

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické chemie



Univerzita Palackého
v Olomouci

Katedra Organické
Chemie

Syntéza a biologická aktivita

2-substituovaných-3-hydroxy-4(1H)-chinolonů

DISERTAČNÍ PRÁCE

Autor: Mgr. Veronika Králová (*roz. Šamšulová*)

Vedoucí: prof. Ing. Pavel Hradil, CSc.

Konzultant: Ing. Radim Horák

Olomouc 2020

Bibliografické údaje

Název	Syntéza a biologická aktivita 2-substituovaných-3-hydroxy-4(1H)-chinolonů
Název anglicky	Synthesis and biological activity of 2-substituted-3-hydroxy-4(1H)-quinolones
Typ práce	Disertační
Autor	Mgr. Veronika Králová (<i>roz. Šamšulová</i>)
Vedoucí	prof. Ing. Pavel Hradil, CSc.
Konzultant	Ing. Radim Horák
Univerzita	Univerzita Palackého v Olomouci
Studijní program	P 1417 Chemie
Obor	Organická chemie
Katedra	Organická chemie
Jazyk	český
Rok	2020
Počet stran	159 (bez příloh)
Dostupné	http://portal.upol.cz

Prohlášení o originálnosti práce

Prohlašuji, že jsem předloženou disertační práci vypracovala samostatně pod vedením prof. Ing. Pavla Hradila, CSc. a veškeré použité literární zdroje jsou uvedeny v seznamu referencí. Samotná práce, ani žádná její část, nebyla použita k získání jakéhokoliv akademického titulu.

V Olomouci dne 2020

.....
Veronika Králová

Poděkování

Děkuji svému školiteli, prof. Ing. Pavlovi Hradilovi, CSc., za příležitost pracovat v jeho výzkumné skupině a všem kolegům za vytvoření příjemného pracovního prostředí. Velké díky patří rovněž mému konzultantovi, Radimovi Horákovi, který mě především naučil jak chemicky přemýšlet a přistupovat k řešeným problémům z praktického hlediska. Díky této spolupráci jsem získala širší rozhled a měla jsem možnost naučit se nové techniky a přístup k řešení syntézy, který lze využít v průmyslu i při výrobě substancí. Lepší pracovní prostředí si lze představit jen stěží.

Děkuji Monice Tomanové za neskutečnou trpělivost a psychickou podporu, ať už během dlouhých měsíců, kdy se syntéza nedářila, nebo při přípravě na státní závěrečné zkoušky.

Děkuji Jiřímu Hodoňovi za pomoc při interpretaci biologických výsledků, které byly pro mě, jakožto organického chemika, často nejasné a matoucí.

Velmi si vážím spolupráce na publikacích s Miroslavem Souralem. Jeho zkušenosti a ochota mi neskutečně pomohly při tvorbě prvoautorské publikace.

Dále patří moje díky Ondrovi Kováčovi a Soně Krajčovičové za skvělou spolupráci při měření NMR experimentů a Sandře Benické za měření HR-MS.

V neposlední řadě děkuji všem pracovníkům Slovenské Akademie Vied za spolupráci a provedení nákladného biologického testování.

Nakonec bych chtěla poděkovat našemu vedoucímu katedry, prof. RNDr. Janovi Hlaváčovi, Ph.D., že jsem mohla svoji disertační práci vykonávat právě na Katedře organické chemie v Olomouci.

Během celé doby mého studia mě trpělivě a láskyplně podporoval můj manžel. Tímto bych mu chtěla, z celého srdce, poděkovat za to, že stál vždy při mně a v těch nejtěžších chvílích mi byl oporou.

Tato práce byla vypracována za finanční podpory grantů:

Ministerstvo Průmyslu a Obchodu (grant FV20250), Český Národní Program pro Udržitelnost (grant LO1304), interní granty Univerzity Palackého (grant IGA_PrF_2018_29 a IGA_PrF_2019_027) a granty Slovenské Republiky (APVV-0484-12, VEGA-2/0064/15 a VEGA-2/0175/15).

Abstrakt

Tato disertační práce je zaměřena na vývoj nových syntetických metod pro přípravu 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Substitucí v poloze C2 je alkyl, aryl, ale také heteroaryl. 3-Hydroxychinolin-4(1*H*)-ony s heterocyklem v poloze C2, nejsou příliš známé. Jelikož jsou v literatuře popsány pouze tři práce, zabývající se přípravou látek tohoto typu, je velká část disertační práce věnována právě metodice příprav 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Syntéza těchto látek je založena na transformacích připravených intermediátů 2-alkynyl-chinolinů a chinolin-2-karbaldehydů.

Hlavní část experimentální práce využívá reaktivitu trojně vazby 2-alkynyl-chinolinů, kdy bylo pomocí „click“ reakcí a Sonogashira cross-couplingu připraveno několik sérií cílových derivátů. Navíc, kromě syntézy 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, byl nalezen a následně také vyvinut nový způsob přípravy furo[3,2-*b*]chinolonů. U připravených derivátů bylo provedeno i biologické testování, kdy byla zjištěována antibakteriální a antivirová aktivita. Součástí experimentální práce bylo i poměrně rozsáhlé testování antivirové aktivity na Virologickém ústavu Slovenské Akademie Vied v Bratislavě.

Abstract

The presented thesis was focused on the development of new synthetic strategies for preparation of 2-substituted-3-hydroxyquinolin-4(*1H*)-ones. Substituents in position C2 were alkyl, aryl and also heteroaryl. In addition, 3-hydroxyquinolin-4(*1H*)-ones containing heterocyclic moiety in position C2 are rare. Since the literature describes only three papers dealing with synthesis of such compounds, a large part of the dissertation is devoted to the methodology of 2-heteroaryl-3-hydroxyquinolin-4(*1H*)-one preparations. Synthesis of these compounds is based on transformations of prepared intermediates 2-alkynyl-quinolines and quinoline-2-carbaldehydes.

The main part of the experimental work utilizes the reactivity of the triple bond of 2-alkynyl-quinolines, where several series of target derivatives were prepared by means of "click" reactions and Sonogashira cross-coupling. In addition to the synthesis of 2-heteroaryl-3-hydroxyquinolin-4(*1H*)-ones, a new process for the preparation of furo[3,2-*b*]quinolones has also been developed. Biological testing was performed on prepared derivatives, where antibacterial and antiviral activities were tested. Part of the experimental work was also relatively extensive testing of antiviral activity at the Institute of Virology of the Slovak Academy of Sciences in Bratislava.

Seznam zkratek

AcO	Acetát
AcOH	Kyselina octová
ACN	Acetonitril
Ar	Aryl
Bn	Benzyl
Bz	Benzoyl
18-crown-6	1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyklooktadekan
CDI	1,1'-Karbonyldiimidazol
DABCO	1,4-Diazabicyklo[2.2.2]oktan
DBU	1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DCE	1,2-Dichlorethan
DCM	Dichlormethan
dba	Dibenzylidenaceton
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dikyano-1,4-benzochinon
DEA	Diethylamin
DPE	Difenylether
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
DMA	<i>N,N</i> -Dimethylacetamid
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMEDA	<i>N,N'</i> -Dimethylethylendiamin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMPU	<i>N,N'</i> -Dimethylpropilen močovina
DMSO	Dimethylsulfoxid
dppb	1,4-Bis(difenylfosfino)butan
dppf	1,1'-Ferrocendiyl-bis(difenylfosfin)
EBX	Ethynylbenziodoxolon
Et	Ethyl
EDCI	1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid hydrochlorid
EtOAc	Ethylacetát
EtOH	Ethanol
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol

HMPA	Hexamethylfosforamid
IBD	Jodobenzen diacetát
<i>i</i> -PrOH	Isopropylalkohol
LDA	Diisopropylamid lithný
2-MeTHF	2-Methyltetrahydrofuran
Me	Methyl
MeOH	Metanol
MS	Molekulové síto
MSA	Methansulfonová kyselina
MW	Mikrovlnné záření
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -Butanol
NCS	<i>N</i> -Chlorsukcinimid
NMP	<i>N</i> -Methylpyrrolidon
NuH	Nukleofil
Ph	Fenyl
PPA	Polyfosforečná kyselina
PPh ₃	Trifenylofosfin
PTSA	<i>p</i> -Toluensulfonová kyselina
RT	Laboratorní teplota (20-25°C)
RVO	Rotační vakuová odparka
SPhos	2-Dicyklohexylfosfino-2',6'-dimethoxybifenyl
TBAF	Tetrabutylammonium fluorid
TBDPS	<i>terc</i> -Butyldifenylsilyl
TBHP	<i>terc</i> -Butyl hydroperoxid
<i>t</i> -BuOH	<i>terc</i> -Butanol
TEA	Triethylamin
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidin- <i>N</i> -oxid
Tf	Trifluoromethansulfonyl
Tf ₂ O	Trifluoromethansulfonyl anhydrid
TfOH	Trifluoromethansulfonová kyselina
TFA	Trifluoroctová kyselina
TFAA	Trifluoracetanhydrid
THF	Tetrahydrofuran

TIPS	Triisopropylsilyl
TMS	Trimethylsilyl
TMSOTf	Trimethylsilyl triflát
Tol	<i>p</i> -Toluyl
TPPO	Trifenylfosfin oxid
Xantphos	4,5-Bis(difenylfosfino)-9,9-dimethylxanten

Přehled publikací týkajících se disertační práce

Šamšulová, V.; Poláková, M.; Horák, R.; Šedivá, M.; Kvapil, L.; Hradil, P. *J. Mol. Struct.* **2019**, 1177 (5), 16.

Briestenská, K.; Šamšulová, V.; Poláková, M.; Mistriková, J. *ACTA Virol.* **2019**, 63 (4), 439.

Horák, R.; Kořistek, K.; Šamšulová, V.; Slaninová, L.; Grepl, M.; Kvapil, L.; Funk, P.; Hradil, P.; Soural, M. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, 57 (4), 1605.

Králová, V.; Soural, M.; Horák, R.; Hradil, P. *Synlett* **2020**, v tisku.

Další publikace

Šamšulová, V.; Stýskala, J.; Cankař, P.; Hradil, P.: Způsob přípravy derivátu 4(1H)-chinolonu (*Univerzita Palackého Olomouc; CS*) PV 2019-416; 2019

Šamšulová, V.; Stýskala, J.; Cankař, P.; Hradil, P.: Způsob přípravy derivátu 4(1H)-chinolonu (*Univerzita Palackého Olomouc; CS*) PV 2019-582; 2019

Příspěvky na konferencích

53 konference: Pokroky v Organické, bioorganické a farmaceutické chemii – „Liblice 2018“, Lázně Bělohrad, Česká Republika, **2018** (*poster*).

54 konference: Pokroky v Organické, bioorganické a farmaceutické chemii – „Liblice 2019“, Špindlerův Mlýn, Česká Republika, **2019** (*poster*).

Obsah

1	Cíl práce.....	13
2	Úvod	14
3	Teoretická část.....	17
3.1	Syntéza chinolonů obsahujících heterocykly v polohách N1, C2, C3 nebo C4	17
3.2	Příprava alkynylchinolinů a alkynylchinolonů	38
4	Výsledky a diskuze.....	44
4.1	Syntéza klíčových intermediátů	44
4.2	Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí 1,3-dipolární cykloadice.....	47
4.3	Syntéza 2-substituovaných chinolonů cyklizací z připravených 1,1- dibromoalkenů.....	58
4.4	Syntéza 2-substituovaných chinolonů vycházející z aldehydu	64
4.5	Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí Sonogashira cross-couplingu .	70
4.6	Určení struktury vybraných látek na základě NMR experimentů.....	83
5	Výsledky biologického testování	89
5.1	Antimikrobiální testování.....	89
5.2	Antivirové testování	90
6	Závěr.....	101
7	Experimentální část	103
7.1	Materiál a metody	103
7.2	Biologické testování.....	104
7.3	Příprava sloučenin	107
8	Literatura	152
9	Přílohy	160

1 Cíl práce

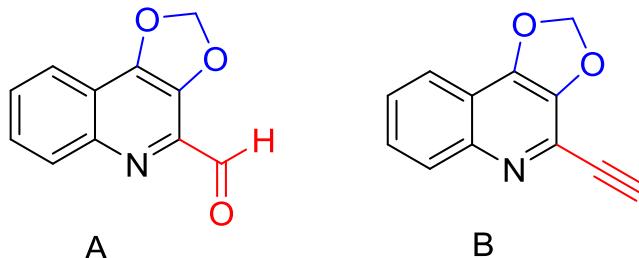
1. Vypracovat literární rešerši týkající se syntézy derivátů chinolonů, případně chinolinů, obsahujících v molekule heterocyklus.
2. Vyvinout nové syntetické přístupy pro přípravu C2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, se zaměřením na C2-heterocyklické deriváty a jejich intermediátů.
3. Stanovení biologické aktivity nově připravených derivátů.

2 Úvod

Syntéza 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1H)-onů cyklizací fenacylesterů byla poprvé popsána roku 1995.¹ Od té doby jsou tyto látky intenzivně studovány zejména pro své biologické aktivity,^{2,3} zajímavé jsou ale také jejich fluorescenční vlastnosti.⁴⁻⁷ Postupně byly popsány další cyklizace substituovaných fenacylesterů,⁸⁻¹¹ jsou však známy i jiné přípravy těchto látek, např. z chalkonů,^{12,13} nebo zlatem katalyzovaná reakce alkynyl ketonů.¹⁴ Dalším příkladem je tzv. „one-pot“ reakce, kdy dochází v jednom kroku k tvorbě fenacylesteru a následné cyklizaci za použití mikrovlnného záření.¹⁵ Takto jsou syntetizovány deriváty, které mají v poloze C2 aromát nebo alkyl. Deriváty obsahující heterocyklus v poloze C2 jsou však v literatuře popsány relativně vzácně. V naší výzkumné skupině byly takovéto chinolony připraveny již dříve, cyklizací heterocyklických analogů fenacylesterů,¹⁶ a byla u nich zjištěna zajímavá antiprotozoální a antivirová aktivita, výsledky bohužel nebyly publikovány. Tato metoda se však neosvědčila pro přípravu látek, které měly v poloze C2 heterocyklus obsahující dusíkové atomy např. pyridin, imidazol apod.

Dále byla v naší skupině rozpracována metodika pro přípravu C2 substituovaných derivátů, která vycházela z 2-methyl-3-hydroxychinolin-4(1H)-onu. Následné transformace využívaly především kyslosti vodíků methylové skupiny, díky tomu byly do polohy C2 zavedeny alkyly, fenyl a (hetero)aryly. U některých derivátů byla naměřena antibakteriální aktivita vůči kmenu *M. luteus* srovnatelná s ciprofloxacinem.¹⁷ Ve zmíněné práci je také popsána příprava intermediátů obsahujících v poloze C2 aldehyd nebo terminální alkyn (Obrázek 1). Tyto látky byly v této disertační práci využívány jako výchozí komponenty pro zavedení arylu nebo heterocyklu do polohy C2.

Syntetické cesty vedoucí k 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1H)-onům byly navrženy podle obsažené funkční skupiny výchozího intermediátu. Tyto postupy zahrnovaly např. kondenzační reakce, mědí katalyzované „click“ reakce nebo Sonogashira cross-couplingové reakce.



Obrázek 1. Intermediáty připravené dříve, sloužící jako výchozí reakční komponenty.

Ne vždy však byla protektivní methylenová skupina kompatibilní s reakčními podmínkami, a proto byly připraveny intermediáty, s benzylovou chránící skupinou, kterou lze odstranit např. hydrogenolyticky.

Samotná experimentální práce se nejvíce zaměřuje na tři stěžejní úkoly. Prvním úkolem byla příprava konjugátů chinolonu s triazolo-sacharidy pomocí „click“ reakce. U těchto látek byla ve spolupráci se Slovenskou Akadémií Vied měřena antimikrobiální aktivita vůči speciálnímu bakteriálnímu kmenu *P. larvae*. Navíc, byla nalezena zajímavá antivirová aktivita vůči gammaherpes viru MHV-68. Dále byla zkoumána reaktivita terminálního alkynu při Sonogashira cross-couplingu. Touto metodou byly do polohy C2 zavedeny substituované aromáty a nejrůznější heterocykly. Na tuto část experimentální práce navazuje syntéza furo[3,2-*b*]chinolonů. Příprava těchto látek je v literatuře popsána poměrně málo, využívá se cyklizace v PPA za vysokých teplot nebo působením mikrovlnného záření.^{18–21} Pomocí nové metodiky, která je založena na cyklizaci 2-alkynyl-chinolinů v MSA, se podařilo získat substituované furo[3,2-*b*]chinolony. Vybrané deriváty byly podrobeny *in vitro* a *in vivo* testování vůči chřipkovému viru typu Influenza A. Nicméně, na testovaných virech se pomocí použitých experimentů nepodařilo prokázat antivirový účinek u žádné z testovaných látek.

V práci je uveden také nespočet negativních výsledků, kdy se některé z navržených syntéz nepodařilo dokončit a to např. vlivem charakteru látek (polarita, rozpustnost) nebo jejich špatné reaktivnosti. V jiném případě byla připravena celá série 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, pomocí jednoduché metodiky. Avšak připravené látky byly tak nerozpustné, že nebylo možné získat kompletní analytická data pro jejich charakterizaci.

Na základě získaných výsledků biologické aktivity jednotlivých derivátů naše skupina pokračuje v hledání nových derivátů. Navíc, omezená metodika přípravy vedoucí k C2 heterocyklickým chinolonům dává prostor pro nové syntetické cesty, které by mohly vést k těmto látkám.

3 Teoretická část

V teoretické části je uveden přehled doposud publikovaných příprav 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Byly však nalezeny pouze tři literární odkazy, z nichž dva byly publikovány v impaktovaných časopisech^{22,23} a jeden pochází z disertační práce.¹⁶ Proto byla rešeršní část rozšířena o přehled příprav chinolonů, které mají jako substituent heterocyklus i v dalších pozicích heterocyklické části chinolinového skeletu, a to vedle polohy C2 i polohy N1, C3 nebo C4. Jednotlivé reakce jsou rozděleny do skupin dle struktury výchozí komponenty a řazeny od nejstarší po nejnovější literární odkazy. Jelikož je podstatná část experimentální práce založena na reakcích z připravených 2-alkynyl-chinolinů, byla teoretická část rozšířena o přehled příprav alkynyl chinolinů, resp. chinolonů.

3.1 Syntéza chinolonů obsahujících heterocykly v polohách N1, C2, C3 nebo C4

3.1.1 Syntéza s využitím heterocyklických analogů fenacylesterů

Cykлизace různě substituovaných fenacylesterů je běžně používanou metodou pro přípravu 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Dle struktury výchozího esteru se provádí v kyselině octové,^{24,25} trifluorooctové,^{16,26,27} polyfosforečné^{9,28} nebo *N*-methylpyrrolidonu⁹ při teplotě varu zvoleného cyklizačního média.

3-Hydroxychinolin-4(1*H*)-ony s heterocyklem v poloze C2 byly připraveny cyklizací heterocyklických analogů fenacylesterů kyseliny anthranilové v TFA za varu (Schéma 1). Touto metodou se podařilo připravit thienyl, furyl, selenyl, benzo[*b*]thienyl a benzo[*b*]furyl deriváty ve vysokých výtěžcích 73-96 %.¹⁶

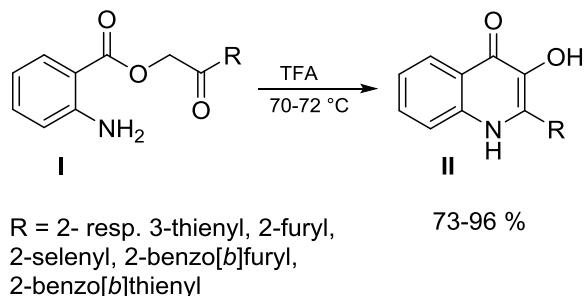


Schéma 1. Cyklizace heterocyklických analogů fenacylesterů I v TFA.

Obdobně byl připraven derivát **IV** s přikondenzovaným benzenovým jádrem, tzv. 3-hydroxy-benzo[g]chinolon (Schéma 2). Reakce probíhala zahříváním sloučeniny **III** v kyselině polyfosforečné (PPA) s velmi dobrým výtěžkem 73 %.²³

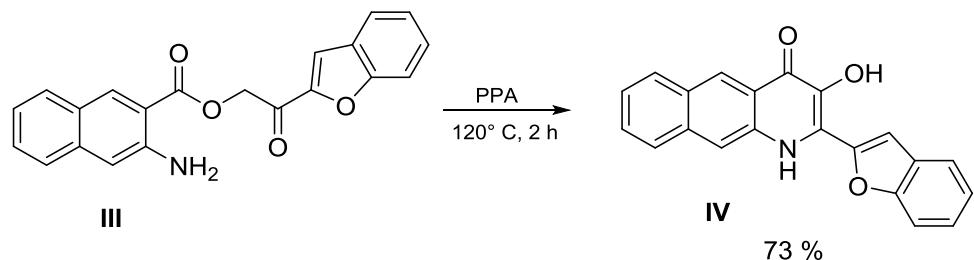


Schéma 2. Cyklizace sloučeniny III v PPA.

3.1.2 Reakce s využitím alkynyl ketonů

Cyklizací alkynylketonů lze připravit N1, C2 nebo C3 substituované 4-oxochinoliny. V literatuře bylo nalezeno celkem šest různých metod přípravy těchto látek.

Postupem zahrnujícím palladiem katalyzovanou aminaci a následnou cyklizaci byly v jednom kroku získány příslušné N1, C2-substituované-4-oxochinolinové deriváty **VIa** a **VIb** (Schéma 3). V závislosti na substituci alkynyl ketonů byl připraven *N*-fenyl nebo *N*-pyrimidyl-2-fenyl-4-oxochinolin.²⁹

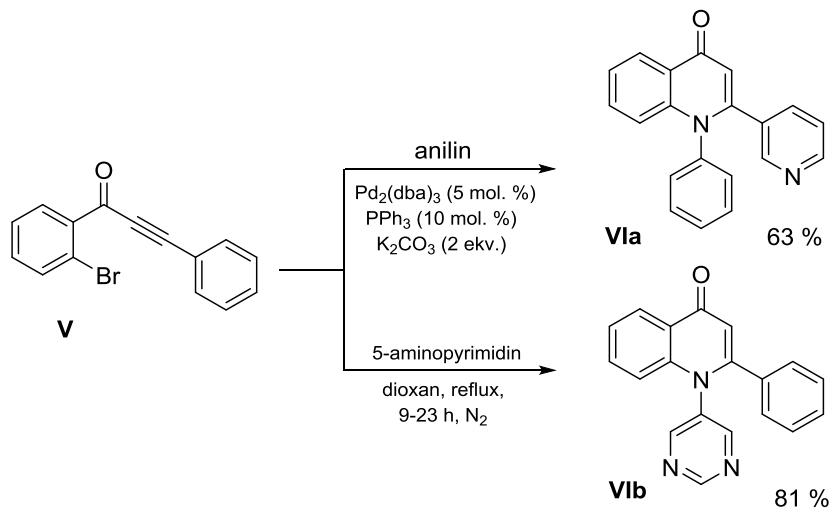


Schéma 3. Příprava sloučenin **VIA** a **VIB**.

Obdobný derivát, substituovaný 2-bromo-alkynyl keton **VII**, byl podroben 1,4 adici s alkylaminem a vytvořený enamino keton byl bez nutnosti izolace cyklizován v bazickém prostředí s hydridem sodným v DME (Schéma 4). Takto byly připraveny *N*-alkylované-2-thienyl nebo pyridyl-chinolin-4(1*H*)-ony **VIII** s výtěžky kolem 50 %.³⁰

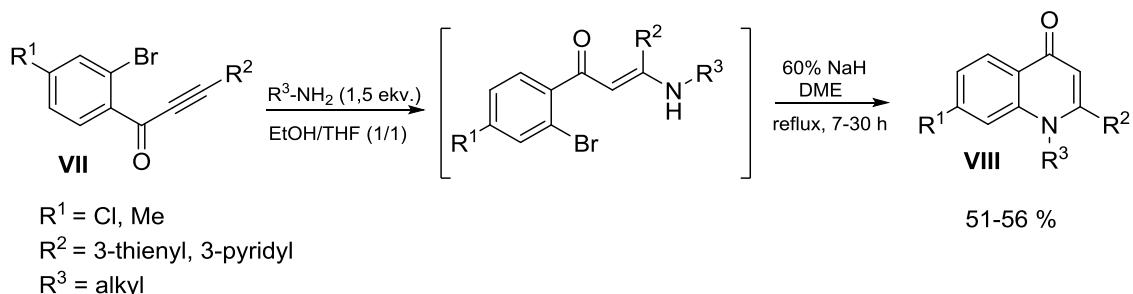


Schéma 4. Cyklizace alkynyl ketonů VII v bazickém prostředí.

Zajímavou syntetickou cestou byl připraven 2-thienyl-3-tosyl-chinolin-4(1*H*)-on **X** (Schéma 5). Výchozí azid **IX** reagoval s 4-methylbenzensulfinoxovou kyselinou za přítomnosti *t*-butylhydroperoxidu (TBHP). Autoři popisují dva různé reakční mechanismy probíhající přes radikálové intermediáty. Derivát **X** byl připraven ve vysokém výtěžku 96 %.³¹

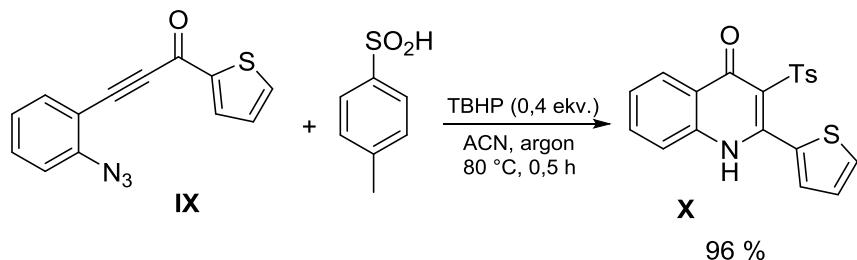


Schéma 5. Příprava sloučeniny X.

Adicí nitritového iontu na β -(2-aminofenyl)- α,β -ynony **XI** s následnou cyklizací vznikaly 2-substituované-4-nitrochinoliny (Schéma 6). Metoda byla použita pro přípravu 2-thienyl-4-nitrochinolinu **XIa**, který byl následně hydrolyzován v kyselém prostředí s TFA na 4-oxochinolin **XII** ve výtěžku 78 %.³²

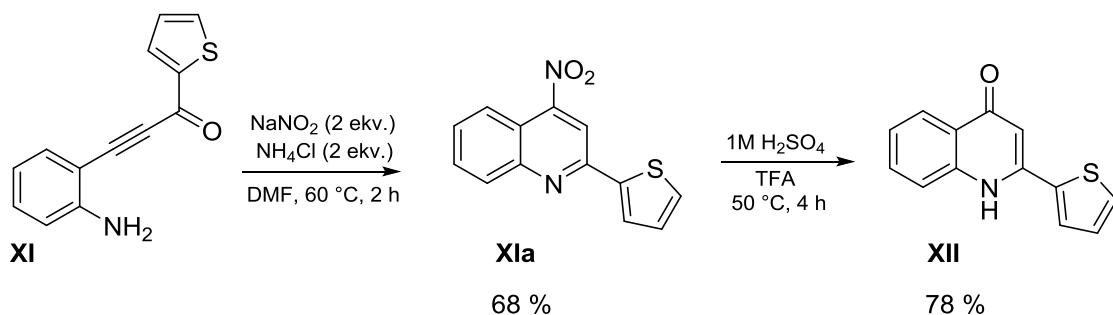


Schéma 6. Příprava sloučeniny **XII**.

Z alkynylketonů **XIII** lze reakcí s (iso)chinolin-N-oxidy připravit různě substituované 3-(iso)chinolinyl-4-oxochinoliny **XIVa** a **XIVb** (Schéma 7). Autoři uvádějí reakční mechanismus, podle kterého nejprve docházelo k tvorbě (iso)chinolinyl-β-diketonu. Ten dále podléhal kysele katalyzované intramolekulární dehydrataci za vzniku příslušného produktu. Takto byly připraveny různě substituované deriváty s výtěžky 47-80 %.³³

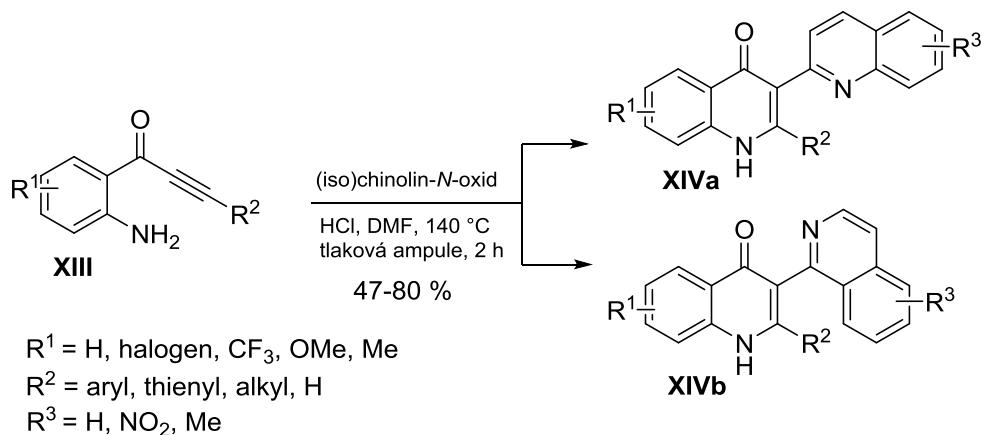


Schéma 7. Příprava derivátů typu **XIVa** a **XIVb**.

Nejnovější publikace uvádí syntézu 1,2,3-trisubstituovaných-ch-chinolin-4(1*H*)-onů z připravených ynonů typu **XV** a sulfonamidů v bazickém prostředí Cs_2CO_3 v DMSO při 100 °C (Schéma 8). Autoři uvádějí poněkud složitější mechanismus reakce, který zahrnuje Michealovu adici, Smilesův přesmyk a *N*-arylacii. Reakcí bylo připraveno celkem 52 derivátů, mezi nimiž byl i 3-benzothiazolyl derivát **XVI**. Kromě široké aplikovatelnosti metody na nejrůznější substráty, autoři uvádějí jako další výhodu vznik minimálního množství vedlejších produktů (SO_2 a HX).³⁴

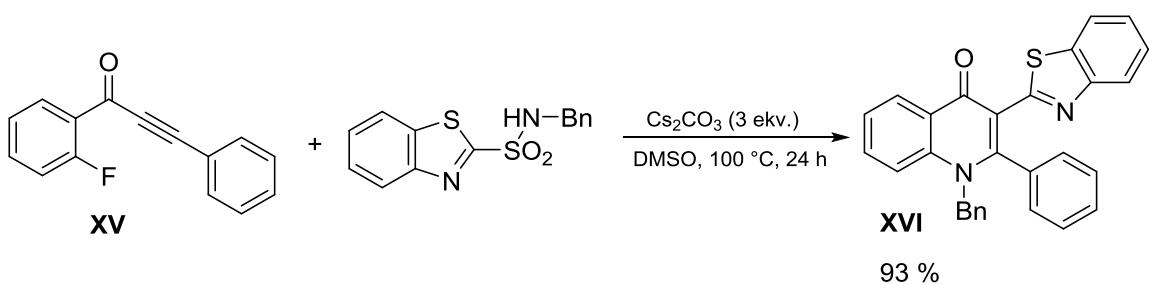


Schéma 8. Příprava sloučeniny **XVI**.

3.1.3 Reakce s využitím isoxazolových/oxazolinových derivátů

Isoxazolové a oxazolinové deriváty jsou zajímavou výchozí komponentou, kterou lze využít při tvorbě chinolonových derivátů. První nalezený syntetický postup vycházející z oxazolinu je z roku 2012³⁵ (Schéma 9). Oxazolinový derivát **XVII**, připravený z *isatoic* anhydridu, byl podroben reakci s ketonem **XVIII** za kyselé katalýzy *p*-toluensulfonovou kyselinou v *n*-butanolu. Touto metodou byly připraveny sloučeniny, které byly navrženy jako potenciální antimalarika. Uvedená sloučenina **XIX** byla připravena v relativně vysokém výtěžku 69 % a vykazovala antimalarickou aktivitu v nanomolárních koncentracích. Mechanismus reakce autoři neuvádějí.

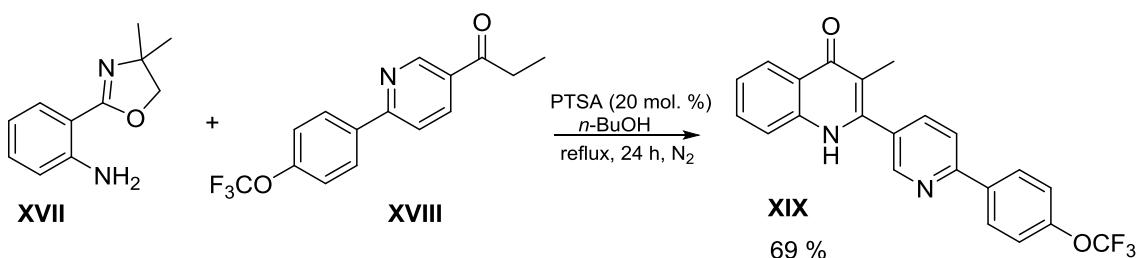


Schéma 9. Příprava sloučeniny **XIX**.

Obdobně byla připravena řada substituovaných oxazolinů **XX** (Schéma 10). Reakcí s ketoskupinou v poloze 4 substituovaných pyrazolů **XXI** za kyselé katalýzy, tentokrát s trifluormethansulfonovou kyselinou v *n*-butanolu, vznikaly 2-pyrazolyl-chinolin-4(1*H*)-ony **XXII** ve výtěžcích 42-84 %.³⁶

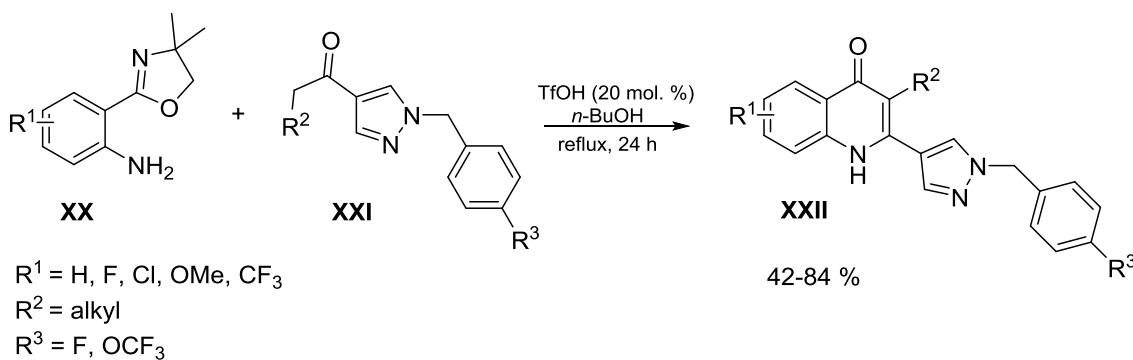


Schéma 10. Příprava sloučenin typu **XXII**.

Reduktivní transformací 3-substituovaných-5-(2-nitrofenyl)isoxazolů **XXIII**, lze připravit 2-substituované-chinolin-4(1*H*)-ony **XXIV** (Schéma 11). Jako redukční činidlo autoři uvádějí tzv. borid niklu, který vznikal *in situ* z chloridu nikelnatého a borohydridu sodného, kdy docházelo k redukci nitroskupiny a otevření isoxazolového cyklu. Vzniklý enamino keton **XXIIIa** podléhal samovolné cyklizaci na 2-substituovaný-4-oxochinolin. V práci bylo připraveno několik různě substituovaných derivátů, z nichž jeden obsahoval thiofenový cyklus.³⁷

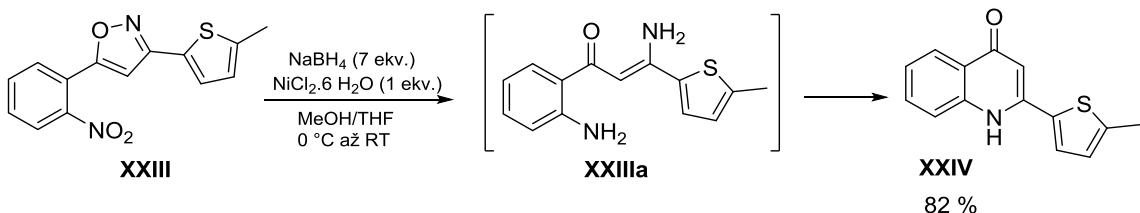


Schéma 11. Příprava sloučeniny **XXIV**.

3.1.4 Reakce vycházející z amidů

Cykлизace amidů jsou dobře známé a popsané i ve starší literatuře. Často probíhají v bazickém prostředí známým mechanismem dle Campse³⁸⁻⁴⁰ nebo jinými cyklizačními metodami v závislosti na struktuře substrátu. V této rešerši byly vybrány takové výchozí amidy, které cyklizací poskytovaly C2 nebo C3 heteroaryl-chinolin-4(1*H*)-ony.

Cykлизace připraveného amidu **XXV** intramolekulární aldolovou kondenzací byla provedena v bazickém prostředí s metanolátem sodným v ethanolu při teplotě varu. 2-Indolyl-chinolin-4(1*H*)-on **XXVI** byl připraven s výtěžkem 76 % (Schéma 12).⁴¹

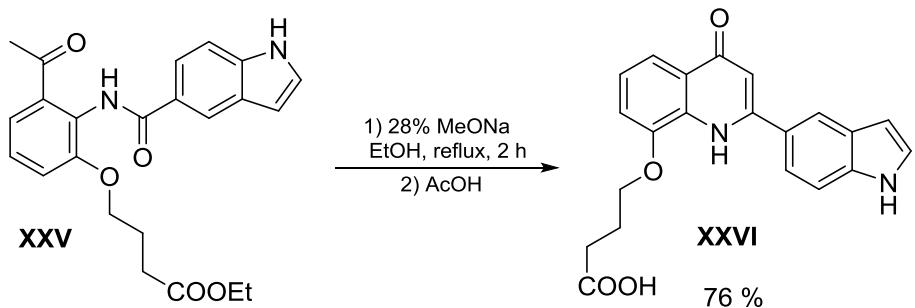


Schéma 12. Příprava sloučeniny XXVI.

Série amidů typu **XXVII** byla cyklizována za bazických podmínek za varu v dioxanu (Schéma 13). Celkem bylo takto připraveno 15 sloučenin typu **XXVIII**, přičemž jsou ve schématu uvedeny deriváty obsahující thiofen a pyridin v poloze C2.⁴²

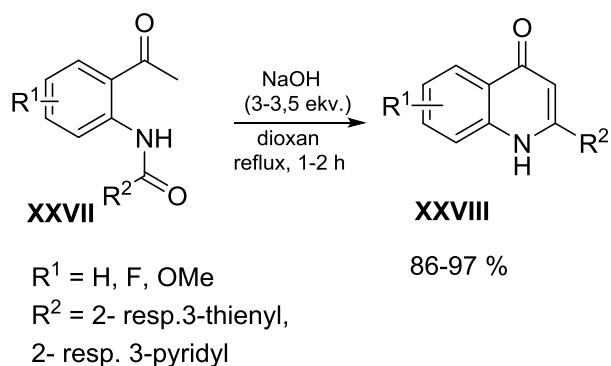


Schéma 13. Příprava sloučenin typu **XXVIII**.

Podobné substituované amidy **XXIXa** byly připraveny *in situ* pomocí palladiem katalyzované reakce 2-bromoacetofenonů s amidy **XXIX** (Schéma 14). Následnou bazicky katalyzovanou cyklizací bylo připraveno 14 derivátů typu **XXX**, které měly v poloze C2 aryl, (cyklo)alkyl, adamantyl, ale především také heterocykly thiofen, pyridin a furan.⁴³

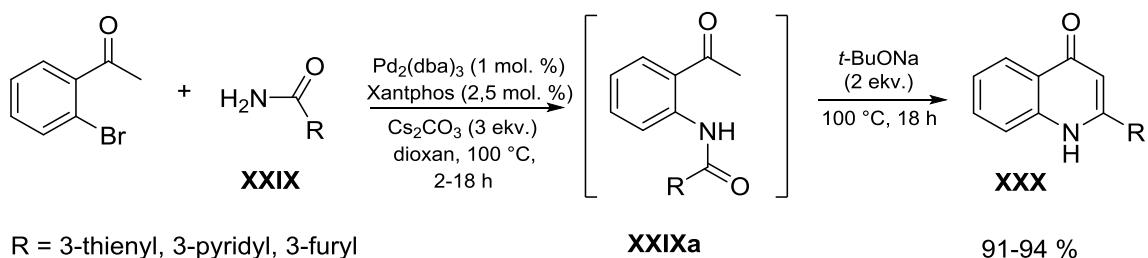


Schéma 14. Příprava sloučenin typu **XXX**.

Připravené amidy s methylendioxy můstkom **XXXI** byly cyklizovány metodou dle Campse v bazickém prostředí za přítomnosti dvou různých bází, které byly voleny dle výchozího substrátu (Schéma 15). Touto metodou byly připraveny deriváty **XXXII** se substitucí v poloze C2: naftalenem, antracenem a hetereocykly s anelovaným benzenovým jádrem.⁴⁴

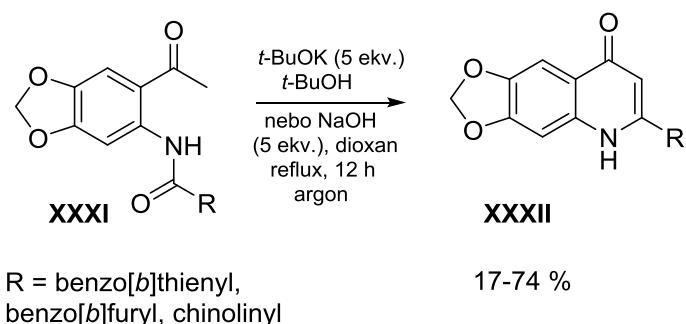


Schéma 15. Příprava sloučenin typu **XXXII**.

Obdobně byla připravena sloučenina **XXXIV** (Schéma 16). Tato látka vykazovala silné protinádorové účinky.⁴⁵

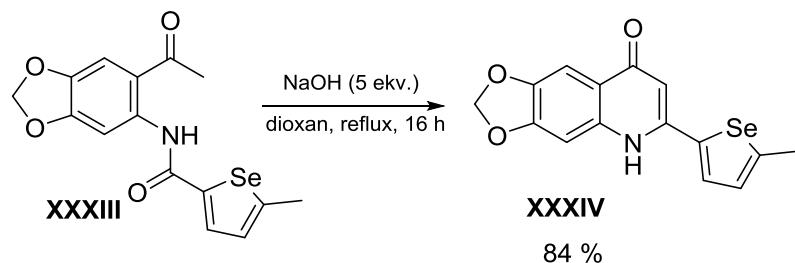


Schéma 16. Příprava sloučeniny **XXXIV**.

In situ připravený chlorid thiazolkarboxylové kyseliny reagoval s *o*-aminoacetofenonem **XXXVI** za vzniku amidu **XXXVIIa**. Ten byl ihned cyklizován v bazickém prostředí pomocí *t*-BuOK za vzniku finální látky **XXXVII** (Schéma 17). Sloučenina byla připravena v poměrně vysokém výtěžku 81 % jako nový inhibitor proteázy HCV.⁴⁶

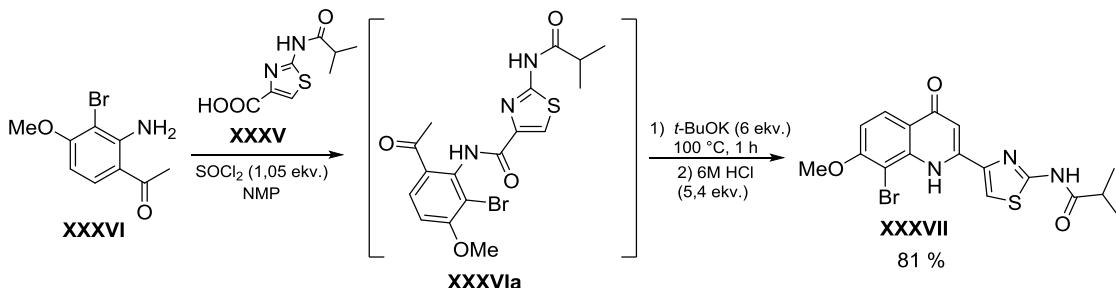


Schéma 17. Příprava sloučeniny **XXXVII**.

Amidická skupina výchozích 1,3-diarylpropenonů **XXXVIII**, které se připravují Claisen-Schmidtovou kondenzací, byla kysele hydrolyzována za vzniku volné amino skupiny a následně docházelo k její samovolné adici na vytvořený enon (Schéma 18). Vzniklý tetrahydrochinolin **XXXVIIIa** byl poté oxidován jodem na produkt **XXXIX**. Kromě různě substituovaných aromátů byl takto do polohy C2 zaveden i thiofen a pyridin.⁴⁷

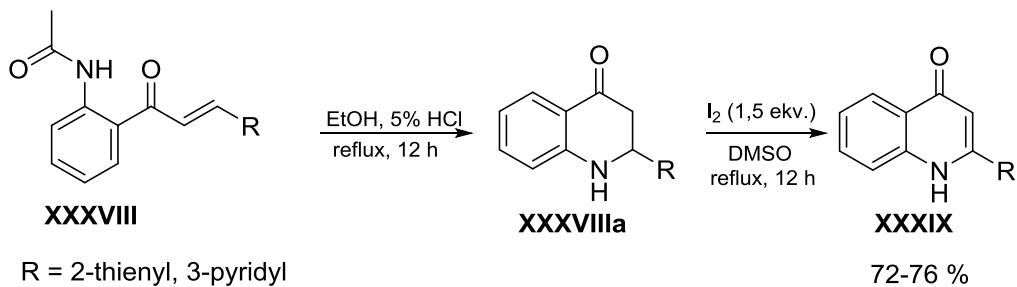


Schéma 18. Příprava sloučenin typu **XXXIX**.

Sloučenina **XLII** byla připravena z amidu **XL**, který byl pomocí thionylchloridu převeden na imidoylchlorid **XLa**. Ten reagoval *in situ* s 3-oxopropanoátem **XLI** v bazickém prostředí za vzniku produktu **XLII** ve výtěžku 41 % (Schéma 19).⁴⁸

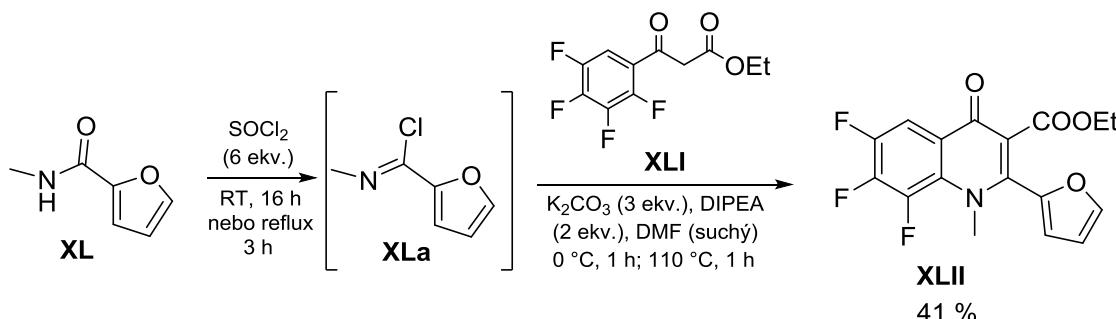


Schéma 19. Příprava sloučeniny **XLII**.

Obdobně jako u derivátů s methylendioxy můstkem **XXXIII** (Schéma 16), byla provedena cyklizace sloučenin s ethylendioxy můstkem **XLIII** (Schéma 20). Pro tento typ látek autoři používali jako bázi ethanolát sodný. Získané 2-thienyl a 2-furyl chinolony byly připraveny ve vysokých výtěžcích 92-98 %.⁴⁹

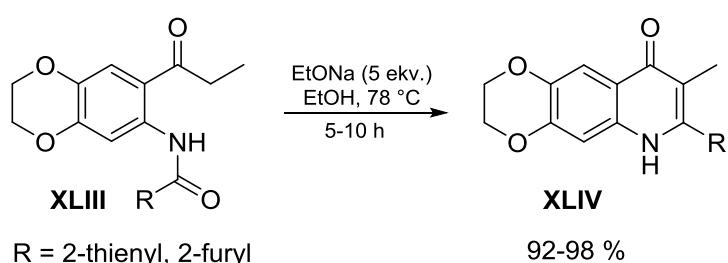


Schéma 20. Příprava sloučenin typu **XLIV**.

Derivát **XLVII** byl připraven reakcí *N*-(2-acetylfenyl)pikolinamidu **XLVI** s 2-acetylfuránem **XLVI** v DMSO za přítomnosti směsi dvou bází (Schéma 21). Autoři uvádějí zvýšení výtěžku při optimalizaci báze na modelové sloučenině (3-benzyl-2-fenylchinolin-4(1*H*)-on), kdy při použití samotného KHCO₃ byl výtěžek 55 % a při použití směsi KHCO₃/DBU 71 %. Optimalizací reakční teploty na 120 °C bylo docíleno dalšího zvýšení výtěžku a modelová sloučenina byla připravena ve výtěžku 81 %. Optimalizované podmínky byly použity i pro přípravu 2,3-bisfurylového derivátu **XLVII** s výtěžkem 70 %.⁵⁰

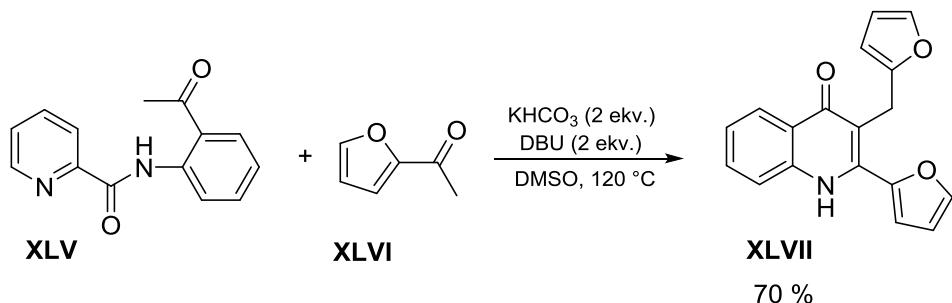


Schéma 21. Příprava sloučeniny **XLVII**.

3.1.5 Reakce využívající katalýzu kovy

V literatuře byly nalezeny také různé typy couplingových reakcí, vedoucí ke vzniku 4-oxochinolinů. Reakce probíhaly za přítomnosti běžných katalyzátorů palladia nebo mědi. V některých případech však byly použity i speciální katalyzátory obsahující zlato, stříbro, rhodium nebo tzv. Grubbsův katalyzátor.

Pomocí karbonylativního Sonogashira cross-couplingu byl připraven klíčový intermediát **L**, který sloužil k přípravě inhibitoru proteasy HCV (Schéma 22). Výchozí látka 2-ido-5-methoxy-anilín **XLVIII** reagovala oxidativní adicí s Pd(II) katalyzátorem. Následnou karbonylací za zvýšeného tlaku s thiazolyl derivátem **XLIX** a v bazickém prostředí diethylaminu docházelo k cyklizaci za vzniku sloučeniny **L**.⁵¹

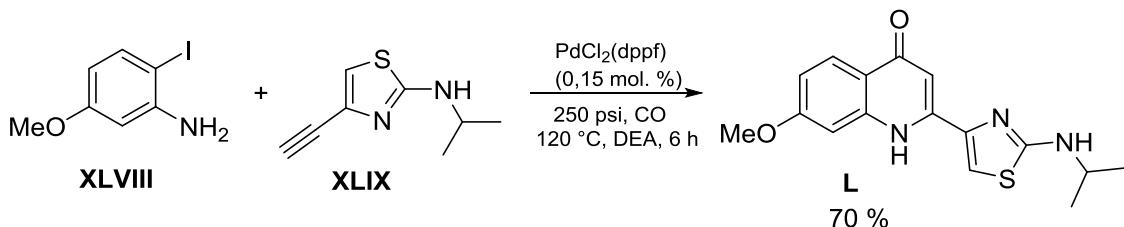


Schéma 22. Příprava sloučeniny **L**.

Reakcí substituovaných 3-halogen-chinolin-4(1*H*)-onů **LI** za optimalizovaných podmínek Suzuki-Miyaura cross-couplingu byla připravena řada (hetero)aryl derivátů typu **LII**. Reakce probíhala s katalytickým systémem Pd₂(dba)₃/SPhos a bází K₃PO₄. Byla volena různá rozpouštědla (toluen, DMF, 2-BuOH) a množství boronové kyseliny v závislosti na její struktuře. Ve schématu 23 je uvedena příprava a výtěžky 2-furyl, 3-pyridyl a 5-pyrimidyl derivátů.⁵²

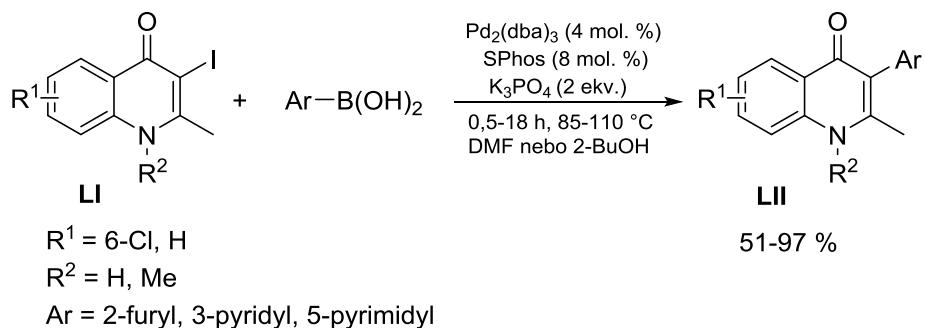


Schéma 23. Příprava sloučenin typu **LII**.

Pomocí Ullmanova couplingu byly připraveny 3-(*N*-substituované)-chinolin-4(1*H*)-ony **LIV** (Schéma 24). Výchozí chinolony **LIII** reagovaly s různými N-nukleofily typu amidů, laktamů, sulfonamidů a azolů. Reakce probíhaly v toluenu, s mědí, DMEDA jako ligandem a bází K₂CO₃. Takto bylo připraveno celkem 26 sloučenin, z nichž jsou ve schématu uvedeny ty, které obsahovaly heterocyklus.⁵³

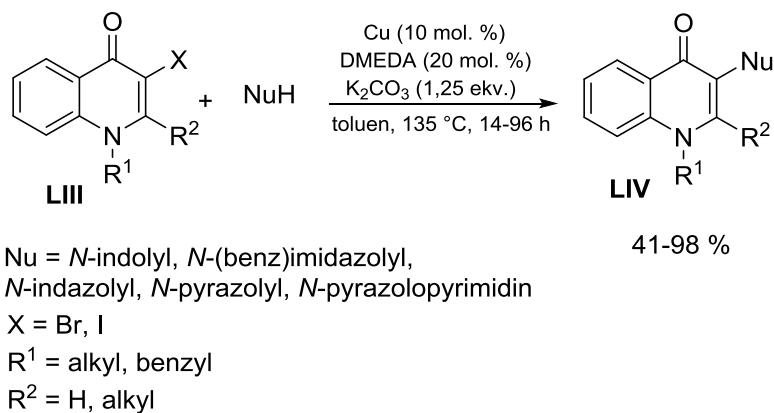


Schéma 24. Příprava sloučenin typu **LIV**.

3-Heteroaryl-chinolin-4(1*H*)-ony **LVII** byly připraveny pomocí cross-couplingu chinolonu **LV** s různými azoly **LVI** za katalýzy Cu(I). Reakce probíhala v bazickém prostředí *t*-BuOLi, díky kterému docházelo k odštěpení protonu z azolu a zároveň k tvorbě organoměďného intermediátu. Dále docházelo k oxidativní adici a reduktivní eliminaci za vzniku produktů **LVII** (Schéma 25). Takto bylo do polohy C3 zavedeno celkem 6 různých typů heterocyklů s výtěžky 54-91 %.⁵⁴

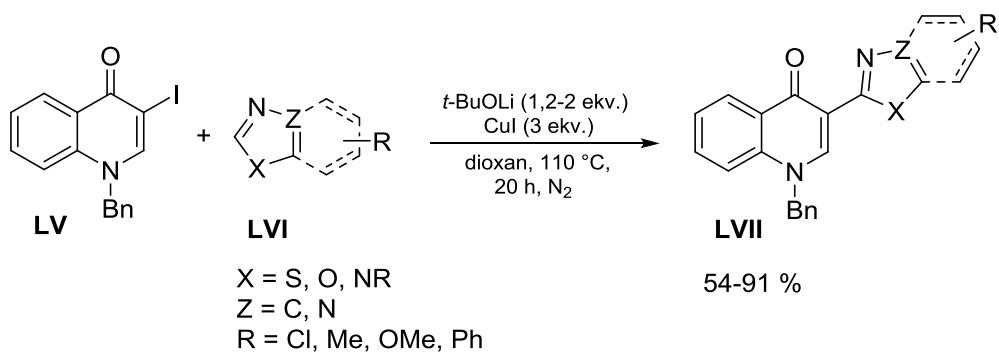


Schéma 25. Příprava sloučenin typu **LVII**.

Karbonylativní Sonogashira cross coupling byl použit pro přípravu 2-thienyl-chinolin-4(1*H*)-onu **LX** (Schéma 26). Výchozími látkami byly substituované *o*-jodanilíny **LVIII** a 2-ethynyl-thiofen **LIX**. Reakce probíhala za katalýzy Pd(II), přičemž byl zvolen pevný zdroj CO hexakarbonyl molybdenu.⁵⁵

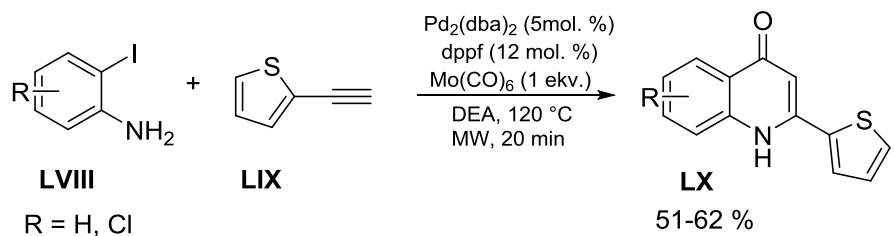


Schéma 26. Příprava sloučenin typu **LX**.

Nová metoda přípravy 2-amino-4-oxochinolinů **LXIII** využívá stříbrem katalyzovanou chemoselektivní [4+2] cykloadici mezi aryl-isokyanidy **LXI** a substituovanými isokyanoacetamidy **LXII** (Schéma 27). Touto metodou byly připraveny různé 2-aminochinolony, naftyridiny a fenantroliny v jednom kroku. Ve schématu je uvedena příprava 2-morfolino a 2-thiomorfolino derivátů.⁵⁶

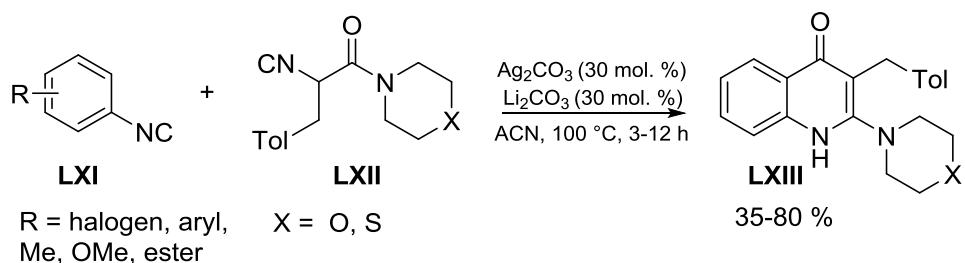


Schéma 27. Příprava sloučenin typu **LXIII**.

2-Substituované-chinolin-4(1*H*)-ony byly připraveny oxidativní karbonylací z ketonů, aminů a CO (Schéma 28). Z těchto jednoduchých a dobře dostupných výchozích látek bylo připraveno celkem 20 derivátů (výtěžky 39-76 %). Ve schématu je uvedena příprava 2-furyl derivátu **LXVI**, vycházející z 2-acetylfuránu **LXIV** a anilinu **LXV** s 51% výtěžkem.⁵⁷

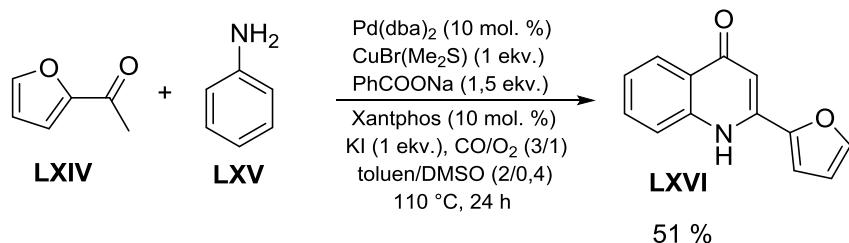


Schéma 28. Příprava sloučeniny **LXVI**.

Metateze využívající k uzavření cyklu tzv. Grubbsových katalyzátorů, byla použita pro přípravu přírodního alkaloidu Marinamidu, který vykazuje antimalarickou aktivitu (Schéma 29). Výchozí látka *N*-allyl imid **LXVII** podléhala eliminaci vody s následnou cyklizací za přítomnosti Grubsova katalyzátoru II. generace. Debenzylací intermediátu **LXVIII** s TFA byl připraven známý přírodní insekticid - Quinolactacid (**LXIX**), jehož bazickou hydrolyzou byl pak získán Marinamid (**LXX**).⁵⁸

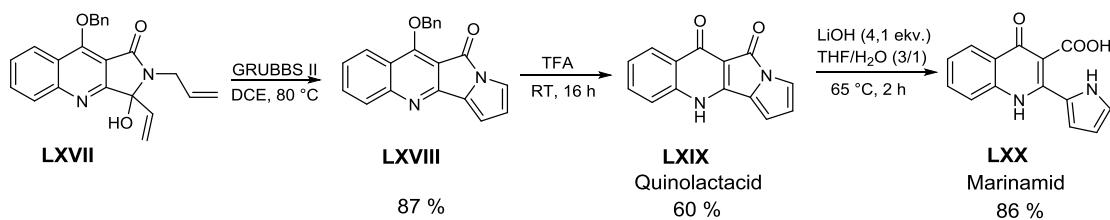


Schéma 29. Příprava Marinamidu (**LXX**).

Jednokroková syntéza, zahrnující reakci tří komponent: 3-(2-halogenfenyl)-3-oxopropanitrilu **LXXI**, (hetero)aromatických aldehydů **LXXII** a amoniaku, poskytla 2 substituované-3-kyanchinolin-4(1*H*)-ony **LXXIII** s výšežky až 87 % (Schéma 30). Výhodami reakce byly např. použití vody jako tzv. “zeleného” rozpouštědla a snadno dostupné výchozí látky. Z heterocyklických sloučenin byly připraveny deriváty obsahující furan a thiofen.⁵⁹

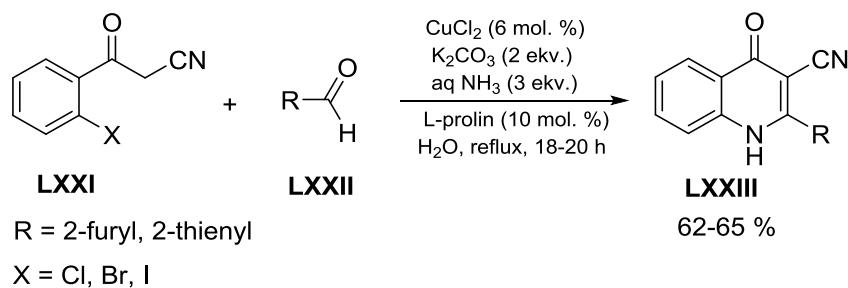


Schéma 30. Příprava sloučenin typu **LXXIII**.

Zlatem katalyzovanou cyklizací 1-(2'-azidoaryl)propynolů typu **LXXIV** byly připraveny chinolony typu **LXXV**. Autoři uvádějí, že při reakci nejprve docházelo k intramolekulárnímu nukleofilnímu ataku azidu na zlatem aktivovanou trojnou vazbu. Následná cyklizace vedla ke vzniku chinolonu, eliminaci dusíku, a vzniku α -iminokarbenu. Posledním krokem byla 1,2-migrace substituentu z polohy C4 do C3 se současnou eliminací zlata a aromatizací. Celkem bylo takto připraveno 26 sloučenin, z nichž jedna obsahovala thiofen v poloze C2 (Schéma 31).⁶⁰

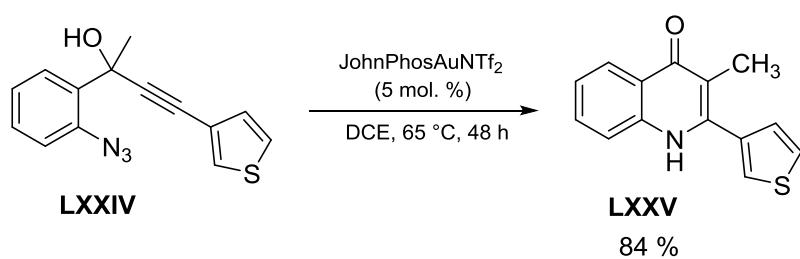


Schéma 31. Příprava sloučeniny **LXXV**.

Zajímavou metodou přípravy 2,3-disubstituovaných-4-oxochinolinů je reakce *N*-nitrosoanilínů **LXXVI** s cyklopropenony **LXXVII** (Schéma 32). Autoři uvádějí, že klíčové bylo nalezení vhodné stříbrné soli. Pokud byl použit AgSbF_6 docházelo k [3+2] cykloadici za vzniku indolů, zatímco při použití AgNTf_2 vznikaly [3+3] cykloadicí

chinolony. Kromě substituovaných aromátů se podařilo připravit 2-thienylový derivát **LXXVIII** s dobrým výtěžkem 56 %.⁶¹

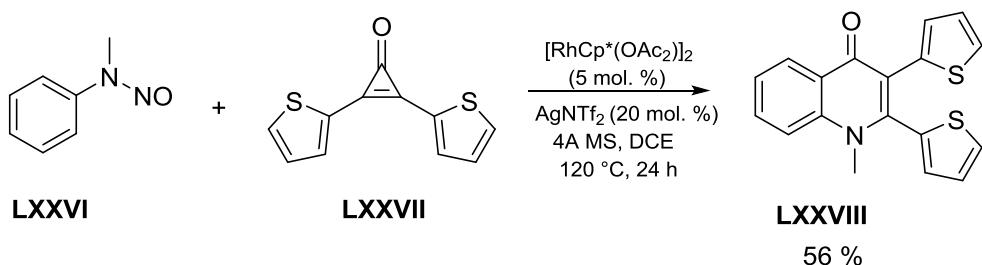


Schéma 32. Příprava sloučeniny **LXXVIII**.

3.1.6 Reakce využívající chalkony

Cykлизace chalkonů je další metodou přípravy 2-heteroaryl-3-hydroxy-chinolin-4(1*H*)-onů. Reakce mohou probíhat např. za katalýzy Lewisovými kyselinami nebo za přítomnosti oxidačních činidel.

Karbazoyl chinolon **LXXX** byl připraven cyklizací aminochalkonu **LXXIX** pomocí pěti různých reakčních podmínek (Schéma 33). Zatímco kysele katalyzované cyklizace (podmínky 2-4) poskytovaly výtěžky kolem 50 %, reakcí s Montmorillonitem K10 v mikrovlnném reaktoru došlo ke zvýšení výtěžku až na 75 % s minimální reakční dobou (2.5 minut). Navíc bylo zjištěno, že reakce probíhala i v přítomnosti KHSO₄ s průměrným výtěžkem 49 %.⁶²

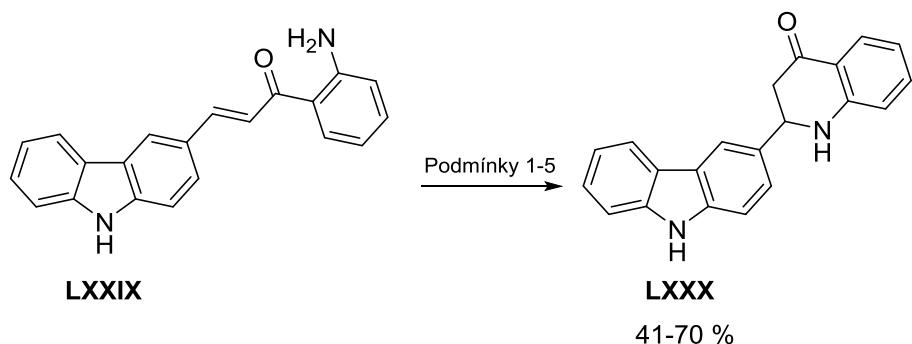


Schéma 33. Příprava sloučeniny **LXXX**. Reagenty a podmínky: (1) Montmorillonit K10 Clay, MW, 2,5 minut, 75 %; (2) InCl₃ (20 mol. %), 2 h, 49 %; (3) In(OTf)₃ (20 mol. %), 1,5 h, 55 %; (4) PPh₃·HClO₄ (20 mol. %), 1 h, 41 %; (5) KHSO₄ (30 mol. %), 1 h, 49 %.

Sloučenina **LXXXII** byla připravena z příslušného chalkonu **LXXXI** oxidací peroxydem v bazickém prostředí za vzniku oxiranového intermediátu **LXXXIa**, který byl izolován ve výtěžku 61 %. Následným varem v ethanolu docházelo k otevření epoxidu a cyklizaci za vzniku produktu s výtěžkem 47 %. Připravený chinolon **LXXXII** byl zkoumán jako potenciální duální fluorescenční sonda (Schéma 34).²²

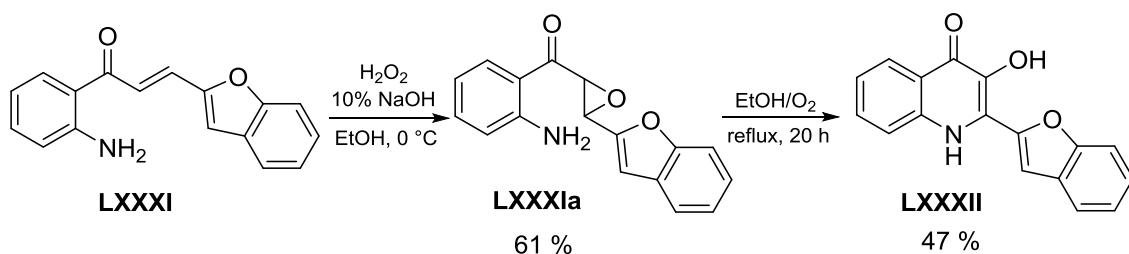


Schéma 34. Příprava sloučeniny **LXXXII**.

2-(Thiofen-2-yl)chinolin-4(1*H*)-on (**LXXXIV**) byl připraven cyklizací z nitrochalkonu **LXXXIII** s použitím zinku ve směsi s TiCl_4 (Schéma 35). Autoři uvádějí, že zinek sloužil k redukci Ti (IV) na Ti (0), který redukoval nitroskupinu na nitroso. Poté docházelo k ataku α,β -nenasyčeného ketonu nitrososkupinou za vzniku chinolinového kruhu a po okyselení a následné tautomerizaci vznikal příslušný 4-oxochinolin **LXXXIV**. Byly připraveny i další deriváty se substituovanými aromáty ve vysokých výtěžcích (70-89 %).⁶³

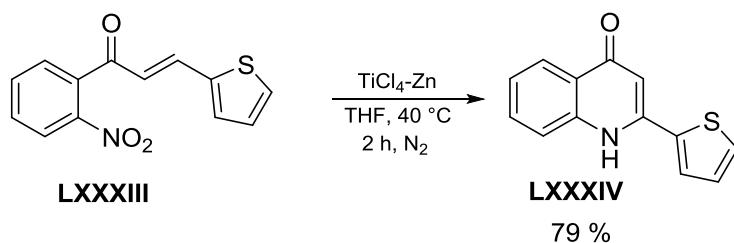


Schéma 35. Příprava sloučeniny **LXXXIV**.

3.1.7 Reakce s využitím výše vroucích rozpouštědel

Cykлизace jsou často prováděny za vysokých teplot ve vysoce vroucích rozpouštědlech, např. v difenyletheru ($258\text{ }^{\circ}\text{C}$) nebo také bez rozpouštědla přímo v tavenině. V literatuře byly nalezeny tři reakce, kdy termickou cykлизací vznikaly 2-heteroaryl-chinolin-4($1H$)-ony.

Termolýzou v tavenině 3-anilíno-furfurylidemalonátu (**LXXXV**) při $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl připraven 3-(ethoxykarbonyl)-2-(furan-3-yl)chinolin-4($1H$)-on (**LXXXVI**) s vysokým výtěžkem 85 % (Schéma 36).⁶⁴

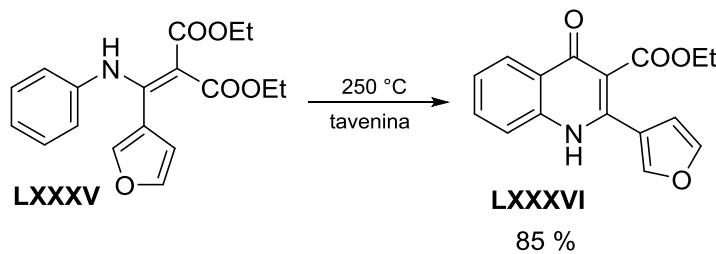


Schéma 36. Příprava sloučeniny **LXXXVI**.

Intermediát **LXXXVII**, který byl připraven z Meldrumovy kyseliny, byl cyklizován za varu v difenyletheru a poskytoval 2-morfolino-chinolin-4($1H$)-on (**LXXXVIII**) ve vysokém výtěžku (84 %). Tento derivát sloužil k dalším reakcím pro přípravu inhibitorů DNA-dependentních proteinkináz (Schéma 37).⁶⁵

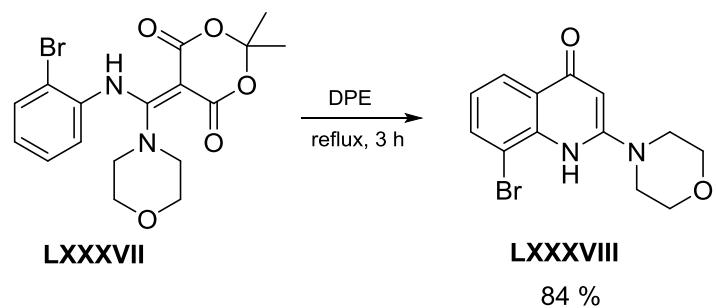


Schéma 37. Příprava sloučeniny **LXXXVIII**.

Cykлизace lze také provádět u (bis)methylthio derivátů **LXXXIX** v 1,2-dichlorbenzenu při $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Schéma 38). Vzniklý 3-acyl-2-methylsulfanyl-chinolin-4($1H$)-on byl oxidován peroxidem vodíku v kyselině octové na sulfoxid **XC**. Nukleofilní substitucí

sulfoxidové skupiny příslušnými aminy v difenyletheru při 180 °C vznikaly morfolinové nebo piperidinové deriváty **XCI**. Kromě těchto dvou sloučenin byla takto připravena série různě substituovaných derivátů v poloze C2 aromáty a v polohách C5-C8 halogenem nebo alifatickým řetězcem. Sloučeniny byly připraveny jako inhibitory MERS-CoV (Corona viru). Výtěžky autoři neuvádí.⁶⁶

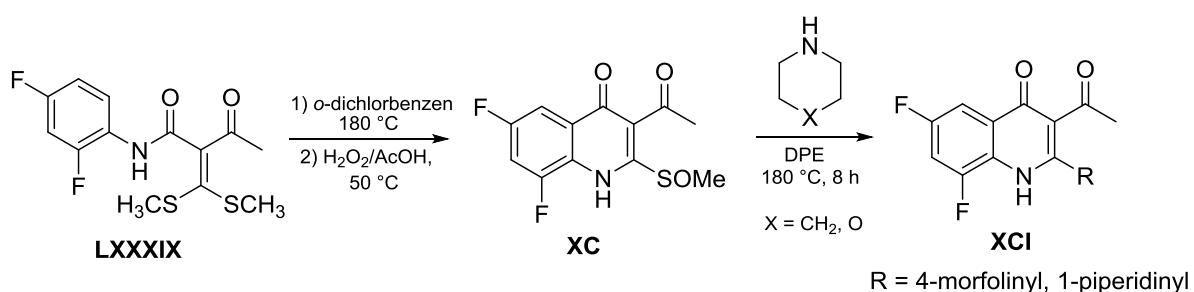


Schéma 38. Příprava sloučenin typu **XCI**.

3.1.8 Bazicky katalyzované cyklizace

Bazicky katalyzované cyklizace lze provádět z různých výchozích látek, jako jsou např. *isatoic* anhydrydy, *o*-aminoacetofenony nebo α -oxoketen-*S,N*-acetyly.

Reakcí *isatoic* anyhydridu **XCII** s imidazolinovým derivátem **XCIII** v bazickém prostředí hydridu sodného byly sice získány dva deriváty 2-oxo-3-imidazolyl-chinolinu **XCIV**, ale s velmi nízkými výtěžky (Schéma 39).⁶⁷

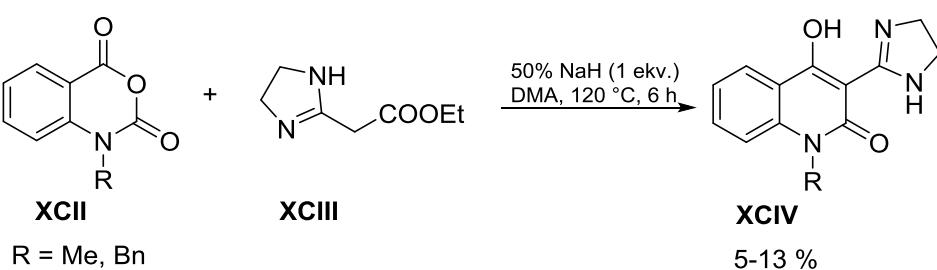


Schéma 39. Příprava sloučenin typu **XCIV**.

Intramolekulární Mannichova reakce mezi sekundárním aminem a ketonem u sloučeniny **XCV** probíhala s oxidačním činidlem (TEMPO) v bazickém prostředí (*t*-BuOK). Za těchto podmínek byla vytvořena nová vazba mezi dvěma sp³ uhlíky za

vzniku 2-(hetero)aryl-chinolin-4(1*H*)-onů **XCVI**. Pyridyl a thienyl deriváty byly připraveny s vysokými výtěžky 91 %, resp. 93 % (Schéma 40).⁶⁸

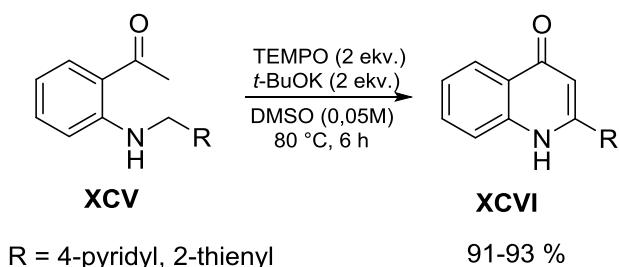


Schéma 40. Příprava sloučenin typu **XCVI**.

Intramolekulární aminací α -oxoketen-*S,N*-acetalů **XCVII** byla připravena série *N*-substituovaných 2-methylthio-chinolin-4(1*H*)-onů **XCVIII** (Schéma 41). Reakce probíhala v bazickém prostředí *t*-BuOK za varu v dioxanu, kdy byl takto připraven *N*-pyridyl derivát.⁶⁹

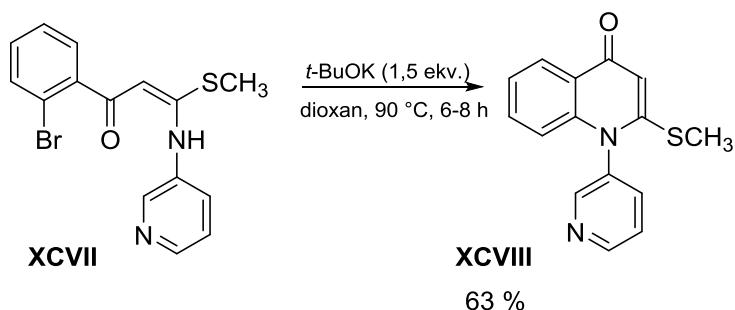


Schéma 41. Příprava sloučeniny **XCVIII**.

3.1.9 Další reakce

V literatuře byly nalezeny dvě zajímavé reakce. První z nich využívá termického přesmyku iminocyklobutenů **XCIX**, které byly syntetizovány konjugovanou adicí ketensilylacetalů na alkynyliminy. Připravené 2-(hetero)aryl-3-alkenyl-chinolin-4(1*H*)-ony **C** byly získány ve vysokých výtěžcích (Schéma 42).⁷⁰

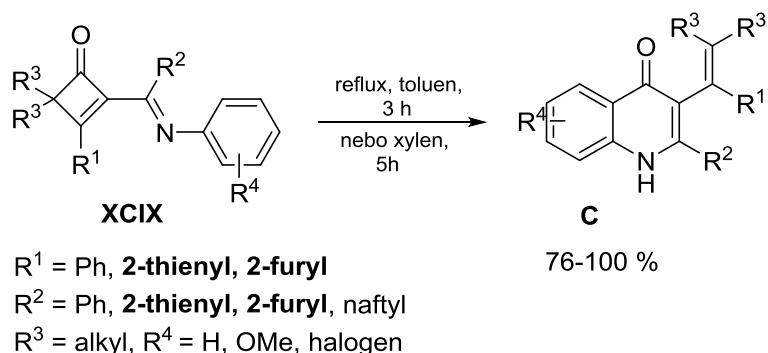


Schéma 42. Příprava sloučenin typu C.

Druhou z nich je syntéza 1,2,3-trisubstituovaných-chinolin-4(1H)-onů, která byla provedena reakcí arynu připraveného *in situ* a následnou kaskádou reakcí zahrnující inzerci/cykлизaci/”ene” reakci (Schéma 43). Inzercí aminu **CII** na aryn a cykлизací byl vytvořen „enon“ **CIII**, který reagoval s další molekulou arynu v tzv. “ene” reakci a vznikal C3-arylovaný produkt. Touto reakcí bylo připraveno 40 látek s výšežky až 92 %. Ve schématu je uvedena příprava C2-thiophenyl derivátu **CIV**.⁷¹

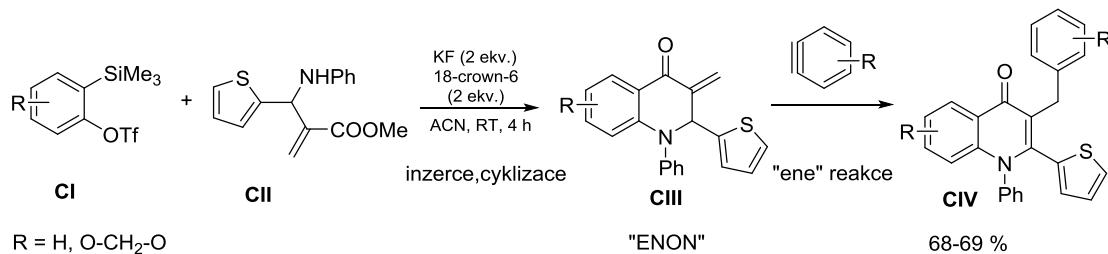


Schéma 43. Příprava sloučeniny CIV.

3.2 Příprava alkynylchinolinů a alkynylchinolonů

V literatuře bylo nalezeno pouze pět publikací zabývajících se přípravou alkynylchinolonů a sedm s přípravou alkynyl-chinolinů. Sloučenin tohoto typu není mnoho a většinou sloužily jako intermediáty pro další reakce. Látky byly připraveny např. cross-couplingovými reakcemi, z *isatoic* anhydridů, pomocí alkylace aj.

U chinolinů, resp. chinolonů substituovaných halogenem nebo trifluormethansulfonyl skupinou se nabízí reakce katalyzované palladiem. Takto byly připraveny C2, C3 a C4 alkynyl deriváty.

2-Alkynyl-3-substituované chinoliny **CVI** byly připraveny Castro-Stephensonovou reakcí (Schéma 44). Typickými výchozími látkami jsou arylbromidy, iodidy a trifláty, přičemž arylchloridy nejsou obvykle používány, kvůli nízké reaktivitě při oxidativní inzerci Pd(0) mezi vazbu C-Cl. Autoři nicméně uvádějí, že reakce probíhala dobře i s 2-chloro-C3-substituovaným chinolinem **CV**. Výtěžky reakcí byly závislé na substituentu v poloze C3, kdy vyšších výtěžku (88 % a 98 %) bylo dosaženo, jestliže byla v poloze C3 methylová skupina.⁷²

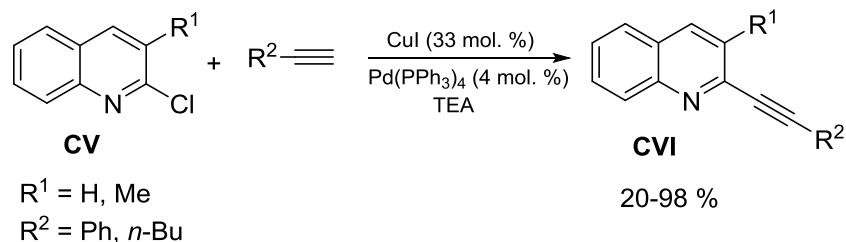


Schéma 44. Příprava sloučenin typu **CVI**.

2-Alkynyl-chinolin-3-karbaldehydy **CVIII** byly připraveny také z chloridu (**CVII**) ovšem tentokrát Sonogashira cross-couplingem (Schéma 45). Reakce probíhala dokonce bez přídavku kokatalyzátoru Cu(I), který se běžně používá pro zvýšení reaktivity alkynů. Autoři použili podmínky z literatury⁷³, které byly vhodné pro alifatické i aromatické alkyny.⁷⁴

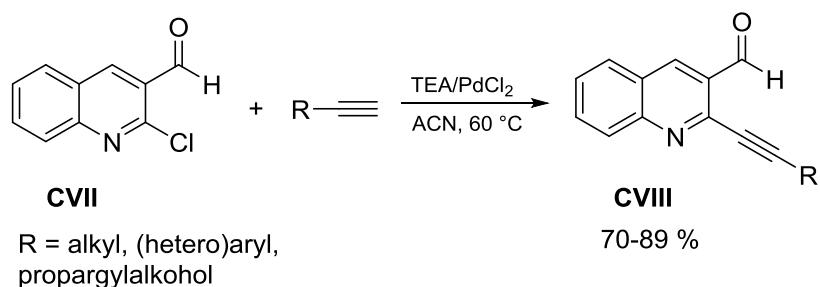


Schéma 45. Příprava sloučenin typu **CVIII**.

2-Oxo-3-nitro-4-alkynyl chinoliny **CXI** byly připraveny také za podmínek Sonogashira cross-couplingu avšak místo halogenu byl jako odstupující skupina zvolen triflát (Schéma 46). Intermediát **CX** byl připraven ve vysokém výtěžku 82 %, ale k reakcím docházelo pouze s alkyny se substitucí alkyl nebo TMS skupinou, naopak s aromatickými alkyny reakce neprobíhaly.⁷⁵

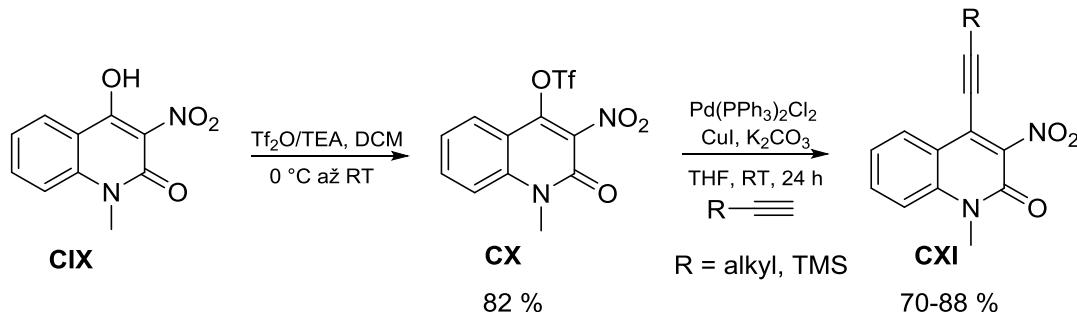


Schéma 46. Příprava sloučenin typu **CXI**.

3-Ethynyl chinolin **CXVII** byl připraven za podmínek Sonogashira cross-couplingu dvěma různými metodami (Schéma 47). V obou případech byl jako výchozí látka 3-bromochinolin (**CXII**), který reagoval buď s trimethylsilyl acetylenem⁷⁶ (**CXIII**) nebo dimethylethynylkarbinolem⁷⁷ (**CXV**). V obou případech vznikaly intermediáty ve vysokých výtěžcích 96 % (**CXIV**) resp. 99 % (**CXVI**). Produkt byl získán eliminací TMS skupiny resp. *t*-butanolu, kdy metoda vycházející z intermediátu **CXVI** poskytla téměř kvantitativní výtěžek 95 %.

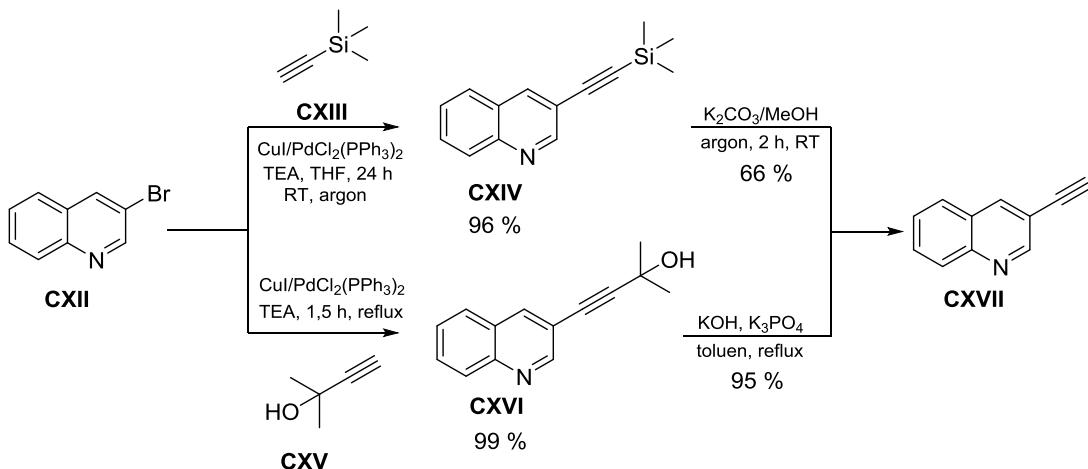


Schéma 47. Dvě metody přípravy sloučeniny CXVII.

Alkynylskupina byla zavedena do polohy C2 také reakcí s nesubstituovanými chinoliny, kdy byly pomocí dvou specifických reakcí připraveny 2-alkynyl-chinoliny.

Reakcí chinolinu **CXVIII** s chloromravenčanem ethylantým vznikala chinoliniová sůl. Následnou adicí alkynyl kuprátu, vytvořeného *in situ*, za přítomnosti chirálního katalyzátoru (S)-StackPhos, byly připraveny 2-ethynyl-(2*H*)-chinoliny **CXIX** s vysokou enantioselektivitou (90-98 % ee) (Schéma 48).⁷⁸

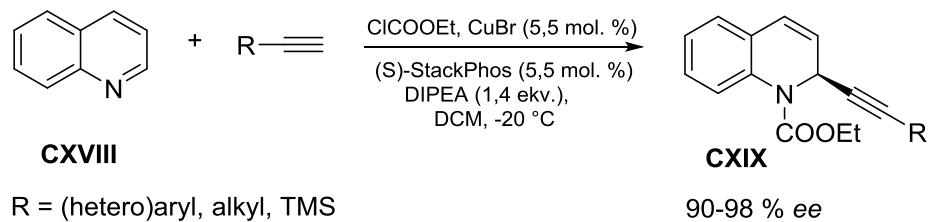


Schéma 48. Příprava sloučenin typu CXIX.

2-Ethynyl-chinoliny **CXXII** byly připraveny dehydrogenativním cross-couplingem z chinolin-N-oxidu **CXX** a příslušných alkynů **CXXI** za bazické katalýzy (Schéma 49). Celkem bylo připraveno 30 derivátů s výtěžky 50-92 %.⁷⁹

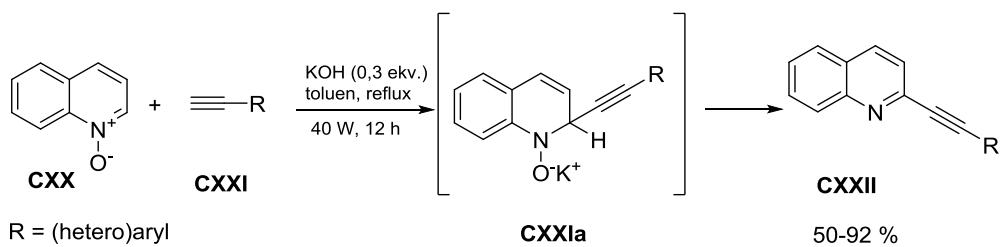


Schéma 49. Příprava derivátů typu CXXII.

Transformací *isatoic* anhydridů lze obecně připravit chinoliny, resp. chinolony, ale byly nalezeny i dva postupy přípravy, které poskytovaly přímo N1 nebo C2 alkynyl deriváty.

Série 2-alkynyl-chinolin-4(1*H*)-onů **CXXV**, sloužících jako potenciální antibakteriální látky, byla připravena reakcí z *N*-alkyl-*isatoic* anhydridů **CXXIII** s methyl-alkynyl ketony **CXXIV** v bazickém prostředí LDA (Schéma 50).⁸⁰

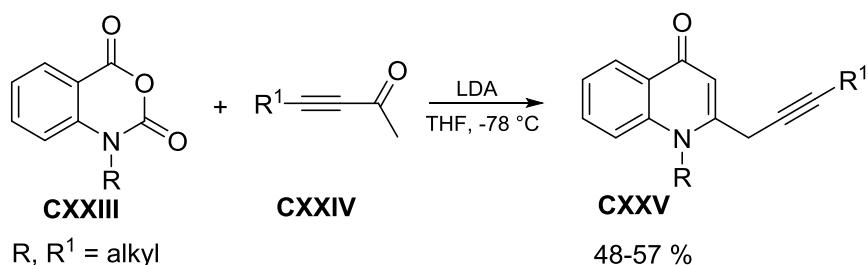


Schéma 50. Příprava sloučenin typu **CXXV**.

Wittigovou reakcí připraveného fosforanu **CXXVII** s alifatickými aldehydy **CXXVIII** vznikaly *trans*- α,β -nenasycené ketony, které *in situ* reagovaly s *N*-propargyl *isatoic* anhydridem **CXXVI** známým přesmykem za vzniku chinolonů **CXXIX** (Schéma 51).⁸¹

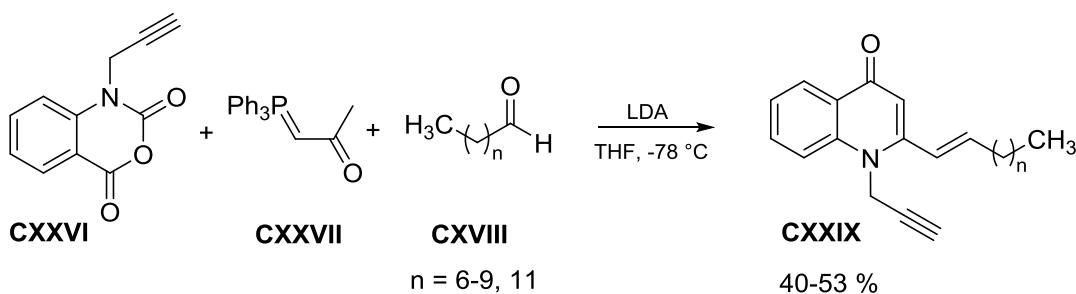


Schéma 51. Příprava sloučenin typu **CXXIX**.

Přímá alkynylace chinolin-4(1*H*)-onů byla nalezena ve dvou publikacích. V prvním případě se jednalo o syntézu *N*-propargyl derivátů, které byly připraveny alkylací dusíku příslušného chinolonu typu **CXXX** propargyl bromidem v bazickém prostředí s K₂CO₃ v DMSO s výtěžky až 90 % (Schéma 52).⁸²

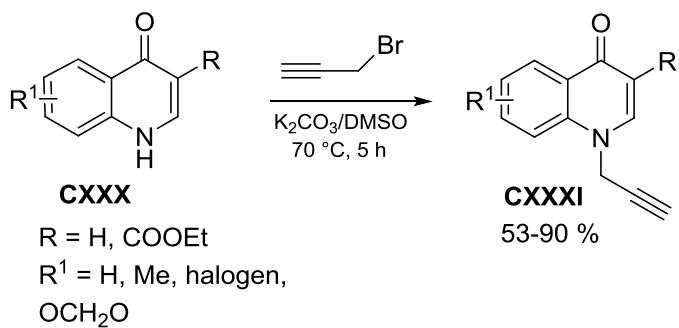


Schéma 52. Příprava propargyl derivátů typu **CXXXI**.

Druhou reakcí je selektivní alkynylace do polohy C2 a C5 chinolin-4(1*H*)-onů **CXXXII** (Schéma 53). Syntéza využívá speciálního alkynylačního činidla TIPS-EBX. V závislosti na typu použitého katalyzátoru pak probíhala reakce selektivně buď do polohy C2 (s Rh(III) katalyzátorem), nebo C5 (s Ru(II) katalyzátorem).⁸³

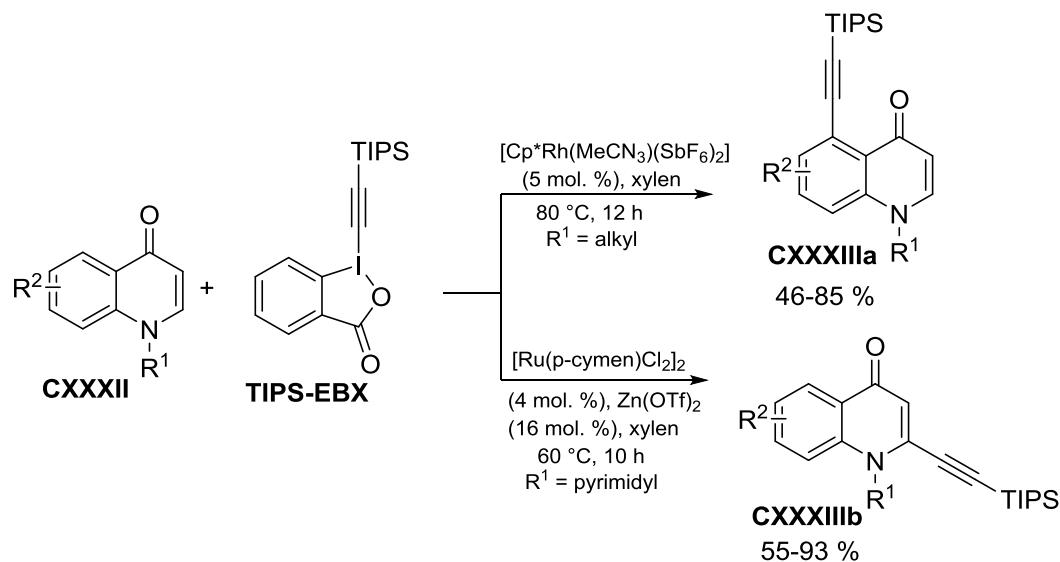


Schéma 53. Příprava sloučenin typu **CXXXIII**.

Metoda intramolekulární cyklizace byla využita při přípravě 2-alkynyl-4-trifluormethylchinolinů **CXXXVII** (Schéma 54). Reakcí substituovaných *o*-aminoacetofenonů **CXXXIV** a alkynonů **CXXXV** s fosfinovým katalyzátorem (dppb) byly připraveny intermediáty **CXXXVI**, které samovolně cyklizovaly za vzniku produktů **CXXXVII** s výtěžky 33-78 %.⁸⁴

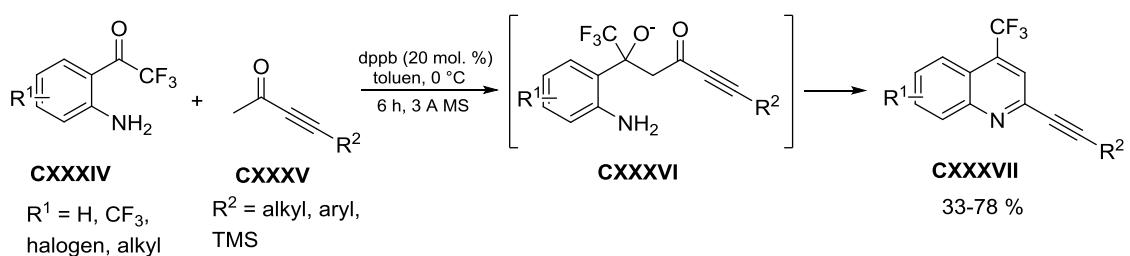


Schéma 54. Příprava sloučenin typu **CXXXVII**.

4 Výsledky a diskuze

V této kapitole je uvedena syntéza klíčových intermediátů 2-karbaldehyd a 2-alkynyl chinolinů. Ty následně slouží jako výchozí látky k přípravě 2-(hetero)aryl-chinolonů, které jsou syntetizovány různými metodami s využitím např. „click“ reakcí, Sonogashira cross-couplingu aj.

4.1 Syntéza klíčových intermediátů

Pro přípravu 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4-(1*H*)-onů byly zvoleny různé syntetické přístupy. V závislosti na typu substituentu v poloze C2, byly využity cyklizační nebo cross-couplingové reakce. Nejprve byl připraven 2-methyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on **3** dle známého postupu.⁹ Následující krok, protekce kyslíkových atomů, byl proveden jednak kvůli zvýšení rozpustnosti výchozích chinolinů, a také aby bylo zabráněno nežádoucím vedlejším reakcím při dalších transformacích. Methylenová protektivní skupina byla zvolena především díky své stabilitě vůči oxidačním činidlům a bazickému prostředí. Takto připravený intermediát **4** byl podroben oxidaci za vzniku aldehydu **5**, který byl poté převeden na derivát **6** s terminální trojnou vazbou (Schéma 55). Poslední reakce, tzv. Seyfert-Gilbertova homologace, je obecně používána při transformaci aldehydů nebo arylketonů na alkyny a probíhá s dimethyl(diazomethyl)fosfonátem v bazickém prostředí (nejč. *t*-BuOK) za nízkých teplot (-78 °C) v THF.⁸⁵ V našem případě byla zvolena tzv. Bestmann-Ohira modifikace,⁸⁶ kdy se používá 1-diazo-2-oxopropylfosfonát (Bestmann-Ohira činidlo). S tímto činidlem lze pak reakci provádět za mírnějších podmínek (laboratorní teplota) s K₂CO₃ v metanolu. Intermediáty **4**, **5** a **6** byly připraveny dle postupu vyvinutého v naší skupině¹⁷ (viz Příloha A) a sloužily jako výchozí látky v dalších reakcích.

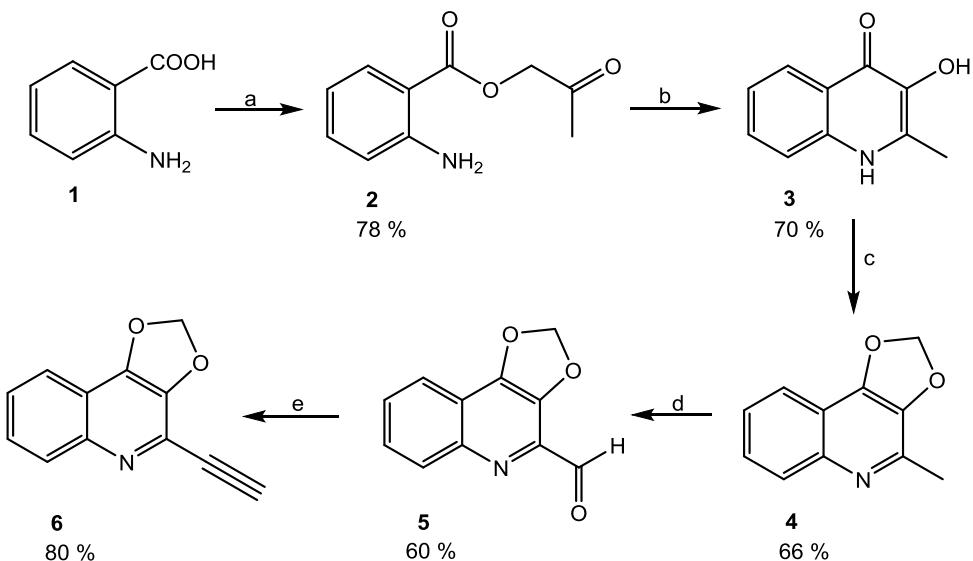


Schéma 55. Syntéza klíčových intermediátů **4**, **5** a **6**. Reagenty a podmínky: (a) chloraceton, TEA, DMF, RT, 4 h, (b) NMP, reflux, 45 minut, (c) CH_2Br_2 , K_2CO_3 , DMF, reflux, 45 minut, (d) SeO_2 , THF, reflux, 45 minut, (e) Bestmann-Ohira činidlo, K_2CO_3 , MeOH , RT, 1 h.

Během experimentální práce bylo zjištěno, že v některých případech byla methylenová chránící skupina nevhodná, jelikož při deprotekci, která se provádí v kyselém prostředí, docházelo k nežádoucím vedlejším reakcím (viz dále). Proto bylo nutné zvolit jinou chránící skupinu, kterou by bylo možné odstranit jinak, než v kyselém prostředí. Benzyl skupinu, s obdobnou stabilitou v oxidačním či bazickém prostředí, lze dobře odstranit katalytickou hydrogenolýzou nebo za aprotických podmínek Lewisovou kyselinou. Benzylace chinolonu **3** poskytla intermediát **7**, který byl následně oxidován na aldehyd **8** a poté převeden na alkyn **9** obdobným způsobem jako u aldehydu **5** Sayfert-Gilbertovou homologací. Nově vyvinutá metodika pro přípravu derivátů **7-9** byla publikována⁸⁷ (viz Příloha B), přičemž největší optimalizace byly nutné při benzylaci chinolonu **3**.

Reakce byla provedena v DMF se 3 ekv. benzylbromidu a 4 ekv. K_2CO_3 při teplotě refluxu. Po ukončení reakce (TLC hexan/EtOAc 7/3) a izolaci z cyklohexanu byla získána směs produktu **7** (70 %) společně s nečistotami a monobenzyl derivátem (13 %), který se krystalizací nepodařilo oddělit. Při optimalizaci reakčních podmínek byla změněna báze na 60% NaH , což vedlo pouze ke směsi látek. Jako další báze byl použit Cs_2CO_3 (2 ekv.) se 4 ekv. benzylbromidu. Po izolaci sloupcovou chromatografií bylo zjištěno, že vzniká 87 % produktu **7**, 2 % produktu **7A** a 10 % monobenzyl

derivátu. Optimalizací první metody použitím 4 ekv. benzylbromidu a 5 ekv. K_2CO_3 bylo dosaženo nejlepšího výsledku, kdy bylo získáno po izolaci sloupcovou chromatografií 87 % derivátu **7** a 10 % vedlejšího produktu **7A** (Schéma 56). Struktura obou látek byla ověřena pomocí NMR experimentů včetně N-H HMBC. U derivátu **7A** byla jasná interakce CH_2 -skupiny pocházející z benzylu s pyridinovým dusíkem, zatímco u derivátu **7** tato interakce chyběla (viz kapitola 4.6). Navíc byla tato reakce provedena i v gramovém měřítku (20 g), potom byly výtěžky látky **7** kolem 80 %.

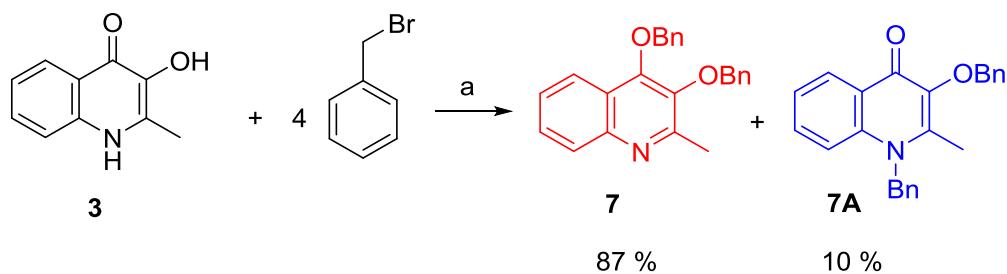


Schéma 56. Příprava intermediátu **7**. Reagenty a podmínky: (a) K_2CO_3 , DMF, 90 min, reflux.

Oxidace methyl skupiny oxidem seleničitým (1,5 ekv.) v suchém THF za varu poskytla po 30 min aldehyd **8**. Produkt však nešlo přečistit přes bisulfitovou sůl, jako tomu bylo v případě aldehydu **5**. Látka byla nejprve předčištěna pomocí flash chromatografie a odpadek byl krystalován s aktivním uhlím z cyklohexanu. Takto připravený aldehyd byl podroben Sayfert-Gilbertově homologaci. Po reakci byl izolován produkt **9** ve výtěžku 50 % (Schéma 57).

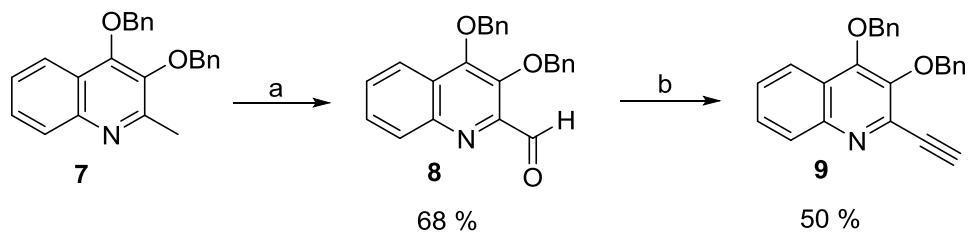


Schéma 57. Příprava intermediátu **9**. Reagenty a podmínky: (a) SeO_2 (1,5 ekv.), THF, 30 min, reflux; (b) Bestmann-Ohira činidlo (1,2 ekv.), K_2CO_3 , MeOH, 1 h, RT.

Připravené aldehydy **5** a **8** stejně jako alkyny **6** a **9** sloužily jako klíčové intermediáty pro další syntézy.

4.2 Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí 1,3-dipolární cykloadice

1,3-Dipolární cykloadice je obecně založena na reakci mezi dvěma komponentami – 1,3-dipolem a dipolarofilem za vzniku pěti členného kruhu. Typickými zástupci dipolarofilních sloučenin jsou alkeny a alkyny ale mohou to být i molekuly obsahující ve struktuře heteroatom např. karbonyly nebo iminy. Molekuly mající 1,3-dipól se dělí dle geometrie na allylového typu (nelineární) a propargyl-allenylového typu (lineární).

Pro přípravu heterocyklů v poloze C2 chinolonového jádra byly použity lineární 1,3-dipoly (azidy, ethyldiazoacetát, diazomethan, benzonitril oxid), se kterými byly takto připraveny 3 typy heterocyklů – triazol, pyrazol a isoxazol. Reakce alkynu **6** nebo **9** s diazosloučeninami probíhala podle podmínek Huisgenovy cykloadice (termicky) bez katalýzy kovy. V případě triazolů a isoxazolu byla provedena tzv. „click“ reakce katalyzovaná Cu(I).

4.2.1 Příprava chinolonů s 1,2,3-triazolovým kruhem v poloze C2

Azidy patří mezi nejčastěji používané 1,3-dipoly a jejich reakcí s alkyny vznikají různě substituované deriváty 1,2,3-triazolů. Cyklizaci lze provádět termicky za vzniku dvou regioisomerů 1,4- a 1,5-disubstituovaných triazolů nebo katalyzovanou kovy (Cu^+ nebo Ru^+), která probíhá regioselektivně a v závislosti na použitém kovu vzniká příslušný izomer.

C2-Triazolyl-chinolinový derivát byl připraven reakcí s benzylazidem, který je snadno dostupný a byl připraven nukleofilní substitucí benzylbromidu s azidem sodným.⁸⁸ Podmínky cyklizace byly voleny dle obdobných reakcí z literatury např. $t\text{-BuOK/DMSO}$,⁸⁹ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}/\text{askorban}$ sodný/DMF/ H_2O ⁹⁰ a $\text{CuI}/\text{MeOH/THF}$.⁹¹ V prvním případě k reakci nedocházelo, katalýza s $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a askorbanem sodným poskytla produkt ale pouze v nízkém výtěžku 37 %. Nejlepších výsledků bylo dosaženo „click“ reakcí za katalýzy s CuI (5 mol. %) s výtěžkem 78 % (Schéma 58).

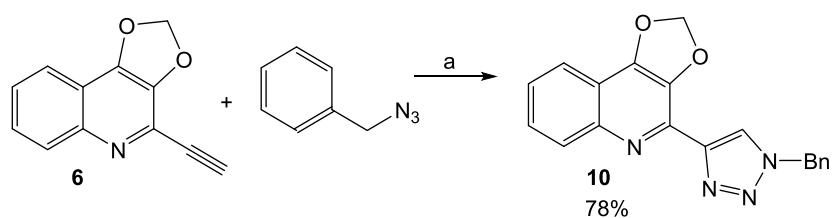


Schéma 58. Příprava látky **10**. Reagenty a podmínky: (a) benzylazid (1,2 ekv.), CuI (5 mol. %), THF/MeOH (1/1), 3 dny, RT.

Nesubstituované 1,2,3-triazoly se připravují poměrně obtížně. Přímým zahříváním alkynu **6** s azidem sodným v DMSO (110 °C)⁹² vznikala směs regioisomerů v poměru 1 : 1 (LC-MS) spolu s vedlejšími produkty. Reakcí azidu sodného za katalýzy CuI vznikala směs látek, kde byl produkt v minoritním množství spolu s výchozí látkou. V literatuře⁹³ byla popsána příprava aromatických 1,2,3-triazolů s využitím trimethylsilyl azidu za katalýzy CuBr s TEA v DMF. Reakcí alkynu **6** za těchto podmínek však vznikala pouze směs látek a triazol **10a** nebyl detekován (Schéma 59).

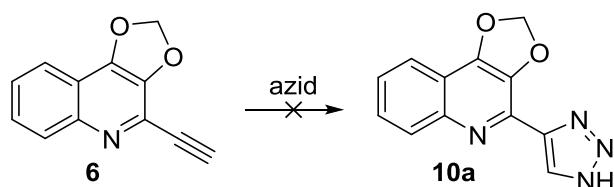


Schéma 59. Příprava látky **10a**.

K přípravě nesubstituovaného triazolu **10a** se nabízela *N*-debenzylace derivátu **10**. Reakce je většinou prováděna vodíkem za katalýzy palladiem. Při použití 5% Pd/C (10 hm. %) v metanolu za atmosférického tlaku nedocházelo k žádné reakci ani po třech dnech. Reakce byla provedena i s Pearlmanovým katalyzátorem (20% Pd(OH)₂/C, 1 ekv.) v metanolu při 65 °C a tlaku 40 Bar, ale opět byla izolována výchozí látka. Stejná reakce byla opakována s přídavkem HCl, avšak k deprotekci opět nedocházelo. Byl vyzkoušen také postup z literatury,⁹⁴ kdy reakce probíhá za přítomnosti vzdušného kyslíku v DMSO/THF s přídavkem báze *t*-BuOK (7 ekv.) při laboratorní teplotě. Po 30 min byla konverze na debenzylovaný triazol 40 % (dle LC-MS), zbytek byla směs látek. Izolace produktu pomocí sloupcové chromatografie nebyla úspěšná.

Bohužel se nepodařilo najít vhodné podmínky pro *N*-debenzylaci a nesubstituovaný triazolový derivát **10a** v čisté podobě nebyl připraven.

Deprotekce methylenové skupiny u sloučeniny **10** byla provedena za varu ve směsi kyselina/voda. Byla optimalizována použitá kyselina a její koncentrace (Tabulka 1). Reakce s kyselinou chlorovodíkovou poskytovala žádnou (reakce 1) nebo nízkou (reakce 2) konverzi výchozí látky na produkt. V roztoku kyseliny bromovodíkové v kyselině octové rovněž nedocházelo k žádné reakci (reakce 3). Mírná konverze výchozí látky na produkt byla detekována ve zředěné 48% HBr/H₂O (2/3, v/v), kdy po 24 h došlo ke vzniku 21 % produktu (reakce 4). Úplného odreagování výchozí látky

bylo dosaženo při poměru 48% HBr/H₂O 1/3 (v/v) po 42 h refluxu (Schéma 60). Čistý chinolon **11** byl získán krystalizací z EtOAc s výtěžkem 67 %.

Tabulka 1. Optimalizace podmínek deprotekce.

Reakce	Kyselina	Poměr kyselina/voda (v/v)	Čas (h)	Výsledek ^a (%)
1	37% HCl	1/4	6	0
2	37% HCl	2/1	5	17
3	33% HBr/AcOH	0	2	0
4	48% HBr	2/3	24	21
5	48% HBr	1/3	42	100

*a Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

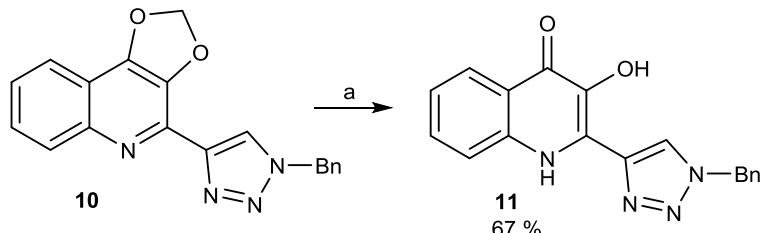
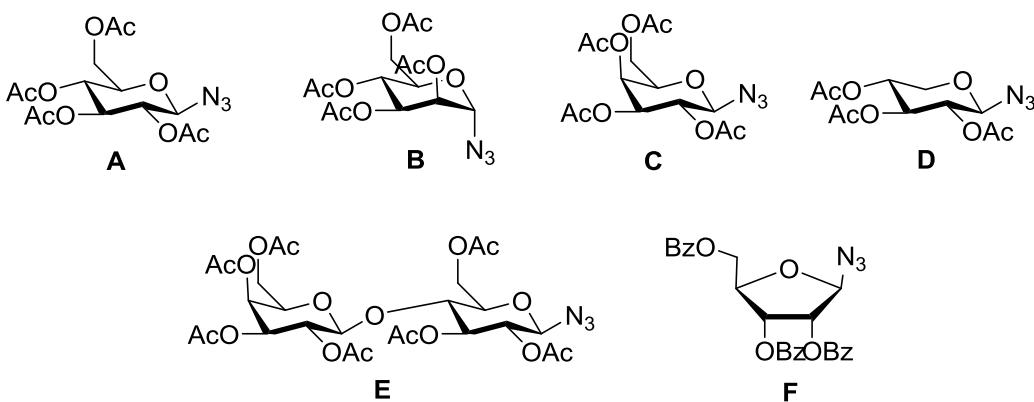


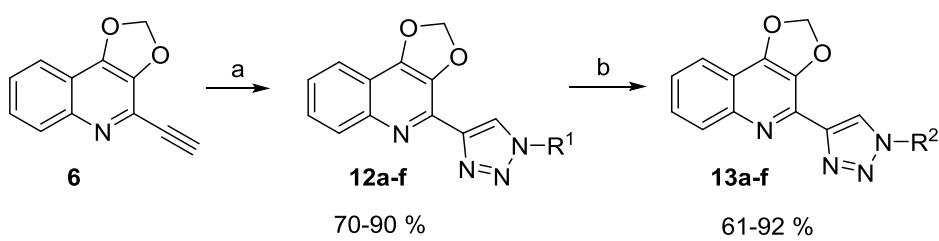
Schéma 60. Demethylenace látky **10**. Reagenty a podmínky: (a) 48% HBr/H₂O (1/3), reflux, 42 h.

Kromě *N*-benzyltriazolu **10** byla připravena série triazolů obsahující různé sacharidy. Celkem 6 různých azido-sacharidů poskytla Slovenská Akadémia Vied v Bratislavě (Obrázek 2), kdy se podařilo vyvinout metodiku pro přípravu glykokonjugátů s chinolinami, resp. chinolony. Hlavním cílem tohoto projektu byla příprava glykosyltriazolo-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onových konjugátů, které by potenciálně mohly působit jako antibakteriální látky.



Obrázek 2. Struktura azido-sacharidů **A-F**.

„Click“ reakce byla provedena s alkynem **6** a azidy **A-F** dle podmínek z literatury⁹⁰ za katalýzy CuSO₄.5H₂O/askorban sodný ve směsi rozpouštědel DMF/H₂O, při laboratorní teplotě 3-16 h, dle použitého azidu. Výtěžky se pohybovaly od 70 % do 90 %, přičemž nejnižší výtěžek poskytovala reakce s β -azido-laktózou **E** (70 %), naopak nejvyšší výtěžek byl při reakci s α -azido-mannopyranózou **B** (90 %). Deprotekce acetyl, resp. benzoyl skupin na sacharidové části byla nejprve provedena v metanolu s K₂CO₃ při laboratorní teplotě 16 h. Při purifikaci sloučenin docházelo k velkým ztrátám, především vlivem stejné rozpustnosti produktu a vznikající soli acetátu, resp. benzoátu draselného, kdy se látky nepodařilo izolovat čisté krystalizací ani chromatograficky a výtěžky tak nepřesahovaly 40 %. Debenzoylace látky **12f** byla optimalizována reakcí s 1M MeONa v metanolu po dobu 1 h, kdy bylo dosaženo lepší separace vzniklého ribofuranosyl derivátu (**13f**) od benzoátu sodného a výtěžek byl zvýšen z 38 % na 61 %. Stejná metoda byla použita pro deacetylace látek **12a-e**, ale ke zlepšení separace a zvýšení výtěžku nedocházelo. Deprotekce acetyl skupin byla nakonec provedena s diethylaminem (DEA) v metanolu. Po odpaření rozpouštědla byl produkt vysrážen diethyletherem a vznikající diethylacetamid zůstal v roztoku. Touto metodou bylo možné připravit zbylých 5 sacharido-triazolů rychle (2 h), bez čištění sloupcovou chromatografií, s téměř kvantitativními výtěžky (82-92 %) (Schéma 61).



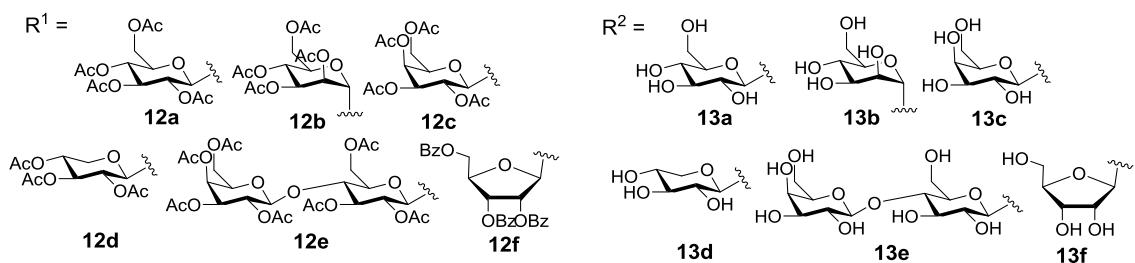


Schéma 61. Příprava triazolo-sacharidů **12a-f** a **13a-f**. Reagenty a podmínky: (a) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, askorban sodný, $\text{DMF}/\text{H}_2\text{O}$ (3/1), 3-16 h, RT; (b) DEA, MeOH , 2 h, RT (látky **13a-e**) nebo MeONa , MeOH , 1 h, RT (látku **13f**).

Problémy nastaly při posledním kroku syntézy, kdy se nepodařil odstranit methylenový můstek. Demethylenace byla provedena na modelové sloučenině **13a** s různými kyselinami (HBr , HCl , MSA), ale vždy byl detekován produkt deglykosylace (Schéma 62). Reakce neprobíhala ani s $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ při laboratorní teplotě v ethylacetátu, kdy byla po 48 h v reakční směsi detekována pouze výchozí látka. Po zahřátí reakční směsi docházelo ke vzniku směsi produktů, kde byl identifikován i produkt deglykosylace.

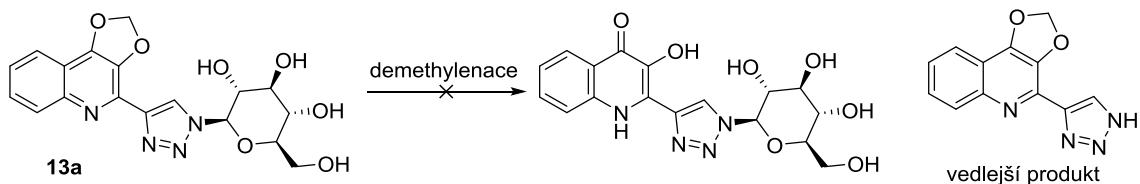


Schéma 62. Demethylenace modelové sloučeniny **13a**.

Jelikož se nepodařilo odstranit methylenový můstek, byly připraveny intermediáty s benzylovou protektivní skupinou, která může být snadno odstraněna hydrogenolyticky bez vzniku vedlejších produktů. Dibenzylovaný alkyn **9** byl připraven dle vyvinutého postupu (viz Schéma 57). „Click“ reakce s azidy **A-F** a alkynem **9** probíhala za stejných podmínek jako s alkynem **6** s vysokými výtěžky 69-84 %. Hydrolýza acetylových skupin připravených derivátů **14a-e** byla provedena optimalizovanou metodou s DEA/MeOH s téměř kvantitativními výtěžky (82-94 %) nebo v případě derivátu **14f** postupem s 1M MeONa/MeOH (83 %) (Schéma 63).

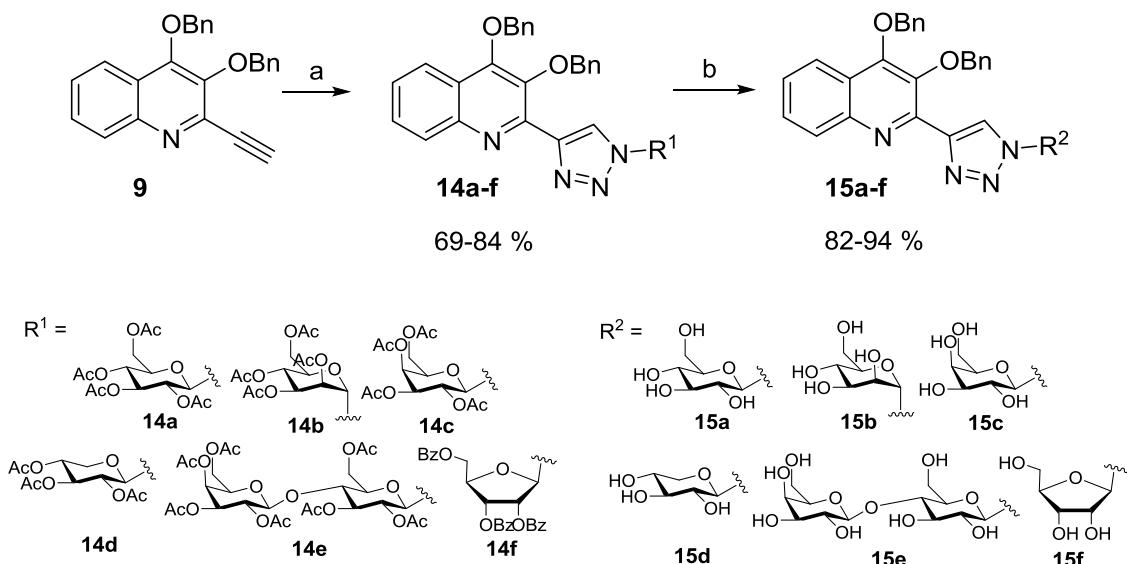


Schéma 63. Příprava triazolo-sacharidů **14a-f** a **15a-f**. Reagenty a podmínky: (a) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, askorban sodný, $\text{DMF}/\text{H}_2\text{O}$ (3/1), 3-16 h, RT; (b) DEA, MeOH , 2 h, RT (látky **15a-e**) nebo MeONa , MeOH , 1 h, RT (látku **15f**).

Optimalizace podmínek debenzylace byla provedena u β -D-glukosyl derivátu **14a**, kdy reakce probíhala v 2-methoxyethanolu při laboratorní teplotě s 5% Pd/C (20 hm. %) za atmosférického tlaku vodíku po dobu 24 h. Při teplotě 45 °C byla konverze na produkt **16a** již po 4 h a při 100 °C po 2-3 h. Deprotekce probíhala hladce u všech šesti derivátů a dle LC-MS vznikaly pouze žádané deriváty 3-hydroxychinolin-4(1H)-onů bez vedlejších látok. Nejdůležitějším krokem bylo zpracování reakční směsi a izolace produktu, jelikož po ochlazení na laboratorní teplotu docházelo k částečnému vysrážení produktu z roztoku. Zůstával tak adsorbován na katalyzátoru, a proto docházelo ke dramatickému poklesu ve výtěžcích, i přes důkladné promývaní DMF. Reakční směs byla proto filtrována za horka přes skelný filtr a odpařením rozpouštědla byl získán čistý produkt. U derivátů obsahujících mannopyranosu (**16b**), galaktopyranosu (**16c**) a xylopyranosu (**16d**) bylo nutné naředit reakční směs DMF pro úplné rozpouštění, za horka odfiltrovat a odpařit. Výtěžky byly téměř kvantitativní a ztráty byly pouze během izolace produktů (Schéma 64). Příprava těchto látok, spolu s výsledky měření biologické aktivity, byla publikována⁸⁷ (viz Příloha B).

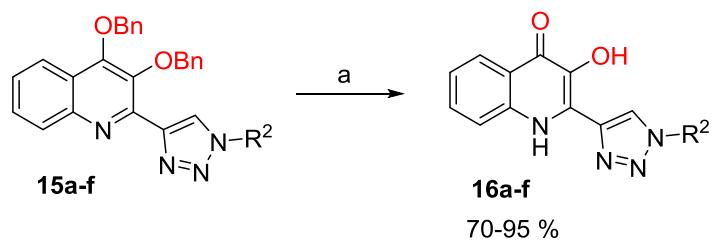


Schéma 64. Debenzylace sloučenin **15a-f**. Reagenty a podmínky: 5% Pd/C (20 hm. %), H₂, atm.tlak, 2-methoxyethanol, 2-3 h, 100 °C.

4.2.2 Příprava chinolonu s isoxazolovým kruhem v poloze C2

Příprava isoxazolů je nejčastěji založena na cykloadičních reakcích. Termální cyklizací alkynu s příslušným nitril oxidem dochází ke vzniku směsi 3,5 a 3,4-regioisomerů. Použitím katalytického množství Cu⁺ iontů, které vytváří komplex mezi alkynem a nitril oxidem, vzniká pouze 3,5-izomer.

Příslušný 1,3-dipól, benzonitril oxid, byl připraven dle literatury.⁹⁵ Benzaldehyd reagoval s hydroxylaminem za vzniku oximu **17**, který byl předložen surový ke chloraci s NCS za vzniku imidoyl chloridu **18**. Benzonitril oxid byl generován *in situ* přidáním báze (KHCO₃) a reakcí s alkynem **6** za katalýzy Cu⁺ ionty vznikl 3,5-disubstituovaný isoxazol (**19**). Reakční podmínky byly převzaty z literatury.⁹⁵ Výtěžek reakce byl velmi nízký (pouze 36 %), což bylo pravděpodobně způsobeno manipulačními ztrátami, jelikož byla reakce provedena pouze v desítkách miligramů (Schéma 65).

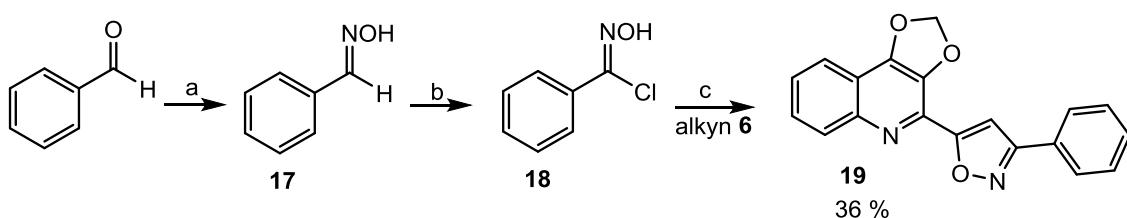


Schéma 65. Příprava sloučeniny **19**. Reagenty a podmínky: (a) NH₂OH.HCl, EtOH/H₂O, 50% NaOH, 1 h, RT; (b) NCS, DMF, 1 h, RT; (c) alkyn **6**, CuSO₄.5H₂O, askorban sodný, KHCO₃, *t*-BuOH/H₂O, 16 h, RT.

Posledním krokem byla demethylenace, která probíhala za varu ve zředěné kyselině bromovodíkové (HBr/H₂O, 1/3) dle optimalizovaného postupu pro benzyl-triazol (**10**). Výtěžnost reakce (53 %) byla snížena pravděpodobně vlivem krystalizace z metanolu (Schéma 66).

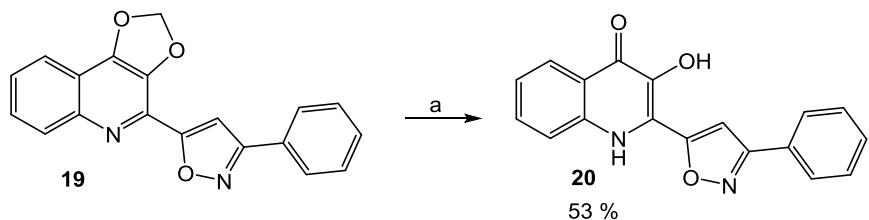


Schéma 66. Demethylenace sloučeniny **19**. Reagenty a podmínky: (a) 48% HBr/H₂O (1/3), reflux, 42 h.

4.2.3 Příprava chinolonů s pyrazolovým kruhem v poloze C2

Pyrazolový cyklus je nejčastěji připravován 1,3-dipolární cykloadicí alkynů s diazosloučeninami. Cyklizace probíhající termicky vyžadují dlouhé reakční doby, v některých případech i několik dní, ale většinou probíhají regioselektivně za vzniku 3,5-izomeru.⁹⁶ Katalýza kovy Cu(I)⁹⁷ nebo Lewisovými kyselinami ($Zn(OTf)_2$ ⁹⁸, $InCl_3$ ⁹⁹) se používá především kvůli zkrácení reakční doby, kdy reakce probíhají v řádu několika hodin. V některých případech dochází v závislosti na výchozích komponentách ke vzniku regiosomerů 3,5- a 3,4- a jejich poměr lze korigovat také přídavkem katalyzátoru.¹⁰⁰

Cykлизace byla provedena s alkynem **6** a nejjednodušší diazosloučeninou – diazomethanem. Ten byl připravován vždy těsně před reakcí z *N*-nitroso-*N*-methylmočoviny.¹⁰¹ Reakce probíhala v DCM nejprve za chlazení na 0–5 °C přidáním 2 ekv. diazomethanu. Po 3 dnech reakce při laboratorní teplotě vzniklo pouze 13 % produktu (dle LC-MS). Dalším přídavkem diazomethanu (12 ekv.) došlo po dvou dnech k 40% konverzi na produkt, přičemž byly na LC-MS detekovány 2 signály se stejnou molekulovou hmotností, pravděpodobně se jednalo o izomery (Schéma 67).

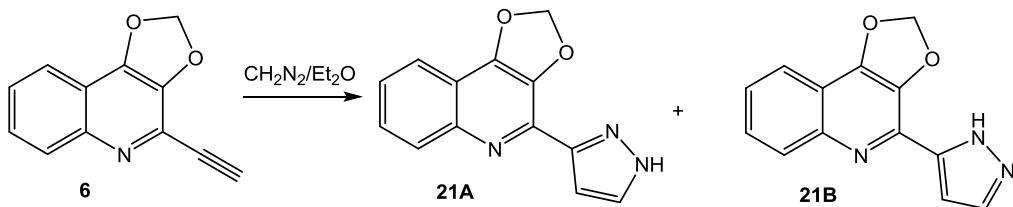


Schéma 67. Reakce alkynu **6** s diazomethanem.

Vzniklé pyrazolové deriváty **21A** a **21B** se nepodařilo chromatograficky rozdělit vlivem stejných fyzikálně chemických vlastností látek. Diazomethan byl proto nahrazen ethyldiazoacetátem, který je stabilnější, má vyšší teplotu varu a lépe se s ním manipuluje.

Při optimalizaci podmínek cyklizace bylo zjištěno, že konverze na produkt **22** závisí na množství diazosloučeniny a teplotě reakce. Nejprve bylo použito 1,5 ekv. čerstvě připraveného ethyldiazoacetátu¹⁰² a reakce probíhala v tlakové ampuli za varu v THF. Po 4 dnech došlo k úplnému odreagování výchozí látky a výtěžek byl po izolaci 59 %. Reakční doba byla dlouhá, a proto bylo zvoleno rozpouštědlo s vyšší teplotou varu 2-MeTHF. Dále bylo nutné použít větší přebytek diazosloučeniny (3 ekv.), která byla přidávána postupně v několika dávkách až do vymizení výchozího alkynu **6**. Doba reakce byla snížena na 3 dny a výtěžek byl vyšší (70 %) (Schéma 68). Reakce probíhala stereoselektivně za vzniku 3,5-disubstituovaného pyrazolu, jehož struktura byla ověřena NMR experimenty (viz. Kapitola 4.6). Ke zkrácení reakční doby často dochází katalýzou s Cu⁺ ionty, v tomto případě však reakce s CuI neprobíhala vůbec.

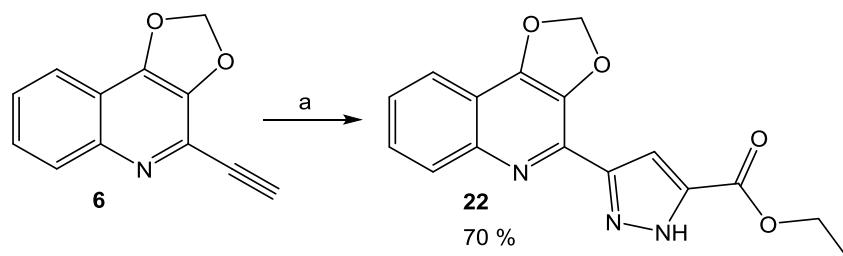


Schéma 68. Příprava sloučeniny **22**. Reagenty a podmínky: (a) ethyldiazoacetát (3 ekv.), 2-MeTHF, reflux, 72 h.

V literatuře byly nalezeny aromatické pyrazolo amidy se zajímavou biologickou aktivitou.¹⁰³ Transformací esteru látky **22** na různě substituované amidy by bylo možné připravit menší knihovnu nových látek obsahujících pyrazolo amidový skelet, které by mohly mít biologickou aktivitu.

Amidy lze připravit nepřeberným množstvím různých syntetických postupů nejen z esterů, ale i karboxylových kyselin či jejich chloridů. Nejprve byl zvolen postup přímo z připraveného ethylesteru reakcí s různými aminy (Tabulka 2).

Tabulka 2. Optimalizace podmínek pro tvorbu amidů.

Reakce	Rozpuštědlo	Katalyzátor	Teplota (°C)	Amin	Čas (dny)	Výsledek
1	DMF	-	80-130	25% Amoniak	1	Směs ^a
2	Pyridin	-	100	25% Amoniak	4	Směs ^a
3	Pyridin	-	80	Propylamin	4	Produkt ^b 14 %
4	THF	<i>t</i> -BuOK	20-25	Morfolin	1	Směs ^a
5	Toluen	PTSA	110	Morfolin	1	Směs ^a
6	MeOH	-	Reflux	<i>N,N</i> -dimethylaminoethylamin	7	Produkt ^b 80 %
7	MeOH	-	Reflux	Benzylamin	1	Směs ^a
8	MeOH	-	Reflux	<i>N</i> -methylpiperazin	7	Směs ^a

*a Směs látek spolu s výchozí látkou dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm; *b Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

Reakce 1 a 2 byly provedeny v nadbytku 25% amoniaku (10 ekv.) v tlakové ampuli bud' v DMF nebo pyridinu. Ani při dlouhém zahřívání na vysokou teplotu nebyl detekován produkt. Při reakci s propylaminem (reakce 3) bylo v reakční směsi po 4 dnech zahřívání detekováno pouze 14 % produktu. Reakce 4 dle podmínek z literatury¹⁰⁴ nevedla ke vzniku produktu. Aminolýza za katalýzy PTSA (reakce 5) byla také neúspěšná. Pouze reakce s *N,N*-dimethylaminoethylaminem provedená v tlakové ampuli poskytla amid (reakce 6). Obdobně byly provedeny reakce s benzylaminem (reakce 7) a *N*-methylpiperazinem (reakce 8), ale ke vzniku amidu nedocházelo.

Z výsledků je patrné, že je ester vůči různým aminům nereaktivní nebo reakce vyžaduje dlouhé reakční doby. Proto byl ester hydrolyzován na volnou kyselinu, což umožnilo přípravu amidů použitím aktivačních činidel (EDCI/HOBt nebo CDI). Hydrolýza esteru byla provedena pomocí 5% vodného roztoku NaOH v ethanolu. Po okyselení zředěnou HBr byla izolována kyselina **23** s výtěžkem 95 %, tudíž žádná další optimalizace nebyla nutná (Schéma 69).

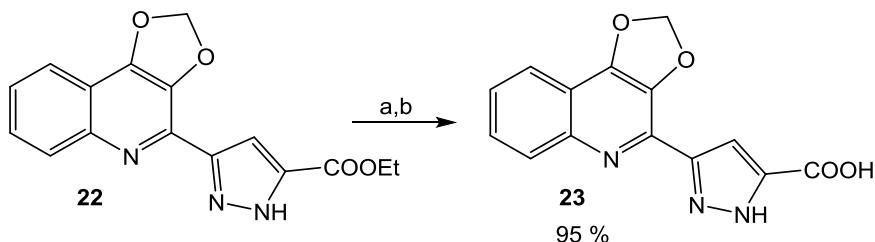


Schéma 69. Hydrolýza esteru **22**. Reagenty a podmínky: (a) 5% NaOH, EtOH, reflux, 30 min; (b) 48% HBr/H₂O (1/3, v/v), reflux, 10 min.

Syntéza amidů z karboxylové kyseliny **23** aktivací s EDCI/HOBt v DMF s bází DIPEA nebyla úspěšná. Byly vyzkoušeny nejrůznější aminy (methylamin, *n*-propylamin, *n*-butylamin, *n*-hexylamin, benzylamin, morfolin, *N*-methylpiperazin, *N*-methylcyklohexylamin, furfurylamin, 2-thiofenmethyleamin, 2-aminothiazol) i amoniak jak při laboratorní teplotě, tak při teplotě varu aminů. U všech aminů byla konverze na příslušný amid do 50 % (dle LC-MS) a při pokusu o izolaci a identifikaci pomocí NMR byly izolovány znečištěné amidy v minoritním množství (do 10 % dle LC-MS). Obměnou báze za TEA docházelo ještě k nižším konverzím výchozí látky na amid.

Byla testována také reakce kyseliny s benzylaminem a aktivací CDI s pyridinem v THF. Po 24 h při laboratorní teplotě byla konverze na benzylamid pouze 20 % (dle LC-MS). Zahřívání na teplotu refluxu po dobu 2 h nemělo na reakci žádný vliv.

Z karboxylové kyseliny lze připravit amidy i přes směsný anhydrid. Pro reakci byl zvolen chloromravenčan ethylnatý v bazickém prostředí DIPEA. Vytvořený anhydrid *in situ* reagoval s benzylaminem v DMF nebo acetolu, ale reakce neprobíhala.

Převedením kyseliny na chlorid pomocí SOCl₂ a následnou reakcí s benzylaminem nebo *N*-methylpiperazinem vznikala směs látek, kde byla detekována výchozí kyselina a minoritní množství amidu.

Deprotekce připraveného esteru byla provedena stejně jako u isoxazolového derivátu **19** se zředěnou HBr. V případě esteru docházelo nejprve k jeho hydrolýze, kdy by měla následovat deprotekce methylenového můstku. Refluxem v nadbytku 48% kyseliny bromovodíkové (45 ekv.) však ani po 48 h k demethylenaci nedocházelo.

K odstranění methylendioxy můstku lze použít, obdobně jako u demethylací, Lewisovy kyseliny, např. BCl_3 ,¹⁰⁵ BBr_3 ,¹⁰⁶ AlCl_3 ¹⁰⁷ a jsou prováděny v suchém DCM. Reakce byla vyzkoušena s 1M BCl_3 /hexan (5 ekv.). Při laboratorní teplotě nedocházelo k žádné reakci, ani při zahřívání na teplotu refluxu po dobu několika hodin.

Methylenový můstek sloučeniny **22** se odstranit nepodařilo, proto byla protektivní skupina zaměněna za benzyl, který lze jednoduše hydrogenolyzovat vodíkem. Syntéza byla provedena z připraveného alkynu **9** s ethyldiazoacetátem, v 2-MeTHF za varu v tlakové ampuli. Po třech dnech byla reakce ukončena a produkt izolován s 66% výtěžkem. Následná debenzylace probíhala hladce s 5% Pd/C (20 hm. %), za atmosférického tlaku vodíku ve 2-methoxyethanolu při 100 °C, kdy byl za 1 h detekován pouze produkt (LC-MS). Po izolaci byl získán produkt **25** s 66% výtěžkem (Schéma 70).

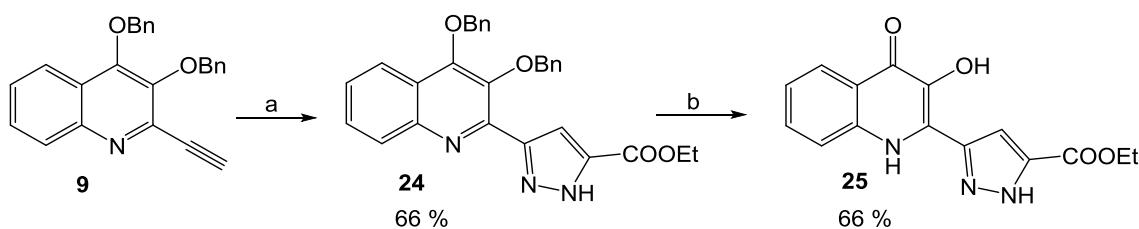


Schéma 70. Příprava sloučeniny **25**. Reagenty a podmínky: (a) ethyldiazoacetát (3 ekv.), 2-MeTHF, reflux, 72 h; (b) 5% Pd/C (20 hm. %), H_2 , 2-methoxyethanol, 100 °C, 1h.

4.3 Syntéza 2-substituovaných chinolonů cyklizací z připravených 1,1-dibromoalkenů

Reaktivní aldehydická skupina v poloze C2 chinolinového intermediátu **5** podléhá mnoha transformacím např. tvorbě Schiffových bází, reduktivní aminaci nebo redukci na alkohol.¹⁷ Zajímavé bylo využití aldehydu **5** jako výchozí látky při tzv. Corey-Fuchs reakci,¹⁰⁸ kdy v prvním stupni vzniká 1,1-dibromoalken. Z připraveného intermediátu **26** byla navržena syntetická cesta k zavedení různých typů heterocyklických derivátů do polohy C2 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů (Schéma 71). Pokud by reakce probíhala s alifatickými aminy (aminoethanol, cysteamin, ethylendiamin), měly vznikat příslušné cyklické produkty (**26a**). Vytvořené cyklické sloučeniny by následně byly

aromatizovány (**26b**) pomocí např. Swernovy oxidace a v posledním kroku by po deprotekci methylenové skupiny pak vznikaly 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-ony (**26c**). Reakcí s aromatickými aminy (*o*-fenylendiamin, *o*-amino fenol) by vznikaly příslušné aromatické heterocykly přímo (**26d**), bez nutnosti oxidace (Schéma 71).

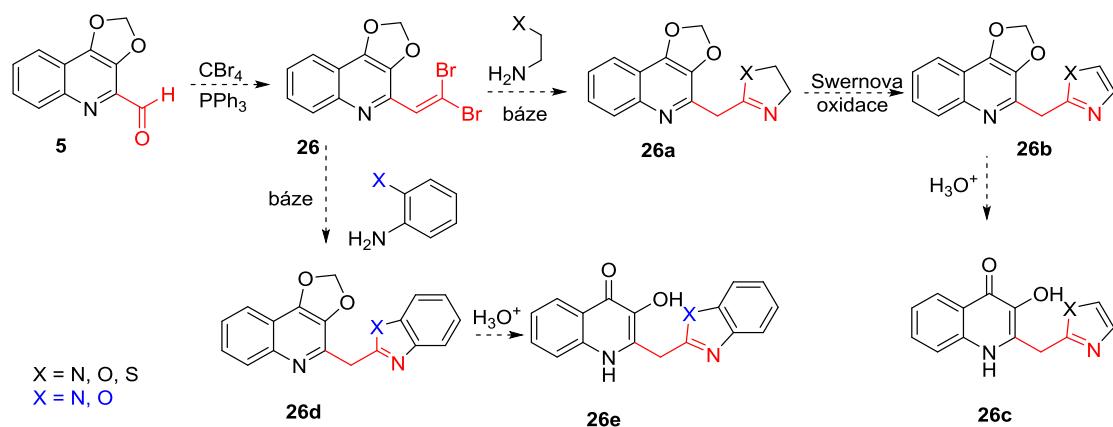


Schéma 71. Návrh syntézy 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů s heterocyklem v poloze C2.

Návrh reakčního mechanismu i podmínky pro přípravu látky **26** byly převzaty z literatury.¹⁰⁸ Jedná se o obdobu Wittigovy reakce, kdy je reaktivní ylid generován *in situ* z tetrabromomethanu a trifenylofosfinu. Poté dochází k adici ylidu na aldehydickou skupinu sloučeniny **5** a následuje vznik oxofosfetanového kruhu, který je eliminován za vzniku 1,1-dibromoalkenu **26** a trifenylofosfinu oxidu (TPPO) jako vedlejšího produktu (Schéma 72). Čištění produktu od vzniklého TPPO bylo problematické a vysrážením nebo krystalizací se jej nepodařilo kompletně oddělit od produktu. Z tohoto důvodu byla reakční směs po extrakci do DCM nanesena na sloupcovou chromatografii a produkt byl získán rychle a ve vysokém výtěžku 80 %.

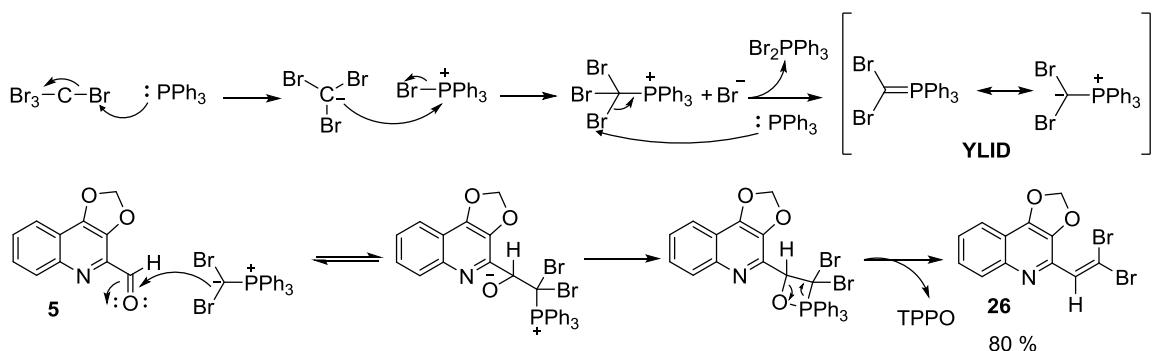


Schéma 72. Mechanismus vzniku 1,1-dibromoalkenu **26**.

Následující cyklizace byla vyzkoušena se třemi alifatickými a třemi aromatickými aminy (Tabulka 3). Reakce aromatických aminů (reakce 1-3) s alkenem **26** byla nejprve provedena s TBAF·3H₂O/DMF¹⁰⁹ (metoda A), avšak výsledkem byla pouze směs látek. Reakcí při použití báze DABCO v NMP¹¹⁰ (metoda B) docházelo pouze v případě *o*-aminofenolu, kdy byl detekován vznik produktu pouze 41 % (dle LC-MS). Reakce 4 v nadbytku ethylendiaminu při laboratorní teplotě¹¹¹ poskytovala imidazolin po 2,5 h, kdy bylo dle LC-MS dosaženo 83% konverze na produkt. Látku se však nepodařilo izolovat, jelikož se při purifikaci sloupcovou chromatografií rozkládala. Deriváty oxazolidinu (reakce 5) a thiazolidinu (reakce 6) byly připravovány dle metody A, kdy v případě oxazolidinu vznikala směs dvou neznámých látek. Reakce s cysteaminem poskytla 67% konverzi na produkt. Po izolaci sloupcovou chromatografií byl produkt identifikován pomocí ¹H-NMR, kde byly pozorovány dvě sady signálů - pravděpodobně iminu a enaminu.

Tabulka 3. Reaktivita 1,1-dibromoalkenu **26** s aminy.

Reakce	Amin	Metoda	Předpokládaný produkt	Výsledek
1		A B		Směs ^a Produkt ^b 41 %
2		A B		Směs ^a
3		A B		Směs ^a
4	H ₂ NCH ₂ CH ₂ NH ₂	C		Produkt ^b 83 %
5	H ₂ NCH ₂ CH ₂ OH	A		Směs ^a
6	HCl·H ₂ NCH ₂ CH ₂ SH	A		Izolována směs izomerů

*a Směs látek bez produktu dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm; *b Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

Reagenty a podmínky: Metoda A: alken **26** (1 ekv.), amín (1 ekv.), TBAF·3H₂O (4 ekv.), DMF, 60 °C, 3 h; Metoda B: alken **26** (1 ekv.), amín (1,5 ekv.), DABCO (3 ekv.), NMP, 100 °C, 10 h; Metoda C: alken **26** (0,08 mmol), ethylendiamin (0,8 mL), RT, 2,5 h.

Dle reakčního mechanismu popsaného v literatuře¹⁰⁹ by reakce měla probíhat přes stádium alkynylbromidu **27**, který kondenzací s *o*-aminofenolem a následnou cyklizací poskytne benzoxazol (Schéma 73) nebo obdobně benzimidazol v případě kondenzace s *o*-fenylendiaminem.

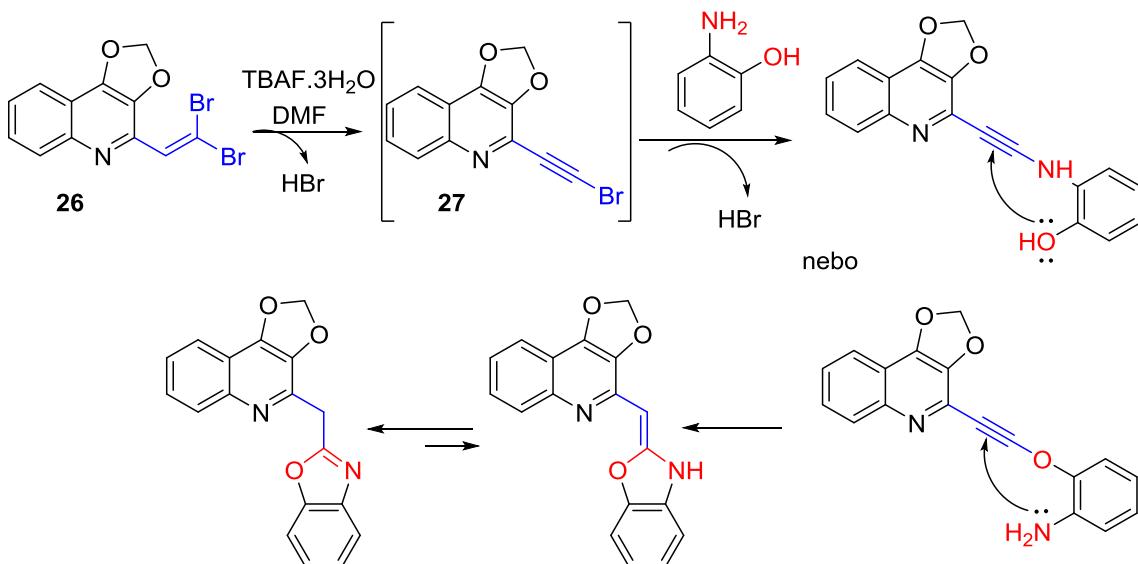


Schéma 73. Návrh mechanismu cyklizace.

U všech reakcí však byla identifikována nečistota alkyn **6**. Pokud alkynyl bromid **27** vznikal, docházelo pravděpodobně k jeho hydrolyze na alkyn **6** i při stopovém množství vody, a proto už reakce dále neprobíhala (Schéma 74).

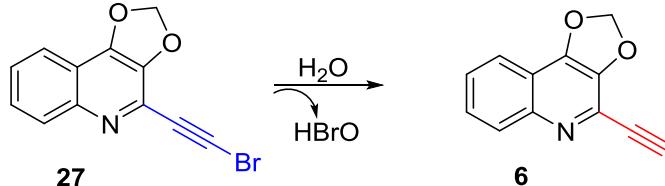


Schéma 74. Hydrolýza alkynyl bromidu **27**.

Aby bylo ověřeno, že cyklizace neprobíhají z důvodu hydrolyzy alkynylbromidu **27**, vznikajícího *in situ*, byl tento alkynyl bromid připraven, izolován a předložen k cyklizacím. Syntéza látky **27** byla provedena dle podmínek z literatury¹¹² eliminací bromovodíku pomocí DBU v DMSO při laboratorní teplotě. Po extrakci byl produkt izolován vymícháním v metanolu za horka s výtěžkem 58 % (Schéma 75). Dále byla prozkoumána jeho reaktivita vůči aminům, které nereagovaly s 1,1-dibromoalkenem **26**.

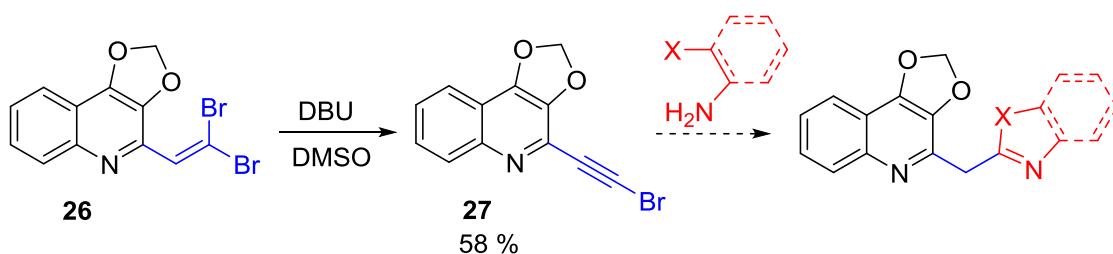
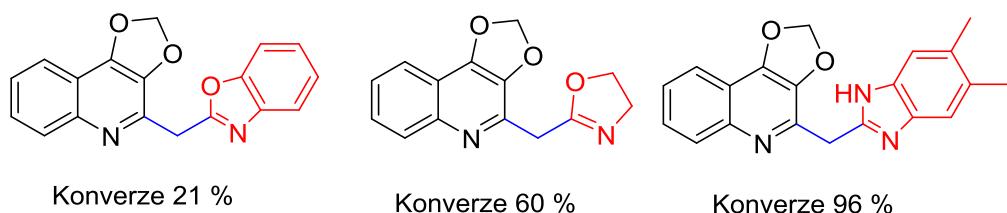


Schéma 75. Příprava alkynylbromidu **27** a následná cyklizace s aminy.

Reakcí alkynylbromidu **27** v nadbytku ethanolaminu při laboratorní teplotě docházelo k 60% konverzi na oxazolidinový derivát. Alkyn **6** jako vedlejší produkt nebyl ve směsi detekován. 2-Aminofenol poskytoval reakcí v DMF při laboratorní teplotě produkt z 21 %. 4,5-Dimethyl-1,2-fenylendiamin poskytoval za stejných podmínek téměř kompletní konverzi na produkt (Obrázek 3). Ačkoliv reakce poskytovaly vyšší konverze, nepodařilo se produkty izolovat z reakčních směsí. Při sloupcové chromatografii látky bud' zůstávaly zachyceny na silikagelu, nebo se během eluce částečně rozkládaly.



Obrázek 3. Struktury produktů a konverze dle LC-MS.

Záměnou methylenové chránící skupiny za benzylovou by mělo dojít ke změně polarity látek a cyklizační produkty by mohly být lépe izolovatelné. 1,1-Dibromoalken s benzylovými skupinami (**28**) byl připraven obdobně jako alken s methylenovým můstkem (**26**). Intermediát byl izolován v nižším výtěžku (31 %), jelikož vznikalo více vedlejších produktů. Pro testovací cyklizace bylo připravené množství dostatečné, proto nebyla reakce dále optimalizována (Schéma 76).

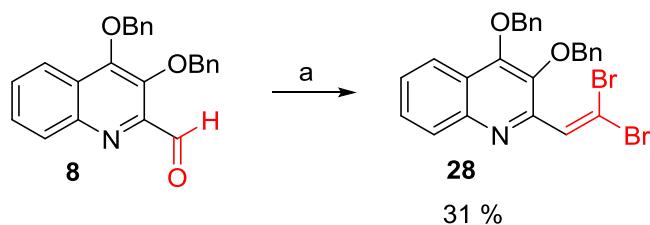
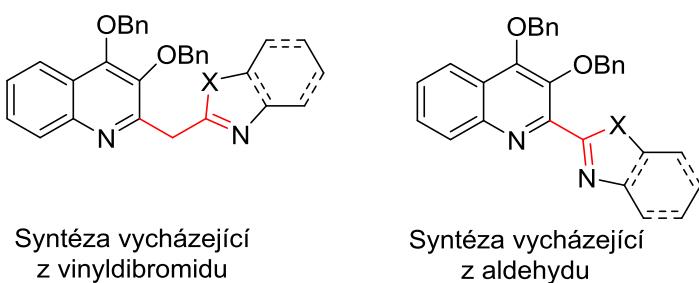


Schéma 76. Příprava látky **28**. Reagenty a podmínky: (a) $\text{CBr}_4, \text{PPh}_3, \text{DCM}, 0^\circ\text{C} \rightarrow \text{RT}$, 30 min.

Reakce s aminy byly provedeny za stejných podmínek, jako v předchozím případě. Výsledky konverzí byly obdobné jako u reakcí s 1,1-dibromalkenem **26**, ale produkty se izolovat nepodařilo ze stejných důvodů. Obměna protektivní skupiny tedy neměla žádný vliv na zlepšení purifikace látek. Navrženou syntetickou cestou se nepodařilo připravit příslušné heterocykly.

4.4 Syntéza 2-substituovaných chinolonů vycházející z aldehydu

Syntézu 2-heterocyklických derivátů 3-hydroxychinolin-4(*1H*)-onů lze provést také z aldehydu jeho kondenzací s příslušnými N, O, S nukleofily s následným odstraněním protektivních skupin. Na rozdíl od předchozích reakcí s vinyldibromidy, kde byl vzniklý heteroaryl s C2-chinolinem propojen přes - CH_2 - skupinu, by měla vznikat vazba C2-chinolin-C-heteroaryl přímo (Obrázek 4). Látky tak budou mít jiné fyzikálně-chemické vlastnosti, a bylo tedy předpokládáno, že by se mohly chromatograficky lépe separovat.



Obrázek 4. Struktura 2-heteroaryl-chinolinových intermediátů dle použité výchozí látky.

V literatuře byly popsány různé podmínky pro syntézu benzazolových derivátů vycházející z *o*-substituovaných anilinů (viz. dále). Reakce probíhá přes stádium nasyceného pětičlenného kruhu, kdy se často k jeho aromatizaci používá přidavek

oxidačního činidla např. IBD,¹¹³ jodu,¹¹⁴ DDQ¹¹⁵ nebo vzdušného kyslíku v kombinaci s kovy např. měďnatými ionty,¹¹⁶ železitými ionty,¹¹⁷ aj. Cyklizaci na benzimidazoliny, benzoxazolidiny i benzthiazolidiny a jejich následnou oxidaci lze provést také působením radikálů jako např. 4-methoxy-TEMPO za atmosférického tlaku kyslíku.¹¹⁸ Reakce jsou často prováděny v nitrobenzenu při 140-150 °C, kdy je vzdušný kyslík dostačujícím oxidantem a není potřeba přídavku kovů.^{119,120} Výhodou této reakce je její jednoduché provedení, pouze zahřívání aldehydu a příslušeného anilinu. Avšak toto rozpouštědlo je vysoce toxicke a potenciálně karcinogenní, proto byla snaha jej nahradit a najít stejně efektivní ale zároveň netoxicke rozpouštědlo. V literatuře byla popsána reakce ve vodě, kdy autoři uvádějí, že funguje zároveň i jako ambifilní katalyzátor.¹²¹ Dle těchto podmínek byla provedena testovací reakce s aldehydem **8** (1,5 ekv.) a 4-chlor-*o*-fenylendiaminem (1 ekv.) ve vodě při 80 °C. Po 36 h byla konverze na produkt dle LC-MS 65 %. Reakcí s *o*-aminofenolem nedocházelo ke konverzi na produkt a vznikala směs látek. Stejně tak reakcí s *o*-aminothiofenolem vznikla pouze směs látek. Syntéza byla optimalizována záměnou rozpouštědla za anisol, který je netoxicke, má vysokou teplotou varu (154 °C) a je zařazen do kategorie tzv. „zelených“ rozpouštědel.¹²² Zahříváním 1 h při 80 °C docházelo k cyklizaci na pěti členný kruh (LC-MS). Zvýšením teploty na 140 °C za přístupu vzduchu docházelo k oxidaci za vzniku aromatického pěti členného kruhu (Schéma 77).

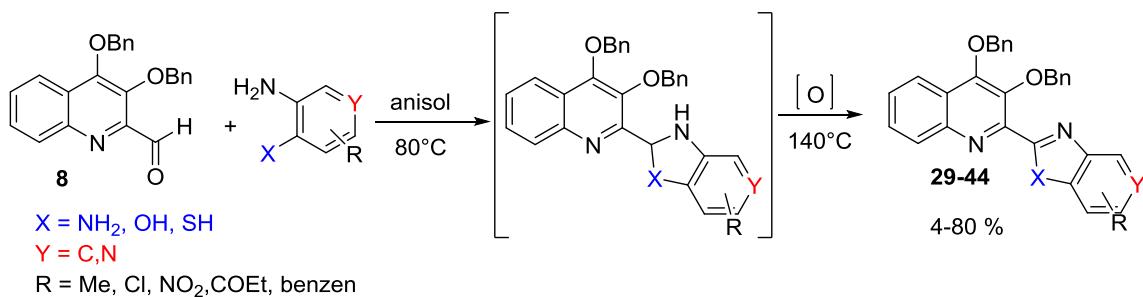


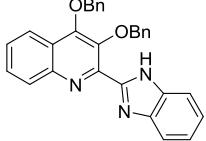
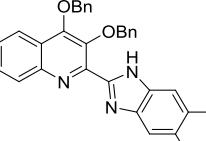
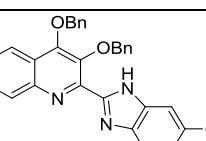
Schéma 77. Příprava substituovaných benzazolů. Reagenty a podmínky: aldehyd **8** (1 ekv.), amin (1 ekv.), anisol, 80 °C 1h → 140 °C 1-5 h.

V Tabulce 4 je uveden přehled připravených benzimidazolů, benzoxazolů a jednoho zástupce benzthiazolu. Konverze byly obecně vyšší u benzimidazolů (85-40 %), než u benzoxazolů (71-24 %). Cyklizace byla ovlivněna přítomností substituentu na benzenovém jádře *o*-fenylendiaminů, resp. *o*-aminofenolů. Obecně lze konstatovat, že

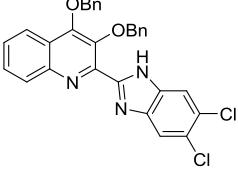
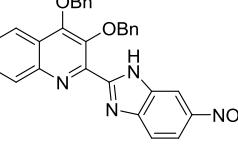
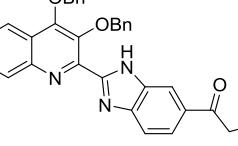
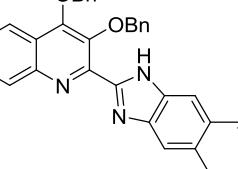
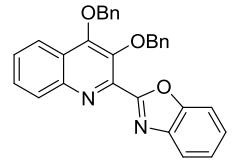
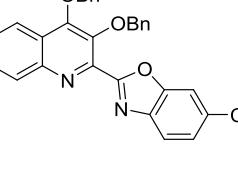
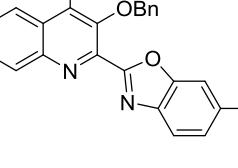
elektronakceptorní skupiny typu $-NO_2$ (**33**, **42**, **43**), $-COEt$ (**34**) snižují konverzi na produkt. Pokud byl jako substituent $-Cl$, docházelo ke srovnatelným (**31**, **44**) nebo vyšším (**32**, **37**) konverzím než u nesubstituovaného diaminu, resp. amionofenolu. Cyklizace s 4,5-dichlor-*o*-fenylendiaminem (**32**) probíhala s nejvyšší konverzí na produkt i výtěžkem reakce. Pokud byla přítomna methyl skupina, která má slabý elektrondonorní efekt (+I), cyklizace byla srovnatelná (**30**, **38**) nebo vyšší (**39**), než u nesubstituovaného diaminu, resp. aminofenolu. Reakce s *o*-aminothiofenolem (**40**) probíhala špatně za vzniku směsi, kde byl produkt pouze z 30%. Vysvětlením může být reaktivita výchozího thiolu se vzdušným kyslíkem, kdy může docházet ke snadné oxidaci např. na disulfidy apod.

Výtěžky byly ve většině případů dramaticky sníženy vlivem izolace z komplikovaných reakčních směsí. Produkty byly izolovány sloupcovou chromatografií, ale v některých případech bylo potřeba ještě látky dočistit krystalizací. Čistota látek byla na úkor výtěžků, které byly v některých případech kolem 13-15 % (**41**, **42**, **44**). U 5-nitrobenzoxazolového chinolinu (**43**) byla po cyklizaci získána bohatá směs látek a produkt byl izolován pouze se 4% výtěžkem.

Tabulka 4. Přehled připravených sloučenin **29-44**.

Sloučenina	Struktura	Produkt* (%)	Výtěžek (%)	Čistota (%) (LC-MS)
29		75	64	99
30		75	34	98
31		74	53	98

Pokračování Tabulky 4.

Sloučenina	Struktura	Produkt* (%)	Výtěžek (%)	Čistota (%) (LC-MS)
32		85	80	98
33		52	30	98
34		61	30	93
35		70	59	98
36		60	45	99
37		67	30	98
38		62	55	98

Pokračování Tabulky 4.

Sloučenina	Struktura	Produkt* (%)	Výtěžek (%)	Čistota (%) (LC-MS)
39		71	46	98
40		30	22	98
41		46	15	95
42		24	14	99
43		27	4	96
44		58	13	94

*Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

Reakce s alifatickými aminy (ethylendiamin, ethanolamin, cysteamin) byly provedeny dle vyvinuté metodiky pro aromatické aminy. Reakce však poskytovaly směsi látky, kde byly produkty v reakční směsi detekovány minoritně. Byl vyzkoušen i postup z literatury,¹²³ při kterém se používá bazické prostředí K_2CO_3 v *i*-PrOH s elementárním

jodem jako oxidačním činidlem. Vznikala však směs rovněž látek, kde v tomto případě produkt nebyl detekován.

Poslední krok, debenzylace, byl vyzkoušen u většiny připravených látek. Pouze u intermediátů, které byly izolovány s velmi nízkými výtěžky pod 15 % (**41-44**), nebylo množství látek dostačující pro provedení reakce. Podmínky pro deprotekci byly zvoleny s ohledem na substituenty na benzimidazolové, resp. benzoxazolové části sloučenin, především -Cl a -NO₂ skupiny. Debenzylace vodíkem by nebyla kompatibilní s těmito skupinami, proto byla zvolena metoda s Lewisovou kyselinou BCl₃ (Schéma 78). Po debenzylaci vzniká poměrně stabilní boronový komplex, který lze v některých případech rozložit přídavkem vody.¹²⁴ U tohoto typu derivátů však pouhým přídavkem vody k rozkladu nedocházelo. Proto byl vzniklý komplex rozložen vymícháním s konc. HCl v metanolu za varu, poté byla přidána voda, násleovala úprava pH ~6-7 a vyloučená sraženina produktu byla odsáta a promyta vodou. Kvantitativních výtěžků bylo dosaženo v případě deprotekce sloučenin **31**, **34-36**. Výtěžky sloučenin **29-30**, **33**, **38**, **40** se pohybovaly v rozmezí 60-85 %. Deprotekce intermediátů **32**, **37**, **39** sice probíhala, ale látky se nepodařilo získat v dostatečné čistotě.

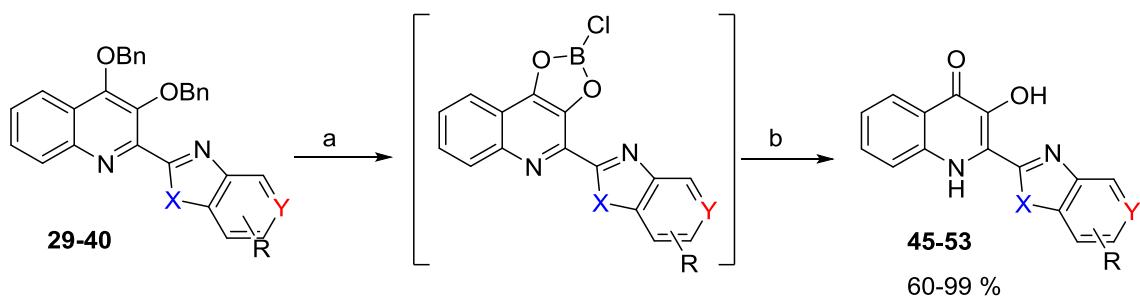


Schéma 78. Debenzylace sloučenin **29-40**. Reagenty a podmínky: (a) 1M BCl₃/hexan (5 ekv.), DCM, 0-5 °C → RT, 2 h; (b) 35% HCl/MeOH (1/1, v/v), reflux, 1 h, H₂O, pH 6-7.

Problém nastal při identifikaci připravených sloučenin, které byly velmi špatně rozpustné. Měření ¹H-NMR spekter bylo prováděno při 80 °C v DMSO-*d*6, jelikož při laboratorní teplotě byly látky v tomto rozpouštědle pouze částečně rozpuštěny a v jiném

deuterovaném rozpouštědle nebyly rozpustné vůbec. Vzhledem k nízkým koncentracím rozpouštěných sloučenin v DMSO-*d*6 (~3 mg/0,6 mL) nebyla měřena ^{13}C -NMR spektra.

Vysoká nerozpustnost připravených derivátů bohužel znemožňuje jakékoliv využití jako biologicky aktivních látek.

4.5 Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí Sonogashira cross-couplingu

Připravené intermediáty s terminálním alkynem v poloze C2 chinolinového skeletu lze využít v cross-couplingových reakcích, konkrétně při Sonogashira cross-couplingu. Podstatou tohoto couplingu je reakce mezi terminálním alkynem a allyl nebo (hetero)aryl halogenem za katalýzy palladiem a mědí jako kokatalyzátorem v bazickém prostředí aminu.¹²⁵ V některých případech reakce probíhají i bez přítomnosti mědi¹²⁶ nebo je možné použít jako kokatalyzátory jiné kovy, např. zlato¹²⁷ aj. Alkyny **6** a **9** byly podrobeny Sonogashira cross-couplingu, kdy bylo nezbytné nalezení optimálních reakčních podmínek (katalyzátor, báze, rozpouštědlo). Tato reakce byla využita nejen pro zavedení různých heterocyklů do polohy C2, ale také různě substituovaných aromátů a připravené dvě sady derivátů byly podrobeny dalším transformacím.

Reakční podmínky byly optimalizovány s alkynem **6** obsahující methylenový můstek a modelovým halogenderivátem jodbenzenem, který je reaktivní a dobře dostupný. Bylo vyzkoušeno několik podmínek z literatury (Tabulka 5), např. reakce 1¹²⁸ s Pd(OAc)₂ s DABCO jako ligandem a bází Cs₂CO₃ neposkytla žádaný produkt, v reakční směsi byla přítomna pouze výchozí látka. Reakcí s PdCl₂(PPh₃)₂ s TBAF·3H₂O jako bází (reakce 2)¹²⁹ nebo 5% Pd/C s pyrrolidinem (reakce 3)¹³⁰ došlo ke vzniku směsi látek. Téměř kvantitativní konverze na produkt bylo dosaženo podmínkami při reakci 4¹³¹ a 5¹³². Další optimalizací byly nalezeny reakční podmínky poskytující stejně vysokou konverzi 90 %, přičemž byla snížena spotřeba katalyzátorů a nebylo nutné použití bezvodého rozpouštědla (reakce 6). Vysoké konverze bylo dosaženo i metodou s 10% Pd/C a PPh₃/CuI, kde byla výhodou i nižší cena katalyzátoru (reakce 7).¹³³

Tabulka 5. Optimalizace podmínek pro Sonogashira cross-coupling.

Reakce	Katalyzátor	Množství (ekv.)	CuI (ekv.)	Báze	Množství (ekv.)	Rozp.	Teplota (°C)	Čas (h)	Konv. ^a
1	Pd(OAc) ₂	0,03	-	DABCO /Cs ₂ CO ₃	0,06/3	ACN	25	16	0 %
2	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	0,03	-	TBAF·3H ₂ O	3	-	80	16	směs
3	5% Pd/C	0,001	-	Pyrrolidin	1	NMP	100	3	směs
4	Pd(PPh ₃) ₄	0,05	0,05	TEA	9	THF (suchý)	50	16	≥ 90 %
5	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	0,05	0,06	TEA	solvent	-	25	16	≥ 90 %
6	PdCl ₂ (PPh ₃) ₂	0,02	0,01	TEA	3	ACN	50-55	1	≥ 90 %
7	10% Pd/C/ PPh ₃	0,05/0,1	0,1	DIPEA	3	DMA/ H ₂ O (9,5/0,5)	70-75	1	≥ 90 %

^a Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

V případě aryl halogenů byla metoda s 10% Pd/C/PPh₃ vhodná pro aromáty se substituenty jak s elektronakceptorním, tak s elektronondonorním efektem v *o*- a *p*-pozicích s výtěžky 35-63 %. Výjimkou byl pouze 2-jodnitrobenzen a 2-jodacetofenon, které za těchto podmínek neposkytly žádaný produkt. Při použití katalyzátoru PdCl₂(PPh₃)₂ k reakcím docházelo, ale s nízkými výtěžky (19 % a 27 %). V případě heterocyklických halogen derivátů, pouze 3 z nich (2-acetyl-5-jodthiofen, 2-jodthiofen, 2-jodselenofen) reagovaly při použití katalyzátoru 10% Pd/C/PPh₃, a to s výtěžky 44-79 %. Ostatní heterocyklické halogenderiváty vyžadovaly pro reakci katalýzu s PdCl₂(PPh₃)₂, kde se výtěžky pohybovaly od 18 % do 67 % (Schéma 79). Nejméně reaktivní byl 3-brompyridin, který poskytoval nejnižší výtěžek 18 %.

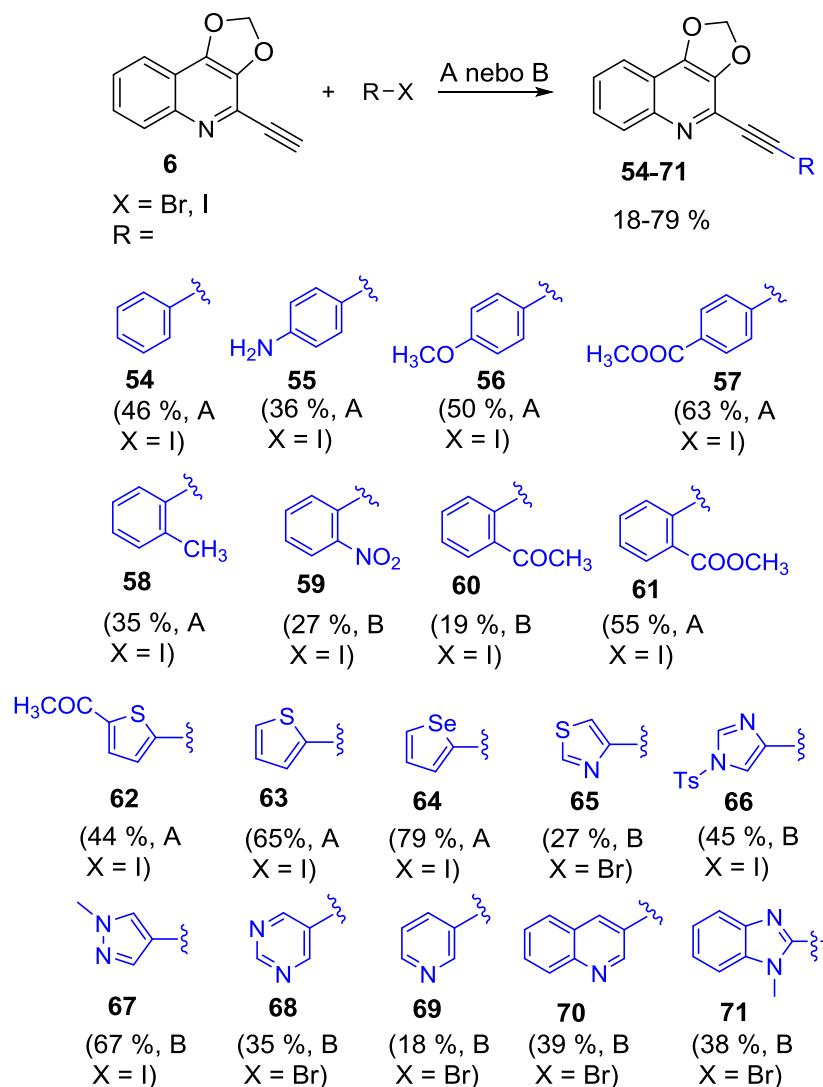


Schéma 79. Příprava sloučenin **54-71**. Reagenty a podmínky: (A) alkyn (1 ekv.), jod-derivát (1 ekv.), 10% Pd/C (0,05 ekv.), PPh₃ (0,1 ekv.), CuI (0,1 ekv.), DIPEA (3 ekv.), DMA/H₂O (9,5/0,5), N₂, 70-75 °C; (B): alkyn (1 ekv.), halogenderivát (1 ekv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0,02 ekv.), CuI (0,01 ekv.), TEA (3 ekv.), ACN, N₂, 50-55 °C.

Odstranění methylenového můstku za vzniku 2-alkynyl-3-hydroxy-4(1*H*)-chinolonů bylo provedeno na modelové sloučenině alkynu **6** (Schéma 80).

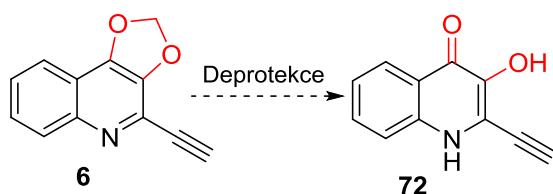


Schéma 80. Deprotekce modelové sloučeniny **6**.

Protokol deprotekce s kyselinou bromovodíkovou používaný např. u triazolového derivátu **10** nebyl pro tento typ sloučenin vhodný, jelikož by pravděpodobně docházelo ke konkurenční reakci, adici kyseliny bromovodíkové na trojnou vazbu. Tato domněnka byla potvrzena reakcí s mírnější kyselinou chlorovodíkovou, kdy byl podle LC-MS detekován produkt adice (Tabulka 6, reakce 1). Optimalizace byla provedena s různými kyselinami, které byly voleny tak, aby docházelo k minimálním vedlejším reakcím na násobné vazbě. Reakcí s Lewisovou kyselinou $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ nebyl produkt detekován (reakce 2),¹³⁴ stejně tak s trifluoroacetanhydridem v kombinaci s kyselinou octovou v DCM (reakce 3).¹³⁵ Reakce s organickými kyselinami trifluorooctovou a methansulfonovou v různých rozpouštědlech poskytla pouze směs látek s minoritním množstvím produktu (reakce 4-7). Klíčové bylo nalezení vhodného rozpouštědla v kombinaci s množstvím vody. Reakce probíhala dobře v etherických rozpouštědlech mísetelných s vodou např. THF, DME, dioxan nebo v $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ s 5 ekv. methansulfonové kyseliny, kdy byly konverze až 85 % (reakce 9 a 10). Snížením množství vody a zvýšením teploty se podařila téměř úplná konverze (95 %) na produkt (reakce 12).

Tabulka 6. Optimalizace podmínek deprotekce sloučeniny **6**.

Reakce	Kyselina	Rozpouštědlo	Teplota (°C)	Čas (h)	Výsledek
1	HCl/ H_2O (1/1)	THF	20-25	72	Produkt adice
2	$\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$	EtOAc	20-25	48	Výchozí látka
3	TFAA/AcOH (1/1)	DCM	40	24	Výchozí látka
4	TFA	THF/ H_2O (2/1)	50	2	Směs
5	MSA/ H_2O (1/2)	<i>i</i> -PrOH	75	17	Směs
6	MSA/ H_2O (1/2)	DMF	80	2	Směs
7	MSA	DME	80	24	Směs
8	MSA	DME/ H_2O (2/1)	80	5	Produkt 75 %*
9	MSA	AcOH/ H_2O (1/1)	80	14	Produkt 85 %*
10	MSA	THF/ H_2O (2/1)	70	24	Produkt 85 %*
11	MSA/ H_2O (1/2)	dioxan	80	7,5	Produkt 90 %*
12	MSA/H_2O (1/2)	dioxan	90	6	Produkt 95 %*

*Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

Předpokládaný produkt byl však identifikován pouze dle LC-MS spektra, kde byla detekována jeho molekulová hmotnost. Po izolaci a změření ^1H a ^{13}C -NMR spekter bylo zjištěno, že struktura neodpovídá 2-ethynyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onu **72**, nýbrž produktu cyklizace furo[3,2-*b*]chinolonu **73**, který má stejnou molekulovou hmotnost (Schéma 81).

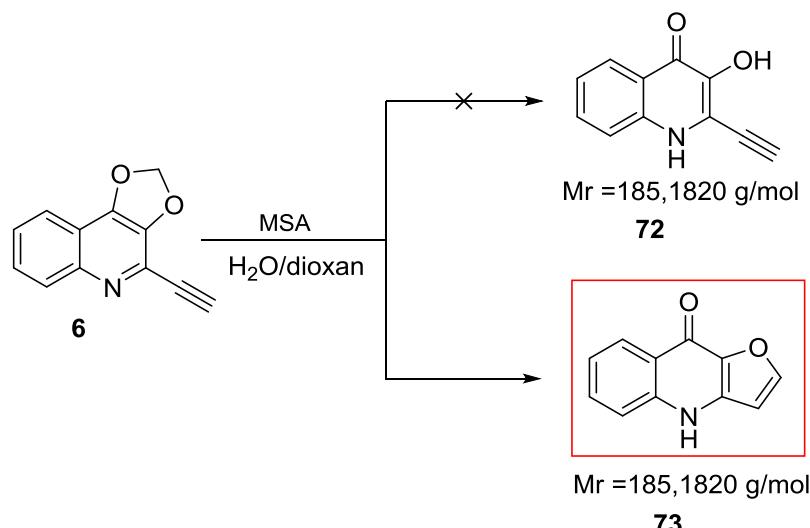


Schéma 81. Vznik furo[3,2-*b*]chinolonu **73**.

Připravené substituované alkyny **54-71** byly podrobeny reakci za optimalizovaných podmínek, kdy byl sledován průběh reakce a vznik cyklických produktů. Cyklizace *o*-substituovaných derivátů s elektronondonorní nebo elektronakceptorní skupinou nebyla úspěšná. Vznikaly směsi, kde byly detekovány pouze stopy produktu. Takovýto průběh mohl být způsoben např. sterickým bráněním substituentem v *o*-poloze. To naznačuje i fakt, že substituce elektronondonorní (-OMe) i elektronakceptorní (-COOEt) skupinou v *p*-poloze negativně neovlivnila průběh cyklizace, naopak bylo dosaženo vysokých výtěžků (84 % a 87 %). Cyklizace anilinového derivátu **55** probíhala pouze z 45% (LC-MS) ale sloučeninu se nepodařilo izolovat od nečistot. Cyklizací heterocyklických intermediátů thiazolu (**65**), pyrimidinu (**68**) a pyridinu (**69**) také docházelo ke vzniku směsi. V porovnání s tím, chinolinový derivát **70** poskytoval cyklický produkt s výtěžkem 92 %. Tento výsledek naznačuje, že cyklizace není přímo ovlivněna elektronovou hustotou přítomných heteroatomů. Podobně byly zbývající heterocyklické deriváty převedeny na furo[3,2-*b*]chinolony (Schéma 82).

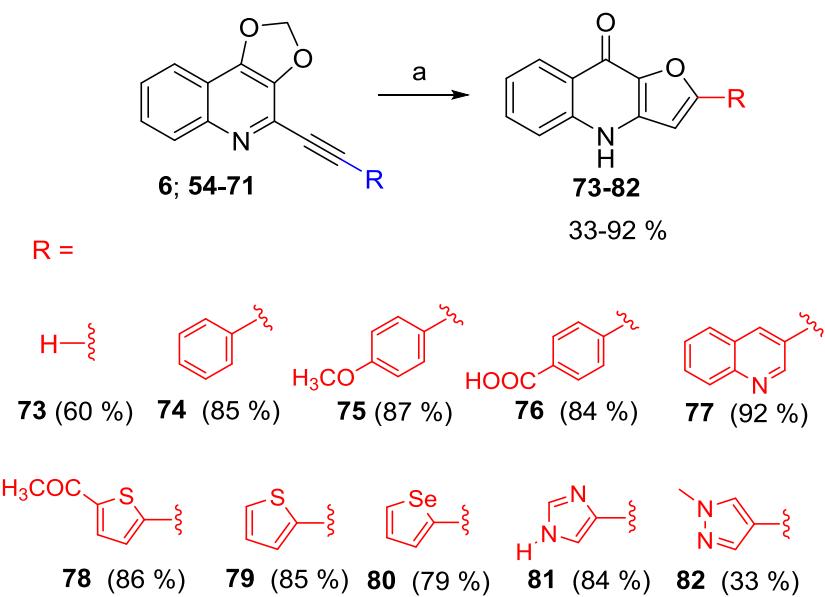


Schéma 82. Cyklizace alkynů. Reagenty a podmínky: (a) MSA (5 ekv.), dioxan, H₂O, 85-90 °C; sloučenina **81** byla připravena použitím 10 ekv. MSA.

Podmínky cyklizace však nebyly kompatibilní s kysele labilními funkčními nebo protektivními skupinami, např. intermediát **57** obsahující ester poskytoval po reakci směs cyklického esteru (50 %) a kyseliny (40 %). Zbývající ester byl hydrolyzován v bazickém prostředí 2N NaOH, kdy byla izolována čistá kyselina **76**. Podobně tomu bylo při cyklizaci derivátu **66** s *N*-tosyl skupinou, kdy byla získána směs *N*-tosyl derivátu a volného imidazolu **81**. V tomto případě byla *N*-tosyl skupina kompletně odstraněna při cyklizaci v jednom kroku použitím 10 ekv. methansulfonové kyseliny.

Při LC-MS analýze několika různých reakčních směsí byla potvrzena přítomnost sloučenin (do 10% dle UV detekce) s molekulovou hmotností odpovídající oxochinolinovým intermediátům **A** (Schéma 83). Toto zjištění poukazuje na možný mechanismus cyklizace. Tvorba furochinolonového skeletu pravděpodobně začíná kyselou hydrolýzou alkynu na příslušný keton. Následná hydrolýza methylenového můstku poskytuje intermediáty 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onu **B**. Tyto sloučeniny nejsou stabilní a okamžitě dochází ke kysele katalyzovanému nukleofilnímu ataku hydroxy skupiny na keton s následnou dehydratací a cyklizací za vzniku furanového cyklu.

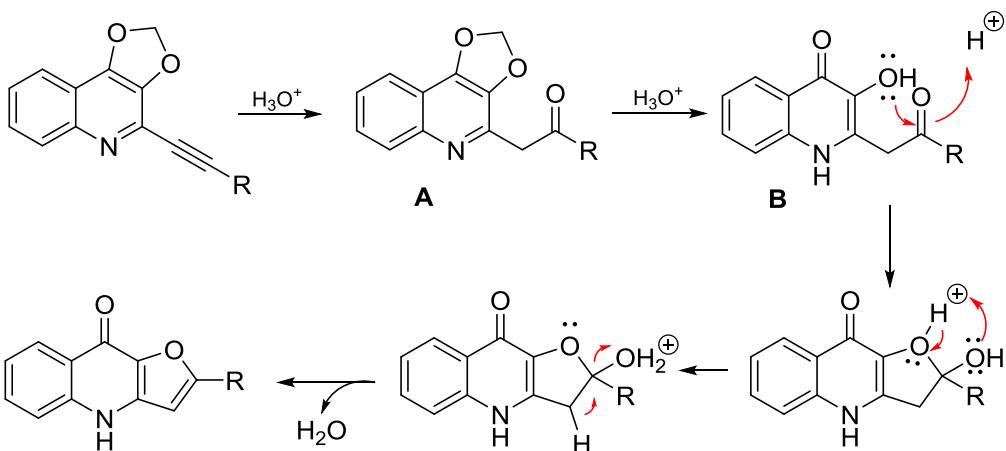


Schéma 83. Navržený mechanismus cyklizace.

Cykлизace 2-alkynyl-oxolochinolinů za kyselé katalýzy představuje novou a jednoduchou metodu pro přípravu furo[3,2-*b*]chinolonů¹³⁶ (viz Příloha C). Jelikož však nebylo dosaženo přípravy cílových 2-alkynyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onových derivátů, byl proveden Sonogashira cross-coupling s alkynem **9**, obsahující benzylové protektivní skupiny, které mohou být následně odstraněny hydrogenolyticky nebo použitím Lewisovy kyseliny BCl_3 .

Reaktivita benzylovaného alkynu **9** byla srovnatelná s alkynem **6**. Deriváty připravené reakcí z 2-jodselenofenu, 2-jodthiofenu, 4-jod-N-tosyl-imidazolu a 4-jod-N-methyl-pyrazolu byly připraveny za katalýzy 10% Pd/C/PPh_3 s výtěžky kolem 40 %. Jodbenzen se substitucí v *p*-poloze ($-\text{NH}_2$, $-\text{COOMe}$, $-\text{OMe}$) poskytoval deriváty ve výtěžcích od 44 % do 61 %. Reakce s *o*-methyljodbenzenem probíhala s průměrným výtěžkem 44 %. Naopak přítomnost elektronakceptorní skupiny v *o*-poloze ($-\text{NO}_2$, $-\text{COMe}$) snížila reaktivitu a za daných podmínek produkty nevznikaly. Katalytický systém 10% Pd/C/PPh_3 nebyl vhodný ani pro monobromované heterocyklické výchozí látky, kdy za těchto podmínek neodcházelo ke vzniku produktů. Pro málo reaktivní jod- a brom-deriváty byl použit katalyzátor $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, díky kterému se podařilo připravit potřebné intermediáty, přičemž některé látky byly izolovány s nízkým výtěžkem (15 %) jiné naopak ve výtěžku až 70 % (Schéma 84). Stejně jako v předchozím případě (sloučenina **69**) byl nejméně reaktivní 3-bromypyridin, kdy se sloučeninu nepodařilo připravit ani v nízkém výtěžku.

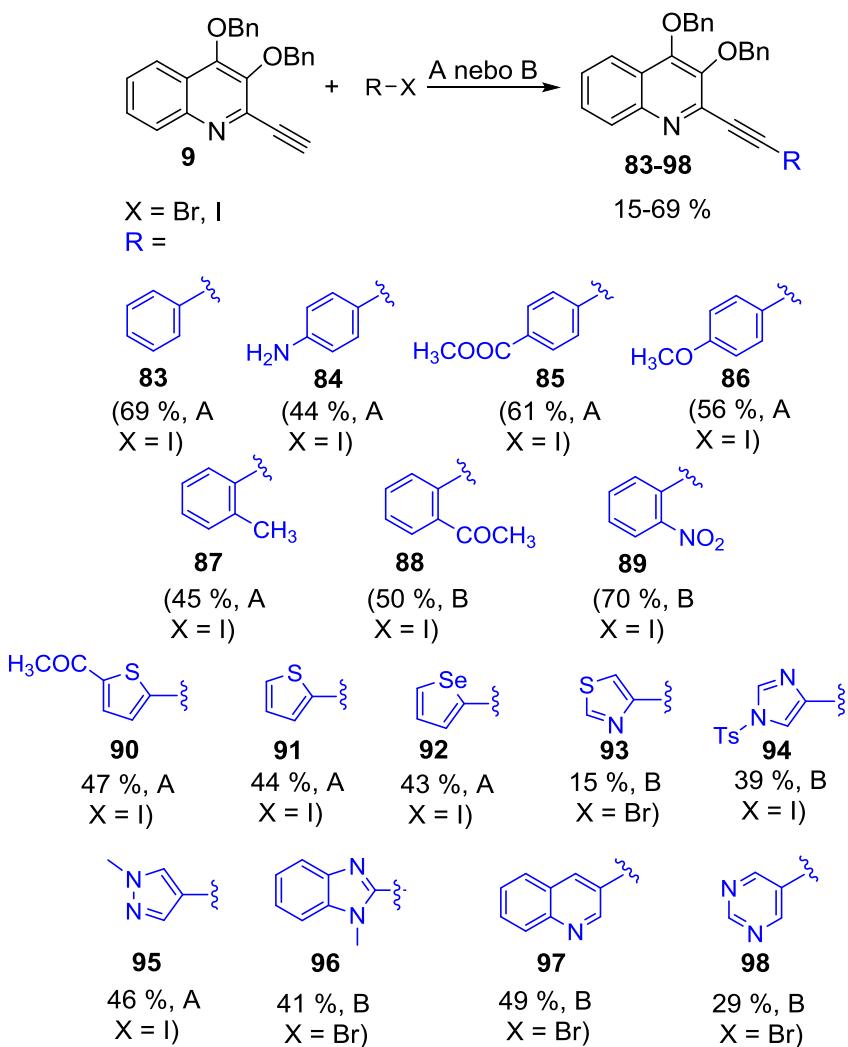


Schéma 84. Příprava sloučenin **83-98**. Reagenty a podmínky: (A) alkyn (1 ekv.), jod-derivát (1 ekv.), 10% Pd/C (0,05 ekv.), PPh₃ (0,1 ekv.), CuI (0,1 ekv.), DIPEA (3 ekv.), DMA/H₂O (9,5/0,5), N₂, 70-75 °C; (B): alkyn (1 ekv.), halogenderivát (1 ekv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0,02 ekv.), CuI (0,01 ekv.), TEA (3 ekv.), ACN, N₂, 50-55 °C.

Porovnáme-li výtěžky reakcí obou alkynů **6** a **9**, většinou se liší kolem 10 %. Největší rozdíl ve výtěžcích byl u derivátů s *o*-nitrobenzenem a *o*-acetofenonem, kdy u methylendioxyalkynu **6** byly pod 30 %, naopak u benzylovaného alkynu **9** se pohybovaly v rozmezí 50-70 %. Rozdílné výtěžky nebyly způsobeny odlišnou reaktivitou alkynu **9**, ale izolací produktů z reakčních směsí. Ta byla provedena vždy sloupcovou chromatografií, a obecně se lépe separovaly benzylované deriváty.

Deprotectní benzylových skupin vznikaly dle použitých podmínek dva typy derivátů a to buď se zachovanou trojnou vazbou, nebo jednoduchou vazbou (Schéma 85). Vzhledem

k množství připravených derivátů **83-98**, byly deprotekce prováděny pouze v desítkách miligramů (~20 až 50 mg), což mělo zásadní vliv na výtěžky.

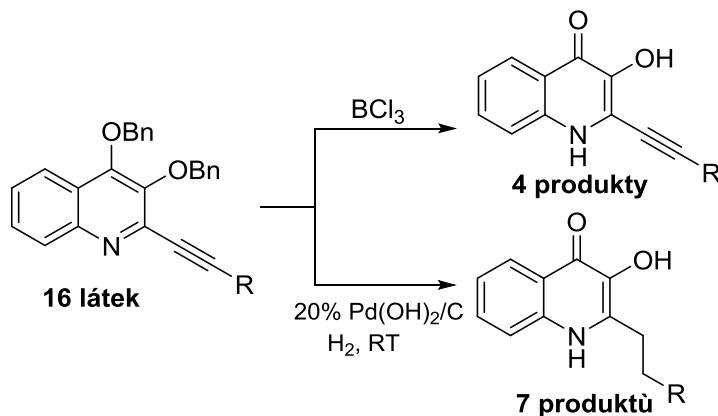
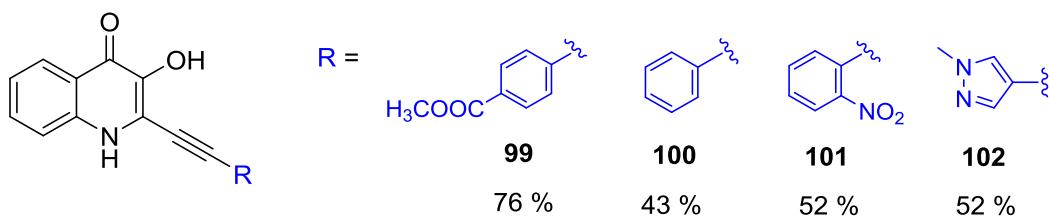


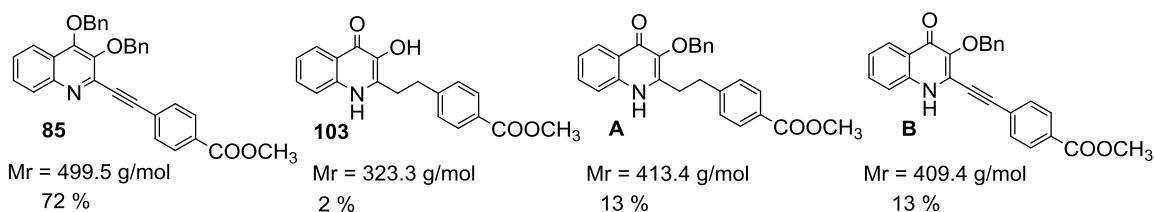
Schéma 85. Deprotekce benzyl skupin dvěma různými metodami.

Nejprve byla provedena debenzylace v aprotickém prostředí Lewisovou kyselinou s cílem zachování trojně vazby. Reakce probíhaly v DCM s 1M BCl_3 /hexan (5 ekv.) 1 h za chlazení při 0-5 °C.¹⁰⁵ V reakčních směsích byl v některých případech při těchto podmínkách detekován kromě produktu i monobenzyl derivát (LC-MS do 20 % dle konkrétního derivátu), který prodloužením reakční doby až na 24 h neodreagoval. Dalším přídavkem Lewisovy kyseliny (7 ekv.) docházelo ke vzniku většího množství nečistot a monobenzyl deriváty byly přítomny v množství do 10 % (LC-MS). Izolace produktů z reakčních směsí byla provedena přídavkem vody, aby se rozložil vzniklý boronový komplex a následnou extrakcí do DCM. Docházelo však ke vzniku špatně dělitelných emulzí, a dokonalé extrakce bylo docíleno až přídavkem metanolu. Takto izolované surové produkty bylo potřeba ještě přečistit. Sloupcovou chromatografií nebylo možné jako čistící techniku využít, jelikož se připravené chinolony pevně adsorbovaly na silikagelu. Použitím polárnější mobilní fáze pro jejich eluci docházelo zároveň i ke stržení nečistot. Dočistění vysrážením se podařilo jen u několika málo látek, kdy dosažená čistota byla maximálně 95 % (LC-MS). Reakce byly prováděny pouze v miligramovém množství, což mělo zásadní vliv na výtěžky, které nebyly vyšší než 75 %. U čistějších látek byla měřena i ^1H a ^{13}C -NMR spektra, která vlivem nízkého množství izolovaných produktů (5-7 mg) vyžadovala delší akviziční časy (až 24 h u ^{13}C -NMR), ale i tak byla intenzita signálů nízká. Charakterizace byla ještě doplněna změřením HR-MS spekter. U většiny látek se však izolace a čištění nepodařilo a chinolony s trojnou vazbou byly připraveny pouze 4 (Obrázek 5).



Obrázek 5. Struktury látek připravených deprotekcí benzyl skupin s BCl_3 .

V druhém případě byly benzyl skupiny odstraněny vodíkem s katalytickým množstvím 5% Pd/C. Metoda byla optimalizována na modelové sloučenině **85** a monitorována v čase. V 2-methoxyethanolu s přídavkem 5% Pd/C (10 hm. %) docházelo při teplotě 0-5 °C po 15 minut ke vzniku směsi, kde byly detekovány dle LC-MS produkt **103**, výchozí látka **85** a intermediáty **A** a **B** (Obrázek 6).

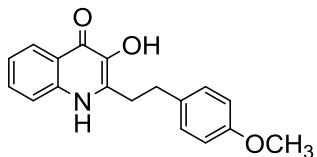
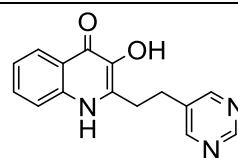
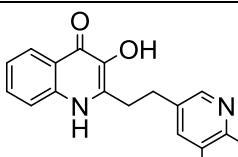
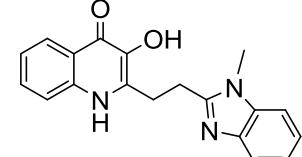
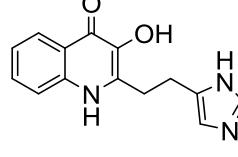
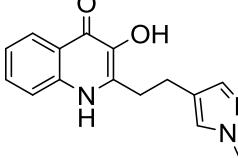
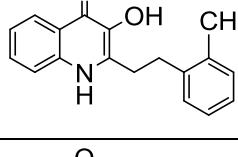
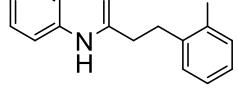


Obrázek 6. Detekované intermediáty dle LC-MS spektra.

Po 45 minut byl detekován pouze produkt **103**, který byl izolován čistý naředěním metanolem, filtrací a odpařením s výtěžkem 78 %. Při dalších experimentech bylo zjištěno, že u všech dalších derivátů hydrogenace a debenzylace za katalýzy 5% Pd/C (10 hm. %) a atmosférického tlaku vodíku při laboratorní teplotě neprobíhají vůbec nebo byla v reakční směsi detekována výchozí látka spolu s příslušným monobenzyl derivátem. Prodloužením reakční doby (až 24 h), ani zvýšením teploty (až 100 °C) nebylo docíleno úplné konverze na žádané produkty. Proto byla zvolena metoda s tzv. Pearlmanovým katalyzátorem 20% $\text{Pd(OH)}_2/\text{C}$,¹³⁷ který má větší koncentraci palladia a je považován za jeden z nejúčinnějších hydrogenačních katalyzátorů. Reaktivita výchozích alkynů se lišila v závislosti na substituentu. V Tabulce 7 jsou shrnutý optimální reakční podmínky pro každou látku. Kvantitativní výtěžky byly izolovány u produktů s pyrazolovým, imidazolovým a benzimidazolovým kruhem (**107-109**). Vysokých výtěžků bylo dosaženo i u derivátů obsahujících anisol (**104**) a pyrimidin (**105**). Průměrný výtěžek (65 %) byl získán u derivátu s chinolinem (**106**), u kterého

byla také nejdelší reakční doba. Derivát se substitucí anilinem (**110**) poskytoval za uvedených podmínek směs neznámých látek. Produkt nebyl získán ani v případě derivátu s *o*-tolylem (**111**), kde byl dle LC-MS v reakční směsi detekován produkt z 97 %, látku se však nepodařilo izolovat čistou. U látky obsahující *o*-nitrobenzen (**112**) byla předpokládána za daných podmínek i současná redukce nitro skupiny na amino, kdy byl tento produkt skutečně identifikován (LC-MS) jako majoritní produkt v reakční směsi. Izolace produktu vlivem nečistot a malého množství, ve kterém byla reakce prováděna (20 mg), nebyla úspěšná. Konečně u heterocyklů obsahujících síru nebo selen se za podmínek redukce 20% Pd(OH)₂/C nepředpokládal vznik příslušných 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, jelikož oba tyto prvky působí jako katalytické jedy. V případě thiazolového derivátu byl za poměrně drastických podmínek (110 °C, 2.5 Bar) detekován vznik meziproduktu obsahující jednu benzyl skupinu (**113**). Derivát s thiofenovým cyklem byl inertní a to i vůči hydrogenaci na platinovém katalyzátoru (**114**), naopak 5-acetyl-thiofen (**115**) poskytoval směs látek, pravděpodobně v důsledku reaktivity ketonické skupiny. Poslední derivát obsahující selenofen (**116**) byl debenzyllován za katalýzy Pd nebo Pt kovy za vzniku směsi, kde nebyl detekován produkt.

Tabulka 7. Výsledky debenzylace.

Sloučenina	Struktura	Čas (h)	Katalyzátor	Teplota (°C)	Výtěžek (%)
104		6	20% Pd(OH)2/C	20-25	80
105		3	20% Pd(OH)2/C	20-25	92
106		72	20% Pd(OH)2/C	20-25	65
107		8	20% Pd(OH)2/C	70	99
108		5	20% Pd(OH)2/C	20-25	99
109		6	20% Pd(OH)2/C	20-25	99
110		24	20% Pd(OH)2/C	20-25	- ^a
111		24	20% Pd(OH)2/C	20-25	- ^b
112		24	20% Pd(OH)2/C	20-25	- ^c

Pokračování Tabulky 7.

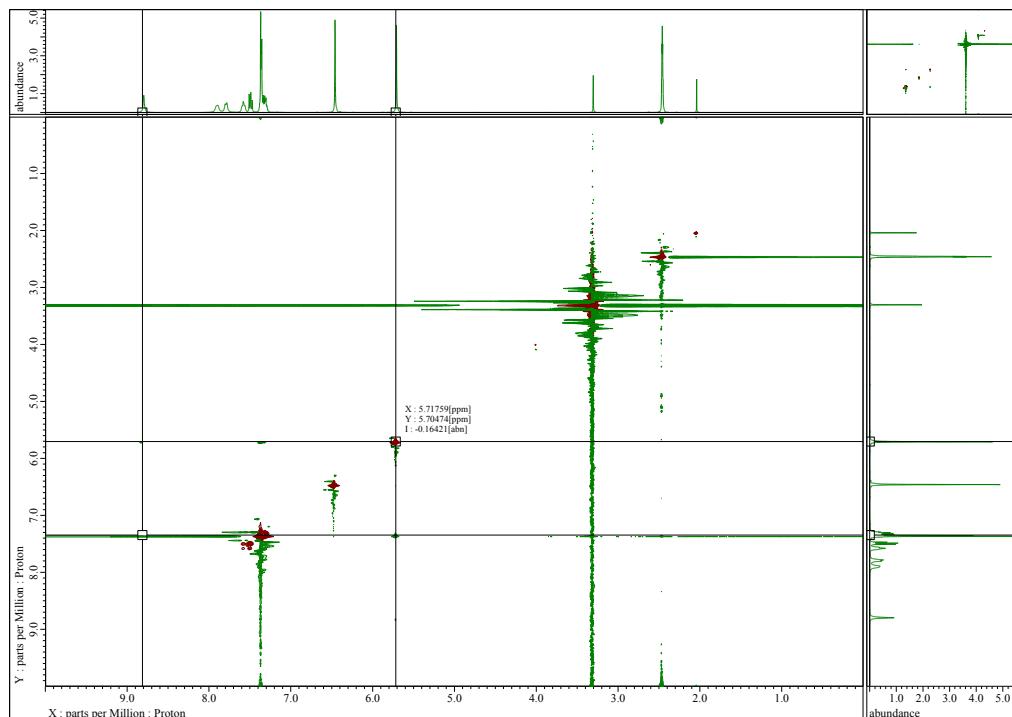
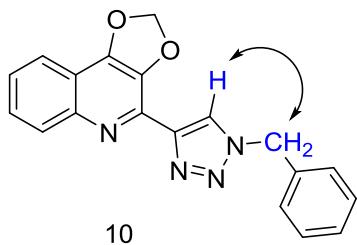
Sloučenina	Struktura	Čas (h)	Katalyzátor	Teplota (°C)	Výtěžek (%)
113		24	20% Pd(OH)2/C	110/H2/2. 5 Bar	- ^d
114		24	5% Pt/C	20-25/H2/4 Bar	- ^e
115		8	20% Pd(OH)2/C	20-25	- ^a
116		týden	5% Pt/C nebo PtO2	20-25	- ^a

*a Směs látek bez produktu, *b vzniklý produkt se nepodařilo izolovat, *c vzniklý produkt s redukovanou nitro skupinou se nepodařilo izolovat, *d vznikal mono benzyl derivát, *e výchozí látka.

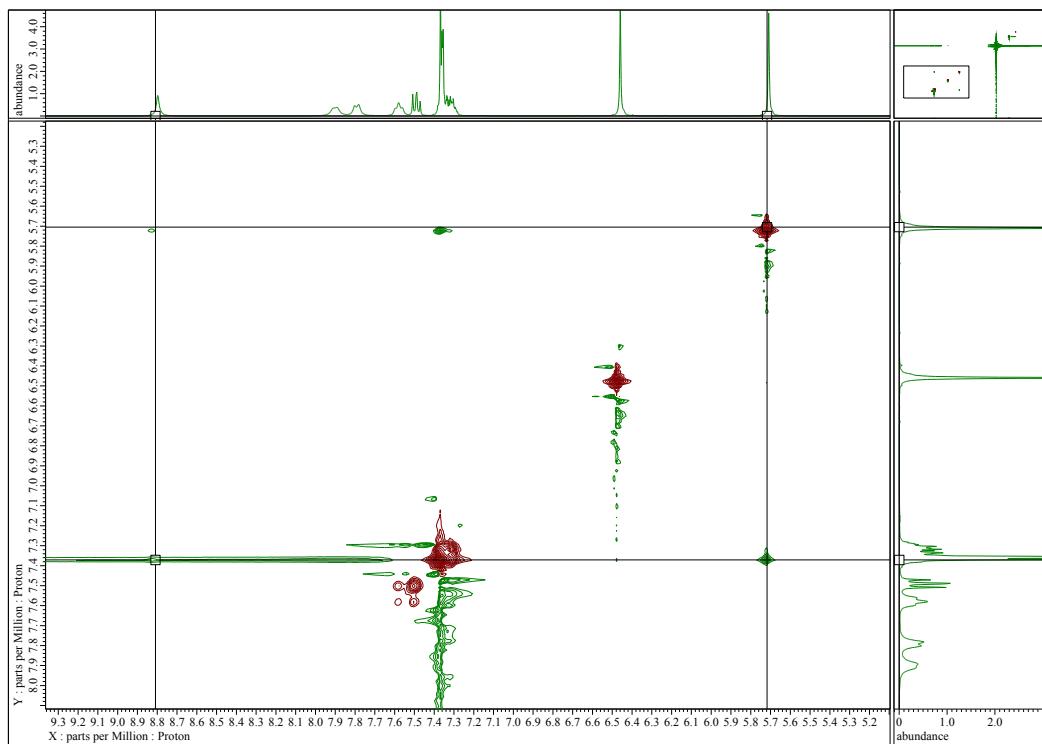
4.6 Určení struktury vybraných látek na základě NMR experimentů

V této kapitole je na několika typech látek ilustrováno určení jejich struktury dle 1D i 2D NMR experimentů. Jedná se především o sloučeniny připravované pomocí cykloadičních reakcí, kde je teoreticky možný vznik dvou izomerů. Je zde také uveden příklad rozlišení struktury furo[3,2-*b*]chinolonů a 2-alkynyl-3-hydrochychinolin-4(1*H*)-onů. Pomocí N-H HMBC spekter byl také rozlišeny *O,O*- a *N,O*- izomery vznikající při benzylaci chinolonu **3**.

Sloučenina **10** byla připravena jako jeden izomer pomocí mědí katalyzované „click“ reakce. Dle literatury⁹¹ vzniká pouze 1,5-izomer. Struktura izomeru byla ověřena pomocí NOESY NMR experimentu, kde byla pozorována interakce benzylové CH₂-skupiny (5,7 ppm) přes prostor s vodíkem (8,8 ppm) triazolového jádra (Obrázek 7a a 7b).

