

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Katedra organické chemie



**Mgr. Ondřej Štěpánek**

Příprava biologicky aktivních látek s chinazolinovým skeletem

Synthesis of Biologically Active Compounds with Quinazoline Scaffold

Dizertační práce

Školitel: prof. RNDr. Martin Katora, CSc.

Praha 2015

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně pod vedením školitele prof. RNDr. Martina Kotory, CSc. a řádně ocitoval všechny použité prameny. Dále prohlašuji, že jsem tuto práci ani její část nepředložil k získání stejného nebo jiného akademického titulu.

V Praze dne

.....

Mgr. Ondřej Štěpánek

## Poděkování

Je mou milou povinností poděkovat všem, kteří přímo či nepřímo přispěli k tomu, že tato práce mohla vůbec vzniknout.

V první řadě patří můj dík mému školiteli, prof. RNDr. Martinu Kotorovi, CSc., neboť to byl právě on, kdo mi poskytl prvotní impuls pro další studium organické chemie. Vděčím mu za podporu a rady při práci samotné, za čas, který mi věnoval i přes všechny své další povinnosti, za nové zkušenosti a za zajímavý projekt s příležitostí poznávat i jiné aspekty chemie, než je práce v laboratoři.

Dále patří mé díky doc. RNDr. Janu Konvalinkovi, CSc., kterého lze, vzhledem k povaze projektu, s mírnou nadsázkou označit za mého druhého školitele. Rovněž děkuji ostatním kolegům z biochemie za plodnou spolupráci, za měření biochemických dat a jejich interpretaci. Jmenovitě děkuji RNDr. Milanu Kožíškovi, Ph.D. za ochotu a trpělivost při četných konzultacích.

Vřelý dík patří také všem, kteří se podíleli na charakterizaci připravených sloučenin: RNDr. Martinu Dračínskému, Ph.D. a RNDr. Lence Poštové Slavětínské, Ph.D. za měření a interpretaci NMR spekter, členům skupiny Hmotnostní spektrometrie a členům Analytické laboratoře.

Rovněž děkuji současným i minulým kolegům v laboratoři za příjemné pracovní prostředí a všem ostatním, kteří mi byli nápomocni při psaní této práce a bezpochyby velkou měrou přispěli k její vyšší kvalitě. Děkuji kolegům Ing. Aleši Macharovi, Ph.D., Ing. Kamilu Parkanovi, Ph.D. a Ing. Ondřeji Šimákovi, Ph.D. za konzultace a odborné rady stran chemie. Kolegům, spolužákům a přátelům Mgr. *et* Mgr. Pavle Perlíkové, Ph.D., Mgr. Tomáši Kubelkovi, Ph.D. a Mgr. Arně Kubelkové děkuji za korektury a konstruktivní kritiku.

Za finanční podporu děkuji 7. rámcovému programu pro výzkum a technologický rozvoj Evropské unie.

Převeliký dík nakonec patří mé rodině za podporu v průběhu studia a mojí přítelkyni a současně kolegyni Ing. Evě Prchalové za všechno, především za lásku, pochopení a toleranci.

## Abstrakt

Předkládaná dizertační práce byla vypracována v rámci výzkumu inhibitorů skládání kapsidy viru HIV-1. Bylo prokázáno, že 2,4-disubstituované deriváty chinazolinu tento proces dokážou inhibovat jak v rámci kompetitivního biochemického testu založeného na technologii AlphaScreen, tak i v tkáňových kulturách. Hlavním cílem práce byla příprava výše zmiňovaných chinazolinů, na základě hodnot  $IC_{50}$  získaných při biochemických testech následně navrhnout a připravit nové kandidáty s vyšší aktivitou, a také se pokusit zvýšit rozpustnost těchto jinak nedostatečně rozpustných sloučenin.

Takovéto disubstituované chinazoliny jsou poměrně dobře přístupné z komerčně dostupných derivátů kyseliny anthranilové, které jsou pomocí kondenzačních reakcí převedeny na příslušný chinazolin-4(3*H*)-on. V rámci této práce byly využívány dvě metody pro přípravu chinazolin-4(3*H*)-onů: reakce anthranilamidů s aromatickými acylchloridy poskytovaly 2-arylamidobenzamidy, jejichž následná cyklizace v bazickém prostředí vedla k derivátům 2-arylchinazolin-4(3*H*)-onu; reakce esterů kyseliny anthranilové s aromatickými nitrily, kterouž bylo možné požadovaný chinazolin-4(3*H*)-on získat v jednom reakčním kroku. Chlorace 2-arylchinazolin-4(3*H*)-onů pomocí  $POCl_3$  poté vedla k derivátům 2-aryl-4-chlorchinazolinu jakožto klíčovými intermediátům. Nukleofilní substituce těchto 4-chlor derivátů aromatickými i alifatickými aminy pak poskytovala kýmžené *N*-substituované-2-arylchinazolin-4-aminy. Nejběžnější metodou nukleofilní substituce byla kysele katalyzovaná reakce, kterou doplňovala reakce za bazických podmínek – vhodná zejména v případě nereaktivních stericky bráněných anilinů.

Výše popsanou metodikou byla připravena řada cílených knihoven *N*-substituovaných-2-arylchinazolin-4-aminů, jejichž schopnost inhibovat skládání virové kapsidy HIV-1 byla ověřována v biochemickém testu (AlphaScreen) a v některých případech i v tkáňových kulturách. Příprava látek, výtěžky reakcí, orientační hodnoty rozpustnosti a výsledky biochemických testů těchto sloučenin jsou diskutovány v rámci předkládané dizertační práce.

## Abstract

This thesis concludes my contribution to research of HIV-1 capsid assembly inhibitors. It has been shown that 2,4-disubstituted quinazoline derivatives are able to inhibit this process both, in competitive biochemical assay based on the AlphaScreen technology as well as in tissue cultures. The main objective of the work was to prepare the aforementioned quinazolines, to design and prepare new candidates with higher activity based on results of biochemical tests, and also to try to increase the solubility of otherwise poorly soluble compounds.

Disubstituted quinazolines are relatively easily accessible from the commercially available anthranilic acid derivatives. These are converted to the corresponding quinazolin-4(3*H*)-ones by the condensation reactions. In this work, two methods were used for the preparation of quinazolin-4(3*H*)-ones: reaction of acyl chlorides with aromatic anthranilamides provided 2-arylamidobenzamides whose subsequent cyclisation under basic conditions led to derivatives of 2-arylquinazolin-4(3*H*)-one; reaction of anthranilic acid esters with aromatic nitriles, which afforded desired quinazolin-4(3*H*)-one in one reaction step. Chlorination of 2-arylquinazolin-4(3*H*)-ones using POCl<sub>3</sub> then led to 2-aryl-4-chloroderivatives as key intermediates. Nucleophilic substitution of 4-chloroderivatives by aromatic and aliphatic amines then provided desired *N*-substituted-2-arylquinazolin-4-amines. The most common method of nucleophilic substitution was acid-catalyzed reaction. The complementary method was run under basic conditions – particularly suitable in the case of non-reactive sterically hindered anilines.

A number of focused libraries of *N*-substituted-2-arylquinazolin-4-amines were prepared by the methodology described above. Ability of these compounds to inhibit HIV-1 capsid assembly was tested in a biochemical assay (AlphaScreen) and some compounds were tested in tissue culture assays, too. Synthesis of the compounds, reaction yields, their approximate solubility and the results of biochemical tests of these compounds are discussed within the thesis.

# Obsah

<b>Obsah</b> .....	6
<b>Obecné poznámky k textu a číslování sloučenin</b> .....	8
<b>Seznam použitých zkratk a akronymů</b> .....	9
<b>Úvod</b> .....	12
<b>1. Současný stav studované problematiky</b> .....	14
1.1. HIV/AIDS – původ, historie, epidemiologie.....	14
1.2. Virus HIV – obecné informace, struktura a replikační cyklus .....	16
1.2.1. Skládání kapsidy HIV-1 .....	20
1.2.2. Vznik rezistence.....	21
1.3. Virus HIV – terapeutické možnosti .....	22
1.3.1. Inhibitory skládání kapsidy .....	26
1.4. Inhibitory skládání kapsidy z našeho pracoviště .....	27
1.5. Chinazolin a jeho deriváty (chinazoliny) .....	29
1.5.1. Chinazolin .....	30
1.5.2. Biologicky aktivní deriváty chinazolinu .....	31
1.6. Syntéza chinazolinů .....	35
1.6.1. Syntéza chinazolin-4(3 <i>H</i> )-onů.....	38
1.6.2. Příklady dalších syntéz chinazolinů.....	41
<b>2. Cíle dizertační práce</b> .....	44
<b>3. Metody biochemického testování připravených látek</b> .....	45
<b>4. Příprava <i>N</i>-substituovaných-2-arylchinazolin-4-aminů</b> .....	48
4.1. Příprava výchozích látek .....	49
4.1.1. Příprava 4-chlor-2-pyridinylchinazolinů 4a-4c .....	50
4.1.2. Příprava 4-chlorderivátů 13a, 13b, 20, 22, 25a, 25b, 28 a 31 substituovaných na benzenovém jádře .....	51
4.1.3. Příprava 2-aryl-4-chlorderivátů 35a, 35b, 38, 45 a 49.....	55
4.1.4. Příprava 4-chlorpyrimidinu 53.....	58
4.1.5. Příprava komerčně nedostupných anilinů 56, 59 a 60.....	59
4.2. Příprava finálních produktů – 4-substituovaných-2-aryldiazinů (chinazolinů, pyrimidinů) .....	60
4.2.1. Seznam anilinů a ostatních nukleofilů použitých pro substituce.....	61
4.2.2. „Nultá“ série <i>N</i> -aryl-2-(pyridinyl)chinazolin-4-aminů 61–68 .....	63
4.2.3. Série fotoafitních derivátů 66a, 66b a 68 .....	65
4.2.4. Série <i>N</i> -fluoraryl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů 72–88.....	67

4.2.5.	Série <i>N</i> -halogenaryl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů 89–95 .....	70
4.2.6.	Série 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů 96–105, substituovaných na benzenovém jádře.....	72
4.2.7.	Série substituovaných 2-arylchinazolin-4-aminů 106–124.....	76
4.2.8.	Série alifatických derivátů 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů 125–132.....	82
4.2.9.	Série 6-methyl- <i>N</i> -aryl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin-4-aminů 133–135 .....	84
<b>5.</b>	<b>Experimentální část</b> .....	<b>86</b>
<b>Závěr</b> .....		<b>149</b>
<b>Seznam použité literatury</b> .....		<b>151</b>

## Obecné poznámky k textu a číslování sloučenin

Existuje celá řada odborných termínů, které vycházejí z angličtiny a které jsou v běžné praxi používány ve své originální, či „počeštěné“ podobě. Obecně jsem se snažil pro všechny cizojazyčné termíny nalézt správný český výraz, nicméně v době angličtiny jakožto globálního vědeckého jazyka ponechávám v této práci i anglické originály. Některé odborné termíny jsou v textu použity ve formě zkratky vycházející z anglického názvu. Tyto zkratky a jejich české ekvivalenty jsou uvedeny v Seznamu zkratek a akronymů.

V rámci této práce byly použity dva způsoby číslování (označování) sloučenin zmiňovaných v jejím textu. Chemické sloučeniny zmiňované v kapitole 1 (Současný stav studované problematiky) jsou v textu označovány římskými číslicemi. Pro odlišení jsou od kapitoly 4 dále sloučeniny, které byly výchozími látkami či produkty chemických reakcí uskutečněných v rámci této práce, označovány arabskými číslicemi, případně doplněnými o malé písmeno. Komerčně dostupné aniliny a jiné aminy jsou souhrnně zobrazeny v tabulce na str. 60 a jsou označeny velkým písmenem A a za ním stojící arabskou číslicí. Některé běžné malé molekuly (např. alkylační činidla) nejsou označeny žádným číslem, v kterémžto případě je použit jejich úplný název.



## Seznam použitých zkratk a akronymů

AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome, syndrom získané imunitní nedostatečnosti
ART	Antiretroviral Therapy, antiretrovirová terapie
ATR	Attenuated Total Reflectance – technika infračervené spektroskopie
AZT	azidothymidin, 3'-azido-3'-deoxythymidin
BINAP	2,2'-Bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl
Bu	butyl
CA	kapsidový protein
CA-CTD	C-terminální doména kapsidového proteinu
CAI	Capsid Assembly Inhibitor, inhibitor skládání virové kapsidy
CDC	Centers for Disease Control and Prevention, Centrum pro kontrolu a prevenci chorob
CI	chemická ionizace
CTD	C-terminální doména
DBU	1,8-diazabicyklo[5.4.0]undec-7-en
DCM	dichlormethan
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMAP	4-dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
dTMP	2'-deoxythymidin monofosfát
dUMP	2'-deoxyuridin monofosfát
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor, receptor epidermálního růstového faktoru
EI	elektronová ionizace
Env	Envelope polyprotein, polyprotein obsahující obalové proteiny viru
ESI	ionizace elektrosprejem
Et	ethyl
FDA	Food and Drug Administration, Správa potravin a léčiv
Gag	Group Antigen polyprotein, polyprotein obsahující strukturní proteiny

	virové kapsidy
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy, vysoce aktivní antiretrovirová terapie
HBTU	<i>N,N,N',N'</i> -tetramethyl- <i>O</i> -(1 <i>H</i> -benztriazol-1-yl)uronium hexafluorofosforečnan
HeLa TZM-bl	upravená buněčná linie HeLa (buňky nádoru děložního hrdla), která exprimuje receptory CD4, CCR5 a CXCR4 pro vstup viru HIV do buňky, a současně geny luciferázy a $\beta$ -galaktosidázy pod transkripční kontrolou proteinu Tat z viru HIV-1
HIV	Human Immunodeficiency Virus, lidský virus imunitní nedostatečnosti
HRMS	hmotnostní spektroskopie s vysokým rozlišením
IC <sub>50</sub>	koncentrace látky potřebná k 50% inhibici sledovaného biologického procesu
IN	integráza
INI	Integrase Inhibitors, inhibitory integrázy
IR	infračervená spektroskopie
kat.	katalyzátor, katalytické množství
konc.	koncentrovaný roztok (zpravidla kyselin)
MDR	Multiple Drug Resistance, rezistence vůči více typům léčiv
Me	methyl
MES	2-( <i>N</i> -morfolino)ethansulfonová kyselina, využívaná jako pufr
mRNA	mediátorová RNA
Ms	methansulfonyl
MS	hmotnostní spektrometrie
MT-4	buněčná linie lymfocytické leukemie izolovaná z pacienta infikovaného genem HTLV-1 (lidský lymfotropický virus) umožňující replikaci HIV
MW	mikrovlnné záření
NC	nukleokapsidový protein
Nef	negativní regulační faktor
NMR	nukleární magnetická rezonance, spektroskopie
NNRTI	Non-nucleoside Reverse-transcriptase Inhibitors, nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy
NRTI	Nucleoside Reverse-transcriptase Inhibitors, nukleosidové inhibitory

	reverzní transkriptázy
nt	netestováno
NTD	N-terminální doména
P388	lymfocytární leukémie
P6	protein o hmotnosti 6 kDa
PBS	fosfátový pufr
Pol	Polymeraze polyprotein, polyprotein obsahující replikační enzymy viru
PR	proteáza
Rev	regulátor virionu
RNA	ribonukleová kyselina
ROESY	Rotating-Frame Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy, technika NMR spektroskopie
RT	reverzní transkriptáza
RVO	rotační vakuová odparka
SIV	Simian Immunodeficiency Virus, virus imunitní nedostatečnosti primátů
ssRNA	Single-stranded RNA, jednovláknová RNA
SU	povrchový protein
Tat	transaktivátor transkripce
THF	tetrahydrofuran
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
TM	transmembránový protein
TOF	Time of Flight, typ detektoru v hmotnostní spektrometrii
T <sub>t</sub>	teplota tání
ÚOCHB AV ČR	Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky
UV	ultrafialové záření
Vif	virový faktor infekivity
Vpr	virový protein r
Vpu	virový protein u

## Úvod

Pandemické onemocnění AIDS (syndrom získaného selhání imunity) se postupně začalo rozšiřovat v průběhu sedmdesátých let, avšak rozpoznáno bylo až začátkem let osmdesátých;<sup>1</sup> jako původce tohoto onemocnění byl v roce 1983 označen virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV).<sup>2</sup> Od té doby se virem celosvětově nakazilo téměř 75 milionů lidí, z nichž zhruba polovina nemoci podlehla. Ačkoliv odhadovaná roční míra úmrtnosti spojená s onemocněním HIV/AIDS poklesla z maxima 2.5 milionu obětí v roce 2009 na přibližně 2.1 milionu za rok 2013, stále se jedná o rozšířené onemocnění se značným počtem obětí, hlavně v méně vyspělých zemích, a přibližně s 35 miliony nakažených celosvětově.<sup>3</sup>

Prvním preparátem pro léčbu AIDS byl nukleosidový analog Zidovudine (AZT, azidothymidin), schválený a zavedený do klinické praxe již v roce 1987.<sup>4</sup> Toto retrovirostatikum se řadí společně s některými novějšími látkami (Lamivudine, Tenofovir, Efavirenz,...) do skupiny inhibitorů enzymu reverzní transkriptázy. Použití zmiňovaných preparátů v terapii onemocnění HIV/AIDS vedlo k prodloužení života pacientů a bývá souhrnně označováno anglickou zkratkou ART (Antiretroviral Therapy). Vzhledem k podstatě viru byl však častým problémem vznik rezistentních kmenů,<sup>5</sup> a ani použití kombinace více druhů inhibitorů reverzní transkriptázy nebylo schopno dlouhodobě virus potlačit, což nakonec vedlo k úmrtí pacientů.

Řady chemoterapeutik účinných proti viru HIV se posléze rozrostly též o inhibitory dalších enzymů (integráza a proteáza) a neenzymové inhibitory některých procesů v životním cyklu viru (vstup do buňky). Ačkoliv i na tyto typy látek mohou vznikat rezistence,<sup>6</sup> léčbou pomocí různé kombinace výše zmiňovaných retrovirostatik lze dosáhnout nejen prodloužení života, ale též výrazného snížení mortality pacientů. Pro takovýto typ terapie se pro odlišení od dřívějších postupů vžilo označení HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy).

Přes ohromující úspěchy těchto chemoterapeutik je tu stále nebezpečí vzniku vícenásobně rezistentních virových kmenů, přičemž toto riziko je patrné především v zemích s nižším životním standardem.<sup>7</sup>

Na základě uvedených faktů je zřejmé, že ačkoliv došlo k dalekosáhlému pokroku v léčbě HIV/AIDS, neustále je tu potřeba rozšiřování zbrojního arzenálu pro boj s touto úpornou chorobou, zvláště pak o látky s jiným mechanismem účinku, které by mohly pomoci omezit riziko vzniku rezistencí. Jedním z možných procesů probíhajících ve viru, jehož

ovlivnění či porušení má za následek nemožnost vzniku aktivního patogenu, je výstavba kapsidy – proteinového obalu okolo genetické informace viru.<sup>8</sup>

V této úvodní části není prostor pro detailnější popis problematiky, kterého se čtenáři dostane dále v textu. Zmínil bych pouze, že inhibice výstavby kapsidy je realizována pomocí molekul, které se určitým způsobem vážou na kapsidový protein, čímž znemožňují jeho skládání v celou kapsidu. V jádru se výzkum ubírá dvěma směry – poměrně častější jsou práce zabývající se inhibitory, které se váží na *N*-konci kapsidového proteinu.<sup>9</sup> O něco novější je výzkum pojednávající o inhibici výstavby kapsidy zprostředkované vazbou na *C*-konci kapsidového proteinu, přičemž první z látek s tímto typem účinku byl peptidový dodekamer, pro který se vžilo označení CAI (z anglického Capsid Assembly Inhibitor).<sup>9,10</sup> Výzkum na tomto poli se posléze rozrostl do široké mezinárodní multidisciplinární spolupráce pod hlavičkou a financováním Evropské unie. Součástí projektu byla i snaha o nalezení malých organických molekul, které by měly vhodnější farmakologické vlastnosti než zmiňovaný peptid.

Součástí této široké spolupráce je i předkládaná dizertační práce, která si kladla za cíl přípravu látek označovaných jako inhibitory skládání kapsidy (Capsid Assembly Inhibitors), tedy právě takových molekul, které by znemožňovaly výstavbu kapsidy viru HIV-1. Zpětnou vazbou, potřebnou nejen pro rozhodování o směru modifikace molekul, byla biochemická data získaná od našich kolegů z biochemie.

# 1. Současný stav studované problematiky

## 1.1. HIV/AIDS – původ, historie, epidemiologie

V počátcích pandemie onemocnění HIV/AIDS, vzhledem k poměrně dlouhé inkubační době a bezpříznakové době neléčeného onemocnění, jej bylo obtížné odhalit a diagnostikovat. Hlavním vnějším projevem pozdějších fází onemocnění AIDS jsou tzv. oportunistické infekce, pro které HIV otevírá cestu potlačením imunitního systému nakaženého. Až ve chvíli, kdy se podařilo dát do souvislosti toto potlačení imunity s novým typem choroby, bylo možné začít mluvit o onemocnění AIDS a poté bylo možné odhalit i viníka, totiž HIV. Ve všeobecnou známost onemocnění HIV/AIDS vešlo v osmdesátých letech, odkud a jak k jeho rozšíření došlo, bylo však záhadou. Od té doby proběhlo na téma původu HIV velké množství výzkumů,<sup>11</sup> díky kterým máme dnes již celkem ucelený obraz o původu viru. Pro přehlednost jsem sestavil chronologický exkurz do zajímavé rané historie tohoto onemocnění.

HIV/AIDS spadá do skupiny tzv. zoonóz, tedy nemocí přenesených na člověka ze zvířat, v tomto případě primátů střední a západní Afriky. Více než 40 druhů těchto primátů je hostitelem pro druhově specifické SIV infekce, k jejichž přenosu na člověka pravděpodobně docházelo v průběhu lovu, chovu a obchodu s těmito primáty.<sup>12</sup> Navzájem nezávislé přenosy různých typů SIV vedly ke vzniku dvou základních typů viru – HIV-1 a HIV-2, přičemž u každého z virů existuje několik kmenů.<sup>11</sup>

Podle článku z nedávné doby<sup>13</sup> lze na základě statistické evoluční analýzy DNA sekvencí vzorků viru z centrální Afriky vystopovat původ kmene HIV-1 pandemické skupiny M do období mezi lety 1907–1930 v okolí Kinshasy, hlavního města dnešní Demokratické republiky Kongo. Jeho praotcem je virus SIV postihující primáty. K příležitostnému přenosu SIV na člověka (zoonóza) zřejmě docházelo už dávno před tím, avšak až s rozsáhlými sociologicko-demografickými změnami v průběhu 20. století se mohla nahodit mutace při mezidruhovém přenosu vymanit ze své endemické podstaty, rozšířit se po celé planetě a rozvinout se do formy nového pandemického onemocnění.<sup>13</sup>

První doložitelný případ člověka nakaženého HIV-1 lze dohledat v roce 1959 v Kinshase, kdy se nákazu podařilo prokázat pomocí pozdější analýzy uchovaných vzorků krve muže z kmene Bantu.<sup>14</sup> Obdobně byla prokázána nákaza HIV-1 ze zachovaného vzorku biopsie lymfatických uzlin ženy z Kinshasy z roku 1960.<sup>15</sup>

Pravděpodobně ještě před rozšířením hlavní, pandemické větve onemocnění (HIV-1 typ M) existovalo i několik izolovaných případů nákazy. V roce 1969 zemřel v Saint Louis Robert Rayford, mladík v jehož krevních vzorcích byl později identifikován virus velmi blízký, nebo identický s HIV-1.<sup>16</sup> Taktéž v roce 1969, devět let po jeho pobytu v Kamerunu, se objevily příznaky nemoci u norského námořníka Arvida Darre Noe. V roce 1975 umírá jeho žena i dcera a o rok později on sám. Jak bylo později zjištěno z odebraných vzorků tkání, jednalo se o první úmrtí spojená s onemocněním AIDS v Evropě (způsobená HIV-1 typ O).<sup>17</sup> <sup>18</sup> K těmto prvotním obětem pre-pandemické éry onemocnění je možné zařadit též případ dánské lékařky Grethe Rask, která se virem nakazila nejspíše kolem roku 1964 v Zairu. Do styku s virem přišla pravděpodobně prostřednictvím krve svých pacientů při chirurgických zákrocích v primitivních podmínkách.<sup>19</sup>

K onomu rozsáhlému rozšíření mimo Afriku však došlo počátkem šedesátých let přes Haiti, kam byl virus (HIV-1 pandemický typ M) zavlečen neznámým jedincem (jedinci) z Konga,<sup>20</sup> protože právě tam v té době mnoho dělníků z Haiti cestovalo za prací. Na přelomu 60. a 70. let, opět prostřednictvím neznámého jedince, se virus přenesl z Haiti do USA – většinu případů onemocnění AIDS mimo subsaharskou Afriku je možné vysledovat zpět k tomuto jedinému neznámému pacientovi.<sup>20</sup> Od počátku 80. let lze hovořit o epidemii AIDS na Haiti, které, v přepočtu na hlavu, až do dneška zůstává touto nemocí nejvíce postiženou oblastí na Zemi.<sup>21</sup>

Díky kombinaci značné promiskuity<sup>22</sup> a vysokého rizika přenosu při nechráněném análním styku,<sup>23</sup> se začal virus na přelomu 70. a 80. let šířit především v gay komunitách ve velkých městech USA.<sup>24</sup> V tomto ohledu za povšimnutí stojí zvláště případ Gaëtana Dugase, kanadského letového asistenta, který značně napomohl rychlému šíření nemoci po severní Americe<sup>25</sup> a býval též označován jako „pacient 0“, což bylo ovšem později vyvráceno.<sup>26a</sup> Virus se také značně rozšířil mezi osobami užívajícími drogy intravenózním způsobem, kde je rizikovým faktorem zejména sdílení jehel a injekčních stříkaček.<sup>26b</sup>

Vzhledem k rostoucímu počtu nakažených, kteří vykazovali podobné symptomy neznámé nemoci, začala si na začátku 80. let oficiální místa nového zdravotního problému všimnout a s veškerou vážností se jím zabývat. V roce 1981 americká instituce CDC (Centers for Disease Control and Prevention) poprvé informovala o vzácné plicní infekci u pěti, dříve zdravých, mladých mužů z gay komunity.<sup>24a</sup> Jednalo se o první oficiální zprávu o nemoci, která později vešla ve známost jako epidemie AIDS. Téhož roku si nového onemocnění začala všimnout i veřejná média<sup>27</sup> a byl zaznamenán první případ onemocnění ve velké Británii.<sup>28</sup> V roce 1982 CDC odhaduje, že nemoci mohly být vystaveny již desítky tisíc osob

a o půl roku později byl poprvé oficiálně použit termín AIDS.<sup>29</sup> Taktéž byly zaznamenány první případy onemocnění v Itálii, Brazílii a pravděpodobně též v Kanadě a Austrálii.<sup>30</sup> V květnu roku 1983 tým profesora Montagniera z Pasteurova institutu publikoval článek<sup>2</sup> zabývající se objevem retroviru, který napadá T-lymfocyty. Tento retrovirus byl označen za původce onemocnění AIDS a později byl pojmenován jako virus lidské imunitní nedostatečnosti (anglicky HIV – Human Immunodeficiency Virus).

Od 80. let se díky osvětě značně rozšířilo povědomí široké veřejnosti o této nemoci. Nemá tedy velký význam rozepisovat se zde o faktech, jež jsou všeobecně známá, nebo velice snadno dohledatelná. Proto na tomto místě svůj krátký exkurz do historie HIV/AIDS ukončím.

## 1.2. Virus HIV – obecné informace, struktura a replikační cyklus

O HIV/AIDS bylo již napsáno nepřehledné množství odborných publikací, souhrnných článků a je mu věnován i odborný časopis (časopis AIDS, vydavatelství Lippincott Williams & Wilkins), kde je zaznamenáno více než 30 let pokroku na poli výzkumu, vývoje, klinického testování atd. Není cílem ani v možnostech autora na stránkách této práce zacházet do podrobností týkajících se retrovirů. Základní informace týkající se virologie, včetně odkazů na primární literaturu, jsou dostupné v publikacích (např.<sup>31, 32</sup>) na toto téma zaměřených, a proto podám pouze stručné shrnutí základních faktů týkajících se viru, se zvláštním přihlédnutím k procesům, zmiňovaným v dalším textu této práce.

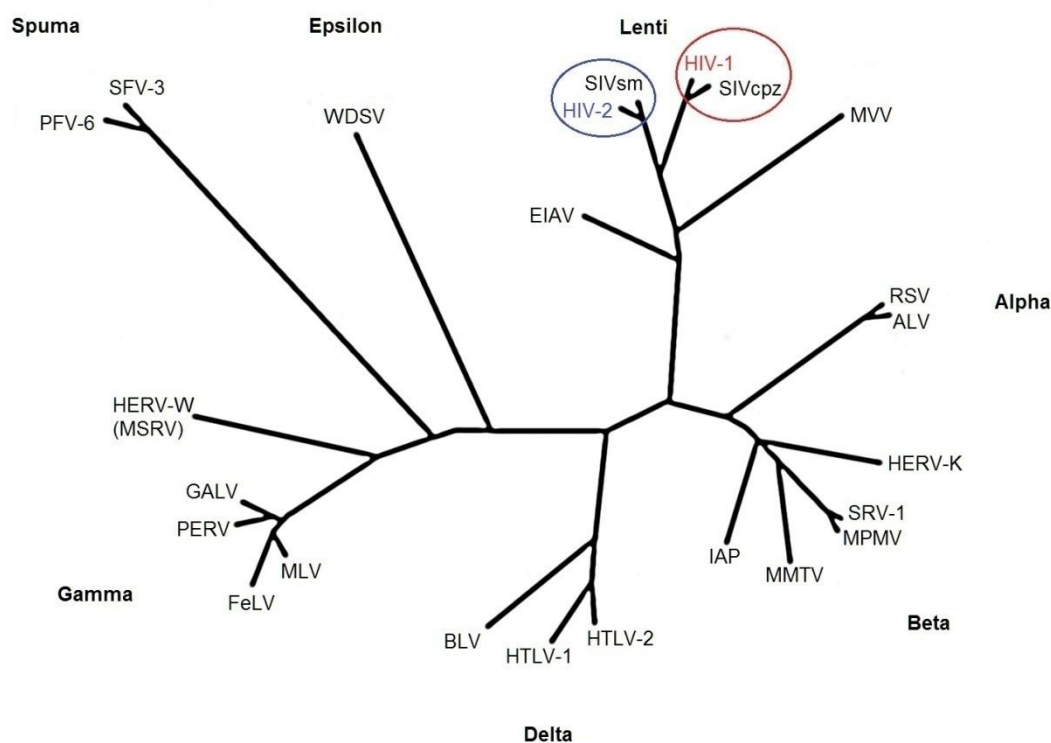
Virus HIV spadá do skupiny VI – ssRNA virů s reverzní transkriptázou, čeledi *retroviridae*, rodu *lentivirů*. Jak název napovídá (lat. *lente* = pomalu, *lenti* = apatický), jsou lentiviry odpovědné za dlouhodobá onemocnění s dlouhou inkubační dobou (původně známá především u ovcí, koní a dobytka) a jejich cílem jsou krvinky.<sup>32, 33</sup> Rozdělení čeledi retrovirů je znázorněno na obr. 1,<sup>31</sup> z kterého je též patrný rozdílný genetický původ virů HIV-1 a HIV-2. Tento rozdíl tedy v podstatě reprezentuje dvě oddělené epidemie s odlišnými počátky. Virus HIV-2 byl na člověka přenesen z mangabeje bělokrkého, vykazuje nižší virulenci a infektivitu<sup>34</sup> a jeho výskyt mimo Afriku není běžný. HIV-1 má vyšší virulenci i infektivitu a dělí se do tří skupin – M (Main), N (New), O (Outer) – reprezentujících tři různé zoonotické přenosy z šimpanzů. Za celosvětovou pandemii AIDS je pak zodpovědný především HIV-1 kmene M.<sup>31, 32</sup>



Obr. 1. Rozdělení retrovirů a jejich fylogenetický strom. Převzato a upraveno.<sup>31</sup>

Genus	Example	Virion morphology <sup>a</sup>	Genome
1. Alpha-retroviruses	<i>Rous sarcoma virus</i> <i>Avian leukosis virus</i>	Central spherical core; C-type	Simple
2. Beta-retroviruses	<i>Murine mammary tumour virus</i> <i>Simian retrovirus type I</i>	Eccentric spherical core; B-type Central spherical core; D-type	Simple
3. Gamma-retroviruses	<i>Murine leukaemia virus</i>	Central spherical core; C-type	Simple
4. Delta-retroviruses	<i>Human T cell leukaemia virus</i>	Central spherical core	Complex
5. Epsilon-retroviruses	<i>Fish dermal sarcoma virus</i>	Central spherical core; C-type	Simple
6. Lentiviruses	<i>Human immunodeficiency virus</i>	Cone-shaped core	Complex
7. Spumaviruses	<i>Primate foamy virus</i>	Central spherical core; pronounced envelope spikes	Complex

<sup>a</sup>Beta-retroviruses and spumaviruses have condensed cores visible in the cytoplasm of infected cells, whereas in the other retroviruses the cores condense as crescent-shaped bodies during maturation and budding at the cell membrane



Genom HIV-1 viru obsahuje 9 genů, které kódují celkem 15 proteinů ve dvou kopiích jednovláknové RNA s pozitivní polaritou. Virová RNA je těsně vázána na proteiny nukleokapsidy (NC) a je uložena v kónickém jádře (kapsidě), které se skládá z  $\approx 2\,500$  kopií kapsidového proteinu (CA). Uvnitř virové matrix se dále nachází enzymy – reverzní transkriptáza (RT), integráza (IN), proteáza (PR) – které jsou zodpovědné za tvorbu stavebních prvků nového viru a pomocné proteiny (Vpu, Vif, Vpr, P6, Nef, Rev, Tat), ovlivňující další molekulárně biologické procesy nezbytné k tvorbě nové virové částice. Celek je navíc chráněn virovým obalem, tvořeným vnitřní vrstvou z matrixového proteinu (MA) a vnější fosfolipidovou dvojvrstvou, pocházející z membrány hostitelské buňky. Na povrchu

viru se nachází komplexní obálkový protein tvořený třemi molekulami glykoproteinu SU a třemi molekulami TM.<sup>31, 32, 35</sup> Grafické znázornění struktury viru je na obr. 2, převzatém z Protein Data Bank.<sup>36</sup>

Obr. 2. Struktura viru HIV. Převzato a upraveno.<sup>36</sup>

### Viral Enzymes

**RT:** Reverse transcriptase builds a DNA copy of the viral RNA genome, which is then used to build new viruses. This structure captures the enzyme as it is building a DNA strand (red) from the viral RNA (yellow). It will then destroy the RNA and build a second DNA strand. Many of the drugs currently used to fight HIV infection block the action of reverse transcriptase. PDB entry **1hys**.

**IN:** Integrase takes the DNA copy of the viral genome and inserts it into the infected cellular genome. In this way, HIV can lie dormant in cells for decades, making it incredibly difficult to fight. Anti-HIV drugs that block integrase have been developed. PDB entry **1ex4**.

**PR:** HIV protease is essential for the maturation of HIV particles. The proteins in HIV are built as long polyproteins, which then must be cleaved into the proper functional pieces by HIV protease. Protease inhibitors are widely used as anti-HIV drugs, often in combination with drugs that block reverse transcriptase and integrase. PDB entry **1hpr**.

### Structural Proteins

**MA:** Matrix protein forms a coat on the inner surface of the viral membrane. It plays a central role when new viruses bud from the surface of infected cells. This protein assembles into trimers, which then associate side-by-side on the membrane. PDB entry **1hiw**.

**CA:** Capsid protein forms a cone-shaped coat around the viral RNA, delivering it into the cell during infection. It forms stable hexamers, which then assemble like tiles to form geodesic capsids. PDB entry **3h47**.

### Accessory Proteins

**Vpu** (viral protein u) helps the virus escape the cell during budding by weakening the interaction of the new envelope proteins with cell receptors. It also forms an ion channel in the viral membrane. PDB entries **1pi7** and **1vpu**.

**Vif** (viral infectivity factor) attacks one of the cell's defense proteins, which forces the cell to destroy it. Only a small portion of Vif (green) is shown in this structure, bound to proteins from the infected cell (purple). PDB entry **3deg**.

**Vpr** (viral protein r) guides the viral genome into the nucleus following infection. PDB entry **1exx**.

**P6** is involved in the incorporation of Vpr into new viruses. It is largely unstructured and there is currently no structure for it in the PDB.

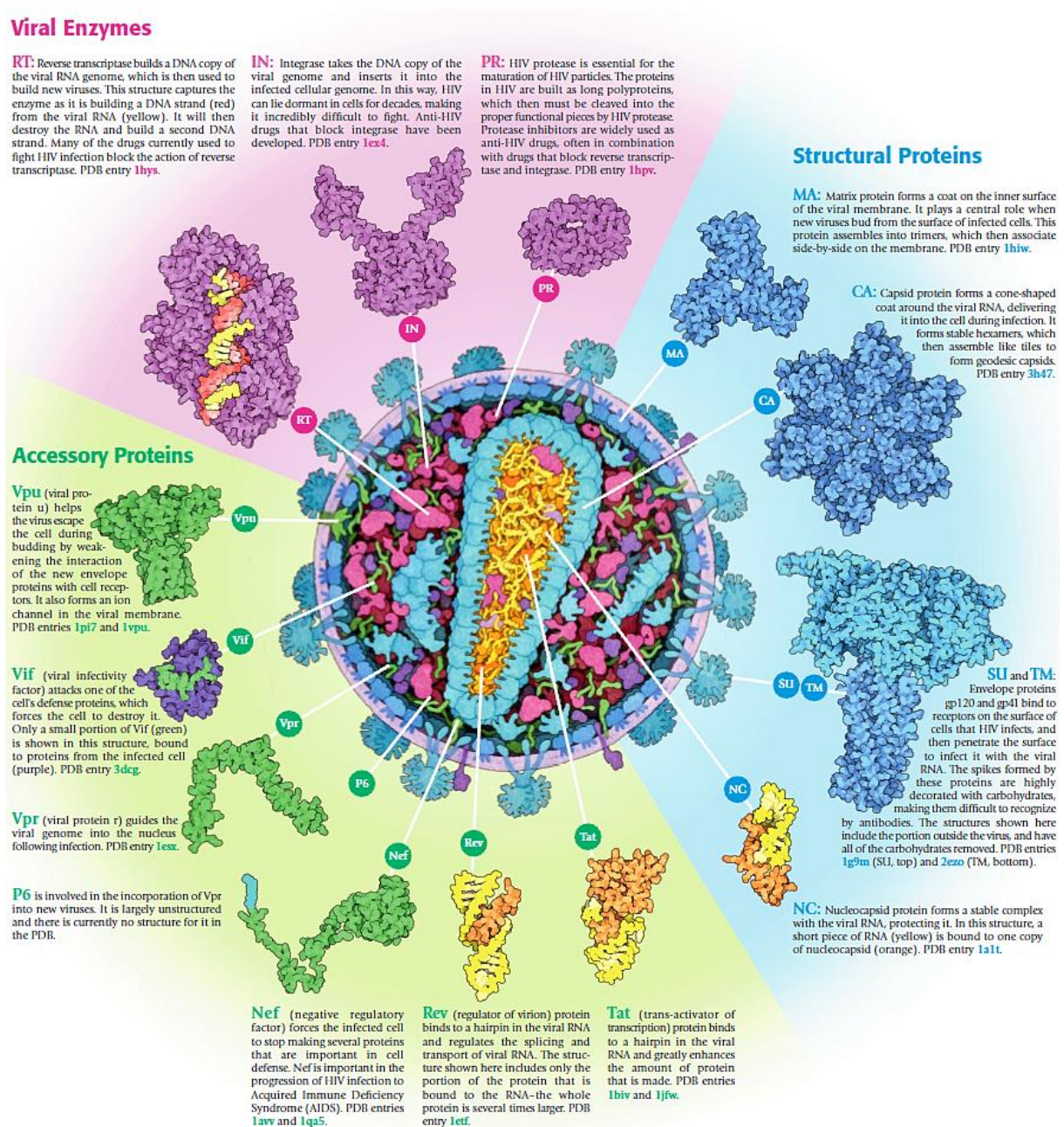
**Nef** (negative regulatory factor) forces the infected cell to stop making several proteins that are important in cell defense. Nef is important in the progression of HIV infection to Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). PDB entries **1awv** and **1qas**.

**Rev** (regulator of virion) protein binds to a hairpin in the viral RNA and regulates the splicing and transport of viral RNA. The structure shown here includes only the portion of the protein that is bound to the RNA—the whole protein is several times larger. PDB entry **1etf**.

**Tat** (trans-activator of transcription) protein binds to a hairpin in the viral RNA and greatly enhances the amount of protein that is made. PDB entries **1biv** and **1jfw**.

**SU and TM:** Envelope proteins gp120 and gp41 bind to receptors on the surface of cells that HIV infects, and then penetrate the surface to infect it with the viral RNA. The spikes formed by these proteins are highly decorated with carbohydrates, making them difficult to recognize by antibodies. The structures shown here include the portion outside the virus, and have all of the carbohydrates removed. PDB entries **1g9m** (SU, top) and **2ezn** (TM, bottom).

**NC:** Nucleocapsid protein forms a stable complex with the viral RNA, protecting it. In this structure, a short piece of RNA (yellow) is bound to one copy of nucleocapsid (orange). PDB entry **1ait**.



Jednotlivé kroky v životním cyklu HIV jsou obdobné jako u ostatních retrovirů a lze je shrnout takto:<sup>32a</sup>

- a) vazba na receptor a splynutí s buněčnou membránou,
- b) internalizace a uvolnění (uncoating) RNA z kapsidy,
- c) reverzní transkripce RNA genomu do dvouvláknové lineární DNA,
- d) vstup virové DNA do buněčného jádra,
- e) integrace lineární DNA do buněčné DNA a tvorba proviru,
- f) tvorba virových RNA transkripcí proviru,
- g) sestřih (splicing) a export RNA z jádra,
- h) translace RNA a tvorba proteinových prekurzorů,
- i) skládání, výstavba (assembly) virionu a zabalení virového RNA genomu,
- j) pučení (budding) a uvolnění virionu,
- k) proteolytické zpracování proteinových prekurzorů a maturace virionů.

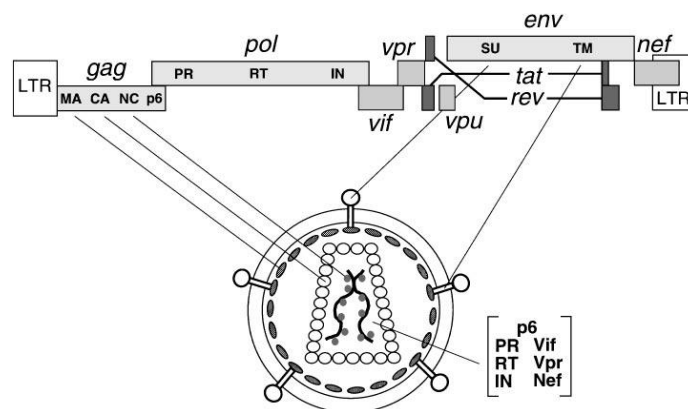
Virem jsou napadány buňky s CD-4 glykoproteinovým markerem – především T-lymfocyty. CD-4 je však přítomen i na povrchu monocytů, makrofágů a dendritických buněk, které tedy mohou být též hostiteli viru. Z hlediska onemocnění AIDS jsou však nejdůležitějším cílem viru právě T-lymfocyty, jejichž úbytek je zodpovědný za deficit imunity organismu. Nejprve dojde k adsorbci obálkového proteinu SU, který je v podstatě antigen k CD-4 receptorům hostitelské buňky. Jejich vzájemná vazba způsobuje konformační změnu proteinu SU a následně jeho vazbu na chemokinový koreceptor (CCR5, nebo CXCR4) umožňující splynutí virového obalu s buněčnou stěnou.<sup>32, 37, 38</sup>

Po vstupu do hostitelské buňky je genetická informace viru uvolněna z kapsidy a přepsána z jednovláknové RNA do dvouvláknové DNA pomocí reverzní transkriptázy. Ve formě pre-integračního komplexu je DNA transportována do jádra buňky a pomocí integrázy je začleněna do chromozomální DNA. Dále dochází k transkripci DNA do mRNA a jejímu exportu do cytoplazmy, kde na ribozomu dochází k její translaci na prekurzory Env, Gag a Pol strukturálních proteinů a ostatní proteiny (obr. 3). Jednotlivé proteiny jsou nezávislými cestami transportovány k buněčné membráně, kde dochází k tvorbě nového virionu, který následně opouští hostitelskou buňku.<sup>32, 35, 39</sup>

Posledním stádiem vývoje viru je tzv. maturace, která probíhá již mimo hostitelskou buňku. Z dlouhých řetězců polyproteinů (Gag, Pol, Env), které obsahují stavební prvky pro další kopie viru, jsou pomocí proteázy získány příslušné proteiny,<sup>32</sup> jak je znázorněno na

obr. 3.<sup>35</sup> Tyto proteiny jsou již samotné stavební prvky jednotlivých částí viru. Z hlediska této práce nás dále bude zajímat hlavně skládání kapsidy z CA proteinu, kterážto problematika bude podrobněji popsána v následující kapitole 1.2.1.

Obr. 3. Vztah struktury virového genomu a virové částice. Převzato a upraveno.<sup>35</sup>



### 1.2.1. Skládání kapsidy HIV-1

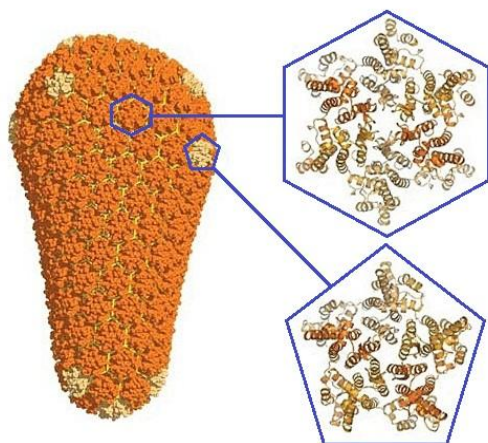
Skládání či výstavba kapsidy – proteinového obalu uvnitř matrix, který obklopuje virovou nukleokapsidu (komplex složený z RNA, NC proteinu a virových enzymů) – je jedním z posledních kroků v životním cyklu viru HIV. Na vzniku a stabilitě kapsidy je přímo závislá infektivita viru. Ačkoliv po mechanistické stránce nejsou všechny procesy ještě dokonale prozkoumány, je známo, že kapsida hraje esenciální roli v raných stádiích replikace HIV-1. Například mutace, které znemožňují skládání (assembly), způsobují sníženou stabilitu, nebo naopak hyperstabilitu kapsidy, vedou k inhibici reverzní transkripce.<sup>40</sup> To je jeden z důvodů, proč se tomuto tématu věnovalo značné množství pozornosti.

Kapsida má tvar kónického fullerenu, který se skládá přibližně z 2 500 kopií kapsidového proteinu CA, tvořícího hexagonální síť. Aby se takovýto útvar mohl uzavřít, vyžaduje jeho struktura navíc 12 pentagonálních defektů – pět na užším a sedm na širším konci<sup>41</sup> (obr. 4).

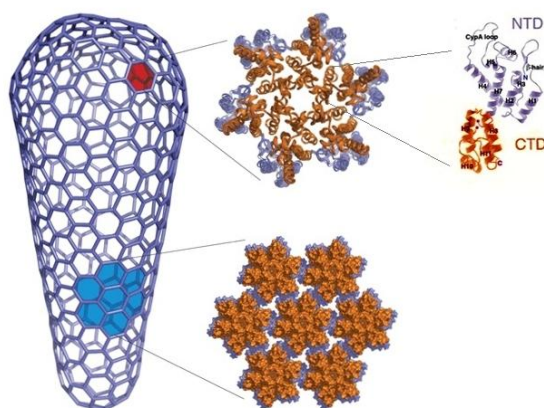
Vznik kapsidy je řízen především slabou protein-proteinovou interakcí a pro její výstavbu (rovněž i pro skládání jednotlivých hexamerních podjednotek) je důležitá vzájemná interakce kvalitativně odlišných částí CA proteinu, které jsou označovány jako C-terminální doména (CTD) a N-terminální doména (NTD). Tvorba jednotlivých podjednotek (hexamerů) je umožněna prostřednictvím symetrické interakce NTD šesti CA proteinů. Stabilitu těchto

hexamerů navíc posiluje interakce NTD – CTD. Každý hexamer tak sestává z vnitřního kruhu šesti NTD a vnějšího kruhu šesti CTD. Homodimerizace CTD tvořících vnější kruhy hexamerů pak umožňuje tvorbu hexagonální mřížky a vznik celé kapsidy<sup>42, 43, 44</sup> (obr. 5).

Obr. 4. Molekulový model struktury kapsidy s hexamery CA proteinu znázorněnými oranžově a pentamery znázorněnými žlutě. Převzato a upraveno.<sup>41</sup>



Obr. 5. Vztah struktury CA proteinu, jeho hexameru a celé virové kapsidy. Převzato a upraveno.<sup>43, 44</sup>



Ve světle výše zmíněných informací se skládání kapsidy jeví jako vhodný cíl pro antivirotika, neboť je závislé na opakovaných slabých protein-proteinových interakcích a pro znatelné potlačení infekivity by měla být dostatečná inhibice byt' jen části těchto interakcí. Ačkoliv dosud neexistuje žádné schválené léčivo, které by za cíl mělo inhibici skládání kapsidy, proběhla v průběhu let na toto téma řada výzkumů.

### 1.2.2. Vznik rezistence

I přesto, že dnes existuje široká paleta látek, které proti HIV-1 účinkují odlišným mechanismem v různých fázích jeho replikace, stále je tu riziko vzniku virových kmenů s rezistencí vůči více typům těchto virostatik. Vznik těchto tzv. MDR kmenů (z angl. Multiple Drug Resistant Strains) je spjat s funkcí a vlastnostmi reverzní transkriptázy a jde v podstatě o geneticky evoluční proces, který má viru umožnit přežití a replikaci i za nepříznivých podmínek, např. v případě razantní medikamentózní léčby.<sup>45</sup>

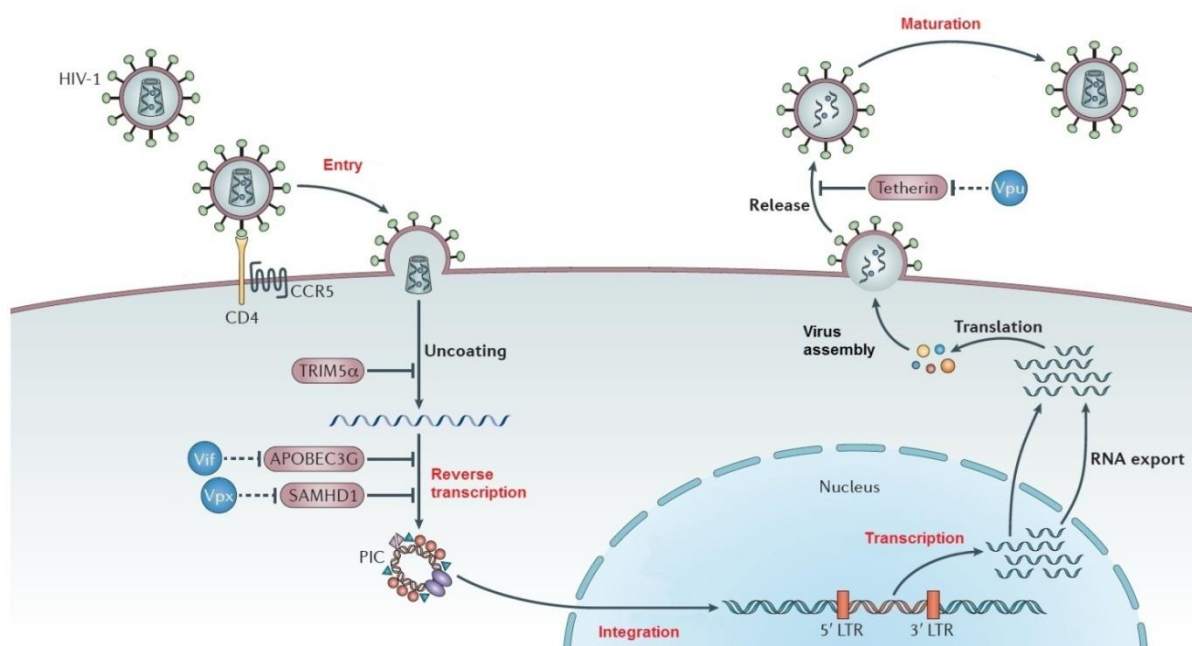
Reverzní transkriptáza je enzym, který přepisuje genetickou informaci viru z RNA do DNA, přičemž v tomto procesu dochází k častým chybám. V kombinaci s vysokým počtem replikačních cyklů HIV-1 za jednotku času dochází k rychlému vzniku geneticky komplexní populace viru.<sup>46</sup> Kromě reverzní transkriptázy mohou být do genetické informace vneseny chyby i polymerázou hostitelské buňky. Všechny tyto mutace jsou náhodné a většina z nich je pro virus škodlivá. HIV-1 je však překvapivě odolný a může si zachovat svou aktivitu i přesto, že v jeho genomu došlo k několika mutacím. Každý z takto vzniklých mutantů se dále replikuje, vytváří nové varianty a vzniká geneticky heterogenní populace HIV-1 v infikovaném jedinci.<sup>45</sup> Tato rozsáhlá genetická diverzita v rámci jednoho pacienta je také jedním z charakteristických rysů HIV-1.<sup>47</sup>

Je tedy patrné, že poptávka po nových typech retrovirostatik je stále aktuální. Zvláště žádané jsou látky, které by nebyly příliš – nejlépe vůbec – náchylné ke vzniku rezistence.

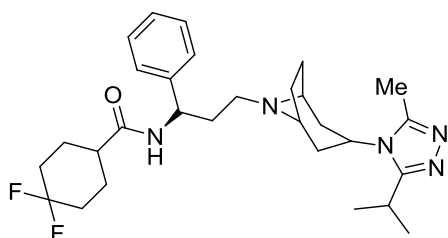
### **1.3. Virus HIV – terapeutické možnosti**

Ačkoliv existuje k dnešnímu dni již 25 různých preparátů (nepočítáme-li kombinovaná farmaka), které jsou u americké FDA (Food and Drug Administration) schváleny pro léčbu HIV/AIDS,<sup>48</sup> jedná se stále o nevyлéčitelnou, potenciálně smrtelnou nemoc. Životní cyklus viru poskytuje řadu příležitostí pro terapeutický zásah, avšak zdaleka ne všechny byly dostatečně prozkoumány. Samozřejmě, s postupem času a narůstajícím množstvím poznatků o struktuře viru a jeho replikačním cyklu, získali vědci informace, metodiku a nástroje potřebné k vývoji farmak – specifických inhibitorů virové replikace. I přes nepopiratelný masivní pokrok stále probíhá výzkum obdobných látek, ale též látek s odlišným mechanismem účinku<sup>49, 50, 51, 52</sup> (obr. 6<sup>39</sup>). Větší variabilita v molekulárním mechanismu retrovirostatik umožňuje jejich kombinací dosáhnout vyšší účinnosti, snížení možnosti vzniku rezistencí, popřípadě eliminaci některých nežádoucích účinků. Léčiva již využívaná, ale i ta, nad kterými se stále bádá, jsem rozdělil do několika skupin podle místa a mechanismu účinku.<sup>39, 49, 50, 51, 52</sup>

Obr. 6. Schematické znázornění replikačního cyklu viru. Červeně jsou popsány procesy v současné době zkoumané nebo již využívané jako cíle pro retrovirostatickou léčbu. Převzato a upraveno.<sup>39</sup>



a) **Entry inhibitory** (EI, inhibitory vstupu do buňky). Jde o látky s odlišnými způsoby účinku, které však ve finále mají za následek, že se virus vůbec nedostane do hostitelské buňky. V současné době je terapeuticky využíván CCR5 antagonist maraviroc **I**, který se váže do hydrofobní kapsy CCR5 koreceptoru, čímž mění jeho konformaci a zabraňuje tak jeho interakci s virovým proteinem SU. Dále je k dispozici peptidový inhibitor enfuvirtide **II**, který ovlivňuje strukturu virového proteinu TM, jeho interakci s koreceptorem, a tedy biochemické pochody nutné pro vstup viru do buňky.<sup>49</sup> Pracuje se též na vývoji látek, které by inhibovaly interakci CD4 receptoru a viru.<sup>50</sup>

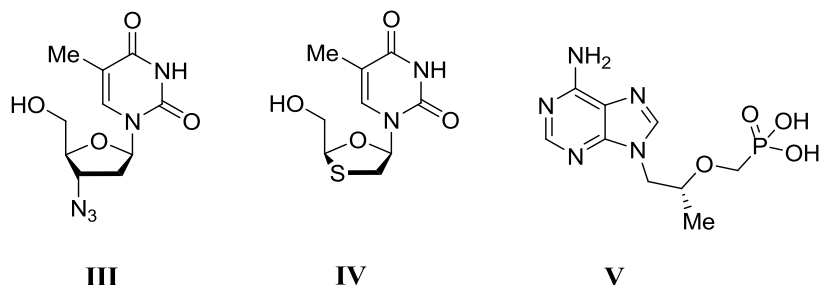


**I**

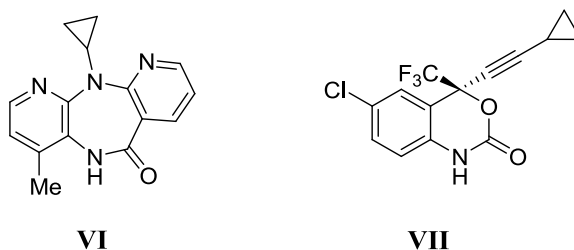
CH<sub>3</sub>CO-Tyr-Thr-Ser-Leu-Ile-His-Ser-Leu-Ile-  
Glu-Glu-Ser-Gln-Asn-Gln-Gln-Glu-Lys-Asn-  
Glu-Gln-Glu-Leu-Leu-Glu-Leu-Asp-Lys-Trp-  
Ala-Ser-Leu-Trp-Asn-Trp-Phe-NH<sub>2</sub>

**II**

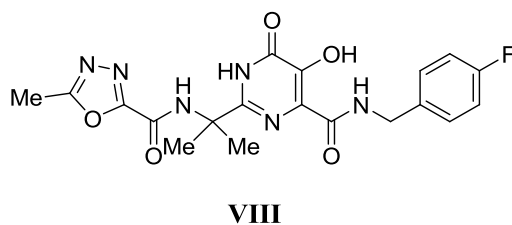
b) **Inhibitory reverzní transkriptázy.** Do této skupiny se řadí nejstarší a nejpočetnější léčiva – nukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NRTI). Jde vlastně o antimetabolity, analoga přirozených nukleosidových substrátů, které brání vzniku virové DNA. Jako typické zástupce lze uvést zidovudine **III**, lamivudine **IV** a tenofovir **V**.



O něco později vešly na scénu nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptázy (NNRTI), které se vážou do hydrofobní kapsy mimo aktivní místo enzymu, alostericky mění jeho konformaci, a snižují tak jeho aktivitu. Patří sem např. nevirapine **VI**, efavirenz **VII**.<sup>49</sup>



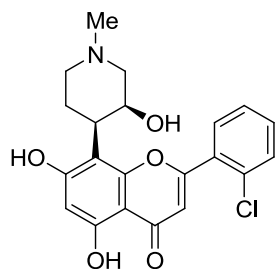
c) **Inhibitory integrázy (INI).** Mají velmi specifický způsob účinku, kdy interagují s kofaktorem – hořečnatým iontem – enzymu a zároveň interagují hydrofobní interakcí s virovou DNA, a brání tak vazbě pre-integračního komplexu na buněčnou DNA. Příkladem je raltegravir **VIII**.<sup>49</sup>



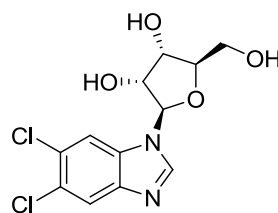
d) **Inhibitory transkripce.** Jedná se o nepříliš prozkoumanou skupinu látek, které zatím nejsou používány v terapeutické praxi. Zprostředkovaně inhibují syntézu mRNA tím, že inhibicí RNA polymerázy II způsobují předčasnou terminaci transkripce. Do této skupiny lze



zařadit např. flavopiridol **IX** a sloučeninu **X** (označována jako DRB), které ovšem vykazovaly nízkou účinnost a toxicitu.<sup>51</sup>

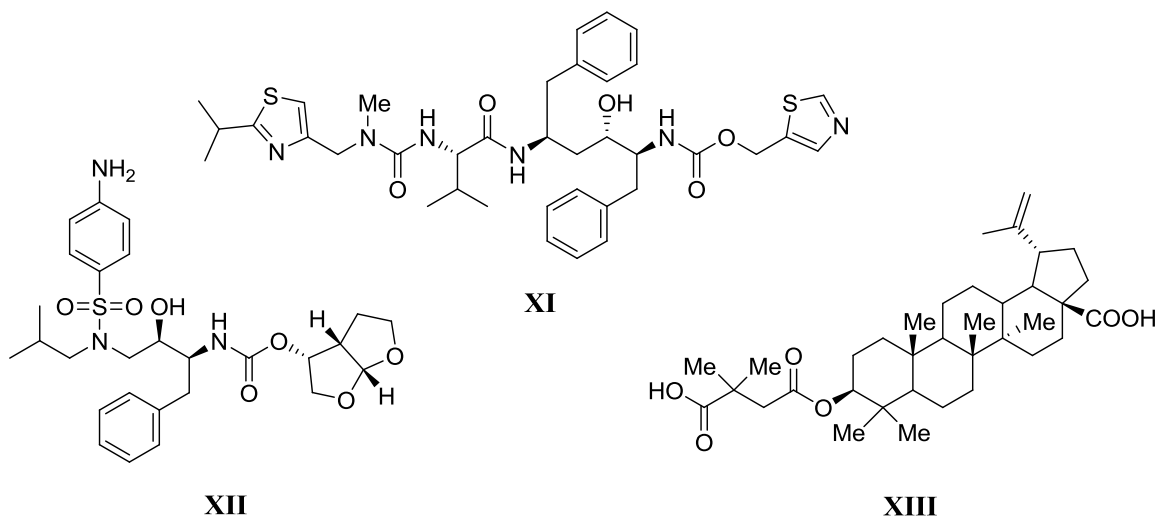


**IX**



**X**

e) **Inhibitory maturace.** Maturace je proces zrání (dospívání) viru a je komplexní povahy. Část procesu, který lze úspěšně inhibovat, je proteolytické štěpení polypeptidových prekurzorů. V klinické praxi se využívají inhibitory proteázy (PI), které jsou poměrně rozsáhlá a relativně nová skupina látek. Jako příklad lze uvést ritonavir **XI** a darunavir **XII**.<sup>49</sup> Obdobný účinek, i když s poněkud odlišným mechanismem, vykazoval preparát bevirimat **XIII**.<sup>52</sup> Tento derivát kyseliny betulinové se dostal do IIb fáze klinického testování, ale pak byl vývoj pozastaven.<sup>53</sup>



**XII**

**XIII**

Další ze zkoumaných dějů, jehož inhibice vede k nehotové neefekční virové částici, je skládání kapsidy a látky této inhibice schopné se označují jako CAI (Capsid Assembly Inhibitors). Jelikož je to hlavní téma této práce, budu mu věnovat samostatný oddíl.

### 1.3.1. Inhibitory skládání kapsidy

Struktura CA proteinů různých virů je v jistých ohledech velmi podobná a zároveň odlišná od struktury bílkovin buněčného metabolismu, což již v roce 1988 vedlo autora článku<sup>54</sup> k myšlence využití CA proteinu (nejen) HIV-1 jako vhodného cíle pro antivirotika. Tato myšlenka byla koneckonců již dříve aplikována na některé picornaviry<sup>55</sup> a později též na virus hepatitidy B.<sup>56</sup>

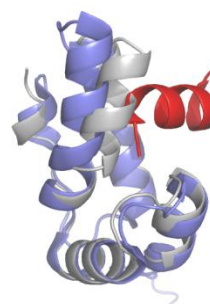
Bylo identifikováno několik malých organických molekul, které *in vitro* inhibovaly skládání HIV-1 kapsidy vazbou na NTD CA proteinu, která vedla k jeho konformační změně. Jeden z raných příkladů je CAP-1 inhibitor, který se váže do hydrofobní oblasti CA proteinu.<sup>57</sup> Další látky, které se vážou do stejného místa NTD CA proteinu strukturně vychází z acylhydrazonů a thiomocoviny,<sup>58</sup> avšak vykazují jen slabé virostatické aktivity.

Pomocí rozsáhlého testování s vysokou propustností (high-throughput assay) byly identifikovány další inhibitory skládání kapsidy mezi benzodiazepiny a benzimidazoly.<sup>59</sup> Látky z této strukturně rozmanité série se vážaly do podobného místa NTD CA proteinu jako CAP-1 a vykazovaly značnou antivirotickou aktivitu ( $EC_{50} < 100$  nM) vůči HIV-1. Nedávno byly identifikovány ještě další sloučeniny ze skupiny benzimidazolů s mírně odlišným vazebným místem.<sup>60</sup>

Další aktivní sloučenina – PF-3450074 – se váže do odlišné kapsy NTD CA proteinu, navíc beze změny jeho konformace. Replikaci viru inhibuje v rané fázi, kdy destabilizuje strukturu kapsidy, a spouští tak předčasné uvolnění RNA z kapsidy.<sup>61</sup> Opačný a poněkud překvapivý účinek vykazují některé pyrrolopyrazolony, které inhibují replikaci stabilizací kapsidy, čímž naopak brání uvolnění RNA.<sup>62</sup>

Zatímco všechny výše zmíněné látky inhibují virovou replikaci skrze vazbu na NTD CA proteinu, možnosti obdobné inhibice prostřednictvím vazby na CTD byly doposud prozkoumány spíše sporadicky. Doposud byl popsán pouze dodekamerní peptid, označovaný jako CAI, který svou vazbou na CTD, ještě před uvolněním z Gag polypeptidu, inhiboval assembly *in vitro*.<sup>10</sup> Po dalším studiu se podařilo získat rentgenovou strukturu komplexu CA-CTD/CAI (obr. 6)<sup>63</sup> a také určit aminokyseliny účastnící se interakce.<sup>64</sup>

Obr. 6. Krystalová struktura CA-CTD (modře) v komplexu s CAI (červeně), proložená strukturou CA-CTD bez ligandu (šedě). Vazba CAI vede k alosterické destabilizaci dimerizačního rozhraní, čímž zabraňuje výstavbě kapsidy (assembly). Převzato a upraveno.<sup>63</sup>



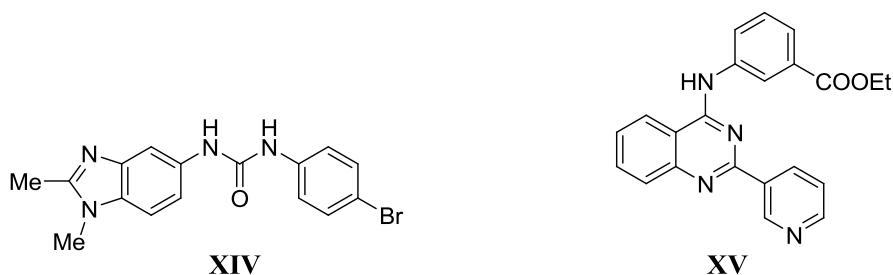
Peptidy však mají několik inherentních nevýhod, které činí jejich využití jako orálně dostupného léčiva poměrně problematické. Obvykle se snadno hydrolyzují, což značně snižuje jejich poločas života, a také zpravidla mají nízkou biodostupnost. V souladu s těmito poznatky nebyla v tkáňových kulturách pozorována žádná inhibice produkce HIV-1, a proto CAI nemůže být použit jako antivirotikum.<sup>10</sup>

#### 1.4. Inhibitory skládání kapsidy z našeho pracoviště

Ačkoliv výzkum okolo CAI peptidu nevedl k cíli ve formě nového virostatika, přispěl k odhalení dalšího místa ve struktuře HIV-1, na které lze virostatickou léčbu cílit. Pod hlavičkou 7. rámcového programu Evropské komise, společně s dalšími výzkumy na Universitair Medisch Centrum Utrecht, University of Oxford a Institut Pasteur, probíhal výzkum se snahou nalézt třídu malých organických molekul – ligandů, které by se vážaly do stejného místa CTD CA proteinu jako peptidový CAI.<sup>9</sup> Těto spolupráce se účastnily tým prof. Kräusslicha z univerzity v Heidelbergu, tým doc. Konvalinky na ÚOCHB AV ČR a tým prof. Kotory na ÚOCHB AV ČR. První dvě jmenovaná pracoviště měla na starosti biochemické testování látek, které byly syntetizovány podle zásad racionálního designu v laboratoři prof. Kotory.

Kterým směrem upřít pozornost, pomohlo v prvopočátku *in vitro* testování knihoven sloučenin v laboratořích prof. Kräusslicha v Heidelbergu. Celkem bylo otestováno cca 70 000 sloučenin ve třech různých knihovnách, ze kterých vzešly dvě skupiny kandidátů, strukturně odlišných molekul **XIV** a **XV**, jež interagovaly s CTD CA proteinu požadovaným způsobem (obr. 7).<sup>9</sup> Tyto struktury pak byly výchozím bodem při hledání ligandů s nižší disociační konstantou a pro zkoumání vztahů mezi strukturou a aktivitou.

Obr. 7. Struktury aktivních sloučenin odhalených při screeningu knihoven.

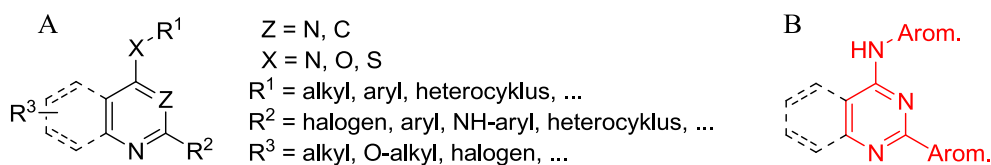


Primární testování nově připravených látek probíhalo v laboratoři doc. Konvalinky na ÚOCHB a bylo založeno na kompetici chinazolinového ligandu s již dříve popsáním CAI peptidem o vazebné místo na CTD CA proteinu, k čemuž byla adaptována metodika AlphaScreen (viz kapitola 3). U látek, které vykazovaly slibnou aktivitu v AlphaScreen testu, bylo potvrzení (nebo vyvrácení) jejich antivirotické aktivity prováděno v tkáňových kulturách na pracovišti prof. Kräusslicha v Heidelbergu. U slibných derivátů zde též zároveň probíhalo testování cytotoxicity. Přímý důkaz vazby na CTD CA proteinu a stanovení  $K_D$  příslušného komplexu poskytla mikrokolorimetrie (laboratoř doc. Konvalinky), kterou však, vzhledem k nízké rozpustnosti látek, bylo možné provést jen v omezeném množství případů.

