



You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Synteza wybranych związków zawierających układ azanaftalenowy jako potencjalnych inhibitorów integrazy HiV oraz środków antyproliferacyjnych

Author: Jacek Finster

Citation style: Finster Jacek. (2007). Synteza wybranych związków zawierających układ azanaftalenowy jako potencjalnych inhibitorów integrazy HiV oraz środków antyproliferacyjnych. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



Jacek Finster

**Synteza wybranych związków zawierających
układ azanaftalenowy jako potencjalnych
inhibitorów integrazy HIV
oraz środków antyproliferacyjnych**

Praca doktorska wykonana
w Zakładzie Chemii Organicznej
Instytutu Chemii
Uniwersytetu Śląskiego

Promotor: prof. dr hab. inż. Jarosław Polański

Katowice 2007

Spis treści

1. CEL PRACY	8
2. CZĘŚĆ LITERATUROWA	9
2.1. Wprowadzenie.....	9
2.2. Rola integrazy w replikacji wirusa HIV.....	9
2.3. Budowa integrazy wirusa HIV	11
2.4. Kompleksowanie jonów metali dwuwartościowych przez centrum aktywne integrazy HIV.....	14
2.5. Proteaza, odwrotna transkryptaza i integraza - cele działania leków antyretrowirusowych	18
2.6. Inhibitory integrazy HIV.....	19
2.7. Funkcje farmakoforowe.....	21
2.8. Inhibitory integrazy HIV zawierające motyw β -diketokwasu.....	22
2.9. Struktura cząsteczek β -diketokwasów a ich selektywność w hamowaniu aktywności katalitycznej integrazy HIV.....	25
2.10. Mechanizm działania pochodnych β -diketokwasów.....	28
2.11. β -Diketokwasy i ich pochodne jako ligandy w kompleksach z dwuwartościowymi jonami metali.....	30
2.12. Kompleksy β -diketokwasów i ich pochodnych jako forma aktywna inhibitorów integrazy HIV	35
2.13. Pochodne 8-hydroksychinoliny jako inhibitory integrazy HIV.....	38
2.14. Mechanizm hamowania katalitycznej aktywności integrazy HIV przez styrylochinoliny	42
2.15. Inhibitory integrazy HIV z innymi układami azanaftalenowymi.....	43
2.16. Poszukiwania aktywnych związków - analizy <i>in vitro</i>	45
2.17. Aktywność antywirusowa – badania <i>ex vivo</i>	48
2.18. Badania kliniczne inhibitorów integrazy HIV	48
3. BADANIA WŁASNE	49
3.1. Racjonalizacja projektowania leków.....	49
3.2. Metoda fragmentów molekularnych i jej zastosowanie w projektowaniu leków.....	50
3.3. Wymiana podstawników jako jedna z metod stosowanych w projektowaniu leków	52
3.4. Projektowanie nowych inhibitorów integrazy HIV.....	53
3.5. Jednostka farmakoforowa odpowiedzialna za chelatowanie kationów magnezu i manganu	55
3.5.1. Struktura funkcji farmakoforowej β -ketoenuolu	56

3.5.2. Struktura funkcji farmakoforowej katecholu	58
3.6. Koordynowanie jonów magnezu i manganu	59
3.6.1. Chelatowanie jonów magnezu i manganu w układzie β -ketoenolowym	60
3.6.2. Chelatowanie jonów magnezu i manganu w układzie katecholowym	61
3.6.3. Selektywność ugrupowania β -ketoenolowego i katecholowego w tworzeniu połączeń koordynacyjnych z kationami magnezu i manganu	61
3.6.4. Solwatowane kationy metali jako centrum donorowe wiązań wodorowych	62
3.7. Funkcjonalizacja monoazanaftalenowych fragmentów molekularnych kwasów chinolinokarboksylowych.....	63
3.7.1. Nowe analogi amidów kwasów chinolinokarboksylowych	68
3.8. Inhibitory integrazy HIV z izosterycznym układem diazanaftalenowym – pochodne chinazolinowe.....	72
3.8.1. Modyfikacje związków styrylochinazolinowych	73
3.8.2. Nowe polihydroksylowe pochodne styrylochinazolinowe	77
3.8.3. Wpływ zasadowości chinolinowego atomu azotu w pierścieniu azanaftale- nowym na aktywność wobec integrazy HIV	78
3.8.4. Inne modyfikacje układu chinazolinowego.....	80
3.8.5. Fragment chinazolinowy jako element farmakoforowy inhibitorów integrazy HIV	81
3.8.6. Nowa koncepcja projektowania potencjalnych inhibitorów integrazy HIV zawierających układ chinazolinowy	81
3.9. Przeciwnowotworowa aktywność pochodnych styrylochinazolinowych	83
4. OMÓWIENIE PRZEPROWADZONYCH SYNTEZ	87
4.1. Synteza związków zawierających układ chinolinowy	87
4.1.1. Kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy i kwas 8-hydroksy-2- metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowy	87
4.1.2. Amidy kwasów 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego i 8-hy- droksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowego	88
4.1.3. Kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowy i kwas 5-hydroksy-2- metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowy	90
4.1.4. Amidy kwasów 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego i 5-hy- droksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego	92
4.1.5. Kwas 4-hydroksy-2-metylochinolino-3-karboksylowy	93
4.1.6. Amidy kwasu 4-hydroksy-2-metylochinolino-3-karboksylowego.....	95
4.1.7. Inne związki zawierające układ chinolinowy.....	95
4.2. Synteza związków zawierających układ chinazolinowy	97
4.2.1. Pochodne 2-metylochinazolinowy.....	97

4.2.2. Pochodne 8-hydroksy-2-metylochiazoliny.....	99
4.2.3. Związki styrylochiazolinowe.....	103
4.2.4. Inne związki zawierające układ chinazolinowy	109
4.3. Synteza związkw zawierających układ naftyrydynowy	112
4.4. Oznaczenia aktywności biologicznej.....	113
4.4.1. Aktywność wobec integrazy HIV	113
4.4.2. Aktywność przeciwproliferacyjna.....	114
5. PODSUMOWANIE	115
6. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA	117
6.1. Sprzęt wykorzystany w syntezach	117
6.2. Pomiary instrumentalne	117
6.3. Chromatografia.....	117
6.4. Odczynniki używane do syntez	117
6.5. Oczyszczanie i przygotowanie rozpuszczalników i odczynników	118
6.6. Przeprowadzone syntezy	118
6.6.1. Synteza związkw zawierających układ chinolinowy	118
6.6.1.1. Kwas 8-hydroksy-2-metylochiazolino-7-karboksylowy (1)	118
6.6.1.2. Kwas 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochiazolino-7-karboksylowy (2) ...	119
6.6.1.3. Kwas 5-hydroksy-2-metylochiazolino-6-karboksylowy (3)	120
6.6.1.4. Kwas 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochiazolino-6-karboksylowy (4) ...	121
6.6.1.5. Ester dietylowy kwasu 2-etoksymetylenomalonowego (5)	121
6.6.1.6. Ester dietylowy kwasu 2-feniloaminometylenomalonowego (6)	122
6.6.1.7. Ester etylowy kwasu 4-hydroksychiazolino-3-karboksylowego (7) ...	123
6.6.1.8. Kwas 4-hydroksychiazolino-3-karboksylowy (8)	123
6.6.1.9. Procedura ogólna otrzymywania amidów kwasów chiazolinokarboksylowych	123
6.6.1.9.1. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylochiazolino-7-karboksylowego (1a).....	124
6.6.1.9.2. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylochiazolino-7-karboksylowego (1b)	124
6.6.1.9.3. Amid N-4-fluorobenzyllo-N-metylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylochiazolino-7-karboksylowego (1c)	125
6.6.1.9.4. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochiazolino-7-karboksylowego (2a)	125
6.6.1.9.5. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochiazolino-7-karboksylowego (2b).....	126
6.6.1.9.6. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylochiazolino-6-karboksylowego (3a).....	126

6.6.1.9.7. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (3b)	127
6.6.1.9.8. Amid N-4-fluorobenzyllo-N-metylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (3c)	127
6.6.1.9.9. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego (4a).....	128
6.6.1.9.10. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (8a)	128
6.6.1.9.11. Amid N-4-fluorobenzyllo-N-metylowy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (8b).....	129
6.6.1.10. 3-Acetylo-4-hydroksy-1 <i>H</i> -chinolin-2-on (9)	129
6.6.1.11. 4-Acetoksy-3-acetylo-1 <i>H</i> -chinolin-2-on; ester 3-acetylo-2-okso-1,2-dihydrochinolin-4-ylowy kwasu octowego (9a).....	130
6.6.2. Synteza związków zawierających układ chinazolinowy	130
6.6.2.1. 2-Metylo-3,1-benzoksazyn-4-on (10)	130
6.6.2.2. 2-Metylo-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11)	131
6.6.2.3. 4-Chloro-2-metylochiazolina (12).....	131
6.6.2.4. 2-Metylochiazolina (13)	132
6.6.2.5. 2-Metylo-6-nitro-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (14)	133
6.6.2.6. 3-Metoksy-2-nitrobenzaldehyd (15) i 5-metoksy-2-nitrobenzaldehyd (16)	133
6.6.2.7. 2-Amino-3-metoksybenzaldehyd (17)	134
6.6.2.8. N-(2-formylo-6-metoksyfenylo)acetamid (18)	135
6.6.2.9. 8-Metoksy-2-metylochiazolina (19)	135
6.6.2.10. 8-Hydroksy-2-metylochiazolina; 2-metylochiazolin-8-ol (20) ...	136
6.6.2.11. 8-Hydroksy-2-metylo-5,7-dinitrochiazolina; 2-metylo-5,7-dinitrochiazolin-8-ol (21).....	136
6.6.2.12. 5,7-Diacetamido-8-acetoksy-2-metylochiazolina; ester 5,7-bisacetyloamino-2-metylochiazolin-8-ylowy kwasu octowego (22)	137
6.6.2.13. 7-Acetamido-2-metylochiazolin-5,8-dion; N-(2-metylo-5,8-dioksyo-5,8-dihydrochiazolin-7-ylo)acetamid (23).....	138
6.6.2.14. 1,4-Bis-((E)-2-(2-3 <i>H</i> -chiazolin-4-on)winylo)benzen (11a)	138
6.6.2.15. 4-Chloro-2-((E)-2-(2-metoksyfenylo)winylo)chiazolina (12a).....	139
6.6.2.16. 2-((E)-2-(4-Metoksy-3-nitrofenylo)winylo)-6-nitro-3 <i>H</i> -chiazolin-4-on (14a)	140
6.6.2.17. Procedura ogólna otrzymywania związków styrylochiazolinowych w reakcji pochodnych 2-metylochiazoliny z aldehydami polihydroksybenzoesowymi.....	140

6.6.2.17.1. 2-((E)-2-(2,3,4-Triacetoksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on; ester 2,3-diacetoksy-4-((E)-2-(4-okso-3,4-dihydrochinazolin-2-ylo)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (11b)	141
6.6.2.17.2. 2-((E)-2-(3,4,5-Triacetoksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on; ester 2,3-diacetoksy-5-((E)-2-(4-okso-3,4-dihydrochinazolin-2-ylo)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (11c)	141
6.6.2.17.3. 2-((E)-2-(2,4,6-Triacetoksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on; ester 3,5-diacetoksy-2-((E)-2-(4-okso-3,4-dihydrochinazolin-2-ylo)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (11d)	142
6.6.2.17.4. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,3,4-triacetoksyfenylo)winylo)chinazolina; ester 2,3-diacetoksy-4-((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (12b)	142
6.6.2.17.5. 4-Chloro-2-((E)-2-(3,4,5-triacetoksyfenylo)winylo)chinazolina; ester 2,3-diacetoksy-5-((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (12c)	143
6.6.2.17.6. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,4,6-triacetoksyfenylo)winylo)chinazolina; ester 3,5-diacetoksy-2-((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (12d)	143
6.6.2.18. Procedura ogólna hydrolizy acylowanych pochodnych styrylochinazo- linowych	144
6.6.2.18.1. 2-((E)-2-(2,3,4-Trihydroksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11e)	144
6.6.2.18.2. 2-((E)-2-(3,4,5-Trihydroksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11f)	145
6.6.2.18.3. 2-((E)-2-(2,4,6-Trihydroksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11g)	145
6.6.2.18.4. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,3,4-trihydroksyfenylo)winylo)chinazolina; 4- ((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)benzeno-1,2,3-triol (12e)	146
6.6.2.18.5. 4-Chloro-2-((E)-2-(3,4,5-trihydroksyfenylo)winylo)chinazolina; 5- ((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)benzeno-1,2,3-triol (12f)	146
6.6.2.18.6. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,4,6-trihydroksyfenylo)winylo)chinazolina; 2- ((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)benzeno-1,3,5-triol (12g)	147
6.6.2.19. Procedura ogólna otrzymywania pochodnych styrylowych 2-metylo- 3 <i>H</i> -chinazolin-4-onu z zastosowaniem promieniowania mikrofalowego.....	147
6.6.2.19.1. 2-((E)-Styrylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11h)	147
6.6.2.19.2. 2-((E)-2-(4-Metoksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11i)	148
6.6.2.19.3. 2-((E)-2-(3-Metoksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11j)	148
6.6.2.19.4. 2-((E)-2-(2-Metoksyfenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11k) ...	149

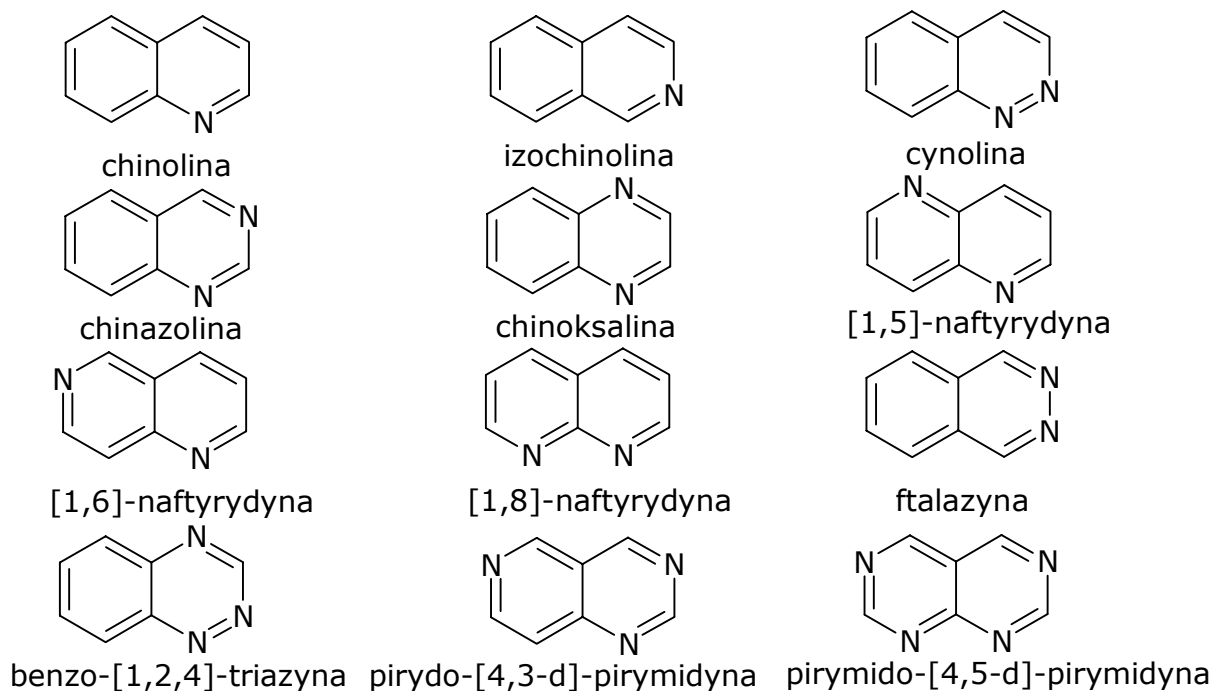
6.6.2.19.5. 2-((E)-2-(3-Chlorofenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11l).....	149
6.6.2.19.6. 2-((E)-2-(3-Bromofenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11m).....	150
6.6.2.19.7. 2-((E)-2-(2-Bromofenylo)winylo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (11n).....	150
6.6.2.20. 4-Chloro-2-((E)-2-(4-metoksyfenylo)winylo)chinazolina (12h).....	151
6.6.2.21. 3-Amino-2-metylo-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (10a)	151
6.6.2.22. 3-Hydroksy-2-metylo-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (10b).....	152
6.6.2.23. 3-(2-Hydroksyetylo)-2-metylo-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (10c).....	152
6.6.2.24. 2-Metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-on (24).....	153
6.6.2.25. 2-Metylo-6-nitro-3-((E)-3-fenyloakryloilo)-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (24a)	153
6.6.2.26. 3-(4-Fluorobenzyl)-2-metylo-6-nitro-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (24b) ..	154
6.6.2.27. 3-(2-Hydroksyetylo)-2-metylo-6-nitro-3 <i>H</i> -chinazolin-4-on (24c) ..	154
6.6.3. Synteza związków zawierających układ naftyrydynowy	155
6.6.3.1. 2-Metylopirydo-[2,3- <i>d</i>][1,3]-oksazyn-4-on (25)	155
6.6.3.2. 1,3-Diacetylo-4-hydroksy-1 <i>H</i> -1,8-naftyrydyn-2-on (25a).....	155
7. ODNOŚNIKI LITERATUROWE	157
8. DOROBEK NAUKOWY.....	183
8.1. Wykaz publikacji	183
8.2. Zgłoszenia patentowe.....	184
8.3. Udział w konferencjach	184
9. CURRICULUM VITAE.....	186

1. CEL PRACY

Decydujące znaczenie w cyklu replikacyjnym wirusa HIV mają trzy białka enzymatyczne: proteaza, odwrotna transkryptaza oraz integraza. Lata badań prowadzonych w wielu ośrodkach na całym świecie zaowocowały wprowadzeniem do terapii kilkunastu leków, które są inhibitorami dwóch pierwszych enzymów. Niestety do dziś nie zarejestrowano leku aktywnego wobec integrazy. Kilka potencjalnych inhibitorów pozostaje w fazie badań klinicznych.

Jednym z kierunków badań realizowanych w Zakładzie Chemii Organicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego jest poszukiwanie związków aktywnych wobec integrazy wirusa HIV. Testowane są też inne kierunki aktywności biologicznej syntezowanych połączeń, w szczególności aktywność antyproliferacyjna względem komórek nowotworowych oraz fungistatyczność.

Celem niniejszej pracy była synteza wybranych związków zawierających układ azanaftalenowy (**Rys. 1.1.**) w poszukiwaniu nowych potencjalnych inhibitorów integrazy wirusa HIV, szczególnie układy chinolinowy i chinazolinowy oraz pochodne styrylowe i amidowe. Kilka z otrzymanych związków zostało przetestowanych w kierunku aktywności antyproliferacyjnej.



Rys. 1.1. Wybrane układy azanaftalenowe.

