

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

**KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE**



**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Syntéza a biologické hodnocení**  
**vybraných polysubstituovaných furanonů**

**Hradec Králové, 2009**

**Jiří Kratochvíl**

Za odborné vedení a cenné rady při vypracovávání diplomové práce děkuji svému školiteli prof. RNDr. Milanu Pourovi, PhD. a Mgr. Petru Šenelovi, PhD., dále pak PharmDr. Marcelu Špulákovi, PhD a doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi. Za vytváření příjemné pracovní atmosféry dále patří mé díky Mgr. Lucii Tichotové, Mgr. Ondřeji Krenkovi, Mgr. Elišce Matouškové, Mgr. Ivanu Šnajdrovi, PhD., Petru Jančárkovi, Richardu Lubojackému, Jaroslavě Šaškové a v neposlední řadě též Jakubovi Kalinovi. Nakonec bych rád poděkoval i RNDr. Ivanu Votrubovi, DrSc. za stanovení cytotoxické aktivity a rovněž Idě Dufkové za stanovení antifungální a antibakteriální aktivity.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

## ABSTRAKT

Úkolem této diplomové práce byla příprava 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-onu odvozeného od cytostaticky účinných 5-alkoxymethyl-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-onů. Cílovou molekulu se však nepodařilo ani jedním ze třech navržených syntetických postupů syntetizovat. Dále jsme se zaměřili na přípravu série 5-bis(acetyloxymethyl)-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-2-onů s různou arylovou substitucí odvozených od antibakteriálně, antifungálně a cytostaticky účinného 5-bis(acetyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-2-onu s cílem zjistit, jakým způsobem odlišná arylová substituce v poloze 3 furanonového kruhu ovlivní biologickou aktivitu předlohouvé struktury. V průběhu experimentu byla knihovna produktů neplánovaně obohacena i o 5-acetyloxymethyl-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-2-ony. Lze říci, že odlišná arylová substituce vede k výraznému poklesu nebo vymizení účinku antibakteriálního, antifungálního i cytostatického s výjimkou 5-acetyloxymethyl-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-2-onů, u nichž byla nalezena mírná antifungální (*Absidia corymbifera*) a antibakteriální aktivita (*Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis*) a určitá cytostatická aktivita (L1210, HeLa S3, CCRF-CEM,  $IC_{50} < 5 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ).

## ABSTRACT

The aim of this thesis was to prepare 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromophenyl)-2,5-dihydrofuran-2-one derived from cytostatically active 5-alkoxymethyl-3-(4-bromophenyl)-2,5-dihydrofuran-2-ones. However, none of the three proposed synthetic procedures led to the target molecule. Next we focused on the preparation of a series of 5-bis(acetyloxymethyl)-3-aryl-4-phenyl-2,5-dihydrofuran-2-ones with different aryl substitution derived from the antibacterially, antifungally and cytostatically active 5-bis(acetyloxymethyl)-3-(4-bromophenyl)-4-phenyl-2,5-dihydrofuran-2-one. The aim was to explore a relationship between aryl substitution in position 3 and biological activity of the compounds. The spectrum of products was also enriched by 5-acetyloxymethyl-3-aryl-4-phenyl-2,5-dihydrofuran-2-ones. In conclusion aryl substitution leads to a significant decrease or vanishing of the antibacterial, antifungal and cytostatic effects with the exception of 5-acetyloxymethyl-3-aryl-4-phenyl-2,5-dihydrofuran-2-ones, in which marginal antifungal (*Absidia corymbifera*), antibacterial (*Staphylococcus aureus* a *Staphylococcus epidermidis*) and significant cytostatic (L1210, HeLa S3, CCRF-CEM,  $IC_{50} < 5 \mu\text{mol.l}^{-1}$ ) activities were found.

# OBSAH

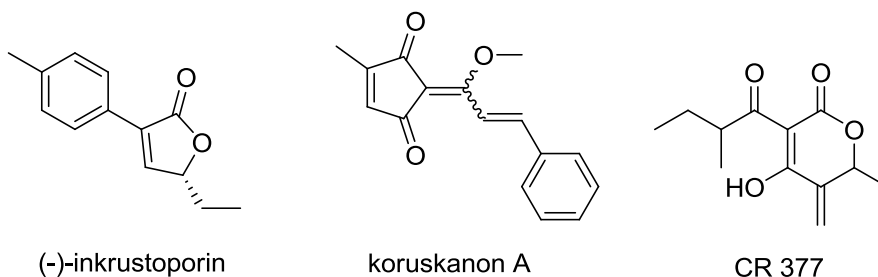
<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....</b>	<b>6</b>
<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>7</b>
<b>2. CÍL PRÁCE .....</b>	<b>14</b>
<b>3. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 Syntéza 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-onu.....</b>	<b>15</b>
3.1.1 Návrh syntézy .....	15
3.1.2 Provedení syntézy.....	17
<b>3.2 Syntéza (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl)bis(methyl)-diacetátů .....</b>	<b>23</b>
3.2.1 Návrh syntézy .....	23
3.2.2 Provedení syntézy.....	25
<b>3.3 Hodnocení antifungální, antibakteriální a cytostatické aktivity .....</b>	<b>29</b>
3.3.1 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on .....	29
3.3.2 (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5-yl)methyl-acetáty a (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl)bis(methyl)-diacetáty .....	31
<b>4. ZÁVĚR.....</b>	<b>36</b>
<b>5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>38</b>
<b>5.1 Obecné experimentální postupy .....</b>	<b>38</b>
<b>5.2 Použité experimentální postupy při biologickém hodnocení.....</b>	<b>39</b>
5.2.1 Hodnocení antifungální aktivity .....	39
5.2.2 Hodnocení antibakteriální aktivity .....	39
5.2.3 Hodnocení cytostatické aktivity .....	40
<b>5.3 Syntéza.....</b>	<b>41</b>
5.3.1 Syntéza 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-onu .....	41
5.3.2 Syntéza (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran -5-yl)methyl-acetátů a (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl)bis(methyl)-diacetátů.....	46
<b>6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>57</b>

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Ac	acetyl
Ar	aryl
DMSO	dimethylsulfoxid
Et	ethyl
Et <sub>3</sub> N	triethylamin
EtOAc	ethyl-acetát
FBSCl	4-fluorbenzensufonylchlorid
IR	infračervená spektroskopie
LDA	diisopropylamid lithný
<i>m</i> CPBA	<i>m</i> -chlorperoxybenzoová kyselina
Me	methyl
MeO	methoxy
MeOH	methanol
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická rezonance
Ph	fenyl
PhSeBr	fenylselanylbromid
THF	tetrahydrofuran

## 1. ÚVOD

Z basidiomycety *Incrustoporia carneola* byla v roce 1995 izolována látka, která vykazovala antifungální efekt proti fytopatogenním houbám a podle tohoto mikroorganismu byla nazvána inkrustoporin<sup>1</sup>. Tato poměrně jednoduchá struktura, která byla potvrzena pomocí spektrálních metod a rovněž syntetizována *de novo* obsahuje pětičlenný nenasycený laktonový kruh, ve kterém je dvojná vazba v kruhu konjugována s karbonylovou skupinou laktonu. Podobný fragment lze vystopovat i v několika dalších molekulách perspektivních z hlediska antifungálního účinku (např. koruskanon A, CR 377). Furanonový základ inkrustoporinu<sup>1</sup> je dále substituován v poloze 3 skupinou *p*-tolylovou a v poloze 5 ethylovým zbytkem. V poloze 5 pak nacházíme chirální centrum, které podmiňuje existenci dvou enantiomerů. V přírodě se vyskytující levotočivý izomer má absolutní konfiguraci R<sup>2,3,4,5</sup>. Z hlediska farmakologického je zajímavé i to, že tato látka vykazovala kromě efektu antimykotického rovněž slabou cytostatickou aktivitu.



Po zevrubných studiích biologické aktivity analog inkrustoporinu<sup>6,7,8</sup>, kde úkolem bylo připravit různé deriváty této molekuly a testovat jejich antifungální účinek na humánně patogenních houbách, byly jako nejaktivnější vyhodnoceny molekuly substituované na fenylu v poloze 3 halogeny a v poloze 5 skupinou hydroxymethylovou (Schéma 1), která byla dále acylována různými acylchloridy (acetyl, pivalyl, 4-chlorbenzoyl). Povaha těchto substituentů však nehrála významnou roli pro manifestaci antifungálního efektu. Bylo totiž experimentálně potvrzeno<sup>6,7,8</sup>, že syntetizované estery jsou za podmínek *in vitro* testů eliminační reakcí změněny na vlastní účinnou látku, molekulu s exocyklickou dvojnou vazbou (**3**, **4**), podobnou v přírodě se vyskytujícímu antifungálně účinnému sekundárnímu metabolitu protoanemoninu.

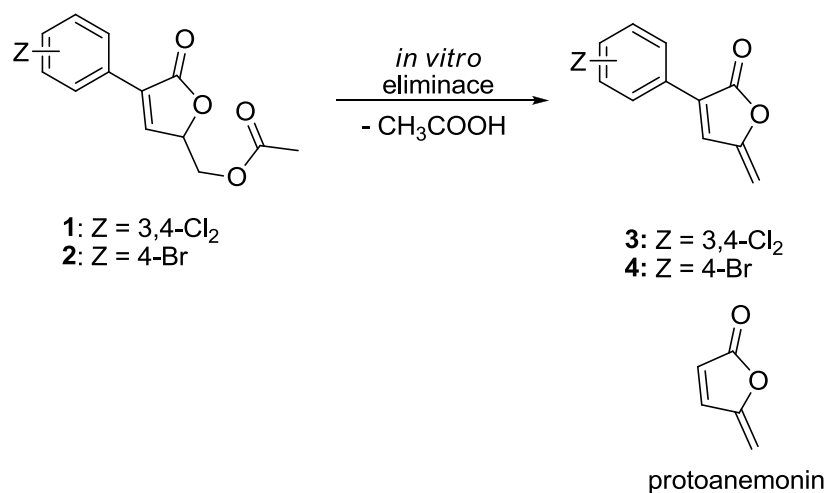
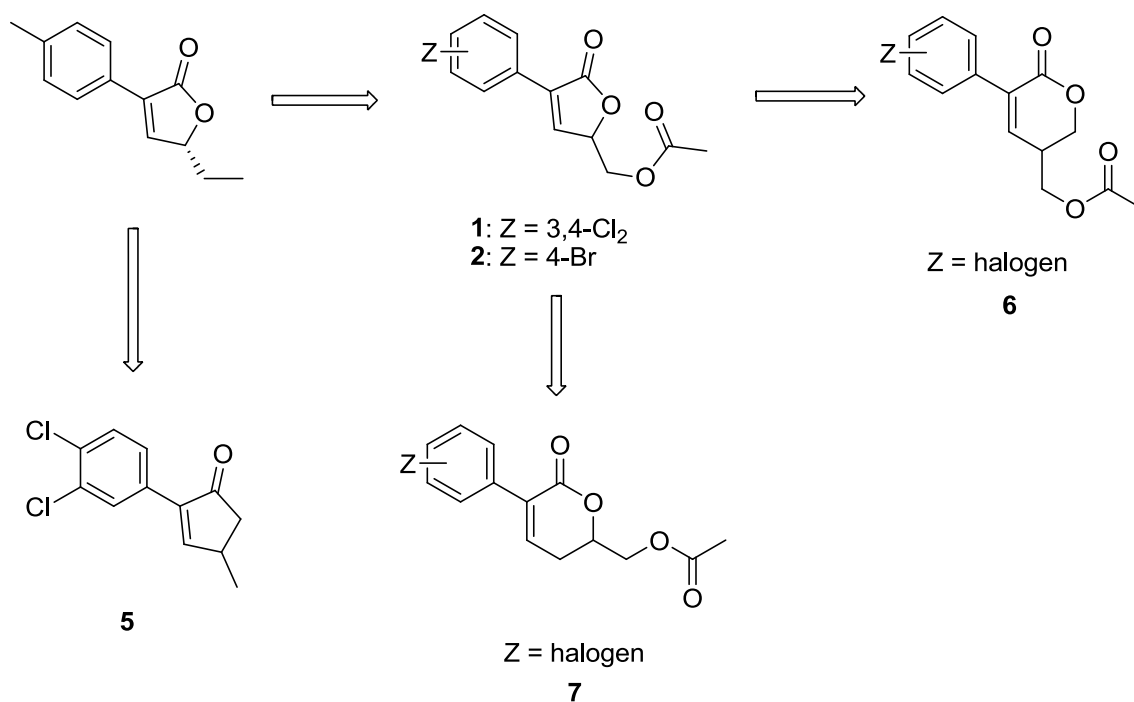


Schéma 1

Chiralita předlohové molekuly (-)inkrustoporinu byla pro zjednodušení zanedbána již v předchozích pokusech<sup>6</sup>, přičemž později bylo prokázáno<sup>7</sup>, že absolutní konfigurace je z hlediska efektu antimykotického nepodstatná (Schéma 1). To je opět logickým důsledkem vznikající účinné struktury s dvojnou vazbou, neboť s jejím vznikem dochází k zániku chirálního centra.

Knihovna derivátů inkrustoporinu byla rozšířena i o látky (Obr. 1), kde je kyslík v laktonovém kruhu nahrazen uhlíkem<sup>8</sup> (**5**) a posléze byl laktonový kruh také o jeden uhlík rozšířen<sup>9</sup> (**6**, **7**). Touto modifikací však látky zcela ztratily svůj antimykotický potenciál a byla tím vyvrácena i domněnka, že efekt proti houbovým patogenům je nespecifický, založený pouze na prosté Michaelově adici do β-polohy laktonového kruhu. Vzhledem k tomu, že karbanaloga jako je např. látka **5** jsou lepšími Michaelovými akceptory než výchozí laktony, musely by v takovém případě být účinnější.

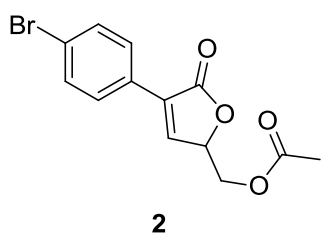




Obr. 1

Minimální inhibiční koncentrace látek **1** a **2**, resp. produktů jejich *in vitro* eliminace (**3**, **4**) se pohybovaly v řádech jednotek  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ , tzn. jednalo se o velmi účinné látky, antifungálním efektem *in vitro* srovnatelné s klinicky využívanými antimykotiky<sup>7,10</sup> (Tab. 1.).

Tab. 1. Porovnání *in vitro* antifungální aktivity (IC<sub>80</sub> [ $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ]) látky **2** a flukonazolu a aktivity (IC<sub>95</sub> [ $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ]) amfotericinu B (hodnoty MIC byly stanoveny po 48 h.)

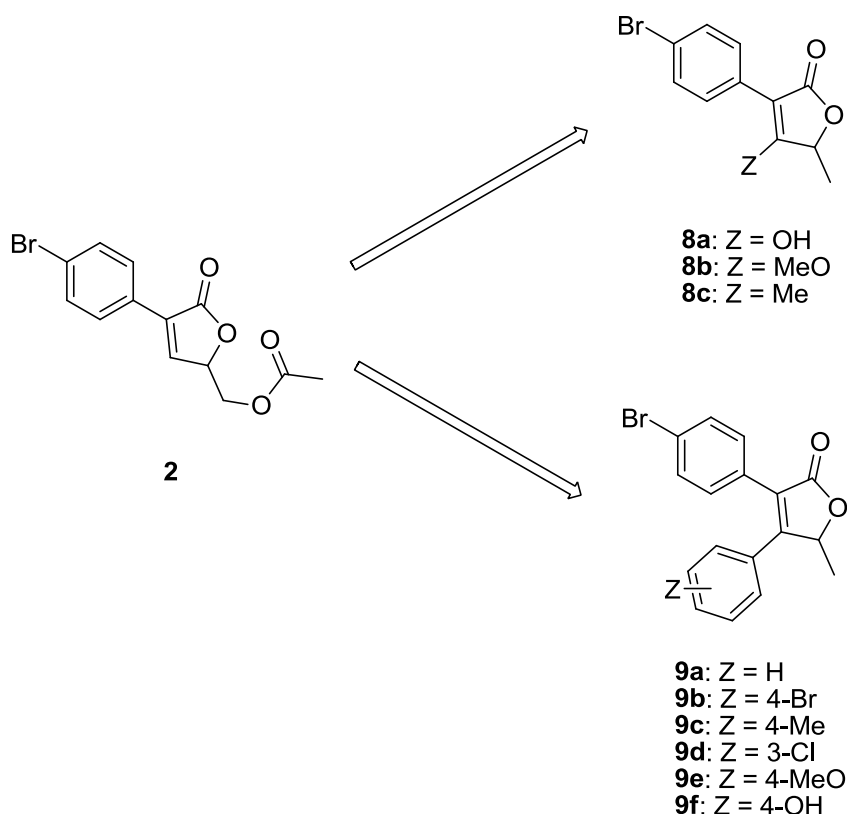


	CA1 <sup>a</sup>	CK2 <sup>c</sup>	CT <sup>d</sup>	CG <sup>e</sup>	TB <sup>g</sup>	AF <sup>h</sup>	AC <sup>i</sup>
<b>2</b>	1.95	7.81	7.81	1.95	7.81	3.91	15.63
<b>FLU</b>	2	>50	5	>50	9	>50	>50
<b>AmB</b>	0.06	0.18	0.11	0.09	1.80	0.23	2.16

<sup>a</sup>*Candida albicans* ATCC44859 <sup>b</sup>*C. parapsilosis* ATCC22019 <sup>c</sup>*C. krusei* E28 <sup>d</sup>*C. tropicalis* 156 <sup>e</sup>*C. glabrata* 20/I <sup>f</sup>*C. lusitaniae* 2446/I <sup>g</sup>*Trichosporon beigelii* 1188 <sup>h</sup>*Aspergillus fumigatus* 231 <sup>i</sup>*Absidia corymbifera* 272

Sloučenina **2** se celkově ukázala jako nejvhodnější. Při testech akutní toxicity<sup>10</sup> u ní nebyly zaznamenány významné změny v organismu testovaných zvířat *in vivo* ani při pitvě. V hodnocení cytostatického účinku na některé linie nádorových buněk vykazala tato látka jen průměrnou aktivitu<sup>11</sup>. Metodou průtokové cytometrie bylo zjištěno, že mechanismus účinku této molekuly spočívá v interakci s buněčnou membránou hub, což způsobí porušení buněčné homeostázy, a únik důležitých molekul a iontů vede tak k její smrti. Je tedy podobný mechanismu účinku amfotericinu B<sup>12,13</sup>.

Další přípravou a testováním analog<sup>10</sup> bylo prokázáno, že substituce v poloze 4 furanonového kruhu vede celkově ke snížení antifungální aktivity (Obr. 2). Proto je pro její zachování nezbytné, aby poloha 4 zůstala nesubstituována. V případě substituentů fenylového, p-tolylového a 4-bromfenylového (**9a-c**) však dochází k překvapivé renesanci antifungálního efektu, který je selektivní proti jedinému z testovaných druhů, významnému původci nozokomiálních mykóz *Absidia corymbifera*, byť velikostí nepříliš významný (Tab. 2.).