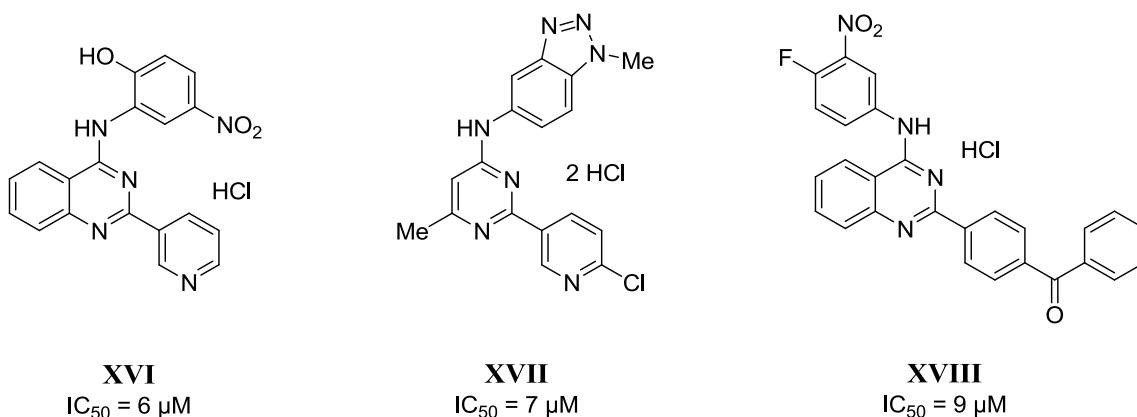
Pro očekávanou jednoduchost syntetických postupů byly jako první zkoumány deriváty strukturně odvozené od *N,N*-disubstituované močoviny **XIV**. Přípravu těchto sloučenin měl na starosti A. Machara, který syntetizoval několik strukturně modifikovaných sérií. Prozkoumány byly především *N*-substituované močoviny nesoucí nejrůznější deriváty benzotriazolu a acetofenonu, ale též amino a halogenbenzenů. Celkem vzniklo přibližně 100 takovýchto látek, nicméně jejich aktivita byla ve většině případů zanedbatelná, pouze u nejlepších sloučenin dosahovala  $IC_{50}$  maximálně 50  $\mu M$ .<sup>65</sup>

Vzhledem k neúspěchu v případě derivátů močoviny se pozornost přesunula k další třídě sloučenin odhalených v primárním prověřování knihoven (screeningu) – derivátům chinazolinu – strukturně blízkým látce **XV**. Ačkoliv některé deriváty látky **XV** vykazují aktivitu v AlphaScreen (viz kapitola 3) testu i ve tkáňových kulturách, jejich celkově nízká rozpustnost, nejen v testovacím médiu (PBS pufr + 2 % DMSO), byla do značné míry limitujícím faktorem. V průběhu několika let práce jsme s kolegy připravili řadu cílených knihoven nejrůznoroději modifikovaných derivátů – celkem více než 400 látek. V rámci snah o zlepšení rozpustnosti, zvýšení aktivity a nalezení farmakoforu, byly postupně připraveny dílčí série látek, které strukturně pokrývaly nejrůznější možné varianty derivatizace, včetně několika derivátů nejbližších příbuzných heterocyklů chinolinu a pyrimidinu (obr. 8A). Uskupení aromatických (heteroaromatických) jader a dusíkových atomů, vyznačené na obr. 8B, je společný strukturní motiv všech látek s inhibiční aktivitou, který je pro jejich aktivitu nezbytný; lze jej tedy označit za pravděpodobný farmakofor.<sup>9</sup>

Obr. 8. Markushova struktura zachycující široké rozpětí zkoumaných strukturálních motivů (A) a pravděpodobný farmakofor (B).

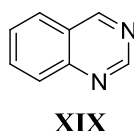


Pochopitelně zdaleka ne všechny připravené látky vykazovaly aktivitu, ale podařilo se syntetizovat několik 2,4-disubstituovaných derivátů chinazolinu, jejichž aktivita se pohybovala v jednotkách  $\mu\text{M}$ . Jako příklad mohou posloužit strukturálně odlišné látky **XVI**, **XVII** a **XVIII**, které si však uchovávají společný základní motiv.



### 1.5. Chinazolin a jeho deriváty (chinazoliny)

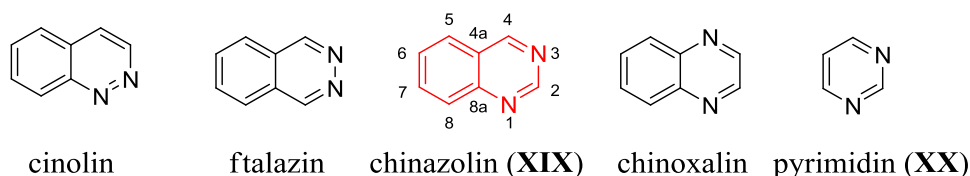
Pro deriváty chinazolinu **XIX** se obvykle používá prosté souhrnné označení chinazoliny. Chinazolin a jeho deriváty jsou již více než sto let známé látky, jejichž fyzikální a chemické vlastnosti, příprava, reaktivita a biologické účinky byly zevrubně zkoumány a popsány v nepřehledném množství odborné literatury. Plně se orientovat v takovém množství informací je velmi náročné a jenom pouhé jejich utřídění, bez hlubšího vhledu, je v rozsahu této práce v podstatě nemožné. Omezím se proto pouze na informace, které považuji pro tuto práci za podstatné.



### 1.5.1. Chinazolin

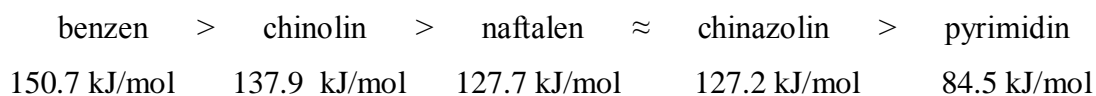
Chinazolin **XIX** je heterocyklická aromatická sloučenina spadající do skupiny benzodiazinů, látek strukturně odvozených od diazinů s kondenzovaným benzenovým kruhem (obr. 9). Chinazolin samotný je odvozen od 1,3-diazinu, neboli pyrimidinu **XX** a ve starší literatuře je možné jej nalézt pod názvy phenmiazin, benzylenamidin, 5,6-benzopyrimidin či 1,3-diazanaftalen. V současné době je chinazolin (angl. quinazoline) univerzálně přijímaný název, který pravděpodobně vychází z faktu, že se jedná o aza derivát chinolinu.<sup>66</sup>

Obr. 9. Způsob číslování chinazolinu **XIX** a příklady některých příbuzných heterocyklů.



Chinazolin **XIX** je nízkotající pevná látka ( $T_f = 48\text{ °C}$ ), kterou lze bez dekompozice destilovat, destilovat s vodní parou, sublimovat a krystalizovat z lehké petrolejové frakce. V čisté formě se jedná o žluté krystaly příjemné vůně a hořké chuti.<sup>66</sup>

Na základě delokalizačních energií, získaných z vypočtených slučovací tepel a vazebných délek, lze chinazolin označit za aromát s relativně lokalizovanými vazbami.<sup>67</sup> Dobře patrné je to při porovnání s delokalizačními energiemi dalších aromátů:



I přes podobnou hodnotu delokalizační energie se chinazolin po chemické stránce nechovají jako naftalen, neboť dvojná vazba mezi N3 a C4 je značně polarizovaná, což má za následek, že se tato dvojná vazba chová téměř jako izolovaná.<sup>66</sup> Důsledkem je vysoká reaktivita této dvojně vazby vůči nukleofilům, které se na ni snadno adují. Značná polarizace se také projevuje v relativní reaktivitě substituentů v poloze 2 a 4, kdy substituenty v poloze 4 jako chlor, alkoxy, amino,... podléhají daleko snáze např. hydrolyze.<sup>66</sup>

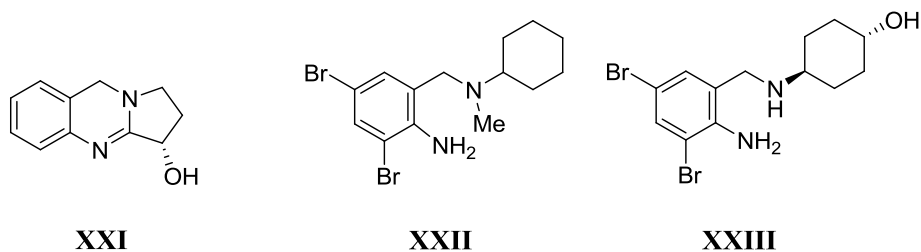
Chinazolin je systém s deficitem  $\pi$ -elektronů, čili elektrofilní aromatické substituce probíhají velmi neochotně.<sup>68</sup> Je vůči elektrofilům stářejší než chinolin a podléhá pouze nitraci,

sulfonaci a chlorsulfonaci za vzniku patričných 6-derivátů.<sup>69</sup> Naopak nukleofilní reakce (adice, substituce) probíhají velmi ochotně, vždy na pyrimidinovém kruhu a vykazují silnou C-4 regioselektivitu. Zvláště snadno probíhá nukleofilní substituce, pokud je odstupující skupinou halogen, přičemž rozdílná reaktivita atomů chloru v poloze 2 a 4 pak umožňuje připravit širokou paletu disubstituovaných derivátů. Jako nukleofil se pak může uplatnit např. amin, alkohol, alkoholát, enolát, kyanidový aniont, či Grignardovo činidlo.<sup>66</sup>

### 1.5.2. Biologicky aktivní deriváty chinazolinu

Na počátku výzkumu chinazolinů se jednalo víceméně o výhradně akademickou záležitost. Teprve později bylo zjištěno, že je tento heterocyklický skelet přítomen i v některých biologicky aktivních přírodních látkách. Ale ať už se jedná o ryze přírodní chinazolinové alkaloidy nebo semisyntetické a syntetické deriváty, chinazoliny oplývají celou řadou biologických účinků, zahrnujících protirakovinné, protizánětlivé, antibakteriální, analgetické, protivirové, tuberkulostatické, antioxidační, antimalarické, antihypertenzní, atd.<sup>70</sup>

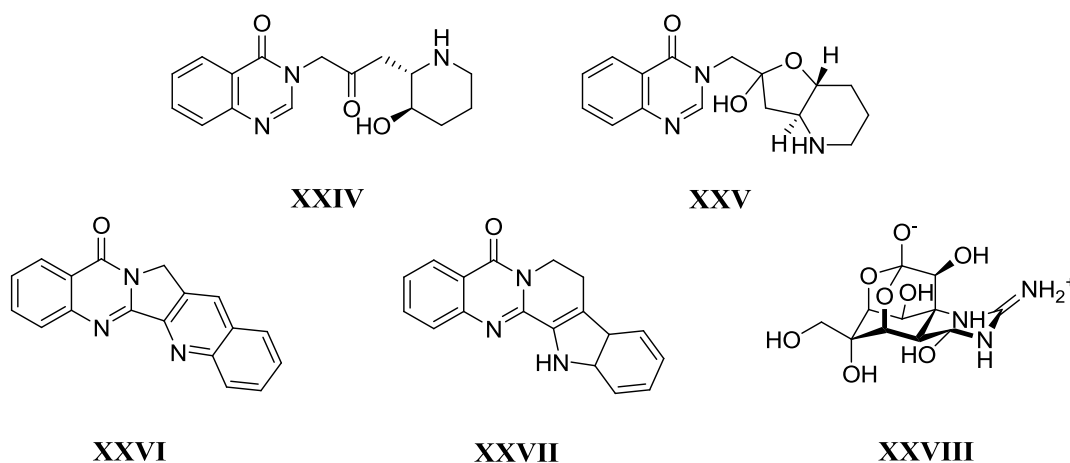
Po celá staletí byly v indické lidové medicíně používány listy keře *Adhatoda vasica nees* k různým léčebným účelům, zejména na obtíže dýchacího ústrojí, ale též například k vyvolání děložních kontrakcí a urychlení porodu.<sup>71</sup> Keř obsahuje řadu alkaloidů, ale majoritní složka, která je zodpovědná za biologické účinky, je alkaloid vasicin **XXI**, poprvé izolovaný Hooperem z listů keře již roku 1888.<sup>72</sup> Důkladnější chemický výzkum v první polovině 20. století odhalil strukturální příbuznost vasicinu **XXI** s chinazolinem **XIX**.<sup>71</sup> Bromhexin **XXII** a ambroxol **XXIII** – deriváty vasicinu **XXI** – se dnes využívají jako bronchosekretoolytikum při léčbě onemocnění horních cest dýchacích.<sup>71</sup>



Ačkoliv vasicin **XXI** byl jedna z prvních látek, v které mohl být rozpoznán medicínální potenciál derivátů chinazolinu, největší a neutuchající vlnu zájmu medicínálních chemiků o tyto heterocyklické sloučeniny vyvolala až izolace alkaloidů febrifuginu **XXIV**

a izofebrifuginu **XXV** z čínské rostliny *Dichroa febrifuga*.<sup>73</sup> Tato rostlina, v tradiční čínské medicíně označovaná jako chang-shan (též aseru), byla využívána více než 2000 let na řadu onemocnění včetně rakoviny žaludku a jako součást léků na malárii.<sup>74</sup> Bylo zjištěno, že za antimalarickou aktivitu jsou odpovědné právě alkaloidy **XXIV** a **XXV**.<sup>75</sup>

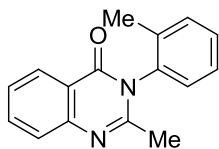
Do dnešních dní bylo dohromady objeveno již více než 150 přírodních alkaloidů s chinazolinovým motivem a mnohé z nich jsou látky biologicky aktivní.<sup>70b</sup> Jako příklad může posloužit luotonin A **XXVI**, izolovaný z rostliny *Peganum nigellastrum*, který vykazuje cytotoxickou aktivitu vůči nádorové buněčné linii P388 ( $IC_{50} = 1.8 \text{ mg/mL}$ ).<sup>70b, 76</sup> Celou řadou biologických aktivit oplývá také alkaloid rutaecarpin **XXVII** izolovaný z rostliny *Evodia rutaecarpa*. Tyto aktivity zahrnují silné analgetické účinky, způsobené pravděpodobně inhibicí cyklooxygenázy 2, dále účinky antiemetické, antihypertenzní, uterotonické a protizánětlivé.<sup>70b, 77</sup> Tetrodotoxin **XXVIII**, nervově paralytický derivát guanidinu obsažený ve vnitřních orgánech ryb z rodu čtverzubců a v některých dalších mořských organismech,<sup>78</sup> je možná nejznámější příklad přírodní látky, jejíž strukturu lze vztáhnout k chinazolinu.<sup>79b</sup>



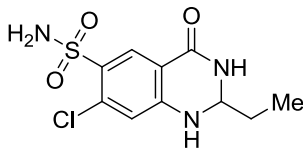
Skutečná éra medicínálních chinazolinů začala v 50. letech, po odhalení struktury a antimalarických účinků febrifuginu **XXIV**, snahou syntetizovat další biologicky aktivní chinazolinové deriváty jakožto potenciální léčiva. V roce 1951 byl takto připraven 2-methyl-3-*o*-tolylchinazolin-4(3*H*)-on, známý jako methaqualone (česky metakvalon) **XXIX**, který způsobuje útlum centrálního nervového systému, a stal se tak široce rozšířeným sedativem a hypnotikem.<sup>79</sup> Na sklonku 60. let v USA ve velkém nahrazoval barbiturátová sedativa a v 70. letech se stal také velmi populární rekreační drogou, zvláště v tanečních klubech; zneužívání vedlo až k jeho úplnému zákazu v 80. letech.<sup>80</sup> Až do konce 60. let byl, kromě zmiňovaného methaqualonu **XXIX**, v klinické praxi používán jen jeden další derivát



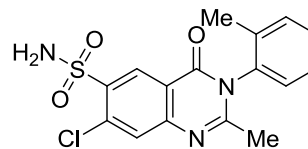
chinazolinu, kterým bylo diuretikum quinethazone **XXX**.<sup>79b</sup> Později tuto dvojici doplnilo další diuretikum, metolazone<sup>81</sup> (česky metolazon) **XXXI**, strukturně jakýsi „průměr“ obou předchozích látek.



**XXIX**



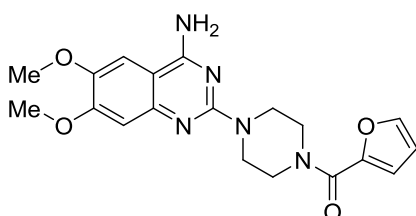
**XXX**



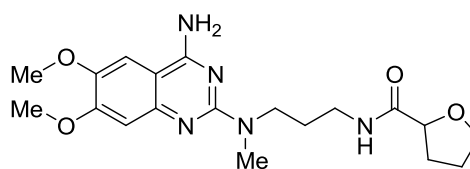
**XXXI**

Kromě již zmiňovaných látek (antimalarika, sedativa, diuretika) se v průběhu let rozrostl počet léčiv na bázi chinazolinů na více než 50, mezi něž např. patří:

a) **Antagonisté  $\alpha$ -1 adrenergních receptorů.** Pro léčbu arteriální hypertenze a benigní hyperplazie prostaty<sup>79b, 82</sup> se, mimo jiné, využívá antagonistů  $\alpha$ -1 adrenergních receptorů sympatického nervového systému ( $\alpha$ -1 sympatolytika), které jsou odpovědné za vazokonstrikci cév hladkého svalstva, kožních cév, kontrakce svěrače močového měchýře a těhotné dělohy.<sup>82</sup> Do této skupiny patří látky odvozené od 4-aminochinazolinů, jako např. prazosin **XXXII** a alfuzosin **XXXIII**.

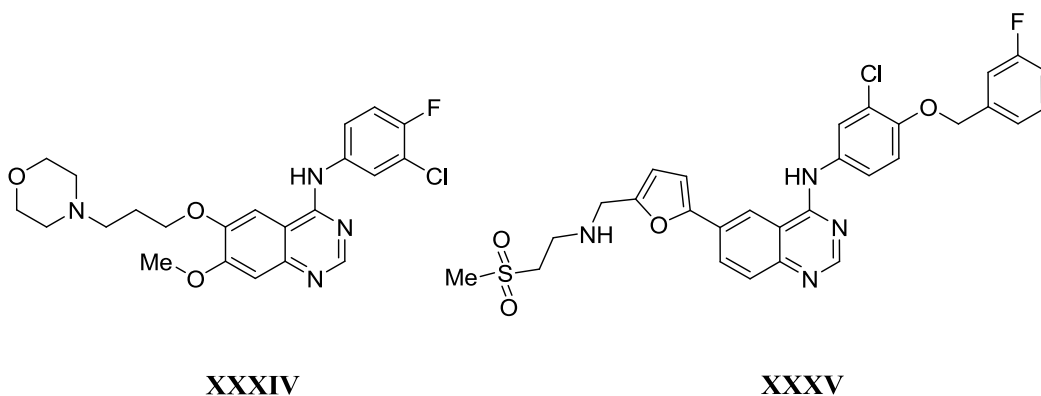


**XXXII**

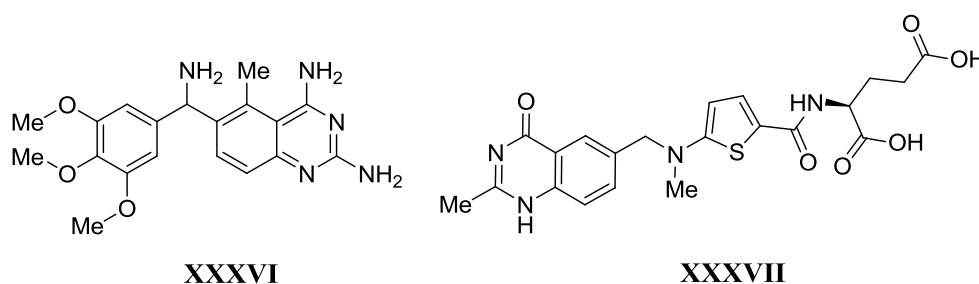


**XXXIII**

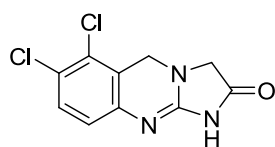
b) **Inhibitory tyrozinkináz.** Existuje řada chinazolinů, které rozdílnými způsoby účinkují proti různým druhům rakovinného bujení.<sup>79b</sup> Vůči druhům rakoviny s nadměrně exprimovaným receptorem EGFR, jako jsou některé typy rakoviny plic a prsu, jsou účinné látky označované jako inhibitory tyrozinkináz. Za příklad může posloužit gefitinib **XXXIV**, který je účinný proti nemalobuněčnému karcinomu plic, či lapatinib **XXXV** působící proti karcinomu prsu.<sup>82</sup>



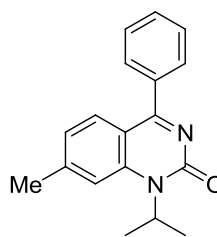
c) **Látky ovlivňující metabolismus kyseliny listové.** Jako kancerostatika se též užívají deriváty chinazolinů, které lze na základě jejich účinku zařadit mezi antimetaboly. Trimetrexát **XXXVI**, analog methotrexátu, inhibuje dihydrofolátreduktázu, což v důsledku vede k zastavení tvorby purinových nukleotidů, DNA, RNA a proteinů.<sup>82</sup> Je účinný i proti tumorům rezistentním na methotrexát.<sup>79b</sup> Raltitrexed **XXXVII** je folátový analog se silným inhibičním účinkem na thymidylátsyntetázu. Tento enzym reguluje dodávky nukleotidových prekurzorů pro syntézu DNA a je klíčový pro syntézu dTMP reductivní methylací dUMP.<sup>83</sup>



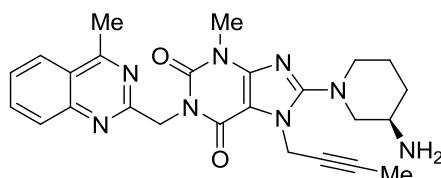
d) **Některá další chinazolinová léčiva.** Výčet zde uvedených chinazolinových léčiv nemůže být úplný, proto doplňuji jen pár významných zástupců z různých dalších farmakologických tříd. Zejména se jedná o antikoagulancium anagrelide (česky anagrelid) **XXXVIII**, nesteroidní antiflogistikum s analgetickými účinky proquazon **XXXIX**, antidiabetikum linagliptin **XL** a antimykotikum albaconazole **XLI**.<sup>79b</sup>



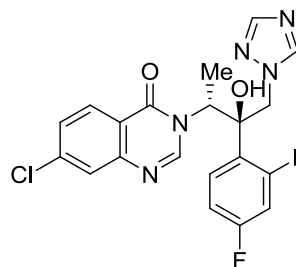
XXXVIII



XXXIX



XL

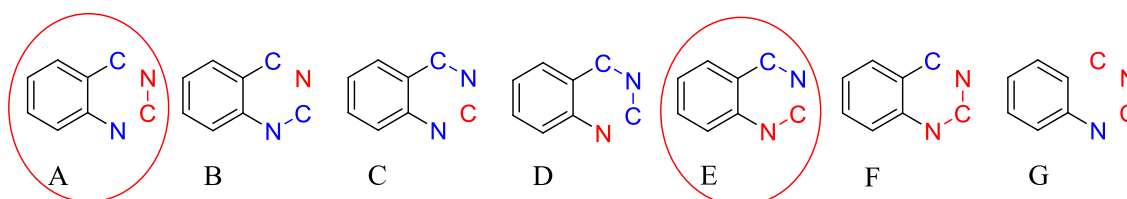


XLI

## 1.6. Syntéza chinazolinů

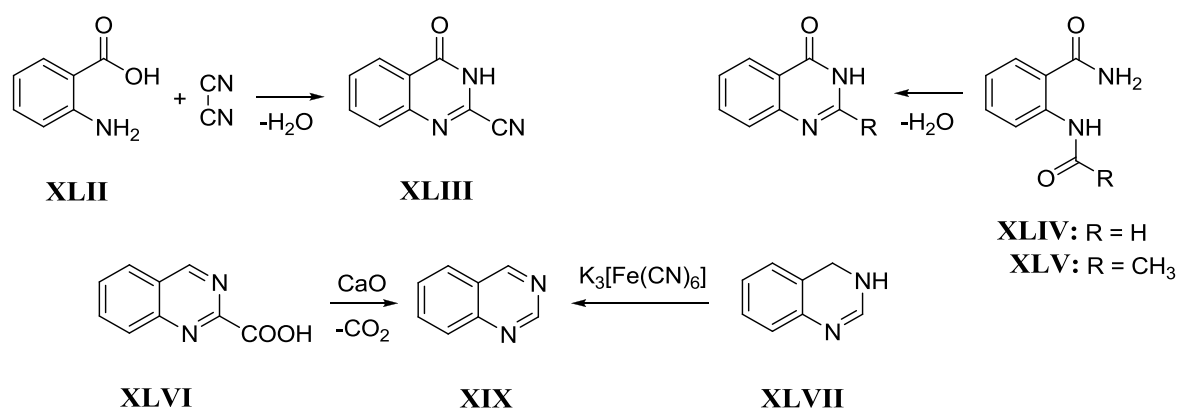
Existuje celá plejáda způsobů přípravy chinazolinů a kritérií, podle kterých je třídit. Zcela obecně lze metody syntézy chinazolinů rozdělit na primární a sekundární. V primárních syntézách se vychází ze substituovaného benzenového jádra, na němž se vystaví -C-N-C-N- vazby heterocyklického kruhu, přičemž jejich napojení může být docíleno mnoha způsoby (obr. 10),<sup>66</sup> které zároveň umožňují zavádění funkčních skupin do vznikající molekuly. Jako sekundární syntézy lze označit transformace na již vybudovaném heterocyklickém skeletu, mezi něž se řadí zejména oxidace, redukce, adice a substituce.<sup>66</sup> Vzhledem k rozsáhlosti tématu a syntetických možností uvedu pouze několik příkladů původních syntéz. S přihlédnutím k postupům používaným v této práci (typ A a E na obr. 10) se budu soustředit především na deriváty chinazolin-4(3*H*)-onů.

Obr. 10.<sup>66</sup> Schematické zobrazení různých způsobů výstavby heterocyklu (primární syntézy).



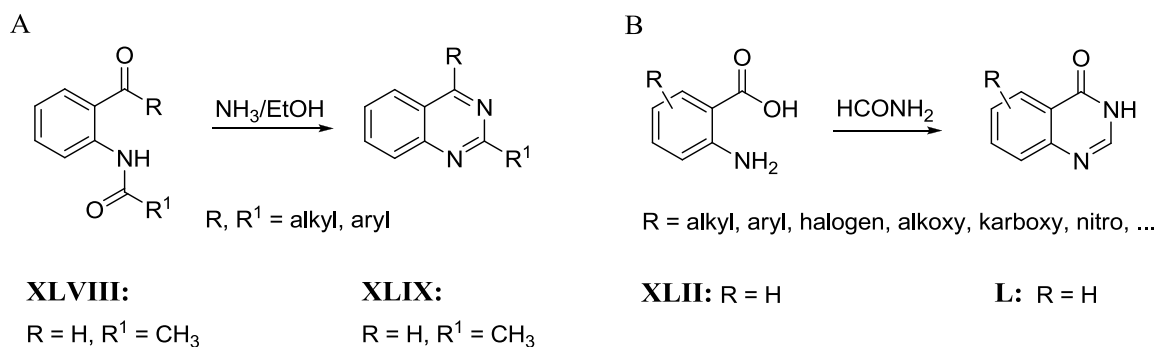
První derivát chinazolinu – 2-kyanochinazolin-4(3*H*)-on **XLIII** – připravil Griess reakcí kyseliny anthranilové **XLII** a dikyanu již roku 1869<sup>84</sup> (schéma 1), ovšem až do roku 1885 byla struktura v podstatě neznámá.<sup>85</sup> Systematicky se výzkumem chinazolinů zabýval Weddige, který také poprvé použil tento termín.<sup>86</sup> Výsledkem jeho práce bylo pozorování, že při zahřívání formyl **XLIV** a acetyl **XLV** derivátů anthranilamidu dochází k eliminaci vody, která zřejmě doprovází cyklizační reakci (schéma 1).<sup>87</sup> Samotný nesubstituovaný chinazolin **XIX** byl připraven až o mnoho let později, kdy jej získali Bischler a Lang dekarboxylací 2-karboxychinazolinu **XLVI**.<sup>88</sup> Devět let poté připravil Gabriel chinazolin oxidací 3,4-dihydrochinazolinu **XLVII** hexakynoželezitanem draselným v bazickém prostředí<sup>89</sup> (schéma 1).

Schéma 1. První syntetizované deriváty chinazolinu.



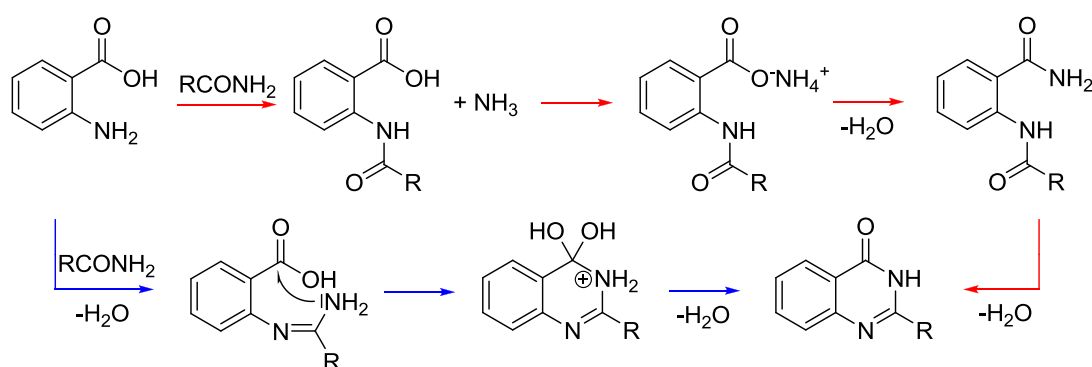
Jeden z klasických postupů je Bischlerova syntéza, při níž byl zahříváním *o*-acetamidobenzaldehydu **XLVIII** s alkoholickým amoniakem připraven 2-methylchinazolin **XLIX**.<sup>90</sup> Jedná se o univerzální metodu přípravy chinazolinů substituovaných v poloze 2 a 4, s dobrými výtěžky, vhodnou zejména pro přípravu alkyl a aryl derivátů (schéma 2).<sup>66</sup> Další z klasických metod je syntéza podle von Niementowskiho (schéma 2), který kondenzoval kyselinu anthranilovou **XLII** s formamidem za vzniku chinazolin-4(3*H*)onu **L**.<sup>91</sup> Z hlediska dalších syntetických transformací jsou chinazolin-4(3*H*)-ony velmi vhodné intermediáty. Avšak vzhledem k potřebě vysokých reakčních teplot a nízkým výtěžkům v případě reakce s jinými amidy než s formamidem není tato metoda vhodná k syntéze 2-substituovaných derivátů. Velmi dobrých výtěžků lze dosáhnout v případě chinazolin-4(3*H*)-onů substituovaných na benzenovém jádře, a to i v makro měřítku.<sup>66, 92</sup>

Schéma 2. Bischlerova (A) a von Niementowskiho (B) syntéza chinazolinů.



Poměrně dlouho přijímaný mechanismus<sup>66, 93</sup> von Niementowskiho reakce (schéma 3) se též snažil podat vysvětlení nízkých výtěžků v případě reakce s vyššími amidy. V původním návrhu mechanismu je prvním krokem acylace, která probíhá snáze s lepším acylačním činidlem. Tedy lépe s formamidem než s vyššími amidy, které reagují pomalu a vyžadují vyšší teploty, při nichž však dochází k dekarboxylaci.<sup>91, 94</sup> Vedlejším produktem acylace je amoniak, který s karboxylovou funkční skupinou tvoří amonnou sůl, jež za zvýšené reakční teploty eliminuje vodu, a vzniká amid. Následuje cyklizace doprovázená eliminací další molekuly vody.

Schéma 3. Původní navrhovaný mechanismus (červené šipky) a moderní mechanismus (modré šipky) von Niementowskiho syntézy.<sup>93, 95</sup>



Dnes všeobecně uznávaný mechanismus je však poněkud odlišný (schéma 3).<sup>95</sup> Prvním krokem je sice atak volného elektronového páru na atomu dusíku aminoskupiny na karboxylovou skupinu amidu, a tak lze vysvětlení nízké reaktivity vyšších amidů stále považovat za relevantní. Avšak následně dochází k eliminaci vody a vzniku amidinu. Volný

elektronový pár aminového atomu dusíku v amidinovém uskupení pak napadá uhlík karboxylové funkční skupiny a chinazolin-4(3*H*)-on je získán po eliminaci další molekuly vody. Tento příklad dobře ilustruje, že při práci s primární literaturou staršího data je třeba být poněkud obezřetný.

### 1.6.1. Syntéza chinazolin-4(3*H*)-onů

Chinazolin-4(3*H*)-ony jsou důležité jednak jako finální produkty s řadou biologických aktivit (viz 1.5.2 Biologicky aktivní deriváty chinazolinu), tak i jako reaktivní intermediáty pro další syntetické transformace chinazolinů. Za více než sto let chemie chinazolinů bylo vypracováno neuvěřitelné množství postupů, které poskytují nejrůzněji substituované chinazolinony.<sup>66, 70a,b, 96</sup> Vzhledem k rozsáhlosti tématu zde uvedu jen vybrané metody, z nichž jsem vycházel při své práci.

Značně rozšířená metoda přípravy chinazolin-4(3*H*)-onů spočívá v cyklizaci *o*-amidobenzamidů, vznikajících z *o*-amidobenzoových kyselin či jejich derivátů a aminů (amoniaku). Tím, že se vychází z preformovaných *o*-amido derivátů, probíhá cyklizace odlišným mechanismem než von Niementowskiho reakce, pročež může poskytnout takové 2-substituované produkty a v takových výtěžcích, které dříve zmíněná starší metoda neposkytuje. Zahříváním 2-acetamido-4-nitrobenzoátu amonného **LI** byl získán derivát chinazolinu<sup>97</sup> **LII** (schéma 4). Obdobně lze získat chinazolinony **LVII–LX** reakcí ethylesterů **LIII–LVI** v roztoku ethanolického amoniaku, kdy je meziproductem opět amid; pokud se použije místo amoniaku methylamin, jsou produktem odpovídající 3-methylderiváty<sup>87, 98</sup> **LXI–LXIII** (schéma 4). Kromě zde uvedených klasických příkladů je reakci možné provádět s řadou dalších substrátů, což z ní dělá velmi užitečnou metodu pro přípravu nejrůznějších derivátů chinazolinu.<sup>66, 96</sup>

Velmi oblíbená metoda syntézy chinazolinonů je též cyklizace *o*-amidobenzonitrilů. Takto byl například připraven 2,6,8-trimethylchinazolin-4(3*H*)-on z 2-acetamido-3,5-dimethylbenzonitrilu varem v 2.5N roztoku hydroxidu sodného.<sup>99</sup> Ovšem opravdu výborných výsledků se dosahuje zahříváním *o*-amidobenzonitrilů v alkalickém roztoku peroxidu vodíku,<sup>100</sup> neboť prvním krokem je hydrolýza nitrilu na amid, která je usnadněna přítomností nukleofilnějšího peroxidového aniontu (schéma 5). Následná cyklizace probíhá již dříve popsaným způsobem. Jediná teoretická nevýhoda této metody spočívá v nemožnosti zavádění substituentů do polohy 3 vznikajícího chinazolinu.

Schéma 4. Přístup k substituovaným chinazolin-4(3*H*)-onům přes *o*-amidobenzamidy.

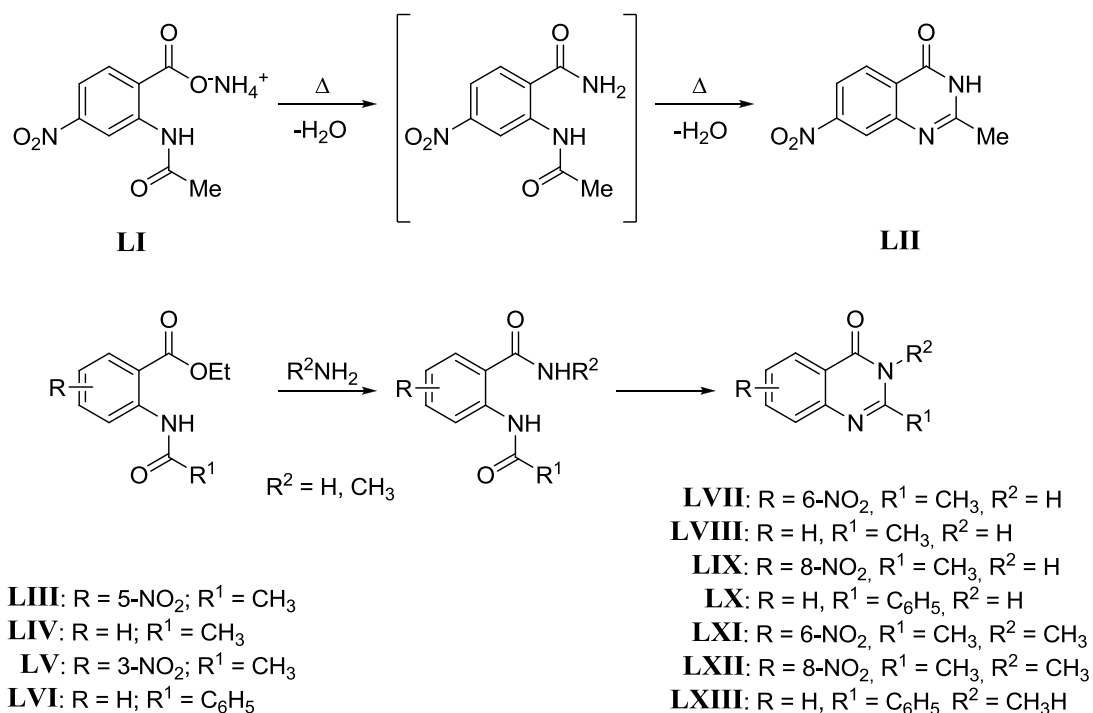
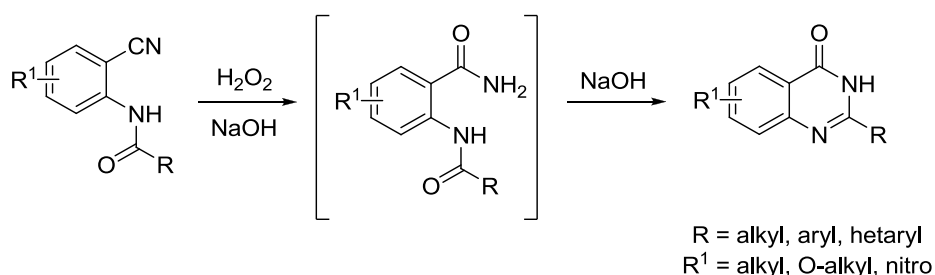
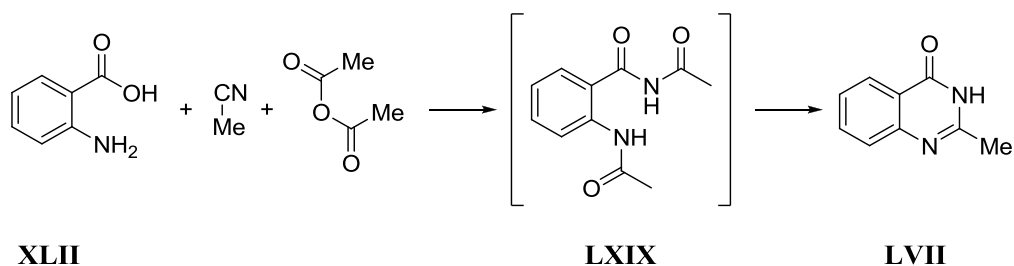


Schéma 5. Příprava chinazolinonů z *o*-amidobenzonitrilů.



Chinazolin-4(3*H*)-ony je možné připravit také reakcí kyseliny anthranilové **XLII**, nebo jejich derivátů s nitrily.<sup>66, 101</sup> V původním uspořádání Bogerta a Gotthelfa byl zahříváním acetonitrilu s kyselinou anthranilovou **XLII** na vysokou teplotu (>> 100 °C) v uzavřené silnostěnné skleněné trubici získán v nízkém výtěžku 2-methylchinazolin-4(3*H*)-on **LVIII**.<sup>93a, 102</sup> Později bylo zjištěno, že přidavek odpovídajícího anhydridu (zde tedy acetanhydridu) vede ke zdvojnásobení výtěžku, který byl ovšem stále menší než 50 %.<sup>103</sup> Reakční mechanismus těchto reakcí pravděpodobně zahrnuje tvorbu *o*-acetamido-*N*-acetylbenzamidu **LXIX**<sup>66, 103</sup> (schéma 6); jak se však zdá, nebyly v tomto uspořádání reakce dále studovány.

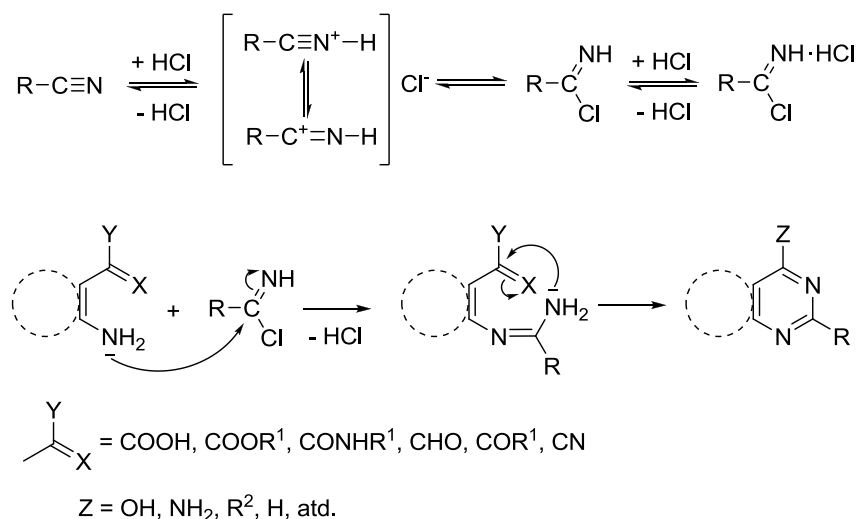
Schéma 6. Vznik chinazolin-4(3*H*)-onu **LVI** z acetonitrilu a kys. anthranilové **XLII**.



Vzhledem k nízkým výtěžkům a poněkud zastřenému (až alchymistickému) principu je vhodné brát výše zmíněnou reakci spíše jako historickou raritu než jako užitečnou syntetickou metodu. Nicméně, v novější době byly poměrně detailně popsány reakce nitrilů s *o*-aminokarbonylovými sloučeninami v kyselém prostředí,<sup>101, 104, 105</sup> které v mnoha ohledech připomínají dříve popsané reakce, a lze je tedy považovat za modernější variantu týchž.

Reakce nitrilů s *o*-aminokarbonylovými substráty, zahrnující deriváty benzenu, thiofenu, benzothiofenu, pyridothiofenu, furanu, pyrrolu, pyridopyrazolu atd. představují jednu z nejpoužívanějších metod přípravy kondenzovaných 1,3-diazinů (tedy i chinazolinů), substituovaných v poloze 2 a 4.<sup>105</sup> Reakce je katalyzována bezvodým halogenovodíkem, jenž s nitrilem vytváří imidoyl chlorid, který je v rovnováze se svou halegenovodíkovou solí (schéma 7). Díky elektronakceptornímu charakteru navázaného halogenu je na uhlíku imidoyl chloridu větší parciální kladný náboj než v původním nitrilu; zvýšená elektrofilicita se projeví vysokou reaktivitou vůči nukleofilní NH<sub>2</sub> skupině *o*-aminokarbonylového substrátu. Vzniklý amidin poté kondenzuje za tvorby cyklického 1,3-diazinového derivátu (schéma 7).<sup>105</sup>

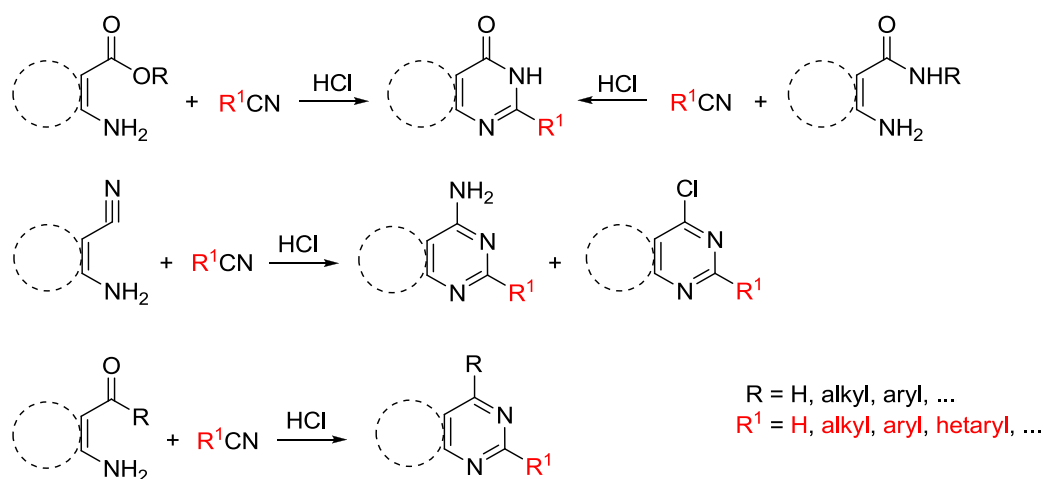
Schéma 7.





Jak je patrné, je reakce *o*-aminokarboonylových derivátů různých heterocyklů s nitrily velice univerzální a v závislosti na povaze karboonylové funkce substrátu je možné v jednom kroku takto připravit ohromující množství 2-substituovaných derivátů kondenzovaných pyrimidinů (tedy i chinazolinů) (schéma 8). V případě reakce aromatických *o*-aminokyselin, esterů a amidů, jsou produktem kondenzované pyrimidin-4(3*H*)-ony. Pokud je substrátem reakce aromatický *o*-aminonitril, je obvyklým produktem derivát kondenzovaného 4-aminopyrimidinu, ale v některých případech je možné získat též větší či menší množství 4-chlorderivátu; poměr mezi 4-chlor a 4-aminoderivátem je závislý na povaze reagujícího nitrilu. Poslední prozkoumanou variantou je reakce 2-aminobenzofenonů s nitrily, která poskytuje deriváty kondenzovaných 4-fenylpyrimidinů.<sup>101, 105</sup>

Schéma 8. Příprava derivátů kondenzovaných pyrimidinů reakcí aromatických *o*-aminokarboonylových sloučenin s nitrily v prostředí bezvodé HCl.



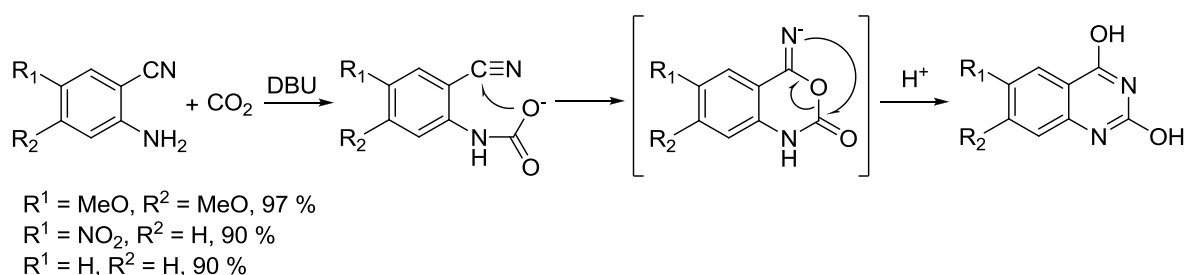
### 1.6.2. Příklady dalších syntéz chinazolinů

Výše uvedené metody jsou zde zmíněny a podrobněji popsány zejména ve vztahu k této práci, avšak existuje řada dalších způsobů přípravy derivátů chinazolinů. Vzhledem k jejich důležitosti na poli medicíně, byla v posledních desetiletích vypracována široká paleta moderních syntetických postupů, které zahrnují např. reakce derivátů kyseliny anthranilové s oxaláty, orthoestery, nebo imidáty, aza-Wittigovu reakci, reakce katalyzované kovy či fázovým přenosem, reakce v ultrazvuku a mikrovlnném reaktoru a ještě řadu dalších. Vzhledem k rozsáhlosti zde uvedu pouze několik zajímavých příkladů. V případě zájmu lze

hlubší poznatky ohledně syntézy chinazolinů čerpat z několika monografií<sup>66, 70a, 106</sup> a přehledových článků.<sup>70b, c; 96</sup>

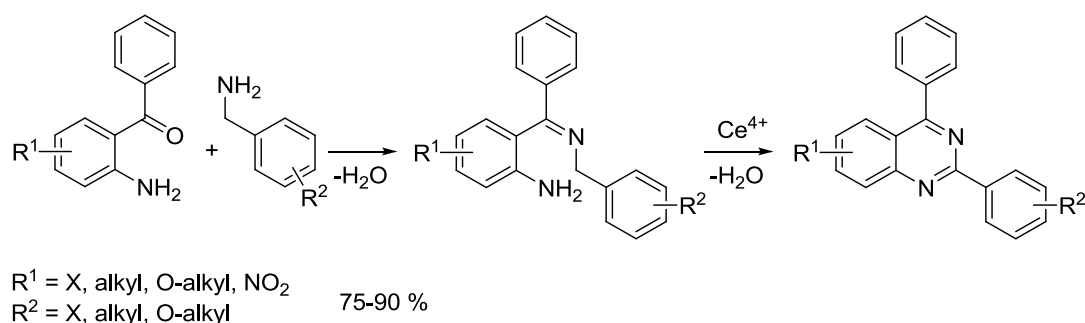
Reakce *o*-aminobenzonitrilů s oxidem uhličitým za bazických podmínek vede ke vzniku karbamátového iontu, který atakuje uhlík nitrilové funkční skupiny a vzniká intermediát, jenž přesmykuje a po protonaci poskytuje žádaný 2,4-dihydroxychinazolin (schéma 9).<sup>107</sup>

Schéma 9. Reakce *o*-aminobenzonitrilů s oxidem uhličitým.



Pro přípravu 2,4-aryl chinazolinů byl navržen postup spočívající v oxidační cyklizaci iminu vzniklého reakcí 2-aminobenzofenonů s benzylaminy. Jako oxidační systém se používá katalytického množství  $(\text{NH}_4)_2[\text{Ce}(\text{NO}_3)_6]$  s *t*-BuOOH jakožto reoxidovadlem (schéma 10).<sup>108</sup>

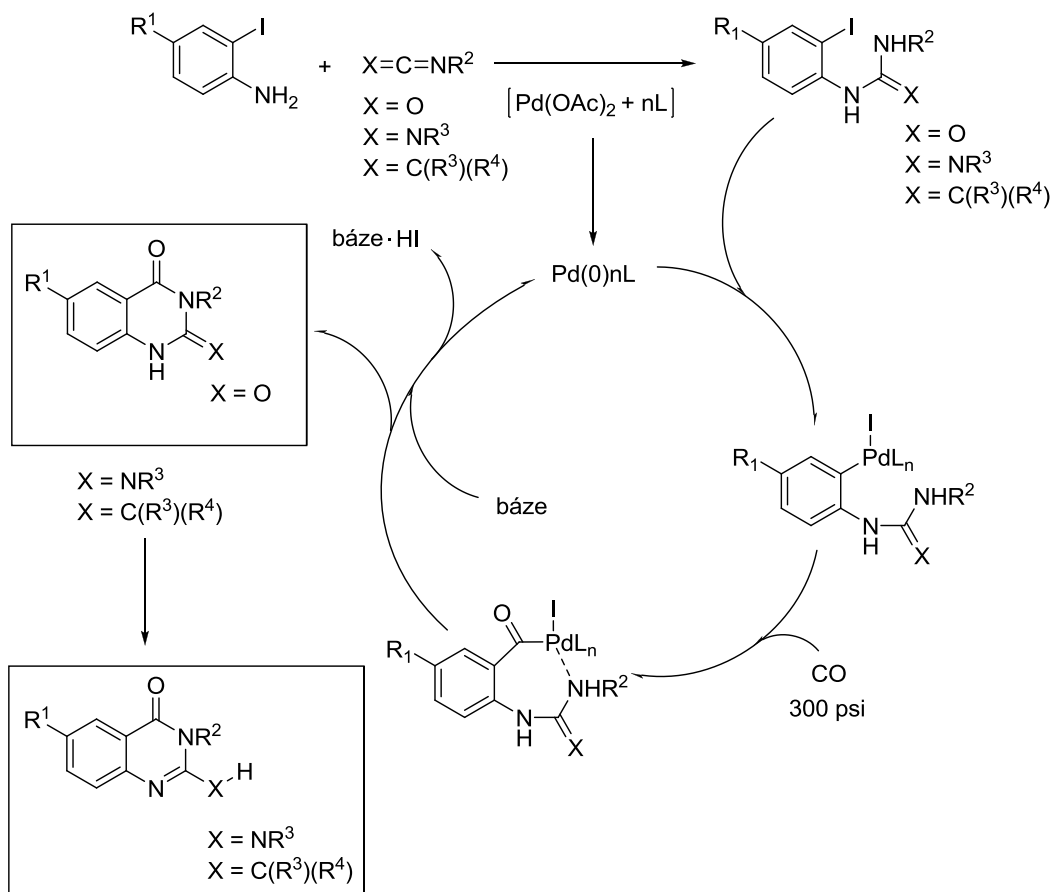
Schéma 10. Reakce aminobenzofenonů s benzylaminy.



Zajímavá je také paladiem katalyzovaná cyklizační karbonylace 2-jodanilinů s heterokumuleny, která poskytuje 2-substituované chinazolin-4(3*H*)-ony (schéma 11). Byly zkoumány reakce s izokyanáty, karbodiimidy a keteniminy v atmosféře CO za katalýzy  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ . Reakce toleruje hydroxy a nitrilovou skupinu na jodanilinu a poskytuje dobré až výborné výtěžky, které ovšem silně závisí na funkcionalizaci heterokumulenu; karbodiimidy

s elektrondonorními substituenty a některé keteniminy nesoucí aromatické skupiny jsou nereaktivní.<sup>109</sup>

Schéma 11. Cyklokarbonylace 2-jodanilinů s heterokumuleny.



## 2. Cíle dizertační práce

Jak vyplývá z informací uvedených v kapitole 1.4, jsou *N*-substituované deriváty 2-arylchinazolin-4-aminů potenciální inhibitory skládání virové kapsidy HIV-1. U derivátů dříve připravených na našem pracovišti byla potvrzena jak specifická interakce s CA-proteinem, tak i virostatická aktivita ve tkáňových kulturách.<sup>9</sup>

První generace látek (připravená A. Macharou) byla zaměřená na bioizostery esterové funkční skupiny a na další *N*-arylderiváty 2-(pyridinyl)chinazolin-4-aminů, mezi nimiž bylo nalezeno několik látek s aktivitou (vyjádřenou pomocí hodnoty  $IC_{50}$ ) v jednotkách  $\mu\text{M}$ . Častěji se však aktivita testovaných látek pohybovala v desítkách  $\mu\text{M}$  a celá řada jich nevykazovala žádnou aktivitu. Vzhledem k chemické povaze připravených sloučenin, byla problematickým faktorem také jejich nízká rozpustnost v testovacím médiu (vodné roztoky pufrů používaných v biochemické praxi). Bylo tedy zapotřebí rozšířit knihovnu látek o nové série derivátů, které by měly vyšší aktivitu, vyšší rozpustnost, a pokusit se odhalit, jaký vliv má změna struktury na aktivitu.

Předkládaná dizertační práce si klade následující cíle:

- a) Připravit nové série derivátů 2-arylchinazolinů s lepší rozpustností a zvýšenou inhibiční aktivitou.
- b) Porovnat zjištěné inhibiční aktivity nově připravených sloučenin s aktivitami dříve připravených (původních) derivátů a pokusit se nalézt vztah mezi inhibiční aktivitou daného derivátu a jeho strukturními rysy.
- c) Ze získaných poznatků navrhnout nové kandidáty.

### 3. Metody biochemického testování připravených látek

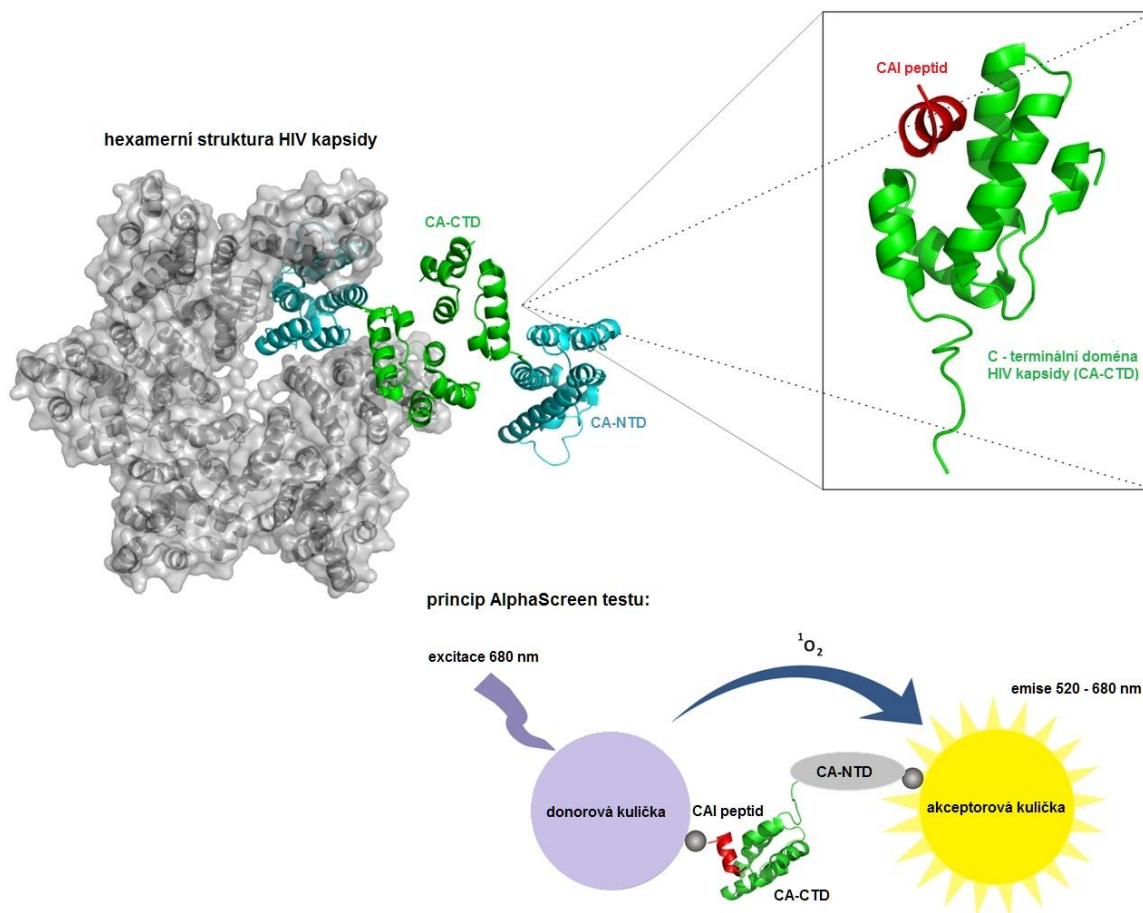
Ačkoliv to na tomto místě možná není zcela běžné, rád bych se stručně vyjádřil k metodám, které byly použity pro vyhodnocování vlastností připravených látek. Již v předchozím textu jsem se několikrát zmínil o tzv. AlphaScreen testu, jakožto metodě pro stanovení hodnoty  $IC_{50}$ . Na tuto techniku a některé další se budu v následujícím textu (počínaje kapitolou 4.2.1.) odkazovat ještě častěji, neboť tvořily základ pro rozhodování o dalším směru samotné syntetické části práce. Považuji tedy za vhodné seznámit čtenáře s danými náležitostmi nyní, aby byl v inkriminovaných pasážích patřičně informován.

**Orientační test rozpustnosti.** Toto stanovení bylo prováděno v biochemických laboratořích doc. Konvalinky, a jak již z názvu vyplývá, jde o přibližné, orientační určení rozpustnosti připravených sloučenin. Toto měření bylo prováděno spektrofotometricky. Nejprve byla změřena kalibrační křivka příslušného chinazolinu v DMSO (absorbance/transmitance při různých koncentracích). Známa navážka chinazolinu byla poté rozpuštěna/suspendována v testovacím médiu (MES pufr + 10 % glycerol), přičemž nerozpuštěný podíl byl odstraněn centrifugací. Tato nerozpuštěná část byla poté opět rozpuštěna v DMSO a její absorbance/transmitance byla porovnána s kalibrační křivkou.

**AlphaScreen<sup>®</sup>.** Jedná se o test protein-proteinové interakce vyvinutý firmou PerkinElmer, který byl prováděn v laboratoři doc. Konvalinky na ÚOCHB. Jeho princip je založen na přenosu energie mezi dvěma typy kuliček. Při iluminaci laserovým paprskem o vlnové délce 680 nm donorová kulička, obsahující fotosenzitizér ftalocyanin, začne přeměňovat kyslík ze svého okolí na excitovanou formu singletového kyslíku  $^1O_2$ , který během svého poločasu života (4  $\mu$ s) může difundovat do vzdálenosti cca 200 nm. Pokud je v této vzdálenosti přítomna akceptorová kulička, dojde k přenosu energie ze singletového kyslíku na derivát thioxenu imobilizovaný na akceptorové kuličce a následnému vyzáření světelného kvanta o vlnové délce 520–620 nm (obr. 11).

Na donorových kuličkách byl tedy imobilizovaný CAI peptid (viz kapitoly 1.3.1 a 1.4), na akceptorových kuličkách byl imobilizovaný CA protein, jehož CTD interagovala s CAI peptidem, a výše popsaným způsobem tak docházelo k tvorbě měřitelného signálu. Pokud byl do systému přidán chinazolinový inhibitor, docházelo ke kompetici CAI peptidu s tímto nízkomolekulárním inhibitorem o vazebné místo na CA proteinu, v důsledku čehož docházelo ke zhášení signálu, jehož úbytek bylo možné změřit a kvantifikovat.

Obr. 11. Hexamerní podjednotka HIV kapsidy se zvýrazněnou C-terminální doménou (zeleně) a N-terminální doménou (modře). Vazba CAI peptidu (červeně) na CA-CTD je znázorněna v rámečku. Princip AlphaScreen testu za využití CAI peptidu je zachycen dole na obrázku. Převzato a upraveno.<sup>9</sup>



**Test antivirové aktivity v tkáňových kulturách.** Tento druh testu byl prováděn ve spolupracující laboratoři prof. Kräusslicha na univerzitě v Heidelbergu. Nejprve byl získán zásobní roztok viru přefiltrováním supernatantu z ko-kultivace infikovaných a neinfikovaných MT-4 buněk. Takto získaným supernatantem, obsahujícím živý virus, byly infikovány indikátorové buňky (HeLa TZM-bl). Šest hodin po infekci byl supernatant z tkáňové kultury odstraněn a nahrazen čerstvým živným médiem, které obsahovalo známé množství testovaného inhibitoru. Po 30 hodinách byl supernatant opět odstraněn a posléze nahrazen čerstvým živným roztokem se stejným známým množstvím testovaného inhibitoru. Po 52 hodinách byl supernatant odstraněn a množství viru do něj uvolněného z buněk bylo kvantifikováno pomocí standardního luciferázového testu.<sup>110</sup>

Vysvětlení případného rozdílu mezi hodnotami  $IC_{50}$  získanými pomocí AlphaScreen testu a pomocí testu v tkáňových kulturách vyplývá již ze samotného odlišného principu obou testů, kdy každý poskytuje kvalitativně odlišnou informaci. AlphaScreen test pouze kvantifikuje míru vazby daného inhibitoru ke kapsidovému proteinu pomocí jeho kompetice s CAI peptidem o vazebné místo, a tudíž nevypovídá o případné virostatické aktivitě daného nízkomolekulárního inhibitoru. Naproti tomu test v tkáňových kulturách je testem na mnohem komplexnějším systému, a jako výsledek poskytuje informaci o virostatické aktivitě daného inhibitoru, která však závisí na více faktorech, než je pouze vazba na CA protein; například na prostupnosti testované molekuly biologickými membránami, na její vazbě na sérové a další proteiny a také na její stabilitě v buňce.

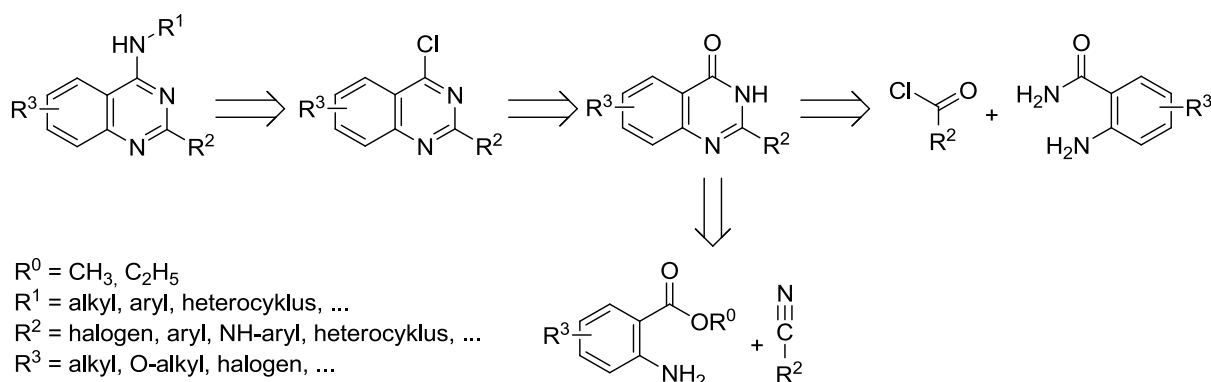
Podrobnější informace týkající se (nejen) výše zmíněných biochemických testů jsou dostupné ve společné publikaci<sup>9</sup> týmů prof. Kräusslicha, doc. Konvalinky a prof. Kotory.

## 4. Příprava *N*-substituovaných-2-arylchinazolin-4-aminů

Vzhledem k zaměření celého projektu a úloze našeho pracoviště v něm, byla zde od počátku snaha navrhnout jednoduchou, robustní a modulární metodu syntézy různých substituovaných chinazolinů ze snadno dostupných, nejlépe komerčních, látek. Naštěstí je chemie chinazolinů velmi dobře prozkoumána a za více než sto let byla vyvinuta celá řada metod umožňujících přípravu požadovaných derivátů. Některé z těchto syntetických postupů jsem již popsal v kapitole 1.6 a 1.6.1.

Na schématu 12 je znázorněna retrosyntetická analýza naznačující přístup, který jsem zvolil pro přípravu požadovaných látek. 4-Chlorchinazoliny se mi jevily jako vhodné intermediáty pro přístup k chinazolin-4-aminům, neboť v celku ochotně podléhají nukleofilní substituci s celou řadou aminů (anilinů).<sup>66</sup> 4-Chlorchinazoliny jsou snadno přístupné z chinazolin-4(3*H*)-onů pomocí chlorace POCl<sub>3</sub> i jinými činidly.<sup>66, 106</sup>

Schéma 12. Retrosyntetický přístup k *N*-substituovaným-2-arylchinazolin-4-aminům.



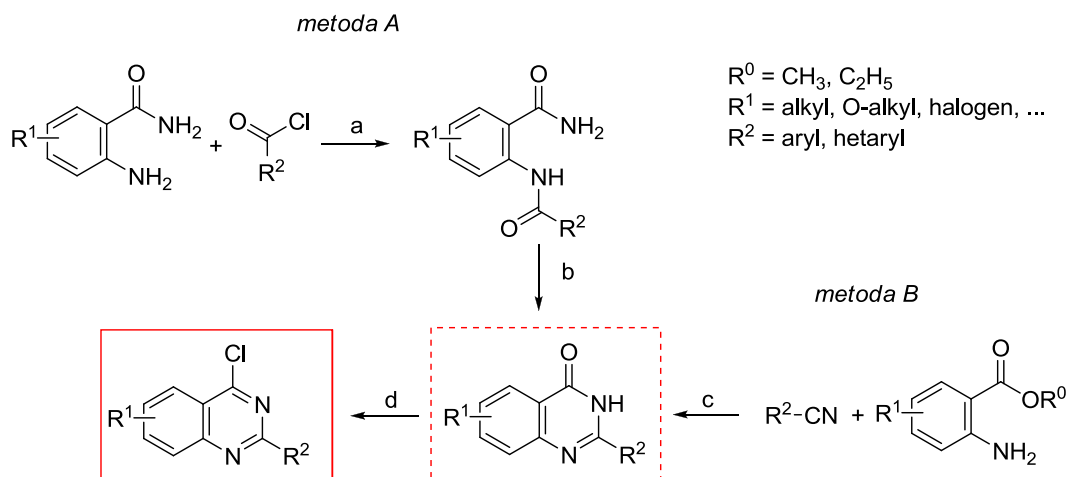
V rámci snahy přehledným způsobem popsat syntézu látek připravených v průběhu této práce, rozhodl jsem se rozdělit celou problematiku na dvě části. V první části, kterou jsem označil jako přípravu výchozích látek, popíšu syntézu 4-chlorchinazolinů – substrátů pro klíčový krok, kterým je nukleofilní substituce (a také zde popíšu syntézu několika komerčně nedostupných anilinů). V druhé části se pak budu zabývat přípravou a diskuzí výsledků biologického testování jednotlivých sérií finálních produktů. Toto rozdělení je sice spíše formální, nicméně doufám, že pomůže usnadnit orientaci v textu a zpřehlední diskuzi výsledků.



#### 4.1. Příprava výchozích látek

Vhodný výchozí materiál pro přípravu klíčových intermediátů – tedy 4-chlorchinazolinů substituovaných v poloze 2, a případně též na benzenovém jádře – jsou obvykle dobře komerčně dostupné deriváty kyseliny anthranilové, nebo jiné komerční látky, které se na patřičné deriváty kyseliny anthranilové snadno transformují. Pro účely této práce se jako nejvhodnější jevila amidace derivátů anthranilamidu a následná cyklizace vzniklých *o*-amidobenzamidů (schéma 13, metoda A). Komplementární metoda spočívala v reakci anthranilátů s nitrily v kyselém prostředí (schéma 13, metoda B). Obě metody poskytují substituované chinazolinony a byly voleny podle dostupnosti výchozích látek, podle celkové syntetické cesty a s ohledem na (ne)reaktivitu reakčních partnerů v některých případech. Na schématu 13 je znázorněna základní syntetická sekvence. Jednotlivé kroky jsou podrobněji okomentovány v následujícím textu.

Schéma 13. Syntetické metody využívané při přípravě 4-chlorchinazolinů.



a:  $\text{Et}_3\text{N}/\text{DCM}$ , THF, reflux; b:  $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}$ , 100 °C; c: 4M  $\text{HCl}/\text{dioxan}$ , 100 °C; d:  $\text{POCl}_3/\text{DMF}$ , 80 °C.

Příprava chinazolin-4(3*H*)-onů z anthranilamidů (schéma 13, metoda A) spočívala v tvorbě *o*-amidoanthranilamidů z anthranilamidu a příslušného chloridu kyseliny a v následné cyklizaci za vzniku produktu podle modifikovaného popsaného postupu.<sup>111</sup> Ve většině případů nebyla prováděna charakterizace intermediárních *o*-amidobenzamidů, neboť byly pro následnou cyklizační reakci použity surové, bez čištění. Cyklizace byly prováděny v 1M vodném roztoku  $\text{KOH}$  za zvýšené teploty. Výtěžek obou reakčních kroků byl obyčejně

závislý na výtěžku amidace a obvykle se pohyboval okolo 40 % (22–75 %); výtěžky cyklizací byly téměř kvantitativní (> 90 %).