2. CZĘŚĆ LITERATUROWA

2.1. Wprowadzenie

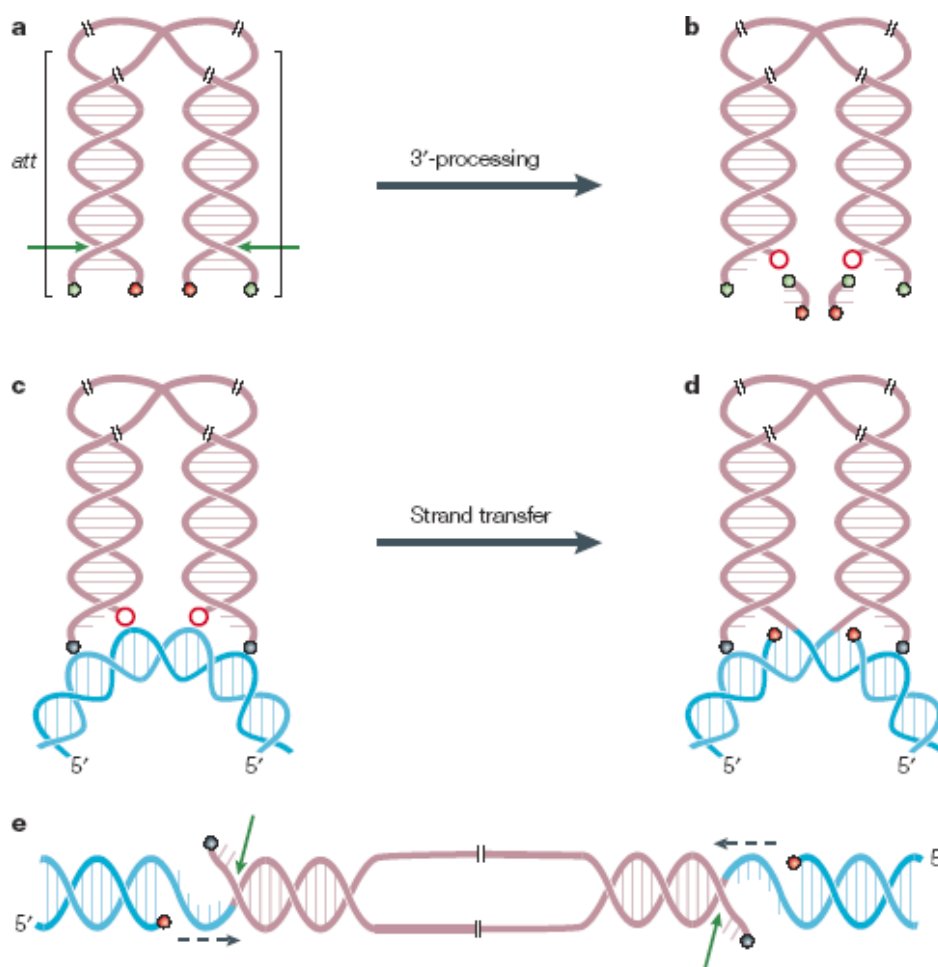
Zespół nabytego upośledzenia odporności (*Acquired Immunodeficiency Syndrom – AIDS*) jest jedną z największych współczesnych epidemii. W roku 2006 na świecie zakażonych było około 47 milionów ludzi, około 3,5 miliona zmarło z powodu chorób wywołanych przez AIDS, zarejestrowano około 6,6 miliona nowych przypadków infekcji wirusem HIV (*Human Immunodeficiency Virus – ludzki wirus upośledzenia odporności*) [1]. Na świecie liczba osób będących nosicielami wirusa HIV oraz zmarłych z powodu AIDS z roku na rok rośnie. Obecnie ważnym celem w poszukiwaniu nowych leków antyretrowirusowych jest integraza (IN), która jest jednym z enzymów niezbędnych do replikacji wirusa HIV. Katalizowane przez integrazę wprowadzenie materiału genetycznego wirusa do genomu zainfekowanej komórki gospodarza jest zasadniczym etapem w cyklu życiowym wirusa HIV [4]. Stosowane obecnie leki przeciw wirusowi HIV hamują działanie pozostałych dwóch enzymów, czyli odwrotnej transkryptazy i proteazy [2, 102]. Działanie tych leków zwykle sprzęga się stosując terapię HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*). Terapia HAART stała się standardem w leczeniu AIDS [2]. Jest ona jednak droga, nie zawsze jest dobrze tolerowana przez pacjentów, a po dłuższym stosowaniu podawane leki przestają działać [3]. Dotychczas nie zarejestrowano leków o działaniu hamującym wobec integrazy HIV. Kilka potencjalnych farmaceutyków tego typu znajduje się w różnych fazach badań klinicznych. Trwają także intensywne poszukiwania nowych inhibitorów [4]. Sądzi się, że włączenie do terapii antyretrowirusowej inhibitorów integrazy, poprzez efekt synergii oddziaływania, pozwoli w istotny sposób udoskonalić terapię HAART. Nowe leki, oparte na inhibitorach integrazy, mogą przynieść przełom w terapii osób zakażonych wirusem HIV [2 – 4].

2.2. Rola integrazy w replikacji wirusa HIV

Integraza jest jednym z trzech białek enzymatycznych wirusa HIV, które mają decydujące znaczenie w cyklu replikacyjnym. Pierwszy z enzymów to odwrotna transkryptaza (rewertaza). Katalizuje ona proces odwrotnej tran-

skrypcji, czyli przepisanie matrycy genetycznej wirusowego RNA na DNA w infekowanej komórce. Drugi enzym – proteaza – pojawia się w cyklu odtwarzania dojrzałej, zakaźnej kopii wirusa HIV według pierwotnego wzorca. Integraza natomiast jest enzymem katalizującym proces integracji, który obejmuje wprowadzenie retrowirusowego DNA do chromosomów zainfekowanej komórki gospodarza [108, 155]. Transkrypcja genomu wirusa i produkcja wirusowych białek wymaga całkowitego zintegrowania wirusowego DNA w chromosomach, wobec czego włączenie materiału genetycznego wirusa do DNA komórki jest procesem niezbędnym w cyklu replikacyjnym. Integraza w ten sposób odgrywa istotną rolę w cyklu życiowym wirusa HIV [5]. Katalizowany przez integrację proces integracji obejmuje dwie reakcje. Są to: etap 3'-terminacji (*3'-processing*) oraz etap przeniesienia nici (*strand transfer*). Obie reakcje wymagają obecności kationów metali dwuwartościowych takich jak Mg^{2+} lub Mn^{2+} . Jony metali dwuwartościowych są niezbędne do utworzenia kompleksu integrazy z wirusowym DNA, niezbędnym w przebiegu procesu integracji [15, 16, 88]. Po procesie transkrypcji odwrotnie przepisany genom wirusa w postaci DNA jest przygotowywany do integracji. W reakcji 3'-terminacji, przebiegającej w cytoplazmie, integraza przygotowuje końcówki wirusowego DNA poprzez odcięcie dwóch ostatnich nukleotydów z każdego 3' końca wirusowego DNA (**Rys. 2.1. a**). Ta reakcja generuje dinukleotyd cytozyna – adenozyne (CA) z wolnymi grupami hydroksylowymi (**Rys. 2.1. b**). Jest on reagentem pośrednim, niezbędnym do następnego etapu. Po reakcji 3'-terminacji integraza pozostaje związana z wirusowym DNA tworząc wielkocząsteczkowy kompleks przedintegracyjny (*preintegration complex - PIC*), w którym dwie cząsteczki integrazy łączą się z każdym końcem wirusowego DNA [6]. Kompleks przedintegracyjny jest następnie przenoszony z cytoplazmy do jądra zainfekowanej komórki i następuje reakcja przeniesienia nici (*strand transfer*). Włączenie DNA wirusa do DNA komórki gospodarza odbywa się poprzez atak nukleofilowy wolnych grup 3'-OH dinukleotydu cytozyna – adenozyne (utworzonych w procesie 3'-terminacji) na wiązanie fosfodiesterowe w nici DNA gospodarza (**Rys. 2.1. c, d**). Atak następuje w dowolnym miejscu, ale dwa końce wirusowego DNA zawsze wprowadzane są w odległości pięciu zasad. Gdy integracja jest zakończona następuje rozpad kompleksu przedintegracyjnego i odtworzenie właściwej struktury połączonych nici DNA kierowane enzymami komórkowymi, odpowie-

działnymi za procesy kontroli transkrypcji DNA (**Rys. 2.1. e**). Prowadzi to do utworzenia trwałego prowirusa [4, 96].



Rys. 2.1. Procesy katalizowane przez integrazę wirusa HIV: **a)** integraza przygotowuje końcówki wirusowego DNA; **b)** wirusowe DNA z odciętymi nukleotydami i utworzonymi końcami CA-3'-OH; **c), d)** atak wolnych grup 3'-OH na wiązanie fosfodiesterowe DNA gospodarza; **e)** zakończenie integracji [4].

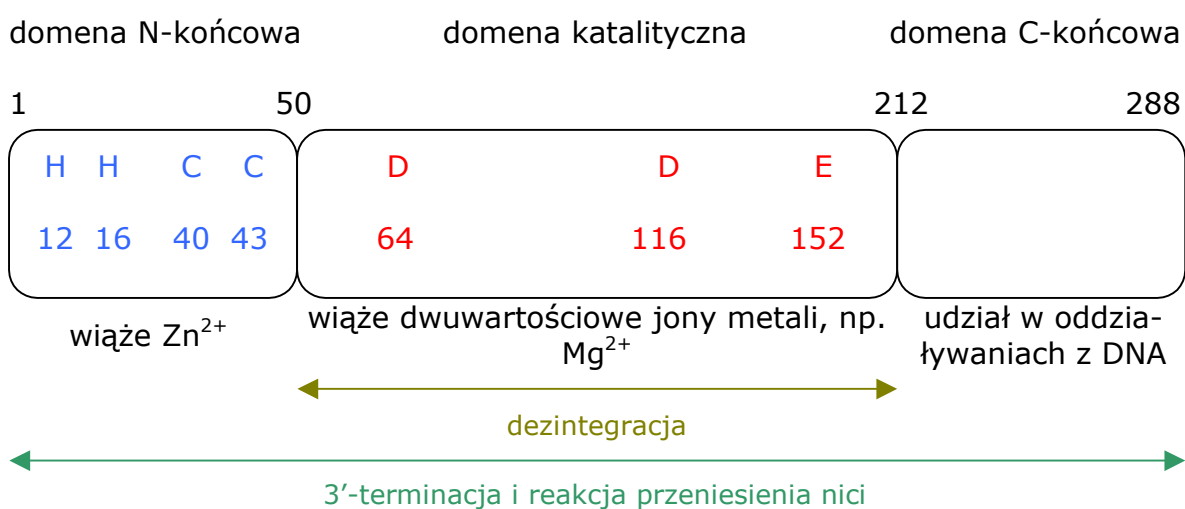
2.3. Budowa integrazy wirusa HIV

Integraza należy do rodziny transferaz polinukleotydowych. Cechą charakterystyczną tej grupy enzymów jest uporządkowane centrum aktywne, utworzone przez triadę aminokwasów, tzw. motyw DDE [11, 12]. Cząsteczka integrazy HIV jest białkiem o masie 32 kDa, zbudowanym z łańcucha polipeptydowego, zawierającego 288 reszt aminokwasowych. Badania krystalogra-

ficzne wykazały, że integraza jest dimerem, a każdy z monomerów posiada pięciolańcuchowy arkusz β otoczony przez pięć helis α [156]. W łańcuchu polipeptydowym integrazy można wyróżnić trzy domeny:

- N-terminalną (*amino - terminal domain - NTD*), która obejmuje reszty aminokwasowe od 1 do 50;
- katalityczną (*catalytic core domain - CCD*) – obejmuje reszty od 50 do 212;
- C-terminalną (*carboxy - terminal domain - CTD*) – reszty od 212 do 288

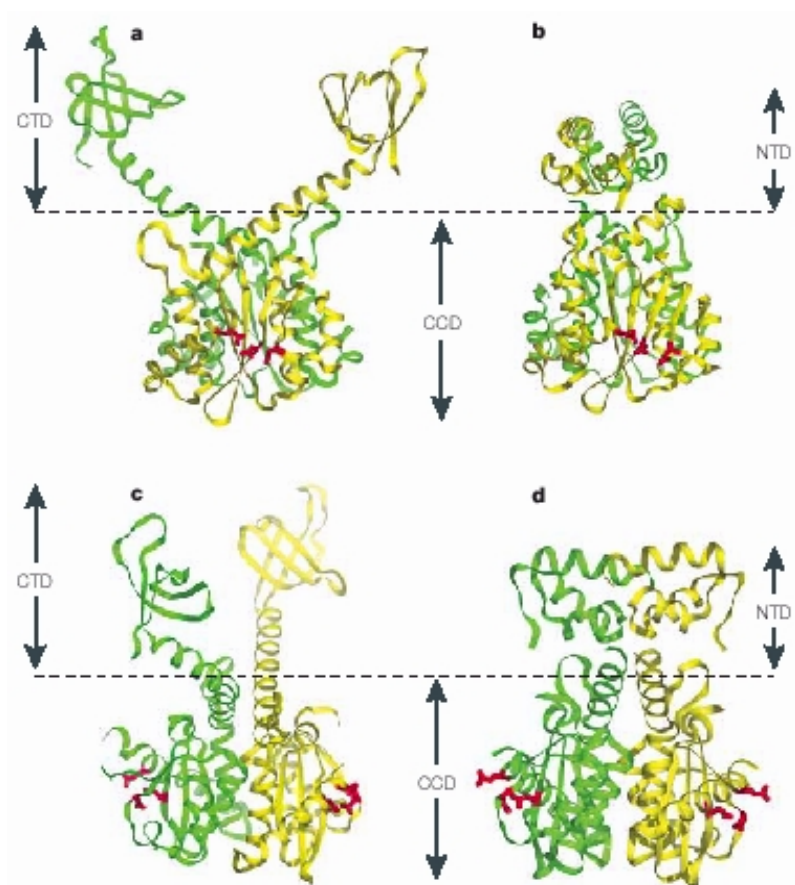
(Rys. 2.2.) [7, 8].



Rys. 2.2. Domeny integrazy HIV.

Domena N-końcowa zawiera motyw HHCC, tzw. palec cynkowy, który koordynuje kationy Zn^{2+} w stosunku stechiometrycznym 1:1. Jest on obecny we wszystkich integrazach retrowirusowych. Wiązanie kationów Zn^{2+} przez motyw HHCC stabilizuje strukturę domeny N-końcowej i jest wymagane do aktywności integrazy. Funkcją domeny N-terminalnej jest wzajemne oddziaływanie integrazy z innymi proteinami oraz DNA wirusa [162]. Domena katalityczna zawiera pojedyncze centrum aktywne, czyli motyw DDE, który tworzy triada reszt aminokwasów: dwie reszty kwasu asparaginowego D-64 i D-116 oraz reszta kwasu glutaminowego E-152. Strukturalnie centrum aktywne integrazy HIV jest bardzo podobne do centrów aktywnych innych integraz retrovirusowych, np. integrazy wirusa mięsaka ptasiego (*Avian Sarcoma Virus – ASV*) [14, 99, 104, 106]. Struktura domeny katalitycznej została wyjaśniona w

obecności kationów metali dwuwartościowych. Centrum aktywne jest odpowiedzialne za kompleksowanie kationów Mg^{2+} i Mn^{2+} , których obecność jest konieczna w reakcji 3'-terminacji oraz w reakcji przeniesienia nici. Strukturę oraz takie właściwości centrum aktywnego potwierdzają badania krystalograficzne (**Rys. 2.3.**) [7, 8, 53, 65, 66].

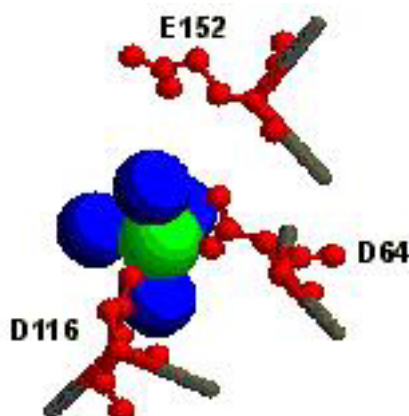


Rys. 2.3. Struktury krystalograficzne dimerów integrazy HIV-1 z zaznaczonym motywem DDE (kolor czerwony); NTD - domena N-terminalna, CCD - domena katalityczna, CTD - domena C-terminalna [4].

Domena C-końcowa odpowiada za niespecyficzne oddziaływania z DNA komórki gospodarza i również jest niezbędna do aktywności integrazy w reakcji 3'-terminacji i w reakcji przeniesienia nici [163 –165]. Integraza pozbawiona domeny N-końcowej i domeny C-końcowej może katalizować *in vitro* tylko reakcję dezintegracji, która jest reakcją odwrotną do reakcji przeniesienia nici [61].

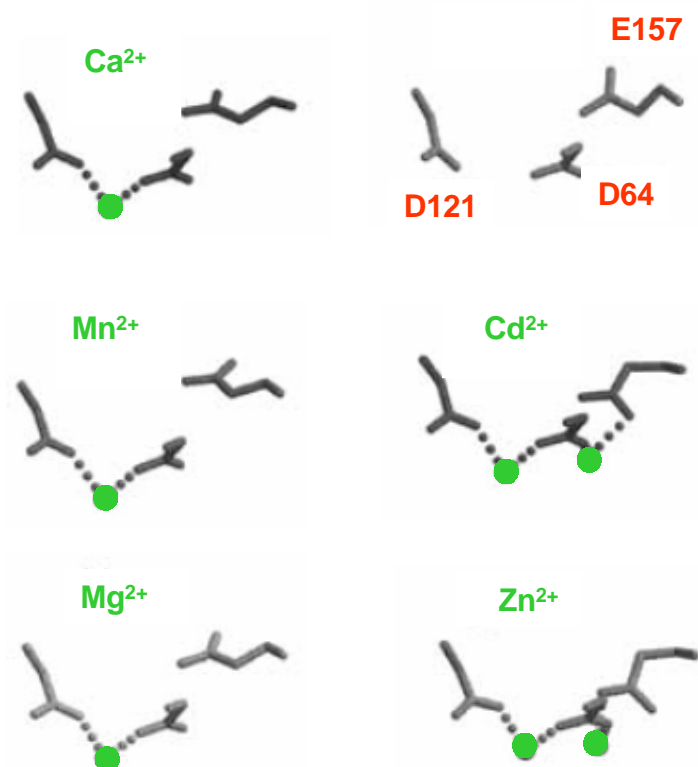
2.4. Kompleksowanie jonów metali dwuwartościowych przez centrum aktywne integrazy HIV

Wiele enzymów aktywujących replikację kwasów nukleinowych wymaga obecności dwuwartościowych kationów metali. Obecność jonów metali dwuwartościowych (Mg^{2+} lub Mn^{2+}) jest również konieczna w reakcjach katalizowanych przez integrazę. Motyw DDE, który tworzy triada reszt aminokwasów, stanowi uporządkowane centrum aktywne, charakterystyczne dla integraz re-trowirusowych [71, 151]. Jest on niezbędny w kompleksowaniu dwuwartościowych kofaktorów metalicznych, od których zależy aktywność integrazy w katalizie. Mutacja jakiegokolwiek z reszt aminokwasowych motywu DDE likwiduje aktywność enzymatyczną integrazy oraz replikację wirusa. Dwuwartościowe jony metali pośredniczą w połączeniu się integrazy ze szkieletem fosfordiestrowym DNA podczas 3'-terminacji i reakcji przeniesienia nici [154, 158, 166, 167]. Krystalograficzne badania strukturalne integrazy HIV uwidaczniają pojedyncze miejsce koordynacyjne dla jonu Mg^{2+} lub Mn^{2+} . Jon Mg^{2+} jest koordynowany razem z cząsteczkami wody przez reszty D-64 i D-116. Trzecia reszta aminokwasowa triady katalitycznej E-152 nie uczestniczy w wiązaniu metalu (**Rys. 2.4.**) [13, 67, 158].



