

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA  
Katedra organické chemie



**Syntéza derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu s  
kvarterním uhlíkem v poloze 2 na pevné fázi, studium  
cyklizace na spirosloučeniny**

**Jana POSPÍŠILOVÁ**

*Bakalářská práce*

Studijní program:	Chemie
Studijní obor:	Bioorganická chemie a chemická biologie
Typ studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	Mgr. Eva Schütznerová, Ph.D.

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci

V Olomouci, 17. 5. 2017

.....

Podpis

### **Poděkování**

Děkuji především Mgr. Evě Schütznerové, Ph.D za skvělé vedení této práce, cenné rady a připomínky, a především velkou ochotu a trpělivost při zpracování. Chtěla bych poděkovat i MSc. Vanese Gimenez Navarro, Ph.D. a RNDr. Adamu Příbylkovi, Ph.D. za pomoc v laboratoři. Dále děkuji za grantovou podporu GAČR 16 – 06446S, IGA\_PrF\_2017\_009, IGA\_LF\_2017\_028.

## **Bibliografická identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Jana Pospíšilová  
Název práce: Syntéza derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu s kvarterním uhlíkem v poloze 2 na pevné fázi, studium cyklizace na spirosloučeniny  
Typ práce: bakalářská  
Pracoviště: Katedra organické chemie  
Přírodovědecká fakulta UP v Olomouci  
Školitel: Mgr. Eva Schütznerová, Ph.D  
Rok obhajoby práce: 2017

### **Abstrakt:**

Bakalářská práce popisuje syntézu derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu s kvarterním uhlíkem v poloze 2 na pevné fázi. Jako výchozí látky byly použity aminokyseliny alanin, 2,4-diaminomáselná kyselina, ornitin a lysin, ukotvené přes ethanolamin na Wangovu pryskyřici. Aminokyseliny byly sulfonylovány pomocí různě substituovaných 2-nitrobenzensulfonyl chloridů. Vzniklé nitrobenzensulfonamidy byly poté alkylovány různými bromoketony, nebo alkoholy za Fukuyama-Mitsunobu podmínek. Na závěr byla provedena bazicky katalyzovaná cyklizace na chinazoliny přes indazol-oxidy. Na těchto derivátech byly studovány podmínky pro cyklizaci na spirosloučeniny.

Klíčová slova: aminokyseliny, syntéza na pevné fázi, sulfonamidy, chinazoliny, spirosloučeniny

Počet stran: 66

Počet příloh: 1

Jazyk: čeština

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Jana Pospíšilová  
Title: Solid phase synthesis of 1,2-dihydroquinazoline-2-carboxylate with quaternary carbon in position 2, study of cyclization into spiro compounds  
Type of thesis: bachelor  
Department: Department of Organic Chemistry  
Faculty of Science at Palacky University, Olomouc  
Advisor: Mgr. Eva Schütznerová, Ph.D  
The year of presentation: 2017

### **Abstract:**

The bachelor thesis describes the synthesis of 1,2-dihydroquinazoline-2-carboxylate derivatives with quaternary carbon in position 2 on the solid phase. As the starting materials were used amino acids alanine, 2,4-diaminobutyric acid, ornithine and lysine, attached via ethanolamine to Wang resin. Amino acids were sulfonylated with substituted 2-nitrobenzenesulfonyl chlorides. The resulting nitrobenzenesulfonamides were subsequently alkylated with diverse bromoketones or alcohols under Fukuyama-Mitsunobu conditions. Finally, base mediated cyclization to quinazolines was performed via indazol-oxides. On these derivatives were studied conditions for cyclization to spiro compounds.

Keywords: amino acids, solid phase synthesis, sulfonamides, quinazolines, spiro compounds

Number of pages: 66

Number of appendixes: 1

Language: Czech

## Seznam zkratek

<b>AcOH</b>	kyselina octová
<b>AIBN</b>	Azobisisobutyronitril
<b>Ala</b>	alanin
<b>BAL</b>	backbone amide linker
<b>BiOS</b>	Biology-oriented synthesis
<b>Bn</b>	benzoyl
<b>CDI</b>	1,1'-karbodiimidazol
<b>CNS</b>	centrální nervová soustava
<b>Ctd</b>	Complexity to diversity
<b>Dab</b>	diaminomáselná kyselina
<b>DBU</b>	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
<b>DCM</b>	dichlormethan
<b>DEAD</b>	diethyl azodikarboxylát
<b>DIBAL-H</b>	Diisobutylaluminium hydrid
<b>DIEA</b>	<i>N,N'</i> -diisopropylethylaminu
<b>DMF</b>	dimethylformamid
<b>DMAP</b>	4-dimethylaminopyridin
<b>DMP</b>	Dess–Martin periodinan
<b>DMSO</b>	dimethylsulfoxid
<b>DOS</b>	Diversity-oriented synthesis
<b>Et<sub>2</sub>O</b>	diethylether
<b>Fmoc</b>	9-fluorenylmethyloxycarbonyl
<b>Fmoc-Osu</b>	Fmoc-N-hydroxysukcinimid
<b>FOS</b>	Functional-oriented synthesis
<b>Gly</b>	glycin
<b>HBTU</b>	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- <i>O</i> -(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphate
<b>HOBt</b>	1-hydroxybenzotriazol
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>HRMS</b>	High-Resolution Mass Spektrometry
<b>HTS</b>	High-throughput screening
<b>Lys</b>	lysin

<b><i>m</i>-CPBA</b>	meta-chloroperoxybenzoová kyselina
<b>MeOH</b>	methanol
<b>MS</b>	hmotnostní spektroskopie
<b>MW</b>	mikrovlnný záhřev
<b>nd</b>	nedetekováno
<b>NHC</b>	<i>N</i> -heterocyklický karben
<b>NK-1</b>	neurokinin-1
<b>NMR</b>	nukleární magnetická rezonance
<b>Nos</b>	nitrobenzensulfonyl
<b>Orn</b>	ornitin
<b>PPh<sub>3</sub></b>	trifenylfosfin
<b><i>p</i>-TsOH</b>	<i>p</i> -toluensulfonová kyselina
<b>PYBOP</b>	(Benzotriazol-1-yl)oxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate
<b>rt</b>	pokožová teplota
<b>TBAF</b>	tetrabutylamonium fluorid
<b><i>t</i>-Boc, Boc</b>	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
<b><i>t</i>-BuLi</b>	<i>tert</i> -butyllithium
<b>TEA</b>	triethylamin
<b>TFA</b>	trifluoroctová kyselina
<b>THF</b>	tetrahydrofuran
<b>TIS</b>	triisopropylsilan
<b>TMS</b>	tetramethylsilan
<b>UPLC</b>	Ultra Performance Liquid Chromatography
<b>UV-Vis</b>	Ultrafialovo-viditelná spektroskopie

## Obsah

1. Úvod.....	10
2. Cíl práce.....	11
3. Teoretická část.....	12
3. 1. Syntéza na pevné fázi .....	12
3. 1. 1. Princip syntézy na pevné fázi .....	12
3. 1. 2. Vývoj syntézy na pevné fázi.....	13
3. 1. 2. 1. Kombinatoriální chemie, high-throughput screening ve výzkumu nových léčiv.....	14
3. 1. 2. 2. Strategie ve vyhledávání nových léčiv .....	14
3. 2. Chinazoliny.....	15
3. 2. 1. Syntéza chinazolinů na pevné fázi s využitím indazol-oxidu jako meziprojektu reakce.....	16
3. 2. 2. Rozdíl v reaktivitě derivátů 2- a 4-nitrobenzensulfonamidů .....	16
3. 2. 3. Získání indazol-oxidů tandemovou reakcí.....	17
3. 2. 4. Mechanismus expanze indazol-oxidu na chinazolin .....	19
3. 2. 5. Příklady chinazolinů s terapeutickým účinkem.....	19
3. 3. Spirosloučeniny .....	21
3. 3. 1. Biologická aktivita spirosloučenin.....	22
3. 3. 2. Syntéza vybraných spirolaktamových sloučenin .....	23
3. 3. 2. 1. Kaskádové multikomponentní reakce.....	23
3. 3. 2. 2. Katalyzované reakce 2 komponent .....	27
3. 3. 2. 3. Cyklizační reakce.....	28
3. 3. 2. 4. Syntéza vybraných spirosloučenin na pevné fázi .....	29
4. Výsledky a diskuze .....	31
4. 1. Popis syntetické cesty .....	31
4. 1. 1. Reakční schéma a použité reaktanty.....	31
4. 1. 2. Ukotvení na Wangovu pryskyřici .....	33
4. 1. 3. Esterifikace Fmoc-aminokyselinou .....	34



4. 1. 4. Deprotekce a sulfonylace .....	34
4. 1. 5. <i>N</i> -alkylace .....	35
4. 1. 6. Expanze cyklu na chinazoliny .....	38
4. 1. 7. Závěrečná cyklizace na spirosloučeniny.....	41
4. 1. 7. 1. Cyklické štěpení.....	42
4. 1. 7. 2. Cyklizace v roztoku .....	43
4. 1. 7. 3. Pokusy o tvorbu 7-členného cyklu.....	44
4. 2. Připravené sloučeniny .....	46
4. 2. 1. Biologická aktivita.....	47
4. 2. 2. Zachování integrity chirálního centra .....	47
5. Experimentální část.....	48
5. 1. Reakční nádoby a přístroje .....	48
5. 2. Štěpení produktu z pevné fáze a příprava vzorku na analýzu.....	48
5. 3. Syntéza derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu .....	49
5. 3. 1. Reakce s CDI a ethanolaminem.....	49
5. 3. 2. Esterifikace ukotveného ethanolaminu aminokyselinou .....	49
5. 3. 3. Deprotekce skupiny Fmoc .....	49
5. 3. 4. Reakce s 2-nitrobenzensulfonyl chloridem.....	49
5. 3. 5. Alkylace bromoketonem.....	49
5. 3. 6. Alkylace za Fukuyama-Mitsunobu podmínek .....	50
5. 3. 7. Cyklizace s DBU .....	50
5. 3. 8. Purifikace na semipreparativním HPLC a příprava vzorku na NMR.....	50
5. 4. Syntéza spirosloučenin odvozených od derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu .....	50
5. 5. Analytická data .....	51
6. Závěr .....	60
7. Literatura.....	62
Příloha I – NMR spektra	

## 1. Úvod

Tato bakalářská práce svým tématem navazuje na předchozí výzkum Katedry organické chemie Univerzity Palackého v Olomouci, zabývající se syntézou chinazolinů přes indazol-oxidy na pevné fázi. Práce je věnována syntéze derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu a studiu jejich cyklizace na spirosloučeniny. Příprava sloučenin byla provedena metodou syntézy na pevné fázi kombinatoriálním přístupem.

Chinazoliny jsou farmakologicky zajímavými látkami a vykazují řadu biologických aktivit. Zjištěny byly například protinádorové a antibakteriální účinky, dále byly také identifikovány jako antimalarika. Spirosloučeninám byla věnována pozornost vzhledem k současnému trendu medicíně, kterým je syntéza látek s 3D architekturou. Přítomný chirální  $sp^3$  hybridizovaný uhlík v molekule vytváří dobré vyhlídky ke vzniku nového potenciálního léčiva.

Teoretická část práce popisuje problematiku syntézy chinazolinů, která je dále využita v praktické části. Dále jsou uvedeny rešerše publikací, které ukazují různé způsoby syntézy spirosloučenin. V kapitolách Výsledky a diskuze a Experimentální část detailně rozebírám vlastní syntézu s úspěšnými i neúspěšnými pokusy o cyklizaci na cílové látky a řeším jejich biologickou aktivitu i stereochemii nově vzniklého chirálního centra.

## 2. Cíl práce

Hlavním cílem práce je příprava malé knihovny chinazolinů s variabilní substitucí skeletu za použití alaninu, 2,4-diaminomáselné kyseliny, ornitinu a lysinu jako výchozích látek a Wangovy pryskyřice jako polymerního nosiče. K rozmanitosti struktury byly využity různě substituované 2-nitrobenzensulfonylchloridy, bromoketony a aromatické alkoholy.

Dalším bodem práce je cyklizace vzniklých derivátů chinazolinů tvorbou peptidové vazby na spirosloučeniny s laktamovým kruhem a vytvoření malé knihovny těchto látek. Záměrem bylo nalezení vhodných podmínek pro cyklizaci a to předně metodou cyklického štěpení přímo z pryskyřice a potom pro cyklizaci v roztoku.

Součástí práce je také studium vlivu elektronových efektů substituentů na závěrečnou cyklizaci ale i na podmínky celé syntézy a biologickou aktivitu cílových látek. Kromě toho se budu v této práci zabývat také optickou aktivitou nově vzniklého chirálního centra.

### **3. Teoretická část**

V této části práce bude představena syntéza na pevné fázi a kombinatoriální přístup k syntéze, protože v rámci experimentální části byla vyvinuta syntéza aplikovatelná pro kombinatoriální syntézu. Bude vysvětlena zvolená problematika syntézy chinazolinů a blíže popsány biologické účinky těchto derivátů. Potom budou představeny různé způsoby syntézy spirosloučenin. S ohledem na to, že v praktické části je cílem připravit spirosloučeniny s laktamovým kruhem, byly pro řešerši zvoleny syntézy molekul s podobnou strukturou.

#### **3. 1. Syntéza na pevné fázi**

Syntéza na pevné fázi byla pro tuto bakalářskou práci zvolena kvůli jednoduchosti a rychlosti provedení, které nevyžaduje izolaci meziproductů. Jedná se o známou metodologii ve vývoji nových léčiv, která umožňuje rychlou přípravu knihovny látek. Z důvodu rychlé syntézy většího množství látek je zde také lepší možnost studia vztahu mezi jejich strukturou a biologickou aktivitou.

Výhoda syntézy na pevné fázi spočívá především ve snadnosti separace meziproductů navázaných na pevný nosič od rozpustných složek v reakční směsi jednoduchou filtrací a promytím pryskyřice. Rovněž umožňuje použití rozpouštědel s vysokým bodem varu bez nutnosti jejich odpaření. Díky jednoduchému a opakujícímu se procesu syntézy lze celý systém automatizovat.<sup>1</sup>

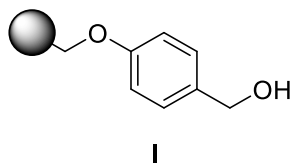
##### **3. 1. 1. Princip syntézy na pevné fázi**

Principem syntézy na pevné fázi je použití nerozpustného polymeru s reaktivní funkční skupinou, na kterou se kovalentní vazbou navazuje vhodný reaktant. Připojením první výchozí látky dojde k ukotvení na pryskyřici. Tento krok se nazývá imobilizace a je určující pro další průběh syntézy. Ukotvení výchozí látky se provádí přes funkční skupinu. Množství aktivních míst se definuje jako tzv. loading a udává se v mmol na gram pryskyřice.<sup>2</sup> Následně je možné připojovat další reagencie až do vzniku cílové látky bez nutnosti izolace a čištění vzniklých meziproductů.

Aby bylo možné produkt po provedení reakční sekvence odštěpit z polymerního nosiče bez toho, aby se poškodil štěpícím činidlem, vsune se mezi pryskyřici a první imobilizovanou látku tzv. linker. Vazba linkeru na polymer by neměla být štěpitelná za podmínek štěpení produktu. Druhá vazba mezi linkerem a nově vznikající strukturou je za velmi specifických podmínek štěpitelná. Dostupné jsou pevné nosiče s různými

linkery, k nejpoužívanějším patří tzv. Wangova hydroxymethylová pryskyřice (**Obrázek 1**)<sup>3</sup>, která byla použita v experimentální části práce.

**Obrázek 1:** Struktura Wangova hydroxymethylenového linkeru



V minulosti se jako reakční nádoby v syntéze na pevné fázi používaly skleněné nádoby. Jednoduchou a levnou možností je použití polypropylenových stříkaček s porézní fritou uvnitř. Dále se používají také tzv. SynPhase lucerny. Unikátní tvar luceren poskytuje maximální povrchovou plochu. Jako další reakční nádoby se používají i tzv. čajové sáčky, teflonové oplatky, kapsle, monolitické disky a další.<sup>1,2</sup>

### 3. 1. 2. Vývoj syntézy na pevné fázi

Počátek syntézy na pevné fázi odstartovala v roce 1963 publikace Roberta Bruce Merrifielda o novém přístupu k přípravě peptidů, který představoval díky vynechání izolace meziproductů značné urychlení v syntéze peptidů.<sup>4</sup> Díky své práci na chemii peptidů získal mnoho ocenění a v roce 1984 mu byla udělena Nobelova cena.

Ve stejné době jako profesor Merrifield pracoval na podobném nápadu Robert Lewis Letsinger, který na pevné fázi syntetizoval nukleové kyseliny.<sup>5</sup> Jeho publikace o polymerních nosičích vyšla ve stejném časopise o pár týdnů později.<sup>6</sup>

Po rozšíření syntézy peptidů na pevné fázi bylo mnoho pokusů o tvorbu dalších látek tímto způsobem. Jednalo se zejména o oligonukleotidy a oligosacharidy. Konstrukce oligosacharidů na pevné fázi byla iniciována Frechetsovou syntézou di- a trisacharidů na polymerním nosiči v roce 1971.<sup>7</sup>

První příklad syntézy heterocyklických sloučenin s nepolymerním charakterem na pevné fázi byl publikován v roce 1992 Barry A. Buninem a Jonathan A. Ellmanem, kteří popsali syntézu knihovny 1,4-benzodiazepinů. Na příkladu jedné z nejvýznamnějších skupin biodostupných terapeutických látek tak demonstrovali použití syntézy na pevné fázi jako nástroj ve vývoji nových léčiv odvozených od malých organických molekul.<sup>8</sup>

Heterocyklické sloučeniny jsou velice zajímavé z hlediska různorodosti struktur a terapeutických účinků. Během hledání nových biologických cílů tak došlo k velkému rozmachu kombinatoriálních knihoven heterocyklických sloučenin připravovaných na

pevné fázi, což je na příkladech rozmanitých heterocyklů obsahujících jako heteroatomy dusík, kyslík, síru zdokumentováno například v review A. Nefziho.<sup>9</sup>

### **3. 1. 2. 1. Kombinatoriální chemie, high-throughput screening ve výzkumu nových léčiv**

Na konci devadesátých let dvacátého století se do popředí v objevování nových struktur léčiv dostala kombinatoriální chemie. Kombinatoriální chemie je koncept pro tvorbu chemických knihoven sloučenin z daného počtu výchozích látek kombinačním způsobem. Cílem je vytvořit velká množství chemických sloučenin s použitím malého množství činidel ve všech možných kombinacích.<sup>2</sup> Časté je spojení kombinatoriální chemie se syntézou na pevné fázi.

V objevování nových látek hraje velkou roli High-throughput screening (HTS), který umožňuje rychlé provádění milionů chemických a farmakologických testů díky používání screeningových robotů. Výsledky těchto experimentů pomáhají pochopit vztah mezi strukturou a biologickým účinkem nových látek a pomáhají tak nalézt screeningové hity ve vývoji nových léčiv. Tyto hity představují chemické výchozí body, které je ovšem třeba dále optimalizovat.<sup>10</sup>

Testování knihovny látek čítající 10 000 látek může trvat týden, 1 milionu sloučenin pak může být otestován v průběhu 1-3 měsíců. Z toho plyne, že je potřeba generovat velké množství chemických sloučenin pro testování, a právě to dokáže syntéza na pevné fázi. V současnosti se tak spíše než samotná příprava látek stává hlavním problémem to, jaké látky pro syntézu zvolit.<sup>11</sup>

### **3. 1. 2. 2. Strategie ve vyhledávání nových léčiv**

Existuje celá řada strategií pro vyhledávání nových léčiv. Jedním z přístupů je Diversity-oriented synthesis (DOS), která popisuje syntézu strukturně různorodých sbírek molekul. V DOS je rozhodující variabilita skeletu molekuly, o které se uvádí, že poskytuje požadovaný biologický účinek. Prohledávání těchto knihoven může pomoci identifikovat nové sloučeniny s danými chemickými a farmakologickými vlastnostmi.<sup>12</sup>

Dalším přístupem k objevu nových léčiv je Functional-oriented synthesis (FOS). Hlavní myšlenkou této metody je obejít nevýhody biologicky aktivních přírodních produktů. Ty je většinou obtížné získat z přírodních zdrojů.<sup>11</sup>

Často využívanou strategií je také Biology-oriented synthesis (BiOS), kde principem je použití skeletu biologicky aktivní přírodní látky jako počátečního bodu

syntézy knihovny látek. Známý jsou také další principy vyhledávání nových léčiv, jako například Complexity to diversity (CtD) nebo Hybridní molekuly.<sup>11</sup>

Pro svou práci jsem použila metodu privilegovaných struktur, kterými jsou v tomto případě chinazoliny, a látek s 3D architekturou. Termín privilegovaná struktura byl poprvé použit Evansem v roce 1988<sup>13</sup> a byl definován jako jeden molekulární rámec, který je schopný poskytnout ligandy pro různé receptory. Jsou to struktury s velkým potenciálem v medicíně.<sup>14</sup>

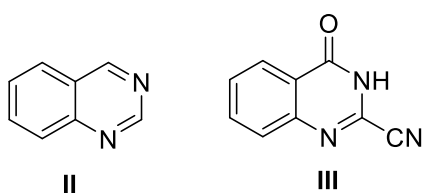
Syntéza látek s 3D architekturou a sp<sup>3</sup> hybridizovaným chirálním uhlíkem je současným trendem v medicíně. Spirosloučeniny jsou ideálními modelovými látkami a takováto struktura může látku zvýšit šance k využití jako potenciálního léčiva.<sup>15</sup>

### 3. 2. Chinazoliny

Chinazolinový skelet (**II, Obrázek 2**) je tvořen dvěma přikondenzovanými 6-člennými aromatickými kruhy – benzenem a pyrimidinem. Látky obsahující tento heterocyklus se vyskytují v přírodě například ve formě chinazolinových alkaloidů a byly izolovány z rostlin, bakterií i zvířat.<sup>16</sup>

Z hlediska medicíny se jedná o jeden z nejprostudovanějších strukturálních motivů<sup>17,18</sup> a tyto deriváty vykazují řadu biologických vlastností. Například jsou protirakovinné,<sup>19-21</sup> protinádorové,<sup>22</sup> antibiotické,<sup>23</sup> protizánětlivé,<sup>24</sup> antimalarické,<sup>25</sup> proti vysokému tlaku<sup>26</sup> a mnoho dalších. Chinazoliny tedy můžeme právem označit za privilegované struktury.

**Obrázek 2:** Chinazolinový strukturální motiv



První syntetický chinazolinový derivát, 2-kyano-3,4-dihydro-4-oxochinazolin (**III, Obrázek 2**), byl připraven P. Griessem již v roce 1869 z kyseliny anthranilové.<sup>27</sup> Od té doby bylo publikováno mnoho dalších syntéz chinazolinových derivátů a existuje velký počet review zaměřených na chemii, syntézu a biologickou aktivitu chinazolinů.<sup>18,21,28,29</sup>

Deriváty chinazolinů se běžně připravují i pomocí syntézy na pevné fázi.<sup>22</sup> Rešeršní část bakalářské práce se bude dále zabývat pouze syntézou chinazolinů na pevné fázi přes indazol-oxidy jako meziprodukty.

### **3. 2. 1. Syntéza chinazolinů na pevné fázi s využitím indazol-oxidu jako meziprojektu reakce**

V roce 2008 se v rámci spolupráce Dr. V. Krchňáka z Univerzity Notre Dame s Katedrou organické chemie v Olomouci podařilo objevit zajímavou chemickou transformaci derivátů nitrobenzensulfonamidů. Jednalo se o zásadní rozdíl v reaktivitě 2- a 4-nitrobenzensulfonamidů vyvolanou působením báze. Reaktivita 2-nitro substituovaných derivátů vedla k přesmyku na indazol-oxidy<sup>30</sup> a tím se otevřela celá kapitola chemie, kde 2-nitrobenzensulfonamidy hrály roli „zvýhodněných meziprojektů“ (advanced intermediates)<sup>31</sup> v syntéze celé řady dusíkatých heterocyklů odvozených od indazolů, chinazolinů, indolů, benzothiadiazepinonů a thiazinů.<sup>32</sup>

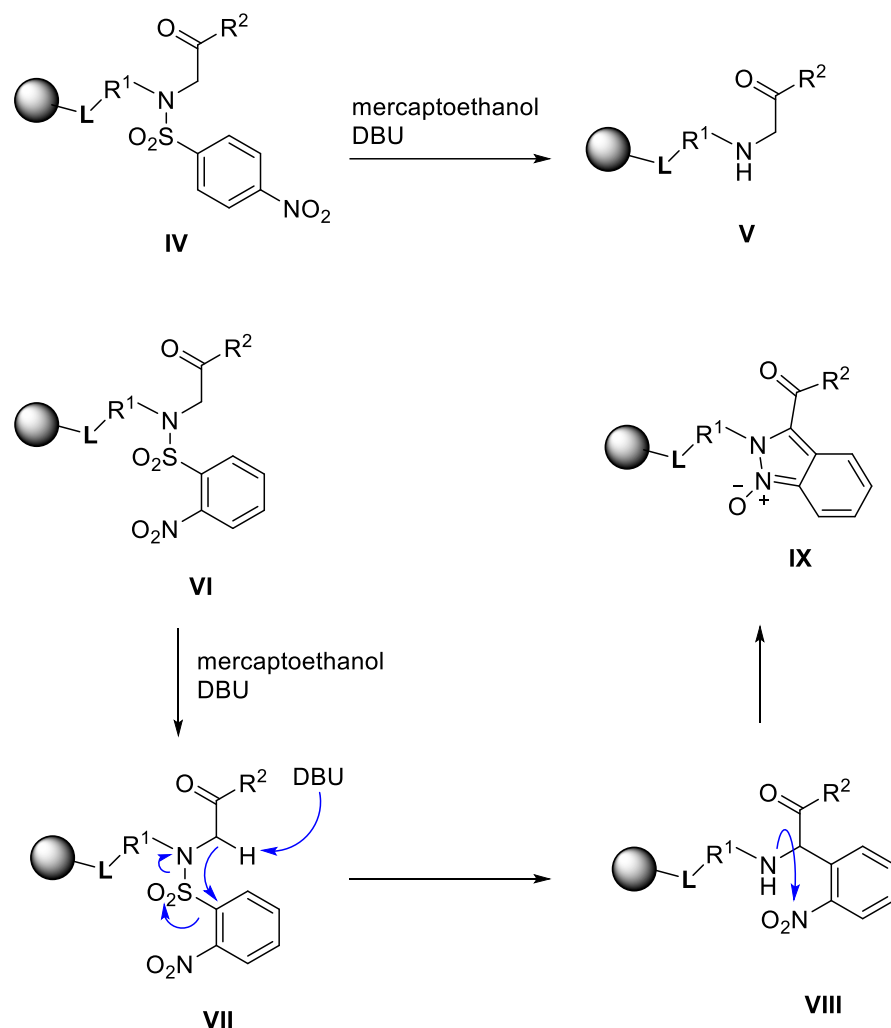
Tato bakalářská práce rovněž přispívá do této tematiky a to syntézou chinazolinů s kvarterním uhlíkem, které mohou být přeměněny ve spiro látky, farmakologicky relevantní sloučeniny. I v této chemii hraje stěžejní roli bazicky katalyzovaný přesmyk derivátů 2-nitrobenzensulfonamidů na indazol-oxidy a následné rozšíření jejich heterocyklického kruhu z 5 na 6-členný.

### **3. 2. 2. Rozdíl v reaktivitě derivátů 2- a 4-nitrobenzensulfonamidů**

2-Nos (nitrobenzensulfonyl) a 4-Nos skupiny se běžně používají jako aktivační skupiny pro regioselektivní monoalkylaci sekundárních aminů podle Fukuyama varianty Mitsunobu alkylace. Po provedení alkylace se Nos skupina odstraňuje působením směsi merkptoethanol/DBU.<sup>33</sup> Při provedení analogických reakcí na 2-nitrobenzenesulfonylovaných  $\alpha$ -aminoketonech (**VI**, **Schéma 1**) však došlo ke vzniku indazol-oxidů (**IX**). Tato transformace zahrnovala tandem dvou reakcí – vytvoření vazby C-C (C-aryl **VIII**) následované vznikem vazby N-N. Zatímco u 2-nitro substituovaných derivátů došlo ke vzniku heterocyklu, u 4-nitro substituovaných analog došlo k očekávanému odštěpení Nos skupiny (**V**).<sup>30</sup>



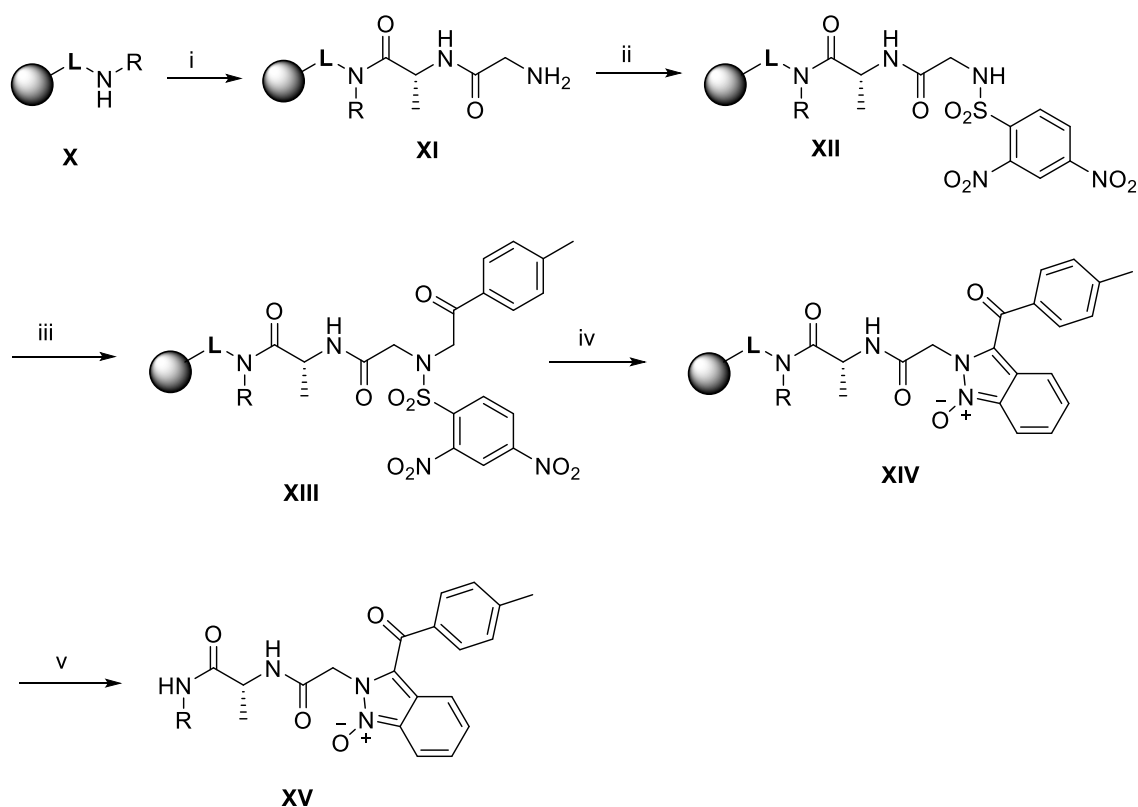
**Schéma 1:** Rozdíl v reaktivitě 2-Nos a 4-Nos-derivátů a mechanismus tvorby indazol-oxidu



### 3. 2. 3. Získání indazol-oxidů tandemovou reakcí

Dipeptid Fmoc-Ala-Gly-NH-(4-CH<sub>3</sub>)Bn (**XI**, Schéma 2) byl připravený na BAL pryskyřici. Chránící skupina Fmoc (9-fluorenylmethyloxycarbonyl) byla odštěpena a volná aminoskupina potom reagovala s 2,4-dinitrobenzensulfonyl chloridem za vzniku sulfonamidu (**XII**). Další reakcí byla alkylace s bromketonem za vzniku *N*-(2-oxo-2-arylethyl)-2,4-dinitrobenzensulfonamidu (**XIII**). Bazicky katalyzovanou tandemovou reakcí, formující vazbu uhlík - uhlík a následně dusík - dusík se převedl *N*-(2-oxo-2-arylethyl)-2,4-dinitrobenzensulfonamid na 2*H*-indazol-1-oxid (**XIV**) za mírných podmínek. Deoxygenací mesyl chloridem v přítomnosti triethylaminu bylo možné získat příslušný 2*H*-indazol.<sup>30</sup>

**Schéma 2:** Syntéza 2*H*-indazol-1-oxidů (**15**) tandemovou reakcí

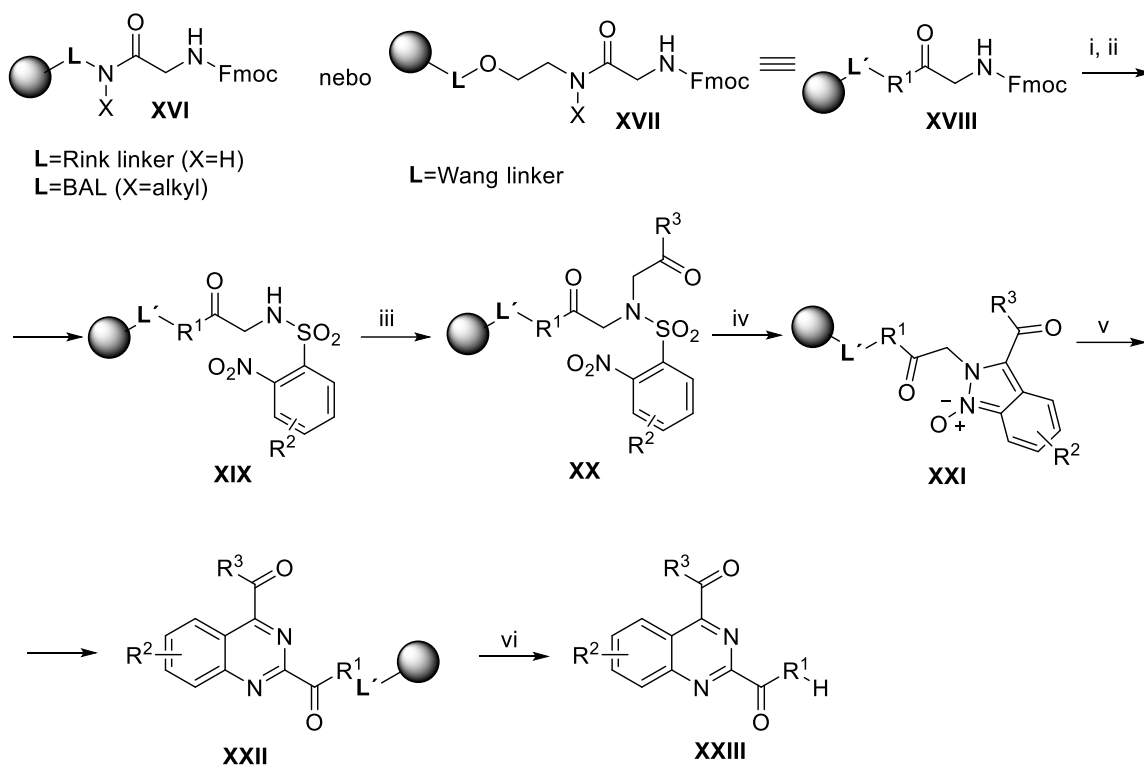


Podmínky: (i) tradiční Fmoc peptidová syntéza; (ii) 2,4-dinitrobenzensulfonyl chlorid, lutidin, DCM, 16 h; (iii) 2-bromo-4'-methylacetofenon, DIEA, DMF, 16 h; (iv) DBU, DMF, 30 min; (v) 50% TFA v DCM, 30 min

V roce 2010 se vědci dříve popsáním způsobem tvorby indazol-oxidů inspirovali k tvorbě složitějších struktur. U cílových indazol-oxidů obsahujících kyselý alfa vodík vedle karbonylové funkční skupiny v poloze 2 indazolového kruhu došlo působením báze k expanzi na deriváty chinazolinu.<sup>34</sup>

K syntéze byla použita Rinkova pryskyřice acylovaná Fmoc-Gly-OH. Později byly využity i alkylovaná BAL pryskyřice a ethanolaminem derivatizovaná Wangova pryskyřice. Připravena byla řada modelových sloučenin s různě substituovanými 2-Nos-chloridy a bromoketony (**Schéma 3**).<sup>34</sup>

### Schéma 3: Syntéza chinazolinů na pevné fázi



Podmínky: (i) piperidin, DMF, 15 min; (ii) 2-nitrobenzonsulfonyl chlorid, lutidin, DCM, přes noc; (iii) bromoketon, DMF, 0,5-7 h; (iv) DBU, DMF, 30 min; (v) DBU, DMF, 10 min-celý den; (vi) 50% TFA v DCM, 30 min

#### 3. 2. 4. Mechanismus expanze indazol-oxidu na chinazolin

Přeskupení na chinazoliny je bazicky katalyzované. Začíná štěpením vazby dusík – dusík, způsobeným přítomností *N*-oxidu, který je odpovědný za aktivaci elektron-deficitního dusíku, a dále působením DBU jako báze, která sloučenině odebírá proton. Tvorba *N*-hydroxy derivátu (**XXIa**, Schéma 4) byla důležitá kvůli následné eliminaci vody, usnadňující formování vazby uhlík – dusík (**XXIb**).<sup>34</sup>

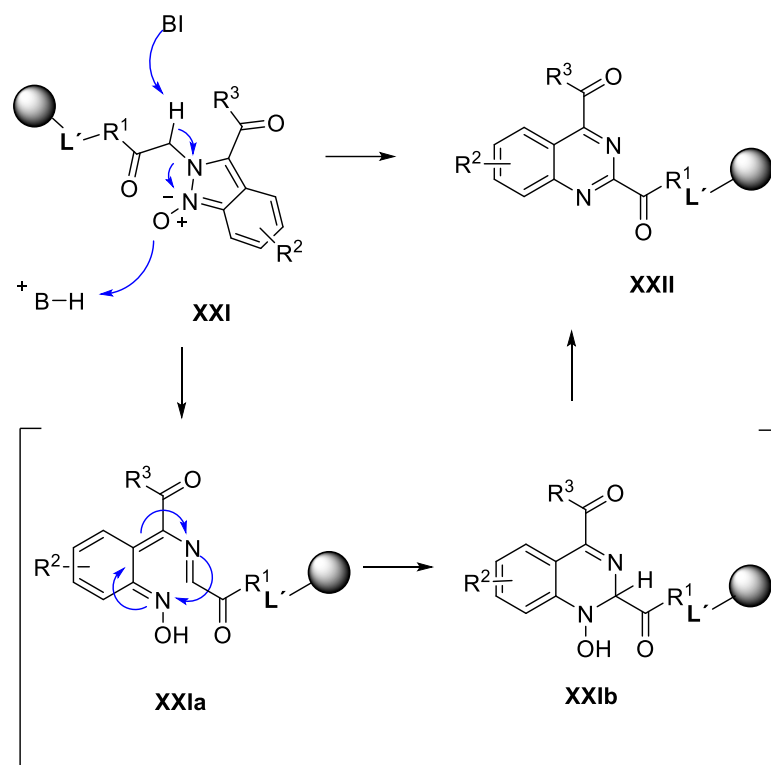
#### 3. 2. 5. Příklady chinazolinů s terapeutickým účinkem

Chinazolinové deriváty jsou atraktivní cíle pro chemickou syntézu a tvoří důležitou součást farmakologicky aktivních látek.