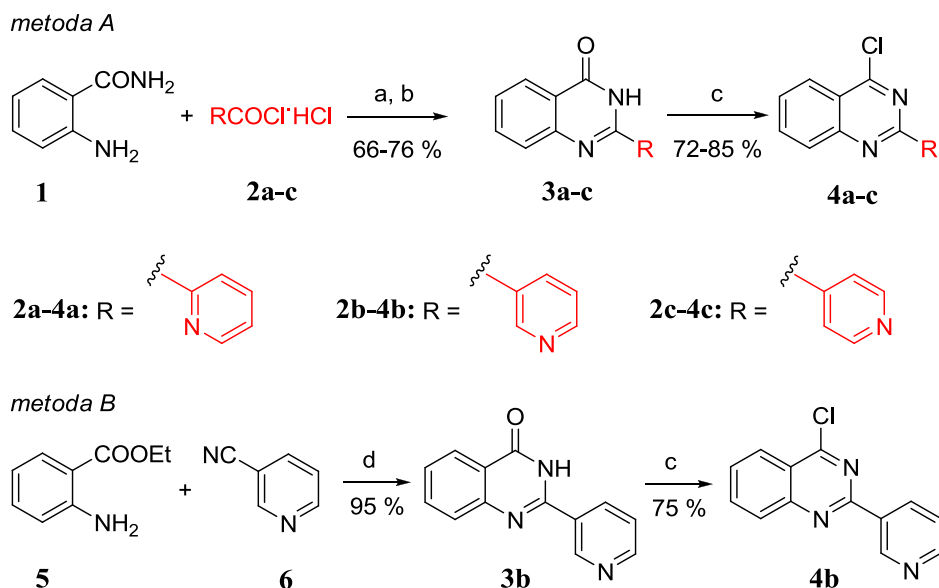
Příprava chinazolin-4(3*H*)-onů z esterů kyseliny anthranilové a nitrilů (schéma 13, metoda B) spočívá v poznatku, že nitrily v prostředí halogenovodíkových kyselin vytvářejí velmi reaktivní imidoyl chloridy (viz kapitola 1.6.1., schéma 7).<sup>105</sup> Reakce se prováděla podle modifikovaného dříve popsaného postupu<sup>112</sup> v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli v prostředí 4M roztoku HCl v dioxanu. Toto uspořádání,<sup>112</sup> oproti starším,<sup>101</sup> umožňuje udržet vysokou koncentraci HCl současně s vysokou reakční teplotou. V porovnání s výše zmíněnou metodou A nabízí tato varianta několik výhod: reakce proběhne v jednom kroku, zpracování je velmi snadné a výtěžky poněkud lepší (okolo 50 %, v závislosti na reagujícím nitrilu 40–95 %). Poněkud problematické je míchání reakční směsi, kdy ve skleněné ampuli vzniká hustá suspenze, která se těžko promíchává v celém svém objemu, což mohlo mít také negativní vliv na výtěžek reakce.

Konverze chinazolin-4(3*H*)-onů na 4-chlorchinazoliny byla prováděna podle modifikovaného dříve popsaného postupu<sup>113</sup> pomocí roztoku POCl<sub>3</sub> v DMF za zvýšené teploty. Reakce probíhala velmi ochotně, s výtěžky kolem 80 % (70–95 %). Jediný kámen úrazu mohl nastat při zpracování, kdy se reakční směs po rozložení nadbytečného POCl<sub>3</sub> nalitím na ledovou tříšť neutralizovala roztokem NaOH. Pokud byl přídavek NaOH příliš rychlý, nebo bylo pH zpracovávané reakční směsi upraveno na příliš bazické, docházelo k hydrolyze vzniklého chloridu zpět na výchozí chinazolin-4(3*H*)-on.

#### 4.1.1. Příprava 4-chlor-2-pyridinylchinazolinů 4a–4c

Příprava látek **4a–4c** vycházela z obecné metodiky popsané v kapitole 4.1. Jako výchozí sloučeniny posloužily anthranilamid **1** a hydrochloridy izomerních acylchloridů **2a–2c** (schéma 14, metoda A). Reakce probíhaly hladce; bylo možné v dobrých celkových výtěžcích 52–65 % připravit látky **4a–4c** řádově v gramových množstvích. Později byla pro další přísun derivátu **4b** také použita reakce esteru **5** s nitrilem **6** (schéma 14, metoda B), která syntézu zkrátila o jeden krok a poskytovala poněkud lepší celkový výtěžek 70 %.

#### Schéma 14. Příprava 4-chlor-2-pyridinylchinazolinů **4a–4c**.



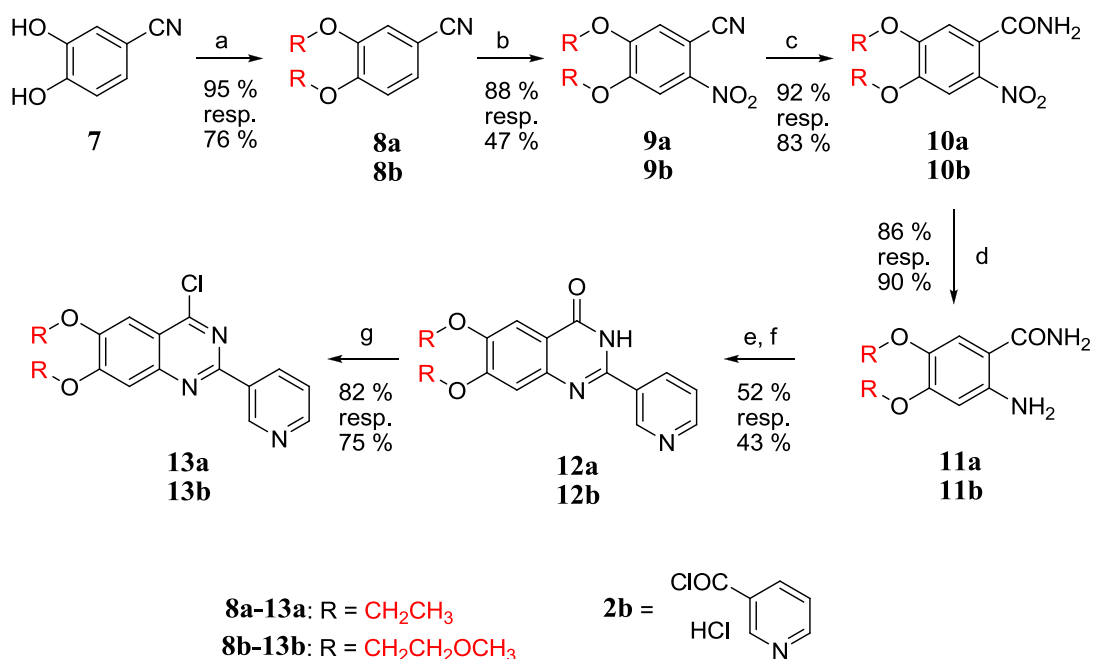
a: Et<sub>3</sub>N/DCM, THF, reflux; b: KOH/H<sub>2</sub>O, 100 °C; c: POCl<sub>3</sub>/DMF, 80 °C; d: 4M HCl/dioxan, 100 °C.

#### 4.1.2. Příprava 4-chlorderivátů **13a**, **13b**, **20**, **22**, **25a**, **25b**, **28** a **31** substituovaných na benzenovém jádře

Pro podrobnější informace o vlivu substituce chinazolinového skeletu na jeho aktivitu bylo nutné připravit několik derivátů substituovaných na benzenovém jádře. Vzhledem k obecně nízké rozpustnosti připravovaných sloučenin jsem se rozhodl zavést do skeletu polární funkční skupiny (deriváty **13a**, **13b**, **20**, **22** a **25a**). Dále jsem se rozhodl využít známých výhodných vlastností fluoru v biologických systémech<sup>114</sup> a připravit deriváty **25b**, **28** a **31**.

Látky **13a** a **13b** byly přístupné z dihydroxybenzonitrilu **7** v 7 krocích (schéma 15). Prvním krokem byla alkylace hydroxylových funkcí nitrilu **7** za vzniku příslušných alkylderivátů **8a** a **8b** ve výtěžcích 95 %, resp. 76 %.<sup>115</sup> Následovala nitrace do polohy 2<sup>115</sup> s výtěžky 88 % a 47 %. Nitrobenzonitrily **9a** a **9b** byly poté hydrolyzovány směsí H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a NaOH za vzniku amidů **10a** (výtěžek 92 %) a **10b** (výtěžek 83 %) podle popsánoho modifikovaného postupu.<sup>116</sup> Katalytická redukce nitroskupin amidů **10a** a **10b** metodou transferhydrogenace pak poskytla anthranilamidy **11a** a **11b** ve vysokých výtěžcích 86 % a 90 %, které byly následně převedeny ve dvou krocích již dříve popsáním sledem reakcí (schéma 13, metoda A) na chlorderiváty **13a** a **13b** (2 kroky, 43 % a 32 %).

Schéma 15. Příprava derivátů **13a** a **13b**.



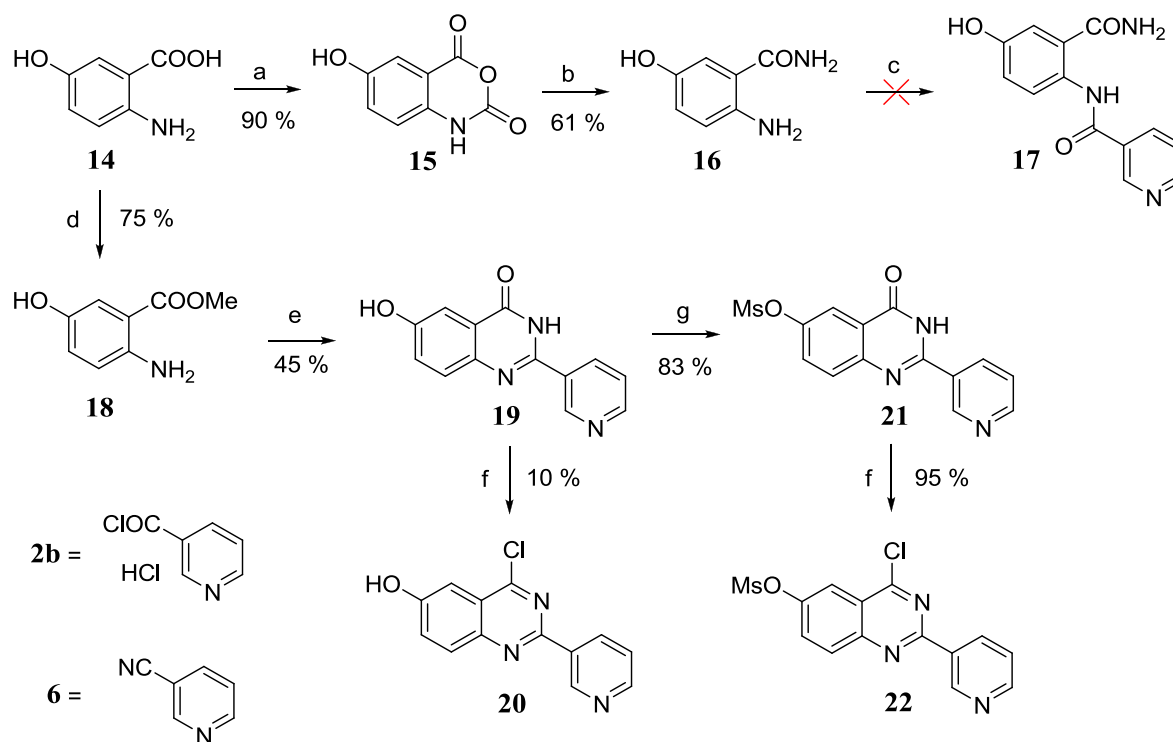
a: RCl/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, DMF, 70 °C; b: konc. HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O, 50 °C; c: K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaOH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O, 40 °C; d: Pd/C, COONH<sub>4</sub>/EtOH; e: **2b**, Et<sub>3</sub>N/DCM, THF, reflux; f: KOH/H<sub>2</sub>O, 100 °C; g: POCl<sub>3</sub>/DMF, 80 °C

Pro přípravu derivátů **20** a **22** s hydroxylovou skupinou v poloze 6 jsem vyzkoušel několik rozdílných přístupů (schéma 16). Ve všech případech jsem vycházel z kyseliny 5-hydroxyanthranilové **14**. Podle upraveného literárního postupu<sup>117</sup> jsem kyselinu **14** působením fosgenu nejprve převedl ve vysokém výtěžku 90 % na derivát anhydridu kyseliny isatoové **15**, který jsem posléze amonolyzoval za vzniku 5-hydroxyanthranilamidu **16** v 61% výtěžku. Při reakci anthranilamidu **16** s hydrochloridem nikotinoylchloridu **2b** v malém měřítku (0.3 mmol) zřejmě docházelo k částečné konverzi na produkt **17** (dle TLC a MS). Avšak při reakci ve větším množství došlo z neznámých důvodů ke vzniku komplikované směsi, ve které byly přítomny pouze stopy produktu **17** a izolován byl pouze výchozí chlorid **2b**.

Vzhledem k tomu, že výše zmíněný postup vyžadoval práci s roztokem vysoce toxického plynu a nevedl ke kýženému výsledku, přistoupil jsem k alternativní cestě (schéma 16). Kyselinu **14** jsem převedl na její methylester **18** pomocí klasické Fischerovy esterifikace methanolem. Ester **18** reagoval s nitrilem **6** za vzniku chinazolin-4(3*H*)-onu **19** v průměrném výtěžku 45 %. Následná chlorace však poskytla pouze nízký výtěžek (10 %) požadovaného chloridu **20**; v reakční směsi byla přítomna řada rozkladných produktů.

Vysvětlení nežádoucích jevů v případě reakcí látek **16** a **19** pravděpodobně spočívá ve snadné oxidaci a následném rozkladu aromatických hydroxysloučenin za reakčních podmínek. Z tohoto důvodu jsem se rozhodl volnou hydroxylovou skupinu ochránit převedením na ester kyseliny methansulfonové,<sup>118</sup> který je stabilní i v silně kyselém prostředí následujícího reakčního kroku. Chlorace ochráněného derivátu **21** proběhla zcela hladce, za vzniku chloridu **22** ve vysokém výtěžku 95 % . S největší pravděpodobností by bývalo bylo vhodné v celé reakční sekvenci pracovat pouze s ochráněnými látkami, nicméně potřebné sloučeniny **20**, resp. **22** se získat podařilo, pročež nebylo nutné experimenty znovu opakovat.

Schéma 16. Příprava hydroxyderivátu **20** a chráněného derivátu **22**.



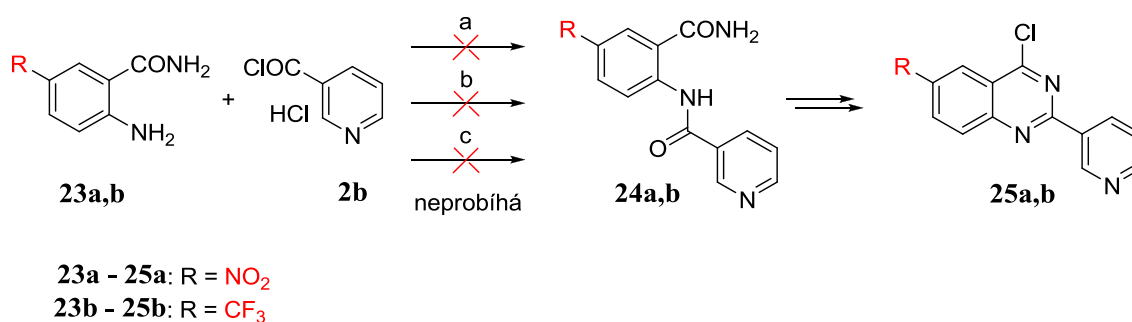
a:  $\text{COCl}_2/\text{dioxan}$ , Ar, 25 °C; b:  $\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}$ , 25 °C; c: **2b**,  $\text{Et}_3\text{N}/\text{DCM}$ , dioxan, reflux; d:  $\text{MeOH}$ ,  $\text{PhMe}/\text{H}_2\text{SO}_4$  130 °C; e: **6**, 4M  $\text{HCl}/\text{dioxan}$ , 100 °C; f:  $\text{POCl}_3/\text{DMF}$ , 80 °C; g:  $\text{MsCl}/\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{DCM}$ , 50 °C.

Dále jsem se rozhodl připravit nitroderivát **25a**, neboť přítomnost nitroskupiny je vhodný způsob, jak do molekuly zavést dusíkaté funkční skupiny. Její redukce měla poskytnout aminoderivát, který by bylo možné dále funkcionalizovat. Vycházel jsem z komerčně dostupného 5-nitroanthranilamidu **23a** a chloridu **2b**, avšak již první reakční krok neprobíhal (schéma 17). Kromě standardně využívaného postupu jsem vyzkoušel použití

silnější báze a také reakci ve dvoufázovém systému rozpouštědel (podmínky Schotten-Baumannovy reakce), ke vzniku amidu **24a** však nedocházelo. Důvodem, proč reakce s 5-nitroanthranilamidem **23a** neprobíhá, by mohlo být snížení nukleofility aminoskupiny vlivem silně elektronakceptorního efektu NO<sub>2</sub> skupiny v *para* poloze.<sup>119a</sup> Pravděpodobně by bylo možné připravit derivát **25a** jinou metodou, ale z výsledků testování později vyplynulo, že přítomnost substituentů na benzenovém jádře chinazolinu vede obvykle ke snížení, či ztrátě aktivity, pročež bylo od dalších pokusů upuštěno.

Naprosto stejná byla situace i v případě pokusu o přípravu trifluoromethylového derivátu **25b** a pozorovanou nereaktivitu anthranilamidu **23b** si vysvětlují stejným způsobem jako v případě nitroderivátu **23a**.

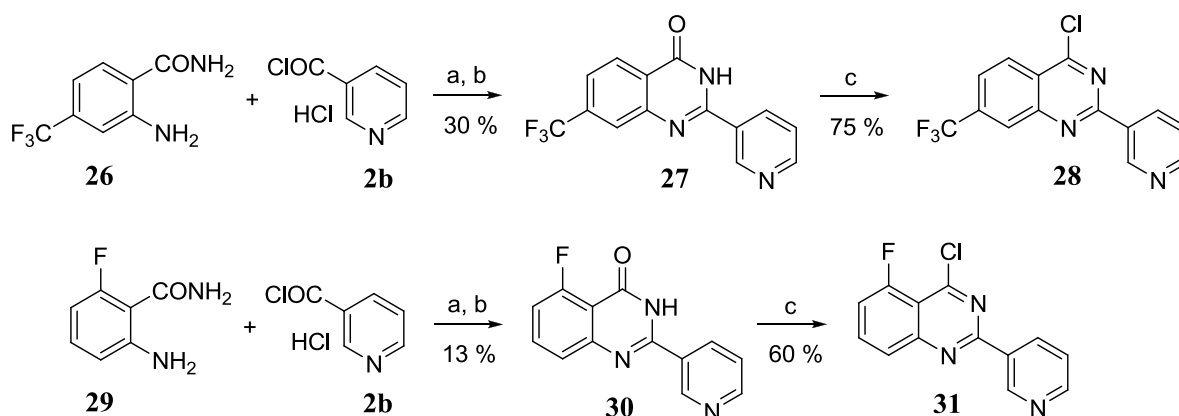
Schéma 17. Neúspěšný pokus o přípravu derivátů **25a** a **25b**.



a: Et<sub>3</sub>N/DCM, THF, reflux; b: *t*-BuOK/DCM, THF, reflux; c: NaOH/H<sub>2</sub>O, CHCl<sub>3</sub>, Bu<sub>4</sub>N<sup>+</sup>Br<sup>-</sup>

Poslední látky ze série chinazolinů substituovaných na benzenovém jádře byly trifluormethylderivát **28** a fluorderivát **31**. Obě látky byly připraveny pomocí standardní metodiky popsané v kap. 3.1 z komerčně dostupných anthranilamidů **26**, resp. **29** (schéma 18). Nižší výtěžky (23 %, resp. 8 % ve dvou reakčních krocích) v případě obou látek byly způsobeny zejména ztrátami při zpracování ketonů **27** a **30**. Vznikala velmi jemná suspenze, kterou nebylo možné odsát na fritě a vzhledem k špatné rozpustnosti těchto derivátů v méně polárních rozpouštědlech (nemísitelných s vodou) byla i extrakce poměrně komplikovaná. Nízká rozpustnost měla také negativní vliv na chromatografii, kdy část látky zůstala adsorbovaná na silikagelu.

Schéma 18. Příprava derivátů **28** a **31**.



a: Et<sub>3</sub>N/DCM, THF, reflux; b: KOH/H<sub>2</sub>O, 100 °C; c: POCl<sub>3</sub>/DMF, 80 °C

#### 4.1.3. Příprava 2-aryl-4-chlororderivátů **35a**, **35b**, **38**, **45** a **49**

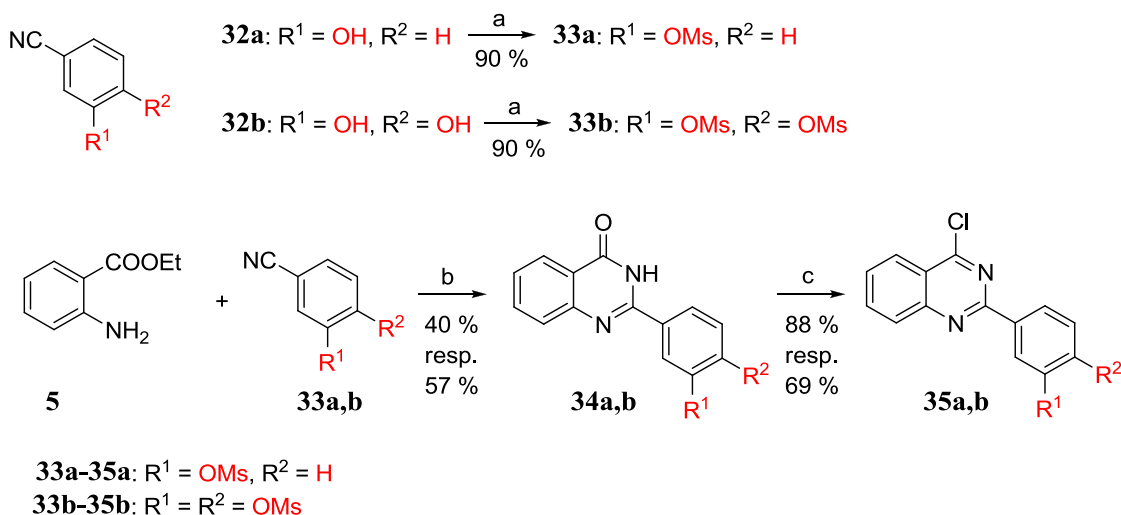
Vzhledem k tomu, že mnou připravené deriváty **96–102**, substituované na benzenovém jádře (viz dále, kapitola 4.2.6), vykazovaly v testech jen malou, nebo žádnou aktivitu, bylo nasnadě zaměřit se na možnost derivatizace jiné části molekuly. Jako samozřejmá cesta se nabízela příprava derivátů nesoucích v poloze 2 odlišné aromatické uskupení než doposud zkoumané pyridinyly. S přihlédnutím k obvykle nízké rozpustnosti doposud testovaných látek bylo mým cílem připravit takové deriváty, které by měly rozpustnost vyšší při zachované, či zvýšené aktivitě.

Za tímto účelem jsem se rozhodl zavést do polohy 2 v chinazolinu aromáty s hydroxylovými funkčními skupinami (deriváty **35a** a **35b**), které by zvyšovaly polaritu a umožňovaly případnou další derivatizaci. Dále jsem se rozhodl prozkoumat možnost snížení symetrie molekuly vlivem distorze substituentu na C2 vůči rovině symetrie chinazolinu, což by mělo za následek zhoršené ukládání molekul do krystalové mřížky, a ve svém důsledku tedy i zvýšení rozpustnosti takto upravené látky<sup>120</sup> (látko **38**). Konečně, připravit derivát **43** (resp. **45**), ve kterém by se spojovaly oba výše zmíněné přístupy.

Po dřívějších zkušenostech z práce s aromatickými hydroxyderiváty bylo zřejmé, že bude výhodnější pracovat s ochráněnými látkami a ochránění provést až na samý závěr reakční sekvence. Deriváty **35a** a **35b** byly tedy získány tak, že byly komerční nitrily **32a** a **32b** nejprve ochráněny ve formě esterů kyseliny methansulfonové **33a** a **33b**. Následoval

standardní postup, již dříve popsany v kapitole 3.1., který poskytnul chloridy **35a** a **35b** ve výtěžcích 35 % a 39 % ve dvou krocích (schéma 19).

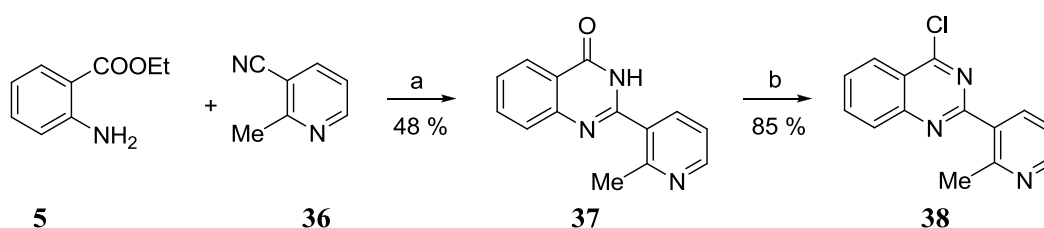
Schéma 19. Příprava chráněných chloridů **35a** a **35b**.



a:  $\text{MsCl}/\text{Et}_3\text{N}$ , DCM, 25 °C; b: 4M HCl/dioxan, 100 °C; c:  $\text{POCl}_3/\text{DMF}$ , 80 °C

Derivát **38** s bráněnou rotací substituentu na C2 byl dostupný z komerčního 3-kyano-2-methylpyridinu **36** a anthranilátu **5** (schéma 20) pomocí modifikovaného standardního postupu popsaného v kapitole 3.1. Vzhledem ke sterické zábraně probíhala tvorba chinazolinonu **37** poměrně neochotně. Bylo tedy nutné použít větší nadbytek roztoku HCl o vyšší koncentraci, zvýšenou teplotu a prodloužit reakční dobu. S přihlédnutím k těmto poměrně drastickým podmínkám se dá 48% výtěžek reakce označit za dobrý.

Schéma 20. Příprava derivátu **38** s bráněnou rotací substituentu na C2.

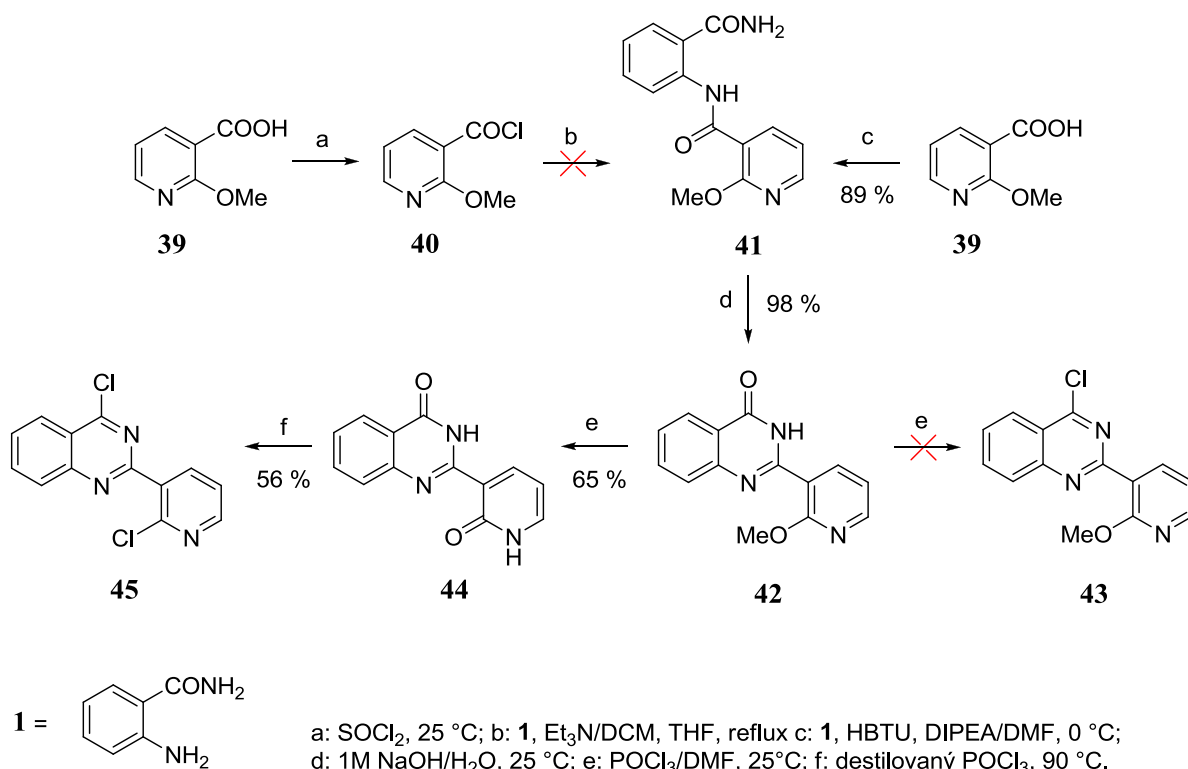


a: 7M HCl/dioxan,  $\text{Et}_2\text{O}$ , 150 °C; b:  $\text{POCl}_3/\text{DMF}$ , 80 °C



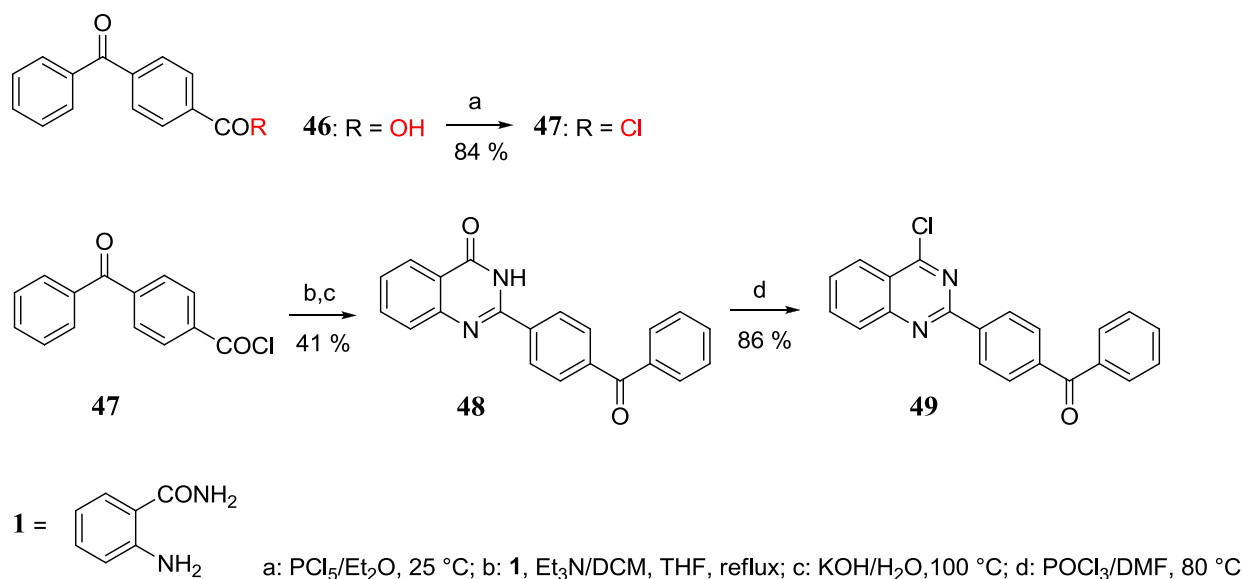
Pokus o přípravu derivátu **43** se nedařil podle původního očekávání (schéma 21). Z nevysvětlených příčin (pravděpodobně sterické důvody) opakovaně selhal pokus o přípravu amidu **41** běžným způsobem. Využil jsem tedy metodiku užívanou v chemii peptidů, která poskytla amid **41** v dobrém výtěžku 89 %. Další zádrhel nastal při pokusu o chloraci chinazolin-4(3*H*)-onu **42**. Z komplikované směsi se mi podařilo jako hlavní produkt izolovat v 65% výtěžku diketon **44**, který vznikl zřejmě hydrolyzou methoxyderivátu **42**, způsobenou kyselinami přítomnými ve starší lahvi POCl<sub>3</sub>. Tato nepříjemnost se však záhy změnila ve výhodu, neboť se mi za použití čerstvě destilovaného POCl<sub>3</sub> podařilo s výtěžkem 56 % připravit dichlorid **45**, který otevíral cestu k přípravě většího množství derivátů, než jsem původně zamýšlel.

Schéma 21. Příprava dichloridu **45**.



Na žádost kolegů z biochemie byl pro pokusy s fotoafinitním značením také připraven benzofenonový derivát **49**. Byl získán již dříve popsanou metodikou z chloridu **47** a anthranilamidu **1** v celkovém výtěžku 35 % (schéma 22).

## Schéma 22. Příprava fotoafinitního derivátu **49**.

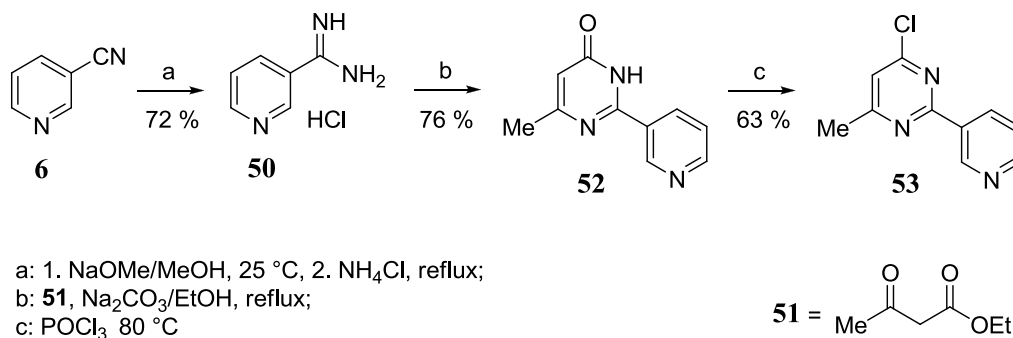


### 4.1.4. Příprava 4-chlorpyrimidinu **53**

V rámci studia vlivu struktury na aktivitu chinazolinů byly mými kolegy připraveny i některé deriváty odvozené od příbuzných heterocyklů. Jako jedny z nejvíce aktivních látek se prokázaly deriváty 6-methylpyrimidinu,<sup>65</sup> které navíc vykazovaly lepší rozpustnost díky nepřítomnosti benzenového kruhu.

Syntéza chloridu **53** podle upraveného literárního postupu<sup>121</sup> spočívala v reakci předem připraveného amidinu **50** s komerčně dostupným ethyl-acetoacetátem **51**, která poskytla keton **52** ve výtěžku 76 %. Takto získaný keton **52** byl standardním způsobem převeden na chlorid s výtěžkem 63 % (schéma 23).

### Schéma 23. Příprava chloridu **53**.

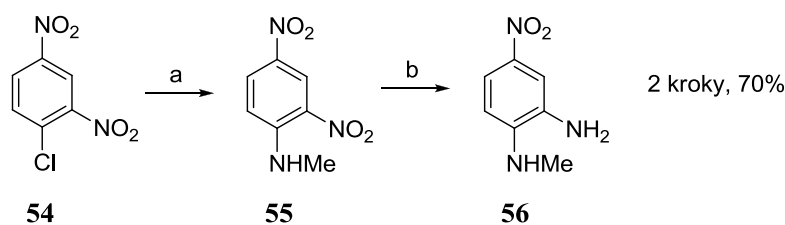


#### 4.1.5. Příprava komerčně nedostupných anilinů **56**, **59** a **60**

Většina anilinů použitých pro nukleofilní substituce 4-chlorchinazolinů byla komerčně dostupná, avšak v některých případech bylo vhodné v rámci studia vztahů mezi strukturou a aktivitou připravených sloučenin zavést do polohy 4 takový derivát, který komerčně dostupný nebyl.

2-Methylamin-5-nitroanilin **56** byl připraven pomocí modifikovaného popsaného postupu.<sup>122</sup> Nukleofilní substituce komerčně dostupného 2,4-dinitrochlorbenzenu **54** roztokem methylaminu v ethanolu poskytla *N*-methylanilin **55** a jeho následná redukce směsí síry a Na<sub>2</sub>S vedla k produktu **56** v celkovém výtěžku 70 % (schéma 24).

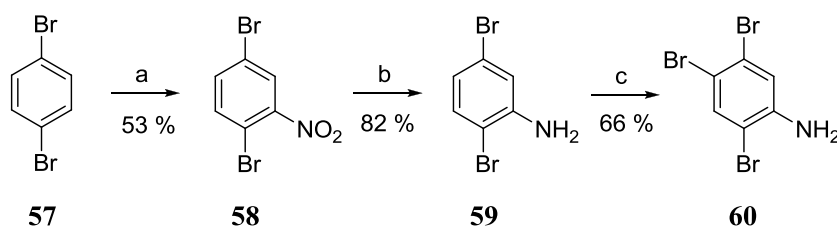
Schéma 24. Příprava 2-methylamino-5-nitroanilinu (**56**).



a: NH<sub>2</sub>Me/EtOH, dioxan, 25 °C; b: S, Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O/H<sub>2</sub>O, EtOH, reflux

2,5-Dibromanilin **59** byl získán ve výtěžku 43 % (2 kroky) nitrací komerčně dostupného dibrombenzenu **57** a následnou redukcí vzniklého nitroderivátu **58** chloridem cínatým podle popsaného postupu<sup>123</sup> (schéma 25). 2,4,5-Tribromanilin **60** byl získán bromací 2,5-dibromanilinu **59** elementárním bromem v chloroformu podle popsaného postupu<sup>123</sup> ve výtěžku 66 % (schéma 25).

Schéma 25. Příprava 2,5-dibromanilinu **59** a 2,4,5-tribromanilinu **60**.

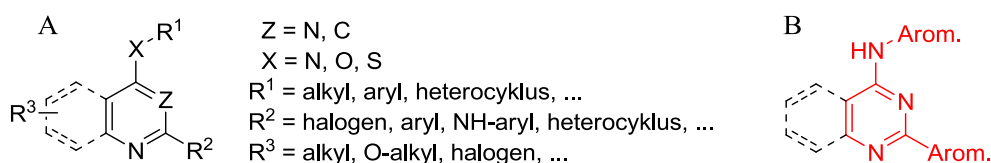


a: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/HNO<sub>3</sub>/DCM, 25 °C; b: SnCl<sub>2</sub>/HCl/EtOH, reflux; c: Br<sub>2</sub>/CHCl<sub>3</sub>, 0 °C

## 4.2. Příprava finálních produktů – 4-substituovaných-2-aryldiazinů (chinazolinů, pyrimidinů)

Jak již bylo zmiňováno dříve, látky, o které jsme se zajímali, jsou strukturně odvozené od 2,4-disubstituovaných chinazolinů, znázorněných na obrázku 8. Pro připomenutí obrázek přikládám opakovaně.

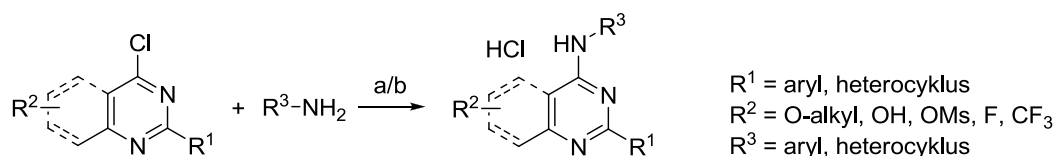
Obr. 8. Markushova struktura zachycující široké rozpětí zkoumaných strukturních motivů (A) a pravděpodobný farmakofor (B).



Ačkoliv těžiště této práce leželo v přípravě *N*-substituovaných-2-arylchinazolin-4-aminů, v rámci spolupráce na projektu a kooperace s mými kolegy jsem připravil i několik derivátů odvozených od methylpyrimidinu. Nicméně se stále jedná o blízce příbuzné látky se společným rysem, kterým je obecnější struktura 1,3-diazinu.

Další společná vlastnost všech těchto látek je poměrně dobrá dostupnost pomocí nukleofilní substituce 4-chlorderivátu příslušným nukleofilem. Až na výjimky se jedná o poměrně obecnou reakci, proto bych její aspekty probral na tomto místě (schéma 26) a dále budu již jen odkazovat na použitou metodiku.

Schéma 26. Dva nejpoužívanější postupy nukleofilní substituce.



a: kat. HCl/dioxan, reflux; b: 1. *t*-BuOK/THF, reflux 2. HCl

Nukleofilní substituce 4-chlorchinazolinů aniliny za katalýzy HCl (schéma 26, podmínky a) byla nejčastější metoda přípravy finálních produktů. Využíval jsem při ní faktu, že protonovaný chinazolin podléhá nukleofilní substituci velice snadno, ještě snadněji než

jeho volná báze.<sup>124</sup> Při reakci s anilinem sice vzniká jeden ekvivalent HCl, reakci lze tedy považovat za autokatalytickou, avšak přídavek HCl na začátku reakce ji značně urychlí. Produkt obvykle precipitoval přímo z reakční směsi ve formě své soli s HCl (hydrochloridu). Jedna z výhod této metody spočívá v její relativní čistotě, kdy v mnoha případech postačovalo produkt suspendovat ve vhodném rozpouštědle (nejběžněji MeOH/aceton, nebo EtOH/aceton) a po krátkém varu za horka odsát na fritě. Výtěžky se značně lišily v závislosti na struktuře anilinu a konkrétním způsobu zpracování a podrobněji budou probrány u jednotlivých sérií.

Nukleofilní substituce 4-chlorchinazolinů aniliny v bazickém prostředí (schéma 26, podmínky b) byla doplňková metoda k nukleofilní substituci katalyzované HCl. Vycházel jsem z postupu popsaného v patentu,<sup>125</sup> přičemž jako báze byl používán nadbytek (2–3 ekv.) *t*-BuOK. Obecně tato reakce poskytovala nízké výtěžky (podrobněji budou probrány u jednotlivých sérií) a vedla ke vzniku značného množství rozkladných produktů. Reakční směs bylo nutno často pracně chromatografovat, nicméně přes zmíněné nevýhody bylo možno touto metodou získat i takové látky, které by kyselá katalyzovaná reakce neposkytovala. Zejména se jednalo o deriváty stericky bráněných anilinů se substituenty v polohách 2 a 6. Kromě uvedených metod jsem pro přípravu některých derivátů použil i jiné postupy, které budou zmíněny v konkrétních případech.

Výsledné produkty, které byly dodávány na biochemické a virologické testování, byly ve formě hydrochloridů – solí HCl. Volné báze totiž vykazovaly oproti solím nižší, nebo žádnou aktivitu a v testovacím médiu (PBS pufr + 2 % DMSO) byly takřka nerozpustné. V případě, že reakce poskytla produkt ve formě hydrochloridu (kyselá katalyzovaná reakce), který nevyžadoval chromatografii, byl tento produkt předán na testování v „nativní“ formě. Pokud bylo vyžadováno čištění pomocí chromatografie, byla látka převedena na volnou bázi působením NaOH, nebo 30% vodného NH<sub>3</sub>. U látek bylo ověřováno elementární složení, ovšem vzhledem k jejich struktuře, kdy mohou vystupovat jako vícesytné báze, jednalo se často o soli s nestechiometrickým složením. Látky zde uváděné budu proto zmiňovat pouze jako „obecné“ hydrochloridy, jejichž bližší elementární složení je zaznamenáno v experimentální části.

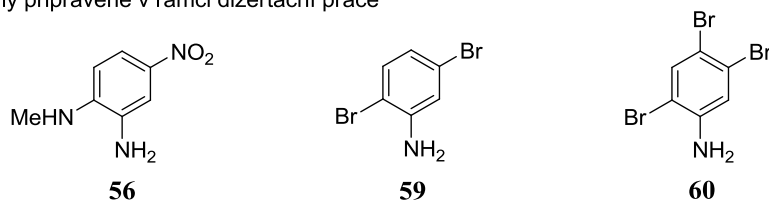
#### **4.2.1. Seznam anilinů a ostatních nukleofilů použitých pro substituce**

Jelikož je poněkud komplikované přehledně postihnout ve schématech veškeré strukturní obměny připravených derivátů společně s dalšími daty, jako jsou výtěžky, rozpustnosti, atd., rozhodl jsem se zobrazit všechny aniliny a ostatní nukleofily, vystupující

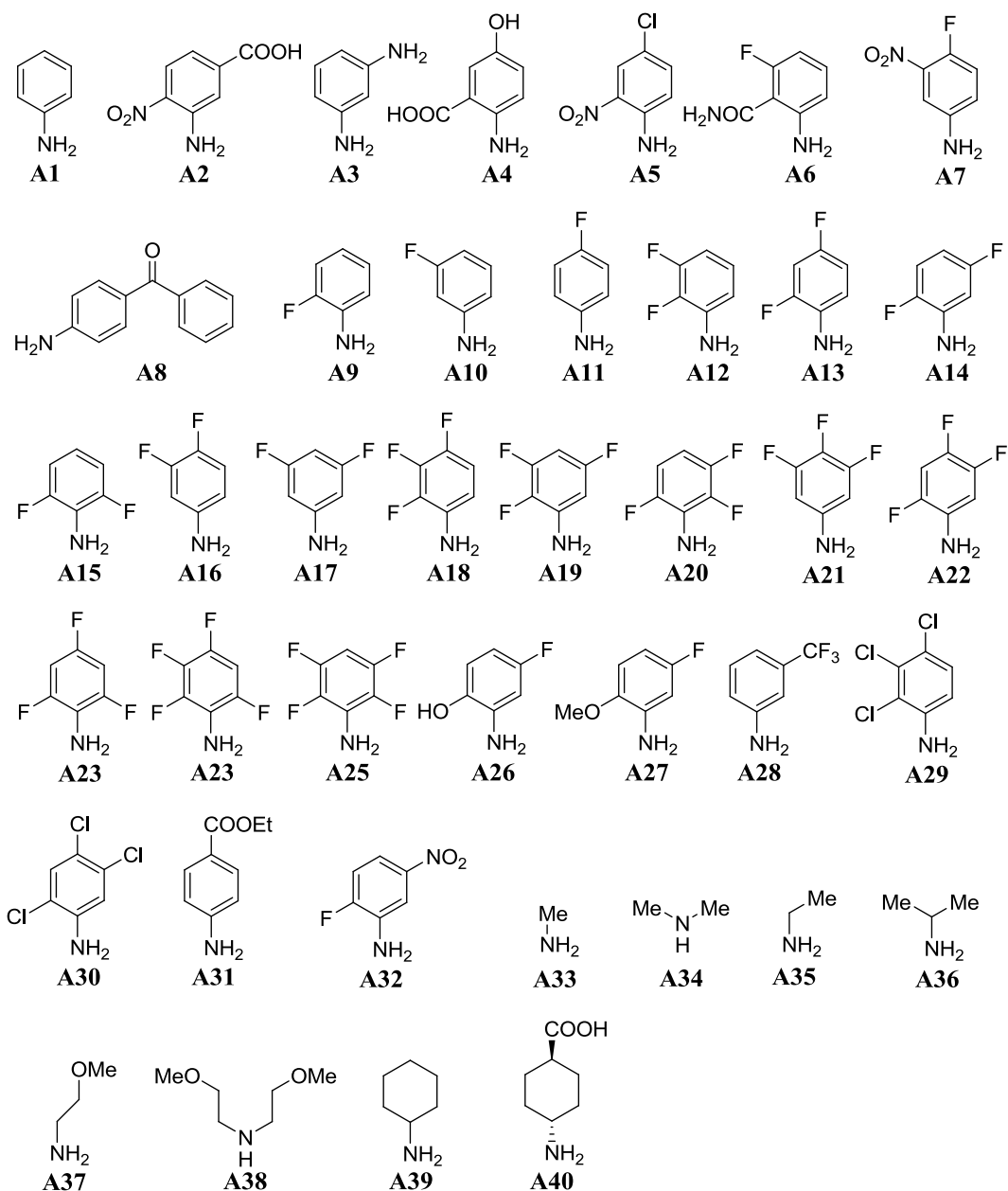
v reakcích s 4-chlorchinazoliny, na jednom místě, v tabulce 1. V reakčních schématech pak budou figurovat pod příslušným označením.

Tabulka 1. Aniliny a ostatních nukleofily použité při substitučních reakcích.

aniliny připravené v rámci dizertační práce



aniliny a ostatní nukleofilní reaktanty zakoupené od komerčních dodavatelů

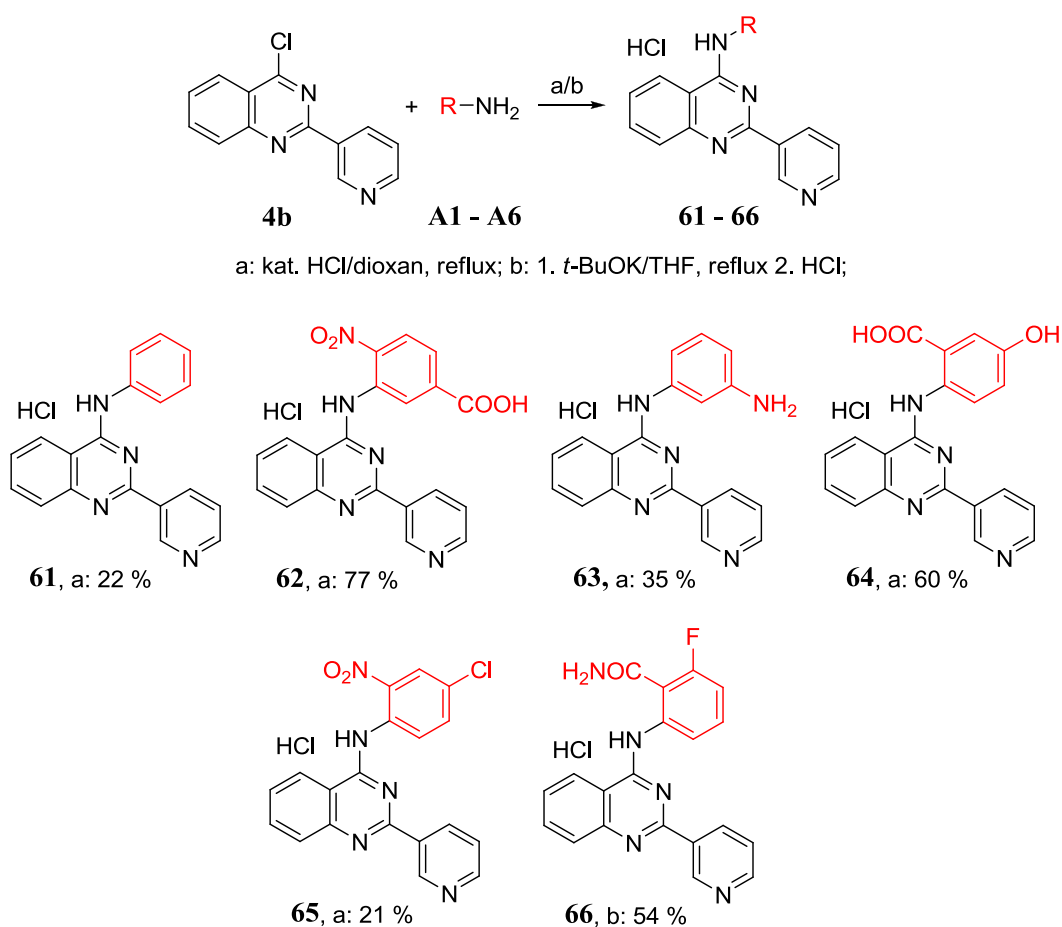


Aniliny **56**, **59** a **60**, připravené v rámci této práce, jsou označeny čísla tak, jak byla popsána jejich příprava. Aniliny a ostatní aminy, které byly získány z komerčních zdrojů, jsou označeny písmenem **A**, následovaným po sobě jdoucími čísly.

#### 4.2.2. „Nultá“ série *N*-aryl-2-(pyridinyl)chinazolin-4-aminů **61–68**

Nultá série derivátů chinazolin-4-aminu vycházela z výsledků testování knihoven sloučenin v Heidelbergu (viz kapitola 1.4) a z poznatků předešlé práce A. Machary.<sup>65</sup> Cílem bylo zejména připravit látky, které by měly lepší rozpustnost v médiích používaných pro biochemické testování. Připravené látky byly *N*-substituované aromatické deriváty 2-(pyridinyl)chinazolin-4-aminů, nejčastěji mající v poloze 2 pyridin-3-yl, které na dusíkovém atomu v poloze 4 nesly aromáty s polárními funkčními skupinami (látky **62–68**). Látka **61** pak měla sloužit jako jakýsi standard při vyhodnocování vlastností dalších derivátů.

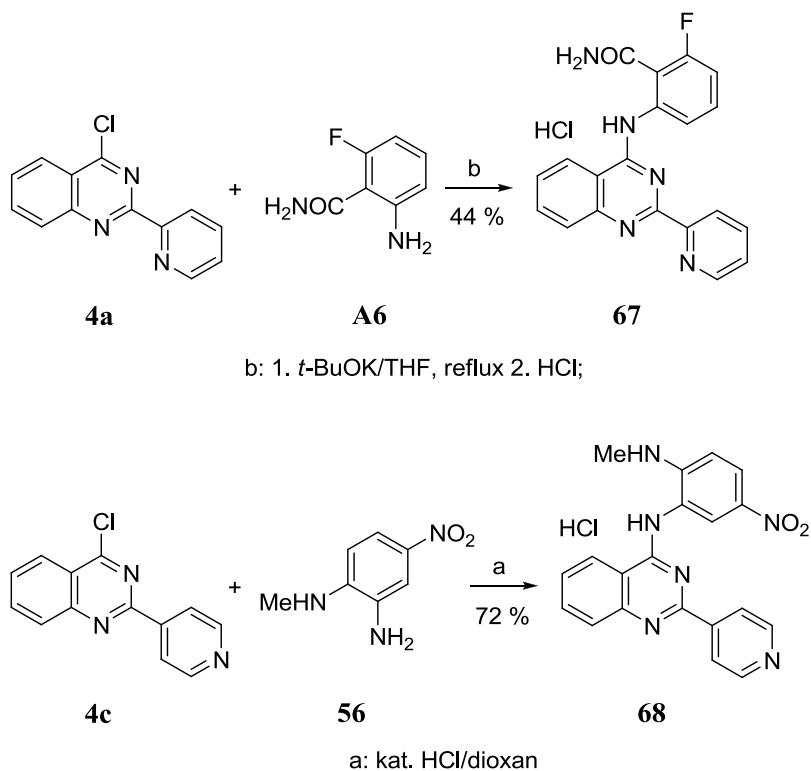
Schéma 27. Příprava derivátů 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminu **61–66**.



Sloučeniny **61–66** byly získány z chlorderivátu **4b** kyselou katalyzovanou nukleofilní substitucí komerčně dostupnými aniliny **A1–A6** (schéma 27). Nižší výtěžky v případě látek **61** a **65** (22 % a 21 %) byly způsobeny neúplnou konverzí reaktantů na produkt a také ztrátami při izolaci. V případě aminoderivátu **63** lze nižší výtěžek 35 % vysvětlit jako důsledek vedlejších reakcí (oxidace, polymerace), kterým mohl podléhat anilin **A3**. Anilin **A6** za podmínek kyselé katalýzy reagoval velmi neochotně. Při opakovaných pokusech byly z reakční směsi izolovány výchozí látky, menší množství produktu **66** a také rozkladné produkty, které vznikaly zřejmě vlivem dlouhého varu v kyselém prostředí. Derivát **66** byl nakonec připraven ve výtěžku 54 % pomocí reakce v bazickém prostředí (schéma 27).

Jelikož anilin **A6** se v předchozí kyselou katalyzované reakci ukázal jako nereaktivní, využil jsem při přípravě derivátu **67** bazických podmínek, a získal tak produkt v uspokojivém výtěžku 44 % (schéma 28). Derivát **68** byl potom získán opět kyselou katalyzovanou reakcí s dobrým výtěžkem 72 % z chloridu **4c** a dříve připraveného anilinu **56** (schéma 28).

Schéma 28. Příprava derivátů **67** a **68**.





Tabulka 2. Orientační rozpustnosti a aktivity látek **61–68**.

sloučenina	<b>61</b>	<b>62</b>	<b>63</b>	<b>64</b>	<b>65</b>	<b>66</b>	<b>67</b>	<b>68</b>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	41	< 10	< 10	< 10	18	52	43	33
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	86	nt	nt	nt	i <sup>a</sup>	i <sup>a</sup>	i <sup>a</sup>	i <sup>a</sup>
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	nt	nt	nt	nt	nt	nt	8	nt

<sup>a</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen.

Jak je patrné z tabulky 2, má mnoho látek v rámci této „nulté“ série velmi nízkou rozpustnost, protože nebylo možno stanovit pomocí AlphaScreen testu jejich hodnoty IC<sub>50</sub>. V tomto ohledu se odlišují pouze amidové deriváty **66** a **67**, jejichž rozpustnost je poněkud lepší. Bohužel tyto látky, společně se sloučeninami **65** a **68**, ovlivňují AlphaScreen test, protože hodnoty IC<sub>50</sub> látek **65–68** nebylo možné stanovit. U látky **67** byl proveden virologický test v tkáňových kulturách, a jak lze z tabulky 2 vyčíst, je tato látka poměrně účinná při inhibici replikace viru. Tento jev zároveň dokladuje, že případná nežádoucí interakce sloučeniny s uspořádáním AlphaScreen testu nutně neznamená, že daná látka přesto nemůže být inhibitorem skládání kapsidy HIV-1 (či obecněji inhibitorem replikace viru).

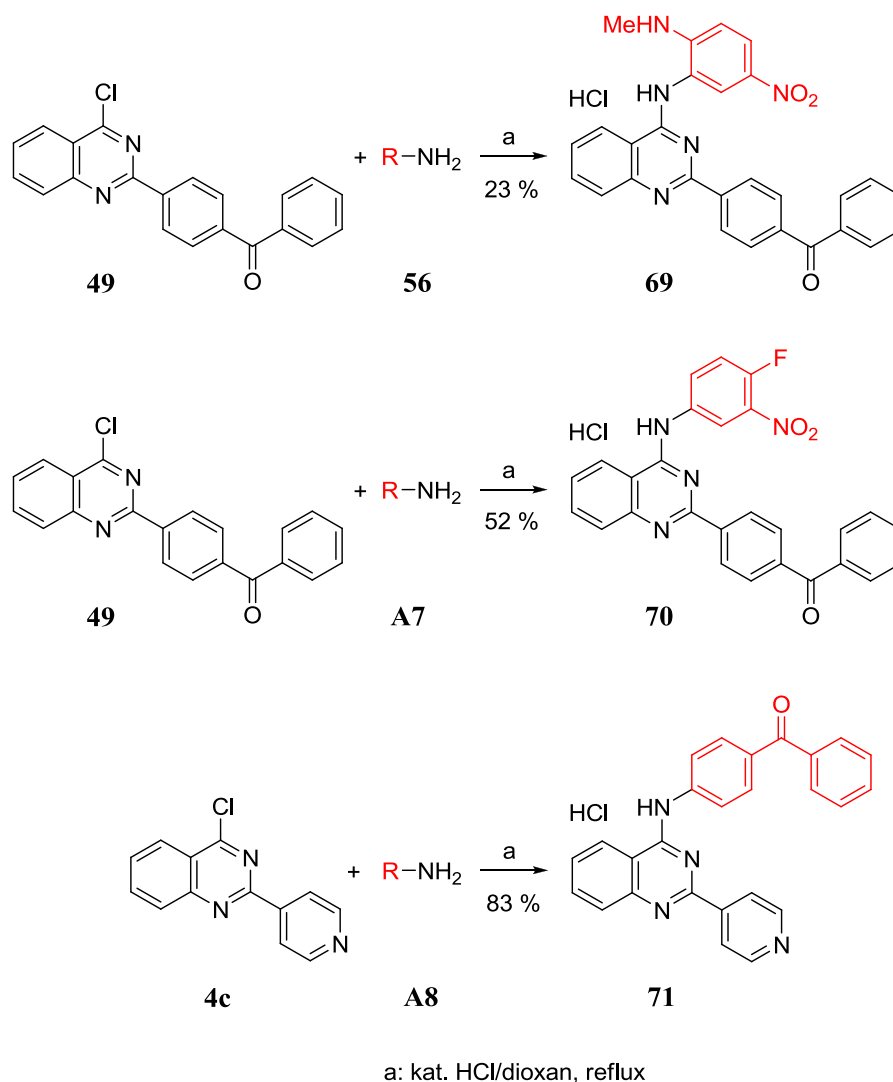
Vztah mezi strukturou sloučeniny a její rozpustností je ve zcela obecné rovině komplikovaný a vysvětlení špatné rozpustnosti zmiňovaných sloučenin je obtížné, bez dalších potřebných dat veskrze spekulativní. Přesto, při pohledu na strukturu sloučenin **62** a **64** se přímo nabízí jejich zwitterionový charakter s možností tvorby vnitřních solí.

#### 4.2.3. Série fotoafitních derivátů **66a**, **66b** a **68**

Ligandy aktivovatelné pomocí záření jsou důležitým nástrojem ve výzkumu a vývoji léčiv, neboť umožňují identifikovat cílovou molekulu léčiva, stanovit afinitu a selektivitu interakce léčiva s cílovou molekulou a určit vazebné místo.<sup>126</sup> Z těchto důvodů byl ze strany kolegů z biochemie vznesen požadavek na přípravu takových derivátů chinazolinu, s kterými by bylo možné pomocí fotoafinitního značení identifikovat přesné vazebné místo těchto chinazolinů v molekule CA proteinu a nezávisle na jiných testech tak též potvrdit mechanismus účinku (vazbu na CA-CTD).

Jako fotoafinitní sonda, která byla inkorporována do molekuly chinazolinového ligandu, byl vybrán motiv benzofenonu. Oproti jiným typům fotoaktivovatelných molekul (diazoestery, arylazidy, aziridiny) nabízely benzofenony několik chemických a biochemických výhod: lze s nimi pracovat za normálního osvětlení; k jejich aktivaci dochází při vlnových délkách, které nepůsobí destrukci proteinů; ochotně reagují s vazbami C-H v lipidech, aminokyselinách a polypeptidech (dochází k abstrakci vodíku) a to i ve vodném prostředí;<sup>127</sup> jsou komerčně snadno dostupné a příprava příslušných derivátů byla nekomplikovaná.

Schéma 29. Příprava derivátů pro fotoafinitní značení.



Celkem jsem připravil 3 benzofenonové deriváty chinazolinu. Deriváty **69** a **70** byly získány z chloridu **49** pomocí nukleofilní substituce příslušnými aniliny **56**, resp. **A7** ve

výtěžcích 23 %, resp. 52 %. Nižší výtěžek (23 %) v případě derivátu **69** byl způsoben ztrátami při izolaci, neboť se mi nedařilo produkt oddělit od nezreagovaného výchozího anilinu **56**. Derivát **71** byl získán z chloridu **4c** a komerčního 4-aminobenzofenonu **A8** v dobrém výtěžku 83 %.

Tabulka 3. Orientační rozpustnosti a aktivity látek **69–71**.

sloučenina	<b>69</b>	<b>70</b>	<b>71</b>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	< 10	< 10	< 10
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	28	9	48
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	t <sup>a</sup>	nt	> 100

<sup>a</sup> toxický

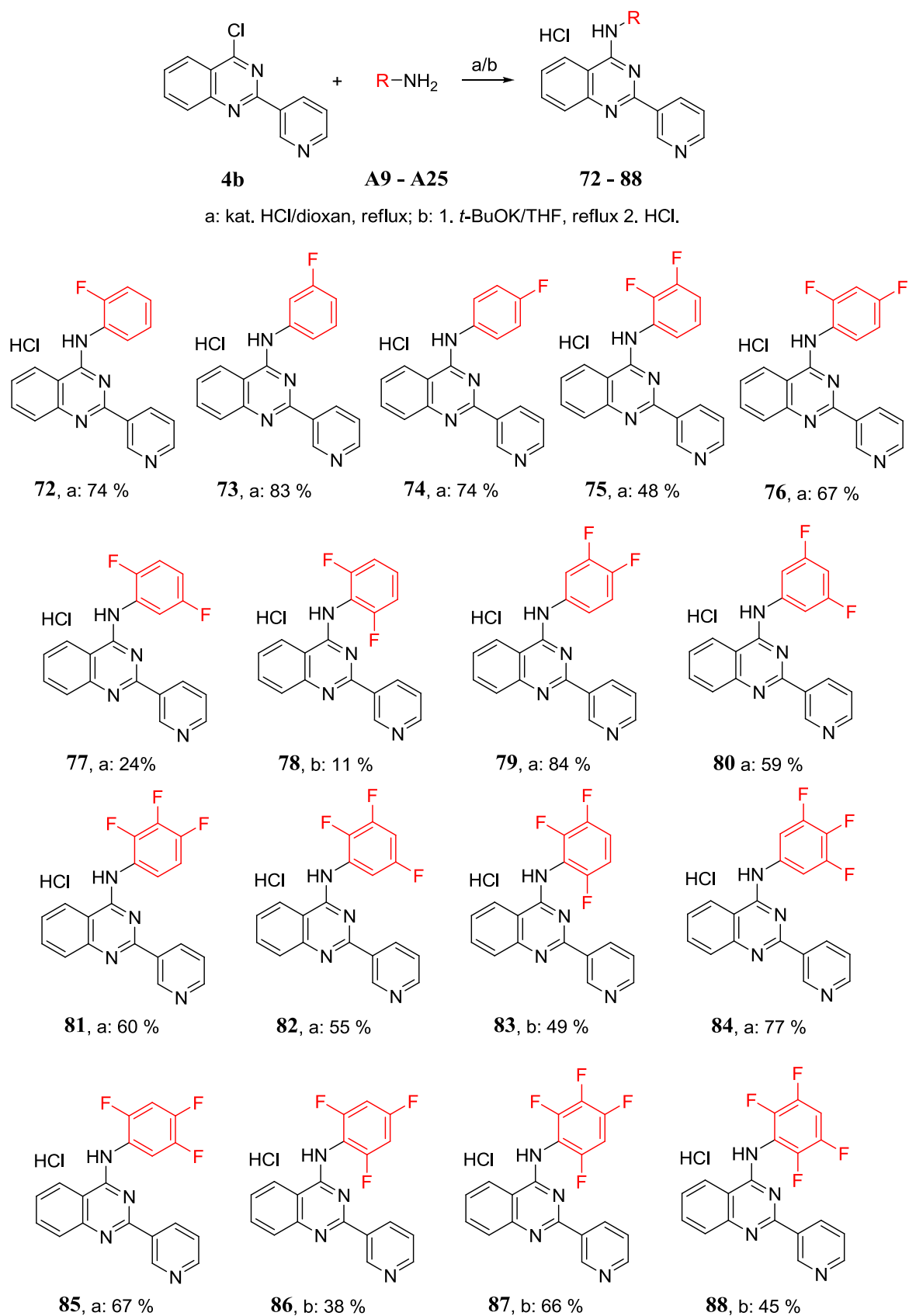
Bohužel, přítomnost dalšího planárního a nepolárního aromatického jádra v derivátech **69–71** vedla k tomu, že všechny tyto deriváty byly velmi špatně rozpustné (tabulka 3). To byl zřejmě také jeden z důvodů, proč kolegové z biochemie nebyli při pokusu o fotoafinitní značení úspěšní.

#### 4.2.4. Série *N*-fluoraryl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů **72–88**

Při vyhodnocování a porovnávání dat průběžně získávaných od jednotlivých dříve připravených látek jsme s kolegy zaznamenali, že se u některých značně aktivních (v AlphaScreen testu) derivátů nápadně často vyskytuje společný strukturní rys, jímž byl *N*-fluorarylový substituent. Z tohoto důvodu jsem se rozhodl podrobit detailnějšímu zkoumání právě deriváty chinazolin-4-aminů odvozené od fluoranilinů.

Látky v této sérii (**72–88**) byly připraveny nukleofilní substitucí 4-chlorderivátu **4b** příslušnými komerčně dostupnými fluoraniliny **A9–A25** (schéma 30), podle dříve popsáných postupů (viz 3.2). Pro stericky nebráněné aniliny byla nejvhodnější kysele katalyzovaná reakce, která obvykle poskytovala průměrné až dobré výtěžky 60–85 %. Pokud byl anilin substituovaný v poloze 2 (deriváty **75**, **76**, **77**, **81**, **82**, **85**), bylo stále možné reakci provést za kyselé katalýzy, avšak v některých případech s poněkud nižším výtěžkem. V případě 2,6-substituovaných anilinů bylo potřeba přistoupit k reakci v bazickém prostředí

Schéma 30. Příprava fluorovaných derivátů 72–88.



(deriváty **78**, **83**, **86**, **87**, **88**) s výtěžky obvykle okolo 50 % (11–66 %). Nízký výtěžek v případě 2,6-difluor derivátu **78** byl způsoben komplikacemi při izolaci.

Aktivita látek (AlphaScreen) se v rámci série značně lišila a lze zde nalézt jak sloučeniny s poměrně dobrou hodnotou IC<sub>50</sub> (např. **79**, **82**, **85**), tak i sloučeniny neaktivní. Vztah mezi aktivitou a strukturou fluoranilinového uskupení nelze jednoduše zobecnit a popsat. Nicméně při porovnání fluoranilinových derivátů **72–86** s „referenční“ sloučeninou **61**, nesoucí v poloze 4 nesubstituovaný anilin, lze říci, že přítomnost fluoru má pozitivní vliv na aktivitu. Ze schématu 30 a tabulky 4 je dále patrné, že lepších hodnot IC<sub>50</sub> dosahují di- a trisubstituované deriváty **75–86**, spíše než mono, či tetrasubstituované (**72–74**; **87**, **88**). Zároveň výsledky naznačují, že jsou preferovány deriváty odvozené od anilinů substituovaných v poloze 3 a 4, zatímco 2-fluorderiváty vykazují horší aktivitu.

Rozpustnost sloučenin v této sérii se mezi jednotlivými deriváty lišila až o řád (tabulka 4). Ve shodě s obecným očekáváním jsou lépe rozpustné spíše nesymetricky substituované deriváty (např. **83** vs. **84**) a lépe rozpustné se také jeví deriváty substituované v polohách 2 a 6. Možná poněkud proti očekávání zde nelze nalézt trend zhoršující se rozpustnosti s rostoucím počtem atomů fluoru v molekule.

Tabulka 4. Orientační rozpustnosti a aktivity látek **72–88**.

sloučenina	<b>72</b>	<b>73</b>	<b>74</b>	<b>75</b>	<b>76</b>	<b>77</b>	<b>78</b>	<b>79</b>	<b>80</b>
rozpustnost (μM)	95	37	34	33	44	56	64	< 10	27
IC <sub>50</sub> (μM) (AlphaScreen)	94	49	44	93	36	39	> 100	19	i <sup>a</sup>
IC <sub>50</sub> (μM) (tkáňové kultury)	> 100	> 100	nt	nt	20	nt	nt	10	nt
sloučenina	<b>81</b>	<b>82</b>	<b>83</b>	<b>84</b>	<b>85</b>	<b>86</b>	<b>87</b>	<b>88</b>	
rozpustnost (μM)	< 10	74	74	42	23	16	57	31	
IC <sub>50</sub> (μM) (AlphaScreen)	51	10	> 100	42	18	> 100	> 100	> 100	
IC <sub>50</sub> (μM) (tkáňové kultury)	> 100	nt	nt	5	4	nt	nt	nt	

<sup>a</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen.

Jisté speciální postavení v rámci této série i celé práce má derivát **84**. Byl připraven jako jeden z prvních a výsledky jeho testování byly nejdříve k dispozici. Ačkoliv v AlphaScreen testu vykazoval pouze průměrnou aktivitu, v tkáňových kulturách si vedl velmi dobře. Z těchto důvodů byl vybrán jako kandidát pro rozšířené biochemické testování a v rámci své práce jsem jej často používal jako „referenční“ sloučeninu, s níž jsem poměřoval látky připravené později a v dalších sériích. Stejný status „referenční“ sloučeniny později získal i derivát **85**, který sice vykazoval horší rozpustnost, ale v AlphaScreen testu dosáhl poněkud lepšího výsledku.