Rys. 2.4. Położenie jonu Mg^{2+} w centrum aktywnym domeny katalitycznej integrazy HIV. Jon magnezu (kolor zielony) jest koordynowany przez reszty D-64 i D-116 oraz cztery cząsteczki wody (kolor niebieski). Struktura przestrzenna takiego kompleksu jest oktaedryczna [158].

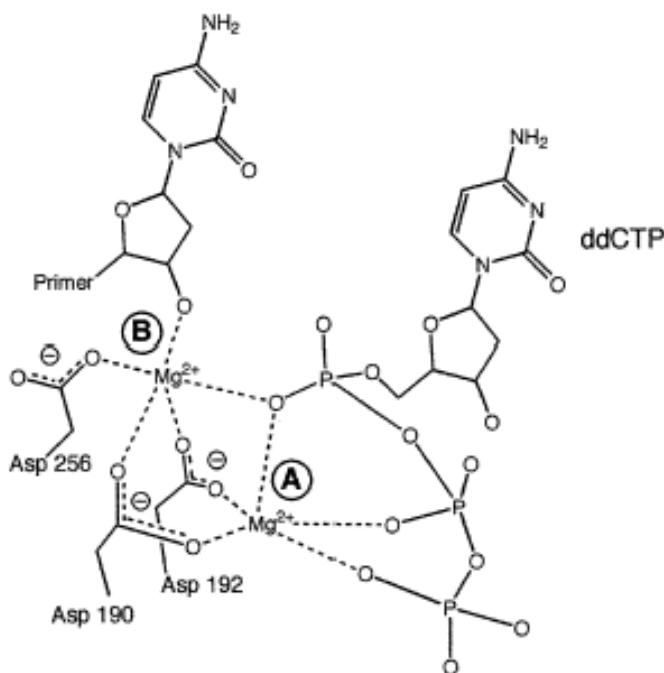
Liczba jonów metalu, przyłączonych do centrum aktywnego integrazy HIV, która jest niezbędna podczas procesu katalitycznego, budzi jednak wątpliwości. Badania biochemiczne i strukturalne sugerują, że bardziej prawdopodobny jest model, w którym do centrum aktywnego podczas katalizowanych procesów przyłączają się dwa kationy metalu dwuwartościowego. Taka sytuacja występuje w strukturach krystalograficznych domeny katalitycznej integrazy ASV oraz w strukturach innych transferaz polinukleotydowych [68, 98, 99]. W centrum aktywnym integrazy ASV, w przypadku kationów Zn^{2+} i Cd^{2+} zaobserwowano, że dodatkowy jon metalu może być koordynowany przez reszty D-64 i E-157. Do centrum aktywnego były przyłączone wówczas dwa jony Zn^{2+} lub dwa jony Cd^{2+} , a w ich koordynowaniu uczestniczyły wszystkie reszty aminokwasowe triady katalitycznej (**Rys. 2.5.**) [86, 157].



Rys. 2.5. Koordynowanie kationów metali dwuwartościowych przez reszty aminokwasowe w centrum aktywnym domeny katalitycznej integrazy ASV [157].

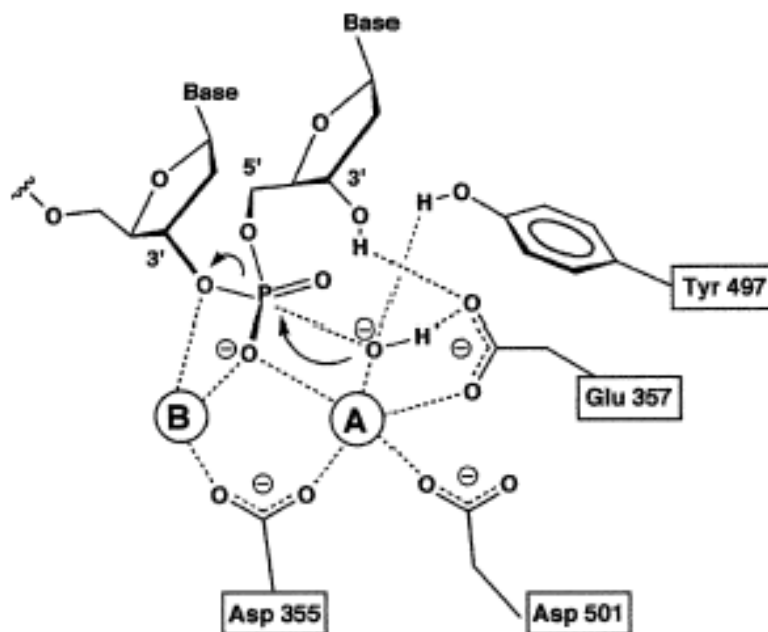
Obecność dwóch dwuwartościowych kationów metali w centrum aktywnym wykazuje wiele enzymów z grupy transferaz polinukleotydowych. Przy-

kładem jest struktura centrum aktywnego z utworzonym potrójnym kompleksem polimerazy β DNA z inhibitorem ddCTP (5-trifosforan dideoksytydyny). Zawiera ono dwa jony Mg^{2+} , z których jeden wiąże nukleotydy **(A)**, a drugi jest jonem katalitycznym **(B)** (**Rys. 2.6.**) [38].



Rys. 2.6. Kompleks polimerazy β DNA z inhibitorem ddCTP, utworzony w centrum aktywnym [38].

Wychodząc z założenia, że jony metali dwuwartościowych są niezbędne dla katalitycznej reakcji hydrolizy wiązań fosfodiesterowych w DNA, zaproponowano katalityczny mechanizm reakcji 3'-5' egzonukleazy z udziałem polimerazy DNA *Escherichia coli* i dwóch kationów metali dwuwartościowych [20]. Ten powszechnie przyjęty mechanizm zakłada, że nukleofilem atakującym atom fosforu w końcowym nukleotydzie jest anion hydroksylowy, który jest aktywowany przez pierwszy jon metalu dwuwartościowego **(A)**. Z kolei pięciokoordynacyjny stan przejściowy i opuszczająca grupa alkoksylowa są stabilizowane przez drugi dwuwartościowy jon metalu **(B)** (**Rys. 2.7.**) [152].



Rys. 2.7. Stan przejściowy w mechanizmie reakcji 3'-5' egzonukleazy, katalizowanej przez polimerazę DNA *Escherichia coli*, wymagającej obecności dwóch dwuwartościowych kationów metalu w centrum aktywnym: **A** = Zn^{2+} , **B** = Mg^{2+} [20].

Sądzi się, że centrum aktywne integrazy HIV również zawiera dwa miejsca koordynacyjne dla dwóch dwudodatnich kationów metalu. Zaproponowano, że drugi kation metalu może być koordynowany przez reszty E-152 oraz D-64 lub D-116. Możliwe, że pierwszy jon metalu, koordynowany przez reszty kwasu asparaginowego, może odgrywać większą rolę w reakcji 3'-terminacji, a drugi jon, związany z resztą kwasu glutaminowego, może być bardziej istotny podczas etapu przeniesienia nici. Wyniki badań biochemicznych i strukturalnych wskazują, że mechanizm katalizowania integracji przy udziale integras retrowirusowych (HIV, ASV) prawdopodobnie również opiera się na mechanizmie wymagającym obecności dwóch kationów metalu dwuwartościowego, przyłączonych do centrum aktywnego [142 – 144, 160]. Integraza HIV wykazuje większą aktywność *in vitro* w obecności kationów Mn^{2+} niż Mg^{2+} . Jednak stężenie jonów Mg^{2+} w komórkach jest znacznie większe niż stężenie jonów Mn^{2+} i z tego powodu prawdopodobnie kofaktorem *in vivo* są przede wszystkim kationy Mg^{2+} [145].

2.5. Proteaza, odwrotna transkryptaza i integraza - cele działania leków antyretrowirusowych

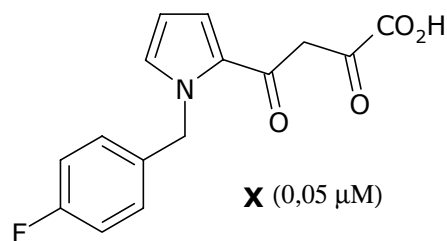
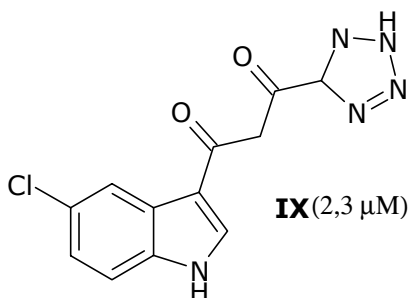
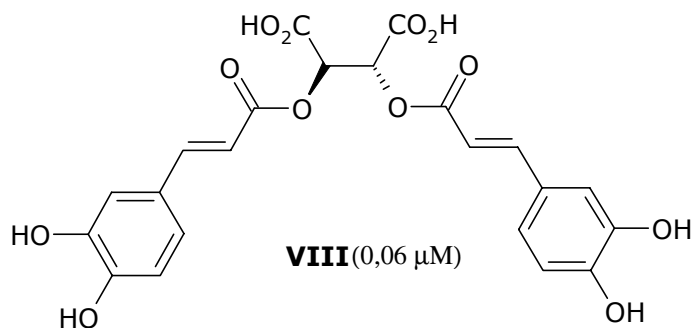
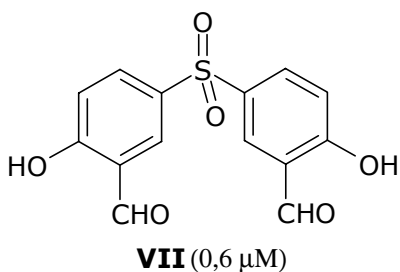
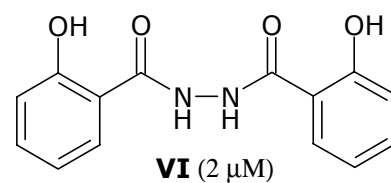
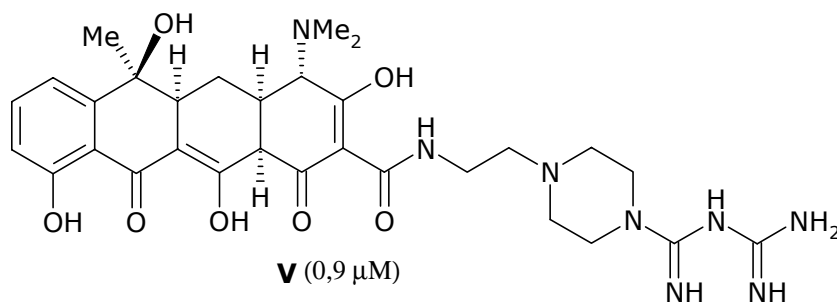
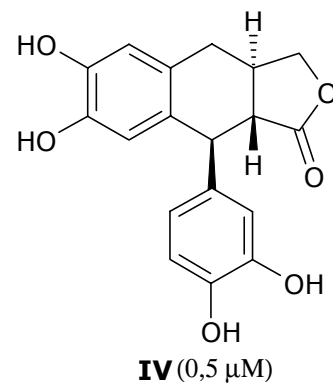
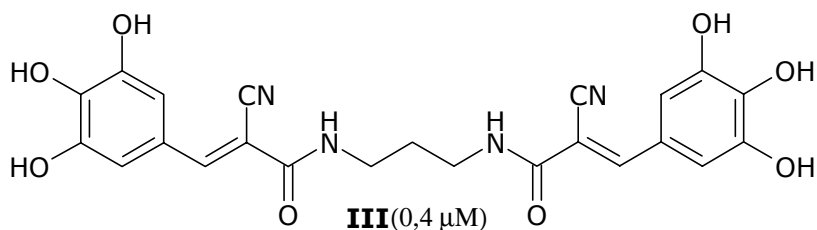
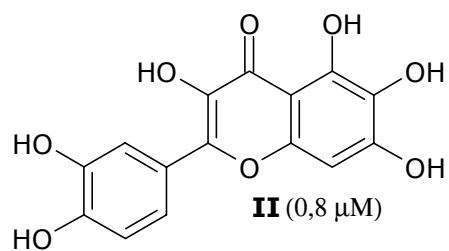
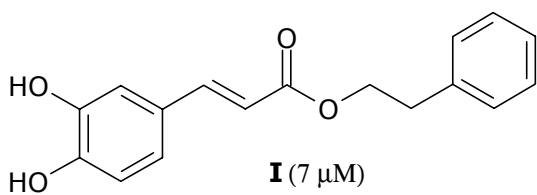
Terapia HAART, stosowana obecnie w zakażeniu HIV, pozwala powstrzymać replikację wirusa u zainfekowanych osób. Redukuje to liczbę wirusów w organizmie do poziomu niewykrywalnego analitycznie [17]. W ostatnich latach przyniosło to spadek śmiertelności i zachorowalności spowodowanej przez HIV. HAART pozwala zablokować replikację wirusa, ale nie umożliwia ona całkowitego wyeliminowania go z organizmu. Wirus HIV pozostaje stale obecny w zainfekowanym ustroju w stężeniu zależnym od zastosowanej metody chemoterapii [2, 18, 19, 97]. Ponadto zdolność wirusa HIV do szybkich mutacji, wywoływania oporności na leki oraz cytotoksyczność stosowanej metody przyczyniają się do poszukiwania nowych leków, w szczególności inhibitorów integrazy – trzeciego enzymu wirusa HIV. Dla proteazy i odwrotnej transkryptazy zostało znalezionych kilkanaście klas potencjalnych inhibitorów [59, 101]. Pomimo intensywnych badań dotychczas nie udało się zastosować w terapii AIDS żadnego inhibitora integrazy. Integraza jest enzymem charakterystycznym dla retrowirusów i nie występuje w zdrowym organizmie. Inhibitory tego białka enzymatycznego byłyby więc lekami o działaniu selektywnym.

Dziesięcioletni okres intensywnych poszukiwań doprowadził do znalezienia kilku obiecujących klas inhibitorów integrazy HIV [73]. W fazie badań klinicznych znajdują się obecnie dwa związki. Są to MK-0518 (poprzednio L-900612), opracowany przez Merck Research Laboratories, będący w III fazie badań klinicznych oraz GS-9137 (poprzednio JTK-303), opracowany przez Gilead Sciences Inc., który jest pod koniec II fazy badań klinicznych. Oba związki są w centrum uwagi od czasu stwierdzenia pozytywnych wyników początkowych prób klinicznych u zainfekowanych pacjentów, u których wystąpiła oporność multilekowa. Podane razem z inhibitorami proteazy i odwrotnej transkryptazy potęgują ich działanie farmakologiczne [54, 55, 56]. Poszukiwania inhibitorów integrazy należą do szczególnie trudnych. Należy również wziąć pod uwagę fakt, iż w poszukiwaniu inhibitorów proteazy i odwrotnej transkryptazy wykorzystano wcześniejsze badania znanych enzymów komórkowych. Integraza nie ma swojego odpowiednika w komórkach. Znalezienie jej inhibitorów stanowi więc zupełnie nowe wyzwanie badawcze [4].

2.6. Inhibitory integrazy HIV

Integracja jest procesem, w którym uczestniczą elementy zróżnicowane pod względem chemicznym. Są to: enzym, jony metali dwuwartościowych, wirusowy DNA i DNA komórki gospodarza. Zatrzymanie integracji wymaga interwencji kolejnego elementu - inhibitora. Dotychczas zostało odkryte kilka klas związków o działaniu hamującym integrację HIV. Pod względem celu działania wyróżnić można trzy podstawowe grupy. Są to: ligandy DNA, ligandy domeny C-końcowej oraz związki, które oddziałują z domeną katalityczną integrazy [9]. Pierwsza grupa zawiera związki, których celem działania jest za-blokowanie możliwości połączenia się integrazy z DNA wirusa poprzez oddziaływanie z powtarzalną sekwencją końcową wirusa [41, 42]. Drugą grupę stanowią związki, które oddziałują ze stosunkowo prostą domeną C-terminalną [43]. Trzecia grupa inhibitorów, które hamują aktywność katalityczną integrazy poprzez oddziaływanie z jej domeną katalityczną, zawiera takie klasy związków, jak **(Rys. 2.8.)**:

- pochodne kwasu aurynotrikarboksylowego [22],
- pochodne kwasu cynamonowego **(I)**,
- bis-katechole, flawony i flawonoidy [23, 24] **(II)**,
- kurkuminę [25],
- tyrfostyny **(III)** [26],
- lignanolidy **(IV)** [27],
- pochodne kumaryny [28],
- kozalany [29],
- tetracykliny **(V)** [30],
- pochodne hydrazyny **(VI)** [31],
- sulfony diarylowe **(VII)** [32],
- analogi kwasu cykoriowego **(VIII)** [33],
- pochodne β -diketokwasów **(IX, X)** [34, 35],
- pochodne styrylochinolinowe [36, 37].

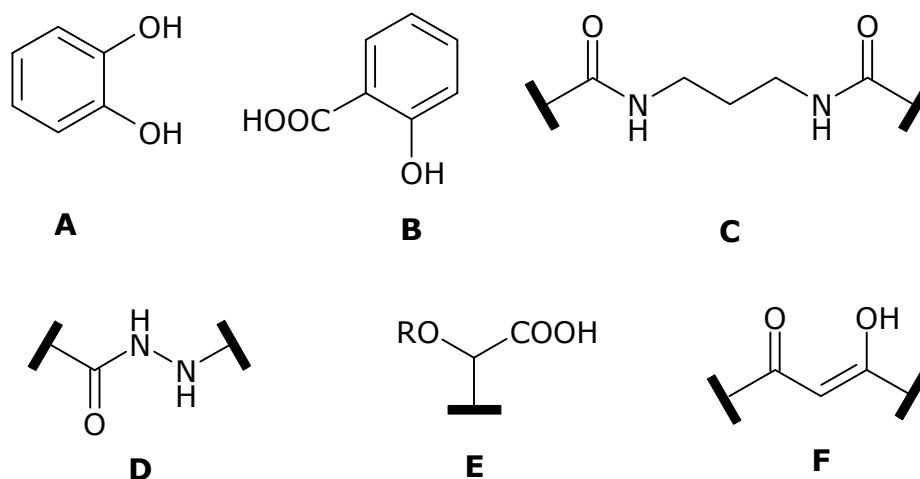


Rys. 2.8. Przykładowe inhibitory integrazy HIV oraz ich aktywność (wartości IC_{50}) [21].