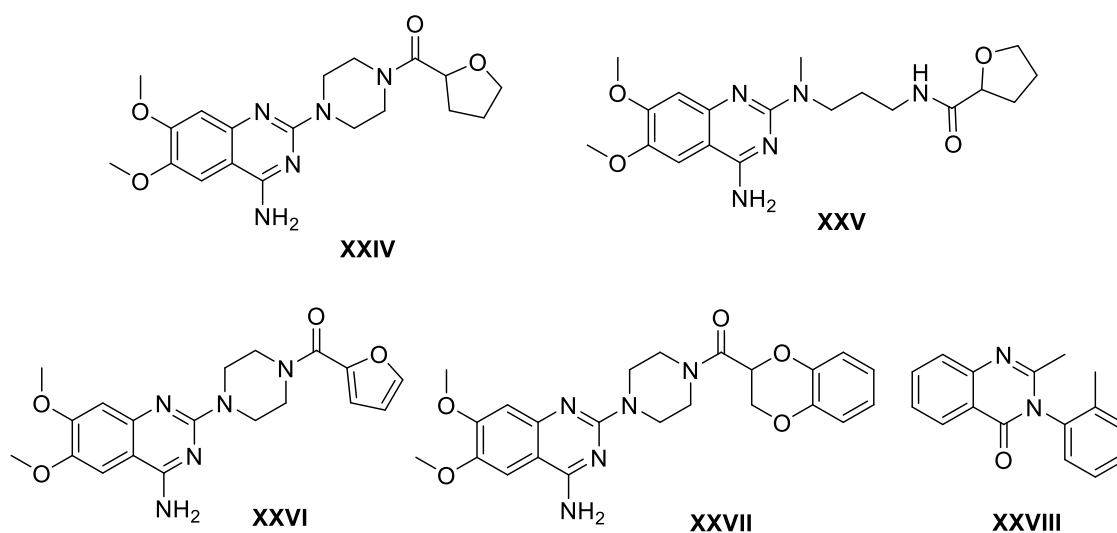
Řada derivátů chinazolinů se používá jako léčiva. Mezi nejznámější léčiva s touto strukturou patří terazosin (**XXIV**), který patří do skupiny léčiv označovaných jako selektivní blokátory alfa-1 receptorů. Používá se k léčbě vysokého krevního tlaku a závažných příznaků vyvolaných zvětšenou prostatou, což je onemocnění zvané benigní

hyperplazie prostaty. Stejně působí léčiva alfuzosin (**XXV**), prazosin (**XXVI**), doxazosin (**XXVII**). Sedativně-hypnotické účinky má methakvalon (**XXVIII**).<sup>17</sup>

**Schéma 4:** Předpokládaný mechanismus tvorby chinazolinu



**Obrázek 3:** Příklady derivátů chinazolinů s terapeutickým účinkem



### 3. 3. Spirosloučeniny

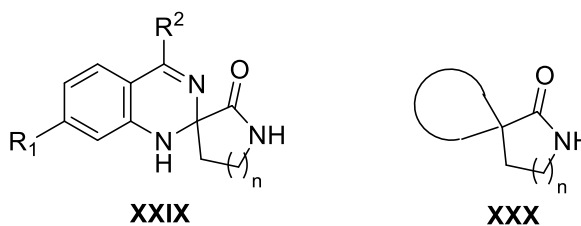
Bicycklické sloučeniny sdílející jeden atom uhlíku společný pro dva kruhy jsou známy jako spirosloučeniny. Důsledkem tetrahedráního uspořádání kvarterního spiro uhlíku jsou roviny kruhů téměř kolmé. Takové molekuly pak nejsou ploché a vykazují zajímavou 3D architekturu. Díky chirálnímu spiro uhlíku mají tyto molekuly asymetrický charakter a představují pozoruhodný strukturní motiv vyskytující se v přírodních látkách.

Tyto sloučeniny se v poslední době staly zajímavým cílem v organické syntéze vzhledem k jejich konformačním vlastnostem a působení na biologické systémy. Charakteristické znaky molekuly vzhledem k chirálnímu spiro uhlíku jsou důležitými kritérii pro vznik biologické aktivity.<sup>35</sup> Zájem o spirosloučeniny roste v celé řadě chemických a technologických procesů, jako je například asymetrická syntéza nebo organická optoelektronika.<sup>36</sup> Proto je žádoucí hledat další možné syntézy spirosloučenin, zejména pokud vedou k enantioselektivní tvorbě kvarterního stereocentra.<sup>37</sup>

Spirosloučeniny fascinují chemiky už více než sto let. První spiran vytvořil Bayer už v roce 1900.<sup>38</sup> Do dnešní doby byla publikována řada review zabývajících se spirosloučeninami z hlediska syntézy, reaktivity i biologických účinků.<sup>35,37,39</sup> Byla zveřejněna řada výzkumů zahrnujících různé syntetické postupy směřující ke spirosloučeninám. Velká pozornost je mířena k syntéze spiroheterocyklů, které byly studovány pro jejich značnou biologickou aktivitu. Tvorba těchto látek je současným trendem v medicíně a sp<sup>3</sup> hybridizovaný uhlík se stále častěji stává centrálním jádrem potenciálních léčiv.

Vzhledem k tomu, že existuje obrovské množství zástupců spirosloučenin (spiro-laktony, spiroketaly, spiroacetal, atd.) a s ohledem na téma této bakalářské práce byl pro rešerši spirosloučenin vybrán strukturní motiv laktamového kruhu (**Obrázek 4**).

**Obrázek 4:** Struktura cílových látek této práce (**XXIX**) a obecný vzorec spiro-laktamů (**XXX**).



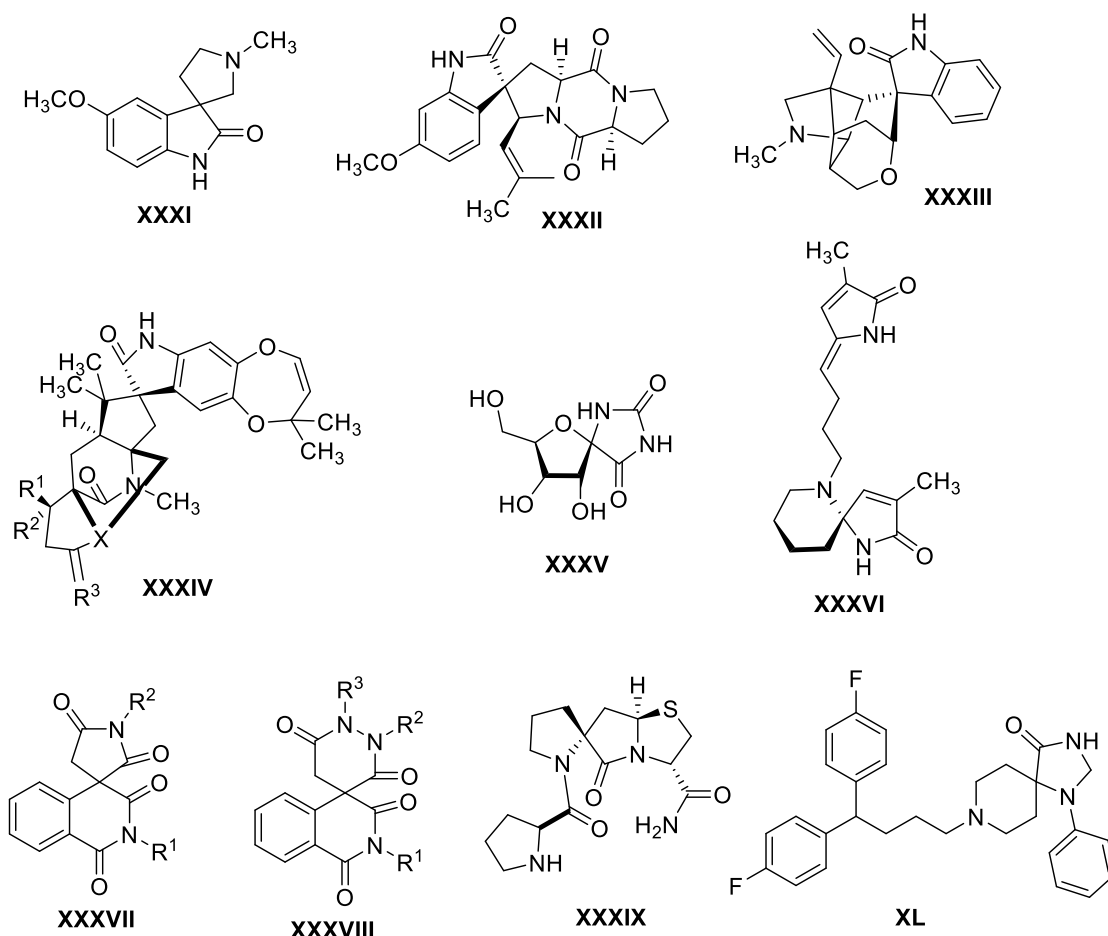
### 3. 3. 1. Biologická aktivita spirosloučenin

Spirolaktamový systém je stále se opakujícím strukturálním motivem v celé řadě přírodních i syntetických biologicky aktivních látek.

Deriváty spiro-oxindolu mají široké použití jako antimikrobiální, protinádorová a antibiotická činidla a inhibitory lidského NK-1 receptoru.<sup>23</sup> Patří sem alkaloid Horsfilin (**XXXI, Obrázek 5**)<sup>40</sup>, který se používá v tradiční medicíně v Malajsii. Dále se jedná o alkaloid Spirotryptostatin A (**XXXII**)<sup>41</sup>, formálně odvozený od tryptofanu a nesoucí pyrrolový kruh přikondenzovaný k diketopiperazinu, u něhož byla zjištěna protinádorová aktivita. Toxické vlastnosti vykazuje CNS stimulant Gelsemin (**XXXIII**)<sup>42</sup> a plísňový metabolit Paraherkvamid B (**XXXIV**)<sup>43</sup>, mající potenciální antiparazitickou aktivitu. Hydantocidin (**XXXV**)<sup>44</sup> tvořený unikátní spironukleosidovou strukturou má herbicidní účinky. Záskupce skupiny piperidinových alkaloidů Pandamarin (**XXXVI**)<sup>45</sup> obsahující ve své struktuře rovněž spirolaktamovou podjednotku a byl u něj zjištěn antihyperglykemický efekt.<sup>46</sup>

Ze syntetických látek je na místě zmínit spirobenzopyrany odvozené od sukcinimidu (**XXXVII**) a pyridazinu (**XXXVIII**)<sup>47</sup>, které byly studovány jako inhibitory aldosareduktasy a ukázaly se jako vhodné pro léčbu diabetes. Spirobicyklická peptidomimetika (**XXXIX**)<sup>48</sup> modulují aktivitu dopaminového receptoru. Ke klinicky používaným syntetickým léčivům založených na struktuře spirolaktamu patří Fluspirilen (**XL**)<sup>49</sup>, mající antipsychotické účinky.

**Obrázek 5:** Vybrané biologicky aktivní spirolaktamy – přírodní i syntetické



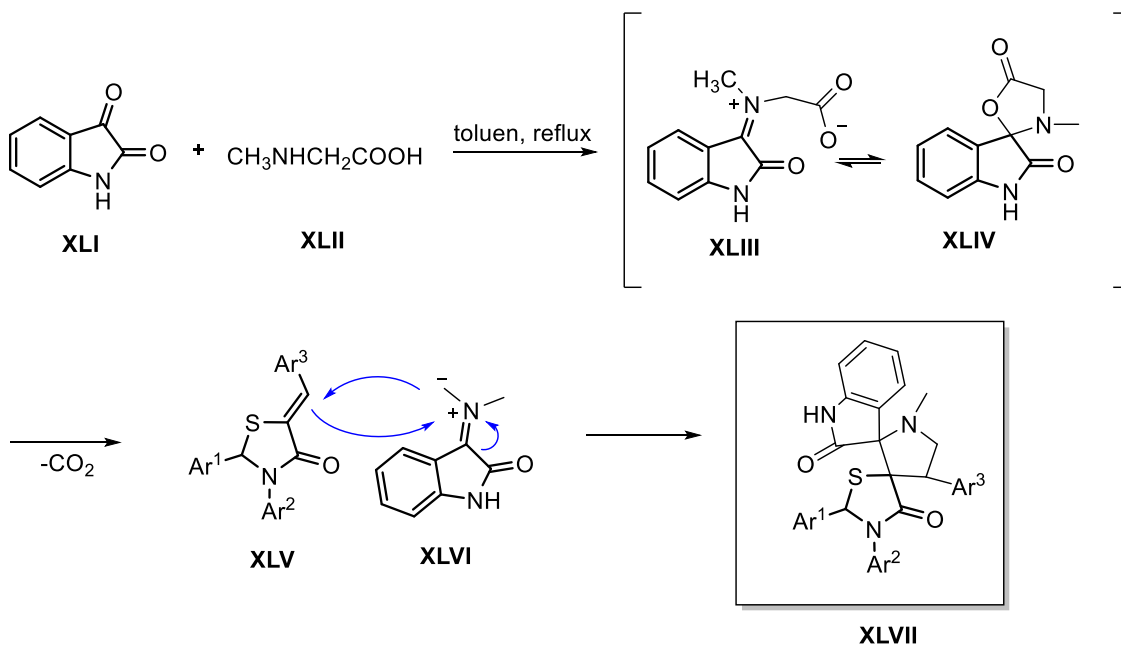
### 3. 3. 2. Syntéza vybraných spirolaktamových sloučenin

Nedávná izolace biologicky aktivních přírodních látek na bázi spirolaktamů vedla k intenzivnímu výzkumu syntéz vedoucích k těmto sloučeninám. Často se tyto syntézy zaměřují na přístup ke spiro-oxindolům, protože se jedná o analoga Horsfilinu, Spirotryptostatínu, Gelseminu a dalších. Výchozím materiálem tak často bývá isatin. Byly popsány syntézy založené na kaskádových reakcích, používání katalyzátorů, na cyklizačních reakcích a mnoha dalších. Většinou se jedná o syntézy v roztoku, ale existují i příklady syntéz na pevné fázi.

#### 3. 3. 2. 1. Kaskádové multikomponentní reakce

V syntéze dispirosločenin (**XLVII**, **Schéma 5**) vycházel Feng s kolegy ze 3 komponent - isatinu (**XLI**), 2,3,5-trisubstituovaného 4-thiazolidinonu (**XLV**) a sarkosinu (**XLII**). Autoři předpokládají nejprve vznik azomethin ylidu (**XLVI**), který následně reaguje 1,3-dipolární cykloadicí s thiazolidinonem (**XLV**).<sup>50</sup>

**Schéma 5:** Syntéza dispirosloučenin metodou 1,3-dipolární cykloadice



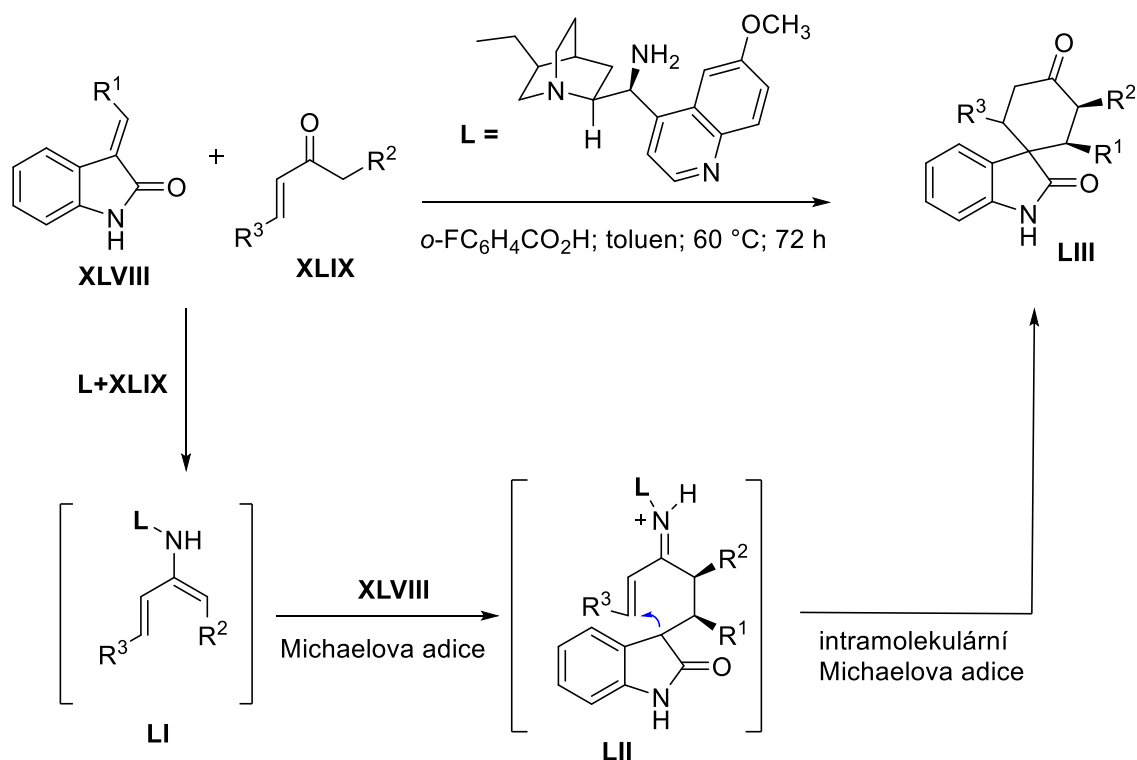
V roce 2009 Bencivenni et. al popsal využití reaktivity chirálních aminů (**L**, **LVI**; **Schéma 6 a 7**) v asymetrické organokaskádové katalýze vedoucí ke spirocyklickým oxindolům. Výzkum byl zaměřen na aktivaci karbonylových sloučenin, jako jsou ketony (**Schéma 6**) a aldehydy (**Schéma 7**).

V prvním případě (**Schéma 6**) látka **XLVIII** vystupovala podle očekávání jako Michaelův akceptor, který zachytil nukleofilní dienaminový intermediát (**LI**), generovaný kondenzací katalyzátoru **L** s  $\alpha,\beta$ -nenasyceným ketonem, za tvorby meziprojektu **LII**. Vzniklý nukleofil (**LII**) se pak selektivně zapojil do intramolekulární, iminium-katalyzované reakce za vzniku spiro-oxindolového derivátu (**LIII**).

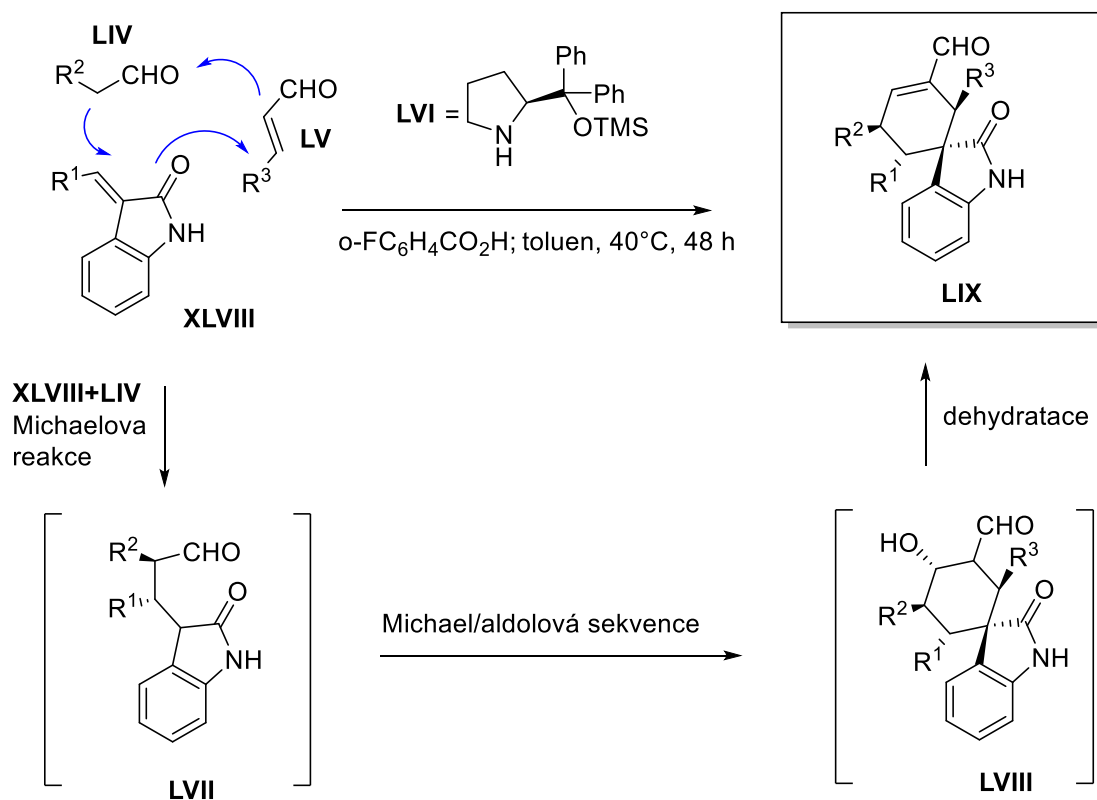
V druhém případě (**Schéma 7**) se jedná o trojitou organokaskádu enaminem katalyzované Michaelovy adice (**LVII**) a následně iminiem zprostředkované Michaelovy intramolekulární aldolové reakce za tvorby meziprojektu **LVIII**. Posledním krokem reakce je dehydratace za tvorby finální spirosloučeniny (**LIX**).<sup>51</sup>



**Schéma 6:** Tandem dvojitě Michaelovy adice se spiro-oxindoly jako cílovými látkami

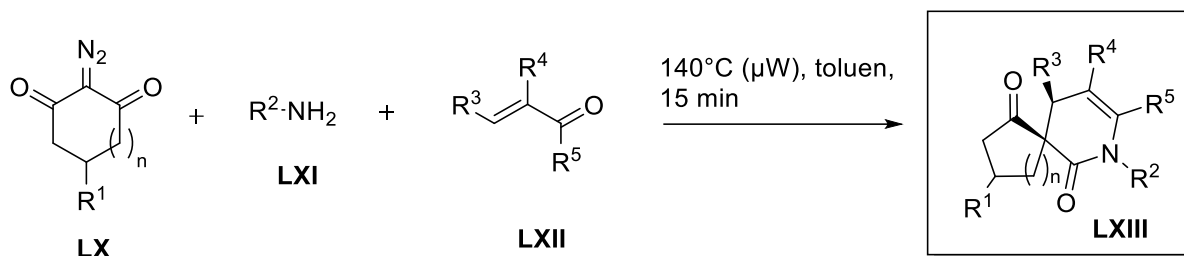


**Schéma 7:** Trojitá organokaskáda zprostředkovaná chirálním sekundárním aminem LVI cestou enamin-iminium-enaminové aktivace aldehydu



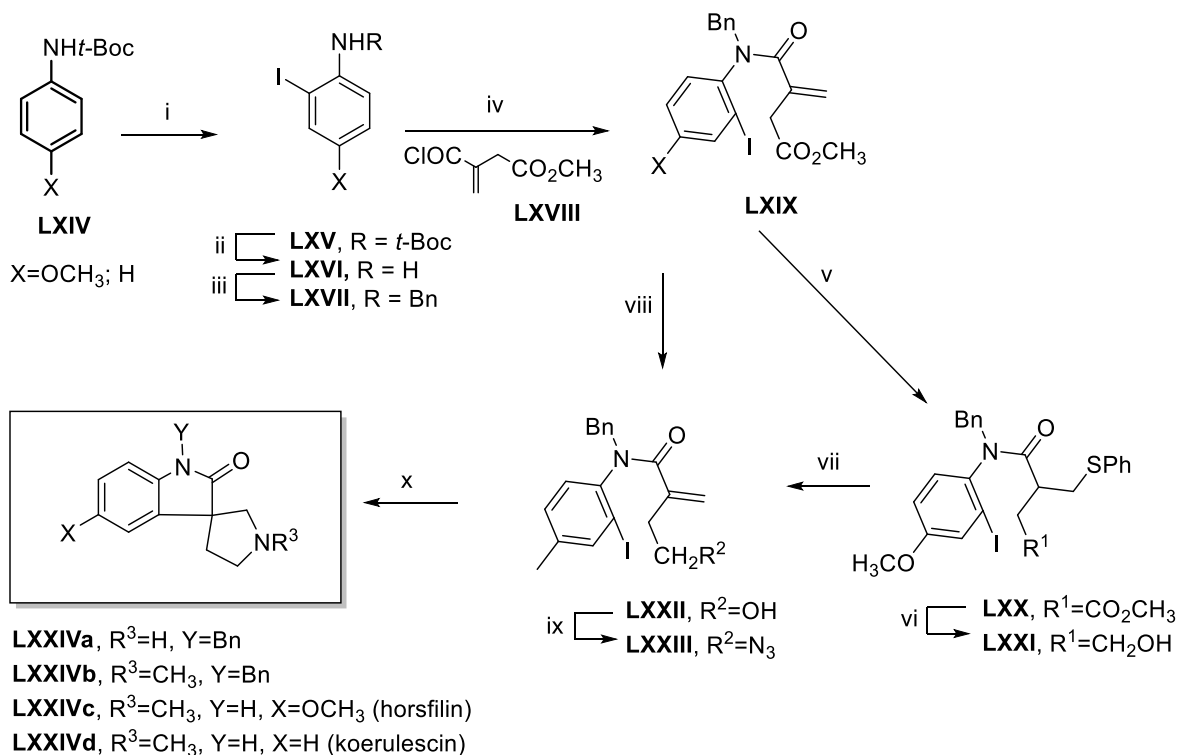
Presset et al. se ve své publikaci zabýval syntézou  $\alpha$ -spiro- $\delta$ -laktamů působením mikrovlnného záření. Využil Wolffova přesmyku 2-diazo-cykloalkan-1,3-dionů (**LX**, **Schéma 8**) jako velmi dobrého zdroje cyklických acylketenů. Působením mikrovlnného záření na primární aminy a  $\alpha,\beta$ -nenasycené aldehydy autoři generovali *in situ* 1-azadieny, které následně reagovaly s acylketenovým dienofilem cykloadiční reakcí za vzniku  $\alpha$ -spiro- $\delta$ -laktamu jako jediného diastereomeru ve vysokém výtěžku (**LXIII**).<sup>52</sup>

**Schéma 8:** Syntéza  $\alpha$ -spiro- $\delta$ -laktamů podle Presseta



Syntézu spiro-oxindolových derivátů horsfilinu (**LXXIVc**, **Schéma 9**) a koerulescinu (**LXXIVd**) publikoval Lizos a Murphy. Jednalo se o tandemovou radikálovou cyklizaci jodoaryl alkenyl azidů. U tří derivátů byla nalezena velká selektivní aktivita proti rakovinným buněčným liniím.<sup>53</sup>

**Schéma 9:** Syntéza horsfilinu a koerulescinu

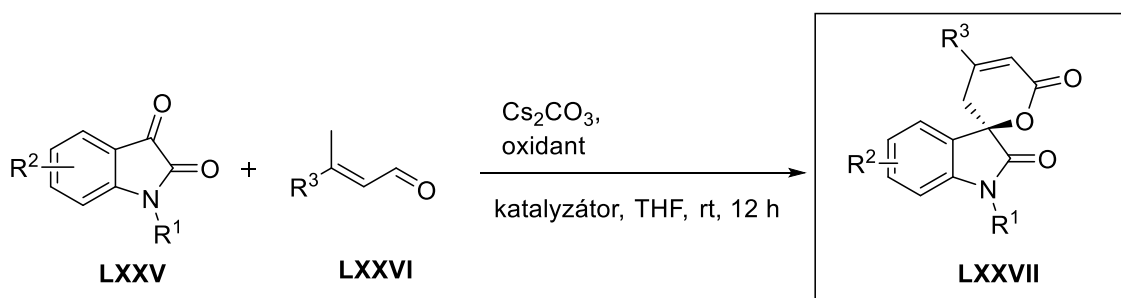


Podmínky: (i) *t*-BuLi, Et<sub>2</sub>O, -20 °C, potom ICH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>I; (ii) TFA, DCM, 0°C; (iii) ZnCl<sub>2</sub>, PhCHO, MeOH, NaCNBH<sub>3</sub>; (iv) Et<sub>3</sub>N, PhH; (v) PhSH, DBU, THF, Δ; (vi) DIBAL-H, PhMe, -78°C; (vii) *m*-CPBA, DCM, potom PhMe, Δ, 72 h; (viii) LiCl, NaBH<sub>4</sub>, EtOH, THF; (ix) PPh<sub>3</sub>, (PhO)<sub>2</sub>P(O)N<sub>3</sub>, DEAD, THF; (x) (Me<sub>3</sub>Si)<sub>3</sub>SiH, AIBN, PhH

### 3. 3. 2. 2. Katalyzované reakce 2 komponent

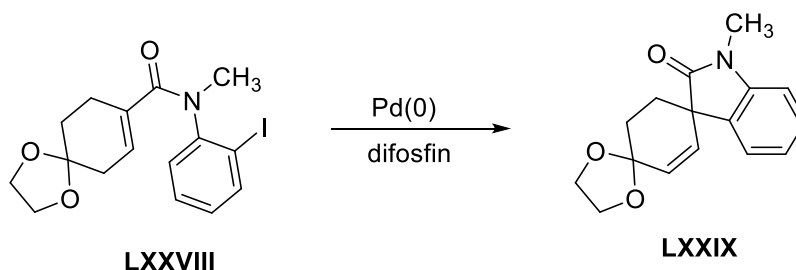
Poměrně nedávná studie X. Ronga se zabývá enantioselektivní syntézou spiroolaktamů. V této syntéze, zaměřené na spirooxindoly dochází k aktivaci  $\gamma$ -disubstituovaných enalů prostřednictvím *N*-heterocyklického karbenu (NHC) jako organokatalyzátoru. NHC organokatalýza má zvláštní schopnost potlačit přirozenou reaktivitu funkčních skupin. Studie tedy ukazuje chirální NHC katalyzovanou anulaci  $\beta$ -methyl substituovaných enalů s isatiny vedoucí k přípravě šestičlenných spiroolaktamů (**Schéma 10**).<sup>54</sup>

**Schéma 10:** Enantioselektivní syntéza spiroolaktamů



Kvarterní spirouhlík může být vytvořen také asymetrickou Heckovou cyklizací. Spiro-oxindoly byly vytvořeny podle následujícího schématu (**Schéma 11**). V reakci došlo k cyklizaci jodidu s použitím Pd(OAc)<sub>2</sub> a enantiomerně čistého chirálního difosfinu.<sup>55</sup>

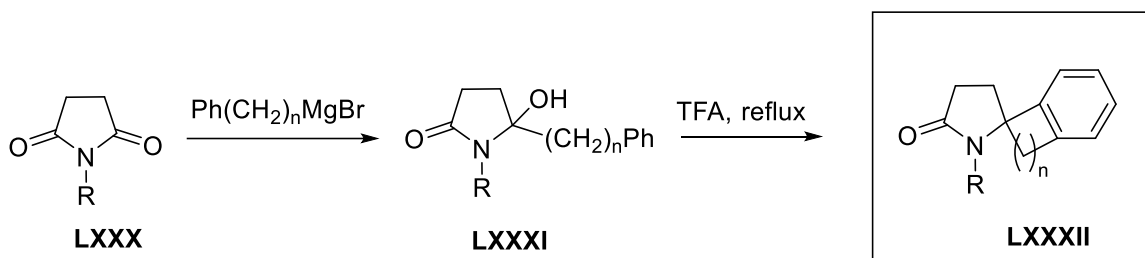
**Schéma 11:** Heckova cyklizace na spiro-oxindoly



### 3. 3. 2. 3. Cyklizační reakce

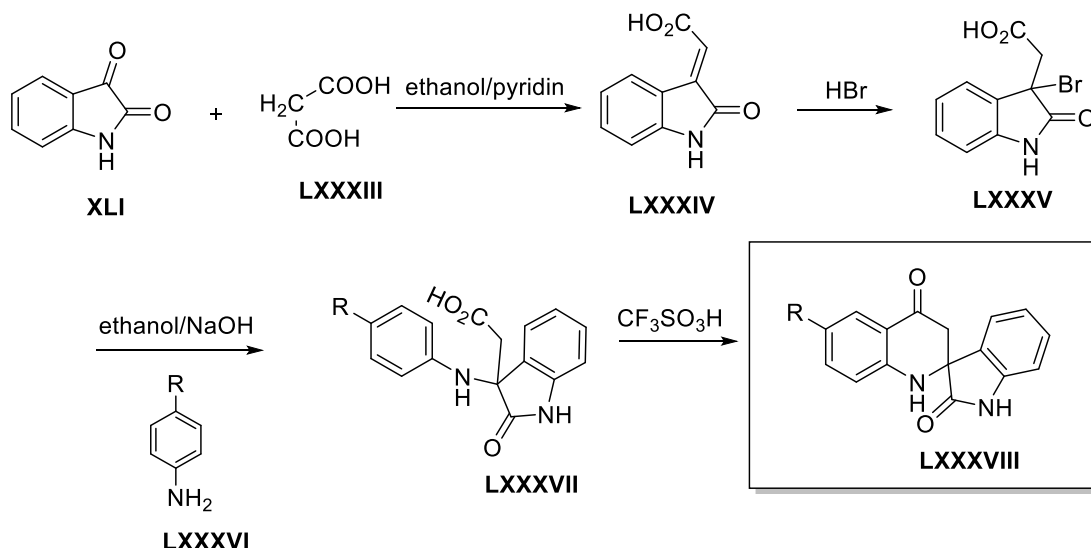
Bailey ve své publikaci popsal  $\alpha,\alpha$ -cyklizaci *N*-acyliminiových iontů s aromatickým kruhem jako  $\pi$ -nukleofilem. Spiro 2-pyrrolidin-5-ony (**LXXXII**, **Schéma 12**) byly získány z *N*-substituovaných sukcinimidů (**LXXX**) dvoustupňovým postupem.<sup>56</sup>

**Schéma 12:** Syntéza spiro-2-pyrrolidin-5-onů z *N*-substituovaných sukcinimidů



Al-Thebeiti publikoval syntézu 1',2',3',4'-tetrahydrospiro[indoline-3,2'-chinolin]-2,4'-dionů (**LXXXVIII**, **Schéma 13**) jako další příklad spirocyklických oxindolů. Deriváty byly připraveny interakcí mezi *p*-substituovanými aniliny (**LXXXVI**) a deriváty isatinu (**LXXXV**). Získané produkty byly cyklizovány na spirocyklické chinoliny pomocí kyseliny trifluormethansulfonové.<sup>57</sup>

**Schéma 13:** Syntéza 1',2',3',4'-tetrahydrospiro[indoline-3,2'-chinolin]-2,4'-dionů

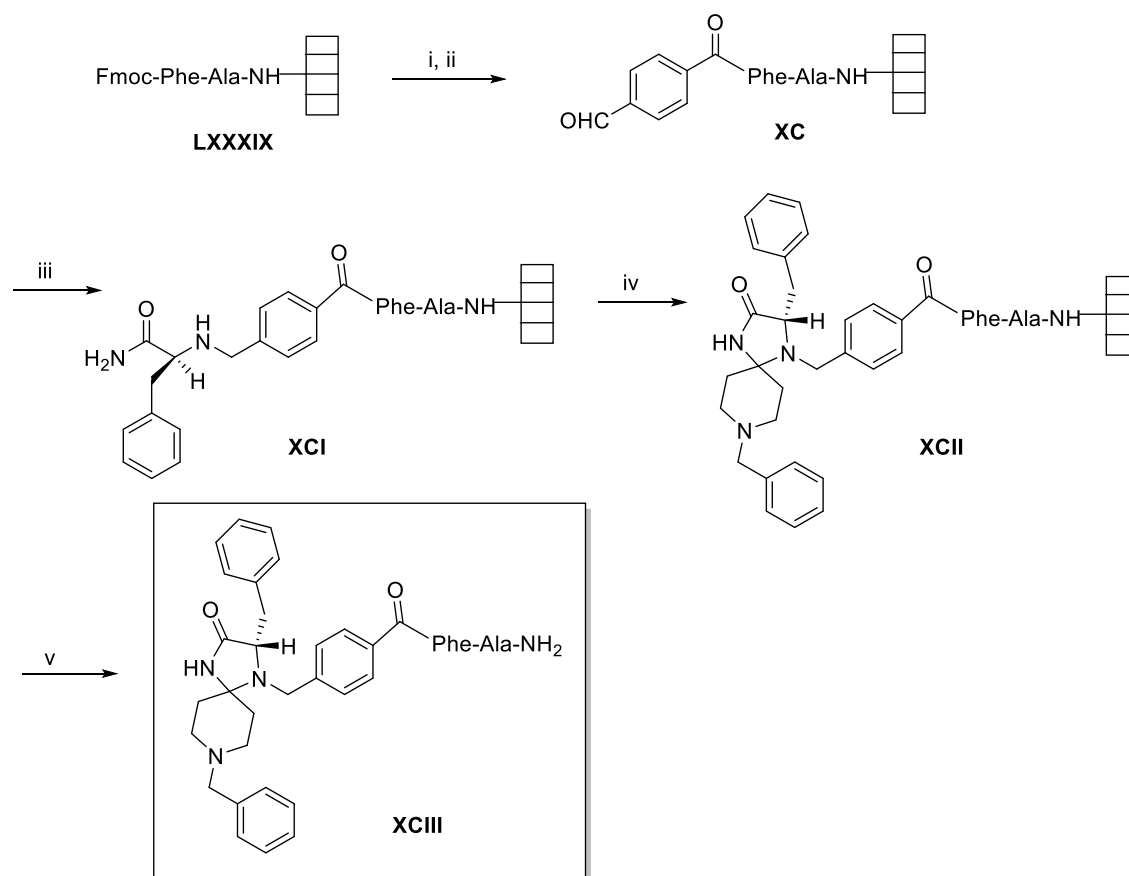


Syntézu S-analogů publikoval stejný autor, zde ovšem místo anilinů použil arylthioly a finální cyklizace byla provedena v kyselině sírové.<sup>58</sup>