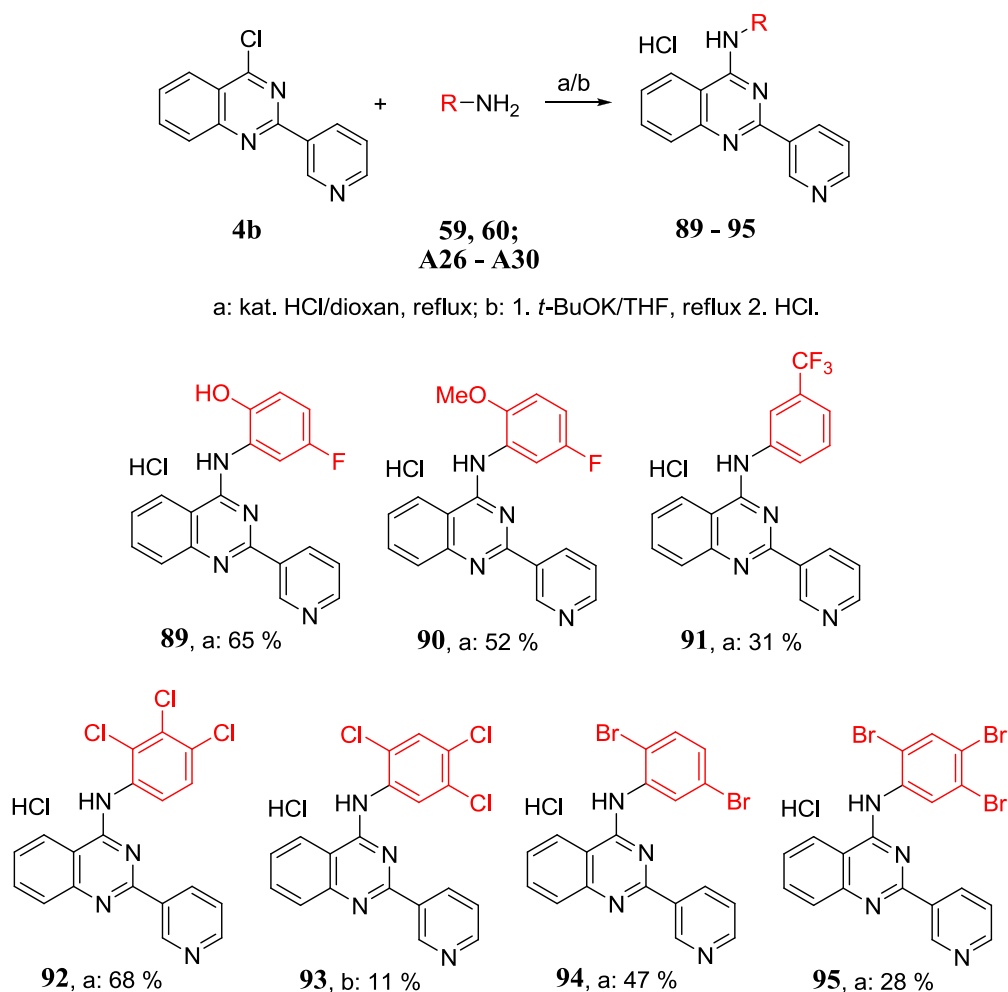
#### 4.2.5. Série *N*-halogenaryl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů **89–95**

V rámci přípravy a testování fluorarylových derivátů (viz 3.2.3.) byly syntetizovány i některé další sloučeniny, které kromě fluoru nesly i jiný substituent. Zároveň, vzhledem k výsledkům fluorovaných derivátů, mě zajímalo, jakých výsledků budou dosahovat analogy odvozené od dalších halogenů (chlor a brom). Pro lepší přehlednost jsem tyto sloučeniny zařadil do samostatné kapitoly.

Všechny halogenované deriváty byly připraveny podle dříve zmíněných postupů (viz 3.2.). Látky **89–93** byly získány z komerčně dostupných anilinů **A26–A30**, látky **94** a **95** pak z předem připravených bromanilinů **59** a **60** (schéma 31). Nízký výtěžek v případě derivátu **91** byl způsoben ztrátami při izolaci po reakci v malém měřítku (50 mg chloridu **4b**). Anilin **A30** byl v kyselé katalyzované reakci zcela nereaktivní. Za bazických podmínek reakce probíhala, avšak konverze výchozích látek **4b** a **A30** na produkt byla (dle TLC) zřejmě méně než 50 %, což je také důvod nízkého výtěžku (11 %) sloučeniny **93**. Poněkud překvapivé bylo, že bromaniliny **59** a **60** reagovaly s chloridem **4b** v kyselé katalyzované reakci. V případě derivátu **95** byl výtěžek sice nižší (28 %), nicméně množství produktu bylo zcela dostačující pro účely testování.

Rozpustnost všech látek v této sérii byla bohužel nedostatečná (tabulka 5). U derivátů **92–95** bylo možné horší výsledky očekávat, vzhledem k vícenásobné substituci spíše lipofilními halogenovými atomy. Velmi špatná rozpustnost látek **89** a **90** by teoreticky mohla souviset s tvorbou intramolekulárních vodíkových vazeb.

Schéma 31. Příprava halogenových derivátů **89** – **95**.



Tabulka 5. Orientační rozpustnosti a aktivity látek **89**–**95**.

sloučenina	<b>89</b>	<b>90</b>	<b>91</b>	<b>92</b>	<b>93</b>	<b>94</b>	<b>95</b>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	< 10	< 10	34	23	33	20	20
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	10	62	> 100	1.2 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>	7	2
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	5	5	> 100	nt	nt	nt	nt

<sup>a</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen.

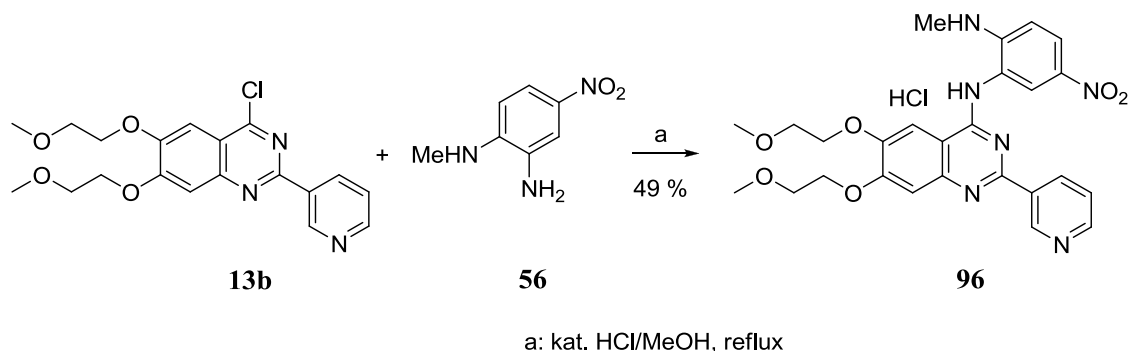
Paradoxně jsou všechny deriváty v této sérii (s výjimkou trifluormethylového derivátu **91**) značně aktivní v AlphaScreen testu (tabulka 5). Zaznamenané výsledky mohou být ovlivněny špatnou rozpustností, navíc v případě látek **92** a **93** byly výsledky ovlivněny jejich interakcí se složkami systému testu, pročež tyto výsledky nelze považovat za zcela

spolehlivé. V případě látek **89** a **90** byla však jejich aktivita jednoznačně potvrzena též testem v tkáňových kulturách. Při porovnání chlorderivátů **92**, **93** a bromderivátů **94**, **95** s jejich fluorovými analogy **81** (resp. **77**) a **85**, jakožto referenčními sloučeninami, je patrné, že náhrada fluoru halogenem s vyšším protonovým číslem zvyšuje aktivitu sloučeniny zhruba o řád.

#### 4.2.6. Série 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů **96–105** substituovaných na benzenovém jádře

Vzhledem k omezené rozpustnosti doposud připravených derivátů byl ze strany kolegů biochemiků vznesen požadavek na přípravu látek, které by byly lépe rozpustné v testovacím médiu (PBS pufr + 2 % DMSO). Lepší rozpustnosti jsem se tedy pokusil dosáhnout zavedením polárních funkčních skupin na benzenové jádro chinazolinu (látky **96–98**). V rámci přehlednosti do této kapitoly zařadím i deriváty **99–101** nesoucí na benzenovém jádře fluorové funkční skupiny, které byly připraveny v rámci výzkumu halogenových derivátů.

Schéma 32. Příprava derivátu **96**.



Prvním z připravených derivátů byla sloučenina **96**, která byla získána z chloridu **13b** a anilinu **56** pomocí modifikovaného standardního postupu v průměrném výtěžku 49 % (schéma 32). Aktivita derivátu **96** byla porovnávána s derivátem **AMR-494**, dříve připraveným A. Macharou, a jak je patrné z tabulky 6, zavedení postranních řetězců do polohy 6 a 7 v derivátu **96** vedlo ke ztrátě aktivity. Bohužel pro sloučeninu **AMR-494** nebyl k dispozici údaj o rozpustnosti, provedl jsem tedy nepřímé porovnání s izomerním derivátem **68** (tabulka 6). I když má takovéto porovnání jen omezenou platnost, lze z něj vyvodit závěr,

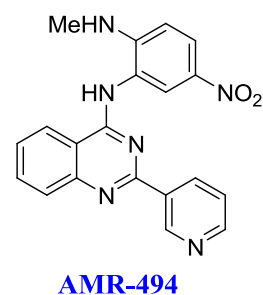


že zavedení 2-methoxyethyl etherových postranních řetězců nemá významný vliv na rozpustnost.

Tabulka 6. Porovnání látky **96** s derivátem **68** a sloučeninou **AMR-494** A. Machary.

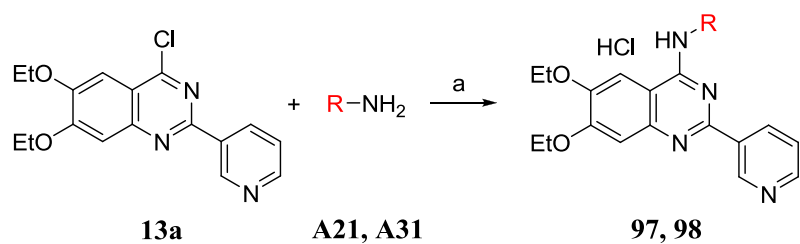
sloučenina	<b>96</b>	<b>68<sup>b</sup></b>	<b>AMR-494<sup>b</sup></b>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	41	33	nt
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	> 100	i <sup>a</sup>	9
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	nt	nt	nt

<sup>a</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen, <sup>b</sup> referenční sloučenina

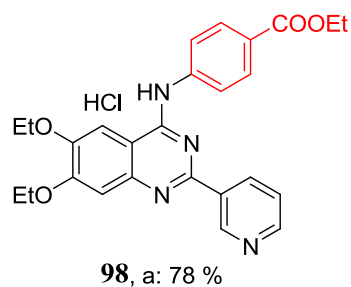
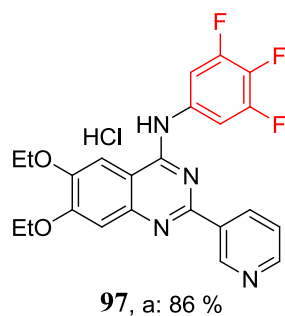


Dále jsem podle dříve popsaného postupu připravil v dobrých výtěžcích 86 % a 78 % diethoxyderiváty **97** a **98** se zkráceným postranním řetězcem. Aktivity a rozpustnosti derivátů **97**, resp. **98** byly porovnány s referenčními sloučeninami **84**, resp. **KP-154** (připravena K. Parkanem). Z výsledků (tabulka 7) je zřejmé, že substituce ethoxyskupinami na C7 a C8 benzenového jádra chinazolinu má za následek jak pokles aktivity, tak i snížení rozpustnosti v porovnání s referenčními sloučeninami **84** a **KP-154**.

Schéma 33. Příprava látek **97** a **98**.



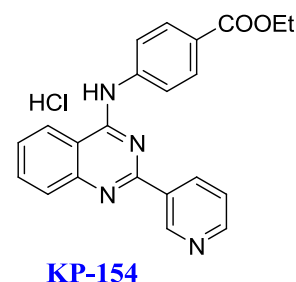
a: kat. HCl/MeOH, reflux



Tabulka 7. Porovnání derivátů **97** a **98** s referenčními sloučeninami **84** a **KP-154**.

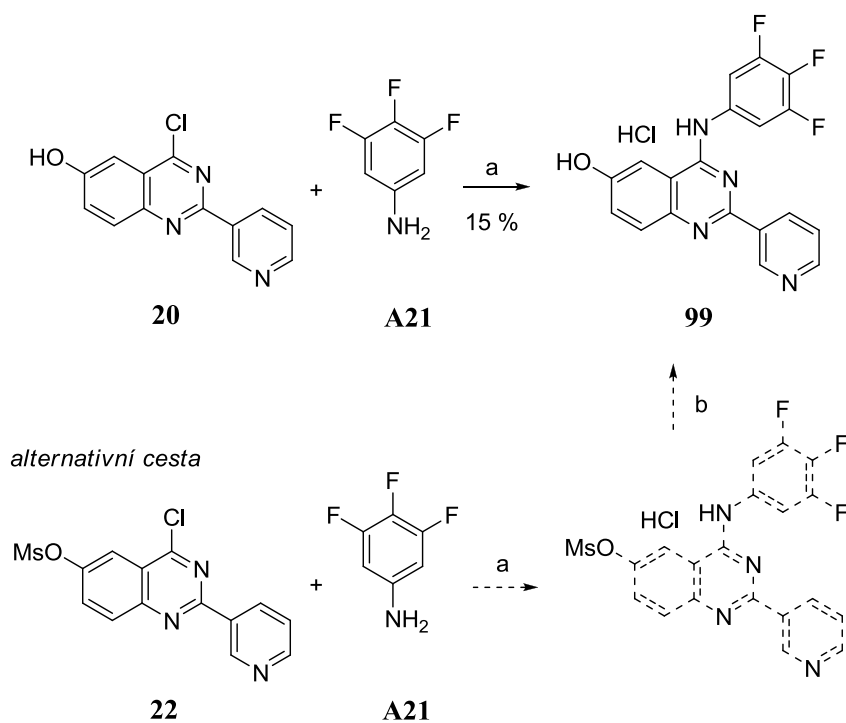
sloučenina	<b>97</b>	<b>98</b>	<b>84</b> <sup>a</sup>	<b>KP-154</b> <sup>a</sup>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	29	< 10	42	26
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	55	59	42	47
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	nt	nt	5	5

<sup>a</sup> referenční sloučenina



Poslední pokus o modifikaci benzenového jádra pomocí polární funkční skupiny byla příprava hydroxyderivátu **99**, který byl získán z chloridu **20** a anilinu **A21** podle standardního postupu v nízkém výtěžku 15 % (schéma 34). Tento nízký výtěžek byl důsledkem práce s nechráněným derivátem **20**, kdy byla v reakční směsi přítomna řada rozkladných produktů (dle TLC). Při eventuálním dalším přísunu hydroxyderivátu **99** by bylo pravděpodobně vhodné vycházet z chráněného derivátu **22** (schéma 34), ale vzhledem k neaktivitě derivátu **99** v AlphaScreen testu i ve tkáňových kulturách (IC<sub>50</sub> > 100  $\mu\text{M}$ ) bylo od dalších pokusů upuštěno.

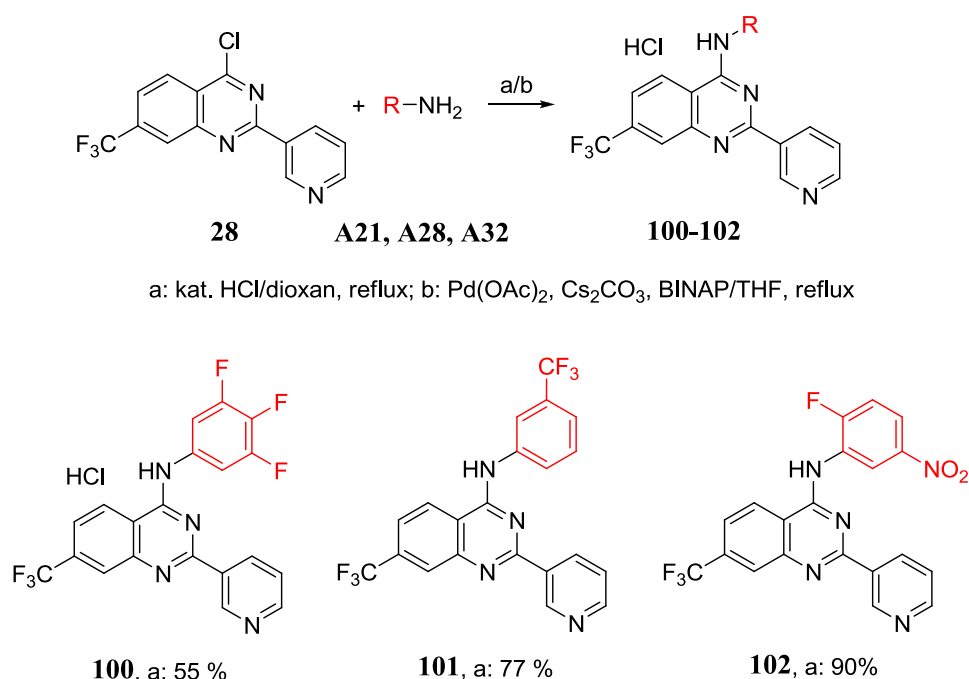
Schéma 34. Příprava hydroxyderivátu **99**.



a: kat. HCl/dioxan, reflux; b: NaOH/H<sub>2</sub>O, EtOH, reflux

V rámci výzkumu aktivit fluorovaných derivátů jsem připravil též sloučeniny **100–102** nesoucí trifluormethylovou skupinu na benzenovém jádře chinazolinu. Sloučeniny **100** a **101** byly s výtěžky 55 % a 77 % připraveny podle standardního postupu. Pro přípravu sloučeniny **102** pak byla pokusně použita metoda Buchwaldovy-Hartwigovy katalytické aminace,<sup>128</sup> která poskytla produkt **102** ve výborném 90% výtěžku (schéma 35), čímž byla ověřena možnost případného využití této syntetické metody jako alternativy ke stávajícím metodám.

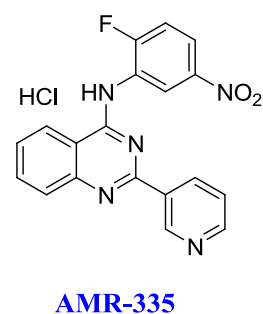
Schéma 35. Příprava derivátů **100–102**.



Tabulka 8. Orientační rozpustnosti a aktivity derivátů **100–102**.

sloučenina	<b>100</b>	<b>101</b>	<b>102</b>	<b>84<sup>b</sup></b>	<b>91<sup>b</sup></b>	<b>AMR-335<sup>b</sup></b>
rozpustnost (μM)	< 10	11	nt	42	34	nt
IC <sub>50</sub> (μM) (AlphaScreen)	> 100	> 100	12 <sup>c</sup>	42	> 100	7 <sup>c</sup>
IC <sub>50</sub> (μM) (tkáňové kultury)	5	8	t <sup>a</sup>	5	> 100	nt

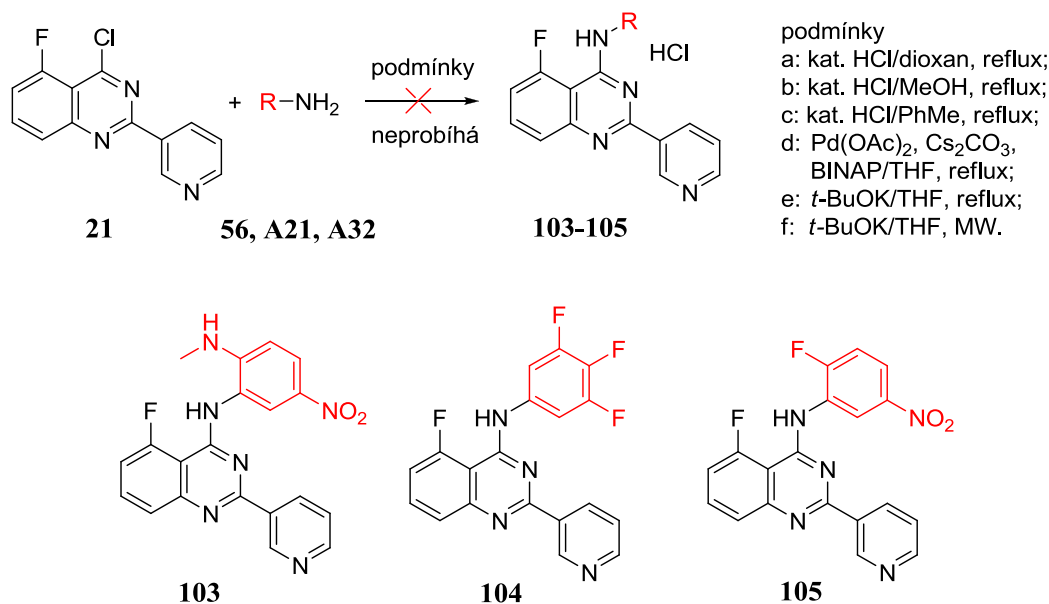
<sup>a</sup> toxický, <sup>b</sup> referenční sloučenina, <sup>c</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen



Aktivity a rozpustnosti látek **100–102** byly porovnány s analogickými sloučeninami **84**, **91** a **AMR-335** (připravena A. Macharou), bez trifluormethylové skupiny v poloze 7 (tabulka 8). Deriváty **100** a **101** vykazovaly v AlphaScreen testu ztrátu aktivity; poměrně dobré hodnoty získané při testu v tkáňových kulturách naznačují, že tyto látky způsobují inhibici replikace viru ještě jiným mechanismem, než je vazba na CTD CA proteinu. Látka **102** byla připravena pro porovnání se sloučeninou **AMR-335**. Až později bylo zjištěno, že obě látky interagují s uspořádáním AlphaScreen testu, čili výsledky v tabulce 8 nelze brát za směrodatné. Navíc se derivát **102** při testu v tkáňových kulturách projevil jako cytotoxický. Rozpustnost derivátů **100** a **101**, v porovnání s jejich analogy **84**, resp. **91**, bez trifluormethylové skupiny v poloze 7, byla nízká (tabulka 8).

Nakonec jsem se v rámci modifikace benzenového jádra pokusil připravit látky **103–105**, přičemž jsem vycházel z chloridu **21**. Vyzkoušel jsem řadu reakčních podmínek a několik anilinů (**56**, **A21** a **A32**) jakožto reakčních partnerů (schéma 36), nicméně reakce z neznámých důvodů v žádném z případů neprobíhala a z reakční směsi byly izolovány pouze výchozí látky.

Schéma 36. Pokus o přípravu derivátů **103–105**.

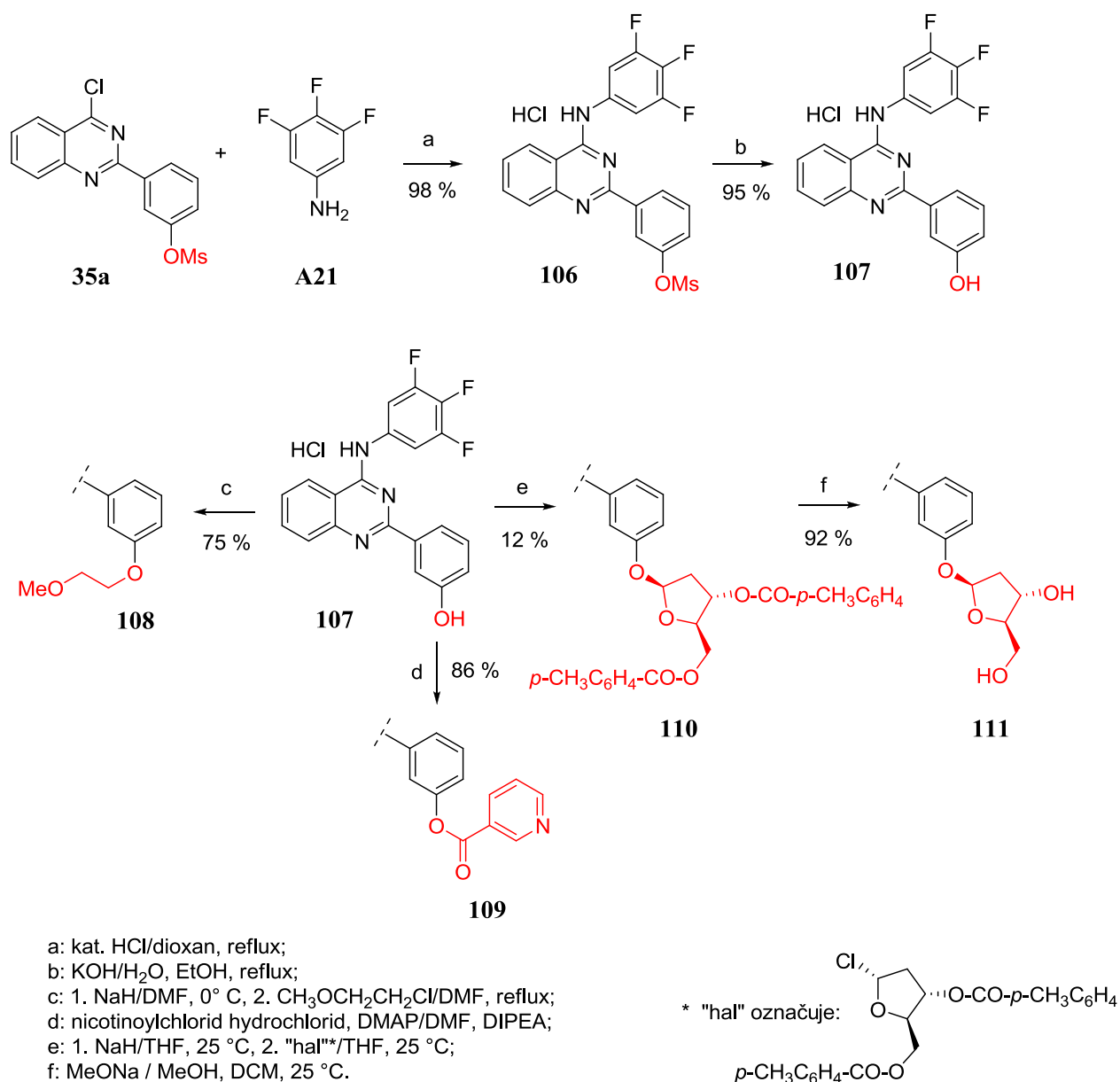


#### 4.2.7. Série substituovaných 2-arylchinazolin-4-aminů **106–124**

Vzhledem k tomu, že deriváty chinazolinaminů **96–102**, substituované na benzenovém jádře, vykazovaly oproti referenčním sloučeninám sníženou aktivitu, či úplnou ztrátu aktivity,

rozhodl jsem se zaměřit se na modifikace arylového zbytku v poloze 2 chinazolinového skeletu.

Schéma 37. Příprava fenolových derivátů **106–111**.



Nejprve jsem připravil látky **106 – 111** nesoucí v poloze 2 fenolovou skupinu a její deriváty (schéma 37). Vycházel jsem z chráněného chloridu **35a**, který reakcí s anilinem **A21** podle standardního postupu poskytl *N*-substituovaný chinazolinamin **106** v téměř kvantitativním výtěžku. Dalším krokem bylo odchránění za silně bazických podmínek, vedoucí k fenolu **107** ve vysokém výtěžku 95 %. Deriváty **108** a **109** byly získány z fenolu **107** a komerčně dostupného 1-chlor-2-methoxyethanu, resp. hydrochloridu nikotinoylchloridu

v dobrých výtěžcích 75 %, resp. 86 % pomocí standardních alkylačních reakcí. Chráněný derivát D-deoxyribózy **110** byl získán alkylací fenolu **107** pomocí 3,5-di-*O-p*-toluoyl-2-deoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosylchloridu (připravená v laboratoři dr. Otmara); ačkoliv jsem se snažil co nejlépe dodržet bezvodé reakční prostředí a použil nadbytek výše zmíněné halogenózy, reakce probíhala neochotně, s malou konverzí a za hydrolýzy 3,5-di-*O-p*-toluoyl-2-deoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosylchloridu (výtěžek 12 %). Na základě hodnot interakčních konstant v  $^1\text{H}$  NMR spektru bylo pravděpodobné, že derivát **110** je  $\beta$ -anomer (tato domněnka byla následně potvrzena i pomocí ROESY experimentu) a reakce tedy proběhla s inverzí konfigurace na anomerním uhlíku. Vznik  $\alpha$ -anomeru nebyl pozorován. Derivát **111** byl poté získán odchráněním sacharidové části látky **110** s vysokým výtěžkem 92 %.

Všechny otestované fenolové deriváty **106–109** a **111** vykazovaly velmi nízkou rozpustnost (tabulka 9). V případě derivátu **109** je vhodnější hovořit spíše o téměř dokonalé nerozpustnosti, pro kterou jej nebylo možné otestovat metodou AlphaScreen. Všechny testované látky zároveň vykazovaly v AlphaScreen testu ztrátu aktivity. U sacharidového derivátu **111** mohla být špatná rozpustnost a (ne)aktivita také důsledkem toho, že látku bylo nutné otestovat jako volnou bázi; při pokusech o její převedení na hydrochlorid docházelo k rozkladu – zřejmě k hydrolýze sacharidové části molekuly.

Tabulka 9. Orientační rozpustnosti a aktivity derivátů **106–109** a **111**.

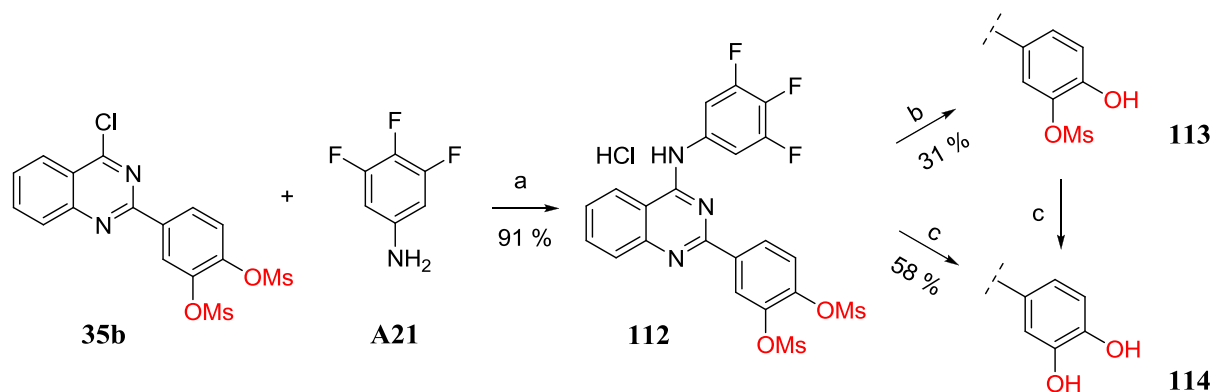
sloučenina	<b>106</b>	<b>107</b>	<b>108</b>	<b>109</b>	<b>111</b> <sup>a</sup>	<b>84</b> <sup>b</sup>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	< 10	< 10	16	<< 10	16	42
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	> 100	> 100	> 100	nt	> 100	42
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	nt	nt	nt	nt	nt	5

<sup>a</sup> látka byla testována jako volná báze, <sup>b</sup> referenční sloučenina

Další látky, připravené v rámci této série, jsou deriváty katecholu **112–115**, které byly dostupné z chráněného chloridu **35b** a anilinu **A21**, resp. **A31** (schéma 38). Nejprve byly získány ochráněné deriváty **112** a **115** ve vysokých výtěžcích přes 90 %. Při pokusu o odchránění chinazolinu **112** bylo zjištěno, že při použití mírnějších podmínek dochází pouze k parciální deprotekcí za vzniku derivátu **113**. Pokud se reakce provádí za zvýšené teploty (použití NaOH vs. KOH nehraje zásadní roli), dojde k odstranění obou chránících skupin za vzniku katecholového derivátu **114** ve výtěžku 58 %.

Rozpustnost ochráněných derivátů **112** a **115** byla velmi nízká a zároveň tyto látky nebyly v AlphaScreen testu aktivní. V tkáňových kulturách však vykazovaly poměrně dobré hodnoty IC<sub>50</sub> (tabulka 10), což naznačuje, že by tyto látky mohly účinkovat ještě jiným mechanismem, než je vazba na CA-CTD. Katecholový derivát **114** vykazoval lepší rozpustnost i aktivitu v porovnání s referenční sloučeninou **84**.

Schéma 38. Příprava derivátů katecholu **112**–**115**.



a: kat. HCl/dioxan, reflux; b: NaOH/H<sub>2</sub>O, MeOH, 25 °C; c: KOH/H<sub>2</sub>O, EtOH, reflux

Tabulka 10. Orientační rozpustnosti a aktivity derivátů **112**–**115**.

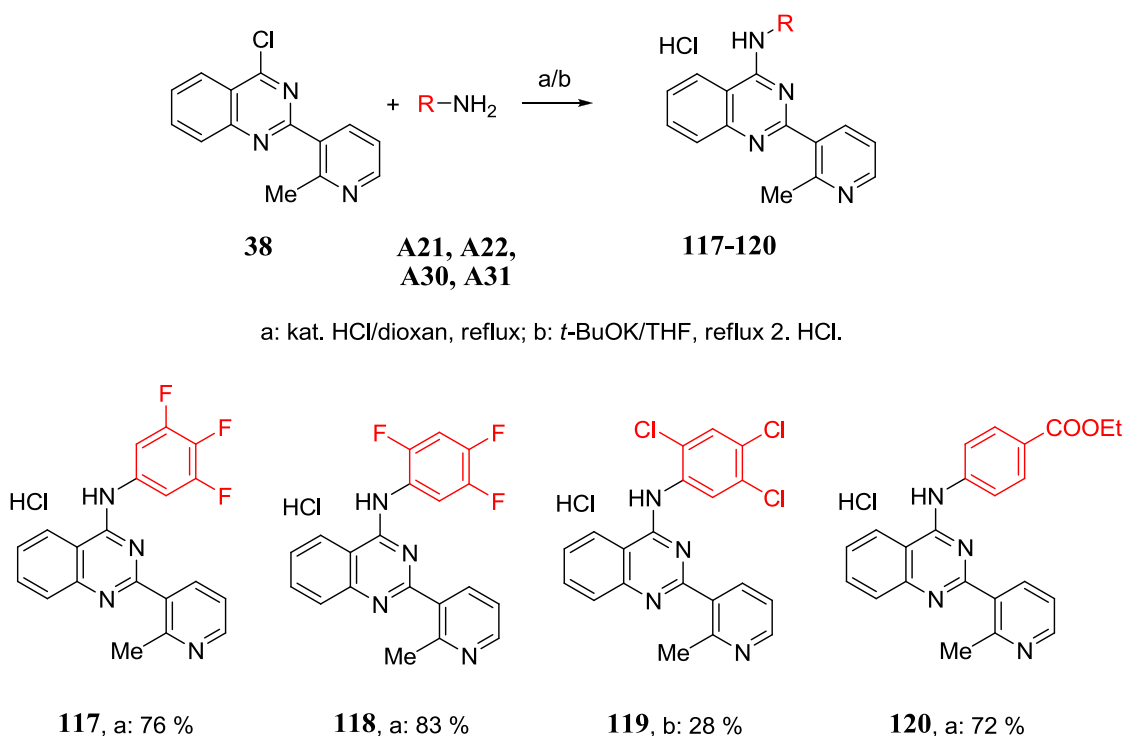
sloučenina	<b>112</b>	<b>113</b>	<b>114</b>	<b>115</b>	<b>84</b> <sup>a</sup>	<b>KP-154</b> <sup>a</sup>
rozpustnost (μM)	< 10	< 10	63	< 10	42	26
IC <sub>50</sub> (μM) (AlphaScreen)	> 100	> 100	23	> 100	42	47
IC <sub>50</sub> (μM) (tkáňové kultury)	5	5	nt	5	5	5

<sup>a</sup> referenční sloučenina

Vzhledem k celkově nikterak povzbudivým výsledkům derivátů chinazolinu s 2-arylovým substituentem nesoucím polární funkční skupiny (látky **106–115**), přesunul jsem pozornost na modifikaci vedoucí ke snížení symetrie molekuly vlivem distorze substituentu na C2 vůči rovině symetrie chinazolinu. Tato úprava měla vést ke zhoršenému ukládání molekul do krystalové mřížky, a ve svém důsledku tedy i ke zvýšení rozpustnosti takto modifikované látky.<sup>120</sup>

Za tímto účelem jsem připravil deriváty **117**, **118**, **119** a **120**, které byly získány reakcí 4-chlor-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolinu **38** s aniliny **A21**, **A22**, **A30** a **A31** podle dříve popsanych postupů (schéma 39). Deriváty **117**, **118** a **120** byly získány v dobrých výtěžcích **72–83** %. Nízký výtěžek 28 % v případě reakce anilinu **A30** za bazických podmínek (sloučenina **119**) odpovídá dřívě zjištěné nízké reaktivitě tohoto anilinu. Jak je patrné z tabulky 11, u derivátů **117** a **118** došlo k mírnému zlepšení rozpustnosti v porovnání s analogy **84** a **85** bez methylové skupiny v poloze 2 pyridinylového zbytku. O to více je překvapivý pokles rozpustnosti v případě derivátů **119** a **120**. Látka **117** si v porovnání s referenční sloučeninou **84** zachovala svoji aktivitu, zatímco u izomeru **118** došlo ke ztrátě aktivity. Taktéž ester **120** vykazoval podobné hodnoty IC<sub>50</sub> jako jeho analog **KP-154**. Až později bylo zjištěno, že chlorované deriváty **93** a **119** interagují s uspořádáním AlphaScreen testu, pročež porovnávat jejich hodnoty IC<sub>50</sub> v tomto testu získané nemá opodstatnění.

Schéma 39. Příprava methylderivátů **117–120**.





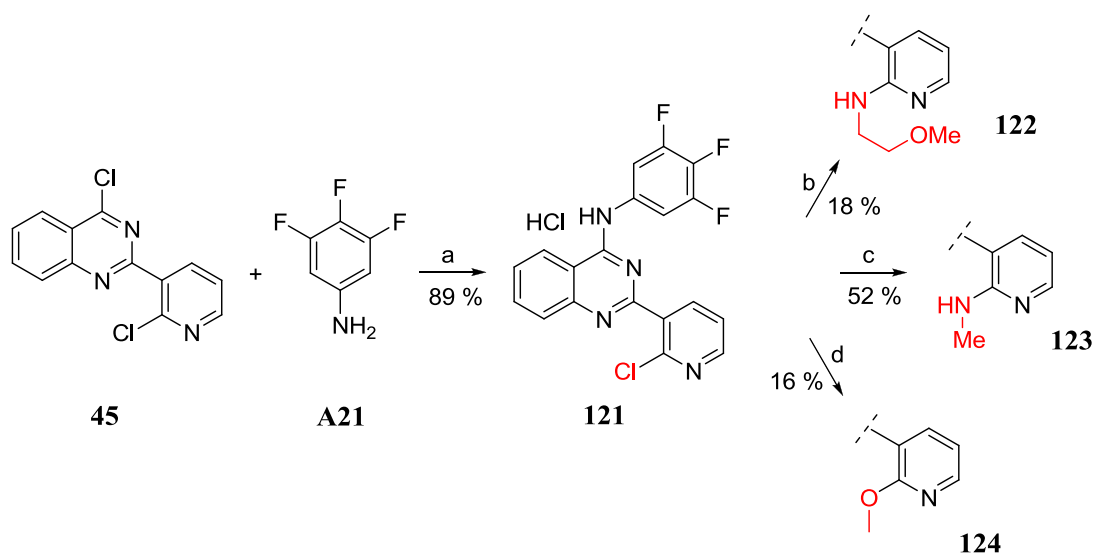
Tabulka 11. Porovnání orientační rozpustnosti a aktivity látek **117–120** s referenčními sloučeninami **84**, **85**, **93** a **KP-154**.

sloučenina	<b>117</b>	<b>118</b>	<b>119</b>	<b>120</b>	<b>84<sup>b</sup></b>	<b>85<sup>b</sup></b>	<b>93<sup>b</sup></b>	<b>KP-154<sup>b</sup></b>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	72	35	21	5	42	23	33	26
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	45	> 100	i <sup>a</sup>	14	42	18	1.1 <sup>a</sup>	47
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	nt	nt	nt	15	5	4	nt	5

<sup>a</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen, <sup>b</sup> referenční sloučeniny

Úplně na konec mých snah o modifikace aromatického substituentu na C2 v molekule chinazolinů jsem se pokusil spojit přístup deplanarizace molekuly se zaváděním polárních funkčních skupin. Nejprve byl z dichloridu **45** a anilinu **A21** pomocí standardního postupu nukleofilní substituce připraven chlorid **121** ve vysokém výtěžku 89 % (schéma 40). Vzhledem k relativní sterické náročnosti anilinu **A21** probíhala substituce chloru selektivně pouze v poloze 4 chinazolinového skeletu.

Schéma 40. Příprava derivátů **121–124**.



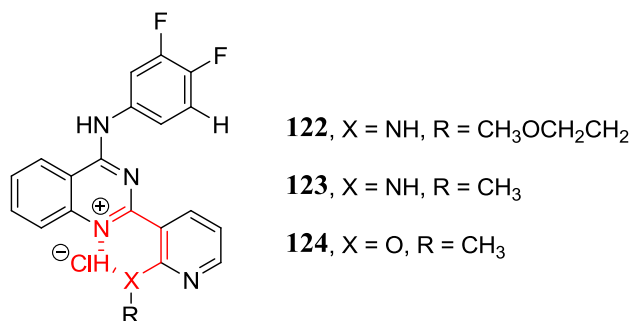
a: kat. HCl/dioxan, reflux; b: nadbytek  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2/130\text{ }^\circ\text{C}$ ;  
c: nadbytek  $\text{CH}_3\text{NH}_2/\text{EtOH}$ ,  $100\text{ }^\circ\text{C}$ ; d: nadbytek  $\text{MeONa}/\text{MeOH}$ ,  $100\text{ }^\circ\text{C}$ .

Příprava derivátů **122–124** byla uskutečněna reakcí chlorderivátu **121** s příslušnými nukleofily v nadbytku (schéma 40). Protože je poloha 2 pyridin-3-ylového substituentu stericky značně bráněná, a tudíž pro nukleofil hůře přístupná, reakce za standardních

podmínek (nukleofil, rozpouštědlo a reflux pod zpětným chladičem) probíhaly pomalu. Lepších výsledků bylo dosaženo, pokud byly reakce prováděny v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli, za vysokých teplot a v nadbytku nukleofilu. Nízké výtěžky produktů **122** a **124** (18 % a 16 %) jsou důsledkem nízké konverze reaktantů na produkty a jejich komplikované izolace z reakční směsi, která souvisela s jejich velmi špatnou rozpustností.

Všechny deriváty **121–124** byly extrémně špatně rozpustné nejen v testovacím médiu, ale i v běžných organických rozpouštědlech. Deriváty **122–124** byly obzvláště nerozpustné ve formě svých solí s kyselinou chlorovodíkovou. Jako vysvětlení tohoto jevu se nabízí tvorba intramolekulárních vodíkových můstků (viz obrázek 9). Lepší rozpustnosti (minimálně v DMSO) tak paradoxně dosahovaly volné báze látek **122–124**. V případě derivátů **122** a **123**, s aminoskupinou v poloze 2 pyridin-3-ylového zbytku, byla rozpustnost volných bází tak nízká, že bylo značně komplikované získat i NMR spektra těchto sloučenin. Z důvodu špatné rozpustnosti derivátů **121–124** nebyla u těchto sloučenin ani zkoumána jejich aktivita.

Obrázek 9. Tvorba intramolekulárních vodíkových vazeb v protonovaných chinazolinech **122–124**, jakožto možné vysvětlení jejich velmi špatné rozpustnosti.

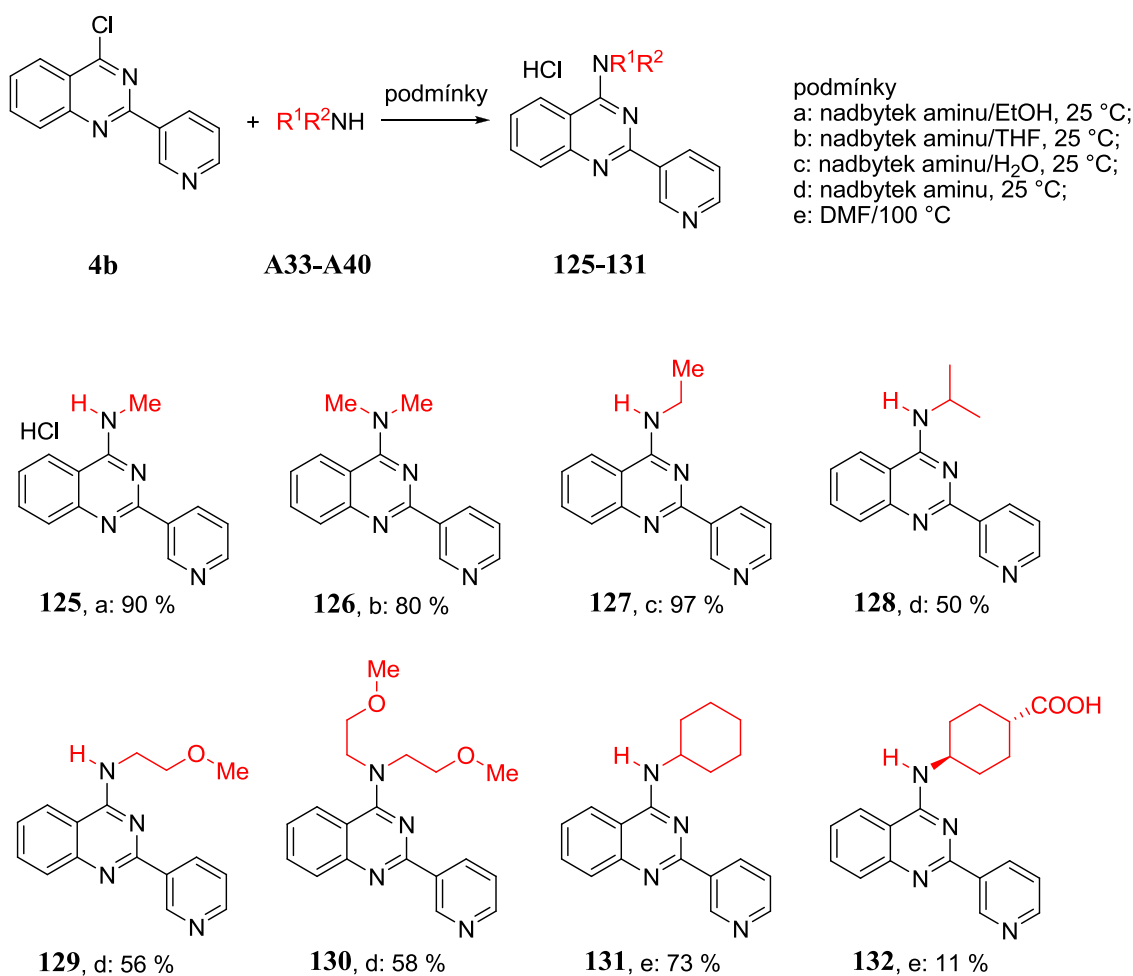


#### 4.2.8. Série alifatických derivátů 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-aminů **125–132**

Přes veškeré snahy o zlepšení rozpustnosti prostřednictvím zavádění polárních funkčních skupin, či deplanarizace molekuly, nebyly výsledky uspokojivé. Jedním z důvodů nízké rozpustnosti takovýchto derivátů chinazolinu může být i jejich polyaromatický charakter a z něj vyplývající nepolární interakce souhrnně označované jako „ $\pi$ - $\pi$  stacking“.<sup>129</sup> Jako první logická varianta, jak snížit aromatický charakter sloučenin, se nabízela náhrada aromátu na dusíku v poloze 4 za alifatický zbytek.

Takto byly získány alifatické deriváty **125–132**, jejichž příprava se poněkud lišila od dosud zmiňovaných a standardně užívaných postupů (schéma 41). Jelikož jsou jednoduché alifatické aminy obvykle nukleofilnější než dosud používané aniliny, bylo pro získání derivátů **125–131** v dobrých výtěžcích (50–97 %) dostačující ponechat reagovat chlorid **4b** s nadbytkem příslušného aminu při 25 °C po dobu několika hodin. V případě aminů **A33–A35**, které jsou za běžných podmínek plynné, byla reakce prováděna v nadbytku komerčně dodávaného roztoku aminu. V případě aminů **A36–A38**, které jsou za běžných podmínek kapalné, byla reakce prováděna bez rozpouštědla. Reakce cyklických aminů, které jsou pevné látky, byly prováděny v DMF. Nízký výtěžek derivátu **132** (11 %) jde na vrub obtížné izolaci produktu z velmi komplikované reakční směsi, která (dle TLC) obsahovala řadu vedlejších produktů.

Schéma 41. Příprava alifatických derivátů **125–132**.

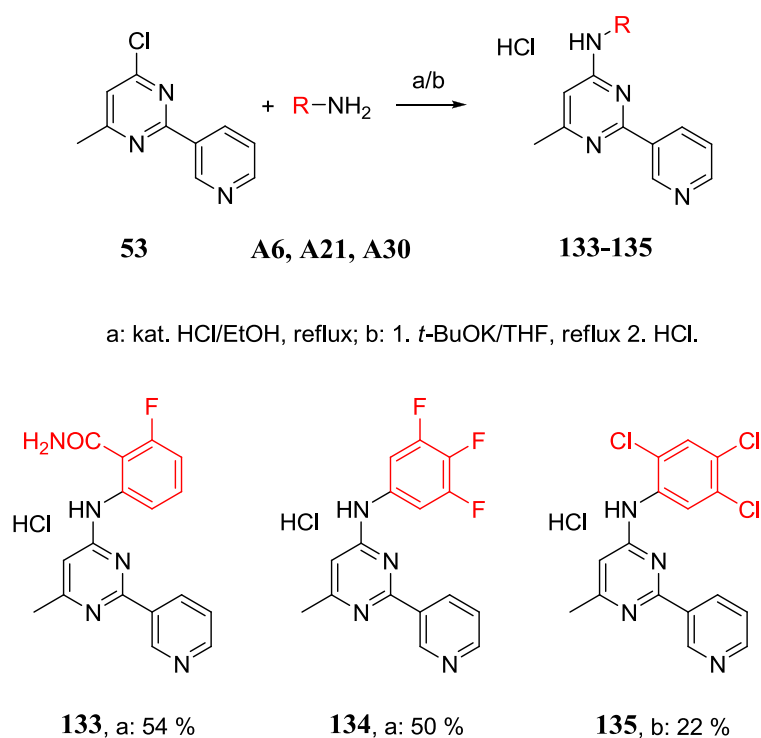


Všechny sloučeniny **125–132**, které na dusíku v poloze 4 nesly alifatický zbytek místo aromátu, byly dle orientačního testu rozpustnosti velmi dobře rozpustné ( $c > 100 \mu\text{M}$ ), avšak zároveň všechny tyto deriváty vykazovaly úplnou ztrátu aktivity v AlphaScreen testu ( $\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{M}$ ). Ačkoliv je negativní výsledek z hlediska aktivity pochopitelně nežádoucí, jeho informační hodnota není nulová. Potvrzuje totiž domněnku, že aromatický substituent na dusíku chinazolin-4-aminu je nezbytný pro zachování aktivity, a zároveň naznačuje, že zlepšení rozpustnosti lze dosáhnout snížením aromatického charakteru molekuly.

#### 4.2.9. Série 6-methyl-*N*-aryl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin-4-aminů **133–135**

Jelikož pokusy o zlepšení aktivity a rozpustnosti pomocí derivatizace chinazolinů často neposkytovaly výsledky, které jsme požadovali, přesunula se v rámci celého projektu pozornost k derivátům 6-methylpyrimidinů. V podstatě byl zachován základní diazinový skelet, avšak aromatický kruh v chinazolinu byl nahrazen methylovou skupinou. Širší výzkum těchto a jiných derivátů pyrimidinu prováděl A. Machara,<sup>65</sup> já jsem se zaměřil na přípravu několika analogů některých sloučenin popsaných dříve v rámci této práce.

Schéma 42. Příprava methylpyrimidinových derivátů **133–135**.



Deriváty **133–135** byly získány z chloridu **53** a příslušných anilinů **A6**, **A21** a **A30** pomocí částečně modifikované metodiky, dříve popsané v této práci (schéma 42). Deriváty **133** a **134** byly získány v průměrných výtěžcích okolo 50 %. Nižší výtěžek trichlorderivátu **135** (22 %) byl očekáván, neboť reakce s anilinem **A30** probíhala s nízkou konverzí i v předešlých případech.

Jak je patrné z tabulky 12, zůstala aktivita u methylpyrimidinových derivátů zachována s výjimkou sloučeniny **133**, která je v AlphaScreen testu neaktivní. Neočekávaný je pokles rozpustnosti u látek **133** a **134** v porovnání s jejich chinazolinovými analogy (látky **66** a **84**). Sloučenina **134**, v porovnání se svým chinazolinovým analogem **84**, také vykazuje mírné zlepšení aktivity. U trichlorderivátu **135** zůstala aktivita zachována (lze-li to takto hodnotit s přihlédnutím k tomu, že výsledek referenční sloučeniny **93** je ovlivněn její interakcí s uspořádáním testu) a došlo k navýšení rozpustnosti. Zajímavé též je, že oproti referenční chinazolinové sloučenině **93** její pyrimidinový analog **135** neposkytuje v AlphaScreen testu falešně pozitivní signály, ani jinak neinteraguje se složkami testu.

Tabulka 12. Porovnání orientační rozpustnosti a aktivity látek **133–135** s referenčními sloučeninami **66**, **84**, **93**.

sloučenina	<b>133</b>	<b>134</b>	<b>135</b>	<b>66<sup>a</sup></b>	<b>84<sup>a</sup></b>	<b>93<sup>a</sup></b>
rozpustnost ( $\mu\text{M}$ )	25	27	48	52	42	33
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (AlphaScreen)	> 100	22	3	i <sup>b</sup>	42	1.1 <sup>b</sup>
IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) (tkáňové kultury)	nt	nt	nt	nt	5	nt

<sup>a</sup> referenční sloučeniny, <sup>b</sup> dává falešně pozitivní signál, nebo jinak interaguje se složkami testovacího systému AlphaScreen

## 5. Experimentální část

Pokud není uvedeno jinak, byly všechna komerční rozpouštědla a chemikálie použity bez čištění tak, jak je lze získat z komerčních zdrojů. 3,5-Di-*O-p*-toluoyl-2-deoxy-D-ribofuranosylchlorid byl získána z laboratoře dr. Otmara.

NMR spektra byla měřena na přístrojích Bruker AVANCE 400, 500 a 600 ( $^1\text{H}$  při 400, 500 a 600 MHz;  $^{13}\text{C}$  při 100.6, 125.7 a 150.9 MHz) při 25 °C ve formě roztoků (dané rozpouštědlo je uvedeno u příslušného experimentu). Chemické posuny jsou uvedeny v  $\delta$ -stupnici (ppm), spektra byla referencována na chemický posun příslušného deuterovaného rozpouštědla a interakční konstanty  $J$  jsou udávány v Hz.  $^{19}\text{F}$  NMR spektra byla měřena pouze orientačně pro potvrzení přítomnosti fluorovaných substituentů v molekule; měřena byla při 470.3 MHz a nejsou referencována, protože je v experimentální části neuvádím. Častým problémem u tohoto typu sloučenin je nepřítomnost některých signálů (či spíše nepatrná intenzita) v  $^{13}\text{C}$  NMR, která je způsobena dlouhými relaxačními časy atomů C, popřípadě štěpením signálů v důsledku přítomnosti atomů F v molekule.

Infračervená spektra byla zaznamenána na spektrometru Bruker Alpha-P FT-IR a vlnočty jsou uvedeny v reciprokových centimetrech ( $\text{cm}^{-1}$ ).

Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením a ionizací elektrosprejem (HRMS-ESI) byla měřena na přístroji LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific); hmotnostní spektra s vysokým rozlišením a elektronovou ionizací (HRMS-EI) a hmotnostní spektra s vysokým rozlišením a chemickou ionizací (HRMS-CI) byla měřena na přístroji GCT Premier (Waters).

Teploty tání nejsou korigovány a byly stanoveny na Koflerově bodotávku s mikroskopem. Vzhledem k tomu, že sloučeniny byly často amorfní, či polymorfní nestechiometrické soli (s možností tvorby solvátů<sup>66</sup>), bývá někdy interval tání těchto sloučenin značně široký. V některých případech bylo možno po prvotním roztání sloučeniny v takto širokém intervalu pozorovat její krystalizaci z taveniny, po které bylo možno změřit ostrý bod tání dané krystalové formy. Častým jevem také byla sublimace a termický rozklad těchto látek.

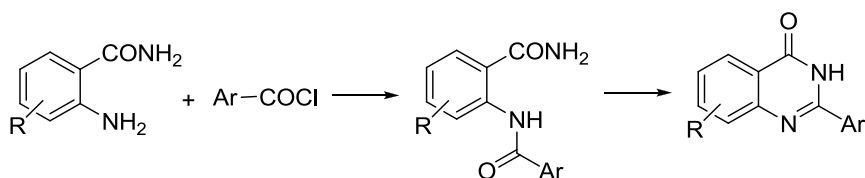
Pro stanovení elementárního složení sloučenin bylo používáno několika metod: pro stanovení C, H, N byl použit automatický analyzátor PERKIN ELMER 2400 II, pro stanovení kovalentně vázaného Cl a dalších prvků byl používán rentgenový fluorescenční analyzátor SPECTRO iQ II (SPECTRO Analytical), pro stanovení nekovalentně vázaného Cl (soli HCl) byla použita titrační metoda, pro stanovení F byla použita potenciometrie na iontově

selektivní elektrodě. Vzhledem k tomu, že sloučeniny byly často nestechiometrické soli, byla elementární analýza spíše než k potvrzení struktury používána ke zpřesnění elementárního složení. Přibližný poměr báze a kyseliny tvořící sůl byl získán přepočtem z naměřeného elementárního složení.

Průběh reakcí a čistota vzorků byla sledována pomocí TLC na fóliích Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck). Detekce TLC fólií byla prováděna UV zářením, parami jodu, ninhydrinem a kyselinou fosfomolybdenovou. Pro sloupcové chromatografie byl používán silikagel Fluka 60.

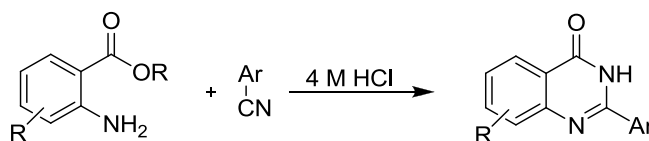
Při tvorbě názvů připravených sloučenin jsem vycházel z příslušného heterocyklu jakožto mateřské sloučeniny, od které jsou názvy odvozeny. Látky jsou tedy pojmenovány jako substituovaný chinazolin-4(3*H*)-on, nebo chinazolin-4-amin (eventuelně pyrimidin-4(3*H*)-on, nebo pyrimidin-4-amin), jak bývá v literatuře zvykem. Pro snazší orientaci a přehlednost jsem tento model zachovával i s vědomím, že v některých případech takovýto název ne zcela odpovídá pravidlům IUPAC (zejména v případě látek **110** a **111**). Číslování základního heterocyklického skeletu je standardní. Aromatické substituenty jsou pak očíslovány pro potřeby přiřazení signálů v NMR každý zvlášť – vlastní sadou čísel s jednou, dvěma, či třemi čarami (deriváty **110** a **111** jsou výjimkou).

### Obecný postup *OPI* – příprava derivátů chinazolin-4(3*H*)-onu



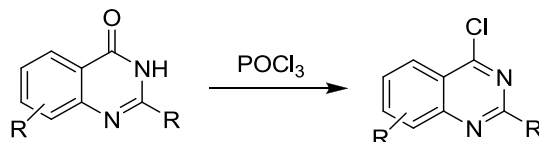
Příprava derivátů chinazolin-4-onu vychází z popsaného postupu.<sup>111</sup> Do roztoku 2-aminobenzamidu (1.0 mmol) a Et<sub>3</sub>N (10.0 mmol) ve směsi THF (3.0 ml) a DCM (3.0 ml) byl v jedné dávce přidán chlorid kyseliny (1.0 mmol). Reakční směs byla za míchání zahřívána k varu po dobu 15 hod., poté byla rozpouštědla odstraněna RVO. Odparek byl rozpuštěn v EtOAc (20 ml) a vzniklý roztok byl promyt vodou (3×5 ml). Poté byl roztok vysušen MgSO<sub>4</sub> a rozpouštědlo odpařeno. Vzniklý *N*-(2-karbamoylfenyl)arylamid byl bez další purifikace rozpuštěn v 1M vodném roztoku KOH (3.0 ml) a za míchání zahříván na 100 °C po dobu 10 hod. Vychladlý roztok byl zředěn vodou (30.0 ml) a vzniklý precipitát byl zfiltrován na fritě a promyt vodou (3x20 ml) do neutrálního pH. Po sloupcové chromatografii na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0-10 %) byl získán čistý 2-arylchinazolin-4(3*H*)-on.

## Obecný postup OP2 – příprava derivátů chinazolin-4(3H)-onu



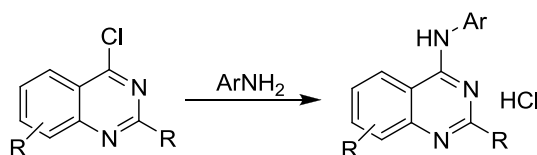
Pro přípravu derivátů chinazolin-4-onu byl použit upravený dříve popsany<sup>112</sup> postup. Ke směsi alkyl-2-aminobenzoátu (10 mmol) a arylnitrilu (10 mmol) v uzavíratelné silnostěnné skleněné ampuli byl přikapán 4M roztok HCl v dioxanu (10 ml). Suspenze reakční směsi byla poté za míchání v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli rozpuštěna zahřátím na 100 °C a při této teplotě byla reakční směs míchána dalších 16 hod. Po ochladnutí byla reakční směs nalita do studené vody (100 ml), vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a promyta vodou (3×50 ml). Po sloupcové chromatografii na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0-10 %) byl získán čistý 2-arylchinazolin-4(3H)-on.

## Obecný postup OP3 – příprava derivátů 2-aryl-4-chlorchinazolinu



Do roztoku derivátu chinazolin-4(3H)-onu (10 mmol) v DMF (10 ml) byl přikapán POCl<sub>3</sub> (100 mmol, 9.3 ml), a poté byla reakční směs za míchání zahřívána na 80 °C po dobu 16 hod. Po ochladnutí byla reakční směs nalita na 200 g tlučeného ledu a vzniklý roztok byl opatrně neutralizován (pH = 6–8) 10% vodným NaOH za vzniku sraženiny. Sraženina byla odsáta na fritě a po sloupcové chromatografii na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0–5 %) byl získán čistý 2-aryl-4-chlorchinazolin.

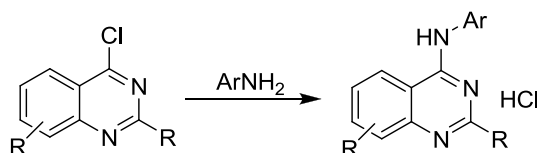
## Obecný postup OP4 – kyselá katalyzovaná příprava anilínových derivátů 2-arylchinazolinu





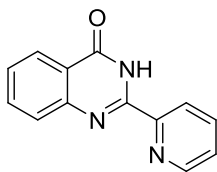
K suspenzi 2-aryl-4-chlorchinazolinu (1.0 mmol) a anilinu (1.1 mmol) v dioxanu (6–10 ml) zahřáté na 100 °C byly přidány 2 kapky konc. HCl. Přídavkem HCl se suspenze obvykle rozpustila a vzniklý roztok byl dále zahříván na 100 °C po dobu 16 hodin, nebo do vymizení výchozího 4-chlorchinazolinu (TLC). Vznik produktu je obvykle indikován též vznikem sraženiny v reakční směsi. Po ochladnutí byla sraženina odsáta na fritě. Surový produkt byl přečištěn 2 × varem ve směsi aceton/MeOH (5 + 5 ml), po ochladnutí následovaném filtrací na fritě. Alternativně byl v případě potřeby produkt převeden na volnou bázi pomocí nadbytku NH<sub>3</sub> v MeOH (alternativně nasyceným roztokem NaOH) a chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0–10 %). Methanolický roztok čisté volné báze byl následně opět převeden na hydrochlorid pomocí 4M HCl v dioxanu (1 ekv.) a vysrážen pomocí Et<sub>2</sub>O.

### Obecný postup *OP5* – příprava anilinových derivátů 2-arylchinazolinu za bazických podmínek



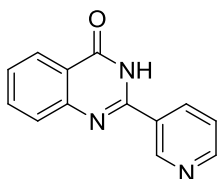
Do roztoku 2-aryl-4-chlorchinazolinu (1.0 mmol) a anilinu (1.1 mmol) v destilovaném THF byl přidán *t*-BuOK (2.2–3.0 mmol) v jedné dávce. Po přidavku reakční směs obvykle změnila barvu z čiré na žlutou, oranžovou, až červeno-hnědou. Reakční směs byla poté míchána při 25 °C po dobu 24 hodin. Pokud reakce probíhala pomalu (TLC), byla reakční teplota postupně zvyšována až k varu. Konverze výchozích látek na produkt často nebyla úplná. Reakční směs byla adsorbována na SiO<sub>2</sub> a rozpouštědlo odpařeno na RVO. Sloupcová chromatografie na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0–10 %) poskytla produkt jako volnou bázi, která byla dále převedena na hydrochlorid pomocí 4M HCl v dioxanu (1 ekv.), alternativně nadbytkem (3 kapky) 36% HCl. V případě potřeby byl hydrochlorid ještě přečištěn varem ve směsi aceton/MeOH (1:1), po ochladnutí následovaném filtrací na fritě.

**2-(Pyridin-2-yl)chinazolin-4(3H)-on (3a).** Reakcí anthranilamidu **1** (2.0 g, 17.7mmol)



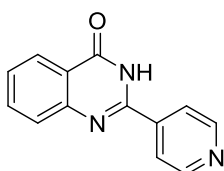
a pikolinoylchloridu hydrochloridu **2a** (2.59 g, 17.7 mmol) podle obecného postupu *OP1* byl získán 2-(pyridin-2-yl)chinazolin-4(3H)-on (2.93 g, 72 %) jako bílý prášek. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>130</sup>

**2-(Pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (3b).** Reakcí ethyl-2-aminobenzoátu **5** (6.0 g,



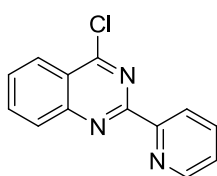
36.3mmol) a 3-kyanopyridinu **6** (3.78 g, 36.3 mmol) podle obecného postupu *OP2* byl získán 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (7.69 g, 95 %) jako bílý prášek. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>131</sup>

**2-(Pyridin-4-yl)chinazolin-4(3H)-on (3c).** Reakcí anthranilamidu **1** (2.5 g, 22.1mmol)



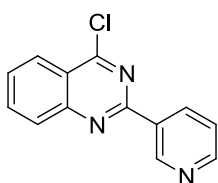
a isonikotinoylchloridu hydrochloridu **2c** (3.23 g, 22.1 mmol) podle obecného postupu *OP1* byl získán 2-(pyridin-4-yl)chinazolin-4(3H)-on (3.5 g, 76 %) jako bílý prášek. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>132</sup>

**4-Chlor-2-(pyridin-2-yl)chinazolin (4a).** Reakcí 2-(pyridin-2-yl)chinazolin-4(3H)-onu **3a**



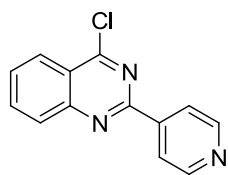
(2.50 g, 10.4 mmol) s POCl<sub>3</sub> (10.0 ml, 107.0 mmol) v DMF (15 ml) podle obecného postupu *OP3* byl získán 4-chlor-2-(pyridin-2-yl)chinazolin (1.81 g, 72 %) jako béžový prášek. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.78 (ddd, *J* = 4.8, 1.7, 0.9 Hz, 1H), 8.48 (dt, *J* = 8.0, 1.0, 1H), 8.19 (dd, *J* = 7.9, 1.0 Hz, 1H), 8.11 (td, *J* = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.94–7.80 (m, 2H), 7.69 (ddd, *J* = 7.6, 4.8, 1.2, 1H), 7.59 (ddd, *J* = 8.2, 6.9, 1.4, 1H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.3, 150.7, 149.4, 148.4, 147.8, 138.7, 135.3, 127.9, 127.4, 127.3, 126.6, 123.0, 122.2.

**4-Chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (4b).** Reakcí 2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-onu **3b**



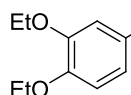
(7.0 g, 29.0 mmol) s POCl<sub>3</sub> (27.1 ml, 290.0 mmol) v DMF (30 ml) podle obecného postupu *OP3* byl získán 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (5.19 g, 74 %) jako béžový prášek. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>111</sup>

**4-Chlor-2-(pyridin-4-yl)chinazolin (4c).** Reakcí 2-(pyridin-4-yl)chinazolin-4(3*H*)-onu **3c**



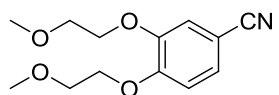
(3.0 g, 12.4 mmol) s POCl<sub>3</sub> (11.6 ml, 124.0 mmol) v DMF (15 ml) podle obecného postupu *OP3* byl získán 4-chlor-2-(pyridin-4-yl)chinazolin (2.54 g, 85 %) jako béžový prášek. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>132</sup>

**3,4-Diethoxybenzonitril (8a).** K suspenzi 3,4-dihydroxybenzonitrilu **7** (2.0 g, 14.8 mmol)



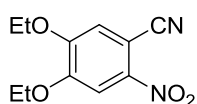
a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6.1 g, 44.4 mmol) v DMF (20 ml) byl pomalu přikapán ethylbromid (4.8 g, 44.4 mmol). Reakční směs byla za míchání zahřívána 24 hod na 70 °C. Po ochladnutí na 25 °C byla reakční směs zředěna vodou (40 ml) a vzniklá sraženina byla odsáta na fritě, důkladně promyta vodou a usušena ve vakuu za vzniku produktu (2.68 g, 95 %) ve formě bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, aceton-*d*6) δ 7.27 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2.0 Hz, 1H); 7.22 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H); 7.04 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 4.14–4.07 (m, 4H); 1.39–1.34 (m, 6H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, aceton-*d*6) δ 154.8; 150.9; 128.0; 120.7; 117.8; 115.0; 105.4; 66.4; 66.2; 16.0; 15.9. HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>O<sub>2</sub>NNa, 214.08385; nalezeno, 214.08394.

**3,4-Bis(2-methoxyethoxy)benzonitril (8b).** Pro přípravu byl použit popsáný postup.<sup>115</sup> Do



směsi 3,4-dihydroxybenzonitrilu **7** (10.0 g, 74.1 mmol) a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (30.7 g, 222.1 mmol) v DMF (150 ml) byl pomalu přidán 1-chlor-2-methoxyethan (28.0 g, 296.3 mmol). Reakční směs byla za míchání zahřívána na 70 °C po dobu 24 hod. Po ochlazení na 25 °C byla reakční směs zředěna vodou (400 ml). Vzniklý precipitát byl odsát na fritě, důkladně promyt vodou a vysušen ve vakuu za vzniku produktu (14.2 g, 76 %) ve formě bílého prášku. Produkt byl postoupen do následující reakce bez dalšího čištění. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>115</sup>

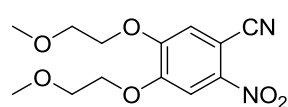
**4,5-Diethoxy-2-nitrobenzonitril (9a).** K suspenzi 3,4-diethoxybenzonitrilu **8a** (2.68 g, 14.0



mmol) ve vodě (20 ml) byla opatrně přikapána 65% HNO<sub>3</sub> (20 ml). Vzniklý viskózní roztok byl poté za míchání zahříván na 50 °C po dobu 3 hod. Po ochlazení na 25 °C byla reakční směs zředěna vodou (50 ml). Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě, důkladně promyta vodou do neutrální reakce a poté usušena ve vakuu za vzniku produktu (2.91 g, 88 %) ve formě béžově bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 7.83 (s, 1H); 7.66 (s, 1H); 4.27–4.22 (m, 4H); 1.39–1.35 (m, 6H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz,

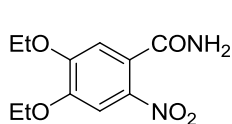
DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  152.7; 151.3; 142.3; 117.2; 116.0; 109.3; 99.6; 65.7; 65.4; 14.5; 14.4. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>Na [M+Na<sup>+</sup>], 259.06893; nalezeno, 259.06885.