Wśród związków z ostatniej grupy można wyróżnić inhibitory selektywne, hamujące tylko etap przeniesienia nici, oraz inhibitory nieselektywne, hamujące zarówno reakcję 3'-terminacji jak i etap przeniesienia nici. Do najważniejszych grup inhibitorów, których aktywność wobec integrazy jest związana ze zdolnością do chelatowania jonów metali dwuwartościowych, należą: pochodne β -diketokwasów i analogi, pochodne 8-hydroksychinoliny, polifenole oraz inne różnorodne związki chemiczne [74 - 77]. Szeregi badanych inhibitorów integrazy omówiono wyczerpująco w wielu publikacjach monograficznych [4, 5, 21, 89, 107]. Poniżej omówiono wybrane problemy hamowania integrazy.

2.7. Funkcje farmakoforowe

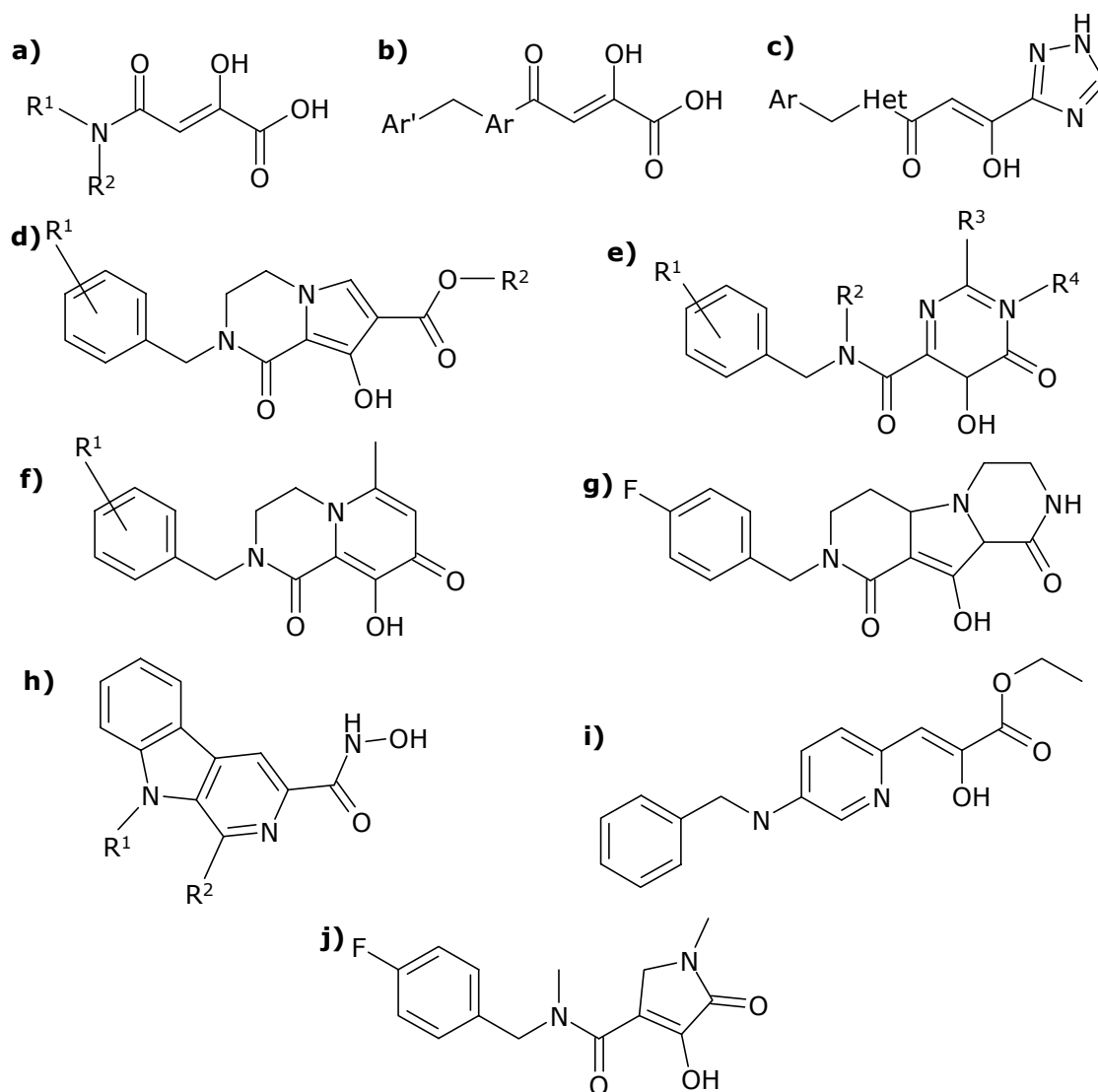
Obecnie nie jest znany szczegółowy mechanizm blokowania aktywności katalitycznej integrazy HIV. Można jednak wskazać kilka przypuszczalnych funkcji farmakoforowych. Są to takie fragmenty molekularne jak: katechol (**A**), kwas salicylowy (**B**), bis-amid (**C**), hydrazyd (**D**), α -alkoksykwas (**E**), β -ketoenol (**F**) (**Rys. 2.9.**) [21]. Wszystkie te grupy wykazują możliwość koordynowania dwuwartościowych jonów metali.



Rys. 2.9. Funkcje farmakoforowe związków będących inhibitorami integrazy HIV [21].

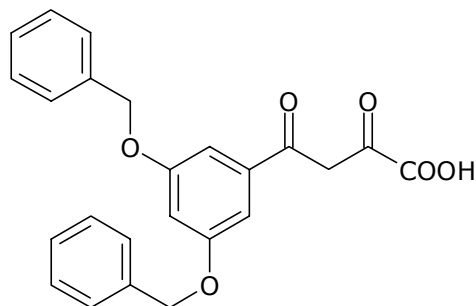
2.8. Inhibitory integrazy HIV zawierające motyw β -diketokwasu

β -Diketokwasy i ich pochodne (**Rys. 2.10.**) są pierwszymi syntetycznymi inhibitorami integrazy HIV o selektywnym działaniu, hamującym etap przeniesienia nici *in vitro* oraz *in vivo* w zainfekowanych komórkach [9, 35, 90 – 94, 111]. Odkrycie właściwości hamujących aktywność katalityczną integrazy HIV przez β -diketokwasy stało się przełomem w badaniach nad poszukiwaniem inhibitorów tego enzymu [60]. Dwa potencjalne leki o działaniu hamującym integrazę, które obecnie znajdują się w fazie badań klinicznych, stanowią właśnie związki z motywem β -diketokwasu.

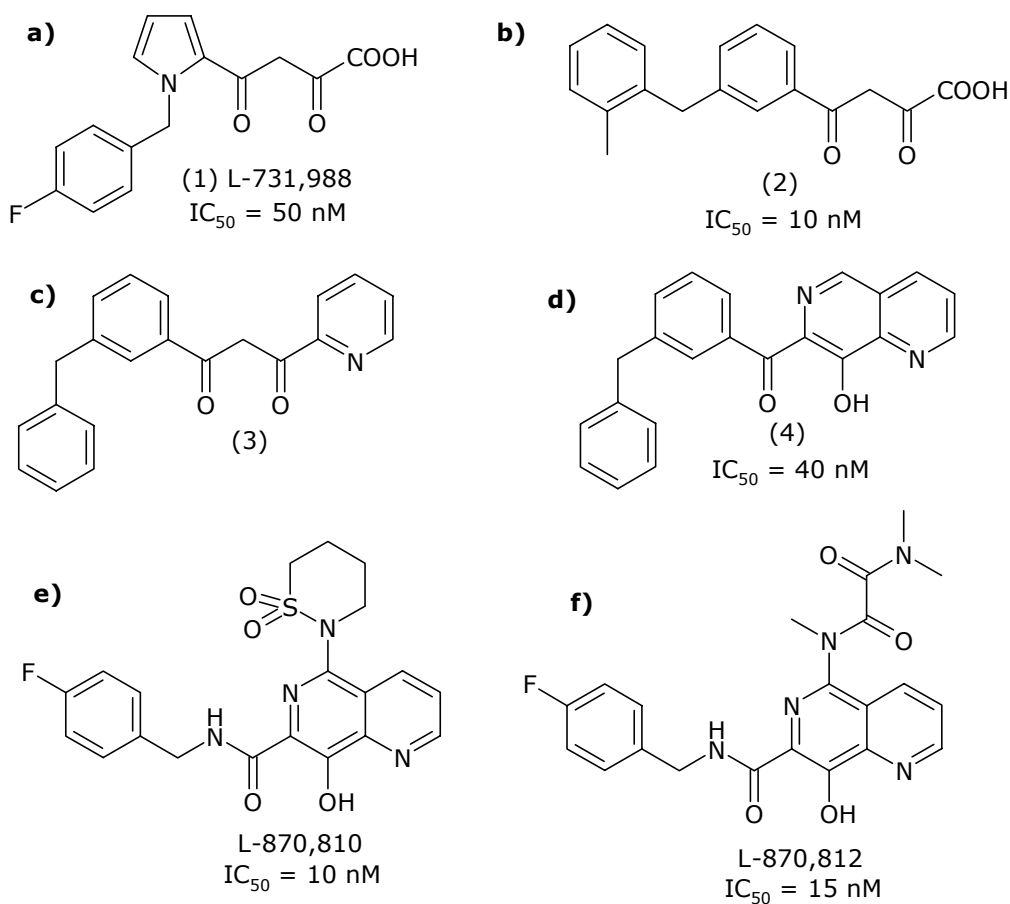


Rys. 2.10. Przykładowe inhibitory integrazy HIV zawierające motyw β -diketokwasu oraz jego modyfikacje [9].

β -Diketokwasy charakteryzują się wysoką aktywnością antywirusową, działają hamująco na katalityczne właściwości integrazy w nanomolowych stężeniach. Wartości IC_{50} jednych z pierwszych inhibitorów o symbolach L-708,906 (**Rys. 2.11.**) i L-731,988 (**Rys. 2.12. a**) wynoszą odpowiednio 100 nM i 50 nM [35].



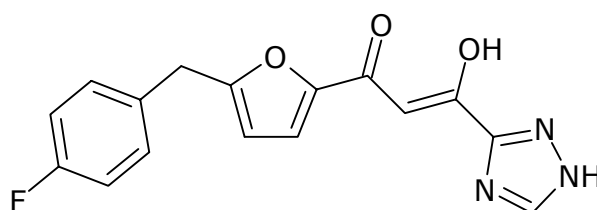
Rys. 2.11. Inhibitor o symbolu L-708,906 ($IC_{50} = 100$ nM).



Rys. 2.12. Modyfikowanie struktury β -diketokwasów [89].

W wyniku modyfikacji cząsteczek diketokwasów otrzymano nowe inhibitory, bardziej stabilne w procesach metabolicznych [95, 105]. Ewolucja struktury następowała poprzez zastępowanie motywu β -diketokwasu przez β -diketon, naftyrydynoketon i ostatecznie zamieniając motyw 1,3-diketokwasu na szkielet 8-hydroksy-1,6-naftyrydiny [80, 89]. Reprezentantem zmodyfikowanych pochodnych amidowych naftyrydiny są inhibitory o symbolach L-870,810 i L-870,812 (**Rys. 2.12. e, f**). Związek L-870,810, zawierający ugrupowanie 8-hydroksy-1,6-naftyrydino-7-karboksyamidowe, jest selektywnym inhibitorem etapu przeniesienia nici i wykazuje wartość IC_{50} wynoszącą 10 nM. Był on jednym z pierwszych potencjalnych inhibitorów integrazy HIV, który osiągnął pierwszą fazę badań klinicznych. Jednak, ze względu na obserwowaną toksyczność u zwierząt, dalsze próby zostały wstrzymane [9].

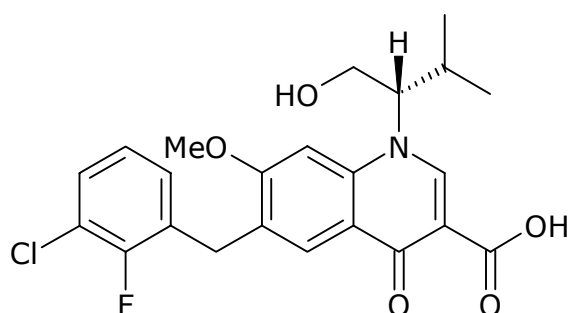
Innym β -diketokwasem, doprowadzonym do etapu badań klinicznych, był inhibitor o symbolu S-1360 (**Rys. 2.13.**). Związek ten jest selektywnym inhibitorem integrazy HIV w etapie przeniesienia nici. Wartość IC_{50} omawianego inhibitora w badaniach *in vitro* wynosi 20 nM. Grupa karboksylowa w cząsteczce tego diketokwasu została zastąpiona izosteryczną grupą 1,2,4-triazolową. Ze względu na obserwowane efekty uboczne po drugiej fazie prób klinicznych dalsze badania tego inhibitora zostały zawieszono [9]. Obecnie w fazie badań przedklinicznych jest związek o symbolu GSK-810871, będący modyfikacją S-1360 [87].



Rys. 2.13. Inhibitor S-1360 ($IC_{50} = 20$ nM).

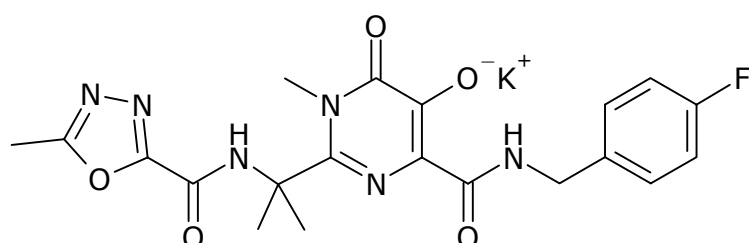
Obiecującym inhibitorem reakcji przeniesienia nici jest związek o symbolu GS-9137 (JTK-303) (**Rys. 2.14.**) [56]. Wartość IC_{50} tego inhibitora wynosi 0,2 nM. GS-9137 jest pochodną kwasu dihydrochinolinokarboksylowego. Związek ten otrzymano poprzez modyfikację cząsteczek antybiotyków chinolo-

nowych [52]. Inhibitor GS-9137 znajduje się obecnie w drugiej fazie badań klinicznych. Dotychczasowe próby przebiegają pomyślnie [54].



Rys. 2.14. GS-9137 (poprzednio JTK-303) – $IC_{50} = 0,2$ nM.

Nowym związkiem o budowie karboksamidowej jest inhibitor MK-0518 (L-900612), którego wartość IC_{95} w próbach *in vitro* wynosi 33 nM (**Rys. 2.15.**) [55]. MK-0518 pomyślnie przeszedł wcześniejsze próby kliniczne i obecnie jest w trzeciej fazie badań klinicznych [51].

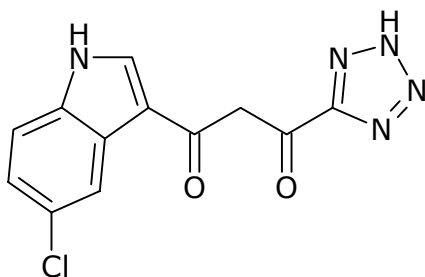


Rys. 2.15. Inhibitor MK-0518 (L-900612) – $IC_{95} = 33$ nM.

2.9. Struktura cząsteczek β -diketokwasów a ich selektywność w hamowaniu aktywności katalitycznej integrazy HIV

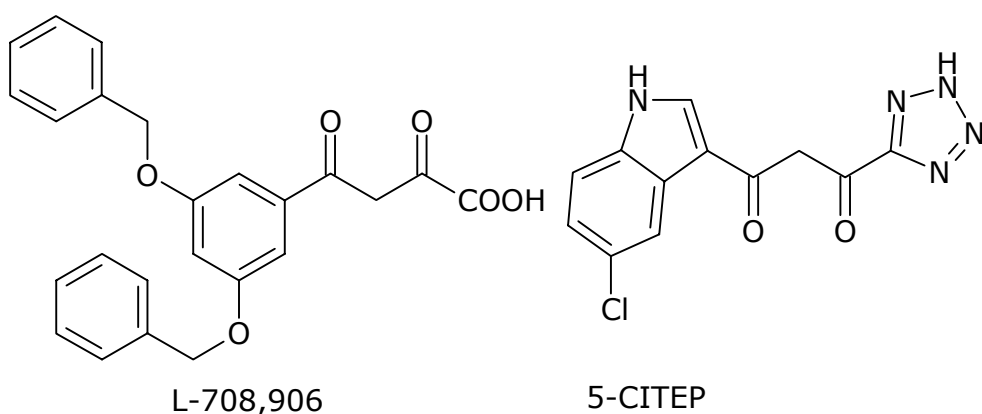
Inhibitory zawierające motyw β -diketokwasu hamują reakcję przeniesienia nici w zakresie stężeń nanomolowych. Niektóre z nich są również aktywne w etapie 3'-terminacji. Przykładem takiego inhibitora jest związek o symbolu 5-CITEP. Jest on inhibitorem opartym na motywie β -diketokwasu, w którym grupa karboksylowa zastąpiona została grupą tetrazolową [34]. Pierścień te-

trazolowy jest uważany za grupę izosteryczną dla grupy karboksylowej (**Rys. 2.16.**).



Rys. 2.16. Inhibitor o symbolu 5-CITEP ($IC_{50} = 0,42 \mu M$).

Wartość IC_{50} w etapie przeniesienia nici dla związku 5-CITEP wynosi $0,42 \mu M$. Oprócz reakcji przeniesienia nici 5-CITEP jest również aktywny w etapie 3'-terminacji - IC_{50} dla tej reakcji wynosi $35 \mu M$. W stężeniu, w którym 5-CITEP hamuje obie reakcje katalizowane przez integrazę HIV, inhibitor L-708,906 jest aktywny jedynie w etapie przeniesienia nici (**Rys. 2.17.**) [95].

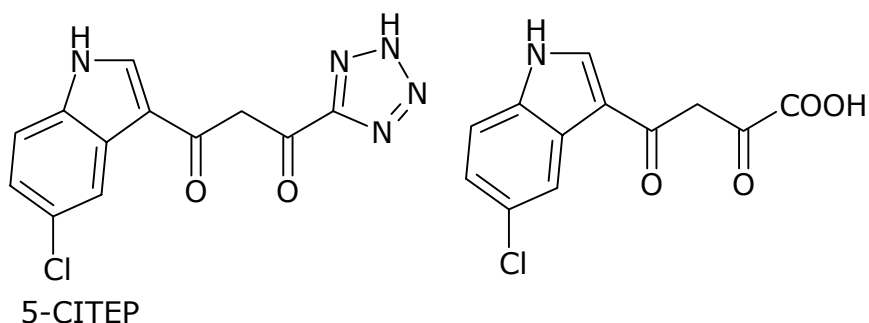


	L-708,906	5-CITEP
IC_{50} 3'-terminacja	>1000	35
(μM) przeniesienie nici	$0,42 \pm 0,08$	$0,65 \pm 0,19$

Rys. 2.17. Porównanie aktywności inhibitorów 5-CITEP i L-708,906 wobec integrazy HIV w reakcjach 3'-terminacji i przeniesienia nici.

