

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

**KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE**



**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**Deriváty chinazolinu jako látky s potenciální bronchodilatační  
aktivitou**

**Hradec Králové, 2010**

**Jaroslava Šášková**

Ráda bych poděkovala svému školiteli, PharmDr. Marcelu Špulákovi, PhD za odborné vedení a pomoc při vypracovávání diplomové práce, rovněž pak prof. RNDr. Milanu Pourovi, PhD. za možnost vytvořit svoji práci v jeho pracovní skupině a doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi za provedení analýzy NMR u nasyntetizovaných vzorků.

Za pomoc v laboratoři děkuji Mgr. Petru Šenelovi, PhD. a Mgr. Lucii Tichotové. Další poděkování patří PharmDr. Marii Vopršalové, CSc., jejím diplomantům a doktorandům, kteří prováděli biologické hodnocení mých produktů.

Prohlašuji, že tato diplomová práce je mé původní autorské dílo, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, ze kterých jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně ocitovány.

Jaroslava Šašková

## ABSTRAKT

Tato diplomová práce je zaměřena na syntézu derivátů chinazolinu, strukturálně podobných alkaloidům vasicinu a vasicinonu, obsaženým v keři *Adhatoda vasica*. Výše zmíněná rostlina je využívána pro své účinky na dýchací cesty k léčbě astmatu v tradiční indické medicíně již přes 2000 let. Z předchozích prací vyplývá, že kruh C není zřejmě pro bronchodilatační aktivitu nutný. Proto jsme se rozhodli tento kruh vynechat a modifikovali jsme molekulu chinazolin-4-olu na atomu kyslíku pomocí jednoduchých alkylačních reakcí. Takto vznikla první řada našich derivátů.

Jeden z těchto derivátů, 4-dimethylaminoethoxychinazolin, se při biologickém hodnocení ukázal být velmi aktivní z hlediska svých bronchodilatačních účinků. Syntetickými obměnami jeho struktury byla vytvořena druhá řada derivátů čítající 9 látek.

Připravené látky byly podrobeny biologickému testování z hlediska jejich působení na hladkou svalovinu dýchacího traktu. K hodnocení byla využita *in vitro* metoda izolované průdušnice potkana. Téměř všechny deriváty vykázaly bronchodilatační aktivitu vyšší než teofylin.

## ABSTRACT

This diploma thesis describes the synthesis of quinazoline derivatives structurally derived from vasicine and vasicinone, alkaloids contained in a plant *Adhatoda vasica*. This plant has been used for treatment of respiratory diseases in Ayurvedic medicine for more than 2000 years.

First attempts to modify the structure of vasicinone revealed the fact that the ring C wasn't necessary for the bronchodilatory effect. Thus, we decided to cut this ring off resulting in the structure of quinazoline-4-ol. Using simple alkylation reactions, we prepared the first group of derivatives.

One of these molecules, 4-dimethylaminoethoxyquinazoline, possessed a promising bronchodilatory activity. We modified its structure leading to the second series of derivatives containing 9 compounds.

All prepared quinazolines were tested for their bronchodilatory effect by the classical experimental *in vitro* model of isolated rat trachea. Most of the synthesized derivatives displayed better bronchodilatory activity than theophyllin.

## OBSAH

<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....</b>	<b>6</b>
<b>1. ÚVOD.....</b>	<b>7</b>
1.1. Astma bronchiale.....	7
1.2. Terapie astmatu v současnosti.....	7
1.2.1. Preventivní antiastmatika.....	8
1.2.2. Úlevová antiastmatika.....	13
1.3. Adhatoda vasica .....	14
1.4. Syntetické modifikace vasicinu a vasicinonu.....	16
1.5. Bronchodilatační aktivita (-)vasicinu a (-)vasicinonu testovaná na FaF UK v Hradci Králové.....	22
<b>2. CÍL PRÁCE.....</b>	<b>25</b>
<b>3. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM.....</b>	<b>26</b>
3.1. První série derivátů chinazolin-4-olu.....	26
3.1.1. Syntéza derivátu s řetězcem obsahujícím kyselou skupinu.....	26
3.1.2. Syntéza derivátu s řetězcem obsahujícím bazickou skupinu .....	26
3.1.3. Syntéza derivátu s esterem v bočním řetězci.....	27
3.1.4. Syntéza derivátů s alkoxylovou skupinou .....	27
3.2. Druhá řada derivátů chinazolin-4-olu .....	29
3.2.1. Příprava derivátů s bazickým centrem vázaným přes atom dusíku .....	29
3.2.2. Příprava derivátů s bazickým centrem vázaným přes atom kyslíku.....	31
3.2.3. Příprava derivátů s bazickým centrem vázaným přes atom síry.....	32
<b>4. ZÁVĚR.....</b>	<b>34</b>
<b>5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>35</b>
5.1. Obecné experimentální postupy.....	35
5.2. Použité experimentální postupy při biologickém hodnocení.....	36
5.3. Syntéza derivátů první řady.....	37
5.3.1. Chinazolin-4-yl-acetát.....	37
5.3.2. (Chinazolin-4-yloxy)octová kyselina.....	37
5.3.3. 4-Methoxychinazolin.....	38
5.3.4. 4-Methoxychinazolin hydrochlorid.....	38

<b>5.3.5. 4-Dimethylaminoethoxychinazolin.....</b>	<b>39</b>
<b>5.4. Syntéza derivátů druhé řady .....</b>	<b>39</b>
<b>5.4.1. Chinazolin-4-yl-(4-methyl)benzensulfonát.....</b>	<b>39</b>
<b>5.4.2. N-[2-(Morfolin-4-yl)ethyl]chinazolin-4-amin.....</b>	<b>40</b>
<b>5.4.3. N-[2-(Piperidin-1-yl)ethyl]chinazolin-4-amin.....</b>	<b>41</b>
<b>5.4.4. N-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethyl]chinazolin-4-amin.....</b>	<b>42</b>
<b>5.4.5. 4-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethoxy]chinazolin.....</b>	<b>42</b>
<b>5.4.6. 4-[3-(Piperidin-1-yl)propyloxy]chinazolin.....</b>	<b>43</b>
<b>5.4.7. 4-[2-(Pyrrolidin-1-yl)ethoxy]chinazolin.....</b>	<b>43</b>
<b>5.4.8. Chinazolin-4-thiol.....</b>	<b>44</b>
<b>5.4.9. 4-Dimethylaminoethylsulfanylchinazolin.....</b>	<b>44</b>
<b>5.4.10. 4-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethylsulfanyl]chinazolin.....</b>	<b>45</b>
<b>5.4.11. 4-[3-(Piperidin-1-yl)propyl]sulfanylchinazolin.....</b>	<b>46</b>
<b>5.4.12. 4-[2-(Pyrrolidin-1-yl)ethyl]sulfanylchinazolin.....</b>	<b>46</b>
<b>6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>48</b>

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BH <sub>3</sub> .DMS	borohydrid-dimethylsulfidový komplex
DCM	dichlormethan
DEAD	diethyl-azodikarboxylát
DMSO	dimethylsulfoxid
ED <sub>50</sub>	dávka látky vyvolávající polovinu maximální odpovědi
EtOAc	ethyl-acetát
IC	inhibiční koncentrace
IR	infračervená spektroskopie
LCMS	hmotnostní spektroskopie s nízkým rozlišením
SEM	směrodatná odchylka
Ph <sub>3</sub> P	trifenylfosfin
TEA	triethylamin

## 1. ÚVOD

### 1.1. Astma bronchiale

Astma bronchiale je závažné chronické zánětlivé onemocnění dýchacích cest, na jehož vzniku i průběhu se podílí mnoho buněk i jejich působků. Vlivem chronického zánětu dochází ke zvýšení průduškové reaktivity a ta vede k opakovaným epizodám pískotů při dýchání, dušnosti, tlaku na hrudi a kašle, především v průběhu noci a k ránu. Výše popsané obtíže doprovází rozsáhlá, ale proměnlivá bronchiální obstrukce, která je reverzibilní a to buď spontánně nebo na základě léčby.<sup>1</sup>

V současné době se celosvětová prevalence astmatu pohybuje mezi 1–18 %. V ČR se pak odhaduje na 8 % u dospělé populace a na 12–15 % u dětí.<sup>2</sup> Zvýšené riziko vzniku astmatu je v rodinách, kde se vyskytuje alergické onemocnění, především alergická rýma nebo atopický ekzém.<sup>3</sup>

Cílem léčby astmatu je dosažení a dlouhodobé udržení stavu označovaného jako „astma pod kontrolou“.<sup>4</sup> V tomto stavu má astmatik pouze minimální nebo žádné chronické příznaky, minimální nebo žádné exacerbace (příhody zhoršení dušnosti, kašle, pískotů nebo tíže na hrudi), žádné mimořádné návštěvy zdravotnických zařízení, minimální (případně žádné) užívání záchranné léčby (viz. níže), žádné omezení životních aktivit i fyzické zátěže, denní variabilitu maximální výdechové rychlosti pod 20% normy, stejně tak by se u pacienta neměly objevovat žádné (nebo jen minimální) nežádoucí účinky.<sup>5</sup>

### 1.2. Terapie astmatu v současnosti

Terapii astmatu můžeme v současnosti rozdělit do dvou skupin. V první řadě se jedná o antiastmatika preventivní, používaná k dlouhodobé udržovací léčbě. Jejich účinek spočívá v tlumení zánětlivých procesů v oblasti dýchacích cest a k předcházení exacerbací. Tato medikace se používá především k léčbě persistujícího astmatu.

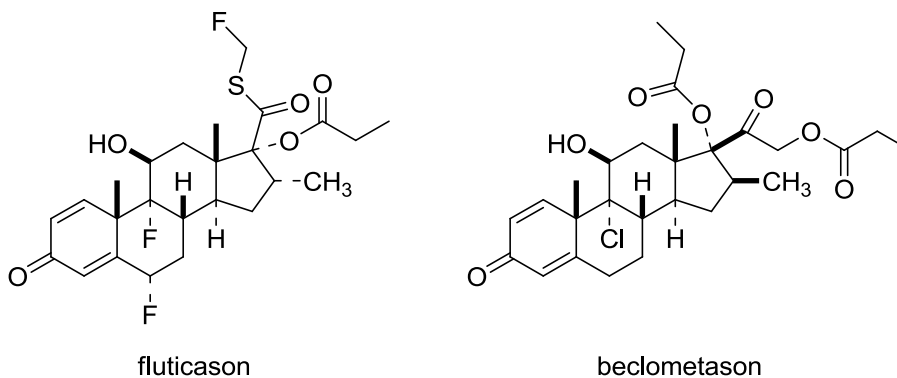
Na druhé straně pak stojí antiastmatika úlevová, někdy také označovaná jako záchranná, používaná v čas potřeby k akutní terapii dušnosti, kašle, pískotů a tíže na hrudi.<sup>6</sup>

### 1.2.1. Preventivní antiastmatika

Preventivní antiastmatika jsou léčiva užívaná dlouhodobě a denně, protože astma zůstává i v současnosti nevléčitelnou celoživotní nemocí.<sup>4</sup>

Řadíme mezi ně protizánětlivé léky a bronchodilatancia s dlouhodobým účinkem, konkrétně inhalační a systémové kortikosteroidy, inhalační a perorální  $\beta_2$ -mimetika s dlouhodobým účinkem, kromony, retardované methylxantiny, antileukotrieny, mnohdy i antihistaminika 2. generace nebo léčiva užívaná při specifické alergenové terapii.<sup>4</sup>

**Inhalační kortikosteroidy (IKS)** - *beclometason, budesonid, ciclesonid, fluticason, mometason* (Obr. 1) - jsou v dnešní době nejúčinnějšími protizánětlivými antiastmatiky.<sup>7</sup>



Obr. 1

Kortikosteroidy tlumí vznik mediátorů zánětu z kyseliny arachidonové.<sup>6</sup> Při jejich pravidelném užívání dochází u astmatických pacientů ke zlepšení plicních funkcí, snížení bronchiální hyperreaktivity, redukci frekvence, ale i síly exacerbací a tím i ke zlepšení kvality života.<sup>7</sup>

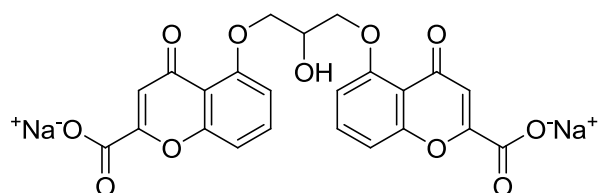
Na rozdíl od systémových kortikoidů mají IKS mnohem menší nežádoucí účinky, kterým lze účinně předcházet použitím inhalačního nástavce a výplachem úst vodou po inhalaci. Zmínit můžeme např. chrapt, orofaryngeální kandidózu či příležitostný kašel vzniklý podrážděním dýchacích cest při inhalaci. Systémové nežádoucí účinky se u inhalačně podávaných kortikoidů vyskytují pouze zřídka, v případě podávání vysokých dávek.<sup>7</sup>

**Dlouhodobě účinkující  $\beta_2$ -mimetika (LABA = long-acting  $\beta_2$  agonists)** – *salmeterol, formoterol, clenbuterol, procaterol* (Obr. 2) – jsou bronchodilatačně působící látky, podávané buď inhalačně nebo per os, jejichž účinek přetrvává nejméně 12 hodin. Interakcí s





**Látky stabilizující žírné buňky - nedokromil (inhalační podání), ketotifen (perorální a oční podání)** (Obr. 3) – jsou látky stabilizující membránu mastocytů a tím bránící vyplavení mediátorů zánětu, potlačující kašel a bronchokonstrikci po tělesné zátěži, po inhalaci studeného vzduchu nebo při podráždění dýchacích cest zplodinami obsaženými ve vdechovaném vzduchu. Nepůsobí bronchodilatačně, používají se proto pouze pro preventivní udržovací léčbu lehkého a středně těžkého perzistujícího astmatu. Příznivý efekt se dostavuje až po několika týdnech terapie.<sup>15</sup> Jejich podávání již v současné době ustupuje do pozadí.<sup>4</sup>

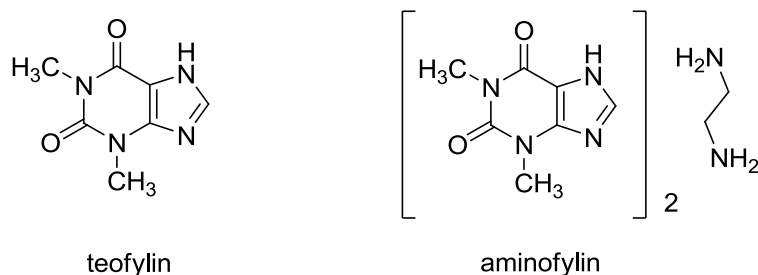


nedokromil

Obr. 3

Nežádoucí účinky jsou mírné a přechodné. Může se vyskytnout únava, závrať, bolest hlavy, bolesti a otoky kloubů, u inhalačně podávaných kromonů i podráždění dýchacích cest, kašel či bronchospasmus.<sup>15</sup>

