

UNIVERZITA PARDUBICE

Fakulta chemicko-technologická

Ústav organické chemie a technologie

Syntéza 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-olu s využitím intramolekulární *Henryho* reakce

Bakalářská práce

Autor práce: Kamila Dostálová

Vedoucí práce: doc. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

UNIVERSITY OF PARDUBICE

Faculty of Chemical Technology

Institute of Organic Chemistry and Technology

Synthesis of 2-phenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-ol using intramolecular *Henry* reaction

Bachelor thesis

Author: Kamila Dostálová

Supervisor: Assoc. Prof. Jiří Hanusek, PhD.

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Kamila Dostálová**
Osobní číslo: **C14064**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Syntéza 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-olu s využitím intramolekulární *Henryho* reakce**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

- 1) Proveďte literární rešerši týkající se přípravy a použití sloučenin obsahujících nitroindanolový skelet.
- 2) Připravte a charakterizujte 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-ol s využitím intramolekulární *Henryho* reakce.
- 3) Prověřte možnost kinetického sledování intramolekulární *Henryho* reakce.
- 4) Získané výsledky porovnejte s literaturou a zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

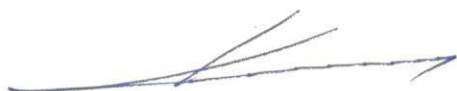
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce:

28. února 2017

Termín odevzdání bakalářské práce:

3. července 2017



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Veškeré užití informace a literární prameny uvádím do seznamu použité literatury.

Byla jsem obeznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla dle § 60 odst. 1. autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne

Kamila Dostálová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat především vedoucímu své práce, panu doc. Ing. Jiřímu Hanuskovi, Ph.D. za všestrannou pomoc, trpělivost a velkorysost při vytváření této práce. Mé poděkování patří i spoustě kolegům na Ústavu organické chemie, kteří mi neustále pomáhali. Dále děkuji své rodině, která mě po celou dobu mého studia podporovala.

Anotace

V rámci bakalářské práce byla navržena a synteticky prověřena cesta vedoucí k 2-fenyl-2-nitroindan-1-olu využívající intramolekulární *Henryho* reakci. Reakční sekvenci tvoří 4 kroky. V prvním kroku reaguje v literatuře popsáný 2-(dimethoxymethyl)benzaldehyd s fenylnitromethanem ve výtěžku 64 %. V druhém kroku je vzniklý nitroalken redukován NaBH_4 s výtěžkem 53 % a ve třetím kroku je regenerována aldehydická funkční skupina za kyselé katalýzy ve výtěžku 71 %. V posledním kroku dochází k bazicky katalyzované intramolekulární *Henryho* reakci na požadovaný produkt s výtěžkem 75 %. Kinetika cyklizačního kroku byla zkoumána v roztocích tří terciárních aminových pufrů, přičemž bylo zjištěno, že reakce je obecně bazicky katalyzována.

Klíčová slova

Henryho reakce, 2-fenyl-2-nitroindan-1-ol, cyklizace, kinetika

Annotation

This bachelor thesis deals with synthetic route leading to 2-phenyl-2-nitroindan-1-ol using intramolecular *Henry* reaction. Reaction sequence is composed of 4 steps. In the first step 2-(dimethoxymethyl)benzaldehyde reacts with phenylnitromethane in 64 % yield. In the second step nitrostyrene formed is reduced with NaBH₄ in 53 % yield. In the third step an aldehydic functional group is recovered under acid catalysis in 71 % yield. The last step involves base-catalyzed intramolecular *Henry* reaction to give required product in 75 % yield. Kinetics of cyclization step was studied in solutions of three tertiary amine buffers. It was found that this reaction is subject to general-base catalysis.

Keywords

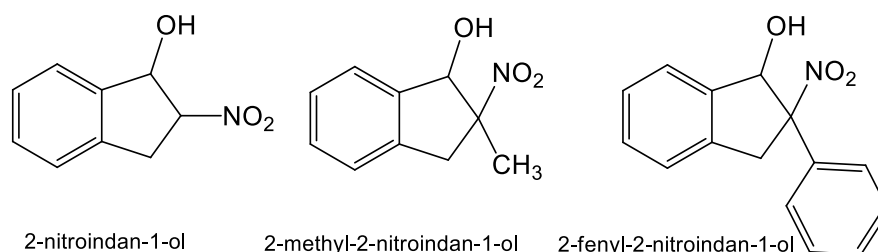
Henry reaction, 2-phenyl-2-nitroindan-1-ol, cyclization, kinetics

Obsah

1. Úvod	10
2. Teoretická část	11
2.1. Příprava a použití sloučenin obsahujících 2-nitroindan-1-olový skelet	11
2.2. Příprava a použití sloučenin obsahujících 2-aminoindan-1-olový skelet	13
2.2.1. Příprava	13
2.2.2. Použití	17
3. Experimentální část	20
3.1. Přístroje a zařízení	20
3.2. Použité chemikálie	20
3.3. Pracovní postupy	21
3.3.1. Příprava 2-(dimethoxymethyl)benzaldehydu (2)	21
3.3.2. Příprava fenylnitromethanu (4)	22
3.3.3. Příprava 1-(dimethoxymethyl)-2-[2-nitro-2-fenylethenyl]benzenu (5)	22
3.3.4. Příprava 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzenu (6)	23
3.3.5. Příprava 2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzaldehydu (7)	24
3.3.6. Příprava 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -inden-1-olu (8)	25
4. Výsledky a diskuse	26
4.1. Syntetická cesta	26
4.2. Kinetická měření cyklizace látky 7	30
5. Seznam použité literatury	33
6. Přílohy	35

1. Úvod

Cílem mé práce bylo připravit doposud nepopsaný 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-ol (2-fenyl-2-nitroindan-1-ol) (Obr.1) pomocí intramolekulární *Henryho* reakce a prověřit kinetický průběh této cyklizace. Jelikož pro přípravu této sloučeniny nebyla nalezena žádná literatura, má práce byla založena na ověření, aplikaci, popřípadě modifikaci postupů příprav, jež navrhl ve své diplomové práci *Jakub Valtr*¹, který se mimo jiné zaměřil na přípravu 2-nitroindan-1-olu a 2-methyl-2-nitroindan-1-olu (Obr. 1) právě pomocí intramolekulární *Henryho* reakce.



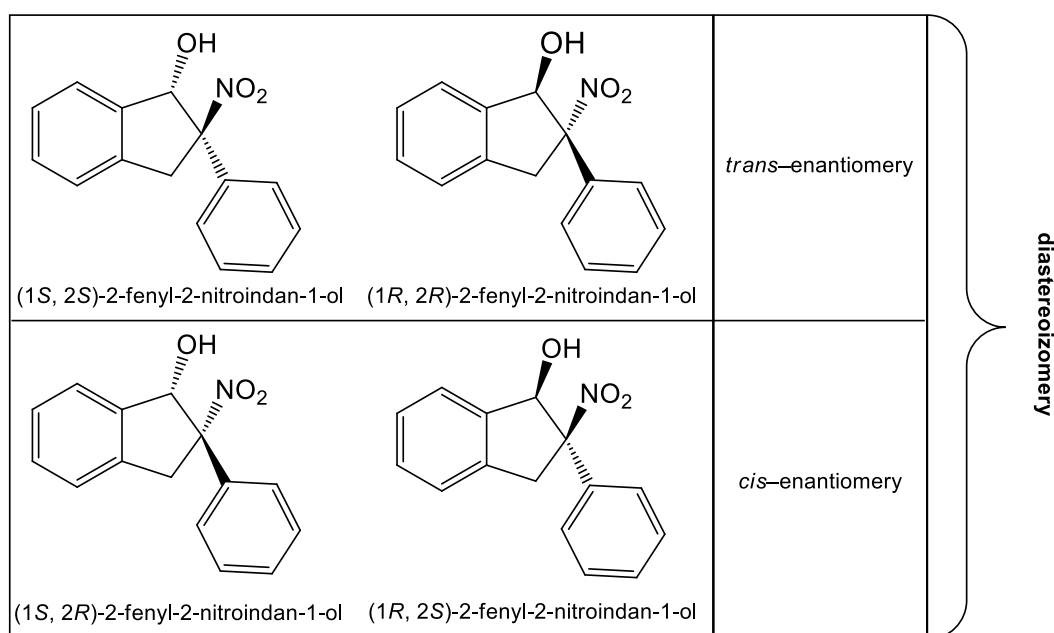
Obrázek 1

Tyto 2-nitroindan-1-oly by mohly být velice zajímavými prekurzory pro farmaceutický průmysl. Ve svém skeletu obsahují dva snadno modifikovatelné substituenty – hydroxylovou skupinu a nitroskupinu. Redukcí nitroskupiny získáme 2-aminoindan-1-oly, které se hojně vyskytují jako součást struktury zajímavých bioaktivních látek, nebo např. jako součást katalyzátoru. Proto se ve své práci, rovněž zaměřím na tyto sloučeniny.

2. Teoretická část

2.1. Příprava a použití sloučenin obsahujících 2-nitroindan-1-olový skelet

Důležitým strukturním rysem sloučeniny určené zadáním jsou její dvě chirální centra. 2-Fenyl-2-nitroindan-1-ol tedy může existovat ve formě čtyř stereoisomerů, tj. dvou dvojic enantiomerů, jež jsou vůči sobě v diastereoisomerním vztahu (Obr. 2). Jeho chiralita se tak stává určující nejen pro potenciální využití a biologickou aktivitu, ale také pro jeho přípravu.



Obrázek 2

Pro přípravu 2-nitroindan-1-olu byl nalezen v literatuře pouze jediný odkaz². Tato literatura popisuje přípravu *cis*-2-nitroindan-1-olů vycházející z indenu, na který byl adován N_2O_4 při $0\text{ }^\circ\text{C}$ s následnou hydrolyzou (Schéma 1). Článek byl publikován již v roce 1967 a je tedy poněkud překvapující, že se od té doby přípravě této látky, nebo jí podobných, další autoři nevěnovali.

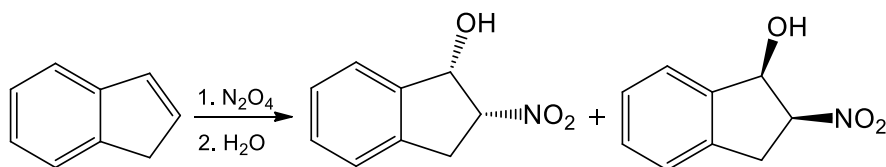
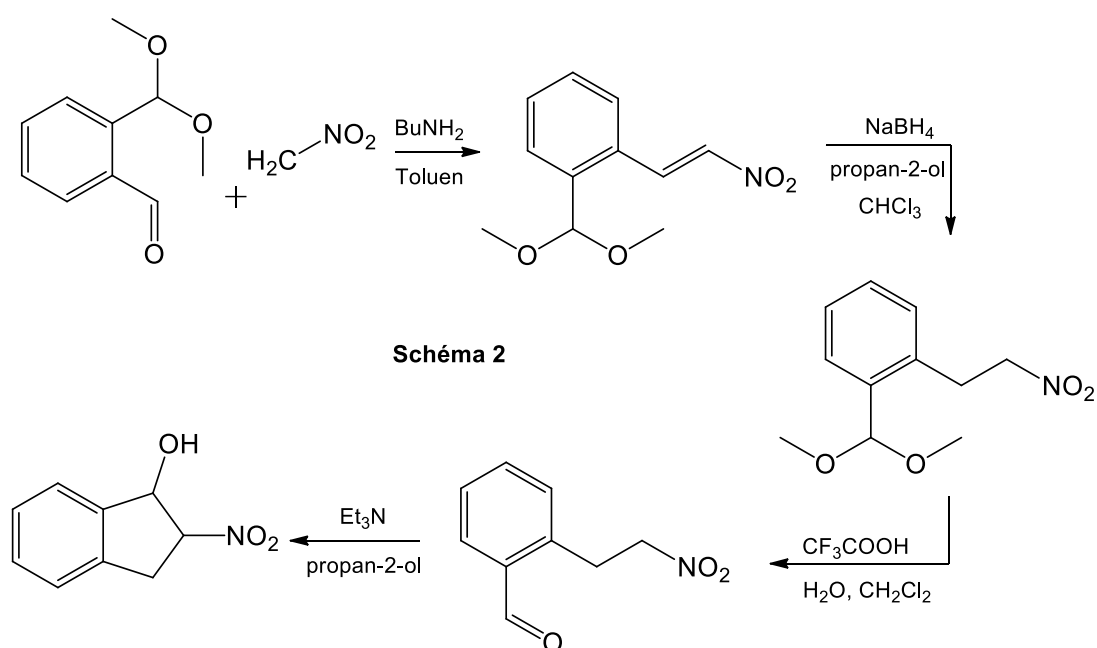


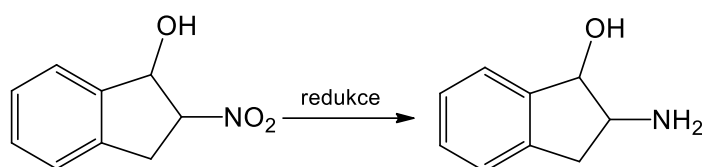
Schéma 1

Syntetickou cestu vzniku 2-nitroindan-1-olu pomocí intramolekulární *Henryho* reakce odzkoušel výše zmiňovaný *Jakub Valtr*, a popsal ji ve své diplomové práci¹ (Schéma 2). V prvním kroku reakce byl ke 2-(dimethoxymethyl)benzaldehydu rozpuštěnému v toluenu s nitromethanem přidán butylamin a roztok byl po dobu 6 hodin refluxován. Vzniklý alken byl redukován pomocí NaBH₄ ve směsi chloroformu a propan-2-olu. Tento byl následně odchráněn pomocí CF₃COOH, v roztoku CH₂Cl₂ s přidavkem katalytického množství vody. Odchráněná sloučenina byla při laboratorní teplotě 4 hodiny míchána ve směsi propan-2-olu a Et₃N za vzniku 2-nitroindan-1-olu s poměrem diastereoizomerů (1:5).



Stejná syntetická cesta¹ byla odzkoušena i pro přípravu 2-methyl-2-nitroindan-1-olu. V tomto případě se namísto z nitromethanu vycházelo z nitroethanu a jediným rozdílem v celém postupu byla prodloužená reakční doba cyklizace ze 4 hodin na 4 dny.

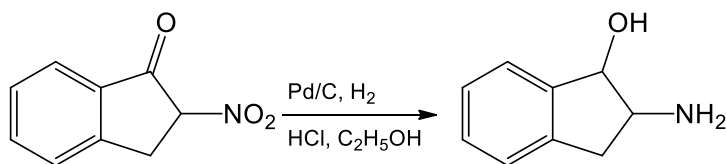
Použití samotného 2-nitroindan-1-olu není v literatuře rovněž uvedeno, avšak do budoucna, jak již bylo řečeno, by mohla tato sloučenina sloužit jako velice zajímavý farmaceutický prekurzor – redukcí nitro skupiny totiž vzniká 2-aminoindan-1-olový skelet obsažený v několika biologicky aktivních látkách zmíněných v následující kapitole (Schéma 3).