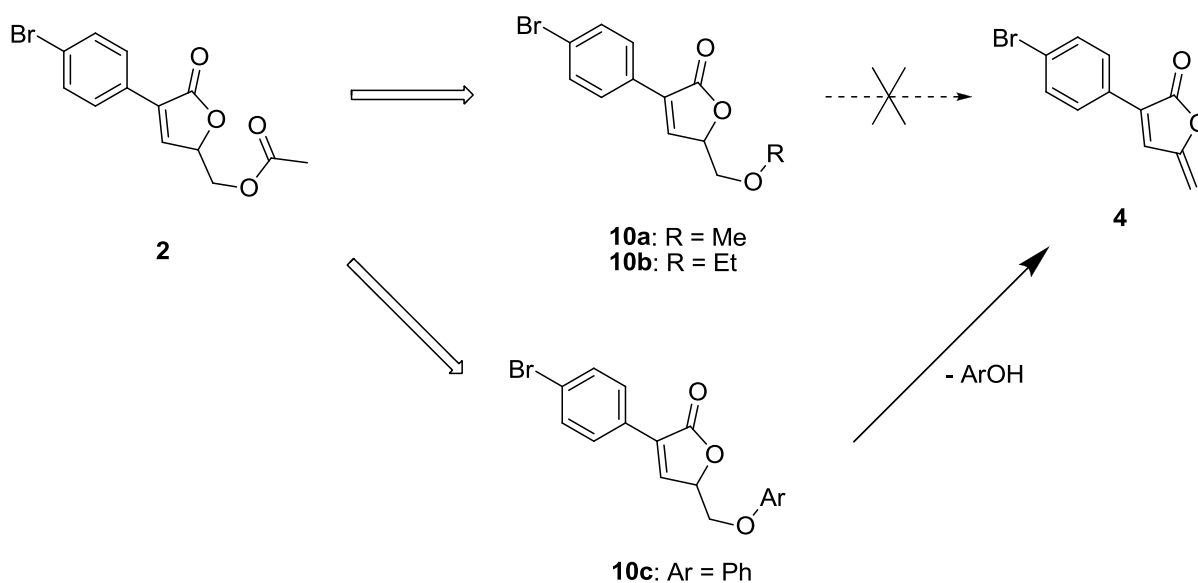


Obr. 2

Tab. 2. Antifungální aktivita připravených derivátů **9a-c** vůči druhu *Absidia Corymbifera* ( $IC_{80}$  [ $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ])

	čas	$IC_{80}$ ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ )
<b>9a</b>	24 h	31.25
	48 h	31.25
<b>9b</b>	24 h	15.62
	48 h	31.25
<b>9c</b>	24 h	15.62
	48 h	31.25

V práci Šenela<sup>10</sup> byla rovněž popsána syntéza analog látky **2** s omezenou schopností eliminace. Tento experiment odkryl fakt, že některé látky charakteru 5-alkoxymethylderivátů předlokové struktury disponují zajímavou cytostatickou aktivitou na některé linie nádorových buněk (Obr. 3, Tab. 3.). U těchto látek nedochází k rozkladu eliminací na antifungálně účinnou strukturu **4** a v souladu s tím nejsou antifungálně účinné. 5-aryloxymethylderiváty tohoto typu (**10c**) eliminaci podléhají a jsou antifungálně aktivní, ovšem i u nich byla zjištěna jistá cytostatická aktivita<sup>14</sup> (Obr. 3, Tab. 3).



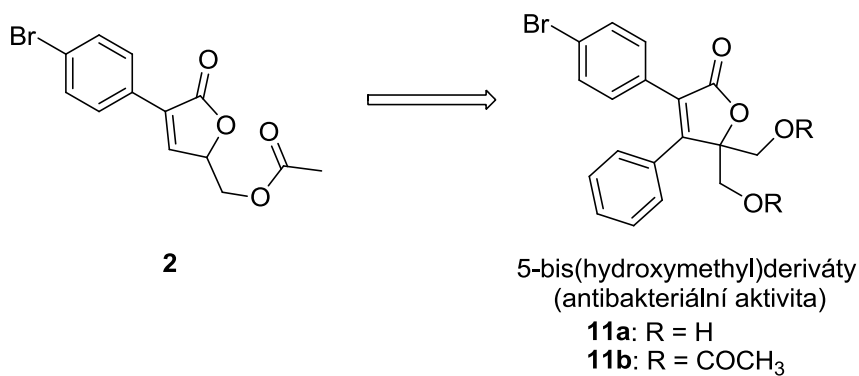
Obr. 3

Tab. 3. Cytostatická aktivita derivátů **10a-c** ( $IC_{50}$  v  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ).

látka	$IC_{50}$ ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ )			
	<b>L1210<sup>a</sup></b>	<b>HL 60<sup>b</sup></b>	<b>HeLa S3<sup>c</sup></b>	<b>CCRF-CEM<sup>d</sup></b>
<b>10a</b>	netestováno	16.0±0.6	neaktivní	2.2±0.1
<b>10b</b>	neaktivní	neaktivní	1.9±0.1	9.8±0.7
<b>10c</b>	netestováno	4.4±0.4	4.7±0.3	1.1±0.1

<sup>a</sup>buňky myší lymfocytární leukémie L1210 (ATCC CCL 219) <sup>b</sup>buňky lidské promyeloidní leukémie HL-60 (ATCC CCL 240) <sup>c</sup>buňky karcinomu děložního čípku HeLa S3 (ATCC CCL 2.2) <sup>d</sup> buňky lidské akutní lymfoblastoidní leukémie CCRF-CEM (ATCC CCL 219)

V případě připraveného bis(hydroxymethyl)derivátu<sup>10</sup> molekuly **2** substituovaného fenylovým zbytkem v poloze 4 byla screeningem zjištěna zajímavá antibakteriální aktivita proti některým grampozitivním mikrobům (Tab. 4.), a to u molekuly s volnými (**11a**) i esterifikovanými (**11b**) hydroxylovými skupinami (Obr. 4).



Obr. 4

Tab. 4. Antibakteriální aktivita derivátů **11a** a **11b** (IC<sub>80</sub> [μmol.l<sup>-1</sup>])

	čas	SA1 <sup>a</sup>	SA2 <sup>b</sup>	SE <sup>c</sup>	EF <sup>d</sup>
<b>11a</b>	24 h	15.62	31.25	15.62	62.5
	48 h	31.25	31.25	15.62	62.5
<b>11b</b>	24 h	<b>3.9</b>	31.25	>500	>500
	48 h	<b>3.9</b>	31.25	>500	>500

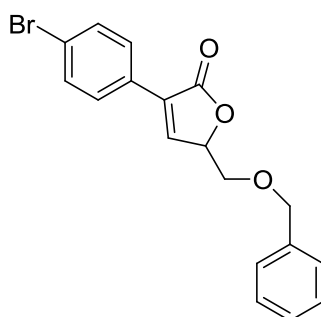
<sup>a</sup>*Staphylococcus aureus* CCM 4516/08 <sup>b</sup>*S. aureus* meticilin rezistentní H 5996/08 <sup>c</sup>*S. epidermidis* H 6966/08 <sup>d</sup>*Enterococcus* sp. J 14365/08

Poznatky předchozích experimentů lze tedy shrnout konstatováním, že substituované 2,5-dihydrofuran-2-ony jsou látky s řadou biologických účinků, jejichž povaha významně závisí na charakteru substituce. Vzhledem k vysoké aktivitě některých derivátů by mohly další syntetické obměny vést k identifikaci nových biologicky aktivních molekul.

## 2. CÍL PRÁCE

Cílem práce bylo navázat na výsledky Šenela<sup>10</sup>, připravit další sérii analog a zkoumat vztahy mezi jejich strukturou a účinkem:

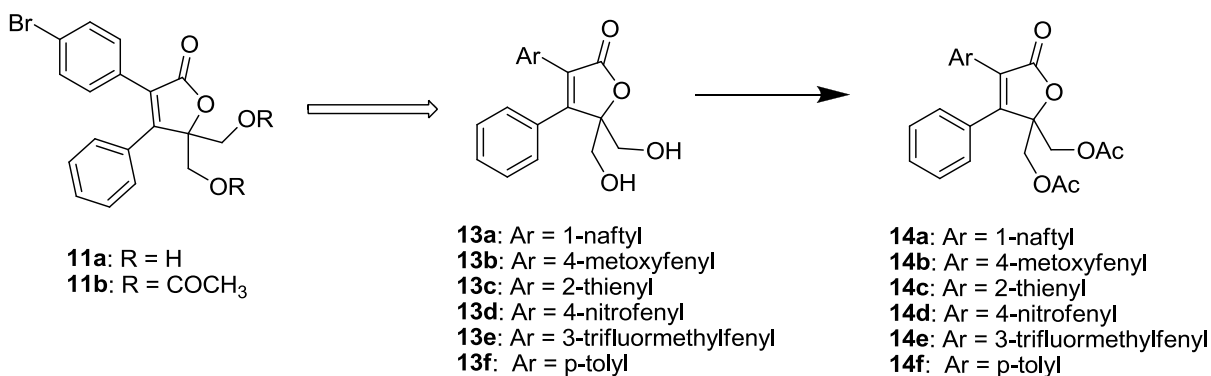
1. Syntéza 5-benzyloxymethylderivátu **12** s předpokladem, že tato molekula bude podobně jako 5-alkoxyderiváty **10a, b** (Obr. 3, Tab. 3) disponovat cytostatickou aktivitou na některou z testovaných linií nádorových buněk a tuto aktivitu bude možné dále modulovat substitucí v benzylové části.



**12**

Obr. 5

2. Syntéza dalších derivátů látek **11a-b** substituovaných v poloze 3 různými aromatickými skupinami, s cílem popsat vliv této substituce na profil biologické aktivity.



Obr. 6

### 3. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM

#### 3.1 Syntéza 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-onu

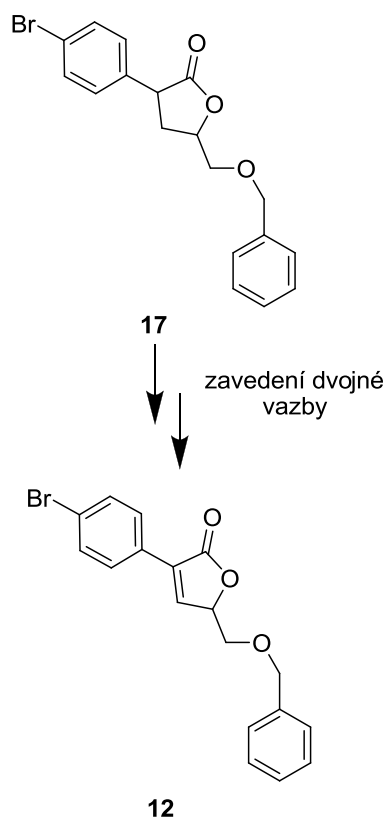
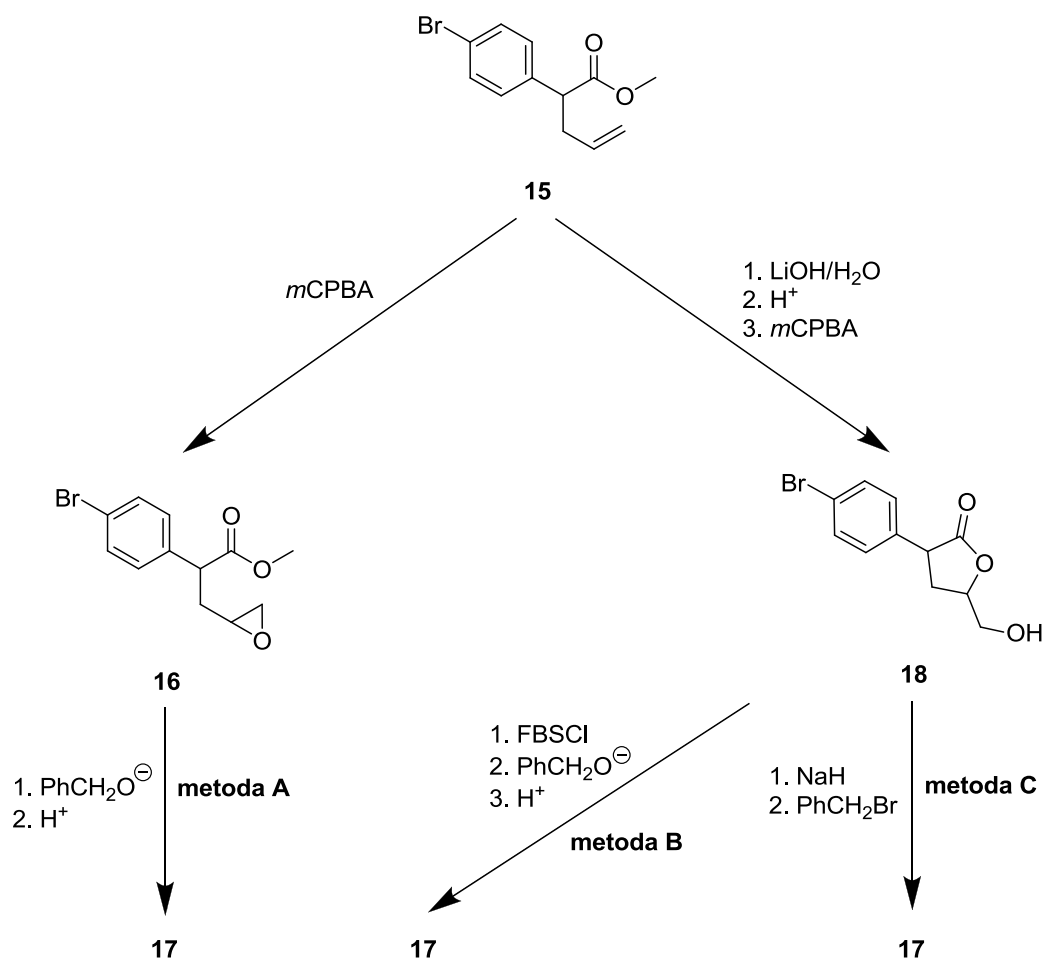
##### 3.1.1 Návrh syntézy

V syntéze cílové molekuly jsme v návrhu vycházeli z metodiky pro syntézu alkyl- a arylotherů analogické struktury (**10a-c**, Obr. 3) popsané v Šenelově práci<sup>10</sup> (Schéma 2, **metody A, B**), byl však navržen i třetí možný syntetický postup pro získání konečného produktu (Schéma 2, **metoda C**, viz dále).

Všechny navržené syntézy vycházejí ze stejné výchozí látky **15**, přičemž syntéza alkyletherů analogické struktury (**metoda A**) zahrnuje epoxidaci dvojně vazby pomocí *m*CPBA za vzniku oxiranového kruhu. Ten je rozštěpen alkoholátem a následným kyselým zpracováním dochází ke vzniku nasyceného furanonu s alkoxy-methylovou skupinou v poloze 5 (**17**). Tato struktura je následně podrobena sledu reakcí nutných pro zavedení dvojně vazby do tetrahydrofuranonového kruhu. Tento proces sestává z enolizace (LDA), fenylselanylace (PhSeBr), oxidace (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a spontánní eliminace, čímž dojde ke vzniku požadovaného nenasyceného produktu **12**.

Syntéza arylotherů (**metoda B**) je vedena cestou hydrolyzy esterové skupiny výchozí látky **15** a následná reakce s *m*CPBA dá vzniknout nasycenému  $\gamma$ -laktonu s hydroxymethylovou skupinou v poloze 5 (**18**). Alkohol **18** je nejprve sulfonylován pomocí FBSCl a po následné reakci s fenolátem (Williamsonova syntéza) vzniká nasycený produkt **17**, který je posléze rovněž podroben fenylselanylaci pro zavedení dvojně vazby do heterocyklického kruhu.

Třetí navrženou možností (**metoda C**) pak byla další varianta Williamsonovy syntézy, kde alkoholát vzniká z exocyklické hydroxylové skupiny v nasyceném laktonu **18** působením NaH a druhým reakčním partnerem je v tomto případě benzylobromid. Do nasyceného laktonu **17** je dále zavedena dvojná vazba analogickým způsobem.



Schéma 2



### 3.1.2 Provedení syntézy

Pro provedení jakéhokoliv ze tří navržených syntetických postupů bylo nutné si nejprve připravit výchozí látku **15**. Její syntéza vycházela z komerčně dostupné kyseliny 4-bromfenyloctové (**20**), která byla převedena na odpovídající methylester<sup>15</sup> (**21**) reakcí s 2,2-dimethoxypropanem a trimethylsilylchloridem v prostředí bezvodého methanolu (Schéma 3, výtěžek 96 %).

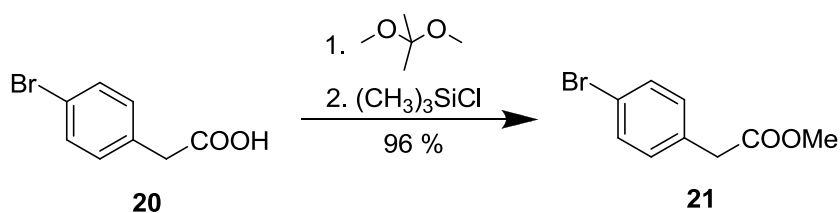


Schéma 3

Ester<sup>15</sup> **21** byl posléze allylován v  $\alpha$ -poloze pomocí allylbromidu (Schéma 4). Reakce probíhala v prostředí bezvodého THF za přítomnosti LDA, který deprotonizoval  $\alpha$ -uhlík. Vzniklý karbanion atakoval elektrondeficitní uhlík allylbromidu za současného odstoupení bromidového aniontu. Jednalo se o nukleofilní substituci využitou již v předchozích pracích<sup>15</sup>. Produkt byl opět izolován ve vynikajícím výtěžku 88 %.

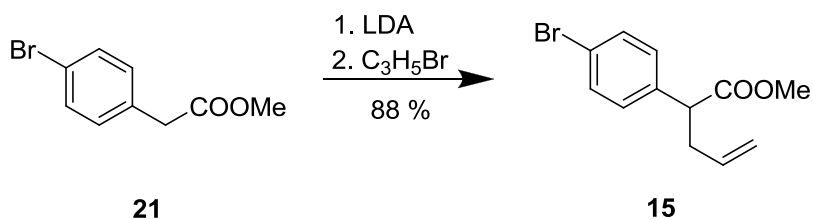


Schéma 4

Allylovaný methylester<sup>15</sup> **15** byl dále použit jako výchozí látka pro všechny navržené syntetické postupy. První z nich, navržený dříve pro syntézu analogických alkyletherů (metoda A), zahrnoval jako první reakci s *m*CPBA v prostředí chloroformu, kde dochází mechanismem elektrofilní adice na dvojnou vazbu ke vzniku oxiranového kruhu (Schéma 5). Vzniklý produkt<sup>14</sup> **16** byl izolován ve velmi dobrém výtěžku 82 % jako směs diastereomerů.

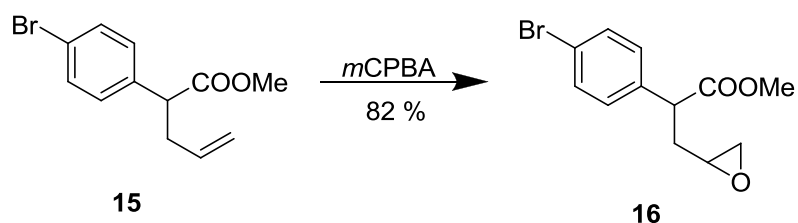


Schéma 5

Epoxyster<sup>14</sup> (**16**) byl dále podroben reakci s benzylalkoholátem v prostředí DMSO. Analogicky syntéze odpovídajících alkoxyderivátů (viz. **10a-b**, Obr. 3) jsme předpokládali, že alkoholát rozštěpí epoxidový kruh na koncovém uhlíku (Schéma 6), a po kyselém zpracování dojde k cyklizaci na nasycený lakton **17**.