**Retardované methylxantiny – teofylin, aminofylin** (Obr. 4) - jde o bronchodilatační látky s extra-pulmonálními (a to i protizánětlivými) účinky.<sup>8</sup> V současné době jsou používány velmi zřídka, větší význam má pouze použití u pacientů s obtížně léčitelným astmatem (OLA), kde jsou indikovány jako doplňkové léčivo.<sup>16</sup> Samostatně jsou používány k preventivní léčbě u pacientů s lehkým perzistujícím astmatem.<sup>8</sup>



teofylin

aminofylin

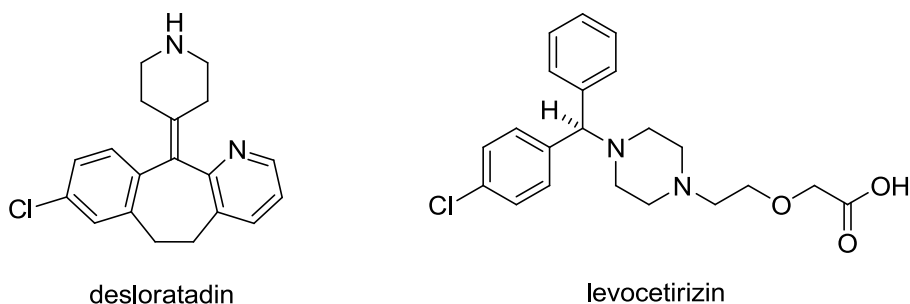
Obr. 4

Methylxantiny působí bronchodilatačně pravděpodobně díky schopnosti inhibovat fosfodiesterázy. Tím se hromadí cAMP a cGMP a dochází k relaxaci buněk hladké svaloviny dýchacích cest. Krom toho kompetitivně antagonistují účinek adenosinu na adenosinových

receptorech a tím mohou zabránit jeho navázání na zmíněný receptor. Adenosin může totiž při vazbě na receptor navodit u astmatiků bronchokonstrikci a navíc přispět k uvolnění mediátorů zánětu z žírných buněk.<sup>16</sup>

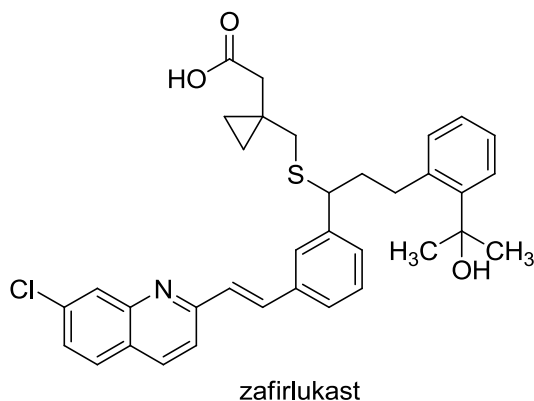
Nežádoucí účinky teofylinu jsou značné. U pacienta se mohou objevit bolesti hlavy, nauzea, neklid, poruchy spánku, gastroezofageální reflux, ale i srdeční arytmie.<sup>15</sup> V případě preventivního užívání teofylinu je nutno před jeho dalším podáním (například při některých zákrocích v nemocnici) monitorovat hladinu teofylinu v krvi.<sup>17</sup>

**Antihistaminika II. generace** – *desloratadin, levocetirizin, rupatadin* (Obr. 5) – jsou látky působící antagonisticky na histaminových receptorech a tím inhibující alergickou odpověď.<sup>6</sup> Role antihistaminik II. generace v léčbě astmatu zatím není objasněna, ale byl prokázán jejich trvalý příznivý účinek v léčbě alergické rýmy, jejíž koincidence s astmatem alergického typu je okolo 50 %.<sup>18</sup> Dobrých výsledků za použití antihistaminik lze dosáhnout i při terapii sezónního pylového astmatu.<sup>19</sup> Nežádoucím účinkem je stále ještě sedace, únava, případně také bolest hlavy.<sup>15</sup>



Obr. 5

**Antileukotrieny** – *montelukast, zafirlukast* (Obr. 6) - jsou kompetitivní antagonisté leukotrienů, které působí na leukotrienových receptorech. Jejich hlavní indikací je astma vyvolané podáváním kyseliny acetylsalicylové (tzv. aspirin-senzitivní astma), ponáhavé astma<sup>20</sup> nebo případně těžké astma vzniklé z alergické rýmy.<sup>21</sup> Nežádoucí účinky antileukotrienů jsou pouze mírné, vyskytnout se může bolest hlavy, nauzea, ztráta chuti k jídlu, bolestivost v horní části žaludku, malátnost, vyrážka a pruritus. Zafirlukast může v ojedinělých případech zvýšit koncentraci jaterních aminotransferáz.<sup>16</sup>



Obr. 6

**Omalizumab** – je rekombinantní monoklonální protilátka, která působí tak, že vyvolává down-regulaci sekrece IgE a navíc redukuje množství B-lymfocytů.

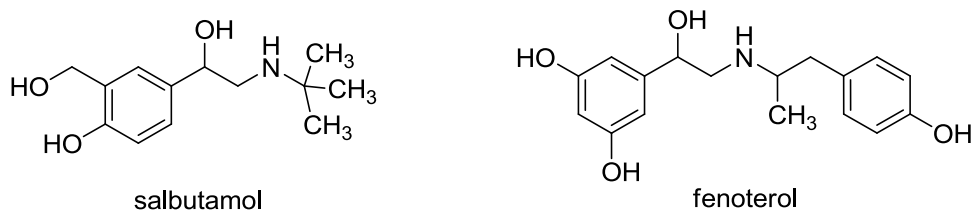
Váže se na IgE vzniklý v těle a tím brání jeho vazbě na receptory buněk účastnících se rozvoje zánětu.<sup>22</sup> Používá se v terapii těžce léčitelného perzistujícího alergického astmatu, kde selhává léčba za použití IKS či inhalačních LABA. Podává se výhradně dospělým a dospívajícím astmatikům, kteří mají prokázáno alergické astma zprostředkované imunoglobulinem E.<sup>23</sup> Nežádoucí účinky bývají mírné, zpravidla jde o lokální kožní reakce v místě vpichu, případně se mohou objevit bolesti hlavy nebo zvýšená náchylnost k infekcím.<sup>22</sup>

**Specifická alergenová imunoterapie (SIT)** - zasahuje do vývoje specifické imunologické přecitlivělosti a svým účinkem tlumí proces alergizace astmatického pacienta vůči konkrétnímu alergenu, který zapříčiňuje pacientovy obtíže. V průběhu terapie podáváme pacientovi postupně se zvyšující dávky speciálně upraveného alergenu v injekční či sublinguální lékové formě. Tím vzniká u pacienta imunologická tolerance, tj. už v průběhu léčby a po jejím skončení dochází ke snížení (až vymizení) obtíží spojených s expozicí danému alergenu. SIT tedy neléčí určité alergické onemocnění, ale ovlivňuje přecitlivělost pacienta vůči konkrétnímu alergenu. Podmínkou úspěšnosti SIT je skutečnost, že příčinou astmatu pacienta je alergická reakce zprostředkovaná IgE.<sup>24</sup> Nežádoucí účinky injekčních lékových forem mají spíše lokální charakter, nicméně mohou se objevit i reakce systémové (exacerbace astmatu, anafylaktická reakce). Podání sublingválních lékových forem může vést k pruritům nebo otoku v dutině ústní, ale riziko vzniku anafylaxe je mnohem nižší než u injekčně podávaných léčiv.<sup>24</sup>

### 1.2.2. Úlevová antiastmatika

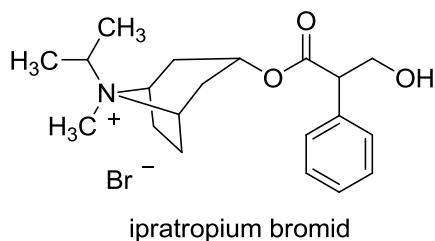
Jsou látky schopné rychle uvolnit vzniklou bronchokonstrikci. Do této skupiny léčiv řadíme inhalační a perorální  $\beta_2$ -mimetika s krátkodobým účinkem a v ideálním případě i s rychlým nástupem účinku, inhalační anticholinergika, systémově podávané kortikosteroidy, případně ještě krátkodobě působící methylxantiny.

**Inhalační a perorální  $\beta_2$ -mimetika s krátkodobým účinkem (SABA)** – *salbutamol*, *terbutalin*, *fenoterol* (Obr. 7) – jsou používána při akutním astmatickém záchvatu jako úlevová léčiva. Mechanismem účinku i nežádoucími účinky se podobají dlouhodobě účinkujícím  $\beta_2$ -mimetikům. Na rozdíl od nich však nemají žádný vliv na zánětlivé změny v průduškách. Účinek SABA nastupuje do několika minut a trvá 4-6 hodin.<sup>15</sup>



Obr. 7

**Inhalační anticholinergika (SAMA = short-acting muscarinic antagonists)**<sup>5</sup> – *ipratropium* (Obr. 8) – jsou bronchodilatačně působící látky, inhibující účinek acetylcholinu uvolňovaného z cholinergních nervů v dýchacích cestách. Po inhalaci blokují bronchokonstrikční reflex vyvolaný vdechnutím inhalovaných částic.<sup>15</sup> Ve srovnání s  $\beta_2$ -mimetiky je jejich bronchodilatační působení slabší, nástup účinku je též pomalejší. Nemají stejně jako SABA protizánětlivé účinky. Těžištěm jejich použití je terapie pacientů, kteří nemohou užívat SABA (starší pacienti, osoby, kterým SABA vyvolávají nežádoucí účinky – především třes, aj.).<sup>25</sup>

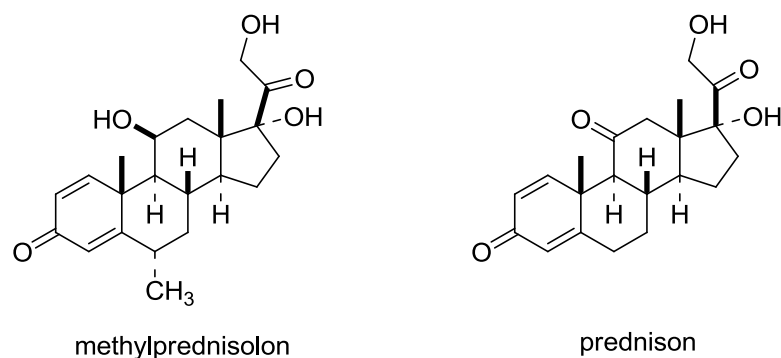


Obr. 8

Nežádoucí účinky vyplývají z inhibice parasympatiku. Mezi nejčastější z nich patří sucho a hořko v ústech. Při aplikaci ipratropia je nutno vyvarovat se kontaktu podávaného

léčiva s očima, především u pacientů s glaukomem s úzkým úhlem. Komplikace se mohou vyskytnout i u nemocných s hyperplazií prostaty nebo s obstrukcí hrdla močového měchýře, v případě použití vysokých dávek ipratropia.<sup>15</sup>

**Systémové kortikosteroidy (SKS)** – *methylprednisolon*, *prednison*, *triamcinolon* (Obr. 9) – jsou jako úlevová antiastmatika podávána krátkodobě v perorálních nebo injekčních lékových formách. Působí preventivně proti rozvoji astmatického záchvatu, snižují počet hospitalizací, jejich role není zanedbatelná ani v prevenci časného relapsu nemoci po ukončení akutní léčby. Při krátkodobém použití se nežádoucí účinky systémových kortikosteroidů nijak výrazně neprojevují.<sup>8</sup>



Obr. 9

**Methylxantiny s krátkodobým účinkem** – *teofylin*, *aminofylin* – jsou v dnešní době pro akutní terapii astmatu považovány za obsolentní.<sup>4</sup> Podávají se perorálně nebo parenterálně. Vzhledem k nežádoucím účinkům, které mohou být velmi závažné, je nutný monitoring hladiny methylxantinů v krvi pacientů před jejich další aplikací.<sup>17</sup> Objevit se může i alergie na ethylendiamin.<sup>26</sup>

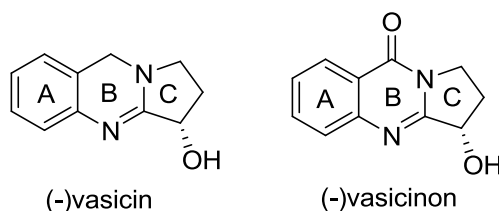
Léčiva používaná jak k úlevové, tak především k dlouhodobé terapii, mají značné nežádoucí účinky, mnohdy snižující kvalitu života pacienta. Tím vzniká prostor pro výzkum nových látek s antiastmatickou aktivitou. Jednou z možných cest výzkumu je syntéza léčiv strukturálně odvozených od přírodních látek, které se vyznačují účinkem na hladkou svalovinu trachey a bronchů či na rozvoj zánětu.

### 1.3. *Adhatoda vasica*

*Adhatoda vasica* Nees (syn. *Justicia adhatoda* L., *Adhatoda zeylanica* Med.) z čeledi Acanthaceae je nízký zelený keř rozšířený zejména v Indii, na Srí Lance a v Malajsii.<sup>27</sup> V tradiční medicíně se používá již skoro 2000 let k léčbě respiračních onemocnění. Do dnešní

doby nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky.<sup>27</sup> V dané oblasti je *Adhatoda vasica* nejčastěji používána k léčbě nachlazení, kašle, bronchitidy, astmatu a dalších onemocnění dýchacích cest.<sup>28</sup> Díky svým terapeutickým účinkům byla *A. vasica* zahrnuta do manuálu WHO *The Use of Traditional Medicine in Primary Health Care*, kde ji doporučuje k léčbě kašle, astmatu a hemoroidů. Rostlina je vhodná pro dlouhodobou léčbu jak u dětí, tak i u dospělých. Při předávkování může nastat průjem a zvracení.<sup>27</sup>

Za expektorační a antispastické účinky rostliny odpovídá chinazolinový alkaloid (-)vasicin (Obr. 10), který se vyskytuje v listech, kořeni a květech.<sup>27</sup> Druhý nejvýznamnější alkaloid (-)vasicinon, objevený až později,<sup>28</sup> lze též izolovat z listů. Kromě dvou výše zmíněných alkaloidů se v listech nachází i další obsahové látky. Z alkaloidů můžeme jmenovat vasicinol, adhatodin, adhatonin, adhavasinson, anisotin, z dalších látek pak betain, steroidy a alkany. V kořenech jsou obsaženy některé z uvedených alkaloidů, dále steroidy, sacharidy a alkany, v květech pak triterpeny a flavonoidy.<sup>29</sup>



Obr. 10

Bylo prokázáno, že kromě účinků definovaných v manuálu WHO *The Use of Traditional Medicine in Primary Health Care*, má alkaloid vasicin obsažený v rostlině uterotonický účinek podobný oxytocinu.<sup>30</sup> Tento poznatek vedl k výzkumným snahám o nalezení nového abortiva. V roce 1980 zahrnula WHO rostlinu do projektu regulace fertility *The Special Programme of Research in Human Reproduction*. Nicméně, uterotonický účinek perorálně podávaného vasicinonu nebyl doposud v žádné relevantní humánní studii prokázán.