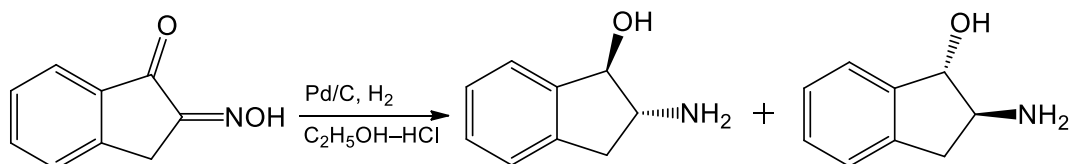
2.2. Příprava a použití sloučenin obsahujících 2-aminoindan-1-olový skelet

2.2.1. Příprava

První způsob přípravy³ (Schéma 4) 2-aminoindan-1-olu vychází z 2-nitroindan-1-onu, který byl hydrogenován na katalyzátoru Pd/C v ethanolu za přítomnosti jednoho molárního ekvivalentu koncentrované HCl. Výsledkem byla směs diastereoisomerů s relativní konfigurací *cis*- a *trans*-, kterou lze rozdělit rekrystalizací ze směsi ethanol-ether.



Druhá publikovaná možnost⁴ vychází z 2-hydroxyiminoindan-1-onu, z kterého lze připravit obě dvojice diastereoisomerů odděleně. Pro přípravu *trans*-isomerů (Schéma 5) byla využita obdobná cesta, jak je popsáno výše, tj. za použití katalyzátoru Pd/C v ethanolickém roztoku a v přítomnosti HCl, byla sloučenina hydrogenována na požadovaný *trans*-2-aminoindan-1-ol.



Směs *cis*-enantiomerů byla připravena⁴ hydrogenací katalyzovanou palladiovou černí ve směsi kyseliny octové a sírové (Schéma 6).

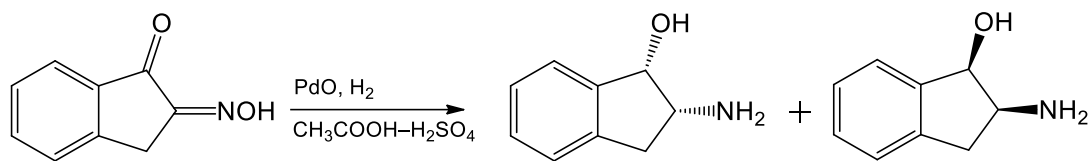


Schéma 6

Třetí příprava⁵ (Schéma 7) vychází z indano[1,2-*b*]aziridinu, který byl syntetizován z čerstvě destilovaného indenu rozpuštěného ve směsi ethylenglykol-diethyletheru/H₂O (4:1), v přítomnosti azidu sodného a s přidavkem *N*-bromsukcinimidu (NBS) při teplotě 0 °C za vzniku 1-azido-2-bromindanu. 1-Azido-2-bromindan byl po extrakci, vysušení a odpaření přidáván po kapkách ke směsi bezvodého etheru s LiAlH₄ při teplotě 0 °C pod inertní atmosférou (N₂). Tato směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu jedné hodiny a poté byla prudce zchlazena vodou. Vzniklý indano[1,2-*b*]aziridin byl podroben reakci s vodným roztokem 14% kyseliny chloristé, která byla přidávána ke směsi po kapkách při 0 °C. Reakce byla míchána po dobu 80 minut při 0 °C za vzniku směsi diastereoizomerů (2,7:1) 2-aminoindan-1-olů.

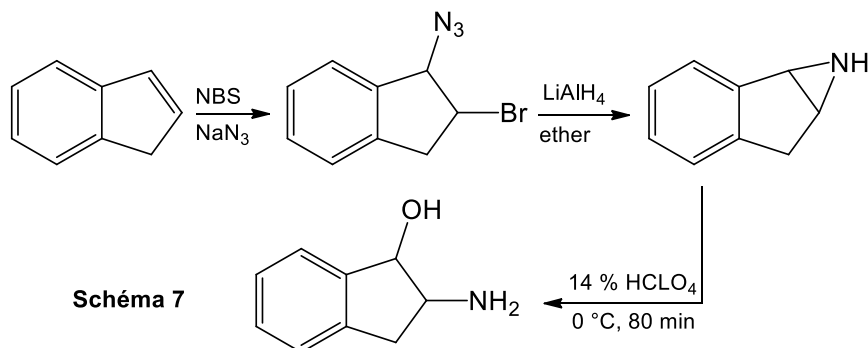
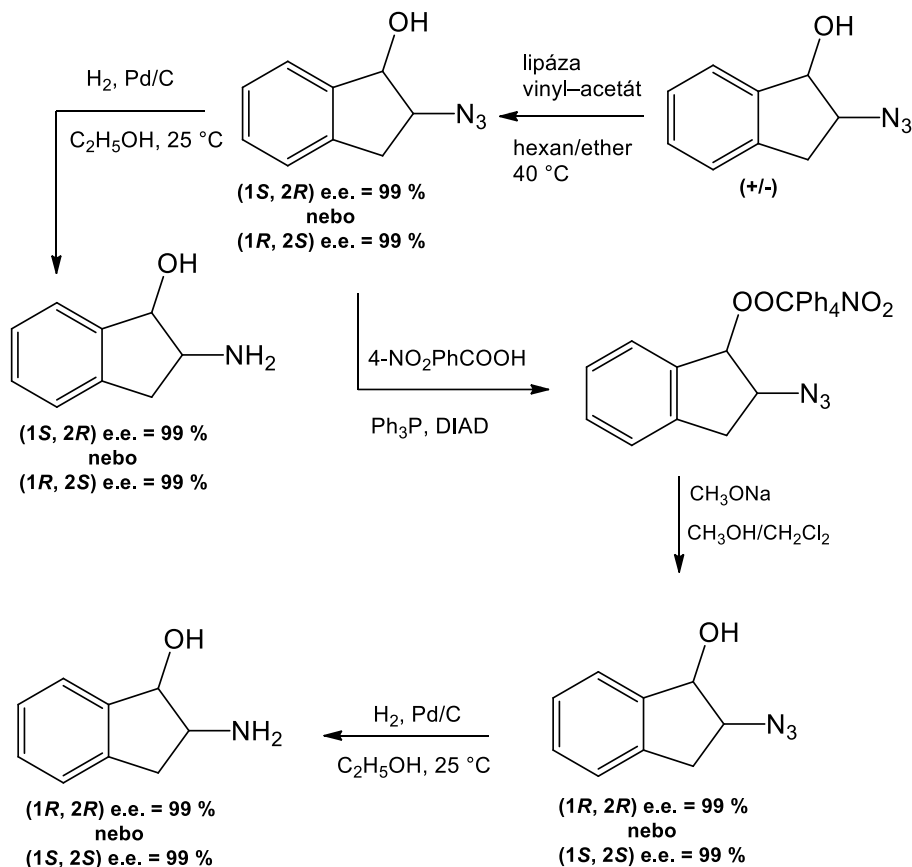


Schéma 7

Další způsob syntézy⁶ (Schéma 8) vychází z racemického *cis*-2-azidoindan-1-olu, který byl pomocí lipázy LP237.87 převeden na čistý (1*S*,2*R*)-2-azidoindan-1-ol. Následnou hydrogenací v ethanolu katalyzovanou pomocí Pd/C byl získán (1*S*,2*R*)-2-aminoindan-1-ol. Reakce (1*S*,2*R*)-2-azidoindan-1-olu s 4-nitrobenzoovou kyselinou a za podmínek *Mitsunobuovy* reakce⁷, tj. za přítomnosti diisopropyl-azodikarboxylátu (DIAD) a trifenylofosfinu (Ph₃P), poskytla ester 4-nitrobenzoové kyseliny s konfigurací (1*R*, 2*R*). Působením⁶ methanolátu sodného v prostředí směsi methanol-dichlormethan byl tento *trans*-ester benzoové kyseliny převeden na enantiomerně čistý (1*R*,2*R*)-2-

azidoindan-1-ol, který byl dále hydrogenací v ethanolu katalyzovanou Pd/C převeden kvantitativně na čistý (1*R*,2*R*)-2-aminoindan-1-ol. Opačné enantiomery byly získány stejným postupem, ale za použití lipázy *Candida Antartica A*.



Literatura⁸ připravuje 2-aminoindan-1-ol z 2-bromindan-1-olu (Schéma 9), který byl v prostředí koncentrovaného vodného roztoku amoniaku převeden na indano[1,2-*b*]oxiran. Tento indano[1,2-*b*]oxiran byl refluxován 5-6 dnů s ftalimidem v prostředí *N,N*-dimethylformamidu (DMF) a byl získán racemát *trans*-2-ftalimidoindanolů, jež byly pomocí acetanhydridu za přítomnosti nukleofilního katalyzátoru 4-dimethylaminopyridinu (DMAP), v dichlormethanu, převedeny na racemickou směs *trans*-2-ftalimidoindan-1-yl-acetátů. Tato racemická směs byla rozdělena pomocí lipázy *Arthrobacter* s přídavkem toluenu v neutrálním prostředí na jednotlivé *trans*-enantiomery. Poslední reakce byla pro každý *trans*-2-aminoindan-1-ol totožná. Za teploty 60 °C, po dobu 3h, byly jednotlivé sloučeniny podrobeny reakci s hydrazinem ve vodném prostředí za vzniku (1*R*,2*R*)-2-aminoindan-1-olu a (1*S*,2*S*)-2-aminoindan-1-olu.

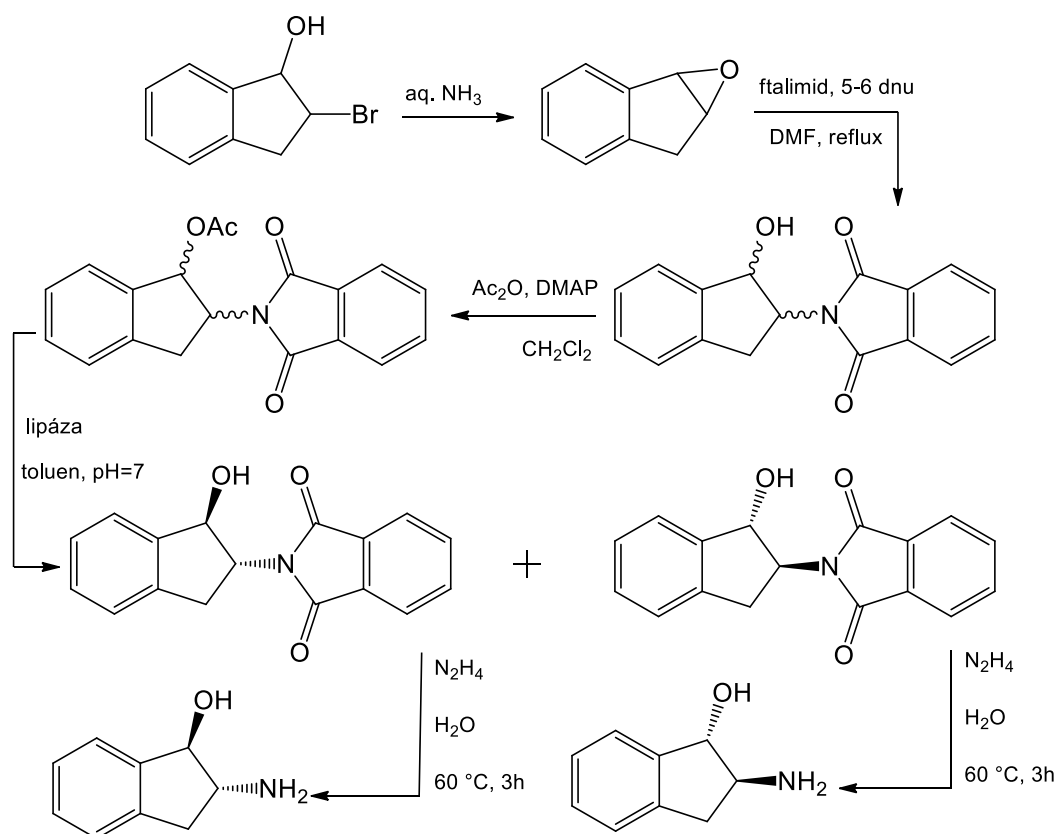


Schéma 9

Poslední uváděná syntéza⁹ popisuje trochu jiný způsob syntézy 2-aminoindan-1-olu z indenu (viz třetí příprava⁵). Jedná se o přímou aminohydroxylaci alkenů na aminoalkohol (Schéma 10). Reakce využívá poměrně jednoduchého katalyzátoru přechodného kovu (Cu, Mn, Fe), ovšem jakožto přímá syntéza se může zdát poněkud komplikovaná, protože produkty mohou silně chelátovat kovový katalyzátor. Proto se v této reakci využívá dostupného a relativně stálého aminačního činidla $(\text{PivONH}_3)^+ (\text{OTf})^-$ v kombinaci s katalyzátorem. Jako nejúčinnější katalyzátor se zde uplatnil FeSO_4 s přidávkem ligandu fenantrolinu nebo bipyridinu, ovšem největší výtěžek (78%) a regioselektivitu měl katalyzátor Fe^{II} -fenylcyanin ($\text{Fe}^{\text{II}}\text{Pc}$). Reakce indenu s $(\text{PivONH}_3)^+ (\text{OTf})^-$ probíhala v prostředí vodného roztoku acetonitrilu, při pokojové teplotě, po dobu 16 hodin, za vzniku 2-aminoindan-1-olu s poměrem diastereoizomerů (1,3:1).

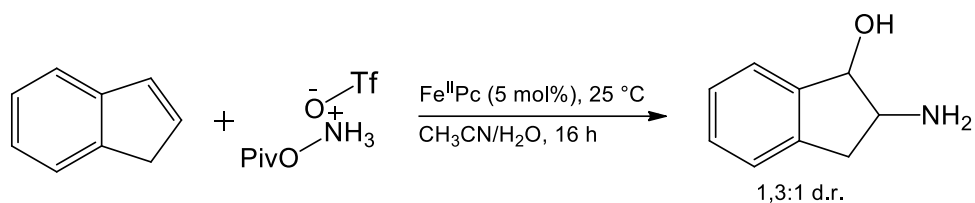
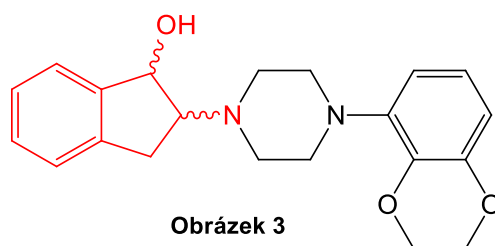


Schéma 10

2.2.2. Použití

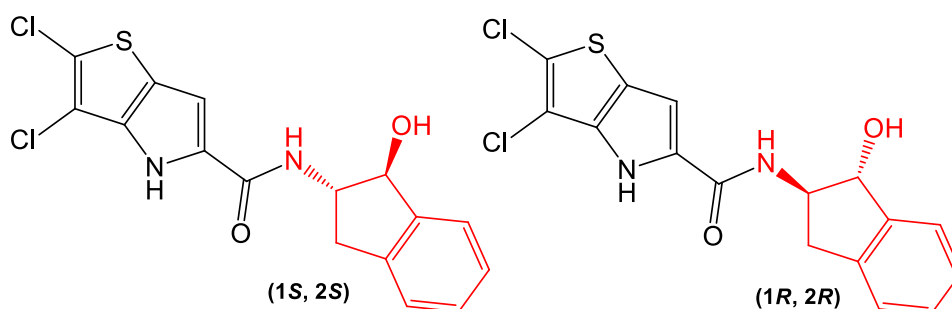
Látky obsahující skelet 2-aminoindan-1-olu se hojně vyskytují v přírodních zdrojích a lze je nalézt v některých běžně prodejných léčivech. Níže jsou uvedeny struktury a biologická aktivita vybraných nalezených látek.

Např. látka uvedená v literatuře⁸ má afinitu k receptorům serotoninu 5-HT_{1A} (Obr. 3). Díky tomuto by mohla být využitelná ve vývoji léčiva proti úzkosti.



