

Studium možností kontrakce diazepindionového kruhu

Timea Vojtková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Timea Vojtková
Osobní číslo:	T22198
Studijní program:	B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin
Specializace:	Chemie a analýza potravin
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Studium možností kontrakce diazepindionového kruhu

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Zpracovat literární rešerši zaměřenou na přípravu a biologické účinky analogů k připraveným derivátům v rámci BP.

II. Praktická část

- Vybrané 3-chlorchinolin-2,4-diony ponechat reagovat s primárními aminy.
- Připravené 3-aminochinolin-2,4-diony převést účinkem tetramethylguanidinu na odpovídající benzo[e][1,4]diazepin-2,5-diony.
- Pozorovat chování benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dionů v alkalickém prostředí.
- Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
- Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat bakalářskou práci.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

1. KAFKA, S.; KLÁSEK, A.; POLIS, J.; KOŠMRLJ J.: Syntheses of 3-Aminoquinoline-2,4(1*H*,3*H*)-diones. *Heterocycles* 2002, 57, 1659–1682.
2. KŘEMEN, F.; GAZVODA, M.; KAFKA, S.; PROISL, K.; SRHOLCOVÁ, A.; KLÁSEK, A.; URANKAR, D.; KOŠMRLJ, J.: Synthesis of 1,4-Benzodiazepine-2,5-diones by Base Promoted Ring Expansion of 3-Aminoquinoline-2,4-diones. *J. Org. Chem.* 2017, 82, 715–722.
3. VRIJDAG, J. L.; VAN DEN BOGAERT, A. M.; DE BORGGRAEVE, W. M.: Scaffold Hopping *via* a Transannular Rearrangement – Encompassing Cascade. *Org. Lett.* 2013, 15, 1052–1055.
4. ANTOLAK, S. A.; YAO, Z-K; RICHOUX, G. M.; SLEBODNICK, C.; CARLIER, P. R.: Enantioselective Deprotonative Ring Contraction of *N*1-Methyl-*N*4-Boc-benzo[*e*][1,4]diazepine-2,5-diones. *Org. Lett.* 2014, 16, 5204–5207.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2025

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....

podpis autora

ABSTRAKT

Celá tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku benzodiazepinových a chinazolinových sloučenin. Teoretická část obsahuje nejen samotné syntézy daných sloučenin a jejich derivátů, ale také jejich biologickou aktivitu, přítomnost v různých léčivech a v některých známých případech i (pravděpodobný) mechanismus účinku. V části zaměřené na BZD jsou rovněž uvedeny postupy syntéz sloučenin, které jsou získány kontrakcí jejich kruhu.

V praktické části je nejprve popsána syntéza 3-(alkylamino)chinolin-2,4-dionů z 1,3-disubstituovaných 3-chlorchinolin-2,4-dionů a primárních aminů. V další části práce je uvedena izomerizace připravených sloučenin za tvorby BZD, které jsou následně v poslední části práce vystaveny podmínkám vhodným pro kontrakci jejich kruhu vedoucí k 1,3-disubstituovaným chinolin-2,4-dionům.

Klíčová slova: benzodiazepindion, chinolindion, kontrakce kruhu, biologická aktivita, nukleofilní atak

ABSTRACT

The entire content of the submitted thesis focuses on the topic of benzodiazepine and quinazoline compounds. The theoretical section covers not only the syntheses of these compounds and their derivatives but also their biological activity, presence in various pharmaceuticals, and (in some known cases) the probable mechanisms of action. For benzodiazepines (BZDs), the section also outlines synthesis procedures involving ring contraction of their core structure.

In the practical section, the work first describes the synthesis of 3-(alkylamino)quinoline-2,4-diones from 1,3-disubstituted 3-chloroquinoline-2,4-diones and primary amines. The next part details the isomerization of the prepared compounds to form BZDs, which are then subjected to conditions suitable for ring contraction, ultimately yielding 1,3-disubstituted quinoline-2,4-diones.

Keywords: benzodiazepinedione, quinolinedione, ring contraction, biological activity, nucleophilic attack

Na tomto mieste by som chcela poďakovať všetkým, ktorí mi pomáhali pri dosiahnutí môjho prvého väčšieho študijného cieľa – napísaní tejto bakalárskej práce.

Najväčšia vďaka patrí môjmu vedúcemu Ing. Romanovi Kimmelovi, PhD., ktorý mi nielen dával odborné rady, viedol ma k stanovenému cieľu, ale zároveň mal so mnou veľkú trpezlivosť a podporoval ma, či už pri praktickej práci, alebo pri jej samotnom opravovaní. Poďakovanie patrí aj Ing. Petrovi Janovskému, PhD., za odborné rady a pomoc pri analýze niektorých zlúčenín. Ďakujem taktiež mojim kolegyniam z laboratória, vďaka ktorým by som tam bola niekedy stratená. Veľké ďakujem patrí najmä Ing. Zuzane Rytinovej, na ktorej prácu som nadväzovala a zároveň mi bola veľkou oporou v neistote pri spracovávaní pokusov.

No a v neposlednej rade by som chcela veľké ďakujem vyjadriť mojim kamarátom, spolužiakom, s ktorými sme plávali štúdiom tieto tri roky spolu, mojej rodine a priateľovi, ktorí ma podporovali nielen počas písania tejto práce, ale aj počas celého (občas náročného) obdobia môjho štúdia. Pretože ako raz povedal Tomáš Baťa: „Ak chceme rásť, musíme rásť spoločne.“

Prehlasujem, že odovzdaná verzia bakalárskej práce a verzia elektronická nahraná do IS/STAG sú totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČASŤ	12
1 BENZODIAZEPÍNY.....	14
1.1 BIOLOGICKÁ DÔLEŽITOSŤ BENZODIAZEPÍNOV	14
1.2 SYNTETICKÉ METÓDY PRÍPRAVY BENZODIAZEPÍNOV	15
1.3 MOŽNOSTI KONTRAKCIE BENZODIAZEPÍNOVÉHO KRUHU	19
1.3.1 Metódy spôsobujúce kontrakciu diazepín(di)ónového kruhu	20
2 CHINAZOLÍNÓNY	28
2.1 BIOLOGICKÉ ÚČINKY CHINAZOLÍNÓVÝCH DERIVÁTOV	28
2.1.1 Reaktivita a dipolárna povaha chinazolinónov	30
2.1.2 Syntéza derivátov chinazolinov	31
2.2 SYNTÉZA CHINAZOLÍNÓV	40
2.2.1 Syntéza nesubstituovaných chinazolinov	40
II PRAKTICKÁ ČASŤ	43
3 VÝSLEDKY A DISKUSIA.....	44
3.1 ZHRNUTIE PREDOSLÝCH VÝSLEDKOV A PREPOJENIE S PROBLEMATIKOU TEJTO PRÁCE.....	44
3.2 DISKUSIA K RIEŠENIU ZADANEJ PROBLEMATIKY	44
4 CHARAKTERIZÁCIA PRÍSTROJOVÉHO VYBAVENIA A INŠTRUMENTÁLNYCH METÓD.....	57
5 DETAILNÝ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPOV A CHARAKTERISTIKA PRIPRAVENÝCH ZLÚČENÍN.....	59
5.1 PRÍPRAVA VÝCHODISKOVÝCH LÁTOK 2.....	59
5.2 PREMENY VÝCHODISKOVÝCH LÁTOK 2 VEDÚCE K BENZODIAZEPÍNDIÓNOV 3	62
5.3 KONTRAKCIA BENZODIAZEPÍNDIÓNOVÉHO KRUHU 3 VEDÚCA K TVORBE CHINAZOLÍNDIÓNOV 4	65
ZÁVER.....	69
ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK.....	72
ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY.....	75

ÚVOD

Chinazolíndiónové deriváty predstavujú zaujímavú skupinu chemických zlúčenín, ktoré v posledných rokoch priťahujú pozornosť vedcov najmä vďaka svojim potenciálnym biologickým účinkom. Ich štruktúra umožňuje rôzne modifikácie, ktoré môžu výrazne ovplyvniť ich farmakologické vlastnosti. Výskum sa zameriava predovšetkým na využitie týchto derivátov v oblasti medicíny, kde by mohli slúžiť ako základ pre vývoj nových liečiv. Jednou z najvýznamnejších oblastí využitia chinazolíndiónových derivátov je liečba zápalových a autoimunitných ochorení. Niektoré z týchto zlúčenín totiž dokážu ovplyvniť aktivitu imunitného systému, napríklad inhibíciou určitých proteínov alebo receptorov, ktoré sa podieľajú na zápalových procesoch v tele. Takýmto spôsobom je možné znížiť nadmernú alebo nežiaducu imunitnú odpoveď, čo je veľmi dôležité pri ochoreniach, ako je reumatoidná artritída, skleróza multiplex alebo rôzne alergické reakcie. Okrem toho sa skúma aj ich potenciál v oblasti onkológie, kde by mohli prispieť k spomaleniu rastu nádorových buniek alebo k zlepšeniu účinnosti existujúcich protinádorových liečiv. Významné je aj to, že úpravy v chemickej štruktúre chinazolíndiónových derivátov môžu zlepšiť ich biologickú dostupnosť, stabilitu v organizme a znížiť riziko vedľajších účinkov.

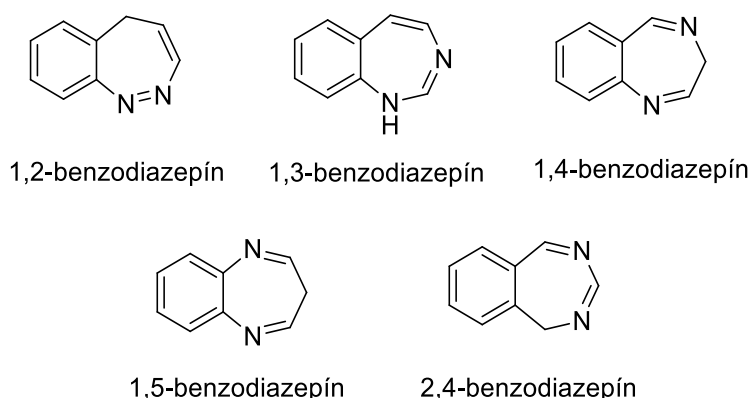
V súčasnosti existuje viacero postupov, ktoré vedú k získaniu týchto derivátov, pričom voľba konkrétnej syntetickej stratégie závisí najmä od požadovanej štruktúry konečného produktu a jeho plánovaného využitia. Jednou z najčastejšie využívaných metód je kondenzácia vhodných aromatických amínov s karbonylačnými zlúčeninami, ktorá poskytuje základnú chinazolíndiónovú kostru. Táto reakcia je často doplnená ďalšími krokmi, ako sú cyklizácie, substitúcie alebo oxidácie, ktoré umožňujú zavádzanie rôznych funkčných skupín a tým aj úpravu biologických vlastností výsledných derivátov.

Moderné syntetické postupy sa zameriavajú aj na využitie katalyzátorov a ekologicky priaznivých podmienok, čo prispieva k efektívnejšej a šetrnejšej výrobe týchto zlúčenín. V posledných rokoch sa rozvíjajú aj viacstupňové a kaskádové reakcie, ktoré umožňujú pripraviť zložitejšie chinazolíndiónové deriváty v jednom alebo len v niekoľkých krokoch. Tieto prístupy zvyšujú výťažnosť a čistotu produktov a zároveň skracujú čas potrebný na syntézu. Významnou výhodou je aj možnosť zavádzania rôznych substituentov, čo umožňuje pripraviť deriváty s presne definovanými vlastnosťami podľa požiadaviek farmaceutického alebo chemického výskumu.

I TEORETICKÁ ČASŤ

1 BENZODIAZEPÍNY

Z chemického hľadiska sú benzodiazepíny bicyklické heterozlúčeniny, v ktorých je benzénové jadro spojené so sedemčlenným kruhom obsahujúcim dva atómy dusíka. Termín benzodiazepín (BZD) naznačuje maximálny stupeň nenasýtenosti v dôsledku prítomnosti troch dvojitéch väzieb v šesťčlennom kruhu. Berúc do úvahy relatívnu polohu atómov dusíka v heterocyklickom kruhu sa klasifikujú ako 1,2-, 1,3-, 1,4-, 1,5- a 2,4-benzodiazepíny.



Obrázok 1. Klasifikácia benzodiazepínov.

1.1 Biologická dôležitosť benzodiazepínov

Benzodiazepíny sú dobre známa trieda anxiolytických a hypnotických látok. V 90. rokoch 20. storočia nahradili tradičné barbituráty a dikarbamáty, ktoré sa vtedy používali na vyššie uvedené liečebné účely. Benzodiazepíny sú účinnejšie pri zmiernení úzkosti a stresu, ako v minulosti používané barbituráty a dikarbamáty, pretože majú menej závažných vedľajších účinkov, ako napríklad nevoľnosť, zvracanie, bolesť hlavy, poruchy funkcie pečene, či riziko vzniku sekundárnych malignít.^{1,2} Často sa tiež predpisujú ako lieky pri srdcových a obehových problémoch.

V rôznych štúdiách sa zameriavali na porovnanie biologickej aktivity benzodiazepínov ako triedy antianxiolytík, hypnotík a myorelaxancií s barbiturátmi, ktoré v súčasnosti nahradili a ich závery je možné zhrnúť asi takto:

- Benzodiazepíny sú účinnejšie pri zmiernení úzkosti a stresu a majú menej závažné vedľajšie účinky ako barbituráty.

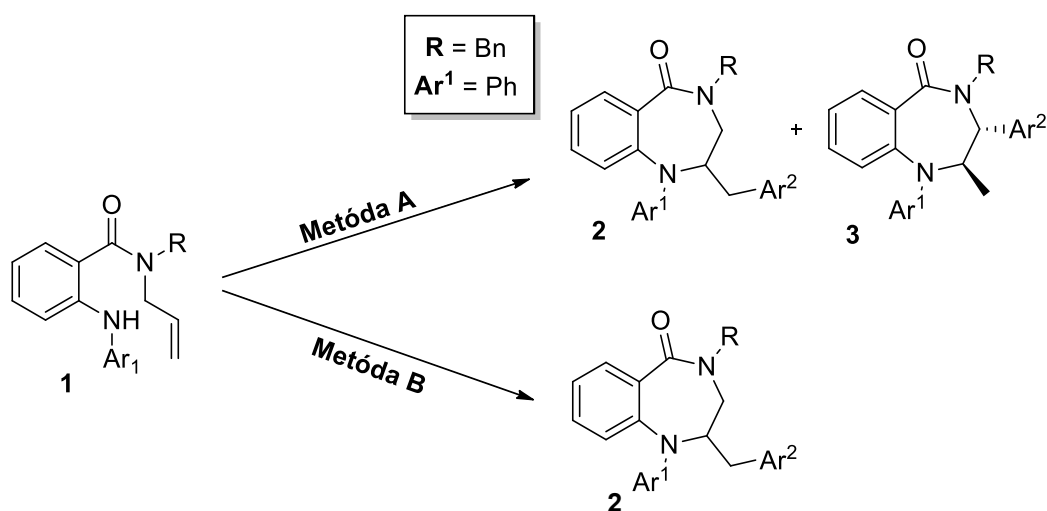
- V dôsledku toho sa BZD ďalej používajú na liečbu stavov, ako sú fóbické a panické poruchy, depresia a migrény.
- Okrem liečby úzkosti sa BZD často predpisujú na liečbu nespavosti, odvykania od alkoholu a v poslednom čase aj epilepsie.

Kvôli možným nežiadúcim účinkom, ako je upokojenie/tišenie a amnézia, však výskum v tejto oblasti pokračuje. Dúfa sa, že sa objavia lieky so zvýšenou účinnosťou alebo špecifickejšími vlastnosťami. V poslednom dvadsiťročí sa oblasť biologického záujmu o benzodiazepíny rozšírila na niekoľko ochorení, ako je rakovina, vírusové infekcie, kardiovaskulárne poruchy, kontrola a liečba AIDS a poruchy CNS.

1.2 Syntetické metódy prípravy benzodiazepínov

Syntetické metódy na prípravu BZD zahŕňajú rozmanité postupy, ktoré kombinujú klasické organické reakcie s modernými katalytickými technológiami. Tieto metódy sú navrhnuté tak, aby boli efektívne, selektívne a ekologicky udržateľné. Kľúčovým krokom syntézy je tvorba diazepínového kruhu, ktorý je možné dosiahnuť prostredníctvom kondenzácie vhodných prekursorov, cyklizačných reakcií alebo modifikácií existujúcich štruktúr. Moderné postupy navyše zahŕňajú využitie napríklad heterogénnych katalyzátorov či reakcie bez použitia organických rozpúšťadiel. V tejto kapitole budú bližšie predstavené niektoré typy najčastejších syntéz pre tvorbu benzodiazepínov a ich derivátov.

Zo štúdie J. D. Neukoma a kol. z roku 2011 bolo na preskúmanie možností reakcií vedúcich k tvorbe BZD testované využitie amidov **1**, ako substrátov pre karbaminačné reakcie. Ako znázorňuje **Schéma 1 (metóda A)**, podmienky optimalizované pre transformácie substrátu **1** reagujúceho s 4-brombifenylokom poskytli dobré výtťažky (76%) zlúčeniny **2**, hoci vznikalo aj malé množstvo regioizoméru **3**.



Met. A = 4-brombifenyl; kat. Pd; ligand; NaO^tBu; xylén, 135 °C

ligand = PPh₂Cy; 90 % NMR výťažok; 10:1 regioselektivita

P(4-F-C₆H₄)₃; 87 % NMR výťažok; 13:1 regioselektivita; 76 % izolovaný výťažok

Met. B = Ar₂-Br; 1 mol % Pd₂(DBA)₃; 4 mol % P(4-F-C₆H₄)₃; NaO^tBu; xylén, 135 °C

Schéma 1, metóda A+B. Reakcia 2-aminobenzamidov s halogénovanými biarylmi.

Po dodatočnej optimalizácii sa ukázalo, že použitie tris(4-fluorfenyl)fosfinu ako ligandu mierne zvýšilo selektivitu reakcie (**Schéma 1, metóda B**). Regioizoméry sa dali následne pekne chromatografiou oddeliť, čím bolo možné získať produkt **2** s 76% výťažkom. Tieto upravené podmienky sa osvedčili aj pri reakcii iných podobných amidov s rôznymi arylbromidmi. Pokusy boli testované aj za použitia substrátu, na ktorom bol oproti zlúčenine **1** v polohe C¹ naviazaný but-3-én-2-yl. Tie však boli neúspešné, pretože vznikali komplexné zmesi regioizomérov bez možnosti ich rozdelenia.³

Yadav a kol. v roku 2011 vyvinuli efektívny protokol na syntézu *N*-aminometylových derivátov 1,4-benzodiazepínu. Pri tejto metóde je využívané mikrovlnné žiarenie na urýchlenie reakčných procesov, čo oproti syntéze vykonávanej klasickým konvenčným ohrevom zvyšuje výťažky a redukuje množstvo vedľajších produktov. Mechanizmus pravdepodobne zahŕňa aktiváciu anhydridovej skupiny v izatovom anhydride, ktorá reaguje s aminoskupinou glycínu alebo prolínu za vzniku benzodiazepínového jadra (**Schéma 2**). Podobné reakčné schémy s izatovým anhydridom boli študované aj v kontexte syntézy

chinazolindiónov a derivátov ftalimidu, kde hrajú kľúčovú úlohu solvolýza (druh nukleofilnej substitúcie) a cyklizácia.⁴

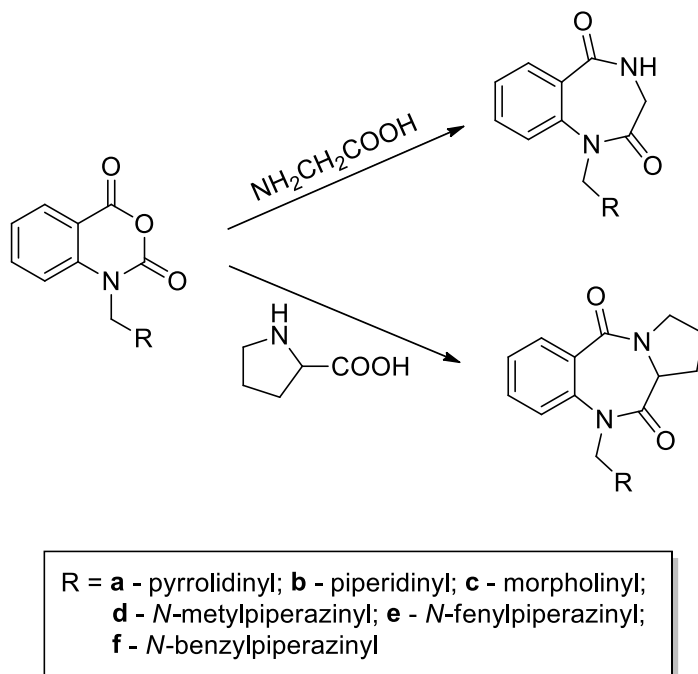


Schéma 2. Reakcia izatoového anhydridu s aminokyselinami.

Ďalšia v literatúre uvádzaná možnosť syntézy 1,4-benzodiazepín-2,5-diónov **8** je zásadou katalyzovaná reakcia pomocou linkera a živice (**Schéma 3**). Živica slúži ako pevná podpora, na ktorú sa viaže prvá stavebná jednotka, v tomto prípade zlúčenina **4**. Táto pevná podpora umožňuje vykonávať sériu chemických reakcií bez potreby izolovať medziprodukty, čo výrazne zjednodušuje a urýchľuje syntézu. Linker slúži ako spojovací článok medzi živicou a syntetizovanou zlúčeninou. Linker môže tiež slúžiť na ochranu určitých funkčných skupín počas syntézy, čím sa zabráni nežiadúcim reakciám.

Po pridaní labilného linkera voči kyselinám na Merrifieldovu živicu ((chlórmetyl)polystyrénová živica) a následnej derivatizácii vznikla zlúčenina **4**, ktorá bola použitá ako východisková látka v tejto syntéze. Ďalším krokom bola acylácia rôzne substituovanými antranilovými kyselinami a EDC (1-etyl-3-[3-(dimetylamino)propyl]karbodiimid-hydrochlorid) čím sa získal na živicu viazaný terciárny amid **5**. Ošetrovanie lítnou soľou acetanilidu potom viedlo k zásadou katalyzovanej cyklizácii, čím sa vytvorila zlúčenina **6**, ktorá bola následne alkylovaná, čím sa v jednom kroku získala látka **7**. Ošetrovanie kyselinou trifluóroctovou (TFA) rozštiepilo

linker v dôsledku jeho kyselinovej lability, čím sa získal požadovaný 1,4-benzodiazepín-2,5-dión **8**.⁵

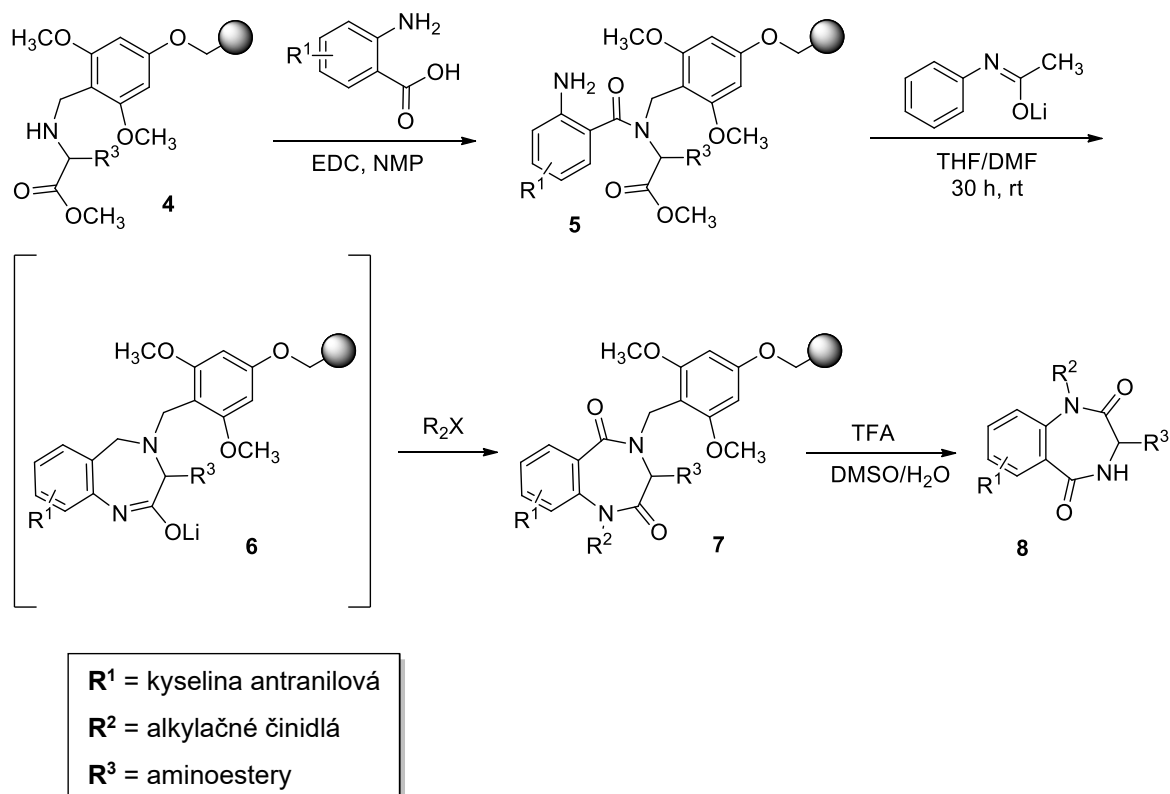


Schéma 3. Syntéza benzodiazepínových heterocyklov **8** z antranilovej kyseliny.