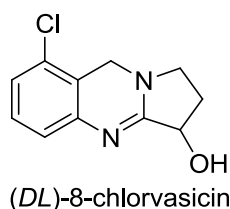
Silice izolovaná z listů *A. vasica* působí relaxačně a přímo na hladké svalstvo v oblasti horních cest dýchacích a též dělohy.<sup>30</sup> Rostlinný extrakt vykazuje antialergickou, antitusickou a antiastmatickou aktivitu.<sup>31</sup> Stejně tak byl dokázán i protizánětlivý<sup>32</sup> a antiulcerózní účinek<sup>33</sup>. Ethanolický extrakt působí antioxidačně a může omezovat i mutagenní účinky kadmia.<sup>29</sup> Vyloučen není ani jeho potenciální hypoglykemický účinek.<sup>29</sup> Odvar z listů působí příznivě na trávicí systém díky své schopnosti aktivovat trypsin. Vodný extrakt potlačuje mikrobiální flóru u pacientů s gingivitidou, navíc podle některých studií působí protektivně

při poškození jater navozeném *D*-galaktosaminem.<sup>29</sup> Extrakt z listů je podle další ze studií účinný tasemnicím.<sup>34</sup>

Slibné výsledky studií zaměřených na vliv přírodních alkaloidů vasicinu a vasicinonu na respirační systém člověka vedly k snahám o přípravu jejich syntetických forem a následně i jejich derivátů. Stejně jako u alkaloidů přírodního původu byly i u těchto látek testovány účinky na dýchací cesty.<sup>35</sup>

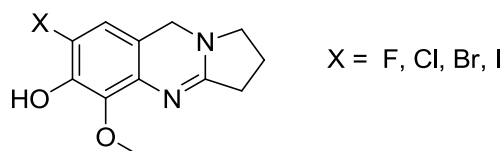
#### 1.4. Syntetické modifikace vasicinu a vasicinonu

První pokus o přípravu syntetického vasicinu uskutečnili již v roce 1935 Späth, Kuffner a spol.<sup>36</sup> Úspěšnou syntézu racemického vasicinu a jeho 6-methoxyderivátu provedl v roce 1958 Southwick.<sup>37</sup> Obě tyto látky zastínila svou účinností na hladkou svalovinu respiračního traktu látka nazvaná původně (*DL*)-7-chlorvasicin,<sup>38</sup> v novější publikaci přejmenovaná na (*DL*)-8-chlorvasicin (Obr. 11).<sup>39</sup>



Obr. 11

Zmíněný článek se kromě syntézy a biologické účinnosti (*DL*)-8-chlorvasicinu zabýval také čtyřmi trisubstituovanými deriváty deoxyvasicinu (Obr 12). Následně byl hodnocen v *in vitro* a *in vivo* experimentu jejich účinek na bronchospasmus vyvolaný serotoninem a histaminem ve srovnání s bronchodilatačním účinkem aminofylinu a isoprenalinu. Bronchodilatační aktivita trisubstituovaných derivátů deoxyvasicinu byla ve srovnání s *DL*-8-chlorvasicinem vyšší.<sup>39</sup>



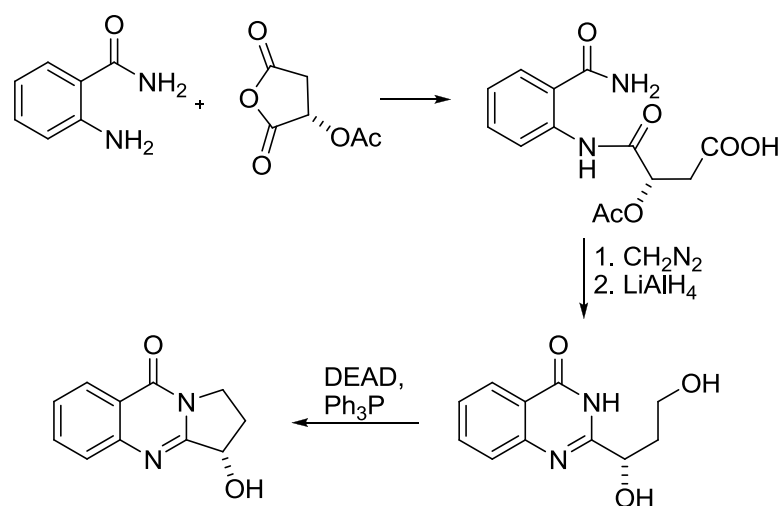
7-halogen-5-methoxy-1,2,3,9-tetrahydropyrrolo[2,1-*b*]chinazolin-6-ol

Obr. 12



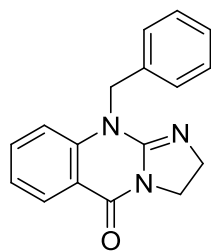
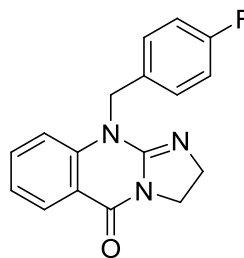
Chlorderivát byl stejně jako fluorderivát z hlediska působení na bronchy přibližně dvakrát účinnější než bromderivát a jodderivát.

Předmětem zájmu se stal i přírodní alkaloid vasicinon. Způsob jeho syntézy z anthranilamidu a acetoxy-sukcinanhydridu prezentovali Mhaske a Argade v roce 2001<sup>40</sup> (Schema 1), o tři roky později pak navrhl Ziaee a spol.<sup>41</sup> jeho syntézu z kyseliny 2-nitrobenzoové a pyrrolidin-2-onu.



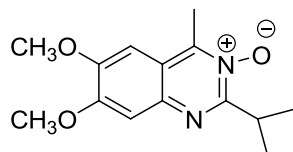
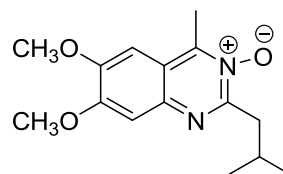
Schema 1

Mezi první pokusy o modifikaci kruhu C v molekule vasicinu a vasicinonu patří práce Hardtmanna z roku 1975.<sup>42</sup> Tento tým se zabýval 10-substituovanými deriváty 2,3-dihydroimidazo[2,1-*b*]chinazolin-5(10*H*)-onu, a to nejen jejich syntézou, vycházející z molekuly *N*-alkylovaného anhydridu kyseliny isatinové a substituovaných 2-methylsulfanylimidazolinů, ale také biologickým hodnocením produktů.<sup>42</sup> Výsledná bronchodilatace byla srovnána s teofylinem, který byl použit jako srovnávací standard pro terapii bronchospasmu navozeného inhalací histaminu. Nejlepšího dilatačního účinku bylo v tomto experimentu dosaženo při použití 10-benzyl-2,3-dihydroimidazo[2,1-*b*]chinazolin-5(10*H*)-onu (byl 5x účinnější než teofylin) a především jeho fluorovaného derivátu 10-(4-fluorbenzyl)-2,3-dihydroimidazo[2,1-*b*]chinazolin-5(10*H*)-onu (10x účinnější než teofylin) (Obr. 13).

10-benzyl-2,3-dihydroimidazo  
[2,1-*b*]chinazolin-5(10*H*)-on10-(4-fluorbenzyl)-2,3-dihydroimidazo  
[2,1-*b*]chinazolin-5(10*H*)-on

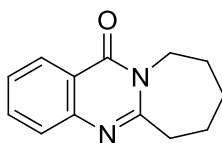
Obr. 13

U další skupiny derivátů vasicinu a vasicinonu, 2,4-dialkyl-6,7-dimethoxychinazolin-3-oxidů, došlo k úplnému vymizení kruhu C z molekuly. Kromě bronchodilatační aktivity byl také zkoumán jejich účinek na kardiovaskulární a centrální nervový systém.<sup>43</sup> Deriváty vykazující dobré bronchodilatační účinky za současného snížení kardiovaskulárních nežádoucích účinků (ve srovnání s teofylinem) se ukázaly být 4-methyl-2-isopropyl-6,7-dimethoxychinazolin-3-oxid a 4-methyl-2-isobutyl-6,7-dimethoxychinazolin-3-oxid (Obr. 14). Jejich mírným nežádoucím účinkem je, na rozdíl od teofylinu, lehká sedace.

4-methyl-2-isopropyl-  
-6,7-dimethoxychinazolin-3-oxid4-methyl-2-isobutyl-  
-6,7-dimethoxychinazolin-3-oxid

Obr. 14

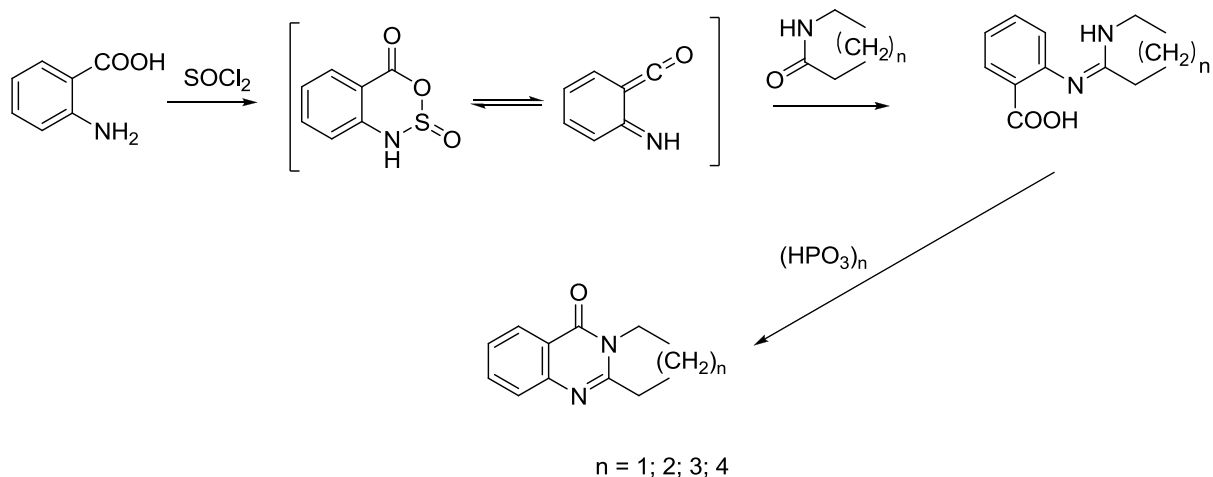
Zajímavá bronchodilatační aktivita byla nalezena u 6,7,8,9,10,12-hexahydroazepino[2,1-*b*]chinazolin-12-onu,<sup>44</sup> látky označované jako RLX (Obr. 15). Tato sloučenina má na rozdíl od vasicinonu kruh C rozšířen na sedmičlenný, bez přítomnosti hydroxylové skupiny. Z biologického testování této látky vyplynulo, že RLX v dávce 10 a 20 mg/kg inhibuje degranulaci mastocytů a uvolnění histaminu z tkání a snižuje aktivitu fosfodiesterázy a lipoxygenázy v plicích. Byla vyslovena hypotéza, že by RLX mohl působit podobně jako kromoglykan sodný a aminofylin.<sup>44</sup>



RLX

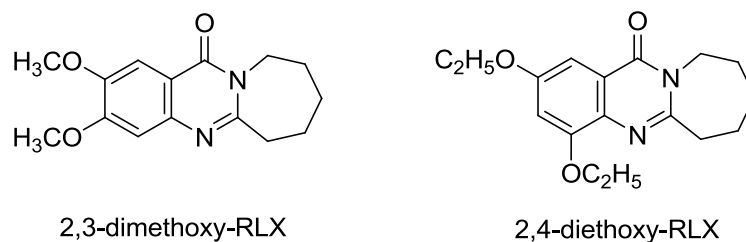
Obr. 15

Látky strukturně blízké RLX byly a stále jsou syntetizovány,<sup>45,46</sup> příkladem může být publikace z roku 2008, popisující postup syntézy 2,3-polymethylen-4(3*H*)-chinazolinonových derivátů (Schema 2) s rozdílnou velikostí kruhu C závislou na velikosti laktamového kruhu vstupujícího do reakce s anthranilovým fragmentem.



Schema 2

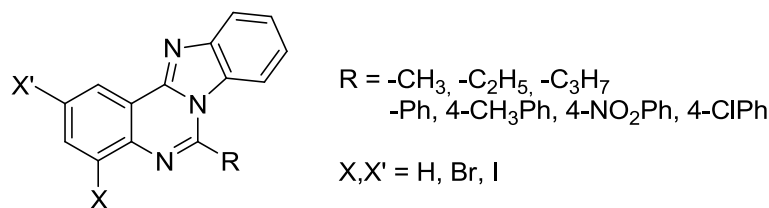
K úspěšným derivátům molekuly RLX vedly obměny kruhu A, především jeho substituce jednou nebo více alkoxy skupinami.<sup>47,48</sup> Jednou z neaktivnějších látek se ukázal být 2,3-dimethoxyderivát RLX (2,3-dimethoxy-6,7,8,9,10,12-hexahydroazepino-[2,1-*b*]-chinazolin-12-on.<sup>47</sup> Připravená sloučenina (Obr. 16) nese jistou podobnost se spasmolytickým účinným papaverinem. Přítomné methoxyskupiny pravděpodobně zodpovídají za její bronchodilatační účinek, který byl ve srovnání s teofylinem, aminofylinem i RLX silnější.



Obr. 16

Vysoká bronchodilatační a také antialergická účinnost byla následně prokázána také u 2,4-diethoxyderivátu RLX (Obr. 16).<sup>48</sup> Kromě výše zmíněného u něj byl objeven též relaxační účinek na hladkou svalovinu tenkého střeva.<sup>48</sup>

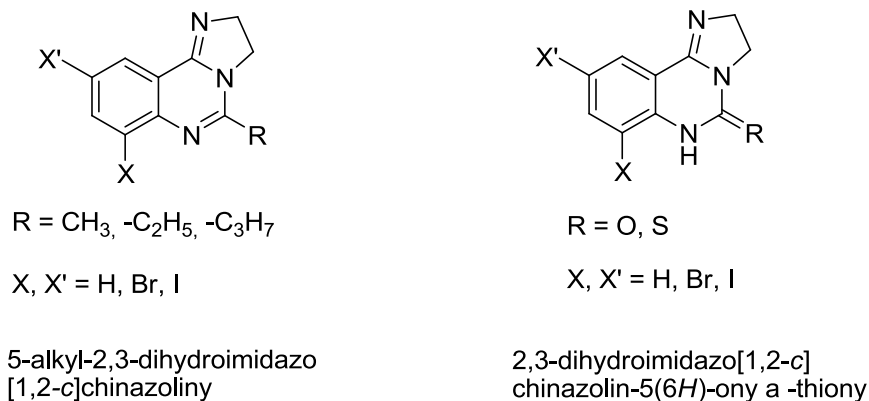
Zajímavou bronchodilatační aktivitu vykazují benzimidazo[1,2-*c*]chinazoliny<sup>49,50</sup> kde je kruh C zaměněn za benzimidazol (Obr 17).



Obr. 17

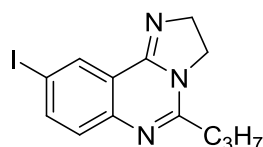
Pro aktivitu této skupiny látek je nezbytná substituce v poloze 6 heterocyklu. Na účinnost derivátů s alkylovým řetězcem v poloze 6 má vliv jeho délka (aktivita stoupá se zvyšující se délkou řetězce), účinnost 6-aryl derivátů je příznivě ovlivněna navázáním elektronakceptorového substituentu v poloze 4 tohoto jádra. Přítomnost halogenů v molekule ovlivňuje biologický efekt látek z obou skupin, přičemž jako nejaktivnější se ukázaly jodované deriváty. Nejvyšší bronchodilatační aktivitu, srovnatelnou s teofylinem, vykázal 10-jod-6-propyl-benzimidazo[1,2-c]chinazolin.

Následně byla syntetizována série derivátů 5-alkyl-2,3-dihydroimidazo-[1,2-c]chinazolinu, 2,3-dihydroimidazo[1,2-c]chinazolin-5(6*H*)-onu a 2,3-dihydroimidazo-[1,2-c]chinazolin-5(6*H*)-thionu, tedy látek s chybějícím kruhem D oproti předchozí řadě sloučenin (Obr. 18).<sup>51</sup>



Obr. 18

Všechny připravené látky působily bronchodilatačně. Při hodnocení vztahu struktury a účinku bylo zjištěno, že u 5-alkyl substituovaných derivátů je bronchodilatační aktivita opět přímo úměrná délce alkylového řetězce. Sirné i kyslíkaté analogy byly ve srovnání s 5-alkyl substituovanými deriváty méně účinné. Přítomnost halogenu v molekule pozitivně ovlivňovala bronchodilatační účinek těchto látek.<sup>51</sup> Ze všech testovaných sloučenin byl nejúčinnější 5-propyl-9-jod-2,3-dihydroimidazo[1,2-c]chinazolin (Obr 19).