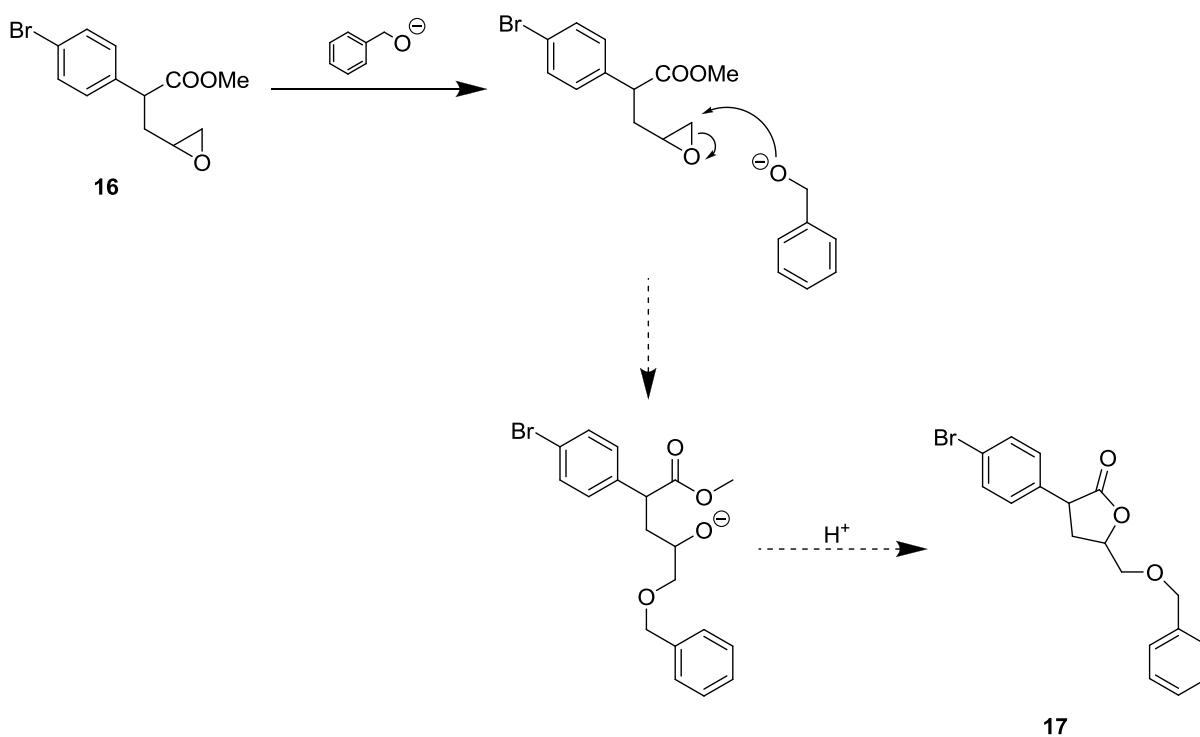


Schéma 6

Navzdory očekávání však nebyla izolována sloučenina **17**, ale bicyklická látka **22** v poměrně nízkém výtěžku 36 %. Reakce pravděpodobně probíhá mechanismem naznačeným ve Schématu 7. Benzylalkoholát deprotonizuje terciární  $\alpha$ -uhlík a vzniklý karbanion intramolekulárně štěpí epoxidový kruh za vzniku cyklopropanu. Vzniklý alkoholát pak atakuje elektrondeficitní karbonylovou skupinu a po kyselém zpracování dojde ke vzniku bicyklického produktu **22**.

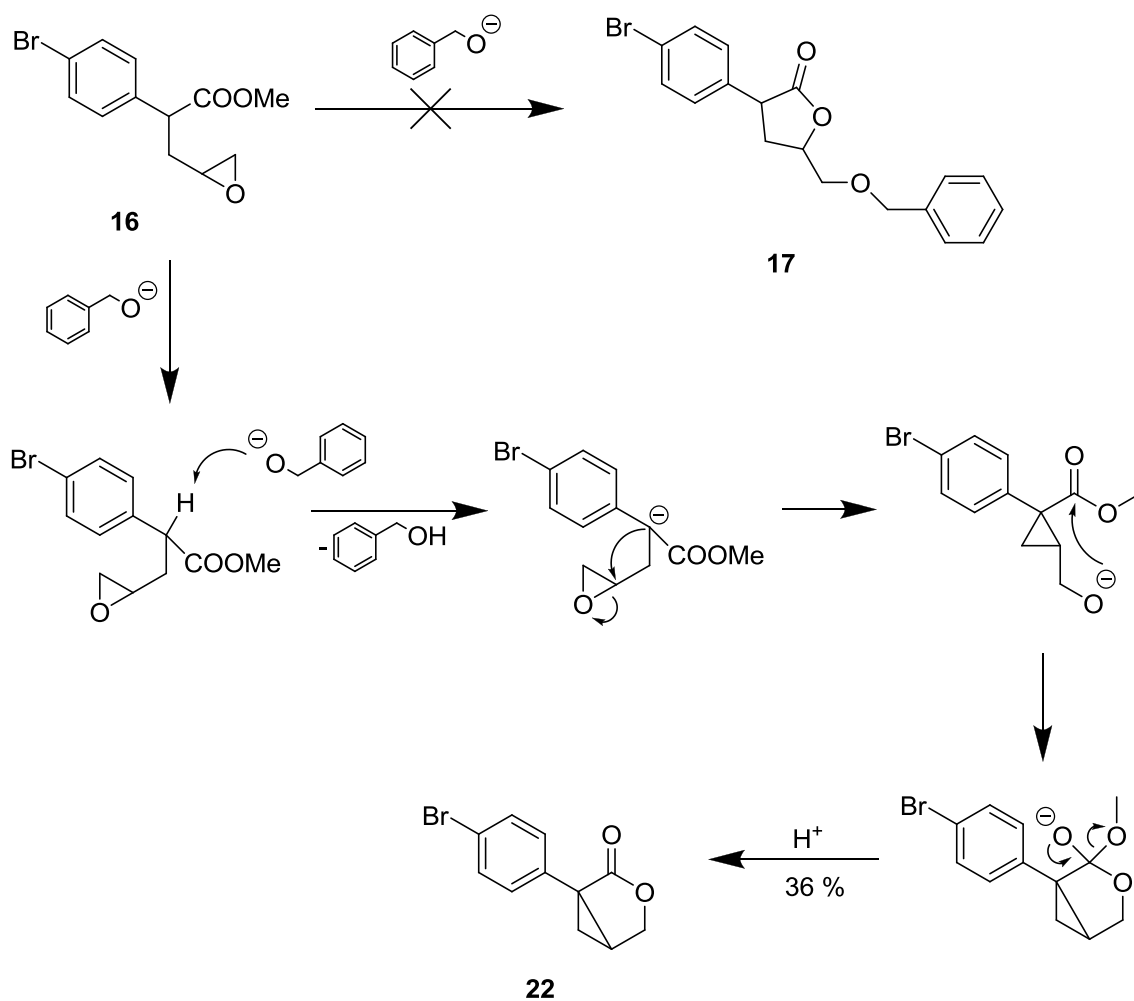


Schéma 7

Z důvodu neúspěchu v předchozím reakčním kroku byla reakce zopakována bez přítomnosti benzylalkoholu a s hydridem sodným jako bází. Ze směsi byly izolovány dva produkty (Schéma 8), které potvrdily jiný průběh reakce ve srovnání s původním předpokladem. Látky **22** a **23** byly izolovány v nízkých výtěžcích. Jejich struktura byla potvrzena spektrálními metodami a srovnáním s údaji v literatuře<sup>16</sup>.

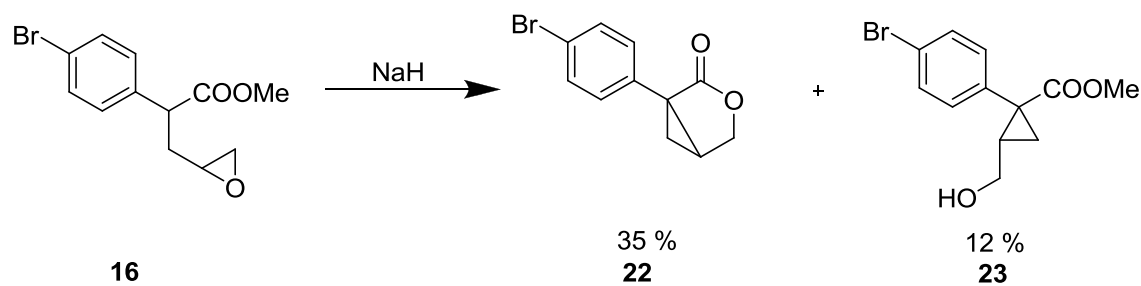


Schéma 8

Syntetický postup navržený Šenelem pro analogické 5-alkoxymethylderiváty<sup>10</sup> (Schéma 2, **metoda A**) tedy nevedl k žádanému výsledku.

Druhou variantou syntézy meziprojektu **17** byl syntetický postup použitý pro syntézu analogických 5-aryloxymethylderivátů<sup>10</sup> (Schéma 2, **metoda B**) zjednodušený na reakci fluorbenzensulfonátu **19**<sup>14</sup> s benzylalkoholátem (mechanismem Williamsonovy syntézy). Reakce byla provedena v DMSO jako rozpouštědle, přičemž tenkovrstvá chromatografie prokázala pouze rozklad výchozí látky (Schéma 9).

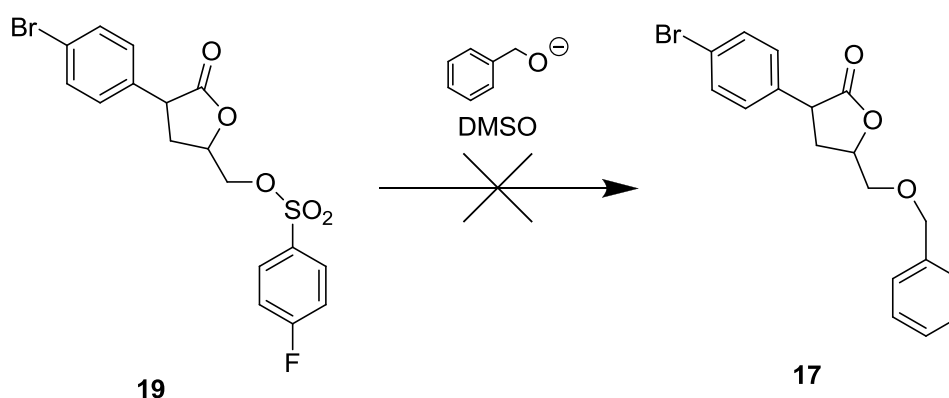
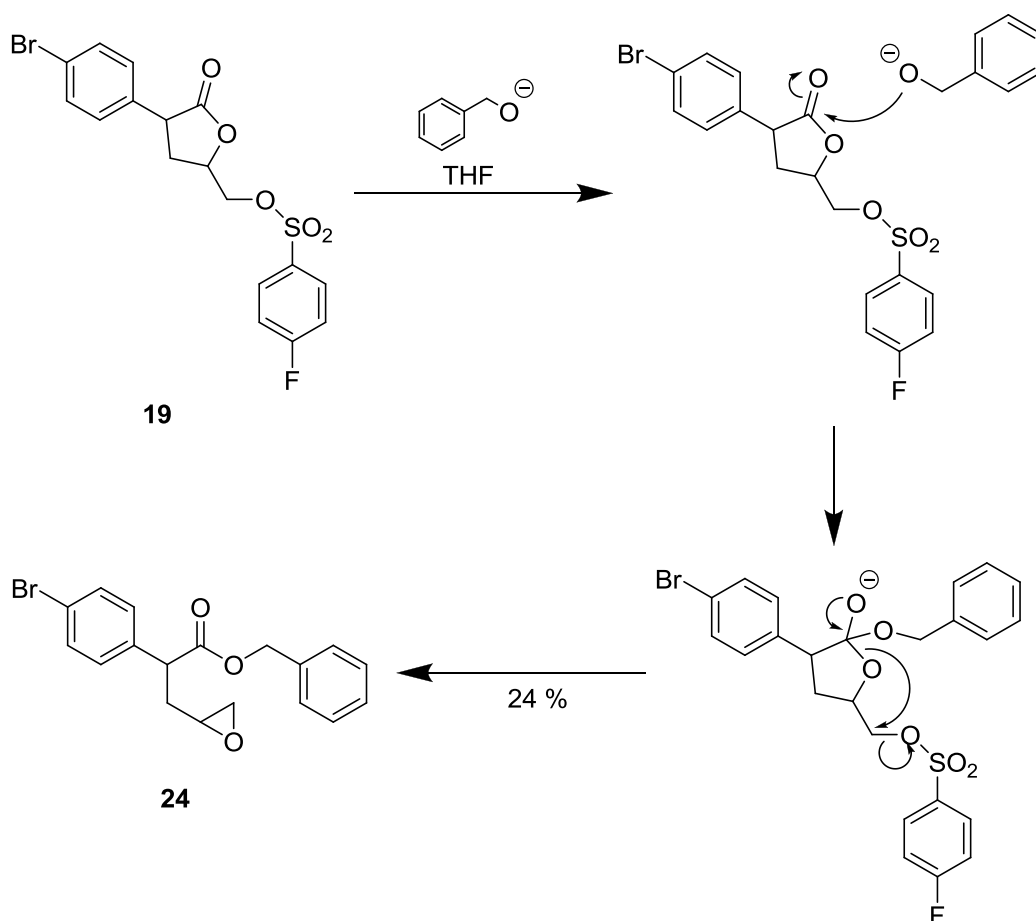
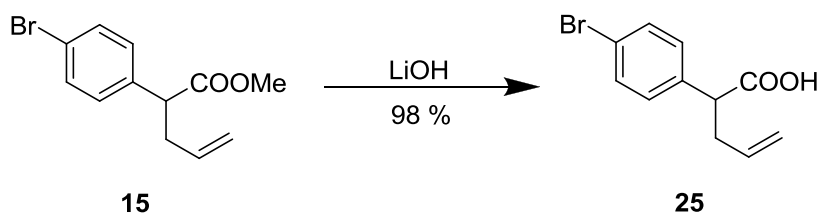


Schéma 9

Ani po změně rozpouštědla na THF se nepodařilo izolovat molekulu **17** jako kýžený produkt, částečným úspěchem bylo alespoň izolování nepředpokládaného benzylesterového produktu (**24**) ve výtěžku 24 %. Tato látka pravděpodobně vznikla atakem alkoholátu na karbonylový uhlík a následnou fragmentací kruhu se současným odštěpením odstupující skupiny (Schéma 10).



Třetí variantou syntézy nasyceného laktonu **17** byla **metoda C** (Schéma 2). Sled reakcí vycházel z esteru<sup>15</sup> **15** a jeho prvním krokem byla hydrolýza esterové vazby pomocí LiOH v prostředí methanolu a vody (Schéma 11). Kyselina **25**<sup>15</sup> byla izolována ve výtěžku 98 %.



Následovala cyklizace kyseliny<sup>15</sup> **25** pomocí *m*-chlorperoxybenzoové kyseliny za vzniku nasyceného  $\gamma$ -laktonu<sup>15</sup> s volnou hydroxymethylovou skupinou v poloze 5 (**18**), který byl izolován v uspokojivém výtěžku 53 % (Schéma 12).

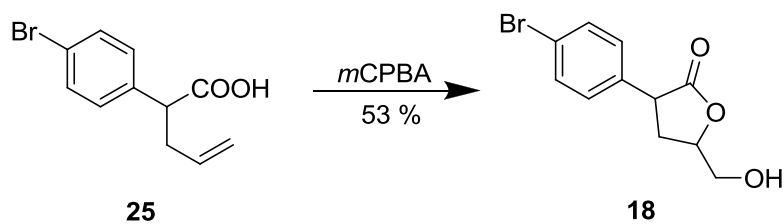


Schéma 12

Posledním krokem v této syntetické variantě byla opět Williamsonova syntéza. Ta byla na rozdíl od předchozího postupu prováděna v bezvodém THF za přítomnosti benzylbromidu jako reakčního partnera a NaH, který deprotonizoval hydroxylakton **18** (Schéma 13).

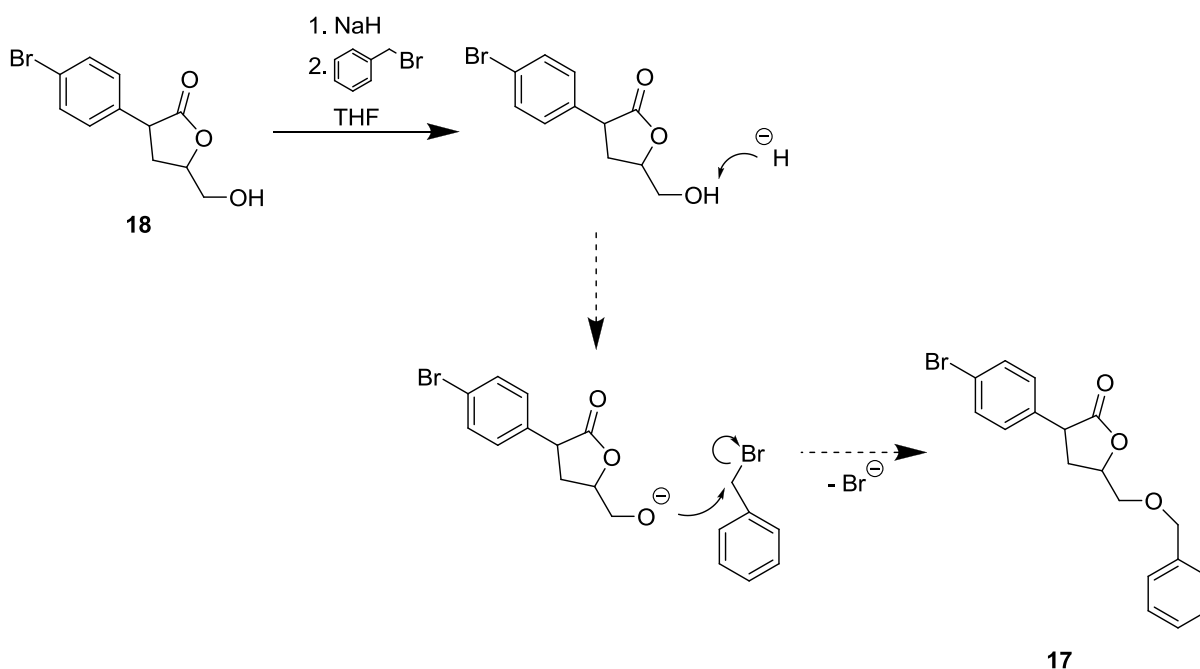


Schéma 13

Místo původního předpokladu byl však z reakční směsi v nízkém výtěžku izolován produkt s novým chirálním centrem **26** jako směs diastereomerů (Schéma 14), jehož struktura byla potvrzena spektrálními metodami (charakteristické je vymizení signálu vodíku v  $\alpha$ -poloze laktonu a objevení se signálů dalších aromatických vodíků). Izolace  $\alpha$ -benzylderivátu spolu s neúspěchem předchozího syntetického postupu (**metody A**) a jeho pravděpodobného mechanismu (Schéma 7 a 8) by mohla vést k závěru, že atom vodíku vázaný v poloze 3 furanonu je kyselější než vodík hydroxymethylové skupiny v poloze 5. Ani třetí syntetický postup se tak při syntéze laktonu **17** neosvědčil.

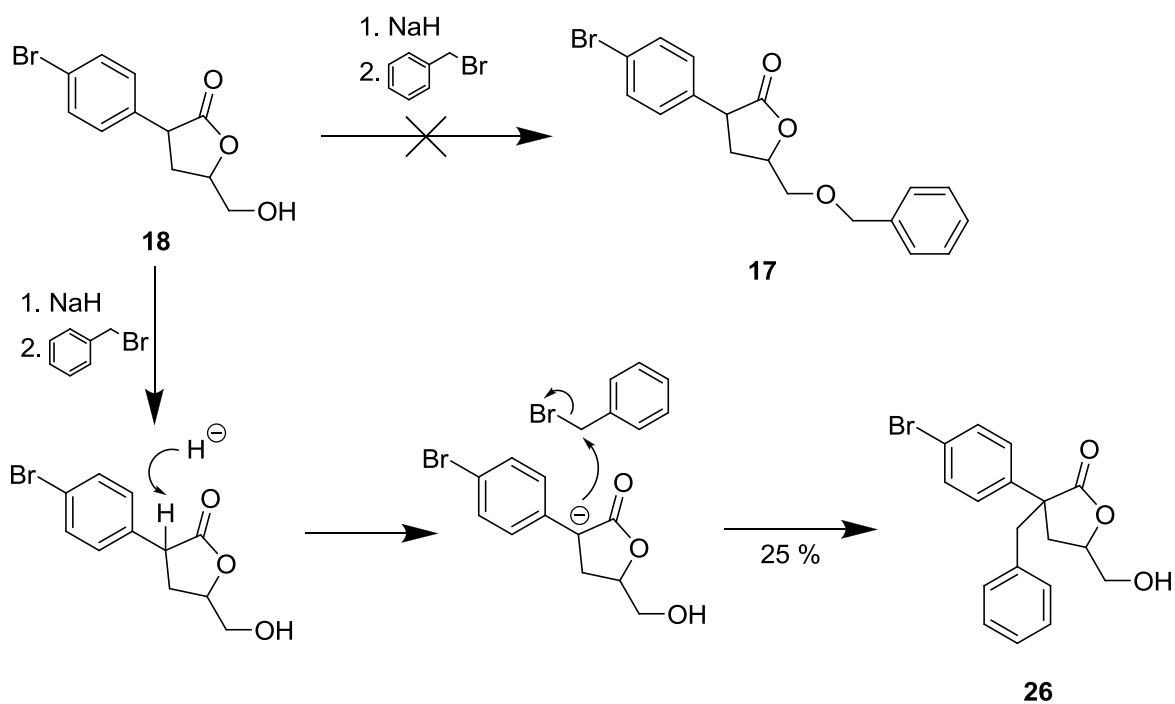


Schéma 14

### 3.2 Syntéza (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl)bis(methyl)-diacetátů

#### 3.2.1 Návrh syntézy

Syntéza látek **14a-f** a jim podobných byla již dříve<sup>10</sup> inspirována poměrně jednoduše proveditelnou reakcí původně vyvinutou pro syntézu  $\alpha$ -aryltetronové kyseliny, jejích derivátů<sup>17,18</sup> a  $\alpha,\beta$ -diarylbutenolidů<sup>19</sup>. Ta spočívá v kondenzaci esterů aryloctových kyselin (Schéma 15), v našem případě se jedná o estery vzniklé reakcí s 2-bromacetofenonem. Po ní následuje hydroxymethylace<sup>20</sup> a acetylace vzniklých laktonů.