### 3. 3. 2. 4. Syntéza vybraných spiro-sloučenin na pevné fázi

Syntézou nových spiroimidazolidinonových derivátů (**XCIII**, Schéma 14) na SynPhase lucernách se zabýval P. Bedos se svými kolegy ve Francii. Spiropiperidiny patří do skupiny molekul různě spřažených s G-proteinem. V této publikaci se vědci zabývali přípravou derivátů 1,4,8-triazaspiro[4.5]dekan-2-onu reakcí cyklického ketonu a *N*-chráněného amidu aminokyseliny. Deriváty byly syntetizovány na pevné fázi. Prvním krokem bylo odstranění protektivní skupiny Fmoc a následná reakce s karboxylovou kyselinou (**XC**), potom došlo k reduktivní aminaci za vzniku látky **XCI**. Následujícím krokem byla cyklizace na sloučeninu **XCII**, která byla odštěpena z pevné fáze (**XCIII**).<sup>59</sup>

Schéma 14: Syntéza spiroimidazolidinonů **XCIII** na pevné fázi

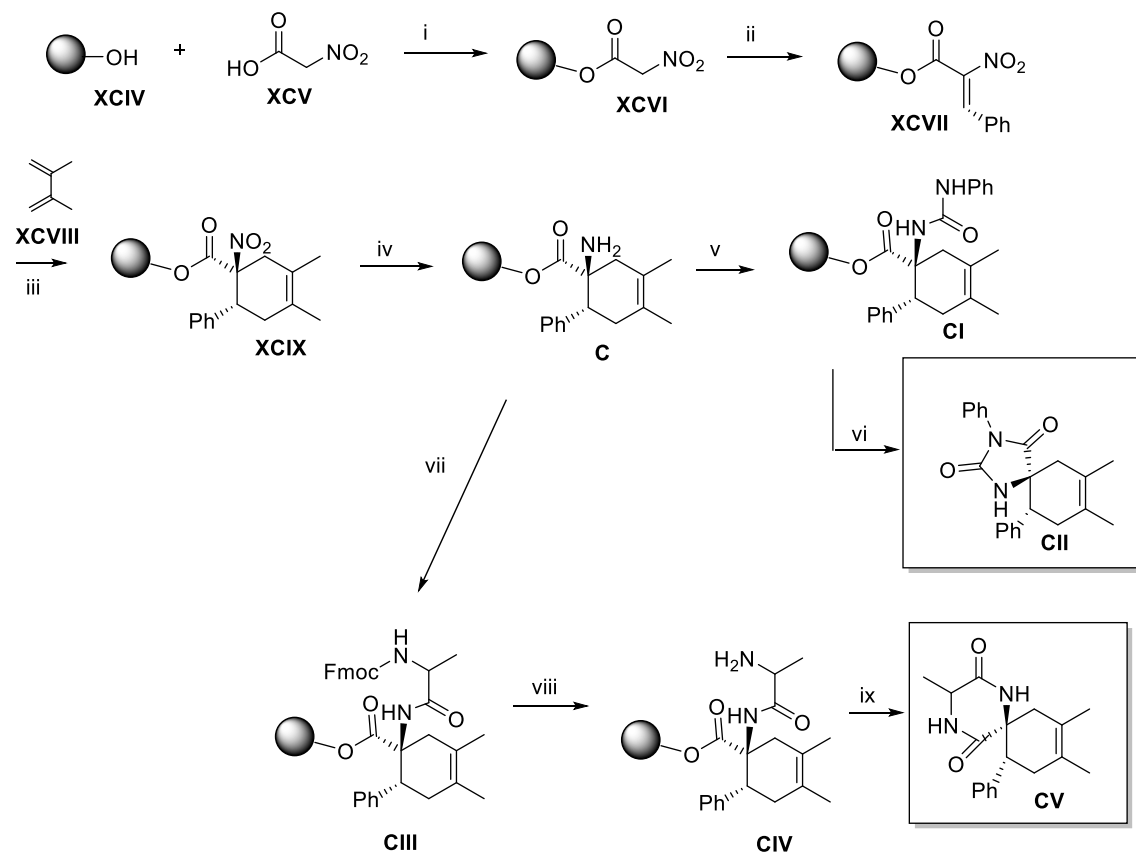


Podmínky: (i) 20% piperidin/DMF, 20 min pro polyamid a 60 min pro polystyrenové lucerny; (ii) HOOC-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>-CHO/HBTU/DIEA, 3 h; (iii) H-Phe-NH<sub>2</sub>/NaBH<sub>3</sub>CN/1% AcOH/DMF, 60°C, přes noc; (iv) *N*-benzyl-4-piperidon, toluen/DMP (95/5), 1% *p*-TsOH, 80°C, 10 days; (v) TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5).

Syntézou spirohydantoinů a spiro-2,5-diketopiperazinů se zabýval Kuster se svými kolegy. Některé deriváty spirohydantoinů vykazují antidiabetickou a antiepileptickou aktivitu, jiné antidepresivní, anxiolytickou a antipsychotickou aktivitu.

Autoři v publikaci popisují syntézu na hydroxymethylenové pryskyřici vázaných nitroalkenů a jejich použití v syntéze aminoesterů, které byly převedeny na cyklické aryethylaminy a aminoalkoholy. Hlavním bodem syntézy je reakce na pryskyřici vázaných nitroalkenů (**XCIV**, **Schéma 15**) jako dienofilů s 2,3-dimethylbutadienem (**XCVIII**) Diels-Alderovou reakcí za vysokého tlaku. Sledem dalších reakcí vznikají spirohydantoiny (**CII**) a spiro-2,5-diketopiperaziny (**CV**) ve vysokém výtěžku.<sup>60</sup>

**Schéma 15:** Syntéza spirohydantoinů a spiro-2,5-diketopiperazinů na pevné fázi



Podmínky: (i) DIC/HOBT, rt, 18 h; (ii)  $\text{PhCH=NPh}$ ,  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $60^\circ\text{C}$ , 24 h; (iii) 15 kbar,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , rt, 16 h; (iv)  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ , rt, 22 h; (v)  $\text{PhN=C=O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , rt, 18 h; (vi)  $\text{KOtBu}$ ,  $\text{THF}$ , rt, 16 h; (vii) Fmoc-Ala,  $\text{PYBOP}/\text{HOBT}$ , rt, 4 h; (viii) 20% piperidin,  $\text{DMF}$ , rt, 20 min; (ix) 5%  $\text{HOAc}$ , toluen, reflux, 4 h.

## 4. Výsledky a diskuze

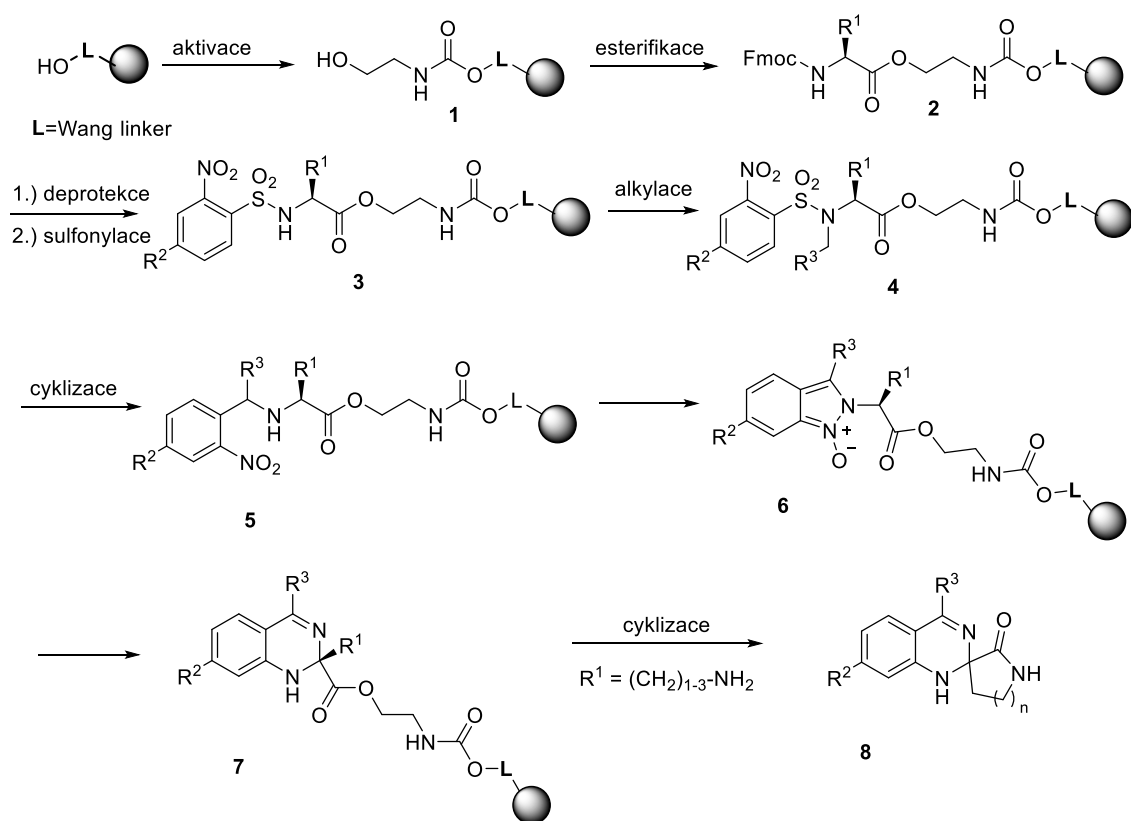
Syntetická cesta k derivátům chinazolinů vychází z výsledků předchozího výzkumu, vzniklých ve spolupráci Katedry organické chemie Univerzity Palackého v Olomouci s Dr. V. Krchňákem z Univerzity Notre Dame v Indianě (USA). Tato kapitola bakalářské práce popisuje vlastní syntézu chinazolinů expanzí indazol-oxidového skeletu s možností odlišné substituce na 3 centrech a dále hledání podmínek pro závěrečnou cyklizaci těchto látek na spirosloučeniny. Popsány jsou jak neúspěšné pokusy o cyklické štěpení, tak úspěšná cyklizace v roztoku. Diskutováno je také zachování optické integrity chirálního centra.

### 4. 1. Popis syntetické cesty

#### 4. 1. 1. Reakční schéma a použité reaktanty

Pro syntézu všech sloučenin byla použita Wangova<sup>3</sup> pryskyřice s kapacitou 0,9 mmol/g. Syntéza byla zahájena ukotvením prvního reaktantu na Wangovu pryskyřici (**Schéma 16**). Dalším krokem byla esterifikace  $\alpha$ -aminokyselinou, chráněnou na N-konci Fmoc protektivní skupinou za vzniku látky **3** ( $R^1$ ). Následovala deprotektce Fmoc skupiny a sulfonylace různě substituovanými 2-nitrobenzensulfonyl chloridy za tvorby derivátů **4** ( $R^2$ ). Poté byla provedena reakce s bromoketony nebo alkoholy s různou substitucí za vzniku sloučenin **5** ( $R^3$ ). Posledním krokem byla cyklizace v bazickém prostředí na chinazoliny **7** přes indazol-oxidy **6** jako meziprodukty reakce. Optimalizace podmínek vedoucích ke vzniku konečných spirosloučenin je popsána v další části práce.

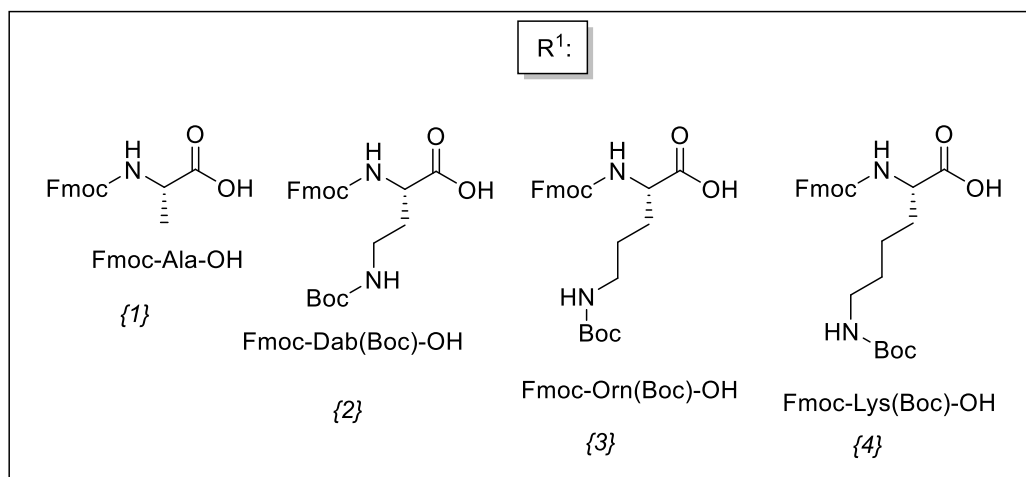
### Schéma 16: Popis navržené syntetické cesty



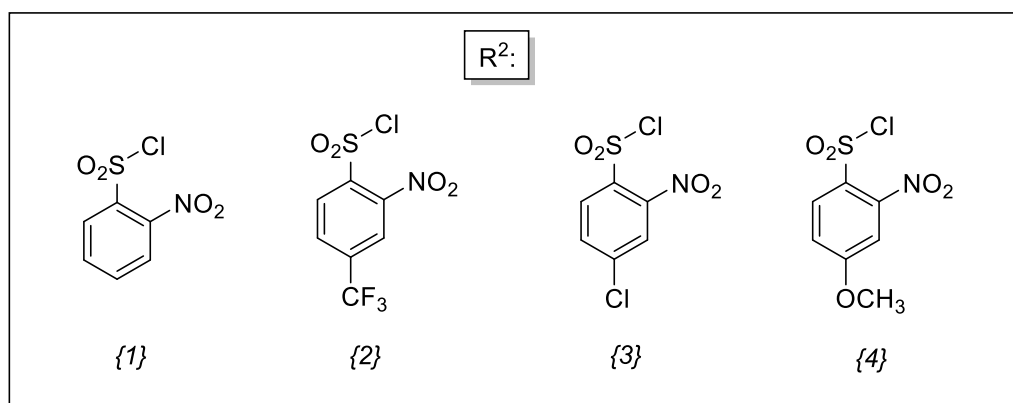
Pro syntézu byly použity různě substituované reaktanty za účelem vytvoření rozmanité substituce na 3 místech v molekule ( $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ). Substituenty  $\text{R}^1$  (**Obrázek 6**) představují postranní řetězec enantiomerně čisté L- $\alpha$ -aminokyseliny alaninu (Ala), 2,4-diaminomásečné kyseliny (Dab = diaminobutyric), ornitinu (Orn) a lysinu (Lys), přičemž délka postranního řetězce alkyl-amino substituovaných aminokyselin přímo souvisí s velikostí zamýšleného laktamového kruhu ve finální spirosloučenině. K diverzitě konečných produktů přispívá dále substituce na 2-nitrobenzonsulfonyl chloridech ( $\text{R}^2$ , **Obrázek 7**) a na bromoketonech či alkoholech ( $\text{R}^3$ , **Obrázek 8**).



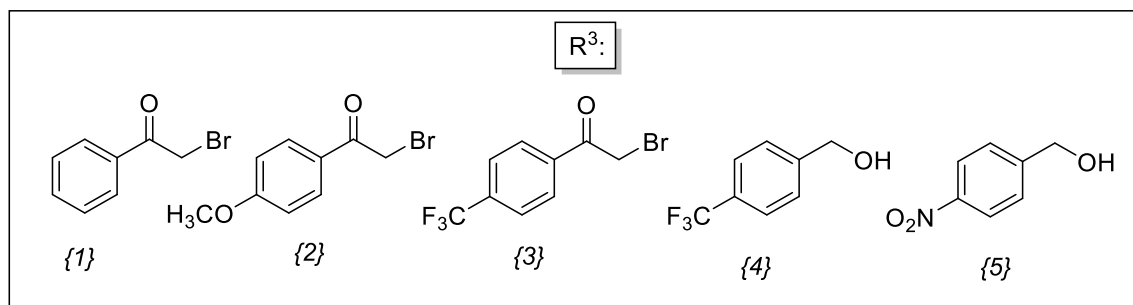
**Obrázek 6:** Struktury použitých aminokyselin



**Obrázek 7:** Struktury použitých 2-nitrobenzensulfonyl chloridů



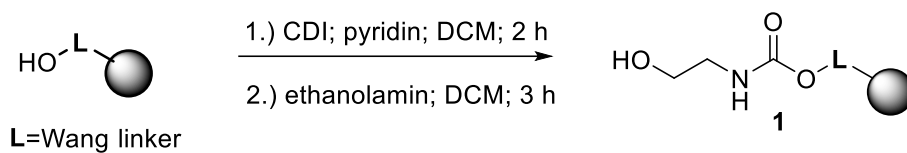
**Obrázek 8:** Struktury použitých bromo ketonů a alkoholů



#### 4. 1. 2. Ukotvení na Wangovu pryskyřici

Ukotvení aminů na Wangovu pryskyřici se provádí přes karbamátovou vazbu.<sup>61</sup> Pryskyřice byla v prvním kroku aktivována 1,1'-karbodiimidazolem (CDI) v bazickém prostředí pyridinu. Po ukončení reakce se přebytečné činidlo vymylo a k aktivované pryskyřici byl přidán roztok ethanolaminu za vzniku karbamátu (**1**, Schéma 17).

### Schéma 17: Ukotvení ethanolaminu na Wangovu pryskyřici

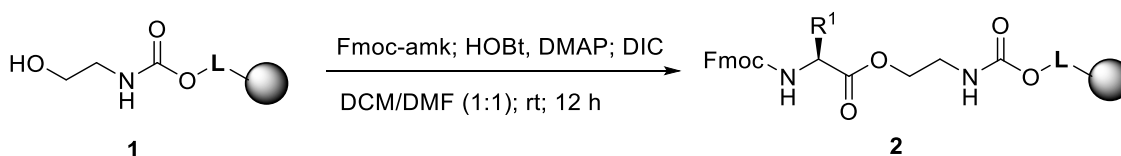


#### 4. 1. 3. Esterifikace Fmoc-aminokyselinou

Esterifikace proběhla navázáním aminokyseliny přes její C-konec na hydroxyskupinu ethanolaminu. V syntéze byly použity chráněné aminokyseliny, u nichž  $\alpha$ -aminoskupina byla chráněna bazicky labilní protektivní skupinou Fmoc a druhá aminoskupina na konci postranního alkylového řetězce (Dab, Orn a Lys) byla chráněna kyselé labilní skupinou *tert*-butyloxykarbonyl (Boc).

Samotná esterifikace byla provedena pomocí 1-hydroxybenzotriazolu (HOBt), *N,N'*-diisopropylkarbodimidu (DIC) a bazického katalyzátoru 4-dimethylaminopyridinu (DMAP) v prostředí dichlormethanu (DCM) a dimethylformamidu (DMF) v poměru 1:1 (Schéma 18). Množství navázané aminokyseliny (kvantifikace) bylo zjištěno pomocí metody vnějšího standardu. Hodnoty loadingu se pohybovaly v závislosti na použité aminokyselině v rozmezí 0,28-0,4 mmol/g.

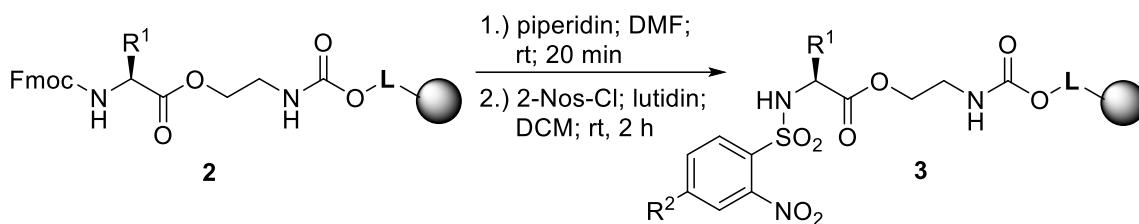
### Schéma 18: Esterifikace ethanolaminu Fmoc-aminokyselinou (Fmoc-amk)



#### 4. 1. 4. Deprotekce a sulfonylace

Odstranění protektivní skupiny Fmoc bylo provedeno působením roztoku 50% piperidinu v DMF. Odchráněná aminoskupina byla podrobena sulfonylaci pomocí různě substituovaného 2-nitrobenzensulfonyl chloridu (2-Nos-Cl) v poloze 4 za přítomnosti báze (Schéma 19). Úspěšnost tohoto reakčního kroku byla verifikována reakcí analytického vzorku s Fmoc-*N*-hydroxysukcinimidem (Fmoc-OSu). Použité deriváty 2-nitrobenzensulfonyl chloridu s výsledky jednotlivých reakcí jsou prezentovány v Tabulce 1.

### Schéma 19: Deprotekce a sulfonylace



Tabulka 1: Výsledek reakcí s 2-Nos-Cl

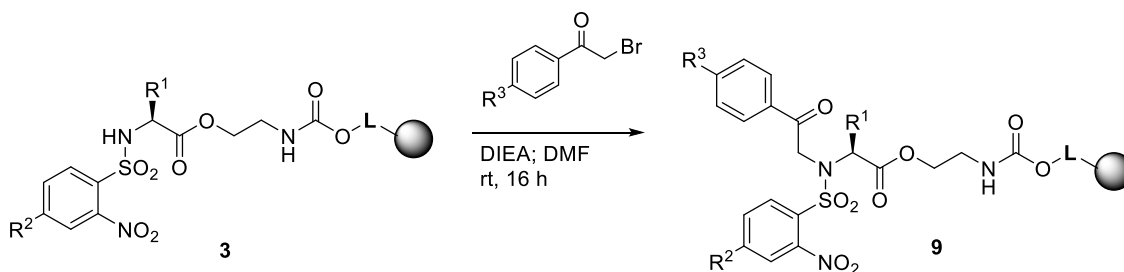
$3\{R^1, R^2\}$	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Čistota [%] <sup>a</sup>
<b>3{1,1}</b>	CH <sub>3</sub>	H	99
<b>3{2,1}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	85
<b>3{2,2}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	65
<b>3{2,4}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	84
<b>3{3,1}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	94
<b>3{3,2}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	71
<b>3{3,3}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	Cl	70
<b>3{3,4}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	89
<b>3{4,1}</b>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	99

<sup>a</sup> procentuální čistota vypočítaná z UV-Vis spektra

#### 4. 1. 5. N-alkylace

Dalším krokem byla N-alkylace pomocí halogenidů, konkrétně bromoketonů. Reakce byla provedena v bazickém prostředí *N,N'*-diisopropylethylaminu (DIEA) v DMF (Schéma 20). Reakce ne vždy probíhala kvantitativně a většinou bylo nutné ji opakovat.

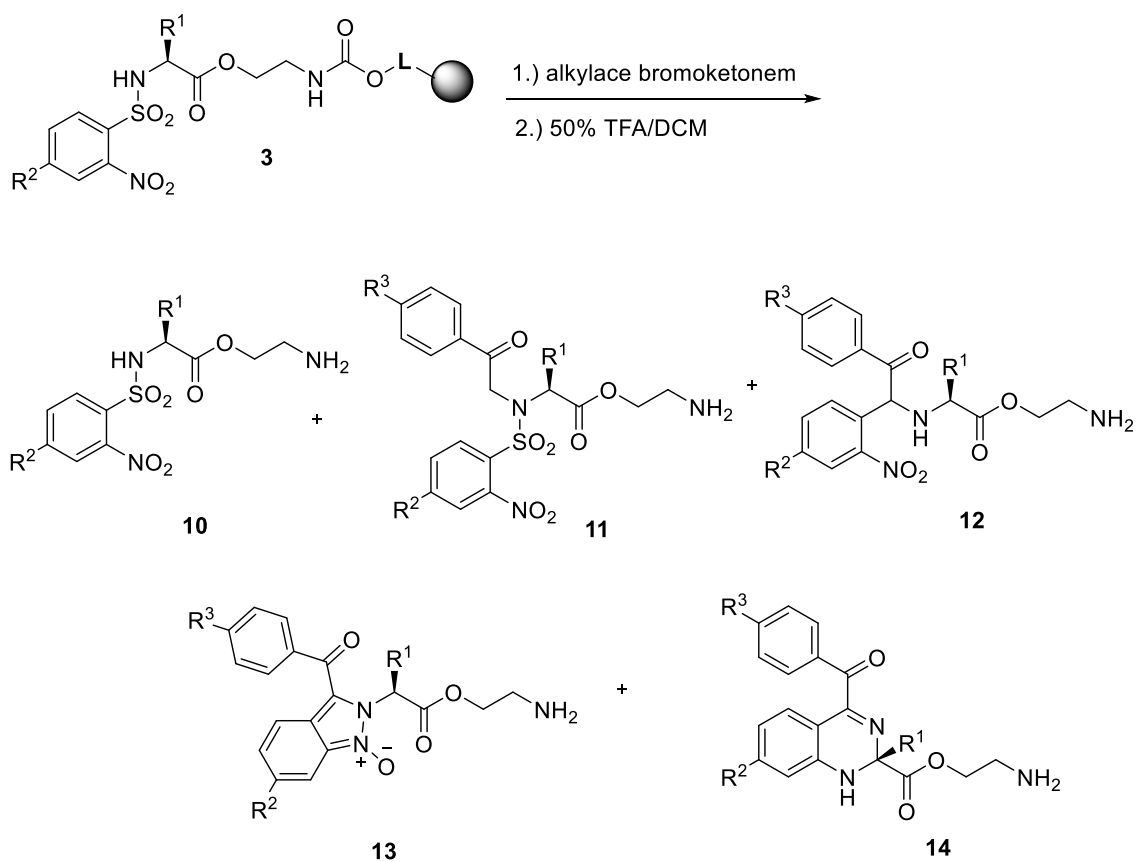
Schéma 20: Alkylace s bromoketonem



Po provedení alkylace bromoketonem a následném štěpení analytického vzorku štěpicím koktejlem (50% TFA/DCM) za účelem zjištění konverze mohly být s použitím LC-MS detekovány tyto látky (Schéma 21): nezreagovaná výchozí látka (10), produkt alkylace (11), C-aryl (12), indazol-oxid (13), chinazolin (14). Alkylace byla opakována,

dokud výchozí látka nebyla kompletně alkylována. Díky bazickému prostředí alkylace však již byly nastartovány i následující reakce – tandem tvorby vazby C-C za vzniku C-arylu následované vytvořením nové vazby N-N za vzniku indazol-oxidu. Přítomnost kyselého alfa vodíku v bazickém prostředí navíc umožnila expanzi kruhu na chinazoliny. Použité deriváty bromoketonů, zastoupení produktů bazicky katalyzované alkylace, počet opakování alkylačního kroku a surovinou čistotou shrnuje **Tabulka 2**.

**Schéma 21:** Možné produkty po provedení alkylace bromoketonem a odštěpení z pryskyřice



**Tabulka 2:** Přehled produktů alkylace bromoketonem v závislosti na substituentu

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Přítomnost daných produktů po alkylosti					n <sup>a</sup>	[%] <sup>b</sup>
				10	11	12	13	14		
<b>3</b> {1,1,1}	CH <sub>3</sub>	H	H	–	+	–	–	–	1	86
<b>3</b> {2,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	+	+	–	–	–	2	89
<b>3</b> {2,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	–	+	+	–	–	2	93
<b>3</b> {2,2,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	–	+	+	+	–	1	73
<b>3</b> {2,4,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	–	+	+	–	–	2	81
<b>3</b> {3,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	+	+	–	–	–	2	83
<b>3</b> {3,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	–	+	–	–	–	1	89
<b>3</b> {3,1,3}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	–	+	+	+	–	2	55
<b>3</b> {3,2,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	–	+	+	+	–	2	83
<b>3</b> {3,3,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	Cl	H	–	+	+	+	–	1	87
<b>3</b> {3,4,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	–	+	+	–	–	3	70
<b>3</b> {4,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	+	+	–	–	–	1	90
<b>3</b> {4,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	–	+	–	–	–	1	82

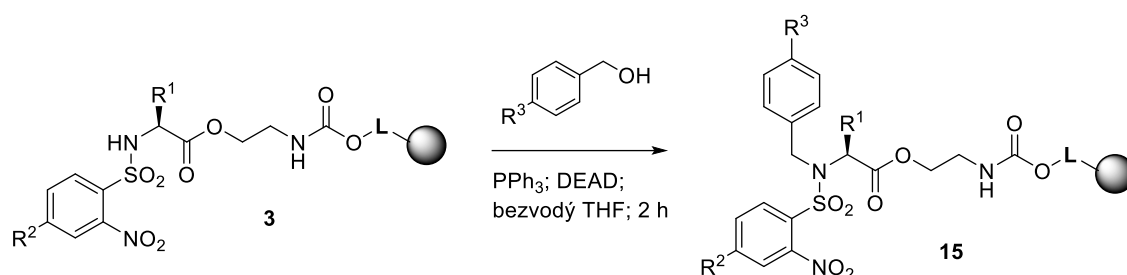
<sup>a</sup> n je počet opakování alkylace

<sup>b</sup> Čistota směsi produktů vůči jiným nečistotám vypočítaná z UV-Vis spektra

Z **Tabulky 2** vyplývá, že substituenty mají vliv na produkt reakce již v kroku *N*-alkylace. Reakce s využitím látek se substitucí {*R*<sup>1</sup>,1,1} tvořily pouze alkylovaný produkt **11**, zatímco při použití reaktantů s elektrondonorovým substituentem OCH<sub>3</sub> v poloze R<sup>2</sup> byl detekován také produkt **12** a byla vyžadována opakovaná alkylace. Substitucí skupinami Cl a CF<sub>3</sub> s elektronakceptorovým efektem bylo alkylování dosaženo dokonce produktu **13** a často stačilo provést alkylování jen jednou. Konečný chinazolin (**14**) však nebyl v žádném z případů detekován.

Tento reakční krok byl vyzkoušen také s primárními alkoholy za Fuakuyama-Mitsunobu podmínek.<sup>33</sup> Do reakce vstupuje jako aktivační činidlo trifenylfosfin (PPh<sub>3</sub>) a diethyl azodikarboxylát (DEAD) v prostředí bezvodého tetrahydrofuranu (THF) (**Schéma 22**). Reakce je výhodná oproti klasické alkylování bromoketonem svojí rychlostí. Když byl substrát aktivován přítomností chloro substituentu jako R<sup>2</sup>, proběhla konverze kvantitativně již při prvním provedení alkylování. Na rozdíl od reakce s bromoketonem však nebyly detekovány meziproducty cyklizace na chinazoliny. Výsledky alkylování jsou shrnuty v **Tabulce 3**.

## Schéma 22: Alkylace za Fukuyama-Mitsunobu podmínek



Tabulka 3: Připravené deriváty za Fukuyama-Mitsunobu podmínek

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Konverze <b>3:15</b> <sup>a</sup>	Konverze <b>3:15</b> <sup>b</sup>	n <sup>c</sup>
<b>15</b> {3,1,4}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	46:54	13:87	2
<b>15</b> {3,1,5}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	NO <sub>2</sub>	23:77	9:91	2
<b>15</b> {3,1,5}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	11:89	-	1

<sup>a</sup> Konverze reakce po standardní době alkylace vypočítaná z UV-Vis spektra

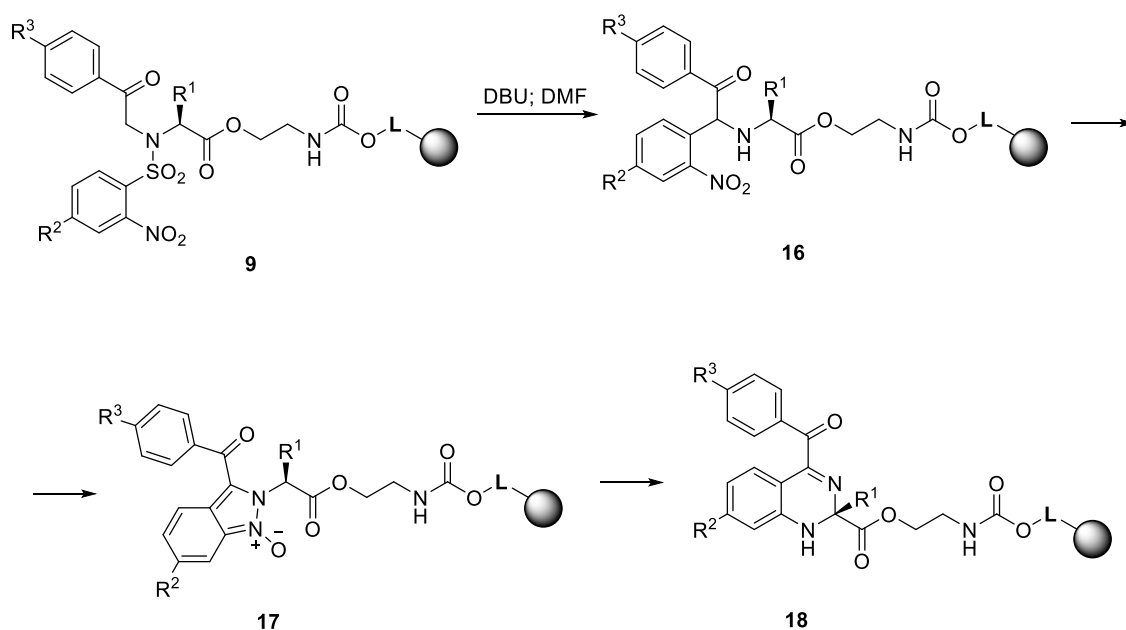
<sup>b</sup> Konverze reakce po opakované alkylici vypočítaná z UV-Vis spektra

<sup>c</sup> n je počet opakování alkylace

### 4. 1. 6. Expanze cyklu na chinazoliny

Tvorba chinazolinů (**18**, Schéma 23) probíhá přes meziproducty C-aryl **16** a indazol-oxid **17**. Mechanismus byl popsán v teoretické části. Reakce probíhá v přítomnosti báze 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) a v DMF jako rozpouštědle. Tabulka 4 popisuje úspěšně připravené deriváty chinazolinů včetně podmínek, které byly použity k jejich tvorbě. Tento krok byl v některých případech opakován a to kvůli detekci látky **17** jako intermediátu.