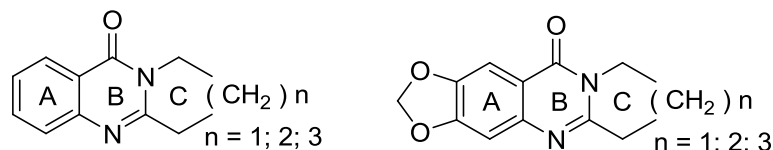


5-propyl-9-jod-2,3-dihydroimidazo[1,2-c]chinazolin

Obr. 19

V roce 2006 se Mahindroo se svojí pracovní skupinou zaměřil na vliv přítomnosti a absence jednotlivých kruhů původně obsažených v molekule vasicinu a vasicinonu, z hlediska potenciální bronchodilatační aktivity testovaných látek. Postupně připravili tři skupiny derivátů.<sup>52</sup>

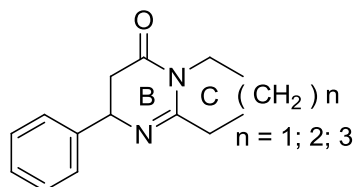
Do první skupiny patřily látky tvořené kruhem A, B i C, přičemž kruh C byl pětičetný až sedmičetný, u některých derivátů byla pak na kruh A napojena 1,3-methylenedioxy skupina (Obr. 20). Syntéza vycházela z příslušně substituované kyseliny anthranilové, ze které vnikl reakcí s thionylchloridem N-sulfinylantranoylchlorid, jehož kondenzací s vhodným laktamem byl připraven konečný derivát.<sup>52</sup>



Deriváty 1. skupiny

Obr. 20

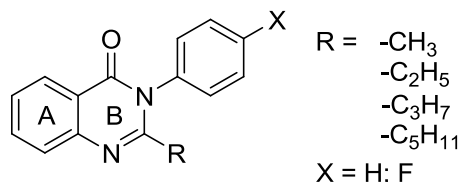
Reakcí 3-amino-3-fenylpropionové kyseliny s thionylchloridem a odpovídajícím laktamem byla připravena druhá skupina derivátů vyznačující se přítomností arylem substituovaného kruhu B, pěti- až sedmičlenného kruhu C a absencí kruhu A (Obr. 21).<sup>52</sup>



Deriváty 2. skupiny

Obr. 21

Poslední skupinu připravených látek tvořily deriváty neobsahující kruh C, se substituovaným kruhem B (ve 2. poloze alkylem a ve 3. poloze arylem) (Obr. 22). Příprava vycházela opět z kyseliny anthranilové a anhydridu vhodné alifatické kyseliny. Vzniklý 2-alkylbenzo[*d*][1,3]oxazin-4-on je pak podroben reakci s anilinem či 4-fluoranilinem za vzniku produktu 2-alkyl-3-aryl-chinazolin-4-onu.<sup>52</sup>



Deriváty 3. skupiny

Obr. 22

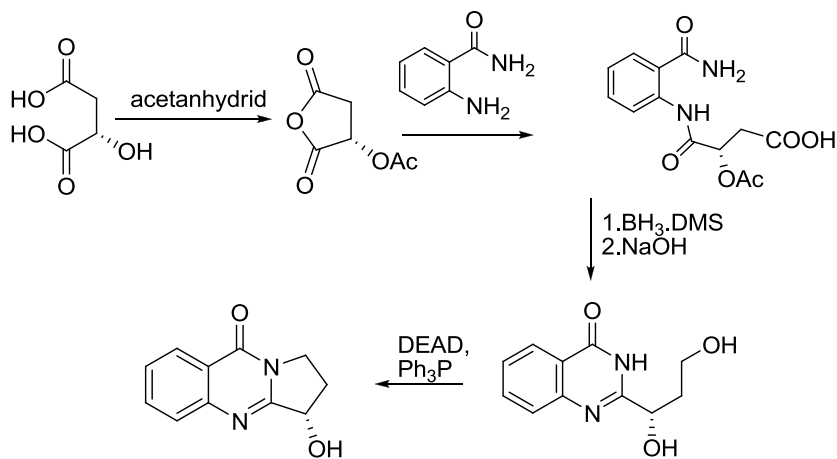
Všechny tyto deriváty byly testovány *in vitro* z hlediska své bronchodilatační aktivity na izolované trachee potkanů. Trachea byla před testováním vystavena působení histaminu nebo acetylcholinu. Výsledná bronchodilatace byla srovnávána s etofylinem.

Při testování derivátů první skupiny obsahujících sedmičlenný kruh C byla prokázána významná dilatace hladké svaloviny bronchů jak při bronchospasmu vyvolaném působením histaminu, tak i acetylcholinu. Účinnost derivátů s pěti- či šestičlenným kruhem C byla nižší. Kruh A v molekule se ukázal být pro bronchodilataci nezbytným, neboť deriváty druhé skupiny prokázaly buď jen velmi slabou, nebo žádnou aktivitu. Deriváty třetí skupiny byly schopny relaxovat hladkou svalovinu dýchacího traktu jen při histaminem indukovaném bronchospasmu. Prokázalo se, že je z tohoto hlediska výhodnější využití derivátů s kratším alifatickým řetězcem v poloze 2 (methyl, ethyl) a zároveň s nesubstituovaným fenylem v poloze 3.<sup>52</sup>

### 1.5. Bronchodilatační aktivita (-)vasicinu a (-)vasicinonu testovaná na FaF UK v Hradci Králové

Na Katedře farmaceutické botaniky a ekologie byl připraven ethanolový extrakt látek obsažených v rostlině *Adhatoda vasica*, který byl posléze, stejně jako separované přírodní alkaloidy (-)vasicin a (-)vasicinon, testován na Katedře farmakologie a toxikologie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové. Poté byl na Katedře organické a anorganické chemie připraven syntetický (-)vasicinon, který byl opět testován z hlediska svého účinku na hladkou svalovinu bronchů.<sup>35</sup>

Syntéza je velmi podobná (Schema 3) již publikované přípravě (-)vasicinonu Mhaskem<sup>40</sup>, ovšem je modifikována v kroku redukce karboxylové kyseliny, kdy je poměrně toxický diazomethan nahrazen komplexem borohydridu s dimethylsulfidem. Výtěžek celkové konverze je vyšší než u původní syntézy.<sup>53</sup>

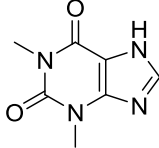
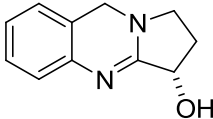
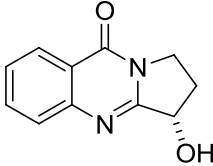
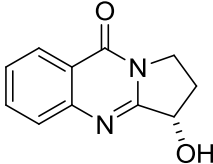


Schema 3

Kyselina jablečná reaguje s acetanhydridem za vzniku (*S*)-acetoxysukcinanhydridu. Při jeho reakci s anthranilamidem dochází k otevření kruhu sukcinanhydridu a jeho navázání na aminoskupinu v poloze 2 anthranilamidu za vzniku příslušné karboxylové kyseliny. V reakci s redukčním činidlem BH<sub>3</sub>.DMS došlo k redukci karboxylové skupiny na primární alkohol a následné cyklizaci v bazickém prostředí za vzniku chinazolinonového jádra. K tvorbě (-)vasicinonu dochází po reakci s DEAD a Ph<sub>3</sub>P.<sup>53</sup>

Z výsledků biologického hodnocení, které jsou zaznamenány v Tab. 1 vyplývá, že nejúčinnější z uvedených látek byl ethanolový extrakt z rostliny *Adhatoda vasica* a následně přírodní (-)vasicin. Testovaný (-)vasicinon byl méně účinný, než přírodní (-)vasicin i ethanolový extrakt. Z hlediska původu těchto látek lze říct, že se neprojevil žádný velký rozdíl mezi přírodním derivátem a jeho syntetickými analogy. Jako standard pro tuto *in vitro* studii byl použit teofylin.<sup>35</sup>

Tab. 1 Výsledky bronchodilatační aktivity (-)vasicinu a (-)vasicinonu

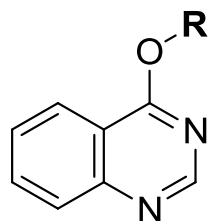
Název	Vzorec	Mr	ED <sub>50</sub> ( μmol/l )
Teofylin		180,16	500
Extrakt z rostliny <i>Adhatoda vasica</i>	-	-	218
(-)-Vasicin přírodní		188,23	323
(-)-Vasicinon přírodní		202,21	1300
(-)-Vasicinon		202,21	1037,5

Studie uvedené v kapitole 1.4. naznačily, že bronchodilatační účinek vasicinonu, popř. vasicinu zřejmě nesouvisí s přítomností kruhu C v molekule. Díky tomu jsme vyslovili předpoklad, že je možné syntetizovat deriváty chinazolin-4-olu, které by měly zachovánu stejnou nebo vyšší bronchodilatační aktivitu přírodní předlohy.



## 2. CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo vytvořit řadu derivátů odvozených od chinazolin-4-olu (Obr. 24), tzn. molekuly, která vznikne po odnětí kruhu C ze struktury vasicinonu. Mým úkolem bylo alkylačními reakcemi připravit sérii látek, které by obsahovaly v postranním řetězci alkyl, acyl, dále také řetězec nesoucí kyselou skupinu nebo bazickou skupinu. Na základě průběžných výsledků *in vitro* testování bronchodilatační aktivity bylo mým cílem dále synteticky rozvíjet nejúspěšnější připravené sloučeniny.



**R =** - alkyl  
- acyl  
- alkylkarboxylová kyselina  
- alkylamin

Obr. 24

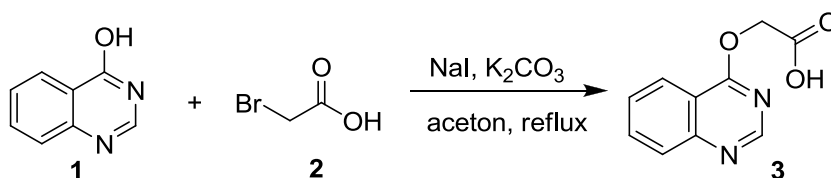
### 3. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM

#### 3.1. První série derivátů chinazolin-4-olu

Syntéza první řady derivátů se odvíjela od komerčně dostupné látky, chinazolin-4-olu. I tuto molekulu jsme zařadili do biologického hodnocení, při kterém však prokázala pouze mírnou relaxační aktivitu, podstatně nižší než byl účinek teofylinu.<sup>35</sup> Pokusili jsme se zavést do této molekuly jednoduché funkční skupiny, které by mohly nějakým způsobem ovlivnit relaxační aktivitu na hladkou svalovinu izolované průdušnice. Vznikla tak první řada derivátů s bočním řetězcem tvořeným esterem, obsahujícím kyselou či bazickou skupinu nebo pouhý alkyl.

##### 3.1.1. Syntéza derivátu s řetězcem obsahujícím kyselou skupinu

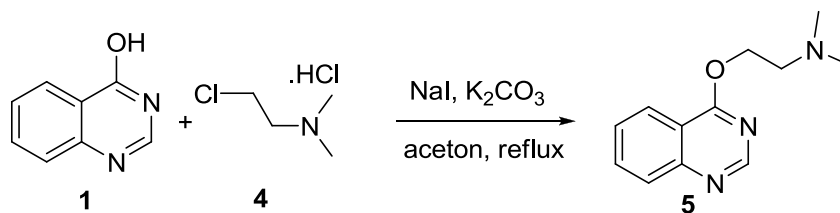
Přípraveným derivátem s kyselým charakterem byla kyselina (chinazolin-4-yloxy)octová (**3**), která se však z hlediska působení na hladkou svalovinu bronchů ukázala jako neúčinná.<sup>35</sup> Při její syntéze jsme použili chinazolin-4-ol (**1**) a kyselinu bromoctovou (**2**, Schema 4) v bazickém prostředí s přidavkem 0,1 mmol jodidu sodného pro urychlení nukleofilní substituce.



Schema 4

##### 3.1.2. Syntéza derivátu s řetězcem obsahujícím bazickou skupinu

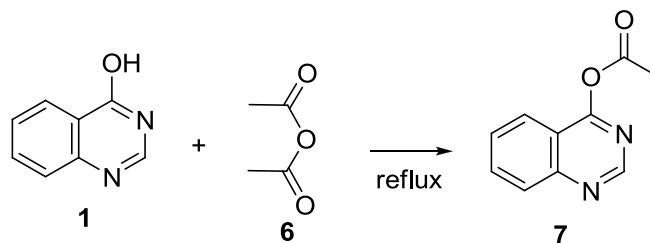
Daleko lepších výsledků při testování bronchodilatační aktivity bylo dosaženo při testování chinazolinu obsahujícím v postranním řetězci bazickou skupinu.<sup>35</sup> 4-Dimethylaminoethoxychinazolin (**5**) byl připraven za podobných podmínek jako předchozí derivát alkylací chinazolin-4-olu (**1**) hydrochloridem *N,N*-dimethyl-*N*-(2-chlorethyl)aminu (**4**, Schema 5). Ve srovnání s teofylinem má 1,4 x vyšší bronchodilatační účinnost.<sup>35</sup>



Schema 5

### 3.1.3. Syntéza derivátů s esterem v bočním řetězci

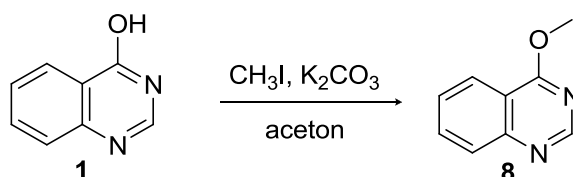
Pro reakci, jíž byl připraven chinazolin-4-yl-acetát (**7**), byly jako výchozí látky použity chinazolin-4-ol (**1**) a acetanhydrid (**6**, Schema 6). Bohužel jsme zjistili, že připravený acetyléster výchozího chinazolinu je velice náchylný k hydrolyze i za laboratorní teploty, což bylo potvrzeno i NMR spektroskopii. Při rešeršním vyhledávání jsme zjistili, že tento překvapivý fakt je již zmíněn v literatuře.<sup>54</sup>



Schema 6

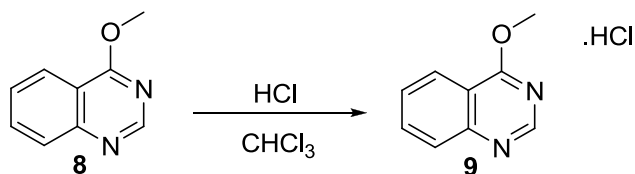
### 3.1.4. Syntéza derivátů s alkoxylovou skupinou

Naším cílem bylo syntetizovat 4-methoxychinazolin (**8**), pomocí nukleofilní substituce s methyljodidem (Schema 7).



Schema 7

Při pokusu o testování jeho bronchodilatační aktivity se zjistilo, že je nerozpustný za podmínek *in vitro* experimentu a proto z něj byl reakcí s HCl v prostředí chloroformu připraven 4-methoxychinazolin hydrochlorid (**9**, Schema 8). O vzniku monohydrochloridu jsme se přesvědčili na základě CHN analýzy.



Schema 8

Nicméně bronchorelaxační aktivita zmíněného hydrochloridu byla pouze srovnatelná s teofylinem<sup>35</sup> a tudíž jsme se rozhodli v dalších alkylacích podobného typu nepokračovat a zaměřili jsme se na syntézu derivátů s bazickým postranním řetězcem. Těmito produkty je tvořena druhá řada derivátů chinazolinu s potenciální bronchodilatačním účinkem. Přehled bronchodilatační aktivity derivátů první řady je uveden v Tab. 2.