Obrázek 3

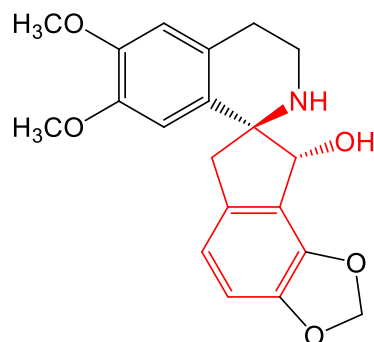
Další popsaná látka¹⁰, respektive oba její *trans*-izomery (Obr.4), by mohly být využitelné jako inhibitory glykogen-fosforylázy. Její účinky inhibice glykogen-fosforylázy, jež by mohly být využity při léčbě diabetes, byly odzkoušeny s pozitivním výsledkem na myších¹⁰.



Obrázek 4

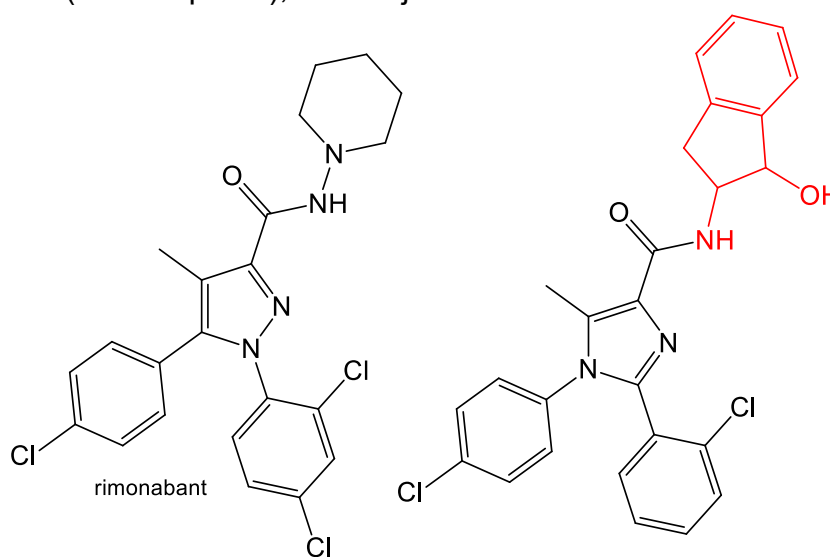
Z rostliny¹¹ Zemědým lékařský (lat. *Fumaria officinalis*), bylo izolováno několik strukturně velmi zajímavých látek. Jednou z nich je látka fumaranin (Obr. 5). Byla prokázána aktivita této látky jako inhibitoru cholinesteráz

(acetylcholinesterázy a butylcholinesterázy). Toto zjištění by mohlo vést k uplatnění při léčbě *Alzheimerovy* choroby.



Obrázek 5

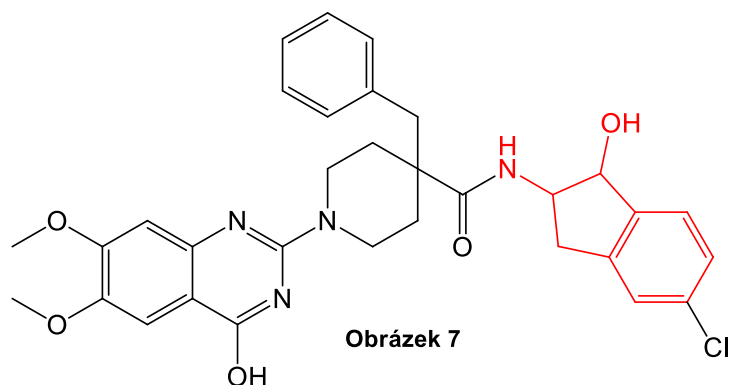
V léčbě obezity je čím dál tím víc zkoumán kanabinoidní systém v těle člověka, protože antagonisté kanabinoidních receptorů snižují chuť k jídlu. Léčivo rimonabant je právě antagonistou kanabinoidního receptoru CB-1, jehož vedlejší účinky však způsobovaly pacientům velké deprese, které mnohokrát vyústily až v pokusy o sebevraždu. Proto byl rimonabant stáhnut z prodeje a jsou dále zkoumána jeho analoga. Jedním¹² z nich je níže uvedená sloučenina (Obr. 6 vpravo), obsahující ve svém skeletu 2-aminoindan-1-ol.



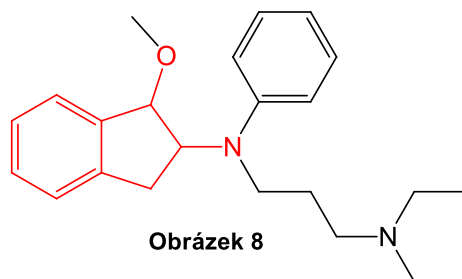
Obrázek 6

Při hledání léčiva na schizofrenii¹³ byl objeven neurokinin-3 receptor (NK-3). Známý byly dříve pouze dva, NK-1 (antagonisté pomáhají např. při migréně) a NK-2 (antagonisté pomáhají při astmatu). Antagonisté NK-3 by mohli být nápomocní při léčbě schizofrenie. Uvedený antagonist neurokinin-

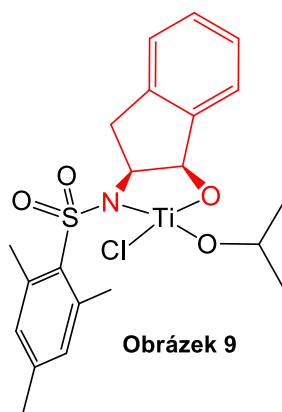
3 receptorů (Obr.7) by mohl být potenciálně využitelný i při léčbě bolesti a zánětlivých reakcí.



2-Aminoindan-1-olový skelet se nachází i ve struktuře běžně užívaného antiarytmika Moxapridinu¹⁴ (Obr. 8).



Struktura¹⁵ 2-aminoindan-1-olu se vyskytuje ve struktuře běžně využívaného komplexu Ti katalyzátoru pro *Diels-Alderovy* reakce (Obr. 9).



Jak ukazuje výše uvedený přehled poměrně komplikovaných syntéz derivátů 2-aminoindan-1-olu, mohla by mnou zkoumaná cesta využívající intramolekulární *Henryho* reakci představovat vhodnou syntetickou alternativu.

3. Experimentální část

3.1. Přístroje a zařízení

NMR spektra byla měřena na přístroji Bruker AVANCE III 400 (400,13 MHz: ^1H ; 100,62 MHz: ^{13}C) a Bruker Ascend 500 (500,2 MHz: ^1H ; 125,78 MHz: ^{13}C).

Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením (HRMS) byla měřena na přístroji MALDI LTQ Orbitrap XL opatřeném UV laserem (337 nm, 60 Hz, 8-20 uJ) v pozitivním iontovém modu. Pro CID experimenty využívající lineární kvaadrupolovou past (LTQ) bylo jako kolizní plyn použito helium a jako matrice 2,5-dihydroxybenzoová kyselina (DHB) nebo *trans*-2-[3-(4-*tert*-butylfenyl)-2-methylprop-2-en-1-yliden]malonnitril (DCTB).

Měření rychlosti cyklizace látky **7** bylo prováděno na přístroji HP UV/VIS 8453 Diode Array. K měření se využívala uzavíratelná 1 cm kyveta, která byla v bloku přístroje temperována na 25 °C. Před každým měřením bylo proměřeno elektronové spektrum pozadí pufrů (200–1000 nm). Pro vlastní měření pak byla většinou zvolená vlnová délka 253 nm. Měření probíhalo následovně: do řádně vymyté a vysušené kyvety, byly pipetovány 2 ml daného pufru (viz příloha). Po vytemperování, cca 5 minut, bylo do kyvety nadávkováno asi 25 μl methanolického roztoku látky **7**. Roztok v kyvetě byl promíchán, a měření bylo zahájeno. Ze změřených závislostí absorbance na čase pak byly pomocí programu KINETIKA vypočteny rychlostní konstanty k_{poz} . Získané hodnoty a sestavené grafy pak uvádím v kapitole Výsledky a diskuze a v kapitole Přílohy.

pH Pufrů bylo změřeno na přístroji Orion Star 211, využívajícího skleněnou elektrodu, a to při 25 °C.

Tenkvrstvá chromatografie byla prováděna na aluminiových destičkách potažených SiO_2 silikagelem s vizualizací pomocí UV lampy (254 nebo 366 nm).

3.2. Použité chemikálie

Všechny chemikálie byly využívány komerční, od firem Sigma Aldrich, Lachema, Penta a Fluorochem. Pro sloupcovou chromatografii bylo využíváno bazického silikagelu (w/Ca, ~0,1%) s velikostí zrn 60 Å, zakoupeného od firmy Sigma Aldrich.

3.3. Pracovní postupy

3.3.1. Příprava 2-(dimethoxymethyl)benzaldehydu (2)

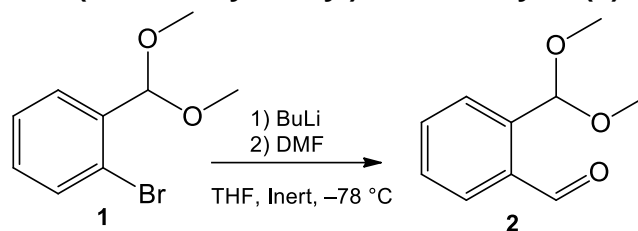


Schéma 11

Do tříhrdlé 250 ml baňky¹⁶, vybavené 100 ml přikapávačkou a teploměrem, bylo pod inertní atmosférou (Ar) předloženo 15,4 g (67 mmol) 1-brom-2-(dimethoxymethyl)benzenu (1), který byl rozpuštěn v 67 ml THF. Takto připravený roztok byl ochlazen na teplotu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. V přikapávačce bylo již předem, pod nátokem argonu, předloženo 40 ml BuLi (100 mmol, 2,5M roztok v hexanu). Tento roztok BuLi byl postupně za míchání přikapáván k ochlazenému roztoku v baňce tak, aby jeho teplota nepřesáhla $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Roztok v baňce během přikapávání zežloutl a ke konci přidavků pak vznikla oranžová sraženina. Po přidavku celého objemu BuLi se reakční směs nechala hodinu míchat při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po hodině se ke směsi začalo přikapávat 10,4 ml (150 mmol) vysušeného DMF tak, aby teplota nepřesáhla $-71\text{ }^{\circ}\text{C}$. Během přidávání vymizela sraženina a roztok zůstal oranžový. Roztok byl následně míchán po dobu 30 minut při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a 2 hodiny při pokojové teplotě. Během této doby barva roztoku téměř vymizela a poté byla reakce ukončena přidavkem 50 ml H_2O , přičemž reakční směs ztuhla a po chvíli zase zkapalněla a rozdělila se na dvě fáze. Organická vrstva byla odpařena, k odparku bylo přidáno 60 ml H_2O a směs byla extrahována 3×50 ml EtOAc. Získaná organická vrstva byla vysušena, zfiltrována a odpařena. Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na bazickém silikagelu s mobilní fází hexan:EtOAc: CH_2Cl_2 (5:1:5). Bylo získáno 8,3 g (69%) bezbarvé olejovité kapaliny 2-(dimethoxymethyl)benzaldehydu (2).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 10.44 (s, 1H), 7.92 (dd, $J = 7.6, 1.6$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.59 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H), 7.49 (t, $J = 7.5$, 1H), 5.87 (s, 1H), 3.40 (s, 6H).

Naměřené spektrum se shoduje s literaturou¹⁶.

3.3.2. Příprava fenylnitromethanu (4)

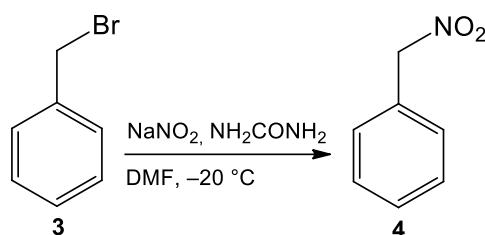


Schéma 12

Ve 250 ml baňce¹⁷ bylo ve 150 ml DMF rozpuštěno 9,1 g (132 mmol) NaNO₂ a 10 g (167 mmol) močoviny. Směs byla za stálého míchání vychlazena na teplotu -20 °C a poté bylo přidáno 12,9 g (75 mmol) benzylbromidu (3). Po 5-ti hodinách byla reakční směs nalita do 375 ml ledové vody a přelita 35 ml petroletheru. Vodná fáze byla extrahována 4×35 ml petroletheru. Organické fáze byly spojeny a extrahovány 4×20 ml H₂O. Získaná organická fáze byla vysušena, zfiltrována a petrolether byl odstraněn vakuovou destilací. Bylo získáno 0,82 g (8%) čiré kapaliny fenylnitromethanu (4).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,39-7,48 (m, 5H, ArH), 5,42 (s, 2H, CH₂).

Naměřené spektrum se shoduje s literaturou¹⁸.

3.3.3. Příprava 1-(dimethoxymethyl)-2-[2-nitro-2-fenylethenyl]benzenu (5)

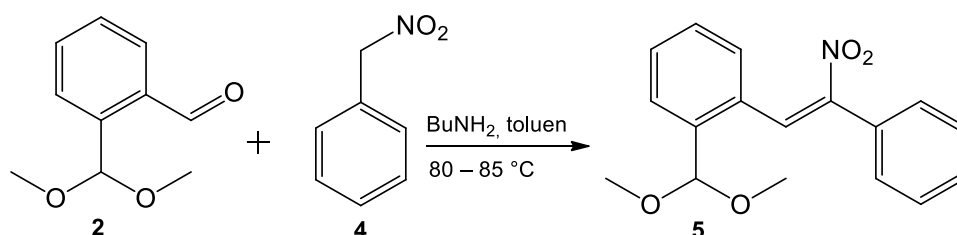


Schéma 13

Do 100 ml tlustostěnné zkumavky se šroubovacím uzávěrem bylo předloženo 0,75 g (4,2 mmol) 2-(dimethoxymethyl)benzaldehydu (2), který byl rozpuštěn v 6 ml sušeného toluenu. K tomuto roztoku bylo přidáno 0,62 g (4,6 mmol) fenylnitromethanu (4) a 0,15 ml butylaminu (1,5 mmol). Roztok po přidání fenylnitromethanu zoranžověl a po přidání butylaminu přešla barva do hnědé. Roztok v uzavřené zkumavce byl za stálého míchání zahříván

v olejové lázni při teplotě 80–85 °C. Konec reakce byl sledován pomocí GC–MS (vymizení výchozích látek). Reakční doba se pohybovala v rozmezí od 5 do 6 hodin a reakční směs byla na konci reakce oranžově zbarvená. Po ukončení reakce byla směs odpařena do 3 g bazického silikagelu a byla provedena sloupcová chromatografie s mobilní fází hexan:EtOAc:CH₂Cl₂ (5:1:5). Po chromatografii bylo nutno provést krystalizaci z methanolu. Takto bylo získáno 0,8 g (64%) žluté krystalické látky 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethenyl)benzenu (**5**).