**Schéma 23:** Cyklizace s DBU



**Tabulka 4:** Úspěšná cyklizace na chinazoliny

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Podmínky	T [°C] <sup>a</sup>	[%] <sup>b</sup>
<b>18</b> {1,1,1}	CH <sub>3</sub>	H	H	0,2 M DBU; 30 min	rt	67
<b>18</b> {2,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	0,5 M DBU; 3 dny	50	79
<b>18</b> {2,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	0,5 M DBU; 3 dny	50	67
<b>18</b> {2,2,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	0,1 M DBU; 2 dny	rt	98
<b>18</b> {2,4,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	0,5 M DBU; 2 dny	50	59
<b>18</b> {3,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	0,5 M DBU; 3 dny	50	81
<b>18</b> {3,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	0,5 M DBU; 3 dny	50	75
<b>18</b> {3,1,3}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	0,5 M DBU; 3 dny	rt	20
<b>18</b> {3,2,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	0,5 M DBU; 3 dny	50	85
<b>18</b> {3,3,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	Cl	H	0,5 M DBU; 6 dnů	50	71
<b>18</b> {3,4,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	0,5 M DBU; 5 dnů	50	15
<b>18</b> {4,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	0,5 M DBU; 8 dnů	rt; 50	84
<b>18</b> {4,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	0,5 M DBU; 4 dny	50	89

<sup>a</sup> rt je pokojová teplota

<sup>b</sup> procentuální čistota vypočítaná z UV-Vis spektra

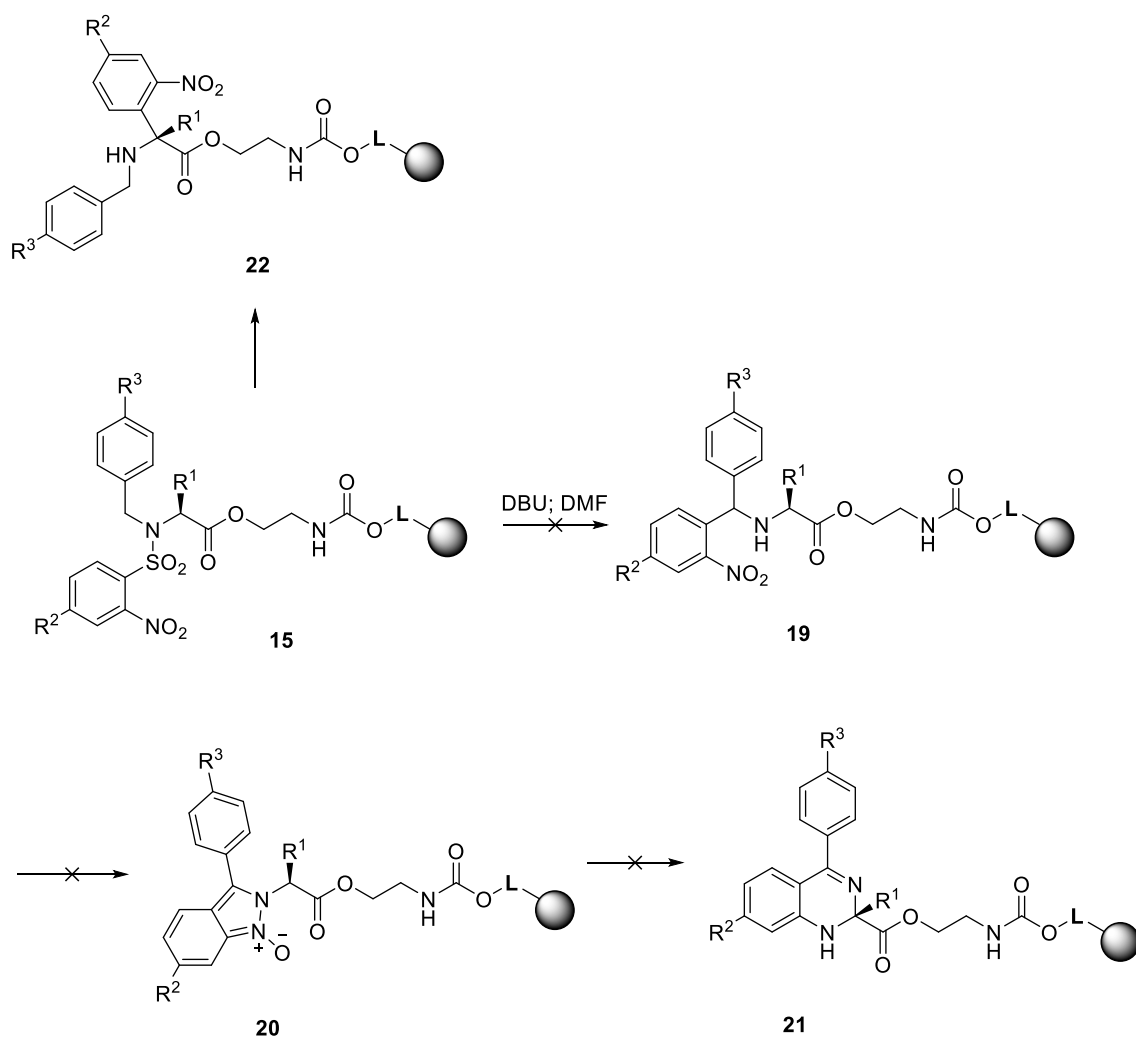
Z **Tabulky 4** je patrné, že doba reakce do značné míry závisela na délce řetězce substituentu R<sup>1</sup> a zároveň na elektronodorných a elektronakceptorních substituentech na R<sup>2</sup> a R<sup>3</sup>. Reakční čas se zvyšoval s rostoucí délkou řetězce do řádu dnů, pro urychlení reakce bylo nutné zvýšení teploty na 50°C. Mírnější podmínky a kratší dobu reakce umožňovaly reakce se substitucí CF<sub>3</sub> skupinou a to zejména v R<sup>3</sup> pozici.

Neúspěšný pokus o cyklizaci na chinazoliny byl zaznamenán, pokud pokud byl místo bromoketonu použit alkohol. Reakce běžela jen do vzniku C-arylu (**19**, **Schéma 24**), který se však tvořil ve velmi dobré čistotě. Na derivátech **15**{3,1,4} a **15**{3,1,5} byla testovaná další cyklizace za drsnějších podmínek (0,5 M DBU, 70 °C, 5 dnů; MW: 70 °C, 30 min). Bohužel ani za působení mikrovlnného záření a vysoké teploty nebyly detekovány další meziprodukty cyklizace. Zároveň si však látka zachovávala svou čistotu, pravděpodobně se však vzhledem k nízkému výtěžku v průběhu cyklizační reakce částečně odštěpovala z pryskyřice. Získané C-aryly byly odštěpeny z pryskyřice a purifikovány za použití 0,1% TFA jako kyselého pufru a struktura těchto látek byla prokázána pomocí <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR a HRMS. Vzhledem k neochotě cyklizovat na indazol-oxid a protože v <sup>1</sup>H NMR spektru chyběl charakteristický singlet CH skupiny C-arylu, kde aryl by byl vázán na methylen (**19**), domníváme se, že ve skutečnosti běžela C-arylace na α uhlíky aminokyseliny (**22**). Jedná se totiž o duální substrát, kde je arylace možná dvěma směry.<sup>31</sup>

Protože u bromoketonů byla pozorována zvýšená rychlost cyklizace zavedením elektronakceptorních skupin do molekuly, bylo dalším pokusem o cyklizaci zavedení chloru jako elektronakceptorní skupiny za vzniku derivátu **15**{3,3,4}. I takto aktivovaný derivát však při působení 0,5 M DBU při 50 °C po 5 dnů nereagoval dále než na C-aryl a zatím nebyl izolován, zřejmě se však také jedná o arylaci na α uhlíky. Připravené deriváty a jejich čistota je shrnuta v **Tabulce 5**.



### Schéma 24: Neúspěšná cyklizace na chinazoliny



Tabulka 5: Připravené C-aryly

	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	[%] <sup>a</sup>
<b>22</b> {3,1,4}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	96
<b>22</b> {3,1,5}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	NO <sub>2</sub>	89
<b>22</b> {3,3,4}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	Cl	CF <sub>3</sub>	96

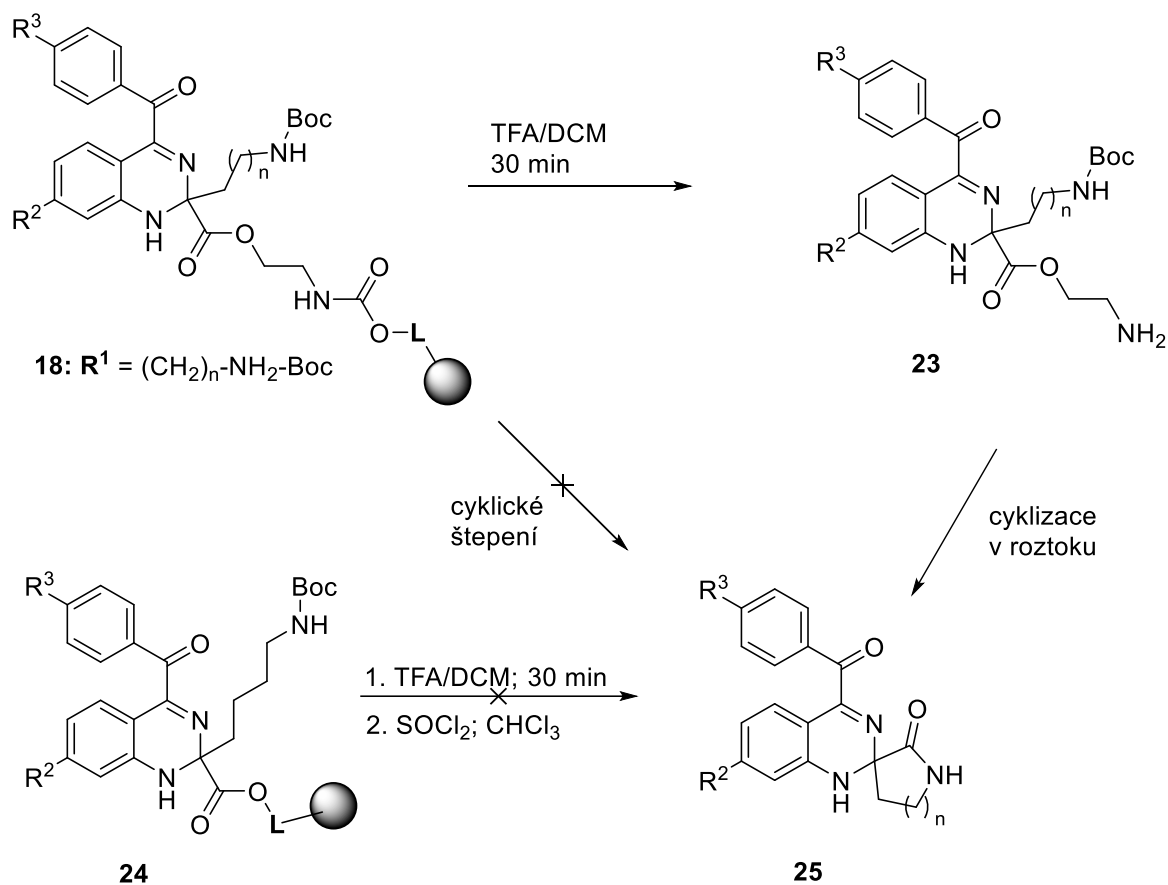
<sup>a</sup> procentuální čistota vypočítaná z UV-Vis spektra

#### 4. 1. 7. Závěrečná cyklizace na spirosloučeniny

Počáteční pokusy o kyselé katalyzovanou cyklizaci byly neúspěšné a to jak metodou cyklického štěpení, tak cyklizací v roztoku po odštěpení produktu z pryskyřice (Schéma 25). Spirosloučenina (**25**) se ve vysoké čistotě tvořila až bazicky katalyzovanou cyklizací v roztoku. Jako modelová látka pro testování byl použit derivát

{3,1,1}. Přímé ukotvení aminokyseliny (**24**) bez použití aminoethanolového linkeru se záměrem získání acyl chloridu, který by mohl být aktivovanější pro cyklizaci, bylo vyzkoušeno při pokusu o tvorbu náročnějšího sedmičlenného cyklu na látce {4,1,1}.

**Schéma 25:** Pokusy o cyklizaci na spirosloučeniny



#### 4. 1. 7. 1. Cyklické štěpení

Prvním pokusem o tvorbu spirosloučenin byla snaha o cyklické štěpení působením kyseliny octové, které se inspirovalo u podobné práce, kde ovšem byly připravovány 3,4-dihydrochinoxalin-2(1*H*)-ony.<sup>62</sup> Za vhodných podmínek by mohlo dojít k nukleofilní adici aminoskupiny na konci řetězce  $R^1$  substituentu na karbonylový uhlík za samovolného odštěpení z pryskyřice do reakčního roztoku. Ukázalo se však, že aby bylo možné tento krok uskutečnit, bylo třeba odstranit chránící skupinu Boc na aminoskupině. Ta se při syntéze v roztoku odstraňuje kyselinou trifluoroctovou, ale v tomto případě by došlo k okamžitému odštěpení chinazolinu z pevné fáze.

První zkoušky byly provedeny s cílem termické deprotektce prostým záhřevem v DMSO a dále také v mikrovlnném reaktoru. Po neúspěchu tohoto testu byly

provedeny další zkoušky za kyselých katalýz k usnadnění odstupu Boc skupiny. Testování cyklického štěpení záhřevem a kyselou katalýzou je shrnuto v **Tabulce 6**.

Po těchto nevydařených pokusech byly vyzkoušeny i jiné způsoby odstranění skupiny Boc, popsané v odborných publikacích. Jednou z vyzkoušených metod byla reakce s tetrabutylamonium fluoridem (TBAF) v THF pod refluxem.<sup>38</sup> Výsledek reakce byl kontrolován reakcí produktu s Fmoc-Cl a Fmoc-Osu. Dalším vyzkoušeným způsobem deprotektce Boc byla reakce s jodem v DCM.<sup>39</sup> Výsledek reakce byl taktéž kontrolován pomocí Fmoc-Cl a Fmoc-Osu. Cílem bylo získat zpět výchozí látku, namísto toho ale vznikla složitá směs produktů. Ani jedna z těchto metod tedy nebyla úspěšná. Testované podmínky jsou zahrnuty do **Tabulky 6**.

**Tabulka 6:** Testování cyklického štěpení

Rozpouštědlo	Čas	Teplota [°C]	Další podmínky	[%] <sup>a</sup>
DMSO	2 dny	50	-	nd <sup>b</sup>
DMSO	30 min	150	MW, 100 W	nd
DMSO	1 den	60	5% CH <sub>3</sub> COOH	nd
DMSO	3 dny	60	5% CH <sub>3</sub> COOH	nd
DMSO	2 dny	80	5% CH <sub>3</sub> COOH	nd
THF	4 h	80	0,5M TBAF	nd
THF	1 den	80	0,5M TBAF	nd
DCM	4 h	rt <sup>c</sup>	0,1M I <sub>2</sub>	nd
DCM	1 den	rt	0,5M I <sub>2</sub>	nd

<sup>a</sup> procentuální čistota vypočítaná z UV-Vis spektra

<sup>b</sup> nd je nedetekováno

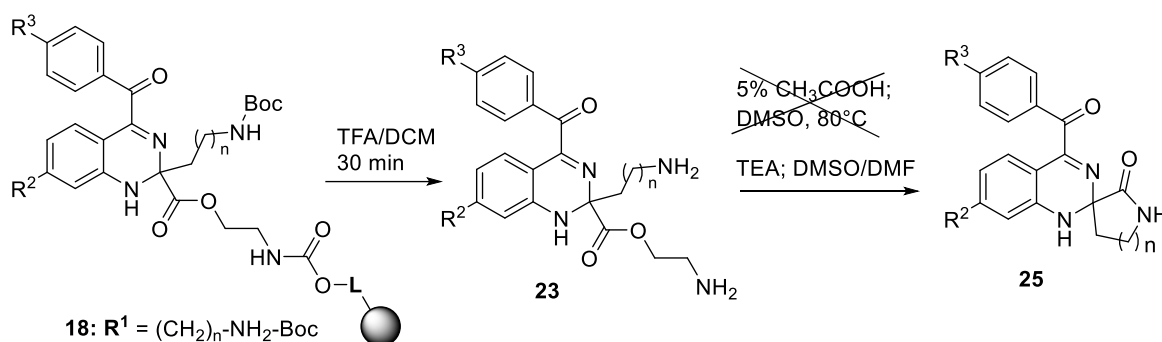
<sup>c</sup> rt je pokojová teplota

#### 4. 1. 7. 2. Cyklizace v roztoku

Po neúspěšných pokusech o cyklické štěpení byla dále směřována pozornost k cyklizaci v roztoku po odštěpení produktu z pryskyřice kyselinou trifluoroctovou, čímž zároveň došlo k odstranění chránicí skupiny Boc. Cyklizace v roztoku byla testována v kyselém i bazickém prostředí (**Schéma 26**). Zatímco v kyselém prostředí nebyly zaznamenány žádné stopy po finální spirosloučenině, tak po přidání malého množství báze (0,3 M TEA) vznikaly ihned cílové spirosloučeniny s 5- a 6-členným kruhem ve

velmi dobré čistotě. Proto byly všechny deriváty **22** nejprve odštěpeny z pryskyřice a purifikovány včetně esterově vázaného aminoethanolového linkeru s použitím kyselého pufru. Kyselý pufr byl volen z toho důvodu, že hrozil „O-N shift“<sup>62,63</sup>, tedy transformace esterově vázaného aminoethanolu na amid, který by pak už nebylo možné použít na tvorbu spirosloučenin (**24**). Ty byly izolovány pomocí semipreparativní HPLC za použití neutrálního pufru. Knihovna získaných chinazolinů s kvarterním uhlíkem (**22**) i cílové spirosloučeniny (**24**) získané jejich cyklizací byly plně charakterizovány s použitím <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR a HRMS. Pouze derivát **24**{3,4,1} se projevil jako směs dvou látek, což mohlo být zapříčiněno nepřečištěním derivátu příslušného chinazolinu. Chinazolin nebyl přečištěn na HPLC kvůli nemožnosti separace směsi produktů s blízkým retenčním časem, byl rovnou podroben působení báze. Všechny připravené látky jsou shrnuty v závěrečné **Tabulce 8**.

**Schéma 26:** Cyklizace chinazolinů na spirosloučeniny v roztoku



#### 4. 1. 7. 3. Pokusy o tvorbu 7-členného cyklu

Vytvoření 7-členného cyklu je náročnější než u 5- a 6-členných. Cyklizace byla testována nejprve za podmínek jako při vzniku menších cyklů, tedy působením 0,3 M TEA v DMSO/DMF. Následně byla cyklizace testovaná s větší koncentrací báze TEA a po neúspěchu byla zvýšena také teplota. Cílová spirosloučenina však většinou nebyla vůbec detekována nebo byla přítomna pouze ve stopovém množství a to se po delším stání produktu za pokojové teploty rozložilo (**Tabulka 7**).

**Tabulka 7:** Pokusy o tvorbu 7-členného cyklu

	Rozpouštědlo	Podmínky	Teplota [ °C]	[%] <sup>a</sup>
<b>22</b> {4,1,1}	DMSO/DMF	0,3 M TEA	rt <sup>b</sup>	nd
	DMSO/DMF	0,6 M TEA	rt	nd
	DMSO/DMF	0,9 M TEA	rt	nd
	DMSO/DMF	0,9 M TEA, přes noc	50	stopy

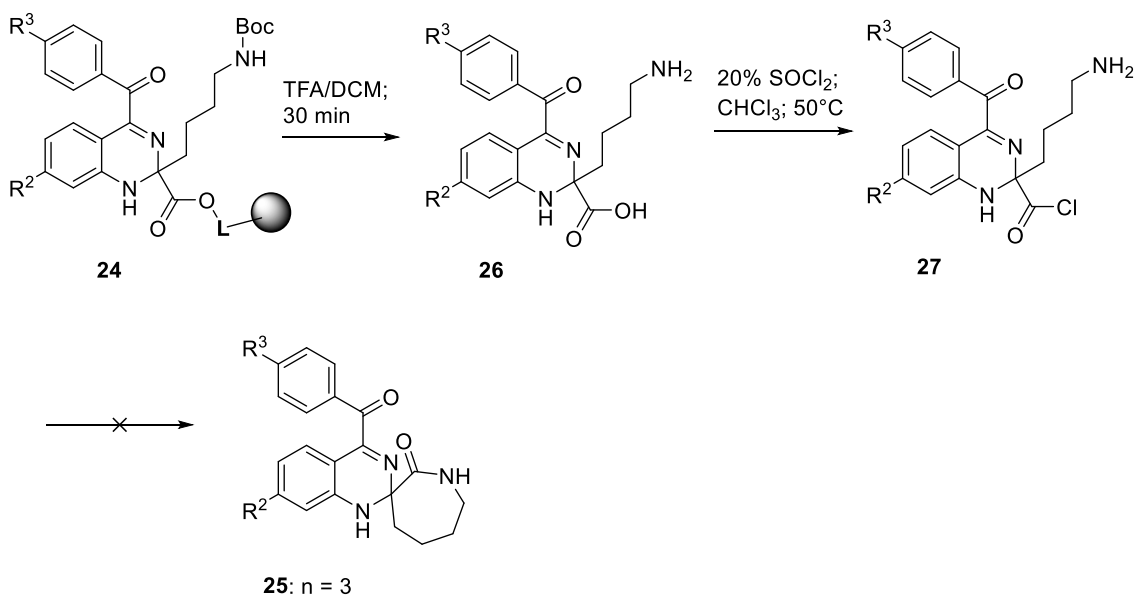
<sup>a</sup> procentuální čistota vypočítaná z UV-Vis spektra

<sup>b</sup> rt je pokojová teplota

<sup>c</sup> nd je nedetekováno

Z důvodu neúspěchu předchozích pokusů o cyklizaci byl syntetizován derivát (**23**, **Schéma 27**) s jiným ukotvením na pryskyřici a to konkrétně přímou imobilizací aminokyseliny na pryskyřici. Cílem bylo získat po odštěpení derivátu z pryskyřice chinazolin s volnou karboxylovou skupinou (**25**), která by se aktivovala tvorbou chlorderivátu (**26**) reakcí s  $\text{SOCl}_2$ .<sup>64</sup> Cyklizace by tedy měla probíhat snadněji.

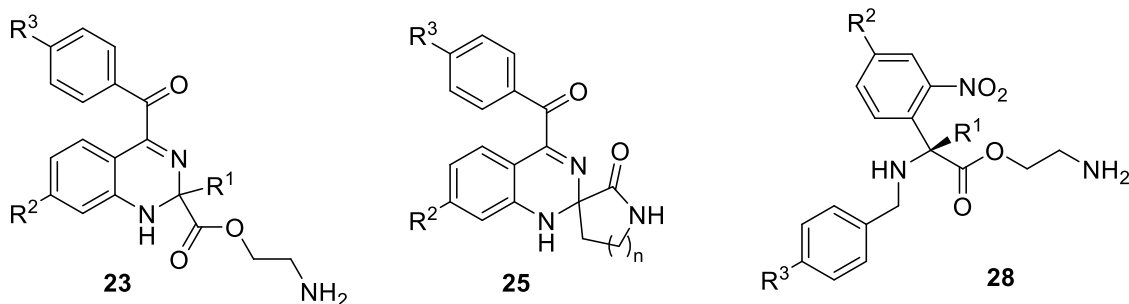
Prvním problémem byla částečná dekarboxylace derivátu při štěpení z pryskyřice působením trifluoroctové kyseliny.<sup>65</sup> Následně byla provedena reakce působením 20%  $\text{SOCl}_2$  za teploty 50 °C a výsledky byly sledovány na LC-MS v čase (10 min, 30 min, 1 h), ale cyklizace na spirosloučeninu nebyla úspěšná.

**Schéma 27:** Pokus o cyklizaci reakcí s  $\text{SOCl}_2$ 

## 4. 2. Připravené sloučeniny

Připravené deriváty byly po čištění na semipreparativním HPLC lyofilizovány a poté charakterizovány pomocí NMR a HRMS. Z protonových spekter NMR byl také vypočten výtěžek reakce porovnáním se standardem – kyselinou 4-methoxybenzoovou.

**Tabulka 8:** Přehled připravených derivátů



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	23 <sup>a</sup>	25 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>
{1,1,1}	CH <sub>3</sub>	H	H	67/45	-	-
{2,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	79/21	63/49	-
{2,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	67/31	76/63	-
{2,2,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	98/33	66/59	-
{2,4,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	59/7	-	-
{3,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	81/35	93/80	-
{3,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	75/30	80/73	-
{3,1,3}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	20 <sup>b</sup> /4 <sup>c</sup>	-	-
{3,1,4}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	CF <sub>3</sub>	-	-	96/21
{3,1,5}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	H	NO <sub>2</sub>	-	-	89/7
{3,2,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub>	H	85/20	-	-
{3,3,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	Cl	H	71/37	98/52	-
{3,4,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	15/x <sup>d</sup>	70/y <sup>e</sup>	-
{4,1,1}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	H	84/21	-	-
{4,1,2}	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	89/30	-	-

<sup>a</sup> procentuální čistota vypočítaná z UV-Vis spektra / procentuální výtěžek vypočítaný z NMR spekter

<sup>b</sup> vznikla bohatá směs produktů, ze které byla izolována cílová sloučenina

<sup>c</sup> problémy s čistotou produktu

<sup>d</sup> x je směs produktů, neizolováno

<sup>e</sup> y je směs 2 látek

#### **4. 2. 1. Biologická aktivita**

Finální spirosloučeniny byly testovány na Katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty na antimikrobiální aktivitu proti bakteriálním kmenům *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium vaccae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli* s negativním výsledkem. Připravené chinazolinu, spirosloučeniny a C-aryly byly v době odevzdání bakalářské práce dány na testování na protirakovinné linie na Ústav molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

#### **4. 2. 2. Zachování integrity chirálního centra**

V rámci bakalářské práce bylo zamýšleno zjistit, jestli má syntetický průběh vliv na zachování chiralitu u asymetrického uhlíku. Bylo plánováno provést syntézu vycházející z opticky čistého L- a D-ornithinu a s pomocí chirální separace určit zachování integrity chirálního centra spirosloučenin. V době odevzdání bakalářské práce se však nepodařilo provést celý sled reakcí vycházející z D-aminokyseliny a bude tak dokončeno až v létě 2017 v rámci letních studentských aktivit.

Vzhledem k tomu, že u připravených látek nebyla chiralita studována, jsou vzorce chinazolinů a od nich odvozených spirosloučenin připravené v rámci této bakalářské práce znázorněny bez určení konfigurace na chirálním centru.

## 5. Experimentální část

V této části jsou krátce představeny přístroje, které byly během práce využity. Dále jsou zde popsány postupy k syntéze cílových látek.

### 5. 1. Reakční nádoby a přístroje

Pro syntézu na pevné fázi byly použity polypropylenové stříkačky s fritou, umožňující prostupnost rozpouštědla a vymytí intermediátů nevázaných na pryskyřici. K záhřevu byly použity speciální skleněné vialky. Dále jsou specifikovány použité přístroje.

- **Domino block syntetizér** (Torviq) – reakční a promývací zařízení
- **Paralelní reaktor** (Büchi) – záhřev reakční směsi
- **Mikrovlnný reaktor** (CEM Discover)
- **HPLC-MS** - Vysoce účinný kapalinový chromatograf Accela ve spojení s hmotnostním spektrometrem s trojitým kvadrupólem Quantum Access (obojí Thermo Scientific) – analýza vzorků
- **UPLC-MS** - Acquity Waters SQ Detector 2 (Waters) – analýza vzorků
- **(Semi)preparativní HPLC** (1200 Series, Agilent Technologies) – přečištění produktů
- **Lyofilizátor (Scanvac CoolSafe)** – odstranění zbytkových rozpouštědel ze vzorků
- **NMR** – Jeol 400, identifikace sloučenin
- **HRMS** (Thermo) - Orbitrap Elite high-resolution hmotnostní spektrometr

### 5. 2. Štěpení produktu z pevné fáze a příprava vzorku na analýzu

Po ukončení každé reakce byla pryskyřice vždy promyta vhodným rozpouštědlem. Malé množství pryskyřice (cca 5 mg) s produktem bylo odebráno do ependorfky a po přidání asi 1 ml štěpícího koktejlu – 50% TFA v DCM byl produkt štěpen 30 minut na laboratorní třepače. Štěpení konečného chinazolinu z pevné fáze k přečištění trvalo 1 hodinu. Roztok byl potom odpařen v proudu dusíku a odparek rozpuštěn v 1 ml MeOH. Před analýzou byl roztok zfiltrován do plastové analytické vialky a poté proměřen na UPLC-MS.



### **5. 3. Syntéza derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu**

#### **5. 3. 1. Reakce s CDI a ethanolaminem**

Wangova pryskyřice (0,9 mmol/g; 1 g) byla promyta 3×DCM. K nabobtnané pryskyřici byl přidán roztok CDI (5 mmol, 810 mg) a pyridinu (5 mmol, 400 µl) v 10 ml DCM. Reakční směs byla třepána 2 h za laboratorní teploty. Poté byla pryskyřice promyta 3×DCM a byl přidán roztok ethanolaminu (5 mmol, 300 µl) v 10 ml DCM. Vše bylo třepáno 3 h za laboratorní teploty a pryskyřice potom byla promyta 5×DCM. Pryskyřice byla rozdělena na 2 části a další krok byl proveden s 500 mg pryskyřice.

#### **5. 3. 2. Esterifikace ukotveného ethanolaminu aminokyselinou**

Pryskyřice byla promyta 3×DCM. K nabobtnané pryskyřici byl přidán roztok Fmoc-aminokyseliny (1 mmol), HOBt (1 mmol, 153 mg) a DMAP (0,25 mmol, 30 mg) v 5 ml DCM/DMF (1:1) a DIC (1 mmol, 156 µl). Pryskyřice byla třepána za laboratorní teploty do druhého dne. Potom byla promyta 3×DMF a 3×DCM. Nakonec byla provedena kvantifikace – vypočítání loadingu. Po tomto kroku byla pryskyřice rozdělena na 2 části a další kroky byly provedeny s 250 mg pryskyřice.

#### **5. 3. 3. Derotekce skupiny Fmoc**

Pryskyřice byla promyta 3×DCM a 3×DMF a poté byl přidán roztok 50% piperidinu v DMF. Reakční směs byla třepána 20 minut při laboratorní teplotě. Pryskyřice byla promyta 5×DMF a 3×DCM.

#### **5. 3. 4. Reakce s 2-nitrobenzensulfonyl chloridem**

Pryskyřice byla promyta 3×DCM a byl přidán roztok derivátu 2-Nos-Cl (0,75 mmol) a 2,6-lutidinu (0,82 mmol, 95 µl) v 2,5 ml DCM. Reakční směs byla třepána 2 h za laboratorní teploty. Poté byla promyta 5×DCM. Verifikace reakce byla provedena reakcí analytického vzorku pryskyřice s Fmoc-Osu (1 mmol, 169 mg) v 1 ml DCM. Pryskyřice byla třepána 40 minut.

#### **5. 3. 5. Alkylace bromoketonem**

Pryskyřice byla promyta 3×DCM a 3×DMF. Potom byl přidán roztok derivátu bromoketonu (1,25 mmol) a DIEA (1,25 mmol; 218 µl) v 2,5 ml DMF a reakční směs byla třepána přes noc za laboratorní teploty.

### **5. 3. 6. Alkylace za Fukuyama-Mitsunobu podmínek**

Pryskyřice byla promyta 3×bezvodým THF. Roztok alkoholu (2 mmol) a PPh<sub>3</sub> (2 mmol) v 2,5 ml bezvodého THF byl přidán k pryskyřici a celá reakční směs byla ponechána v mrazáku 30 minut. Do plastové stříkačky byl přidán roztok DEAD (2 mmol) v 1 ml bezvodého THF. Tento roztok byl také dán do mrazáku na 30 min. Po vytáhnutí obou stříkaček z mrazáku byly reakční směsi spojeny a třepány za laboratorní teploty 2 hodiny.

### **5. 3. 7. Cyklizace s DBU**

Pryskyřice byla promyta 3×DCM a 3×DMF. Poté byl přidán roztok DBU o různé koncentraci v 2,5 ml DMF. Reakční podmínky se lišily v závislosti na typu použitého derivátu. Po ukončení reakce byla pryskyřice promyta 5×DMF, 3×MeOH, 3×DCM.

### **5. 3. 8. Purifikace na semipreparativním HPLC a příprava vzorku na NMR**

Produkt byl před samotnou purifikací nejprve odštěpen z pryskyřice působením 50% TFA v DCM po dobu 1 hodiny. Vzniklý roztok byl potom přenesen do skleněné vialky a pryskyřice byla vymyta ještě cca 2 ml zředěného štěpícího koktejlu. Štěpící koktejl byl odpařen v proudu dusíku. Odparek byl rozpuštěn ve 3 ml MeOH a zfiltrován do čisté skleněné vialky.

K přečištění byl zvolen semipreparativní HPLC s acetonitrilem jako mobilní fází a 0,1% TFA/H<sub>2</sub>O jako pufrem. Po purifikaci byl nadbytek acetonitrilu redukován proudem dusíku a vodná složka potom byla odstraněna pomocí lyofilizátoru.

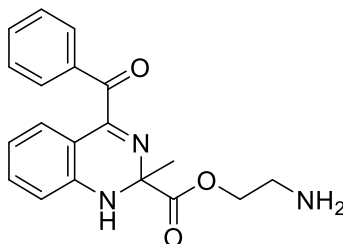
Vzorek byl rozpuštěn v 600 µl deuterovaného DMSO a přendán do NMR kyvety.

## **5. 4. Syntéza spirosloučenin odvozených od derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu**

K přečištěnému produktu, rozpuštěnému v 600 µl DMSO bylo přidáno 1,5 ml DMF a TEA (0,6 mmol; 84 µl). Výsledné spirosloučeniny byly přečištěny na semipreparativním HPLC s acetonitrilem jako mobilní fází a 0,1% octanem amonným v H<sub>2</sub>O jako pufrem.

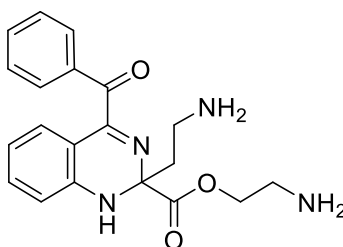
## 5. 5. Analytická data

### 2-aminoethyl 4-benzoyl-2-methyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát **23**{1,1,1}



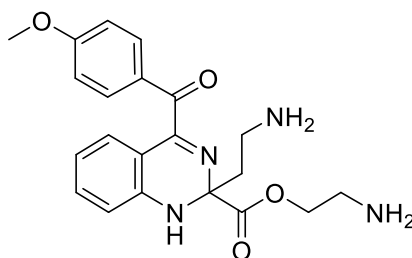
Výtěžek 15,2 mg (45 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,11 (br. s.; 2 H); 8,05 (d;  $J=7,4$  Hz; 2 H); 7,77 - 7,70 (m; 1 H); 7,63 - 7,55 (m; 2 H); 7,34 (br. s.; 1 H); 7,30 - 7,23 (m; 1 H); 6,92 (d;  $J=7,3$  Hz; 1 H); 6,79 (d;  $J=8,2$  Hz; 1 H); 6,57 (t;  $J=7,5$  Hz; 1 H); 4,27 (dt;  $J = 2,1; 5,1$  Hz; 2 H); 3,21 - 3,05 (m; 2 H); 1,74 (s; 3 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 192,9; 171,6; 163,6; 145,3; 134,8; 134,3; 130,0; 129,0; 126,6; 117,5; 114,4; 112,9; 81,3; 73,2; 61,9; 37,9; 26,5 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  338,1499; nalezeno 338,1498.

### 2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-benzoyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát **23**{2,1,1}



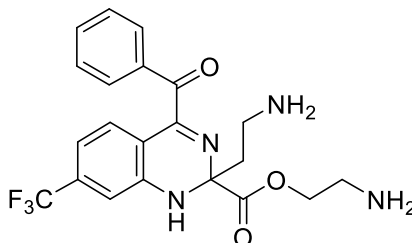
Výtěžek 5,6 mg (17 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,20 (br. s.; 2 H); 8,06 (t;  $J = 1,0$  Hz; 2 H); 7,97 (br. s.; 2 H); 7,76 (t;  $J = 7,5$  Hz; 1 H); 7,60 (t;  $J = 7,8$  Hz; 2 H); 7,54 (s; 1 H); 7,30 (ddd;  $J = 1,0; 7,3; 8,3$  Hz; 1 H); 6,95 (dd;  $J = 1,0; 7,8$  Hz; 1 H); 6,83 (d;  $J = 8,3$  Hz; 1 H); 6,64 - 6,59 (m; 1 H); 4,29 (t;  $J = 5,4$  Hz; 2 H); 3,11 (d;  $J = 5,2$  Hz; 2 H); 3,01 (br. s.; 1 H); 2,93 - 2,82 (m; 1 H); 2,47 - 2,28 (m; 2 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 192,7; 170,3; 165,0; 145,1; 134,9; 134,6; 129,9; 129,1; 126,7; 118,0; 114,6; 112,9; 74,4; 62,1; 37,7; 35,5; 34,7 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  367,1765; nalezeno 367,1766.

**2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-(4-methoxybenzoyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{2,1,2}**



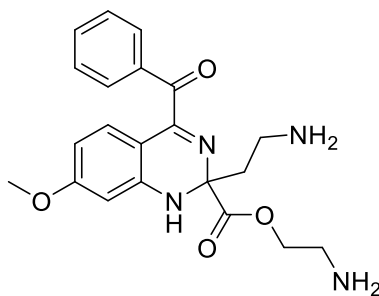
Výtěžek 8,4 mg (24 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,17 (br. s.; 2 H); 8,07 - 8,02 (m; 2 H); 7,93 (br. s.; 2 H); 7,48 (s; 1 H); 7,29 (ddd;  $J$  = 1,6; 7,3; 8,3 Hz; 1 H); 7,15 - 7,10 (m; 2 H); 6,91 (dd;  $J$  = 1,6; 7,8 Hz; 1 H); 6,81 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,64 - 6,59 (m; 1 H); 4,29 (t;  $J$  = 5,7 Hz; 2 H); 3,87 (s; 3 H); 3,17 - 3,06 (m; 2 H); 3,05 - 2,96 (m; 1 H); 2,94 - 2,84 (m; 1 H); 2,46 - 2,29 (m; 2 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 191,1; 170,4; 165,3; 164,5; 145,1; 134,4; 132,4; 127,5; 126,7; 117,9; 114,5; 113,0; 74,4; 62,0; 55,8; 37,7; 35,5; 34,7 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  397,1870; nalezeno 397,1870.

**2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-benzoyl-7-(trifluoromethyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{2,2,1}**



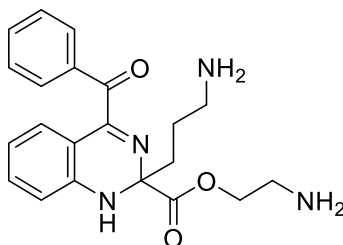
Výtěžek 15,1 mg (33 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,24 (br. s.; 2 H); 8,07 (dd;  $J$  = 0,9; 8,2 Hz; 2 H); 8,01 (br. s.; 3 H); 7,77 (t;  $J$  = 7,6 Hz; 1 H); 7,62 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,22 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 7,13 (s; 1 H); 6,91 (d;  $J$  = 8,2 Hz; 1 H); 4,34 (t;  $J$  = 5,3 Hz; 2 H); 3,15 (br. s.; 2 H); 3,01 (br. s.; 1 H); 2,89 (br. s.; 1 H); 2,46 - 2,32 (m; 2 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 191,9; 169,6; 163,9; 145,4; 135,1; 134,4; 134,3; 134,1; 133,8; 133,5; 130,1; 129,2; 128,2; 127,6; 124,9; 122,2; 119,5; 114,69; 113,8; 113,7; 111,0; 74,7; 62,5; 37,7; 35,6; 34,5 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  435,1639; nalezeno 435,1638.