**4,5-Bis(2-methoxyethoxy)-2-nitrobenzonitril (9b)**. Pro přípravu byl použit modifikovaný



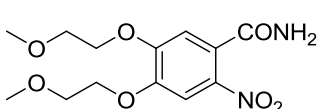
popsaný postup.<sup>115</sup> K suspenzi 3,4-bis(2-methoxyethoxy)benzonitrilu **8b** (12.8 g, 50.9 mmol) ve vodě (100 ml) byla po kapkách přidána 65% HNO<sub>3</sub> (20 ml) a reakční směs byla za míchání zahřívána na 50 °C po dobu 8 hod. Poté byla reakční směs zředěna vodou (500 ml). Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a důkladně promyta vodou do neutrálního pH. Surový produkt byl usušen ve vakuu a pro následující reakce byl použit bez dalšího čištění. Bylo získáno 7.1 g (47 %) bílého prášku. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>115</sup>

**4,5-Diethoxy-2-nitrobenzamid (10a)**. Pro přípravu byla použita modifikace popsanych



postupů.<sup>116</sup> K 4,5-diethoxy-2-nitrobenzonitrilu **9a** (2.91 g, 12.3 mmol) a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (250 mg, 1.8 mmol) v EtOH (25 ml) byl přidán 1M roztok NaOH (18.0 ml). Do vzniklé směsi byl za vydatného chlazení (0 °C, voda/led) a míchání po kapkách přidán H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %, 25 ml). Reakční směs se ohřála na 40 °C a takto byla za míchání ponechána reagovat při 25 °C ještě 2 hod. Poté byla zředěna vodou (50 ml) a extrahována EtOAc (3 × 30 ml). Spojené organické fáze byly promyty 1M HCl (1 × 20 ml), vodou (2 × 30 ml) sušeny nad MgSO<sub>4</sub>. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO za vzniku produktu (2.90 g, 92 %) ve formě bílého prášku, který byl pro následující reakce použit bez dalšího čištění. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  7.96 (bs, 1H); 7.56 (bs, 1H); 7.55 (s, 1H); 7.08 (s, 1H); 4.21–4.12 (m, 4H); 1.38–1.33 (m, 6H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  167.1; 151.5; 147.9; 139.3; 126.8; 111.5; 108.2; 64.6; 64.5; 14.30; 14.27. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>N<sub>2</sub>Na [M+Na<sup>+</sup>], 277.07949; nalezeno, 277.07920.

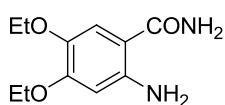
**4,5-Bis(2-methoxyethoxy)-2-nitrobenzamid (10b)**. Pro přípravu byla použita modifikace



popsaných postupů.<sup>116</sup> Do směsi 4,5-bis(2-methoxyethoxy)-2-nitrobenzonitrilu **9b** (6.93 g, 23.3 mmol) a K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (500 mg, 3.5 mmol) v EtOH (60 ml) byl přidán 1M roztok NaOH (35.0 ml). Do vzniklé směsi byl za vydatného chlazení (0 °C, voda/led) a míchání po kapkách přidán H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %, 46.0 ml). Reakční směs se ohřála na 40 °C a takto byla za míchání ponechána reagovat při 25 °C ještě 2 hod. Poté byla zředěna vodou (150 ml) extrahována EtOAc (3 × 100 ml). Spojené organické fáze byly promyty 1M HCl (1 × 50 ml), vodou (2 × 50 ml) sušeny nad

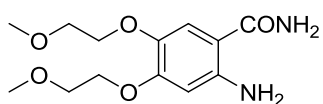
MgSO<sub>4</sub>. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO za vzniku produktu (6.1 g, 83 %) ve formě bílého prášku, který byl pro následující reakce použit bez dalšího čištění. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.96 (s, 1H, NH); 7.61 (s, 1H, 3); 7.58 (s, 1H, NH); 7.13 (s, 1H, 6); 4.28–4.22 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.70–3.67 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>) 3.32 a 3.31 (2 × s, 2 × 3H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 167.0 (CONH<sub>2</sub>); 151.6 (5); 148.1 (4); 139.6 (2); 127.0 (1); 112.2 (3); 109.0 (6); 70.1 a 70.0 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 68.2 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 58.3 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>).

**2-Amino-4,5-diethoxybenzamid (11a).** Do roztoku 4,5-diethoxy-2-nitrobenzamidu **10a** (2.90



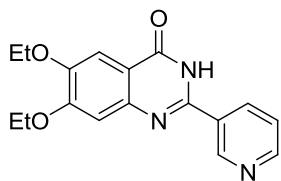
g, 11.4 mmol) a mravenčanu amonného (2.95 g, 48.5 mmol) v EtOH pro hydrogenace (50 ml) bylo v jedné dávce přidáno Pd/C (10 wt. %, 250 mg) a reakční směs byla za míchání zahřívána k varu 4 hod. Potom bylo Pd/C odstraněno filtrací a rozpouštědlo z filtrátu odpařeno. Surový produkt byl krystalizován z MeOH za vzniku bezbarvých jehlic (2.19 g, 86 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 7.12 (s, 1H); 6.41 (bs, 2H); 6.26 (s, 1H); 3.98–3.87 (m, 4H); 1.32 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H); 1.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H). HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>N<sub>2</sub>Na [M+Na<sup>+</sup>], 247.10531; nalezeno, 247.10505.

**4,5-Bis(2-methoxyethoxy)-2-aminobenzamid (11b).** Do roztoku 4,5-bis(2-methoxyethoxy)-



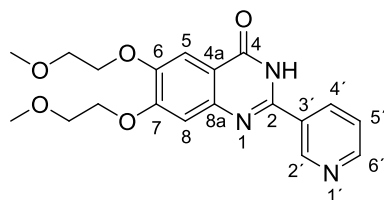
2-nitrobenzamidu **10b** (6.10 g, 19.4 mmol) a mravenčanu amonného (6.10 g, 102.4 mmol) v EtOH pro hydrogenace (100 ml) bylo v jedné dávce přidáno Pd/C (10 wt. %, 500 mg) a reakční směs byla za míchání zahřívána k varu 2 hod. Potom bylo Pd/C odstraněno filtrací a rozpouštědlo z filtrátu odpařeno. Surový produkt byl krystalizován z MeOH za vzniku bezbarvých jehlic (4.95 g, 90 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.02 (s, 1H, 6); 6.23 (bs, 2H, CONH<sub>2</sub>); 6.11 (s, 1H, 3); 5.38 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>); 4.01–3.97 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.69–3.67 a 3.61–3.59 (2 × m, 2 × 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.36 and 3.34 (2 × s, 2 × 3H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.3 (CONH<sub>2</sub>); 153.9 (5); 146.3 (4); 139.8 (2); 117.1 (6); 105.8 (1); 101.5 (3); 71.1 a 70.5 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 70.4 a 67.6 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 58.9 and 58.7 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>).

**6,7-Diethoxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)on (12a).** Reakce 2-amino-4,5-diethoxybenzamidu **11a** (1.38 g, 6.21 mmol) s nicotinoylchloridem hydrochloridem (1.11 g, 6.21 mmol) podle obecného postupu *OPI* poskytla produkt (1.0 g, 52 %) ve formě bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.58 (s, 1H), 9.27 (dd, *J*<sub>1</sub> = 2.3 Hz, *J*<sub>2</sub> = 0.8 Hz,



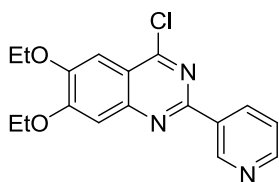
1H), 8.72 (dd,  $J_1 = 4.8$  Hz,  $J_2 = 1.6$  Hz, 1H), 8.46 (dt,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 1.9$  Hz, 1H), 7.56 (ddd,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 4.8$  Hz,  $J_3 = 0.9$  Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.20 (s, 1H), 4.19 (dt,  $J_1 = 20.2$  Hz,  $J_2 = 7.0$  Hz, 4H), 1.39 (td,  $J_1 = 6.9$  Hz,  $J_2 = 3.0$  Hz, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  161.4, 154.1, 151.4, 149.1, 148.5, 148.0, 144.4, 135.0, 128.8, 123.4, 114.0, 108.9, 105.9, 64.1, 64.0, 14.5, 14.4. HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}_3\text{Na}$ , 334.11621 [ $\text{M}+\text{Na}^+$ ]; nalezeno, 334.11614.

**6,7-bis(2-methoxyethoxy)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (12b).** Reakce 4,5-bis(2-methoxyethoxy)-2-nitrobenzonitrilu **11b** (4.52 g, 15.80 mmol) s nikotinoyl chloridem hydrochloridem (2.81 g, 15.80 mmol) podle obecného postupu *OPI* poskytla produkt (3.0 g, 43 %) jako bílý prášek.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  12.60 (bs, 1H, NH); 9.27 (dd, 1H,



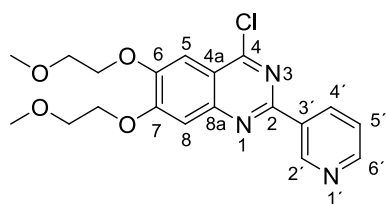
$J_{2'-4'} = 2.4$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.9$  Hz, 2'); 8.72 (dd, 1H,  $J_{6'-5'} = 4.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 6'); 8.45 (ddd, 1H,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.4$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.6$  Hz, 4'); 7.56 (ddd, 1H,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 5'); 7.50 (s, 1H, 5); 7.25 (s, 1H, 8); 4.28 (m, 2H, 7-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>), 4.23 (m, 2H, 6-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.71–3.74 (m, 4H, 2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.34 (2 × s, 2 × 3H, 2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  161.6 (CO), 154.3 (7); 151.7 (6'); 149.4 (2), 148.7 (2'); 148.3 (6); 144.8 (8a); 135.3 (4'); 129.0 (3'); 123.8 (5'); 114.5 (4a); 109.5 (8); 106.63 (5); 70.4 a 70.3 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 68.4 a 68.3 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 58.57 a 58.56 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>).

**4-Chlor-6,7-diethoxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (13a).** Reakce 6,7-diethoxy-2-(pyridin-3-



yl)chinazolin-4(3H)onu **12a** (900 mg, 2.89 mmol) s POCl<sub>3</sub> (2.67 ml, 28.9 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (782 mg, 82 %) jako slabě béžový prášek.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9.71 (bd,  $J = 1.6$  Hz, 1H); 8.79 (dt,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 2.0$  Hz, 1H); 8.71 (dd,  $J_1 = 4.8$  Hz,  $J_2 = 1.6$  Hz, 1H); 7.46–7.43 (m, 1H); 7.38 (bs, 1H); 7.35 (bs, 1H); 4.35–4.26 (m, 4H); 1.61–1.57 (m, 6H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  159.3; 156.62; 156.58; 151.0; 150.6; 149.51; 149.46; 135.8; 133.0; 123.4; 118.1; 107.6; 103.6; 65.2; 65.0; 14.41; 14.36. HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_3\text{Cl}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 330.10038; nalezeno, 330.10010.

**4-Chlor-6,7-bis(2-methoxyethoxy)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (13b).** Reakce 6,7-bis(2-

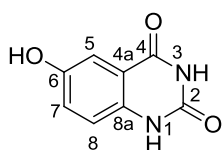


methoxyethoxy)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3*H*)-onu **12b**

(2.90 g, 7.82 mmol) s POCl<sub>3</sub> (6.2 ml, 65.9 mmol) podle obecného postupu OP3 poskytla produkt (2.27 g, 75 %) ve formě běžového prášku. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ

9.52 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.9$  Hz, 1H, 2'); 8.71 (dd;  $J_{6'-5'} = 4.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 1H, 6'); 8.66 (ddd,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.3$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.7$  Hz, 1H, 4'); 7.56 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 7.49 (s, 1H, 8); 7.45 (s, 1H, 5); 4.40 (m, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 4.35 (m, 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.80–3.77 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.38 and 3.37 (2 × s, 2 × 3H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 158.6 (4); 156.5 (7); 156.0 (2); 151.3 (6'); 150.9 (6); 149.8 (8a); 148.9 (2'); 135.0 (4'); 132.1 (3'); 123.8 (5'); 117.4 (4a); 108.0 (8); 104.0 (5); 70.1 a 70.0 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 68.9 a 68.8 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 58.4 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>).

**6-Hydroxychinazolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (15).** Pro přípravu byl použit upravený literární

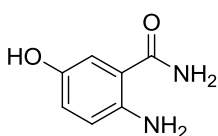


postup.<sup>117</sup> Do suspenze 2-amino-5-hydroxybenzoové kyseliny **14** (2.0 g;

12.8 mmol) v suchém dioxanu (25 ml) pod Ar byl skrz septum přidán roztok COCl<sub>2</sub> (15 ml 20% roztoku v toluenu) a reakční směs byla míchána

24 hod. při 25 °C. Vzhledem k nízké konverzi (TLC – CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) bylo přidáno dalších 15 ml roztoku COCl<sub>2</sub> a reakční doba byla prodloužena o dalších 24 hod. Za intenzivního míchání byl poté do reakční směsi po částech přidán nasycený roztok K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (15 ml) a reakční směs byla míchána ještě 1 hod. Reakční směs byla extrahována EtOAc (5 x 20 ml), spojené organické fáze byly promyty vodou (20 ml), usušeny nad MgSO<sub>4</sub> a po odpaření rozpouštědla byl získán produkt (2.06 g, 90 %). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>) δ 7.39 (d,  $J_{5-7} = 2.8$  Hz, 1H, 5); 7.29 (dd,  $J_{7-8} = 8.8$  Hz,  $J_{7-5} = 2.8$  Hz, 1H, 7); 7.18 (d,  $J_{8-7} = 8.8$  Hz, 1H, 8). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>) δ 160.5 (4); 154.4 (6); 147.7 (2); 135.2 (8a); 126.4 (7); 117.5 (8); 113.8 (5); 112.0 (4a).<sup>133</sup>

**2-Amino-5-hydroxybenzamid (16).** Pro přípravu byl použit upravený literární postup.<sup>117a</sup> Do



vodného roztoku NH<sub>3</sub> (30 ml, 15–20%) byl za míchání v jedné dávce

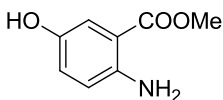
přidán 6-hydroxychinazolin-2,4(1*H*,3*H*)-dion **15** (2.0 g, 11.2 mmol). Po 5

min. se reakční směs rozpustila za vzniku nejprve zeleného, poté hnědého

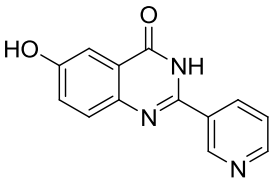
roztoku. Po 2 hod. byla reakce ukončena odpařením rozpouštědla na RVO a surový produkt byl chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (Hexan/EtOAc s gradientem EtOAc 50 → 100 %, 95

později EtOAc + 1 % MeOH). Po odpaření rozpouštědel byl získán produkt (1.04 g, 61 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  8.51 (s, 1H, OH), 7.62 (bs, 1H, CONH<sub>2</sub>), 6.99 (s, 1H, CONH<sub>2</sub>), 6.92 (d,  $J_{6-4} = 2.8$  Hz, 1H, 6), 6.68 (dd,  $J_{3-4} = 8.7$ ,  $J_{3-6} = 2.8$  Hz, 1H, 3), 6.53 (d,  $J_{4-3} = 8.7$  Hz, 1H, 4); 5.83 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  171.1 (CONH<sub>2</sub>), 146.7 (5), 142.6 (2), 120.3 (4), 117.5 (5), 115.3 (1), 114.3 (3). HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>Na [M+Na<sup>+</sup>], 175.0478; nalezeno, 175.0477.

**Methyl-2-amino-5-hydroxybenzoát (18).** Modifikovaná reakce podle popsaného postupu.<sup>134</sup>

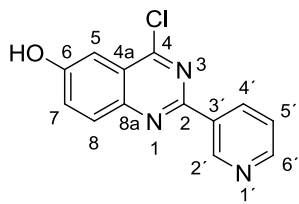
 Do intenzivně míchaného roztoku 2-amino-5-hydroxybenzoové kyseliny **14** (5.36 g, 35.0 mmol) v suchém methanolu (65 ml) a suchém toluenu (32 ml) byla při 25 °C po kapkách opatrně přidána konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (4.5 ml, 85 mmol). Mezi reakční baňku a zpětný chladič byl nasazen nástavec pro lapání kapek („límčovka“) a reakční směs byla zahřívána k varu pod zpětným chladičem po dobu 16 hod. Reakční rovnováha byla posouvána ve prospěch produktu pomocí kontinuálního oddestilování vznikající vody, která tvoří s toluenem azeotropickou směs, a vzhledem k vyšší hustotě byla jímána v lapači kapek, zatímco toluen a MeOH byl navrácen do reakční baňky. Po ochlazení byla reakční směs opatrně neutralizována nasyceným vodným roztokem NaOH (pH = 6–7), rozpouštědla byla poté odpařena na RVO a pevný podíl byl přečištěn sloupcovou chromatografií na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH). Byl získán produkt (4.38 g, 75 %) ve formě šedo-hnědých krystalků. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>135</sup>

**6-Hydroxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (19).** Reakce methyl-2-amino-5-

 hydroxybenzoátu **18** (2.30 g, 13.8 mmol) s 3-kyanopyridinem **6** (1.43 g, 13.8 mmol) v 10 ml 4M HCl v dioxanu podle obecného postupu *OP2* a následná rekrystalizace z MeOH poskytla produkt (1.49 g, 45 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  12.53 (bs, 1H); 10.23 (bs, 1H); 9.25 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 8.71 (d,  $J = 4.8$  Hz, 1H); 8.44 (dt,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 2.0$  Hz, 1H); 7.64 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1H); 7.55 (dd,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 4.8$  Hz, 1H); 7.45 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H); 7.31 (dd,  $J_1 = 8.8$  Hz,  $J_2 = 2.9$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  161.9; 156.5; 151.4; 148.5; 147.6; 141.8; 135.0; 129.4; 129.0; 124.1; 123.6; 122.2; 108.9. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 240.07675; nalezeno, 240.07663.

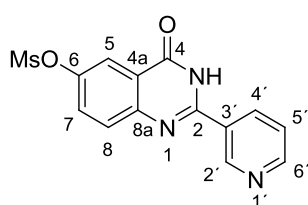
**6-Hydroxy-4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (20).** Reakce 6-hydroxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)onu **19** (1.39 g, 5.80 mmol) s POCl<sub>3</sub> (5.0 ml, 58.0 mmol) podle obecného





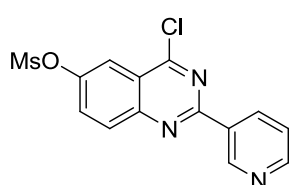
postupu *OP3* poskytla komplikovanou směs ze které se podařilo izolovat pouze malé množství produktu (146 mg, 10 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.52 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 8.71 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.68 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 2.0$  Hz, 1H, 4'); 8.03 (bd,  $J_{8-7} = 9.2$  Hz, 1H, 8); 7.76 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz, 1H, 5'); 7.45 (d,  $J_{5-7} = 2.8$  Hz, 1H, 5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.5 (4); 158.1 (6); 154.3 (2); 151.1 (2'); 148.6 (5'); 145.6 (8a); 134.8 (4'); 131.8 (3'); 130.4 (8); 128.3 (5'); 123.3 (4a); 105.8 (5). HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>ON<sub>3</sub>Cl [M+H<sup>+</sup>], 258.04287; nalezeno, 258.04280.

#### 6-Methansulfonyloxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (21). Reakce vychází



z popsaného postupu.<sup>118</sup> Do suspenze 6-hydroxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-onu **19** (1.40 g, 5.86 mmol) a Et<sub>3</sub>N (4.0 ml, 28.7 mmol) v DCM (20.0 ml) byl za míchání po kapkách přidán methansulfonylchlorid (500  $\mu$ l, 6.45 mmol). Reakce byla za míchání ponechána při 25 °C 24 hod., avšak dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) nebyla konverze úplná. Byl tedy přidán další methansulfonylchlorid (500  $\mu$ l, 6.45 mmol) a reakční teplota byla zvýšena na 50 °C. Po 6 hodinách byla reakční směs nalita na tlučený led, zředěna vodou a opatrně neutralizována 10% vodným NaOH. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a po sloupcové chromatografii na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0  $\rightarrow$  5 %) byl získán produkt (1.86 g, 83 %) jako béžový prášek.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  12.95 (bs, 1H, NH); 9.29 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.3$  Hz, 1H, 2'); 8.77 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.49 (ddd,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 8.06 (d,  $J_{5-7} = 2.8$  Hz, 1H, 5); 7.88 (d,  $J_{8-7} = 8.9$  Hz, 1H, 8); 7.81 (dd,  $J_{7-8} = 8.9$  Hz,  $J_{7-5} = 2.8$  Hz, 1H, 7); 7.60 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 3.48 (s, 3H, OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  161.8 (4); 152.2 (6'); 151.5 (2); 149.0 (2'); 147.6 (8a); 145.2 (6); 135.7 (4'); 130.2 (8); 129.5 (7); 128.7 (3'); 123.8 (5'); 122.3 (4a); 118.8 (5); 13.6 (OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>S [M+H<sup>+</sup>], 318.05430; nalezeno, 318.05419.

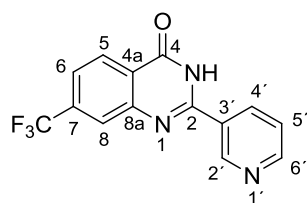
#### 4-Chlor-6-methansulfonyloxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (22). Reakce chinazolinonu **21**



(1.0 g, 3.15 mmol) s POCl<sub>3</sub> (2.45 ml, 31.5 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (1.01 g, 95 %) jako nažloutlý prášek.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.53 (bs, 1H); 8.78 (bd,  $J = 2.4$

Hz, 1H); 8.74 (dt,  $J_1 = 8.0$  Hz,  $J_2 = 1.6$  Hz, 1H); 8.29 (d,  $J = 9.2$  Hz, 1H); 8.22 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H); 8.11 (dd,  $J_1 = 9.2$  Hz,  $J_2 = 2.8$  Hz, 1H); 7.63 (dd,  $J_1 = 7.6$  Hz,  $J_2 = 4.4$  Hz, 1H); 3.57 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  161.5, 150.4, 148.9, 147.2, 147.0, 146.1, 138.9, 130.0, 129.8, 129.4, 125.0, 122.3, 118.7, 37.5. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>ClS [M+H<sup>+</sup>], 336.02042; nalezeno, 336.02041.

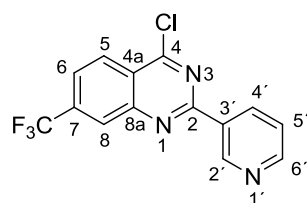
**2-(Pyridin-3-yl)-7-(trifluormethyl)chinazolin-4(3H)-on (27).** Reakce 2-amino-4-



(trifluormethyl)benzamidu **26** (2.0 g, 9.8 mmol) s nicotinoylchloridem hydrochloridem **2b** (1.75 g, 9.8 mmol) podle obecného postupu *OPI* poskytla surový produkt. Pokus o standardní zpracování podle obecného postupu *OPI* selhal, neboť hustou jemnou suspenzi nebylo možné odsát na fritě. Suspenze byla

tedy neutralizována (pH = 6–7) pomocí 1M HCl a produkt byl poté extrahován EtOAc (6 × 50 ml). Po odpaření rozpouštědla na RVO a přečištění sloupcovou chromatografií na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem 1 → 10 % MeOH) byl získán produkt (1.10 g, 39 %) jako bílý prášek.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.55 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.9$  Hz, 1H, 2'); 8.69 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 2.0$  Hz, 1H, 4'); 8.59 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.8$  Hz, 1H, 6'); 8.18 (dm,  $J_{5-6} = 8.2$  Hz, 1H, 5); 7.78 (m, 1H, 8); 7.44 (ddd,  $J_{5'-4'} = 7.9$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 7.42 (m, 1H, 6).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  171.7 (4); 162.0 (2); 151.8 (8a); 150.1 (6'); 149.7 (2'); 135.6 (3'); 135.3 (4'); 131.2 (q,  $J_{7-F} = 31.0$  Hz, 7); 127.7 (5); 124.6 (q,  $J_{C-F} = 272.5$  Hz, CF<sub>3</sub>); 124.2 (4a); 123.4 (q,  $J_{8-F} = 4.0$  Hz, 8); 123.2 (5'); 118.0 (q,  $J_{6-F} = 3.9$  Hz, 6). HRMS-EI (m/z): vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O [M+H<sup>+</sup>], 292.0698; nalezeno, 292.0696.

**4-Chlor-2-(pyridin-3-yl)-7-(trifluormethyl)chinazolin (28).** Reakce 2-(pyridin-3-yl)-7-

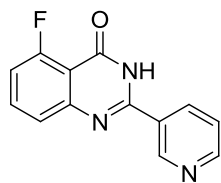


(trifluormethyl)chinazolin-4(3H)-onu **27** (1.10 g, 3.78 mmol) s POCl<sub>3</sub> (3.53 ml, 37.8 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (880 mg, 75 %) ve formě červeného prášku.  $^1\text{H}$

NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.58 (dd, 1H,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.8$  Hz, 2'); 8.79 (dd, 1H,  $J_{6'-5'} = 4.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 6'); 8.74 (ddd, 1H,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.8$  Hz, 4'); 8.49 – 8.51 (m, 2H, 5 and 8); 8.12 (bdd, 1H,  $J_{6-5} = 8.8$  Hz,  $J_{6-8} = 1.8$  Hz, 6); 7.64 (ddd, 1H,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 5').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  162.9 (4); 158.8 (2); 152.5 (6'); 150.7 (8a); 149.6 (2'); 135.9 (4'); 135.3 (q,  $J_{7-F} = 32.8$  Hz, 7); 131.3 (3'); 128.2 (5); 126.5 (q,  $J_{8-F} = 4.3$  Hz, 8); 125.0 (q,  $J_{6-F} = 3.1$  Hz,

6); 124.3 (5'); 124.1 (4a); 123.4 (q,  $J_{C-F} = 273.4$  Hz,  $CF_3$ ). HRMS-Cl ( $m/z$ ): vypočteno pro  $C_{14}H_7ClF_3N_3 [M+H^+]$ , 310.0359; nalezeno, 310.0358.

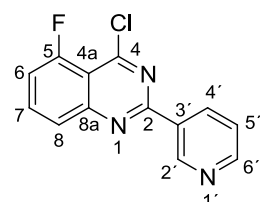
### 5-Fluor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (30). Reakce 2-amino-6-fluorbenzamidů **29**



(1.0 g, 6.50 mmol) s nikotinoylchloridem hydrochloridem **2b** (1.15 g, 6.50 mmol) podle obecného postupu *OPI* poskytla surový produkt. Pokus o standardní zpracování podle obecného postupu *OPI* selhal, neboť hustou jemnou suspenzi nebylo možné odsát na fritě. Suspenze byla tedy

neutralizována (pH = 6–7) pomocí 1M HCl a produkt byl poté extrahován EtOAc (8 × 30 ml). Po odpaření rozpouštědla na RVO a přečištění sloupcovou chromatografií na  $SiO_2$  ( $CHCl_3$  s gradientem 1 → 10 % MeOH) byl získán produkt (350 mg, 22 %) ve formě bílého prášku.  $^1H$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.51 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H); 8.65 (dt,  $J = 7.9, 2.0$  Hz, 1H); 8.58 (dd,  $J = 4.8, 1.8$  Hz, 1H); 7.43 (m, 2H); 7.31 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H); 6.83 (dd,  $J = 11.0, 7.8$  Hz, 1H).  $^{13}C$  NMR (100 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  169.7 (d,  $J = 3.9$  Hz); 162.0; 160.5; 159.4; 154.8; 149.5 (d,  $J = 36.2$  Hz); 135.2; 135.0; 130.7 (d,  $J = 10.7$  Hz); 122.9; 122.1 (d,  $J = 3.8$  Hz); 111.1 (d,  $J = 6.9$  Hz); 108.3 (d,  $J = 22.1$  Hz).

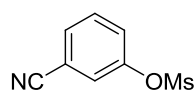
### 5-Fluor-4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin (31). Reakcí 5-fluor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-



4(3H)-onu **30** (350 mg, 1.45 mmol) s  $POCl_3$  (1.09 ml, 14.6 mmol) podle obecného postupu *OP3* byl získán produkt (225 mg, 60 %) jako bílý prášek.  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.39 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 8.92 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.2$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.79 (ddd,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.5$  Hz, 1H, 4');

7.88 (bdd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.2$  Hz, 1H, 5'); 7.85 (td,  $J_{7-6} = J_{7-8} = 8.2$  Hz,  $J_{7-F} = 5.6$  Hz, 1H, 7); 7.60 (dd,  $J_{8-7} = 8.2$  Hz,  $J_{8-6} = 1.0$  Hz, 1H, 8); 7.32 (ddd,  $J_{6-F} = 10.9$  Hz,  $J_{6-7} = 8.1$  Hz,  $J_{6-8} = 1.0$  Hz, 1H, 6).  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  159.6 – 161.8 (m, 4 a 5); 150.9 (8a); 150.5 (2); 148.7 (6'); 145.9 (2'); 139.7 (4'); 135.7 (d,  $J_{7-F} = 10.6$  Hz, 7); 129.9 (3'); 125.4 (5'); 123.9 (8); 113.9 (d,  $J_{6-F} = 20.5$  Hz, 6); 110.9 (d,  $J_{4a-F} = 6.7$  Hz, 4a). HRMS-EI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $C_{13}H_7ClFN_3 [M+H^+]$ , 259.0313; nalezeno, 259.0307.

### 3-Kyanofenylmethansulfonát (33a). Do roztoku 3-kyanofenolu **32a** (5.0 g, 42.0 mmol)

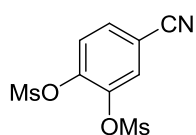


v DCM (100 ml) a  $Et_3N$  (11 ml, 0.15 mol) vychlazeného ledovou tříští na 0 °C byl opatrně přikapáván methansulfonylchlorid (3.55 ml, 46 mmol).

Reakční směs byla za míchání ponechána při 25 °C 16 hod. a poté byla nalita do vody (250

ml). Organická fáze byla oddělena a postupně promyta nasyceným roztokem NaHCO<sub>3</sub>, 10% HCl a vodou a nakonec byla sušena nad MgSO<sub>4</sub>. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO, surový produkt byl rozpuštěn v CHCl<sub>3</sub> a filtrace přes krátký sloupeček SiO<sub>2</sub> poskytla produkt (7.45 g, 90 %). Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>136</sup>

**4-Kyano-1,2-fenyldimethansulfonát (33b).** Roztok 3,4-dihydroxybenzonitrilu **32b** (2.0 g,



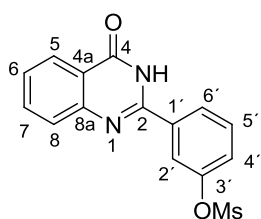
15.2 mmol) ve směsi DCM (30.0 ml) a Et<sub>3</sub>N (8.0 ml) byl vychlazen na 0 °C ledovou lázní a za míchání byl pomalu přikapán MsCl (2.6 ml, 33.3 mmol). Reakční směs byla poté za míchání ponechána při 25 °C po dobu 48 hod.

Vzhledem k tomu, že dle TLC (CHCl<sub>3</sub>) konverze nebyla úplná, byl přidán další MsCl (2.0 ml) a reakční směs byla zahřívána na 50 °C po dobu 6 hod. Po ochlazení byla reakční směs nalita do vody (100 ml) a extrahována DCM (3 x 20 ml). Spojené organické fáze byly promyty po řadě nasyceným roztokem NaHCO<sub>3</sub> (20 ml), 10% HCl (10 ml) a vodou (2 x 10 ml). Po sušení nad MgSO<sub>4</sub> a následném odpaření rozpouštědel na RVO byl získán produkt (3.99 g, 90 %). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 7.69 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.5 Hz, *J*<sub>2</sub> = 1.9 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.32 (s, 6H). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 144.7, 141.2, 132.2, 128.1, 125.2, 116.4, 112.2, 39.2, 39.0. HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>O<sub>6</sub>NNaS<sub>2</sub> [M+Na<sup>+</sup>], 313.97635; nalezeno, 313.97631.

**2-(3-Methansulfonyloxyfenyl)chinazolin-4(3H)-on**

**(34a).**

Reakce



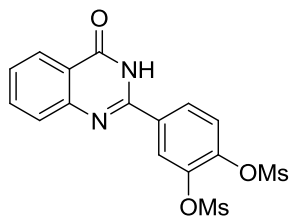
3-kyanofenylmethansulfonátu **33a** (3.75 g, 19.1 mmol) s ethyl-2-aminobenzoátem (**5**) (3.15 g, 19.1 mmol) podle obecného postupu OP2 poskytla produkt (2.40 g, 40 %) ve formě bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.21–8.16 (m, 2H, 5 a 6'); 8.13 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, 2'); 7.90 – 7.85 (m, 1H, 7); 7.81 (bd, *J* = 7.6 Hz, 1H, 8); 7.69 (t, *J* = 8.4

Hz, 1H, 5'); 7.61–7.55 (m, 2H, 4'a 6); 3.49 (s, 3H, OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.9 (4); 151.3 (2); 149.1 (3'); 147.6 (8a); 134.7 (1'); 134.2 (7); 130.4 (5'); 127.0 (8); 126.9 (6); 126.7 (6'); 125.8 (4'); 125.4 (5); 121.5 (4a); 120.9 (2'); 37.6 (OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>SNa [M+Na<sup>+</sup>], 339.04100; nalezeno, 339.04097.

**2-[3,4-Bis(methansulfonyloxy)fenyl]chinazolin-4(3H)-on** (**34b**).

Reakce

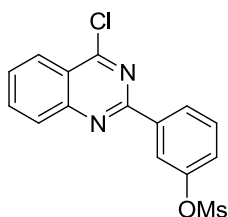
4-kyano-1,2-fenyldimethansulfonátu **32b** (3.99 g, 13.7 mmol) s ethyl-2-aminobenzoátem **5** (2.26 g, 2.02 ml, 13.7 mmol) podle obecného postupu OP2 poskytla produkt (3.23 g, 57 %) jako bílý prášek. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.74 (s, 1H), 8.33 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.28 (dd, *J* =



8.6, 2.2 Hz, 1H), 8.17 (dd,  $J = 7.9, 1.1$  Hz, 1H), 7.90–7.82 (m, 1H), 7.77 (dd,  $J = 8.2, 4.7$  Hz, 2H), 7.60–7.51 (m, 1H), 3.62 (s, 3H), 3.59 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO)  $\delta$  162.1, 150.2, 148.4, 143.2, 141.0, 134.8, 132.8, 127.9, 127.7, 127.1, 125.9, 124.5, 123.6, 121.1, 38.9, 38.8. HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}_2\text{Na}$

[ $\text{M}+\text{Na}^+$ ], 433.01347; nalezeno, 433.01316.

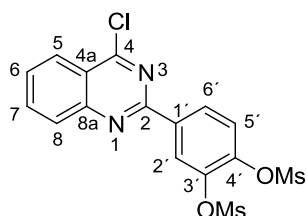
**4-Chlor-2-(3-methansulfonyloxyfenyl)chinazolin (35a).** Reakce chinazolinonu **34a** (2.40 g,



7.60 mmol) s  $\text{POCl}_3$  (76.0 mmol, 7.10 ml) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (2.24 g, 88 %) ve formě nažloutlého prášku.  $^1\text{H}$  NMR

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.59 (dt,  $J_1 = 7.9$  Hz,  $J_2 = 1.3$  Hz, 1H), 8.50 (dd,  $J_1 = 2.4$  Hz,  $J_2 = 1.6$  Hz, 1H), 8.27 (ddd,  $J_1 = 8.4$  Hz,  $J_2 = 1.4$  Hz,  $J_3 = 0.7$  Hz, 1H), 8.10 (dt,  $J_1 = 8.4$  Hz,  $J_2 = 1.0$  Hz, 1H), 7.96 (ddd,  $J_1 = 8.5$  Hz,  $J_2 = 7.0$  Hz,  $J_3 = 1.5$  Hz, 1H), 7.70 (ddd,  $J_1 = 8.3$  Hz,  $J_2 = 7.0$  Hz,  $J_3 = 1.2$  Hz, 1H), 7.58 (t,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 7.51–7.43 (m, 1H), 3.23 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  162.7, 158.3, 151.6, 149.7, 139.0, 135.0, 130.2, 129.0, 128.7, 127.5, 125.8, 124.6, 122.6, 122.0, 37.6. HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_3\text{N}_2\text{ClS}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 335.02517; nalezeno, 335.02506.

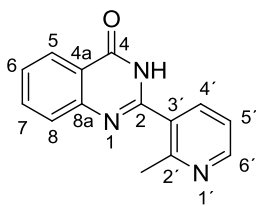
**4-Chlor-2-[3,4-bis(methansulfonyloxy)fenyl]chinazolin (35b).** Reakce chinazolinonu **34b**



(3.22 g, 7.85 mmol) s  $\text{POCl}_3$  (6.1 ml, 78.5 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (2.33 g, 69 %) ve formě bílého prášku.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  8.33 (d,  $J_{3'-5'} = 2.2$  Hz,

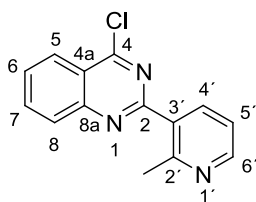
1H, 2'); 8.27 (dd,  $J_{5'-6'} = 8.6$  Hz,  $J_{5'-3'} = 2.2$  Hz, 1H, 6'); 8.17 (ddd,  $J_{5-6} = 7.9$  Hz,  $J_{5-7} = 1.7$  Hz,  $J_{5-7} = 0.6$  Hz, 1H, 5); 7.87 (ddd,  $J_{7-8} = 8.2$  Hz,  $J_{7-6} = 7.1$  Hz,  $J_{7-5} = 1.6$  Hz, 1H, 7); 7.80 (ddd,  $J_{8-7} = 8.2$  Hz,  $J_{8-6} = 1.2$  Hz,  $J_{8-5} = 0.6$  Hz, 1H, 8); 7.77 (d,  $J_{6'-5'} = 8.7$  Hz, 1H, 5'); 7.57 (ddd,  $J_{6-5} = 7.9$  Hz,  $J_{6-7} = 7.1$  Hz,  $J_{6-8} = 1.2$  Hz, 1H, 6); 3.62 (s, 3H,  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ), 3.59 (s, 3H,  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  162.2 (4); 150.7 (2); 148.1 (8a); 143.5 (4'); 141.2 (3'); 135.0 (7); 132.7 (1'); 128.2 (6'); 127.5 (6, nebo 8); 127.4 (6, nebo 8); 126.1 (5); 124.5 (5'); 123.9 (2'); 121.1 (4a); 39.1 ( $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ); 39.0 ( $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ). HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6\text{N}_2\text{ClS}_2$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 428.99763; nalezeno, 428.99740.

**2-(2'-Methylpyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (37).** Reakce 3-kyano-4-methylpyridinu **36** (1.0 g, 8.47 mmol) s ethyl-2-aminobenzoátem **5** (1.40 g, 8.47 mmol) v 10 ml 4M HCl v



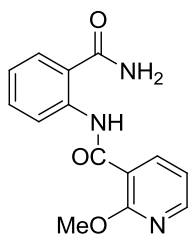
dioxanu podle obecného postupu *OP2* probíhala pomalu. Do reakční směsi byl tedy přidán ještě 7M roztok HCl v Et<sub>2</sub>O (5 ml) a reakce byla zahřívána na 150 °C 48 hod. Po ochlazení byla reakční směs zpracována podle obecného postupu *OP2* za vzniku produktu (960 mg, 48 %) jako bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.57 (bs, 1H, NH); 8.60 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 4.9 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 6'); 8.18 (dm, *J*<sub>5-6</sub> = 7.9 Hz, 1H, 5); 7.93 (dd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 4'); 7.85 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.2 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 7.1 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.6 Hz, 1H, 7); 7.71 (dm, *J*<sub>8-7</sub> = 8.2 Hz, 1H, 8); 7.56 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 7.1 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.2 Hz, 1H, 6); 7.38 (ddq, *J*<sub>5'-4'</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 4.9 Hz, *J*<sub>5'-CH<sub>3</sub></sub> = 0.6 Hz); 2.57 (bs, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.9 (4); 156.0 (2'); 153.3 (2); 150.2 (6'); 148.8 (8a); 137.2 (4'); 134.8 (7); 129.8 (7); 127.6 (8); 127.1 (6); 126.0 (5); 121.3 (4a); 121.1 (5'); 23.0 (CH<sub>3</sub>). HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>ON<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 238.09749; nalezeno 238.09744.

**4-Chlor-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolin (38).** Reakce 2-(2-methylpyridin-3-



yl)chinazolin-4(3*H*)-onu **37** (890 mg, 3.80 mmol) s POCl<sub>3</sub> (3.55 ml, 38.0 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (764 mg, 85 %) jako nažloutlý prášek. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.62 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 6'); 8.35 (dd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 4'); 8.32 (dm, *J*<sub>5-6</sub> = 8.3 Hz, 1H, 5); 8.12 (dm, *J*<sub>8-7</sub> = 8.4 Hz, 1H, 8); 8.00 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 7.0 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.4 Hz, 1H, 7); 7.76 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 7.0 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.2 Hz, 1H, 6); 7.31 (dd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 4.8 Hz, 1H, 5'); 2.93 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 162.33 (4); 161.0 (2); 158.1 (2'); 151.5 (8a); 149.8 (6'); 138.6 (4'); 135.1 (7); 132.7 (3'); 129.0 a 128.9 (8 a 6); 125.8 (5); 122.0 (4a); 121.1 (5'); 24.6 (6). HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>Cl [M+H<sup>+</sup>], 256.06360; nalezeno, 256.06367.

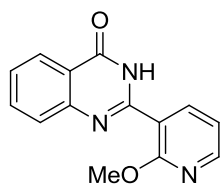
***N*-(2-Karbamoylfenyl)-2-methoxynikotinamid (41).** Roztok 2-methoxynikotinové kyseliny



**39** (1.53 g, 10.0 mmol) a HBTU (5.3 g, 14.0 mmol) v DMF (20 ml) byl míchán 5 min při RT. Poté byl do roztoku přidán v jedné dávce *N,N*-diisopropylethylamin (5.25 ml, 30 mmol), což vedlo ke ztmavnutí reakce, následně byl přidán anthranilamid **1** (1.36 g, 10.0 mmol). Po 16 hod při 25 °C byly dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 5 % MeOH) spotřebovány výchozí látky, reakční směs byla tedy opatrně zředěna vodou (50 ml) a vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a důkladně promyta vodou. Po usušení ve vakuu byl získán čistý produkt (2.40 g, 89 %) ve formě bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.34 (s, 1H); 8.62 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8.4 Hz,

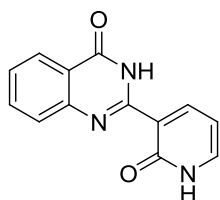
$J_2 = 1.2$  Hz, 1H); 8.43–8.34 (m, 2H); 8.21 (s, 1H); 7.78–7.70 (m, 2H); 7.52 (ddd,  $J_1 = 8.6$  Hz,  $J_2 = 7.3$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H); 7.25–7.13 (m, 2H); 4.09 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  170.3; 161.9; 160.1; 150.2; 141.1; 138.3; 131.5; 128.4; 123.0; 122.6; 121.4; 117.7; 116.6; 53.7. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}_3\text{Na}$   $[\text{M}+\text{Na}^+]$ , 294.08491; nalezeno, 294.08501.

**2-(2-Methoxypyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (42).** *N*-(2-Karbamoylfenyl)-2-



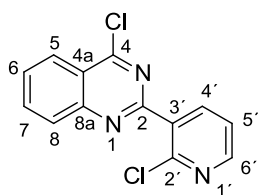
methoxynikotinamid **41** (2.30 g, 8.48 mmol) byl rozpuštěn v 1M NaOH (20 ml) a reakční směs byla při 25 °C míchána 16 hod. Poté byla zředěna vodou (30 ml) a neutralizována 1M HCl. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě, důkladně promyta vodou a po jejím usušení ve vakuu byl získán produkt (2.19 g, 98 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  12.22 (s, 1H); 8.37 (dd,  $J_1 = 5.0$  Hz,  $J_2 = 1.9$  Hz, 1H); 8.14 (ddd,  $J_1 = 12.6$  Hz,  $J_2 = 7.7$  Hz,  $J_3 = 1.8$  Hz, 2H); 7.85 (ddd,  $J_1 = 8.6$  Hz,  $J_2 = 7.1$  Hz,  $J_3 = 1.6$  Hz, 1H); 7.72 (dd,  $J_1 = 8.3$  Hz,  $J_2 = 1.2$  Hz, 1H); 7.55 (ddd,  $J_1 = 8.1$  Hz,  $J_2 = 7.1$  Hz,  $J_3 = 1.2$  Hz, 1H); 7.18 (dd,  $J_1 = 7.3$  Hz,  $J_2 = 4.9$  Hz, 1H); 3.96 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$  161.1; 160.5; 150.9; 149.1; 148.8; 139.8; 134.5; 127.4; 126.8; 125.8; 121.1; 117.3; 117.1; 53.7. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_3$   $[\text{M}+\text{H}^+]$ , 254.09240; nalezeno, 254.09240.

**2-(2-Oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-on (44).** Do roztoku



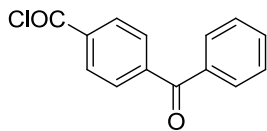
2-(2-methoxypyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-onu **42** (2.19 g, 8.60 mmol) v DMF (50.0 ml) vychlazeného na 0 °C byl po částech přidán  $\text{POCl}_3$  (8.0 ml). Reakční směs byla postupně ohřata na 25 °C a při této teplotě byla míchána po dobu 16 hod. Poté byla nalita na tlučený led a opatrně neutralizována 10% vodným roztokem NaOH. Byla získána velmi komplikovaná směs, z níž se po sloupcové chromatografii na  $\text{SiO}_2$  a krystalizaci z MeOH podařilo izolovat produkt (1.09 g, 53 %) jako bílý prášek.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  8.89 (dd,  $J = 7.4, 2.2$  Hz, 1H), 8.12 (dd,  $J = 7.9, 1.5$  Hz, 1H), 7.86–7.73 (m, 2H), 7.68 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.46 (t,  $J = 7.5$  Hz, 1H), 6.63 (t,  $J = 6.8$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO)  $\delta$  162.8, 160.4, 150.4, 148.9, 143.1, 140.3, 134.6, 127.3, 126.2, 126.0, 121.1, 117.7. MS-negESI (m/z):  $[\text{M} - \text{H}^+] = 238.1$ .

**4-Chlor-2-(2-chlorpyridin-3-yl)chinazolin (45).** Suspenze 2-(2-Oxo-1,2-dihydropyridin-3-yl)chinazolin-4(3H)-onu **44** v čerstvě destilovaném  $\text{POCl}_3$  byla za míchání zahřívána na 130



°C v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli. Po cca 30 min se suspenze rozpustila za vzniku slabě oranžového roztoku, který s časem tmavnul až do sytě oranžové. Po 5 hod. byla reakce ukončena ochlazením na 25 °C a nalitím na tlučný led. pH reakce bylo opatrně upraveno na hodnotu 5–6 pomocí 1M roztoku NaOH, dále byl k adjustování hodnoty pH použit nasycený roztok NaHCO<sub>3</sub> (na pH = 7–8). Vznikla sraženina, která byla odsáta fritě a po sloupcové chromatografii na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 1 % MeOH) byl získán produkt (320 mg, 56 %) jako béžový prášek. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.53 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 2.0 Hz, 1H, 6'); 8.34 (ddd, *J*<sub>5-6</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>5-7</sub> = 1.4 Hz, *J*<sub>5-8</sub> = 0.8 Hz, 1H, 5); 8.24 (dd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 2.0 Hz, 1H, 4'); 8.15 (ddd, *J*<sub>8-7</sub> = 8.5 Hz, *J*<sub>8-6</sub> = 1.2 Hz, *J*<sub>8-5</sub> = 0.7 Hz, 1H, 8); 8.02 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.5 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 7.0 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.4 Hz, 1H, 7); 7.80 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 7.0 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.2 Hz, 1H, 6); 7.41 (dd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 7.6 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 4.8 Hz, 1H, 5'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.6 (4); 159.8 (2); 151.3 (8a); 150.2 (6'); 149.9 (2'); 140.5 (4'); 135.4 (7); 133.6 (3'); 129.5 (6); 129.0 (9); 125.9 (5); 122.4 (4a); 122.3 (5'). HRMS-EI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>Cl<sub>2</sub> [M+H<sup>+</sup>], 276.00898; nalezeno, 276.00906.

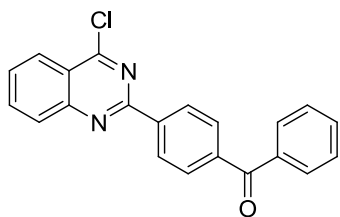
**4-Benzoylbenzoylchlorid (47).** Roztok 4-benzoylbenzoové kyseliny **46** (2.0 g, 8.8 mmol) a PCl<sub>5</sub> (2.2 g, 10.7 mmol) v suchém Et<sub>2</sub>O (20 ml) byl míchán 1 hod. při RT. Rozpouštědlo bylo poté odpařeno na RVO a byl získán surový produkt (1.8 g, 84 %), který byl použit v následující reakci bez dalšího čištění. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>137</sup>



**2-(4-Benzoylfenyl)chinazolin-4(3H)-on (48).** Reakce anthranilamidu (**1**) (1.0 g, 7.3 mmol) a 4-benzoylbenzoylchloridu **47** (1.8 g, 7.3 mmol) podle obecného postupu *OPI* poskytla produkt (696 mg, 41 %) ve formě bílého prášku. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 12.74 (bs, 1H, NH); 8.35 (m, 2H, 2'); 8.18 (m, 1H, 5); 7.84–7.90 (m, 3H, 3'a 7); 7.77–7.80 (m, 3H, 2'a 8), 7.72 (m, 1H, 4'); 7.60 (m, 2H, 3''); 7.56 (m, 1 H, 6). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 195.5 (CO), 162.5 (4); 151.8 (2); 148.7 (8a); 139.3 (4'); 136.9 (1''); 136.4 (1'); 134.9 (7); 133.3 (4''); 129.93 a 129.90 (3'a 2''); 128.9 (2'); 127.8 (8); 127.2 (6); 126.1 (5); 121.4 (4a).

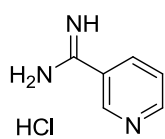
**4-Chlor-2-(4-benzoylfenyl)chinazolin (49).** Reakce 2-(4-benzoylfenyl)chinazolin-4(3H)-onu **48** (696 mg, 2.10 mmol) s POCl<sub>3</sub> (1.50 ml, 19.5 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla





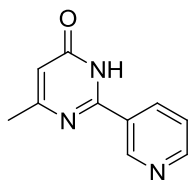
produkt (634 mg, 86 %) jako bílý prášek.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.71 (dt, 2H); 8.29 (bd, 1H); 8.14 (bd, 1H); 8.00–7.94 (m, 3H); 7.87–7.85 (m, 2H); 7.72 (m, 1H); 7.62 (m, 1H); 7.54–7.50 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  196.4; 162.7; 159.1; 151.8; 140.2; 139.5; 137.5; 135.0; 132.6; 130.3; 130.1; 129.1; 128.8; 128.6; 128.3; 125.9; 122.7.

**Nicotinimidamid hydrochlorid (50).** 3-Kyanopyridin **6** (10.0 g, 96.0 mmol) byl rozpuštěn v MeOH (100 ml), do vzniklého roztoku byl v jedné dávce přidán NaOMe (500 mg, 9.1 mol) a reakční směs byla míchána po dobu 16 hod při 25 °C. Do reakční směsi byl přidán  $\text{NH}_4\text{Cl}$



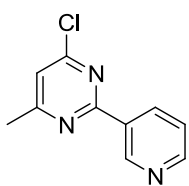
(7.66g, 144 mmol) a ta byla zahřívána k varu po 4 hod., a poté byla ochlazena na 25 °C a rozpouštědla byla odstraněna na RVO. Do směsi byl přidán absolutní EtOH (150 ml) a směs byla opět zahřívána k varu. Po 15 minutách byla vzniklá sraženina odfiltrována za horka a reakční směs byla ochlazena a ponechána stát při 25 °C. Po několika hodinách byla reakční směs ještě jednou přefiltrována od dodatečného precipitátu, poté byla zahuštěna na cca 1/2 objemu a produkt vykrytalizoval z rozpouštědla (10.89 g, 72 %). Naměřená NMR data byla identická s autentickým preparátem.<sup>138</sup>

**6-Methyl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin-4(3H)-on (52).** Do roztoku ethyl-acetoacetátu **51** (8.10 ml, 63.45 mmol) a amidin hydrochloridu **50** (5.0 g, 31.73 mmol) v EtOH (70 ml) byl v jedné dávce přidán  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (13.48 g, 127.2 mmol) a reakční směs byla zahřívána k varu po dobu 24 hod. Po ochladnutí byla reakční směs opatrně zředěna vodou a vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a důkladně



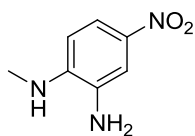
promyta vodou. Po krystalizaci z EtOH byl získán produkt jako slabě béžový prášek (4.52 g, 76 %).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  12.64 (s, 1H), 9.24 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 8.72 (dd,  $J = 4.8, 1.7$  Hz, 1H), 8.43 (ddd,  $J = 8.0, 2.2, 1.7$  Hz, 1H), 7.54 (ddd,  $J = 8.0, 4.8, 0.9$  Hz, 1H), 6.29 (s, 1H), 3.35 (s, 1H), 2.30 (d,  $J = 0.7$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.2; 160.1; 156.1; 151.9; 148.9; 134.4; 129.2; 123.7; 109.8; 23.6. HRMS-Cl ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 188.0824; nalezeno, 188.0825.

**4-Chlor-6-methyl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin (53).** Reakce pyrimidin-4(3H)-onu **52** (2.0 g, 10.68 mmol) s  $\text{POCl}_3$  (15.0 ml, 195 mmol) podle obecného postupu *OP3* poskytla produkt (1.38 g, 63 %) jako žluto-hnědý prášek.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.42 (dd,  $J = 2.2, 0.8$  Hz, 1H), 8.73 (dd,  $J = 4.8, 1.7$  Hz, 1H), 8.59 (ddd,  $J = 8.0, 2.3, 1.7$  Hz, 1H), 7.60 (d,  $J =$



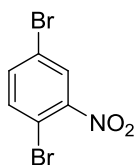
0.5 Hz, 1H), 7.56 (ddd,  $J = 8.0, 4.8, 0.9$  Hz, 1H), 2.56 (d,  $J = 0.5$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  170.2, 162.1, 160.5, 151.9, 149.0, 135.4, 131.3, 123.9, 119.6, 23.6. HRMS-Cl ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{N}_3\text{Cl}$   $[\text{M}+\text{H}^+]$ , 206.0485; nalezeno, 206.0483.

**2-methylamino-5-nitroanilin (56).** Produkt byl získán podle upraveného literárního postupu.<sup>122</sup> K roztoku 2,4-dinitrochlorbenzenu **54** (10.0 g, 49.4 mmol) v



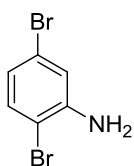
THF (100 ml) byl přidán methylamin (25 ml, 8M roztok v EtOH) a reakční směs byla míchána při 25 °C jednu hodinu. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě, promyta vodou (2 x 50 ml) a ledovým EtOH (25 ml) a usušena ve vakuu. Surový 2,4-dinitro-*N*-metylaniline (9.45 g, 47.9 mmol) byl přidán do suspenze práškové síry (3.1 g, 37.1 mmol) a  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$  (23.0 g, 95.9 mmol) ve směsi voda/EtOH (50 ml, 1:1). Takto vzniklá reakční směs byla míchána za varu po dobu 2 hod, poté byla zředěna ledovou vodou (50 ml) a dále chlazená v ledové lázni. Z roztoku se vysrážel tmavě červený produkt, který byl odsát na fritě a promyt vodou (2 x 50 ml). Krystalizace z EtOH poskytla produkt (5.77 g, 70%) ve formě tmavě červených krystalků.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  7.55 (dd,  $J = 8.8, 2.7$  Hz, 1H), 7.40 (d,  $J = 2.7$  Hz, 1H), 6.42 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H), 6.11 (d,  $J = 4.7$  Hz, 1H), 5.08 (s, 2H), 2.84 (d,  $J = 4.9$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  143.6, 136.5, 134.4, 116.0, 107.0, 106.5, 29.7. HRMS-Cl ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_2$   $[\text{M}+\text{H}^+]$ , 168.0773; nalezeno, 168.0776.

**1,4-dibrom-2-nitrobenzen (58).** Produkt byl získán podle popsaného postupu.<sup>123</sup> Do roztoku dibrombenzenu **57** (5.02 g, 21.1 mmol) v DCM (25 ml) a konc.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (2.0 ml)



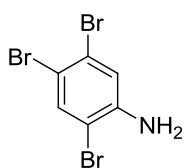
byla po kapkách přidána nitrační směs (6 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  + 9 ml  $\text{HNO}_3$ ). Reakční směs byla míchána 10 min. při 25 °C a poté byla nalita na tlučený led (250 ml), opatrně zneutralizována nasyceným vodným roztokem NaOH a extrahována  $\text{CHCl}_3$  (3 x 100 ml). Spojené organické fáze byly promyty vodou (50 ml), solankou (50 ml), usušeny nad  $\text{MgSO}_4$  a rozpouštědla byla odpařena na RVO. Surový produkt byl získán krystalizací z EtOH ve formě žlutých jehliček (3.12 mg, 53 %). Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>123</sup>

**2,5-dibromanilin (59).** Produkt byl získán podle popsaného postupu.<sup>123</sup> K roztoku  $\text{SnCl}_2$  (2,02 g, 10.7 mmol) v konc. HCl (2.0 ml) byla po částech přidána suspenze 1,4-dibrom-2-nitrobenzenu **58** (1.0 g, 3.56 mmol) v EtOH (96%, 5.0 ml). Reakční směs byla za míchání



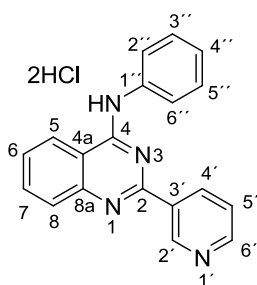
zahřívána 1 hod při 100 °C, poté byla ochlazena na 25 °C a míchána ještě další 2 hod. Pak byla reakční směs zředěna vodou (20 ml), neutralizována 1M vodným roztokem NaOH a extrahována EtOAc (3 × 10 ml). Spojené organické fáze byly usušeny nad MgSO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO za vzniku produktu (735 mg, 82 %) ve formě žluto-rudého oleje, který po ochlazení krystalizoval. Pro další reakce byl produkt použit bez dalšího čištění. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>123</sup>

**2,4,5-Tribromanilin (60).** Produkt byl získán podle popsaného postupu.<sup>123</sup> K roztoku



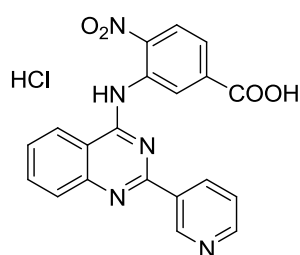
2,5-dibromanilinu **59** (1.46 g, 5.70 mmol) v CHCl<sub>3</sub> (80 ml) vychlazenému na 0 °C byl po kapkách přidán roztok bromu (310 μl, 6.0 mmol) v CHCl<sub>3</sub> (10 mL). Reakční směs byla míchána při 0 °C po 3 hod, poté byla zředěna CHCl<sub>3</sub> (50 ml) a ukončena přidávkem nasyceného vodného roztoku Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (50 ml). Organická fáze byla oddělena, promyta vodou, usušena nad MgSO<sub>4</sub> a rozpouštědla byla odpařena na RVO. Krystalizace z EtOH poskytla produkt (1.24 g, 66 %) ve formě oranžového prášku. Naměřená NMR data byla v souladu s dříve publikovanými hodnotami.<sup>123</sup>

**N-Fenyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (61).** Reakcí 4-chlor-2-



(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s hydrochloridem anilinu **A1** (118 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (69 mg, 22 %) ve formě žlutého prášku.  $T_f = 155\text{--}160$  °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.14 (bs, 1H, NH); 9.52 (dm,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 9.12 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz, 1H, 4'); 8.98 (dd,  $J_{6'-5'} = 8.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.90 (dm,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.21 (bd,  $J_{8-7} = 8.3$  Hz, 1H, 8); 8.04 (m, 1H, 7); 8.01 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.3$  Hz, 1H, 5'); 7.89 (m, 2H, 2''); 7.79 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.1$  Hz,  $J_{6-8} = 1.2$  Hz, 1H, 6); 7.52 (m, 2H, 3''); 7.30 (m, 2H, 4''). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.9 (4); 155.0 (2); 147.3 (6'); 145.2 (8a); 145.0 (2'); 141.3 (4'); 137.9 (1''); 135.2 (7); 132.9 (3'); 128.9 (3''); 128.1 (6); 126.1 (5'); 125.7 (4''); 124.4 (5 and 8); 124.0 (2''); 113.9 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2984 cm<sup>-1</sup>; 2375 cm<sup>-1</sup>; 2266 cm<sup>-1</sup>; 2117 cm<sup>-1</sup>; 2042 cm<sup>-1</sup>; 1956 cm<sup>-1</sup>; 1920 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 299.12912; nalezeno, 299.12911. Elementární analýza: vypočteno (%) C 61.47, H 4.34, N 15.09, Cl 19.10; nalezeno (%) C 60.04, H 4.60, N 14.54, Cl 16.13. Rozdíl oproti teorii odpovídá kokystalizaci produktu s ~ 1 molekulou vody.

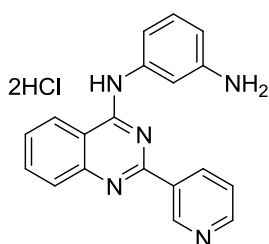
***N*-(5-Karboxy-2-nitrofenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (62).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (400 mg, 1.65 mmol) s 2-amino-5-hydroxybenzoovou kyselinou **A2** (601 mg, 3.30 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (540 mg, 77 %) ve formě žlutého prášku.  $T_f > 320$  °C. Vzhledem ke špatné rozpustnosti hydrochloridu, byla látka charakterizována jako volná báze. Volná báze:

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  16.12 (s, 1H), 10.33 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H), 9.76 (dd,  $J = 2.2, 0.8$  Hz, 1H), 8.93–8.85 (m, 1H), 8.74 (dd,  $J = 4.8, 1.7$  Hz, 1H), 8.38 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 8.31 (d,  $J = 8.5$  Hz, 1H), 7.93 (dd,  $J = 4.9, 1.8$  Hz, 2H), 7.87 (dd,  $J = 8.5, 2.4$  Hz, 1H), 7.71 (ddd,  $J = 8.2, 5.6, 2.6$  Hz, 1H), 7.60 (ddd,  $J = 8.0, 4.8, 0.8$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  167.8, 157.64, 157.55, 151.1, 150.1, 149.3, 148.8, 148.1, 141.9, 135.4, 135.2, 133.5, 132.3, 130.4, 128.4, 127.2, 123.6, 122.6, 115.2, 114.1. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3433  $\text{cm}^{-1}$ , 3085  $\text{cm}^{-1}$ , 1679  $\text{cm}^{-1}$ ; 1602  $\text{cm}^{-1}$ ; 1535  $\text{cm}^{-1}$ ; 1378  $\text{cm}^{-1}$ ; 1347  $\text{cm}^{-1}$ ; 1220  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-EI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 387.0968; nalezeno, 387.0966.

***N*-(3-Aminofenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (63).** Reakce 4-chlor-

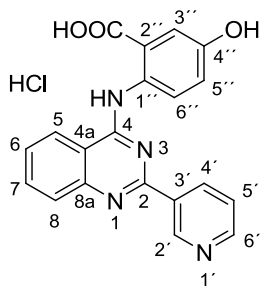


2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** s (200 mg, 0.83 mmol) *m*-fenylendiaminem **A3** (100 mg, 0.93 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (102 mg, 35 %) ve formě hnědého prášku.  $T_f = 146$ – $151$  °C.  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  9.72 (s, 1H), 9.56 (dd,  $J = 2.1, 0.8$  Hz, 1H); 8.73–8.66 (m, 2H); 8.59 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H); 7.87

(dd,  $J = 4.5, 0.8$  Hz, 2H); 7.64–7.58 (m, 1H); 7.54 (ddd,  $J = 7.9, 4.8, 0.8$  Hz, 1H); 7.16–7.13 (m, 1H); 7.11 (dd,  $J = 3.9, 1.5$  Hz, 2H); 6.46–6.39 (m, 1H); 5.19 (s, 2H).  $^{13}\text{C NMR}$  (101 MHz, DMSO)  $\delta$  158.1, 157.6, 150.8, 150.2, 149.3, 149.0, 139.5, 135.2, 133.7, 133.2, 128.7, 128.1, 126.2, 123.6, 123.1, 114.2, 110.5, 110.1, 108.3. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3851  $\text{cm}^{-1}$ ; 3749  $\text{cm}^{-1}$ ; 2166  $\text{cm}^{-1}$ ; 1985  $\text{cm}^{-1}$ ; 1706  $\text{cm}^{-1}$ ; 1564  $\text{cm}^{-1}$ ; 1530  $\text{cm}^{-1}$ ; 1422  $\text{cm}^{-1}$ ; 1325  $\text{cm}^{-1}$ ; 775  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-EI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{N}_5$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 313.1327; nalezeno, 313.1328. Elementární analýza: vypočteno (%) C 59.08, H 4.44, N 18.13, Cl 18.36; nalezeno (%) C 55.90, H 4.59, N 15.85, Cl 19.65. Rozdíl proti teorii odpovídá kokystalici produktu s  $\sim 1$  molekulou  $\text{H}_2\text{O}$ .

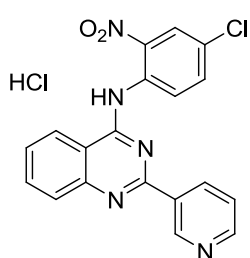
***N*-(2-Karboxy-4-hydroxyfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (64).**

Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (400 mg, 1.65 mmol) s 2-amino-5-hydroxybenzoovou kyselinou **A4** (510 mg, 3.33 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (390 mg, 60 %) ve formě žlutého prášku.  $T_f = 304$ – $305$  °C.  $^1\text{H NMR}$  (500



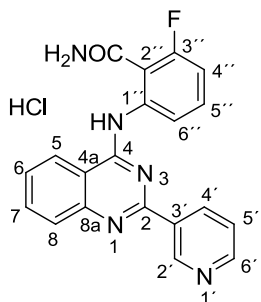
MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  11.57 (bs, 1H, NH); 9.49 (bs, 1H, 2'); 8.96 (bd,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz, 1H, 4'); 8.88 (bd,  $J_{6'-5'} = 5.1$  Hz, 6'); 8.39 (d,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.26 (bd,  $J_{6''-5''} = 8.2$  Hz, 1H, 6''); 7.97-8.04 (m, 2H, 7 and 8); 7.89 (m, 1H, 5'); 7.77 (m, 1H, 6); 7.47 (d,  $J_{3''-5''} = 2.9$  Hz, 1H, 6''); 7.19 (dd,  $J_{5''-4''} = 8.8$  Hz,  $J_{5''-3''} = 2.9$  Hz, 1H, 5'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  169.1 (COOH); 159.3 (4); 156.1 (2); 154.2 (4'); 148.1 (6'); 147.6 (8a); 146.4 (2'); 139.3 (4'); 134.5 (7); 133.9 (3'); 131.0 (1'); 128.0 (6); 125.8 (8 and 6''); 125.3 (5'); 123.3 (2''); 122.7 (5''); 117.0 (3''); 114.2 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3424  $\text{cm}^{-1}$ , 3247  $\text{cm}^{-1}$ , 3055  $\text{cm}^{-1}$ ; 1524  $\text{cm}^{-1}$ ; 1602  $\text{cm}^{-1}$ ; 1560  $\text{cm}^{-1}$ ; 1532  $\text{cm}^{-1}$ ; 1388  $\text{cm}^{-1}$ ; 1186  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-EI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 358.1066; nalezeno, 358.1059.

#### ***N*-(4-Chlor-2-nitrofenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (65).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (400 mg, 1.65 mmol) s 4-chlor-5-nitroanilinem **A5** (570 mg, 3.30 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (140 mg, 21 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 216\text{--}218$  °C. Volná báze:  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  10.85 (s, 1H), 9.36 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.59 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 8.53 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 8.23 (dd,  $J = 1.8, 0.8$  Hz, 1H), 7.94 (dd,  $J = 7.1, 1.4$  Hz, 4H), 7.70 (ddd,  $J = 8.2, 6.0, 2.2$  Hz, 1H), 7.51 (dd,  $J = 7.8, 4.7$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  157.8, 156.9, 151.0, 150.4, 149.1, 144.2, 135.1, 134.1, 133.9, 131.1, 129.1, 128.8, 128.1, 126.9, 124.7, 123.5, 114.0. V  $^{13}\text{C}$  spektru nebylo možné detekovat 2 signály. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3866  $\text{cm}^{-1}$ ; 3750  $\text{cm}^{-1}$ ; 2549  $\text{cm}^{-1}$ ; 2184  $\text{cm}^{-1}$ ; 1564  $\text{cm}^{-1}$ ; 1521  $\text{cm}^{-1}$ ; 1394  $\text{cm}^{-1}$ ; 1244  $\text{cm}^{-1}$ ; 1115  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-EI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_2\text{Cl}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 377.0680; nalezeno, 377.0681.

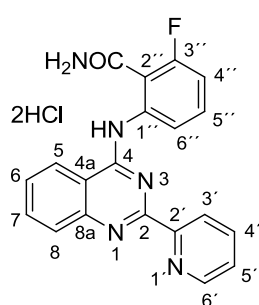
#### ***N*-(3-Fluor-2-karbamoylfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (66).**



Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2-amino-6-fluorbenzamidu **A6** (143 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidů draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (160 mg, 54 %) ve formě béžového prášku.  $T_f = 209\text{--}211$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  11.51 (bs, 1H, NH); 9.53 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 9.11 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz,  $J_{4'-2'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.94 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.33 (bd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz, 1H, 5); 8.15 (bd,  $J_{6''-5''} = 8.3$  Hz, 1H, 6''); 8.12 (bs, 1H, NH); 8.04 (bdd,  $J_{8-7} = 8.7$  Hz,  $J_{8-6} = 1.3$  Hz, 1H, 8); 8.02 (bs,

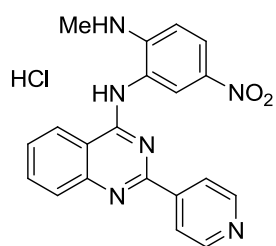
1H, NH); 7.994 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 6.8$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.986 (bdd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 7.77 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.8$  Hz,  $J_{6-8} = 1.4$  Hz, 1H, 6); 7.65 (td,  $J_{5''-6''} = 8.3$  Hz,  $J_{5''-F} = 6.4$  Hz, 1H, 5''); 7.23 (ddd,  $J_{4''-F} = 10.2$  Hz,  $J_{4''-5''} = 8.4$  Hz,  $J_{4''-6''} = 1.0$  Hz, 1H, 4'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  165.7 (CONH<sub>2</sub>); 159.8 (d,  $J_{\text{C-F}} = 247.8$  Hz, 3''); 158.5 (4); 155.5 (2); 148.3 (8a); 146.2 (6'); 144.5 (2'); 141.3 (4'); 138.6 (d,  $J_{\text{C-F}} = 4.9$  Hz, 1''); 134.8 (3'); 134.7 (7); 132.0 (d,  $J_{\text{C-F}} = 10.4$  Hz, 5''); 128.2 (6); 127.3 (8); 126.2 (5'); 122.8 (5); 120.6 (6''); 119.0 (d,  $J_{\text{C-F}} = 216.2$  Hz, 2''); 114.3 (4a); 112.5 (d,  $J_{\text{C-F}} = 22.6$  Hz, 4''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3750 cm<sup>-1</sup>; 2328 cm<sup>-1</sup>; 2029 cm<sup>-1</sup>; 1594 cm<sup>-1</sup>; 1530 cm<sup>-1</sup>; 1452 cm<sup>-1</sup>; 1343 cm<sup>-1</sup>; 1224 cm<sup>-1</sup>; 1032 cm<sup>-1</sup>. HRMS-EI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>15</sub>N<sub>5</sub>OF [M+H<sup>+</sup>], 360.12551; nalezeno, 360.12558. Elementární analýza: vypočteno (%) C 60.69, H 3.82, N 17.69, Cl 8.96; nalezeno (%) C 59.92, H 3.91, N 17.10, Cl 11.15.