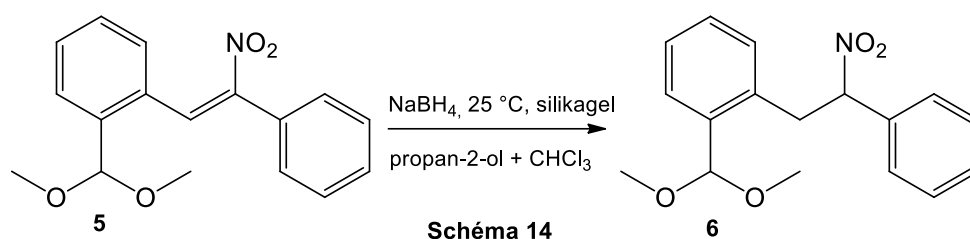
[M + Na]⁺: Vypočteno: 322,1049; Nalezeno: 322,1049

[M]⁺ [Da]: Vypočteno: 299,1152; Nalezeno: 299,1150

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8,59 (s, 1H, CH); 7,57 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH); 7,34-7,43 (m, 3H, ArH); 7,23-7,31 (m, 3H, ArH); 7,02 (t, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH); 6,79 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, ArH); 5,53 (s, 1H, CH); 3,39 (s, 6H, OCH₃).

¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): 150,5; 137,9; 133,0 130,9; 130,3; 130,2; 130,1; 129,7; 129,3; 128,7; 128,3; 127,3; 102,2; 53,4.

3.3.4. Příprava 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethenyl)benzenu (**6**)



Do 50 ml baňky bylo předloženo 0,3 g (1 mmol) 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethenyl)benzenu (**5**) v 16 ml CHCl₃ a 3 ml propan-2-olu. Ke vzniklému roztoku byly přidány 2 g bazického silikagelu a za intenzivního míchání, bylo ve čtyřech podílech po 15 minutách přidáno 0,16 g (4,2 mmol) NaBH₄. Reakční směs byla zbarvena žlutozeleně, a konec reakce bylo možno indikovat odbarvením. Pro přesné zachycení konce reakce byl její průběh sledován pomocí GC–MS do vymizení alkenů (4-5 hodin). Směs byla zpracována okyselením (pro neutralizaci přebytečného NaBH₄) zředěnou HCl (7%-ní vodný roztok HCl) a zfiltrováním. Silikagel, jakožto filtrační koláč, byl

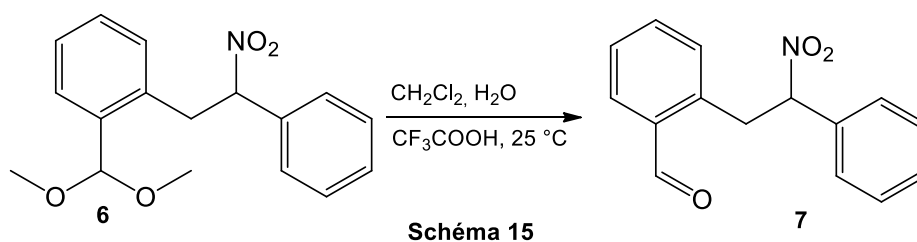
promyt 3×10 ml CHCl₃. Organické podíly byly spojeny a extrahovány 3×10 ml nasyceného vodného roztoku NaCl a následně ještě 2×10 ml H₂O. Organická vrstva byla vysušena, zfiltrována a odpařena. Byla provedena sloupcová chromatografie na bazickém silikagelu s mobilní fází hexan:EtOAc:CHCl₃ (40:20:3) a bylo získáno 0,16 g (53%) béžové krystalické látky 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzenu (**6**).

[M + Na]⁺: Vypočteno: 324,1206; Nalezeno: 324,1205

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,47-7,53 (m, 3H, ArH); 7,38-7,43 (m, 3H, ArH); 7,26 (dt, *J* = 7.1 a 1,3 Hz 1H, ArH); 7,21 (dt, *J* = 7.5 a 1,4 Hz 1H, ArH); 7,06 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, ArH); 5,90 (dd, *J* = 9,2 a 5,3Hz, 1H, CH); 5,36 (s, 1H, CH); 3,86 (dd, *J* = 14,4 a 9,2 Hz, 1H, ½CH₂); 3,53 (dd, *J* = 14,3 a 5,2 Hz, 1H, ½CH₂) 3,39 (s, 3H, OCH₃); 3,30 (s, 3H, OCH₃).

¹³C NMR (500 MHz, CDCl₃): 136,0; 134,9; 133,9 130,8; 129,7; 128,9; 128,9; 127,9; 127,6; 127,1; 103,4; 92,2; 54,1; 52,9; 37,1.

3.3.5. Příprava 2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzaldehydu (**7**)



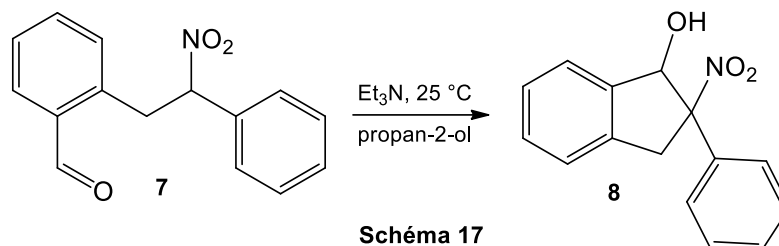
Do 25 ml baňky bylo předloženo 100 mg (0,33 mmol) 1-(dimethoxymethyl)-2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzenu (**6**), který byl rozpuštěn ve 2 ml CH₂Cl₂, dále bylo přidáno 1,2 ml H₂O a 0,12 ml CF₃COOH. Směs byla intenzivně míchána přes noc. Po ukončení reakce byla nejdříve oddělena vodná vrstva od organické. Získaný vodný podíl byl promyt 2×10 ml CH₂Cl₂. Organické podíly byly spojeny a extrahovány 2×5 ml H₂O, poté byly vysušeny, zfiltrovány a odpařeny. Byla provedena sloupcová chromatografie na bazickém silikagelu s mobilní fází hexan:EtOAc:CHCl₃ (40:20:3) a bylo získáno 60 mg (71%) nažloutlé krystalické látky 2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzaldehydu (**7**).

[M + Na]⁺: Vypočteno: 278,0788; Nalezeno: 278,0786

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 10,12 (s, 1H, CHO); 7,82-7,86 (m, 1H, ArH); 7,55-7,59 (m, 2H, ArH); 7,49-7,55 (m, 2H, ArH); 7,39-7,45 (m, 3H, ArH); 7,28-7,31 (m, 1H, ArH); 5,82 (t, $J = 7,3$, 1H, CH); 3,91 (d, $J = 7,3$, 1H, CH_2).

^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3): 194,0; 137,0; 136,4; 134,7; 134,1; 133,8; 132,6; 129,7; 129,0; 128,3; 127,3; 91,8; 38,4.

3.3.6. Příprava 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1H-inden-1-olu (8)



Do 10 ml baňky bylo předloženo 79 mg (0,31 mmol) 2-(2-nitro-2-fenylethyl)benzaldehydu (**7**). Ten byl rozpuštěn ve 2 ml propan-2-olu a bylo přidáno 5,5 mg (0,053 mmol) Et_3N . Vznikla bílá kašovitá směs. Reakce byla při pokojové teplotě míchána 3 dny. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC s mobilní fází EtOEt:hexan (1:1) do vymizení výchozí látky. Produkt byl odpařen do 2,5 g bazického silikagelu a byla provedena sloupcová chromatografie s totožnou mobilní fází. Bylo získáno 59 mg (75 %), naoranžovělé olejovité látky (**8**) v poměru diastereoizomerů (1:0,7 d.r.).

$[\text{M} + \text{Na}]^+$: Vypočteno: 278,0788; Nalezeno: 278,0786

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7,68-7,72 (m, 0,7H, ArH); 7,46-7,51 (m, 2H, ArH); 7,40-7,45 (m, 3H, ArH); 7,37-7,40 (m, 1H, ArH); 7,29-7,36 (m, 2H, ArH); 6,17 a 5,72 (2×s, 1H, CH); 4,19 a 4,30 (2×dd, $J = 16,5$ a $16,1$ Hz, 1H, $\frac{1}{2}\text{CH}_2$); 3,61 a 3,93 (2×dd, $J = 16,5$ a $16,5$ Hz, 1H, $\frac{1}{2}\text{CH}_2$).

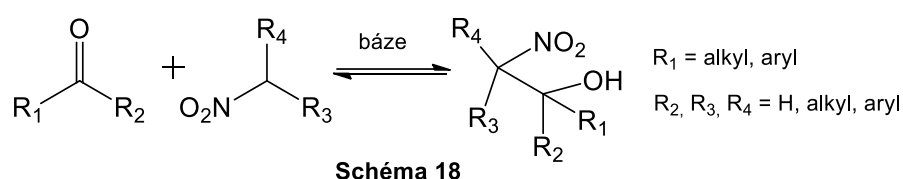
^{13}C NMR (500 MHz, CDCl_3): 140,4; 140,5; 138,1; 137,0; 136,2; 129,8; 129,7; 129,6; 129,4; 128,9; 128,9; 128,1; 128,0; 127,3; 127,0; 125,1; 124,7; 124,1; 103,1; 101,6; 80,7; 79,2; 41,0; 39,7.

4. Výsledky a diskuse

4.1. Syntetická cesta

Cílem této práce bylo připravit 2-fenyl-2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-ol (Obr.1) pomocí intramolekulární *Henryho* reakce.

Henryho reakce¹⁹ je vratná, bazicky katalyzovaná nitroaldolová kondenzace aldehydu nebo ketonu s nitroalkanem (ten musí splňovat podmínku přítomnosti alespoň jednoho vodíku na α -uhlíku) za vzniku β -nitroalkoholů (Schéma 18).



Vzniklý alkohol se pak dehydratací může převést na nitroalken, oxidací na keton, nebo redukcí na amin¹⁹.

Reakce byla poprvé popsána v roce 1895 *Louisem Henrym*²⁰ a dodnes se využívá pro syntézu látek složitější struktury.

Pro přípravu zadané sloučeniny jsem zvolila postupy *Henryho* reakce, aplikované *Jakubem Valtrem*, jenž popisuje ve své diplomové práci¹.

Svou práci jsem zahájila přípravou výchozích látek. První z nich, 2-(dimethoxymethyl)benzaldehyd (**2**), jsem připravovala lithiací s DMF v THF, při -78 °C, pod inertní atmosférou z 1-brom-2-(dimethoxymethyl)benzenu (**1**), který byl již dříve připraven *J. Valtrem*¹. Izolaci produktu jsem provedla sloupcovou chromatografií, která byla vyhodnocena jako účinnější separace než destilace za sníženého tlaku¹. Chromatografie byla provedena s mobilní fází hexan:EtOAc:CH₂Cl₂ (5:1:5) na bazickém silikagelu, aby nedošlo k ochránění aldehydické skupiny. Výtěžek 69 % získané bezbarvé olejovité látky lze považovat za dobrý.

Pro přípravu zadané sloučeniny bylo rovněž nutné připravit fenylnitromethan¹⁷. Fenylnitromethan byl připraven nukleofilní substitucí benzylbromidu dusitanem sodným. Surový produkt bylo potřeba přečistit vakuovou destilací. Syntéza byla opakována třikrát, ovšem i v největším

výtěžku (8%) bylo připraveno pouhých 0,82 g fenylnitromethanu jako čiré kapaliny. Díky ceně výchozího benzylbromidu se jeho příprava jeví jako neekonomická. V této situaci jsem měla na výběr dvě možnosti. Buďto použít poměrně drahý dusitan stříbrný namísto dusitanu sodného, nebo zakoupit fenylnitromethan komerční. Výhodnější bylo zakoupit fenylnitromethan komerční (Fluorochem).

Samotnou *Henryho* kondenzaci bylo komplikované optimalizovat a byla časově nejnáročnější. První pokus této kondenzace byl proveden dle literatury²¹. K methanolickému roztoku aldehydu byl přidán methanolický roztok fenylnitromethanu v 5 % molárním nadbytku²¹ vůči aldehydu. Reakční směs byla vychlazená na 0 °C a byl přidán vychlazený roztok KOH jako báze. Reakce byla míchána pod dobu 6 hodin. Dle TLC však byly v reakční směsi pouze výchozí látky. Tentýž výsledek vyplynul ze získaného spektra z GC–MS a NMR. Reakce neproběhla vůbec.

Další pokus byl založen na postupu²², který vede nejdříve ke vzniku *Schiffovy* báze a produktem je přímo alken (Schéma 19), nikoli nitroalkohol. Uvedená literatura²² využívá primárních aminů jako katalyzátorů. Pro tyto reakce uvádí literatura²² nízké výtěžky a dlouhou reakční dobu.

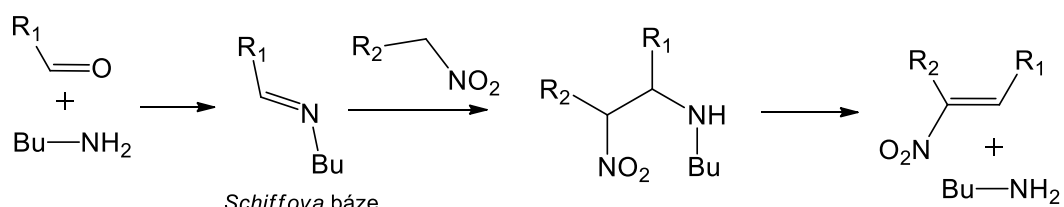
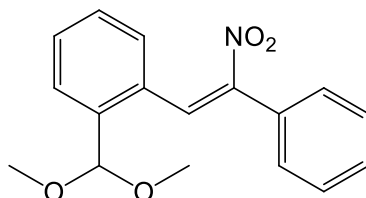


Schéma 19

Reakce byla odzkoušená jak s primárním aminem (BuNH₂), tak s terciárním aminem (Et₃N). Obě reakce byly provedeny stejným způsobem. Aldehyd byl rozpuštěn ve vysušeném toluenu, k němuž byl přidán fenylnitromethan v 10% nadbytku, směs byla vyhřáta na 90 °C, byl přidán amin jakožto katalyzátor a reakce byla refluxována 5–6 hodin. Reakční směs s Et₃N neposkytla žádný produkt. Reakční směs s BuNH₂ poskytla požadovaný produkt, ovšem v pestré směsi dalších rozkladných produktů a se zanedbatelným výtěžkem (nevažitelné množství).

Obě reakce byly proto odzkoušeny za změněných podmínek. Při reakci s Et₃N byla zvýšena reakční teplota až na 110 °C pro její urychlení. Produkt tentokrát vznikal, ovšem s výtěžkem pouhých 5 %. Reakci s Et₃N jsem se pak již nezabývala, protože reakce s BuNH₂ se jevila nadějněji. Bylo zjištěno, že pro zdárný průběh reakce postačuje teplota 80–85 °C, jinak se produkt začne rozkládat. Dalším zjištěním bylo, že se při refluxu odpařuje BuNH₂, a tudíž pak nemá požadovaný efekt katalyzátoru reakce. Tento fakt vedl k odzkoušení reakce v tlustostěnné zkumavce se šroubovacím uzávěrem. Uzavřená zkumavka byla zahřívána na olejové lázni 5–6 hodin na 80–85 °C, aby nedošlo k přehřátí směsi a tím pádem k nežádoucímu rozkladu vznikajícího produktu. U předešlých pokusů měla výsledná reakční směs vždy tmavě hnědou až černou barvu, u této poslední optimalizované metody přípravy byla reakční směs oranžově zbarvená. Produkt musel být přečištěn sloupcovou chromatografií na bazickém silikagelu s mobilní fází hexan:EtOAc:CH₂Cl₂ (5:1:5), kdy byl produkt získán jako žluto-zelený roztok. Produkt po odpaření rozpouštědla byl dále rekrystalizován ze spektrálního methanolu, kdy se ze žluté látky charakteru ztuhlého oleje získaly žluté krystaly látky **5** (Obr. 11) s bodem tání 87,2–88,6 °C. Tímto způsobem byla optimalizována výtěžnost reakce na 64 %, což je vzhledem k literatuře²² velmi dobrý výsledek.