Zamiana grupy tetrazolowej na karboksylową w związku 5-CITEP nie wpływa znacząco na aktywność tak zmodyfikowanego inhibitora – oba związki wykazują podobną aktywność w 3'-terminacji (**Rys. 2.18.**) [95]. Wynika stąd, że funkcja kwasowa nie wpływa na różnicę w selektywności, a wybiórcza ak-

tywność inhibitorów będzie prawdopodobnie zdeterminowana przez część aromatyczną.

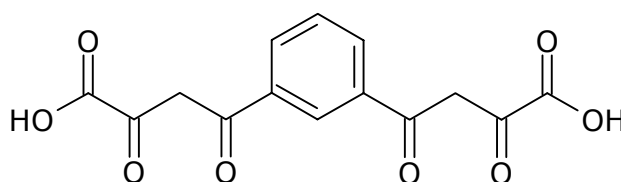


IC ₅₀	3'-terminacja	35	65
(μM)	przeniesienie nici	0,65 ± 0,19	0,52 ± 0,10

Rys. 2.18. Porównanie aktywności 5-CITEP i β-diketokwasu, w którym układ tetrazolowy został zastąpiony grupą karboksylową. Zamiana grup izosterycznych nie ma większego wpływu na aktywność.

5-CITEP i L-708,906 mają tę samą grupę funkcyjną 1,3-diksonową, ale różnią się częścią aromatyczną i kwasową. Oba związki wykazują różną selektywność w hamowaniu reakcji katalizowanych przez integrazę HIV. Świadczy to o odmiennym mechanizmie oddziaływania obu związków z enzymem [95].

Modyfikacja związku L-708,906 poprzez zastąpienie części aromatycznej drugą grupą β-diketokwasową prowadzi do nieselektywnego inhibitora, aktywnego w etapie 3'-terminacji oraz w reakcji przeniesienia nici (**Rys. 2.19.**). Pochodne dwufunkcyjne β-diketokwasów hamują 3'-terminację równie efektywnie jak 5-CITEP [95].



IC ₅₀	3'-terminacja	7,8 ± 2,2
(μM)	przeniesienie nici	1,83 ± 0,32

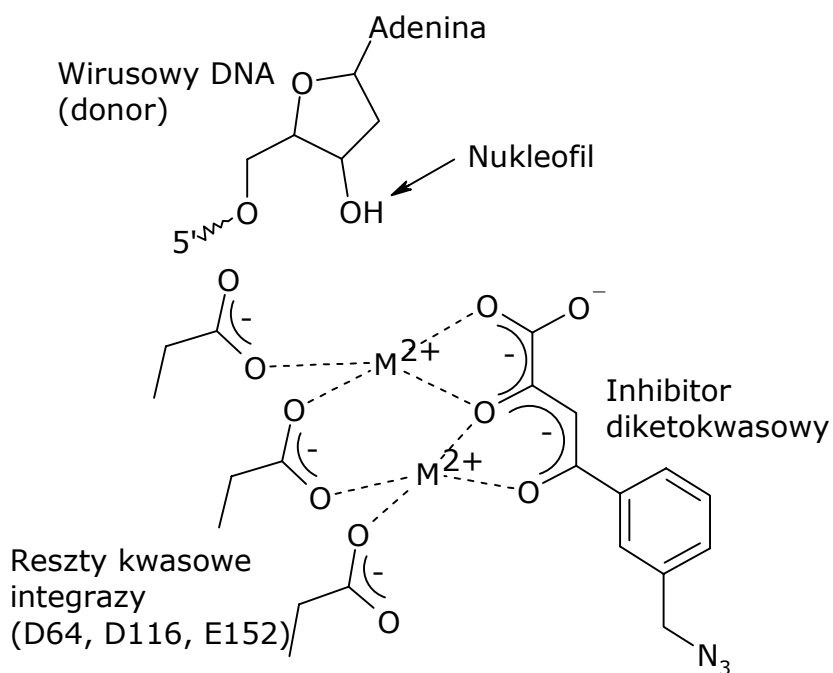
Rys. 2.19. Aktywność dwufunkcyjnego β-diketokwasu w 3'-terminacji i reakcji przeniesienia nici.

Obecność grup elektroujemnych, takich jak halogen w części aromatycznej 5-CITEP lub grupa karboksylowa dla dwufunkcyjnego β -diketokwasu powoduje wzrost aktywności w reakcji 3'-terminacji, pozostając bez wpływu na aktywność w hamowaniu etapu przeniesienia nici. Prawdopodobnie dwufunkcyjne pochodne diketokwasów wiążą się zarówno z centrum akceptorowym i donorowym integrazy HIV. Pochodne jednofunkcyjne wiążą się selektywnie tylko z centrum akceptorowym, są aktywne jedynie w reakcji przeniesienia nici, a nie hamują 3'-terminacji [95].

2.10. Mechanizm działania pochodnych β -diketokwasów

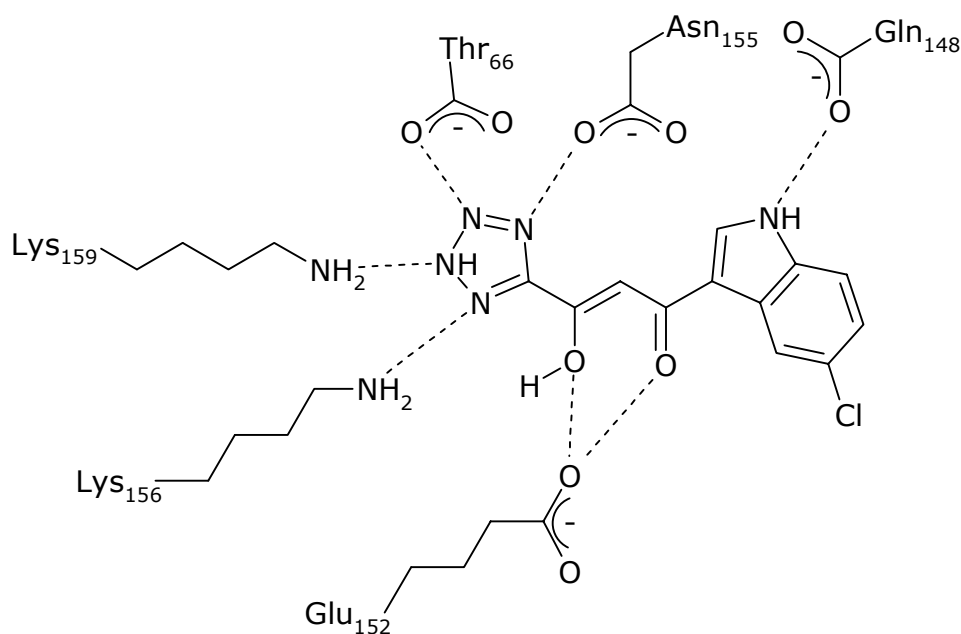
Inhibitory zawierające motyw β -diketokwasu wiążą się z domeną katalityczną integrazy i blokują tym samym centrum aktywne, tworzone przez triadę aminokwasów DDE. Powoduje to zahamowanie katalitycznych właściwości integrazy [5]. Powszechnie przyjmuje się, że inhibitory te działają poprzez chelatowanie dwuwartościowych kofaktorów metalicznych, koordynowanych przez centrum aktywne integrazy. Wchodzące w skład cząsteczek inhibitorów grupy β -hydroksyketonowa i β -diketonowa są dobrze znanymi grupami koordynującymi jony metali [69]. Stwierdzono, że hamowanie katalitycznej aktywności integrazy zależy od dwuwartościowych kationów metali [70]. Inhibitor, chelatując jony metalu, blokuje centrum aktywne, przez co uniemożliwia przyłączenie się DNA. W konsekwencji przebieg reakcji przeniesienia nici jest niemożliwy [4, 5]. Pod nieobecność inhibitora wirusowy DNA po reakcji 3'-terminacji jest przyłączany do integrazy. W takim stanie jest on gotowy do ataku na wiązania fosfodiesterowe DNA gospodarza, czyli do ostatniego etapu integracji. Rolą kationów metali dwuwartościowych jest utworzenie mostka koordynacyjnego pomiędzy motywem DDE integrazy, donorowym DNA wirusa i akceptorowym DNA chromosomów komórki gospodarza. Inhibitor wbudowuje się w miejsce przeznaczone do połączenia łańcucha DNA z dwuwartościowym jodem metalu w centrum aktywnym integrazy, przez co zostaje ono zablokowane (**Rys. 2.20.**). Motyw farmakoforowy diketokwasu maskuje jeden lub oba dwuwartościowe jony metalu [4, 5]. Inhibitor β -diketokwasowy może przyłączyć się do centrum akceptorowego tylko po 3'-terminacji. Przyłączenie inhibitora blokuje stan przejściowy, a makromolekularny kompleks integrazy z

DNA zostaje ustabilizowany przed zajściem reakcji przeniesienia nici i kolejny etap w integracji jest niemożliwy [85].



Rys. 2.20. Schemat prawdopodobnego wiązania cząsteczki inhibitora diketokwasowego w centrum aktywnym integrazy. Proces ten uniemożliwia powstanie kompleksu: integraza – kation dwudodatni – DNA [4, 5].

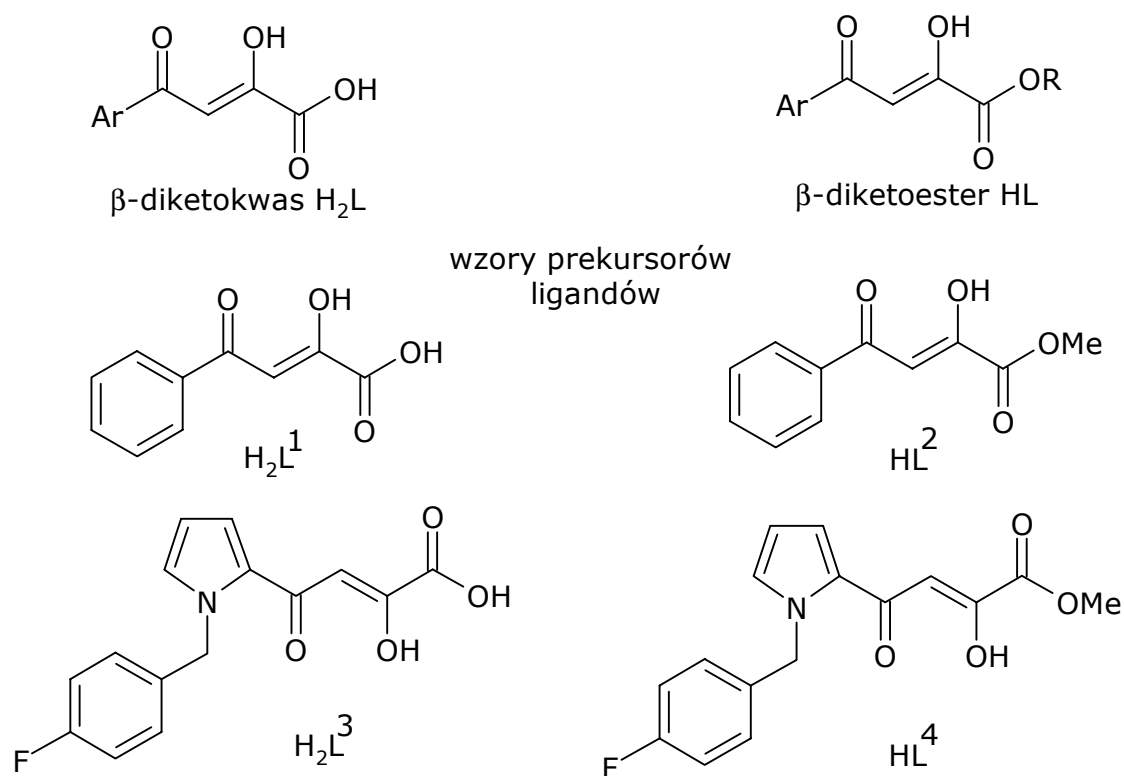
Opisana struktura krystalograficzna kompleksu domeny katalitycznej integrazy HIV z inhibitorem 5-CITEP wydaje się jednak świadczyć o innym sposobie oddziaływania inhibitora z integrazą. Inhibitor ten wiąże się głównie z centrum katalitycznym integrazy, a dodatkowo tworzy liczne połączenia z innymi resztami aminokwasowymi, zwłaszcza z Lys-156, Lys-159 i Gln-148 (**Rys. 2.21.**) [34]. W przyłączaniu się inhibitora 5-CITEP do reszt aminokwasowych integrazy nie pośredniczą kationy metalu, a sam inhibitor w obserwowanym kompleksie nie powoduje istotnych zmian w białku.



Rys. 2.21. Kompleks integrazy HIV z inhibitorem 5-CITEP w centrum aktywnym [34].

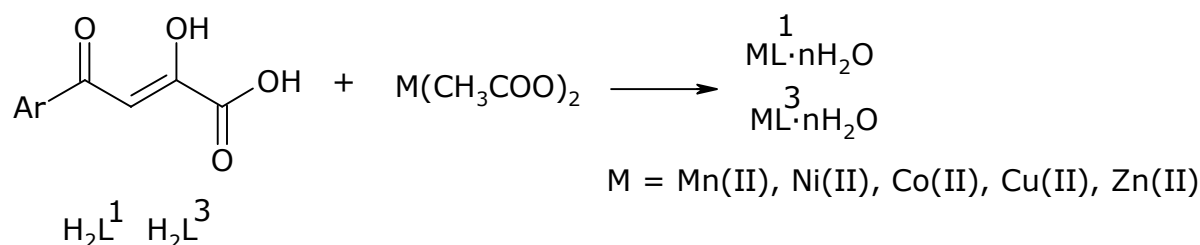
2.11. β -Diketokwasy i ich pochodne jako ligandy w kompleksach z dwuwartościowymi jonami metali

β -Diketokwasy i ich pochodne wykazują zdolność do kompleksowania w roztworach jonów metali dwuwartościowych. β -Diketokwasy (H_2L) posiadają dwa centra koordynacyjne, zdolne do utworzenia kompleksów z różnymi jonami metali. β -Diketoestry (HL) mogą koordynować jeden jon metalu tylko po przekształceniu części estrowej w ugrupowanie keto - enolowe. W celu scharakteryzowania zdolności koordynowania jonów metali przez β -diketokwasy i ich pochodne otrzymano szereg kompleksów z wykorzystaniem wybranych ligandów (**Rys. 2.22.**) oraz takich jonów jak: Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} [159]. Obie cząsteczki modelowych β -diketokwasów H_2L^1 i H_2L^3 podczas tworzenia kompleksów jako ligandy zachowują się podobnie. Zastosowanym rozpuszczalnikiem była mieszanina wody i alkoholu etylowego (rozpuszczalniki protonowe). W takich warunkach dominującą formą β -diketokwasu jest forma enolowa (powyżej 90 %). Cząsteczka ligandu przed deprotonowaniem jest prekursorem ligandu.



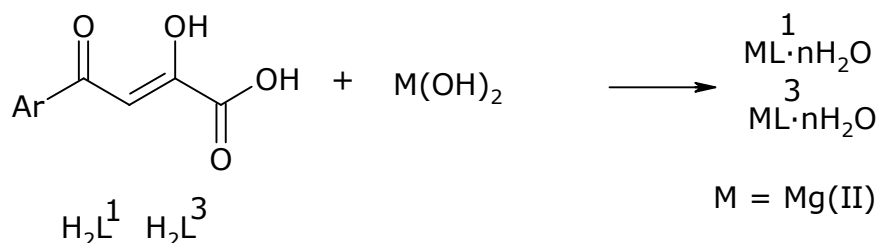
Rys. 2.22. Fragmenty cząsteczek β -diketokwasów i β -diketoestrów zdolne do chelatowania jonów metali i wzory prekursorów ligandów wykorzystane do badania kompleksów [159].

Kompleksy z jonami Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} otrzymano w reakcji z octanem odpowiedniego metalu. Anion octanowy jest wystarczająco zasadowy do deprotonacji atomu wodoru z prekursora ligandu β -diketokwasowego. W takich warunkach tworzą się kompleksy o wzorze ogólnym $ML \cdot nH_2O$ ($n = 0,5 - 4$), które mogą być łatwo wyizolowane z mieszaniny reakcyjnej, jako substancje trudno rozpuszczalne (**Rys. 2.23.**) [159].



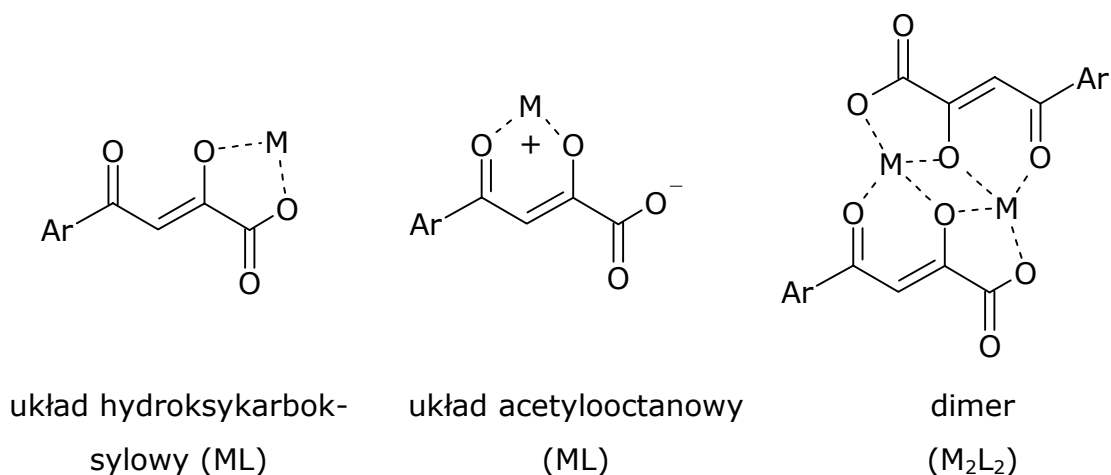
Rys. 2.23. Otrzymywanie kompleksów β -diketokwasów H_2L^1 i H_2L^3 z kationami: Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} [159].

W przypadku kompleksów z jonami magnezu reagentem zapewniającym deprotonowanie prekursora ligandu był wodorotlenek magnezu (**Rys. 2.24.**). Stosunek stechiometryczny ligandu do metalu w otrzymanych kompleksach wynosi 1:1.



Rys. 2.24. Otrzymywanie kompleksów β -diketokwasów H_2L^1 i H_2L^3 z kationami Mg^{2+} [159].