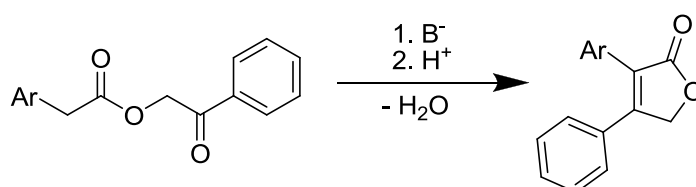
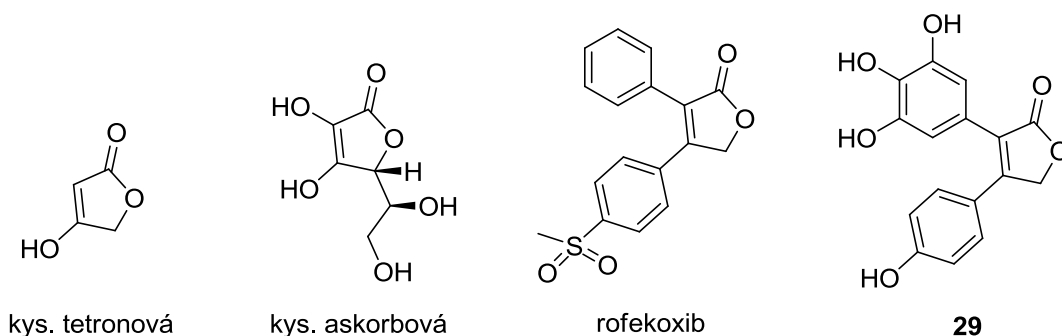


Schéma 15

Skelet tetronové kyseliny se vyskytuje v přírodě v mnoha biologicky aktivních sloučeninách<sup>17</sup> insekticidního, antiflogistického i antimikrobního účinku<sup>17,21,22,23</sup> a lze jej vystopovat i např. v kyselině askorbové nebo v selektivním COX-2 inhibitoru rofekoxibu<sup>19</sup> a v neposlední řadě pak i v některých cytostaticky aktivních molekulách typu polyhydroxylovaných diarylfuranonů<sup>21a</sup> (**29**). V těchto případech však za cytostatický účinek zodpovídají fenolické hydroxylové skupiny, nikoliv samotný furanonový skelet<sup>21a</sup>.



Pro syntézu látek **14a-f** tak byla zvolena tato relativně nenáročná syntetická cesta, která se již u podobných struktur v minulosti osvědčila<sup>19</sup>. Vychází z komerčně dostupných derivátů fenylactové kyseliny (**30a-f**) a 2-bromacetofenonu (Schéma 16). Z derivátů aryloctové kyseliny jsou v prvním kroku nukleofilní substitucí vytvořeny estery. Tyto estery (**27a-f**) jsou dále podrobeny cyklizační reakci působením NaH a po následném kyselém zpracování reakční směsi dojde k vytvoření butenolidového skeletu. Posléze je nutné produkty (**28a-f**) hydroxymetylovat<sup>20</sup> pomocí paraformaldehydu a konečným krokem je acetylace (**14a-f**).



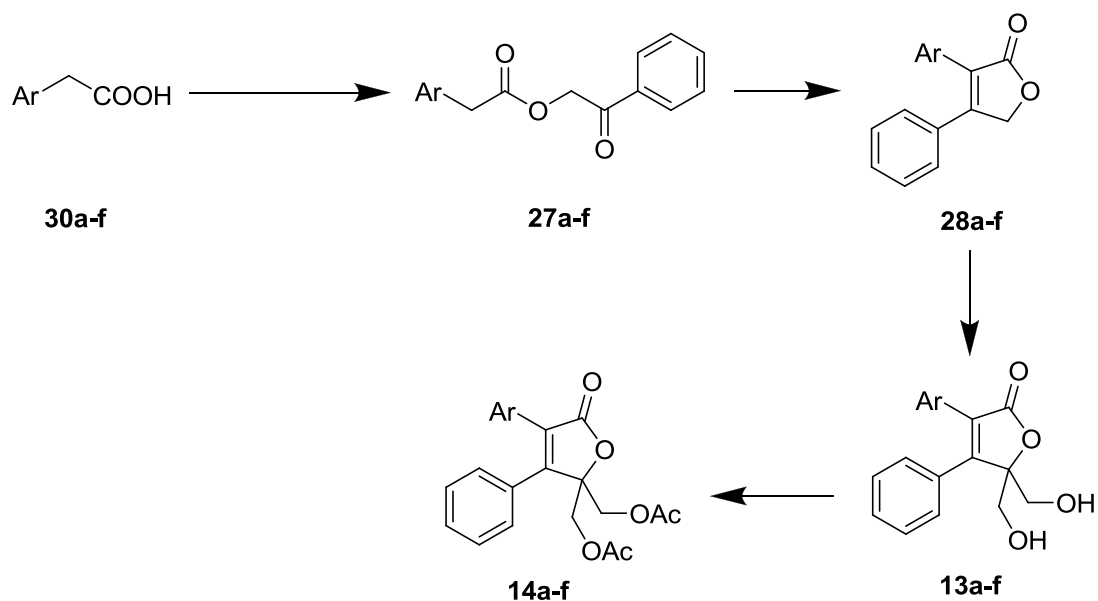


Schéma 16

látka	Ar
<b>14a</b>	1-naftyl
<b>14b</b>	4-methoxyfenyl
<b>14c</b>	2-thienyl
<b>14d</b>	4-nitrofenyl
<b>14e</b>	3-trifluormethylfenyl
<b>14f</b>	<i>p</i> -tolyl

### 3.2.2 Provedení syntézy

Počáteční nukleofilní substituce byla realizována reakcí s bromacetofenonem v THF za přídavku triethylaminu jako báze pro vytvoření acetátu, který dále reagoval nukleofilní substitucí s bromacetofenonem. Vznikající estery byly izolovány ve velmi dobrých výtěžcích (Schéma 17); látky **27a**<sup>24</sup>, **27b**<sup>25</sup> a **27f**<sup>26</sup> již byly popsány v odborné literatuře.

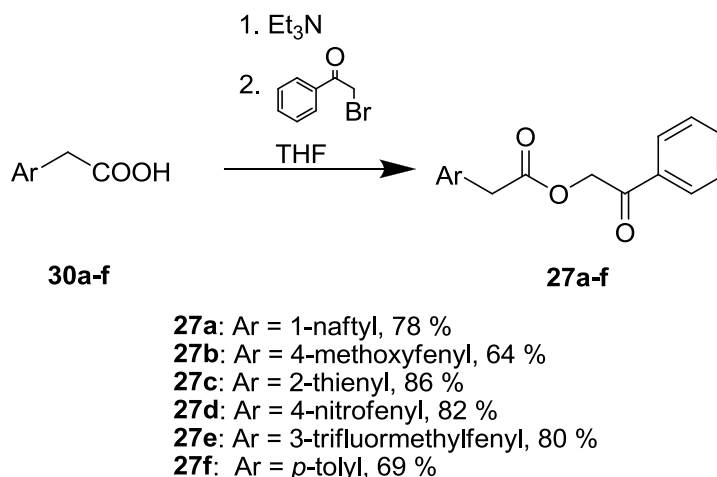


Schéma 17

Cyklizace produktů probíhala deprotonizací  $\alpha$ -uhlíku esterů (**27a-f**) hydridem sodným v prostředí DMSO, následnou cyklizací a eliminací H<sub>2</sub>O po okyselení (Schéma 18). I v tomto kroku se podařilo izolovat produkty se solidními výtěžky, přičemž látky **28b**<sup>25</sup> a **28f**<sup>26</sup> již byly v literatuře popsány.

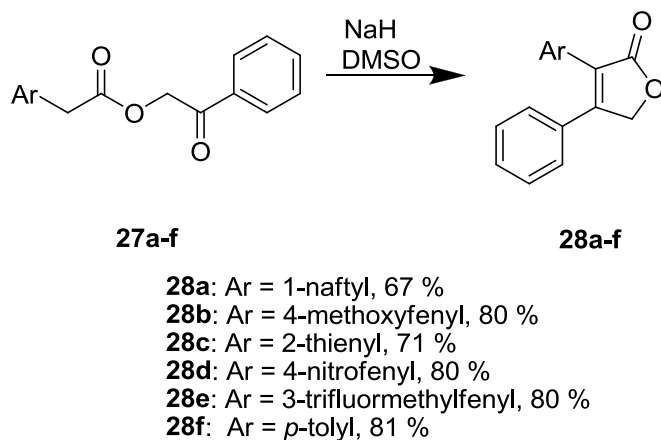
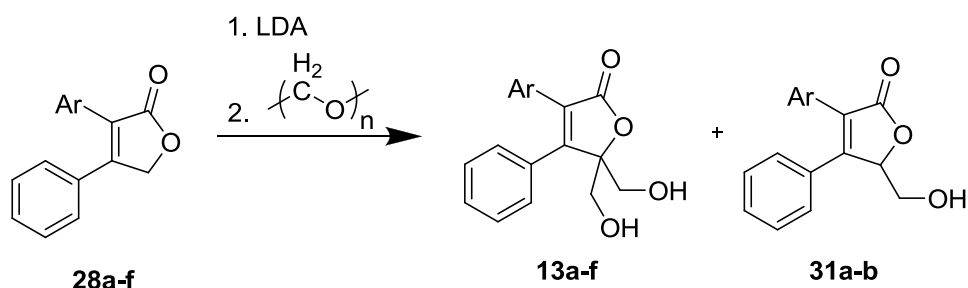


Schéma 18

Dalším mezikrokem byla hydroxymethylace C5 furanonového cyklu. Tato syntéza probíhá v THF za přítomnosti LDA, který způsobí deprotonizaci této polohy. Karbanion následně reaguje s molekulou paraformaldehydu, kde atakuje elektrondeficitní uhlík za vzniku nové vazby C-C. Celý proces se opakuje ještě do druhého stupně (Schéma 19). V průběhu této reakce se u 1-naftylového a 4-methoxyfenylového derivátu objevily proti původnímu očekávání další produkty. Po jejich izolaci bylo pomocí spektrálních metod zjištěno, že se jedná o 5-hydroxymethylfuranony (**31a-b**). Zatímco u látek typu **31** byly v NMR spektrech patrné signály skupiny -CH<sub>2</sub>O- a signál methinového vodíku na C5 furanonu (např. jeden

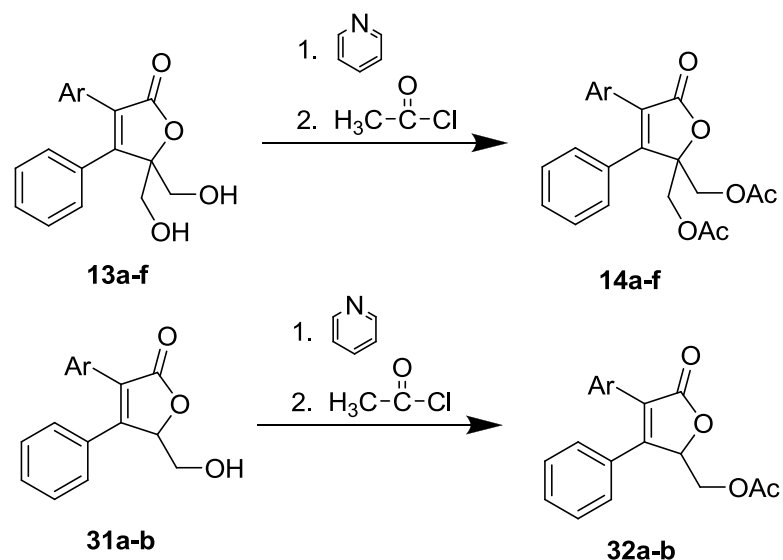
vodík s posunem 3.69-3.57 ppm a jeden vodík s posunem 4.02-3.91 ppm ze skupiny  $-\text{CH}_2\text{O}-$  a dále jeden methinový vodík s posunem 5.62-5.58 ppm u látky **31b**), u látek typu **13** byly zřejmé rezonance dvou skupin  $-\text{CH}_2\text{O}-$  (např. dva vodíky s posunem 3.90 ppm a dva vodíky s posunem 3.78-3.68 ppm u látky **13b**) a signál methinového vodíku vymizel.



**13a:** Ar = 1-naftyl, 21 %  
**13b:** Ar = 4-methoxyfenyl, 23 %  
**13c:** Ar = 2-thienyl, 63 %  
**13d:** Ar = 4-nitrofenyl, 51 %  
**13e:** Ar = 3-trifluormethylfenyl, 53 %  
**13f:** Ar = *p*-tolyl, 61 %  
**31a:** Ar = 1-naftyl, 31 %  
**31b:** Ar = 4-methoxyfenyl, 32 %

Schéma 19

Posledním krokem byla esterifikace hydroxymethylových skupin vzniklých produktů (**13a-f** a **31a-b**) acetylchloridem v dichlormethanu za přítomnosti  $\text{Et}_3\text{N}$  (Schéma 20). Produkty se podařilo izolovat ve velmi dobrých výtěžcích s výjimkou látky **32b**, kde dosáhl pouhých 50 %.



**14a:** Ar = 1-naftyl, 81 %  
**14b:** Ar = 4-methoxyfenyl, 74 %  
**14c:** Ar = 2-thienyl, 79 %  
**14d:** Ar = 4-nitrofenyl, 88 %  
**14e:** Ar = 3-trifluormethylfenyl, 70 %  
**14f:** Ar = p-tolyl, 86 %  
**32a:** Ar = 1-naftyl, 90 %  
**32b:** Ar = 4-methoxyfenyl, 50 %

Schéma 20

Látka **32b** byla posléze testována na stabilitu za podmínek *in vitro* testování. Cílem bylo zjistit, zda dochází v molekule k eliminaci či jiné strukturální změně podobně jako u látek **2** či **10c** (viz str. 8 a 11, Schéma 21). Lakton **32b** byl rozpuštěn v deuterovaném DMSO a roztok monitorován pomocí  $^1\text{H}$  NMR spektroskopie. Po 24 hodinách za laboratorní teploty bylo zjištěno, že nedošlo k žádné změně. Tím bylo prokázáno, že u látky **32b** nedochází za podmínek *in vitro* testování k eliminaci acetátu ani jiným změnám.

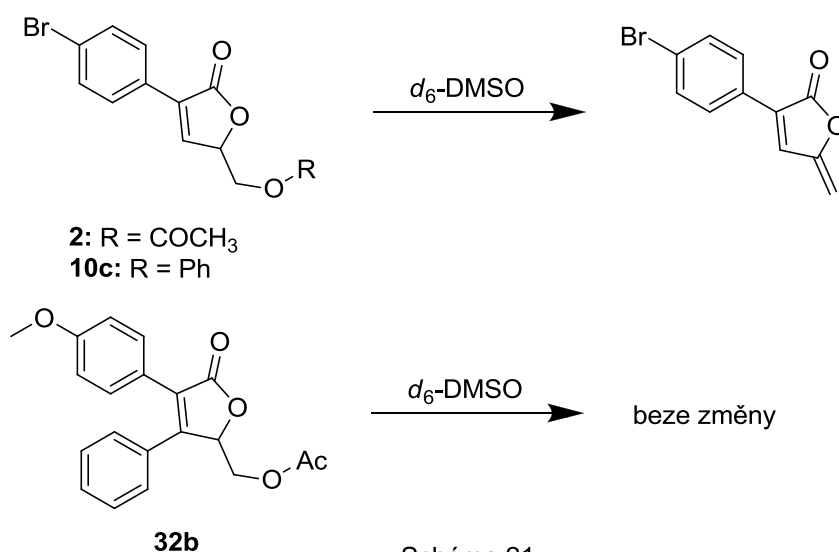
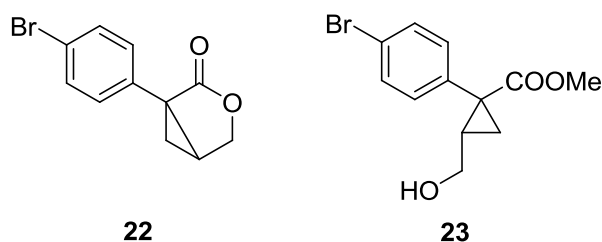


Schéma 21

### 3.3 Hodnocení antifungální, antibakteriální a cytostatické aktivity

#### 3.3.1 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on

Zamýšlený produkt (**12**) se navrženými syntetickými postupy nepodařilo získat. Dva produkty těchto postupů (**22**, **23**, Obr. 7) však byly podrobeny nahodilému screeningu na aktivitu antifungální (Tab. 5.), cytostatickou (Tab. 6.) a antimikrobní (Tab. 7.).



Obr. 7

Antifungální aktivita byla testována na souboru kvasinek a vláknitých hub (Tab. 5.) a z výsledků měření vyplývá, že mírnou aktivitou disponoval bicyklický produkt **22**, avšak pouze proti druhu *Trichosporon beigelii*. Nejedná se proto o významně aktivní látky.

Tab. 5. Antifungální aktivita připravených sloučenin (IC<sub>80</sub> [μmol.l<sup>-1</sup>])

	čas	CA1 <sup>a</sup>	CA2 <sup>b</sup>	CP <sup>c</sup>	CK1 <sup>d</sup>	CK2 <sup>e</sup>	CT <sup>f</sup>	CG <sup>g</sup>	CL <sup>h</sup>	TB <sup>i</sup>	AF <sup>j</sup>	AC <sup>k</sup>	TM <sup>l</sup>
<b>22</b>	24 h	250	250	250	250	250	125	250	250	<b>15,62</b>	250	250	250
	48 h	250	250	250	250	250	125	250	>500	<b>62,5</b>	250	250	250
<b>23</b>	24 h	>500	>500	>500	500	500	500	>500	>500	>500	>500	>500	500
	48 h	>500	>500	>500	500	500	500	>500	>500	>500	>500	>500	500

<sup>a</sup>*Candida albicans* ATCC44859 <sup>b</sup>*C. albicans* ATCC90028 <sup>c</sup>*C. parapsilosis* ATCC22019 <sup>d</sup>*C. krusei* ATCC 6258 <sup>e</sup>*C. krusei* E28 <sup>f</sup>*C. tropicalis* 156 <sup>g</sup>*C. glabrata* 20/1 <sup>h</sup>*C. lusitaniae* 2446/1 <sup>i</sup>*Trichosporon beigelii* 1188 <sup>j</sup>*Aspergillus fumigatus* 231 <sup>k</sup>*Absidia corymbifera* 272 <sup>l</sup>*Trichophyton mentagrophytes* 445 (hodnoty MIC pro TM odečítány po 72 a 120 hodinách)

Při testování cytostatické aktivity byl použit soubor tří leukemických linií a jedné linie solidního nádoru. Z výsledků měření (Tab. 6.) plyne, že se jedná o neúčinné molekuly.

Tab. 6. Cytostatická aktivita (% nárůstu vůči kontrolnímu vzorku)

	% kontroly			
	L1210 <sup>a</sup>	HL60 <sup>b</sup>	HeLa S3 <sup>c</sup>	CCRF-CEM <sup>d</sup>
<b>22</b>	92	96	103	91
<b>23</b>	82	111	102	100

<sup>a</sup>buňky myší lymfocytární leukémie L1210 (ATCC CCL 219) <sup>b</sup>buňky lidské promyeloidní leukémie HL-60 (ATCC CCL 240) <sup>c</sup>buňky karcinomu děložního čípku HeLa S3 (ATCC CCL 2.2) <sup>d</sup> buňky lidské akutní lymfoblastoidní leukémie CCRF-CEM (ATCC CCL 219)

Antibakteriální aktivita byla testována na 8 druzích mikroorganismů (Tab. 7.). Z výsledků měření je zřejmé, že i antibakteriální aktivita těchto látek je zanedbatelná.