***N*-(3-Fluor-2-Karbamoylfenyl)-2-(pyridin-2-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (67).**



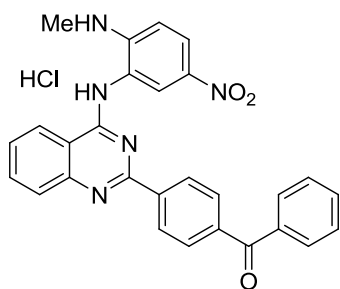
Reakce 4-chlor-2-(pyridin-2-yl)chinazolinu **4a** (100 mg, 0.41 mmol) s 2-amino-6-fluorbenzamidem **A6** (69.5 mg, 0.45 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (78 mg, 44 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 174\text{--}178$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  12.32 (bs, 1H, NH); 8.91 (ddd,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz,  $J_{6'-3'} = 0.9$  Hz, 1H, 6'); 8.84 (dd,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz,  $J_{5-7} = 1.2$  Hz, 1H, 5); 8.36 (dd,  $J_{8-7} = 8.6$  Hz,  $J_{8-6} = 1.1$  Hz, 1H, 8); 8.28 (dt,  $J_{3'-4'} = 7.9$  Hz,  $J_{3'-5'} = J_{3'-6'} = 1.1$  Hz, 1H, 3'); 8.14–8.18 (m, 3H, 7, 4', and NH); 7.91 (ddd,  $J_{6-5} = 8.4$  Hz,  $J_{6-7} = 7.1$  Hz,  $J_{6-8} = 1.1$  Hz, 1H, 6); 7.82 (ddd,  $J_{5'-4'} = 7.6$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-3'} = 1.3$  Hz, 1H, 5'); 7.80 (bs, 1H, NH); 7.64–7.71 (m, 2H, 5'' and 6''); 7.42 (ddd,  $J_{4''-F} = 10.0$  Hz,  $J_{4''-5''} = 8.2$  Hz,  $J_{4''-6''} = 1.3$  Hz, 1H, 4'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  164.21 (C=O); 160.68 (4); 159.45 (d,  $J_{3''-F} = 248.2$  Hz, 3''); 154.71 (2); 149.49 (6'); 147.38 (2');  $\delta$  140.01 (8a); 139.64 (4'); 136.94 (7); 135.86 (d,  $J_{1''-F} = 5.5$  Hz, 1''); 131.62 (d,  $J_{5''-F} = 5.5$  Hz, 5''); 129.27 (6); 128.65 (5'); 125.29 (3'); 124.86 (5); 123.57 (6''); 121.83 (d,  $J_{2''-F} = 18.7$  Hz, 2''); 121.24 (8); 115.32 (d,  $J_{4''-F} = 22.8$  Hz, 4''); 113.28 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762 cm<sup>-1</sup>, 3661 cm<sup>-1</sup>, 2933 cm<sup>-1</sup>; 2050 cm<sup>-1</sup>; 1739 cm<sup>-1</sup>; 1722 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>; 1462 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>ON<sub>5</sub>FNa [M+Na<sup>+</sup>], 382.1075; nalezeno, 382.1075. Elementární analýza: vypočteno (%) C 55.57, H 3.73, N 16.20, Cl 16.40; nalezeno (%) C 53.70, H 4.34, N 14.65, Cl 13.59. Rozdíl proti teorii odpovídá 1 molekule vody.

***N*-(2-methylamin-5-nitrofenyl)-2-(pyridin-4-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (68).**



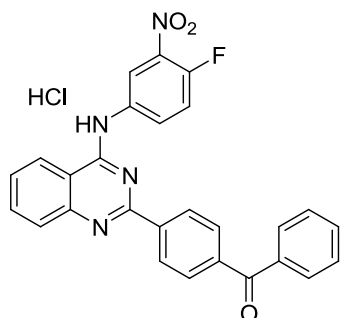
Reakce 4-chlor-2-(pyridin-4-yl)chinazolinu **4c** (200 mg, 0.83 mmol) a anilinu **56** (151 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (72 mg, 244 %) jako červený prášek.  $T_f$  nestanovena, dekompozice při  $T > 290$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (401 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.94 (s, 1H); 8.71 (dd,  $J = 4.6, 1.6$  Hz, 2H); 8.59 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H); 8.20–8.11 (m, 4H); 7.97–7.89 (m, 2H); 7.69 (ddd,  $J = 8.3, 5.7, 2.6$  Hz, 1H); 6.91 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H); 6.83 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H); 2.85 (d,  $J = 4.1$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  159.7; 156.7; 151.4; 149.8; 148.9; 146.6; 134.7; 133.5; 128.0; 126.7; 124.9; 124.0; 123.8; 122.6; 122.0; 114.8; 108.7; 29.6. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3866  $\text{cm}^{-1}$ ; 3660  $\text{cm}^{-1}$ ; 2163  $\text{cm}^{-1}$ ; 2020  $\text{cm}^{-1}$ ; 1659  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1513  $\text{cm}^{-1}$ ; 1332  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{N}_6$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 373.1408; nalezeno, 373.1405.

**2-(4-Benzoylfenyl)-*N*-(2-methylamin-5-nitrofenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (69).**



Reakce 4-chlorchinazolinu **49** (150 mg, 0.45 mmol) s 2-methylamino-5-nitroanilinem **56** (72 mg, 0.45 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (53 mg, 23 %) ve formě béžového prášku.  $T_f = 163$ – $166$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  11.86 (bs, 1H); 9.85 (bs, 1H); 9.25 (bs, 1H); 8.59 (d,  $J = 2.2$  Hz, 1H); 8.23 (dd,  $J = 8.9, 2.2$  Hz, 1H); 8.06–7.65 (m, 12H); 7.65–7.52 (m, 2H); 3.92 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO)  $\delta$  194.9; 163.2; 153.6; 143.1; 141.4; 141.2; 140.2; 136.1; 133.4; 132.3; 131.8; 129.7; 129.5; 129.0; 128.8; 126.1; 118.2; 115.2; 111.5; 31.9. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  1656  $\text{cm}^{-1}$ ; 1622  $\text{cm}^{-1}$ ; 1606  $\text{cm}^{-1}$ ; 1575  $\text{cm}^{-1}$ ; 1495  $\text{cm}^{-1}$ ; 1345  $\text{cm}^{-1}$ ; 1416  $\text{cm}^{-1}$ ; 1276  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{28}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{N}_5$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 476.1717; nalezeno, 476.1719.

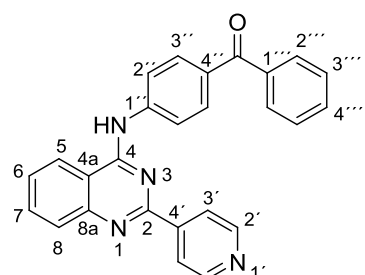
**2-(4-Benzoylfenyl)-*N*-(4-fluor-3-nitrofenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (70).**



Reakce 4-chlorchinazolinu **49** (100 mg, 0.31 mmol) s 4-fluor-3-nitroanilinem **A7** (49 mg, 31 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (80 mg, 52 %) jako bílý prášek.  $T_f = 280$ – $281$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  11.14 (bs, 1H); 9.05 (dd,  $J = 6.9, 2.7$  Hz, 1H); 8.81 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H); 8.69–8.51 (m, 2H); 8.33 (ddd,  $J = 9.1, 3.9, 2.8$  Hz, 1H); 8.13 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H); 8.03 (ddd,  $J = 8.4, 6.9, 1.3$  Hz, 1H); 7.94–7.86 (m, 2H); 7.83–7.68 (m, 5H); 7.60 (t,  $J$

= 7.7 Hz, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  194.4; 157.4; 156.3; 135.9; 134.0; 132.1; 128.9; 128.7; 127.8; 126.7; 122.9; 118.8; 117.9; 117.6; 112.6. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3066  $\text{cm}^{-1}$ ; 3027  $\text{cm}^{-1}$ ; 1656  $\text{cm}^{-1}$ ; 1606  $\text{cm}^{-1}$ ; 1575  $\text{cm}^{-1}$ ; 1449  $\text{cm}^{-1}$ ; 1416  $\text{cm}^{-1}$ ; 1276  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-EI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{27}\text{H}_{17}\text{FN}_4\text{O}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 464.1285; nalezeno, 464.1280.

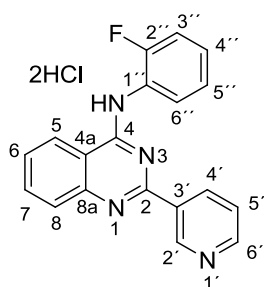
***N*-(4-Benzoylfenyl)-2-(pyridin-4-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (71).** Reakce



4-chlorchinazolinu **4c** (200 mg, 0.83 mmol) s 4-aminobenzofenonem **A8** (326 mg, 1.66 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (302 mg, 83 %) jako bílý prášek.  $T_f$  = 157–159 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.64 (bs, 1H, NH); 9.01 (m, 2H, 2'); 8.84 (dt,  $J_{5-6}$  = 8.5 Hz,  $J_{5-7}$  =  $J_{5-8}$  = 1.0 Hz, 5); 8.75 (m, 2H, 3'); 8.24 (m, 2H, 2'');

8.00–7.98 (m, 2H, 7 and 8); 7.91 (m, 2H, 3''); 7.79–7.76 (m, 3H, 6 and 2''); 7.69 (m, 1H, 4''); 7.60 (m, 2H, 3'''). NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  194.9 (C=O), 158.4 (4), 155.0 (2); 152.3 (4'); 149.9 (8a); 143.7 (2'); 143.5 (1'); 137.8 (1''); 134.5 (7); 132.5 (4''); 131.9 (4'); 131.1 (3''); 129.6 (2''); 128.8 (3''); 128.7 (8); 128.8 (6); 124.7 (3'); 124.0 (5); 121.6 (2''); 115.0 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  1633  $\text{cm}^{-1}$ , 1600  $\text{cm}^{-1}$ , 1596  $\text{cm}^{-1}$ ; 1515  $\text{cm}^{-1}$ ; 1416  $\text{cm}^{-1}$ ; 1375  $\text{cm}^{-1}$ ; 1313  $\text{cm}^{-1}$ ; 1279  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{ON}_4$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 403.1553; nalezeno, 403.1553. Elementární analýza: vypočteno (%) C 71.15, H 4.36, N 12.77, Cl 8.08; nalezeno C 68.15, H 4.36, N 11.99, Cl 9.08. Po zpětném přepočtu odpovídá kokrystalizaci molekuly produktu s ~ 1 molekulou vody.

***N*-(2-Fluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (72).** Reakce 4-chlor-



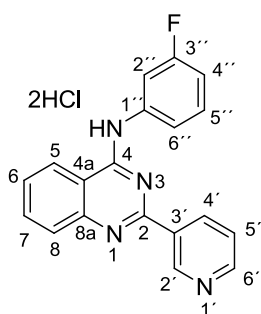
2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) a 2-fluoranilinu **A9** (101 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (240 mg, 74 %) ve formě nažloutlého prášku.  $T_f$  = 153–155 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.15 (bs, 1H, NH); 9.36 (bd,  $J_{2'-4'}$  = 2.2 Hz, 1H, 2'); 9.01 (dm,  $J_{4'-5'}$  = 8.1 Hz, 1H, 4'); 8.96 (dd,  $J_{6'-5'}$  = 5.4 Hz,  $J_{6'-4'}$  = 1.5 Hz, 1H, 6'); 8.82 (dm,  $J_{5-6}$  = 8.4 Hz, 1H, 5);

8.18 (dm,  $J_{8-7}$  = 8.4 Hz, 1H, 8); 8.05 (ddd,  $J_{7-8}$  = 8.4 Hz,  $J_{7-6}$  = 7.1 Hz,  $J_{7-5}$  = 1.3 Hz, 1H, 7); 8.01 (dd,  $J_{5'-4'}$  = 8.1 Hz,  $J_{5'-6'}$  = 5.4 Hz, 1H, 5'); 7.80 (ddd,  $J_{6-5}$  = 8.3 Hz,  $J_{6-7}$  = 7.1 Hz,  $J_{6-8}$  = 1.2 Hz, 1H, 6); 7.69 (m, 1H, 6''); 7.42–7.49 (m, 2H, 3'' a 4''); 7.36 (m, 5'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.6 (4); 157.0 (d,  $J_{2''-\text{F}}$  = 248.1 Hz, 2''); 155.0 (2); 146.9 (6'); 146.1 (8a); 141.7 (4'); 141.4 (2'); 135.2 (7); 133.5 (3'); 128.7 (d,  $J_{4''-\text{F}}$  = 7.8 Hz, 4''); 128.6 (d,  $J_{6''-\text{F}}$



= 1.3 Hz, 6''); 128.2 (5); 126.3 (5'); 125.3 (d,  $J_{1''-F} = 12.2$  Hz, 1''); 124.8 (d,  $J_{5''-F} = 3.5$  Hz, 5''); 124.3 (5); 116.4 (d,  $J_{3''-F} = 19.9$  Hz, 3''); 113.7 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3701  $\text{cm}^{-1}$ ; 2381  $\text{cm}^{-1}$ ; 2244  $\text{cm}^{-1}$ ; 2168  $\text{cm}^{-1}$ ; 2041  $\text{cm}^{-1}$ ; 1955  $\text{cm}^{-1}$ ; 1919  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{F}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 317.11970; nalezeno, 317.1196. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.63, H 3.88, N 14.39, Cl 18.21, F 4.88; nalezeno (%) C 58.01, H 4.07, N 13.95, Cl 18.33, F 4.69.

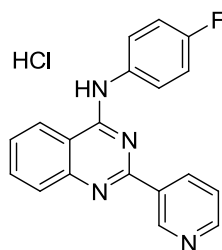
***N*-(3-Fluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (73).** Reakcí 4-chlor-



2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 3-fluoranilinem **A10** (101 mg, 0.91 mmol) za podmínek obecného postupu *OP4* byl získán produkt (268 mg, 83 %) ve formě žlutého prášku.  $T_f = 216\text{--}218$   $^{\circ}\text{C}$ .  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  11.00 (bs, 1H, NH); 9.52 (dm,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.18 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz, 1H, 4'); 9.01 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.89 (dm,  $J_{5-6} = 8.6$  Hz, 1H, 5); 8.13

(dm,  $J_{8-7} = 8.3$  Hz, 1H, 8); 8.09 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 8.02 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.2$  Hz, 1H, 7); 7.87 (dd,  $J_{2''-F} = 11.4$  Hz, 1H, 2''); 7.80 (dm,  $J_{6''-5''} = 8.2$  Hz, 1H, 6''); 7.77 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 7.53 (td,  $J_{5''-4''} = J_{5''-6''} = 8.2$  Hz,  $J_{5''-F} = 6.8$  Hz, 1H, 5''); 7.10 (m, 1H, 4').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  162.2 (d,  $J_{3''-F} = 242$ , Hz, 3''); 158.8 (4); 155.0 (2); 147.1 (8a); 146.2 (6'); 144.0 (2'); 141.9 (4'); 141.1 (d,  $J_{1''-F} = 10.8$  Hz, 1''); 135.0 (7); 134.5 (3'); 130.4 (d,  $J_{5''-F} = 9.4$  Hz, 5''); 128.1 (6); 126.6 (5'); 126.0 (8); 124.3 (5); 119.4 (6'); 114.2 (4a); 111.7 (d,  $J_{4''-F} = 20.7$  Hz, 4''); 110.3 (d,  $J_{2''-F} = 25.5$  Hz, 2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3780  $\text{cm}^{-1}$ ; 2463  $\text{cm}^{-1}$ ; 2331  $\text{cm}^{-1}$ ; 2226  $\text{cm}^{-1}$ ; 2174  $\text{cm}^{-1}$ ; 2011  $\text{cm}^{-1}$ ; 1901  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{F}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 317.11970; nalezeno, 317.11965. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.63, H 3.88, N 14.39, Cl 18.21, F 4.88; nalezeno (%) C 58.51, H 4.21, N 13.68, Cl 15.91, F 4.85.

***N*-(4-Fluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (74).** Reakcí 4-chlor-

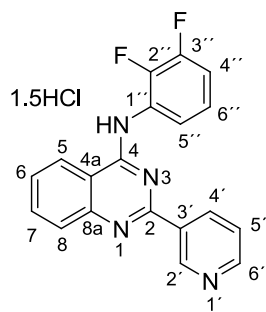


2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (102 mg, 0.50 mmol) s 4-fluoranilinem **A11** (61 mg, 0.55 mmol) za podmínek obecného postupu *OP4* byl získán produkt (131 mg, 74 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 234\text{--}236$   $^{\circ}\text{C}$ .  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  11.45 (bs, 1H), 9.53 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 9.18–9.11 (m, 1H), 9.03–8.95 (m, 2H), 8.25 (bd,  $J = 8.3$  Hz, 1H), 8.08–8.00

(m, 2H), 7.90 (ddd,  $J = 10.6, 5.4, 2.9$  Hz, 2H), 7.78 (ddd,  $J = 8.3, 7.1, 1.2$  Hz, 1H), 7.39–7.30 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  160.8, 158.8, 158.4, 154.5, 141.7, 135.2, 133.8,

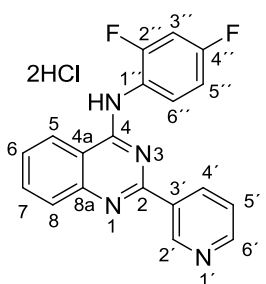
128.1, 126.2, 126.19, 124.5, 115.5, 115.3, 113.5. V  $^{13}\text{C}$  NMR spektru nebylo možné 3 signály detekovat. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3813  $\text{cm}^{-1}$ ; 3628  $\text{cm}^{-1}$ ; 2154  $\text{cm}^{-1}$ ; 2039  $\text{cm}^{-1}$ ; 1676  $\text{cm}^{-1}$ ; 1653  $\text{cm}^{-1}$ ; 1526  $\text{cm}^{-1}$ ; 1322  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{F}$   $[\text{M}+\text{H}^+]$ , 317.11970; nalezeno, 317.11979. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.63, H 3.88, N 14.39, Cl 18.21, F 4.88; nalezeno (%) C 57.32, H 4.24, N 13.64, Cl 18.11, F 4.15.

***N*-(2,3-Difluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin seskvihydrochlorid (75).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,3-difluoranilinu **A12** (117 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (170 mg, 48 %) ve formě bílého prášku.  $T_f = 183\text{--}185$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.18 (bs, 1H, NH); 9.37 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.06 (bdt,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.98 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.5$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.82 (dd,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz,  $J_{5-7} = 1.3$  Hz, 1H, 5); 8.14 (bd,  $J_{8-7} = 8.5$  Hz, 1H, 8); 8.07 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.2$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.5$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.7$  Hz, 1H, 5'); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.79 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 7.53 (ddt,  $J_{6''-5''} = 8.1$  Hz,  $J_{6''-F} = 6.5$  Hz,  $J_{6''-4''} = J_{6''-F} = 1.6$  Hz, 1H, 6''); 7.48 (tdd,  $J_{4''-5''} = J_{4''-F} = 10.3$  Hz,  $J_{4''-F} = 7.3$  Hz,  $J_{4''-6''} = 1.7$  Hz, 1H, 4''); 7.36 (tdd,  $J_{5''-4''} = J_{5''-6''} = 8.3$  Hz,  $J_{5''-F} = 5.8$  a 1.9 Hz, 1H, 5'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.4 (4); 154.9 (2); 150.6 (dd,  $J_{3''-F} = 245.0$  a 11.6 Hz); 147.5 (8a); 145.5 (6'); 145.3 (dd,  $J_{2''-F} = 250.0$  a 13.8 Hz); 143.1 (2'); 142.1 (4'); 135.1 (7); 134.5 (3'); 128.2 (6); 127.6 (d,  $J_{1''-F} = 9.2$  Hz); 126.7 (5'); 126.2 (8); 124.5 (dd,  $J_{5''-F} = 8.2$  a 4.6 Hz); 124.4 (5); 123.7 (d,  $J_{6''-F} = 2.8$  Hz); 115.5 (d,  $J_{4''-F} = 17.0$  Hz); 113.9 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3689  $\text{cm}^{-1}$ ; 2581  $\text{cm}^{-1}$ ; 2371  $\text{cm}^{-1}$ ; 2211  $\text{cm}^{-1}$ ; 2053  $\text{cm}^{-1}$ ; 1974  $\text{cm}^{-1}$ ; 1805  $\text{cm}^{-1}$ ; 1707  $\text{cm}^{-1}$ ; 1510  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{F}_2$   $[\text{M}+\text{H}^+]$ , 335.11028; nalezeno, 335.11023. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.66, H 3.50, N 14.40, Cl 13.67, F 9.77; nalezeno (%) C 58.99, H 3.78, N 15.55, Cl 14.65.

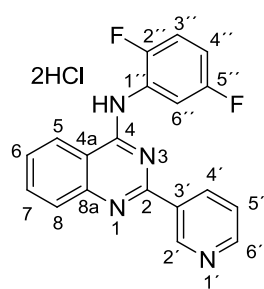
***N*-(2,4-Difluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (76).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) a 2,4-difluoranilinu **A13** (118 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (228 mg, 67 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 207\text{--}209$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.07 (bs, 1H, NH); 9.37 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.01 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz, 1H, 4'); 8.97 (dd,  $J_{6'-5'}$

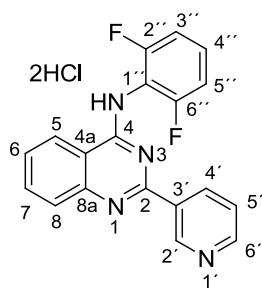
= 5.5 Hz,  $J_{6'-4'}$  = 1.5 Hz, 1H, 6'); 8.79 (dm,  $J_{5-6}$  = 8.4 Hz, 1H, 5); 8.14 (dm,  $J_{8-7}$  = 8.4 Hz, 1H, 8); 8.01–8.05 (m, 2H, 7 a 5'); 7.79 (ddd,  $J_{6-5}$  = 8.3 Hz,  $J_{6-7}$  = 7.1 Hz,  $J_{6-8}$  = 1.0 Hz, 1H, 6); 7.72 (td,  $J_{6''-5''}$  = 8.8 Hz,  $J_{6''-F}$  = 8.8 a 5.2 Hz, 1H, 6''); 7.51 (ddd,  $J_{3''-F}$  = 10.7 a 9.1 Hz,  $J_{3''-5''}$  = 2.9 Hz, 1H, 3''); 7.26 (m, 1H, 5'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  160.7 (dd,  $J_{4''-F}$  = 245.7 a 11.4 Hz, 4''); 159.7 (4); 157.2 (dd,  $J_{2''-F}$  = 250.7 a 12.8 Hz, 2''); 155.0 (2); 146.7 (8a); 146.1 (6'); 143.9 (2'); 135.1 (7); 134.0 (3'); 129.8 (dd,  $J_{6''-F}$  = 19.9 a 2.6 Hz, 6''); 128.1 (6); 126.5 (5'); 125.8 (8); 124.3 (5); 122.1 (dd,  $J_{1''-F}$  = 12.3 a 3.5 Hz, 1''); 113.7 (4a); 11.9 (dd,  $J_{5''-F}$  = 22.2 a 3.5 Hz, 5''); 104.9 (dd,  $J_{3''-F}$  = 26.6 a 24.6 Hz, 3''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3749  $\text{cm}^{-1}$ ; 2366  $\text{cm}^{-1}$ ; 2206  $\text{cm}^{-1}$ ; 2023  $\text{cm}^{-1}$ ; 1975  $\text{cm}^{-1}$ ; 1704  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1512  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{F}_2$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 335.11028; nalezeno, 335.11030. Elementární analýza: vypočteno (%) C 56.04, H 3.47, N 13.76, Cl 17.41, F 9.33; nalezeno (%) C 56.31, H 3.60, N 13.28, Cl 15.82, F 9.92.

***N*-(2,5-Difluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (77).** Reakce



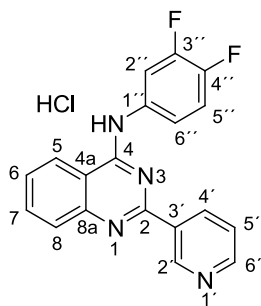
4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) a 2,5-difluoranilinu **A14** (118 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (80 mg, 24 %) jako béžový prášek. (Ještě mám 80 mg surového produktu).  $T_f$  = 190–192 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  11.06 (bs, 1H, NH); 9.38 (bd,  $J_{2'-4'}$  = 2.0 Hz, 1H, 2'); 9.06 (dm,  $J_{4'-5'}$  = 8.1 Hz, 1H, 4'); 8.98 (dd,  $J_{6'-5'}$  = 5.5 Hz,  $J_{6'-4'}$  = 1.5 Hz, 1H, 6'); 8.79 (dm,  $J_{5-6}$  = 8.4 Hz, 1H, 5); 8.13 (dm,  $J_{8-7}$  = 8.4 Hz, 1H, 8); 8.07 (dd,  $J_{5'-4'}$  = 8.1 Hz,  $J_{5'-6'}$  = 5.5 Hz, 1H, 5'); 8.04 (ddd,  $J_{7-8}$  = 8.4 Hz,  $J_{7-6}$  = 7.0 Hz,  $J_{7-5}$  = 1.3 Hz, 1H, 7); 7.79 (ddd,  $J_{6-5}$  = 8.3 Hz,  $J_{6-7}$  = 7.0 Hz,  $J_{6-8}$  = 1.7 Hz, 1H, 6); 7.63 (ddd,  $J_{6''-F}$  = 9.3 a 6.0 Hz,  $J_{6''-4''}$  = 3.2 Hz, 1H, 6''); 7.50 (ddd,  $J_{3''-F}$  = 9.9 a 5.0 Hz,  $J_{3''-4''}$  = 9.2 Hz, 1H, 3''); 7.30 (m, 1H, 4').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  159.4 (4); 157.8 (dd,  $J_{\text{C-F}}$  = 240.2 Hz,  $^4J_{\text{C-F}}$  = 2.1 Hz, 2'' nebo 5''); 154.9 (2); 153.3 (dd,  $J_{\text{C-F}}$  = 244.2 Hz,  $^4J_{\text{C-F}}$  = 2.8 Hz, 2'' nebo 5''); 147.4 (8a); 145.6 (5'); 143.3 (2'); 142.0 (4'); 135.1 (7); 134.6 (3'); 128.1 (6); 127.8 (dd,  $J_{1''-F}$  = 14.3 a 11.2, 1''); 126.7 (5'); 126.3 (8); 124.3 (5); 117.4 (dd,  $J_{3''-F}$  = 23.1 a 9.8 Hz, 3''); 115.0 (dd,  $J_{6''-F}$  = 26.0 a 1.6 Hz, 6''); 114.6 (dd,  $J_{4''-F}$  = 23.8 a 8.1 Hz, 4''); 113.9 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3834  $\text{cm}^{-1}$ ; 3748  $\text{cm}^{-1}$ ; 2366  $\text{cm}^{-1}$ ; 2210  $\text{cm}^{-1}$ ; 2150  $\text{cm}^{-1}$ ; 2044  $\text{cm}^{-1}$ ; 1949  $\text{cm}^{-1}$ ; 1703  $\text{cm}^{-1}$ ; 1512  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{F}_2$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 335.11028; nalezeno, 335.11029. Elementární analýza: vypočteno (%) C 56.04, H 3.47, N 13.76, Cl 17.41, F 9.33; nalezeno (%) C 53.86, H 3.85, N 12.68, Cl 14.64, F 8.23. Rozdíl proti teorii odpovídá 1 molekule vody.

***N*-(2,6-Difluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (78).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,6-difluoranilinu **A15** (118 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidu draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (38 mg, 11 %) ve formě bílého prášku.  $T_f = 219\text{--}221\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.75 (bs, 1H, NH); 9.30 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 8.95–8.99 (m, 2H, 4'a 6'); 8.75 (dm,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.10 (dm,  $J_{8-7} = 8.5$  Hz, 1H, 8); 8.02–8.05 (m, 2H, 5'a 7); 7.80 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.9$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 7.56 (m, 1H, 4''); 7.36 (m, 2H, 3').  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.8 (4); 158.4 (dd,  $J_{2''-F} = 249.0$  a 4.8 Hz, 2''); 155.0 (2); 148.2 (8a); 145.3 (6'); 143.0 (2'); 141.9 (4'); 135.02 (7); 135.0 (3'); 129.2 (t,  $J_{4''-F} = 9.9$  Hz, 4''); 128.2 (6); 127.0 (8); 126.7 (5'); 124.0 (5); 114.9 (t,  $J_{1''-F} = 16.5$  Hz, 1''); 113.8 (4a); 112.4 (m, 3'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3834  $\text{cm}^{-1}$ ; 3748  $\text{cm}^{-1}$ ; 2286  $\text{cm}^{-1}$ ; 2187  $\text{cm}^{-1}$ ; 2024  $\text{cm}^{-1}$ ; 1981  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1512  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+H<sup>+</sup>], 335.11028; nalezeno, 335.11024. Elementární analýza: vypočteno (%) C 56.04, H 3.47, N 13.76, Cl 17.41, F 9.33; nalezeno (%) C 55.55, H 3.57, N 13.22, Cl 16.89, F 8.59.

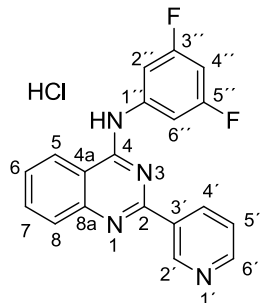
**2-(Pyridin-3-yl)-*N*-(3,4-difluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (79).** Reakcí 4-chlor-



2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 3,4-difluoroanilinem **A16** (118 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (259 mg, 84 %) jako bílý prášek.  $T_f$  nestanovena, dekompozice při  $T > 230\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.80 bs (1H, NH); 9.50 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.7$  Hz, 1H, 2'); 9.08 (ddd,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.1$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.5$  Hz, 1H, 4'); 8.95 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.3$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.79 (dm,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.08 (ddd,  $J_{2''-F} = 12.9$  and 7.5 Hz,  $J_{2''-6''} = 2.6$  Hz, 1H, 2''); 8.05 (m, 1H, 8); 7.97–7.77 (m, 2H, 7 and 5'); 7.72–7.77 (m, 2H, 6 and 6''); 7.54 (m, 1H, 5').  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  158.6 (4); 155.3 (2); 149.0 (dd,  $J_{3''-F} = 243.8$  and 13.2 Hz, 3''); 147.8 (8a); 146.6 (6'); 146.5 (dd,  $J_{4''-F} = 243.6$  and 12.8 Hz, 4''); 144.6 (2'); 140.9 (4'); 135.5 (dd,  $J_{1''-F} = 9.1$  and 2.8 Hz, 1''); 134.7 (7); 134.5 (3'); 127.6 (6); 126.6 (8); 126.1 (5'); 124.0 (5); 120.0 (dd,  $J_{6''-F} = 5.6$  and 3.0 Hz, 6''); 117.4 (d,  $J_{5''-F} = 17.9$  Hz, 5''); 114.1 (4a); 112.6 (d,  $J_{2''-F} = 21.0$  Hz, 2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3761  $\text{cm}^{-1}$ ; 3704  $\text{cm}^{-1}$ ; 2320  $\text{cm}^{-1}$ ; 2265  $\text{cm}^{-1}$ ; 2170  $\text{cm}^{-1}$ ; 2020  $\text{cm}^{-1}$ ; 1998  $\text{cm}^{-1}$ ; 1876  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+H<sup>+</sup>], 335.11028; nalezeno, 335.11026.

Elementární analýza: vypočteno (%) C 61.55, H 3.53, N 15.11, Cl 9.56, F 10.25; nalezeno (%) C 60.62, H 3.50, N 14.39, Cl 9.67, F 10.44.

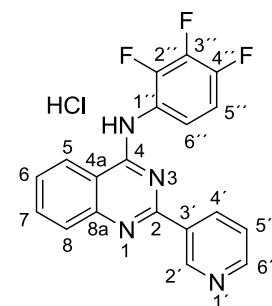
***N*-(3,5-Difluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (80).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 3,5-difluoranilinem **A17** (118 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (180 mg, 59 %) ve formě slabě nažloutlého prášku.  $T_f$  nestanovena, sublimuje při  $T > 200$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.68 (bs, 1H, NH); 9.51 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.10 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz, 1H, 4'); 8.96 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H,

6'); 8.78 (dm,  $J_{5-6} = 8.5$  Hz, 1 H, 5); 8.04 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 7.96–8.02 (m, 2H, 7 and 8); 7.80 (m, 2H, 2'); 7.74 (ddd,  $J_{6-5} = 8.4$  Hz,  $J_{6-7} = 6.5$  Hz,  $J_{6-8} = 1.7$  Hz, 1H, 6); 7.06 (tt,  $J_{4''-F} = 9.3$  Hz,  $J_{4''-2''} = 2.4$  Hz, 1H, 4').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  162.4 (dd,  $J_{3''-F} = 242.8$  a 15.2 Hz, 3''); 158.4 (4); 155.3 (2); 148.9 (8a); 146.1 (6'); 144.1 (2'); 141.5 (t,  $J_{1''-F} = 13.8$  Hz, 1''); 141.0 (4'); 135.2 (3'); 134.6 (7); 127.8 (6); 127.5 (8); 126.3 (5'); 123.9 (5); 114.4 (4a); 105.5 (m, 2'); 99.5 (t,  $J_{4''-F} = 26.4$  Hz, 4'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3834  $\text{cm}^{-1}$ ; 3640  $\text{cm}^{-1}$ ; 2205  $\text{cm}^{-1}$ ; 2157  $\text{cm}^{-1}$ ; 2027  $\text{cm}^{-1}$ ; 1980  $\text{cm}^{-1}$ ; 1703  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1513  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub>F<sub>2</sub> [M+H<sup>+</sup>], 335.11028; nalezeno, 335.11014. Elementární analýza: vypočteno (%) C 61.55, H 3.53, N 15.11, Cl 9.56, F 10.25; nalezeno (%) C 61.45, H 3.61, N 14.93, Cl 9.89, F 10.65.

**2-(Pyridin-3-yl)-*N*-(2,3,4-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (81).** Reakce

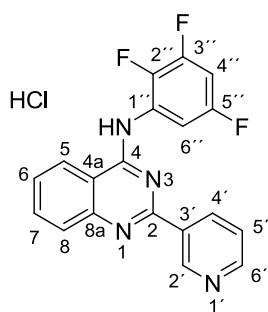


4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (320 mg, 1.33 mmol) s 2,3,4-trifluoranilinem **A18** (216 mg, 1.46 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (309 mg, 60 %) jako bílý prášek.  $T_f = 207$ – $209$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.85 (bs, 1H, NH); 9.38 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 8.98 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.93 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.70

(dm,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 7.98–8.05 (m, 3H, 7, 8 a 5'); 7.76 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.8$  Hz,  $J_{6-8} = 1.0$  Hz, 1H, 6); 7.46–7.56 (m, 2H, 5'' a 6'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.3 (4); 155.3 (2); 148.8 (ddd,  $J_{4''-F} = 246.0$  Hz, 9.9 a 2.2 Hz, 4''); 148.7 (8a); 146.3 (dd,  $J_{2''-F} = 247.8$  a 10.7 Hz, 2''); 146.0 (6'); 143.9 (2'); 141.26 (4'); 139.9 (ddd,  $J_{3''-F} = 248.4$  Hz, 16.3 a 14.5 Hz, 3''); 135.0 (3'); 134.8 (7); 127.9 (6); 127.2 (8); 126.5 (5'); 124.0 (5); 123.9 (dd,  $J_{1''-F} = 9.6$  a 3.4 Hz, 1''); 122.8 (m, 6''); 114.0 (4a); 112.3 (dd,  $J_{5''-F} = 17.8$  a 3.4 Hz, 5'). IR

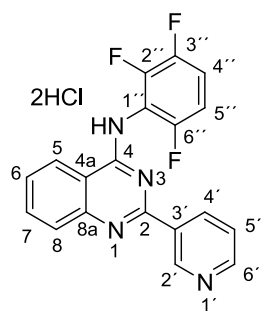
(ATR)  $\tilde{\nu}$  3752  $\text{cm}^{-1}$ ; 2192  $\text{cm}^{-1}$ ; 2038  $\text{cm}^{-1}$ ; 1995  $\text{cm}^{-1}$ ; 1579  $\text{cm}^{-1}$ ; 1529  $\text{cm}^{-1}$ ; 1507  $\text{cm}^{-1}$ ; 1397  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 353.10086; nalezeno 353.10071. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.70, H 3.11, N 14.41, Cl 9.12; nalezeno (%) C 56.51, H 3.08, N 13.49, Cl 10.13.

**2-(Pyridin-3-yl)-N-(2,3,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (82).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) a 2,3,5-trifluoranilinu **A19** (134 mg, 0.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (172 mg, 55 %) ve formě bílého prášku.  $T_f$  = nestanovena, sublimuje při  $T > 190$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.86 (bs, 1H, NH); 9.39 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 9.01 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.94 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.70 (bd,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz, 1H, 5); 7.99–8.06 (m, 3H, 7, 8 a 5'); 7.77 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.6$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 7.58 (dddd,  $J_{4''-F} = 10.8$ , 8.7 a 5.9 Hz,  $J_{4''-6''} = 3.2$  Hz, 1H, 4''); 7.51 (dddd,  $J_{6''-F} = 9.6$ , 5.2 a 2.2 Hz,  $J_{6''-4''} = 3.2$  Hz, 1H, 6'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  159.0 (4); 156.9 (dd,  $J_{2''-F} = 241.9$  a 13.0 Hz, 2''); 155.3 (2); 150.4 (bdt,  $J_{3''-F} = 246.1$  a 13.3 Hz, 3''); 149.1 (8a); 145.8 (6'); 143.7 (2'); 142.2 (m, 5''); 141.2 (4'); 135.2 (3'); 134.8 (7); 128.7 (bt,  $J_{1''-F} = 11.7$  Hz, 1''); 127.9 (6); 127.6 (5'); 126.5 (8); 124.1 (5); 114.1 (4a); 110.2 (dd,  $J_{6''-F} = 26.0$  a 3.1 Hz, 6''); 103.5 (dd,  $J_{4''-F} = 28.3$  a 21.9 Hz, 4''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3755  $\text{cm}^{-1}$ ; 2369  $\text{cm}^{-1}$ ; 2352  $\text{cm}^{-1}$ ; 2166  $\text{cm}^{-1}$ ; 2155  $\text{cm}^{-1}$ ; 2034  $\text{cm}^{-1}$ ; 1951  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 353.10086; nalezeno, 353.10072. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.70, H 3.11, N 14.41, Cl 9.12, F 14.66; nalezeno (%) C 58.05, H 2.84, N 14.12, Cl 9.53, F 14.19.

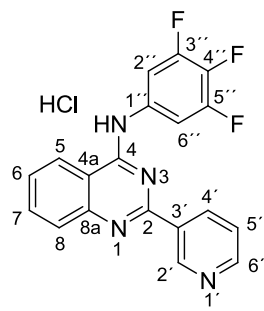
**2-(Pyridin-3-yl)-N-(2,3,6-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (83).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,3,6-trifluoranilinu **A20** (134 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidu draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (173 mg, 49 %) ve formě nažloutlého prášku.  $T_f$  = 187–192 °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10.94 (bs, 1H, NH); 9.32 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.03 (bddd,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = 1.9$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.6$  Hz, 1H, 4'); 8.98 (bdd,  $J_{6'-5'} = 5.6$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.79 (bdd,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz,  $J_{5-7} = 1.4$  Hz, 1H, 5); 8.11–8.07 (m, 2H, 5' a 8); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 6.9$  Hz,  $J_{7-8} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.80 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.9$  Hz,  $J_{6-8} = 1.4$  Hz, 1H, 6); 7.65 (tdd,  $J_{4''-5''} = 9.8$  Hz,

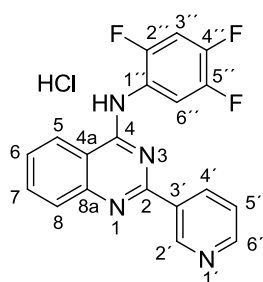
$J_{4''-F} = 9.8, 8.8$  a  $4.9$  Hz, 1H, 4''); 7.41 (tdd,  $J_{5''-4''} = 9.4$  Hz,  $J_{5''-F} = 9.4, 4.4$  s  $2.3$  Hz, 1H, 5'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.6 (4); 154.9 (2); 154.2 (d,  $J_{6''-F} = 245.7$  Hz, 6''); 148.1 (8a); 147.0 (ddd,  $J_{3''-F} = 242.4, 11.8$  s  $3.2$  Hz, 3''); 146.4 (ddd,  $J_{2''-F} = 250.3, 14.7$  a  $5.3$  Hz, 2''); 144.6 (6'); 142.5 (4'); 142.3 (2'); 135.4 (3'); 135.1 (7); 128.2 (6); 127.4 (5'); 127.1 (8); 124.1 (5); 116.9 (bdd,  $J_{1''-F} = 18.9$  a  $13.1$  Hz, 1''); 116.0 (dd,  $J_{4''-F} = 19.2$  a  $9.4$  Hz, 4''); 113.9 (4a); 111.6 (ddd,  $J_{5''-F} = 22.9, 7.6$  a  $3.8$  Hz, 5'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762  $\text{cm}^{-1}$ ; 2194  $\text{cm}^{-1}$ ; 2031  $\text{cm}^{-1}$ ; 1722  $\text{cm}^{-1}$ ; 1703  $\text{cm}^{-1}$ ; 1563  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 353.10086; nalezeno, 353.10082. Elementární analýza: vypočteno (%) C 53.67, H 3.08, N 13.18, Cl 16.67, F 13.40; nalezeno (%) C 52.90, H 3.01, N 12.40, Cl 15.48, F 10.75.

### 2-(Pyridin-3-yl)-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (84). Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (1.48 g, 6.20 mmol) s 3,4,5-trifluoranilinem **A21** (1.10 g, 7.40 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (1.86 g, 77 %) jako světle béžový prášek.  $T_f$  nestanovena, dekompozice při  $T > 290$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.23 (bs, 1H, NH); 9.52 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 9.11 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 9.07 (bd,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.96 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.3$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.11 (m, 2H, 2''); 8.02 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.3$  Hz, 1H, 5'); 7.99 (m, 1H, 7); 7.72 (m, 1H, 6).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  158.6 (8a); 155.40 (2); 150.0 (ddd,  $J_{3''-F} = 244.1$  Hz, 10.1 Hz a 5.5 Hz, 3'' a 5''); 148.7 (4); 146.3 (6'); 144.3 (2'); 141.00 (4'); 134.6 – 136.5 (m, 3' a 4'); 134.8 (7); 127.8 (6); 127.2 (8), 126.3 (5'); 124.7 (5); 114.4 (4a); 107.6 (m, 2'' a 6''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762  $\text{cm}^{-1}$ ; 3661  $\text{cm}^{-1}$ ; 2208  $\text{cm}^{-1}$ ; 2175  $\text{cm}^{-1}$ ; 2012  $\text{cm}^{-1}$ ; 1704  $\text{cm}^{-1}$ ; 1653  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1462  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 353.10086; nalezeno, 353.10082. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.70, H 3.11, N 14.41, Cl 9.12; nalezeno (%) C 58.14, H 3.15, N 14.21, Cl 9.40.

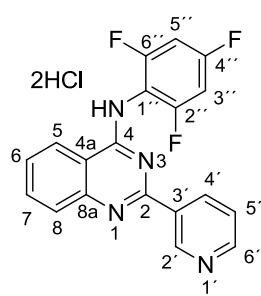
### 2-(Pyridin-3-yl)-*N*-(2,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (85). Reakcí



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (400 mg, 1.66 mmol) a 2,4,5-trifluoroanilinu **A22** (270 mg, 1.83 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (433 mg, 67 %) ve formě bílého prášku.  $T_f = 217$ – $220$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.74 (bs,

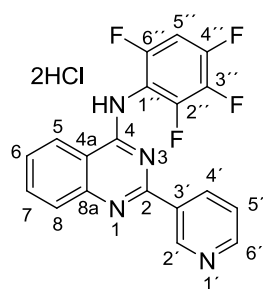
NH); 9.38 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 8.98 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.93 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.68 (dm,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.05 (dm,  $J_{8-7} = 8.6$  Hz, 1H, 8); 8.01 (m, 1H, 7); 7.98 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 7.89 (ddd,  $J_{6''-F} = 7.1, 8.6$  a  $11.3$  Hz, 1H, 6''); 7.82 (ddd,  $J_{3''-F} = 10.7, 10.1$  a  $7.5$  Hz, 1H, 3'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  159.4 (4); 155.3 (2); 152.7 (ddd,  $J_{4''-F} = 247.4, 10.1$  a  $2.5$  Hz, 2''); 148.6 (8a); 147.6 (ddd,  $J_{4''-F} = 247.2, 14.1$  a  $12.2$  Hz, 4''); 146.14 (6'); 145.8 (ddd,  $J_{5''-F} = 242.8, 13.3$  a  $3.4$  Hz, 5''); 144.0 (2'); 141.1 (4'); 135.0 (3'); 134.8 (7); 127.9 (6), 127.2 (8); 126.4 (5'); 123.9 (5); 122.6 (m, 1''); 116.8 (dd,  $J_{6''-F} = 20.7$  a  $2.0$  Hz, 6''); 114.0 (4a); 106.6 (dd,  $J_{3''-F} = 27.0$  a  $22.1$  Hz, 3''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3744  $\text{cm}^{-1}$ ; 2235  $\text{cm}^{-1}$ ; 2191  $\text{cm}^{-1}$ ; 2030  $\text{cm}^{-1}$ ; 1955  $\text{cm}^{-1}$ ; 1885  $\text{cm}^{-1}$ ; 1530  $\text{cm}^{-1}$ ; 1440  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS–ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 353.10086; nalezeno 353.10073. Elementární analýza: vypočteno (%) C 58.70, H 3.11, N 14.41, Cl 9.12, F 14.66; nalezeno (%) C 57.58, H 3.17, N 13.91, Cl 9.30, F 14.67.

**2-(Pyridin-3-yl)-*N*-(2,4,6-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (86).** Reakce

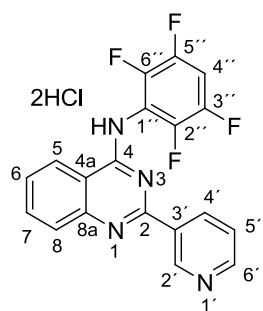


4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,4,6-trifluoranilinu **A23** (134 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidu draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (135 mg, 38 %) ve formě světle béžového prášku.  $T_f$  nestanovena, sublimuje při  $T > 200$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  10.77 (bs, 1H, NH); 9.33 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.02 (bdt,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.98 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.6$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.76 (bdd,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz,  $J_{5-7} = 1.4$  Hz, 1H, 5); 8.10 (dd,  $J_{8-7} = 8.4$  Hz,  $J_{8-6} = 1.3$  Hz, 1H, 8); 8.07 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.5$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.6$  Hz, 1H, 5'); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 6.9$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.49 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.9$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 7.44–7.51 (m, 2H, 3'' a 5'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  160.7 (dm,  $J_{4''-F} = 246.9$  Hz, 4''); 159.9 (4); 158.7 (ddd,  $J_{C-F} = 226.4, 15.8$  a  $7.3$  Hz, 2'' a 6''); 154.9 (2); 148.3 (8a); 144.9 (6'); 142.7 (2'); 142.3 (4'); 135.0 (3'); 135.0 (7); 128.2 (6); 127.1 (5'); 126.9 (8); 124.0 (5); 113.8 (4a); 112.0 (btd,  $J_{1''-F} = 17.1$  a  $5.2$  Hz, 1''); 101.5 (td,  $J_{C-F} = 26.7$  Hz, 3'' a 5'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3820  $\text{cm}^{-1}$ ; 2252  $\text{cm}^{-1}$ ; 2152  $\text{cm}^{-1}$ ; 2025  $\text{cm}^{-1}$ ; 1973  $\text{cm}^{-1}$ ; 1927  $\text{cm}^{-1}$ ; 1561  $\text{cm}^{-1}$ ; 1520  $\text{cm}^{-1}$ ; 1131  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS–ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 353.10086; nalezeno, 353.10078. Elementární analýza: vypočteno (%) C 53.67, H 3.08, N 13.18, Cl 16.67, F 13.40; nalezeno (%) C 52.80, H 3.04, N 12.39, Cl 16.14, F 10.62.



**2-(Pyridin-3-yl)-N-(2,3,4,6-tetrafluorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (87).**

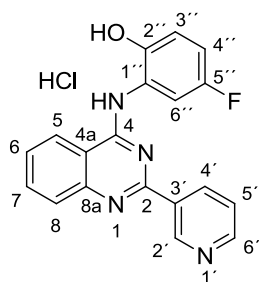
Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,3,4,6-tetrafluoranilinu **A24** (150 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidu draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (230 mg, 66 %) ve formě béžového prášku.  $T_f = 169\text{--}199\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.87 (bs, 1H, NH); 9.37 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0\text{ Hz}$ , 1H, 2'); 9.07 (bdt,  $J_{4'-5'} = 8.3\text{ Hz}$ ,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 1.8\text{ Hz}$ , 1H, 4'); 8.99 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.5\text{ Hz}$ ,  $J_{6'-4'} = 1.6\text{ Hz}$ , 1H, 6'); 8.77 (bd,  $J_{5-6} = 8.4\text{ Hz}$ , 1H, 5); 8.09 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.2\text{ Hz}$ ,  $J_{5'-6'} = 5.5\text{ Hz}$ ,  $J_{5'-2'} = 0.6\text{ Hz}$ , 1H, 5'); 8.08 (bdd,  $J_{8-7} = 8.5\text{ Hz}$ ,  $J_{8-6} = 1.5\text{ Hz}$ , 1H, 8); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4\text{ Hz}$ ,  $J_{7-6} = 6.8\text{ Hz}$ ,  $J_{7-5} = 1.3\text{ Hz}$ , 1H, 7); 7.80 (m, 1H, 5'); 7.79 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3\text{ Hz}$ ,  $J_{6-7} = 6.8\text{ Hz}$ ,  $J_{6-8} = 1.5\text{ Hz}$ , 1H, 6).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.7 (4); 154.8 (2); 154.4 (bdm,  $J_{\text{C-F}} = 245.9\text{ Hz}$ , 6'); 149.0 (8a); 148.8 (bdm,  $J_{\text{C-F}} = 247.9\text{ Hz}$ , 2'); 147.5 (bdm,  $J_{\text{C-F}} = 149.7\text{ Hz}$ , 4'); 144.3 (6'); 142.7 (4'); 142.3 (2'); 137.2 (bdm,  $J_{\text{C-F}} = 245.9\text{ Hz}$ , 3'); 135.6 (3'); 135.0 (7); 128.2 (6); 127.6 (8); 127.1 (5'); 124.0 (5); 113.9 (4a); 113.3 (m, 1'); 101.9 (d,  $J_{\text{C-F}} = 25.0\text{ Hz}$ , 5'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3651  $\text{cm}^{-1}$ ; 2505  $\text{cm}^{-1}$ ; 2234  $\text{cm}^{-1}$ ; 2171  $\text{cm}^{-1}$ ; 2013  $\text{cm}^{-1}$ ; 1972  $\text{cm}^{-1}$ ; 1563  $\text{cm}^{-1}$ ; 1520  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>N<sub>4</sub>F<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 371.09144; nalezeno, 371.09132. Elementární analýza: vypočteno (%) C 51.49, H 2.73, N 12.64, Cl 16.00, F 17.15; nalezeno (%) C 50.76, H 2.80, N 11.74, Cl 15.49, F 13.23.

**2-(pyridin-3-yl)-N-(2,3,5,6-tetrafluorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (88).**

Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,3,5,6-tetrafluoranilinu **A25** (150 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidu draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (158 mg, 45 %) ve formě bílého prášku.  $T_f$  nebyla stanovena, sublimuje při  $T > 200\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.99 (bs, 1H, NH); 9.36 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.0\text{ Hz}$ , 1H, 2'); 9.07 (bdt,  $J_{4'-5'} = 8.2\text{ Hz}$ ,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 1.8\text{ Hz}$ , 1H, 4'); 8.99 (bdd,  $J_{6'-5'} = 5.7\text{ Hz}$ ,  $J_{6'-4'} = 1.7\text{ Hz}$ , 1H, 6'); 8.78 (bdm,  $J_{5-6} = 8.4\text{ Hz}$ , 1H, 5); 8.11 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.2\text{ Hz}$ ,  $J_{5'-6'} = 5.6\text{ Hz}$ ,  $J_{5'-2'} = 0.7\text{ Hz}$ , 1H, 5'); 8.07 (bdd,  $J_{8-7} = 8.4\text{ Hz}$ ,  $J_{8-6} = 1.7\text{ Hz}$ , 1H, 8); 8.05 (m, 1H, 4'); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4\text{ Hz}$ ,  $J_{7-6} = 6.6\text{ Hz}$ ,  $J_{7-5} = 1.3\text{ Hz}$ , 1H, 7); 7.80 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3\text{ Hz}$ ,  $J_{6-7} = 6.7\text{ Hz}$ ,  $J_{6-8} = 1.7\text{ Hz}$ , 1H, 6).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.4 (4); 154.8 (2); 149.3 (8a); 146.9 (m, 2'' a 6'', nebo 3'' a 5''); 144.3 (6'); 143.0 (m, 2'' a 6'', nebo 3'' a 5''); 142.7 (4'); 142.2 (2'); 135.7 (3'); 135.0 (7); 128.2 (6); 127.8 (8); 127.2 (5'); 124.1 (5); 118.4 (m, 1'); 114.0 (4a); 105.3 (d,  $J_{4'-\text{F}}$

= 23.7 Hz, 4'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2937  $\text{cm}^{-1}$ ; 2859  $\text{cm}^{-1}$ ; 2162  $\text{cm}^{-1}$ ; 2034  $\text{cm}^{-1}$ ; 2003  $\text{cm}^{-1}$ ; 1973  $\text{cm}^{-1}$ ; 1877  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{F}_4$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 371.09144; nalezeno, 371.09136. Elementární analýza: vypočteno (%) C 51.49, H 2.73, N 12.64, Cl 16.00, F 17.15; nalezeno (%) C 51.36, H 2.68, N 12.23, Cl 13.86, F 13.57.

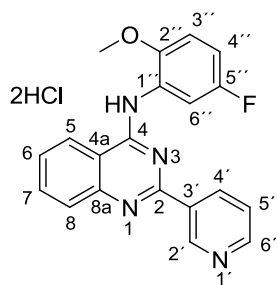
***N*-(5-Fluor-2-hydroxyfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (89).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 2-amino-4-fluorfenolem **A26** (117 mg, 0.91 mmol) za podmínek obecného postupu *OP4* poskytla produkt (199 mg, 65 %) jako šedo-žlutý prášek.  $T_f = 264\text{--}264$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  10.06 (bs, 1H, NH nebo OH); 9.94 (bs, 1H, NH nebo OH); 9.38 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.8$  Hz, 1H, 2'); 8.90–8.93 (m, 2H, 4'a 6'); 8.69 (dm,  $J_{5-6} = 8.5$  Hz, 1H,

5); 8.13 (dm,  $J_{8-7} = 8.5$  Hz, 1H, 8); 8.03 (ddd,  $J_{7-9} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.92 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 7.0$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.7$  Hz, 1H, 5'); 7.78 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.2$  Hz, 1H, 6); 7.55 (dm,  $J_{3''-F} = 9.7$  Hz, 1H, 3''); 7.05–7.08 (m, 2H, 5'' a 6'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  159.4 (4); 155.5 (2); 154.9 (d,  $J_{4''-F} = 234.3$ , 4''); 148.4 (6'); 148.3 (d,  $J_{1''-F} = 2.0$  Hz, 1''); 145.9 (2''); 145.4 (8a); 140.0 (4'); 135.2 (7); 132.6 (3''); 128.1 (6); 125.4 (d,  $J_{2''-F} = 10.8$  Hz, 2''); 124.8 (8); 124.1 (5); 117.0 (d,  $J_{6''-F} = 8.9$  Hz, 6''); 113.8–114.0 (m, 3'' a 5''); 113.7 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3834  $\text{cm}^{-1}$ ; 3745  $\text{cm}^{-1}$ ; 2509  $\text{cm}^{-1}$ ; 2284  $\text{cm}^{-1}$ ; 2210  $\text{cm}^{-1}$ ; 2154  $\text{cm}^{-1}$ ; 2019  $\text{cm}^{-1}$ ; 1954  $\text{cm}^{-1}$ ; 1474  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{ON}_4\text{F}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 333.11462; nalezeno 333.11455. Elementární analýza: vypočteno (%) C 61.88, H 3.83, N 15.19, F 5.15, Cl 9.61; nalezeno (%) C 58.15, H 4.16, N 14.12, F 6.12, Cl 11.32. Odpovídá kokrytalizaci produktu s ~ 1 molekulou vody.

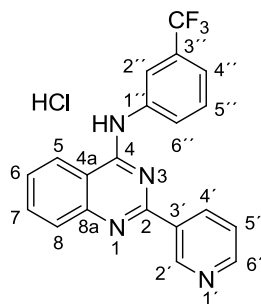
**2-(pyridin-3-yl)-*N*-(5-fluor-2-methoxyfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (90).**



Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 5-fluor-2-methoxyanilinem **A27** (117 mg, 0.83 mmol) za podmínek obecného postupu *OP4* poskytla produkt (225 mg, 52 %) ve formě tmavě žlutého prášku.  $T_f = 170\text{--}171$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  10.68 (bs, 1H, NH); 9.36 (bd,  $J_{2'-4'} = 1.9$  Hz, 1H, 2'); 8.97 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.4$  Hz, 1H, 4'); 8.94 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.3$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.4$  Hz, 1H, 6'); 8.70 (dm,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.16 (dm,  $J_{8-7} = 8.6$  Hz, 1H, 8); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.5$  Hz,  $J_{7-6} = 7.1$  Hz,  $J_{7-5} = 1.2$  Hz, 1H, 7); 7.98 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.3$  Hz, 1H, 5'); 7.79 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.1$  Hz,  $J_{6-8} = 1.2$  Hz, 1H, 6); 7.64 (m, 1H, 6''); 7.20–

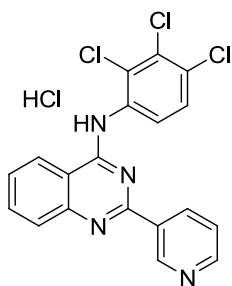
7.26 (m, 2H, 3'' and 4''); 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.5 (4); 155.8 (d, *J*<sub>5''-F</sub> = 236.2 Hz, 5''); 155.2 (2); 150.3 (d, *J*<sub>2''-F</sub> = 2.3 Hz, 2''); 147.3 (6'); 145.7 (8a); 144.9 (2'); 140.9 (4'); 135.3 (7); 133.2 (3'); 128.3 (6); 126.9 (d, *J*<sub>1''-F</sub> = 10.8 Hz, 1''); 126.1 (5'); 125.0 (8), 124.1 (5); 114.4 (d, *J*<sub>6''-F</sub> = 25.7 Hz, 6''); 113.9 (d, *J*<sub>4''-F</sub> = 22.5 Hz, 4''); 113.7 (4a); 113.1 (d, *J*<sub>3''-F</sub> = 9.2 Hz, 3''); 56.6 (OCH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2317 cm<sup>-1</sup>; 2185 cm<sup>-1</sup>; 2161 cm<sup>-1</sup>; 2036 cm<sup>-1</sup>; 1994 cm<sup>-1</sup>; 1966 cm<sup>-1</sup>; 1948 cm<sup>-1</sup>; 1552 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>ON<sub>4</sub>F [M+H<sup>+</sup>], 347.13027; nalezeno 347.13018. Elementární analýza dihydrochloridu: vypočteno (%) C 57.29, H 4.09, N 13.36, Cl 16.91, F 4.53; nalezeno (%) C 57.92, H 4.41, N 12.85, Cl 13.64, F 5.25.

**2-(Pyridin-3-yl)-N-[3-(trifluormethyl)fenyl]chinazolin-4-amin hydrochlorid (91).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (50 mg, 0.21 mmol) s 3-(trifluormethyl)anilinem **A28** (40 mg, 0.25 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (26 mg, 31 %) ve formě béžového prášku. *T*<sub>f</sub> > 300 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 11.16 (bs, 1H, NH); 9.53 (bd, *J*<sub>2'-4'</sub> = 2.1 Hz, 1H, 2'), 9.03 (bd, *J*<sub>5-6</sub> = 8.4 Hz, 1H, 5); 8.98 (dm, *J*<sub>4'-5'</sub> = 8.1 Hz, 1H, 4'); 8.87 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 5.1 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.5 Hz, 1H, 6'); 8.53 (m, 1H, 2''); 8.32 (dm, *J*<sub>6''-5''</sub> = 8.1 Hz, 1H, 6''); 8.09 (m, 1H, 8); 7.99 (m, 1H, 7); 7.84 (bdd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 8.1 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 5.2 Hz, 1H, 5'); 7.70–7.75 (m, 2H, 6 a 5''); 7.56 (dm, *J*<sub>4'-5''</sub> = 7.9 Hz, 1H, 4'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.69 (8a); 156.05 (2); 148.4 (6'); 148.4 (4); 146.4 (2'); 139.72 (1'); 139.0 (4'); 134.67 (7); 133.9 (3'); 129.93 (5''); 129.38 (q, *J*<sub>3''-F</sub> = 31.5 Hz, 3''); 127.59 (6); 126.81 (6'' a 8); 125.33 (5'); 124.51 (5); 124.49 (q, *J*<sub>C-F</sub> = 272.7 Hz, CF<sub>3</sub>); 120.82 (4''); 119.60 (2''); 114.34 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3782 cm<sup>-1</sup>; 3718 cm<sup>-1</sup>; 2227 cm<sup>-1</sup>; 2176 cm<sup>-1</sup>; 2036 cm<sup>-1</sup>; 1978 cm<sup>-1</sup>; 1935 cm<sup>-1</sup>; 1893 cm<sup>-1</sup>; 1107 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>F<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 367.11651; nalezeno, 367.11648.

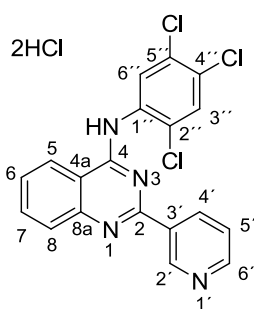
**2-(Pyridin-3-yl)-N-(2,3,4-trichlorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (92).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (300 mg, 1.24 mmol) s 2,3,4-trifluoranilinem **A29** (268 mg, 1.37 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (340 mg, 68 %) jako bílý prášek. *T*<sub>f</sub> nestanovena; sublimuje při *T* > 200 °C; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.59 (bs, 1H); 9.34 (bd, *J* = 1.8 Hz, 1H); 8.89–8.86 (m, 2H); 8.60 (dm, *J* = 8.2 Hz, 1H); 8.12–8.06 (m, 2H); 8.02–7.98 (m, 2H); 7.90 (dd, *J* = 8.0, 5.3 Hz, 1H); 7.76 (ddd, *J* = 8.1, 5.4, 2.9 Hz, 1H). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.2; 155.7;

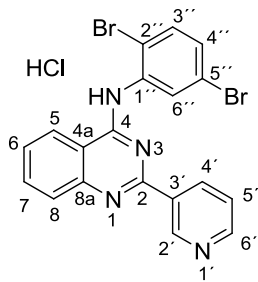
149.2; 147.0; 144.9; 140.0; 136.0; 135.0; 134.6; 131.1; 130.6; 130.6; 130.5; 130.2; 129.8; 127.7; 127.6; 125.9; 123.7; 114.0. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3688  $\text{cm}^{-1}$ ; 2322  $\text{cm}^{-1}$ ; 2205  $\text{cm}^{-1}$ ; 2075  $\text{cm}^{-1}$ ; 2056  $\text{cm}^{-1}$ ; 1564  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Cl}_3$   $[\text{M}+\text{H}^+]$  401.01221; nalezeno 401.01223. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 52.08, H 2.76, Cl 32.37, N 12.79; nalezeno (%) C 53.08, H 2.97, N 13.34, Cl 30.30. Odpovídá ~ 0.75 ekv. HCl.

**2-(Pyridin-3-yl)-N-(2,4,5-trichlorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (93).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol), 2,4,5-trichloranilinu **A30** (177 mg, 0.91 mmol) a *t*-butoxidu draselného (178 mg, 1.82 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (80 mg, 11 %) ve formě žlutého prášku.  $T_f = 335\text{--}336$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  11.22 (bs, 1H, NH); 9.36 (d,  $J_{2'-4'} = 2.0$  Hz, 1H, 2'); 9.05 (bdt,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = J_{4'-2''} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.99 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.6$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.79 (bd,  $J_{5-6} = 8.2$  Hz, 1H, 5); 8.13 (bd,  $J_{8-7} = 8.3$  Hz, 1H, 8); 8.10 (s, 1H, 3''); 8.08 (bdd,  $J_{5'-4'} = 8.2$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.5$  Hz, 1H, 5'); 8.06 (s, 1H, 6''); 8.04 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.79 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$ ,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  159.5 (4); 154.7 (2); 147.6 (8a); 145.2 (6'); 142.9 (2'); 142.3 (4'); 135.8 (1''); 135.2 (7); 134.7 (3'); 131.2 (3''); 130.8 (5'' nebo 2'' nebo 4''); 130.6 (6''); 130.2 (5'' nebo 4'' nebo 2''), 130.1 (5'' nebo 4'' nebo 2''), 128.2 (6); 126.9 (5'), 126.5 (8). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762  $\text{cm}^{-1}$ ; 3661  $\text{cm}^{-1}$ ; 2185  $\text{cm}^{-1}$ ; 1722  $\text{cm}^{-1}$ ; 1704  $\text{cm}^{-1}$ ; 1563  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1512  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Cl}_3$   $[\text{M}+\text{H}^+]$ , 401.01221; nalezeno, 401.01219. Elementární analýza: vypočteno (%) C 48.09, H 2.76, N 11.81, Cl 37.35; nalezeno (%) C 47.01, H 2.90, N 11.02, Cl 35.86.

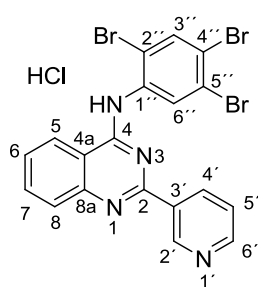
**N-(2,5-dibromfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (94).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 2,5-dibromanilinem **59** (228 mg, 1.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (180 mg, 47 %) jako bílý prášek.  $T_f = 190\text{--}193$  °C. Volná báze:  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.74 (bs, 1H, 2'); 9.28 (d,  $J_{6''-4''} = 2.4$  Hz, 1H, 6''); 8.84 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-2'} = 1.9$  Hz, 1H, 4'); 8.73 (bd,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz, 1H, 6'); 8.20 (bs, 1H, NH); 8.01 (bdd,  $J_{8-7} = 8.4$  Hz,  $J_{8-6} = 1.3$  Hz, 1H, 8); 7.92 (bdd,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz,  $J_{5-7} = 1.3$  Hz, 1H, 5); 7.89 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.50 (bdd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz, 1H, 5');

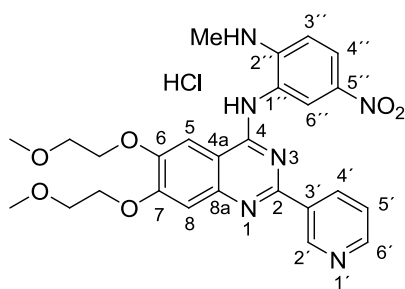
7.48 (d,  $J_{3''-4''} = 8.5$  Hz, 1H, 3''); 7.16 (dd,  $J_{4''-3''} = 8.5$  Hz,  $J_{4''-6''} = 2.4$  Hz, 1H, 4'').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.6 (2); 156.7 (4); 150.8 (8a); 150.2 (6'); 149.3 (2'); 137.1 (1''); 136.4 (4'); 134.0 (3'); 133.6 (7); 133.2 (3''); 129.6 (8); 127.4 (6, nebo 4''); 127.3 (6, nebo 4); 125.2 (6''); 123.6 (5'); 121.8 (5''); 120.2 (5); 114.2 (4a); 112.7 (2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3145  $\text{cm}^{-1}$ ; 2934  $\text{cm}^{-1}$ ; 2417  $\text{cm}^{-1}$ ; 1569  $\text{cm}^{-1}$ ; 1524  $\text{cm}^{-1}$ ; 1387  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{Br}_2$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 454.95015; nalezeno, 454.95025. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 46.33, H 2.66, N 11.37, Cl 7.20, Br 32.44; nalezeno (%) C 46.78, H 2.79, N 10.79, Cl 6.95, Br 30.48.

***N*-(2,4,5-tribromfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (95).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s 2,5-dibromanilinem **59** (300 mg, 1.91 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (210 mg, 44 %) jako slabě béžový prášek.  $T_f = 236\text{--}238$  °C. Volná báze:  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9.75 (bs, 1H, 2'); 9.42 (s, 1H, 6''); 8.91 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.75 (m, 1H, 6'); 8.19 (bs, 1H, NH); 8.04 (bdd,  $J_{8-7} = 8.4$  Hz,  $J_{8-6} = 1.2$  Hz, 1 H, 8); 7.93 (bdd,  $J_{5-6} = 8.7$  Hz,  $J_{5-7} = 1.2$  Hz, 1H, 5); 7.89 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.87 (s, 1H, 3''); 7.65 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.2$  Hz, 1H, 6); 7.57 (bdd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz, 1H, 5').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.1 (2); 156.7 (4); 150.7 (8a); 149.1 (6'); 148.3 (2'); 137.3 (4'); 136.0 (1''); 135.7 (3''); 134.4 (3'); 133.9 (7); 129.7 (8); 127.7 (6); 126.4 (6''); 124.4 (4'', nebo 5''); 124.0 (5'); 120.1 (5); 118.6 (4'', nebo 5''); 114.2 (4a); 113.0 (2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3847  $\text{cm}^{-1}$ ; 2370  $\text{cm}^{-1}$ ; 2199  $\text{cm}^{-1}$ ; 2081  $\text{cm}^{-1}$ ; 1982  $\text{cm}^{-1}$ ; 1924  $\text{cm}^{-1}$ ; 1515  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{Br}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 532.86066; nalezeno, 532.86061. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 39.93, H 2.12, N 9.80, Cl 6.20, Br 41.95; nalezeno (%) C 40.65, H 2.40, N 9.17, Cl 7.34, Br 39.10.

