wkly. Epidem. Rep.- Releve Epidem. Hebd.* **1980**, *55*, 145-152.
70. Artenstein, A. W. *Rev. Med. Virol.* **2008**, *18*, 217-231.
71. Aragon, T. J.; Ulrich, S.; Fernyak, S.; Rutherford, G. W. *BMC Publ. Health* **2003**, *3*, 26.
72. Arness, M. K.; Eckart, R. E.; Love, S.S.; Atwood, J. E.; Wells, T. S.; Engler, R. J.; Collins, L. C.; Ludwig, S. L.; Riddle, J. R.; Grabenstein, J. D.; Tornberg, D. *N. Am. J. Epidemiol.* **2004**, *160*, 642-651.
73. Pirrung, M. C.; Pansare, S. V.; Sarma, K. D.; Keith, K. A.; Kern, E. R. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 3045-3050.
74. Smee, D. F.; Sidwell, R. W. *Antivir. Res.* **2003**, *57*, 41-52.
75. Quenelle, D. C.; Keith, K. A.; Kern, E. R. *Antivir. Res.* **2006**, *71*, 24-30.
76. Bray, M.; Wright, M. E. *Clin. Infect. Dis.* **2003**, *36*, 766-774.
77. De Clercq, E. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *73*, 911-922.
78. De Clercq, E.; Holý, A. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 928-940.
79. Safrin, S.; Cherrington, J.; Jaffe, H. S.; *Rev. Med. Virol.* **1997**, *7*, 145-156.
80. Parker, S.; Touchette, E.; Oberle, C.; Almond, M.; Robertson, A.; Trost, L. C.; Lampert, B.; Painter, G.; Buller, R. M. *Antivir. Res.* **2008**, *77*, 39-49.
81. Kaiser, J. *Science* **2007**, *316*, 1418-1419.
82. Spisakova, M.; Cizek, Z.; Melkova, Z. *Antivir. Res.* **2009**, *81*, 156-165.
83. Vicik, R.; Busemann, M.; Baumann, K.; Schirmeister, T. *Curr. Top. Med. Chem.* **2006**, *6*, 331-353.
84. a) Alejo, A.; Andrés, G.; Salas, M. L. *J. Virol.* **2003**, *77*, 5571-5577; b) Byrd, C. M.; Hruby, D. E. *Rev. Med. Virol.* **2006**, *16*, 187-202; c) Greber, U. F. *Rev. Med. Virol.* **1998**, *8*, 213-222.
85. Byrd, C. M.; Bolken, T. C.; Hruby, D. E. *J. Virol.* **2002**, *76*, 8973-8976.
86. Kaeppler, U.; Stiefl, N.; Schiller, M.; Vicik, R.; Breuning, A.; Schmitz, W.; Rupprecht, D.; Schmuck, C.; Baumann, K.; Ziebuhr, J.; Schirmeister, T. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6832-6842.
87. Katritch, V.; Byrd, C. M.; Tseitin, V.; Dai, D.; Rausch, E.; Totrov, M.; Abagyan, R.; Jordan, R.; Hruby, D. E. *J. Comput. Aided Mol. Des.* **2007**, *21*, 549-558.