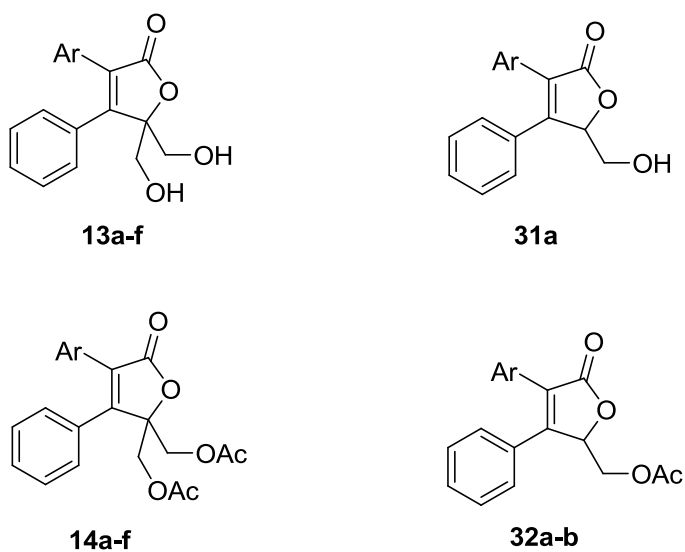
Tab. 7. Antibakteriální aktivita (IC<sub>80</sub> [μmol.l<sup>-1</sup>])

	čas	SA1 <sup>a</sup>	SA2 <sup>b</sup>	SE <sup>c</sup>	EF <sup>d</sup>	EC <sup>e</sup>	KP <sup>f</sup>	KPE <sup>g</sup>	PA <sup>h</sup>
<b>22</b>	24 h	125	125	>500	>500	>500	>500	>500	500
	48 h	250	250	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<b>23</b>	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500

<sup>a</sup>*Staphylococcus aureus* CCM 4516/08 <sup>b</sup>*S. aureus* metilicilin rezistentní H 5996/08 <sup>c</sup>*S. epidermidis* H 6966/08 <sup>d</sup>*Enterococcus* sp. J 14365/08 <sup>e</sup>*Escherichia coli* CCM4517 <sup>f</sup>*Klebsiella pneumoniae* D 11750/08 <sup>g</sup>*K. pneumoniae* ESBL pozitivní J 14368/08 <sup>h</sup>*Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961

3.3.2 (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5-yl)methyl-acetáty a  
(2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl)bis(methyl)-diacetáty

Většina syntetizovaných produktů (**13b-f**; **14a-f**; **31b**; **32a-b**) byla podrobena testování na antifungální aktivitu (Tab. 8.). Z výsledků měření vyplývá, že pouze u látek **32a** a **32b** se objevuje významnější antifungální aktivita, ovšem pouze proti druhům *Absidia corymbifera* a *Trichophyton mentagrophytes*, u produktu **32b** lze hovořit ještě o nízké aktivitě proti druhu *Trichosporon beigelii*.



**13a,14a,31a,32a:** Ar = 1-naftyl  
**13b,14b,32b:** Ar = 4-methoxyfenyl  
**13c,14c:** Ar = 2-thienyl  
**13d,14d:** Ar = 4-nitrofenyl  
**13e,14e:** Ar = 3-trifluormethylfenyl  
**13f,14f:** Ar = *p*-tolyl

Obr. 8

Tab. 8. Antifungální aktivita připravených sloučenin (IC<sub>80</sub> [μmol.l<sup>-1</sup>])

	čas	CA1 <sup>a</sup>	CA2 <sup>b</sup>	CP <sup>c</sup>	CK1 <sup>d</sup>	CK2 <sup>e</sup>	CT <sup>f</sup>	CG <sup>g</sup>	CL <sup>h</sup>	TB <sup>i</sup>	AF <sup>j</sup>	AC <sup>k</sup>	TM <sup>l</sup>
13b	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	500
13c	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13d	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13e	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13f	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
31b	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14a	24 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
	48 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
14b	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14c	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14d	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14e	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14f	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
32a	24 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	<b>15,62</b>	<b>15,62</b>
	48 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	<b>31,25</b>	<b>15,62</b>
32b	24 h	250	>500	>500	>500	125	>500	>500	>500	<b>31,25</b>	>500	<b>31,25</b>	<b>15,62</b>
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	250	>500	<b>31,25</b>	<b>15,62</b>

<sup>a</sup>*Candida albicans* ATCC44859 <sup>b</sup>*C. albicans* ATCC90028 <sup>c</sup>*C. parapsilosis* ATCC22019 <sup>d</sup>*C. krusei* ATCC 6258 <sup>e</sup>*C. krusei* E28 <sup>f</sup>*C. tropicalis* 156 <sup>g</sup>*C. glabrata* 20/1 <sup>h</sup>*C. lusitanae* 2446/1 <sup>i</sup>*Trichosporon beigelii* 1188 <sup>j</sup>*Aspergillus fumigatus* 231 <sup>k</sup>*Absidia corymbifera* 272 <sup>l</sup>*Trichophyton mentagrophytes* 445 (hodnoty MIC pro TM odečítány po 72 a 120 hodinách)



Na testování cytostatické aktivity byl opět použit výše uvedený soubor nádorových linií. Testována byla většina produktů (**28a-f**; **13a, c-f**; **14a-f**; **32a-b**) a z výsledků měření (Tab. 9.) vyplývá, že významnější aktivitou disponují opět pouze látky **32a** a **32b**, a to zejména proti liniím HeLa S3 a CCRF-CEM, částečně i proti L1210. Aktivita proti linii HL60 je však podprůměrná.

Tab. 9. Cytostatická aktivita (% nárůstu vůči kontrolnímu vzorku a  $IC_{50}$  [ $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ])

	% kontroly ( $IC_{50}$ , $\mu\text{mol.l}^{-1}$ )			
	L1210 <sup>a</sup>	HL60 <sup>b</sup>	HeLa S3 <sup>c</sup>	CCRF-CEM <sup>d</sup>
<b>28a</b>	76	86	92	80
<b>28b</b>	113	131	107	107
<b>28c</b>	108	126	112	97
<b>28d</b>	76	85	81	106
<b>28e</b>	99	113	103	104
<b>28f</b>	108	129	115	98
<b>13a</b>	93	122	134	94
<b>13c</b>	86	96	100	105
<b>13d</b>	86	92	85	97
<b>13e</b>	90	85	81	96
<b>13f</b>	114	121	123	114
<b>14a</b>	115	112	99	111
<b>14b</b>	94	96	123	100
<b>14c</b>	116	110	93	105
<b>14d</b>	95	90	86	94
<b>14e</b>	87	94	79	84
<b>14f</b>	100	113	119	100
<b>32a</b>	<b>7</b> (4,53 ± 0,20 )	84	<b>10</b> (3,19 ± 0,45 )	<b>8</b> (1,74 ± 0,19)
<b>32b</b>	<b>55</b> (7,9 ± 0,2)	107	<b>11</b> (1,78 ± 0,1)	<b>26</b> (3,83 ± 0,34)

<sup>a</sup>buňky myší lymfocytární leukémie L1210 (ATCC CCL 219) <sup>b</sup>buňky lidské promyeloidní leukémie HL-60 (ATCC CCL 240) <sup>c</sup>buňky karcinomu děložního čípku HeLa S3 (ATCC CCL 2.2) <sup>d</sup> buňky lidské akutní lymfoblastoidní leukémie CCRF-CEM (ATCC CCL 219)

Antibakteriální aktivita byla testována na 8 druzích mikroorganismů (Tab. 10.) u většiny produktů (**13a-f**; **14a-f**; **31b**; **32a-b**) včetně meziproduktů **28a-f**. Z výsledků plyne, že jedinou významnější aktivitou se vyznačují struktury **32a** a **32b**, ovšem pouze proti druhům *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus meticilin rezistentní* a *Staphylococcus epidermidis*. Ostatní látky jsou aktivní jen zanedbatelně nebo jsou neaktivní.

Tab. 10. Antibakteriální aktivita (IC<sub>80</sub> [μmol.l<sup>-1</sup>])

	čas	SA1 <sup>a</sup>	SA2 <sup>b</sup>	SE <sup>c</sup>	EF <sup>d</sup>	EC <sup>e</sup>	KP <sup>f</sup>	KPE <sup>g</sup>	PA <sup>h</sup>
28a	24 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
	48 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
28b	24 h	>500	>500	500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
28c	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
28d	24 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
	48 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
28e	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
28f	24 h	>500	>500	500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13a	24 h	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13b	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13c	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
13d	24 h	500	>500	250	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	500	>500	250	>500	>500	>500	>500	>500
13e	24 h	500	500	250	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	500	>500	>500	>500	>500	>500
13f	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
31b	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14a	24 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
	48 h	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125
14b	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14c	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14d	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14e	24 h	500	>500	250	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
14f	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
32a	24 h	<b>15,62</b>	<b>15,62</b>	<b>15,62</b>	>500	>500	>500	>500	500
	48 h	>125	>125	>125	>500	>500	>500	>500	500
32b	24 h	<b>15,62</b>	<b>15,62</b>	<b>31,25</b>	>500	>500	>500	>500	500
	48 h	<b>31,25</b>	<b>62,5</b>	<b>62,5</b>	>500	>500	>500	>500	500

<sup>a</sup>*Staphylococcus aureus* CCM 4516/08 <sup>b</sup>*S. aureus* meticilin rezistentní H 5996/08 <sup>c</sup>*S. epidermidis* H 6966/08 <sup>d</sup>*Enterococcus* sp. J 14365/08 <sup>e</sup>*Escherichia coli* CCM4517 <sup>f</sup>*Klebsiella pneumoniae* D 11750/08 <sup>g</sup>*K. pneumoniae* ESBL pozitivní J 14368/08 <sup>h</sup>*Pseudomonas aeruginosa* CCM 1961

## 4. ZÁVĚR

1. Zamýšlený produkt **12** se navrženými postupy nepodařilo syntetizovat. Je pravděpodobné, že klíčovou roli v neúspěchu sehrála skutečnost, že vodík vázaný na terciárním uhlíku mezi aromatickým jádrem a karbonylovou skupinou má dostatečně nízké  $pK_A$ , aby se při navrhovaných postupech projevoval jako nejreaktivnější místo výchozích molekul a reakce probíhala jiným než navrženým způsobem.

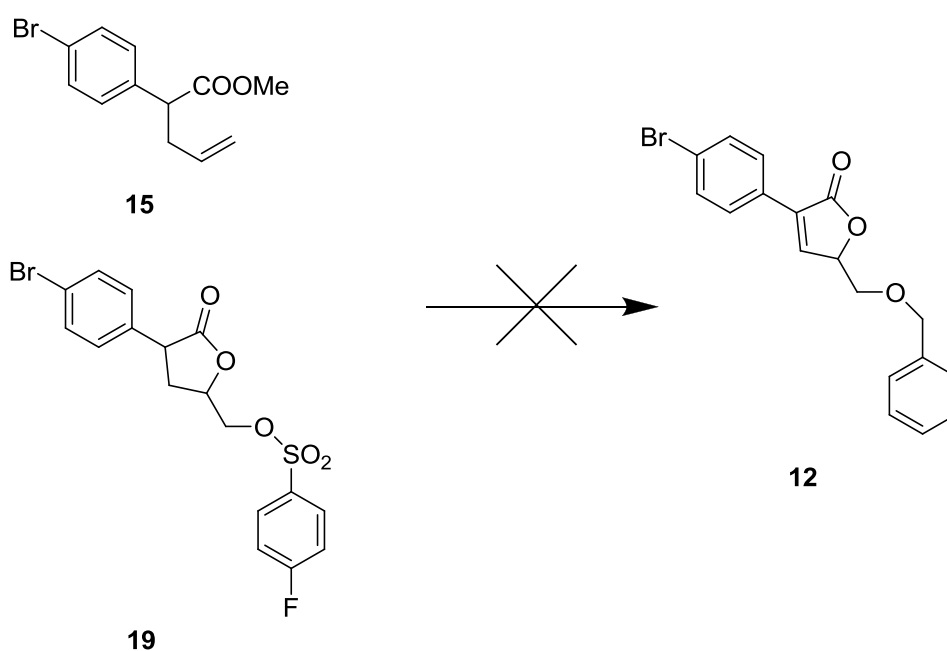


Schéma 22

Podařilo se nicméně izolovat několik neočekávaných produktů (**22-24**, **26**), z nichž některé byly podrobeny testování na antifungální, antibakteriální a cytostatickou aktivitu. Ve všech případech se však jednalo o podprůměrné nebo prakticky neaktivní látky. V dalším výzkumu by bylo třeba navrhnout jiný způsob přípravy vedoucí k furanonu **12**.

2. Cílové produkty (**13a-f**, **14a-f**) se navrženým postupem podařilo syntetizovat bez větších problémů a knihovna produktů byla neplánovaně obohacena i o 5-monohydroxymethylanaloga (**31a-b**, **32a-b**). Většina těchto látek byla podle plánu testována na antifungální a cytostatickou aktivitu a výsledky byly dále obohaceny testováním aktivity antibakteriální.

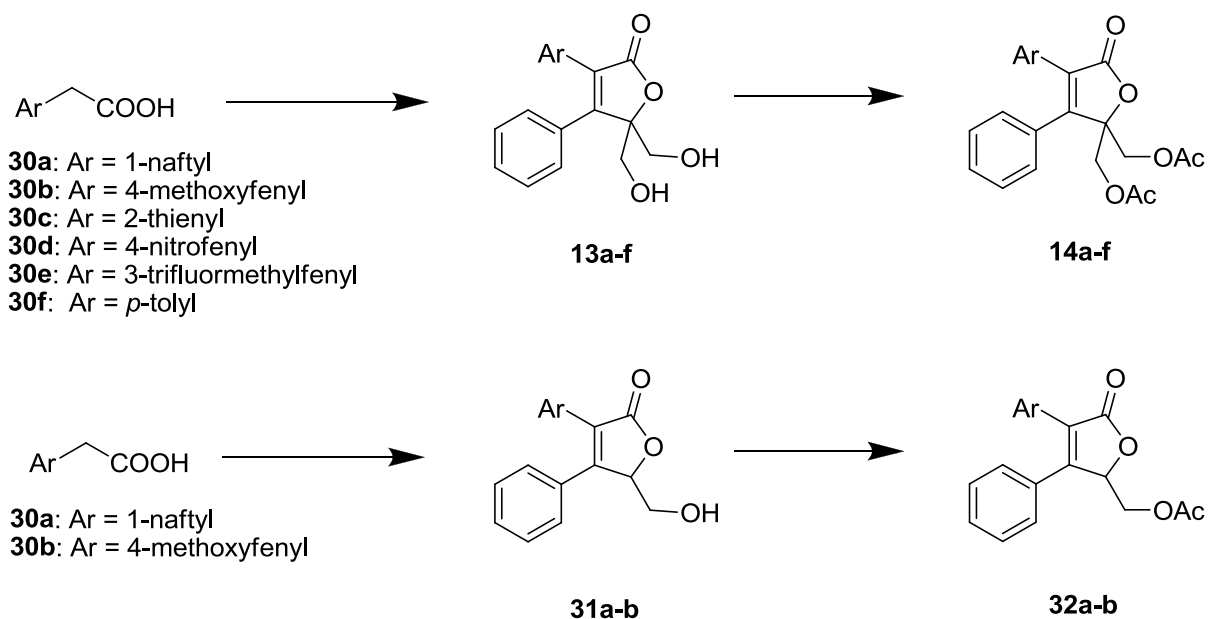
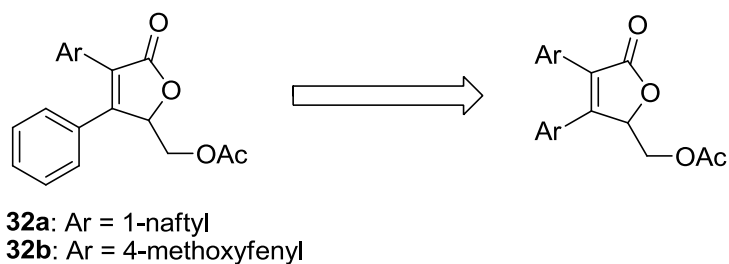


Schéma 23

Z výsledků testování vyplývá, že změna aromatického substituentu v poloze 3 oproti předlohovým strukturám **11a** a **11b** vede k vymizení aktivity antifungální i cytostatické a rovněž antimikrobní aktivita je zanedbatelná nebo se prakticky nevyskytuje.

Výjimku tvoří molekuly **32a** a **32b**, které projevily aktivitu vůči druhu houby *Absidia corymbifera* a dále také zajímavou cytostatickou aktivitu proti třem druhům testovaných linií nádorových buněk. Zajímavé je, že se zároveň objevila jistá aktivita i proti bakterii *Staphylococcus aureus*. Z naznačených výsledků není možné odhadnout, zda spolu tyto aktivity nějak kauzálně souvisí. Zatímco substituce dvěma acetoxymethylovými skupinami na C5 furanonu tedy vede ke ztrátě biologické aktivity, přítomnost jedné acetoxymethylové skupiny na C5 naopak vede k její renesanci.

Vztahy struktura-aktivita a syntéza dalších mono(acetoxymethyl)furanonů (Obr. 9) jsou dalšími problémy na který je nutné se v budoucnu v souvislosti s těmito látkami zaměřit.



Obr. 9

## 5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 5.1 Obecné experimentální postupy

Výchozí látky byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich a použity byly bez čištění. THF byl před použitím předestilován z benzofenon ketylu,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  byl destilován z  $\text{CaH}_2$  v čas potřeby. MeOH byl vysušen opakovaným stáním nad čerstvě aktivovanými molekulovými síty typu 3A.

Teploty tání všech látek byly měřeny na Koflerově bloku nebo na přístroji Buchi B-545 a nebyly korigovány. Měření IR spekter všech látek bylo provedeno na přístroji NICOLET 6700 FT-IR. Hmotnostní spektra látek byla měřena na hmotnostním spektrometru FINNIGAN LTQ XL. Elementární analýza byla provedena na přístroji CHNS-OCE FISIONS EA 1110. NMR spektra byla měřena v roztocích  $\text{CDCl}_3$ ,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$  nebo  $\text{DMSO}-d_6$  při laboratorní teplotě na přístroji VARIAN MERCURY – Vx BB 300 pracujícím při 300 MHz pro  $^1\text{H}$  a při 75 MHz pro  $^{13}\text{C}$ . Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty  $\delta$  v parts per million (ppm) a byly nepřímě vztaženy k tetramethylsilanu jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla. Data jsou prezentována v následujícím pořadí: chemický posun ( $\delta$ ), integrovaná intenzita (v protonových spektrech), multiplicita (s: singlet, d: dublet, t: triplet, q: kvartet, dd: dublet dubletů, m: multiplet), interakční konstanty (Hz). V případě směsí diastereomerů jsou oba popsány jako A a B.

Průběh reakce a čistota výsledných produktů byla kontrolována pomocí tenkovrstvé chromatografie na aluminiových TLC deskách Silica gel 60 F254 (Merck) s detekcí pod UV lampou nebo s pomocí detekčního činidla  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (2 g),  $\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$  (4g), konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (10 ml),  $\text{H}_2\text{O}$  (200 ml) a následného zahřátí. Silikagel 60 (230-240 mesh) pro sloupcovou chromatografii byl zakoupen od firmy E. Merck.