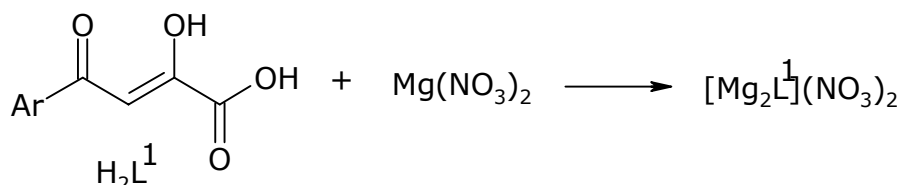
β -Diketokwasy H_2L^1 i H_2L^3 mogą chelatować jon metalu w dwóch miejscach koordynacyjnych. Są to: fragment cząsteczki z grupą hydroksylową i karboksylową lub fragment acetylo - octanowy. Możliwe jest również utworzenie kompleksu o strukturze M_2L_2 , w którym dwie cząsteczki ligandów tworzą dimer (**Rys. 2.25.**) [159].



Rys. 2.25. Struktury otrzymanych kompleksów [159].

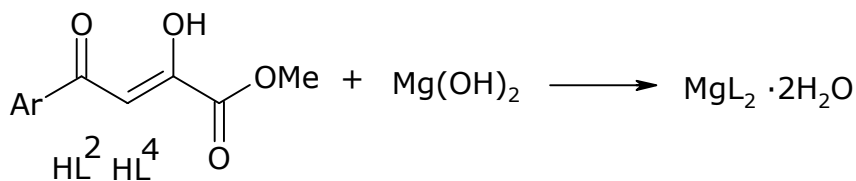
We wszystkich przypadkach sfera koordynacyjna metalu jest dopełniana przez cząsteczki wody. Struktury wszystkich kompleksów zostały potwierdzone badaniami spektroskopowymi oraz krystalograficznymi [159, 161]. Stwierdzono, że w warunkach fizjologicznego pH, którego wartość wynosi oko-

ło 7,5, układem dominującym jest kompleks $[\text{Mg}_2\text{L}^1]^{2+}$. Związek o takiej strukturze otrzymano przeprowadzając deprotonację prekursora ligandu H_2L^1 wodorotlenkiem sodu. W reakcji otrzymania kompleksu, przy pH ustalonym na 7,5, zastosowano azotan(V) magnezu. W wyniku reakcji powstał biały, bardzo higroskopijny związek o wzorze $[\text{Mg}_2\text{L}^1](\text{NO}_3)_2$ (**Rys. 2.26.**). Budowa tego kompleksu została potwierdzona badaniami spektroskopowymi oraz krystalograficznymi [159].



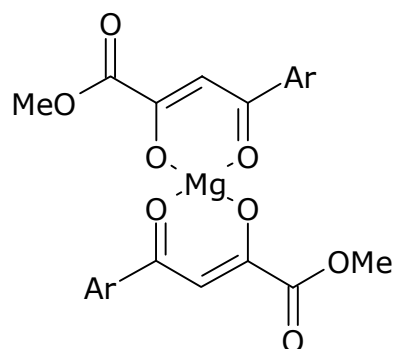
Rys. 2.26. Otrzymywanie kompleksu β -diketokwasu H_2L^1 z $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ przy pH wynoszącym 7,5 [159].

Kompleksy estrów metylowych HL^2 i HL^4 z jonami magnezu zostały otrzymane przez reakcję wodorotlenku magnezu z metanolowymi roztworami odpowiednich prekursorów ligandów. W reakcji powstały związki o wzorze ogólnym $\text{MgL}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, wyizolowane jako białe substancje stałe (**Rys. 2.27.**) [159].



Rys. 2.27. Otrzymywanie kompleksów β -diketoestrów HL^2 i HL^4 z kationami Mg^{2+} [159].

W kompleksach β -diketoestrów stosunek stechiometryczny metalu do ligandu wynosi 1:2. Dwie cząsteczki β -diketoestru koordynują jon magnezu poprzez motywy β -ketoenolowe, a sfera koordynacyjna metalu jest dopełniona przez dwie cząsteczki wody (**Rys. 2.28.**). Taka struktura została potwierdzona za pomocą badań spektroskopowych oraz krystalograficznych [159].



Rys. 2.28. Struktura kompleksu MgL_2 [159].

Związek	3'-Terminacja IC_{50} (μM)	Przeniesienie nici IC_{50} (μM)
H_2L^1	>333	69 ± 4
HL^2	>333	>333
H_2L^3	15 ± 2	$0,54 \pm 0,08$
HL^4	187 ± 6	48 ± 4
MgL^1	>333	44 ± 3
MnL^1	>333	42 ± 4
NiL^1	66 ± 5	31 ± 2
CoL^1	50 ± 9	5 ± 3
CuL^1	26 ± 5	11 ± 3
ZnL^1	88 ± 10	21 ± 5
MgL^2	>333	>333
MgL^3	6 ± 1	$0,26 \pm 0,04$
MnL^3	7 ± 1	$0,99 \pm 0,62$
NiL^3	6 ± 3	$0,52 \pm 0,24$
CoL^3	9 ± 4	$0,72 \pm 0,33$
CuL^3	6 ± 2	$0,62 \pm 0,34$
ZnL^3	6 ± 3	$0,74 \pm 0,43$
MgL^4	203 ± 32	8 ± 1
$[Mg_2L^1](NO_3)_2$	>333	88 ± 5

Tabela 2.1. Aktywność prekursorów ligandów i kompleksów wobec integrazy HIV w warunkach analizy *in vitro* [159].

Prekursory ligandów i otrzymane kompleksy poddano testom na hamowanie aktywności katalitycznej integrazy HIV *in vitro*. Przebadano zdolność hamowania reakcji 3'-terminacji i etapu przeniesienia nici [159] (**Tabela 2.1.**).

2.12. Kompleksy β -diketokwasów i ich pochodnych jako forma aktywna inhibitorów integrazy HIV

Za wyjątkiem jednego wszystkie testowane kompleksy wykazują aktywność wobec integrazy HIV w zakresie stężeń mikro- i nanomolowych. Znacznie większa aktywność tych związków w reakcji przeniesienia nici, w porównaniu z 3'-terminacją, pokazuje ich selektywność. Prekursory ligandów różnią się aktywnością względem integrazy. Wynika to z budowy części aromatycznej i potwierdza znaczący wpływ rodzaju pierścienia aromatycznego i jego podstawników na aktywność. Różna aktywność prekursorów ligandów, zależna od budowy części aromatycznej modelowych β -diketokwasów, zasadniczo odzwierciedla się na różnej aktywności kompleksów [159]. Kompleksy β -diketokwasu H_2L^1 z jonami Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} wykazują aktywność w reakcji przeniesienia nici z wartościami IC_{50} wynoszącymi od 5 do 44 μM , a w etapie 3'-terminacji z wartościami od 26 do 333 μM . Związki te wykazują różną aktywność wobec integrazy w zależności od rodzaju chelatowanego metalu. Dla związków, w których ligand H_2L^1 jest kompleksowany przez jony Mg^{2+} , Mn^{2+} i Ni^{2+} , aktywność w etapie przeniesienia nici wynosi 31 – 44 μM . Dla kompleksów tego samego ligandu z jonami Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} nastąpił wzrost aktywności, zwłaszcza dla kompleksu z kationem Co^{2+} , dla którego wartość IC_{50} wynosi 5 μM dla reakcji przeniesienia nici i 50 μM w 3'-terminacji. Jest to najlepszy wynik dla badanych kompleksów z niepodstawionym pierścieniem aromatycznym [159]. Dla kompleksów β -diketokwasu H_2L^3 z jonami Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} wartości IC_{50} wynoszą od 0,26 do 0,99 μM dla etapu przeniesienia nici i od 6 do 9 μM w reakcji 3'-terminacji. Kompleksy, w których ligandem jest H_2L^3 , wykazują zbliżoną aktywność do aktywności prekursora ligandu. Kompleks MgL^3 ($IC_{50} = 0,26 \mu M$ w reakcji przeniesienia nici i 6 μM w 3'-terminacji) jest najbardziej aktywny ze wszystkich badanych związków. Jest dwukrotnie bardziej aktywny niż prekursor ligandu. W przypadku kompleksów z ligandem H_2L^3 obecność różnych jonów metali nie wpływa zna-

cząco na ich aktywność wobec integrazy [159]. Aktywność kompleksów β -diketoestrów HL^2 i HL^4 z jonami Mg^{2+} jest zależna od budowy części aromatycznej związku, podobnie jak ma to miejsce w β -diketokwasach. Związek HL^2 i jego kompleks z jonem Mg^{2+} nie są aktywne wobec integrazy. W przypadku kompleksu diketoestru HL^4 aktywność wobec integrazy w etapie przeniesienia nici jest sześciokrotnie większa w porównaniu do prekursora ligandu estrowego - wartości IC_{50} wynoszą odpowiednio $48 \mu M$ i $8 \mu M$. W przypadku 3'-terminacji aktywność kompleksu i prekursora ligandu nie zmieniła się [159]. W celu wyjaśnienia, czy wzrost aktywności kompleksów β -diketokwasu H_2L^1 z jonami Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} jest spowodowany obecnością wolnych jonów metali lub połączonych w kompleks z ligandem H_2L^1 , zostały przeprowadzone dodatkowe próby. Miały one na celu zbadanie wpływu obecności jonów Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} na aktywność związku H_2L^1 wobec integrazy w roztworze (**Tabela 2.2.**).

Związek	3'-Terminacja IC_{50} (μM)	Przeniesienie nici IC_{50} (μM)
$H_2L^1 + (Ni^{2+})$	320	57
$H_2L^1 + (Co^{2+})$	85	84
$H_2L^1 + (Cu^{2+})$	235	46
$H_2L^1 + (Zn^{2+})$	>333	40

Tabela 2.2. Hamowanie aktywności katalitycznej integrazy HIV z dodatkiem dwudodatnich jonów metali w roztworze [159].

Z przeprowadzonych badań wynika, że na aktywność związku wpływa zarówno rodzaj jonów metalu jak i część aromatyczna diketokwasu [159]. Wartości IC_{50} w reakcji przeniesienia nici dla związku H_2L^1 w próbach w obecności jonów metali wynoszą od 40 do $84 \mu M$ i są podobne do wartości aktywności kompleksów związku H_2L^1 z tymi kationami metali. W przypadku reakcji 3'-terminacji aktywność diketokwasu H_2L^1 w obecności jonów Ni^{2+} , Cu^{2+} i Zn^{2+} jest również podobna do aktywności kompleksów H_2L^1 z tymi kationami metali. Jedynie w przypadku próby przeprowadzonej w obecności jonów Co^{2+} aktywność związku H_2L^1 znacznie rośnie w reakcji 3'-terminacji, a wartość IC_{50} jest podobna do wartości aktywności kompleksu H_2L^1 z jonami Co^{2+} . Taki wynik może świadczyć o wystarczającej stabilności kompleksu w roztworze, który

być może oddziałuje z integrzą w formie trwałego kompleksu [159]. Kolejna próba miała na celu zbadanie, czy na aktywność związku H_2L^1 i jego kompleksu z Mn^{2+} wobec integrazy ma wpływ obecność kationów Co^{2+} dodanych do roztworu. Próby przeprowadzono w obecności jonów Mn^{2+} w warunkach, w jakich normalnie przeprowadza się badanie aktywności. W wyniku testu stwierdzono, że ligand H_2L^1 wykazuje wzrost aktywności w obecności jonów Co^{2+} tylko dla 3'-terminacji bez zmiany aktywności w etapie przeniesienia nici. W przypadku kompleksu H_2L^1 z jonami Mn^{2+} po dodaniu roztworu jonów Co^{2+} następuje wzrost selektywności w kierunku reakcji przeniesienia nici [159] **(Tabela 2.3.)**.

Związek		3'-Terminacja IC ₅₀ (μM)	Przeniesienie nici IC ₅₀ (μM)
H_2L^1		>333	69 ± 4
MnL^1		>333	42 ± 4
H_2L^1	+ (Co^{2+})	82 ± 3	80 ± 4
MnL^1	+ (Co^{2+})	>333	<12

Tabela 2.3. Hamowanie aktywności katalitycznej integrazy HIV przez ligand H_2L^1 i kompleks H_2L^1 z jonami Mn^{2+} w warunkach analizy (z Mn^{2+}) i po dodaniu do roztworu jonów Co^{2+} [159].

Taki wynik reakcji można wytłumaczyć przez to, że kompleks MnL^1 może częściowo koordynować w roztworze inny jon (Co^{2+}), wskutek czego tworzy się układ z korzystną kombinacją jonów dwóch różnych metali (Mn^{2+} i Co^{2+}) i taki kompleks staje się aktywny w reakcji przeniesienia nici.

Na podstawie badań stwierdzono, że w warunkach pH wynoszącego 7,5 ligand H_2L^1 w kompleksie z jonami Mg^{2+} dominuje w postaci formy $[Mg_2L^1]^{2+}$, a ligand H_2L^3 tworzy kompleks MgL^3 (Mg_2L_2). Prawdopodobnie takie układy występują w warunkach fizjologicznych. We wszystkich otrzymanych kompleksach stosunek stechiometryczny metalu do ligandu wynosił 1:1. Stechiometria kompleksów w serii ML^3 jest podobna do dominującej dla ligandu H_2L^3 w roztworze przy fizjologicznym pH. Dla serii otrzymanych kompleksów ML^1 stechiometria nie odpowiada formie preferowanej przy pH wynoszącym 7,5 ($[Mg_2L^1]^{2+}$). Taka obserwacja może wytłumaczyć wyższą aktywność komplek-

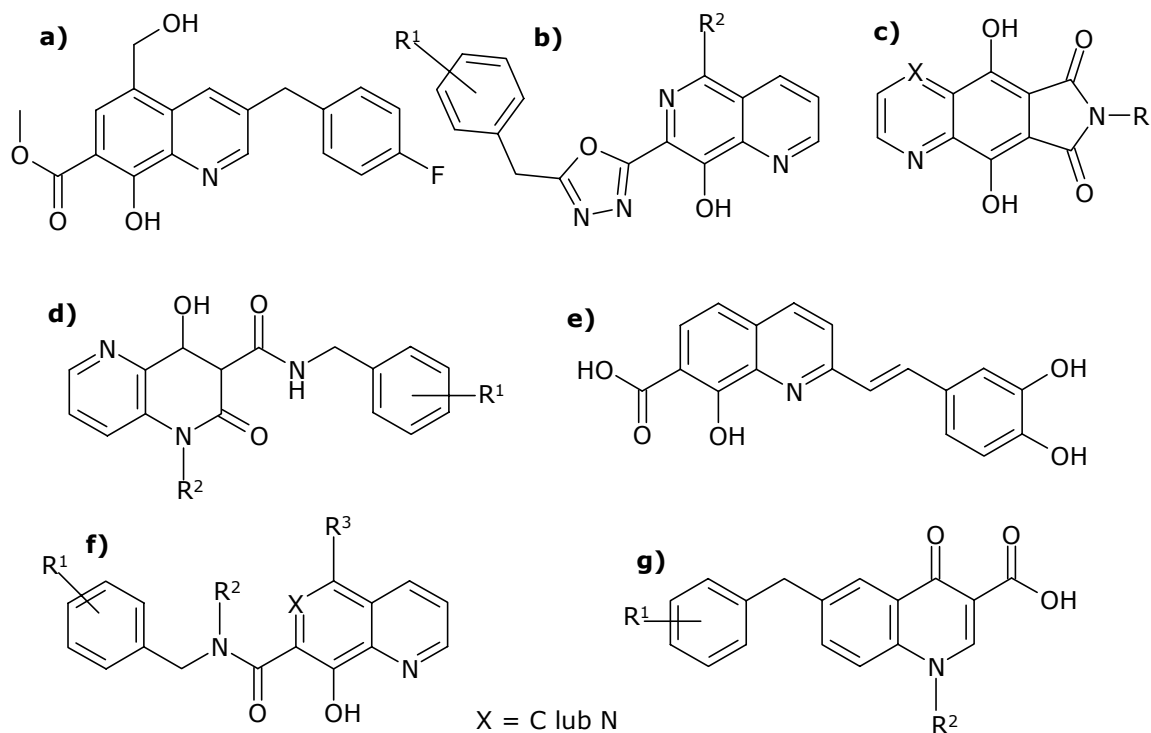
sów serii ML^3 [159]. W celu porównania z aktywnością wolnego ligandu H_2L^1 kompleks $[Mg_2L^1]^{2+}$ został otrzymany w postaci azotanu(V). Podczas reakcji jego otrzymywania utrzymywano warunki fizjologicznego pH równego 7,5. Stosunek stechiometryczny magnezu do ligandu w kompleksie otrzymanym w takich warunkach wynosi 2:1. Kompleks $[Mg_2L^1]^{2+}$ i prekursor ligandu w warunkach analizy *in vitro* wykazują podobną aktywność wobec integrazy. Wartość IC_{50} w reakcji przeniesienia nici dla kompleksu $[Mg_2L^1]^{2+}$ wynosi $88 \pm 5 \mu M$, a dla prekursora ligandu $69 \pm 6 \mu M$. Oba układy są nieaktywne w reakcji 3'-terminacji. Sugeruje to, że dla prekursora ligandu H_2L^1 w warunkach analizy i w warunkach fizjologicznych aktywną formą będzie kompleks $[M_2L^1]^{2+}$. Aktywną formą kompleksów, w których ligandem jest β -diketokwas H_2L^1 jest prawdopodobnie $[M_2L^1]^{2+}$, natomiast dla β -diketokwasu H_2L^3 formą aktywną jest ML^3 [159].

Struktura kompleksu determinuje aktywność danego związku. Związki, które mają podobne właściwości fizykochemiczne mogą charakteryzować się całkiem różną aktywnością. Ważny jest także wpływ części aromatycznej β -diketokwasu, która poprzez efekty elektronowe może modyfikować wartość stałej kwasowej pK_a odpowiedniego kwasu, będącej najważniejszym parametrem determinującym formę tworzonych kompleksów. Najlepszymi ligandami prawdopodobnie będą takie β -diketokwasy, które są zdolne do tworzenia układu ML (M_2L_2) [159]. Odnośnie do β -diketoestrów, w warunkach fizjologicznych, powstają układy ML^+ (1:1) i ML_2 (1:2). W kompleksach MgL_2^2 i MgL_2^4 stosunek metalu do ligandu wynosi 1:2. W przypadku aktywności kompleksu MgL_2^4 i braku aktywności kompleksu MgL_2^2 duże znaczenie mogą mieć względy steryczne. W warunkach fizjologicznych, przy pH równym 7,5, powstają przede wszystkim takie kompleksy jak: Mg_2L^{2+} i Mg_2L_2 (β -diketokwas H_2L) oraz MgL^+ i MgL_2 (β -diketoester HL) [159].