Tab. 2

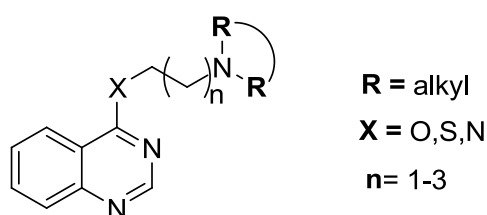
Název	Vzorec	Mr	Výtěžek	ED <sub>50</sub> ( μmol/l )
Chinazolin-4-ol (1)		146,15	-	1742
Chinazolin-4-yl-acetát (7)		188,18	89 %	NT
Kyselina (chinazolin-4-yloxy)octová (3)		204,18	90%	neaktivní
4-Methoxy-chinazolin (8)		160,17	95%	NT
4-Methoxy-chinazolin hydrochlorid (9)		196,63	100%	519
4-Dimethylaminoethoxychinazolin(5)		217,27	70%	440

NT = netestováno

### 3.2. Druhá řada derivátů chinazolin-4-olu

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, druhá řada derivátů má strukturní základ v molekule 4-dimethylaminoethoxychinazolinu (**5**).

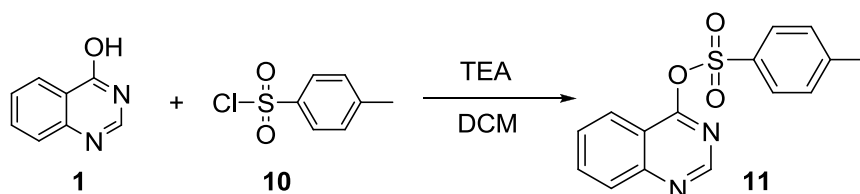
Rozhodli jsme se, že se pokusíme tuto strukturu modifikovat na třech místech. Změny se týkaly atomu vázaného v poloze 4 chinazolinového jádra, kde jsme původní kyslík nahrazovali sírou či dusíkem, dále i délky uhlíkatého řetězce nesoucího bazickou skupinu a konečně i samotné struktury terciárního aminu. Toto bazické centrum v našich produktech představoval atom dusíku v podobě dimethyl derivátu, většinou však uzavřený do nasyceného cyklu. Možnosti strukturálních obměn jsou znázorněny na Obr. 25.



Obr. 25

#### 3.2.1. Příprava derivátů s bazickým centrem vázaným přes atom dusíku

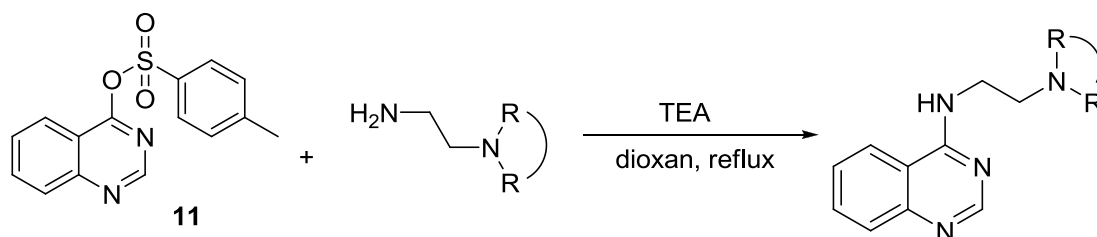
Pro přípravu alkylamino derivátů jsme zvolili syntézu využívající nukleofilního ataku aminu na tosylovou skupinu v poloze 4 chinazolinu. V prvním kroku jsme tedy připravili chinazolin-4-yl-(4-methyl)benzensulfonát (**11**) reakcí s *p*-toluensulfonylchloridem (**10**) a triethylaminem jako bazí vychytávající vzniklý chlorovodík (Schema 9). Reakce proběhla s 86% výtěžkem. Pro potenciální nestabilitu připraveného tosylátu jsme se jej rozhodli použít co nejdříve do následného kroku.



Schema 9

Zde reaguje chinazolin-4-yl-4-methylbenzensulfonát (**11**) v prostředí triethylaminu a dioxanu s látkami obsahujícími dusíkatý heterocykl, spojený přes dvouuhlíkatý řetězec

s primární aminoskupinou (Schema 10). Mechanismem nukleofilní substituce  $S_N2$  dojde k navázání aminu na chinazolinové jádro v poloze 4.



*N*-[2-(morfolin-4-yl)ethyl]chinazolin-4-amin (**12**)  
*N*-[2-(piperidin-1-yl)ethyl]chinazolin-4-amin (**13**),  
*N*-[2-(1-methylpyrrolidin-2-yl)ethyl]chinazolin-4-amin (**14**)

Schema 10

Tímto způsobem jsme připravili celkem tři deriváty. Jejich vzorce, názvy, molekulové hmotnosti, výsledky biologického hodnocení a také výtěžky reakce jsou uvedeny v následující tabulce (Tab. 3).

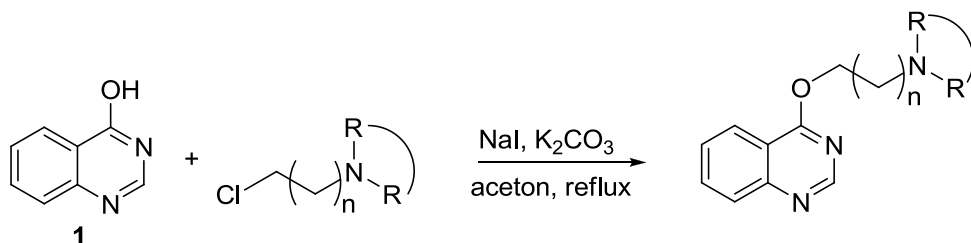
Tab. 3. Biologické hodnocení derivátů **12-14**

Název	Vzorec	Mr	Výtěžek	ED <sub>50</sub> (μmol/l)
<i>N</i> -[2-(Morfolin-4-yl)ethyl]chinazolin-4-amin ( <b>12</b> )		258,32	80%	1699
<i>N</i> -[2-(Piperidin-1-yl)ethyl]chinazolin-4-amin ( <b>13</b> )		256,35	72%	186
<i>N</i> -[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethyl]chinazolin-4-amin ( <b>14</b> )		256,35	59%	102

Z tabulky vyplývá, že kromě derivátu s morfolinovým kruhem mají námi připravené dusíkaté deriváty vyšší aktivitu než teofylin. Nejvyšší aktivita na hladkou svalovinu bronchů se projevila u *N*-[2-(1-methylpyrrolidin-2-yl)ethyl]chinazolin-4-aminu (**14**).

## 3.2.2. Příprava derivátů s bazickým centrem vázaným přes atom kyslíku

Podobně jako při syntézách látek z první série jsme využili Williamsonovu syntézu alkylchloridem v prostředí jodidu sodného, uhličitanu draselného a acetonu (Schema 11).



4-[2-(1-methylpyrrolidin-2-yl)ethoxy]chinazolin (**15**)  
 4-[3-(piperidin-1-yl)propyloxy]chinazolin (**16**)  
 4-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethoxy]chinazolin (**17**)

Schema 11

Tímto způsobem jsme syntetizovali tři chinazolinové deriváty, substituované v poloze 4 přes atom kyslíku, na něž je napojen dvou- až tříuhlíkatý řetězec, nesoucí buď dusíkatý nasycený heterocykl nebo disubstituovanou aminoskupinu.

Vzorce, názvy, molekulové hmotnosti, výsledky biologického hodnocení a také výtěžky reakcí jsou uvedeny v Tab. 4

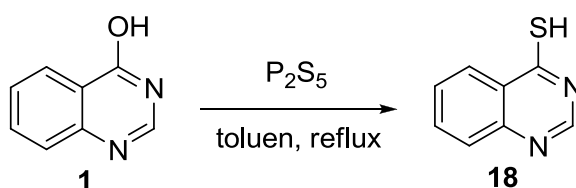
Tab. 4 Biologické hodnocení derivátů **15-17**

Název	Vzorec	Mr	Výtěžek	ED <sub>50</sub> ( μmol/l )
4-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethoxy]-chinazolin ( <b>15</b> )		257,33	52%	149
4-[3-(Piperidin-1-yl)propyloxy]chinazolin ( <b>16</b> )		271,36	83%	28
4-[2-(Pyrrolidin-1-yl)ethoxy]chinazolin ( <b>17</b> )		243,30	89%	598

Všechny kyslíkaté deriváty kromě 4-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethoxy]chinazolinu (**17**) byly z hlediska působení na hladkou svalovinu dýchacího traktu ve srovnání s teofylinem účinnější. Za nejaktivnější derivát pak můžeme považovat 4-[3-(piperidin-1-yl)propyloxy]chinazolin (**16**).

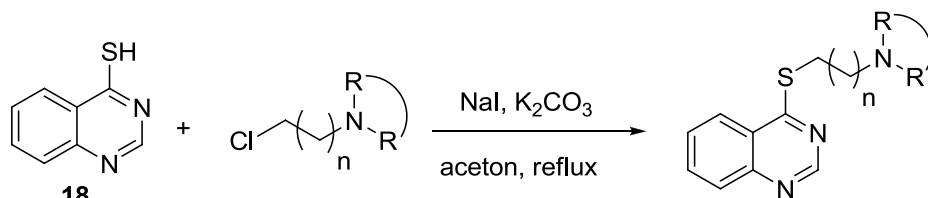
### 3.2.2. Příprava derivátů s bazickým centrem vázaným přes atom síry

Pro syntézu této řady derivátů chinazolinu bylo nejprve zapotřebí připravit chinazolin-4-thiol (**18**) pomocí reakce chinazolin-4-olu se sulfidem fosforečným v toluenu, která proběhla v 55% výtěžku (Schema 12).



Schema 12

Následně jsme pomocí alkylačních reakcí připravili čtyři níže uvedené deriváty, jejichž syntéza byla provedena obdobným způsobem jako v předchozích případech. Použití jodidu sodného v prostředí acetonu mělo opět podpořit Finkelsteinovu reakci (Schema 13).



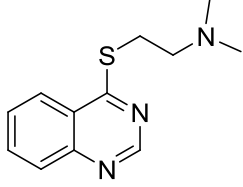
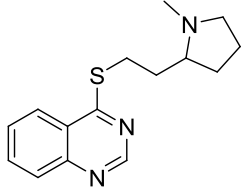
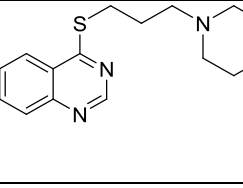
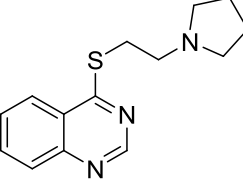
- 4-(dimethylaminoethylsulfanyl)chinazolin (**19**)  
 4-[2-(1-methylpyrrolidin-2-yl)ethylsulfanyl]chinazolin (**20**)  
 4-[3-(piperidin-1-yl)propylsulfanyl]chinazolin (**21**)  
 4-[2-(pyrrolidin-1-yl)ethylsulfanyl]chinazolin (**22**)

Schema 13

Vzorce a názvy produktů, jejich molekulární hmotnosti, výtěžky reakcí i výsledky biologického hodnocení jsou uvedeny v Tab. 5



Tab. 5 Biologické hodnocení derivátů **19-22**

Název	Vzorec	Mr	Výtěžek	ED <sub>50</sub> ( μmol/l )
4-(Dimethylamino-ethylsulfanyl)chinazolin ( <b>19</b> )		233,33	83%	54
4-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)-ethylsulfanyl]chinazolin ( <b>20</b> )		273,40	62%	69
4-[3-(Piperidin-1-yl)propylsulfanyl]chinazolin ( <b>21</b> )		287,42	86%	3,65
4-[2-(Pyrrolidin-1-yl)ethylsulfanyl]chinazolin ( <b>22</b> )		259,37	53%	NT

NT = netestováno

Z tabulky vyplývá, že všechny zatím testované sírné deriváty jsou z hlediska relaxačního působení na hladkou svalovinu respiračního traktu výrazně účinnější než teofylin. Tyto látky obecně vykazaly nejvyšší bronchodilatační účinnost ze všech připravených analog 4-hydroxychinazolinu., především 4-[3-(piperidin-1-yl)propylsulfanyl]chinazolin (**21**) se svou vysokou aktivitou jeví jako potenciální cíl dalšího vývoje bronchodilatačně aktivních derivátů chinazolinu.

## 4. ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byla provedena syntéza dvou sérií derivátů strukturně odvozených z molekul alkaloidů vasicinu a vasicinonu, látek relaxačně působících na hladkou svalovinu bronchů a trachey.

První řada derivátů byla připravena jednoduchými alkylačními reakcemi na struktuře 4-hydroxychinazolinu a vedla k tvorbě látek s postranní skupinou tvořenou alkylem, esterovou skupinou, kyselým nebo bazickým řetězcem. Tímto způsobem bylo připraveno celkem 6 derivátů. Do biologického hodnocení byl pro srovnání zahrnut ještě samotný chinazolin-4-ol.

Všechny tyto deriváty byly testovány z hlediska bronchodilatační aktivity. Vzhledem k velmi dobrým výsledkům biologického hodnocení látky s bazickým postranním řetězcem byla vytvořena druhá řada derivátů chinazolinu modifikovaná v poloze 4 atomem dusíku, kyslíku nebo síry. Na tyto heteroatomy byl napojen dvou- až tříuhlíkatý řetězec nesoucí bazické centrum.

I u druhé řady derivátů byla hodnocena jejich schopnost relaxovat spasmus svaloviny trachey a bronchů. U většiny vytvořených látek byla prokázána vyšší bronchodilatační schopnost než u teofylinu, který byl v prováděném testování používán jako standard. Jako neaktivnější se prozatím jeví deriváty nesoucí v poloze 4 atom síry nebo kyslíku, na který je napojen tříuhlíkatý řetězec nesoucí bazické centrum. Jejich aktivita byla 17x (u derivátu obsahujícího kyslík) a 136x (u derivátu obsahujícího atom síry) vyšší, než bronchodilatační aktivita teofylinu.

Dá se tedy předpokládat, že by tyto látky mohly být určeny k dalšímu vývoji potenciálních bronchodilatačně aktivních sloučenin.

## 5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 5.1. Obecné experimentální postupy

Výchozí látky byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich a použity bez čištění. Suchý dichlormethan byl destilován z CaH<sub>2</sub> v čas potřeby. Teploty tání všech látek byly měřeny na Koflerově bloku a nebyly korigovány. Měření IČ spekter všech látek bylo provedeno na přístroji NICOLET 6700 FT-IR. Hmotnostní spektra látek byla měřena na hmotnostním spektrometru FINNIGAN LTQ XL. Elementární analýza byla provedena na přístroji CHNS-OCE FISIONS EA 1110. NMR spektra byla měřena v roztocích DMSO-*d*<sub>6</sub>, CD<sub>3</sub>OD a CDCl<sub>3</sub> při laboratorní teplotě na přístroji VARIAN MERCURY – Vx BB 300 pracujícím při 300 MHz pro <sup>1</sup>H a při 75 MHz pro <sup>13</sup>C. Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v parts per million (ppm) a byly nepřímo vztaheny k tetramethylsilanu jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla. Data jsou prezentována v následujícím pořadí: chemický posun (δ), integrovaná intenzita (v protonových spektrech), multiplicita (s: singlet, t: triplet, m: multiplet, bs: široký singlet), interakční konstanty (Hz). Všechna přiřazení byla provedena na základě 1D experimentů. Průběh reakce a čistota výsledných produktů byla kontrolována pomocí tenkovrstvé chromatografie na aluminiových TLC deskách Silica gel 60 F254 (Merck) s detekcí pod UV lampou. Silikagel 60 (230-240 mesh) pro sloupcovou chromatografii byl zakoupen od firmy E. Merck.

### 5.2. Použité experimentální postupy při biologickém hodnocení

#### 5.2.1. Metodika izolované průdušnice

Při testování byla k hodnocení bronchodilatační účinnosti syntetizovaných látek použita modifikovaná *in vitro* metodika podle Castillo a de Beera.<sup>35</sup> Testování probíhalo na izolované trachee samců potkana kmene Wistar. Trachea byla z těla potkana přenesena do Schullerovy nádoby naplněné Krebs-Henseleitovým živným roztokem (pH 7,8) o složení (mM): NaCl 116.3, KCl 4.7, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25.0 a glukóza 11.1 a posléze upevněna pomocí ligatur jedním koncem k fritě zásobující živný roztok pneumoxidem a druhým na izotonický převodník spojený s registračním zařízením (zapisovačem).