**2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-benzoyl-7-methoxy-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{2,4,1}**



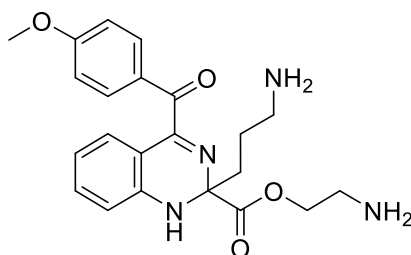
Výtěžek 1,9 mg (7 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,11 (br. s.; 2 H); 8,04 (dd;  $J$  = 1,4; 8,2 Hz; 2 H); 7,86 (br. s.; 2 H); 7,78 - 7,72 (m;  $J$  = 1,0; 1,0 Hz; 1 H); 7,60 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,52 (s; 1 H); 6,89 (d;  $J$  = 8,7 Hz; 1 H); 6,34 (d;  $J$  = 2,3 Hz; 1 H); 6,22 (dd;  $J$  = 2,3; 8,7 Hz; 1 H); 4,28 (t;  $J$  = 5,5 Hz; 2 H); 3,74 (s; 3 H); 3,11 (br. s.; 2 H); 3,04 - 2,94 (m; 1 H); 2,93 - 2,82 (m; 1 H); 2,44 - 2,34 (m; 1 H); 2,34 - 2,24 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 192,8; 170,5; 164,3; 164,2; 147,1; 134,8; 134,6; 129,9; 129,1; 128,6; 106,9; 105,6; 98,0; 74,4; 62,0; 55,3; 37,7; 35,5; 34,7 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  397,1870; nalezeno 397,1872.

**2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-benzoyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{3,1,1}**



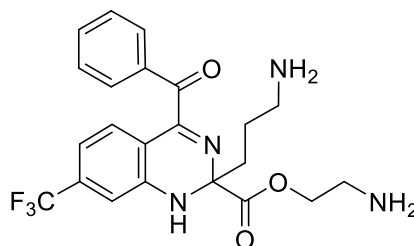
Výtěžek 13,1 mg (35 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,19 (br. s.; 2 H); 8,11 - 8,06 (m; 2 H); 7,83 (br. s.; 2 H); 7,78 - 7,72 (m; 1 H); 7,60 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,36 (s; 1 H); 7,27 (dt;  $J$  = 1,3; 7,7 Hz; 1 H); 6,91 (dd;  $J$  = 1,0; 7,8 Hz; 1 H); 6,81 (d;  $J$  = 8,3 Hz; 1 H); 6,58 (t;  $J$  = 8,0 Hz; 1 H); 4,32 - 4,21 (m; 2 H); 3,18 - 3,05 (m; 2 H); 2,87 - 2,77 (m; 2 H); 2,22 - 2,10 (m; 1 H); 2,07 - 1,97 (m; 1 H); 1,85 - 1,73 (m; 1 H); 1,70 - 1,56 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 192,9; 171,2; 164,6; 145,5; 134,8; 134,7; 134,4; 130,0; 129,2; 126,7; 117,6; 114,4; 112,8; 75,6; 61,9; 37,8; 34,9; 22,0 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  381,1921; nalezeno 381,1922.

**2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-(4-methoxybenzoyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{3,1,2}**



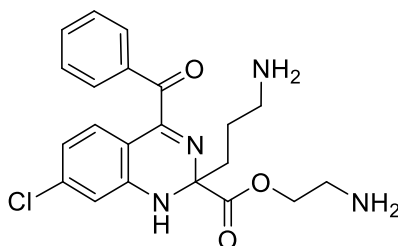
Výtěžek 9,5 mg (30 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 8,19 (br. s.; 2 H); 8,09 - 8,03 (m; 2 H); 7,82 (br. s.; 2 H); 7,33 (s; 1 H); 7,26 (t;  $J$  = 7,3 Hz; 1 H); 7,15 - 7,10 (m; 2 H); 6,88 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,80 (d;  $J$  = 8,3 Hz; 1 H); 6,57 (t;  $J$  = 7,5 Hz; 1 H); 4,32 - 4,20 (m; 2 H); 3,87 (s; 3 H); 3,19 - 3,04 (m; 2 H); 2,89 - 2,77 (m; 2 H); 2,20 - 2,10 (m; 1 H); 2,06 - 1,96 (m; 1 H); 1,85 - 1,74 (m; 1 H); 1,70 - 1,56 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 191,4; 171,3; 164,8; 164,5; 145,5; 134,3; 132,5; 127,6; 126,7; 117,6; 114,5; 114,3; 112,9; 99,5; 75,5; 61,8; 55,8; 37,8; 35,0; 22,0 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  411,2027; nalezeno 411,2030.

**2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-benzoyl-7-(trifluoromethyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{3,2,1}**



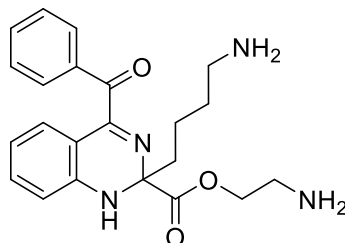
Výtěžek 6,5 mg (29 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 8,14 (br. s.; 2 H); 8,08 (d;  $J$  = 7,3 Hz; 2 H); 7,83 - 7,75 (m; 4 H); 7,62 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,19 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 7,11 (s; 1 H); 6,87 (dd;  $J$  = 0,9; 8,2 Hz; 1 H); 4,37 - 4,25 (m; 2 H); 3,19 - 3,10 (m; 2 H); 2,88 - 2,78 (m; 2 H); 2,25 - 2,15 (m; 1 H); 2,09 - 2,00 (m; 1 H); 1,83 - 1,70 (m; 1 H); 1,68 - 1,57 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 192,0; 170,3; 163,3; 145,7; 135,0; 134,3; 133,7 (q;  $J$  = 32,6 Hz; 1 C) 130,1; 129,1; 128,1; 123,5 (q;  $J$  = 272,2 Hz; 1 C); 114,4; 113,3; 110,6; 75,9; 62,2; 38,7; 37,7; 35,1; 21,7 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  449,1795; nalezeno 449,1795.

**2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-benzoyl-7-chloro-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{3,3,1}**



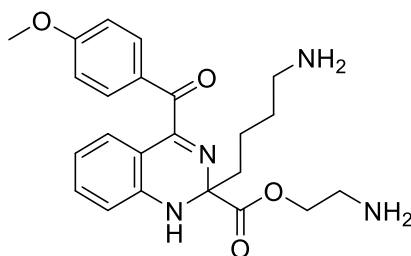
Výtěžek 11,3 mg (37 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 8,15 (br. s.; 2 H); 8,07 (dd;  $J$  = 1,0; 8,3 Hz; 2 H); 7,78 (br. s.; 2 H); 7,77 - 7,74 (m; 1 H); 7,64 (s; 1 H); 7,61 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 6,97 (d;  $J$  = 8,3 Hz; 1 H); 6,85 (d;  $J$  = 2,0 Hz; 1 H); 6,61 (dd;  $J$  = 2,2; 8,5 Hz; 1 H); 4,36 - 4,23 (m; 2 H); 3,19 - 3,09 (m; 2 H); 2,87 - 2,77 (m; 2 H); 2,22 - 2,12 (m; 1 H); 2,06 - 1,96 (m; 1 H); 1,82 - 1,69 (m; 1 H); 1,67 - 1,54 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 192,3; 170,6; 163,5; 146,6; 138,7; 134,9; 134,4; 130,0; 129,1; 128,6; 117,4; 113,5; 111,0; 75,7; 62,1; 38,8; 37,7; 35,0; 21,8 ppm. HPLC-MS  $m/z$  pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{ClN}_4\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  415.

**2-aminoethyl 2-(4-aminobutyl)-4-benzoyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{4,1,1}**



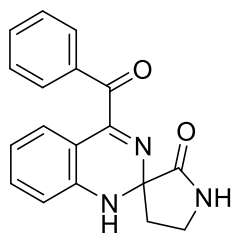
Výtěžek 6,8 mg (21 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 8,18 (br. s.; 2 H); 8,10 - 8,05 (m; 2 H); 7,81 (br. s.; 2 H); 7,75 (t;  $J$  = 7,4 Hz; 1 H); 7,60 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,30 (s; 1 H); 7,26 (ddd;  $J$  = 1,4; 7,5; 8,3 Hz; 1 H); 6,91 (d;  $J$  = 7,0 Hz; 1 H); 6,80 (d;  $J$  = 8,0 Hz; 1 H); 6,59 - 6,54 (m; 1 H); 4,32 - 4,19 (m; 2 H); 3,11 (br. s.; 2 H); 2,78 (br. s.; 2 H); 2,17 - 2,05 (m; 1 H); 2,04 - 1,94 (m; 1 H); 1,64 - 1,46 (m; 3 H); 1,42 - 1,29 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz;  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  = 192,8; 171,4; 164,2; 145,5; 134,7; 134,2; 129,9; 129,0; 126,5; 118,6; 117,3; 114,3; 112,7; 75,7; 61,7; 40,4; 37,8; 37,6; 27,0; 20,6 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  395,2078; nalezeno 395,2077.

**2-aminoethyl 2-(4-aminobutyl)-4-(4-methoxybenzoyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylát 23{4,1,2}**



Výtěžek 7,9 mg (30 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,18 (br. s.; 2 H); 8,08 - 8,03 (m; 2 H); 7,81 (br. s.; 2 H); 7,27 (s; 1 H); 7,26 - 7,22 (m; 1 H); 7,15 - 7,09 (m; 2 H); 6,87 (d;  $J$  = 7,3 Hz; 1 H); 6,79 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,56 (t;  $J$  = 7,3 Hz; 1 H); 4,31 - 4,19 (m; 2 H); 3,87 (s; 3 H); 3,11 (br. s.; 2 H); 2,79 (br. s.; 2 H); 2,14 - 2,05 (m; 1 H); 2,03 - 1,93 (m; 1 H); 1,61 - 1,51 (m; 3 H); 1,42 - 1,30 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 191,3; 171,5; 164,5; 164,4; 145,5; 134,1; 132,4; 127,6; 126,5; 117,3; 114,4; 114,2; 112,9; 75,6; 61,7; 55,7; 41,1; 37,7; 37,6; 27,0; 20,6 ppm. HPLC-MS  $m/z$  pro  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  425.

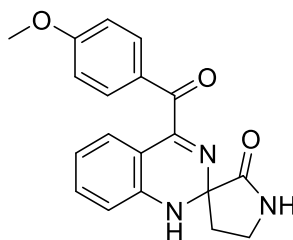
**4'-benzoyl-1'H-spiro[pyrrolidin-3,2'-chinazolin]-2-on 25{2,1,1}**



Výtěžek 2,3 mg (49 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,02 (dd;  $J$  = 1,0; 8,3 Hz; 2 H); 7,81 (s; 1 H); 7,75 - 7,70 (m; 1 H); 7,57 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,17 - 7,12 (m; 1 H); 6,93 (s; 1 H); 6,73 (dd;  $J$  = 1,0; 7,8 Hz; 1 H); 6,56 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,42 (dt;  $J$  = 1,0; 7,5 Hz; 1 H); 3,23 (t;  $J$  = 6,5 Hz; 2 H); 2,46 - 2,38 (m; 1 H); 2,15 (td;  $J$  = 7,5; 13,0 Hz; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 193,5; 173,2; 163,9; 146,4; 135,3; 135,2; 134,5; 130,3; 129,5; 126,7; 116,7; 113,8; 112,8; 76,5; 38,4; 37,34 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  306,1237; nalezeno 306,1236.

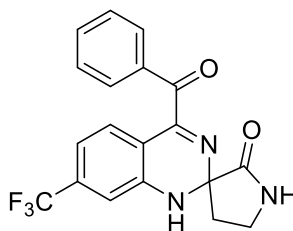


**4'-(4-methoxybenzoyl)-1'H-spiro[pyrrolidin-3,2'-chinazolin]-2-on 25{2,1,2}**



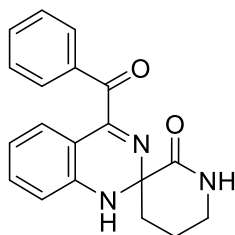
Výtěžek 4,5 mg (63 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,02 - 7,97 (m; 2 H); 7,79 (s; 1 H); 7,16 - 7,11 (m; 1 H); 7,10 - 7,06 (m; 2 H); 6,90 (s; 1 H); 6,70 (dd;  $J$  = 1,0; 7,8 Hz; 1 H); 6,54 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,43 - 6,38 (m; 1 H); 3,86 (s; 3 H); 3,23 (t;  $J$  = 6,5 Hz; 2 H); 2,41 (td;  $J$  = 5,4; 13,0 Hz; 1 H); 2,15 (td;  $J$  = 7,5; 13,0 Hz; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 191,5; 172,7; 164,3; 163,7; 146,0; 133,9; 132,2; 127,7; 126,2; 116,2; 114,4; 113,2; 112,4; 76,0; 55,8; 37,9; 36,8 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  336,1343; nalezeno 336,1343.

**4'-benzoyl-7'-(trifluoromethyl)-1'H-spiro[pyrrolidin-3,2'-chinazolin]-2-on 25{2,2,1}**



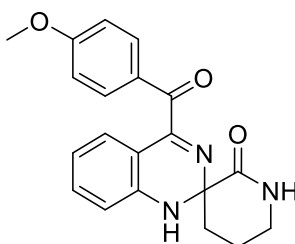
Výtěžek 7,4 mg (59 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,02 (dd;  $J$  = 1,4; 8,2 Hz; 2 H); 7,94 (s; 1 H); 7,74 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 7,58 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,38 (s; 1 H); 6,99 (d;  $J$  = 8,2 Hz; 1 H); 6,82 (d;  $J$  = 0,9 Hz; 1 H); 6,73 (dd;  $J$  = 0,9; 8,2 Hz; 1 H); 3,25 (t;  $J$  = 6,4 Hz; 2 H); 2,54 - 2,45 (m; 1 H); 2,18 (td;  $J$  = 7,6; 13,3 Hz; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 192,2; 172,2; 162,4; 146,4; 134,9; 134,5; 133,5 (q;  $J$  = 31,3 Hz; 1 C); 129,9; 129,1; 127,3; 123,6 (q;  $J$  = 272,8 Hz; 1 C); 114,7; 112,4 (q;  $J$  = 3,8 Hz; 1 C); 109,4 (q;  $J$  = 3,8 Hz; 1 C); 76,3; 37,6; 36,9 ppm HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  374,1111; nalezeno 374,1108.

**4'-benzoyl-1'H-spiro[piperidin-3,2'-chinazolin]-2-on 25{3,1,1}**



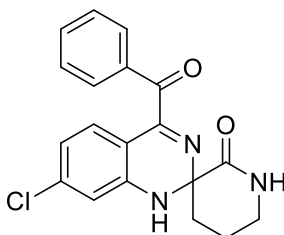
Výtěžek 8,8 mg (80 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,04 (dd;  $J$  = 1,0; 8,3 Hz; 2 H); 7,74 - 7,69 (m; 1 H); 7,57 (s; 1 H); 7,55 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,13 - 7,08 (m; 1 H); 6,80 (s; 1 H); 6,69 (dd;  $J$  = 1,3; 7,5 Hz; 1 H); 6,53 (d;  $J$  = 7,3 Hz; 1 H); 6,37 (dt;  $J$  = 1,0; 7,3 Hz; 1 H); 3,19 - 3,13 (m; 2 H); 2,23 - 2,16 (m; 1 H); 2,04 - 1,87 (m; 2 H); 1,83 - 1,74 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 193,1; 169,7; 163,0; 146,2; 134,9; 134,6; 133,8; 129,9; 129,0; 126,2; 115,8; 113,1; 112,2; 72,8; 41,4; 37,3; 18,3 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  320,1394; nalezeno 320,1394.

**4'-(4-methoxybenzoyl)-1'*H*-spiro[piperidin-3,2'-chinazolin]-2-on 25{3,1,2}**



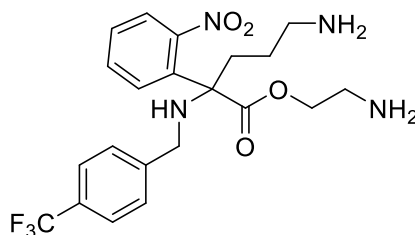
Výtěžek 5,9 mg (73 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,03 - 7,99 (m; 2 H); 7,54 (s; 1 H); 7,12 - 7,04 (m; 3 H); 6,76 (s; 1 H); 6,67 (dd;  $J$  = 1,6; 7,8 Hz; 1 H); 6,52 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,39 - 6,34 (m; 1 H); 3,86 (s; 3 H); 3,19 - 3,14 (m; 2 H); 2,23 - 2,14 (m; 1 H); 2,04 - 1,89 (m; 2 H); 1,85 - 1,74 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 191,7; 169,8; 164,2; 163,3; 133,7; 132,3; 127,9; 126,2; 115,7; 114,3; 113,0; 112,3; 72,7; 55,7; 41,4; 37,4; 18,3 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  350,1499; nalezeno 350,1502.

**4'-benzoyl-7'-chloro-1'*H*-spiro[piperidin-3,2'-chinazolin]-2-on 25{3,3,1}**



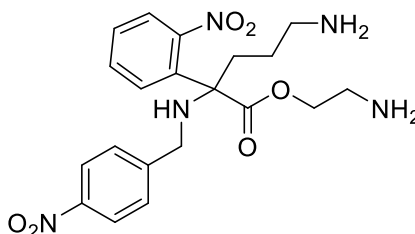
Výtěžek 5,0 mg (52 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,02 (dd;  $J$  = 1,1; 8,5 Hz; 2 H); 7,75 - 7,70 (m; 1 H); 7,67 (s; 1 H); 7,56 (t;  $J$  = 7,8 Hz; 2 H); 7,09 (s; 1 H); 6,74 (d;  $J$  = 8,2 Hz; 1 H); 6,56 (d;  $J$  = 1,8 Hz; 1 H); 6,41 (dd;  $J$  = 1,8; 8,2 Hz; 1 H); 3,19 - 3,14 (m; 2 H); 2,24 - 2,16 (m; 1 H); 2,03 - 1,88 (m; 2 H); 1,83 - 1,72 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 192,6; 169,4; 162,1; 147,6; 138,1; 134,7; 134,7; 129,9; 129,0; 127,9; 115,6; 112,1; 111,0; 72,9; 41,4; 37,2; 18,3 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$  354,1004; nalezeno 354,1008.

**2-aminoethyl 5-amino-2-(2-nitrophenyl)-2-((4-(trifluoromethyl)benzyl)amino) pentanoát 28{3,1,4}**



Výtěžek 8,2 mg (20 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,15 - 8,04 (m; 2 H); 8,00 (dd;  $J$  = 1,4; 7,9 Hz; 1 H); 7,97 (dd;  $J$  = 1,4; 8,2 Hz; 1 H); 7,81 - 7,74 (m; 3 H); 7,71 - 7,67 (m;  $J$  = 8,2 Hz; 2 H); 7,64 - 7,58 (m; 3 H); 4,30 - 4,18 (m; 2 H); 3,18 - 3,02 (m; 2 H); 2,87 - 2,66 (m; 2 H); 2,42 - 2,30 (m; 2 H); 1,82 - 1,66 (m; 1 H); 1,28 - 1,14 (m; 1 H) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 169,9; 149,1; 144,8; 133,7; 132,9; 129,9; 129,2; 128,7; 127,2 (q;  $J$  = 32,6 Hz; 1 C); 125,5; 125,0 (q;  $J$  = 3,8 Hz; 1 C); 121,7 (q;  $J$  = 272,2 Hz; 1 C); 66,3; 61,2; 46,0; 37,8; 32,0; 21,6 ppm. HRMS (ESI-TOF)  $m/z$  vypočítáno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  455,1901; nalezeno 455,1905.

**2-aminoethyl 5-amino-2-((4-nitrobenzyl)amino)-2-(2-nitrophenyl) pentanoát 28{3,1,4}**



Výtěžek 2,2 mg (7 %) amorfnní látky.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz; DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,37 - 8,31 (m; 2 H); 8,14 (br. s.; 2 H); 7,81 (br. s; 2 H); 7,79 - 7,74 (m; 2 H); 7,34 - 7,27 (m; 1 H); 7,26 (s; 1 H); 6,94 (d;  $J$  = 7,3 Hz; 1 H); 6,86 (d;  $J$  = 7,8 Hz; 1 H); 6,67 - 6,61 (m; 1 H); 4,25 - 4,14 (m; 2 H); 3,20 - 3,00 (m; 2 H); 2,92 - 2,77 (m; 2 H); 2,48 - 2,36 (m; 2 H); 2,23 - 2,12 (m; 1 H); 2,06 - 1,93 (m; 1 H); 1,65 (br. s.; 1 H); 1,59 - 1,47 (m; 1 H) ppm. HPLC-MS  $m/z$  pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_6$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  432.

## 6. Závěr

Bakalářská práce se zabývá syntézou derivátů 1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu s kvarterním uhlíkem v poloze 2 a jejich cyklizaci na spirosloučeniny s využitím kombinatoriální chemie a syntézy na pevné fázi. Teoretická část se věnuje obecnému představení metodiky syntézy na pevné fázi a syntéze chinazolinů přes indazol-oxid jako meziproduct reakce. Kapitola o spirosloučeninách je zpracována jako rešerše vědeckých článků, zabývající se syntézou spirosloučenin s laktamovým kruhem. Je popsána také biologická aktivita vybraných chinazolinů a spirosloučenin. Ve Výsledcích a diskuzi je popsána samotná syntéza cílových látek včetně problémů a úspěšné optimalizace podmínek. V experimentální části jsou shrnuty použité přístroje, jednotlivé postupy syntézy a analytická data.

V rámci bakalářské práce byla připravena malá knihovna nových derivátů chinazolinů s variací substituce na 3 místech v molekule ( $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ). Byly diskutovány vlivy elektronových efektů substituentů na průběh reakce. Na průběh *N*-alkylace bromoketony měly velký vliv elektronakceptorní skupiny  $CF_3$  a  $Cl$ , kdy se v jejich přítomnosti během toho kroku již tvořily další meziproducty cyklizace. Elektronakceptorní skupiny ovlivnily dále i cyklizaci na chinazoliny. Na tento krok měla největší vliv skupina  $CF_3$ , a to zejména v poloze  $R^3$ , kdy došlo k velkému urychlení reakce. Ani vlivy těchto skupin však nepomohly při *N*-alkylaci za Fukuyama-Mitsunobu podmínek, kdy se v průběhu alkylace nejen netvořily další meziproducty cyklizace, ale ani po následné reakci s bází nebylo dosaženo požadovaných chinazolinů. Tyto deriváty byly tedy izolovány a dále popsány ve formě *C*-arylů. Vliv délky postranního řetězce  $R^1$  se projevil již při tvorbě chinazolinů, reakční doba se zvyšovala s rostoucí délkou řetězce. Délka řetězce měla také vliv na finální cyklizaci na spirosloučeniny, kdy se nepodařilo za žádných podmínek připravit derivát se 7-členným laktamovým kruhem. Deriváty s 5- a 6-členným kruhem se za vhodných podmínek tvořily ihned a byla vytvořena malá knihovna těchto látek.

Biologická aktivita finálních spirosloučenin byla testována na Katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty na antimikrobiální aktivitu proti bakteriálním kmenům *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium vaccae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Escherichia coli* s negativním výsledkem. Připravené chinazoliny, spirosloučeniny a *C*-aryly byly v době odevzdání bakalářské práce dány na

testování na protirakovinné linie na Ústav molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci.

Bylo plánováno dále provést syntézu vycházející z opticky čistého L- a D-ornitinu a s pomocí chirální separace určit zachování integrity chirálního centra získaných chinazolinů. V době odevzdání práce však nebyl dokončen sled reakcí s D-aminokyselinou a bude tak učiněno až v létě 2017.

## 7. Literatura

1. Hlavac, J.; Sural, M.; Krchnak, V. Practical aspects of combinatorial solid-phase synthesis. *John Wiley & Sons*, **2012**, 95-130.
2. Lemrová B.; Fülöpová V. *Praktické aspekty syntézy na pevné fázi*. **2015**, Univerzita Palackého v Olomouci.
3. Wang, S. S. p-Alkoxybenzyl alcohol resin and p-alkoxybenzyloxycarbonylhydrazide resin for solid phase synthesis of protected peptide fragments. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95 (4), 1328-1333.
4. Merrifield, R. B. Solid phase peptide synthesis. I. The synthesis of a tetrapeptide. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85 (14), 2149-2154.
5. Letsinger, R. L.; Ogilvie, K. K. Nucleotide chemistry. XIII. Synthesis of oligothymidylates via phosphotriester intermediates. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91 (12), 3350-3355.
6. Letsinger, R. L.; Kornet, M. J. Popcorn polymer as a support in multistep syntheses. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85 (19), 3045-3046.
7. Schuerch, C.; Frechet, J. M. Solid-phase synthesis of oligosaccharides. I. Preparation of the solid support. Poly[p-(1-propen-3-ol-1-yl)styrene]. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93 (2), 492-496.
8. Bunin, B. A.; Ellman, J. A. A general and expedient method for the solid-phase synthesis of 1,4-benzodiazepine derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114 (27), 10997-10998.
9. Nefzi, A.; Ostresh, J. M.; Houghten, R. A. The Current Status of Heterocyclic Combinatorial Libraries. *Chem. Rev. (Washington, D. C. )* **1997**, 97 (2), 449-472.
10. Macarron, R.; Banks, M. N.; Bojanic, D.; Burns, D. J.; Cirovic, D. A.; Garyantes, T.; Green, D. V. S.; Hertzberg, R. P.; Janzen, W. P.; Paslay, J. W.; Schopfer, U.; Sittampalam, G. S. Impact of high-throughput screening in biomedical research. *Nat. Rev. Drug Discovery*. **2011**, 10 (3), 188-195.
11. Maier, M. E. Design and synthesis of analogues of natural products. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, 13 (19), 5302-5343.
12. Spandl, R. J.; Diaz-Gavilan, M.; O'Connell, K. M. G.; Thomas, G. L.; Spring, D. R. Diversity-oriented synthesis. *Chem. Rec.* **2008**, 8 (3), 129-142.
13. Evans, B. E.; Rittle, K. E.; Bock, M. G.; DiPardo, R. M.; Freidinger, R. M.; Whitter, W. L.; Lundell, G. F.; Veber, D. F.; Anderson, P. S.; et, a. Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists. *J. Med. Chem.* **1988**, 31 (12), 2235-2246.
14. Horton, D. A.; Bourne, G. T.; Smythe, M. L. The combinatorial synthesis of bicyclic privileged structures or privileged substructures. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S. )* **2003**, 103 (3), 893-930.
15. Lovering, F.; Bikker, J.; Humblet, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *J. Med. Chem.* **2009**, 52 (21), 6752-6756.

16. Witt, A.; Bergman, J. Recent developments in the field of quinazoline chemistry. *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7* (7), 659-677.
17. Panneer Selvam, T.; Kumar, P. V. Quinazoline marketed drugs - a review. *Res. Pharm.* **2011**, *1* (1), 1-21.
18. Vijayakumar, B.; Prasanthi, P.; Muni Teja K Quinazoline derivatives & pharmacological activities: a review. *IJMCA.* **2013**, *3*, 10-21.
19. Bilbro, J.; Mart, M.; Kyprianou, N. Therapeutic value of quinazoline-based compounds in prostate cancer. *Anticancer Res.* **2013**, *33* (11), 4695-4700.
20. Rahman, M. U.; Jeyabalan, G.; Saraswat, P.; Parveen, G.; Khan, S.; Yar, M. S. Quinazolines and anticancer activity: current perspectives. *Synth. Commun.* **2017**, *47* (5), 379-408.
21. Ravez, S.; Castillo-Aguilera, O.; Depreux, P.; Goossens, L. Quinazoline derivatives as anticancer drugs: a patent review (2011 - present). *Expert Opin. Ther. Pat.* **2015**, *25* (7), 789-804.
22. Kamal, A.; Reddy, K. L.; Devaiah, V.; Shankaraiah, N.; Rao, M. V. Recent advances in the solid-phase combinatorial synthetic strategies for the quinoxaline, quinazoline and benzimidazole based privileged structures. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2006**, *6* (1), 71-89.
23. Kung, P. P.; Casper, M. D.; Cook, K. L.; Wilson-Lingardo, L.; Risen, L. M.; Vickers, T. A.; Ranken, R.; Blyn, L. B.; Wyatt, J. R.; Cook, P. D.; Ecker, D. J. Structure-activity relationships of novel 2-substituted quinazoline antibacterial agents. *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (22), 4705-4713.
24. Hu, J.; Zhang, Y.; Dong, L.; Wang, Z.; Chen, L.; Liang, D.; Shi, D.; Shan, X.; Liang, G. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Quinazoline Derivatives as Anti-inflammatory Agents against Lipopolysaccharide-induced Acute Lung Injury in Rats. *Chem. Biol. Drug Des.* **2015**, *85* (6), 672-684.
25. Zhu, S.; Chandrashekar, G.; Meng, L.; Robinson, K.; Chatterji, D. Febrifugine analogue compounds: Synthesis and antimalarial evaluation. *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20* (2), 927-932.
26. Honkanen, E.; Pippuri, A.; Kairisalio, P.; Nore, P.; Karppanen, H.; Paakkari, I. Synthesis and antihypertensive activity of some new quinazoline derivatives. *J. Med. Chem.* **1983**, *26* (10), 1433-1438.
27. Griess P. Ueber die Einwirkung des Cyans auf Anthranilsäure. *Berichte.* **1869**, *2*, 415-418.
28. Armarego, W. L. F. Quinazolines. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1979**, *24*, 1-62.
29. Sukriti Srivastava et al Biological activity of Quinazoline: A Review. *International Journal of Pharma Sciences and Research.* **2015**, *6* (9), 1206-1213.
30. Bouillon, I.; Zajicek, J.; Pudelova, N.; Krchnak, V. Remarkably Efficient Synthesis of 2H-Indazole 1-Oxides and 2H-Indazoles via Tandem Carbon-Carbon Followed by Nitrogen-Nitrogen Bond Formation. *J. Org. Chem.* **2008**, *73* (22), 9027-9032.
31. Smyslova, P.; Kisseljova, K.; Krchnak, V. Base-Mediated Intramolecular C- and N-Arylation of N,N-Disubstituted 2-Nitrobenzenesulfonamides: Advanced

Intermediates for the Synthesis of Diverse Nitrogenous Heterocycles. *ACS Comb. Sci.* **2014**, *16* (9), 500-505.

32. Schutznerova, E.; Krchnak, V. N-Oxide as an Intramolecular Oxidant in the Baeyer-Villiger Oxidation: Synthesis of 2-Alkyl-2H-indazol-3-yl Benzoates and 2-Alkyl-1,2-dihydro-3H-indazol-3-ones. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (9), 3585-3596.
33. Fukuyama, T.; Jow, C. K.; Cheung, M. 2- and 4-nitrobenzenesulfonamides: exceptionally versatile means for preparation of secondary amines and protection of amines. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36* (36), 6373-6374.
34. Krupkova, S.; Slough, G. A.; Krchnak, V. Synthesis of quinazolines from N-(2-nitrophenylsulfonyl)iminodiacetate and  $\alpha$ -(2-nitrophenylsulfonyl)amino ketones via 2H-indazole 1-oxides. *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (13), 4562-4566.
35. Pradhan, R.; Patra, M.; Behera, A. K.; Mishra, B. K.; Behera, R. K. A synthon approach to spiro compounds. *Tetrahedron.* **2006**, *62* (5), 779-828.
36. Saragi, T. P. I.; Spehr, T.; Siebert, A.; Fuhrmann-Lieker, T.; Salbeck, J. Spiro Compounds for Organic Optoelectronics. *Chem. Rev. (Washington, DC, U. S. )* **2007**, *107* (4), 1011-1065.
37. Molvi, K. I.; Haque, N.; Awen, B. Z. S.; Zameeruddin, M. Synthesis of spiro compounds as medicinal agents; new opportunities for drug design and discovery. Part I: a review. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* **2014**, *3* (12), 536-563, 28.
38. Baeyer AA. Systematik und Nomenclatur bicyclischer Kohlenwasserstoffe. *Ber Dtsch Chem Ges.* **1900**, *33* (3), 3771-3775.
39. Dadiboyena, S. Cycloadditions and condensations as essential tools in spiropyrazoline synthesis. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 347-377.
40. Jossang, A.; Jossang, P.; Hadi, H. A.; Sevenet, T.; Bodo, B. Horsfiline, an oxindole alkaloid from *Horsfieldia superba*. *J. Org. Chem.* **1991**, *56* (23), 6527-6530.
41. Edmondson, S. D.; Danishefsky, S. J. The total synthesis of spirotryprostatin A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1998**, *37* (8), 1138-1140.
42. Witkop, B. Gelsemine. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 1424-1427.
43. Cushing, T. D.; Sanz-Cervera, J. F.; Williams, R. M. Stereocontrolled Total Synthesis of (+)-Paraherquamide B. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118* (3), 557-579.
44. Osz, E.; Szilagyi, L.; Somsak, L.; Benyei, A. Syntheses of novel glycosylidene-spiro-heterocycles related to hydantocidin. *Tetrahedron.* **1999**, *55* (8), 2419-2430.
45. Nonato, M. G.; Garson, M. J.; Truscott, R. J. W.; Carver, J. A. Structural characterization of piperidine alkaloids from *Pandanus amaryllifolius* by inverse-detected 2D NMR techniques. *Phytochemistry.* **1993**, *34* (4), 1159-1163.
46. Chiabchalard, A.; Nooron, N. Antihyperglycemic effects of *Pandanus amaryllifolius* Roxb. leaf extract. *Pharmacogn Mag.* **2015**, *11* (41), 117-122.
47. Malamas, M. S.; Hohman, T. C.; Millen, J. Novel Spirosuccinimide Aldose Reductase Inhibitors Derived from Isoquinoline-1,3-diones: 2-[(4-Bromo-2-fluorophenyl)methyl]-6-fluorospiro[isoquinoline-4(1H),3'-pyrrolidine]-

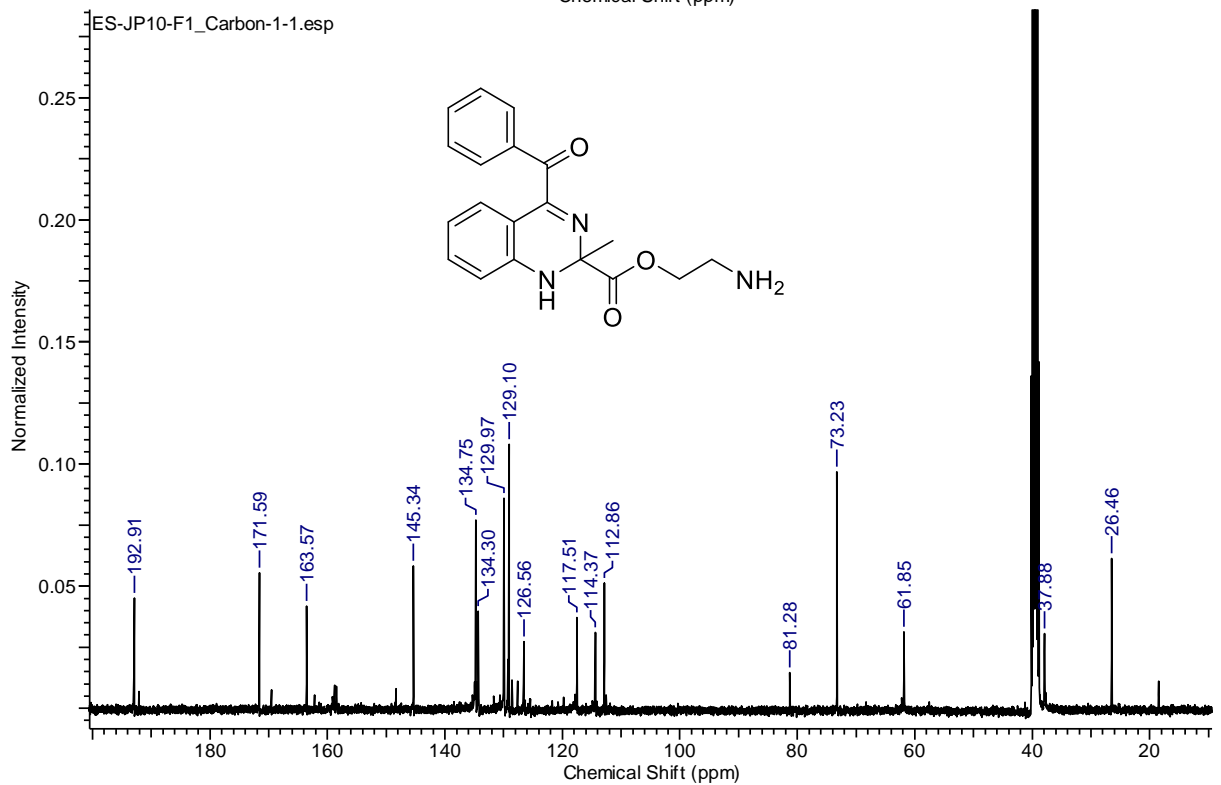
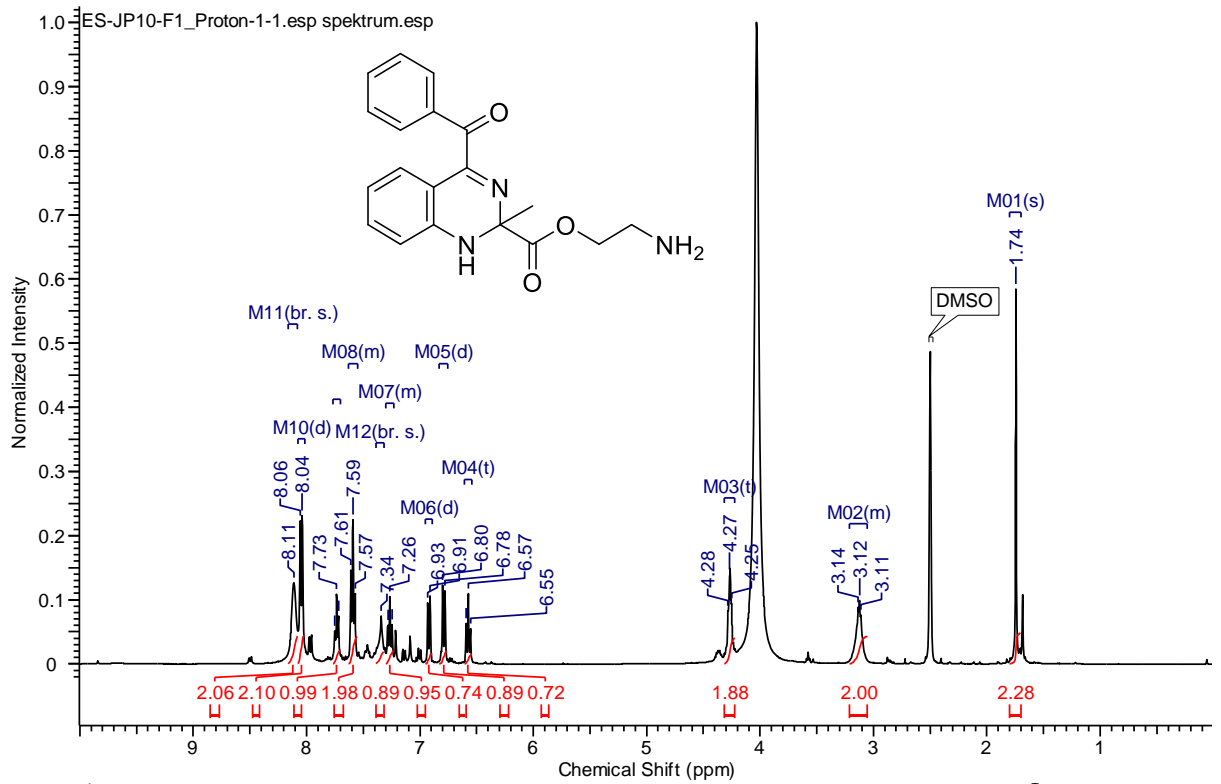


- 1,2',3,5'(2H)-tetrone and Congeners. 1. *J. Med. Chem.* **1994**, *37* (13), 2043-2058.
48. Khalil, E. M.; Ojala, W. H.; Pradhan, A.; Nair, V. D.; Gleason, W. B.; Mishra, R. K.; Johnson, R. L. Design, synthesis, and dopamine receptor modulating activity of spiro bicyclic peptidomimetics of L-prolyl-L-leucyl-glycinamide. *J. Med. Chem.* **1999**, *42* (4), 628-637.
49. Swain, C. J.; Baker, R.; Kneen, C.; Herbert, R.; Moseley, J.; Saunders, J.; Seward, E. M.; Stevenson, G. I.; Beer, M.; et, a. Novel 5-HT<sub>3</sub> antagonists: indol-3-ylspiro(azabicycloalkane-3,5'(4H)oxazoles). *J. Med. Chem.* **1992**, *35* (6), 1019-1031.
50. Feng, G. L.; Zhang, H. L.; Geng, L. J. A facile synthesis of dispiro[indole-3,2'-pyrrolidine-3,5"-[1,3]thiazolane] derivatives from 2,3,5-trisubstituted-4-thiazolidinones via 1,3-dipolar cycloaddition reaction. *J. Chem. Res.* **2014**, *38* (5), 283-286.
51. Bencivenni, G.; Wu, L. Y.; Mazzanti, A.; Giannichi, B.; Pesciaioli, F.; Song, M. P.; Bartoli, G.; Melchiorre, P. Targeting Structural and Stereochemical Complexity by Organocascade Catalysis: Construction of Spirocyclic Oxindoles Having Multiple Stereocenters. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48* (39), 7200-7203, S7200-1.
52. Pisset, M.; Coquerel, Y.; Rodriguez, J. Periselectivity Switch of Acylketenes in Cycloadditions with 1-Azadienes: Microwave-Assisted Diastereoselective Domino Three-Component Synthesis of  $\alpha$ -Spiro- $\delta$ -lactams. *Org. Lett.* **2010**, *12* (18), 4212-4215.
53. Lizos, D. E.; Murphy, J. A. Concise synthesis of (T)-horsfiline and (T)-coerulescine by tandem cyclisation of iodoaryl alkenyl azides. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1* (1), 117-122.
54. Rong, X.; Yao, H.; Xia, W.; Du, Y.; Zhou, Y.; Liu, H. Enantioselective Assembly of Spirolactones through NHC-Catalyzed Remote  $\alpha$ -Carbon Addition of Enals with Isatins. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18* (5), 220-224.
55. Ashimori, A.; Bachand, B.; Overman, L. E.; Poon, D. J. Catalytic Asymmetric Synthesis of Quaternary Carbon Centers. Exploratory Investigations of Intramolecular Heck Reactions of (E)- $\alpha,\beta$ -Unsaturated 2-Haloanilides and Analogs To Form Enantioenriched Spirocyclic Products. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120* (26), 6477-6487.
56. Bailey, P. D.; Morgan, K. M.; Smith, D. I.; Vernon, J. M. Spiro cyclizations of N-acyliminium ions involving an aromatic  $\pi$ -nucleophile. *Tetrahedron* **2003**, *59* (18), 3369-3378.
57. Al-Thebeiti, M. S. Synthesis of some new spiro[indoline-3,2'-(1',2',3',4'-tetrahydroquinoline)]-2,4'-dione derivatives. *Heterocycles* **1998**, *48* (1), 145-150.
58. Al-Thebeiti, M. S. Synthesis of some new spiro[indoline-3,2'-(thiochroman)]-2,4'-dione derivatives. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1998**, *141*, 89-95.