2.13. Pochodne 8-hydroksychinoliny jako inhibitory integrazy HIV

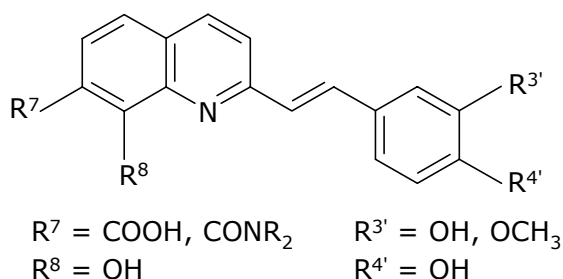
8-Hydroksychinolina jest znanym ligandem dla dwuwartościowych jonów metali. Potencjalnymi inhibitorami integrazy HIV są polihydroksylowe pochodne chinoliny, innych układów azanaftalenowych oraz ftalimidowych (**Rys. 2.29.**) [9]. Opisane inhibitory integrazy HIV, oparte na pochodnych chinoliny, są zazwyczaj inhibitorami nieselektywnymi – wykazują aktywność zarówno w

reakcji 3'-terminacji, jak i w reakcji przeniesienia nici. Kilka z tych związków również blokuje replikację wirusa HIV w kulturach komórkowych. Związki te często charakteryzuje niska cytotoksyczność [9, 124].



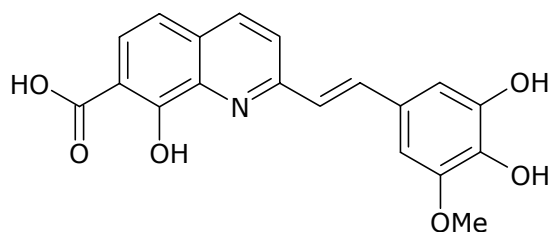
Rys. 2.29. Pochodne chinoliny, innych układów azanaftalenowych oraz ftalimidowych o działaniu hamującym integrasę wirusa HIV [9].

Ważną grupą pochodnych chinoliny, wykazujących aktywność wobec integrazy HIV, są styrylochinoliny (**Rys. 2.30.**) [36, 37, 79, 109]. Struktura tych związków opiera się na szkielecie zawierającym układ chinoliny, połączony z układem arylowym mostkiem dwuwęglowym zawierającym wiązanie podwójne. Styrylochinoliny, w szczególności podstawione grupą amidową, stanowią obiecującą klasę inhibitorów integrazy HIV [36], w związku z tym prowadzi się dalsze badania tego szeregu pochodnych.



Rys. 2.30. Wzór ogólny pochodnych styrylochinolinowych.

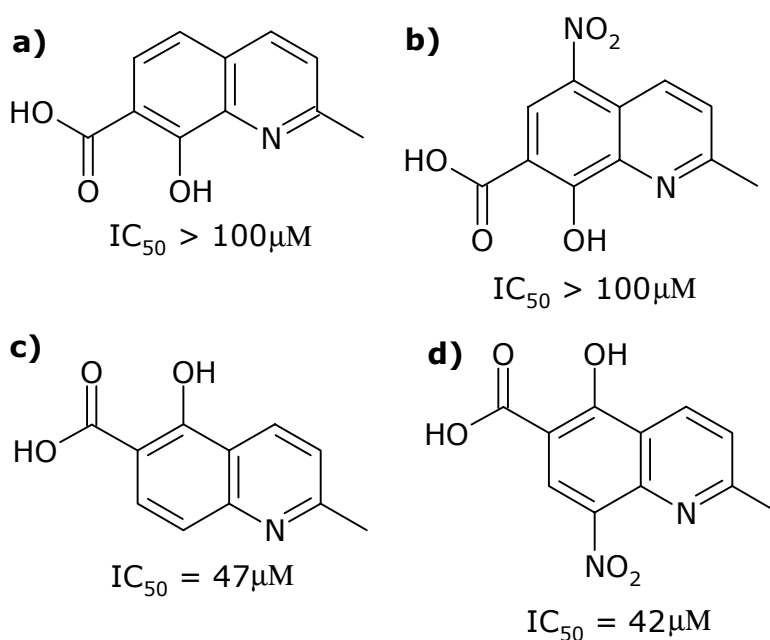
Analizując zależności pomiędzy strukturą i aktywnością (SAR), można zauważyć, że aktywność pochodnych styrylochinolinowych jest związana z obecnością grupy karboksylowej w pozycji 7 i grupy hydroksylowej w pozycji 8 pierścienia chinolinowego. Związki, które nie posiadają takiego ugrupowania podstawników nie wykazują aktywności. Zastąpienie pierścienia fenylowego przez różne pierścienie heteroatomowe lub zaburzenie rozkładu gęstości elektronowej w podstawniku fenylowym ma jedynie ograniczony wpływ na aktywność wobec integrazy. Wysoką aktywność wobec integrazy wykazują pochodne zawierające grupy hydroksylowe w pierścieniu benzenowym. Obecność grupy karboksylowej jest decydująca w aktywności danego związku. Jej estryfikacja prowadzi do otrzymania nieaktywnego związku [175]. Najaktywniejszym inhibitorem z grupy pochodnych styrylochinoliny jest związek o symbolu FZ-41 (**Rys. 2.31.**) [37, 122]. Jest on aktywny zarówno w etapie 3'-terminacji jak i w etapie przeniesienia nici. Wartości IC_{50} dla obu reakcji wynoszą odpowiednio: 0,7 μM i 1,7 μM . Związek ten obecnie znajduje się w fazie testów przedklinicznych.



Rys. 2.31. Inhibitor styrylochinolinowy o symbolu FZ-41.

Kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy (**Rys. 2.32. a**) jest fragmentem molekularnym, który zawierają wszystkie opisane styrylochi-

nolinowe inhibitory integrazy HIV. Zawiera on motyw β -ketoenolowy, charakterystyczny zarówno dla β -diketokwasów, jak i styrylochinolin. Kwas ten jest jednak nieaktywny w hamowaniu integrazy HIV w testach *in vitro* [37, 122]. Poprzez zmianę uporządkowania podstawników kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyowego podjęto próbę zwiększenia aktywności związanej z tym fragmentem molekularnym. Kwasy 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksyowy (**Rys. 2.32. c**) i 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksyowy (**Rys. 2.32. d**) wykazują większą aktywność hamującą wobec integrazy HIV w porównaniu z kwasem 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyowym. Wartości IC_{50} omawianych związków wynoszą odpowiednio 47 i 42 μ M. Wynik aktywności hamującej wobec integrazy HIV dla kwasu 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksyowego (**Rys. 2.32. b**) w testach *in vitro* jest niejednoznaczny. Spowodowane jest to słabą rozpuszczalnością tego związku w środowisku badania *in vitro* [110, 112].

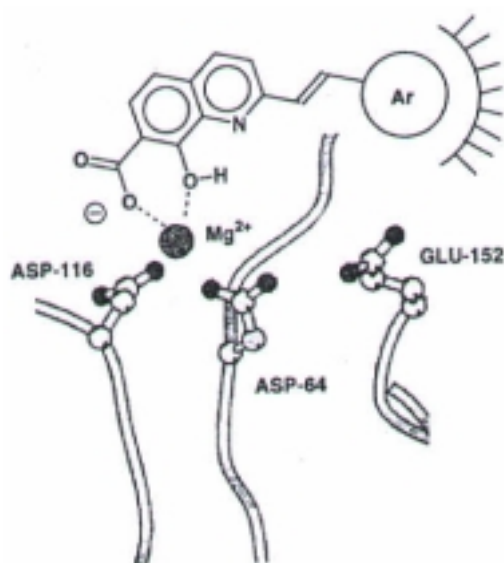


Rys. 2.32. Fragmenty molekularne modyfikujące kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyowy [110, 112].

Powyższe fragmenty molekularne mogą być wykorzystane do zaprojektowania nowych inhibitorów integrazy HIV, które stanowią analogi związku L-870,810 oraz inhibitorów styrylochinolinowych.

2.14. Mechanizm hamowania katalitycznej aktywności integrazy HIV przez styrylochinoliny

Dotychczasowe badania wykazały, że aktywność *in vitro* i *ex vivo* wobec integrazy posiadają pochodne chinoliny, które w cząsteczkach w pozycji *orto* względem grupy hydroksylowej posiadają grupę karboksylową lub amidową [37, 100, 110, 112]. Taki układ jest niezbędny do wywołania aktywności poprzez możliwość koordynowania kationów metali dwuwartościowych, koniecznych jako kofaktory w reakcjach katalizowanych przez integrazę HIV. Dodatkowo na aktywność potencjalnych inhibitorów wpływa pierścień fenyłowy z grupą hydroksylową przy C-4' i hydroksylową lub metoksyłową przy C-3'. Wolne grupy hydroksylowe mogą być konieczne dla przyłączenia się inhibitora do komórki lub wiriona [37, 100]. Prawdopodobny sposób wiązania cząsteczki pochodnej styrylochinoliny do integrazy HIV przedstawia **rys. 2.33**.



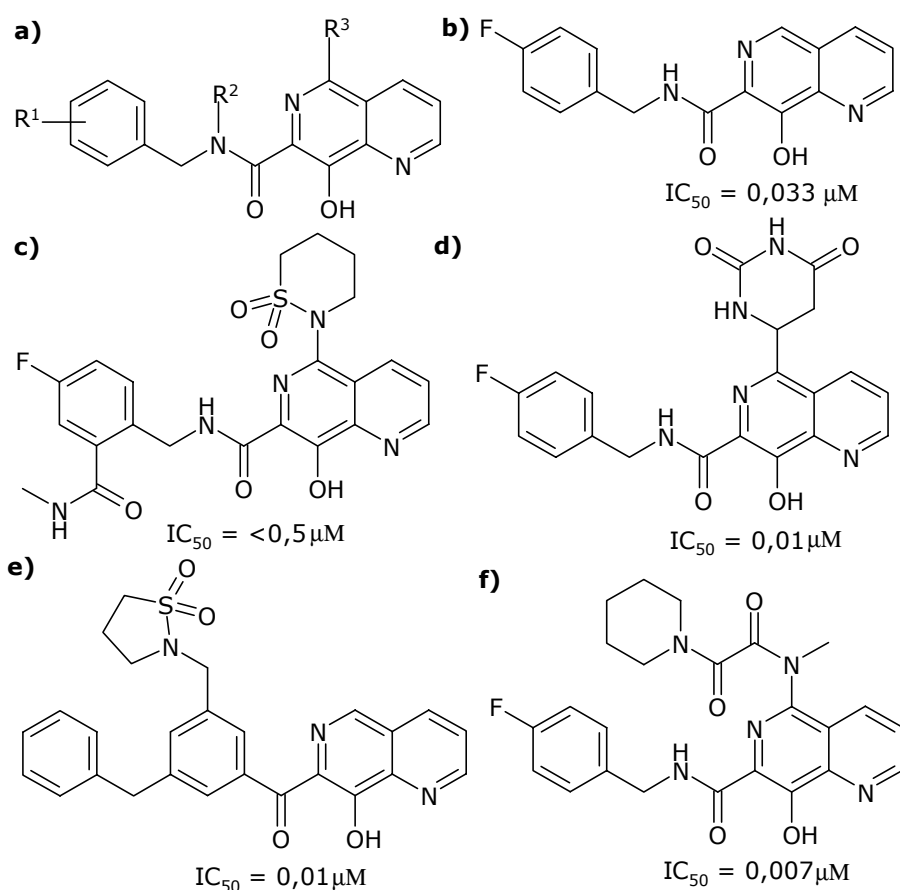
Rys. 2.33. Wiązanie cząsteczki styrylochinoliny do centrum katalitycznego integrazy HIV [37].

W centrum aktywnym integrazy HIV umieszczony jest kation Mg^{2+} , który jest koordynowany przez dwie reszty kwasu asparaginowego (Asp-64 i Asp-116). W koordynowaniu jonu Mg^{2+} przez cząsteczkę styrylochinoliny biorą udział grupy hydroksylowa i karboksylowa. Obecność dodatkowego pierścienia fenyłowego wywołuje silne niespecyficzne oddziaływania, które odgrywają

ważną rolę w oddziaływaniu inhibitora z integrazą [37]. Oprócz kompleksowania jonów magnezu styrylochinoliny dodatkowo hamują interakcję pomiędzy integrazą, substratami komórkowymi i powtarzalną sekwencją końcową genu wirusa HIV. Styrylochinoliny, w przeciwieństwie do selektywnych inhibitorów etapu przeniesienia nici, zapobiegają gromadzeniu się DNA wirusa HIV, który nie może zostać zintegrowany. Ilość wirusowego DNA w komórkach ulega redukcji. Styrylochinoliny są również skuteczne w hamowaniu etapu translokacji kompleksu przedintegracyjnego do jądra komórkowego [79, 82, 83].

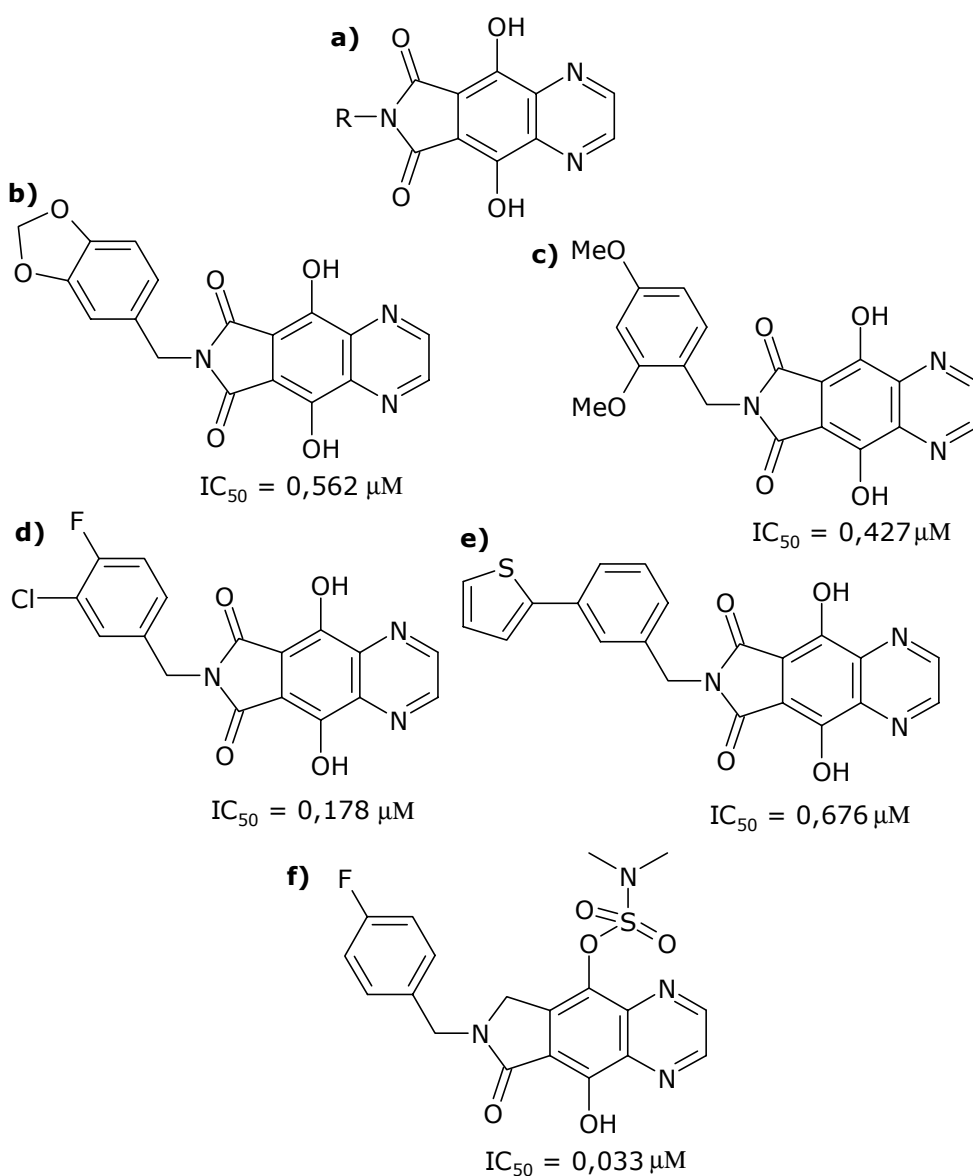
2.15. Inhibitory integrazy HIV z innymi układami azanaftalenowymi

Podstawowym fragmentem molekularnym inhibitorów integrazy HIV opartych na pochodnych 8-hydroksychinoliny jest kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy (**Rys. 2.32. a**).



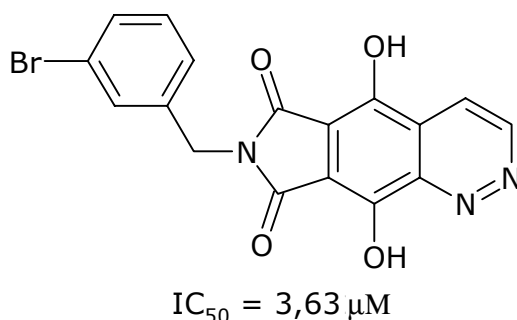
Rys. 2.34. Przykładowe inhibitory integrazy HIV oparte na układzie 1,6-naf-tyrydynowym [44 – 48].

Strukturę tego związku przekształcano na różne sposoby zamieniając grupę karboksylową na bioizosteryczne pierścienie heterocykliczne lub modyfikując pierścień heterocykliczny chinoliny poprzez zamianę kolejnych atomów węgla w pozycjach 4, 5 lub 6 na atomy azotu. W wyniku zamiany atomu węgla w pozycji 6 na atom azotu otrzymano szereg inhibitorów integrazy HIV opartych na układzie 1,6-naftyrydynowym (**Rys. 2.34.**) [44 - 48]. Do tej grupy zalicza się również wcześniej wspomniane inhibitory L-870,810 i L-870,812. Podstawiając atom węgla w pozycji 4 atomem azotu otrzymano inhibitory z układem chinoksalinowym (**Rys. 2.35.**) [49, 50].



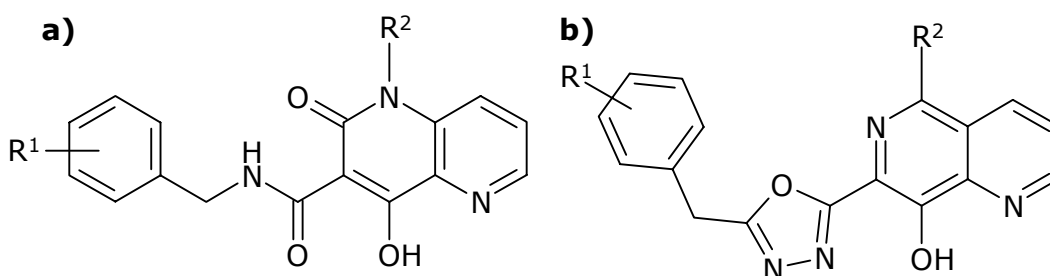
Rys. 2.35. Przykładowe inhibitory integrazy HIV obejmujące układ chinoksalinowy [49, 50].

Wynikiem zamiany atomu węgla w pozycji 2 na atom azotu jest inhibitor z pierścieniem cynolinowym (**Rys. 2.36.**) [50].



Rys. 2.36. Inhibitor integrazy HIV zawierający pierścień cynolinowy [50].