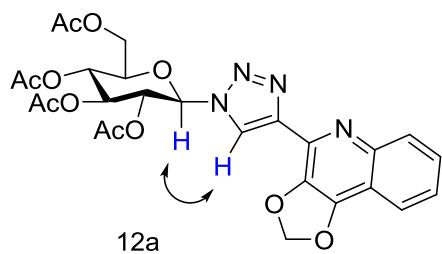


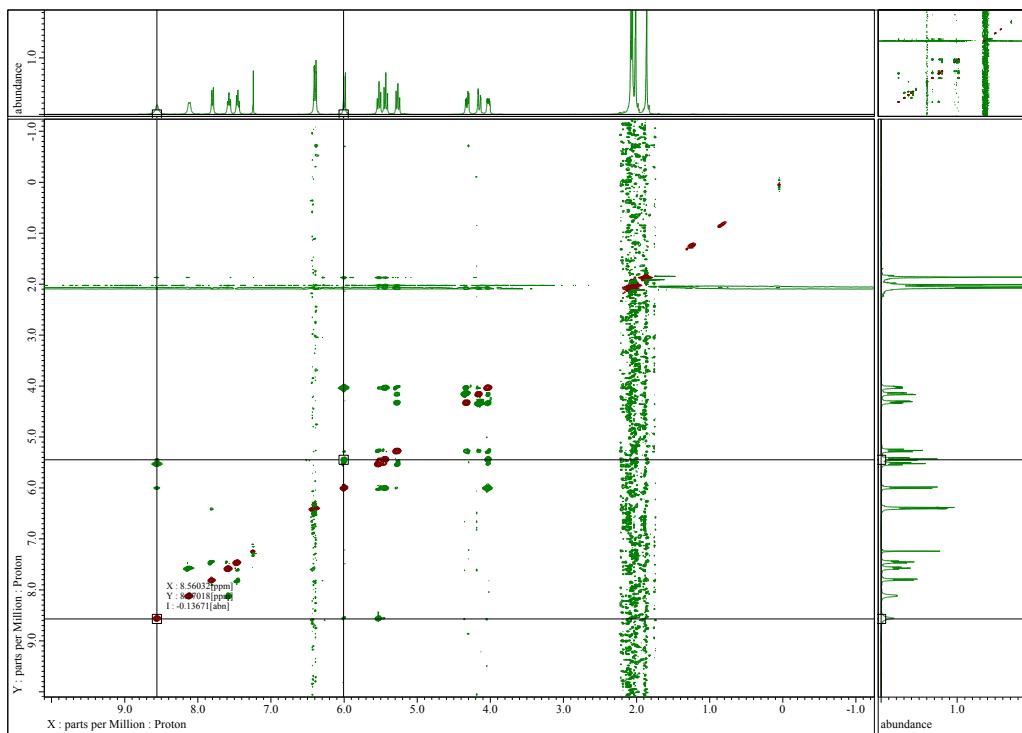
Obrázek 7a. Struktura sloučeniny **10** a interakce v NOESY NMR spektru.



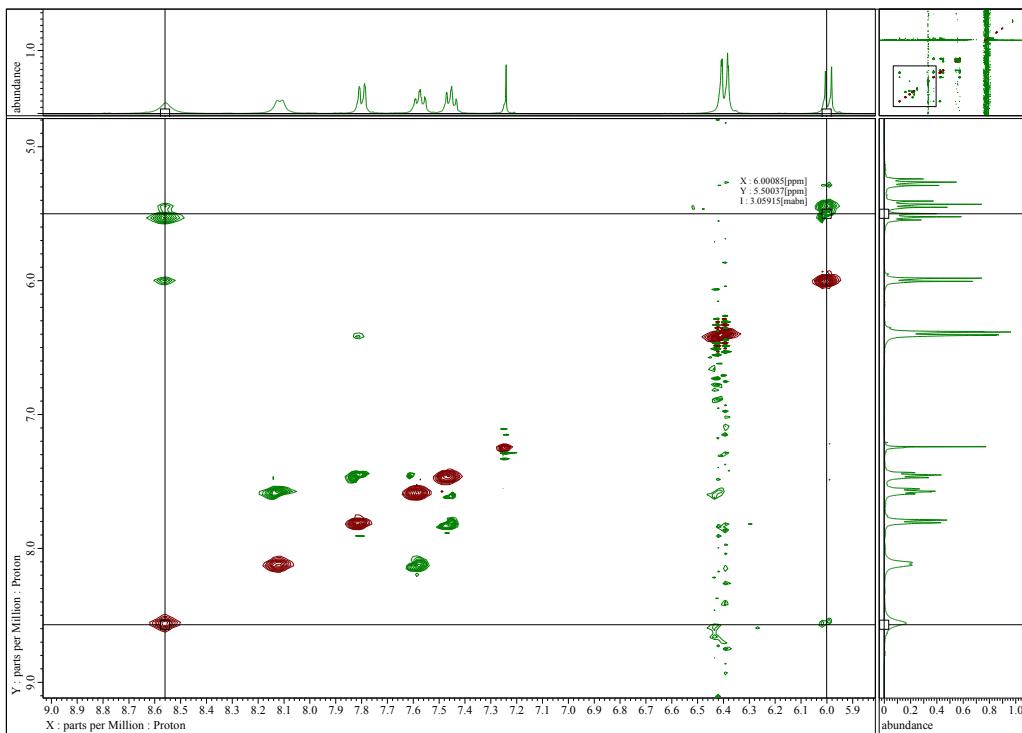
Obrázek 7b. Struktura sloučeniny **10** a interakce v NOESY NMR spektru.

Obdobné interakce byly nalezeny u triazolo-sacharidů **12a-f**, resp. **14a-f**, které byly připraveny také „click“ reakcí. I zde byla pozorována interakce vodíku na triazolovém jádře (8,5 ppm) např. u sloučeniny **12a**, tentokrát však s hemiacetalovým vodíkem (5,9 ppm) β -D-glukopyranosy (Obrázek 8a a 8b).





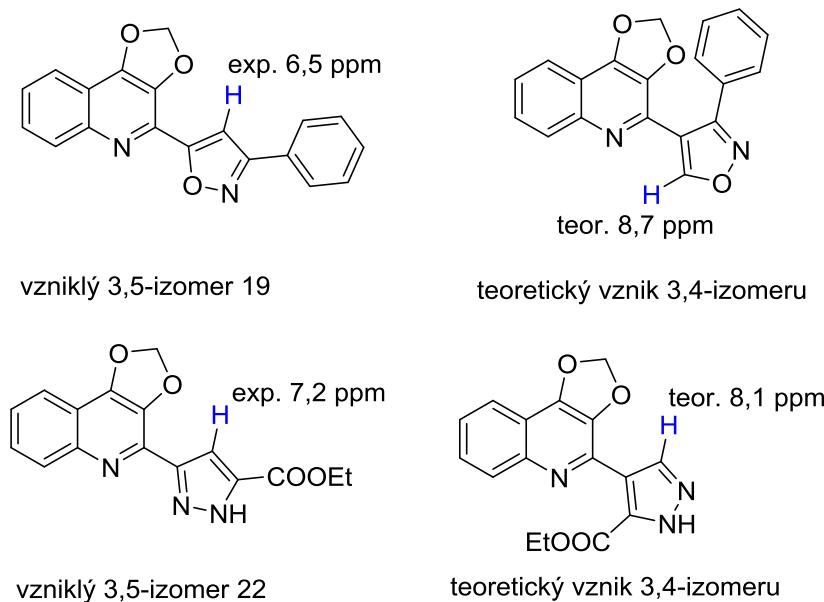
Obrázek 8a. Struktura sloučeniny **12a** a interakce v NOESY NMR spektru.



Obrázek 8b. Struktura sloučeniny **12a** a interakce v NOESY NMR spektru.

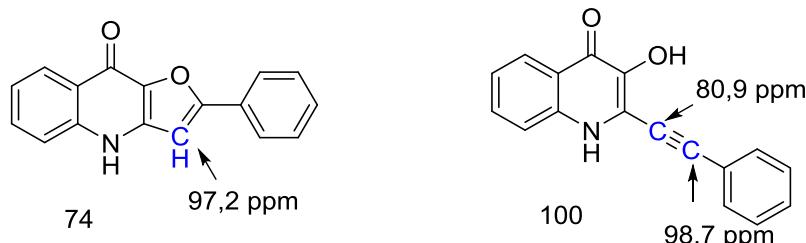
Vznik 3,5-izoméru isoxazolu **19**, resp. pyrazolu **22**, byl určen pomocí hodnoty posunu vodíku na nově vzniklém heterocyklu. Pokud by vznikaly opačné 3,4-izomery, vodík by

pak byl, díky elektronovým vlivům sousedního heteroatomu kyslíku, resp. dusíku, posunut k vyšším ppm (Obrázek 9).



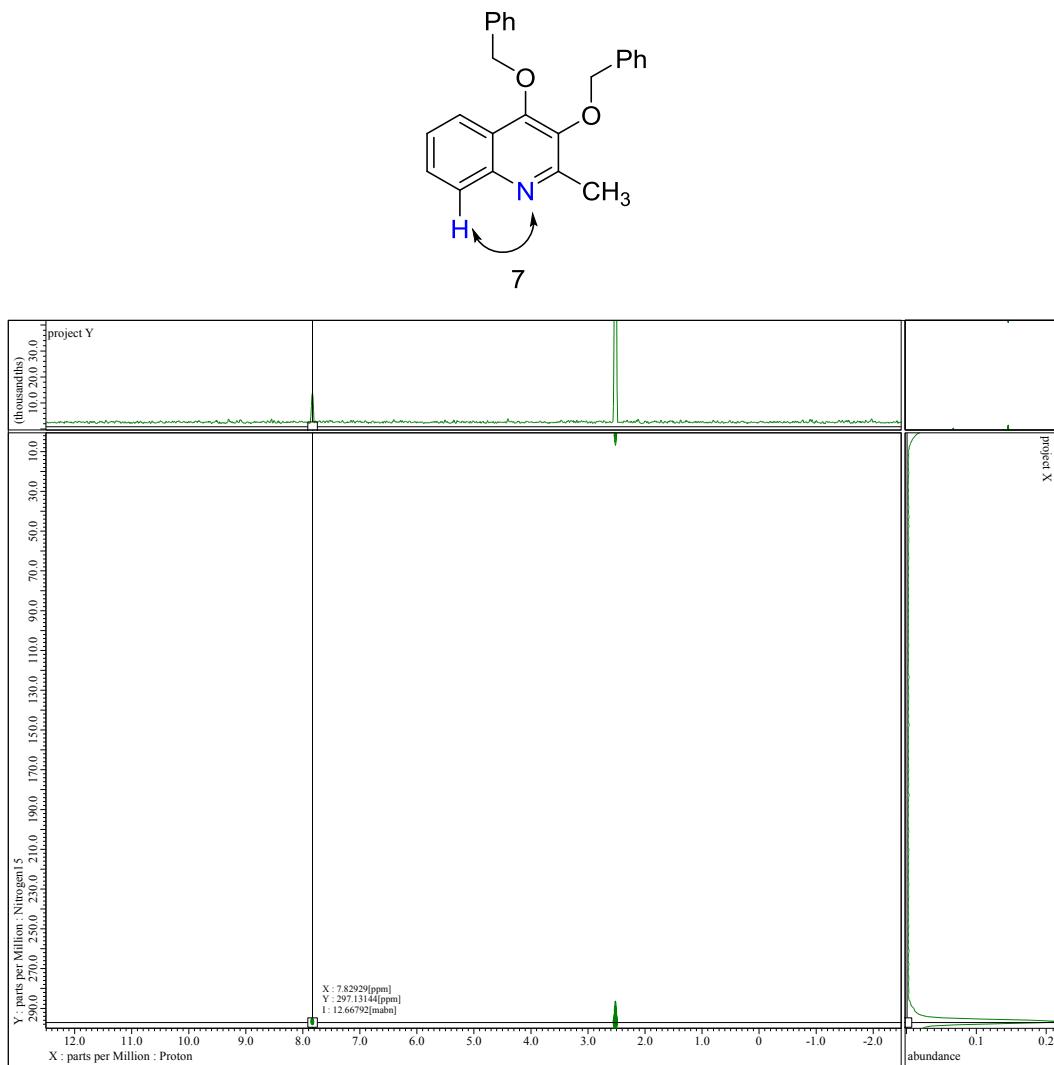
Obrázek 9. Struktury a hodnoty chemických posunů vodíku příslušných izomerů.

V kapitole 4.5 je diskutován vznik furo[3,2-*b*]chinolonů namísto 2-alkynyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Struktura těchto látek, které mají stejnou molekulovou hmotnost, byla určena pomocí rozdílnosti v chemických posunech ^{13}C NMR spektra, např. látky **74** a **100** (Obrázek 10).

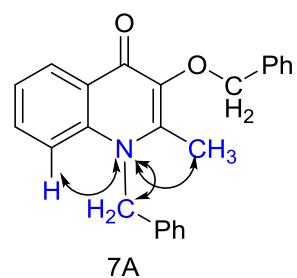


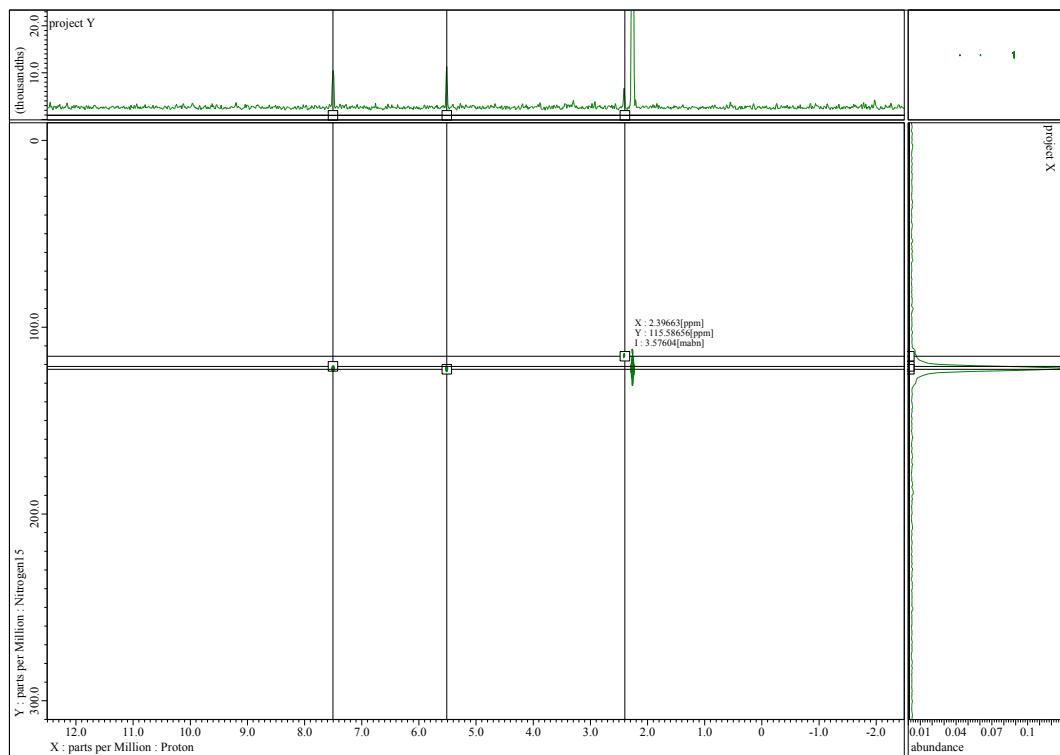
Obrázek 10. Struktura látek **74** a **100** a jejich rozlišení na základě ^{13}C NMR spektra.

Při benzylaci chinolonu **3** vznikal majoritně jeden izomer. Dle N-H HMBC spekter bylo zjištěno, že se jedná o *O,O*-dibenzyl izomer **7**, jelikož byla pozorována interakce pouze aromatického dusíku a sousedního vodíku. Naopak, u minoritního *N,O*-dibenzyl izomeru **7A**, byla interakce dusíku s benzylovou CH₂- skupinou, dále sousedního vodíku a také methyl skupiny (Obrázek 11 a 12).



Obrázek 11. Struktura a N-H HMBC NMR spektrum látky 7.





Obrázek 12. Struktura a N-H HMBC NMR spektrum látky **7A**.

5 Výsledky biologického testování

5.1 Antimikrobiální testování

Jelikož je chinolonový skelet přítomen v mnoha antibakteriálních léčivech,¹³⁸ byly připravené chinoliny, resp. chinolony testovány na antimikrobiální aktivitu na dostupných G+ a G- kmenech (*B. Subtilis*, *M. Luteus*, *Staphylococcus aureus*, *M. Vaccae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. Coli*). Navíc, i u sloučenin typu furochinolinů byly mimo jiné zjištěny antibakteriální vlastnosti,^{139,140} proto byly testovány i připravené furo[3,2-*b*]chinolony. Téměř žádný z derivátů však nevykazoval významnou antimikrobiální aktivitu, s výjimkou čtyř připravených glykokonjugátů (**15a**, **15c**, **15d** a **15f**) a alkynů **6** a **9**. U látek **15a**, **15c** a **15d** byla zjištěna mírná antimikrobiální aktivita vůči G+ bakteriálním kmenům *M. luteus* a *B. subtilis* IC₁₀₀ = 100-200 µM.

Navíc byly všechny připravené glykokonjugáty i výchozí alkyny testovány na antimikrobiální aktivitu vůči speciálnímu kmenu *Paenibacillus larvae* (*P. larvae* CCM 4483, CCM 4486). Tato gram-pozitivní bakterie způsobuje tzv. mor včelího plodu, jednu z nejzávažnějších včelích chorob. Syntézou látek, které by působily selektivně na bakterii *P. larvae*, se zabývá Slovenská Akadémia Vied, kde byly otestovány připravené triazolo-sacharidové chinoliny, resp. chinolony. Sloučeniny **15a**, **15c**, **15f** i oba výchozí alkyny **6** a **9**, vykazovaly vůči této bakterii alespoň mírnou aktivitu. U sloučeniny **15d**, mající jako sacharidovou jednotku xylopyranosyl, byla naměřena nejlepší aktivita IC₁₀₀ = 50 µM (Tabulka 8).

Tabulka 8. Výsledky antimikrobiální aktivity vybraných látek.

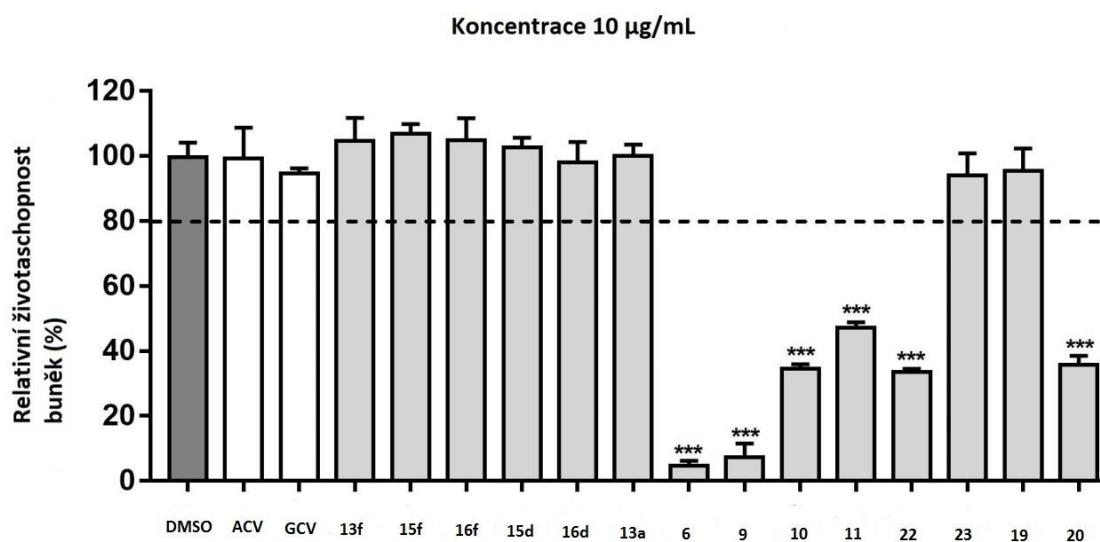
Sloučenina	<i>P. larvae</i> CCM 4483	<i>P. larvae</i> CCM 4486	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>
	IC 100 (μM)			
6	> 200	> 400	> 400	> 200
9	> 100	> 400	> 400	> 400
13a	> 400	> 400	> 400	> 400
13b	> 400	> 400	> 400	> 400
13c	> 400	> 400	> 400	> 400
13d	> 400	> 400	> 400	> 400
13e	> 400	> 400	> 400	> 400
13f	> 400	> 400	> 400	> 400
15a	200	200	200	200
15b	> 400	> 400	400	> 400
15c	200	200	> 200	> 200
15d	50	50	100	100
15e	> 400	> 400	> 400	> 400
15f	200	> 400	> 400	> 400
16a	> 400	> 400	> 400	> 400
16b	> 400	> 400	> 400	> 400
16c	> 400	> 400	> 400	> 400
16d	> 400	> 400	> 400	> 400
16e	> 400	> 400	> 400	> 400
16f	> 400	> 400	> 400	> 400

5.2 Antivirové testování

V literatuře byly nalezeny deriváty chinolinů, resp. chinolonů, které vykazovaly antivirové účinky, především proti chřipkovému viru A.^{141–147} Navíc, byly v naší výzkumné skupině již dříve připraveny 2-(hetero)aryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-ony,¹⁶ které byly na pracovišti Akademie věd České republiky pod vedením prof. De Clercq a testovány proti viru kravských neštovic. Zajímavá byla aktivita např. 2-thienyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onu, který působil selektivně vůči tomuto viru. Bohužel tato data nejsou nikde publikována.

Na základě výše zmíněných informací, byla stanovena antivirová aktivita u syntetizovaných sloučenin, přičemž virové kmeny byly voleny podle dostupnosti. Stěžejní bylo navázání spolupráce s Virologickým ústavem Slovenské Akademie Vied, kde probíhalo samotné testování. První série čtrnácti sloučenin byla testována vůči gammaherpes viru (MHV-68). Obecně by testované sloučeniny neměly nijak ovlivňovat

životaschopnost zdravých buněk, proto bylo nejprve provedeno měření cytotoxicity látek pomocí MTT testu. Jako kontrolní standard sloužil nejen DMSO, ve kterém se provádělo měření, ale také dvě komerčně používaná léčiva Acyklovir (ACV) a Gancyklovir (GCV). Z naměřených dat (Graf 1) je vidět, že viabilita buněk byla snížena působením látek **6,9, 10, 11, 22 a 20**. Tyto sloučeniny byly proto vyřazeny a nebyly testovány na zvoleném viru.



Graf 1. Stanovení životaschopnosti buněk vůči testovaným látkám pomocí MTT testu.

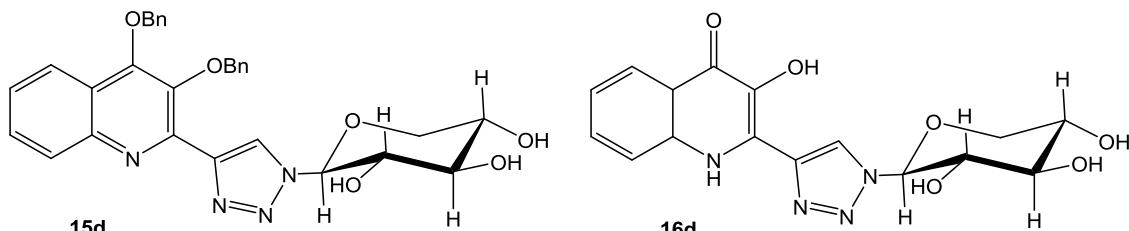
Samotné testování zbývajících sloučenin probíhalo na Vero buňkách ošetřené virem MHV-68 při koncentraci 10 µg/mL. Získaná data odhalila významnou antivirovou aktivitu sloučeniny **15d**. Měření aktivity bylo provedeno dvěma různými metodami – plakovou eseji a tzv. luciferázovou eseji. Výsledky obou metod se dají považovat za srovnatelné, přičemž byla aktivita sloučeniny **15d** na těchto dvou esejích velmi podobná komerčně používaným léčivům. Při podrobnějším testování látky **15d** byla pomocí MTT testu stanovena hodnota CC50 19,12 µg/mL, což značí mírnou cytotoxickou aktivitu. Důležitou hodnotou při hledání nových antivirovitik je tzv. index selektivity (SI), tedy poměr mezi cytotoxicitou a inhibicí viru. Hodnota SI by měla být v rozmezí 100 až 1000, aby mělo smysl danou látku testovat *in vivo*. Ačkoliv měla připravená sloučenina hodnotu IC50 = 1,76 µg/mL, index selektivity byl podstatně snížen vlivem hodnoty CC50 a látka tak nebyla dále testována na zvířecím modelu. (Tabulka 9). Detailnější popis výsledků je uveden v publikaci¹⁴⁸ (viz Příloha D).

Tabulka 9. Přehled výsledků měření biologické aktivity sloučeniny **15d**.

Sloučeniny	MTT esej		Plaková esej		Luciferázová esej	
	CC ₅₀	IC ₅₀	SI	IC ₅₀	SI	
	($\mu\text{g/mL}$) ^a	($\mu\text{g/mL}$) ^a		($\mu\text{g/mL}$) ^a		
Acyklovir	> 250	1,431 ± 0,097	> 175	0,493 ± 0,041	> 507	
Gancyklovir	> 250	2,798 ± 0,316	> 89	0,724 ± 0,056	> 345	
15d	19,12 ± 0,954	4,875 ± 0,594	4	1,760 ± 0,321	11	

^a Hodnoty představují průměr ± SD dvou nezávislých experimentů. CC₅₀ = koncentrace potřebná ke snížení životoschopnosti buněk o 50 %; IC₅₀ = koncentrace potřebná ke snížení tvorby plaků nebo aktivity luciferázy o 50 %; SI = index selektivity (poměr CC₅₀/IC₅₀)

Z hlediska vztahů mezi strukturou a aktivitou bylo zajímavé zjištění, že antivirový účinek vykazovala pouze látka **15d**, mající na kyslících benzylové skupiny (Obrázek 13). Derivát **16d**, vzniklý debenzylací látky **15d**, však nevykazoval žádnou aktivitu.



Obrázek 13. Struktury sloučenin **15d** a **16d**.

Tyto výsledky vedly k představě, že v mechanismu účinku inhibice gammaherpes viru (MHV-68) hraje roli přítomnost benzylových skupin. Byla tedy připravena další série benzylovaných derivátů (sloučeniny **83-98**), obsahujících aryl nebo heteroaryl v poloze C2. Vedle toho byly pro srovnání testovány také deriváty s methylendioxy můstkem připravené dříve (**54-71**). Zmíněné látky měly být původně testovány opět vůči MHV-68 virus. Bohužel, spolupráce s oddělením disponujícím tímto virem již nebyla z finančních důvodů možná.

Podařilo se však navázat spolupráci s jiným oddělením, kde měli k dispozici dva typy chřipkového viru A, a to kmen A/PR/8 (podtyp H1N1), který způsobuje infekci u lidí a

kmen A/Chicken/Weybridge (podtyp H7N7), známý jako tzv. „ptačí chřipka“, vyskytující se u zvířat. Poměrně rozsáhlé testování trvající několik měsíců zahrnovalo stanovení viability buněk, cytotoxicity, *in vitro* testování pomocí plakové eseje a *in vivo* testování na kuřecích embryích. Aktivně jsem se účastnila testování v poslední fázi na kuřecích embryích, které bude podrobněji popsáno v následujících odstavcích.

Nové série testů byly zahájeny opět stanovením cytotoxicity látek pomocí MTT testu. Cytotoxický efekt na buňky byl sledován při stejných koncentracích (0,5; 1; 5 a 10 µg/mL), které byly používány i při *in vitro*, resp. *in vivo* testech a výsledky jsou shrnutý v Tabulce 10. Jsou zde také výsledky změny morfologie buněk, které korespondovaly s naměřenou cytotoxicitou. Morfologické změny na buňkách byly sledovány pomocí mikroskopie.

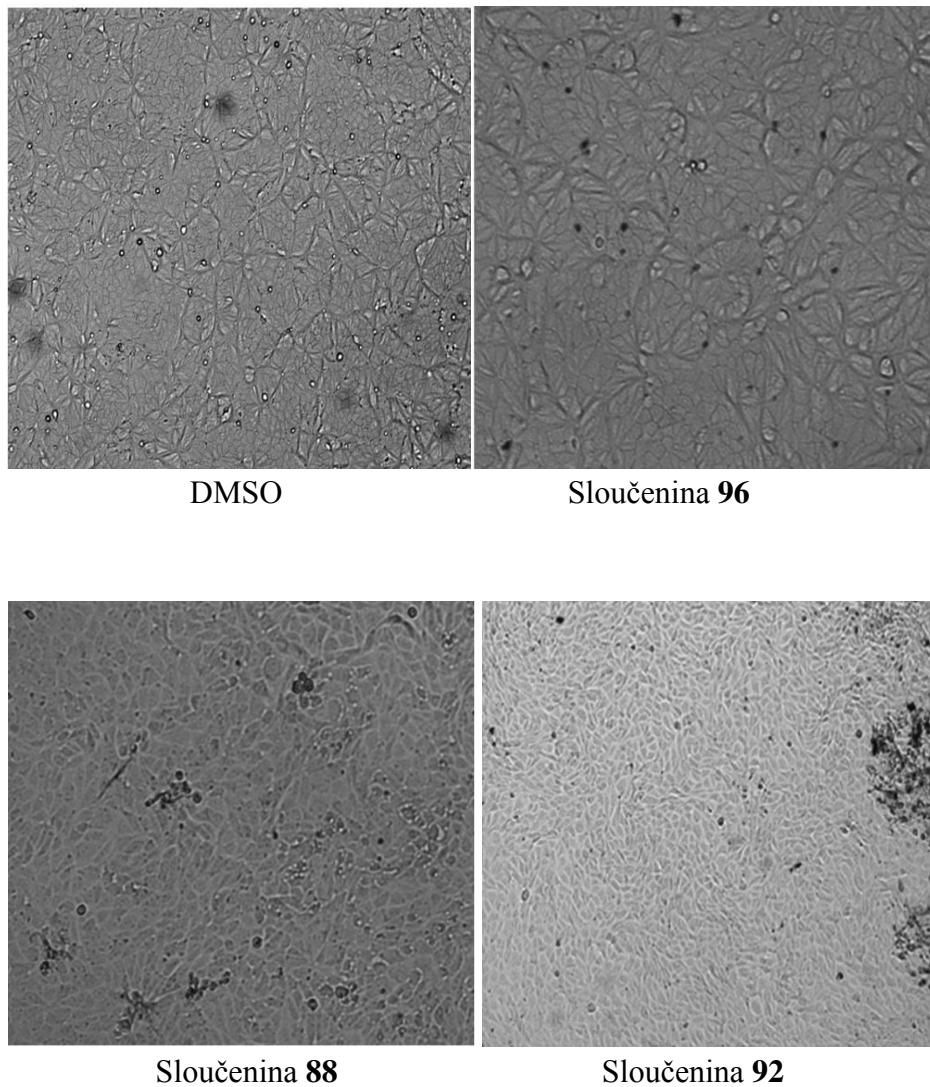
Tabulka 10. Výsledky měření cytotoxicity a změn morfologie buněk.

Sloučenina	Cytotoxicita (µg/mL)	Změna morfologie buněk (µg/mL)
54	5-10	-
55	10	-
56	10	10
57	-	-
58	-	-
59	10	1-10
60	-	5-10
61	10	-
62	5-10	5-10
63	1-10	-
64	5-10	1-5
65	1-10	1
66	0,5-10	5
67	5-10	5
68	5-10	0,5-1
69	5-10	1-5
70	5-10	-

Pokračování Tabulky 10.

Sloučenina	Cytotoxicita ($\mu\text{g/mL}$)	Změna morfologie buněk ($\mu\text{g/mL}$)
71	1-10	5
83	5-10	10
84	10	5-10
85	-	0,5-10
86	5-10	5-10
87	-	-
88	-	5-10
89	-	-
90	-	-
91	-	-
92	10	-
93	10	5-10
94a	-	10
95	10	10
96	-	5-10
97	10	-
98	10	-

Většina benzylovaných derivátů byla cytotoxická až při nejvyšší koncentraci 10 $\mu\text{g/mL}$. Naproti tomu deriváty se stejnou substitucí v poloze C2, ale s methylenovým můstekem vykazovaly cytotoxicitu i při koncentracích 1 $\mu\text{g/mL}$. U vybraných benzylovaných derivátů jsou přiloženy snímky z mikroskopie, kde byla pozorována změna morfologie buněk při koncentraci 5 $\mu\text{g/mL}$ (Obrázek 14). Ve srovnání s kontrolou buněk v DMSO, byly největší změny pozorovány po přídavku látky **88** (v poloze C2 acetofenon), kdy buňky získaly více zakulacený tvar. Vlivem látky **92** (v poloze C2 selenofen) docházelo ke vzniku drobnějších buněk. Naopak přídavek látky **96** (v poloze C2 *N*-methylbenzimidazol) neměl na morfologii buněk žádný vliv. Vzhledem k různým výsledkům a rozmanitosti substituentů v poloze C2 nebyl vysledován žádný trend, který by pomohl vysvětlit tak rozdílné působení vůči zdravým buňkám.



Obrázek 14. Fotografie buněk bez přídavku nebo s přídavkem sloučenin.

Pro zajímavost byly testovány i připravené furo[3,2-*b*]chinolony, kde byla naměřena cytotoxicita pouze u dvou látek **80** (10 µg/mL) a **73** (5-10 µg/mL) a žádná z látek neměla vliv na morfologii buněk.

Následné testování *in vitro* bylo provedeno pomocí plakové eseje na MDCK buňkách, ke kterým byl přidán virus Weybridge (H7N7) spolu se syntetizovanými sloučeninami při koncentracích 0,5; 1; 5 a 10 µg/mL. Testovány byly i dříve připravené triazolo-sacharidy (**15d**, **16d**, **15f**, **16f**), kdy nás zajímaly především výsledky u látky **15d**, která byla aktivní vůči MHV-68 viru. Z měření bylo vyhodnoceno, že většina sloučenin nezpůsobuje inhibici viru. *In vitro* testování je však pouze první orientační informací a v živém organismu se látky mohou chovat jinak. I přes nepříliš povzbudivé první

výsledky tak bylo přistoupeno k *in vivo* testům, které se obvykle provádí na kuřecích embryích.

Nejprve byl proveden test toxicity připravených sloučenin. K desetidenním kuřecím embryím byly přidány sloučeniny v koncentraci $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ a embrya byla inkubována 15 dní při 37°C . Poté se vyhodnotilo, jestli jsou embrya vyvinutá a živá. Všechna embrya přežila, což znamená, že sloučeniny nemají toxický efekt na živý organismus.

Dalším krokem bylo testování látek s přídavkem virů, kterého jsem se aktivně účastnila. Nejprve bylo potřeba zkontolovat, jestli se při inkubaci (10 dní, 37°C) vyvinula kuřecí embrya. Vejce bylo prosvíceno paprskem světla a zárodek byl pozorován přes skořápku. Místo, ve kterém se zárodek nacházel, bylo označeno, aby nedošlo k jeho poškození při dávkování viru. Pro testování bylo potřeba více jak 500 embryí, jelikož látky byly aplikovány při čtyřech koncentracích, přičemž jedna látka byla vždy testována dvakrát, kdyby došlo např. ke kontaminaci zárodku. Byly připraveny zásobní roztoky sloučenin, které byly dále rozředěny na příslušné koncentrace (Obrázek 15). Oba použité viry byly naředěny dle pracovního postupu na koncentrace $c = 10^{-9} \text{ M}$ (A/PR/8/34) a $c = 10^{-8} \text{ M}$ (Weybridge).



Obrázek 15. Vzorky připravené k testování.

Do připravených vajec byl nejprve udělán otvor, kterým byl do alantoické tekutiny pomocí injekční stříkačky nadávkován virus spolu s testovanou látkou (Obrázek 16). Otvor byl uzavřen voskem a embrya byla inkubována dle přidávaného typu viru 24 h při 35°C (Weybridge) nebo 48 h při 37°C (A/PR/8/34).



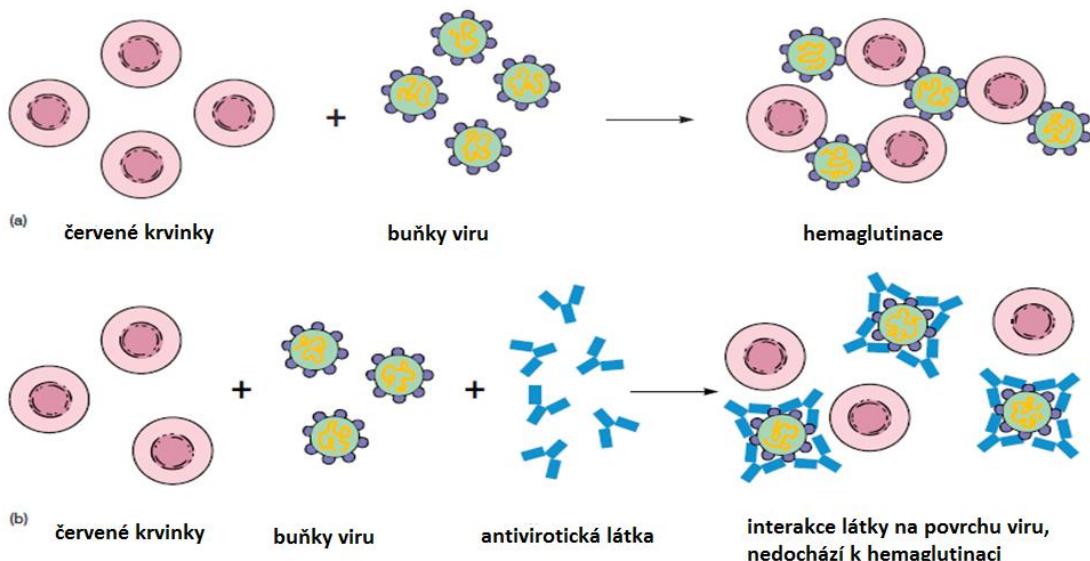
Obrázek 16. Ošetření embryí virem spolu s testovanou látkou.

Poté byla embrya ochlazena na laboratorní teplotu a byl proveden odběr alantoické tekutiny (Obrázek 17).



Obrázek 17. Odběr alantoické tekutiny.

Alantoická tekutina byla testována pomocí hemaglutinačního testu (HT).¹⁴⁹ Principem tohoto testu je interakce aglutininového receptoru na povrchu červených krvinek s hemagglutininem na povrchu virionu, kdy dochází k hemagglutinaci. Pokud je v séru přítomna látka, která interahuje s proteiny na povrchu virionu, k hemagglutinaci nedochází (Obrázek 18). Je však nutné dodat, že hemaglutinační test není jedinou metodou pro měření antivirového efektu. Existuje řada jiných mechanismů inhibice virů, které mohou být stanoveny jinými metodami. Hemaglutinační test byl zvolen dle dostupnosti a financí.



Obrázek 18. Princip hemagglutinačního testu.¹⁵⁰

Experiment byl proveden na 96 jamkové destičce, která obsahovala alantoickou tekutinu s přidanými erytrocyty (lidské RH 0-) v daných koncentracích. Samotný virus měl hodnotu titru HT = 1000 (A/PR/8/34) nebo HT = 500 (Weybridge). Výsledky měření uvádí Tabulky 11 a 12.

Tabulka 11. Výsledky hemagglutinačního testu s virem Weybridge.

Sloučenina	Hodnoty HT při daných koncentracích látek ($\mu\text{g/mL}$)			
	0,5	1	5	10
15f	200	400	200	200
60	100	200	50	50
61	200	400	50	400
83	100	100	100	100
85	100	400	200	400
86	100	100	100	100
88	400	800	200	200
89	400	400	400	400
94a	400	400	400	400
96	400	400	200	200
Kontrola Weybridge	500			

Tabulka 12. Výsledky hemaglutinačního testu s virem A/PR/8/34.

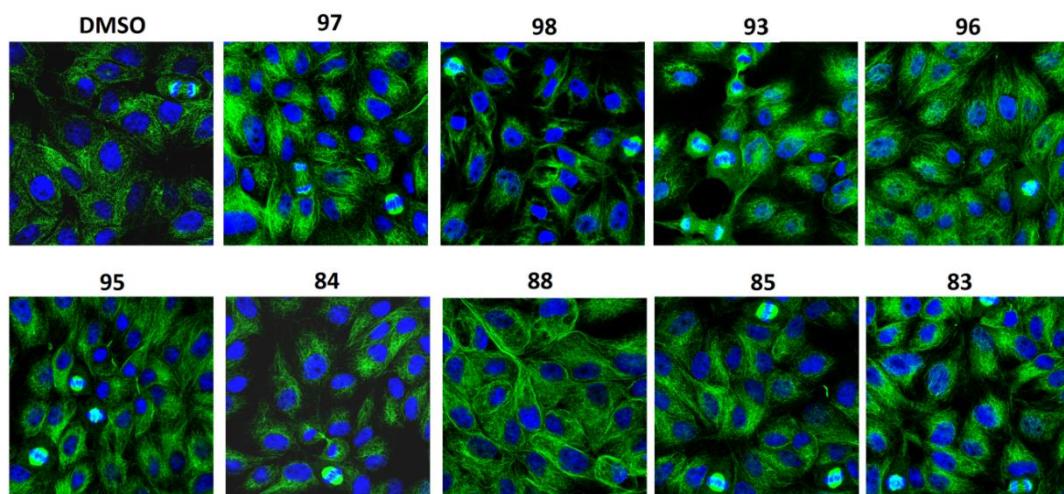
Sloučenina	Hodnoty HT při daných koncentracích látek ($\mu\text{g/mL}$)			
	0,5	1	5	10
15d	500	1000	1000	1000
15f	1000	1000	1000	1000
16d	1000	1000	1000	1000
16f	1000	1000	1000	1000
54	1000	1000	1000	1000
55	1000	1000	1000	1000
56	1000	1000	1000	1000
57	-	1000	1000	1000
58	1000	1000	1000	1000
59	1000	1000	1000	1000
60	1000	1000	1000	1000
61	500	1000	1000	1000
62	1000	1000	1000	1000
63	1000	1000	1000	-
64	-	1000	1000	< 1000
65	1000	1000	1000	1000
66	250	250	250	250
67	500	1000	1000	1000
68	1000	1000	1000	1000
69	1000	1000	1000	1000
70	1000	1000	1000	1000
71	1000	1000	1000	1000
73	1000	1000	1000	1000
74	1000	1000	1000	1000
75	1000	1000	1000	1000
76	2000	2000	2000	< 2000
77	1000	1000	1000	1000
78	1000	1000	1000	1000
79	1000	1000	1000	1000
80	1000	1000	1000	500
81	1000	1000	1000	1000
82	125	500	500	500
83	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000
84	1000	1000	1000	1000
85	1000	1000	1000	< 1000
86	1000	1000	1000	1000
87	1000	1000	1000	1000
88	1000	1000	1000	1000
89	1000	1000	1000	< 1000
90	1000	500	1000	1000
91	1000	1000	1000	1000
92	1000	1000	1000	-
93	1000	1000	1000	1000

Pokračování Tabulky 12.

Sloučenina	Hodnoty HT při daných koncentracích látek ($\mu\text{g/mL}$)			
	0,5	1	5	10
94a	500	125	500	500
95	-	-	-	-
96	-	< 1000	< 1000	1000
97	1000	1000	1000	-
98	1000	1000	1000	1000
Kontrola PR/8/34	HT 1000			

Ačkoliv byl u některých látek zaznamenán pokles hodnoty HT, spolu s mírnou cytotoxicitou a změnami na buňkách nebyl jednoznačně prokázán antivirový efekt vůči chřipkovým virům. Je však nutné dodat, že testované sloučeniny mohou působit antivirovým efektem, ale jiným mechanismem, který by bylo nutné prokázat řadou dalších testů.

Kromě antivirových účinků byl blíže zkoumán i vliv na zdravé buňky. Jak bylo uvedeno výše, některé látky způsobovaly změnu morfologie buněk. Proto byla u nejzajímavějších látek provedena fluorescenční mikroskopie. Experiment probíhal na MDCK buňkách se značeným tubulinem, ke kterým byly přidány vybrané látky o koncentraci 5 $\mu\text{g/mL}$. Z výsledků měření lze říci, že měřené látky mají vliv na množství a distribuci tubulinu v buňkách a některé dokonce na dělení buněk. Jako kontrola byl použit DMSO, kde můžeme vidět jednu dělící se buňku. Buňky nijak neovlivnil přídavek látky **96**. K většímu dělení docházelo po přídavku látky **93**, naopak látka **88** inhibovala buněčné dělení. (Obrázek 19).



Obrázek 19. Fotografie z fluorescenční mikroskopie vybraných látek

6 Závěr

V disertační práci jsou uvedeny čtyři nové syntetické cesty vedoucí k přípravě 2-heterocyklických-3-hydroxychinolin-4(1H)-onů. 1,3-Dipolární cykloadice, Sonogashira cross-coupling a kondenzační reakce aldehydů, vedly k přípravě cílových derivátů. CuAAC „click“ reakce byla využita např. pro syntézu chinolonů s *N*-glykosyl-triazoly, přičemž zde byla klíčová volba protektivní skupiny. Připravené sloučeniny s methylenedioxy můstkem (**13a-f**) nebylo možné převést na 3-hydroxychinolin-4(1H)-ony, jelikož při deprotekčním kroku docházelo přednostně k deglykosylaci. Finální sloučeniny (**16a-f**) byly připraveny hydrogenolyticky z bis-3,4-*O*-benzyl intermediátů (**15a-f**). Kromě triazolů byl pomocí CuAAC reakce připraven také jeden isoxazolový derivát (**20**) a termickou Huisgenovou 1,3-dipolární cykloadicí jeden pyrazolový derivát (**25**). Vyjma využití alkynyllových derivátů (**6** a **9**) jako dipolarofilů při cyklizačních reakcích, sloužily tyto intermediáty jako výchozí komponenty při Sonogashira cross-couplingu. Touto metodou bylo do polohy C2 zavedeno devět různých heterocyklů a také aromátů substituovaných elektronakceptorními a elektronondonorními funkčními skupinami. Deprotekce benzylovaných intermediátů **83-98** na cílové chinolony byla provedena dvěma různými metodami. Debenzylace s chloridem boritým ve většině případů poskytla směsi látok, proto se takto podařilo získat pouze čtyři produkty. Druhá metoda, debenzylace vodíkem, vyžadovala použití Pearlmanova katalyzátoru a nebyla kompatibilní s heterocykly, obsahující síru a selen, proto bylo získáno sedm produktů. Při deprotekci derivátů **54-71** s methylenovým můstkem pomocí MSA bylo zjištěno, že dochází k cyklizaci, a místo očekávaných 3-hydroxychinolin-4(1H)-onů vznikaly furo[3,2-*b*]chinolony (**73-82**). Vyvinutá metodika byla publikována.¹³⁶ Poslední úspěšnou metodou syntézy 2-heterocyklických chinolonů byla kondenzace aldehydického intermediátu **8** s *o*-substituovanými aminy za vzniku benzimidazolů, benzoxazolů a jednoho zástupce benzothiazolu (**29-44**). Výhodou této metody byla jednoduchost provedení (zahřívání v anisolu) a široká aplikovatelnost na různě substituované výchozí látky. Nevýhodou byly naopak průměrné výtěžky kolem 50 % (nejvyšší 80 %) a v některých případech byly izolovány produkty ve stopovém množství (4 %). Navíc metoda nefungovala s alifatickými aminy. Deprotekce byla provedena s chloridem boritým, kdy se podařilo izolovat v dostatečné čistotě devět sloučenin (**45-53**). Tyto sloučeniny však byly tak nerozpustné, že se nepodařilo naměřit analytická data (¹³C-NMR) k jejich plné charakterizaci.

U připravených sloučenin byla provedena měření antibakteriální a antivirové aktivity. Nejzajímavější biologickou aktivitu vykazovala sloučenina **15d** obsahující v poloze C2 triazolo-xylosový zbytek. Byla aktivní vůči speciálnímu bakteriálnímu kmeni *P. larvae* IC₁₀₀ = 50 µM. Navíc také vykazovala aktivitu vůči gammaherpes viru MHV-68, srovnatelnou s komerčně používanými léčivy. Současný cytotoxický efekt však snížil index selektivity (SI = 11) a látka tak nebyla vhodným kandidátem pro *in vivo* testování. Ve srovnání s tím sloučenina **16d**, která neobsahovala benzylové protektivní skupiny, žádné biologické účinky nevykazovala. Tyto výsledky byly rovněž publikovány.¹⁴⁸ Nabízela se teorie, že by benzylové skupiny na chinolonu mohly být důležité pro biologickou aktivitu tohoto typu sloučenin. Série benzylovaných alkynyl derivátů připravených Sonogashira cross-couplingem (**83-98**) byla proto testována jak vůči G+/-bakteriálním kmenům, tak vůči chřipkovému viru A. Žádná významná biologická aktivita však nalezena nebyla. Vedle toho byly pro srovnání testovány i zbývající deriváty s methylendioxy můstkem (**54-71**) stejně jako furo[3,2-*b*]chinolony (**73-82**), ale opět nebyla nalezena žádná zajímavá biologická aktivita. Mimo to byl u některých benzylovaných derivátů zjištěn efekt na morfologii a také dělení buněk. Konkrétně deriváty **85**, **93** a **95** způsobovaly jejich zvýšené dělení a naopak sloučenina **88** vyvolala inhibici buněčného dělení. Pro detailnější mechanismus účinku téhoto látek bude nutné provést další experimenty.

Během experimentální práce bylo připraveno celkem 138 nových sloučenin, z nichž 41 byly 2-(hetero)aryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-ony. Mimo to jsem se aktivně podílela i na poměrně rozsáhlém antivirovém testování.

7 Experimentální část

7.1 Materiál a metody

Reakce byly monitorovány pomocí tenkovrstevné chromatografie (TLC) na deskách Kieselgel 60_{F254} (Merck). Sloučeniny byly vizualizovány pod UV lampou (254/365 nm) a/nebo ponořením TLC desky do roztoku H₂SO₄ v ethanolu (20% v/v) s následným zahříváním nad horkovzdušnou pistolí.

Sloupcová chromatografie byla provedena na silikagelu (VWR, 40-63 µm). Mobilní fáze jsou uvedeny u každé sloučeniny.

Teploty tání byly měřeny na bodotávku VEB Analytik Dresden PHMK 78/1586 a nejsou korigovány.

Specifická otáčivost byla měřena na přístroji Atago Automatic Compact Polarimeter-POL-1/2 při 24 °C.

¹H-NMR a ¹³C-NMR spektra byla měřena na přístroji Jeol ECA400II (400 MHz) nebo Jeol ECX-500SS (500 MHz) při 23 °C a 80 °C. NMR spektra byla měřena v rozpouštědlech CDCl₃ nebo DMSO-*d*6. ¹H a ¹³C chemické posuny byly vztaženy ke střednímu signálu rozpouštědla: CDCl₃ (δ = 7,26 (¹H), δ = 77,1 (¹³C)) a DMSO-*d*6 (δ = 2,50 (¹H), δ = 39,52 (¹³C)). Přiřazení signálů bylo provedeno na základě změřených 2D experimentů HMBC, HMQC, COSY, ROESY/NOESY a N-H HMBC.

HPLC-HR-MS měření bylo provedeno na reverzní fázi (Dionex Ultimate 3000, Phenomenex Gemini, 50 x 2,00 mm, 3 µm částice, C18) s mobilní fází 80% acetonitril/20% pufr (0.01M octan amonný) při vlnové délce λ 254 nm. HR-MS spektrum bylo měřeno metodou ionizace ESI ve spojení s hmotnostním spektrometrem Fischer Scientific Exactive Plus Orbitrap pracujícím v pozitivním i negativním modu.

LC-MS analýza byla provedena na přístroji UPLC-MS s PDA detektorem a hmotnostním spektrometrem, s HESI (heated electrospray) a kvadrupólovým analyzátem s QDA detektorem, X-Select 18 kolonou, při 30 °C a průtoku 0.6 mL/min. Mobilní fází byl pufr (0.01M octan amonný) ve směsi s acetonitrilem, v různém poměru, dle měřených sloučenin. Analýza probíhala s gradientovou elucí.

7.2 Biologické testování

Experimentální provedení MTT tesu a testování vůči gammaherpes viru MHV-68 pomocí plakové a luciferázové eseje probíhalo na Virologickém ústavu Slovenské Akademie Vied (SAV) v Bratislavě. Metody jsou popsány v publikaci.¹⁴⁸

Měření antibakteriální aktivity vůči bakteriálnímu kmennu *Paenibacillus larvae* bylo provedeno na Chemickém Ústavu SAV Bratislava, experimentální postup je uveden v publikaci.⁸⁷ Testování vůči G+ a G- kmennů (*B. Subtilis*, *M. Luteus*, *Staphylococcus aureus*, *M. Vaccae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. Coli*) probíhalo na Katedře Organické Chemie, PřF, UP, postupem uvedeným níže.

Agarový difuzní test

Kultury testovaných organismů byly kultivovány v Luria-Bertani (LB) bujónu po dobu 18-24 h a standardní suspenze $\sim 1,5 \times 10^8$ cfu/mL byly připraveny ve sterilním fyziologickém roztoku (0,9% NaCl) podle BaSO₄ 0,5 McFarlandova standardu. Z této standardizované suspenze bylo 0,1 mL přidáno do 34 mL sterilního, roztaveného a temperovaného (47-50 °C) Mueller-Hinton agaru č. 2. Po mírném promíchání byl naočkovaný roztavený agar nalit do sterilní Petriho misky (145 mm x 20 mm, Greiner Bio-One) a ponechán ztuhnout vedle plamene s mírně pootevřenými víčky. Jamky o průměru 9 mm byly vyříznuty z agaru Petriho misky a naplněny 50 µL roztoku testovaného vzorku. Testovací roztoky byly připraveny v koncentraci 20 mM v DMSO a zředěny v MeOH, čímž byla získána konečná koncentrace 2 mM. Petriho miska byla inkubována při 37 °C po dobu 18-24 h a průměry inhibiční zóny byly měřeny (mm) pomocí elektronického posuvného měřítka po 24-48 h.

Stanovení MIC

Antibakteriální aktivita sloučenin byla stanovena měřením jejich MIC za použití metody mikrodiluce. Každá jamka 96 jamkové mikrotitrační destičky byla naplněna 50 µL sterilního železa s deficitem MH2. Každá testovaná sloučenina byla rozpuštěna v DMSO, čímž byl získán 10 mM roztok, a poté zředěn sterilním roztokem MH2 na 800 µM. Přesně 50 µL roztoku sloučeniny bylo přidáno do první jamky mikrotitrační destičky a v každé řadě destičky byla provedena dvojnásobná sériová ředění. Prekultura bakterií byla pěstována v LB bujónu přes noc při 37 °C. Ten byl zředěn na McFarlandův standard 0,5 (1,5 x 10⁸ cfu/mL) solným roztokem. 100 µL bakteriální

suspenze bylo dále zředěno 14,9 mL média MH2. Do každé jamky bylo přidáno přesně 50 μ L bakteriálního inokula (1 x 10⁶ cfu/mL), čímž se získal celkový objem 100 μ L/jamka, 5 x 10⁵ cfu/mL a koncentrační gradient sloučeniny 200-0,1 μ M. Destička byla inkubována při 37 °C a po 18 h byla každá jamka vizuálně vyšetřena na bakteriální růst. MIC byla zaznamenána jako nejnižší koncentrace sloučeniny, vyžadovaná k inhibici bakteriálního růstu. Ciprofloxacin byl zahrnut jako kontrola v koncentračním gradientu 5 μ g/mL-0,0025 μ g/l.

Testování antivirové aktivity bylo provedeno Virologickým Ústavem SAV v Bratislavě. Experimentální postupy jsou uvedeny níže.

Příprava buněk

MDCK (Madin-Darby Canine Kidney buňky, ATCC CCL-34) jsou modelové savčí buněčné linie používané v různých biomedicínských výzkumech. Buňky MDCK byly kultivovány v kompletním Eagleově minimálním esenciálním médiu (média EMEM) obsahujícím 10% fetální telecí sérum (FCS) a doplněné L-glutaminem (2 mM), penicilinem a streptomycinem (100 jednotek/mL). Buněčné kultury byly pěstovány v atmosféře zvlhčené 5% CO₂ při 37 °C. Pro cytotoxicitu a plakovou esej byly buňky primárně kultivovány na 12 jamkových destičkách. Mono-vrstvy byly připraveny kultivací přes noc při 37 °C ve zvlhčené atmosféře 5% CO₂ 1 den předem. Buňky byly po přidání jednotlivých sloučenin ve vhodných koncentracích kultivovány 24 h a následně bylo provedeno vyhodnocení pod mikroskopem (fotografie byla zachycena při každé koncentraci). Všechny životaschopné adherentní buňky byly spočítány, poté bylo médium odstraněno, buňky byly promyty PBS, ošetřeny Trypsin-EDTA a znova spočítány pro každou jamku.

Virově kultury

Pro testování antivirové aktivity konkrétní sloučeniny byly použity prototypové kmeny chřipkového viru Bro2a, A/PR/8/34 a Weybridge, které byly kultivovány v 10 denních kuřecích embryích. Zásoba viru byla připravena infekcí buněk MDCK při nízké multiplicitě infekce; buňky byly sklizeny po 96 hodinách, odstředěny, shromážděny supernatanty a titr viru byl stanoven plakovým testem.

Test antivirově aktivity

Mono-vrstva MDCK buněk (ve 12 jamkových destičkách) byla preinkubována po dobu 24 h s 0,5; 1; 5 a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ připravené sloučeniny. Buňky byly jednou promyty fyziologickým roztokem pufrovaným fosfáty (PBS) a poté infikovány chřipkovým A/PR/8/34 nebo Weybridge virem při multiplicitě infekce (MOI) 5 plakotvorných jednotek na buňku po dobu 1 h při teplotě místnosti. Po adsorpci byly buňky třikrát promyty PBS a potom kultivovány v MEM bez séra při 37 °C. 16 h po infekci byly buňky seškrábnuty a centrifugovány při 500 $\times g$ po dobu 2 min. Virové titry v supernatantech byly stanoveny na MDCK buňkách plakovým testem.

Plaková esej

Mono-vrstvy MDCK na 24 jamkových destičkách byly infikovány sériovým desetinásobným ředěním viru (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ; nebo 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7}) na základě dostupného virového titru. Po adsorpci byly buňky promyty PBS, k nimž byly přidány sloučeniny v médiu a samotný DMSO jako kontrola. Vše bylo překryto 0,5% karboxymethylcelulózou v MEM. Po 48 h byly buňky fixovány v 10% PBS-pufrovaném formalinu a plaky byly vizualizovány barvením krystalovou violetí.

Experiment na kuřecích embryích

Testované sloučeniny byly zředěny společně s virem tak, aby požadovaná koncentrace byla v konečném objemu 0,3 mL. Připravené roztoky byly injekovány do alantoické tekutiny embrya a inkubace byla buď 24 h, nebo 48 h na základě použitého viru.

Hemaglutinační test

Pro testování byly použity lidské krvinky skupina RH 0-. Na 4 mL krve byl přidán 1 mL sterilního citrátového roztoku (0.85 g NaCl, 5 g citrátu sodného, 100 mL vody). Roztok byl vychlazen na 4 °C a centrifugován 10 min při 900 rpm v předem vychlazené centrifuze. Poté byla odebrána plazma a sedimentované krvinky byly suspendovány v 5 mL 0.9% NaCl (sterilní). Následovalo promytí a centrifugace krvinek 3 x 10 min při 900 rpm. Získaný sediment byl naředěn na 10% suspenzi v 0.9% NaCl. Na samotný test byla z připravené 10% suspenze krvinek připravena 1% suspenze.

Samotný test probíhal v 96 jamkové destičce, kam byl přidán fyziologický roztok o pH 7.2 (dle ředění). Následně byla přidána alantoická tekutina o 4 koncentracích a nakonec

1% krvinky. Reakce trvala 1 hod v lednici, kdy se poté se odečítal titr v porovnání se standardem (titr Weybridge konc. 10^{-8} HT 500; titr A/PR/8/34 konc. 10^{-9} HT 1000).

7.3 Příprava sloučenin

Sloučeniny **2-6** byly připraveny v gramovém množství dle postupů z literatury.^{9,27}

3,4-Bis(benzyloxy)-2-methylchinolin (7).

Do suspenze výchozí látky **3** (10 g; 0,057 mol; 1 ekv.) v DMF (100 mL) byl přidán K_2CO_3 (39,4 g; 0,285 mol; 5 ekv.). Po 5 min míchání při RT byl během 10 min po kapkách přidán benzyl bromid (27,3 mL; 0,228 mol; 4 ekv.). Reakční směs byla zahřívána na teplotu refluxu po dobu 1,5 h. Vzniklý červený roztok byl zpracován nalitím do dest. H_2O (800 mL) a extrahován DCM (800 mL). Organická fáze byla vysušena $MgSO_4$, zfiltrována a odpařena na RVO. Surový produkt byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (hexan/EtOAC 7/1). Získaný žlutý olej byl následně vymíchán v diethyletheru (40 mL) při teplotě 0 - 5 °C po dobu 1 h. Vyloučená bílá krystalická látka byla odsáta při téže teplotě, promyta minimálním množstvím ledového diethyletheru a vysušena ve vakuové sušárně. Výtěžek 87 %, t.t. 39,5-42,5 °C. 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.49 (d, *J* = 7.3 Hz, 5H), 7.39 (t, *J* = 7.8 Hz, 6H), 5.36 (s, 2H, O-CH₂), 5.13 (s, 2H, O-CH₂), 2.55 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 157.0, 151.2, 145.1, 141.3, 136.6, 136.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 128.0, 125.6, 123.7, 121.5 (Ar), 74.6 (O-CH₂), 20.6 (CH₃); ESI-HRMS C₂₄H₂₁NO₂[M+H]⁺: teor. 356,1645; exp. 356,1646.

1-Benzyl-3-(benzyloxy)-2-methylchinolin-4(1*H*)-on (7A).

Sloučenina byla získána jako vedlejší produkt při izolaci sloučeniny **7** sloupcovou chromatografií. 1H NMR (500 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.31 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H), 7.53-7.59 (m, 2H), 7.42 (dd, *J* = 7.7, 1.4 Hz, 2H), 7.30-7.36 (m, 6H), 7.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 7.4 Hz, 2H), 5.55 (s, 2H, O-CH₂), 5.13 (s, 2H, N-CH₂), 2.29 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.7, 145.6, 139.4, 138.2, 137.4, 136.4, 131.6, 128.9, 128.9, 128.2, 127.9, 127.3, 126.2, 125.6, 125.3, 122.7, 116.9 (Ar), 72.3 (O-CH₂), 49.8 (N-CH₂), 13.8 (CH₃); ESI-HRMS C₂₄H₂₁NO₂[M+H]⁺: teor. 356,1645; exp. 356,1645.

3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-karbaldehyd (8).

Do vysušené 250 mL dvouhrdlé baňky s kulatým dnem byla předložena výchozí látka **7** (4,3 g; 0,012 mol; 1 ekv.). Látka byla rozpuštěna v suchém THF (50 mL) a ke vzniklému roztoku byl přidán SeO₂ (2,01 g; 0,018 mol; 1,5 ekv.). Baňka byla opatřena chladičem s CaCl₂ uzávěrem a reakční směs byla zahřívána při teplotě refluxu 30 min. Po ochlazení na RT byl THF odpařen na RVO. Odperek byl vyvařen s DCM (3 x 30 mL) a vzniklý roztok zfiltrován přes skelný filtr. Filtrát byl odpařen na RVO a produkt byl izolován sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1) za vzniku červeného produktu. Ten byl následně rozpuštěn a zfiltrována za horka z cyklohexanu s akt. uhlím (10 hm. %) a po ochlazení byla izolována světle oranžová práškovitá látka **8**. Výtěžek 68 %, t.t. 81 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 10.22 (s, 1H, COH), 8.11 (t, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.80 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.69 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 2H), 7.47 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 2H), 7.35-7.43 (m, 6H), 5.45 (s, 2H, O-CH₂), 5.20 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 191.2 (HCO), 154.0, 148.7, 145.1, 142.6, 136.3, 136.2, 129.8, 129.7, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 128.4, 125.7, 122.0 (Ar), 76.4 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₄H₁₉NO₃ [M+H]⁺: teor. 370,1438; exp. 370,1441.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-ethynylchinolin (9).

K roztoku čerstvě připraveného Bestmann-Ohirova činidla (1,6 g; 8,32 mmol; 1,2 ekv.) v metanolu (50 mL) byl přidán K₂CO₃ (3,38 g; 0,024 mol; 3,5 ekv.) a aldehyd **8** (2,56 g; 6,93 mmol; 1 ekv.). Reakční směs byla míchána po dobu 1 h při RT (kontrola dle TLC hexan/EtOAc 2/1). Poté bylo upraveno pH ~ 7 pevným NH₄Cl, reakční směs byla naředěna 250 mL dest. H₂O a extrahována EtOAc (220 mL). Organická fáze byla vysušena MgSO₄, zfiltrována a odpařena na RVO. Surový produkt ve formě hnědého oleje byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (hexan/EtOAc 2/1). Nažloutlý olej byl vymíchán v diethyletheru při teplotě 0 - 5 °C po dobu 1 h. Vyloučená nažloutlá krystalická látka byla odsáta, promyta minimálním množstvím ledového hexanu a vysušena ve vakuové sušárně přes noc. Výtěžek 50 %, t.t. 76 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.03 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.55-7.60 (m, 3H), 7.36-7.48 (m, 8H), 5.43 (s, 2H, O-CH₂), 5.22 (s, 2H, O-CH₂), 4.70 (s, 1H, C-H alkyn); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.2, 145.5, 143.1, 140.6, 136.4, 136.3, 129.3, 128.6, 128.5, 128.4, 128.4, 127.4, 124.1, 121.8 (Ar), 84.9 (-C≡CH),

80.4 (-C≡CH), 75.6 (O-CH₂), 74.9 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₅H₁₉NO₂ [M+H]⁺: teor. 366,1489; exp. 366,1490.

4-(1-Benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (10).

K roztoku výchozího alkynu **6** (250 mg; 1,27 mmol; 1 ekv.) ve směsi MeOH/THF (1/1, 6 mL) byl přidán benzylazid (205 µl; 1,52 mmol; 1,2 ekv.) a jodid měďný (48 mg; 5 mol. %). Reakce probíhala při RT po dobu 72 h (kontrola dle TLC hexan/EtOAc 7/3). Vzniklá žlutá suspenze byla poté nalita do 60 ml nasyc. roztoku NH₄Cl a produkt byl extrahován DCM (2 x 30 mL). Organické fáze byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄ a odpařeny na RVO. Surový produkt byl rozpuštěn a za horka zfiltrován z acetonu s akt. uhlím (10 hm. %), a po ochlazení byla izolována žlutá krystalická látka. Další podíl byl získán z matečného louhu. Výtěžek 78 %, t.t. 185-189 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.84 (s, 1H, C-H triazol), 7.94 (d, *J* = 6.2 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 7.53 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.34-7.41 (m, 5H), 6.50 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.75 (s, 2H, N-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.8, 144.7, 143.5, 138.1, 135.8, 134.2, 128.8, 128.6, 128.2, 128.1, 126.5, 125.4, 119.9, 115.0 (Ar), 103.8 (O-CH₂-O), 53.1 (N-CH₂); ESI-HRMS C₁₉H₁₄N₄O₂ [M+H]⁺: teor. 331,1190; exp. 331,1190.

2-(1-Benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4(*1H*)-on (11).

Výchozí látka **10** (104 mg; 0,3 mmol) byla rozpuštěna ve 4 mL směsi 48% HBr/H₂O (1/3 v/v). Reakce probíhala po dobu 42 h při teplotě refluxu (kontrola dle TLC EtOAc). Reakční směs byla poté zředěna 2 mL dest. H₂O a ochlazena na ledové lázni. Vzniklá sraženina byla odsáta, promyta dest. H₂O a vysušena ve vakuové sušárně přes noc. Surový produkt byl krystalován z EtOAc (15 mL) a po ochlazení v ledové lázni byla vyloučená bílo-šedá sraženina odsáta, promyta minimálním množstvím EtOAc a vysušena. Výtěžek 67 %, t.t. 242-243 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.02 (s, 1H, N-H chinolon), 8.79 (s, 1H, C-H triazol), 8.14 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 8.03 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.34-7.41 (m, 5H), 7.26 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.80 (s, 2H, N-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.2 (C=O), 152.6, 138.3, 137.9, 135.8, 130.7, 128.8, 128.3, 128.0, 126.5, 124.2, 123.5, 121.9, 118.9 (Ar), 53.0 (N-CH₂); ESI-HRMS C₁₈H₁₄N₄O₂ [M+H]⁺: teor. 319,1190; exp. 319,1189.

Obecný postup CuAAC reakce pro deriváty 12a-f a 14a-f.

Do roztoku azidu **A-F** (0,21 mmol; 1 ekv.) a alkynu **6** nebo **9** (0,21 mmol; 1 ekv.) v DMF/H₂O (3/1; 2,5 mL) byl přidán askorban sodný (0,17 mmol; 0,8 ekv.)

a CuSO₄.5H₂O (0,085 mmol; 0,4 ekv.). Reakční směs byla míchána při RT po dobu 3-16 h do odreagování výchozího alkynu (kontrola dle TLC hexan/EtOAc 7/3). Následně byla reakční směs zpracována nalitím do nasyc. roztoku NH₄Cl a extrahována EtOAc (3 x 10 mL). Spojené organické fáze byly promyty solankou, vysušeny MgSO₄, zfiltrovány a odpařeny na RVO. Surový produkt byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie s gradientovou elucí (hexan/EtOAc 7/3 → EtOAc).

2-(1-(Tetra-O-acetyl-β-D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12a).

Reakce azidu **A** a alkynu **6** dle obecného postupu CuAAC reakce. Bílý prášek, výtěžek 86 %, t.t. 126-128 °C. [α]_D - 77 (c 0.7, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.58 (s, 1H, C-H triazol), 8.14 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.47 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 11.0 Hz, 2H, O-CH₂-O), 6.01 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 5.54 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.45 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.28 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 4.34 (dd, J = 12.6, 5.3 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 12.6, 2.1 Hz, 1H), 4.04 (qd, J = 5.0, 1.8 Hz, 1H), 2.09, 2.07, 2.03, 1.88 (každý s, každý 3H, 4x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.7, 170.1, 169.5, 169.2 (4x CH₃CO), 150.5, 145.9, 145.5, 138.3, 133.9, 129.7, 128.7, 126.7, 122.6, 120.1, 115.9 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 86.1, 75.4, 72.8, 70.6, 67.9, 61.8 (C1-C6), 20.9, 20.7, 20.4 (3x CH₃CO); ESI-HRMS C₂₆H₂₆N₄O₁₁ [M+H]⁺: teor. 571,1671; exp. 571,1672.

2-(1-(Tetra-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12b).

Reakce azidu **B** a alkynu **6** dle obecného postupu CuAAC reakce. Světle žlutý prášek, výtěžek 90 %, t.t. 90-92 °C. [α]_D + 69 (c 0.3, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.91 (s, 1H, C-H triazol), 8.01 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.68 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.52 (d, J = 2.3 Hz, 2H, O-CH₂-O), 5.85-5.88 (m, 2H), 5.29 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 4.26 (dd, J = 12.4, 5.0 Hz, 1H), 4.06 (dd, J = 12.6, 2.5 Hz, 1H), 3.97-4.01 (m, 1H), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.06 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, 2x CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): 170.0, 169.5, 169.4, 169.4 (4 x COCH₃), 149.8, 144.9, 143.8, 138.2, 133.7, 129.1, 128.7, 126.7, 126.1, 119.9, 115.1 (Ar), 103.9 (O-CH₂-O), 83.0, 71.5, 68.4, 67.6, 65.3, 61.4 (C1-C6), 20.5, 20.5, 20.4 (3 x CH₃CO); ESI-HRMS C₂₆H₂₆N₄O₁₁ [M+H]⁺: teor. 571,1671; exp. 571,1674.

2-(1-(Tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12c).

Reakce azidu **C** a alkynu **6** dle obecného postupu CuAAC reakce. Bílý prášek, výtěžek 84 %, t.t. 208-209 °C. $[\alpha]_D$ - 64 (c 0.4, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.60 (s, 1H, C-H triazol), 8.13 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.60 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.48 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 6.9 Hz, 2H, O-CH₂-O), 5.98 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.65 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.58 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 5.29 (dd, *J* = 10.1, 3.2 Hz, 1H), 4.16-4.29 (m, 3H), 2.27, 2.05, 2.02, 1.91 (každý s, každý 3H, 4 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.5, 170.2, 170.0, 169.3 (4 x CH₃CO), 145.9, 138.4, 134.1, 129.7, 128.7, 126.7, 122.5, 120.1, 115.9 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 86.7, 74.3, 71.0, 68.2, 67.0, 61.4 (C1-C6), 20.9, 20.8, 20.7, 20.5 (4 x CH₃CO); ESI-HRMS C₂₆H₂₆N₄O₁₁ [M+H]⁺: teor. 571,1671; exp. 571,1674.

2-(1-(Tetra-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12d).

Reakce azidu **D** a alkynu **6** dle obecného postupu CuAAC reakce. Bílý prášek, výtěžek 83 %, t.t. 219-220 °C. $[\alpha]_D$ - 114 (c 0.4, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.51 (s, 1H, C-H trazol), 8.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.39 (dd, *J* = 9.2, 1.4 Hz, 2H, O-CH₂-O), 5.92 (dd, *J* = 6.4, 2.3 Hz, 1H), 5.42-5.49 (m, 2H), 5.14-5.24 (m, 1H), 4.34 (q, *J* = 5.6 Hz, 1H), 3.63 (dd, *J* = 11.4, 10.5 Hz, 1H), 2.08, 2.05, 1.88 (každý s, každý 3H, 3 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.0, 169.9, 169.2 (3 x CH₃CO), 150.2, 145.9, 145.4, 138.3, 134.0, 129.9, 128.5, 126.6, 122.4, 120.0, 115.9 (Ar), 103.6 (O-CH₂-O), 86.7, 72.2, 70.8, 68.5, 65.8 (C1-C6), 20.8, 20.7, 20.4 (3 x CH₃CO); ESI-HRMS C₂₃H₂₂N₄O₉ [M+H]⁺: teor. 499,1460; exp. 499,1460.

2-[1-(4-*O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- β -D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-methylendioxy-chinolin (12e).

Reakce azidu **E** a alkynu **6** dle obecného postupu CuAAC reakce. Bílý prášek, výtěžek 70 %, t.t. 120-128 °C. $[\alpha]_D$ - 45 (c 0.5, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.50 (s, 1H, C-H triazol), 8.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.45 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.39 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H, O-CH₂-O), 5.96 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.49 (t, *J* = 9.4 Hz, 1H), 5.42 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 5.36 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 5.13 (dd, *J* = 10.3, 8.0 Hz, 1H), 4.97 (dd, *J* = 10.3, 3.4 Hz, 1H), 4.54 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H),

4.49 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 4.07-4.19 (m, 3H), 3.96-4.02 (m, 1H), 3.91 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 2.15, 2.10, 2.07, 2.06, 2.05, 1.96, 1.86 (každý s, každý 3H, 7 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.5, 170.4, 170.2, 170.2, 169.6, 169.3, 169.2 (7 x CH₃CO), 150.4, 145.8, 145.5, 138.3, 133.9, 129.6, 128.7, 126.6, 122.5, 120.1, 115.8 (Ar), 103.6 (O-CH₂-O), 101.2, 85.8, 76.1, 75.8, 72.7, 71.0, 70.9, 70.8, 69.1, 66.7, 61.9, 61.0 (C1-C6, C1'-C6'), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (5 x CH₃CO); ESI-HRMS C₃₈H₄₂N₄O₁₉ [M-H]⁺: teor. 857,2360; exp. 857,2365.

2-(1-(Tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12f).

Reakce azidu **F** a alkynu **6** dle obecného postupu CuAAC reakce. Bílý prášek, výtěžek 80 %, t.t. 83,5-88,5 °C. [α]_D - 143 (c 0.2, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.59 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.98 (t, $J = 9.6$ Hz, 4H), 7.81 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.55-7.60 (m, 3H), 7.47 (td, $J = 7.6, 2.0$ Hz, 2H), 7.34-7.42 (m, 7H), 6.63 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 6.32 (t, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.29 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 6.16 (t, $J = 5.3$ Hz, 1H), 4.94 (q, $J = 4.4$ Hz, 1H), 4.86 (dd, $J = 12.1, 3.4$ Hz, 1H), 4.67 (dd, $J = 12.4, 4.6$ Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 166.3, 165.3, 165.2 (3 x C=O), 150.4, 145.7, 138.3, 134.0, 133.9, 133.4, 130.1, 130.0, 129.9, 129.4, 128.7, 128.7, 126.6, 123.2, 120.1, 115.8 (Ar), 103.6 (O-CH₂-O), 90.7, 81.5, 75.5, 71.9, 64.1 (C1-C5); ESI-HRMS C₃₈H₂₈N₄O₉ [M+H]⁺: teor. 685,1929; exp. 685,1935.

2-(1-(Tetra-O-acetyl-β-D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (14a).

Reakce azidu **A** a alkynu **9** dle obecného postupu CuAAC reakce. Žlutý prášek, výtěžek 74 %, t.t. 181-183 °C. [α]_D - 32 (c 0.4, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.95 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 7.36-7.43 (m, 4H), 7.32 (t, $J = 3.2$ Hz, 2H), 6.47 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 5.71 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.63 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.42 (s, 2H, -O-CH₂), 5.26 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H), 5.19 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 5.15 (s, 1H), 4.45 (dq, $J = 9.7, 2.7$ Hz, 1H), 4.12-4.21 (m, 2H), 2.06, 2.02, 2.0, 1.81 (každý s, každý 3H, 4 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.0, 169.6, 169.4, 168.6 (4 x CH₃CO), 152.9, 146.8, 145.3, 144.5, 140.6, 136.4, 136.0, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 126.7, 125.1, 124.1, 121.7 (Ar), 84.0, 75.0, 73.3,

71.9, 70.4, 67.6, 62.0 (C1-C6), 20.5, 20.4, 20.2, 19.9 (4 x CH₃CO); ESI-HRMS C₃₉H₃₈N₄O₁₁ [M+H]⁺: teor. 739,2610; exp. 739,2611.

2-(1-(Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzyloxy-chinolin (14b).

Reakce azidu **B** a alkynu **9** dle obecného postupu CuAAC reakce. Světle žlutý prášek, výtěžek 75 %, t.t. 50-52 °C. $[\alpha]_D + 58$ (c 0.2, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.79 (s, 1H, C-H triazol), 8.08 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.73 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.50 (dd, *J* = 7.8, 1.4 Hz, 2H), 7.32-7.41 (m, 8H), 6.55 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 5.87-5.91 (m, 2H), 5.45 (s, 2H, -O-CH₂), 5.31 (t, *J* = 8.9 Hz, 1H), 5.15 (s, 2H, -O-CH₂), 4.26 (dd, *J* = 12.4, 5.0 Hz, 1H), 4.05 (dd, *J* = 12.4, 2.3 Hz, 1H), 3.98-4.02 (m, 1H), 2.19, 2.08, 2.03, 1.99 (každý s, každý 3H, 4 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.0, 169.5, 169.4 (3 x CH₃CO), 153.0, 147.0, 145.5, 144.2, 140.7, 136.4, 136.0, 129.2, 128.7, 128.5, 128.5, 128.3, 127.0, 126.7, 124.1, 121.7 (Ar), 82.8, 75.4, 75.0, 71.5, 68.4, 67.6, 65.3, 61.5 (C1-C6), 20.5, 20.4, 20.3 (3 x CH₃CO); ESI-HRMS C₃₉H₃₈N₄O₁₁ [M+H]⁺: teor. 739,2610; exp. 739,2612.

2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzyloxy-chinolin (14c).

Reakce azidu **C** a alkynu **9** dle obecného postupu CuAAC reakce. Světle žlutý prášek, výtěžek 79 %, t.t. 156-158 °C. $[\alpha]_D - 29$ (c 0.4, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.75 (s, 1H, C-H triazol), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.73 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.58 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.36-7.46 (m, 8H), 6.41 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 5.64 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.54 (dd, *J* = 10.1, 3.2 Hz, 1H), 5.48 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 5.44 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 5.16 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 5.08 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 4.67 (t, *J* = 6.2 Hz, 1H), 4.19 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.09 (dd, *J* = 11.4, 7.3 Hz, 1H), 2.20, 2.01, 1.97, 1.84 (každý s, každý 3H, 4 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.0, 169.9, 169.5, 168.7 (4 x CH₃CO), 153.1, 146.7, 145.4, 144.3, 140.7, 136.4, 136.1, 129.2, 128.7, 128.6, 128.5, 128.3, 126.7, 125.0, 124.1, 121.7 (Ar), 84.4, 75.1, 73.0, 70.2, 68.0, 67.2, 61.6 (C1-C6), 20.5, 20.4, 20.3, 20.0 (4 x CH₃CO); ESI-HRMS C₃₉H₃₈N₄O₁₁ [M+H]⁺: teor. 739,2610; exp. 739,2623.

2-(1-(Tetra-*O*-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzoyloxy-chinolin (14d).

Reakce azidu **D** a alkynu **9** dle obecného postupu CuAAC reakce. Žlutý prášek, výtěžek 84 %, t.t. 110-112 °C. $[\alpha]_D = 71,8$ (c 0.5, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.94 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 7.49-7.51 (m, 2H), 7.33-7.44 (m, 8H), 6.36 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.68 (t, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.57 (t, *J* = 9.6 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H, -O-CH₂), 5.15-5.23 (m, 2H), 5.09 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H), 4.17 (q, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.91 (t, *J* = 11.0 Hz, 1H), 2.06, 2.03, 1.82 (každý s, každý 3H, 3 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.6, 168.6 (2 x CH₃CO), 152.9, 146.9, 145.3, 144.4, 140.7, 136.4, 136.1, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.3, 126.6, 125.1, 124.0, 121.7 (Ar), 84.8, 75.1, 75.0, 71.7, 70.5, 67.9, 64.2 (C1-C6), 20.5, 20.3, 19.9 (3 x CH₃CO). ESI-HRMS C₃₆H₃₄N₄O₉ [M-H]⁻: teor. 665,224; exp. 665,2257.

2-[1-(4-*O*-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-2,3,6-tri-*O*-acetyl- β -D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-dibenzoyloxy-chinolin (14e).

Reakce azidu **E** a alkynu **9** dle obecného postupu CuAAC reakce. Oranžový prášek, výtěžek 84 %, t.t. 67-70 °C. $[\alpha]_D = 69.5$ (c 0.2, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.81 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.51 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.34-7.42 (m, 8H), 6.40 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 5.49-5.57 (m, 2H), 5.42 (s, 2H, -O-CH₂), 5.26 (d, *J* = 11.4 Hz, 2H), 5.16 (s, 2H, -OCH₂), 4.92 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 4.45 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 4.28-4.36 (m, 2H), 3.99-4.08 (m, 4H), 2.13, 2.04, 1.92, 1.80 (4x) (každý s, každý 3H, 7 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.3, 169.9, 169.5, 169.3, 169.0, 168.7 (6 x CH₃CO), 152.9, 146.8, 145.3, 144.3, 140.6, 136.4, 136.1, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 126.7, 125.0, 124.1, 121.7 (Ar), 100.1, 83.8, 75.9, 75.0, 74.3, 72.0, 70.7, 70.2, 69.8, 68.9, 67.1, 62.4, 61.1 (C1-C6, C1'-C6'), 20.6, 20.5, 20.3, 20.3, 20.2, 19.9 (6 x CH₃CO); ESI-HRMS C₅₁H₅₄N₄O₁₉ [M+H]⁺: teor. 1027,3455; exp. 1027,3462.

2-(1-(Tri-*O*-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzoyloxy-chinolin (14f).

Reakce azidu **F** a alkynu **9** dle obecného postupu CuAAC reakce. Světle žlutý prášek, výtěžek 69 %, t.t. 54-57 °C. $[\alpha]_D = 93.5$ (c 0.2, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz,

DMSO-*d*6): δ 8.95 (s, 1H, C-H triazol), 8.07 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.95-8.01 (m, 8H), 7.65-7.74 (m, 3H), 7.57 (t, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.49 (q, *J* = 7.5 Hz, 6H), 7.34-7.45 (m, 6H), 7.25-7.28 (m, 3H), 6.88 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.40 (dd, *J* = 5.3, 3.4 Hz, 1H), 6.19 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H, -OCH₂), 5.09 (d, *J* = 6.0 Hz, 2H), 5.02-5.06 (m, 1H), 4.73 (dd, *J* = 12.4, 3.7 Hz, 1H), 4.66 (dd, *J* = 12.1, 4.8 Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 165.4, 164.7, 164.4 (3 x C=O), 153.0, 147.1, 145.5, 144.4, 140.7, 136.4, 136.0, 134.1, 133.9, 133.4, 129.4, 129.2, 129.2, 129.1, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 126.6, 126.3, 124.1, 121.7 (Ar), 89.3, 79.9, 75.3, 75.0, 74.5, 71.2, 63.6 (C1-C5); ESI-HRMS C₅₁H₄₀N₄O₉ [M+H]⁺: teor. 853,2868; exp. 853,2866.

Obecný postup deacetylace pro deriváty 13a-e a 15a-e.

Sloučeniny **12a-e** nebo **14a-e** (0,365 mmol; 1 ekv.) byly míchány v metanolu (HPLC, 13,6 mL) s přídavkem diethylaminu (7,3 mmol; 20 ekv.) při RT po dobu 2 h. Reakční směs byla odpařena na RVO a získaný odperek byl naředěn diethyletherem (15-20 mL). Vzniklá suspenze byla míchána při RT 20 min a následně 5 min zahřívána k varu. Po samovolném ochlazení na RT byla sraženina produktu odsáta a promyta minimálním množstvím diethyletheru (2-5 mL). Produkt byl vysušen ve vakuové sušárně při teplotě 40 °C přes noc.

2-(1-(β-D-Glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13a).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **12a** jako světle žlutý prášek, výtěžek 85 %, t.t. 104-108 °C. [α]_D – 8.5 (c 0.5, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.85 (s, 1H, C-H triazol), 8.00 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.56 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.50 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.69 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.49 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.30 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.19 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.66 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 3.87 (td, 1H, *J* = 8.9, 6.0 Hz, H-2), 3.73 (dd, 1H, *J* = 9.8, 5.7 Hz, H-6), 3.50 (dd, 2H, *J* = 13.3, 5.0 Hz, H-5, H-6), 3.42 (td, 1H, *J* = 8.7, 5.0 Hz, H-3), 3.29-3.32 (m, 1H, *J* = 8.7, 3.7 Hz, H-4); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.6, 144.9, 143.4, 138.0, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.4 (C-H triazol), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 87.7 (C-1), 80.0 (C-5), 76.8 (C-3), 72.1 (C-2), 69.4 (C-4), 60.7 (C-6); ESI-HRMS C₁₈H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 403,1248; exp. 403,1249.

2-(1-(α-D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13b).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **12b** jako bílý prášek, výtěžek 80 %, t.t. 239-242 °C. [α]_D + 64.5 (c 0.5, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.80 (s, 1H, C-

H triazol), 8.00 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.64-7.69 (m, 1H), 7.54-7.58 (m, 1H), 6.50 (d, J = 4.6 Hz, 2H, O-CH₂-O), 6.08 (d, 1H, J = 4.6 Hz, H-1), 5.36 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.14 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.07 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.68 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.51 (q, 1H, J = 4.4 Hz, H-2), 3.90-3.94 (m, 1H, H-3), 3.57-3.68 (m, 3H, H-4, H-6), 3.45 (td, 1H, J = 7.0, 3.1 Hz, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.6, 144.9, 143.5, 138.1, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.9 (C-H triazol), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 85.8 (C-1), 78.7 (C-5), 71.3 (C-3), 68.0 (C-2), 67.8 (C-4), 60.7 (C-6); ESI-HRMS C₁₈H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 403,1248; exp. 403,1249.

2-(1-(β-D-Galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13c).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **12c** jako bílý prášek, výtěžek 92 %, t.t. 261-262 °C. $[\alpha]_D$ + 12 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.82 (s, 1H, C-H triazol), 8.01 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.67 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 2.3 Hz, 2H, O-CH₂-O), 5.64 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-1), 5.37 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.05 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.74 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.68 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 4.11 (td, 1H, J = 9.4, 6.0 Hz, H-2), 3.77 (t, 2H, J = 5.5 Hz, H-4, H-5), 3.51-3.61 (m, 3H, H-3, H-6); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.7, 144.9, 143.5, 138.0, 134.3, 129.0, 128.6, 126.6 (Ar), 124.0 (C-H triazol), 119.9, 115.0 (Ar), 103.8 (O-CH₂-O), 88.3 (C-1), 78.6 (C-5), 73.6 (C-3), 69.6 (C-2), 68.6 (C-4), 60.4 (C-6); ESI-HRMS C₁₈H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 403,1248; exp. 403,1249.

2-(1-(β-D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13d).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **12d** jako bílý prášek, výtěžek 92 %, t.t. 267-270 °C. $[\alpha]_D$ - 48 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.84 (s, 1H, C-H triazol), 7.99 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.66 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.64 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-1), 5.51 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.34 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 5.21 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.87-3.93 (m, 2H, H-2, H-5), 3.51-3.59 (m, 1H, H-3), 3.34-3.44 (m, 2H, H-4, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.6, 144.9, 143.4, 138.1, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.4 (C-H triazol), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 88.3 (C-1), 77.0 (C-3), 72.0 (C-2), 69.0 (C-4), 68.4 (C-5); ESI-HRMS C₁₇H₁₆N₄O₆ [M+H]⁺: teor. 373,1143; exp. 373,1146.

2-[1-(4-O-(β -D-Galaktopyranosyl)- β -D-glukopyranosyl]-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-methylendioxy-chinolin (13e).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **12e** jako bílý prášek, výtěžek 83 %, t.t. 191-196 °C. $[\alpha]_D + 8.5$ (c 0.3, DMSO). 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.87 (s, 1H, C-H triazol), 8.00 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.50 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.80 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.66 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.15 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.83 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.70 (t, *J* = 5.7 Hz, 2H), 4.56 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 4.28 (d, 1H, *J* = 6.9 Hz, H-7), 3.96 (dd, 1H, *J* = 14.7, 8.7 Hz, H-2), 3.81 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, H-6), 3.51-3.72 (m, 10 H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.4, 144.8, 143.3, 138.0, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.3 (C-H triazol), 119.8, 115.0 (Ar), 103.8 (C-7), 103.7 (O-CH₂-O), 87.2 (C-1), 79.6 (C-4), 77.8 (C-11), 75.5 (C-10), 75.1 (C-3), 73.2 (C-9), 71.9 (C-2), 70.5 (C-8), 68.1 (C-5), 60.4 (C-6), 60.0 (C-12); ESI-HRMS C₂₄H₂₈N₄O₁₂ [M+H]⁺: teor. 565,1776; exp. 565,1781.

2-(1-(β -D-Glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylloxy-chinolin (15a).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **14a** jako oranžový prášek, výtěžek 82 %, t.t. 104-108 °C. $[\alpha]_D - 2.5$ (c 0.4, DMSO). 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.71 (s, 1H, C-H triazol), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (td, *J* = 3.8, 2.1 Hz, 4H), 7.36-7.42 (m, 6H), 5.68 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.50 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H, -O-CH₂), 5.34 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.21 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.15 (dd, *J* = 17.9, 10.5 Hz, 2H, -O-CH₂), 4.68 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.73-3.79 (m, 2H, H-2, H-6), 3.48-3.54 (m, 2H, H-5, H-6), 3.45 (td, *J* = 8.9, 4.7 Hz, 1H, H-3), 3.25-3.31 (m, 1H, H-4); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.9, 147.3, 145.4, 143.9, 140.8, 136.4, 136.1, 129.1, 128.9, 128.7, 128.4, 128.3, 126.5 (Ar), 125.0 (C-H triazol), 124.0, 121.6 (Ar), 87.6 (C-1), 80.0 (C-5), 76.8 (C-3), 75.3 (-O-CH₂), 75.0 (-O-CH₂), 72.3 (C-2), 69.5 (C-4), 60.8 (C-6); ESI-HRMS C₃₁H₃₀N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 571,2187; exp. 571,2183.

2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylloxy-chinolin (15b).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **14b** jako bílý prášek, výtěžek 94 %, t.t. 200-202 °C. $[\alpha]_D + 38$ (c 0.4, DMSO). 1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.72 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.35-7.45 (m, 8H), 6.04 (d, 1H, *J* =

4.1 Hz, H-1), 5.43 (s, 2H, -O-CH₂), 5.37 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.11-5.19 (m, 3H, -O-CH₂), 5.07 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.69 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.52 (q, 1H, *J* = 4.3 Hz, H-2), 3.95 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-3), 3.59-3.69 (m, 3H, H-4, H-6), 3.47 (td, 1H, *J* = 6.6, 3.2 Hz, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 153.0, 147.5, 145.4, 144.0, 140.7, 136.4, 136.1, 129.1, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 126.5 (Ar), 125.8 (C-H triazol), 124.0, 121.6 (Ar), 85.8 (C-1), 78.5 (C-5), 75.3 (-O-CH₂), 74.9 (-O-CH₂), 71.2 (C-3), 68.1 (C-2), 67.6 (C-4), 60.6 (C-6); ESI-HRMS C₃₁H₃₀N₄O₇ [M - H]⁺: teor. 569,2031; exp. 569,2047.

2-(1-(β-D-Galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzyloxy-chinolin (15c).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **14c** jako oranžový prášek, výtěžek 91 %, t.t. 107-110 °C. [α]_D + 10 (c 0.3, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.77 (s, 1H, C-H triazol), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.49 (t, *J* = 5.5 Hz, 4H), 7.34-7.42 (m, 6H), 5.65 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.44 (s, 2H, -O-CH₂), 5.38 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.08-5.16 (m, 3H, -O-CH₂), 4.76 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.13 (td, 1H, *J* = 9.2, 6.0 Hz, H-2), 3.79-3.84 (m, 2H, H-4, H-5), 3.55-3.63 (m, 3H, H-3, H-6); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): δ 153.1, 147.4, 145.5, 144.1, 140.7, 136.4, 136.1, 129.1, 129.0, 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 126.5 (Ar), 124.8 (C-H triazol), 124.0, 121.7 (Ar), 88.3 (C-1), 78.5 (C-5), 75.4 (-O-CH₂), 74.9 (-O-CH₂), 73.6 (C-3), 69.6 (C-2), 68.5 (C-4), 60.4 (C-6); ESI-HRMS C₃₁H₃₀N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 571,2187; exp. 571,2181.

2-(1-(β-D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzyloxy-chinolin (15d).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **14d** jako světle žlutý prášek, výtěžek 88 %, t.t. 99-101 °C. [α]_D - 26.5 (c 0.35, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.69 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.46-7.51 (m, 4H), 7.38 (d, *J* = 9.2 Hz, 6H), 5.62 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.52 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H, -O-CH₂), 5.37 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.23 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.13 (q, *J* = 10.4 Hz, 2H, -O-CH₂), 3.90 (q, *J* = 5.2 Hz, 1H, H-5), 3.74-3.80 (m, 1H, H-2), 3.48-3.55 (m, 1H, H-4), 3.36-3.46 (m, 2H, H-3, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.9, 147.3, 145.4, 143.8, 140.8, 136.4, 136.2, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 126.6 (Ar), 125.1 (C-H triazol), 124.0, 121.7 (Ar), 88.2 (C-1), 76.9 (C-3), 75.3 (-O-CH₂), 75.0 (-O-CH₂), 72.2 (C-2), 69.1 (C-4), 68.4 (C-5); ESI-HRMS C₃₀H₂₈N₄O₆ [M+H]⁺: teor. 541,2082; exp. 541,2086.

2-[1-(4-O-(β -D-Galaktopyranosyl)- β -D-glukopyranosyl]-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-dibenzyloxy-chinolin (15e).

Látka byla získána deacetylací sloučeniny **14e** jako oranžový prášek, výtěžek 85 %, t.t. 142-144 °C. $[\alpha]_D + 7.5$ (c 0.38, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.72 (s, 1H, C-H triazol), 8.07 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.49 (t, J = 7.1 Hz, 4H), 7.35-7.42 (m, 6H), 5.79 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-1), 5.69 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H, -O-CH₂), 5.13-5.20 (m, 3H, -O-CH₂), 4.95 (s, 1H), 4.85 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.71-4.73 (m, 2H), 4.58 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 4.31 (d, 1H, J = 7.3 Hz, H-7), 3.82-3.88 (m, 2H, H-2, H-6), 3.36-3.76 (m, 10H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 153.0, 147.3, 145.5, 144.0, 140.9, 136.4, 136.2, 129.1, 129.0, 128.7, 128.6, 128.5, 126.6 (Ar), 125.0 (C-H triazol), 124.0, 121.6 (Ar), 103.8 (C-7), 87.1 (C-1), 79.7 (C-4), 77.8 (C-11), 75.6 (C-10), 75.4 (-O-CH₂), 75.0 (C-3), 75.0 (-O-CH₂), 73.2 (C-9), 72.0 (C-2), 70.6 (C-8), 68.1 (C-5), 60.4 (C-6), 60.1 (C-12); ESI-HRMS C₃₇H₄₀N₄O₁₂ [M+H]⁺: teor. 733,2715; exp. 733,2718.

Obecný postup debenzoylace pro deriváty 13f a 15f.

Do suspenze výchozí látky **12f** nebo **14f** (0,25 mmol; 1 ekv.) v metanolu (HPLC, 5 mL), byl přidán 1M MeONa/MeOH (1 mmol; 4 ekv.). Vzniklý roztok byl míchán 1 h při RT. Poté bylo upraveno pH na 7 pomocí 99% AcOH a reakční směs byla zakoncentrována na RVO. Pevný odperek byl vymíchán v dest. H₂O (15-20 mL), odsát, promyt minimálním množstvím dest. H₂O, poté diethyletherem a vysušen ve vakuové sušárně při teplotě 40 °C přes noc.

2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-chinolin (13f).

Látka byla získána debenzoylací sloučeniny **12f** jako bílý prášek, výtěžek 61 %, t.t. 126-128 °C. $[\alpha]_D - 71.5$ (c 0.2, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.97 (s, 1H, C-H triazol), 7.99 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.66 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 6.10 (d, 1H, J = 3.7 Hz, H-1), 5.67 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 5.10 (s, 1H), 4.49 (d, 1H, J = 4.6 Hz, H-2), 4.20 (d, 1H, J = 4.1 Hz, H-3), 4.04 (d, 1H, J = 2.7 Hz, H-4), 3.69 (d, 1H, J = 11.4 Hz, H-5), 3.57 (d, 1H, J = 11.4 Hz, H-5); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.6, 144.9, 143.8, 138.1, 134.4, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 123.6 (C-H triazol), 119.8, 115.0 (Ar),

103.7 (O-CH₂-O), 92.3 (C-1), 85.9 (C-4), 75.3 (C-2), 70.3 (C-3), 61.1 (C-5). ESI-HRMS C₁₇H₁₆N₄O₆ [M+H]⁺: teor. 373,1143; exp. 373,1139.

2-(1-(β-D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-chinolin (15f).

Látka byla získána debenzoylací sloučeniny **14f** jako bílý prášek, výtěžek 83 %, t.t. 180-183 °C. $[\alpha]_D$ - 52.5 (c 0.18, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.85 (s, 1H, C-H triazol), 8.06 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (td, *J* = 7.6,1.4 Hz, 1H), 7.55-7.59 (m, 1H), 7.49 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.34-7.44 (m, 8H), 6.07 (d, 1H, *J* = 4.6 Hz, H-1), 5.72 (s, 1H), 5.42 (s, 2H, -O-CH₂), 5.36 (s, 1H), 5.15 (s, 2H, -O-CH₂), 5.07 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.46 (s, 1H, H-2), 4.20 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, H-3), 4.04 (q, 1H, *J* = 4.0 Hz, H-4), 3.54-3.68 (m, 2H, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 153.0, 147.5, 145.4, 144.3, 140.7, 136.5, 136.2, 129.1, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 126.6 (Ar), 124.5 (C-H triazol), 124.0, 121.7 (Ar), 92.2 (C-1), 85.9 (C-4), 75.3 (C-2), 75.2 (-O-CH₂), 74.9 (-O-CH₂), 70.3 (C-3), 61.3 (C-5); ESI-HRMS C₃₀H₂₈N₄O₆ [M+H]⁺: teor. 541,2082; exp. 541,2087.

Obecný postup debenzylace pro deriváty **16a-f**.

K připravenému 5% roztoku sloučenin **15a-f** (0,17 mmol; 1 ekv.) v 2-methoxyethanolu (2 mL) bylo při 100 °C přidáno 5% Pd/C (20 hm. %). Reakční aparatura byla opatřena balonkem s vodíkem, a debenzylace probíhala při 100 °C do odreagování výchozí látky (kontrola dle TLC EtOAc/MeOH 1/1). Poté byla aparatura vyfoukána dusíkem a reakční směs byla zfiltrována za horka přes skelný filtr. V případě sloučenin **16b**, **16c** a **16d** byla reakční směs před filtrací zředěna DMF a zfiltrována za horka. Odpařením a následnou lyofilizací byly připraveny sloučeniny ve vysoké čistotě (+ 99 % dle LC-MS).

2-(1-(β-D-Glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (**16a**).

Látka byla získána debenzylací sloučeniny **15a** jako světle žlutý prášek, výtěžek 93 %, t.t. 290-292 °C. $[\alpha]_D$ - 2.5 (c 0.19, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.94 (s, 1H, N-H), 8.77 (s, 1H, C-H triazol), 8.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.77 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.55 (s, 1H), 5.27 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.69 (s, 1H), 3.83 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-2), 3.72 (d, 1H, *J* = 10.1 Hz, H-6), 3.51 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, H-6), 3.42 (t, 1H, *J* = 8.9 Hz, H-5), 3.31 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.8 (C=O), 138.1, 138.0, 137.4, 130.6 (Ar), 125.3 (C-H triazol), 124.2, 122.6, 122.0, 121.7, 118.7 (Ar),

87.7 (C-1), 80.0 (C-5), 76.8 (C-3), 72.3 (C-2), 69.5 (C-4), 60.7 (C-6); ESI-HRMS C₁₇H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 391,1248; exp. 391,1249.

2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16b).

Látka byla získána debenzylací sloučeniny **15b** jako tmavě zelený prášek, výtěžek 95 %, t.t. 298-302 °C. $[\alpha]_D + 73.2$ (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.93 (s, 1H, N-H), 8.78 (s, 1H, C-H triazol), 7.59 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.12 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz, H-1), 5.37 (s, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.71 (s, 1H), 4.47 (s, 1H, H-2), 3.92 (s, 1H, H-3), 3.64 (s, 3H, H-4, H-6), 3.50 (s, 1H, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.8 (C=O), 138.2, 138.0, 137.5, 130.6 (Ar), 125.8 (C-H triazol), 124.3, 122.7, 122.0, 121.7, 118.8 (Ar), 85.6 (C-1), 79.1 (C-5), 71.3 (C-3), 67.9 (C-2, C-4), 60.4 (C-6); ESI-HRMS C₁₇H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 391,1248; exp. 391,1249.

2-(1-(β -D-Galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16c).

Látka byla získána debenzylací sloučeniny **15c** jako tmavě zelený prášek, výtěžek 95 %, t.t. 142-148 °C. $[\alpha]_D + 8.5$ (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.94 (s, 1H, N-H), 8.77 (s, 1H, C-H triazol), 8.15 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.70 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.40 (s, 1H), 4.78-5.06 (m, 3H), 4.09 (t, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-2), 3.76-3.79 (m, 2H, H-4, H-5), 3.51-3.60 (m, 3H, H-3, H-6); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.8 (C=O), 138.3, 138.1, 137.5, 130.7 (Ar), 124.8 (C-H triazol), 124.3, 122.8, 122.1, 121.8, 118.8 (Ar), 88.5 (C-1), 78.7 (C-5), 73.5 (C-3), 69.7 (C-2), 68.5 (C-4), 60.4 (C-6); ESI-HRMS C₁₇H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: teor. 391,1248; exp. 391,1250.

2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16d).

Látka byla získána debenzylací sloučeniny **15d** jako světle zelený prášek, výtěžek 92 %, t.t. 280-283 °C. $[\alpha]_D - 30.2$ (c 0.8, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.94 (s, 1H, N-H), 8.77 (s, 1H, C-H triazol), 8.15 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 5.72 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.57 (s, 1H), 5.25-5.57 (m, 3H), 3.83-3.92 (m, 2H, H-2, H-5), 3.57 (dd, 1H, *J* = 14.4, 9.4 Hz, H-4), 3.35-3.45 (m, 2H, H-3, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.8 (C=O), 138.1, 138.0, 137.5, 130.6, 125.4 (C-H triazol), 124.3, 122.7, 122.1, 121.7, 118.8 (Ar), 88.4 (C-1), 77.0 (C-3), 72.2 (C-2), 69.0 (C-4), 68.5 (C-5); ESI-HRMS C₁₆H₁₆N₄O₆ [M+H]⁺: teor. 361,1143; exp. 361,1146.

2-[1-(4-O-(β -D-Galaktopyranosyl)- β -D-glukopyranosyl]-1,2,3-triazol-4-yl]-3-hydroxychinolin-4-on (16e).

Látka byla získána debenzylací sloučeniny **15e** jako světle zelený prášek, výtěžek 70 %, t.t. 217-220 °C. $[\alpha]_D + 8.1$ (c 0.4, DMSO). ^1H NMR (500 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.91 (s, 1H, N-H), 8.78 (s, 1H, C-H triazol), 8.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.87 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-1), 5.69 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.53-4.79 (m, 4H), 4.28 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-7), 3.92 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-2), 3.82 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.72-3.74 (m, 1H), 3.49-3.68 (m, 7H), 3.33-3.40 (m, 2H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.8 (C=O), 138.2, 138.0, 137.5, 130.6 (Ar), 125.3 (C-H triazol), 124.3, 122.6, 122.1, 121.7, 118.8 (Ar), 103.8 (C-7), 87.3 (C-1), 79.6 (C-4), 78.0 (C-11), 75.6 (C-10), 75.1 (C-3), 73.2 (C-9), 72.0 (C-2), 70.5 (C-8), 68.1 (C-5), 60.4 (C-6), 60.0 (C-12); ESI-HRMS $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_{12}$ [M+H] $^+$: teor. 553,1776; exp. 553,1774.

2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16f).

Látka byla získána debenzylací sloučeniny **15f** jako světle zelený prášek, výtěžek 77 %, t.t. 252-263 °C. $[\alpha]_D - 76.8$ (c 0.7, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.91 (s, 1H, N-H), 8.91 (s, 1H, C-H triazol), 8.14 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.14 (d, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-1), 5.68 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.51 (t, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-2), 4.20 (t, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-3), 4.04 (q, 1H, $J = 3.8$ Hz, H-4), 3.60 (ddd, 2H, $J = 40.8, 11.9, 3.7$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.8 (C=O), 138.4, 138.0, 137.4, 130.6 (Ar), 124.8 (C-H triazol), 124.2, 122.6, 122.0, 121.7, 118.8 (Ar), 92.4 (C-1), 86.1 (C-4), 75.2 (C-2), 70.4 (C-3), 61.2 (C-5); ESI-HRMS $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6$ [M+H] $^+$: teor. 361,1143; exp. 361,1146.

Sloučeniny 17 a 18 byly připraveny dle literatury⁹⁵ a použity ihned do dalšího kroku bez purifikace.

4-(3-Fenylisoxazol-5-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (19).

K suspenzi alkyn derivátu **6** (200 mg; 1 mmol; 1 ekv.) v 10 mL směsi *t*-BuOH/H₂O (1/1) byl přidán čerstvě připravený (E/Z)-*N*-hydroxybenzimidoyl chlorid **18** (470 mg; 3 mmol; 3 ekv.), roztok CuSO₄.5H₂O (2,7 mg/100 μ L dest. H₂O; 2 mol. %), 1M askorban sodný (100 μ L; 10 mol. %) a KHCO₃ (433 mg; 4,3 mmol; 4,3 ekv.). Reakce probíhala

při RT po dobu 16 h (kontrola dle TLC EtOAc/toluén 1/1). Reakční směs byla zpracována přídavkem dest. H₂O (50 mL) a vyloučená sraženina byla odsáta, promyta dest. H₂O a vysušena ve vakuové sušárně přes noc. Surový produkt byl rozpuštěn a zfiltrován za horka z 2-propanolu s přídavkem akt. uhlí (5 hm. %). Po ochlazení byla vyloučená světle hnědá krystalická látka odsáta a promyta minimálním množstvím 2-propanolu. Další podíly produktu byly získány z matečných loun. Výtěžek 30 %, t.t. 200-208 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.02-8.08 (m, 3H), 7.89 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.61-7.74 (m, 2H), 7.56 (s, 2H), 6.59 (s, 2H, O-CH₂-O); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 165.7, 162.5, 150.5, 144.9, 130.5, 129.7, 129.4, 129.2, 128.1, 127.7, 126.8, 120.0 (Ar), 104.5 (O-CH₂-O), 103.0 (CH-isoxazol); ESI-HRMS C₁₉H₁₂N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 317,0921; exp. 317,0922.

3-Hydroxy-2-(3-fenylisoxazol-5-yl)chinolin-4(1*H*)-on (20).

Výchozí látka **19** (40 mg; 0,126 mmol) byla rozpuštěna v 1,6 mL směsi 48% HBr/H₂O (1/3 v/v). Reakce probíhala po dobu 42 h při teplotě refluxu (kontrola dle TLC EtOAc/toluén 1/1). Reakční směs byla poté zředěna 2 mL dest. H₂O a ochlazena na ledové lázni. Vzniklá sraženina byla odsáta, promyta dest. H₂O a vysušena ve vakuové sušárně přes noc. Surový produkt byl krystalován z metanolu a po ochlazení na ledové lázni byla vyloučená světle hnědá sraženina odsáta, promyta minimálním množstvím metanolu a vysušena. Další podíly byly získány z matečných loun, výtěžek 53 %, t.t. 314-316 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.97 (s, 1H, N-H chinolon), 8.16 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.99 (q, *J* = 2.9 Hz, 2H), 7.93 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.61-7.67 (m, 2H), 7.56 (t, *J* = 2.9 Hz, 3H), 7.29 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.5 (C=O), 162.9, 161.9, 139.5, 138.3, 131.5, 130.6, 129.3, 128.0, 126.8, 124.5, 122.2, 122.0, 118.8, 118.4 (Ar), 104.3 (O-CH₂-O); ESI-HRMS C₁₈H₁₂N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 305,0921; exp. 305,0929.

Ethyl 3-([1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylát (22).

Do roztoku alkyn derivátu **6** (1,5 g; 7,57 mmol; 1 ekv.) v 2-MeTHF (40 mL) byl přidán ethyldiazoacetát (1,6 mL; 2 ekv.) a reakční směs byla zahřívána v tlakové ampuli k varu po dobu 48 h. Poté byl přidán další podíl ethyldiazoacetátu (1 ekv.) a reakce probíhala za varu dalších 24 h. Suspenze byla zakoncentrována na RVO a vzniklý surový produkt byl čištěn vymícháním v acetonu za varu. Po ochlazení na ledové lázni byla odsáta žlutá sraženina, promyta minimálním množstvím acetonu a vysušena ve vakuové sušárně přes

noc. Další podíly byly získány z matečných lounů. Výtěžek 70 %, t.t. 223-224 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 14.40 (s, 1H, N-H pyrazol), 8.01 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.67 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.55 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H, CH pyrazol), 6.51 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.31 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 1.32 (t, J = 7.3 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 161.7 (C=O ester), 149.8, 144.7, 144.0, 138.5, 137.6, 131.8, 128.8, 126.7, 119.9, 115.1 (Ar), 108.2 (CH-pyrazol), 104.2 (O-CH₂-O), 60.2 (CH₂), 14.2 (CH₃); ESI-HRMS C₁₆H₁₃N₃O₄ [M+H]⁺: teor. 312,0979; exp. 312,0975.

3-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylová kyselina (23).

Výchozí ester **22** (1,52 g; 4,88 mmol) byl suspendován ve směsi 99% ethanolu (27 mL) a 5% roztoku NaOH (12,7 mL). Reakční směs byla zahřívána při teplotě refluxu po dobu 30 min. Poté bylo upraveno pH na ~ 2 - 3 přídavkem směsi 48% HBr/H₂O (1/3, v/v) a reakce probíhala při teplotě refluxu po dobu 10 min. Po ochlazení na RT byla vzniklá nažloutlá sraženina odsáta, promyta dest. H₂O do neutrálního pH a vysušena ve vakuové sušárně přes noc. Výtěžek 95 %, t.t. 347-348 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.01 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.68 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.31 (s, 1H, CH pyrazol), 6.51 (s, 2H, O-CH₂); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 162.4 (C=O kyselina), 144.5, 138.4, 137.5, 133.5, 132.1, 131.6, 126.7, 124.9, 124.8, 123.4, 118.7 (Ar), 106.7 (CH-pyrazol), 77.3 (O-CH₂-O); ESI-HRMS C₁₄H₈N₃O₄ [M-H]⁻: teor. 282,0509; exp. 282,0510.

Ethyl 3-(3,4-bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylát (24).

Do roztoku alkyn derivátu **9** (200 mg; 0,547 mmol; 1 ekv.) v 2-MeTHF (6 mL) byl přidán ethyldiazoacetát (125 μ L; 2 ekv.) a reakční směs byla zahřívána v tlakové ampuli za varu po dobu 48 h. Poté byl přidán další podíl ethyldiazoacetátu (1 ekv.) a reakce probíhala za varu dalších 24 h. Reakční směs byla zakoncentrována na RVO a vzniklý surový produkt byl izolován sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 7/3 → EtOAc → MeOH). Získaný produkt byl dočištěn vymícháním ve směsi hexan/EtOAc (20/1) za varu. Po ochlazení na RT byla odsáta žlutá sraženina produktu, výtěžek 66 %, t.t. 164-165 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.10 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.65-7.68 (m, 2H), 7.37-7.52 (m, 11H), 5.43 (s, 2H, O-CH₂), 5.20 (s, 2H, O-CH₂), 4.43 (q, J = 7.1 Hz, 2H, CH₂), 1.43 (t, J = 7.2 Hz, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 162.2, 154.0, 145.8, 144.0, 140.7, 136.2, 135.5, 129.4, 128.8, 128.7, 128.6, 128.6, 128.3, 126.7, 124.8, 121.9 (Ar), 109.9 (CH-pyrazol), 76.0 (O-CH₂), 75.8 (O-

CH_2), 60.9 (CH_2), 14.3 (CH_3); ESI-HRMS $\text{C}_{29}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_4$ [$\text{M}+\text{H}]^+$: teor. 480,1918; exp. 480,1920.

Ethyl 3-(3-hydroxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-2-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylát (25).

K připravenému roztoku výchozí látky **24** (100 mg; 0,208 mmol; 1 ekv.) v 2-methoxyethanolu (2 mL) bylo při teplotě 100 °C přidáno 5% Pd/C (20 hm. %). Reakční aparatura byla opatřena balonkem s vodíkem, a debenzylace probíhala při teplotě 100 °C po dobu 1 h (kontrola dle LC-MS). Poté byla aparatura vyfoukána dusíkem a reakční směs byla zfiltrována za horka přes skelný filtr. Vzniklý odparek byl vymíchán v diethyletheru, odsát a vysušen ve vakuové sušárně přes noc. Výtěžek 66 %, t.t. 286-290 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 14.62 (s, 1H, NH-pyrazol), 11.52 (s, 1H, N-H chinolon), 8.13 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 8.6 Hz, 2H), 7.24 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 4.37 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 1.36 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.2 (C=O ester), 159.0, 143.5, 138.4, 138.0, 130.7, 124.3, 121.8, 121.7, 118.7 (Ar), 110.2 (CH-pyrazol), 61.0 (CH_2), 14.0 (CH_3); ESI-HRMS $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ [$\text{M}+\text{H}]^+$: teor. 300,0979; exp. 300,0977.

4-(2,2-Dibromovinyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (26).

Připravený roztok CBr_4 (3,29 g; 9,94 mmol; 3 ekv.) v suchém DCM (25 mL) byl ochlazen pomocí ledové lázně na teplotu 0 - 5 °C. K roztoku byl přidán PPh_3 (5,21 g; 19,88 mmol; 4 ekv.) a následně byl stříkačkou přes septum přikapán roztok výchozího aldehydu **5** (1 g; 4,97 mmol; 1 ekv.) v suchém DCM (25 mL). Reakce probíhala při RT po dobu 50 min (kontrola dle TLC petrolether/EtOAc 1/1). Reakční směs byla nalita do 100 mL dest. H_2O s následným přidáním DCM (40 mL). Po separaci fází byla vodná fáze extrahována 1 x 80 mL DCM. Spojené organické fáze byly promyty solankou, vysušeny MgSO_4 a odpařeny na RVO. Červený odparek byl oddělen od trifenylfosfin oxidu sloupcovou chromatografií gradientovou elucí (hexan/EtOAc 4/1 → 2/1). Odparek byl odpařen s petroletherem za vzniku žluto-oranžové pevné látky. Výtěžek 80 %, t.t. 78 °C. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8.02 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.79 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.74 (s, 1H, CH alken), 7.58 (t, J = 8.6 Hz, 1H), 7.48 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.29 (s, 2H, O- CH_2 -O); ^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3): δ 149.6, 145.2, 138.8, 138.3, 130.7, 129.4, 128.4, 126.7, 119.9, 115.6 (Ar), 103.1 (O- CH_2 -O), 96.5 (CH-alken); ESI-HRMS $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{NO}_2\text{Br}_2$ [$\text{M}+\text{H}]^+$: teor. 357,8896; exp. 357,8892.

4-(Bromoethyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (27).

Do roztoku sloučeniny **26** (0,5 g; 1,4 mmol; 1 ekv.) v DMSO (8,3 mL) byl přikapán roztok DBU (208 μ L; 1,4 mmol; 1 ekv.) v DMSO (8,3 mL). Reakce probíhala při RT 30 min (kontrola dle TLC hexan/EtOAc 7/3). Reakce byla ukončena nalitím do 80 mL dest. H₂O, poté bylo upraveno pH na ~ 7 pomocí 0,5N HCl a reakční směs byla extrahována 2 x 80 mL DCM. Spojené organické fáze byly promyty solankou, vysušeny MgSO₄ a odpařeny na RVO. Surový produkt byl čištěn vymícháním v metanolu (5 mL) za horka a po ochlazení na RT byla odsáta krémová sraženina produktu. Výtěžek 58 %, t.t. 65-69 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.90 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.65 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.43 (s, 2H, O-CH₂-O); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.1, 145.1, 142.7, 128.9, 128.8, 127.5, 125.4, 119.8, 115.2 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 75.0 (C#C-Br), 59.6 (C#C-Br); ESI-HRMS C₁₂H₆NO₂Br [M+H]⁺: teor. 275,9655; exp. 275,9657.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(2,2-dibromovinyl)chinolin (28).

Připravený roztok CBr₄ (1,97 g; 5,96 mmol; 2,2 ekv.) v suchém DCM (20 mL) byl ochlazen pomocí ledové lázně na teplotu 0 - 5 °C. K roztoku byl přidán PPh₃ (3,12 g; 11,92 mmol; 4,4 ekv.) a následně byl stříkačkou přes septum přikapán roztok výchozího aldehydu **8** (1 g; 2,71 mmol; 1 ekv.) v suchém DCM (25 mL). Reakce probíhala při RT po dobu 30 min (kontrola dle TLC hexan/EtOAc 7/3). Reakční směs byla zpracována nalitím do 50 mL dest. H₂O a vzniklé fáze byly odděleny. Organická fáze byla promyta 2 x 50 mL dest. H₂O, 1 x 50 mL solanky, vysušena MgSO₄ a odpařena na RVO. Červený odperek byl oddělen od trifenylfosfin oxidu sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1). Získaný produkt byl odpařen s diethyletherem za vzniku žluto-oranžové pevné látky, která byla izolována odsátím z hexanu. Výtěžek 31 %, t.t. 91-92 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.05 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H, CH alken), 7.69 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.58 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.35-7.51 (m, 10H), 5.43 (s, 2H, O-CH₂), 5.13 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.1, 151.7, 145.0, 140.4, 136.4, 136.1, 132.9, 129.1, 128.7, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 126.9, 124.1, 121.7 (Ar), 95.2 (CH-alken), 75.8 (O-CH₂), 74.7 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₅H₁₉NO₂Br₂ [M+H]⁺: teor. 525,9835; exp. 525,9838.

Obecný postup pro přípravu benzazolů 29-44.

K roztoku výchozího aldehydu **8** (100 mg; 0,27 mmol; 1 ekv.) v anisolu (1 mL) byl přidán příslušný aromatický amin (1 ekv.) a reakční směs byla zahřívána po dobu 1 h při teplotě 80 °C. Poté byla teplota zvýšena na 140 °C a reakce probíhala dle zvolného výchozího aminu po dobu 1-5 h (kontrola dle LC-MS). Reakční směs byla odpařena na RVO a surový produkt byl přečištěn buď sloupcovou chromatografií (mobilní fáze je uvedena u každého produktu) nebo vymícháním s rozpouštědlem (uvedeno u každého produktu).

2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3,4-bis(benzyloxy)chinolin (29**).**

Purifikace vymícháním v acetonu, výtěžek 64 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.98 (s, 1H, N-H imidazol), 8.08-8.12 (m, 2H), 7.79 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.68 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 2H), 7.63 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.49 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 2H), 7.35-7.41 (m, 10H), 5.48 (s, 2H, O-CH₂), 5.26 (s, 2H, O-CH₂); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 154.2, 148.9, 146.3, 145.1, 144.2, 141.9, 136.8, 136.5, 134.2, 129.5, 129.0, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 127.3, 124.6, 123.5, 121.9, 121.8, 119.6, 112.0 (Ar), 75.7 (O-CH₂), 75.1 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₃N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 458,1863; exp. 458,1864.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(5,6-dimethyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (30**).**

Purifikace vymícháním ve směsi cyklohexan/aceton, výtěžek 34 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.74 (s, 1H, N-H imidazol), 8.07-8.10 (m, 2H), 7.76 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.68-7.70 (m, 2H), 7.60 (q, J = 8.1 Hz, 2H), 7.48 (dd, J = 7.8, 1.5 Hz, 2H), 7.34-7.42 (m, 7H), 5.46 (s, 2H, O-CH₂), 5.25 (s, 2H, O-CH₂), 2.37 (s, 6H, 2 x CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 154.1, 148.0, 146.5, 145.0, 143.0, 141.8, 136.9, 136.5, 132.8, 132.3, 130.2, 129.4, 128.9, 128.6, 128.4, 128.3, 128.1, 128.1, 127.0, 124.4, 121.9, 119.5, 111.8 (Ar), 75.6 (O-CH₂), 75.1 (O-CH₂), 20.2 (CH₃), 20.0 (CH₃); ESI-HRMS C₃₂H₂₇N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 486,2176; exp. 486,2178.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(6-chloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (31**).**

Purifikace vymícháním za varu v cyklohexanu, výtěžek 53 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 13.14 (s, 1H, N-H imidazol), 8.08-8.12 (m, 2H), 7.79 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.64 (dd, J = 5.8, 1.5 Hz, 3H), 7.49 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 2H), 7.31-7.41 (m, 9H), 5.48 (s, 2H, O-CH₂), 5.25 (s, 2H, O-CH₂); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 154.3, 150.1,

145.7, 145.0, 141.9, 136.7, 136.5, 129.6, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4, 128.4, 128.1, 127.4, 124.6, 121.9 (Ar), 75.8 (O-CH₂), 75.1 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₂N₃O₂Cl [M+H]⁺: teor. 492,1473; exp. 492,1477.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(5,6-dichloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (32).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), výtěžek 80 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 13.24 (s, 1H, N-H imidazol), 8.08-8.12 (m, 2H), 7.79 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.60-7.66 (m, 3H), 7.49 (dd, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 2H), 7.34-7.41 (m, 8H), 5.48 (s, 2H, O-CH₂), 5.24 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 154.3, 151.3, 145.4, 145.0, 141.9, 136.6, 136.4, 129.7, 129.0, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 127.5, 124.7, 121.9 (Ar), 75.9 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₀N₃O₂Cl₂ [M+H]⁺: teor. 524,0927; exp. 524,0916.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(6-nitro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (33).

Purifikace vymícháním za varu v acetonu, výtěžek 30 %. Dle ¹H NMR spektra byla látka izolována s nečistotou. V ¹³C NMR spektru nebyly pozorovány všechny signály vlivem nízké koncentrace vzorku. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.12 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.79-7.82 (m, 2H), 7.61-7.68 (m, 3H), 7.50 (dd, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 2H), 7.33-7.41 (m, 8H), 5.50 (s, 2H, O-CH₂), 5.27 (s, 2H, O-CH₂). ESI-HRMS C₃₀H₂₂N₄O₄ [M+H]⁺: teor. 503,1714; exp. 503,1712.

1-(2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-1*H*-benzo[*d*]imidazol-6-yl)propan-1-on (34).

Purifikace vymícháním za varu v acetonu, výtěžek 30 %. Dle ¹H NMR spektra byla látka izolována s nečistotou. V ¹³C NMR spektru nebyly pozorovány všechny signály vlivem nízké koncentrace vzorku. ESI-HRMS C₃₃H₂₇N₃O₃ [M+H]⁺: teor. 515,2125; exp. 514,2129.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-1*H*-naphtho[2,3-*d*]imidazol (35).

Purifikace vymícháním za varu ve směsi cyklohexan/aceton, výtěžek 59 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 13.04 (s, 1H, N-H imidazol), 8.39 (s, 1H), 8.05-8.16 (m, 5H), 7.80-7.83 (m, 1H), 7.64-7.71 (m, 3H), 7.51 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.36-7.45 (m, 8H), 5.51 (s, 2H, O-CH₂), 5.33 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 154.3, 153.0, 146.1, 145.0, 144.7, 142.2, 136.5, 134.7, 130.7, 129.7, 129.6, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 128.2, 128.1, 127.5, 127.4, 124.9, 124.0, 123.0, 121.9, 116.2, 107.1

(Ar), 75.9 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₄H₂₅N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 508,2020; exp. 508,2021.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)benzo[d]oxazol (36).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), výtěžek 45 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.13 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 7.95 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.81 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.49-7.57 (m, 6H), 7.39 (dd, J = 14.9, 6.6 Hz, 3H), 7.31-7.33 (m, 3H), 5.51 (s, 2H, O-CH₂), 5.24 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 159.0, 154.2, 150.0, 145.3, 143.3, 142.2, 141.2, 136.3, 136.3, 129.9, 129.3, 128.8, 128.6, 128.5, 128.2, 126.5, 125.1, 121.9, 120.5, 111.2 (Ar), 76.0 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₂N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 459,1703; exp. 459,1704.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-6-chlorobenzo[d]oxazol (37).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), výtěžek 30 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.10-8.15 (m, 3H), 7.96 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.81 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 7.56 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 7.47-7.52 (m, 4H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.31 (t, J = 3.2 Hz, 3H), 5.50 (s, 2H, O-CH₂), 5.23 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 159.7, 154.2, 150.3, 145.2, 142.8, 142.2, 140.3, 136.3, 136.1, 130.7, 129.9, 129.2, 128.8, 128.5, 128.5, 128.3, 128.2, 128.2, 125.6, 125.1, 121.9, 121.5, 111.8 (Ar), 76.0 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₁N₂O₃Cl [M+H]⁺: teor. 493,1313; exp. 493,1314.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-6-methylbenzo[d]oxazol (38).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), výtěžek 55 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.11-8.14 (m, 2H), 7.78-7.82 (m, 2H), 7.67-7.70 (m, 2H), 7.50 (td, J = 3.8, 1.5 Hz, 4H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.32-7.34 (m, 4H), 5.49 (s, 2H O-CH₂), 5.23 (s, 2H, O-CH₂), 2.53 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 158.4, 154.1, 150.3, 145.2, 143.4, 142.1, 139.1, 136.6, 136.3, 136.3, 129.8, 129.2, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 126.3, 125.0, 121.9, 119.9, 111.0 (Ar), 76.0 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂), 21.4 (CH₃); ESI-HRMS C₃₁H₂₄N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 473,1860; exp. 473,1861.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-5-methylbenzo[d]oxazol (39).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), výtěžek 46 %. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.27 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.15 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.70-7.73 (m, 2H),

7.54-7.58 (m, 2H), 7.47-7.49 (m, 5H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.28-7.31 (m, 3H), 5.50 (s, 2H, O-CH₂), 5.25 (s, 2H, O-CH₂), 2.54 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 159.0, 154.1, 148.2, 145.2, 143.4, 142.2, 141.5, 136.3, 136.3, 134.5, 129.8, 129.2, 128.7, 128.5, 128.5, 128.2, 128.1, 127.5, 125.0, 121.9, 120.1, 110.6 (Ar), 76.0 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂), 21.0 (CH₃); ESI-HRMS C₃₁H₂₄N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 473,1860; exp. 473,1861.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)benzo[*d*]thiazol (40).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), izolace z diethyletheru, výtěžek 22 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.18-8.21 (m, 1H), 8.04-8.14 (m, 3H), 7.78 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.38-7.69 (m, 13H), 5.50 (s, 2H, O-CH₂), 5.26 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 167.0, 154.7, 154.4, 147.3, 144.9, 141.2, 136.7, 136.4, 135.6, 129.9, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 128.2, 127.9, 126.5, 126.3, 125.0, 123.6, 122.2, 122.0 (Ar), 75.8 (O-CH₂), 75.3 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₂N₂O₂S [M+H]⁺: teor. 475,1475; exp. 475,1477.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(3*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-2-yl)chinolin (41).

Purifikace vymícháním v EtOAc, výtěžek 15 %. Kvůli nízké koncentraci vzorku nebyly v ¹³C NMR spektru pozorovány některé signály. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 9.12 (s, 1H), 8.40 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 8.11 (t, *J* = 7.7 Hz, 2H), 7.79-7.82 (m, 1H), 7.62-7.68 (m, 4H), 7.50 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.34-7.41 (m, 6H), 5.50 (s, 2H, O-CH₂), 5.26 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 154.3, 145.0, 136.6, 136.4, 129.7, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 128.4, 128.1, 127.6, 124.8, 121.9 (Ar), 75.9 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₉H₂₂N₄O₂ [M+H]⁺: teor. 459,1816; exp. 459,1816.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-6-nitrobenzo[*d*]oxazol (42).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 4/1), výtěžek 14 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.83 (s, 1H), 8.39 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.13 (t, *J* = 8.1 Hz, 3H), 7.80-7.84 (m, 1H), 7.69-7.73 (m, 1H), 7.52 (d, *J* = 6.2 Hz, 2H), 7.47 (dd, *J* = 5.8, 2.2 Hz, 2H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.30 (t, *J* = 2.4 Hz, 3H), 5.52 (s, 2H, O-CH₂), 5.26 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 163.1, 154.4, 149.2, 146.3, 145.5, 145.3, 142.4, 142.3, 136.2, 136.1, 130.0, 129.3, 128.8, 128.5, 128.5, 128.2, 128.2, 125.3, 121.9, 120.9, 108.0 (Ar), 76.2 (O-CH₂), 75.3 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₁N₃O₅ [M+H]⁺: teor. 504,1554; exp. 504,1554.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-5-nitrobenzo[d]oxazol (43).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 7/3), výtěžek 4 %. Látka byla charakterizována pouze dle molekulové hmotnosti při LC-MS analýze. Pro měření NMR spekter nebylo připravené množství dostatečné.

2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-5-chlorobenzo[d]oxazol (44).

Purifikace sloupcovou chromatografií (hexan/EtOAc 7/3), výtěžek 13 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.13 (t, *J* = 9.4 Hz, 2H), 8.05 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.81 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.69 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.60 (dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, 1H), 7.50-7.52 (m, 2H), 7.45-7.47 (m, 2H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.34-7.29 (3H), 5.51 (s, 2H), 5.23 (s, 2H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 160.4, 154.2, 148.8, 145.2, 142.9, 142.4, 142.2, 136.3, 136.1, 129.9, 129.2, 129.2, 128.8, 128.5, 128.5, 128.3, 128.2, 126.5, 125.2, 121.9, 120.1, 112.7 (Ar), 76.1 (O-CH₂), 75.2 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₀H₂₁N₂O₃Cl [M+H]⁺: teor. 493,1313; exp. 493,1315.

Obecný postup debenzylace benzazolů s BCl₃ pro deriváty 45-53.

Reakce probíhaly v různých množstvích dle dostupnosti výchozí látky, proto je uveden reprezentativní příklad na derivátu 52.

K roztoku výchozího benzazolu **38** (40,7 mg; 0,086 mmol; 1 ekv.) v bezvodém DCM byl při teplotě 0 - 5 °C stříkačkou přes septum přikapán 1M BCl₃/hexan (0,43 mL; 0,043 mmol; 5 ekv.). Reakce probíhala po dobu 2 h za samovolného vytemperování na RT. Poté byla reakční směs zakoncentrována na RVO a vzniklý odparek byl zahříván při teplotě refluxu ve směsi metanol (0,5 mL)/konc. HCl (0,5 mL) po dobu 20 min. Reakční směs byla ochlazena na RT s následným přídavkem dest. H₂O (2 mL) a úpravou na pH ~ 6 pomocí 10% NaOH. Sraženina byla odsáta a promyta dest. H₂O a metanolem. Surový produkt byl vysušen ve vakuové sušárně přes noc. Čistý produkt byl získán vymícháním v DMSO s výtěžkem 55 %.

2-(1*H*-benzo[d]imidazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(*1H*)-on (45).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **29** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O, výtěžek 81 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.16 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.79 (q, *J* = 3.2 Hz, 2H), 7.62 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.31 (q, *J* = 3.2 Hz, 3H); ESI-HRMS C₁₆H₁₁N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 278,0924; exp. 278,0925.

2-(5,6-Dimethyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(*1H*)-on (46).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **30** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O, výtěžek 69 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.18 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.61 (s, 2H), 7.37 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 2.39 (s, 6H, 2 x CH₃); ESI-HRMS C₁₈H₁₅N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 306,1237; exp. 306,1236.

2-(6-chloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(*1H*)-on (47).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **31** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O, výtěžek 99 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.97 (s, 1H, N-H chinolon), 8.16 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.78-7.81 (m, 2H), 7.62 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.26-7.34 (m, 2H); ESI-HRMS C₁₆H₁₀N₃O₂Cl [M+H]⁺: teor. 312,0534; exp. 312,0533.

3-Hydroxy-2-(6-nitro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin-4(*1H*)-on (48).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **33** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O a promytím metanolem, výtěžek 85 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.98 (s, 1H, N-H chinolon), 8.64 (s, 1H), 8.16-8.21 (m, 2H), 8.08 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.94 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.64 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H); ESI-HRMS C₁₆H₁₀N₄O₄ [M+H]⁺: teor. 323,0775; exp. 323,0766.

3-Hydroxy-2-(6-propionyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin-4(*1H*)-on (49).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **34** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O, výtěžek 99 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.81 (s, 1H, N-H imidazol), 11.94 (s, 1H, N-H chinolon), 8.41 (s, 1H), 8.17 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.85 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.63 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 3.14 (q, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂), 1.15 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃); ESI-HRMS C₁₉H₁₅N₃O₃ [M+H]⁺: teor. 334,1186; exp. 334,1186.

3-Hydroxy-2-(1*H*-naphtho[2,3-*d*]imidazol-2-yl)chinolin-4(*1H*)-on (50).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **35** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O, výtěžek 96 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.32 (s, 2H), 8.19 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.07-8.10 (m, 3H), 7.67 (t, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.45 (q, *J* = 3.2 Hz, 2H), 7.35 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H); ESI-HRMS C₂₀H₁₃N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 328,1081; exp. 328,1079.

2-(Benzo[*d*]oxazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on (51).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **36** a čistý produkt byl získán vymícháním v DMSO a následnou lyofilizací, výtěžek 70 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.01 (s, 1H, N-H chinolon), 8.16 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.98 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.93 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 7.66 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.50-7.57 (m, 2H), 7.27-7.31 (m, 1H); ESI-HRMS C₁₆H₁₀N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 279,0764; exp. 279,0765.

3-Hydroxy-2-(6-methylbenzo[*d*]oxazol-2-yl)chinolin-4(1*H*)-on (52).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **38** a čistý produkt byl získán vymícháním v DMSO a následnou lyofilizací, výtěžek 77 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.97 (s, 1H, N-H chinolon), 8.15 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.65 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.34 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.26-7.30 (m, 1H), 2.52 (s, 3H, CH₃); ESI-HRMS C₁₇H₁₂N₂O₃ [M+H]⁺: teor. 293,0921; exp. 293,0920.

2-(Benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on (53).

Látka byla připravena debenzylací derivátu **40** a čistý produkt byl získán odsátím z dest. H₂O a promytím metanolem, výtěžek 60 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.10-8.25 (m, 4H), 7.63 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.53 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.26 (t, J = 7.3 Hz, 1H); ESI-HRMS C₁₆H₁₀N₂O₂S [M+H]⁺: teor. 295,0536; exp. 295,0535.

Obecný postup Sonogashira cross-couplingu pro deriváty **54-58, 61-64, 83-87, 90-92, 95 (metoda A).**

K roztoku alkyn derivátu **6** nebo **9** (200 mg; 0,54 mmol; 1 ekv.) v DMA/H₂O (950/50 μ L) bylo přidáno 10% Pd/C (29 mg; 0,027 mmol; 0,05 ekv.), PPh₃ (14 mg; 0,054 mmol; 0,1 ekv.), CuI (10 mg; 0,054 mmol; 0,1 ekv.) a DIPEA (210 μ L; 3 ekv.). Reakční směs byla probublána dusíkem a poté byl ihned přidán aryl nebo heteroaryl jodid (1 ekv.). Reakce probíhala při teplotě 70-75 °C a byla monitorována dle TLC (hexan/EtOAc 4/1). Po odreagování výchozího alkynu bylo provedeno zpracování naředěním DCM a filtrací přes skelný filtr. Tmavě hnědý filtrát byl odpařen se silikagelem a produkt byl izolován pomocí sloupcové chromatografie s gradientovou elucí (hexan/EtOAc 4/1 → EtOAc).

Pro deriváty **83-87, 90-92, 95** byla používána mobilní fáze pro TLC hexan/diethylether (4/1). Sloupcová chromatografie byla provedena gradientovou elucí (hexan/diethylether

6/1 → ether). U některých sloučenin bylo provedeno dočištění srážením (diethylether/hexan).

Obecný postup Sonogashira cross-couplingu pro deriváty 59, 60, 65-71, 88, 89, 93, 94, 96-98 (metoda B).

K roztoku alkyn derivátu **6** nebo **9** (200 mg; 0,54 mmol; 1 ekv.) v ACN (HPLC, 2 mL) byl přidán PdCl₂(PPh₃)₂ (7,6 mg; 0,01 mmol; 0,02 ekv.), CuI (1 mg; 0,005 mmol; 0,01 ekv.) a TEA (225 µL; 3 ekv.). Reakční směs byla probublána dusíkem a poté byl ihned přidán aryl nebo heteroaryl jodid/bromid (1 ekv.). Reakce probíhala při teplotě 50-55 °C a byla monitorována dle TLC (hexan/EtOAc 4/1). Po odreagování výchozího alkynu bylo provedeno zpracování naředěním DCM a filtrací přes skelný filtr. Tmavě hnědý filtrát byl odpařen se silikagelem a produkt byl izolován pomocí sloupcové chromatografie s gradientovou elucí (hexan/EtOAc 4/1 → EtOAc).

Pro deriváty **88, 89, 93, 94, 96-98** byla používána mobilní fáze pro TLC hexan/diethylether (4/1). Sloupcová chromatografie byla provedena gradientovou elucí (hexan/diethylether 6/1 → ether). U některých sloučenin bylo provedeno dočištění srážením (diethylether/hexan).

4-(Fenylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (54).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako bílý prášek, výtěžek 46 %, t.t. 120-121 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.96 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.83 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.67 (td, *J* = 7.7, 1.7 Hz, 3H), 7.56-7.60 (m, 1H), 7.49-7.53 (m, 3H), 6.48 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.1, 145.3, 142.1, 131.8, 129.9, 129.0, 128.9, 128.7, 127.3, 126.1, 120.9, 119.8, 115.1 (Ar), 104.0 (O-CH₂-O), 93.4 (C≡C), 84.1 (C≡C); ESI-HRMS C₁₈H₁₁NO₂ [M+H]⁺: teor. 274,0863; exp. 274,0863.

4-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)anilin (55).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako hnědý prášek, výtěžek 36 %, t.t. 216-220 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.91 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.80 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.61-7.65 (m, 1H), 7.54 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.29 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.66-6.58 (2H), 6.44 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.81 (s, 2H, NH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 150.6, 148.6, 145.3, 141.4, 133.2, 128.7, 128.6, 127.5, 126.7, 119.8, 114.9, 113.6, 106.2 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 96.7 (C≡C), 82.3 (C≡C); ESI-HRMS C₁₈H₁₂N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 289,0972; exp. 289,0971.

4-((4-Methoxyphenyl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (56).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/aceton jako oranžový prášek, výtěžek 50 %, t.t. 148 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.94 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.55-7.68 (m, 4H), 7.04 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.46 (s, 2H, O-CH₂-O), 3.82 (s, 3H, O-CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 160.4, 148.9, 145.3, 141.9, 133.5, 128.9, 128.7, 127.1, 126.6, 119.8, 115.0, 114.7, 112.7 (Ar), 103.9 (O-CH₂-O), 94.0 (C≡C), 83.1 (C≡C), 55.4 (O-CH₃); ESI-HRMS C₁₉H₁₃NO₃ [M+H]⁺: teor. 304,0968; exp. 304,0968.

Methyl 4-([1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)benzoát (57).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako žlutý prášek, výtěžek 63 %, t.t. 173-174 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.03 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.96 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.79 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 7.66-7.70 (m, 1H), 7.59 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 3.88 (s, 3H, CH₃ ester); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 165.5, 149.3, 145.4, 142.4, 135.8, 132.1, 130.3, 129.6, 129.0, 128.9, 127.6, 125.5, 119.9, 115.2 (Ar), 104.2 (O-CH₂-O), 92.3 (C≡C), 86.6 (C≡C), 52.4 (CH₃ ester); ESI-HRMS C₂₀H₁₃NO₄ [M+H]⁺: teor. 332,0917; exp. 332,0919.

4-(*O*-tolylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (58).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako světle hnědý prášek, výtěžek 35 %, t.t. 162-163 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.96 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.65-7.69 (m, 1H), 7.59 (q, J = 7.3 Hz, 2H), 7.38-7.41 (m, 2H), 7.30 (td, J = 6.8, 2.4 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 2.52 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.1, 145.3, 142.1, 140.4, 132.1, 129.9, 129.8, 128.9, 128.7, 127.3, 126.4, 126.2, 120.7, 119.9, 115.1 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 92.6 (C≡C), 88.0 (C≡C), 20.2 (CH₃); ESI-HRMS C₁₉H₁₃NO₂ [M+H]⁺: teor. 288,1019; exp. 288,1020.

4-((2-Nitrofenyl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (59).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako hnědý prášek, výtěžek 27 %, t.t. 167-170 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.24 (dd, J = 8.2, 0.9 Hz, 1H), 7.96-7.99 (m, 2H), 7.85-7.89 (m, 2H), 7.75-7.79 (m, 1H), 7.67-7.71 (m, 1H), 7.61 (td, J = 7.6, 1.1 Hz, 1H), 6.51 (s, 2H, O-CH₂-O); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.5, 149.2, 145.4, 142.6, 135.1, 134.0, 131.0, 129.1, 128.9, 127.7, 125.3, 125.0,

119.9, 115.6, 115.3 (Ar), 104.3 (O-CH₂-O), 90.1 (C≡C), 88.2 (C≡C); ESI-HRMS C₁₈H₁₀N₂O₄ [M+H]⁺: teor. 319,0713; exp. 319,0712.

1-(2-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)fenyl)ethan-1-on (60).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako hnědý prášek, výtěžek 19 %, t.t. 142-146 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.96 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.90 (dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.78 (dd, *J* = 7.6, 1.1 Hz, 1H), 7.68 (qd, *J* = 3.6, 1.5 Hz, 1H), 7.65 (td, *J* = 3.0, 1.5 Hz, 1H), 7.57-7.63 (m, 2H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 2.73 (s, 3H, CH₃ keton); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 199.2 (C=O keton), 149.2, 145.4, 142.3, 140.7, 134.3, 131.9, 129.9, 129.1, 129.0, 128.8, 127.4, 126.1, 119.9, 118.8, 115.1 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 92.5 (C≡C), 88.3 (C≡C), 29.5 (CH₃ keton); ESI-HRMS C₂₀H₁₃NO₃ [M+H]⁺: teor. 316,0968; exp. 316,0968.

Methyl 2-([1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)benzoát (61).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako oranžový prášek, výtěžek 55 %, t.t. 150-151 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.97 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 7.82 (dd, *J* = 10.8, 8.0 Hz, 2H), 7.70 (q, *J* = 6.7 Hz, 2H), 7.57-7.66 (m, 2H), 6.50 (s, 2H, O-CH₂-O), 3.92 (s, 3H, CH₃ ester); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 165.8 (C=O ester), 149.2, 145.4, 142.3, 134.3, 132.5, 132.1, 130.3, 129.8, 129.0, 128.8, 127.4, 126.2, 120.9, 119.9, 115.1 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 92.0 (C≡C), 88.2 (C≡C), 52.4 (CH₃ ester); ESI-HRMS C₂₀H₁₃NO₄ [M+H]⁺: teor. 332,0917; exp. 332,0916.

1-(5-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)thiofen-2-yl)ethan-1-on (62).

Látka byla připravena metodou A a izolována z hexanu jako oranžový prášek, výtěžek 44 %, t.t. 178-182 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.99 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.67-7.70 (m, 2H), 7.60 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 2.59 (s, 3H, CH₃ keton); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 190.6 (C=O keton), 149.4, 146.1, 145.5, 142.3, 135.5, 134.1, 129.0, 129.0, 127.7, 127.4, 124.9, 119.9, 115.2 (Ar), 104.3 (O-CH₂-O), 90.4 (C≡C), 85.8 (C≡C), 26.7 (CH₃ keton); ESI-HRMS C₁₈H₁₁NO₃S [M+H]⁺: teor. 322,0532; exp. 322,0532.

4-(Thiofen-2-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (63).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako žlutý prášek, výtěžek 65 %, t.t. 102 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 7.94 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H),

7.81-7.83 (m, 2H), 7.65-7.69 (m, 1H), 7.56-7.61 (m, 2H), 7.21 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 6.47 (s, 2H, O-CH₂-O); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 149.2, 145.4, 141.9, 134.4, 130.8, 128.9, 128.8, 128.2, 127.3, 125.9, 120.2, 119.9, 115.1 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 87.8 (C≡C), 87.0 (C≡C); ESI-HRMS C₁₆H₉NO₂S [M+H]⁺: teor. 280,0427; exp. 280,0424.

4-(Selenofen-2-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (64).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako oranžový prášek, výtěžek 70 %, t.t. 126-127 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.45 (dd, J = 5.5, 0.9 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.76 (dd, J = 3.7, 0.9 Hz, 1H), 7.65-7.69 (m, 1H), 7.56-7.60 (m, 1H), 7.40 (dd, J = 5.7, 3.9 Hz, 1H), 6.47 (s, 2H, O-CH₂-O); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 149.1, 145.4, 141.8, 137.6, 136.8, 130.2, 128.9, 128.8, 127.3, 126.1, 124.5, 119.9, 115.1 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 89.3 (C≡C); ESI-HRMS C₁₆H₉NO₂Se [M+H]⁺: teor. 327,9871; exp. 327,9868.

4-(Thiazol-4-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (65).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako oranžový prášek, výtěžek 27 %, t.t. 154-158 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 9.25 (d, J = 1.8 Hz, 1H, C-H thiazol), 8.39 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.68 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 155.5 (C-H thiazol), 149.3, 145.4, 142.3, 135.7, 129.0, 128.8, 127.5, 127.0, 125.5, 119.9, 115.2 (Ar), 104.2 (O-CH₂-O), 87.8 (C≡C), 83.4 (C≡C); ESI-HRMS C₁₅H₈N₂O₂S [M+H]⁺: teor. 281,0379; exp. 281,0378.

4-((1-Tosyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (66).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako světle hnědý prášek, výtěžek 45 %, t.t. 162-164 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 8.53 (s, 1H, CH imidazol), 8.45 (s, 1H, CH imidazol), 8.05 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.92 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.64-7.68 (m, 1H), 7.57 (q, J = 8.1 Hz, 3H), 6.45 (s, 2H, O-CH₂-O), 2.42 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 149.3, 147.1, 145.4, 142.2, 138.1, 133.6, 130.7, 129.0, 128.8, 127.6, 127.5, 125.5, 124.6, 123.4, 119.9, 115.1 (Ar), 104.1 (O-CH₂-O), 85.9 (C≡C), 85.1 (C≡C), 21.2 (CH₃); ESI-HRMS C₂₂H₁₅N₃O₄S [M+H]⁺: teor. 418,0856; exp. 418,0854.

4-((1-Methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (67).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/EtOAc jako tmavě žlutý prášek, výtěžek 67 %, t.t. 159-162 °C. ^1H -NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8.24 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 7.65 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.45 (s, 2H, O-CH₂-O), 3.89 (s, 3H, N-CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 148.9, 145.3, 141.7, 141.6, 134.7, 128.8, 128.6, 127.0, 126.8, 119.8, 115.0 (Ar), 103.9 (O-CH₂-O), 100.3 (CH pyrazol), 86.7 (C≡C), 84.9 (C≡C); ESI-HRMS C₁₆H₁₁N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 278,0924; exp. 278,0926.

4-(Pyrimidin-5-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (68).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/aceton jako světle oranžový prášek, výtěžek 35 %, t.t. 187-188 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 9.28 (s, 1H, CH pyrimidin), 9.13 (s, 2H, CH pyrimidin), 7.97 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.67-7.71 (m, 1H), 7.59-7.63 (m, 1H), 6.50 (s, 2H, O-CH₂-O); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 159.1 (2 x CH pyrimidin), 157.6 (CH pyrimidin), 149.5, 145.4, 142.4, 129.0, 129.0, 127.7, 124.9, 119.9, 117.7, 115.2 (Ar), 104.3 (O-CH₂-O), 89.9 (C≡C), 86.6 (C≡C); ESI-HRMS C₁₆H₉N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 276,0768; exp. 276,0767.

4-(Pyrnidin-3-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (69).

Látka byla připravena metodou B a izolována z hexanu jako světle oranžový prášek, výtěžek 18 %, t.t. 115-119 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.85 (d, J = 1.8 Hz, 1H, CH pyridin), 8.68 (dd, J = 4.8, 1.6 Hz, 1H, CH pyridin), 8.10 (dt, J = 7.9, 2.1 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.66-7.70 (m, 1H), 7.57-7.62 (m, 1H), 7.53 (ddd, J = 7.8, 5.0, 0.9 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 151.9 (CH pyridin), 150.0 (CH pyridin), 149.3, 145.4, 142.3, 139.1, 129.0, 128.9, 127.5, 125.5, 123.8, 119.9, 118.0, 115.2 (Ar), 104.2 (O-CH₂-O), 90.0 (C≡C), 86.8 (C≡C); ESI-HRMS C₁₇H₁₀N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 275,0815; exp. 275,0816.

4-(Chinolin-3-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (70).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi aceton/EtOAc jako světle hnědý prášek, výtěžek 39 %, t.t. 172-174 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 9.06 (d, J = 1.8 Hz, 1H, CH chinolin), 8.79 (d, J = 2.3 Hz, 1H, CH chinolin), 8.08 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.98 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.86 (dd, J = 12.8, 8.2 Hz, 2H), 7.70 (q, J = 7.6 Hz, 2H),

7.60 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.51 (s, 2H, O-CH₂-O); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 151.3 (CH chinolin), 149.3, 146.7, 145.4, 142.3, 139.6, 131.2, 129.0, 128.9, 128.3, 127.7, 127.5, 126.7, 125.6, 119.9, 115.2, 115.0 (Ar), 104.2 (O-CH₂-O), 90.8 (C≡C), 86.9 (C≡C); ESI-HRMS C₂₁H₁₂N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 325,0972; exp. 325,0970.

4-((1-Methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (71).

Látka byla připravena metodou B a izolována z hexanu jako žlutý prášek, výtěžek 38 %, t.t. 225-228 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.01 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.69-7.74 (m, 2H), 7.64 (dd, $J = 15.6, 8.2$ Hz, 2H), 7.39-7.43 (m, 1H), 7.33 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.55 (s, 2H, O-CH₂-O), 4.01 (s, 3H, N-CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 149.6, 145.6, 142.9, 142.5, 134.9, 132.8, 129.1, 127.9, 124.3, 123.0, 120.0, 119.7, 115.4, 110.9 (Ar), 104.5 (O-CH₂-O), 88.5 (C≡C), 82.8 (C≡C), 30.9 (N-CH₃); ESI-HRMS C₂₀H₁₃N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 328,1081; exp. 328,1083.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(fenylethynyl)chinolin (83).

Látka byla připravena metodou A jako žlutý prášek, výtěžek 69 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.05 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.96 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.55-7.60 (m, 5H), 7.49 (m, 5H), 7.40 (m, 6H), 5.46 (s, 2H, O-CH₂), 5.30 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.1, 145.7, 143.0, 141.1, 136.5, 136.5, 131.7, 129.7, 129.3, 128.9, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 127.2, 124.0, 121.8, 121.2 (Ar), 92.8 (C≡C), 86.6 (C≡C), 75.8 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₁H₂₃NO₂ [M+H]⁺: teor. 442,1802; exp. 442,1805.

4-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)anilin (84).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/diethyether ve formě světle hnědého prášku, výtěžek 44 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.01 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.67-7.70 (m, 1H), 7.59 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.51-7.56 (m, 1H), 7.49 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.36-7.43 (m, 6H), 7.20 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.58 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.80 (s, 2H, NH₂), 5.43 (s, 2H, O-CH₂), 5.27 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 151.8, 150.5, 145.7, 142.5, 142.1, 136.7, 136.6, 133.3, 129.1, 128.5, 128.4, 128.4, 128.3, 128.2, 128.2, 126.6, 123.6, 121.7, 113.6, 106.6 (Ar), 96.2 (C≡C), 84.7 (C≡C), 75.5 (O-CH₂), 74.9 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₁H₂₄N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 457,1911; exp. 457,1910.

Methyl 4-((3,4-bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)benzoát (85).

Látka byla připravena metodou A jako oranžový prášek, výtěžek 61 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.06 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.01 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.97 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.73 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.55-7.62 (m, 3H), 7.50 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.40 (t, J = 7.8 Hz, 6H), 5.47 (s, 2H, O-CH₂), 5.30 (s, 2H, O-CH₂), 3.89 (s, 3H, CH₃ ester); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 165.5 (C=O ester), 152.2, 145.7, 143.2, 140.6, 136.5, 136.4, 132.1, 130.1, 129.5, 128.5, 128.5, 128.4, 127.5, 125.9, 124.2, 121.8 (Ar), 91.5 (C≡C), 89.1 (C≡C), 76.0 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂), 52.4 (CH₃ ester); ESI-HRMS C₃₃H₂₅NO₄ [M+H]⁺: teor. 500,1856; exp. 500,1861.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-((4-methoxyfenyl)ethynyl)chinolin (86).

Látka byla připravena metodou A jako růžový prášek, výtěžek 56 % ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.04 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 7.58 (m, 3H), 7.50 (m, 4H), 7.38-7.41 (m, 6H), 7.03-7.06 (m, 2H), 5.45 (s, 2H, O-CH₂), 5.29 (s, 2H, O-CH₂), 3.83 (s, 3H, O-CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 160.3 (C-O), 152.0, 145.7, 142.8, 141.4, 136.5, 136.5, 133.4, 129.2, 128.5, 128.4, 128.2, 127.0, 123.9, 121.7, 114.6, 113.0, 93.4 (C≡C), 85.6 (C≡C), 75.7 (O-CH₂), 74.9 (O-CH₂), 55.3 (O-CH₃); ESI-HRMS C₃₂H₂₅NO₃ [M+H]⁺: teor. 472,1907; exp. 472,1908.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(*o*-tolylethynyl)chinolin (87).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/diethyether ve formě světle růžového prášku, výtěžek 45 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.05 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (t, J = 6.4 Hz, 5H), 7.35-7.42 (m, 8H), 7.27 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H, O-CH₂), 5.31 (s, 2H, O-CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.0, 145.7, 142.9, 141.2, 140.3, 136.4, 132.1, 129.7, 129.6, 129.3, 128.4, 128.3, 128.2, 127.1, 126.0, 124.0, 121.7, 121.1 (Ar), 91.7 (C≡C), 90.2 (C≡C), 75.6 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂), 20.2 (CH₃); ESI-HRMS C₃₂H₂₅NO₂ [M+H]⁺: teor. 456,1958; exp. 455,1959.

1-(2-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)fenyl)ethan-1-on (88).

Látka byla připravena metodou B jako oranžový prášek, výtěžek 50 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.05 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.89-7.91 (m, 1H), 7.72 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 7.57-7.68 (m, 4H), 7.47-7.53 (m, 4H), 7.32-7.42 (m, 6H), 5.44 (s, 2H, O-CH₂), 5.33 (s, 2H, O-CH₂), 2.66 (s, 3H, CH₃ keton); ^{13}C NMR (101

MHz, DMSO-*d*6): δ 199.2 (CH₃ keton), 152.1, 145.7, 143.0, 141.0, 140.5, 136.4, 134.2, 131.7, 129.6, 129.3, 129.1, 128.4, 128.4, 128.3, 128.2, 127.3, 124.1, 121.7, 119.2 (Ar), 91.7 (C≡C), 90.6 (C≡C), 75.8 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂), 29.3 (CH₃ keton); ESI-HRMS C₃₃H₂₅NO₃ [M+H]⁺: teor. 484,1907; exp. 484,1910.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-((2-nitrofenyl)ethynyl)chinolin (89).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/diethyether ve formě žlutého prášku, výtěžek 70 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.23 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 8.06 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.72-7.86 (m, 4H), 7.59-7.63 (m, 1H), 7.47-7.51 (m, 4H), 7.36-7.42 (m, 3H), 7.33 (td, *J* = 3.1, 1.4 Hz, 3H), 5.44 (s, 2H, O-CH₂), 5.32 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.3, 149.2, 145.7, 143.2, 140.4, 136.4, 136.3, 135.1, 133.9, 130.8, 129.5, 128.6, 128.5, 128.3, 127.6, 125.0, 124.3, 121.9, 116.0 (Ar), 92.6 (C≡C), 87.4 (C≡C), 76.1 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₁H₂₂N₂O₄ [M+H]⁺: teor. 487,1652; exp. 487,1655.

1-(5-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)thiofen-2-yl)ethan-1-on (90).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/diethyether ve formě světle oranžového prášku, výtěžek 47 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.95-7.99 (m, 2H), 7.74 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.55-7.63 (m, 4H), 7.51 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.39-7.40 (m, 7H), 5.47 (s, 2H, O-CH₂), 5.28 (s, 2H, O-CH₂), 2.59 (s, 3H, CH₃ keton); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 190.7 (C=O keton), 152.3, 146.0, 145.8, 142.9, 140.2, 136.4, 136.3, 135.3, 134.1, 129.6, 128.6, 128.5, 128.4, 127.9, 127.6, 124.3, 121.9 (Ar), 93.1 (C≡C), 85.1 (C≡C), 76.0 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂), 26.7; ESI-HRMS C₃₁H₂₃NO₃S [M+H]⁺: teor. 490,1471; exp. 490,1475.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(thiofen-2-ylethynyl)chinolin (91).

Látka byla připravena metodou A a izolována ze směsi hexan/diethyether ve formě světle oranžového prášku, výtěžek 44 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.05 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.95 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.59 (m, *J* = 5.7 Hz, 3H), 7.51 (d, *J* = 8.2 Hz, 3H), 7.36-7.44 (m, 6H), 7.21 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 5.46 (s, 2H, O-CH₂), 5.26 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.1, 145.8, 142.6, 140.9, 136.4, 136.4, 134.3, 130.7, 129.4, 128.5, 128.5, 128.4, 128.1, 127.3, 124.0, 121.8, 120.7 (Ar), 90.4 (C≡C), 86.3 (C≡C), 75.8 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₉H₂₁NO₂S [M+H]⁺: teor. 448,1366; exp. 448,1363.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(selenofen-2-ylethynyl)chinolin (92).

Látka byla připravena metodou A jako světle žlutý prášek, výtěžek 43 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.44 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 8.05 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.70-7.74 (m, 1H), 7.68 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.58 (m, 3H), 7.50 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.41 (m, J = 8.0 Hz, 7H), 5.46 (s, 2H, O-CH₂), 5.26 (s, 2H, O-CH₂); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.1, 145.8, 142.6, 141.1, 137.4, 136.7, 136.5, 136.4, 130.2, 129.4, 128.5, 128.5, 128.4, 127.2, 125.0, 124.0, 121.8 (Ar), 92.0 (C≡C), 88.7 (C≡C), 75.8 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₉H₂₁NO₂Se [M+H]⁺: teor. 496,0810; exp. 496,0813.

4-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)thiazol (93).

Látka byla připravena metodou B jako oranžový prášek, výtěžek 15 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 9.28 (d, J = 1.8 Hz, 1H, CH thiazol), 8.27 (d, J = 1.8 Hz, 1H, CH thiazol), 8.06 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.73 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.58-7.64 (m, 3H), 7.49 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.36-7.42 (m, 6H), 5.46 (s, 2H, O-CH₂), 5.28 (s, 2H, O-CH₂); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 155.4 (CH thiazol), 152.2, 145.8, 142.9, 140.7, 136.4, 136.2, 136.1, 129.5, 128.9, 128.5, 128.5, 128.4, 127.5, 126.7, 124.2, 121.9 (Ar), 87.2 (C≡C), 85.9 (C≡C), 76.0 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₈H₂₀N₂O₂S [M+H]⁺: teor. 449,1318; exp. 449,1318.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-((1-tosyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethynyl)chinolin (94).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/diethylether ve formě bílého prášku, výtěžek 39 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.56 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.22 (d, J = 1.4 Hz, 1H), 8.03-8.08 (m, 3H), 7.92 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.56-7.60 (m, 5H), 7.47 (dd, J = 7.8, 1.4 Hz, 2H), 7.28-7.41 (m, 6H), 5.44 (s, 2H, O-CH₂), 5.23 (s, 2H, O-CH₂), 2.43 (s, 3H, CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.5, 145.7, 145.6, 143.7, 142.9, 139.9, 137.6, 136.4, 136.3, 136.1, 129.7, 128.9, 128.5, 128.5, 128.4, 128.1, 128.0, 127.7, 125.5, 124.8, 124.3, 121.9, 114.6 (Ar), 90.4 (C≡C), 76.1 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂), 20.7 (CH₃).

2-((1*H*-Imidazol-4-yl)ethynyl)-3,4-bis(benzyloxy)chinolin (94a).

Detosylace sloučeniny **94** (81 mg; 0,138 mmol) byla provedena v dioxanu (2,9 mL) pomocí směsi CH₃SO₃H/H₂O (12 μ L/24 μ L) při RT po dobu 48 h. Reakční směs byla zředěna dest. H₂O/THF (1/0,1 mL) a pomocí nasyc. NaHCO₃ bylo upraveno pH na 7-8. Vyloučená sraženina byla míchána při teplotě 0 - 5 °C po dobu 2 h. Sloučenina byla

odsáta, promyta 10% THF v dest. H₂O a vysušena za vakua. Světle hnědý prášek, výtěžek 90 %. V ¹³C NMR spektru chybí signály trojně vazby kvůli nízké koncentraci vzorku. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.18 (s, 1H), 8.04 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.93 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.69-7.73 (m, 2H), 7.56-7.62 (m, 3H), 7.48 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.35-7.41 (m, 6H), 5.45 (s, 2H, O-CH₂), 5.28 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.0, 145.7, 142.5, 136.5, 136.3, 129.2, 128.8, 128.5, 128.4, 128.3, 126.9, 123.8, 121.7 (Ar), 75.7 (O-CH₂), 74.9 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₈H₂₁N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 432,1707; exp. 432,1707.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethynyl)chinolin (95).

Látka byla připravena metodou A jako světle hnědý prášek, výtěžek 46 %. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.05-8.10 (m, 2H), 7.64 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 7.55-7.58 (m, 3H), 7.35-7.49 (m, 9H), 5.45 (s, 2H, O-CH₂), 5.25 (s, 2H, O-CH₂), 3.92 (s, 3H, N-CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 153.3, 146.2, 143.0, 142.7, 142.2, 136.8, 136.7, 133.9, 129.4, 128.7, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 126.8, 124.4, 122.1 (Ar), 102.5 (C≡C), 87.4 (C≡C), 76.5 (O-CH₂), 75.7 (O-CH₂), 39.5 (N-CH₃); ESI-HRMS C₂₉H₂₃N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 446,1876; exp. 446,1875.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-((1-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethynyl)chinolin (96).

Látka byla připravena metodou B a izolována ze směsi hexan/diethyether ve formě světle hnědého prášku, výtěžek 41 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.77 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.60-7.66 (m, 4H), 7.52 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 7.34-7.43 (m, 8H), 5.49 (s, 2H, O-CH₂), 5.36 (s, 2H, O-CH₂), 3.85 (s, 3H, N-CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.4, 145.9, 143.4, 142.6, 139.7, 136.3, 136.1, 135.9, 134.9, 129.7, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.4, 127.9, 124.5, 124.2, 123.0, 121.9, 119.7, 110.9 (Ar), 90.9 (C≡C), 81.9 (C≡C), 76.1 (O-CH₂), 75.1 (O-CH₂), 30.7 (N-CH₃); ESI-HRMS C₃₃H₂₅N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 496,2020; exp. 496,2021.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(chinolin-3-ylethylynyl)chinolin (97).

Látka byla připravena metodou B jako bílý prášek, výtěžek 49 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 8.92 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH chinolin), 8.55 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, CH chinolin), 8.08 (dd, *J* = 7.8, 4.6 Hz, 2H), 8.00-8.03 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.85-7.89 (m, 1H), 7.70-7.77 (m, 2H), 7.60-7.63 (m, 3H), 7.52 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.36-7.43 (m, 6H), 5.50 (s, 2H, O-CH₂), 5.36 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 152.2, 151.3, 146.6, 145.8, 143.2, 140.7, 139.5, 136.6, 136.5, 131.1, 129.5, 128.9, 128.5,

128.5, 128.4, 128.4, 128.2, 127.8, 127.5, 126.7, 124.2, 121.9, 115.4 (Ar), 90.1 (C≡C), 89.3 (C≡C), 76.0 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₃₄H₂₄N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 493,1911; exp. 493,1915.

3,4-Bis(benzyloxy)-2-(pyrimidin-5-ylethynyl)chinolin (98).

Látka byla připravena metodou B jako oranžový prášek, výtěžek 29 %. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 9.27 (s, 1H, CH pyrimidin), 8.95 (s, 2H, CH pyrimidin), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.75 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.62 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50-7.56 (m, 4H), 7.35-7.42 (m, 6H), 5.49 (s, 2H, O-CH₂), 5.32 (s, 2H, O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ 159.0 (CH pyrimidin), 157.5 (CH pyrimidin), 152.3, 145.7, 143.2, 140.2, 136.5, 136.4, 129.6, 128.6, 128.5, 128.4, 127.7, 124.3, 121.9, 118.0 (Ar), 92.4 (C≡C), 85.9 (C≡C), 76.2 (O-CH₂), 75.0 (O-CH₂); ESI-HRMS C₂₉H₂₁N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 444,1707; exp. 444,1707.

Obecný postup cyklizace alkynů s MSA pro deriváty 73-82.

K roztoku derivátu **6**; **54-71** (50 mg; 1 ekv.) v dioxanu (0,5 mL) byla přidána methansulfonová kyselina (5 ekv.) a dest. H₂O v poměru 1/2 (v/v). Reakční směs byla zahřívána při teplotě 85-90 °C v tlakové ampuli do odreagování výchozí látky (kontrola dle LC-MS). Poté byla reakční směs naředěna dest. H₂O (4 mL) s následnou úpravou pH na 6-7 pomocí 10% NaOH. Vyloučená sraženina byla odsáta, promyta vodou a vysušena. Čištění surového produktu bylo provedeno buď sloupcovou chromatografií, nebo vymícháním v rozpouštědle popř. směsi rozpouštědel, dle konkrétního derivátu.

Sloučenina **81** byla připravena stejným způsobem, ale s přídavkem 10 ekv. MSA.

Sloučenina **76** byla izolována jako směs methylesteru a kyseliny. Tato směs byla hydrolyzována s 2N NaOH (10 ekv.) v metanolu při RT po dobu 16 h. Po odpaření metanolu byla přidána H₂O a suspenze byla okyselena pomocí 1N HCl na pH 3-4. Vzniklá kyselina **76** byla izolována filtrací, promyta směsí MeOH/H₂O (1/1), vodou a vysušena za vakua.

Furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (73).

Cykлизací sloučeniny **6** vznikl produkt **73**, který byl izolován z chloroformu ve formě oranžového prášku. Výtěžek 60 %, t.t. 180-183 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d6): δ 12.12 (s, 1H, N-H chinolon), 8.24 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.14 (s, 1H), 7.55-7.65 (m, 2H), 7.26 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 6.86 (s, 1H, CH furan); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6): δ

164.0 (C=O chinolon), 149.9, 139.6, 137.9, 137.5, 131.3, 125.4, 124.5, 121.4, 117.9 (Ar), 102.3 (CH furan); ESI-HRMS C₁₁H₇NO₂ [M+H]⁺: teor. 186,0550; exp. 186,0551.

2-Fenylfuro[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (74).

Cykлизací sloučeniny **54** vznikl produkt **74**, který byl izolován ze směsi DMF/diethylether ve formě světle růžového prášku. Výtěžek 85 %, t.t. 347-350 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.25 (s, 1H, N-H chinolon), 8.30 (dd, *J* = 8.0, 1.1 Hz, 1H), 8.03 (dd, *J* = 8.2, 1.4 Hz, 2H), 7.61-7.69 (m, 2H), 7.54-7.58 (m, 2H), 7.47-7.51 (m, 1H), 7.39 (s, 1H, CH furan), 7.28-7.32 (m, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 163.5 (C=O chinolon), 158.2, 139.6, 139.1, 137.1, 131.2, 130.0, 129.1, 128.9, 125.4, 124.9, 121.4, 117.8 (Ar), 97.2 (CH furan); ESI-HRMS C₁₇H₁₁NO₂ [M+H]⁺: teor. 262,0863; exp. 262,0861.

2-(4-Methoxyfenyl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (75).

Cykлизací sloučeniny **56** vznikl produkt **75**, který byl izolován ze směsi DMF/diethylether ve formě světle žlutého prášku. Výtěžek 87 %, t.t. 220-224 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.17 (s, 1H, N-H chinolon), 8.28 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.97 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.66 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.22 (s, 1H, CH furan), 7.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 3.85 (s, 3H, O-CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 163.2 (C-O), 160.7, 158.7, 139.5, 136.7, 131.1, 127.2, 125.4, 124.9, 121.4, 121.3, 117.8, 114.6 (Ar), 95.5 (CH furan), 55.4 (O-CH₃); ESI-HRMS C₁₈H₁₃NO₃ [M+H]⁺: teor. 292,0968; exp. 292,0967.

4-(9-oxo-4,9-dihydrofuro[3,2-*b*]chinolin-2-yl)benzoová kyselina (76).

Cykлизací sloučeniny **57** s následnou bazickou hydrolyzou vznikla kyselina **76** ve formě světle hnědého prášku. Výtěžek 84 %, t.t. < 360 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.35 (s, 1H, N-H chinolon), 8.30 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 8.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.69 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 7.64 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H, CH furan), 7.32 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 166.7 (COOH), 163.8, 157.0, 139.8, 138.9, 137.5, 132.7, 131.5, 131.4, 130.0, 125.4, 125.4, 124.9, 121.5, 117.9 (Ar), 99.2 (CH furan); ESI-HRMS C₁₈H₁₁NO₄ [M+H]⁺: teor. 306,0761; exp. 306,0761.

2-(Chinolin-3-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (77).

Cykлизací sloučeniny **70** vznikl produkt **77**, který byl izolován ze směsi DMF/diethylether ve formě světle hnědého prášku. Výtěžek 92 %, t.t. < 360 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.35 (s, 1H, N-H chinolon), 9.55 (d, *J* = 2.3 Hz, 1H, CH chinolin), 8.98 (s, 1H, CH chinolin), 8.32 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.19 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.09 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.84 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.63-7.72 (m, 4H), 7.32 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 163.5, 155.7, 147.6, 139.7, 138.9, 137.6, 131.9, 131.4, 130.7, 128.9, 128.9, 127.6, 127.2, 125.4, 125.0, 122.3, 121.5, 117.9 (Ar), 98.9 (CH furan); ESI-HRMS C₂₀H₁₂N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 313,0972; exp. 313,0971.

2-(5-Acetylthiofen-2-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (78).

Cykлизací sloučeniny **62** vznikl produkt **78**, který byl izolován ze směsi DMF/EtOAc ve formě světle hnědého prášku. Výtěžek 84 %, t.t. < 360 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.27 (s, 1H, N-H chinolon), 8.27 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 4.1 Hz, 1H), 7.67 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H, CH furan), 7.30 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.58 (s, 3H, CH₃ acetyl); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 190.9 (C=O acetyl), 163.7, 152.5, 144.9, 139.7, 138.7, 138.1, 137.2, 134.8, 131.5, 128.2, 125.4, 125.0, 121.6, 117.9 (Ar), 99.3 (CH furan), 26.3 (CH₃ acetyl); ESI-HRMS C₁₇H₁₁NO₃S [M+H]⁺: teor. 310,0532; exp. 310,0532.

2-(Thiofen-2-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (79).

Cykлизací sloučeniny **63** vznikl produkt **79**, který byl izolován sloupcovou chromatografií (CHCl₃/MeOH/EtOAc 6/1/3) ve formě žlutého prášku. Výtěžek 85 %, t.t. 340-341 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.17 (s, 1H, N-H chinolon), 8.28 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.81-7.85 (m, 2H), 7.62-7.66 (m, 2H), 7.29 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.18 (s, 1H, CH furan); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 163.2, 154.1, 139.6, 139.2, 136.5, 131.3, 131.2, 129.1, 128.8, 127.6, 125.4, 125.0, 121.5, 117.8 (Ar), 96.3 (CH furan); ESI-HRMS C₁₅H₉NO₂S [M+H]⁺: teor. 268,0427; exp. 268,0428.

2-(Selenofen-2-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (80).

Cykлизací sloučeniny **64** vznikl produkt **80**, který byl izolován sloupcovou chromatografií (CHCl₃/MeOH/EtOAc 6/1/3) ve formě žlutého prášku. Výtěžek 79 %, t.t. 320-324 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.16 (s, 1H, N-H chinolon), 8.42 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 8.28 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 7.59-7.68 (m, 2H), 7.47 (t, *J* = 4.6 Hz, 1H), 7.30 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.19 (s, 1H, CH furan); ¹³C NMR

(101 MHz, DMSO-*d*6): δ 163.2, 156.0, 139.5, 139.3, 136.6, 135.9, 135.3, 131.2, 130.9, 129.6, 125.3, 124.9, 121.4, 117.8 (Ar), 95.9 (CH furan); ESI-HRMS C₁₅H₉NO₂Se [M+H]⁺: teor. 315,9871; exp. 315,9869.

2-(1*H*-Imidazol-5-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (81).

Cykлизací sloučeniny **66** vznikl produkt **81**, který byl izolován sloupcovou chromatografií (CHCl₃/MeOH/NH₄OH 6/1/0,05) ve formě světle žlutého prášku. Výtěžek 82 %, t.t. < 360 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.11 (s, 1H, N-H chinolon), 8.28 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H, CH imidazol), 7.84 (s, 1H, CH imidazol), 7.63-7.67 (m, 1H), 7.59 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.29 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H, CH furan); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 162.8, 156.2, 139.5, 139.4, 137.3, 131.4, 130.9, 128.0, 125.3, 125.0, 121.3, 117.7, 116.5 (Ar), 94.5 (CH furan); ESI-HRMS C₁₄H₉N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 252,0768; exp. 252,0767.

2-(1-Methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (82).

Cykлизací sloučeniny **67** vznikl produkt **82**, který byl izolován sloupcovou chromatografií (CHCl₃/MeOH/EtOAc 6/1/3) ve formě žlutého prášku. Výtěžek 33 %, t.t. 314-316 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 12.15 (s, 1H, N-H chinolon), 8.40 (s, 1H, CH pyrazol), 8.27 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.05 (s, 1H, CH pyrazol), 7.58-7.66 (m, 2H), 7.28 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.93 (s, 1H, CH furan), 3.93 (s, 3H, N-CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 162.8, 154.1, 139.5, 139.4, 137.0, 136.0, 130.9, 129.6, 125.3, 124.9, 121.3, 117.7, 112.2 (Ar), 94.8 (CH furan); ESI-HRMS C₁₅H₁₁N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 266,0924; exp. 266,0922.

Obecný postup debenzylace s BCl₃ pro deriváty 99-102.

Výchozí alkyn derivát **83**, **85**, **89** nebo **95** (40 mg, 1 ekv.) byl rozpuštěn v suchém DCM (1,6 mL) a vzniklý roztok byl ochlazen na ledové lázni na teplotu 0 - 5 °C. Poté byl přes septum stříkačkou přikapán 1M BCl₃/hexan (0,44 mL, 5 ekv.) a vzniklá suspense byla míchána při RT po dobu 2 h. Reakce byla ukončena přidáním 3 mL dest. H₂O společně s 0,5 mL metanolu. Po oddělení organické fáze byla vodná fáze extrahována 2 x 3 mL DCM. Spojené organické fáze byly vysušeny MgSO₄, zfiltrovány a odpařeny na RVO. Čistý produkt byl získán vymícháním ve směsi rozpouštědél (uvedeno u každého derivátu).

Methyl 4-((3-hydroxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-2-yl)ethynyl)benzoát (99).

Sloučenina byla připravena debenzylací derivátu **85** a izolována ze směsi DCM/hexan ve formě hnědého prášku, výtěžek 76 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.97 (s, 1H, N-H chinolon), 8.11 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.77 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.60 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.25 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 3.89 (s, 3H, CH₃ ester); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.7 (C=O chinolon), 165.49 (C=O ester), 144.1, 138.3, 131.7, 131.1, 130.1, 129.6, 125.7, 124.6, 122.3, 121.9, 117.8, 114.1 (Ar), 97.6 (C≡C), 83.7 (C≡C), 52.3 (CH₃ ester); ESI-HRMS C₁₉H₁₃NO₄ [M+H]⁺: teor. 320,0917; exp. 320,0915.

3-Hydroxy-2-(fenylethynyl)chinolin-4(1*H*)-on (100).

Sloučenina byla připravena debenzylací derivátu **83** a izolována ze směsi DCM/metanol ve formě žlutého prášku, výtěžek 43 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.15 (s, 1H, N-H chinolon), 8.19 (t, J = 9.6 Hz, 2H), 7.69 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 7.36 (q, J = 7.3 Hz, 4H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.6, 143.7, 138.2, 131.4, 131.0, 129.7, 128.9, 124.5, 122.2, 121.8, 121.1, 117.8, 114.7 (Ar), 98.7 (C≡C), 80.9 (C≡C); ESI-HRMS C₁₇H₁₁NO₂ [M+H]⁺: teor. 262,0863; exp. 262,0861.

3-Hydroxy-2-((2-nitrofenyl)ethynyl)chinolin-4(1*H*)-on (101).

Sloučenina byla připravena debenzylací derivátu **89** a izolována ze směsi DCM/hexan ve formě světle hnědého prášku, výtěžek 52 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.97 (s, 1H, N-H chinolon), 9.43 (s, 1H), 8.24 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.86-7.94 (m, 2H), 7.76 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.56-7.61 (m, 2H), 7.25 (t, J = 7.1 Hz, 1H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 170.3, 149.3, 145.0, 138.9, 135.4, 134.5, 131.8, 131.4, 125.5, 125.1, 122.9, 122.5, 118.4, 116.4, 114.4 (Ar), 94.3 (C≡C), 87.8 (C≡C); ESI-HRMS C₁₇H₁₀N₂O₄ [M+H]⁺: teor. 307,0713; exp. 307,0711.

3-Hydroxy-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethynyl)chinolin-4(1*H*)-on (102).

Sloučenina byla připravena debenzylací derivátu **95** a izolována ze směsi DCM/hexan ve formě světle hnědého prášku, výtěžek 52 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.90 (s, 1H, N-H chinolon), 8.98 (s, 1H, CH pyrazol), 8.20 (s, 1H, CH pyrazol), 8.10 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.52-7.59 (m, 2H), 7.21-7.25 (m, 1H), 3.90 (s, 3H, N-CH₃); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.5, 143.1, 141.3, 138.1, 134.3, 130.8, 124.5, 122.2, 121.6, 117.7, 115.4, 100.5 (Ar), 91.5 (C≡C), 81.1 (C≡C); ESI-HRMS C₁₅H₁₁N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 266,0924; exp. 266,0924.

Methyl 4-(2-(3-hydroxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-2-yl)ethyl)benzoát (103).

K suspenzi výchozí látky **85** (10 mg; 0,02 mmol; 1 ekv.) v 2-methoxyethanolu (0,2 mL) bylo přidáno 5% Pd/C (10 hm. %) a reakční aparatura byla opatřena balonkem s vodíkem. Reakce probíhala po dobu 1 h při RT (kontrola dle LC-MS). Po odstranění balonku s vodíkem byla reakční směs profoukána dusíkem, naředěna metanolem, zfiltrována přes skelný filtr a získaný filtrát byl odpařen na RVO. Po lyofilizaci byl získán produkt ve formě žlutého prášku s výtěžkem 78 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.50 (s, 1H, N-H chinolon), 8.09 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.53 (q, J = 8.2 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.22 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H, CH₃ ester), 3.06 (s, 4H, -CH₂-CH₂-); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.1 (C=O chinolon), 166.1 (C=O ester), 146.5, 138.0, 137.3, 134.0, 130.1, 129.3, 128.6, 127.5, 124.5, 122.2, 121.5, 117.7 (Ar), 52.0 (CH₃ ester), 33.3 (-CH₂-), 29.6 (-CH₂-); ESI-HRMS C₁₉H₁₇NO₄ [M+H]⁺: teor. 324,1230; exp. 324,1230.

Obecný postup debenzylace s Pearlmanovým katalyzátorem pro deriváty 104-113.

Ke 2% roztoku výchozí látky (**86**, **94a**, **95**, **96**, **97**, **98**) v 2-methoxyethanolu byl při teplotě 80 °C přidán 20% Pd(OH)₂/C (~ 25 hm. %). Aparatura byla opatřena balonkem s vodíkem a reakce probíhala při téže teplotě po dobu 3-72 h, dle konkrétního derivátu. Poté byla aparatura probublána dusíkem, reakční směs zfiltrována za horka přes skelný filtr a získaný filtrát byl odpařen na RVO. U některých produktů bylo nutné provést dočištění vymícháním s rozpouštědlem (uvedeno u každého derivátu).

3-Hydroxy-2-(4-methoxyfenethyl)chinolin-4(1*H*)-on (104).

Látka byla připravena debenzylací sloučeniny **86** jako žlutý prášek, výtěžek 80 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.47 (s, 1H, N-H chinolon), 8.10 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.54 (t, J = 2.7 Hz, 2H), 7.20-7.24 (m, 1H), 7.17 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.85 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 3.71 (s, 3H, O-CH₃), 2.89-3.01 (m, 4H, -CH₂-CH₂-); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 168.9, 157.6, 137.9, 137.3, 134.6, 132.7, 130.0, 129.1, 124.5, 122.2, 121.5, 117.7, 113.8 (Ar), 54.9 (O-CH₃), 32.6 (-CH₂-), 30.4 (-CH₂-); ESI-HRMS C₁₈H₁₇NO₃ [M+H]⁺: teor. 296,1281; exp. 296,1279.

3-Hydroxy-2-(2-(pyrimidin-5-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-on (105).

Látka byla připravena debenzylací sloučeniny **98** jako hnědý prášek, výtěžek 92 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.51 (s, 1H, N-H chinolon), 9.01 (s, 1H, CH pyrimidin), 8.62 (s, 2H, CH pyrimidin), 8.08 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.48-7.54 (m, 2H),

7.22 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.0, 156.6, 156.5, 138.1, 137.4, 136.0, 133.8, 133.4, 130.1, 124.5, 122.2, 121.6, 117.8 (Ar), 28.9 (-CH₂-), 27.7 (-CH₂-); ESI-HRMS C₁₅H₁₃N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 268,1081; exp. 268,1083.

3-Hydroxy-2-(2-(chinolin-3-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-on (106).

Látka byla připravena debenzylací sloučeniny **97** a izolována z DMSO a metanolu ve formě hnědého prášku, výtěžek 65 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.51 (s, 1H, N-H chinolon), 8.79 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H, CH chinolin), 8.18 (s, 1H, CH chinolin), 8.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.68-7.71 (m, 1H), 7.49-7.59 (m, 3H), 7.20-7.24 (m, 1H), 3.14-3.24 (m, 4H, -CH₂-CH₂-); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.0, 151.6, 146.3, 138.1, 137.3, 134.0, 133.9, 133.6, 130.1, 128.8, 128.6, 127.6, 126.6, 124.5, 122.3, 121.6, 117.7 (Ar), 30.6 (-CH₂-), 29.5 (-CH₂-); ESI-HRMS C₂₀H₁₆N₂O₂ [M+H]⁺: teor. 317,1285; exp. 317,1284.

3-Hydroxy-2-(2-(1-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-on (107).

Látka byla připravena debenzylací sloučeniny **96** jako hnědý prášek, výtěžek 99 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.72 (s, 1H, N-H chinolon), 8.11 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.53-7.55 (m, 3H), 7.18-7.26 (m, 3H), 3.78 (s, 3H, N-CH₃), 3.30 (s, 4H, -CH₂-CH₂-); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.1, 153.9, 141.0, 138.0, 137.4, 135.6, 134.1, 130.1, 124.5, 122.4, 121.9, 121.6, 118.0, 117.8, 110.0 (Ar), 29.6 (N-CH₃), 25.9 (-CH₂-), 25.2 (-CH₂-); ESI-HRMS C₁₉H₁₇N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 320,1394; exp. 320,1394.

2-(2-(1*H*-imidazol-4-yl)ethyl)-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on (108).

Látka byla připravena debenzylací sloučeniny **94a** jako hnědý prášek, výtěžek 99 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.65 (s, 1H, N-H chinolon), 8.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.53-7.54 (m, 2H), 7.19-7.23 (m, 1H), 6.84 (s, 1H), 3.03-3.07 (m, 2H, -CH₂-), 2.90-2.94 (m, 2H, -CH₂-); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.0, 137.9, 137.4, 136.5, 134.9, 134.6, 130.0, 124.5, 122.2, 121.5, 117.8, 115.3 (Ar), 28.1 (-CH₂-), 25.4 (-CH₂-); ESI-HRMS C₁₄H₁₃N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 256,1081; exp. 256,1079.

3-Hydroxy-2-(2-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-on (109).

Látka byla připravena debenzylací sloučeniny **95** jako světle hnědý prášek, výtěžek 99 %. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 11.47 (s, 1H, N-H chinolon), 8.10 (d, $J = 8.2$

Hz, 1H), 7.54 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 7.50 (s, 1H), 7.22 (td, J = 8.0, 3.8 Hz, 2H), 3.76 (s, 3H, N-CH₃), 2.97 (t, J = 8.0 Hz, 2H, -CH₂-), 2.80-2.83 (m, 2H, -CH₂-); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*6): δ 169.0, 137.9, 137.6, 137.3, 134.6, 130.0, 128.6, 124.5, 122.2, 121.5, 119.4, 117.8 (Ar), 38.3 (N-CH₃), 29.6 (-CH₂-), 22.3 (-CH₂-); ESI-HRMS C₁₅H₁₅N₃O₂ [M+H]⁺: teor. 270,1237; exp. 270,1238.

8 Literatura

- (1) Hradil, P.; Jirman, J. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **1995**, *60* (8), 1357.
- (2) Daneshtalab, M.; Ahmed, A. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2011**, *15* (1), 52.
- (3) Dhiman, P.; Arora, N.; Thanikachalam, P. V.; Monga, V. *Bioorg. Chem.* **2019**, *92*, 103291.
- (4) Motyka, K.; Hlaváč, J.; Soural, M.; Funk, P. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (38), 5060.
- (5) Motyka, K.; Hlaváč, J.; Soural, M.; Hradil, P.; Krejčí, P.; Kvapil, L.; Weiss, M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (6), 715.
- (6) Motyka, K.; Vaňková, B.; Hlaváč, J.; Soural, M.; Funk, P. *J. Fluoresc.* **2011**, *21* (6), 2207.
- (7) Porubský, M.; Gurská, S.; Stanková, J.; Hajdúch, M.; Džubák, P.; Hlaváč, J. *RSC Adv.* **2019**, *9* (43), 25075.
- (8) Spáčilová, L.; Hlaváč, J.; Hradil, P.; Fryšová, I.; Maloň, M.; Soural, M.; Krejčí, P. *J. Heterocycl. Chem.* **2006**, *43* (4), 1065.
- (9) Hradil, P.; Hlaváč, J.; Lemr, K. *J. Heterocycl. Chem.* **1999**, *36* (1), 141.
- (10) Soural, M.; Krchňák, V. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9* (5), 793.
- (11) Soural, M.; Hlaváč, J.; Hradil, P.; Fryšová, I.; Hajdúch, M.; Bertolasi, V.; Maloň, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41* (4), 467.
- (12) Sword, I. P. *J. Chem. Soc. C* **1971**, 820.
- (13) Mamedov, V. A.; Mamedova, V. L.; Khikmatova, G. Z.; Mahrous, E. M.; Korshin, D. E.; Syakaev, V. V.; Fayzullin, R. R.; Mironova, E. V.; Latypov, S. K.; Sinyashin, O. G. *Russ. Chem. Bull.* **2019**, *68* (5), 1020.
- (14) Su, H.; Bao, M.; Pei, C.; Hu, W.; Qiu, L.; Xu, X. *Org. Chem. Front.* **2019**, *6* (14), 2404.
- (15) Hodgkinson, J. T.; Galloway, W. R. J. D.; Saraf, S.; Baxendale, I. R.; Ley, S. V.; Ladlow, M.; Welch, M.; Spring, D. R. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9* (1), 57.
- (16) Kvapil, L. Syntéza vybraných heterocyklických analogů 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1H)-onů, Disertační práce, Univerzita Palackého Olomouc, 2006.
- (17) Horák, R.; Kořistek, K.; Šamšulová, V.; Slaninová, L.; Grepl, M.; Kvapil, L.; Funk, P.; Hradil, P.; Soural, M. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, *57* (4), 1605.
- (18) Yamaguchi, S.; Tsuzuki, K.; Sannomiya, Y.; Oh-Hira, Y.; Kawase, Y. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26* (2), 285.

- (19) Bierer, D. E.; Dubenko, L. G.; Zhang, P.; Lu, Q.; Imbach, P. A.; Garofalo, A. W.; Phuan, P. W.; Fort, D. M.; Litvak, J.; Gerber, R. E.; Sloan, B.; Luo, J.; Cooper, R.; Reaven, G. M. *J. Med. Chem.* **1998**, *41* (15), 2754.
- (20) Lu, Y. J.; Sun, N.; Huang, Z. S.; Gu, L. Q. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, *19* (5), 518.
- (21) Zhao, M.; Kamada, T.; Takeuchi, A.; Nishioka, H.; Kuroda, T.; Takeuchi, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (23), 5551.
- (22) Bilokin', M. D.; Shvadchak, V. V; Yushchenko, D. A.; Duportail, G.; Mély, Y.; Pivovarenko, V. G. *J. Fluoresc.* **2008**, *19* (3), 545.
- (23) Bilokin, M. D.; Shvadchak, V. V; Yushchenko, D. A.; Klymchenko, A. S.; Duportail, G.; Mely, Y.; Pivovarenko, V. G. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50* (33), 4714.
- (24) Kadrić, J.; Motyka, K.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Soural, M. *Tetrahedron Lett.* **2014**, *55* (26), 3592.
- (25) Burglová, K.; Rylová, G.; Markos, A.; Přichystalová, H.; Soural, M.; Petráček, M.; Medvedíkova, M.; Tejral, G.; Sopko, B.; Hradil, P.; Džubák, P.; Hajdúch, M.; Hlaváč, J. *J. Med. Chem.* **2018**, *61* (7), 3027.
- (26) Soural, M.; Hlaváč, J.; Funk, P.; Džubák, P.; Hajdúch, M. *ACS Comb. Sci.* **2011**, *13* (1), 39.
- (27) Horák, R.; Kvapil, L.; Motyka, K.; Slaninová, L.; Grepl, M.; Kořistek, K.; Urbášek, M.; Hradil, P.; Soural, M. *Tetrahedron* **2018**, *74* (2), 366.
- (28) Hradil, P.; Krejčí, P.; Hlaváč, J.; Wiedermannová, I.; Lyčka, A.; Bertolasi, V. J. *Heterocycl. Chem.* **2004**, *41* (3), 375.
- (29) Zhao, T.; Xu, B. *Org. Lett.* **2010**, *12* (2), 212.
- (30) Song, Y. J.; Choi, J. S.; Lee, J. I. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2013**, *34* (10), 3117.
- (31) Zhou, N.; Yan, Z.; Zhang, H.; Wu, Z.; Zhu, C. *J. Org. Chem.* **2016**, *81* (24), 12181.
- (32) Rode, N. D.; Arcadi, A.; Chiarini, M.; Marinelli, F. *Synthesis (Stuttg.)* **2017**, *49* (11), 2501.
- (33) Zhang, S.; Wu, C.; Zhang, Z.; Wang, T. *Org. Lett.* **2019**, *21* (24), 9995.
- (34) Liu, J.; Ba, D.; Lv, W.; Chen, Y.; Zhao, Z.; Cheng, G. *Adv. Synth. Catal.* **2020**, *362* (1), 213.
- (35) Leung, S. C.; Gibbons, P.; Amewu, R.; Nixon, G. L.; Pidathala, C.; Hong, W. D.; Pacorel, B.; Berry, N. G.; Sharma, R.; Stocks, P. A.; Srivastava, A.; Shone, A. E.; Charoensutthivarakul, S.; Taylor, L.; Berger, O.; Mbekeani, A.; Hill, A.; Fisher, N. E.; Warman, A. J.; Biagini, G. A.; Ward, S. A.; O'Neill, P. M. *J. Med. Chem.* **2012**, *55* (5), 1844.
- (36) David Hong, W.; Leung, S. C.; Amporndanai, K.; Davies, J.; Priestley, R. S.; Nixon, G. L.; Berry, N. G.; Samar Hasnaín, S.; Antonyuk, S.; Ward, S. A.;

- Biagini, G. A.; O'Neill, P. M. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9* (12), 1205.
- (37) Lohrer, B.; Bracher, F. *Tetrahedron Lett.* **2019**, *60* (51), 151327.
- (38) Camps, R. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1899**, *32* (3), 3228.
- (39) Camps, R. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1899**, *237*, 659.
- (40) Camps, R. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1901**, *239*, 591.
- (41) Takami, H.; Kishibayashi, N.; Ishii, A.; Kumazawa, T. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6* (12), 2441.
- (42) Jones, C. P.; Anderson, K. W.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **2007**, *72* (21), 7968.
- (43) Huang, J.; Chen, Y.; King, A. O.; Dilmeghani, M.; Larsen, R. D.; Faul, M. M. *Org. Lett.* **2008**, *10* (12), 2609.
- (44) Chang, Y. H.; Hsu, M. H.; Wang, S. H.; Huang, L. J.; Qian, K.; Morris-Natschke, S. L.; Hamel, E.; Kuo, S. C.; Lee, K. H. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (15), 4883.
- (45) Chen, C. T.; Hsu, M. H.; Cheng, Y. Y.; Liu, C. Y.; Chou, L. C.; Huang, L. J.; Wu, T. S.; Yang, X.; Lee, K. H.; Kuo, S. C. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (12), 6046.
- (46) Busacca, C. A.; Wei, X.; Haddad, N.; Kapadia, S.; Lorenz, J. C.; Saha, A. K.; Varsolona, R. J.; Berkenbusch, T.; Campbell, S. C.; Farina, V.; Feng, X.; Gonnella, N. C.; Grinberg, N.; Jones, P. J.; Lee, H.; Li, Z.; Niemeier, O.; Samstag, W.; Sarvestani, M.; Schroeder, J.; Smoliga, J.; Spinelli, E. M.; Vitous, J.; Senanayake, C. H. *Asian J. Org. Chem.* **2012**, *1* (1), 80.
- (47) Dhiman, R.; Sharma, S.; Singh, G.; Nepali, K.; Singh Bedi, P. M. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **2013**, *346* (1), 7.
- (48) Lin, J. P.; Long, Y. Q. *Chem. Commun.* **2013**, *49* (46), 5313.
- (49) Mochalov, S. S.; Fedotov, A. N.; Trofimova, E. V.; Zefirov, N. S. *Russ. J. Org. Chem.* **2016**, *52* (7), 956.
- (50) Ma, H.; Zhou, X.; Wei, D.; Cao, J.; Shi, C.; Fan, Y.; Huang, G. *Chem. Asian J.* **2016**, *11* (20), 2829.
- (51) Haddad, N.; Tan, J.; Farina, V. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (13), 5031.
- (52) Cross, R. M.; Manetsch, R. *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (24), 8654.
- (53) Audisio, D.; Messaoudi, S.; Peyrat, J.-F.; Brion, J. D.; Alami, M. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (12), 4995.
- (54) Shin, S.; Kim, Y.; Kim, K.; Hong, S. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12* (30), 5719.
- (55) Åkerbladh, L.; Nordeman, P.; Wejdemark, M.; Odell, L. R.; Larhed, M. *J. Org. Chem.* **2015**, *80* (3), 1464.
- (56) Hu, Z.; Dong, J.; Men, Y.; Lin, Z.; Cai, J.; Xu, X. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**,

- 56 (7), 1805.
- (57) Wu, J.; Zhou, Y.; Wu, T.; Zhou, Y.; Chiang, C.W.; Lei, A. *Org. Lett.* **2017**, *19* (23), 6432.
- (58) Simic, M.; Tasic, G.; Jovanovic, P.; Petkovic, M.; Savic, V. *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16* (12), 2125.
- (59) Gore, B. S.; Lee, C. C.; Lee, J.; Wang, J.J. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361* (14), 3373.
- (60) Wu, X.; Zheng, L. L.; Zhao, L. P.; Zhu, C. F.; Li, Y. G. *Chem. Commun.* **2019**, *55* (98), 14769.
- (61) Shi, Y.; Xing, H.; Huang, T.; Liu, X.; Chen, J.; Guo, X.; Li, G. B.; Wu, Y. *Chem. Commun.* **2020**, *56* (10), 1585.
- (62) Nagarajan, R.; Perumal, P. T. *Synthesis (Stuttg.)*. **2004**, *2004* (8), 1269.
- (63) Sun, F.; Zhao, X.; Shi, D. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (43), 5633.
- (64) Hormi, O. E. O.; Peltonen, C.; Heikkila, L. *J. Org. Chem.* **1990**, *55* (8), 2513.
- (65) Barbeau, O. R.; Cano-Soumillac, C.; Griffin, R. J.; Hardcastle, I. R.; Smith, G. C. M.; Richardson, C.; Clegg, W.; Harrington, R. W.; Golding, B. T. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, *5* (16), 2670.
- (66) Yoon, J. H.; Lee, J. Y.; Lee, J.; Shin, Y. S.; Jeon, S.; Kim, D. E.; Min, J. S.; Song, J. H.; Kim, S.; Kwon, S.; Jin, Y.; Jang, M. S.; Kim, H. R.; Park, C. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2019**, *29* (23), 126727.
- (67) Coppola, G. M.; Hardtmann, G. E. *J. Heterocycl. Chem.* **1979**, *16* (8), 1605.
- (68) Hu, W.; Lin, J. P.; Song, L. R.; Long, Y. Q. *Org. Lett.* **2015**, *17* (5), 1268.
- (69) Janni, M.; Arora, S.; Peruncheralathan, S. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14* (37), 8781.
- (70) Hachiya, I.; Yokoyama, K.; Ito, A.; Shimizu, M. *Heterocycles* **2015**, *90* (1), 97.
- (71) Santhosh Reddy, R.; Lagishetti, C.; Kiran, I. N. C.; You, H.; He, Y. *Org. Lett.* **2016**, *18* (15), 3818.
- (72) Ciufolini, M. A.; Mitchell, J. W.; Roschangar, F. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37* (46), 8281.
- (73) Chandra, A.; Singh, B.; Upadhyay, S.; Singh, R. M. *Tetrahedron* **2008**, *64* (51), 11680.
- (74) Verma, A. K.; Rustagi, V.; Aggarwal, T.; Singh, A. P. *J. Org. Chem.* **2010**, *75* (22), 7691.
- (75) Wang, Z.; Xing, X.; Xue, L.; Gao, F.; Fang, L. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11* (42), 7334.
- (76) Gulykina, N. S.; Dolgina, T. M.; Bondarenko, G. N.; Beletskaya, I. P. *Russ. J.*

- Org. Chem.* **2003**, *39* (6), 797.
- (77) Batsyts, S.; Huebner, E. G.; Namyslo, J. C.; Gjikaj, M.; Schmidt, A. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17* (16), 4102.
- (78) Pappopppula, M.; Cardoso, F. S. P.; Garrett, B. O.; Aponick, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54* (50), 15202.
- (79) Chen, X.; Yang, F.; Cui, X.; Wu, Y. *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359* (22), 3922.
- (80) Wube, A.; Guzman, J. D.; Hüfner, A.; Hochfellner, C.; Blunder, M.; Bauer, R.; Gibbons, S.; Bhakta, S.; Bucar, F. *Molecules* **2012**, *17* (7), 8217.
- (81) Wube, A. A.; Bucar, F.; Hochfellner, C.; Blunder, M.; Bauer, R.; Hüfner, A. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46* (6), 2091.
- (82) Rádl, S.; Kovářová, L.; Holoubek, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1991**, *56* (2), 439.
- (83) Kang, D.; Hong, S. *Org. Lett.* **2015**, *17* (8), 1938.
- (84) Zhang, Y.; Sun, Y.; Wei, Y.; Shi, M. *Adv. Synth. Catal.* **2019**, *361* (9), 2129.
- (85) Gilbert, J. C.; Weerasooriya, U. *J. Org. Chem.* **1982**, *47* (10), 1837.
- (86) Müller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, H. J. *Synlett* **1996**, *1996* (6), 521.
- (87) Šamšulová, V.; Poláková, M.; Horák, R.; Šedivá, M.; Kvapil, L.; Hradil, P. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1177* (5), 16.
- (88) Wilkening, I.; Signore, G.; Hackenberger, C. P. R. *Chem. Commun.* **2011**, *47* (1), 349.
- (89) Kwok, S. W.; Fotsing, J. R.; Fraser, R. J.; Rodionov, V. O.; Fokin, V. V. *Org. Lett.* **2010**, *12* (19), 4217.
- (90) Poláková, M.; Horák, R.; Šesták, S.; Holková, I. *Carbohydr. Res.* **2016**, *428* (16), 62.
- (91) Luvino, D.; Amalric, C.; Smietana, M.; Vasseur, J. J. *Synlett* **2007**, *2007* (19), 3037.
- (92) Tang, J. L.; Ming, L.; Zhao, X. M. *J. Heterocycl. Chem.* **2016**, *53* (5), 1367.
- (93) Cuevas, F.; Oliva, A. I.; Pericàs, M. A. *Synlett* **2010**, *2010* (12), 1873.
- (94) Haddach, A. A.; Kelleman, A.; Deaton-Rewolinski, M. V. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43* (3), 399.
- (95) Himo, F.; Lovell, T.; Hilgraf, R.; Rostovtsev, V. V.; Noddleman, L.; Sharpless, K. B.; Fokin, V. V. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127* (1), 210.
- (96) Aggarwal, V. K.; Vicente, J.; Bonnert, R. V. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (13), 5381.
- (97) Qi, X.; Ready, J. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46* (18), 3242.

- (98) He, S.; Chen, L.; Niu, Y. N.; Wu, L. Y.; Liang, Y. M. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50 (20), 2443.
- (99) Krishna, P. R.; Sekhar, E. R.; Mongin, F. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49 (48), 6768.
- (100) Qi, X. 1,3-DIPOLAR CYCLOADDITION OF ELECTRON-RICH ALKYNES AND OPTICALLY ACTIVE ALLENES IN ASYMMETRIC CATALYSIS, Dissertation, The University of Texas Southwestern Medical Center at Dallas, 2009.
- (101) *Org. Synth.* **1935**, 15, 3.
- (102) *Org. Synth.* **1963**, 4, 424.
- (103) Doma, A.; Kulkarni, R.; Palakodety, R.; Sastry, G. N.; Sridhara, J.; Garlapati, A. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22 (21), 6209.
- (104) Kim, B. R.; Lee, H. G.; Kang, S. B.; Sung, G. H.; Kim, J. J.; Park, J. K.; Lee, S. G.; Yoon, Y. J. *Synthesis (Stuttg.)*. **2012**, 44 (1), 42.
- (105) Radchatawedchakoon, W.; Promthong, N.; Sakee, U. *Lett. Org. Chem.* **2013**, 10 (9), 640.
- (106) Demuynck, M.; De Clercq, P.; Vandewalle, M. *J. Org. Chem.* **1979**, 44 (26), 4863.
- (107) Amorim, M. B.; Silva, A. J. M.; Costa, P. R. R. *J. Braz. Chem. Soc.* **2001**, 12 (3), 346.
- (108) Corey, E. J.; Fuchs, P. L. *Tetrahedron Lett.* **1972**, 13 (36), 3769.
- (109) Fan, X.; He, Y.; Zhang, X.; Guo, S.; Wang, Y. *Tetrahedron* **2011**, 67 (34), 6369.
- (110) Tao, K.; Zheng, J.; Liu, Z.; Shen, W.; Zhang, J. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51 (24), 3246.
- (111) Huh, D. H.; Ryu, H.; Kim, Y. G. *Tetrahedron* **2004**, 60 (44), 9857.
- (112) Kunzer, A. R.; Wendt, M. D. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52 (15), 1815.
- (113) Du, L. H.; Wang, Y. G. *Synthesis (Stuttg.)*. **2007**, 2007 (5), 675.
- (114) Hu, Z.; Zhao, T.; Wang, M.; Wu, J.; Yu, W.; Chang, J. *J. Org. Chem.* **2017**, 82 (6), 3152.
- (115) Chang, J.; Zhao, K.; Pan, S. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43 (6), 951.
- (116) Chen, G. F.; Shen, H. D.; Zhang, L. Y.; Li, H. Y.; Lan, R. J.; Chen, B. H.; Li, J. T.; Hu, Q. H. *Lett. Org. Chem.* **2014**, 11 (3), 180.
- (117) Cao, K.; Tu, Y.; Zhang, F. *Sci. China Chem.* **2010**, 53 (1), 130.
- (118) Chen, Y. X.; Qian, L. F.; Zhang, W.; Han, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47 (48), 9330.
- (119) Singhal, N.; Johar, M.; Lown, J. W.; Sondhi, S. M. *Phosphorus. Sulfur. Silicon*

Relat. Elem. **2001**, *174* (1), 81.

- (120) Kim, S. J.; Kool, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (18), 6164.
- (121) Bala, M.; Verma, P. K.; Sharma, D.; Kumar, N.; Singh, B. *Mol. Divers.* **2015**, *19* (2), 263.
- (122) Alder, C. M.; Hayler, J. D.; Henderson, R. K.; Redman, A. M.; Shukla, L.; Shuster, L. E.; Sneddon, H. F. *Green Chem.* **2016**, *18* (13), 3879.
- (123) Ishihara, M.; Togo, H. *Synlett* **2006**, *2006* (2), 227.
- (124) Brooks, P. R.; Wirtz, M. C.; Vetelino, M. G.; Rescek, D. M.; Woodworth, G. F.; Morgan, B. P.; Coe, J. W. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (26), 9719.
- (125) Sonogashira, K. *J. Organomet. Chem.* **2002**, *653* (1), 46.
- (126) Gazvoda, M.; Virant, M.; Pinter, B.; Košmrlj, J. *Nat. Commun.* **2018**, *9* (1), 4814.
- (127) Panda, B.; Sarkar, T. K. *Synthesis (Stuttg.)* **2013**, *45* (6), 817.
- (128) Li, J. H.; Zhang, X. D.; Xie, Y. X. *Synthesis (Stuttg.)* **2005**, *5*, 804.
- (129) Yue, D.; Yao, T.; Larock, R. C. *J. Org. Chem.* **2006**, *71* (1), 62.
- (130) Heidenreich, R. G.; Kohler, K.; Krauter, J. G. E.; Pietsch, J. *Synlett* **2002**, *2002* (7), 1118.
- (131) Widner, D. L.; Knauf, Q. R.; Merucci, M. T.; Fritz, T. R.; Sauer, J. S.; Speetzen, E. D.; Bosch, E.; Bowling, N. P. *J. Org. Chem.* **2014**, *79* (13), 6269.
- (132) Hamm, D. C.; Braun, L. A.; Burazin, A. N.; Gauthier, A. M.; Ness, K. O.; Biebel, C. E.; Sauer, J. S.; Tanke, R.; Noll, B. C.; Bosch, E.; Bowling, N. P. *Dalt. Trans.* **2013**, *42* (4), 948.
- (133) Novák, Z.; Szabó, A.; Répási, J.; Kotschy, A. *J. Org. Chem.* **2003**, *68* (8), 3327.
- (134) Shimomura, H.; Katsume, J.; Matsui, M. *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42* (1), 131.
- (135) Gras, J. L.; Pellissier, H.; Nouguier, R. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (24), 5675.
- (136) Králová, V.; Soural, M.; Horák, R.; Hradil, P. *Synlett* **2020**, v tisku.
- (137) Mills, S. J.; Vandeput, F.; Trusselle, M. N.; Safrany, S. T.; Erneux, C.; Potter, B. V. L. *ChemBioChem* **2008**, *9* (11), 1757.
- (138) Suh, B.; Lorber, B. *Med. Clin. North Am.* **1995**, *79* (4), 869.
- (139) Adamska-Szewczyk, A.; Glowniak, K.; Baj, T. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* **2016**, *29* (1), 33.
- (140) Sun, N.; Du, R. L.; Zheng, Y. Y.; Huang, B. H.; Guo, Q.; Zhang, R. F.; Wong, K. Y.; Lu, Y. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *135*, 1.
- (141) Paulpandi, M.; Ramar, T.; Kavithaa, K.; Sumathi, S.; Sankaran, M.; Mohan, P.; Gunasekaran, P.; Kannan, S. *J. Pharm. Res.* **2013**, *6* (5), 532.

- (142) Bottini, A.; De, S. K.; Baaten, B. J. G.; Wu, B.; Barile, E.; Soonthornvacharin, S.; Stebbins, J. L.; Bradley, L. M.; Chanda, S. K.; Pellecchia, M. *ChemMedChem* **2012**, 7 (12), 2227.
- (143) Hsu, J. T. A.; Yeh, J. Y.; Lin, T. J.; Li, M.; Wu, M. S.; Hsieh, C. F.; Chou, Y. C.; Tang, W. F.; Lau, K. S.; Hung, H. C.; Fang, M. Y.; Ko, S.; Hsieh, H. P.; Horng, J. T. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, 56 (2), 647.
- (144) Yeh, J. Y.; Coumar, M. S.; Shiao, H. Y.; Lin, T. J.; Lee, Y. C.; Hung, H. C.; Ko, S.; Kuo, F. M.; Fang, M. Y.; Huang, Y. L.; Hsu, J. T. A.; Yeh, T. K.; Shih, S. R.; Chao, Y. S.; Horng, J. T.; Hsieh, H. P. *ChemMedChem* **2012**, 7 (9), 1546.
- (145) Das, P.; Deng, X.; Zhang, L.; Roth, M. G.; Fontoura, B. M. A.; Phillips, M. A.; De Brabander, J. K. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, 4 (6), 517.
- (146) Fang, Y.; Xiao, M.; Hu, A.; Ye, J.; Lian, W.; Liu, A. *Chin. J. Chem.* **2016**, 34 (4), 403.
- (147) Kos, J.; Ku, C. F.; Kapustikova, I.; Oravec, M.; Zhang, H. J.; Jampilek, J. *ChemistrySelect* **2019**, 4 (15), 4582.
- (148) Briestenská, K.; Šamšulová, V.; Poláková, M.; Mistriková, J. *ACTA Virol.* **2019**, 63 (4), 439.
- (149) Killian, M. L.; Spackman, E., *Methods Mol. Biol.*, Springer New York: New York, NY **2014**, 3–9.
- (150) <https://microbeonline.com/hemagglutination-inhibition-test-hai-principle-procedure-result-interpretations/>.

9 Přílohy

Příloha A

Horák, R.; Kořistek, K.; Šamšulová, V.; Slaninová, L.; Grepl, M.; Kvapil, L.; Funk, P.; Hradil, P.; Soural, M. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, 57 (4), 1605.

Příloha B

Šamšulová, V.; Poláková, M.; Horák, R.; Šedivá, M.; Kvapil, L.; Hradil, P. *J. Mol. Struct.* **2019**, 1177 (5), 16.

Příloha C

Králová, V.; Soural, M.; Horák, R.; Hradil, P. *Synlett* **2020**, v tisku.

Příloha D

Briestenská, K.; Šamšulová, V.; Poláková, M.; Mistriková, J. *ACTA Virol.* **2019**, 63 (4), 439.

Structural analogues of quinoline alkaloids: Straightforward route to [1,3]dioxolo[4,5-c]quinolines with antibacterial properties

Radim Horák | Kamil Kořistek | Veronika Šamšulová | Ludmila Slaninová |
Martin Grepl | Lubomír Kvapil | Petr Funk | Pavel Hradil | Miroslav Soural 

Department of Organic Chemistry,
Faculty of Science, Palacký University, 17.
listopadu 12 Olomouc, Czech Republic

Correspondence

Miroslav Soural, Department of Organic
Chemistry, Faculty of Science, Palacký
University, 771 46 Olomouc, Czech
Republic.
Email: miroslav.soural@upol.cz

Funding information

Ministerstvo Průmyslu a Obchodu, Grant/
Award Number: FV20250

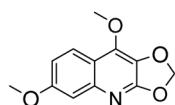
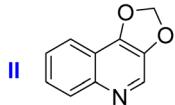
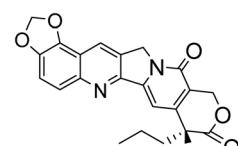
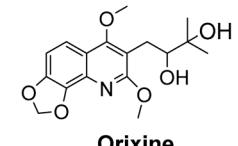
Abstract

Compounds bearing [1,3]dioxolo-quinoline scaffolds have been found in quinoline-based natural products; the only exception is the [1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline moiety with a rare occurrence in both natural and synthetic derivatives. In this article, we report the preparation of diversely substituted and functionalized [1,3]dioxolo[4,5-c]quinolines using [1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline-4-carbaldehyde (DQC) as the common intermediate. DQC was synthesized on a large scale from anthranilic acid and chloroacetone as the starting materials, with the rearrangement of acetyl-anthraniolate as the key step. The developed method allows for the simple preparation of [1,3]dioxolo[4,5-c]quinolines with various C2 substituents on the quinoline scaffold. Additionally, the synthetic route was successfully applied to the preparation of 3-hydroxyquinoline-4(1H)-ones. The target compounds were tested against representative Gram-positive/negative bacteria, and two derivatives exhibited submicromolar minimum inhibitory concentrations against *Micrococcus luteus*.

1 | INTRODUCTION

Synthetic derivatives with the molecular framework resembling the structure of natural compounds are important derivatives in the field of drug discovery.^[1] The main scaffolds of natural products have been frequently used as templates for the design of ligands to either improve their affinity for biological targets or to modify their pharmacological properties. In the field of natural products, an important and large group of compounds with diverse biological effects are the quinoline alkaloids.^[2,3] These compounds are typically simple quinoline derivatives that possess alkoxy groups in different positions on the main scaffold.^[4] Apart from the most commonly occurring methoxy groups, specific types of

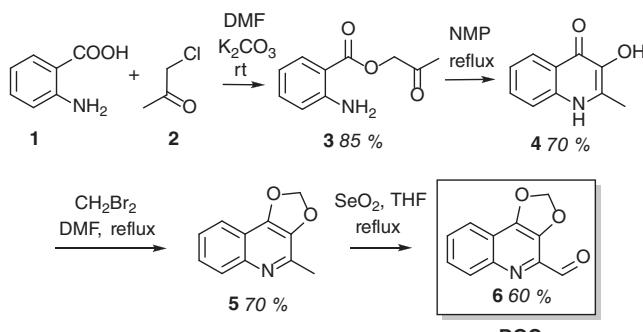
quinoline alkaloids contain the cyclic methylenedioxy moiety, which results in [1,3]dioxolo-quinolines. Depending on the mutual annellation of dioxole and quinoline rings, these heterocycles can be classified as [1,3]dioxolo[4,5-b]quinolines **I**, [1,3]dioxolo[4,5-c]quinolines **II**, [1,3]dioxolo[4,5-f]quinolines **III**, [1,3]dioxolo[4,5-g]quinolines **IV**, and [1,3]dioxolo[4,5-h]quinolines **V** (Figure 1). Within the group of quinoline alkaloids, derivatives based on [1,3]dioxolo-quinolines **I**, **III**, **IV**, and **V** have already been reported. The most frequently studied types of these compounds are [1,3]dioxolo[4,5-g]quinolines **IV** and [1,3]dioxolo[4,5-h]quinolines **V**, with the group of *Orixa japonica* alkaloids and furoquinolones being the best-known representatives. Similarly, synthetic compounds derived from **IV** have been widely

Dioxolo-quinoline template	Example of alkaloid	Natural source	Properties	FIGURE 1 Isomeric [1,3]dioxolo-quinolines, examples of related alkaloids and their reported biological properties ^[5–14] [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]
I [1,3]dioxolo[4,5- <i>b</i>]quinoline		<i>Acronychia laurifolia</i> (ref.6) <i>Acanthosyris paulo-alvinii</i> (ref.7) <i>Sebastiania corniculata</i> (ref.8)	Nematicidal (ref.9)	
II [1,3]dioxolo[4,5- <i>c</i>]quinoline		not reported	not reported	not reported
III [1,3]dioxolo[4,5- <i>f</i>]quinoline		<i>Ophiorrhiza trichocarpon</i> (ref.10)	Anticancer (ref.10)	
IV [1,3]dioxolo[4,5- <i>g</i>]quinoline		<i>Esenbeckia grandiflora</i> (ref.11)	Antiplasmodial (ref.12) Cytotoxic (ref.13)	
V [1,3]dioxolo[4,5- <i>h</i>]quinoline		<i>Orixa Japonica</i> (ref.14)	Antibacterial (ref.15)	

reported in the literature.^[15–25] In contrast, the [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines **II** have not been isolated from natural sources, and the synthetic derivatives of such heterocycles are an unexplored group of compounds, undoubtedly due to the problematic synthetic availability of the [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline scaffold. Inspired by this fact, we decided to develop a simple approach to [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines with variable substitution on the quinoline scaffold. With respect to the large number of antibacterial and antitumor quinoline derivatives reported to date, the activity of the synthesized compounds against representative bacterial strains was elucidated, and the most promising results are reported in this article.