F. Křemen a kol. v roku 2016 uviedli článok, ktorý sa týkal novej syntézy BZD, konkrétne 1,4-benzodiazepín-2,5-diónov. Ako súčasť záujmu o chémiu chinolín-2,4-diónov, bol uvedený nový prístup k tomuto skeletu, ktorý je založený na prešmyku 3-aminochinolín-2,4-diónov (**Schéma 4**). V jednoduchom štvorkrokovom protokole táto metóda využíva anilíny ako východiskové substráty. Výhodou metódy oproti napríklad tej, ktorá je uvedená vyššie, je široká dostupnosť derivátov anilínu v porovnaní s antranilovými kyselinami, a to synteticky aj komerčne. Ľahko poskytuje 1,4-benzodiazepín-2,5-diónový kruh substituovaný na N-1 a N-4 alkylovou alebo arylovou skupinou. Transformácie prebiehajú za miernych reakčných podmienok použitím tetrametylguanidínu, ethanolátu sodného alebo benzyl(trimetyl)amónium-hydroxidu ako zásady (**Schéma 4**).⁶

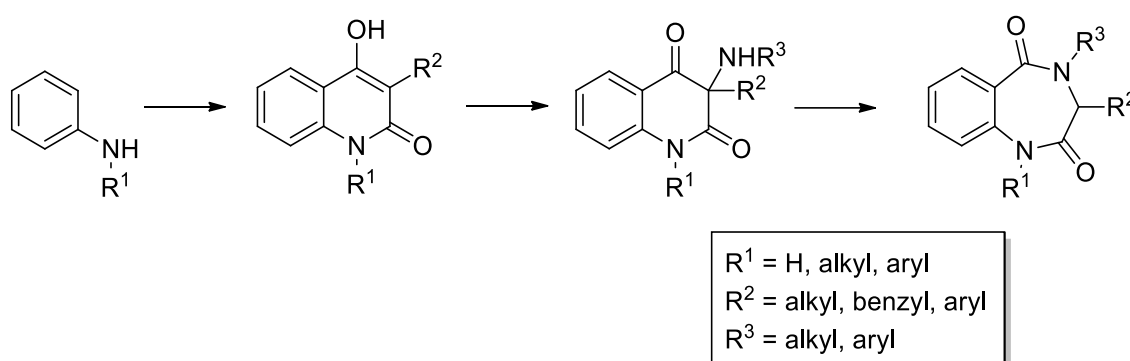


Schéma 4. Syntetická cesta vedúca od anilínov k BZD.

1.3 Možnosti kontrakcie benzodiazepínového kruhu

Benzodiazepínový kruh poskytuje priestor pre kontrakciu, čo vedie k modifikáciám štruktúry, ktoré môžu ovplyvniť biologickú aktivitu, stabilitu alebo farmakokinetické vlastnosti týchto zlúčenín. Prítomnosť viacerých karbonylových skupín a atómov dusíka v diazepíndiónoch z nich robí všestranné štruktúrne jednotky s rozmanitou reaktivitou. To naznačuje, že kontrakcia kruhu môže byť indukovaná rôznymi cestami zameranými na tieto funkčné skupiny alebo samotný cyklický systém. Karbonylové skupiny sú náchylné na útok nukleofilu, ktorý by mohol iniciovať otvorenie kruhu alebo prešmyk vedúci ku kontrakcii. Atómy dusíka s voľnými elektrónovými párami sa môžu zúčastňovať cyklizačných alebo eliminačných reakcií, ktoré vedú k zmenšeniu kruhu. Súhra týchto funkčných skupín teda poskytuje viacero možností na chemickú manipuláciu a indukciu kontrakcie kruhu.

Reakcie kontrakcie kruhu v organickej chémii predstavujú základnú triedu transformácií, ktoré vedú k zmenšeniu veľkosti cyklickej molekuly. Je známych niekoľko bežných typov týchto reakcií, pričom každá prebieha odlišným mechanizmom. Hnacia sila reakcií kontrakcie kruhu je často dosiahnutie termodynamicky stabilnejšieho stavu. Môže to byť spôsobené uvoľnením napätia kruhu prítomného vo východiskovej látke alebo tvorbou produktu, ktorý má zvýšenú stabilitu v dôsledku faktorov, ako je rezonancia alebo priaznivejšie uhly väzieb. Tieto reakcie často zahŕňajú reaktívne medziprodukty, ako sú karbény, karbenoidy, karbokatióny a anióny, ktoré uľahčujú procesy štiepenia a tvorby väzieb potrebných na kontrakciu kruhového systému.

1.3.1 Metódy spôsobujúce kontrakciu diazepín(di)ónového kruhu

Na dosiahnutie kontrakcie diazepíndiónových kruhov alebo ich derivátov bolo popísaných niekoľko odlišných metód.

Termálna kontrakcia kruhu (závislosť na zmene teploty) bola pozorovaná pri niektorých derivátoch BZD. Kaname a kol. v roku 1999 uviedli článok, ktorý bol zameraný na skúmanie termálnej kontrakcie diazepínového kruhu, pričom uviedli aj dovtedy tri známe cesty kontrakcie (**Schéma 5**). Bázou katalyzovaná hydrolýza 1,4-benzodiazepín-2,3-diónu **9** poskytuje chinazolín-2-karboxylovú kyselinu **11** cez α -ketokarboxylovú kyselinu **10** ako medziprodukt. Reakciou derivátu 1,4-benzodiazepínu **12** s HCl vznikajú 2-formylchinazolíny **13**. Combs a kol. opísali indukovanú kontrakciu kruhu 1,4-benzodiazepín-2-ónu **14** pomocou fosforylchloridu za vzniku 2-(chlórmetyl)chinazolínu **17**.⁷

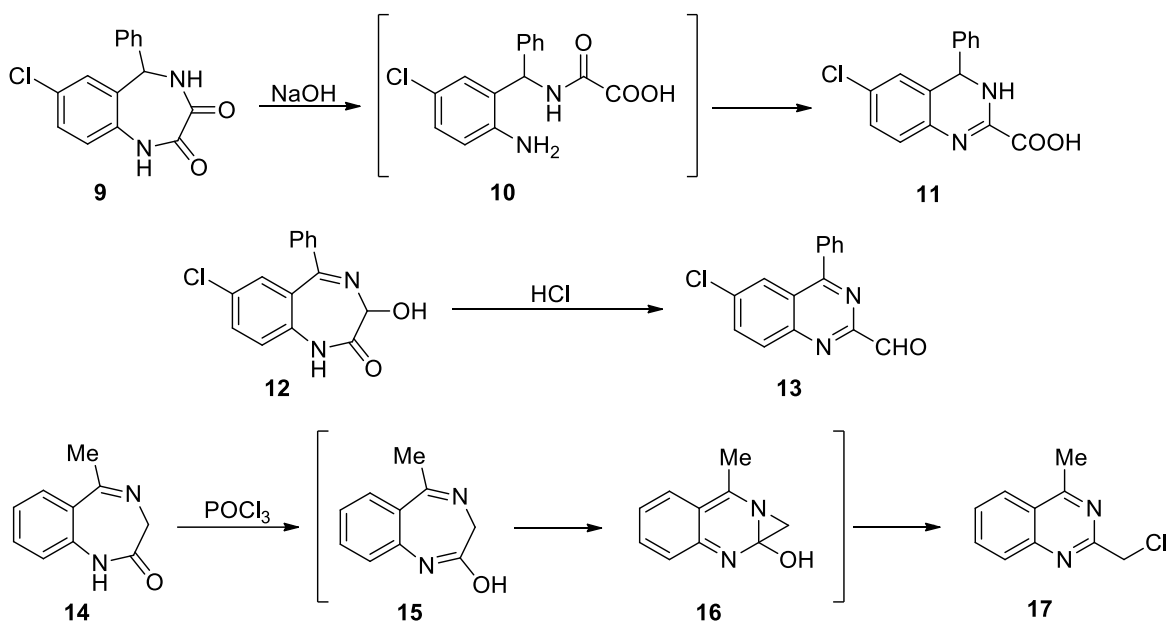


Schéma 5. Sekvenčná syntéza substituovaných chinazolínových derivátov.

Následne uviedli termolýzu 1,4-benzodiazepínov, ktorá transformáciou heterocyklického kruhu vedie k tvorbe chinazolínov. Navrhovaný mechanizmus (**Schéma 6**) tejto transformácie zahŕňa počiatočnú termálnu elektrocyklizáciu, ktorá môže dať tricyklické intermediáty a po nej nasleduje krok otvorenia kruhu a následné štiepenie väzby.

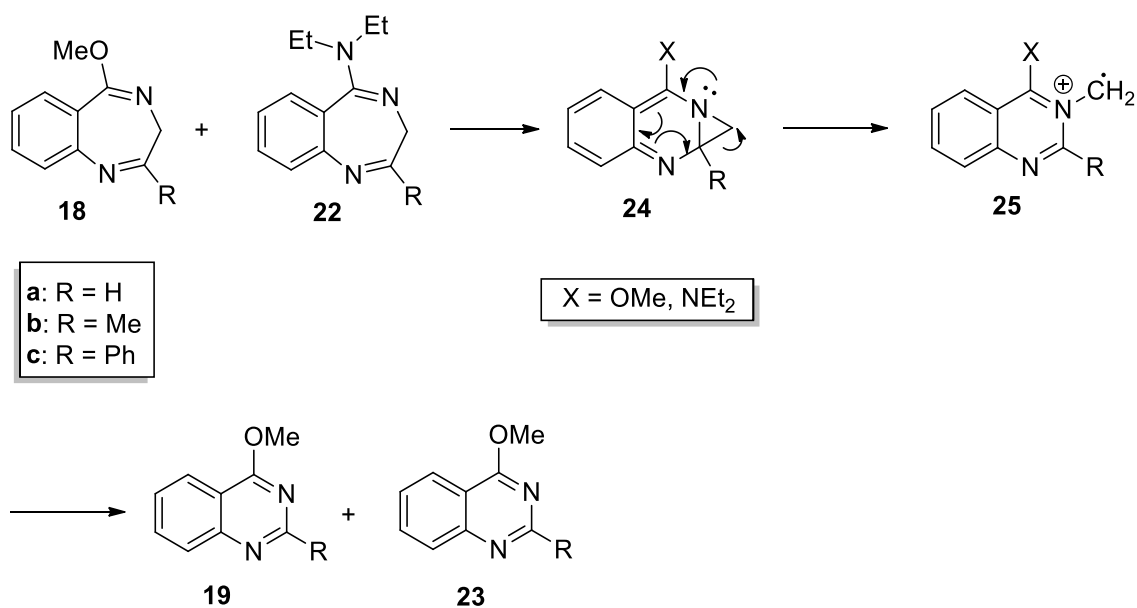


Schéma 6. Kontrakcia benzodiazepínov vedúca k chinazolínovým derivátom.

V tejto súvislosti boli zahrievané 5-metoxy-1,4-benzodiazepíny **18a-c** v difenyléteri pri 160–180 °C počas približne 6 hodín a to viedlo k tvorbe 4-metoxychinazolínov **19a-c** vo výťažkoch uvedených v **Schéme 7**.

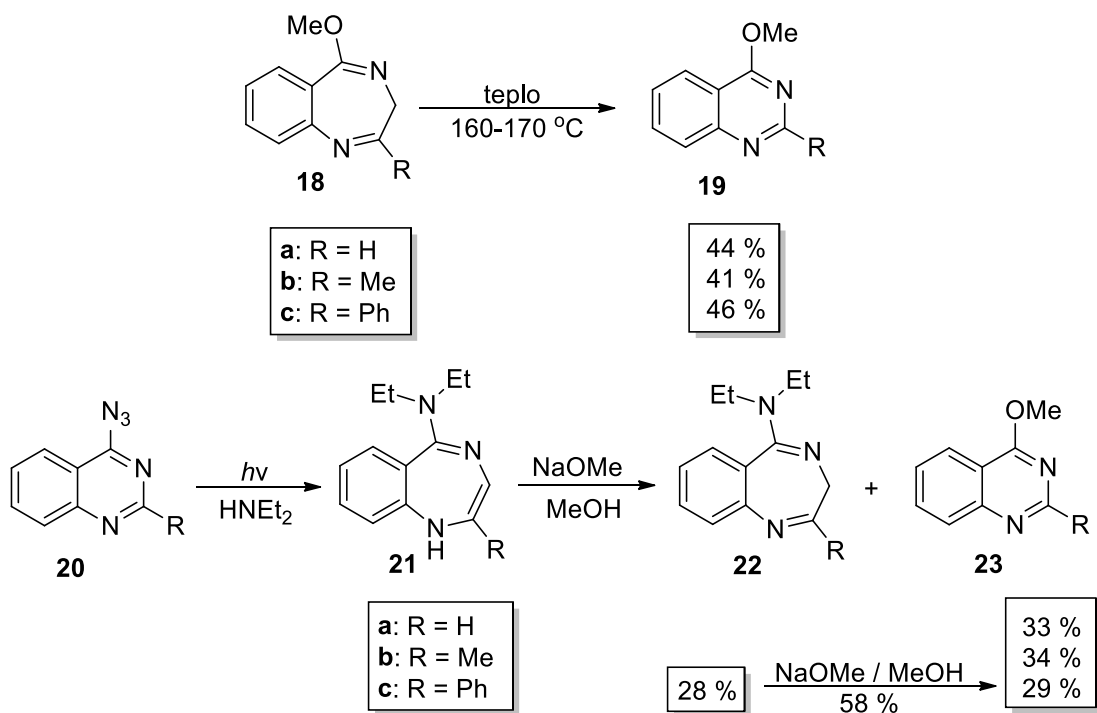


Schéma 7. Termický a fotochemický vznik chinazolínových derivátov.

V záujme preštudovania kontrakcie 5-dietylamino-1,4-benzodiazepínov **21**, boli vystavené reakcii s metoxidom sodným v MeOH pri izbovej teplote (**Schéma 7**) a tak vznikli 4-(dietylamino)chinazolíny (**23a**: 33 %, **23b**: 34 %). Správanie 2-fenylového derivátu **13c** bolo trochu odlišné od predchádzajúcich dvoch zlúčenín **21a**, **21b**. Reakcia **21c** s metoxidom sodným poskytla zmes látok **22c** a **23c** vo výťažkoch 28% a 29%. Izomér **22c** sa premieňal na chinazolín **23c** s približne 60 % výťažkom ďalšou reakciou s metoxidom sodným alebo zahrievaním vo vriacom xyléne.⁷

Ďalšou možnosťou dosiahnutia kontrakcie diazepínového kruhu je enzýmová cesta. M. Einsiedler a kol. v roku 2023 uviedli článok, kde sa zaoberali katalytickou promiskuitou (schopnosť katalyzátora katalyzovať viac než jednu chemickú reakciu na rôznych substrátoch) enzýmu AsqJ (dioxygenáza závislá od Fe^{II} / α -ketoglutarátu, kľúčový enzým v biosyntéze fungálnych alkaloidov).⁸

Tento enzým katalyzuje fascinujúcu reakčnú kaskádu, ktorá zahŕňa jedнокrokovú desaturáciu/epoxidáciu N^4 -metylovaného benzodiazepín-2,5-diónu so súčasnou kruhovou kontrakciou/fragmentáciou na skelet viridikatínu **28** (sekundárny metabolit húb). Jednotlivé kroky tejto reakčnej kaskády (**Schéma 8**), ako aj funkcia iných enzýmov vo viridikatínovom biosyntetickom génovom klastri (skupina génov, ktoré sú blízko seba na chromozóme a často zdieľajú podobné funkcie alebo sú zapojené do rovnakej biologickej dráhy), boli podrobne opísané rôznymi výskumnými skupinami. Táto reakčná kaskáda zahŕňa počiatočnú reakciu a to interakciu zlúčeniny **24** s Fe^{IV} v aktívnom mieste enzýmu, kde Fe^{IV} elektrofilne atakuje dvojité väzby **24**, čo predchádza epoxidácii, kde sa na dvojité väzby pridáva atóm kyslíka, čím vzniká intermediát **25**. Tá podlieha hydrolýze a zároveň dochádza k oxidatívnej dekarboxylácii, za uvoľnenia sukcinátu a CO_2 . Tieto reakcie vedú k fragmentácii molekuly a vzniku **26**, ktorá následne podlieha intramolekulárnym premenám a tvorbe **28**. Finálnym krokom je eliminácia methylozokyanátu a HB^+ za vzniku chinolín-2-ónu **29**.⁸

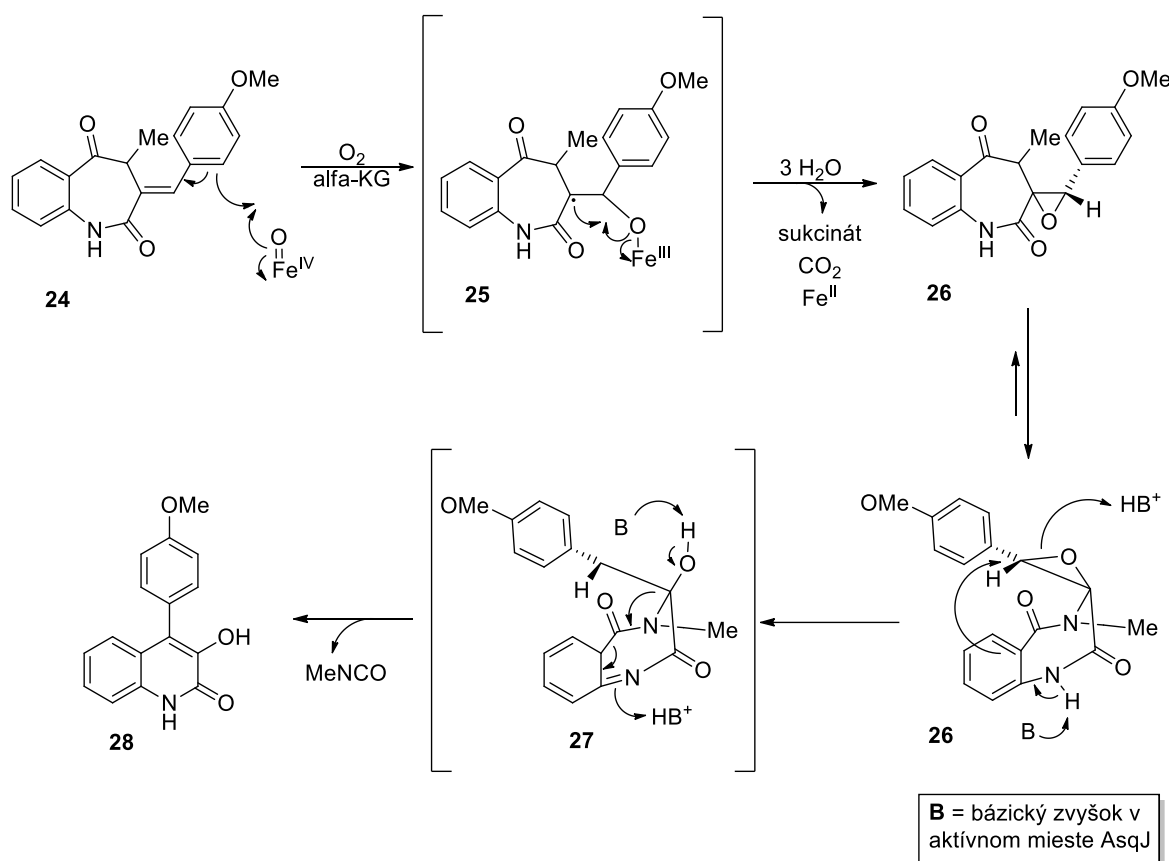


Schéma 8. Mechanizmus epoxidácie a fragmentácie desaturovanej zlúčeniny **24** na chinolón **28**.

Zatiaľ čo substráty s vinylarylovým motívom v pozícii C³ sedemčlenného diazepínového jadra boli konvertované na 3-hydroxychinolín-2-óny **28**, väčšina ostatných testovaných substrátov (R = *izo*-propyl, benzyl) bola transformovaná na chinazolín-4-óny, napríklad **29** na **36** (Schéma 9), čím bola uvedená nová enzymatická dráha. Mechanizmus zobrazený v Schéme 9 ilustruje katalytickú úlohu železa v organických reakciách a ukazuje, ako môže železo sprostredkovať zložité premeny štruktúry molekúl. Zahŕňa oxidáciu, preusporiadanie väzieb a hydrolýzu. Zlúčenina **29** podlieha reakcii s enzýmom AsqJ, konkrétne s Fe^{IV} v aktívnom mieste enzýmu. Mechanizmus zahŕňa odštiepenie atómu H z polohy C³, čo vedie k tvorbe α -laktámu **31**. Nasleduje hydrolýza a oxidatívna dekarboxylácia, čo vedie k vzniku zlúčeniny **32**, ktorá opäť podlieha hydrolýze a oxidatívnej dekarboxylácii. Tieto reakcie sú katalyzované Fe^{II} iónom v aktívnom mieste AsqJ, ktorý je koordinovaný aspartátovými a histidínovými reziduami. V procese sa uvoľňuje CO₂ a kyseliny octové a výsledkom je tvorba zlúčeniny **36**.⁸

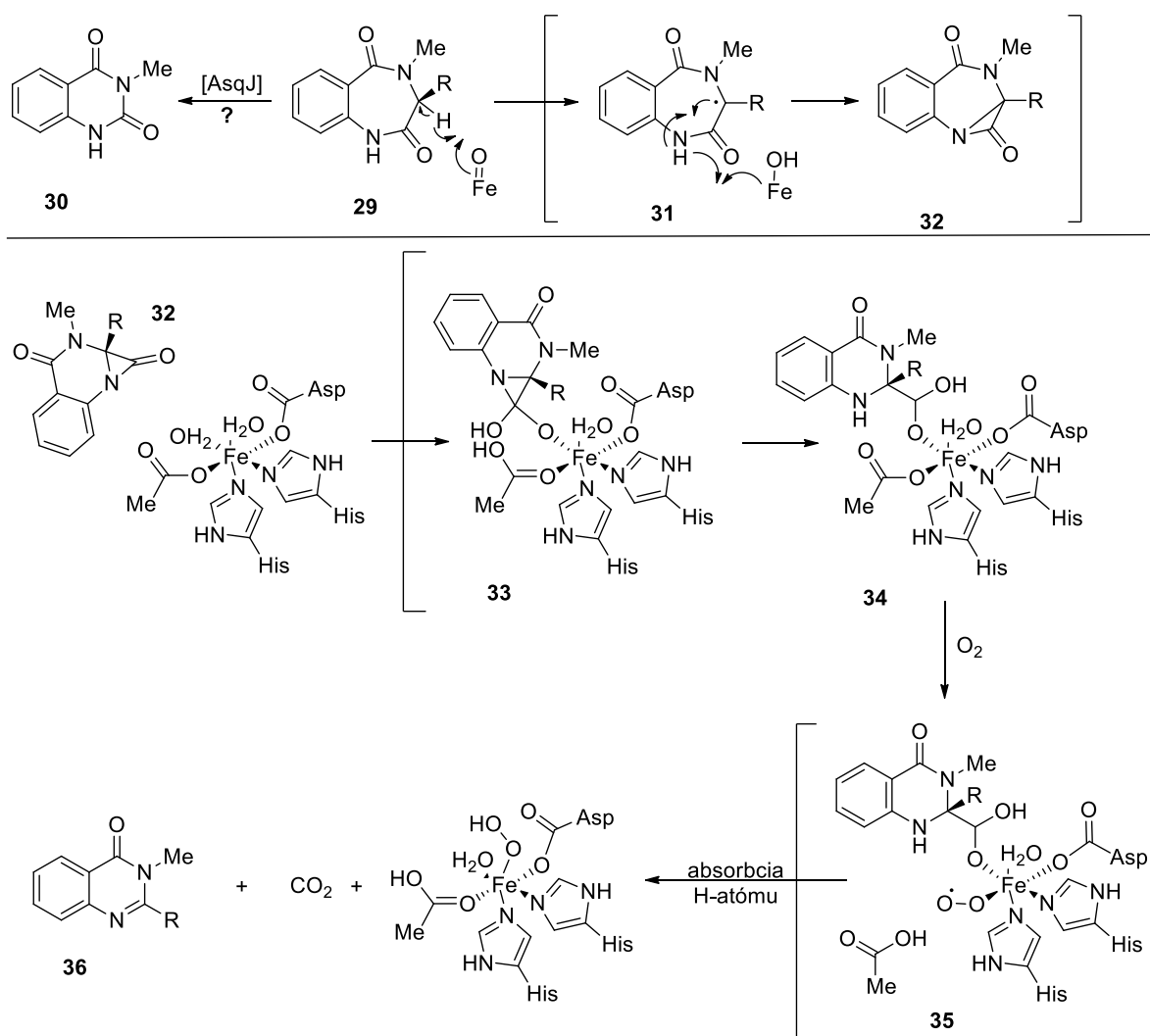


Schéma 9. Mechanizmus katalytického cyklu Fe^{II} závislej oxygenázy s účasťou askorbátu za vzniku chinolínu **36**.