## 5.2 Použité experimentální postupy při biologickém hodnocení

### 5.2.1 Hodnocení antifungální aktivity

U připravených látek byla hodnocena *in vitro* antifungální aktivita vůči humánně patogenním houbám mikrodiluční bujónovou metodou<sup>27</sup>. Testovací soubor kmenů zahrnoval zástupce běžných původců infekčních onemocnění a byl tvořen čtyřmi kmeny kvasinek z American Type Culture Collection (*Candida albicans* ATCC 44859, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258) a osmi klinickými izoláty kvasinek (*Candida krusei* E28, *Candida tropicalis* 156, *Candida glabrata* 20/I, *Candida lusitanae* 2446/I, *Trichosporon beigeli* 1188) a vláknitých hub (*Aspergillus fumigatus* 231, *Absidia corymbifera* 272, *Trichophyton mentagrophytes* 445) získaných z depozitu Katedry biologických a lékařských věd Farmaceutické Fakulty UK v Hradci Králové. 3 z uvedených ATCC kmenů (*Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *Candida krusei* ATCC 6258) sloužily také jako kontrola kvality. Všechny kultury byly před testováním kultivovány na Sabouraudově dextrózovém agaru. DMSO (100 %) byl použit pro rozpouštění všech testovaných látek; jeho výsledná koncentrace nepřekročila 2 %. Jako testovací medium sloužilo RPMI 1640 (Sevapharma, Praha) medium obohacené L-glutaminem pufované pomocí 0.165 M morfolinpropansulfonové kyseliny (Serva) a 10 N NaOH na pH 7.0. Jamky mikrodilučních testovacích destiček obsahovaly 100  $\mu$ l RPMI 1640 media s klesající koncentrací testovaných látek (od 500 do 0.48  $\mu$ mol.l<sup>-1</sup>) a 100  $\mu$ l suspenze inokula. Výsledná koncentrace inokula v RPMI 1640 mediu byla  $5 \times 10^3 \pm 0.2$  cfu.ml<sup>-1</sup>. Destičky byly inkubovány při 35°C a MIC byly vizuálně odečteny po 24 a 48 hodinách. Hodnoty MIC pro *T. mentagrophytes* byly odečteny po 72 a 120 hodinách. Minimální inhibiční koncentrace byly definovány jako 80 % inhibice růstu kontroly a byly stanoveny dvakrát a duplicitně. Odchylky od tabelovaných hodnot MIC nebyly vyšší než jedno ředění použité při testování.

### 5.2.2 Hodnocení antibakteriální aktivity

U vybraných látek byla hodnocena *in vitro* antibakteriální aktivita vůči humánně patogenním bakteriím mikrodiluční bujónovou metodou<sup>28</sup>. Testovací soubor kmenů zahrnoval

zástupce běžných původců infekčních onemocnění a byl tvořen třemi kmeny mikroorganismů z American Type Culture Collection (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027) a pěti klinickými izoláty (*Staphylococcus aureus* MRSA HK5996/08, *Staphylococcus epidermidis* HK6966/08, *Enterococcus* sp. HK14365/08, *Klebsiella pneumoniae* HK11750/08, *Klebsiella pneumoniae* ESBL HK14368/08) získaných z depozitu Katedry biologických a lékařských věd Farmaceutické Fakulty UK v Hradci Králové. Uvedené ATCC kmeny sloužily také jako kontrola kvality. Všechny kultury byly před testováním kultivovány na Mueller-Hintonově dextrózovém agaru. DMSO (100 %) byl použit pro rozpouštění všech testovaných látek; jeho výsledná koncentrace nepřekročila 2 %. Jako testovací medium sloužil Mueller-Hintonův bujón (MH, HiMedia, Čadarsky-Envitek, Czech Republic) pufovaný na pH 7.4 ( $\pm 0.2$ ). Jamky mikrodilučních testovacích destiček obsahovaly 200  $\mu\text{l}$  Mueller-Hintonova media s klesající koncentrací testovaných látek (od 500 do 0.48  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) a 10  $\mu\text{l}$  suspenze inokula. Výsledná koncentrace inokula ve sterilní vodě dosáhla hodnoty 0.5 McFarlandovy stupnice ( $1.5 \times 10^8$  cfu.ml<sup>-1</sup>). Destičky byly inkubovány při 36°C a MIC byly vizuálně odečteny po 24 a 48 hodinách. Minimální inhibiční koncentrace byly definovány jako 80 % inhibice růstu kontroly a byly stanoveny dvakrát a duplicitně. Odchyly od tabelovaných hodnot MIC nebyly vyšší než jedno ředění použité při testování.

### 5.2.3 Hodnocení cytostatické aktivity

Cytostatická aktivita byla stanovena Dr. I. Votrubou (Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha). Inhibice buněčného růstu byla hodnocena na buněčných liniích myši lymfocytické leukémie L 1210 (ATCC CCL219), na buňkách lidské akutní T-lymfoblastoidní leukémie CCRF-CEM (ATCC CCL 119), na buňkách lidské promyeloidní leukémie HL-60 (ATCC CCL 240) a na lidských buněčných liniích karcinomu děložního čípku HeLa S3 (ATCC CCL 2.2)<sup>29</sup>. Buněčné linie L1210, CCRF CEM a HL-60 byly kultivovány v RPMI 1640 mediu s telecím plodovým sérem na 24 jamkových destičkách s tkáňovou kulturou a buněčný nárůst byl odečítán po 72 hodinách od aplikace testovaných látek. HeLa S3 buňky byly očkované do misek s RPMI 1640-HEPES mediem s telecím plodovým sérem a hodnocení probíhalo 48 hodin po aplikaci testovaných látek. Buněčný růst byl kvantifikován s použitím XTT standardního spektrofotometrického testu<sup>30</sup>. Výsledky jsou vyjádřeny v procentech jako podíl počtu narostlých buněk obsahujících v médiu testovanou

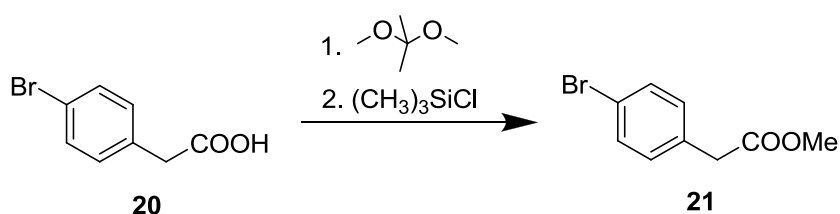


látku v koncentraci  $10 \mu\text{mol.l}^{-1}$  k počtu narostlých buněk v médiu bez testované látky a dále v některých případech i jako hodnota  $\text{IC}_{50}$  ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ).

### 5.3 Syntéza

#### 5.3.1 Syntéza 5-(benzyloxymethyl)-3-(4-bromfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-onu

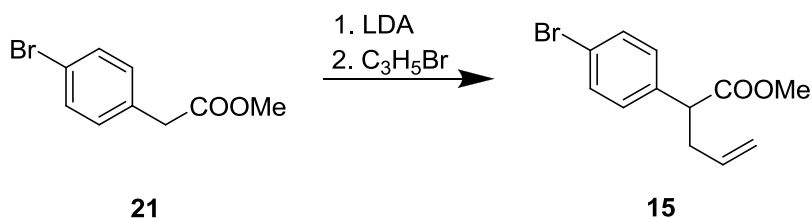
##### Methyl 2-(4-bromfenyl)acetát (21)



4-bromfenyloctová kyselina (46.5 mmol), methanol (26 ml) a trimethylsilylchlorid (0,6 ml; 4.65 mmol) byly rozpuštěny ve 102 ml 2,2-dimethoxypropanu (830 mmol) a směs reagovala za stálého míchání po dobu 90 minut. Poté byla reakční směs zpracována odpařením methanolu, zředěním EtOAc a vytřepáním s nasyceným roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt<sup>15</sup> byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 9:1).

Výtěžek: 95%, charakteristiky látky **21** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>15</sup>.

##### Methyl 2-(4-bromfenyl)pent-4-enoát (15)

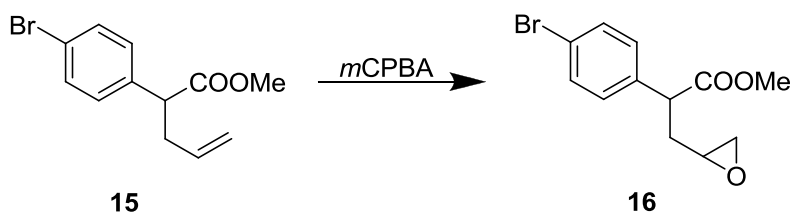


Roztok esteru<sup>15</sup> **21** (44.5 mmol) ve 200 ml THF byl ochlazen na  $-60^\circ\text{C}$ , poté do něj byl vpraven LDA (49 mmol) a směs byla za stálého míchání ponechána 30 minut. Následně byl přikapán allylbromid (46.8 mmol) a směs byla míšena do dosažení laboratorní teploty.

Poté byla zpracována, a to nejprve odpařením THF, následně zředěním EtOAc a posléze vytřepáním s nasyceným roztokem NH<sub>4</sub>Cl. Organická vrstva byla vysušena síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt<sup>15</sup> byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 8:2).

Výtěžek: 88 %, charakteristiky látky **15** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>15</sup>.

### Methyl 4,5-epoxy-2-(4-bromfenyl)pentanoát (16)

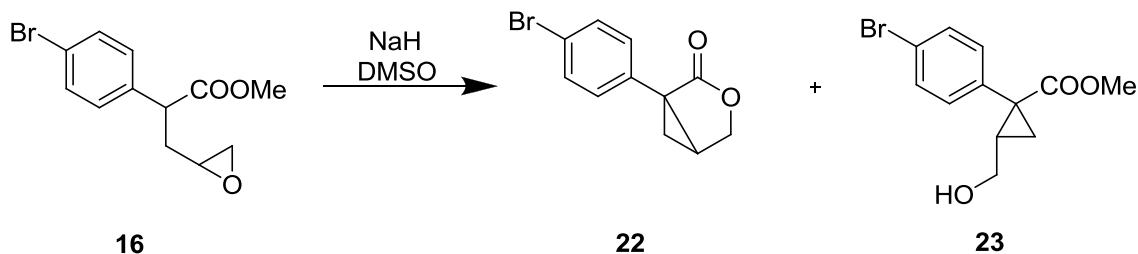


Roztok esteru<sup>15</sup> **15** (18.95 mmol) a *meta*-chlorperoxybenzoové kyseliny (26.53 mmol) v 70 ml chloroformu byl zahříván pod zpětným chladičem za stálého míchání po dobu 3 hodin. Posléze bylo odpařeno rozpouštědlo a surový produkt zředěn EtOAc a následně vytřepán pětkrát s 5% roztokem NaHCO<sub>3</sub>. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt<sup>14</sup> byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 95:5).

Výtěžek: 82 %, charakteristiky látky **16** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>14</sup>.

### 1-(4-bromfenyl)-3-oxabicyklo[3.1.0]hexan-2-on (22) a

### methyl 1-(4-bromfenyl)-2-(hydroxymethyl)cyklopropan-1-karboxylát (23)



Do suspenze NaH (2.39 mmol) v 6 ml DMSO byl přikapán roztok epoxidu<sup>14</sup> **16** (2.17 mmol) v 6 ml DMSO a směs reagovala po dobu 2 hodin. pak byla zpracována oxyselením pomocí 3M HCl do hodnoty pH $\approx$ 1 a zředěna EtOAc. Surový produkt<sup>16</sup> byl

vytřepán s 5% roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 7:3).

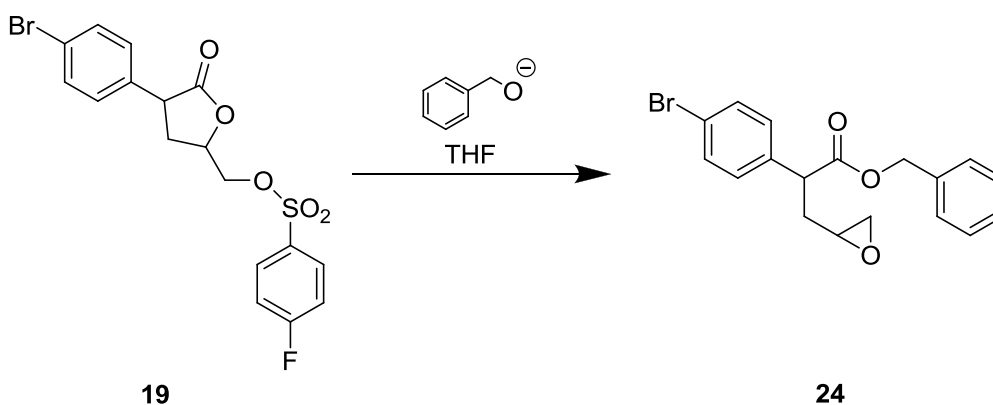
### 1-(4-bromfenyl)-3-oxabicyklo[3.1.0]hexan-2-on (22)

Výtěžek: 35 %, charakteristiky látky **22** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>15</sup>.

### Methyl 1-(4-bromfenyl)-2-(hydroxymethyl)cyklopropan-1-karboxylát (23)

Výtěžek: 12 %, <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.50-7.43 (2H, m, AA', BB', Ar), 7.26-7.20 (2H, m, AA', BB', Ar), 3.62 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.47 (1H, dd, *J* = 11.6 Hz, *J* = 5.5 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.13 (1H, dd, *J* = 11.6 Hz, *J* = 8.2 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.24-2.11 (1H, m, CH), 1.73 (1H, dd, *J* = 9.3, Hz *J* = 4.7 Hz, CH<sub>2</sub>), 1.21 (1H, dd, *J* = 6.8, Hz *J* = 4.7 Hz, CH<sub>2</sub>).

### Benzyl 4,5-epoxy-2-(4-bromfenyl)pentanoát (24)

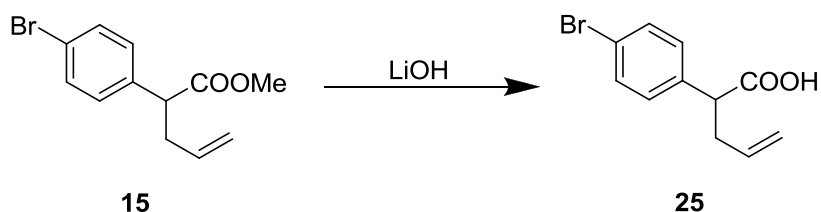


Do roztoku benzylalkoholu (1.60 mmol) ve 2 ml THF byl suspendován NaH (1.60 mmol) a směs byla ponechána 10 minut. Poté byla do reakční směsi vpravena výchozí surovina<sup>14</sup> **19** (1.45 mmol) a směs za stálého míchání a laboratorní teploty reagovala 12 hodin. Následně byl ze směsi odpařen THF a surový produkt zředěn EtOAc a vytřepán s 5% vodným roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 9:1).

Výtěžek: 24 %; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.50-7.41 (2H, m, Ar, A+B), 7.36-7.15 (7H, m, Ar, A+B), 5.14-5.08 (2H, m, OCH<sub>2</sub>, A+B), 3.86-3.78 (1H, m, OCH, A+B), 3.0-2.86 (1H, m, CH, A), 2.80-2.72 (1H, m, CH, B), 2.73-2.65 (2H, m, OCH<sub>2</sub>, A), 2.50-2.40 (2H, m, OCH<sub>2</sub>, B), 2.14 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=7.7, *J*<sub>2</sub>= 5.6 Hz, CH<sub>2</sub>, A+B); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz,

CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  172.6, 172.5, 137.3, 136.9, 135.50, 135.48, 131.89, 131.86, 129.8, 129.5, 128.5, 128.28, 128.26, 128.0, 121.6, 121.5, 66.9, 50.2, 49.8, 48.08, 48.05, 47.4, 47.2, 36.3, 35.9, 29.7, 14.2.

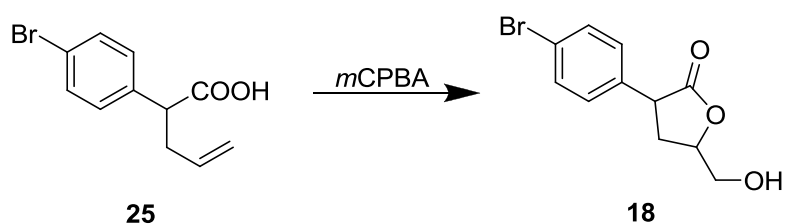
### 2-(4-bromfenyl)pent-4-enová kyselina (**25**)



Do roztoku esteru<sup>15</sup> **15** (18.95 mmol) v 218 ml směsi methanolu a vody (3:1) byl přidán LiOH (46.46 mmol) a směs byla ponechána za stálého míchání a laboratorní teploty 24 hodin. Poté byl z reakční směsi odpařen MeOH, přidána voda (20 ml) a směs okyselena pomocí 35% HCl na pH  $\approx$  1. Následně byla směs zředěna EtOAc a vytřepána s 5% vodným roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt<sup>15</sup> byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 8:2).

Výtěžek: 98 %, charakteristiky látky **25** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>15</sup>.

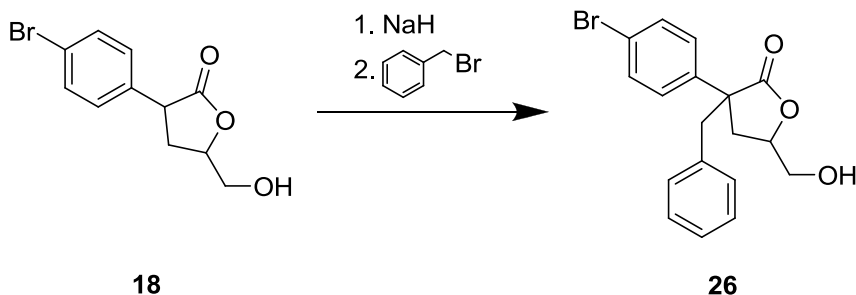
### 3-(4-bromfenyl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-on (**18**)



Roztok karboxylové kyseliny<sup>15</sup> **25** (19.5 mmol) a *meta*-chlorperoxybenzoové kyseliny (25.7 mmol) ve 40 ml chloroformu byl zahříván pod zpětným chladičem a směs ponechána po dobu 3 hodin. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno, surový produkt zředěn EtOAc a vytřepán s 5% roztokem NaHCO<sub>3</sub>. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt<sup>15</sup> byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 1:3).

Výtěžek: 53 %, charakteristiky látky **18** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>15</sup>.

### 3-benzyl-3-(4-bromfenyl)-5-(hydroxymethyl)tetrahydrofuran-2-on (**26**)

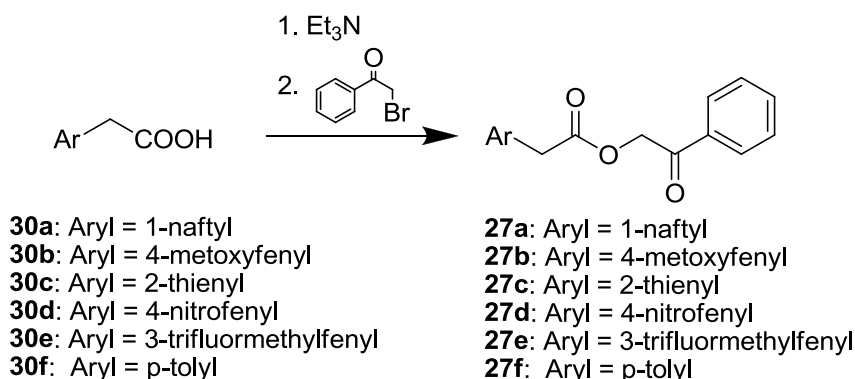


Do roztoku laktonu<sup>15</sup> **18** (1 mmol) v 9 ml suchého THF ochlazeného na 0 °C byl vpraven NaH (1,05 mmol) a reakční směs byla ponechána do ukončení vývoje H<sub>2</sub>. Následně byl do reakční směsi vpraven benzylobromid (1.1 mmol) a směs byla 120 minut zahřívána na 70 °C. Pak bylo rozpouštědlo odpařeno, surový produkt zředěn EtOAc a vytřepán s 5% roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 7:3).

Výtěžek: 25%; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.55-7.38 (4H, m, Ar), 7.30-7.18 (3H, m, Ar), 7.05-6.98 (2H, m, Ar), 3.95-3.82 (1H, m, OCH), 3.75-3.65 (1H, m, OCH<sub>2</sub>), 3.55-3.40 (1H, m, OCH<sub>2</sub>), 3.35-3.22 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 3.10-3.01 (1H, m, CH<sub>2</sub>), 2.62-2.39 (2H, m, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 178.2, 140.5, 135.1, 131.9, 131.5, 131.2, 131.1, 128.5, 128.4, 128.31, 128.29, 127.6, 127.0, 121.5, 77.2, 63.4, 60.4, 52.8, 46.4, 34.1, 21.0, 14.2.