2 | RESULTS AND DISCUSSION

Synthesis of the key intermediate began from anthranilic acid **1** (Scheme 1). After alkylation with chloroacetone **2**, the resulting 2-oxopropyl 2-aminobenzoate **3** was subjected to rearrangement in boiling *N*-methylpyrrolidin-2-one,^[26] and 3-hydroxy-2-methylquinolin-4(1*H*)-one

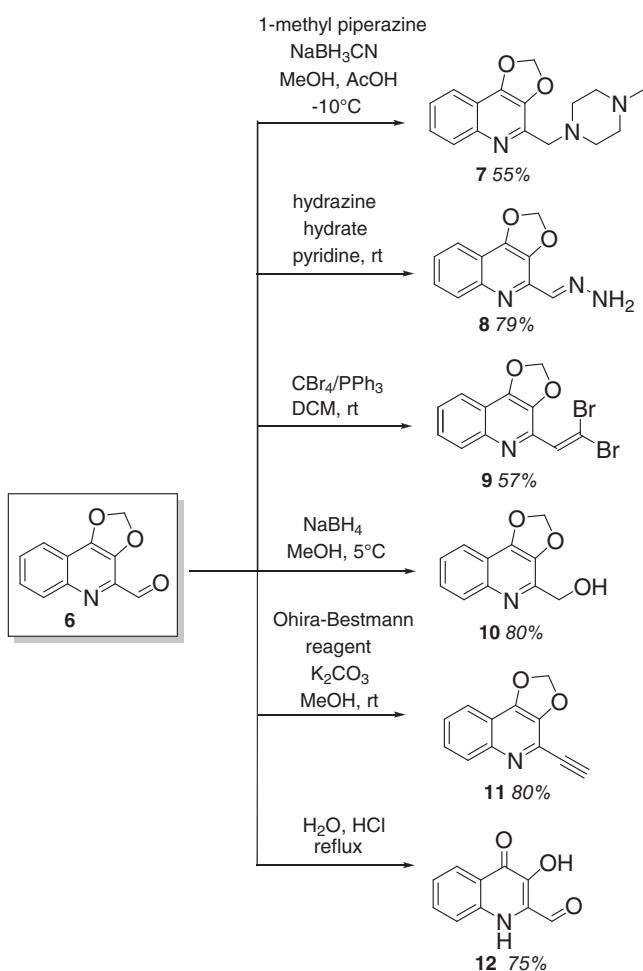


S C H E M E 1 Preparation of the key intermediates 5 and 6

4 was obtained. Alkylation with dibromomethane yielded 4-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline **5**, which was further oxidized using selenium dioxide to [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline-4-carbaldehyde **6** (DQC). The developed conditions were successfully used to synthesize the key intermediates in good yields that were scaled up to 50 g (compound **5**) and 10 g (compound **6**).

To demonstrate the applicability of DQC for structural diversification using nucleophiles, compound **6** was

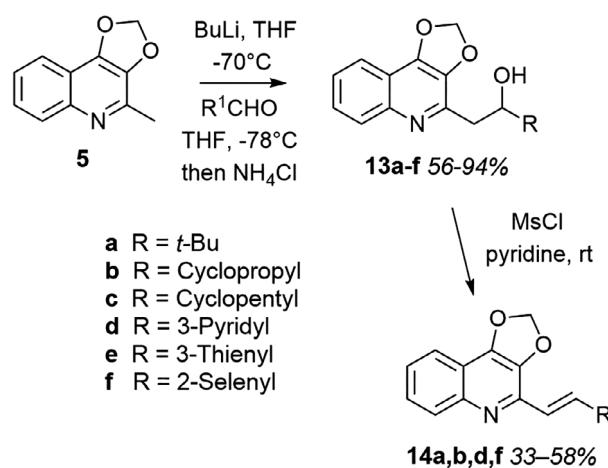
subjected to reductive alkylation with 1-methylpiperazine, to condensation with hydrazine hydrate or to Corey-Fuchs reaction with dibromomethane/triphenylphosphine,^[27] which yielded the corresponding products **7–9** (Scheme 2). Furthermore, the reduction of DQC with sodium borohydride afforded primary alcohol **10**, and the reaction of DQC with the Ohira-Bestmann reagent gave alkyne derivative **11** which can be further applied in the conjugation with azides.^[28] It is worth mentioning that except for DQC **6**, compounds **9–11** with reactive functionalities represent useful intermediates to prepare other derivatives of [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline based on, for example, acylation or cycloaddition reactions. Finally, intermediate **6** was successfully hydrolyzed with hydrochloric acid to 3-hydroxyquinolin-4(1*H*)-one derivative **12** (see the wider application of this reaction later in the text). Not only DQC **6**, but also 4-methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline **5** can be considered as the reactive compound suitable for further modification of the [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline scaffold in the C2 position. To demonstrate the reactivity of picoline-like methyl group toward electrophiles, compound **5** was subjected to



SCHM E 2 Reaction of DQC **6** with nucleophiles

reaction with butyllithium followed by addition of representative aldehydes (Scheme 3). In each case, the corresponding secondary alcohols **13a–f** were obtained. Compounds **13** were further reacted with methanesulfonyl chloride in pyridine which yielded 2-styryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines **14a–d**. Derivatives bearing cyclopentyl (**13c**) or 3-thienyl (**13e**) moiety gave after reaction with MsCl/pyridine a mixture of unknown compounds with traces of product. In the case of *t*-butylaldehyde and pyridine-3-carbaldehyde, alcohols **13a** and **13d** were not isolated but directly converted to styryl derivatives **14a**, **14c** respectively. The smooth hydrolysis of the [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline scaffold (see compound **12** in Scheme 2) indicated further applicability of the developed procedures in the field of 3-hydroxyquinolin-4(1*H*)-ones (3HQs). 2-Aryl-3HQs have been recently intensively studied as flavonol analogues, and their significant fluorescent and cytotoxic properties have been reported.^[29–32]

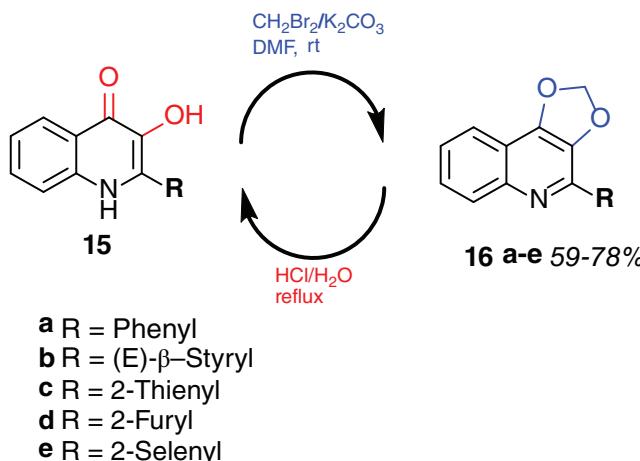
It was proven that 2-aryl-3HQs interact with the elongation factor in the gamendazole binding site and that the 3-hydroxy-4-oxo moiety is directly involved in the structure of the pharmacophore.^[33] On the other hand, 3HQs generally suffer from very low solubility resulting from an intermolecular hydrogen bond mediated by the 3-hydroxy group.^[32] The limited solubility of 3HQs results in problematic bioavailability, and two different approaches (micellar dispersion and liposomal solubilization) have previously been suggested to overcome this problem.^[34,35] In this regard, 2-aryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines may serve as suitable prodrugs with better solubility and better ability to release the parent 3HQ after administration *in vivo*. Obviously, 2-aryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines are not accessible from intermediates **5** or **6**, but the set of dioxolo-quinolines was prepared from the corresponding 3HQs (**15a–e**), which were pre-synthesized using previously published



SCHM E 3 Reaction of intermediate **5** with aldehydes

procedures.^[26,36] The formation of 2-aryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines from 2-aryl-3HQs (Scheme 4) was applicable to a broad range of starting 2-aryl-3HQs; dichloroacetic acid and dichloroacetamide were also used to cyclize the dioxole scaffold to provide **16f** and **16g** (see structures in experimental section). To our delight, the solubility of compounds **16** compared to 3HQs **15** was significantly higher, and their hydrolysis with hydrochloric acid smoothly afforded the corresponding 2-aryl-3HQs. Similarly, hydrolysis of representative 2-styryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolone **14a** yielded the corresponding 2-styryl-3HQ **17**.

The prepared [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines were tested for their antibiotic activity against representative Gram-positive (*Bacillus subtilis*, ATCC 6633; *Micrococcus luteus*, ATCC 10240; *Mycobacterium vaccae*, DSM 43514; *Staphylococcus aureus*, CCM 2524), and Gram-negative (*Pseudomonas aeruginosa*, CCM 3955; *Escherichia coli*, CCM 3954) bacteria using the agar diffusion assay.^[37] (*E*)-4-styryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline **16b** and (*E*)-4-(3,3-dimethylbut-1-en-1-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline **14a** displayed noticeable antibacterial activities against *M. luteus* when tested at 2 mM, as indicated by the large inhibition zones (diameter \geq 20 mm). These derivatives were subjected to a further assay^[38] to determine their minimum inhibitory concentration (MIC). The MIC value against *M. luteus* was 0.2 μ mol/L for both compounds, reaching the MIC of the control compound (ciprofloxacin, 0.26 μ mol/L). In contrast, (*E*)-3-hydroxy-2-styrylquinolin-4(1*H*)-one **15b** (as the hydrolytic 3HQ analogue of **16b**) exhibited an order of magnitude higher MIC (3.13 μ mol/L) against the same bacteria, which indicates the positive influence of the [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline scaffold on the resulting antibacterial activity. The other tested compounds were inactive.



SCHM E 4 Conversion of [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines to 3HQs and vice versa [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

3 | CONCLUSION

4-Methyl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline and [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline-4-carbaldehyde can be simply synthesized on a multigram scale from anthranilic acid and used as the key intermediates to access diverse [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines. These heterocycles resemble the structure of well-known quinoline alkaloids but have not been studied to date. The developed approach allows for the simple preparation of target compounds with variable C2 substitutions, and further modification of the quinoline moiety at the C5-8 positions is available in the case of variously substituted anthranilic acids. The biological potential of [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines was demonstrated by an antibacterial assay in which two compounds inhibited *M. luteus* with MIC values equal to ciprofloxacin. The [1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline scaffold was readily hydrolyzed to the 3-hydroxyquinolin-4(1*H*)-one moiety, and for this reason, compounds **5** and **6** can be used as starting materials to prepare 3HQs that are not accessible by traditional methods based on anthranilate rearrangement.^[34] Additionally, 2-aryl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolines might be used as prodrugs of the cytotoxic 3-hydroxyquinolin-4(1*H*)-ones to overcome their solubility problems.

4 | EXPERIMENTAL SECTION

4.1 | General information

Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) Merck Kieselgel 60F254. Compounds were visualized under UV light (254 nm). Column chromatography was performed on silica gel (VWR, 40-63 mesh). The purity of all compounds was determined by LC/MS (Waters 2695) with PDA detector (Waters, Milford, Massachusetts) and quadrupole mass spectrometer (hybrid Q-TOF micro mass spectrometer) using electrospray ionization ESI (Waters MS Technologies, Manchester, United Kingdom). Liquid chromatography was carried out using C18 reversed-phase column. Elution was by 0.01 M ammonium acetate (A) and acetonitrile/water (90/10) (B) with a linear gradient (0.6 mL/min). ¹H and ¹³C NMR spectra were measured on Jeol ECA400II (400 MHz) at 23°C and reported in ppm. NMR spectra were recorded in CDCl₃ or DMSO-d₆ as a solvent. The ¹H and ¹³C chemical shifts were referenced to the central signal of the solvent: CDCl₃ (*d* = 7.26 (1H), *d* = 77.0 (13C)); and DMSO-d₆ (*d* = 2.50 (1H) and *d* = 39.43 (13C)). Assignments were made with the aid of APT, HMQC, HMBC experiments. HPLC-HRMS analyses were performed on reverse phase gradient using

DionexUltimate 3000; column Phenomenex Gemini, 50 × 2,00 mm, 3 µm particles C₁₈; 80% acetonitrile and 20% buffer (0.01 M ammonium acetate) as mobile phase; wavelength λ 254 nm. High resolution mass determination was performed by ESI MS on a Fischer Scienctific Exactive Plus Orbitrap mass spectrometer operating in positive and negative mode.

4.2 | Experimental procedures

Ohira-Bestmann reagent (dimethyl 1-[1-diazo-2-oxopropyl]phosphonate): Into a suspension of NaH (263 mg, 6.6 mmol, 60% disp. in mineral oil) in dry THF (16 mL), dimethyl-2-oxopropylphosphonate (1.00 mL, 6 mmol) was added dropwise at 0°C to 4°C. Reaction was kept at 0°C for 1 hour, then p-TsN₃ (2.6 g 50% solution in toluene, 6.6 mmol) was added and the reaction mixture was stirred at the same temperature for 30 minutes. Solvents were evaporated in vacuo and the crude product was purified by column chromatography (petrolether/EtOAc 1/1 → EtOAc).

4.2.1 | 2-Oxopropyl 2-aminobenzoate (3)

Compound **3** was prepared according to the literature^[25] in 78% yield. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.75 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 7.27 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H), 6.78 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 6.62 (s, 2H), 6.55 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.93 (s, 2H), 2.14 (s, 3H). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ 202.3, 166.6, 151.5, 134.4, 130.8, 116.6, 114.8, 108.1, 68.2, 25.9.

4.2.2 | 3-Hydroxy-2-methylquinolin-4(1H)-one (4)

Compound **4** was prepared according to the literature^[25] in 70% yield. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 11.54 (s, 1H), 8.10 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.49-7.55 (m, 2H), 7.21 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.38 (s, 3H). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ 168.6, 138.1, 137.2, 131.7, 129.9, 124.5, 122.3, 121.5, 117.6, 14.1.

4.2.3 | 4-Methyl[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (5)

To a 2000 mL round bottom flask with a thermometer, magnetic stirrer and reflux condenser, compound **4** (74.1 g, 0.42 mol), DMF (740 mL), K₂CO₃ (205.4 g, 1.49 mol) and CH₂Br₂ (71.5 mL, 1.03 mol) were

successively added. Reaction mixture was heated at 120°C for 75 minutes under the nitrogen atmosphere. After cooling to room temperature, the volume was reduced to 500 mL, the precipitated material was collected by filtration and washed with DMF. The filtrate was poured into 3000 mL of ice-cold water and after 30 minutes of stirring, the crude product was filtered, washed with water, and dried under vacuum. Crude product was purified by crystallization from cyclohexane to give crystalline solid in 66% yield (52 g).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.88(1H, td; 8,5; 0,9) (7); 7.77(1H, ddd, *J* = 8,2; 1,5; 0,7 Hz)(4); 7.58(1H,ddd, *J* = 8,5; 6,8; 1,6 Hz)(6); 7.49 (1H, ddd; *J* = 8,1; 6,9; 1,2)(5); 6,35 (2H,s)(11); 2,54(3H,s)(10). ¹³C-NMR (101 MHz DMSO-D₆) δ 147,6(3); 144,5(8); 142,9(1); 139,3(2); 128,5 (7); 127,6(6); 125,7(5); 119,6(4); 114,7(9); 103,0(11); 19,0 (10). HRMS: calcd for C₁₁H₉NO₂ (M + H): m/z 188.0667; found: m/z 188.0668.

4.2.4 | [1,3]Dioxolo[4,5-*c*]quinoline-4-carbaldehyde (6)

Into a solution of **5** (15.0 g, 80 mmol) in THF (150 mL), SeO₂ (13.3 g, 120 mmol) was added and the resulting suspension was heated to reflux for 3 hours. After cooling, the reaction mixture was evaporated to dryness and the residual material was dissolved in warm DCM (150 mL). DCM solution was extracted with 3 × 100 mL of diluted HCl (water/HCl 4/1). The combined aqueous layers were filtrated with charcoal (750 mg) and neutralized at 10°C with 40% NaOH solution to pH 8-8.5. Obtained yellow precipitate was filtered, washed with water and dried under vacuum. Aldehyde **6** was prepared in 60% yield (9.7 g) and used in further reactions without purification.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,09(1H, s)(10); 8,08 (1H,ddd, *J* = 8,6; 1,6; 0,8 Hz)(7); 7,88(1H, ddd, *J* = 8,0; 1,6; 0,8 Hz)(4); 7,73(1H,dt, *J* = 7,6; 1,7 Hz)(6); 7,68 (1H, dt; 7,5; 1,3)(5); 6,51 (2H,s)(11). ¹³C-NMR (101 MHz DMSO-*d*₆) δ 191,6(10); 151,5(3); 144,5(8); 140,1 (2); 136,8(1); 129,9(7); 129,2(6); 129,0(5); 120,0(4); 116,2 (9); 104,9(11). HRMS: calcd for C₁₁H₇NO₃ (M + H): m/z 202.0449; found: m/z 202.0449.

4.2.5 | 4-[(4-Methylpiperazin-1-yl)methyl][1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (7)

Into a solution of *N*-methylpiperazine (0.6 g, 6 mmol) and aldehyde **6** (1 g, 5 mmol) in methanol (50 mL), glacial acetic acid (0.42 mL, 6 mmol) was added. After stirring at rt for 1 hour, the reaction mixture was cooled at 10°C and NaBH₃CN (1.6 g, 25 mmol) was added in

10 portions over 1 hour period. Temperature spontaneously raised to rt. Methanol was evaporated, the residual material was diluted with water (15 mL) and extracted with EtOAc (2 × 25 mL). Combined organic layers were extracted with 5% HCl (2 × 15 mL) and 1 × 15 mL of water, alkalized to pH ~12 with 40% NaOH and extracted with EtOAc (2 × 25 mL). Organic layers were washed with brine (1 × 15 mL) dried over Na₂SO₄ and evaporated. Oily residue was crystallized from cyclohexane to yield crystalline compound **7** in 56% yield (0.8 g).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.94 (1H, d, *J* = 8.3 Hz)(7), 7.80 (1H, dd, *J* = 8.3, 1.6 Hz)(4), 7.61 (1H, dt, *J* = 8.0, 1.6 Hz)(6), 7.53 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.3, 1.0 Hz)(5), 6.37 (2H,s)(16), 3.71 (2H, s)(10), 2.50(4H, brs)(11 + 14), 2.28 (4H, brs)(12 + 13), 2.12 (3H, s)(15). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.4(3), 144.3(8), 142.6(1), 140.0 (2), 129.0(7), 127.7(6), 126.3(5), 119.6(4), 115.0(9), 103.1 (16), 59.2(10), 54.5(12 + 13), 52.7(11 + 14), 45.6(15). HRMS: calcd for C₁₆H₁₉N₃O₂ (M + H): m/z 286.1550; found: m/z 286.1548.

4.2.6 | 4-[(*E*)-Hydrazinylidene]methyl]-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (8)

Into a solution of **6** (2 g, 10 mmol) in pyridine (20 mL), NH₂NH₂·H₂O (1 mL) was added. Reaction mixture was stirred at rt for 6 hours, then diluted with water to volume of 200 mL and stirred overnight. Obtained precipitate was filtered, washed with water and dried under vacuum to provide pink solid in 79% yield (1.7 g). Product was crystallized from ethanol.

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.87-7.85 (2H, m)(7 + 10), 7.74 (1H, ddd, *J* = 8.3, 1.3, 0.5 Hz)(4), 7.59-7.55 (3H, m)(6, NH₂), 7.46 (1H, t, *J* = 8.0 Hz)(5), 6.35 (2H, s) (11). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.6(3), 144.4(8), 141.1(1), 137.6(2), 135.2(10), 128.4(7), 127.8(6), 125.7(5), 119.5(4), 114.5(9), 103.0(11). HRMS: calcd for C₁₁H₉N₂O₃ (M + H): m/z 216.0768; found: m/z 216.0769.

4.2.7 | 4-(2,2-Dibromovinyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (9)

PPh₃ (1.02 g, 3.89 mmol, 4 equiv.) was added to a solution of CBr₄ (0.66 g, 1.99 mmol, 2 equiv.) in dry CH₂Cl₂ (3 mL) at 0°C. At the same temperature, aldehyde (0.2 g, 0.995 mmol, 1 equiv.) was dissolved in dry CH₂Cl₂ (5.8 mL) and the resulting solution was added dropwise into the reaction mixture. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 50 minutes (TLC petrolether/EtOAc 1/1). The reaction mixture was quenched by 25 mL of water followed by extraction of

product with DCM (3 × 20 mL). Purification was performed by column chromatography (CHCl₃/petrolether 3/1). It provided yellow solid which was stirred in cyclohexane, filtered and dried in a yield of 302 mg (57%). ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H) (7); 7.77 (d, *J* = 7.3 Hz, 1H) (4); 7.72 (s, 1H) (10); 7.56 (t, *J* = 8.6 Hz, 1H) (6); 7.46 (t, *J* = 8.0 Hz, 1H) (5); 6.27 (s, 2H) (12). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 149.6 (3), 145.2 (8), 138.8 (1), 138.3 (2), 130.7 (10), 129.4 (7), 128.4 (6), 126.7 (5), 119.9 (4), 115.6 (9), 103.1 (12), 96.5 (11); ESI-HRMS: calcd. For C₁₂H₇NO₂Br₂ [M + H]⁺: 357.8892, found: 357.8896.

4.2.8 | [1,3]Dioxolo[4,5-*c*]quinolin-4-ylmethanol (10)

Into a solution of **6** (1 g, 5 mmol) in methanol (10 mL), NaBH₄ (0.19 g, 5 mmol) was added in five parts over 30 minutes period at the temperature below 10°C. After 30 minutes, the reaction mixture was diluted with water (20 mL) and extracted with EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were dried with Na₂SO₄ and evaporated. Crude product was crystallized from toluene to obtain white crystals of **11** in a yield of 79% (0.8 g).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.95 (1H, d, *J* = 8.8 Hz)(7), 7.80 (1H, dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz)(4), 7.62 (1H, dt, *J* = 7.5, 1.6 Hz)(6), 7.53 (1H, ddd, *J* = 7.8, 7.3, 1.0 Hz)(5), 6.38 (2H, s)(11), 5.40 (1H, t, *J* = 6.0 Hz)(OH), 4.69 (1H, d, *J* = 6.2 Hz)(10). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.5(3), 145.6(1), 144.2(8), 138.9(2), 128.8(7), 127.8(6), 126.2(5), 119.6(4), 115.1(9), 103.3(11), 61.0(10). HRMS: calcd for C₁₁H₉NO₃ (M + H): m/z 204.0655; found: m/z 204.0656.

4.2.9 | 4-Ethynyl[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (11)

Freshly prepared Ohira-Bestmann reagent (1.15 g, 6 mmol) was dissolved in methanol (30 mL) followed by addition of K₂CO₃ (2.1 g, 15 mmol) and aldehyde **6** (1.0 g, 5 mmol). Reaction mixture was stirred at rt for 1.5 hours (TLC hexane/EtOAc 4/1). After that, 2.5 g of NH₄Cl was added and after 5 minutes of stirring the suspension was diluted by water (150 mL). Precipitated orange solid was filtered, washed with water, dried under vacuum, and crystallized from 2-propanol to provide **12** in 80% yield (0.8 g).

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H) (7), 7.76 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H)(4), 7.57 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H)(6), 7.46 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H)(5), 6.31 (s, 2H)(12), 3.47 (s, 1H) (11). ¹³C-NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 149.3(3), 145.9(8),

142.4(2), 129.4(7), 128.4(6), 127.0(5), 125.9(1), 119.7(4), 115.8(9), 103.4(12), 82.1(11), 78.0(10). HRMS: calcd for $C_{12}H_7NO_2$ ($M + H$): m/z 198.0550; found: m/z 198.0549.

4.2.10 | 3-Hydroxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-2-carbaldehyde (12)

To suspension of aldehyde **6** (1 g, 5 mmol) in water (10 mL), conc. HCl was dropped to adjust pH ~1. The solution was heated at 75°C for 15 minutes. After precipitation, acetonitrile (2 mL) was added and reaction mixture was heated to reflux for 3 hours. Reaction mixture was cooled to rt, diluted with water (15 mL), cooled to 5°C. The precipitated material was filtered, washed with water and dried under vacuum. Pure product **13** was obtained by crystallization from DMF (20 mL) as a yellow powder in 69% yield (0.65 g).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 11.46 (1H, s)(NH), 10.40 (1H, s)(10), 10.40 (1H, brs)(OH), 8.11 (1H, dd, J = 8.3, 1.3 Hz)(4), 7.85 (1H, d, J = 8.6 Hz)(7), 7.63 (1H, dt, J = 7.8, 1.6 Hz)(6), 7.24 (1H, dt, J = 7.6, 1.0 Hz)(5). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 186.1(10), 173.1(3), 146.4(2), 138.1(8), 132.2(6), 124.7(1), 124.5(4), 122.5(9), 121.9(5), 119.1(7). HRMS: HRMS: calcd for $C_{10}H_7NO_3$ ($M + H$): m/z 190.0499; found: m/z 190.0499.

4.3 | General procedure for preparation of compounds 13 a-f

A solution of **5** (935 mg, 5 mmol) in dry THF (20 mL) was cooled to -70°C under nitrogen atmosphere. Over 30 minutes period, 2 M solution of n-BuLi in hexane (2.75 mL, 5.5 mmol) was added dropwise via syringe and after 75 minutes a solution of aldehyde (5.5 mmol) in dry THF (10 mL) was added. Reaction was kept at -70°C for 1 hour, then treated with NH₄Cl (0.5 g) and warmed up to rt. THF was evaporated and the residual material was extracted with EtOAc/water. Organic phase was dried over Na₂SO₄ and concentrated. Compounds **13a** and **13d** were used without further purification. Compounds **13b,c,e,f** were purified by crystallization or precipitation.

4.3.1 | 1-cyclopropyl-2-([1,3]dioxolo[4,5-c]quinolin-4-yl)ethanol (13b)

Crystallized from cyclohexane, yield 60% (770 mg). 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.90 (d, J = 8.6 Hz, 1H)(7), 7.78 (dd, J = 8.2, 0.9 Hz, 1H)(4), 7.58 (dt, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H)(6), 7.50 (ddd, J = 7.7, 7.4, 1.3 Hz, 1H)(5), 6.33-6.35 (m, 2H)(15), 4.77 (d, J = 5.2 Hz, 1H)(OH), 3.55-3.49 (m,

1H)(11), 3.07-3.05 (m, 2H)(10), 0.96-0.88 (m, 1H)(12), 0.38-0.25 (m, 3H) + 0.04(-0.01) (m, 1H)(13A,13B, 14A,14B). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 147.6(3), 145.0(1), 144.5(8), 139.7(2), 128.7(7), 127.6(6), 125.8(5), 119.6(4), 114.7(9), 102.9(15), 72.4(11), 41.1(10), 17.4(12), 2.2 + 2.0(13, 14). HRMS: calcd for $C_{15}H_{15}NO_3$ ($M + H$): m/z 258.1125; found: m/z 258.1126.

4.3.2 | 1-Cyclopentyl-2-([1,3]dioxolo[4,5-c]quinolin-4-yl)ethanol (13c)

The crude product was dissolved in diethyl ether, filtered with charcoal and evaporated. Residual material was purified by precipitation (from petroleum ether to EtOAc) to give pale yellow solid in 56% yield (800 mg).

1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.91 (d, J = 8.3 Hz, 1H)(7), 7.78 (dd, J = 8.3, 0.8 Hz, 1H)(4), 7.58 (ddd, J = 8.3, 7.8, 1.4, 1H)(6), 7.50 (dt, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H)(5), 6.34 (s, 2H)(17), 4.69 (d, J = 5.7 Hz, 1H)(OH), 3.98-3.91 (m, 1H)(11), 3.01-2.88 (m, 2H)(10A,B), 1.92-1.84 (m, 1H)(12), 1.72-1.27 (m, 8H). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 147.7 (3) 145.5(1) 144.5(8) 139.7(2) 128.7(7) 127.6(6) 125.8 (5) 119.6(4) 114.7(9) 102.9(17) 72.2(11) 45.7(12) 39.9 (10) 18.7 + 27.5(13,16) 25.5 + 25.3(14,15). HRMS: calcd for $C_{17}H_{19}NO_3$ ($M + H$): m/z 286.1438; found: m/z 286.1439.

4.3.3 | 2-([1,3]Dioxolo[4,5-c]quinolin-4-yl)-1-(thiophen-3-yl)ethan-1-ol (13e)

Crude product was refluxed in diethyl ether (30 mL) which gave, after filtration and evaporation, gray powder in 94% yield (1.4 g). Crystallization from 2-propanol furnished white crystals. 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.93 (td, J = 8.3, 0.8 Hz, 1H)(7), 7.79 (ddd, J = 8.0, 1.6, 0.5 Hz, 1H)(4), 7.60 (ddd, J = 7.8, 7.5, 1.6 Hz, 1H)(6), 7.51 (dt, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H)(5), 7.45 (dd, J = 4.9, 3.1 Hz, 1H)(14), 7.33-7.32 (m, 1H)(15), 7.12 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H)(13), 6.35-6.29 (m, 2H)(16), 5.46 (d, J = 5.2 Hz, 1H)(OH), 5.32-5.28 (m, 1H)(11), 3.29-3.18 (m, 2H)(10). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 147.8(3), 146.9(12), 144.5(8), 144.3 (1), 139.8(2), 128.7(7), 127.7(6), 126.3(13), 125.9 + 125.8 (5,14), 120.4(15), 119.6(4), 114.8(9), 103.0(16), 67.6(11), 42.1(10). HRMS: calcd for HRMS: calcd for $C_{16}H_{13}NO_3S$ ($M + H$): m/z 300.0650; found: m/z 300.0652.

4.3.4 | 2-([1,3]Dioxolo[4,5-c]quinolin-4-yl)-1-(selenophen-2-yl)ethan-1-ol (13f)

The crude product was refluxed in diethyl ether (30 mL) which gave, after filtration and evaporation, gray powder

in 72% yield (1.25 g). Crystallization from acetone furnished white crystals. ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.00 (dd, *J* = 5.4, 1.3 Hz, 1H)(15), 7.94 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H) (7), 7.80 (ddd, *J* = 8.3, 1.6, 0.8 Hz, 1H)(4), 7.61 (ddd, *J* = 7.8, 7.7, 1.5, 1H)(6), 7.52 (ddd, *J* = 7.7, 7.4, 1.3 Hz, 1H) (5), 7.14 (dd, *J* = 5.4, 3.6 Hz, 1H)(14), 7.05 (td, *J* = 2.3, 1.2 Hz, 1H)(13), 6.36-6.30 (m, 2H)(16), 5.99 (d, *J* = 4.9 Hz, 1H)(OH), 5.49-5.47 (m, 1H)(11), 3.31-3.24 (m, 2H)(10). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 158.0(12), 147.9(3), 144.5(8), 143.7(1), 139.8(2), 129.6(15), 128.8(14), 128.7(7), 127.8(6), 126.0(5), 124.2(13), 119.7(4), 114.8(9), 103.1(16), 69.1(11), 43.5(10). HRMS: calcd for C₁₅H₁₃NO₂ (M + H): m/z 240.1019; found: m/z 240.1018.

4.4 | Synthesis of compounds 14 a-c

Into a solution of **13** (2.5 mmol) in pyridine (7.5 mL), MsCl (232 μL, 3.0 mmol) was added and the mixture was stirred for 16 hours. Mixture was poured into ice-cold water (50 mL) and stirred for 1 hour. The resulting suspension (compound **14b** and **14c**) was filtered, dried under vacuum and purified by crystallization. Compound **14a** was purified by extraction with EtOAc followed by column chromatography (hexane/EtOAc 4/1) which furnished green-yellow solid.

4.4.1 | 4-[(*E*)-3,3-dimethylbut-1-en-1-yl][1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (14a)

Prepared from compound **13a** as a green-yellow solid in 45% yield (290 mg). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.89(1H, d; *J* = 8.8 Hz)(7); 7.76(1H, d, *J* = 8.3 Hz)(4); 7.59 (1H, dt, *J* = 7.8, 1.0 Hz)(6), 7.48(1H,dt, *J* = 7.8, 1.0 Hz) (5); 7.05(1H,d, *J* = 16.6 Hz)(11); 6.52 (1H, d; *J* = 16.6 Hz) (10); 6.40(2H,s)(16); 1.15(9H,s)(13 + 14 + 15). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 149.4(11); 148.6(3); 144.7(8), 140.9(1); 138.3(2); 128.7(7); 128.0(6); 125.9(5); 121.2(10); 119.6(4); 114.6(9); 103.2(16); 33.6(12); 29.0(3C)(13 + 14 + 15). HRMS: calcd for C₁₆H₁₇NO₂ (M + H): m/z 256.1350; found: m/z 256.1333.

4.4.2 | 4-[(*E*)-2-cyclopropylethenyl][1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (14b)

Prepared from compound **13b**, crystallization from diethyl ether gave pale green solid in 50% yield (300 mg). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7.85 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H) (7), 7.74 (ddd, *J* = 8.2, 1.3, 0.8 Hz, 1H)(4), 7.57 (dt, *J* = 7.8, 1.6 Hz, 1H)(6), 7.46 (dt, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H)(5), 6.72 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H)(10), 6.49 (dd, *J* = 15.8, 9.6 Hz,

1H)(11), 6.37 (s, 2H)(15), 1.78-1.69 (m, 1H)(12), 0.94-0.90 (m, 2H), 0.66-0.62 (m, 2H)(13, 14). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.4(3), 144.7(8), 144.3(11), 140.9(1), 138.0 (2), 128.6(7), 128.0(6), 125.7(5), 123.2(10), 119.6(4), 114.5 (9), 103.1(15), 15.1(12), 8.0(2C)(13 + 14). HRMS: calcd for C₁₅H₁₃NO₂ (M + H): m/z 240.1019; found: m/z 240.1018.

4.4.3 | 4-[(*E*)-2-(Pyridin-3-yl)ethenyl][1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinoline (14d)

Prepared from compound **13d**. Purification was performed by reflux in methanol followed by filtration and precipitation with diethyl ether which furnished yellow solid in 58% yield (800 mg). ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.85 (s, 1H)(13), 8.53-8.52 (m, 1H)(14), 8.18 (dd, *J* = 8.0, 1.3 Hz, 1H) (16), 7.94 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H)(7), 7.82-7.76 (m, 2H)(11,4), 7.61 (ddd, *J* = 8.3, 7.3, 1.6 Hz, 1H)(6), 7.52-7.41 (m, 3H) (5,10,15), 6.46 (s, 2H)(17). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 149.5(14), 148.9(13), 148.9(3), 144.8(8), 139.9(1), 139.0(2), 133.3(16), 131.9(11), 131.7(12), 128.8(7), 128.3(6), 126.3(5), 125.8(10), 123.8(15), 119.7(4), 114.8(9), 103.5(17). HRMS: calcd for C₁₇H₁₂N₂O₂ (M + H): m/z 277.0972; found: m/z 277.0976.

4.5 | Preparation of compound 14f

Into a solution of **13f** (867 mg, 2.5 mmol) in pyridine (7.5 mL), MsCl (232 μL, 3.0 mmol) was added. Reaction mixture was heated at 100°C for 5 hours, cooled to rt, diluted with water and stirred overnight. After evaporation of solvents, the residual material was dissolved in acetonitrile (25 mL) and DBU (1.49 mL, 10 mmol) was added. After stirring for 1 hour at rt, the temperature was increased to reflux and kept for 30 minutes. After cooling to rt the solvent was evaporated followed by addition of ice-cold water (25 mL). After 30 minutes of stirring, the suspension was filtrated and dried to obtain brown solid. Crude product was refluxed in toluene (55 mL) and charcoal, filtrated and evaporated. Pure product was obtained by crystallization from methanol to provide pale yellow solid in 33% yield (271 mg).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.22 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H)(15), 7.99 (d, *J* = 15.8 Hz, 1H)(11), 7.91 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H)(7), 7.78 (dd, *J* = 8.1, 1.0 Hz, 1H)(4), 7.63-7.58 (m, 2H) (6,13), 7.50 (dt, *J* = 7.5, 1.0, 1H)(5), 7.33 (dd, *J* = 5.6, 3.8 Hz, 1H)(14), 6.97 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H)(10), 6.45 (s, 2H) (16). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 148.7(3), 147.4 (12), 144.9(8), 140.1(1), 138.7(2), 132.8(15), 132.2(13), 131.1(11), 130.6(14), 128.7(7), 128.3(6), 126.1(5), 123.7 (10), 119.7(4), 114.8(9), 103.5(16). HRMS: calcd for

$C_{16}H_{11}NO_2Se$ ($M + H$): m/z 330.0028; found: m/z 330.0026.

4.6 | Preparation of compounds 16a, b, c, d, e

Into a solution of **15** (5 mmol) in DMF (12.5 mL), K_2CO_3 (2.42 g, 17.5 mmol) and CH_2Br_2 (0.83 mL, 12 mmol) were added. Suspension was refluxed until disappearance of starting material (TLC hexane/EtOAc 7/3). Reaction mixture was poured into ice-cold water (125 mL). A precipitated solid (for compounds **16c**, **16d**, and **16e**) was isolated by filtration and purified by crystallization. Compounds **16a** and **16b** furnished oily material to which diethyl ether (50 mL) was added together with charcoal (100 mg). After 30 minutes of stirring a mixture was filtered through glass filter, layers were separated and aqueous layer was extracted with diethyl ether (2×25 mL). Combined organic phases were dried over $MgSO_4$, evaporated and purified by crystallization.

4.6.1 | 4-Phenyl[1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline (16a)

Crystallization from ethanol gave pale pink solid in 78% yield (970 mg). 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.33-8.30 (2H, m)(11 + 15); 8.02 (1H,ddd, $J = 8.6, 1.0, 0.7$ Hz)(7); 7.84(1H,ddd, $J = 8.3, 1.5, 0.7$ Hz)(4); 7.65(1H,ddd, $J = 8.6, 6.8, 1.5$ Hz)(6); 7.59-7.48 (4H, m)(12 + 14, 5, 13); 6.47 (2H,s)(16). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 149.6(3); 144.7(8); 140.8(1); 138.8(2); 135.4(10); 129.7(13), 129.2(7); 128.6(2C)(12 + 14); 128.4(6); 127.7(2C)(11 + 15); 126.4(5); 119.7(4); 114.9(9); 103.2(16). HRMS: calcd for $C_{16}H_{11}NO_2$ ($M + H$): m/z 250.0863; found: m/z 250.0863.

4.6.2 | 4-[*(E*)-2-Phenylethenyl][1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline (16b)

Crystallization from cyclohexane furnished yellow solid in 69% yield (950 mg). 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.95(1H, d; 8.6)(7); 7.83(1H, d, $J = 16.5$ Hz)(11); 7.79(1H, ddd, $J = 8.3, 1.4, 0.6$ Hz)(4), 7.72(2H,d, $J = 7.3$ Hz)(13 + 17); 7.62(1H,ddd, $J = 8.5, 6.8, 1.5$ Hz)(6); 7.51 (1H, ddd; $J = 8.1, 6.9, 1.1$)(5); 7.45-7.37 (4H,m)(14 + 16, 10, 15); 6.47(2H,s)(18). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 148.8(3); 144.9(8); 140.5(1); 138.8(2); 136.0(12); 135.5(11); 128.9(3C)(14 + 16, 15); 128.8(7); 128.3(6); 127.2 (2C)(13 + 17); 126.2(5); 123.9(10); 119.7(4); 114.8(9); 103.5(18). HRMS: calcd for $C_{18}H_{13}NO_2$ ($M + H$): m/z 276.1019; found: m/z 276.1022.

4.6.3 | 4-(Thiophen-2-yl)[1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline (16c)

Crystallization from ethanol furnished yellow powder in 72% yield (920 mg). 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.93 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H)(7), 7.88 (dd, $J = 3.8, 1.2$ Hz, 1H)(13), 7.81-7.78 (m, 2H)(4,11), 7.63 (dt, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H)(6), 7.51 (dt, $J = 7.5, 1.0$ Hz, 1H)(5), 7.26 (dd, $J = 5.1, 3.8$ Hz, 1H)(12), 6.50 (s, 2H)(14). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 149.3(3), 144.6(8), 140.3(10), 137.0(2), 136.8(1), 129.4 (11), 128.5(2C) + 128.5(7,6,12), 126.1(5), 119.7(4), 114.8 (9), 103.7(14). HRMS: calcd for $C_{14}H_9NO_2S$ ($M + H$): m/z 256.0427; found: m/z 256.0423.

4.6.4 | 4-(Furan-2-yl)[1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline (16d)

Crystallization from 2-propanol furnished white crystals in 59% yield (706 mg). 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7.97-7.95 (m, 2H)(13, 7), 7.79 (ddd, $J = 8.3, 1.4, 0.6$ Hz, 1H) (4), 7.63 (dt, $J = 7.8, 1.6$ Hz, 1H)(6), 7.51 (dt, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 1H)(5), 7.21 (dd, $J = 3.6, 0.8$ Hz, 1H)(11), 6.74 (dd, $J = 3.5, 1.7$ Hz, 1H)(12), 6.48 (s, 2H)(14). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 149.2(3), 149.1(10), 144.8(13), 144.7(8), 136.9 (2), 133.2(1), 128.8(7), 128.4(6), 126.2(5), 119.7(4), 114.7(9), 112.8(11), 112.2(12), 103.7(14). HRMS: calcd for $C_{14}H_9NO_9$ ($M + H$): m/z 240.0655; found: m/z 240.0654.

4.6.5 | 4-(Selenophen-2-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline (16e)

Crystallization from ethanol furnished white crystals in 73% yield (1.1 g). 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8.38 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H)(11), 8.07 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H)(13), 7.90 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H)(7), 7.79 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)(4), 7.61 (dd, $J = 8.3, 7.0$ Hz, 1H)(6), 7.48-7.52 (m, 2H)(5,12), 6.50 (s, 2H)(14). ^{13}C -NMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ 149.2(3), 146.7(10), 144.7(8), 138.3(1), 136.5(2), 135.0(11), 131.1 (12), 130.3(13), 128.5+ 128.5(6,7) 126.1(5) 119.7(4) 114.8 (9) 103.7(14). HRMS: calcd for $C_{14}H_9NO_2Se$ ($M + H$): m/z 303.9871; found: m/z 303.9869.

4.7 | Preparation of compound 16f

Into a solution of **15a** (2.0 g, 8.43 mmol) in DMF (25 mL), K_2CO_3 (4.1 g, 29.5 mmol) was added and the suspension was heated to reflux under nitrogen atmosphere. Meanwhile a solution of sodium salt of dichloroacetic acid was prepared pouring $NaHCO_3$ (3.4 g, 40.4 mmol) into dichloroacetic acid (3.32 mL, 40.4 mmol)

in DMF (10 mL). Approximately a half of the prepared solution was dropped into refluxed reaction mixture over 15 minutes period. Reaction was kept for 50 minutes under reflux and after that the other half of solution was added. Reaction was kept for additional 45 minutes under the same temperature. DMF was evaporated and the residue was quenched with water (50 mL) followed by filtration. Obtained solution was cooled at 5°C, acidified with diluted HCl (HCl/H₂O 1/10) to pH ~ 4 and precipitate was filtered and dried. Crude product was crystallized from methanol (25 mL) to provide pale pink solid in 72% yield (1.8 g).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.32-8.30(2H, m)(11 + 15); 8.05 (1H,d, *J* = 8,6 Hz)(7); 7.88 (1H,dd, *J* = 8,3; 0,8 Hz)(4); 7.70 (1H,ddd, *J* = 8,5; 6,9; 1,5 Hz)(6); 7.61-7.57 (3H, m)(12 + 14, 5); 7.55-7.51 (1H, m)(13); 7.02 (1H,s) (16). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-D₆) δ 166,1(17); 148,8 (3); 144,9(8); 140,8(1); 138,1(2); 135,1(10); 129,9(13); 129,2 (7); 128,7(6); 128,7(2C)(12 + 14); 127,8(2C)(11 + 15); 126,8(5); 119,7(4); 114,7(9); 104,7(16). HRMS: calcd for C₁₇H₁₁NO₄ (M + H): m/z 294.0722; found: m/z 294.0724.

4.8 | Preparation of compound 16g

Into a solution of **15a** (2.0 g, 8.43 mmol) in DMF (20 mL), K₂CO₃ (4.1 g, 29.5 mmol) was added and suspension was warmed up to reflux under nitrogen atmosphere. A solution of dichloroacetamide (2.6 g, 20.2 mmol) in DMF (10 mL) was added dropwise over 45 minutes period. Reaction mixture was poured into ice-cold water (125 mL) and precipitate was filtered, washed with water and dried. Crude product was crystallized from DMF/H₂O to obtain beige solid in 70% yield (1.7 g).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.34-8.31(2H, m)(11 + 15); 8.29(1H,brs) + 7.94(1H,brs)(NH2); 8.04 (1H,d, *J* = 8,6 Hz)(7); 7.86 (1H,dd, *J* = 8,0; 0,8 Hz)(4); 7.68 (1H, dt, *J* = 7,7; 1,3 Hz)(6); 7.60-7.56 (3H, m)(12 + 14, 5); 7.52 (1H, tt, *J* = 7,3; 1,3 Hz)(13); 6.80 (1H,s)(16). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 165,9(17); 149,1(3); 144,8(8); 140,7 (1); 138,5(2); 135,3(10); 129,8(13); 129,1(7); 128,6(2C)(12 + 14); 128,5 (6); 127,8(2C)(11 + 15); 126,5(5); 119,9(4); 114,7(9); 105,9(16). HRMS: calcd for C₁₇H₁₂N₂O₃ (M + H): m/z 293.0921; found: m/z 293.0921.

4.9 | Hydrolysis of compound 14a to compound 17

A suspension of **14a** (216 mg, 0.846 mmol) in 5 mL of diluted HCl (HCl/H₂O 1/1) was heated to reflux. After 5 minutes brown oil appeared which slowly transformed to yellow precipitate. Reaction was stirred for 3 hours

(TLC hexane/EtOAC 7/3). The precipitate was filtered, washed with water and dried under vacuum. Crude product was purified by crystallization from 2-propanol/hexane to provide yellow crystals in 63% yield (130 mg).

¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 14.00 (s, 1H); 10.60 (s, 2H); 8.26 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H) (4,7); 7.78 (t, *J* = 8,6 Hz, 1H) (6); 7.54 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H) (5); 7.45 (d, *J* = 16,6 Hz, 1H) (11); 6.84 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H) (10); 1.01-1.17 (m, 9H) (13,14,15). ¹³C-NMR (101 MHz, DMSO-d₆) δ 159.2 (3); 154.1 (11); 139.8 (1); 135.9 (8,2); 131.3 (6); 125.4 (5); 122.8 (4); 119.7 (9); 119.0 (7); 114.1 (10); 34.5 (12); 28.7 (13,14,15). HRMS: calcd for C₁₅H₁₆NO₂ (M + H): m/z 242.1191; found: m/z 242.1176.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by Ministry of Industry and Trade (project FV20250).

ORCID

Miroslav Soural <https://orcid.org/0000-0001-7288-8617>

REFERENCES

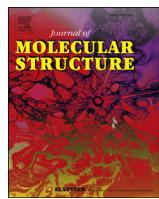
- [1] B. B. Mishra, V. K. Tiwari, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 4769.
- [2] P. -Y. Chung, Z. -X. Bian, H. -Y. Pun, D. Chan, A. S. -C. Chan, C. -H. Chui, J. C.-O. Tang, K.-H. Lam, *Future Med. Chem.* **2015**, 7, 947.
- [3] P. Kittakoop, C. Mahidol, S. Ruchirawat, *Curr. Top. Med. Chem.* **2014**, 14, 239.
- [4] J. P. Michael, *J. Nat. Prod.* **2008**, 25, 166.
- [5] B. Cui, H. Chai, Y. Dong, F. D. Horgen, B. Hansen, D. Madulid, D. D. Soejarto, N. R. Farnsworth, C. A. Cordell, M. J. Pezzuto, D. A. Kinghorn, *Phytochemistry* **1999**, 52, 95.
- [6] J. P. Chávez, I. D. Dos Santos, F. G. Cruz, J. M. David, S.-W. Yang, G. A. Cordell, *Phytochemistry* **1997**, 46, 967.
- [7] D. D. M. Machado, S. F. J. Palmeira, L. M. Conserva, R. P. L. Lemos, *Biochem. System. Ecol.* **2005**, 33, 555.
- [8] L. Zhilong; L. Xinchao, L. Qizhi, L. Daowan, Z. Ligang and S. Wangpeng, CN 105566337, **2016**.
- [9] P. Klausmeyer, T. G. McCloud, G. Melillo, D. A. Scudiero, J. H. Cardellina II., R. H. Shoemaker, *Planta Med.* **2007**, 73, 49.
- [10] F. M. Nunes, B. A. Barros-Filho, M. C. F. de Oliveira, M. Andrade-Neto, M. C. de Mattos, J. Mafezoli, J. R. Pirani, *Magn. Reson. Chem.* **2005**, 43, 864.
- [11] J. D. Wansi, H. Hussain, A. T. Tcho, S. F. Kouam, S. Specht, S. R. Sarite, A. Hoerauf, K. Krohn, *Phytother. Res.* **2010**, 24, 775.
- [12] V. S. P. Chaturvedula, J. K. Schilling, J. S. Miller, R. Andriantsiferana, V. E. Rasamison, D. G. I. Kingston, *J. Nat. Prod.* **2003**, 66, 532.
- [13] T. Masanobu, *Chem. Pharm. Bull.* **1960**, 8, 523.
- [14] F. O'Donnell, T. J. P. Smyth, V. N. Ramachandran, W. F. Smyth, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2010**, 35, 30.
- [15] P. Chahuan, R. Preeti, S. Kumar, N. Jain, *Eur. J. Org. Chem.* **2019**, 27, 4334.
- [16] B. H. Ahn, I. Y. Lee, H. N. Lim, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, 16, 7851.
- [17] X. Chen, S. Qiu, S. Wang, H. Wang, H. Zhai, *Org. Biomol. Chem.* **2017**, 15, 6349.

- [18] C. E. Brown, J. McNulty, C. Bordon, R. Yolken, L. Jones-Brando, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 5951.
- [19] S. K. Gadakh, S. Dey, A. Sudalai, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 2969.
- [20] X. Zhang, X. Ma, W. Qiu, J. Evans, W. Zhang, *Green Chem.* **2019**, *21*, 349.
- [21] K. G. Ranjith, R. Kumar, M. Rajesh, M. Sridhar Reddi, *Chem. Comm.* **2018**, *54*, 759.
- [22] M.-H. Tsai, C.-Y. Wang, R. Kulandai, S. Antony, R.-S. Liu, *Chem. Comm.* **2018**, *54*, 10866.
- [23] J. Xu, J. Sun, J. Zhao, B. Huang, X. Li, Y. Sun, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 36242.
- [24] S. Vidyacharan, A. Sagar, D. S. Sharada, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 7614.
- [25] M. Shiri, M. A. Zolfigol, H. G. Kruger, Z. Tanbakouchi, *Adv. Heterocyclic Chem.* **2011**, *102*, 139.
- [26] P. Hradil, J. Hlaváč, K. Lemr, *J. Heterocyclic Chem.* **1999**, *36*, 141.
- [27] P. Salehi, M. Shiri, *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *361*(1), 118.
- [28] V. Šamšulová, M. Poláková, R. Horák, M. Šedivá, L. Kvapil, P. Hradil, *J. Mol. Struct.* **2019**, *1177*, 16.
- [29] R. Horák, L. Kvapil, K. Motyka, L. Slaninová, M. Grepl, K. Kořistek, M. Urbášek, P. Hradil, M. Soural, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 366.
- [30] P. Funk, K. Motyka, P. Džubák, P. Znojek, S. Gurská, J. Kusz, C. McMaster, M. Hajdúch, M. Soural, *RSC Adv.* **2015**, *5*, 48861.
- [31] K. Motyka, J. Hlaváč, M. Soural, P. Funk, *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 5060.
- [32] M. Soural, J. Hlaváč, P. Hradil, I. Fryšová, M. Hajdúch, V. Bertolasi, M. Maloň, *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 467.
- [33] K. Burglová, G. Rylová, A. Markos, H. Přichystalová, M. Soural, M. Petráček, M. Medvedíková, G. Tejral, B. Sopko, P. Hradil, P. Džubák, M. Hajdúch, J. Hlaváč, *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 3027.
- [34] M. Soural, P. Hradil, S. Křupková, J. Hlaváč, *Mini-Rev. Org. Chem.* **2012**, *9*, 426.
- [35] M. Di Cagno, P. C. Stein, J. Stýskala, J. Hlaváč, N. Skalko-Basnet, A. Brauer-Brandl, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2012**, *80*, 657.
- [36] R. Horák, L. Kvapil, K. Motyka, L. Slaninová, M. Grepl, K. Kořistek, M. Urbášek, P. Hradil, M. Soural, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 366.
- [37] W. H. Melhuish, *J. Phys. Chem.* **1961**, *65*, 229.
- [38] P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, R. H. Yolken, *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed., American Society for Microbiology, Washington, DC **1999**.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Horák R, Kořistek K, Šamšulová V, et al. Structural analogues of quinoline alkaloids: Straightforward route to [1,3] dioxolo[4,5-*c*]quinolines with antibacterial properties. *J Heterocyclic Chem.* 2020;1–11. <https://doi.org/10.1002/jhet.3886>



Synthetic approach to novel glycosyltriazole-3-hydroxyquinolone conjugates and their antimicrobial properties



Veronika Šamšulová ^a, Monika Poláková ^{b,*}, Radim Horák ^c, Mária Šedivá ^b, Lubomír Kvapil ^a, Pavel Hradil ^a

^a Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacky University Olomouc, tr. 17. listopadu 12, 771 46, Olomouc, Czech Republic

^b Institute of Chemistry, Center for Glycomics, Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, SK-845 38 Bratislava, Slovakia

^c Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Hněvotínská 5, 779 00, Olomouc, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 June 2018

Received in revised form

11 September 2018

Accepted 12 September 2018

Available online 14 September 2018

Keywords:

Quinolones

Triazole

Click-reaction

Glycoconjugates

Antibacterial

ABSTRACT

A synthetic approach to novel 2-(1-glycosyl-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolone conjugates has been developed. The methodology involves preparation of a suitable quinoline intermediate and its subsequent conjugation with various acylated glycosyl azides by CuAAC click reaction. A choice of protective group at quinoline moiety appeared to be crucial for subsequent 3-step deprotection sequence that has to keep glycosyl triazole bond intact. Evaluation of antimicrobial properties of the conjugates revealed that their activity was strongly affected by protecting group of the quinoline moiety. Some of the conjugates inhibited exclusively G+ bacterial strains including honeybee larval pathogen *Paenibacillus larvae*, which were most susceptible to 2-substituted, particularly 2-glycosylated, dibenzylated quinolines.

© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Quinolones are pharmaceutically attractive compounds possessing various biological activities [1]. Drugs based on 4-quinolones, for instance *ciprofloxacin*, *sparfloxacin*, *rosoxacin* or *ofloxacin* are used as antibiotics against numerous bacterial infection diseases [1,2]. Many papers deal with a synthesis of 4-quinolone derivatives [2] and report their biological properties, for example, antiviral [3,4], antitubercular [5–7], and antimalarial [8,9]. After successful development of a simple synthesis of 3-hydroxy-quinolones (3HQs), these structures also have become a subject of interest [10,11]. Thus, various 2-substituted 3HQs have been later synthesized and some of them exhibited cytotoxic activity [12–14] while others have been active against Gram-positive and Gram-negative bacteria [15]. Their fluorescence properties are also noteworthy [15].

Quinolone or quinoline (as protected quinolones) moieties are also a part of the conjugates in which the heterocycles are linked with other units through various spacers, such as amide [16],

oxazolidinone [17] or triazole [18,19].

In particular, the coupling through a triazole spacer, became a favorite and widely used method for synthesis of very interesting structures that have found a broad applicability in the fields of medicinal, macromolecular and material sciences, biochemistry, and pharmacology [20–26]. Their size varied from small molecules to glycoconjugates and polymers, which consist of saccharide as well as non-saccharide units. The ongoing research of glycoconjugates containing triazole linker indicates that these may serve as biologically relevant molecules having targeted functional properties. These properties form the basis for an exploitation of the triazole glycoconjugates in various fields of science [26,27]. Despite increasing number of quinolone synthetic derivatives [2,28], triazolo-quinolones are reported rarely [18,29]. Thus, quinolone based antibiotics have been conjugated with alkyne, aryl and amino acid units or peptides. These modified quinolones (Example 1) showed promising antimicrobial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria (Fig. 1) [18]. A coupling of ciprofloxacin derivatives with aminoglycoside (neomycin) (Example 2) also resulted in potent antimicrobial hybrids (Fig. 1) [29].

To the best of our knowledge, conjugates of quinolone with

* Corresponding author.

E-mail address: chemonca@savba.sk (M. Poláková).

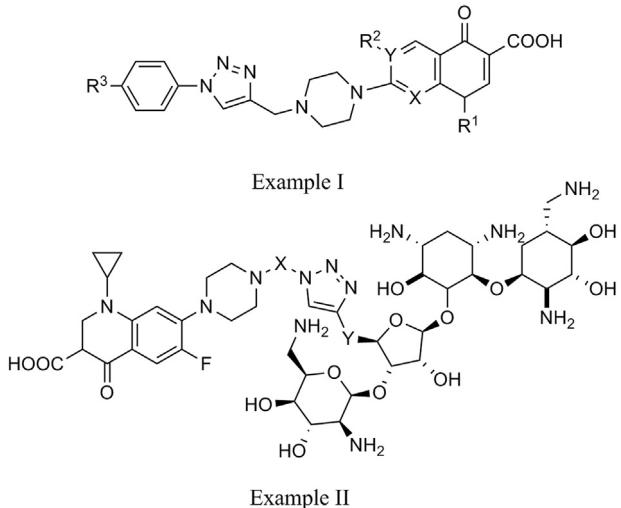


Fig. 1. Examples of antibiotic conjugates [18], [29].

glycosyl triazoles at position 2 have not been disclosed yet. Linking the quinolone with polyhydroxylated saccharide unit would be beneficial in many aspects, especially improvement of solubility in both organic solvents and water, which might also increase bioavailability. In addition, better solubility of protected 3HQs as starting material is important for reaction course and rate, and also significantly simplifies purification of products.

This paper deals with synthesis of glycoconjugates with glycosyl triazole unit attached to position 2 of 3HQs by CuAAC reaction and cleavage of protecting groups at quinolone moiety with regard to glycosyl unit. Antimicrobial properties of these synthetic conjugates against some G+ and G-strains were also evaluated.

2. Experimental

2.1. Reagents and equipments

Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC) MerckKieselgel 60F₂₅₄. Compounds were visualized under UV light (254 nm) and/or dipping in ethanol–sulfuric acid (20% v/v) followed by heating the plate for a few minutes. Column chromatography was performed on silica gel (VWR, 40–63 mesh). Melting points were determined on VEB Analytik Dresden PHMK 78/1586 apparatus.¹H NMR and ¹³C NMR spectra were measured on Jeol ECA400II (400 MHz) or Jeol ECX-500SS (500 MHz) at 23 °C. NMR spectra were recorded in CDCl₃ or DMSO-d₆ as solvent. The ¹H and ¹³C chemical shifts were referenced to the central signal of the solvent: CDCl₃ (d = 7.26 (¹H), d = 77.0 (¹³C)); and DMSO-d₆ (d = 2.55 ¹H and d = 39.6 (¹³C)). Assignments were made with the aid of HMBC, HMQC, COSY and ROESY experiments. Specific rotation measurements were carried out with an Atago Automatic Compact Polarimeter - POL-1/2 at 24 °C. HPLC-HRMS analyses were performed on reverse phase gradient using DionexUltimate 3000; column Phenomenex Gemini, 50 × 2.00 mm, 3 µm particles C18; 80% acetonitrile and 20% buffer (0.01 M ammonium acetate) as mobile phase; wavelength λ 254 nm. High resolution mass determination was performed by ESI MS on a Fischer Scientific Exactive Plus Orbitrap mass spectrometer operating in positive and negative mode.

2.2. In vitro antimicrobial assay

Antimicrobial activities of the compounds were tested by the

broth microdilution method. The determination of minimum inhibitory concentrations MIC₁₀₀ (concentrations at which 100% of the microorganisms were inhibited) was carried out in 96-well plates. Ciprofloxacin was used as a standard. The susceptibility of tested microorganisms to ciprofloxacin was performed at a concentration gradient of 5 µg/mL – 0.0025 µg/L. All strains were susceptible to ciprofloxacin at concentrations less than 0.5 µg/mL.

Two-fold serial dilutions of prepared compounds (dissolved in DMSO making a 20 mM stock solution) were used. The final concentrations of the tested compounds were in range 800 µM–12.5 µM per well. Mueller-Hinton broth and MYPGP cultivation medium (for *P. larvae*) were used for the cultivation of bacterial suspensions (fresh overnight cultures). The suspension of cells (147 µL) obtaining 1 × 10⁵ CFU/mL was inoculated into microplate wells and 3 µL of solutions containing appropriate concentrations of prepared products were added. The plate was incubated at 37 °C, 18 h (*P. larvae* strains were cultivated at 35 °C, 40 h). The bacterial growth was determined by monitoring the absorbance at 630 nm, measured with the plate reader Mithras²LB 943 (Berthold Technologies). Positive/negative growth controls of the tested strains contained 147 µL of bacterial inoculum/cultivation medium and 3 µL of DMSO. All tests were performed in triplicate and were repeated three times.

2.3. Synthesis of azides

Azides **2–7** were synthesized by the reaction of corresponding acylated saccharide with TMSN₃ catalyzed by SnCl₄ and their analytical data are in agreement with those published previously (see experimental section).

2.4. General procedure for 3,4-bis(benzyloxy)-2-methylquinoline (**11**)

To the suspension of **10** (10 g, 0.057 mol, 1 eq) in DMF (100 mL), K₂CO₃ (39.4 g, 0.285 mol, 5 eq) was added. After being stirred for 5 min at room temperature, benzylbromide (27.3 mL, 0.228 mol, 4 eq) was added dropwise over period of 10 min. Then the reaction mixture was refluxed 1.5 h. The resulting red solution was poured into demineralized water (800 mL) and extracted with DCM (800 mL). The organic layer was dried (MgSO₄), filtered and concentrated. Crude product was purified by column chromatography (hexane:EtOAc 7:1) afforded yellow oil. This was stirred in cold diethyl ether (40 mL) at 0 °C for 1 h. Precipitated white solid was filtered off, washed with small amount of diethyl ether at 0 °C and dried in vacuo at 40 °C overnight.

2.5. General procedure for 3,4-bis(benzyloxy)quinoline-2-carbaldehyde (**12**)

Compound **11** (4.3 g, 0.012 mol, 1 eq) was added to dried 250 mL double-necked round flask. Dry THF (50 mL) was dropped from pre-dried dropping funnel. To the resulting solution selenium dioxide (2.01 g, 0.018 mol, 1.5 eq) was added. The reaction flask was equipped with a condenser and a drying tube filled with calcium chloride. The reaction proceeded for 30 min at reflux and the resulting red solution was evaporated. The residue was rinsed with hot DCM (3 × 30 mL) and the solution was filtered and evaporated to obtain red oil which was prepurified by column chromatography (hexane:EtOAc 4:1) to afford red solid. This was recrystallized from cyclohexane with charcoal (10 wt%) provided pale orange aldehyde **12**.

2.6. General procedure for 3,4-bis(benzyloxy)-2-ethynylquinoline (**13**)

To a solution of freshly prepared Bestmann-Ohira reagent [30] (1.6 g, 8.32 mmol, 1.2 eq) in methanol (50 mL), K₂CO₃ (3.38 g, 0.024 mol) and aldehyde **12** (2.56 g, 6.93 mol, 1 eq) were added and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h. Once the reaction was complete (TLC hexane:EtOAc 2:1), the reaction mixture was neutralized with solid NH₄Cl to pH 7, poured into the demineralized water (250 mL) and extracted once with EtOAc (220 mL). The organic layer was dried (MgSO₄), filtered and evaporated. Obtained light brown oil was purified by column chromatography (hexane:EtOAc 2:1) to afford pale yellow oil. The residue was stirred with diethyl ether (15 mL) at 0 °C for 1 h and precipitated pale yellow solid was filtered off, washed with minimum amount of cold hexane and dried in vacuo to provide the alkyne **13**.

2.7. General procedure for CuAAC reaction (Method A) [31] synthesis of compounds **8a-f** and **14a-f**

To a solution of azide **2–7** (0.21 mmol, 1 eq) and alkyne **1** or **13** (0.21 mmol, 1 eq) in DMF:H₂O (3:1, 2.5 mL), sodium ascorbate (0.17 mmol, 0.8 eq) and copper(II) sulfate pentahydrate (0.085 mmol, 0.4 eq) were added. The reaction mixture was stirred at rt for 3–16 h until disappearance of the starting material (TLC hexane:EtOAc 7:3). The reaction mixture was poured into NH₄Cl (satd) and extracted with EtOAc (3 × 10 mL). Combined organic layers were washed with brine, dried (MgSO₄), filtered and concentrated. The crude products were purified by column chromatography (hexane:EtOAc 7:3 → EtOAc).

2.8. General procedure for deprotection (Method B) synthesis of compounds **9a–e** and **15a–e**

Protected compound **8a–e** or **14a–e** (0.365 mmol, 1 eq) was stirred in dry methanol (13.6 mL) with diethylamine (7.3 mmol, 20 eq) at rt for 2 h. Then, the reaction mixture was concentrated and diethyl ether (15–20 mL) was added. Suspension was stirred at rt for 20 min followed by heating to the reflux for 5 min. After spontaneous cooling to rt, the solid was filtered off, washed with minimum amount of diethyl ether (2–5 mL) and dried in vacuo at 40 °C overnight.

2.9. General procedure for debenzylation (Method C) synthesis of compounds **9f** and **15f**

To a suspension of protected compound **8f** or **14f** (0.25 mmol, 1 eq) in dry methanol (5 mL), 1 M solution MeONa (1 mmol, 4 eq) was added dropwise. The resulting solution was stirred at room temperature for 1 h. The reaction mixture was then neutralized to pH 7 using glacial acetic acid. The solution was concentrated and resulting solid was suspended in demineralized water (15–20 mL), filtered off and washed with minimum amount of demineralized water, then diethyl ether and dried in vacuo at 40 °C overnight.

2.10. General procedure for debenzylation (Method D) synthesis of compounds **16a–16f**

To a 5% solution of **15a–15f** (0.17 mmol, 1 eq) in 2-methoxyethanol (2 mL) 5% Pd/C (20 wt%) was added at 100 °C. The reaction mixture was stirred under atmospheric pressure and hydrogen atmosphere at 100 °C. Once the reaction was complete, (TLC EtOAc:CH₃OH 1:1), the reaction mixture was flushed with nitrogen and hot filtered via glass filter. In case of compounds **16b**, **16c** a **16d**, the reaction mixture was diluted with DMF before

filtration. Evaporation and lyophilisation gave the target compounds for biological evaluation.

2.11. Spectral data

2.11.1. 3,4-bis(benzyloxy)-2-methylquinoline (**11**)

White powder; yield: 80%, m.p. 39.5–42.5 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.02 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.62 (t, J = 7.1 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 7.3 Hz, 5H), 7.39 (t, J = 7.8 Hz, 6H), 5.36 (s, 2H, O-CH₂), 5.13 (s, 2H, O-CH₂), 2.55 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 157.0, 151.2, 145.1, 141.3, 136.6, 136.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 128.0, 125.6, 123.7, 121.5 (Ar), 74.6 (O-CH₂), 20.6 (CH₃). ESI-HRMS: calcd. for C₂₄H₂₁NO₂[M+H]⁺: 356.1645, found: 356.1646.

2.11.2. 3,4-bis(benzyloxy)quinoline-2-carbaldehyde (**12**)

Pale orange powder; yield: 68%, m.p. 81 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.22 (s, 1H, COH), 8.11 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 7.80 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.69 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 2H), 7.47 (dd, J = 7.6, 1.6 Hz, 2H), 7.35–7.43 (m, 6H), 5.45 (s, 2H, -O-CH₂), 5.20 (s, 2H, -O-CH₂); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 191.2 (HCO), 154.0, 148.7, 145.1, 142.6, 136.3, 136.2, 129.8, 129.7, 128.9, 128.8, 128.5, 128.5, 128.4, 125.7, 122.0 (Ar), 76.4, 75.2 (2x -O-CH₂). ESI-HRMS: calcd. for C₂₄H₁₉NO₃ [M+H]⁺: 370.1438, found: 370.1441.

2.11.3. 3,4-bis(benzyloxy)-2-ethynylquinoline (**13**)

Pale yellow solid; yield: 50%, m.p. 76 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.03 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.93 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.55–7.60 (m, 3H), 7.36–7.48 (m, 8H), 5.43 (s, 2H), 5.22 (s, 2H), 4.70 (s, 1H, C-H alkyne); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 152.26, 145.56, 143.10, 140.61, 136.45, 136.33, 129.39, 128.61, 128.52, 128.46, 128.40, 127.41, 124.17, 121.82 (Ar), 84.96 (-C≡CH), 80.42 (-C≡CH), 75.69, 74.97 (2x -O-CH₂). ESI-HRMS: calcd. for C₂₅H₁₉NO₂ [M+H]⁺: 366.1489, found: 366.1490.

2.11.4. 2-(1-(Tetra-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**8a**)

The reaction of **2** [32] and alkyne **1** according to general procedure (Method A) gave **8a** as a white solid; yield: 86%, m.p. 126–128 °C, [α]_D –77 (c 0.7, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.58 (s, 1H, C-H triazole), 8.14 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.47 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 11.0 Hz, 2H, O-CH₂-O), 6.01 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 5.54 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.45 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.28 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 4.34 (dd, J = 12.6, 5.3 Hz, 1H), 4.17 (dd, J = 12.6, 2.1 Hz, 1H), 4.04 (qd, J = 5.0, 1.8 Hz, 1H), 2.09, 2.07, 2.03, 1.88 (each s, each 3H, 4x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.7, 170.1, 169.5, 169.2 (4x CH₃CO), 150.5, 145.9, 145.5, 138.3, 133.9, 129.7, 128.7, 126.7, 122.6, 120.1, 115.9 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 86.1, 75.4, 72.8, 70.6, 67.9, 61.8 (C1-C6), 20.9, 20.7, 20.4 (3x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₂₆H₂₆N₄O₁₁ [M+H]⁺: 571.1671, found: 571.1672.

2.11.5. 2-(1-(Tetra-O-acetyl-α-D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**8b**)

The reaction of **3** [32] and alkyne **1** according to general procedure (Method A) gave **8b** as a pale yellow solid; yield: 90%, m.p. 90–92 °C, [α]_D +69 (c 0.3, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.91 (s, 1H, C-H triazole), 8.01 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.68 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.58 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 6.52 (d, J = 2.3 Hz, 2H, O-CH₂-O), 5.85–5.88 (m, 2H), 5.29 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 4.26 (dd, J = 12.4, 5.0 Hz, 1H), 4.06 (dd, J = 12.6, 2.5 Hz, 1H), 3.97–4.01 (m, 1H), 2.17 (s, 3H, CH₃), 2.06 (s, 3H, CH₃), 2.02 (s, 6H, 2x CH₃); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 170.0, 169.5, 169.4, 169.4 (4x COCH₃), 149.8, 144.9, 143.8, 138.2, 133.7, 129.1, 128.7, 126.7, 126.1, 119.9, 115.1 (Ar), 103.9 (O-CH₂-O), 83.0, 71.5, 68.4, 67.6,

65.3, 61.4 (C1–C6), 20.5, 20.5, 20.4 (3x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₂₆H₂₆N₄O₁₁ [M+H]⁺: 571.1671, found: 571.1674.

2.11.6. 2-(1-(Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**8c**)

The reaction of **4** [33] and alkyne **1** according to general procedure (Method A) gave **8c** as a white solid; yield: 84%, m.p. 208–209 °C, [α]_D –64 (c 0.4, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.60 (s, 1H, C–H triazole), 8.13 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.48 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.43 (d, J = 6.9 Hz, 2H, O–CH₂–O), 5.98 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 5.65 (t, J = 9.6 Hz, 1H), 5.58 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 5.29 (dd, J = 10.1, 3.2 Hz, 1H), 4.16–4.29 (m, 3H), 2.27, 2.05, 2.02, 1.91 (each s, each 3H, 4 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.5, 170.2, 170.0, 169.3 (4x CH₃CO), 145.9, 138.4, 134.1, 129.7, 128.7, 126.7, 122.5, 120.1, 115.9 (Ar), 103.7 (O–CH₂–O), 86.7, 74.3, 71.0, 68.2, 67.0, 61.4 (C1–C6), 20.9, 20.8, 20.7, 20.5 (4x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₂₆H₂₆N₄O₁₁ [M+H]⁺: 571.1671, found: 571.1674.

2.11.7. 2-(1-(Tetra-O-acetyl-β-D-xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**8d**)

The reaction of **5** [28] and alkyne **1** according to general procedure (Method A) gave **8d** as a white solid; yield: 83%, m.p. 219–220 °C, [α]_D –114 (c 0.4, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.51 (s, 1H, C–H triazole), 8.12 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.39 (dd, J = 9.2, 1.4 Hz, 2H, O–CH₂–O), 5.92 (dd, J = 6.4, 2.3 Hz, 1H), 5.42–5.49 (m, 2H), 5.14–5.24 (m, 1H), 4.34 (q, J = 5.6 Hz, 1H), 3.63 (dd, J = 11.4, 10.5 Hz, 1H), 2.08, 2.05, 1.88 (each s, each 3H, 3 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.0, 169.9, 169.2 (3 x CH₃CO), 150.2, 145.9, 145.4, 138.3, 134.0, 129.9, 128.5, 126.6, 122.4, 120.0, 115.9 (Ar), 103.6 (O–CH₂–O), 86.7, 72.2, 70.8, 68.5, 65.8 (C1–C6), 20.8, 20.7, 20.4 (3 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₂₃H₂₂N₄O₉ [M+H]⁺: 499.1460, found: 499.1460.

2.11.8. 2-[1-(4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl-β-D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-O-acetyl-β-D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-methylenedioxy-quinoline (**8e**)

The reaction of **6** [34] and alkyne **1** according to general procedure (Method A) gave **8e** as a white solid; yield: 70%, m.p. 120–128 °C, [α]_D –45 (c 0.5, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.50 (s, 1H, C–H triazole), 8.09 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.80 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.45 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.39 (d, J = 6.4 Hz, 2H, O–CH₂–O), 5.96 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 5.49 (t, J = 9.4 Hz, 1H), 5.42 (t, J = 8.9 Hz, 1H), 5.36 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 5.13 (dd, J = 10.3, 8.0 Hz, 1H), 4.97 (dd, J = 10.3, 3.4 Hz, 1H), 4.54 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.49 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.07–4.19 (m, 3H), 3.96–4.02 (m, 1H), 3.91 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 2.15, 2.10, 2.07, 2.06, 2.05, 1.96, 1.86 (each s, each 3H, 7 x CH₃CO); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 170.5, 170.4, 170.2, 170.2, 169.6, 169.3, 169.2 (7 x CH₃CO), 150.4, 145.8, 145.5, 138.3, 133.9, 129.6, 128.7, 126.6, 122.5, 120.1, 115.8 (Ar), 103.6 (O–CH₂–O), 101.2, 85.8, 76.1, 75.8, 72.7, 71.0, 70.9, 70.8, 69.1, 66.7, 61.9, 61.0 (C1–C6, C1’–C6’), 20.9, 20.8, 20.7, 20.6, 20.4 (5 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₃₈H₄₂N₄O₁₉ [M – H]⁻: 857.2360, found: 857.2365.

2.11.9. 2-(1-(Tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**8f**)

The reaction of **7** [35] and alkyne **1** according to general procedure (Method A) gave **8f** as a white solid; yield: 80%, m.p. 83.5–88.5 °C, [α]_D –143 (c 0.2, CHCl₃). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8.59 (s, 1H, C–H triazole), 8.06 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.98 (t, J = 9.6 Hz, 4H), 7.81 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.55–7.60 (m, 3H), 7.47 (td, J = 7.6, 2.0 Hz, 2H), 7.34–7.42 (m, 7H), 6.63 (d, J = 4.1 Hz, 1H), 6.32 (t, J = 4.6 Hz, 1H), 6.29 (s, 1H), 6.22 (s, 1H), 6.16 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 4.94 (q, J = 4.4 Hz, 1H), 4.86 (dd, J = 12.1, 3.4 Hz, 1H), 4.67 (dd, J = 12.4,

4.6 Hz, 1H); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 166.3, 165.3, 165.2 (3 x C=O), 150.4, 145.7, 138.3, 134.0, 133.9, 133.4, 130.1, 130.0, 129.9, 129.4, 128.7, 128.7, 126.6, 123.2, 120.1, 115.8 (Ar), 103.6 (O–CH₂–O), 90.7, 81.5, 75.5, 71.9, 64.1 (C1–C5). ESI-HRMS: calcd. for C₃₈H₂₈N₄O₉ [M+H]⁺: 685.1929, found: 685.1935.

2.11.10. 2-(1-(β-D-Glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**9a**)

Pale yellow solid; yield: 85%, m.p. 104–108 °C, [α]_D –8.5 (c 0.5, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.85 (s, 1H, C–H triazole), 8.00 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.67 (t, J = 8.2 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.50 (s, 2H, O–CH₂–O), 5.69 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-1), 5.49 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.30 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.19 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.66 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.87 (td, 1H, J = 8.9, 6.0 Hz, H-2), 3.73 (dd, 1H, J = 9.8, 5.7 Hz, H-6), 3.50 (dd, 2H, J = 13.3, 5.0 Hz, H-5, H-6), 3.42 (td, 1H, J = 8.7, 5.0 Hz, H-3), 3.29–3.32 (m, 1H, J = 8.7, 3.7 Hz, H-4); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 149.6, 144.9, 143.4, 138.0, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.4 (C–H triazole), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O–CH₂–O), 87.7 (C-1), 80.0 (C-5), 76.8 (C-3), 72.1 (C-2), 69.4 (C-4), 60.7 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for C₁₈H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: 403.1248, found: 403.1249.

2.11.11. 2-(1-(α-D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**9b**)

White solid; yield: 80%, m.p. 239–242 °C, [α]_D +64.5 (c 0.5, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.80 (s, 1H, C–H triazole), 8.00 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.64–7.69 (m, 1H), 7.54–7.58 (m, 1H), 6.50 (d, J = 4.6 Hz, 2H, O–CH₂–O), 6.08 (d, 1H, J = 4.6 Hz, H-1), 5.36 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.14 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 5.07 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.68 (t, J = 6.0 Hz, 1H), 4.51 (q, 1H, J = 4.4 Hz, H-2), 3.90–3.94 (m, 1H, H-3), 3.57–3.68 (m, 3H, H-4, H-6), 3.45 (td, 1H, J = 7.0, 3.1 Hz, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 149.6, 144.9, 143.5, 138.1, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.9 (C–H triazole), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O–CH₂–O), 85.8 (C-1), 78.7 (C-5), 71.3 (C-3), 68.0 (C-2), 67.8 (C-4), 60.7 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for C₁₈H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: 403.1248, found: 403.1249.

2.11.12. 2-(1-(β-D-Galactopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**9c**)

White solid; yield: 92%, m.p. 261–262 °C, [α]_D +12 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.82 (s, 1H, C–H triazole), 8.01 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.67 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.57 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 2.3 Hz, 2H, O–CH₂–O), 5.64 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-1), 5.37 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.05 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 4.74 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 4.68 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 4.11 (td, 1H, J = 9.4, 6.0 Hz, H-2), 3.77 (t, 2H, J = 5.5 Hz, H-4, H-5), 3.51–3.61 (m, 3H, H-3, H-6); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-d₆): δ 149.7, 144.9, 143.5, 138.0, 134.3, 129.0, 128.6, 126.6 (Ar), 124.0 (C–H triazole), 119.9, 115.0 (Ar), 103.8 (O–CH₂–O), 88.3 (C-1), 78.6 (C-5), 73.6 (C-3), 69.6 (C-2), 68.6 (C-4), 60.4 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for C₁₈H₁₈N₄O₇ [M+H]⁺: 403.1248, found: 403.1249.

2.11.13. 2-(1-(β-D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (**9d**)

White solid; yield: 92%, m.p. 267–270 °C, [α]_D –48 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.84 (s, 1H, C–H triazole), 7.99 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.66 (t, J = 8.5 Hz, 1H), 7.56 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O–CH₂–O), 5.64 (d, 1H, J = 9.2 Hz, H-1), 5.51 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.34 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 5.21 (d, J = 4.6 Hz, 1H), 3.87–3.93 (m, 2H, H-2, H-5), 3.51–3.59 (m, 1H, H-3), 3.34–3.44 (m, 2H, H-4, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d₆): δ 149.6, 144.9, 143.4, 138.1, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.4 (C–H triazole), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O–CH₂–O), 88.3 (C-1), 77.0 (C-3), 72.0 (C-2), 69.0 (C-4), 68.4 (C-5). ESI-HRMS: calcd. for C₁₇H₁₆N₄O₆ [M+H]⁺: 373.1143, found: 373.1146.

2.11.14. 2-[1-(4-O-(β -D-Galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-methylenedioxy-quinoline (9e**)**

White solid; yield: 83%, m.p. 191–196 °C, $[\alpha]_D +8.5$ (c 0.3, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.87 (s, 1H, C-H triazole), 8.00 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.67 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.50 (s, 2H, O-CH₂-O), 5.80 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-1), 5.66 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 5.15 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.92 (s, 1H), 4.83 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 4.70 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 4.56 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 4.28 (d, 1H, $J = 6.9$ Hz, H-7), 3.96 (dd, 1H, $J = 14.7, 8.7$ Hz, H-2), 3.81 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, H-6), 3.51–3.72 (m, 10H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 149.4, 144.8, 143.3, 138.0, 134.3, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 124.3 (C-H triazole), 119.8, 115.0 (Ar), 103.8 (C-7), 103.7 (O-CH₂-O), 87.2 (C-1), 79.6 (C-4), 77.8 (C-11), 75.5 (C-10), 75.1 (C-3), 73.2 (C-9), 71.9 (C-2), 70.5 (C-8), 68.1 (C-5), 60.4 (C-6), 60.0 (C-12). ESI-HRMS: calcd. for C₂₄H₂₈N₄O₁₂ [M+H]⁺: 565.1776, found: 565.1781.

2.11.15. 2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline (9f**)**

White solid; yield: 61%, m.p. 126–128 °C, $[\alpha]_D -71.5$ (c 0.2, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.97 (s, 1H, C-H triazole), 7.99 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.66 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.56 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.49 (s, 2H, O-CH₂-O), 6.10 (d, 1H, $J = 3.7$ Hz, H-1), 5.67 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 5.28 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 5.10 (s, 1H), 4.49 (d, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-2), 4.20 (d, 1H, $J = 4.1$ Hz, H-3), 4.04 (d, 1H, $J = 2.7$ Hz, H-4), 3.69 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz, H-5), 3.57 (d, 1H, $J = 11.4$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 149.6, 144.9, 143.8, 138.1, 134.4, 129.0, 128.5, 126.5 (Ar), 123.6 (C-H triazole), 119.8, 115.0 (Ar), 103.7 (O-CH₂-O), 92.3 (C-1), 85.9 (C-4), 75.3 (C-2), 70.3 (C-3), 61.1 (C-5). ESI-HRMS: calcd. for C₁₇H₁₆N₄O₆ [M+H]⁺: 373.1143 found: 373.1139.

2.11.16. 2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline (14a**)**

The reaction of **2** and alkyne **13** (Method A) gave **14a** as a pale yellow solid; yield: 74%, m.p. 181–183 °C, $[\alpha]_D -32$ (c 0.4, CHCl₃). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.95 (s, 1H, C-H triazole), 8.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 7.36–7.43 (m, 4H), 7.32 (t, $J = 3.2$ Hz, 2H), 6.47 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 5.71 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.63 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.26 (t, $J = 9.8$ Hz, 1H), 5.19 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 5.15 (s, 1H), 4.45 (dq, $J = 9.7, 2.7$ Hz, 1H), 4.12–4.21 (m, 2H), 2.06, 2.02, 2.0, 1.81 (each s, each 3H, 4 x CH₃CO); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 170.0, 169.6, 169.4, 168.6 (4 x CH₃CO), 152.9, 146.8, 145.3, 144.5, 140.6, 136.4, 136.0, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 126.7, 125.1, 124.1, 121.7 (Ar), 84.0, 75.0, 73.3, 71.9, 70.4, 67.6, 62.0 (C1–C6), 20.5, 20.4, 20.2, 19.9 (4 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₃₉H₃₈N₄O₉ [M+H]⁺: 739.2610, found: 739.2611.

2.11.17. 2-(1-(Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline (14b**)**

The reaction of **3** and alkyne **13** (Method A) gave **14b** as a pale yellow solid; yield: 75%, m.p. 50–52 °C, $[\alpha]_D +58$ (c 0.2, CHCl₃). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.79 (s, 1H, C-H triazole), 8.08 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.00 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J = 7.8, 1.4$ Hz, 2H), 7.32–7.41 (m, 8H), 6.55 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 5.87–5.91 (m, 2H), 5.45 (s, 2H, CH₂), 5.31 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 5.15 (s, 2H, CH₂), 4.26 (dd, $J = 12.4, 5.0$ Hz, 1H), 4.05 (dd, $J = 12.4, 2.3$ Hz, 1H), 3.98–4.02 (m, 1H), 2.19, 2.08, 2.03, 1.99 (each s, each 3H, 4 x CH₃CO); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 170.0, 169.5, 169.4 (3 x CH₃CO), 153.0, 147.0, 145.5, 144.2, 140.7, 136.4, 136.0, 129.2, 128.7, 128.5, 128.3, 127.0, 126.7, 124.1, 121.7 (Ar), 82.8, 75.4, 75.0, 71.5, 68.4, 67.6, 65.3, 61.5 (C1–C6), 20.5, 20.4, 20.3 (3 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₃₉H₃₈N₄O₁₁ [M+H]⁺: 739.2610, found: 739.2612.

2.11.18. 2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline (14c**)**

The reaction of **4** and alkyne **13** (Method A) gave **14c** as a pale yellow solid; yield: 79%, m.p. 156–158 °C, $[\alpha]_D -29$ (c 0.4, CHCl₃). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.75 (s, 1H, C-H triazole), 8.07 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.73 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.58 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 7.36–7.46 (m, 8H), 6.41 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.64 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.54 (dd, $J = 10.1, 3.2$ Hz, 1H), 5.48 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 5.44 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 5.16 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 5.08 (d, $J = 10.5$ Hz, 1H), 4.67 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.19 (q, $J = 5.5$ Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 11.4, 7.3$ Hz, 1H), 2.20, 2.01, 1.97, 1.84 (each s, each 3H, 4 x CH₃CO); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 170.0, 169.9, 169.5, 168.7 (4 x CH₃CO), 153.1, 146.7, 145.4, 144.3, 140.7, 136.4, 136.1, 129.2, 128.7, 128.6, 128.5, 128.3, 126.7, 125.0, 124.1, 121.7 (Ar), 84.4, 75.1, 73.0, 70.2, 68.0, 67.2, 61.6 (C1–C6), 20.5, 20.4, 20.3, 20.0 (4 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₃₉H₃₈N₄O₁₁ [M+H]⁺: 739.2610, found: 739.2623.

2.11.19. 2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline (14d**)**

The reaction of **5** and alkyne **13** (Method A) gave **14d** as a pale yellow solid; yield: 84%, m.p. 110–112 °C, $[\alpha]_D -71.8$ (c 0.5, CHCl₃). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.94 (s, 1H, C-H triazole), 8.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.98 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.71 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.49–7.51 (m, 2H), 7.33–7.44 (m, 8H), 6.36 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 5.68 (t, $J = 9.2$ Hz, 1H), 5.57 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.15–5.23 (m, 2H), 5.09 (d, $J = 11.0$ Hz, 1H), 4.17 (q, $J = 5.5$ Hz, 1H), 3.91 (t, $J = 11.0$ Hz, 1H), 2.06, 2.03, 1.82 (each s, each 3H, 3 x CH₃CO); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 169.6, 168.6 (2 x CH₃CO), 152.9, 146.9, 145.3, 144.4, 140.7, 136.4, 136.1, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.5, 128.3, 126.6, 125.1, 124.0, 121.7 (Ar), 84.8, 75.1, 75.0, 71.7, 70.5, 67.9, 64.2 (C1–C6), 20.5, 20.3, 19.9 (3 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₃₆H₃₄N₄O₉ [M–H]⁻: 665.2242, found: 665.2257.

2.11.20. 2-[1-(4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galactopyranosyl)-2,3,6-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline (14e**)**

The reaction of **6** and alkyne **13** (Method A) gave **14e** as an orange solid; yield: 84%, m.p. 67–70 °C, $[\alpha]_D -69.5$ (c 0.2, CHCl₃). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.81 (s, 1H, C-H triazole), 8.06 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.72 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.57 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 6.4$ Hz, 2H), 7.34–7.42 (m, 8H), 6.40 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.49–5.57 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.26 (d, $J = 11.4$ Hz, 2H), 5.16 (s, 2H), 4.92 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 4.45 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 4.28–4.36 (m, 2H), 3.99–4.08 (m, 4H), 2.13, 2.04, 1.92, 1.80 (4x) (each s, each 3H, 7 x CH₃CO); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 170.3, 169.9, 169.5, 169.3, 169.0, 168.7 (6 x CH₃CO), 152.9, 146.8, 145.3, 144.3, 140.6, 136.4, 136.1, 129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 126.7, 125.0, 124.1, 121.7 (Ar), 100.1, 83.8, 75.9, 75.0, 74.3, 72.0, 70.7, 70.2, 69.8, 68.9, 67.1, 62.4, 61.1 (C1–C6, C1'-C6'), 20.6, 20.5, 20.3, 20.2, 19.9 (6 x CH₃CO). ESI-HRMS: calcd. for C₅₁H₅₄N₄O₁₉ [M+H]⁺: 1027.3455, found: 1027.3462.

2.11.21. 2-(1-(Tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline (14f**)**

The reaction of **7** and alkyne **13** (Method A) gave **14f** as a pale yellow solid; yield: 69%, m.p. 54–57 °C, $[\alpha]_D -93.5$ (c 0.2, CHCl₃). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8.95 (s, 1H, C-H triazole), 8.07 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.95–8.01 (m, 8H), 7.65–7.74 (m, 3H), 7.57 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.49 (q, $J = 7.5$ Hz, 6H), 7.34–7.45 (m, 6H), 7.25–7.28 (m, 3H), 6.88 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 6.40 (dd, $J = 5.3, 3.4$ Hz, 1H), 6.19 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.09 (d, $J = 6.0$ Hz, 2H), 5.02–5.06 (m, 1H), 4.73 (dd, $J = 12.4, 3.7$ Hz, 1H), 4.66 (dd, $J = 12.1, 4.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 165.4, 164.7, 164.4 (3x C=O), 153.0, 147.1, 145.5, 144.4, 140.7, 136.4, 136.0, 134.1, 133.9, 133.4, 129.4, 129.2,

129.2, 129.1, 128.8, 128.7, 128.6, 128.5, 128.5, 128.4, 128.2, 126.6, 126.3, 124.1, 121.7 (Ar), 89.3, 79.9, 75.3, 75.0, 74.5, 71.2, 63.6 (C1–C5). ESI-HRMS: calcd. for $C_{51}H_{40}N_4O_9$ [M+H]⁺: 853.2868, found: 853.2866.

2.11.22. 2-(1-(β -D-Glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-quinoline (**15a**)

Orange solid; yield: 82%, m.p. 104–108 °C, $[\alpha]_D$ −2.5 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.71 (s, 1H, C–H triazole), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (td, *J* = 3.8, 2.1 Hz, 4H), 7.36–7.42 (m, 6H), 5.68 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.50 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H, O–CH₂), 5.34 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 5.21 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.15 (dd, *J* = 17.9, 10.5 Hz, 2H, O–CH₂), 4.68 (t, *J* = 5.3 Hz, 1H), 3.73–3.79 (m, 2H, H-2, H-6), 3.48–3.54 (m, 2H, H-5, H-6), 3.45 (td, *J* = 8.9, 4.7 Hz, 1H, H-3), 3.25–3.31 (m, 1H, H-4); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 152.9, 147.3, 145.4, 143.9, 140.8, 136.4, 136.1, 129.1, 128.9, 128.7, 128.4, 128.3, 126.5 (Ar), 125.0 (C–H triazole), 124.0, 121.6 (Ar), 87.6 (C-1), 80.0 (C-5), 76.8 (C-3), 75.3 (O–CH₂), 75.0 (O–CH₂), 72.3 (C-2), 69.5 (C-4), 60.8 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for $C_{31}H_{30}N_4O_7$ [M+H]⁺: 571.2187, found: 571.2183.

2.11.23. 2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-quinoline (**15b**)

White solid; yield: 94%, m.p. 200–202 °C, $[\alpha]_D$ +38 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.72 (s, 1H, C–H triazole), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.50 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.35–7.45 (m, 8H), 6.04 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz, H-1), 5.43 (s, 2H, O–CH₂), 5.37 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 5.11–5.19 (m, 3H, O–CH₂), 5.07 (d, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.69 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H), 4.52 (q, 1H, *J* = 4.3 Hz, H-2), 3.95 (t, 1H, *J* = 7.6 Hz, H-3), 3.59–3.69 (m, 3H, H-4, H-6), 3.47 (td, 1H, *J* = 6.6, 3.2 Hz, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 153.0, 147.5, 145.4, 144.0, 140.7, 136.4, 136.1, 129.1, 128.8, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 128.2, 126.5 (Ar), 125.8 (C–H triazole), 124.0, 121.6 (Ar), 85.8 (C-1), 78.5 (C-5), 75.3 (O–CH₂), 74.9 (O–CH₂), 71.2 (C-3), 68.1 (C-2), 67.6 (C-4), 60.6 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for $C_{31}H_{30}N_4O_7$ [M–H][−]: 569.2031, found: 569.2047.

2.11.24. 2-(1-(β -D-Galactopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-quinoline (**15c**)

Orange solid; yield: 91%, m.p. 107–110 °C, $[\alpha]_D$ +10 (c 0.3, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.77 (s, 1H, C–H triazole), 8.07 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.01 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.49 (t, *J* = 5.5 Hz, 4H), 7.34–7.42 (m, 6H), 5.65 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.44 (s, 2H, O–CH₂), 5.38 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.08–5.16 (m, 3H, O–CH₂), 4.76 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 4.72 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 4.13 (td, 1H, *J* = 9.2, 6.0 Hz, H-2), 3.79–3.84 (m, 2H, H-4, H-5), 3.55–3.63 (m, 3H, H-3, H-6); ¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 153.1, 147.4, 145.5, 144.1, 140.7, 136.4, 136.1, 129.1, 129.0, 128.7, 128.5, 128.4, 128.3, 126.5 (Ar), 124.8 (C–H triazole), 124.0, 121.7 (Ar), 88.3 (C-1), 78.5 (C-5), 75.4 (O–CH₂), 74.9 (O–CH₂), 73.6 (C-3), 69.6 (C-2), 68.5 (C-4), 60.4 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for $C_{31}H_{30}N_4O_7$ [M+H]⁺: 571.2187, found: 571.2181.

2.11.25. 2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-quinoline (**15d**)

Pale yellow solid; yield: 88%, m.p. 99–101 °C, $[\alpha]_D$ −26.5 (c 0.35, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.69 (s, 1H, C–H triazole), 8.06 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.46–7.51 (m, 4H), 7.38 (d, *J* = 9.2 Hz, 6H), 5.62 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.52 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.44 (s, 2H, O–CH₂), 5.37 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.23 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 5.13 (q, *J* = 10.4 Hz, 2H, O–CH₂), 3.90 (q, *J* = 5.2 Hz, 1H, H-5), 3.74–3.80 (m, 1H, H-2), 3.48–3.55 (m, 1H, H-4), 3.36–3.46 (m, 2H, H-3, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 152.9, 147.3, 145.4, 143.8, 140.8, 136.4, 136.2,

129.1, 128.9, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 126.6 (Ar), 125.1 (C–H triazole), 124.0, 121.7 (Ar), 88.2 (C-1), 76.9 (C-3), 75.3 (O–CH₂), 75.0 (O–CH₂), 72.2 (C-2), 69.1 (C-4), 68.4 (C-5). ESI-HRMS: calcd. for $C_{30}H_{28}N_4O_6$ [M+H]⁺: 541.2082, found: 541.2086.

2.11.26. 2-[1-(4-O-(β -D-Galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-dibenzylxy-quinoline (**15e**)

Orange solid; yield: 85%, m.p. 142–144 °C, $[\alpha]_D$ +7.5 (c 0.38, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.72 (s, 1H, C–H triazole), 8.07 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.57 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.49 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H), 7.35–7.42 (m, 6H), 5.79 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.69 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 5.43 (s, 2H, O–CH₂), 5.13–5.20 (m, 3H, O–CH₂), 4.95 (s, 1H), 4.85 (d, *J* = 5.0 Hz, 1H), 4.71–4.73 (m, 2H), 4.58 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 4.31 (d, 1H, *J* = 7.3 Hz, H-7), 3.82–3.88 (m, 2H, H-2, H-6), 3.36–3.76 (m, 10H); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 153.0, 147.3, 145.5, 144.0, 140.9, 136.4, 136.2, 129.1, 129.0, 128.7, 128.6, 128.5, 126.6 (Ar), 125.0 (C–H triazole), 124.0, 121.6 (Ar), 103.8 (C-7), 87.1 (C-1), 79.7 (C-4), 77.8 (C-11), 75.6 (C-10), 75.4 (O–CH₂), 75.0 (C-3), 75.0 (O–CH₂), 73.2 (C-9), 72.0 (C-2), 70.6 (C-8), 68.1 (C-5), 60.4 (C-6), 60.1 (C-12). ESI-HRMS: calcd. for $C_{37}H_{40}N_4O_{12}$ [M+H]⁺: 733.2715, found: 733.2718.

2.11.27. 2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-quinoline (**15f**)

White solid; yield: 83%, m.p. 180–183 °C, $[\alpha]_D$ −52.5 (c 0.18, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.85 (s, 1H, C–H triazole), 8.06 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 7.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.71 (td, *J* = 7.6, 1.4 Hz, 1H), 7.55–7.59 (m, 1H), 7.49 (d, *J* = 6.4 Hz, 2H), 7.34–7.44 (m, 8H), 6.07 (d, 1H, *J* = 4.6 Hz, H-1), 5.72 (s, 1H), 5.42 (s, 2H, O–CH₂), 5.36 (s, 1H), 5.15 (s, 2H, O–CH₂), 5.07 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.46 (s, 1H, H-2), 4.20 (d, 1H, *J* = 3.7 Hz, H-3), 4.04 (q, 1H, *J* = 4.0 Hz, H-4), 3.54–3.68 (m, 2H, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 153.0, 147.5, 145.4, 144.3, 140.7, 136.5, 136.2, 129.1, 128.7, 128.5, 128.5, 128.4, 128.3, 128.3, 126.6 (Ar), 124.5 (C–H triazole), 124.0, 121.7 (Ar), 92.2 (C-1), 85.9 (C-4), 75.3 (C-2), 75.2 (O–CH₂), 74.9 (O–CH₂), 70.3 (C-3), 61.3 (C-5). ESI-HRMS: calcd. for $C_{30}H_{28}N_4O_6$ [M+H]⁺: 541.2082, found: 541.2087.

2.11.28. 2-(1-(β -D-Glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one (**16a**)

Pale yellow solid; yield: 93%, m.p. 290–292 °C, $[\alpha]_D$ −2.5 (c 0.19, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.94 (s, 1H, N–H), 8.77 (s, 1H, C–H triazole), 8.14 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H), 8.02 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.59 (t, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 5.77 (d, 1H, *J* = 9.2 Hz, H-1), 5.55 (s, 1H), 5.27 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 4.69 (s, 1H), 3.83 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-2), 3.72 (d, 1H, *J* = 10.1 Hz, H-6), 3.51 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz, H-6), 3.42 (t, 1H, *J* = 8.9 Hz, H-5), 3.31 (t, 1H, *J* = 8.0 Hz, H-4); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 169.8 (C=O), 138.1, 138.0, 137.4, 130.6 (Ar), 125.3 (C–H triazole), 124.2, 122.6, 122.0, 121.7, 118.7 (Ar), 87.7 (C-1), 80.0 (C-5), 76.8 (C-3), 72.3 (C-2), 69.5 (C-4), 60.7 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for $C_{17}H_{18}N_4O_7$ [M+H]⁺: 391.1248, found: 391.1249.

2.11.29. 2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one (**16b**)

Dark green solid; yield: 95%, m.p. 298–302 °C, $[\alpha]_D$ +73.2 (c 0.4, DMSO). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 11.93 (s, 1H, N–H), 8.78 (s, 1H, C–H triazole), 7.59 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 7.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 1H), 6.12 (d, 1H, *J* = 4.1 Hz, H-1), 5.37 (s, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.71 (s, 1H), 4.47 (s, 1H, H-2), 3.92 (s, 1H, H-3), 3.64 (s, 3H, H-4, H-6), 3.50 (s, 1H, H-5); ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 169.8 (C=O), 138.2, 138.0, 137.5, 130.6 (Ar), 125.8 (C–H triazole), 124.3, 122.7, 122.0, 121.7, 118.8 (Ar), 85.6 (C-1), 79.1 (C-5), 71.3 (C-3), 67.9 (C-2, C-4), 60.4 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for $C_{17}H_{18}N_4O_7$ [M+H]⁺: 391.1248, found: 391.1249.

2.11.30. 2-(1-(β -D-Galactopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one (**16c**)

Dark green solid; yield: 95%, m.p. 142–148 °C, $[\alpha]_D +8.5$ (c 0.4, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.94 (s, 1H, N-H), 8.77 (s, 1H, C-H triazole), 8.15 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.70 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-1), 5.40 (s, 1H), 4.78–5.06 (m, 3H), 4.09 (t, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-2), 3.76–3.79 (m, 2H, H-4, H-5), 3.51–3.60 (m, 3H, H-3, H-6); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 169.8 (C=O), 138.3, 138.1, 137.5, 130.7 (Ar), 124.8 (C-H triazole), 124.3, 122.8, 122.1, 121.8, 118.8 (Ar), 88.5 (C-1), 78.7 (C-5), 73.5 (C-3), 69.7 (C-2), 68.5 (C-4), 60.4 (C-6). ESI-HRMS: calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_7$ [M+H] $+$: 391.1248, found: 391.1250.

2.11.31. 2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one (**16d**)

Light green solid; yield: 92%, m.p. 280–283 °C, $[\alpha]_D -30.2$ (c 0.8, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.94 (s, 1H, N-H), 8.77 (s, 1H, C-H triazole), 8.15 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.72 (d, 1H, $J = 9.2$ Hz, H-1), 5.57 (s, 1H), 5.25–5.57 (m, 3H), 3.83–3.92 (m, 2H, H-2, H-5), 3.57 (dd, 1H, $J = 14.4, 9.4$ Hz, H-4), 3.35–3.45 (m, 2H, H-3, H-5); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 169.8 (C=O), 138.1, 138.0, 137.5, 130.6, 125.4 (C-H triazole), 124.3, 122.7, 122.1, 121.7, 118.8 (Ar), 88.4 (C-1), 77.0 (C-3), 72.2 (C-2), 69.0 (C-4), 68.5 (C-5). ESI-HRMS: calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6$ [M+H] $+$: 361.1143, found: 361.1146.

2.11.32. 2-[1-(4-O-(β -D-Galactopyranosyl)- β -D-glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3-hydroxyquinolin-4-one (**16e**)

Light green solid; yield: 70%, m.p. 217–220 °C, $[\alpha]_D +8.1$ (c 0.4, DMSO). ^1H NMR (500 MHz, DMSO- d_6): δ 11.91 (s, 1H, N-H), 8.78 (s, 1H, C-H triazole), 8.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.87 (d, 1H, $J = 9.7$ Hz, H-1), 5.69 (s, 1H), 5.12 (s, 1H), 4.90 (s, 1H), 4.53–4.79 (m, 4H), 4.28 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, H-7), 3.92 (t, 1H, $J = 8.0$ Hz, H-2), 3.82 (d, $J = 11.5$ Hz, 1H), 3.72–3.74 (m, 1H), 3.49–3.68 (m, 7H), 3.33–3.40 (m, 2H); ^{13}C NMR (126 MHz, DMSO- d_6): δ 169.8 (C=O), 138.2, 138.0, 137.5, 130.6 (Ar), 125.3 (C-H triazole), 124.3, 122.6, 122.1, 121.7, 118.8 (Ar), 103.8 (C-7), 87.3 (C-1), 79.6 (C-4), 78.0 (C-11), 75.6 (C-10), 75.1 (C-3), 73.2 (C-9), 72.0 (C-2), 70.5 (C-8), 68.1 (C-5), 60.4 (C-6), 60.0 (C-12). ESI-HRMS: calcd. for $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_{12}$ [M+H] $+$: 553.1776, found: 553.1774.

2.11.33. 2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one (**16f**)

Light green solid; yield: 77%, m.p. 252–263 °C, $[\alpha]_D -76.8$ (c 0.7, DMSO). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 11.91 (s, 1H, N-H), 8.91 (s, 1H, C-H triazole), 8.14 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.01 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.59 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.25 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 6.14 (d, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-1), 5.68 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.03 (s, 1H), 4.51 (t, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-2), 4.20 (t, 1H, $J = 4.6$ Hz, H-3), 4.04 (q, 1H, $J = 3.8$ Hz, H-4), 3.60 (ddd, 2H, $J = 40.8, 11.9, 3.7$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 169.8 (C=O), 138.4, 138.0, 137.4, 130.6 (Ar), 124.8 (C-H triazole), 124.2, 122.6, 122.0, 121.7, 118.8 (Ar), 92.4 (C-1), 86.1 (C-4), 75.2 (C-2), 70.4 (C-3), 61.2 (C-5). ESI-HRMS: calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_6$ [M+H] $+$: 361.1143, found: 361.1146.

3. Results and discussion

3.1. Synthesis

Click-reaction [31] of alkyne **1** [36] and the corresponding azides **2–7** (Fig. 2) provided intermediates **8a–f** (Scheme 1) in high yields (70% for **8e** and above 80% for others).

Removal of acetyl/benzoyl protective groups at saccharide unit **8a–f** was initially performed with K_2CO_3 in methanol at room temperature for 16 h. Unfortunately, significant losses in the yields

of desired products **9a–f** (Scheme 1) occurred during purification by column chromatography presumably due to their limited solubility in organic solvents. The yields did not exceed 40%.

Debenzoylation of compound **8f** was carried out with freshly prepared 1 M MeONa in methanol and pure product **9f** was simply isolated. Moreover, the yield of **9f** increased to 61%, in contrast to 38% yield achieved with the first method.

The same procedure was applied for deacetylation of remaining compounds **8a–e**. Nevertheless, there was no improvement compared to the K_2CO_3 /methanol deesterification. Therefore deacetylation with diethylamine (DEA) in methanol was performed (Scheme 1).

In addition to significant reduction of reaction time (2 h) another advantage of this method was a one-step purification of the products. After solvent removal from the reaction mixture, the products **9a–e** were simply precipitated from diethyl ether in high yields (82–92%). Preparation of derivatives **16a–f** was not straightforward. Removal of methylene bridge from derivatives **9a–f** in acidic conditions (HCl, HBr, $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ or methanesulphonic acid) did not give expected 3-hydroxy-4-(1H)-quinolones **16a–f**.

Methylene group was found to be resistant to all examined conditions. On the contrary, deglycosylation was observed and triazole derivative lacking saccharide part was detected as a byproduct. In order to avoid quinolone deprotection step, click-reaction of both deprotected alkyne **1a** and glycosyl azide **2a** (Fig. 3) was examined. Despite of successful reaction, purification of product **16a** failed, probably due to its limited solubility in both organic solvents and water.

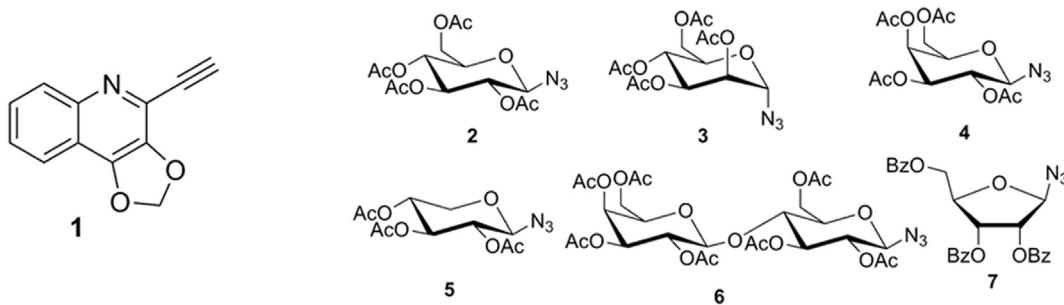
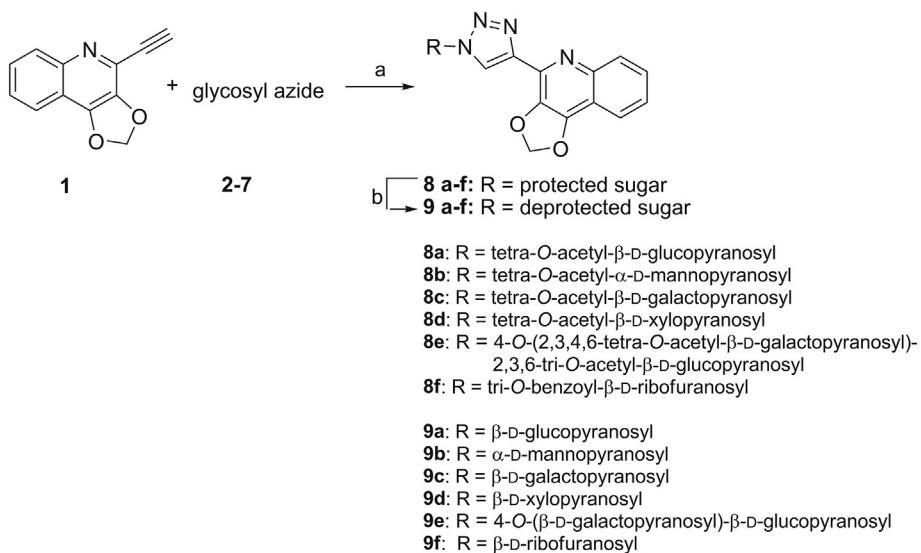
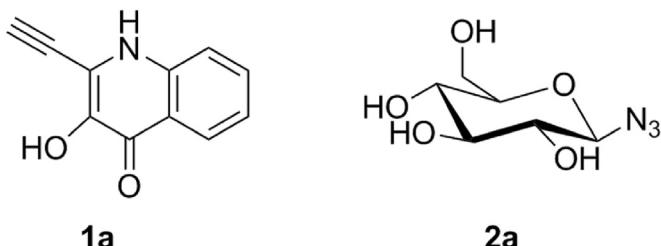
Considering all the facts, another synthetic approach was needed to be developed. A strategy was based on benzyl protection of both oxygens of the quinolone moiety. This choice came from a possibility of their selective and easy removal by hydrogenolysis that avoids a formation of any byproducts.

In this respect, an alkyne **13** was prepared from the known compound **10** [11] over 3 steps (Scheme 2). To find out optimal reaction conditions for benzylation of **10**, different bases (K_2CO_3 , Cs_2CO_3 , 60% NaH) and solvents (DMF, CH_3CN) were examined. The best result was achieved by using BnBr and K_2CO_3 in DMF. In addition to desired product **11**, another isomer – *N,O*-dibenzyl derivative was detected in the reaction mixture and isolated by column chromatography. Structure of the major di-*O*-benzyl derivative **11** was confirmed by N-H HMBC NMR spectroscopy.

In the next step, methyl function of the compound **11** was oxidized to aldehyde **12** with SeO_2 in THF. Purification of the crude aldehyde either by reprecipitation or through a bisulphite salt failed. Thus, pure aldehyde **12** was obtained after column chromatography and additional crystallization from cyclohexane. Next, freshly prepared Bestmann-Ohira reagent [26] was used for transformation of the aldehyde **12** to the target alkyne **13** by Seydel-Gilbert homologation [37].

With the alkyne **13** in hand, click reaction [31] with azides **2–7** was carried out to yield intermediates **14a–f** (Scheme 3). The saponification of acetyl protective groups in saccharide unit of derivatives **14a–e** was carried out by DEA methodology described above and smoothly provided intermediates **15a–e**. Deprotection of benzoylated intermediate **14f** was performed with 1 M MeONa/methanol to provide **15f**. Finally, subsequent removal of benzyl groups from **15a–f** by catalytic hydrogenolysis gave final 2-substituted 3-hydroxy-4-(1H)-quinolones **16a–f**.

The debenzylation was performed in 2-methoxyethanol initially at room temperature for 24 h when no starting material was detected. At higher temperature (45 °C) a complete conversion was observed within 4 h. However, in both cases were noticed significant losses in products (yield) due to their insolubility. After optimization of the final step of the synthesis, a complete

Fig. 2. Structures of alkyne **1** and azides **2–7**.Scheme 1. Reagents and conditions: (a) CuSO₄, Na ascorbate, DMF/H₂O, 3–16 h, rt; (b) DEA, MeOH, 2 h, rt (for **9a–e**) or MeONa, MeOH, 1 h, rt (for **9f**).Fig. 3. Structure of unprotected compounds **1a** and **2a**.

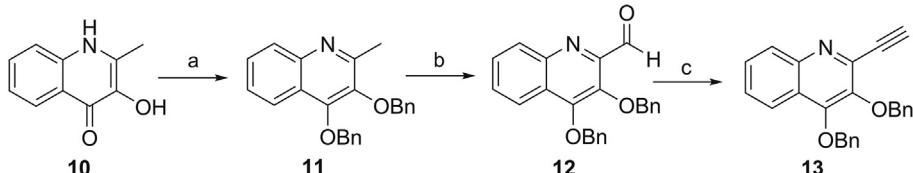
disappearance of the starting material was reached at 100 °C within 2–3 h. The formed products **16a**, **16e** and **16f** were hot filtered off through glass filter and pure products were obtained upon evaporation of the solvent. Due to a poorer solubility of final products

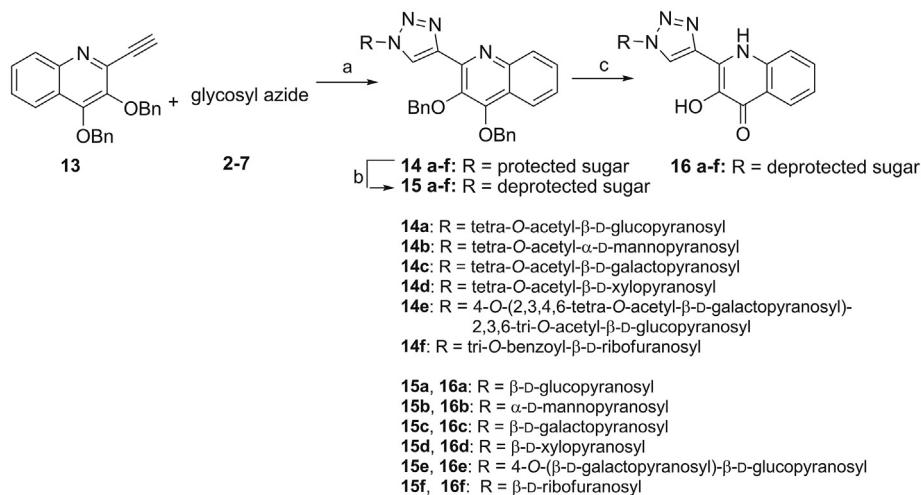
16b, **16c** and **16d**, hot DMF had to be added after the end of the reaction. After hot filtration pure products were isolated by lyophilisation. Using this procedure, final products **16a–f** were prepared in good to excellent yield (70–95%).

3.2. In vitro antibacterial assay

The compounds (**1**, **9a–f**, **13**, **15a–f**, **16a–f**) were screened for antimicrobial activity against Gram-positive (*Micrococcus luteus* CCM 331, *Bacillus subtilis* CCM 2216, *Paenibacillus larvae* CCM 4483 and *P. larvae* CCM 4486) and Gram-negative (*Escherichia coli* CCM 3954, *Serratia marcescens* CCM 8587) bacterial strains. Their efficacy was expressed as minimum inhibitory concentration (MIC₁₀₀).

None of the G-strains was affected by any of the tested compounds. On the other hand, G+ strains were susceptible to some of the tested compounds. Both protected quinolines **1** and **13** used as alkyne building blocks in the click reaction exhibited moderate

Scheme 2. Reagents and conditions: (a) BnBr, K₂CO₃, DMF, 1.5 h, reflux (80%); (b) SeO₂, THF, 0.5 h, reflux (58%); (c) Bestmann-Ohira reagent, K₂CO₃, MeOH, 1 h, rt (50%).



Scheme 3. Reagents and conditions: (a) CuSO₄, Na ascorbate, DMF/H₂O, 3–16 h, rt; (b) DEA, MeOH, 2 h, rt, (for 15a–e) or MeONa, MeOH, 1 h, rt (for 15f); (c) 5% Pd/C, H₂, atm. pressure, 2-methoxyethanol, 2–3 h, 100 °C.

antimicrobial activity against honeybee larval pathogen *P. larvae* CCM 4483 (MIC₁₀₀ 200 μM for **1** and 100 μM for **13**). *B. subtilis* was also influenced by quinoline **1** with methylene bridge, in contrast to di-O-benzylated analog **13**.

Antimicrobial activity of carbohydrate conjugates was significantly affected by the protective groups at the quinoline unit. Carbohydrate conjugates **9a–f** derived from **1** having methylene bridge-protected quinoline hydroxyl groups were completely inactive compounds. On the other hand, four out of six carbohydrate conjugates **15a–f** having benzyl protected quinoline hydroxyl groups were found to be active against G+ strains. The lactose conjugate **15e** was efficient against *P. larvae* CCM 4483 only, having moderate bactericidal activity (MIC₁₀₀ 200 μM). On the other hand, all G+ strains were susceptible to conjugates **15a**, **15c** and **15d**. The activity of the conjugates derived from glucose **15a** and galactose **15c** were equal against all 4 tested G+ strains (MIC₁₀₀ 200 μM). The most potent inhibitor of all G+ strains was found to be xylose conjugate **15d**. It is of interest that it was more efficient inhibitor of honeybee larval pathogen *P. larvae* strains CCM 4483 and CCM 4486 (MIC₁₀₀ 50 μM for both) than *M. luteus* and *B. subtilis* (MIC₁₀₀ 100 μM). It seems that combining di-O-benzyl protected quinoline **13** (being active itself) with xylosyl moiety led to an improvement of antimicrobial activity. Surprisingly, removal of benzyl protective groups from quinoline unit of **15a–f**, leading to conjugates **16a–f**, resulted in a complete loss of activity.

4. Conclusion

A novel synthetic route to sugar-quinolone click conjugates, namely 2-(glycosyl-1,2,3-triazolyl)-3HQs, was developed. A key step of their synthesis was based on a proper choice of protecting groups on the quinoline unit that allows using deprotection sequence keeping glycosyltriazole bond intact. A simple, efficient and convenient approach to 2-substituted-3HQs paves the way for a dissemination of new promising biologically active derivatives. Some of these carbohydrate conjugates showed antimicrobial activity against G+ strains including *P. larvae*. The honeybee larval pathogen was the most susceptible Gram-positive strain for which minimal bactericidal concentration was in the range of 50–200 μM.

Acknowledgments

This work was supported by the Czech National Program for

Sustainability (project LO1304), Ministry of Industry and Trade (project FV20250), Development of novel synthetic methods for preparation of novel biological active compounds (project IGA_PrF_2018_29), the Slovak Research and Development Agency (the project APVV-0484-12), Scientific Grant Agency of the Ministry of Education of Slovak Republic and Slovak Academy of Sciences (the projects VEGA-2/0064/15 and VEGA-2/0175/15).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.09.030>.

References

- [1] S. Kumar, S. Bawa, H. Gupta, Biological activities of quinoline derivatives, *Mini Rev. Med. Chem.* 9 (2009) 1648–1654.
- [2] A.A. Boteva, O.P. Krasnykh, The methods of synthesis, modification, and biological activity of 4-quinolones (review), *Chem. Heterocycl. Comp.* 45 (2009) 757–785, <https://doi.org/10.1007/s10593-009-0360-1>.
- [3] R.L. Dorow, P.M. Herrington, R.A. Hohler, M.T. Maloney, M.A. Mauragis, W.E. McGhee, J.A. Moeslein, J.W. Strohbach, M.F. Veley, Development of an efficient synthesis of the pyrrolquinolone PHA-529311, *Org. Process Res. Dev.* 10 (2006) 493–499, <https://doi.org/10.1021/op050251y>.
- [4] I. V. Ukrainets, L. V. Sidorenko, L.A. Petrushova, O.V. Gorokhova, 4-Hydroxy-2-quinolones. 90. Synthesis and antitubercular activity of 4-methyl-2-thiazolylamides of halo-substituted 4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliniccarboxylic acids, *Chem. Heterocycl. Comp.* 42 (2006) 64–69, <https://doi.org/10.1007/s10593-006-0048-8>.
- [5] A. Carta, M. Palomba, G. Paglietti, P. Molicotti, B. Paglietti, S. Cannas, S. Zanetti, [1,2,3]Triazolo[4,5-h]quinolones. A new class of potent antitubercular agents against multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 4791–4794, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.06.064>.
- [6] A. V. Shindikar, C.L. Viswanathan, Novel fluoroquinolones: design, synthesis, and in vivo activity in mice against *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15 (2005) 1803–1806, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.02.037>.
- [7] Y.-L. Zhao, Y.-L. Chen, J.-Y. Sheu, I.-L. Chen, T.-C. Wang, C.-C. Tzeng, Synthesis and antimycobacterial evaluation of certain fluoroquinolone derivatives, *Bioorg. Med. Chem.* 13 (2005) 3921–3926, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.04.005>.
- [8] A. Nilsen, A.N. LaCrue, K.L. White, I.P. Forquer, R.M. Cross, J. Marfurt, M.W. Mather, M.J. Delves, D.M. Shackelford, F.E. Saenz, J.M. Morrissey, J. Steuten, T. Mutka, Y. Li, G. Wirjanata, E. Ryan, S. Duffy, J.X. Kelly, B.F. Sebayang, A.-M. Zeeman, R. Noviyanti, R.E. Sinden, C.H.M. Kocken, R.N. Price, V.M. Avery, I. Angulo-Barturen, M.B. Jiménez-Díaz, S. Ferrer, E. Herreros, L.M. Sanz, F.-J. Gamó, I. Bathurst, J.N. Burrows, P. Siegl, R.K. Guy, R.W. Winter, A.B. Vaidya, S.A. Charman, D.E. Kyle, R. Manetsch, M.K. Riscoe, Quinolone-3-Diarylethers: a new class of antimalarial drug, *Sci. Transl. Med.* 5 (2013), 177ra37, <http://stm.sciencemag.org/content/5/177/177ra37.abstract>.
- [9] R.M. Cross, A. Monastyrskeyi, T.S. Mutka, J.N. Burrows, D.E. Kyle, R. Manetsch,

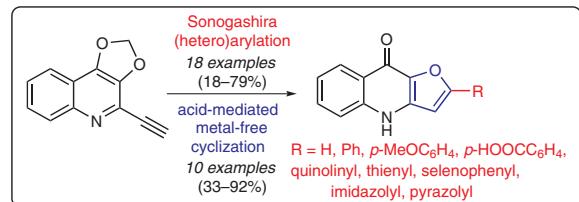
- Endochin optimization: structure–Activity and Structure–Property relationship studies of 3- substituted 2-methyl-4(1H)-quinolones with antimalarial activity, *J. Med. Chem.* 53 (2010) 7076–7094, <https://doi.org/10.1021/jm1007903>.
- [10] P. Hradil, J. Jirman, Synthesis of 2-Aryl-3-hydroxyquinolin-4(1H)-ones, *Collect. Czech Chem. Commun.* 60 (1995) 1357–1366.
- [11] P. Hradil, J. Hlaváč, K. Lemr, Preparation of 1,2-disubstituted-3-hydroxy-4(1H)-quinolinones and the influence of substitution on the course of cyclization, *J. Heterocycl. Chem.* 36 (1999) 141–144, <https://doi.org/10.1002/jhet.5570360121>.
- [12] P. Funk, K. Motyka, P. Dzubak, P. Znojek, S. Gurska, J. Kusz, C. McMaster, M. Hajdúch, M. Soural, Preparation of 2-phenyl-3-hydroxyquinoline-4(1H)-one-5-carboxamides as potential anticancer and fluorescence agents, *RSC Adv.* 5 (2015) 48861–48867, <https://doi.org/10.1039/C5RA08733C>.
- [13] M. Krejčí, P. Hradil, J. Hlaváč, M. Hajdúch, US8299092 B2, October 30, 2012.
- [14] M. Soural, J. Hlaváč, P. Hradil, I. Fryšová, M. Hajdúch, V. Bertolasi, M. Malon, Synthesis and cytotoxic activity of substituted 2-phenyl-3-hydroxy-4(1H)-quinolinones-7-carboxylic acids and their phenacyl esters, *Eur. J. Med. Chem.* 41 (2006) 467–474, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2005.12.008>.
- [15] R. Horák, L. Kvapil, K. Motyka, L. Slaninová, M. Grepl, K. Kotistek, M. Urbášek, P. Hradil, M. Soural, Synthesis of 2-alkenyl-3-hydroxyquinolin-4(1H)-ones as promising antimicrobial and fluorescent agents, *Tetrahedron* 74 (2018) 366–374, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2017.12.010>.
- [16] D.M. Johnson, R.N. Jones, CQ-397 and CQ-414: antimicrobial activity and spectrum of two fluoroquinolone–cephalosporin, dual-action compounds with carboxamido bonds, *Clin. Microbiol. Infect.* 3 (1997) 335–344, <https://doi.org/10.1111/j.1469-0961.1997.tb00623.x>.
- [17] C. Hubschwerlen, J.-L. Specklin, C. Sigwalt, S. Schroeder, H.H. Locher, Design, synthesis and biological evaluation of oxazolidinone–quinolone hybrids, *Bioorg. Med. Chem.* 11 (2003) 2313–2319, [https://doi.org/10.1016/S0968-0896\(03\)00083-X](https://doi.org/10.1016/S0968-0896(03)00083-X).
- [18] H.M. Faidallah, A.S. Gergis, A.D. Tiwari, H.H. Honkanadavar, S.J. Thomas, A. Samir, A. Kalmouch, K.A. Alamry, K.A. Khan, T.S. Ibrahim, A.M.M. AL-Mahmoudy, A.M. Asiri, S.S. Panda, Synthesis, antibacterial properties and 2D-QSAR studies of quinolone-triazole conjugates, *Eur. J. Med. Chem.* 143 (2018) 1524–1534, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.10.042>.
- [19] K. Upadhyaya, A. Ajay, R. Mahar, R. Pandey, B. Kumar, S.K. Shukla, R.P. Tripathi, A strategy to access fused triazoloquinoline and related nucleoside analogues, *Tetrahedron* 69 (2013) 8547–8558, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2013.07.088>.
- [20] M. van Dijk, D.T.S. Rijkers, R.M.J. Liskamp, C.F. van Nostrum, W.E. Hennink, Synthesis and applications of biomedical and pharmaceutical polymers via click chemistry methodologies, *Bioconjugate Chem.* 20 (2009) 2001–2016, <https://doi.org/10.1021/bc900087a>.
- [21] D.P. Nair, M. Podgórski, S. Chatani, T. Gong, W. Xi, C.R. Fenoli, C.N. Bowman, The thiol–michael addition click reaction: a powerful and widely used tool in materials chemistry, *Chem. Mater.* 26 (2014) 724–744, <https://doi.org/10.1021/cm402180t>.
- [22] A. Qin, J.W.Y. Lam, B.Z. Tang, Click polymerization: progresses, challenges, and opportunities, *Macromolecules* 43 (2010) 8693–8702, <https://doi.org/10.1021/ma101064u>.
- [23] P. Espeel, F.E. Du Prez, “Click”-Inspired chemistry in macromolecular science: matching recent progress and user expectations, *Macromolecules* 48 (2015) 2–14, <https://doi.org/10.1021/ma501386v>.
- [24] C.J. Pickens, S.N. Johnson, M.M. Pressnall, M.A. Leon, C.J. Berkland, Practical considerations, challenges, and limitations of bioconjugation via azide–alkyne cycloaddition, *Bioconjugate Chem.* 29 (2018) 686–701, <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.7b00633>.
- [25] P.M. Kharkar, M.S. Rehmann, K.M. Skeens, E. Maverakis, A.M. Kloxin, Thiol–ene click hydrogels for therapeutic delivery, *ACS Biomater. Sci. Eng.* 2 (2016) 165–179, <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.5b00420>.
- [26] V.K. Tiwari, B.B. Mishra, K.B. Mishra, N. Mishra, A.S. Singh, X. Chen, Cu-catalyzed click reaction in carbohydrate chemistry, *Chem. Rev.* 116 (2016) 3086–3240, <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00408>.
- [27] X.-P. He, Y.-L. Zeng, Y. Zang, J. Li, R.A. Field, G.-R. Chen, Carbohydrate CuAAC click chemistry for therapy and diagnosis, *Carbohydr. Res.* 429 (2016) 1–22, <https://doi.org/10.1016/j.carrres.2016.03.022>.
- [28] J.D. Yoneda, M.G. Albuquerque, K.Z. Leal, F. da C. Santos, P.N. Batalha, L. Brozeguini, P.R. Seidl, R.B. de Alencastro, A.C. Cunha, M.C.B. V de Souza, V.F. Ferreira, V.A. Giongo, C. Cirne-Santos, I.C.P. Paixão, Docking of anti-HIV-1 oxoquinoline-aclyhydrazone derivatives as potential HSV-1 DNA polymerase inhibitors, *J. Mol. Struct.* 1074 (2014) 263–270, <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.05.081>.
- [29] V. Pokrovskaya, V. Belakhov, M. Hainrichson, S. Yaron, T. Baasov, Design, synthesis, and evaluation of novel Fluoroquinolone–Aminoglycoside hybrid antibiotics, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 2243–2254, <https://doi.org/10.1021/jm900028n>.
- [30] P. Gallant, L. D’haenens, M. Vandewalle, An efficient preparation and the intramolecular cyclopropanation of a-diazo-3-ketophosphonates and a-diazo-phosphonoacetates, *Synth. Commun.* 14 (1984) 155–161, <https://doi.org/10.1080/00397918408062818>.
- [31] M. Poláková, R. Horák, S. Šesták, I. Holková, Synthesis of modified D-mannose core derivatives and their impact on GH38 α -mannosidases, *Carbohydr. Res.* 428 (2016) 62–71, <https://doi.org/10.1016/j.carrres.2016.04.004>.
- [32] S.B. Salunke, N.S. Babu, C.-T. Chen, Iron(III) chloride as an efficient catalyst for stereoselective synthesis of glycosyl azides and a cocatalyst with Cu(0) for the subsequent click chemistry, *Chem. Commun.* 47 (2011) 10440–10442, <https://doi.org/10.1039/C1CC13370E>.
- [33] K.K.G. Ramakrishna, R.K. Thakur, R.V. Pasam, J. Pandey, R. Mahar, S.K. Shukla, A.K. Tamrakar, R.P. Tripathi, Synthesis of novel glycosyl-1,2,3-1H-triazolyl methyl quinazolin-4(3H)-ones and their effect on GLUT4 translocation, *Tetrahedron* 73 (2017) 187–203, <https://doi.org/10.1016/j.tet.2016.11.074>.
- [34] M.J. Clemente, P. Romero, J.L. Serrano, J. Fitremann, L. Oriol, Supramolecular hydrogels based on glycoamphiphiles: effect of the disaccharide polar head, *Chem. Mater.* 24 (2012) 3847–3858, <https://doi.org/10.1021/cm301509v>.
- [35] R.M. Deranleih, M.L. Greenberg, P.-B. Le Calvez, M.C. Mooney, M.E. Migaud, Probing myo-inositol 1-phosphate synthase with multisubstrate adducts, *Org. Biomol. Chem.* 10 (2012) 9601–9619, <https://doi.org/10.1039/C2OB26577J>.
- [36] R. Horák, V. Šamšulová, M. Soural, L. Kvapil, P. Funk, M. Grepl, K. Kotistek, M. Urbášek, P. Hradil, (Unpublished results).
- [37] S. Müller, B. Liebold, G.J. Roth, H.J. Bestmann, An improved one-pot procedure for the synthesis of alkynes from aldehydes, *Synlett* 1996 (1996) 521–522, <https://doi.org/10.1055/s-1996-5474>.

Convenient Synthesis of Furo[3,2-*b*]quinolin-4(1*H*)-ones

Veronika Králová *^a Miroslav Soural^{a,b}Radim Horák^aPavel Hradil^a

^a Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University, 17. listopadu 12, 771 46 Olomouc, Czech Republic
veronika.kralova@upol.cz

^b Institute of Molecular and Translation Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Hněvotínská 5, 779 00, Olomouc, Czech Republic



Received: 19.12.2019
Accepted after revision: 10.02.2020

Published online: 26.02.2020
DOI: 10.1055/s-0039-1691743; Art ID: st-2019-k0678-l

Abstract In this work, we report the simple synthesis of furo[3,2-*b*]quinolin-4(1*H*)-ones from readily available 4-ethynyl-[1,3]dioxolo[4,5-c]quinolone as the key starting material. After Sonogashira (hetero)arylation, formation of the furoquinoline scaffold was accomplished using methanesulfonic acid and metal-free conditions. Although the cyclization was affected by the substitution of reaction intermediates, the method allowed the preparation of derivatives varying at the C3-position.

Keywords furoquinolines, quinolines, cyclization, Sonogashira coupling

Furoquinolines are natural products¹ with a wide range of promising biological activities. Selected derivatives possess antiviral,² cytotoxic,³ antitubercular,⁴ or antimarial⁵ effects. This predestines furoquinolines for further structural modification to find potential therapeutics with improved pharmacological properties. However, research in this field is limited by the scarcity of synthetic pathways applicable for construction of the furoquinoline scaffold. For instance, benzofuro[3,2-*b*]quinolin-4(1*H*)-ones **I** (Figure 1) can be obtained by cyclization of anthranilic acids and benzofuranones or phenoxyacetyl chloride,⁶ or by the cyclization of 2-(2-phenoxyacetamido)benzoic acid.^{7–10} Nevertheless, in each case, harsh reaction conditions (heating to high temperatures in polyphosphoric acid) are necessary which significantly limits a general applicability of these methods. Alternatively, benzofuro[3,2-*b*]quinolin-4(1*H*)-ones can be obtained by the cyclization of benzofuran-based intermediates under strongly basic conditions.¹¹ Further, some furoquinolines can be synthesized using metal-catalyzed cross-coupling reactions. In this regard, compound **II** was synthesized from the dibromofuran intermediate by Pd-catalyzed cyclization,¹² and Heck coupling under microwave irradiation provided furo[3,2-*c*]quinolones **III**.¹³ Recently, Cu(I) catalysis was used in the conversion of 5-chloro-7-(phenylethyynyl)quinolin-8-ol to 5-chloro-2-phenylfuro[3,2-*h*]quinoline **IV**.¹⁴ The latest strategy is based on the gold-catalyzed annulation of anthranilic acid derivatives with aryloxy-ethynes or aryl propargyl ethers which provided benzofuro[2,3-*b*]quinolines **V**.¹⁵ Also metal-free hydroalkoxylation leading to some tetrahydrofuran derivatives was reported.^{16,17}

diate by Pd-catalyzed cyclization,¹² and Heck coupling under microwave irradiation provided furo[3,2-*c*]quinolones **III**.¹³ Recently, Cu(I) catalysis was used in the conversion of 5-chloro-7-(phenylethyynyl)quinolin-8-ol to 5-chloro-2-phenylfuro[3,2-*h*]quinoline **IV**.¹⁴ The latest strategy is based on the gold-catalyzed annulation of anthranilic acid derivatives with aryloxy-ethynes or aryl propargyl ethers which provided benzofuro[2,3-*b*]quinolines **V**.¹⁵ Also metal-free hydroalkoxylation leading to some tetrahydrofuran derivatives was reported.^{16,17}

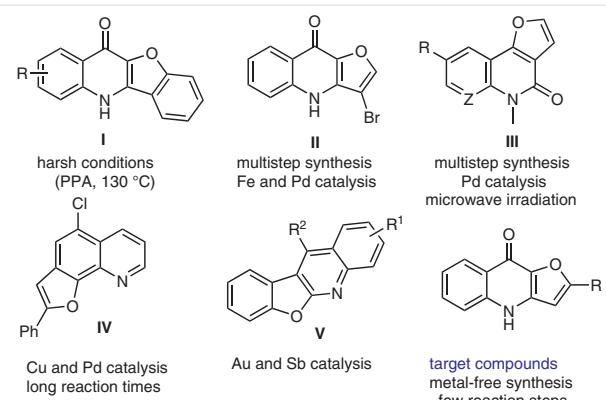


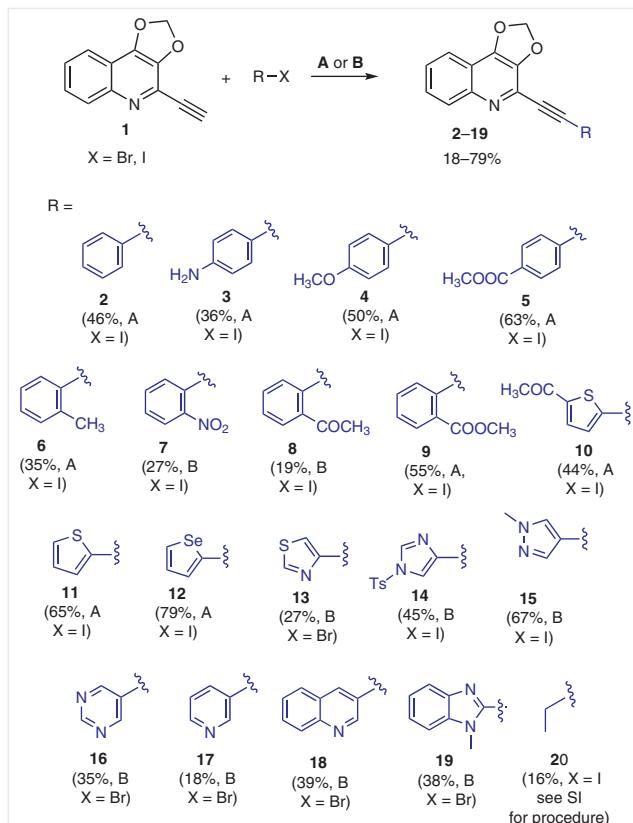
Figure 1 Examples of known furoquinolines and target derivatives

Inspired by limited synthetic approaches applicable to the preparation of furoquinolines, we herein report on a development of a simple pathway leading to furo[3,2-*b*]quinolin-4(1*H*)-ones (Figure 1). With respect to typical drawbacks of already existing methods, we have focused on the use of readily available starting materials and elimination of harsh reaction conditions or metal catalysis in the cyclization step.

4-Ethynyl-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]quinolone (**1**) was used as the common starting material for the preparation of key intermediates **2–19**. As previously reported, derivative **1** can be easily synthesized in few steps starting from anthranilic acid and chloroacetone, and its synthesis can even be scaled up to multigram quantities.¹⁸ Dioxoloquinoline **1** was subjected to reaction with diverse aryl bromides or iodides under Sonogashira cross-coupling conditions. Although this type of reaction was previously reported with both halogenated quinolines¹⁹ or alkynylquinolines^{20,21} as the starting materials, a screening of suitable reaction conditions was necessary to receive desired outcomes. Initially, iodobenzene was used as the model aryl halide. Inspired by reported protocols,^{21–26} we tried several different procedures involving various catalysts [$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, 10% Pd/C], bases (DIPA, Et_3N , Cs_2CO_3 , pyrrolidine, TBAF- $3\text{H}_2\text{O}$), and solvents (MeCN, THF, NMP, DMAC/ H_2O) as described in Table SI 1 of the Supporting Information. The most suitable results were achieved using a slightly modified catalytic system consisted of 10% Pd/C and PPh_3/CuI (Table SI 1, entry 7, entitled as method **A** hereafter)²⁷ or $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2/\text{CuI}$ (Table SI 1, entry 5, entitled as method **B** hereafter).²⁸ The both reaction conditions did not require the use of excessive amount of base or dry solvents and required only a short reaction time to completion, thus were applied to the synthesis of further intermediates **3–19**.

In the case of aryl halides, method **A** was applicable for building blocks bearing both electron-withdrawing and electron-donating substituents in *ortho* and *para* positions which furnished the desired products in acceptable yields (35–63%, Scheme 1). On the other hand, derivatives **7** and **8** synthesized from 2-iodonitrobenzene and 2-iodoacetophenone did not provide any product. In contrast, application of method **B** furnished the both desired compounds in limited yields (19% and 27%, respectively). In the case of heterocyclic halides, only three building blocks derived from 2-acetylthiophene, thiophene, and selenophene reacted under method **A** conditions, with isolated yields of the corresponding products ranging from 44–79%. Other heterocyclic halides required application of method **B**, which afforded the desired intermediates in various yields (18–67%). Additionally, alkylation of **1** with ethyl iodide under basic conditions was tested (see Supporting Information for details) and it proceeded. However, the desired intermediate **20** was obtained in low yield (16%).

All synthesized derivatives **2–20** were subjected to cyclization to the furoquinoline scaffold. In this case, transition-metal catalysts were completely omitted to make the cyclization metal-free and only different acids were tested. It was discovered that choice of both acid and solvent was necessary to achieve the desired compounds with a minimum amount of byproducts. Screening of reaction conditions was performed with model compound **1** (Table 1). When using $\text{BF}_3\text{-OEt}_2$ or trifluoroacetic acid anhydride (TFAA), no reaction occurred. Hydrochloric acid did not pro-



Scheme 1 Synthesis of intermediates. *Reagents and conditions:* method **A**: alkyne (1 equiv), iodo derivative (1 equiv), 10% Pd/C (5 mol%), PPh_3 (10 mol%), CuI (10 mol%), DIPEA (3 equiv), DMAC/ H_2O (9.5/0.5), inert atmosphere, 70–75 °C; method **B**: alkyne (1 equiv), halogen derivative (1 equiv), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (2 mol%), CuI (1 mol%), Et_3N (3 equiv), acetonitrile, inert atmosphere, 50–55 °C. For preparation of **20** see Supporting Information.

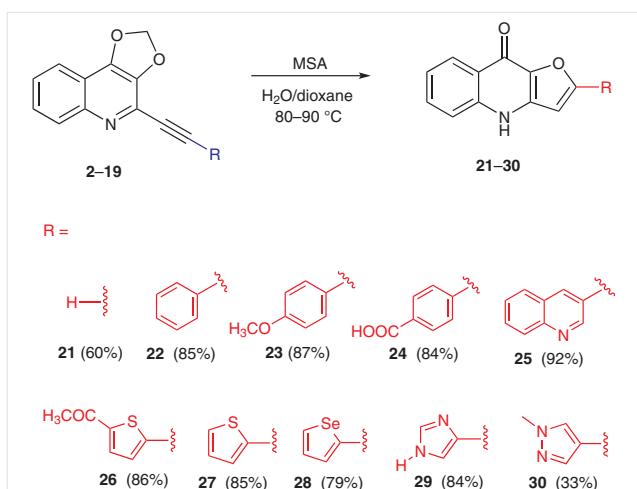
vide the desired product, but we detected the byproduct with the molecular mass corresponding to chlorinated alkene, indicating addition of hydrogen chloride to the alkyne moiety. Trifluoroacetic acid (TFA) as well as methanesulfonic acid (MSA) in various solvents furnished a mixture of unknown compounds with only low content of the desired product. Reaction with MSA in dimethoxyethane (DME) provided only a mixture of byproducts. However, this outcome was dramatically improved in the presence of water (DME/water, 1:1) which gave 85% conversion into product. Comparable results were achieved using aqueous AcOH or a mixture of THF/water (1:1). Later, it was discovered that only minimum volume of water was necessary to completely dissolve MSA and make the reaction mixture homogenous (2 equiv of water to MSA). The limited yield of model product **21** (60%)²⁹ was caused by the problematic separation. Due to its polarity, silica gel chromatography or crystallization was not feasible. However, precipitation in chloroform gave pure product.

Table 1 Cyclization in Various Acids/Solvents

Reagent	Solvent	Temp (°C)	Time (h)	Conversion (%) ^a
BF ₃ OEt ₂	EtOAc	20–25	48	— ^b
HCl/H ₂ O (1:1)	THF	20–25	72	— ^c
TFA	THF/H ₂ O (2:1)	50	2	— ^d
TFAA	AcOH/DCM	40	24	— ^b
MSA/H ₂ O (1:2)	i-PrOH	75	17	— ^d
MSA/H ₂ O (1:2)	DMF	80	2	— ^d
MSA	DME	80	24	— ^d
MSA	DME/H ₂ O (1:1)	80	5	85
MSA	AcOH/H ₂ O (1:1)	80	14	85
MSA	THF/H ₂ O (2:1)	70	24	85
MSA/H ₂ O (1:2)	dioxane	80	7.5	90
MSA/H ₂ O (1:2)	dioxane	90	6	95

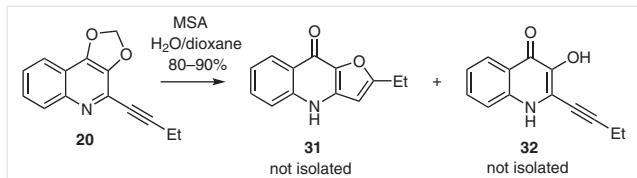
^a Determined by LC-MS.^b No reaction occurred.^c Product of hydrogen chloride addition detected.^d Mixture of products.

With respect to high solubility of compounds **2–20** in dioxane, this solvent was finally chosen for the synthesis of the series of target furoquinolines (Scheme 2). The cyclization of compounds **2–19** using developed conditions revealed some limitation caused by the substitution of (hetero)aromatic moiety. The reaction was not feasible for all *o*-substituted intermediates **6–9**. The presence of both electron-donating and electron-withdrawing substituents resulted in a mixture of unknown compounds with only a trace of the desired product, which points to sterical hindrance. In accordance with this presumption, the identical result was obtained for intermediate **19**. On the other hand, the presence of both electron-withdrawing (COOEt) or electron-donating (OMe) groups in *p*-position smoothly provided products in high yields (84% and 87%, respectively). In contrast, cyclization of aniline derivative **3** resulted in only 45% conversion (integrated from LC-MS traces), and the final compound was inseparable from unidentified reaction byproducts. Heterocyclic intermediates **13**, **16**, and **17** derived from thiazol, pyrimidine, and pyridine also furnished inseparable mixtures. In contrast, quinoline-based compound **18** provided the desired product **25** in high yield (92%), which clearly shows the cyclization is not directly influenced by electron densities caused by the presence of heterocyclic atoms. Similarly, remaining heterocyclic intermediates were smoothly converted into the desired compounds **22–24**, **26**, **27**, and **29** in high yields.

**Scheme 2** Preparation of compounds **21–30** via acid-catalyzed cyclization

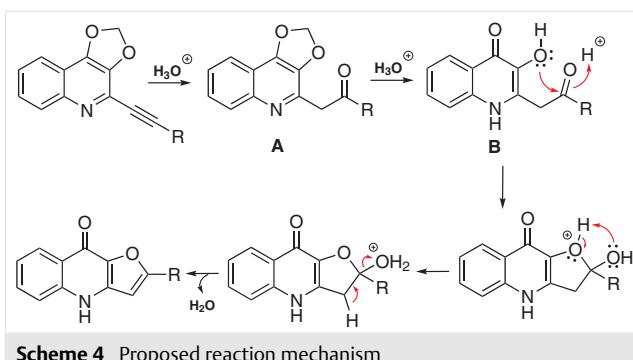
It should be pointed out that the reaction conditions were not fully compatible with acid-labile functional groups. For example, intermediate **5** yielded a mixture of target ester/acid in a ratio of 50%/40%. To avoid handling with the mixture, complete hydrolysis was simply carried out in 2N NaOH, and compound **24** was isolated as a single product.

Similarly, intermediate **14** yielded a mixture of the corresponding product accompanied with detosylated furoquinoline **29**. In this case, complete cyclization and detosylation was achieved with increased amount of MSA (10 equiv). Cyclization of alkyl intermediate **20** furnished a different outcome. After 10 hours the mixture of products **31** and **32** in a ratio 1:4.5 was detected using LC-UV-MS (Scheme 3). Prolonged reaction time led to very slow conversion and after 3 days, a mixture of both compounds in a ratio 1:1 was obtained. Their separation using silica gel chromatography was not successful due to similarity of retention times. This result (in combination with the low yield of compound **20**) indicates the method could be applicable towards C3-alkylated furoquinolines; however, further optimization would be necessary.

**Scheme 3** Cyclization of intermediate **20**

LC-UV-MS analyses of several crude products have proven the presence of compounds (up to 10% according to UV traces) with the molecular mass corresponding to dioxoquinoline intermediates **A** (Scheme 4). This fact points to plausible reaction mechanism of the cyclization. The for-

mation of furoquinoline scaffold is probably started by acidic hydrolysis of the alkyne moiety to the corresponding ketone.³⁰ Subsequent acidic ring opening of dioxolo[4,5-c]quinolones as reported previously¹⁸ provides 3-hydroxy-quinoline-4(1H)-one intermediates **B**. Finally, the furan ring is formed via acid-catalyzed nucleophilic attack of the hydroxyl group to the ketone, followed by dehydration and aromatization. In the case of intermediate **20**, the corresponding ketone **A** ($R = Et$) was not detected as it probably spontaneously cyclized to the target product **31**.



Scheme 4 Proposed reaction mechanism

The cyclization reaction of 2-alkynyl-dioxoloquinolines under acidic conditions represents a simple methodology for the preparation of novel furo[3,2-*b*]quinolines. The formation of the target scaffold was performed under metal-free conditions and significantly milder conditions compared to known alternatives. Although some limitation was detected in the cyclization step, the method allows the synthesis of variously C3-arylated furoquinolines. Additionally, modification of the benzene ring can be feasible as the substituted intermediates **1** can be simply synthesized using previously reported protocols¹⁸ applied to different anthranilic acids. Overall, the strategy is applicable for the preparation of pharmacologically promising furoquinolines suitable for further research in the field of medicinal chemistry.

Funding Information

This work was supported by the Ministry of Industry and Trade (project FV20250) and Palacky University (Grant Number IG-A_PrF_2019_027).

Supporting Information

Supporting information for this article is available online at <https://doi.org/10.1055/s-0039-1691743>.

References and Notes

- (1) Adamska-Szewczyk, A.; Glowniak, K.; Baj, T. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* **2016**, 29, 33.
- (2) Scala, A.; Cordaro, M.; Risitano, F.; Colao, I.; Venuti, A.; Sciortino, M. T.; Primerano, P.; Grassi, G. *Mol. Divers.* **2012**, 16, 325.
- (3) Wang, B.; Li, Q.; Shi, W.; Chen, L.; Sun, J. *Chem. Biol. Drug Des.* **2018**, 91, 957.
- (4) Akula, M.; Yogeeshwari, P.; Sriram, D.; Jha, M.; Bhattacharya, A. *RSC Adv.* **2016**, 6, 46073.
- (5) Xiao, Z.; Waters, N. C.; Woodard, C. L.; Li, Z.; Li, P.-K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, 11, 2875.
- (6) Yamaguchi, S.; Tsuzuki, K.; Sannomiya, Y.; Oh-Hira, Y.; Kawase, Y. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, 26, 285.
- (7) Sun, N.; Du, R.-L.; Zheng, Y.-Y.; Huang, B.-H.; Guo, Q.; Zhang, R.-F.; Wong, K.-Y.; Lu, Y.-J. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 135, 1.
- (8) Zhao, M.; Kamada, T.; Takeuchi, A.; Nishioka, H.; Kuroda, T.; Takeuchi, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, 25, 5551.
- (9) Bierer, D. E.; Dubenko, L. G.; Zhang, P.; Lu, Q.; Imbach, P. A.; Garofalo, A. W.; Phuan, P.-W.; Fort, D. M.; Litvak, J.; Gerber, R. E.; Sloan, B.; Luo, J.; Cooper, R.; Reaven, G. M. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 2754.
- (10) Lu, Y.-J.; Sun, N.; Huang, Z. S.; Gu, L. Q. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, 19, 518.
- (11) Rádl, S.; Konvička, P.; Váchal, P. *J. Heterocycl. Chem.* **2000**, 37, 855.
- (12) Sundstrom, T. J.; Wright, D. L. *Synlett* **2010**, 2875.
- (13) Beccalli, E. M.; Broggini, G.; Martinelli, M.; Paladino, G.; Zoni, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, 2091.
- (14) Radchatawedchakoon, W.; Promthong, N.; Sakee, U. *Lett. Org. Chem.* **2013**, 10, 640.
- (15) Patil, M. D.; Liu, R.-S. *Org. Biomol. Chem.* **2019**, 17, 4452.
- (16) Jean, A.; Rouden, J.; Maddaluno, J.; De Paolis, M.; Blanchet, J. *Tetrahedron Lett.* **2019**, 60, 534.
- (17) Gharpure, S. J.; Nanda, S. K.; Shelke, Y. G. *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 10007.
- (18) Horak, R.; Koristek, K.; Samsulova, V.; Slaninova, L.; Grepl, M.; Kvapil, L.; Funk, P.; Hradil, P.; Soural, M. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, DOI: 10.1002/jhet.3886.
- (19) Verma, A. K.; Choudhary, D.; Saunthwal, R. K.; Rustagi, V.; Patel, M.; Tiwari, R. K. *J. Org. Chem.* **2013**, 78, 6657.
- (20) Tang, J.; Xu, B.; Mao, X.; Yang, H.; Wang, X.; Lv, X. *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 11108.
- (21) Widner, D. L.; Knauf, Q. R.; Merucci, M. T.; Fritz, T. R.; Sauer, J. S.; Speetzen, E. D.; Bosch, E.; Bowling, N. P. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 6269.
- (22) Yue, D.; Yao, T.; Larock, R. C. *J. Org. Chem.* **2006**, 71, 62.
- (23) Li, J.-H.; Zhang, X.-D.; Xie, Y.-X. *Synthesis* **2005**, 804.
- (24) Hamm, D. C.; Braun, L. A.; Burazin, A. N.; Gauthier, A. M.; Ness, K. O.; Biebel, C. E.; Sauer, J. S.; Tanke, R.; Noll, B. C.; Bosch, E.; Bowling, N. P. *Dalton Trans.* **2013**, 42, 948.
- (25) Heidenreich, R. G.; Kohler, K.; Krauter, J. G. E.; Pietsch, J. *Synlett* **2002**, 1118.
- (26) Novák, Z.; Szabó, A.; Répási, J.; Kotschy, A. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 3327.
- (27) To a solution of alkyne **1** (200 mg, 0.54 mmol) in DMAC/H₂O (9.5/0.5; 950 μ L/50 μ L), 10% Pd/C (0.05 equiv, 0.027 mmol, 29 mg), PPh₃ (0.1 equiv, 0.054 mmol, 14 mg), CuI (0.1 equiv, 0.054 mmol, 10 mg), and DIPEA (3 equiv, 210 μ L) were added. The reaction mixture was flushed with nitrogen, followed by addition of aryl or heteroaryl iodide (1 equiv). The reaction was heated to 70–75 °C and was monitored by TLC (hexane/EtOAc, 4:1). Upon completion (2–4 h), the reaction mixture was diluted with DCM and filtered through glass filter. Dark brown solution was evaporated, and the product was purified by column chromatography (hexane/EtOAc, 4:1 → EtOAc).

Representative Product: 4-(Phenylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline (2)

Yield: 46%; mp 120–121 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 7.96 (d, J = 8.7 Hz, 1 H), 7.83 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 7.67 (td, J = 7.7, 1.7 Hz, 3 H), 7.56–7.60 (m, 1 H), 7.49–7.53 (m, 3 H), 6.48 (s, 2 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ = 149.1, 145.3, 142.1, 131.8, 129.9, 129.0, 128.9, 128.7, 127.3, 126.1, 120.9, 119.8, 115.1, 104.0, 93.4, 84.1. HRMS: m/z calcd for $C_{18}\text{H}_{11}\text{NO}_2$ [M + H]: 274.0863; found: 274.0863.

(28) To a solution of alkyne **1** (1 equiv, 200 mg, 0.54 mmol) in acetonitrile (HPLC quality, 2 mL), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0.02 equiv, 0.01 mmol, 7.6 mg), Cul (0.01 equiv, 0.005 mmol, 1 mg), and Et_3N (3 equiv, 225 μL) were added. The reaction mixture was flushed with nitrogen, followed by addition of aryl or heteroaryl bromide/iodide (1 equiv). The reaction was heated to 50–55 °C and was monitored by TLC (hexane/EtOAc, 4:1). Upon completion (2–4 h), the reaction mixture was diluted with DCM and filtered through the glass filter. The dark brown solution was evaporated, and the product was purified by column chromatography (hexane/EtOAc, 4:1 → EtOAc).

(29) To a solution of quinoline **1** (50 mg, 1 equiv) in dioxane (0.5 mL), methanesulfonic acid (5 equiv) and water in volume ratio 1:2 were added. The reaction mixture was heated to 85–90 °C in the pressurized tube until the disappearance of starting material (monitored by LC–MS). After that, the reaction mixture was quenched by water (4 mL), and pH was adjusted on 6–7 by 10% NaOH. The precipitated solid was filtered off, washed with water, and dried. The crude product was purified by stirring in chloroform.

Furo[3,2-*b*]quinolin-9(4*H*)-one (21)

Yield 60%, mp 180–183 °C. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 12.12 (s, 1 H), 8.24 (d, J = 8.2 Hz, 1 H), 8.14 (s, 1 H), 7.55–7.65 (m, 2 H), 7.26 (t, J = 7.3 Hz, 1 H), 6.86 (s, 1 H). ^{13}C NMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ = 164.0, 149.9, 139.6, 137.9, 137.5, 131.3, 125.4, 124.5, 121.4, 117.9, 102.3. HRMS: m/z calcd for $C_{11}\text{H}_7\text{NO}_2$ [M + H]: 186.0550; found: 186.0551.

(30) Alabugin, V. I.; Gonzalez-Rodriguez, E.; Kawade, K. R.; Stepanov, A. A.; Vasilevsky, F. S. *Molecules* **2019**, *24*, 1036.

Recombinant luciferase-expressing murine gammaherpesvirus 68 as a tool for rapid antiviral screening

K. BRIESTENSKÁ¹, V. ŠAMŠULOVÁ², M. POLÁKOVÁ³, J. MISTRÍKOVÁ^{1,4*}

¹Department of Microbiology and Virology, Faculty of Natural Sciences, Comenius University in Bratislava, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovak Republic; ²Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacky University Olomouc, Olomouc, Czech Republic; ³Institute of Chemistry, Center for Glycomics, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovak Republic; ⁴Institute of Virology, Biomedical Research Center of the Slovak Academy of Sciences, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, Slovak Republic

Received May 14, 2019; accepted May 16, 2019

Summary. – Murine gammaherpesvirus 68 (MHV-68) provides a valuable tool to screen novel therapeutic strategies against oncogenic gammaherpesviruses. The development and characterization of antiviral agents usually depend on appropriate screening assays. The aim of this study was to develop rapid and sensitive method for testing antiviral compounds against gammaherpesviruses. For this purpose, a recombinant MHV-68 expressing firefly luciferase (MHV-68/LUC) was constructed. The conditions for MHV-68/LUC infection in Vero cells suitable for novel antiviral screening assay in 96-well plate format were then optimized. The sensitivity of MHV-68/LUC to acyclovir (ACV) and ganciclovir (GCV) was measured by the optimized luciferase activity reduction assay. The 50% inhibition concentration (IC_{50}) values for ACV and GCV were comparable to those determined by conventional plaque reduction assay. Therefore, the luciferase activity reduction assay can efficiently replace the plaque reduction assay. The great advantages of novel assay are represented by the significant reduction in assay time and rapid and objective measurement of the assay. In order to evaluate whether the luciferase activity reduction assay could be used as a screening system for novel antivirals, newly synthesized quinolone/quinoline derivatives were tested for their effects on the replication of MHV-68/LUC *in vitro*. The compound 2-(1-(b-D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzoyloxy-quinoline showed significant antiviral activity and its IC_{50} against MHV-68/LUC was estimated to be 1,76 µg/ml. However, this compound was not suitable for *in vivo* testing due to its narrow selectivity index (SI = 11).

Keywords: MHV-68; antiviral screening; luciferase; quinolone/quinoline derivatives

Introduction

The vast majority of the world's population is infected with herpesviruses. Herpesviruses exhibit two distinct phases of

the life cycle, known as lytic replication and latency. Switching between these two phases has advantageously allowed herpesviruses to efficiently establish life-long persistent infections in hosts. Persistent infections are usually asymptomatic. However, in some cases the persistence of herpesvirus infection may result in tumorigenesis (Pellett and Roizman, 2013). Human gammaherpesviruses Epstein-Barr virus (EBV) and Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) are two of the most prominent infectious agents associated with variety of lymphoproliferative disorders. EBV, the etiological agent of infectious mononucleosis, is related to Burkitt's lymphoma, Hodgkin's lymphoma, nasopharyngeal carcinoma, and posttransplantation lymphoproliferative disease (Pagano, 1999; Kutok and Wang, 2006; Odumade *et al.*, 2011). KSHV is associated with Kaposi's sarcoma,

*Corresponding author. E-mail: virumis@savba.sk; phone: +421-2-59302-426, +421-2-54773172.

Abbreviations: ACV = acyclovir; CC_{50} = 50% cytotoxic concentration; CPE = cytopathic effect; DMSO = dimethyl sulfoxide; EBV = Epstein-Barr virus; GCV = ganciclovir; hpi = hours post infection; IC_{50} = 50% inhibitory concentration; KSHV = Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus; LDH = lactate dehydrogenase; MHV-68 = murine gammaherpesvirus 68; MHV-68/LUC = recombinant luciferase-expressing MHV-68; MOI = multiplicity of infection; MTT = 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide; RLU = relative light units; SI = selectivity index

multicentric Castleman's disease, and primary effusion lymphoma (Cesarman, 2014; Dittmer and Damania, 2016; Jha *et al.*, 2016).

Most of the currently available antiherpetic drugs are nucleoside analogues, which act as inhibitors of viral DNA polymerase. Although numerous antiviral agents have proven to be effective inhibitors of EBV and KSHV replication *in vitro*, no drug has been approved yet for the treatment of gammaherpesvirus infections (Coen *et al.*, 2014; Pagano *et al.*, 2018). Therefore, there is a real need to identify new compounds with high effectiveness and selectivity against human gammaherpesviruses. However, the development of novel antiviral agents has been limited due to the lack of efficient gammaherpesvirus replication system. Murine gammaherpesvirus 68 (MHV-68) is a natural pathogen of small rodents (Blaškovič *et al.*, 1980) and is biologically and genetically related to human gammaherpesviruses. MHV-68 provides a useful tool to screen novel chemotherapeutic and prophylactic strategies to combat gammaherpesviruses (Simas and Efstathiou, 1998; Stewart, 1999; Mistriková *et al.*, 2000). In contrast to most gammaherpesviruses, MHV-68 forms a fully productive infection in conventional cell cultures and induces characteristic cytopathic effect (CPE) (Svobodová *et al.*, 1982). Thus, CPE reduction assay (Neyts and De Clercq, 1998; Medveczky *et al.*, 2004; Coen *et al.*, 2013) or plaque reduction assay (Smee *et al.*, 1997; Barnes *et al.*, 1999; Cho *et al.*, 2013; Kang *et al.*, 2017, 2018) can be used for evaluation of the susceptibility of the MHV-68 to antiviral agents. These assays represent the gold standard screening methods and are relatively simple to perform. However, they are labor-intensive, time-consuming and usually based on highly subjective observations. CPE reduction assay and plaque reduction assay are best suited for small numbers of specimens as they are difficult to automate. In order to increase the capacity of testing newly synthesized compounds, it is necessary to improve the efficiency and the speed of antiviral screening methods.

Recombinant viruses carrying reporter genes may greatly facilitate screening and identification of compounds with antiviral activity. Coupled to the use of automated plate readers, these recombinant viruses can make antiviral assays more suitable for standardization and high-throughput purposes (Rameix-Welti *et al.*, 2014). Recently, recombinant viruses expressing luciferase have been developed and used for screening of antiviral agents against several viruses including human cytomegalovirus (Song *et al.*, 2000; He *et al.*, 2011), dengue virus (Zou *et al.*, 2011), Ebola virus (Hoenen *et al.*, 2013), Nipah virus (Lo *et al.*, 2014), respiratory syncytial virus (Rameix-Welti *et al.*, 2014), classical swine fever virus (Shen *et al.*, 2014) and influenza A virus (Li *et al.*, 2018). Luciferase-based methods can also be used for the study of viral gene expression (Song *et al.*, 2000), the non-invasive and continuous monitoring of systemic

infection *in vivo* and the exploring virus-host interactions (Barry *et al.*, 2012). A bioluminescence imaging system was also introduced to monitor MHV-68 infection in the whole mouse (Hwang *et al.*, 2008; Milho *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2011; Kang *et al.*, 2012).

At many institutes of chemistry, novel compounds with potential biological activity such as quinolone derivatives are synthesized. Quinolones represent an important class of broad-spectrum antibacterial agents. Recently, quinolones have been reported to possess a variety of useful biological activities, including antitumor, antiparasitic, antifungal, and antiviral activities (Richter *et al.*, 2004; Ahmed and Daneshbalab, 2012; Dalhoff, 2015).

The aim of this study was to establish a rapid and sensitive method for testing potential antiviral compounds against gammaherpesviruses by use of a luciferase-expressing MHV-68. This novel optimized assay, termed luciferase activity reduction assay, was compared with conventional plaque reduction assay and its reliability was verified. Furthermore, in an attempt to identify novel inhibitors of gammaherpesvirus replication, newly synthesized quinolone/quinoline derivatives were screened for their antiviral activity using luciferase activity reduction assay.

Materials and Methods

Cells. African green monkey kidney (Vero) cells were cultured in complete Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 9% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS) and supplemented with L-glutamine (2 mM), penicillin (100 units/ml) and streptomycin (100 µg/ml). Cell cultures were grown in a 5% CO₂ humidified atmosphere at 37°C.

Viruses. Working MHV-68 stock (isolated from *Myodes glareolus*, Blaškovič *et al.*, 1980) was prepared by infection of Vero cells at low multiplicity of infection (MOI). Recombinant MHV-68 expressing firefly luciferase (MHV-68/LUC) was constructed as previously described (Hwang *et al.*, 2008). Viral titers were determined by plaque assay using Vero cells.

Compounds. The 2-(1-glycosyl-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolone conjugates (Table 1) used in this study were synthesized according to the previously reported procedure (Šamšulová *et al.*, 2019). Stock solutions (2 mg/ml) were prepared by dissolving compounds in dimethyl sulfoxide (DMSO), filtered through a 0.2 µm filter and diluted to the appropriate concentrations in culture media. Acyclovir (ACV; Sigma-Aldrich) and ganciclovir (GCV; Sigma-Aldrich) were dissolved in distilled water to the concentration of 1 mg/ml.

Growth curves. Multistep virus growth curves were obtained by infecting subconfluent Vero cells at a MOI of 0.01. After adsorption for 1 hour, the wells were washed with medium to remove residual virus and fresh DMEM containing 2% FBS was added. At various times post infection, the cells and supernatants were harvested,

Table 1. List of tested compounds

Compound	Systematic name for compound
Q1	2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline
Q2	2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline
Q3	2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one
Q4	2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxyloxy-quinoline
Q5	2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxyquinolin-4-one
Q6	2-(1-(β -D-Glucopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-quinoline
Q7	4-ethynyl-[1,3]dioxolo[4,5-c]quinoline
Q8	3,4-bis(benzylxyloxy)-2-ethynylquinoline

frozen and thawed three times, and subjected to plaque assays on Vero cells. All experiments were carried out in duplicate.

Cytotoxicity assays. The cytotoxicity of tested compounds was assessed via the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay and the lactate dehydrogenase (LDH) assay. Vero cells were seeded at 1×10^4 cells per well in DMEM containing 9% FBS into 96-well tissue culture plates. After a 24 h period of incubation, the culture medium was removed and replenished with 150 μ l of DMEM containing 2% FBS and various concentrations of the tested compounds (in duplicate). At final dilutions, the concentration of DMSO never exceeded 0.5%. Solvent controls were run simultaneously – these wells were set to represent 100% of viability in MTT assay and the level of spontaneous LDH release from cells. The maximal LDH release was established by cell lysis with 1% Triton X-100. Cells not treated with compounds or DMSO were used as control cells. Cells were then incubated for 2 days in a 5% CO₂ humidified atmosphere at 37°C. After treatment, 50 μ l of supernatant were carefully removed from each well without disturbing the cells and transferred into corresponding wells of another 96-well plate – this plate was immediately used for LDH assay. The original plate containing cells with 100 μ l of supernatant per well was used for MTT assay. MTT assay: Then, 10 μ l of MTT solution (5 μ g/ml in PBS) was added to each well and the plate was wrapped with aluminium foil and incubated for 2 h at 37°C. After this incubation, the mixture was removed and 100 μ l of DMSO was added to each well to dissolve formazan crystals. After gently shaking the plate for 20 min, the absorbance was measured on the Epoch™ Microplate Spectrophotometer (Biotek) at a test wavelength of 570 nm with a reference wavelength of 690 nm. The percentage of cell viability was calculated as [(compound treated sample) / (solvent control)] × 100. The 50% cytotoxic concentration (CC₅₀) was defined as the compound concentration (μ g/ml) required for the reduction of cell viability by 50% when compared to the solvent controls. The CC₅₀ values of each compound were calculated as the mean from two independent experiments using Prism 7 (GraphPad Software Inc.). LDH assay: The LDH assay reagent was freshly prepared according to the published protocol (Kaja *et al.*, 2015). Then, 50 μ l of assay reagent were added to each well of plate containing 50 μ l of supernatant and mixed briefly on

an orbital shaker. The plate was then incubated at room temperature in the dark for 1 h. After this incubation, 50 μ l of 1M acetic acid were added to each well to stop the reaction and stabilize the product. The absorbance was measured on the Epoch™ Microplate Spectrophotometer (Biotek) at a test wavelength of 490 nm with a reference wavelength of 650 nm. The percentage of cytotoxicity was calculated as [(compound treated sample – solvent control) / (maximum LDH release control – solvent control)] × 100.

Plaque reduction assay. Vero cells were seeded in 24-well tissue culture plates at 1.5×10^4 cells per well. Next day, the cells were infected with a viral inoculum of approximately 50 PFU/well. After 90 min of incubation at 37°C, residual viral particles were removed, and the wells were overlaid with 1 ml of 1% carboxymethylcellulose in normal growth media containing serial dilutions of the tested compounds (in duplicate). Solvent treatment was served as a negative control, while GCV (10 μ g/ml) was used as a positive control. After 6 days of incubation at 37°C and 5% CO₂, monolayers were fixed and stained with 0.2% crystal violet in 20% ethanol. The plaques were then counted microscopically. The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) was defined as the compound concentration (μ g/ml) required to reduce the plaque number by 50% when compared to the negative control wells. The IC₅₀ values of each compound were calculated as the mean from two independent experiments using Prism 7 (GraphPad Software Inc.).

Luciferase activity reduction assay. Vero cells were seeded at 2×10^4 cells per well in 96-well plate. After incubation overnight, the cells were infected with MHV-68/LUC at a MOI of 0.05. After 90 min adsorption at 37°C, the virus inoculum was removed, and 100 μ l of DMEM containing 2% FBS and noncytotoxic concentrations of the tested compounds (in duplicate) were added to each well. The infected cells treated with solvent were included as a negative control, while the infected cells with ACV (10 μ g/ml) or GCV (10 μ g/ml) were used as positive controls. After 2 days of incubation at 37°C and 5% CO₂, the plate was subjected to three freeze-thaw cycles to achieve complete cell lysis and centrifuged at 1000 × g for 10 min at 4°C. Then, 50 μ l of the supernatant were transferred into corresponding wells of a white opaque 96-well plate. Firefly luciferase assay reagent (2x) was prepared fresh before each use according to the previously published pro-

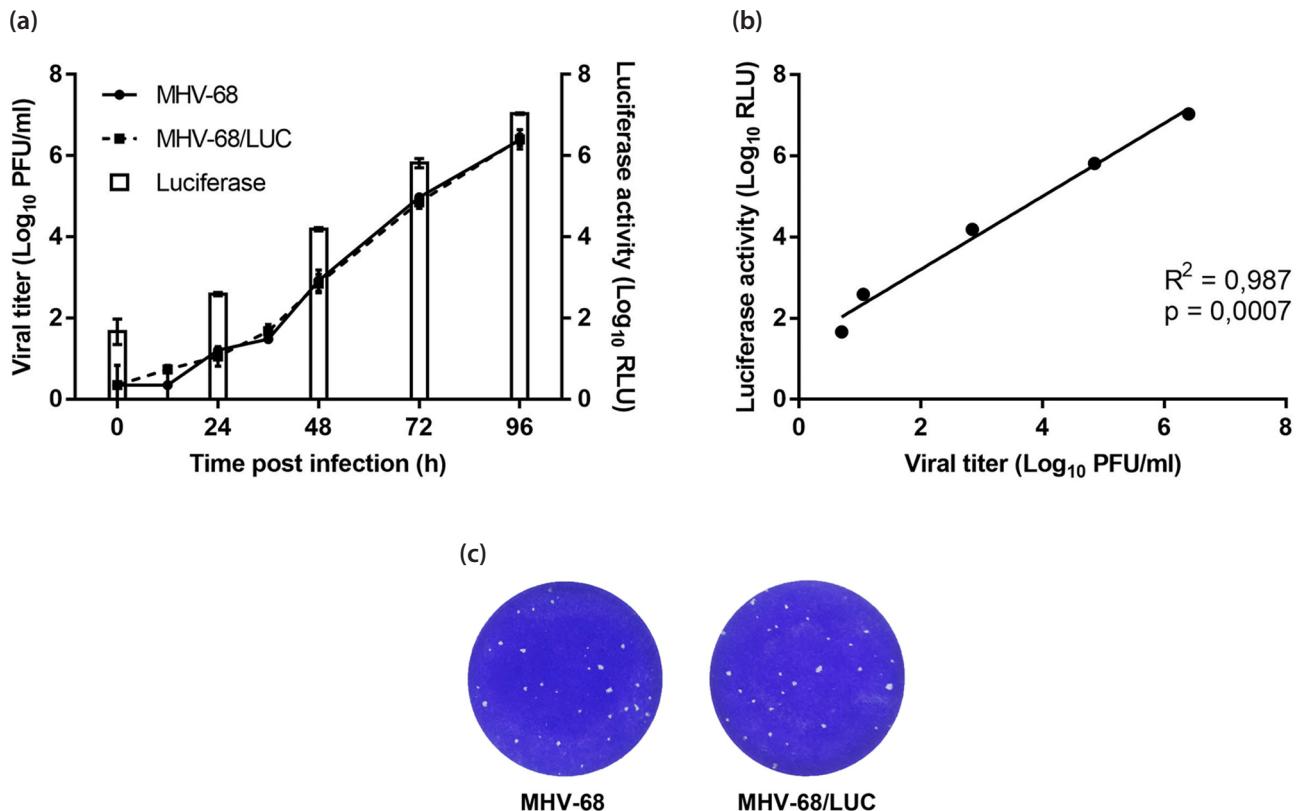


Fig. 1

Growth properties of recombinant MHV-68/LUC

(a) Multistep growth curves of MHV-68/LUC and MHV-68. Vero cells were infected at a MOI of 0.01 and incubated at 37°C. At the indicated time points, the cells and supernatants were collected and viral titers were determined by performing a plaque assay. Reporter activity level on day 0 post infection indicates background noise of the luminometer. (b) Linear correlation between MHV-68/LUC titers and luciferase activity (expressed as relative light units, RLU). Linear regression curve and coefficient of determination (R^2) are shown. (c) Plaque morphology of the wild type virus and the recombinant virus.

tocol (Oba *et al.*, 2003) with minor modifications – it contained 300 µg/ml D-Luciferin, 300 µM ATP, 500 µM coenzyme A and 10 mM MgCl₂ in 200 mM Tris-HCl pH 7.8. Luciferase activity was measured using Synergy™ H4 Hybrid Multi-Mode Microplate Reader (Biotek) with injector. Injection volume was 50 µl per well. Signal integration was for 10 s with delay settings of 2 s after each injection. The IC₅₀ value was defined as the compound concentration (µg/ml) required to reduce the luminescence signal by 50% when compared to the negative control wells. In order to demonstrate the reproducibility of the luciferase activity reduction assay, a series of at least two independent experiments were performed and the IC₅₀ values of each compound were calculated as the mean from these independent experiments using Prism 7 (GraphPad Software Inc.).

Statistical analysis. The results were processed using the software Prism 7 (GraphPad Software Inc.). All data were expressed as mean ± standard deviation (SD). To describe the cytotoxicity, cell viability and antiviral activity, one-way analysis of variance (ANOVA) with Dunnett's post hoc test was used.

Results and Discussion**Growth properties of recombinant virus in Vero cells**

To establish a novel screening system for antiviral activity against gammaherpesviruses, a recombinant MHV-68 that expresses the firefly luciferase under the control of the M3 viral promoter (MHV-68/LUC) was used. The M3 promoter is highly responsive to the replication and transcription activator (Rta) (Martinez-Guzman *et al.*, 2003). The Rta protein encoded by ORF50 of MHV-68 transactivates viral gene expression, triggering the lytic replication cycle (Liu *et al.*, 2000). M3 transcripts are abundantly expressed during lytic replication of MHV-68 *in vitro* (Martinez-Guzman *et al.*, 2003). Thus, the infection of cells with MHV-68/LUC enables quantitation of viral replication by determining the luciferase activity in a luminometer (Hwang *et al.*, 2008).

MHV-68/LUC was constructed by inserting the M3 promoter-driven luciferase expression cassette at the left end

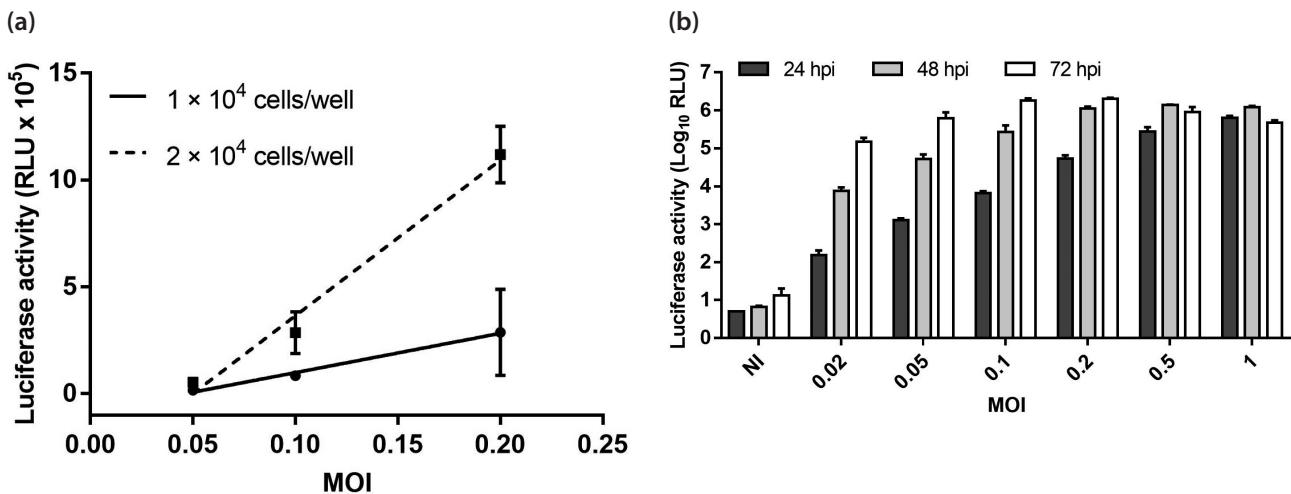


Fig. 2

Optimization of the MHV-68/LUC infection conditions for the novel assay

(a) Correlation between luminescent signal and seeding cell density. Vero cells (1×10^4 or 2×10^4 cells/well) were infected with MHV-68/LUC at indicated MOIs and luciferase activity in relative light units (RLU) was measured 48 h post infection. Data represent the mean \pm SD of two independent experiments, each performed in triplicate. (b) Correlation between luminescent signal and multiplicity of infection (MOI) at different times post infection. Vero cells were infected with MHV-68/LUC at varying MOIs and luciferase activity in relative light units (RLU) was measured at 24, 48 and 72 hpi. Reporter activity levels in non-infected cells (NI) indicate background noise of the luminometer. Data represent the mean \pm SD of two independent experiments, each performed in triplicate.

of the viral genome according to the previously described procedure (Hwang *et al.*, 2008). Multistep growth curve experiments were conducted to compare the growth kinetics of the recombinant virus with the wild-type virus (Fig. 1). The growth of the recombinant virus in Vero cells was also monitored under a light microscope and typical CPE was observed. The replication kinetics of MHV-68/LUC and MHV-68 were nearly identical (Fig. 1a) and viruses produced plaques of similar sizes (Fig. 1c). In addition, the samples collected during the growth curve of MHV-68/LUC were also used to determine the activity of the expressed firefly luciferase. A direct relationship between luciferase activity and viral titers of MHV-68/LUC measured by a plaque assay was confirmed by regression analysis (Fig. 1b), demonstrating that the luminescent signal can accurately reflect the replication of MHV-68/LUC *in vitro*.

Optimization of MHV-68/LUC infection conditions for antiviral screening assay

In order to obtain a sufficiently strong luminescent signal, it was necessary to identify the appropriate conditions for MHV-68/LUC infection in Vero cells. We investigated the optimal seeding cell density, the optimal MOI, and the ideal incubation time for an *in vitro* antiviral screening assay. Vero cells were seeded in 96-well plates at the density of 1×10^4 or 2×10^4 cells per well. Next day, cells were infected with MHV-68/LUC at varying MOIs. At 48 hours post infection (hpi),

plates were subjected to three freeze-thaw cycles, centrifuged and the luciferase activity in supernatants was measured. As expected, the luminescence signal positively correlated with the cell number and the virus dose used (Fig. 2a). The cell density of 2×10^4 cells per well was selected for the novel assay. To further optimize the assay, 2×10^4 Vero cells/well were infected with MHV-68/LUC at MOIs ranging from 0.02 to 1. The infected cells were monitored daily for the development of viral CPE and luciferase activity was measured at 24, 48 and 72 hpi. Luminescent signal correlated well with the increasing MOI and the signal intensity also increased over time post infection (Fig. 2b). In antiviral activity studies, it is advisable to use lower MOIs in order to avoid rapid cell destruction and to enable the detection of the inhibition of virus spread within the cell culture (Marschall *et al.*, 2000; Postnikova *et al.*, 2018). Moreover, the purpose of this study was to develop a rapid assay system for measuring the antiviral activity. Therefore, the optimal experimental conditions were determined as MOI of 0.05 and incubation for 48 h. Under these conditions, the signal-to-noise ratio was high (8.3×10^3) and characteristic viral CPE in Vero cells was observed.

Validation of the luciferase activity reduction assay by known antiherpetic agents

A novel optimized assay was verified using two antiherpetic agents. Since ACV and GCV have been shown to efficiently inhibit the MHV-68 replication *in vitro* (Sunil-

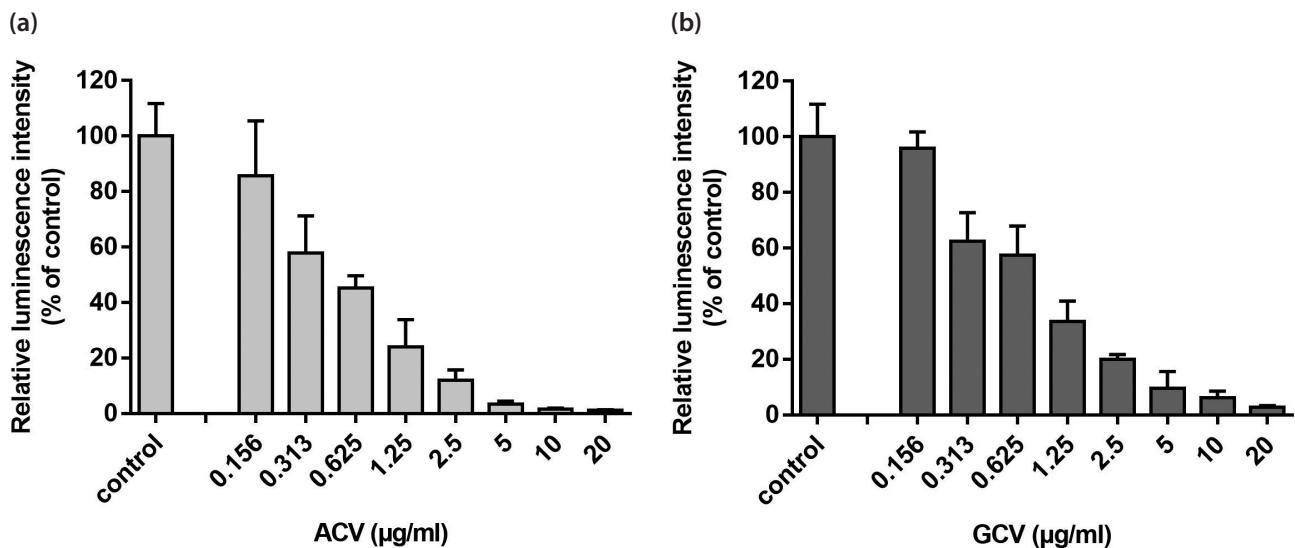


Fig. 3

In vitro antiviral testing using MHV-68/LUC as a tool

Vero cells were infected with MHV-68/LUC at the MOI of 0.05 and the infected cells were incubated in the presence of serial dilutions of (a) acyclovir (ACV) or (b) ganciclovir (GCV) in duplicate. The luciferase activity was measured 48 hpi using an automatic plate luminometer. Solvent-treated infected cells were set to represent 100% of the luciferase activity (control). The data are normalized to solvent control, and the mean \pm SD for the results of two independent experiments are shown.

Table 2. Cytotoxicity and antiviral activity of selected compounds against MHV-68/LUC in Vero cells.

Compounds	MTT assay		Plaque reduction assay		Luciferase activity reduction assay	
	CC ₅₀ (μg/ml) ^a	IC ₅₀ (μg/ml) ^a	SI	IC ₅₀ (μg/ml) ^a	SI	
Acyclovir	>250	1.431 \pm 0.097	>175	0.493 \pm 0.041	>507	
Ganciclovir	>250	2.798 \pm 0.316	>89	0.724 \pm 0.056	>345	
Q4	19.12 \pm 0.954	4.875 \pm 0.594	4	1.760 \pm 0.321	11	

^aValues represent the mean \pm SD of two independent experiments. CC₅₀ = concentration required to reduce cell viability by 50%; IC₅₀ = concentration required to reduce plaque formation or luciferase activity by 50%; SI = selectivity index (ratio of CC₅₀/IC₅₀).

Chandra *et al.*, 1994; Smee *et al.*, 1997; Neyts and De Clercq, 1998; Coen *et al.*, 2013), these inhibitors were selected for the assay validation. ACV and GCV belong to the group of purine acyclic nucleoside analogues (De Clercq, 2013). A dose-dependent inhibition of the luciferase activity was observed following treatment of the MHV-68/LUC infected Vero cells with serial dilutions of ACV (Fig. 3a) or GCV (Fig. 3b), while no obvious cytotoxicity was detected for either drug at the highest concentrations tested (Table 2). Reduction of luciferase activity in MHV-68/LUC-infected cells treated with the two compounds allowed the determination of IC₅₀ values for both inhibitors. For ACV, the observed IC₅₀ value was 0.493 \pm 0.041 μg/ml. The IC₅₀ value of GCV was 0.724 \pm 0.056 μg/ml. Consistent with the previously published studies (Neyts and De Clercq, 1998; Coen

et al., 2013), virus was more susceptible to ACV than GCV *in vitro*. To compare the luciferase activity reduction assay with a conventional method, IC₅₀ values of ACV and GCV were also determined by the plaque reduction assay. The observed IC₅₀ values, 1.431 \pm 0.097 and 2.798 \pm 0.316 μg/ml for ACV and GCV, respectively, were in the same range as those determined by the novel assay. Table 2 summarizes the CC₅₀ and IC₅₀ values of the inhibitors in these antiviral assays. Slightly lower IC₅₀ values obtained using luciferase activity reduction assay indicate a high sensitivity of the novel assay (Marschall *et al.*, 2000). The variation in IC₅₀ values may possibly be related to the subjective nature of the plaque reduction assay. Moreover, the usage of the classical plaque reduction assay does not take into account the size of plaques. Another disadvantage of the plaque reduction assay is the

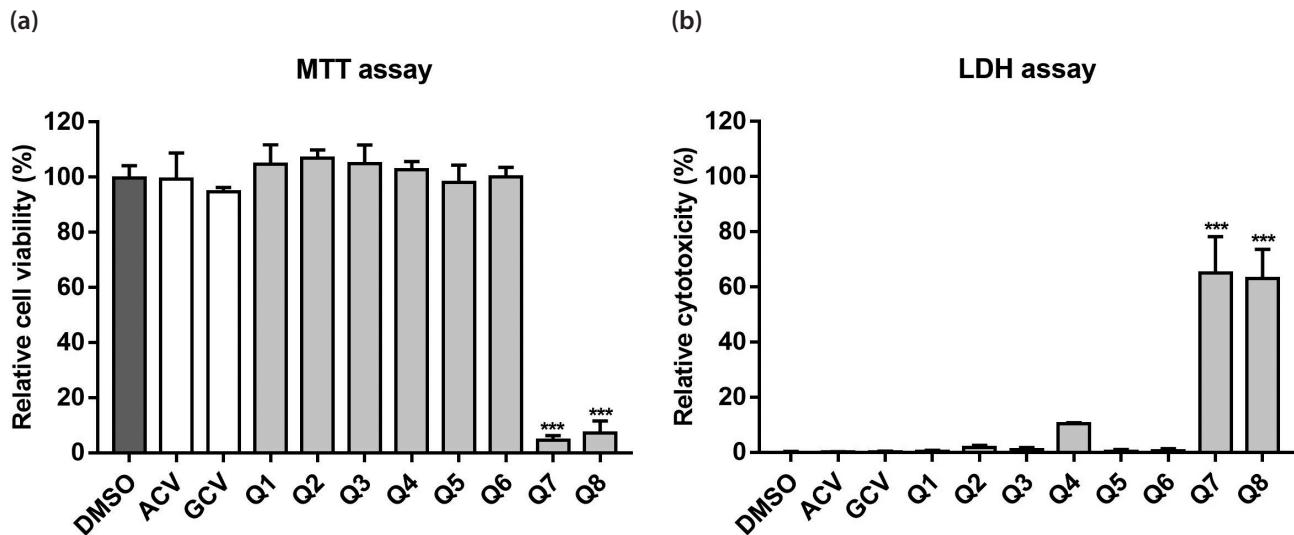


Fig. 4

Cytotoxicity data of novel quinolone/quinoline derivatives in Vero cells

Vero cells were treated with various compounds (10 µg/ml) for 48 h. Relative cell viability was determined by (a) MTT assay, while relative cytotoxicity was determined by (b) LDH assay, as described in Materials and Methods. Data are presented as mean ± SD of two independent experiments, each performed in duplicate. Statistical analysis of the data was performed using one-way ANOVA, followed by Dunnett's post hoc test for multiple comparisons. Statistically significant differences between the solvent control (DMSO) and the treatment groups are indicated by asterisks: ***P ≤ 0.001.

impossibility of determining the amount of viral replication within single cell. Not infrequently, the end-point of the test shows enlarged cells without spread of the virus to adjacent cells (He *et al.*, 2011). However, the above shortcomings of plaque reduction assay can be successfully overcome by using the sensitive luciferase-based method. Taken together, our results suggest that the luciferase activity reduction assay is applicable for screening of antiviral compounds against gammaherpesviruses and, importantly, is superior to conventional antiviral screening assays.

Evaluation of the cytotoxicity of newly synthesized quinolone/quinoline derivatives

Effective antiviral compounds should specifically inhibit one or more steps of virus replication without adversely affecting the host cell metabolism (De Clercq, 1982). Therefore, assessment of the cytotoxicity is an important part of the evaluation of a potential antiviral agent. One of the most widely used cytotoxicity or cell proliferation assays is the MTT assay, which is a quantitative colorimetric assay. The assay assesses mitochondrial cellular function based on the enzymatic reduction of the tetrazolium salt MTT by the mitochondrial dehydrogenases in viable cells. Another commonly used assay is the LDH assay. This colorimetric method is based on measuring the activity of cytoplasmic enzyme LDH released into cell culture medium by damaged or lysed cells (Fotakis and Timbrell, 2006).

In this study, a total of 8 compounds, newly synthesized quinolone/quinoline derivatives (Table 1), were subjected to cytotoxicity assays. Vero cells were incubated in the presence of tested compounds at a single concentration of 10 µg/ml, as it was the maximum compound concentration possible to keep final DMSO content non-cytotoxic. After 48 hours of incubation, cell viability was evaluated by MTT assay. Most compounds did not affect the cell viability, while compounds Q7 and Q8 significantly reduced number of viable Vero cells (Fig. 4a). In order to determine if the reduction in cell viability obtained with MTT assay was due to cytotoxicity or antiproliferative activity, the LDH assay was also performed. High accumulation of LDH in media was observed after treatment of Vero cells with compounds Q7 and Q8, demonstrating the significant cytotoxic effects of these compounds (Fig. 4b). Therefore, we did not include these cytotoxic compounds in further experiments.

Evaluation of antiviral activity of newly synthesized quinolone/quinoline derivatives against MHV-68 in vitro

The effect of noncytotoxic compounds on the gammaherpesvirus replication *in vitro* was examined using luciferase activity reduction assay. Vero cells were treated with 10 µg/ml of compounds after infection with MHV-68/LUC at a MOI of 0.05. DMSO treatment was served as a negative control, while ACV and GCV were included as positive controls. Luciferase activity was measured at 48 hpi. Compound Q4 (Fig. 5)

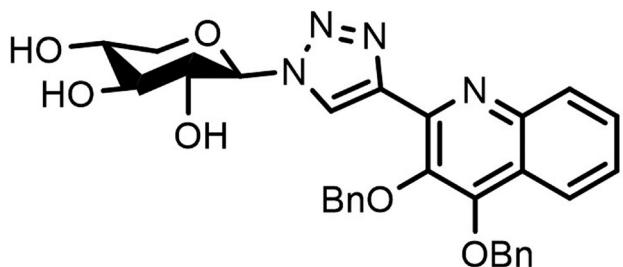


Fig. 5

Chemical structure of compound Q4
2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzoyloxy-quinoline.

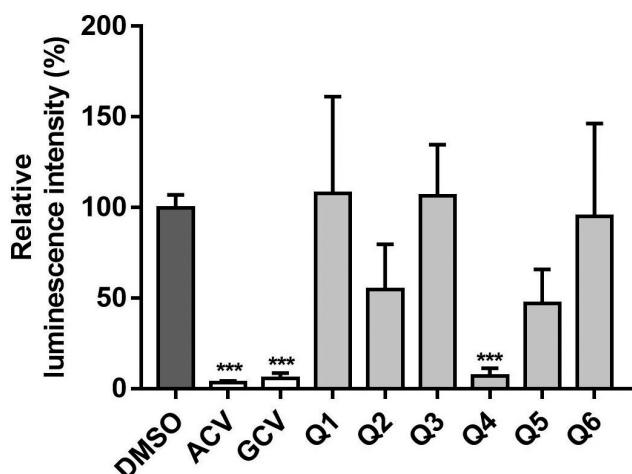


Fig. 6

Screening of novel quinolone/quinoline derivatives for antiviral activity against MHV-68/LUC

The compounds were screened for antiviral activity using luciferase activity reduction assay, as described in Materials and Methods. Briefly, Vero cells were infected with MHV-68/LUC at the MOI of 0.05 and infected cells were treated with various compounds at the concentration of 10 μ g/ml. After 48 h of incubation, luciferase activity was measured. Values were then normalized to solvent control (DMSO). Data are presented as mean \pm SD of three independent experiments, each performed in duplicate. Statistical analysis of the data was performed using one-way ANOVA, followed by Dunnett's post hoc test for multiple comparisons. Statistically significant differences between the solvent control (DMSO) and the treatment groups are indicated by asterisks: ***P \leq 0.001.

was consistently identified with significant antiviral activity against MHV-68/LUC from three independent screenings (Fig. 6). To quantify the antiviral effect, the inhibition rates of compound Q4 at different concentrations were determined and IC₅₀ value was calculated using nonlinear regression analysis. The inhibitory effect of compound Q4 showed dose-dependent pattern (Fig. 7). The IC₅₀ of compound Q4 against MHV-68/LUC was estimated to be 1.760 \pm 0.321 μ g/ml.

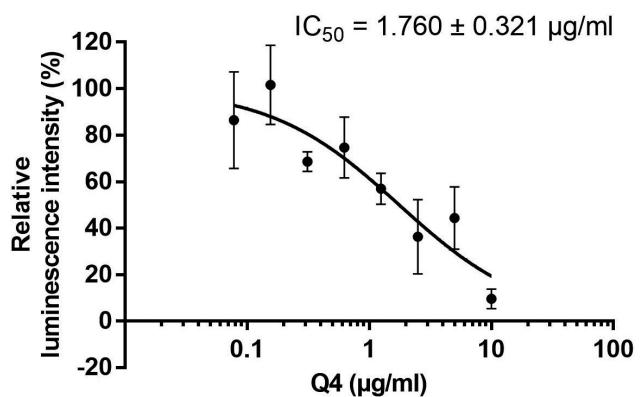


Fig. 7

A dose-response curve for compound Q4

The antiviral activity of the compound Q4 against MHV-68/LUC was determined by luciferase activity reduction assay, as described in Materials and Methods. Briefly, Vero cells were incubated with increasing amounts of compound Q4 ranging from 0.078 μ g/ml to 10 μ g/ml after MHV-68/LUC infection. After 48 h of incubation, luciferase activity was measured. Relative levels of luminescence intensity were calculated as a percentage of levels in solvent-treated infected cells. Data are presented as mean \pm SD of two independent experiments, each performed in duplicate. The IC₅₀ value was defined as the concentration of compound Q4 required to reduce luciferase activity by 50%.

In some cases, newly synthesized compounds can quench the luminescence without inhibiting viral replication (Zhang *et al.*, 2016). Therefore, after the initial screening of novel compounds using the luciferase activity reduction assay and identification of active compounds, it is recommended to confirm the antiviral activity of identified compounds using a second assay.

In addition to luciferase activity reduction assay, compound Q4 was also tested in the plaque reduction assay. MHV-68 infected cells were treated with serial dilutions of the compound Q4 for 6 days. Compound Q4 reduced the plaque number and the plaque size in the dose-dependent manner (Fig. 8). The IC₅₀ value for compound Q4 obtained with plaque reduction assay was within 3-fold of the IC₅₀ value determined by luciferase activity reduction assay (Table 2), indicating that MHV-68/LUC can serve as antiviral screening tool.

Taken together, these results demonstrate that compound Q4 has strong antiviral activity against MHV-68 *in vitro*. Compound Q4 also exhibited inhibitory effect against Gram-positive bacterial strains (Šamšulová *et al.*, 2019). It seems that combining di-O-benzyl protected quinoline (compound Q8) with xylosyl moiety led to the loss of cytotoxic activity of the compound and to the improvement of its antibacterial and antiviral effects. Therefore, a novel synthetic route to 2-substituted-3-hydroxyquinolone conjugates paves the way for extending the range of new biologically active derivatives (Šamšulová *et al.*, 2019).

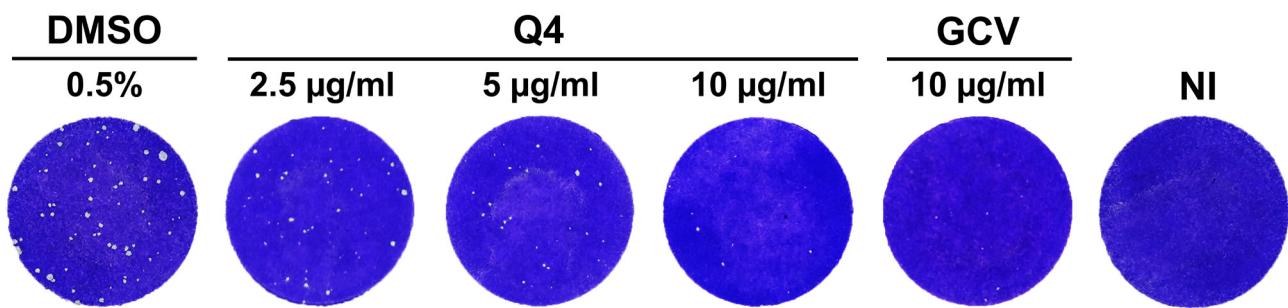


Fig. 8

Plaque reduction assay of compound Q4 against MHV-68

Vero cells were infected with MHV-68 (50 PFU/well) and infected cells were covered with overlay media containing serial two-fold dilutions of compound Q4. Solvent treatment (DMSO) served as a negative control, while ganciclovir (GCV) was used as a positive control. Non-infected cells (NI) incubated with overlay media alone were used as control cells. After 6 days of incubation, plaques were visualized by crystal violet staining.

Determination of selectivity index of compound Q4

The potency of antiviral agents is estimated by the ratio of CC_{50} and IC_{50} . This relationship is called *in vitro* selectivity index (SI). The SI value of an antiviral agent must be at least in the range of 100 to 1000 to indicate useful effect on viral inhibition in animal experiments (Omura, 1992). The compound Q4 was found to have low SI value (Table 2), thus it was not suitable for *in vivo* testing in animal model.

Conclusion

A novel antiviral screening assay for identifying compounds with activity against gammaherpesviruses has been developed. The luciferase activity reduction assay yielded similar data as the plaque assay, but its performance, especially the rapidity, was superior. Moreover, measurements using automated microplate luminometer are objective, quick and conducive to handling large number of plates during screening.

Acknowledgments. The authors thank prof. Ren Sun for donating plasmids and *Escherichia coli* strains for recombinant virus construction and Dr. Anna Kostrábová for contributing helpful ideas. This work was supported by the Scientific Grant Agency of Ministry of Education of Slovak Republic and Slovak Academy of Sciences (project VEGA No. 1/0617/15) and Development of novel synthetic methods for preparation of novel biological active compounds (project IGA_PrF_2018_29).

References

Ahmed A, Daneshlab M (2012): Nonclassical biological activities of quinolone derivatives. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 15, 52–72. <https://doi.org/10.18433/J3302N>

- Barnes A, Dyson H, Sunil-Chandra NP, Collins P, Nash AA (1999): 2'-deoxy-5-ethyl-beta-4'-thiouridine inhibits replication of murine gammaherpesvirus and delays the onset of virus latency. *Antivir. Chem. Chemother.* 10, 321–326. <https://doi.org/10.1177/095632029901000603>
- Barry MA, May S, Weaver EA (2012): Imaging luciferase-expressing viruses. *Methods Mol. Biol.* 797, 79–87. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-340-0_6
- Blaškovič D, Stančeková M, Svobodová J, Mistriková J (1980): Isolation of five strains of herpesviruses from two species of free living small rodents. *Acta Virol.* 24, 468.
- Cesarman E (2014): Gammaherpesviruses and lymphoproliferative disorders. *Annu. Rev. Pathol.* 9, 349–372. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012513-104656>
- Cho HJ, Jeong SG, Park JE, Han JA, Kang HR, Lee D, Song MJ (2013): Antiviral activity of angelicin against gammaherpesviruses. *Antiviral Res.* 100, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.07.009>
- Coen N, Duraffour S, Snoeck R, Andrei G (2014): KSHV Targeted Therapy: An Update on Inhibitors of Viral Lytic Replication. *Viruses* 6, 4731–4759. <https://doi.org/10.3390/v6114731>
- Coen N, Singh U, Vuyyuru V, Van Den Oord JJ, Balzarini J, Duraffour S, Snoeck R, Cheng YC, Chu CK, Andrei G (2013): Activity and Mechanism of Action of HDVD, a Novel Pyrimidine Nucleoside Derivative with High Levels of Selectivity and Potency against Gammaherpesviruses. *J. Virol.* 87, 3839–3851. <https://doi.org/10.1128/JVI.03338-12>
- Dalhoff A (2015): Antiviral, antifungal, and antiparasitic activities of fluoroquinolones optimized for treatment of bacterial infections: a puzzling paradox or a logical consequence of their mode of action? *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 34, 661–668. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2296-3>
- De Clercq E (1982): Specific targets for antiviral drugs. *Biochem. J.* 205, 1–13. <https://doi.org/10.1042/bj2050001>
- De Clercq E (2013): Selective anti-herpesvirus agents. *Antivir. Chem. Chemother.* 23, 93–101. <https://doi.org/10.3851/IMP2533>

- Dittmer DP, Damania B (2016): Kaposi sarcoma-associated herpesvirus: immunobiology, oncogenesis, and therapy. *J. Clin. Invest.* 126, 3165–3175. <https://doi.org/10.1172/JCI84418>
- Fotakis G, Timbrell JA (2006): In vitro cytotoxicity assays: comparison of LDH, neutral red, MTT and protein assay in hepatoma cell lines following exposure to cadmium chloride. *Toxicol. Lett.* 160, 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.07.001>
- He R, Sandford G, Hayward GS, Burns WH, Posner GH, Forman M, Arav-Boger R (2011): Recombinant luciferase-expressing human cytomegalovirus (CMV) for evaluation of CMV inhibitors. *Virol. J.* 8, 40–46. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-40>
- Hoenen T, Groseth A, Callison J, Takada A, Feldmann H (2013): A novel Ebola virus expressing luciferase allows for rapid and quantitative testing of antivirals. *Antiviral Res.* 99, 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.05.017>
- Hwang S, Wu TT, Tong LM, Kim KS, Martinez-Guzman D, Colantonio AD, Uittenbogaart CH, Sun R (2008): Persistent gammaherpesvirus replication and dynamic interaction with the host in vivo. *J. Virol.* 82, 12498–12509. <https://doi.org/10.1128/JVI.01152-08>
- Jha HC, Banerjee S, Robertson ES (2016): The Role of Gammaherpesviruses in Cancer Pathogenesis. *Pathogens* 5, pii: E18. <https://doi.org/10.3390/pathogens5010018>
- Kaja S, Payne AJ, Singh T, Ghuman JK, Sieck EG, Koulen P (2015): An optimized lactate dehydrogenase release assay for screening of drug candidates in neuroscience. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 73, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2015.02.001>
- Kang HR, Cho HJ, Kim S, Song IH, Lee TS, Hwang S, Sun R, Song MJ (2012): Persistent infection of a gammaherpesvirus in the central nervous system. *Virology* 423, 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2011.11.012>
- Kang S, Im K, Kim G, Min H (2017): Antiviral activity of 20(R)-ginsenoside Rh2 against murine gammaherpesvirus. *J. Ginseng Res.* 41, 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2016.08.010>
- Kang S, Song MJ, Min H (2018): Antiviral activity of ginsenoside Rg3 isomers against gammaherpesvirus through inhibition of p38- and JNK-associated pathways. *J. Funct. Foods* 40, 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.11.011>
- Kutok JL, Wang F (2006): Spectrum of Epstein-Barr virus-associated diseases. *Annu. Rev. Pathol.* 1, 375–404. <https://doi.org/10.1146/annurev.pathol.1.110304.100209>
- Lee S, Salwinski L, Zhang C, Chu D, Sampanganpanich C, Reyes NA, Vangeloff A, Xing F, Li X, Wu TT, Sahasrabudhe S, Deng H, Lacount DJ, Sun R (2011): An integrated approach to elucidate the intra-viral and viral-cellular protein interaction networks of a gamma-herpesvirus. *PLoS Pathog.* 7, e1002297. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002297>
- Li P, Cui Q, Wang L, Zhao X, Zhang Y, Manicassamy B, Yang Y, Rong L, Du R (2018): A Simple and Robust Approach for Evaluation of Antivirals Using a Recombinant Influenza Virus Expressing Gaussia Luciferase. *Viruses* 10, pii:E325. <https://doi.org/10.3390/v10060325>
- Liu S, Pavlova IV, Virgin HW, Speck SH (2000): Characterization of gammaherpesvirus 68 gene 50 transcription. *J. Virol.* 74, 2029–2037. <https://doi.org/10.1128/JVI.74.4.2029-2037.2000>
- Lo MK, Nichol ST, Spiropoulou CF (2014): Evaluation of luciferase and GFP-expressing Nipah viruses for rapid quantitative antiviral screening. *Antiviral Res.* 106, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.03.011>
- Marschall M, Freitag M, Weiler S, Sorg G, Stamminger T (2000): Recombinant Green Fluorescent Protein-Expressing Human Cytomegalovirus as a Tool for Screening Antiviral Agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44, 1588–1597. <https://doi.org/10.1128/AAC.44.6.1588-1597.2000>
- Martinez-Guzman D, Rickabaugh T, Wu TT, Brown H, Cole S, Song MJ, Tong L, Sun R (2003): Transcription program of murine gammaherpesvirus 68. *J. Virol.* 77, 10488–10503. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.19.10488-10503.2003>
- Medveczky MM, Sherwood TA, Klein TW, Friedman H, Medveczky PG (2004): Delta-9 tetrahydrocannabinol (THC) inhibits lytic replication of gamma oncogenic herpesviruses in vitro. *BMC Medicine* 2, 34. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-2-34>
- Milho R, Smith CM, Marques S, Alenquer M, May JS, Gillet L, Gaspar M, Efsthathiou S, Simas JP, Stevenson PG (2009): In vivo imaging of murid herpesvirus-4 infection. *J. Gen. Virol.* 90, 21–32. <https://doi.org/10.1099/vir.0.006569-0>
- Mistríková J, Rašlová H, Mrmusová M, Kúdelová M (2000): A murine gammaherpesvirus. *Acta Virol.* 44, 211–226.
- Neyts J, De Clercq E (1998): In vitro and in vivo inhibition of murine gamma herpesvirus 68 replication by selected antiviral agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42, 170–172. <https://doi.org/10.1128/AAC.42.1.170>
- Oba Y, Ojika M, Inouye S (2003): Firefly luciferase is a bifunctional enzyme: ATP-dependent monooxygenase and a long chain fatty acyl-CoA synthetase. *FEBS Lett.* 540, 251–254. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)00272-2](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)00272-2)
- Odumade OA, Hogquist KA, Balfour HH (2011): Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 24, 193–209. <https://doi.org/10.1128/CMR.00044-10>
- Omura S (1992): The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms. Springer, New York, 354 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4412-7>
- Pagano JS (1999): Epstein-Barr virus: the first human tumor virus and its role in cancer. *Proc Assoc. Am. Physicians* 111, 573–580. <https://doi.org/10.1046/j.1525-1381.1999.t01-1-99220.x>
- Pagano JS, Whitehurst CB, Andrei G (2018): Antiviral Drugs for EBV. *Cancers (Basel)* 10, pii: E197. <https://doi.org/10.3390/cancers10060197>
- Pellett PE, Roizman B (2013): Herpesviridae. In Knipe DM, Howley PM (Eds): *Fields Virology*. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins : Philadelphia, pp. 1802–1822.
- Postnikova E, Cong Y, DeWald LE, Dyall J, Yu S, Hart BJ, Zhou H, Gross R, Logue J, Cai Y, Deuliis N, Michelotti J, Honko AN, Bennett RS, Holbrook MR, Olinger GG, Hensley LE, Jahrling PB (2018): Testing therapeutics in cell-based assays: Factors that influence the apparent potency of

- drugs. PLoS One. 13, e0194880. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194880>
- Rameix-Welti MA, Le Goffic R, Hervé PL, Sourimant J, Rémot A, Riffault S, Yu Q, Galloux M, Gault E, Eléouët JF (2014): Visualizing the replication of respiratory syncytial virus in cells and in living mice. Nat. Commun. 5, 5104. <https://doi.org/10.1038/ncomms6104>
- Richter S, Parolin C, Palumbo M, Palù G (2004): Antiviral properties of quinolone-based drugs. Curr Drug Targets Infect. Disord. 4, 111–116. <https://doi.org/10.2174/1568005043340920>
- Šamšulová V, Poláková M, Horák R, Šedivá M, Kvapil L, Hradil P (2019): Synthetic approach to novel glycosyltriazole-3-hydroxyquinolone conjugates and their antimicrobial properties. J. Mol. Struct. 1177, 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.09.030>
- Shen L, Li Y, Chen J, Li C, Huang J, Luo Y, Sun Y, Li S, Qiu HJ (2014): Generation of a recombinant classical swine fever virus stably expressing the firefly luciferase gene for quantitative antiviral assay. Antiviral Res. 109, 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.06.006>
- Simas JP, Efstathiou S (1998): Murine gammaherpesvirus 68: a model for the study of gammaherpesvirus pathogenesis. Trends Microbiol. 6, 276–282. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(98\)01306-7](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(98)01306-7)
- Smee DF, Burger RA, Warren RP, Bailey KW, Sidwell RW (1997): An immunosuppressed mouse model of lethal murine gammaherpesvirus 68 infection for studying potential treatment of Epstein-Barr virus infection in man. Antivir Chem Chemother. 8, 573–581. <https://doi.org/10.1177/095632029700800612>
- Song BH, Lee GC, Lee CH (2000): Measurement of antiviral activities using recombinant human cytomegalovirus. J. Microbiol. 38, 255–259.
- Stewart JP (1999): Of mice and men: murine gammaherpesvirus 68 as a model. EBV Rep. 6, 31–35.
- Sunil-Chandra NP, Efstathiou S, Nash AA (1994): The effect of acyclovir on the acute and latent murine gammaherpesvirus-68 infection of mice. Antivir Chem Chemother. 5, 290–296. <https://doi.org/10.1177/095632029400500502>
- Svobodová J, Blaškovič D, Mistríková J (1982): Growth characteristics of herpeviruses isolated from free living small rodents. Acta Virol. 26, 256–263.
- Zhang H, Bai H, Jiang T, Ma Z, Cheng Y, Zhou Y, Du L, Li M (2016): Quenching the firefly bioluminescence by various ions. Photochem. Photobiol. Sci. 15, 244–249. <https://doi.org/10.1039/C5PP00432B>
- Zou G, Xu HY, Qing M, Wang QY, Shi PY (2011): Development and characterization of a stable luciferase dengue virus for high-throughput screening. Antiviral Res. 91, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.05.001>

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické chemie



Univerzita Palackého
v Olomouci



Katedra Organické
Chemie

Syntéza a biologická aktivita

2-substituovaných-3-hydroxy-4(*1H*)-chinolonů

AUTOREFERÁT

Autor:

Mgr. Veronika Králová (*roz.* Šamšulová)

Vedoucí:

prof. Ing. Pavel Hradil, CSc.

Konzultant:

Ing. Radim Horák

Olomouc 2020

Disertační práce byla prováděna na základě výzkumu v rámci studijního programu P1417 Chemie (obor Organická chemie) na Katedře organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

Autor (Ph.D. kandidát): **Mgr. Veronika Králová (roz. Šamšulová)**
Katedra Organické chemie, Přírodovědecká
fakulta, Univerzita Palackého Olomouc

Vedoucí: **prof. Ing. Pavel Hradil, CSc.**
Katedra Organické chemie, Přírodovědecká
fakulta, Univerzita Palackého Olomouc

Konzultant: **Ing. Radim Horák**
Katedra Organické chemie, Přírodovědecká
fakulta, Univerzita Palackého Olomouc

Oponenti: **doc. Ing. Stanislav Rádl, CSc.**
Ústav Organické chemie, Vysoká škola
chemicko-technologická v Praze
prof. RNDr. Milan Potáček, CSc.
Ústav chemie, Přírodovědecká fakulta,
Masarykova Univerzita Brno

Autoreferát byl předložen dne 2020

Obhajoba se bude konat dne před stanovenou komisí na
Katedře organické chemie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého
v Olomouci, tř. 17. listopadu 12, Olomouc.

Disertační práce je přístupná na Katedře organické chemie, Přírodovědecké
fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci, tř. 17. listopadu 12, Olomouc a
online <http://portal.upol.cz>.