1-(dimethoxymethyl)-2-[2-nitro-2-fenylethenyl]benzen (**5**)

Obrázek 11

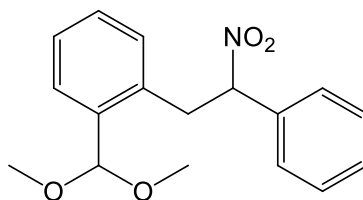
Následovala redukce získaného alkenu. Jako rozpouštědlo byla zvolena směs propan-2-olu a CHCl₃ a jako redukční činidlo byl použit jemně rozetřený NaBH₄. Do reakční směsi se rovněž přidává i silikagel, aby se předešlo možné dimerizaci produktu²⁷. Konec redukce byl pozorován několika způsoby. Těmi byly odbarvení reakční směsi, TLC a GC–MS (do vymizení alkenu).

Po ukončení redukce bylo potřeba se zaměřit na pečlivé zpracování a izolaci produktu, aby nedocházelo ke ztrátám. Reakční směs se nejdříve

zneutralizovala 7%–ním vodným roztokem HCl, pro odstranění zbylého NaBH₄. Už v tomto kroku bylo důležité směs nepřekyselit, spíše ji nechat mírně alkalickou. Pak se směs odfiltrovala od silikagelu, ten bylo nutno řádně promýt. Získané organické podíly byly extrahovány, vysušeny, zfiltrány a až následně odpařeny. Při tomto zpracování mohlo snadno dojít k velkým ztrátám produktu, zvláště když bylo pracováno s malým množstvím.

V prvním pokusu byla reakční směs hned ze začátku překyselena a velká část požadovaného produktu byla ochráněna. Produktem reakce pak bylo 62,4 % látky **6** a 23,3 % látky **7**.

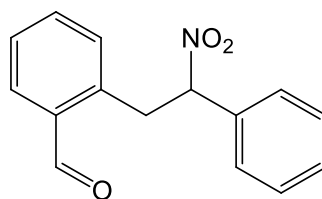
Na rozdíl od postupů *Jakuba Valtra*¹, který nemusel produkt nijak zvláště čistit, bylo nutností v tomto případě provést sloupcovou chromatografii. Mobilní fáze, použitá v předchozích případech, zde nefungovala. Byla odzkoušena řada jiných, ovšem jako nejúčinnější byla zjištěna mobilní fáze složená z hexanu:EtOAc:CHCl₃ v poměru 40:20:3. Takto pak byla získána sloučenina **6** ve výtěžku asi 53 % jako béžový olej, který po zamrazení asi po 1 týdnu ztuhnul. V mrazáku je produkt **6** (Obr. 12) stabilní – ani po 2 měsících nebyl pozorován jeho rozklad. Produkt je rozpustný v methanolu a málo rozpustný v acetonu.



1-(dimethoxymethyl)-2-(2-fenylethyl)benzen (**6**)

Obrázek 12

Odchránění aldehydicke skupiny látky **6**, jsem provedla tak, jak jej popsal *Jakub Valtr*¹ pomocí kyseliny trifluoroctové ve dvoufázovém prostředí CH₂Cl₂ s H₂O. Reakce probíhala přes noc a nevznikl žádný problém při reakci ani při zpracování. Jelikož předchozí kroky nepřesáhly výtěžnost 70 %, byl výtěžek 71 % překvapivý. Produkt **7** (Obr. 13) měl charakter oleje, který na vzduchu částečně zkrystaloval za vzniku nažloutlých krystalků. Bod tání bylo díky napůl olejovitému charakteru obtížné změřit a úplné tání nastalo v rozmezí 80,8–102,7 °C. Rekrystalizace nevedla k lepšímu výsledku a látka měla stále charakter ztuhlého oleje.



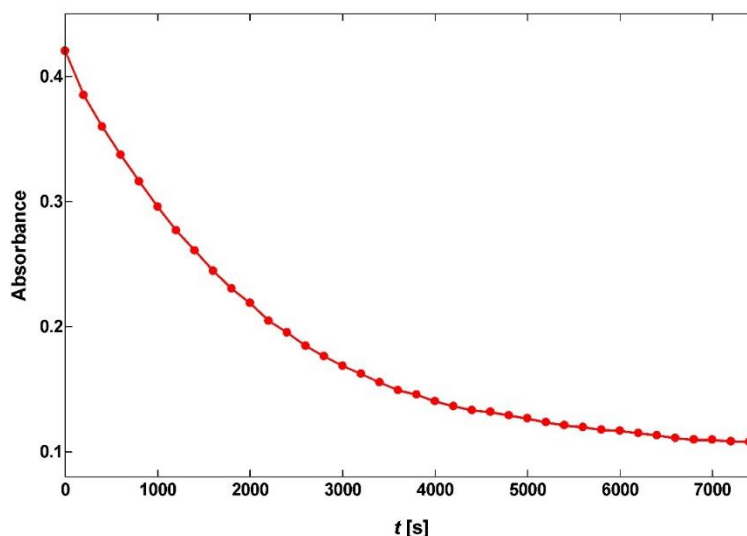
2-(2-nitro-2-phenylethyl)benzaldehyd (7)

Obrázek 13

Cyklizace (intramolekulární *Henryho* reakce) probíhala taktéž bez problému. Látka **7** byla míchána v propan-2-olu s přidavkem Et_3N jako báze. Byla zjištěna malá rozpustnost v propan-2-olu, proto byla reakce provedena ve větším množství rozpouštědla, a tím pádem byla potřeba i větší množství báze než uvádí ve své práci *J. Valtr*. Vzniklá kašovitá směs pak reagovala po dobu 3 dnů. Po sloupcové chromatografii, mobilní fáze EtOEt:hexan (1:1), byl získán oranžový olej látky **8** (Obr. 10) s výtěžkem 75 % v poměru diastereoizomerů (1:0,7).

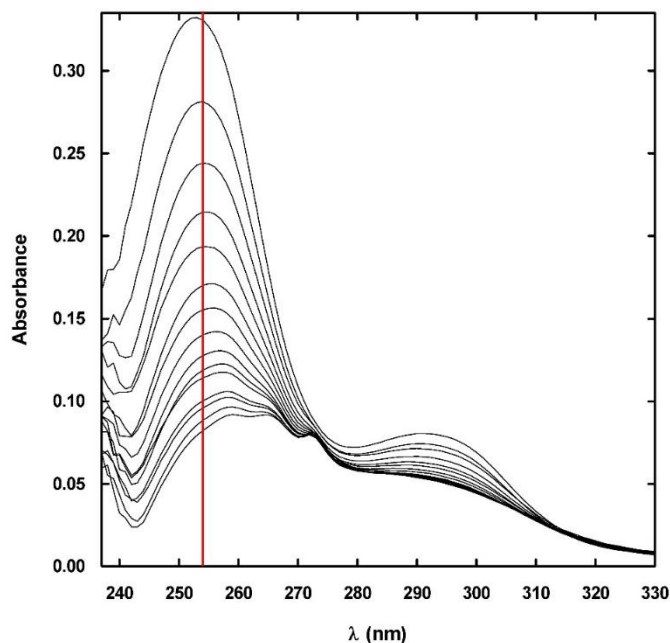
4.2. Kinetická měření cyklizace látky 7

Kinetiku bazicky katalyzované cyklizace **7** \rightarrow **8** jsem studovala ve vodných roztocích terciárních aminových pufrů [*N*-methyl-diethanolamin (NMDEA), *N*-methyl-morfolin (NMM), *N*-methyl-piperidin (NMP)], které byly vybrány proto, že mají pouze bazický charakter a vůči aldehydické skupině substrátu se nemohou chovat jako nukleofily. U všech roztoků byla nastavena iontová síla $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ pomocí roztoku KCl. Zjistila jsem, že ve všech roztocích pufrů probíhá cyklizace látky **7** na produkt **8** podle kinetiky 1. řádu, tj. kinetická křivka má tvar exponenciály (Obr. 14).



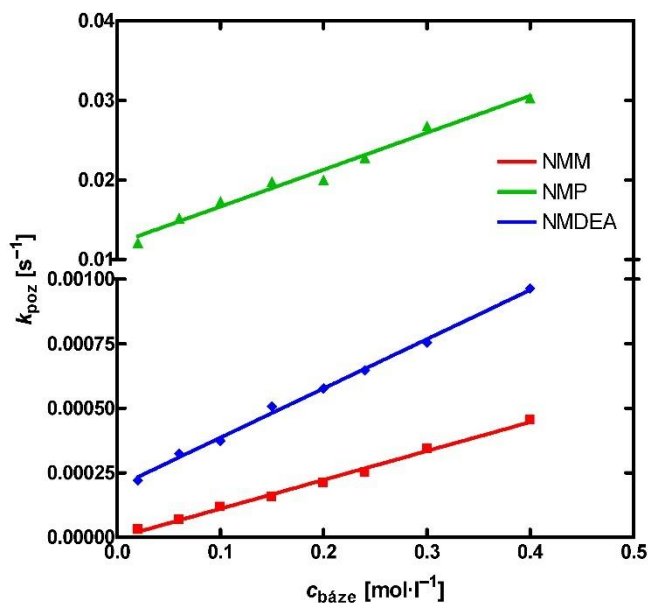
Obrázek 14 – Kinetická křivka cyklizace 7 \rightarrow 8

Spektrální záznam (Obr. 15) reakce však bohužel neobsahuje isosbestický bod, který by tuto skutečnost dále potvrdil. Z časových důvodů nebylo možné prověřit tento charakter závislostí i v pufrch s jiným poměrem kyselé a bazické složky než 1:1.



Obrázek 15 – Časová změna při cyklizaci 7→8

Měřením pozorované rychlostní konstanty (k_{poz}) v závislosti na koncentraci bazické složky pufru byl získán graf (Obr. 16), ze kterého je patrné, že pro všechny pufrы se k_{poz} lineárně zvyšuje.



Obrázek 16 – Závislost k_{poz} na $c_{\text{báze}}$ v pufrch

Na základě měření a zjištění mého předchůdce, *J. Valtra*, u strukturně příbuzných derivátů se domnívám, že reakce je obecně bazicky katalyzována. To znamená, že rychlost určujícím krokem je vznik karbaniontu 7^{\ominus} (Schéma 20). Následná cyklizace je již rychlá - pravděpodobně z důvodu entropické výhodnosti vzniku málo napjatého 5-ti členného kruhu.

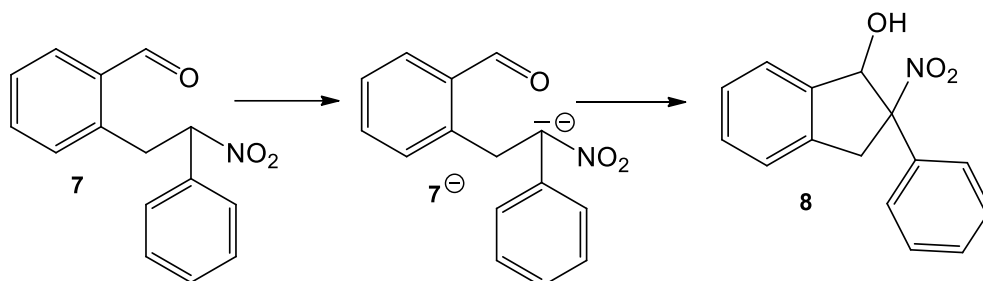
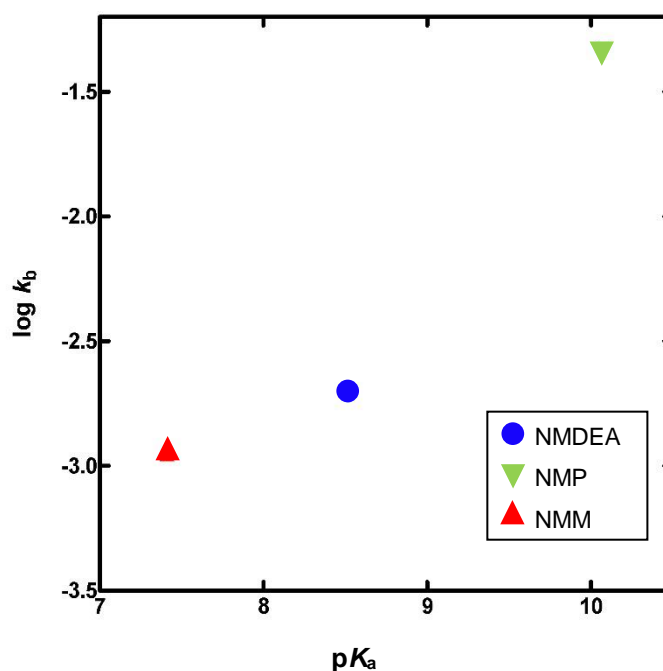


Schéma 20

Směrnice přímek (Obr. 16) pak udávají katalytickou konstantu k_b pro danou bazickou složku pufru (tj. pro daný terciární amin). Pokud vyneseme získané hodnoty k_b (Tab. 1) proti pK_a konjugované kyseliny daného aminu, získáme *Brønstedovu* závislost (Obr. 17). Vzhledem k tomu, že je závislost tvořena pouze třemi body, které zjevně neleží na přímce, nelze z této závislosti učinit žádný kvantitativní závěr s ohledem na mechanismus reakce. V budoucnu proto bude potřeba změřit rychlost cyklizace nejméně v jednom dalším pufru, lišícím se hodnotou pK_a konjugované kyseliny vybraného aminu.

Tabulka 1 –
Brønstedova závislost

báze	pK_a	$\log k_b$
NMM	7,41	-2,951
NMDEA	8,52	-2,720
NMP	10,08	-1,333



Obrázek 17 – *Brønstedova* závislost

5. Seznam použité literatury

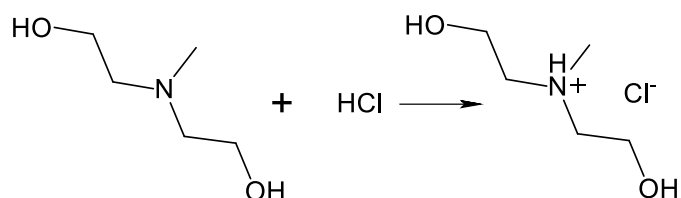
- [1] Valtr, J.; Syntéza sloučenin obsahujících 2-nitro-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-olový skelet s využitím intramolekulární *Henryho* reakce. Pardubice, **2016**. Diplomová práce. Univerzita Pardubice.
- [2] Shechter, H.; Gardikes, J. J.; Cantrell, S. T.; Tiers, V. D. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89* (12), 3005–3013.
- [3] Kametani, T.; Sugahara, H.; Asagi, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1966**, *14*(12), 1406–1413.
- [4] Huebner, CH. F; Donoghue, E. M.; Novak, C. J.; Dorfman, L. Wenkert, E. *J. Org. Chem.* **1970**, *35*(4), 1149–1154.
- [5] Chiu, I-CH.; Kohn, H. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 2857–2866.
- [6] Mitrochkin, A., Gil, G.; Réglie, M. *Tetrahedron: Asymmetry.* **1995**, *6*(7), 1535–1538.
- [7] Thompson, A. S.; Humprey, G. R.; DeMarco, A. M.; Mathre, D. J.; Grabowski, J. J. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 5886–5888.
- [8] Rouf, A.; Gupta, P.; Aga, M. A.; Kumar, B.; Parshad, R.; Taneja, S. C. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2011**, *22*, 2134–2143.
- [9] Legnani, L.; Morandi, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2248–2251.
- [10] Berlett, J. B.; Freeman, S.; Kenny, P.; Morley, A.; Whittamore, P. 10/3344,506. US 2003/0232875 A1. 18. 12. **2003**.
- [11] Chlebek, J.; Novák, Z.; Kassemová, D.; Šafratová, M.; Kostelník, J.; Malý, L.; Ločárek, M.; Opletal, L.; Hošťálková, A.; Hrabínová, M.; Kuneš, J.; Novotná, P.; Urbanová, M.; Nováková, L.; Macáková, K.; Hulcová, D.; Solich, P.; Concepción, P. M.; Jun, D.; Cahlíková, L.; *Chemistry&Biodiversity.* **2016**, *13*, 91–99.
- [12] Smith, R. A.; Fathi, Z.; Achebe, F.; Akuche, Ch.; Brown, S-E.; Choi, S.; Fan, J.; Jenkins, S.; Kluender, H. C. E.; Konkar, A.; Lavoie, R.; Mays, R.; Natoli, J.; O'Connor, S. J.; Ortiz, A. A.; Su, N.; Taing, Ch.; Tomlinson, S.; Tritto, T.; Wang, G.; Wirtz, S-N.; Wong, W.; Yang, X-F.; Ying, S.; Zhang, Z. *Bioorg.&Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2706–2711.
- [13] Knust, H.; Limberg, A.; Nettekoven, M.; Ratni, H.; Riemer, C.; Vifian, W. 12/614,474. US 2010/0125078 A1. 20. 5. **2010**.
- [14] Staessen, J.; Kesteloot, K.; *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **1981**, *19*, 167-172
- [15] Corey, E. J.; Roper, T. D.; Ishihara, K.; Sarakinos, G. *Tetrahedron lett.* **1993**, *34* (52), 8399–8402.