### 5.3.2 Syntéza (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran -5-yl)methyl-acetátů a (2-oxo-3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl)bis(methyl)-diacetátů

#### Obecný postup přípravy 2-fenyl-2-oxoethyl-arylacetátů



Do roztoku aryloctové kyseliny (1 mmol) ve 4 ml THF byl vpraven triethylamin (1 mmol) a směs byla ponechána za stálého míchání po dobu 30 minut. Poté byl přidán 2-bromacetofenon (1.05 mmol) a směs byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 5 hodin. Poté byl z reakční směsi odpařen THF, surový produkt zředěn EtOAc (20 ml) a vytřepán s 5% vodným roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 75:25).

#### **Naft-1-yl 2-[(2-oxo-2-fenyl)ethyl]acetát (27a)**

Výtěžek: 78 %, bílá krystalická látka, t.t.; 65 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.13-8.06 (1H, m, Ar), 7.93-7.79 (4H, m, Ar), 7.63-7.39 (7H, m, Ar), 5.32 (2H, s, CH<sub>2</sub>); 4.28 (2H, s, CH<sub>2</sub>); charakteristiky látky **27a** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>24</sup>.

#### **4-methoxyfenyl 2-[(2-oxo-2-fenyl)ethyl]acetát (27b)**

Výtěžek: 64 %, bílá krystalická látka, t.t. 65 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.94-7.85 (2H, m, Ar), 7.65-7.56 (1H, m, Ar), 7.52-7.43 (2H, m, Ar), 7.31-7.213 (2H, m, Ar), 6.93-6.85 (2H, m, Ar), 5.35 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 3.80 (2H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.77 (2H, s, CH<sub>2</sub>); charakteristiky látky **27b** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>25</sup>.

### **Thien-2-yl 2-[(2-oxo-2-fenyl)ethyl]acetát (27c)**

Výtěžek: 86 %, nažloutlá krystalická látka, t.t. 52.4 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.94-7.87 (2H, m, Ar), 7.65-7.57 (1H, m, Ar), 7.53-7.44 (2H, m, Ar), 7.28-7.21 (1H, m, Ar), 7.07-6.94 (2H, m, Ar), 5.39 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 4.04 (2H, s, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 191.7, 169.9, 134.4, 134.0, 133.9, 128.9, 127.7, 127.1, 126.9, 125.2, 66.5, 34.9; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1162, 1207, 1237, 1327, 1364, 1401, 1420, 1448, 1598, 1692, 1748, 2932 cm<sup>-1</sup>; C, H, N: pro C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>S vypočteno: C, 64.60; H, 4.65; S, 12.32; nalezeno: C, 65.71; H, 4.68; S, 12.47.

### **4-nitrofenyl 2-[(2-oxo-2-fenyl)ethyl]acetát (27d)**

Výtěžek: 82 %, bílá krystalická látka, t.t. 83.4 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.49-7.41 (2H, m, Ar), 7.22-7.14 (2H, m, Ar), 4.66 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 3.70 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 2.11 (3H, s, OCH<sub>3</sub>).

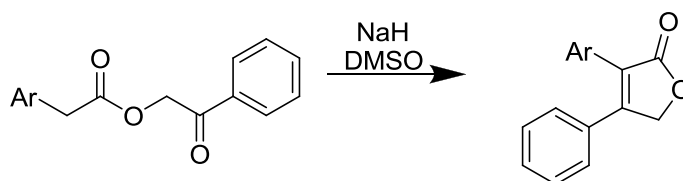
### **3-(trifluormethyl)fenyl 2-[(2-oxo-2-fenyl)ethyl]acetát (27e)**

Výtěžek: 80 %, bílá krystalická, t.t. 76.1 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.98-7.82 (2H, m, Ar), 7.68-7.39 (7H, m, Ar), 5.38 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 3.89 (2H, s, CH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ □191.7, 170.3, 134.4, 134.0, 132.9, 130.9 (q, J=32.4 Hz), 129.0, 128.9, 127.9 (q, J=272.3 Hz), 127.7, 126.3 (q, J=3.8 Hz), 124.2 (q, J=3.8 Hz), 66.5, 40.4; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1110, 1151, 1166, 1208, 1333, 1409, 1452, 1597, 1692, 1747, 2899, 2899, 2939 cm<sup>-1</sup>; C, H, N: pro C<sub>17</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub> vypočteno: C, 63.36; H, 4.07; nalezeno: C, 63.55; H, 3.18.

### **4-methylfenyl 2-[(2-oxo-2-fenyl)ethyl]acetát (27f)**

Výtěžek: 69 %, bílá krystalická látka, t.t. 65 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.93-7.86 (2H, m, Ar), 7.65-7.56 (1H, m, Ar), 7.52-7.43 (2H, m, Ar), 7.28-7.21 (2H, m, Ar), 7.19-7.12 (2H, m, Ar), 5.34 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 3.79 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 2.34 (2H, s, CH<sub>3</sub>); charakteristiky látky **27f** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>26</sup>.

## Obecný postup přípravy 3-aryl-4-fenyl-2,5-dihydrofuran-2-onů



**27a:** Aryl = 1-naftyl  
**27b:** Aryl = 4-metoxyfenyl  
**27c:** Aryl = 2-thienyl  
**27d:** Aryl = 4-nitrofenyl  
**27e:** Aryl = 3-trifluormethylfenyl  
**27f:** Aryl = p-tolyl

**28a:** Aryl = 1-naftyl  
**28b:** Aryl = 4-metoxyfenyl  
**28c:** Aryl = 2-thienyl  
**28d:** Aryl = 4-nitrofenyl  
**28e:** Aryl = 3-trifluormethylfenyl  
**28f:** Aryl = p-tolyl

Roztok esteru (1 mmol) ve 2 ml DMSO byl přikapán do suspenze NaH (60%, 1.05 mmol) ve 3 ml DMSO a směs reagovala za stálého míchání po dobu 90 minut. Poté byla okyselena pomocí 3M HCl do hodnoty  $\text{pH} \approx 1$ , zředěna EtOAc (30 ml) a vytřepána s 5% roztokem NaCl (50 ml). Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 85:15).

### **4-fenyl-3-(naft-1-yl)-2,5-dihydrofuran-2-on (28a)**

Výtěžek: 67 %, bílá krystalická látka, t.t. 167.3 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.99-7.88 (2H, m, Ar), 7.70-7.64 (1H, m, Ar), 7.60-7.36 (4H, m, Ar), 7.34-7.25 (1H, m, Ar), 7.23-7.11 (4H, m, Ar), 5.44 (1H, s, OCH<sub>2a</sub>), 5.42 (1H, s, OCH<sub>2b</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  157.4, 133.8, 131.0, 130.9, 130.2, 129.4, 128.9, 128.6, 128.4, 127.8, 127.3, 126.6, 126.2, 125.6, 125.5, 124.8, 70.6; **IR:** (ATR)  $\nu_{\text{max}}$  1158, 1191, 1334, 1450, 1497, 1574, 1643, 1731, 1747, 2931, 3050 cm<sup>-1</sup>; **C, H, N:** pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> vypočteno: C, 83.90; H, 4.93; nalezeno: C, 84.11; H, 5.10.

### **4-fenyl-3-(4-methoxy)-2,5-dihydrofuran-2-on (28b)**

Výtěžek: 80 %, oranžová krystalická látka, t.t. 116.8 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.44-7.31 (7H, m, Ar), 6.93-6.86 (2H, m, Ar), 5.15 (2H, s, OCH<sub>2</sub>), 3.83 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), charakteristiky látky **28b** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>25</sup>.



#### 4-fenyl-3-(thien-2-yl)-2,5-dihydrofuran-2-on (28c)

Výtěžek: 73 %, světle žlutá krystalická látka, t.t. 113.3 °C;  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.57-7.27(7H, m, Ar), 7.05-6.94 (1H, m, Ar), 5.08 (2H, s,  $\text{OCH}_2$ );  $^{13}\text{C NMR}$ : (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.3, 154.6, 131.2, 130.6, 130.5, 129.2, 128.4, 127.5, 127.4, 127.0, 120.5, 71.5; **IR**: (ATR)  $\nu_{\text{max}}$  1139, 1228, 1332, 1440, 1491, 1637, 1747  $\text{cm}^{-1}$ ; **C, H, N**: pro  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}$  vypočteno: C, 69.40; H, 4.16; S, 13.23; nalezeno: C, 69.89; H, 4.26; S, 12.68.

#### 4-fenyl-3-(4-nitrofenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (28d)

Výtěžek: 71 %, žlutooranžová krystalická látka, t.t. 139.6 °C;  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.25-8.18 (2H, m, Ar), 7.68-7.60 (2H, m, Ar), 7.50-7.35 (3H, m, Ar), 7.32-7.25 (2H, m, Ar), 5.23 (2H, s,  $\text{OCH}_2$ );  $^{13}\text{C NMR}$ : (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.3, 159.2, 147.7, 136.8, 131.3, 130.3, 130.0, 129.4, 127.4, 124.1, 123.8, 70.8; **IR**: (ATR)  $\nu_{\text{max}}$  1158, 1338, 1444, 1488, 1515, 1589, 1639, 1737  $\text{cm}^{-1}$ ; **C, H, N**: pro  $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{NO}_4$  vypočteno: C, 68.32; H, 3.94; N, 4.98; nalezeno: C, 68.76; H, 4.14; N, 5.10.

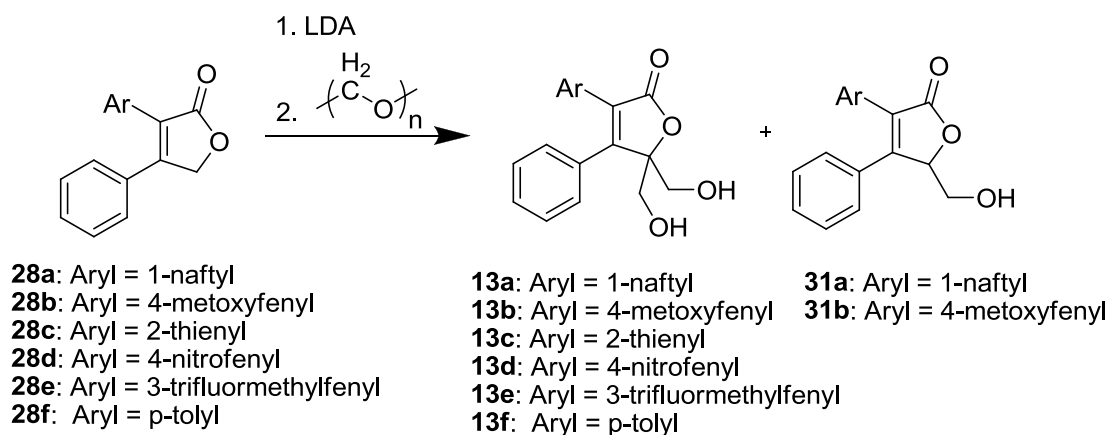
#### 4-fenyl-3-(3-trifluormethylfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (28e)

Výtěžek: 80 %, světle žlutá krystalická látka, t.t. 94.9 °C;  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.77-7.18 (9H, m, Ar), 5.21 (2H, s,  $\text{OCH}_2$ );  $^{13}\text{C NMR}$ : (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  172.8, 157.7, 132.7, 131.1, 131.1 (q,  $J=32.5$  Hz), 130.9, 130.2, 129.2, 127.4, 126.6 (q,  $J=267.7$  Hz), 126.3 (q,  $J=4.0$  Hz), 125.6 (q,  $J=4.1$  Hz), 124.7, 70.7; **IR**: (ATR)  $\nu_{\text{max}}$  1105, 1154, 1224, 1277, 1308, 1320, 1427, 1442, 1487, 1606, 1646, 1748, 2924  $\text{cm}^{-1}$ ; **C, H, N**: pro  $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{F}_3\text{O}_2$  vypočteno: C, 67.11; H, 3.64; nalezeno: C, 67.09; H, 3.19.

#### 4-fenyl-3-(4-methylfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (28f)

Výtěžek: 81 %, světle žlutá krystalická látka, t.t. 134.4 °C;  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.44-7.29 (7H, m, Ar), 7.22-7.15 (2H, m, Ar), 5.16 (2H, s,  $\text{OCH}_2$ ), 2.37 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), charakteristiky látky **28f** odpovídají údajům uvedeným v literatuře<sup>26</sup>.

Obecný postup přípravy 3-aryl-4-fenyl-5-hydroxymethyl-2,5-dihydrofuran-2-onů a 3-aryl-4-fenyl-5,5-bis(hydroxymethyl)-2,5-dihydrofuran-2-onů



Roztok laktonu (1 mmol) v 5 ml bezvodého THF byl pod atmosférou argonu ochlazen na  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  a poté byl k němu přikapán roztok LDA (1.5 M, THF komplex v cyklohexanu, 1.05 mmol). Po 20 minutách byl do reakční směsi přidán paraformaldehyd (70 mg) a směs byla zvolna ohřívána. Po 90 minutách měla směs teplotu  $0\text{ }^\circ\text{C}$  a reakce byla ukončena přidáním vody (5 ml). Po odpaření rozpouštědla byla surová reakční směs zředěna EtOAc (20 ml) a dvakrát vytřepána s 5% roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 85:15). Lakton **31a** byl použit bez čištění do další reakce.

**4-fenyl-5-bis(hydroxymethyl)-3-(naft-1-yl)-2,5-dihydrofuran-2-on (13a)**

Výtěžek: 21 %, bílá krystalická látka, t.t.  $233.5\text{ }^\circ\text{C}$ ;  **$^1\text{H NMR}$** : (300 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta$  8.10-8.00 (1H, m, Ar), 7.90-7.80 (2H, m, Ar), 7.51-7.31 (6H, m, Ar), 7.28-7.15 (3H, m, Ar), 4.80 (1H, t,  $J=6.0\text{ Hz}$ , OH); 4.57 (1H, t,  $J=6.0\text{ Hz}$ , OH); 4.16-3.80 (4H, m,  $\text{OCH}_2$ );  **$^{13}\text{C NMR}$** : (75 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ )  $\delta$  172.2, 163.5, 134.4, 133.1, 132.7, 132.3, 130.2, 129.6, 129.4, 129.1, 129.0, 129.0, 128.7, 126.9, 126.7, 126.0, 94.2, 62.5, 61.9; **IR**: (ATR)  $\nu_{\text{max}}$  1021, 1049, 1097, 1161, 1228, 1326, 1352, 1402, 1443, 1495, 1509, 1666, 1728, 2358, 2930,  $3271\text{ cm}^{-1}$ ; **C, H, N**: pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_4$  vypočteno: C, 76.29; H, 5.24; nalezeno: C, 76.56; H, 5.53.

#### 4-fenyl-5-bis(hydroxymethyl)-3-(4-methoxyfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (13b)

Výtěžek: 23 %, světle žlutá krystalická látka, t.t. 189.0 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 7.50-7.28 (7H, m, Ar), 6.82-6.72 (2H, m, Ar), 4.44-4.34 (2H, m, OH), 3.90 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=5.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.78-3.68 (5H, m, OCH<sub>3</sub>+OCH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 172.3, 160.4, 159.3, 134.1, 131.2, 129.9, 129.7, 129.5, 129.0, 123.6, 114.7, 92.9, 62.1, 62.0, 55.4; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1100, 1176, 1206, 1253, 1294, 1360, 1414, 1440, 1457, 1515, 1609, 1733, 2916, 2967, 3333, 3425 cm<sup>-1</sup>; LRMS (EI): *m/z* (relativní intenzita) 326.1 [M]<sup>+</sup> (6), 295.1 (5), 278.1 (100), 265.1 (2), 250.1 (11), 222.1 (16), 209.1 (29), 193.1 (21), 178.1 (12), 165.1 (39), 139.1 (5), 126.0 (1), 115.1 (3); HRMS (EI): *m/z* vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> 326.1154; nalezeno 326.1153.

#### 4-fenyl-5-bis(hydroxymethyl)-3-(thien-2-yl)-2,5-dihydrofuran-2-on (13c)

Výtěžek: 63 %, bílá krystalická látka, t.t. 155.0 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 7.64-7.38 (7H, m, Ar), 7.02-6.96 (1H, m, Ar), 4.52-4.45 (2H, m, OH), 3.94 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=6.2 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.75 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=6.2 Hz, OCH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 171.3, 157.7, 133.5, 132.8, 130.1, 128.7, 128.4, 128.1, 127.3, 124.8, 93.5, 61.8, 61.6; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1090, 1162, 1193, 1232, 1318, 1359, 1446, 1485, 1642, 1735, 2869, 2922, 2956, 3055, 3102, 3299 cm<sup>-1</sup>; C, H, N: pro C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>S vypočteno: C, 63.56; H, 4.67; S, 10.61; nalezeno: C, 63.95; H, 4.87; S, 10.47.

#### 4-fenyl-5-bis(hydroxymethyl)-3-(4-nitrofenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (13d)

Výtěžek: 51 %, světle žlutá krystalická látka, t.t. 195.6 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 8.16-8.09 (2H, m, Ar), 7.64-7.58 (2H, m, Ar), 7.51-7.39 (5H, m, Ar), 4.59-4.53 (2H, m, OH), 3.94 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=5.4 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.81 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=6.9 Hz, OCH<sub>2</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 171.3, 164.7, 148.1, 137.9, 132.8, 131.0, 130.2, 129.9, 129.1, 128.8, 123.9, 94.0, 61.8, 61.7; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1095, 1181, 1204, 1217, 1312, 1352, 1446, 1525, 1602, 1656, 1738, 2933, 2968, 3378 cm<sup>-1</sup>; C, H, N: pro C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub> vypočteno: C, 63.34; H, 4.43; N, 4.10; nalezeno: C, 61.36; H, 4.89; N, 4.24; LRMS (EI): *m/z* (relativní intenzita) 341.1 [M]<sup>+</sup> (2), 311.1 (45), 293.1 (100), 265.1 (24), 248.1 (3), 237.1 (15), 223.1 (12), 207.1 (10), 191.1 (20), 176.1 (36), 165.1 (21), 151.1 (13), 139.1 (4), 126.0 (4), 115.1 (3); HRMS (EI): *m/z* vypočteno pro C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>6</sub> 341.0899; nalezeno 341.0893.

**4-fenyl-5-bis(hydroxymethyl)-3-(3-trifluormethylfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (13e)**

Výtěžek: 53 %, bílá krystalická látka, t.t. 134.3 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 7.74-7.70 (1H, m, Ar), 7.66-7.56 (2H, m, Ar), 7.52-7.32 (6H, m, Ar), 4.55-4.48 (2H, m, OH), 3.96 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=5.4 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.80 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.1, *J*<sub>2</sub>=6.9 Hz, OCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 171.6, 163.2, 133.5, 133.1, 132.3, 130.2 (q, *J*=32.4 Hz), 130.0, 129.8, 129.8, 128.8, 128.0 (q, *J*=271.4 Hz), 126.4 (q, *J*=3.9 Hz), 125.6 (q, *J*=3.9 Hz), 93.7, 61.9, 61.8; **IR:** (ATR) *v*<sub>max</sub> 1123, 1168, 1314, 1354, 1431, 1487, 1752, 3347 cm<sup>-1</sup>; **LRMS** (EI): *m/z* (relativní intenzita) 364.1 [M]<sup>+</sup> (4), 345.1 (18), 334.1 (37), 316.1 (100), 288.1 (44), 260.1 (39), 246.1 (58), 227.1 (12), 207.1 (4), 191.1 (15), 178.1 (11), 151.0 (3), 115.1 (2); **HRMS** (EI): *m/z* vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>F<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 364.0922; nalezeno 364.0928.

**4-fenyl-5-bis(hydroxymethyl)-3-(4-methylfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (13f)**

Výtěžek: 61 %, bílá krystalická látka, t.t. 185.4 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 7.49-7.36 (5H, m, Ar), 7.30-7.23 (2H, m, Ar), 7.07-7.00 (2H, m, Ar), 4.46-4.38 (2H, m, OH), 3.92 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.2, *J*<sub>2</sub>=5.4 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.76 (2H, dd, *J*<sub>1</sub>=12.1, *J*<sub>2</sub>=6.9 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.25 (3H, s, CH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 172.1, 160.5, 138.7, 133.9, 130.5, 129.8, 129.6, 129.6, 129.3, 129.0, 128.5, 93.0, 62.0, 62.0, 21.1; **IR:** (ATR) *v*<sub>max</sub> 1100, 1181, 1202, 1354, 1411, 1514, 1653, 1739, 2874, 2900, 2963, 3013, 3059, 3360 cm<sup>-1</sup>; **C, H, N:** pro C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub> vypočteno: C, 73.53; H, 5.85; nalezeno: C, 73.51; H, 6.17.