Abstrakt

Tato disertační práce je zaměřena na vývoj nových syntetických metod pro přípravu 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Substitucí v poloze C2 je alkyl, aryl, ale také heteroaryl. 3-Hydroxychinolin-4(1*H*)-ony s heterocyklem v poloze C2, nejsou příliš známé. Jelikož jsou v literatuře popsány pouze tři práce, zabývající se přípravou látek tohoto typu, je velká část disertační práce věnována právě metodice příprav 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. Syntéza těchto látek je založena na transformacích připravených intermediátů 2-alkynyl-chinolinů a chinolin-2-karbaldehydů.

Hlavní část experimentální práce využívá reaktivitu trojně vazby 2-alkynyl-chinolinů, kdy bylo pomocí „click“ reakcí a Sonogashira cross-couplingu připraveno několik sérií cílových derivátů. Navíc, kromě syntézy 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, byl nalezen a následně také vyvinut nový způsob přípravy furo[3,2-*b*]chinolonů. U připravených derivátů bylo provedeno i biologické testování, kdy byla zjišťována antibakteriální a antivirová aktivita. Součástí experimentální práce bylo i poměrně rozsáhlé testování antivirové aktivity na Virologickém ústavu Slovenské Akademie Vied v Bratislavě.

Abstract

The presented thesis was focused on the development of new synthetic strategies for preparation of 2-substituted-3-hydroxyquinolin-4(*IH*)-ones. Substituents in position C2 were alkyl, aryl and also heteroaryl. In addition, 3-hydroxyquinolin-4(*IH*)-ones containing heterocyclic moiety in position C2 are rare. Since the literature describes only three papers dealing with synthesis of such compounds, a large part of the dissertation is devoted to the methodology of 2-heteroaryl-3-hydroxyquinolin-4(*IH*)-one preparations. Synthesis of these compounds is based on transformations of prepared intermediates 2-alkynyl-quinolines and quinoline-2-carbaldehydes.

The main part of the experimental work utilizes the reactivity of the triple bond of 2-alkynyl-quinolines, where several series of target derivatives were prepared by means of "click" reactions and Sonogashira cross-coupling. In addition to the synthesis of 2-heteroaryl-3-hydroxyquinolin-4(*IH*)-ones, a new process for the preparation of furo[3,2-*b*]quinolones has also been developed. Biological testing was performed on prepared derivatives, where antibacterial and antiviral activities were tested. Part of the experimental work was also relatively extensive testing of antiviral activity at the Institute of Virology of the Slovak Academy of Sciences in Bratislava.

Obsah

1	Cíl práce	6
2	Úvod.....	7
3	Výsledky a diskuze.....	10
3.1	Syntéza klíčových intermediátů.....	10
3.2	Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí 1,3-dipolární cykloadice.....	13
3.3	Syntéza 2-substituovaných chinolonů vycházející z aldehydu ..	19
3.4	Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí Sonogashira cross- couplingu	22
4	Výsledky biologického testování	31
4.1	Antimikrobiální aktivita	31
4.2	Antivirová aktivita.....	32
5	Závěr	36
6	Reference.....	39

1 Cíl práce

1. Vypracovat literární rešerši týkající se syntézy derivátů chinolonů, případně chinolinů, obsahujících v molekule heterocyklus.
2. Vyvinout nové syntetické přístupy pro přípravu C2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, se zaměřením na C2-heterocyklické deriváty a jejich intermediátů.
3. Stanovení biologické aktivity nově připravených derivátů.

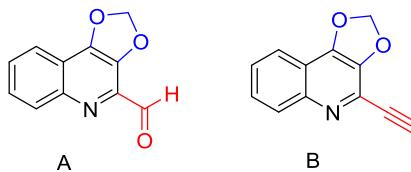
2 Úvod

Syntéza 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1H)-onů cyklizací fenacylesterů byla poprvé popsána roku 1995.¹ Od té doby jsou tyto látky intenzivně studovány zejména pro své biologické aktivity,^{2,3} zajímavé jsou ale také jejich fluorescenční vlastnosti.^{4–7} Postupně byly popsány další cyklizace substituovaných fenacylesterů,^{8–11} jsou však známy i jiné přípravy těchto látek, např. z chalkonů,^{12,13} nebo zlatem katalyzovaná reakce alkynyl ketonů.¹⁴ Dalším příkladem je tzv. „one-pot“ reakce, kdy dochází v jednom kroku k tvorbě fenacylesteru a následné cyklizaci za použití mikrovlnného záření.¹⁵ Takto jsou syntetizovány deriváty, které mají v poloze C2 aromát nebo alkyl. Deriváty obsahující heterocyklus v poloze C2 jsou však v literatuře popsány relativně vzácně. V naší výzkumné skupině byly takovéto chinolony připraveny již dříve, cyklizací heterocyklických analogů fenacylesterů,¹⁶ a byla u nich zjištěna zajímavá antiprotozoální a antivirová aktivita, výsledky bohužel nebyly publikovány. Tato metoda se však neosvědčila pro přípravu látek, které měly v poloze C2 heterocyklus obsahující dusíkové atomy např. pyridin, imidazol apod.

Dále byla v naší skupině rozpracována metodika pro přípravu C2 substituovaných derivátů, která vycházela z 2-methyl-3-hydroxychinolin-4(1H)-onu. Následné transformace využívaly především kyslosti vodíků methylové skupiny, díky tomu byly do polohy C2 zavedeny alkyly, fenyl a (hetero)aryly. U některých derivátů byla naměřena antibakteriální aktivita včetně kmenu *M. luteus* srovnatelná s ciprofloxacinem.¹⁷ Ve zmíněné práci je také popsána příprava intermediátů obsahujících v poloze C2 aldehyd nebo terminální alkyn (Obrázek 1). Tyto látky byly v této disertační práci

využívány jako výchozí komponenty pro zavedení arylu nebo heterocyklu do polohy C2.

Syntetické cesty vedoucí k 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1H)-onům byly navrženy podle obsažené funkční skupiny výchozího intermediátu. Tyto postupy zahrnovaly např. kondenzační reakce, mědí katalyzované „click“ reakce nebo Sonogashira cross-couplingové reakce.



Obrázek 1. Intermediáty připravené dříve, sloužící jako výchozí reakční komponenty.

Ne vždy však byla protektivní methylenová skupina kompatibilní s reakčními podmínkami, a proto byly připraveny intermediáty, s benzylovou chránící skupinou, kterou lze odstranit např. hydrogenolyticky.

Samotná experimentální práce se nejvíce zaměřuje na tři stěžejní úkoly. Prvním úkolem byla příprava konjugátů chinolonu s triazolo-sacharidy pomocí „click“ reakce. U této látek byla ve spolupráci se Slovenskou Akadémií Vied měřena antimikrobiální aktivita vůči speciálnímu bakteriálnímu kmenu *P. larvae*. Navíc, byla nalezena zajímavá antivirová aktivita vůči gammaherpes viru MHV-68. Dále byla zkoumána reaktivita terminálního alkynu při Sonogashira cross-couplingu. Touto metodou byly

do polohy C2 zavedeny substituované aromáty a nejrůznější heterocykly. Na tuto část experimentální práce navazuje syntéza furo[3,2-*b*]chinolonů. Příprava těchto látek je v literatuře popsána poměrně málo, využívá se cyklizace v PPA za vysokých teplot nebo působením mikrovlnného záření.^{18–21} Pomocí nové metodiky, která je založena na cyklizaci 2-alkynyl-chinolinů v MSA, se podařilo získat substituované furo[3,2-*b*]chinolony. Vybrané deriváty byly podrobeny *in vitro* a *in vivo* testování vůči chřipkovému viru typu Influenza A. Nicméně, na testovaných virech se pomocí použitých experimentů nepodařilo prokázat antivirový účinek u žádné z testovaných látek.

V práci je uveden také nespočet negativních výsledků, kdy se některé z navržených syntéz nepodařilo dokončit a to např. vlivem charakteru látek (polarita, rozpustnost) nebo jejich špatné reaktivity. V jiném případě byla připravena celá série 2-heteroaryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů, pomocí jednoduché metodiky. Avšak připravené látky byly tak nerozpustné, že nebylo možné získat kompletní analytická data pro jejich charakterizaci.

Na základě získaných výsledků biologické aktivity jednotlivých derivátů naše skupina pokračuje v hledání nových derivátů. Navíc, omezená metodika přípravy vedoucí k C2 heterocyklickým chinolonům dává prostor pro nové syntetické cesty, které by mohly vést k těmto látkám.

3 Výsledky a diskuze

V této kapitole je uvedena syntéza klíčových intermediátů 2-karbaldehyd a 2-alkynyl chinolinů. Ty následně slouží jako výchozí látky k přípravě 2-(hetero)aryl-chinolonů, které jsou syntetizovány různými metodami s využitím např. „click“ reakcí, Sonogashira cross-couplingu aj.

3.1 Syntéza klíčových intermediátů

Pro přípravu 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4-(1*H*)-onů byly zvoleny různé syntetické přístupy. V závislosti na typu substituentu v poloze C2, byly využity cyklizační nebo cross-couplingové reakce. Nejprve byl připraven 2-methyl-3-hydroxychinolin-4-(1*H*)-on **3** dle známého postupu.⁹ Následující krok, protekce kyslíkových atomů, byl proveden jednak kvůli zvýšení rozpustnosti výchozích chinolinů, a také aby bylo zabráněno nežádoucím vedlejším reakcím při dalších transformacích. Methylenová protektivní skupina byla zvolena především díky své stabilitě vůči oxidačním činidlům a bazickému prostředí. Takto připravený intermediát **4** byl podroben oxidaci za vzniku aldehydu **5**, který byl poté převeden na derivát **6** s terminální trojnou vazbou (Schéma 1). Poslední reakce, tzv. Seyfert-Gilbertova homologace, je obecně používána při transformaci aldehydů nebo arylketonů na alkyny a probíhá s dimethyl(diazomethyl)fosfonátem v bazickém prostředí (nejč. *t*-BuOK) za nízkých teplot (-78 °C) v THF.²² V našem případě byla zvolena tzv. Bestmann-Ohira modifikace,²³ kdy se používá 1-diazo-2-oxopropylfosfonát (Bestmann-Ohira činidlo). S tímto činidlem lze pak reakci provádět za mírnějších podmínek (laboratorní teplota) s K₂CO₃ v metanolu. Intermediáty

4, 5 a 6 byly připraveny dle postupu vyvinutého v naší skupině¹⁷ a sloužily jako výchozí látky v dalších reakcích.

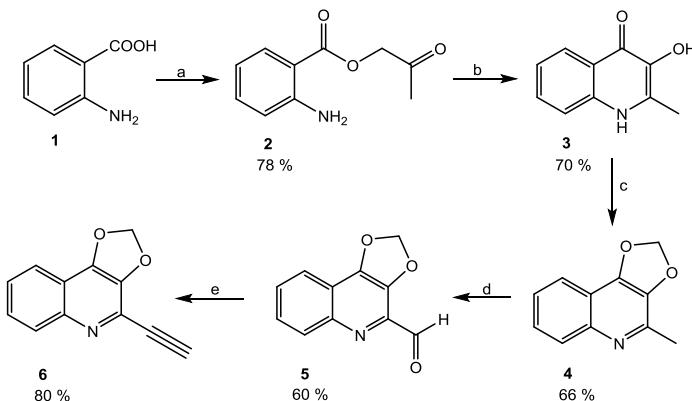


Schéma 1. Syntéza klíčových intermediátů **4, 5 a 6**. Reagenty a podmínky:

(a) chloraceton, TEA, DMF, RT, 4 h, (b) NMP, reflux, 45 min, (c) CH_2Br_2 , K_2CO_3 , DMF, reflux, 45 min, (d) SeO_2 , THF, reflux, 45 min, (e) Bestmann-Ohira činidlo, K_2CO_3 , MeOH, RT, 1 h.

Během experimentální práce bylo zjištěno, že v některých případech byla methylenová chránící skupina nevhodná, jelikož při deprotekci, která se provádí v kyselém prostředí, docházelo k nežádoucím vedlejším reakcím (viz dále). Proto bylo nutné zvolit jinou chránící skupinu, kterou by bylo možné odstranit jinak, než v kyselém prostředí. Benzyl skupinu, s obdobnou stabilitou v oxidačním či bazickém prostředí, lze dobře odstranit katalytickou hydrogenolýzou nebo za aprotických podmínek Lewisovou kyselinou. Benzylace chinolonu **3** poskytla intermediát **7**, který byl následně oxidován na aldehyd **8** a poté převeden na alkyn **9**, obdobným způsobem jako u aldehydu **5**, Sayfert-Gilbertovou homologací. Nově vyvinutá

metodika pro přípravu derivátů **7–9** byla publikována,²⁴ přičemž největší optimalizace byly nutné při benzylaci chinolonu **3**.

Reakce byla provedena v DMF se 3 ekv. benzylbromidu a 4 ekv. K₂CO₃ při teplotě refluxu. Po ukončení reakce (TLC hexan/EtOAc 7/3) a izolaci z cyklohexanu byla získána směs produktu **7** (70 %) společně s nečistotami a monobenzyl derivátem (13 %), který se krystalizací nepodařilo oddělit. Při optimalizaci reakčních podmínek byla změněna báze na 60% NaH, což vedlo pouze ke vzniku směsi látek. Jako další báze byl použit Cs₂CO₃ (2 ekv.) se 4 ekv. benzylbromidu. Po izolaci sloupcovou chromatografií bylo zjištěno, že vzniká 87 % produktu **7**, 2 % produktu **7A** a 10 % monobenzyl derivátu. Optimalizací první metody použitím 4 ekv. benzylbromidu a 5 ekv. K₂CO₃ bylo dosaženo nejlepšího výsledku, kdy bylo získáno po izolaci sloupcovou chromatografií 87 % derivátu **7** a 10 % vedlejšího produktu **7A** (Schéma 2). Struktura obou látek byla ověřena pomocí NMR experimentů včetně N-H HMBC. U derivátu **7A** byla jasná interakce CH₂-skupiny pocházející z benzylu s pyridinovým dusíkem, zatímco u derivátu **7** tato interakce chyběla. Navíc byla tato reakce provedena i v gramovém měřítku (20 g), potom byly výtěžky látky **7** kolem 80 %.

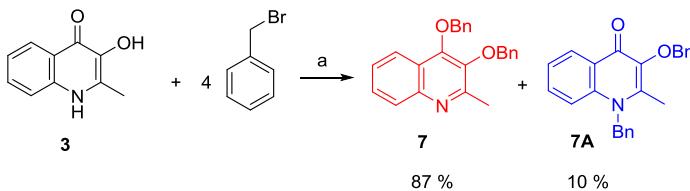


Schéma 2. Příprava intermediátu **7**. Reagenty a podmínky: (a) K₂CO₃, DMF, 90 min, reflux.

Oxidace methyl skupiny oxidem seleničitým (1,5 ekv.) v suchém THF za varu poskytla po 30 min aldehyd **8**. Produkt však nešlo přečistit přes bisulfitovou sůl, jako tomu bylo v případě aldehydu **5**. Látka byla nejprve předčištěna pomocí flash chromatografie a odpárek byl krystalován s aktivním uhlím z cyklohexanu. Takto připravený aldehyd byl podroben Sayfert-Gilbertově homologaci. Po reakci byl izolován produkt **9** ve výtěžku 50 % (Schéma 3).

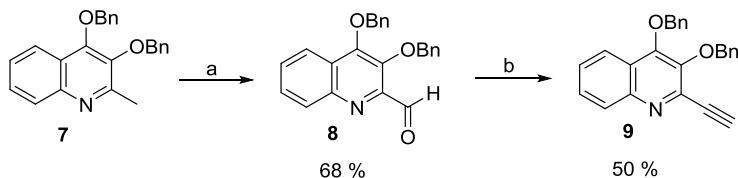


Schéma 3. Příprava intermediátu **9**. Reagenty a podmínky: (a) SeO_2 (1,5 ekv.), THF, 30 min, reflux; (b) Bestmann-Ohira činidlo (1,2 ekv.), K_2CO_3 , MeOH , 1 h, RT.

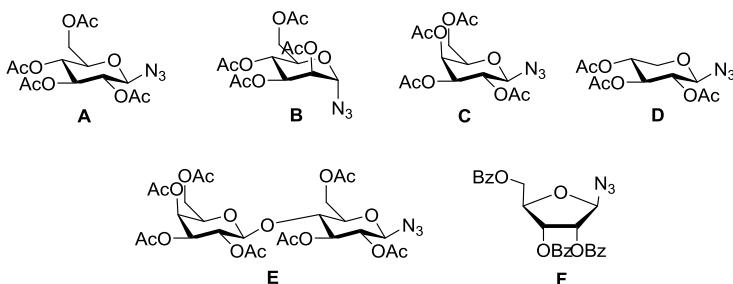
Připravené aldehydy **5** a **8** stejně jako alkyny **6** a **9** sloužily jako klíčové intermediáty pro další syntézy.

3.2 Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí 1,3-dipolární cykloadice

Pro přípravu heterocyklů v poloze C2 chinolonového jádra byly použity lineární 1,3-dipoly (azidy, ethyldiazoacetát, diazomethan, benzonitril oxid), se kterými byly takto připraveny 3 typy heterocyklů – triazol, pyrazol a isoxazol. Reakce alkynu **6** nebo **9** s diazosloučeninami probíhala podle

podmínek Huisgenovy cykloadice (termicky) bez katalýzy kovy. V případě triazolů a isoxazolu byla provedena tzv. „click“ reakce katalyzovaná Cu(I).

Byla připravena série triazolů obsahující různé sacharidy. Celkem 6 různých azido-sacharidů poskytla Slovenská Akadémia Vied v Bratislavě (Obrázek 2), kdy se podařilo vyvinout metodiku pro přípravu glykokonjugátů s chinolinami, resp. chinolony. Hlavním cílem tohoto projektu byla příprava glykosyl-triazolo-3-hydroxychinolin-4(1H)-onových konjugátů, které by potenciálně mohly působit jako antibakteriální látky.



Obrázek 2. Struktura azido-sacharidů A-F.

„Click“ reakce byla provedena s alkynem **6** a azidy **A-F** dle podmínek z literatury²⁵ za katalýzy CuSO₄.5H₂O/askorban sodný ve směsi rozpouštědel DMF/H₂O, při laboratorní teplotě 3-16 h, dle použitého azidu s výtěžky od 70 % do 90 %. Deprotekce acetyl, resp. benzoyl skupin na sacharidové části byla nejprve provedena v methanolu s K₂CO₃ při laboratorní teplotě 16 h. Při purifikaci sloučenin docházelo k velkým ztrátám, především vlivem stejné rozpustnosti produktu a vznikající soli acetátu, resp. benzoátu draselného, kdy se látky nepodařilo izolovat čisté

krystalizací ani chromatograficky a výtěžky tak nepřesahovaly 40 %. Debenzoylace látky **12f** byla optimalizována reakcí s 1M MeONa v methanolu po dobu 1 h, kdy byla izolována sloučenina **13f** s výtěžkem 61 %. Deprotekce acetyl skupin byla optimalizována s diethylaminem (DEA) v methanolu. Po odpaření rozpouštědla byl produkt vysrážen diethyletherem a vznikající diethylacetamid zůstal v roztoku. Touto metodou bylo možné připravit zbylých 5 sacharido-triazolů rychle (2 h), bez čištění sloupcovou chromatografií, s téměř kvantitativními výtěžky (82-92 %) (Schéma 4).

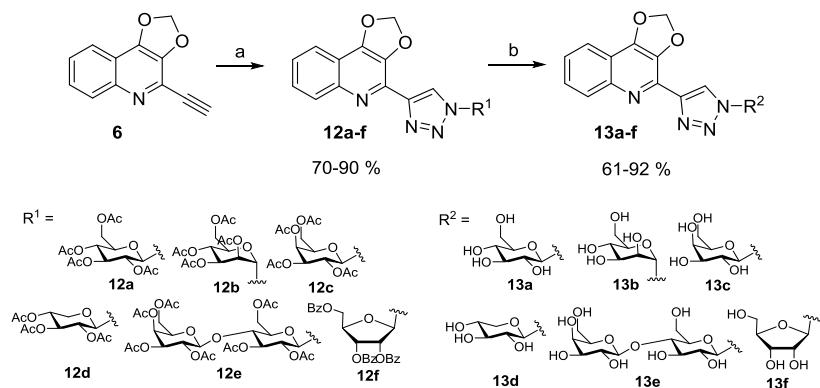


Schéma 4. Příprava triazolo-sacharidů **12a-f** a **13a-f**. Reagenty a podmínky:
 (a) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, askorban sodný, $\text{DMF}/\text{H}_2\text{O}$ (3/1), 3-16 h, RT; (b) DEA, MeOH , 2 h, RT (látky **13a-e**) nebo MeONa , MeOH , 1 h, RT (látky **13f**).

Problémy nastaly při posledním kroku syntézy, kdy se nepodařil odstranit methylenový můstek. Demethylenace byla provedena na modelové

sloučenině **13a** s různými kyselinami (HBr, HCl, MSA), ale vždy byl detekován produkt deglykosylace (Schéma 5).

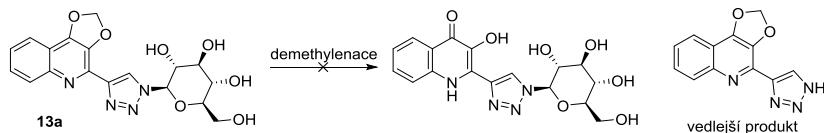
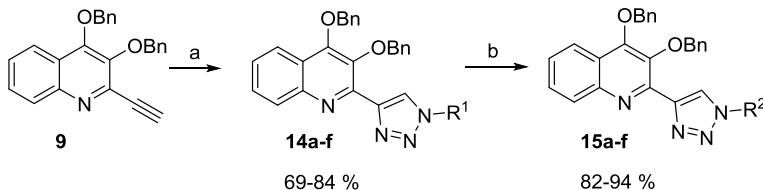


Schéma 5. Demethylenace modelové sloučeniny **13a**.

Jelikož se nepodařilo odstranit methylenový můstek, byly připraveny intermediáty s benzylovou protektivní skupinou, která může být snadno odstraněna hydrogenolyticky bez vzniku vedlejších produktů. Dibenzylovaný alkyn **9** byl připraven dle vyvinutého postupu (viz Schéma 3). „Click“ reakce s azidy **A-F** a alkynem **9** probíhala za stejných podmínek jako s alkynem **6** s vysokými výtěžky 69-84 %. Hydrolyza acetyllových skupin připravených derivátů **14a-e** byla provedena optimalizovanou metodou s DEA/MeOH s téměř kvantitativními výtěžky (82-94 %) nebo v případě derivátu **14f** postupem s 1M MeONa/MeOH (83 %) (Schéma 6).



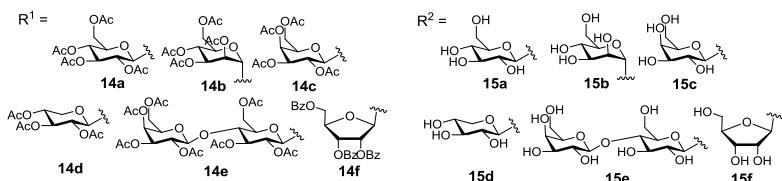


Schéma 6. Příprava triazolo-sacharidů **14a-f** a **15a-f**. Reagenty a podmínky:
 (a) CuSO₄·5H₂O, askorban sodný, DMF/H₂O (3/1), 3-16 h, RT; (b) DEA,
 MeOH, 2 h, RT (látky **15a-e**) nebo MeONa, MeOH, 1 h, RT (látká **15f**).

Následná debenzylovací probíhala hladce u všech šesti derivátů a dle LC-MS vznikaly pouze žádané deriváty 3-hydroxychinolin-4(1H)-onů bez vedlejších látek. Výtěžky byly téměř kvantitativní a ztráty byly pouze během izolace produktů (Schéma 7). Příprava těchto látek, spolu s výsledky měření biologické aktivity, byla publikována.²⁴

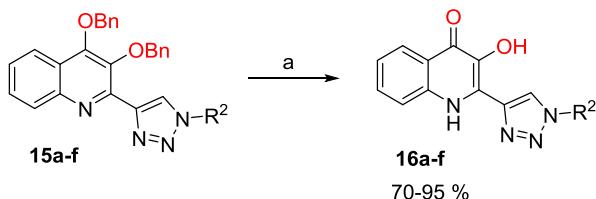


Schéma 7. Debenzylovací sloučenin **15a-f**. Reagenty a podmínky: 5% Pd/C
 (20 hm. %), H₂, atm.tlak, 2-methoxyethanol, 2-3 h, 100 °C.

Isoxazolový derivát **19** byl připraven měď katalyzovanou „click“ reakcí benzonitril oxidu, připraveného *in situ*, s alkynem **6**. Po demethylenaci

s kyselinou bromovodíkovou byl připraven 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onový derivát **20** (Schéma 8).

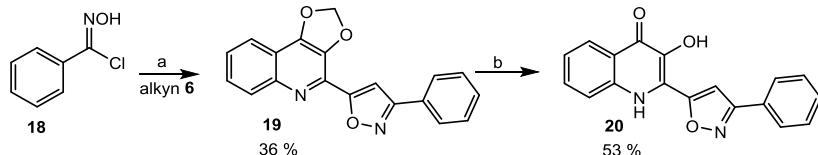


Schéma 8. Příprava derivátu **20** pomocí „click“ reakce a následné demethylenace. Reagenty a podmínky: (c) alkyn **6**, CuSO₄.5H₂O, askorban sodný, KHCO₃, *t*-BuOH/H₂O, 16 h, RT; (b) 48% HBr/H₂O (1/3), reflux, 42 h.

Pomocí termické cykloadice ethyldiazoacetátu s alkynem **6** byl připraven derivát s pyrazolovým cyklem v poloze C2. Následná demethylenace, prováděná za varu ve zředěné kyselině bromovodíkové ani po několika dnech překvapivě neposkytla 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onový derivát **25**. Obměnou protektivní skupiny byl připraven benzylovaný intermediat **24**, který po hydrogenolýze s vodíkem na palladiu poskytl produkt **25** (Schéma 9).

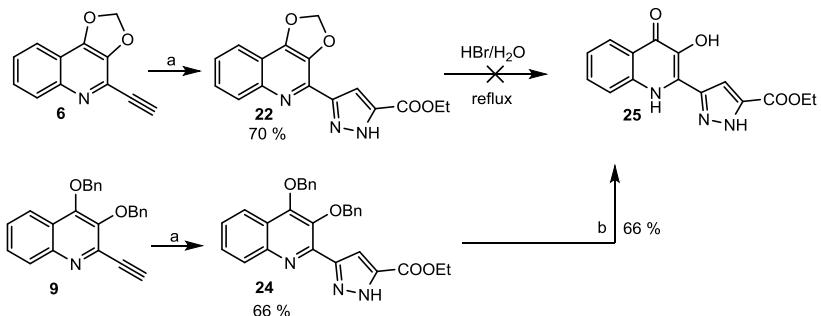


Schéma 9. Příprava derivátu **25** pomocí termické cyklizace a následné deprotekce. Reagenty a podmínky: (a) ethyldiazoacetát (3 ekv.), 2-MeTHF, reflux, 72 h; (b) 5% Pd/C (20 hm. %), H₂, 2-methoxyethanol, 100 °C, 1h.

3.3 Syntéza 2-substituovaných chinolonů vycházející z aldehydu

Syntézu 2-heterocyklických derivátů 3-hydroxychinolin-4(1H)-onů lze provést také z aldehydu jeho kondenzací s příslušnými N, O, S nukleofily s následným odstraněním protektivních skupin. V literatuře byly popsány různé podmínky pro syntézu benzazolových derivátů vycházející z *o*-substituovaných anilinů (viz. dále). Reakce probíhá přes stádium nasyceného pětičlenného kruhu, kdy se často k jeho aromatizaci používá přídavek oxidačního čimidla např. IBD,²⁶ jodu,²⁷ DDQ²⁸ nebo vzdušného kyslíku v kombinaci s kovy např. měďnatými ionty,²⁹ železitými ionty,³⁰ aj. Cyklizaci na benzimidazoliny, benzoxazolidiny i benzthiazolidiny a jejich následnou oxidaci lze provést také působením radikálů jako např. 4-methoxy-TEMPO za atmosférického tlaku kyslíku.³¹ Reakce jsou často prováděny v nitrobenzenu při 140-150 °C, kdy je vzdušný kyslík dostačujícím oxidantem a není potřeba přídavku kovů.^{32,33} Výhodou této

reakce je její jednoduché provedení, pouze zahřívání aldehydu a příslušeného anilinu. Avšak toto rozpouštědlo je vysoce toxické a potenciálně karcinogenní, proto byla snaha jej nahradit a najít stejně efektivní ale zároveň netoxické rozpouštědlo. V literatuře byla popsána reakce ve vodě, kdy autoři uvádějí, že funguje zároveň i jako ambifilní katalyzátor.³⁴ Dle těchto podmínek byla provedena testovací reakce s aldehydem **8** (1,5 ekv.) a 4-chlor-*o*-fenylendiaminem (1 ekv.) ve vodě při 80 °C. Po 36 h byla konverze na produkt dle LC-MS 65 %. Reakcí s *o*-aminofenolem nedocházelo ke konverzi na produkt a vznikala směs látek. Stejně tak reakcí s *o*-aminothiofenolem vznikla pouze směs látek. Syntéza byla optimalizována záměnou rozpouštědla za anisol, který je netoxický, má vysokou teplotou varu (154 °C) a je zařazen do kategorie tzv. „zelených“ rozpouštědel.³⁵ Zahříváním 1 h při 80 °C docházelo k cyklizaci na pěti členný kruh (LC-MS). Zvýšením teploty na 140 °C za přístupu vzduchu docházelo k oxidaci za vzniku aromatického pěti členného kruhu (Schéma 10).

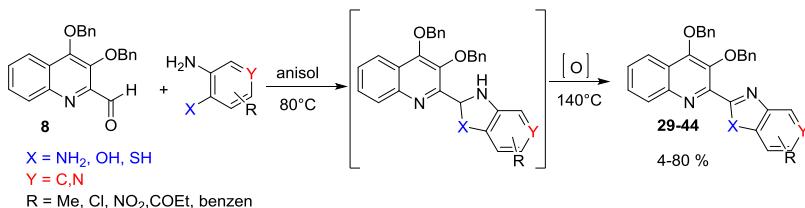


Schéma 10. Příprava substituovaných benzazolů. Reagenty a podmínky: aldehyd **8** (1 ekv.), amin (1 ekv.), anisol, 80 °C 1h → 140 °C 1-5 h.

Poslední krok, debenzylace, byl vyzkoušen u většiny připravených látek. Pouze u intermediátů, které byly izolovány s velmi nízkými výtěžky (pod 15 %), nebylo množství látek dostačující pro provedení reakce. Podmínky pro deprotekci byly zvoleny s ohledem na substituenty na benzimidazolové, resp. benzoxazolové části sloučenin, především -Cl a -NO₂ skupiny. Debenzylace vodíkem by nebyla kompatibilní s těmito skupinami, proto byla zvolena metoda s Lewisovou kyselinou BCl₃ (Schéma 11). Po debenzylaci vzniká poměrně stabilní boronový komplex, který lze v některých případech rozložit přídavkem vody.³⁶ U tohoto typu derivátů však pouhým přídavkem vody k rozkladu nedocházelo. Proto byl vzniklý komplex rozložen vymícháním s konc. HCl v methanolu za varu, po té byla přidána voda, následovala úprava pH ~6-7 a vyloučená sraženina produktu byla odsáta a promyta vodou.

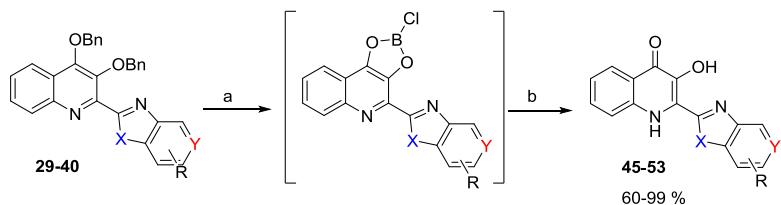


Schéma 11. Debenzylace sloučenin **29-40**. Reagenty a podmínky: (a) 1M BCl₃/hexan (5 ekv.), DCM, 0-5 °C → RT, 2 h; (b) 35% HCl/MeOH (1/1), reflux, 1 h, H₂O, pH 6-7.

Problém nastal při identifikaci připravených sloučenin, které byly velmi špatně rozpustné. Měření ¹H-NMR spekter bylo prováděno při 80 °C v DMSO-*d*6, jelikož při laboratorní teplotě byly látky v tomto rozpouštědle

pouze částečně rozpouštěny a v jiném deuterovaném rozpouštědle nebyly rozpustné vůbec. Vzhledem k nízkým koncentracím rozpouštěných sloučenin v DMSO-*d*6 (~3 mg/0.6 mL) nebyla měřena ¹³C-NMR spektra.

Vysoká nerozpustnost připravených derivátů bohužel znemožňuje jakékoli využití jako biologicky aktivních látek.

3.4 Syntéza 2-substituovaných chinolonů pomocí Sonogashira cross-couplingu

Alkyny **6** a **9** byly podrobeny Sonogashira cross-couplingu, kdy bylo nezbytné nalezení optimálních reakčních podmínek (katalyzátor, báze, rozpouštědlo). Tato reakce byla využita nejen pro zavedení různých heterocyklů do polohy C2, ale také různě substituovaných aromátů a připravené dvě sady derivátů byly podrobeny dalším transformacím.

Reakční podmínky byly optimalizovány s alkynem **6** obsahující methylenový můstek a modelovým halogenderivátem jodbenzenem, který je reaktivní a dobře dostupný. Byly vyzkoušeny různé katalyzátory, např. Pd(OAc)₂, PdCl₂(PPh₃)₂, 5% nebo 10% Pd/C, v kombinaci s různými bázemi (Cs₂CO₃, TBAF·3H₂O, pyrrolidin, TEA, DIPEA), ligandy (PPh₃, DABCO) a rozpouštědly (ACN, NMP, THF, DMA/H₂O). Nejlepší reakční podmínky poskytoval katalytický systém **A** (10% Pd/C/PPh₃/CuI/DIPEA/DMA/H₂O) a systém **B** (PdCl₂(PPh₃)₂/CuI/TEA/ACN), poskytující 90% konverzi na produkt.

V případě aryl halogenů byla metoda **A** vhodná pro aromáty se substituenty jak s elektronakceptorním, tak s elektronondonorním efektem v *o*- a *p*-pozicích s výtěžky 35-63 %. Výjimkou byl pouze 2-jodnitrobenzen a

2-jodacetofenon, které za těchto podmínek neposkytly žádaný produkt. Při použití katalyzátoru $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (metoda **B**) k reakcím docházelo, ale s nízkými výtěžky (19 % a 27 %). V případě heterocyklických halogen derivátů, pouze tři z nich (2-acetyl-5-jodthiofen, 2-jodthiofen, 2-jodselenofen) reagovaly za podmínek metody **A**, a to s výtěžky 44-79 %. Ostatní heterocyklické halogenderiváty vyžadovaly pro reakci katalýzu s $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (metoda **B**), kde se výtěžky pohybovaly od 18 % do 67 % (Schéma 12). Nejméně reaktivní byl 3-bromypyridin, který poskytoval nejnižší výtěžek 18 %.

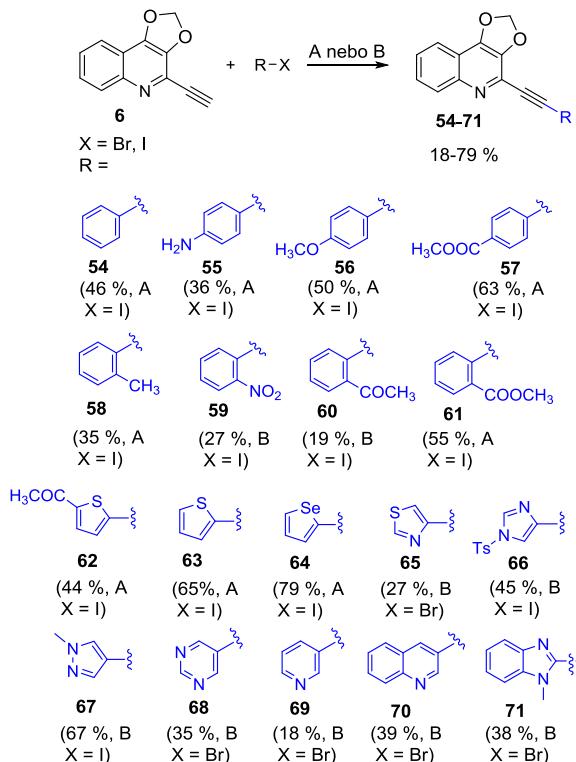


Schéma 12. Příprava sloučenin **54-71**. Reagenty a podmínky: (A) alkyn (1 ekv.), jod-derivát (1 ekv.), 10% Pd/C (0,05 ekv.), PPh₃ (0,1 ekv.), CuI (0,1 ekv.), DIPEA (3 ekv.), DMA/H₂O (9,5/0,5), N₂, 70-75 °C; (B): alkyn (1 ekv.), halogenderivát (1 ekv.), PdCl₂(PPh₃)₂ (0,02 ekv.), CuI (0,01 ekv.), TEA (3 ekv.), ACN, N₂, 50-55 °C.

Odstranění methylenového můstku za vzniku 2-alkynyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů bylo provedeno na modelové sloučenině alkynu **6** (Schéma 13).

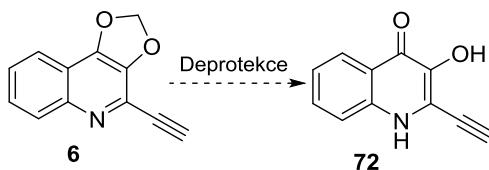


Schéma 13. Deprotekce modelové sloučeniny **6**.

Deprotekce anorganickými kyselinami (HBr, HCl) nebyla pro tento typ sloučenin vhodná, jelikož by pravděpodobně docházelo ke konkurenční reakci, adici halogen kyseliny na trojnou vazbu. Tato domněnka byla potvrzena reakcí s kyselinou chlorovodíkovou, kdy byl podle LC-MS detekován produkt adice (Tabulka 1, reakce 1). Optimalizace byla provedena s různými kyselinami, které byly voleny tak, aby docházelo k minimálním vedlejším reakcím na násobné vazbě. Reakcí s Lewisovou kyselinou BF₃.Et₂O nebyl produkt detekován (reakce 2),³⁷ stejně tak s trifluoroacetanhydridem v kombinaci s kyselinou octovou v DCM (reakce 3).³⁸ Reakce s organickými kyselinami trifluorooctovou a methansulfonovou v různých rozpouštědlech poskytla pouze směs látek s minoritním množstvím produktu (reakce 4-7). Klíčové bylo nalezení

vhodného rozpouštědla v kombinaci s množstvím vody. Reakce probíhala dobře v etherických rozpouštědlech mísitelných s vodou např. THF, DME, dioxan nebo v AcOH/H₂O s 5 ekv. methansulfonové kyseliny, kdy byly konverze až 85 % (reakce 9 a 10). Snižením množství vody a zvýšením teploty se podařila téměř úplná konverze (95 %) na produkt (reakce 12).

Tabulka 1. Optimalizace podmínek deprotekce sloučeniny **6**.

Reakce	Kyselina	Rozpouštědlo	Teplota (°C)	Čas (h)	Výsledek
1	HCl/H ₂ O (1/1)	THF	20-25	72	Produkt adice
2	BF ₃ .Et ₂ O	EtOAc	20-25	48	Výchozí látka
3	TFAA/AcOH (1/1)	DCM	40	24	Výchozí látka
4	TFA	THF/H ₂ O (2/1)	50	2	Směs
5	MSA/H ₂ O (1/2)	<i>i</i> -PrOH	75	17	Směs
6	MSA/H ₂ O (1/2)	DMF	80	2	Směs
7	MSA	DME	80	24	Směs
8	MSA	DME/H ₂ O (2/1)	80	5	Produkt 75 %*
9	MSA	AcOH/H ₂ O (1/1)	80	14	Produkt 85 %*
10	MSA	THF/H ₂ O (2/1)	70	24	Produkt 85 %*
11	MSA/H ₂ O (1/2)	dioxan	80	7,5	Produkt 90 %*
12	MSA/H₂O (1/2)	dioxan	90	6	Produkt 95 %*

*Konverze výchozí látky na produkt dle HPLC-UV-MS při 200-600 nm.

Předpokládaný produkt byl však identifikován pouze dle LC-MS spektra, kde byla detekována jeho molekulová hmotnost. Po izolaci a změření ¹H a ¹³C-NMR spekter bylo zjištěno, že struktura neodpovídá 2-ethynyl-3-hydroxychinolin-4(1H)-onu **72**, nýbrž produktu cyklizace

furo[3,2-*b*]chinolonu **73**, který má stejnou molekulovou hmotnost (Schéma 14).

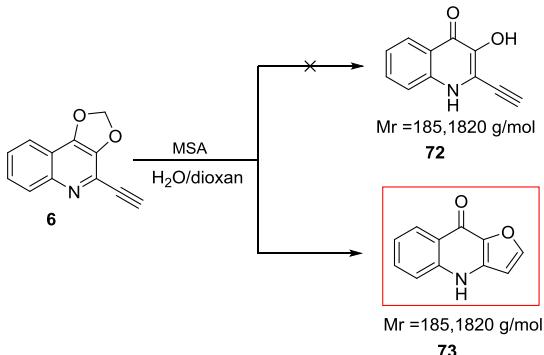


Schéma 14. Vznik furo[3,2-*b*]chinolenu **73**.

Připravené substituované alkyny **54-71** byly podrobeny reakci za optimalizovaných podmínek, kdy byl sledován průběh reakce a vznik cyklických produktů (Schéma 15).

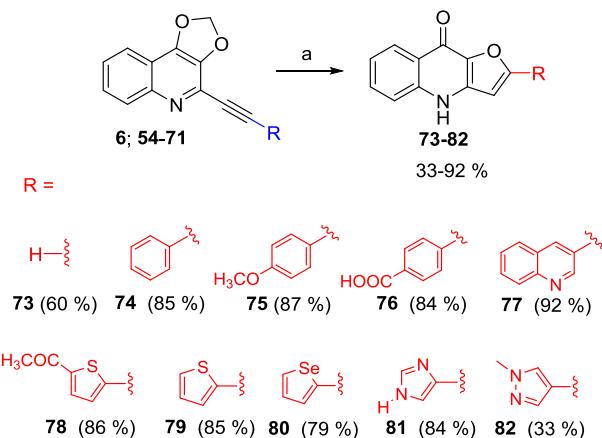


Schéma 15. Cyklizace alkynů. Reagenty a podmínky: (a) MSA (5 ekv.), dioxan, H₂O, 85-90 °C; sloučenina **81** byla připravena použitím 10 ekv. MSA.

Při LC-MS analýze několika různých reakčních směsí byla potvrzena přítomnost sloučenin (do 10% dle UV detekce) s molekulovou hmotností odpovídající oxochinolinovým intermediátům **A** (Schéma 16). Tento fakt poukazuje na možný mechanismus cyklizace. Tvorba furochinolonového skeletu pravděpodobně začíná kyselou hydrolýzou alkynu na příslušný keton. Následná hydrolýza methylenového můstku poskytuje intermediáty 3-hydroxychinolin-4(1H)-onu **B**. Tyto sloučeniny nejsou stabilní a okamžitě dochází ke kysele katalyzovanému nukleofilnímu ataku hydroxy skupiny na keton s následnou dehydratací a cyklizací za vzniku furanového cyklu.

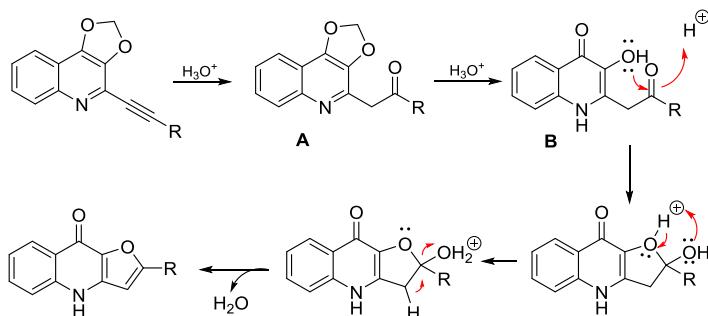


Schéma 16. Navržený mechanismus cyklizace.

Cykлизace 2-alkynyl-oxolochinolinů za kyslé katalýzy představuje novou a jednoduchou metodu pro přípravu furo[3,2-*b*]chinolonů.³⁹ Jelikož však nebylo dosaženo přípravy cílových 2-alkynyl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onových derivátů, byl proveden Sonogashira cross-coupling

s alkynem **9**, obsahující benzylové protektivní skupiny (Schéma 17), které mohou být následně odstraněny hydrogenolyticky nebo použitím Lewisovy kyseliny BCl_3 .

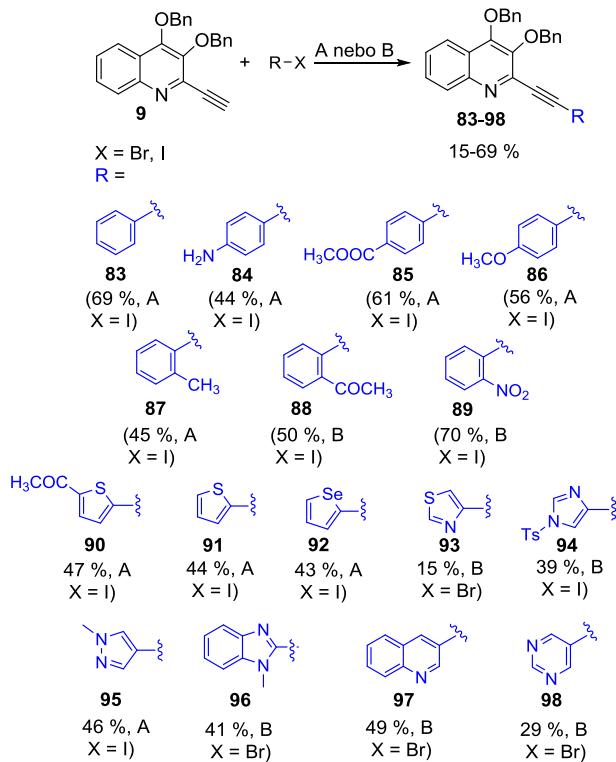


Schéma 17. Příprava sloučenin **83-98**. Reagenty a podmínky: (A) alkyn (1 ekv.), jod-derivát (1 ekv.), 10% Pd/C (0,05 ekv.), PPh_3 (0,1 ekv.), CuI (0,1 ekv.), DIPEA (3 ekv.), DMA/ H_2O (9,5/0,5), N_2 , 70-75 °C; (B): alkyn (1 ekv.), halogenderivát (1 ekv.), $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (0,02 ekv.), CuI (0,01 ekv.), TEA (3 ekv.), ACN, N_2 , 50-55 °C.

Deprotekcí benzylových skupin vznikaly dle použitých podmínek dva typy derivátů a to buď se zachovanou trojnou vazbou, nebo jednoduchou vazbou (Schéma 18). Vzhledem k množství připravených derivátů **83-98**, byly deprotekce prováděny pouze v desítkách miligramů (~20 až 50 mg), což mělo zásadní vliv na výtežky.

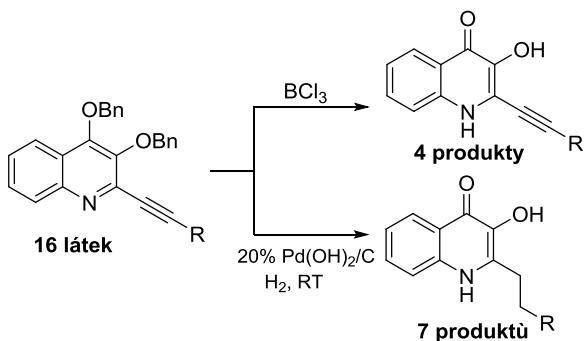
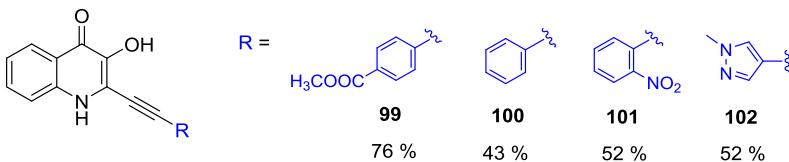


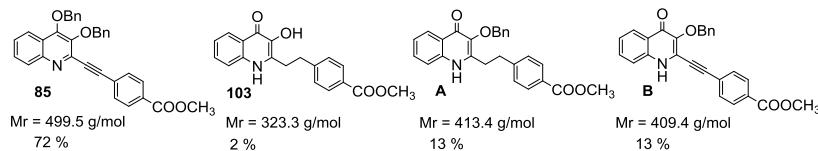
Schéma 18. Deprotekce benzyl skupin dvěma různými metodami.

Metodou s BCl_3 byly připraveny a izolovány v čisté podobě pouze 4 produkty (Obrázek 3), protože při reakci docházelo ke vzniku nečistot, které se nepodařilo odstranit. Sloupkovou chromatografií nebylo možné jako čistící techniku využít, jelikož se připravené chinolony pevně adsorbovaly na silikagelu. Použitím polárnější mobilní fáze pro jejich eluci docházelo zároveň i ke stržení nečistot. Krystalizace vzhledem k množství, ve kterém byly reakce prováděny, nebyla možná.



Obrázek 3. Struktury látek připravených deprotekcí benzyl skupin s BCl_3 .

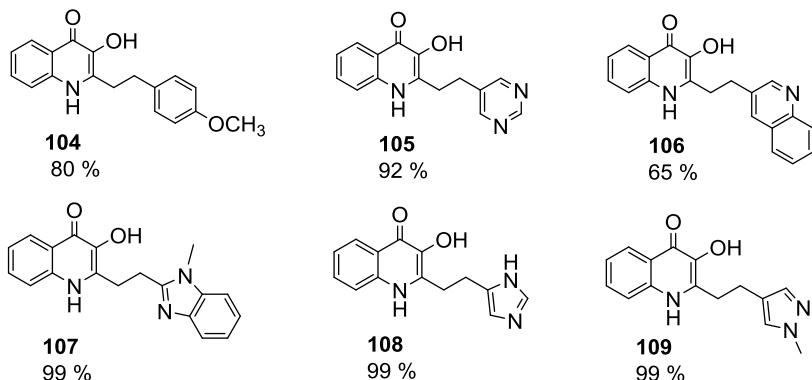
V druhém případě byly benzyl skupiny odstraněny vodíkem s katalytickým množstvím 5% Pd/C. Metoda byla optimalizována na modelové sloučenině **85** a monitorována v čase. V 2-methoxyethanolu s přídavkem 5% Pd/C (10 hm. %) docházelo při teplotě 0–5 °C po 15 min ke vzniku směsi, kde byly detekovány dle LC-MS produkt **103**, výchozí látka **85** a intermediáty **A** a **B** (Obrázek 4).



Obrázek 4. Detekované intermediáty dle LC-MS spektra.

Po 45 min byl detekován pouze produkt **103**, který byl izolován čistý naředěním metanolem, filtrací a odpařením s výtěžkem 78 %. Při dalších experimentech bylo zjištěno, že u všech dalších derivátů hydrogenace a debenzylace za katalýzy 5% Pd/C (10 hm. %) a atmosférického tlaku vodíku při laboratorní teplotě neprobíhají vůbec nebo byla v reakční směsi detekována výchozí látka spolu s příslušným monobenzyl derivátem. Prodloužením reakční doby (až 24 h), ani zvýšením teploty (až 100 °C)

nebylo docíleno úplné konverze na žádané produkty. Proto byla zvolena metoda s tzv. Pearlmanovým katalyzátorem 20% Pd(OH)₂/C,⁴⁰ který má větší koncentraci palladia a je považován za jeden z nejúčinnějších hydrogrenačních katalyzátorů. Takto bylo připraveno celkem 6 dalších derivátů (Obrázek 5). Metoda však nebyla vhodná např. pro látky s heterocyklickým substituentem obsahující síru nebo selen, jelikož působí jako tzv. katalytické jedy.



Obrázek 5. Struktury a výtěžky látek připravené hydrogenolytickou debenzylací.

4 Výsledky biologického testování

4.1 Antimikrobiální aktivita

Jelikož je chinolonový skelet přítomen v mnoha antibakteriálních léčivech,⁴¹ byly připravené chinolini, resp. chinolony testovány na antimikrobiální aktivitu na dostupných G+ a G- kmenech (*B. Subtilis*,

M. Luteus, *Staphylococcus aureus*, *M. Vaccae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. Coli*). Navíc, i u sloučenin typu furochinolinů byly mimo jiné zjištěny antibakteriální vlastnosti,^{42,43} proto byly testovány i připravené furo[3,2-*b*]chinolony. Téměř žádný z derivátů však nevykazoval významnou antimikrobiální aktivitu, s výjimkou čtyř připravených glykokonjugátů (**15a**, **15c**, **15d** a **15f**) a alkynů **6** a **9**. U látek **15a**, **15c** a **15d** byla zjištěna mírná antimikrobiální aktivita vůči G+ bakteriálním kmenům *M. luteus* a *B. subtilis* IC100 = 100-200 µM.

Navíc byly všechny připravené glykokonjugáty i výchozí alkyny testovány na antimikrobiální aktivitu vůči speciálnímu kmennu *Paenibacillus larvae* (*P. larvae* CCM 4483, CCM 4486). Tato gram-pozitivní bakterie způsobuje tzv. mor včelího plodu, jednu z nejzávažnějších včelích chorob. Syntézou látek, které by působily selektivně na bakterii *P. larvae*, se zabývá Slovenská Akadémia Vied, kde byly otestovány připravené triazolo-sacharidové chinolini, resp. chinolony. Sloučeniny **15a**, **15c**, **15f** i oba výchozí alkyny **6** a **9**, vykazovaly vůči této bakterii alespoň mírnou aktivitu. U sloučeniny **15d**, mající jako sacharidovou jednotku xylopyranosyl, byla naměřena nejlepší aktivita IC100 = 50 µM.

4.2 Antivirová aktivita

V literatuře byly nalezeny deriváty chinolinů, resp. chinolonů, které vykazovaly antivirově účinky, především proti chřipkovému viru A.⁴⁴⁻⁵⁰ Navíc, byly v naší výzkumné skupině již dříve připraveny 2-(hetero)aryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-ony¹⁶, které byly na pracovišti Akademie věd České republiky pod vedením prof. De Clercqy testovány proti viru kravských neštovic.

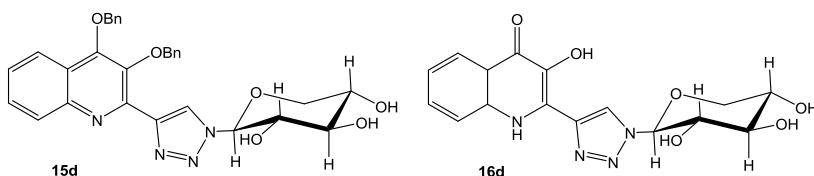
U syntetizovaných sloučenin bylo provedeno měření antivirové aktivity, přičemž virové kmeny byly voleny podle dostupnosti. Stěžejní bylo navázání spolupráce s Virologickým ústavem Slovenské Akademie Vied, kde probíhalo samotné testování. První série látek byla testována vůči gammaherpes viru (MHV-68). Získaná data odhalila významnou antivirovou aktivitu sloučeniny **15d**. Měření aktivity bylo provedeno dvěma různými metodami – plakovou esejí a tzv. luciferázovou esejí. Výsledky obou metod se dají považovat za srovnatelné, přičemž byla aktivita sloučeniny **15d** na těchto dvou esejích velmi podobná komerčně používaným léčivům. Při podrobnějším testování látky **15d** byla pomocí MTT testu stanovena hodnota CC₅₀ 19,12 µg/mL, což značí mírnou cytotoxickou aktivitu. Důležitou hodnotou při hledání nových antivirotik je tzv. index selektivity (SI), tedy poměr mezi cytotoxicitou a inhibicí viru. Hodnota SI by měla být v rozmezí 100 až 1000, aby mělo smysl danou látku testovat *in vivo*. Ačkoliv měla připravená sloučenina hodnotu IC₅₀ = 1,76 µg/mL, index selektivity byl podstatně snížen vlivem hodnoty CC₅₀ a látka tak nebyla dále testována na zvířecím modelu (Tabulka 2). Detailnější popis výsledků je uveden v publikaci.⁵¹

Tabulka 2. Přehled výsledků měření biologické aktivity sloučeniny **15d**.

Sloučeniny	MTT esej		Plaková esej		Luciferázová esej	
	CC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) ^a	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) ^a	SI	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$) ^a	SI	
Acyklovir	> 250	1,431 ± 0,097	> 175	0,493 ± 0,041		> 507
Gancyklovir	> 250	2,798 ± 0,316	> 89	0,724 ± 0,056		> 345
15d	19,12 ± 0,954	4,875 ± 0,594	4	1,760 ± 0,321		11

^a Hodnoty představují průměr ± SD dvou nezávislých experimentů. CC₅₀ = koncentrace potřebná ke snížení životaschopnosti buněk o 50 %; IC₅₀ = koncentrace potřebná ke snížení tvorby plaků nebo aktivity luciferázy o 50 %; SI = index selektivity (poměr CC₅₀/IC₅₀).

Z hlediska vztahů mezi strukturou a aktivitou bylo zajímavé zjištění, že antivirový účinek vykazovala pouze látka **15d**, mající na kyslících benzylové skupiny (Obrázek 6). Derivát **16d**, vzniklý debenzylací látky **15d**, však nevykazoval žádnou aktivitu.



Obrázek 6. Struktury sloučenin **15d** a **16d**.

Tyto výsledky vedly k představě, že v mechanismu účinku inhibice gammaherpes viru (MHV-68) hraje roli přítomnost benzylových skupin. Byla tedy připravena další série benzylovaných derivátů (sloučeniny **83-98**), obsahujících aryl nebo heteroaryl v poloze C2. Vedle toho byly pro srovnání testovány také deriváty s methylendioxy můstkem připravené dříve (**54-71**). Připravené látky měly být původně testovány opět vůči MHV-68 virus. Bohužel, spolupráce s oddělením disponujícím tímto virem již nebyla z finančních důvodů možná.

Podarilo se však navázat spolupráci s jiným oddělením, kde měli k dispozici dva typy chřipkového víru A, a to kmen A/PR/8 (podtyp H1N1), který způsobuje infekci u lidí a kmen A/Chicken/Weybridge (podtyp H7N7), známý jako tzv. „ptačí chřipka“, vyskytující se u zvířat. Poměrně rozsáhlé testování trvající několik měsíců zahrnovalo stanovení viability buněk, cytotoxicity, *in vitro* testování pomocí plakové eseje a *in vivo* testování na kuřecích embryích.

Bohužel, u žádné z testovaných látek nebyl, pomocí použitých metod měření, jednoznačně prokázán antivirový efekt vůči chřipkovým virům. Je však nutné dodat, že testované sloučeniny mohou působit antivirovým efektem, ale jiným mechanismem, který by bylo nutné prokázat řadou dalších testů.

Kromě antivirových účinků byl blíže zkoumán i vliv na zdravé buňky. Pomocí fluorescenční mikroskopie bylo zjištěno, že některé syntetizované sloučeniny mají vliv na množství a distribuci tubulinu v buňkách. Navíc některé látky ovlivňují i dělení buněk.

5 Závěr

V disertační práci jsou uvedeny čtyři nové syntetické cesty vedoucí k přípravě 2-heterocyklických-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-onů. 1,3-Dipolární cykloadice, Sonogashira cross-coupling a kondenzační reakce aldehydů, vedly k přípravě cílových derivátů. CuAAC „click“ reakce byla využita např. pro syntézu chinolonů s *N*-glykosyl-triazoly, přičemž zde byla klíčová volba protektivní skupiny. Připravené sloučeniny s methylenedioxy můstekem (**13a-f**) nebylo možné převést na 3-hydroxychinolin-4(1*H*)-ony, jelikož při deprotekčním kroku docházelo přednostně k deglykosylaci. Finální sloučeniny (**16a-f**) byly připraveny hydrogenolyticky z bis-3,4-*O*-benzyl intermediátů (**15a-f**). Kromě triazolů byl pomocí CuAAC reakce připraven také jeden isoxazolový derivát (**20**) a termickou Huisgenovou 1,3-dipolární cykloadicí jeden pyrazolový derivát (**25**). Výjma využití alkynylových derivátů (**6** a **9**) jako dipolarofilů při cyklizačních reakcích, sloužily tyto intermediáty jako výchozí komponenty při Sonogashira cross-couplingu. Touto metodou bylo do polohy C2 zavedeno devět různých heterocyklů a také aromátů substituovaných elektronakceptorními a elektrondonorními funkčními skupinami. Deprotekce benzylovaných intermediátů **83-98** na cílové chinolony byla provedena dvěma různými metodami. Debenzylace s chloridem boritým ve většině případů poskytla směsi látek, proto se takto podařilo získat pouze čtyři produkty. Druhá metoda, debenzylace vodíkem, vyžadovala použití Pearlmanova katalyzátoru a nebyla kompatibilní s heterocykly, obsahující síru a selen, proto bylo získáno sedm produktů. Při deprotekci derivátů **54-71** s methylenovým můstekem pomocí MSA bylo zjištěno, že dochází k cyklizaci, a místo očekávaných 3-hydroxychinolin-

4(1*H*)-onů vznikaly furo[3,2-*b*]chinolony (**73-82**). Vyvinutá metodika byla publikována.³⁹ Poslední úspěšnou metodou syntézy 2-heterocyklických chinolonů byla kondenzace aldehydického intermediátu **8** s *o*-substituovanými aminy za vzniku benzimidazolů, benzoxazolů a jednoho zástupce benzothiazolu (**29-44**). Výhodou této metody byla jednoduchost provedení (zahřívání v anisolu) a široká aplikovatelnost na různě substituované výchozí látky. Nevýhodou byly naopak průměrné výtěžky kolem 50 % (nejvyšší 80 %) a v některých případech byly izolovány produkty ve stopovém množství (4 %). Navíc metoda nefungovala s alifatickými aminy. Deprotekce byla provedena s chloridem boritým, kdy se podařilo izolovat v dostatečné čistotě devět sloučenin (**45-53**). Tyto sloučeniny však byly tak nerozpustné, že se nepodařilo naměřit analytická data (¹³C-NMR) k jejich plné charakterizaci.

U připravených sloučenin byla provedena měření antibakteriální a antivirové aktivity. Nejzajímavější biologickou aktivitu vykazovala sloučenina **15d** obsahující v poloze C2 triazolo-xylosový zbytek. Byla aktivní vůči speciálnímu bakteriálnímu kmeni *P. larvae* IC100 = 50 µM. Navíc také vykazovala aktivitu vůči gammaherpes viru MHV-68, srovnatelnou s komerčně používanými léčivy. Současný cytotoxický efekt však snížil index selektivity (SI = 11) a látka tak nebyla vhodným kandidátem pro *in vivo* testování. Ve srovnání s tím sloučenina **16d**, která neobsahovala benzylové protektivní skupiny, žádné biologické účinky nevykazovala. Tyto výsledky byly rovněž publikovány.⁵¹ Nabízela se teorie, že by benzylové skupiny na chinolonu mohly být důležité pro biologickou aktivitu tohoto typu sloučenin. Série benzylovaných alkynyl derivátů připravených Sonogashira cross-couplingem (**83-98**) byla proto testována

jak vůči G+/- bakteriálním kmenům, tak vůči chřipkovému viru A. Žádná významná biologická aktivita však nalezena nebyla. Vedle toho byly pro srovnání testovány i zbývající deriváty s methylendioxy můstkem (**54-71**) stejně jako furo[3,2-*b*]chinolony (**73-82**), ale opět nebyla nalezena žádná zajímavá biologická aktivita. Mimo to byl u některých benzylovaných derivátů zjištěn efekt na morfologii a také dělení buněk. Konkrétně deriváty **85**, **93** a **95** způsobovaly jejich zvýšené dělení a naopak sloučenina **88** vyvolala inhibici buněčného dělení. Pro detailnější mechanismus účinku těchto látek bude nutné provést další experimenty.

Během experimentální práce bylo připraveno celkem 138 nových sloučenin, z nichž 41 byly 2-(hetero)aryl-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-ony. Mimo to jsem se aktivně podílela i na poměrně rozsáhlém antivirovém testování.

6 Reference

- (1) Hradil, P.; Jirman, J. *Collect. Czechoslov. Chem. Commun.* **1995**, *60* (8), 1357.
- (2) Daneshtalab, M.; Ahmed, A. *J. Pharm. Pharm. Sci.* **2011**, *15* (1), 52.
- (3) Dhiman, P.; Arora, N.; Thanikachalam, P. V.; Monga, V. *Bioorg. Chem.* **2019**, *92*, 103291.
- (4) Motyka, K.; Hlaváč, J.; Soural, M.; Funk, P. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51* (38), 5060.
- (5) Motyka, K.; Hlaváč, J.; Soural, M.; Hradil, P.; Krejčí, P.; Kvapil, L.; Weiss, M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52* (6), 715.
- (6) Motyka, K.; Vaňková, B.; Hlaváč, J.; Soural, M.; Funk, P. *J. Fluoresc.* **2011**, *21* (6), 2207.
- (7) Porubský, M.; Gurská, S.; Stanková, J.; Hajdúch, M.; Džubák, P.; Hlaváč, J. *RSC Adv.* **2019**, *9* (43), 25075.
- (8) Spáčilová, L.; Hlaváč, J.; Hradil, P.; Fryšová, I.; Maloň, M.; Soural, M.; Krejčí, P. *J. Heterocycl. Chem.* **2006**, *43* (4), 1065.
- (9) Hradil, P.; Hlaváč, J.; Lemr, K. *J. Heterocycl. Chem.* **1999**, *36* (1), 141.
- (10) Soural, M.; Krchňák, V. *J. Comb. Chem.* **2007**, *9* (5), 793.
- (11) Soural, M.; Hlaváč, J.; Hradil, P.; Fryšová, I.; Hajdúch, M.; Bertolasi, V.; Maloň, M. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41* (4), 467.
- (12) Sword, I. P. *J. Chem. Soc. C* **1971**, 820.
- (13) Mamedov, V. A.; Mamedova, V. L.; Khikmatova, G. Z.; Mahrous, E. M.; Korshin, D. E.; Syakaev, V. V; Fayzullin, R. R.; Mironova, E. V; Latypov, S. K.; Sinyashin, O. G. *Russ. Chem. Bull.* **2019**, *68*

- (5), 1020.
- (14) Su, H.; Bao, M.; Pei, C.; Hu, W.; Qiu, L.; Xu, X. *Org. Chem. Front.* **2019**, *6* (14), 2404.
- (15) Hodgkinson, J. T.; Galloway, W. R. J. D.; Saraf, S.; Baxendale, I. R.; Ley, S. V; Ladlow, M.; Welch, M.; Spring, D. R. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9* (1), 57.
- (16) Kvapil, L. Syntéza vybraných heterocyklických analogů 2-substituovaných-3-hydroxychinolin-4(1H)-onů, Disertační práce, Univerzita Palackého Olomouc, 2006.
- (17) Horák, R.; Kořistek, K.; Šamšulová, V.; Slaninová, L.; Grepl, M.; Kvapil, L.; Funk, P.; Hradil, P.; Soural, M. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, *57* (4), 1605.
- (18) Yamaguchi, S.; Tsuzuki, K.; Sannomiya, Y.; Oh-Hira, Y.; Kawase, Y. *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26* (2), 285.
- (19) Bierer, D. E.; Dubenko, L. G.; Zhang, P.; Lu, Q.; Imbach, P. A.; Garofalo, A. W.; Phuan, P. W.; Fort, D. M.; Litvak, J.; Gerber, R. E.; Sloan, B.; Luo, J.; Cooper, R.; Reaven, G. M. *J. Med. Chem.* **1998**, *41* (15), 2754.
- (20) Lu, Y. J.; Sun, N.; Huang, Z. S.; Gu, L. Q. *Chin. Chem. Lett.* **2008**, *19* (5), 518.
- (21) Zhao, M.; Kamada, T.; Takeuchi, A.; Nishioka, H.; Kuroda, T.; Takeuchi, Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (23), 5551.
- (22) Gilbert, J. C.; Weerasooriya, U. *J. Org. Chem.* **1982**, *47* (10), 1837.
- (23) Müller, S.; Liepold, B.; Roth, G. J.; Bestmann, H. J. *Synlett* **1996**, *1996* (6), 521.
- (24) Šamšulová, V.; Poláková, M.; Horák, R.; Šedivá, M.; Kvapil, L.;

- Hradil, P. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1177* (5), 16.
- (25) Poláková, M.; Horák, R.; Šesták, S.; Holková, I. *Carbohydr. Res.* **2016**, *428* (16), 62.
- (26) Du, L. H.; Wang, Y. G. *Synthesis (Stuttg.)*. **2007**, *2007* (5), 675.
- (27) Hu, Z.; Zhao, T.; Wang, M.; Wu, J.; Yu, W.; Chang, J. *J. Org. Chem.* **2017**, *82* (6), 3152.
- (28) Chang, J.; Zhao, K.; Pan, S. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43* (6), 951.
- (29) Chen, G. F.; Shen, H. D.; Zhang, L. Y.; Li, H. Y.; Lan, R. J.; Chen, B. H.; Li, J. T.; Hu, Q. H. *Lett. Org. Chem.* **2014**, *11* (3), 180.
- (30) Cao, K.; Tu, Y.; Zhang, F. *Sci. China Chem.* **2010**, *53* (1), 130.
- (31) Chen, Y. X.; Qian, L. F.; Zhang, W.; Han, B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47* (48), 9330.
- (32) Singhal, N.; Johar, M.; Lown, J. W.; Sondhi, S. M. *Phosphorus. Sulfur. Silicon Relat. Elem.* **2001**, *174* (1), 81.
- (33) Kim, S. J.; Kool, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128* (18), 6164.
- (34) Bala, M.; Verma, P. K.; Sharma, D.; Kumar, N.; Singh, B. *Mol. Divers.* **2015**, *19* (2), 263.
- (35) Alder, C. M.; Hayler, J. D.; Henderson, R. K.; Redman, A. M.; Shukla, L.; Shuster, L. E.; Sneddon, H. F. *Green Chem.* **2016**, *18* (13), 3879.
- (36) Brooks, P. R.; Wirtz, M. C.; Vetelino, M. G.; Rescek, D. M.; Woodworth, G. F.; Morgan, B. P.; Coe, J. W. *J. Org. Chem.* **1999**, *64* (26), 9719.
- (37) Shimomura, H.; Katsume, J.; Matsui, M. *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42* (1), 131.
- (38) Gras, J. L.; Pellissier, H.; Nouguier, R. *J. Org. Chem.* **1989**, *54* (24),

5675.

- (39) Králová, V.; Soural, M.; Horák, R.; Hradil, P. *Synlett* **2020**, v tisku.
- (40) Mills, S. J.; Vandeput, F.; Trusselle, M. N.; Safrany, S. T.; Erneux, C.; Potter, B. V. L. *ChemBioChem* **2008**, 9 (11), 1757.
- (41) Suh, B.; Lorber, B. *Med. Clin. North Am.* **1995**, 79 (4), 869.
- (42) Adamska-Szewczyk, A.; Glowniak, K.; Baj, T. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.* **2016**, 29 (1), 33.
- (43) Sun, N.; Du, R. L.; Zheng, Y. Y.; Huang, B. H.; Guo, Q.; Zhang, R. F.; Wong, K. Y.; Lu, Y. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, 135, 1.
- (44) Paulpandi, M.; Ramar, T.; Kavithaa, K.; Sumathi, S.; Sankaran, M.; Mohan, P.; Gunasekaran, P.; Kannan, S. *J. Pharm. Res.* **2013**, 6 (5), 532.
- (45) Bottini, A.; De, S. K.; Baaten, B. J. G.; Wu, B.; Barile, E.; Soonthornvacharin, S.; Stebbins, J. L.; Bradley, L. M.; Chanda, S. K.; Pellecchia, M. *ChemMedChem* **2012**, 7 (12), 2227.
- (46) Hsu, J. T. A.; Yeh, J. Y.; Lin, T. J.; Li, M.; Wu, M. S.; Hsieh, C. F.; Chou, Y. C.; Tang, W. F.; Lau, K. S.; Hung, H. C.; Fang, M. Y.; Ko, S.; Hsieh, H. P.; Horng, J. T. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, 56 (2), 647.
- (47) Yeh, J. Y.; Coumar, M. S.; Shiao, H. Y.; Lin, T. J.; Lee, Y. C.; Hung, H. C.; Ko, S.; Kuo, F. M.; Fang, M. Y.; Huang, Y. L.; Hsu, J. T. A.; Yeh, T. K.; Shih, S. R.; Chao, Y. S.; Horng, J. T.; Hsieh, H. P. *ChemMedChem* **2012**, 7 (9), 1546.
- (48) Das, P.; Deng, X.; Zhang, L.; Roth, M. G.; Fontoura, B. M. A.; Phillips, M. A.; De Brabander, J. K. *ACS Med. Chem. Lett.* **2013**, 4 (6), 517.

- (49) Fang, Y.; Xiao, M.; Hu, A.; Ye, J.; Lian, W.; Liu, A. *Chin. J. Chem.* **2016**, *34* (4), 403.
- (50) Kos, J.; Ku, C. F.; Kapustikova, I.; Oravec, M.; Zhang, H. J.; Jampilek, J. *ChemistrySelect* **2019**, *4* (15), 4582.
- (51) Briestenská, K.; Šamšulová, V.; Poláková, M.; Mistriková, J. *ACTA Virol.* **2019**, *63* (4), 439.

Přehled publikací týkajících se disertační práce

Šamšulová, V.; Poláková, M.; Horák, R.; Šedivá, M.; Kvapil, L.; Hradil, P.
J. Mol. Struct. **2019**, 1177 (5), 16.

Briestenská, K.; Šamšulová, V.; Poláková, M.; Mistriková, J. *ACTA Virol.*
2019, 63 (4), 439.

Horák, R.; Kořistek, K.; Šamšulová, V.; Slaninová, L.; Grepl, M.; Kvapil, L.; Funk, P.; Hradil, P.; Soural, M. *J. Heterocycl. Chem.* **2020**, 57 (4), 1605.

Králová, V.; Soural, M.; Horák, R.; Hradil, P. *Synlett* **2020**, v tisku.

Další publikace

Šamšulová, V.; Stýskala, J.; Cankař, P.; Hradil, P.: Způsob přípravy derivátu 4(1H)-chinolonu (*Univerzita Palackého Olomouc; CS*) PV 2019-416; 2019

Šamšulová, V.; Stýskala, J.; Cankař, P.; Hradil, P.: Způsob přípravy derivátu 4(1H)-chinolonu (*Univerzita Palackého Olomouc; CS*) PV 2019-582; 2019

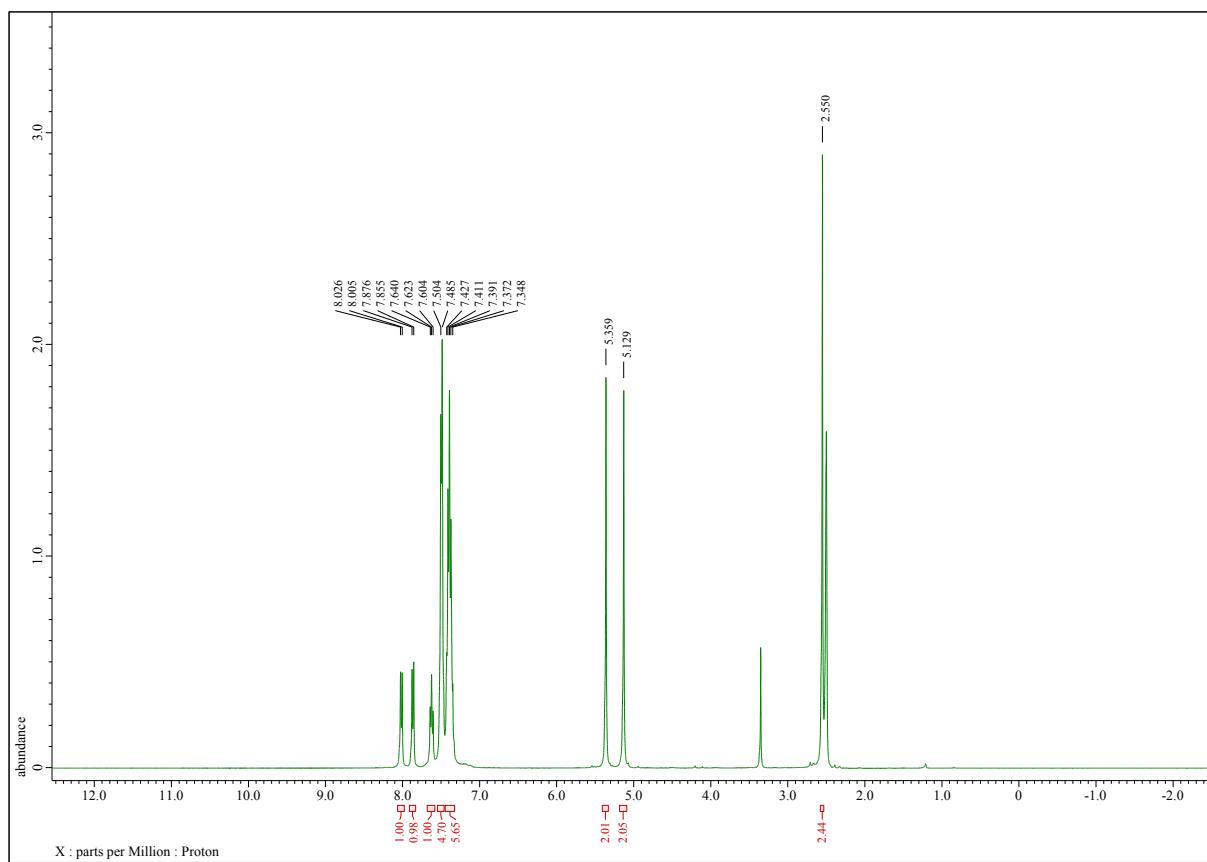
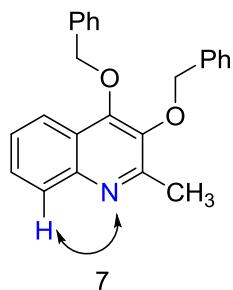
Příspěvky na konferencích

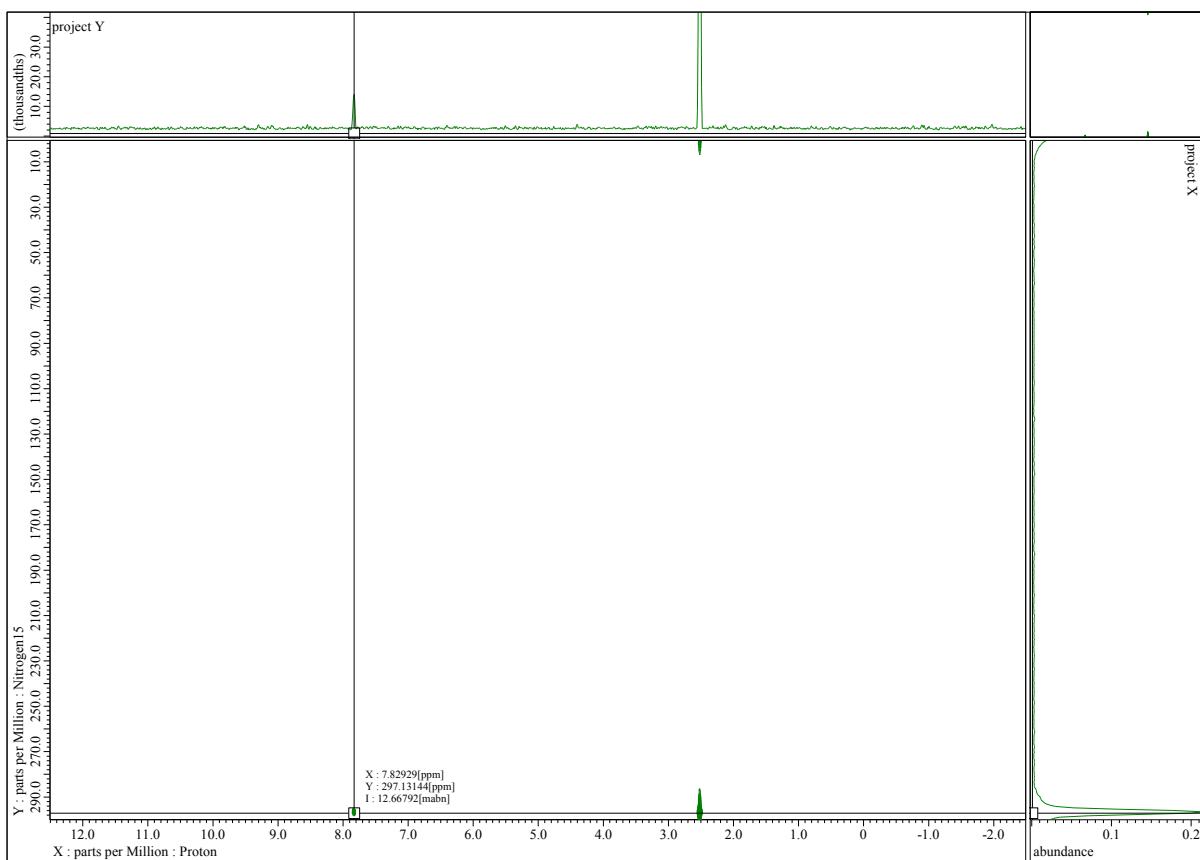
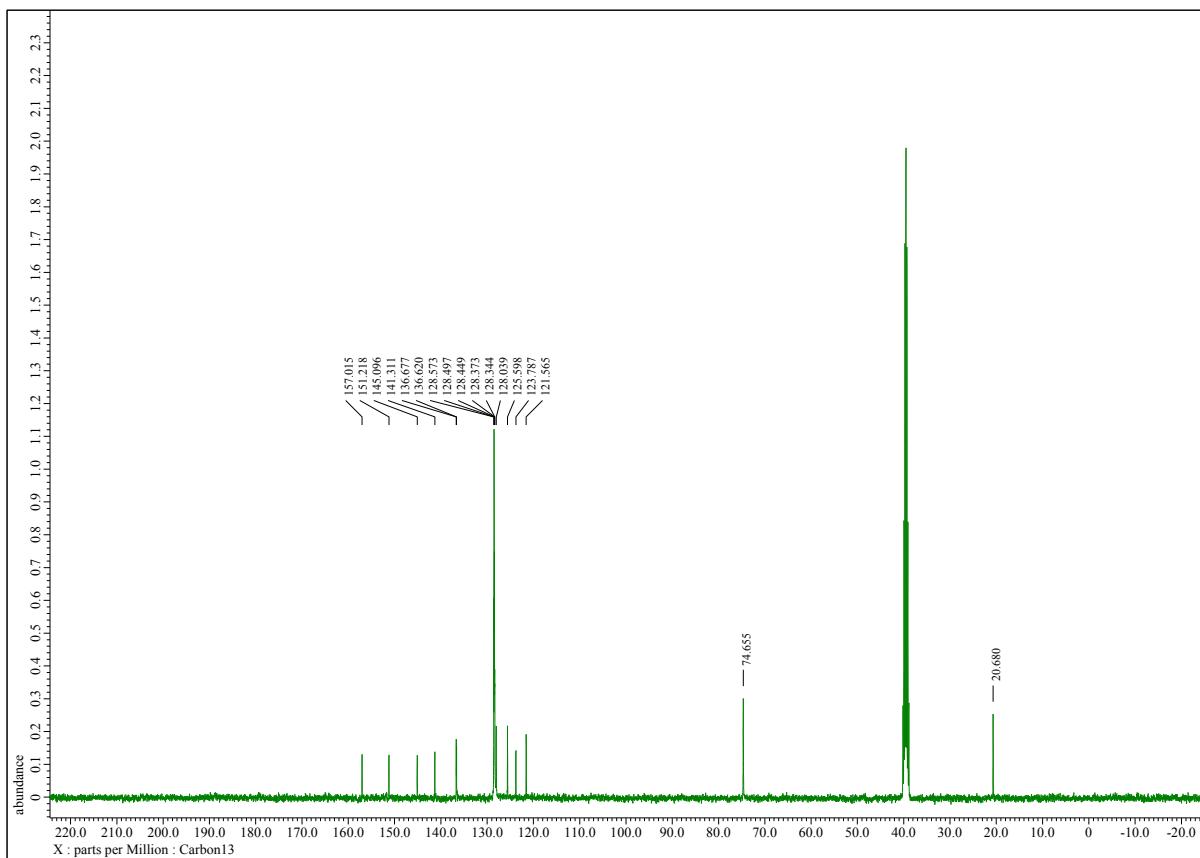
53 konference: Pokroky v Organické, bioorganické a farmaceutické chemii – „Liblice 2018“, Lázně Bělohrad, Česká Republika, **2018** (*poster*).

54 konference: Pokroky v Organické, bioorganické a farmaceutické chemii – „Liblice 2019“, Špindlerův Mlýn, Česká Republika, **2019** (*poster*).

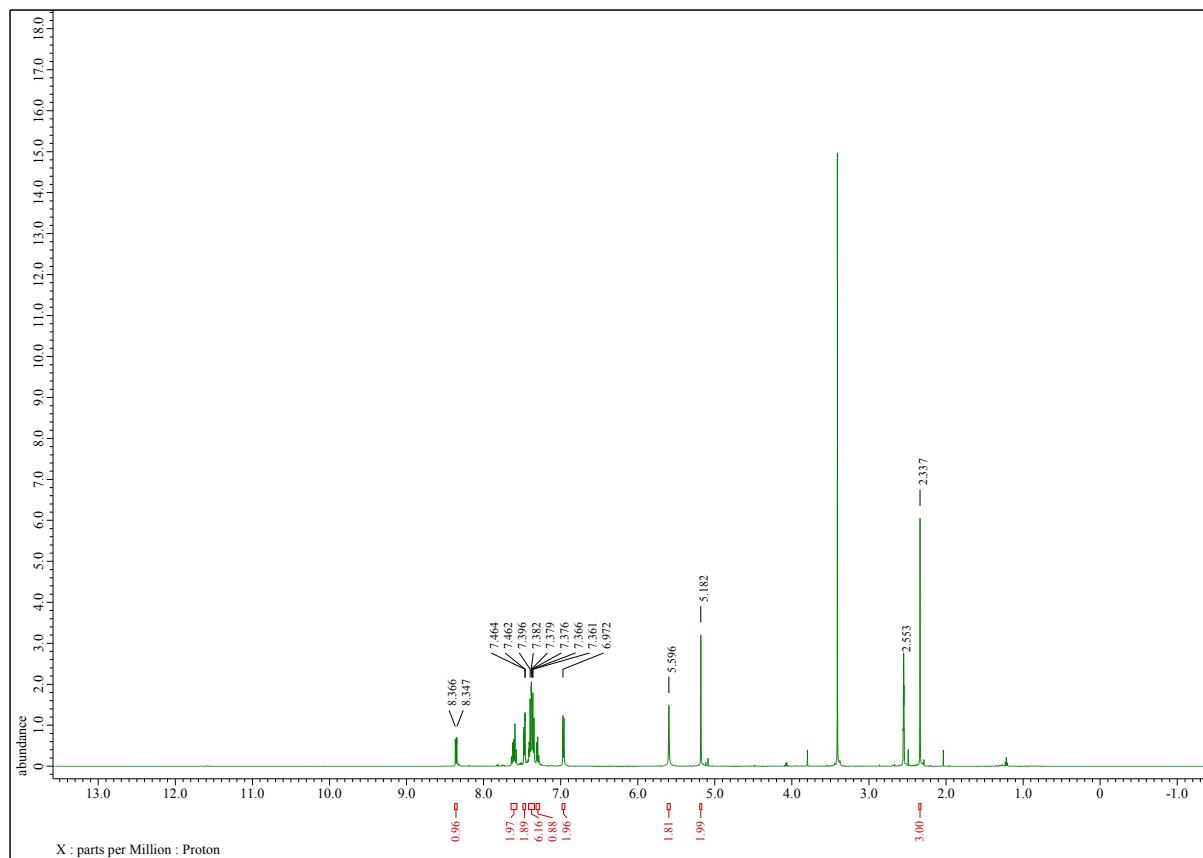
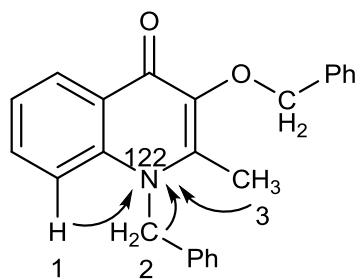
NMR spektra

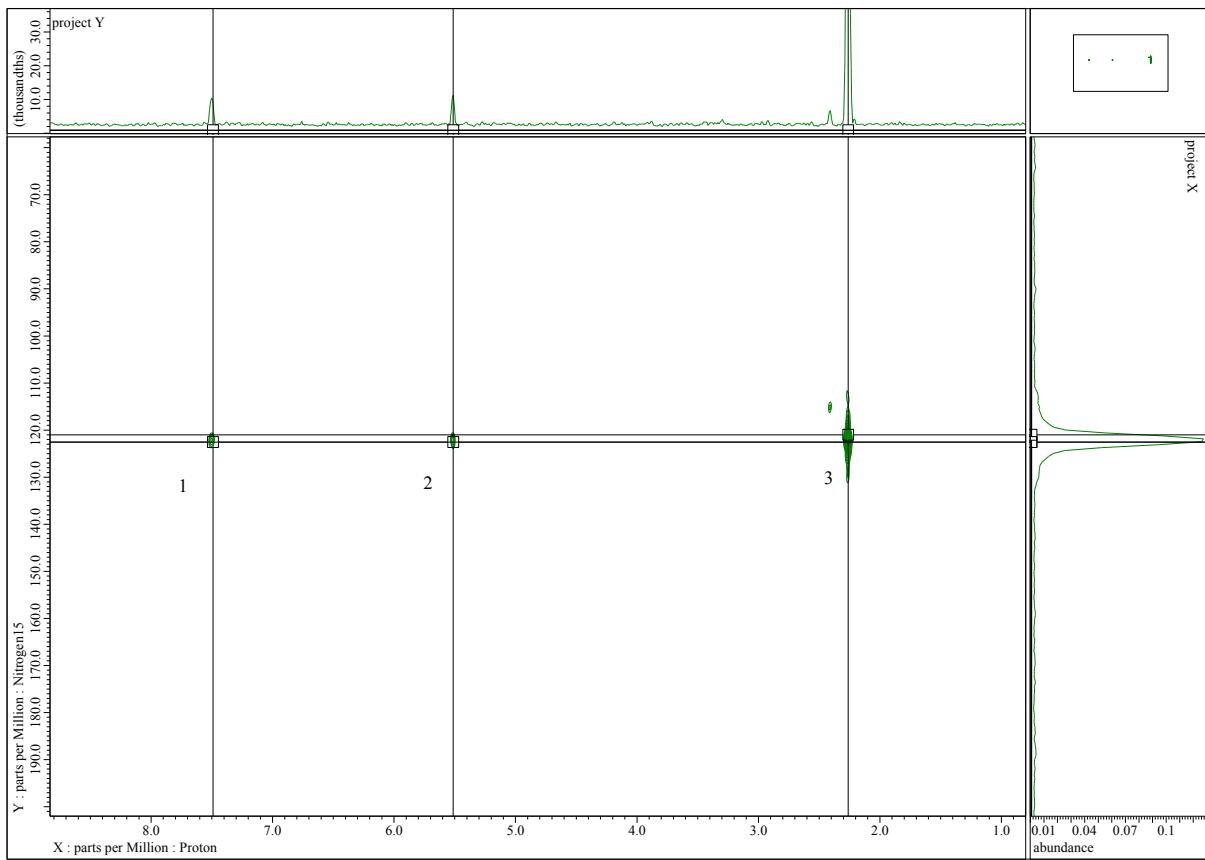
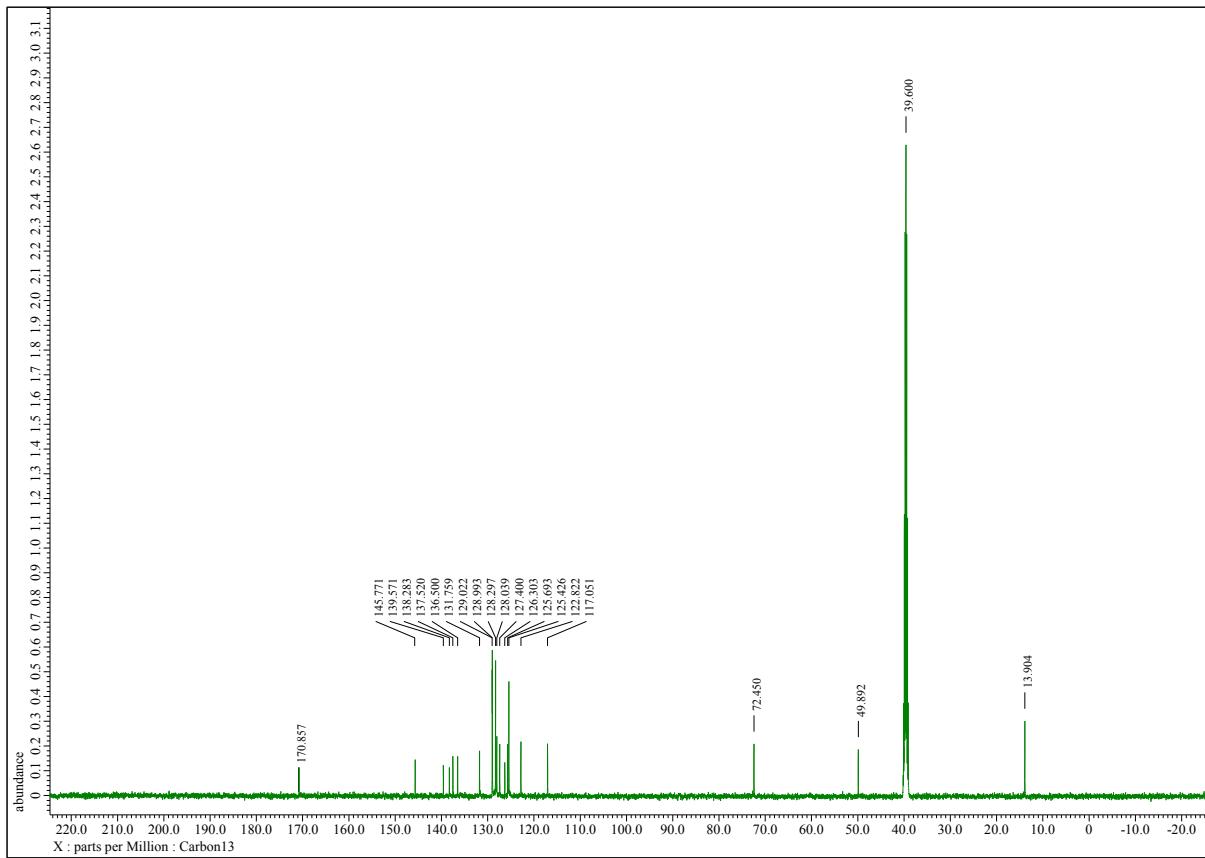
3,4-Bis(benzyloxy)-2-methylchinolin (7).



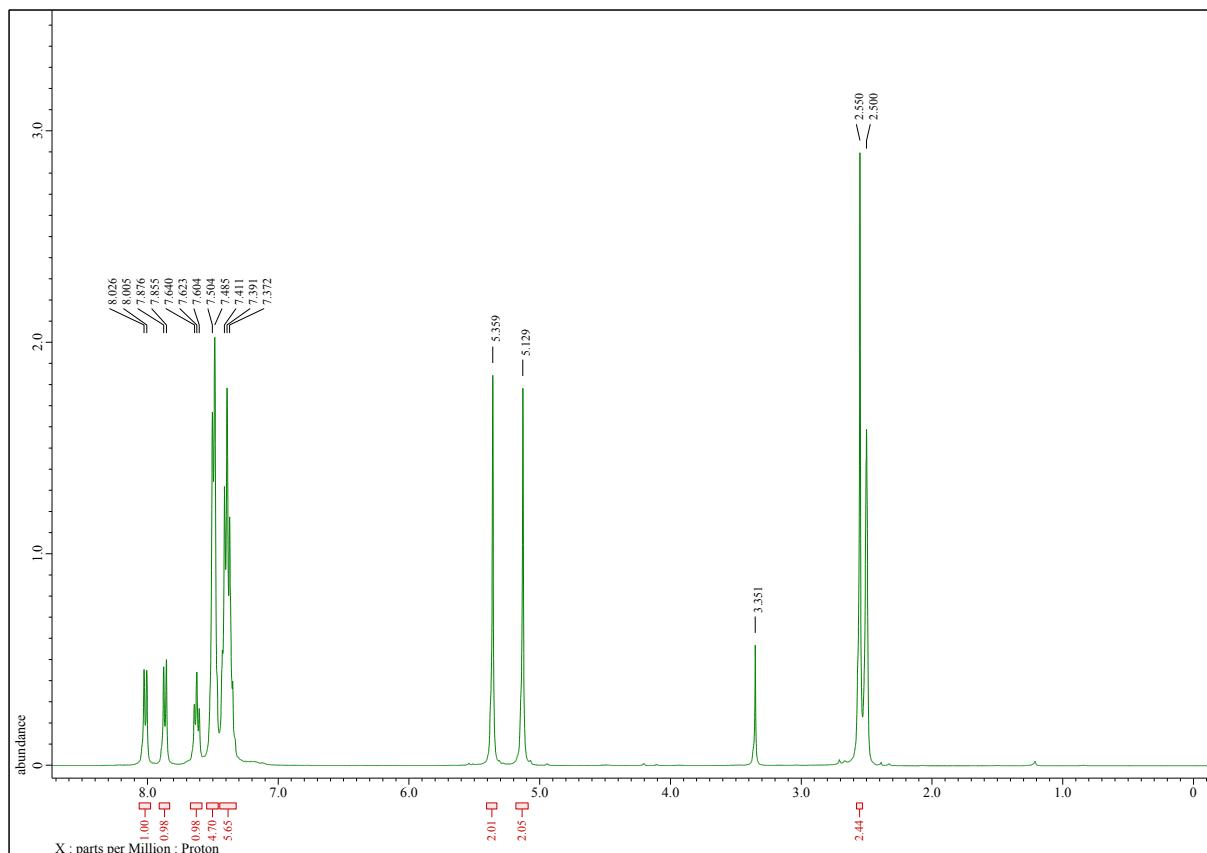
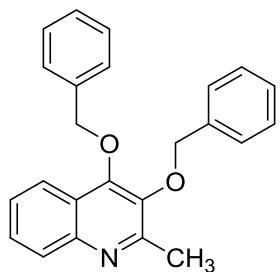


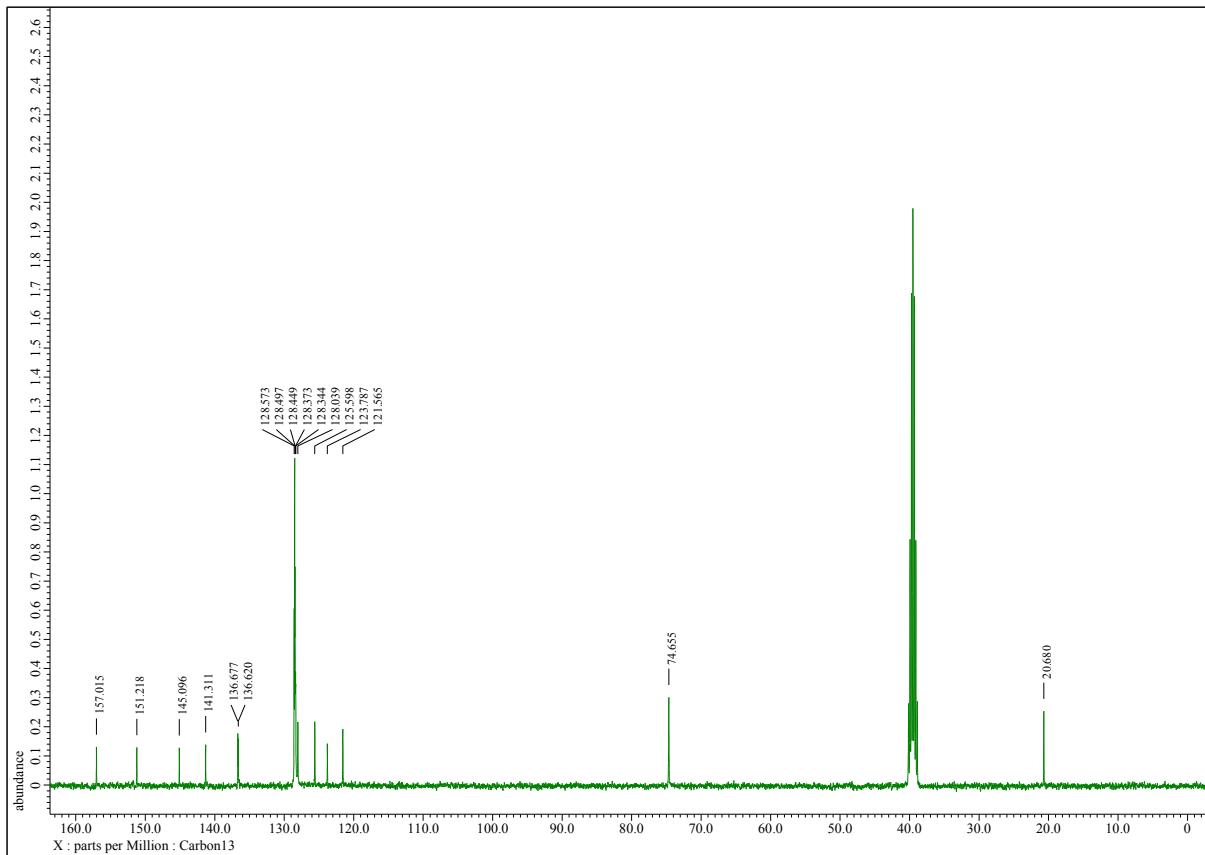
1-Benzyl-3-(benzyloxy)-2-methylchinolin-4(1H)-on (7A).



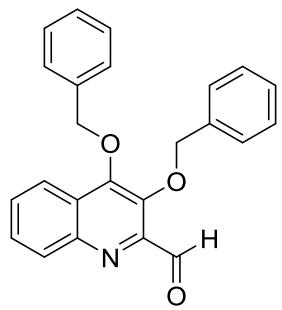


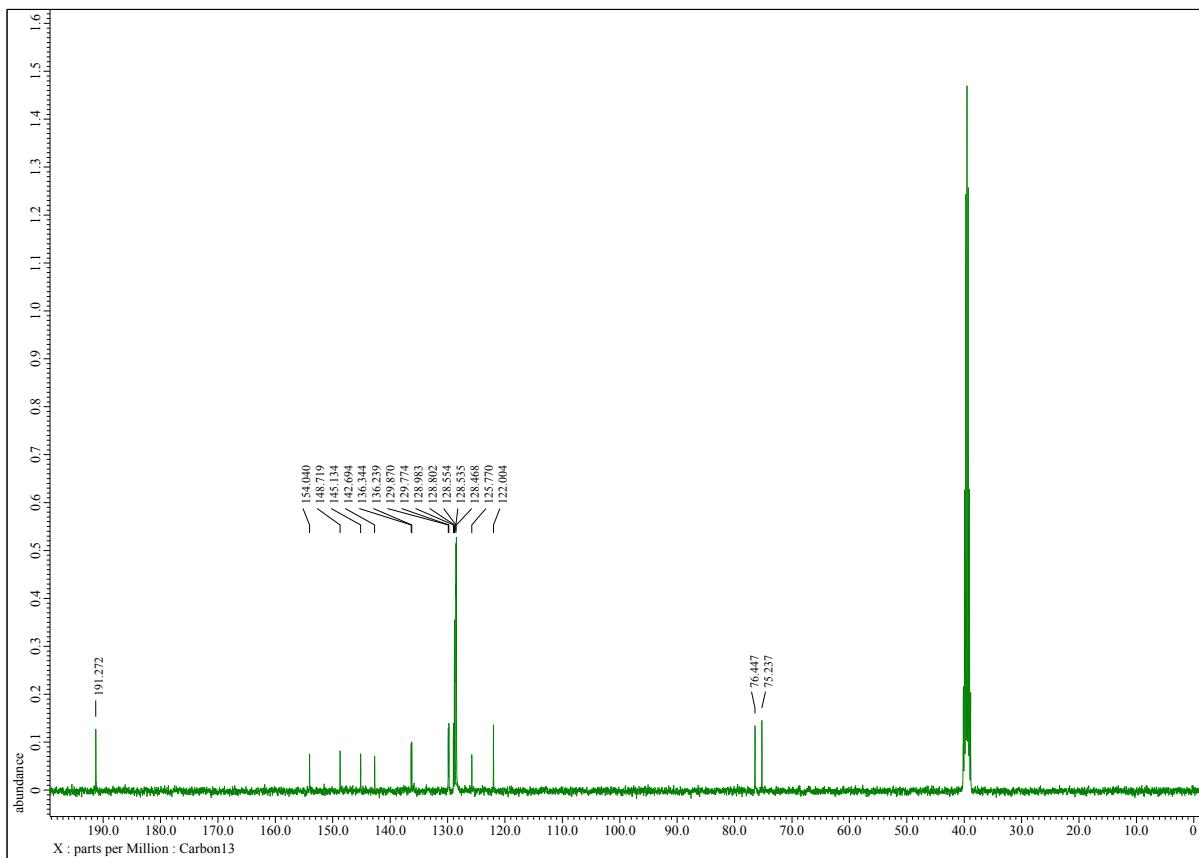
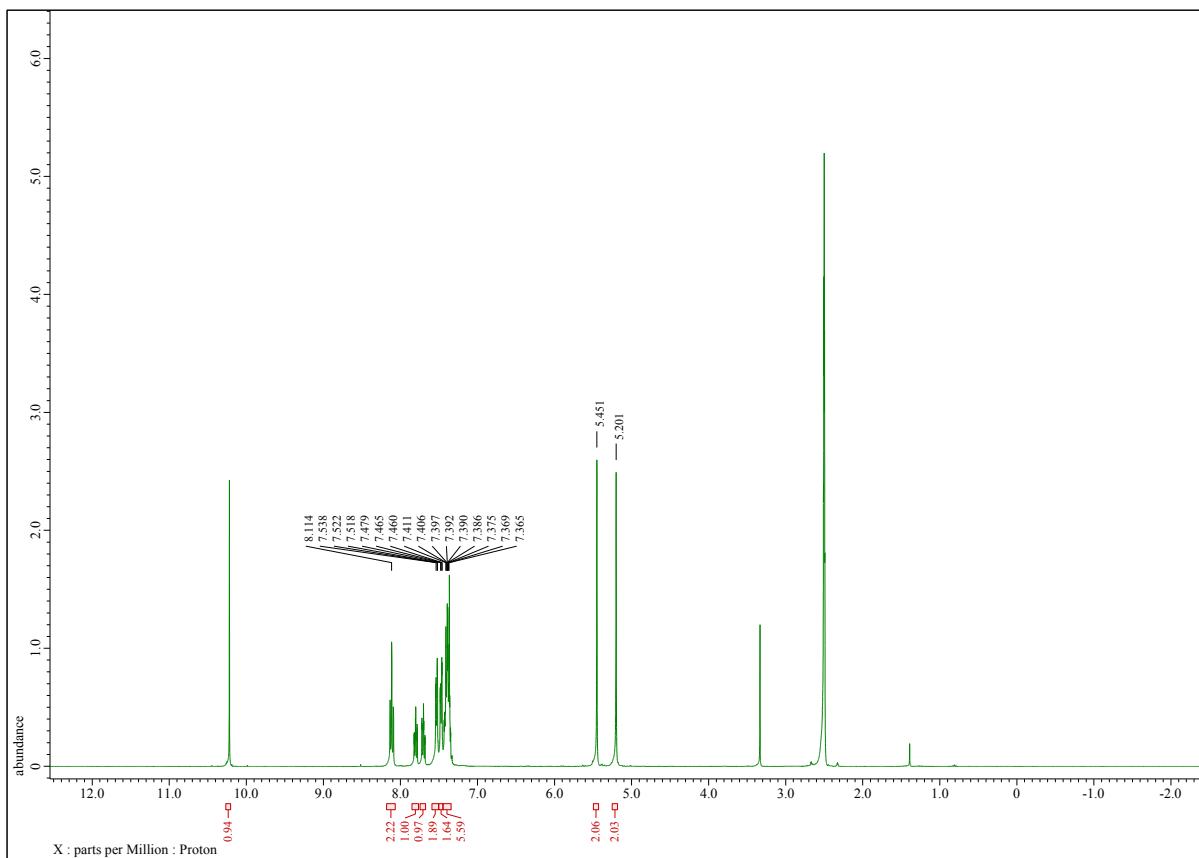
3,4-Bis(benzyloxy)-2-methylchinolin (7).



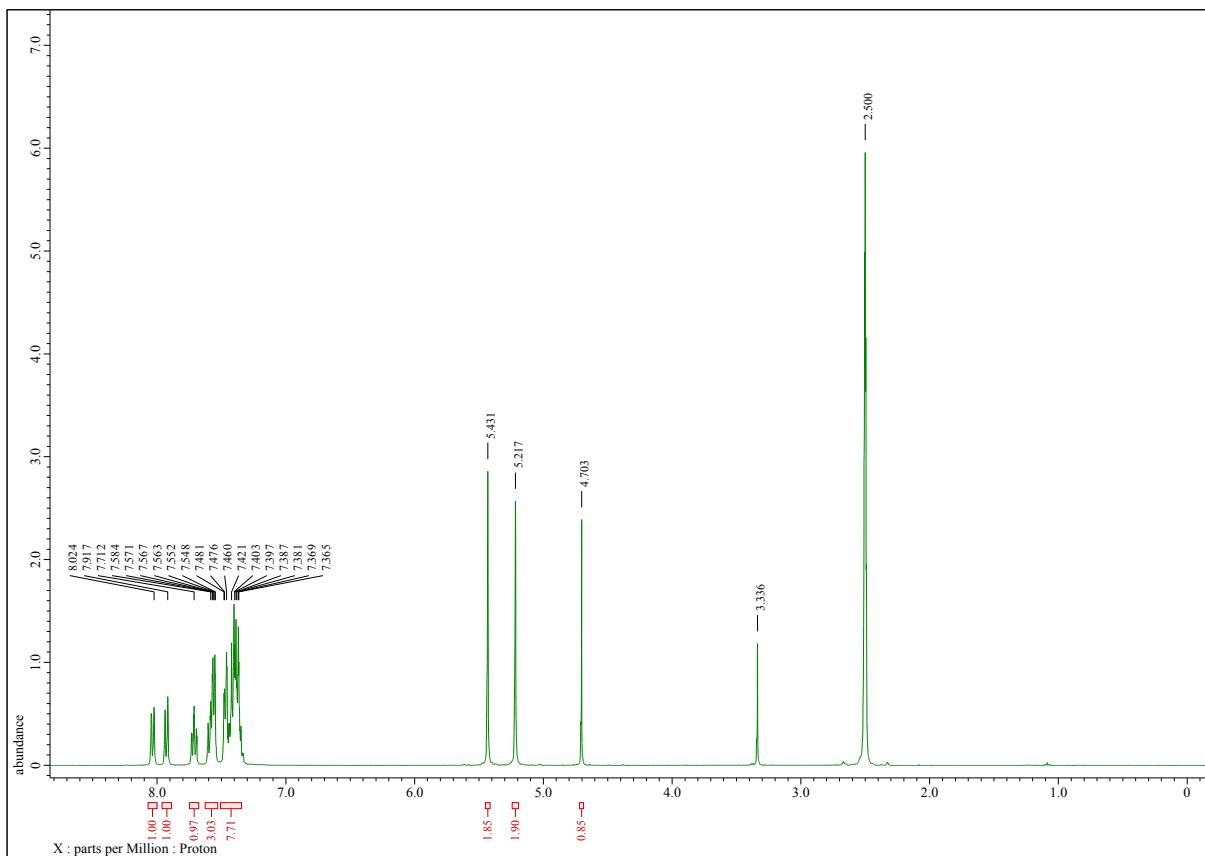
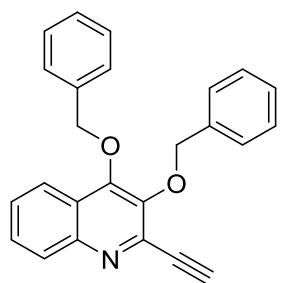


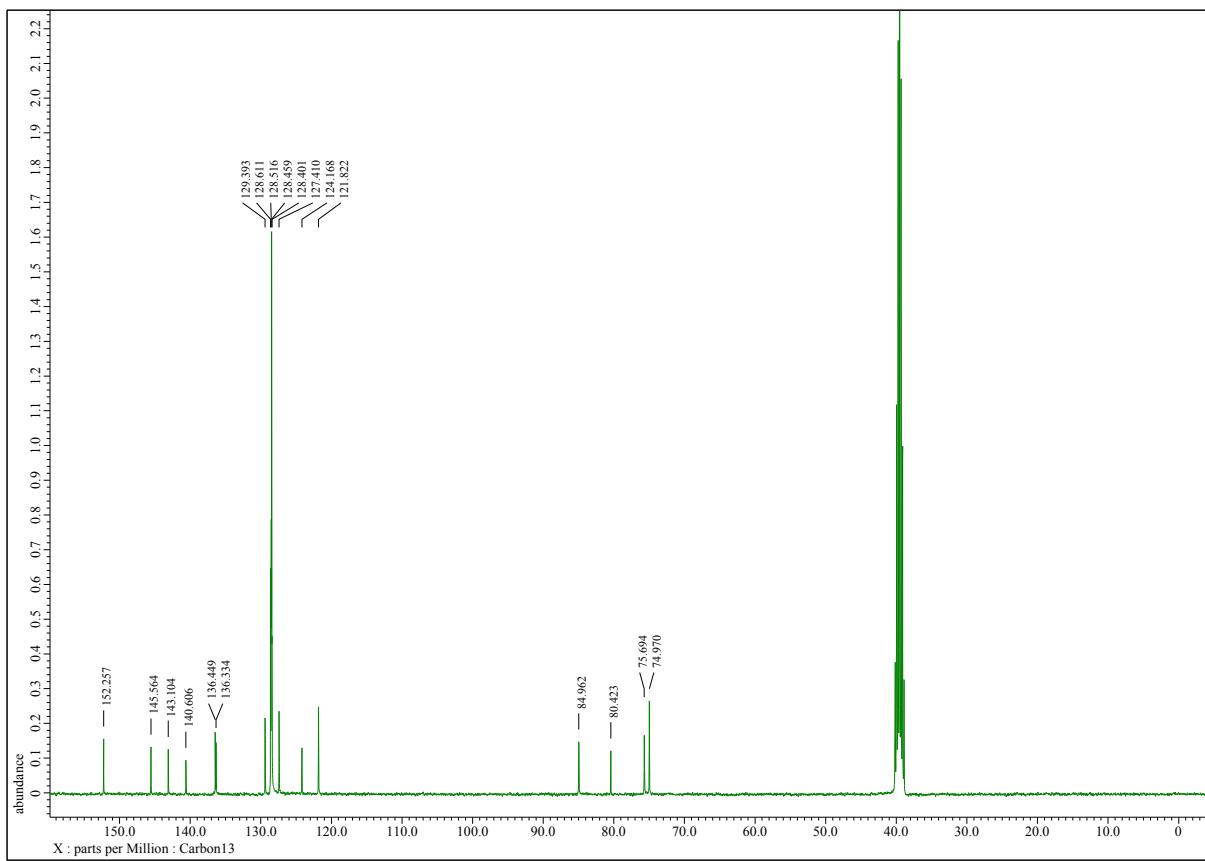
3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-karbaldehyd (8).



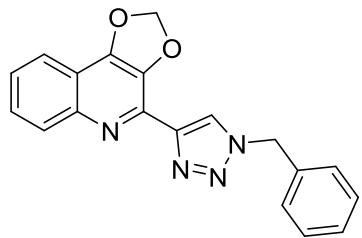


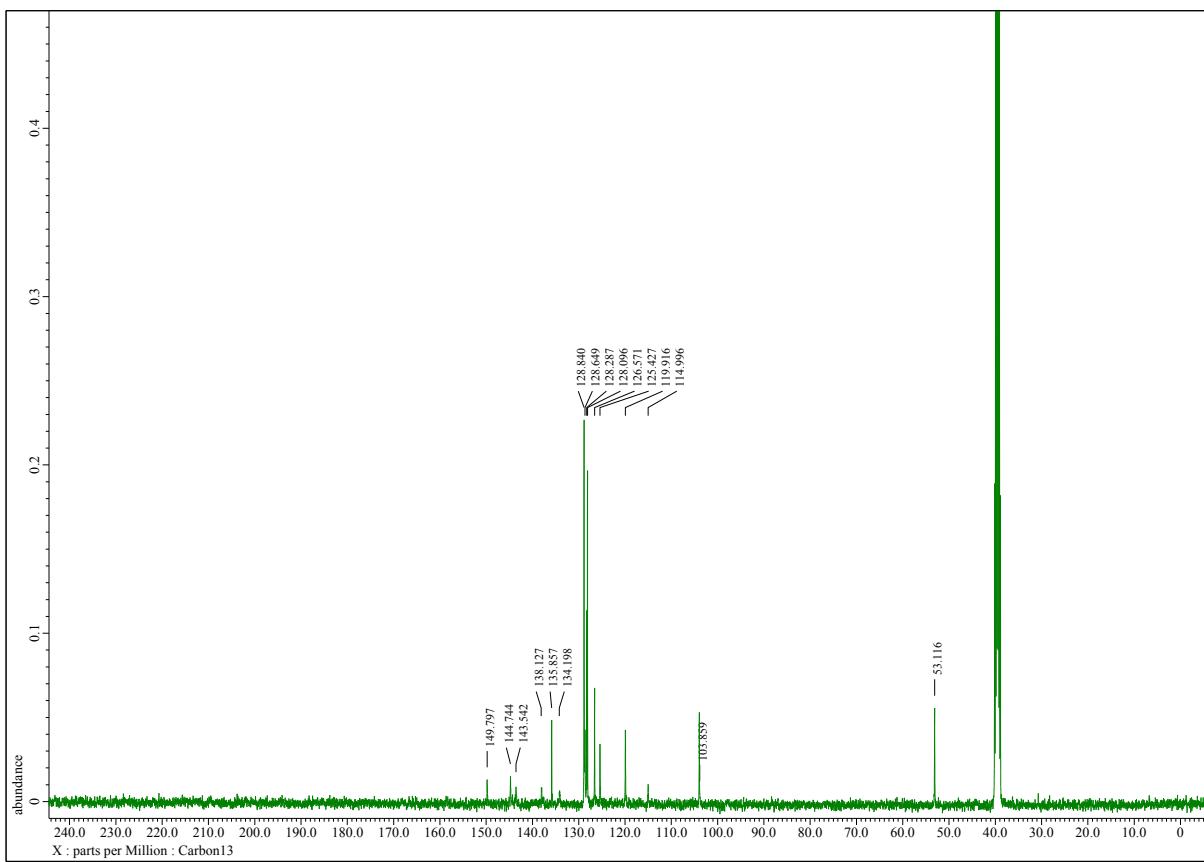
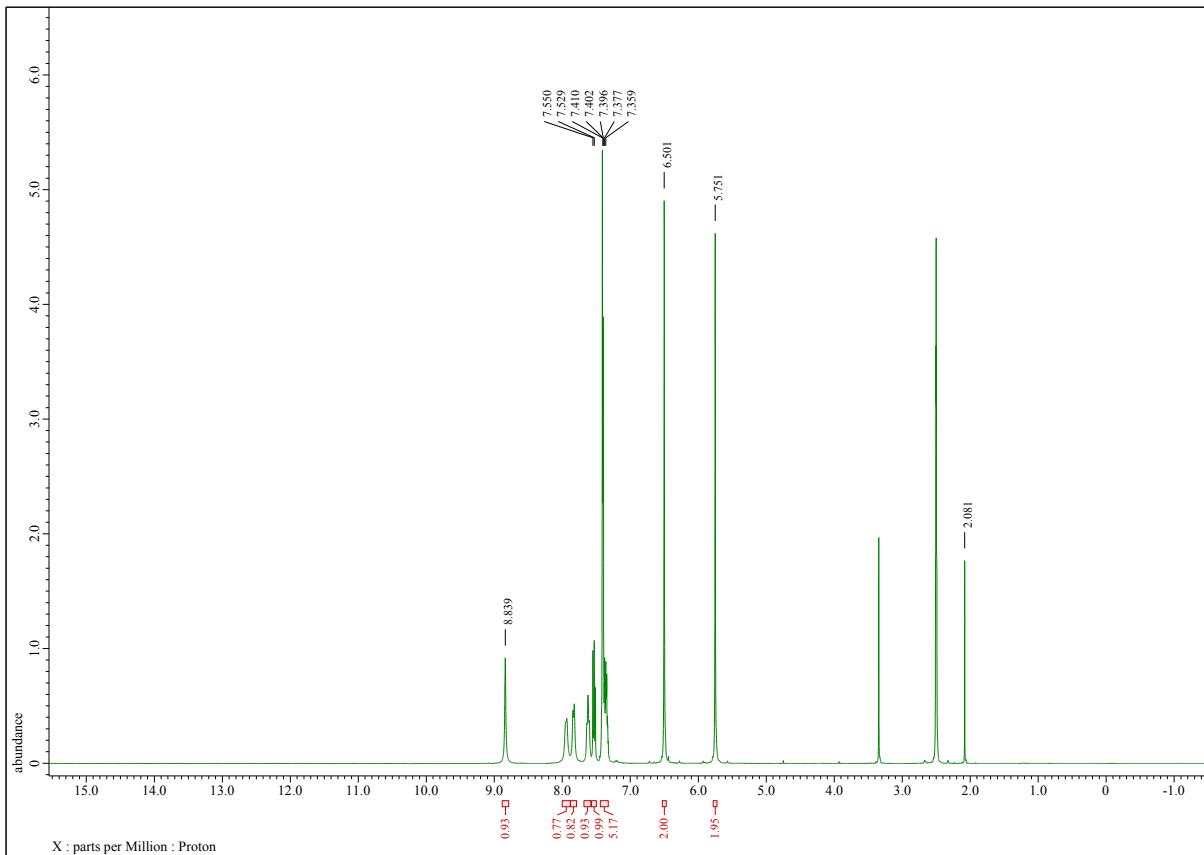
3,4-Bis(benzyloxy)-2-ethynylchinolin (9).



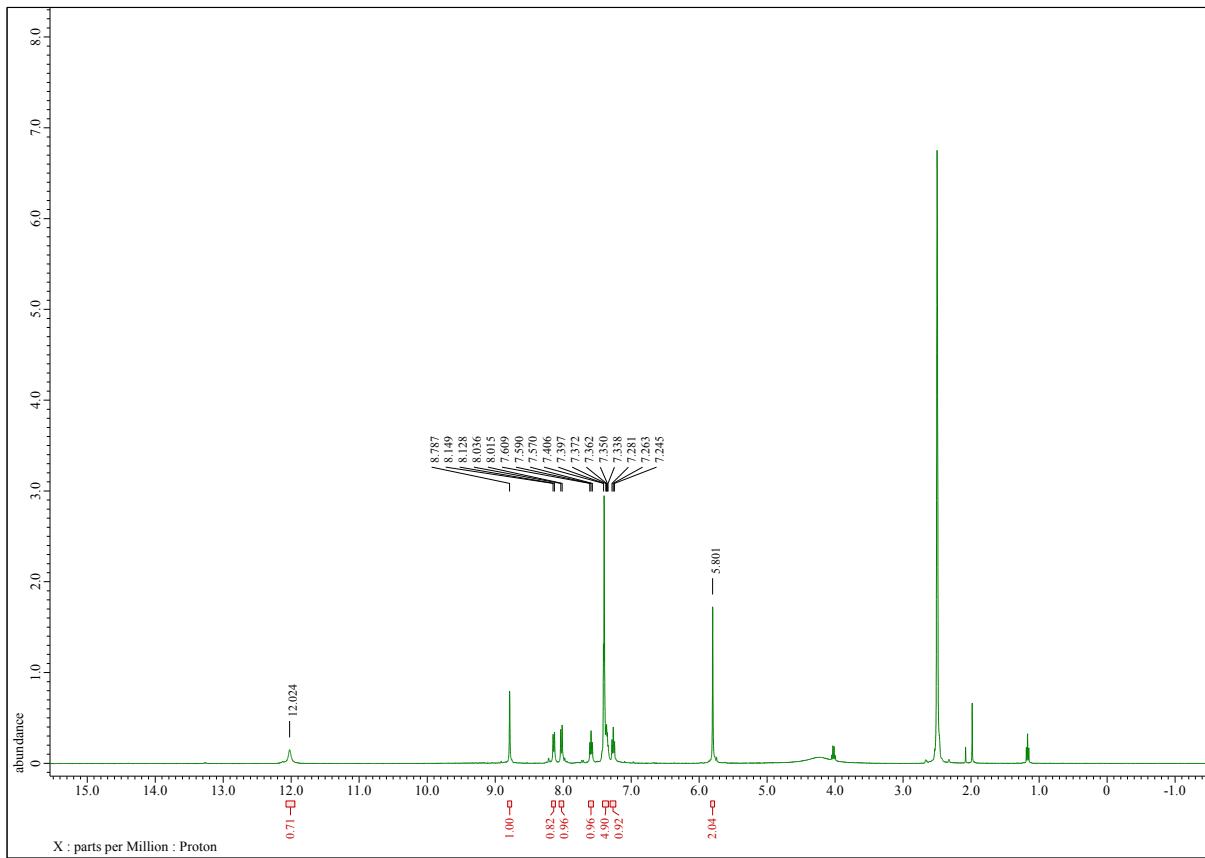
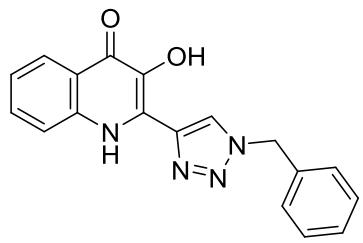


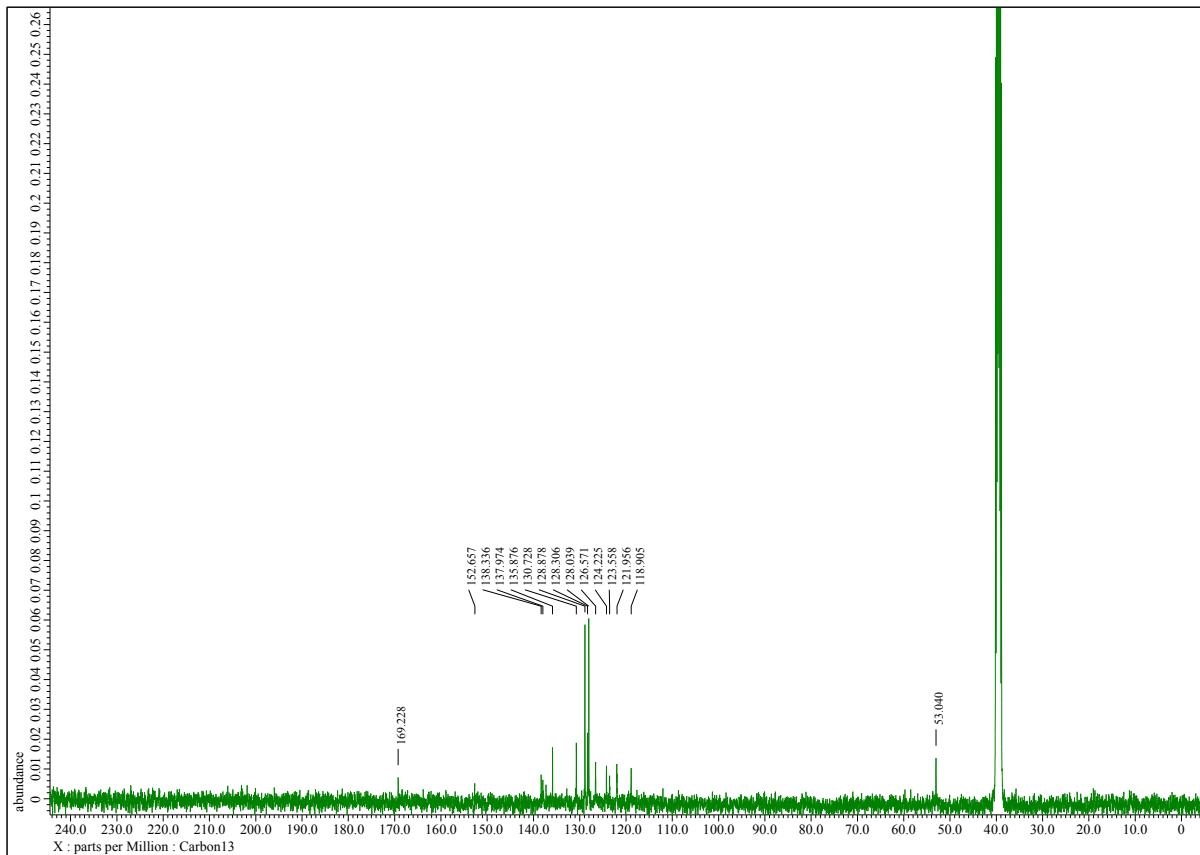
4-(1-Benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (10).



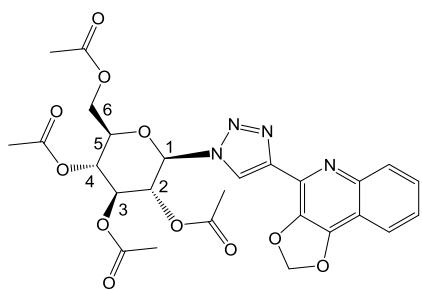


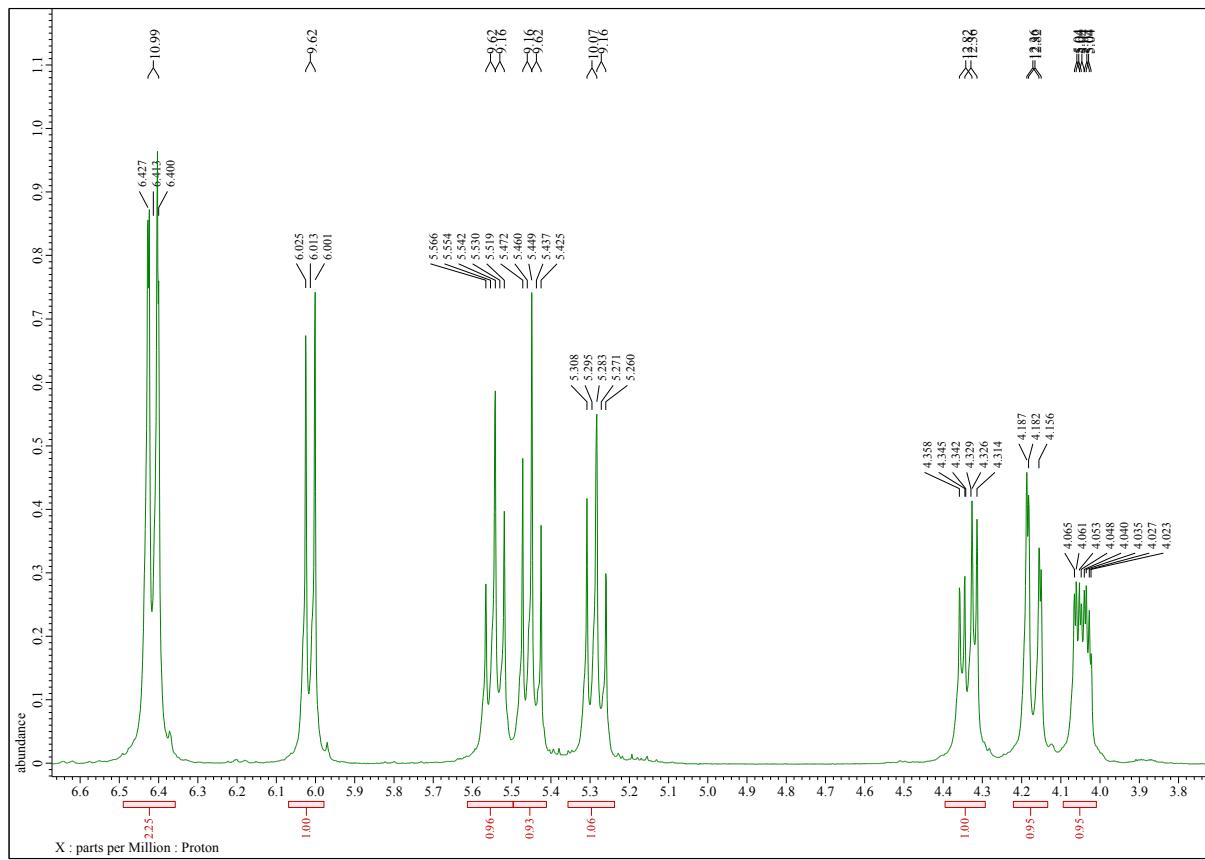
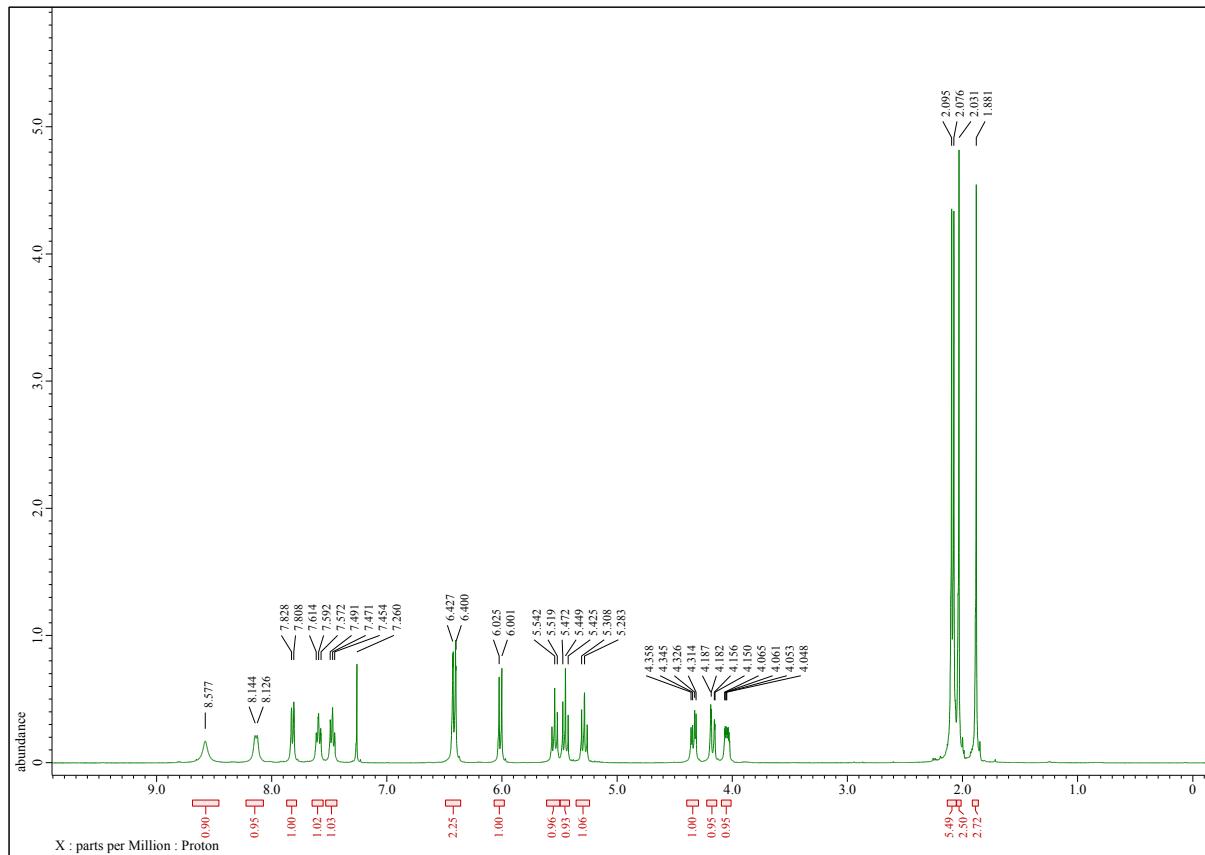
2-(1-Benzyl-1*H*-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4(*H*)-on (11).

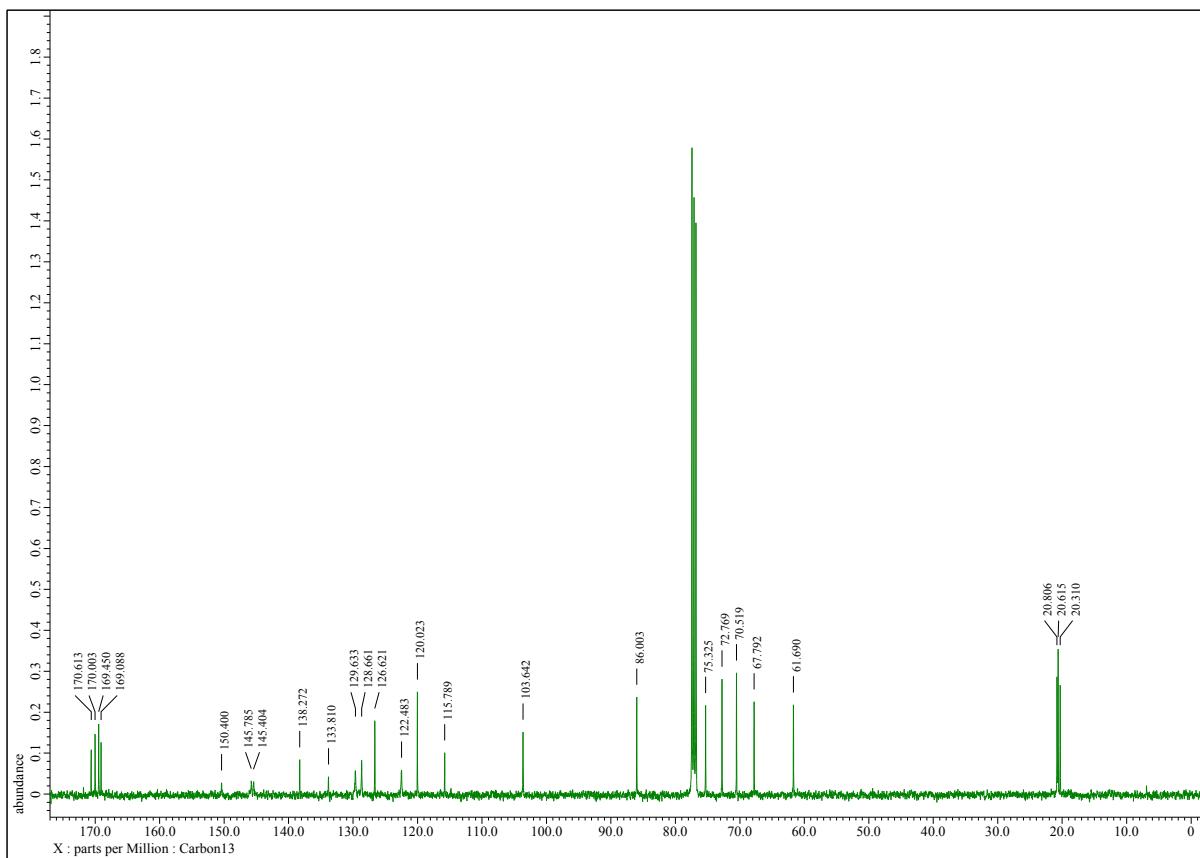




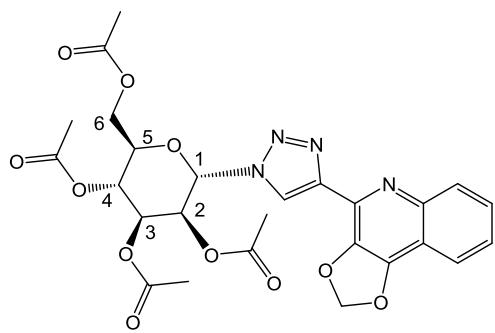
2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12a).

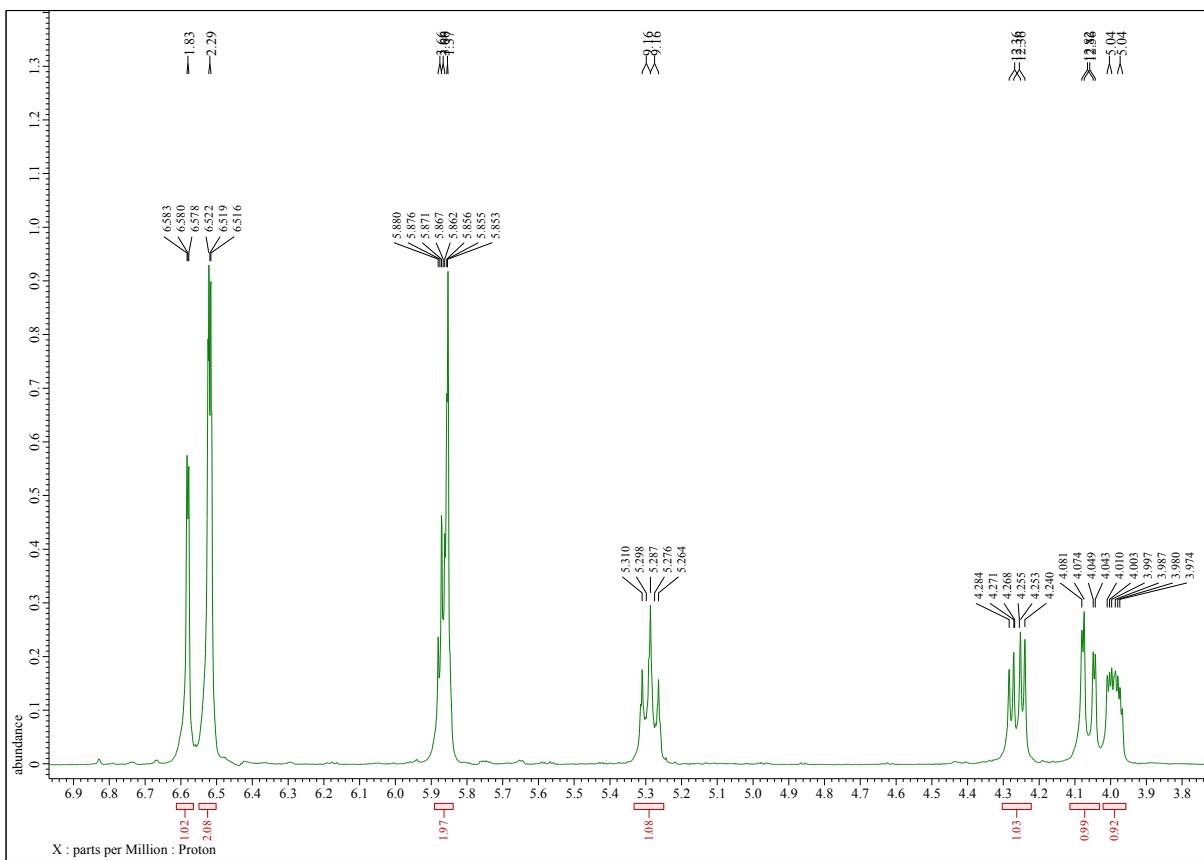
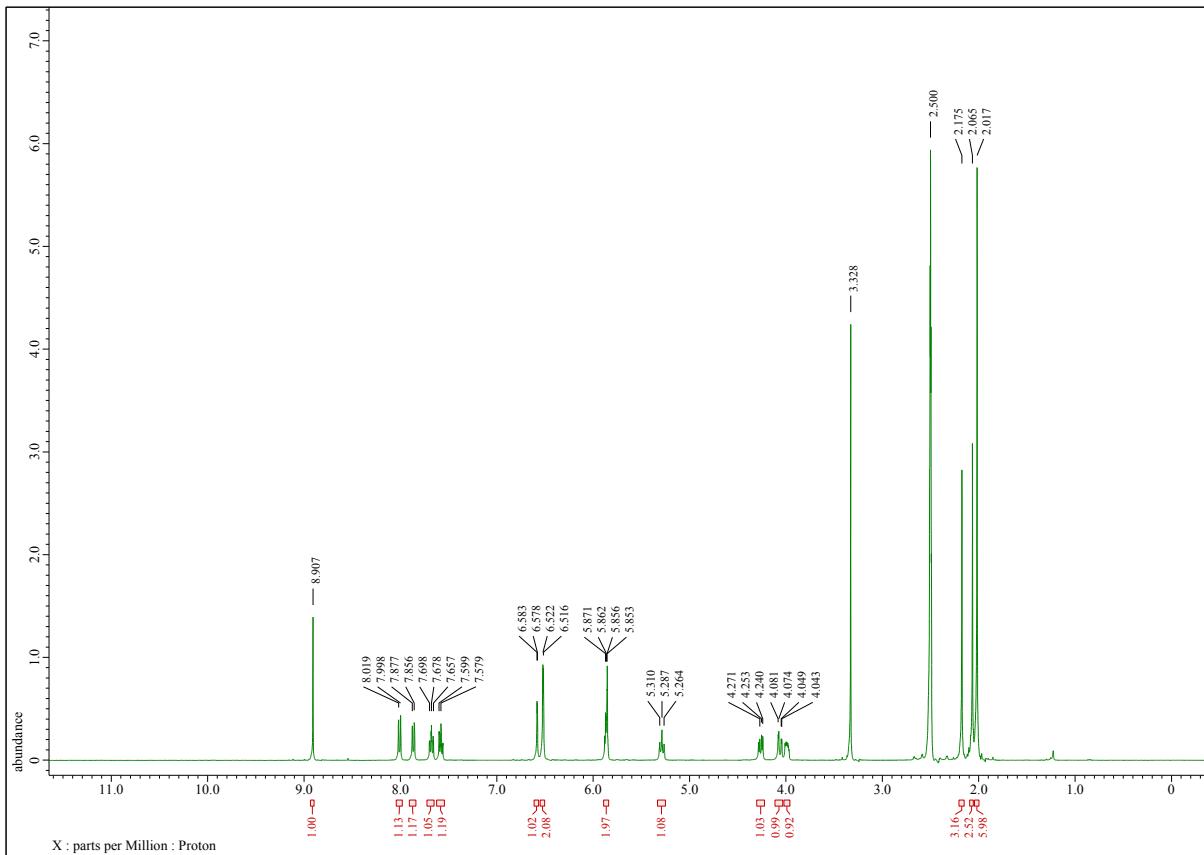


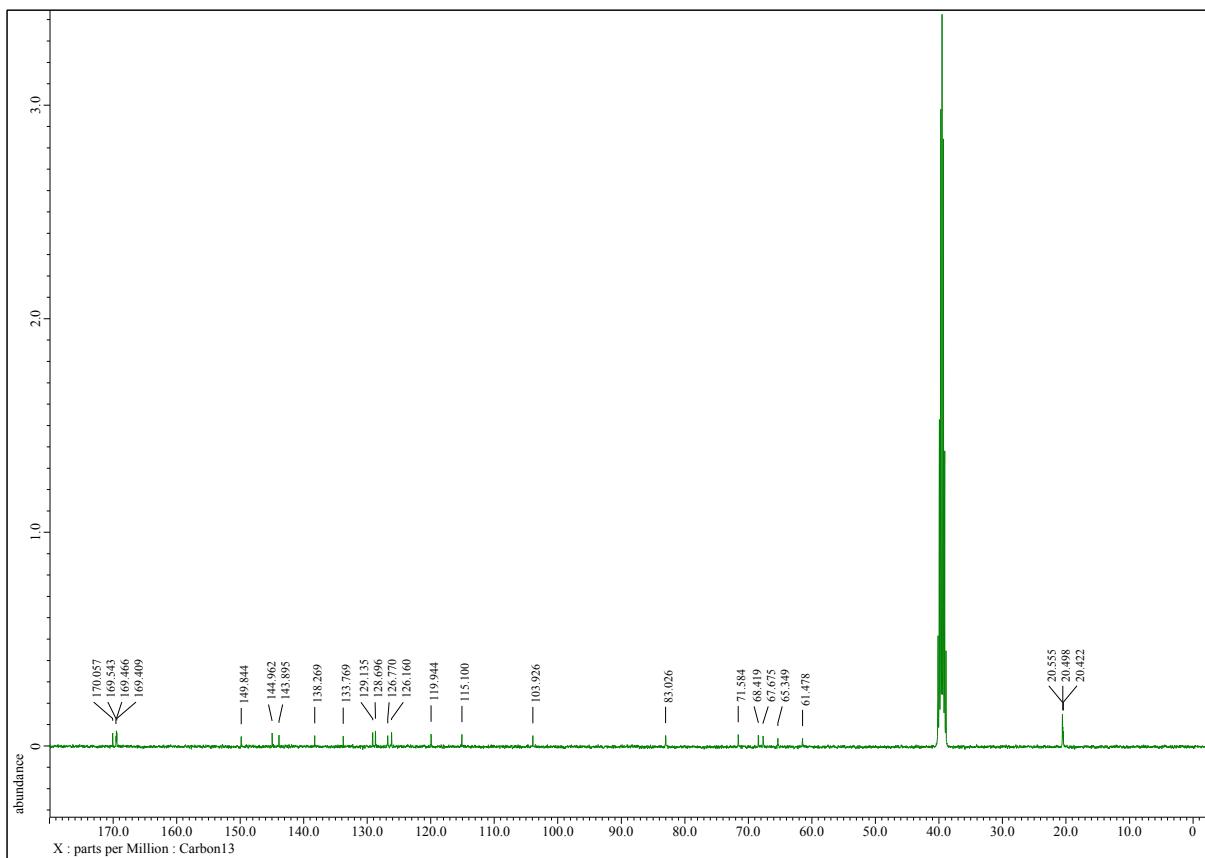




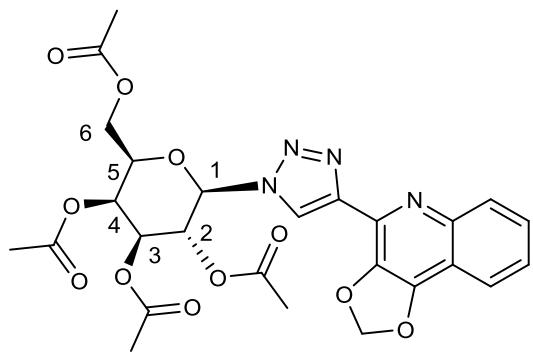
2-(1-(Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12b).

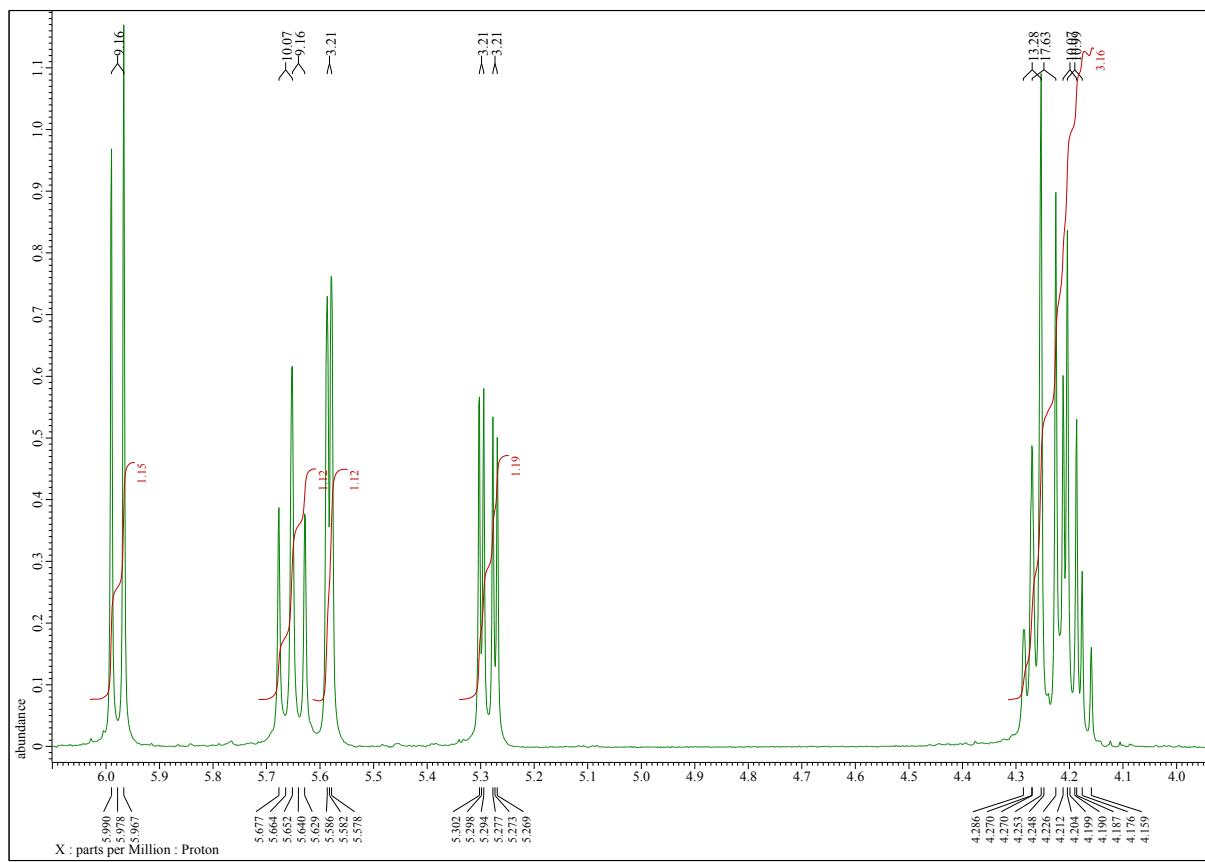
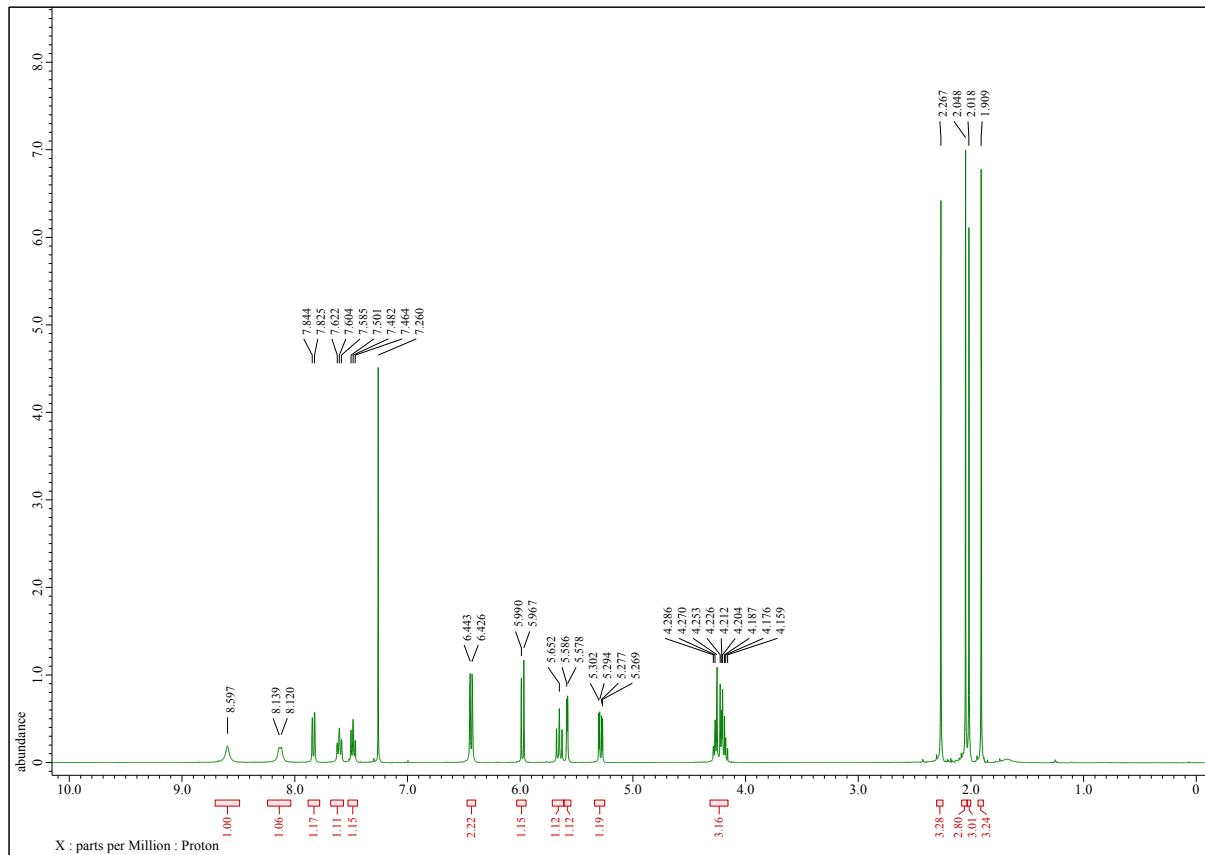


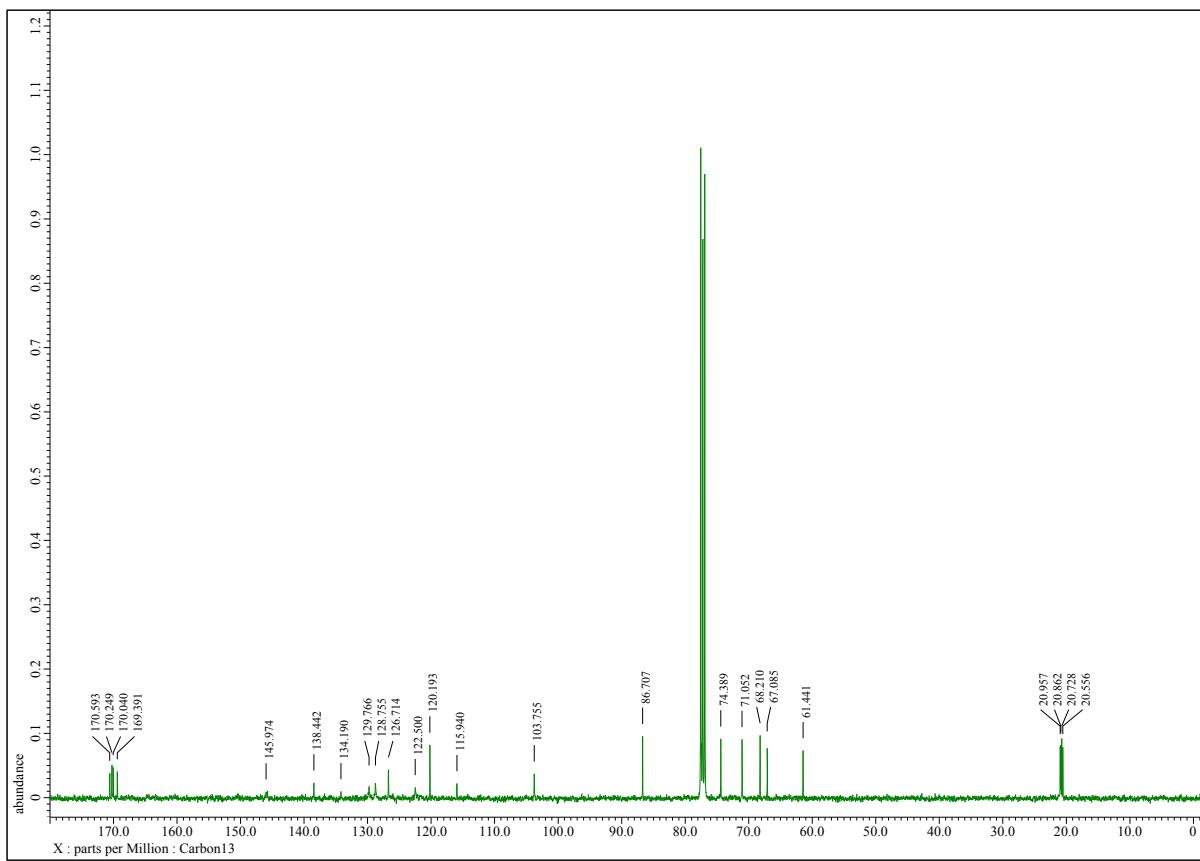




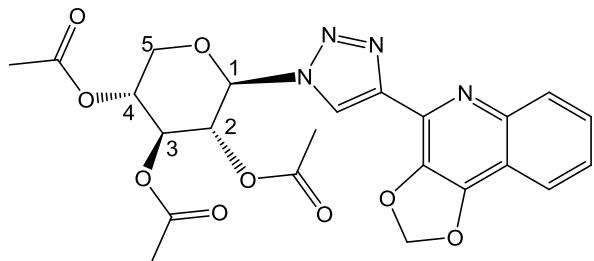
2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12c).

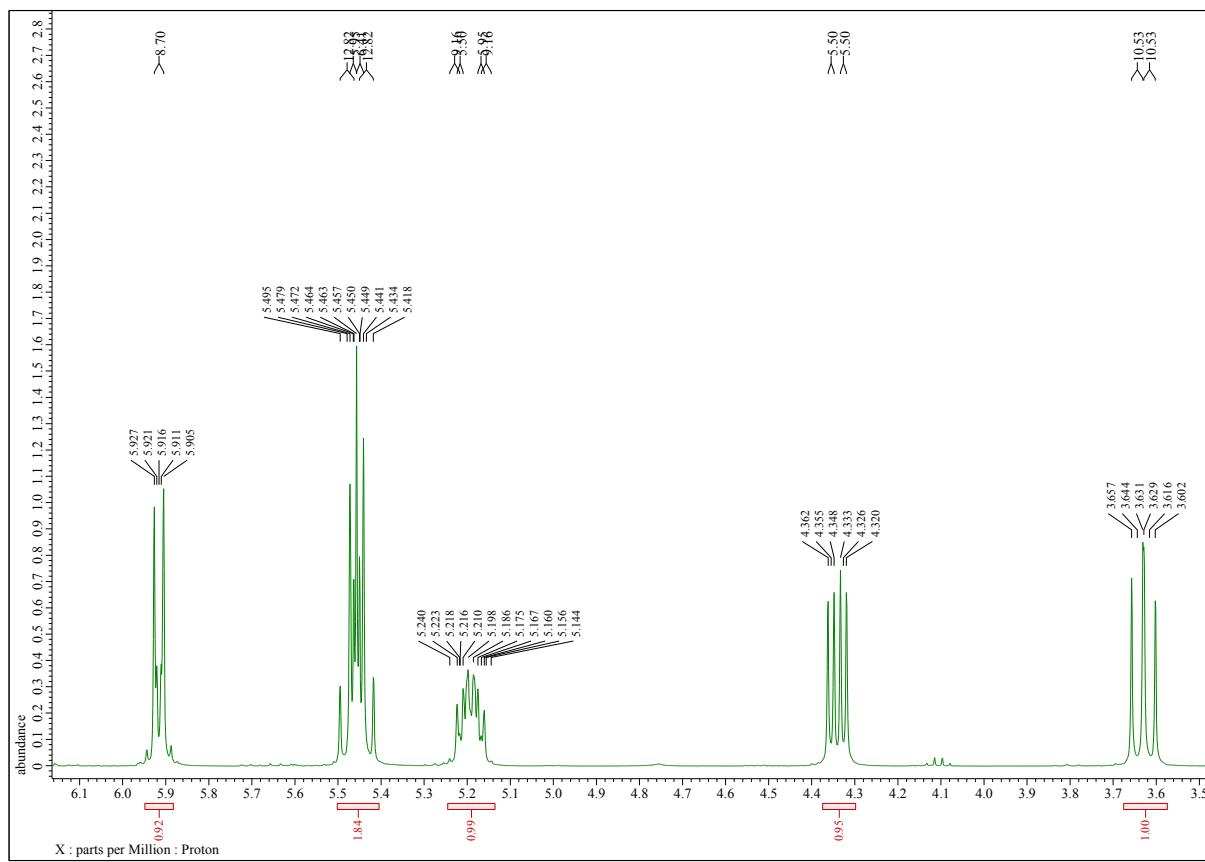
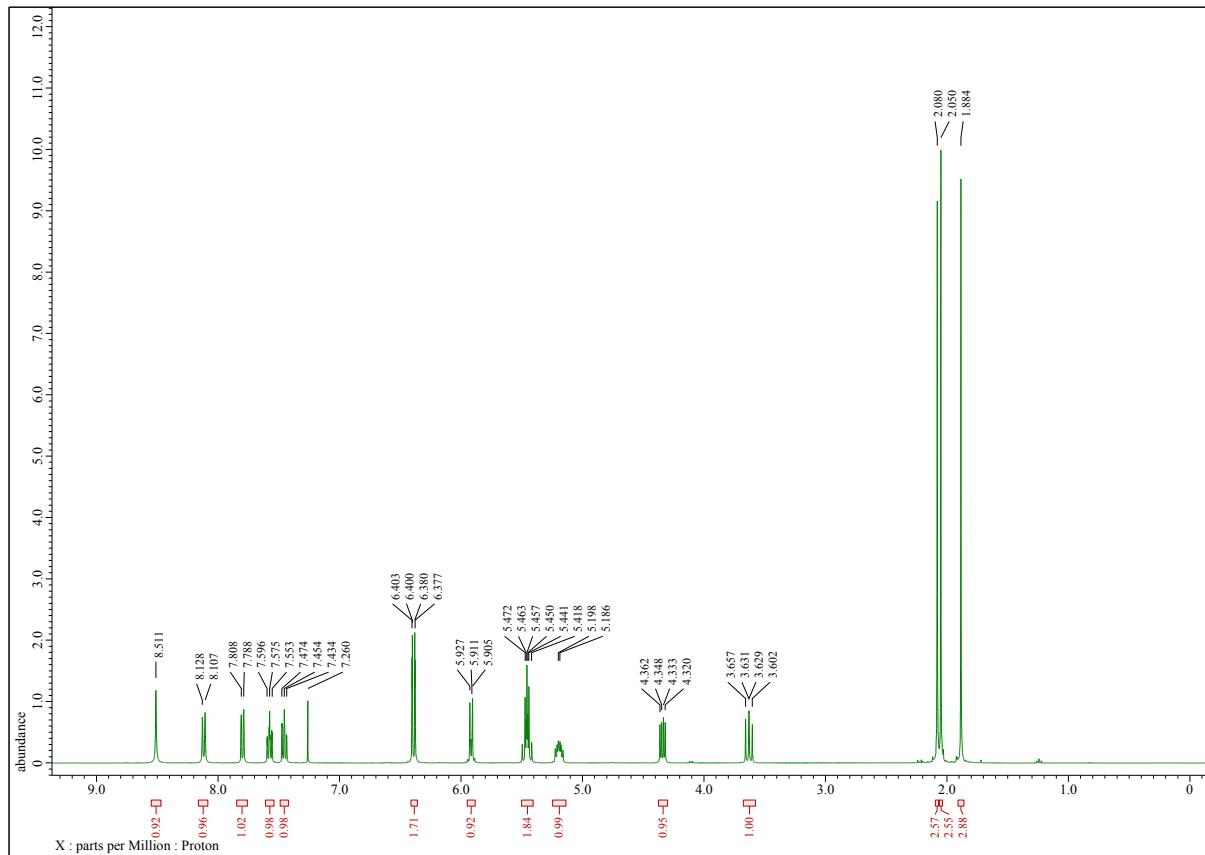


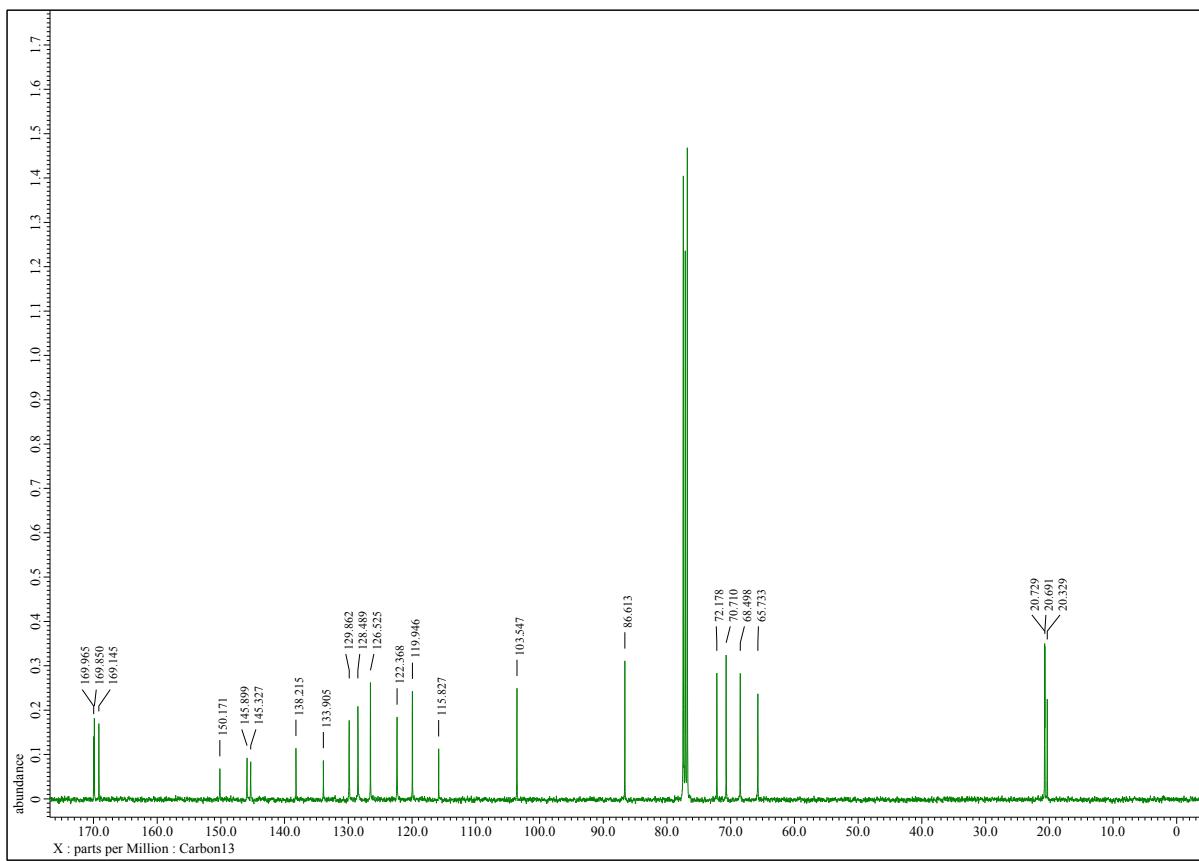




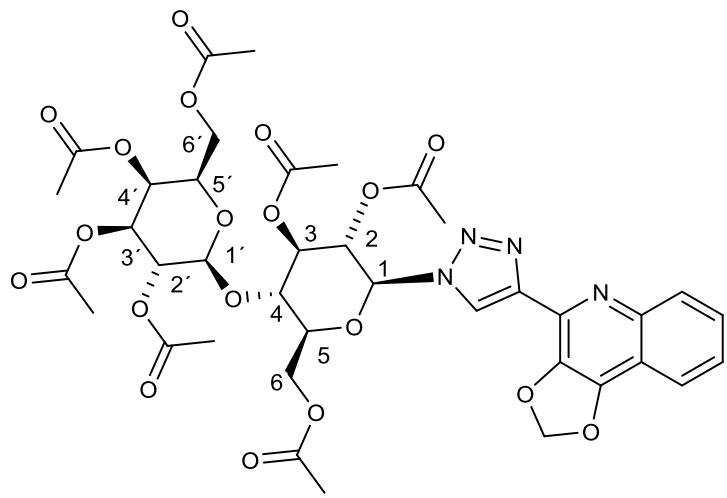
2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12d).

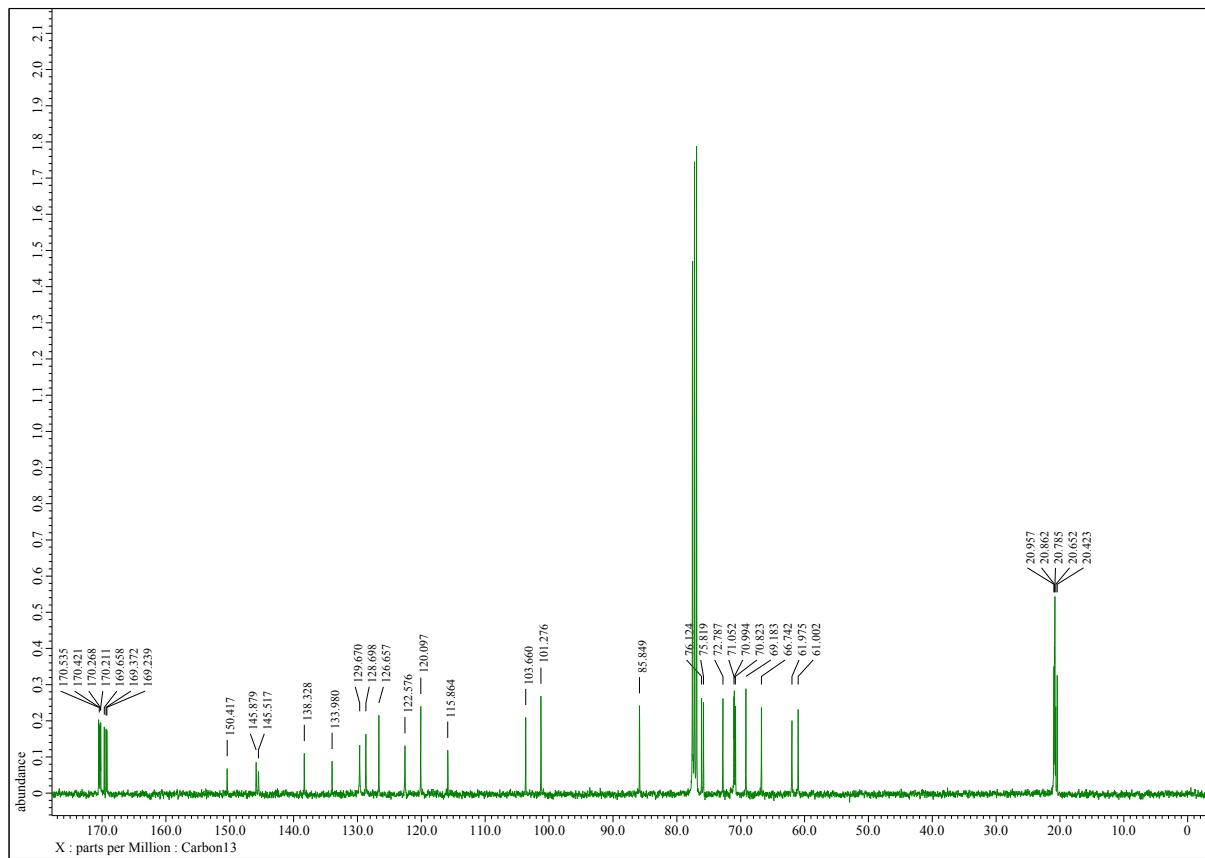
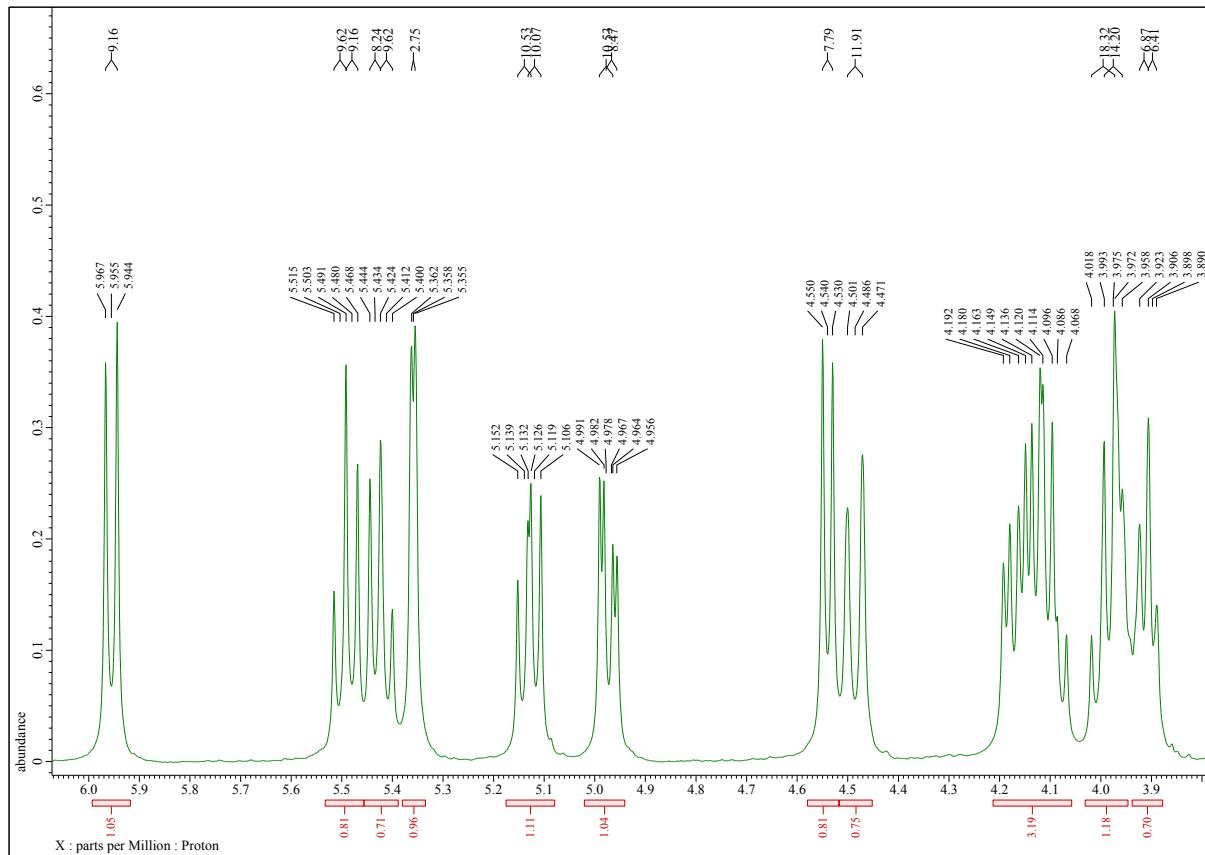




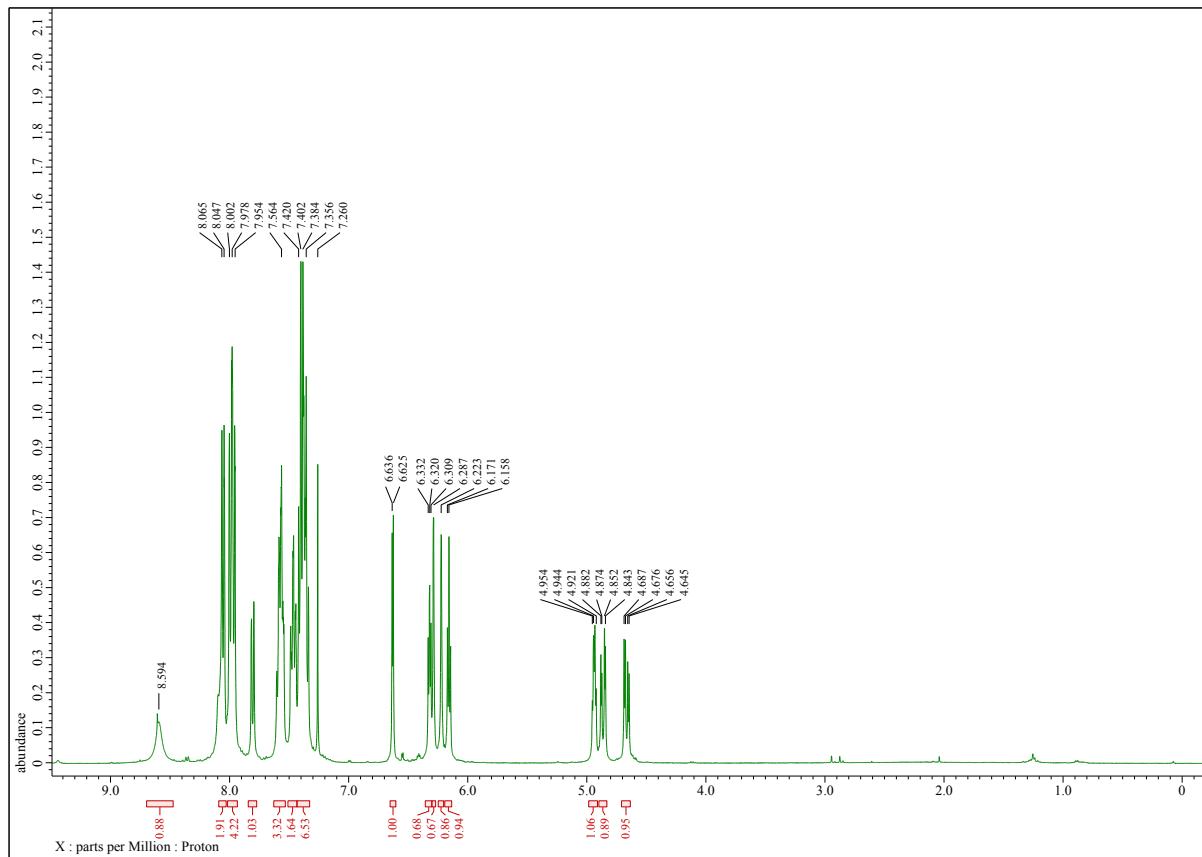
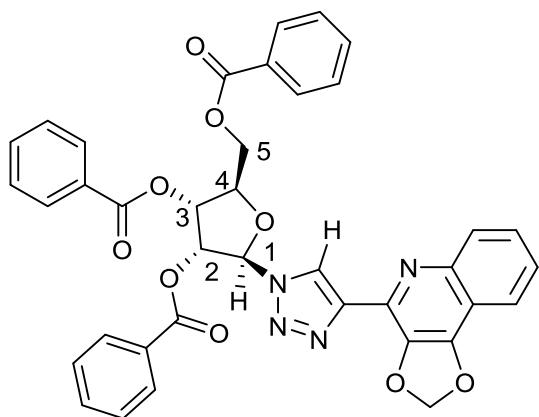


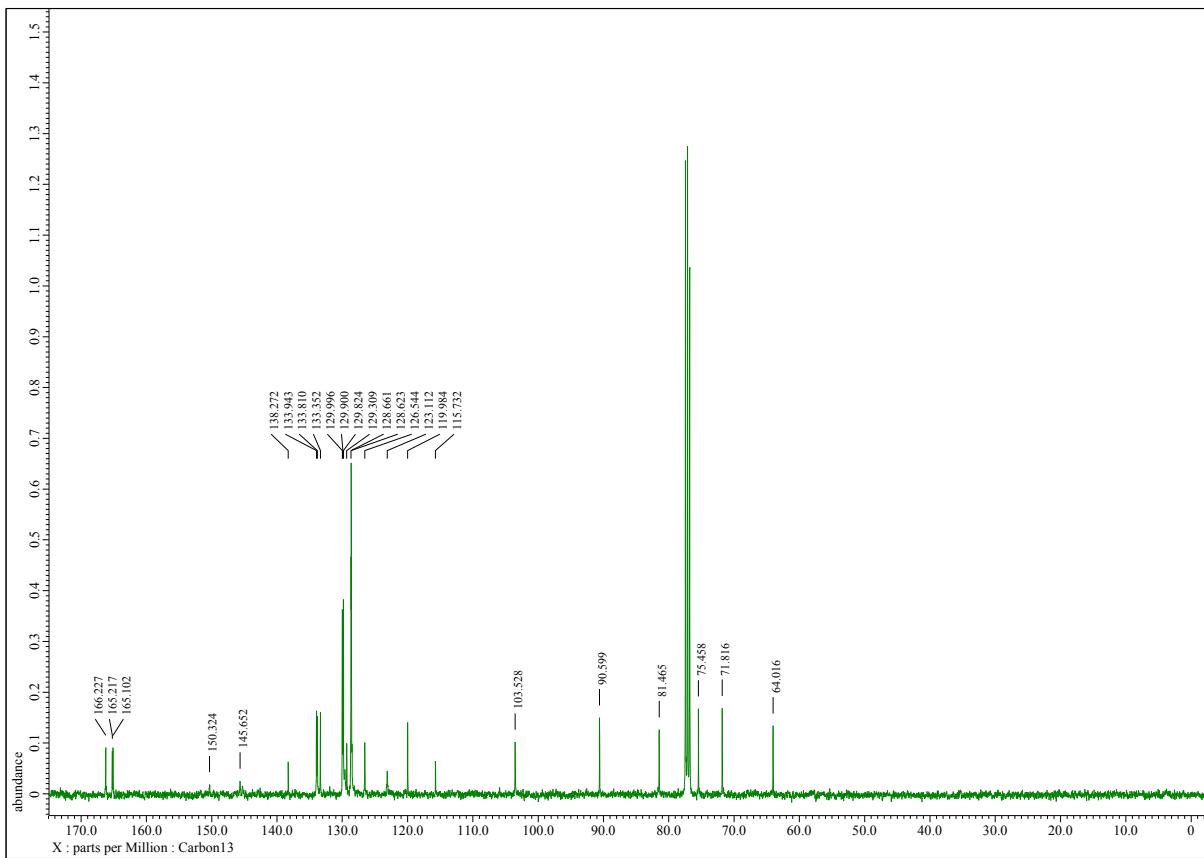
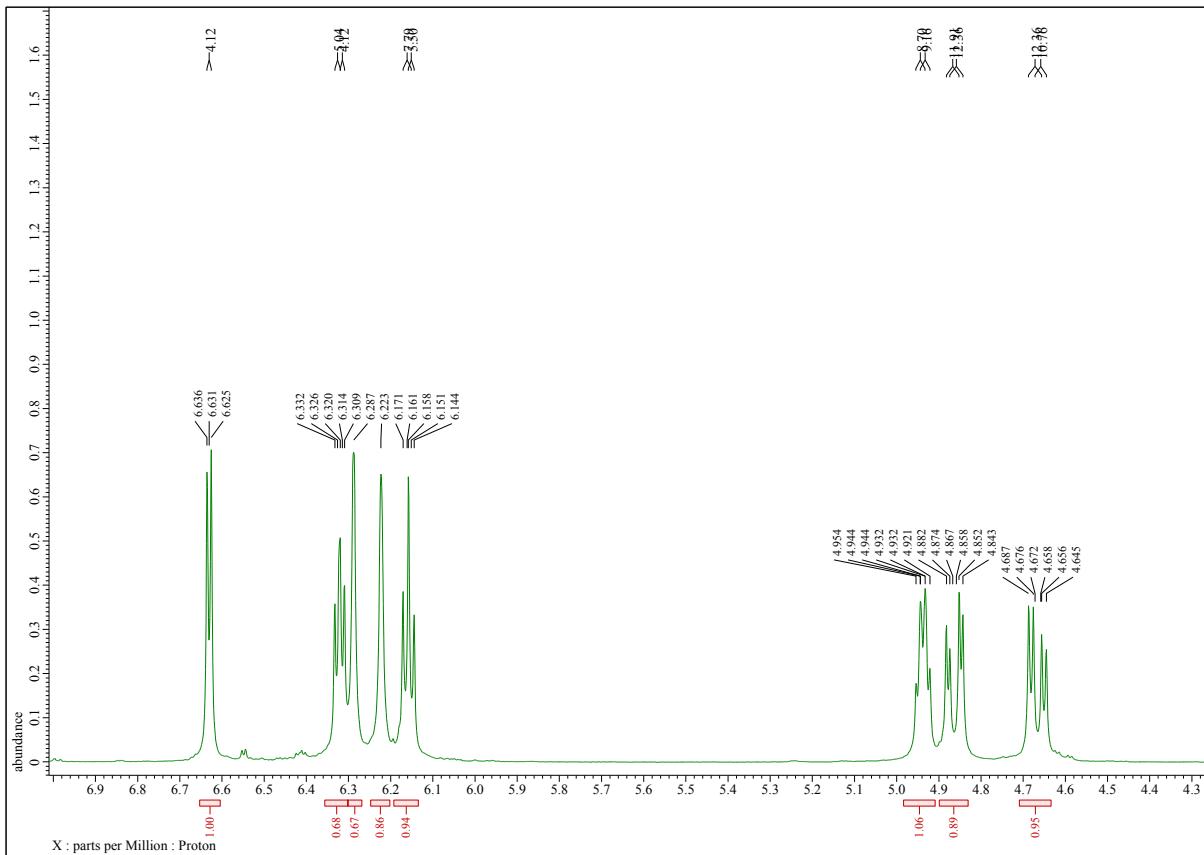
2-[1-(4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-2,3,6-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-methylendioxy-chinolin (12e).



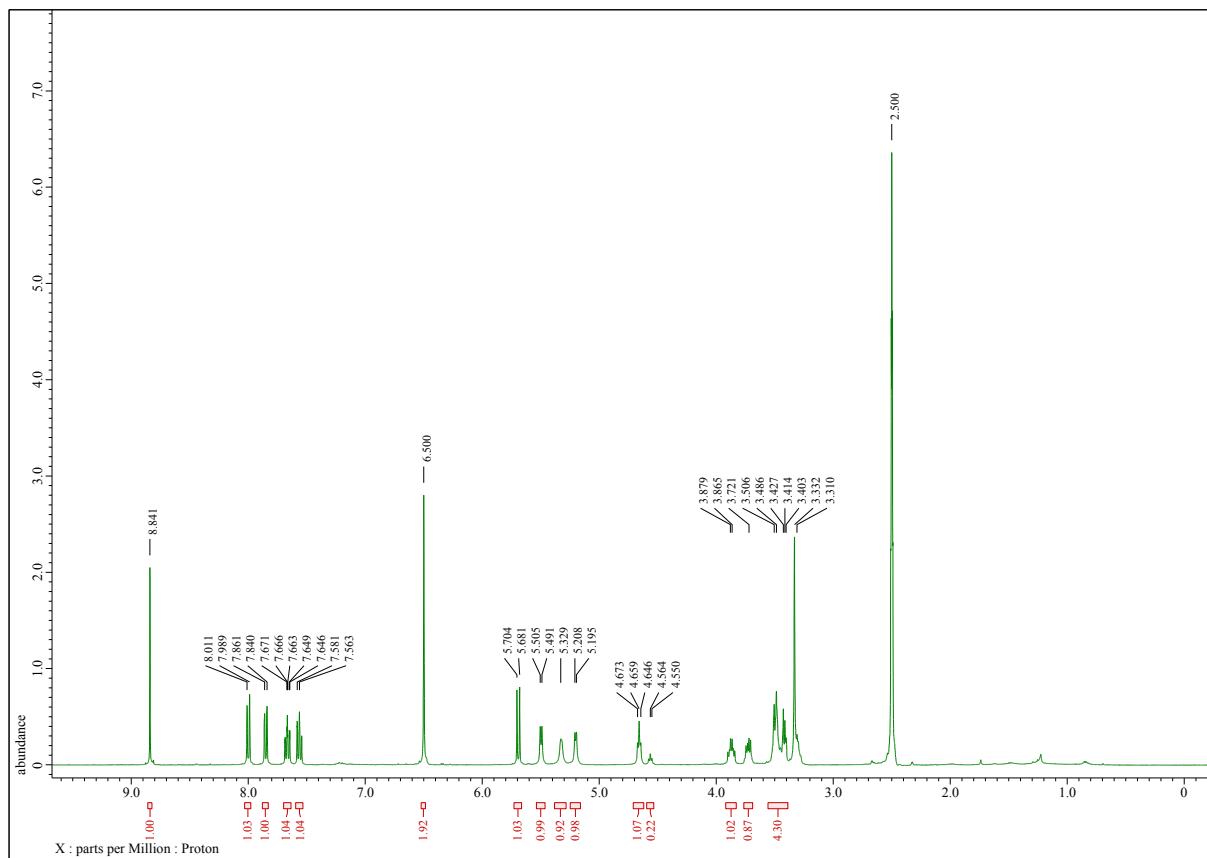
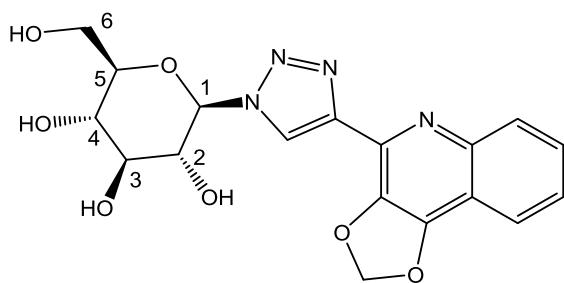


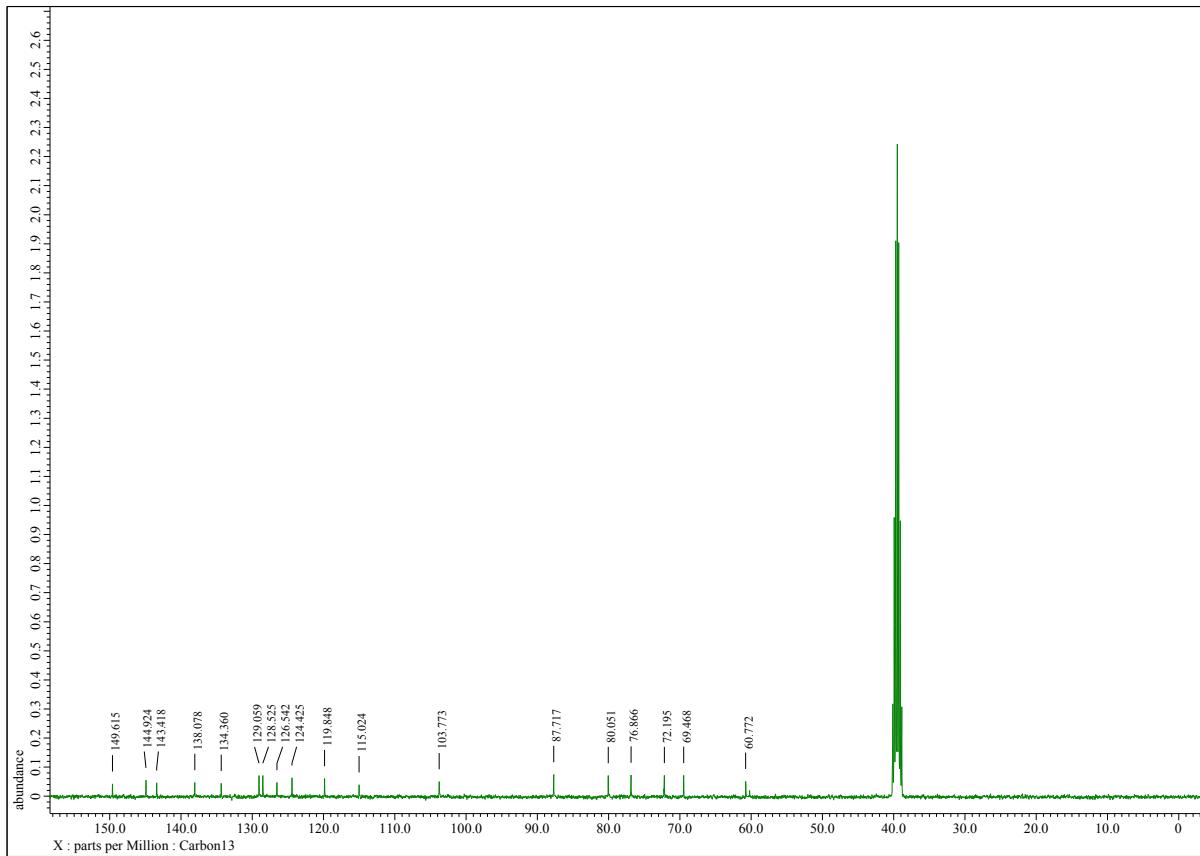
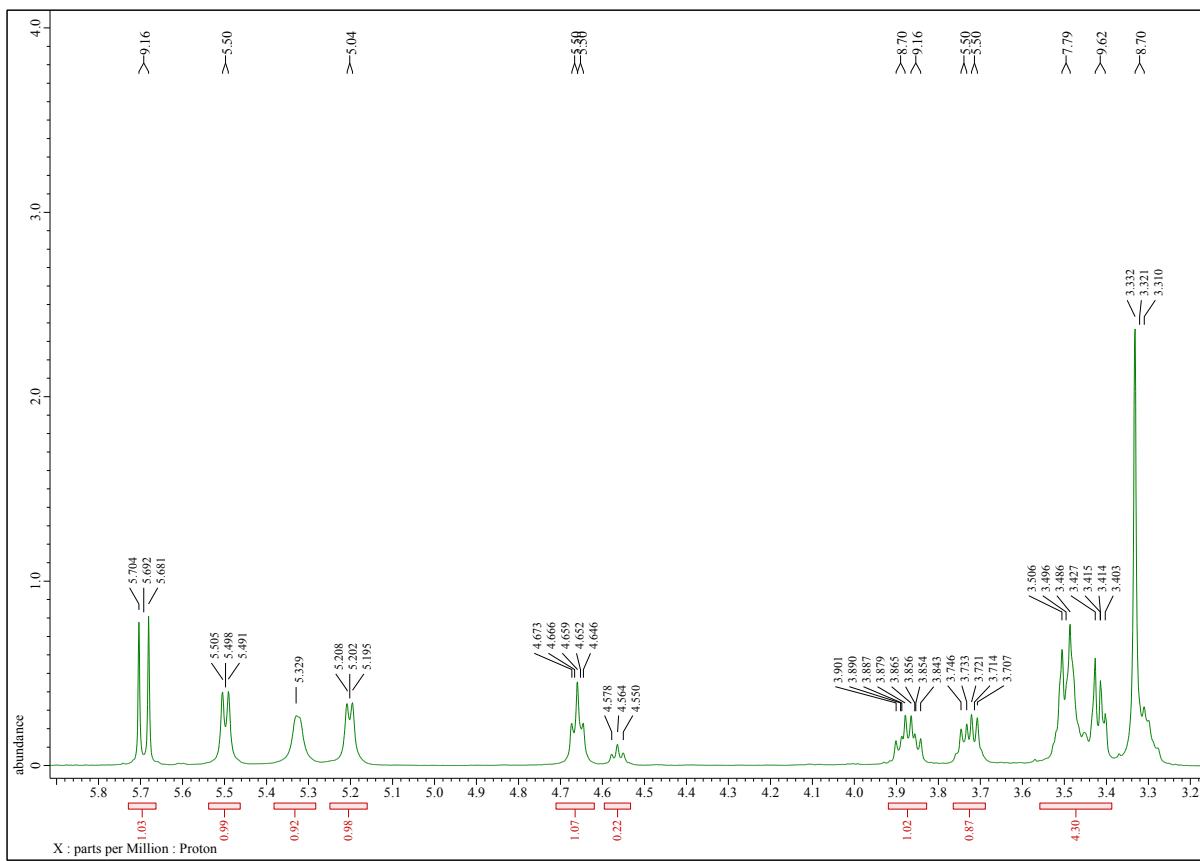
2-(1-(Tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (12f).



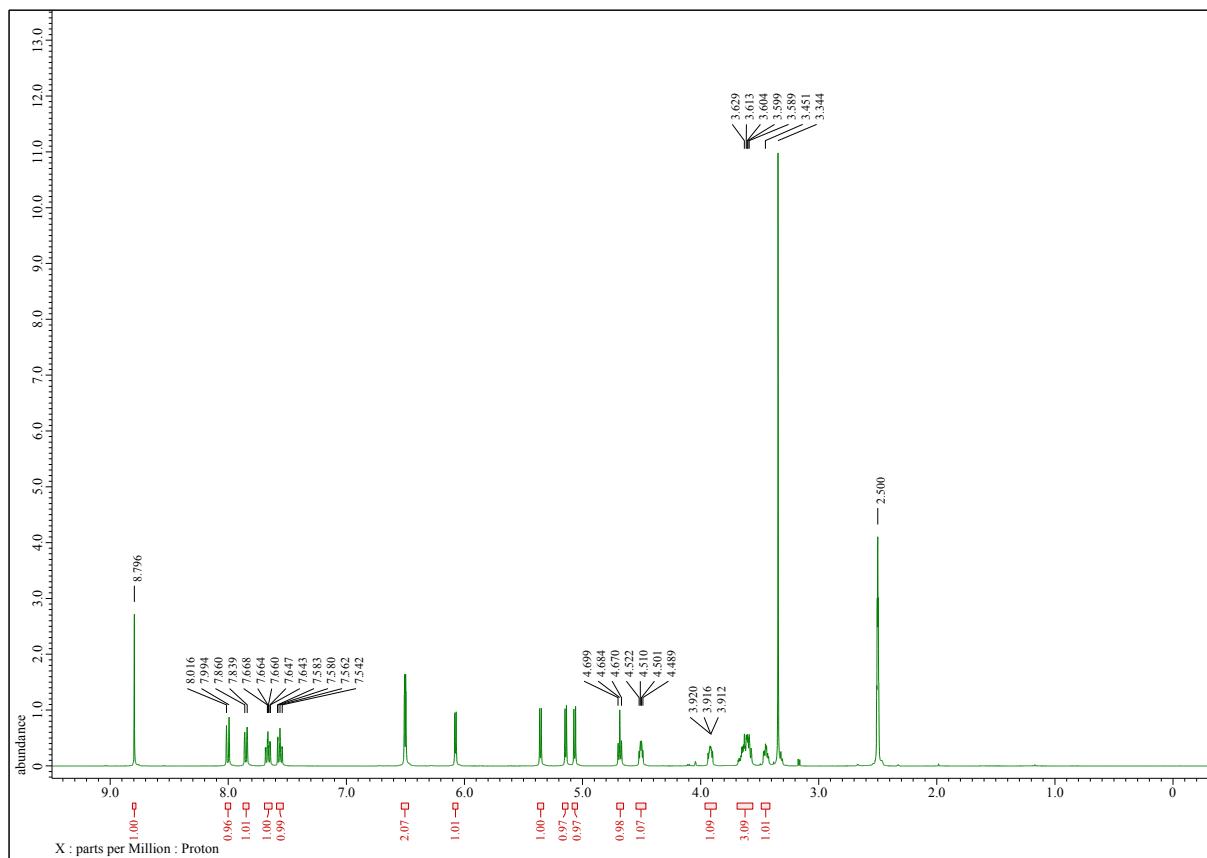
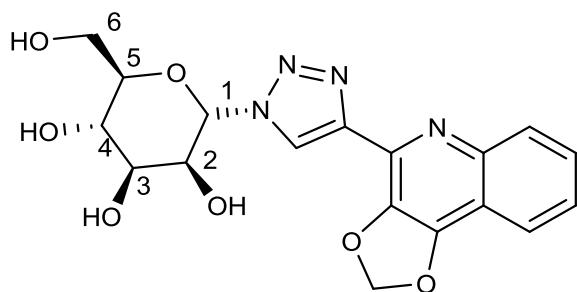


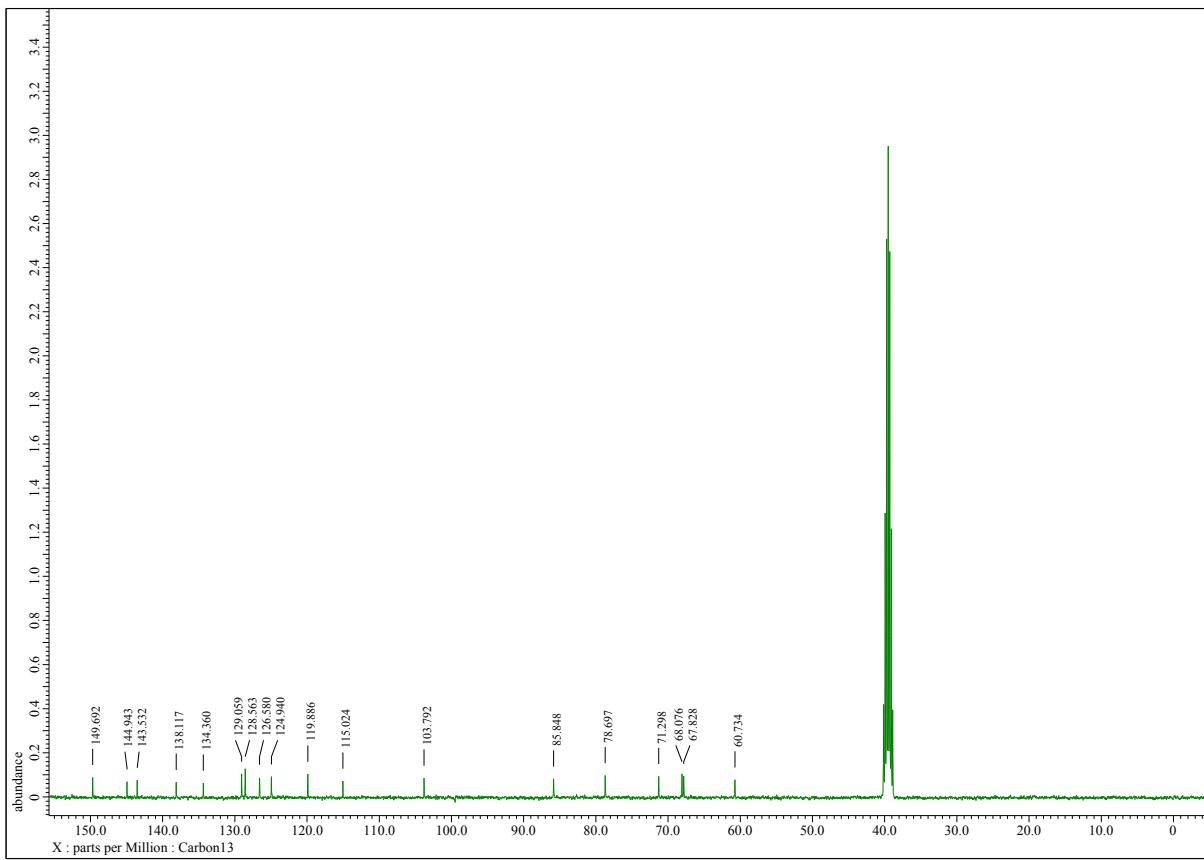
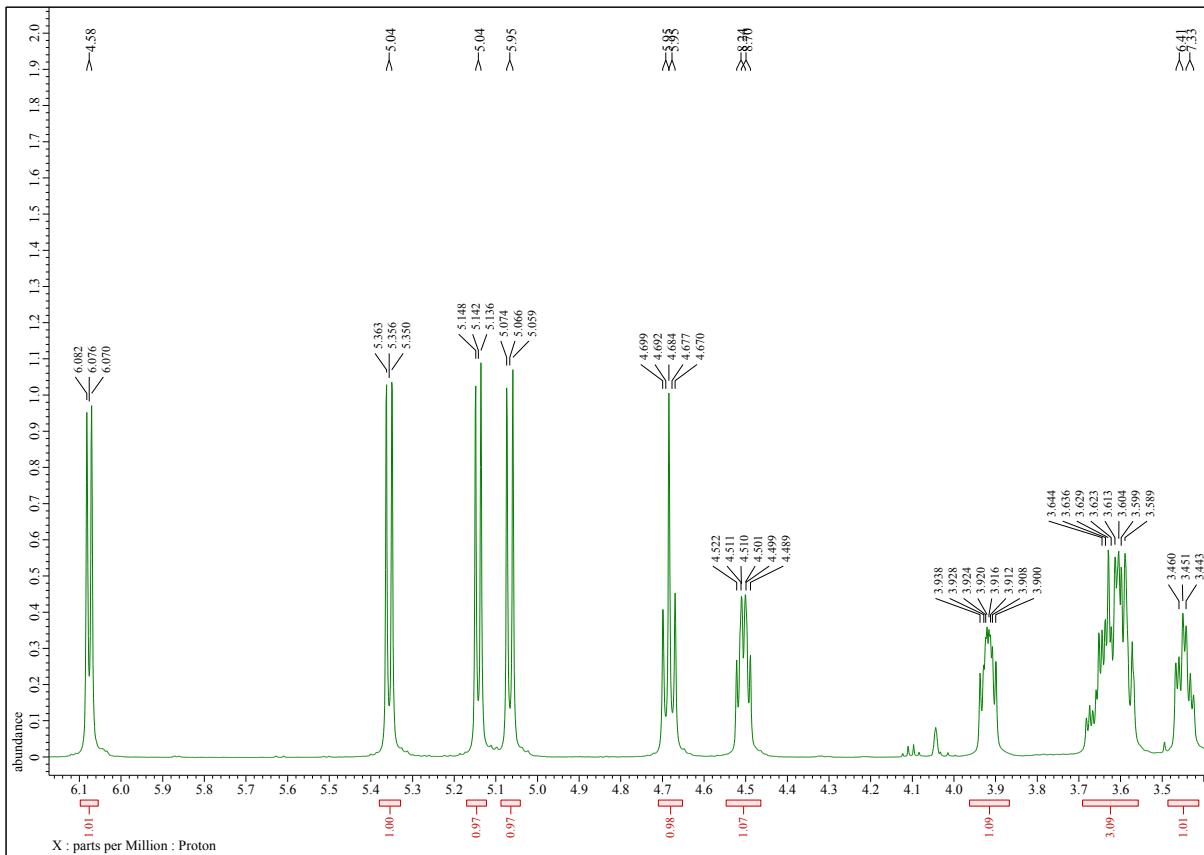
2-(1-(β -D-Glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13a).



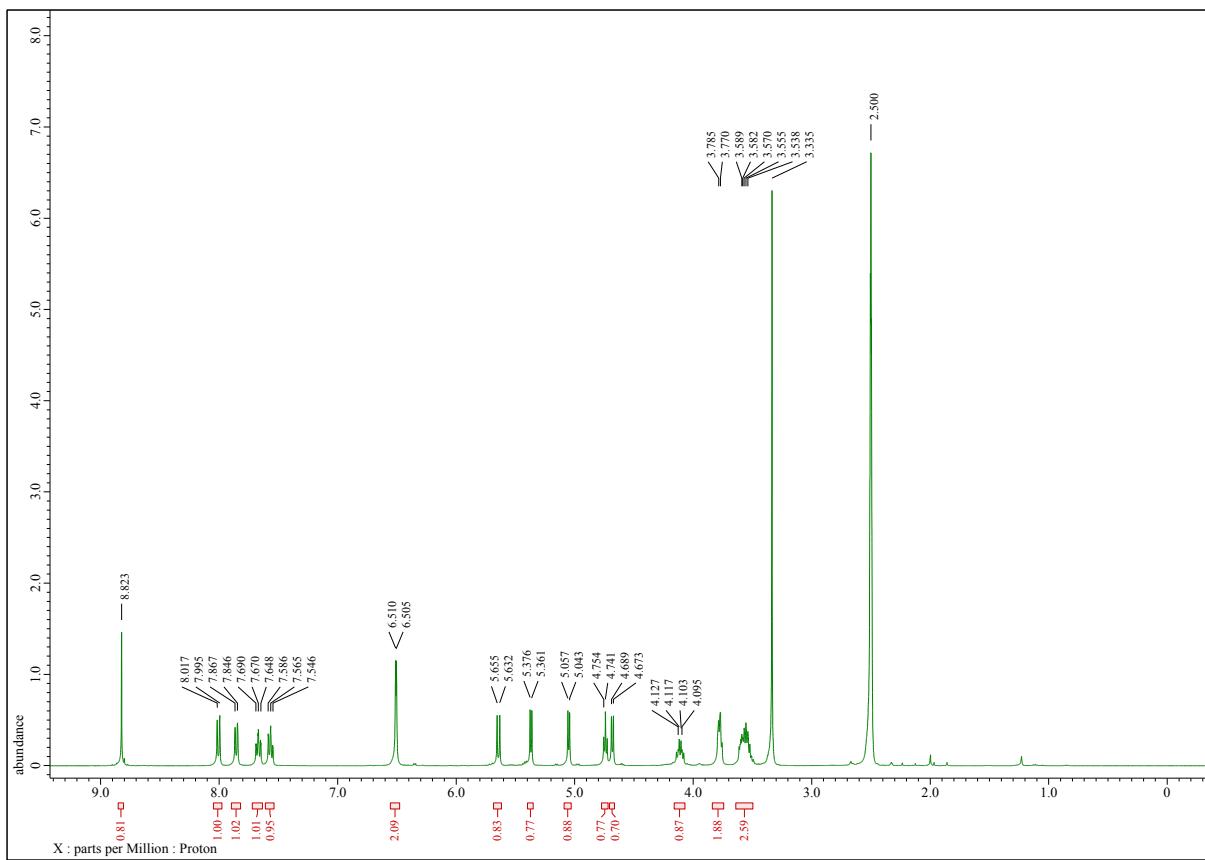
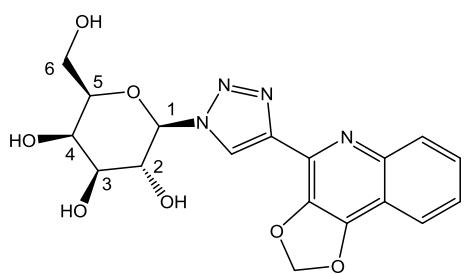


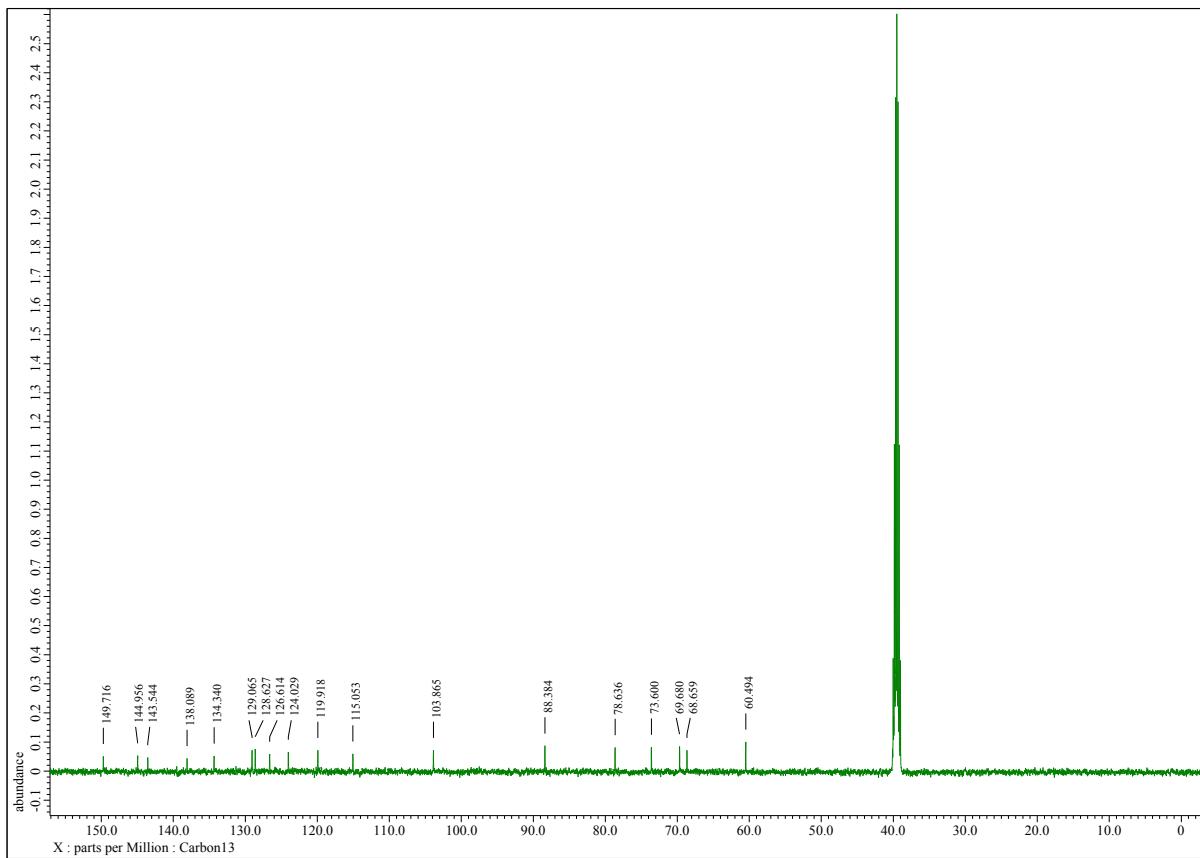
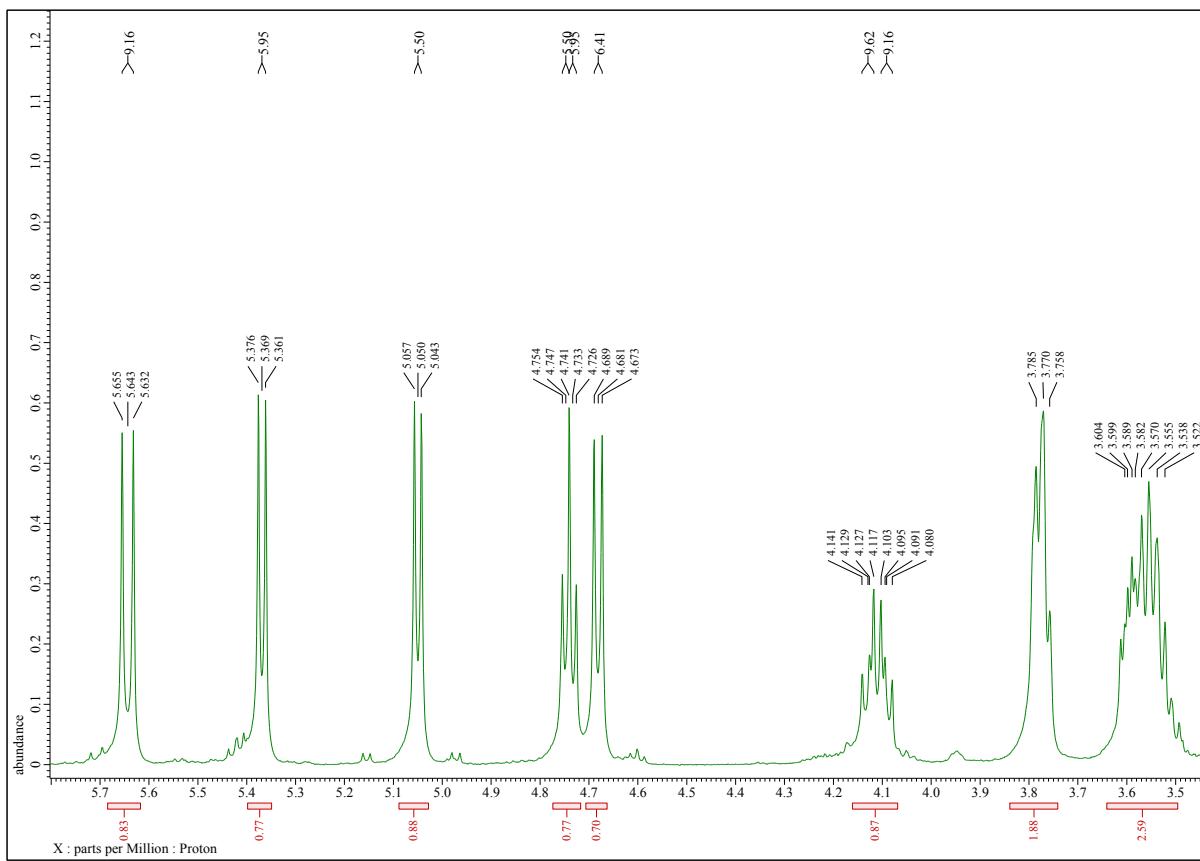
2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13b).