- [16] Chen, M.; Sun, N., Liu, Y.; *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 5574-5577.
- [17] Kornblum, N.; Larson, H. O.; Blackwood, R. K.; Mooberry, D. D.; Oliveto, E. P.; Graham, G. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*(7), 1497–1501.
- [18] Ando, K.; Shimazu, Y.; Seki, N.; Yamataka, H. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 3937–3945.
- [19] Rosini, G. *Com. Org. Syn.-Select., Strat. Eff. Mod. Org. Chem.* The Henry (Nitroaldol) Reaction. **1991**, 1-6, 321-339.
- [20] Henry L. C. R.; *Hebd. Seances Acad. Sci.* **1895**, *120*, 1258-1265
- [21] Greger, G. J.; Yoon-Miller, J. P.; Bechtold, N. R.; Flewelling, S. A.; MacDonald, J. P., Downey, C. R.; Cohen, E. A.; Pelkey, E. T. *J. org. Chem.* **2011**, *76*, 8203–8214.
- [22] Robertson, D. N. *J. Org. Chem.* **1960**, *25* (1), 47–49.
- [23] Shinhababu, A. K.; Borchardt, R. T. *Tetrahedron Letters.* **1983**, *24* (3), 227–230.

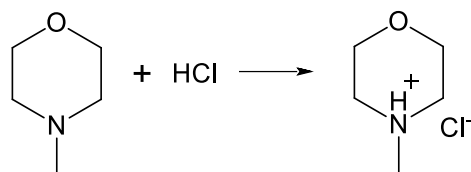
6. Přílohy

Přílohy I. – Příprava pufrů

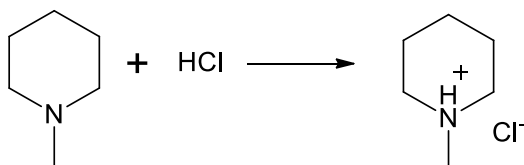
N-methyl-diethanolamin



N-methyl-morfolin



N-methyl-piperidin



Příprava pufrů 1:1

c_B [mol·l ⁻¹]	V_B [ml]	c_{BH} [mol·l ⁻¹]	V_{BH} [ml]	c_{PUFR} [mol·l ⁻¹]	V_{PUFR} [ml]	V_{KCl} [ml]
0,010	0,10	0,010	0,10	0,02	0,20	4,950
0,030	0,30	0,030	0,30	0,06	0,60	4,850
0,050	0,50	0,050	0,50	0,10	1,00	4,750
0,075	0,75	0,075	0,75	0,15	1,50	4,625
0,100	1,00	0,100	1,00	0,20	2,00	4,500
0,120	1,20	0,120	1,20	0,24	2,40	4,400
0,150	1,50	0,150	1,50	0,30	3,00	4,250
0,200	2,00	0,200	2,00	0,40	4,00	4,000

Kinetická měření v pufru *N*-methyl-diethanolaminu (1:1) (NMDEA)

$c_{\text{PUFR}} [\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$	pH	$k_{\text{poz}} [\text{s}^{-1}] 10^{-4}$	log k	τ [s]	chyba [%]
0,02	8,63	2,15	-3,667	3216,9	0,981
0,06	8,71	3,24	-3,490	2142,0	2,456
0,10	8,74	3,74	-3,427	1854,8	1,071
0,15	8,75	5,07	-3,295	1367,4	0,730
0,20	8,75	5,77	-3,239	1201,6	0,844
0,24	8,73	6,47	-3,189	1071,7	0,939
0,30	8,77	7,54	-3,123	919,5	0,904
0,40	8,75	9,65	-3,015	718,1	0,993

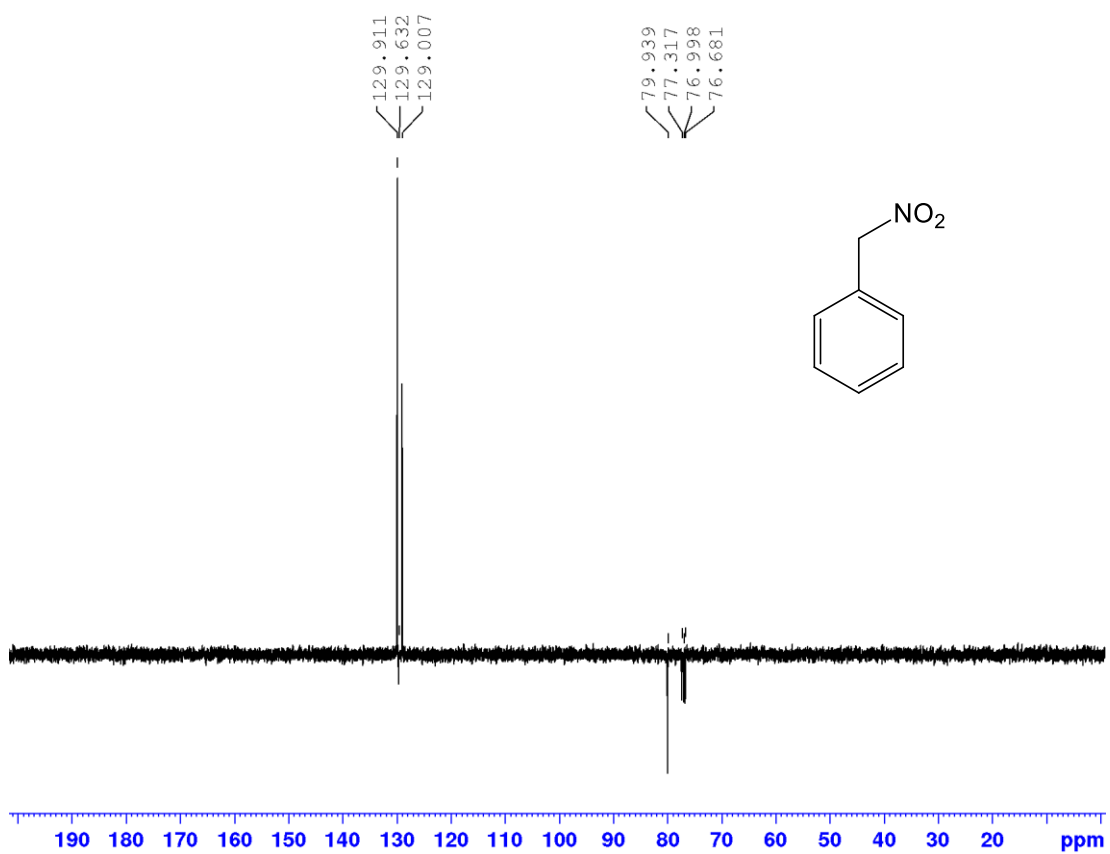
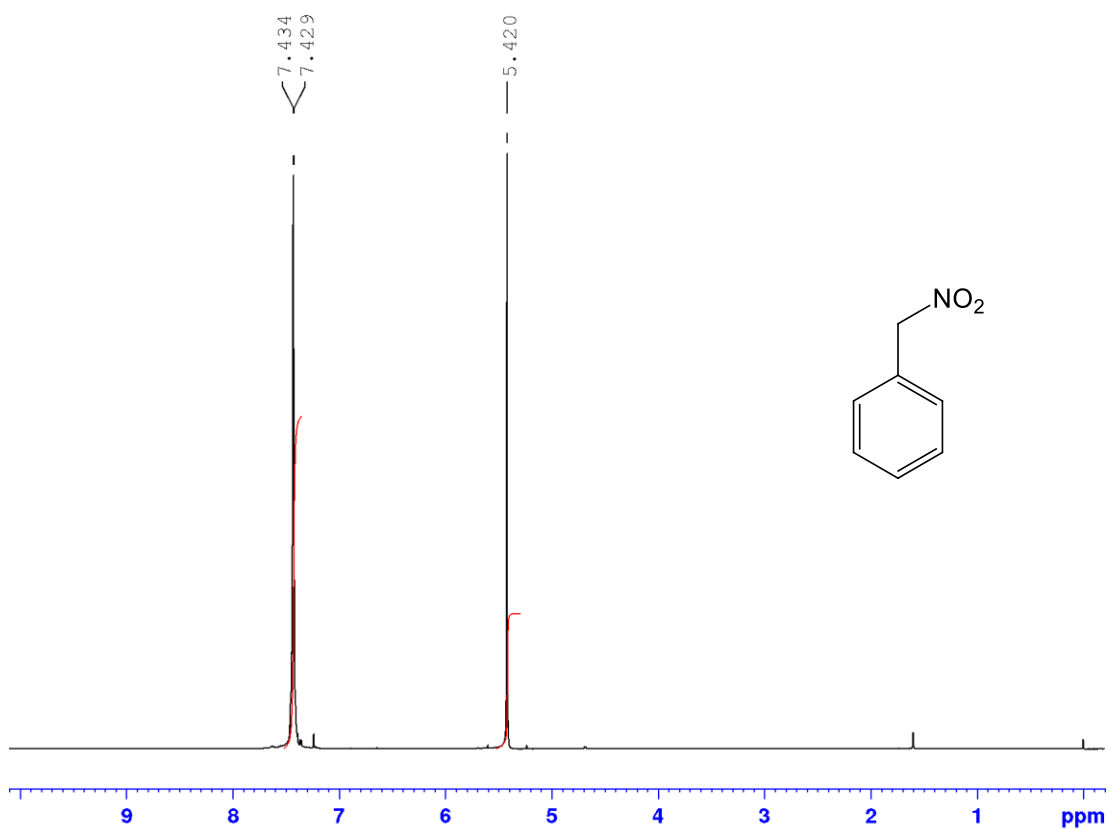
Kinetická měření v pufru *N*-methyl-morfolinu (1:1) (NMM)

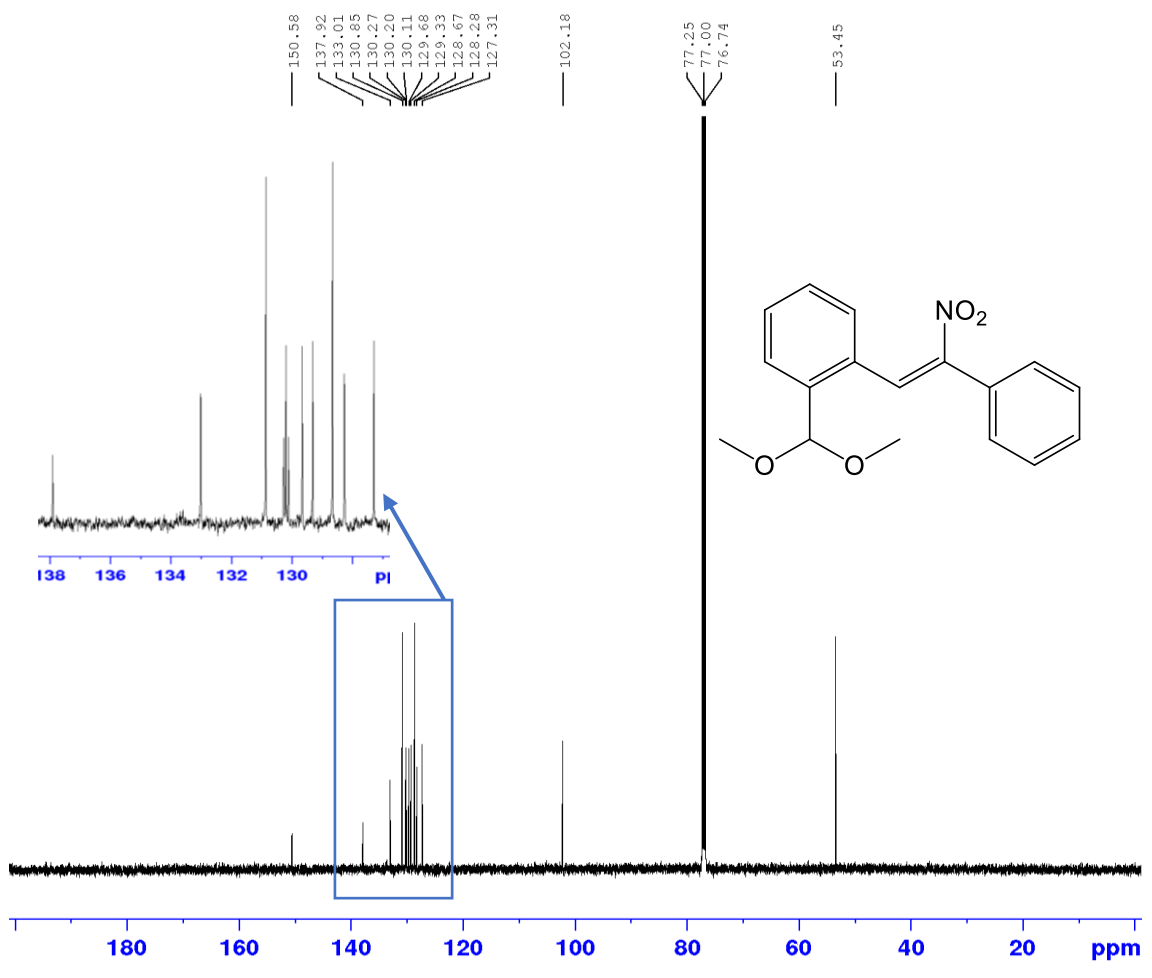
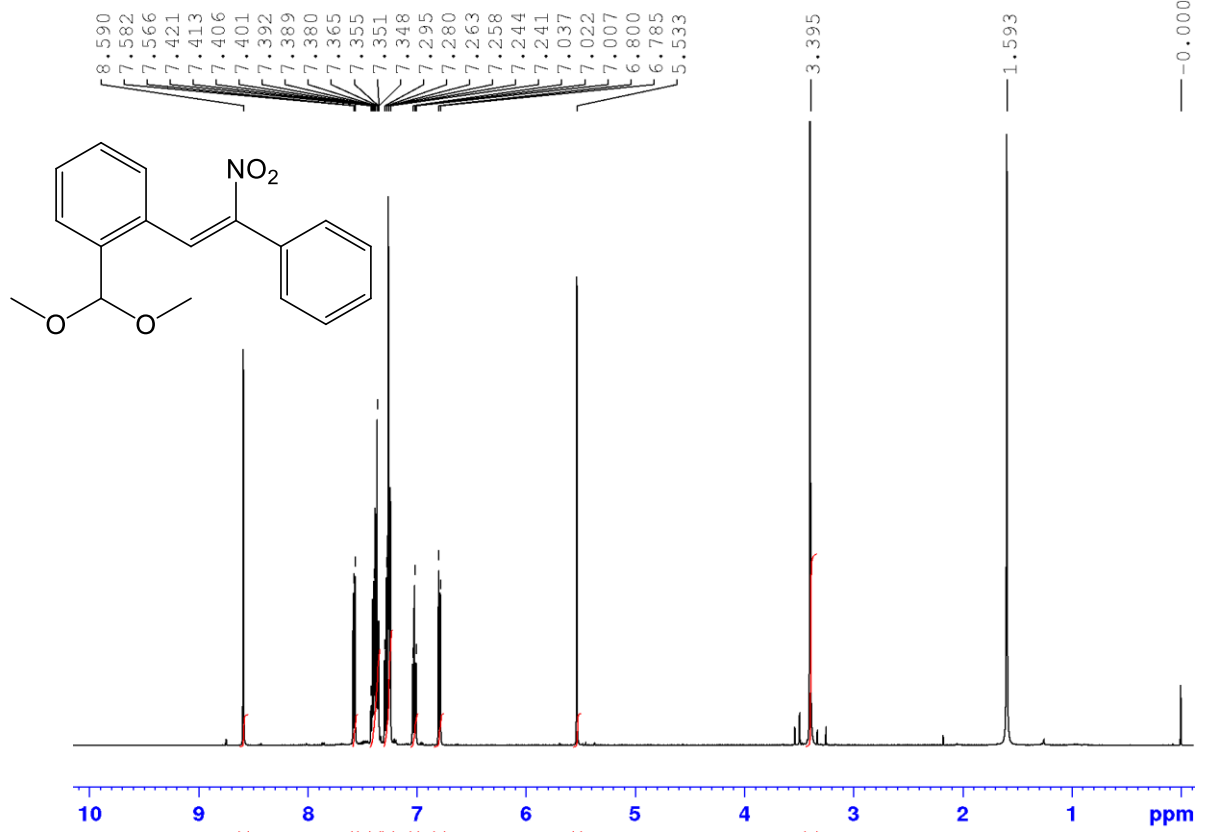
$c_{\text{PUFR}} [\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$	pH	$k_{\text{poz}} [\text{s}^{-1}] 10^{-4}$	log k	τ [s]	chyba [%]
0,02	7,34	0,307	-4,512	22547	0,371
0,06	7,44	0,693	-4,159	10007	0,751
0,10	7,47	1,18	-3,930	5894	2,724
0,15	7,48	1,57	-3,805	4421	0,139
0,20	7,47	2,11	-3,675	3,277	0,217
0,24	7,47	2,53	-3,597	2739	0,160
0,30	7,48	3,44	-3,464	2018	0,186
0,40	7,52	4,56	-3,341	1519	0,140