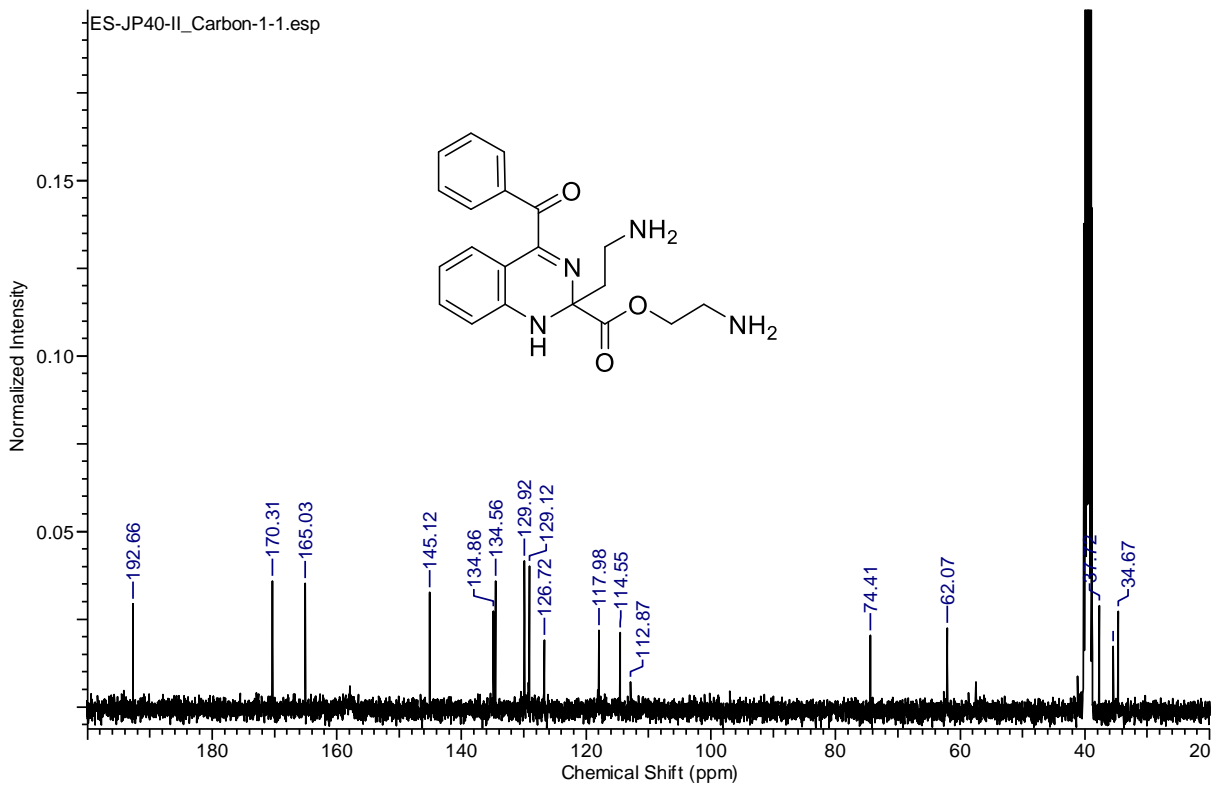
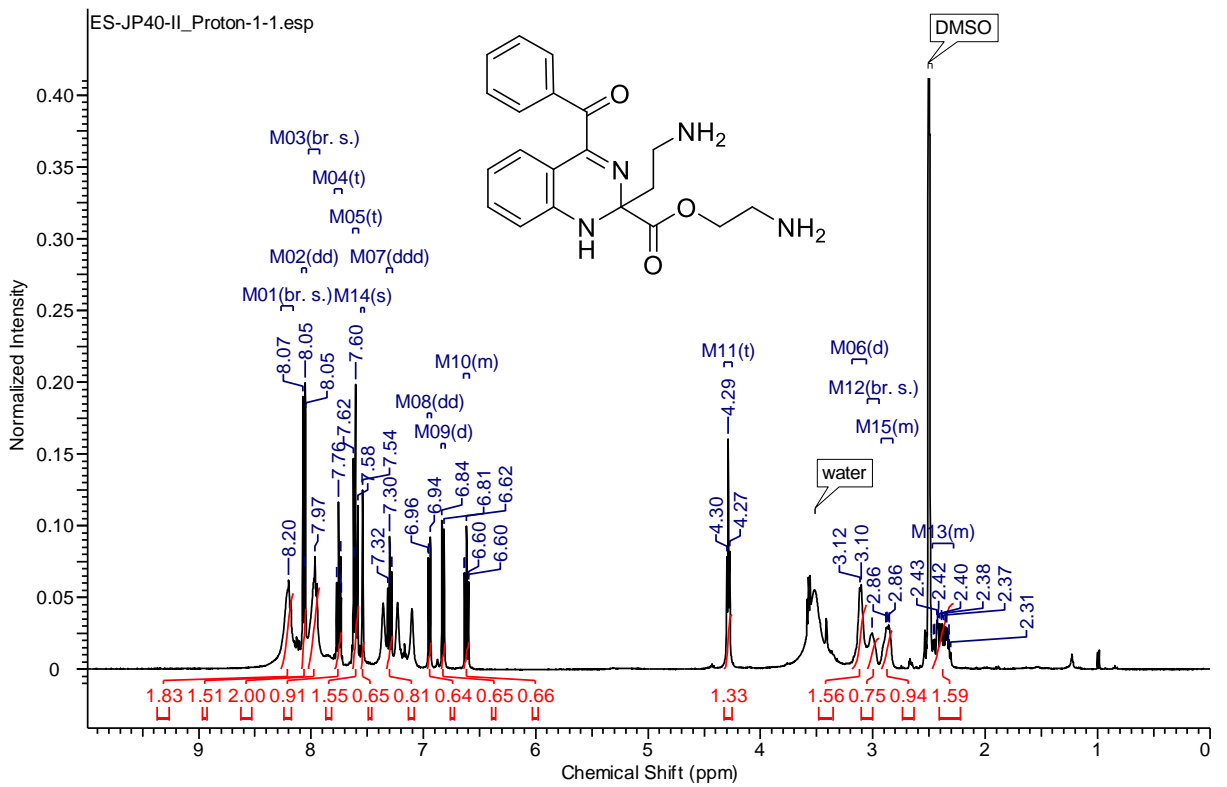
59. Bedos, P.; Feliu, L.; Martinez, J.; Amblard, M. Optimization of spiroimidazolidinone derivatives synthesis on solid phase using SynPhase Lanterns. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44* (26), 4937-4939.
60. Kuster, G. J. T.; van Berkomp, L. W. A.; Kalmoua, M.; Van Loevezijn, A.; Sliedregt, L. A. J. M.; Van Steen, B. J.; Kruse, C. G.; Rutjes, F. P. J. T.; Scheeren, H. W. Synthesis of Spirohydantoins and Spiro-2,5-diketopiperazines via Resin-Bound Cyclic  $\alpha,\alpha$ -Disubstituted  $\alpha$ -Amino Esters. *J. Comb. Chem.* **2006**, *8* (1), 85-94.
61. Munson, M. C.; Cook, A. W.; Josey, J. A.; Rao, C. An efficient high-speed synthetic route to amino-substituted thiazolidinone libraries. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39* (40), 7223-7226.
62. Carbain, B.; Schuetznerova, E.; Pribylka, A.; Krchnak, V. Solid-Phase Synthesis of 3,4-Dihydroquinoxalin-2(1H)-ones via the Cyclative Cleavage of N-Arylated Carboxamides. *Adv. Synth. Catal.* **2016**, *358* (5), 701-706.
63. Schutznerova, E.; Krchnak, V. Solid-Phase Synthesis of 2-Aryl-3-alkylamino-1H-indoles from 2-Nitro-N-(2-oxo-2-arylethyl)benzenesulfonamides via Base-Mediated C-Arylation. *ACS Comb. Sci.* **2015**, *17* (2), 137-146.
64. Trapani, P.; Volna, T.; Soral, M. Solid-phase synthesis of 2,3-dihydrobenzo[f][1,2,5]thiadiazepin-4(5H)-one 1,1-dioxides with three diversity positions. *ACS Comb. Sci.* **2016**, *18* (6), 349-354.
65. Fulopova, V.; Czieszla, L.; Fleming, M.; Lu, Y.; Voelker, A.; Krchnak, V. Traceless Solid-Phase Synthesis of Trisubstituted Quinazolines. *ACS Comb. Sci.* **2015**, *17* (8), 470-473.

# Příloha I – NMR spektra

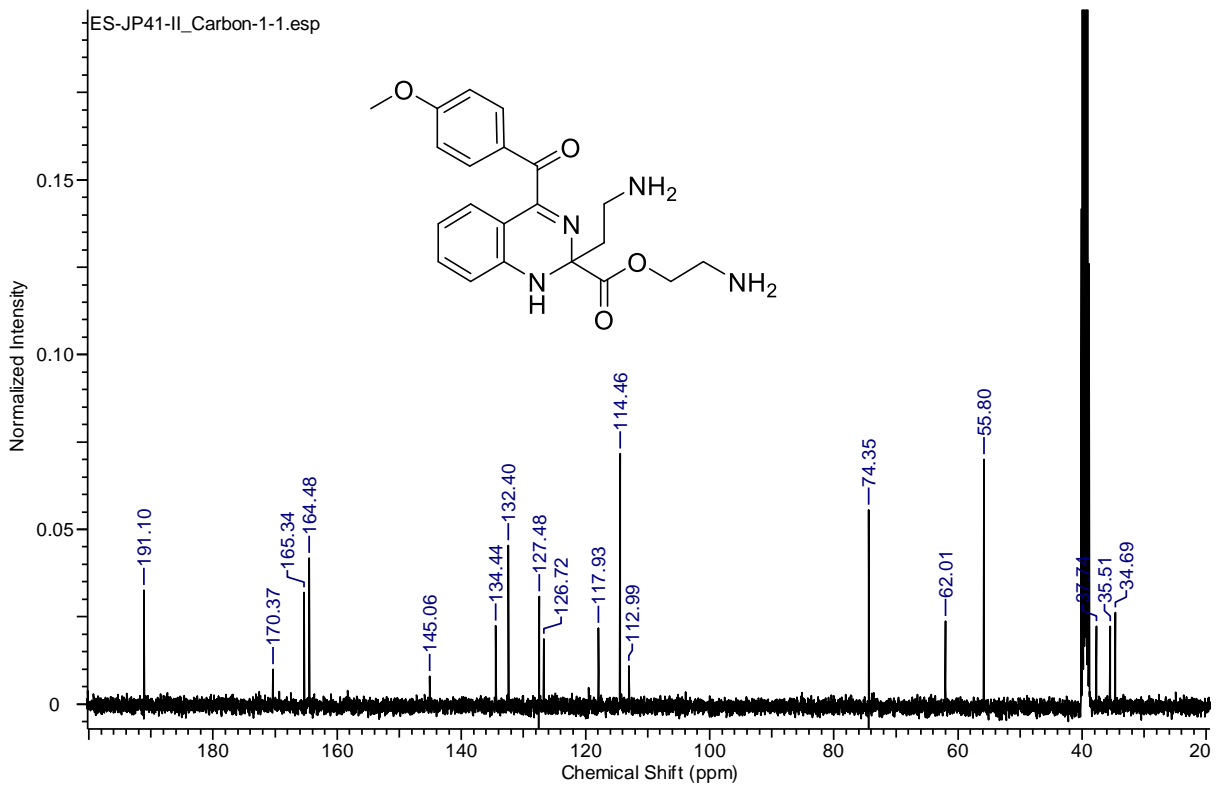
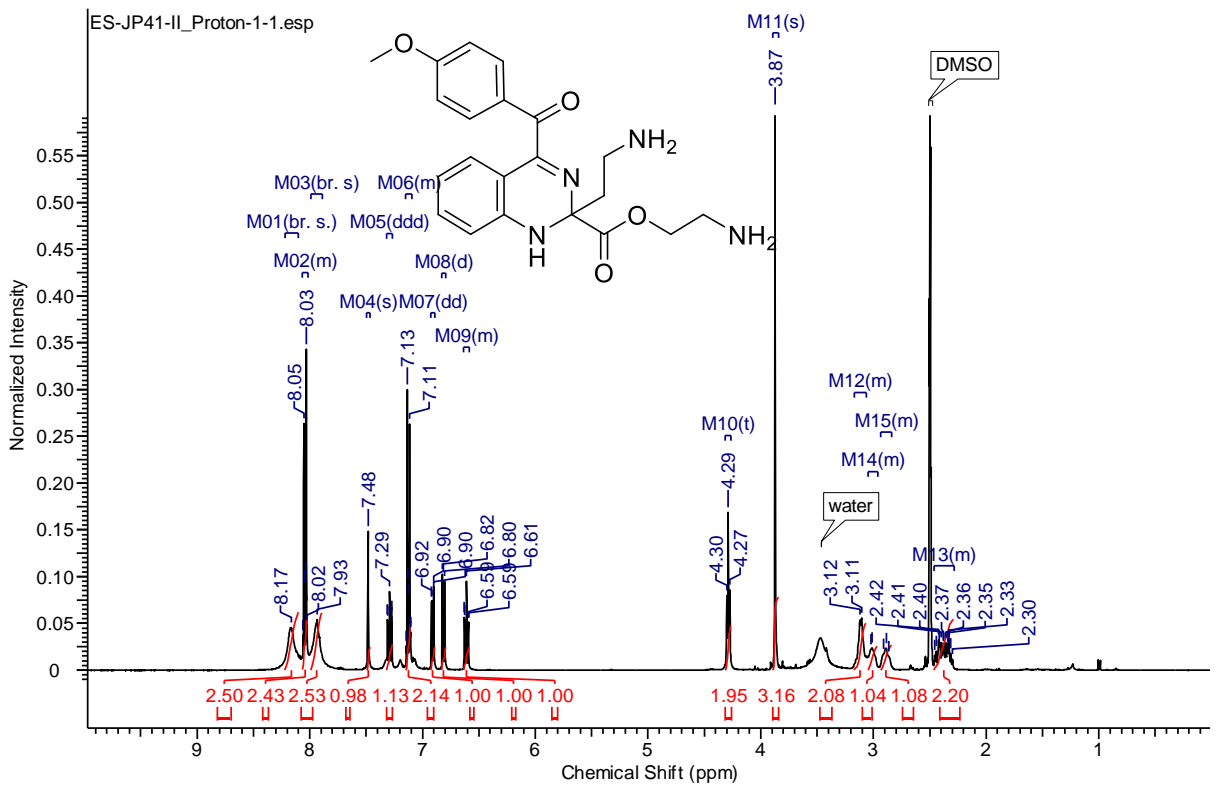
## <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 4-benzoyl-2-methyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{1,1,1}



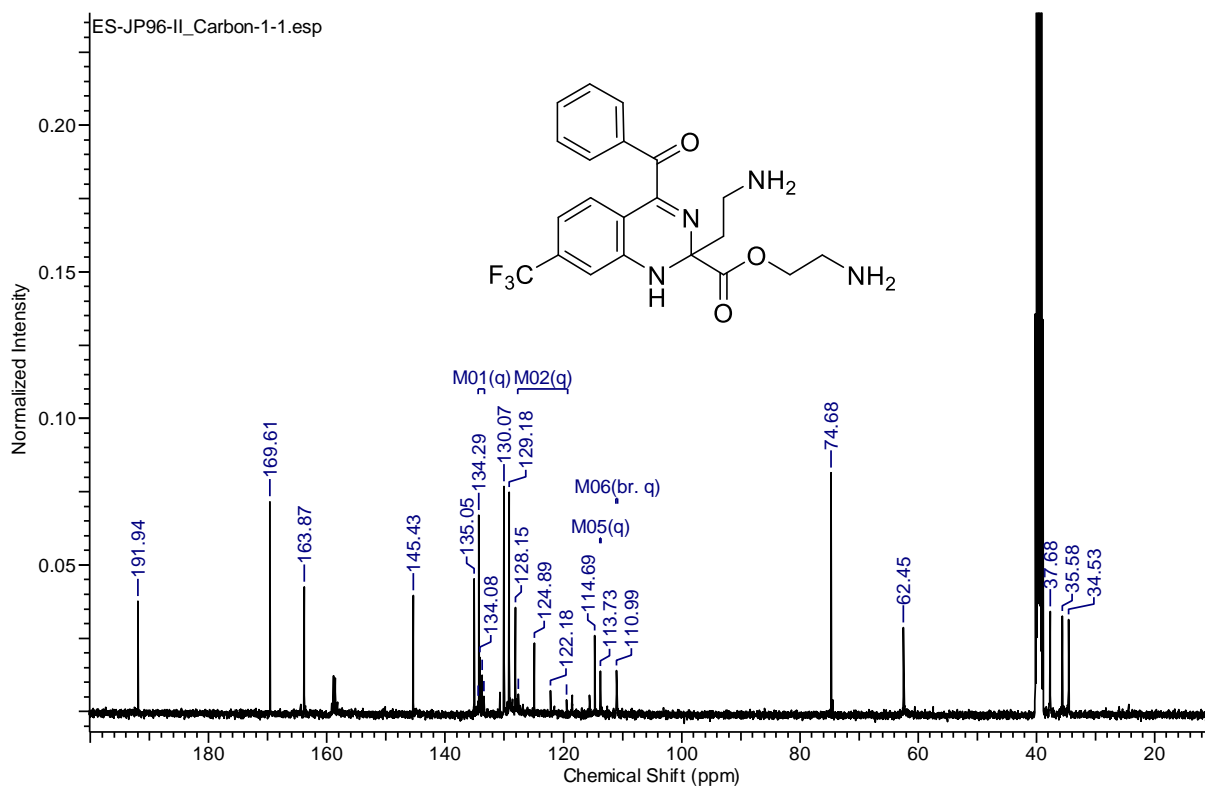
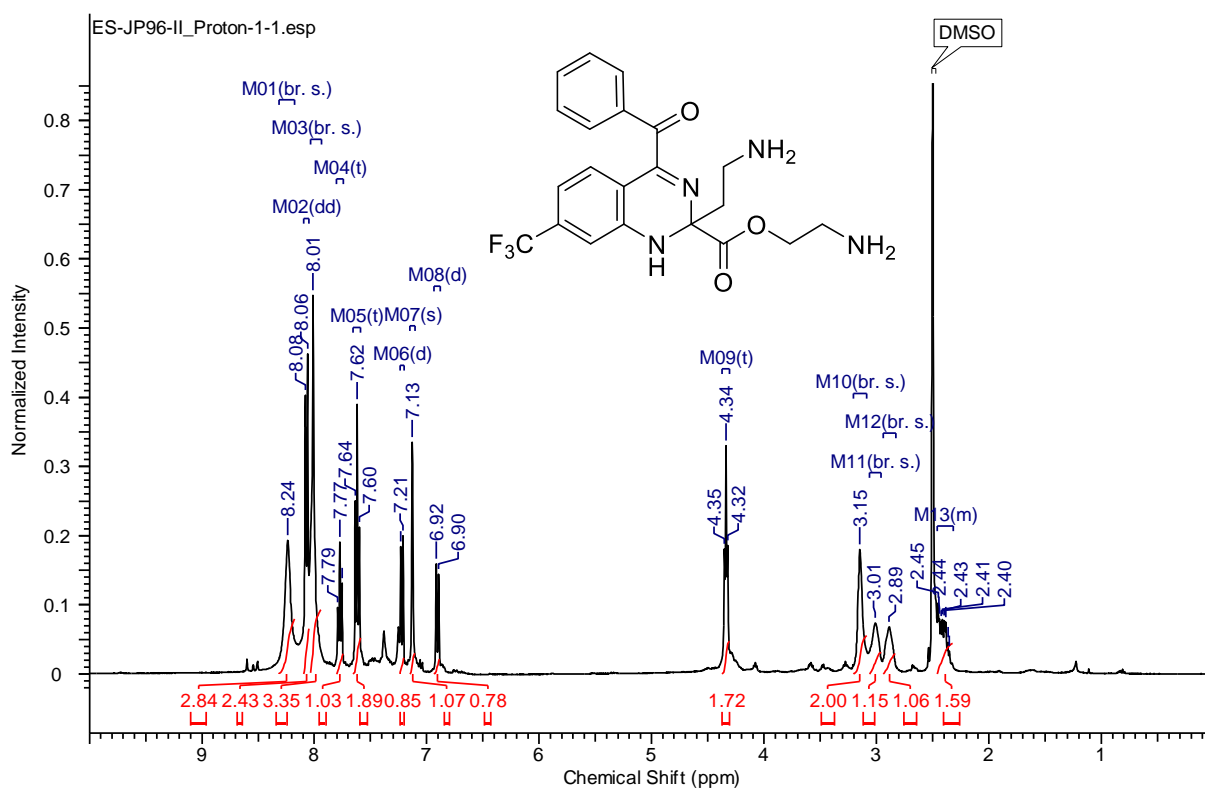
**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-benzoyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{2,1,1}**



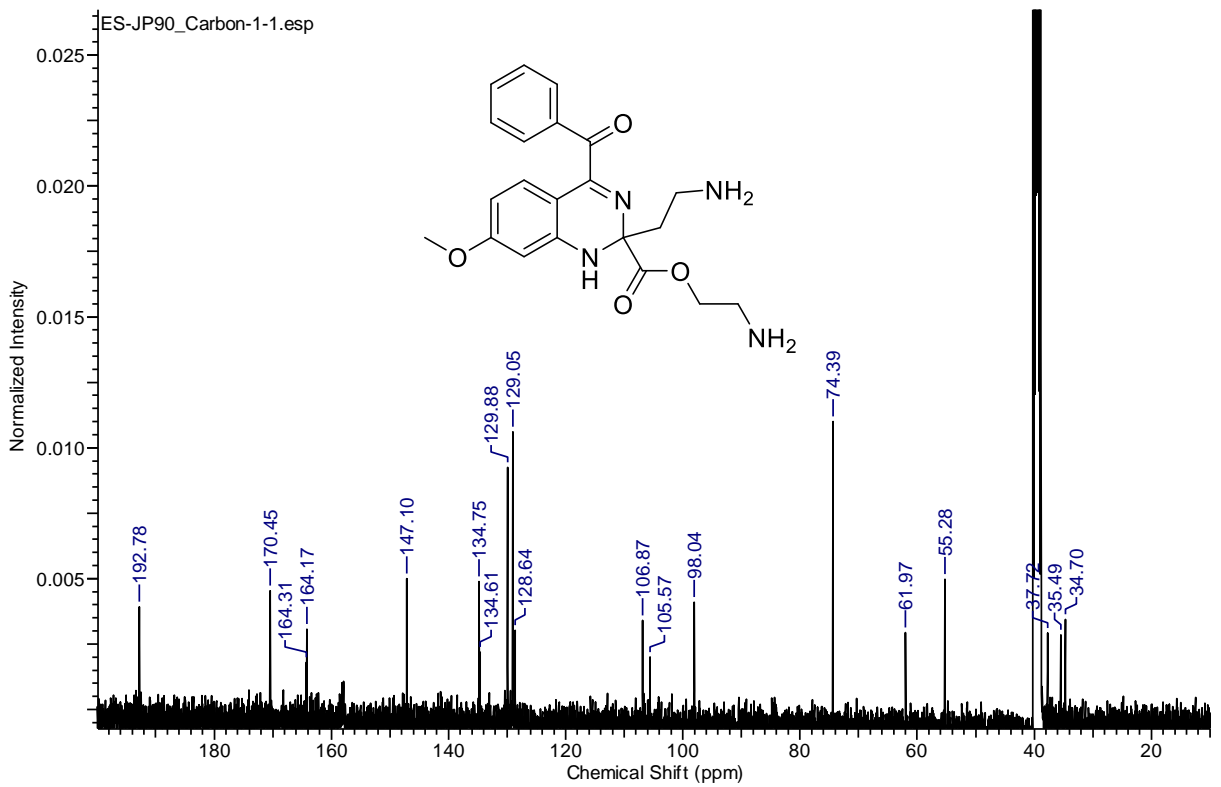
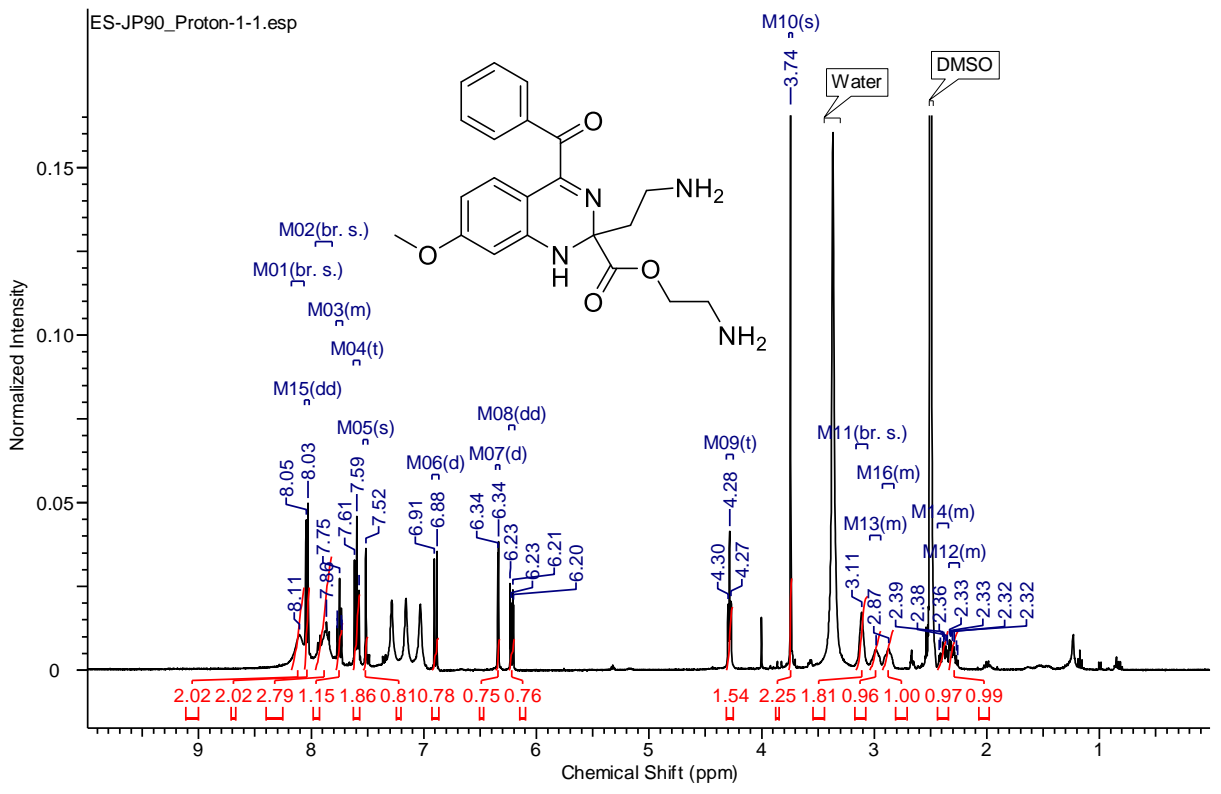
<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-(4-methoxybenzoyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{2,1,2}



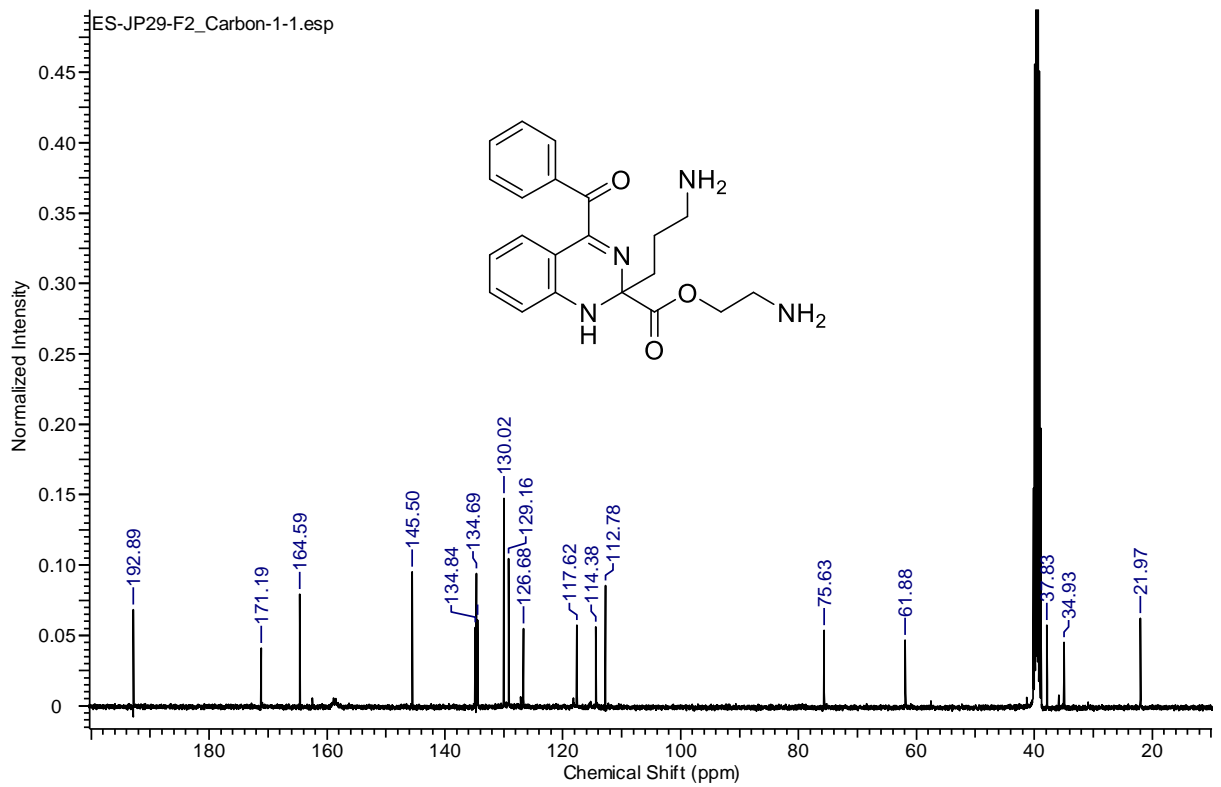
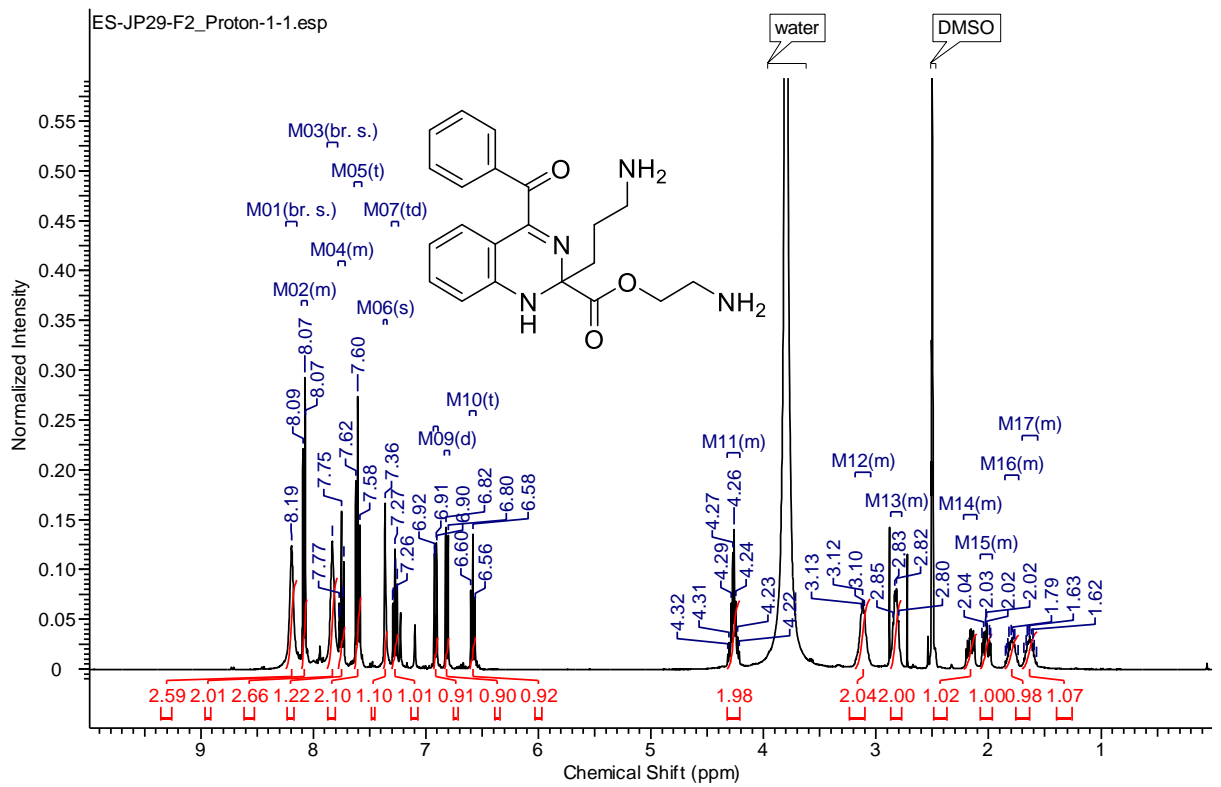
**<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-(2-aminoethyl)-4-benzoyl-7-(trifluoromethyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{2,2,1}**