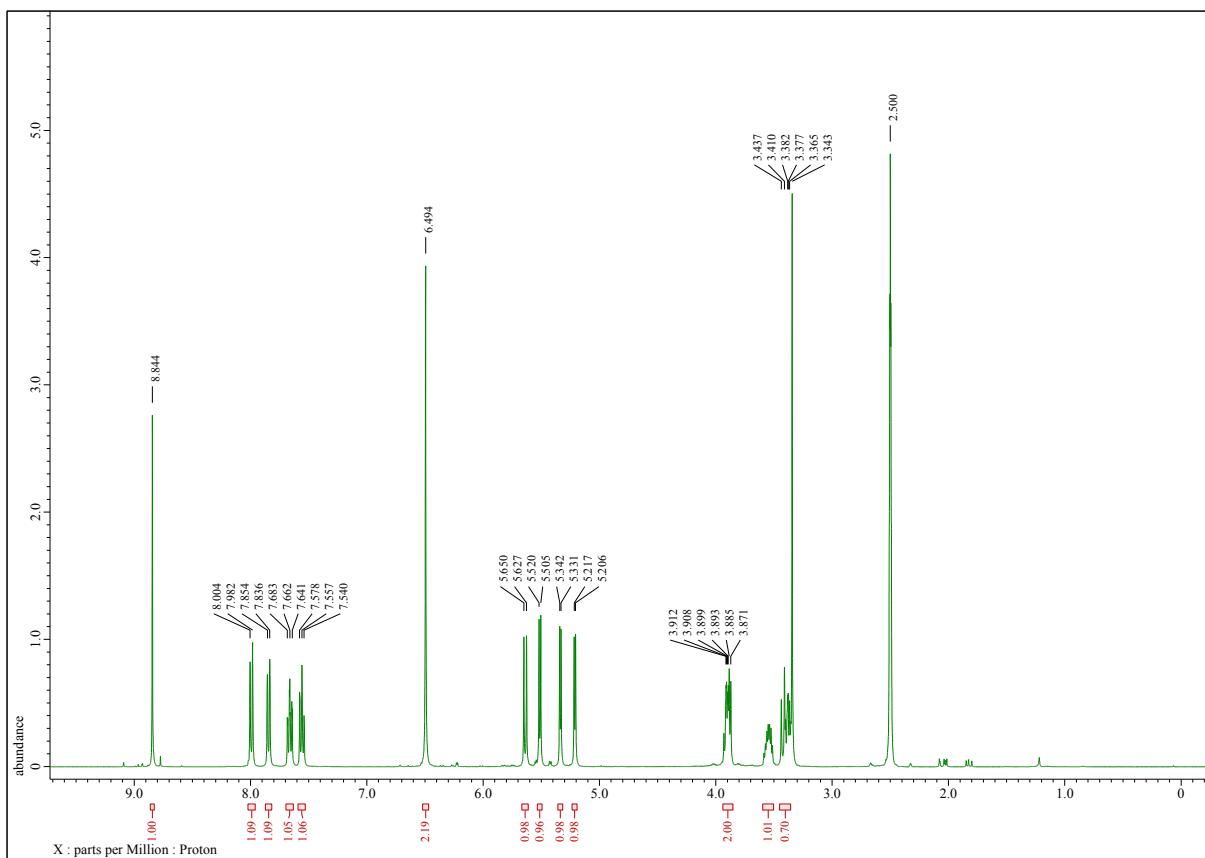
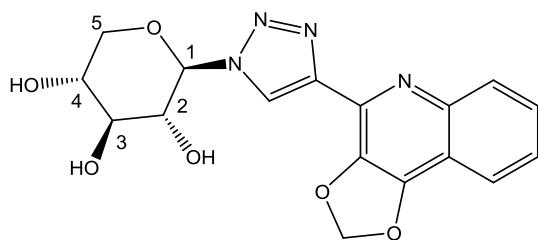


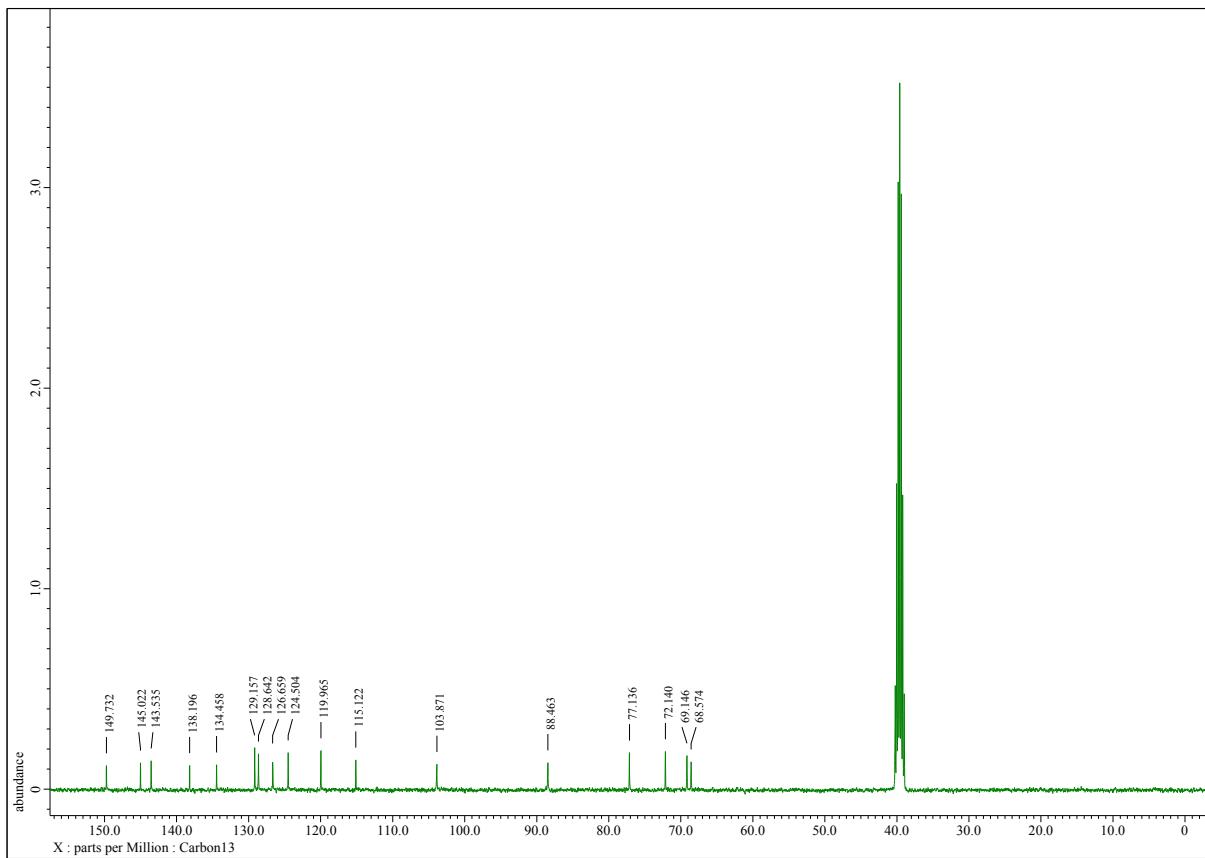
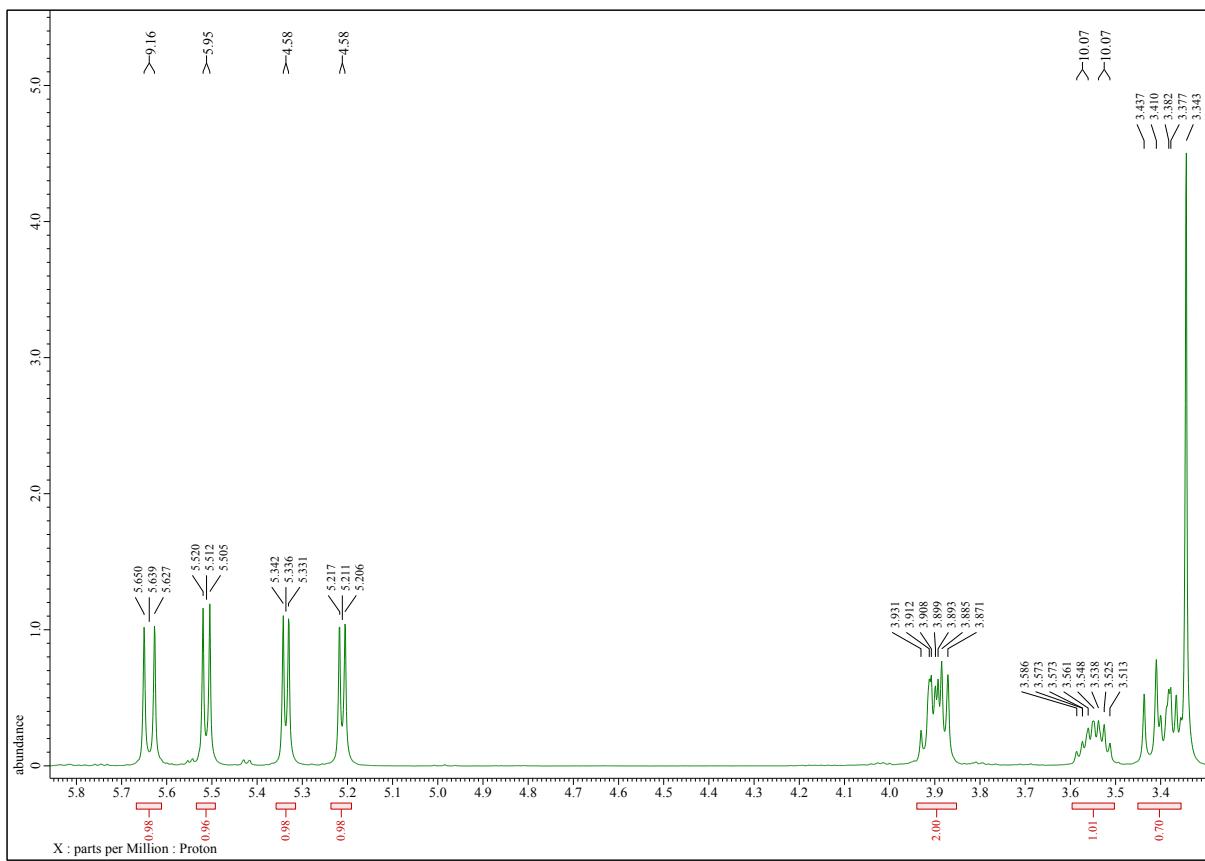
2-(1-(β -D-Galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylenedioxy-chinolin (13c).



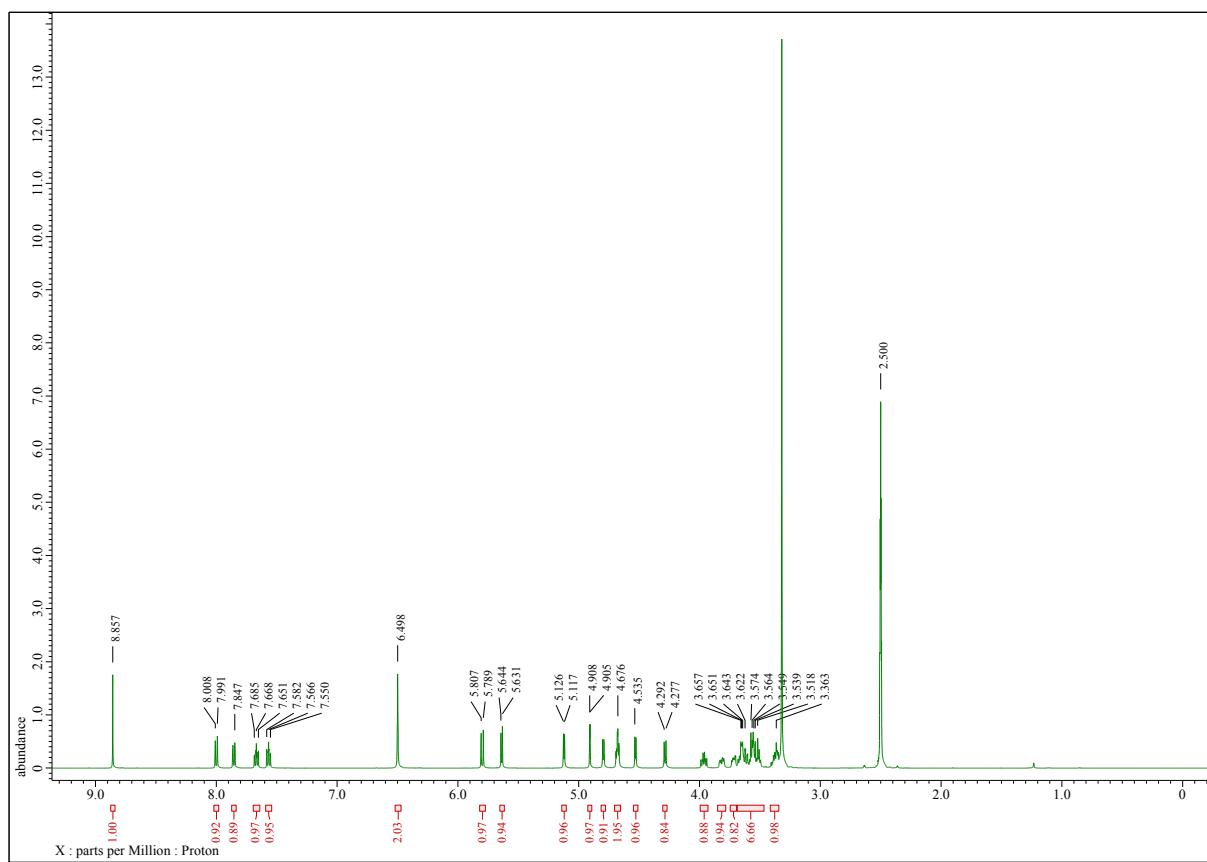
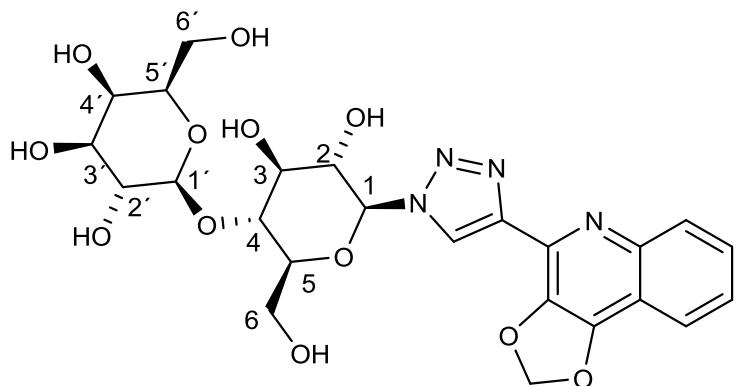


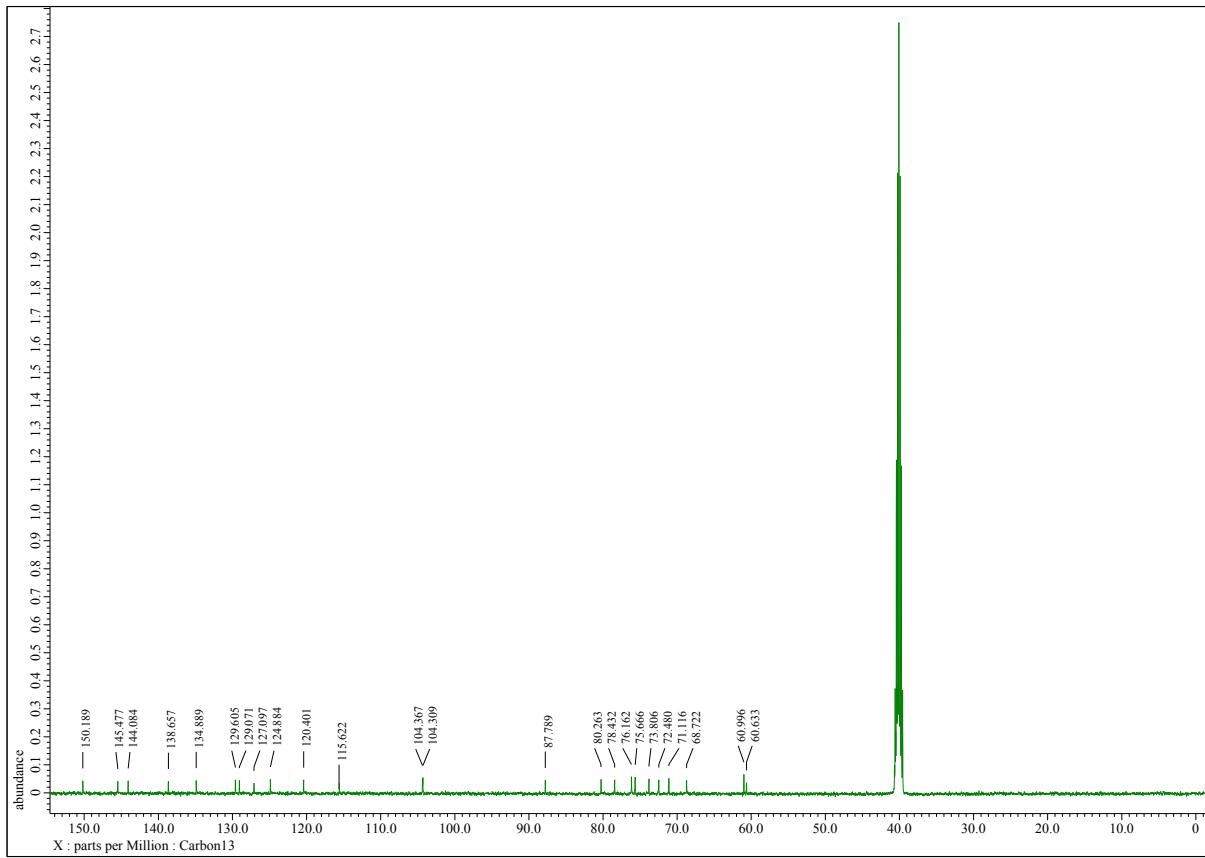
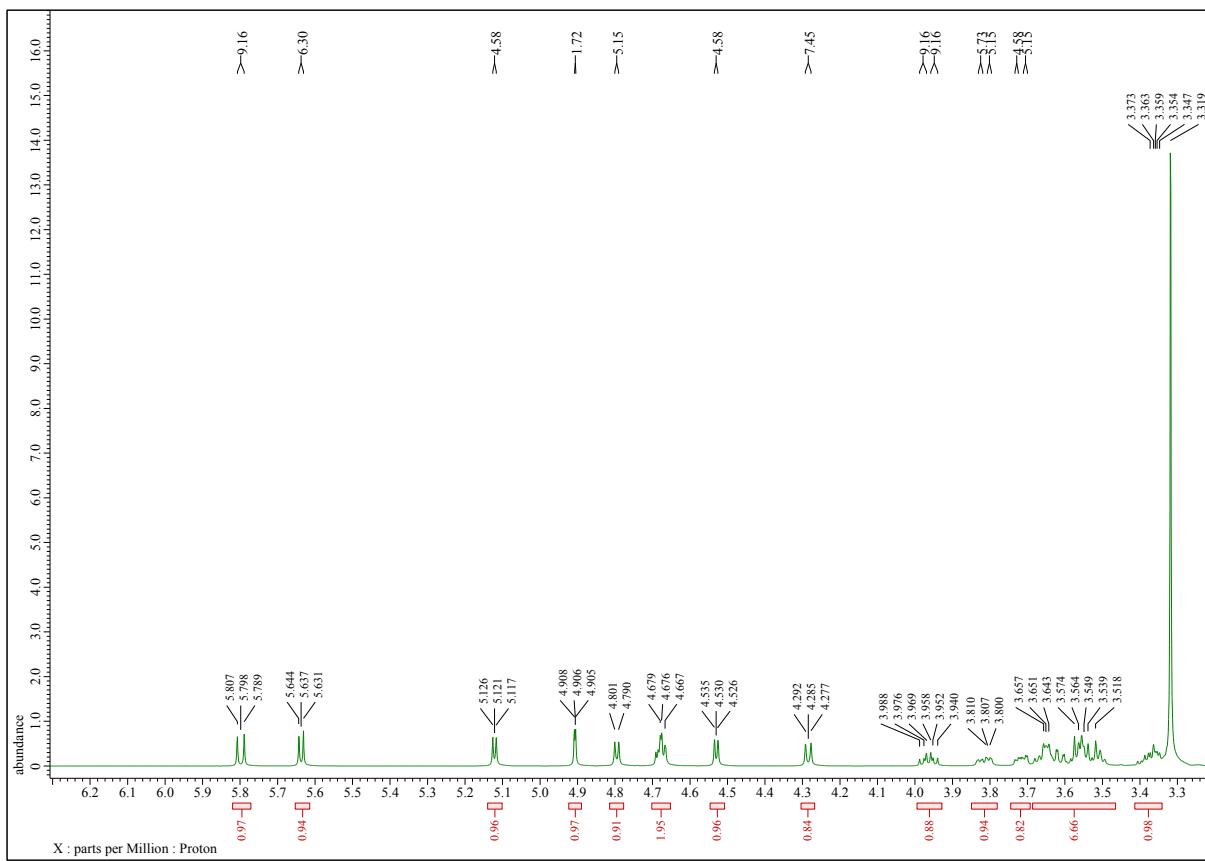
2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13d).



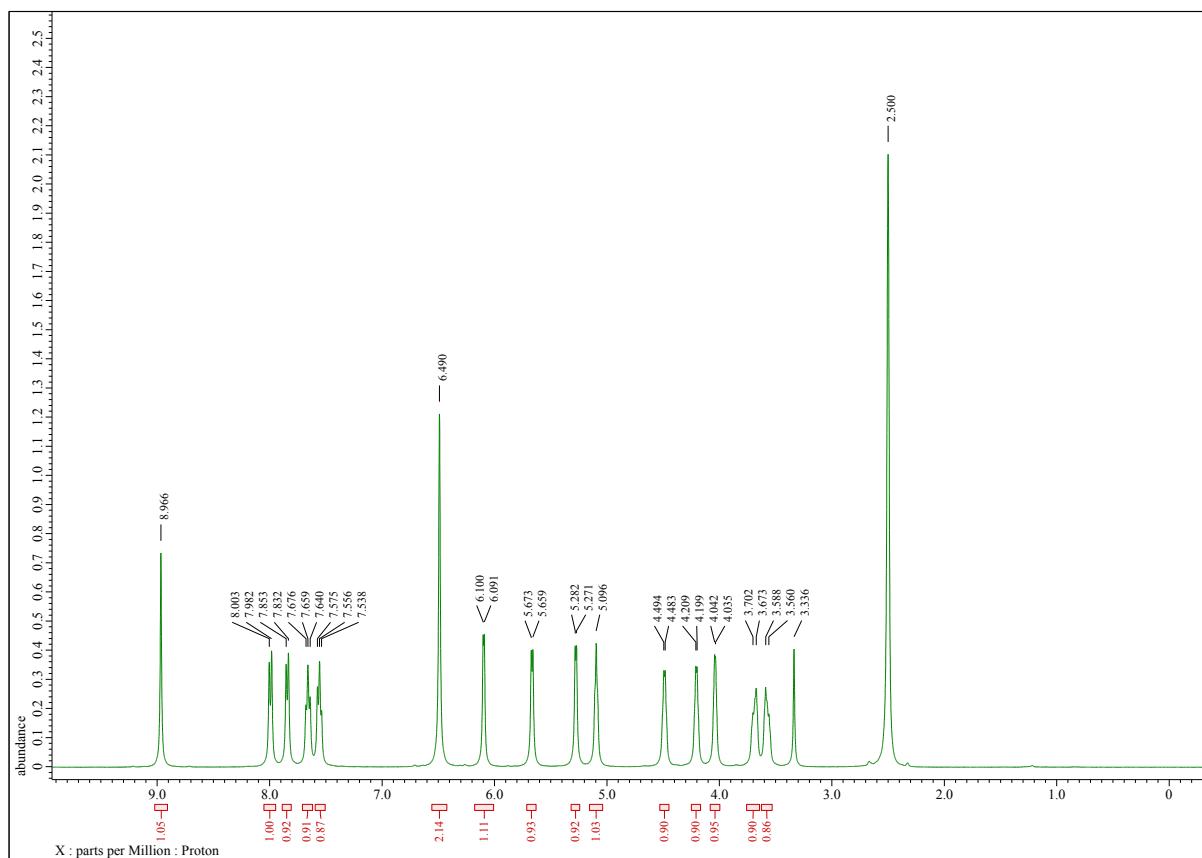
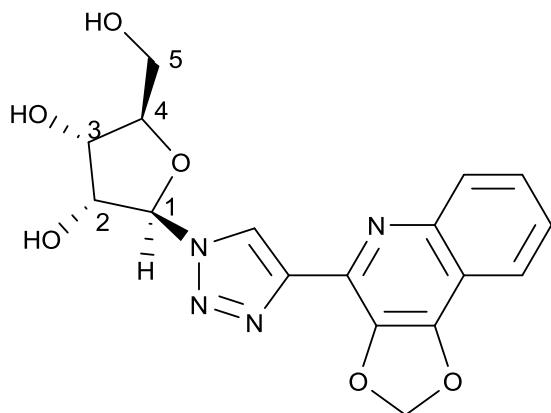


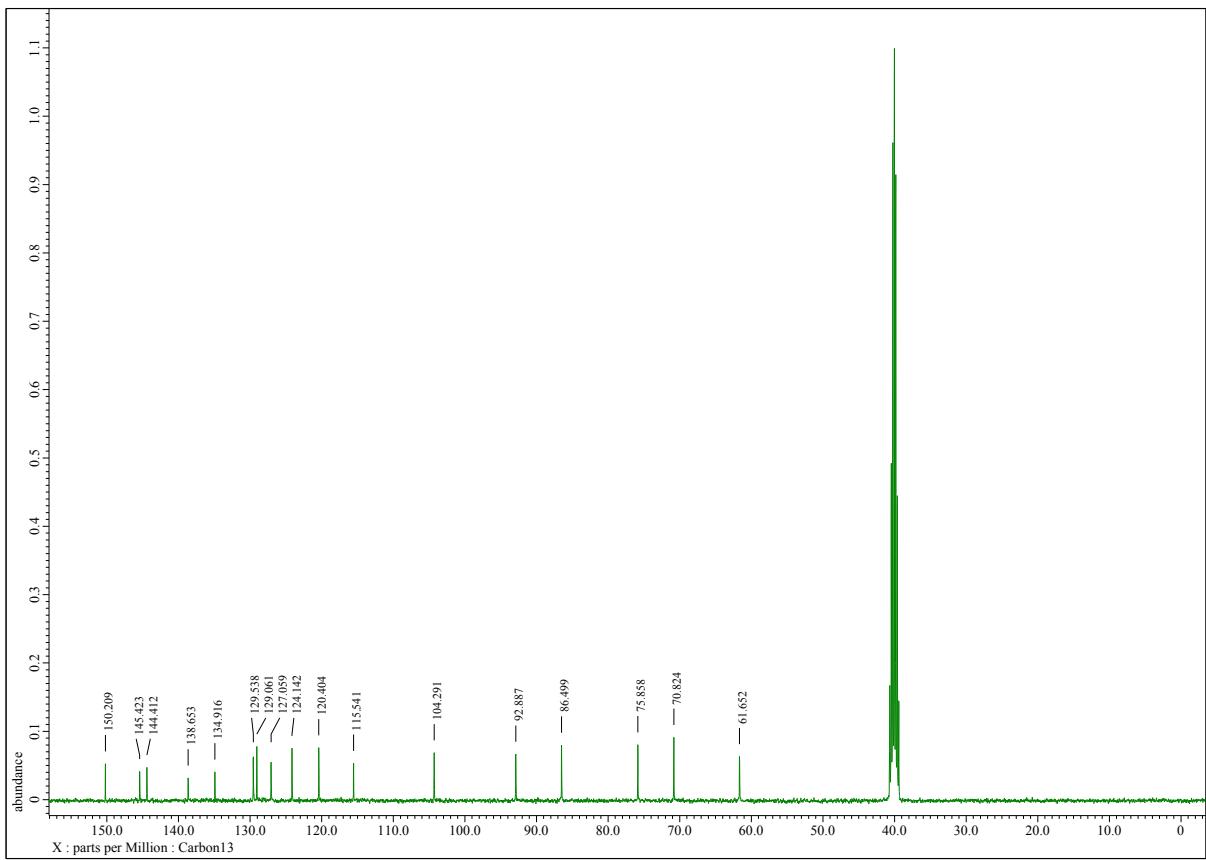
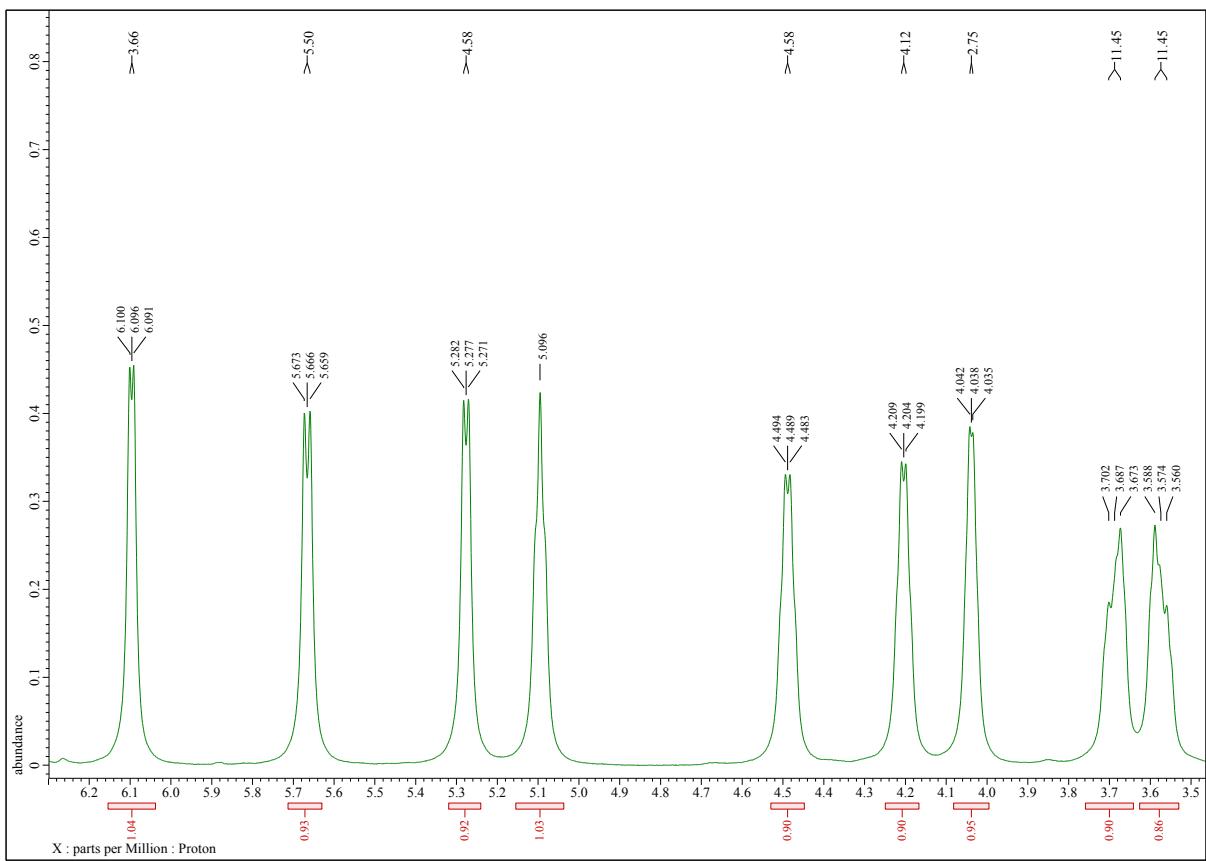
2-[1-(4-O-(β -D-Galaktopyranosyl)- β -D-glukopyranosyl]-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-methylendioxy-chinolin (13e).



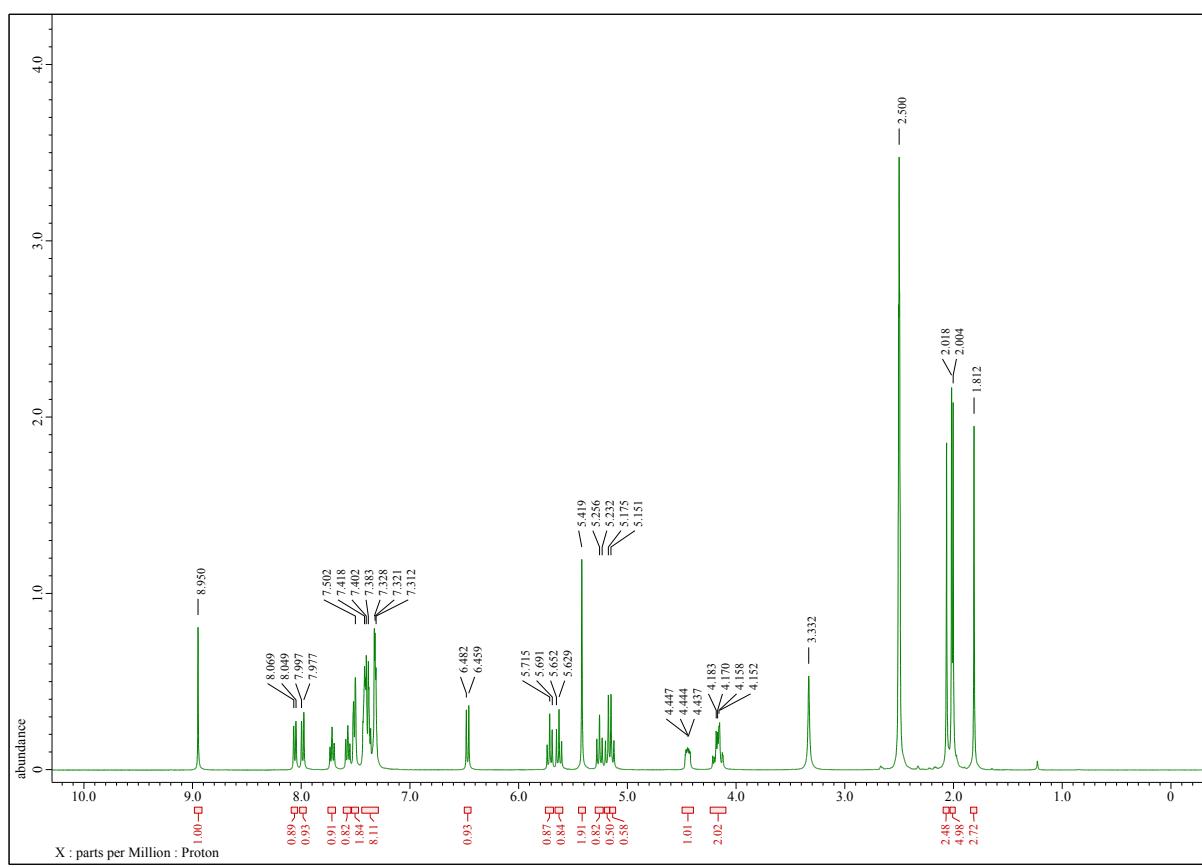
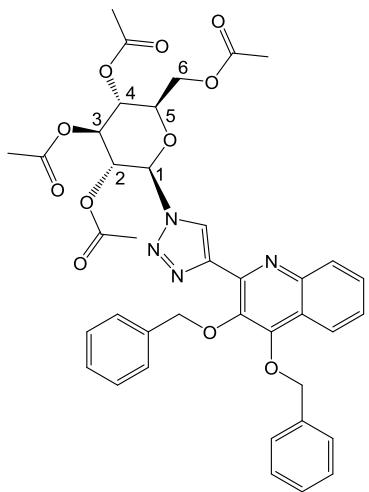


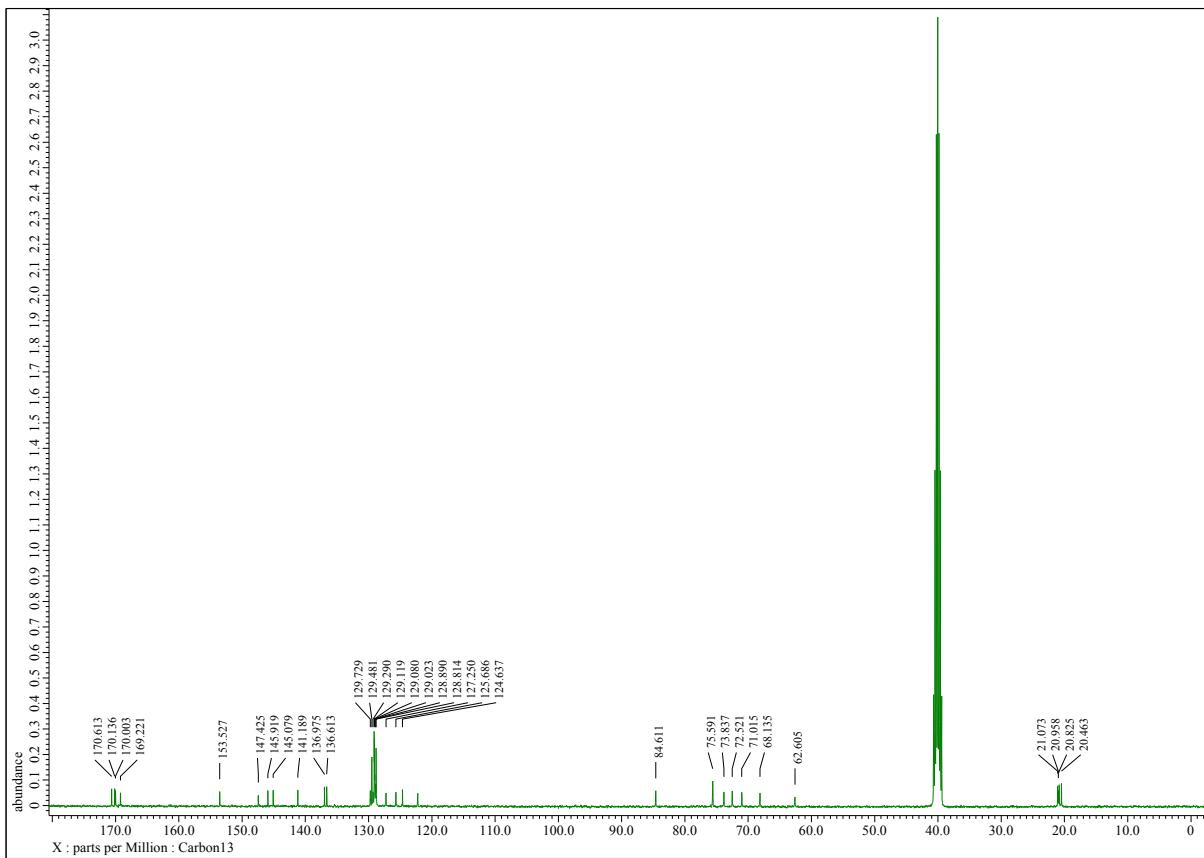
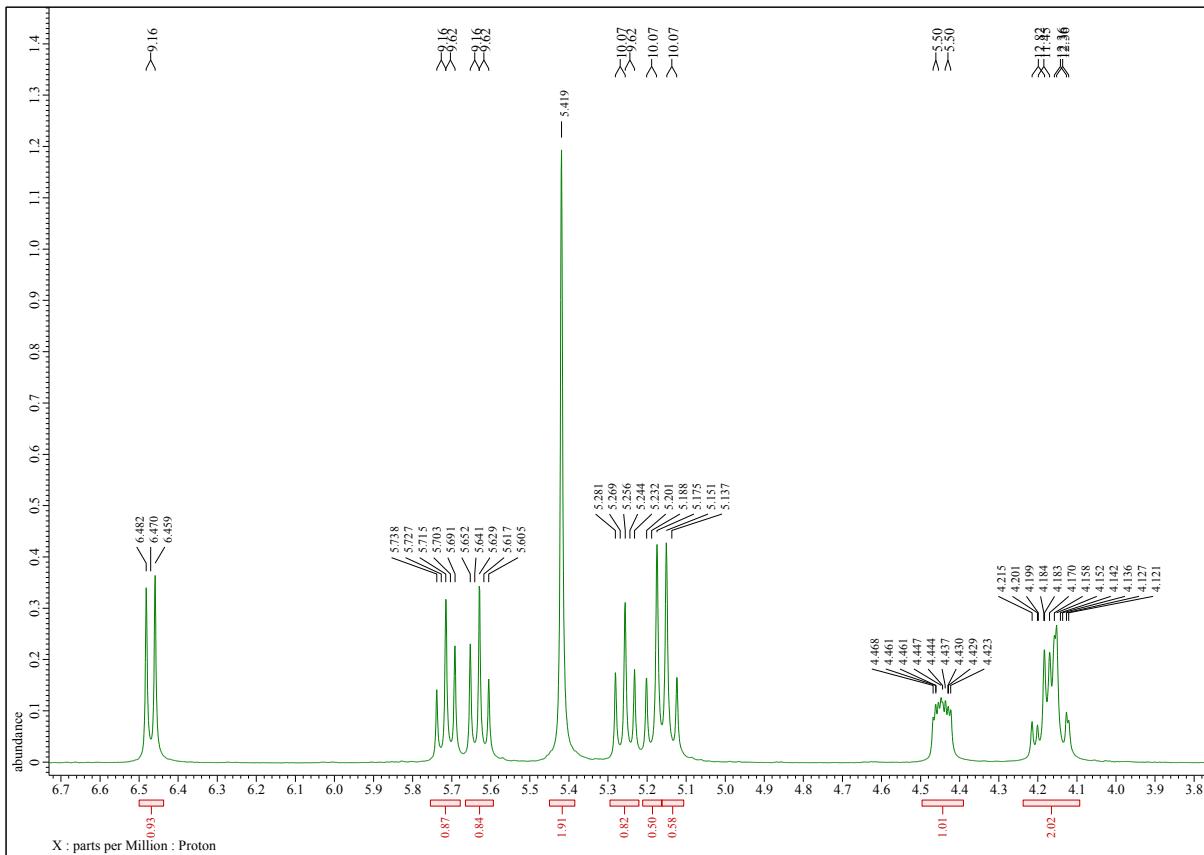
2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-methylendioxy-chinolin (13f).



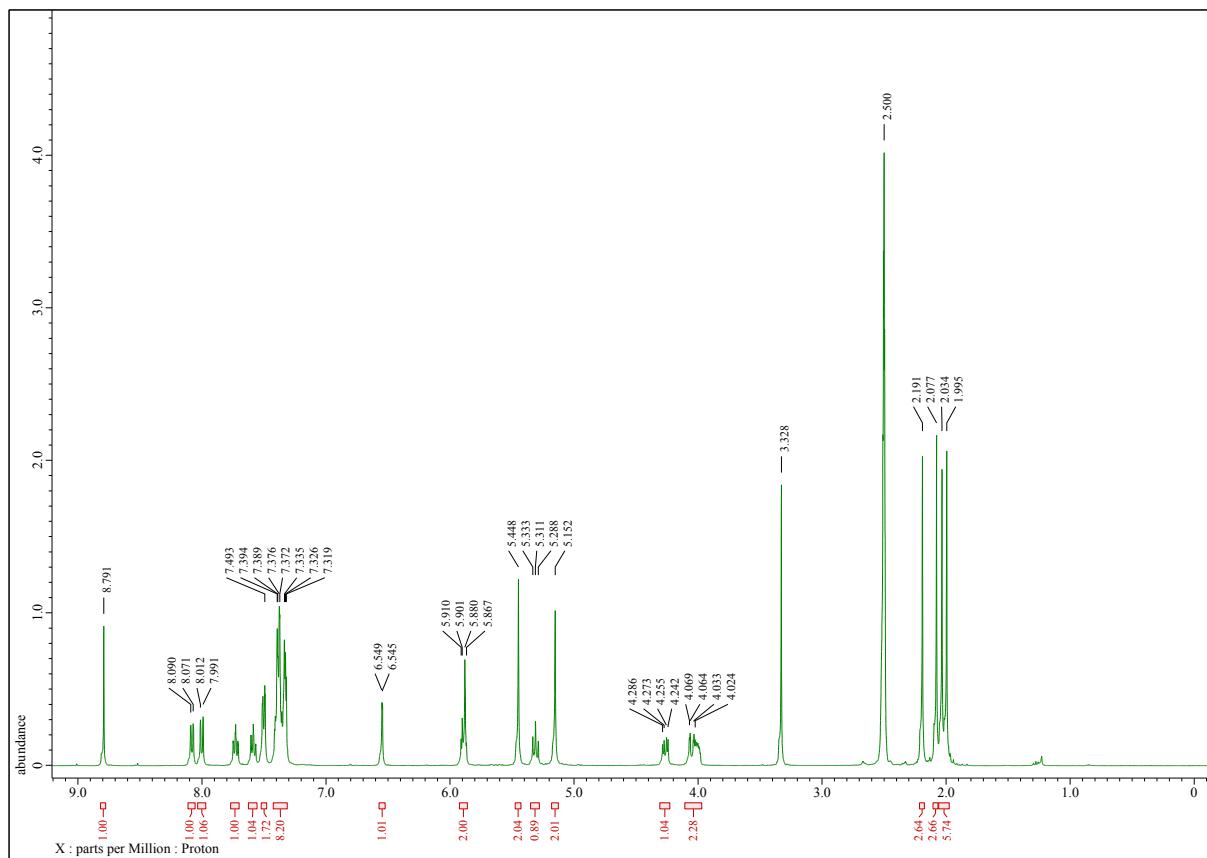
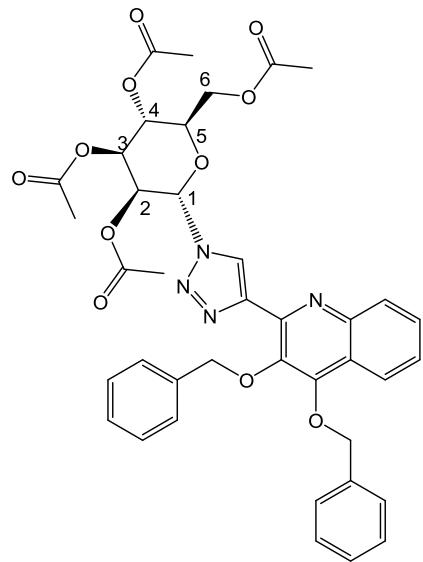


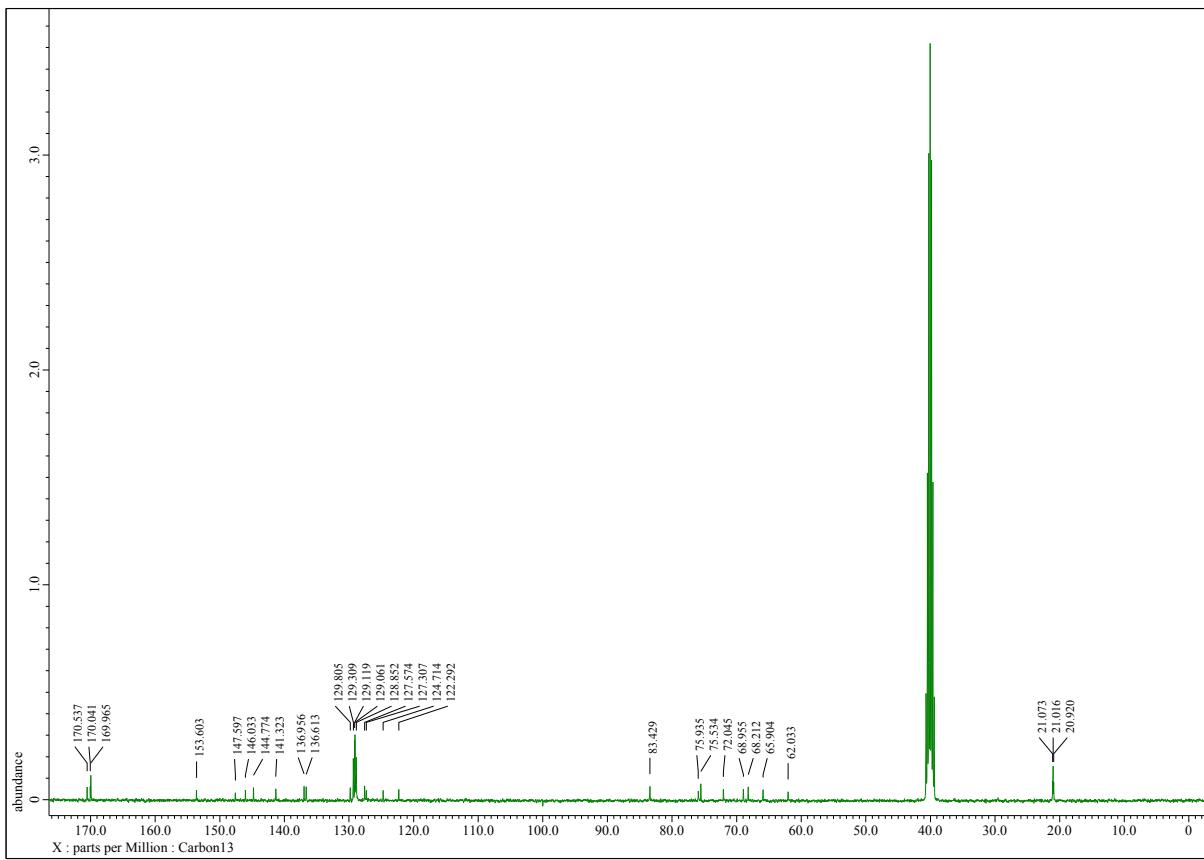
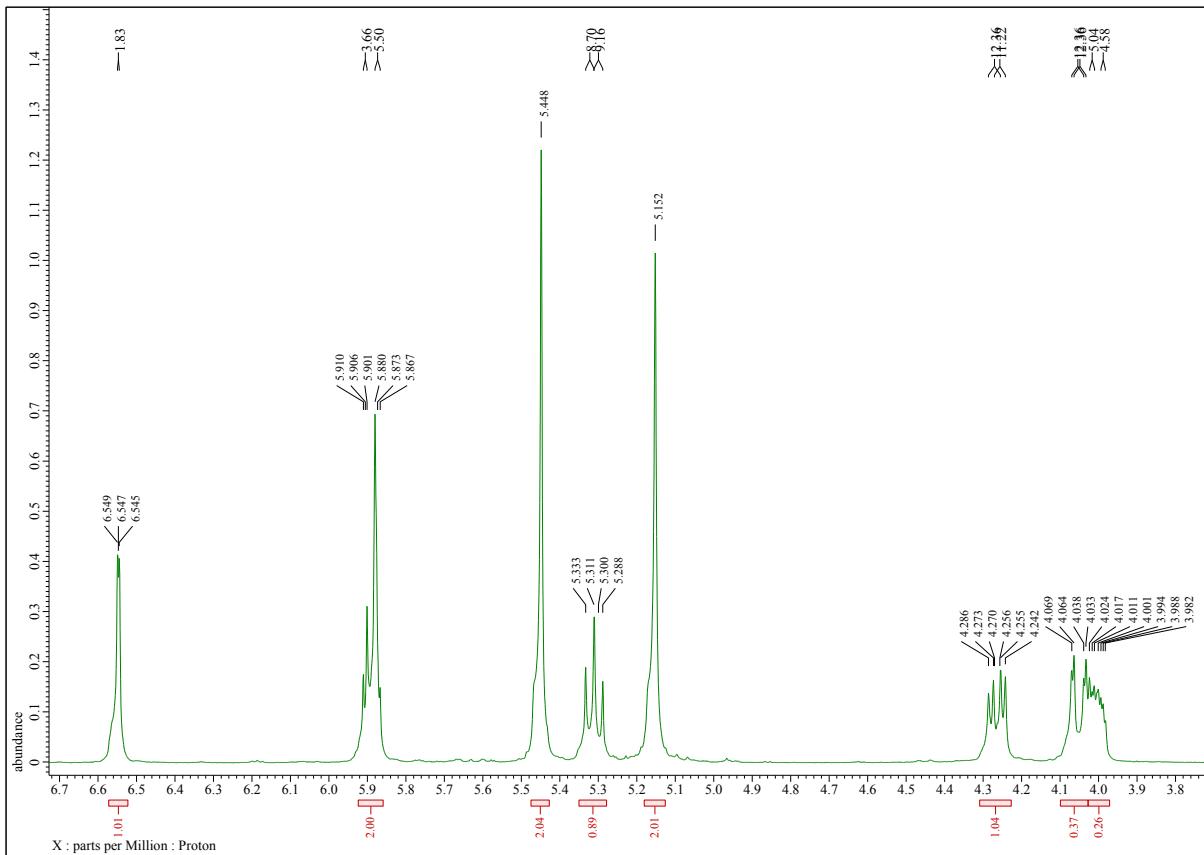
2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (14a).



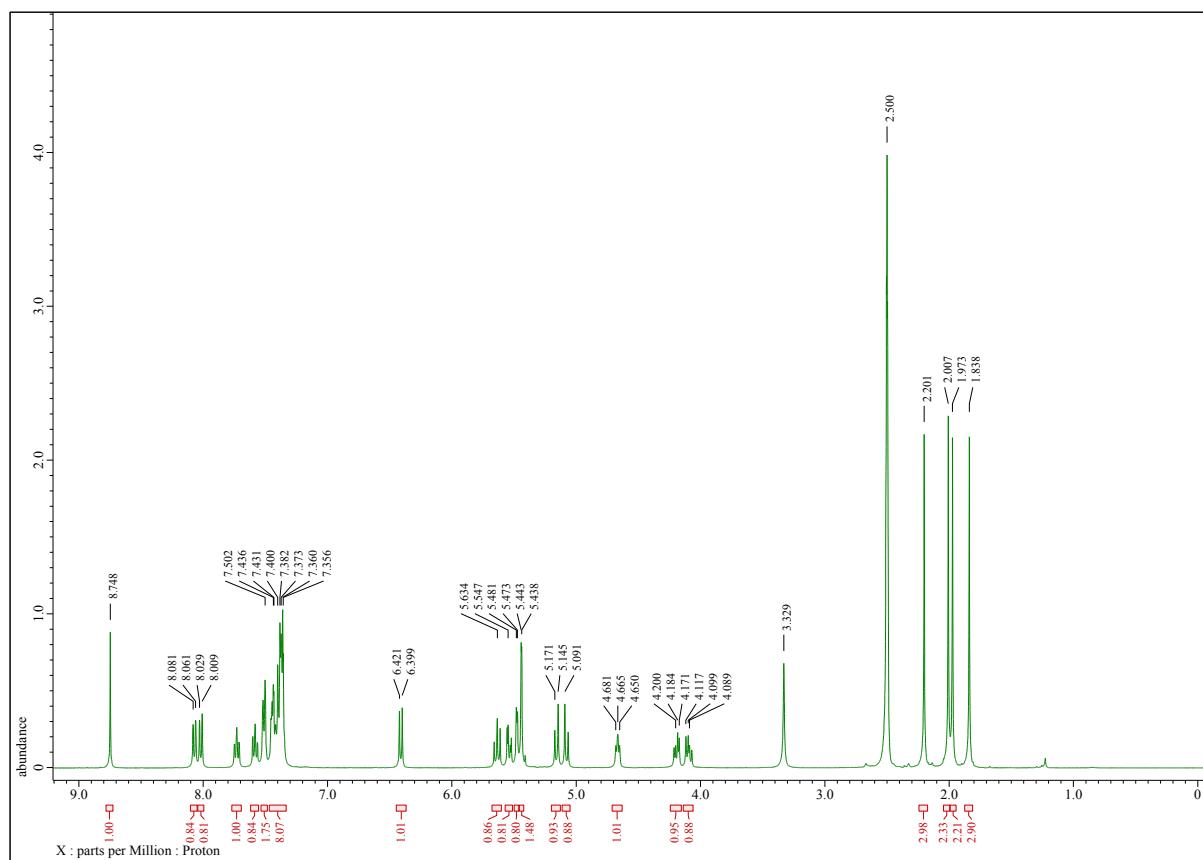
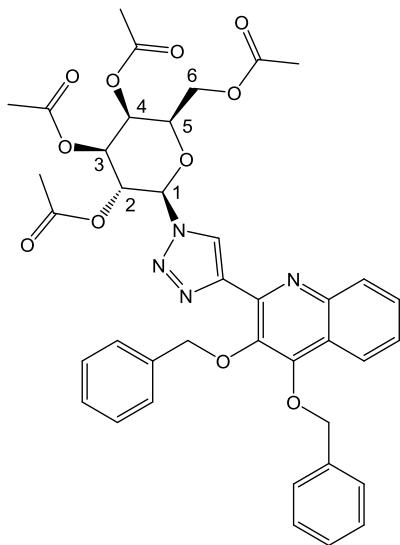


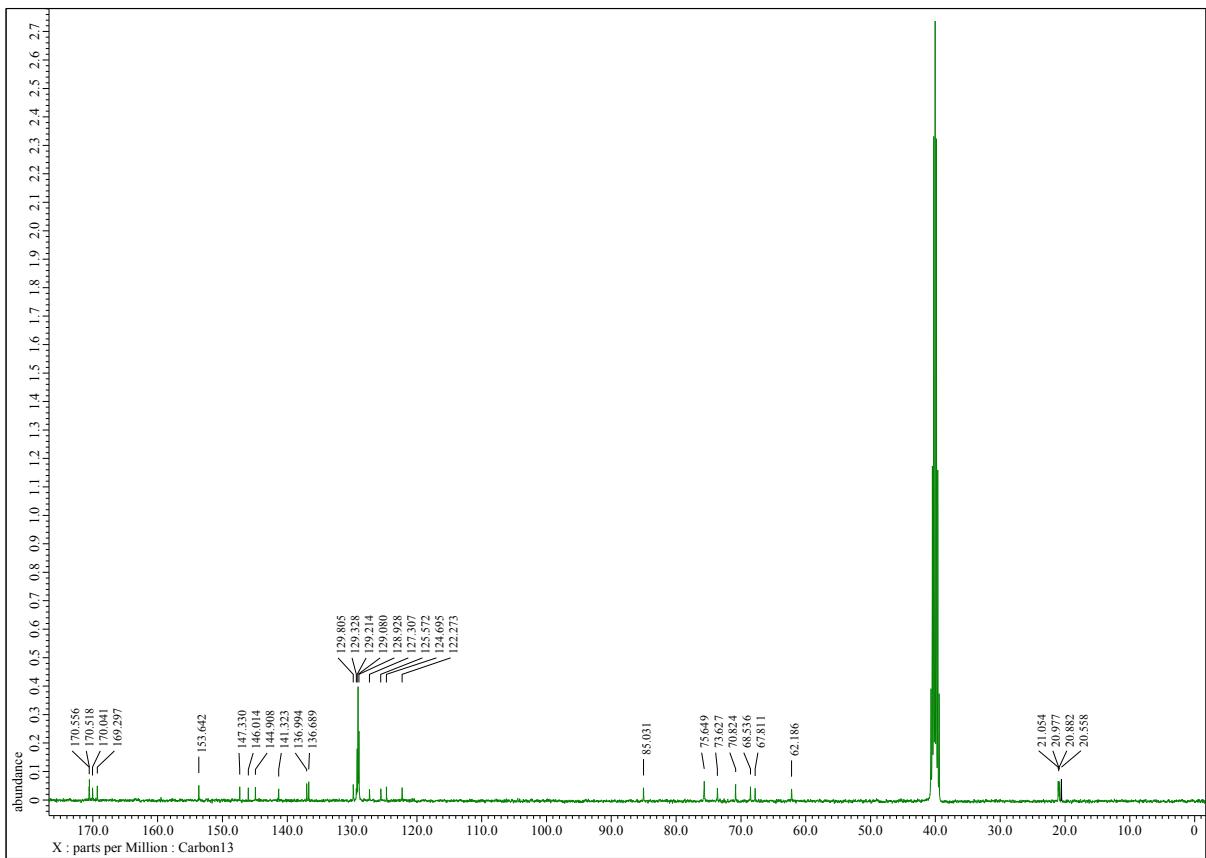
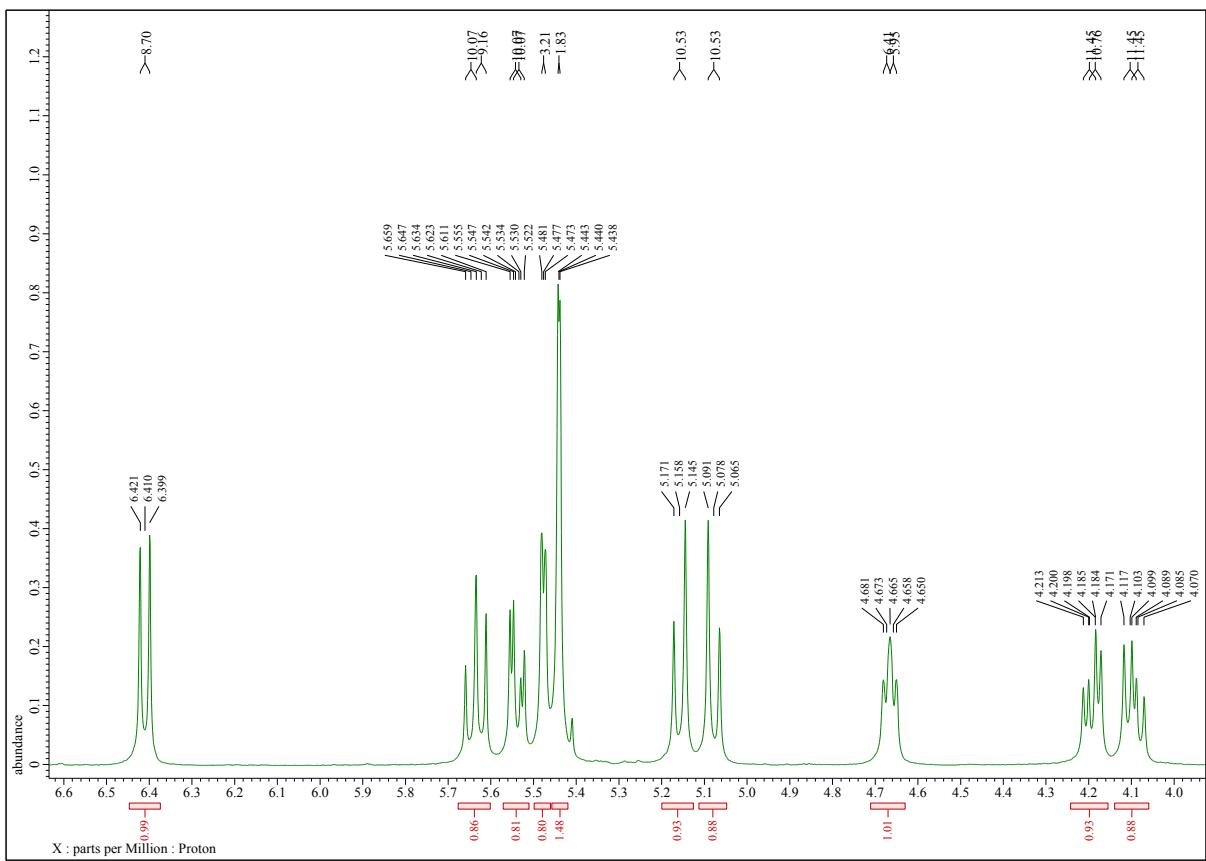
2-(1-(Tetra-O-acetyl- α -D-mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (14b).



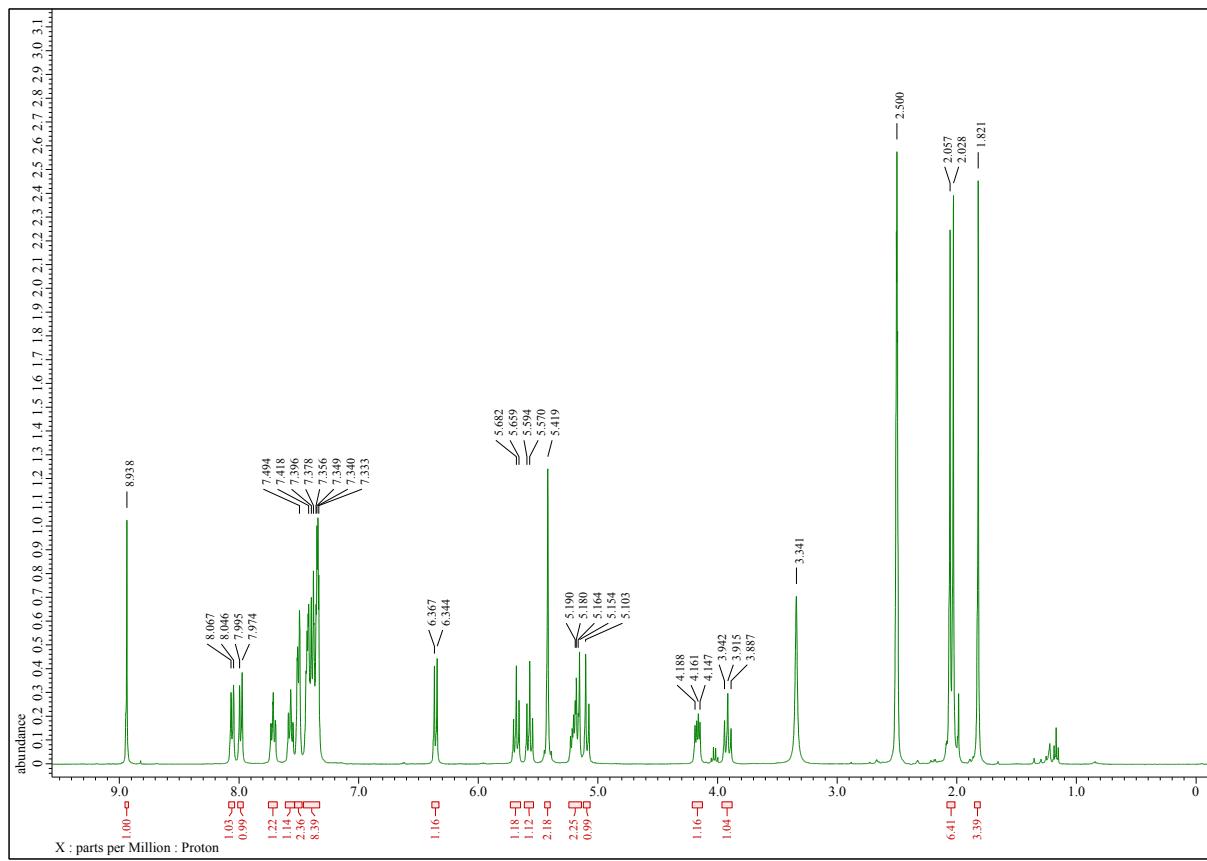
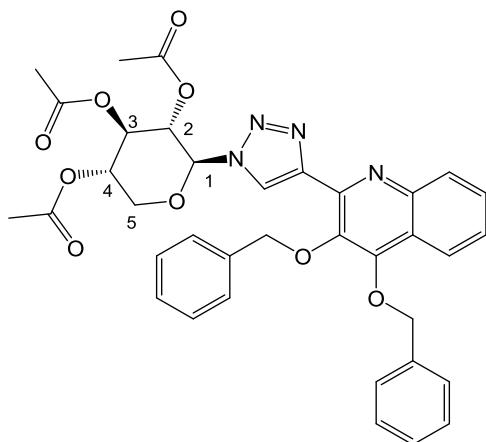


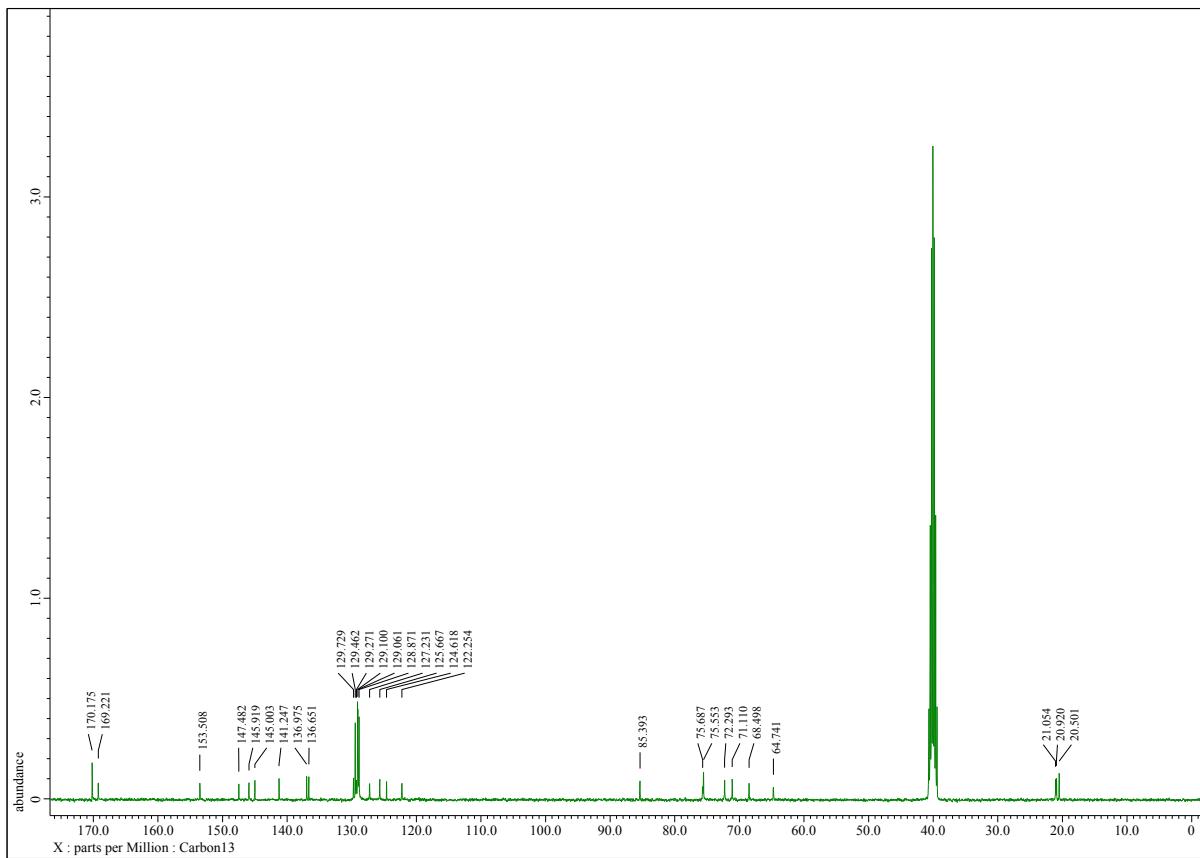
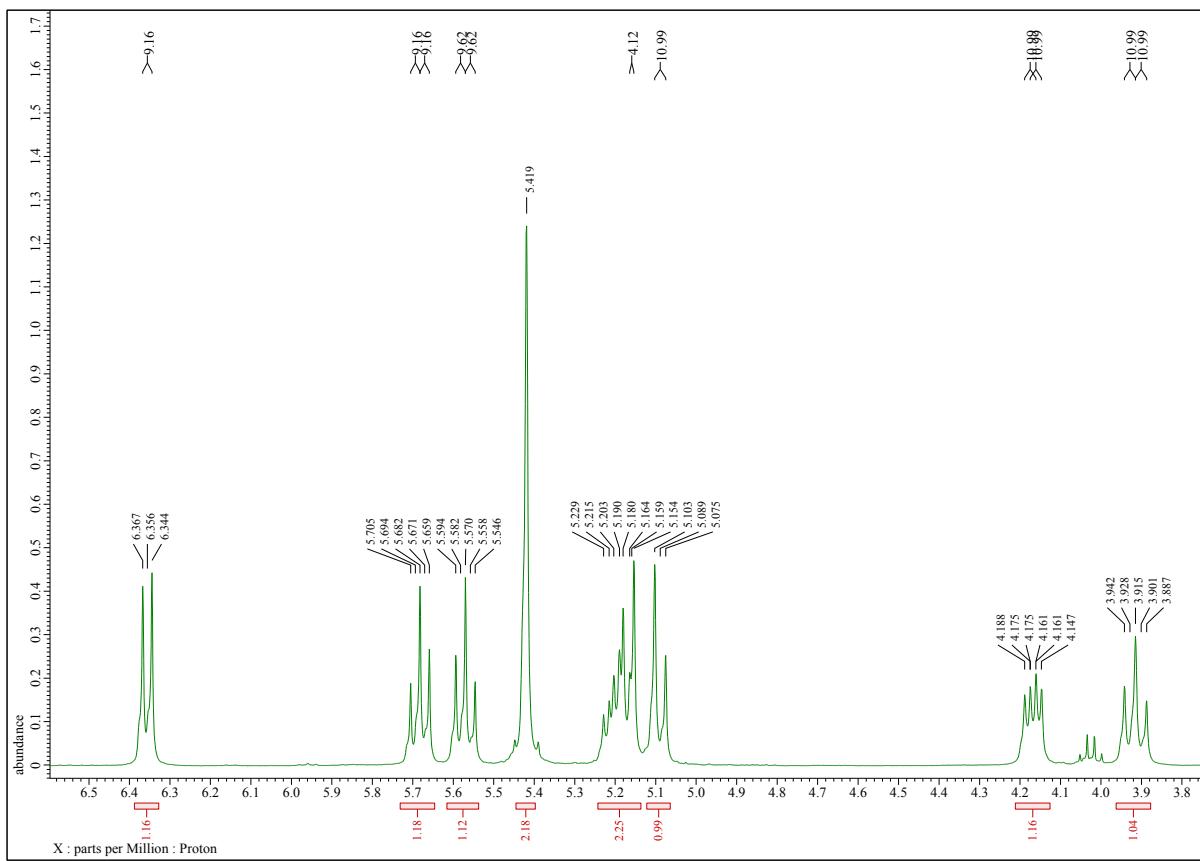
2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzoyloxy-chinolin (14c).



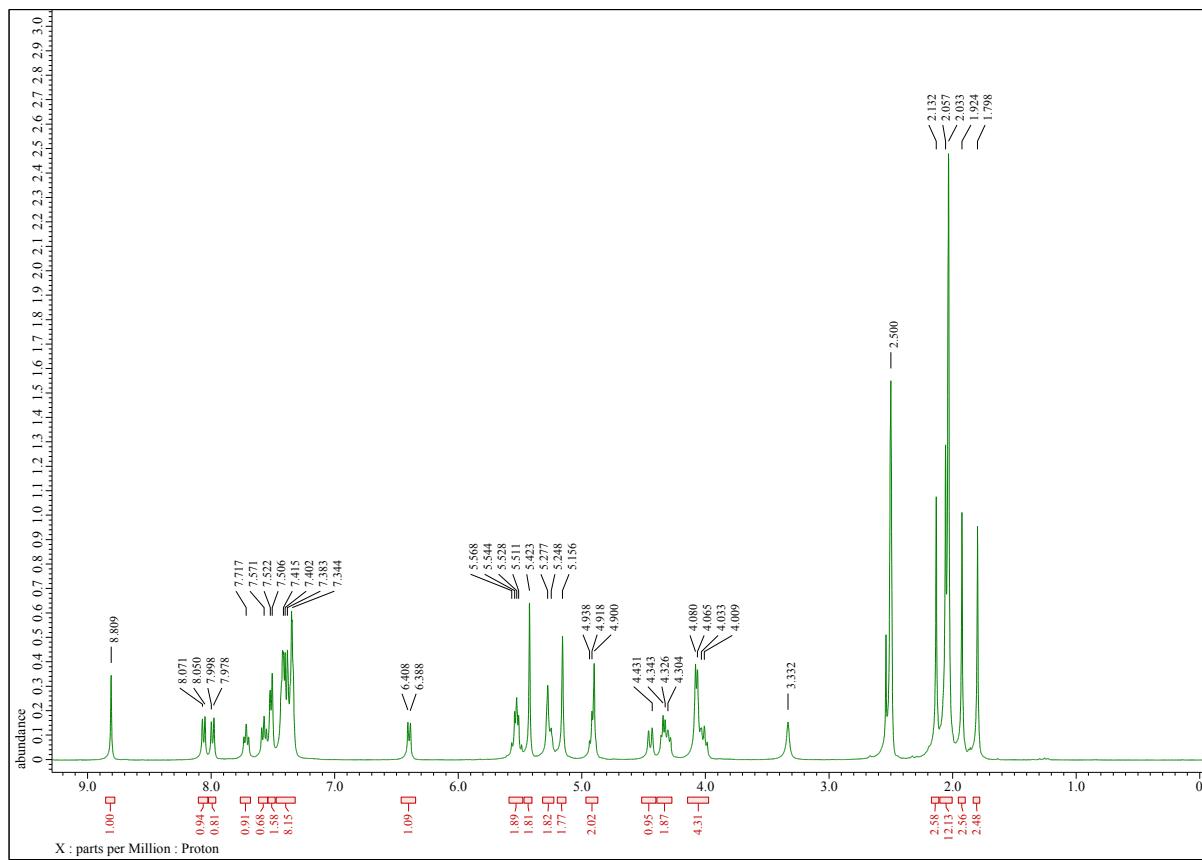
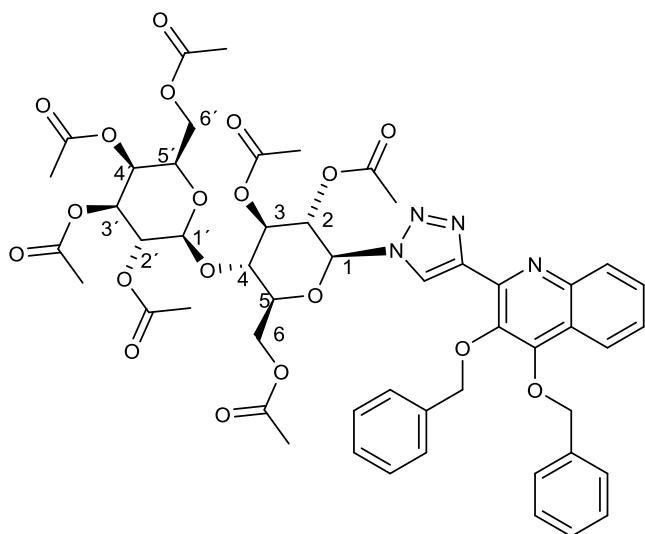


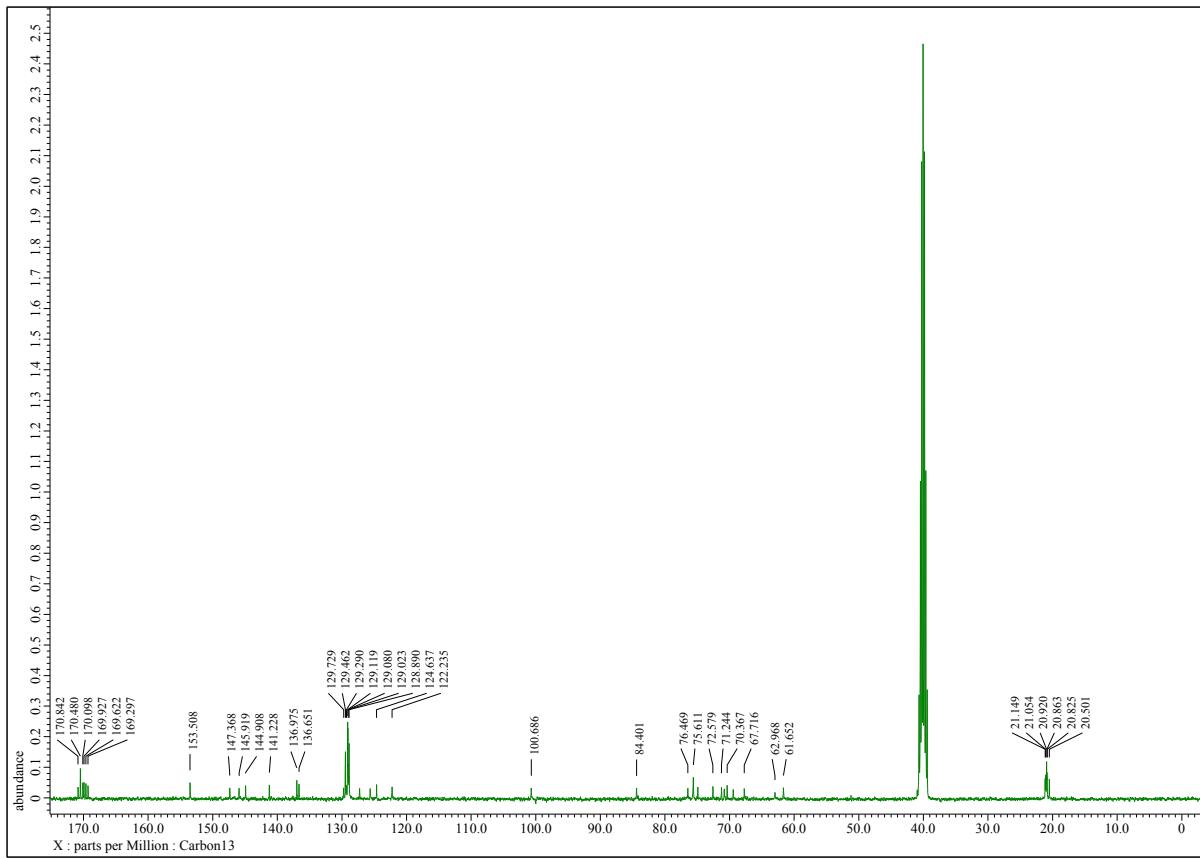
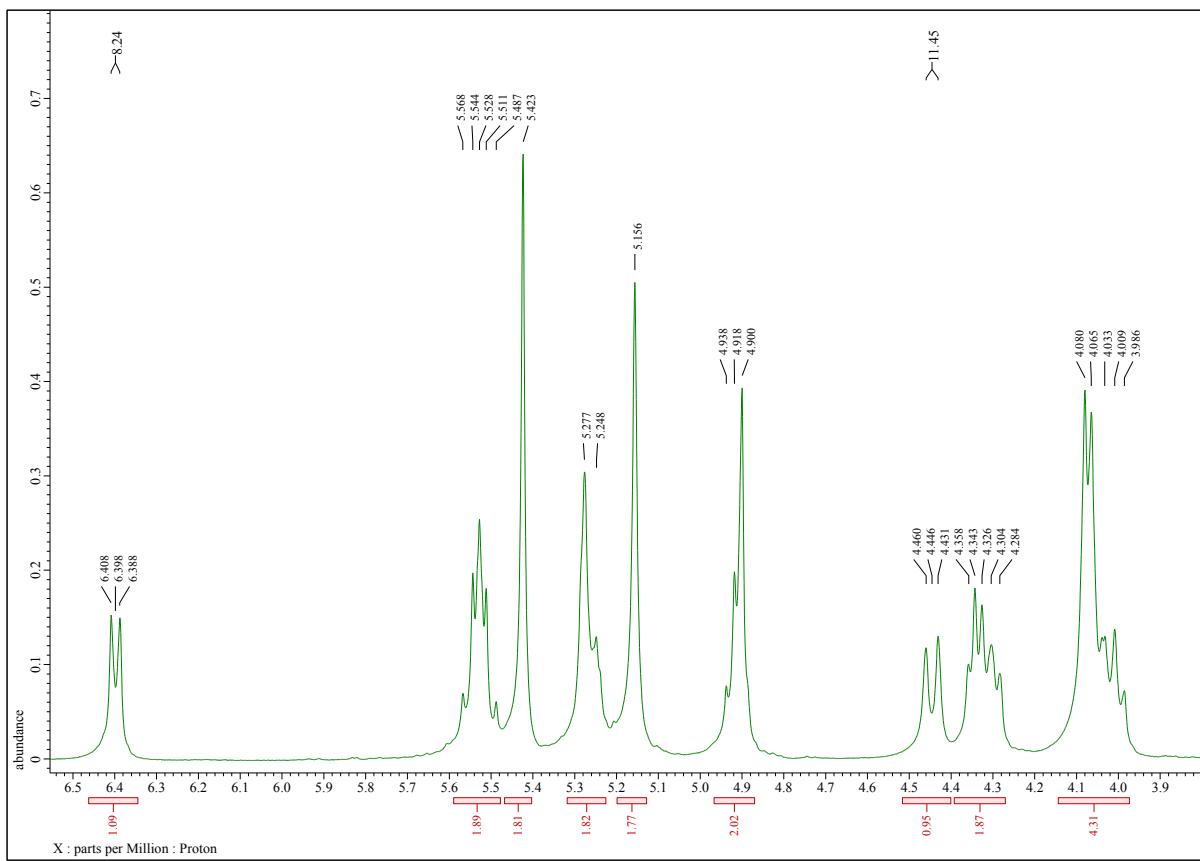
2-(1-(Tetra-O-acetyl- β -D-xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxylo-chinolin (14d).



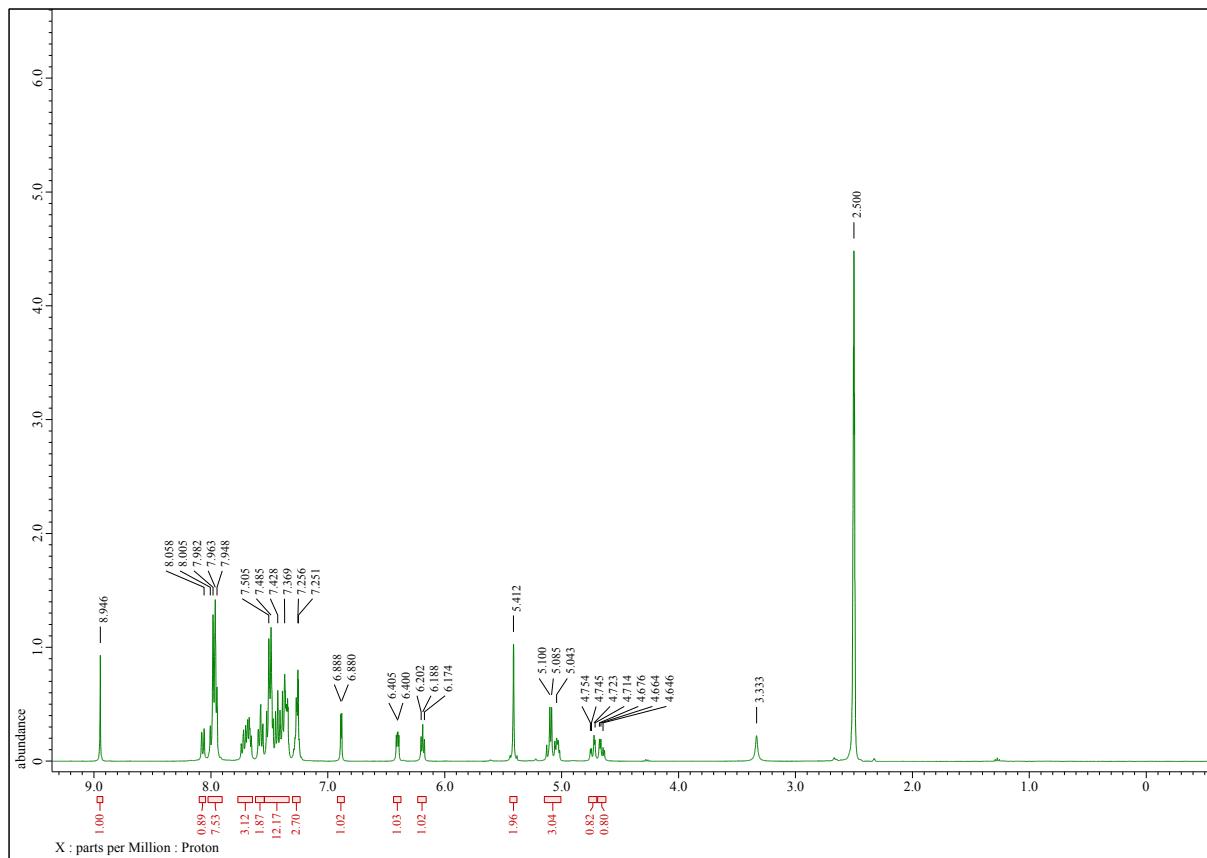
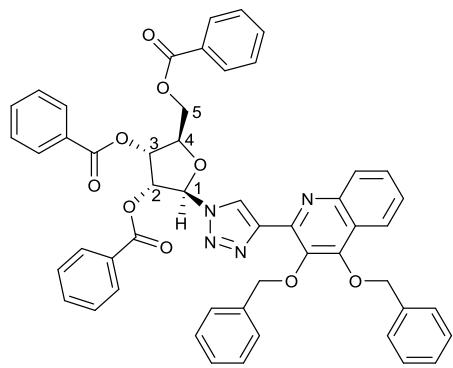


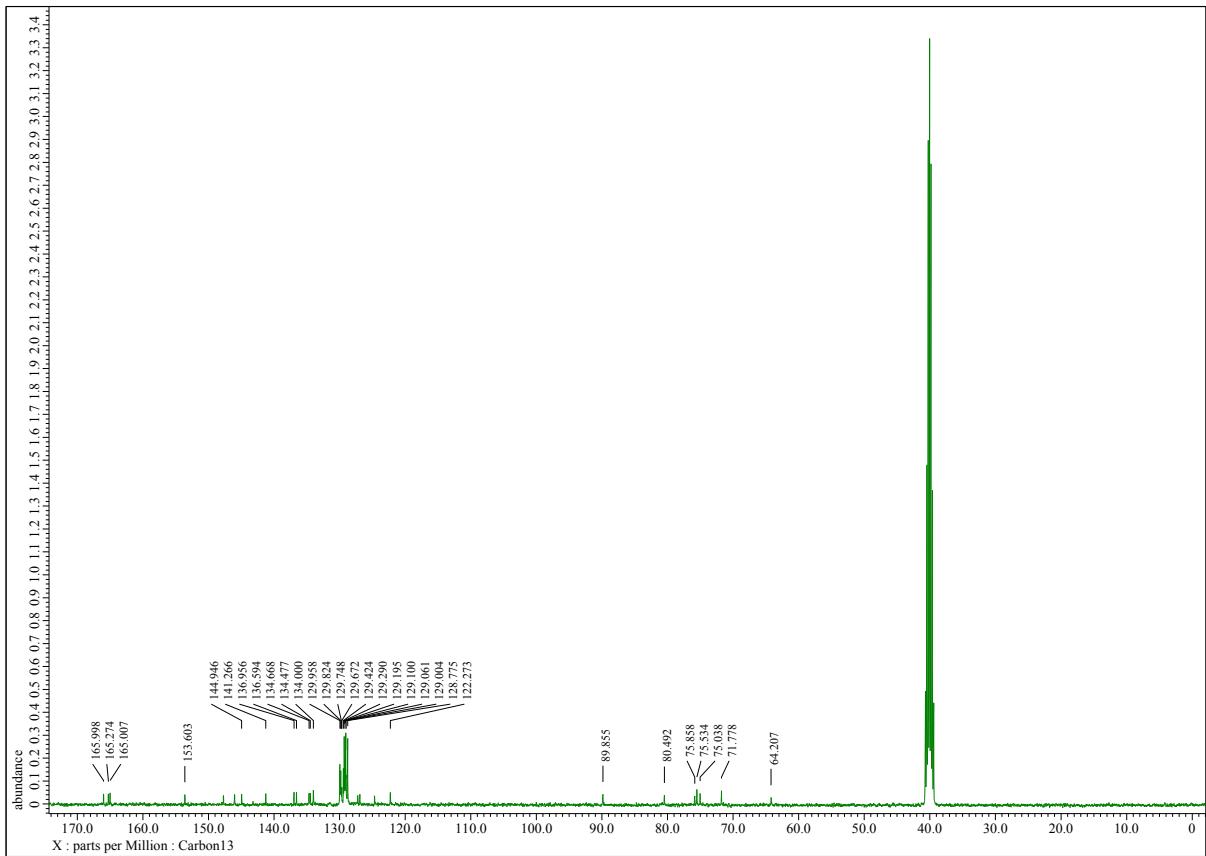
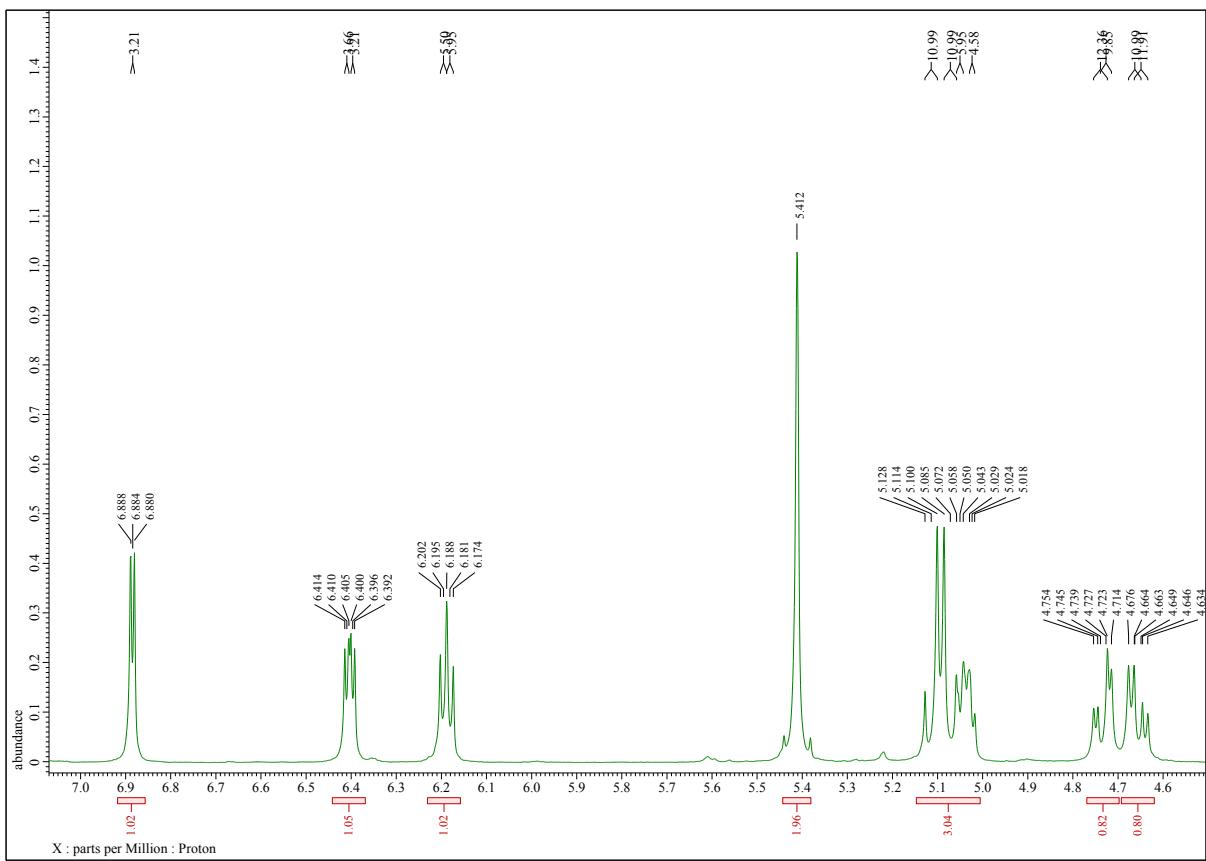
2-[1-(4-O-(2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-galaktopyranosyl)-2,3,6-tri-O-acetyl- β -D-glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-dibenzyloxy-chinolin (14e).



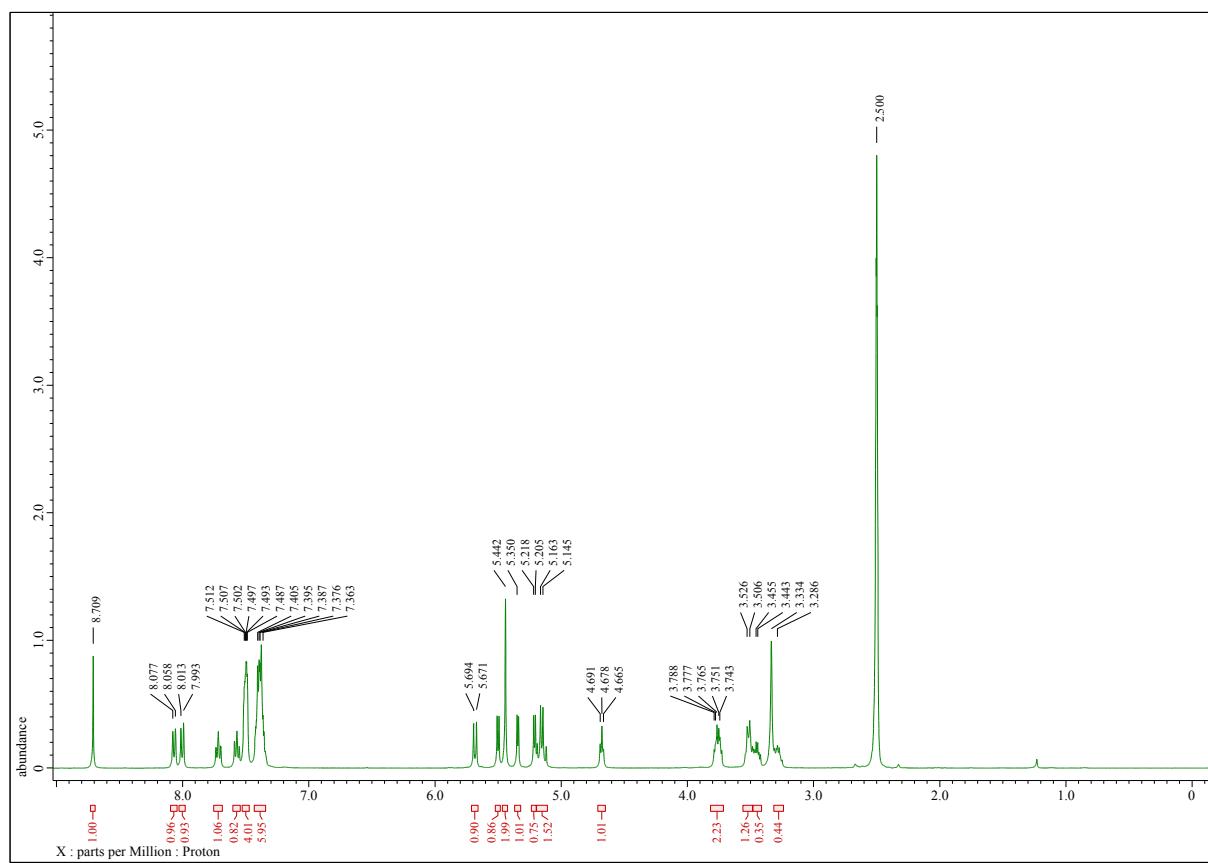
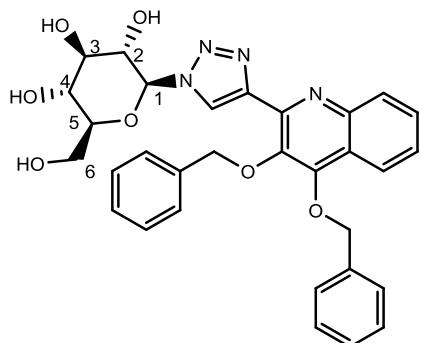


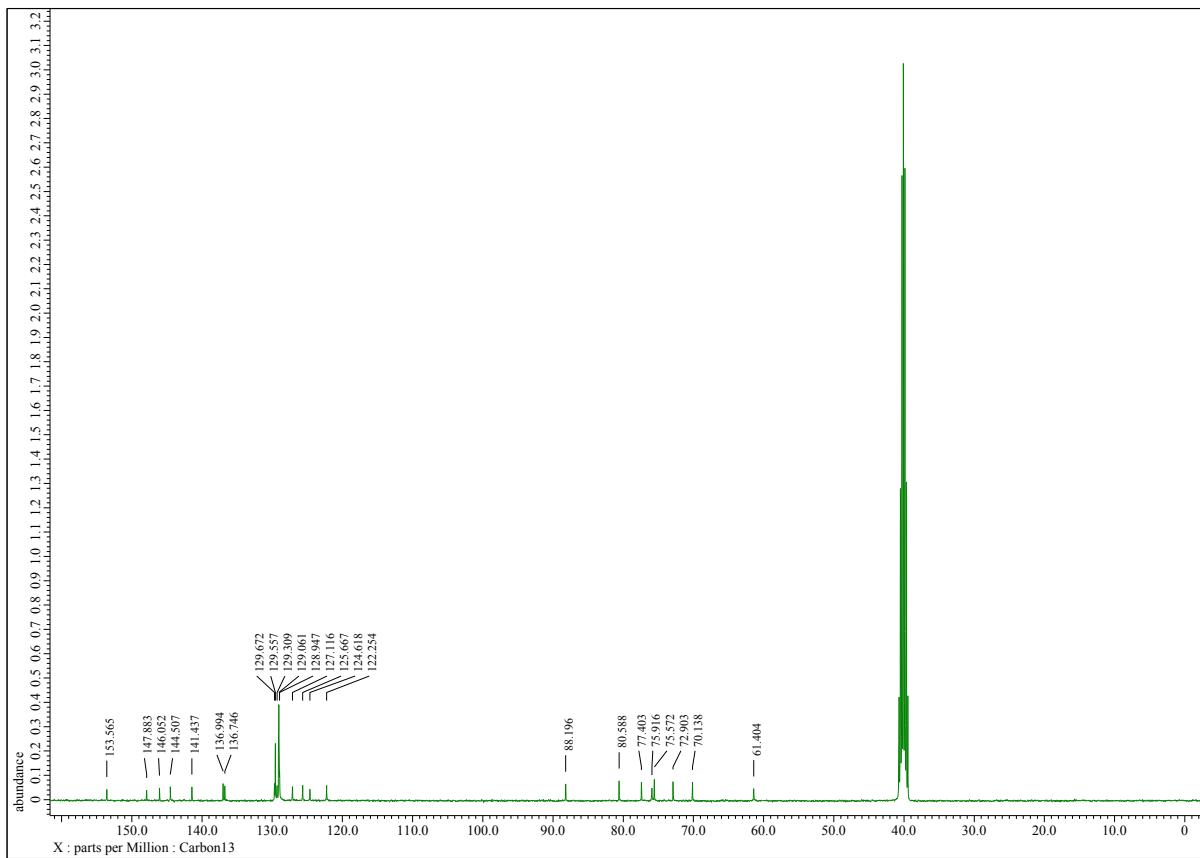
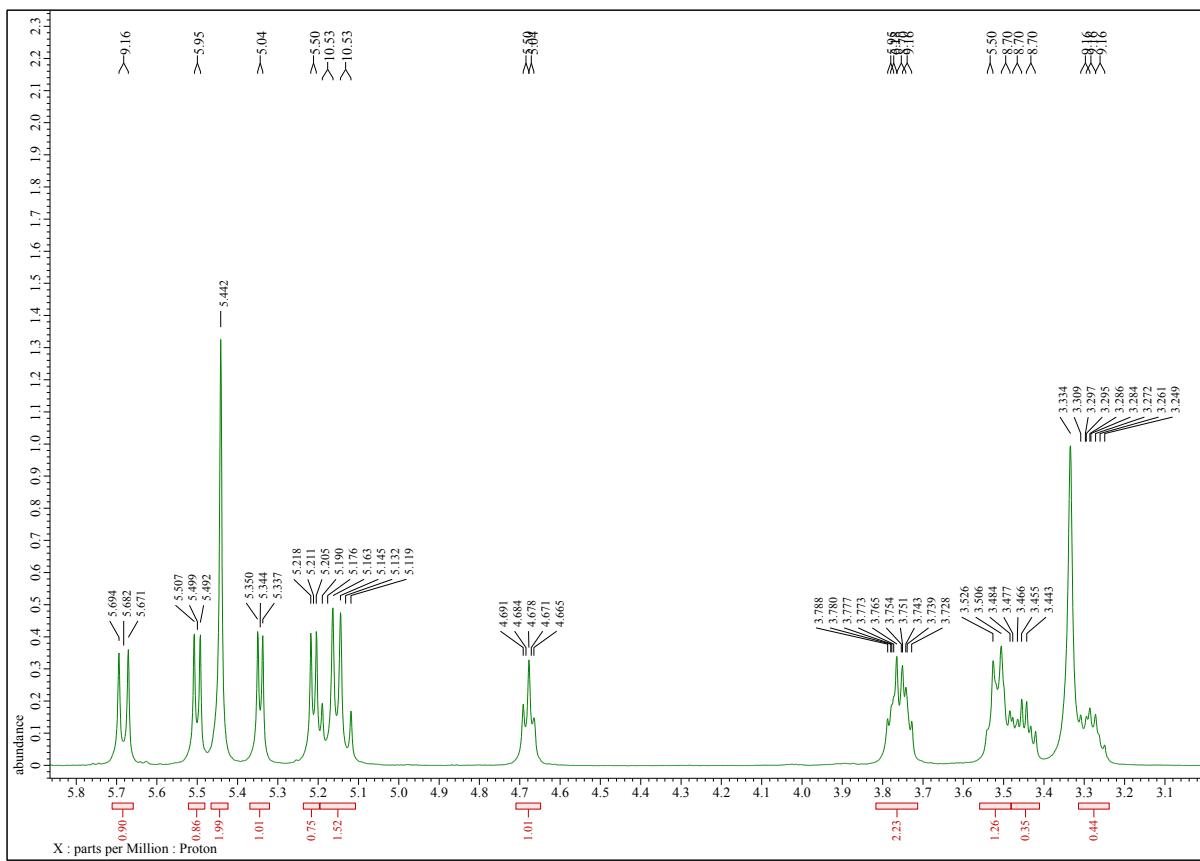
2-(1-(Tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (14f).



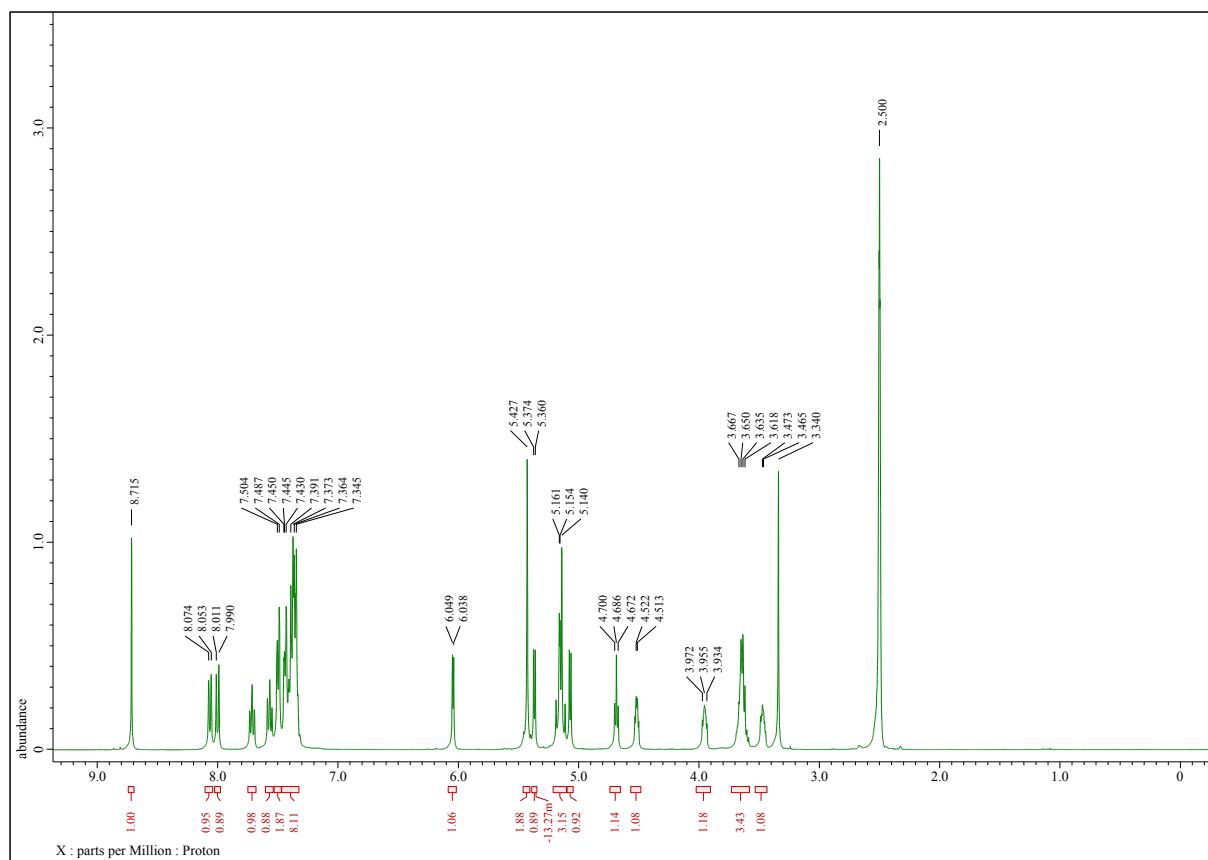
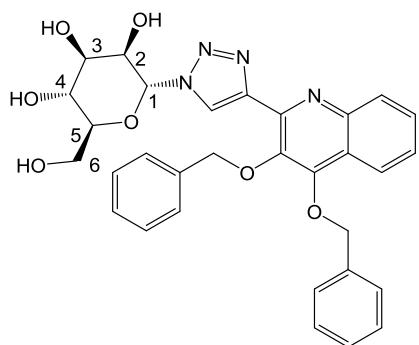


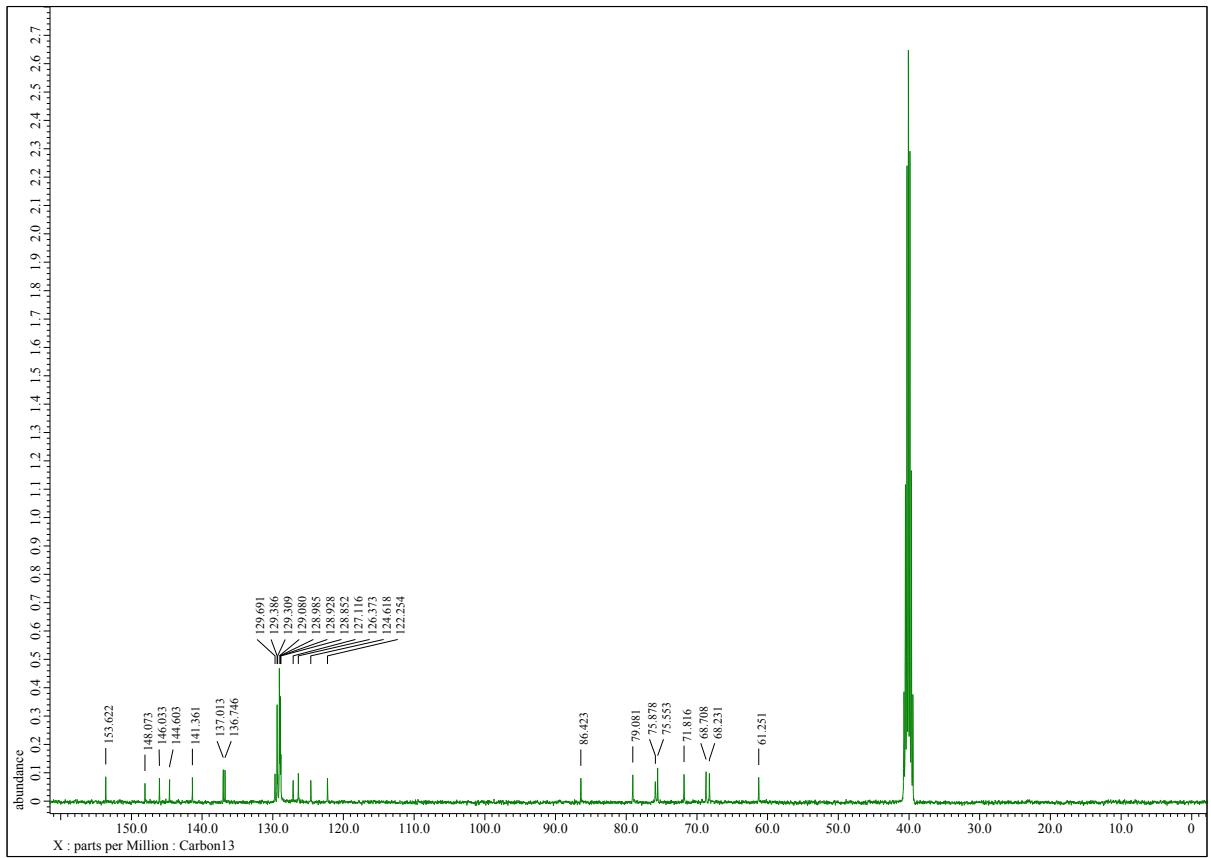
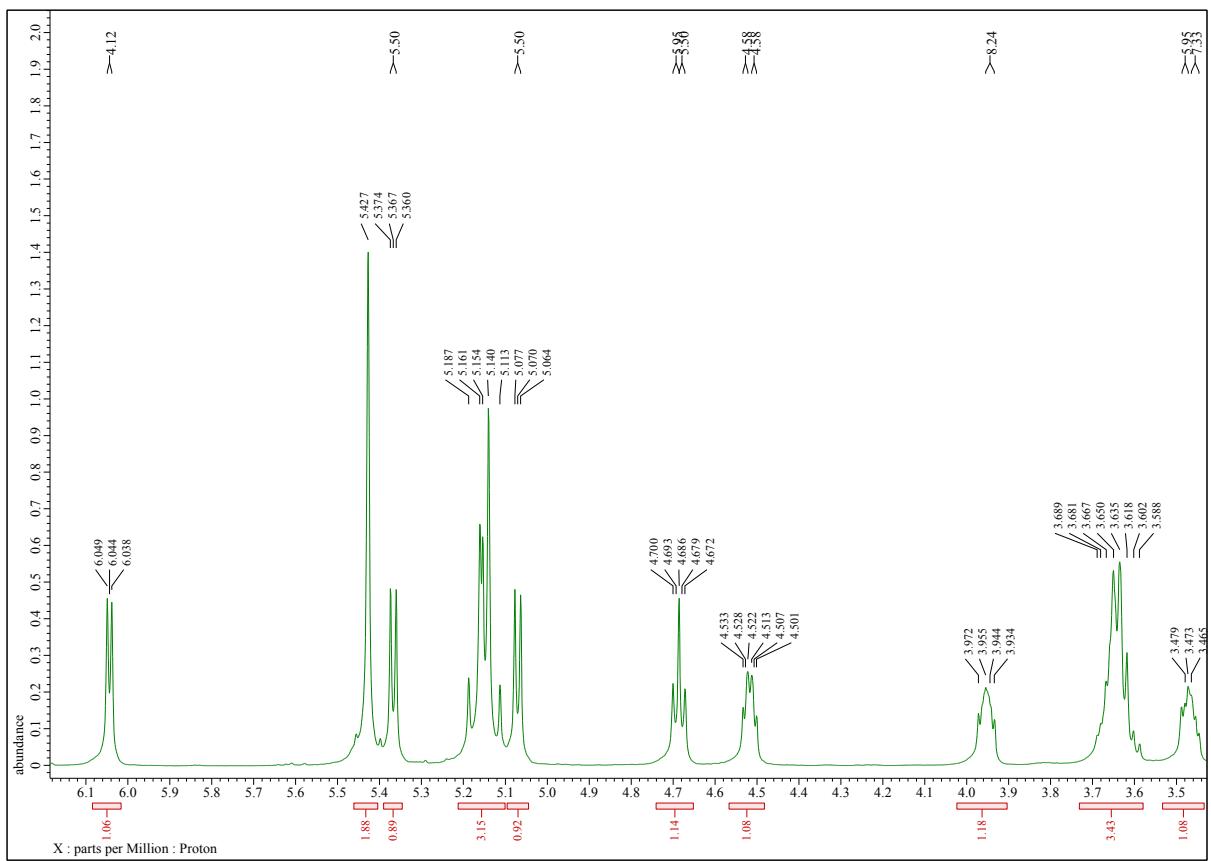
2-(1-(β -D-Glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (15a).



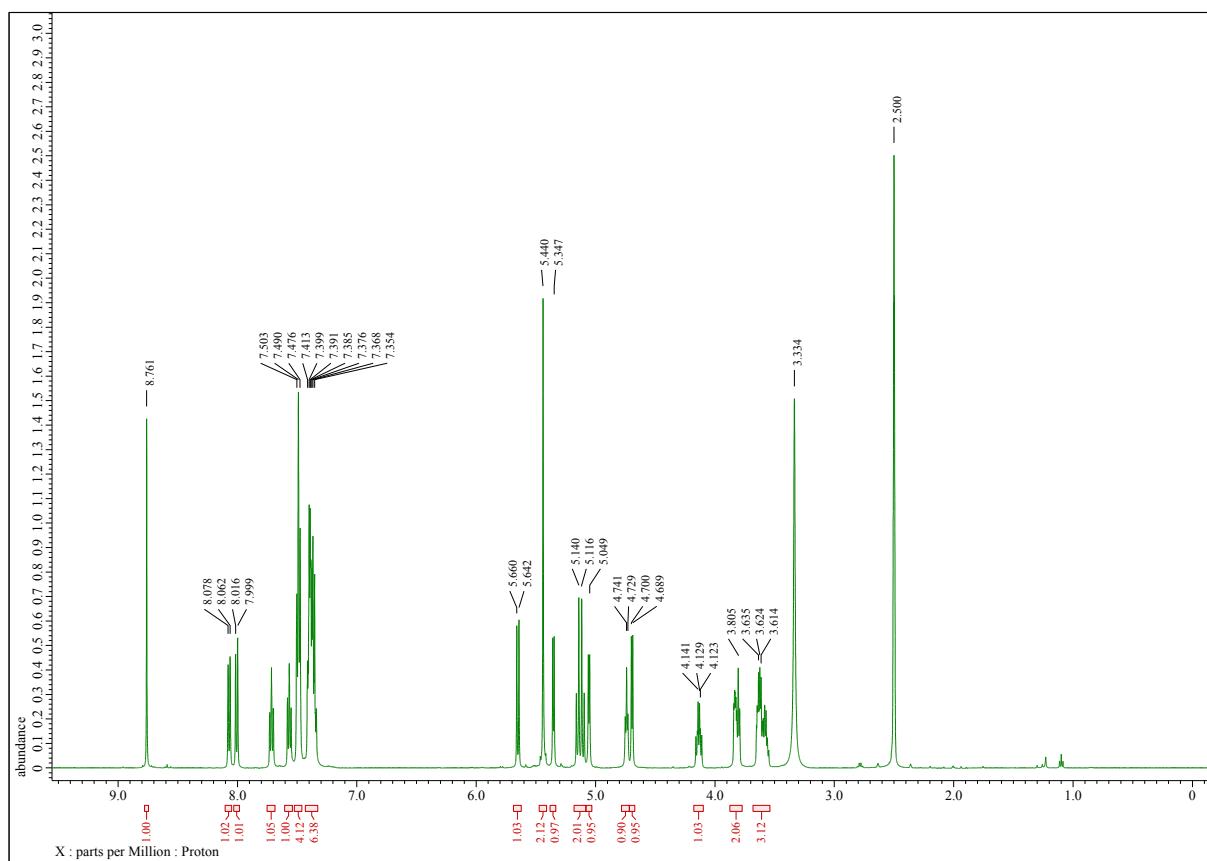
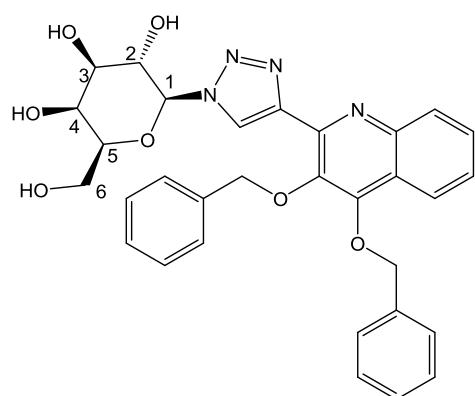


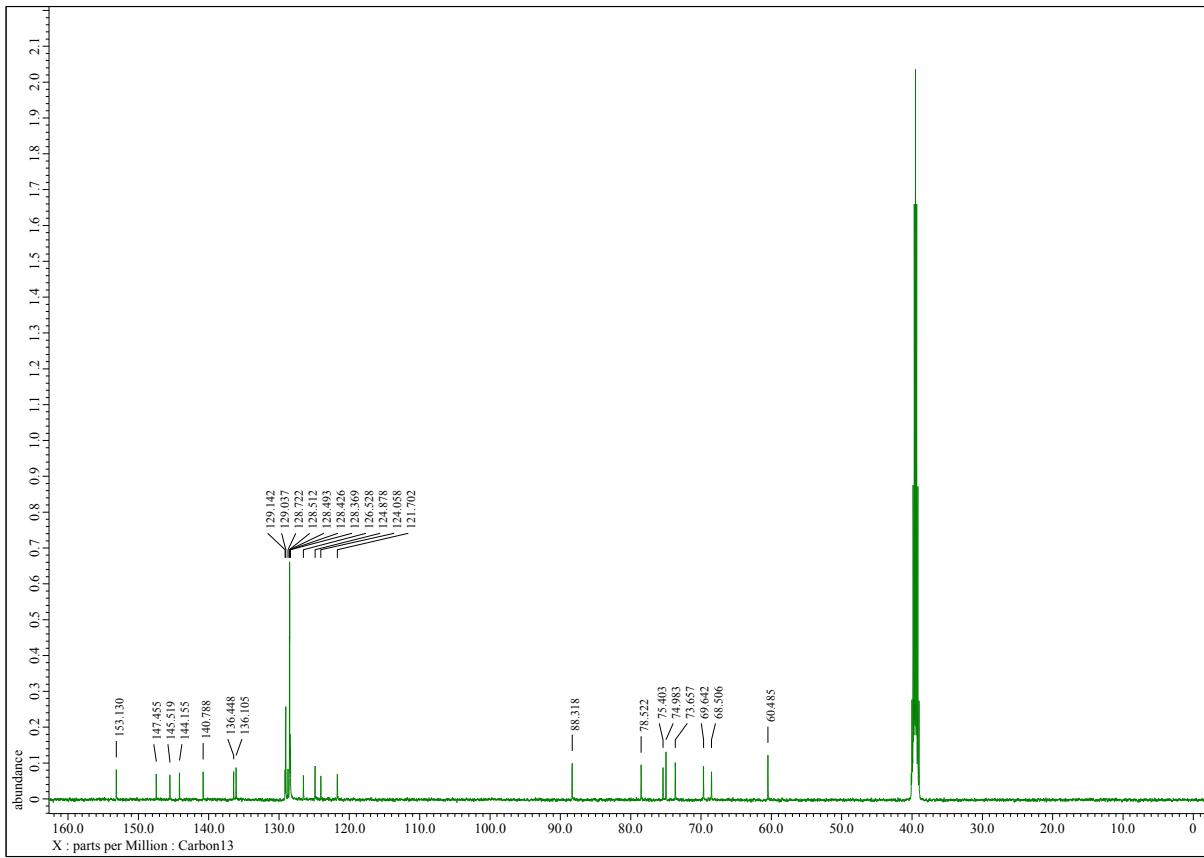
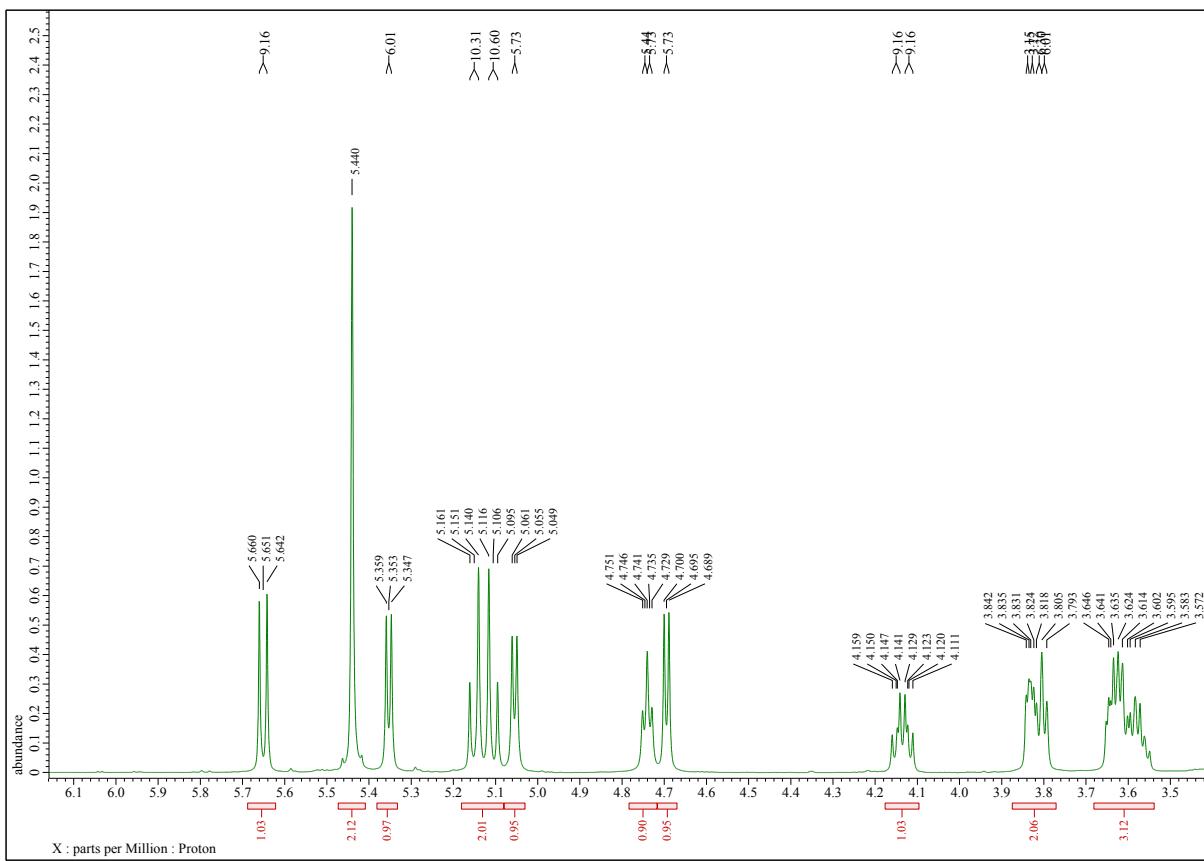
2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (15b).



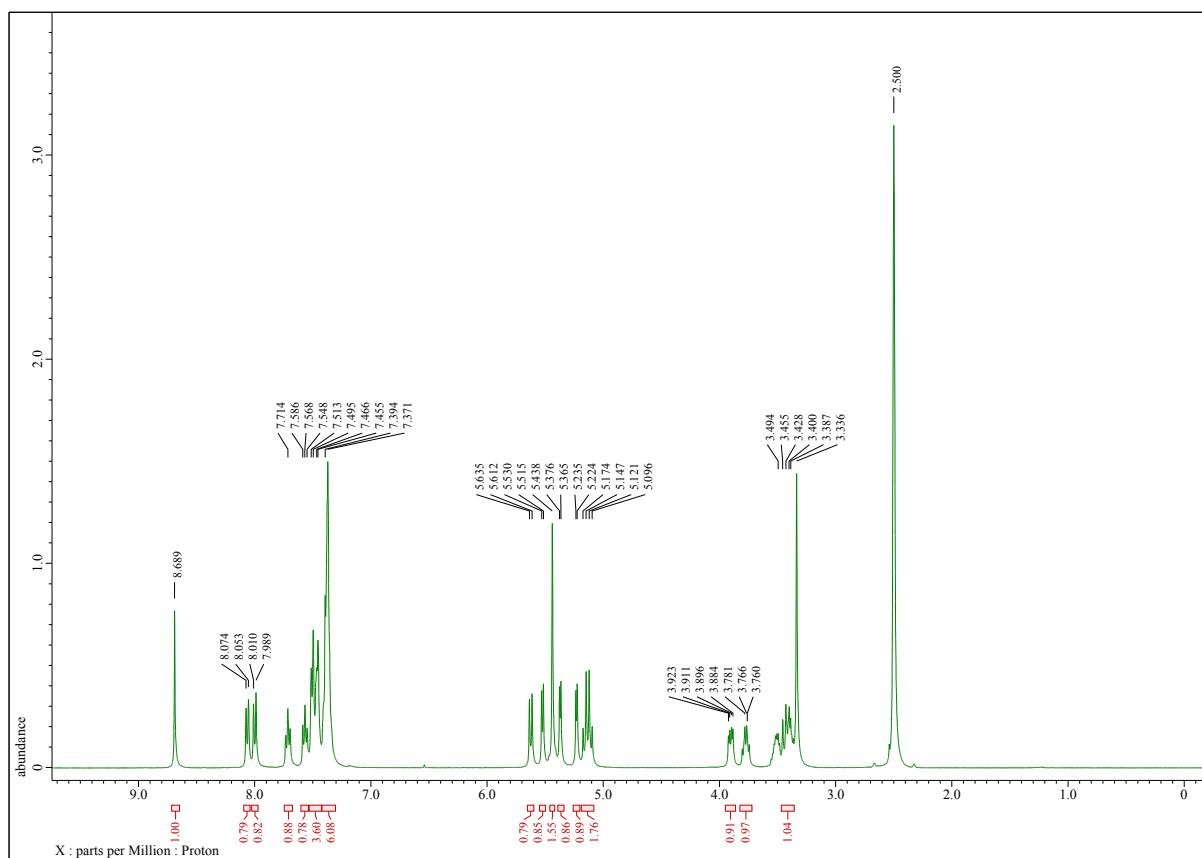
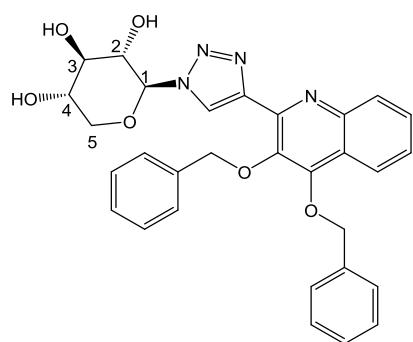


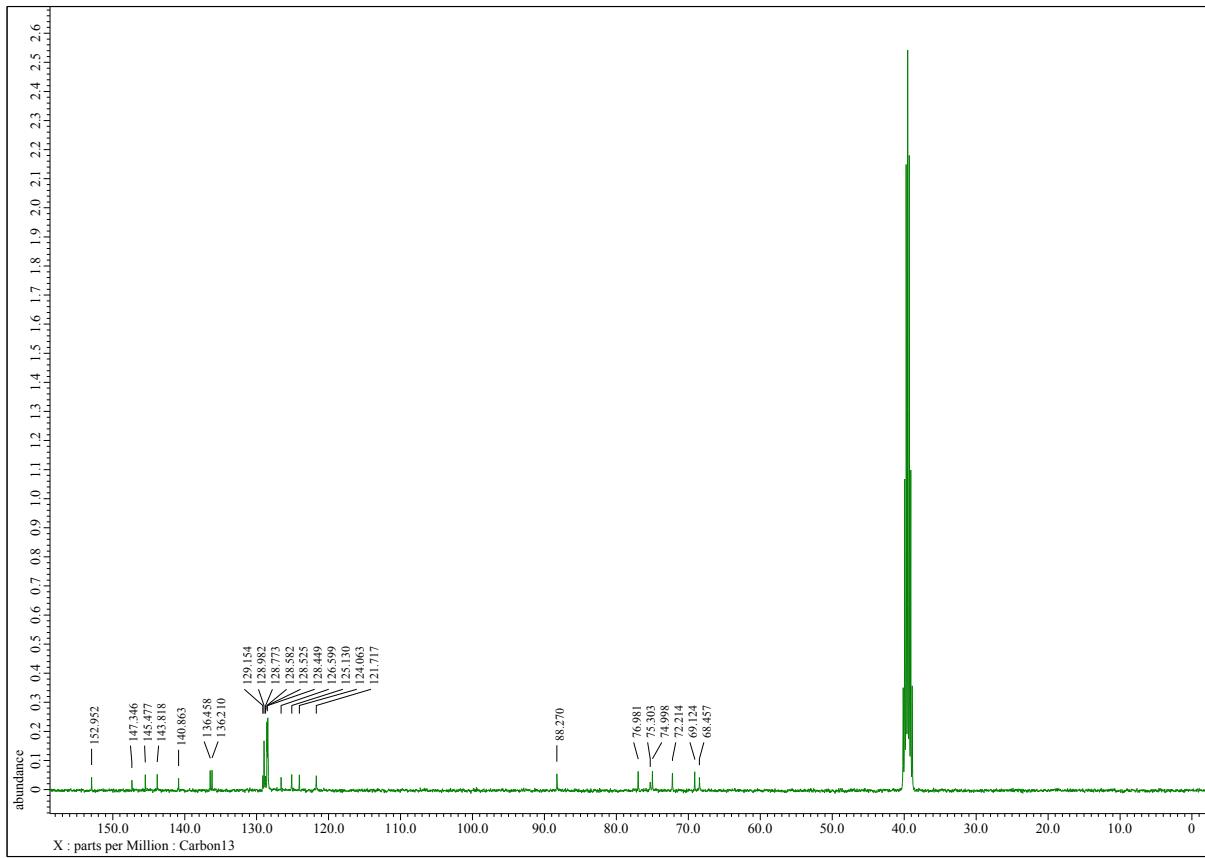
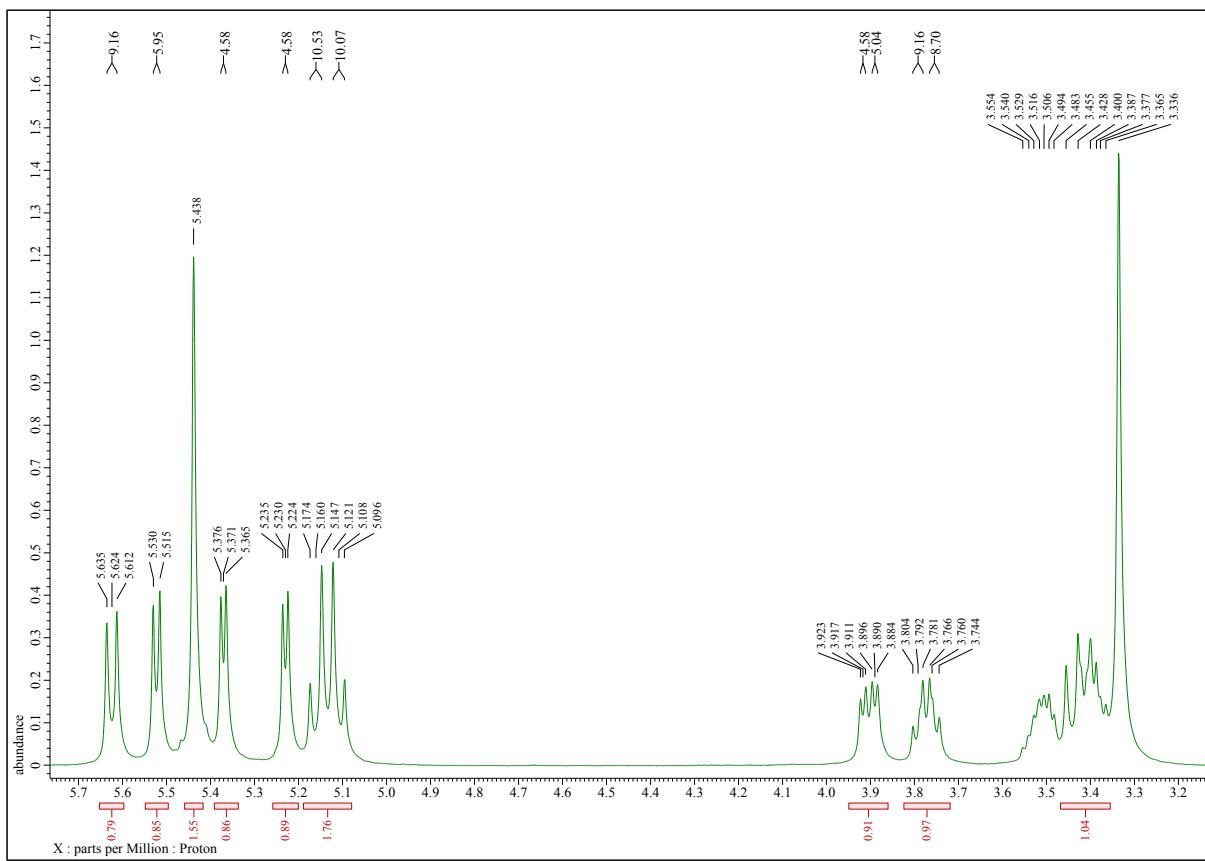
2-(1-(β -D-Galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (15c).



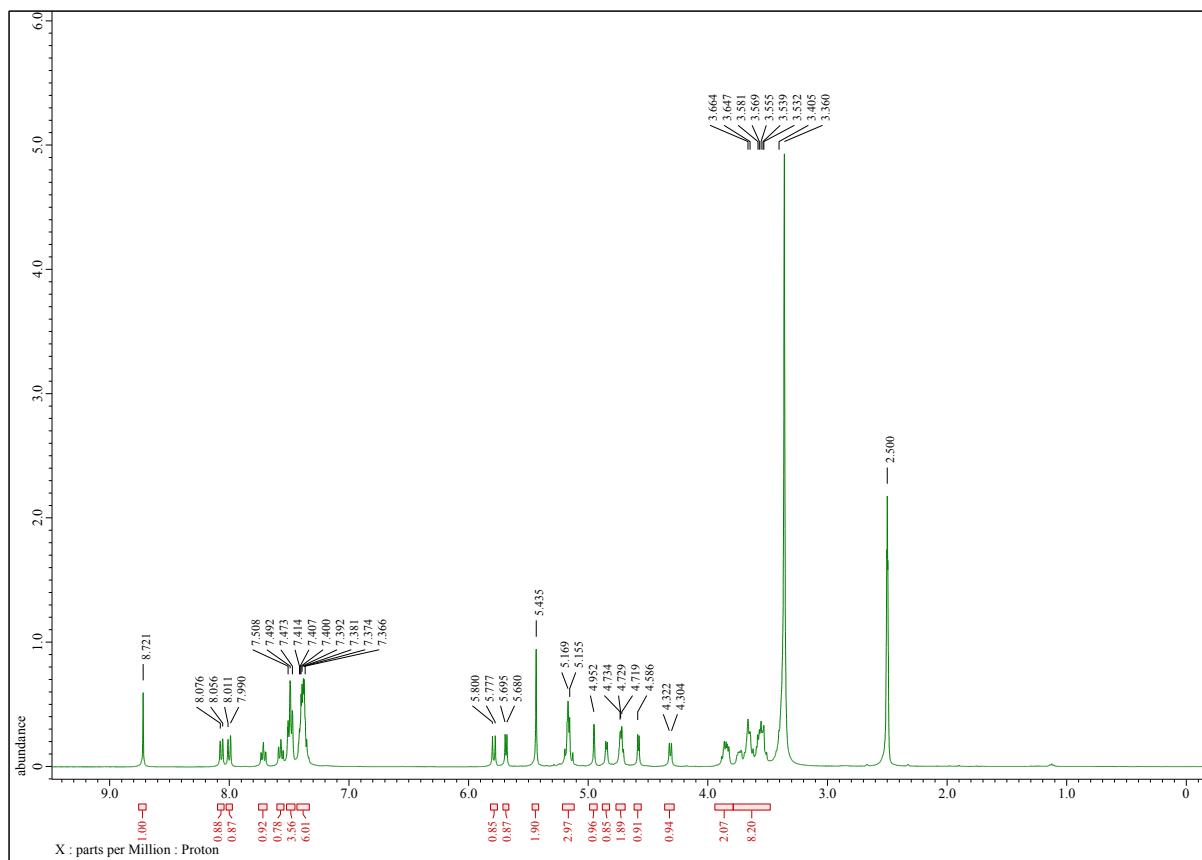
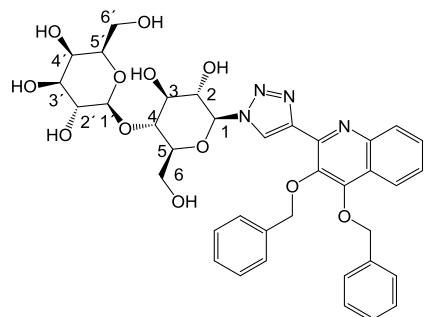


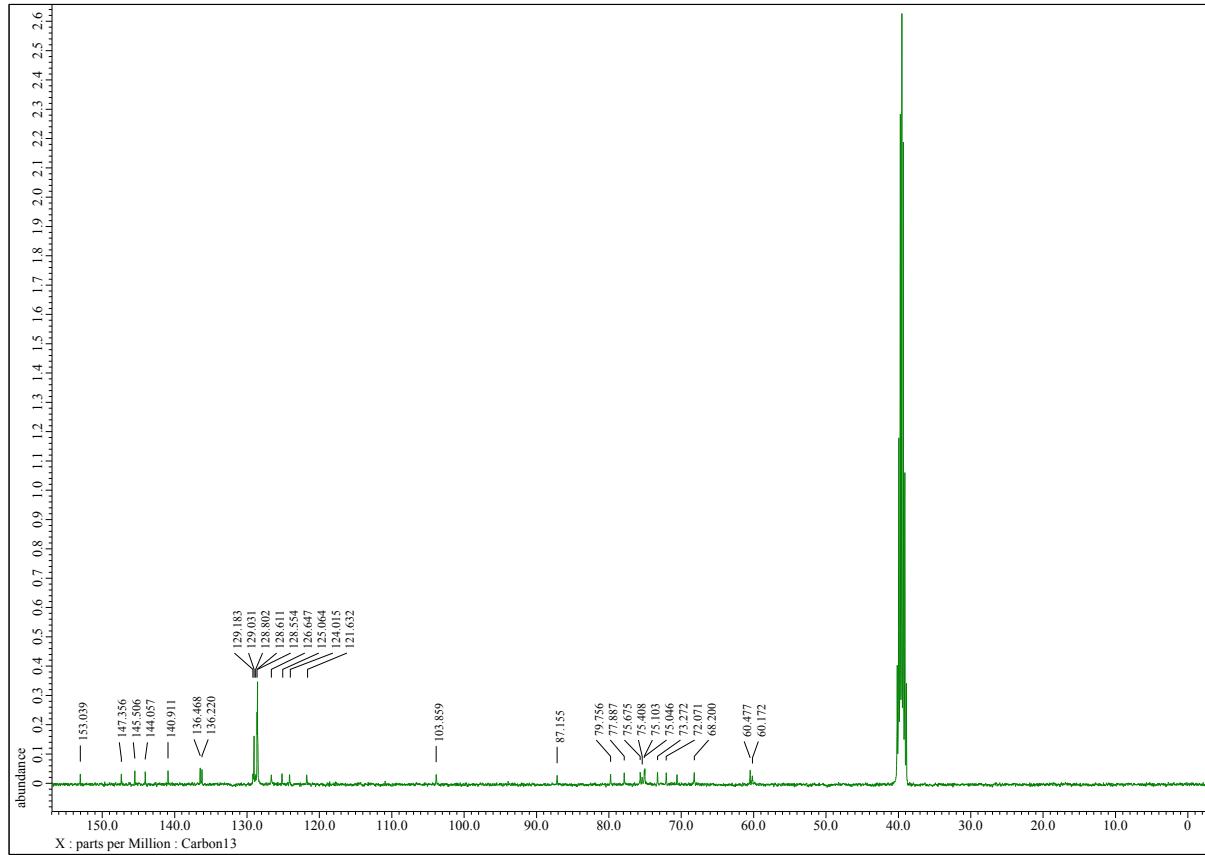
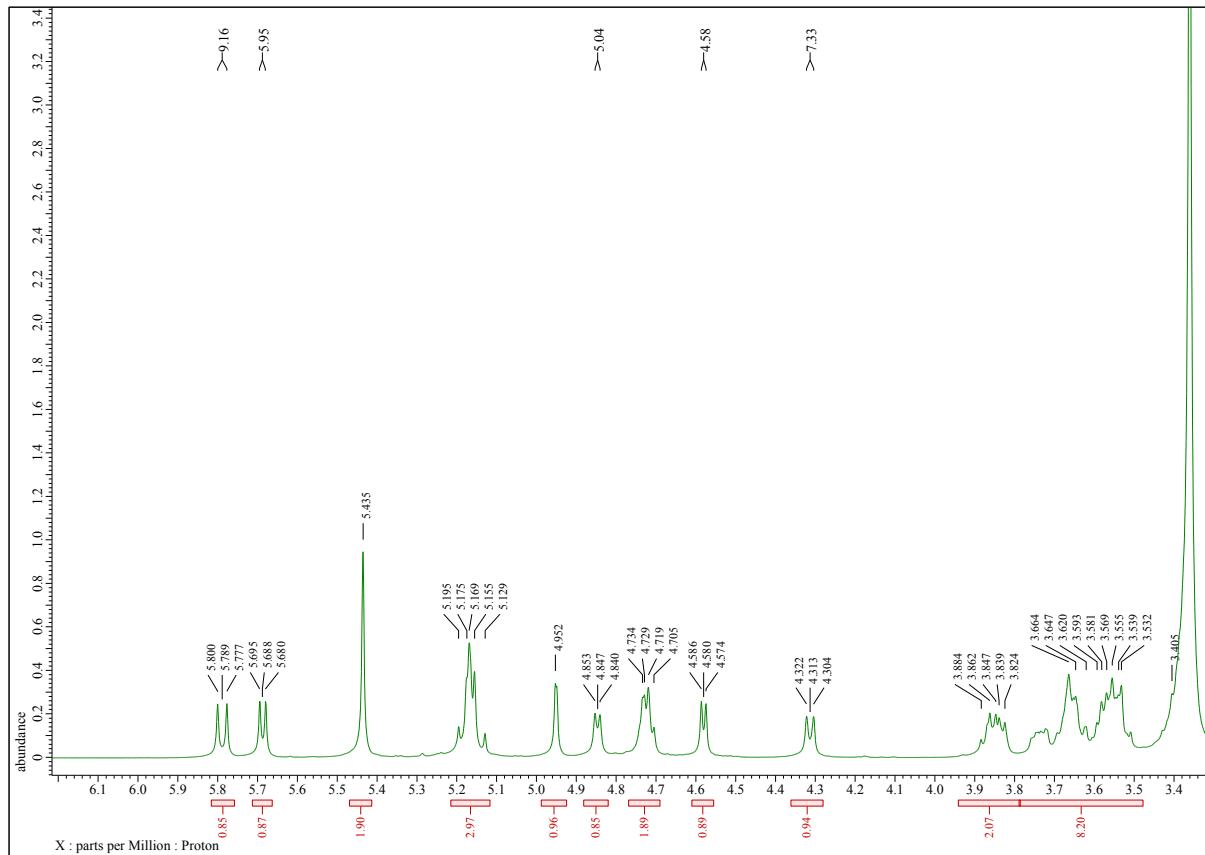
2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (15d).



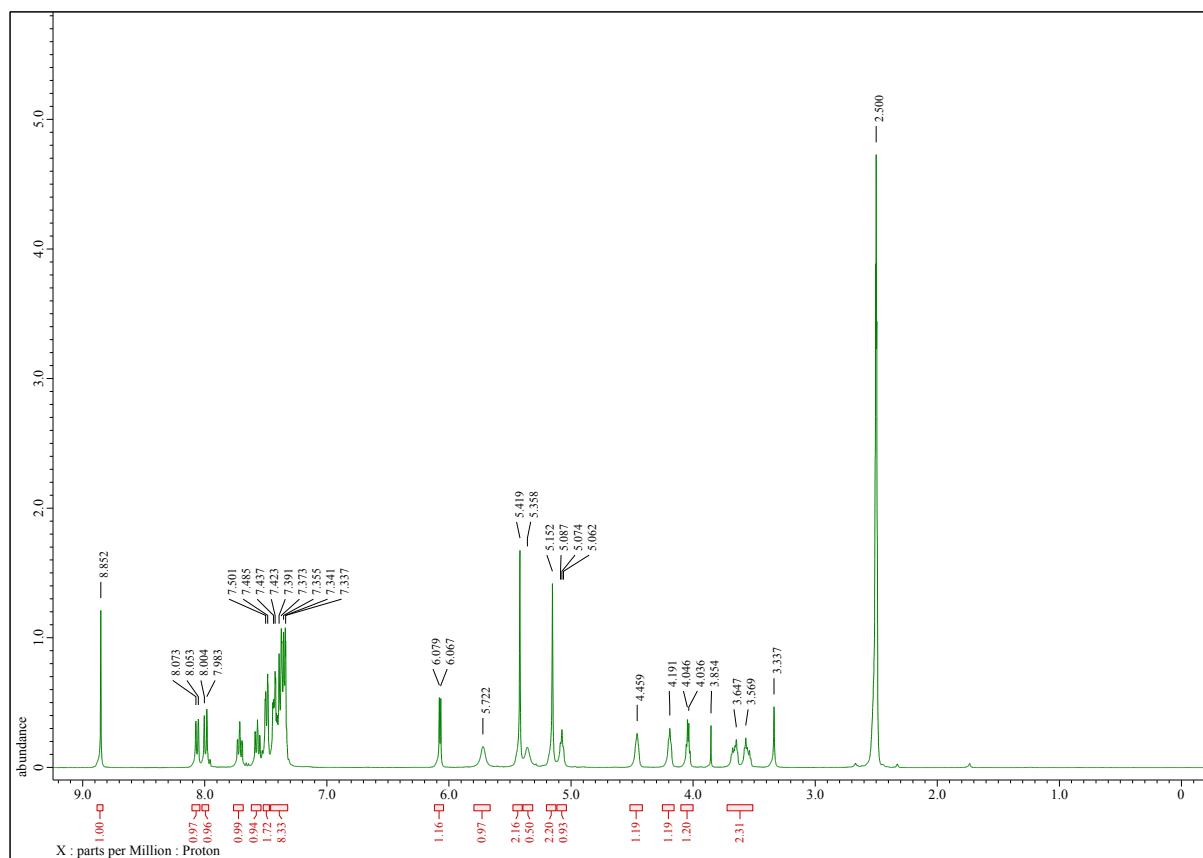
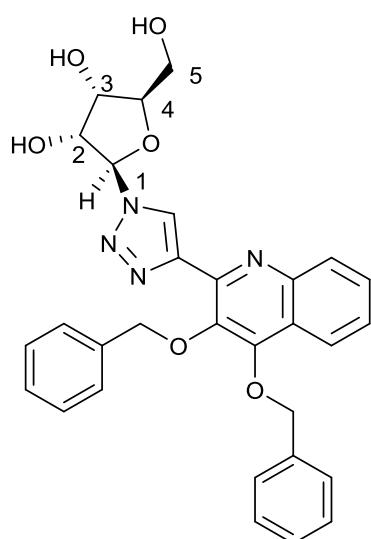


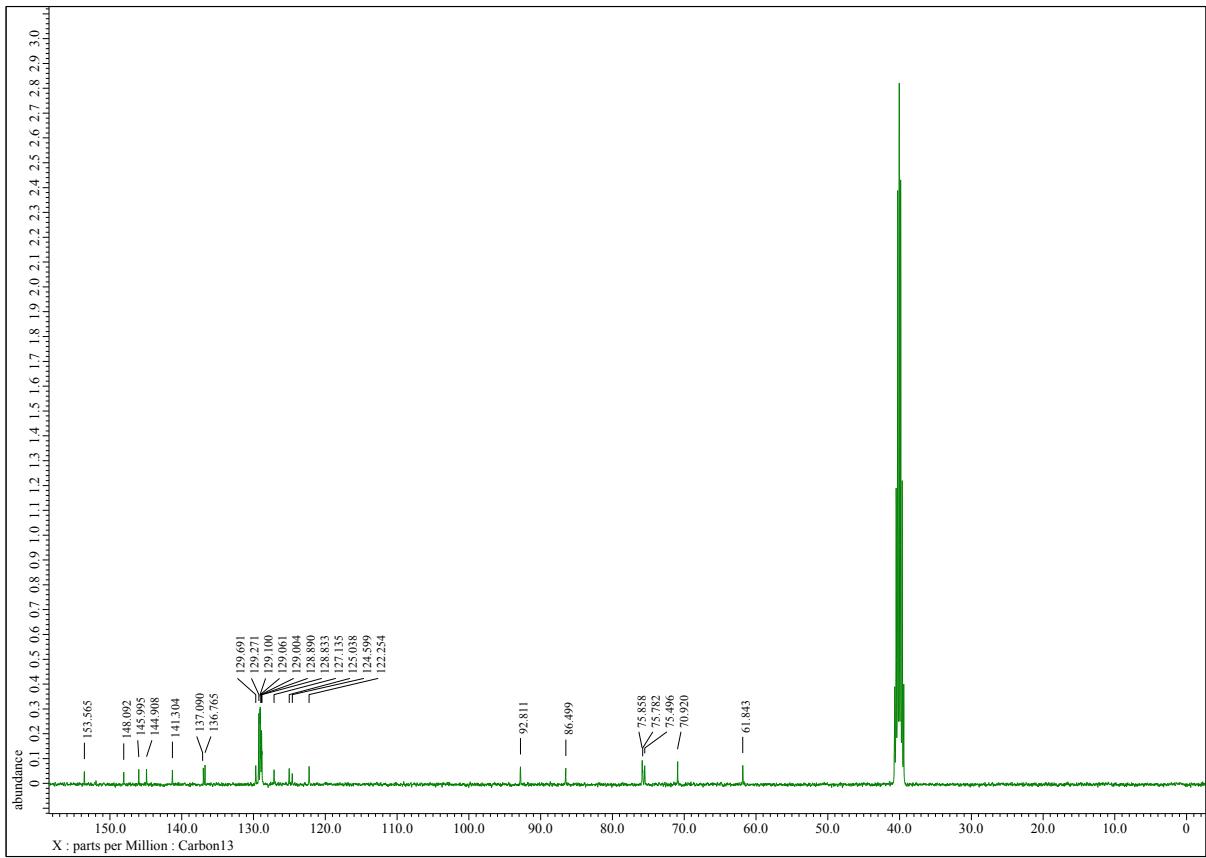
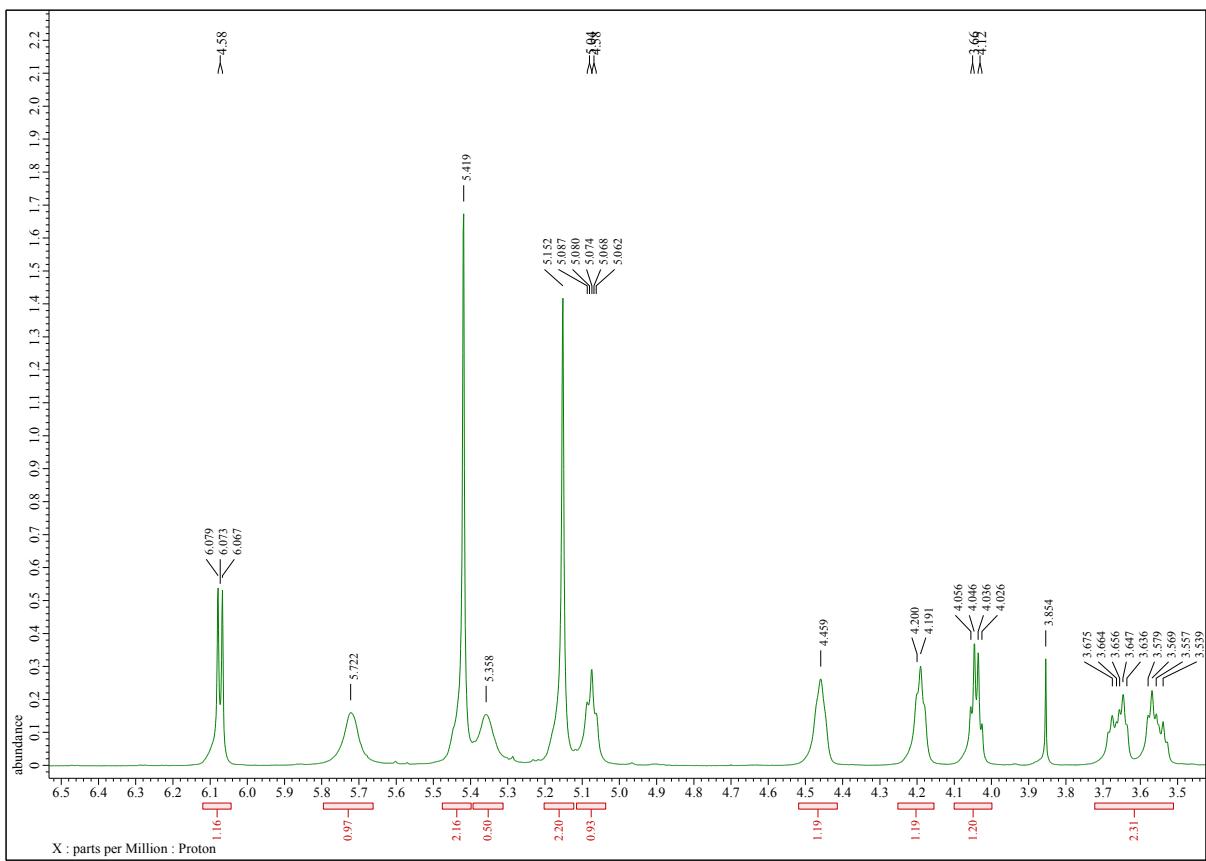
2-[1-(4-O-(β -D-Galaktopyranosyl)- β -D-glukopyranosyl]-1,2,3-triazol-4-yl]-3,4-dibenzylxy-chinolin (15e).



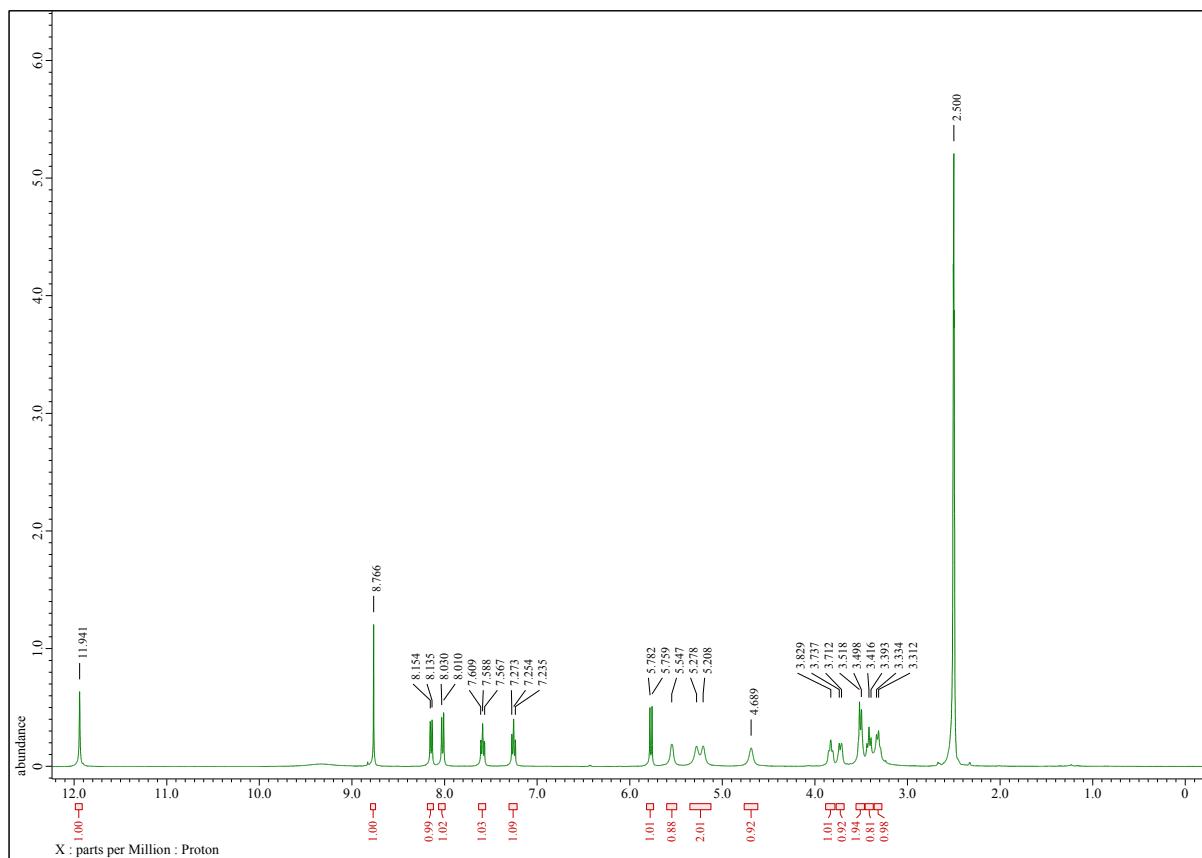
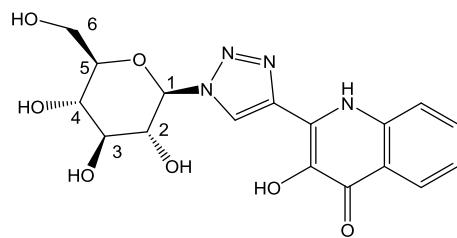


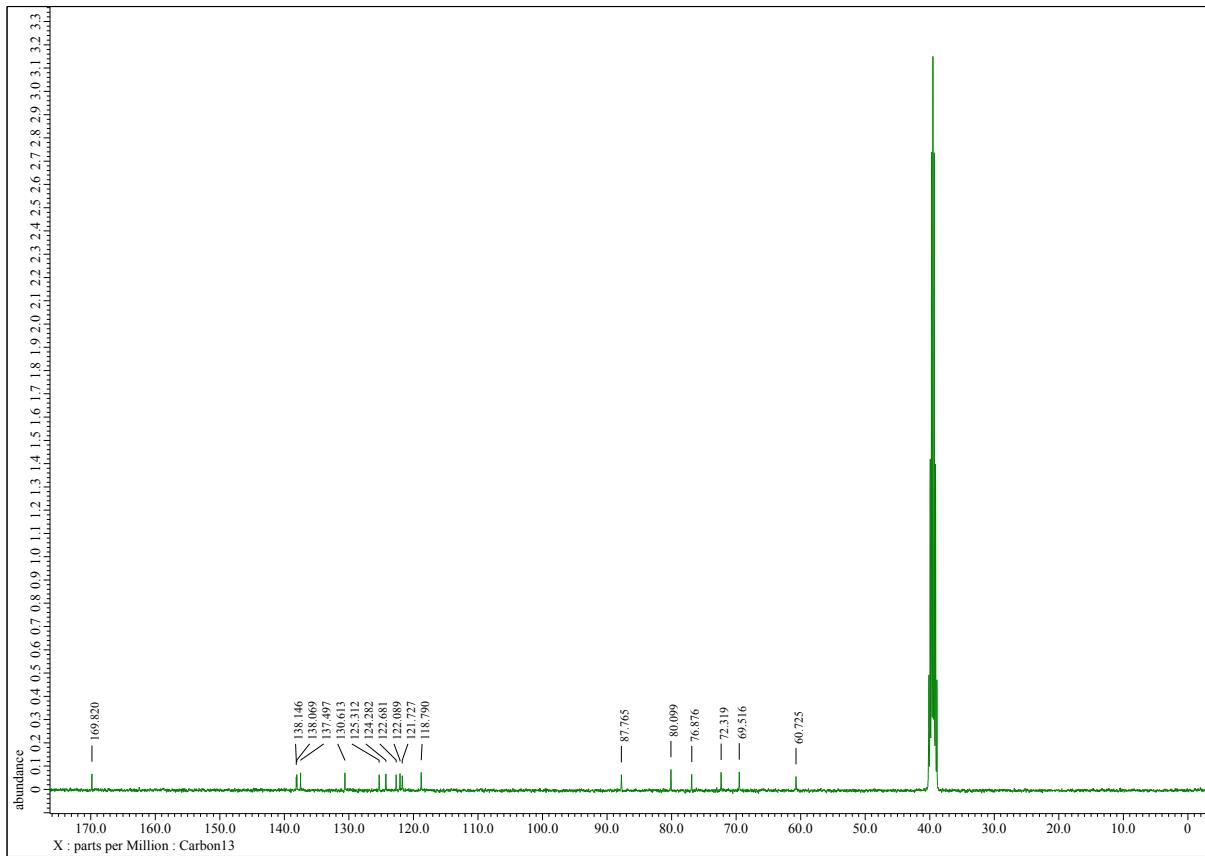
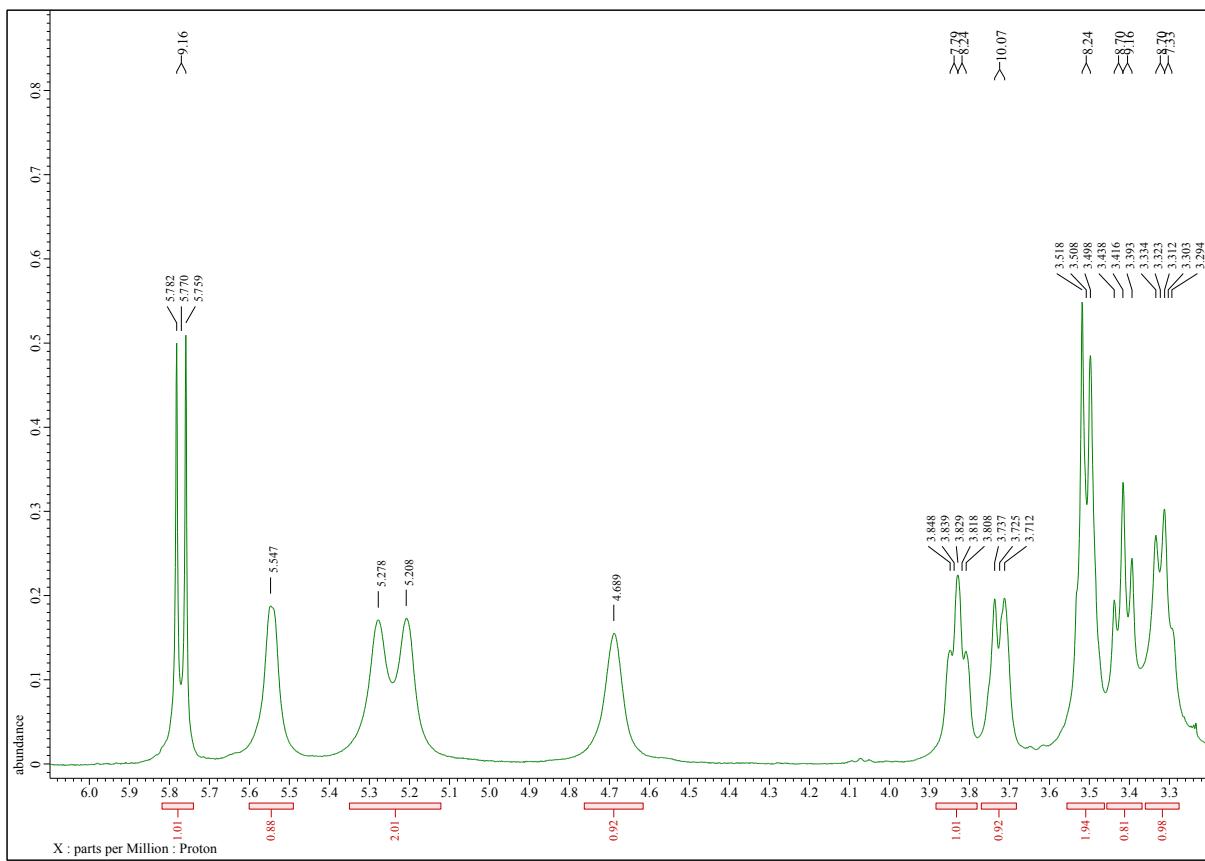
2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3,4-dibenzylxy-chinolin (15f).



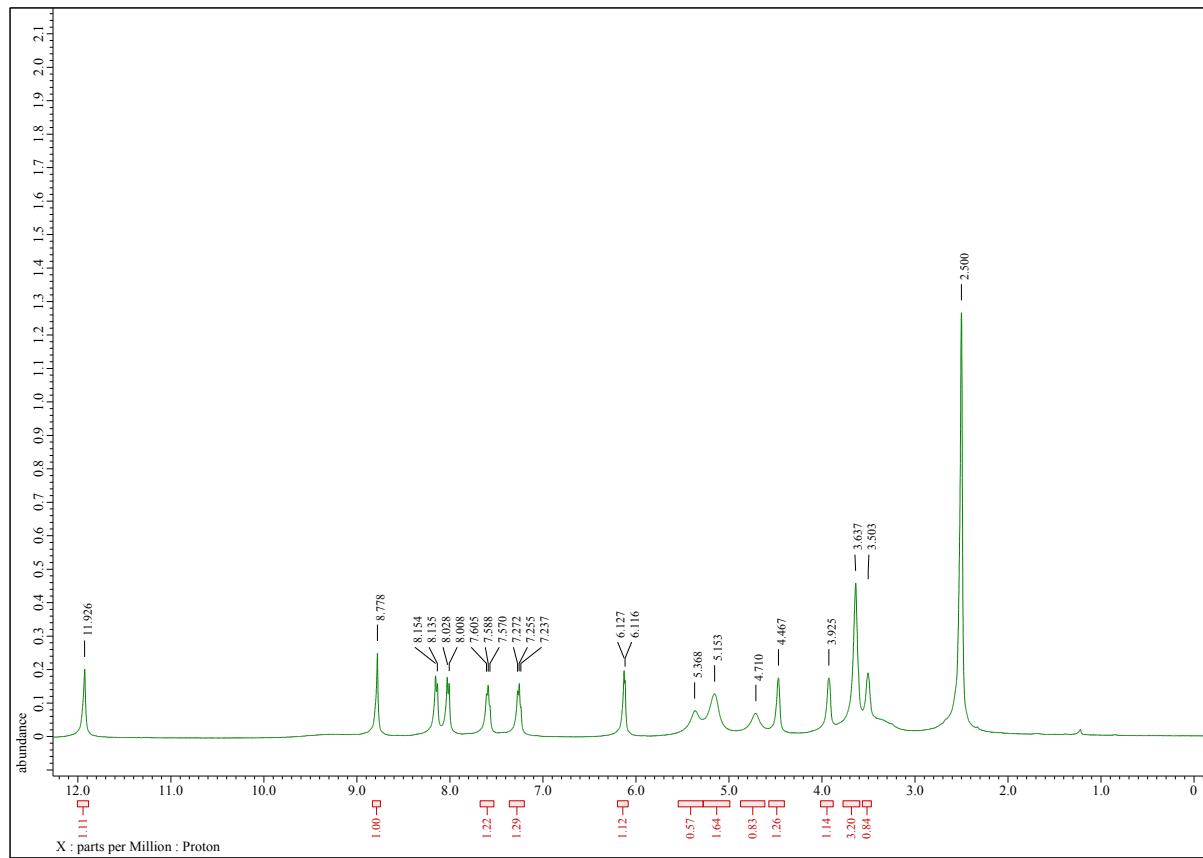
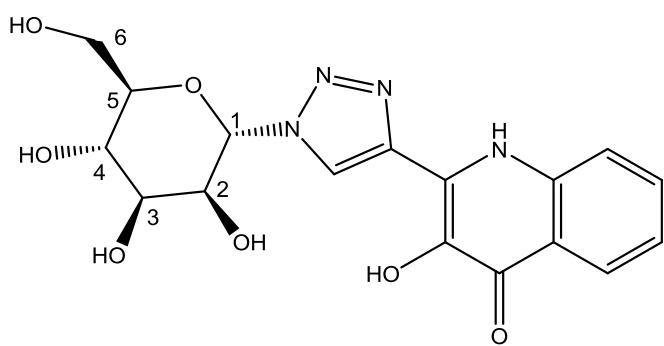


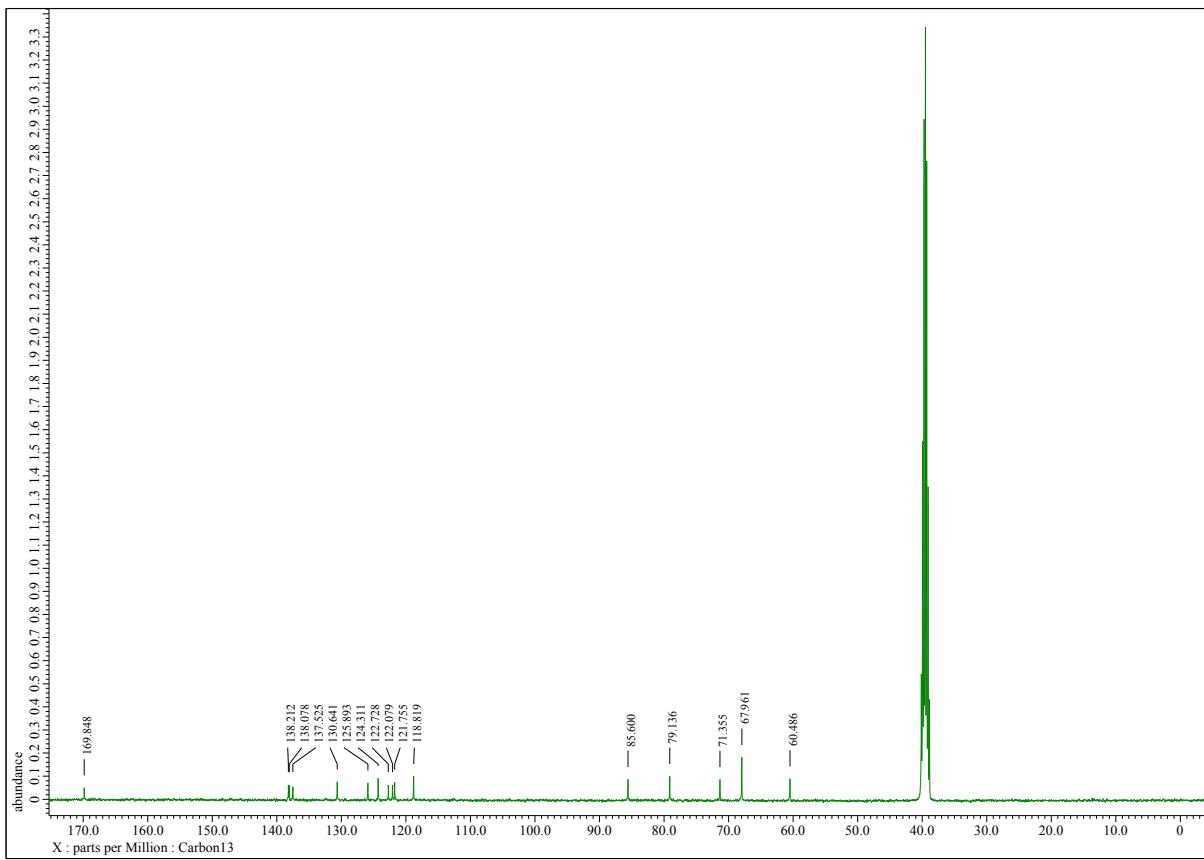
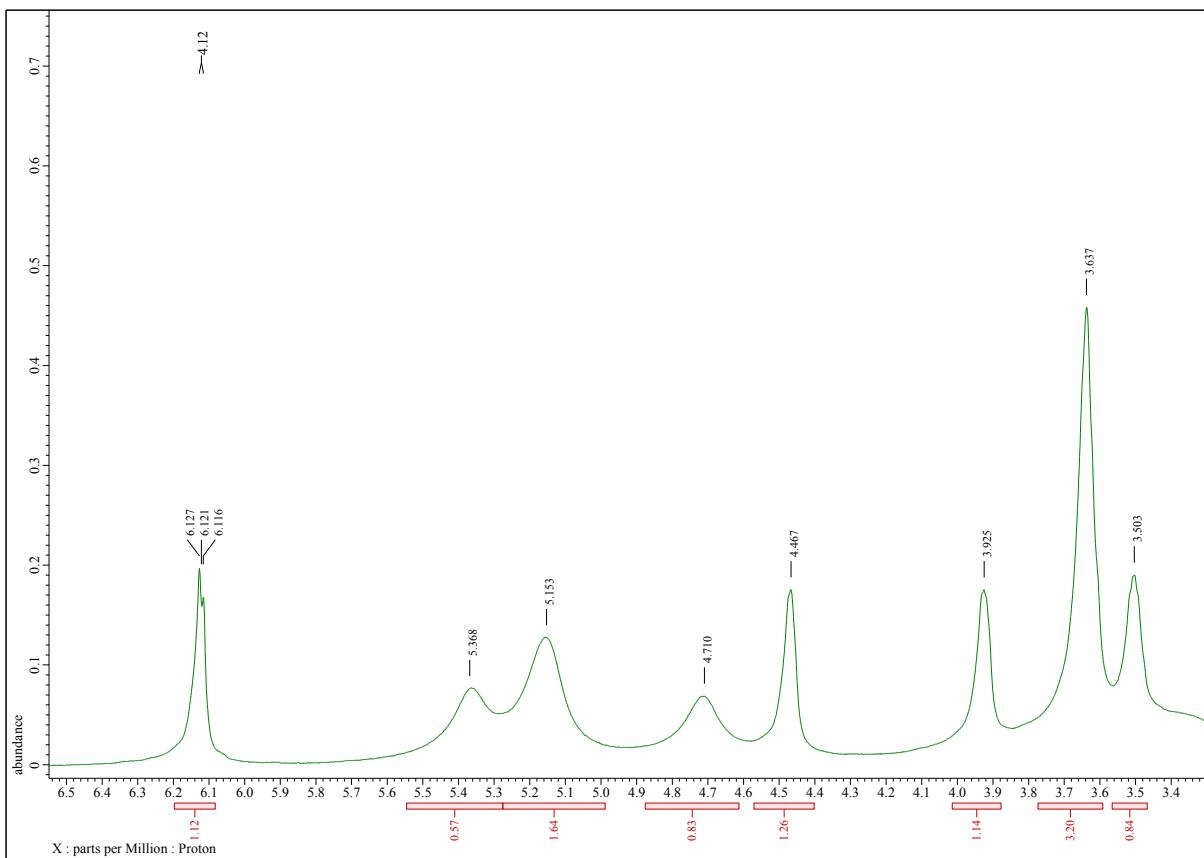
2-(1-(β -D-Glukopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16a).



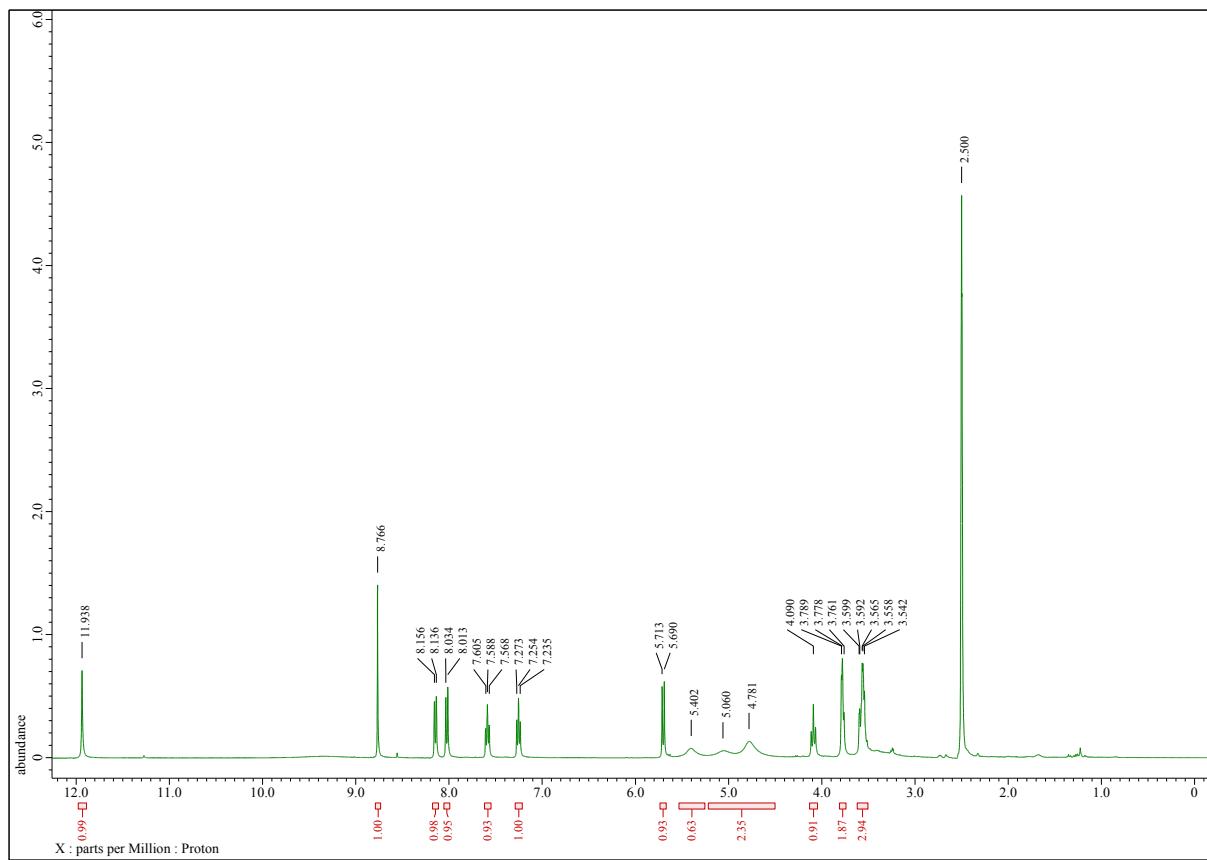
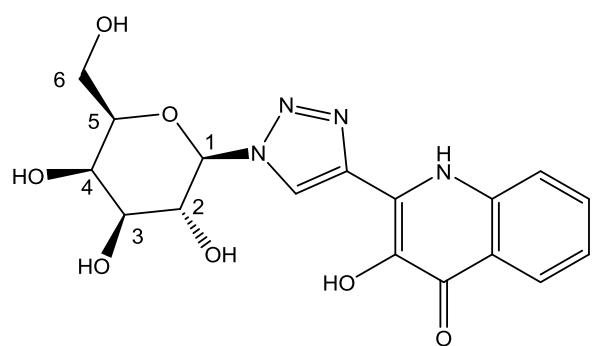


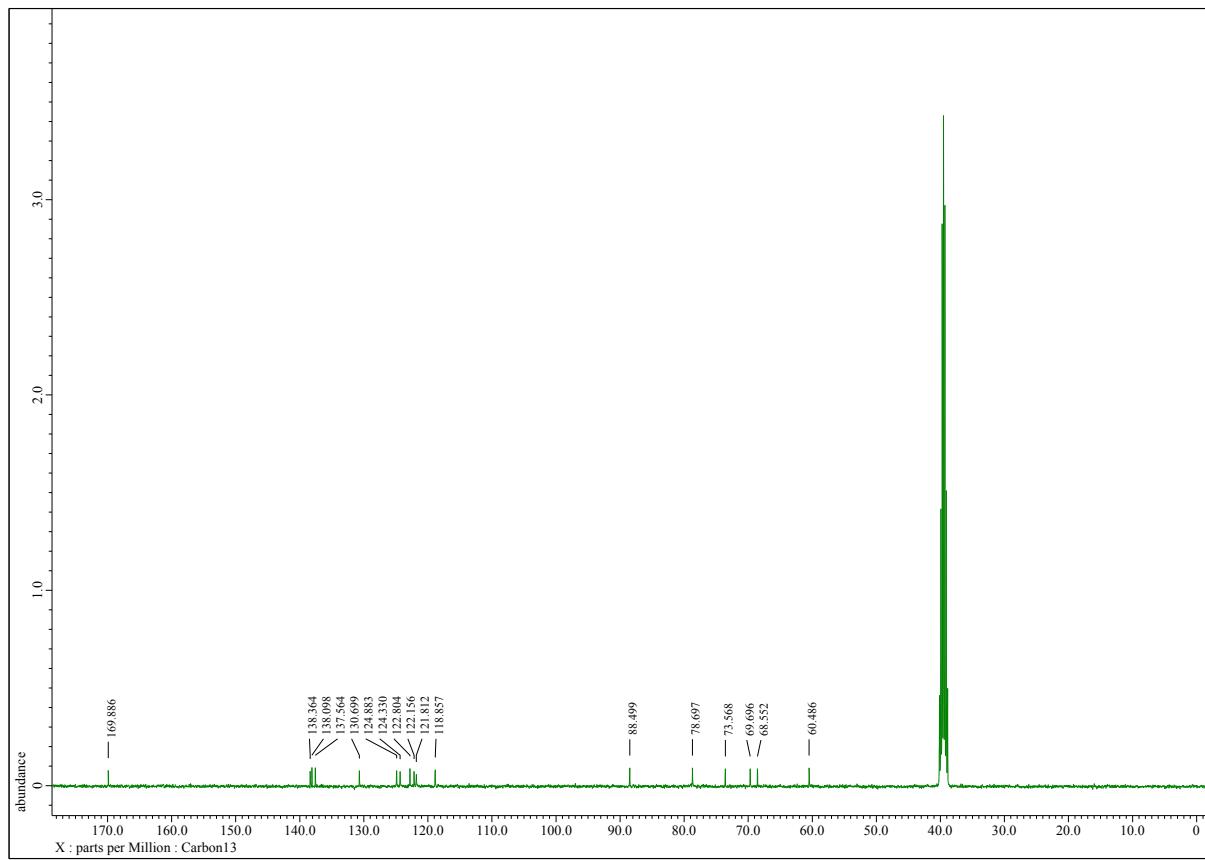
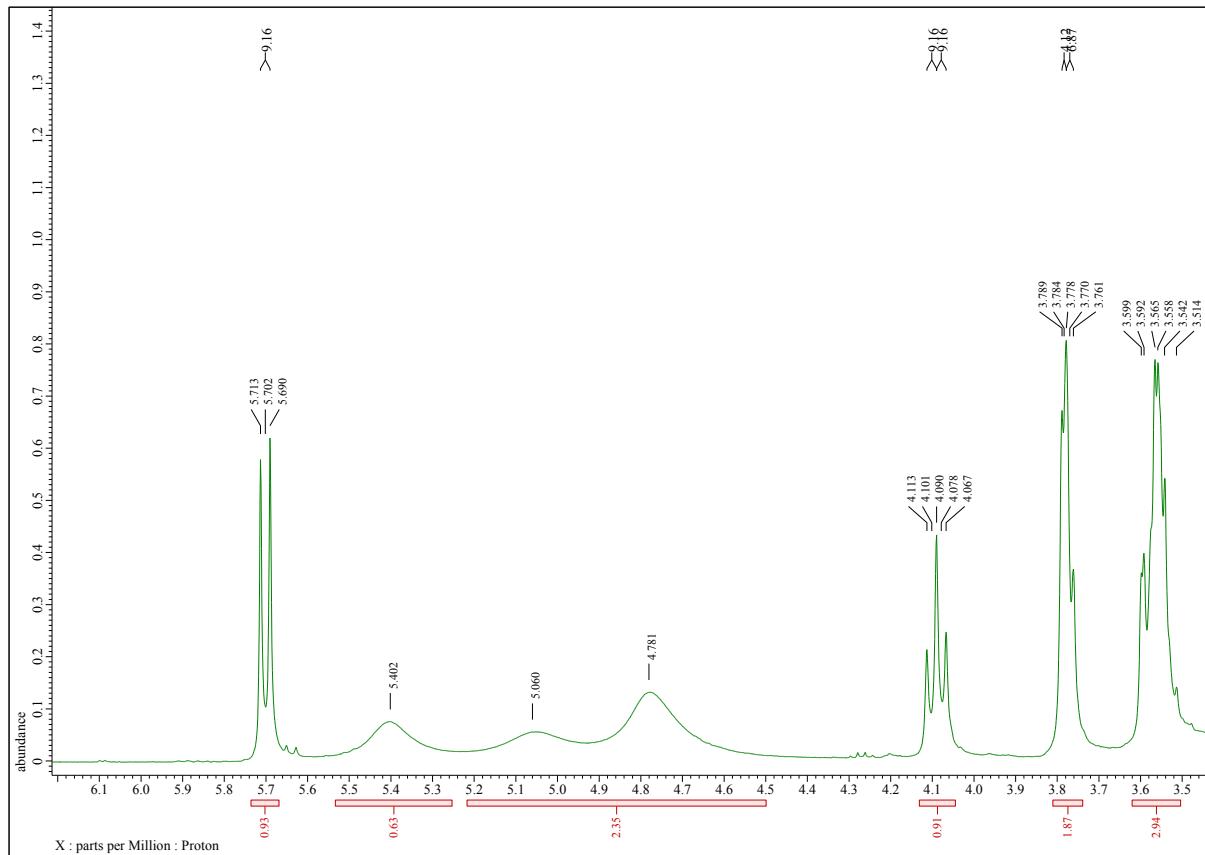
2-(1-(α -D-Mannopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16b).



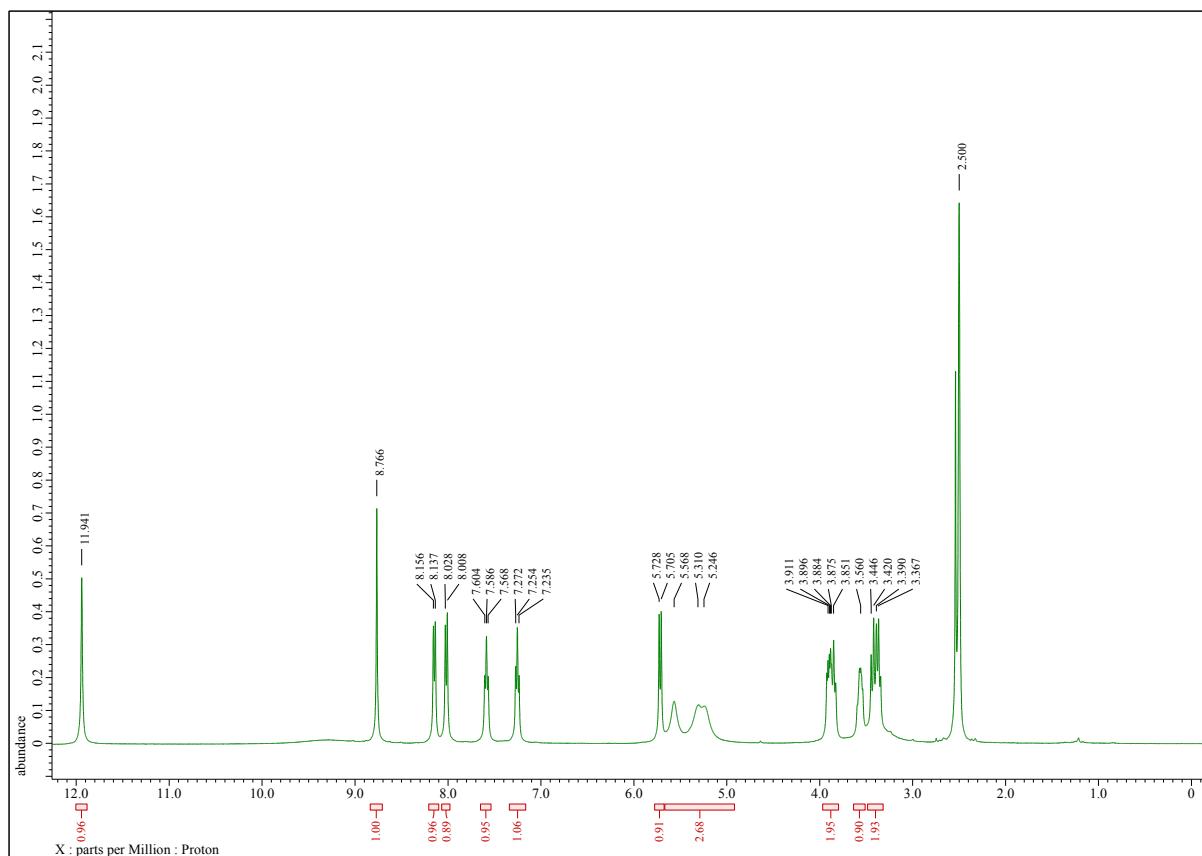
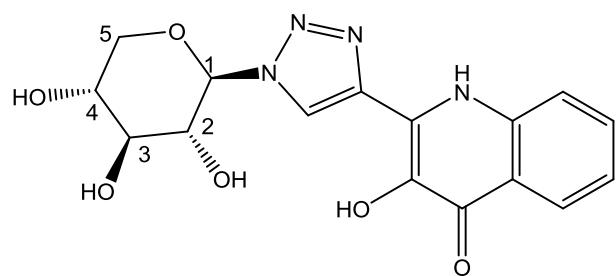


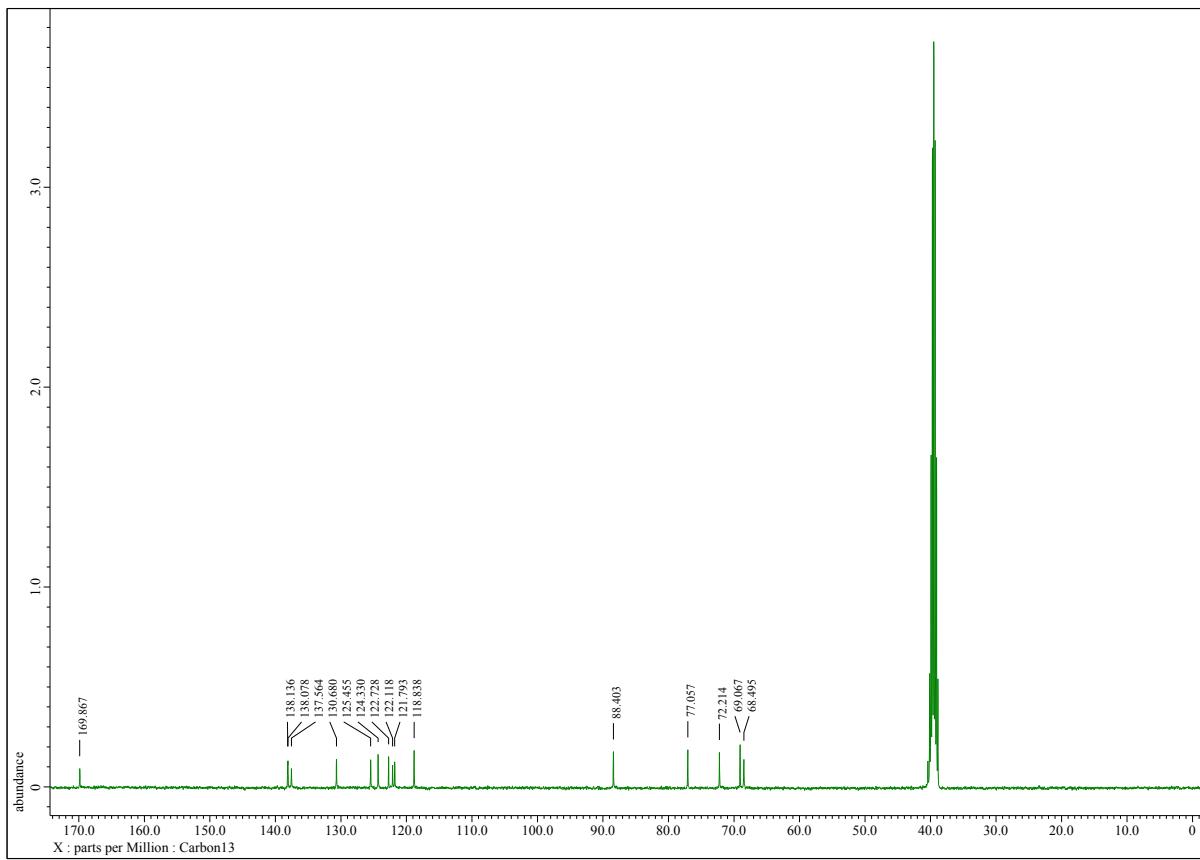
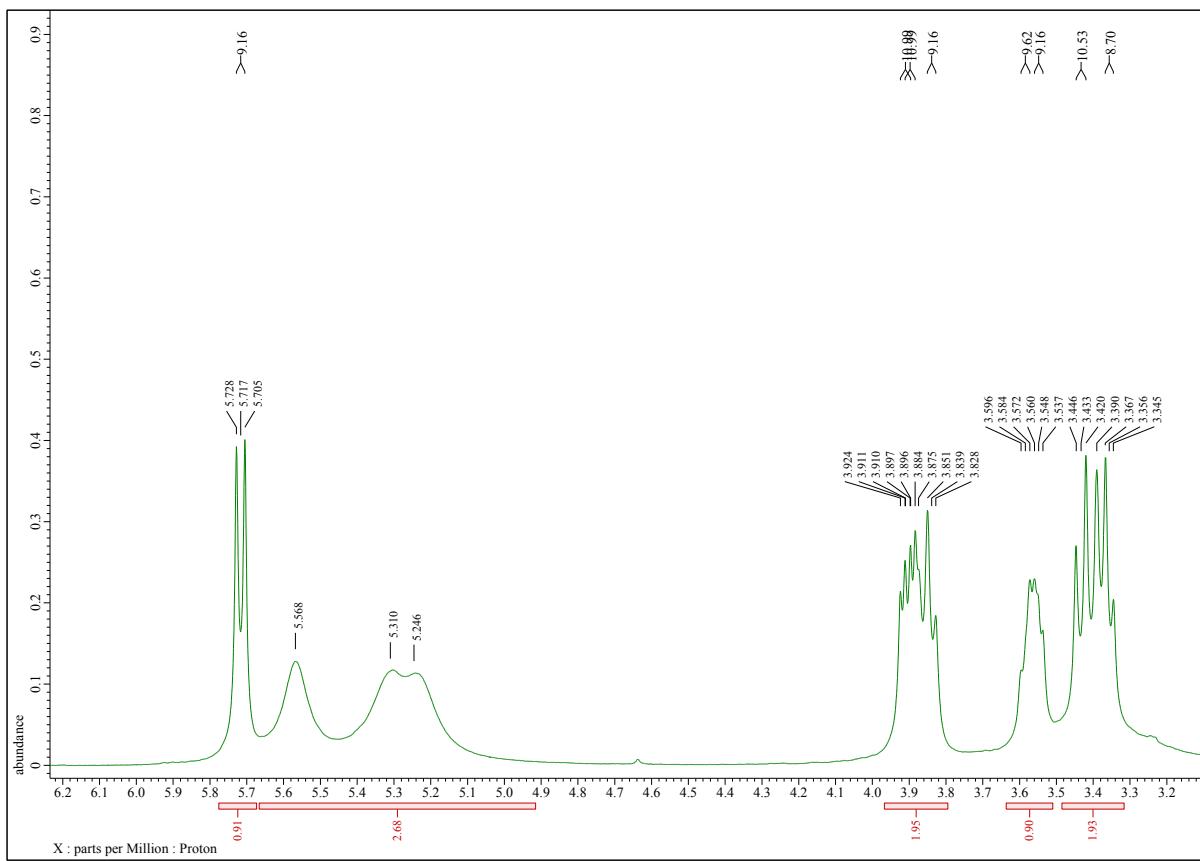
2-(1-(β -D-Galaktopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16c).



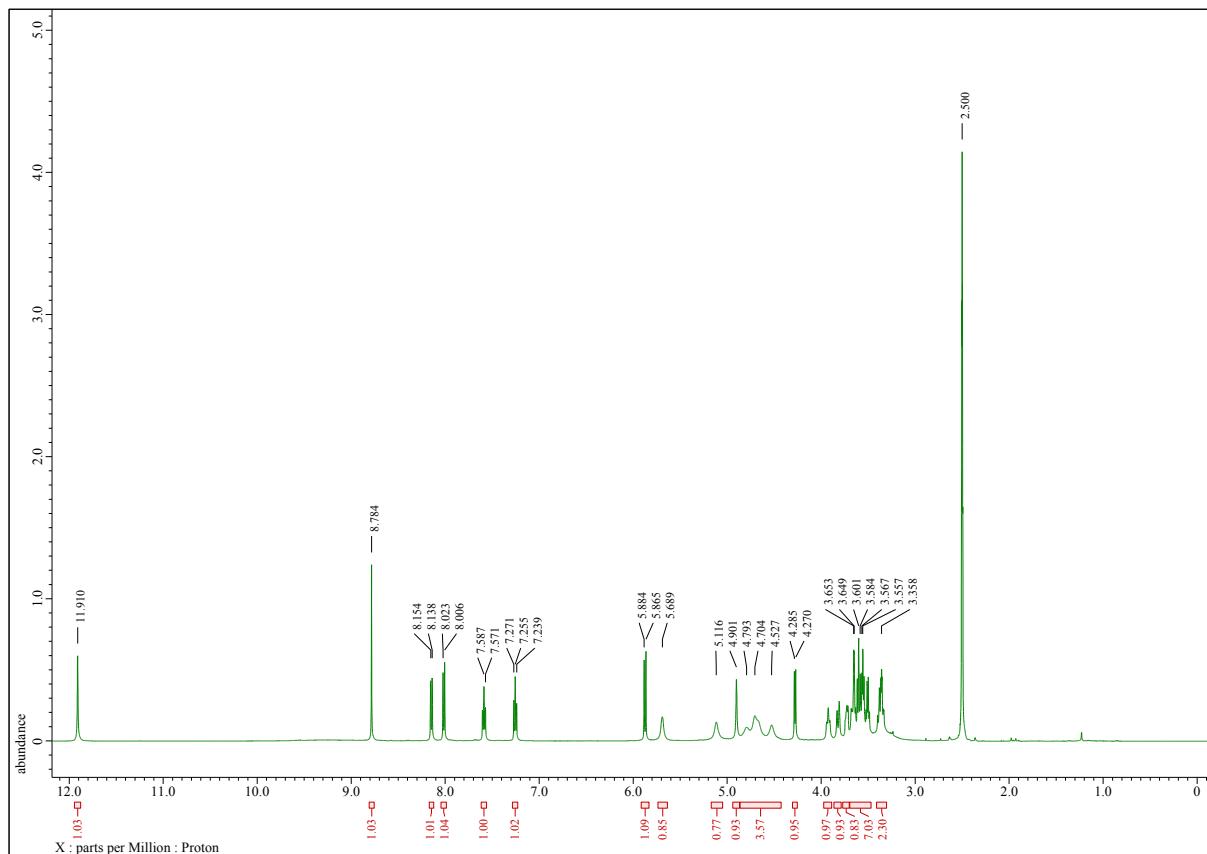
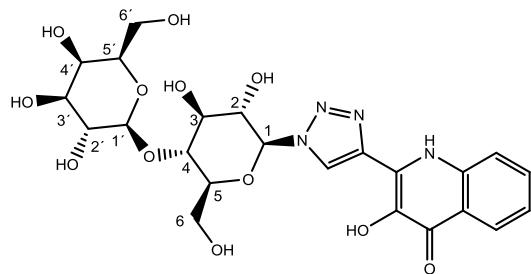


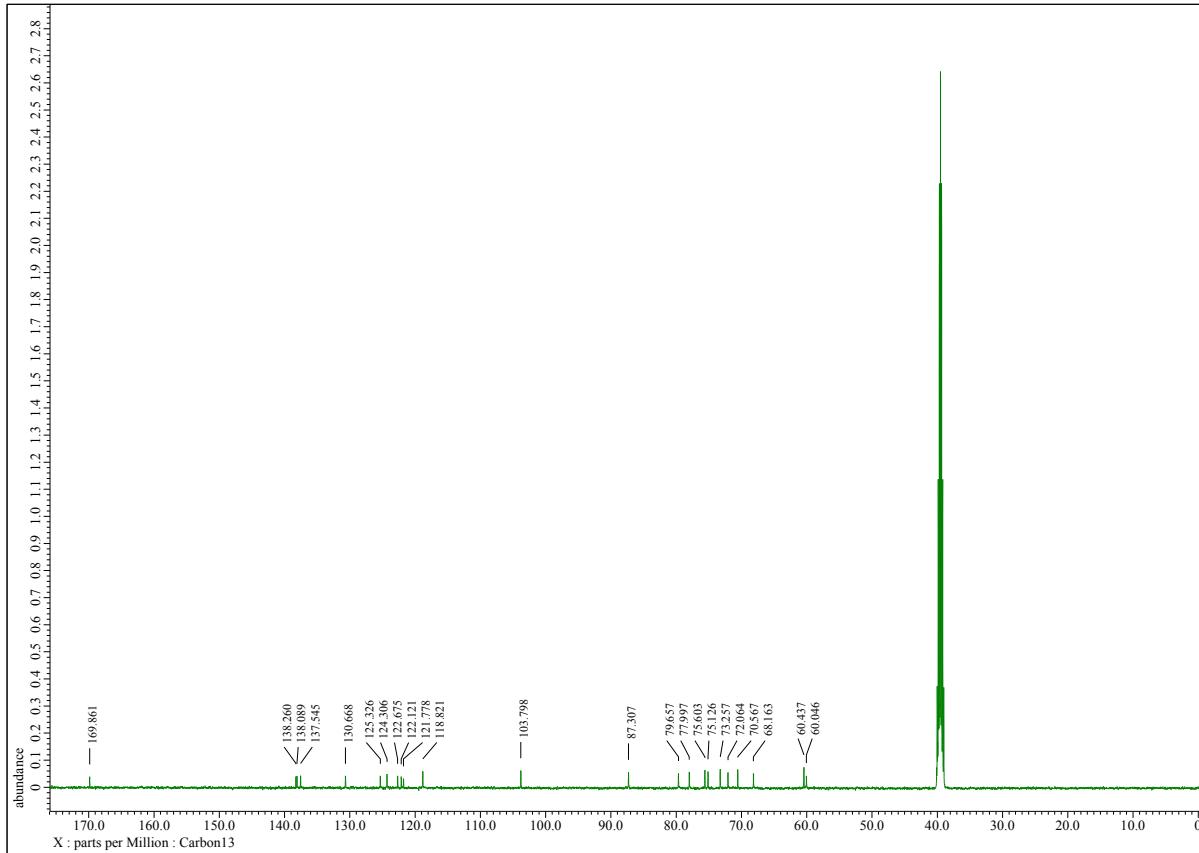
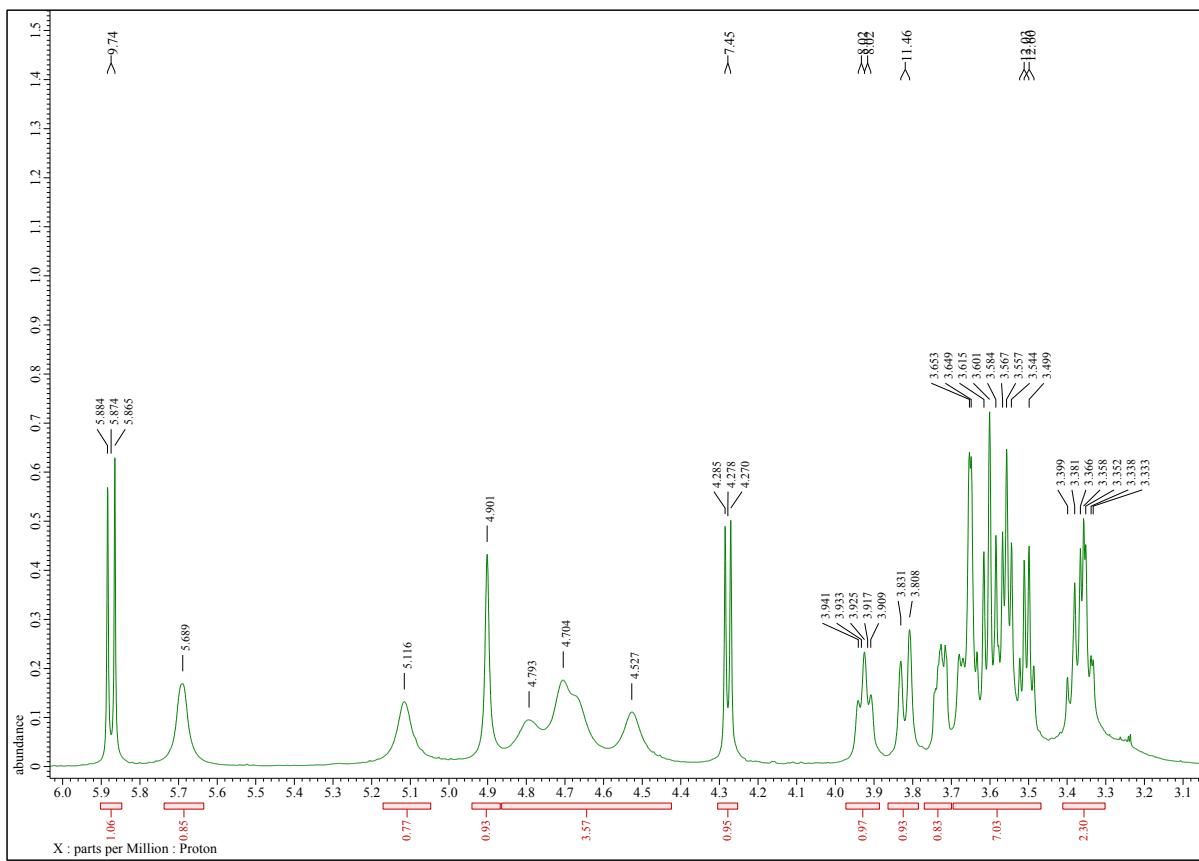
2-(1-(β -D-Xylopyranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16d).



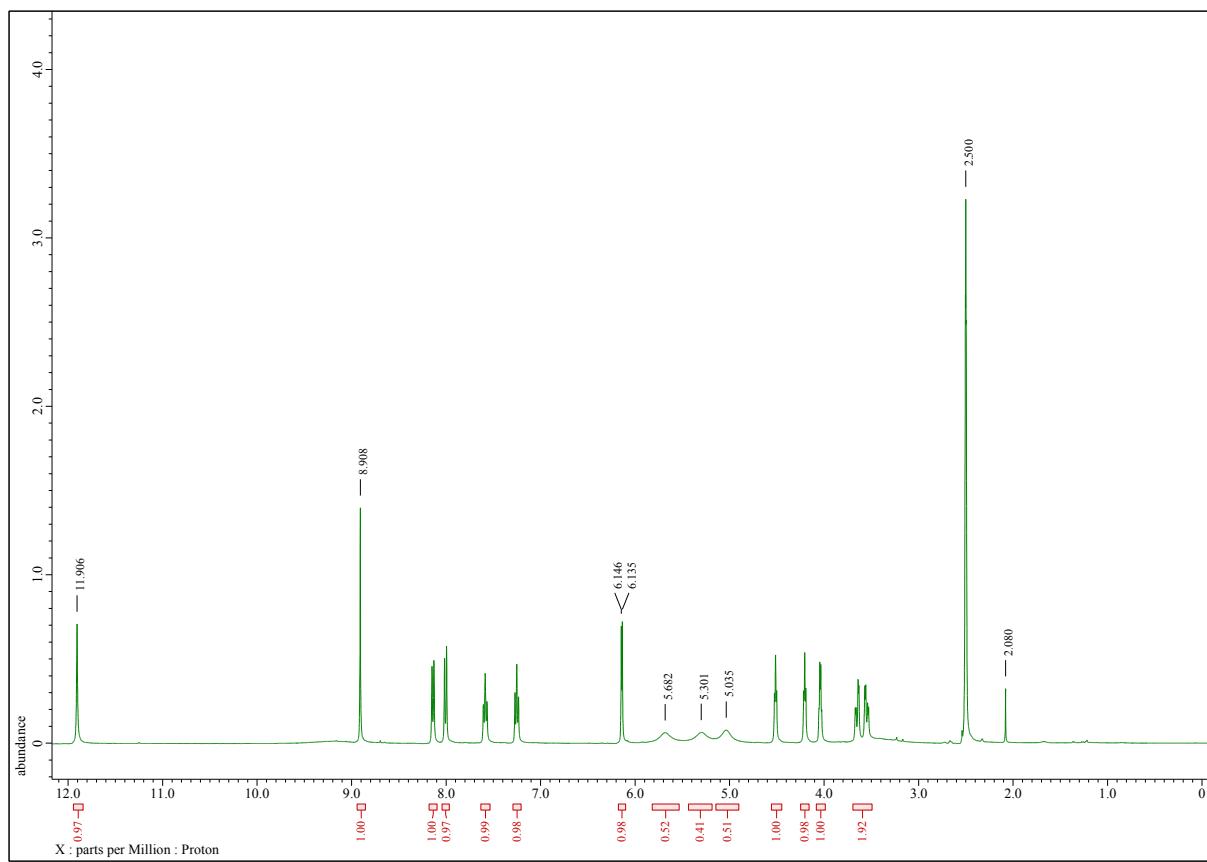
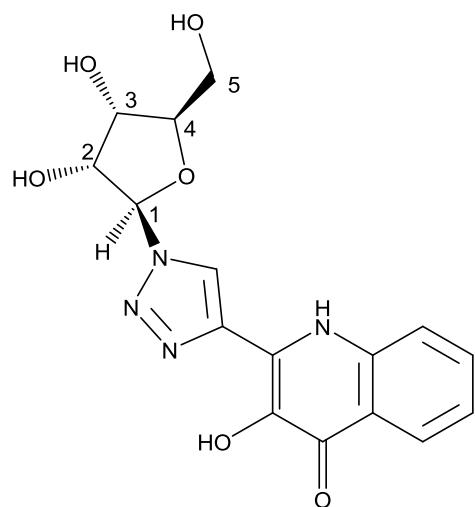


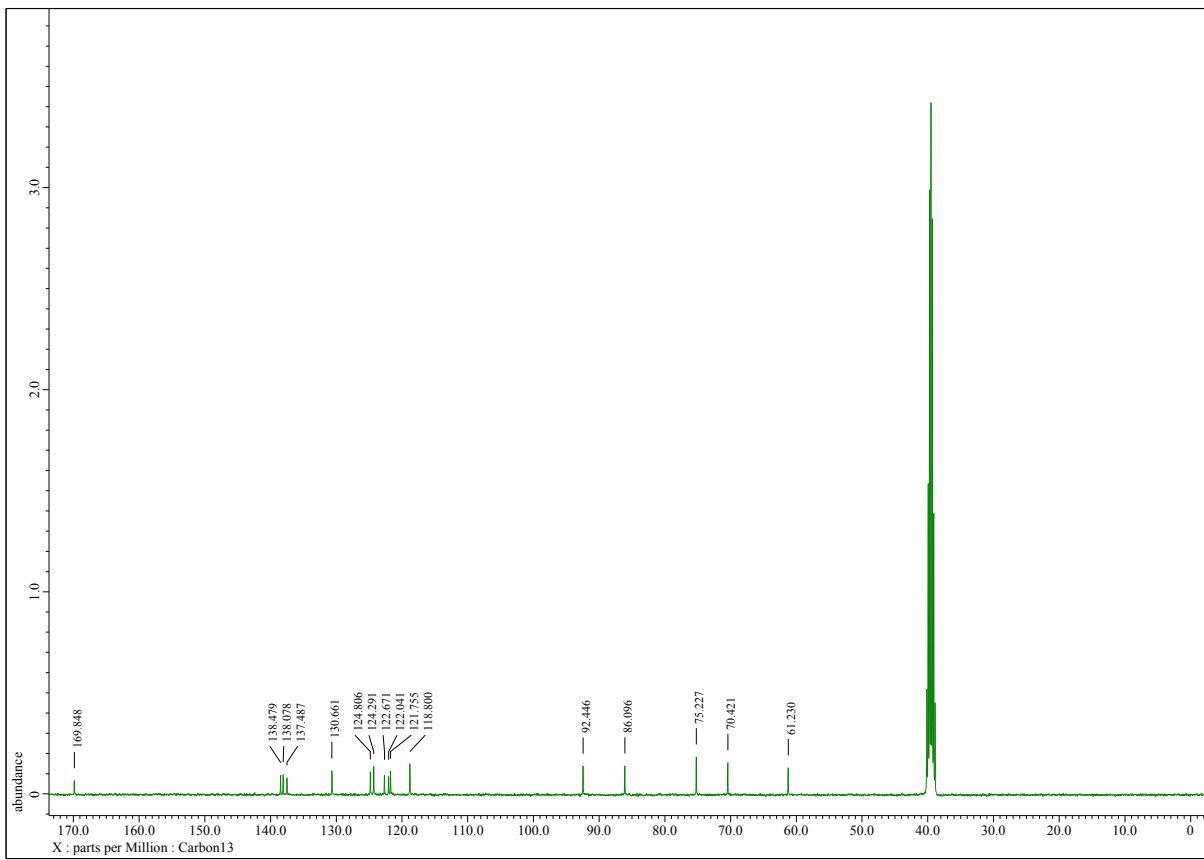
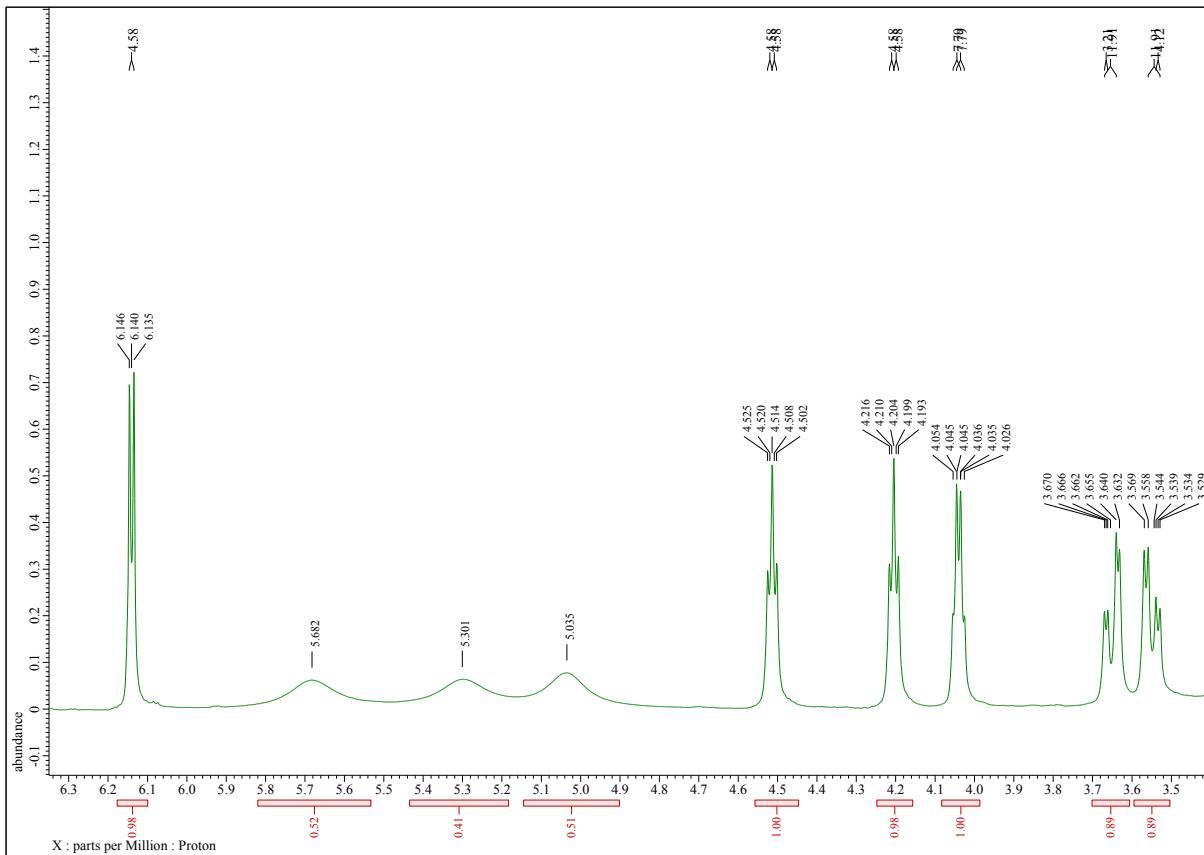
2-[1-(4-O-(β -D-Galaktopyranosyl)- β -D-glukopyranosyl]-1,2,3-triazol-4-yl]-3-hydroxychinolin-4-on (16e).