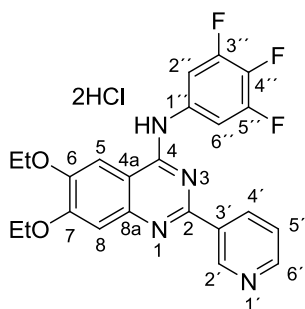
**6,7-bis(2-Methoxyethoxy)-*N*-(2-methylamin-5-nitrofenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (96).** Do vroucího roztoku 4-chlor-6,7-bis(2-methoxyethoxy)-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **13b** (500 mg, 1.30 mmol) a 2-methylamin-5-nitroanilinu **56** (427.5 mg, 2.55 mmol) v MeOH byly přidány 2 kapky konc. HCl a reakce byla dále zahřívána po dobu 16 hod. Po ochladnutí byl produkt převeden na volnou bázi nadbytkem  $\text{NH}_3$  v MeOH, poté byla rozpouštědla odpařena na RVO a surový produkt chromatografován na sloupci  $\text{SiO}_2$  ( $\text{CHCl}_3$  s gradientem MeOH 0-10 %). Čistý produkt byl v roztoku převeden na hydrochlorid



přídavkem 1 kapky konc. HCl. Po odpaření rozpouštědel byl získán hydrochlorid produktu (350 mg, 49 %) jako červený prášek.  $T_f = 198\text{--}203\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.47 (bs, 1H, 4-NH-1''); 9.31 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.8$  Hz, 1H, 2'); 8.57 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 1H, 6'); 8.47 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-2'} = J_{4'-6'} = 2.0$

Hz, 1H, 4'); 8.24 (bs, 1H, 6''); 8.12 (bdd,  $J_{4''-3''} = 9.2$  Hz,  $J_{4''-6''} = 2.6$  Hz, 1H, 4''); 7.92 (s, 1H, 5); 7.44 (ddd,  $J_{5'-4'} = 7.9$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.7$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 7.30 (s, 1H, 8); 6.86 (bs, 1H, -NHMe); 6.80 (d,  $J_{3''-4''} = 9.4$  Hz, 1H, 3''); 4.29–4.33 (m, 4H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.80 and 3.76 (2 × m, 2 × 2H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 3.86 a 3.36 (2 × s, 2 × 3H, -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 2.87 (s, 3H, -NHMe).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  158.2 (8a); 156.2 (2); 153.9 (7); 151.6 (2''); 150.5 (6''); 149.0 (2'); 148.0 (6); 147.4 (4); 135.0 (1'' a 5''); 134.7 (4'); 134.2 (3''); 124.4 (4''); 123.6 (5'); 123.2 (6''); 108.8 (4a); 108.6 (3''); 108.5 (8); 104.5 (5); 70.3 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 68.5 and 68.3 (2 × -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 58.6 (2 × OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>); 29.3 (-NHMe). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3416 cm<sup>-1</sup>, 3521 cm<sup>-1</sup>, 2929 cm<sup>-1</sup>; 2886 cm<sup>-1</sup>; 1607 cm<sup>-1</sup>; 1498 cm<sup>-1</sup>; 1285 cm<sup>-1</sup>; 1216 cm<sup>-1</sup>; 1122 cm<sup>-1</sup>. HRMS-EI (m/z): vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>N<sub>6</sub>O<sub>6</sub> [M+H<sup>+</sup>], 521.21431; nalezeno, 521.21420. Elementární analýza: vypočteno (%) C 56.07, H 5.27, N 15.09; nalezeno (%) C 55.04, H 5.37, N 13.04.

**6,7-Diethoxy-N-(3,4,5-trifluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydro-chlorid (97).** Reakce 4-chlor-6,7-diethoxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **13a** (111 mg, 0.34 mmol) a

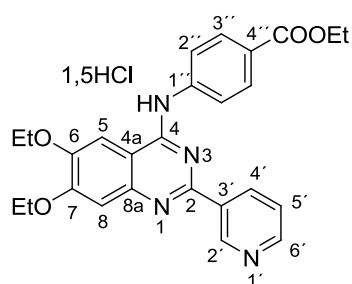


3,4,5-trifluoranilinu **A21** (50 mg, 0.34 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (149 mg, 86 %) ve formě žlutého prášku.  $T_f = 266\text{--}269\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.91 (bs, 1H, NH); 9.47 (m, 1H, 2'); 9.07 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz, 1H, 4'); 8.95 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.3$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.3$  Hz, 1H, 6'); 8.26 (s, 1H, 5); 8.02 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 7.97 (m, 2H, 2''); 7.54 (s,

1H, 8); 4.31 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H, 6-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4.25 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H, 7-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.45 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.44 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  156.0 (4); 155.0 (7); 152.7 (2); 149.9 (ddd,  $J_{3''-F} = 244.3, 10.1$  and  $5.6$  Hz, 3''); 149.5 (6); 146.1 (6''); 144.0 (2''); 140.9 (4'); 133.6–136.5 (m, 1'', 4'' a 3'); 126.2 (5'); 107.9 (4a); 107.6 (d,  $J_{2''-F} = 23.9$ , 2''); 105.6 (8); 104.1 (5); 65.2 (6-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 64.6 (7-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 14.6 (6-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 14.4 (7-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3748 cm<sup>-1</sup>; 3661 cm<sup>-1</sup>; 2183 cm<sup>-1</sup>; 2037 cm<sup>-1</sup>; 1989 cm<sup>-1</sup>; 1722 cm<sup>-1</sup>; 1704 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>; 1513 cm<sup>-1</sup>; 1462 cm<sup>-1</sup>. HRMS-

ESI (m/z): vypočteno pro  $C_{23}H_{20}O_2N_4F_3$   $[M+H^+]$ , 441.15329; nalezeno, 441.15326. Elementární analýza: vypočteno (%) C 53.81, H 4.12, N 10.91, Cl 13.81, F 11.10; nalezeno (%) C 53.60, H 4.36, N 10.82, Cl 13.18, F 10.65.

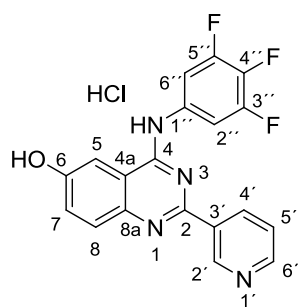
**6,7-Diethoxy-N-(4-ethoxycarbonylphenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin seskvihydrochlorid (98).** Reakcí 4-chlor-6,7-diethoxy-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **13a** (105 mg, 0.32



mmol) a ethyl-4-aminobenzoátu **A31** (58 mg, 0.35 mmol) za podmínek obecného postupu *OP4* byl získán produkt (128 mg, 78 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 145-150$  °C.  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  10.60 (bs, 1H, NH); 9.45 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 9.06 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz, 1H, 4'); 8.93 (bdd,  $J_{6'-5'} = 5.4$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.4$  Hz, 1H, 6'); 8.07 (bs, 1H, 5); 8.03 (s, 4H, 2' a 3');

7.99 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.1$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 7.46 (bs, 1H, 8); 4.34 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $COOCH_2CH_3$ ); 4.24 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H, 6- $OCH_2CH_3$ ); 4.19 (q,  $J = 7.0$  Hz, 2H, 7- $OCH_2CH_3$ ); 1.43 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H,  $COOCH_2CH_3$ ); 1.42 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H,  $COOCH_2CH_3$ ); 1.36 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H,  $-COOCH_2CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  165.6 (COOH); 156.7 (4); 155.0 (7); 152.7 (2); 149.6 (6); 146.0 (6'); 144.1 (2'); 143.2 (1'); 141.1 (4'); 133.8 (3'); 130.0 (3'); 126.3 (5'); 125.3 (4'); 122.5 (2'); 108.0 (4a); 105.8 (8); 103.7 (5); 65.1 (6- $OCH_2CH_3$ ); 64.7 (7- $OCH_2CH_3$ ); 60.8 ( $COOCH_2CH_3$ ); 14.7 ( $-CH_3$ ); 14.51 ( $-CH_3$ ); 14.49 ( $-CH_3$ ). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3747  $cm^{-1}$ ; 3661  $cm^{-1}$ ; 1722  $cm^{-1}$ ; 1704  $cm^{-1}$ ; 1659  $cm^{-1}$ ; 1546  $cm^{-1}$ ; 1401  $cm^{-1}$ ; 1078  $cm^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $C_{26}H_{27}N_4O_4$   $[M+H^+]$ , 459.20268; nalezeno, 459.20251. Elementární analýza: vypočteno (%) C 60.85, H 5.40, N 10.92, Cl 10.36; nalezeno (%) C 59.15, H 5.48, N 10.25, Cl 10.13.

**6-Hydroxy-2-(pyridin-3-yl)-N-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (99).**

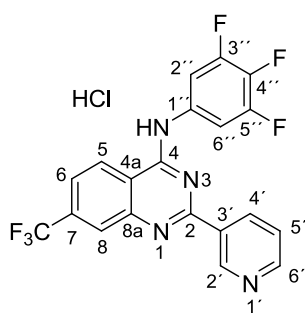


Reakce 6-hydroxy-4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **20** (50.0 mg, 0.19 mmol) s 3,4,5-trifluoranilinem **A21** (30.0 mg, 20.0 mmol) poskytla produkt (12 mg, 15 %) ve formě béžového prášku.  $T_f$  nestanovena, rozklad při  $T > 215$  °C.  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  10.46 (bs, 1H, OH); 10.03 (bs, 1H, NH); 9.48 (bd,  $J_{2'-4'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 8.66 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6');

8.62 (td,  $J_{4'-5'} = 7.9$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.9$  Hz, 1H, 4'); 8.05 (m, 2H, 2' a 6'); 7.88 (d,  $J_{5'-7} = 2.6$  Hz, 1H, 5); 7.80 (d,  $J_{8-7} = 9.0$  Hz, 1H, 8); 7.58 (dd,  $J_{7-8} = 9.0$  Hz,  $J_{7-5} = 2.6$  Hz, 1H, 7); 7.55 (bdd,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.7$  Hz, 1H, 5').  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  156.9 (4);

156.6 (6); 154.4 (2); 150.7 (6'); 150.0 (ddd,  $J_{3''-F} = 242.9$  Hz, 9.2 Hz a 5.3 Hz, 3'' a 5''); 149.0 (2'); 144.7 (8a); 136.3 (m, 1''); 134.8 (4'); 134.7 (dt,  $J_{4'-F} = 244.5$  a 15.8 Hz, 4'); 133.9 (3'); 129.9 (8); 125.2 (7); 123.9 (5'); 115.5 (4a); 105.9 (m, 2'' a 6''); 105.6 (5). HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $C_{19}H_{10}ON_4F_3$   $[M+H^+]$ , 367.08122; nalezeno, 367.08147.

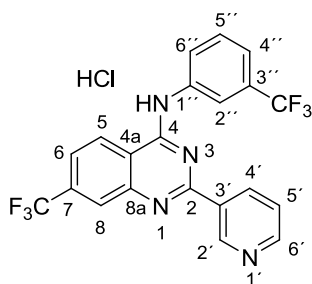
**7-trifluormethyl-N-(3,4,5-trifluorfenyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (100).** Reakce 4-chlor-7-trifluormethyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **28** (150 mg, 0.48 mmol) a



3,4,5-trifluoranilinu **A21** (78 mg, 0.53 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (120 mg, 55 %) jako bílý prášek.  $T_f$  nestanovena, sublimuje při  $T > 220$  °C.  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  10.64 (bs, 1H, NH); 9.51 (m, 1H, 2'); 8.94–8.96 (m, 2H, 5 a 4'); 8.87 (bdd,  $J_{6'-5'} = 5.2$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 6'); 8.19 (m, 1H, 8); 7.96 (m, 2H, 2''); 7.97 (m, 1H, 6); 7.88 (m, 1H, 5').  $^{13}C$

NMR (125 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  158.0 (4); 157.2 (2); 149.8 (ddd,  $J_{3''-F} = 244.9$ , 10.6 a 5.9 Hz, 3''); 149.5 (8a); 147.3 (6'); 145.3 (2'); 139.1 (4'), 134.4–136.4 (m, 3', 1'' a 4'); 133.6 (q,  $J_{7-F} = 32.5$  Hz, 7); 125.5 (5); 125.2 (5'); 125.1 (8); 122.0 (q,  $J_{6-F} = 3.4$  Hz, 6); 116.3 (4a); 106.9 (m, 2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3748  $cm^{-1}$ ; 2292  $cm^{-1}$ ; 2201  $cm^{-1}$ ; 2167  $cm^{-1}$ ; 2061  $cm^{-1}$ ; 1989  $cm^{-1}$ ; 1526  $cm^{-1}$ ; 1513  $cm^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $C_{20}H_{11}N_4F_6$   $[M+H^+]$ , 421.08824; nalezeno, 421.08810. Elementární analýza: vypočteno (%) C 52.59, H 2.43, N 12.27, Cl 7.76, F 24.96; nalezeno (%) C 52.51, H 2.49, N 12.03, Cl 8.02, F 24.44.

**2-(Pyridin-3-yl)-N-[3(trifluormethyl)fenyl]-7-(trifluormethyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (101).** Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)-7-(trifluormethyl)chinazolinu **28** (50 mg, 0.16



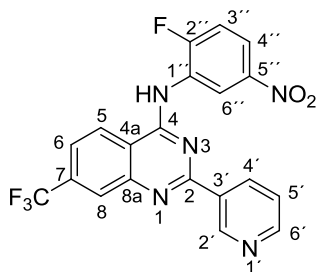
mmol) s 3-trifluormethylanilinem **A28** (32 mg, 0.20 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (63 mg, 77 %) jako bílý prášek.  $T_f$  nestanovena, rozklad při  $T > 195$  °C.  $^1NMR$  (500 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  10.86 (bs, 1H, NH), 9.57 (bd,  $J_{2'-4'} = 1.2$  Hz, 1H, 2'); 9.07 (dt,  $J_{4'-5'} = 8$ ,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.6$  Hz, 1H, 4'); 9.0 (bd,  $J_{5-6} = 8.8$  Hz, 1H, 5); 8.96 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.2$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.43

(m, 1H, 2''); 8.27 (dm,  $J_{6''-5''} = 8.4$  Hz, 1H, 6''); 8.24 (m, 1H, 8); 8.08 (m, 2H, 6 a 5'); 7.72 (t,  $J_{5''-4''} = J_{5''-6''} = 8.4$  Hz, 1H, 5''); 7.58 (dm,  $J_{4''-5''} = 8.4$  Hz, 1H, 4'').  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO-*d6*)  $\delta$  158.0 (8a); 156.8 (2); 149.3 (4); 146.3 (2'); 140.2 (4'); 139.1 (1''); 134.8 (3'); 133.6 a 133.3 (2 x  $CF_3$ ); 130.1 (5''); 129.7 (6 a 8); 126.2 (6''); 125.7 (5'); 125.0 (5'); 122.3; 120.5 (4'); 118.9 (2''); 116.5 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  1617  $cm^{-1}$ ; 1573  $cm^{-1}$ ; 1535  $cm^{-1}$ ; 1499  $cm^{-1}$ ;



1335  $\text{cm}^{-1}$ ; 1167  $\text{cm}^{-1}$ ; 1125  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{F}_6$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 435.10389; nalezeno, 435.10396.

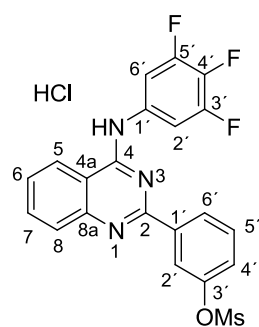
***N*-(2-Fluor-5-nitrofenyl)-2-(pyridin-3-yl)-7-(trifluormethyl)chinazolin-4-amin (102).**



Postup podle upravené literární procedury.<sup>128</sup> Do roztoku 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)-7-(trifluormethyl)chinazolinu **28** (50 mg, 0.16 mmol), 2-fluor-5-nitroanilinu **A32** (31 mg, 0.20 mmol) a  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (100 mg, 0.29 mmol) v čerstvě destilovaném a degasovaném THF pod argonem byl přidán  $\text{Pd}(\text{OAc})_2$  (2.4 mg, 0.011 mmol) a BINAP (10 mg, 0.016 mmol). Reakční směs byla za míchání zahřívána po

dobu 16 hod., poté byla adsorbována na  $\text{SiO}_2$  a rozpouštědla byla odpařena na RVO. Sloupcová chromatografie na  $\text{SiO}_2$  poskytla volnou bázi produktu (62 mg, 90 %) jako temně červený prášek. Produkt byl charakterizován jako volná báze, pro biologické testování byl připraven hydrochlorid přidavkem 1 ekv. (36  $\mu\text{l}$ ) 4M HCl v dioxanu. Volná Báze:  $T_t = 220\text{--}226$   $^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  9.62 (bs, 1H, 2'); 9.21 (bdd,  $J_{6'-\text{F}} = 6.6$  Hz,  $J_{6''-4''} = 2.9$  Hz, 1H, 6'); 8.76 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.9$  Hz, 1H, 4'); 8.72 (bd,  $J_{5-6} = 8.7$  Hz, 1H, 5); 8.70 (m, 1H, 6'); 8.24–8.27 (m, 2H, 8 a 4'); 7.89 (m, 1H, 6); 7.64 (t,  $J_{3''-4''} = J_{3''-\text{F}} = 9.5$  Hz, 1H, 3'); 7.49 (m, 1H, 5').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  159.1 – 161.2 (m, 1'', 2'' a 2); 152.5 (6'); 151.6 (8a); 150.8 (2'); 145.2 (5'); 136.2 (4'); 135.3 (q,  $J_{7-\text{F}} = 32.8$  Hz, 7); 133.9 (3'); 126.9 (q,  $J_{8-\text{F}} = 4.0$  Hz, 8); 125.5 (5); 124.2 (5'); 122.69 – 122.99 (m, 6, 4'' a 6''); 117.63 (d,  $J_{3''-\text{F}} = 23.1$  Hz, 3'); 117.20 (4a). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3763  $\text{cm}^{-1}$ ; 3577  $\text{cm}^{-1}$ ; 2248  $\text{cm}^{-1}$ ; 2198  $\text{cm}^{-1}$ ; 2073  $\text{cm}^{-1}$ ; 1988  $\text{cm}^{-1}$ ; 1954  $\text{cm}^{-1}$ ; 1349  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{N}_5\text{F}_4$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 430.0922; nalezeno, 430.0920. Elementární analýza: vypočteno (%) C 55.95, H 2.58, N 16.31.; nalezeno (%) C 55.80, H 3.03, N 13.01.

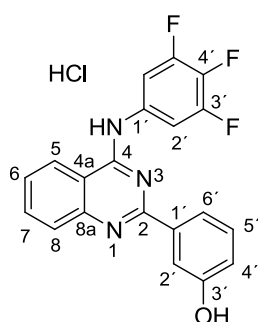
**2-(3-Methansulfonyloxyfenyl)-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (106).**



Reakcí 4-Chlor-2-(3-methansulfonyloxyfenyl)chinazolinu **35a** (2.30 g, 6.80 mmol) s 3,4,5-trifluoranilinem **A21** (1.12 g, 7.60 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (3.23 g, 98 %) jako slabě nažloutlý prášek.  $T_t = 216\text{--}218$   $^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  10.93 (bs, 1H, NH); 8.76 (bd,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.40 (ddd,  $J_{6'-5'} = 7.8$  Hz,  $J_{6'-2'} = 1.6$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.1$  Hz, 1H, 6'); 8.32 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.5$  Hz,  $J_{2'-6'} = 1.6$  Hz, 1H, 2'); 8.12 (bd,  $J_{8-7} = 8.3$  Hz, 1H, 8); 8.02 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.2$  Hz, 1H 7); 7.93–8.00 (m, 2H, 2'' a 6''); 7.77

(ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 7.73 (t,  $J_{5'-6'} = J_{5'-4'} = 8.0$  Hz, 1H, 5'); 7.60 (ddd,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.5$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.0$  Hz, 1H, 4'); 3.47 (s, 3H,  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  158.7 (4); 157.1 (2); 150.1 (ddd,  $J_{\text{C-F}} = 244.4$ , 9.9 a 5.1 Hz, 3'' a 5''); 149.6 (3'); 146.7 (8a); 137.8 (1'); 134.7–137.0 (m, 1'' a 4''); 135.2 (7); 130.9 (5'); 127.8 (6); 127.4 (6'); 125.7 (4'); 125.1 (8); 124.0 (5); 122.3 (2'); 113.7 (4a); 107.8 (d,  $J_{\text{C-F}} = 21.8$  Hz, 2'' a 6''); 37.8 ( $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2371  $\text{cm}^{-1}$ ; 2218  $\text{cm}^{-1}$ ; 2184  $\text{cm}^{-1}$ ; 2003  $\text{cm}^{-1}$ ; 1635  $\text{cm}^{-1}$ ; 1530  $\text{cm}^{-1}$ ; 1372  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{O}_3\text{N}_3\text{F}_3\text{S}$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 446.07807; nalezeno, 446.07793. Elementární analýza: vypočteno (%) C 52.34, H 3.14, N 8.72, Cl 7.36; nalezeno (%) C 49.60, H 3.23, N 8.02, Cl 7.53. Rozdíl proti teorii odpovídá kokrytalizaci produktu s ~ 1 molekulou vody.

**2-(3-Hydroxyfenyl)-N-(3,4,5-trifluorofenyl)chinazolin-4-amin (107).** Do suspenze



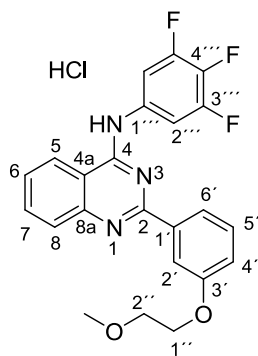
hydrochloridu chinazolin-4-aminu **106** (3.26 g, 6.76 mmol) v EtOH (100 ml) ohřáté na 70 °C byl po kapkách přidán nasycený roztok KOH (15 ml). Reakční směs se v průběhu přidavku začala rozpouštět a zbarvila se do žluta. Reakční směs za míchání zahřívána ještě 30 minut po přidání veškerého KOH, poté byla ponechána ochladnout na 25 °C a zneutralizována (pH = 7) pomocí 10% HCl. Rozpouštědla byla odpařena na RVO, surový produkt byl chromatografován na sloupci

$\text{SiO}_2$  ( $\text{CHCl}_3$  s gradientem MeOH 5 → 10 %). Byl získán produkt jako volná báze (2.32 g, 93 %), která byla použita v dalších reakcích. Pro potřeby analýzy a testování byl z malého vzorku připraven hydrochlorid působením 1 ekv. 4M HCl v dioxanu. Hydrochlorid:  $T_f$  nestanovena, sublimuje při  $T > 250$  °C.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11.62 (bs, 1H, OH); 10.02 (bs, 1H, NH); 8.93 (bd,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz, 1H, 5); 8.22 (bd,  $J_{8-7} = 8.3$  Hz, 1H, 8); 8.08 (ddd,  $J_{7-8} = 8.3$  Hz,  $J_{7-6} = 7.1$  Hz,  $J_{7-5} = 1.1$  Hz, 1H, 7); 7.96 (m, 2H, 2'' a 6''); 7.82 (ddd,  $J_{6'-5'} = 7.8$  Hz,  $J_{6'-2'} = 1.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.0$  Hz, 1H, 6'); 7.81 (m, 1H, 6); 7.72 (bt,  $J_{2'-4'} = J_{2'-6'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 7.44 (t,  $J_{5'-4'} = J_{5'-6'} = 8.0$  Hz, 1H, 5'); 7.11 (ddd,  $J_{4'-5'} = 8.1$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.5$  Hz,  $J_{4'-6'} = 0.9$  Hz, 1H, 4').  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  159.2 (4); 158.0 (3'); 157.9 (2); 150.0 (ddd,  $J_{\text{C-F}} = 245.0$ , 10.0 a 5.2 Hz, 3'' a 5''); 142.6 (8a); 133.8–137.7 (m, 1'' a 4''); 136.0 (7); 134.1 (1'); 130.3 (5'); 128.2 (6); 124.6 (5); 122.2 (8); 120.2 (4'); 119.8 (6'); 115.8 (2'); 113.1 (4a); 108.9 (m, 2'' a 6''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3852  $\text{cm}^{-1}$ ; 2346  $\text{cm}^{-1}$ ; 2196  $\text{cm}^{-1}$ ; 2052  $\text{cm}^{-1}$ ; 1981  $\text{cm}^{-1}$ ; 1565  $\text{cm}^{-1}$ ; 1457  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{ON}_3\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 368.10052; nalezeno, 368.10042. Elementární analýza: vypočteno (%) C 59.49, H 3.25, N

10.41, Cl 8.78; nalezeno (%) C 57.19, H 3.48, N 9.77, Cl 9.03. Rozdíl proti teorii odpovídá kokrytalizaci produktu s ~ 1 molekulou vody.

### 2-[3-(2-Methoxyethoxy)fenyl]-N-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid

**(108)**. Do roztoku chinazolin-4-aminu **107** (367 mg, 1.0 mmol) v suchém THF (20 ml),



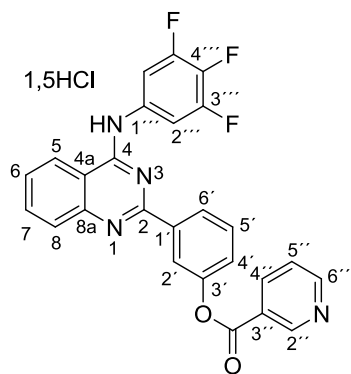
ochlazeného na 0 °C ledovou tříští, byla v jedné dávce přidána 60% suspenze NaH v minerálním oleji (44 mg, 1.1 mmol) a směs byla míchána dokud bylo možné pozorovat únik bublinek H<sub>2</sub> (cca 10 min.).

Do reakční směsi byl poté v jedné dávce přidán 1-chlor-2-methoxyethan (100 µl, 1.1 mol). Dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) však reakce při nízké teplotě neprobíhala, proto byla reakční směs zahřívána na 90 °C. Reakce byla však pomalá i při zvýšené teplotě a po 16 hod.

se dle TLC konverze již nezvyšovala ani po dalším přidavku 1-chlor-2-methoxyethanu (50 µl, 0.55 mol). Reakce proto byla ukončena nalitím 20 ml vody a přidavkem 10 ml 10% HCl. Vzniklá sraženina byla odsáta na fritě, rozpuštěna v MeOH a převedena zpět na volnou bázi působením nadbytku vodného NH<sub>3</sub>. Chromatografie na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 0.5 % MeOH) poskytla volnou bázi, která byla přidavkem 1 ekv 4M HCl v dioxanu převedena na hydrochlorid (181 mg, 39 %). T<sub>i</sub> = 173–176 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.03 (bs, 1H, NH); 8.50 (bd, J<sub>5-6</sub> = 8.3 Hz, 1H, 5); 7.99–8.07 (m, 3H, 6, 2''' a 6'''); 7.98 (dd, J<sub>2'-4'</sub> = 2.7 Hz, J<sub>2'-6'</sub> = 1.4 Hz, 1H, 2'); 7.88–7.93 (m, 2H, 7 a 8); 7.44 (t, J<sub>5'-6'</sub> = J<sub>5'-4'</sub> = 7.9 Hz, 1H, 5'); 7.10 (ddd, J<sub>4'-5'</sub> = 8.2 Hz, J<sub>4'-2'</sub> = 2.7 Hz, J<sub>4'-6'</sub> = 1.0 Hz, 1H, 4'); 4.20 (m, 2H, 1''); 3.72 (m, 2H, 2''); 3.35 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.9 (3'); 158.7 (2); 157.7 (4); 150.6 (8a); 150.0 (ddd, J<sub>C-F</sub> = 243.4, 9.7 a 5.2 Hz, 3''' a 5'''); 139.7 (1'); 133.7–136.1 (m, 1''' a 4'''); 133.8 (7); 129.8 (5'); 128.5 (8); 126.6 (6); 123.0 (5); 120.4 (6'); 117.5 (4'); 114.0 (4a); 113.2 (2'); 106.5 (d, J<sub>C-F</sub> = 25.0 Hz, 2''' a 6'''); 70.6 (2''); 67.1 (1''); 58.4 (OCH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2639 cm<sup>-1</sup>; 2367 cm<sup>-1</sup>; 2174 cm<sup>-1</sup>; 2030 cm<sup>-1</sup>; 1966 cm<sup>-1</sup>; 1566 cm<sup>-1</sup>; 1520 cm<sup>-1</sup>; 1461 cm<sup>-1</sup>; 1368 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>O<sub>2</sub>N<sub>3</sub>F<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 426.14239; nalezeno, 426.14220. Elementární analýza: vypočteno (%) C 59.81, H 4.15, N 9.10, Cl 7.68; nalezeno (%) C 59.06, H 4.22, N 8.70, Cl 7.81.

### 2-(3-Nikotinoylfenyl)-N-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin seskvihydrochlorid (109).

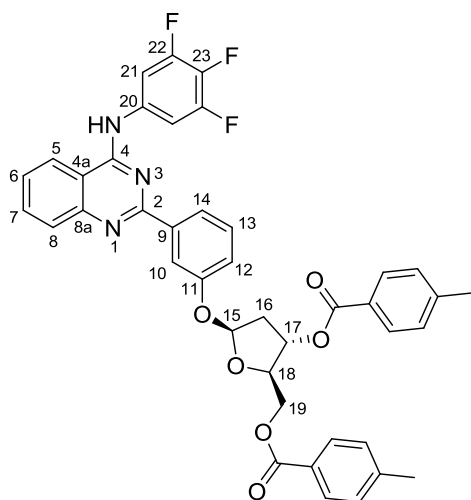
Rožtok chinazolin-4-aminu **107** (364 mg, 1.0 mmol), hydrochloridu nikotinoylchloridu **2b** (196 mg, 1.1 mmol) a dimethylaminopyridinu (10 mg, 82 µmol) v DMF (10.0 ml) a



*N,N*-diisopropylethylaminu (5.0 ml, 29 mmol) byl za míchání zahříván na 90 °C. Po 1 hod. již dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) nebyl přítomen výchozí chinazolin. Po ochladnutí reakční směsi byla rozpouštědla odpařena na RVO a surový produkt byl chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 1 % MeOH). Volná báze produktu byla převedena na hydrochlorid působením 4M HCl v dioxanu. Bylo získáno 197 mg (42 %) produktu. *T*<sub>f</sub> = 272–274 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ

10.73 (bs, 1H, NH); 9.33 (dd, *J*<sub>2''-4''</sub> = 2.3 Hz, *J*<sub>2''-6''</sub> = 0.9 Hz, 1H, 2''); 8.95 (dd, *J*<sub>6''-5''</sub> = 4.9 Hz, *J*<sub>6''-4''</sub> = 1.7 Hz, 1H, 6''); 8.69 (bd, *J*<sub>5-6</sub> = 8.4 Hz, 1H, 5); 8.56 (ddd, *J*<sub>4''-5''</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>4''-2''</sub> = 2.3 Hz, *J*<sub>4''-6''</sub> = 1.7 Hz, 1H, 4''); 8.34 (ddd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>6'-2'</sub> = 1.7 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.0 Hz, 1H, 6'); 8.31 (ddd, *J*<sub>2'-4'</sub> = 2.4 Hz, *J*<sub>2'-6'</sub> = 1.6 Hz, *J*<sub>2'-5'</sub> = 0.5 Hz, 1H, 2'); 8.03 (bdd, *J*<sub>8-7</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>8-6</sub> = 1.6 Hz, 1H, 8); 7.95 – 8.03 (m, 3H, 7 a 2''); 7.75 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.3 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 6.6 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.6 Hz, 1H, 6); 7.74 (m, 1H, 5''); 7.72 (t, *J*<sub>5'-4'</sub> = *J*<sub>5'-6'</sub> = 7.9 Hz, 1H, 5'); 7.59 (ddd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 8.1 Hz, *J*<sub>4'-2'</sub> = 2.4 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.0 Hz, 1H, 4'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 163.7 (C=O); 158.5 (4); 157.6 (2); 154.2 (6''); 150.9 (3'); 150.4 (2''); 150.1 (ddd, *J*<sub>C-F</sub> = 244.2, 9.9, 5.0 Hz, 3''); 147.4 (4a); 138.2 (4''); 137.7 (1'); 137.7 – 137.3 (m, 1''' a 4''); 135.0 (7); 130.4 (5'); 127.6 (6); 126.2 (6'a 8'); 125.5 (3''); 125.16 (4'); 124.6 (5); 123.8 (5''); 121.9 (2'); 113.8 (4a); 107.5 (bd, *J*<sub>C-F</sub> = 23.6 Hz, 2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3880 cm<sup>-1</sup>; 3648 cm<sup>-1</sup>; 2195 cm<sup>-1</sup>; 2176 cm<sup>-1</sup>; 2038 cm<sup>-1</sup>; 1967 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub>F<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 473.12199; nalezeno, 473.12170. Elementární analýza: vypočteno (%) C 59.24, H 3.16, N 10.63, Cl 10.09; nalezeno (%) C 58.05, H 4.33, N 9.28, Cl 10.18.

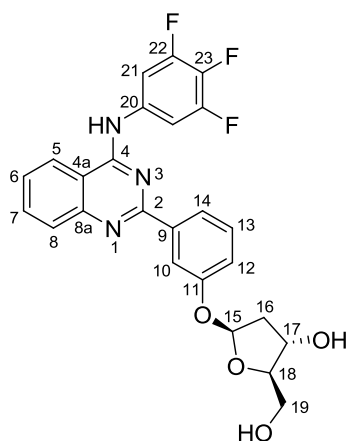
***N*-(3,4,5-Trifluorfenyl)-2-[3-(3,5-di-*O*-toluoyl-2-deoxy-*D*-ribofuranosyloxy)fenyl]chinazolin-4-amin (110).** Chinazolin-4-amin **107** (366 mg, 1.0 mmol), usušený na olejové vývěvě,



byl pod argonem rozpuštěn v suchém, čerstvě destilovaném THF (20 ml). Do roztoku byl poté pod argonem v jedné dávce přidán 55% NaH v minerálním oleji (51.0 mg, 1.2 mmol). Po přidavku reakční směs zežloutla a byla míchána při 25 °C ještě 10 min. Nakonec byla do reakční směsi v jedné dávce přidána 3,5-di-*O*-toluoyl-2-deoxy- $\alpha$ -*D*-ribofuranosylchlorid (460 mg, 1.2 mmol) (připravená v laboratoři Dr.

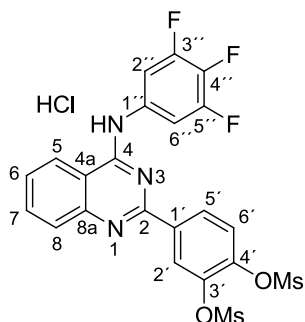
Otmara) a reakční směs byla míchána při 25 °C 4 dny. Ani po této době nebyla dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) konverze úplná. Rozpouštědla byla tedy odstraněna na RVO a poměrně komplikovaná reakční směs byla dělena sloupcovou chromatografií na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 0.25 % acetonu). Produkt byl izolován ve dvou podílech, přičemž první obsahoval čistý produkt (89 mg, 12 %). T<sub>t</sub> = 165–168 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>) δ 9.36 (vbs, 1H, NH); 8.38 (ddd, *J*<sub>5-6</sub> = 8.3 Hz, *J*<sub>5-7</sub> = 1.4 Hz, *J*<sub>5-8</sub> = 0.7 Hz, 1H, 5); 8.35 (dd, *J*<sub>10-12</sub> = 2.6 Hz, *J*<sub>10-14</sub> = 1.5 Hz, 1H, 16); 8.20 (ddd, *J*<sub>14-13</sub> = 7.8 Hz, *J*<sub>14-10</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>14-12</sub> = 1.1 Hz, 1H, 14); 8.00 (m, 2H, 21); 7.98 (m, 2H, *O*-Tol); 7.95 (ddd, *J*<sub>8-7</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>8-6</sub> = 1.4 Hz, *J*<sub>8-5</sub> = 0.7 Hz, 1H, 8); 7.90 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 6.8 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.3 Hz, 1H, 7); 7.84 (m, 2H, *O*-Tol); 7.62 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.3 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 6.8 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.4 Hz, 1H, 6); 7.43 (t, *J*<sub>13-14</sub> = *J*<sub>13-12</sub> = 7.9 Hz, 1H, 13); 7.36 (m, 2H, *O*-Tol); 7.19 (ddd, *J*<sub>12-13</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>12-10</sub> = 2.6 Hz, *J*<sub>12-14</sub> = 1.0 Hz, 1H, 12); 7.15 (m, 2H, *O*-Tol); 6.27 (dd, *J*<sub>15-16a</sub> = 5.6 Hz, *J*<sub>15-16b</sub> = 2.5 Hz, 1H, 15); 5.81 (bddd, *J*<sub>17-16b</sub> = 7.1 Hz, *J*<sub>17-16a</sub> = 4.7 Hz, *J*<sub>17-18</sub> = 3.1 Hz, 1H, 17); 4.71 (btd, *J*<sub>18-19a</sub> = *J*<sub>18-19b</sub> = 5.5 Hz, *J*<sub>18-17</sub> = 3.1 Hz, 1H, 18); 4.62 (dd, *J*<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, *J*<sub>19b-18</sub> = 5.2 Hz, 1H, 19b); 4.49 (dd, *J*<sub>gem</sub> = 11.7 Hz, *J*<sub>19a-18</sub> = 5.8 Hz, 1H, 19a); 2.94 (dddd, *J*<sub>gem</sub> = 14.5 Hz, *J*<sub>16b-17</sub> = 7.1 Hz, *J*<sub>16b-15</sub> = 2.5 Hz, *J*<sub>16b-LR18</sub> = 0.4 Hz, 1H, 16b); 2.77 (ddd, *J*<sub>gem</sub> = 14.4 Hz, *J*<sub>16a-15</sub> = 5.7 Hz, *J*<sub>16a-17</sub> = 4.7 Hz, 1H, 16a); 2.42 (s, 3H, Ph-CH<sub>3</sub>); 2.25 (s, 3H, Ph-CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, aceton-*d*<sub>6</sub>) δ 166.6 (CO); 166.4 (CO); 159.9 (2); 158.5 (4); 158.3 (11); 151.9 (8a); 151.5 (ddd, *J*<sub>C-F</sub> = 244.3 10.2 a 5.5 Hz, 22); 145.0 (*p*-Tol); 144.4 (*p*-Tol); 140.8 (9); 136.8 (m, 20); 136.3 (bdt, *J*<sub>C-F</sub> = 243.7 a 15.8 Hz, 23); 134.2 (7); 130.5 (*o*-Tol); 130.4 (*o*-Tol); 130.1 (13); 130.1 (*m*-Tol); 129.8 (*m*-Tol); 129.7 (8); 128.2 (*i*-Tol); 128.1 (*i*-Tol); 127.3 (6); 122.8 (5); 122.6 (14); 119.8 (12); 117.0 (10); 114.9(4a); 106.5 (m, 21); 103.7 (15); 83.6 (18); 76.1 (17); 65.3 (19); 40.1 (14); 21.6 (Ph-CH<sub>3</sub>); 21.47 (Ph-CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3723 cm<sup>-1</sup>; 2174 cm<sup>-1</sup>; 1724 cm<sup>-1</sup>; 1528 cm<sup>-1</sup>; 1442 cm<sup>-1</sup>; 1272 cm<sup>-1</sup>; 1112 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>41</sub>H<sub>33</sub>O<sub>6</sub>N<sub>3</sub>F<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 720.23160; nalezeno, 720.23150.

***N*-(3,4,5-trifluorfenyl)-2-[3-(3,5-di-*O*-toluoyl-2-deoxy-D-ribofuranosyloxy)fenyl]chinazolin-4-amin (111).** K roztoku chráněného derivátu 2-deoxyribózy **110** (0,83 mg, 1.16 × 10<sup>-4</sup> mol) v DCM (4 ml) byl v jedné dávce přidán roztok MeONa (31 mg, 5.76 × 10<sup>-4</sup> mol) v MeOH (1 ml) a reakční směs byla míchána při 25 °C po dobu 2 h. Poté byla reakční směs opatrně okyselena konc. CH<sub>3</sub>COOH (pH = 6) a rozpouštědla byla odpařena RVO. Směs byla dělena pomocí sloupcové chromatografie na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 20 % acetonu), avšak nepodařilo se izolovat čistý produkt. Bylo tedy přistoupeno ke krystalizaci ze směsi Toluene a MeOH; po odsátí krystalků na fritě a promytí malým množstvím acetonu (1 ml) byl získán



produkt (20 mg, 36 %).  $T_f = 135\text{--}138\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.11 (bd,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz, 1H, 5); 7.95 (m, 1H, 10); 7.85 (bd,  $J_{14-13} = 7.8$  Hz, 1H, 14); 7.68–7.77 (m, 4H, 7, 8, 21); 7.44 (ddd,  $J_{6-5} = 8.2$  Hz,  $J_{6-7} = 5.8$  Hz,  $J_{6-8} = 2.3$  Hz, 1H, 6); 7.29 (t,  $J_{13-14} = J_{13-12} = 7.9$  Hz, 1H, 13); 7.06 (ddd,  $J_{12-13} = 8.1$  Hz,  $J_{12-10} = 2.6$  Hz,  $J_{12-14} = 1.1$  Hz, 1H, 12); 5.94 (dd,  $J_{15-16a} = 5.4$  Hz,  $J_{15-16b} = 2.0$  Hz, 1H, 15); 4.47 (td,  $J_{17-16a} = J_{17-16b} = 6.6$  Hz,  $J_{17-18} = 4.9$  Hz, 1H, 17); 4.01 (dt,  $J_{18-19a} = 6.5$  Hz,  $J_{18-19b} = J_{18-17} = 4.9$  Hz, 1H, 18); 3.69 (dd,  $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $J_{19b-18} = 5.2$  Hz, 1H, 19b); 3.59 (dd,  $J_{\text{gem}} = 11.7$  Hz,  $J_{19a-18} = 6.6$  Hz, 1H, 19a); 2.50 (ddd,  $J_{\text{gem}} = 13.5$  Hz,  $J_{16b-17} = 6.8$  Hz,  $J_{16b-15} = 2.0$  Hz, 1H, 16b); 2.29 (ddd,  $J_{\text{gem}} = 13.5$  Hz,  $J_{16a-17} = 6.5$  Hz,  $J_{16a-15} = 5.4$  Hz, 1H, 16a).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  161.0 (2); 159.0 (4); 158.6 (11); 151.9 (ddd,  $J_{\text{C-F}} = 244.3, 10.2$  a  $5.5$  Hz, 22); 151.6 (8a); 140.8 (9); 136 (td,  $J_{\text{C-F}} = 12.0, 4.0$  Hz, 20); 136.8 (dt,  $J_{\text{C-F}} = 246.1, 15.8$  Hz, 23); 134.4 (7); 130.3 (5); 128.8 (8); 127.5 (6); 123.1 (5); 122.8 (16); 120.0 (12); 117.0 (10); 115.1 (4a); 106.6 (m, 21); 103.5 (15); 88.9 (18); 72.6 (17); 64.8 (19); 42.5 (16). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3346  $\text{cm}^{-1}$ ; 1994  $\text{cm}^{-1}$ ; 1575  $\text{cm}^{-1}$ ; 1526  $\text{cm}^{-1}$ ; 1439  $\text{cm}^{-1}$ ; 1366  $\text{cm}^{-1}$ ; 1047  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{O}_4\text{N}_3\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 484.14787; nalezeno, 484.14777.

**2-[3,4-Bis(methansulfonyloxy)fenyl]-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (112).** Reakcí 4-Chlor-2-[3,4-bis(methansulfonyloxy)fenyl]chinazolinu (**35b**) (500



mg, 1.17 mmol) s 3,4,5-trifluoranilinem (**A21**) (188 mg, 1.29 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (612 mg, 91 %) jako bílý prášek.  $T_f = 251\text{--}252\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.85 (bs, 1H, NH); 8.74 (bd,  $J_{5-6} = 8.5$  Hz, 1H, 5); 8.50 (d,  $J_{2'-6'} = 2.1$  Hz, 1H, 2'); 8.46 (dd,  $J_{6'-5'} = 8.6$  Hz,  $J_{6'-2'} = 2.1$  Hz, 1H, 6'); 8.11 (bd,  $J_{8-7} = 8.4$  Hz, 1H, 8); 8.01 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 7.0$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.94 (m, 2H, 2''); 7.80 (d,  $J_{5'-6'} = 8.6$  Hz, 1H, 5'); 7.76 (ddd,  $J_{6-5} = 8.4$  Hz,  $J_{6-7} = 7.0$  Hz,  $J_{6-8} = 1.3$  Hz, 1H, 6); 3.59 (s, 3H,  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ); 3.58 (s, 3H,  $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  158.6 (4); 156.4 (2); 150.1 (ddd,  $J_{3''-\text{F}} = 244.8, 10.2$  a  $5.1$ , 3''); 147.2 (8a); 143.3 (4'); 141.2 (3'); 134.9 (7); 128.2 (6'); 127.7 (6); 125.9 (8); 124.8 (5'); 124.1 (2'); 123.9 (5); 113.7 (4a); 107.7 (m, 2''); 39.0 ( $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ); 38.8 ( $\text{OSO}_2\text{CH}_3$ ). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3740  $\text{cm}^{-1}$ ; 3622  $\text{cm}^{-1}$ ; 2266  $\text{cm}^{-1}$ ; 2164  $\text{cm}^{-1}$ ; 2104  $\text{cm}^{-1}$ ; 2020  $\text{cm}^{-1}$ ; 1986  $\text{cm}^{-1}$ ; 1947  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}_3\text{F}_3\text{S}_2$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 540.05054; nalezeno,

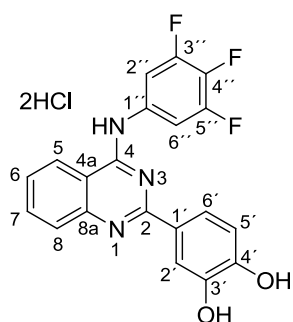
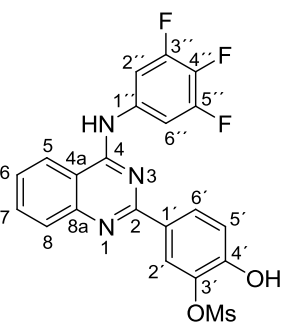
540.05055. Elementární analýza: vypočteno (%) C 45.88, H 2.98, N 7.30, Cl 6.16, F 9.90; nalezeno (%) C 44.53, H 2.91, N 6.70, Cl 6.36, F 9.78.

### 2-[4-Hydroxy-3-(methansulfonyloxy)fenyl]-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin

**(113)**. Do roztoku hydrochloridu chinazolin-4-aminu **112** (500 mg, 0.87 mmol) v MeOH (12 ml) byl v jedné dávce přidán nasycený roztok NaOH (5.0 ml). Vzniklá reakční směs reagovala za míchání při 25 °C 48 hod. Poté byla reakční směs zředěna vodou (50 ml) a neutralizována 3M HCl. Při pH = 7 zůstával veškerý produkt rozpuštěný v roztoku, pokud však bylo pH dále upraveno na hodnotu 3 vyprecipitovala z roztoku sraženina, která byla odsáta na fritě. Sraženina byla dále suspendována ve vodném NH<sub>3</sub> pro případ, že by neutralizací vznikl hydrochlorid, a následně byla tato poměrně komplikovaná směs dělena chromatografií na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 3 % MeOH). Po odpaření rozpouštědel byl získán produkt (120 mg, 31 %) ve formě béžového prášku. T<sub>f</sub> nestanovena, dekompozice při T > 260 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.78 (bs, 1H, OH); 10.02 (bs, 1H, NH); 8.47 (dm, *J*<sub>5-6</sub> = 8.4 Hz, 1H, 5); 8.22–8.25 (m, 2H, 2' a 6'); 7.49 (m, 2H, 2''); 7.85–7.90 (m, 2H, 7 a 8); 7.62 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 6.0 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 2.2 Hz, 1H, 6); 7.14 (m, 1H, 5'); 3.38 (s, 3H, OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.1 (2); 157.8 (4); 152.1 (4'); 150.7 (8a); 150.2 (ddd, *J*<sub>3'-F</sub> = 243.8, 9.9 a 5.4 Hz, 3'); 137.2 (3'); 134.0–136.11 (m, 1'' a 4'); 133.9 (7); 130.0 (1'); 128.3 (8); 128.0 (2', nebo 6'); 126.4 (6); 124.0 (2', nebo 6'); 123.1 (5); 117.8 (5'); 113.9 (4a); 106.2 (m, 2''); 38.5 (OSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3747 cm<sup>-1</sup>; 3661 cm<sup>-1</sup>; 2169 cm<sup>-1</sup>; 2045 cm<sup>-1</sup>; 1990 cm<sup>-1</sup>; 1722 cm<sup>-1</sup>; 1689 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>; 1513 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>21</sub>H<sub>15</sub>O<sub>4</sub>N<sub>3</sub>F<sub>3</sub>S [M+H<sup>+</sup>], 462.07299; nalezeno, 462.07286. Elementární analýza: vypočteno (%) C 54.66, H 3.06, F 12.35, N 9.11; nalezeno (%) C 55.02, H 3.37, N 8.97, F 12.26.

### 2-(3,4-Dihydroxyfenyl)-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid **(114)**.

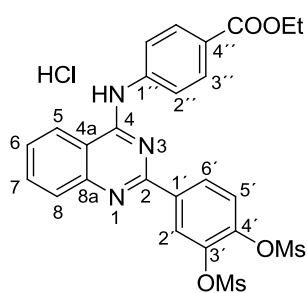
Do suspenze hydrochloridu chinazolin-4-aminu **112** (1.10 g, 1.91 mmol) v 10 ml EtOH byl opatrně přikapán nasycený roztok KOH (8 ml). Reakční směs se rozpustila, zežloutla a po 5 min. při 25 °C nebyla dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) přítomna výchozí látka. Byl tedy odebrán malý vzorek, který byl po neutralizaci 10% HCl a odpaření rozpouštědel na RVO podroben analýze hmotností spektrometrií, která indikovala ztrátu pouze jedné chránicí skupiny (HRMS-ESI (m/z):



vypočteno pro  $C_{21}H_{15}O_4N_3F_3S$ , 462.07299; nalezeno, 462.07287). Reakční směs byla tedy přivedena k varu, což vedlo k zhnědnutí reakční směsi a dle TLC docházelo k další reakci. Po 30 minutách varu byla dle TLC reakce kompletní. Po ochladnutí byla reakční směs neutralizována 10% HCl (pH = 3) a vzniklá sraženina byla odsáta na fritě a promyta vodou. Surový produkt byl pomocí vodného  $NH_3$  převeden na volnou bázi (pH = 7–8) a následně chromatografován na sloupci  $SiO_2$  ( $CHCl_3$  + 5 % MeOH). Volná báze byla převedena zpět na sůl nadbytkem konc. HCl a produkt byl ještě přečištěn varem ve směsi aceton/MeOH (5 + 5 ml), po ochladnutí následovaném filtrací na fritě. Produkt (503 mg, 58 %) byl získán jako okrový prášek.  $T_f = 257$ – $260$  °C.  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.64 (bs, 1H, NH); 10.35 (bs, 1H, OH); 9.54 (bs, 1H, OH); 8.87 (bd,  $J_{5-6} = 8.2$  Hz, 1H, 5); 8.21 (bd,  $J_{8-7} = 8.2$  Hz, 1H, 8); 8.07 (bt,  $J_{7-8} = J_{7-6} = 7.8$  Hz, 1H, 7); 7.90 (m, 2H, 2'' a 6''); 7.82 (dd,  $J_{6'-5'} = 8.4$  Hz,  $J_{6'-2'} = 2.3$  Hz, 1H, 6'); 7.79 (bt,  $J_{6-7} = J_{6-5} = 7.7$  Hz, 1H, 6); 7.75 (d,  $J_{2'-6'} = 2.3$  Hz, 1H, 2'); 7.00 (d,  $J_{5'-6'} = 8.4$  Hz, 1H, 5').  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  159.1 (4); 157.4 (2); 151.7 (4'); 150.1 (m, 3'' a 5''); 146.0 (1' a 3'); 140.9 (8a); 133.8–137.7 (m, 1'' a 4''); 136.3 (7); 127.9 (6); 124.7 (5); 122.3 (6'); 120.7 (8); 116.6 (2'); 116.1 (5'); 112.6 (4a); 109.4 (m, 2'' a 6''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3771  $cm^{-1}$ ; 3699  $cm^{-1}$ ; 2421  $cm^{-1}$ ; 2227  $cm^{-1}$ ; 2117  $cm^{-1}$ ; 1985  $cm^{-1}$ ; 1564  $cm^{-1}$ . HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro  $C_{20}H_{13}O_2N_3F_3$   $[M+H]^+$ , 384.09544; nalezeno, 384.09569. Elementární analýza: vypočteno (%) C 52.65, H 3.09, N 9.21, Cl 15.54, F 12.49; nalezeno (%) C 53.82, H 3.34, N 8.78, Cl 14.24, F 10.03.

## 2-[3,4-Bis(methansulfonyloxy)fenyl]-*N*-[4-(ethoxykarbonyl)fenyl]chinazolin-4-amin

**hydrochlorid (115).** Reakcí 4-chlor-2-[3,4-bis(methansulfonyloxy)fenyl]chinazolinu (500

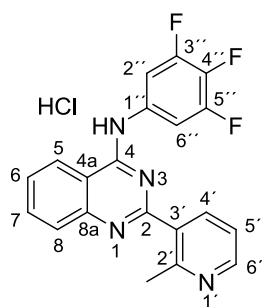


mg, 1.17 mmol) s ethyl-4-aminobenzoátem (**A31**) (212 mg, 1.29 mmol) podle obecného postupu *OP4* byl získán produkt (642 mg, 93 %) ve formě bílého prášku.  $T_f = 165$ – $210$  °C.  $^1H$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.02 (bs, 1H, NH); 8.84 (bd,  $J_{5-6} = 8.4$  Hz, 1H, 5); 8.60 (d,  $J_{2'-6'} = 2.2$  Hz, 1H, 2'); 8.50 (dd,  $J_{6'-5'} = 8.6$  Hz,  $J_{6'-2'} = 2.2$  Hz, 1H, 6'); 8.19 (bd,  $J_{8-7} = 8.4$  Hz, 1H, 8); 8.15 (m, 2H, 2''); 8.09 (m, 2H, 3''); 8.04 (m, 1H, 7); 7.83 (d,  $J_{5'-6'} = 8.6$  Hz, 1H, 5'); 7.79 (m, 1H, 6); 4.34 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H,  $CH_2CH_3$ ); 3.61 (s 3H,  $OSO_2CH_3$ ); 3.60 (s, 3H,  $OSO_2CH_3$ ); 1.35 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H,  $CH_2CH_3$ ).  $^{13}C$  NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  165.5 (COO); 158.6 (4); 156.3 (2); 146.3 (8a); 143.5 (4'); 142.8 (1'); 141.22 (3'); 135.2 (7); 130.1 (3''); 128.7 (6'); 127.9 (6); 125.9 (4'); 125.2 (8); 125.0 (5'); 124.4 (2'); 124.2 (5); 122.6 (2''); 113.9 (4a); 60.8 ( $CH_2CH_3$ ); 38.9 ( $OSO_2CH_3$ ); 38.8 ( $OSO_2CH_3$ ); 14.4 ( $CH_2CH_3$ ). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2377  $cm^{-1}$ ; 2258



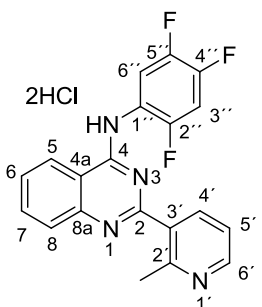
cm<sup>-1</sup>; 2197 cm<sup>-1</sup>; 2126 cm<sup>-1</sup>; 1977 cm<sup>-1</sup>; 1563 cm<sup>-1</sup>; 1380 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>O<sub>8</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub> [M+H<sup>+</sup>], 558.09993; nalezeno, 558.09996. Elementární analýza: vypočteno (%) C 50.55, H 4.07, N 7.07, Cl 5.95; nalezeno (%) C 50.35, H 4.09, N 6.73, Cl 6.06.

### 2-(2-Methylpyridin-3-yl)-N-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (117).



Reakce 4-chlor-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolinu (**38**) (180 mg, 0.71 mmol) s 3,4,5-trifluoranilinem (**A21**) (111 mg, 0.75 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (218 mg, 76 %) jako bílý prášek. *T<sub>i</sub>* nestanovena, dekompozice při *T* > 220 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.92 (bd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 8.1 Hz, 1H, 4'); 8.83 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 5.6 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.7 Hz, 1H, 6'); 8.62 (m, 1H, 5); 7.93–8.00 (m, 3H, 7, 8 and 5'); 7.85 (m, 2H, 2''); 7.77 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.3 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 6.9 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.4 Hz, 1H, 6); 2.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 158.7 (4); 157.7 (2); 154.2 (2'); 150.5 (ddd, *J*<sub>3''-F</sub> = 244.3, 10.2 a 5.2 Hz, 3''); 149.4 (8a); 145.6 (4'); 143.4 (6'); 136.5 (3'); 136.1 (m, 4'); 135.4 (m, 1''); 134.8 (7); 128.2 (6); 127.9 (8); 124.5 (5'); 123.6 (5); 114.0 (4a); 107.6 (m, 2''); 20.7 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762 cm<sup>-1</sup>; 2186 cm<sup>-1</sup>; 2170 cm<sup>-1</sup>; 2104 cm<sup>-1</sup>; 2021 cm<sup>-1</sup>; 2009 cm<sup>-1</sup>; 1955 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>F<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 367.11651; nalezeno 367.11635. Elementární analýza: vypočteno (%) C 59.64, H 3.50, N 13.91, Cl 8.80, F 14.15; nalezeno (%) C 59.05, H 3.59, N 13.46, Cl 8.76, F 14.17.

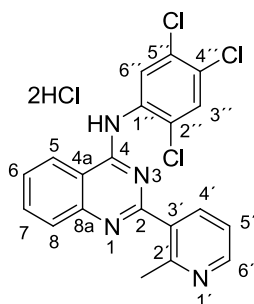
### 2-(2-Methylpyridin-3-yl)-N-(2,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (118).



Reakce 4-chlor-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolinu (**38**) (150 mg, 0.59 mmol) a 2,4,5-trifluoranilinu (**A22**) (95 mg, 0.65 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (215 mg, 83 %) jako bílý prášek. *T<sub>i</sub>* = 178–181 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.94 (bs, 1H, NH); 8.88 (dd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.4 Hz, 1H, 4'); 8.82 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 5.7 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.6 Hz, 1H, 6'); 8.74 (dm, *J*<sub>4-6</sub> = 8.3 Hz, 1H, 5); 8.01–7.58 (m, 2H, 7 a 8); 7.97 (dd (*J*<sub>5'-4'</sub> = 8.0 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 5.7 Hz, 1H, 5'); 7.75–7.85 (m, 3H, 6, 3'' a 6''); 2.86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.7 (4); 157.2 (2); 153.8 (2'); 144.7–154.0 (m, 2'', 4'' a 5''); 147.8 (8a); 145.7 (4'); 142.9 (6'); 135.2 (3'); 134.9 (7); 128.2 (6); 126.6 (8); 124.4 (5'); 124.0 (5); 122.5 (m, 1''); 117.4 (ddd, *J*<sub>6''-F</sub> = 20.3 Hz, 2.1 Hz a 0.8 Hz, 6''); 113.3 (4a); 106.6 (dd, *J*<sub>3''-F</sub> = 27.0 Hz a 22.0 Hz, 3''); 19.9 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762 cm<sup>-1</sup>; 3660 cm<sup>-1</sup>; 2030 cm<sup>-1</sup>; 1722 cm<sup>-1</sup>; 1704 cm<sup>-1</sup>; 1563 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>; 1512 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>F<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 367.11651; nalezeno, 367.11644.

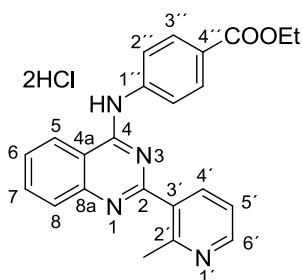
Elementární analýza: vypočteno (%) C 54.69, H 3.44, N 12.75, Cl 16.14, F 12.98; nalezeno (%) C 53.87, H 3.58, N 12.31, Cl 14.11, F 12.57.

### 2-(2-Methylpyridin-3-yl)-N-(2,4,5-trichlorfenyl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (**119**).



Reakce 4-chlor-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolinu (**38**) (200 mg, 0.78 mmol), 2,4,5-trichloranilinu (**A30**) (167 mg, 0.86 mmol) a *t*-butoxidu draselného (168 mg, 1.72 mmol) podle obecného postupu *OP5* poskytla produkt (105 mg, 28 %) ve formě bílého prášku.  $T_f = 242\text{--}244\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.70 (vbs, 1H, NH); 8.80 (bd,  $J_{4'-5'} = 7.8$  Hz, 1H, 4'); 8.78 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.6$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 1H, 6'); 8.66 (bd,  $J_{5'-6'} = 8.3$  Hz, 1H, 5); 8.07 (s, 1H, 3'', nebo 6''); 8.04 (s, 1H, 3'', nebo 6''); 8.01 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4$  Hz,  $J_{7-6} = 6.8$  Hz,  $J_{7-5} = 1.3$  Hz, 1H, 7); 7.97 (bdd,  $J_{8-7} = 7.8$  Hz,  $J_{8-6} = 1.5$  Hz, 1H, 8); 7.90 (bdd,  $J_{5'-4'} = 7.8$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.7$  Hz, 1H, 5'); 7.78 (ddd,  $J_{6-5} = 8.3$  Hz,  $J_{6-7} = 6.8$  Hz,  $J_{6-8} = 1.5$  Hz, 1H, 6); 2.81 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  159.6 (4); 157.7 (2); 153.9 (2'); 149.1 (8a); 145.0 (4'); 143.3 (6'); 136.2 (1''); 135.8 (3'); 134.7 (7); 131.3 (3'', nebo 6''); 131.09 (3'', nebo 6''); 131.07 (2'', nebo 4'', nebo 5''); 130.3 (2'', nebo 4'', nebo 5''); 130.2 (2'', nebo 4'', nebo 5''); 128.0 (6); 127.5 (5'); 123.7 (5); 113.3 (4a); 20.5 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3763 cm<sup>-1</sup>; 3623 cm<sup>-1</sup>; 2373 cm<sup>-1</sup>; 2033 cm<sup>-1</sup>; 1974 cm<sup>-1</sup>; 1564 cm<sup>-1</sup>; 1513 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>Cl<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 415.02786; nalezeno, 415.02776. Elementární analýza: vypočteno (%) C 53.13, H 3.12, N 12.39, Cl 31.36; nalezeno (%) C 52.90, H 3.02, N 12.09, Cl 31.63.

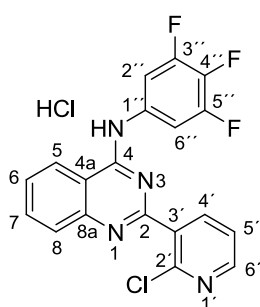
### N-[4-(Ethoxykarbonyl)fenyl]-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (**120**).



Reakce 4-chlor-2-(2-methylpyridin-3-yl)chinazolinu (**38**) (180 mg, 0.71 mmol) s ethyl-4-aminobenzoátem (**A31**) (117 mg, 0.75 mmol) podle podmínek obecného postupu *OP4* poskytla produkt (234 mg, 72 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 156\text{--}160\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H NMR}$  (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.89 (bs, 1H, NH); 8.96 (dd,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.6$  Hz, 1H, 4'); 8.86 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.7$  Hz,  $J_{6'-5'} = 1.6$  Hz, 1H, 6'); 8.83 (m, 1H, 5); 8.00–8.04 (m, 7H, 7, 8, 5', 2'' a 3''); 4.31 (q, 2H,  $J = 7.1$  Hz, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 2.99 (s, 3H, 2'-CH<sub>3</sub>); 1.32 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).  $^{13}\text{C NMR}$  (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  165.7 (COOH); 158.7 (4); 157.0 (2); 154.0 (2'); 147.8 (8a); 146.1 (4'); 143.1 (1''); 142.9 (6'); 135.6 (3'); 135.0 (7); 130.2 (3''); 128.4 (6); 126.6 (8); 125.8 (4''); 124.7 (5'); 124.2 (5); 123.0 (2''); 113.9 (4a); 61.0 (-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>); 20.3 (2'-CH<sub>3</sub>); 14.5 (-CH<sub>2</sub>-

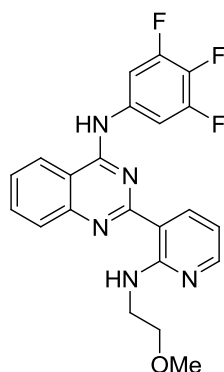
**CH<sub>3</sub>**). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3762 cm<sup>-1</sup>; 3661 cm<sup>-1</sup>; 2015 cm<sup>-1</sup>, 1722 cm<sup>-1</sup>; 1658 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>, 1494 cm<sup>-1</sup>, 1462 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>26</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 385.16590; nalezeno, 385.16579. Elementární analýza: vypočteno (%) C 60.40, H 4.85, N 12.25, Cl 15.50; nalezeno (%) C 60.10, H 4.92, N 12.01, Cl 14.76.

## 2-(2-Chlorpyridin-3-yl)-N-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (121).



Reakce 4-chlor-2-(2-chlorpyridin-3-yl)chinazolinu (**45**) (309 mg, 1.12 mmol) s 3,4,5-trifluoranilinem (**A21**) (181 mg, 1.23 mmol) podle obecného postupu *OP4* poskytla produkt (440 mg, 89 %) jako bílý prášek. *T<sub>i</sub>* nestanovena, sublimuje při *T* > 240 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  8.72 (dm, *J*<sub>5-6</sub> = 8.2 Hz, 1H, 5); 8.68 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 4.9 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.9 Hz, 1H, 6'); 8.29 (dd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.9 Hz, 1H, 4'); 8.22 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.3 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 7.3 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.3 Hz, 1H, 7); 7.79–8.02 (m, 2H, 6 a 8); 7.71 (m, 2H, 2'); 7.68 (dd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 7.7 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 4.9 Hz, 1H, 5'). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, methanol-*d*<sub>4</sub>)  $\delta$  161.8 (4); 158.1 (2); 153.7 (6'); 152.11 (ddd *J*<sub>C-F</sub> = 247.5, 10.3 a 4.9 Hz, 3'); 149.8 (2'); 142.0 (4'); 141.0 (8a); 139.7 (dt, *J*<sub>C-F</sub> = 251.1, 15.6 Hz, 4'); 138.5 (7); 133.6 (m, 1'); 131.2 (6, nebo 8); 130.1 (3'); 125.4 (5); 124.4 (5'); 121.1 (6, nebo 8); 114.1 (4a); 110.8 (m, 2'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2933 cm<sup>-1</sup>; 2172 cm<sup>-1</sup>; 2136 cm<sup>-1</sup>; 2033 cm<sup>-1</sup>; 1978 cm<sup>-1</sup>; 1530 cm<sup>-1</sup>; 1359 cm<sup>-1</sup>; 1054 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>11</sub>N<sub>4</sub>ClF<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 387.06189; nalezeno, 387.06171. Elementární analýza: vypočteno (%) C 53.92, H 2.62, N 13.24, Cl 16.75, F 13.47; nalezeno (%) C 51.60, H 2.96, N 12.18, Cl 16.46, F 13.53. Rozdíl proti teorii odpovídá kokrytalizaci produktu s ~ 1 molekulou vody.

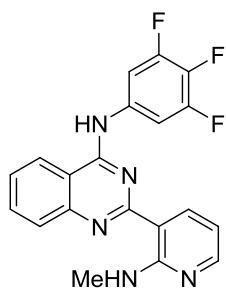
## 2-(2-(2-Methoxyethylamin)pyridin-3-yl)-N-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin (122).



2-(2-Chlorpyridin-3-yl)chinazolin **121** (170 mg, 0.39 mmol) byl rozpuštěn v nadbytku 2-methoxyethylaminu (5 ml) a roztok byl zahříván na 130 °C v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli po 3 h. Nadbytek aminu byl odstraněn několikanásobným odpařením s Toluem na RVO a pevný podíl byl chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 1 % MeOH). Vzhledem k tomu že izolovaný produkt stále obsahoval značné množství výchozího chloridu **121** a dalších nečistot, byla chromatografie zopakována s jinou eluční fází (hexan/Et<sub>2</sub>O 1:1), avšak produkt se stále nedařilo zcela oddělit od nečistot. Až krystalizace z acetonu poskytla volnou bázi produktu (50 mg, 18 %) jako nažloutlé krystalky. Látka byla charakterizována jako volná báze a pro potřeby testování byla převedena na

hydrochlorid působením 1 ekv. 4M HCl v dioxanu. Volná báze:  $T_f = 202\text{--}203\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  10.29 (bt,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 10.00 (bs, 1H), 8.51 (dd,  $J = 7.7, 2.0$  Hz, 1H), 8.43 (dd,  $J = 8.4, 0.9$  Hz, 1H), 8.15 (dd,  $J = 4.7, 2.0$  Hz, 1H), 7.90 (ddd,  $J = 8.3, 6.9, 1.3$  Hz, 1H), 7.84 (dd,  $J = 10.4, 6.5$  Hz, 2H), 7.80 (dd,  $J = 8.3, 0.9$  Hz, 1H), 7.62 (ddd,  $J = 8.0, 6.8, 1.1$  Hz, 1H), 6.65 (dd,  $J = 7.7, 4.7$  Hz, 1H), 3.69 (dd,  $J = 10.4, 5.2$  Hz, 2H), 3.60 (dd,  $J = 8.2, 2.9$  Hz, 2H), 3.38 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  158.9, 157.4, 156.8, 150.9 (dd,  $J = 9.9, 5.4$  Hz), 148.9 (dd,  $J = 10.0, 5.4$  Hz), 135.8–135.1 (m), 113.42, 113.26, 106.5–106.2 (m). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3814  $\text{cm}^{-1}$ ; 3628  $\text{cm}^{-1}$ ; 2266  $\text{cm}^{-1}$ ; 1739  $\text{cm}^{-1}$ ; 1658  $\text{cm}^{-1}$ ; 1546  $\text{cm}^{-1}$ ; 1423  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{ON}_5\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 426.15362; nalezeno, 426.15354.

**2-(2-(Methylamin)pyridin-3-yl)-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin (123).**

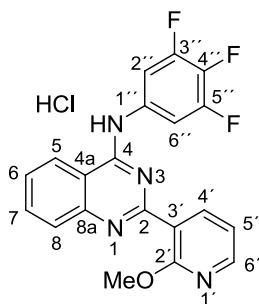


2-(2-Chlorpyridin-3-yl)chinazolin **121** (200 mg, 0.47 mmol) byl rozpuštěn v 33% roztoku methylaminu v absolutním EtOH (6 ml) a roztok byl zahříván na 100  $^\circ\text{C}$  v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli 16 h. Rozpouštědla i nabytek aminu byl odpařen na RVO a reakční směs byla dělena pomocí sloupcové chromatografie na  $\text{SiO}_2$  ( $\text{CHCl}_3$  + 5 % acetonu). Produkt se však nepodařilo izolovat v dostatečné čistotě, byl

tedy znovu přečištěn pomocí sloupcové chromatografie na  $\text{SiO}_2$  ( $\text{CHCl}_3$  + 1 % acetonu). Produkt byl získán jako volná báze (95 mg, 52 %).  $T_f$  nestanovena; dekompozice při  $T > 245\text{ }^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  9.96 (s, 1H), 9.81 (q,  $J = 4.6$  Hz, 1H), 8.48 (dd,  $J = 7.7, 1.9$  Hz, 1H), 8.39 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 8.16 (dd,  $J = 4.7, 1.9$  Hz, 1H), 7.91 (dd,  $J = 8.3, 1.1$  Hz, 1H), 7.87–7.84 (m, 1H), 7.80 (dd,  $J = 10.4, 6.5$  Hz, 2H), 7.59 (ddd,  $J = 8.2, 6.9, 1.3$  Hz, 1H), 6.61 (dd,  $J = 7.7, 4.7$  Hz, 1H), 3.02 (d,  $J = 4.8$  Hz, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz, DMSO-*d*6)  $\delta$  158.9, 158.1, 156.8, 150.9 (dd,  $J = 9.8, 5.4$  Hz), 150.4, 149.0–148.9 (m), 137.7, 135.6 (td,  $J = 12.0, 3.8$  Hz), 133.7, 127.8, 126.3, 122.8, 113.6, 113.2, 110.7, 106.5 (d,  $J = 24.3$  Hz), 27.8. IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3761  $\text{cm}^{-1}$ ; 3630  $\text{cm}^{-1}$ ; 2094  $\text{cm}^{-1}$ ; 1704  $\text{cm}^{-1}$ ; 1653  $\text{cm}^{-1}$ ; 1563  $\text{cm}^{-1}$ ; 1527  $\text{cm}^{-1}$ ; 1462  $\text{cm}^{-1}$ . HRMS-ESI ( $m/z$ ): vypočteno pro  $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{F}_3$  [ $\text{M}+\text{H}^+$ ], 382.12741; nalezeno, 382.12725.