88. Graham, S. C.; Bahar, M. W.; Cooray, S.; Chen, R. A.; Whalen, D. M.; Abrescia, N. G.; Alderton, D.; Owens, R. J.; Stuart, D. I.; Smith, G. L.; Grimes, J. M. *PLoS Pathogens* **2008**, *8*, e1000128.
89. Senkevich, T. G.; White, C. L.; Koonin, E. V.; Moss, B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 6667-6672.
90. White, C. L.; Senkevich, T. G.; Moss, B. *J. Virol.* **2002**, *76*, 467-472.
91. a) Ojeda, S.; Senkevich, T. G.; Moss, B. *J. Virol.* **2006**, *80*, 51-61; b) Townsley, A. C.; Senkevich, T. G.; Moss, B. *J. Virol.* **2005**, *79*, 9458-9469.
92. Kaeppler, U.; Schirmeister, T. *Med. Chem.* **2005**, *1*, 361-370.
93. a) Cragoe Jr., E. J.; Woltersdorf Jr., O. W.; Gould, N. P.; Pietruszkiewicz, A. M.; Ziegler, C.; Sakurai, Y.; Stokker, G. E.; Anderson, P. S.; Bourke, R.S.; Kimelberg, H. K.; Nelson, L. R.; Barron, K. D.; Rose, J. R.; Szarowski, D.; Popp, A. J.; Waldman, J. B. *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 825-841; b) Abraham, D. J.; Mehanna, A.S.; Williams, F. S.; Cragoe Jr., E. J.; Woltersdorf Jr., O. W. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 2460-2467; c) Cragoe Jr., E. J.; Gould, N. P.; Woltersdorf Jr.; O. W.; Ziegler, C.; Bourke, R. S.; Nelson, L. R.; Kimelberg, H. K.; Waldman, J. B.; Popp, A. J.; Sedransk, N. *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 567-579; d) Woltersdorf Jr., O. W.; DeSolms, S. J.; Stokker, G. E.; Cragoe Jr., E. J. *J. Med. Chem.* **1984**, *27*, 840-845.
94. a) Hoffman, W. F.; Woltersdorf Jr., O. W.; Novello, F. C.; Cragoe Jr., E. J.; Springer, J. P.; Watson, L. S.; Fanelli Jr., G. M. *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 865-873; b) Woltersdorf Jr., O. W.; DeSolms, S. J.; Cragoe Jr., E. J. *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 874-878; c) De Solms, S. J.; Woltersdorf, Jr., O. W.; Cragoe Jr., E. J.; Watson, L. S.; Faneli Jr., G. M. *J. Med. Chem.* **1978**, *21*, 437-443; d) Woltersdorf Jr., O. W.; DeSolms, S. J.; Schultz, E. M.; Cragoe Jr., E. J. *J. Med. Chem.* **1977**, *20*, 1400-1408.
95. Midha, K. K.; Hubbard, J. W.; Charette, C.; Jun H. W. *J. Pharmacol. Sci.* **1978**, *67*, 975-978.
96. a) Barfknecht, Ch. F.; Schoenwald, R. D. US Pat. 5565434, **1996**; b) Ashton, P.; Smith, T. J.; Cynkowski, T.; Cynkowska, G.; Edmund, M. WO 02/098427 A2, **2002**; c) Dyson, P. J.; Ange, W. H. WO 2007/128158 A1, **2007**.
97. Carey, F. A. *Organic chemistry*, 4th. edition, The McGraw-Hill companies, **2000**, str. 787-790.
98. Bruice, P. Y. *Organic chemistry*, 4th. edition, Prentice Hall, **2004**, str. 679.