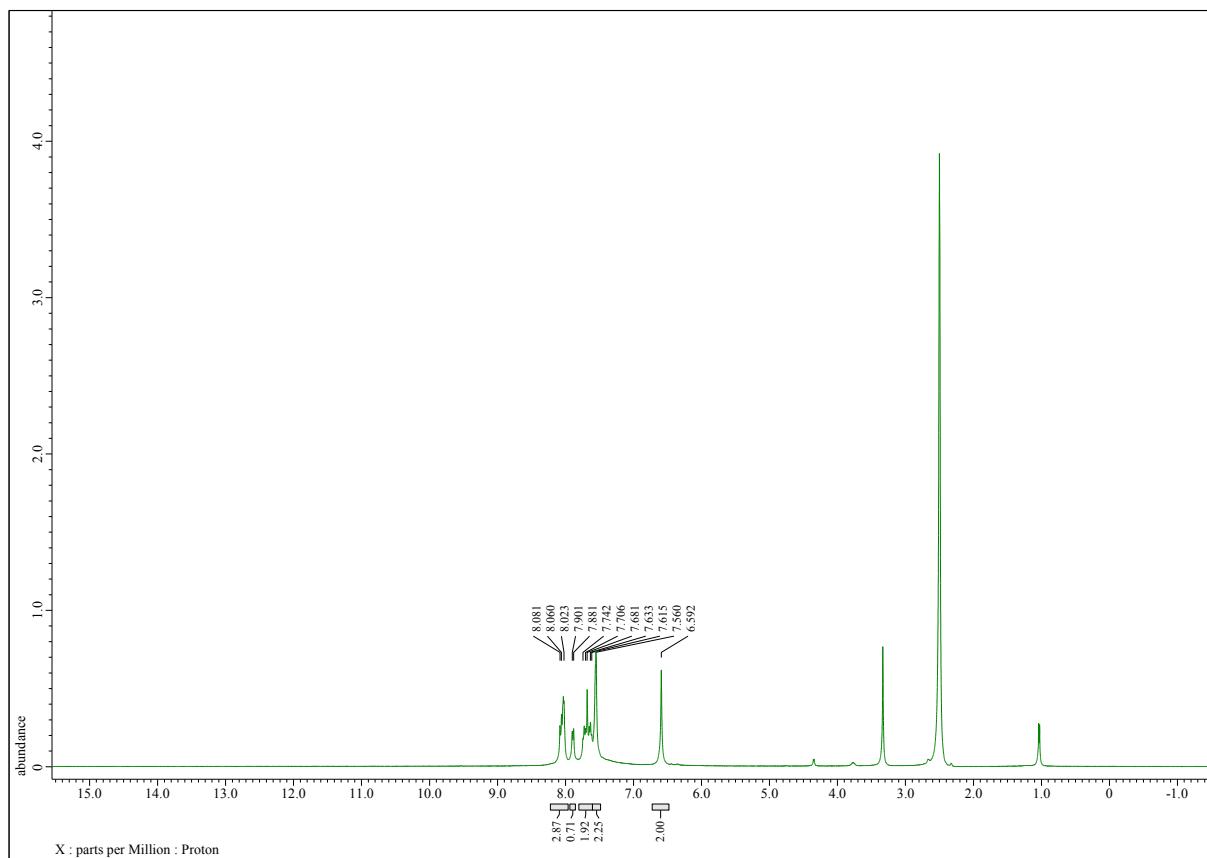
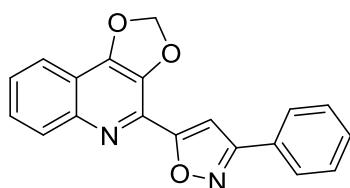


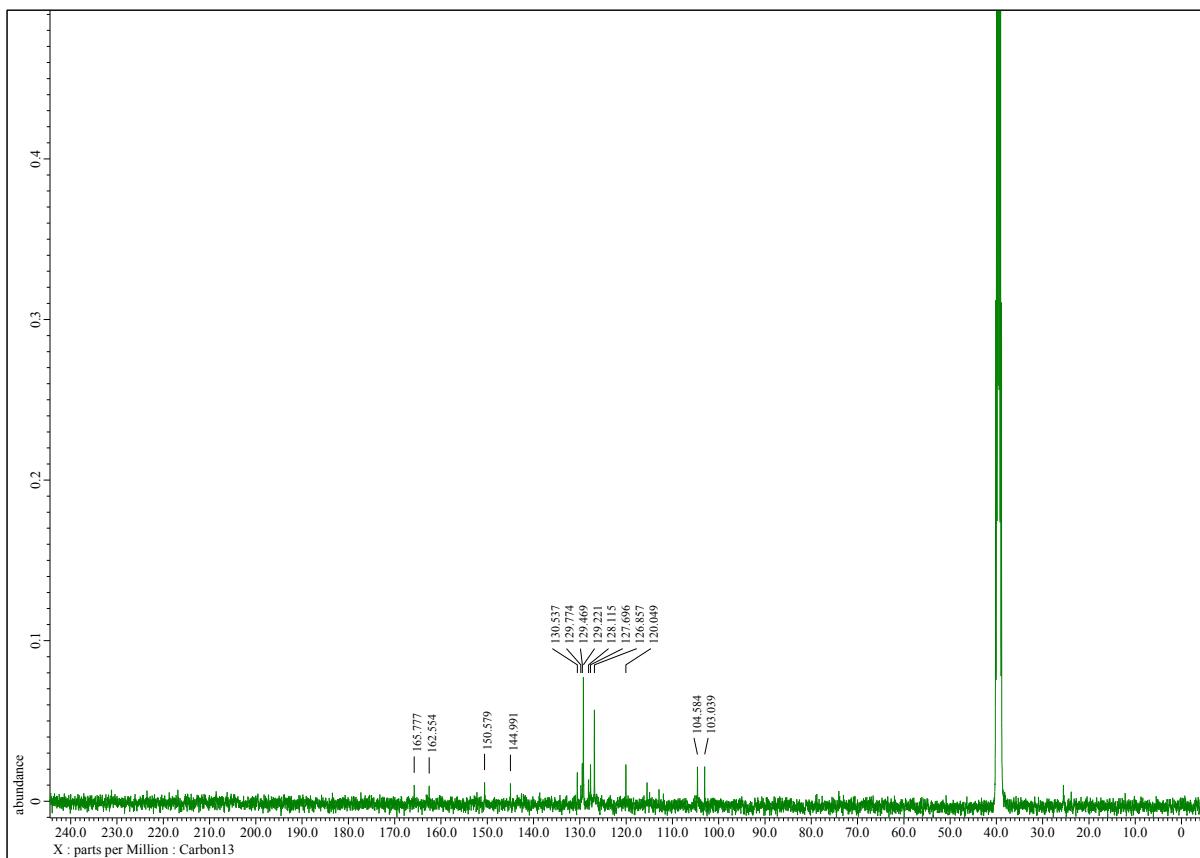
2-(1-(β -D-Ribofuranosyl)-1,2,3-triazol-4-yl)-3-hydroxychinolin-4-on (16f).



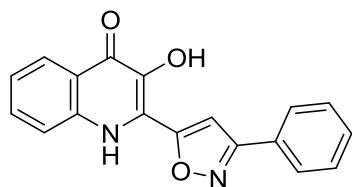


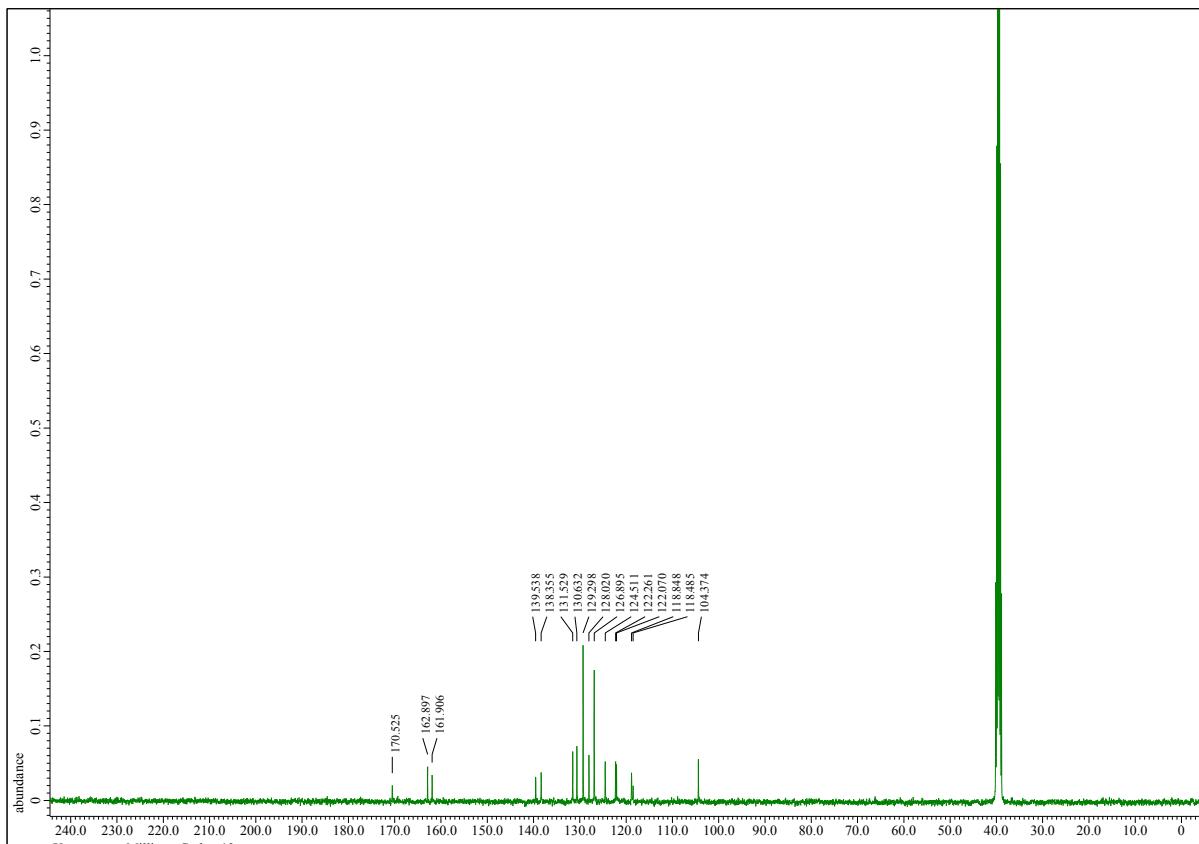
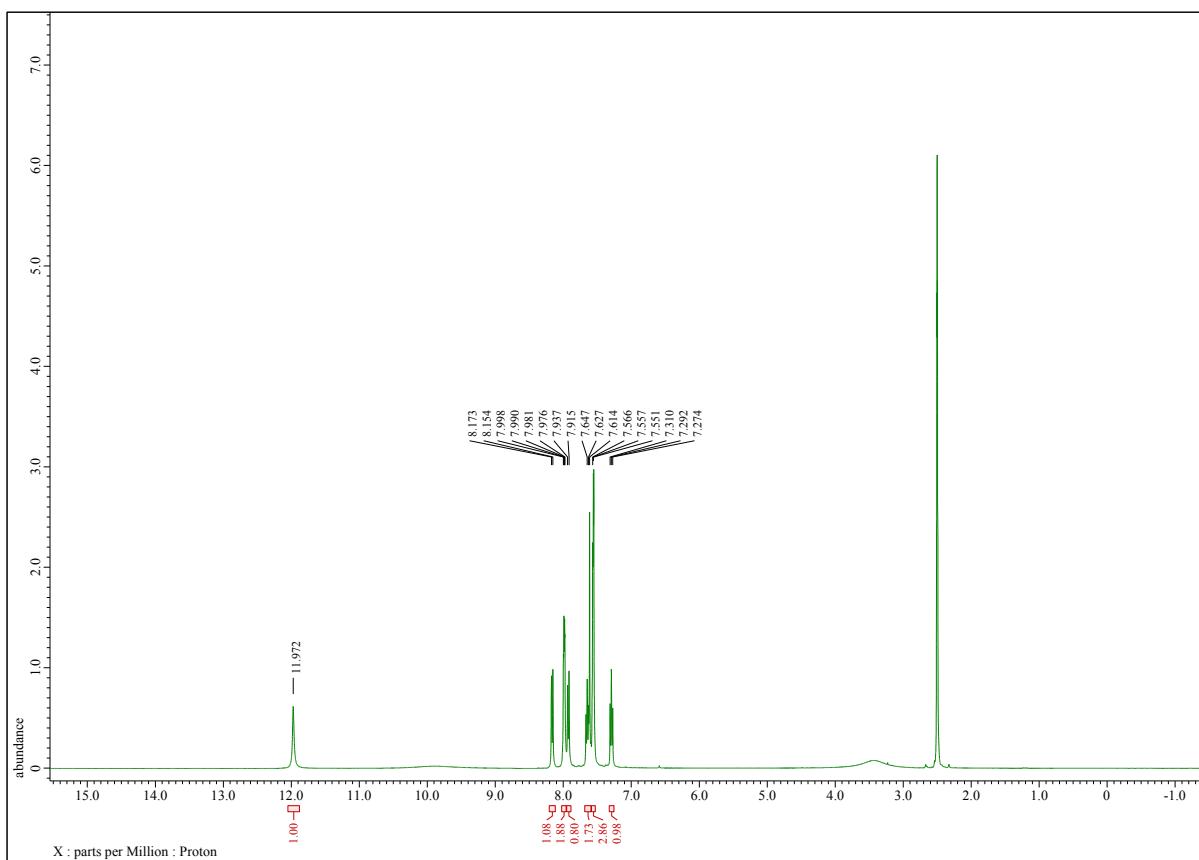
4-(3-Fenylisoxazol-5-yl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (19).



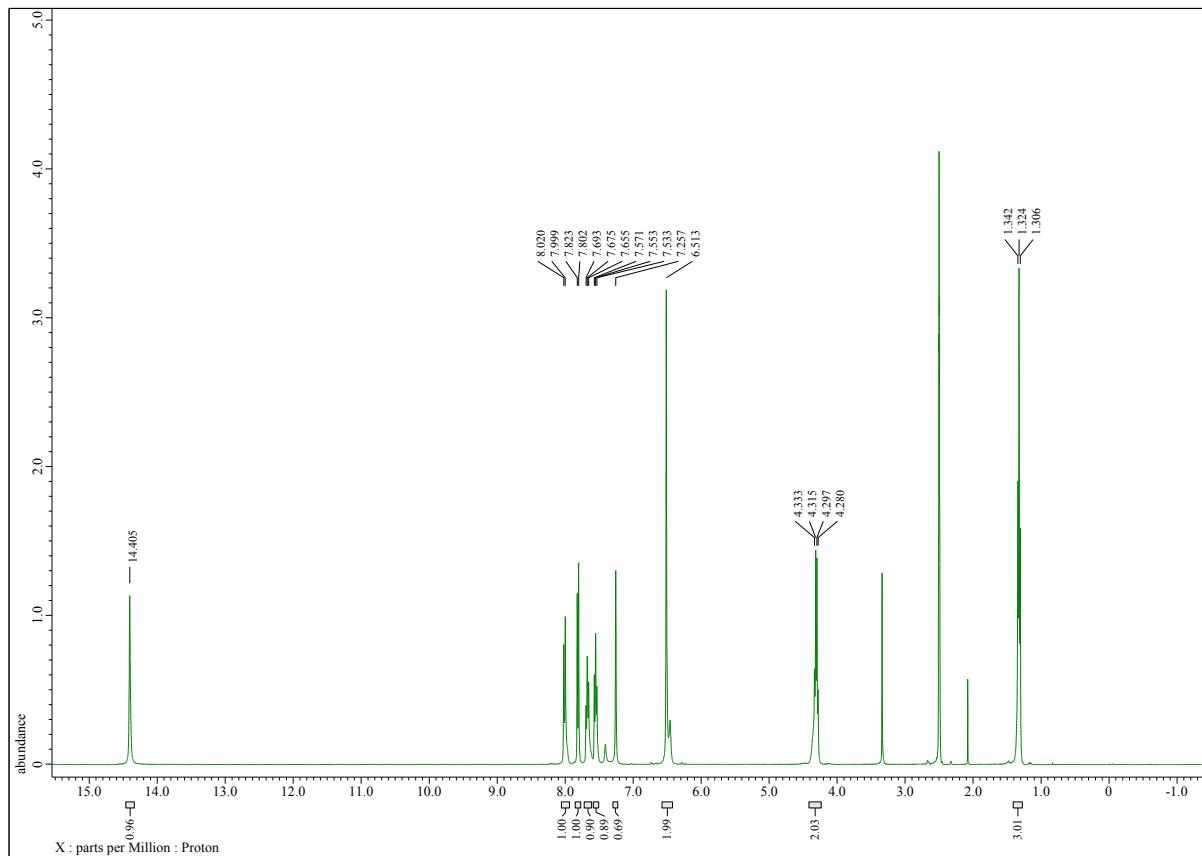
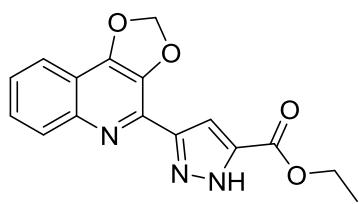


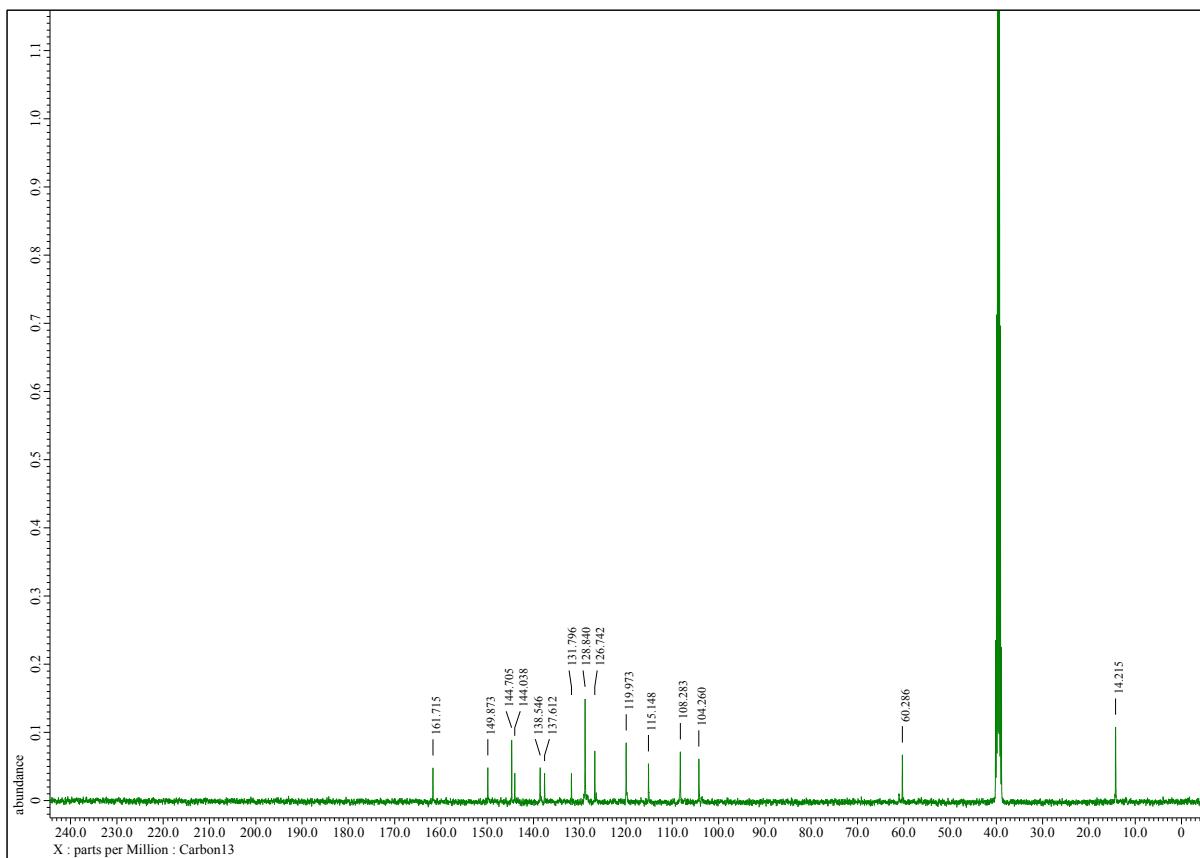
3-Hydroxy-2-(3-fenylisoxazol-5-yl)chinolin-4(1H)-on (20).



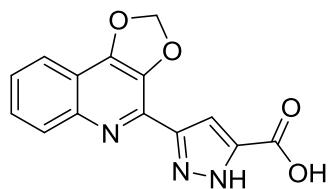


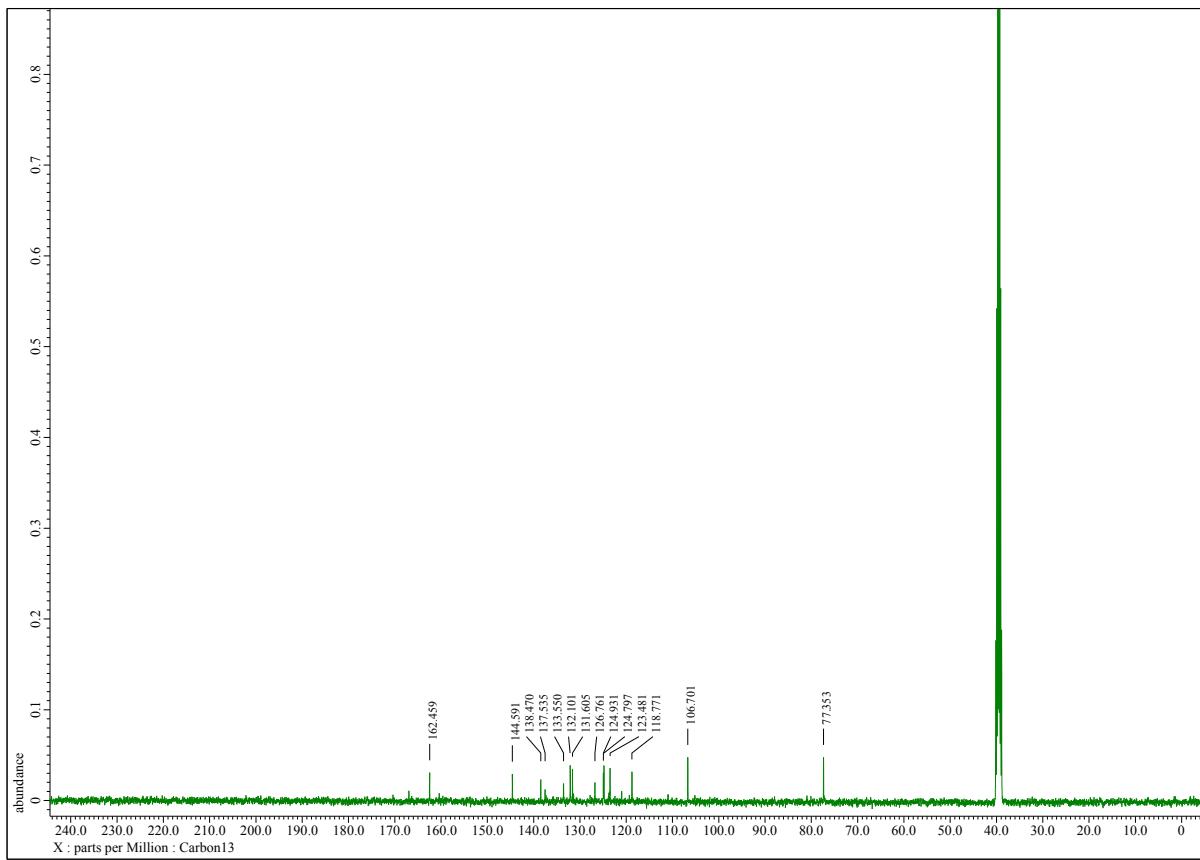
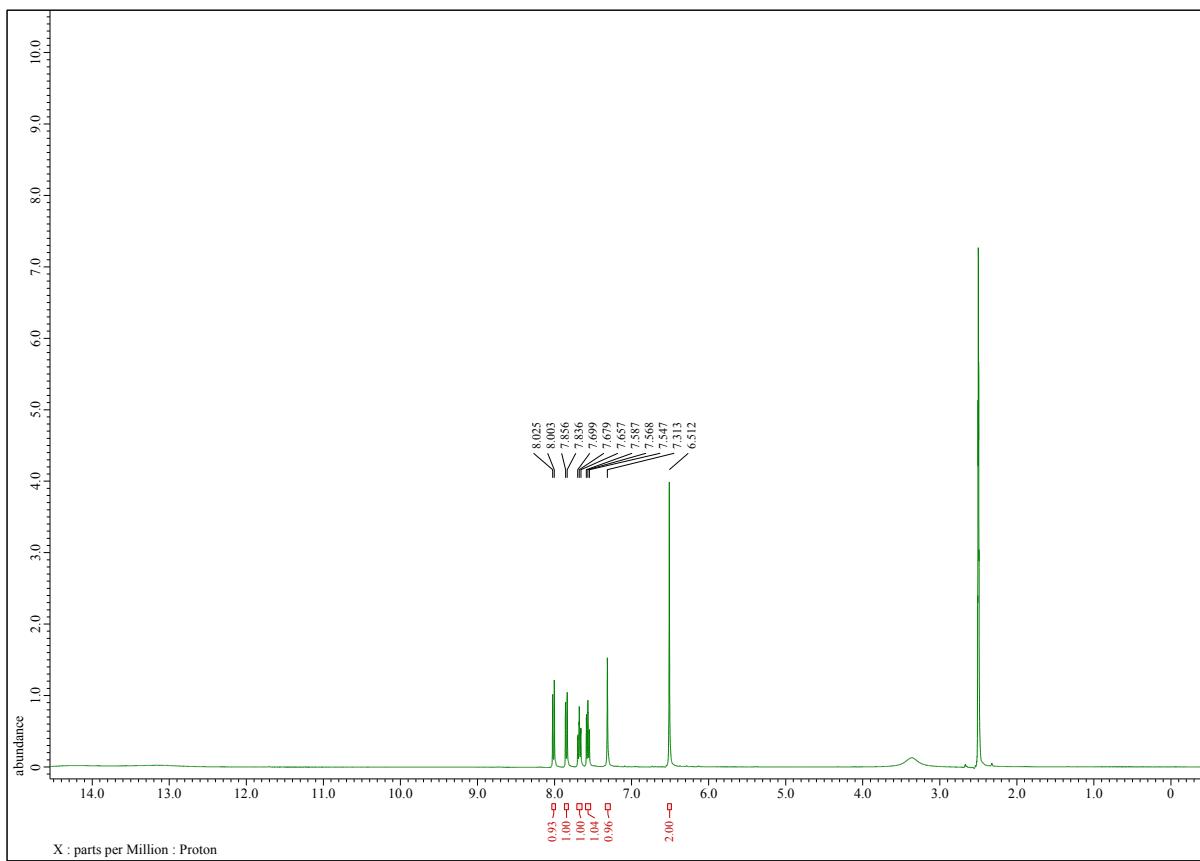
Ethyl 3-([1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylát (22).



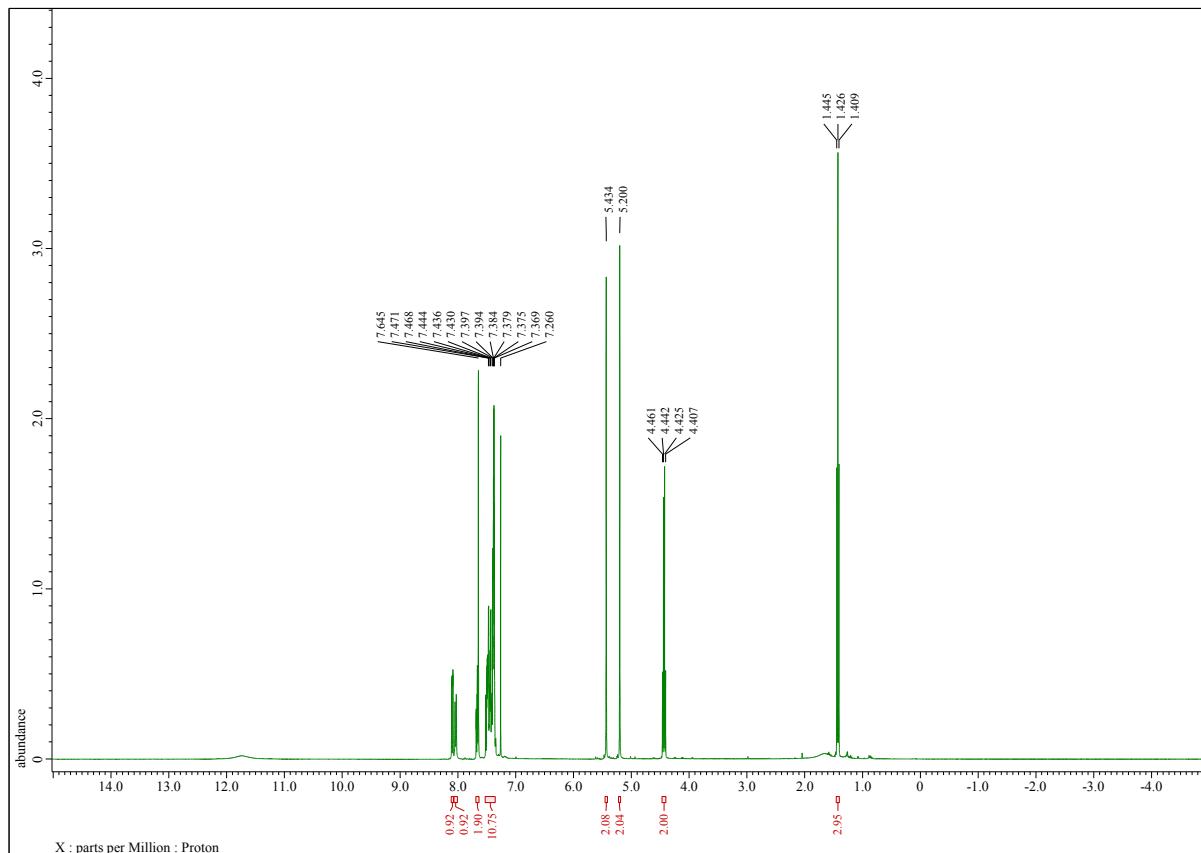
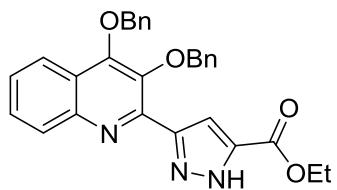


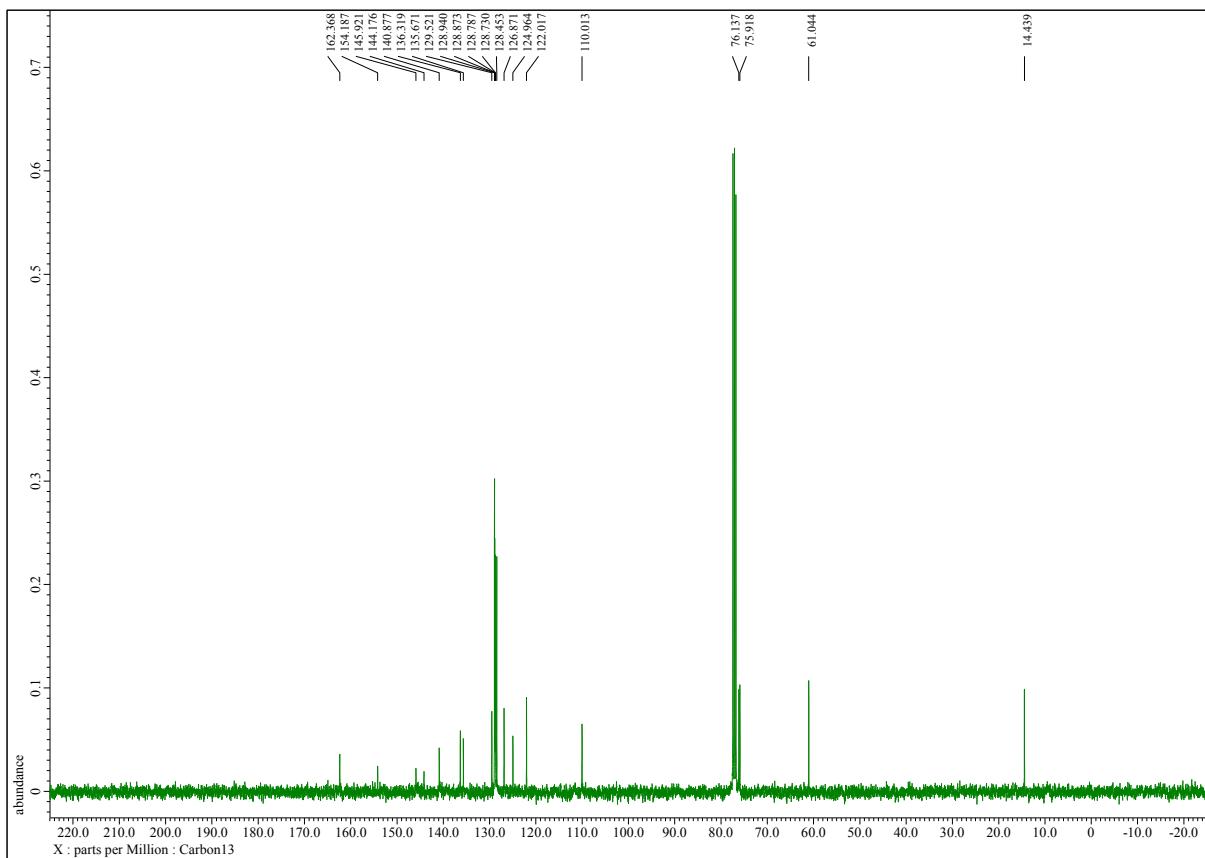
3-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylová kyselina (23).



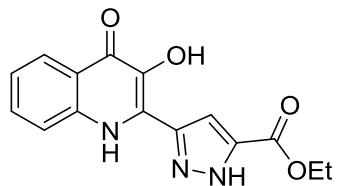


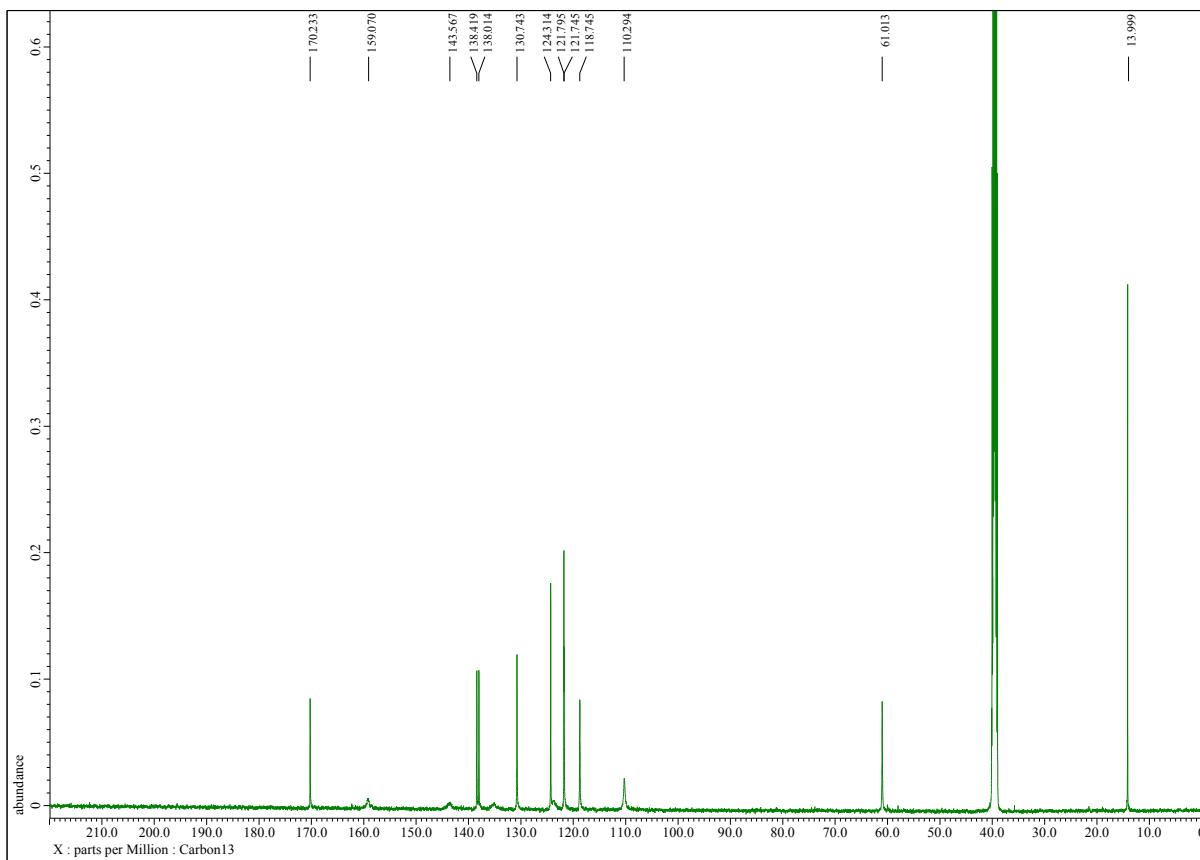
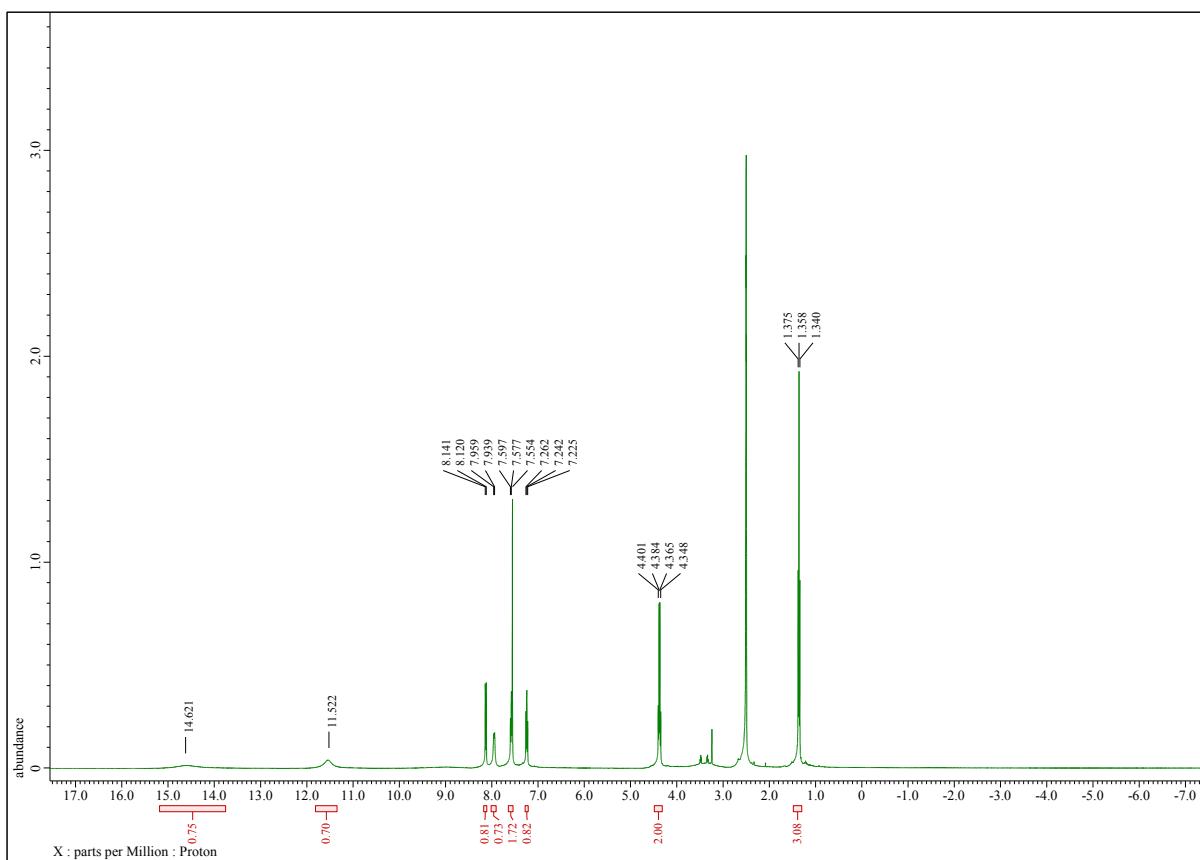
Ethyl 3-(3,4-bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylát (24).



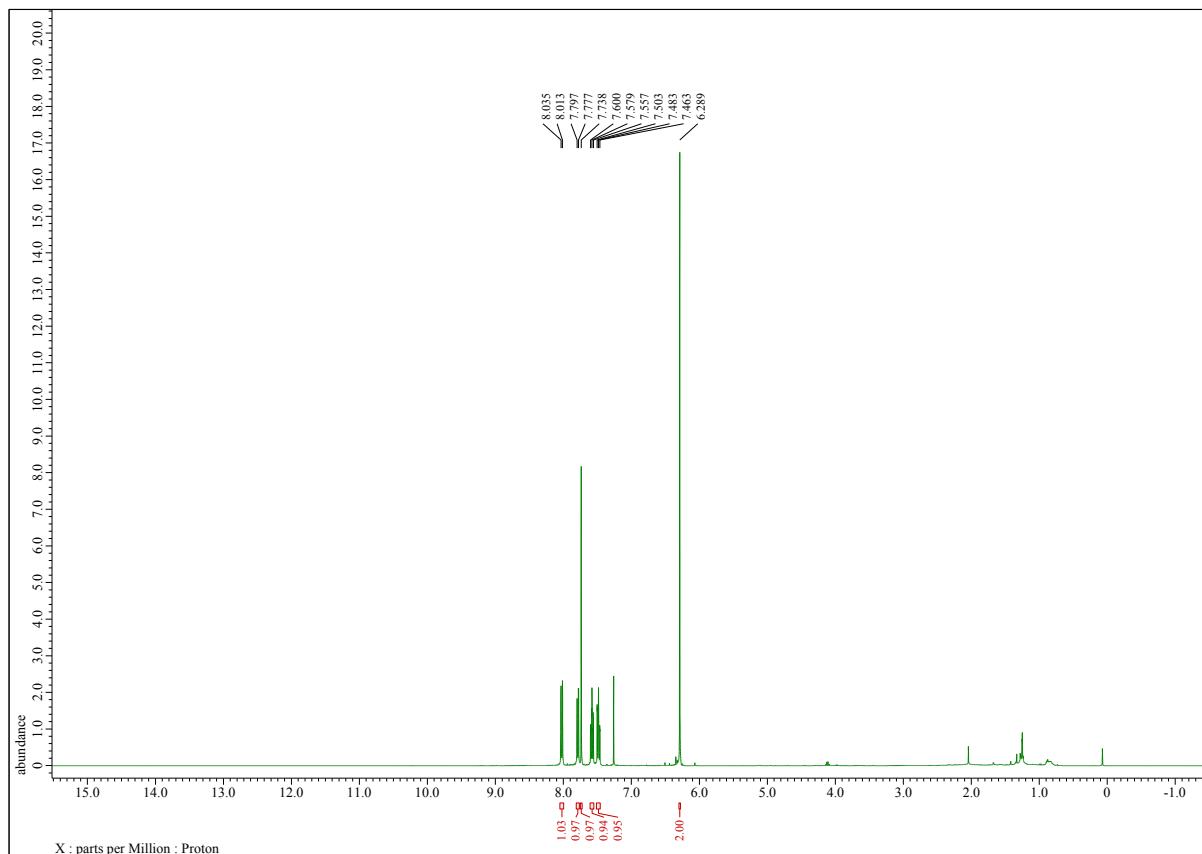
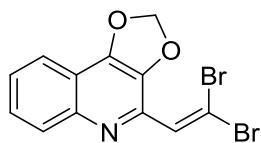


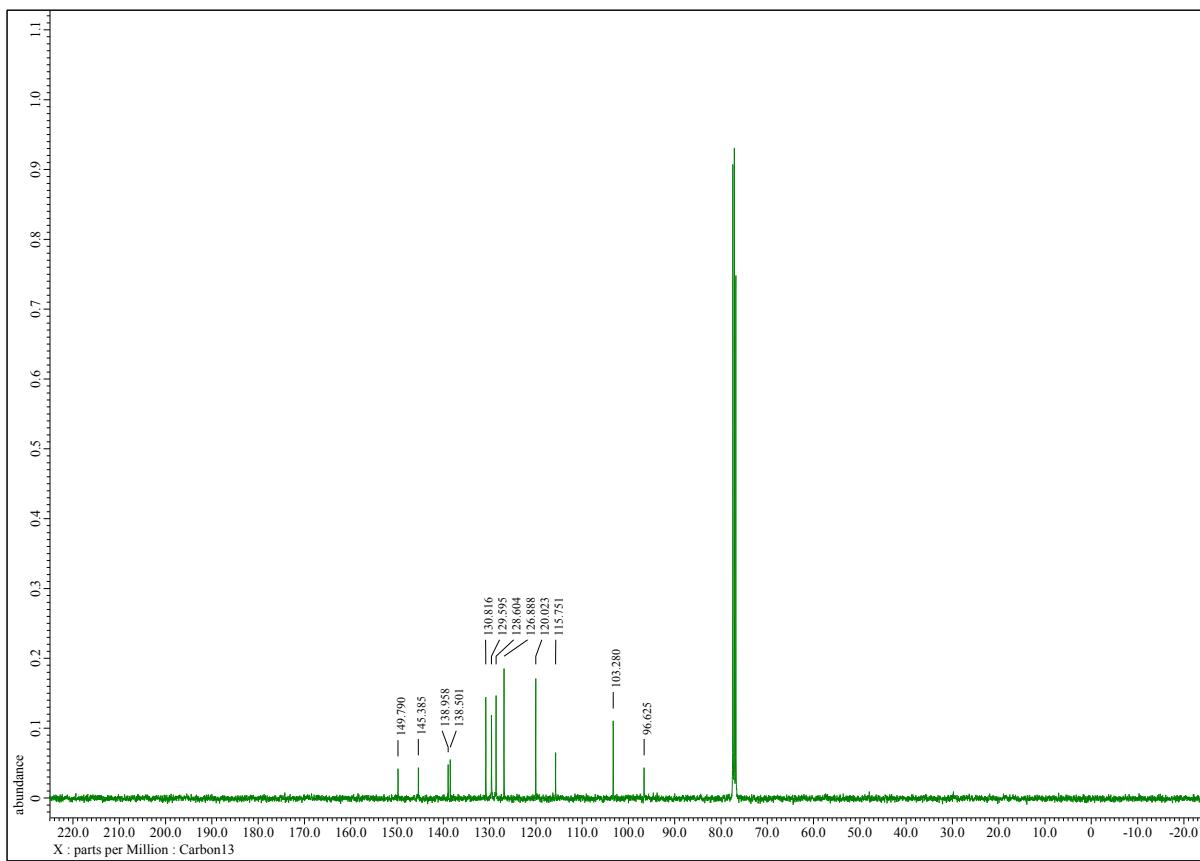
Ethyl 3-(3-hydroxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-2-yl)-1*H*-pyrazol-5-karboxylát (25).



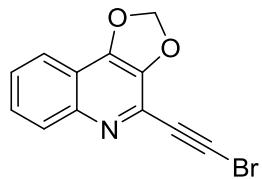


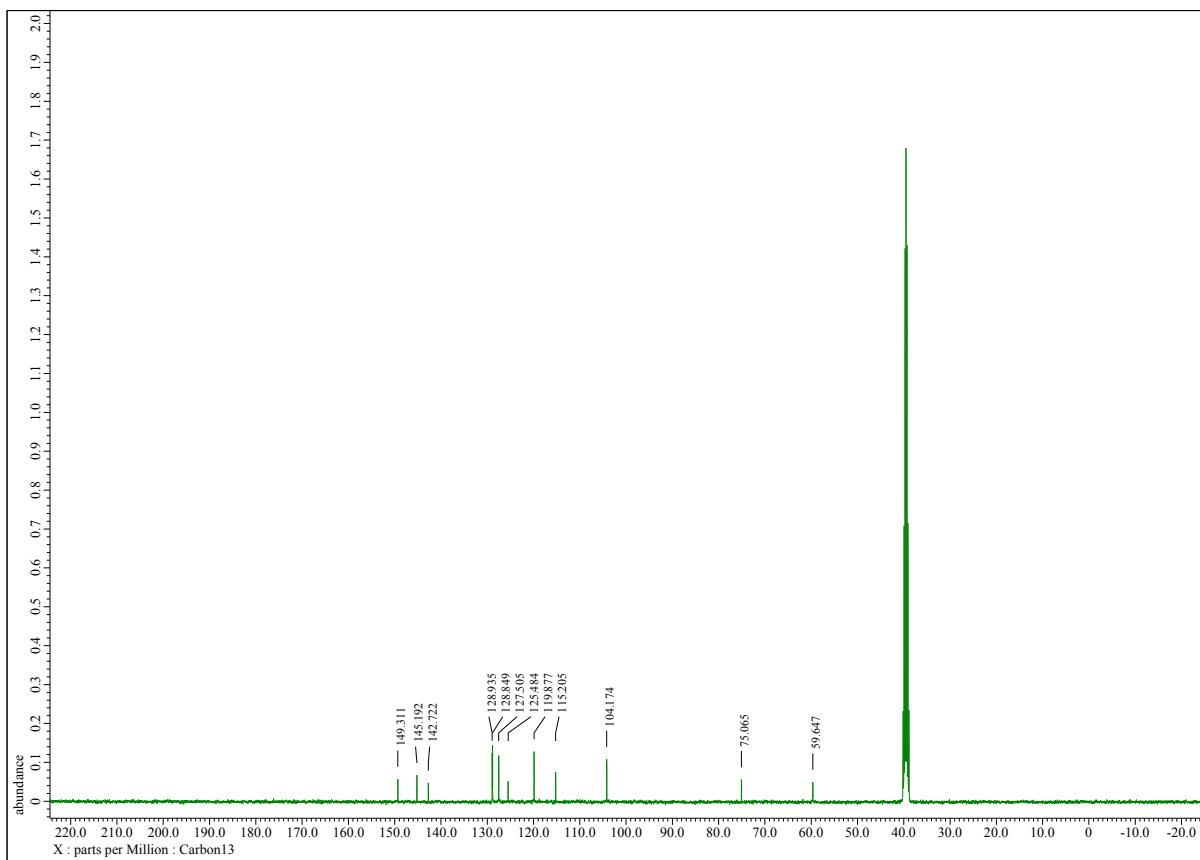
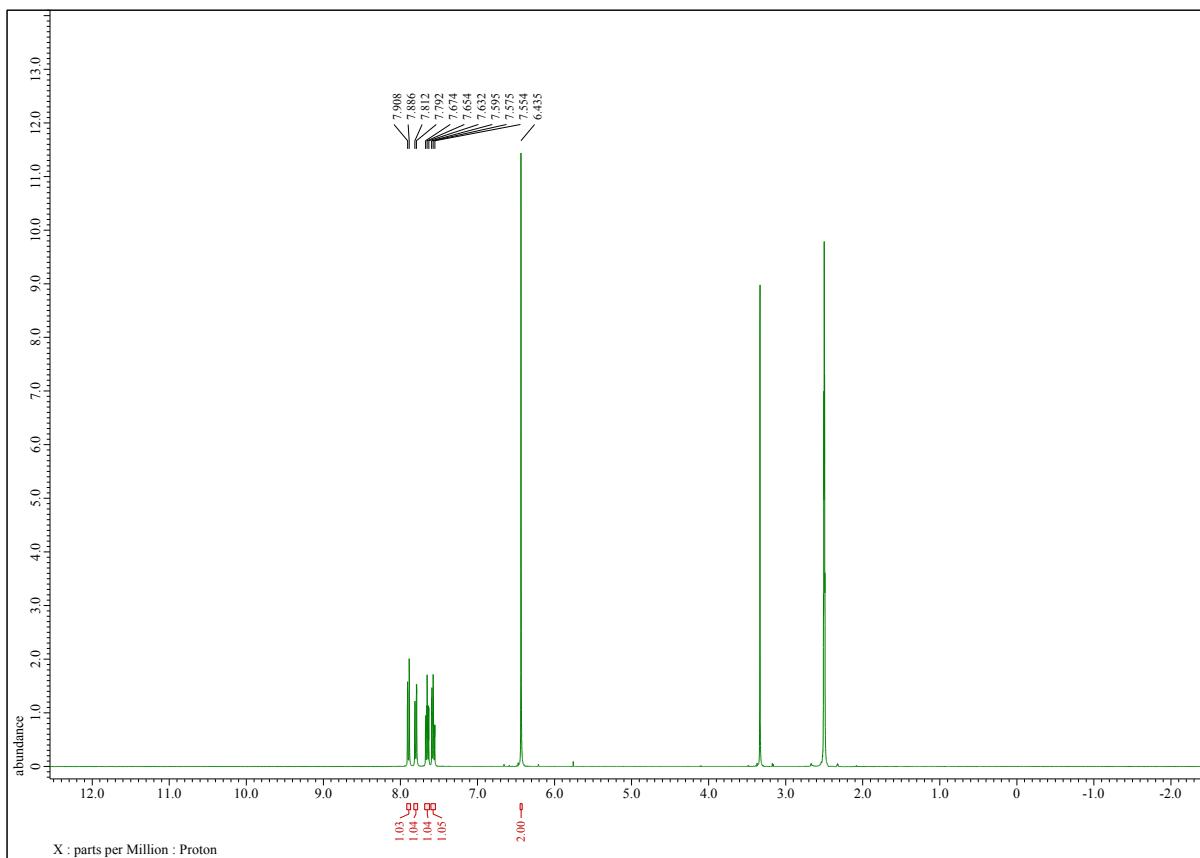
4-(2,2-Dibromovinyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (26).



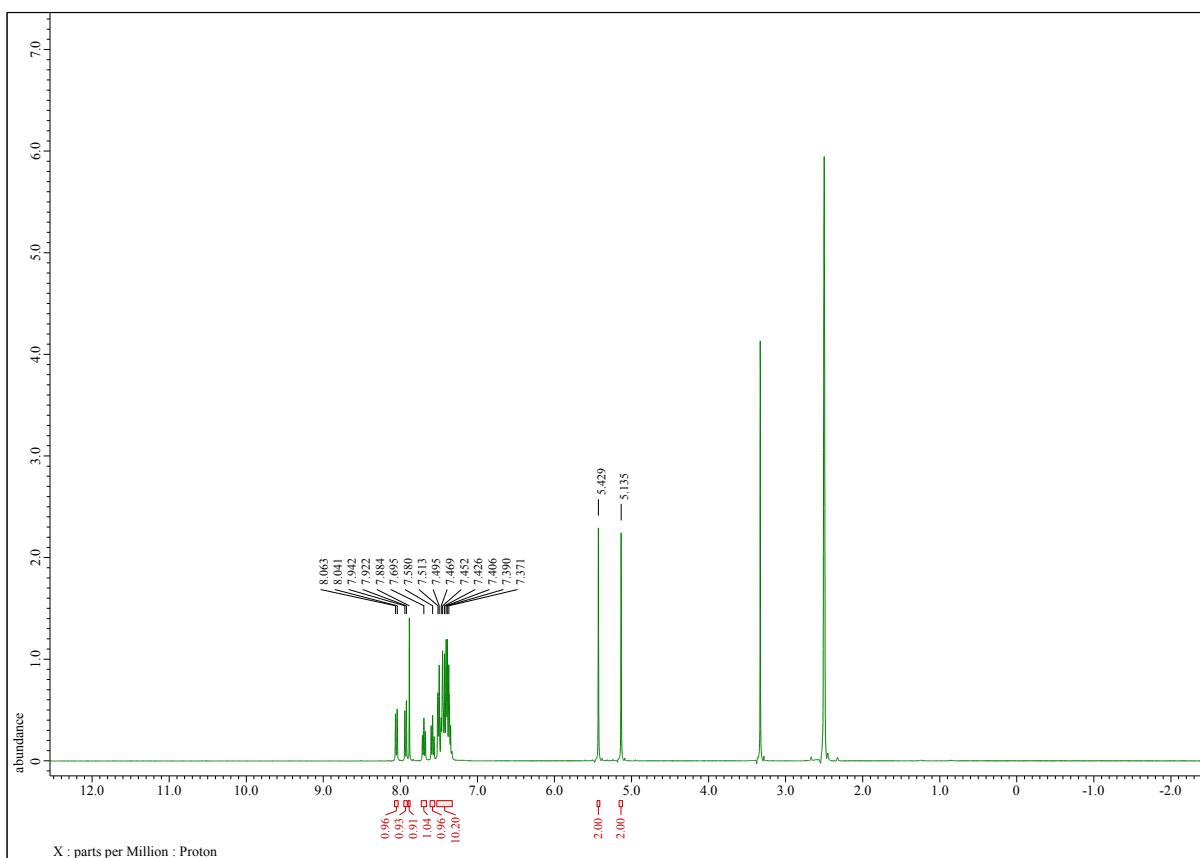
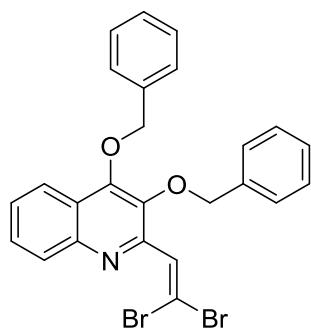


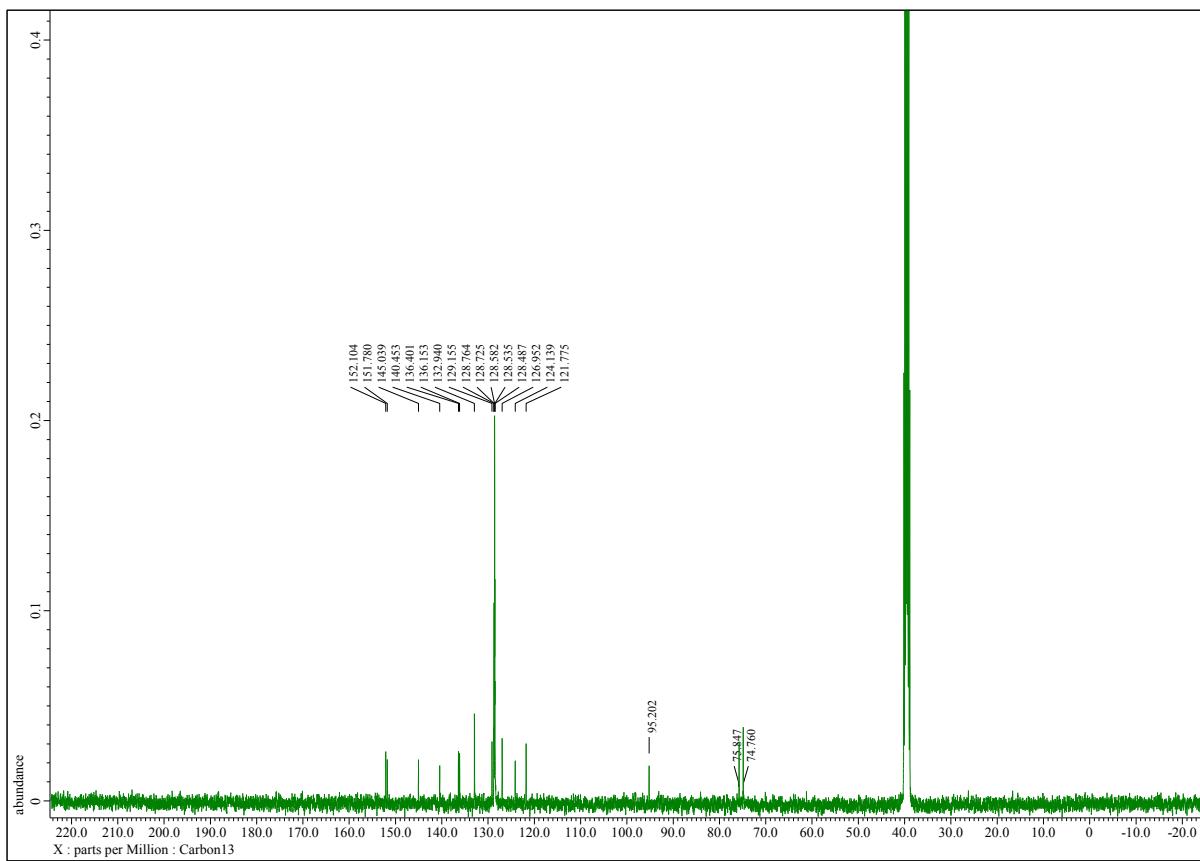
4-(Bromoethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (27).



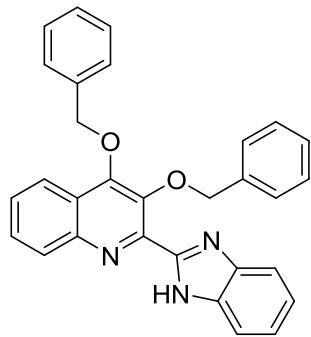


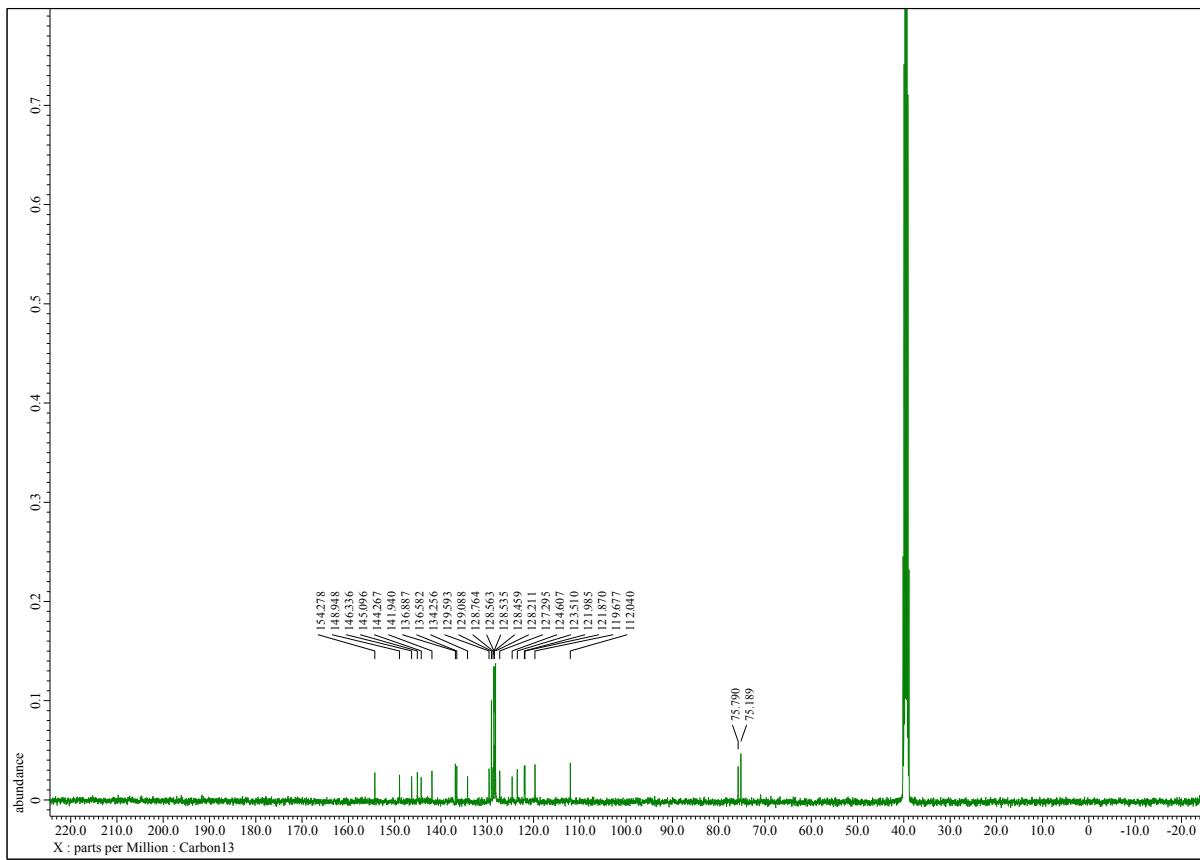
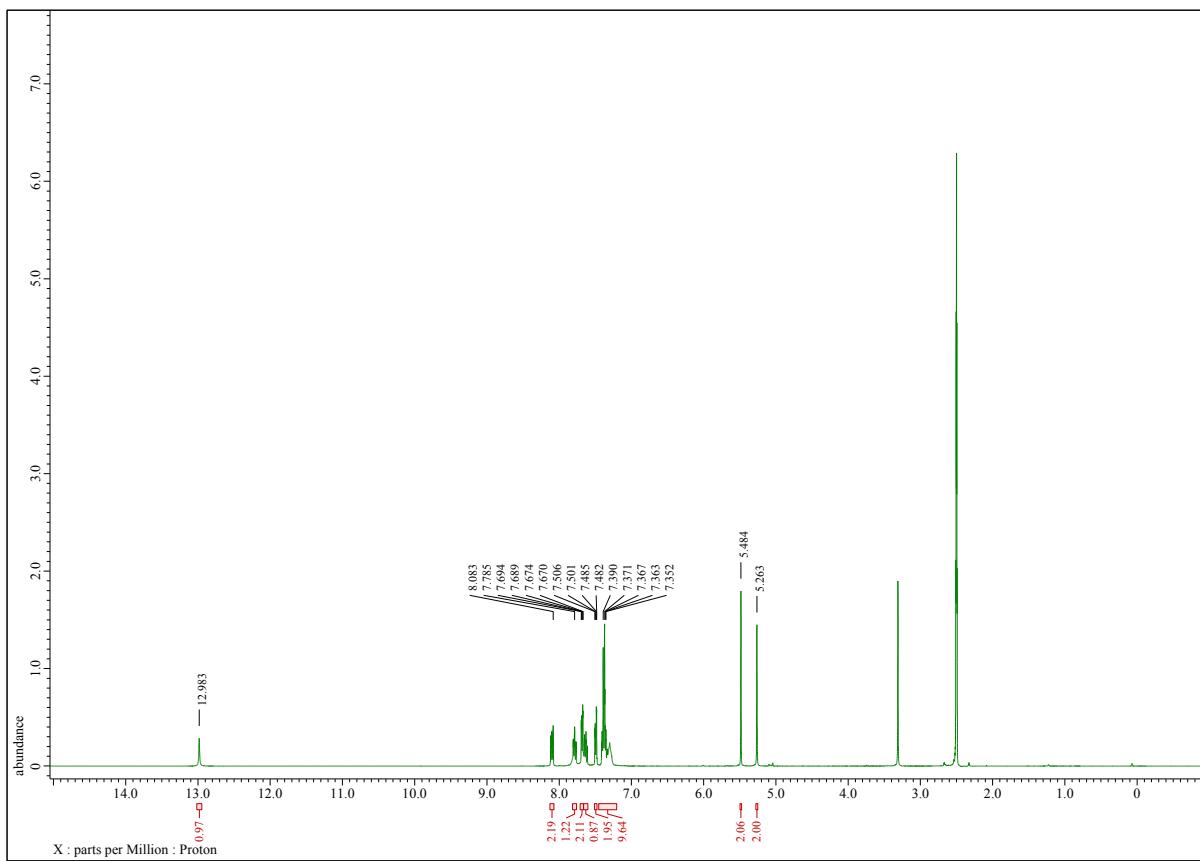
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(2,2-dibromovinyl)chinolin (28).



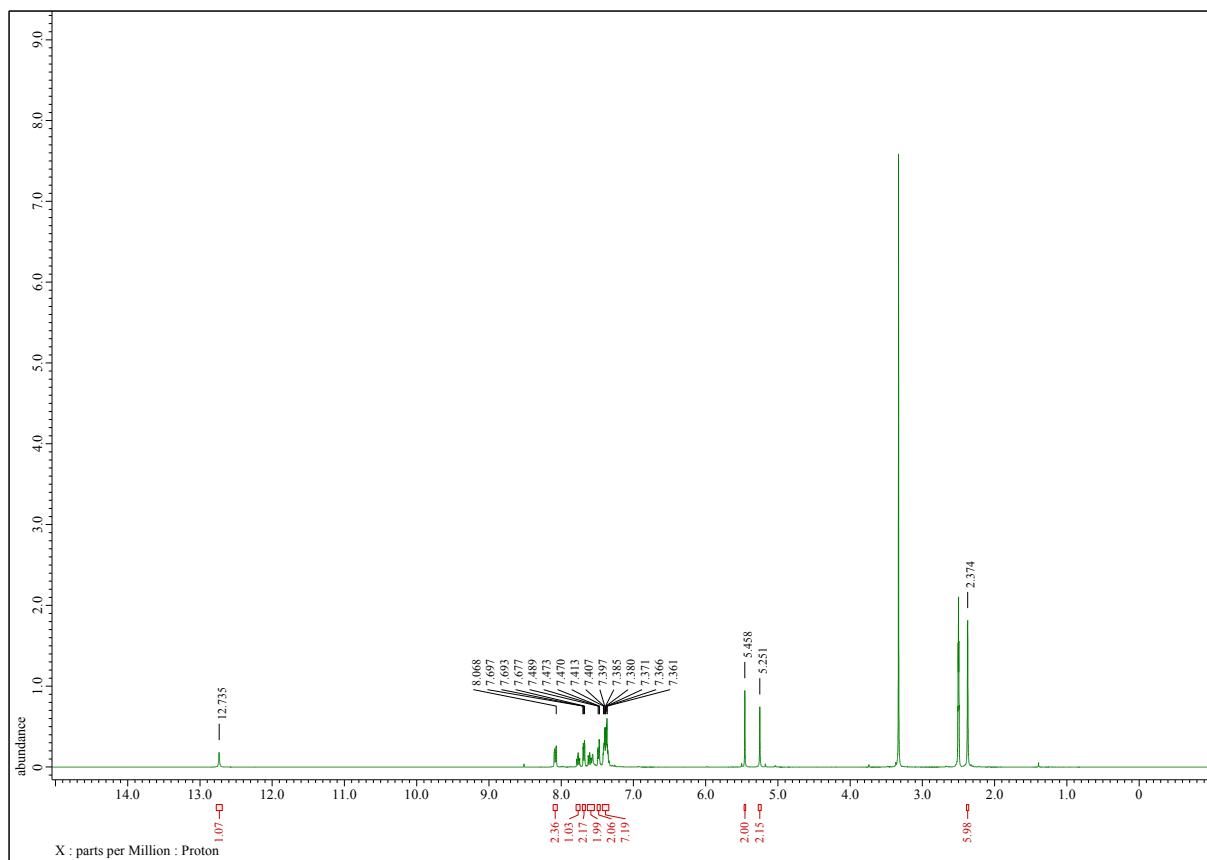
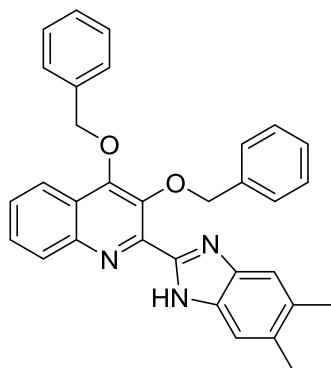


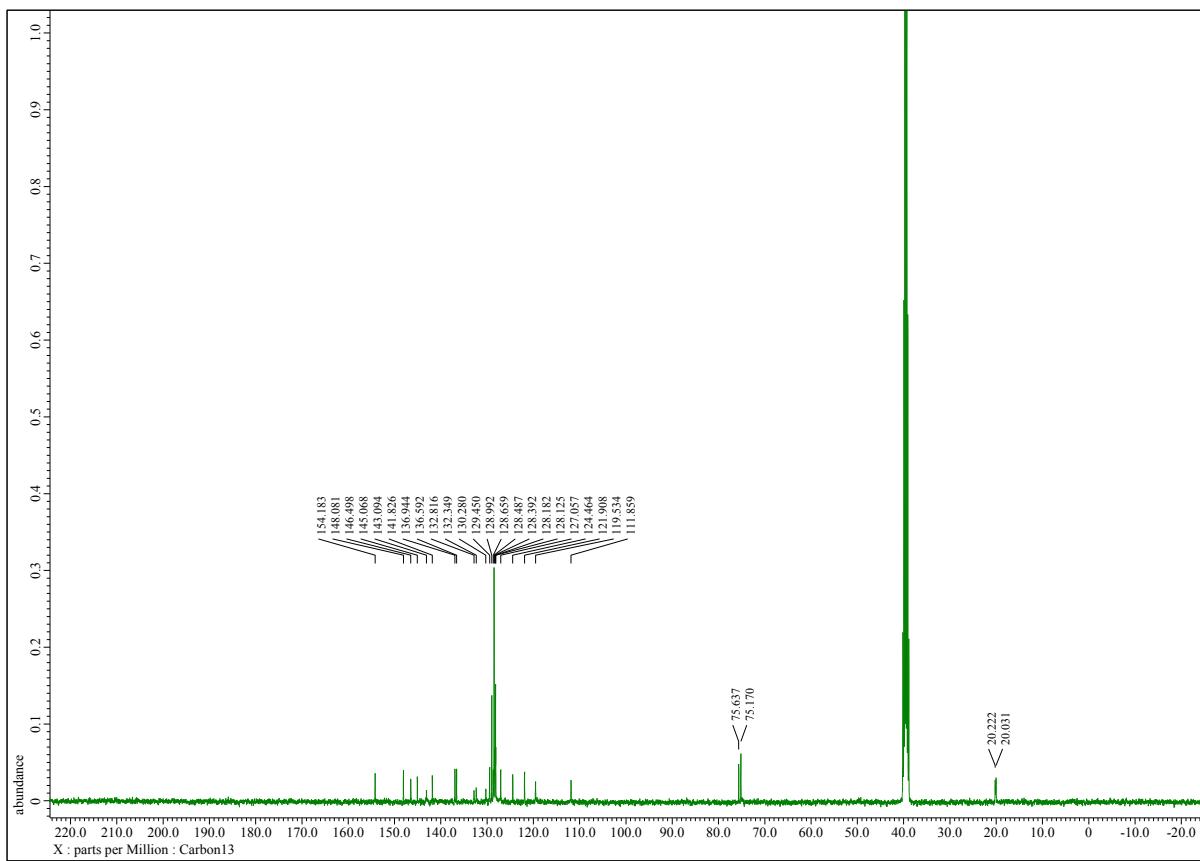
2-(1*H*-Benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3,4-bis(benzyloxy)chinolin (29).



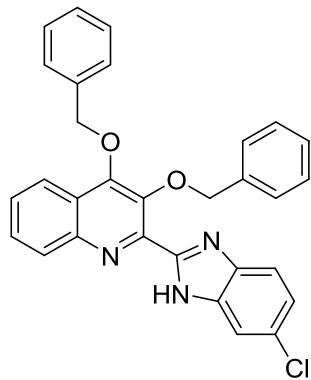


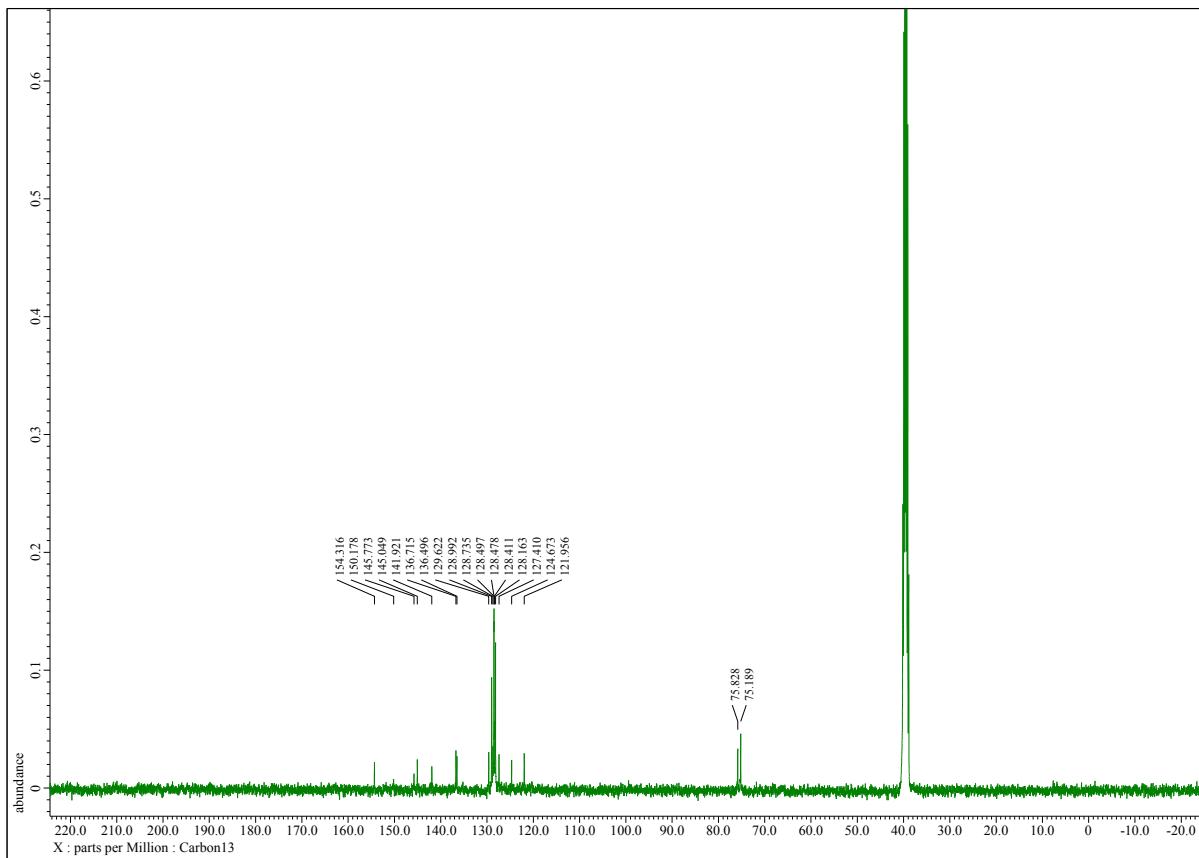
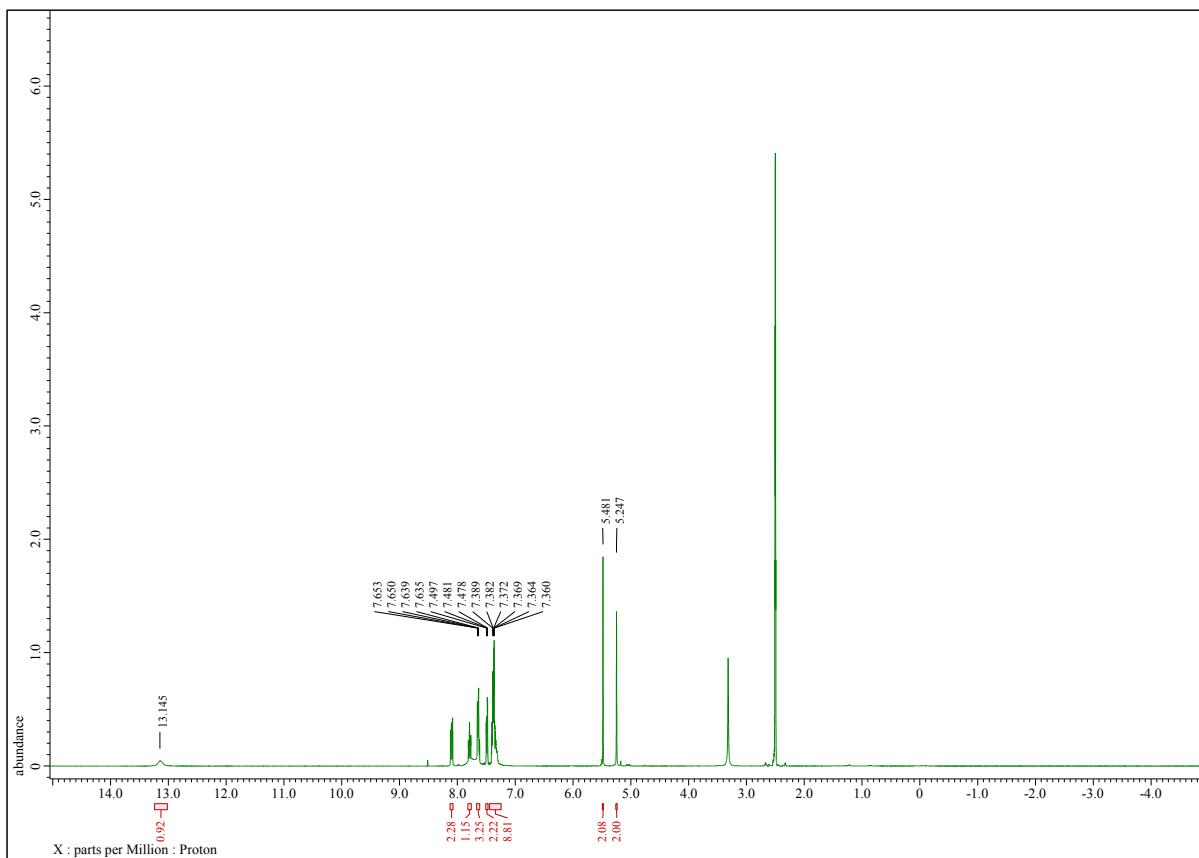
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(5,6-dimethyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (30).



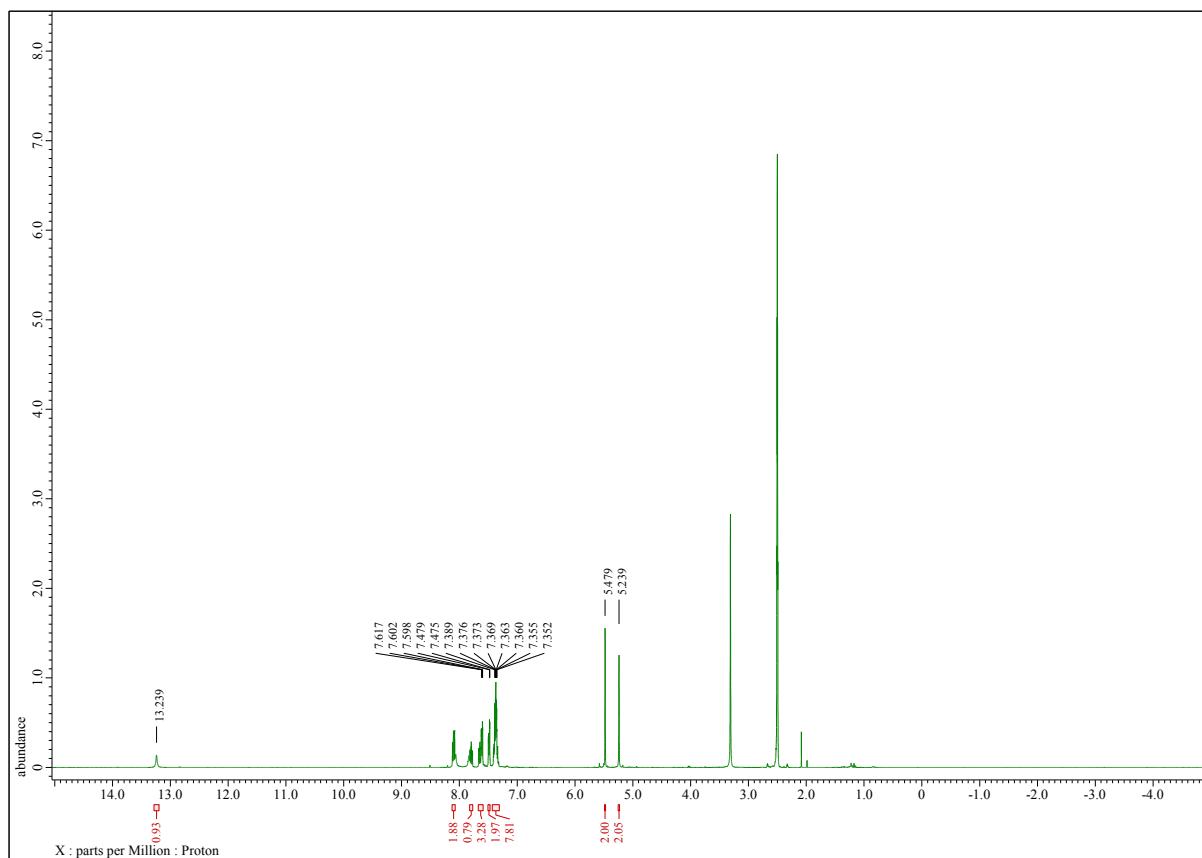
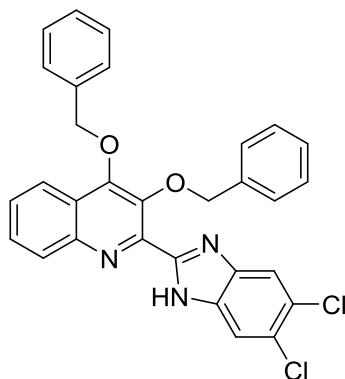


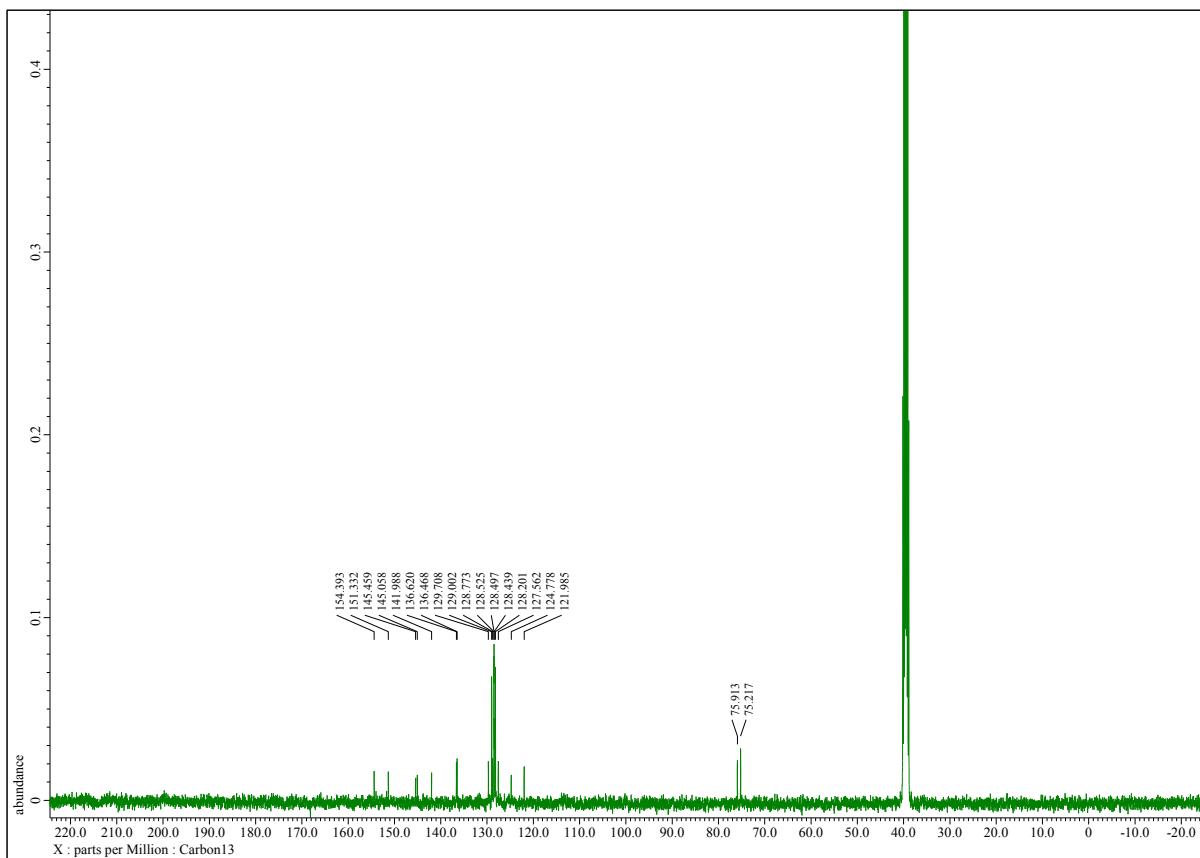
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(6-chloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (31).



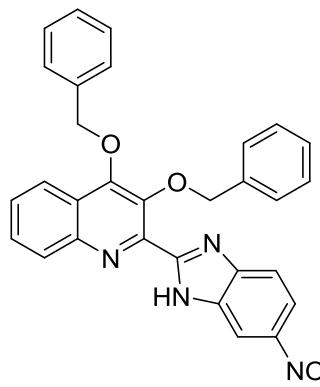


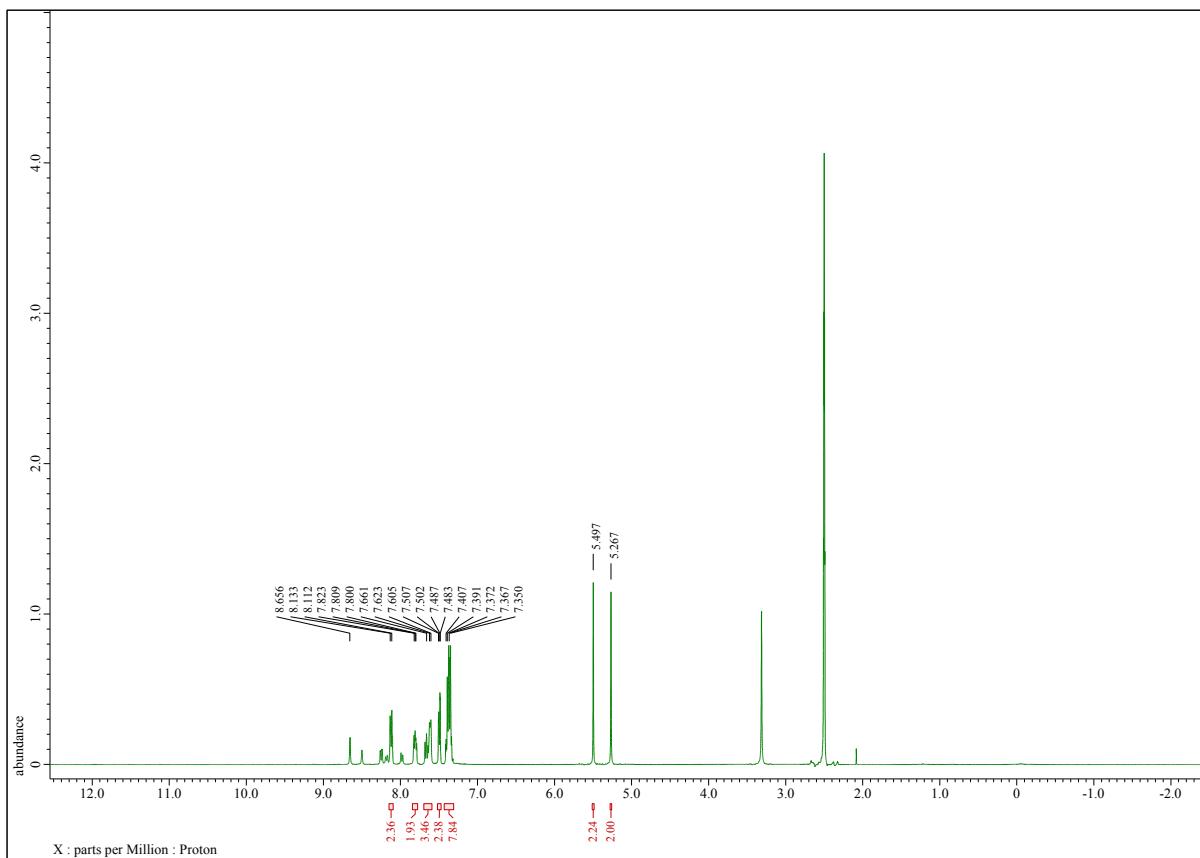
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(5,6-dichloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (32).



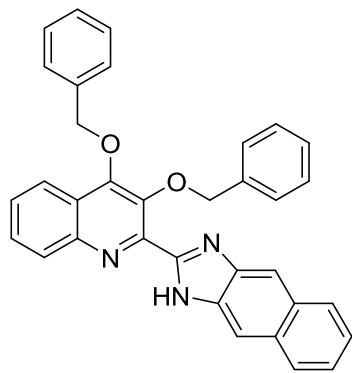


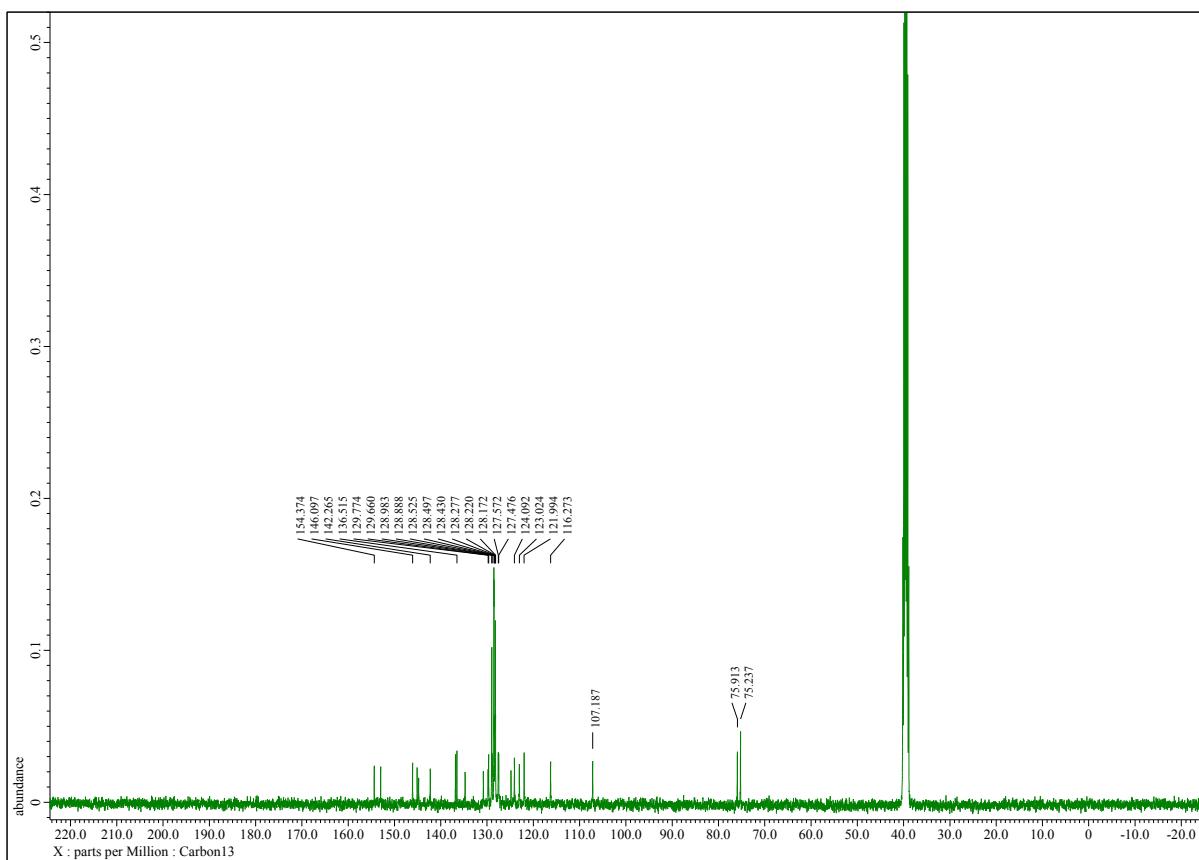
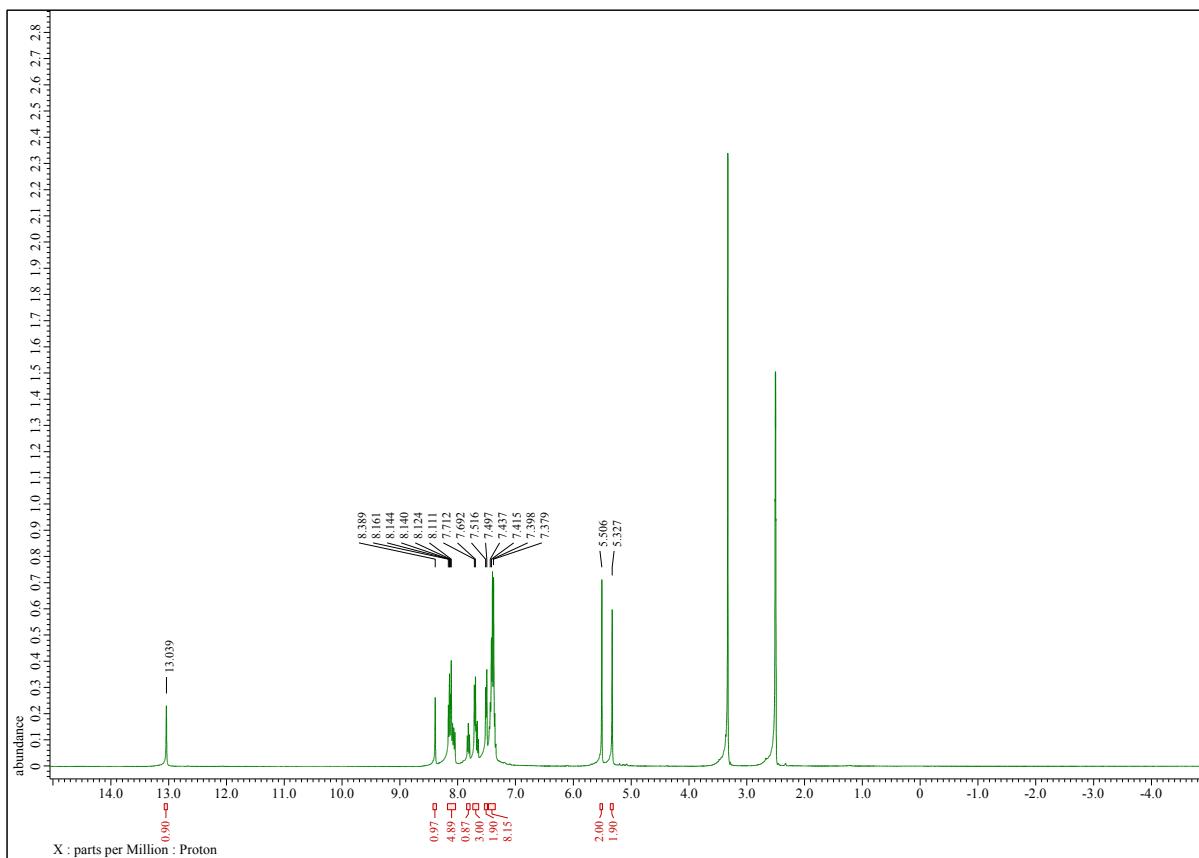
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(6-nitro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin (33).



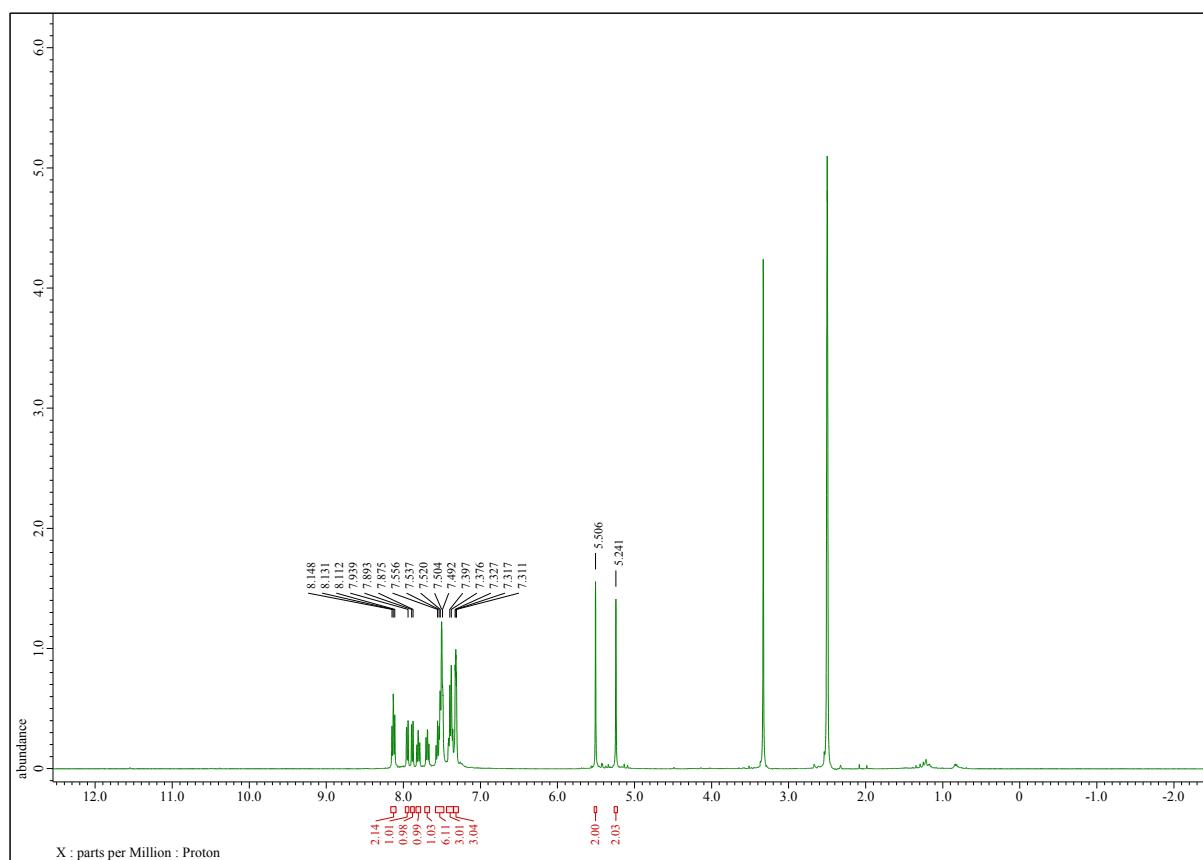
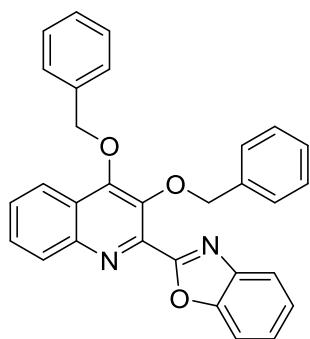


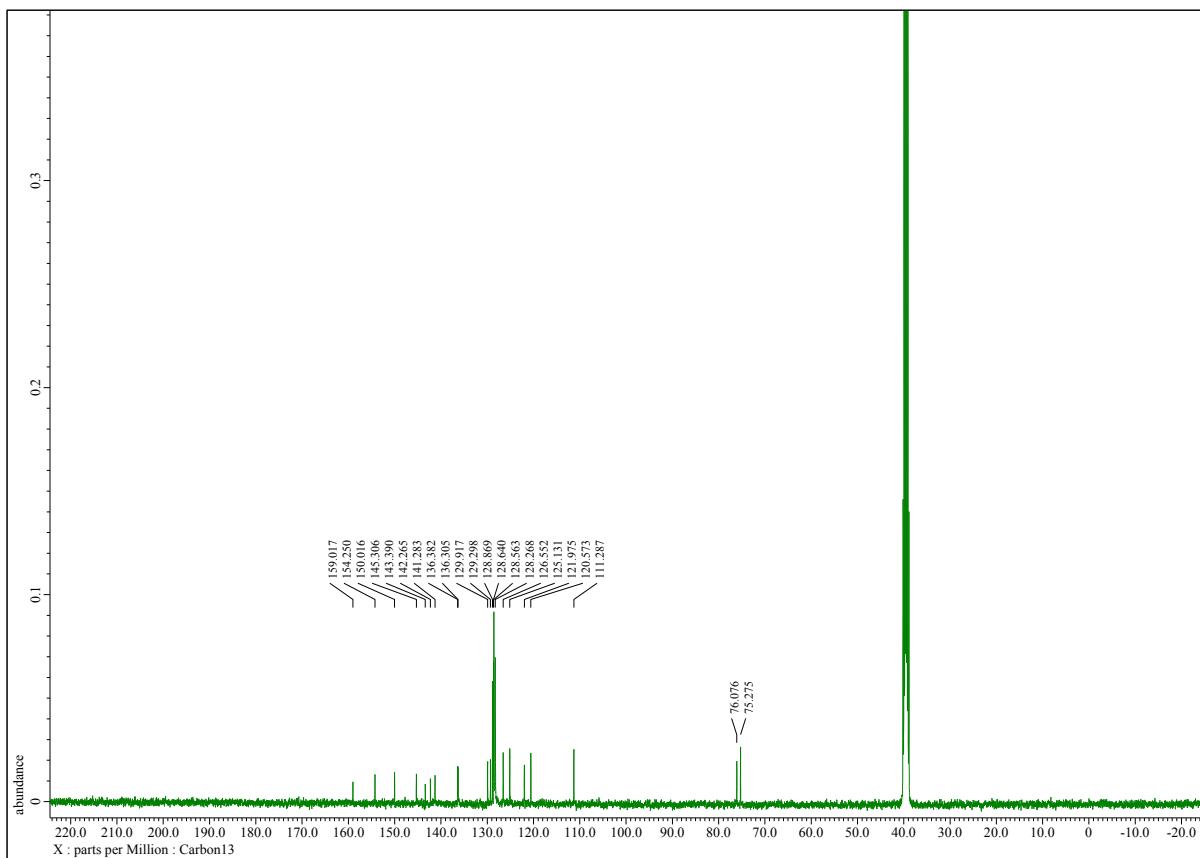
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-1*H*-naphtho[2,3-*d*]imidazol (35).



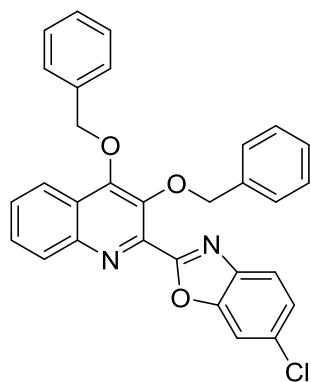


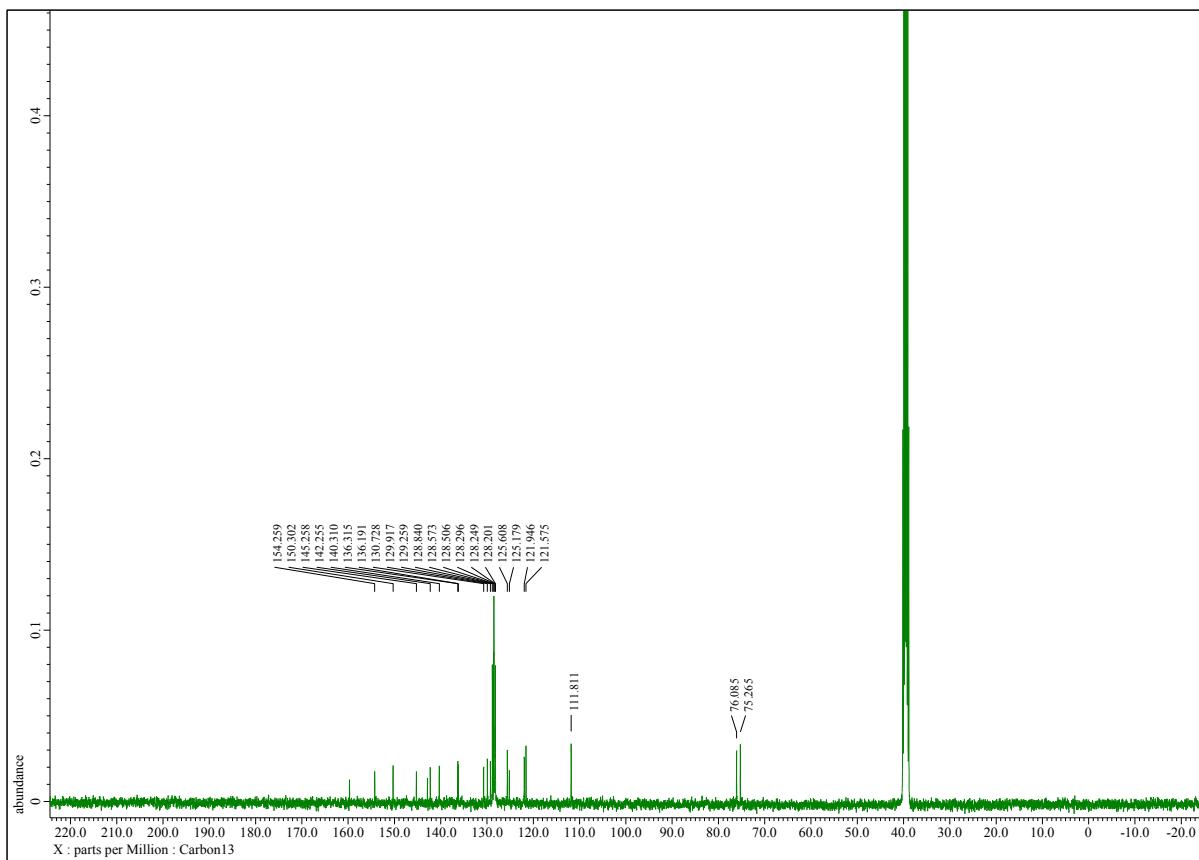
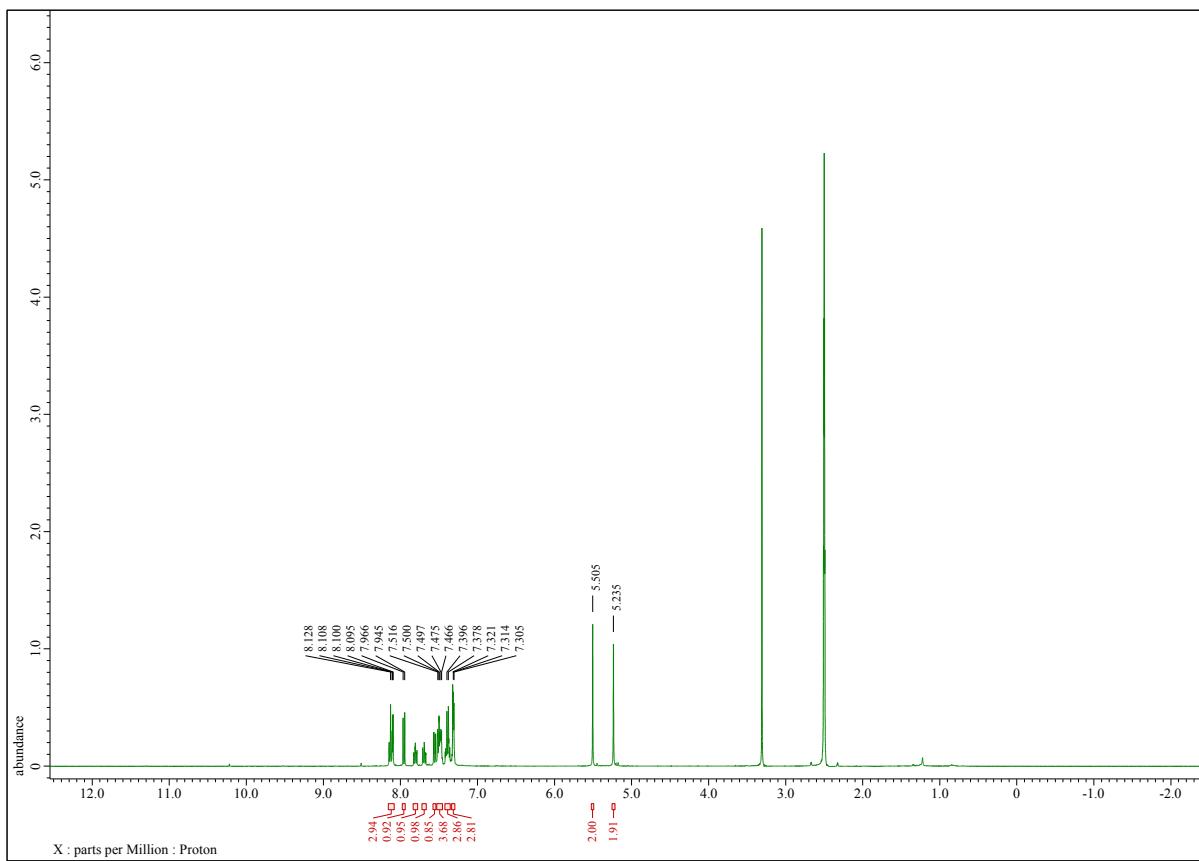
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)benzo[d]oxazol (36).



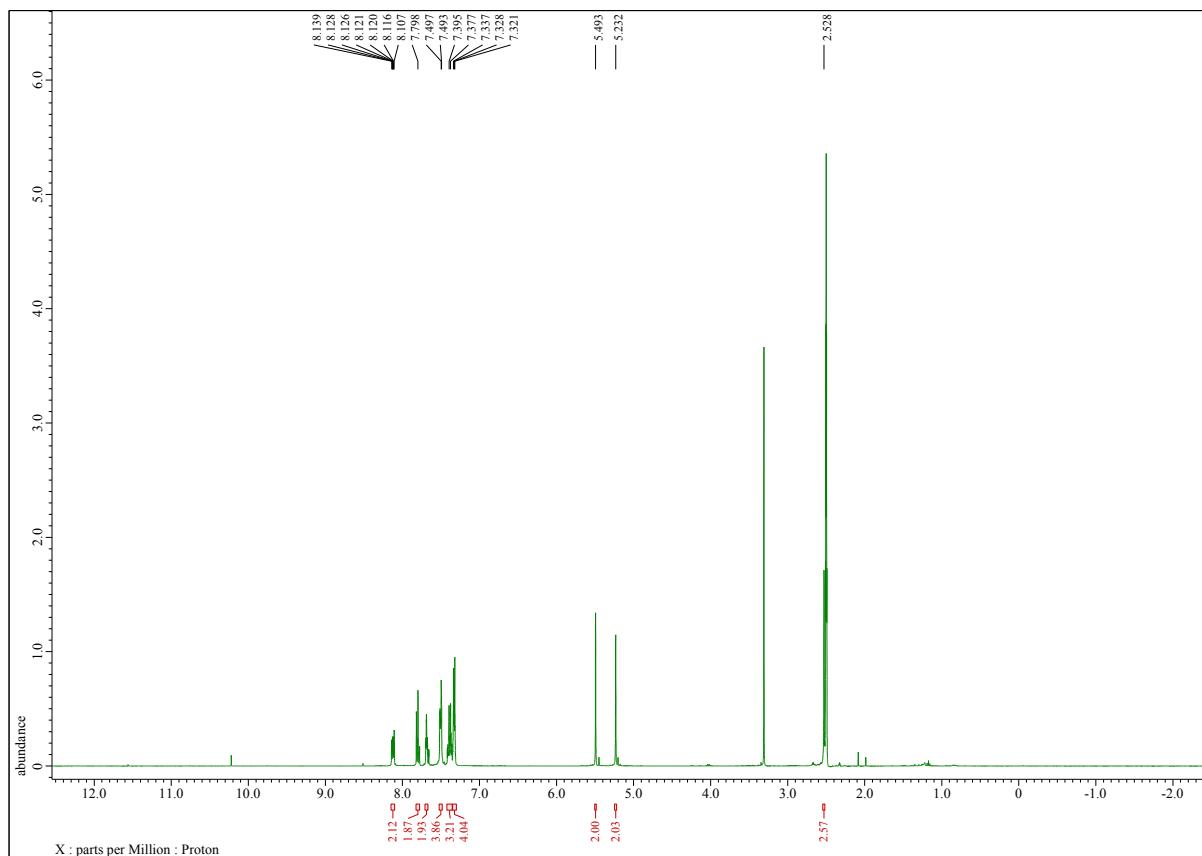
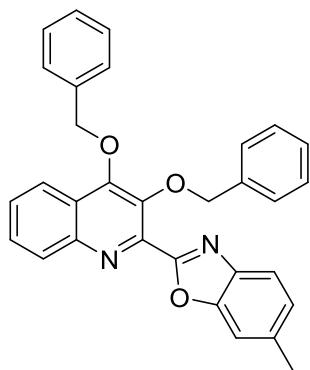


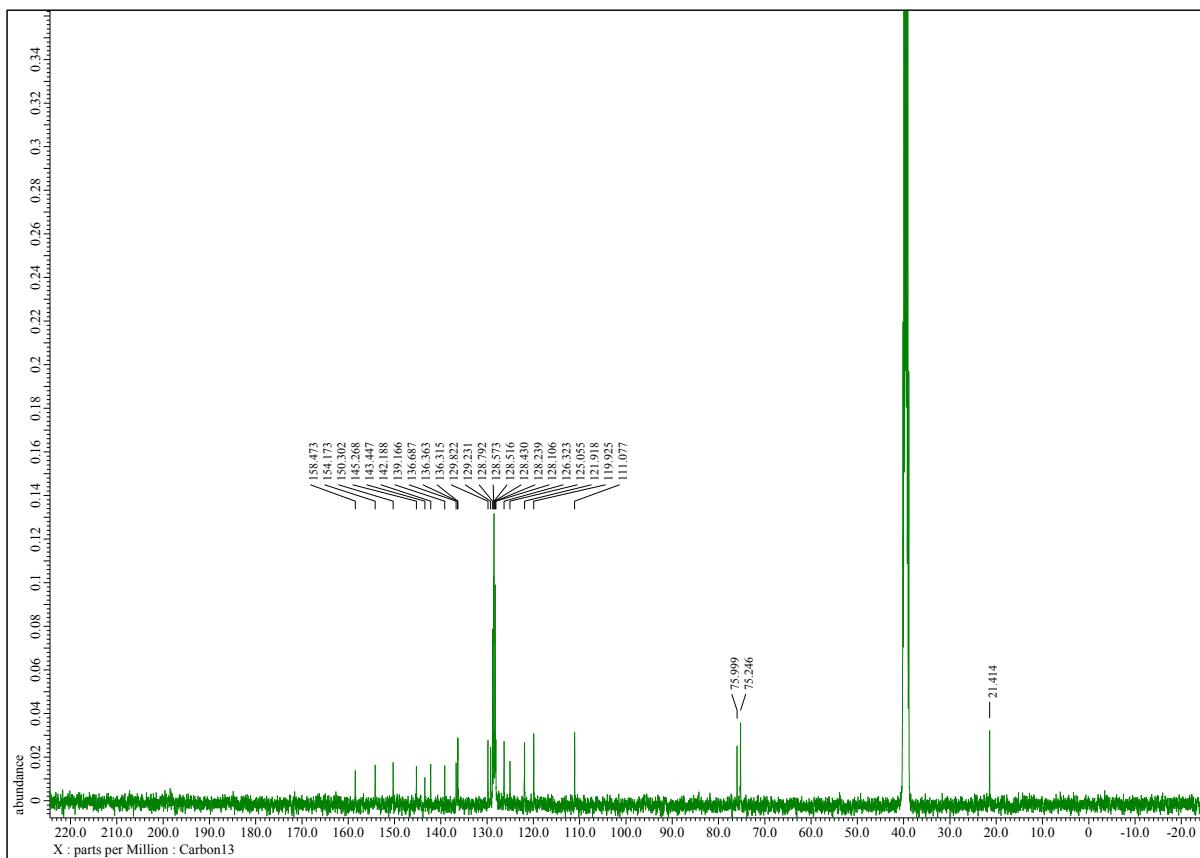
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-6-chlorobenzo[d]oxazol (37).



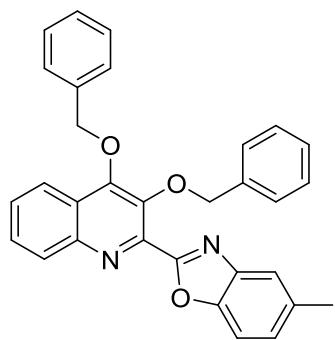


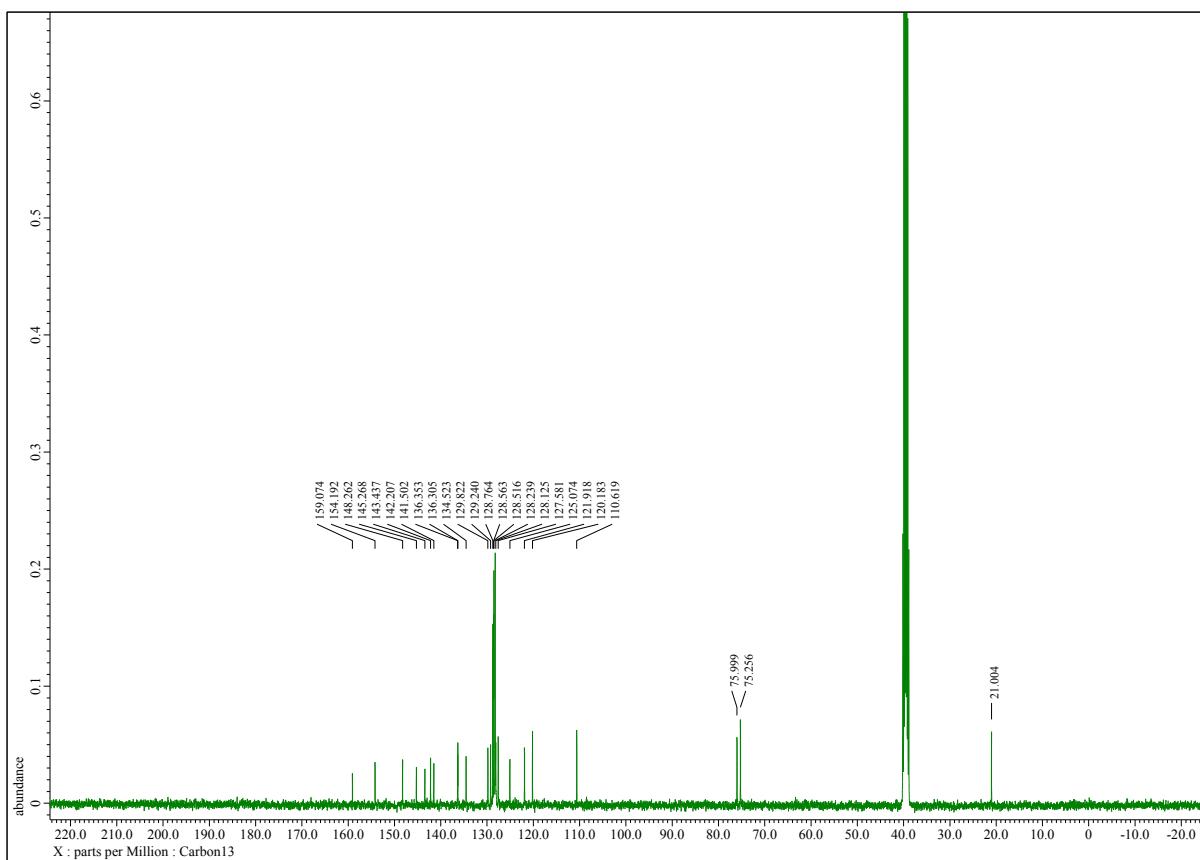
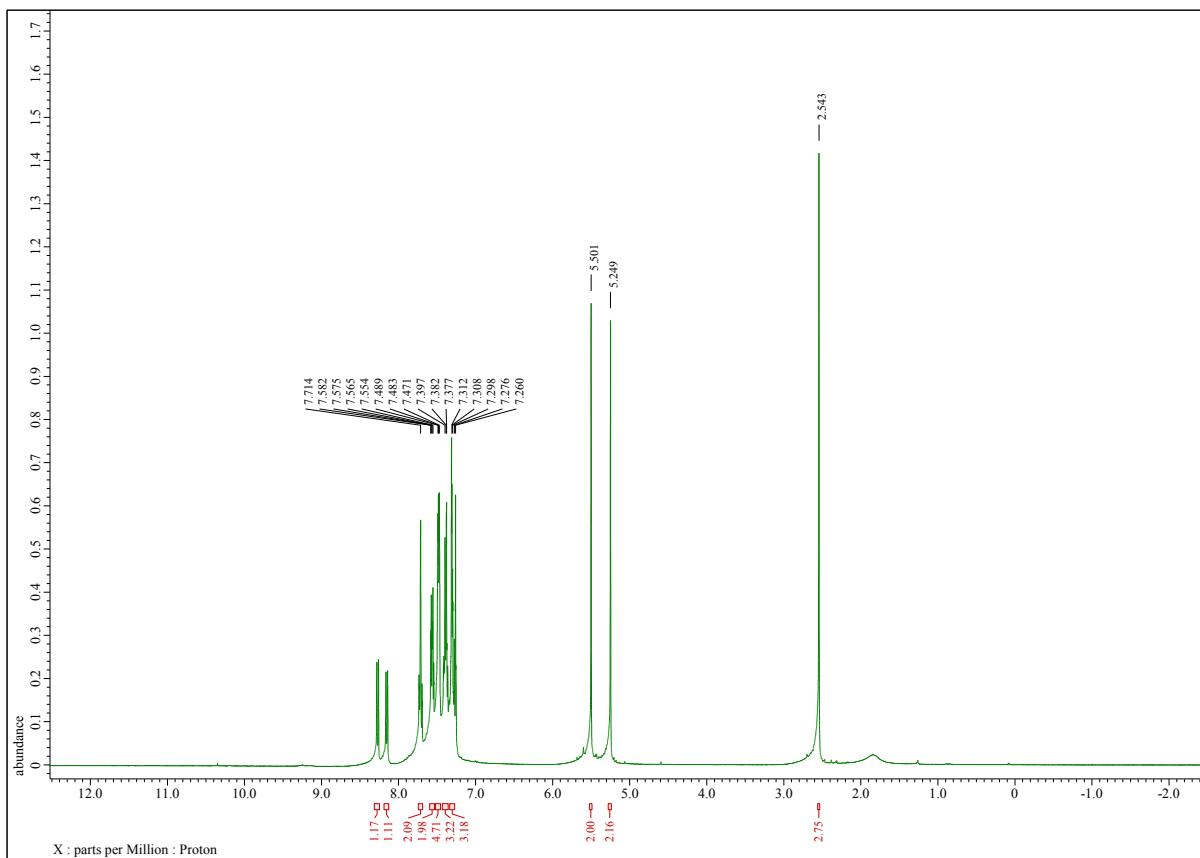
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-6-methylbenzo[d]oxazol (38).



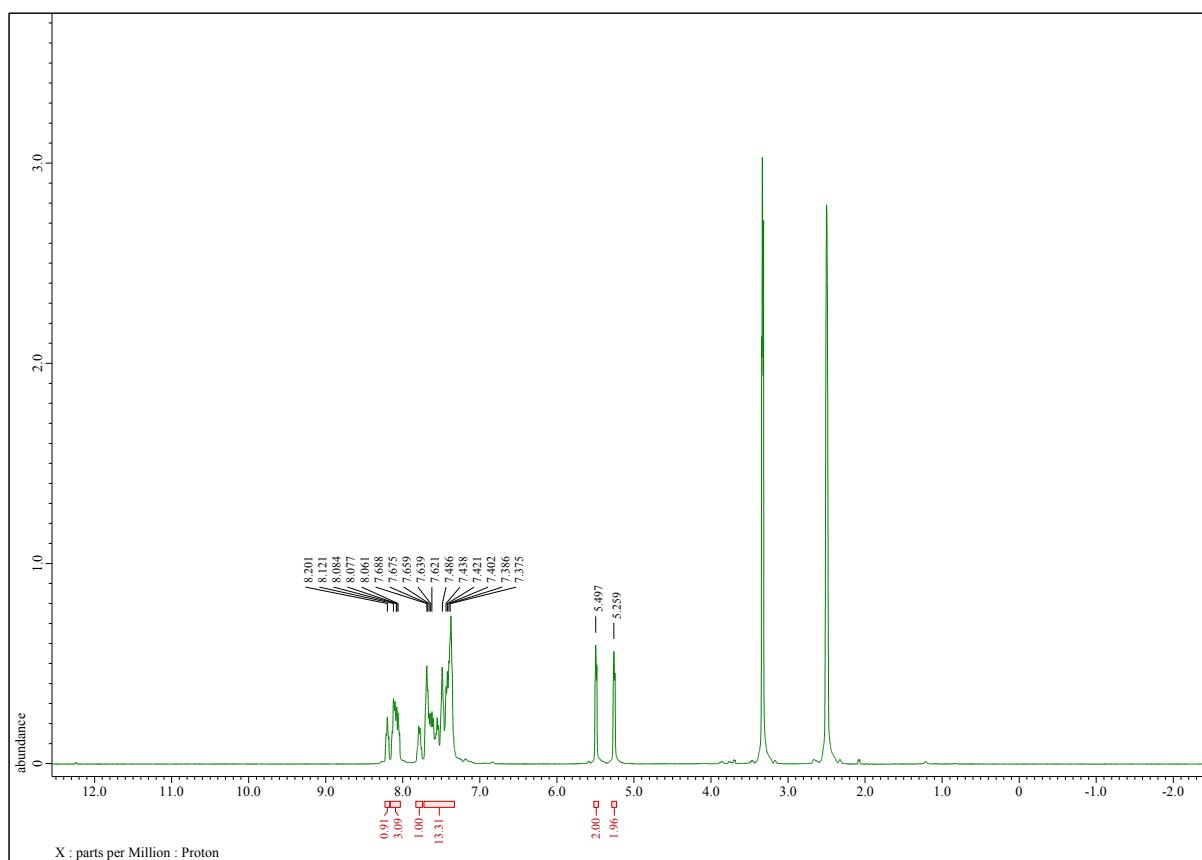
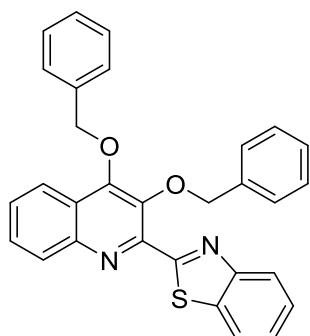


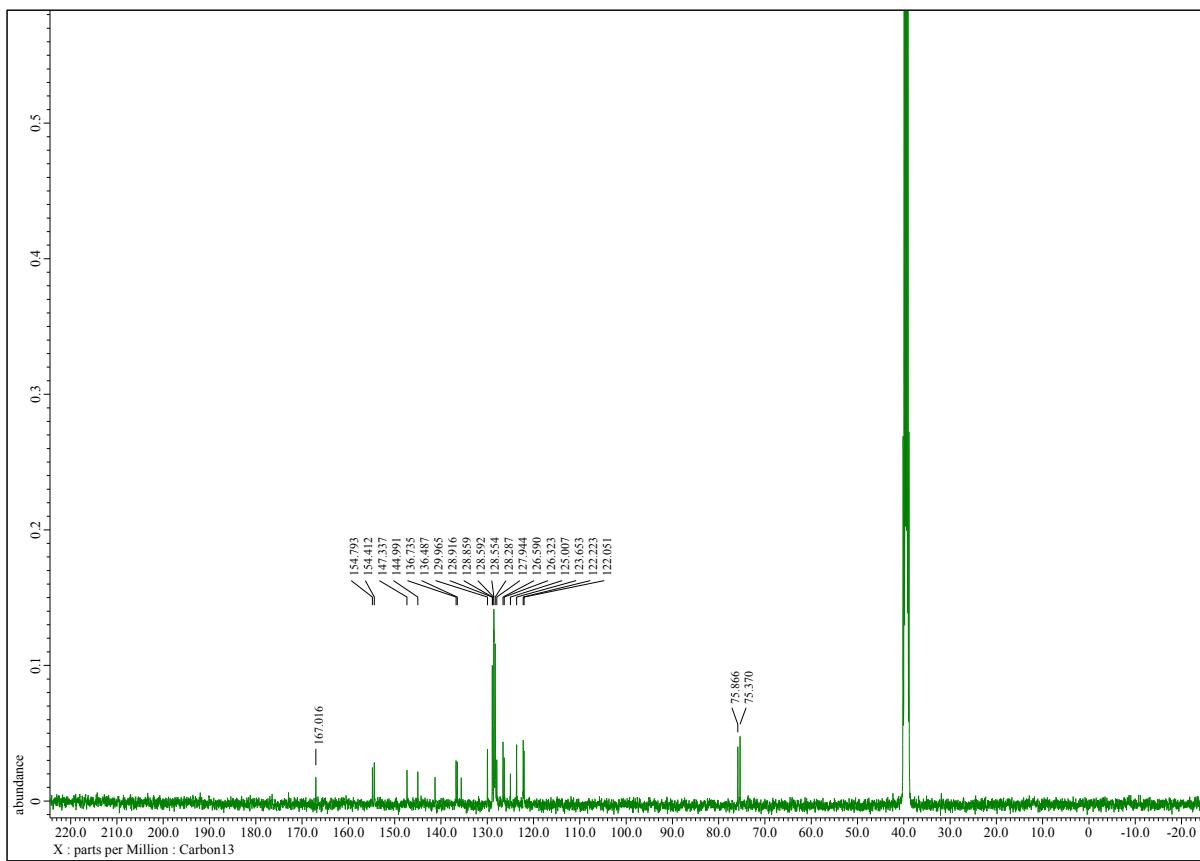
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-5-methylbenzo[d]oxazol (39).



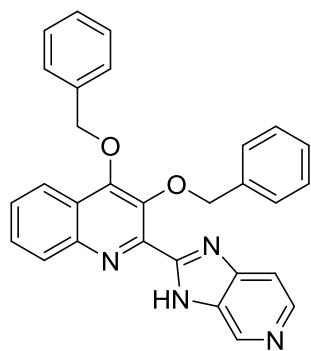


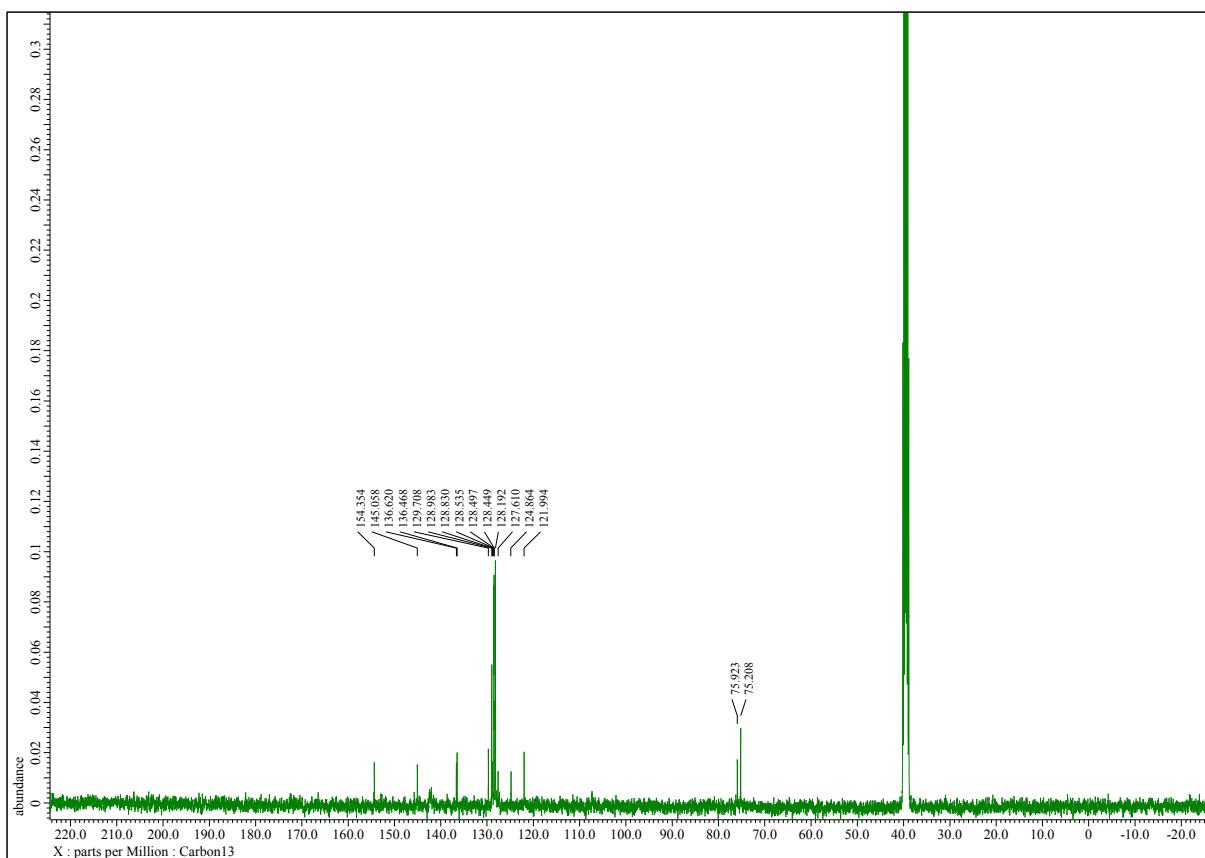
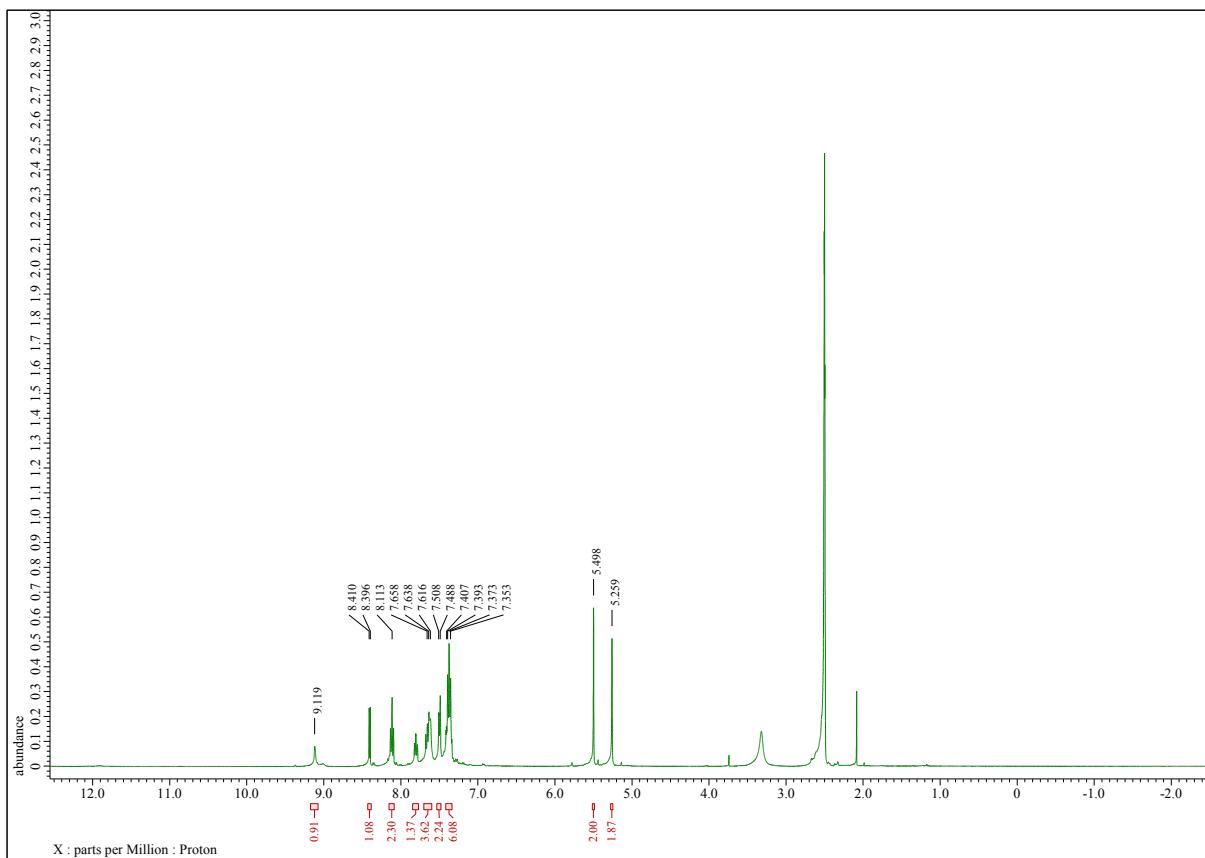
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)benzo[d]thiazol (40).



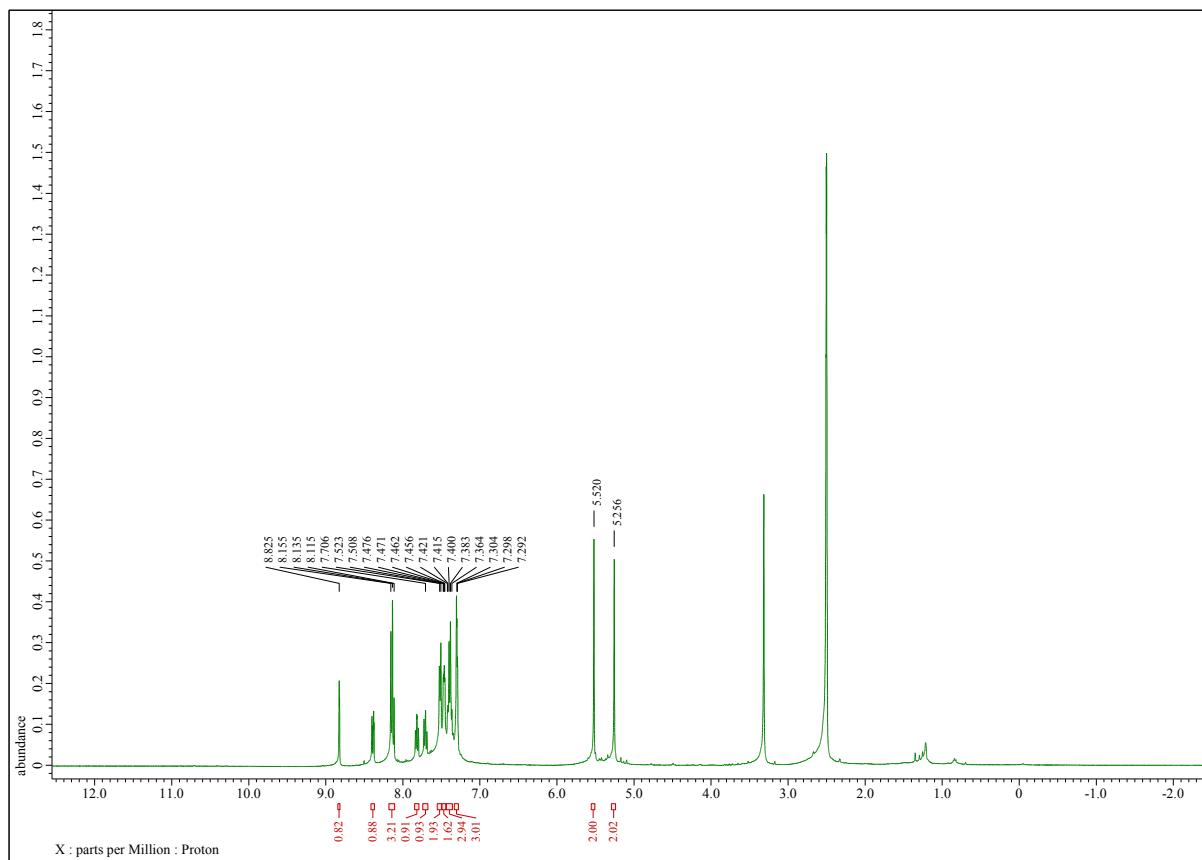
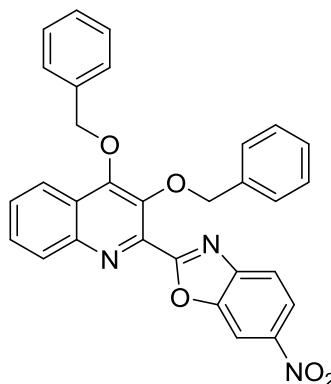


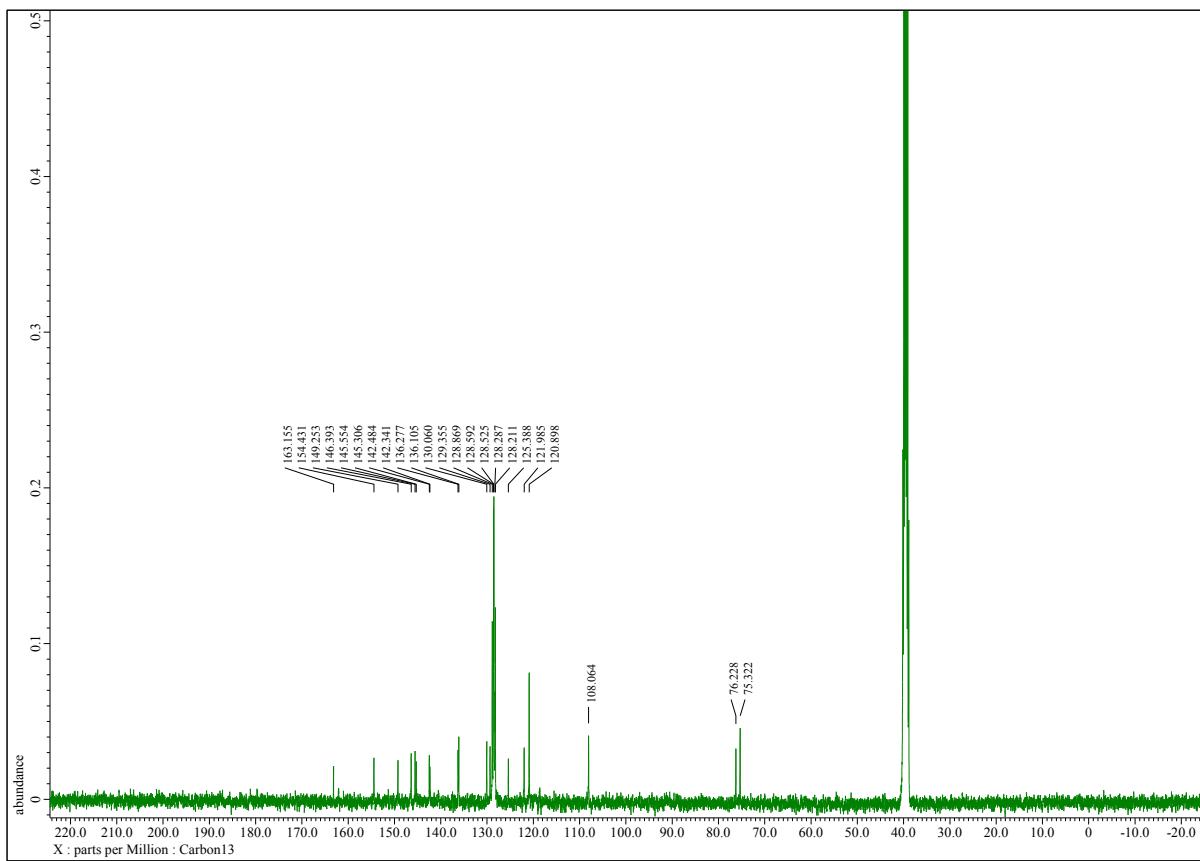
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(3*H*-imidazo[4,5-*c*]pyridin-2-yl)chinolin (41).



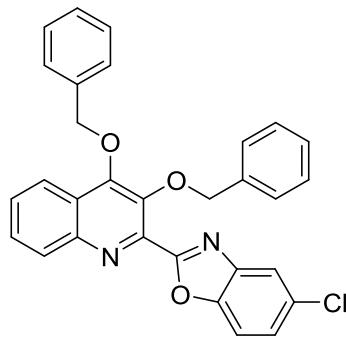


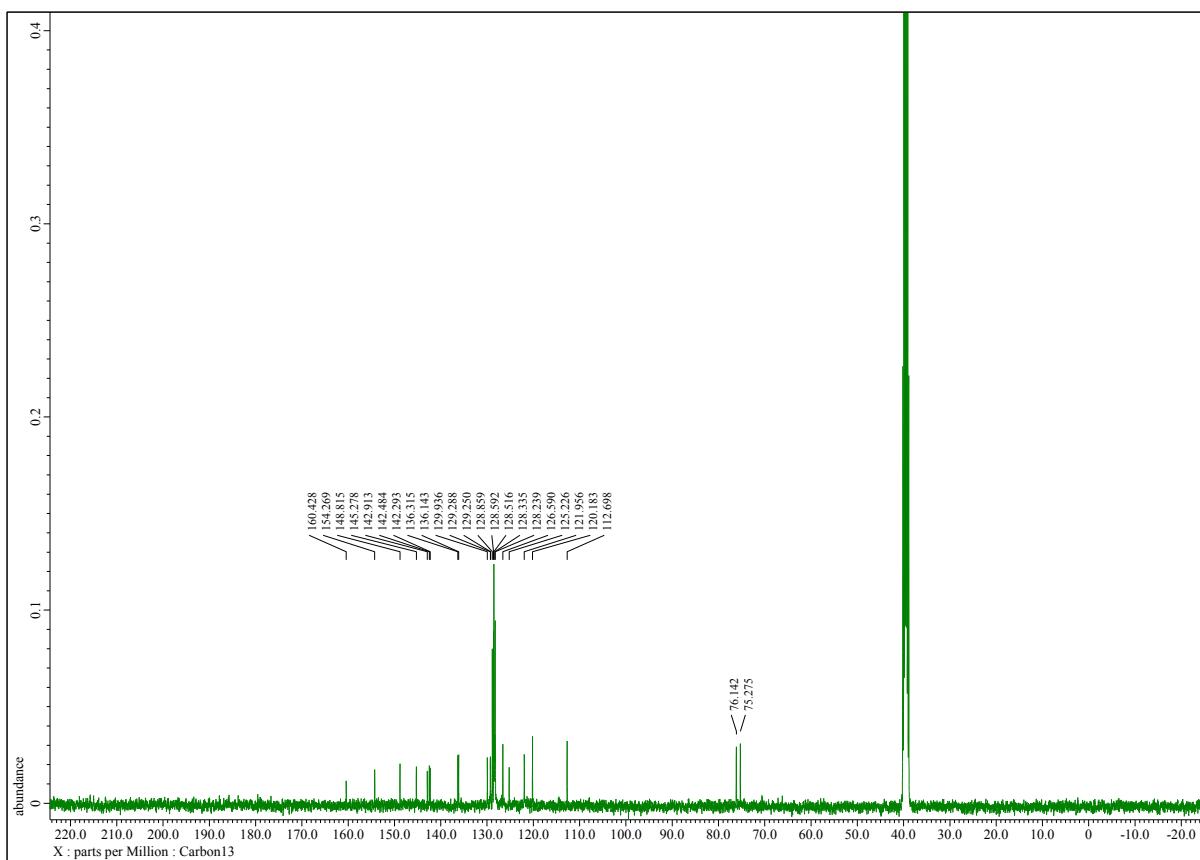
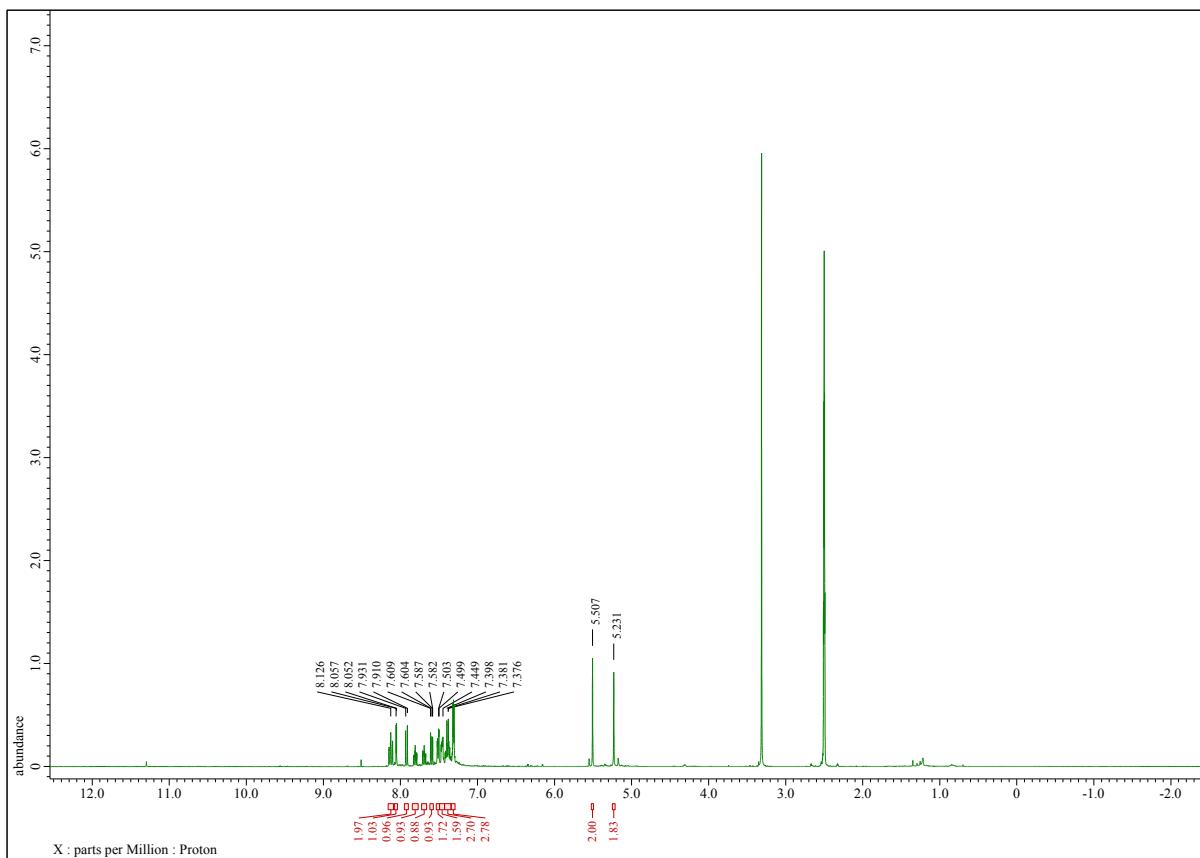
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-6-nitrobenzo[d]oxazol (42).



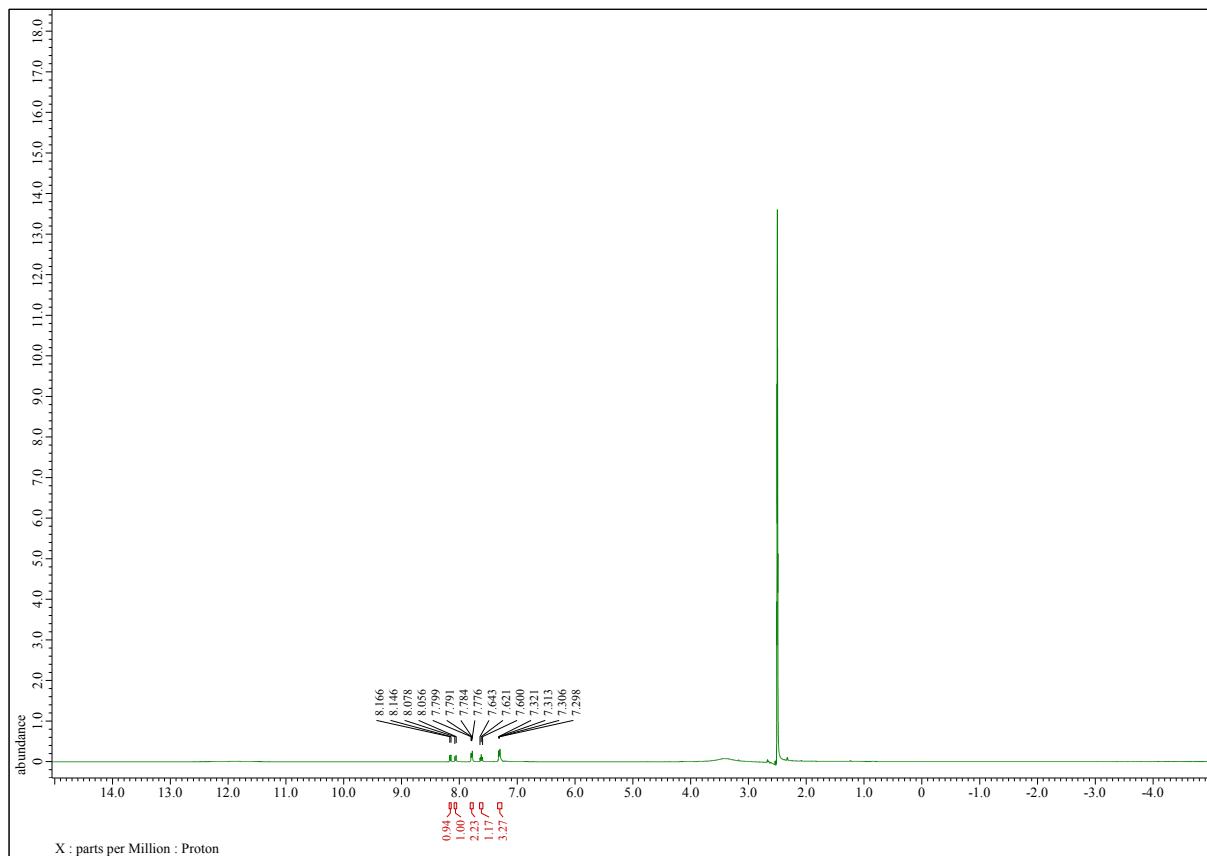
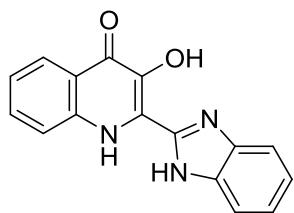


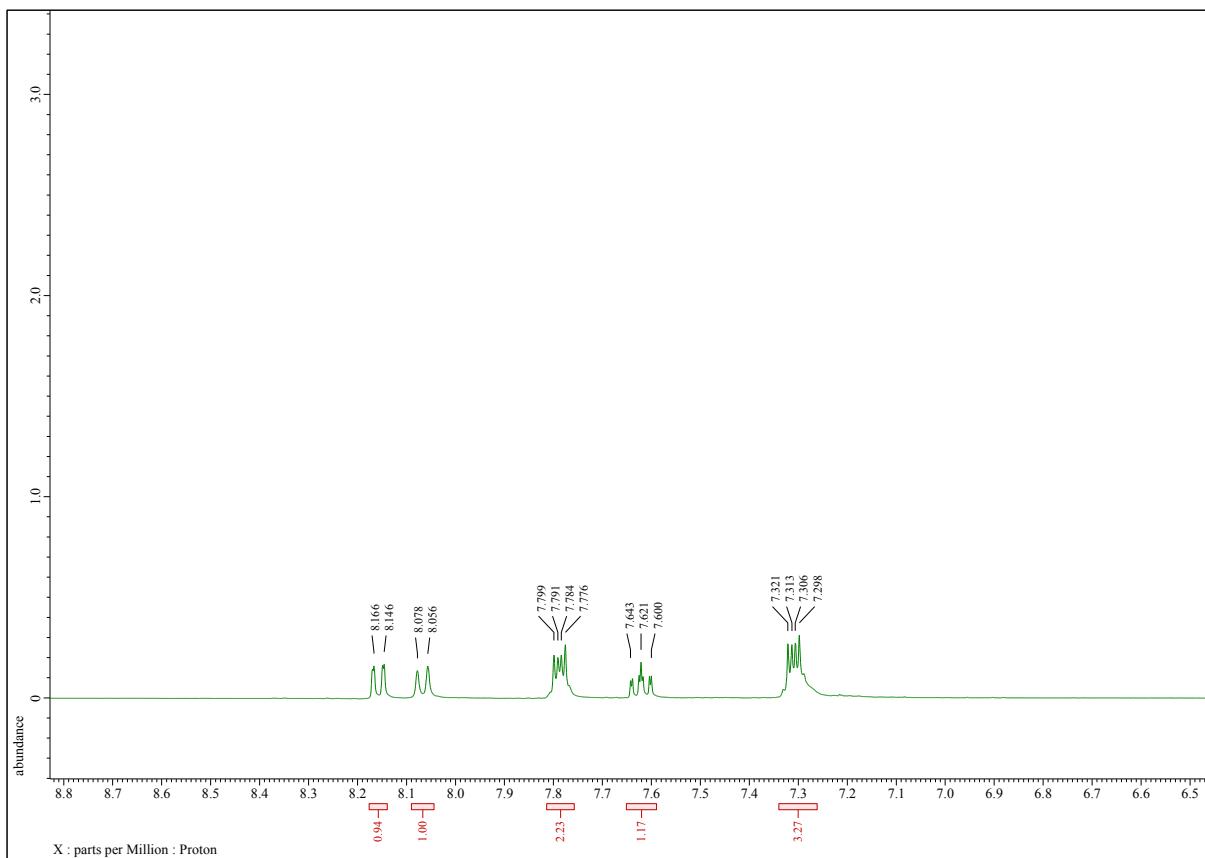
2-(3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)-5-chlorobenzo[d]oxazol (44).



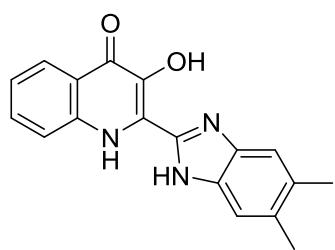


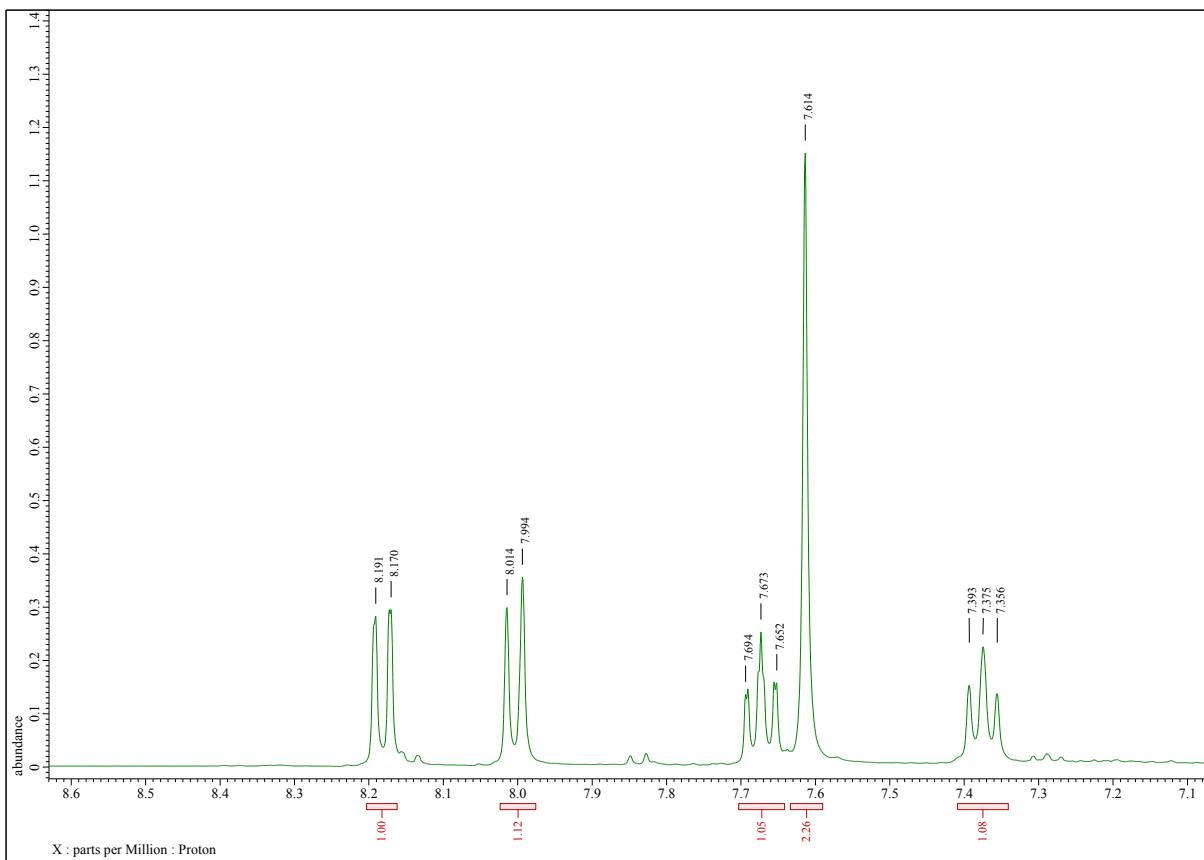
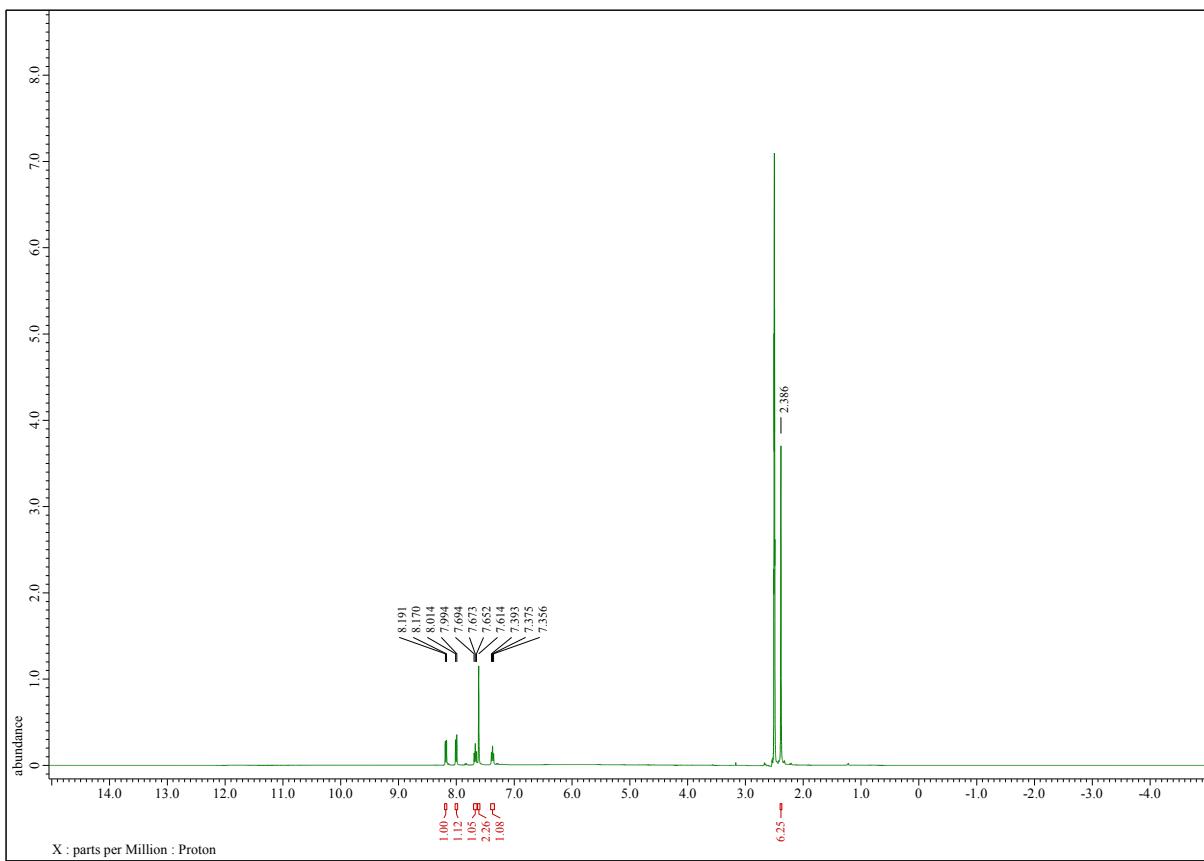
2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on (45).



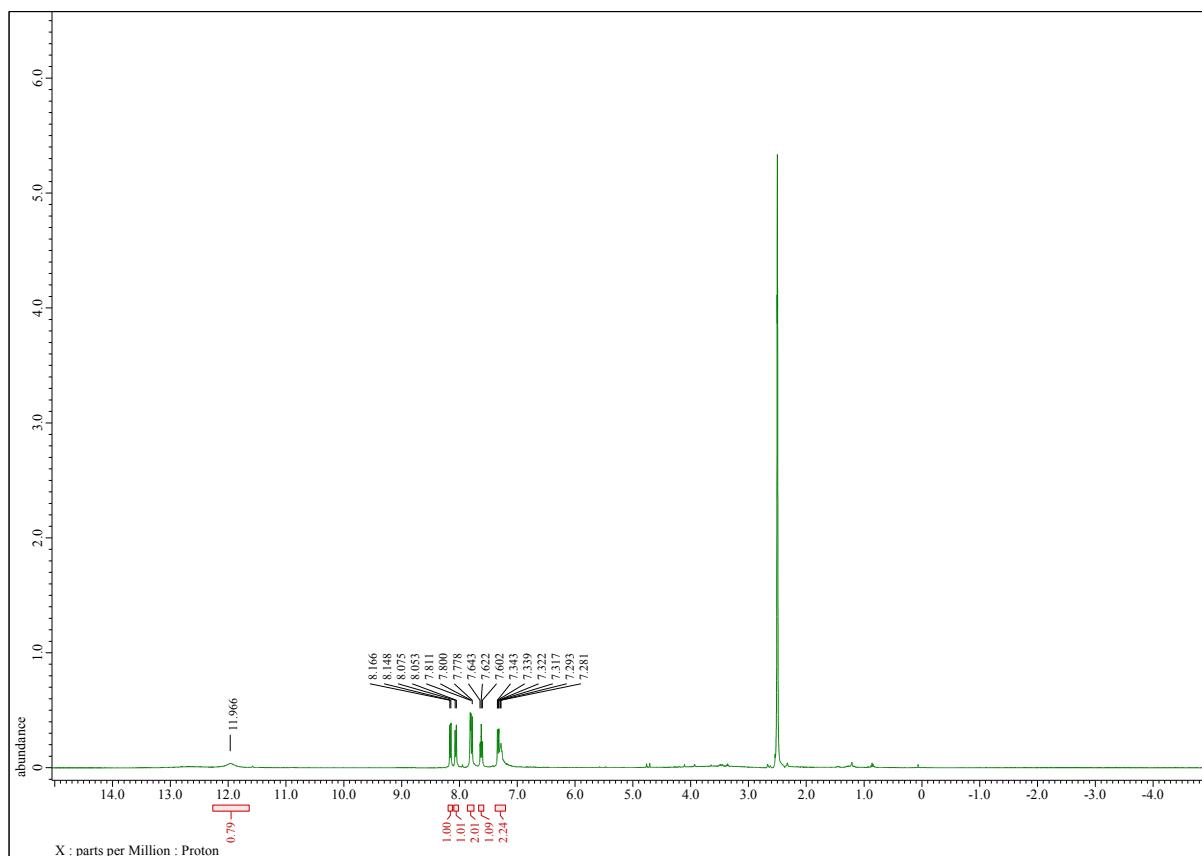
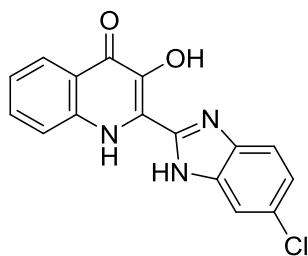


2-(5,6-Dimethyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(*1H*)-on (46**).**

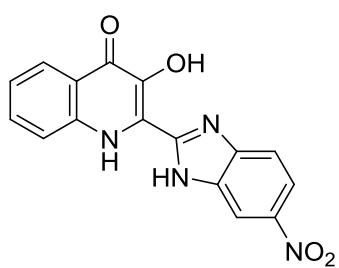


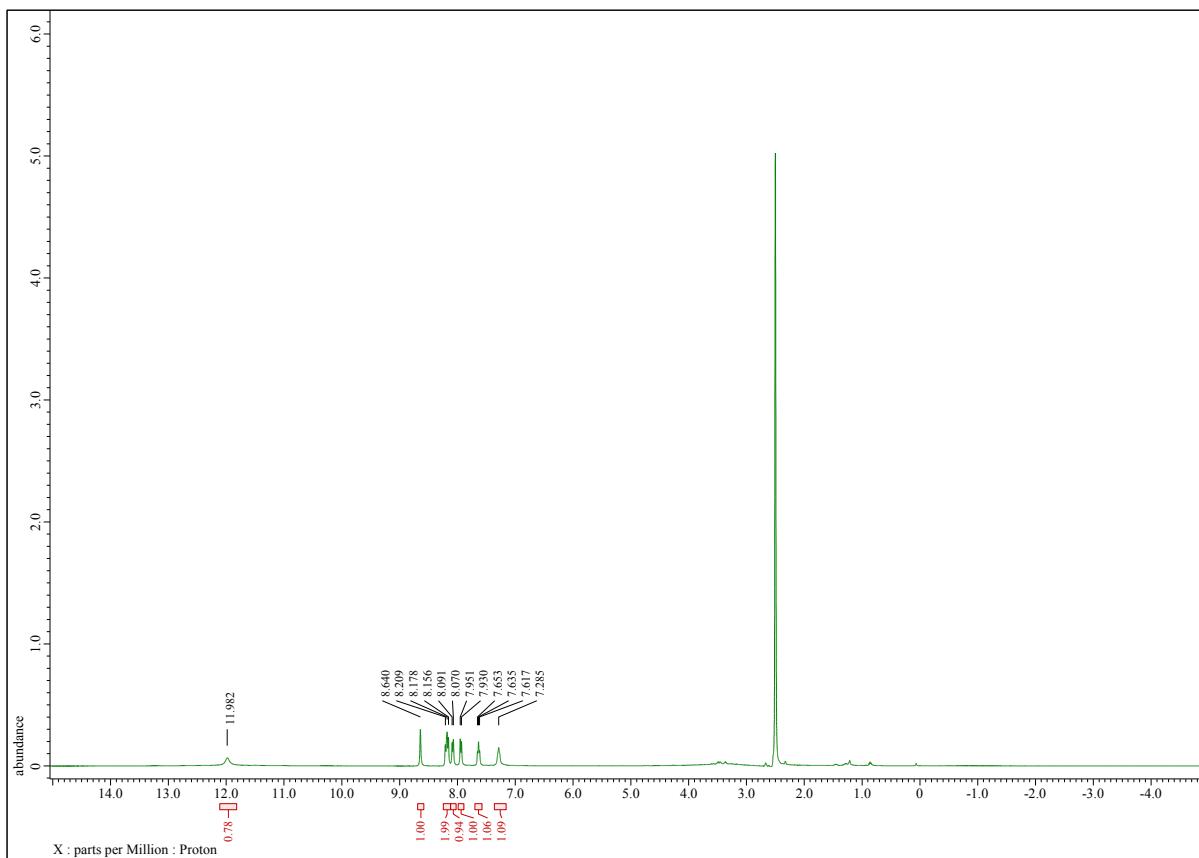


2-(6-chloro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on (47).

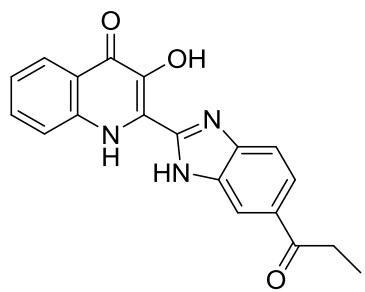


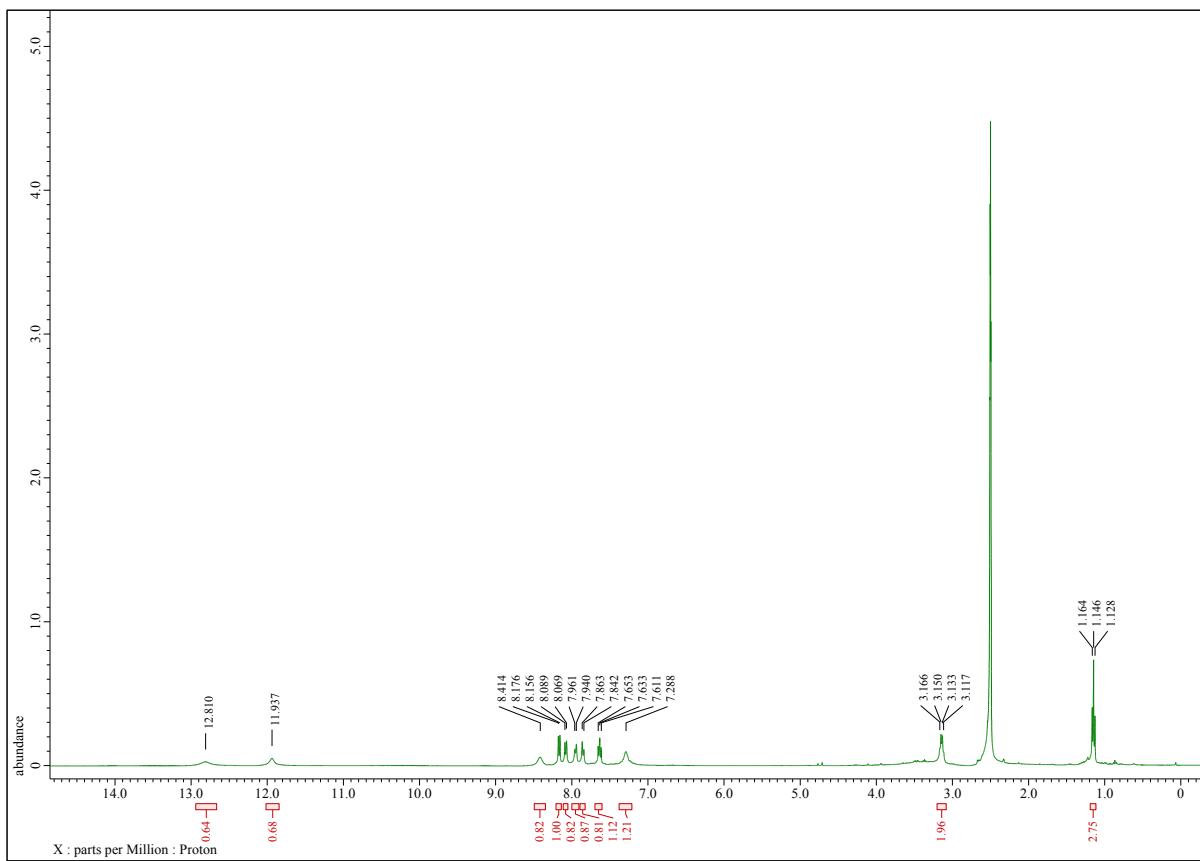
3-Hydroxy-2-(6-nitro-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin-4(1*H*)-on (48).



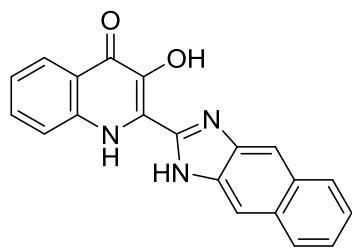


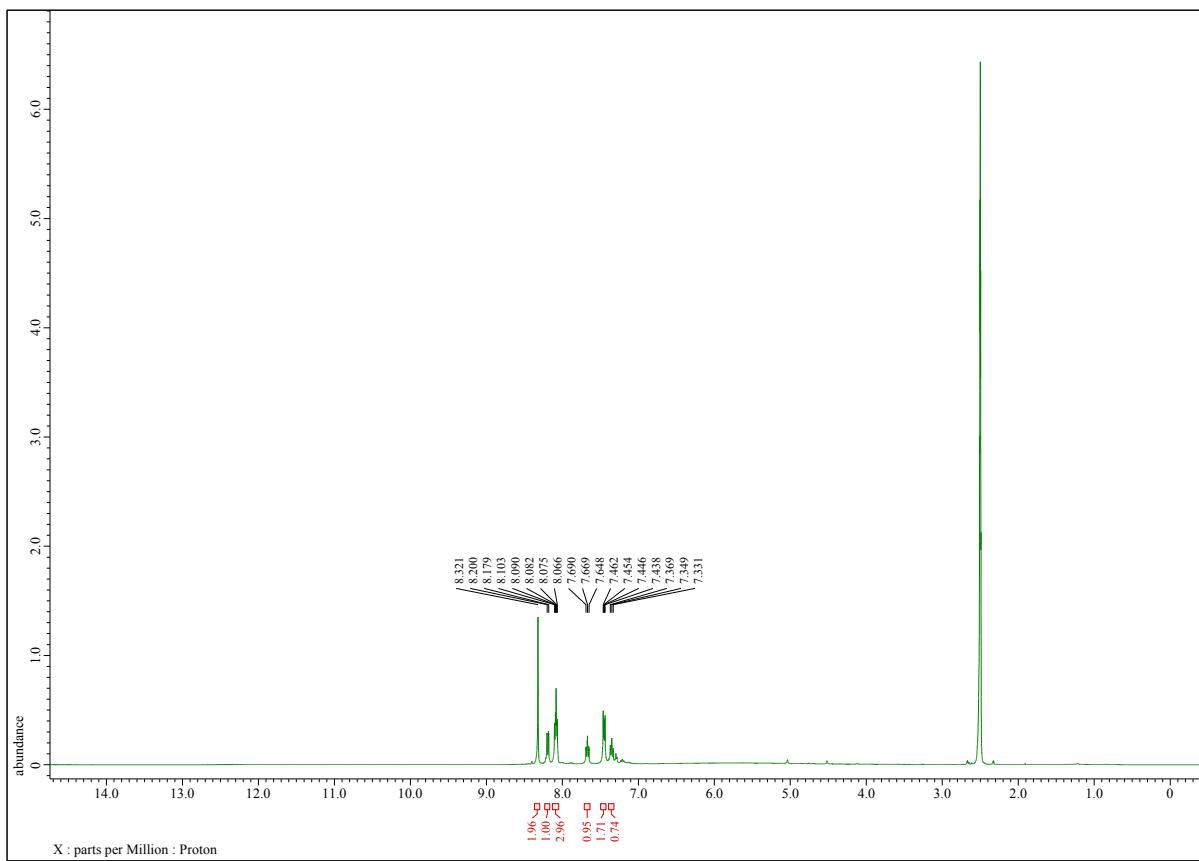
3-Hydroxy-2-(6-propionyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)chinolin-4(*1H*)-on (49).



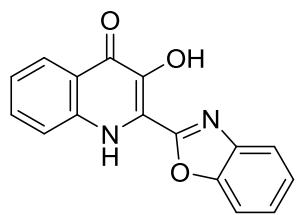


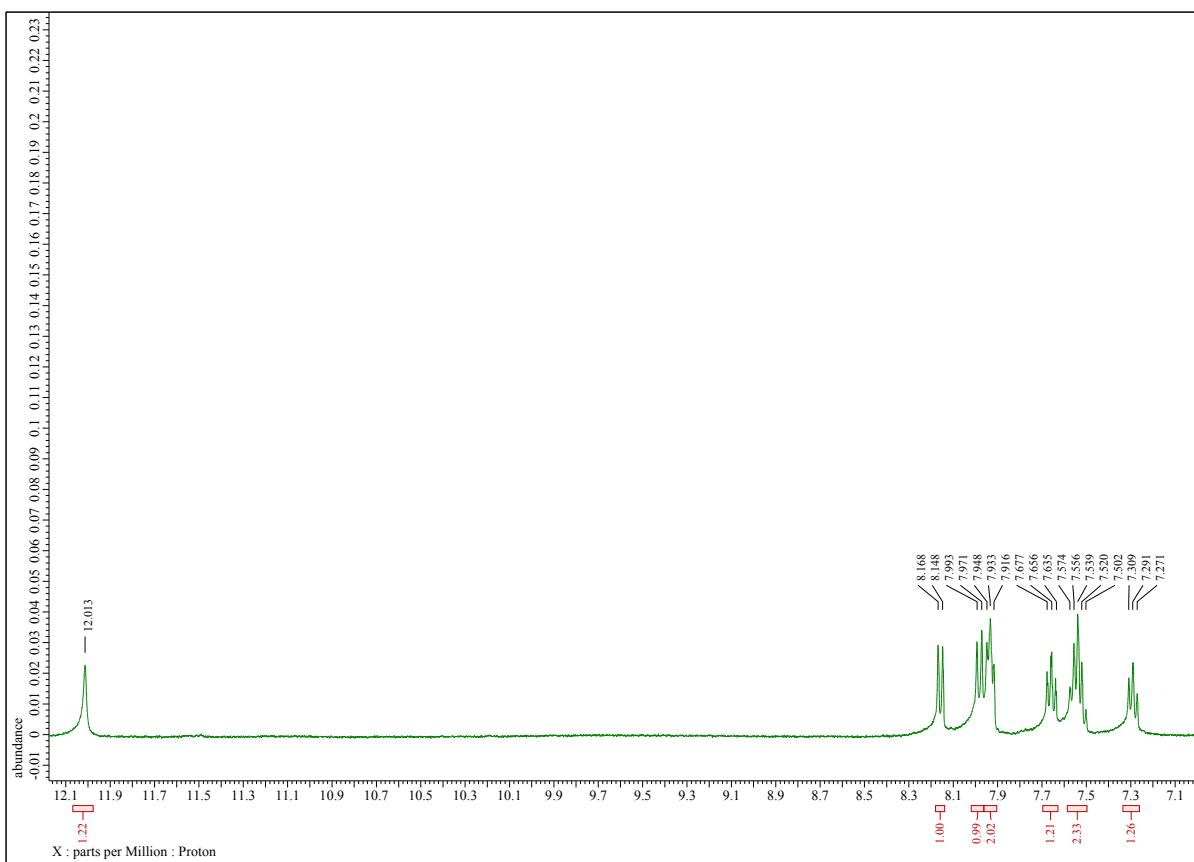
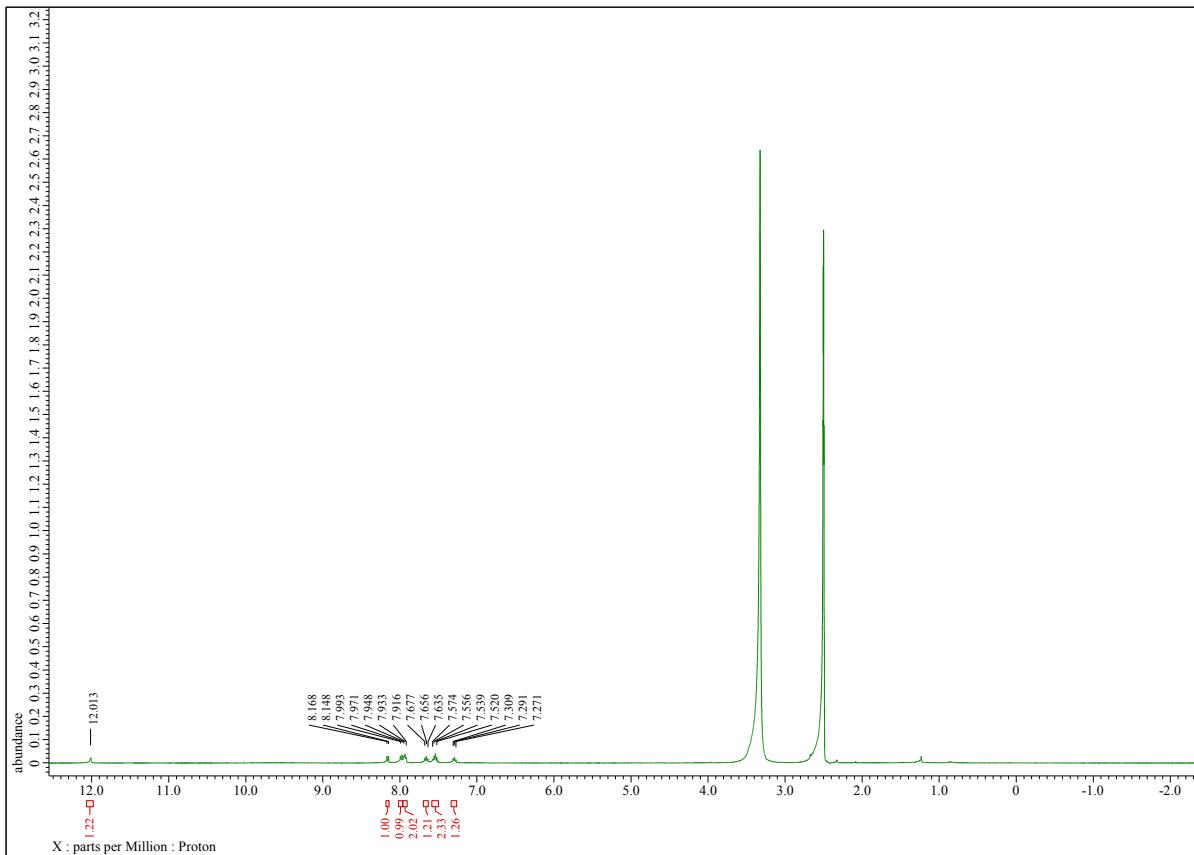
3-Hydroxy-2-(1*H*-naphtho[2,3-*d*]imidazol-2-yl)chinolin-4(1*H*)-on (50).



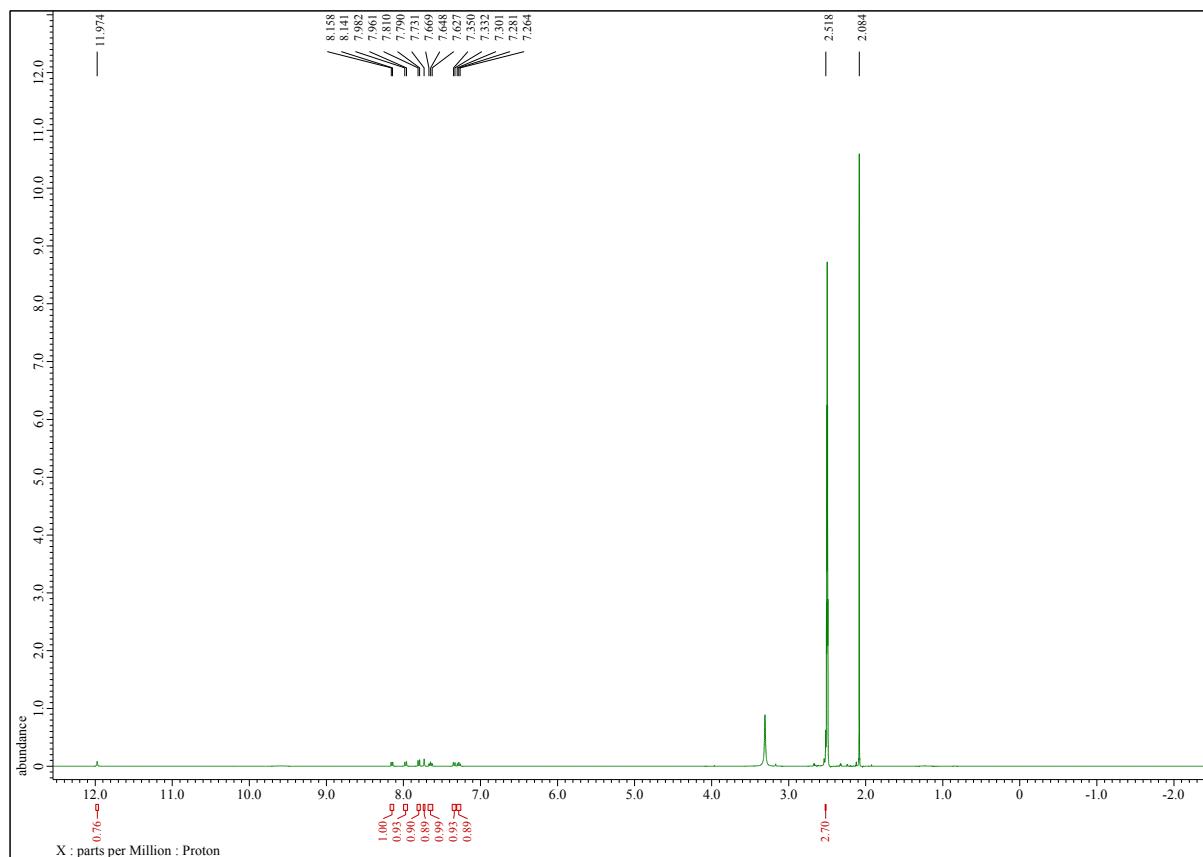
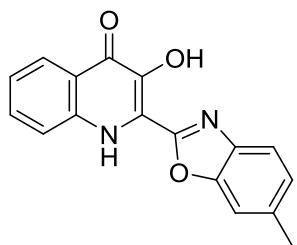


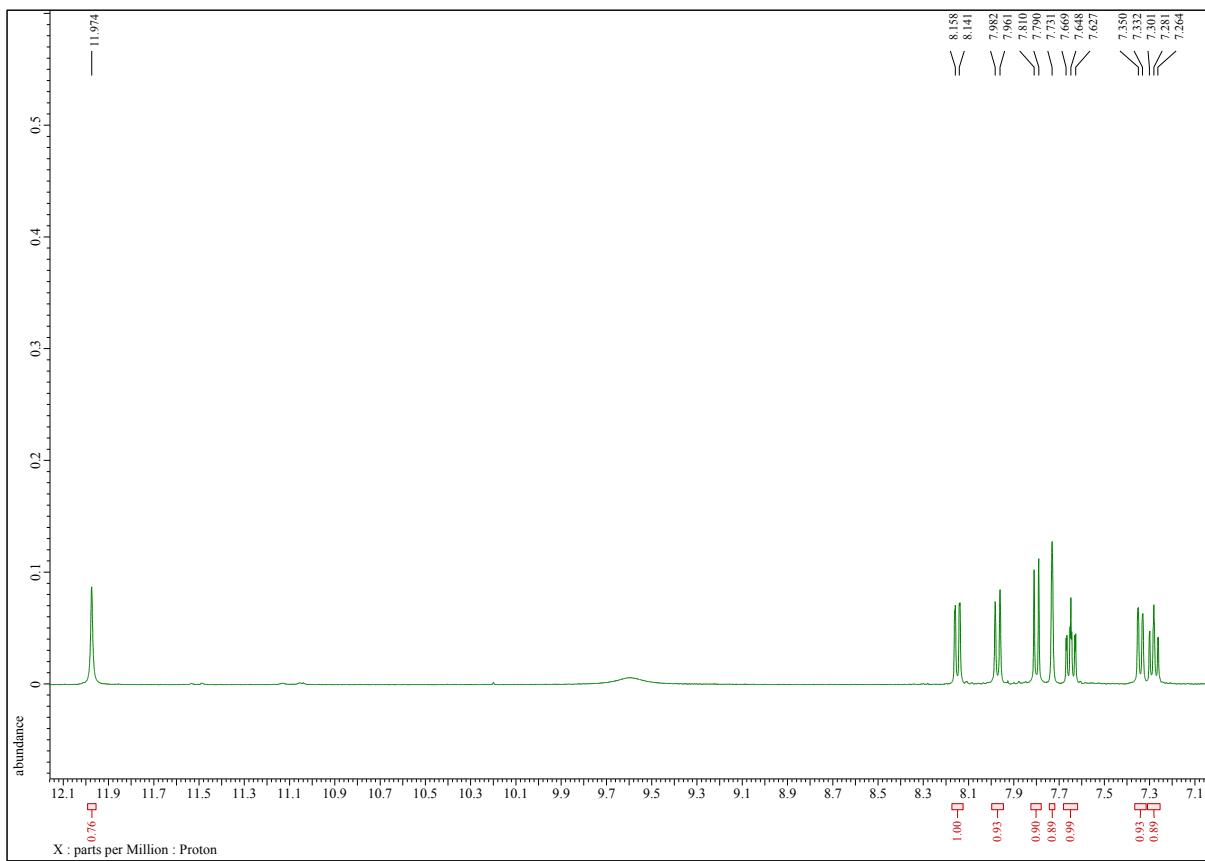
2-(Benzo[d]oxazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(1H)-on (51).



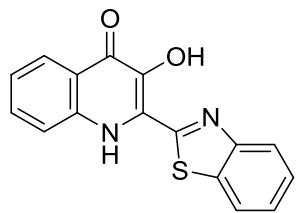


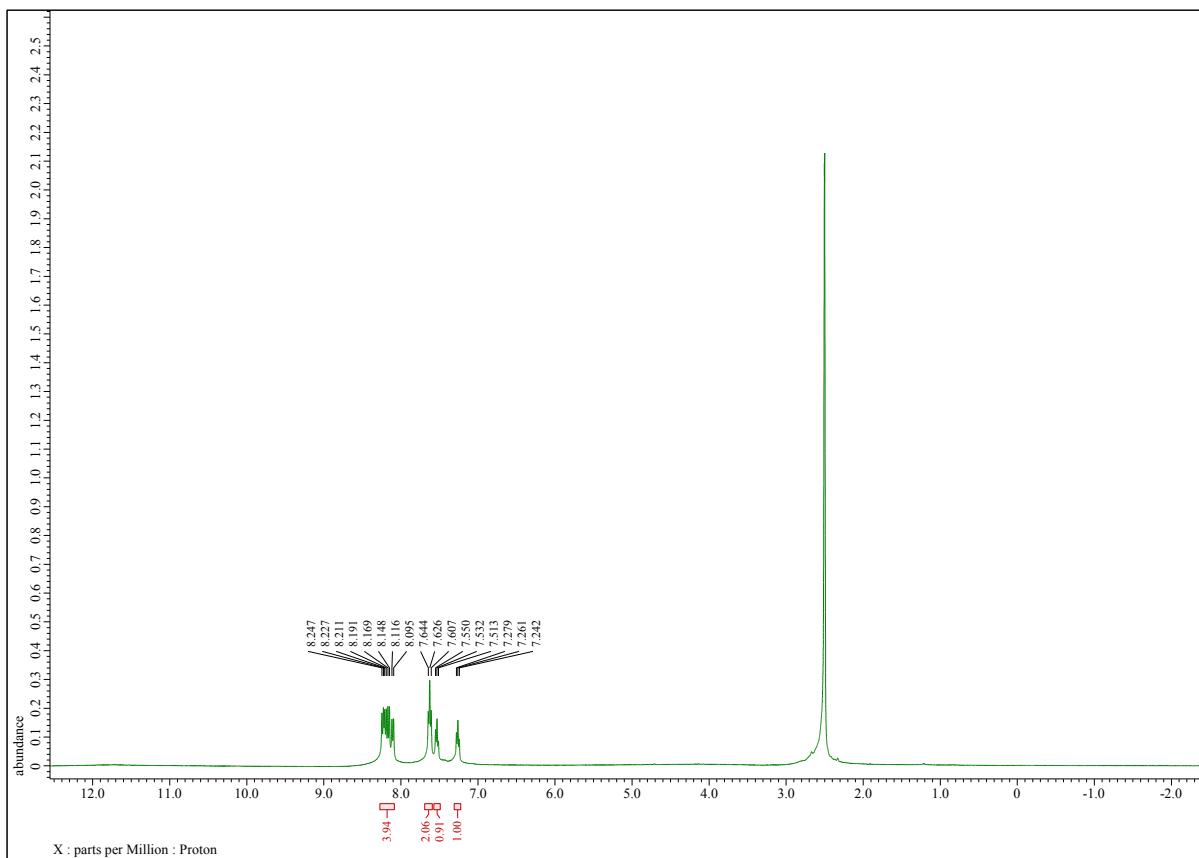
3-Hydroxy-2-(6-methylbenzo[d]oxazol-2-yl)chinolin-4(1H)-on (52).



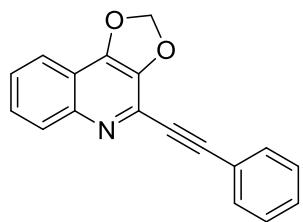


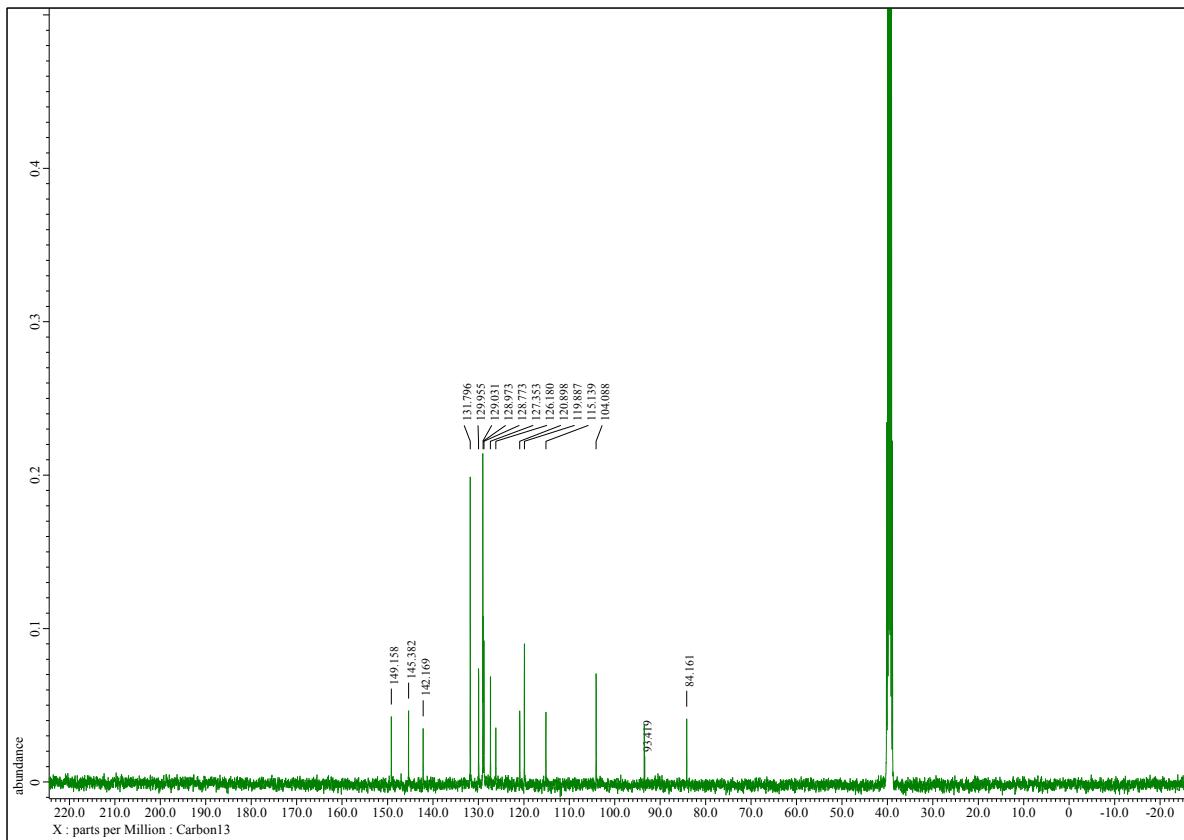
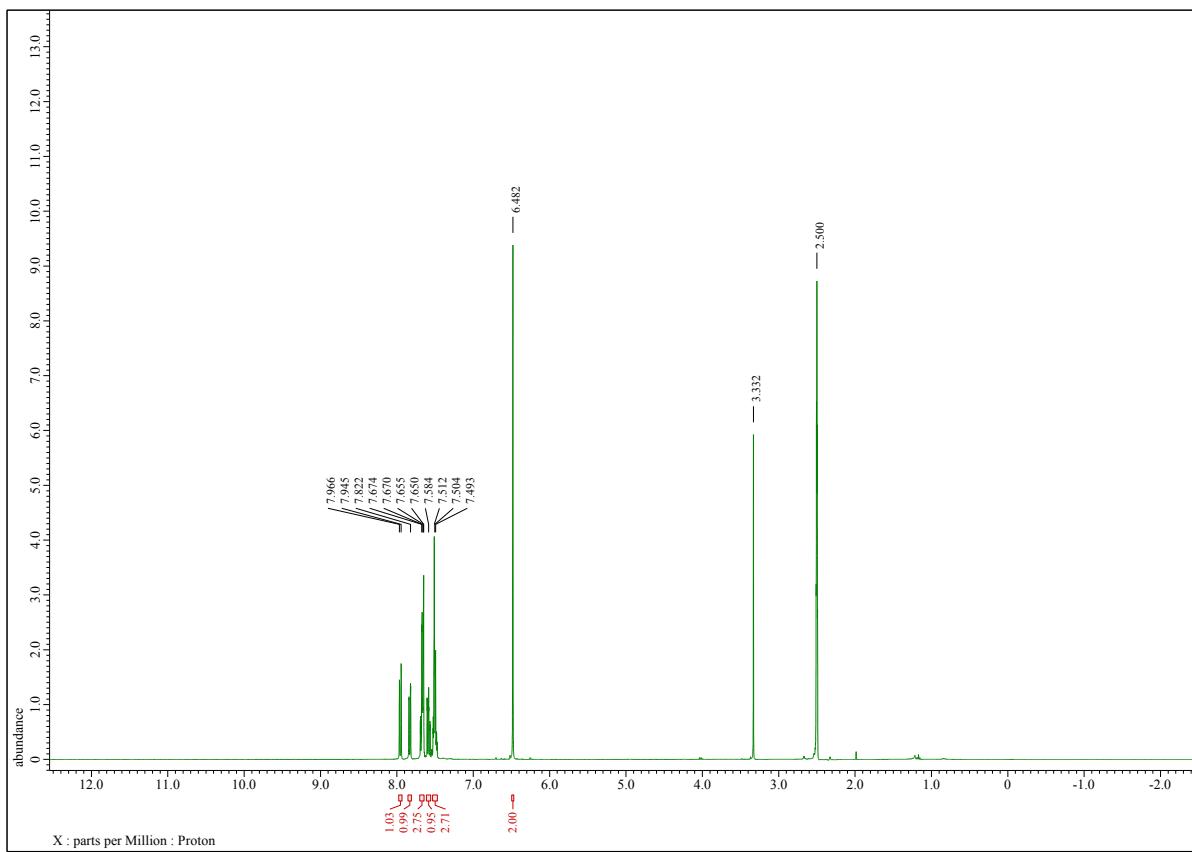
2-(Benzo[*d*]thiazol-2-yl)-3-hydroxychinolin-4(1*H*)-on (53).



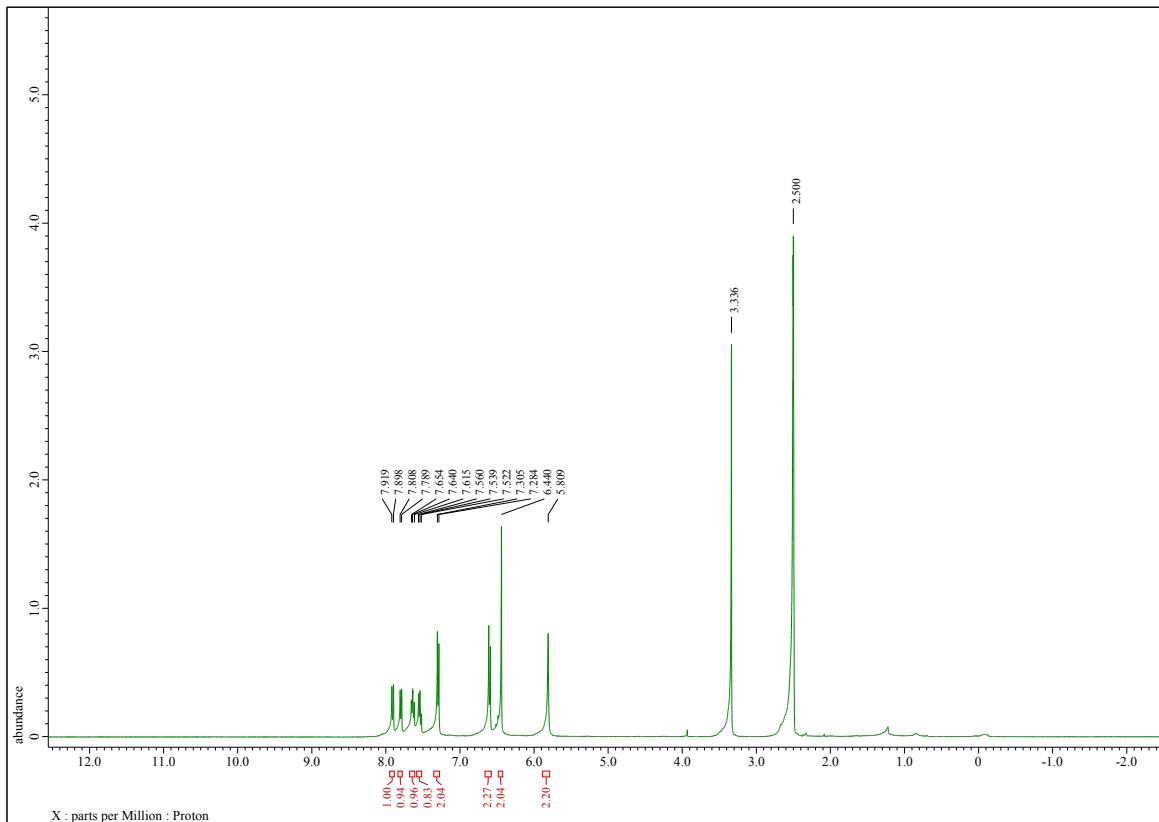
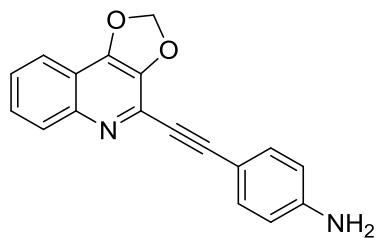


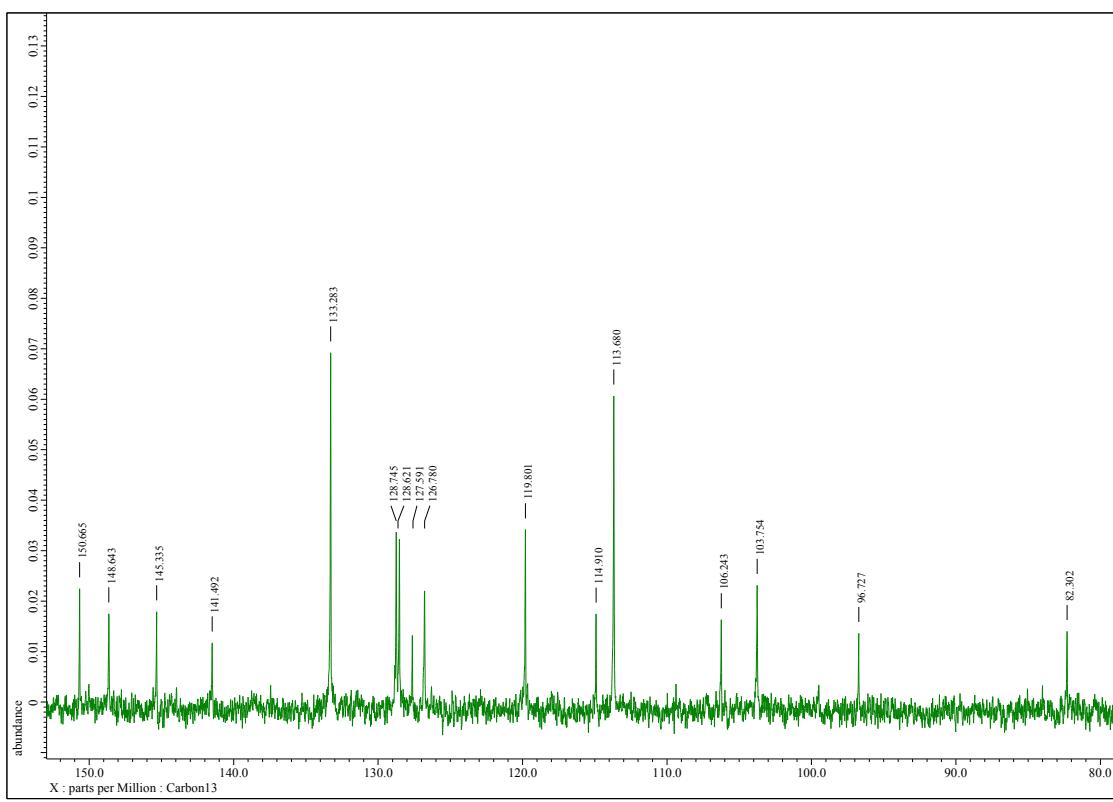
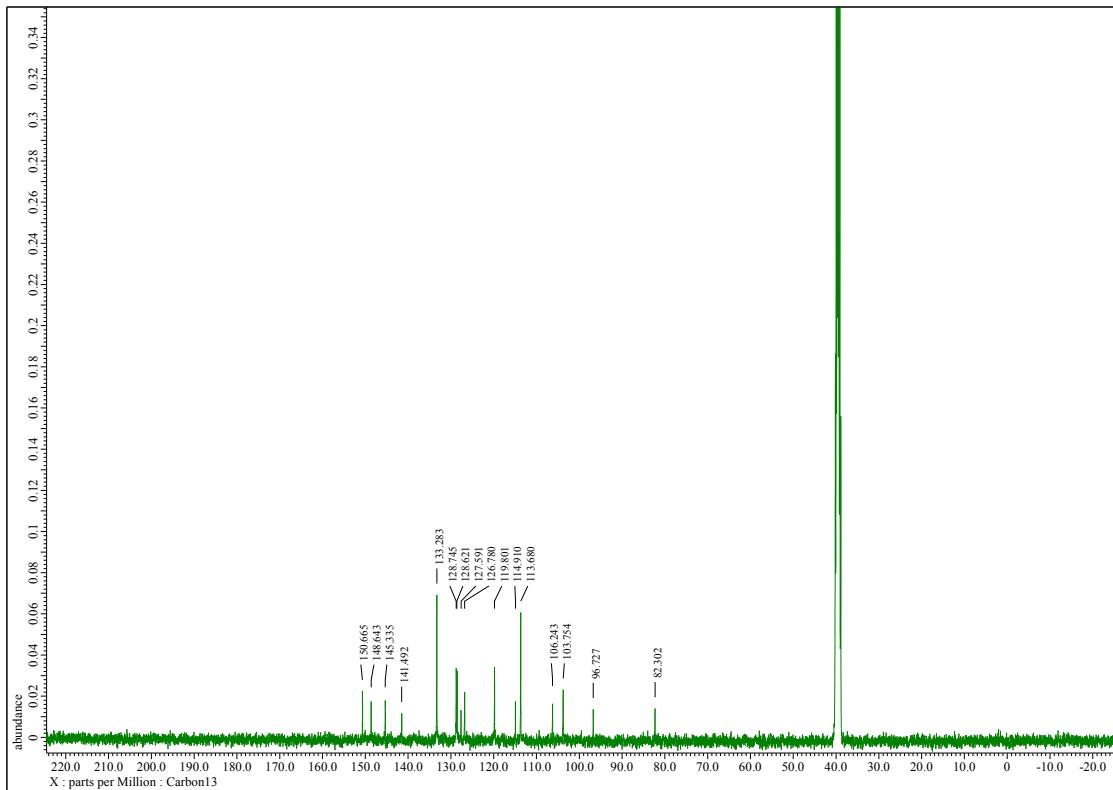
4-(Fenylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (54).