Pretože pri cielenej premene zlúčeniny **29** na **36** vznikol neočakávaný produkt **30** bola vyskúšaná aj reakcia obdobnej látky **37**, ktorá okrem očakávaného chinazolinónu **39**, pravdepodobne vytvoreného cez medziprodukt **20c**, bola získaná aj polárnejšia zlúčenina **30** (Schéma 10). ¹H NMR ukázalo, že *izo*-butylový zvyšok v tomto vedľajšom produkte **30** chýbal, čo naznačuje, že substráty vstupujúce do chinazolinónovej cesty môžu byť transformované aj odstránením zodpovedajúceho bočného reťazca z pôvodnej aminokyseliny. Tento dodatočný produkt bol detekovaný aj pre iné substráty, ktoré nasledovali chinazolinónovú cestu.

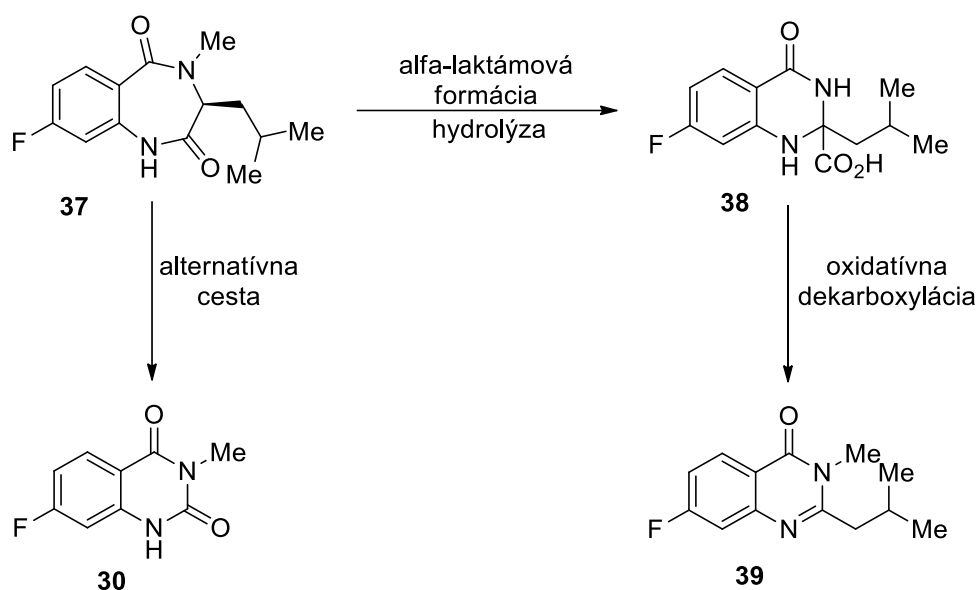


Schéma 10. Transformácia benzodiazepín-2,5-diónu na chinazolín(di)óny **30** a **39**.

Na potvrdenie tohoto návrhu bola urobená konverzia substrátu v polohe 2 o ^{13}C obohatej zloženej **40**, ktorá bola skúmaná pomocou HRMS a NMR (**Schéma 11**). Na rozdiel od vytvoreného chinazolinónu **41** mal zodpovedajúci chinazolínidión **42** stále prítomný značený uhlík, čo jasne dokazuje, že trieda zlúčenín **30** sa priamo tvorí zo substrátu **37** alternatívnou reakčnou cestou. To ustanovuje chinazolínidióny, ako je **30**, ako ďalšiu heterocyklickú triedu zlúčenín, ktorá je prístupná pomocou AsqJ. Enzým teda katalyzuje reakciu kontrakcie kruhu so súčasným štiepením alifatického bočného reťazca na C3.⁸

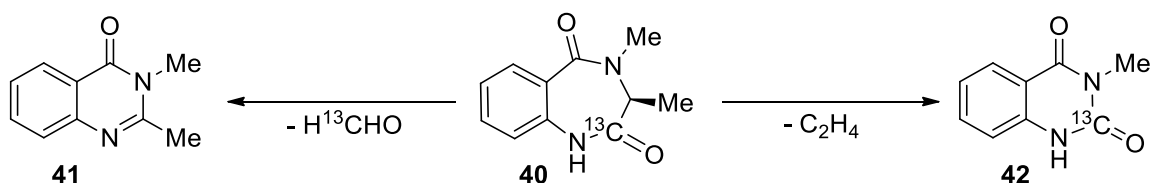


Schéma 11. Pozorovanie enzymatického štiepenia ^{13}C značených BZD.

Pre rozšírenie ďalších potenciálnych substrátov pre AsqJ boli vyrobené zlúčeniny so súčasťou päť alebo šesťčlenného cyklického kruhového systému, synteticky odvodeného od prolínu **43** alebo kyseliny pipekolovej **44**. Následne úspešne prebehla ich enzymatická konverzia tricyklického substrátu **45** za vzniku tricyklického chinazolinónového prírodného produktu deoxyvasicinónu **46** (**Schéma 12a**), zlúčeniny, o ktorej sa uvádza, že sa nachádza

například v semenách *Peganum harmala*. Tento výsledek zdôrazňuje všestrannosť AsqJ, podčiarkujúc jeho potenciálne použitie v chemoenzymatickej syntéze prírodných produktov. Je zaujímavé, že zlúčenina **46** predstavuje uhlíkovú kostru rastlinných prírodných produktov vasicinónu **47** z *Adhatoda vasica* Nees a jeho regioizoméru izovasicinónu **51**, ktoré vykazujú antifungálnu aktivitu proti napr. *Fusarium graminearum* a *Helminthosporium sativum*. Ďalšie overenie použiteľnosti AsqJ v syntéze bioaktívnych prírodných produktov bolo zamerané na chemoenzymatickú syntézu izovasicinónu **46**. Počnúc hydroxyprolínom **48**, Fmoc- a TBS-ochrannými skupinami na amínových a hydroxylových funkčných skupinách reakcia poskytla zlúčeninu **49**, ktorá bola začlenená do hydroxylovaného prekursora **50**. Testy AsqJ s týmto substrátom skutočne viedli k tvorbe požadovanej antifungálnej zlúčeniny izovasicinónu **51** (Schéma 12b).⁸

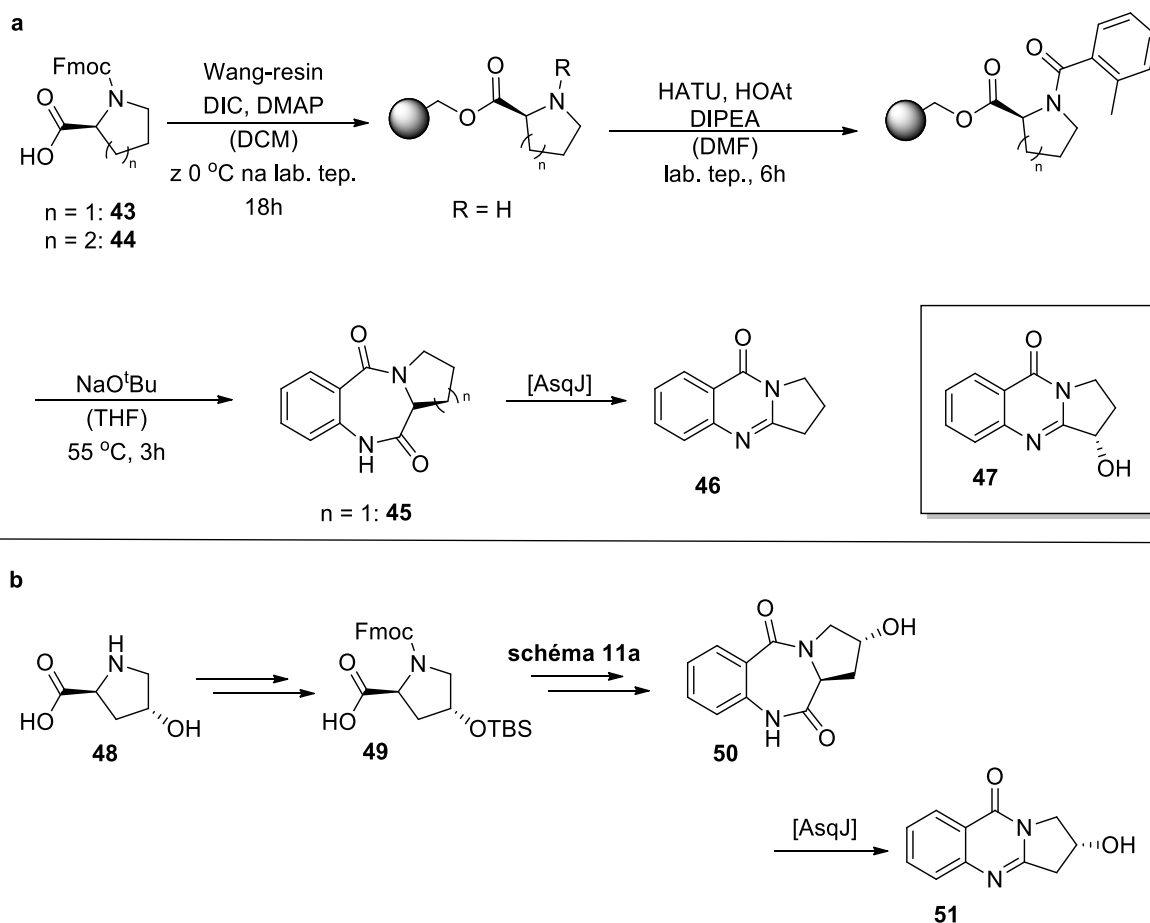


Schéma 12. Syntéza tricycklického chinazolinónového prírodného produktu deoxyvasicinónu **46** a izovasicinónu **51**.

Jednou z ďalších možností ako dosiahnuť kontrakciu BZD zlúčenín sa zaoberal M. L. Doumbia a kol., ktorí zverejnili v roku 2023 článok zameraný na túto tématiku. V článku bola opísaná aj syntéza 4-fenyl-1,5-benzodiazepín-2-ónu a jeho následná premena na benzoimidazol, ako finálny produkt (**Schéma 13**). Reakcia zlúčenín **52** a **53** s hydrátom hydrazínu v stechiometrickom alebo nadbytočnom množstve v refluxujúcom etanole počas 12 hodín, umožnila prípravu pyrazolylacetamidov **54** a **55**. Ako je znázornené v **Schéme 4**, počas tohto procesu dochádza k nukleofilnému ataku za vzniku intermediátu **A**, ktorý následne podlieha intramolekulárnej cyklizácii za vzniku tricyklického medziproduktu **B**. Tieto intermediáty **B** podliehajú otvoreniu sedemčlenného kruhu, čím vznikajú zlúčeniny **54** a **55**. Potom následné varenie zlúčeniny **55** v *n*-butanole vedie po strate molekuly vody k zodpovedajúcemu pyrazolylbenzimidazolu **56** vo výťažku 70 %.⁹

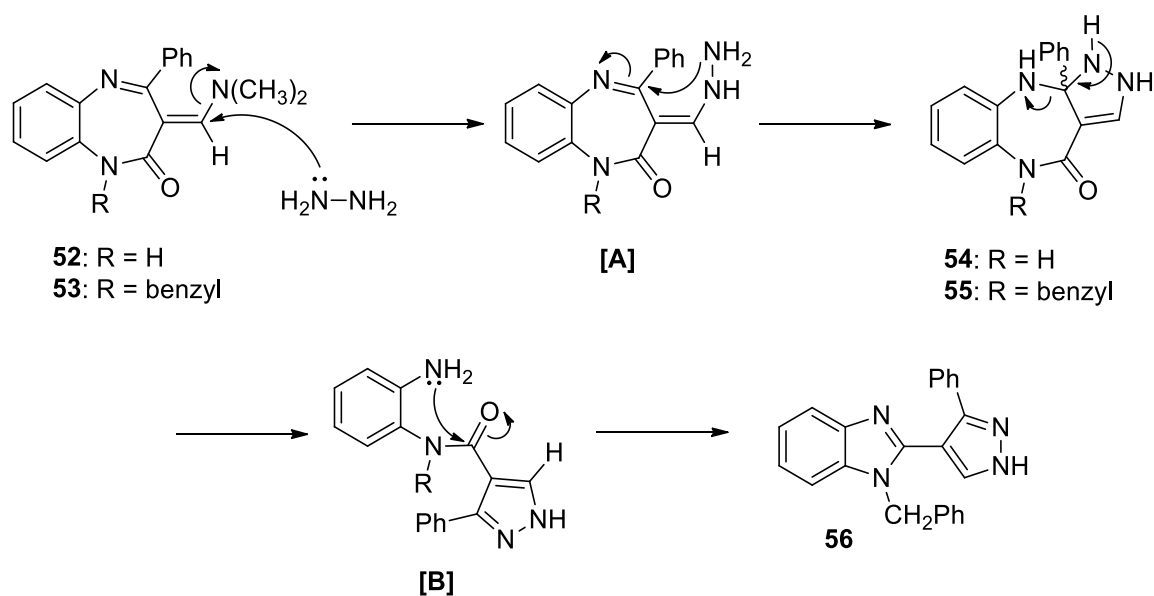


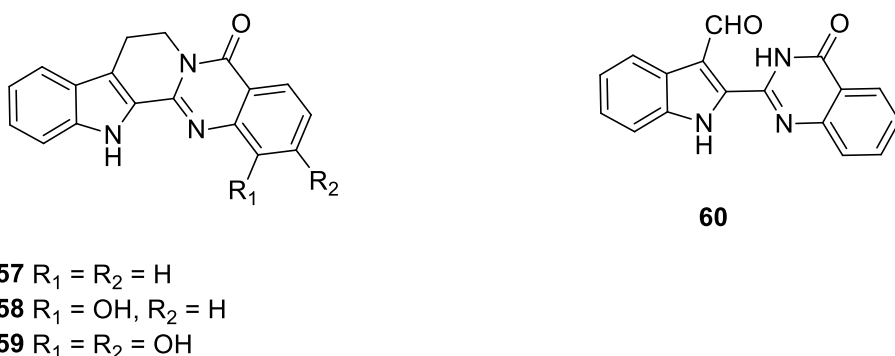
Schéma 13. Pravdepodobný mechanizmus vzniku zlúčeniny **56**.

2 CHINAZOLINÓNY

Chinazolinóny sú jednou z hlavných tried *N*-kondenzovaných heterocyklických zlúčenín. Spomedzi týchto zlúčenín sú tieto dusíkaté molekuly obzvlášť dôležité vzhľadom k ich vysokému prirodzenému výskytu a unikátnym biologickým vlastnostiam.

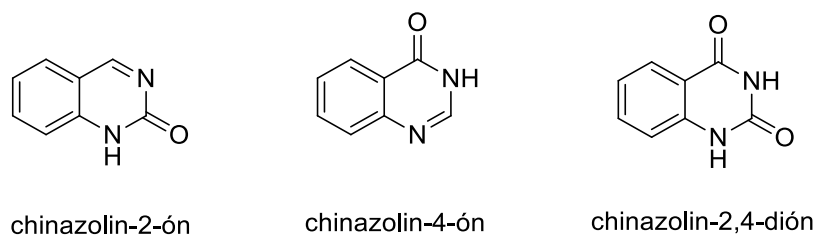
2.1 Biologické účinky chinazolinových derivátov

Chinazolinóny sú typom farmakoforového skeletu, ktorý možno nájsť v širokej škále biologicky aktívnych prírodných produktov, syntetických zlúčenín, agrochemikálií a veterinárnych produktov. Štruktúra viac ako 200 prírodných alkaloidov je odvodených z rôznych čeľadí rastlín a mikroorganizmov, vrátane *Bacillus cereus*, *Peganum nigellastrum*, *Dichroa febrifuga* a *Boucharadia neurococca*.



Obrázok 2. Prírodné chinazolinové deriváty.

Chinazolinónový skelet ako taký, ale aj všestranné medziprodukty, 2,4-dichlórchinazoliný, ktoré sú odvodené od týchto štruktúr, vykazujú široké spektrum biologických funkcií. V medicínskej chémii priťahujú veľkú pozornosť najmä svojimi protizápalovými, antidepresívnymi, antimalarickými, antioxidačnými a antileukemickými vlastnosťami. Ich dôležitosť v medicíne sa preukazuje aj v organickej chémii a väčšina novo opísaných syntéz sa zameriava práve na získavanie látok s týmito funkciami. Medzi iné významné vlastnosti chinazolinónových derivátov patrí napríklad, inhibícia gyrázy a topoizomerázy, inhibícia ľudských nádorových bunkových línií a funkcie anti-HIV, antifungálne, antibakteriálne, antimutagénne a niektoré z týchto zlúčenín fungujú ako nukleozidové analógy.^{10,11}



Obrázok 3. Štruktúry chinazolín(di)ónových zlúčenín.

Prvý odkaz na synteticky pripravený chinazolín-2,4-diónový derivát, ktorý mal farmakologickú aktivitu, sa v chemickej literatúre objavil v roku 1990, keď J. A. Lowe opísal prípravu a vlastnosti nitrachinazolónu **75**, látky syntetizovanej v niekoľkých krokoch z antranilátového derivátu **73** s izokyanátom (Schéma 14). V *in vitro* podmienkach bolo preukázané, že táto látka pôsobí ako inhibítor enzýmu fosfodiesterázy nezávislého na prítomnosti Ca^{2+} (CaIPDE). Na zvieracích modeloch *in vivo* štúdie ukázali, že táto enzýmová aktivita je prediktívnym faktorom pre vznik chronických ochorení, ako je depresia a rôzne druhy zápalu. Tieto zistenia tak podporujú teóriu, že inhibícia CaIPDE môže mať terapeutickú hodnotu pri týchto chronických ochoreniach.^{11, 12}

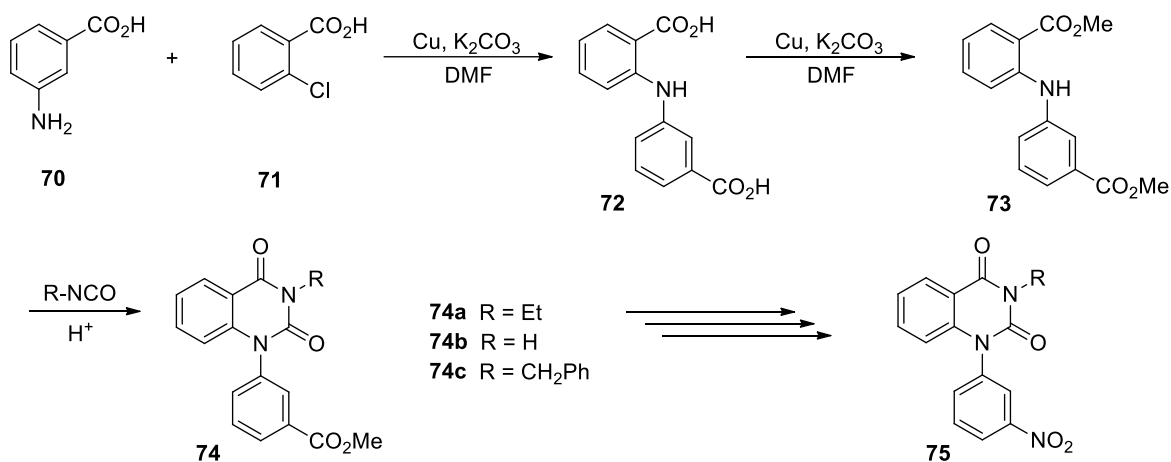


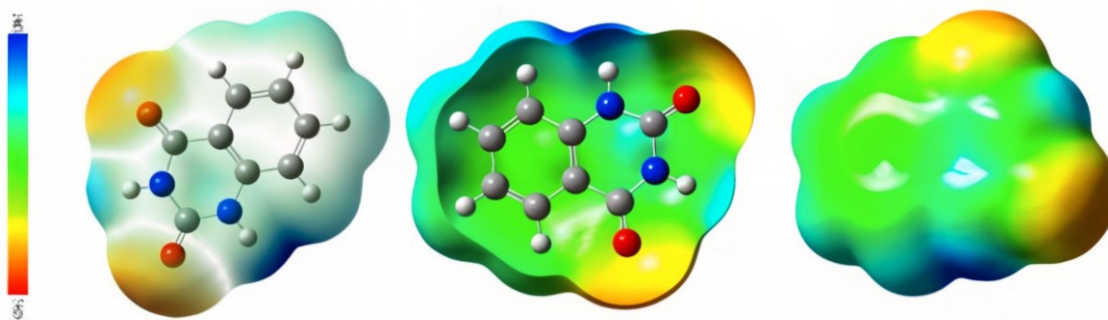
Schéma 14. Syntéza nitrachinazolónu **75** z antranilovej kyseliny **70**.

V posledných desaťročiach bolo vyvinutých mnoho spôsobov syntéz vedúcich k substituovaným chinazolíndiónom, ktoré sa používajú vo farmaceutikách alebo ako súčasti nukleových kyselín.

Drug bank pár rokov dozadu uviedla niekoľko liekov schválených FDA spojených so zlúčeninami, ktoré priamo využívajú chinazolíndiónové skelety. Okrem toho, že dané zlúčeniny môžu priamo obsahovať tieto skelety, chinazolín-2,4-dióny sa môžu premeniť na 2,4-dichlórchinazolíny za určitých podmienok, najmä pri použití chloračných činidiel. Táto reakcia sa využíva v laboratórnych podmienkach, kde sú 2,4-dichlórchinazolíny zapojené do syntézy ako medziprodukty pri výrobe liečív, čo vedie ku vývoju komerčným medikamentom ako Prazosin (Minipress® - liek používaný na liečbu vysokého krvného tlaku, symptómov zväčšenej prostaty a nočných môr súvisiacich s posttraumatickou stresovou poruchou)¹³, Bunazosin (Detantol® - liek s prevažne silnými antihypertenzívnymi vlastnosťami)¹⁴, Doxazosin (Cardenalín® - liek používaný na liečbu symptómov benígnej hyperplázie prostaty, hypertenzie a posttraumatickej stresovej poruchy)¹⁵, Elinogrel (kompetitívny a reverzibilný inhibítor P2Y12)^{16,17}, Belaperidone (antipsychotické činidlo s vysokou afinitou k 5-hydroxytryptamínu a dopamínovému D4 receptoru)¹⁸ a FK 366 (Zenarestat® - inhibítor aldózoreduktázy pre liečbu diabetických komplikácií).^{19, 11}

2.1.1 Reaktivita a dipolárna povaha chinazolinónov

Chinazolín-2,4-dióny sú základnými reaktívnymi zlúčeninami pre syntézu celého radu rôznych zaujímavých derivátov. Z výsledkov získaných výpočtami molekulového elektrostatického potenciálu (MESP) graficky znázorneného na **Obrázku 4** je možno vidieť dipolárnu povahu chinazolín-2,4-diónového skeletu.¹¹



Obrázok 4. MESP chinazolín-2,4-diónu.¹¹

Tieto teoretické modelácie sú v súlade s experimentálne podloženými dôkazmi, že heterocyklická elektronovo bohatá časť tejto molekuly pomerne ľahko podlieha elektrofilnej substitúcii, prevažne však v polohách 1 a 3 (Schéma 15).¹¹

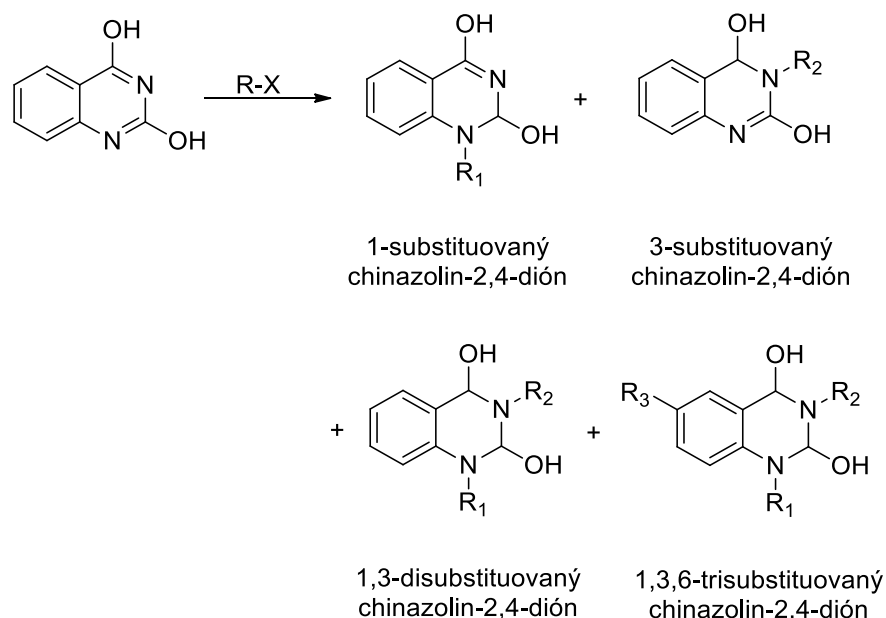
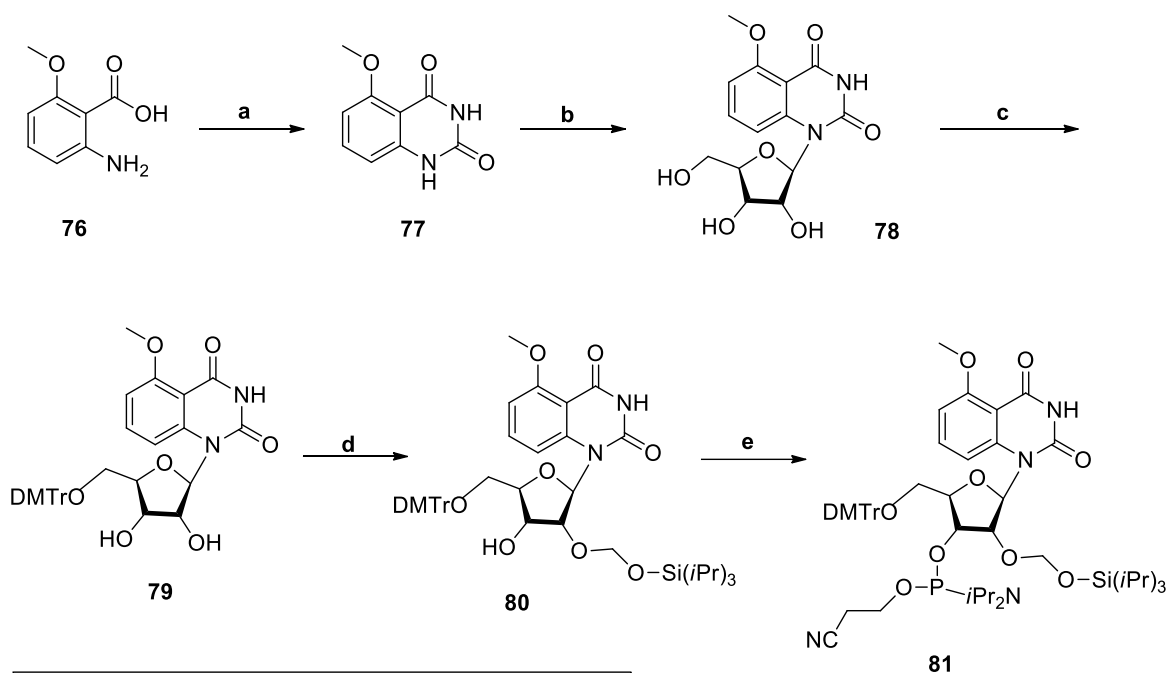


Schéma 15. Reakčná rozmanitosť chinazolínov.