Aparatura byla již dříve kalibrována pomocí dvou závaží o hmotnosti 1 a 2 g. Preparát byl zatížen na 2 g. Stabilizace trvala 30 min, přičemž každých 10 min byla prováděna výmena živného roztoku. Po uplynutí 30 min bylo zatížení sníženo na 1 g. Preparát byl připraven k testování poté, co se křivka záznamu stabilizovala ve fázi plató.

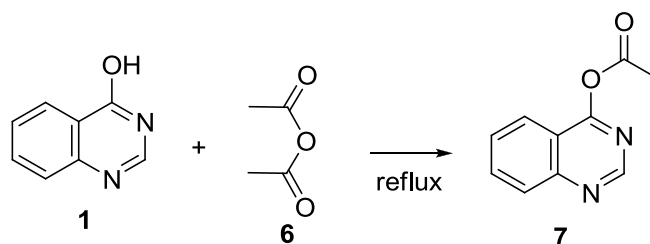
Do lázně naplněné živným roztokem byl přidán karbachol o koncentraci  $10^{-5}$  M kontrahující tracheu. Po dosažení maximální kontrakce byl proveden výplach trache byla na 10 min ponechána možnosti vlastní relaxace. Další dávkou karbacholu ( $10^{-5}$  M) byla trachea opět kontrahována. Poté byly přidávány kumulativní dávky vodného roztoku testované látky ve vzrůstající koncentraci. Další dávku testované látky byla přidána vždy až po stabilizované odpovědi hladkého svalstva průdušnice na předcházející koncentraci. Na konci experimentu byl přidán teofylin v koncentraci  $3 \times 10^{-3}$  M, čímž došlo k úplně relaxaci hladkého svalstva. Relaxace navozená jednotlivými dávkami testované látky byla porovnávána s touto maximální relaxací navozenou teofylinem a výsledek byl vyjádřen v procentech. Teofylin zde slouží jako pozitivní kontrola (koncentrace  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$ ,  $2.5 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $7.5 \times 10^{-4}$  a  $10^{-3}$  M).

### 5.2.2. Zpracování výsledků biologického hodnocení

Získané hodnoty byly zadány do programu GraphPad Prism 5. Na osu X byl nanesen log koncentrace testované látky, na osu Y procentuální relaxace tkáně. Metodou nelineární regrese byla získána DRC křivka a odečtena hodnota  $ED_{50}$  (dávka látky vyvolávající polovinu maximální odpovědi). Výsledky jsou vyjádřeny jako  $ED_{50} \pm SEM$  pro každou testovanou látku.  $ED_{50} \pm SEM$  pro teofylin, používaný jako standard, je  $500 \pm 43 \mu\text{mol/l}$ .<sup>35</sup>

### 5.3. Syntéza derivátů první série

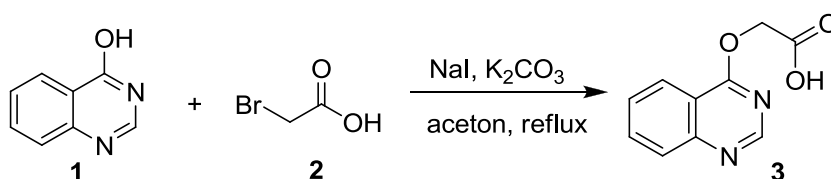
#### 5.3.1. Chinazolin-4-yl-acetát (7)<sup>54</sup>



Směs chinazolin-4-olu (1) (614.6 mg; 4.2 mmol) a acetanhydridu (6) (20 ml) byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 4 hodin. Nezreagovaný acetanhydrid (6) byl oddestilován a produkt byl přečistěn na silikagelovém sloupci s použitím mobilní fáze hexan/EtOAc 1:1. Reakce proběhla s výtěžkem 89 %.

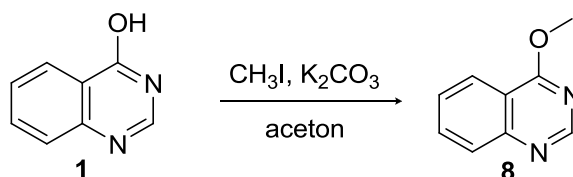
**Charakteristika:** bílá krystalická látka, t.t. 326-328 °C.

#### 5.3.2. (Chinazolin-4-yloxy)octová kyselina (3)<sup>55</sup>



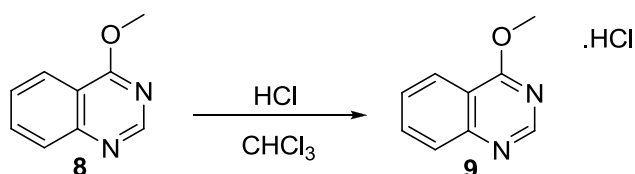
Směs chinazolin-4-olu (1) (1.462 g, 10.0 mmol), kyseliny bromoctové (2) (1.389 g, 10.0 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (6.915 g, 50.0 mmol) a jodidu sodného (0.149 g, 1.0 mmol) ve 100 ml acetonu, byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 20 hodin. Poté byla reakční směs ochlazena, následně zfiltrována a filtrát byl okyselen na pH $\approx$ 4.5. Vysrážený produkt jsme přefiltrovali, promyli vodou a vysušili. Reakce proběhla s výtěžkem 90 %.

**Charakteristika:** nažloutlá krystalická látka, t.t. 240-243 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  13.28 (1H, bs, COOH), 8.36 (1H, s, H2), 8.18-8.12 (1H, m, Ar), 7.90-7.83 (1H, m, Ar), 7.75-7.69 (1H, m, Ar), 7.58-7.51 (1H, m, Ar), 4.75 (2H, s, CH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  169.6, 160.4, 148.4, 148.2, 134.8, 127.5, 127.49, 126.2, 121.6, 47.4; **IR:** 1109, 1175, 1208, 1299, 1377, 1482, 1612, 1666, 1688, 2921 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 205.3 [M+H]<sup>+</sup> (100), 189.3 (38), 173.3 (25), 158.5 (4), 147.1 (5), 129.1 (4), 102.3 (6), 72.1 (7).

5.3.3. 4-Methoxychinazolin (**8**)<sup>56</sup>

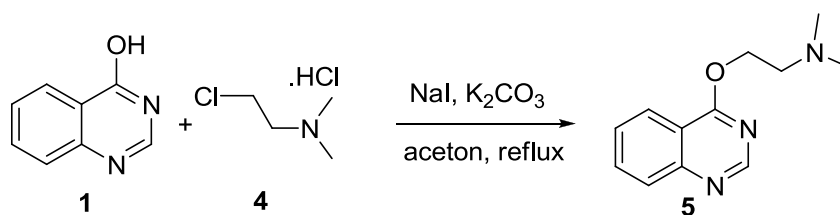
Směs chinazolin-4-olu (**1**) (0.146 g, 1.0 mmol), methyljodidu (0.710 g, 5.0 mmol) a bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) v 15 ml acetonu byla míchána po dobu 20 hodin a poté byla zfiltrována. Výsledný produkt byl přečištěn na silikagelovém sloupci za použití mobilní fáze hexan/EtOAc 9:1. Výtěžek reakce byl 95 %.

**Charakteristika:** bílá krystalická látka, t.t. 100-103 °C ; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 8.37 (1H, s, H<sub>2</sub>), 8.15-8.11 (1H, m, Ar), 7.83-7.77 (1H, m, Ar), 7.68-7.64 (1H, m, Ar), 7.56-7.50 (1H, m, Ar), 3.49 (3H, s, CH<sub>3</sub>); **IR:** 1106, 1152, 1187, 1264, 1295, 1321, 1339, 1397, 1469, 1561, 1609, 1665, 1863, 2924 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 161.2 [M+H]<sup>+</sup> (100), 147.2 (2), 134.3 (10), 129.0 (2), 116.3 (1), 102.3 (1), 86.1 (1).

5.3.4. 4-Methoxychinazolin hydrochlorid (**9**)<sup>57</sup>

4-Methoxychinazolin (**8**) vzniklý výše popsanou reakcí byl rozpuštěn v 0,5 g chloroformu. Do směsi byl poté vháněn připravený chlorovodík. Reakční směs byla zfiltrována a promyta studeným chloroformem. Výtěžek reakce byl kvantitativní.

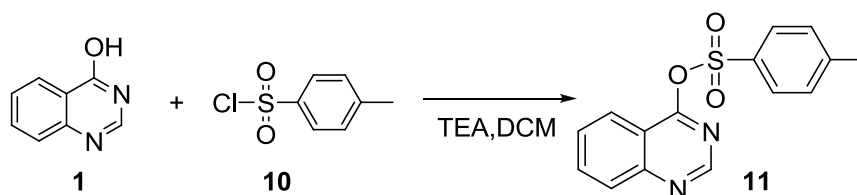
**Charakteristika:** bílá krystalická látka, t.t. 147-50 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 9.38 (1H, s, H<sub>2</sub>), 8.38-8.33 (1H, m, Ar), 8.06-8.00 (1H, m, Ar), 7.81-7.73 (2H, m, Ar), 3.72 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 160.2, 152.6, 139.7, 137.6, 130.7, 128.7, 121.4, 36.1; **IR:** 1120, 1160, 1180, 1265, 1304, 1376, 1444, 1483, 1557, 1585, 1661, 1707, 2506, 2920 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita): 161.3 [M+H]<sup>+</sup> (100), 147.1 (27), 138.1 (4), 130.1 (9), 120.1 (7), 102.2 (16), 92.2 (4); **CHN:** Vypočteno pro C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>ClN<sub>2</sub>O; C, 54.97; H, 4.61; N, 14.25; nalezeno C, 55.26; H, 4.89; N, 14.24.

5.3.5. 4-Dimethylaminoethoxychinazolin (**5**)<sup>58</sup>

Směs chinazolin-4-olu (**1**) (0.146 g, 1.0 mmol), hydrochloridu *N,N*-dimethyl-*N*-(2-chlorethyl)aminu (**4**) (0.158 g, 1.1 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0.1 mmol) v prostředí 15 ml acetonu byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 28 hodin. Přečištění produktu bylo provedeno sloupcovou chromatografií na silikagelu. Jako mobilní fáze byla použita směs hexan/EtOAc 7:3. Reakce proběhla se 70 % výtěžkem.

**Charakteristika:** bílá amorfni látka; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.19-8.14 (1H, m, Ar), 7.97 (1H, s, H<sub>2</sub>), 7.64-7.57 (2H, m, Ar), 7.38-7.32 (1H, m, Ar), 3.98 (2H, t, *J*=6.3 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.55 (2H, t, *J*=6.3 Hz, NCH<sub>2</sub>), 2.17 (6H, s, 2xCH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR**(75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 160.7, 147.8, 146.8, 133.8, 127.1, 126.8, 126.3, 121.7, 57.4, 45.2, 44.0; **IR:** 1034, 1134, 1149, 1181, 1292, 1322, 1367, 1473, 1608, 1667, 2770, 2822, 2945cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita): 218.2 [M+H]<sup>+</sup> (100), 204.3 (28), 173.1 (49), 154.5 (1), 129.1 (4), 103.1 (1), 72.1 (3).

## 5.4. Syntéza derivátů druhé řady

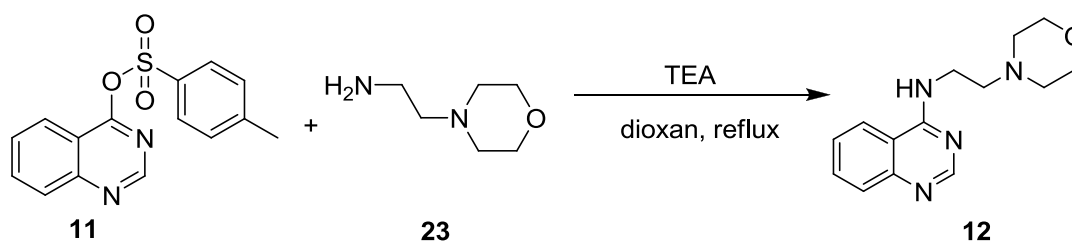
5.4.1. Chinazolin-4-yl-(4-methyl)benzensulfonát (**11**)

Směs chinazolin-4-olu (**1**) (1.462 g; 10.0 mmol), triethylaminu (1.40 ml) a dichlormethanu (20 ml) byla ochlazena na teplotu 0 °C. Poté byl přidán tosylchlorid (**10**) (1.907 g, 10.0 mmol). Po vyjmutí z ledové lázně byla směs ponechána 28 hodin při laboratorní teplotě za současného míchání na magnetické míchače.

Produkt byl od nezreagovaných výchozích látek a meziproductů oddělen za pomoci sloupcové chromatografie na silikagelu. Jako mobilní fáze byla použita směs hexan/EtOAc 1:3. Reakce proběhla s výtěžkem 86 %.

**Charakteristika:** lehce nažloutlá krystalická látka, t.t. 175-180 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.80 (1H, s, H<sub>2</sub>), 8.20-8.16 (1H, m, Ar), 8.10-8.04 (2H, m, Ar), 7.79-7.65 (2H, m, Ar), 7.49-7.43 (1H, m, Ar), 7.39-7.35 (2H, m, Ar), 2.44 (3H, s, CH<sub>3</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** 146.7, 140.4, 135.6, 133.4, 129.8, 129.7, 128.3, 128.0, 127.3, 127.2, 122.0, 21.8; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita): 301.1 [M+H]<sup>+</sup> (1), 258.3 (1), 237.3 (1), 195.3 (1), 155.1 (100), 147.2 (25), 109.4 (1), 91.4 (26).

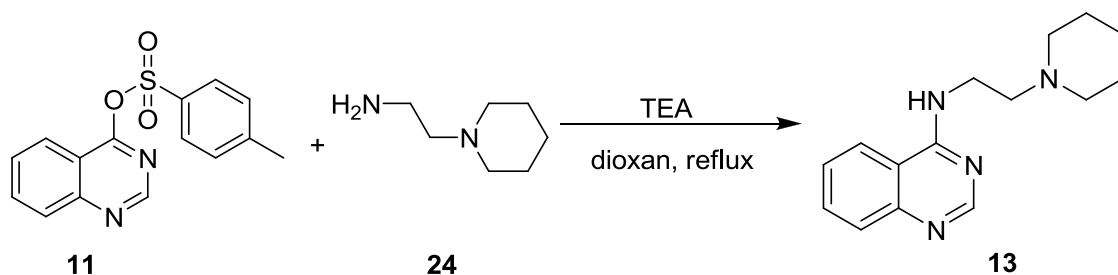
#### 5.4.2. *N*-[2-(Morfolin-4-yl)ethyl]chinazolin-4-amin (**12**)<sup>59</sup>



Směs chinazolin-4-yl-(4-methyl)benzensulfonátu (**11**) (0.300 g, 1.0 mmol), 2-aminoethylmorfolinu (**23**) (0.130 g, 1.0 mmol) a triethylaminu (0.304 g, 1.0 mmol) v 5 ml dioxanu byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 27 hodin. Produkt byl ochlazen, přefiltrován a promyt methanolem. Separace produktu byla provedena pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu. Jako mobilní fáze byla použita směs EtOAc/methanol 9:1. Reakce proběhla s výtěžkem 80 %.