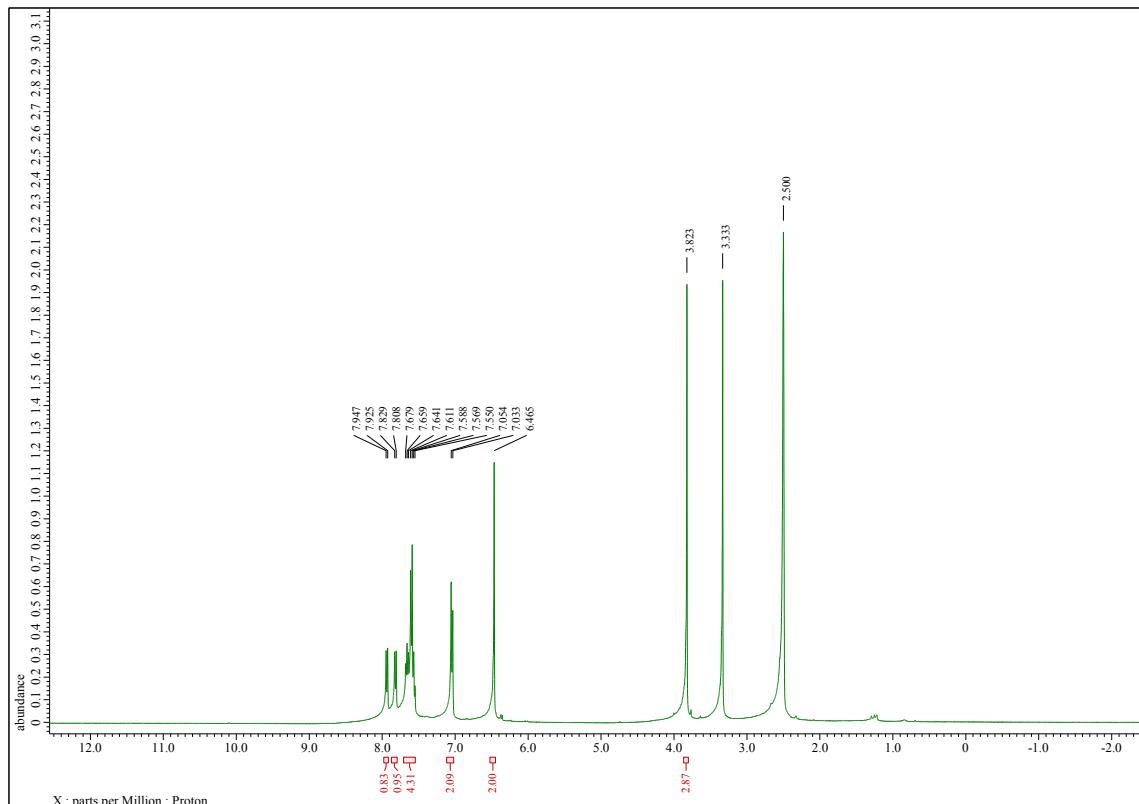
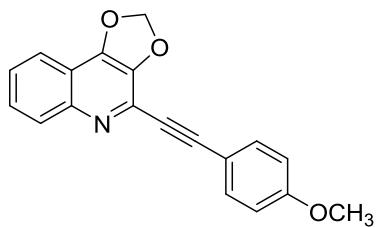


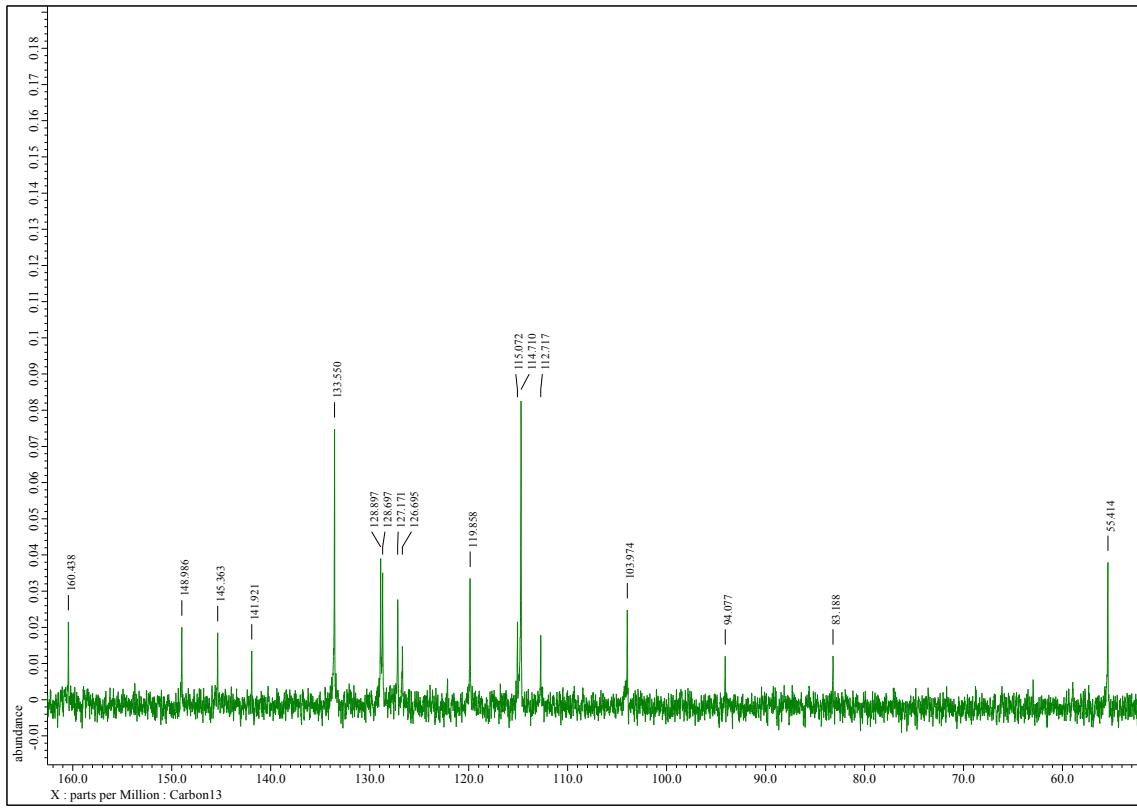
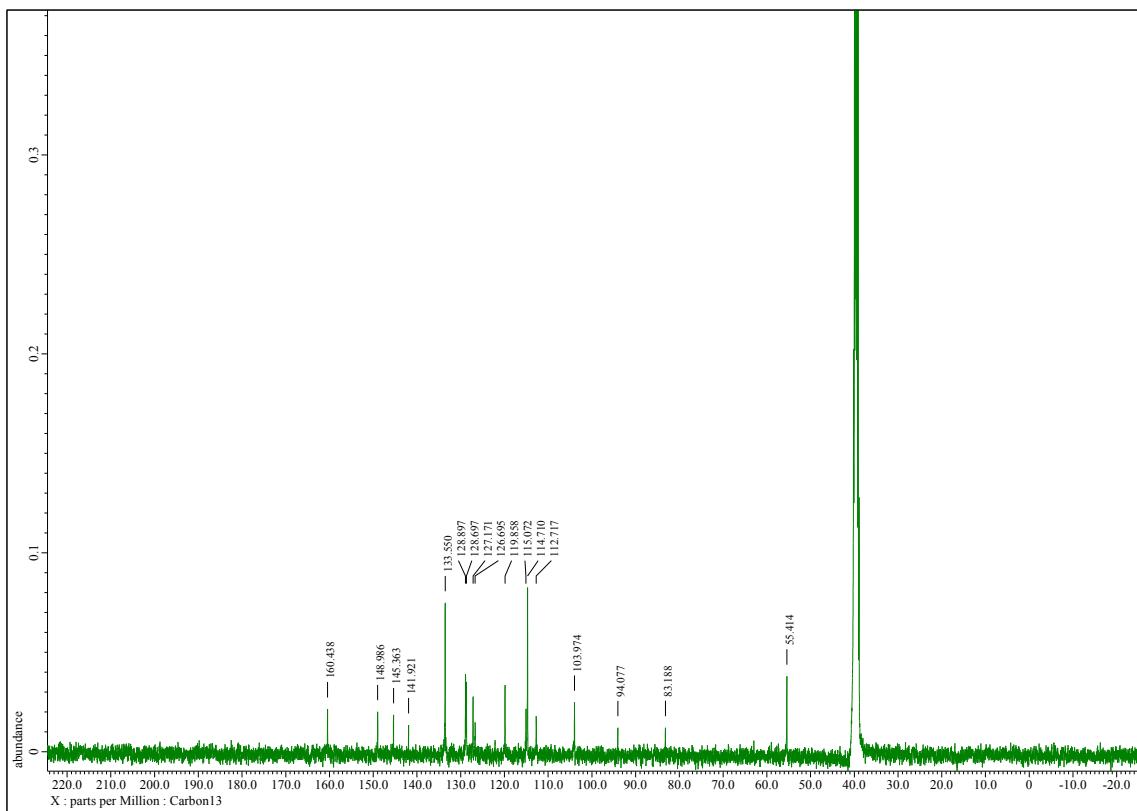
4-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)anilin (55).



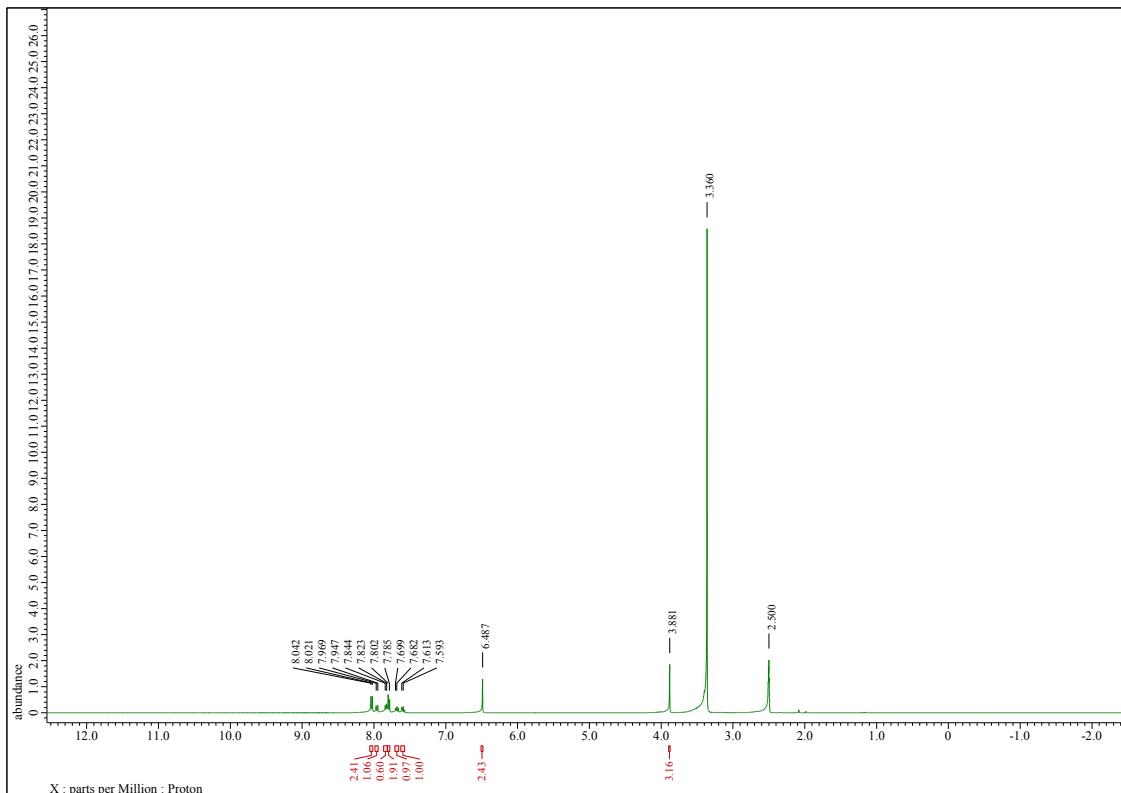
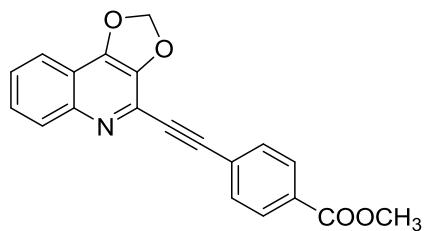


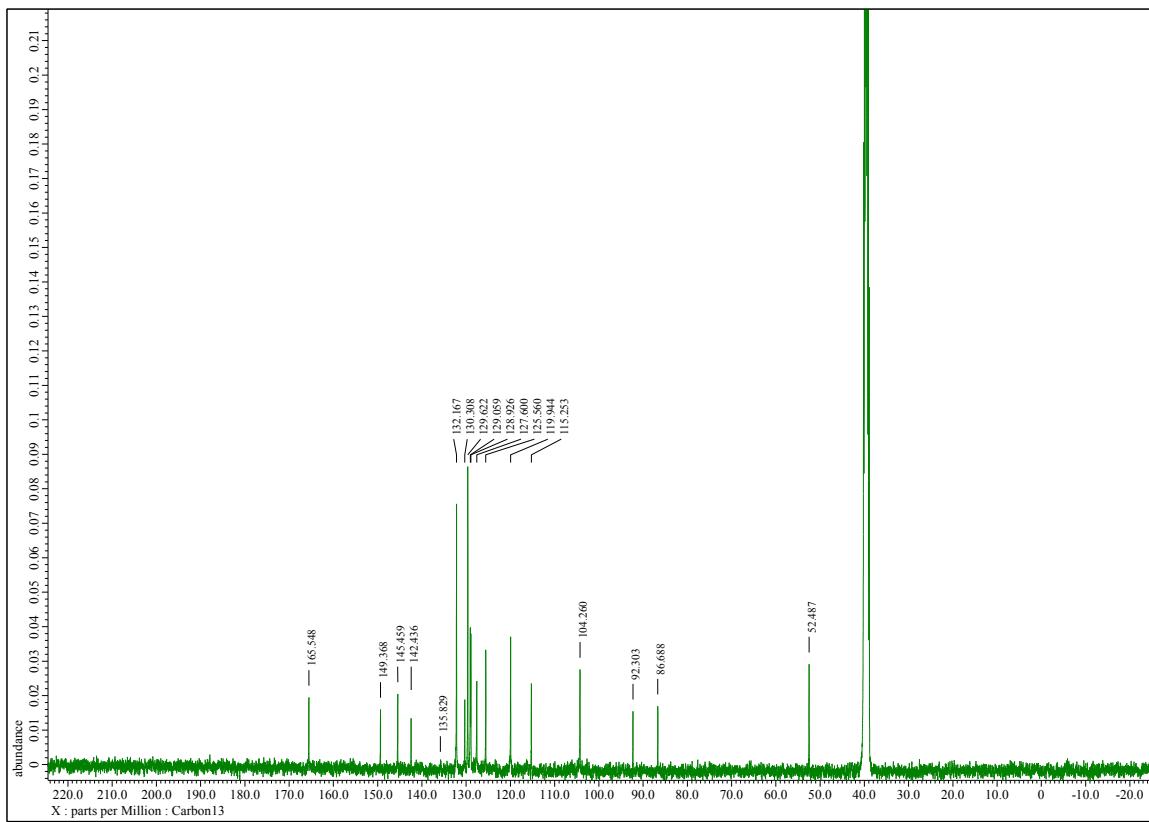
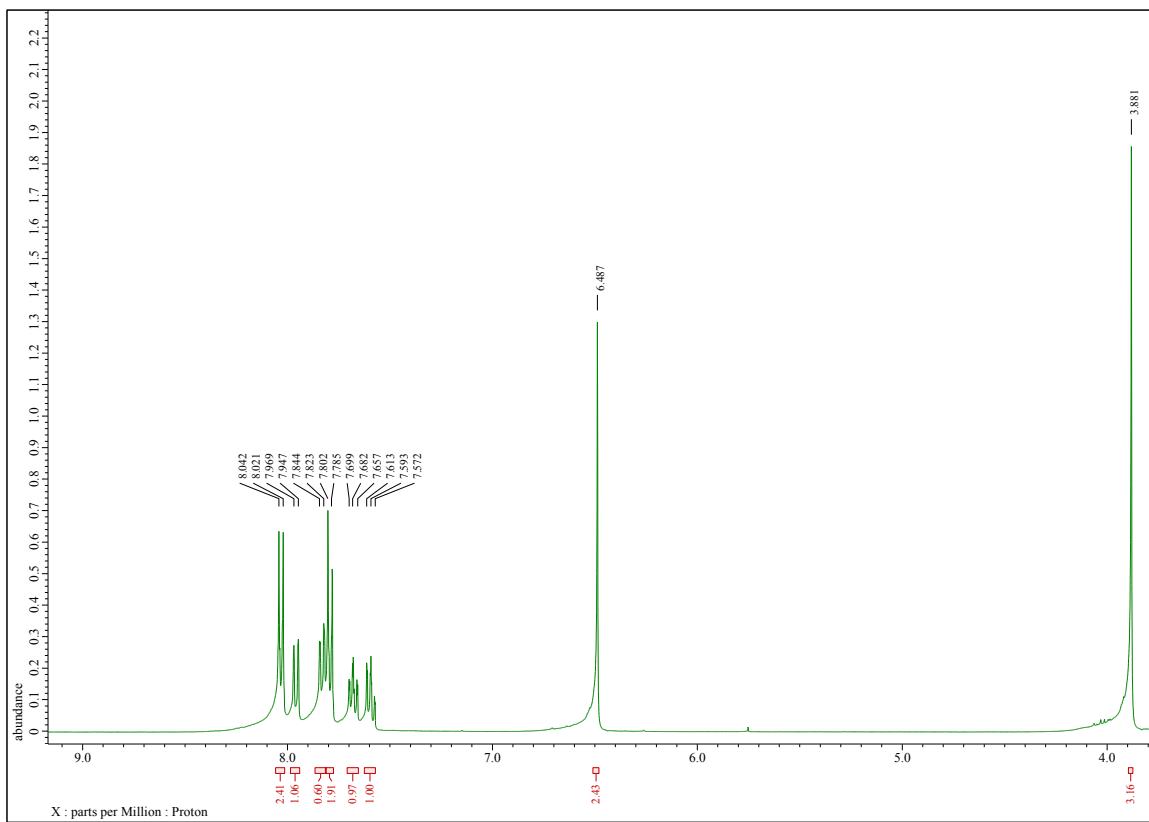
4-((4-Methoxyphenyl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (56**).**



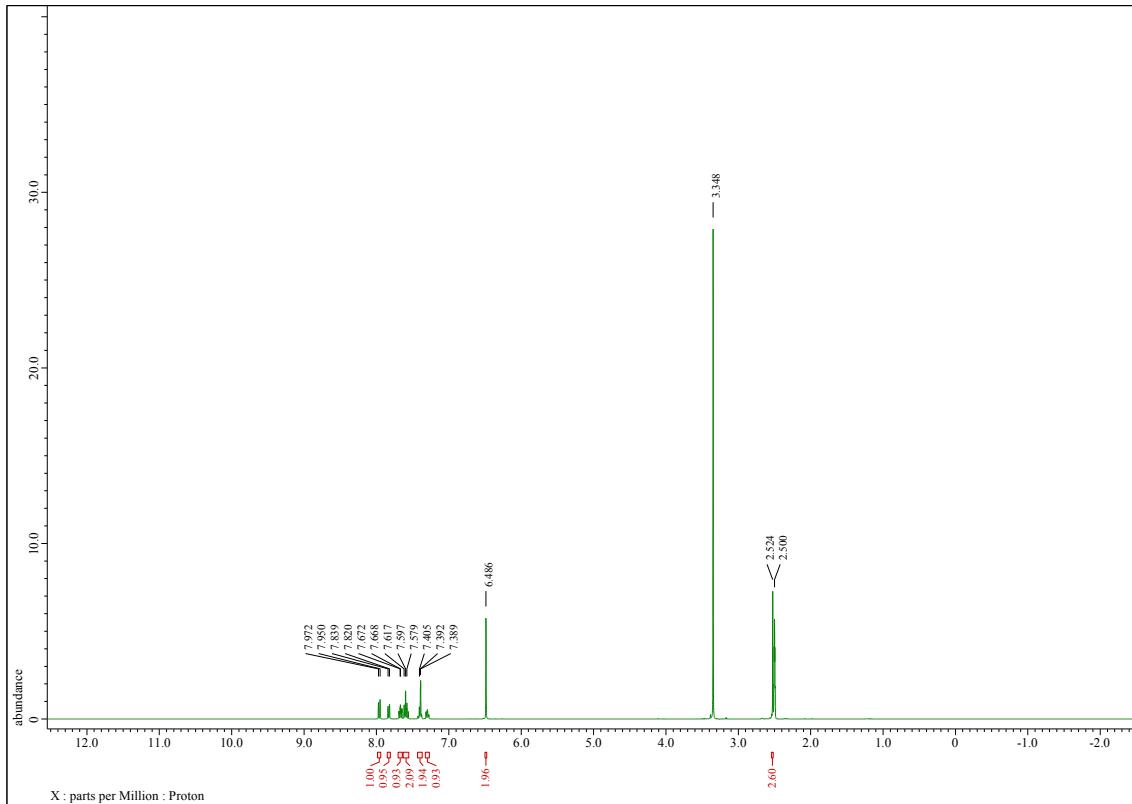
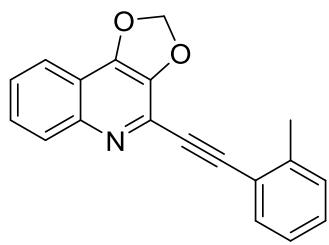


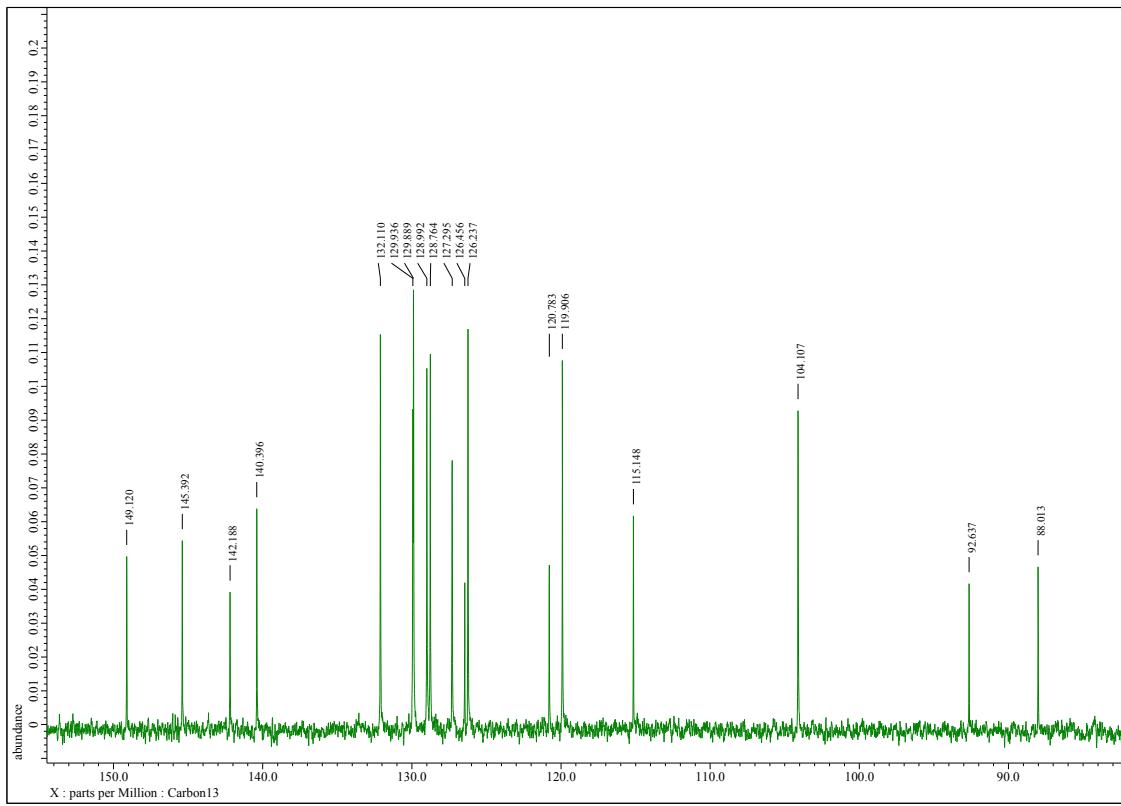
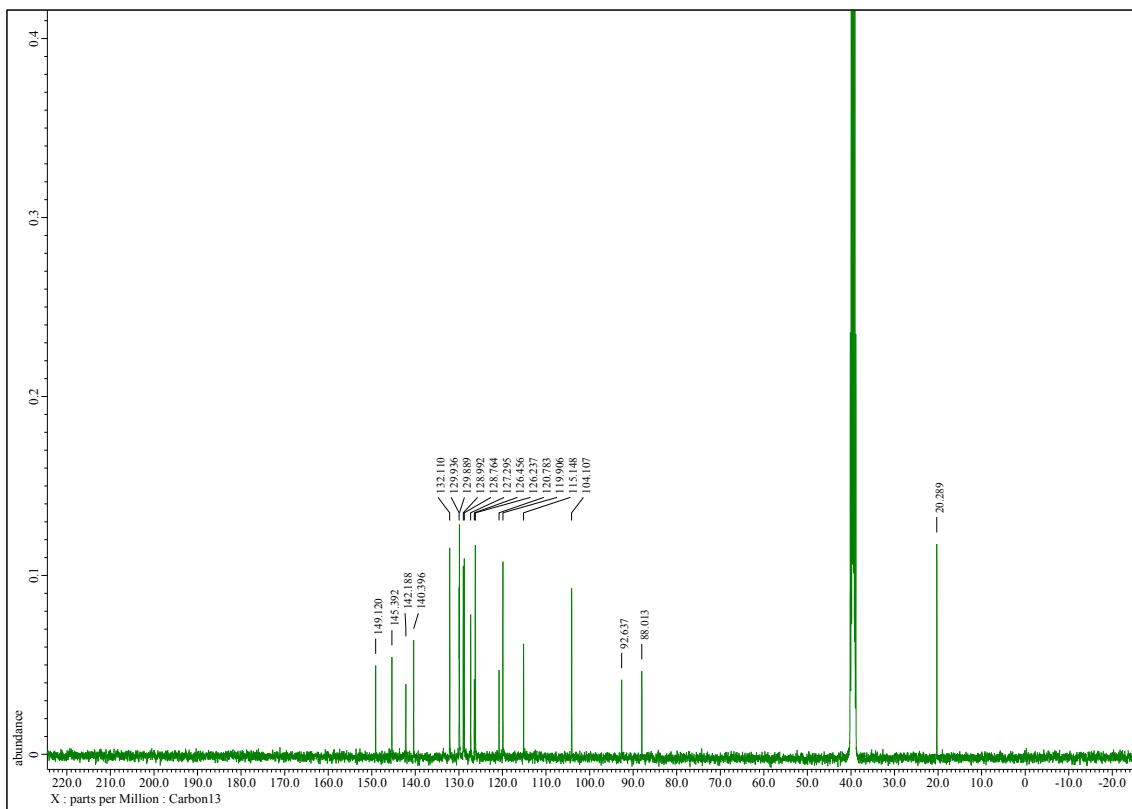
Methyl 4-([1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)benzoát (57).



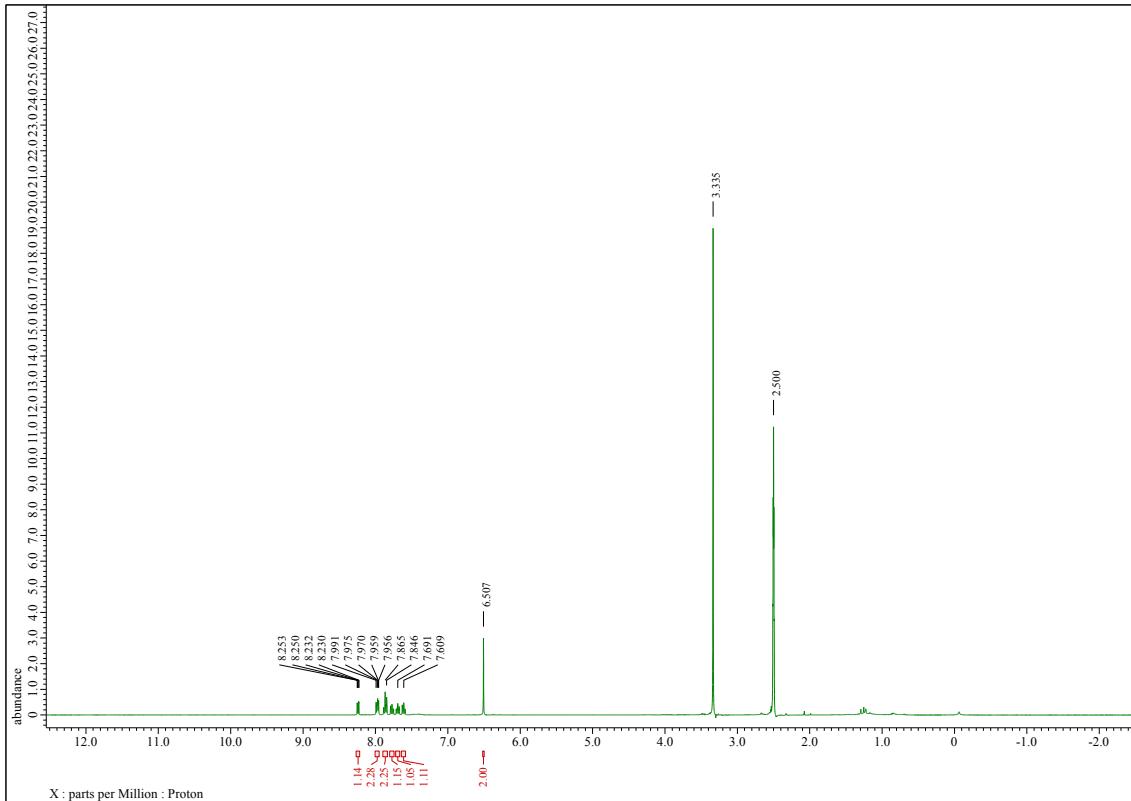
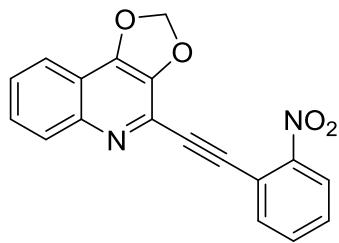


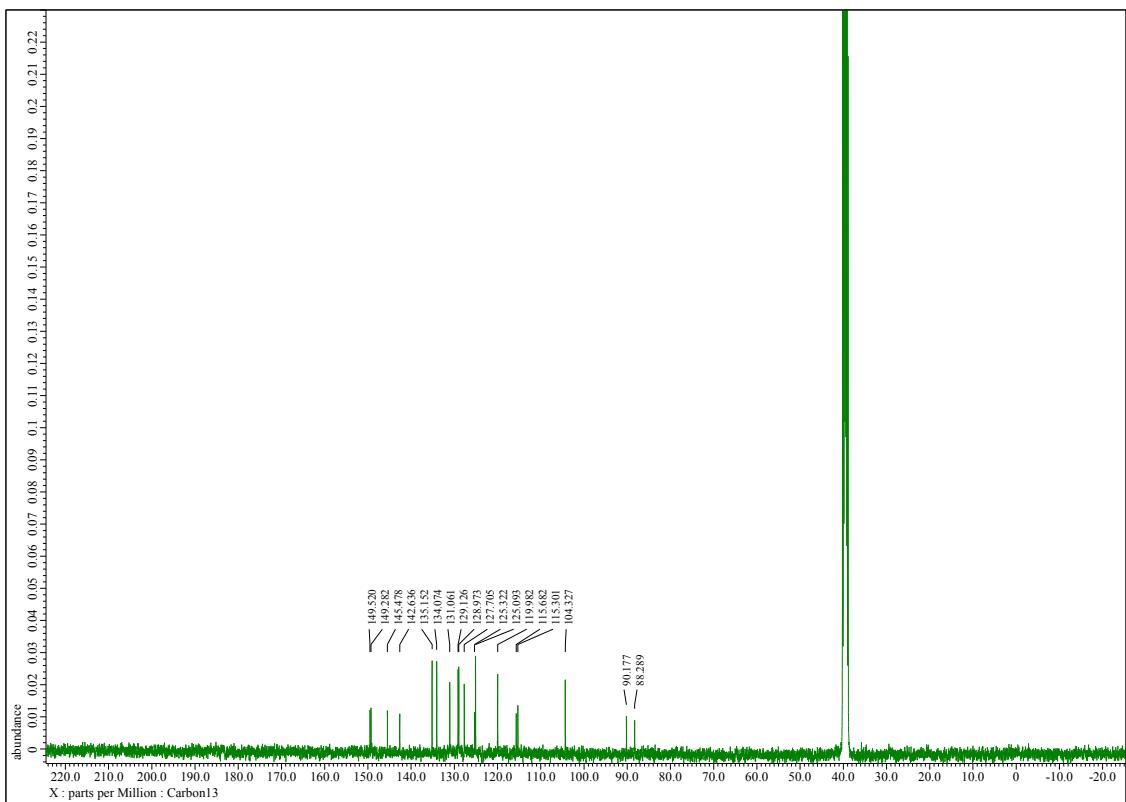
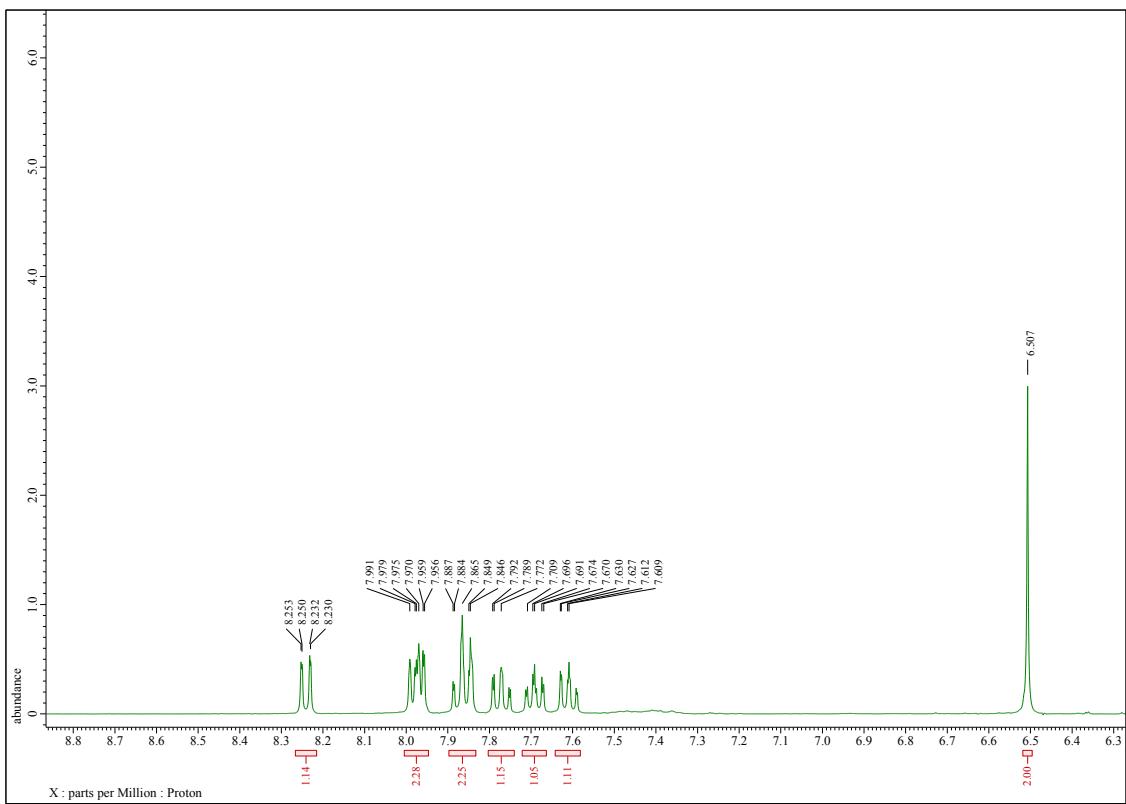
4-(*O*-tolylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (58).

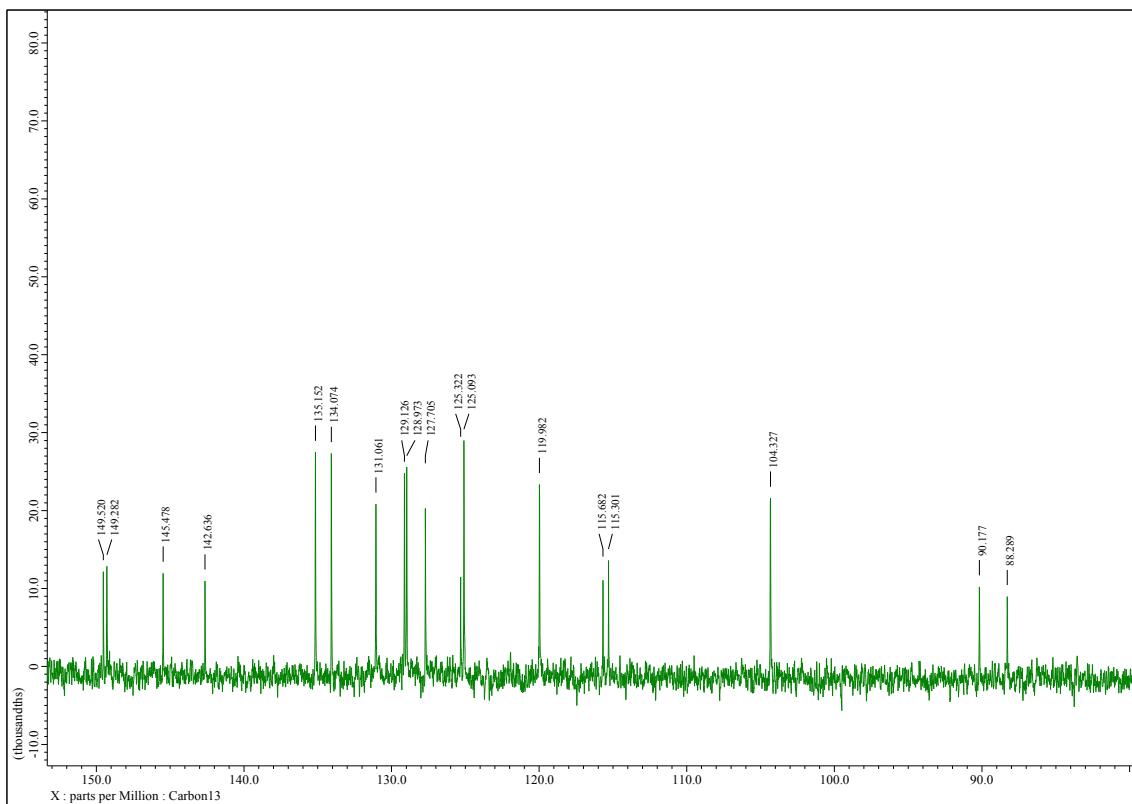




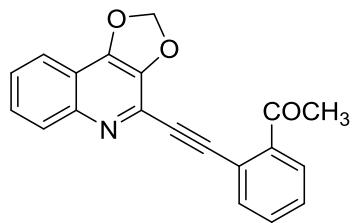
4-((2-Nitrophenyl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (59**).**

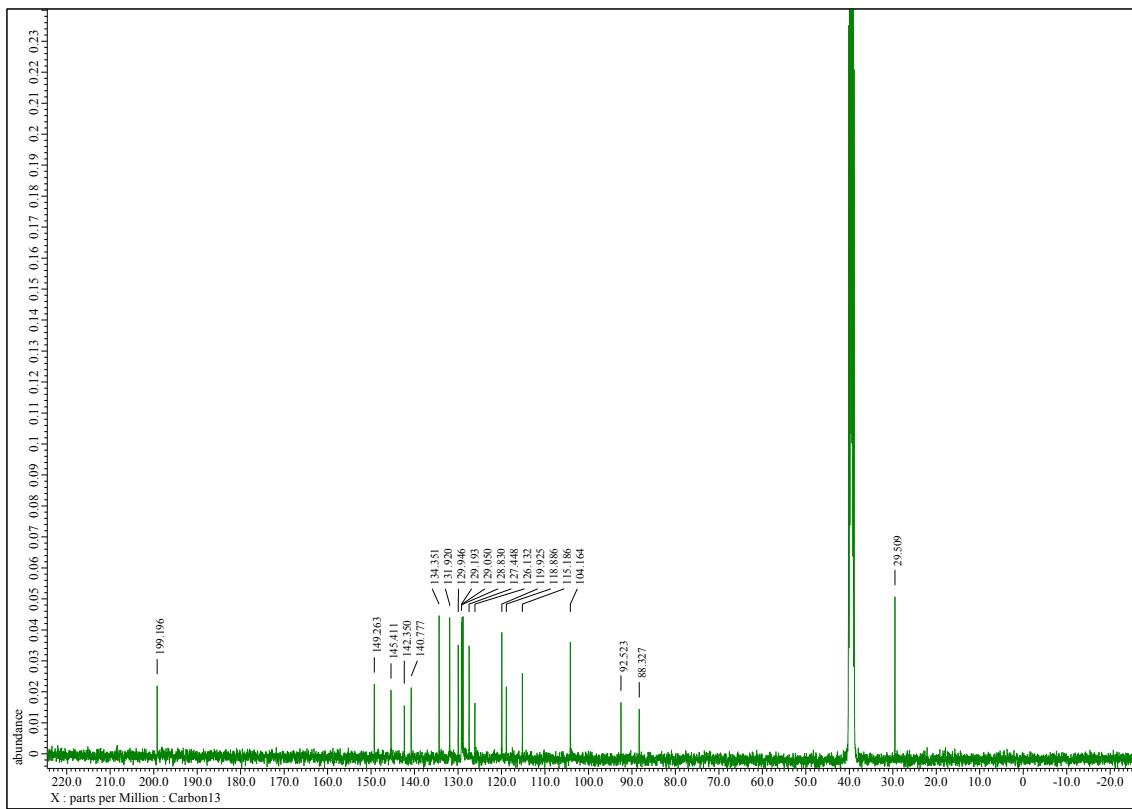
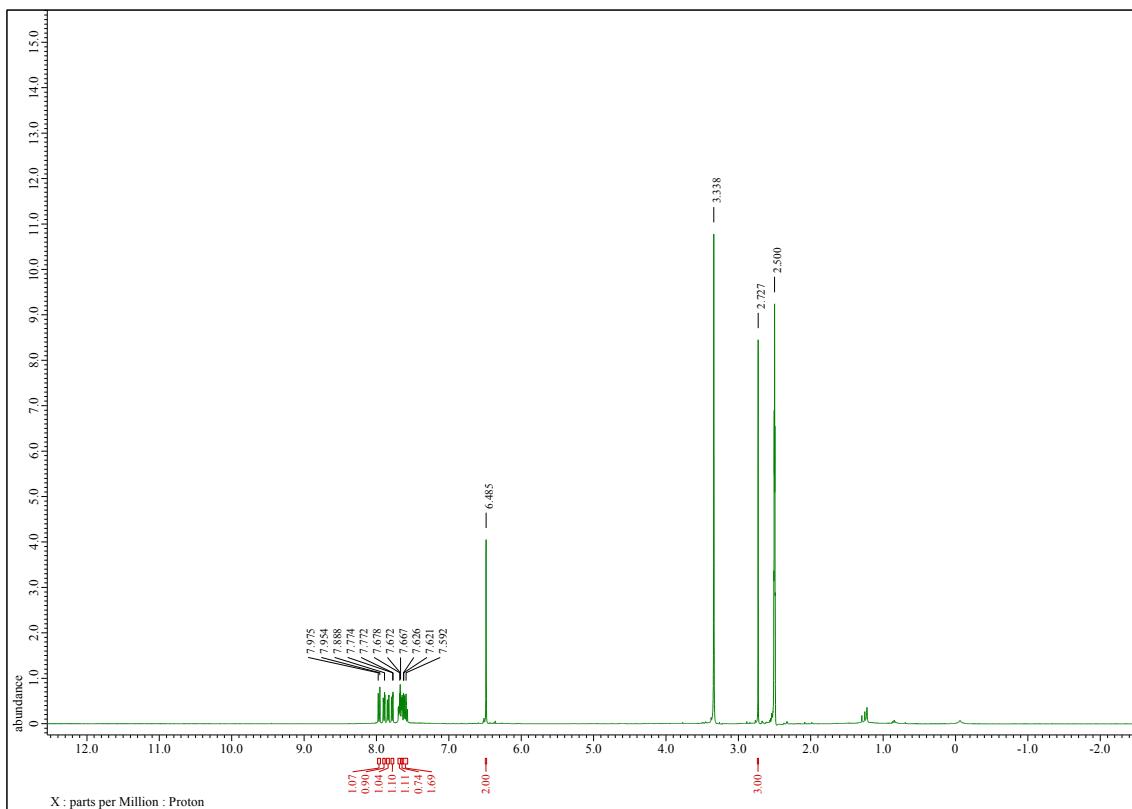


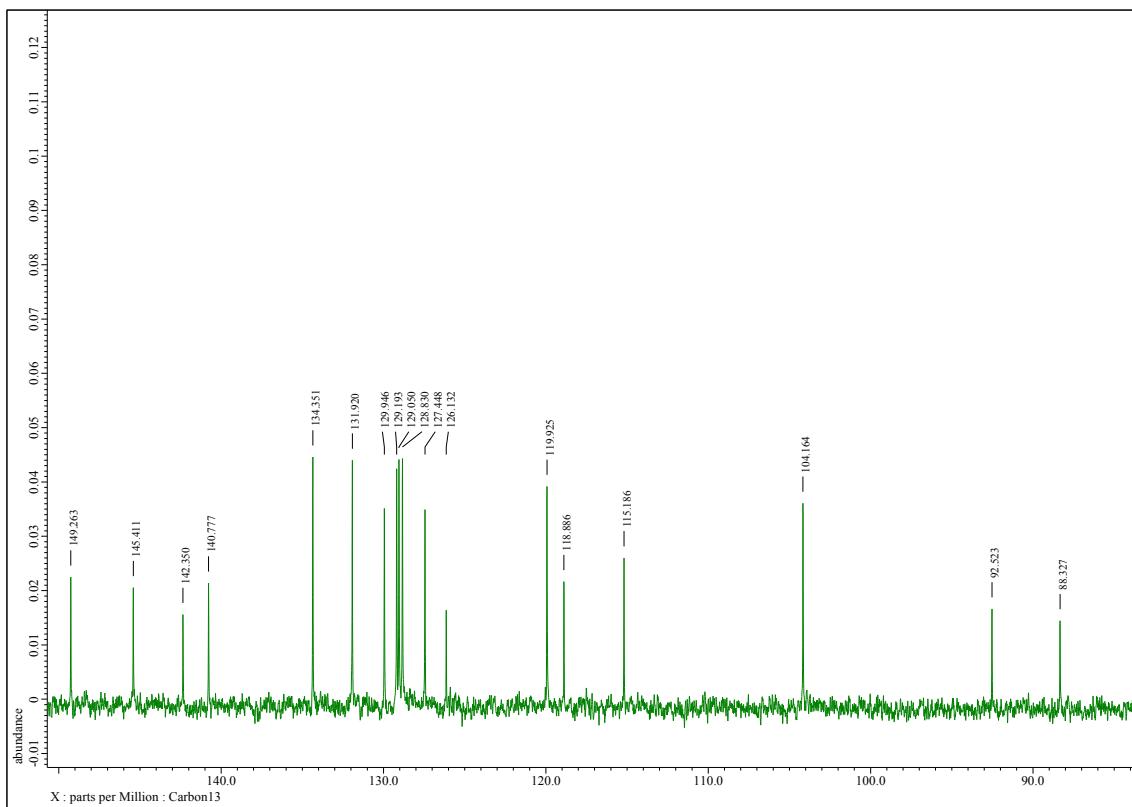




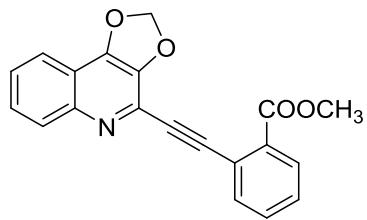
1-(2-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)fenyl)ethan-1-on (60).

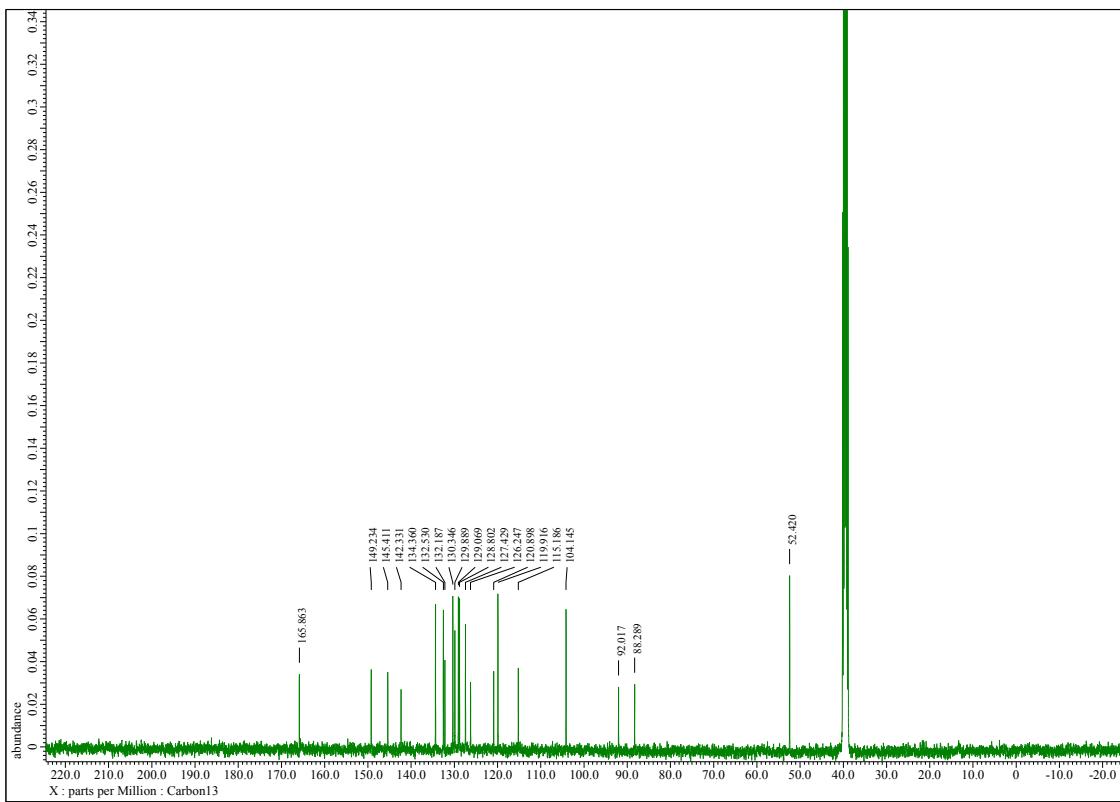
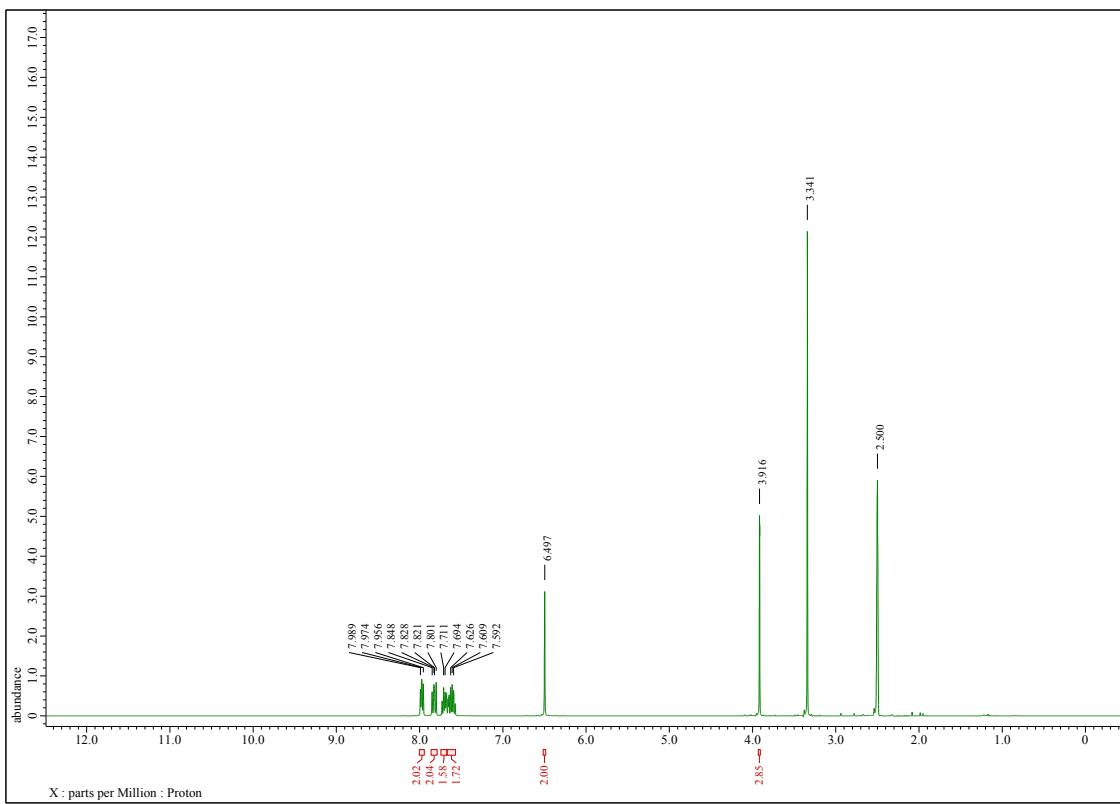


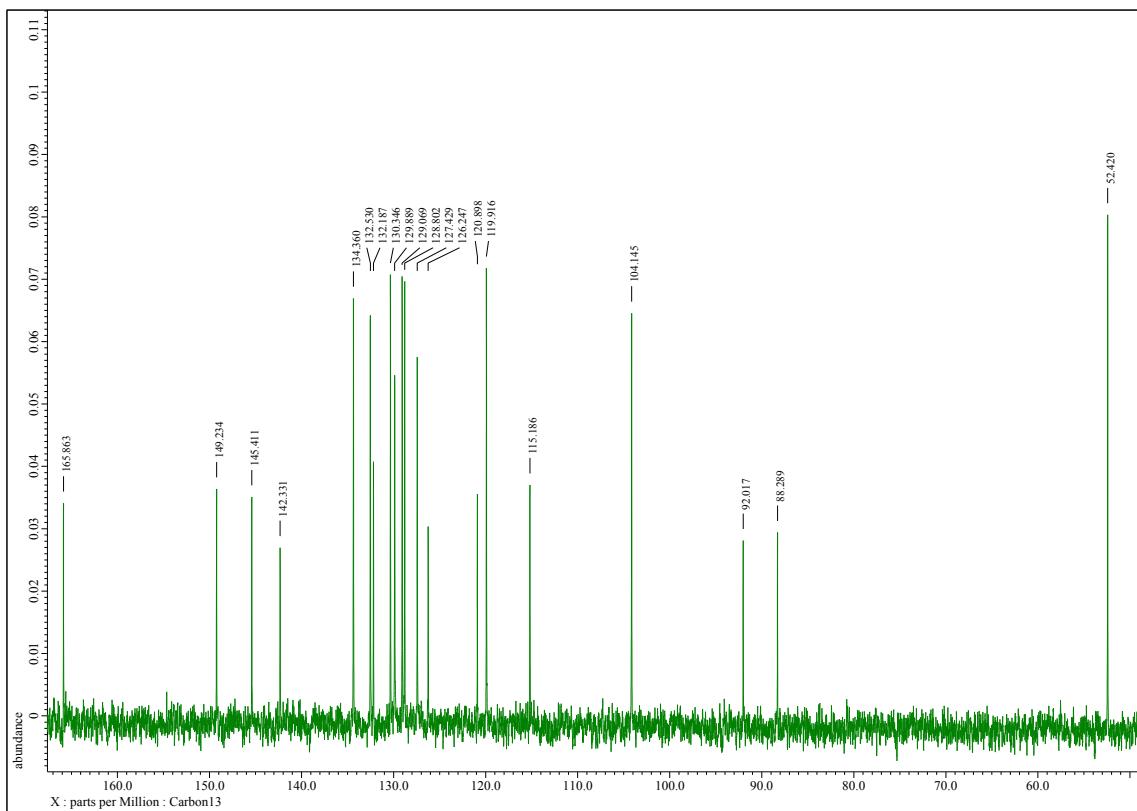




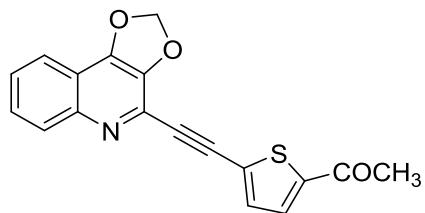
Methyl 2-([1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin-4-ylethynyl)benzoát (61).

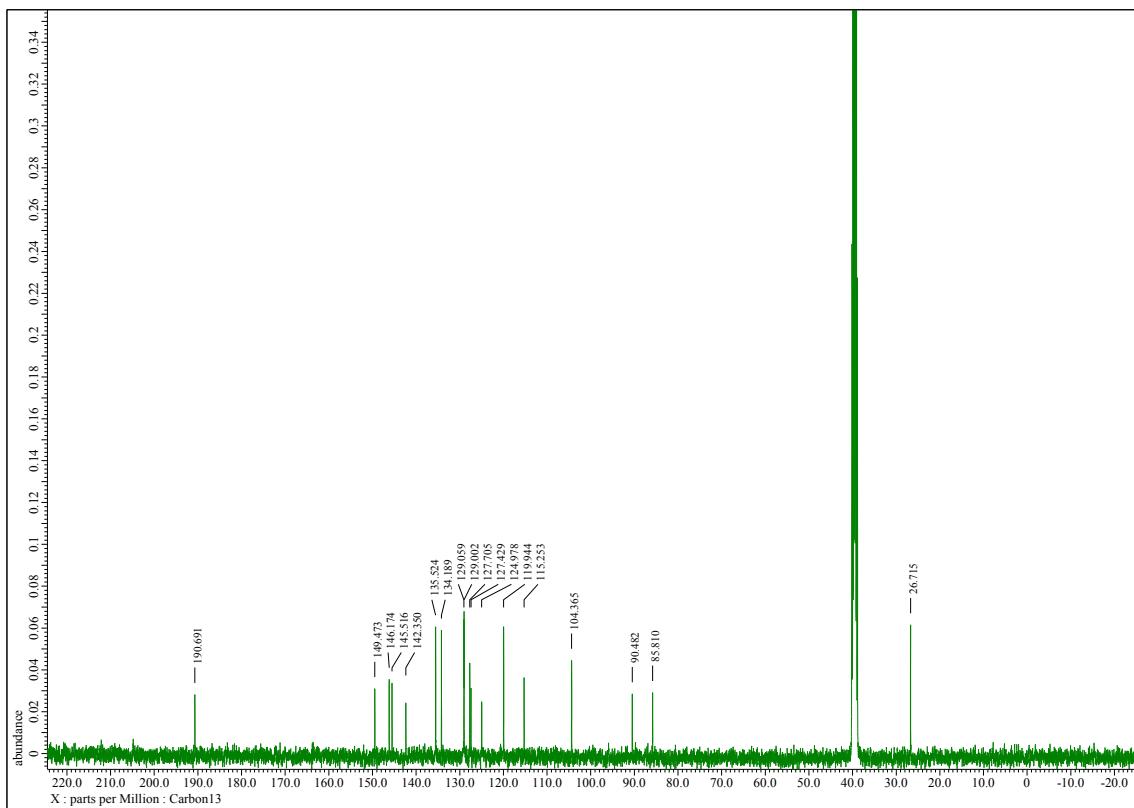
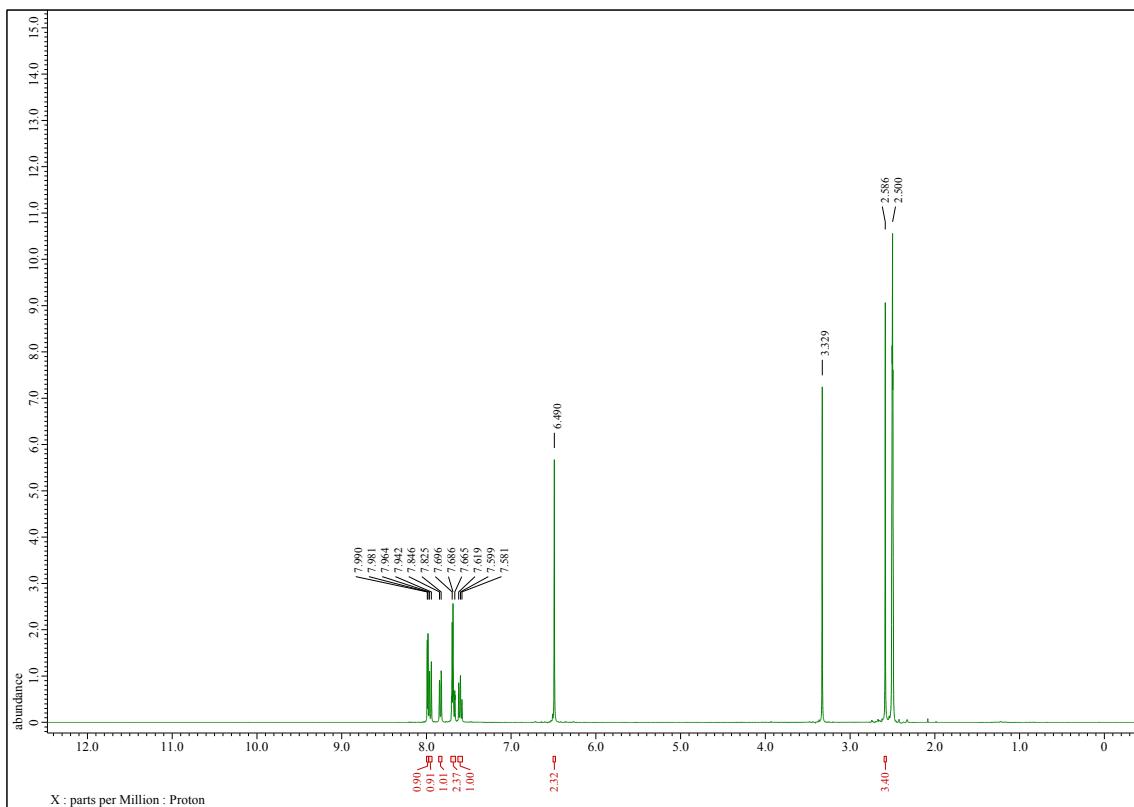


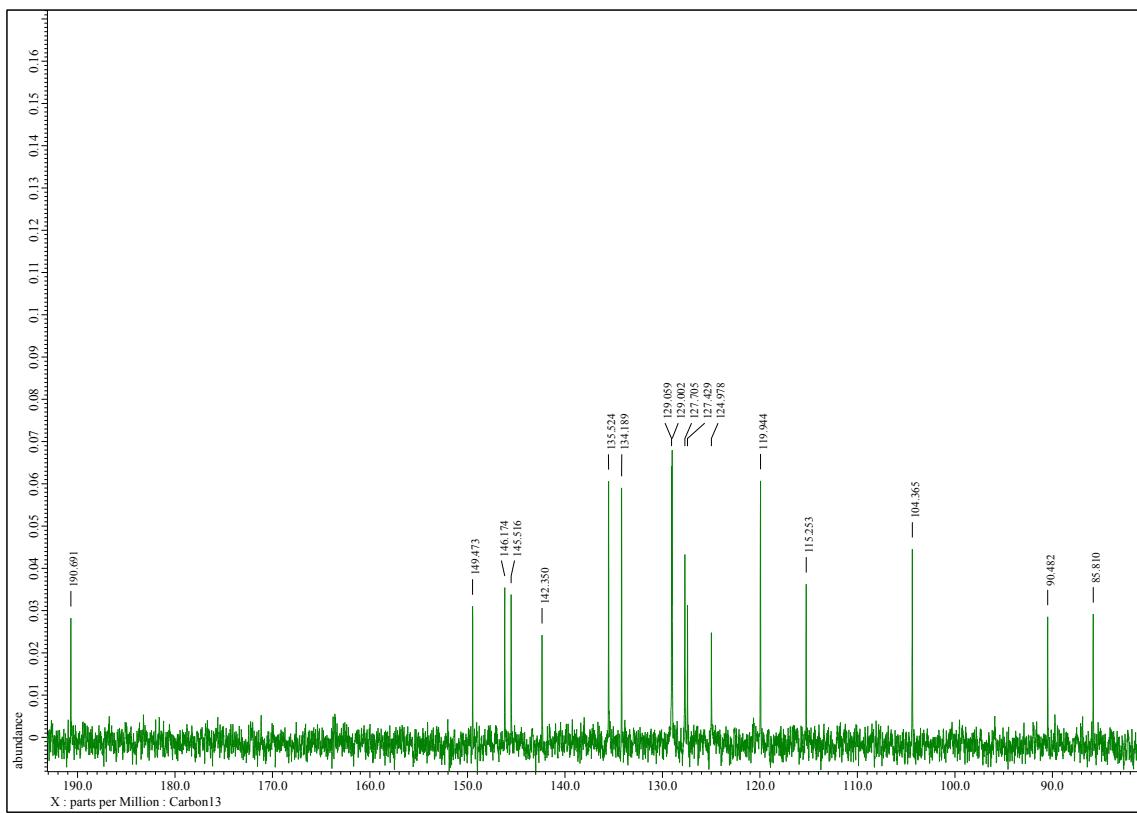




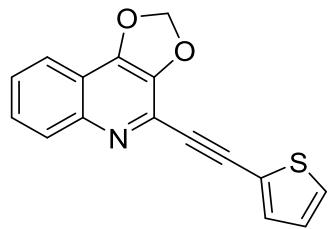
1-(5-([1,3]Dioxolo[4,5-*c*]chinolin-4-ylethynyl)thiofen-2-yl)ethan-1-on (62).

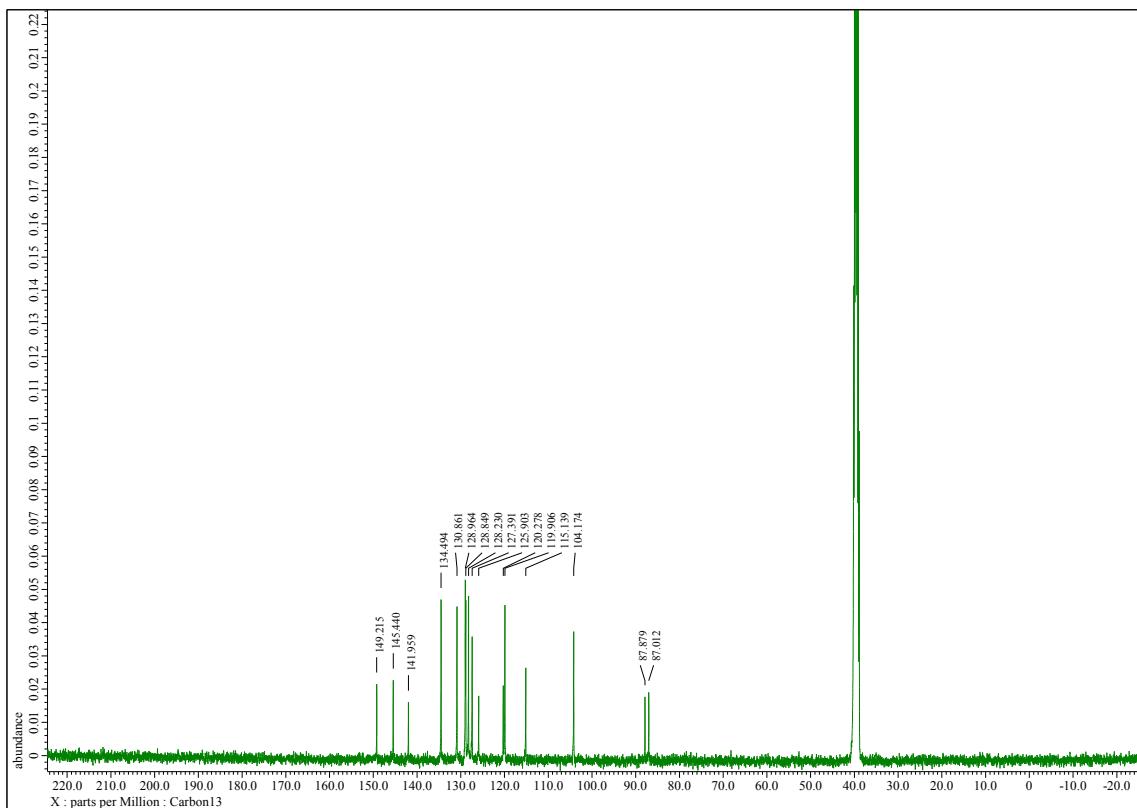
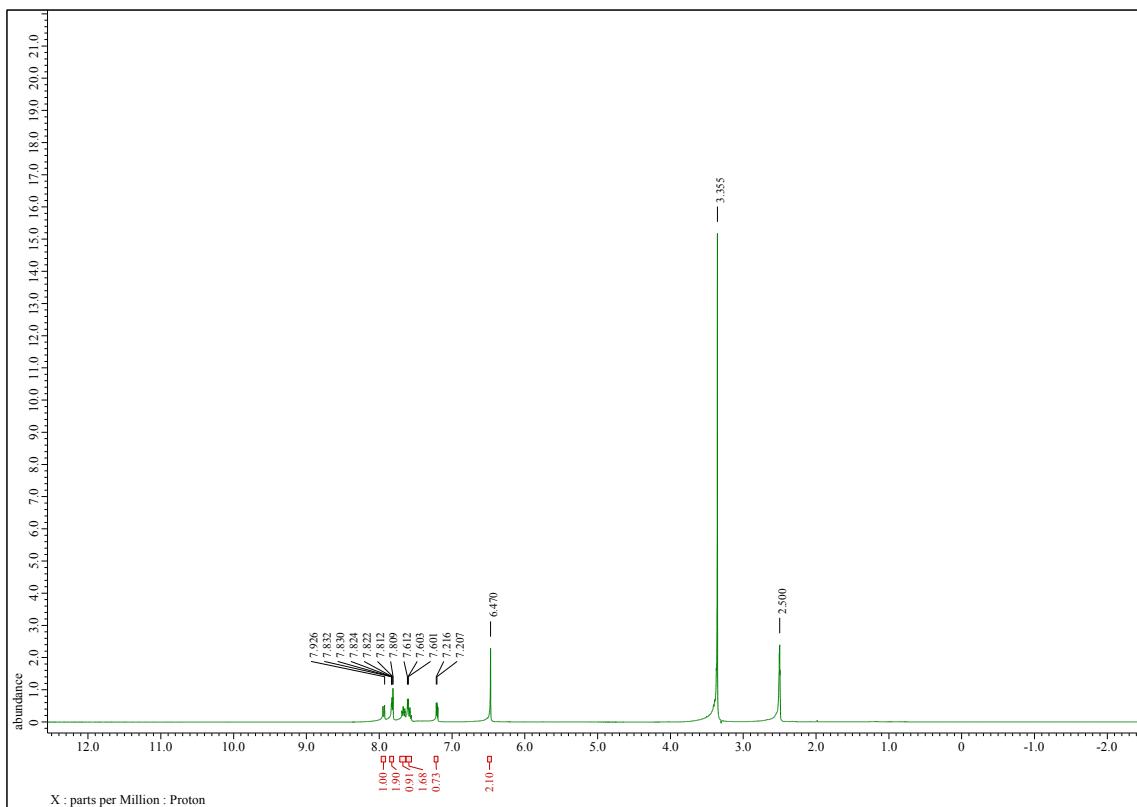


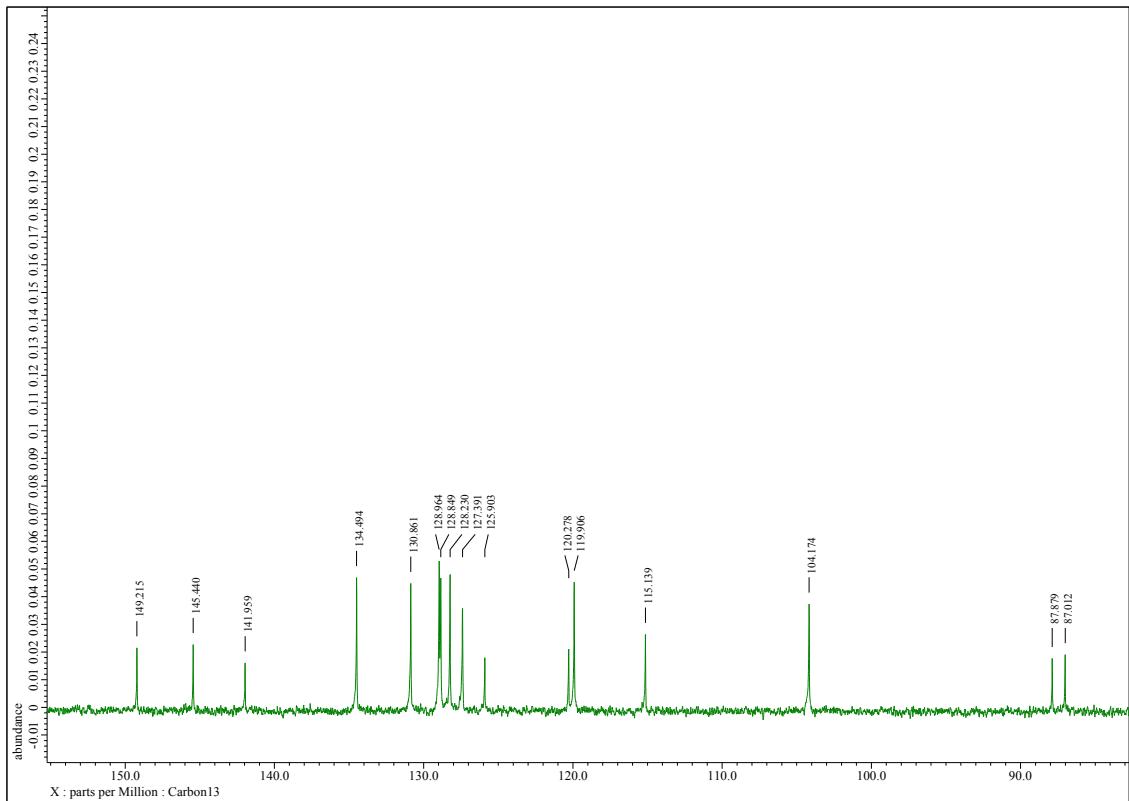




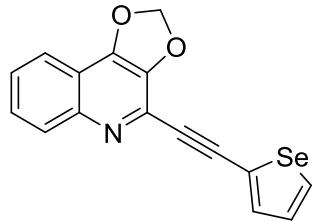
4-(Thiofen-2-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (63).

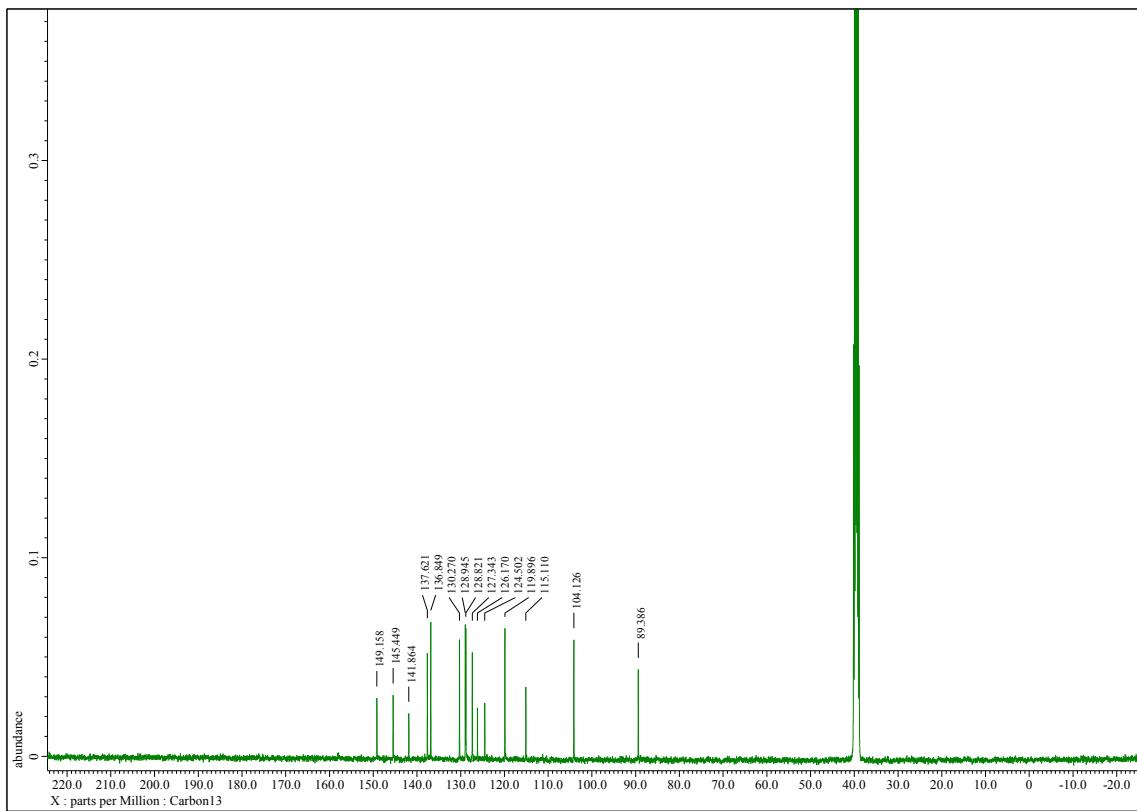
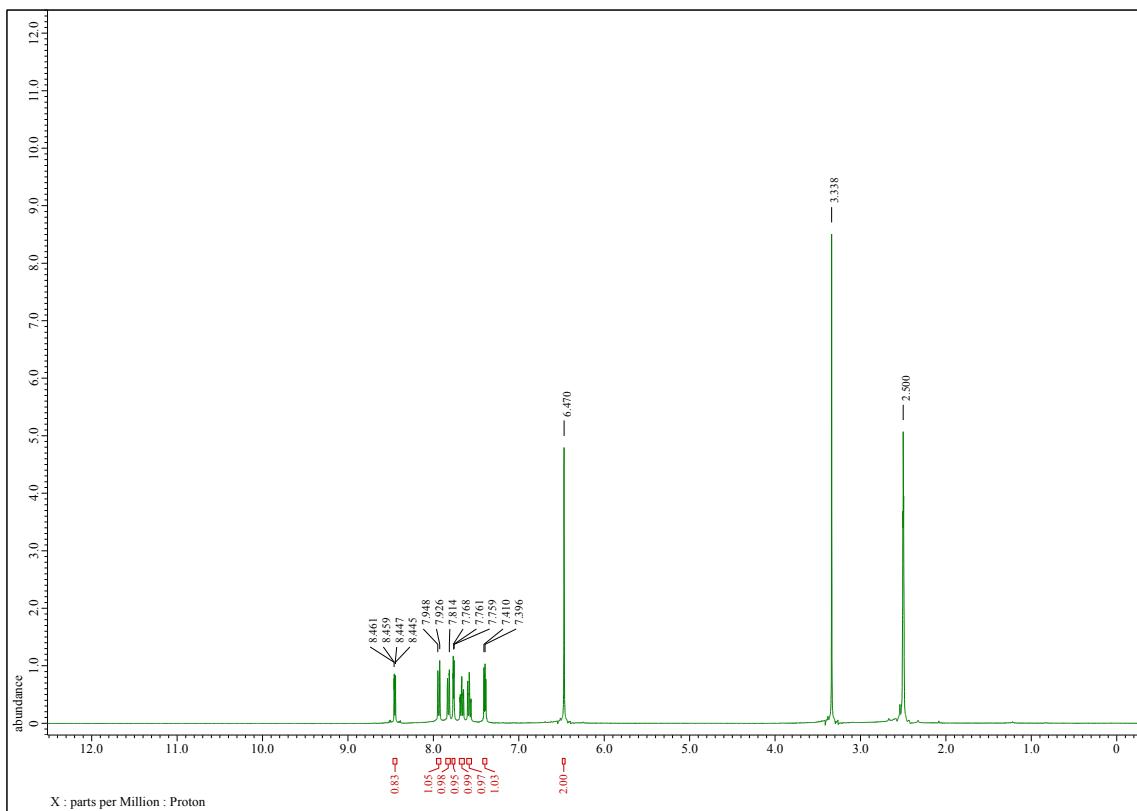


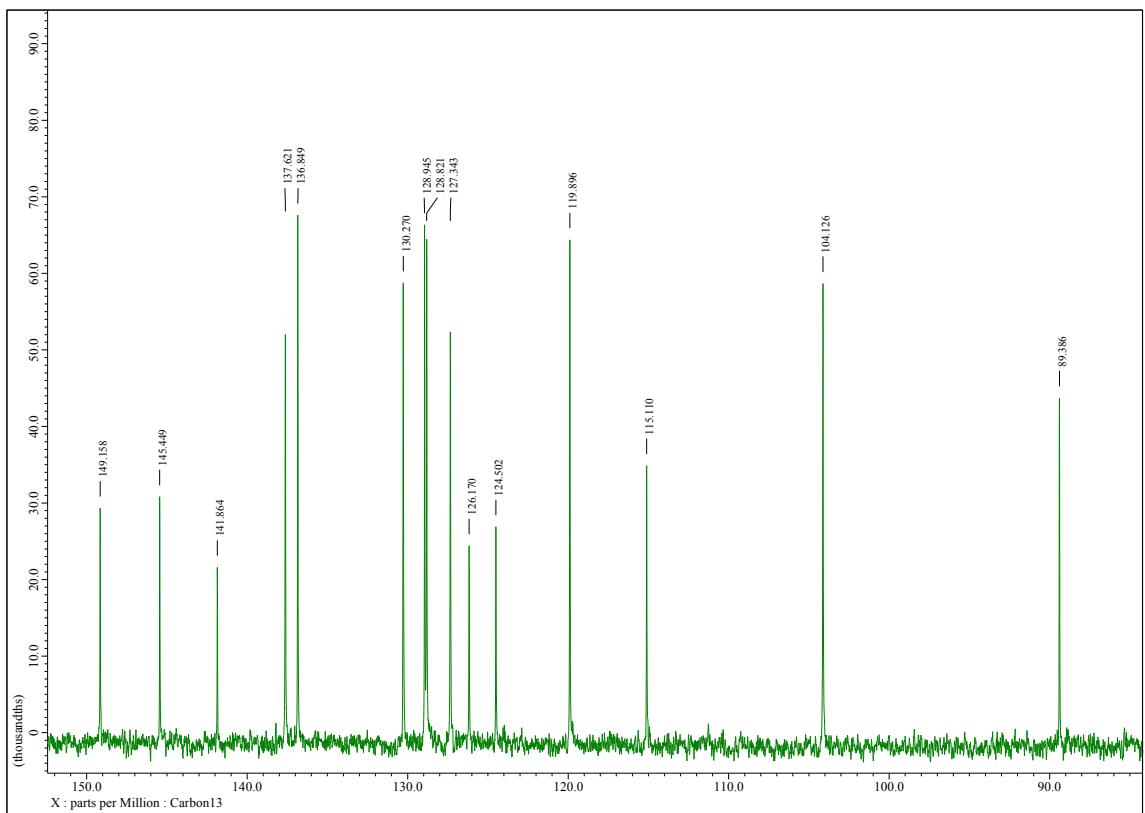




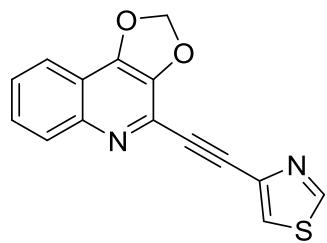
4-(Selenofen-2-ylethyynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (64).

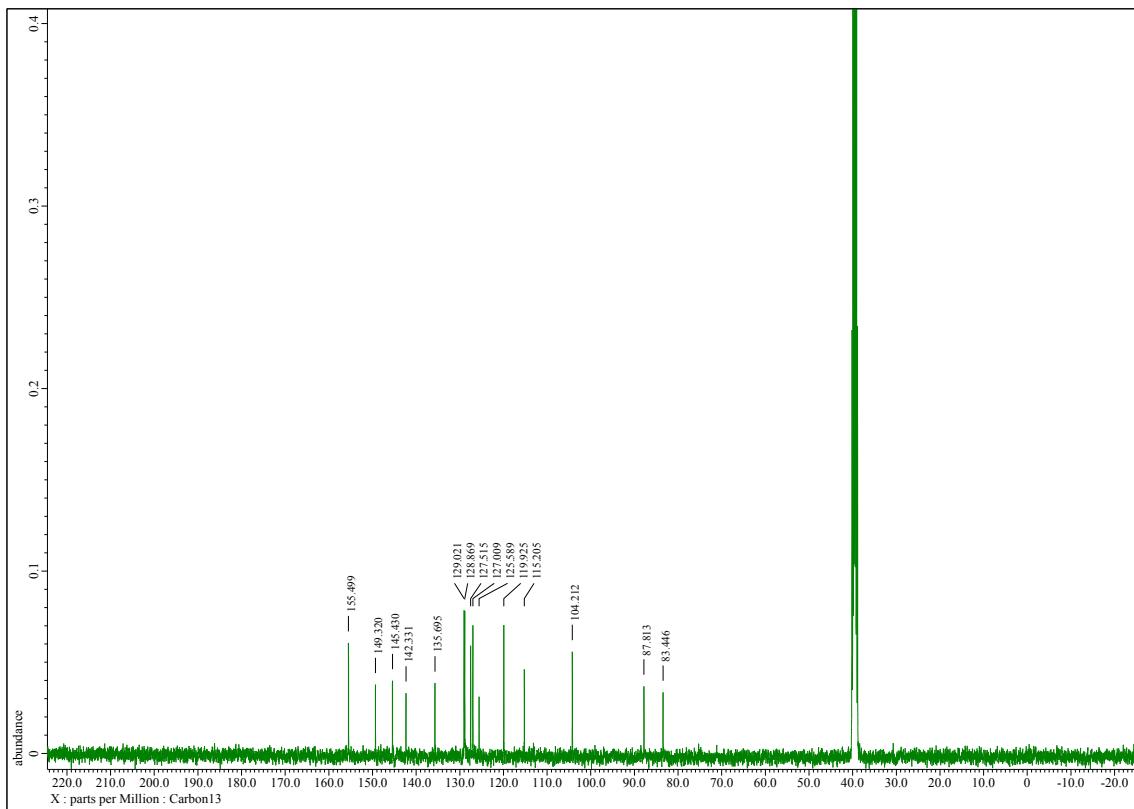
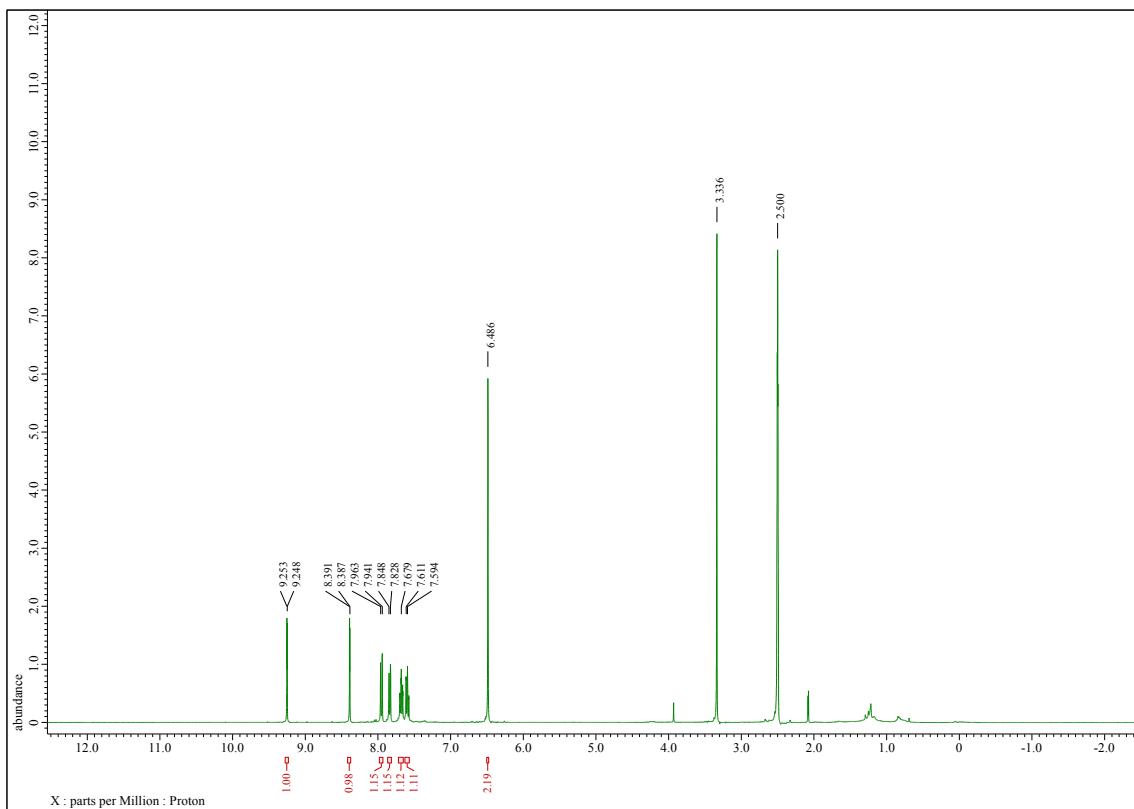


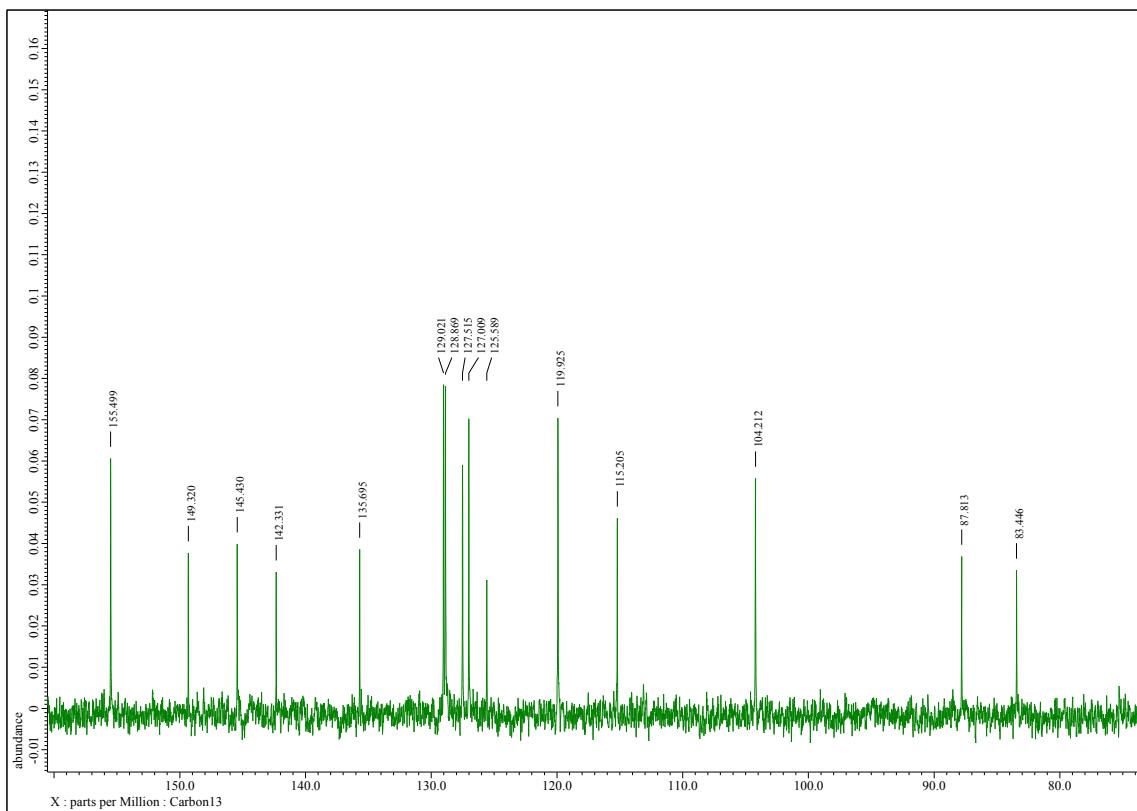




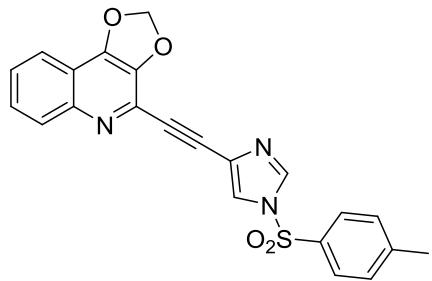
4-(Thiazol-4-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (65).

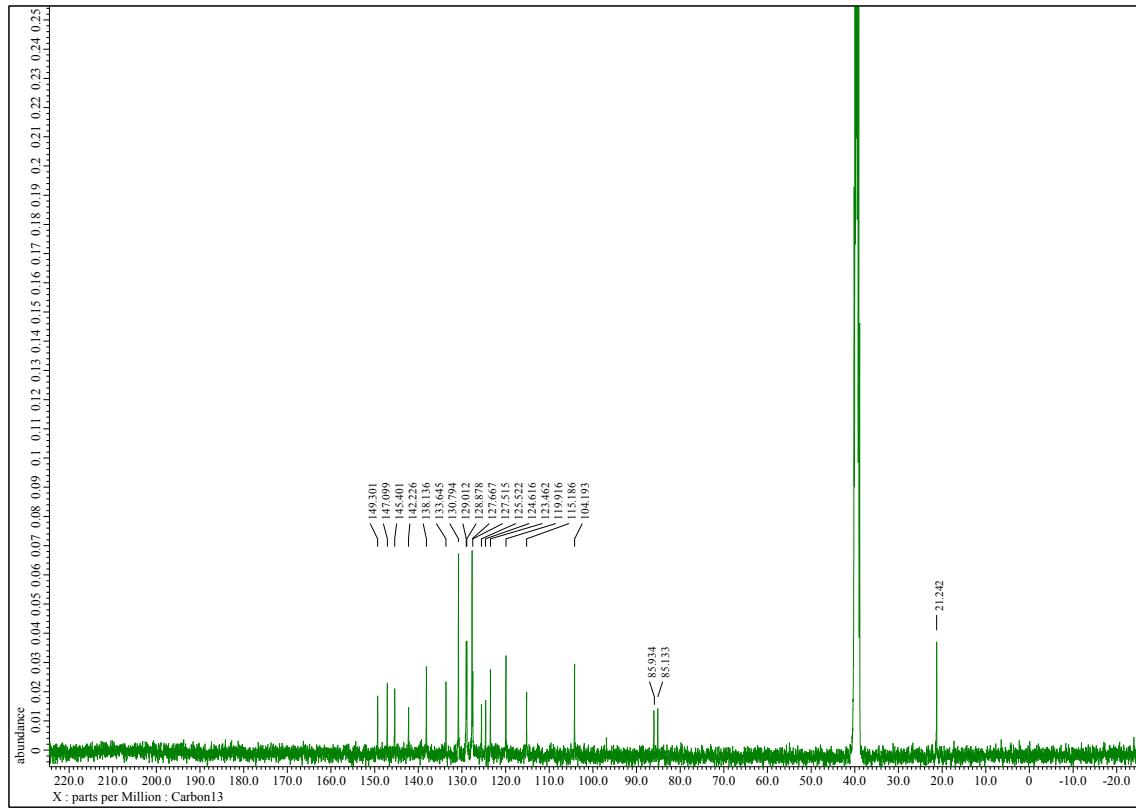
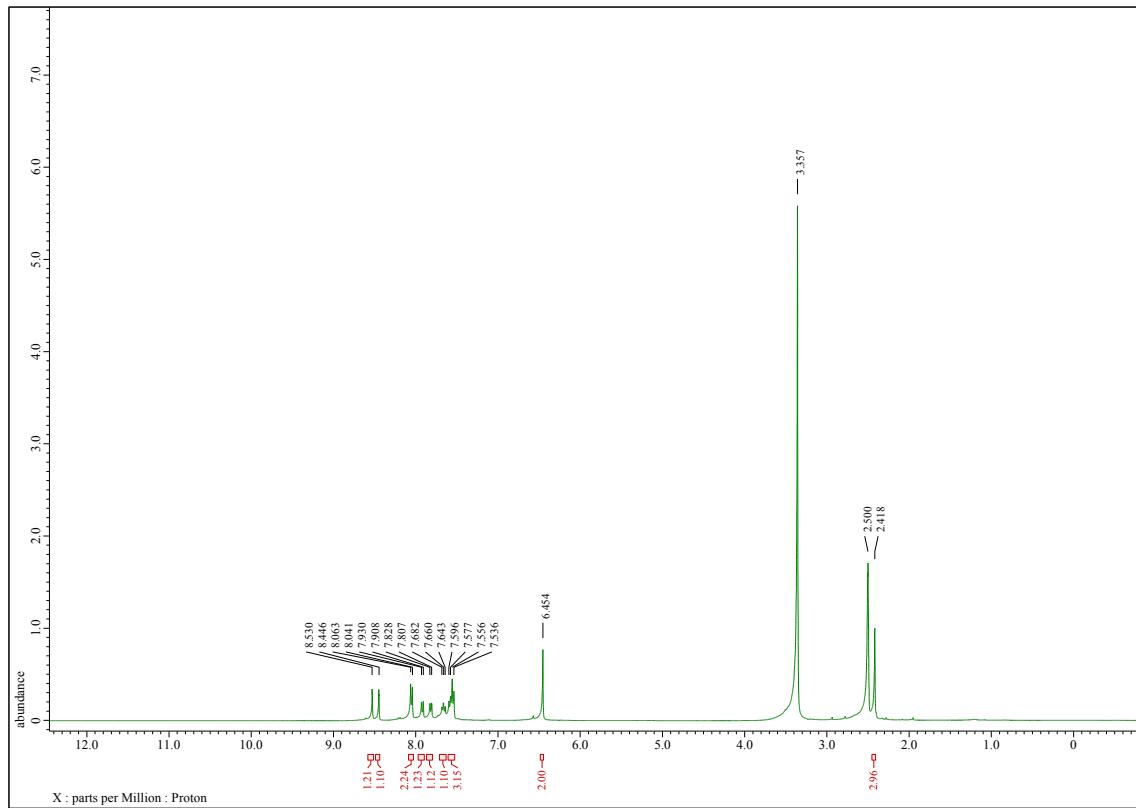


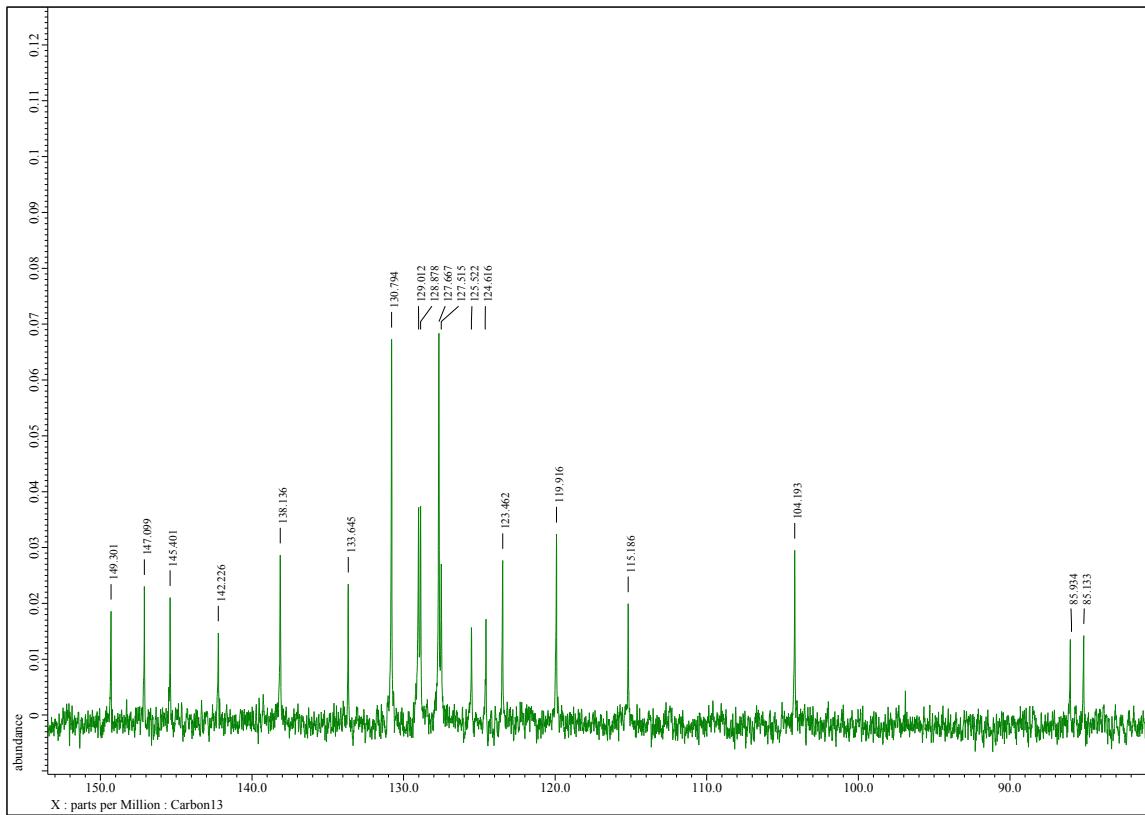




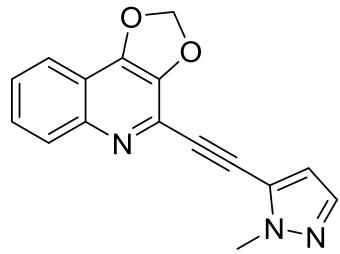
4-((1-Tosyl-1*H*-imidazol-4-yl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (66).

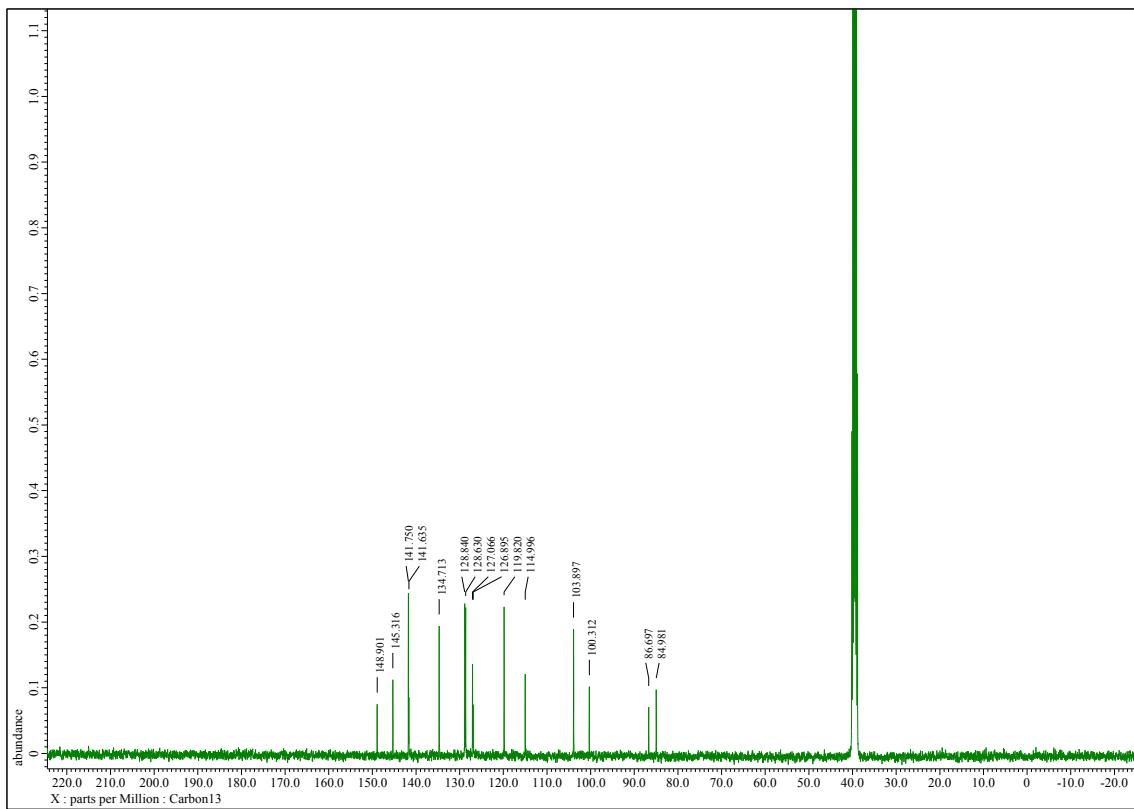
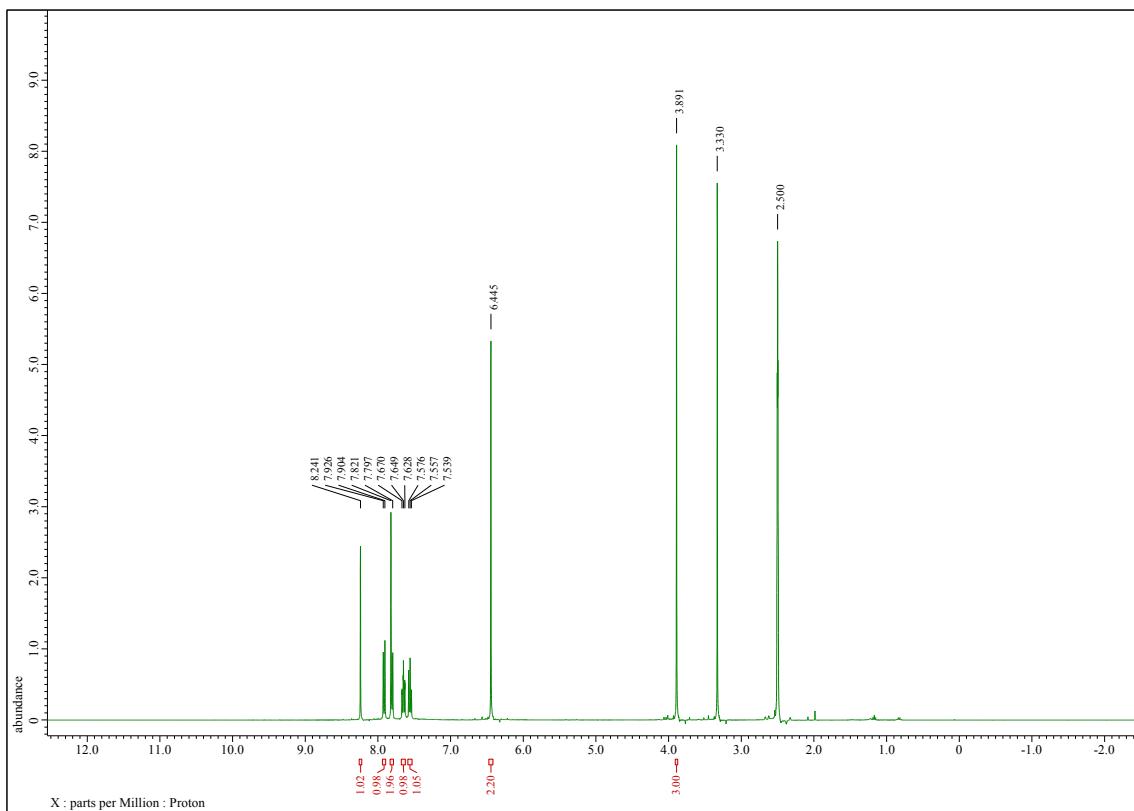


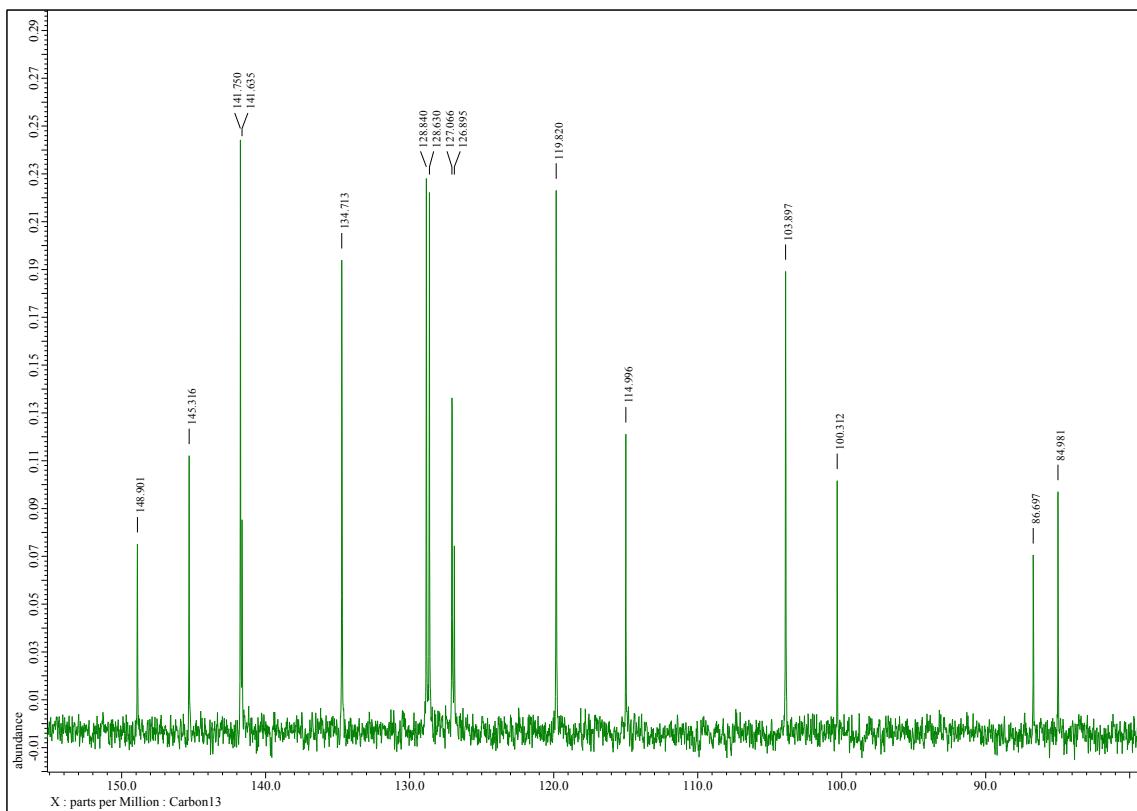




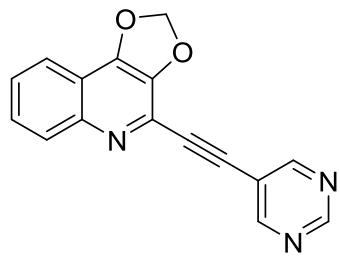
4-((1-Methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (67).

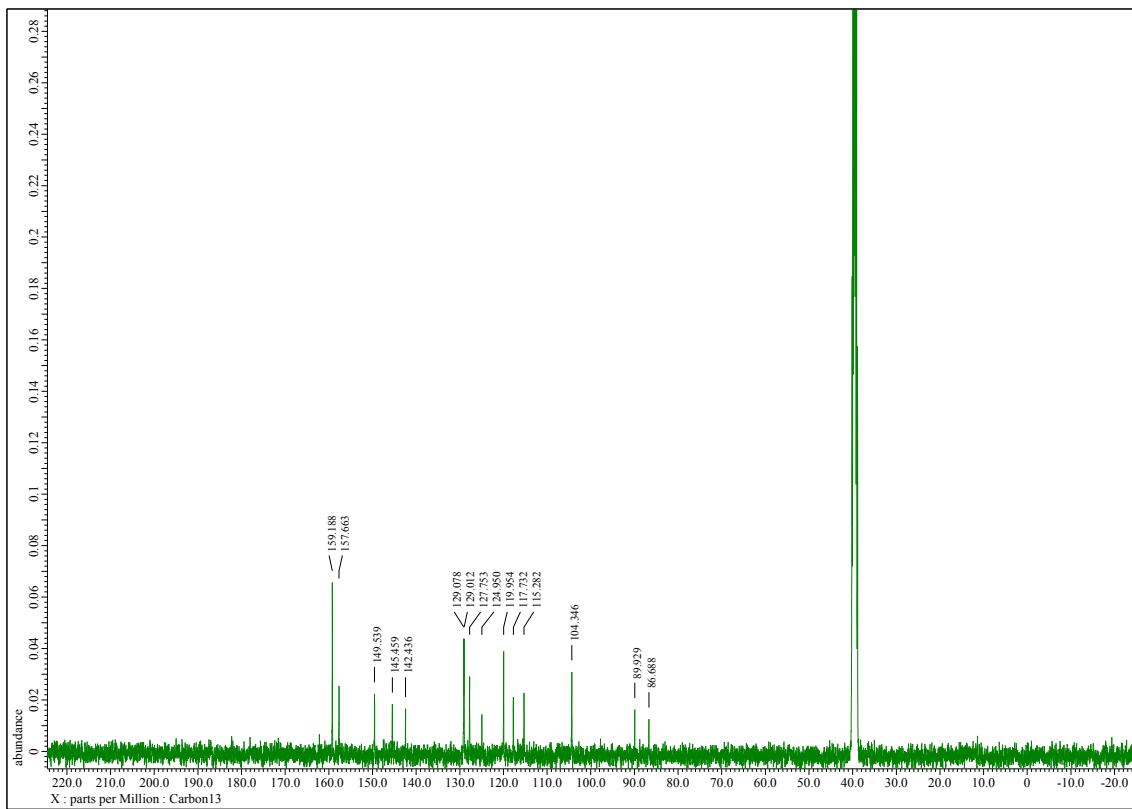
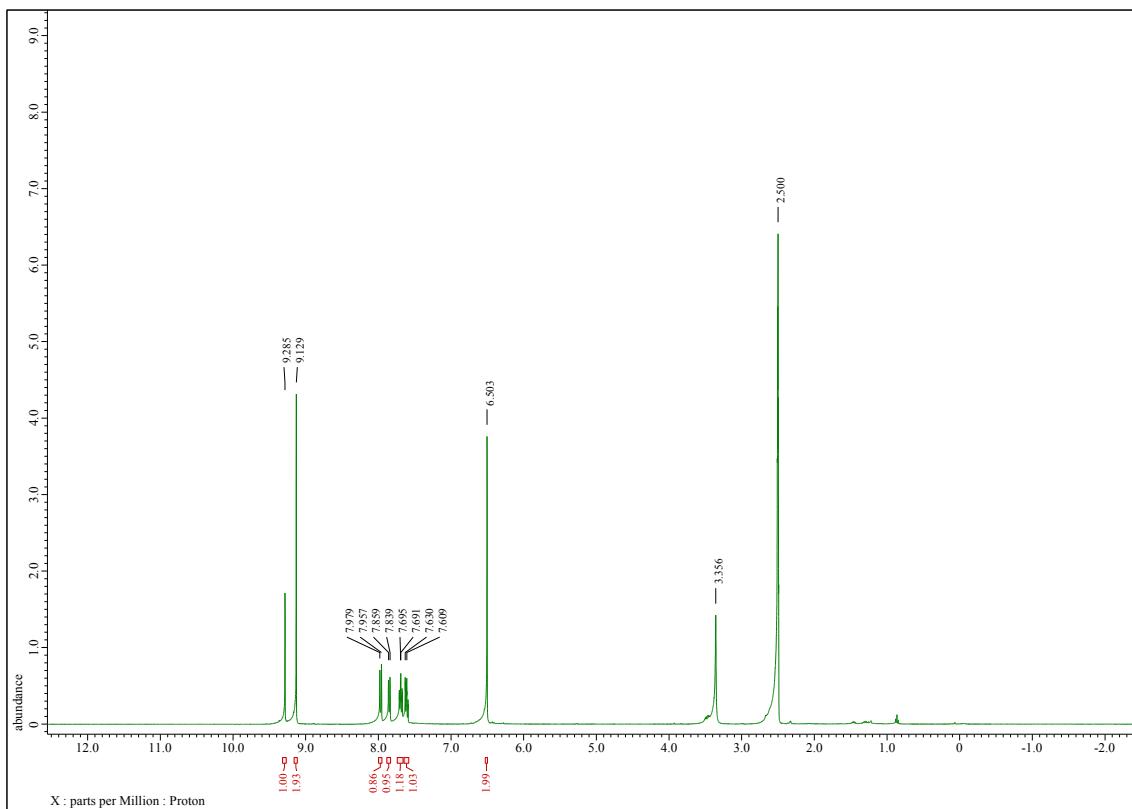


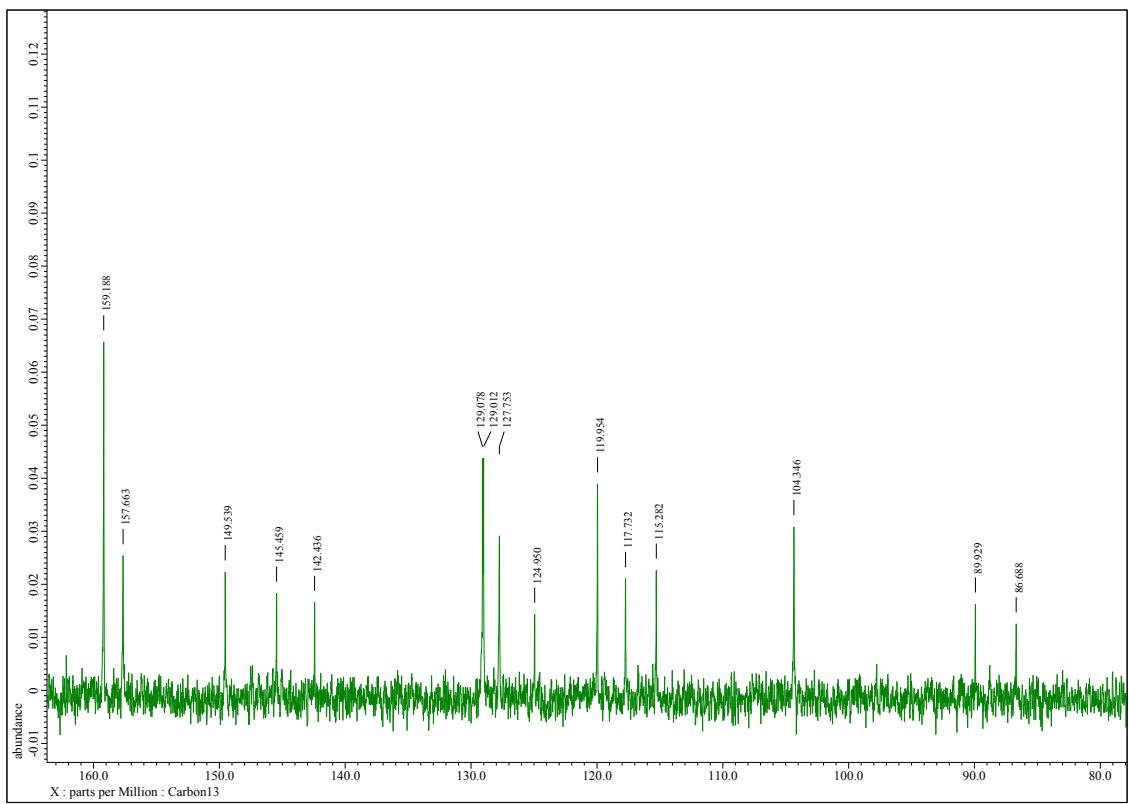




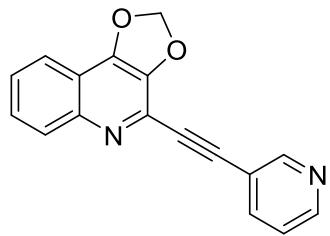
4-(Pyrimidin-5-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (68).

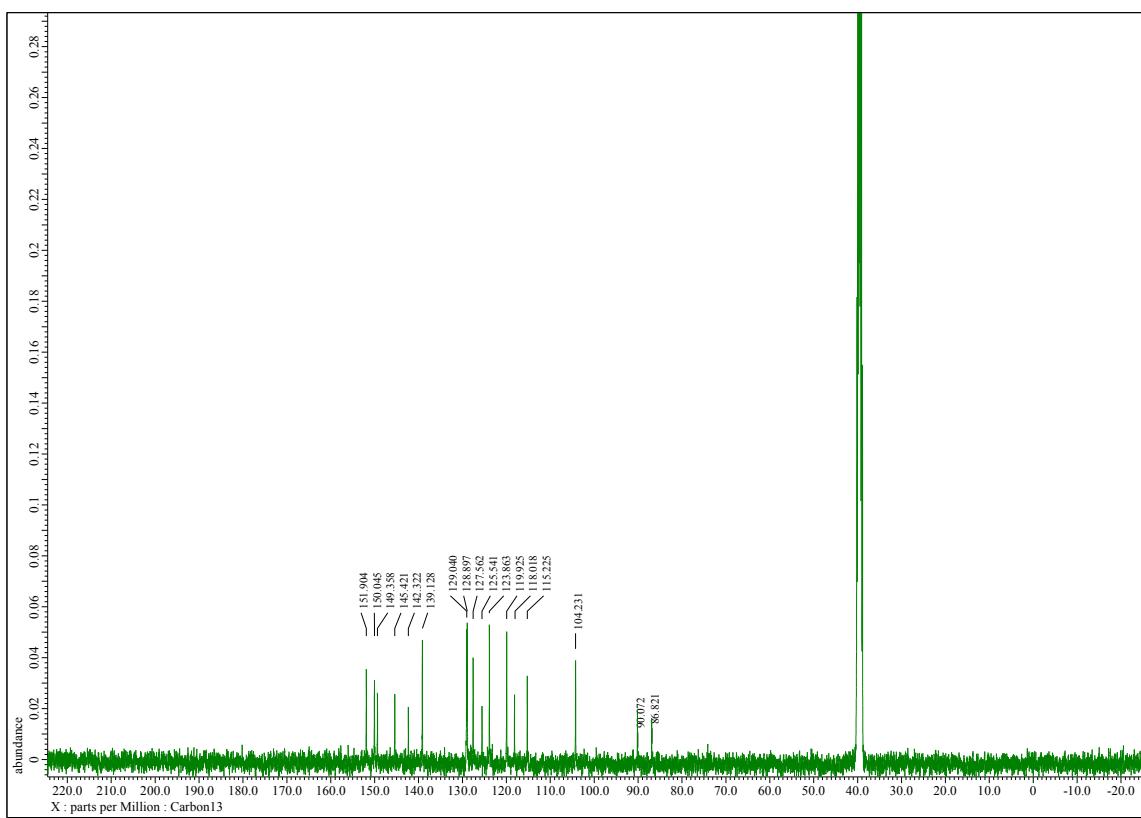
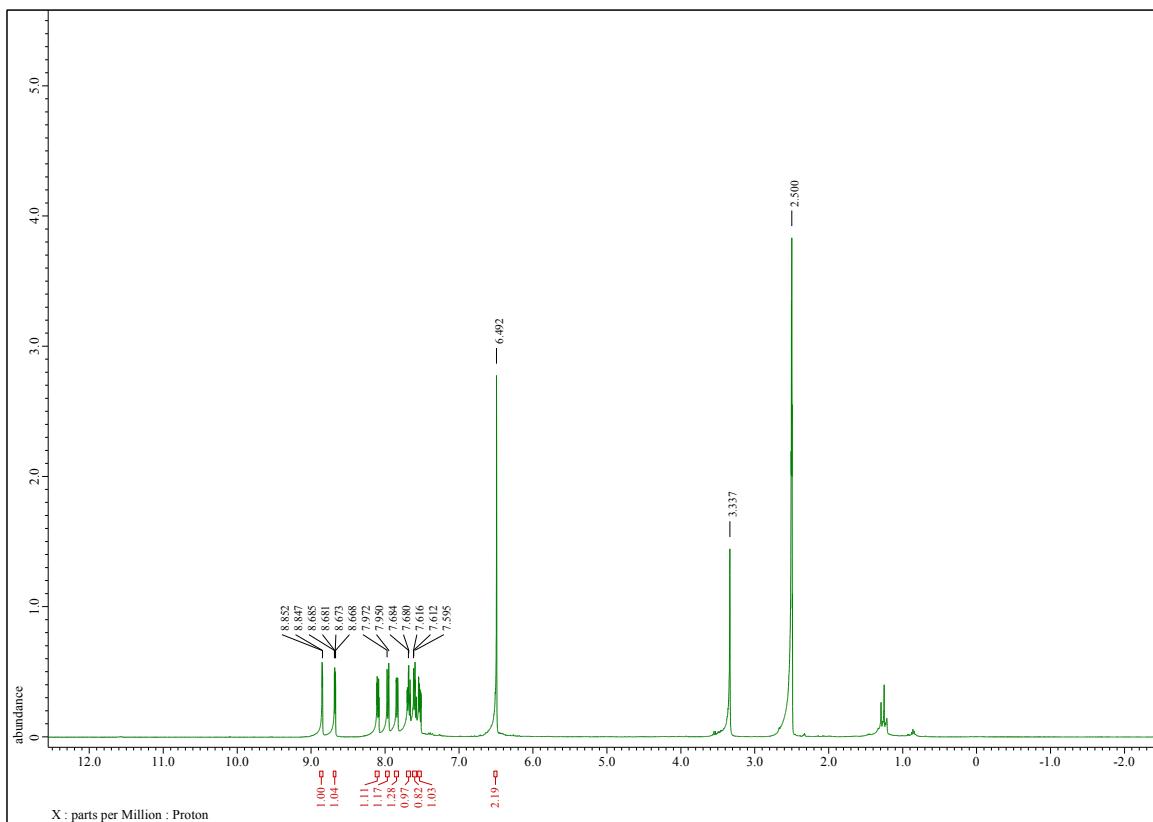


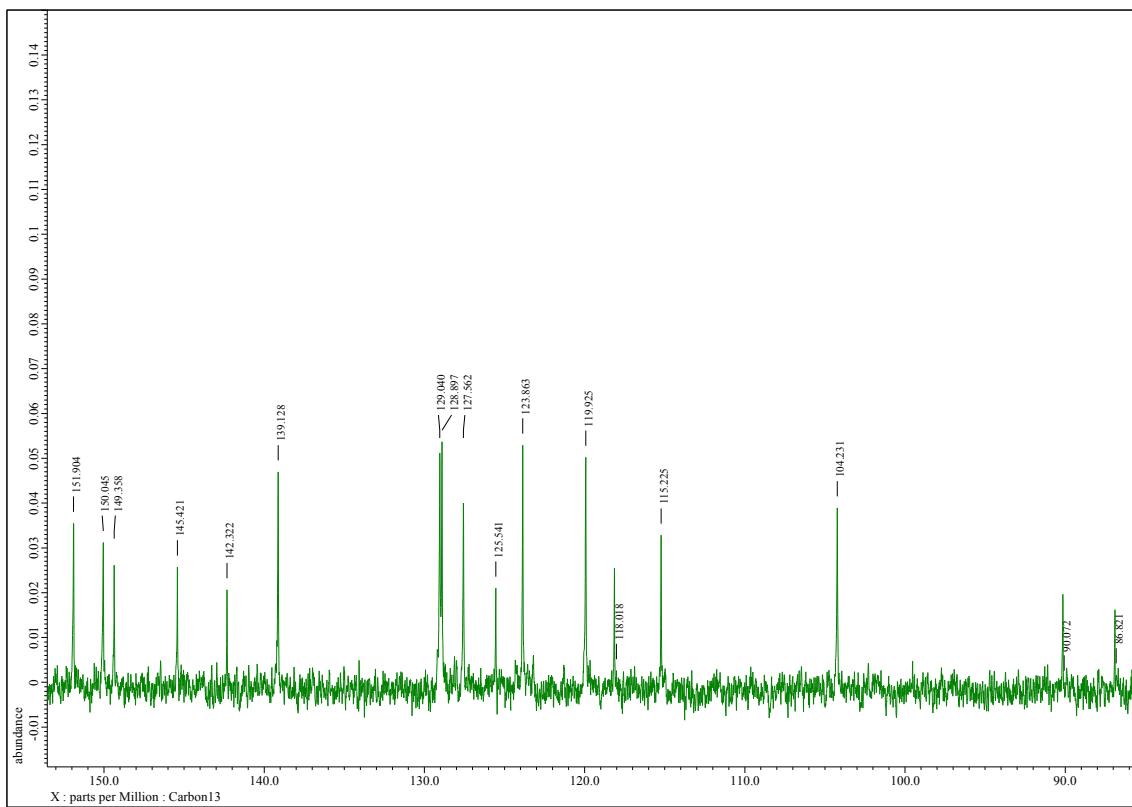




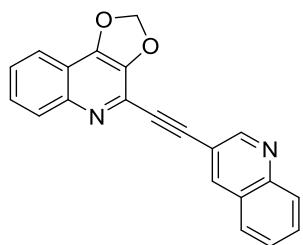
4-(Pyridin-3-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (69).

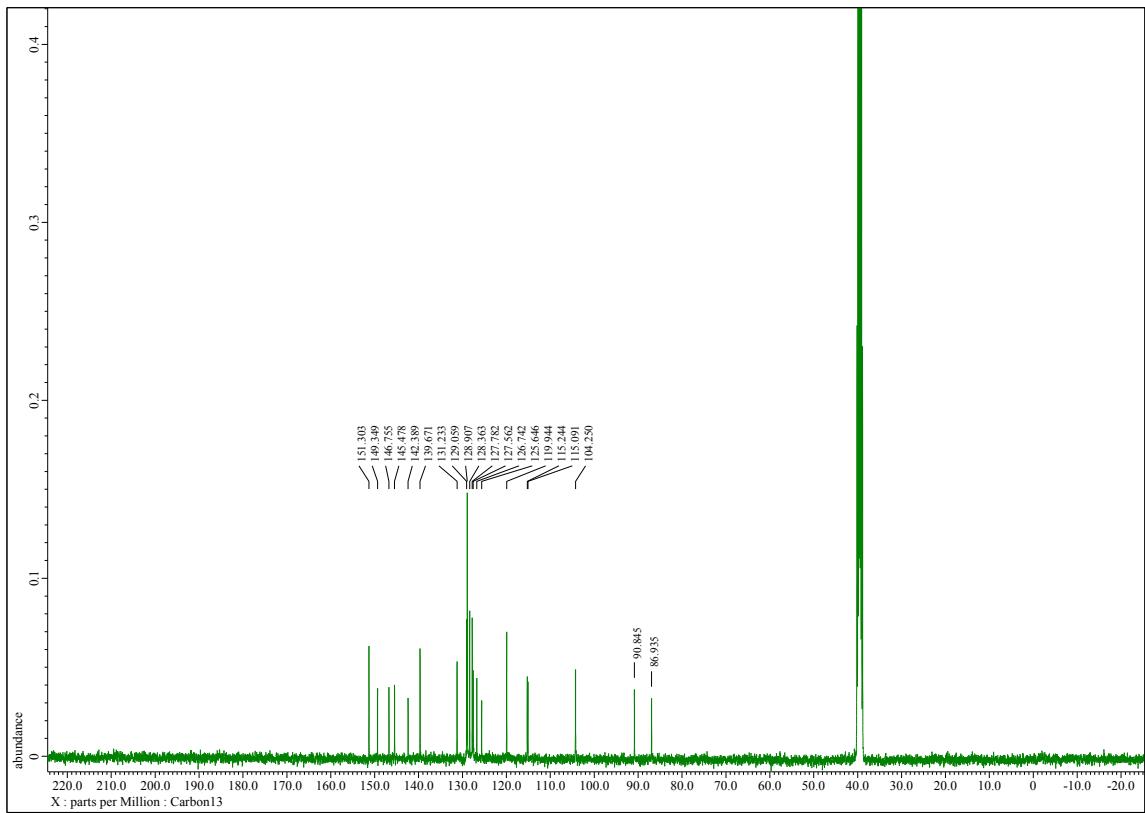
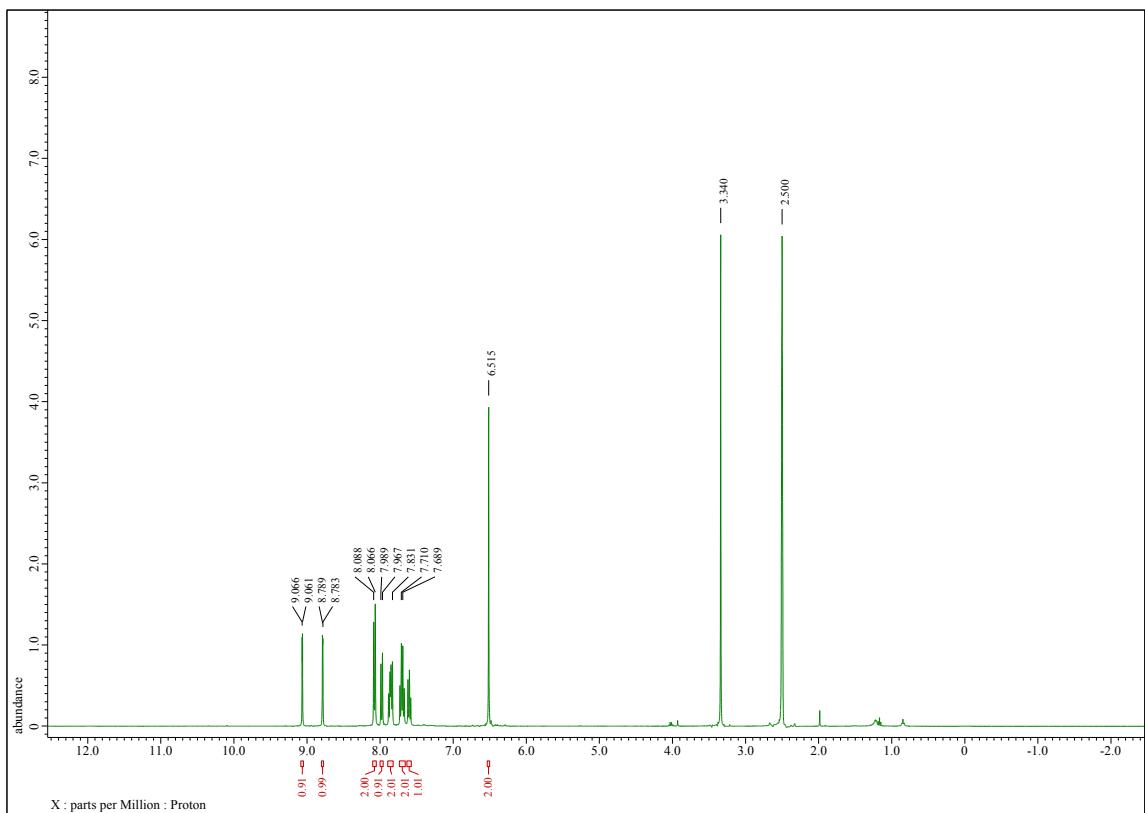


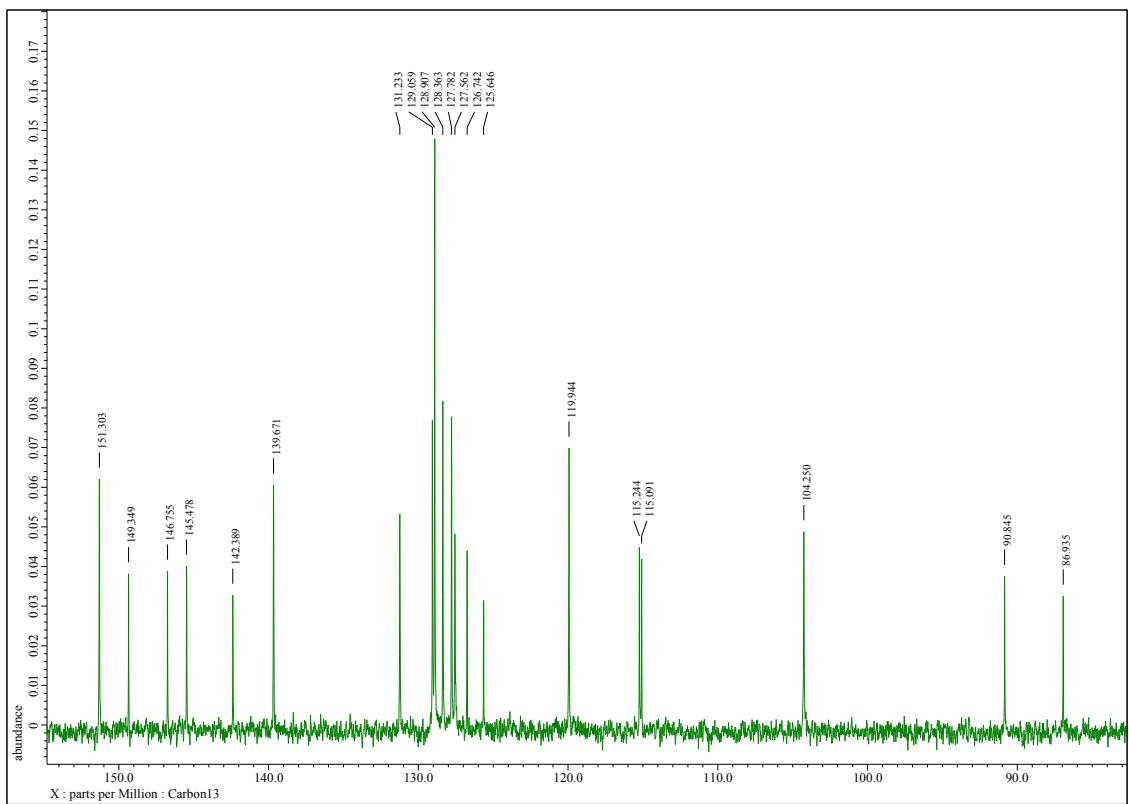




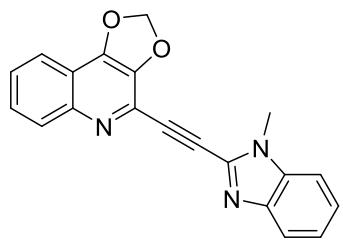
4-(Chinolin-3-ylethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-c]chinolin (70).

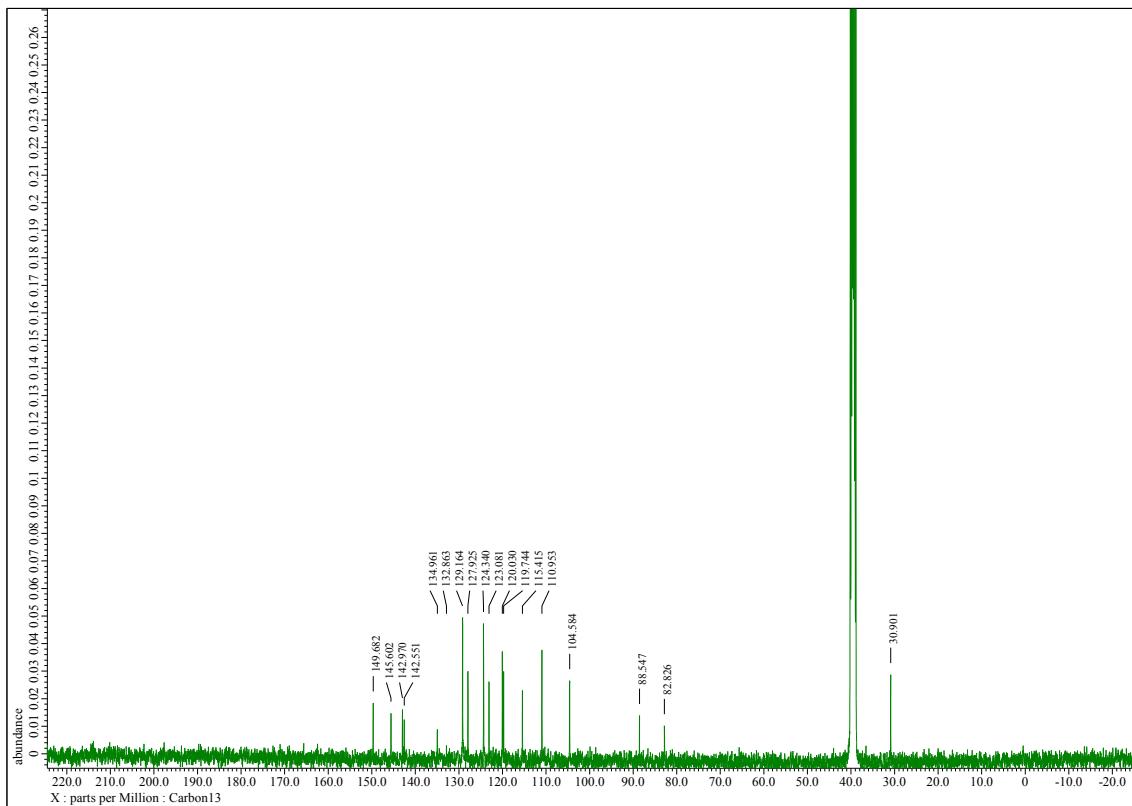
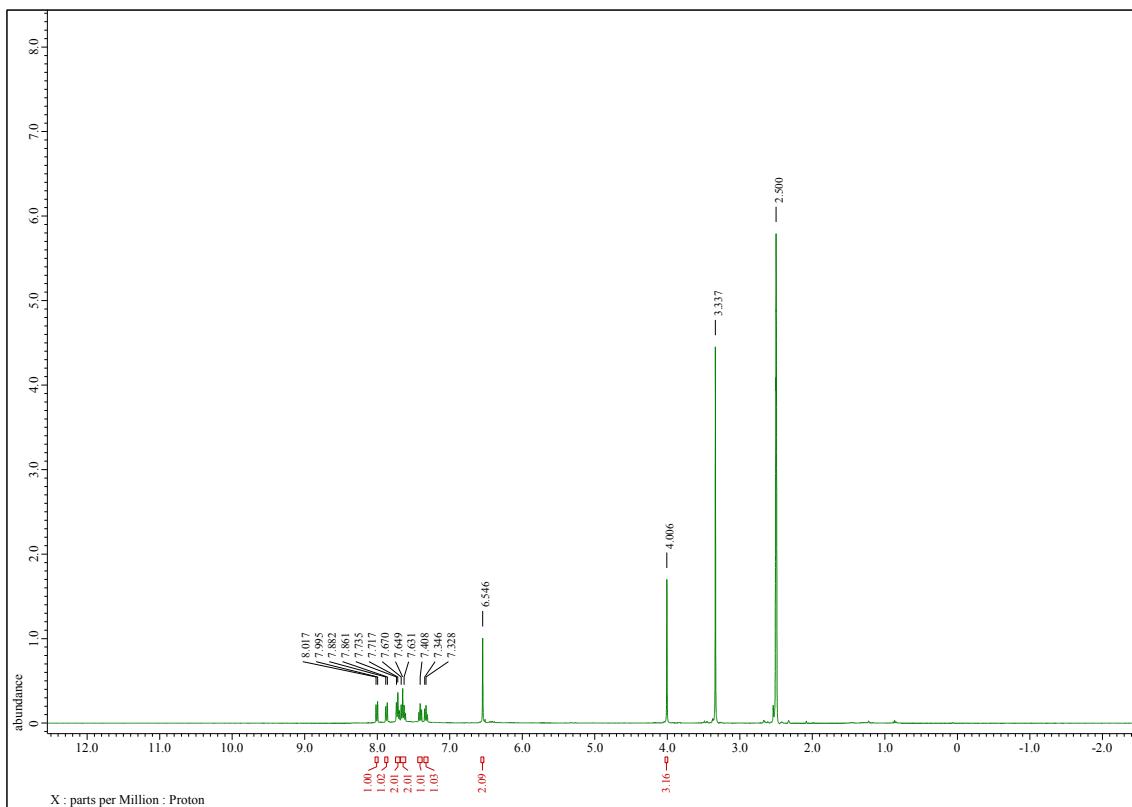


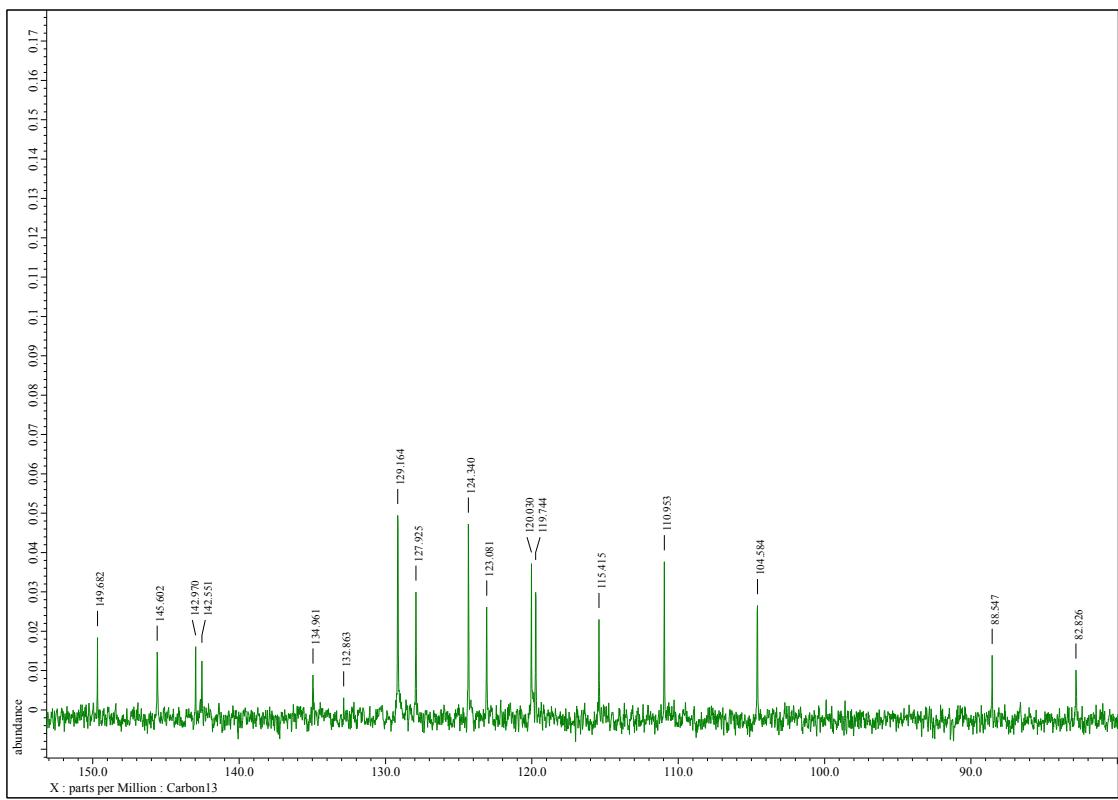




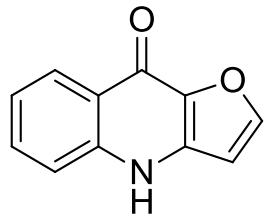
4-((1-Methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethynyl)-[1,3]dioxolo[4,5-*c*]chinolin (71).

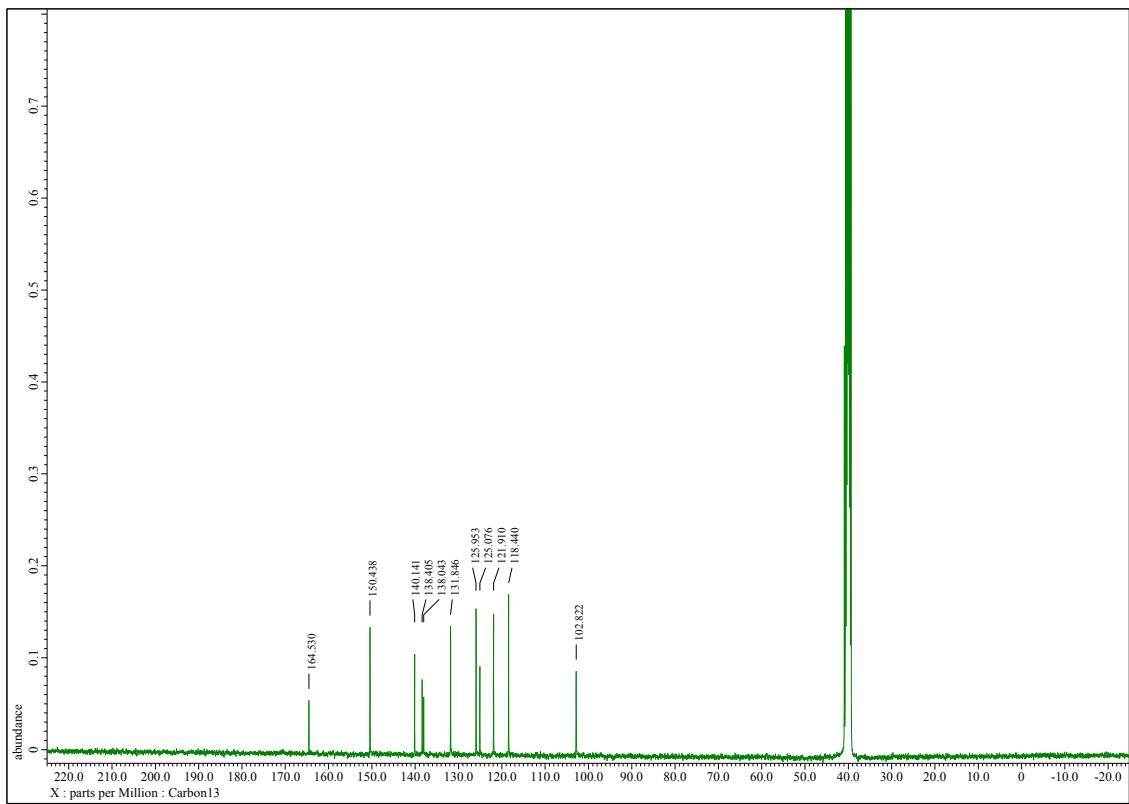
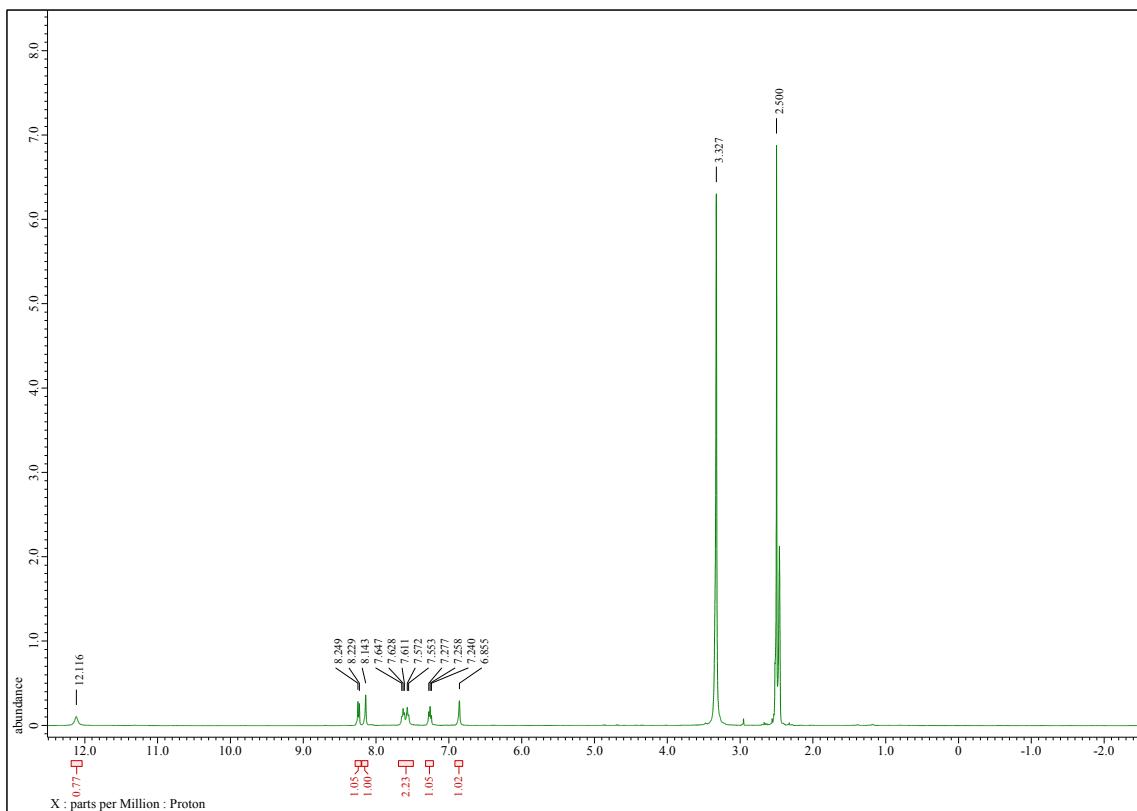


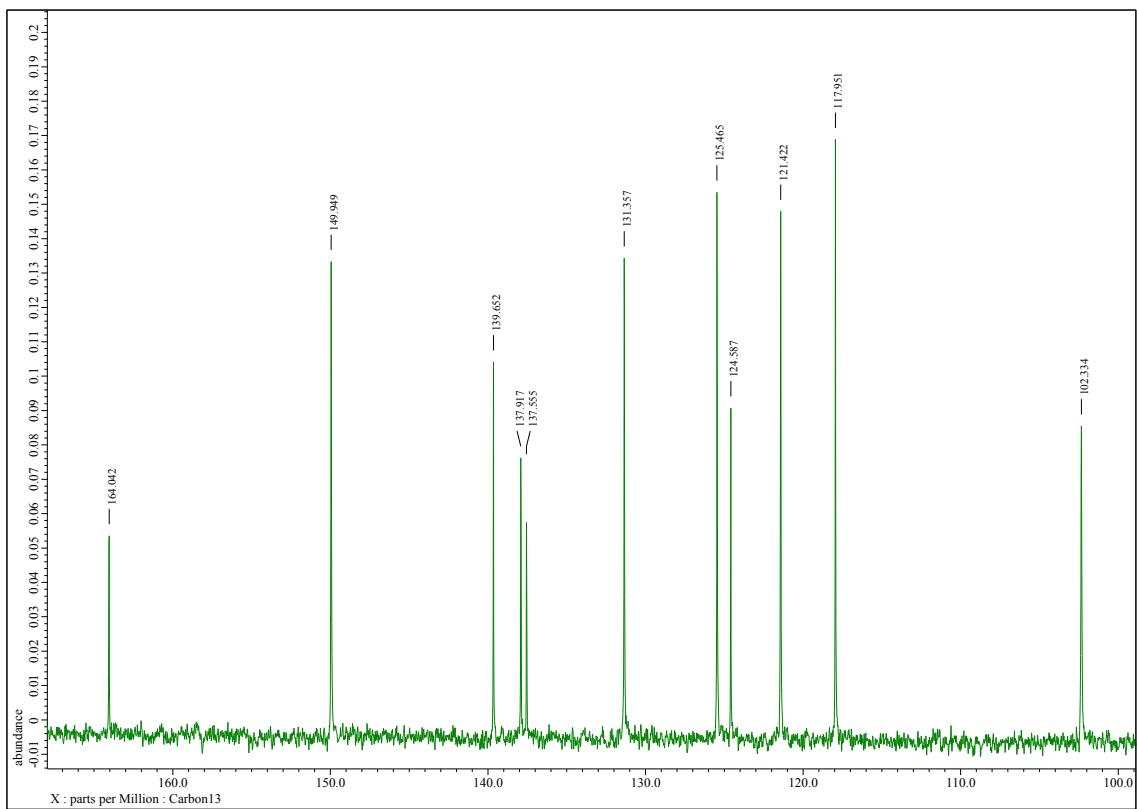




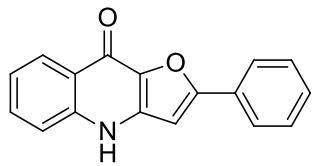
Furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (73).

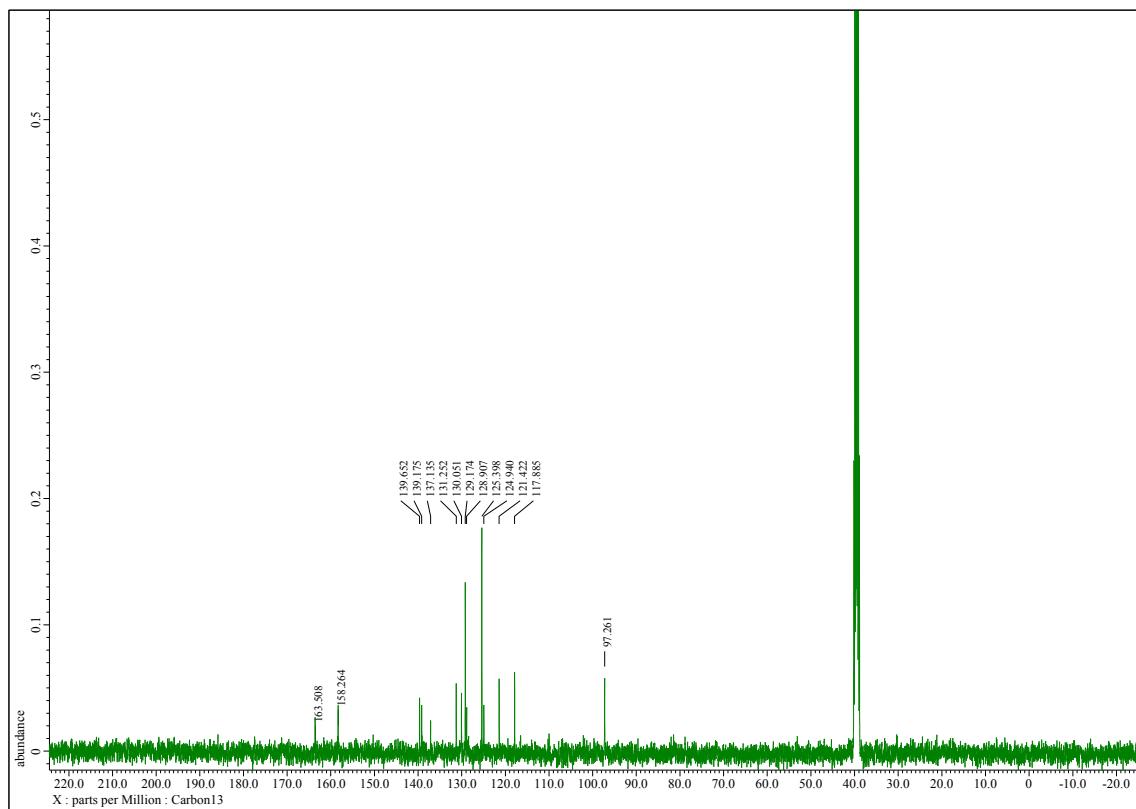
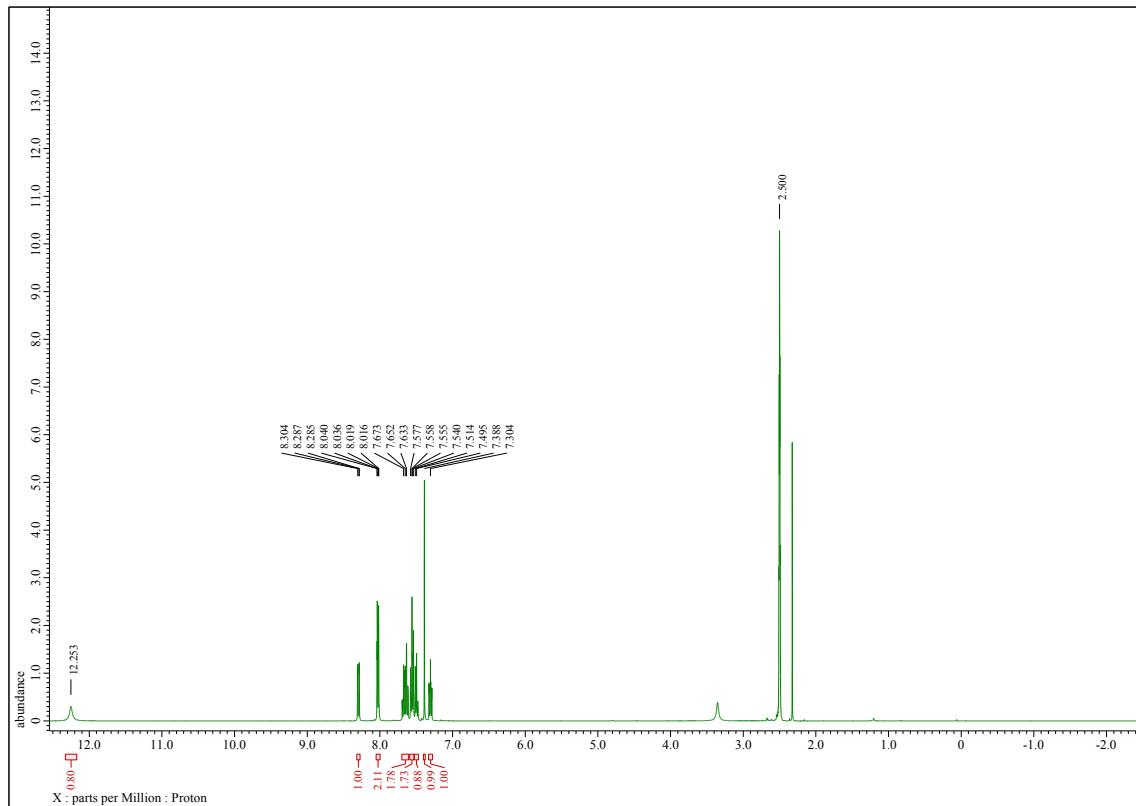


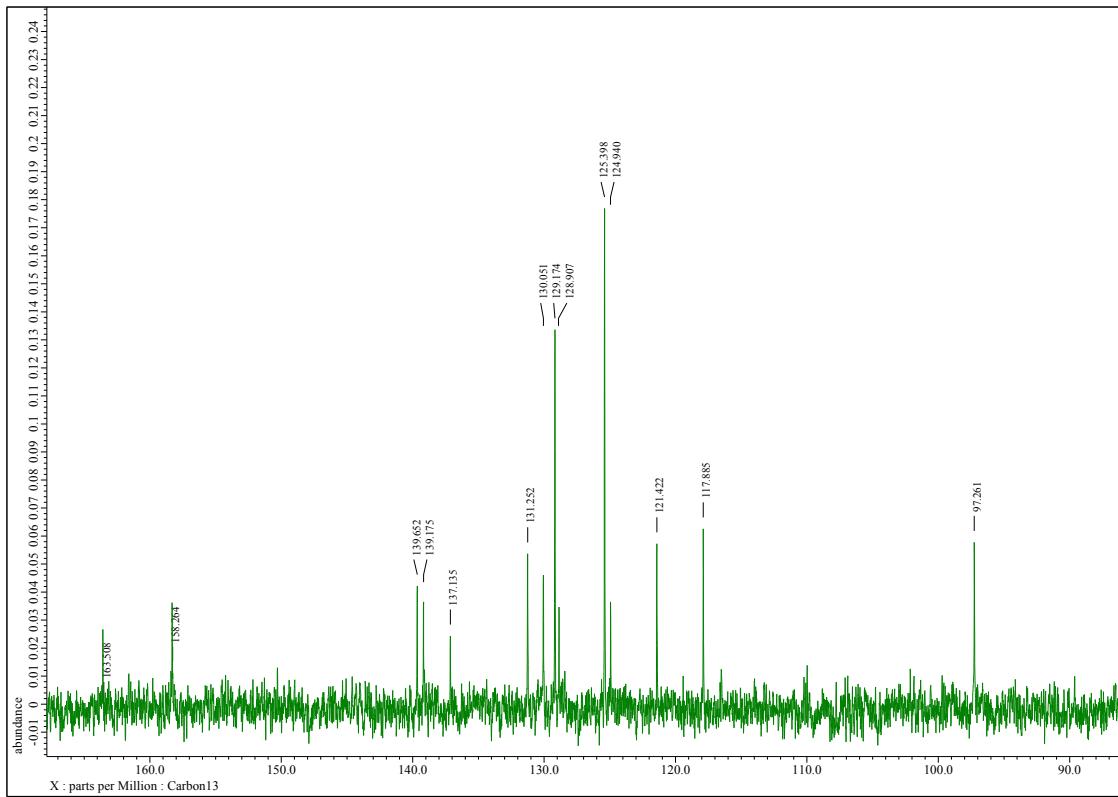




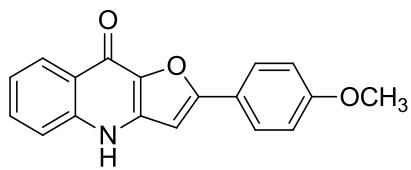
2-Fenylfuro[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (74).

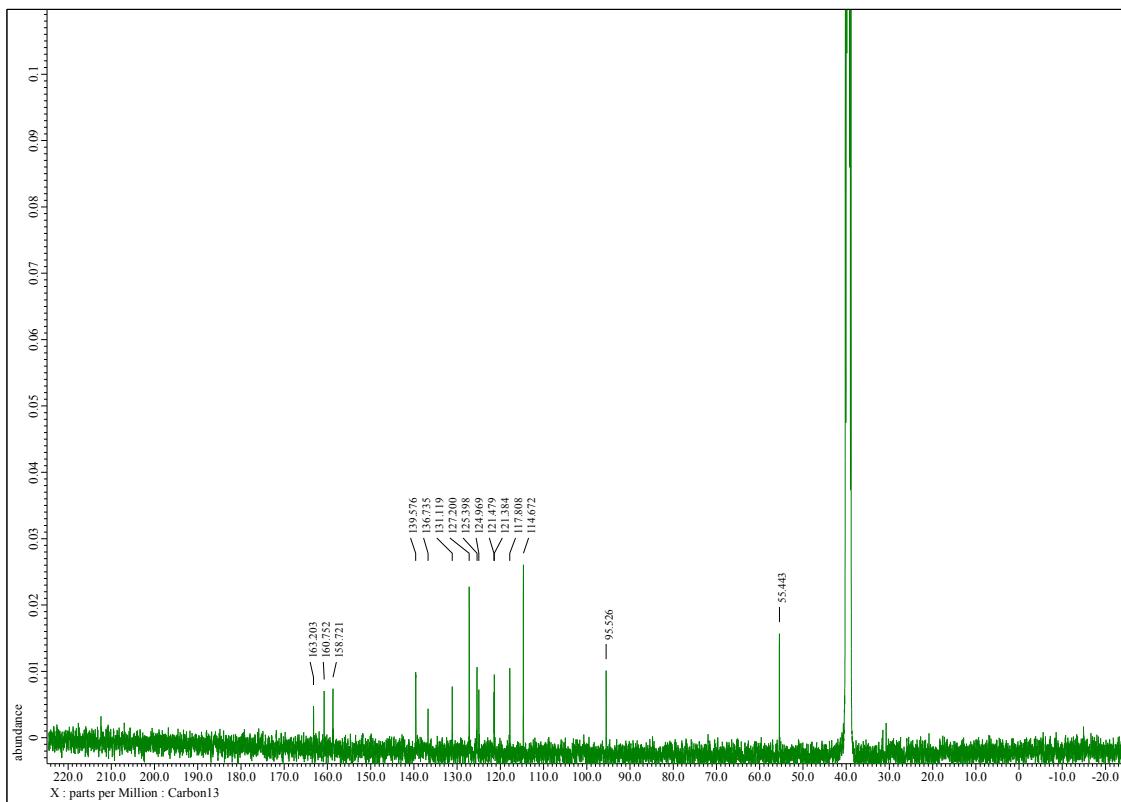
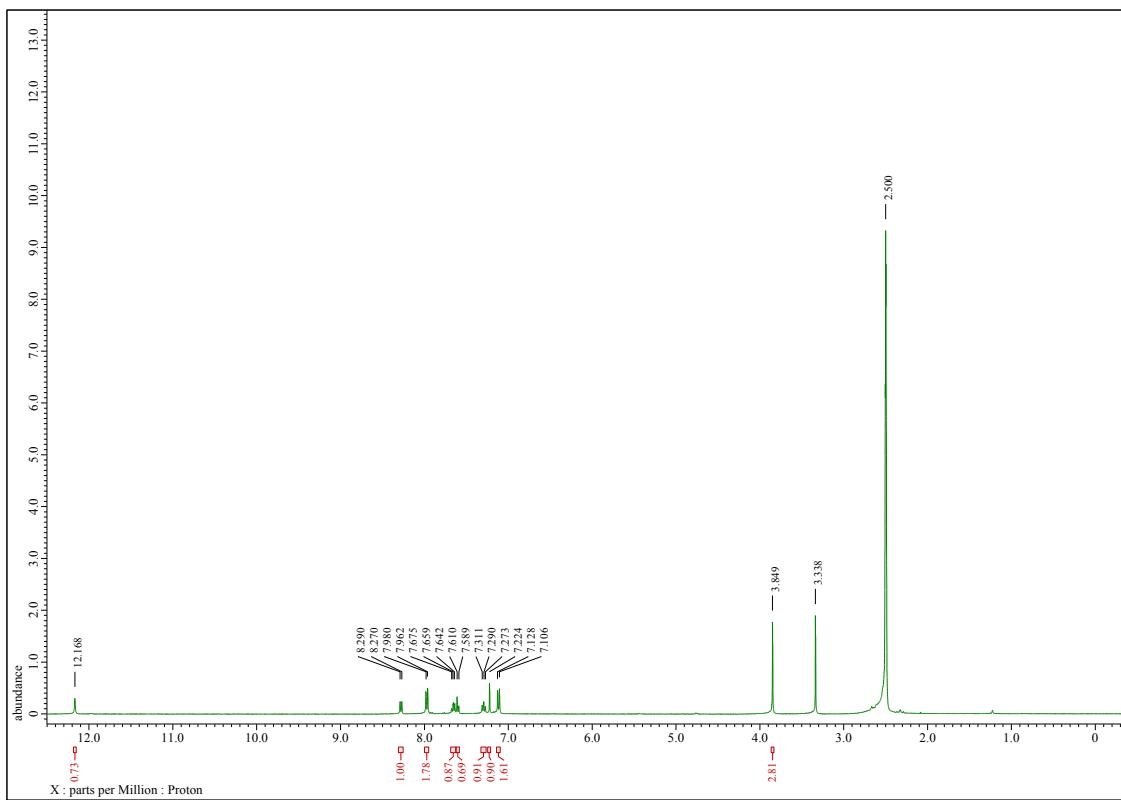


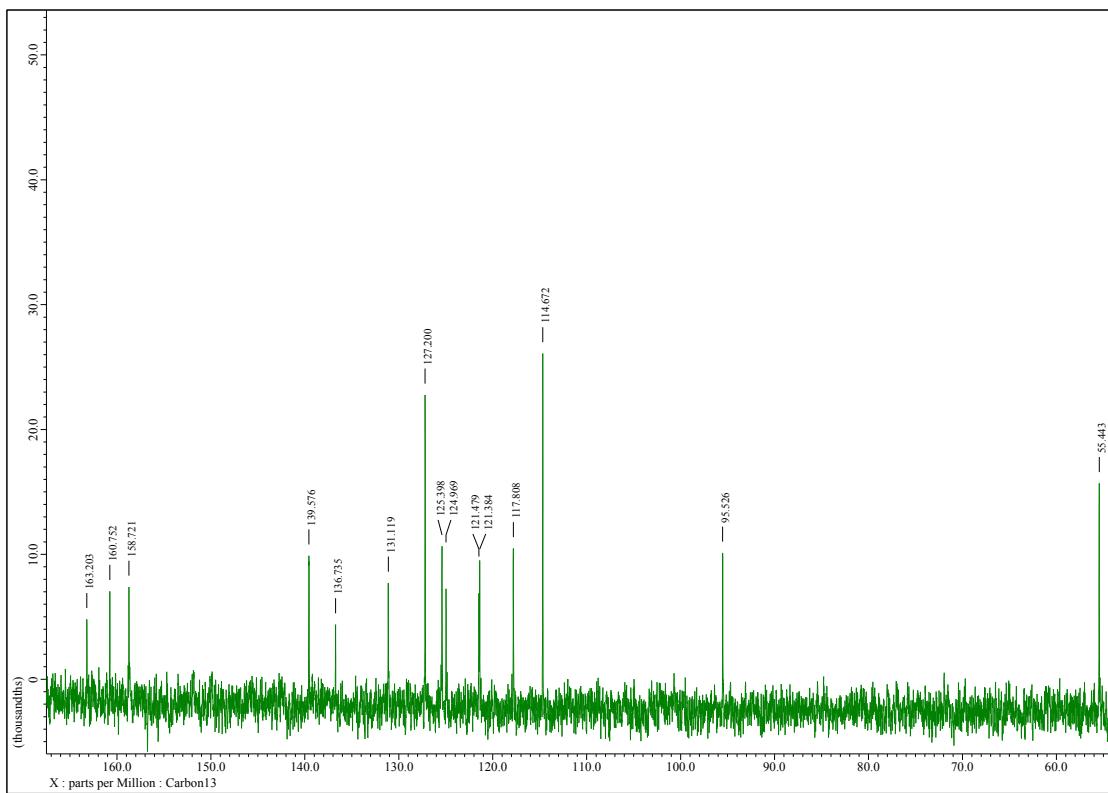




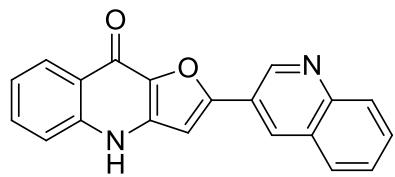
2-(4-Methoxyphenyl)furo[3,2-b]chinolin-9(4H)-on (75).

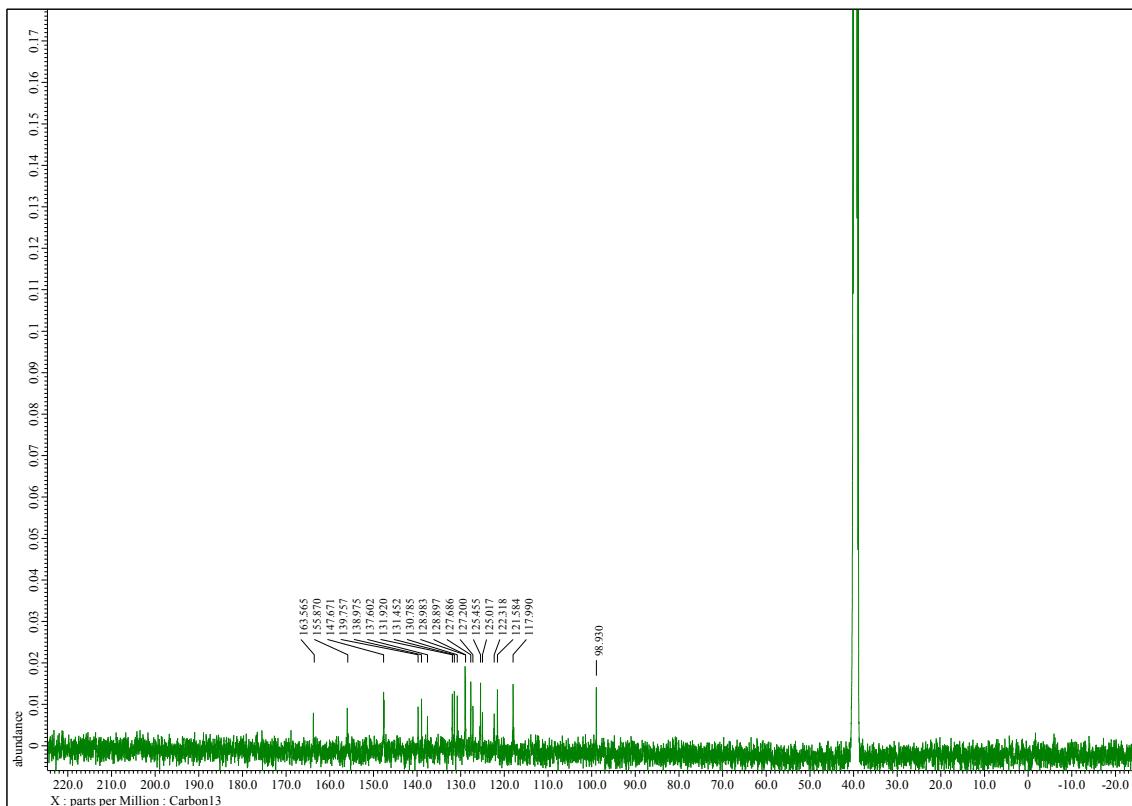
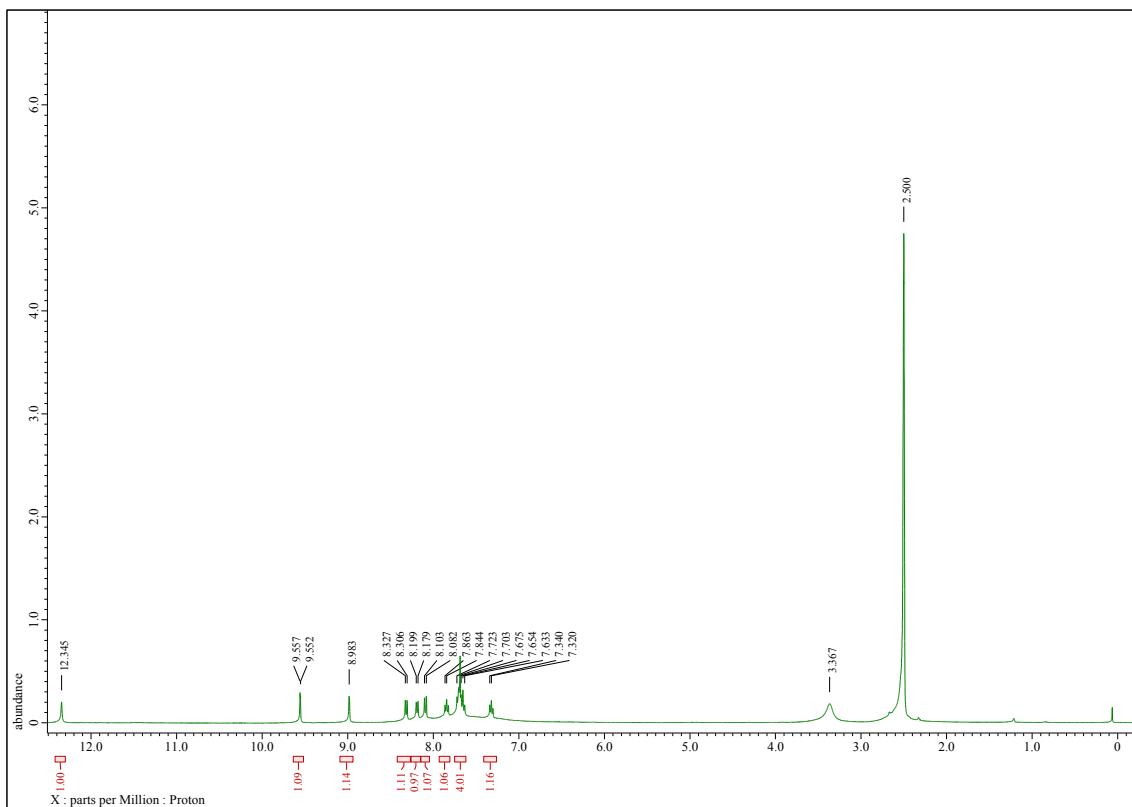


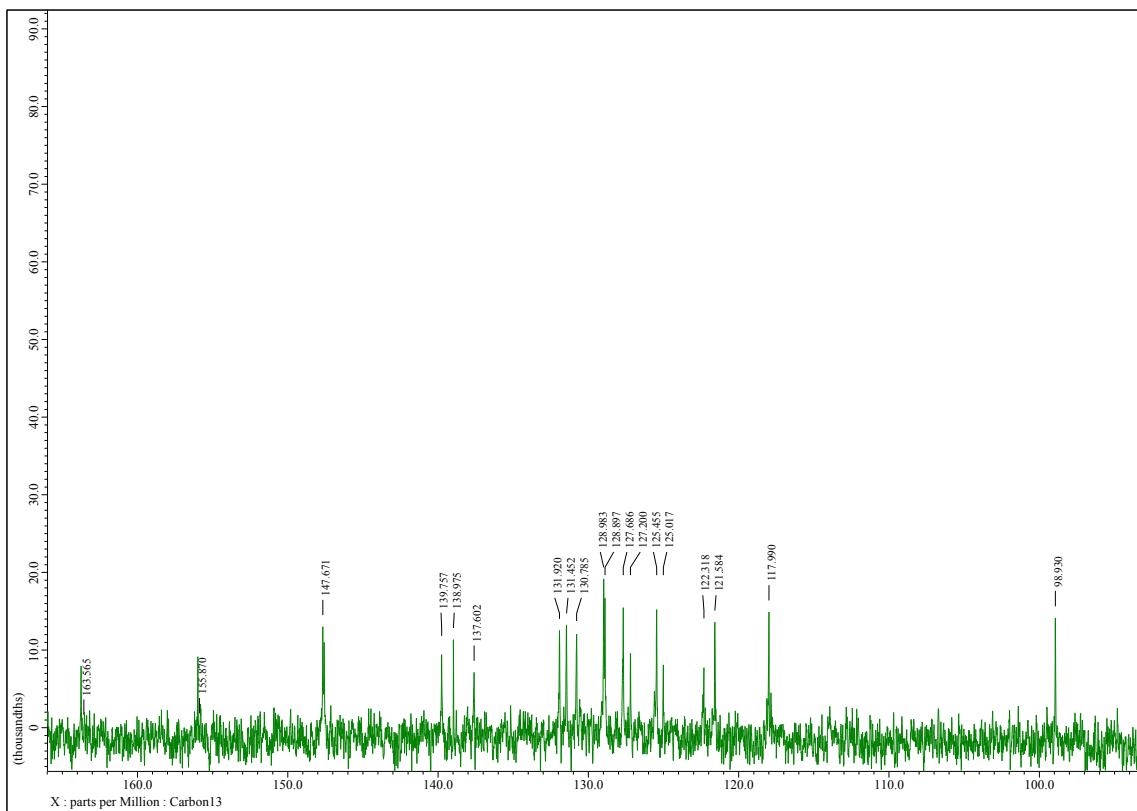




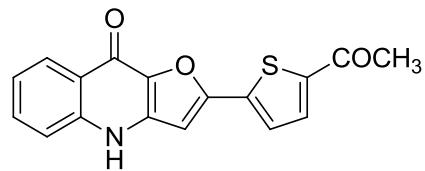
2-(Chinolin-3-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-one (77).

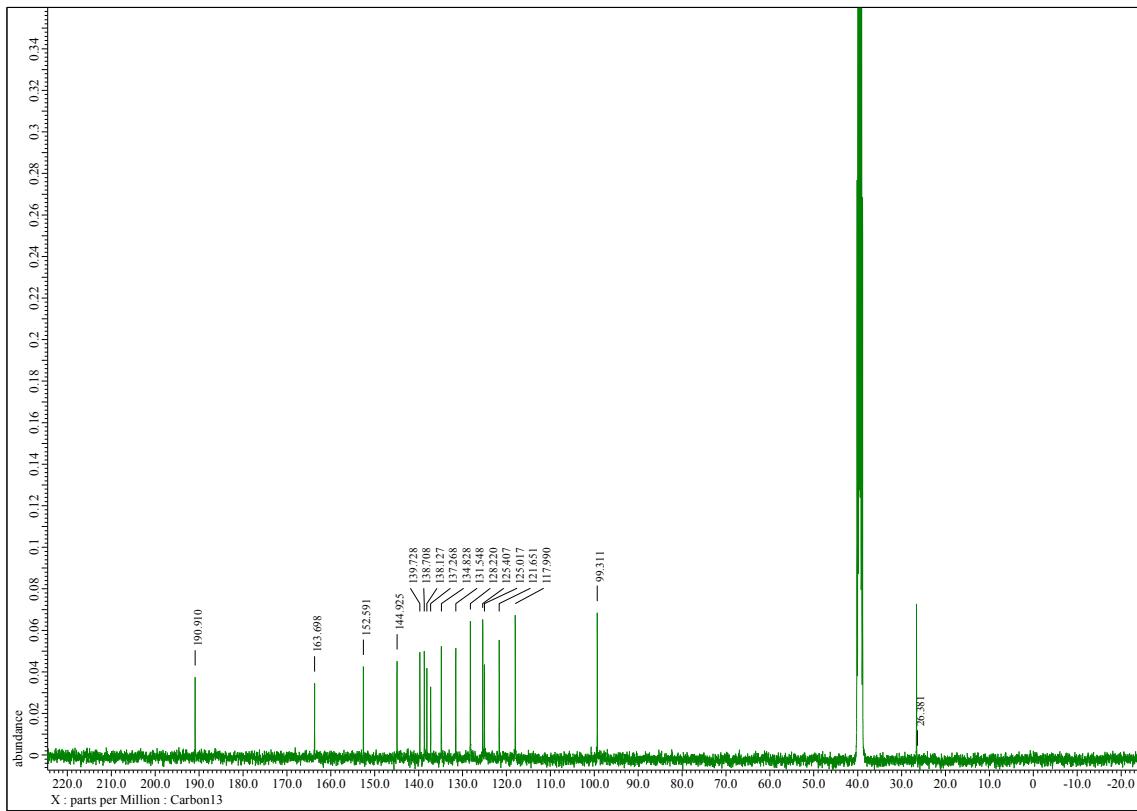
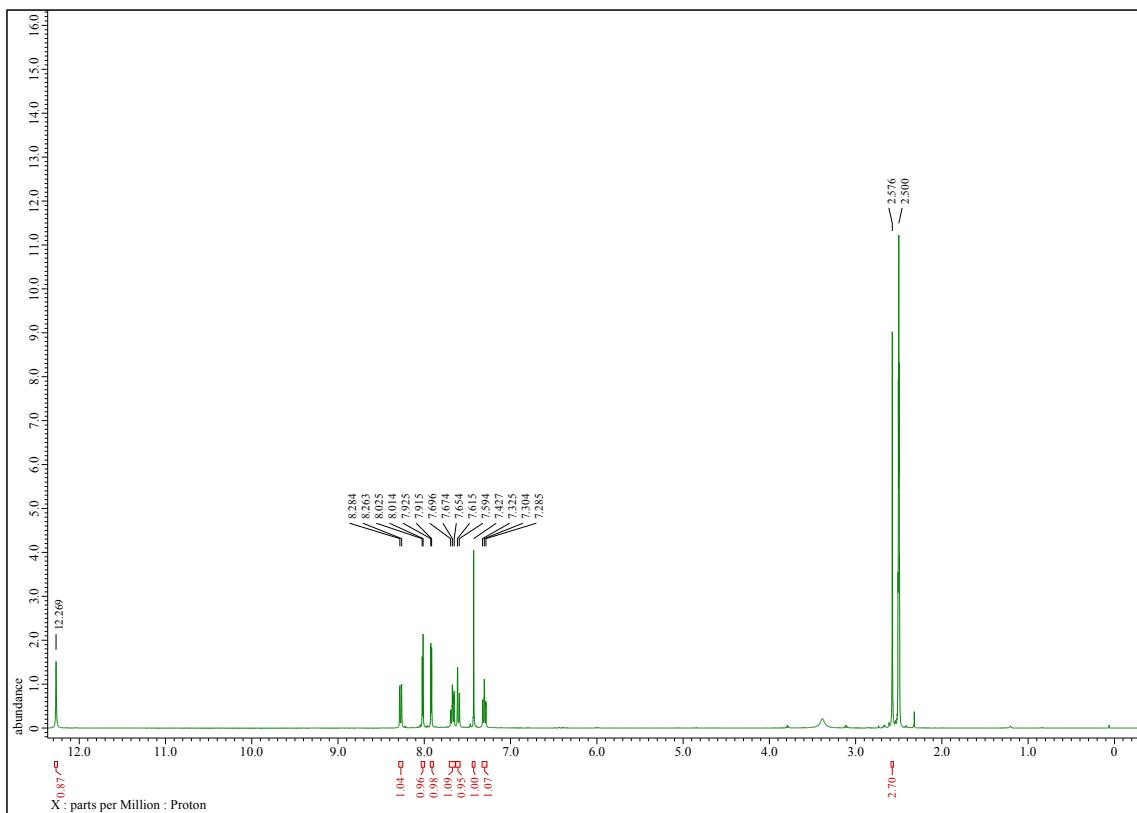




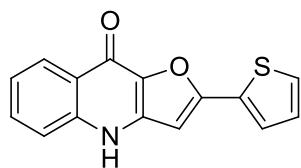


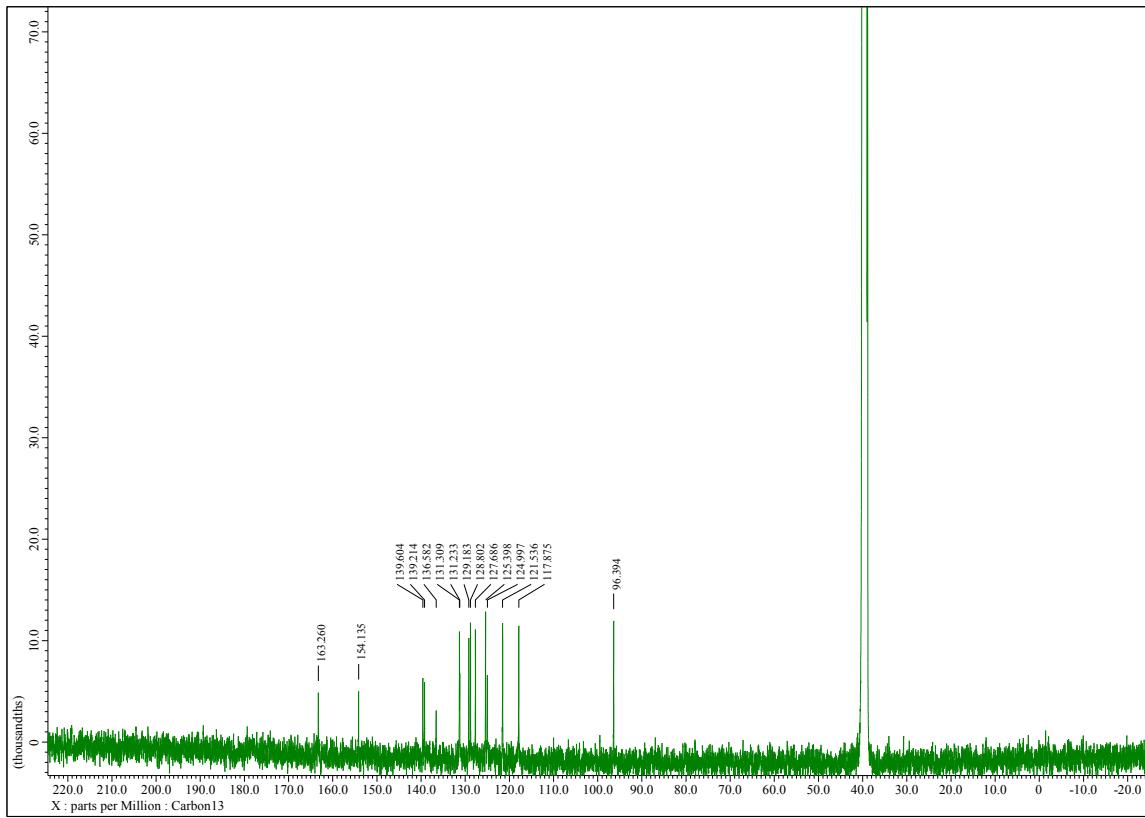
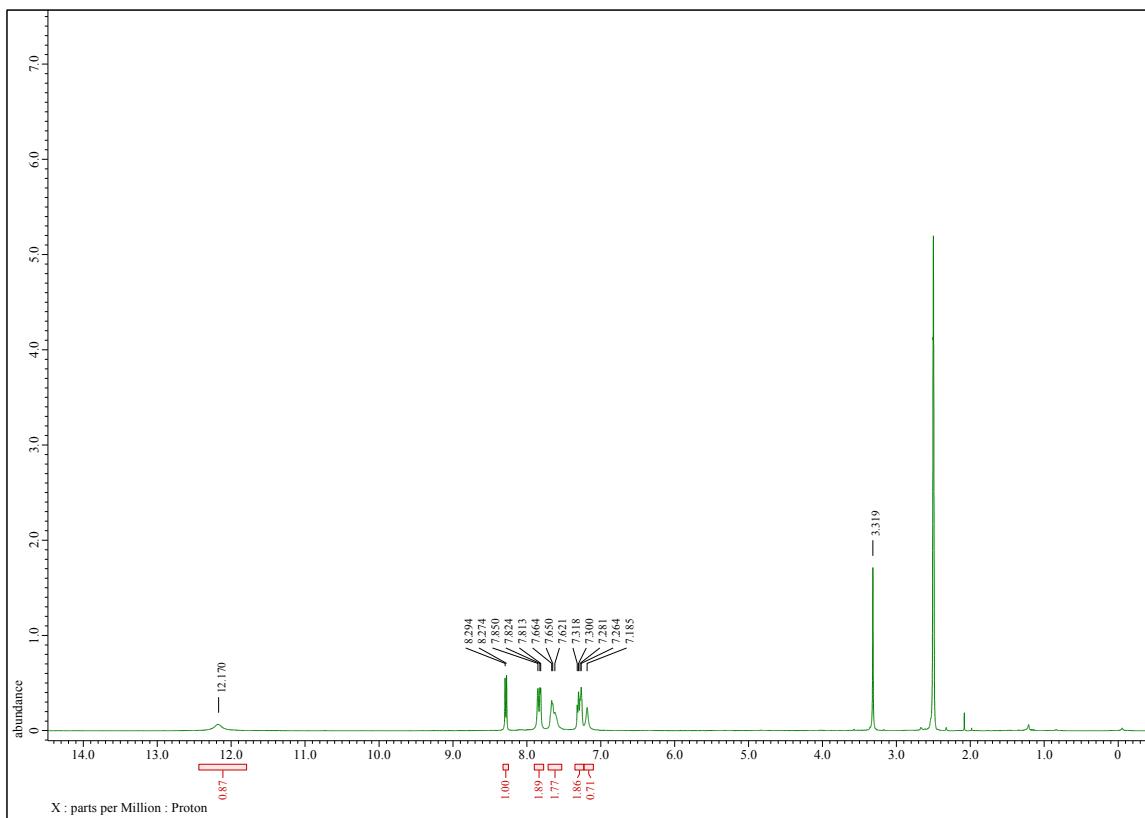
2-(5-Acetylthiofen-2-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (78).

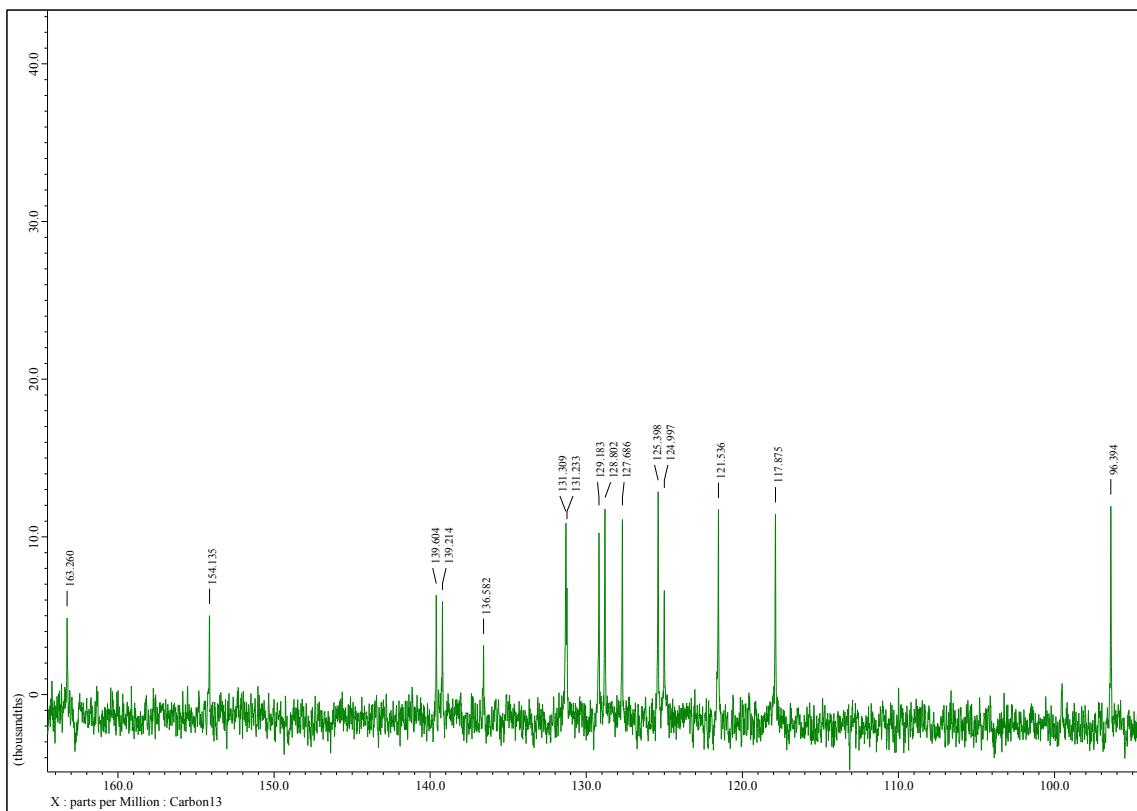




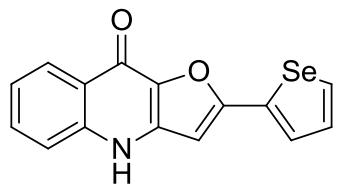
2-(Thieno[2-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (79).

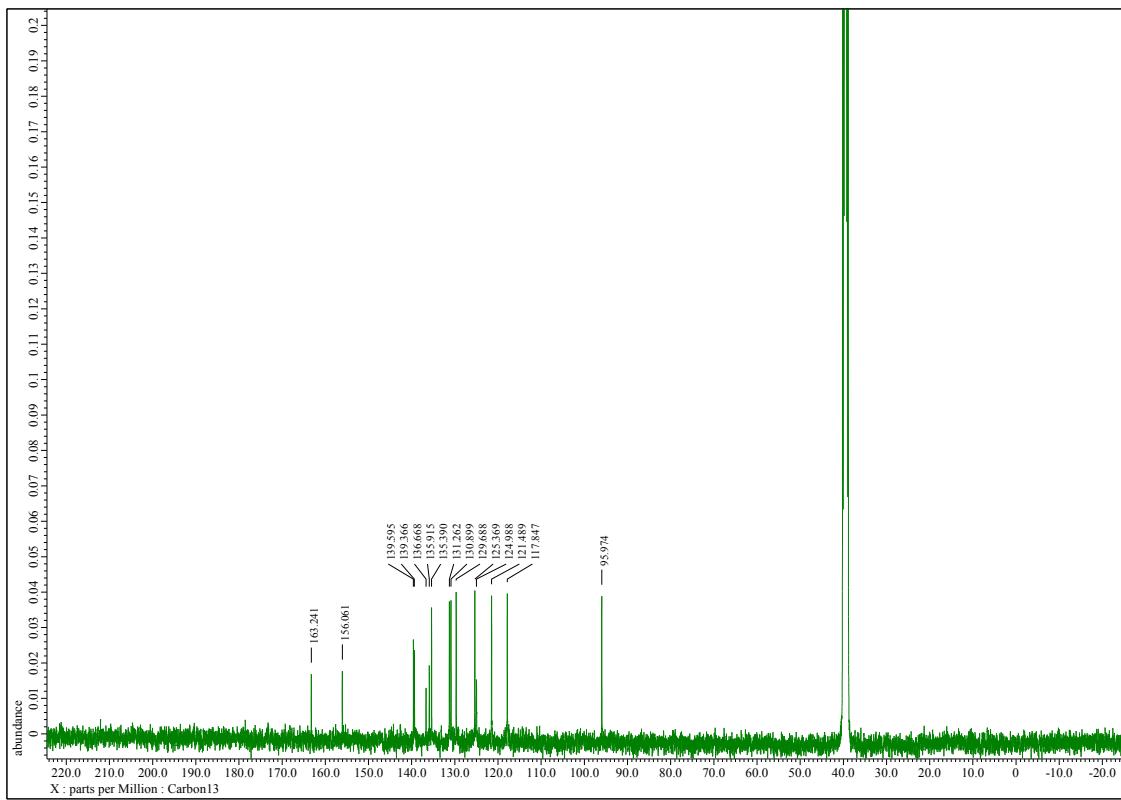
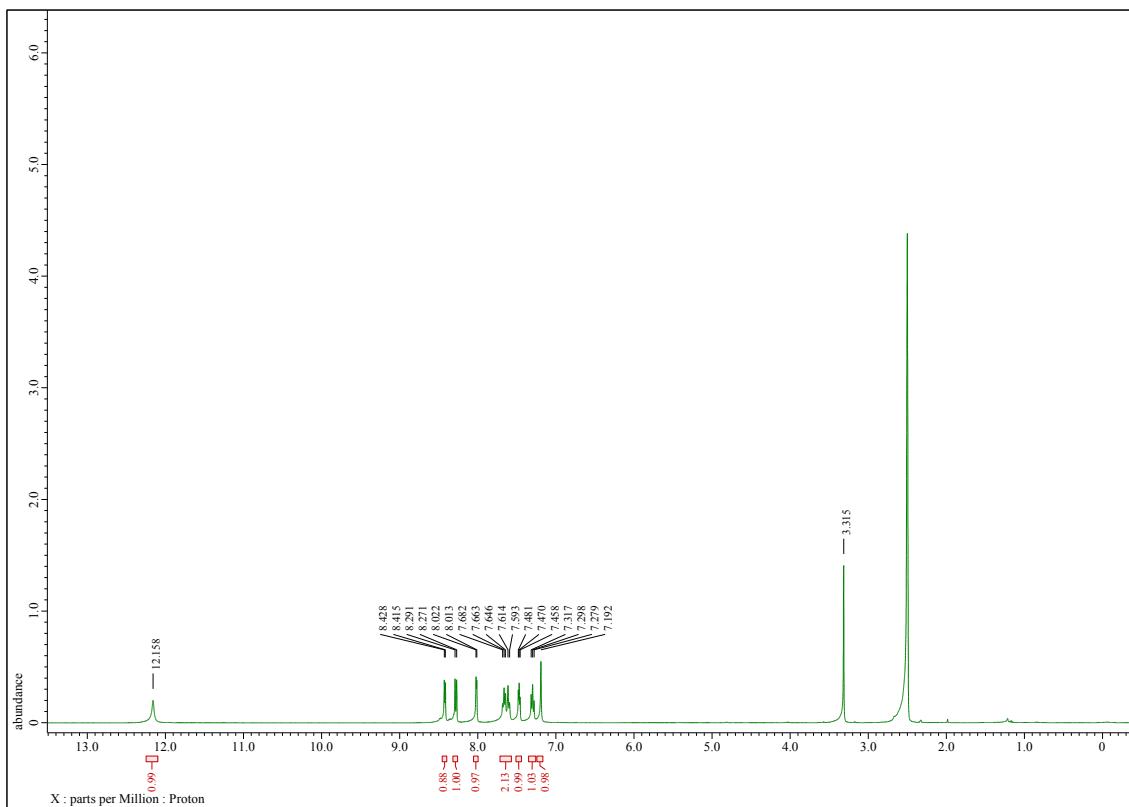


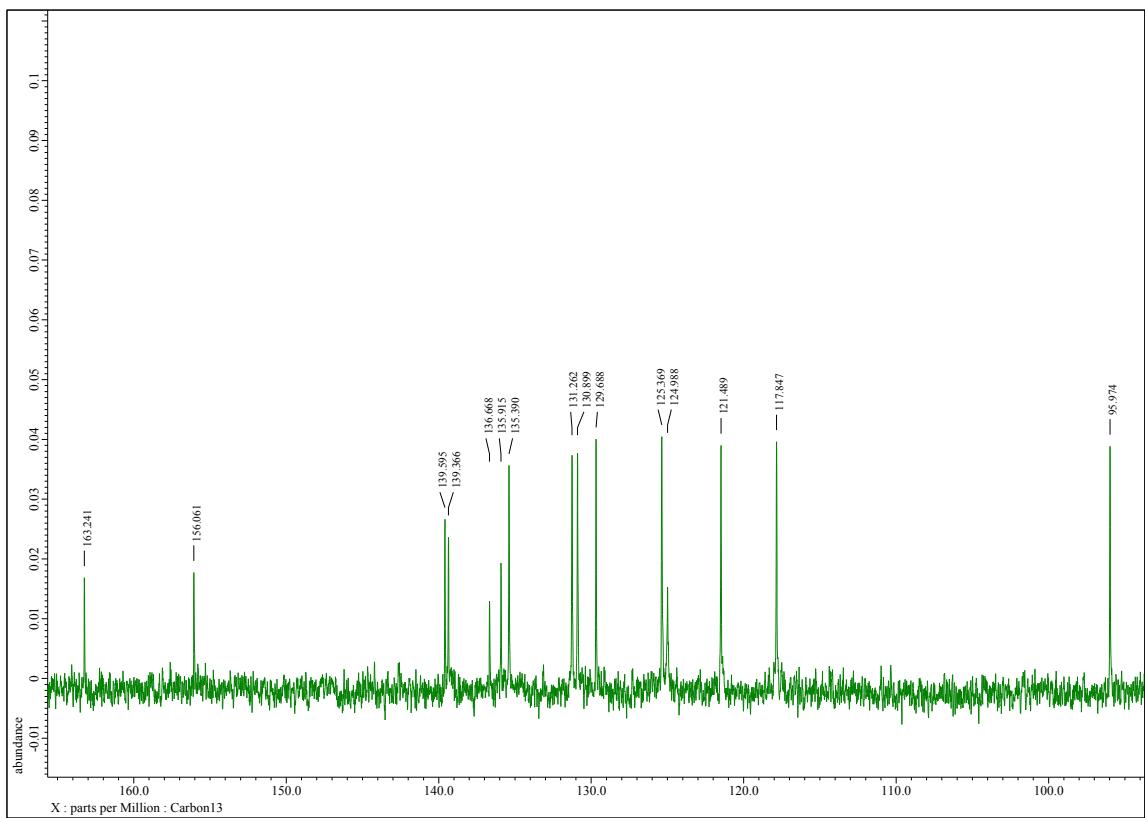




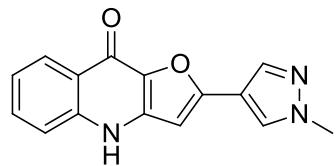
2-(Selenofen-2-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (80).

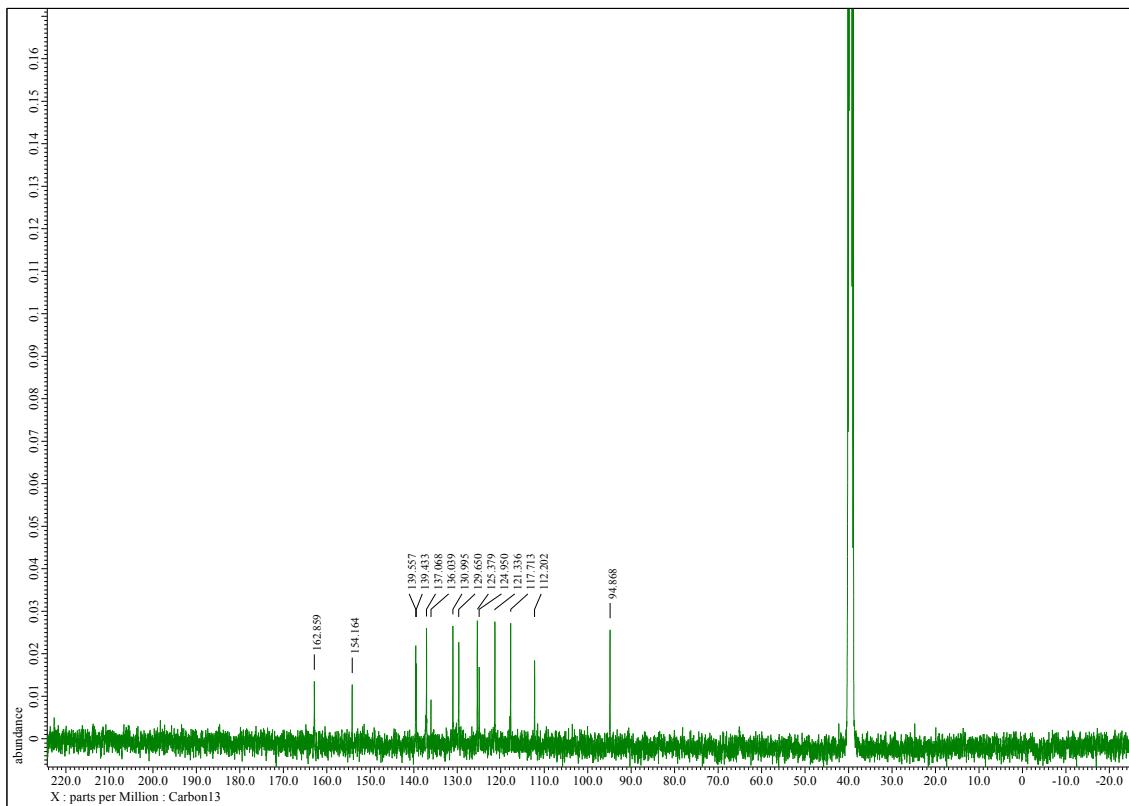
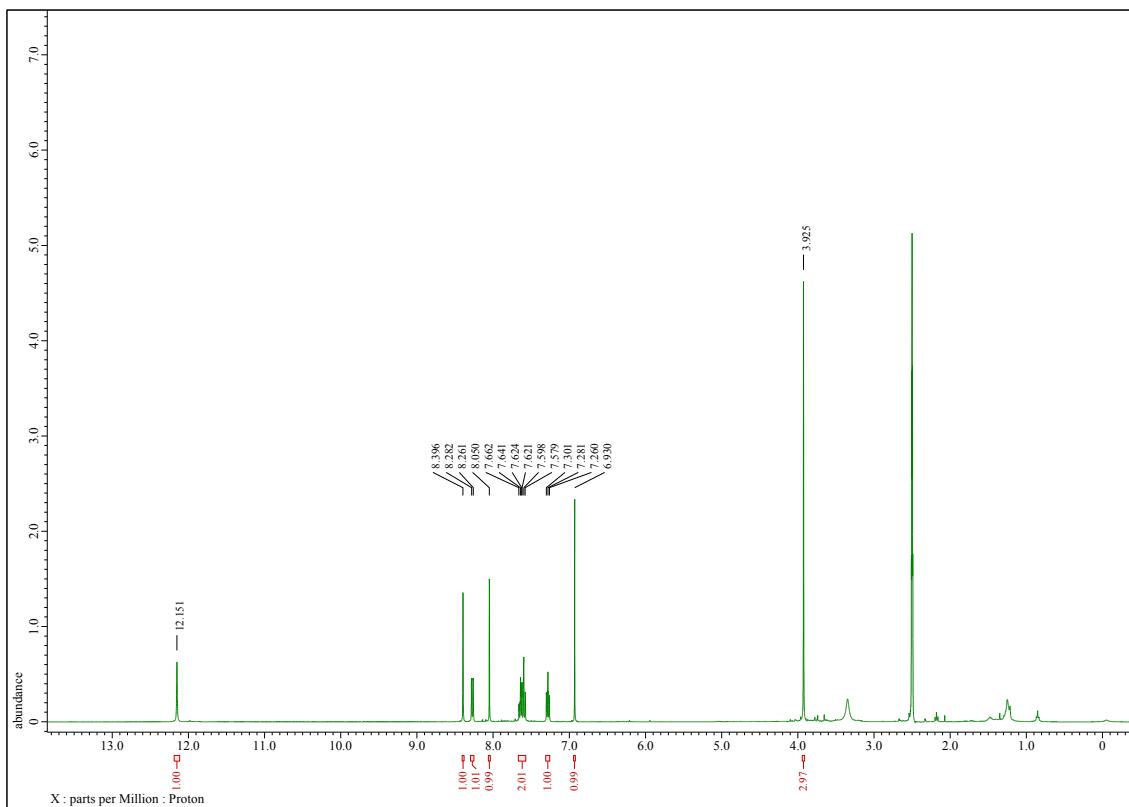


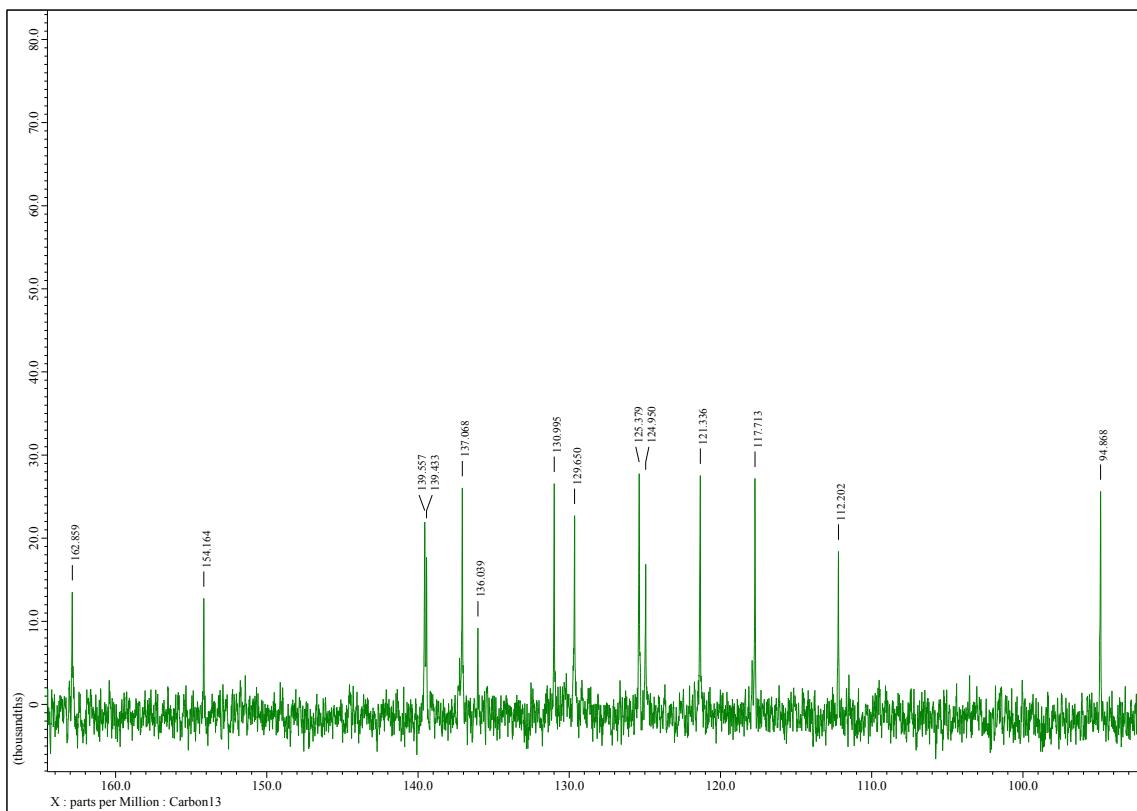




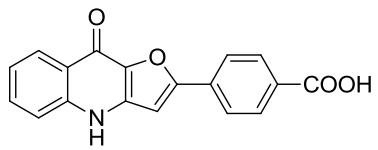
2-(1-Methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (82).