2.1.2 Syntéza derivátov chinazolínov

Chinazolíny sú dobre známe svojou širokou škálou biologickej aktivity, ktorú udáva práve postranný reťazec naviazaný na základný skelet chinazolínov. V súčasnosti je publikované mnoho rôznych syntéz pre prípravu chinazolínoých derivátov s rôznou obmenou reakčných činidiel, preto by bolo zbytočné uvádzať všetky konkrétne postupy a z toho dôvodu bolo vybraných pár reprezentatívnych syntéz pre vysvetlenie princípu priebehu reakcií.

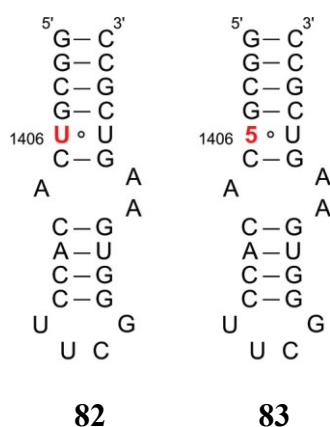
Tor a spol. v roku 2009 syntetizovali modifikovaný nukleozid **78** a následne jeho fosforamidit **81** na modifikáciu U-miesta v oligonukleotide RNA (krátka jednovláknová molekula RNA). Tento nukleozid **78** bol syntetizovaný reakciou komerčne dostupnej kyseliny 2-amino-6-metoxybenzoovej, ktorá bola cyklizovaná kyanatanom sodným za vzniku heterocyklu **77**, z ktorého bol po glykozylácii a následnej alkalickej hydrolýze všetkých esterov pripravený nukleozid **5**. Ďalšími špecifickými modifikáciami ribozylovej časti molekuly sa získal fosforamidit **81** (Schéma 16).^{20,11}



- (a) NaOCN, NaOH, konc.HCl, H₂O
 (b) (i) *N,O*-bis(trimethylsilyl)acetamid, CF₃SO₃Si(CH₃)₃,
 -*D*-ribofuranóza-1-acetát-2,3,5-tribenzoát, CH₃CN
 (ii) konc.NH₄OH
 (c) DMTrCl, Et₃N, pyridín
 (d) *i*Pr₂NEt, *n*Bu₂SnCl₂, (*i*Pr₃SiO)CH₂CH₂Cl
 (e) *i*Pr₂NEt, (*i*Pr₂N)P(Cl)O-CH₂CH₂CN, ClCH₂CH₂Cl

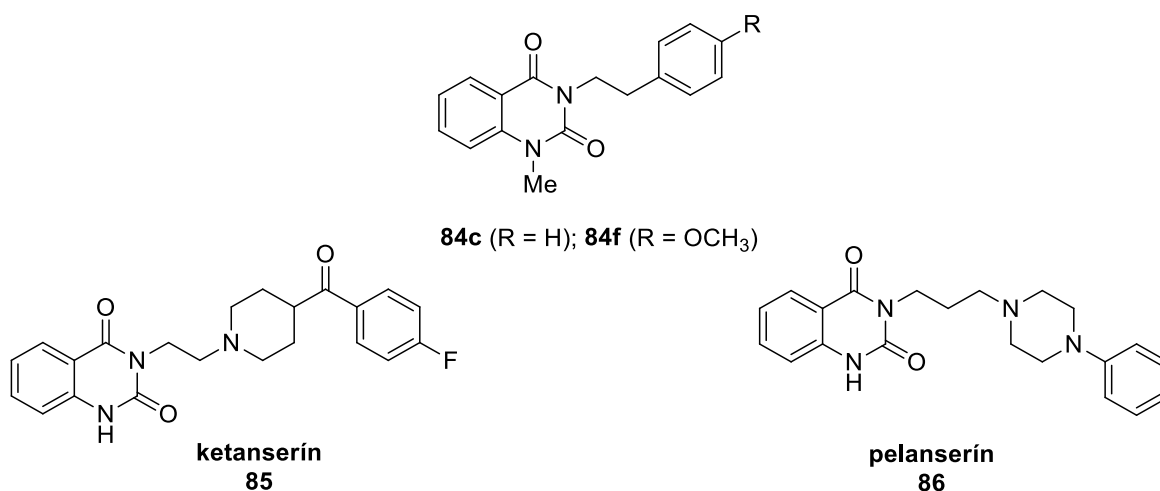
Schéma 16. Syntéza nukleotidu **78** a fosforamidu **81**.

Dôvodom prečo bol tento nukleozid vôbec pripravovaný bol ten, že bola snaha nájsť zlúčeninu, ktorá by bez minimálnych zmien nahradila natívne sa vyskytujúci uracil v pozícii 1406 v oligonukleotide RNA **82**. Bolo tak učené preto, aby tento modifikovaný nukleozid **78** v U-mieste slúžil ako donor pre kumarínový akceptor a následne vytvorili FRET (Förster Resonance Energy Transfer) pár na vyhodnotenie väzby antibiotík na toto miesto v RNA. Je dôležité zdôrazniť, že prítomnosť a poloha metoxylovej skupiny na jadre chinazolín-2,4-diónu ovplyvňuje fotofyzikálne vlastnosti **78** (emisný profil tejto molekuly je vyšší ako pri nesubstituovanom chinazolín-2,4-dióne) a je rozhodujúca pre kompatibilitu FRET partnerov.^{11, 20}



Obrázok 5^a. Nemodifikovaná **82** a modifikovaná **83** konštrukcia U-miesta nukleozidom **78** v oligonukleotide RNA.²⁰

Je známe, že niektoré zlúčeniny obsahujúce chinazolín-2,4-diónový motív, ako napríklad ketanserín **85** a pelanserín **86**, vykazujú antihypertenzívne vlastnosti. Pri hľadaní ďalších zlúčenín obsahujúcich ich základný motív boli objavené dva jednoduché prírodné alkaloidy, 1-metyl-3-(2-fenyletyl)chinazolín-2,4-dión **84c** a 1-metyl-3-[2-(4-metoxifynyl)etyl]chinazolín-2,4-dión **84f**, ktoré boli izolované zo šupiek semien mexickej rastliny *Zanthoxylum arborescens*.²¹



Obrázok 6. Prírodné alkaloidy s chinazolín-2,4-diónovým skeletom.

^a A = adenín, C = cytozín, G = guanín, U = uracil

Aby bolo možné podrobnejšie študovať ich antihypertenzívne vlastnosti, bolo predstavené mnoho návrhov syntéz pre získanie týchto zlúčenín a ich analógov. V **Schéme 17** je uvedený stručný postup najúčinnnejšej z nich.

Podľa metodiky vyvinutej pre syntézu pelanserinu^b bol použitý trifosgén na cyklizáciu amidov **88**, čím boli získané chinazolindióny **89c-g** s dobrými výťažkami. Syntéza *N*-metylchinazolín-2,4-diónov **89** z *N*-metylisatoového anhydridu **87b** poskytla menej ako 50 % výťažok požadovaných zlúčenín, avšak použitie tetrametylguanidínu ako bázy umožnilo metyláciu amidov **89** metyljodidom, čím boli získané chinazolindióny **84** s dobrými výťažkami (83–96 %). Touto metódou boli tiež syntetizované analógy **84c-g** na ďalšie biologické testovanie pre potvrdenie alebo vyvrátenie antihypertenzívnych vlastností.²¹

^b Pelaserin je antagonist serotonínového receptora a blokuje alfa-1-adrenergny receptor. Táto zlúčenina bola skúmaná pre svoje antihypertenzívne vlastnosti, pričom experimenty na psoch ukázali, že má vhodné farmakokinetické a farmakodynamické profily. Pelaserin prešiel fázou II klinických skúšok v Mexiku, ktoré však boli ukončené.

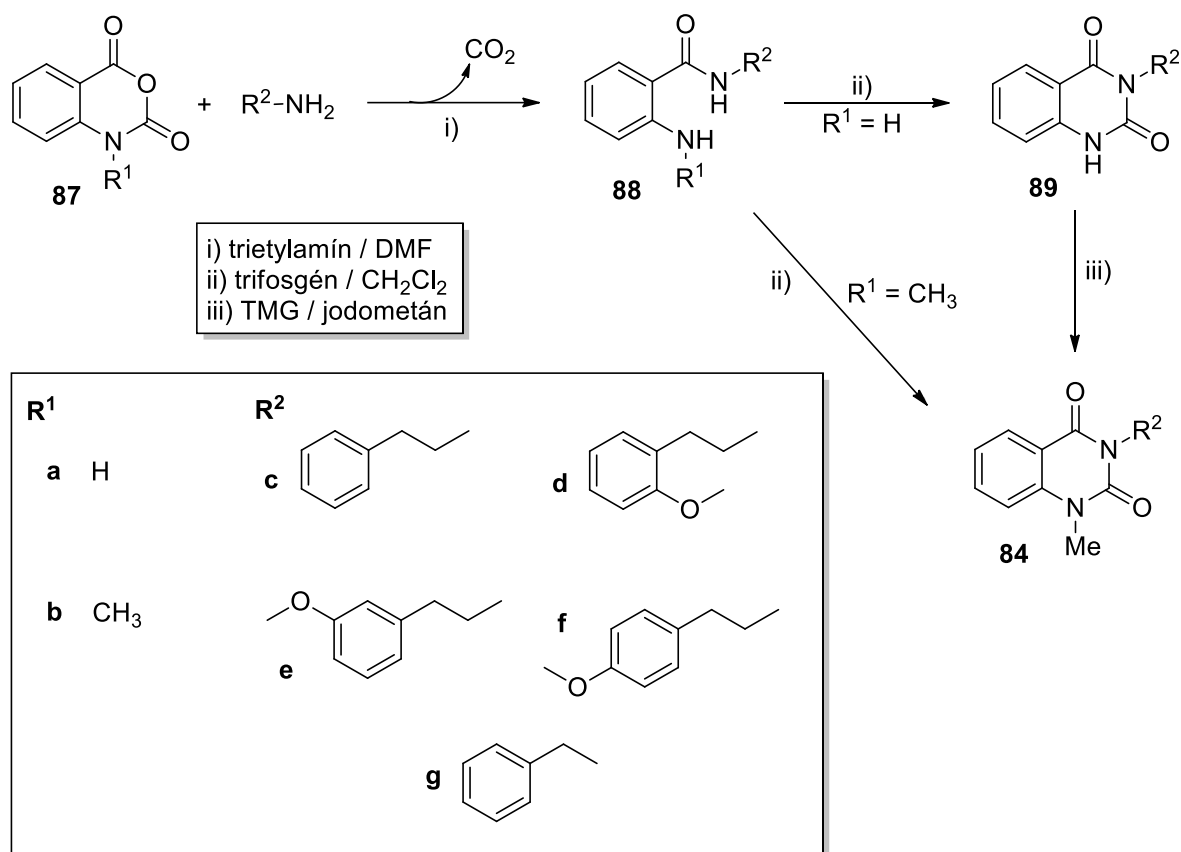
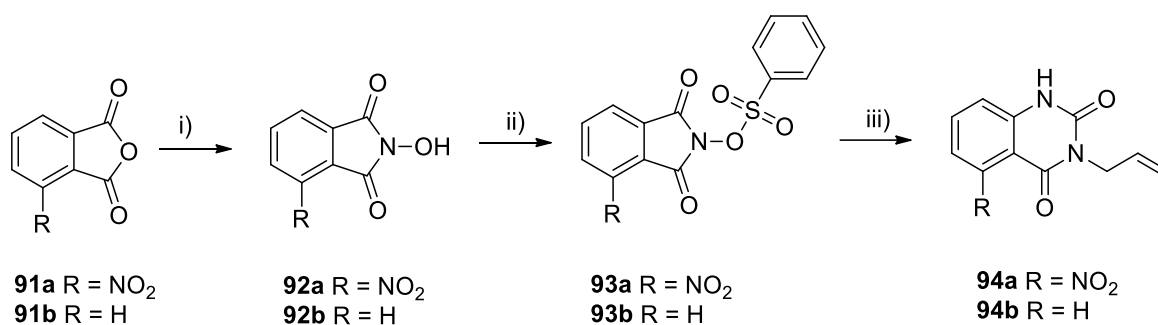


Schéma 17. Syntéza zlúčenín obsahujúcich chinazolín-2,4-diónový skelet s antihypertenzívnymi účinkami.

Ďalším spôsobom syntézy substituovaných chinazolín-2,4-diónov je reakcia *O*-sulfonyl derivátu hydroxamovej kyseliny s amínovým nukleofilom za zahrievania, ktorá zahŕňa Lossenov prešmyk. Anhydridy **91a** alebo **91b** reagovali v suchom pyridíne pod refluxom s hydroxylamínom, čím sa získal príslušný oxím **92a** alebo **92b**. Tieto zlúčeniny boli bez izolácie spracované benzénsulfonylchloridom, čím sa získali zlúčeniny **93a** a **93b** s výťažkami 67 % a 80 %. Reakciou týchto zlúčenín s allylamínom sa získali 3-substituované chinazolín-2,4-dióny **94a** a **94b** vo výťažkoch 72 % a 85 %. Získané zlúčeniny **94a** a **94b** boli už dávnejšie skúmané na deaktiváciu serínových proteáz. V štúdií M. Farouka a kol. bolo zameranie na aktivitu týchto zlúčenín iné a to na skúmanie toho, či sú dané zlúčeniny vhodné ako allylové stabilizačné činidlá na využitie pri funkcionalizácii kremíkových nanočastíc (SiNPs) s prispôbenými optickými a štruktúrnymi vlastnosťami.²²

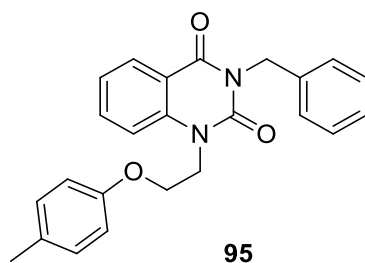


i) NH₂OH·HCl, pyridín, reflux, 30 min.
 ii) PhOSO₂Cl, 0 °C, zriedená HCl
 iii) allylamín, toluén, reflux, 3h

Schéma 18. Syntéza 3-allylchinazolín-2,4-diónových derivátov **94**.

V štúdií z roku 2016 D.G.Piotrowskej a kol. bola skúmaná anitivírusová aktivita voči herpes vírusom, ako napríklad varicella-zoster (ovčie kiahne). V súčasnosti sú na liečbu infekcií varicelou licencované štyri liečivá a to, aciklovir, valaciklovir, farmiklovir a brivudín. Žiaľ, pacienti s AIDS často nereagujú dobre na liečbu aciklovirom alebo inými antivirotikmi v dôsledku mutácii varicelly s deficitom tymidínkinázy (TK) alebo mutácií s jej zmenou.

Na skúmanie nových potenciálnych antivirotik bolo syntetizovaných niekoľko 1,3-disubstituovaných chinazolín-2,4-diónov. Bolo zistené, že derivát 3-benzylchinazolín-2,4-diónu **95** má anti-HIV aktivitu v bunkách MT-4 (podporujú rast HIV) a inhibuje rekombinantnú reverznú transkriptázu v *in vitro* podmienkach.²³



Obrázok 7. Derivát 3-benzylchinazolín-2,4-diónu vykazujúci anti-HIV aktivitu.

V tejto štúdii bolo testovaných viacero derivátov 1,3-disubstituovaných chinazolín-2,4-diónov, ktoré boli syntetizované rovnakou cestou v rovnakých podmienkach, pričom najväčšiu antivirálnu aktivitu vykazovali deriváty **99c** a **99d**^c, ktorých aktivita voči kmeňu TK^{+/−} varicelly bola výrazne vyššia ako aktivita referenčných liečiv acikloviru a brivudínu.²³

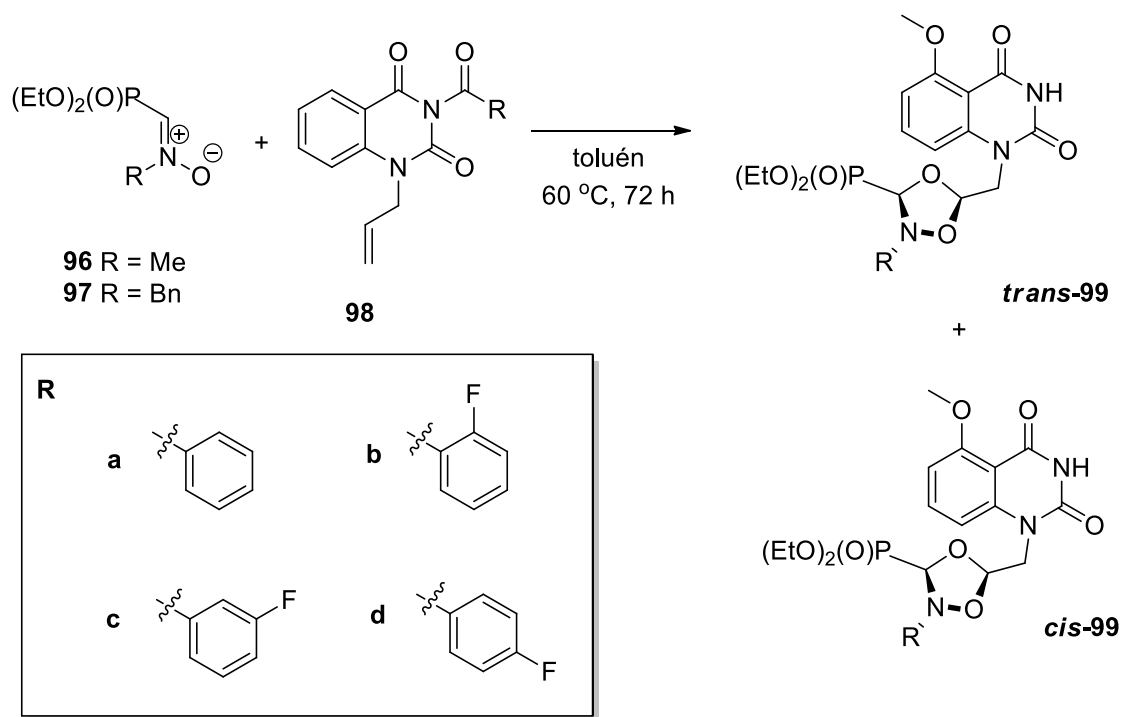


Schéma 19. Syntéza vedúca k zlúčeninám *trans/cis*-99.

Štúdia A. Spasova a kol. bola zameriavaná na syntézu takých bis-substituovaných chinazolín-2,4-diónov, ktoré vykazujú inhibičnú aktivitu voči NHE-1. Sodíkovo-vodíkový výmenník NHE-1 je široko exprimovaný membránový proteín zodpovedný za udržiavanie správneho vnútrobunkového pH v rôznych bunkách, vrátane buniek imunitného systému. Ukázalo sa, že aktivita NHE-1 reguluje mnohé funkcie imunitných buniek vrátane migrácie, uvoľňovania cytokínov a chemokínov, lyzozomálnej aktivity a homeostázy Ca²⁺.²⁴

Najsilnejším inhibítorom syntetizovaným v tejto štúdii bola látka **102a** a zároveň bolo zistené, že má aj antiagregačnú aktivitu a aktivitu znižujúcu vnútroočný tlak. Bolo zistené,

^c Výťažky a pomer izomérov vykazujúcich požadovanú aktivitu: **trans-99c** (13 %); **cis/trans-99c** (86:14) (81 %); **trans-99d** (27 %); **cis/trans-99d** (85:15) (61 %).

že zlúčenina **103a** inhibuje syntézu oxidu dusnatého a sekréciu IL-6 (interleukín 6 – prozápalový cytokín, ktorý sa vyznačuje rôznymi funkciami) v myších makrofágoch bez imunotoxicity a zmierňuje infiltráciu neutrofilov, edém a tkanivové lézie v modeli akútneho poškodenia pľúc vyvolaného lipopolysacharidmi. Preto bol chinazolínový derivát **103a** považovaný za potencionálnu látku na potlačenie cytokínmi sprostredkovanej zápalovej reakcie a akútneho poškodenia pľúc.

Cieľové zlúčeniny boli navrhnuté a syntetizované tak, aby chinazolín-2,4-dióny obsahovali na atómoch dusíka buď lineárny guanidín, alebo jeho analóg, 5-amino-1,2,4-triazol, cyklický guanidín. V **Schéme 20** je popísaná syntéza týchto zlúčenín, pričom sa výtazky týchto látok pohybovalo v rozmedzí 60–80 %.²⁴

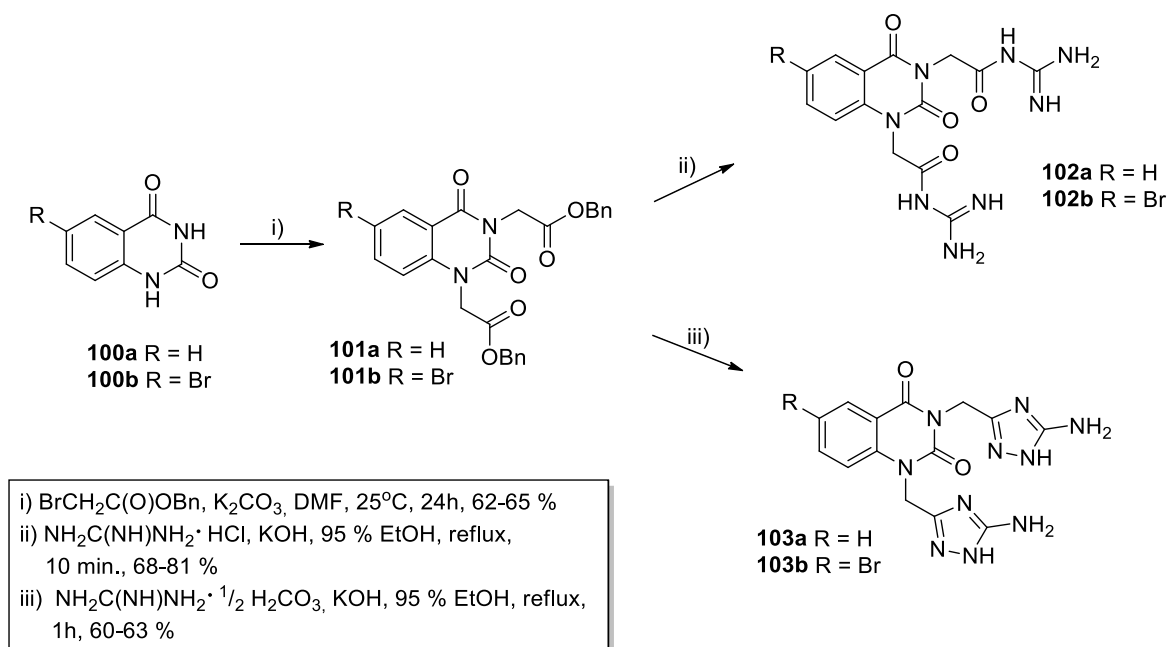
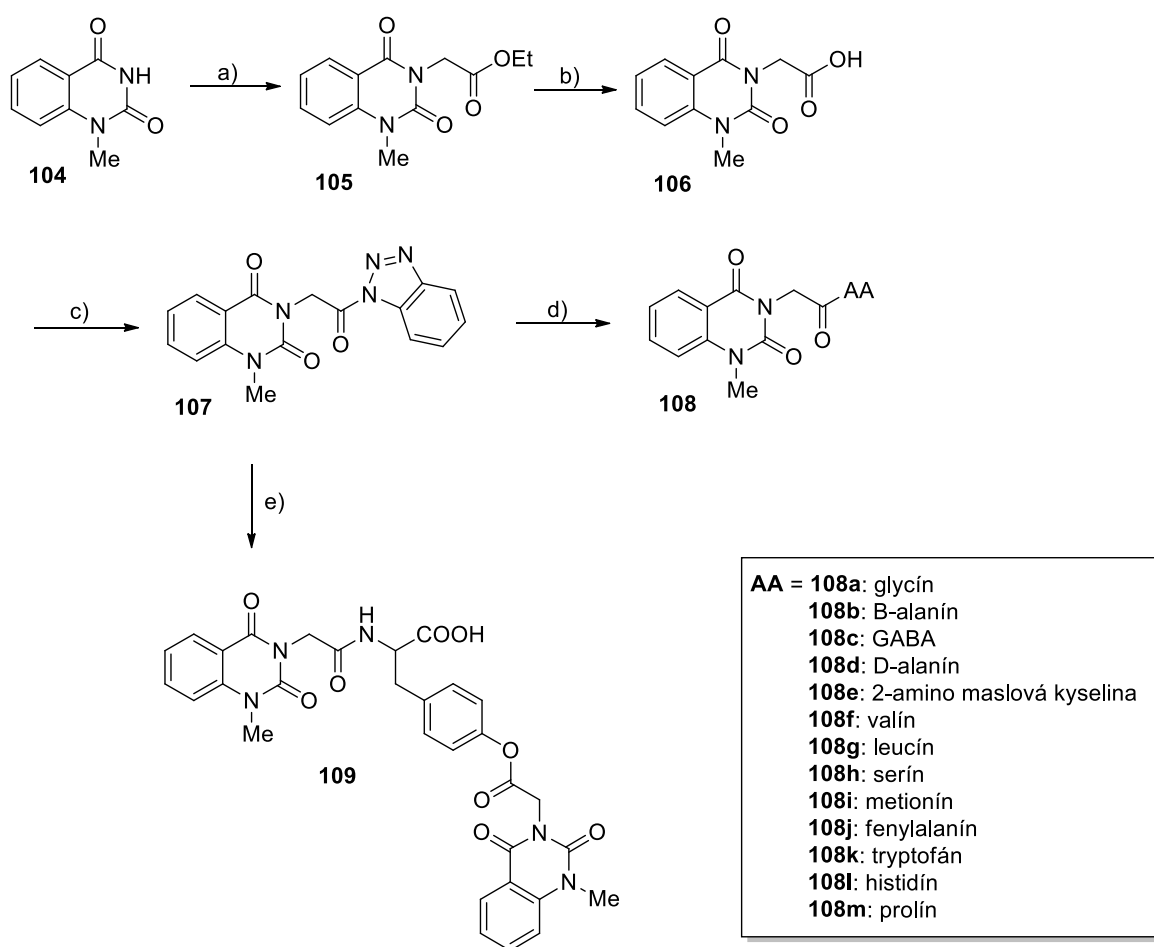


Schéma 20. Syntéza cieľových zlúčenín **102** a **103**.