**<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 2-(2-aminoethyl)-4-benzoyl-7-methoxy-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{2,4,1}**

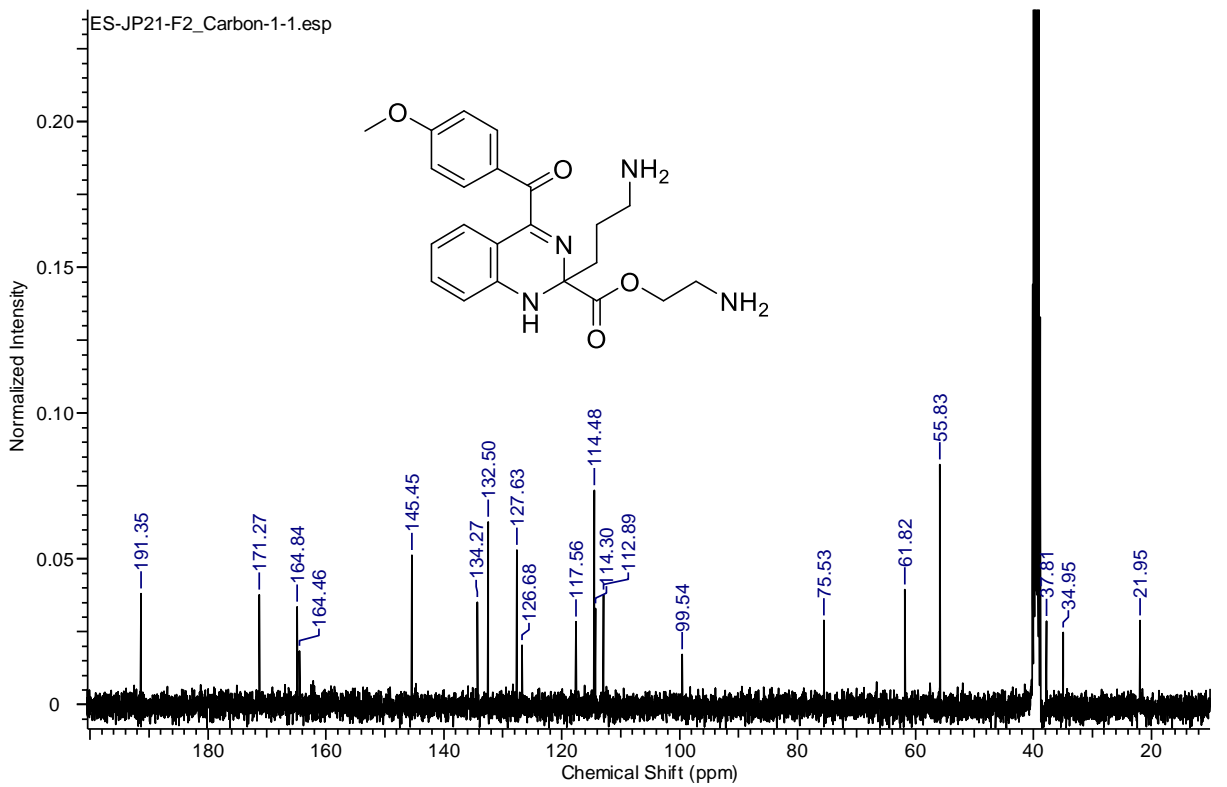
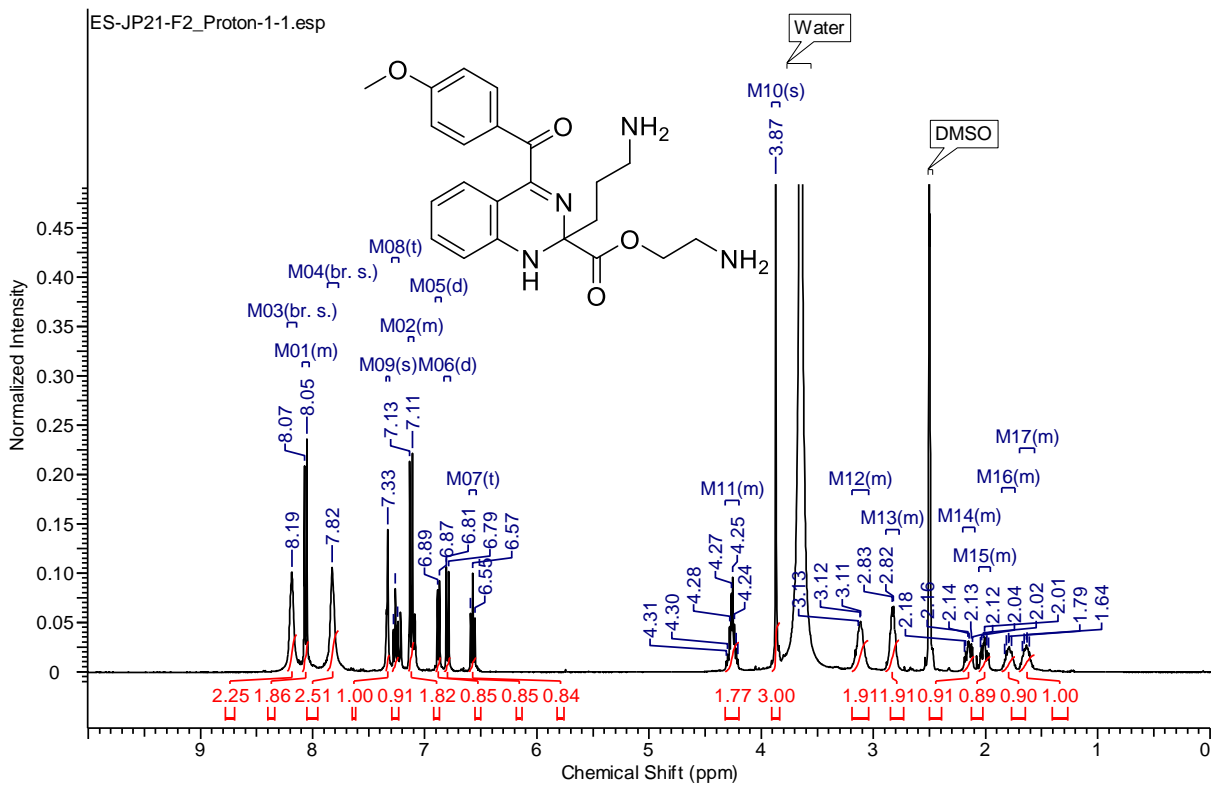


**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-benzoyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{3,1,1}**

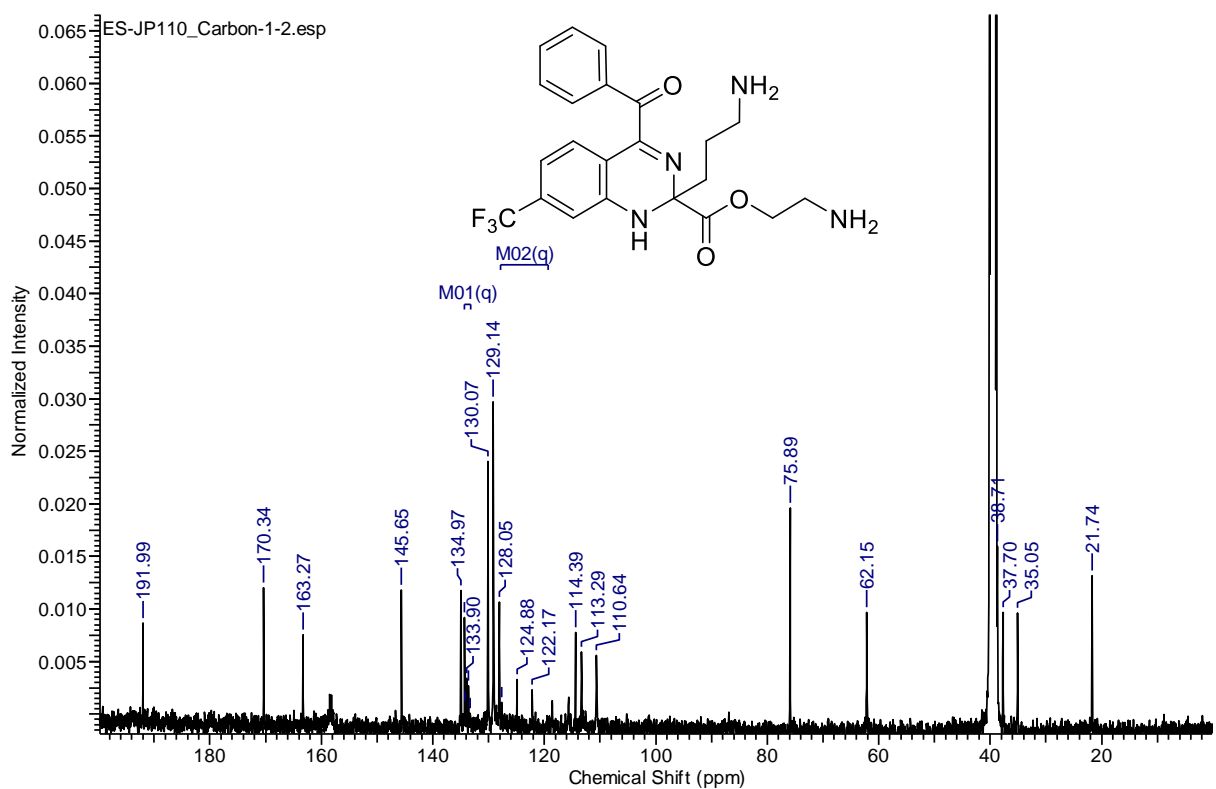
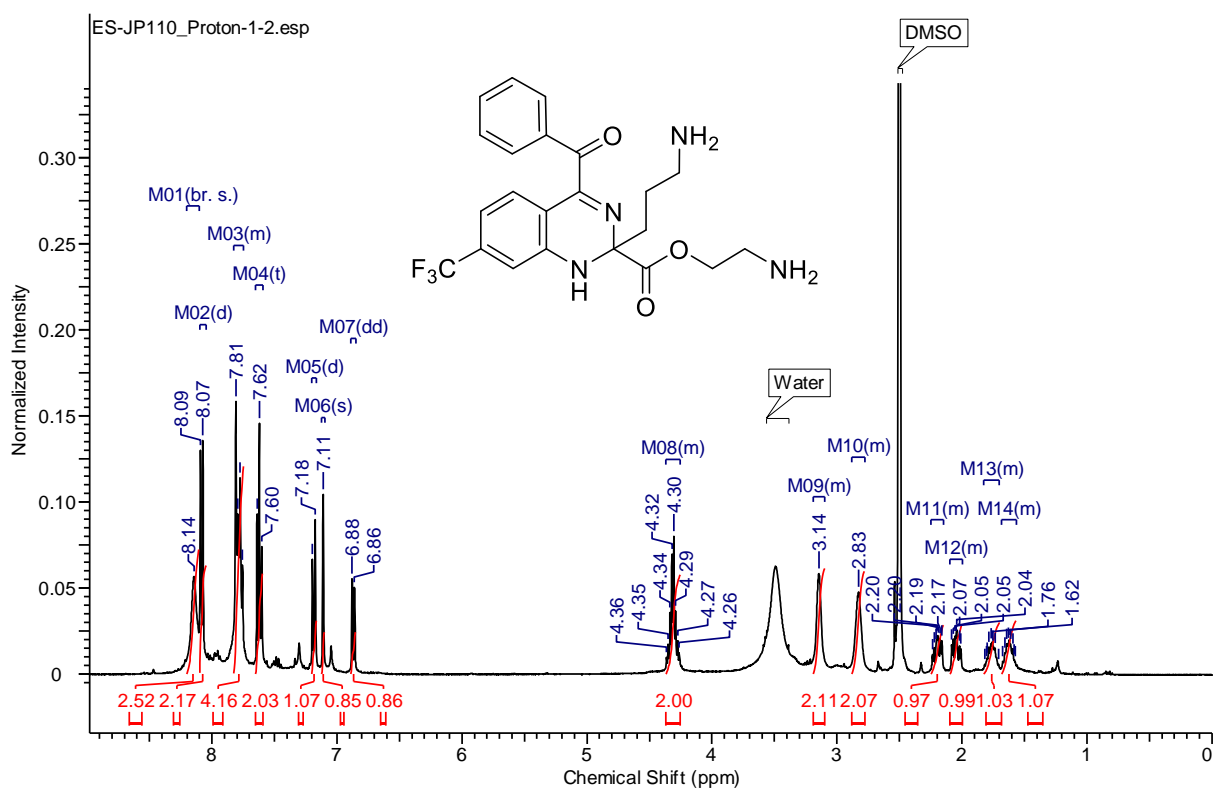




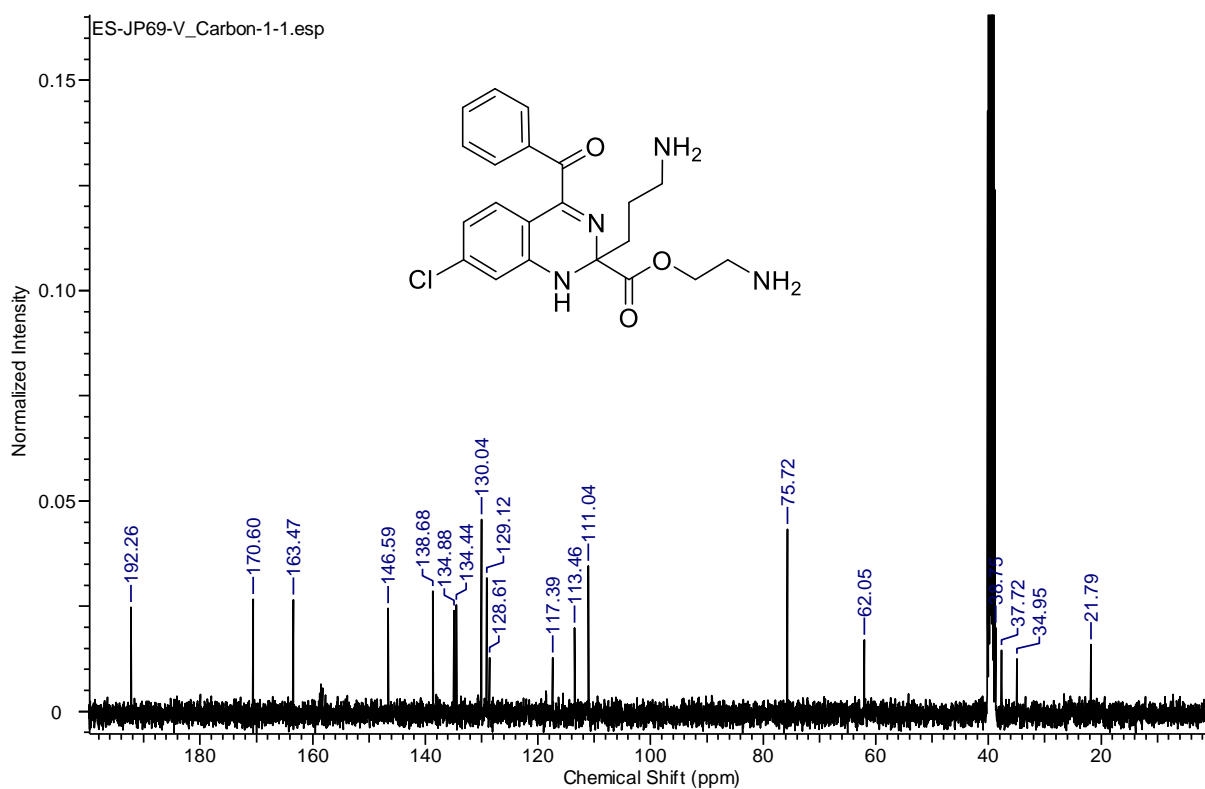
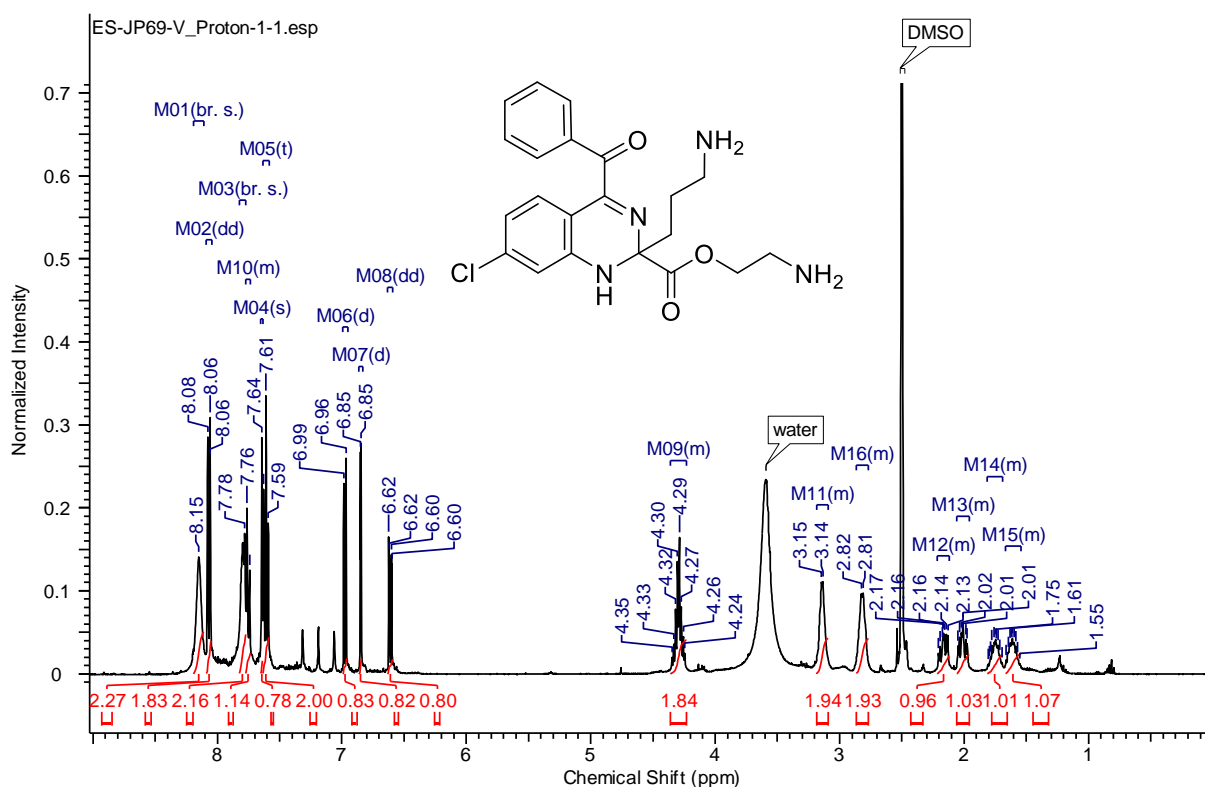
<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-(4-methoxybenzoyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{3,1,2}



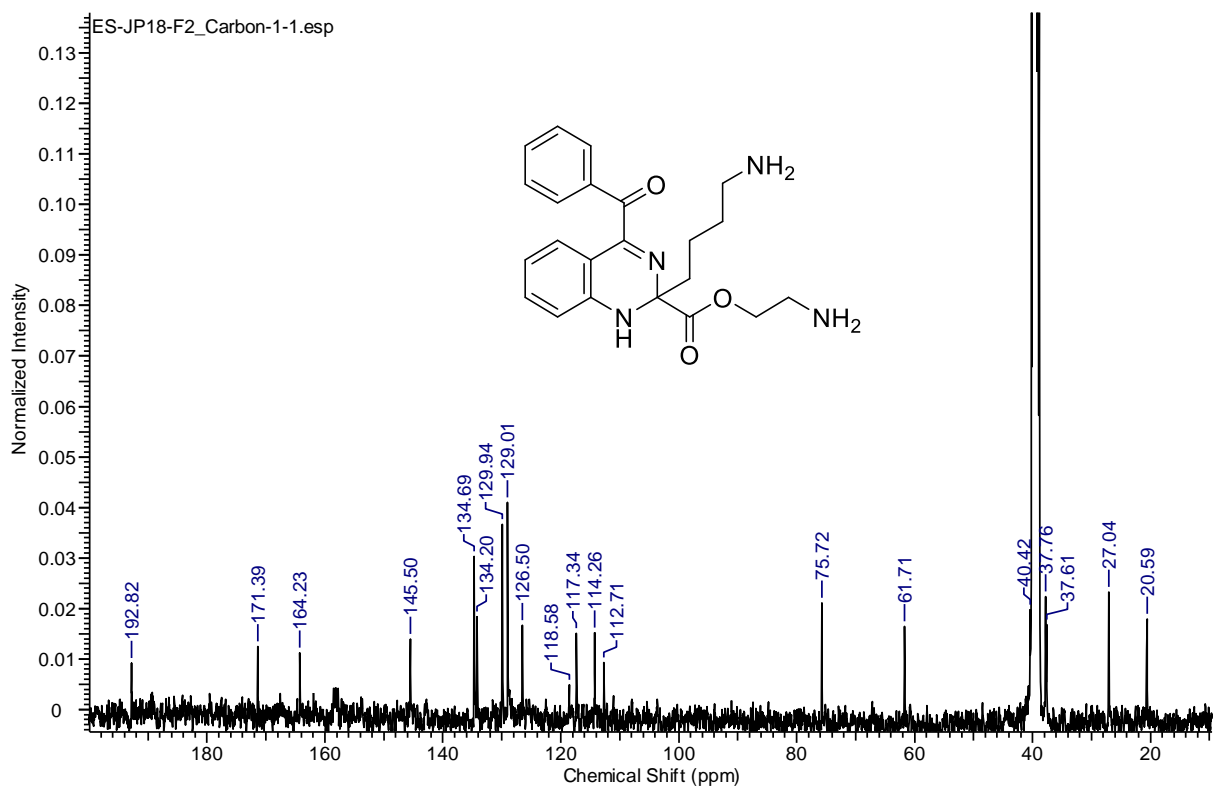
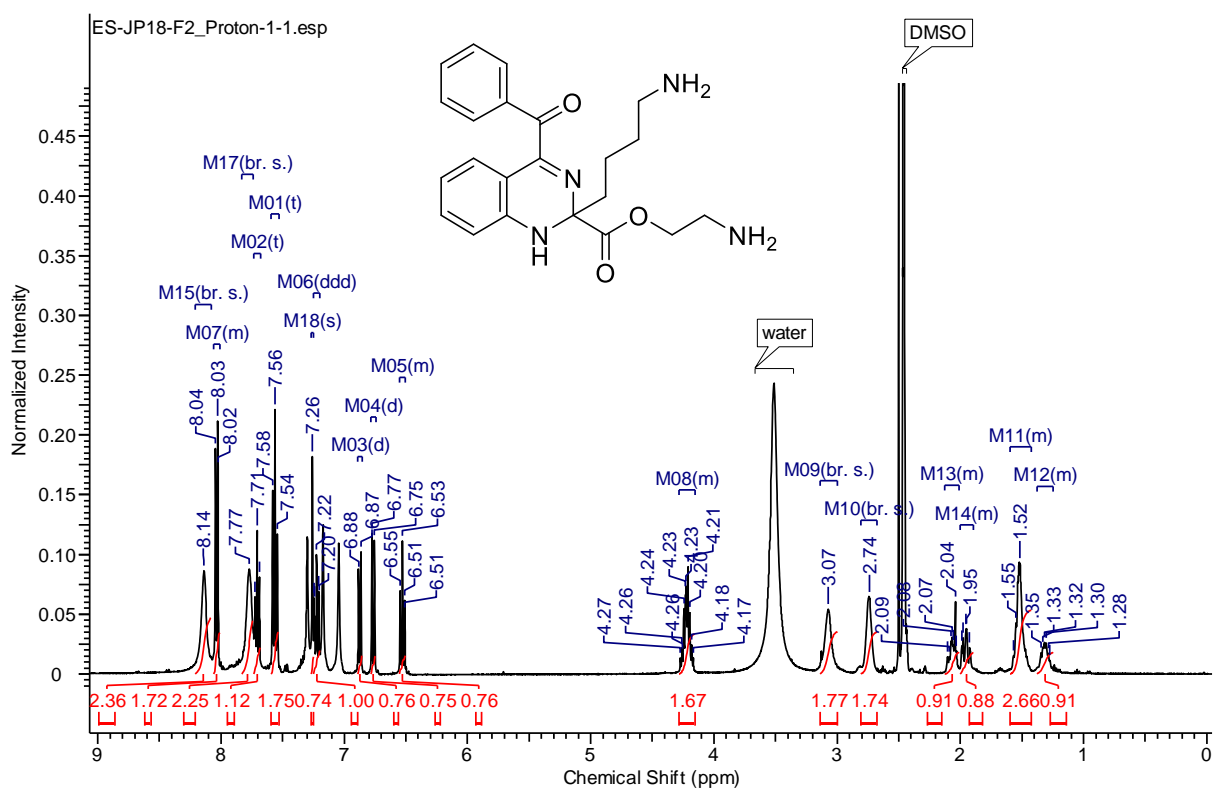
**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 2-aminoethyl 2-(3-aminopropyl)-4-benzoyl-7-(trifluoromethyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{3,2,1}**



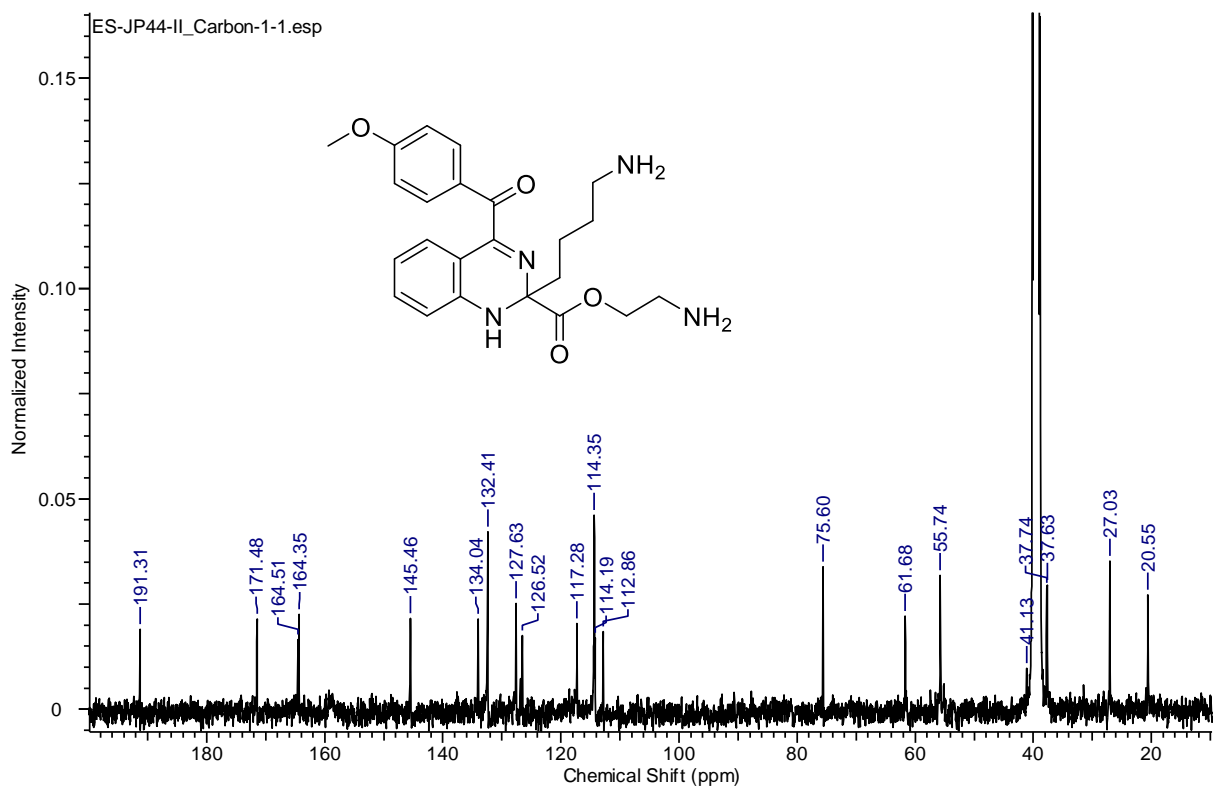
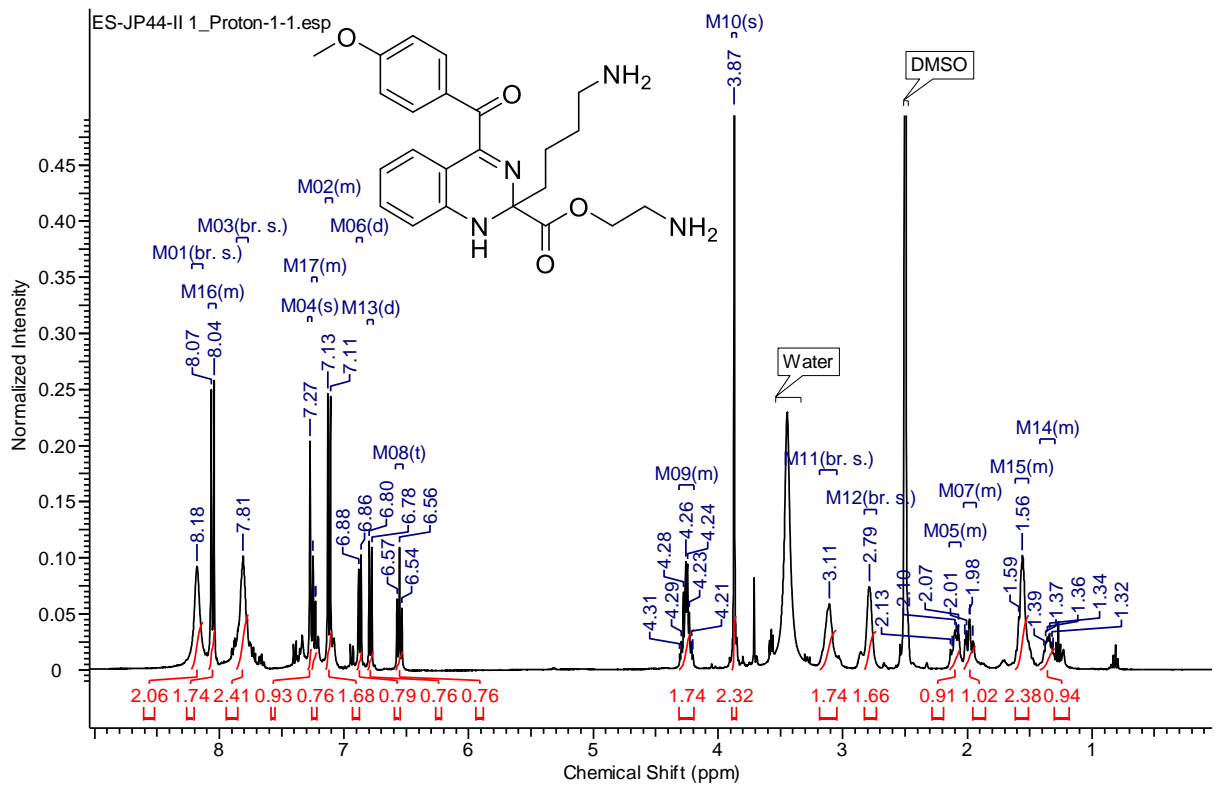
**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 2-(3-aminopropyl)-4-benzoyl-7-chloro-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{3,3,1}**



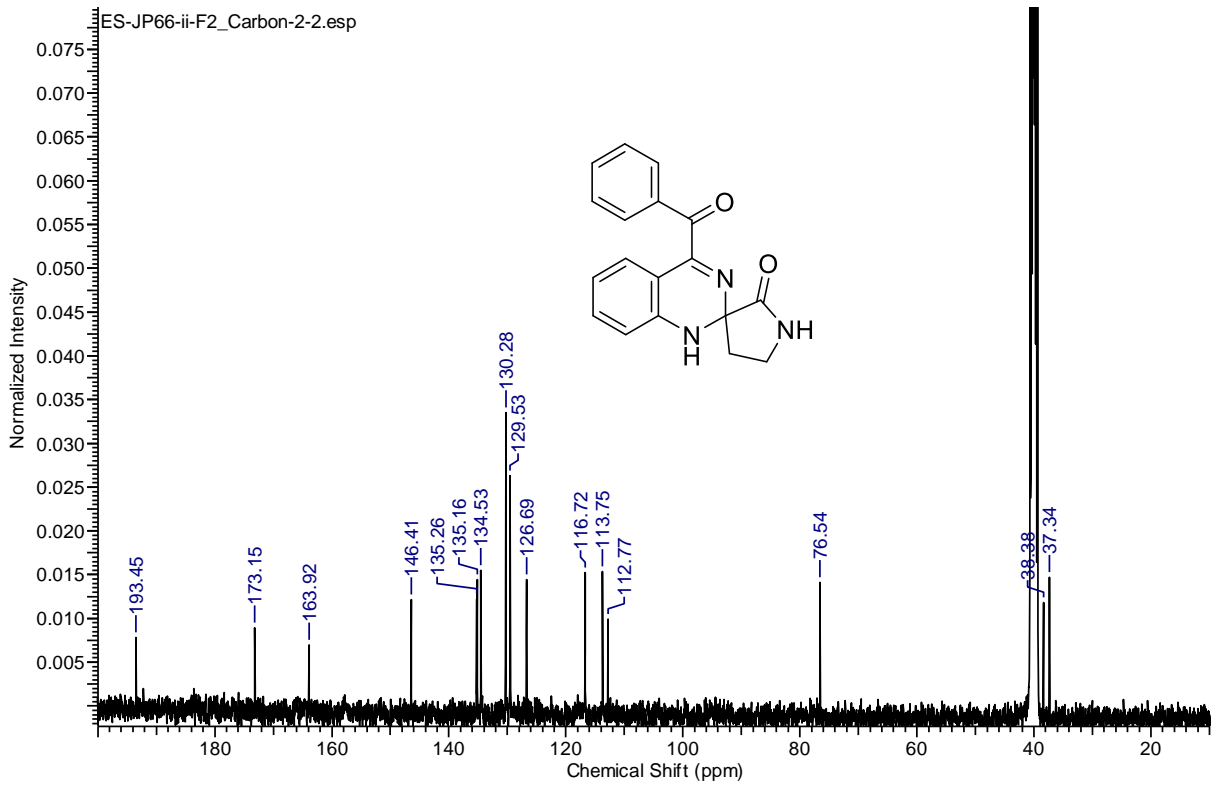
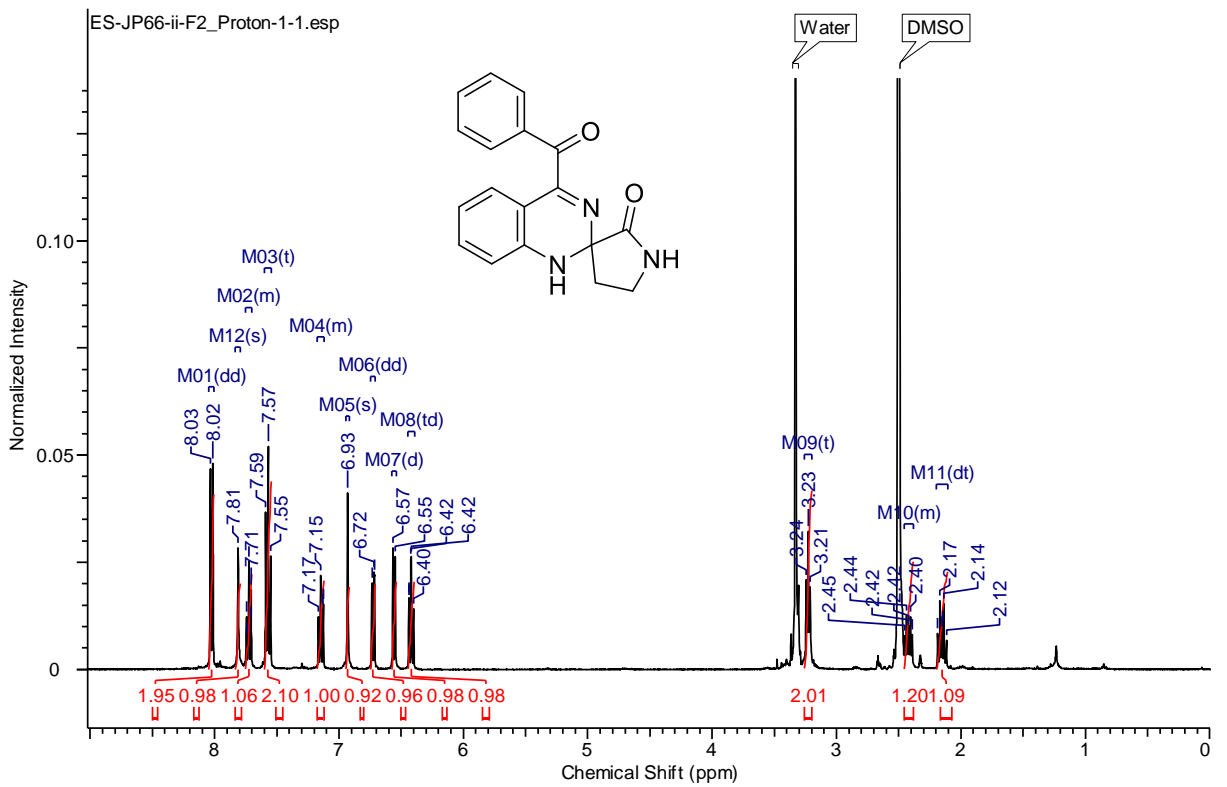
**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 2-aminoethyl 2-(4-aminobutyl)-4-benzoyl-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{4,1,1}**