**4-fenyl-5-(hydroxymethyl)-3-(naft-1-yl)-2,5-dihydrofuran-2-on (31a)**

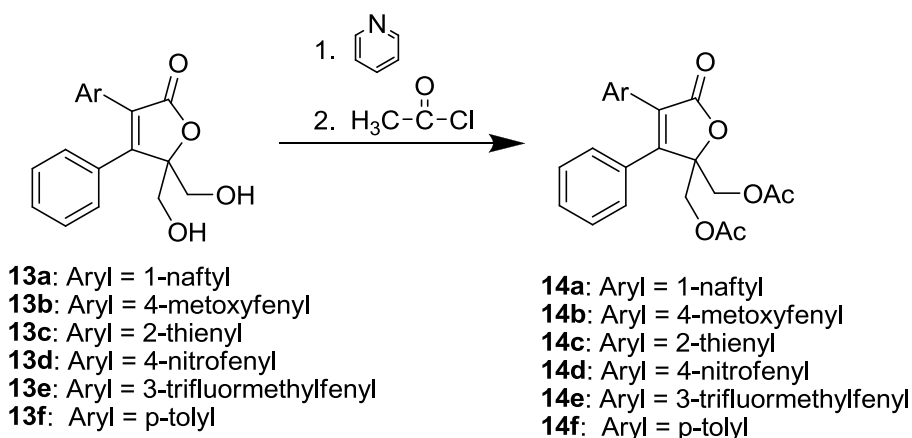
Výtěžek: 31 %, látka nebyla charakterizována.

**4-fenyl-5-(hydroxymethyl)-3-(4-methoxyfenyl)-2,5-dihydrofuran-2-on (31b)**

Výtěžek: 32 %, světle žlutá krystalická látka, t.t. 124.7 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 7.45-7.37 (5H, m, Ar), 7.35-7.29 (2H, m, Ar), 6.91-6.84 (2H, m, Ar), 5.62-5.58 (1H, m, H5), 4.19 (1H, t, *J*=6.0 Hz, OH), 4.02-3.91 (1H, m, OCH<sub>2</sub>), 3.78 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 3.69-3.57 (1H, m, OCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) δ 172.9, 160.6, 157.5, 132.8, 131.3, 130.4, 129.6, 129.1, 127.9, 123.5, 114.4, 83.5, 61.7, 55.5; **IR:** (ATR) *v*<sub>max</sub> 1163, 1247, 1293, 1330, 1356, 1444, 1512, 1606, 1736, 2342, 2360, 2838, 2871, 2929, 3057, 3433 cm<sup>-1</sup>.

## Obecný postup přípravy

### [(2-oxo-3-aryl-4-fenyl)-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl]bis(methyl)-diacetátů



K roztoku furanonu (1 mmol) v 15 ml dichlormethanu byl přikapán pyridin (3 mmol). Poté byl do reakční směsi vpraven acetylchlorid (3 mmol) a směs ponechána za stálého míchání 2 hodiny. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno, směs zředěna EtOAc (20 ml) a dvakrát vytřepána s 5% vodným roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodným síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 8:2).

#### **{[4-fenyl-3-(naft-1-yl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl}(bis)methyl-acetát (14a)**

Výtěžek: 90 %, bílá krystalická látka, t.t. 133.1 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.89-7.73 (3H, m, Ar), 7.51-7.30 (4H, m, Ar), 7.25-7.15 (3H, m, Ar), 7.11-7.03 (2H, m, Ar), 4.81-4.59 (2H, m, OCH<sub>2</sub>), 4.53-4.37 (2H, m, OCH<sub>2</sub>), 2.19 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 2.11 (3H, s, CH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.6, 170.0, 169.9, 160.1, 133.6, 131.9, 131.0, 130.5, 129.8, 129.5, 129.0, 128.6, 128.3, 127.4, 127.2, 126.3, 126.1, 125.3, 124.7, 87.0, 63.4, 63.0, 20.7, 20.6; **IR:** (ATR)  $\nu_{\max}$  1040, 1077, 1230, 1294, 1363, 1382, 1458, 1511, 1737, 1758, 1869, 3054 cm<sup>-1</sup>; **C, H, N:** pro C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub> vypočteno: C, 72.55; H, 5.15; nalezeno: C, 72.89; H, 5.37; **LRMS** (EI): *m/z* (relativní intenzita) 430.1 [M]<sup>+</sup> (95), 358.1 (38), 298.1 (69), 269.1 (27), 253.1 (28), 228.1 (53), 226.1 (51), 149.0 (55), 57.1 (32), 43.0 (100); **HRMS** (EI): *m/z* vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>O<sub>6</sub> 430.1416; nalezeno 430.1407.

**{[4-fenyl-3-(4-methoxyfenyl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl}(bis)methyl-acetát (14b)**

Výtěžek: 74 %, bílá olejovitá látka; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.45-7.33 (5H, m (AA', BB'), Ar), 7.18-7.10 (2H, m (AA', BB'), Ar), 6.98-6.73 (2H, m, Ar), 4.55 (2H, d, *J*=12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>); 4.28 (2H, d, *J*=12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>); 3.77 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.04 (6H, s, CH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.1, 160.0, 155.5, 131.5, 131.5, 129.7, 129.6, 129.5, 127.7, 121.3, 113.8, 85.9, 62.9, 55.2, 20.6; **IR:** (ATR)  $\nu_{\max}$  1111, 1125, 1169, 1217, 1245, 1360, 1386, 1513, 1609, 1750, 2359, 2961 cm<sup>-1</sup>.

**{[4-fenyl-2-oxo-3-(thien-2-yl)]-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl}(bis)methyl-acetát (14c)**

Výtěžek: 79 %, bílá krystalická látka, t.t. 153.3 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.64-7.59 (1H, m, Ar), 7.56-7.49 (3H, m, Ar), 7.30-7.16 (3H, m, Ar), 7.01-6.94 (1H, m, Ar), 4.54 (2H, d, *J*=12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.20 (2H, d, *J*=12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.05 (6H, s, CH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.0, 169.4, 153.3, 130.9, 130.6, 130.1, 129.8, 129.2, 127.5, 127.0, 124.8, 86.2, 62.5, 20.6; **IR:** (ATR)  $\nu_{\max}$  1042, 1118, 1203, 1226, 1239, 1311, 1361, 1382, 1427, 1454, 1647, 1754, 1829, 1844, 1868, 3129 cm<sup>-1</sup>; **C, H, N:** pro C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>S vypočteno: C, 62.16; H, 4.70; S, 8.30; nalezeno: C, 62.77; H, 4.87; S, 8.44; **LRMS (EI):** *m/z* (relativní intenzita) 386.1 [M]<sup>+</sup> (24), 314.1 (21), 271.0 (19), 254.0 (100), 226.0 (20), 197.0 (20), 184.0 (25), 165.1 (6), 149.0 (10), 139.1 (8), 115.1 (3); **HRMS (EI):** *m/z* vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>6</sub>S 386.0824; nalezeno 386.0828.

**{[4-fenyl-3-(4-nitrofenyl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl}(bis)methyl-acetát (14d)**

Výtěžek: 88 %, nažloutlá olejovitá látka; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.14-8.05 (2H, m, Ar), 7.61-7.53 (2H, m, Ar), 7.50-7.39 (3H, m, Ar), 7.16-7.09 (2H, m, Ar), 4.60 (2H, d, *J*=12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 4.31 (2H, d, *J*=12.1 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.04 (6H, s, CH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 169.8, 169.4, 161.0, 147.7, 135.3, 130.4, 130.2, 130.1, 129.8, 128.6, 127.4, 123.5, 86.6, 62.5, 20.5; **IR:** (ATR)  $\nu_{\max}$  1175, 1213, 1234, 1292, 1324, 1344, 1379, 1442, 1464, 1489, 1519, 1707, 1752, 2342, 2359, 2936 cm<sup>-1</sup>; **LRMS (EI):** *m/z* (relativní intenzita) 425.1 [M]<sup>+</sup> (2), 395.1 (4), 353.1 (5), 322.1 (2), 310.1 (4), 293.1 (100), 280.1 (3), 265.1 (11), 223.1 (4), 193.1 (5), 176.1 (6), 165.1 (4), 151.1 (2), 115.1 (1); **HRMS (EI):** *m/z* vypočteno pro C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>8</sub> 425.1111; nalezeno 425.1115.

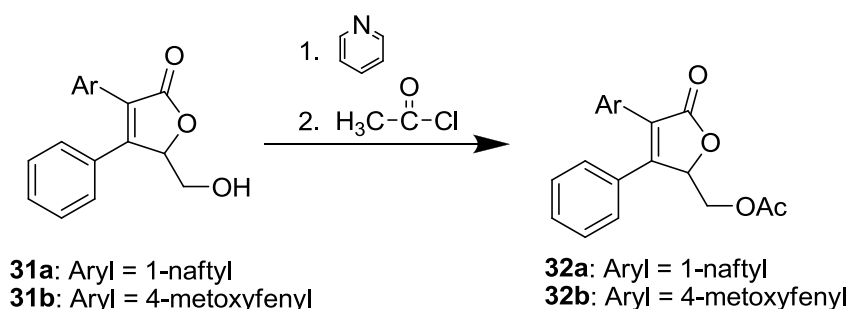
**{[4-fenyl-3-(3-trifluormethylfenyl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl}(bis)methyl-acetát (14e)**

Výtěžek: 70 %, bílá olejovitá látka;  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.66-7.58 (2H, m, Ar), 7.57-7.51 (1H, m, Ar), 7.48-7.34 (4H, m, Ar), 7.17-7.04 (2H, m, Ar), 4.57 (2H, d,  $J=12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.31 (2H, d,  $J=12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 2.05 (6H, s,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$ : (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.0, 169.8, 159.3, 132.3, 130.3 (q,  $J=33.8$  Hz), 130.1, 129.7, 129.1, 128.9, 127.4, 126.6 (q,  $J=272.6$  Hz), 125.9 (q,  $J=3.7$  Hz), 125.7 (q,  $J=3.7$  Hz), 86.3, 62.6, 20.5; **IR**: (ATR)  $\nu_{\text{max}}$  1123, 1166, 1216, 1313, 1352, 1381, 1444, 1488, 1747, 2851, 2922  $\text{cm}^{-1}$ ; **LRMS** (EI):  $m/z$  (relativní intenzita) 448.1  $[\text{M}]^+$  (2), 429.1 (1), 376.1 (4), 333.1 (4), 316.1 (100), 288.1 (22), 260.1 (6), 246.1 (18), 219.1 (2), 191.1 (2), 176.1 (2), 151.1 (1), 115.1 (1); **HRMS** (EI):  $m/z$  vypočteno pro  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{O}_6$  448.1134; nalezeno 448.1132.

**{[4-fenyl-3-(4-methylfenyl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5,5-diyl}(bis)methyl-acetát (14f)**

Výtěžek: 86 %, bílý olejovitá látka;  $^1\text{H NMR}$ : (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.44-7.36 (3H, m, Ar), 7.32-7.26 (2H, m, Ar), 7.18-7.11 (2H, m, Ar), 7.09-7.03 (2H, m, Ar), 4.55 (2H, d,  $J=12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 4.30 (2H, d,  $J=12.1$  Hz,  $\text{OCH}_2$ ), 2.30 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ), 2.04 (6H, s,  $\text{CH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$ : (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.5, 170.1, 156.6, 139.2, 131.4, 130.3, 129.6, 129.4, 129.0, 129.0, 127.7, 126.0, 85.9, 62.9, 21.3, 20.6.

Obecný postup přípravy [(2-oxo-3-aryl-4-fenyl)-2,5-dihydrofuran-5-yl]methyl-acetátů



K roztoku furanonu (1 mmol) v 15 ml dichlormethanu byl přikapán pyridin (1.5 mmol). Poté byl do reakční směsi vpraven acetylchlorid (1.5 mmol) a směs ponechána za stálého míchání 2 hodiny. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno, směs zředěna EtOAc (20 ml) a dvakrát vytřepána s 5% roztokem NaCl. Organická vrstva byla vysušena bezvodým

síranem sodným a rozpouštědlo odpařeno. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce, hexan – hexan : ethylacetát 8:2).

**{[4-fenyl-3-(naft-1-yl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5-yl}methyl-acetát (32a)**

Výtěžek: 81 %, bílá krystalická látka, t.t. 54.9 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.02-7.78 (3H, m, Ar, A+B), 7.68-7.03 (9H, m, Ar, A+B), 6.00-5.86 (1H, m, H5, A+B), 4.81-4.60 (1H, m, OCH<sub>2</sub>, A+B), 4.32-4.07 (1H, m, OCH<sub>2</sub>, A+B), 2.13 (3H, s, CH<sub>3</sub>, A), 2.10 (3H, s, CH<sub>3</sub>, B); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 170.0, 169.4, 153.3, 130.9, 130.6, 130.1, 129.8, 129.2, 127.5, 127.0, 124.8, 86.2, 62.5, 20.6; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1035, 1093, 1157, 1221, 1327, 1380, 1446, 1591, 1647, 1743, 1754, 1792, 1830, 1844, 1869, 3058 cm<sup>-1</sup>; C, H, N: pro C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub> vypočteno: C, 77.08; H, 5.06; nalezeno: C, 77.70; H, 5.38; LRMS (EI): m/z (relativní intenzita) 358.1 [M]<sup>+</sup> (3), 298.1 (100), 269.1 (31), 253.1 (21), 241.1 (25), 226.1 (52), 202.1 (6), 179.1 (2), 165.1 (4), 150.0 (3), 113.0 (4); HRMS (EI): m/z vypočteno pro C<sub>23</sub>H<sub>18</sub>O<sub>4</sub> 358.1205; nalezeno 358.1212.

**{[4-fenyl-3-(4-methoxyfenyl)-2-oxo]-2,5-dihydrofuran-5-yl}methyl-acetát (32b)**

Výtěžek: 50 %, bílá krystalická látka, t.t. 102.1 °C; <sup>1</sup>H NMR: (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.46-7.24 (7H, m, Ar), 6.90-6.81 (2H, m, Ar), 5.62 (1H, dd, J<sub>1</sub>=6.3, J<sub>2</sub>=2.5 Hz, H5), 4.46 (1H, dd, J<sub>1</sub>=12.4, J<sub>2</sub>=2.8 Hz, OCH), 4.01 (1H, dd, J<sub>1</sub>=12.4, J<sub>2</sub>=6.3 Hz, OCH), 3.80 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.03 (3H, s, CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR: (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 172.0, 170.5, 160.0, 154.7, 130.8, 130.5, 130.3, 129.2, 127.9, 127.4, 121.6, 114.0, 79.0, 63.7, 55.2, 20.6; IR: (ATR) ν<sub>max</sub> 1027, 1042, 1165, 1238, 1282, 1367, 1443, 1511, 1606, 1642, 1740, 1757 cm<sup>-1</sup>; C, H, N: pro C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> vypočteno: C, 70.99; H, 5.36; nalezeno: C, 71.40; H, 5.55.



## 6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Zapf, S.; Anke, T.; Sterner, O. *Acta Chem. Scand.* **1995**, *49*, 233
2. Yajima, A.; Mori, K. *Liebigs Ann.* **1996**, 1091
3. Rossi, R.; Bellina, F.; Biagetti, M.; Mannina, L. *Tetrahedron Asymmetry* **1999**, *10*, 1163
4. Fontes, M.; Verdaguer, X.; Sola, L.; Vidal-Ferran, A.; Reddy, K., S.; Riera, A.; Pericas, M., A. *Org. Lett.*, **2002**, *4*,
5. Yu, Q.; Liu, J.-F.; Wu, Y.-L. *J. Asian Natur. Prod. Res.* **1999**, *1*, 183
6. Pour, M.; Špulák, M.; Balšánek, V.; Kuneš, J.; Buchta, V.; Waisser, K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1893
7. Pour, M.; Špulák, M.; Buchta, V.; Kubanová, P.; Vopršalová, M.; Sól, V.; Fáková, H.; Koudelka, P.; Pourová, H.; Schiller, R. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2701
8. Pour, M.; Špulák, M.; Balšánek, V.; Kuneš, J.; Buchta, V. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 2843
9. Šnajdr, I.; Pavlík, J.; Schiller, R.; Kuneš, J.; Pour, M. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2007**, *72*, 1472
10. Šenel, P. Disertační práce, UK v Praze, FaF v Hradci Králové, **2009**
11. Buchta, V.; Pour, M.; Kubanová, P.; Silva, L.; Votruba, I.; Vopršalová, M.; Schiller, R.; Fáková, H.; Špulák, M. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 873
12. Vale-Silva, L., A.; Buchta, V.; Vokurková, D.; Pour, M. *Bioorg. Med. Chem Lett.* **2006**, *16*, 2492
13. Nobilis, M.; Pour, M.; Šenel, P.; Pavlík, J.; Kuneš, J.; Vopršalová, M.; Kolářová, L.; Holčapek, M. *J. Chromatogr. B.* **2007**, 853, 10
14. Šenel, P.; Tichotová, L.; Votruba, I.; Buchta, V.; Špulák, M.; Kuneš, J.; Nobilis, M.; Krenk, O.; Pour, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 1988-2000
15. Špulák, M. Disertační práce, UK v Praze, FaF v Hradci Králové, **2001**
16. Xu, F.; Murry, J.A.; Simmons, B.; Corley, E.; Fitch, K.; Karady, S.; Tschaen, D. *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 3885-3888
17. Mallinger, A.; Le Gall, T.; Mioskowski, C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1124
18. Campbell, A., C.; Maidment, M., S.; Pick, J., H.; Stevenson, D., F., M. . *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. I* **1985**, 1567

19. a) Uddin, M., J.; Rao, P., N., P.; Knaus, E., E. *J. Heterocyclic Chem.* **2003**, *40*, 861; b) Rahim, A., M.; Rao, P., N., P.; Knaus, E., E. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2753
20. Harmon, P., A.; Biffar, S.; Pitzenberger, S., M.; Reed, R., A. *Pharmaceutical Research* **2005**, *22*, 1716
21. a) Bellina, F.; Anselmi, C.; Martina, F.; Rossi, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, *12*, 2290-2302; b) Bellina, F.; Anselmi, C.; Rossi, R. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2023; c) Bellina, F.; Falchi, E.; Rossi, R. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 9091; d) Rossi, R.; Bellina, F.; Rangei, E. *Synlett* **2000**, *12*, 1749; e) Sorg, A.; Blank, F.; Bruckner, R. *Synlett* **2005**, *8*, 1286-1290
22. a) Antane, S.; Caufield, C., E.; Hu, W.; Keeney, D.; Labthavikul, P.; Morris, K.; Naughton, S., M.; Petersen, P., J.; Rasmussen, B., A.; Singh, G.; Yang, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 176; b) Bordreux, Y.; Bodio, E.; Willis, C.; Bilaud, C.; Le Gall, T.; Mioskowski, C. *Tetrahedron.* **2008**, *64*, 8930;
23. Mansour, T., S.; Caufield, C., E.; Rasmussen, B.; Chopra, R.; Krishnamurthy, G.; Morris, K., M.; Svenson, K.; Bard, J.; Smeltzer, C.; Naughton, S.; Schuyler, A.; Yang, Y.; Severin., A.; Quagliato, D.; Petersen, P., J.; Singh, G. *ChemMedChem.* **2007**, *2*, 1414
24. Huang, Z.; Xie, L.; Huang, X. *Synthetic Communications* **1988**, *18*, 1167-1170
25. Dikshit, D., K.; Singh, S.; Singh, M., M.; Kamboj, V., P. *Indian Journal of Chemistry, Section B: Organic Chemistry including Medicinbal Chemistry* **1990**, *29*, 954-960
26. Uddin, J.; Praveen, P., N.; Knaus, E., E. *Journal of Heterocyclic Chemistry* **2003**, *40*, 861-868
27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved Standard, NCCLS document M27-A, 771 E. Lancaster Avenue, Villanova, PA, 19085, **1997**
28. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard – Seventh Edition, CSLI document M07-A7, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA, 19087-1898, **2006**
29. Hocek, M.; Holý, A.; Votruba, I.; Dvořáková, H. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1817
30. Carmichael, J.; DeGraff, W.G.; Gazdar, A.F.; Minna, J.D.; Mitchell, J.B. *Cancer Res.* **1987**, *47*, 936