V roku 2022 bola N. A. Noureldinom a kol. navrhnutá séria zlúčenín na inhibíciu pôsobenia enzýmu chitín syntázy (CHS) u húb. Syntéza týchto zlúčenín prebehla v štyroch krokoch, začínajúc reakciou medzi 1-metylchinazolín-2,4-diómom **104** a etylchlóracetátom za vzniku etylacetátového derivátu **105**. Tento ester bol hydrolyzovaný na príslušnú karboxylovú kyselinu, ktorá bola následne spojená s rôznymi aminokyselinami za vzniku cieľových zlúčenín **108** a **109**.

Testovanie inhibičnej aktivity proti CHS ukázalo, že zlúčenina **109** mala najvyššiu účinnosť v minimálnej inhibičnej koncentrácii (IC_{50}) 0,166 mmol/l, zatiaľ čo polyoxin B

(pozitivna kontrola) mal IC_{50} 0,17 mmol/l. Syntetizované zlúčeniny boli tiež testované na *in vitro* antifungálnu aktivitu proti hubám *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Cryptococcus neoformans* a *Candida albicans*. Všetkých štrnásť syntetizovaných zlúčenín však vykazovalo nižšiu *in vitro* aktivitu v porovnaní s používanými pozitívnymi kontrolami. Avšak zlúčenina **108m** a flukonazol (antimykotické liečivo) preukázali synergický účinok na *Aspergillus flavus* a zlúčenina **109** a flukonazol vykazovali synergické účinky na *Aspergillus fumigatus*.²⁵



- a) $ClCH_2CO_2C_2H_5$, K_2CO_3 , DMF, reflux, 12h
b) NaOH, CH_3OH , reflux, 2h
c) 1H-benzotriazol, CH_2Cl_2 , $SOCl_2$, lab. tep., 4,5h
d) amino-kyselina, NEt_3 , acetonitril/ H_2O , lab.tep., 24h
e) tyrozín, NEt_3 , acetonitril, lab.tep., 24h

Schéma 21. Syntéza zlúčenín **108** a **109**.

2.2 Syntéza chinazolínov

Pri prieskume literatúry s ohľadom na typy pripravovaných zlúčenín chinazolín-2,4-diónu bolo zistené, že najpočetnejšie skupiny týchto látok tvoria deriváty substituované v polohe 1 a/alebo v polohe 3. Vo väčšine doposiaľ publikovaných syntéz sa najprv vyrobia nesubstituované chinazolíndiónové kostry ako reakčné mediátory, ktoré sú následne konkrétnym spôsobom substituované za vzniku cieľových zlúčenín.¹¹

2.2.1 Syntéza nesubstituovaných chinazolínov

Pred rokom 2008 bolo zistené, že zlúčeniny s prítomnosťou céznych iontov sú aktívne pri katalytickej aktivácii CO₂, amínov a alkoholov, čo poskytuje selektívnu tvorbu symetrických/asymetrických derivátov močoviny a karbamátov.

Tejto katalytickej vlastnosti céznych iontov, konkrétne uhličitanu cezného, bolo využité v reakcii 2-aminobenzonitrilu s CO₂, ktorá v závislosti na použitom rozpúšťadle poskytla chinazolíndión s rôznymi výťažkami (**Schéma 22**). Autori v tejto štúdii zistili, že pri rovnakých stanovených podmienkach reakcie v THF a iných nepolárnych rozpúšťadlách ako je napr. toluén reakcia neprebíha. Problém pravdepodobne spočíva v nerozpustnosti uhličitanu. Polárne solventy ako je etanol a voda boli efektívnejšie, avšak výťažok len okolo 15% nie je taktiež uspokojivý. Najúčinnnejšie sa preukázalo DMF, pri ktorom bol výťažok reakcie až 94 %. Čo sa týka daných reakčných podmienok, boli testované rôzne teploty, tlaky CO₂ a reakčné časy. Ukázalo sa, že najvýhodnejšie je reakčnú zmes zahrievať 4 hodiny na teplotu 100 °C pri tlaku 1,3 MPa.²⁶

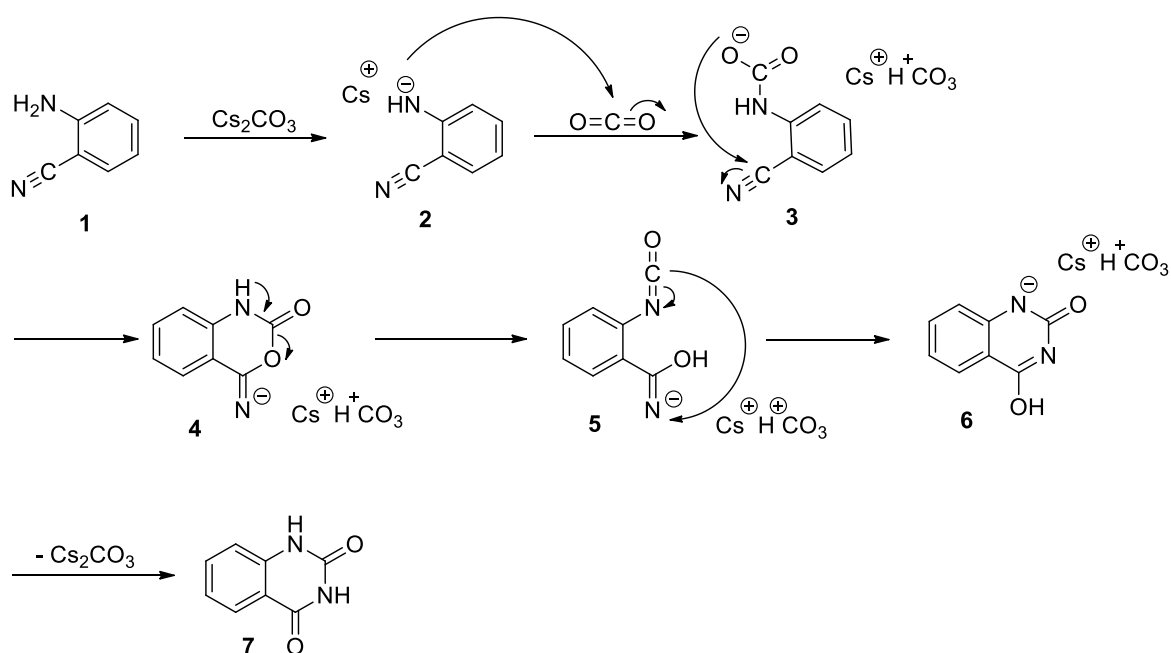


Schéma 22. Reakcia 2-aminobenzonitrilov s CO_2 katalyzovaná Cs_2CO_3 .

Iónové kvapaliny majú niektoré zaujímavé vlastnosti ako to, že sú neprchavé, nehorľavé, majú vysokú tepelnú stabilitu a výbornú rozpustnosť v organických aj anorganických rozpúšťadlách. Majú veľký potenciál aplikácii v chemických reakciách, syntéze materiálov, separácii i frakcionácii. Ďalšou ich obdivuhodnou vlastnosťou je to, že sa dajú od produktov jednoducho oddeliť a je možné ich znovu použiť aspoň päťkrát bez výraznej straty katalytickej aktivity.

II PRAKTICKÁ ČASŤ

3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

3.1 Zhrnutie predošlých výsledkov a prepojenie s problematikou tejto práce

Cieľom tejto práce bolo pozorovanie možnej kontrakcie heterocyklickej časti substituovaných benzodiazepíndiónov za účelom ich premeny na deriváty chinazolíndiónu. Myšlienka študovať túto zaujímavú problematiku bola iniciovaná nečakanou reakciou, ktorá sa dávnejšie podarila na Ústave chémie, mojej predošlej kolegyni, Ing. Rytinovej. Cieľom jej vtedajšieho výskumu²⁸ bolo nájsť vhodnú syntetickú cestu na prípravu 4-(3-hydroxypropyl)benzodiazepín-2,5-diónov a skúmať ich následnú premenu. Podarilo sa jej nájsť niekoľko ciest, pričom konštatovala, že vhodnosť určenia jednej z nich závisí od povahy substituenta a to najmä v polohe 1, aj napriek tomu, že je pomerne vzdialený od reakčného miesta. Následne bolo sledované, že za prítomnosti silnej bázy sa benzodiazepíny s vhodne upraveným postranným reťazcom úspešne menili na pyrrolbenzodiazepíny. V jednom prípade, kde bol BZD v polohe 4 substituovaný allylovou skupinou, syntéza neprebiehala podľa ňou určeného plánu. Už podľa TLC a následnej NMR analýze jednotlivých spojených frakcií bolo jasné, že sa v žiadnom prípade nejedná o vtedy požadovaný produkt.

V tomto mieste nastáva stret práce kolegyně Ing. Rytinovej a tejto práce, keď sa po následnej identifikácii, vtedy ňou pripravených produktov začalo pohrávať s myšlienkou, či táto reakcia bola len náhoda, alebo sa jedná o možnú novú syntézu pripravených, už vtedy identifikovaných, chinazolíndiónov.

3.2 Diskusia k riešeniu zadanej problematiky

Pred samotnou realizáciou tejto práce bol navrhnutý plán experimentov (**Schéma 24**), ktorý predstavuje trojkrokovú syntézu smerovanú k 1,3-disubstituovaným derivátom chinazolín-2,4-diónov **4**, ktorá má byť započatá nukleofilnou substitúciou 3-chlórchinolín-2,4-diónov **1** primárnym alkylamínom. Ďalšie kroky predpokladajú izomerizáciu 3-(alkylamino)chinolín-2,4-diónov **2** vyvolanú účinkom 1,1,3,3-tetrametylguanidínu (TMG) vo vriacom alkohole a následnou kontrakciou heterocyklickej časti BZD **3**.

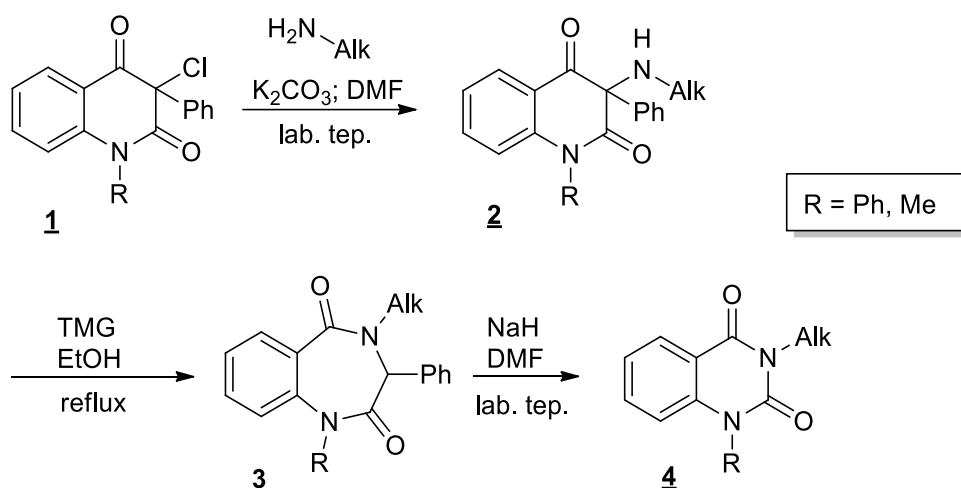


Schéma 24. Plán premeny chinolíndiónov 1 na 1,3-disubstituované chinazolíndióny 4.

Dvojkrová syntéza základných východiskových zlúčenín, 3-chlórchinolín-2,4-diónov 1, bola na Ústave chémie optimalizovaná už pred mnohými rokmi.²⁹ V podstate zahŕňa halogenáciu 4-hydroxychinolín-2-ónov, ktoré sa získavajú niekoľkohodinovou termálnou kondenzáciou anilínou s dietyl-malonátmi, účinkom sulfurylchloridu v dioxáne pri teplote do 50 °C (**Schéma 25**). Ako plynie z vyššie uvedeného textu, moja práca bezprostredne nadväzuje na diplomovú prácu kolegyne a vzhľadom na to, že tieto látky sú prekursori pre množstvo iných zlúčenín študovaných v našej skupine, sú pripravované do zásoby a preto nebolo nutné si ich syntetizovať. Tieto látky boli samozrejme pred použitím overené na ich čistotu a správnosť a až potom využité do reakcií.

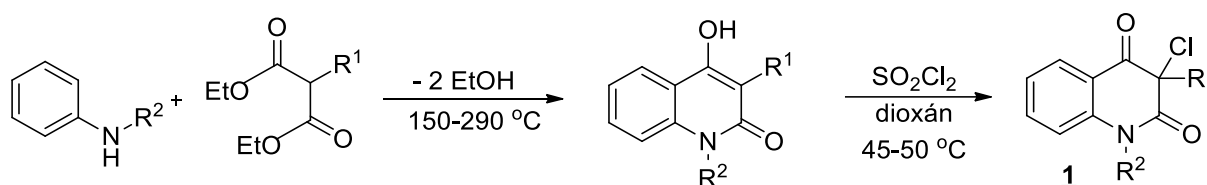
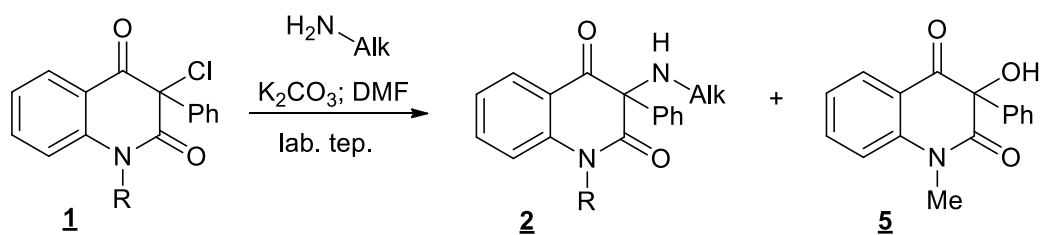


Schéma 25. Bežný prístup k východiskovým látkam 1.

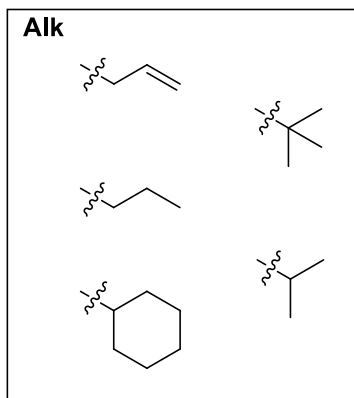
Primárnou úlohou mojej bakalárskej práce bolo podľa navrhnutého plánu pripraviť niekoľko 3-(alkylamino)chinolín-2,4-diónov 2 v dostatočnom množstve, ktoré by umožňovalo ďalšiu prácu s nimi. Keďže sa práca mala venovať pozorovaniu vplyvu substitúcie BZD na ich premenu na odpovedajúce chinazolíndióny, bolo pre aminolýzu

zlúčenín **1** zvolených päť (cyklo)alkylamínov. Tie budú v prípade úspešného pripojenia k chinolíndiónovej jednotke predstavovať rôzne objemné substituenty v blízkosti reakčných centier molekúl vstupujúcich do nasledujúcich krokov. Za týmto účelom boli vybrané allylamín, propylamín, isopropylamín, terciálny butylamín a cyklohexylamín.

Tento typ reakcie bol publikovaný⁶ výskumnou skupinou prof. Kláska už pred viac než dvadsiatimi rokmi a od tej doby bolo už 3-aminochinolíndiónov pripravených veľmi mnoho. Zo skúseností vieme, že chinolíndióny s naviazanou fenylovou skupinou v polohe 3 nepodliehajú toľkým vedľajším reakciám ako ich alkylované analógy a tiež omnoho ochotnejšie kryštalizujú, a preto boli aminolýzy sledované na 1-metyl-3-fenylchinolíndióne a v jednom prípade aj na 1,3-difenylchinolíndióne. Substitúcia chloridového iónu týchto východiskových látok **1** nukleofilným atakom atómu dusíku primárnych amínov bola teda robená za overených podmienok, to znamená v prostredí dimetylformamidu (DMF) za bázického pôsobenia uhličitanu draselného pri laboratórnej teplote. V prípadoch, kedy je do aminačných reakcií pridávaná externá báza (v našom prípade K_2CO_3), je dostatočné použiť ekvivalentné množstvo amínu. Teoreticky to síce možné je, avšak už skôr bolo preukázané, že ak je reakcia uskutočnená s väčším nadbytkom amínu, je omnoho vyššia šanca k dosiahnutiu úplnej konverzie východiskových látok a to aj za výrazne kratšiu dobu.



R = Ph, Me

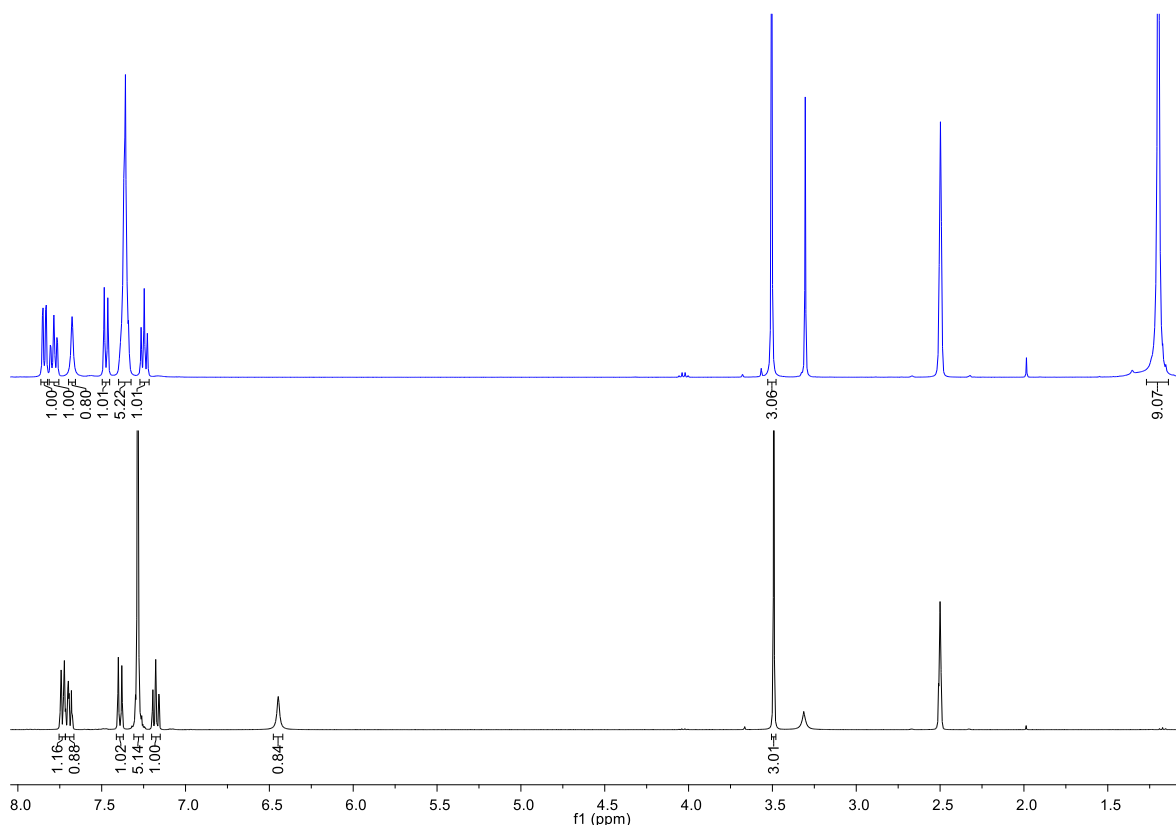


Vých. l. <u>1</u>	R	Alkyl	R. doba (h)	Výt'azok (%)	
				<u>2</u>	<u>4</u>
a	Me	allyl	22	a ; 85	—
b	Ph	allyl	19	b ; 84	—
c	Me	Pr	23	c ; 68	—
d	Me	<i>c</i> Hex	23	d ; 88	—
e	Me	<i>t</i> Bu	22; 73	e ; 5; 11	76; 68
f	Me	<i>i</i> Pr	28	f ; —	—

Schéma 26. Syntéza 3-(alkylamino)chinazolín-2,4-diónov 2.

Väčšina z prebehnutých aminácií dopadla podľa očakávaní. Zlúčeniny 1 vystavené 50% nadbytku nerozvetvených (cyklo)alifatických amínov a dvojnásobku látkového množstva uhličitanu v DMF pri laboratórnej teplote, sa počas jedného dňa kompletne premenili v jeden hlavný produkt 2, ktorý po izolácii z reakčnej zmesi, zahrňujúc jej zriedenie ľadovou vodou, filtráciu vylúčeného podielu, extrakciu vodného filtrátu a kryštalizáciu surových produktov, bol získaný s veľmi dobrými výt'azkami pohybujúcimi sa v rozmedzí 68–88 % (1a, 1b, 1c, 1d).

Zarážajúce výsledky poskytovali reakcie s rozvetvenými alifatických amínmi. Konkrétne potom pri aminolýze 3-fenyl-1-methylchinolín-2,4-diónu (1e) s *tert*-butylamínom, bolo získané len 5 % očakávaného produktu 2e (NMR na Obrázku 8 hore) a výrazne väčšie množstvo vedľajšieho produktu. Po izolácii, purifikácii a analýze tejto látky bolo z NMR spektier (Obrázok 8 dole) na základe štyroch signálov v oblasti 7,16–7,74 ppm, typických pre protóny benzénového kruhu chinolínových zlúčenín, singletu pri 6,45 ppm, ktorý charakterizuje jadro atómu vodíka pripojeného k elektronegativnému atómu, a absencie signálu z protónov alifatického reťazca predpokladané, že došlo k hydrolýze východiskovej látky 2e vodou obsiahnutou v nevysušenom DMF. Neistota pri interpretácii spektier vedľajšieho produktu sa rozplynula pri ich porovnaní s publikovanými dátami³⁰ 3-fenyl-3-hydroxy-1-metylchinolín-2,4-diónu 5, ktoré sa zhodovali.

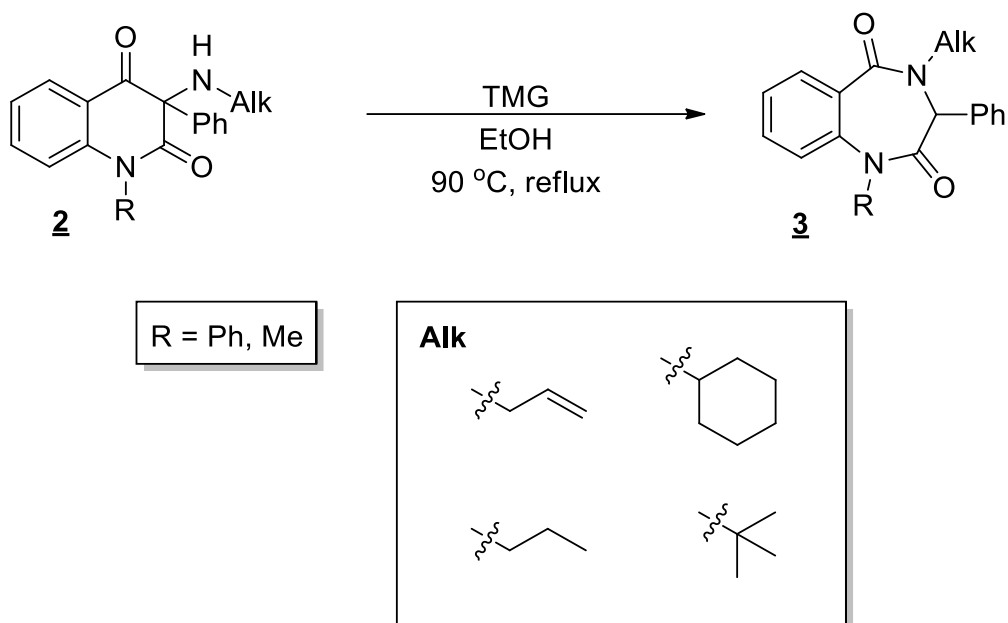


Obrázok 8. ^1H NMR spektrá očakávaného produktu **2e** (hore) a vedľajšej látky **4e** (dole).