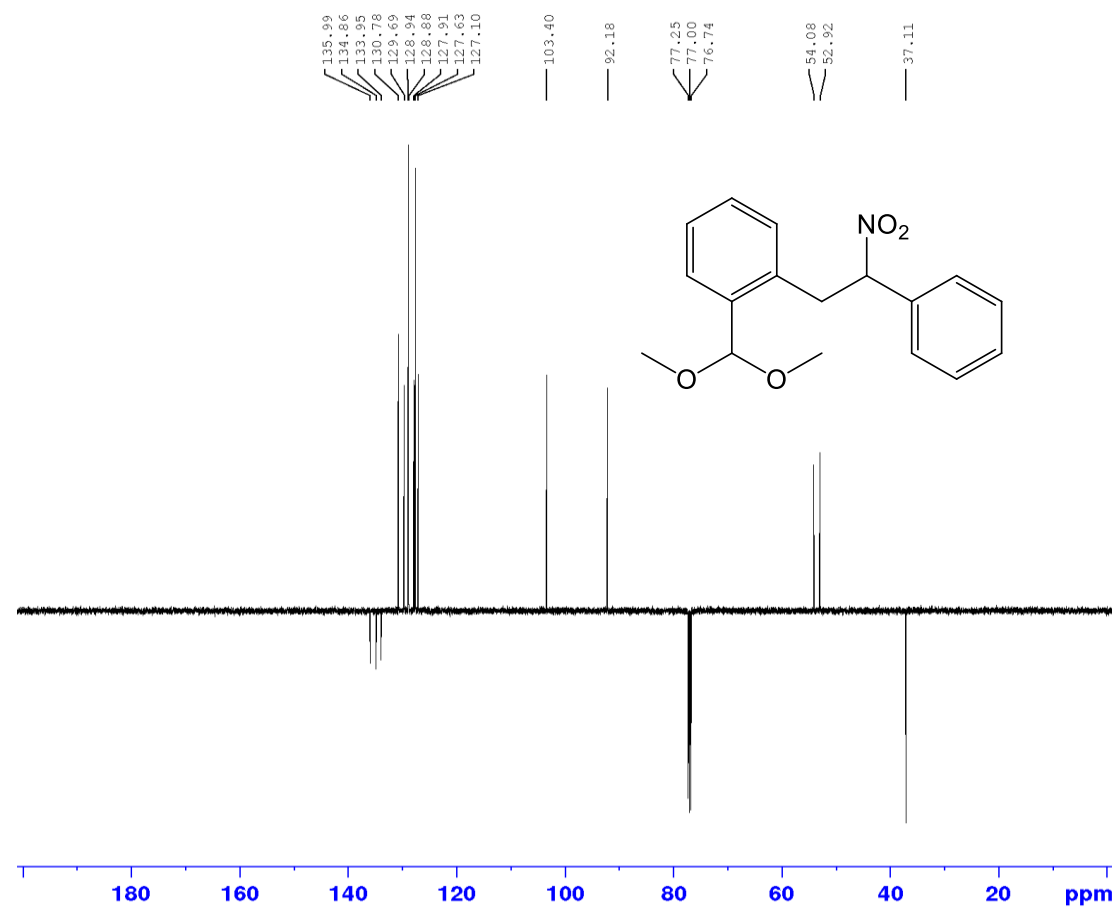
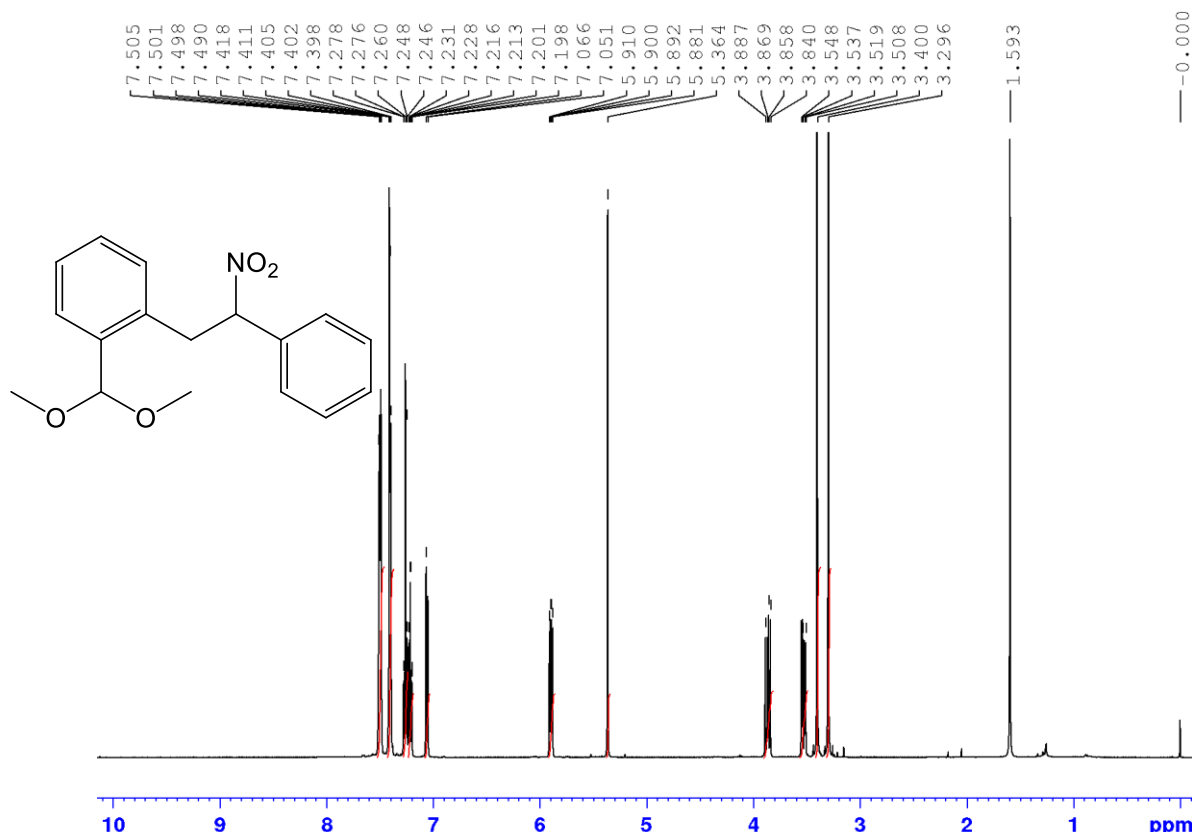
Kinetická měření v pufru *N*-methyl-piperidin (1:1) (NMP)

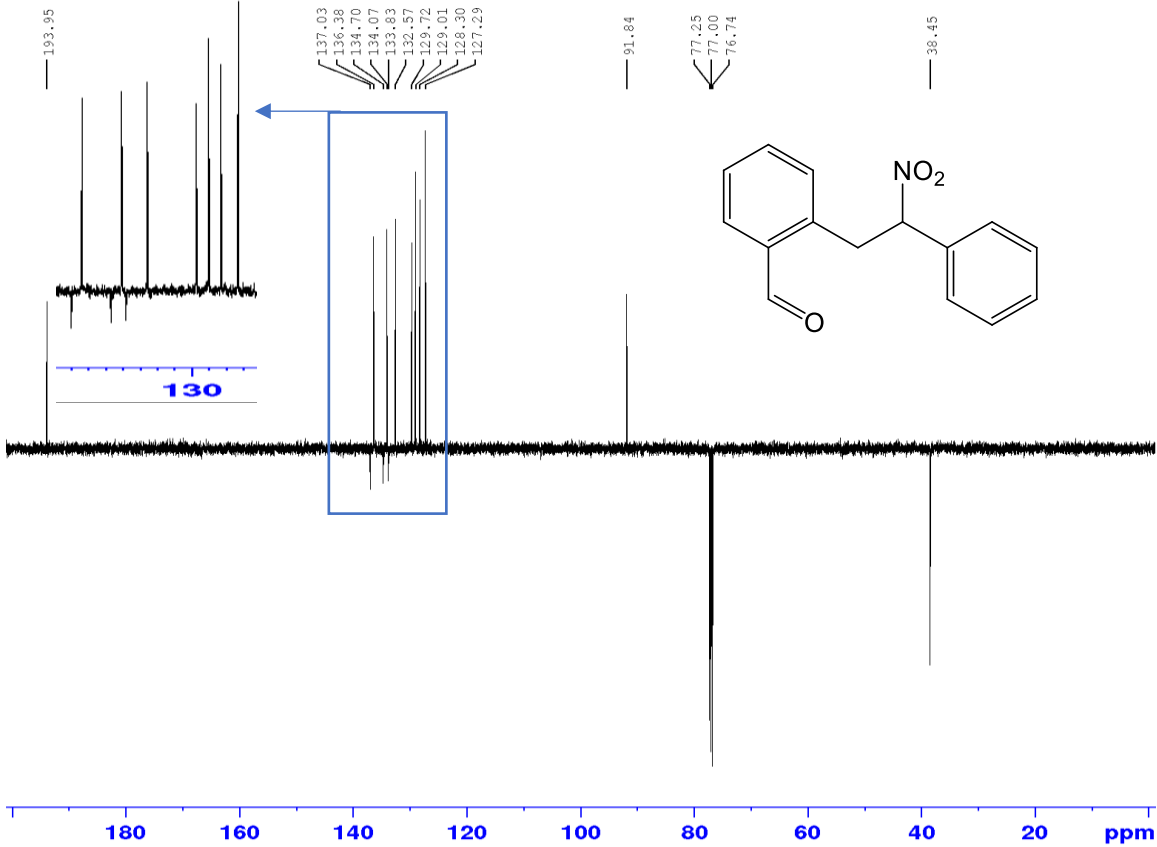
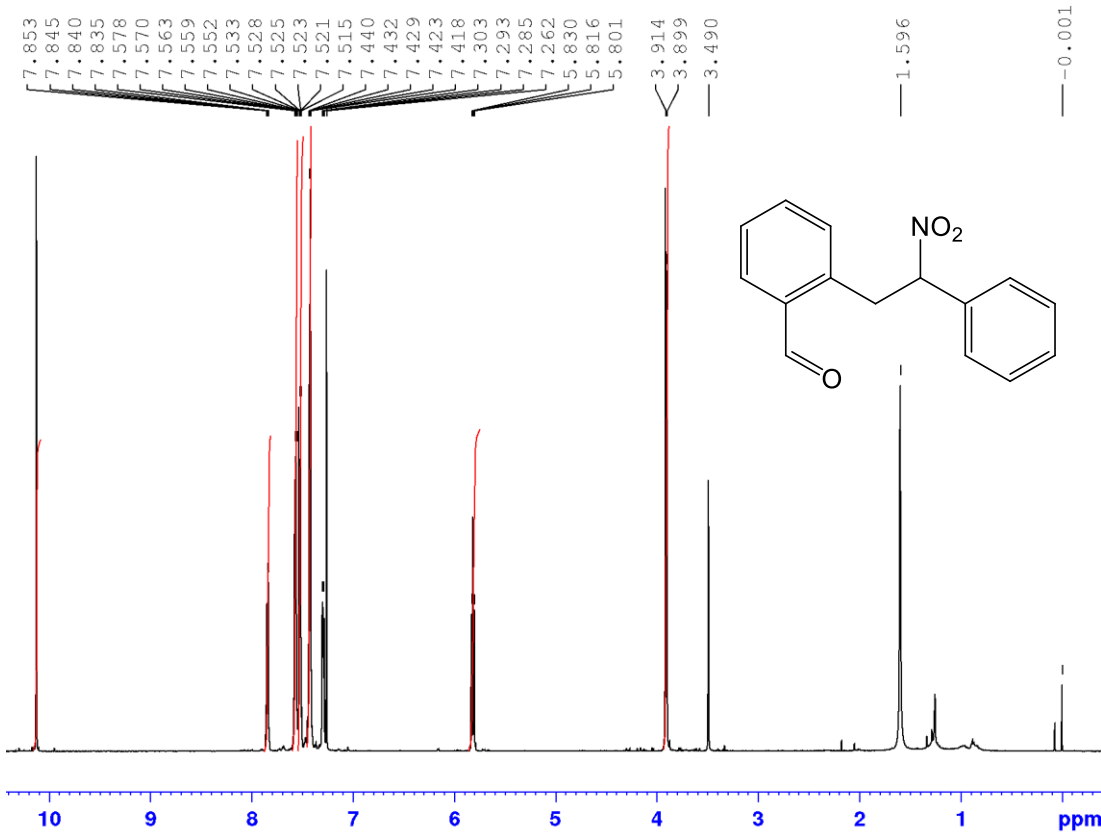
$c_{\text{PUFR}} [\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$	pH	$k_{\text{poz}} [\text{s}^{-1}] 10^{-2}$	log k	τ [s]	chyba [%]
0,02	10,32	1,21	-1,916	57,127	0,938
0,06	10,45	1,52	-1,817	45,471	0,795
0,10	10,49	1,73	-1,761	39,971	0,987
0,15	10,46	1,98	-1,704	35,035	0,626
0,20	10,49	1,99	-1,702	34,862	0,977
0,24	10,46	2,28	-1,642	30,418	0,547
0,30	10,49	2,68	-1,572	25,901	0,582
0,40	10,44	2,69	-1,571	25,809	0,894