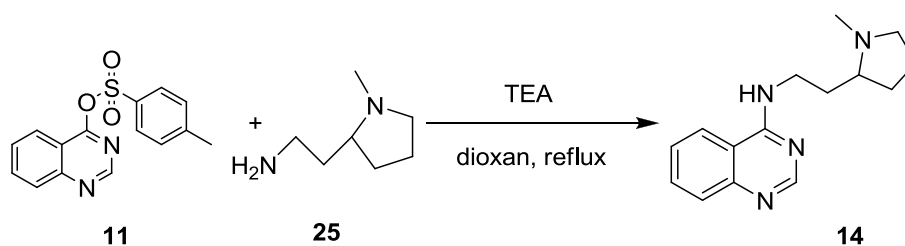
**Charakteristika:** nahnědlá krystalická látka, t.t. 73-76 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.28-8.23 (1H, m, Ar), 8.04 (1H, s, H<sub>2</sub>), 7.76-7.65 (2H, m, Ar), 7.52-7.47 (1H, m, Ar), 4.04 (2H, t, *J*=7.1 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 3.65-3.58 (4H, m, 2x OCH<sub>2</sub>), 2.68 (2H, t, *J*=7.1 Hz, NCH<sub>2</sub>), 2.53-2.47 (4H, m, 2x NCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 161.0, 147.0, 134.1, 129.3, 127.3, 127.1, 126.6, 121.9, 66.8, 56.9, 53.6, 53.0, 43.3; **IR:** 1113, 1136, 1183, 1230, 1262, 1295, 1323, 1359, 1473, 1563, 1610, 1660, 2851, 2943 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 260.3 [M+2H]<sup>+</sup> (100), 232.2 (3), 212.3 (1), 197.4 (3), 173.1 (13), 155.3 (2), 131.3 (1), 84.3 (1).



5.4.3. N-[2-(Piperidin-1-yl)ethyl]chinazolin-4-amin (**13**)<sup>59</sup>

Směs chinazolin-4-yl-(4-methyl)benzensulfonátu (**11**) (0.301 g, 1.0 mmol), 2-aminoethylpiperidinu (**24**) (0.129 g, 1.0 mmol) a triethylaminu (0.303 g, 1.0 mmol) v 5 ml dioxanu byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 32 hodin. Separační metodou použitou k přečištění přefiltrovaného a methanolem promytého produktu byla sloupcová chromatografie na silikagelu, s mobilní fází EtOAc/methanol 9:1, později v poměru 8:2. Reakce proběhla s výtěžkem 72 %.

**Charakteristika:** nažloutlá krystalická látka, t.t. 72-76 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.25-8.20 (1H, m, Ar), 8.02 (1H, s, H2), 7.74-7.63 (2H, m, Ar), 7.44-7.39 (1H, m, Ar), 4.02 (2H, t, *J*=6.1 Hz, NHCH<sub>2</sub>), 2.59 (2H, t, *J*=6.1 Hz, NCH<sub>2</sub>), 2.42-2.35 (4H, m, 2xNCH<sub>2</sub>), 1.56-1.43 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 1.40-1.34 (2H, m, CH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 160.9, 147.3, 133.9, 129.1, 127.2, 126.8, 126.5, 121.9, 57.0, 54.5, 43.6, 25.8, 24.0 ; **IR:** 1110, 1153, 1172, 1263, 1303, 1322, 1364, 1382, 1443, 1466, 1473, 1608, 1664, 2782, 2827, 2850, 2938 cm<sup>-1</sup> **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 258.3 [M+2H]<sup>+</sup> (100), 246.9 (5), 225.3 (14), 199.0 (1), 183.1 (2), 173.1 (59), 162.1 (7), 112.1 (19), 97.9 (2), 82.2 (1).

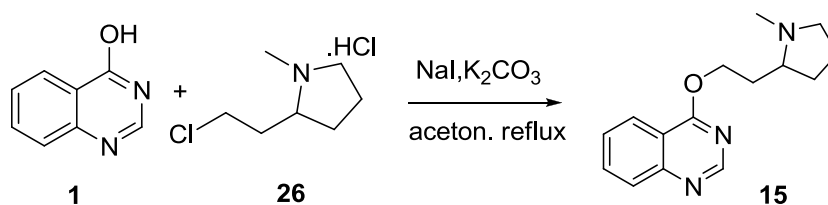
5.4.4. N-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethyl]chinazolin-4-amin (**14**)

Směs chinazolin-4-yl-(4-methyl)benzensulfonátu (**11**) (0.300g, 1.0 mmol), 2-(2-aminoethyl)-1-methylpyrrolidinu (**25**) (0.128 g, 1.0 mmol) a triethylaminu (0.304 g, 1.0 mmol) v 5 ml dioxanu jsme zahřívali pod zpětným chladičem po dobu 25 hodin. Produkt byl zfiltrován a promyt methanolem. Jeho separace byla provedena pomocí sloupcové

chromatografie na silikagelu za použití mobilní fáze EtOAc/methanol 7:3. Výtěžek reakce byl 59 %.

**Charakteristika:** nažloutlá olejovitá látka; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.24-8.20 (1H, m, Ar), 8.03 (1H, s, H<sub>2</sub>), 7.74-7.62 (2H, m, Ar), 7.47-7.42 (1H, m, Ar), 4.08-3.94 (2H, m, NHCH<sub>2</sub>), 3.09-3.01 (1H, m, CH) 2.35-1.95 (7H, m, 2xCH<sub>2</sub>+CH<sub>3</sub>), 1.91-1.82 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>) **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 162.6, 149.1, 135.7, 130.5, 128.6, 127.9, 127.4, 122.9, 65.5, 57.7, 45.7, 40.4, 33.4, 31.2, 22.7; **IR:** 1106, 1148, 1181, 1293, 1324, 1371, 1474, 1563, 1610, 1672, 2786, 2951 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 258.3 [M+2H]<sup>+</sup> (100), 243.8 (6), 233.1 (6), 227.2 (5), 190.2 (3), 169.3 (9), 151.1 (5), 127.9 (10), 112.1 (19), 98.3 (7), 84.2 (9).

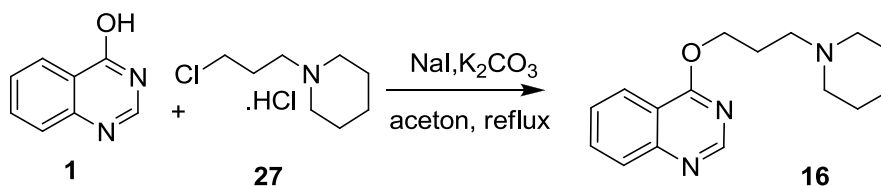
#### 5.4.5. 4-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethoxy]chinazolin (**15**)



Směs chinazolin-4-olu (**1**) (0.146 g, 1.0 mmol), hydrochloridu 2-(2-chloroethyl)-1-methylpyrrolidinu (**26**) (0.203 g, 1.1 mmol), bezvodého uhlíčitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) v 15 ml acetonu byla zahřívána po dobu 31 hodin. Poté byl produkt ochlazen, zfiltrován a promyt methanolem. Následně byl separován na silikagelovém sloupci za použití mobilní fáze EtOAc/methanol 7:3, posléze 6:4.

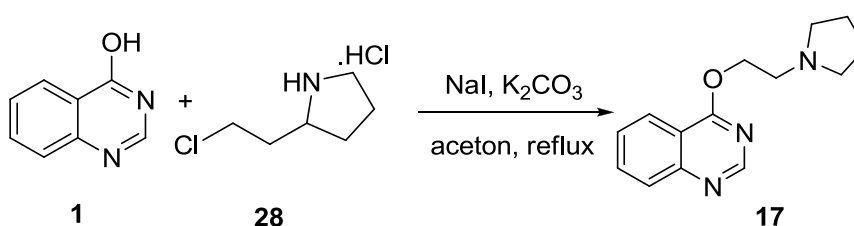
Výtěžek reakce byl 96 %.

**Charakteristika:** bezbarvá olejovitá látka; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.33 (1H, s, H<sub>2</sub>), 8.17-8.13 (1H, m, Ar), 7.79-7.73 (1H, m, Ar), 7.63-7.59 (1H, m, Ar), 7.53-7.46 (1H, m, Ar), 4.10-4.02 (2H, t, *J*=7.7 Hz, OCH<sub>2</sub>), 3.08-3.00 (1H, m, CH), 2.38-2.02 (7H, m, 2xCH<sub>2</sub>+CH<sub>3</sub>), 1.82-1.53 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 162.4, 149.0, 135.6, 128.4, 127.9, 127.3, 122.9, 65.3, 57.7, 45.7, 40.5, 33.6, 31.2, 22.7; **IR:** 1106, 1164, 1180, 1292, 1323, 1371, 1473, 1563, 1609, 1669, 2784, 2947, 3414 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 258.3 [M+H]<sup>+</sup> (100), 217.2 (4), 203.3 (2), 175.2 (1), 147.4 (4), 128.2 (3), 112.2 (6), 81.0 (2).

5.4.6. 4-[3-(Piperidin-1-yl)propyloxy]chinazolin (**16**)

Směs chinazolin-4-olu (**1**) (0.146 g, 1.0 mmol), hydrochloridu 1-(3-chlorpropyl)piperidinu (**27**) (0.218 g, 1.1 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) v 15 ml acetonu byla zahřívána po dobu 24 hodin. Poté byl produkt postupně ochlazen, zfiltrován a promyt methanolem a následně přečištěn na silikagelovém sloupci za použití mobilní fáze EtOAc/methanol 8:2. Reakce proběhla s výtěžkem 83 %.

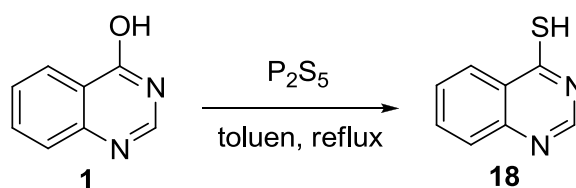
**Charakteristika:** bílá krystalická látka, t.t. 64-66 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.35 (1H, s, H2), 8.23-8.18 (1H, m, Ar), 7.83-7.77 (1H, m, Ar), 7.68-7.63 (1H, m, Ar), 7.56-7.50 (1H, m, Ar), 4.10-4.03 (2H, t, *J*=7.0 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.44-2.35 (6H, m, 3xNCH<sub>2</sub>), 2.03-1.96 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.58-1.38 (6H, m, 3xCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 162.7, 149.4, 149.1, 135.6, 128.5, 127.8, 127.4, 123.0, 56.9, 55.3, 46.6, 26.5, 26.5, 25.2; **IR:** 1118, 1160, 1180, 1230, 1251, 1273, 1345, 1367, 1413, 1439, 1468, 1562, 1609, 1667, 2758, 2786, 2810, 2928, 2948 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 272,2 [M+H]<sup>+</sup> (100), 248.4 (1), 219.3 (1), 187.3 (14), 149.8 (1), 126.3 (1), 98.3 (1).

5.4.7. 4-[2-(Pyrrolidin-1-yl)ethoxy]chinazolin (**17**)<sup>58</sup>

Směs chinazolin-4-olu (**1**) (0.146 g, 1.0 mmol), hydrochloridu 1-(2-chlorethyl)pyrrolidinu (**28**) (0.170 g, 1.1 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) v 15 ml acetonu byla zahřívána po dobu 25 hodin. Po ochlazení, filtraci a promytí produktu methanolem byl produkt přečištěn na silikagelovém sloupci s použitím mobilní fáze EtOAc/methanol 8:2. Výtěžek reakce činil 89 %.

**Charakteristika:** nažloutlá krystalická látka, t.t. 148-150 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.26 (1H, s, H2), 8.18-8.14 (1H, m, Ar), 7.77-7.72 (1H, m, Ar), 7.63-7.59 (1H, m, Ar), 7.50-7.44 (1H, m, Ar), 4.16 (2H, t, *J*=6.7 Hz, OCH<sub>2</sub>), 2.85 (2H, t, *J*=6.7 Hz, NCH<sub>2</sub>), 2.66-2.58 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 1.80-1.72 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 162.4, 149.1, 148.9, 135.5, 128.3, 127.8, 127.3, 122.9, 55.3, 55.1, 46.3, 24.3; **IR:** 1105, 1118, 1148, 1175, 1295, 1325, 1369, 1450, 1472, 1605, 1671, 2696, 2782, 2920 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 244.2 [M+H]<sup>+</sup> (100), 203.3 (1), 187.2 (1), 173.2 (5), 158.2 (1), 126.1 (1), 112.3 (1), 98.1 (3).

#### 5.4.8. Chinazolin-4-thiol (**18**)<sup>60</sup>

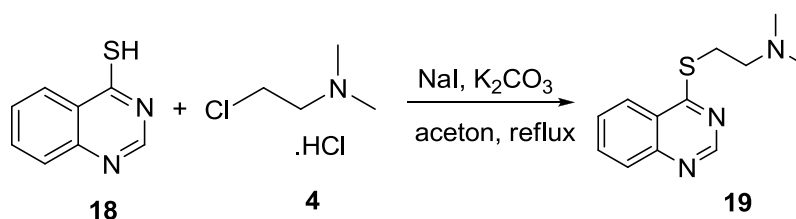


Směs chinazolin-4-olu (**1**) (1.46 g, 10.0 mmol) a sulfidu fosforečného (2.22 g, 10.0 mmol) v prostředí 50 ml toluenu byla zahřívána 20 hodin pod zpětným chladičem. Po této době byl produkt smyt ze stěn reakční baňky za pomoci několika mililitrů toluenu a ultrazvukové lázně a celý obsah baňky byl vylit na led. Po následné filtraci byl produkt přečištěn krystalizací ze směsi etanol/voda 1:1. Výtěžek reakce byl 55 %.

**Charakteristika:** žlutá krystalická látka, t.t. 288-290 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.84 (1H, bs, SH), 8.59-8.54 (1H, m, Ar), 8.17 (1H, s, H2), 7.93-7.86 (1H, m, Ar), 7.74-7.69 (1H, m, Ar), 7.63-7.57 (1H, m, Ar)

**<sup>13</sup>C NMR:** (75MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 185.9, 144.5, 144.0, 135.5, 129.4, 129.0, 128.4, 128.3; **IR:** 1115, 1200, 1243, 1261, 1303, 1400, 1442, 1463, 1518, 1567, 1596, 1620, 2342, 2360, 2713, 3706, 3729 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 163.2 [M+H]<sup>+</sup> (1), 147.1 (2), 135.1 (1), 121.2 (100), 103.1 (2), 91.1 (4).

#### 5.4.9. 4-Dimethylaminoethylsulfanylchinazolin (**19**)

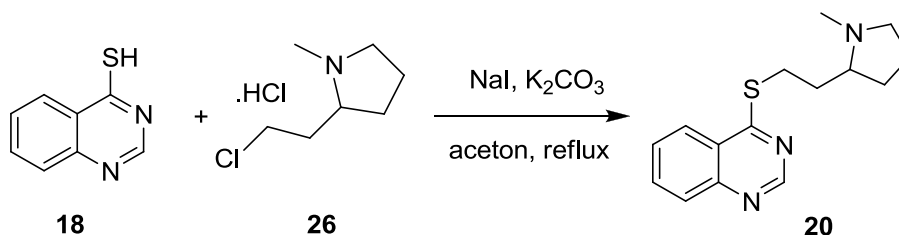


Směs chinazolin-4-thiolu (**18**) (0.162 g, 1.0 mmol), hydrochloridu *N,N*-dimethyl-*N*-(2-chlorethyl)aminu (**4**) (0.158 g, 1.1 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) v 15 ml acetonu byla zahřívána po dobu 29 hodin. Přefiltrovaný a methanolem promytý produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu s použitím mobilní fáze EtOAc/methanol 9:1, posléze 8:2. Reakce proběhla s výtěžkem 83 %.