Pre znepokojivé výsledky bol daný experiment opakovaný a dosiahnutý s približne rovnakými výsledkami. Je síce pravda, že bol výtazok požadovaného produktu **2e** dvojnásobne vyšší (11 %), avšak stále žalostný. Príčinou tohoto problému je dozaista opäť vznik značného podielu 3-hydroxyderivátu **5**. Keďže z predchádzajúcich reakcií nikdy nebol 3-fenyl-3-hydroxy-1-methylchinolín-2,4-dión (**5**) izolovaný, aj keď bol používaný DMF stále rovnakej kvality, pravdepodobne nedochádza k hydrolýze východiskovej látky **2e**, ale k hydrolýze vznikajúceho produktu, či jeho intermediátu.

Zlúčenina **1** vystavená interakciám izopropylamínu v bázičkom prostredí sa chovala absolútne neštandardne. Predpokladalo sa, že by tieto experimenty mali viesť k podobným výsledkom ako v prípadoch, kedy bola aminolýza robená napríklad s cyklohexylamínom, avšak miesto očakávaného vysokého výtazku odpovedajúceho produktu bola z nevysvetliteľných dôvodov získaná natoľko komplikovaná zmes látok, že sa z nej nepodarilo izolovať žiadne chemické individuum.

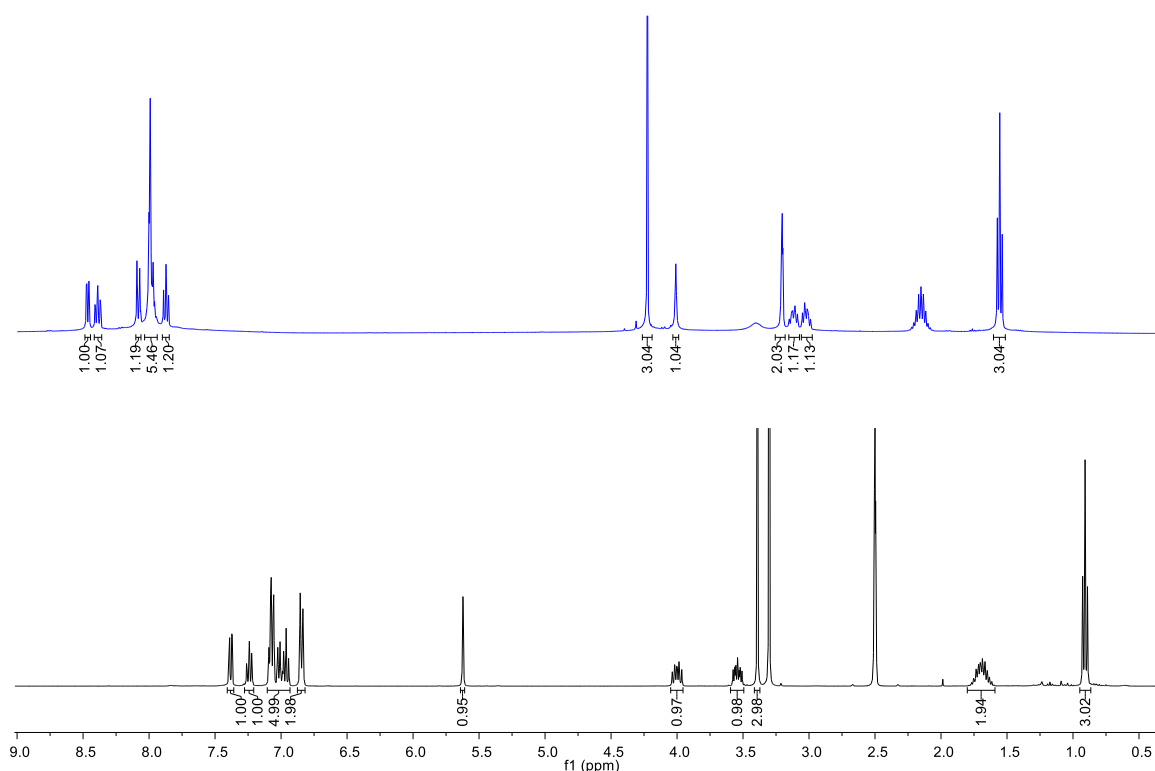
V nasledovaní navrhnutého plánu experimentu, bola ďalším krokom bázou katalyzovaná izomerizácia substituovaných 3-(alkylamino)-chinolín-2,4-diónov za vzniku 4-alkylbenzodiazepín-2,4-diónov (**Schéma 27**). Tieto reakcie boli robené za osvedčených podmienok v roztoku východiskovej látky a dvojmolárneho prebytku TMG vo vriacom etanole. Po spotrebovaní východiskovej látky, ku ktorému obvykle došlo po cca. 4 hodinách varu, boli surové produkty po ich izolácii z reakčnej zmesi purifikované na stĺpcovej chromatografii a následne kryštalizované z EtOAc alebo benzénu. V závislosti na povahe substituentov v polohe 3 zlúčeniny **2**, boli z reakcie získané viac či menej komplikované zmesi, ktoré sa vo výsledku odrazili v množstve čistých BZD **3**. Pri izomerizácii **3e** bola konečná zmes natoľko zložitá, že sa z nej požadovaný produkt nepodarilo izolovať ani v malom množstve.



Vých. l. 2	R	Alkyl	R. doba (h)	Výt'azok (%) 3
a	Me	allyl	4	a ; 88
b	Ph	allyl	3	b ; 43
c	Me	Pr	4	c ; 89
d	Me	cHex	5	d ; 44
e	Me	tBu	5	e ; –

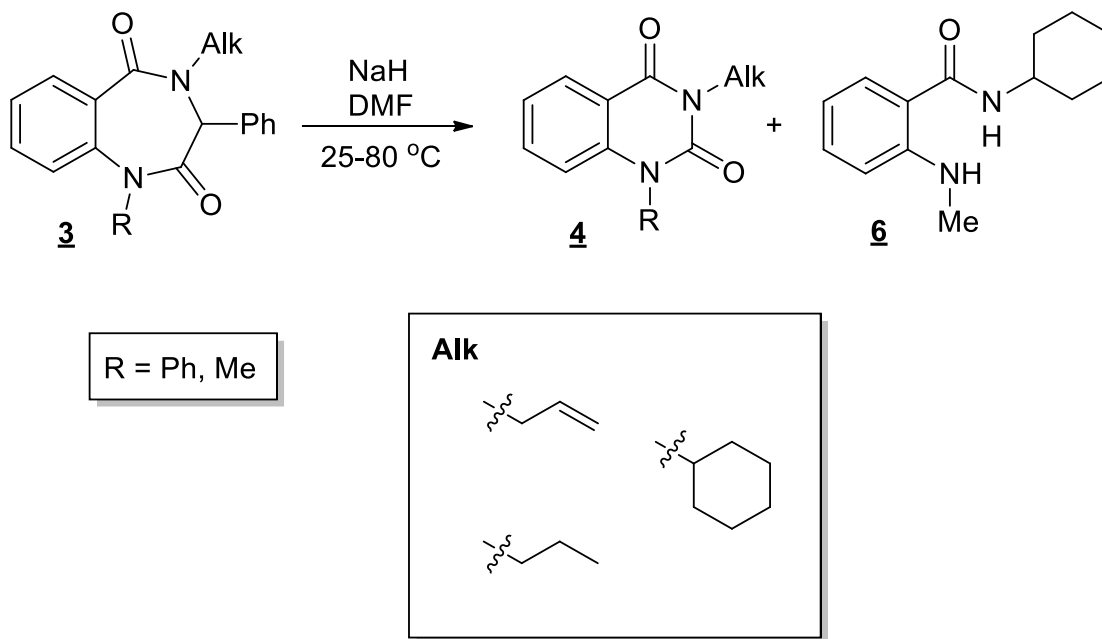
Schéma 27. Premena 3-(aminoalkyl)chinolíndiónov **2** na 4-alkylbenzodiazepíndióny **3**.

Štruktúra všetkých pripravených BZD bola overená pomocou NMR analýzy. Keď sa pozrieme na **Obrázok 9**, kde sú pre príklad zobrazené spektrá východiskového amínu **2c** (**Obrázok 9**, hore) a odpovedajúceho BZD **3c** (**Obrázok 9**, dole), v ktorých je vplyvom zmeny štruktúry základného skeletu možné vidieť nielen posuny signálov charakterizujúcich protóny aromatických, ale aj alifatických častí molekúl. Jednoznačný dôkaz o prebehnuti izomerizácii je patrný vymiznutím signálu, ktorý charakterizuje protón sekundárnej aminoskupiny látky **2c** pri 4,36 ppm a objavením singletu pri 5,62 ppm s typickým chemickým posunom pre H-3 BZD.



Obrázok 9. ^1H NMR spektrá východiskovej látky **2c** (hore) a produktu reakcie **3c** (dole).

Po príprave rôzne substituovaných benzodiazepíndiónových derivátov sa dostávame k poslednému, najdôležitejšiemu kroku tejto bakalárskej práce, kontrakcii BZD kruhu za vzniku chinazolín-2,4-diónu. Reaguje tu 4-alkyl-benzodiazepín-2,5-dión s bázičkou zložkou, hydridom sodným v DMF.



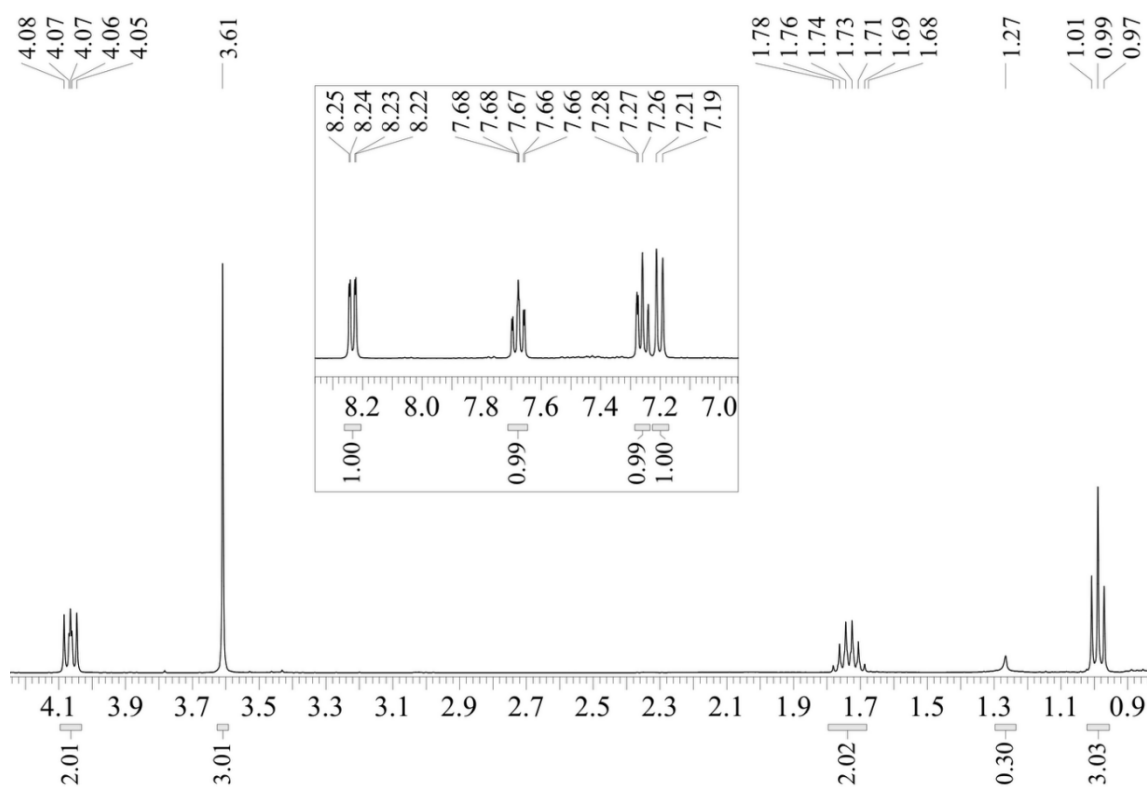
Vých. l. 3	R	Alkyl	NaH (ekviv.)	R. doba (d)	Výt'azok (%)	
					4	6
a	Me	allyl	2	1	31	–
b	Ph	allyl	5	12	–	–
c	Me	Pr	1	3	8	–
d	Me	cHex	2	3	–	28

Schéma 28. Kontrakcia 4-(alkyl)-benzodiazepín-2,4-diónu **3** za vzniku 3-(alkyl)-chinazolín-2,4-diónu **4**.

Prvým nami syntetizovaným derivátom je zlúčenina **4a**, ktorú sa podarilo pripraviť pred pár rokmi kolegyni Ing. Rytinovej a na základe ktorého vznikol námet na túto prácu. Vznik danej látky, aj keď v nižšom výt'azku, potvrdil, že pri vtedajšej príprave chinazolíndiónu nešlo o náhodu, ale o potenciálne novú syntetickú metódu jeho prípravy. Reakcie boli uskutočnené so 100% prebytkom NaH a v prípadoch, kde bola po dlhej dobe stále prítomná v reakčnej zmesi východisková látka, bolo množstvo postupne navyšované až na päťnásobné ekvivalentné množstvo. Po spracovaní reakčných zmesí, kde z nich bol

odstránený anorganický podiel, sa v nich nachádzalo viacej produktov a preto ich bolo potrebné od seba odseparovať pomocou stĺpcovej chromatografie. Kontrakcia BZD kruhu prebehla aj pri ďalšej nami syntetizovanej látke **4c**, avšak len v tretinovom množstve oproti zlúčeniny **4a**, z dôvodu vzniku veľkého množstva vedľajších produktov.

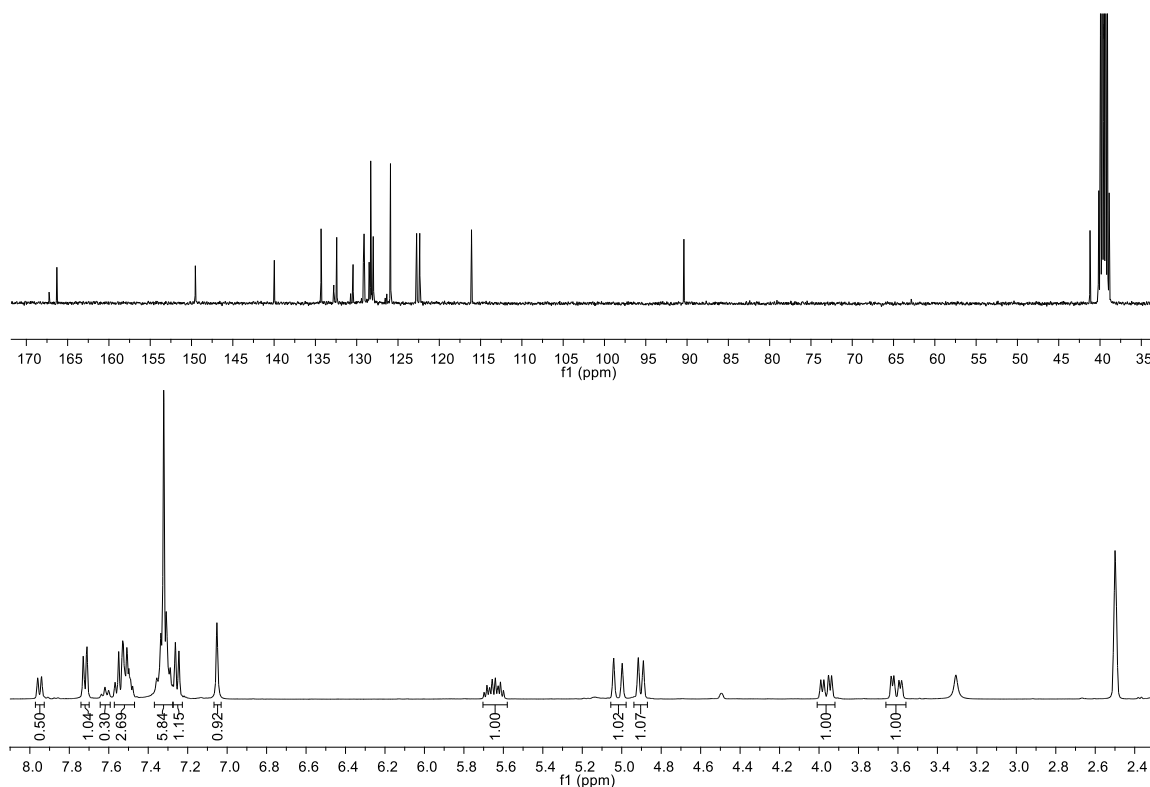
Zo spektra z NMR analýzy je pekne vidieť úspešnosť kontrakcie BZD kruhu, ktorá viedla k zlúčenine **4c**. V aromatickej oblasti v rozmedzí 7,19–8,25 ppm sa nachádzajú štyri signály predstavujúce protóny z benzénovej časti chinazolínovej štruktúry. V alifatickej zase štyri signály, z ktorých ostrý singlet pri 3,61 ppm s integrálnou intenzitou odpovedajúcou trom protónom charakterizuje metylovú skupinu, zatiaľ čo zvyšné tri signály náležia siedmym protónom propylovej skupiny (**Obrázok 10**).



Obrázok 10. Výrez ^1H NMR spektra zlúčeniny **4c**.

Syntéza látky **4b** sa úplne odchyľila od plánovaných reakčných podmienok a to nielen prídavkom NaH (konečné molárne množstvo bolo až päťnásobné), ale aj zvyšovaním teploty, ktorá bola počas reakcie postupne zdvíhaná až na 80 °C. Získaná reakčná zmes bola purifikovaná na stĺpcovej chromatografii, z ktorej boli získané štyri frakcie, avšak len jedna predstavovala prítomnosť samostatnej látky.

Po 2D NMR analýze tejto izolovanej frakcie sa spektrá javili sľubne (**Obrázok 11**), až na prítomnosť len jednej oxoskupiny z potenciálne prítomného amidu, esteru, či ketónu pri hodnote 166,31 ppm. Okrem všetkých príslušných uhlíkov, ktoré sa mali v molekule nachádzať tu bol navyše jeden kvartérny uhlík v hodnote 90,38 ppm a taktiež tu bol prítomný navyše jeden vodík pri 7,05 ppm, ktorý svojim chemickým posunom odpovedá vodíku viazanému k prvku s vysokou elektronegativitou (pravdepodobne O, N). V spektrách (**Obrázok 11**, dole) je taktiež možné vidieť prítomnosť benzoovej kyseliny pri 7,2–7,4; 7,5–7,6; 7,6 a 7,9 ppm, ktorá sa vo vzorke nachádza z odštiepeného fenylu v polovičnom pomere voči produktu. Túto štruktúru sme sa pokúšali identifikovať nielen na NMR, ale aj pomocou GC-EI-MS a ESI-MS, ani tu sa to však nepodarilo a látka zostala neidentifikovaná. Napadlo nám, či by sa nemohlo jednať o vedľajší produkt **6** (avšak s alkylovým substituentom allylom), ale vyvrátil nám to fakt, že v zlúčenine je prítomný len jeden vodík, ktorý chemickým posunom odpovedá tomu, že je naviazaný na elektronegatívny prvok, avšak aby išlo o derivát zlúčeniny **6**, museli by tu byť prítomné až dva takéto protóny. Taktiež tu bol prítomný, už spomínaný uhlík so signálom pri hodnote 90,38 ppm. Ani po dlhšom skúmaní sme zatiaľ neprišli na žiadne možné riešenie štruktúry tejto neznámej látky, preto bola odložená na ďalšie skúmanie pri budúcich experimentoch.

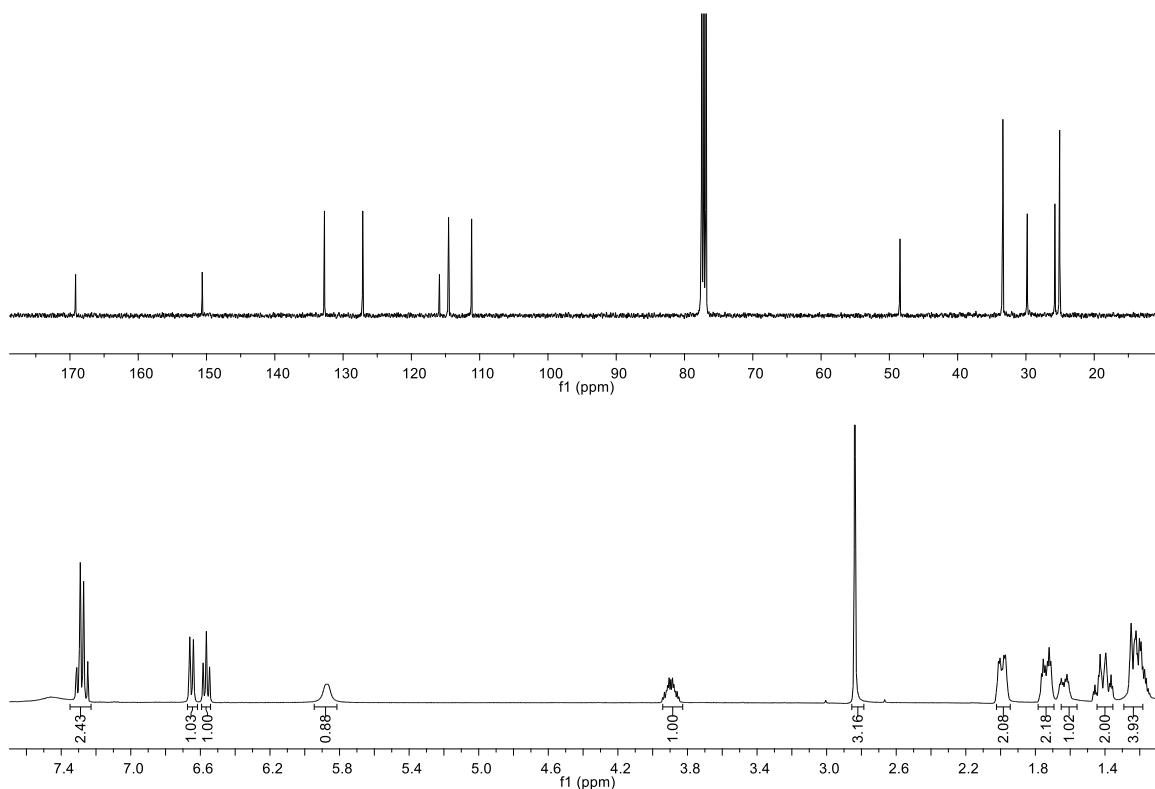


Obrázok 11. Výrez ^1H a ^{13}C NMR spektier neznámej zlúčeniny **4b**.

Otázkou zostáva, prečo bol pri syntéze tejto zlúčeniny **4b** taký veľký problém oproti ostatným derivátom. Je možné, že sa pri tejto reakcii prejavila schopnosť fenylu tvoriť stérickú zábranu, čo sa mohlo odraziť na doposiaľ neobjasnenom mechanizme reakcie a tým viesť k tvorbe iných produktov, ako nami očakávaných. Problém tu mohli tvoriť aj samotné reakčné podmienky, hlavne vysoký podiel NaH v zmesi a dlhá reakčná doba za zvýšenej teploty. Taktiež je možné, že daný produkt bol syntetizovaný, ale z dôvodu prítomnosti viacerých látok nebolo možné ho samostatne izolovať a preto sa nedal určiť pomocou spektier.

V prípade reakcie, kde ako východisková látka figurovala **3d** došlo k prekvapivému zvratu. Podmienky reakcie boli nastavené tak, ako pri všetkých derivátoch predtým s tým rozdielom, že už hneď na začiatku reakcie bol pomer východiskovej látky a hydridu sodného 1:3. Po vhodnom spracovaní reakčnej zmesi, bola získaná šedá kryštalická látka vo výťažku 28 %. Táto látka bola následne analyzovaná pomocou 2D NMR pre stanovenie jej štruktúry. Po analýze NMR spektier bolo zistené, že sa nejedná o nami požadovaný produkt, ale o *N*-cyklohexyl-2-(metylamino)benzamid. Tento produkt teda naznačuje, že počas reakcie došlo k otvoreniu kruhu.