99. McMurry, J. *Organic chemistry*, 5th edition, Thomson learning company, **2000**, str. 865-871.
100. Červinka, O.; Dědek, V, Ferles, M. *Organická chemie*, 2. vydání, Praha: SNTL, **1980**, str. 623-631.
101. Lindsay, J. K.; Hauser, Ch. R. *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 355-358.
102. Mitsunobu, O.; Yamada, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 2380-2382.
103. Fitzjarrald, V. P.; Pongdee, R. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 3553-3557.
104. Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd. Edition, John Wiley & Sons, Inc., **1999**, str. 371-383.
105. Nakao, R.; Oka, K.; Fukumoto, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 1267-1268.
106. Goswami, P.; Chowdhury, P. *New. J. Chem.* **2000**, *24*, 955-957.
107. Laborde, M. A.; Bermejo, P.; Boggian, D. B.; Mata, E. G. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 4624-4625.
108. Gandhi, N. N.; Patil, N. S.; Sawant, S. B.; Joshi, J. B.; Wangikar, P. P.; Mukesh, D. *Cat. Rev. Sci. Eng.* **2000**, *42*, 439-480.
109. Kurzer, F.; Douraghi-Zadeh K. *Chem. Rev.* **1967**, *67*, 107-152.
110. Shelkov, R.; Nahmany, M.; Melman, A. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 397-401.
111. Buchanan, G.; Rastegar, M. F.; Enright, G. *J. Fluor. Chem.* **2007**, *128*, 1026-1028.
112. Hassner, A.; Alexanian, V. *Tetrahedron. Lett.* **1978**, *46*, 4475-4478.
113. Murugan, R.; Scriven, E. F. V. *Aldrichim. Acta* **2003**, *36*, 21-27.
114. a) Steglich, W.; Höfle, G. *Angew. Chem., Inter. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 981-982; b) Höfle, G.; Steglich W. *Synthesis* **1972**, *4*, 619-620; c) Neises, B.; Steglich W. *Angew. Chem.* **1978**, *90*, 556-557.
115. Neises, B.; Steglich, W. *Org. Synth., Coll. Vol* **1990**, *7*, 93-94.
116. Boden, E. P.; Keck, G. E. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2394-2395.
117. Bringmann, G.; Breuning, M.; Henschel, P.; Hinrichs, J. *Org. Synth.* **2002**, *79*, 72-83.
118. Feldman, K. S.; Ensel, S. M.; Minard, R. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1742-1745.
119. Lindsay, J. K.; Hauser, C. R. *J. Org. Chem.* **1957**, *22*, 355-358.
120. a) Choi, T. L.; Lee, Ch. W.; Chatterjee, A. K.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 10417-10418; b) Chatterjee, A. K.; Choi, T. L.; Sanders, D. P.; Grubbs, R. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 11360-11370.

121. a) Bianco, A.; Cavarischia, C.; Guiso, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 2004, 2894-2898; b) Fall, Y.; Doucet, H.; Santelli, M. *Tetrahedron* **2009**, 65, 489-495.
122. Eignerová, B.; Dračínský, M.; Katora, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 2008, 4493-4499.
123. a) Fürstner, A.; Guth, O.; Rumbo, A.; Seidel, G. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 11108-11113; b) Fürstner, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3012-3043.
124. a) Katora, M.; Nečas, D.; Štěpnička, P. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2003**, 68, 1897-1903; b) Bobula, T.; Hudlický, J.; Novák, P.; Gyepes, R.; Císařová, I.; Štěpnička, P.; Katora, M. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, 2008, 3911-3920.
125. a) Sobočíková, M.; Katora, M. *Příprava perfluoralkylovaných ferrocenů (dipl. práce)*, Př.F. UK, **2005**, 33 str.; b) Sobočíková, M.; Štěpnička, P.; Ramella, D.; Katora, M. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **2006**, 71, 190-196.
126. Katora, M.; Nečas, D.; Štěpnička, P. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **2003**, 68, 1897-1903.
127. Poeylant-Palena, A. A.; Testero, S. A.; Mata, E. G. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 2024-2027.

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval Prof. RNDr. Martinu Kotorovi, CSc za vedení mé diplomové práce, za veškerý čas, který mi věnoval a za spoustu užitečných rad. Děkuji též MUDr. Zoře Mělkové, Ph.D. za návrh celého projektu a za testování získaných látek na biologickou aktivitu.

Mé díky též patří RNDr. Stanislavu Hilgardovi, CSc. (měření a konzultace IR spekter), Mgr. Simoně Hybelbauerové (měření NMR spekter a seznámení s přístrojovou technikou), dále týmu hmotnostní spektroskopie na Ústavu organické chemie a biochemie (měření MS a HRMS spekter) a všem lidem z laboratoře 142 na katedře organické a jaderné chemie za přátelský kolektiv. Za pomoc se stylistikou a jazykovou úpravou děkuji Markétě Markové.

Tato práce vznikla za podpory grantů VZ MSM0021620806, MSM0021620857 a GACR 310/05/H53.