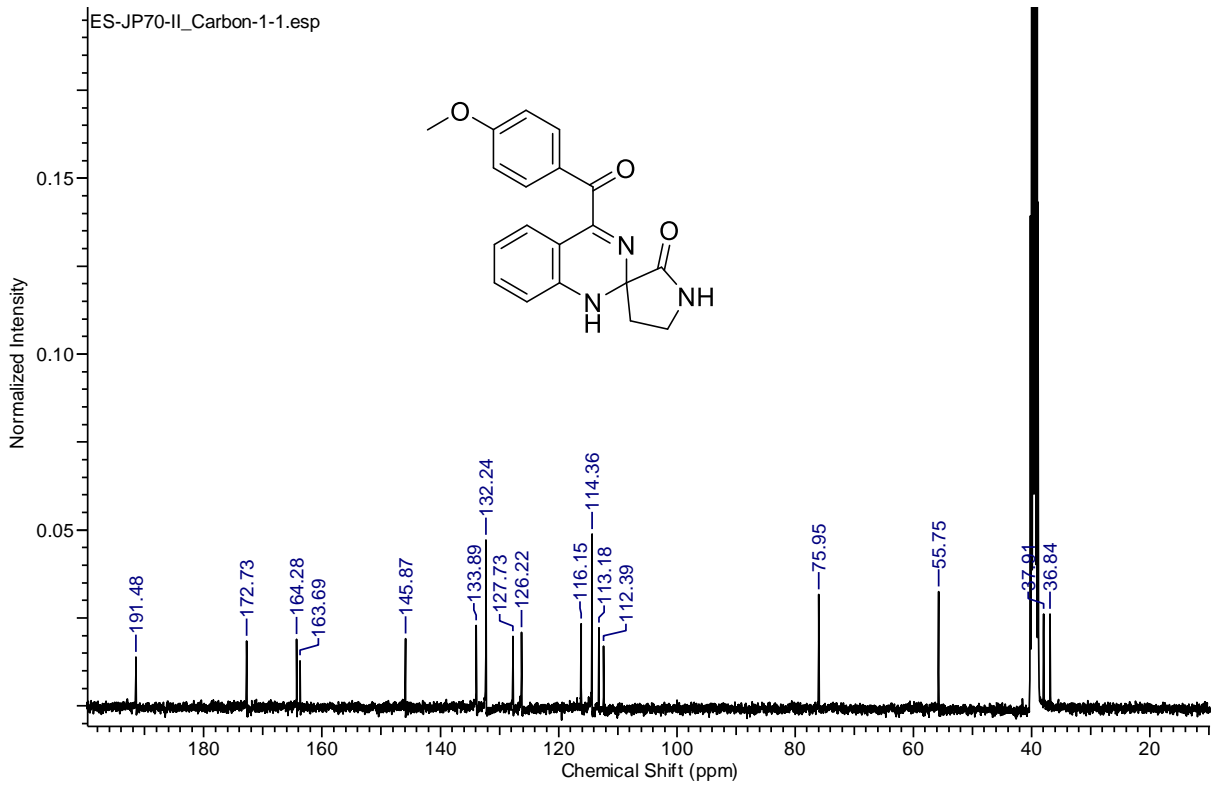
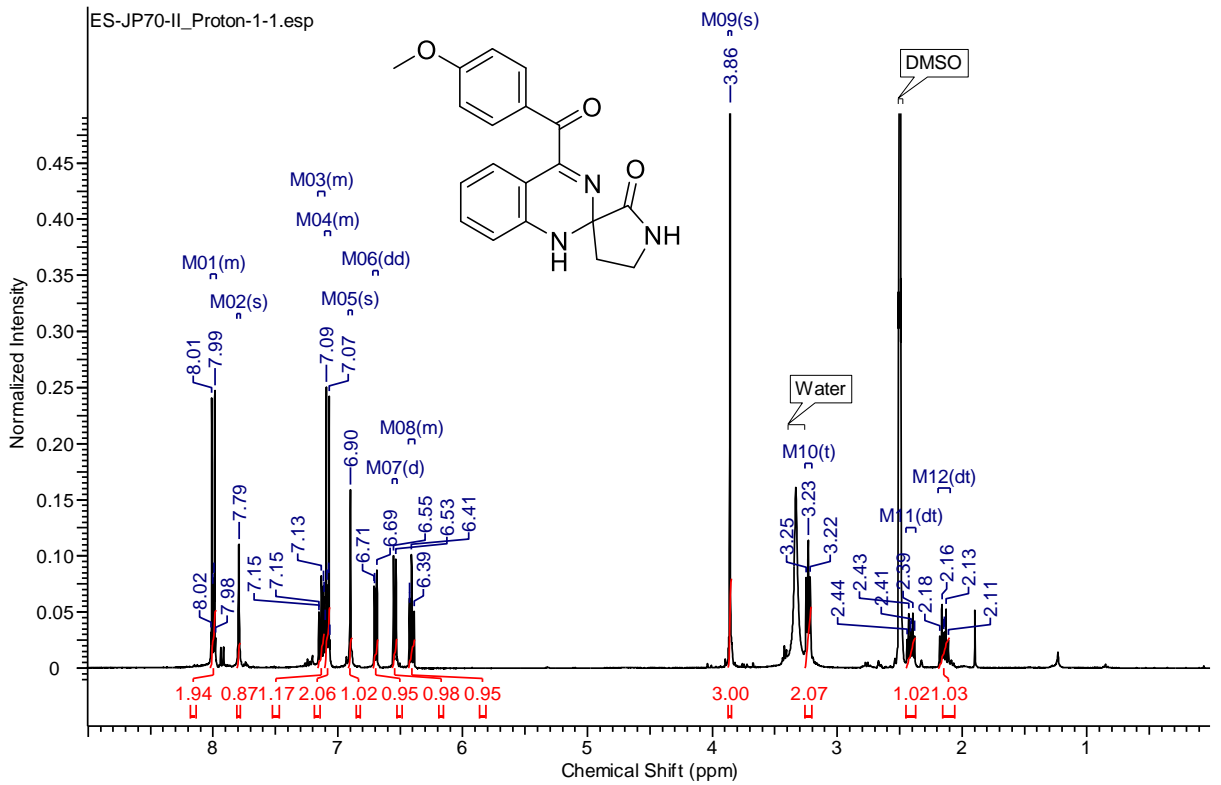
<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 2-(4-aminobutyl)-4-(4-methoxybenzoyl)-1,2-dihydrochinazolin-2-karboxylátu 23{4,1,2}



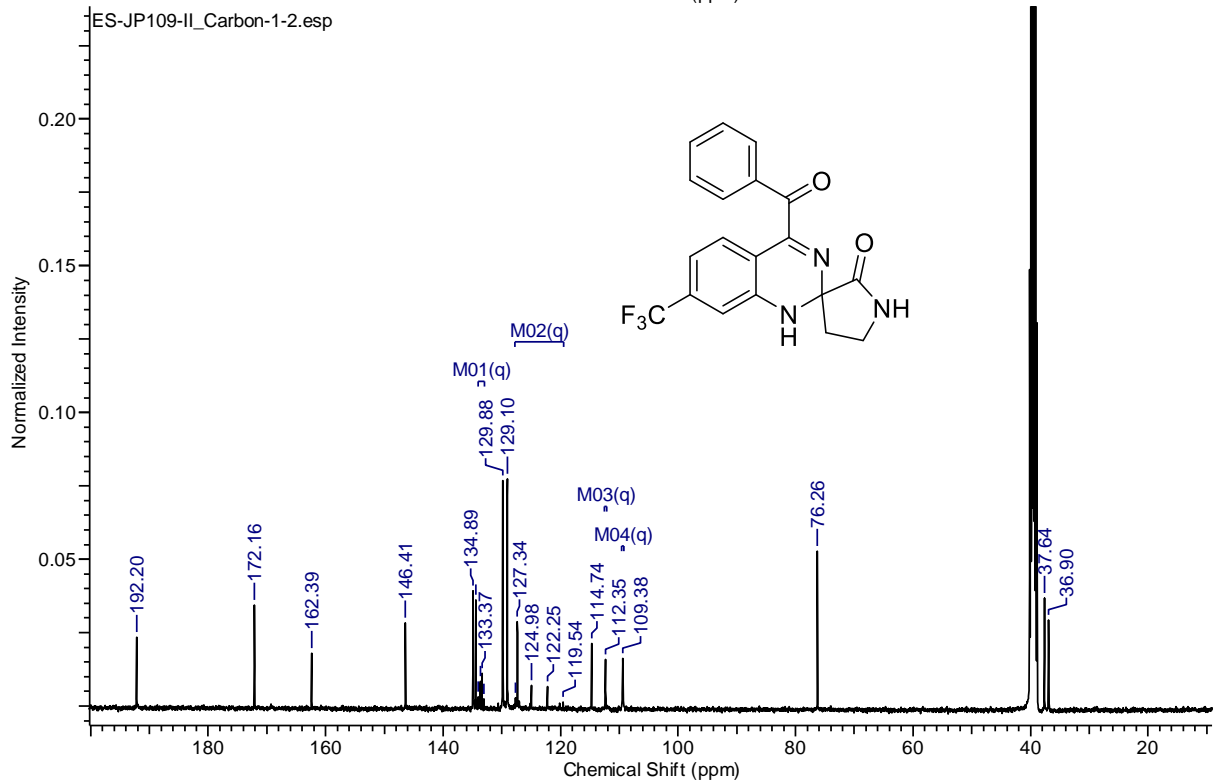
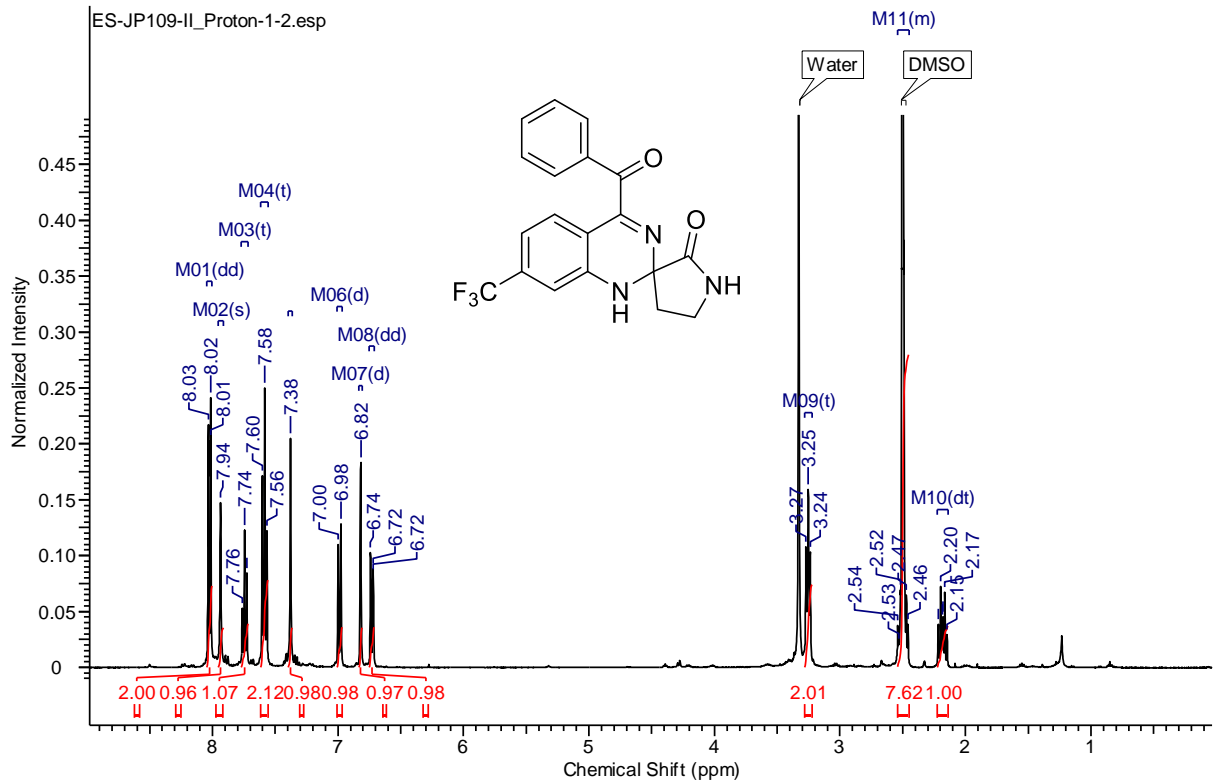
**<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 4'-benzoyl-1*H*-spiro[pyrrolidin-3,2'-chinazolin]-2-onu 25{2,1,1}**



**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 4'-(4-methoxybenzoyl)-1'*H*-spiro[pyrrolidin-3,2'-chinazolin]-2-onu 25{2,1,2}**



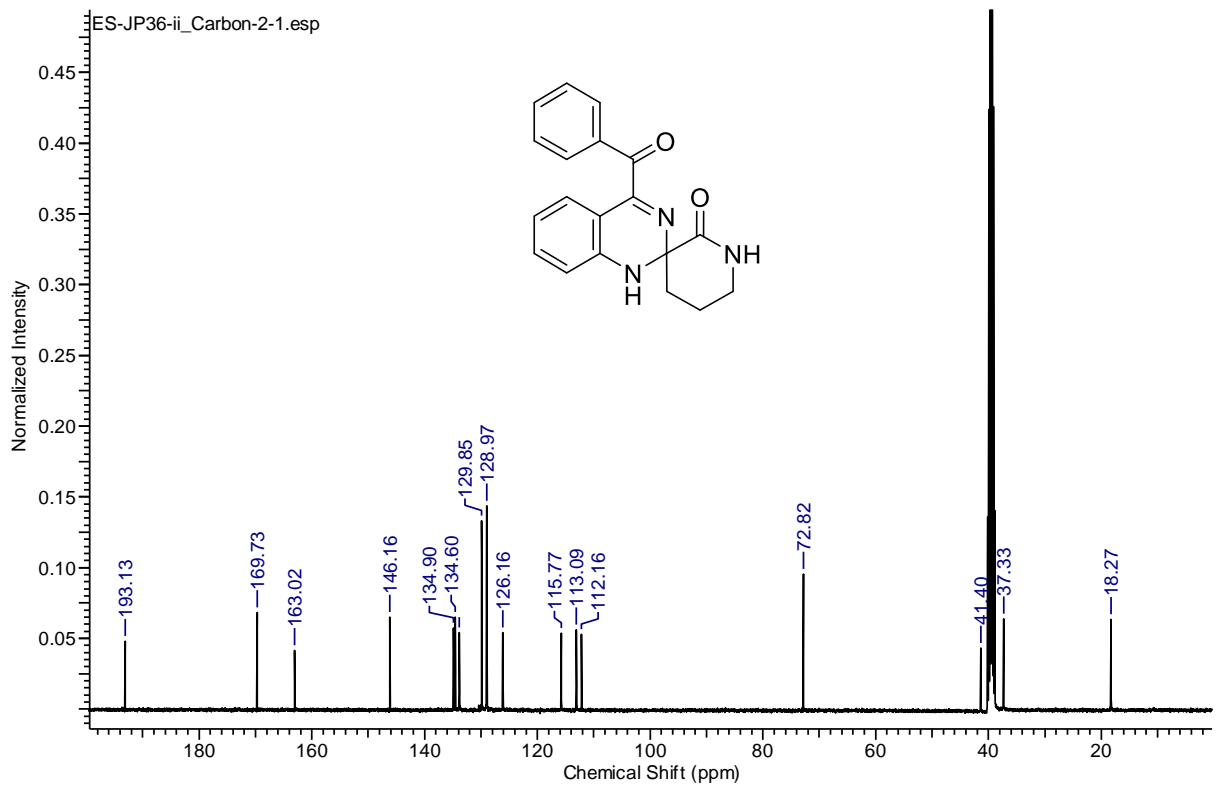
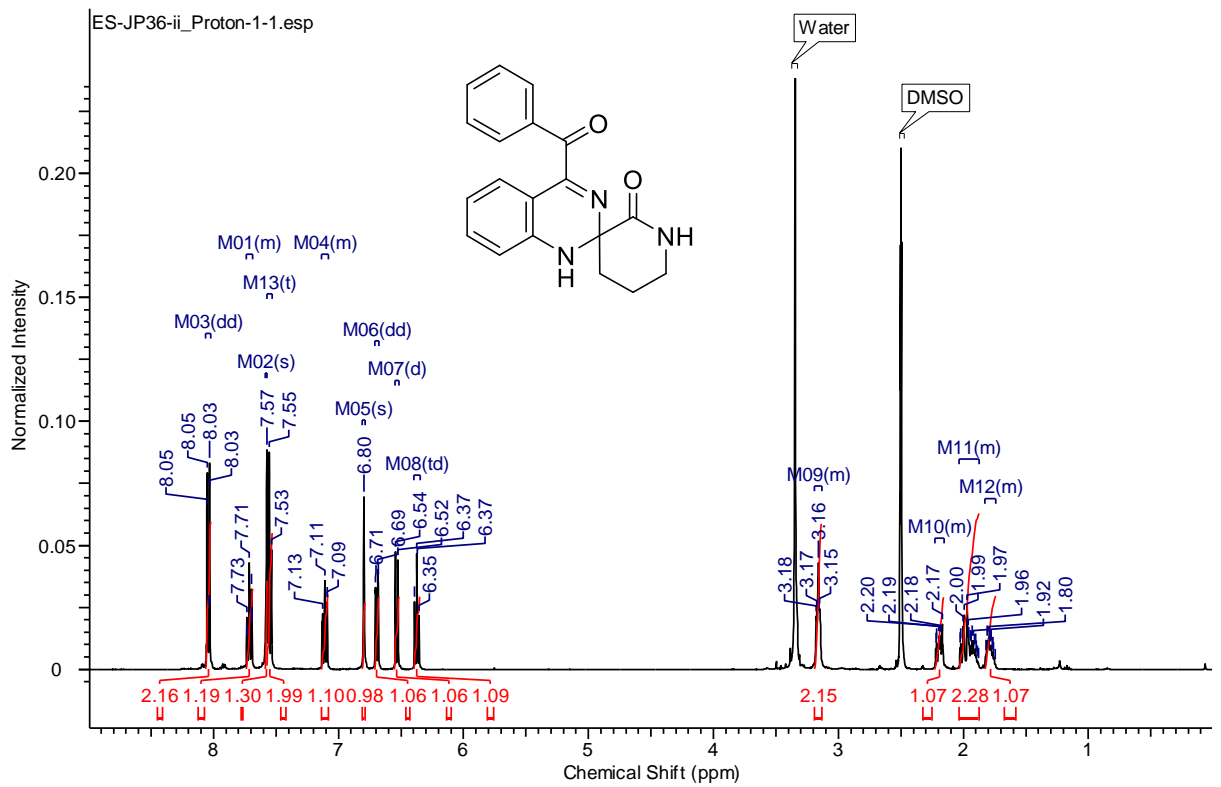
<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 4'-benzoyl-7'-(trifluoromethyl)-1'*H*-spiro[pyrrolidin-3,2'-chinazolin]-2-onu 25{2,2,1}



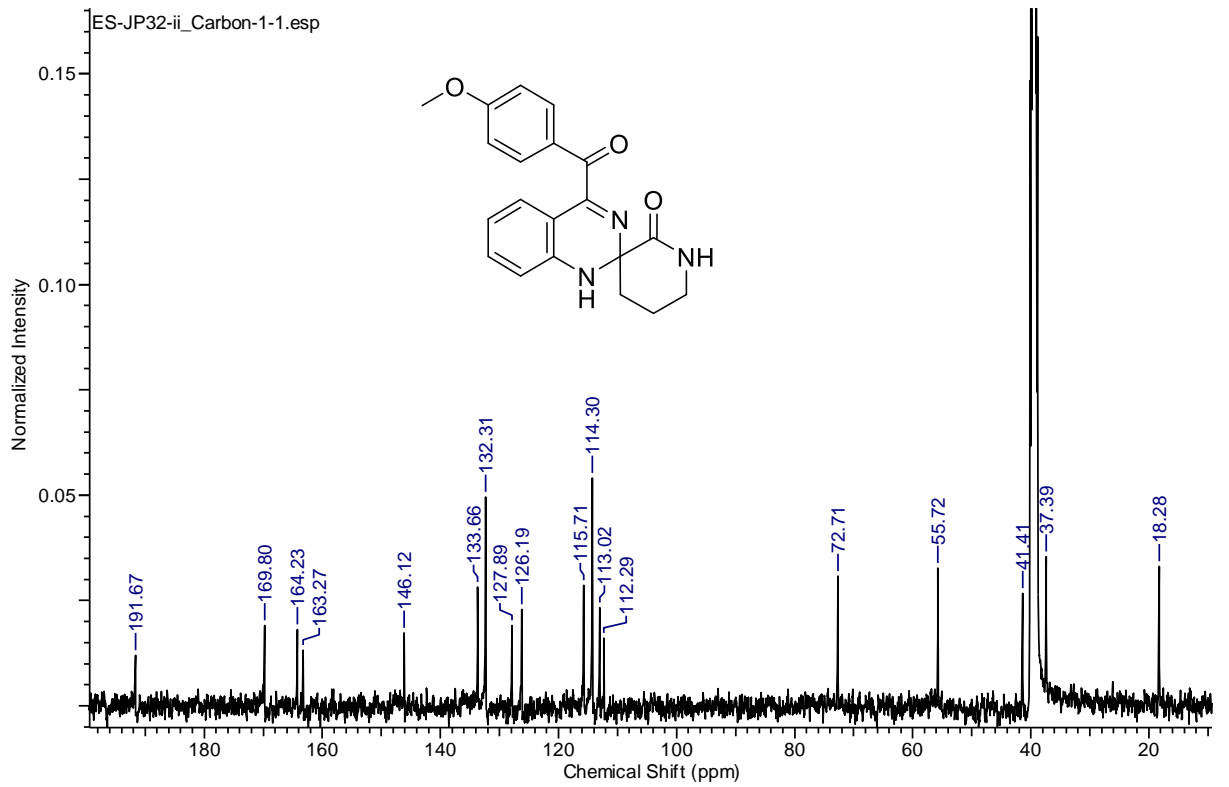
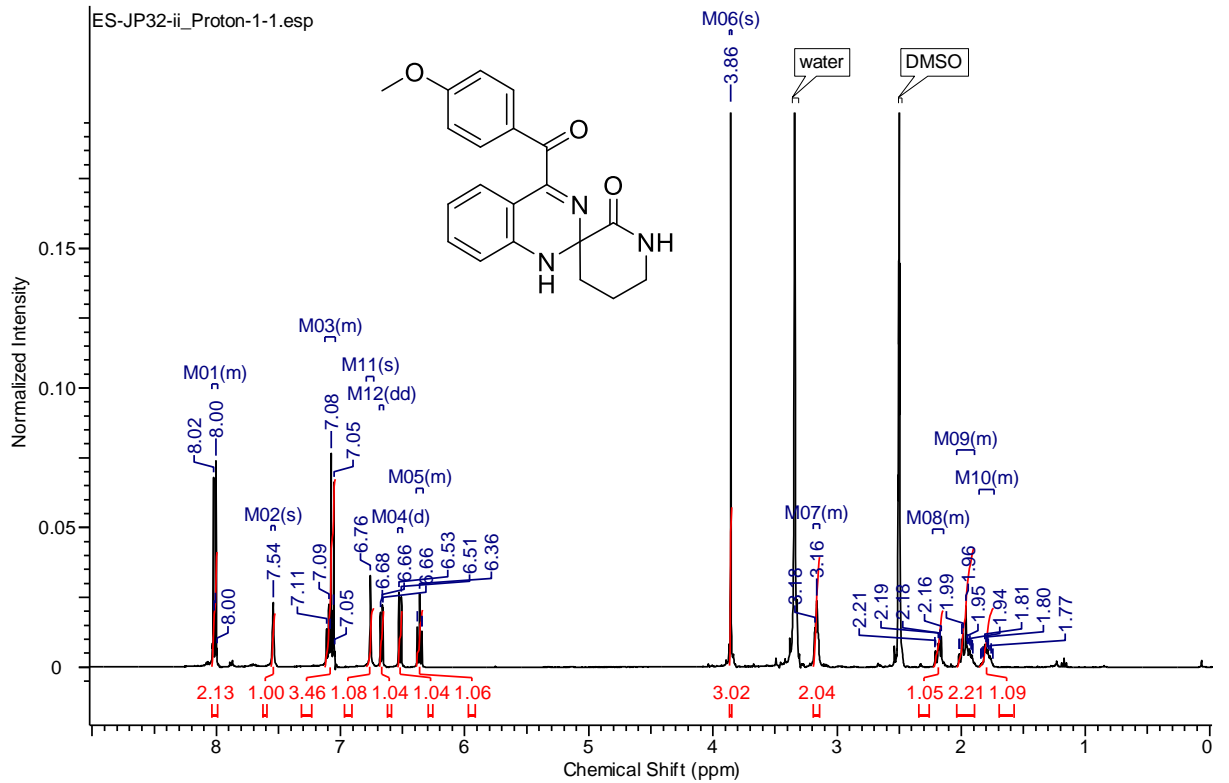


**<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 4'-benzoyl-1'*H*-spiro[piperidin-3,2'-chinazolin]-**

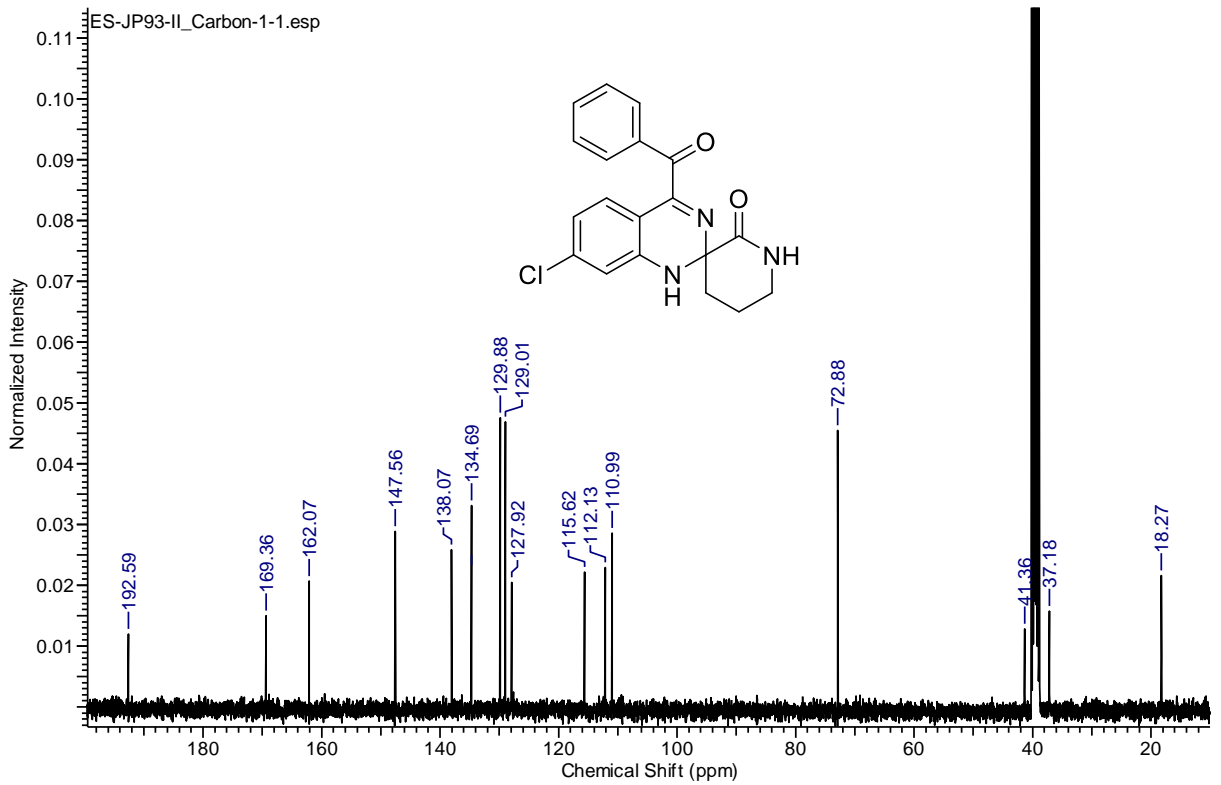
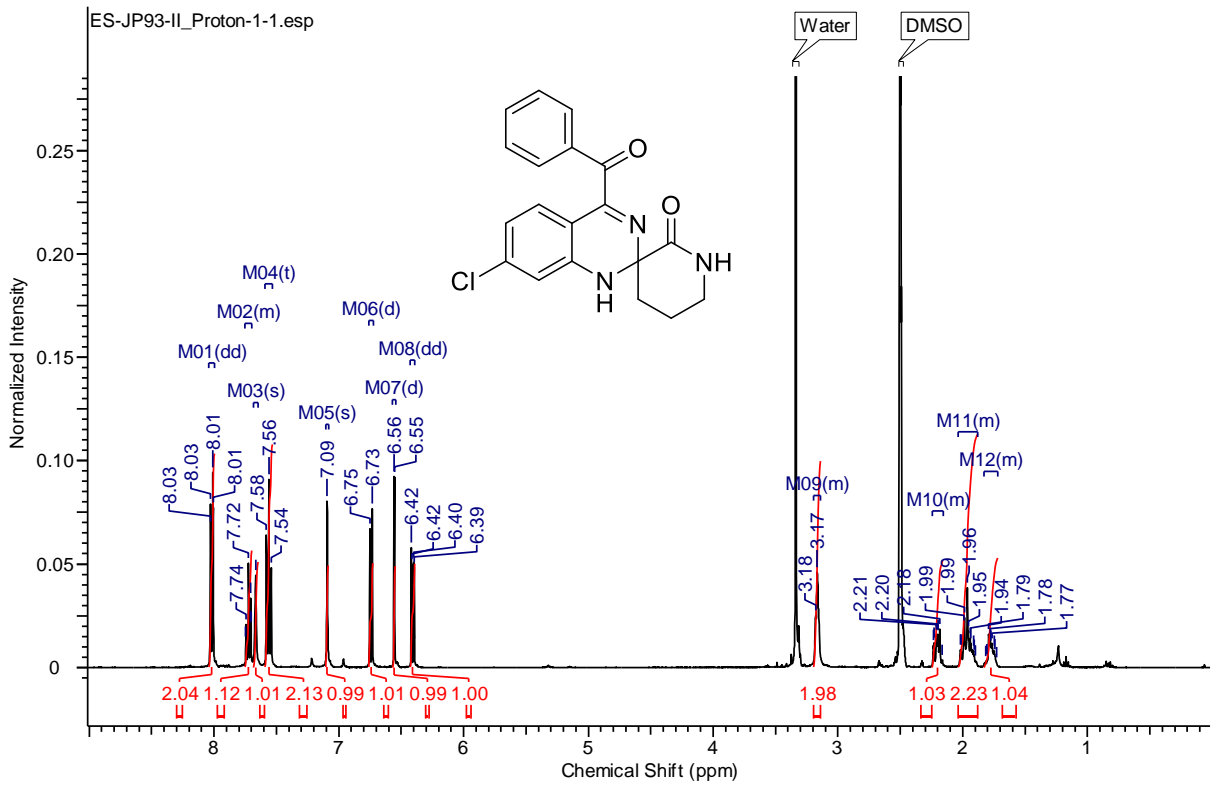
**2-onu 25{3,1,1}**



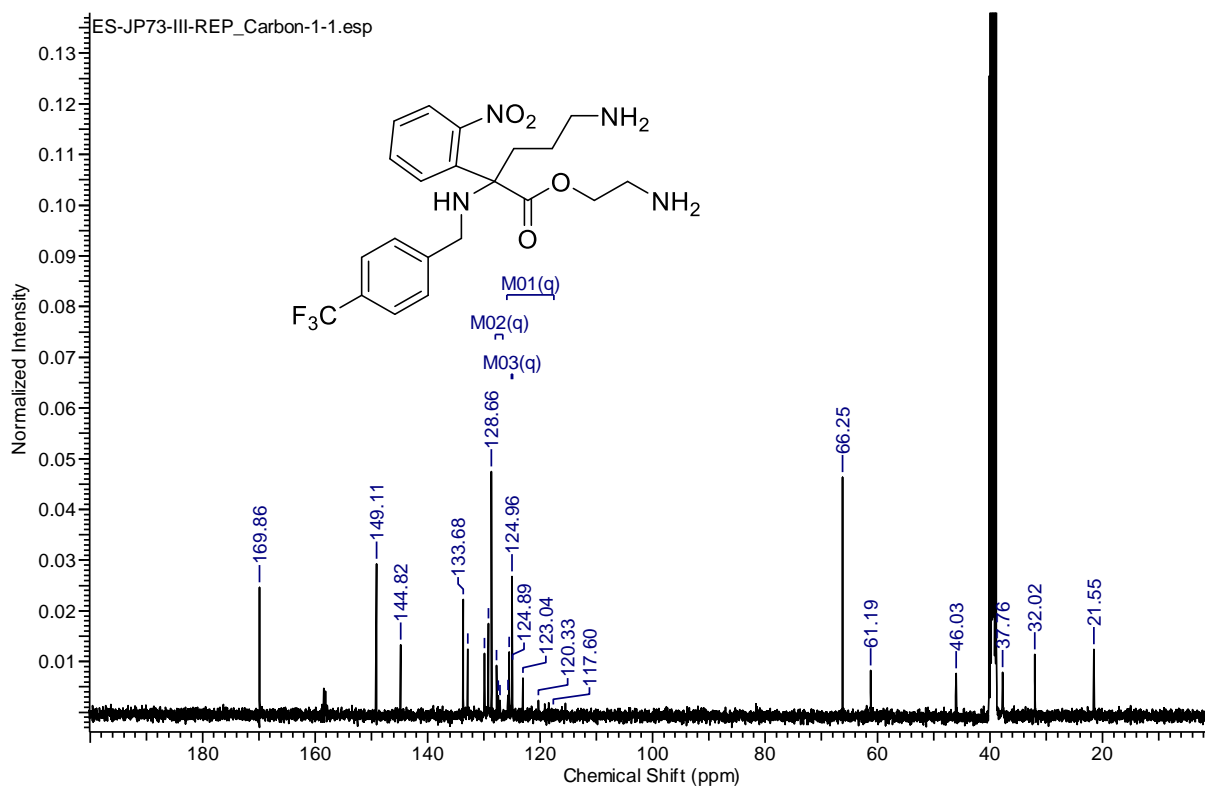
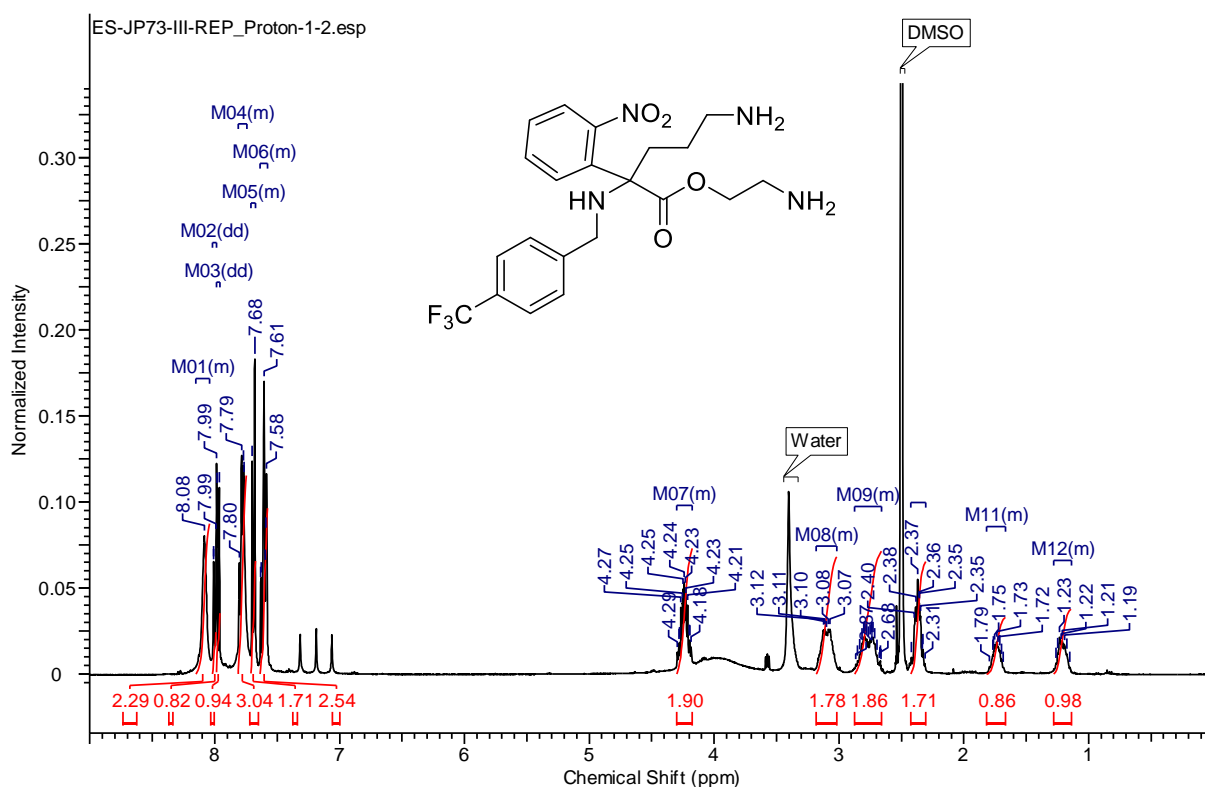
**<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 4'-(4-methoxybenzoyl)-1'*H*-spiro[piperidin-3,2'-chinazolin]-2-onu 25{3,1,2}**



**$^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra ( $d_6$ -DMSO) 4'-benzoyl-7'-chloro-1*H*-spiro[piperidin-3,2'-chinazolin]-2-onu 25{3,3,1}**



**<sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C NMR spektra (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 5-amino-2-(2-nitrophenyl)-2-((4-(trifluoromethyl)benzyl)amino)pentanoátu 28{3,1,4}**



**<sup>1</sup>H spektrum (*d*<sub>6</sub>-DMSO) 2-aminoethyl 5-amino-2-((4-nitrobenzyl)amino)-2-(2-nitrophenyl)pentanoátu 28{3,1,5}**