Otvorenie kruhu nám najprv evokovala neprítomnosť píku v ^{13}C NMR spektre (**Obrázok 12** hore), vo vyšších hodnotách ppm, ktorý by bol typický pre oxoskupinu amidu a bola tu teda prítomná len ketoskupina na C-2 (predtým C-4) v hodnote 169,17 ppm. Ďalším ukazovateľom bola prítomnosť dvoch protónov navyše v ^1H spektre (**Obrázok 12** dole) oproti očakávanej molekule, pri 5,87 ppm a 1,13–1,24 ppm, ktorý v HSQC spektre neboli naviazané na uhlík. Podľa týchto dvoch hlavných podnetov na myšlienku otvorenia molekuly sme sa pokúsili nájsť literárny zdroj³¹, kde by popisovali spektrá tejto látky a po jeho nájdení už sa nedalo pochybovať, že sa jedná o danú zlúčeninu.



Obrázok 12. Výrez ^1H a ^{13}C NMR spektra zlúčeniny **6**.

4 CHARAKTERIZÁCIA PRÍSTROJOVÉHO VYBAVENIA A INŠTRUMENTÁLNYCH METÓD

Rozpúšťadlá a činidlá použité pri syntéze v experimentálnej časti boli získané z komerčných zdrojov Merck, VWR, Fisher Scientific a Siot Trade.

Priebeh všetkých reakcií a čistota získaných produktov bola sledovaná pomocou tenkovrstvovej chromatografie (TLC) robenej na hliníkovom plechu (Alugram® SIL G/UV 254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) potiahnutou vrstvou silikagélu s fluorescenčným indikátorom pre UV 245 nm. Na kvapalinovú stĺpcovú chromatografiu bol používaný Silica gel s veľkosťou pórov 60 Å a veľkosťou častíc 35–75 µm. Teploty topenia boli stanovené na Koflerovom bloku (Helmut Hund GmbH, Wetzlar) a neboli korigované.

NMR spektrá boli merané pomocou spektrometra JEOL ECZ 400 pri frekvencii 400 MHz (^1H) a 101 MHz (^{13}C). Merania boli vykonávané pri teplote 300 K, pokiaľ nebolo prístupné k analýzam vyžadujúcim vyššiu teplotu. ^1H NMR spektrá boli kalibrované na signál rezidua CHCl_3 s chemickým posunom 7,26 ppm alebo DMSO-d_6 s chemickým posunom 2,50 ppm. ^{13}C NMR spektrá boli kalibrované na signál ^{13}C CDCl_3 s chemickým posunom 77,16 ppm alebo ^{13}C signál DMSO-d_6 s chemickým posunom 39,52 ppm. Chemické posuny sú uvádzané v jednotkách ppm. Interakčné konštanty J sú uvádzané v jednotkách Hz. Multiplicita signálov je označená skratkami s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubletu), ddd (dublet dubletu dubletov), t (triplet), q (kvadriplet), m (multiplet).

ESI-MS experimenty boli vykonávané na hmotnostnom spektrometri s iónovou pascou amaZon X (Bruker Daltonics) za použitia elektrospreja ako iónového zdroja. Merania boli uskutočnené v pozitívnom skenovacím móde. Do iónového zdroja boli vzorky privádzané vo forme roztoku kovovou kapilárkou pri konštantnom prietoku $3 \mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$. Ostatné parametre boli nasledovné: koncentrácia $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, rozpúšťadlo $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (1/1, v/v), napätie na kapiláre -4,2 kV, napätie na konci kapiláry 140 V, teplota sušiacieho plynu 220°C , prietok sušiacieho plynu $6 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, tlak rozprašovacieho plynu 55,16 kPa. Ako sušiaci a rozprašovací plyn bol použitý dusík. Tandemové hmotnostné spektrá boli po izolácii vybraného iónu merané pomocou kolízne indukovanej disociácie (CID), pričom ako kolízny plyn bolo použité hélium.

Chromatografické dáta boli získané z plynového chromatografu spojeného s kvadrupólovým hmotnostným detektorom (GC-MS) Shimadzu GCMS-QP2010

vybaveného kolónou Supelco o rozměrech 30m délky, vnitřním průměru 0,32 mm a hrúbce stacionárnej fázy 0,25 μm . Teplotný program použitý pre všetky analýzy bol nasledujúci: 250 $^{\circ}\text{C}/7$ min; 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a teplotou nástreku 250 $^{\circ}\text{C}$. Nosným plynom bolo hélium, iónový zdroj 200 $^{\circ}\text{C}$, 70 eV.

5 DETAILNÝ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPOV A CHARAKTERISTIKA PRIPRAVENÝCH ZLÚČENÍN

5.1 Příprava východiskových látek 2

Syntéza 3-(alkylamino)-3-fenylchinolín-2,4(1H,3H)-diónov 2

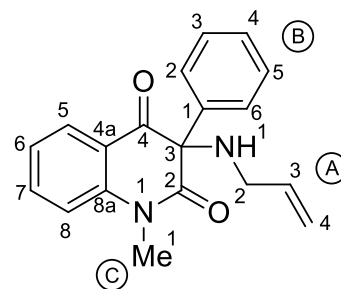
K suspenzii 3-chlór-3-fenylchinolín-2,4-diónov 1 (10 mmol) a K_2CO_3 (20 mmol, 2 ekviv.) v 20 ml DMF bol počas 1 minúty po kvapkách pridávaný roztok alkylamínov (15 mmol, 1,5 ekviv.) v 40 ml DMF. Reakcie boli miešané cez noc pri izbovej teplote, potom boli suspenzie naliate do ľadovej vody (400 ml). Získané vodné roztoky boli opakovane (4 × 40 ml) extrahované $CHCl_3$. Organické podiely boli spojené, vysušené Na_2SO_4 a odparené na RVO. Surové produkty boli kryštalizované z benzénu, ku ktorému bol neskôr pridaný hexán.

V prípade niektorých látok bolo pred kryštalizáciou potrebné s použitím vhodnej mobilnej fázy prečistenie danej látky stĺpcovou chormatografiou. Pre zlúčeniny 2c a 2d bola využitá ako mobilná fáza TOL/EtOAc (9/1; v/v) a pre 2e PE/EtOAc (5/3; v/v).

3-(Allylamino)-3-fenyl-1-metylchinolín-2,4(1H,3H)-dión 2a

Svetlo žltá kryštalická látka; $t_f = 92\text{--}95\text{ }^\circ\text{C}$ (benzén); výťažok 85 %; $R_f = 0,85$ (38 % EtOAc v PE); $R_f = 0,22$ (100 % EtOAc v TOL).

^1H NMR spektrum ($CDCl_3$, 400 MHz), ppm: δ 2,82 (s, 1H, H-A1); 3,03 (m, 1H, H-A2); 3,18 (m, 1H, H-A2); 3,52 (s, 1H, H-C1); 4,98 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H, H-A4); 5,10 (d, $J = 17,3$ Hz, 1H, H-A4); 5,83-5,93 (m, 1H, H-A3); 7,17 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H-6); 7,26–7,30 (m, 5H, H-B); 7,38 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-8); 7,79 (dd, $J = 7,3$ Hz; 1,8 Hz, 1H, H-7); 7,76 (dd, $J = 7,7$ Hz; 1,4 Hz, 1H, H-5).

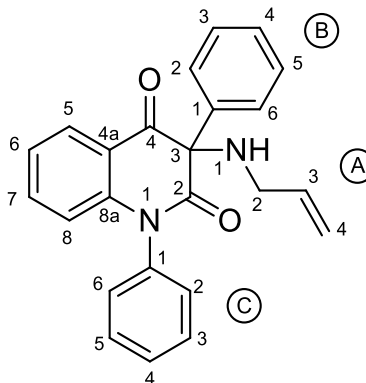


^{13}C NMR spektrum ($CDCl_3$, 101 MHz), ppm: δ 29,9 (C-C1); 47,56 (C-A2); 76,55 (C-3); 115,26 (C-A4); 115,85 (C-8); 120,65 (C-8a); 123,18 (C-6); 126,61 (C-B2,B6/B3,B5); 127,33 (C-5); 128,60 (C-B4); 128,75 (C-B2,B6/B3,B5); 136,26 (C-7); 137,33 (C-A3); 137,61 (C-B1); 142,13 (C-4a); 171,12 (C-2); 192,72 (C-4).

3-(Allylamino)-3-fenyl-1-fenylchinolín-2,4(1*H*,3*H*)-dión 2b

Svetlo žltá kryštalická látka; $t_f = 101\text{--}105\text{ }^\circ\text{C}$ (benzén + hexán); výťažok 84 %; $R_f = 0,32$ (10 % EtOAc v TOL).

^1H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 2,90 (s, 1H, H-A1); 3,11 (m, 1H, H-A2); 3,28 (d, $J = 17$ Hz, 1H, H-A2); 5,00 (d, $J = 10,3$ Hz, 1H, H-A4); 5,11 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H, H-A4); 5,94-5,84 (m, 1H, H-A3); 6,34 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H-8); 7,14 (t, $J = 14,4$ Hz, 1H, H-6); 7,31-7,65 (m, 10H, H-B2, H-B3, H-B4, H-B5, H-B6, H-C2, H-C3, H-C4, H-C5, H-C6); 7,47 (m, 1H, H-7); 7,82 (dd, $J = 7,7; 1,2$ Hz, 1H, H-5).

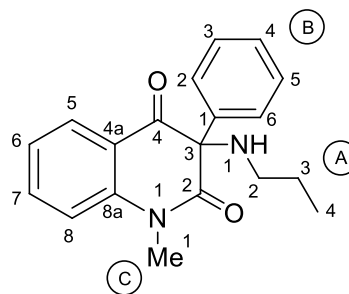


^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 47,6 (C-A4); 76,8 (C-3); 115,4 (C-A3); 116,6 (C-8); 120,4 (C-4a); 123,3 (C-6); 126,7 (C-7); 127,5 (C-5); 128,7; 128,9; 129,0; 135,8; 137,3; 137,4; 137,5; 137,6 (C-B1; C-B2; C-B3; C-B4; C-B5; C-B6; C-C1; C-C2; C-C3; C-C4; C-C5; C-C6); 142,9 (C-8a); 171,3 (C-2); 192,6 (C-4),

3-(Propylamino)-3-fenyl-1-metylchinolín-2,4(1*H*,3*H*)-dión 2c

Žltá kryštalická látka; $t_f = 86\text{--}95\text{ }^\circ\text{C}$ (benzén + hexán); výťažok 68 %; $R_f = 0,24$ (10 % EtOAc v TOL), $R_f = 0,25$ (29 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 0,85 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, H-A4); 1,38-1,52 (m, 1H, H-A2); 2,29-2,35 (m, 1H, H-A3); 2,38-2,45 (m, 1H, H-A3); 2,70 (s, 1H, H-A1); 3,52 (s, 3H, H-C1); 7,17 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H-6); 7,31-7,24 (m, 5H, H-B); 7,36-7,39 (m, 1H, H-8); 7,66-7,71 (m, 1H, H-7); 7,76 (dd, $J = 7,7$ Hz; 1,6 Hz, 1H, H-5).



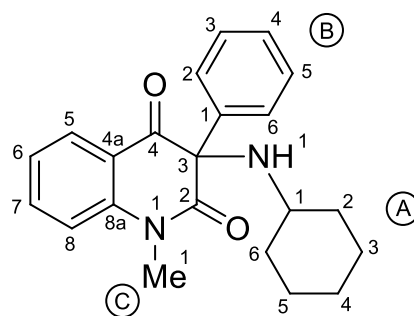
^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 11,6 (C-A4); 23,3 (C-A2); 29,9 (C-B1); 46,8 (C-A3); 77,0 (C-3); 115,9 (C-8); 120,6 (C-4a); 123,2 (C-6); 126,6 (C-B); 127,3 (C-5);

128,5 (C-B4); 128,7 (C-B); 136,3 (C-7); 137,9 (C-B1); 142,2 (C-8a); 171,2 (C-2); 192,9 (C-4).

3-(Cyklohexylamino)-3-fenyl-1-metylchinolín-2,4(1*H*,3*H*)-dión **2d**

Bezfarebná kryštalická látka; $t_f = 98\text{--}102\text{ }^\circ\text{C}$ (benzén + hexán); výtťažok 88 %; $R_f = 0,37$ (29 % EtOAc v PE), $R_f = 0,29$ (10 % EtOAc v TOL).

^1H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 1,02-1,07 (m, 7H, H-A3, H-A4, H-A5, H-A6, H-A7); 1,39-1,72 (m, 4H, H-A2, H-A3, H-A4, H-A7); 2,57 (s, 1H, H-A1); 3,53 (s, 1H, H-A1); 7,19 (t, $J = 14,3\text{ Hz}$, 1H, H-6); 7,34-7,24 (m, 5H, H-B2, H-B3, H-B4, H-B5, H-B6); 7,41 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$, 1H, H-8); 7,71 (m, 1H, H-7); 7,81 (d, $J = 7,7\text{ Hz}$, 1H, H-5).

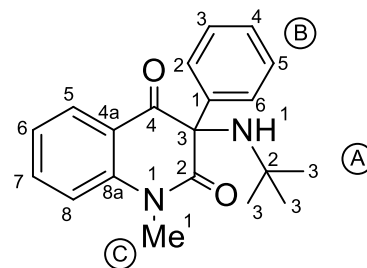


^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 24,9 (C-A); 25,4 (C-A); 29,25 (C-C1); 34,3 (C-A); 34,7 (C-A); 53,0 (C-A); 75,3 (C-3); 115,9 (C-8); 120,1 (C-4a); 123,2 (C-6); 126,6 (C-B2, C-B6); 127,6 (C-5); 128,4 (C-B4); 128,6 (C-B3, C-B5); 136,9 (C-7); 138,9 (C-B1); 142,2 (C-8a); 172,1 (C-2); 192,9 (C-4).

3-(*Terc*butylamino)-3-fenyl-1-metylchinolín-2,4(1*H*,3*H*)-dión **2e**

Žltá kryštalická látka; $t_f = 191\text{--}194\text{ }^\circ\text{C}$ (benzén + hexán); výtťažok 5 %, 11 %; $R_f = 0,35$ (38 % EtOAc v PE), $R_f = 0,18$ (10 % EtOAc v TOL).

^1H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 1,19 (s, 9H, H-A3); 4,50 (s, 3H, H-C1); 7,24 (t, $J = 7,4\text{ Hz}$, 1H, H-6); 7,33-7,39 (m, 5H, H-B2, H-B3, H-B4, H-B5, H-B6); 7,47 (d, $J = 8,4\text{ Hz}$, 1H, H-8); 7,66 (s, 1H, H-A1); 7,7 (m, 1H, H-7); 7,84 (d, $J = 12\text{ Hz}$, 1H, H-5).



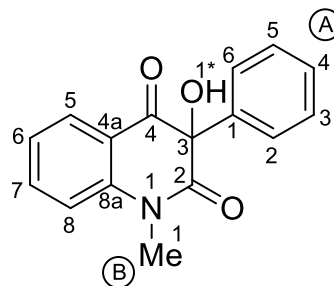
^{13}C NMR spektrum (DMSO, 101 MHz), ppm: δ 28,56 (C-A3); 29,98 (C-C1); 49,96 (C-A2); 80,7 (C-3); 116,21 (C-8); 119,43 (C-4a); 123,47 (C-6); 126,07 (C-B2, C-B6); 127,83 (C-5);

129,0 (C-B3, C-B5); 129,48 (C-B4); 136,98 (C-7); 142,49 (C-8a); 153,38 (C-B1); 168,69 (C-2); 190,17 (C-4).

3-Hydroxy-3-fenyl-1-methylchinolín-2,4(1*H*,3*H*)-dión 5

Bezfarebná kryštalická látka; $t_f = 160\text{--}163\text{ }^\circ\text{C}$ (benzén); výtťažok 76 %, 68 %; $R_f = 0,15$ (29 % EtOAc v PE), $R_f = 0,09$ (10 % EtOAc v TOL).

^1H NMR spektrum (DMSO, 400 MHz), ppm: δ 3,49 (s, 1H, H-B1); 6,45 (s, 1H, H-1*); 7,16-7,20 (m, 1H, H-6); 7,24-7,30 (m, 5H, H-A); 7,39 (d, $J = 8,3\text{ Hz}$, 1H, H-8); 7,68-7,70 (m, 1H, H-7); 7,72-7,75 (m, 1H, H-5).



5.2 Premeny východiskových látok 2 vedúce k benzodiazepíndiónom 3

Prešmyky 3-(alkylamino)-3-fenylchinolín-2,5(1*H*,3*H*)-diónov 2

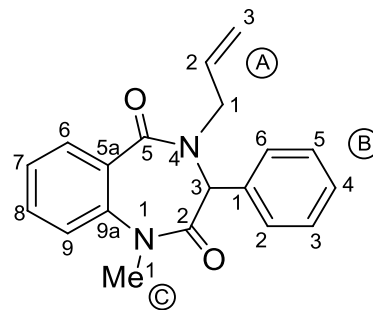
Do roztoku 3-(alkylamino)chinolín-2,4-diónov 2 (2 mmol) v etanole (20 ml) bol pri laboratórnej teplote počas 1 minúty po kvapkách pridávaný roztok TMG (4 mmol, 2 ekviv.) v 1,25 ml EtOH, čím pôvodné roztoky len viac zožltli. Získané roztoky boli ďalej počas časov uvedených v **Schéme 27** varené pod spätným chladičom. Po ochladení boli reakčné roztoky odparené na RVO, rozpustené v 20 ml EtOAc a extrahované 5% HCl ($5 \times 10\text{ ml}$). Organické podiely boli vysušené Na_2SO_4 , prefiltrované a odparené na RVO. Surové produkty boli následne rozpustené a kryštalizované z vhodného organického rozpúšťadla, EtOAc alebo benzén.

V prípade zlúčeniny 3e reakcia neprebiehala za stanoveného pomeru východiskovej látky a TMG, preto bol počas reakcie pridávaný ešte jeden ekvivalent TMG a celkový pomer tak činil 1:3.

4-(Allyl)-3-fenyl-1-metylbenzodiazepín-2,5-dión 3a

Biela kryštalická látka; $t_f = 148\text{--}151\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOAc); výtěžok 88 %; $R_f = 0,16$ (29 % EtOAc v PE), $R_f = 0,25$ (38 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 3,39 (s, 3H, H-C1); 4,37 (q, $J = 14,9$ Hz, 1H, H-A1); 4,52 (q, $J = 14,9$ Hz, 1H, H-A1); 5,25 (d, $J = 10,1$ Hz, 1H, H-A3); 5,35 (dd, $J = 17,2$; 1,1 Hz, 1H, H-A3); 5,53 (s, 1H, H-3); 5,91 – 6,01 (m, 1H, H-A2); 6,86 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, H-9, H-B2); 6,96 – 7,09 (m, 5H, H-7, H-B3, H-B4, H-B5, H-B6); 7,26 (m, 1H, H-8); 7,40 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-6).

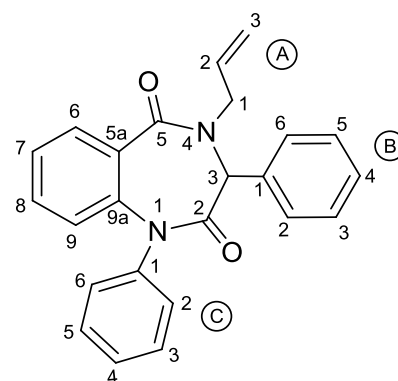


^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 35,19 (C-C1); 52,05 (C-A1); 66,06 (C-3); 118,85 (C-A3); 120,93 (C-7); 123,96 (C-B2,B6/B3,B5); 124,71 (C-9/B4); 127,08 (C-9/B4); 128,17 (C-B2,B6/B3,B5); 129,10 (C-B1); 129,61 (C-6); 131,67 (C-8); 132,54 (C-A2); 134,39 (C-5a); 139,18 (C-9a); 165,84 (C-5); 169,46 (C-2).

4-(Allyl)-3-fenyl-1-fenylbenzodiazepín-2,5-dión 3b

Svetložltá kryštalická látka; $t_f = 136\text{--}141\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOAc); výtěžok 43 %; $R_f = 0,27$ (29 % EtOAc v PE), $R_f = 0,49$ (38 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 4,45 (dd, $J = 14,9$ Hz; 5,7 Hz, 1H, H-A1); 4,57 (dd, $J = 14,9$ Hz; 6,0 Hz, 1H, H-A1); 5,23 (d, $J = 10,0$ Hz, 1H, H-A3); 5,36 (d, $J = 17,1$ Hz, 1H, H-A3); 5,66 (s, 1H, H-3); 5,93 – 6,03 (m, 1H, H-A2); 6,37 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H-9); 6,96 (dd, $J = 7,3$ Hz; 1,2 Hz, 1H, H-7); 7,05 – 7,17 (m, 6H, H-8, H-C2, H-C3, H-C4, H-C5, H-C6); 7,31 – 7,52 (m, 6H, H-6, H-B2, H-B3, H-B4, H-B5, H-B6).



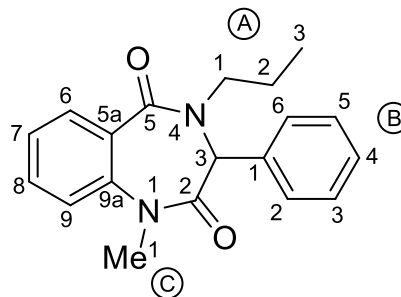
^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 52,24 (C-A1); 66,42 (C-3); 118,76 (C-A3); 123,46 (C-9); 123,97 (C-C2,C6/C3,C5); 125,03 (C-7); 127,25 (C-6/8); 127,74 (C-6/8);

128,36 (C-B2,B6/B3,B5); 128,48 (C-C2,C6/C3,C5); 129,47 (C-B2,B6/B3,B5); 129,83 (C-5a); 129,85 (C-C4/B4); 131,49 (C-C4/B4); 132,4 (C-A2); 134,16 (C-C1/B1); 138,76 (C-C1/B1); 140,71 (C-9a); 166,73 (C-5); 168,28 (C-2).

4-(Propyl)-3-fenyl-1-metylbenzodiazepín-2,5-dión **3c**

Tmavožltá kryštalická látka; $t_f = 123\text{--}127\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOAc); výtěžok 89 %; $R_f = 0,15$ (10 % EtOAc v TOL), $R_f = 0,33$ (38 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 0,91 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H, H-A3); 1,62 – 1,77 (m, 2H, H-A2); 3,39 (s, 3H, H-C1); 3,51 – 3,58 (m, 1H, H-A1); 3,97 – 4,04 (m, 1H, H-A1); 5,63 (s, 1H, H-3); 6,85 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, H-B); 6,94 – 7,09 (m, 5H, H-B, H-7, H-9); 7,24 (t, $J = 16$ Hz, 1H, H-8); 7,39 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-6).

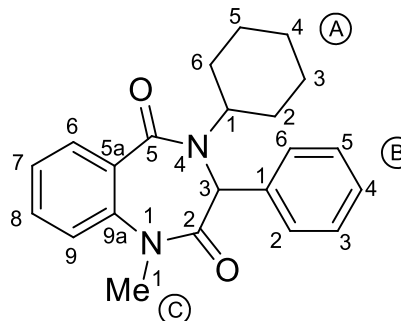


^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 11,01 (C-A3); 20,95 (C-A2); 35,12 (C-C1); 51,25 (C-A1); 66,43 (C-3); 120,86 (C-7), 123,87 (C-B2,B6/B3,B5); 124,66 (C-B4/9); 126,98 (C-B4/9); 128,16 (C-B2,B6/B3,B5); 129,49 (C-B1); 129,57 (C-6); 131,48 (C-8); 134,64 (C-9a); 139,11 (C-4a); 166,01 (C-5); 169,79 (C-2).

4-(Cyklohexyl)-3-fenyl-1-metylbenzodiazepín-2,5-dión **3d**

Bezfarebná kryštalická látka; $t_f = 190\text{--}193\text{ }^\circ\text{C}$ (EtOAc + hexán); výtěžok 44 %; $R_f = 0,24$ (29 % EtOAc v PE), $R_f = 0,34$ (38 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 1,11–1,87 (m, 10H, H-A2, H-A3, H-A4, H-A5, H-A6); 3,37 (s, 1H, H-C1); 4,73 – 4,81 (m, 1H, H-A1); 5,58 (s, 1H, H-3); 6,87 (m, 2H, H-9, H-7); 6,93 – 7,07 (m 5H, H-B); 7,21 (m, 1H, H-8); 7,39 (d, $J = 12$ Hz, 1H, H-6).



^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 24,56 (C-A); 25,21 (C-A); 25,34 (C-A); 29,07 (C-A); 30,40 (C-A); 35,00 (C-C1); 54,31 (C-A1); 61,10 (C-3); 120,65 (C-B4); 124,01

(C-B2,B6/B3,B5); 124,58 (C-7/9); 126,83 (C-7/9); 128,05 (C-B2,B6/B3,B5); 129,77 (C-6); 129,90 (C-B1); 131,37 (C-8); 134,96 (C-5a); 138,88 (C-9a); 165,73 (C-5); 170,23 (C-2).

5.3 Kontrakcia benzodiazepíndiónového kruhu 3 vedúca k tvorbe chinazolíndiónov 4

Syntéza 3-(alkyl)-1-metylchinazolín-2,4(1H, 3H)-diónov 4

K suspenzii 4-(alkyl)-3-fenylbenzodiazepín-2,5-diónov **3** (0,5 mmol) v 3,5 ml DMF (vždy 3,5-násobné množstvo látky, ktorá je v ňom rozpúšťaná) bol počas 1 minúty postupne prisypávaný NaH (1mmol, 2 ekviv.), čo spôsobilo zozelenanie roztokov. Získané farebné roztoky počas časov uvedených v **Schéme 28** reagovali pri laboratórnej teplote. Získané oranžové suspenzie boli následne naliate do ľadovej vody (100 ml). Získané vodné roztoky boli opakovane (7×20 ml) extrahované EtOAc. Organické podiely boli spojené, vysušené Na_2SO_4 a odparené na RVO. Surové produkty boli odložené na kryštalizáciu v benzéne.