**Charakteristika produktu:** nažloutlá amorfnní látka; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.79 (1H, s, H<sub>2</sub>), 7.91-7.86 (1H, m, Ar), 7.82-7.75 (2H, m, Ar), 7.51-7.46 (1H, m, Ar), 3.41 (2H, t, *J*=7.4 Hz, NCH<sub>2</sub>), 2.64 (2H, t, *J*=7.4 Hz, SCH<sub>2</sub>), 2.34 (6H, s, 2xCH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 172.6, 154.2, 148.2, 135.2, 128.9, 128.8, 124.7, 124.6, 58.9, 45.2, 27.2; **IR:** 993, 1043, 1099, 1149, 1165, 1246, 1279, 1294, 1320, 1364, 1457, 1484, 1542, 1562, 2770, 2818, 2940 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita): 234.1 [M+H]<sup>+</sup> (100), 218.2 (37), 189.2 (71), 173.3 (27), 129.1 (5), 115.3 (3), 72.1 (7).

#### 5.4.10. 4-[2-(1-Methylpyrrolidin-2-yl)ethylsulfanyl]chinazolin (**20**)

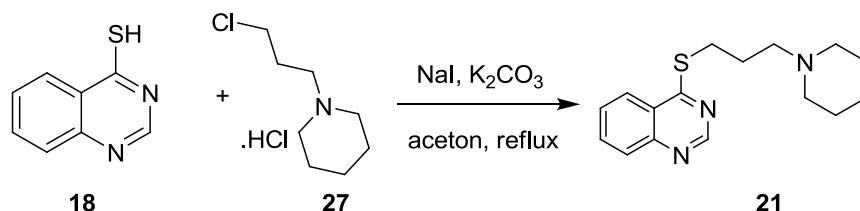


Směs chinazolin-4-thiolu (**18**) (0.162 g, 1.0 mmol), hydrochloridu 2-(2-chloroethyl)-1-methylpyrrolidinu (**26**) (0.203 g, 1.1 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) s 15 ml acetonu byla zahřívána 30 hodin. Poté byla reakční směs jsme zfiltrována a promyta methanolem. Produkt byl oddělen metodou sloupcové chromatografie na silikagelu. Jako mobilní fázi byla použita směs EtOAc/methanol 9:1, později 8:2 a 7:3. Reakce proběhla s výtěžkem 88 %.

**Charakteristika:** nažloutlá krystalická látka, 113-115 °C; **<sup>1</sup>H NMR:** (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8.83 (1H, s, H<sub>2</sub>), 8.00-7.95 (1H, m, Ar), 7.93-7.80 (2H, m, Ar), 7.58-7.52 (1H, m, Ar), 3.30-3.18 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 3.06-3.00 (1H, m, CH), 2.37-2.05 (7H, m, 2xCH<sub>2</sub>+CH<sub>3</sub>), 1.79-1.57 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 173.1, 154.3, 148.3, 135.4, 128.9, 128.9, 124.8, 66.9, 57.9, 40.6, 33.7, 31.2, 27.5, 22.6; **IR:** 1100, 1149, 1165, 1247, 1279, 1320, 1365, 1452,

1484, 1542, 1561, 1597, 1613, 2777, 2940  $\text{cm}^{-1}$ ; **LRMS:**  $m/z$  (relativní intenzita) 274.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (100), 258.3 (1), 237.2 (1), 222.3 (1), 174.3 (1), 144.1 (5), 112.2 (17), 84.1 (4).

#### 5.4.11. 4-[3-(Piperidin-1-yl)propyl]sulfanylchinazolin (**21**)

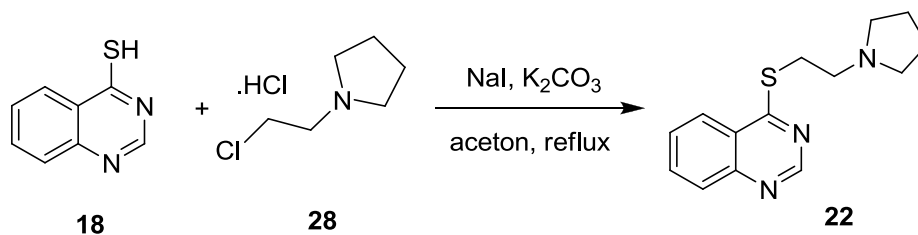


Směs chinazolin-4-thiolu (**18**) (0.162 g, 1.0 mmol), 1-(3-chlorethyl)piperidinu (**27**) (0.218 g, 1.1 mmol), bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) v prostředí 10 ml acetonu byla zahřívána pod zpětným chladičem 27 hodin. Poté byl produkt ochlazen, zfiltrován a promyt methanolem. Čištění produktu bylo provedeno na silikagelovém sloupci s mobilní fází EtOAc/methanol 8:2.

Reakce proběhla s výtěžkem 86 %.

**Charakteristika:** žlutohnědá olejovitá látka;  **$^1\text{H NMR}$ :** (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.95 (1H, s, H2), 8.05-8.01 (1H, m, Ar), 7.96-7.92 (1H, m, Ar), 7.83-7.79 (1H, m, Ar), 7.58-7.52 (1H, m, Ar), 3.39 (2H, t,  $J=7.3$  Hz,  $\text{NCH}_2$ ), 2.44 (2H, t,  $J=7.3$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 2.42-2.35 (4H, m,  $2\times\text{CH}_2$ ), 2.02-1.96 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.61-1.38 (6H, m,  $3\times\text{CH}_2$ );  **$^{13}\text{C NMR}$ :** (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  171.5, 153.5, 147.9, 133.5, 128.7, 127.2, 124.0, 123.8, 58.1, 54.6, 27.7, 26.4, 25.9, 24.4; **IR:** 1121, 1152, 1257, 1278, 1321, 1400, 1443, 1468, 1485, 1542, 1563, 1613, 2762, 2800, 2851, 2932, 3098  $\text{cm}^{-1}$ ; **LRMS:**  $m/z$  (relativní intenzita) 288.2  $[\text{M}+\text{H}]^+$  (100), 244.4 (1), 203.2 (29), 158.3 (3), 129.3 (8), 126.3 (14), 98.2 (6), 70.3 (1).

#### 5.4.12. 4-[2-(Pyrrolidin-1-yl)ethyl]sulfanylchinazolin (**22**)



Směs chinazolin-4-thiolu (**18**) (0.162 g, 1.0 mmol), hydrochloridu 1-(2-chlorethyl)pyrrolidinu (**28**) (0.170 g, 1.1 mmol) bezvodého uhličitanu draselného (0.691 g, 5.0 mmol) a jodidu sodného (15.0 mg, 0,1 mmol) v prostředí 15 ml acetonu byla zahřívána pod zpětným chladičem po dobu 28 hodin. Produkt byl separován sloupcovou chromatografií směsí EtOAc/methanol v poměru 8:2.

**Charakteristika:** oranžovohnědá amorfnní sloučenina; **H NMR:** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.87 (1H, s, H2), 7.99-7.95 (1H, m, Ar), 7.86-7.82 (1H, m, Ar), 7.75-7.69 (1H, m, Ar), 7.46-7.40 (1H, m, Ar), 3.47 (2H, t, *J*=7.1 Hz, NCH<sub>2</sub>), 2.78 (2H, t, *J*=7.1 Hz, SCH<sub>2</sub>), 2.60-2.52 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>), 1.78-1.70 (4H, m, 2xCH<sub>2</sub>); **<sup>13</sup>C NMR:** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 171.0, 153.3, 147.6, 133.3, 128.5, 127.0, 123.7, 54.8, 53.8, 28.1, 23.3; **IR:** 1114, 1147, 1247, 1279, 1321, 1400, 1458, 1484, 1506, 1541, 1561, 1613, 1648, 2787, 2960 cm<sup>-1</sup>; **LRMS:** *m/z* (relativní intenzita) 260.1 [M+H]<sup>+</sup> (100), 226.3 (13), 200.3 (10), 189.2 (36), 169.0 (1), 157.3 (1), 128.2 (1), 114.2 (1), 98.1 (9), 70.9 (1).

## 6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Salajka, F.; Kašák, V.; Krčmová, Konšťacký, S. Astma bronchiale - Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře novelizace 2008, Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, **2008**.
2. Feketeová, E. *Alergie-Časopis pro kontinuální vzdělávání v alergologii a klinické imunologii*, **2008**, 10(2), 149-151.
3. Salajka, F.; Konšťacký, S.; Kašák, V.; Dindoš, J. Astma bronchiale - Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře 2005 , Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP, **2005**.
4. Bystroň J. *Interní medicína pro praxi*, **2009**, 11 (3), Solen, 106-110.
5. Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2008; [http://www.who.int/respiratory/asthma/GINA\\_WR\\_2006\\_copyright%5B1%5D.pdf](http://www.who.int/respiratory/asthma/GINA_WR_2006_copyright%5B1%5D.pdf)
6. Lüllmann, H.; Mohr, K.; Wehling M. Farmakologie a toxikologie, Grada Publishing a.s., **2004**, 161-165.
7. Marek, J. Farmakoterapie vnitřních nemocí, 3. vydání, Praha, **2004**, 163-164.
8. Kašák, V. Astma bronchiale, Maxdorf, **2005**, 76-99.
9. Kašák, V. *Farmakoterapie*, **2008**, 4, 393-400.
10. Buhl, R.; Vogelmeier, C. *Curr. Med. Res. Opin.*, **2007**, 23, 1867-78.
11. Fendrich, Z.; Hrdina, R.; Klimtová, I. Farmakologie pro farmaceuty, **2002**, Praha, Karolinum, 108-121.
12. Salpeter, S. R.; Buckley, N. S.; Ormiston, T. M. *Ann Intern Med.*, **2006**, 144 (12); 904-912.
13. Kašák, V.; *Farmakoterapie*, **2007**, 1, 41-53.
14. Kašák, V.; *Remedia*; **2002**, 4, 214-218.
15. Lincová, D.; Farghali, H. a kol. Základní a aplikovaná farmakologie, Praha Galén **2002**, 331-340.
16. Hardman, J. G.; Limbird, L. E.; Gilman, A. G. *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 10<sup>th</sup> ed, **2001**, The McGraw-Hill Companies, Inc, New York; 743-743.
17. Gut, J. *Pediatric pro praxi*, **2005**, 5, 259-260.
18. Bousquet, J.; Van Cauwenberge, P.; Khaltaev, N. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **2001** Nov, 108 (5 suppl) 147-334.
19. Kopřiva, F. *Praktické lékařství*, **2007**, 3; 108-116.



20. O'Byrne, P. M.; Israel, E.; Drazen, J. M. *Ann Intern Med.*, **1997**, 127 (6), 472-480.
21. Price, D. B.; Swern, A.; Tozzi, C. A. *Analysis from the COMPACT trial. Allergy*, **2006**, 61 (6), 737-742.
22. Krčmová, I.; *Remedia*; **2006**, 16, 438-442.
23. Belliveau, P. P. *MedGenMed*; **2005**, 7 (1) 27.
24. Pipet, A.; Botturi, K.; Pinot, D. *Respir Med*, **2009**, 103(6), 800-812.
25. Kašák, V.; Pohunek, P. *Remedia*, **2004**, 14, 419-423.
26. Pauk, N.; Zatloukal, P. *Remedia*; **2002**, 12, 186-192.
27. Gupta, O. P.; Sharma, M. L.; Ghatak, B. J. R.; Atal, C. K. *Indian J. of Med. Research*, **1977**, 66(4), 680-91.
28. Mehta, D. R.; Naravane, J. S.; Desai, R. M. *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 445-8.
29. Sayeed, A.; Madhukar, G.; Maksood, A.; Mhaveer, S. M., Tanwir, A.; Shahid H. A. *Natural Product Radiancance*, **2009**, 8 (5), 549-554.
30. Claeson, U. P.; Malmfors, T.; Wikman, G. *J.Ethnopharmacol* **2000** , 72 (1-2); 1-20.
31. Dorsch, W.; Wagner, H. *Int. Arch. Allergy Appl Immunol.*, **1991**, 94 (1-4), 262-265.
32. Wagner, H. *Planta Med*, **1989**, 55 (3), 235-241.
33. Shrivastava, N.; Shrivastava, A.; Banerjee, A. *J. Herb. Pharmacother.*, **2006**, 6 (2), 43-49.
34. Yadav, A. K.; Tangpu, V. *J.Ethnopharmacol.*, **2008**, 119 (2); 322-324.
35. Kottová M.; Disertační práce UK v Praze, FaF v Hradci Králové, **2009**
36. Spath, E. ; Kuffner, F.; Platzer, N. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft [Abteilung] B: Abhandlungen* ,**1935**, 68B, 699-702.
37. Southwick, P. L.; Casanova, J., Jr. *J. Am. Chem. Soc.*,**1958**, 80, 1168-73.
38. Southwick, P. L.; Cremer, S. E. *J. of Org. Chem.*,**1959**, 24, 753-5.
39. Ojo, B.; Findsen, L. A.; Igarashi N. *Drug Des Discov.* **1996**, 14(1); 1-14.
40. Mhaske, S. B.; Argade, N. P. *J Org. Chem.* **2001**, 66(26), 9038-9040.
41. Ziaee, V.; Jalalizadeh, H.; Iranshahi, M.; Shafiee, A.; *Iranian Journal of Chemistry & Chemical Engineering* **2004**, 23(2), 33-36.
42. Hardtmann, G. E.; Koletar, G.; Pfister, O. R. *J. Med. Chem.* **1975**, 18(5), 447-453.
43. Combs, D. W.; Rampulla, M. S.; Russell, R. K.; *Drug Des. Deliv.* **1990**, 6(4); 241-54.
44. Johri, R.K.; Zutshi, U. ; *Indian J Physiol Pharmacol.* **2000**, 44(1), 75-81.
45. Jahng, K. C.; Kim, S. I.; Kim, D. H.; Seo, C. S.; Son, J. K.; Lee, S. H.; Lee, E. S.; Jahng, Y. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2008**, 56(4), 607-609.
46. Niementowski, S. V.; *Journal fuer Praktische Chemie (Leipzig)* **1895**, 51(2), 564-72.

47. Jindal, D. P.; Bhatti, R. S.; Ahlawat, S. *Eur J Med Chem.* **2002**, *37*(5), 419-25.
48. Zabeer, A.; Bhagat, A.; Gupta, O.P. et al.; *Eur J Med Chem.* **2006**, *41*(3), 429-34.
49. Rao, A. R.; Bahekar, R. H. *Indian Journal of Chemistry.* **1999**, *38*(B); 434-439.
50. Bahekar, R. H.; Rao, A. R. *Arzneimittelforschung* **2000**, *50*(8), 712-6.
51. Bahekar, R. H.; Rao, A. R. *Arzneimittelforschung* **2001**; *51*(4), 284-92.
52. Mahindroo, N.; Ahmed, Z.; Bhagat, A.; Bedi, K. L.; Khajuria, R. K.; Kapoor, V. K.; Dhar, K. L. *Medicinal Chemistry Research* ,**2006**, *14*(6), 347-368.
53. Fáková, H.; Suchánková, J.; Vopršalová, M.; Sedláková, J.; Pour, M. *Chem.Listy*, **2004**, *98*, 1001.
54. Mirza, R. *Nature*, 1960, *186*, 716-717.
55. Lee, J. K.; Kim, Y. J.; Lee, E. Y.; Kim, D. K.; Kyung, K. S. *Agricultural Chemistry and Biotechnology*, **2005**, *48*(1), 16-25.
56. Stefane, B.; Polanc, S. *Synlett*, **2008**, *9*, 1279-1282.
57. Tomisek, A. J.; Christensen, B. E. *J. Am. Chem. Soc.* **1945**, *67*, 2112-2115.
58. Deshpande, S. M.; Reddy, K. R. *Journal of the Indian Chemical Society*, **1975**, *52*(1), 55-56.
59. Baitiche, M.; Mahamoud, A.; Benachour, D.; Merbah, M.; Barbe, J. *Heterocyclic Communications*, **2004**, *10*(4-5), 269-272.
60. Kunes, J.; Bazant, J.; Pour, M.; Waisser, K.; Slosarek, M.; Janota, J. *Farmaco*, **2000**, *55*(11-12), 725-729.