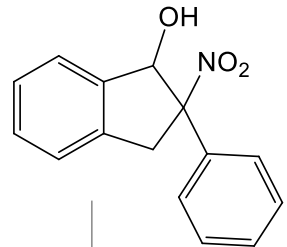
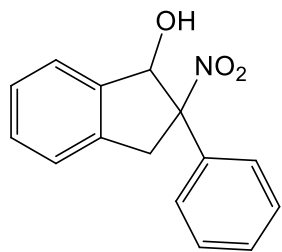
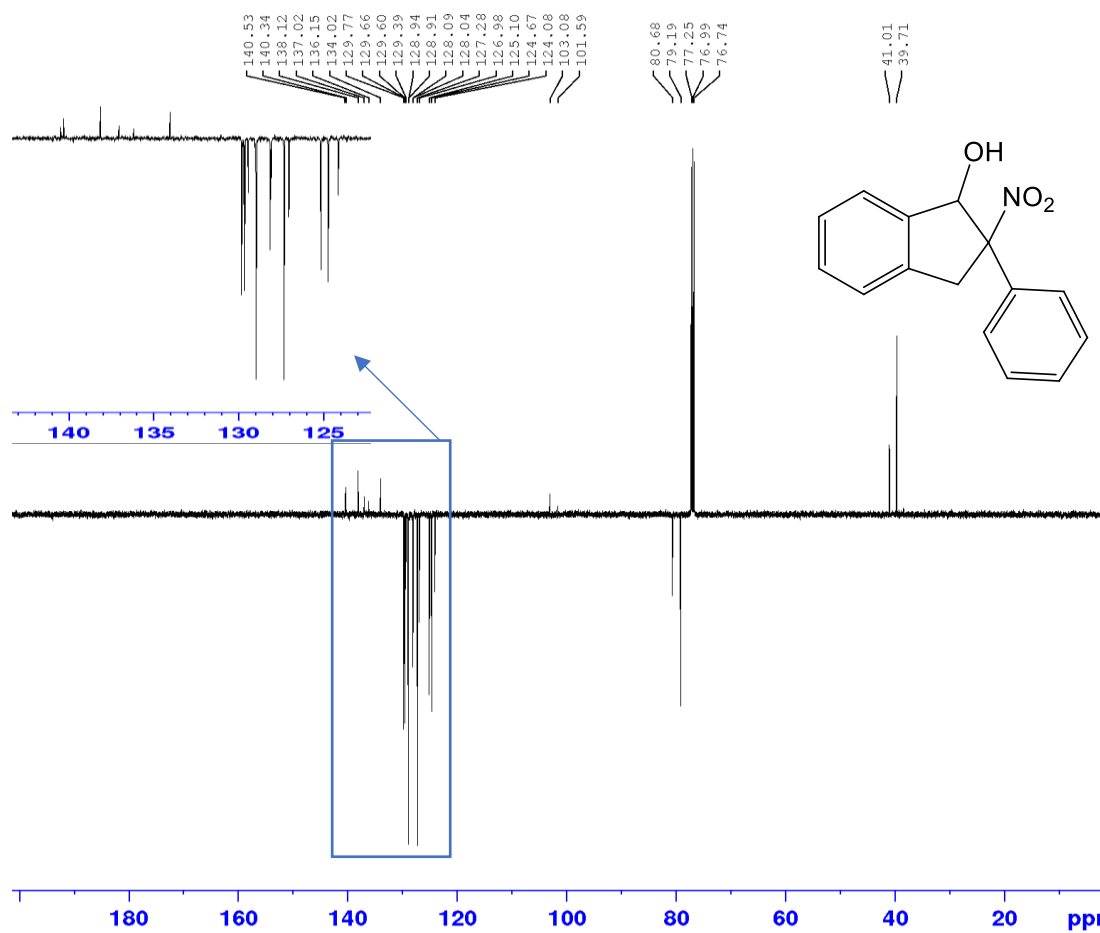
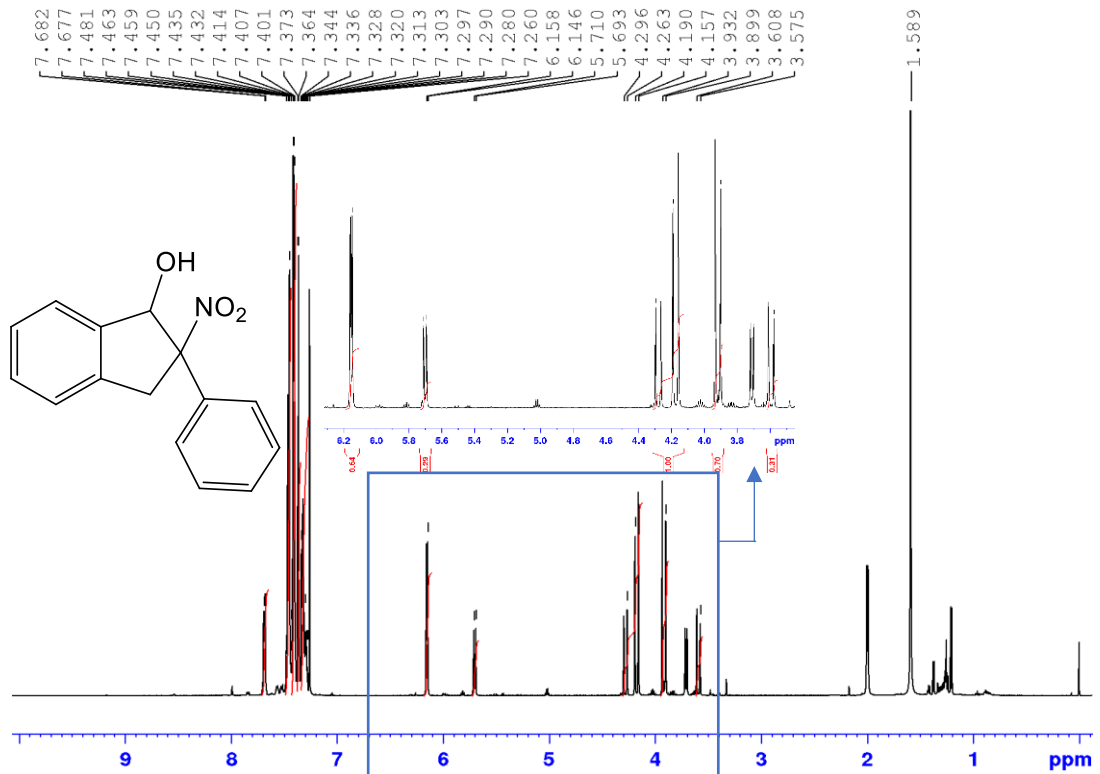
Přílohy II. - NMR spektra







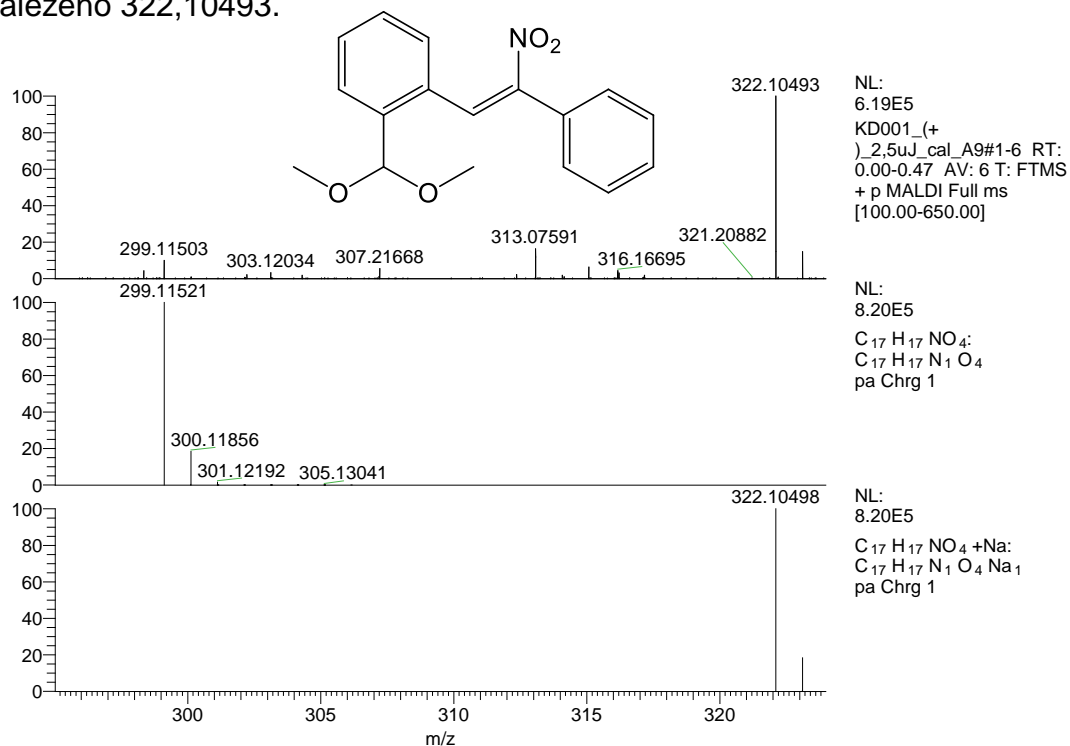




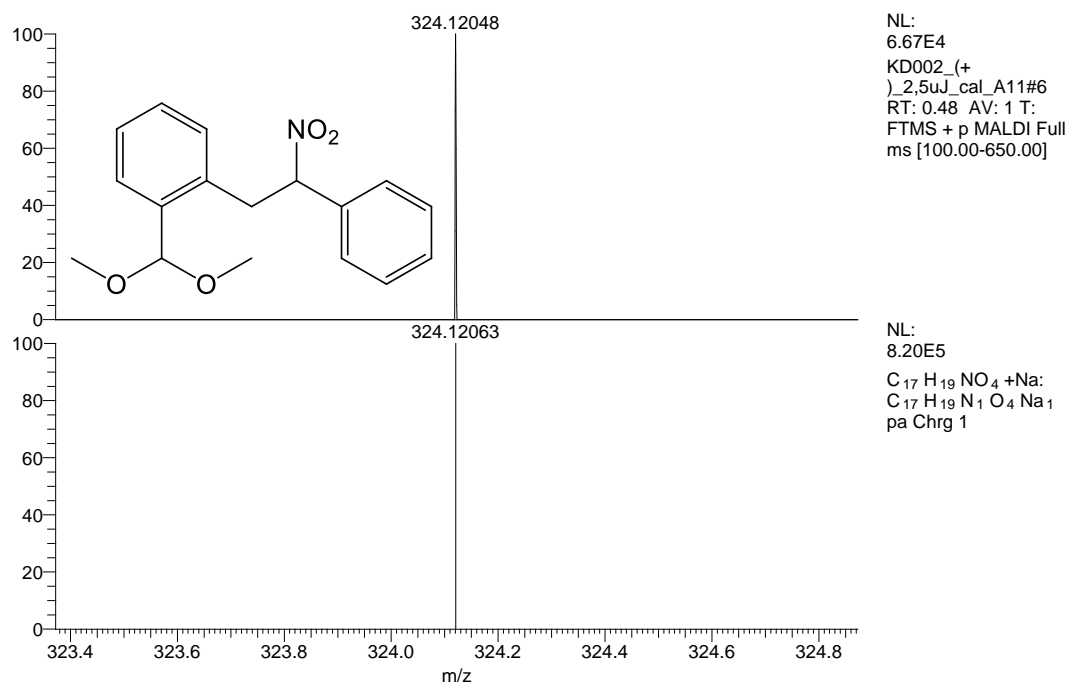
Přílohy III. – HR MALDI MS (DCTB)

HR-MALDI-MS (DCTB): vypočteno pro $C_{17}H_{17}NO_4$ $[M]^+$ [Da] 299,11521;
nalezeno 299,11503.

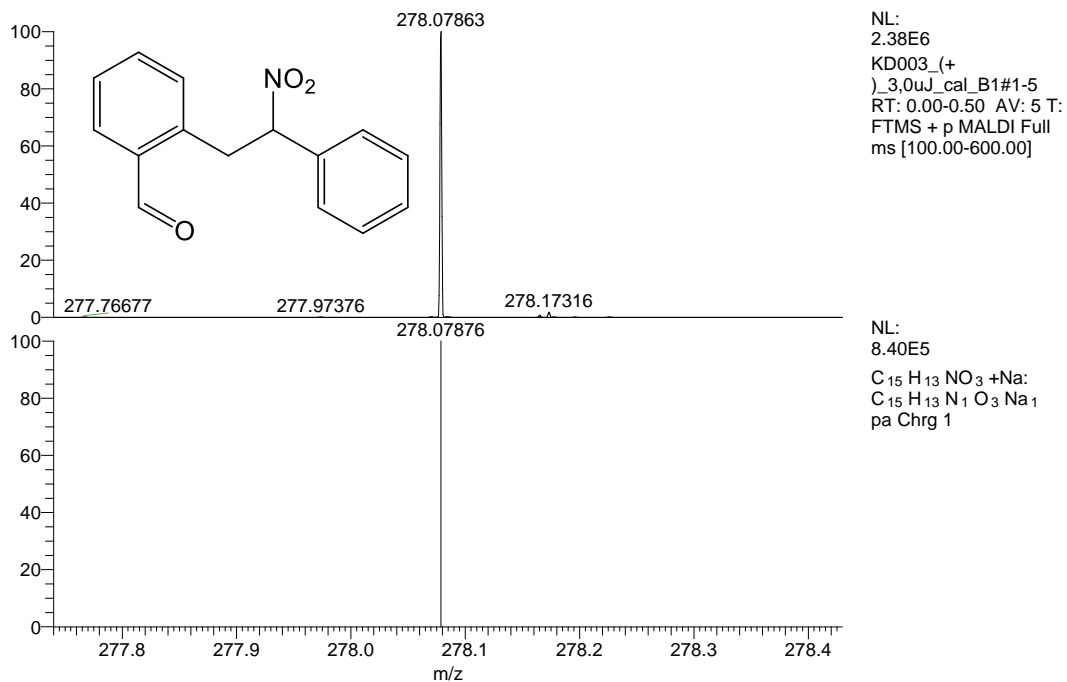
HR-MALDI-MS (DCTB): vypočteno pro $C_{17}H_{17}NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 322,10498;
nalezeno 322,10493.



HR-MALDI-MS (DCTB): vypočteno pro $C_{17}H_{19}NO_4Na$ $[M+Na]^+$ 324,12063;
nalezeno 324,12048.



HR-MALDI-MS (DCTB): vypočteno pro $C_{15}H_{13}NO_3Na$ $[M+Na]^+$ 278,07876;
nalezeno 278,07863.



HR-MALDI-MS (DCTB): vypočteno pro $C_{15}H_{13}NO_3Na$ $[M+Na]^+$ 278,07876;
nalezeno 278,07864.