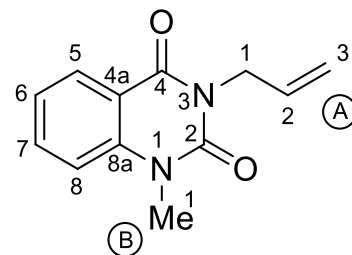
Pri výsledných zlúčeninách **4c** a **6** bol počas reakcie pridaný do reakčnej zmesi ešte 1 ekvivalent NaH a celkový pomer východiskovej látky a hydridu sodného bol teda 1:3.

K zlúčenine **3b** bol po 3 hodinách pridaný ekvivalent NaH, po troch dňoch priebehu reakcie bol pridaný ďalší ekvivalent a teplota bola zvýšená na 50 °C, nasledujúci deň bol pridaný ďalší a teplota zvýšená na 80 °C. Po jednom dni bola teplota stiahnutá späť na laboratórnu a bol pridaný posledný ekvivalent NaH a reakcia prebiehala ďalších 8 dní.

3-(Allyl)-1-metylchinazolín-2,4-(1H, 3H)-dión 4a

Bezfarebná kryštalická látka; $t_f = 136\text{--}140$ °C (EtOAc); výtťažok 31 %; $R_f = 0,27$ (29 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 3,60 (s, 1H, H-B1); 4,71 (t, $J = 2,9$ Hz, 2H, H-A1); 5,20 (q, $J = 12$ Hz, 1H, H-A3); 5,30 (q, $J = 20$ Hz, 1H, H-A3); 5,90 – 6,00 (m, 1H, H-A2); 7,19 – 7,28 (m, 2H, H-6, H-8); 7,68 (m, 1H, H-7); 8,23 (dd, $J = 7,8; 1,5$ Hz, 1H, H-5).

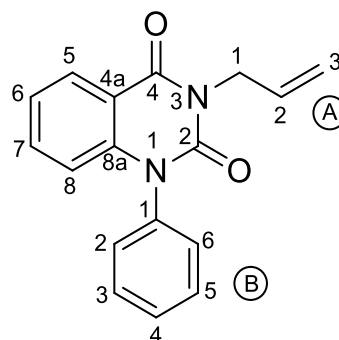


^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 30,83 (C-B1); 44,01 (C-A1); 113,63 (C-8); 115,70 (C-4a); 117,99 (C-A3); 123,07 (C-6); 129,12 (C-5); 132,09 (C-A2); 135,22 (C-7); 140,69 (C-8a); 150,92 (C-2); 161,58 (C-4).

Zlúčenina **4b**

Hnedá zrnitá viskózná zmes; $R_f = 0,09$ (20 % EtOAc v PE), $R_f = 0,16$ (15 % EtOAc v PE); $R_f = 0,09$ (10 % EtOAc v TOL).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 3,58-3,63 (m, 1H); 3,94-3,99 (m, 1H); 4,90 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H); 5,02 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H); 5,60-5,70 (m, 1H); 7,05 (s, 1H); 7,23-7,26 (m, 1H); 7,29-7,36 (m, 5H); 7,48-7,57 (m, 3H); 7,72 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H); 7,95 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).

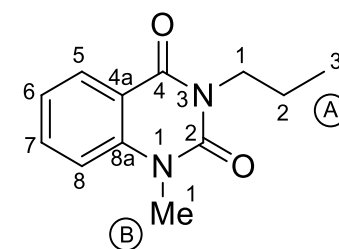


^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 41,2; 90,4; 116,1; 122,4; 122,7; 125,9; 128,0; 128,3; 128,5; 129,2; 130,4; 132,4; 132,8; 134,3; 140,0; 149,5; 166,3.

3-(Propyl)-1-metylchinazolín-2,4-(1H, 3H)-dión **4c**

Prekryštalizovaný bezfarebný olej; výťažok 8 %; $R_f = 0,47$ (15 % TOL v EtOAc); $R_f = 0,40$ (38 % EtOAc v PE); $R_f = 0,18$ (20 % EtOAc v PE); $R_f = 0,64$ (30 % TOL v EtOAc).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 0,99 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, H-A3); 1,68 – 1,78 (m, 1H, H-A2); 3,61 (s, 1H, H-B1); 4,05 – 4,08 (m, 1H, H-A1); 7,20 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H-8); 7,26 (t, $J = 16$ Hz, 1H, H-6); 7,68 (t, $J = 16$ Hz, 1H, H-7); 8,23 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-5).

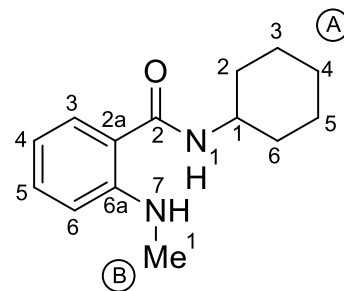


^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 11,49 (C-A3); 21,28 (C-A2); 30,80 (C-B1); 43,62 (C-A1); 113,56 (C-8); 115,80 (C-4a); 122,97 (C-6); 129,08 (C-5); 135,07 (C-7); 140,68 (C-8a); 151,18 (C-2); 161,90 (C-4).

***N*-Cyklohexyl-2-(metylamino)benzamid 6**

Prekryštalizovaný bezfarebný olej; výtťažok 28 %; $R_f = 0,56$
(38 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz), ppm: δ 1,13-1,24 (m, 3H, H-A5, H-A6, H-7); 1,35-1,46 (m, 1H, H-A4); 1,70-1,75 (m, 1H, H-A3); 1,96-2,00 (m, 1H, H-A2); 2,83 (s, 1H, H-B1); 3,84-3,93 (m, 1H, H-A1); 5,87 (s, 1H, H-1); 6,55 (t, $J = 8$ Hz, 1H, H-4); 6,63 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H-6); 7,30 – 7,52 (m, 2H, H-3, H-5).



^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz), ppm: δ 25,06 (C-3, C-5); 25,76 (C-A4); 29,80 (C-B1), 33,38 (C-A1); 111,18 (C-6); 114,56 (C-4); 115,89 (C-2a); 127,12 (C-3); 132,73 (C-5); 150,63 (C-6a); 169,17 (C-2).

ZÁVER

Ako bolo už mnohokrát spomínané, táto práca sa zaoberala štúdiom kontrakcie substituovaných BZD **3** a ich premenou na chinazolíndióny **4** prostredníctvom trojkrokovej syntetickej cesty. Táto syntéza bola iniciovaná predchádzajúcim výskumom, konkrétne nečakanou reakciou pozorovanou pri práci kolegyňou Ing. Rytinovou, kedy došlo k neočakávanej premene za vzniku chinazolíndiónu. Zámerom tejto práce bolo preskúmať, či takýto priebeh reakcie bol náhodný, alebo ide o potenciálne novú syntetickú metódu prípravy chinazolíndiónov.

Prvý krok syntézy, ktorý zahŕňal nukleofilnú aromatickú substitúciu 3-chlórchinolín-2,4-diónov **1** primárnymi amínmi, prebehol vo väčšine prípadov podľa očakávaní. Najlepšie výsledky boli dosiahnuté pri použití allylamínu, kde výťažky dosahovali až 85% v prípade metylového substituenta v polohe 1 **2a**, respektíve 84% v prípade fenylového substituenta v tejto polohe **2b**. Tieto vysoké výťažky a nekomplikovaný priebeh reakcie naznačujú, že prítomnosť fenylového alebo metylového substituenta v polohe 1 nemá výrazný vplyv na priebeh tejto konkrétnej substitučnej reakcie. Deriváty vznikajúce za použitia cyklohexylamínu a propylamínu **2c**, **2d** nevykazovali komplikovaný priebeh reakcie a boli získané vo výťažkoch 68 % a 38 % . Výrazne horšie výsledky boli pozorované pri použití objemnejších primárnych amínov, najmä *tert*-butylamínu **2e**, kde výťažok dosahoval len 5–11 % . Zaujímavým zistením bolo, že v tomto prípade vznikol vo vysokom výťažku (68–76 %) hydroxyderivát **5**, čo možno vysvetliť hydrolyzou východiskovej látky alebo produktu reakcie vodou obsiahnutou v použitom rozpúšťadle. Táto skutočnosť poukazuje na citlivosť reakčného systému na prítomnosť aj stopových množstiev vody v reakčnom prostredí a na to, že fenyl ako substituent v polohe 3 je objemný a preto je prístup vody omnoho jednoduchší ako prístup cyklohexylamínu na toto miesto. Úplne neúspešná bola reakcia s isopropylamínom, kde nebolo možné izolovať čistý produkt ani vedľajšie produkty. Tento neúspech pravdepodobne súvisí so zníženou nukleofilitou rozvetveného primárneho amínu a s jeho objemnosťou spôsobujúcou stericú prekážku pre nukleofilnú substitúciu.

Druhý krok syntézy poskytoval vo väčšine prípadov uspokojivé výťažky takmer pri všetkých syntetizovaných derivátoch, 43–89 %, pričom nižšie výťažky boli pozorované pri dvoch derivátoch **3b** a **3d**. Problematická však bola izomerizácia derivátu s *tert*-butylovým substituentom **2e**, ktorá neprebíhala ani pri zvýšenej teplote. Po pridaní

d'alšieho ekvivalentu TMG síce reakcia prebehla, avšak vzniklo veľké množstvo produktov, ktoré nebolo možné izolovať. Toto zistenie opäť potvrdzuje význam stérických efektov pri tejto izomerizačnej reakcii.

Kľúčovým krokom celej syntetickej cesty bola kontrakcia benzodiazepíndiónového kruhu na chinazolíndión. Táto reakcia vykazovala najväčšiu variabilitu v závislosti od použitého substituenta v priebehu reakcie a vo výťažkoch. V prípade 3-allyl-1-metylchinazolín-2,4-diónu (**4a**) bola reakcia úspešná vo výťažku 31 % a to potvrdilo, že pôvodná neočakávaná reakcia kolegyne Ing. Rytinovej nebola náhodná a že ide o reprodukovateľnú syntetickú metódu. Analogický derivát s fenylovým substituentom v polohe 1 **4b** sa však správal úplne odlišne. Napriek mnohým pokusom o optimalizáciu reakčných podmienok (zvýšenie množstva NaH, zvýšenie teploty, predĺženie reakčného času) sa nepodarilo pripraviť požadovaný chinazolíndión. Táto skutočnosť je prekvapujúca, keďže v predchádzajúcich krokoch fenylový substituent neovplyvňoval priebeh reakcií tak dramaticky. Jedným z možných vysvetlení je stérická zábrana spôsobená objemnosťou fenylového substituentu, ktorá sa prejavila až pri tejto reakcii a mohla spôsobiť preorientáciu reakcie na inú dráhu. Derivát s propylovým substituentom **4c** bol úspešne pripravený s výťažkom 8 %. Hoci tento výťažok bol veľmi nízky, množstvo látky bolo dostačujúce na potvrdenie jej štruktúry a úspešnosti reakcie podľa stanoveného plánu. Zaujímavý výsledok bol pozorovaný pri reakcii derivátu s cyklohexylovým substituentom **4d**, kde namiesto očakávaného chinazolíndiónu vznikol *N*-cyklohexyl-2-(metylamino)benzamid **6**. Tento produkt naznačuje, že počas reakcie došlo k otvoreniu kruhu.

Jednou z hlavných priorít je identifikácia zlúčeniny **4b**. Máme v pláne zistiť o akú látku sa jedná a či je to skutočne len jedna zlúčenina a mohlo by sa jednať o opäť ďalší produkt, ktorý by sa dal pripraviť kontrakciou BZD kruhu za daných podmienok.

Ako je vyššie viackrát spomínané, v poslednom kroku plánu syntézy (kontrakcia kruhu BZD) sa vo viacerých prípadoch k zmesi pridával po čase aspoň jeden ekvivalent bázy oproti stanovenému plánu. Preto by sme chceli optimalizovať podmienky, čo sa týka nielen pomeru bázy a východiskovej látky, ale aj druhu bázy ako takej. V pláne zatiaľ máme vyskúšať reakciu s DBU, prípadne DBN a DIPEA a zistiť, či slabšie bázy (v porovnaní s používaným NaH) nebudú vhodnejšie pre tento typ reakcie a nebudú tak získavané produkty vo vyšších výťažkoch, alebo vyššej čistote. Taktiež by sme chceli zistiť, či má zvýšená teplota vplyv

na túto reakciu a či pri nej nevznikajú iné produkty, ako plánované chinazolín-2,4-dióny 4. Tento fakt by mohol otvoriť ďalšie možnosti práce s touto reakciou a jej produktami.

Dalo by sa konštatovať, že výsledkom tejto práce je potvrdenie, že pôvodné pozorovanie tvorby chinazolíndiónov z benzodiazepíndiónov nebolo náhodné, ale ide o reprodukovateľnú syntetickú metódu, ktorej mechanizmus a rozsah použiteľnosti je možné ďalej študovať. Práca tiež poskytla poznatky o vplyve rôznych substituentov na priebeh jednotlivých krokov syntézy, čo môže byť užitočné pri plánovaní ďalších experimentov v tejto oblasti.

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

α -KG	α -ketoglutarátu
AA	aminokyselina
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome
Ar	aryl
AsqJ	enzým dioxigenáza
Be	benzén
[Bmim]Ac	1-butyl-3-metylimidazolium-acetát
Bn	benzyl
Bu	butyl
BZD	benzodiazepín
CaIPDE	enzým fosfodiesterázy
CNS	centrálna nervová sústava
Cy	cyklohexyl
DBA	dibenzylidénacetón
DCM	dichlórmétán
DIC	<i>N,N'</i> -diizopropylkarbodiimid
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropyletylamín
DMAP	4-dimetylamínopyridín
DMF	dimetylformamid
DMS	dimetylsulfoxid
DMSO	dimetylsulfoxid
EDC	1-etyl-3-[3-(dimetylamino)propyl]karbodiimid-hydrochlorid
ESI-MS	elektrosprejová ionizačná hmotnostná spektrometria
Et	etyl
EtOAc	etylacetát

FDA	Food and Drug Administration
Fmoc	9-fluorenylmetyloxykarbonyl
FRET	Förster Resonance Energy Transfer
GABA	kyselina gama-aminomaslová
GC-EI-MS	plynová chromatografia s elektronovou ionizáciou a hmotnostnou spektrometriou
HATU	<i>O</i> -(7-azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetrametyluronium hexafluorofosfát
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HOAt	1-hydroxy-7-azabenzotriazol
HRMS	vysokorozlišovacia hmotnostná spektrometria
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy
$h\nu$	svetelná energia
CHS	chitín syntáza
IC ₅₀	Inhibitory Concentration 50
IL-6	interleukín 6
Me	metyl
MESP	molekulový elektrostatický potenciál
NHE-1	sodíkovo-vodíkový výmenník
NMP	<i>N</i> -metyl-2-pyrolidón
NMR	nukleová magnetická rezonancia
OTBS	tert-butyldimetylsilyl éter
PE	petroléter
Ph	fenyl
Pr	propyl
RNA	ribonukleová kyselina
SiNPs	kremíkové nanočastice

TBS	tert-butyldimetylsilyl
TFA	trifluóroctová kyselina
THF	tetrahydrofurán
TK	tymindínkináza
TLC	tenkovrstvová chromatografie
TMG	1,1,3,3-tetrametylguanidín
TOL	toluén

ZOZNAM POUŽITÉJ LITERATURY

- ¹ PHARMACY AUTHOR:MEDICAL AND PHARMACY EDITOR: CHARLES PATRICK DAVIS, Md. *Barbiturates*. Online. MedicineNet. <https://www.medicinenet.com/barbiturates-oral/article.htm>.
- ² SALISBURY L, Baraitser L.; RYAN R, Hill S.; AMIN SM, Mohamed MAE; SHALVIRI G, Mohebbi N a PANDEY A, Jatana GK. *Bookshelf*. Online. NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559139/>.
- ³ JOSHUA D. NEUKOM, Alvin S. Aquino and John P. Wolfe. *Synthesis of Saturated 1,4-Benzodiazepines via Pd-Catalyzed Carboamination Reactions*. Online. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ol200429a>.
- ⁴ YADAV, Veena; YADAV, Nishant. Online. <https://www.scholarsresearchlibrary.com/articles/microwave-assisted-green-chemistry-approach-to-the-synthesis-of-some-novel-n1aminomethylsubstituted-14benzodiazepinederi.pdf>.
- ⁵ CONSTANTINE G. BOOJAMRA, Kristina M. Burow. *Solid-Phase Synthesis of 1,4-Benzodiazepine-2,5-diones. Library Preparation and Demonstration of Synthesis Generality*. Online. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jo9622845>.
- ⁶ FILIP KŘEMEN, Martin Gazvoda. *Synthesis of 1,4-Benzodiazepine-2,5-diones by Base Promoted Ring Expansion of 3-Aminoquinoline-2,4-diones*. Online. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.joc.6b01497>.
- ⁷ KANAME, Mamoru; TSUCHIYA, Takashi; SASHIDA, Haruki; KANAME, Mamoru; KANAME, Mamoru et al. *Thermal Ring Contraction of 3H-1,4-Benzodiazepines into Quinazolines*. Online. Wiley Online Library. <https://triggered.edinburgh.clockss.org/ServeContent?doi=10.3987/com-99-8639>.
- ⁸ EINSIEDLER, Manuel; GULDER, A. M. Tobias *Discovery of extended product structural space of the fungal dioxygenase AsqJ*. Online. Nature. <https://www.nature.com/articles/s41467-023-39111-2>.
- ⁹ DOUMBIA, M. L.; BALLO, D. et al. *SYNTHESIS OF NEW BENZIMIDAZOLE DERIVATIVES FROM 1,5-BENZODIAZEPINES THROUGH A NEW REARRANGEMENTS IN THE PRESENCE OF DMF-DMA AND HYDRAZINE HYDRATE*. Online. ResearchGate. https://www.researchgate.net/publication/367361037_SYNTHESIS_OF_NEW_BENZIMIDAZOLE_DERIVATIVES_FROM_15-BENZODIAZEPINES_THROUGH_A_NEW_REARRANGEMENTS_IN_THE_PRESENCE_OF_DMF-DMA_AND_HYDRAZINE_HYDRATE.
- ¹⁰ ABSTRACTIVE ALKALOIDS, four β -indoloquinazoline and one furoquinoline; J.J BROPHY, R.J Goldsack; J BUSCH, Y Grether; E DAGNE, A Yenesew; B DANIELI, G Palmisano et al. *Alkaloids and limonoids from Bouchardatia neurococca: systematic significance*. Online. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003194220300205X>.
- ¹¹ GHEIDARI, Davood; MEHRDAD, Morteza a MALEKI, Saloomeh. *The quinazoline-2,4(1H,3H)-diones skeleton: A key intermediate in drug synthesis*. Online. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 2022, roč. 27. ISSN 23525541. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100696>.
- ¹² JOHN A. LOWE, Robert L. Archer. *Structure-activity relationship of quinazolinone inhibitors of calcium-independent phosphodiesterase*. Online. https://pubs.acs.org/doi/epdf/10.1021/jm00106a024?ref=article_openPDF.
- ¹³ *Prazosin*. Online. <https://medlineplus.gov/druginfo/meds/a682245.html>.
- ¹⁴ WEIDINGER, G. *Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties and therapeutic use of bunazosin in hypertension. A review*. Online. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8929232/>.
- ¹⁵ *Doxazosin*. Online. Nhs.uk. <https://www.nhs.uk/medicines/doxazosin/>.

- ¹⁶ DIXON, Simon R. a SAFIAN, Robert D. The Year in Interventional Cardiology. Online. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013, roč. 61, č. 15, s. 1637-1652. ISSN 07351097. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.01.040>.
- ¹⁷ GURBEL, P.A.; BLIDEN, K.P.; ANTONINO, M.J.; STEPHENS, G.; GRETTLER, D.D. et al. The effect of elinogrel on high platelet reactivity during dual antiplatelet therapy and the relation to cyp 2c19*2 genotype: first experience in patients. Online. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2010, roč. 8, č. 1, s. 43-53. ISSN 15387836. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03648.x>.
- ¹⁸ TRICKLEBANK, Md. *Belaperidón (Knoll AG)*. Online. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16107943/>.
- ¹⁹ ABSTRACTWE STUDIED THE EFFECTS OF ZENARESTAT, an aldose reductase inhibitor (ARI); AI VINIK, FJ Liuzzi; YAGIHASHI, S; DA GREENE, AAF Sima; KH GABBAY, JJ Snider et al. *The effects of zenarestat, an aldose reductase inhibitor, on peripheral neuropathy in Zucker diabetic fatty rats*. Online. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049500751614>.
- ²⁰ YUN XIE, Andrew V. Dix and Yitzhak Tor. *FRET Enabled Real Time Detection of RNA-Small Molecule Binding*. Online. <https://pubs.acs.org/doi/epdf/10.1021/ja905767g>.
- ²¹ RIVERO, I. A.; ESPINOZA, K.; SOMANATHAN, R. *Syntheses of Quinazoline-2,4-dione Alkaloids and Analogues from Mexican Zanthoxylum Species*. Online. MDPI. <https://www.mdpi.com/1420-3049/9/7/609>.
- ²² FAROUK, Mahmoud; ALROKAYAN, Salman A.; IMRAN, Ahamad a ABU-SALAH, Khalid M. "One-pot synthesis and luminescent spectra of 3-allyl substituted quinazoline-2,4-dione derivatives as allyl capping agents" *Reference Detail | CAS SciFinder*. Online. CAS SciFinder. <https://scifinder-n.cas.org/searchDetail/reference/66d74f18b04d8757af94b057/referenceDetails>.
- ²³ ABSTRACTCYCLOADDITIONS OF N-SUBSTITUTED C-(DIETHOXYPHOSPHORYL)NITRONES TO N-ALLYLATED QUINAZOLINE-2, 4-diones functionalized at N3 with substituted benzoyl or benzyl groups proceeded with moderate to good diastereoselectivities (d.e. 28–68%). The synthesized isoxazolidine phosphonates were assessed for the antiviral activity against a broad range of DNA and RNA viruses. Compounds trans-13c; WELLER, T.H.; S.E. STRAUS, J.M. Ostrove; C. REITER, T. Frohlich; M. STIPKOVIC BABIC, D. Makuc et al. *Research paperSynthesis, anti-varicella-zoster virus and anti-cytomegalovirus activity of quinazoline-2,4-diones containing isoxazolidine and phosphonate substructures*. Online. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523416308649>.
- ²⁴ SPASOV, Alexander; OZEROV, Alexander; KOSOLAPOV, Vadim; GUROVA, Natalia; KUCHERYAVENKO, Aida et al. Guanidine Derivatives of Quinazoline-2,4(1H,3H)-Dione as NHE-1 Inhibitors and Anti-Inflammatory Agents. Online. *Life*. 2022, roč. 12, č. 10. ISSN 2075-1729. <https://doi.org/10.3390/life12101647>.
- ²⁵ ABSTRACTA SERIES OF (2-(1-METHYL-2, 4-dioxo-1; E.M. CARMONA, A.H. Limper; J. WEBSTER, R. Weber; K.M. PIANALTO, J.A. Alspaugh; M.K. KATHIRAVAN, A.B. Salake et al. *Research paperDesign, synthesis and biological evaluation of novel quinazoline-2,4-diones conjugated with different amino acids as potential chitin synthase inhibitors*. Online. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523418304057>.
- ²⁶ YOGESH P. PATIL, Pawan J. Tambade. *Publication loaded*. Online. <https://www.tandfonline.com/doi/epdf/10.1080/17518250802331181?needAccess=true>.
- ²⁷ WENJING, Lu; JUN, Ma; HU, Jiayin et al. *Efficient synthesis of quinazoline-2,4(1H,3H)-diones from CO2 using ionic liquids as a dual solvent–catalyst at atmospheric pressure*. Online. Green Chemistry (RSC Publishing). <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/gc/c3gc41467a>.
- ²⁸ MÁČALOVÁ, Zuzana. *Syntéza 4-(3-hydroxypropyl)-1H-benzo[e][1,4]diazepin-2,5-dionů a studium jejich přeměn*. Vedoucí Kimmel, Roman. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav chemie, 2019. <http://hdl.handle.net/10563/45536>.

²⁹ KAFKA, Stanislav; KLÁSEK, Antonín; POLIS, Jiří; KOŠMRLJ, Janez. *Syntheses of 3-aminoquinoline-2,4(1H,3H)-diones*. Online. <https://publikace.k.utb.cz/handle/10563/1000102>.

³⁰ ABSTRACTN-(A-KETOACYL)ANTHRANILIC ACIDS WERE PREPARED BY OXIDATIVE RING OPENING OF 3-HYDROXYQUINOLINE-2, 4(1h; Y.S. ANDREICHKOV, I.V. Krylova; F. LINGENS, B. Sproessler; E. AKBAS, M. Sonmez; P.F. WEGFAHRT, H. Rapoport et al. *Oxidative ring opening of 3-hydroxyquinoline-2,4(1H,3H)-diones into N-(α -ketoacyl)anthranilic acids*. Online. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402013016530>.

³¹ XIAOPENG, Zhang; SHUXIANG, DONG; XUELI, Niu et al. *Palladium-Catalyzed Ortho-Selective C–H Oxidative Carbonylation of N-Substituted Anilines with CO and Primary Amines for the Synthesis of Aminobenzamides*. Online. ACS Publications. <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.orglett.6b02255>