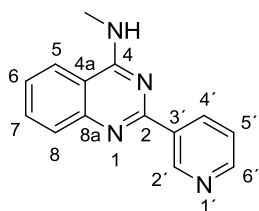
**2-(2-Methoxypyridin-3-yl)-*N*-(3,4,5-trifluorfenyl)chinazolin-4-amin hydrochlorid (124).**

2-(2-Chlorpyridin-3-yl)chinazolin **121** (250 mg, 0.59 mmol) byl rozpuštěn v roztoku čerstvě připraveného MeONa v MeOH (10 ml) a roztok byl zahříván na 100  $^\circ\text{C}$  v uzavřené silnostěnné skleněné ampuli 16 h. Rozpouštědla byla odpařena na RVO a pevný podíl byl



děleno pomocí sloupcové chromatografie na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem acetonu 0.2 → 2 %). Z komplikované směsi byla získána volná báze produktu (40 mg, 16 %). Produkt byl charakterizován jako volná báze, pro potřeby biologického testování byl malý vzorek převeden na hydrochlorid působením 1 ekv. 4M HCl v dioxanu. T<sub>i</sub> nestanovena, sublimuje při T > 200 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.54 (dm, J<sub>5-6</sub> = 8.4 Hz, 1H, 5); 8.32 (dd, J<sub>6'-5'</sub> = 4.9 Hz, J<sub>6'-4'</sub> = 2.0 Hz, 1H, 6'); 8.25 (dd, J<sub>4'-5'</sub> = 7.4 Hz, J<sub>4'-6'</sub> = 2.0 Hz, 1H, 4'); 8.17–8.24 (m, 2H, 2'); 7.92 (ddd, J<sub>7-8</sub> = 8.4 Hz, J<sub>7-6</sub> = 6.4 Hz, J<sub>7-5</sub> = 1.3 Hz, 1H, 7); 7.89 (bdd, J<sub>8-7</sub> = 8.4 Hz, J<sub>8-6</sub> = 1.8 Hz, 1H, 8); 7.70 (ddd, J<sub>6-5</sub> = 8.4 Hz, J<sub>6-7</sub> = 6.4 Hz, J<sub>6-8</sub> = 1.8 Hz, 1H, 6); 7.16 (dd, J<sub>5'-4'</sub> = 7.4 Hz, J<sub>5'-6'</sub> = 4.9 Hz, 1H, 5'); 4.01 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 161.2 (2'); 159.0 (2); 157.0 (4); 150.6 (8a); 150.0 (ddd, J<sub>C-F</sub> = 242.4, 10.1, 5.8 Hz, 3'); 148.0 (6'); 140.5 (4'); 136.1 (td, J<sub>C-F</sub> = 12.5, 3.5 Hz, 1'); 134.6 (dt, J<sub>C-F</sub> = 244.5, 15.7 Hz, 4'); 133.7 (7); 128.4 (8); 126.8 (6); 122.9 (5); 122.7 (3'); 117.5'2 (5'); 113.5 (4a); 105.3 (bd, J<sub>C-F</sub> = 25.2 Hz, 2'); 53.4 (OCH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2834 cm<sup>-1</sup>; 2374 cm<sup>-1</sup>; 2191 cm<sup>-1</sup>; 2046 cm<sup>-1</sup>; 1995 cm<sup>-1</sup>; 1835 cm<sup>-1</sup>; 1526 cm<sup>-1</sup>; 1513 cm<sup>-1</sup>. HRMS-EI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>OF<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 383.1120; nalezeno, 383.1121. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 57.36, H 3.37, N 13.38, Cl 8.46; nalezeno (%) C 55.38, H 3.84, N 11.82, Cl 9.33.

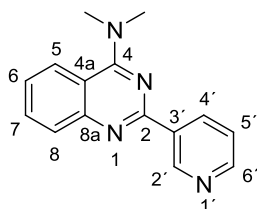
#### **N-Methyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (125).**



Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s nadbytkem 33% roztoku methylaminu **A33** v absolutním EtOH (3 ml) byla míchána při 25 °C 48 hod. Poté byl přebytek aminu odstraněn na RVO a surový produkt byl chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 2 % MeOH). Byla získána volná báze produktu (189 mg, 96 %) jako bílý prášek. Produkt byl charakterizován jako volná báze; pro potřebu testování byla část vzorku převedena na hydrochlorid pomocí nadbytku 4M HCl v dioxanu. Volná báze: T<sub>i</sub> = 189–192 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.63 (bd, J<sub>2'-4'</sub> = 2.1 Hz, 1H, 2'); 8.76 (dt, J<sub>4'-5'</sub> = 7.9 Hz, J<sub>4'-6'</sub> = J<sub>4'-2'</sub> = 2.0 Hz, 1H, 4'); 8.68 (dd, J<sub>6'-5'</sub> = 4.7 Hz, J<sub>6'-4'</sub> = 1.7 Hz, 1H, 6'); 8.45 (bq, J<sub>NH-CH<sub>3</sub></sub> = 4.6 Hz, 1H, NH); 8.22 (m, 1H, 5); 7.77–7.80 (m, 2H, 7 a 8); 7.50–7.54 (m, 2H, 6 a 5'); 3.16 (d, J<sub>CH<sub>3</sub>-NH</sub> = 4.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 160.3 (4); 158.0 (2); 150.9 (6'); 149.6 (8a); 149.4 (2'); 135.3 (4'); 134.1 (3'); 132.9 (7); 128.0 (8); 125.9 (6); 123.6 (5'); 122.8 (5); 114.3 (4a); 27.8 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2480 cm<sup>-1</sup>; 2354 cm<sup>-1</sup>; 2236 cm<sup>-1</sup>; 2190 cm<sup>-1</sup>; 2164 cm<sup>-1</sup>; 2005 cm<sup>-1</sup>; 1970 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 237.11347; nalezeno 237.11335.

Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 61.65, H 4.80, N 20.54, Cl 13.00; nalezeno (%) C 57.16, H 4.94, N 18.85, Cl 18.23. Po zpětném přepočtu odpovídá seskvihydrochloridu.

***N,N*-Dimethyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (126).** Do 2M roztoku dimethylaminu



**A34** v THF (3 ml, 6 mmol) byl v jedné dávce přidán 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin **4b** (185 mg, 0.77 mmol) a reakční směs byla míchána při RT. Po 2 hod. byla reakce dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) kompletní. Rozpouštědlo a nadbytek aminu byl odpařen na RVO a

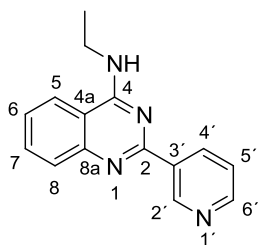
surový produkt byl chromatografován na koloně SiO<sub>2</sub> (Toluen + 1% MeOH). Byla získána volná báze (154 mg, 80 %) jako bílý prášek. Produkt byl charakterizován jako volná báze; pro potřebu testování byla část vzorku převedena na hydrochlorid pomocí nadbytku konc. HCl.

Volná báze:  $T_f = 149\text{--}151\text{ }^\circ\text{C}$ . <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.67 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.3\text{ Hz}$ ,  $J_{2'-5'} = 0.7\text{ Hz}$ , 1H, 2'); 9.09 (dm,  $J_{4'-5'} = 8.1\text{ Hz}$ , 1H, 4'); 8.96 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.1\text{ Hz}$ ,  $J_{6'-4'} = 1.6\text{ Hz}$ , 1H, 6'); 8.41 (dm,  $J_{5-6} = 8.5\text{ Hz}$ , 1H, 5); 8.34 (dm,  $J_{8-7} = 8.5\text{ Hz}$ , 1H, 8); 8.02 (ddd,  $J_{7-8} = 8.4\text{ Hz}$ ,  $J_{7-6} = 7.1\text{ Hz}$ ,  $J_{7-5} = 1.3\text{ Hz}$ , 1H, 7); 7.88 (ddd,  $J_{5'-4'} = 8.2\text{ Hz}$ ,  $J_{5'-6'} = 5.1\text{ Hz}$ ,  $J_{5'-2'} = 0.6\text{ Hz}$ , 1H, 5'); 7.70 (ddd,  $J_{6-5} = 8.5\text{ Hz}$ ,  $J_{6-7} = 7.1\text{ Hz}$ ,  $J_{6-8} = 1.3\text{ Hz}$ , 1H, 6); 3.67 (s, 6H, CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  161.3 (4); 152.8 (2); 150.6 (6'); 147.8 (2'); 142.6 (8a); 139.6 (4'); 135.2 (7); 129.2 (3'); 127.9 (5); 127.0 (6); 125.1 (5'); 120.8 (8); 112.5 (4a); 42.8 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2370 cm<sup>-1</sup>; 2331 cm<sup>-1</sup>; 2258 cm<sup>-1</sup>; 2190 cm<sup>-1</sup>; 1974 cm<sup>-1</sup>; 1926 cm<sup>-1</sup>.

HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 251.12912; nalezeno 251.12902. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 55.74, H 4.99, N 17.33, Cl 21.94; nalezeno (%) C 53.95, H 5.27, N 16.33, Cl 21.06. Po zpětném přepočtu odpovídá dihydrochloridu.

***N*-Ethyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (127).** Reakce 4-chlor-2-(pyridin-3-

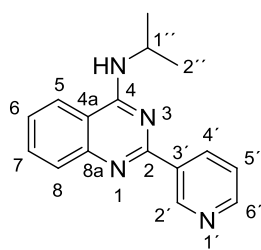


yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s nadbytkem 70% vodného roztoku ethylaminu **A35** (4 ml) byla míchána při 25 °C 3 hod. Poté byl přebytek aminu odstraněn na RVO a surový produkt byl chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 2 % MeOH). Byla získána volná báze produktu (202 mg, 97 %) jako bílý prášek. Produkt

byl charakterizován jako volná báze; pro potřebu testování byla část vzorku převedena na hydrochlorid pomocí nadbytku konc. HCl. Volná báze:  $T_f = 167\text{--}170\text{ }^\circ\text{C}$ . <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  9.60 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.2\text{ Hz}$ ,  $J_{2'-5'} = 0.9\text{ Hz}$ , 1H, 2'); 8.74 (ddd,  $J_{4'-5'} = 7.9\text{ Hz}$ ,  $J_{4'-2'} =$

2.2 Hz,  $J_{4'-6'} = 1.8$  Hz, 1H, 4'); 8.67 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.8$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 1H, 6'); 8.42 (bt,  $J_{\text{NH-CH}_2} = 5.4$  Hz, 1H, NH); 8.26 (dt,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz,  $J_{5-7} = J_{5-8} = 1.0$  Hz, 1H, 5); 7.74–7.82 (m, 2H, 7 a 8); 7.53 (ddd,  $J_{5'-4'} = 7.9$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.8$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 7.50 (m, 1H, 6); 3.72 (qd,  $J_{\text{CH}_2\text{-CH}_3} = 7.2$  Hz,  $J_{\text{CH}_2\text{-NH}} = 5.4$  Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.32 (t,  $J_{\text{CH}_3\text{-CH}_2} = 7.2$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.7 (4); 158.0 (2); 150.9 (6'); 149.8 (8a); 149.4 (2'); 135.2 (4'); 134.2 (3'); 133.0 (7); 128.0 (8); 125.8 (6); 123.6 (5'); 122.9 (5); 114.2 (4a); 35.7 (NHCH<sub>2</sub>); 14.4 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2496 cm<sup>-1</sup>; 2236 cm<sup>-1</sup>; 2184 cm<sup>-1</sup>; 2041 cm<sup>-1</sup>; 1978 cm<sup>-1</sup>; 1965 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 251.12912; nalezeno 251.12905. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 62.83, H 5.27, N 19.54, Cl 12.36; nalezeno (%) C 58.08, H 5.15, N 17.90, Cl 17.06. Po zpětném přepočtu odpovídá seskvihydrochloridu.

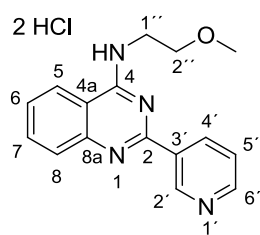
**N-Isopropyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (128).** Do baňky, ve které byl navážen



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin **4b** (200 mg, 0.83 mmol), byl skrz septum v jedné dávce přidán nadbytek isopropylaminu **A36** (3 ml). Po zhruba 15 min míchání se reakční směs rozpustila a dle TLC (CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH) již nebyl přítomen výchozí chlorid. Nadbytek aminu byl odstraněn na RVO a po následné chromatografii na sloupci SiO<sub>2</sub>

(CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 0 → 5 %) byl získán produkt (110 mg, 50 %) jako bílý prášek. Produkt byl charakterizován jako volná báze; pro potřeby testování byl vzorek volné báze převeden na hydrochlorid nadbytkem konc. HCl. Volná báze:  $T_f = 139\text{--}142$  °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.59 (dd,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.9$  Hz, 1H, 2'); 8.73 (ddd,  $J_{4'-5'} = 7.9$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.7$  Hz, 1H, 4'); 8.67 (dd,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 1H, 6'); 8.35 (dm,  $J_{5-6} = 8.3$  Hz, 1H, 5); 8.07 (bd,  $J_{\text{NH-1}''} = 7.5$  Hz, 1H, NH); 7.76–7.80 (m, 2H, 7 a 8); 7.53 (ddd,  $J_{5'-4'} = 7.9$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.7$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 1H, 5'); 7.50 (m, 1H, 6); 4.70 (m, 1H, 1'); 1.35 (d,  $J_{2''-1''} = 6.6$  Hz, 6H, 2''). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.1 (4); 158.0 (2); 150.9 (6'); 149.9 (8a); 149.4 (2'); 135.2 (4'); 134.2 (3'); 133.0 (7); 128.0 (8); 125.7 (6); 123.7 (5'); 123.2 (5); 114.2 (4a); 42.6 (1'); 22.1 (2''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2372 cm<sup>-1</sup>; 2207 cm<sup>-1</sup>; 2191 cm<sup>-1</sup>; 2027 cm<sup>-1</sup>; 1592 cm<sup>-1</sup>; 1576 cm<sup>-1</sup>; 1535 cm<sup>-1</sup>; 1370 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 265.14477; nalezeno 265.14476. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 56.98, H 5.38, N 16.61, Cl 21.02; nalezeno (%) C 55.79, H 5.59, N 15.30, Cl 22.13. Po zpětném přepočtu odpovídá dihydrochloridu. Rozdíl oproti teorii odpovídá ~ 2.15 ekv. HCl.

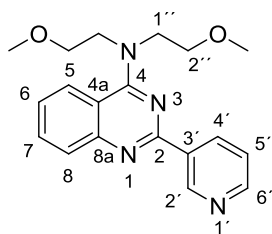
***N*-(2-Methoxyethyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin dihydrochlorid (129).** Reakce



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) s nadbytkem 2-methoxyethylaminu **A37** (4 ml) byla míchána při 25 °C 48 hod. Poté byl přebytek aminu odstraněn na RVO a surový produkt byl chromatografován na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub>). Izolovaná volná báze byla převedena na sůl nadbytkem konc. HCl a dihydrochlorid (164

mg, 56 %) byl získán jako šedý prášek. *T*<sub>t</sub> = 110–150 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.38 (bs, 1H, NH); 9.66 (bd, *J*<sub>2'-4'</sub> = 2.3 Hz, 1H, 2'); 9.10 (dm, *J*<sub>4'-5'</sub> = 8.1 Hz, 1H, 4'); 8.97 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 5.1 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.6 Hz, 1H, 6'); 8.67 (dm, *J*<sub>5-6</sub> = 8.5 Hz, 1H, 5); 8.29 (bd, *J*<sub>8-7</sub> = 8.4 Hz, 1H, 8); 8.03 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.5 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 7.1 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.3 Hz, 1H, 7); 7.91 (dd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 8.1 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 5.1 Hz, 1H, 5'); 7.76 (ddd, *J*<sub>6-5</sub> = 8.3 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 7.1 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.2 Hz, 1H, 6); 4.00 (q, *J*<sub>1''-2''</sub> = *J*<sub>1''-NH</sub> = 5.6 Hz, 2H, 1''); 3.73 (t, *J*<sub>2''-1''</sub> = 5.6 Hz, 2H, 2''); 3.31 (s, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 160.4 (4); 155.2 (2); 150.5 (6'); 147.4 (2'); 141.1 (8a); 139.8 (4'); 135.7 (7); 130.2 (3'); 128.3 (6); 125.2 (5'); 124.4 (5); 121.5 (8); 112.9 (4a); 69.7 (2''); 58.2 (OCH<sub>3</sub>); 41.6 (1'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2344 cm<sup>-1</sup>; 2199 cm<sup>-1</sup>; 2181 cm<sup>-1</sup>; 2041 cm<sup>-1</sup>; 2024 cm<sup>-1</sup>; 1991 cm<sup>-1</sup>; 1962 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (*m/z*): vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>ON<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 281.13969; nalezeno 281.13965. Elementární analýza: vypočteno (%) C 54.40, H 5.14, N 15.86, Cl 20.07; nalezeno (%) C 53.84; H 5.45, N 15.25, Cl 17.27.

***N,N*-Bis(2-methoxyethyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (130).** Do nadbytku



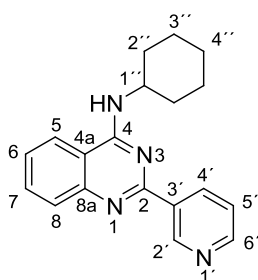
bis(2-methoxyethyl)aminu **A38** (4 ml) byl v jedné dávce přidán 4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolin **4b** (200 mg, 0.83 mmol). Reakční směs byla míchána při 40 °C po dobu 3 hod. Poté byla rozpouštědla odpařena na RVO a surový produkt byl chromatografován na koloně SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 1 % → 3 %). Po odpaření

rozpouštědel byl získán produkt (163 mg, 58 %) jako medovitá kapalina, která stáním při 25 °C po čase zkrystalizovala. Produkt byl charakterizován jako volná báze; pro potřeby testování byla část produktu převedena na hydrochlorid působením nadbytku 4M roztoku HCl v dioxanu. Volná báze: *T*<sub>t</sub> = 36–37 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.56 (dd, *J*<sub>2'-4'</sub> = 2.2 Hz, *J*<sub>2'-5'</sub> = 0.9 Hz, 1H, 2'); 8.70 (ddd, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>4'-2'</sub> = 2.2 Hz, *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 4'); 8.68 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 6'); 8.24 (ddd, *J*<sub>5-6</sub> = 8.5 Hz, *J*<sub>5-7</sub> = 1.3 Hz, *J*<sub>5-8</sub> = 0.6 Hz, 1H, 5); 7.86 (ddd, *J*<sub>8-7</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>8-6</sub> = 1.5 Hz, *J*<sub>8-5</sub> = 0.5 Hz, 1H, 8); 7.80 (ddd, *J*<sub>7-8</sub> = 8.4 Hz, *J*<sub>7-6</sub> = 6.8 Hz, *J*<sub>7-5</sub> = 1.3 Hz, 1H, 7); 7.55 (ddd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>5'-2'</sub> = 0.9 Hz, 1H, 5'); 7.50 (ddd, *J*<sub>6-4</sub> = 8.5 Hz, *J*<sub>6-7</sub> = 6.8 Hz, *J*<sub>6-8</sub> = 1.5 Hz, 1H, 6); 4.03 (t, *J*<sub>1''-2''</sub> =



5.8 Hz, 4H, 1''); 3.79 (t,  $J_{2''-1''} = 5.8$  Hz, 4H, 2''); 3.31 (s, 6H, 2 × OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 162.6 (4); 156.3 (2); 152.4 (8a); 151.06 (6'); 149.4 (2'); 135.3 (4'); 133.8 (3'); 132.9 (7); 128.5 (8); 125.8 (5); 125.4 (6); 123.8 (5'); 114.7 (4a); 70.0 (2''); 58.6 (OCH<sub>3</sub>); 51.4 (1''). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3851 cm<sup>-1</sup>; 3764 cm<sup>-1</sup>; 2374 cm<sup>-1</sup>; 2188 cm<sup>-1</sup>; 2031 cm<sup>-1</sup>; 1989 cm<sup>-1</sup>; 1564 cm<sup>-1</sup>; 1525 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 339.18155; nalezeno, 339.18139. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 60.88, H 6.18, N 14.95, Cl 9.46; nalezeno (%) C 55.90, H 6.27, N 13.29, Cl 13.80. Po zpětném přepočtu odpovídá 1.5 ekv. HCl.

***N*-Cyklohexyl-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (131).** Do roztoku 4-chlor-2-(pyridin-3-

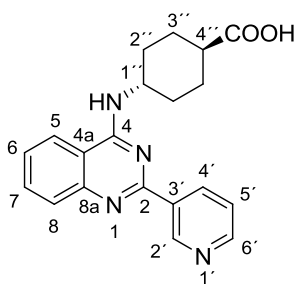


yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) v DMF byl přidán cyclohexylamin **A39** (105  $\mu$ l, 0.91 mmol) v jedné dávce a reakční směs byla míchána při 25°C 24 hod., do vymizení výchozího chloridu (TLC, CHCl<sub>3</sub> + 10 % MeOH). Přídavkem 1 kapky 10% vodného roztoku NaOH byla z reakční směsi odstraněna HCl vznikající během reakce.

Chromatografie na slupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem MeOH 1  $\rightarrow$  10 %)

a následná krystalizace z MeOH poskytla produkt (185 mg, 73 %) jako bílé jehlice. Produkt byl charakterizován jako volná báze; pro potřeby testování byla část produktu převedena na hydrochlorid působením nadbytku 4M roztoku HCl v dioxanu. Volná báze:  $T_f = 145\text{--}149$  °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.58 (dd, 1H,  $J_{2'-4'} = 2.2$  Hz,  $J_{2'-5'} = 0.9$  Hz, 2'); 8.72 (ddd, 1H,  $J_{4'-5'} = 8.0$  Hz,  $J_{4'-2'} = 2.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = 1.7$  Hz, 4'); 8.67 (dd, 1H,  $J_{6'-5'} = 4.7$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.7$  Hz, 6'); 8.38 (m, 1H, 5); 8.07 (bd, 1H,  $J_{\text{NH}-1''} = 7.5$  Hz, NH); 7.75–7.78 (m, 2H, 7 a 8); 7.53 (ddd, 1H,  $J_{5'-4'} = 8.0$  Hz,  $J_{5'-6'} = 4.7$  Hz,  $J_{5'-2'} = 0.9$  Hz, 5'); 7.50 (m, 1H, 6); 4.34 (m, 1H, 1'); 2.06 (m, 2H, 2'' a 6a''); 1.82 (m, 2H, 3'' a 5a''); 1.70 (m, 1H, 4a''); 1.34–1.49 (m, 4H, 2'', 3'', 5'' a 6b''); 1.23 (m, 1H, 4b''). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 159.1 (4); 157.9 (8a); 150.9 (6'); 150.0 (2); 149.4 (2'); 135.2 (4'); 134.2 (3'); 133.0 (7); 128.0 (8); 125.7 (6); 123.7 (5'); 123.3 (5); 114.2 (4a); 50.1 (1'); 32.2 (2''); 25.3 (3''); 24.0 (4'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3758 cm<sup>-1</sup>; 3661 cm<sup>-1</sup>; 2186 cm<sup>-1</sup>; 2022 cm<sup>-1</sup>; 1982 cm<sup>-1</sup>; 1659 cm<sup>-1</sup>; 1564 cm<sup>-1</sup>; 1512 cm<sup>-1</sup>; 1462 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 305.1761; nalezeno, 305.1759. Elementární analýza hydrochloridu: vypočteno (%) C 66.95, H 6.21, N 16.44, Cl 10.40; nalezeno C 63.32, H 6.47, N 14.84, Cl 10.81. Po zpětném přepočtu odpovídá kokrystalizaci hydrochloridu produktu s ~ 1 molekulou vody.

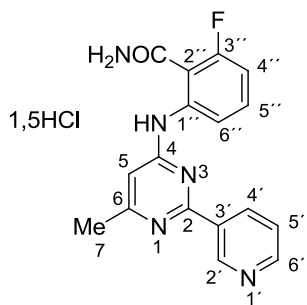
***N*-((1*r*,4*r*)-4-Karboxycyklohexyl)-2-(pyridin-3-yl)chinazolin-4-amin (132).** Suspenze



4-chlor-2-(pyridin-3-yl)chinazolinu **4b** (200 mg, 0.83 mmol) a (1*r*,4*r*)-4-aminocyklohexankarboxylové kyseliny **A40** (130 mg, 0.91 mmol) v DMF (6 ml) byla rozpuštěna zahříváním na 100 °C. Po rozpuštění byla vzniklá reakční směs za míchání zahřívána dalších 16 hod. Po ochladnutí byl do reakční směsi přidán 1 ekv. Et<sub>3</sub>N (117 μl, 0.83 mmol) a po odpaření rozpouštědel na RVO byla

reakční směs dělena sloupcovou chromatografií na SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> s gradientem 0 → 5 % MeOH). Z velmi komplikované směsi látek byl získán produkt (33 mg, 11 %) ve formě bílého prášku. Produkt byl charakterizován jako volná báze; pro potřeby testování byla část produktu převedena na hydrochlorid působením 1 ekv. 4M roztoku HCl v dioxanu. T<sub>f</sub> = 110–135 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.58 (dd, *J*<sub>2'-4'</sub> = 2.2 Hz, *J*<sub>2'-5'</sub> = 0.8 Hz, 1H, 2'); 8.72 (dt, *J*<sub>4'-5'</sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>4'-2'</sub> = *J*<sub>4'-6'</sub> = 2.0 Hz, 1H, 4'); 8.67 (dd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 4.7 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 6'); 8.41 (dm, *J*<sub>5-6</sub> = 8.3 Hz, 1H, 5); 8.02 (bd, *J*<sub>NH-1''</sub> = 7.2 Hz, 1H, NH); 7.76–7.78 (m, 2H, 7 a 8); 7.54 (ddd, *J*<sub>5'-4'</sub> = 7.9 Hz, *J*<sub>5'-6'</sub> = 4.8 Hz, *J*<sub>5'-2'</sub> = 0.9 Hz, 1H, 5'); 7.49 (m, 1H, 6); 4.41 (m, 1H, 1''); 2.57 (m, 1H, 4'); 2.11 (m, 2H, 3''a); 1.88 (m, 2H, 2''a); 1.66–1.78 (m, 4H, 2''b a 3''b). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 177.1 (COOH); 159.2 (4); 157.9 (2); 150.9 (6'); 150.0 (8a); 149.4 (2'); 135.2 (4'); 134.2 (3'); 133.0 (7); 127.9 (8); 125.6 (6); 123.7 (5'); 123.4 (5); 114.2 (4a); 49.0 (1''); 38.9 (4'); 28.7 (2''); 25.9 (3'). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3757 cm<sup>-1</sup>; 3660 cm<sup>-1</sup>; 2194 cm<sup>-1</sup>; 2160 cm<sup>-1</sup>; 2017 cm<sup>-1</sup>; 1722 cm<sup>-1</sup>; 1703 cm<sup>-1</sup>; 1563 cm<sup>-1</sup>; 1546 cm<sup>-1</sup>. HRMS–ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>O<sub>2</sub>N<sub>4</sub> [M+H<sup>+</sup>], 349.16590; nalezeno 349.16581.

***N*-(3-Fluor-2-karbamoylfenyl)-6-methyl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin-4-amin seskvihydrochlorid (133).** 4-Chlor-6-methyl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin **53** (175 mg, 0.86 mmol)

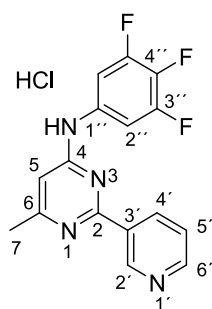


reagoval s 2-amino-6-fluorbenzamidem **A6** (185 mg, 1.18 mmol) v EtOH (6.0 ml) s přidavkem 2 kapek konc. HCl. Ke vzniklé sraženině byl přidán nadbytek vodného NH<sub>3</sub> (25%, 1 ml) pro neutralizaci HCl vznikající během reakce, a poté byla z reakční směsi odpařena rozpouštědla na RVO. Po chromatografii na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 2 % MeOH) a odpaření rozpouštědel byla získána

volná báze, která byla převedena na hydrochlorid pomocí 1 kapky konc. HCl. Byl získán produkt (167 mg, 54 %) ve formě okrového prášku. T<sub>f</sub> = 125–185 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.13 (bs, 1H, NH); 9.42 (bd, *J*<sub>2'-4'</sub> = 1.9 Hz, 1H, 2'); 9.01 (dt, *J*<sub>4'-5'</sub> = 8.2 Hz, *J*<sub>4'-2'</sub> = *J*<sub>4'-6'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 4'); 8.95 (bdd, *J*<sub>6'-5'</sub> = 5.4 Hz, *J*<sub>6'-4'</sub> = 1.8 Hz, 1H, 6'); 8.02 (bs, 1H,

CONH<sub>2</sub>); 7.98 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.2$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.4$  Hz, 1H, 5'); 7.81 (bs, 1H, CONH<sub>2</sub>); 7.67 (bd,  $J_{6''-5''} = 8.2$  Hz, 1H, 6''); 7.53 (td,  $J_{5''-4''} = J_{5''-6''} = 8.3$  Hz,  $J_{5''-F} = 6.4$  Hz, 1H, 5''); 7.16 (ddd,  $J_{4''-F} = 9.7$  Hz,  $J_{4''-5''} = 8.4$  Hz,  $J_{4''-6''} = 1.0$  Hz, 1H, 4''); 6.84 (q,  $J_{5-7} = 0.8$  Hz, 1H, 5); 2.73 (d,  $J_{7-5} = 0.7$  Hz, 3H, 7). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 164.8 (CO); 163.8 (6); 161.5 (4); 159.4 (d,  $J_{C-F} = 246.5$  Hz, 3''); 158.0 (2); 146.4 (6'); 144.2 (2'); 141.2 (4'); 137.4 (d,  $J_{C-F} = 5.1$  Hz, 1''); 133.9 (3'); 131.2 (d,  $J_{C-F} = 10.0$  Hz, 5''); 126.3 (5'); 120.9 (6''); 119.7 (d,  $J_{C-F} = 13.6$  Hz, 2''); 112.4 (d,  $J_{C-F} = 22.5$  Hz, 4''); 105.1 (5); 22.6 (7). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3759 cm<sup>-1</sup>; 2538 cm<sup>-1</sup>; 2104 cm<sup>-1</sup>; 2039 cm<sup>-1</sup>; 1707 cm<sup>-1</sup>; 1527 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>17</sub>H<sub>15</sub>ON<sub>5</sub>F [M+H<sup>+</sup>], 324.12551; nalezeno 324.12561. vypočteno (%) C 54.01, H 4.13, Cl 14.07, N 18.53; nalezeno (%) C 51.01, H 4.58, N 16.58, Cl 11.86. Rozdíl oproti teorii odpovídá kokrytalizaci produktu s ~ 1 molekulou H<sub>2</sub>O.

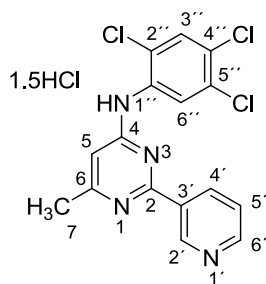
### 6-Methyl-2-(pyridin-3-yl)-N-(3,4,5-trifluorfenyl)pyrimidin-4-amin hydrochlorid (134).



4-Chloro-6-methyl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidin **53** (200 mg, 0.98 mmol) reagoval s 3,4,5-trofluoranilinem **A21** (161 mg, 1.1 mmol) v EtOH (6.0 ml) s přidavkem 2 kapek konc. HCl. Ke vzniklé sraženině byl přidán nadbytek vodného NH<sub>3</sub> (25%, 1 ml) pro neutralizaci HCl vznikající během reakce, a poté byla z reakční směsi odpařena rozpouštědla na RVO. Po chromatografii na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub> + 3 % MeOH) a odpaření rozpouštědel byla získána volná báze, která byla převedena na hydrochlorid pomocí 1 ekv. 4M CHI v dioxanu. Byl získán produkt (194 mg, 50 %) ve formě nažloutlého prášku. T<sub>i</sub> = nestanovena, sublimuje při T > 220 °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 9.56 (d,  $J_{2'-4'} = 1.5$  Hz, 1H, 2'); 9.27 (dt,  $J_{4'-5'} = 8.2$  Hz,  $J_{4'-6'} = J_{4'-2'} = 1.7$  Hz, 1H, 4'); 8.97 (dd,  $J_{6'-5'} = 5.6$  Hz,  $J_{6'-4'} = 1.1$  Hz, 1H, 6'); 8.16 (dd,  $J_{5'-4'} = 8.2$  Hz,  $J_{5'-6'} = 5.6$  Hz, 1H, 5'); 7.51–7.60 (m, 2H, 2'' a 6''); 6.78 (bq,  $J_{5-7} = 0.8$  Hz, 1H, 5); 2.55 (d,  $J_{7-5} = 0.8$  Hz, 1H, 7). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 165.7 (6); 162.6 (4); 159.2 (2); 152.3 (ddd,  $J_{C-F} = 245.9, 10.4$  a 5.3 Hz, 3''); 145.8 (6'); 144.4 (4'); 144.1 (2'); 137.2 (dt,  $J_{C-F} = 245.6$  a 15.5 Hz, 4''); 137.0 (3'); 136.5 (bt,  $J_{C-F} = 11.6$  Hz, 4'); 137.0 (3'); 136.5 (bt,  $J_{C-F} = 11.6$  Hz, 1'); 128.1 (5'); 106.9 (5); 106.2 (d,  $J_{C-F} = 24.8$  Hz, 2''); 22.8 (7). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  2351 cm<sup>-1</sup>; 2204 cm<sup>-1</sup>; 2054 cm<sup>-1</sup>; 1961 cm<sup>-1</sup>; 1643 cm<sup>-1</sup>; 1518 cm<sup>-1</sup>; 1445 cm<sup>-1</sup>; 1207 cm<sup>-1</sup>; 1051 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>F [M+H<sup>+</sup>], 317.10086; nalezeno, 317.10077. Elementární analýza: vypočteno (%) C 54.48, H 3.43, N 15.88, F 16.16, Cl 10.05; nalezeno (%) C 53.94, H 3.47, N 15.35, F 14.32, Cl 11.19.

### 6-Methyl-2-(pyridin-3-yl)-N-(2,4,5-trichlorfenyl)pyrimidin-4-amin seskvihydrochlorid

(135). Reakce 4-chlor-6-methyl-2-(pyridin-3-yl)pyrimidinu **53** (200 mg, 0.98 mmol)



s 2,4,5-trichloranilinem **A30** (216 mg, 1.1 mmol) a *t*-BuOK (215 mg, 2.20 mmol) v THF (6.0 ml) byla dle TLC (CHCl<sub>3</sub>) příliš pomalá. Reakční směs byla tedy zahřívána na 80 °C po dobu 16 hod, ale i takto byla konverze velmi nízká. K posunutí rovnováhy ve prospěch produktu byl tedy přidán další 2,4,5-trichloranilin (216 mg, 1.1 mmol) a reakce byla opět přivedena k refluxu. Po dalších 48 hod. bylo

z reakční směsi odstraněno rozpouštědlo a po chromatografii na sloupci SiO<sub>2</sub> (CHCl<sub>3</sub>) byl získána volná báze produktu, která byla ještě rekrystalizována z CHCl<sub>3</sub>. Následný přídavek nadbytku konc. HCl (1 kapka) poskytl produkt (117 mg, 22 %) jako žlutý prášek.  $T_f = 224\text{--}226$  °C. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 10.12 (bs, 1H, NH); 9.35 (d,  $J_{2'-4'}$  = 2.0 Hz, 1H, 2'); 8.98 (dt,  $J_{4'-5'}$  = 8.1 Hz,  $J_{4'-2'}$  =  $J_{4'-6'}$  = 1.8 Hz, 1H, 4'); 8.97 (dd,  $J_{6'-5'}$  = 5.5 Hz,  $J_{6'-4'}$  = 1.5 Hz, 1H, 6'); 8.19 (s, 1H, 6''); 8.04 (dd,  $J_{5'-4'}$  = 8.1 Hz,  $J_{5'-6'}$  = 5.5 Hz, 1H, 5'); 7.98 (s, 1H, 5); 2.49 (d,  $J_{\text{CH}_3-5}$  = 0.5 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 164.9 (6); 161.2 (4); 158.0 (2); 145.7 (6'); 143.1 (2'); 141.7 (4'); 135.6 (1''); 134.6 (3'); 131.1 (3''); 127.9 (6'', nebo 4'', nebo 2''), 127.7 (6'', nebo 4'', nebo 2''), 127.4 (6'', nebo 4'', nebo 2''), 126.7 (5'); 105.3 (5); 23.06 (CH<sub>3</sub>). IR (ATR)  $\tilde{\nu}$  3702 cm<sup>-1</sup>; 2244 cm<sup>-1</sup>; 2156 cm<sup>-1</sup>; 2083 cm<sup>-1</sup>; 2037 cm<sup>-1</sup>; 1953 cm<sup>-1</sup>; 1525 cm<sup>-1</sup>. HRMS-ESI (m/z): vypočteno pro C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>Cl<sub>3</sub> [M+H<sup>+</sup>], 365.01221; nalezeno, 365.01212. Elementární analýza: vypočteno (%) C 45.72, H 3.00, N 13.33, Cl 37.95; nalezeno (%) C 43.18, H 2.80, N 12.25, Cl 36.94. Rozdíl oproti teorii odpovídá kokrystalizaci produktu s ~ 1 molekulou H<sub>2</sub>O.

## Závěr

Tato práce se zabývala přípravou derivátů chinazolin-4-aminu, jakožto inhibitorů výstavby virové kapsidy HIV-1. Na základě vyhodnocení výsledků biochemického testování aktivity těchto látek (ve smyslu inhibice výstavby kapsidy) byly navrhovány strukturní modifikace za účelem získání nových kandidátů. Taktéž bylo vyvinuto úsilí o zlepšení obecně nízké rozpustnosti těchto sloučenin. Dosažené výsledky shrnují tyto body:

- a) Byla rozšířena knihovna derivátů chinazolin-4-aminů o sedm sérií čítajících dohromady 68 látek. Dále byly připraveny také tři deriváty odvozené od 6-methylpyrimidin-4-aminu.
- b) Podrobně byla prozkoumána série derivátů nesoucí fluorbenzenové substituenty na dusíku v poloze 4, mezi nimiž byly nalezeny látky se zvýšenou aktivitou v AlphaScreen testu. Aktivita některých těchto sloučenin byla potvrzena také pomocí virologického testu, kde se jejich virostatická aktivita, vyjádřená jako hodnota  $IC_{50}$ , pohybovala v jednotkách  $\mu\text{mol/l}$ . Jako příklady lze uvést amidový derivát **67**, a trifluorbenzenové deriváty **84** a **85**.
- c) Na základě výsledků derivátů chinazolin-4-aminů s fluorbenzenovými substituenty na dusíku v poloze 4 byly připraveny také chlor- a bromderiváty, které v AlphaScreen testu vykazovaly až o řád lepší aktivitu (v jednotkách  $\mu\text{mol/l}$ ), než jejich fluorové analogy. Jednalo se zejména o bromderiváty **94** a **95**, a také o trichlorderiváty **92** a **93**, které však částečně interagovaly s AlphaScreen testem, pročež je nutné jejich výsledky brát s rezervou.
- d) Ve snaze o zvýšení rozpustnosti připravovaných látek byly učiněny pokusy o zavedení polárních funkčních skupin do různých částí molekuly. V naprosté většině případů tento způsob modifikace vedl ke snížení, či naprosté ztrátě aktivity a poněkud paradoxně se rozpustnost obvykle zhoršila. Světlou výjimkou je katecholový derivát **114**, který vykazuje jak vyšší rozpustnost, tak i poněkud zlepšenou aktivitu v AlphaScreen testu.

- e) Dále se autor pokusil zvýšit rozpustnost prostřednictvím deplanarazice molekuly – zavedením 2-methylpyridinového substituentu do polohy 2 chinazolinu. Tento přístup se osvědčil pouze v případě derivátu **117**, u kterého se podařilo poněkud zvýšit rozpustnost při zachování srovnatelné aktivity (v porovnání s derivátem **84**).
  
- f) Výrazného zlepšení rozpustnosti bylo dosaženo, pokud byl aromát na dusíku v poloze 4 chinazolinu nahrazen alifatickým zbytkem. Zároveň však tato modifikace vedla k úplné ztrátě aktivity v AlphaScreen testu. Toto pozorování zároveň dokazuje nutnost přítomnosti aromatického substituentu na dusíku v poloze 4.
  
- g) Poslední prozkoumaná možnost jak zvýšit rozpustnost byl přechod k derivátům 6-methylpyrimidinu. Výsledky jsou poněkud protichůdné, avšak v případě trichlorbenzenového derivátu **135** se podařilo částečně zlepšit rozpustnost při zachování aktivity.

Při pokusu o konečné shrnutí výše zmíněných bodů, jakož i ostatních výsledků prezentovaných v této práci, musím připustit, že přes dílčí úspěchy při zvyšování rozpustnosti a aktivity zde uvedených sloučenin, nejsou tyto látky pro své fyzikálně-chemické vlastnosti nejvhodnějšími kandidáty pro práci na poli medicínální chemie. Pravděpodobně zde stále existuje prostor pro zlepšení jejich vlastností, nicméně otázkou zůstává, zda je vůbec možné modifikací takovýchto polyaromatických derivátů chinazolinu současně dosáhnout dostatečné aktivity, jakož i rozpustnosti potřebné pro další biochemický a virologický výzkum.

## Seznam použité literatury

---

1. Gottlieb, M. S.; Schroff, R.; Schanker, H. M.; Weisman, J. D.; Fan, P. T.; Wolf, R. A.; Saxon, A. *N. Engl. J. Med.* **1981**, *305*, 1425.
2. Barré-Sinoussi, F.; Chermann, J. C.; Rey, F.; Nugeyre, M. T.; Chamaret, S.; Gruest, J.; Dauguet, C.; Axler-Blin, C.; Vézinet-Brun, F.; Rouzioux, C.; Rozenbaum, W.; Montagnier, L. *Science* **1983**, *220*, 868.
3. *Global update on the health sector response to HIV, 2014*; World Health Organisation, WHO Press: Geneva, Switzerland, 2014; ISBN 978 92 4 150758 5.
4. Brook, I. *J. Am. Med. Assoc.* **1987**, *258*, 1517.
5. Sluis-Cremer, N.; Arion, D.; Parniak, M. A. *Cell. Moll. Life Sci.* **2000**, *57*, 1408.
6. a) Wensing, A. H. J.; van Maarseveen, N. M.; Nijhuis, M. *Antiviral Research* **2010**, *85*, 59; b) Blanco, J.-L.; Vargese, V.; Rhee, S.-Y.; Gatell, J. M.; Shafer, R. W. *J. Inf. Dis.* **2011**, *203*, 1204; c) Lobritz, M. A.; Ratcliff, A. N.; Arts E. J. *Viruses* **2010**, *2*, 1069.
7. a) *WHO HIV Drug Resistance Report 2012*; World Health Organisation, WHO Press: Geneva, Switzerland, 2012; ISBN 978 92 4 150393 8; b) Pennings, P. S. *Infect. Dis. Rep.* **2013**, *5*, 21.
8. Ganser–Pornillos, B. K.; Yeager, M.; Sundquist, W. I. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2008**, *18*, 203.
9. Machara, A.; Lux, V.; Kožíšek, M.; Grantz Šašková, K.; Štěpánek, O.; Kotora, M.; Parkan, K.; Pávová, M.; Glass, B.; Sehr, P.; Lewis, J.; Mueller, B.; Kraeusslich, H.-G.; Konvalinka, J. *J. Med. Chem.* in revisions.
10. Sticht, J.; Humbert, M.; Findlow, S.; Bodem, J.; Müller, B.; Dietrich, U.; Werner, J.; Kräusslich, H.-G. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2005**, *12*, 671.
11. Hemelaar, J. *Trends Mol. Med.* **2012**, *18*, 182.
12. a) Hahn, B. H.; Shaw, G. M.; De Cock, K. M.; Sharp, P. M. *Science* **2000**, *287*, 607; b) Aghokeng, A. F.; Ayouba, A.; Mpoudi-Ngole, E.; Loul, S.; Liegeois, F.; Delaporte, E.; Peeters, M. *Infect. Genet. Evol.* **2010**, *10*, 386.
13. Faria, N. R.; Rambaut, A.; Suchard, M. A.; Baele, G.; Bedford, T.; Ward, M. J.; Tatem, A. J.; Sousa, J. D.; Arinaminpathy, N.; Pépin, J.; Posada, D.; Peeters, M.; Pybus, O. G.; Lemey, P. *Science* **2014**, *346*, 56.

- 
14. Zhu, T.; Korber, B. T.; Nahmias, A. J.; Hooper, E.; Sharp, P. M.; Ho, D. D. *Nature* **1998**, *391*, 594.
  15. Worobey, M.; Gemmel, M.; Teuwen, D. E.; Haselkorn, T.; Kunstman, K.; Bunce, M.; Muyembe, J. J.; Kabongo, J. M.; Kalengayi, R. M.; Van Marck, E.; Gilbert, M. T.; Wolinsky, S. M. *Nature* **2008**, *455*, 661.
  16. Garry, R. F.; Witte, M. H.; Gottlieb, A. A.; Elvin-Lewis, M.; Gottlieb, M. S.; Witte, C. L.; Alexander, S. S.; Cole, W. R.; Drake, W. L. *J. Am. Med. Assoc.* **1988**, *260*, 2085.
  17. Frøland, S. S.; Jenum, P.; Lindboe, C. F.; Wefring, K. W.; Linnestad, P. J.; Böhmer, T. *Lancet* **1988**, *331*, 1344.
  18. Hooper, E. *BMJ* **1997**, *315*, 1689.
  19. Shilts, R. *And the Band Played on: Politics, People, and the AIDS Epidemic*, St. Martin's Press: London, 1987; pp 5 – 7; ISBN: 0-312-00994-1.
  20. Gilbert, M. T.; Rambaut, A.; Wlasiuk, G.; Spira, T. J.; Pitchenik, A. E.; Worobey, M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 18566.
  21. Cohen, J. *Science* **2006**, *313*, 470.
  22. Morris, M.; Dean, L. *Am. J. Epidemiol.* **1994**, *140*, 217.
  23. Jin, F.; Jansson, J.; Law, M.; Prestage, G. P.; Zablotska, I.; Imrie, J. C.; Kippax, S. C., Kaldor, J. M., Grulich, A. E.; Wilson, D. P. *AIDS* **2010**, *24*, 907.
  24. zprávy Centers for Disease Control and Prevention: a) *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **1981**, *30*, 250; b) *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **1982**, *30*, 300; c) *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **1982**, *31*, 305.
  25. Auerbach, D. M.; Darrow, W. W.; Jaffe, H. W.; Curran, J. W. *Am. J. Med.* **1984**, *76*, 487.
  26. a) McKay, R. *Bull. Hist. Med.* **2014**, *88*, 161; b) Des Jarlais, D. C.; Friedman, S. R.; Novick, D. M.; Sotheran, J. M.; Thomas, P.; Yancovitz, S. R.; Mildvan, D.; Weber, J.; Kreek, M. J.; Maslansky, R.; Bartelme, S.; Spira, T.; Marmor, M. *JAMA* **1989**, *261*, 1008.
  27. Altman, K. L. *Rare cancer seen in 41 homosexuals*. The New York Times, July 3, 1981; <http://www.nytimes.com/library/national/science/aids/070381sci-aids.html> (přístup 12. března 2015).
  28. Dubois, R. M.; Braitwaite, M. A.; Mikhail, J. R.; Batten, J. C. *Lancet* **1981**, *318*, 1339.
  29. zpráva Centers for Disease Control and Prevention: *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **1982**, *37*, 507.



- 
30. a) de Michelis, B.; Modica, R.; Re, G. *Trattato di Clinica Odontostomatologica*, 3rd ed.; Minerva Medica: Torino, 1992; vol. 1; ISBN 9788877111463.  
b) <http://www.aids.gov.br/en/pagina/aids-timeline> (přístup 28. března 2015);  
c) <http://www.actoronto.org/home.nsf/pages/acttimeline> (přístup 28. března 2015);  
d) <http://www.statsci.org/data/oz/aids.html> (přístup 28. března 2015).
31. Weiss, R. A.; Dalgleish, A. G.; Loveday, C.; Pillay, D. Human Immunodeficiency Viruses. In *Principles and Practice of Clinical Virology*, 5th ed.; Zuckerman, A. J.; Banatvala, J. E.; Pattison, J. R.; Griffiths, P. D.; Sshoub, B. D. Eds.; John Wiley & Sons Ltd.: Hoboken, 2004, pp 721 - 757, ISBN 0-470-84338-1.
32. a) *Fields – Virology*, 4th ed.; Fields, B. N.; Howley, P. M.; Griffin, D. E.; Lamb, R. A.; Martin, M. A.; Roizman, B.; Straus, S. E.; Knipe, D. M. Eds.; Lippincott Williams & Wilkins Publishers: Philadelphia, 2001, ISBN-13: 978-1451105636; b) *Retroviruses – Molecular Biology, Genomics and Pathogenesis*; Kurth, R.; Bannert, N. Eds.; Caister Academic Press: Norfolk, 2010, ISBN: 978-1-904455-55-4.
33. Levy, J. *AIDS* **1993**, *7*, 1401.
34. Gilbert, P. B.; McKeague, I. W.; Eisen, G.; Mullins, C.; Guéye-NDiaye, A.; Mboup, S.; Kanki, P. J. *Statist. Med.* **2003**, *22*, 573.
35. Frankel, A. D.; Young, J. A. T. *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, *67*, 1.
36. The Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank: [http://www.pdb.org/pdb/education\\_discussion/educational\\_resources/struct\\_bio\\_hiv\\_hires.pdf](http://www.pdb.org/pdb/education_discussion/educational_resources/struct_bio_hiv_hires.pdf) (přístup 2. dubna 2015).
37. Wyatt, R.; Sodroski, J.; *Science* **2008**, *280*, 1884.
38. a) Thorley, J. A.; McKeating, J. A.; Rappoport, J. Z. *Protoplasma* **2010**, *244*, 15; b) Permanyer, M.; Ballana, E.; Este, J. A. *Trends Microbiol.* **2010**, *18*, 543.
39. Barré-Sinoussi, F.; Ross, A. L.; Delfraissy, J.-F. *Nat. Rev. Microbiol.* **2013**, *11*, 877.
40. Forshey, B. M.; von Schwedler, U.; Sundquist, W. I.; Aiken, C. *J. Virol.* **2002**, *76*, 5667.
41. Sundquist, W. I.; Kräusslich, H.-G. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2012**, *2*, 7.
42. Ganser-Pornillos, B. K.; Cheng, A.; Yeager, M. *Cell* **2007**, *131*, 70.
43. Sundquist, W. I.; Hill, C. P. *Cell* **2007**, *131*, 17.
44. Pornillos, O.; Ganser-Pornillos, B. K.; Kelly, B. N.; Hua, Y.; Whitby, F. G.; Stout, C. D.; Sundquist, W. I.; Hill, C. P.; Yeager, M. *Cell* **2009**, *137*, 1282.
45. Das, K.; Arnold, E. *Curr. Opin. Virol.* **2013**, *3*, 111.

- 
46. Coffin, J. M. *Science* **1995**, 267, 483.
47. Goodenow, M.; Huet, T.; Saurin, W.; Kwok, S.; Sninsky, J.; Wain-Hobson, S. *J. Acquir. Immune. Defic. Syndr.* **1989**, 2, 344.
48. a) <http://aidsinfo.nih.gov/education-materials/fact-sheets/21/58/fda-approved-hiv-medicines> (přístup 10. dubna 2015);  
b) <http://www.fda.gov/ForPatients/Illness/HIVAIDS/Treatment/ucm118915.htm> (přístup 10. dubna 2015).
49. Arts, E. J.; Hazuda, D. J. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2012**, 2, 1.
50. a) Wang, T.; Zhang, Z.; Wallace, O. B.; Deshpande, M.; Fang, H.; Yang, Z.; Zadjura, L. M.; Tweedie, D. L.; Huang, S.; Zhao, F.; Ranadive, S.; Robinson, B. S.; Gong, Y.-F.; Ricarrdi, K.; Spicer, T. P.; Deminie, C.; Rose, R.; Wang, H.-G. H.; Blair, W. D.; Shi, P.-Y.; Lin, P.-F.; Colonno, R. J.; Meanwell, N. A. *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 4236;  
b) Jacobson, J. M.; Kuritzkes, D. R.; Godofsky, E.; DeJesus, E.; Larson, J. A.; Weinheimer, S. P.; Lewis, S. T. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2009**, 53, 450.
51. Sebastian Biglione, S.; Byers, S. A.; Price, J. P.; Nguyen, V. T.; Bensaude, O.; Price, D. H.; Maury, W. *Retrovirology* [Online] **2007**, 4, Article 47. <http://www.retrovirology.com/content/pdf/1742-4690-4-47.pdf> (přístup 15. dubna 2015).
52. Martin, D. E.; Salzwedel, M.; Allaway, G. P. *Antivir. Chem. Chemother.* **2008**, 19, 107.
53. [http://www.aidsmeds.com/articles/hiv\\_bevirimat\\_mpc4326\\_1667\\_18528.shtml](http://www.aidsmeds.com/articles/hiv_bevirimat_mpc4326_1667_18528.shtml) (přístup 15. dubna 2015)
54. Rossmann, M. G. *Proc. Natli. Acad. Sci. USA* **1988**, 85, 4625.
55. Smith, T. J.; Kremer, M. J.; Luo, M.; Vriend, G.; Arnold, E.; Kamer, G.; Rossmann, M. G.; McKinlay, M. A.; Dana, G. D.; Otto, M. J. *Science* **1986**, 233, 1286.
56. Deres, K.; Schroder, C. H.; Paessens, A.; Goldmann, S.; Hacker, H. J.; Weber, O.; Kramer, T.; Niewohner, U.; Pleiss, U.; Stoltefuss, J.; Graef, E.; Koletzki, D.; Masantschek, R. N. A.; Reimann, A.; Jaeger, R.; Grob, R.; Beckermann, B.; Schlemmer, K.-H.; Haebich, D.; Rubsamen-Waigmann, H. *Science* **2003**, 299, 893.
57. a) Tang, C.; Loeliger, E.; Kinde, I.; Kyere, S.; Mayo, K.; Barklis, E.; Sun, Y.; Huang, M.; Summers, M. F. *J. Mol. Biol.* **2003**, 327, 1013; b) Kelly, B. N.; Kyere, S.; Kinde, I.; Tang, C.; Howard, B. R.; Robinson, H.; Sundquist, W. I.; Summers, M. F.; Hill, C. P. *J. Mol. Biol.* **2007**, 373, 355.

- 
58. a) Tian, B.; He, M.; Tang, S.; Hewlett, I.; Tan, Z.; Li, J.; Jin, Y.; Yang, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 2162; b) Jin, Y.; Tan, Z.; He, M.; Tian, B.; Tang, S.; Hewlett, I.; Yang, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 2135; c) Li, J.; Tan, Z.; Tang, S.; Hewlett, I.; Pang, R.; He, M.; He, S.; Tian, B.; Chen, K.; Yang, M. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 3177.
59. a) Fader, L. D.; Bethell, R.; Bonneau, P.; Bös, M.; Bousquet, Y.; Cordingley, M. G.; Coulombe, R.; Deroy, P.; Faucher, A.-M.; Gagnon, A.; Goudreau, N.; Grand-Maitre, C.; Guse, I.; Hucke, O.; Kawai, S. H.; Lacoste, J.-E.; Landry, S.; Lemke, C. T.; Malenfant, E.; Mason, S.; Morin, S.; O'Meara, J.; Simoneau, B.; Titolo, S.; Yoakim, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 398; b) Lemke, C. T.; Titolo, S.; von Schwedler, U.; Goudreau, N.; Mercier, J. F.; Wardrop, E.; Faucher, A. M.; Coulombe, R.; Banik S. S., Fader L., Gagnon A., Kawai S. H., Rancourt J., Tremblay M., Yoakim C.; Simoneau, B.; Archambault, J.; Sundquist, W. I.; Mason, S. W. *J. Virol.* **2012**, *86*, 6643; c) Tremblay, M.; Bonneau, P.; Bousquet, Y.; DeRoy, P.; Duan, J.; Duplessis, M.; Gagnon, A.; Garneau, M.; Goudreau, N.; Guse, I.; Hucke, O.; Kawai, S. H.; Lemke, C. T.; Mason, S. W.; Simoneau, B.; Surprenant, S.; Titolo, S.; Yoakim, C. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, *22*, 7512.
60. Goudreau, N.; Lemke, C. T.; Faucher, A. M.; Grand-Maitre, C.; Goulet, S.; Lacoste, J. E.; Rancourt, J.; Malenfant, E.; Mercier, J. F.; Titolo, S.; Mason, S. W. *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1074.
61. a) Blair, W. S.; Pickford, C.; Irving, S. L.; Brown, D. G.; Anderson, M.; Bazin, R.; Cao, J.; Ciaramella, G.; Isaacson, J.; Jackson, L.; Hunt, R.; Kjerrstrom, A.; Nieman, J. A.; Patick, A. K.; Perros, M.; Scott, A. D.; Whitby, K.; Wu, H.; Butler, S. L. *PLOS Pathog.* [Online] **2010**, *6*, Article e1001220. <http://www.plospathogens.org/article/fetchObject.action?uri=info:doi/10.1371/journal.ppat.1001220&representation=PDF> (přístup 18. dubna 2015). b) Shi, J.; Zhou, J.; Shah, V. B.; Aiken, C.; Whitby, K. *J. Virol.* **2011**, *85*, 542.
62. Lamorte, L.; Titolo, S.; Lemke, C. T.; Goudreau, N.; Mercier, J. F.; Wardrop, E.; Shah, V. B.; von Schwedler, U. K.; Langelier, C.; Banik, S. S.; Aiken, C.; Sundquist, W. I.; Mason, S. W. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 4622.
63. Ternois, F.; Sticht, J.; Duquerroy, S.; Krausslich, H. G.; Rey, F. A. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2005**, *12*, 678, (2005).

- 
64. Bartonova, V.; Igonet, S.; Sticht, J.; Glass, B.; Habermann, A.; Vaney, M. C.; Sehr, P.; Lewis, J.; Rey, F. A.; Krausslich, H.-G. *J. Biol. Chem.* **2008**, *283*, 32024.
65. Machara A.: nepublikované výsledky.
66. Armarego, W. L. F. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1967**, *24*, 1.
67. Dewar, M. J. S.; Harget, A. J.; Trinajstić, N. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 6321.
68. Eicher, T.; Hauptmann, S.; Speicher, A. *The Chemistry of Heterocycles – Structure, Reactions, Synthesis and Applications*, 2nd ed.; Wiley-VCH GmbH. & Co. KGaA: Weinheim, 2003; p. 430; ISBN 3-527-30720-6.
69. a) Elderfeld, R. C.; Williamson, T. A.; Gensler, W. J.; Kremer, C. B. *J. Org. Chem.* **1947**, *12*, 405; b) Schoffield, K.; Swain, T. *Nature* **1948**, *161*, 690; c) Schoffield, K.; Swain, T. *J. Chem. Soc.* **1949**, 1367.
70. a) Armarego, W. L. F. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1979**, *24*, 1; b) Mhaske, S. B.; Argade, N. P. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9787; c) Wang, D.; Gao, F. *Chem. Cent. J.* [Online] **2013**, *7*, Article 95. <http://journal.chemistrycentral.com/content/7/1/95> přístup 22. dubna 2015).
71. Nepali, K.; Sharma, S.; Ojha, R.; Dhar, K. L. *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 1.
72. Hooper, I. D. *J. Pharm.* **1888**, *18*, 84.
73. Koepfly, J. B.; Mead, J. F.; Brockman, J. A., Jr. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1837.
74. McLaughlin, N. P.; Evans, P. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 518.
75. Chou, T. Q.; Fu, F. Y.; Kao, Y. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1948**, *70*, 1765.
76. Ma, Z.-Z.; Hano, Y.; Nomura, T.; Chen, Y.-J. *Heterocycles* **1997**, *46*, 541.
77. Kim, Y. S. I.; Lee, S. H.; Lee, E.-S.; Lee, C.-S.; Jahng, Y. *Arch. Pharm. Res.* **2012**, *35*, 785.
78. Hwang, D. F.; Tai, K. P.; Chueh, C. H.; Lin, L. C.; Jeng, S. S. *Toxicol.* **1991**, *29*, 1019.
79. a) Kacker, I. K.; Zaheer, S. H. *J. Ind. Chem. Soc.* **1951**, *28*, 344; b) Selvam, P.; Kumar, P. V. *Research in Pharmacy* **2011**, *1*, 1.
80. Davenport-Hines, R. *Honba za zapomněním – světové dějiny narkotik 1500 – 2000*; BB/art s.r.o.: Praha, 2004; p. 404; ISBN 80-7341-202-0.
81. Shetty, B. V.; Campanella, L. A.; Thomas, T. L.; Fedorchuk, M.; Davidson, T. A.; Michelson, L.; Volz, H.; Zimmerman, S. E.; Belair, E. J.; Truant, A. P. *J. Med. Chem.* **1970**, *13*, 886.
82. Sliva, J.; Votava, M. *Farmakologie*; Triton: Praha, 2011; p. 62, p. 88; ISBN 978-807387-500-8.

- 
83. Gotoh, O.; Shimizu, K.; Kaneda, S.; Nalbantoglu, J.; Takeishi, K.; Seno, T.; Ayusawa, D. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 20277.
  84. Griess, P. *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1869**, *2*, 415.
  85. Griess, P. *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1885**, *18*, 2410.
  86. Weddige, A. *J. Prakt. Chem.* **1885**, *31*, 124.
  87. Weddige, A. *J. Prakt. Chem.* **1887**, *36*, 141.
  88. Bischler, A.; Lang, K. *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1895**, *28*, 279.
  89. Gabriel, S. *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1903**, *36*, 800.
  90. Bischler, A. *Ber. Deut. Chem. Ges.* **1891**, *24*, 506.
  91. von Niementowski, S. *J. Prakt. Chem.* **1895**, *51*, 564.
  92. Armarego, W. L. F. *J. Appl. Chem.* **1961**, *11*, 70.
  93. a) Bogert, M. T.; Gotthelf, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1900**, *22*, 522; b) Meyer, J. F.; Wagner, E. C. *J. Org. Chem.* **1943**, *8*, 239.
  94. Smith, M. E.; Elisberg, E.; Sherrill, M. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1301.
  95. Mundy, B. P.; Eller, M. G.; Favalaro, F. G., Jr. *Name Reactions and Reagents in Organic Chemistry*, 2nd ed.; John Wiley & Sons Inc.: Hoboken, 2005; p. 462; ISBN 0-471-22854-0.
  96. Connolly, D. J.; Cusack, D.; O'Sullivan, T. P.; Guiry, P. J. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10153.
  97. Bogert, M. T.; Steiner, S. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1905**, *27*, 1327.
  98. a) Thieme, P. *J. Prakt. Chem.* **1891**, *43*, 451; b) Zacharias, E. *J. Prakt. Chem.* **1891**, *43*, 432; c) Dehoff, L. H. *J. Prakt. Chem.* **1890**, *42*, 346.
  99. Bamberger, E.; Weiler, M. *J. Prakt. Chem.* **1898**, *58*, 333.
  100. a) Bogert, M. T.; Hoffman, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1905**, *27*, 1293; b) Bogert, M. T.; Hand, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1902**, *24*, 1031; c) Bogert, M. T.; Hand, W. F. *J. Am. Chem. Soc.* **1903**, *25*, 935; McKee, R. L.; McKee, M. K.; Bost, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1902; d) Taylor, E. C.; Knopf, R. J.; Borrer, A. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3152.
  101. a) Dave, K. G.; Shishoo, C. J.; Devani, M. B.; Kalyanaraman, R.; Ananthan, S.; Ulla, G. V.; Bhadti, V. S. *J. Heterocyclic Chem.* **1980**, *17*, 1497; b) Shishoo, C. J.; Devani, M. B.; Pathak, U. S.; Ananthan, S.; Bhadti, V. S.; Ullas, G. V.; Jain, K. S.; Rathod, I. S.; Talati, D. S.; Doshi, N. H. *J. Heterocyclic Chem.* **1984**, *21*, 375; c) Shishoo, C. J.;

- 
- Devani, M. B.; Bhadti, V. S.; Jain, K. S.; Ananthan, S. *J. Heterocyclic Chem.* **1990**, 27, 119.
102. Bogert, M. T.; Gotthelf, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 22, 129.
103. Gotthelf, A. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 23, 611.
104. Johnson, F.; Mandroñero, R. *Adv. Heterocyclic Chem.* **1966**, 6, 95.
105. Shishoo, C. J.; Ananthan, S.; Bhadti, V.; Ullas, G.; Chhabria, M.; Bariwal, J.; Venkatesh, L.; Nargund, G.; Jain, K. *Heterocycles* **2009**, 78, 1627.
106. Brown, D. J. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1996**, 55, 1.
107. Mizuno, T.; Okamoto, N.; Ito, T.; Miyata, T. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 1051.
108. Karnakar, K.; Shankar, J.; Narayana Murthy, S.; Ramesh, K.; Nageswar, Y. V. D. *Synlett* **2011**, 8, 1089.
109. Larksarp, C.; Alper, H. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 2773.
110. Welker, R.; Hohenberg, H.; Tessmer, U.; Huckhagel, C.; Kräusslich, H.-G. *J. Virol.* **2000**, 74, 1168.
111. Lee, S. J.; Konishi, Y.; Yu, D. T.; Miskowski, T. A.; Riviello, Ch. M.; Macina, O. T.; Frierson, M. R.; Kondo, K.; Sugitani, M. *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 3547.
112. Bogolubsky, A. V.; Ryabukhin, S. V.; Plaskon, A. S.; Stetsenko, S. V.; Volochnyuk, D. M.; Tolmachev, A. A. *J. Comb. Chem.* **2008**, 10, 858.
113. Manhas, M. S.; Hoffman, W. A.; Bose, A. K. *J. Heterocycl. Chem.* **1979**, 16, 617.
114. a) Ismail, F. M. D. *J. Fluorine Chem.* **2002**, 118, 27; b) Böhm, H.-J.; Banner, D.; Bendels, S.; Kansy, M.; Kuhn, B.; Müller, K.; Obst-Sander, U.; Stahl, M. *ChemBioChem* **2004**, 5, 637; c) Bégué, J.-P.; Bonnet-Delpon, D.; *J. Fluorine Chem.* **2006**, 127, 992; d) Kirk, K. L. *J. Fluorine Chem.* **2006**, 127, 1013; e) Purser, S.; Moore, P. R.; Swallow, S.; Gouverneur, V. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 320; f) Gakh, A. A.; Burnett, M. N. *J. Fluorine Chem.* **2011**, 132, 88; g) Prchalová, E.; Štěpánek, O.; Smrček, S.; Katora, M. *Future Med. Chem.* **2014**, 6, 1201.
115. Chandregowda, V.; Rao, G. V.; Reddy, G. C. *Heterocycles* **2007**, 71, 39.
116. a) Katritzky, A. R.; Pilarski, B.; Urogdi, L. *Synthesis* **1989**, 12, 949; b) Hájek, M.; Šilhavý, P.; Málek J. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1974**, 39, 2667.
117. a) Staiger, R. P.; Wagner, E. C. *J. Org. Chem.* **1948**, 13, 347; b) Jönsson, S.; Andersson, A.; Fex, T.; Fristedt, T.; Hedlund, G.; Jansson, K.; Abramo, L.; Fritzon, I.; Pekarski, O.; Runström, A.; Sandin, H.; Thuvesson, I.; Björk, A. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 2075.

- 
118. Tang, Z.-Y.; Hu, Q.-S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3058.
119. a) Buzarevski, A.; Mikhova, B.; Popovski, E. *Molbank*, [Online] **2014**, article M821. <http://www.mdpi.com/1422-8599/2014/1/M821> (přístup 10. června. 2015); b) Stock, L. M.; Wasielewski, M. R. Charge and Spin Delocalization to the Trifluoromethyl Group. V knize *Aspects of Mechanism and Organometallic Chemistry*; Brewster, J. H., Ed.; Plenum Press: New York, 1978; pp 41 – 58; ISBN 978-1-4684-3395-1.
120. Ishikawa, M.; Hashimoto, Y. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1539.
121. Kim, J. Y.; Kim, D.; Kang, S. Y.; Park, W.-K.; Kim, H. J.; Jung, M. E.; Son, E.-J.; Pae, A. N.; Kim, J.; Lee, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 6439.
122. Burlov, A. S.; Ikorskii, V. N.; Uraev, A. I.; Koshchienko, Y. V.; Vasil'chenko, I. S.; Garnovskii, D. A.; Borodkin, G. S.; Nikolaevskii, S. A.; Garnovskii, A. D. *Russ. J. Gen. Chem.* **2006**, *76*, 1282.
123. Šturala, J.; Cibulka, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *36*, 7066.
124. Bunnet, J. F.; Zahler R. E. *Chem. Rev.* **1951**, *49*, 273.
125. Chen, B.-C.; Droghini, R.; Lajeunesse, J.; Dimarco, J. D.; Balella, M.; Chidambaram, R. Process for Preparing 2-Aminothiazole-5-aromatic Carboxamides as Kinase Inhibitors. PCT Int. Patent Appl. WO2005077945, 25th August 2005. [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2005077945A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20050825&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en\\_EP](http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2005077945A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20050825&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en_EP) (přístup 12. srpna 2015).
126. Dormán, G.; Prestwich, G. D. *Trends Biotechnol.* **2000**, *18*, 64.
127. Dormán, G.; Prestwich, G. D. *Biochemistry* **1994**, *33*, 5661.
128. a) Yin, J.; Zhao, M. M.; Huffman, M. A.; McNamara, J. M. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3481; b) Axon, J.; Chakravarty, S.; Hart, B.; McEnroe, B.; Murphy, A.; Potius, K.; Sheng, D.; Wang, G.; Yellapregada, S. Carboxamide Inhibitors of TGF $\beta$ . PCT Int. Patent Appl. WO2006105222, 5th October 2006. [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2006105222A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20061005&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en\\_EP](http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2006105222A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20061005&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en_EP) (přístup 12. srpna 2015).
129. Hunter, C. A.; Lawson, K. R.; Perkins, J.; Urch, C. J. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, **2001**, *5*, 561.
130. Hakim Siddiki, S. M. A.; Kon, K.; Touchy, A. S.; Shimizu, K. *Catal. Sci. Technol.* **2014**, *4*, 1716.

- 
131. Xu, w.; Jin, Y.; Liu, H.; Jiang, Y.; Fu, H. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 1274.
132. Pal, M.; Khanna, I.; Subramanian, V.; Padakanti, S.; Pillarisetti, S. Heterocyclic and Bicyclic Compound, Compositions and Methods. PCT Int. Patent Appl. WO2006058201, 1st June 2006. [http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2006058201A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20060601&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en\\_EP](http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2006058201A2&KC=A2&FT=D&ND=3&date=20060601&DB=worldwide.espacenet.com&locale=en_EP) (přístup 12. srpna 2015).
133. Darras, F. H.; Kling, B.; Heilmann J.; Decker, M. *ACS Med. Chem. Lett.* **2012**, *3*, 914.
134. Kerrigan, J. E.; Vagnoni, L. M. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 8227.
135. Witt, A.; Bergman, J. *J. Org. Chem.*, **2001**, *66*, 2784.
136. Murai, N.; Miyano, M.; Yonaga, M.; Tanaka, G. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2818.
137. Kym, P. R.; Carlson, K. E.; Katzenellenbogen, J. A. *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 1111.
138. Kräusslich, H.-G.; Sticht, J.; Pávová, M.; Lux, V.; Konvalinka, J.; Kotora, M.; Grantz Šašková, K.; Kožíšek, M.; Štěpánek, O.; Parkan, K.; Machara, A. Compounds for Use in Inhibiting HIV Capsid Assembly, PCT Int. Patent Appl. WO2014128213A1. 28th August 2014.