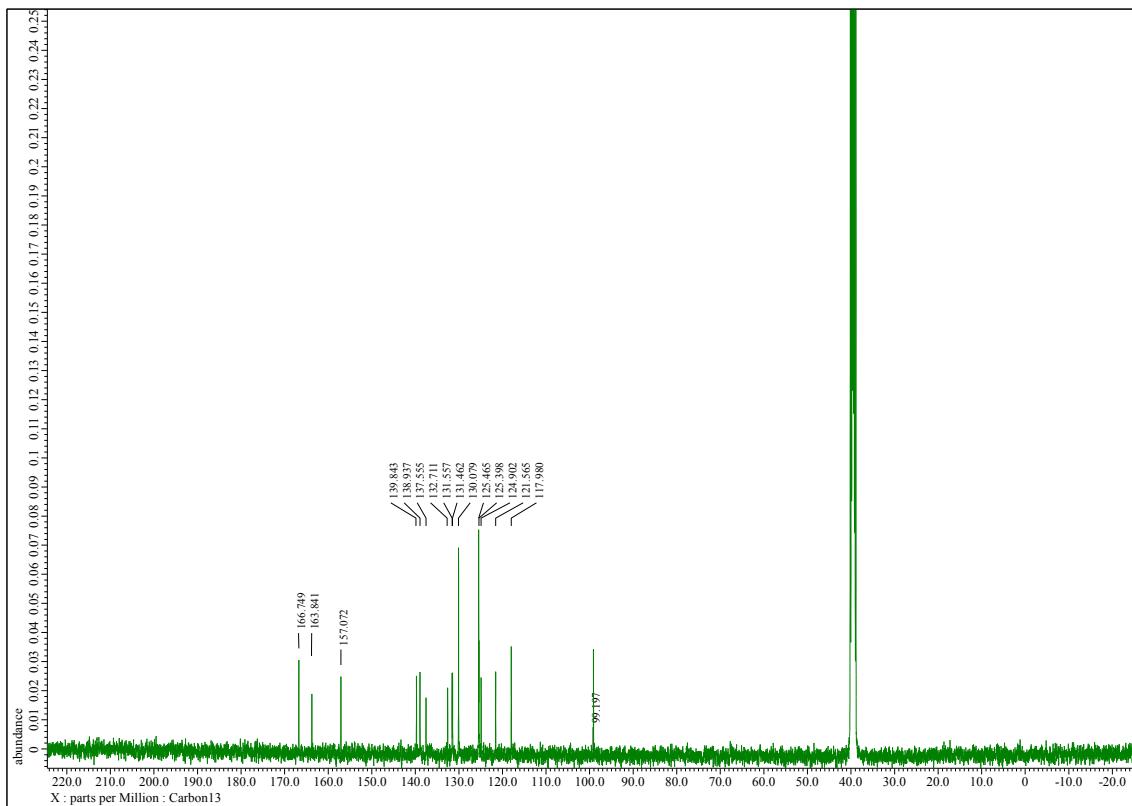
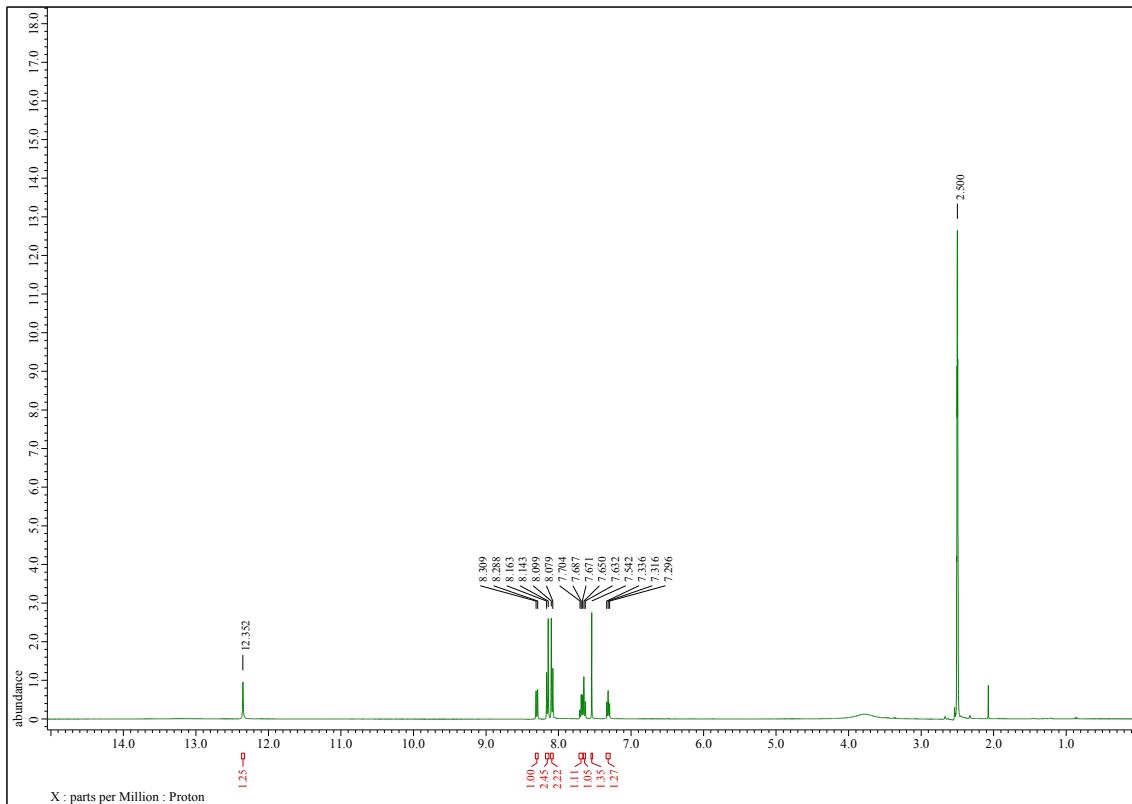


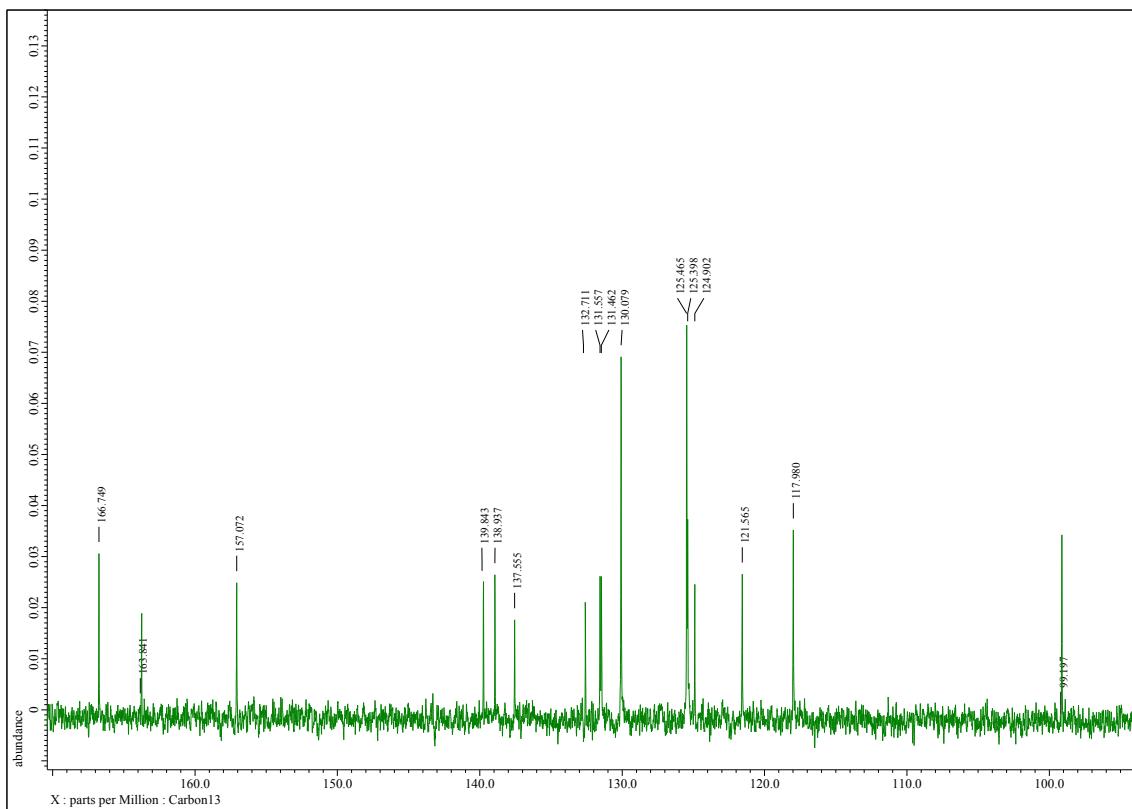




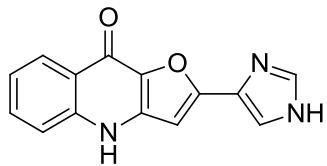
4-(9-Oxo-4,9-dihydrofuro[3,2-b]chinolin-2-yl)benzoová kyselina (76).

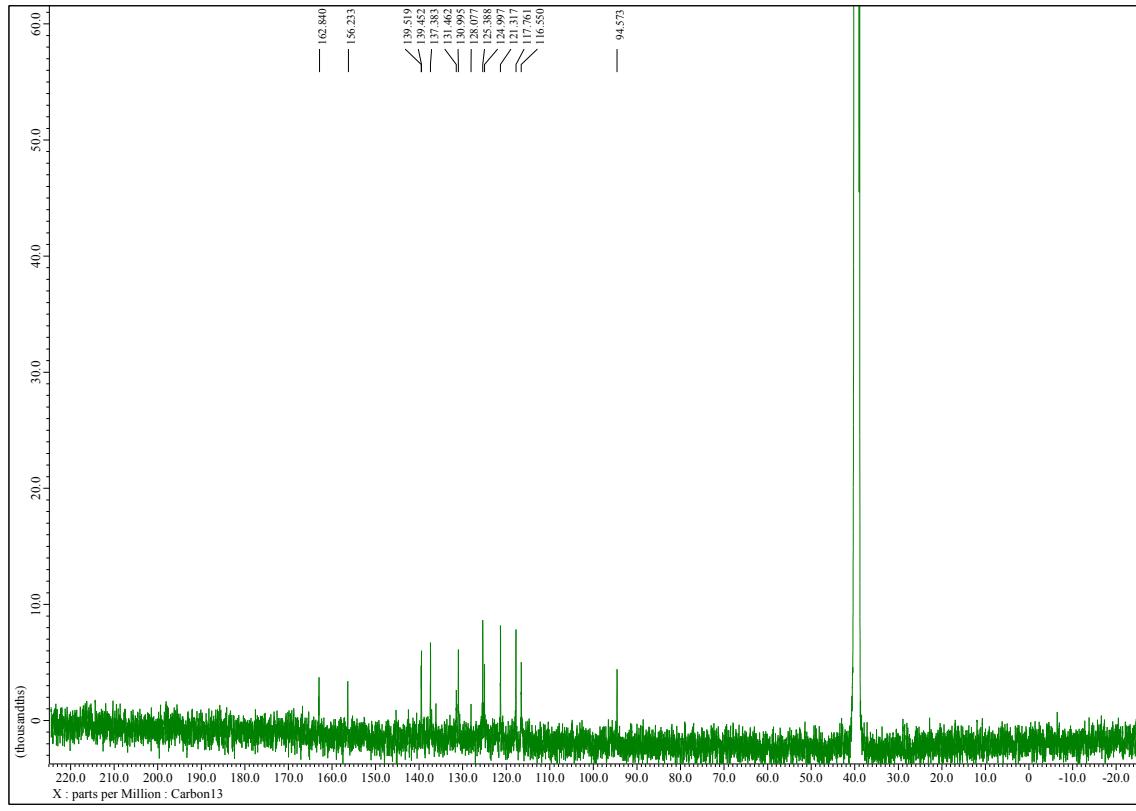
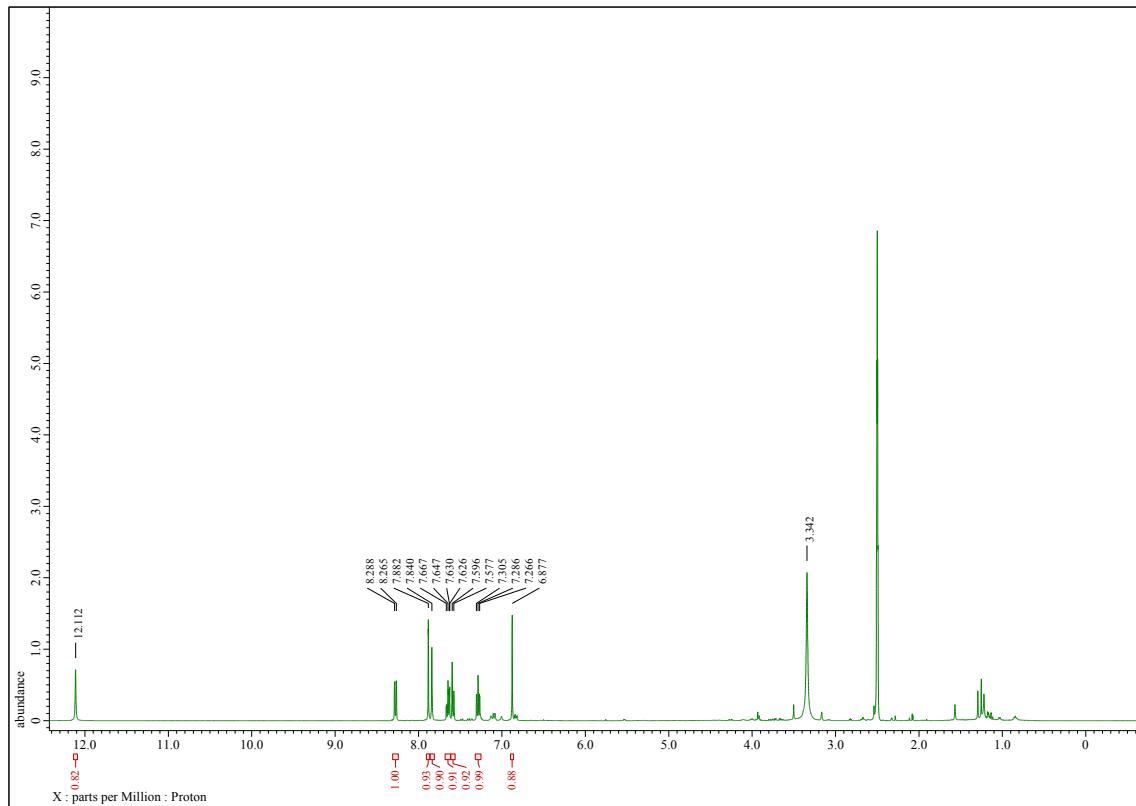


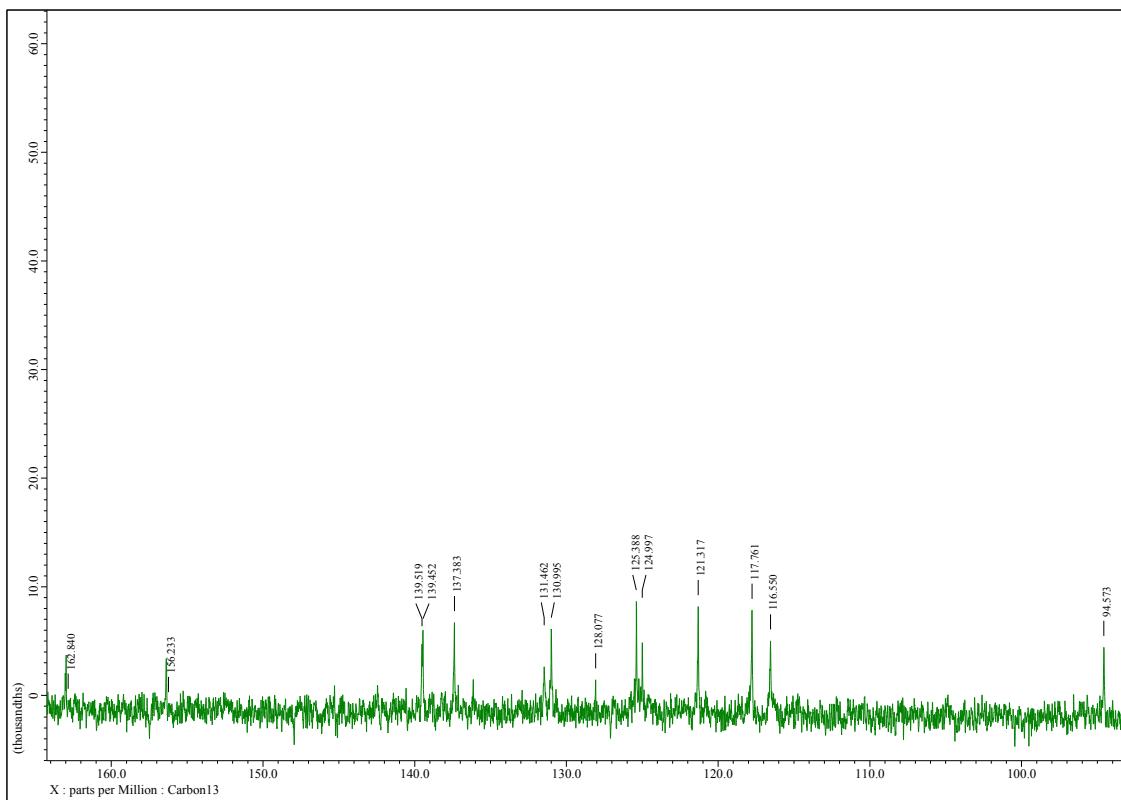




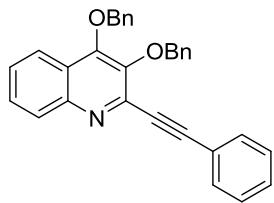
2-(1*H*-Imidazol-5-yl)furo[3,2-*b*]chinolin-9(4*H*)-on (81).

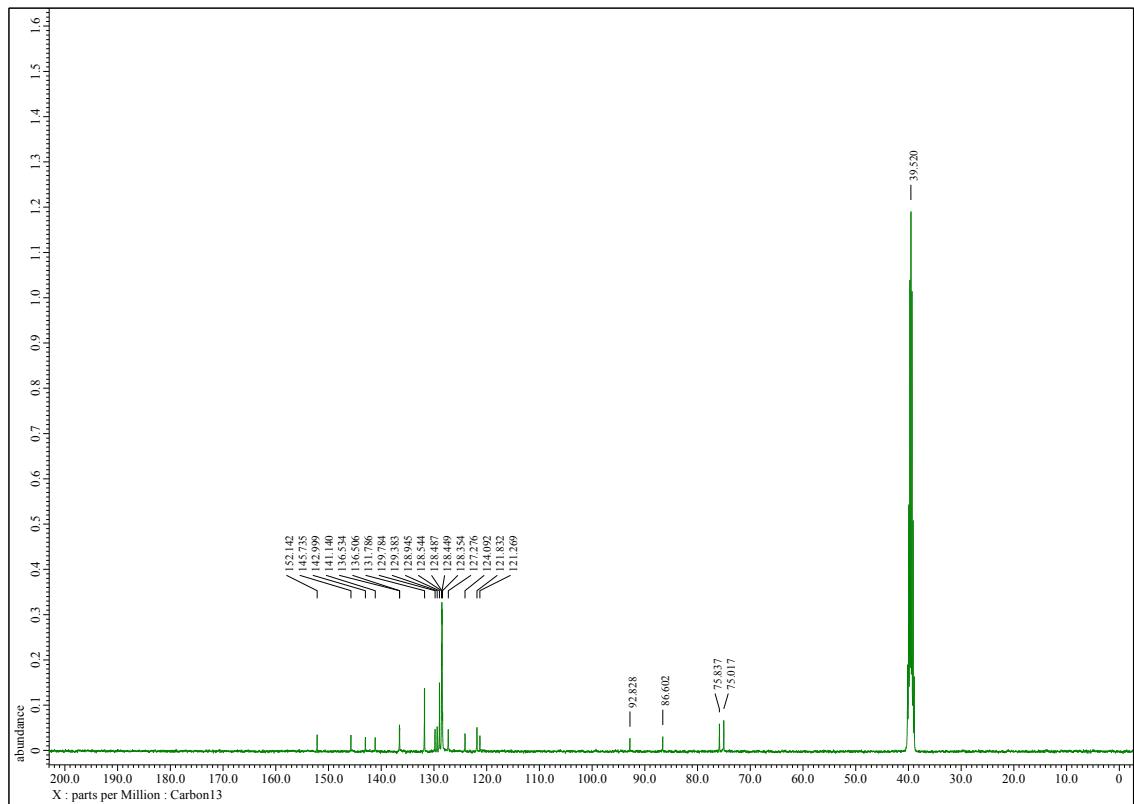
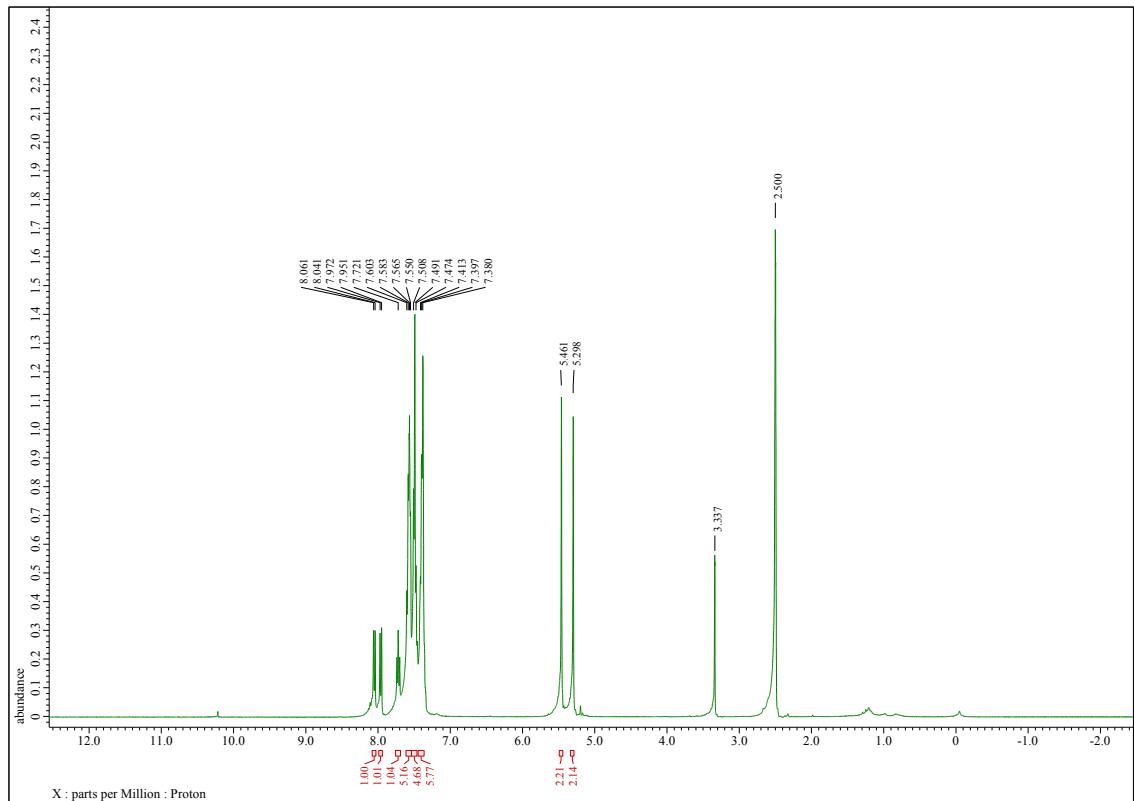




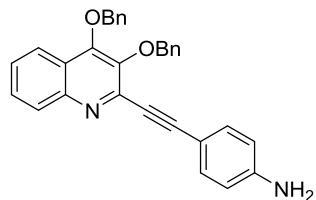


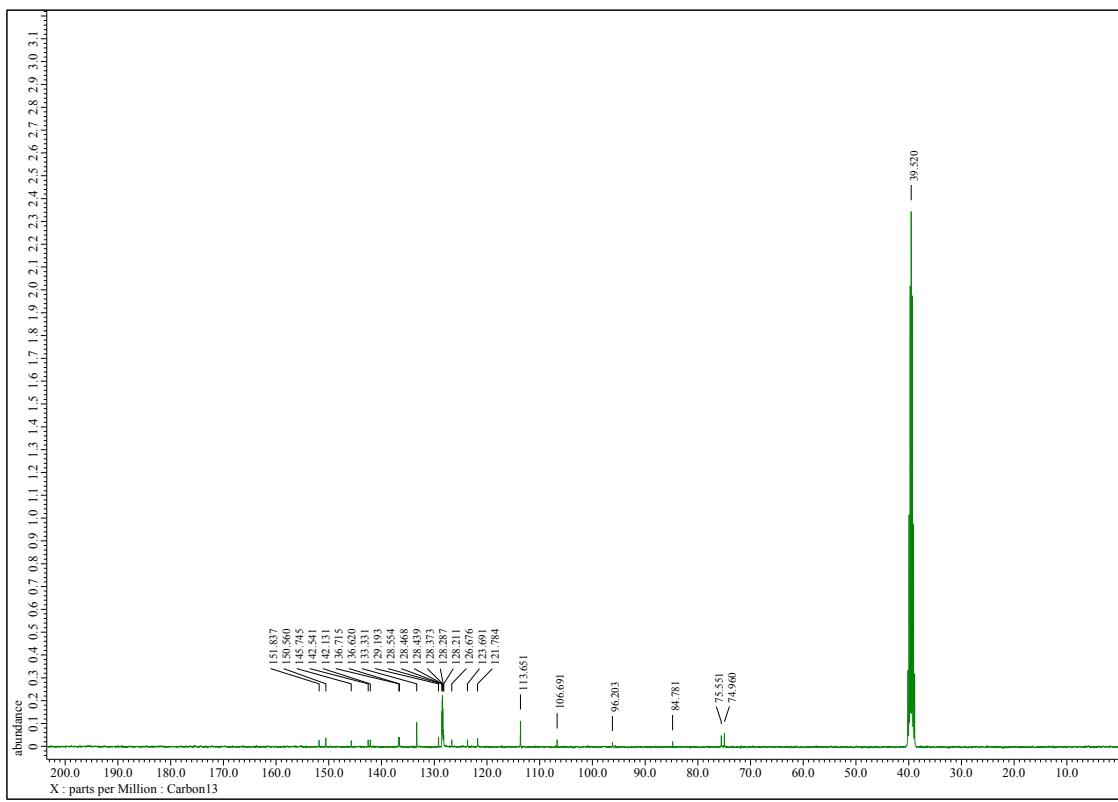
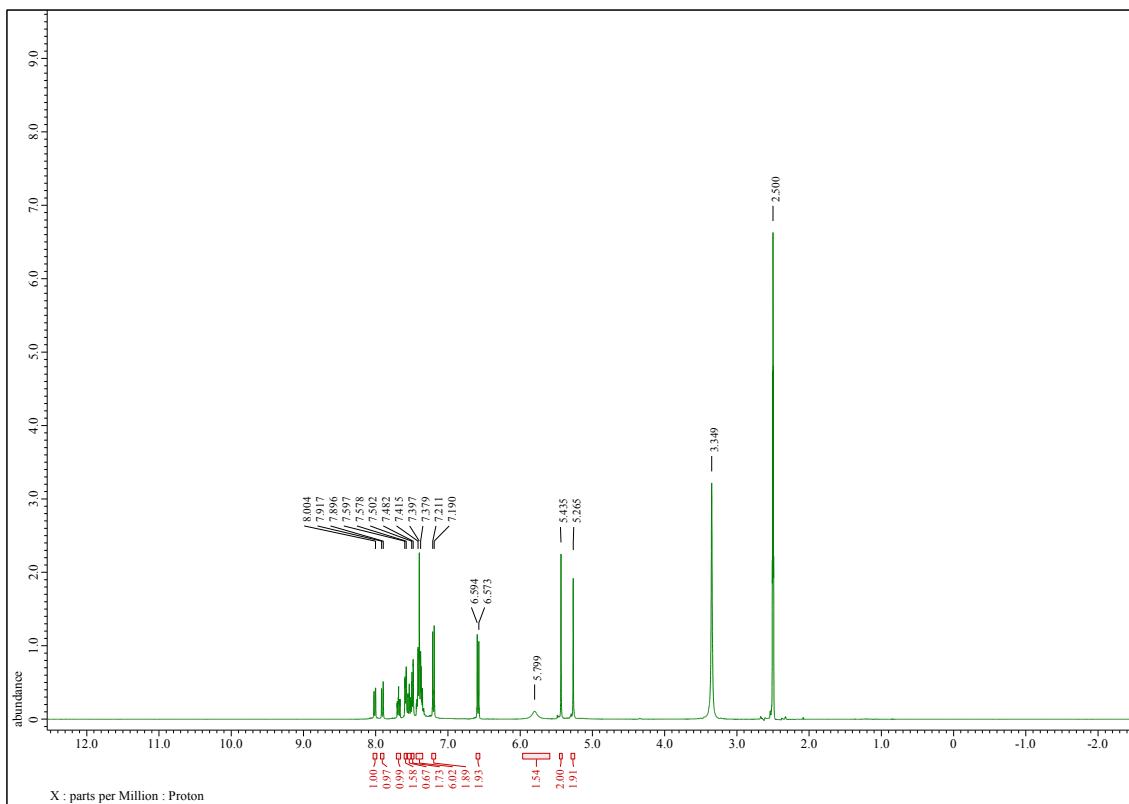
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(fenylethyynyl)chinolin (83).



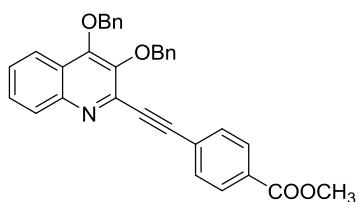


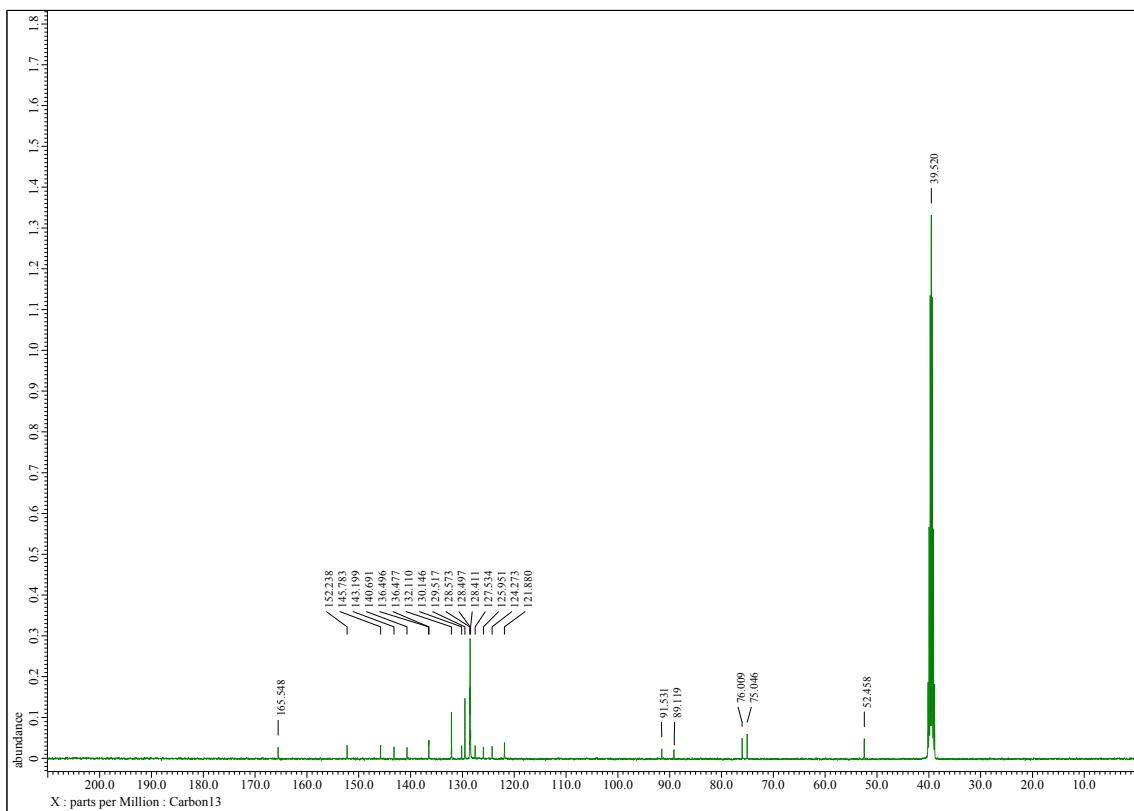
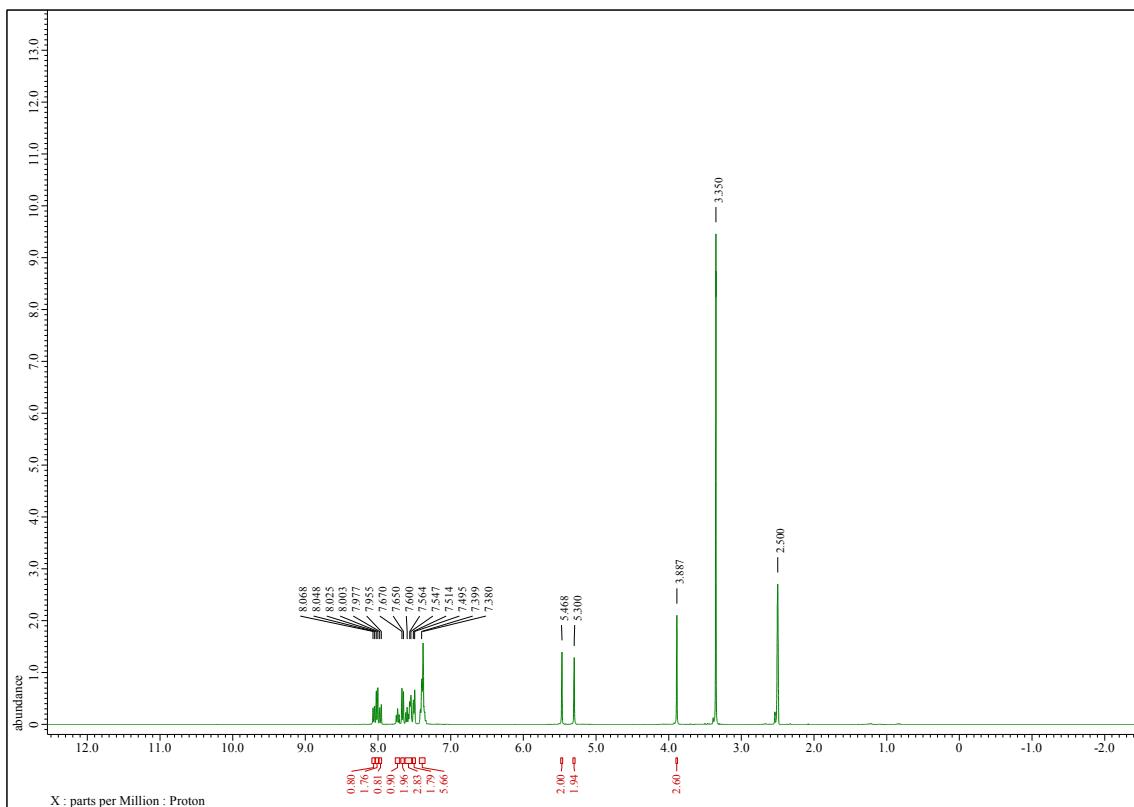
4-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)anilin (84).



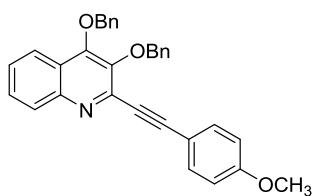


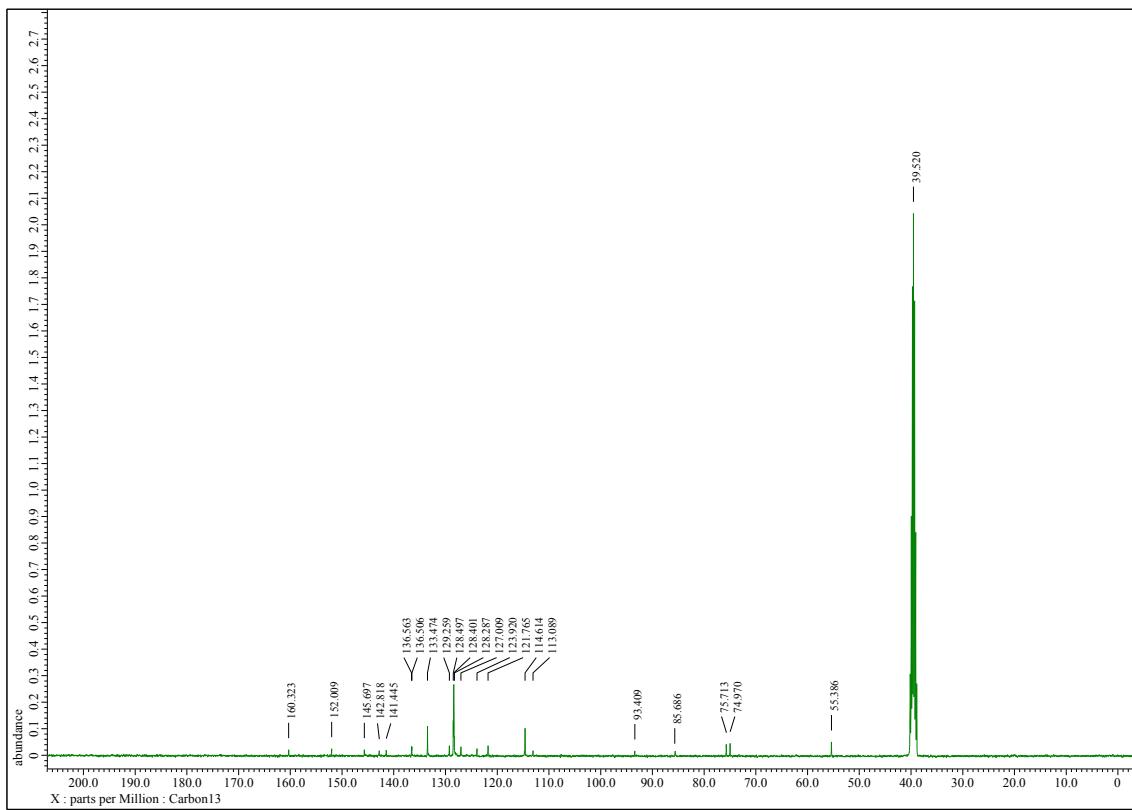
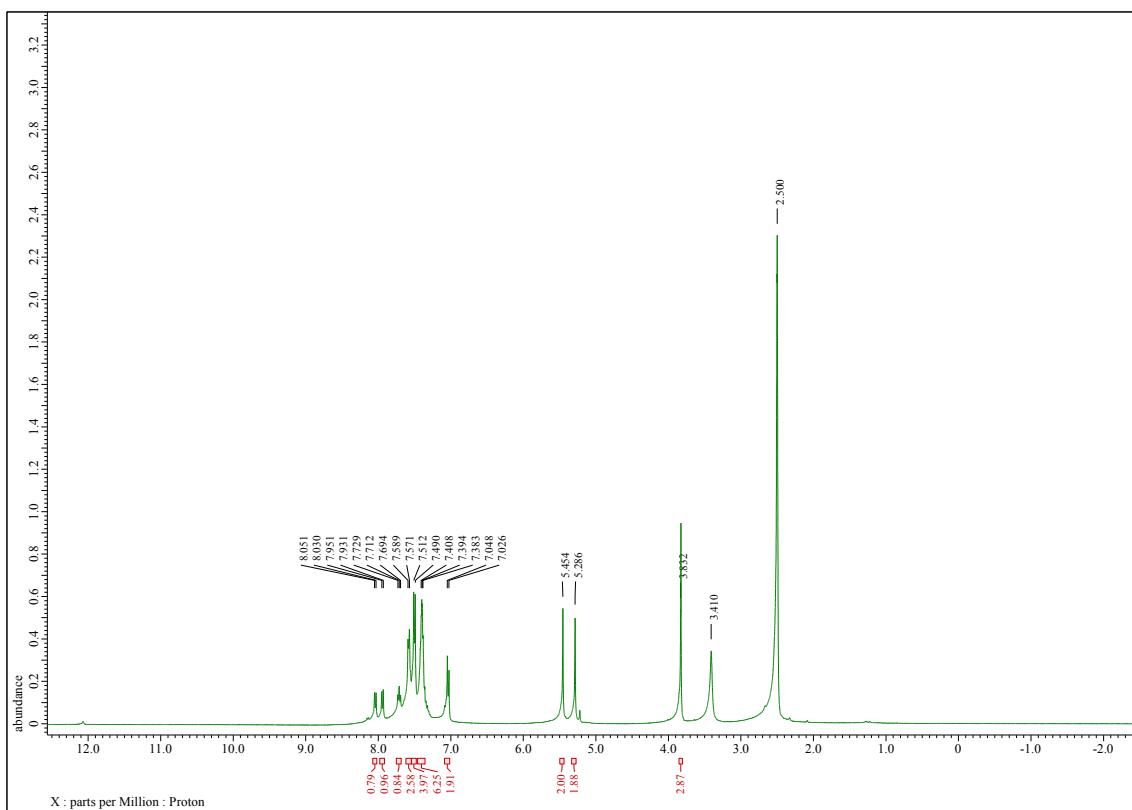
Methyl 4-((3,4-bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)benzoát (85).



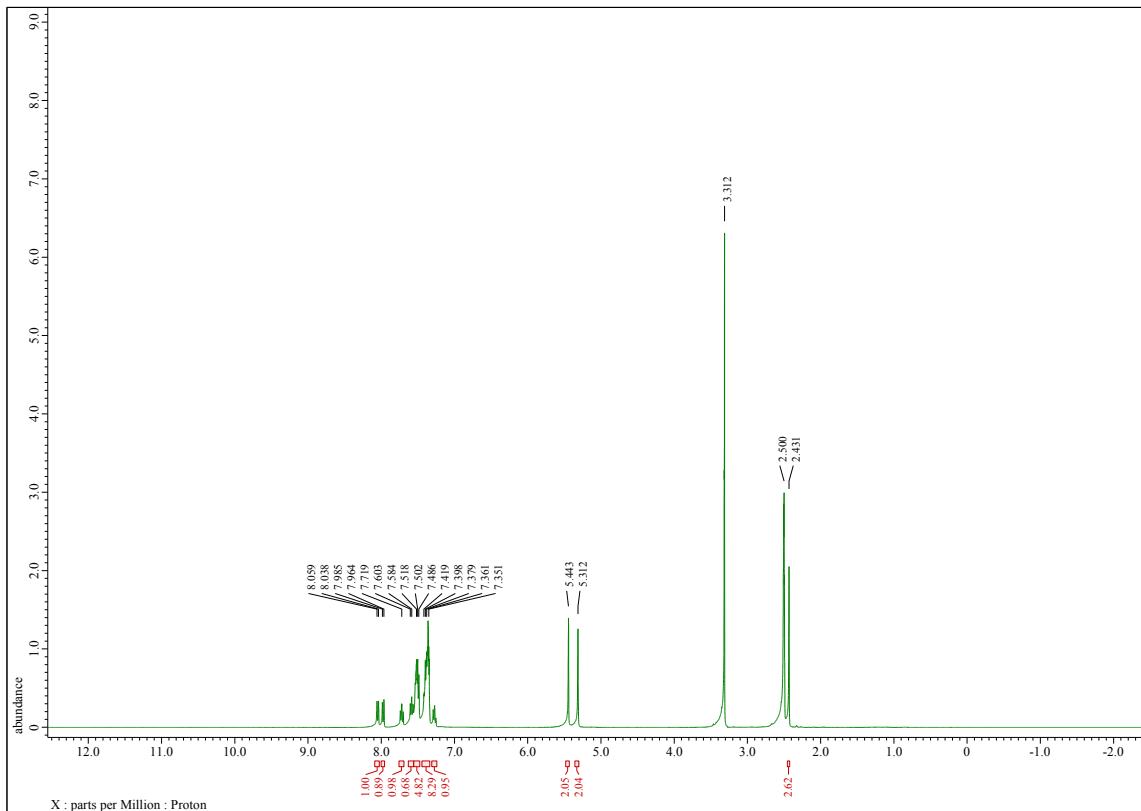
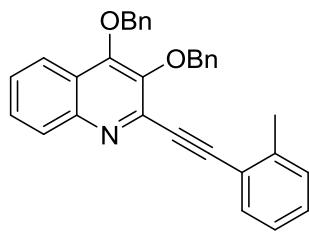


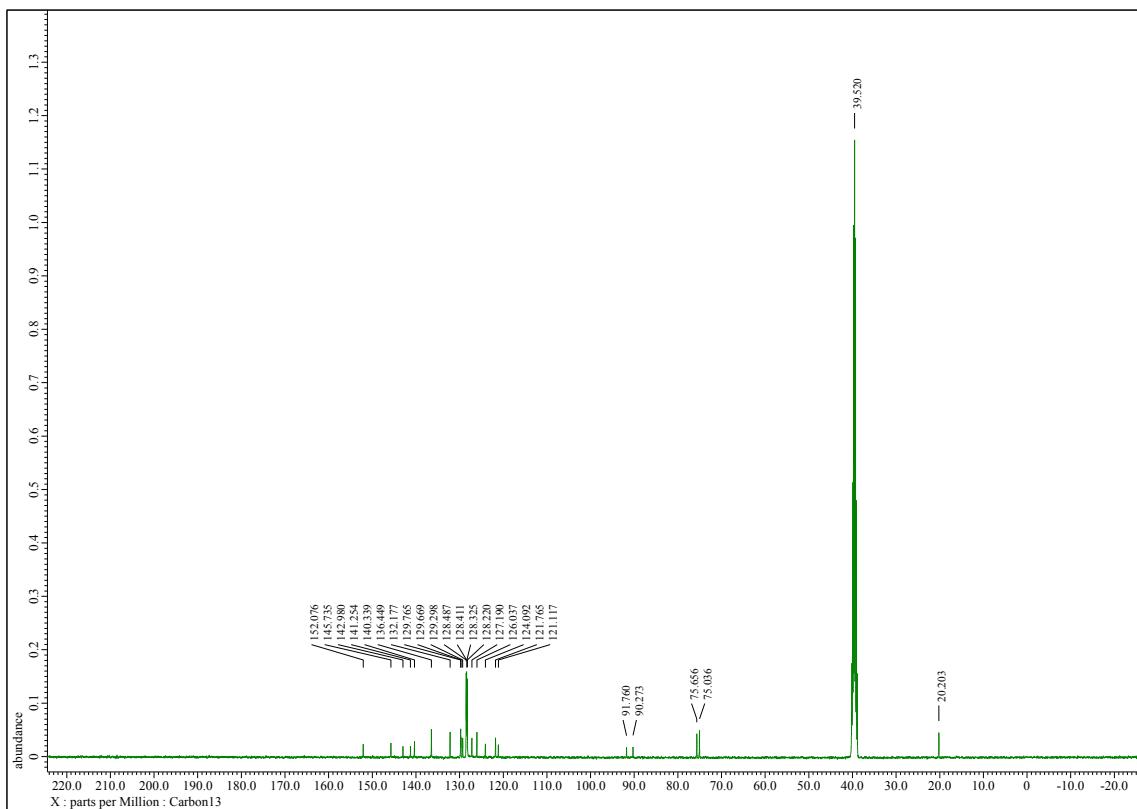
3,4-Bis(benzyloxy)-2-((4-methoxyphenyl)ethynyl)chinolin (86).



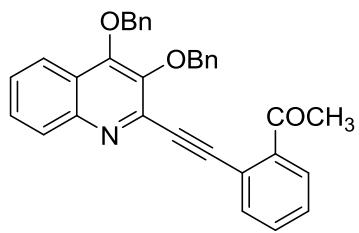


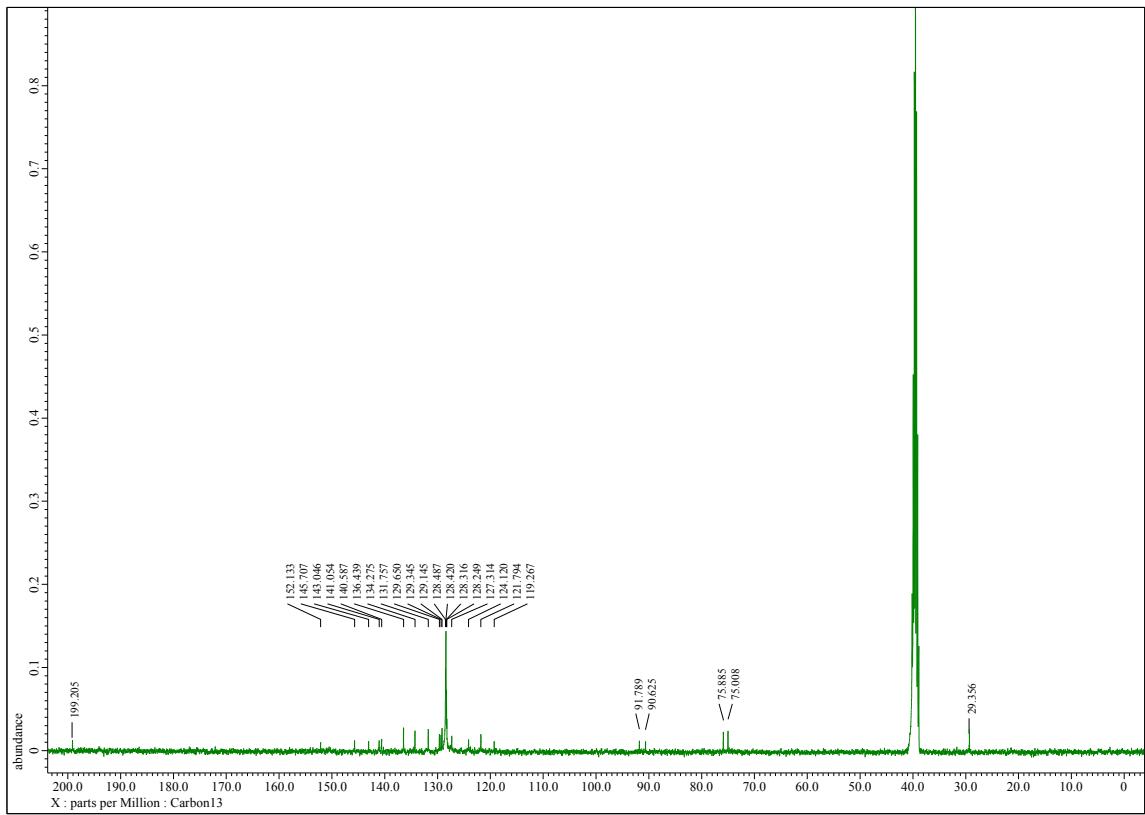
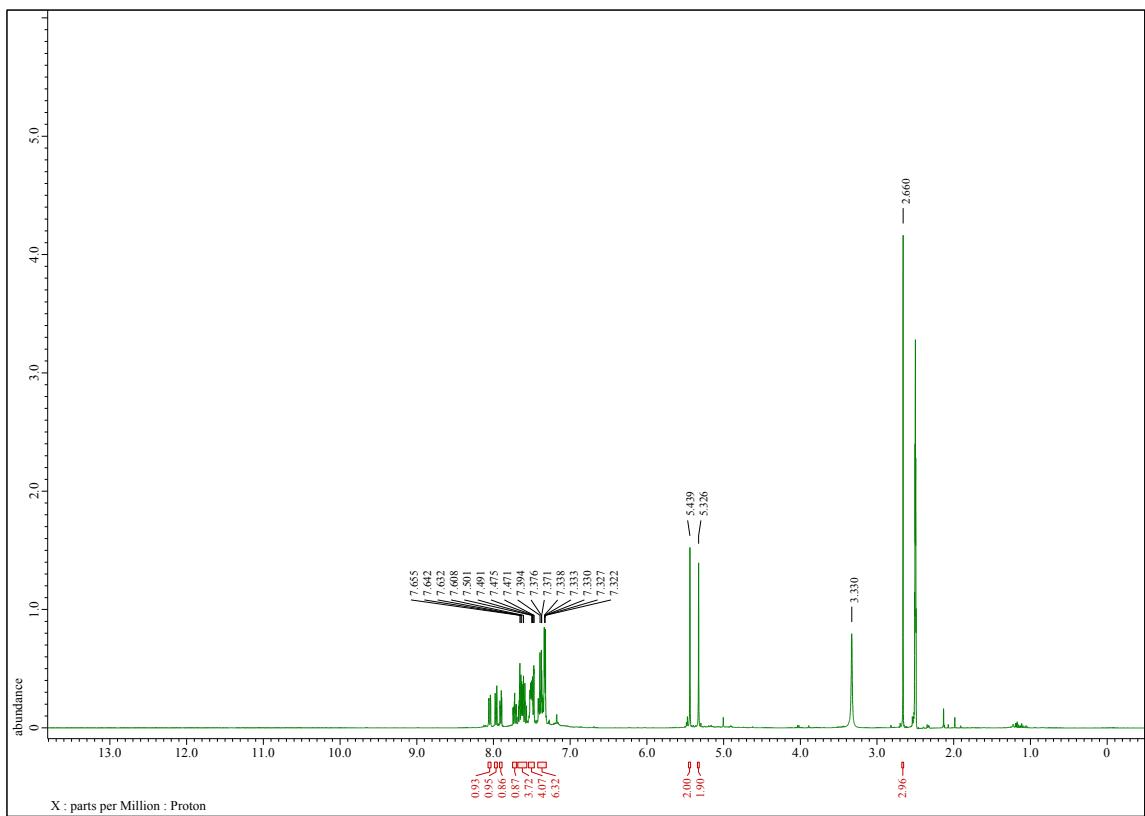
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(*o*-tolylethynyl)chinolin (87).

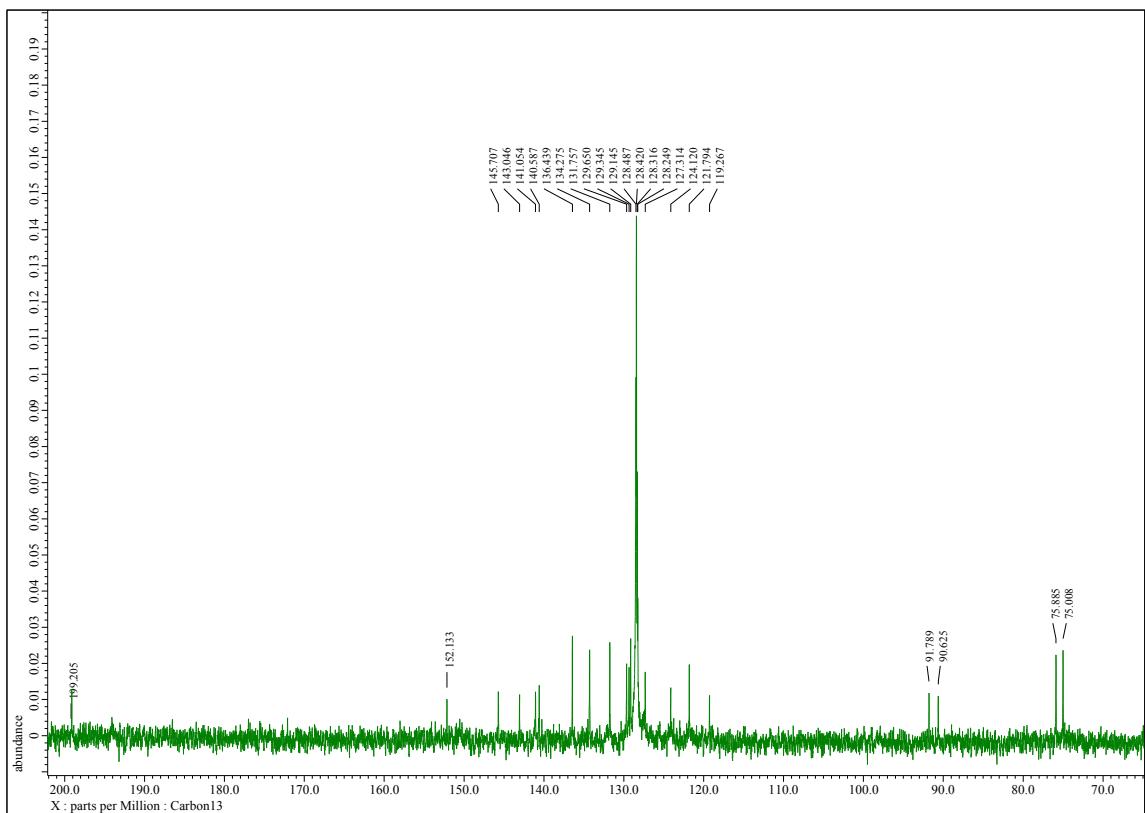




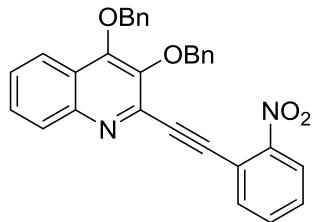
1-(2-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)fenzyl)ethan-1-on (88).

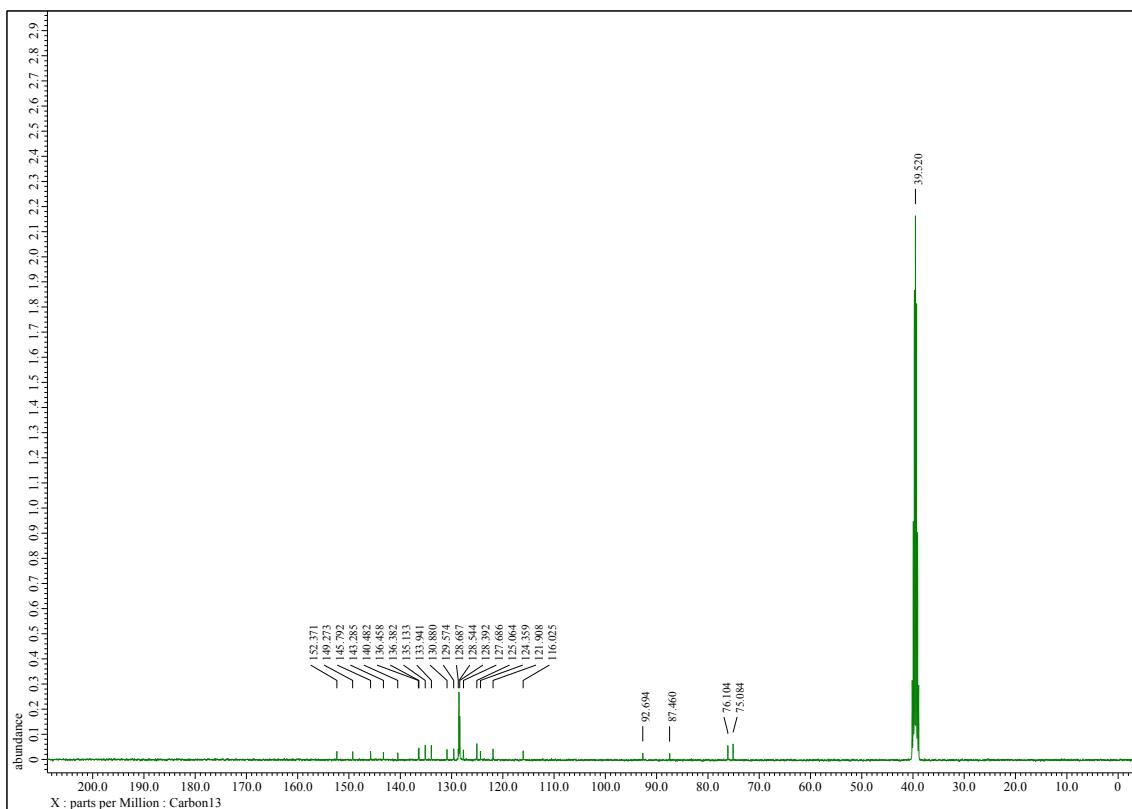
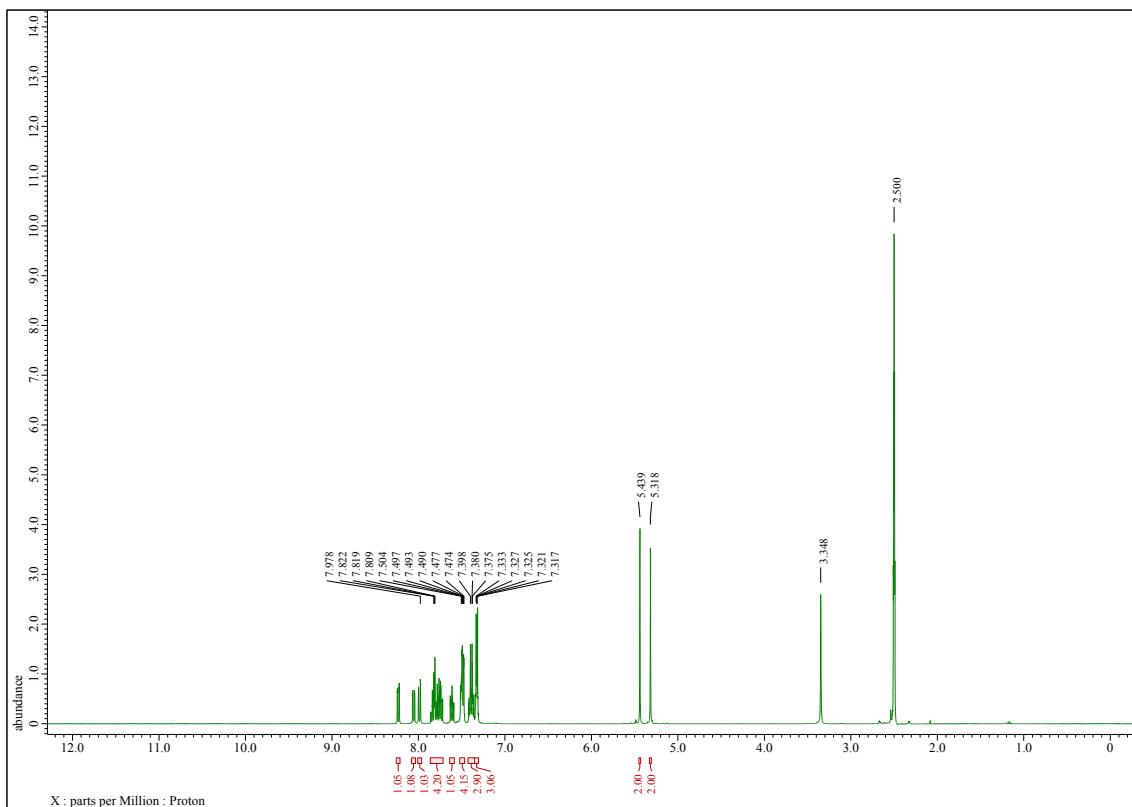




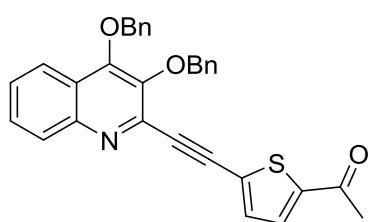


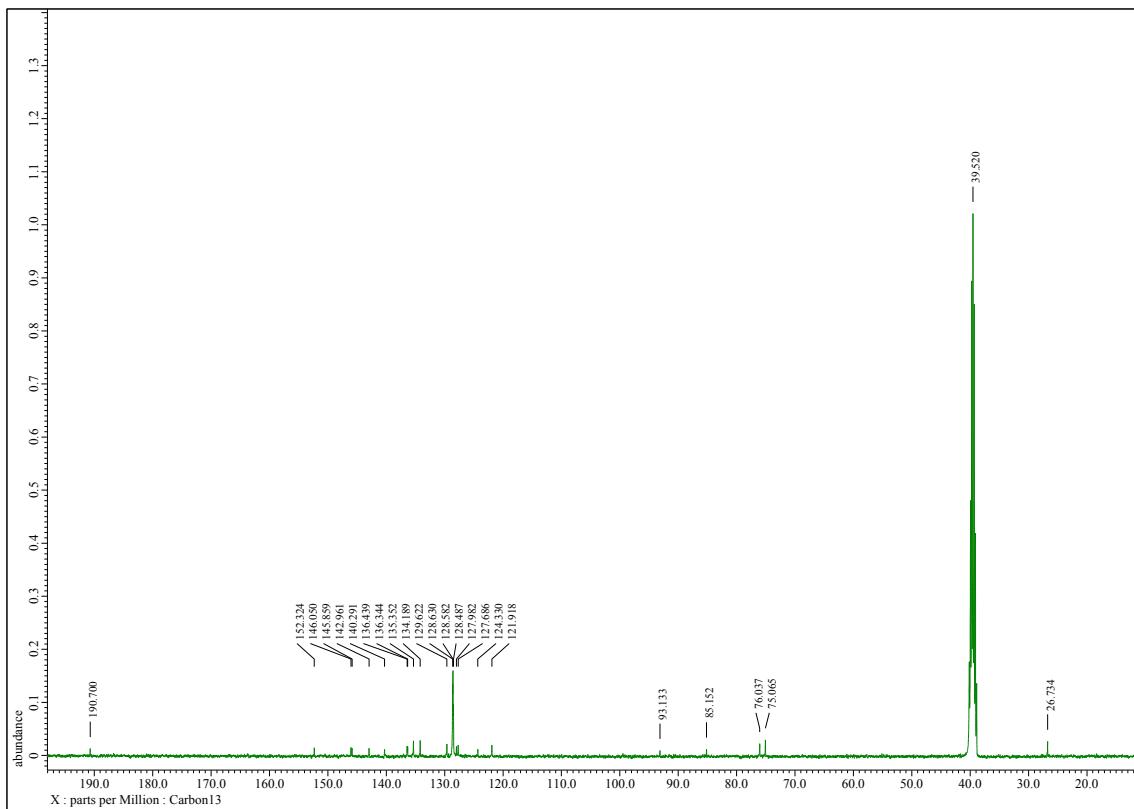
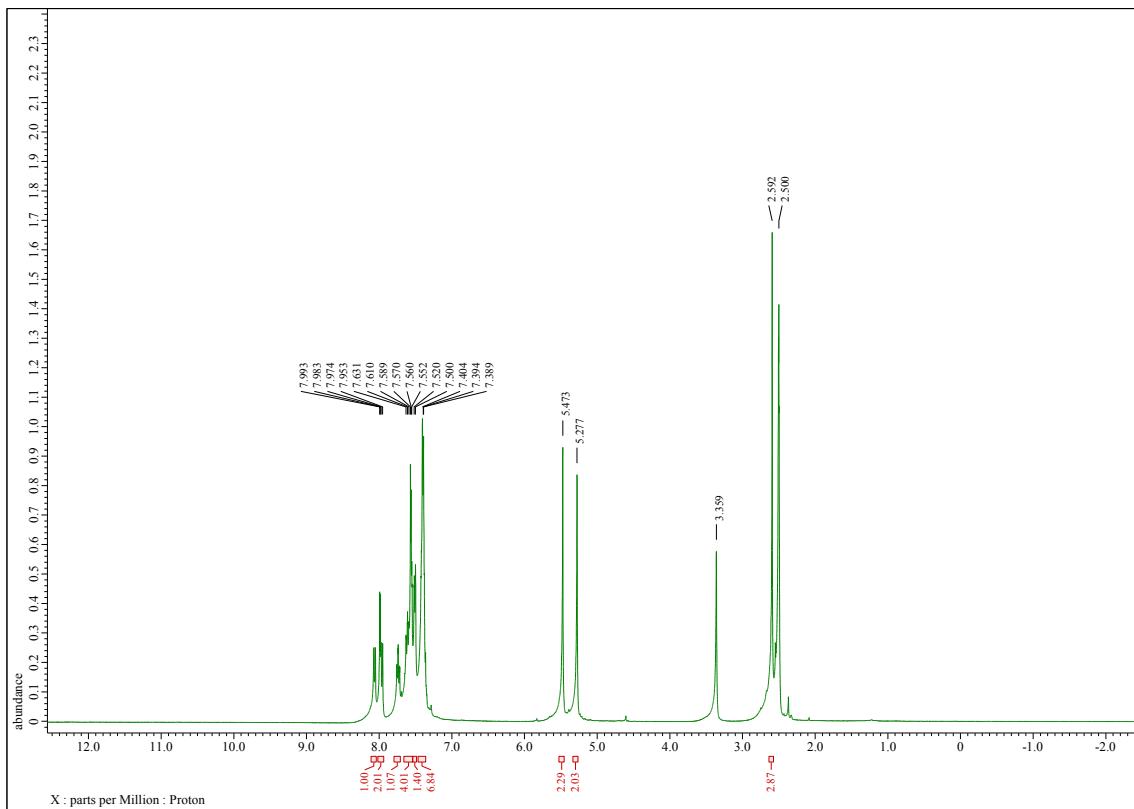
3,4-Bis(benzyloxy)-2-((2-nitrofenyl)ethynyl)chinolin (89).



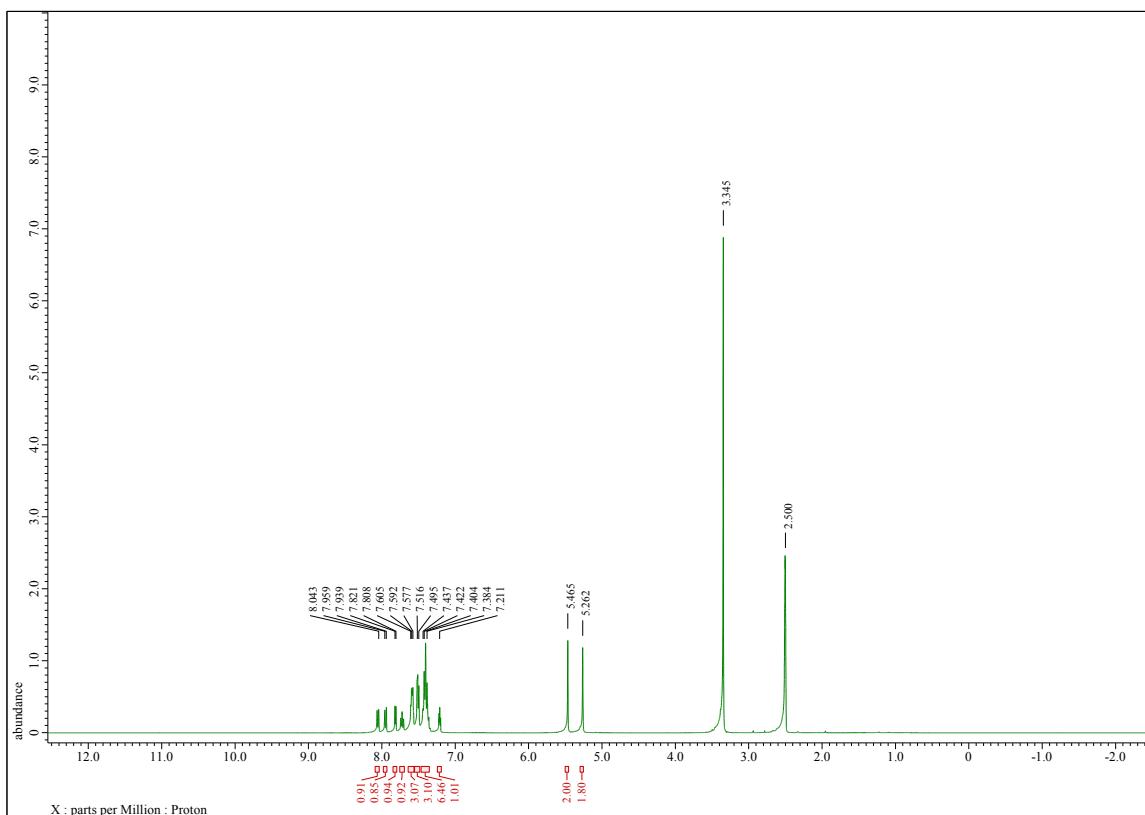
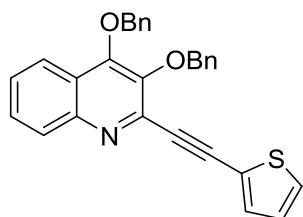


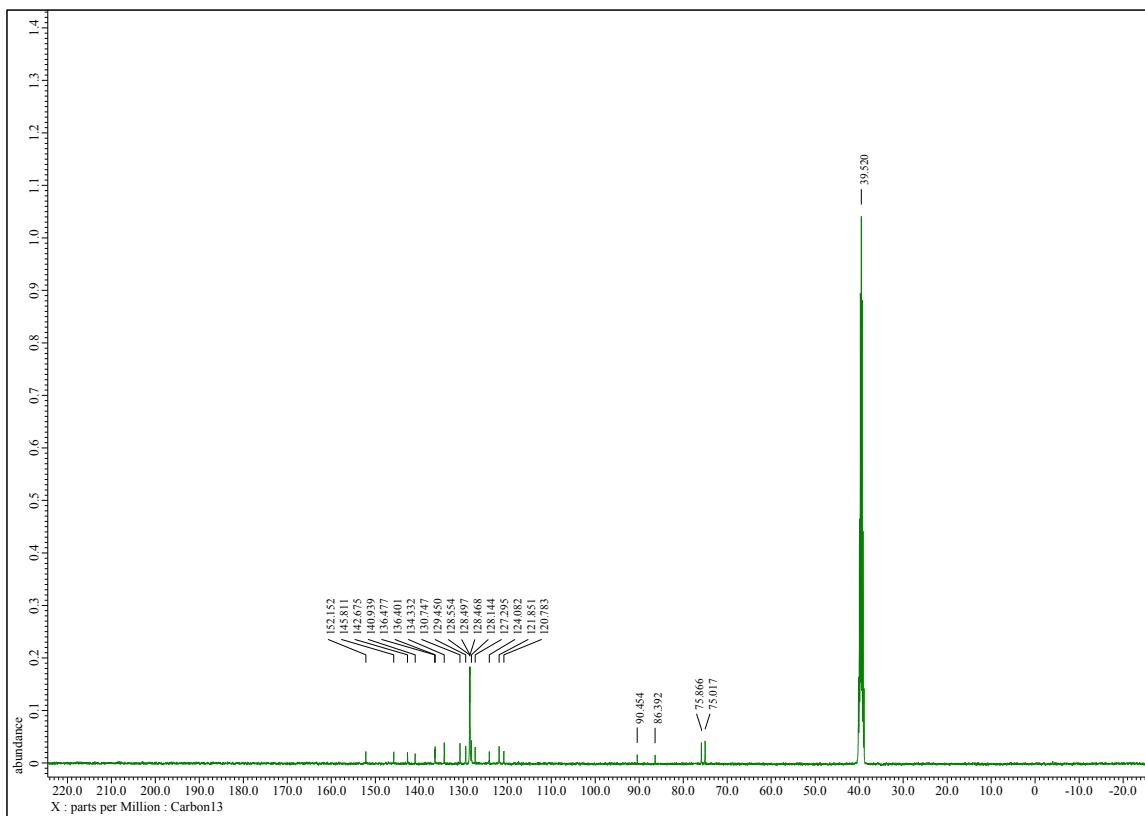
1-(5-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)thiofen-2-yl)ethan-1-on (90).



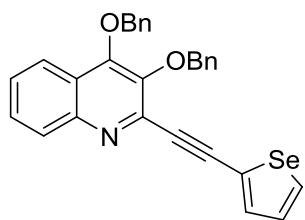


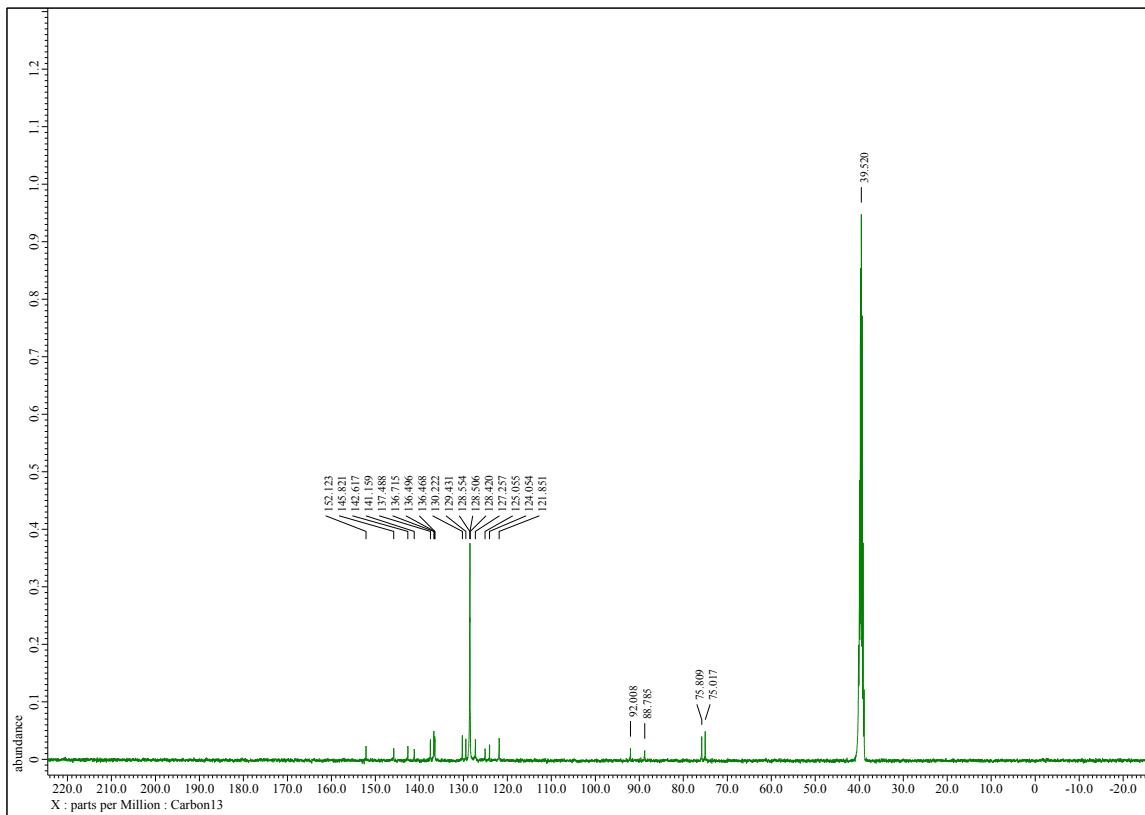
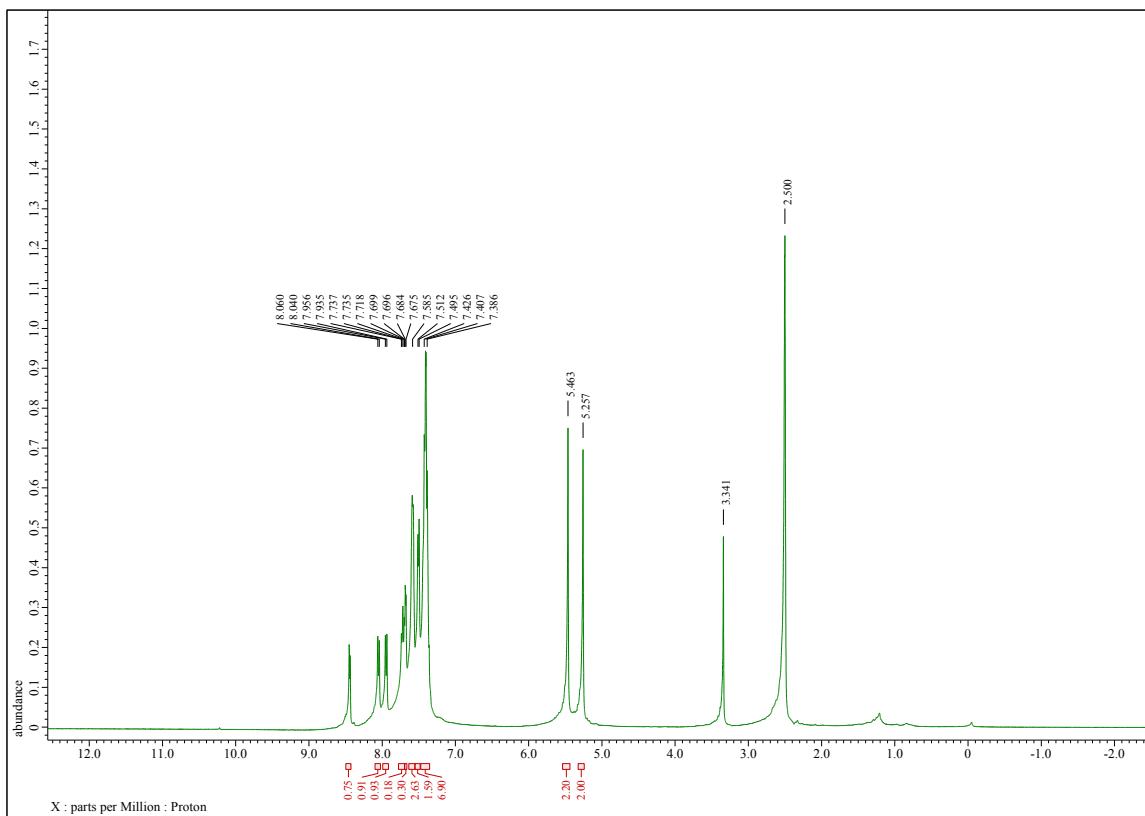
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(thiofen-2-ylethynyl)chinolin (91).



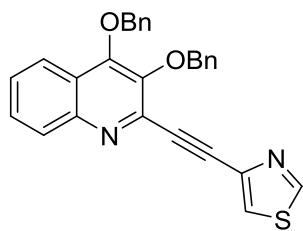


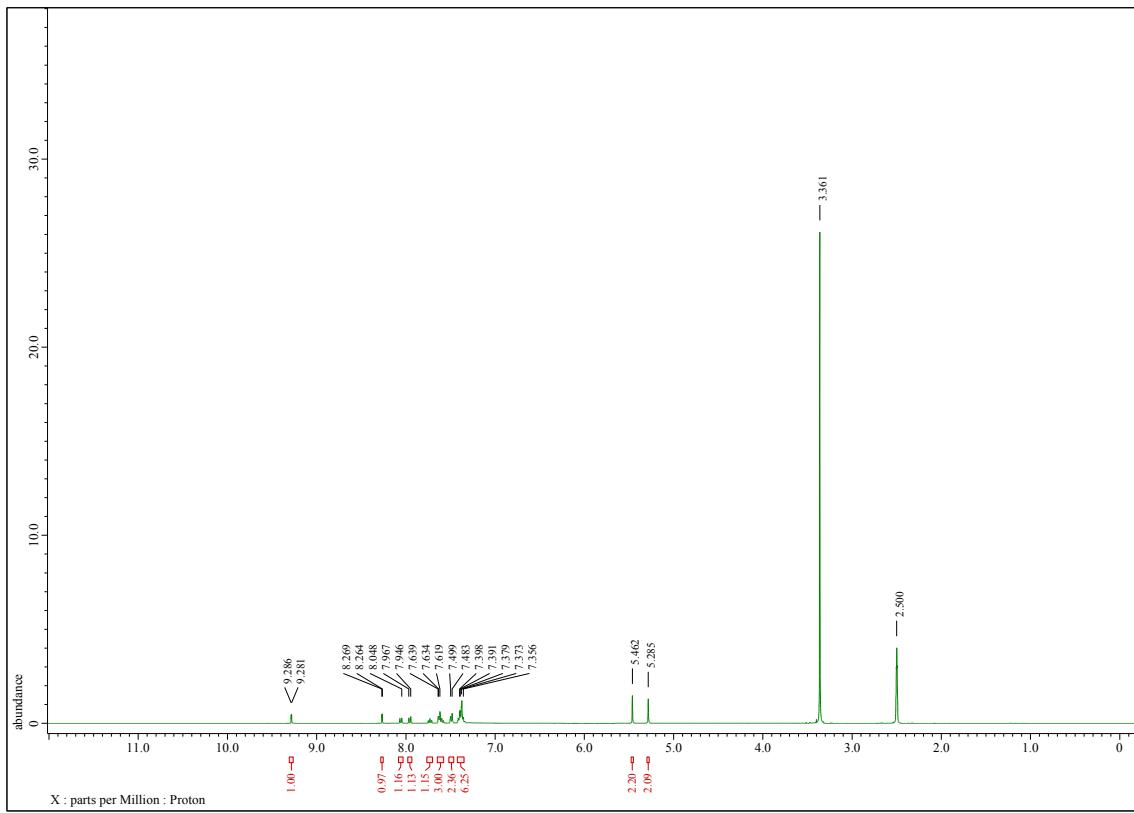
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(selenofen-2-ylethyynyl)chinolin (92).

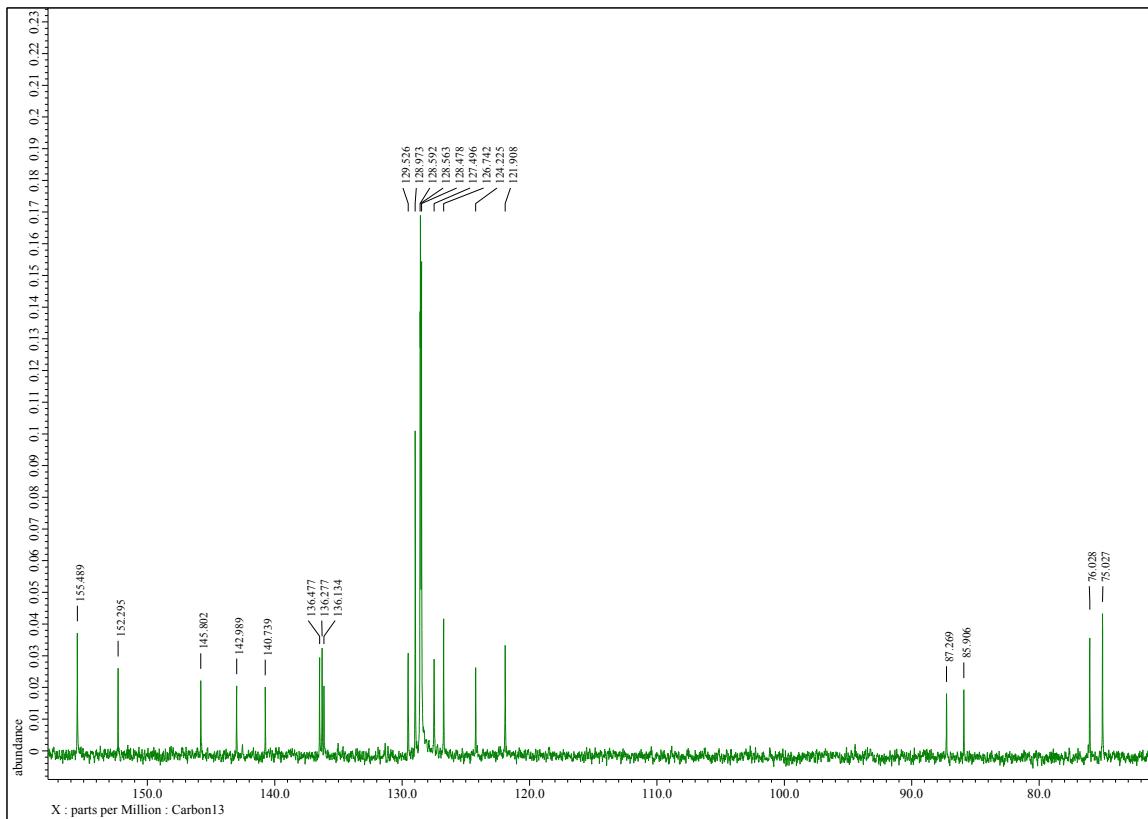
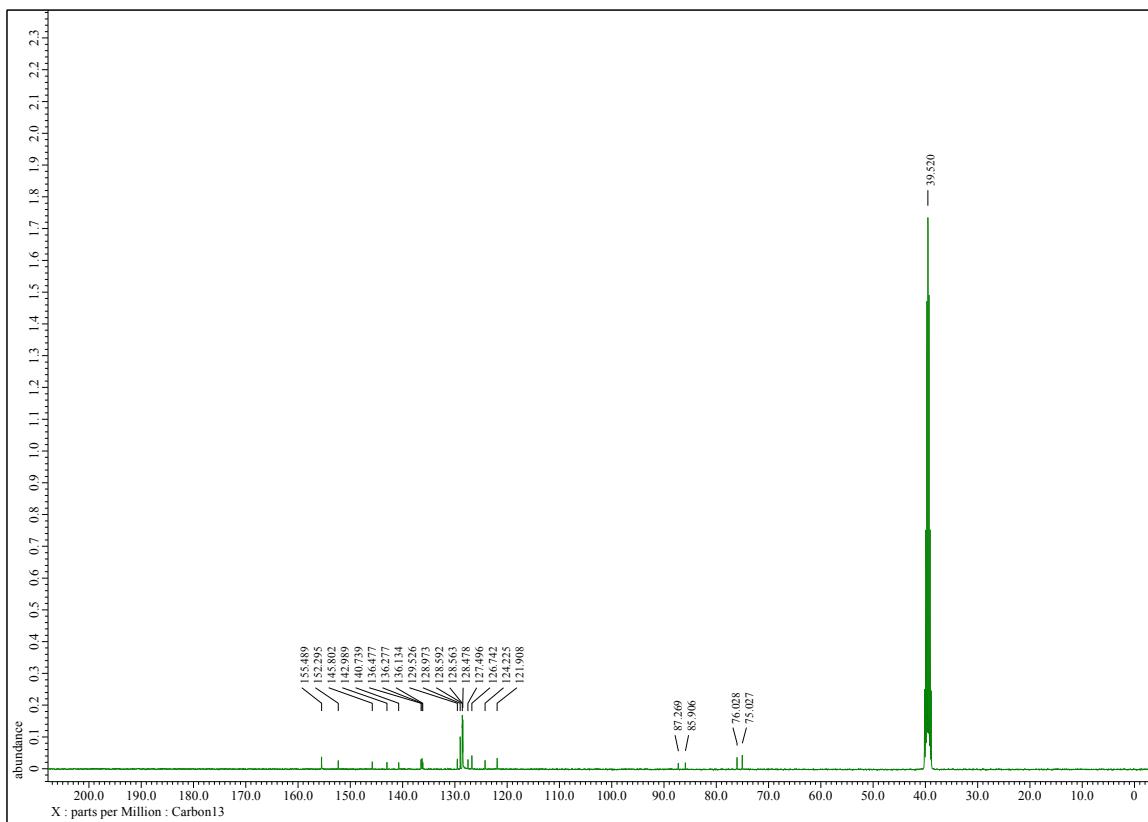




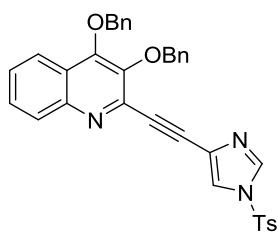
4-((3,4-Bis(benzyloxy)chinolin-2-yl)ethynyl)thiazol (93).

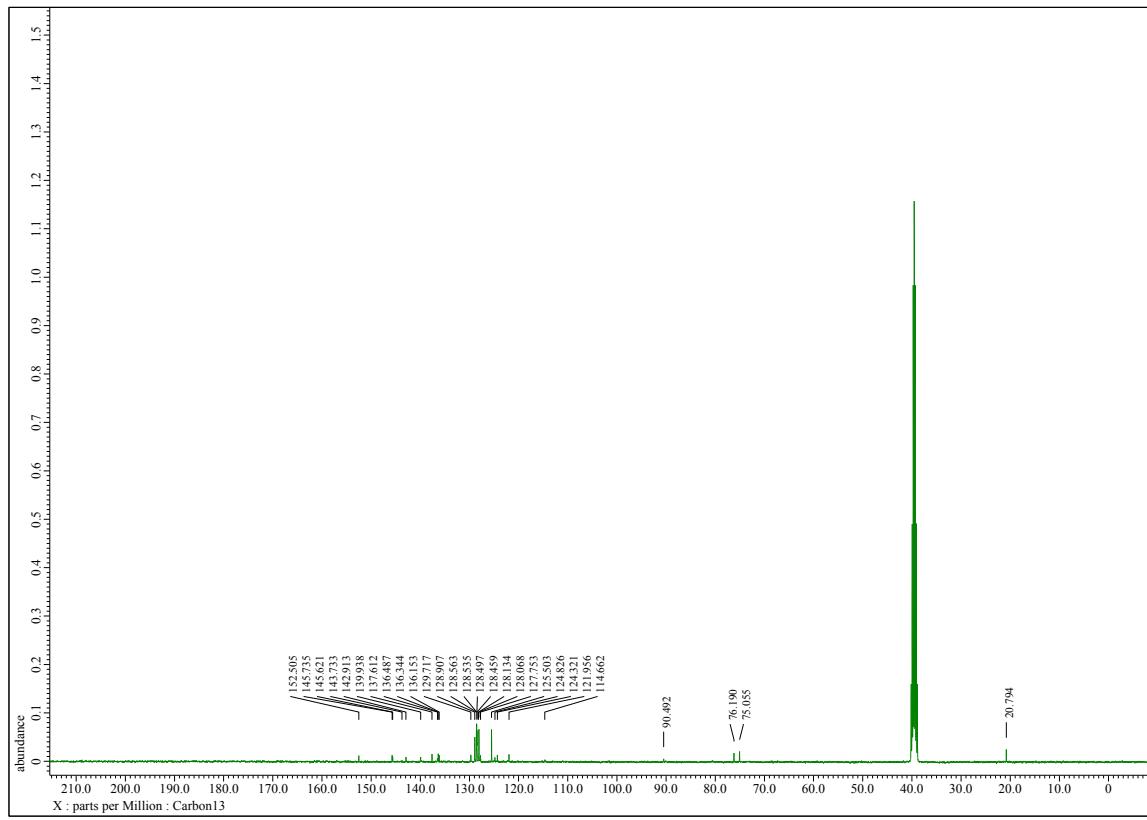
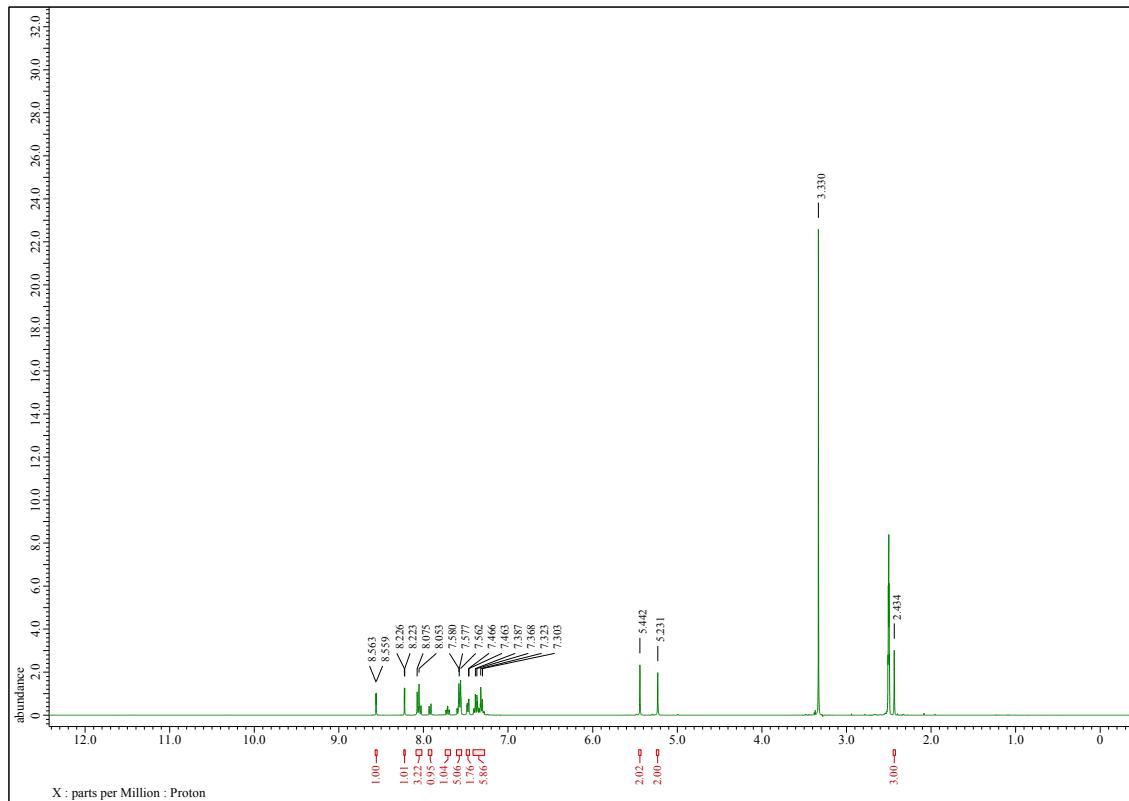


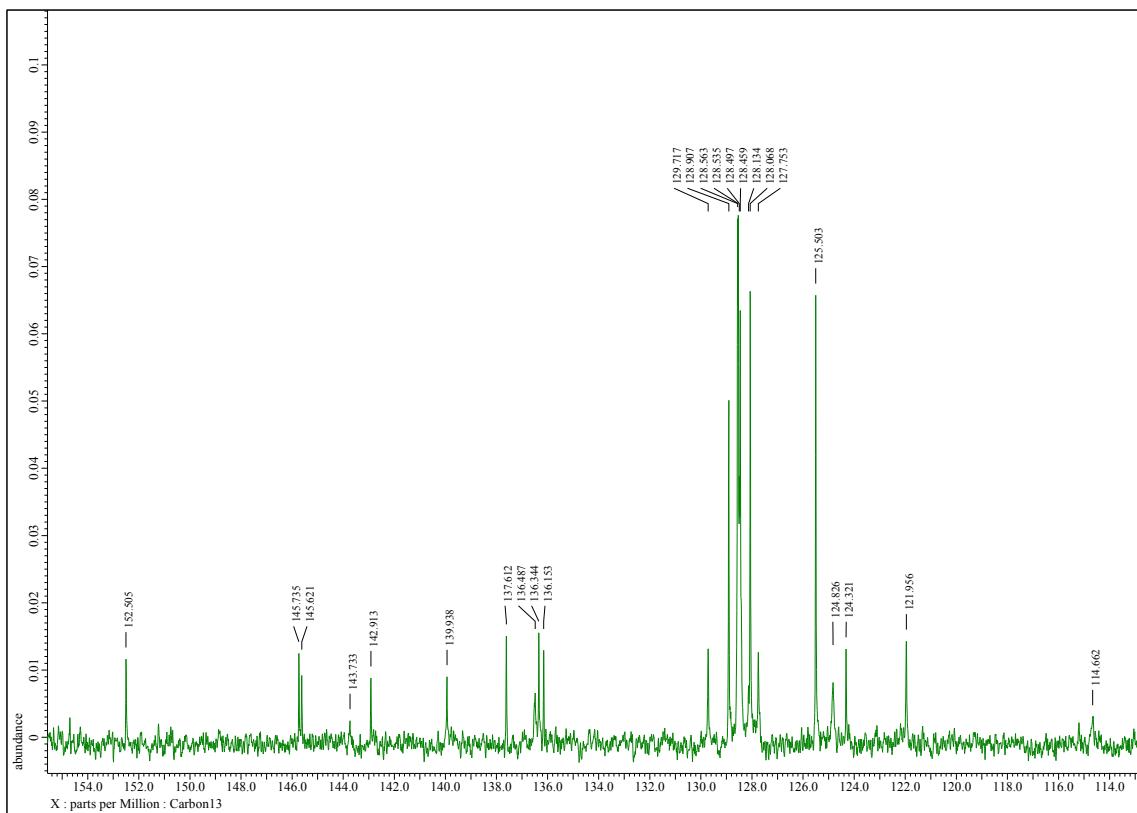




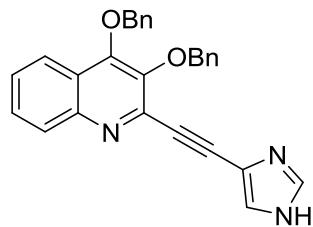
3,4-Bis(benzyloxy)-2-((1-tosyl-1H-imidazol-4-yl)ethynyl)chinolin (94).

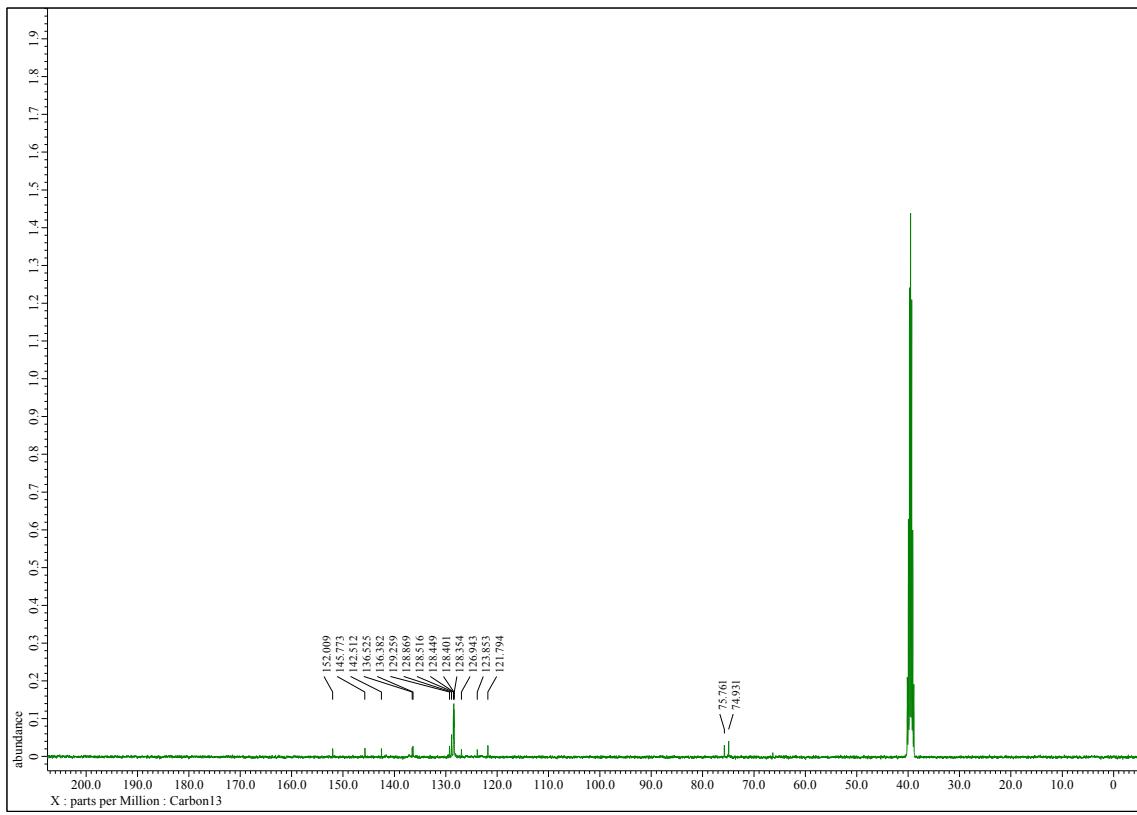
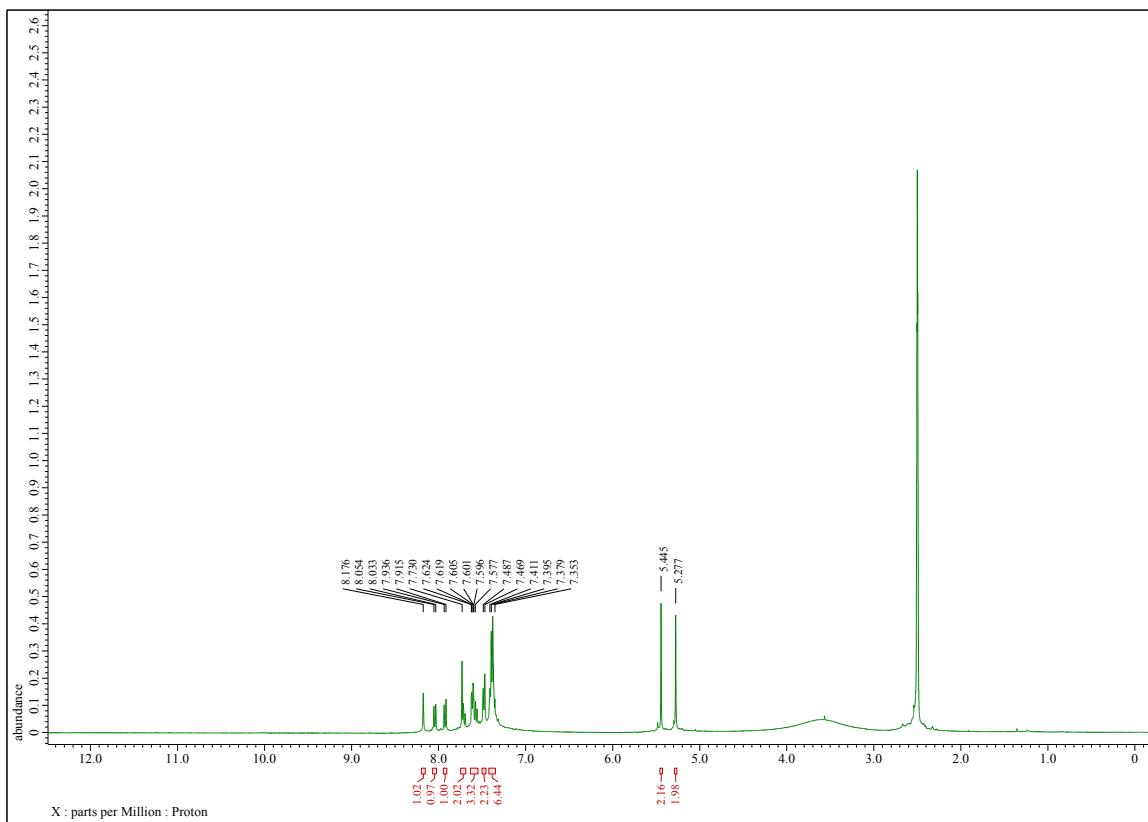




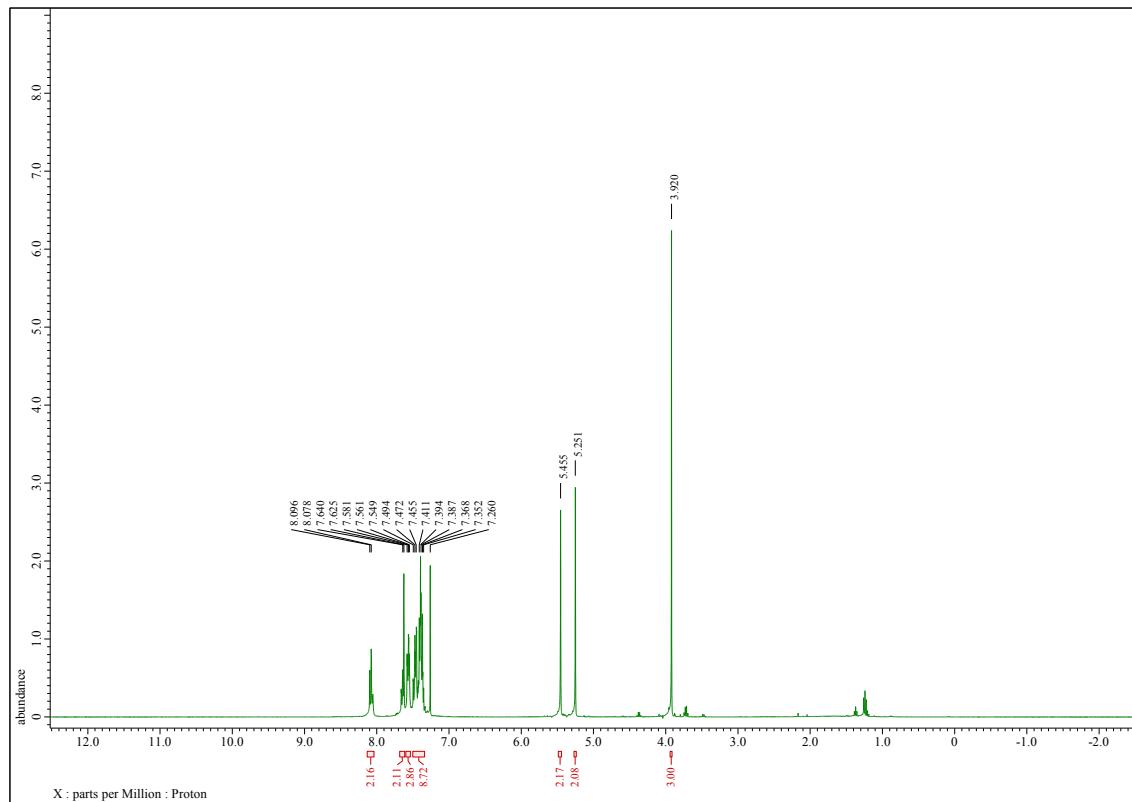
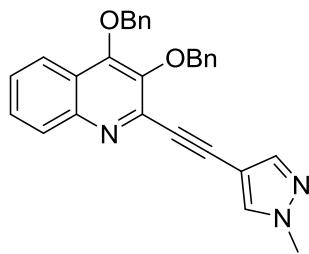


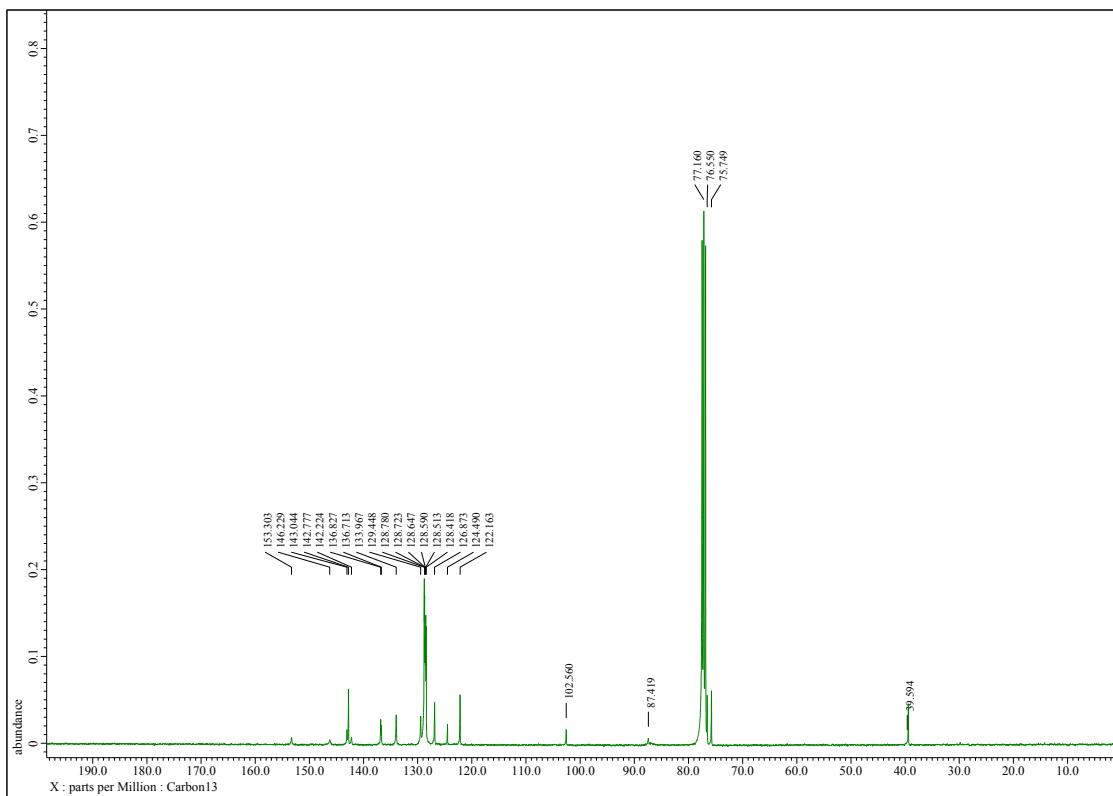
2-((1*H*-Imidazol-4-yl)ethynyl)-3,4-bis(benzyloxy)chinolin (94a).



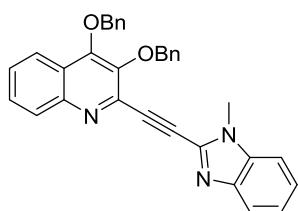


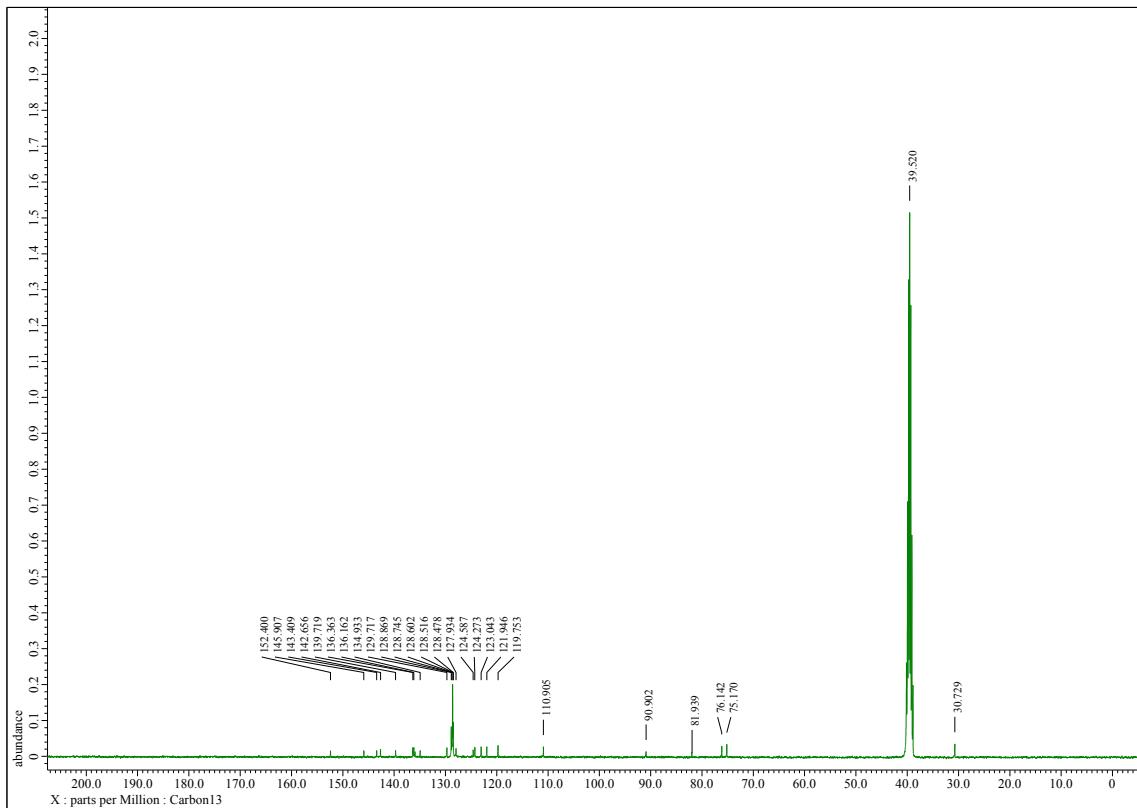
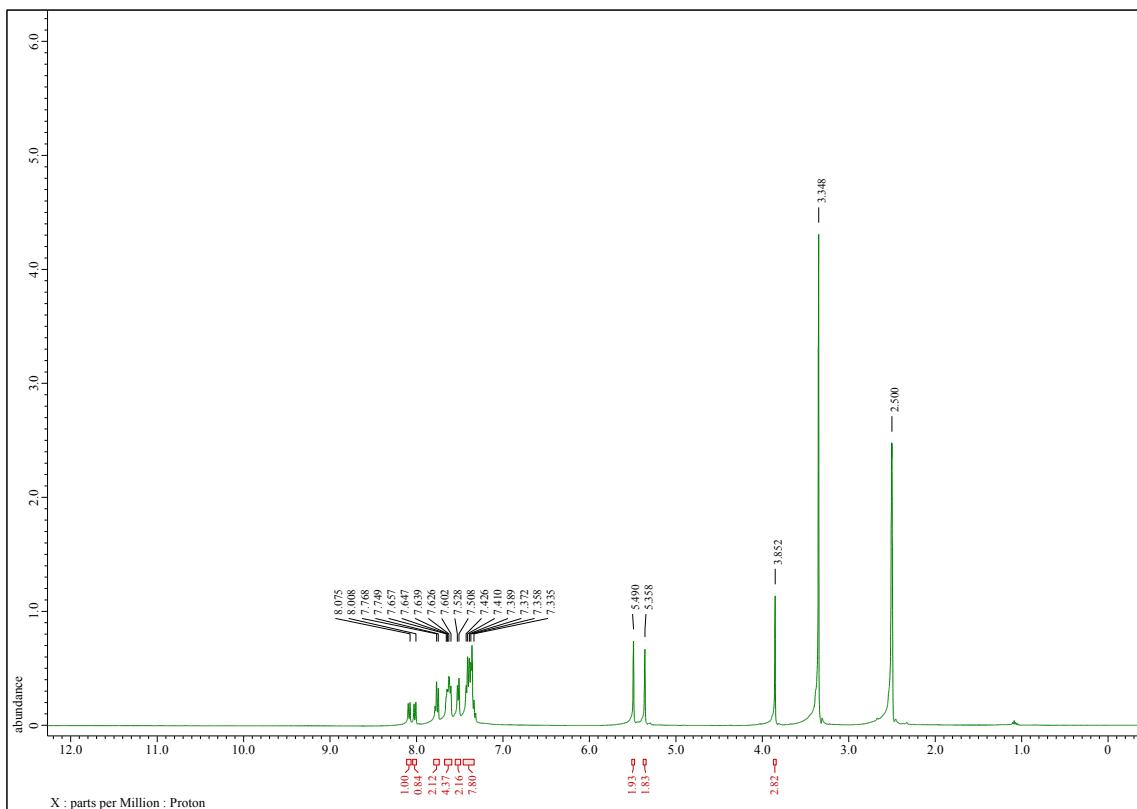
3,4-Bis(benzyloxy)-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethynyl)chinolin (95).

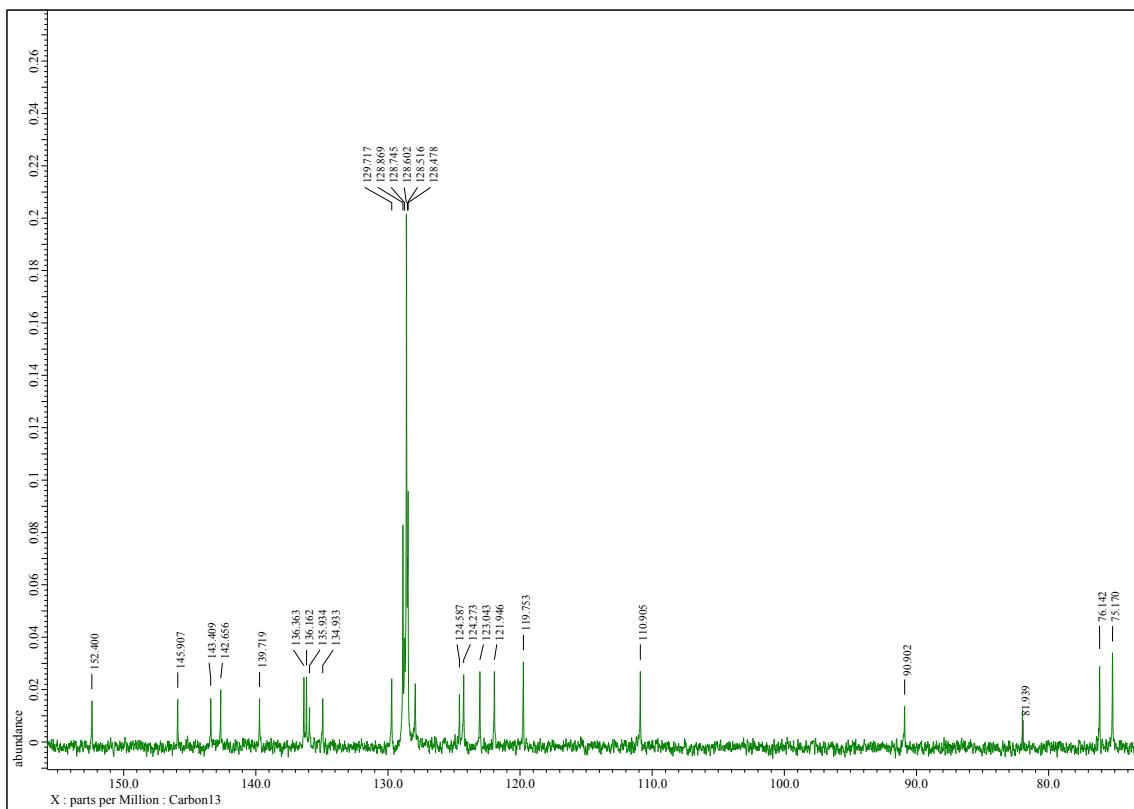




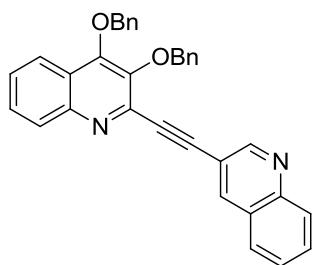
3,4-Bis(benzyloxy)-2-((1-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethynyl)chinolin (96).

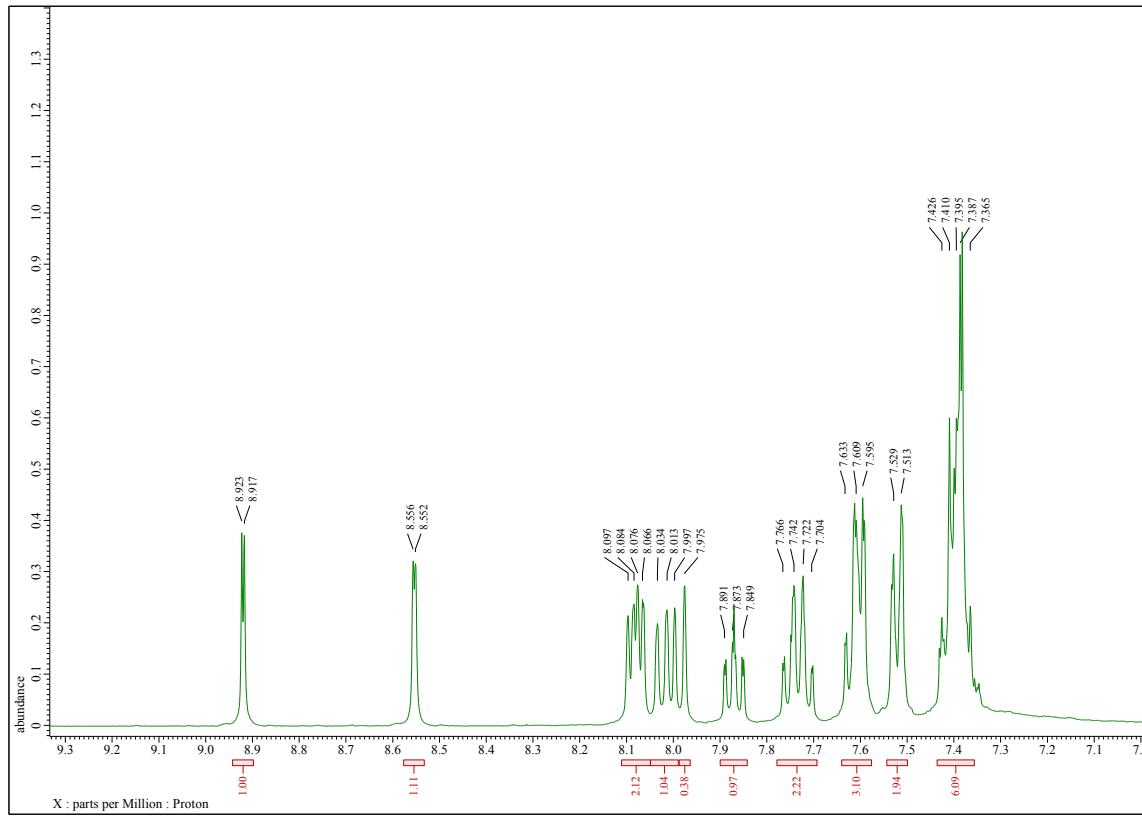
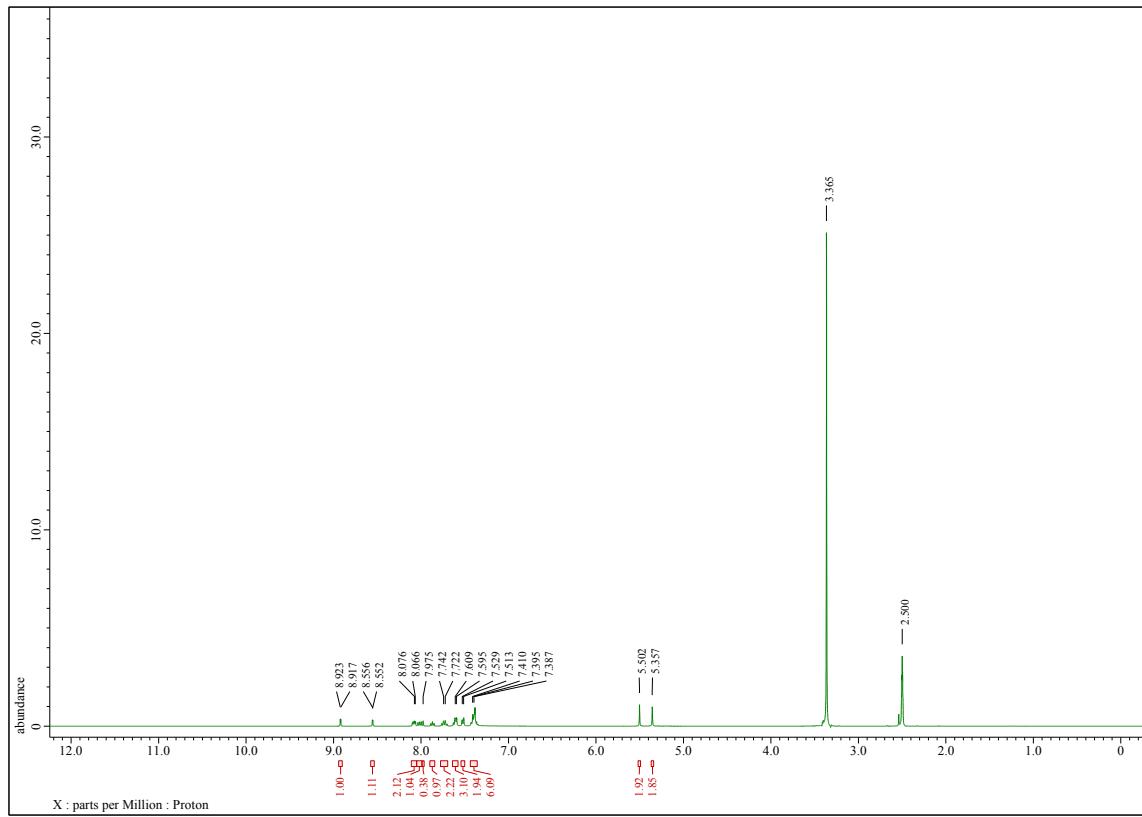


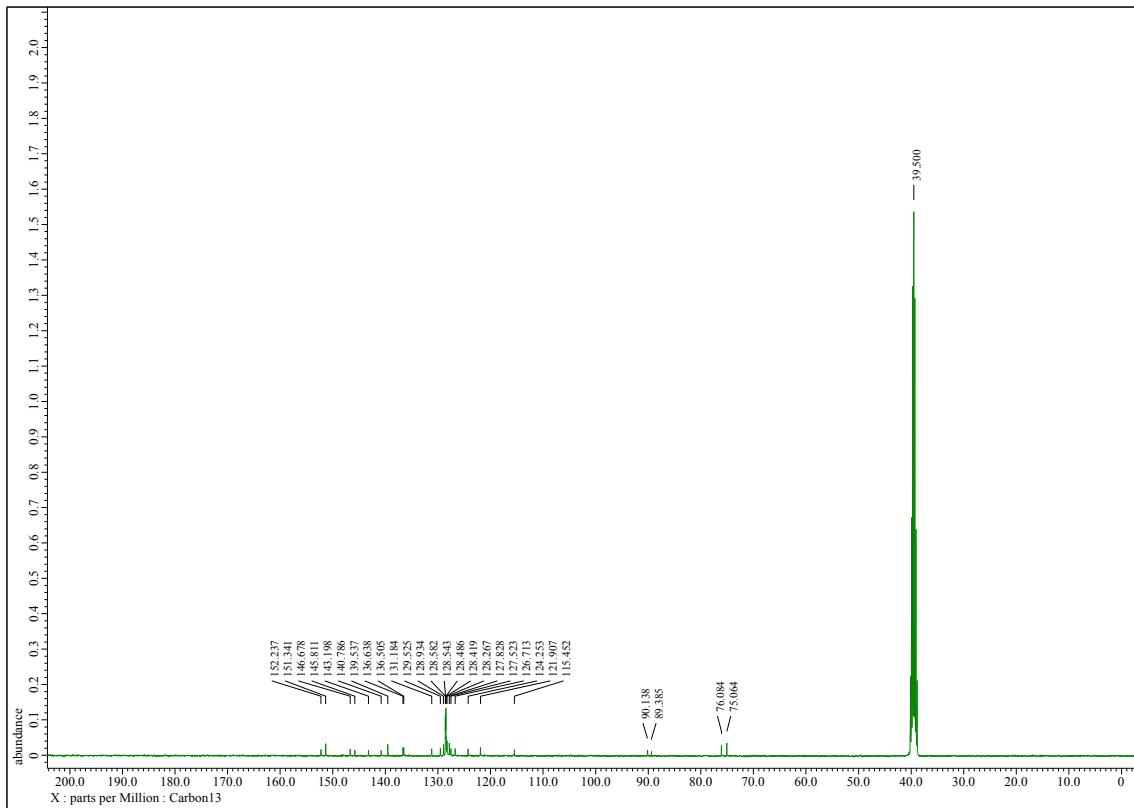




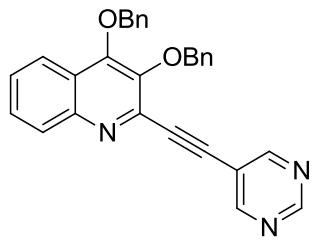
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(chinolin-3-ylethynyl)chinolin (97).

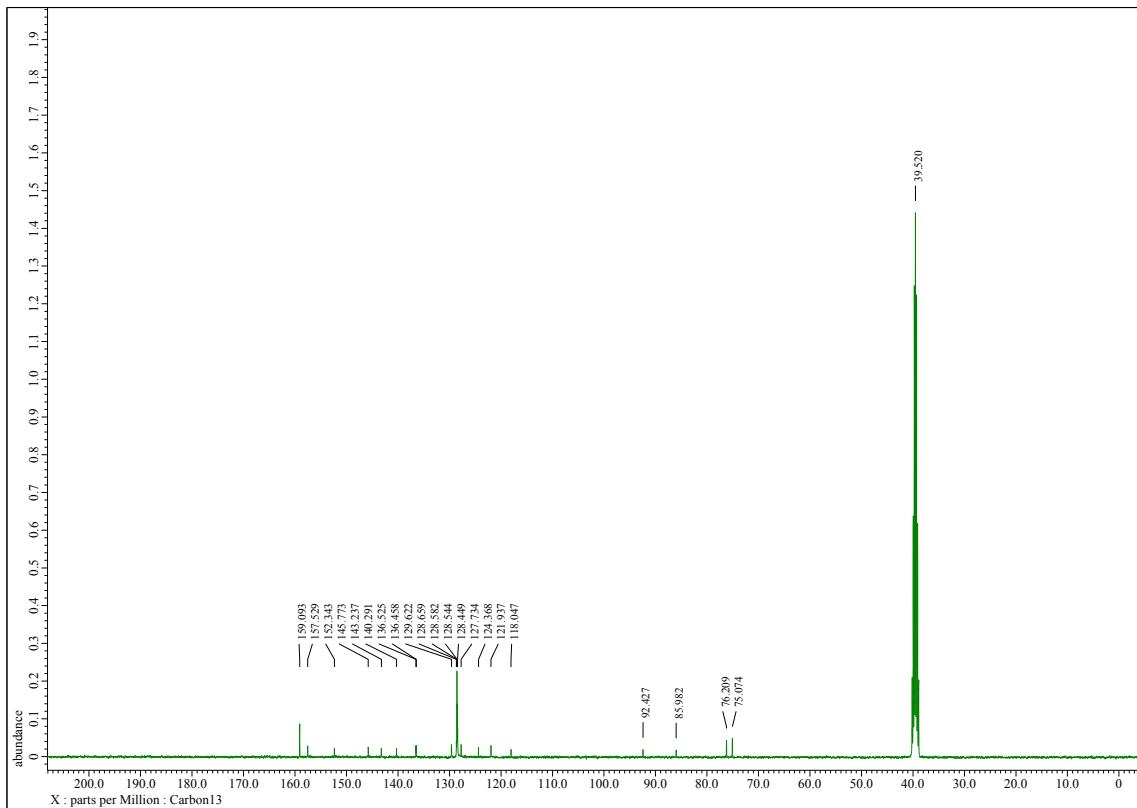
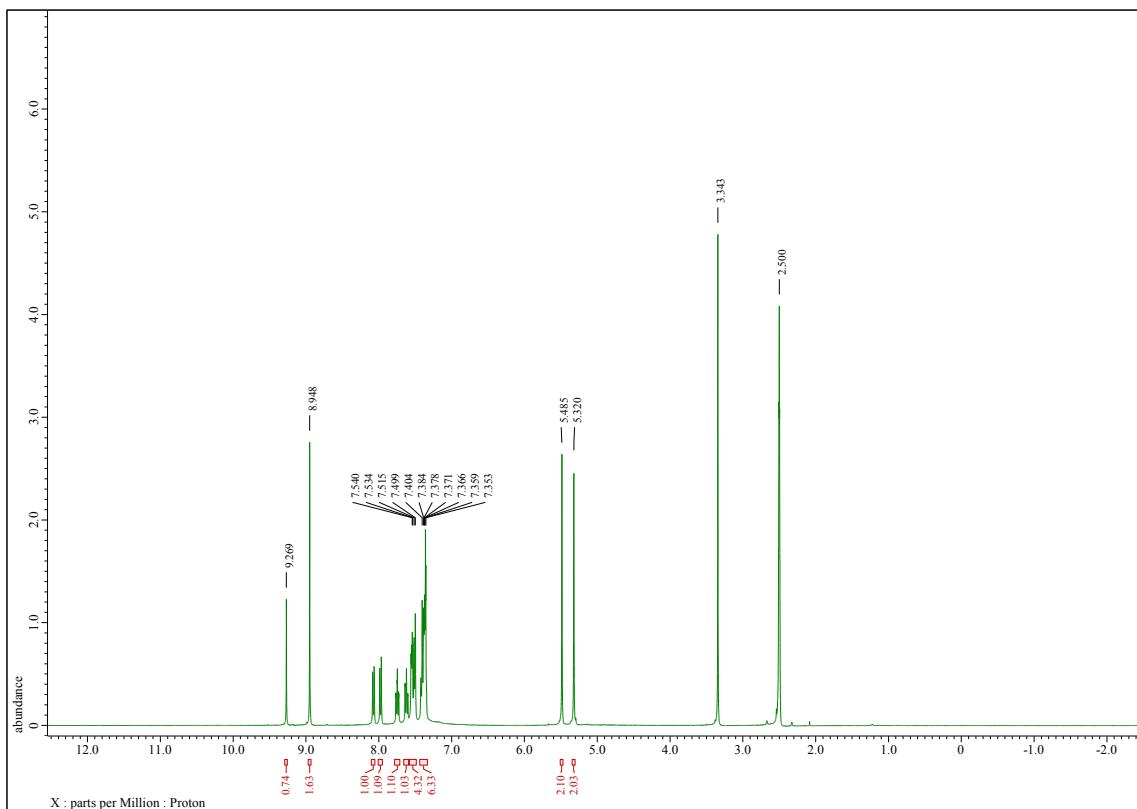


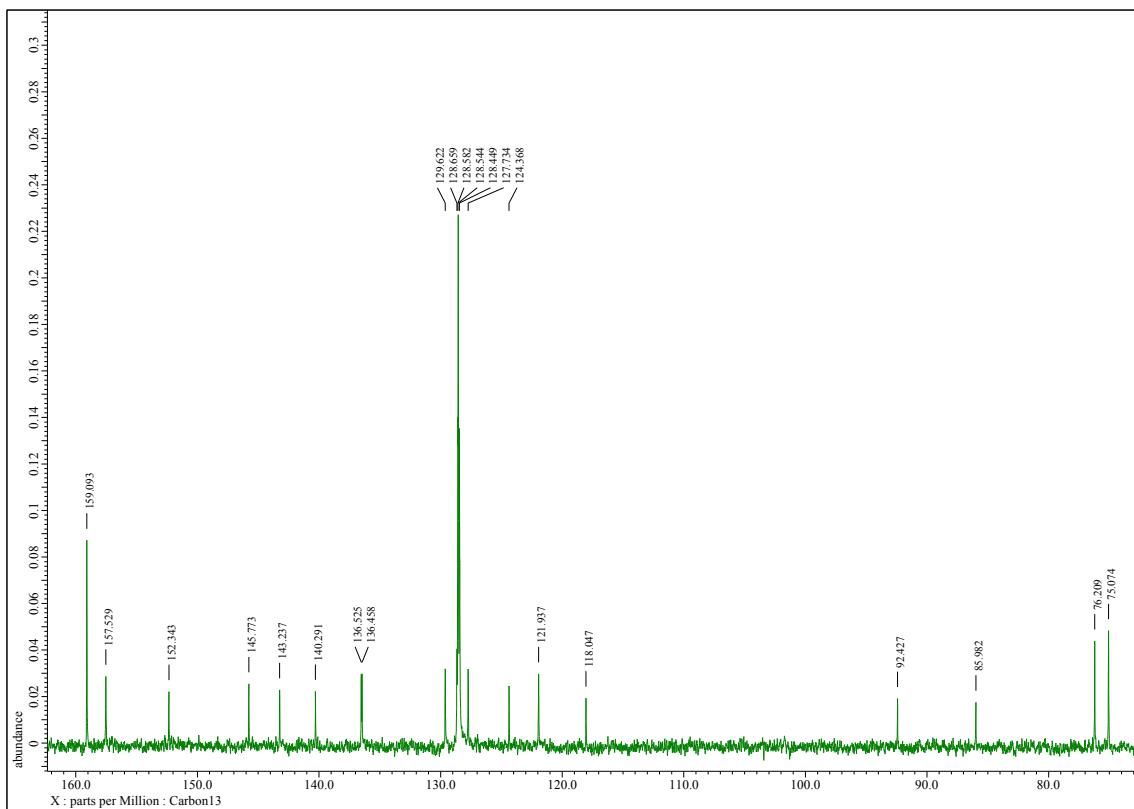




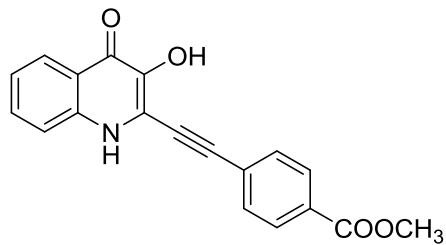
3,4-Bis(benzyloxy)-2-(pyrimidin-5-ylethynyl)chinolin (98).

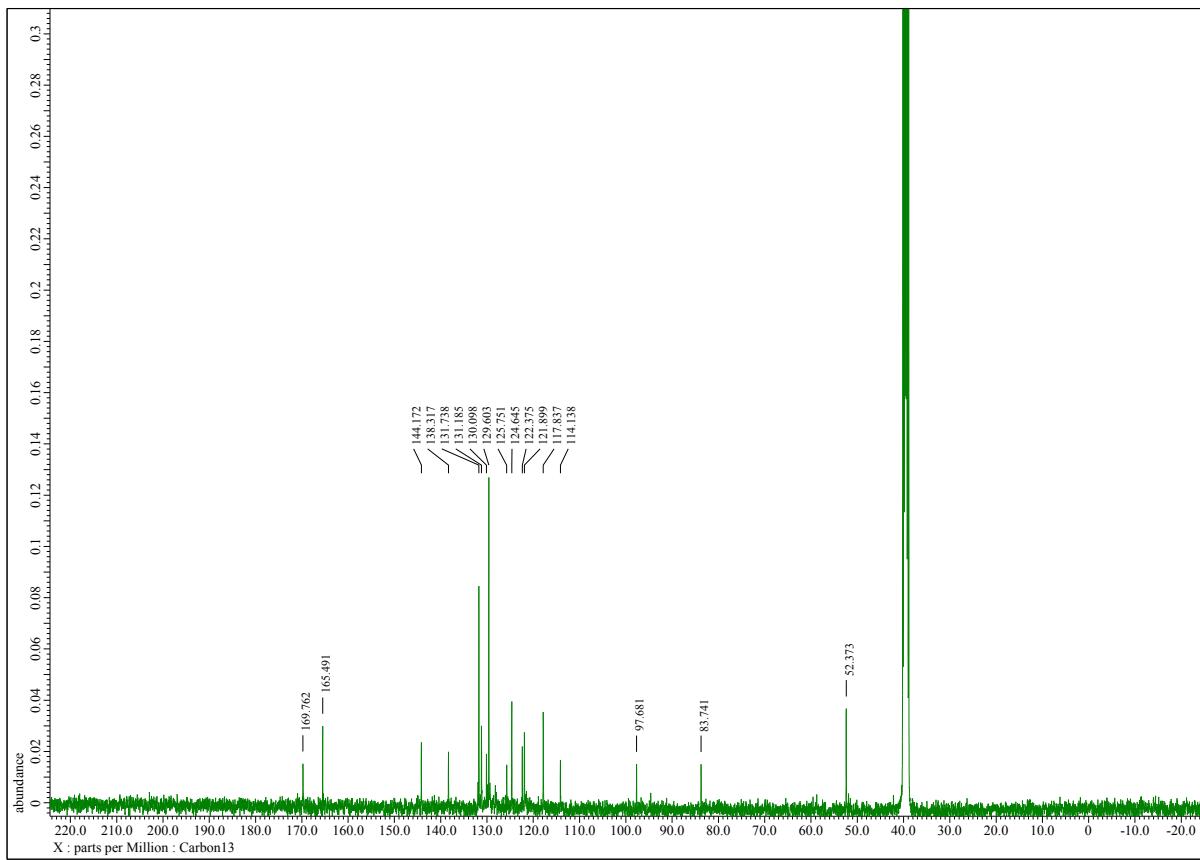
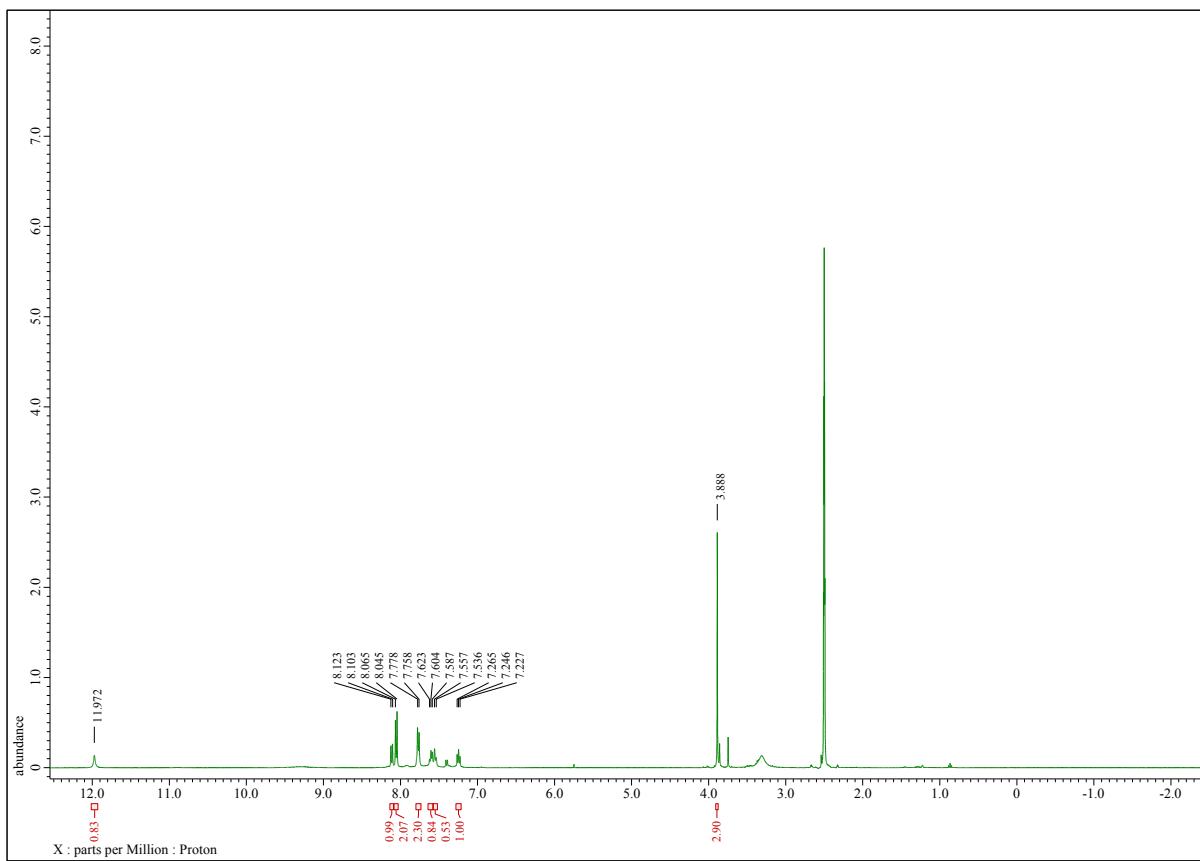




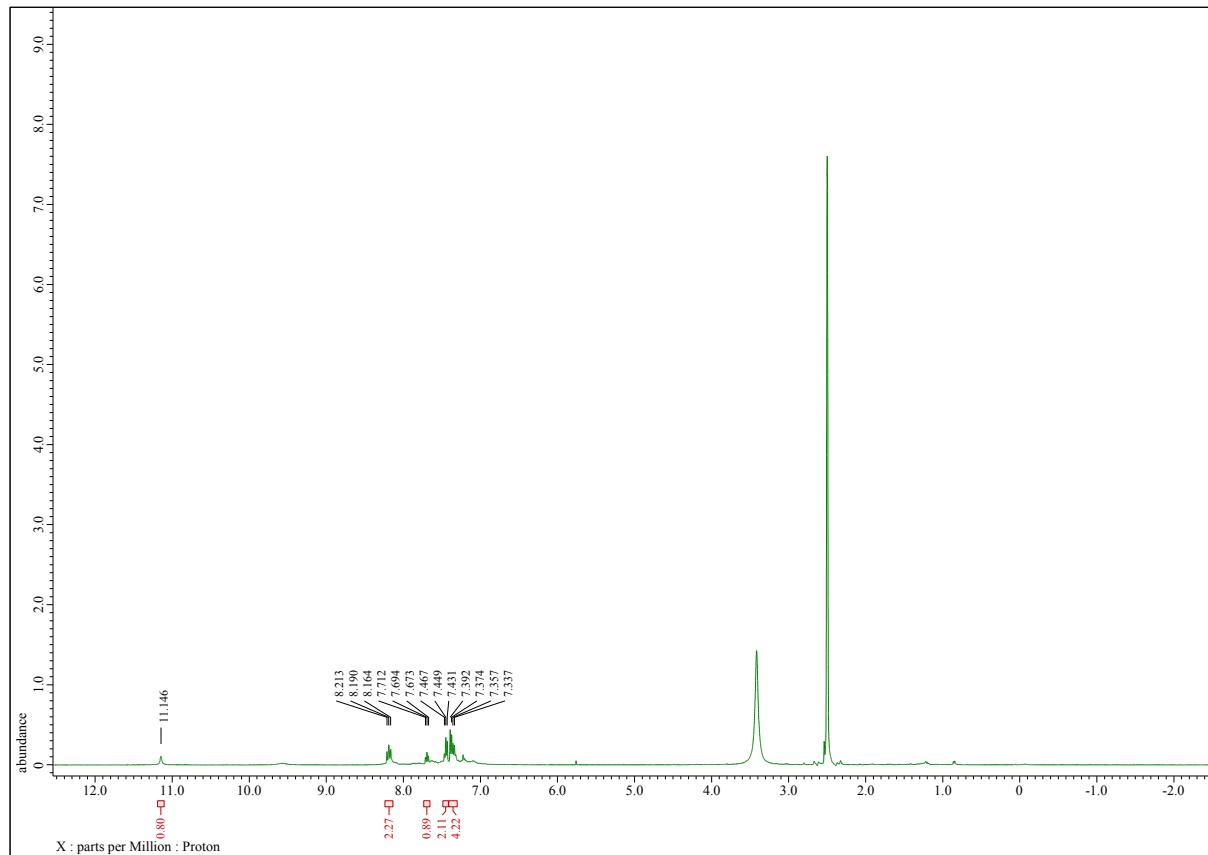
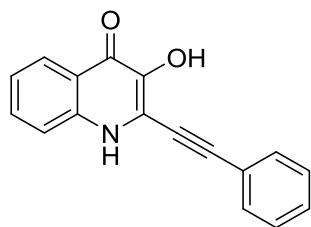


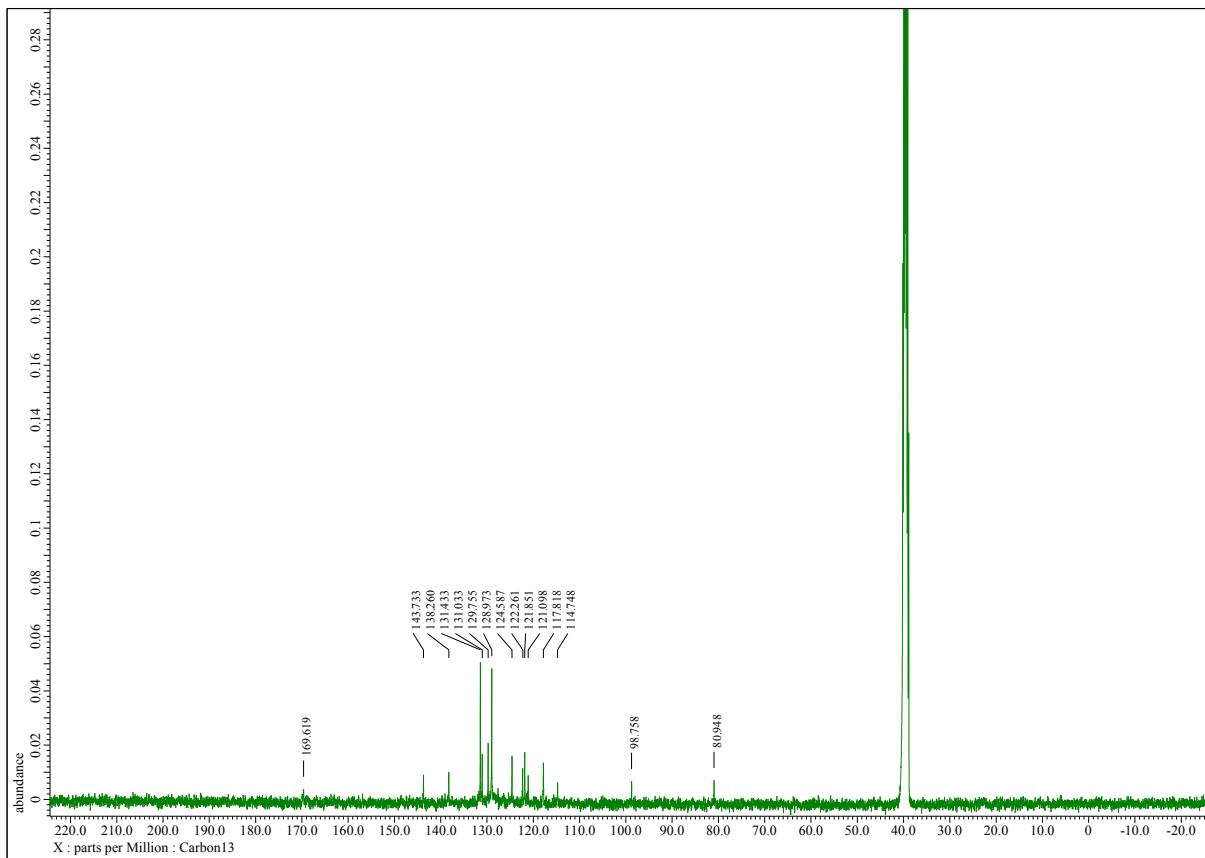
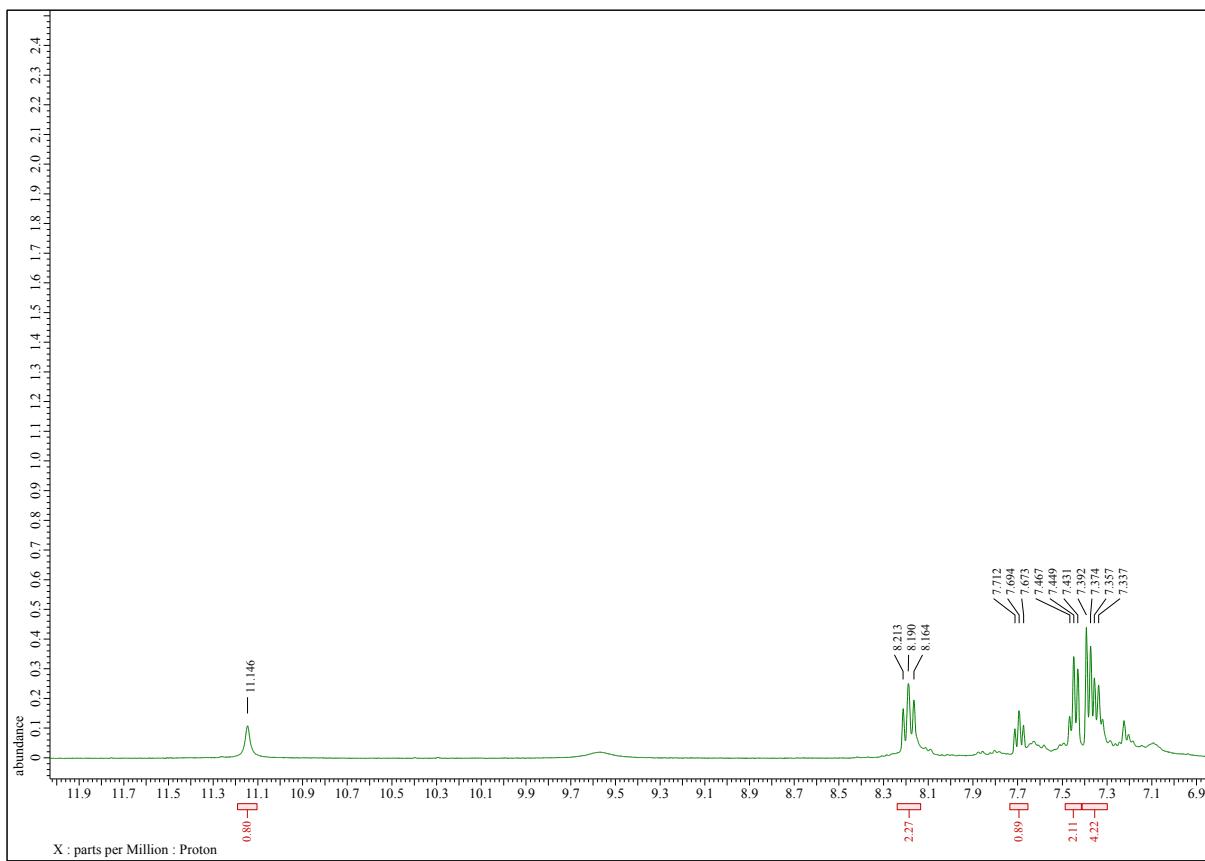
Methyl 4-((3-hydroxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-2-yl)ethynyl)benzoát (99).



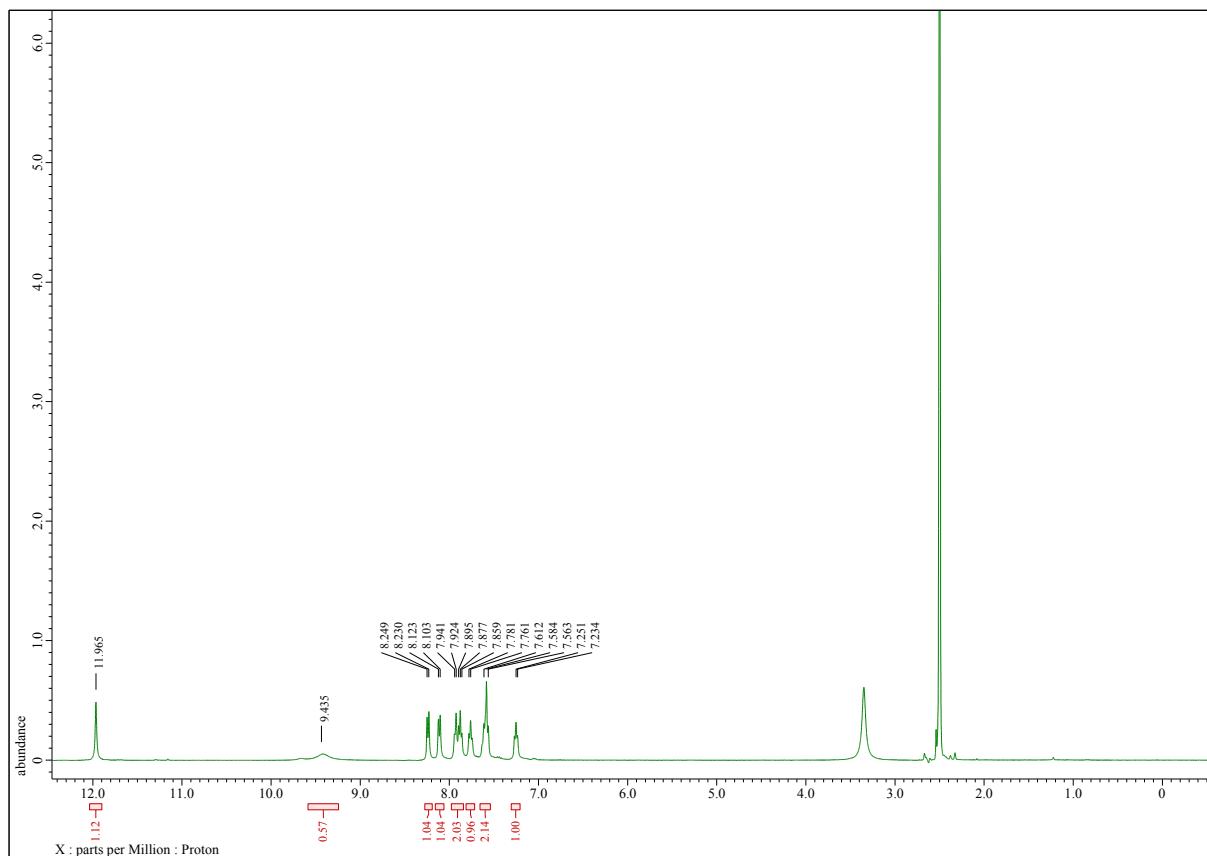
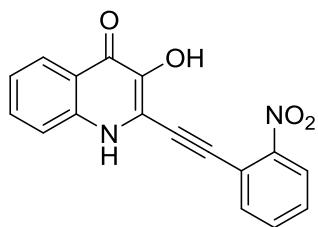


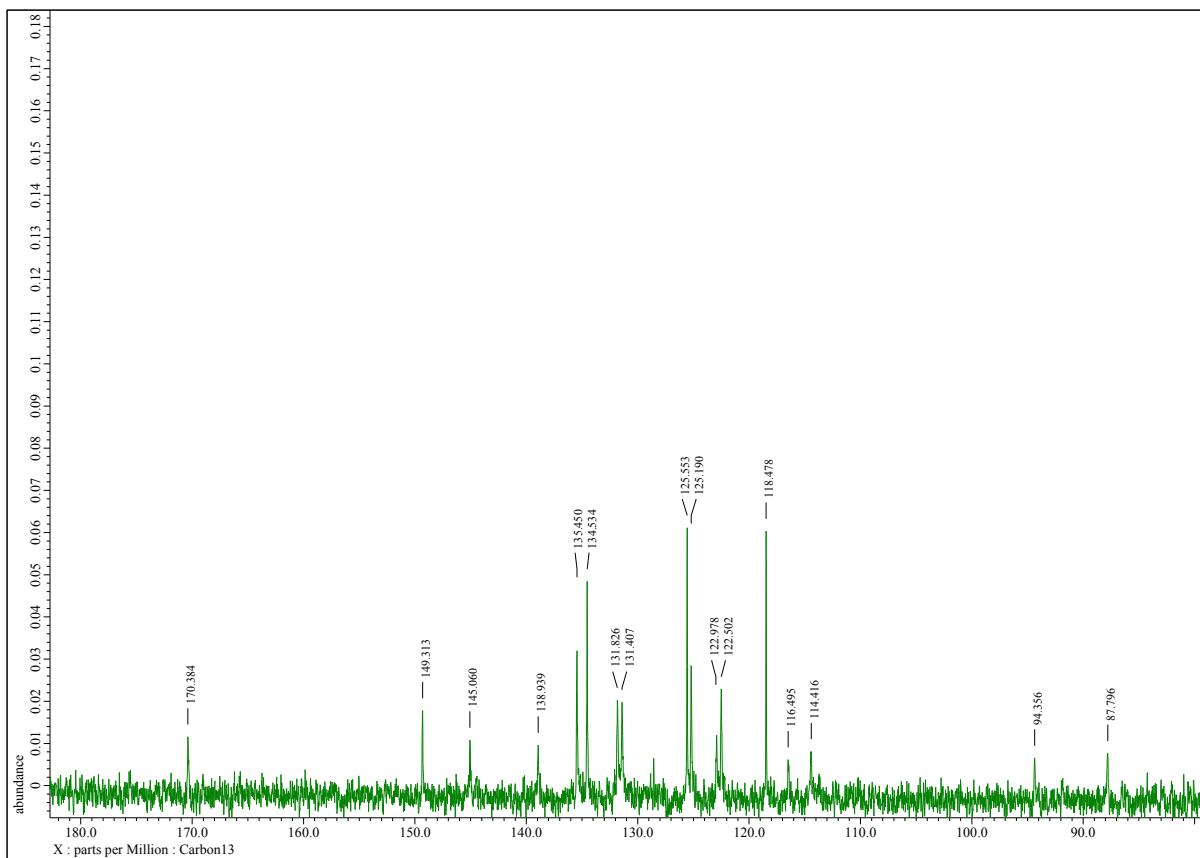
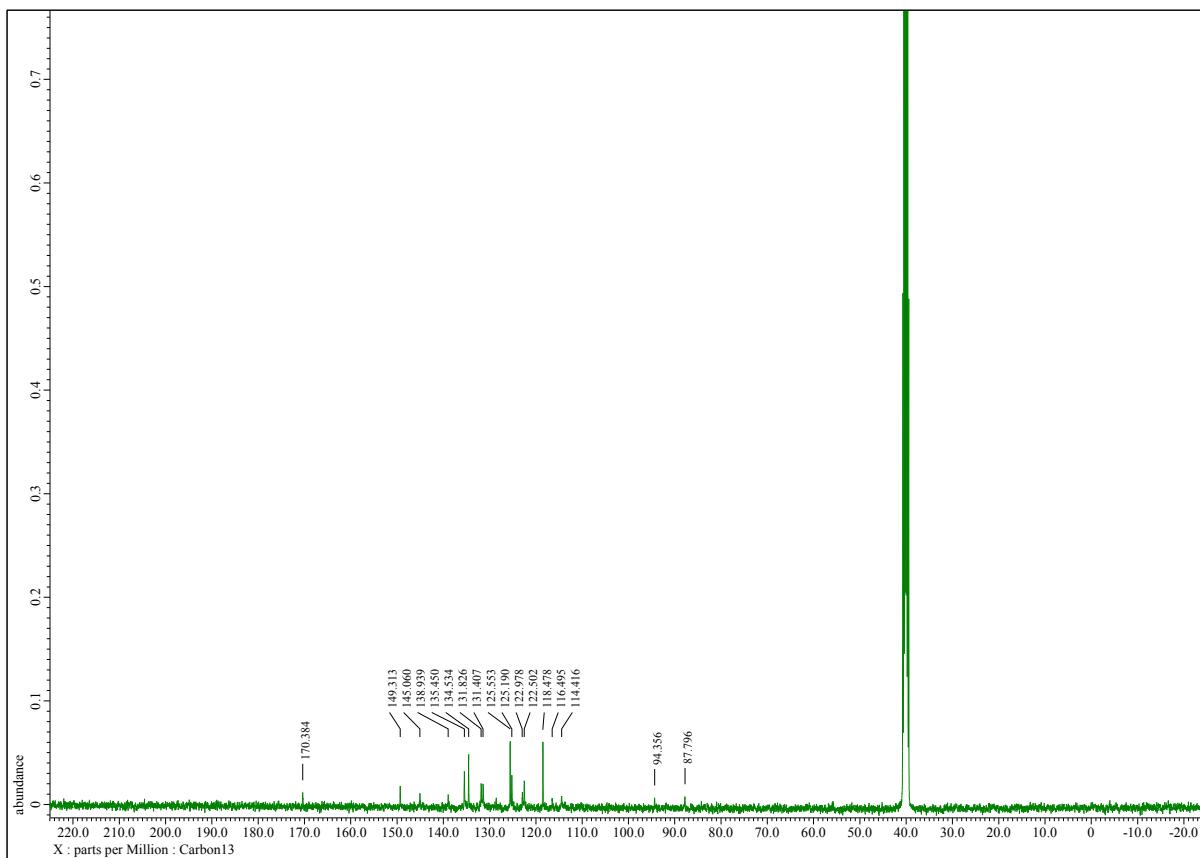
3-Hydroxy-2-(fenylethynyl)chinolin-4(1H)-on (100).



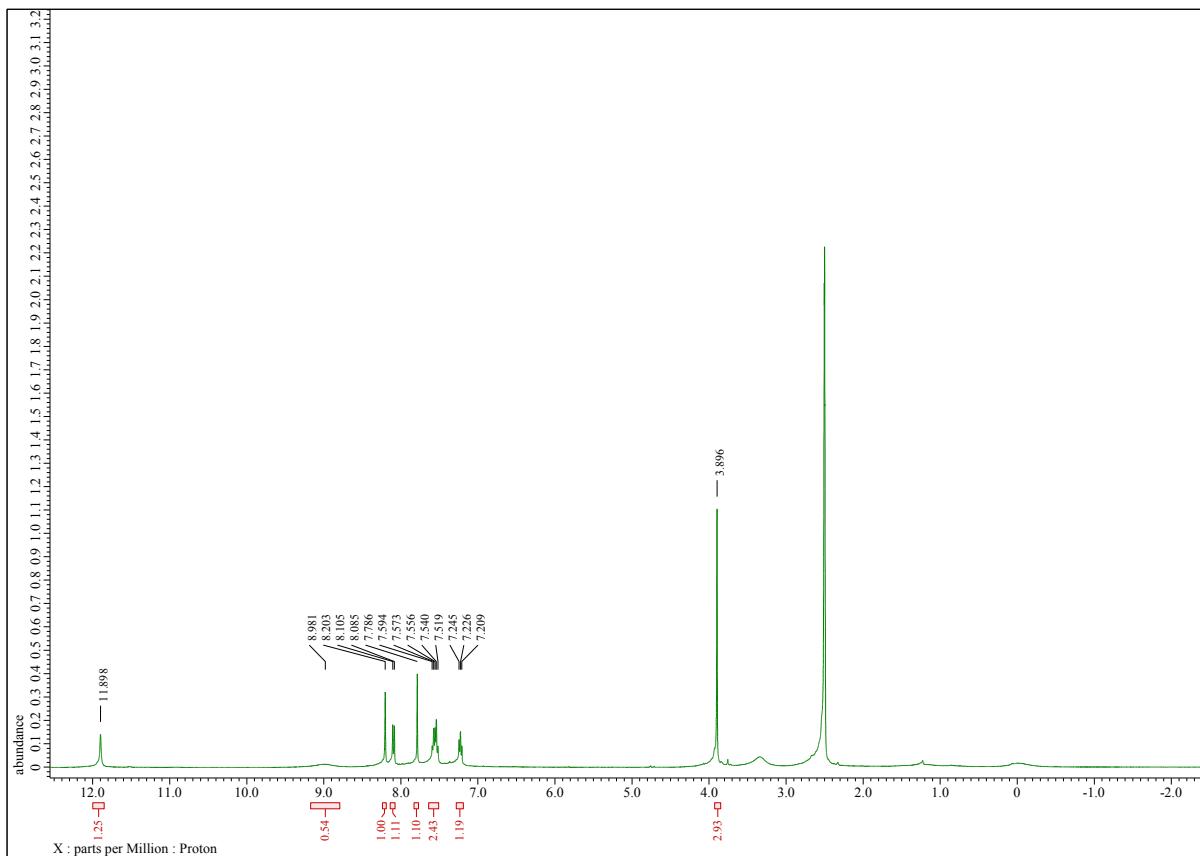
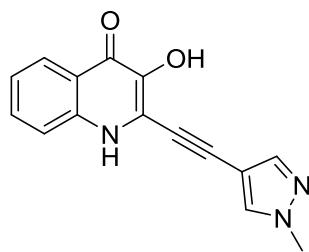


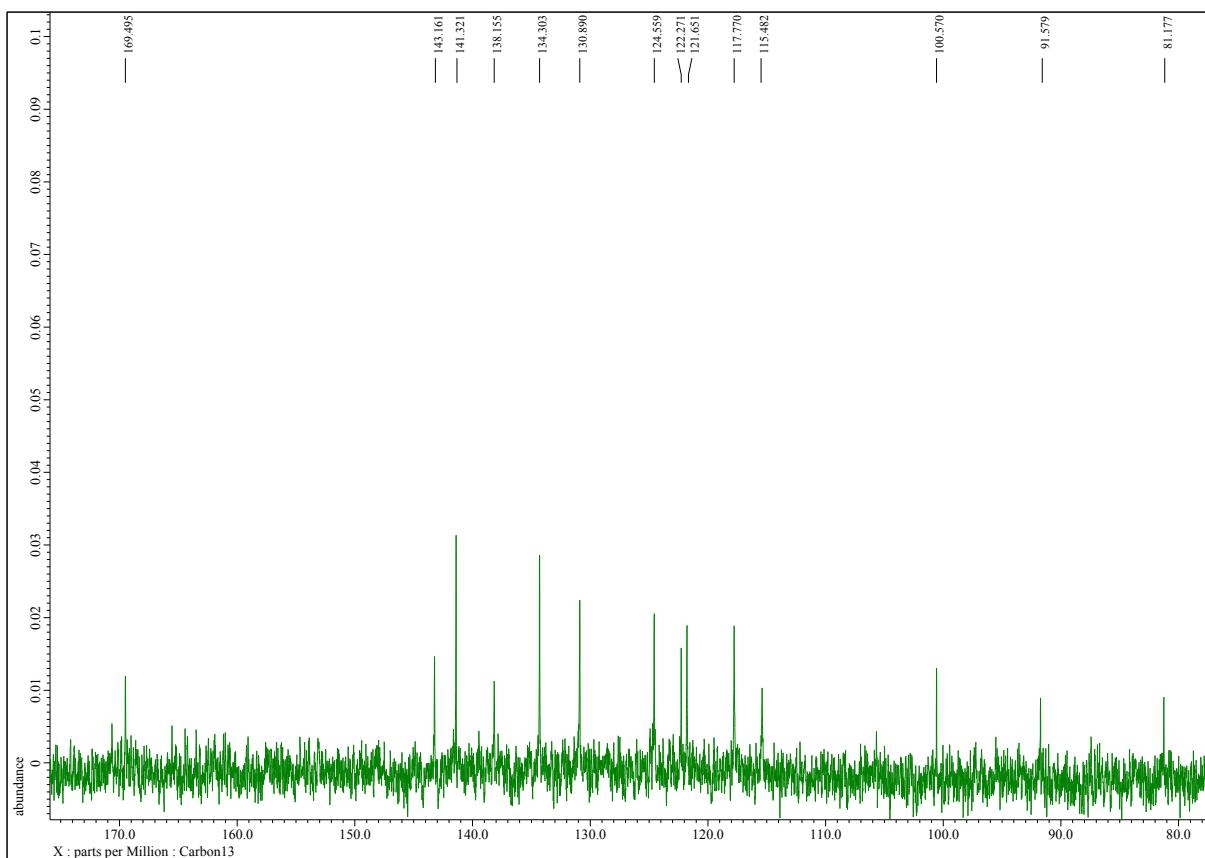
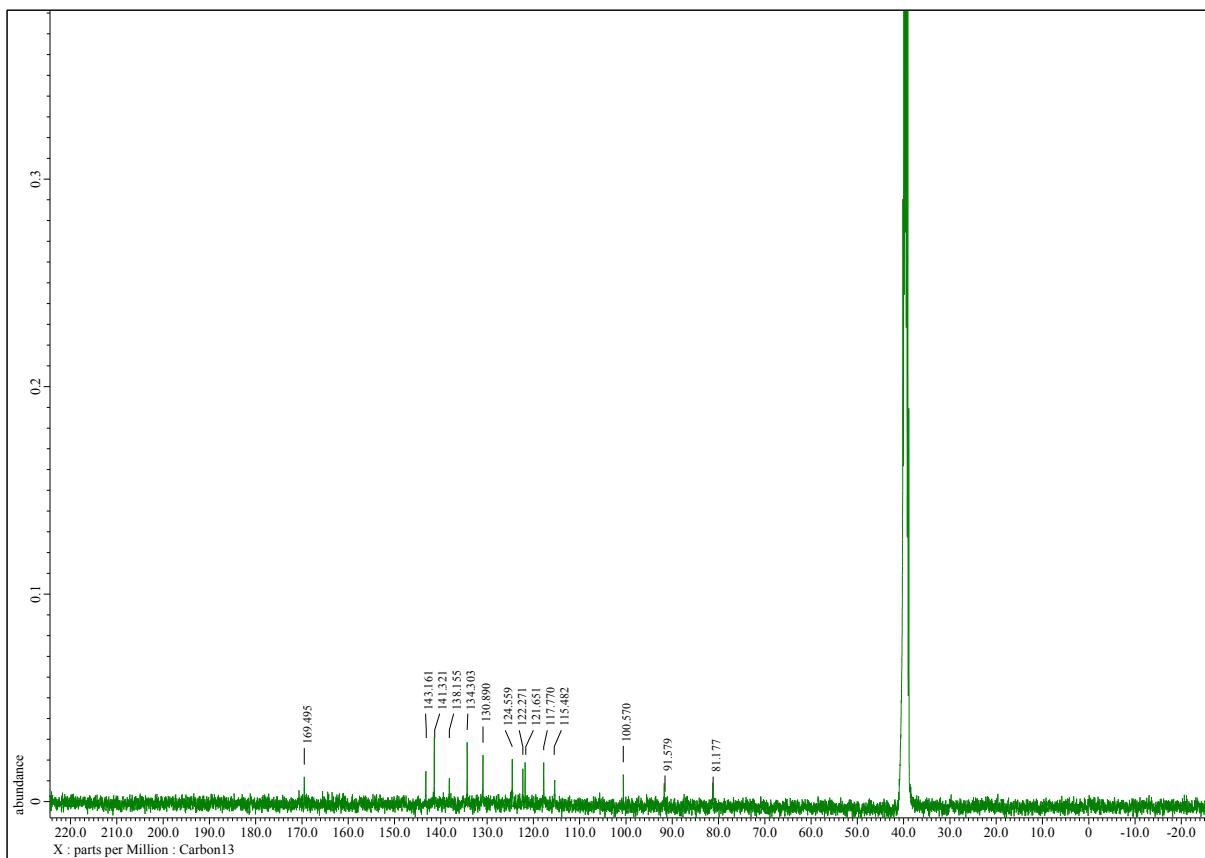
3-Hydroxy-2-((2-nitrofenzyl)ethynyl)chinolin-4(1H)-on (101).



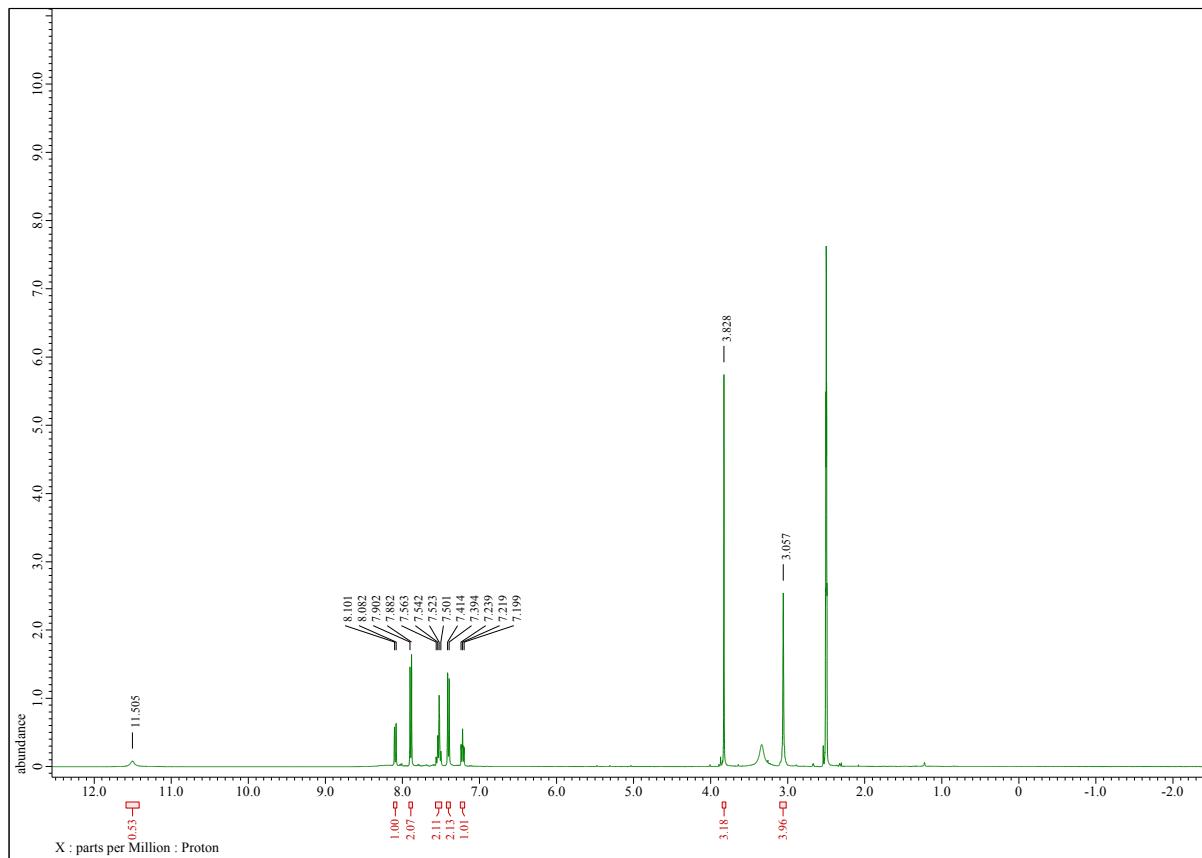
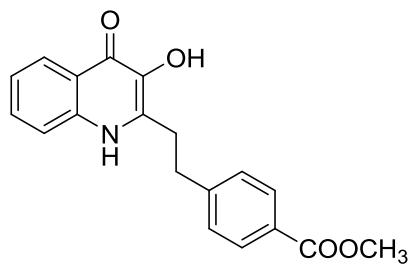


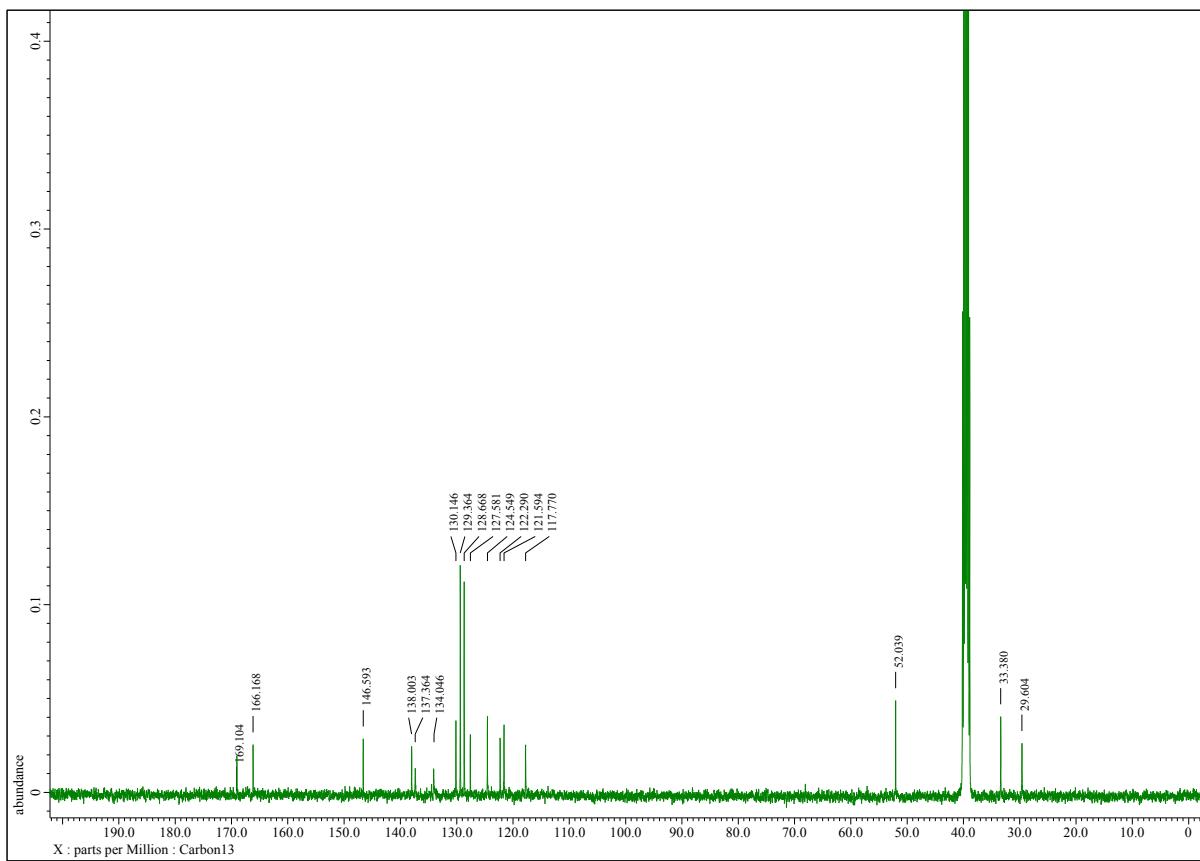
3-Hydroxy-2-((1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethynyl)chinolin-4(*1H*)-on (102).



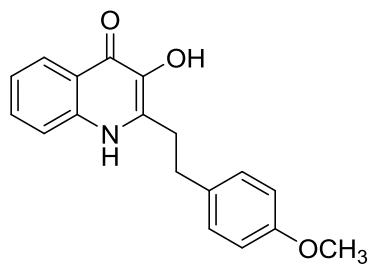


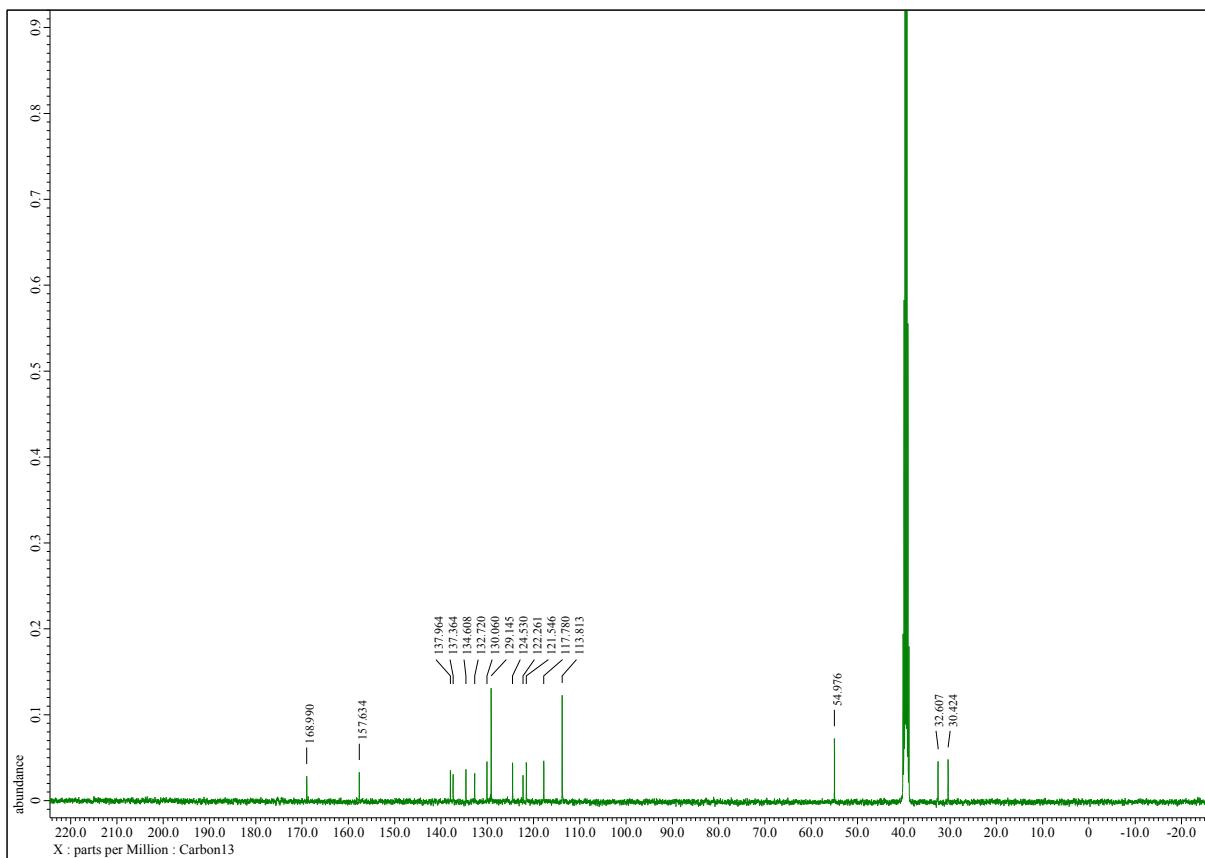
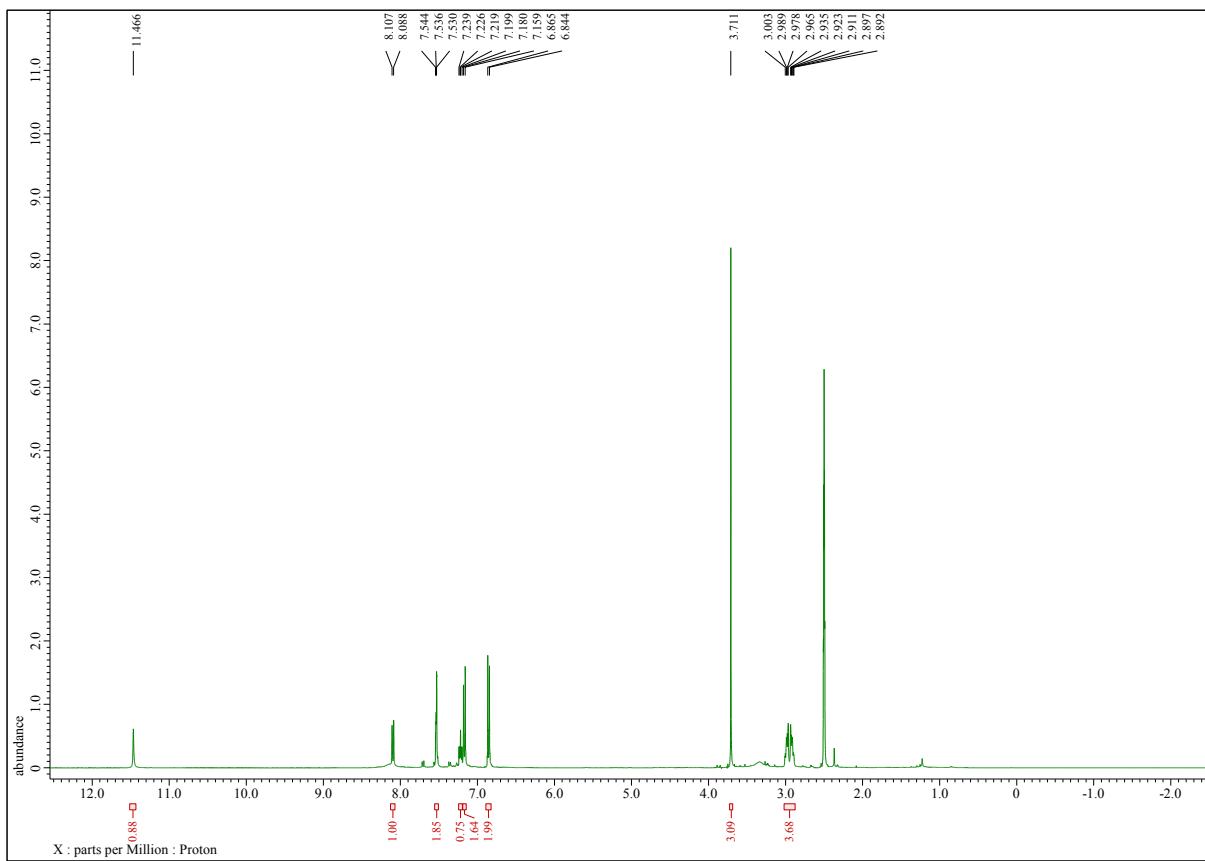
Methyl 4-(2-(3-hydroxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-2-yl)ethyl)benzoát (103).



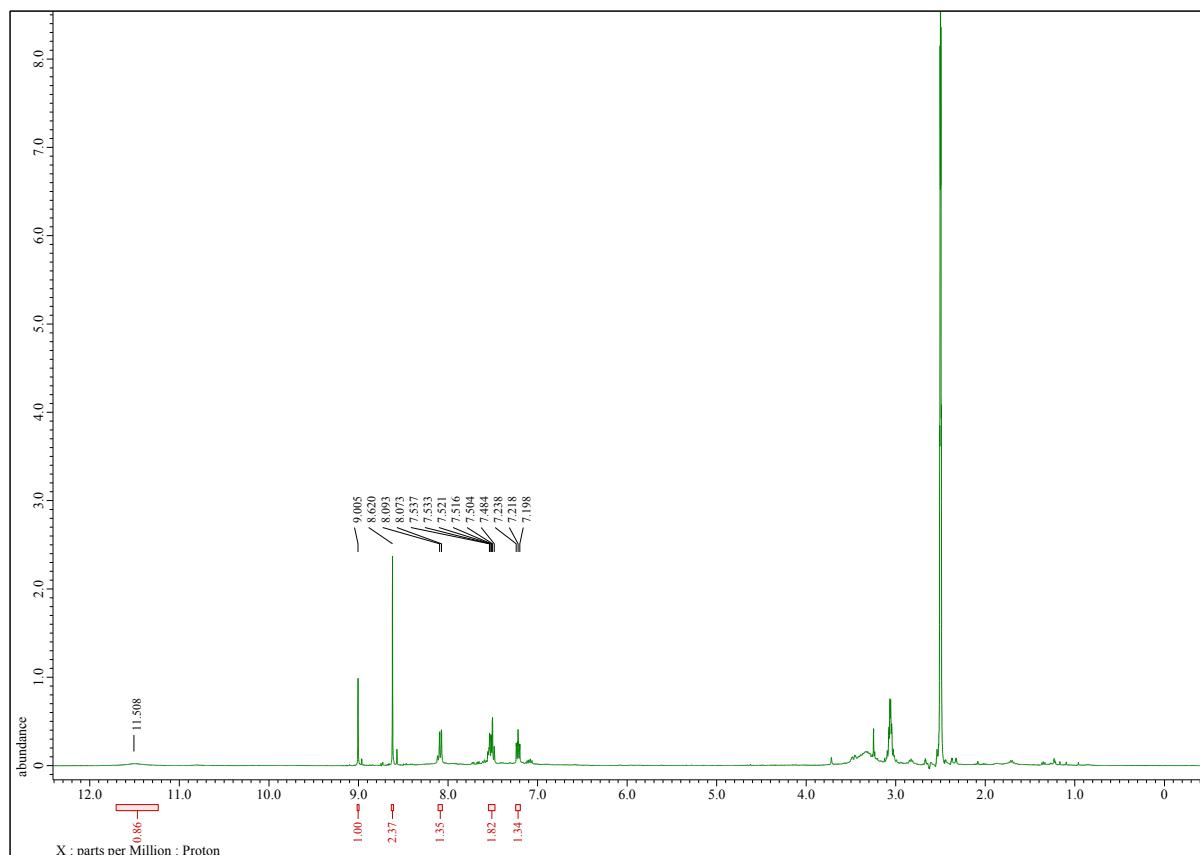
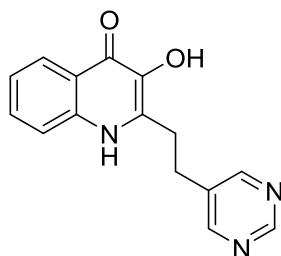


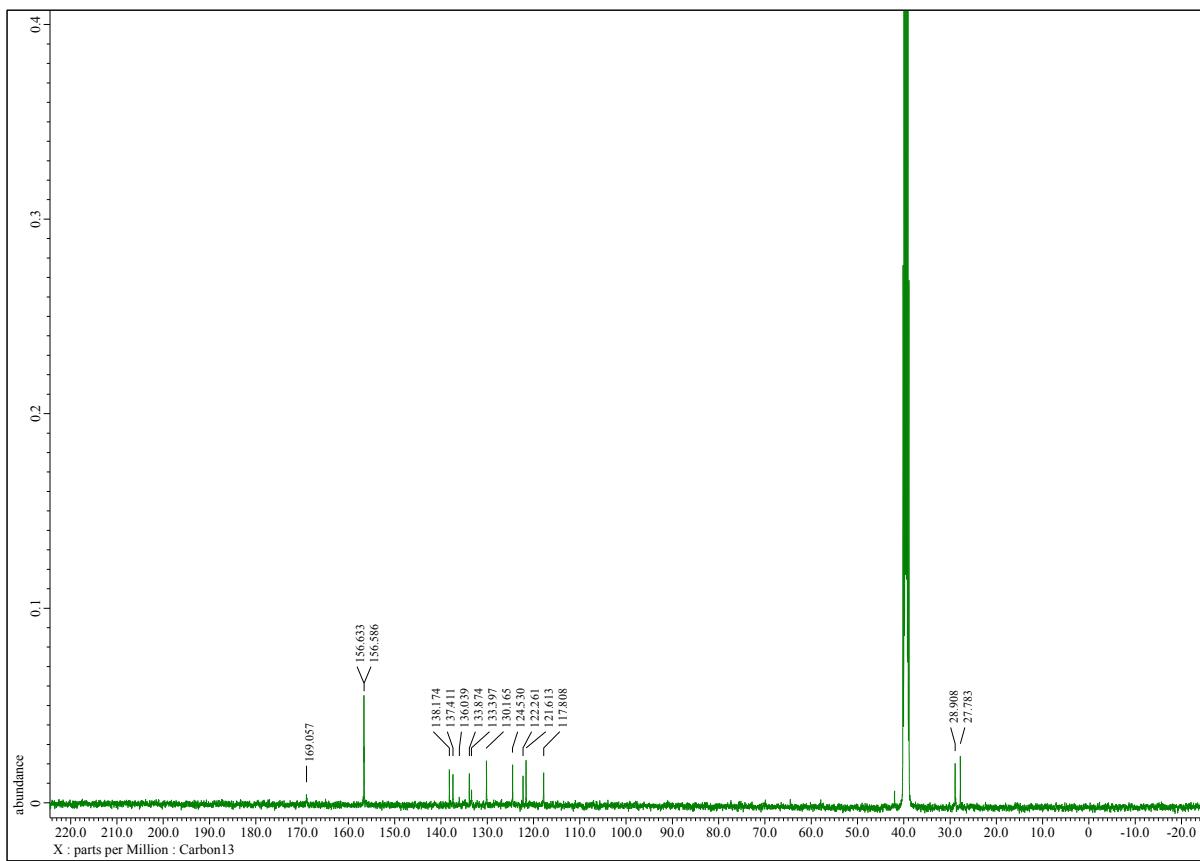
3-Hydroxy-2-(4-methoxyfenethyl)chinolin-4(1H)-on (104).



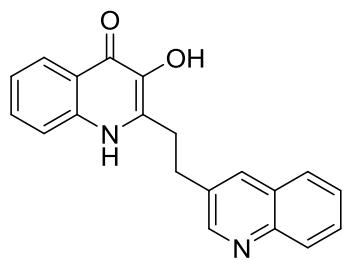


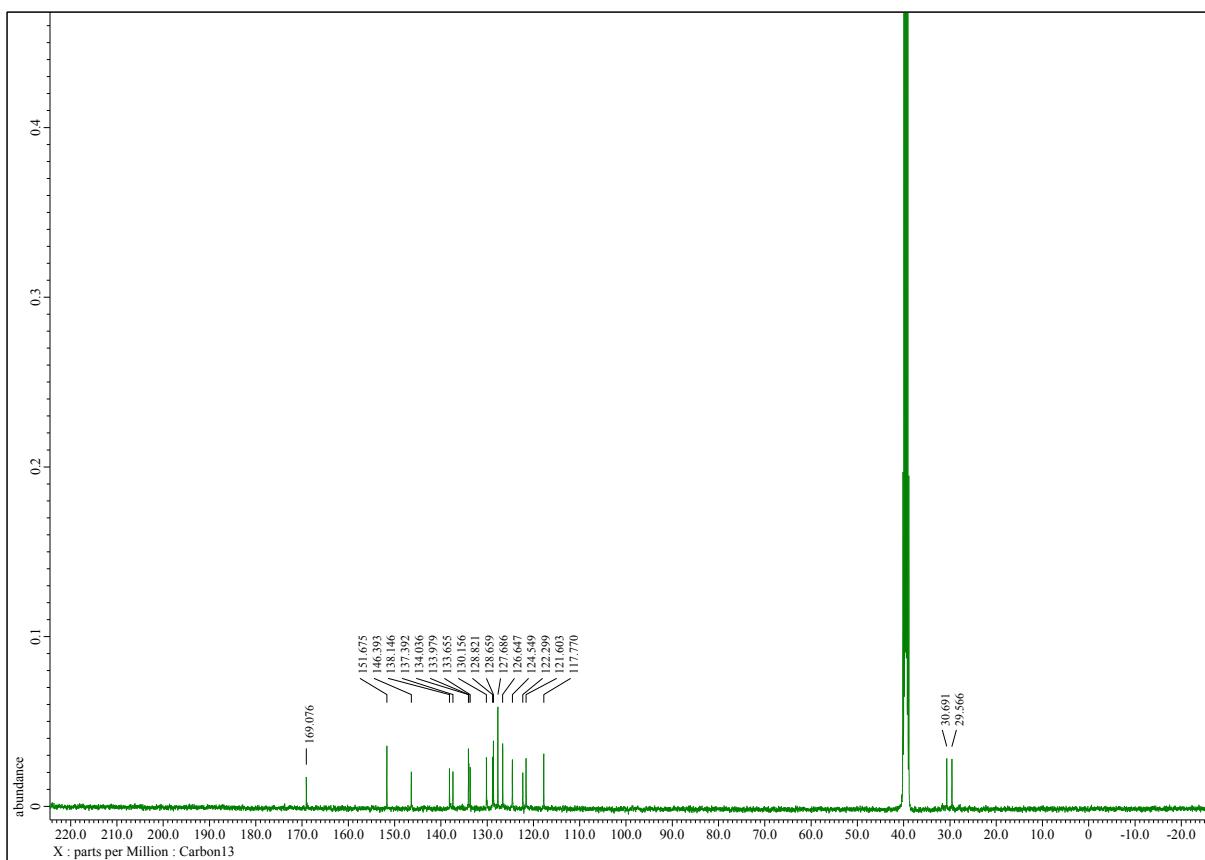
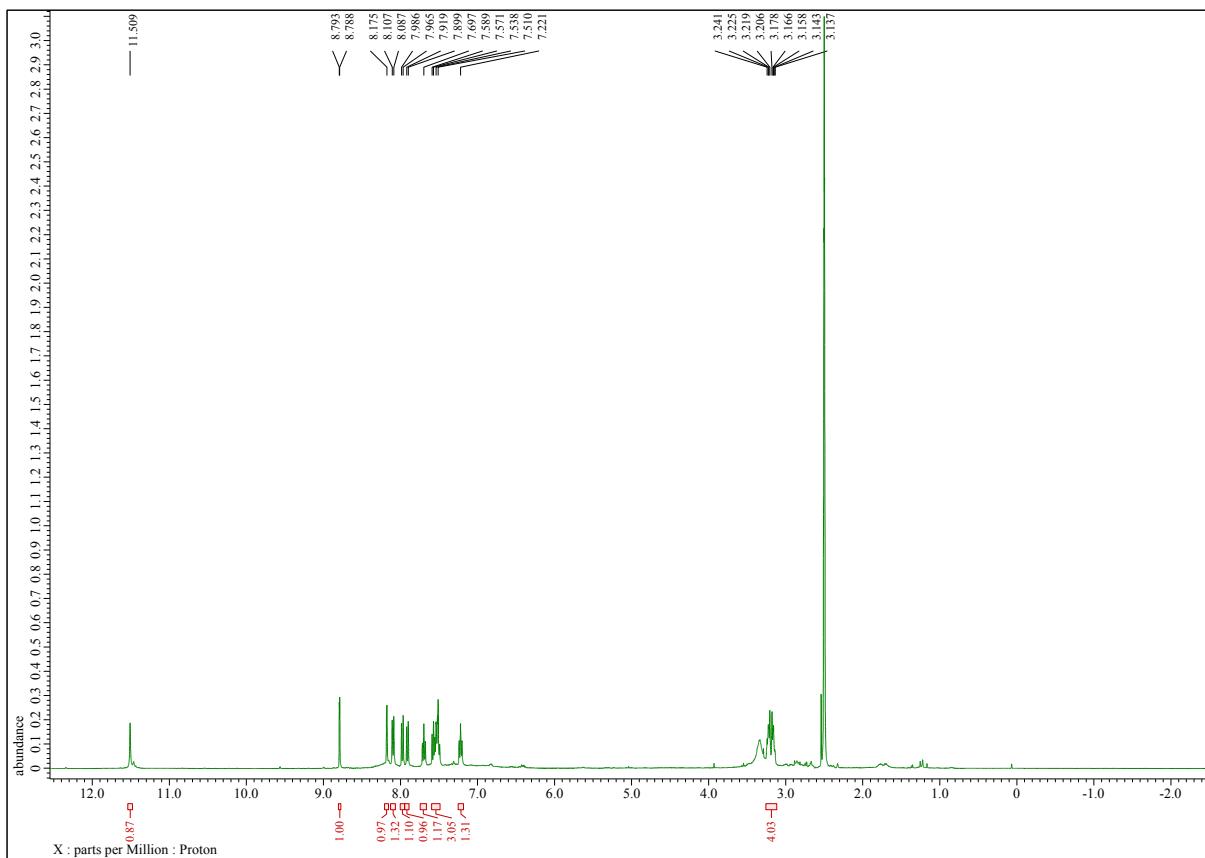
3-Hydroxy-2-(2-(pyrimidin-5-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-on (105).



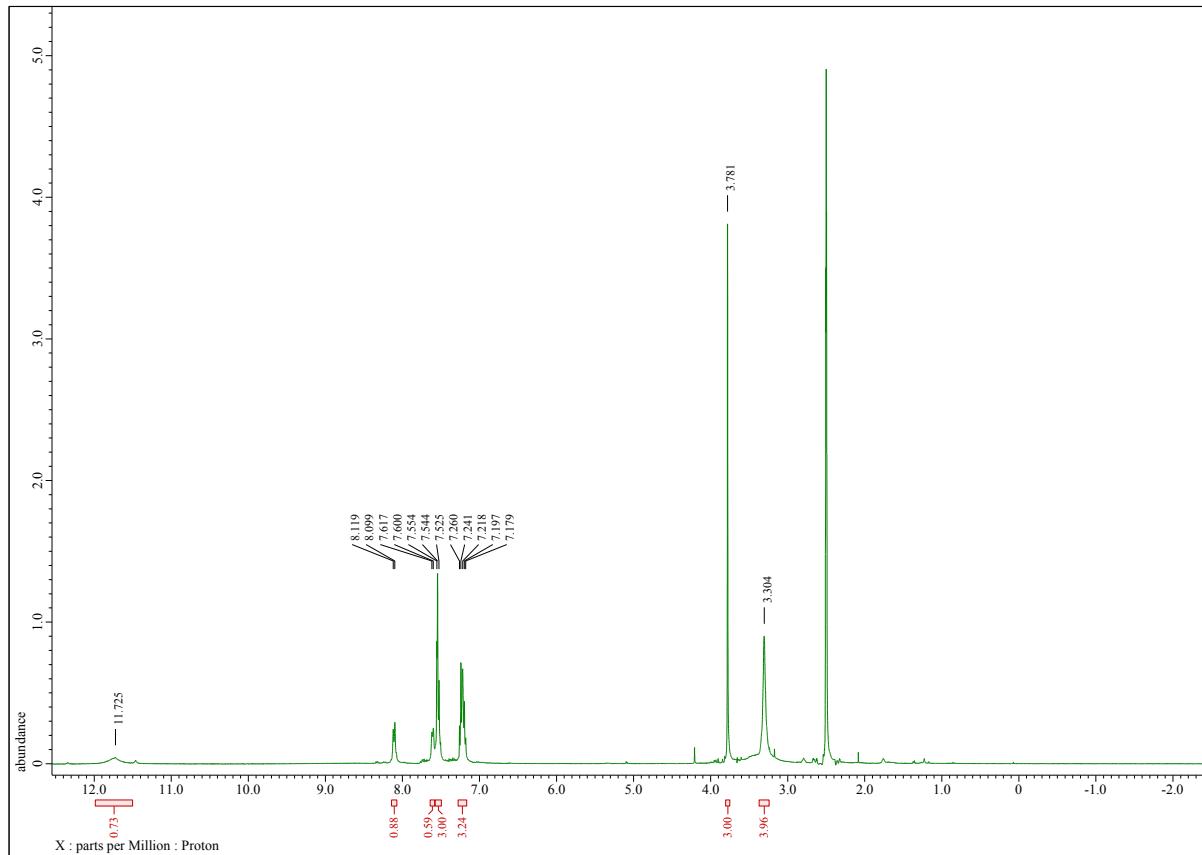
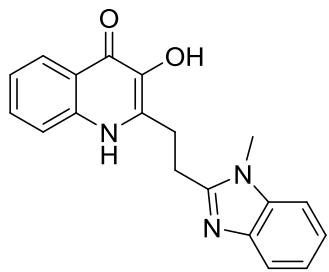


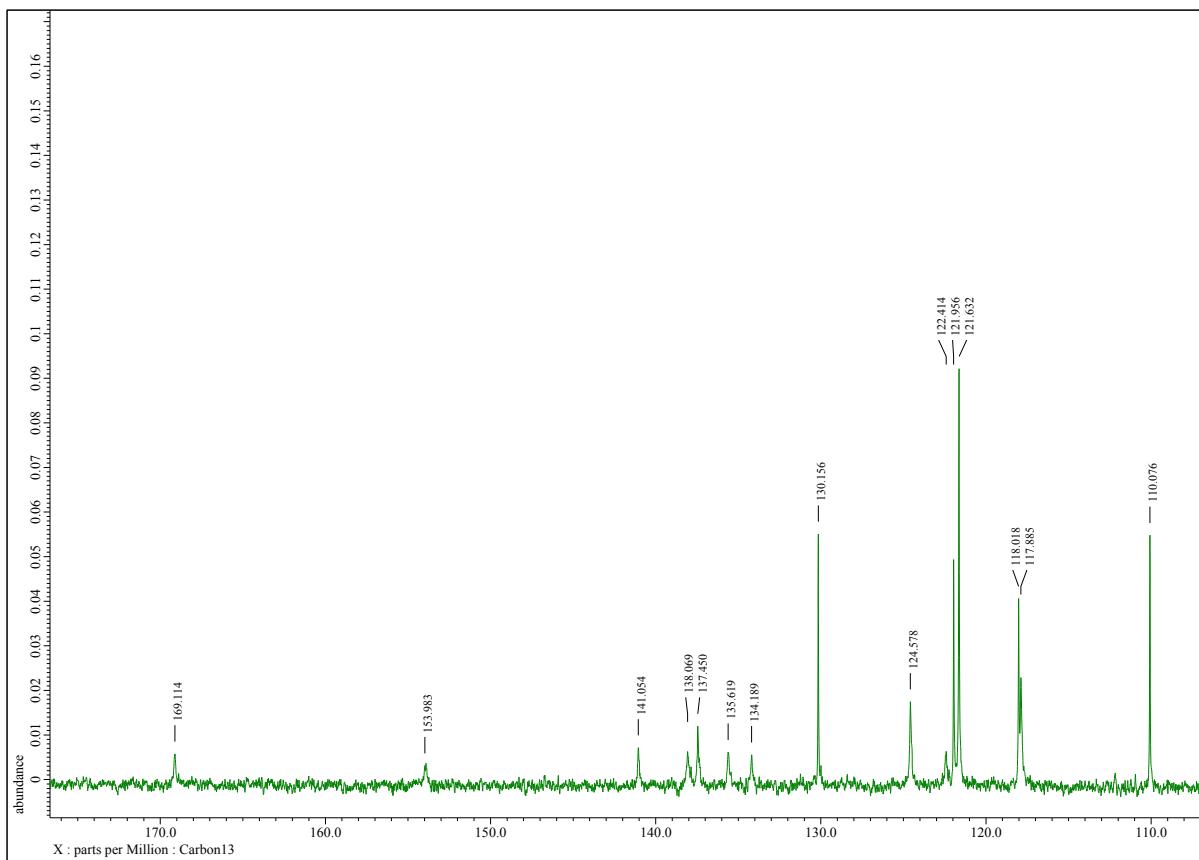
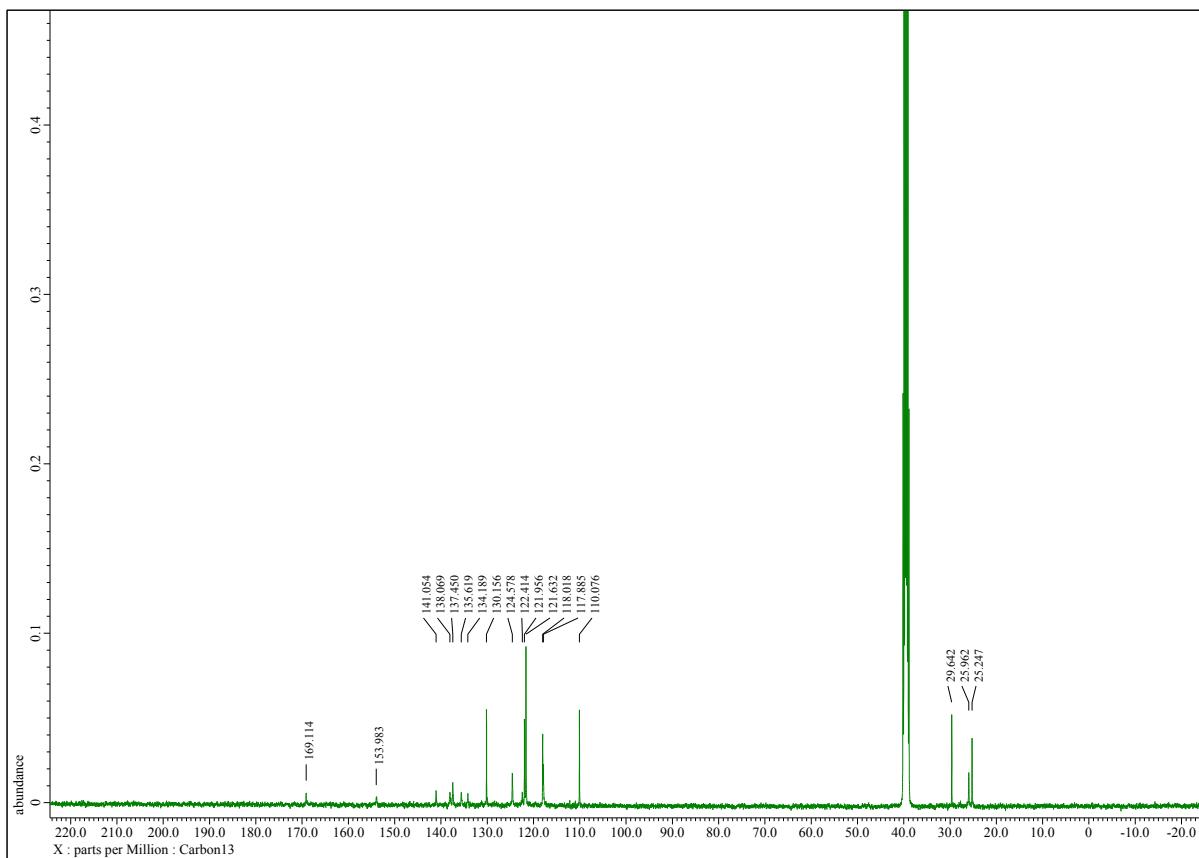
3-Hydroxy-2-(2-(chinolin-3-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-one (106).



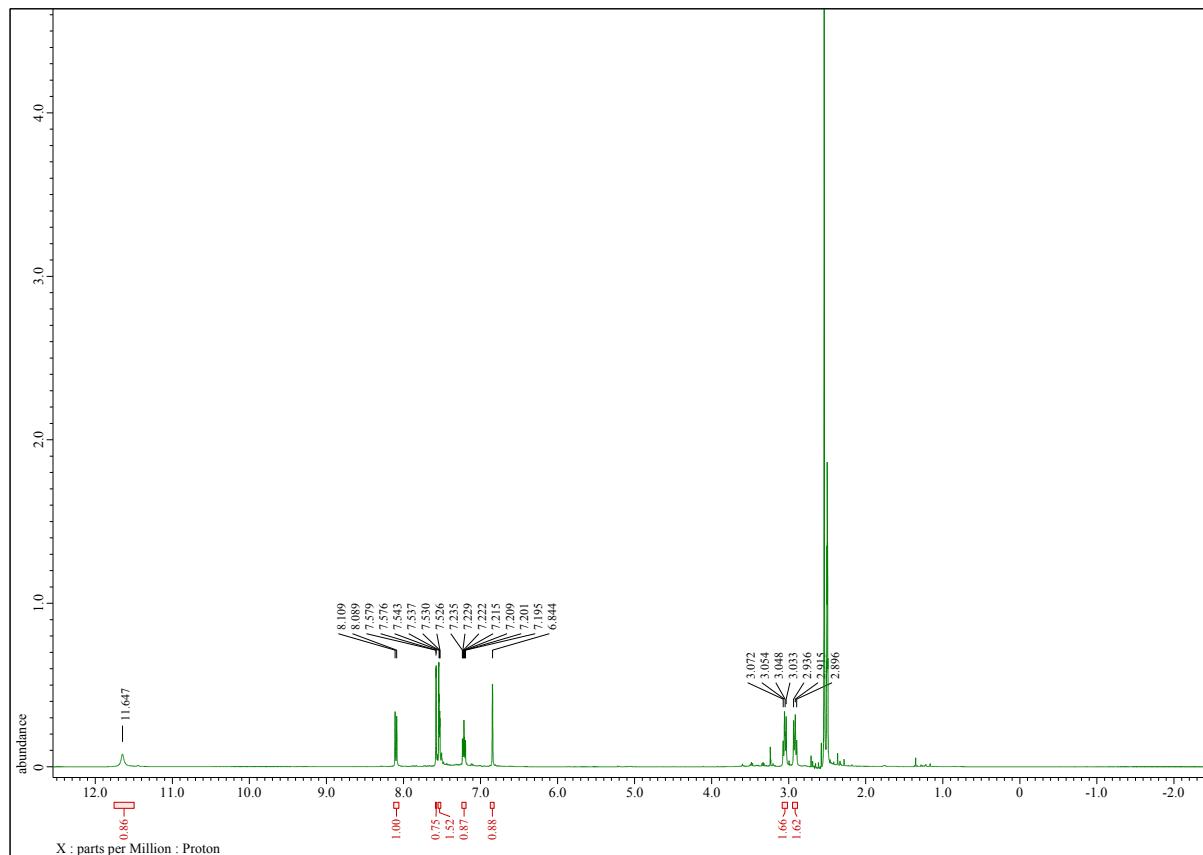
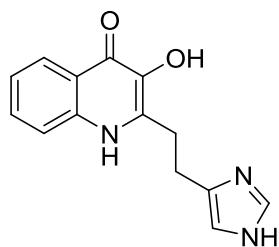


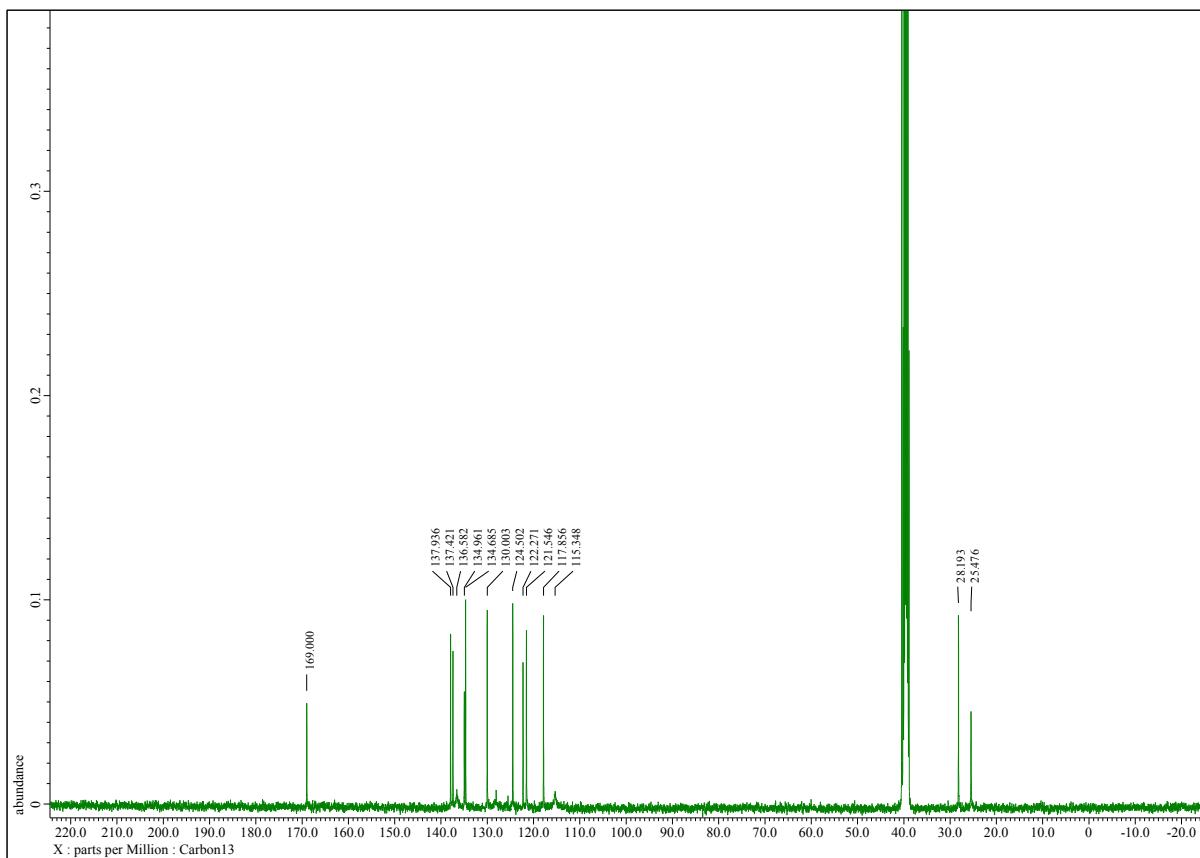
3-Hydroxy-2-(2-(1-methyl-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-yl)ethyl)chinolin-4(*1H*)-on (107).





2-(2-(1*H*-Imidazol-4-yl)ethyl)-3-hydroxychinolin-4(*1H*)-on (108).





3-Hydroxy-2-(2-(1-methyl-1*H*-pyrazol-4-yl)ethyl)chinolin-4(1*H*)-on (109).