W wyniku kolejnych modyfikacji fragmentu molekularnego kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolono-7-karboksylowego otrzymano inhibitory z układem 1,5-naftyrydynowym (**Rys. 2.37. a**). Inne przekształcenia struktury kwasu polegają na zamianie grupy karboksylowej na bioizosteryczne pierścienie heterocykliczne (**Rys. 2.37. b**) [9].

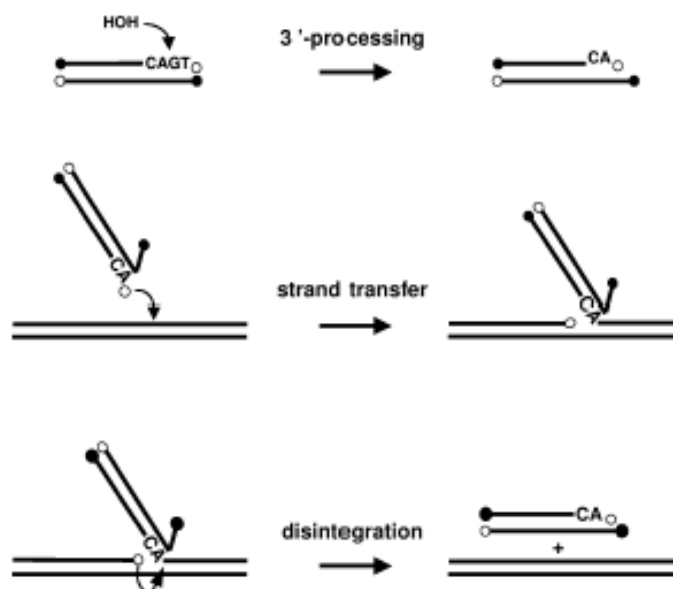


Rys. 2.37. Inne modyfikacje obejmujące funkcję karboksylową [9].

2.16. Poszukiwania aktywnych związków - analizy *in vitro*

Opracowanie metod wysokowydajnych badań przesiewowych (*High Throughput Screening*), w oparciu o analizy *in vitro*, pozwala obecnie na systematyczne poszukiwanie nowych aktywnych związków [9, 10]. Do przeprowadzania tych analiz stosuje się oczyszczoną, rekombinowaną integrazę oraz oligonukleotydy, jako substraty będące odpowiednikami końcówek wirusowego DNA. Metody *in vitro* pozwalają badać trzy rodzaje aktywności integrazy: 3'-

terminację, reakcję przeniesienia nici oraz reakcję odwrotną, czyli dezintegrację. Reakcje 3'-terminacji i przeniesienia nici wymagają zastosowania całej cząsteczki integrazy. W przypadku reakcji dezintegracji do jej przebiegu wystarczająca jest wyizolowana domena katalityczna z centrum aktywnym integrazy (**Rys. 2.38.**) [9].



Rys. 2.38. Analizy *in vitro* pozwalające sprawdzić aktywność integrazy HIV w katalizowanych reakcjach; 3'-terminacja: w obecności rekombinowanej integrazy następuje obcięcie 3'-końca krótkich oligonukleotydów i uwolnienie dinukleotydów; reakcja przeniesienia nici: integraza kieruje kowalencyjnym przyłączeniem oligonukleotydów do DNA tworząc dłuższy fragment, który może być łatwo wykryty; dezintegracja: rozgałęziony wirusowy DNA, będący substratem pośrednim w integracji jest rozłączany przez integrazę z odtworzeniem DNA gospodarza [21].

Oczyszczona integraza posiada zdolność cięcia nici DNA i przeprowadzania reakcji łączenia imitując tym samym integrację normalnie przebiegającą w komórce. *In vitro* integraza obcina nukleotydy z końca nici modelowego DNA i wbudowuje go do innego oligonukleotydu. W ten sposób powstają rozgałęzione produkty integracji. Obie reakcje są szybkie, wygodne do prowadzenia i przystosowane do wysokowydajnych badań przesiewowych, a ich produkty są łatwe do wykrywania. Inhibitory, które łączą się z centrum aktywnym integrazy

wykrywa się w reakcji dezintegracji. Analizy dezintegracyjne również są łatwe do przeprowadzenia i stosuje się je we wstępnym, szybkim poszukiwaniu aktywnych związków [61, 72, 168]. Testy *in vitro* mają jednak kilka ograniczeń z powodu nieco innego przebiegu reakcji obserwowanej w warunkach *in vitro* i warunkach reakcji kierowanej enzymami fizjologicznymi. W warunkach *in vitro* zdarzają się fałszywe wyniki pozytywne dla badanych związków, które nie przenoszą się na aktywność antywirusową. Wynika to stąd, że mimo iż syntetyczna integraza jest zdolna przeprowadzać *in vitro* reakcję przeniesienia nici i 3'-terminacji, nie koniecznie działa tak samo w reakcjach przebiegających w warunkach *in vivo*. Przykładem może być różna aktywność integrazy w obecności kationów Mn^{2+} i Mg^{2+} . W reakcjach *in vitro* obserwuje się większą aktywność integrazy w obecności jonów Mn^{2+} , chociaż to kation Mg^{2+} uważany jest za kofaktor fizjologiczny. Również wiele związków aktywnych w obecności kationu Mn^{2+} okazuje się nieaktywna w obecności jonu Mg^{2+} [39, 40, 88].

W warunkach, odpowiadających warunkom fizjologicznym, tworzy się kompleks integrazy - jon metalu - DNA. Kompleks integrazy w obecności metalu może być łatwo wykrywany przez zastosowanie analizy opartej na tworzeniu się grupy iminowej (zasada Schiffa), która jest redukowana z użyciem borowodorku sodu [9].

Inne metody badań polegają na analizach z zastosowaniem kompleksu przedintegracyjnego. Kompleks przedintegracyjny znajduje się w cytoplazmie zainfekowanych komórek i zawiera integrazę, wirusowe DNA oraz inne elementy. Jest on odpowiedzialny za przeprowadzenie całego procesu integracji nici wirusowego DNA w obecności jonów Mg^{2+} . Można go łatwo wyizolować ze świeżo zainfekowanych komórek. Integracja *in vitro*, w której pośredniczy kompleks przedintegracyjny, przebiega bardzo podobnie jak w warunkach *in vivo*. Związki, które powodują hamowanie reakcji 3'-terminacji i przeniesienia nici, katalizowanych przez rekombinowaną integrazę, mogą okazać się nieaktywne w integracji, w której pośredniczy kompleks przedintegracyjny. Używając kompleksu przedintegracyjnego w analizach aktywności integrazy możliwe jest dokładniejsze zidentyfikowanie nowych inhibitorów tego enzymu [9, 88, 169]. Pomimo dużej użyteczności analiz wykorzystujących kompleks przedintegracyjny w testowaniu nowych inhibitorów, trudności podczas oczyszczania i mała wydajność stanowią istotną niedogodność utrudniającą jej zastosowanie w wysokowydajnych badaniach przesiewowych [35, 170 - 172].

2.17. Aktywność antywirusowa – badania *ex vivo*

Aby inhibitor mógł stać się czynnikiem terapeutycznym musi hamować namnażanie się wirusa HIV w komórkach. Analizy oparte na aktywności antywirusowej polegają na inkubowaniu zainfekowanych komórek z badanym związkiem i monitorowaniu namnażania się nowych wirionów. W celu kontroli toksyczności dodatkowo inkubuje się próbkę z niezainfekowanymi komórkami w obecności inhibitora oraz próbki z zainfekowanymi i niezainfekowanymi komórkami. Z powodu wieloetapowego cyklu życiowego wirusa ważny jest czas inkubacji i czas dodawania poszczególnych substratów do badanej próbki. Inhibitory proteazy są aktywne po około 18 godzinach od infekcji, a inhibitory integrazy wykazują aktywność po upływie 7 godzin od infekcji [9, 173, 174].

2.18. Badania kliniczne inhibitorów integrazy HIV

Związki chemiczne wykazujące aktywność *in vitro* i *ex vivo* wobec danego czynnika chorobotwórczego są poddawane licznym badaniom laboratoryjnym. Celem tych prób jest określenie ich toksyczności oraz wykazanie ewentualnego działania kancerogennego. Pozytywne wyniki testów laboratoryjnych pozwalają poddać związek badaniom klinicznym. Badania kliniczne obejmują cztery fazy [127 a]):

- I faza: podanie leku zdrowym ochotnikom w celu zbadania, czy wykazuje on oczekiwane działanie oraz badanie siły leku, farmakokinetyki oraz działań niepożądanych;
- II faza: obserwacja efektu działania leku na małej grupie pacjentów i ustalenie wielkości dawek terapeutycznych;
- III faza: podanie leku większej grupie pacjentów i porównywanie efektu terapeutycznego z wynikami leczenia innym dostępnym lekiem i z placebo, w celu wykluczenia efektów psychologicznych;
- IV faza: lek zostaje zarejestrowany i wprowadzony do sprzedaży, ale jest pod szczególnym nadzorem zarówno pod kątem skuteczności, jak i działań niepożądanych.

3. BADANIA WŁASNE

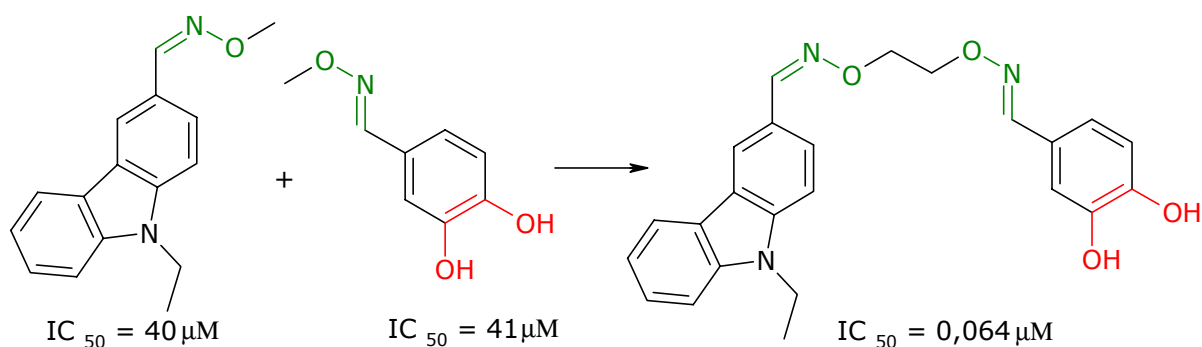
3.1. Racjonalizacja projektowania leków

Ogromne zapotrzebowanie na nowe związki o potencjale terapeutycznym oraz nowe generacje środków leczniczych spowodowało znaczny rozwój metod projektowania i poszukiwania leków. Pomimo tego wciąż brakuje uniwersalnych technik, wiele odkryć nadal jest dziełem przypadku. Poszukiwanie i projektowanie związków chemicznych aktywnych biologicznie oraz ich komercjalizacja ciągle pozostaje złożonym procesem. W przebiegu racjonalnego poszukiwania nowych leków można wyróżnić kilka kluczowych etapów. Pierwszym z nich jest określenie celu działania leku. Lek powinien charakteryzować się maksymalną selektywnością i specyficznością. Wpływa to na zmniejszenie prawdopodobieństwa wystąpienia działań niepożądanych. Największym problemem jest znalezienie tak zwanej struktury wiodącej, związku oddziałującego z rozpoznanym miejscem działania leku. Pod pojęciem struktury wiodącej kryje się prototypowy związek, wykazujący pożądane właściwości biologiczne i farmakologiczne, który jednocześnie może posiadać wiele cech niepożądanych, takich jak: duża toksyczność, inna aktywność biologiczna, słaba rozpuszczalność lub też niekorzystny profil metaboliczny [133 a)]. Strukturę wiodącą poszukuje się wśród: substancji pochodzenia naturalnego, związków syntetycznych, leków, a także za pomocą metod projektowania wspomaganych komputerowo, z wykorzystaniem technik magnetycznego rezonansu jądrowego oraz w dostępnych bankach danych strukturalnych [127 b), 133 a)]. Po identyfikacji struktury wiodącej przystępuje się do następnego etapu poszukiwań, którym jest określenie funkcji farmakoforowej. Farmakofor stanowi zespół jednostkowych cech strukturalnych, atomów i grup funkcyjnych odpowiednio ułożonych względem siebie w przestrzeni, koniecznych w cząsteczce leku, aby miał on specyficzne działanie farmakologiczne. Wykorzystując zgromadzone informacje projektuje się następnie związki o korzystniejszych właściwościach terapeutycznych niż wybrana struktura wiodąca. W tym celu przeprowadza się różnorodne modyfikacje poprzez: wymianę podstawników, funkcjonalizację, powiększanie cząsteczki, wydłużanie lub skracanie łańcucha, powiększanie lub zmniejszanie pierścienia, a także jego wymianę lub kondensację, stosuje się upraszczanie lub usztywnianie struktury cząsteczki. Przeprowadza się również

analizę zależności pomiędzy strukturą i aktywnością. Do najbardziej użytecznych technik stosowanych w projektowaniu i poszukiwaniu leków należą: krytalografia, spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego oraz spektroskopia mas. W projektowaniu nowych leków bierze się również pod uwagę transport leku do celu molekularnego, a także przemiany metaboliczne. Przed przekazaniem nowego leku do testowania klinicznego określa się jego toksyczność oraz działanie kancerogenne w testach *in vitro* oraz *in vivo*. Ostatnim etapem w drodze projektowania leku jest wprowadzenie go do badań klinicznych [127 c)].

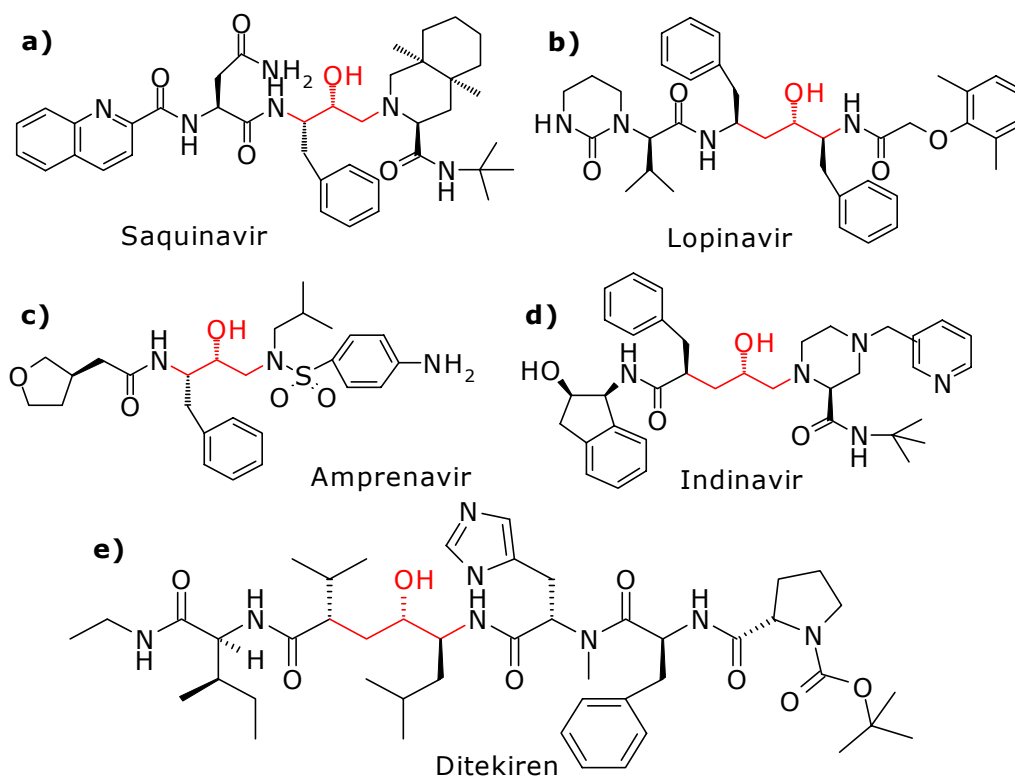
3.2. Metoda fragmentów molekularnych i jej zastosowanie w projektowaniu leków

Jedną z metod systematycznych badań w poszukiwaniu nowych leków jest metoda fragmentów molekularnych. Opiera się ona na założeniu, że optymalne połączenie niewielkich cząsteczek, wykazujących niską aktywność względem wybranego celu terapeutycznego prowadzi do związku o większej aktywności [176]. Przykładem zastosowania metody łączenia fragmentów molekularnych może być poszukiwanie inhibitorów kinazy c-Src - enzymu należącego do grupy transferaz. Enzym ten bierze udział w fosforylacji białek poprzez przeniesienie grup fosforanowych, a w terapii onkologicznej jest celem działania leków. **Rys. 3.1.** przedstawia fragmenty molekularne niskiej aktywności względem tego enzymu. Ze zbioru 305 testowanych oksymów zostało wybrane 37 takich cząsteczek, z których następnie utworzono bibliotekę złożoną z połączonych w pary wytypowanych fragmentów. Jeden z tak otrzymanych związków wykazał wysoką aktywność wobec kinazy, znacznie wyższą niż każdy z pojedynczych fragmentów molekularnych oddzielnie. Dalsze badania zależności pomiędzy strukturą i aktywnością (SAR) wykazały, że do wywołania aktywności niezbędna jest funkcja farmakoforowa katecholu, a wzrost ilości jednostek metylenowych, łączących oba fragmenty molekularne, powoduje spadek aktywności [177].



Rys. 3.1. Zastosowanie metody fragmentów molekularnych w poszukiwaniu inhibitorów kinazy c-Src.

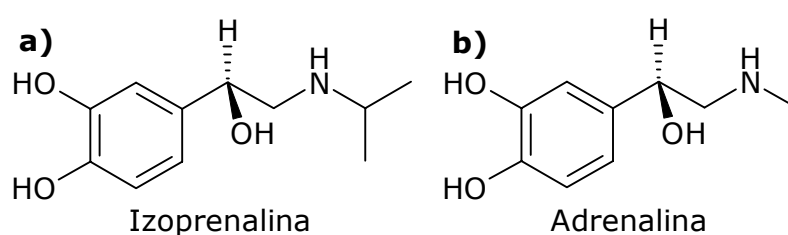
Metoda fragmentów molekularnych znalazła także zastosowanie w badaniach nad nowymi lekami antyretrowirusowymi. W lekach z grupy inhibitorów proteazy HIV występuje wspólny fragment hydroksypropylenowy. Fragment ten stanowi bazę, do której przyłącza się inne fragmenty, optymalizując cząsteczkę leku (**Rys. 3.2.**) [178].



Rys. 3.2. Leki stosowane jako inhibitory proteazy HIV.

3.3. Wymiana podstawników jako jedna z metod stosowanych w projektowaniu leków

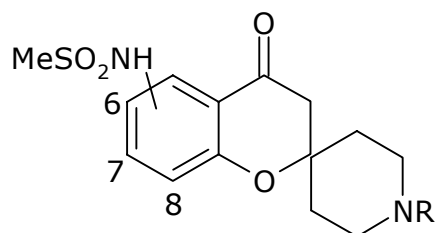
Jedną z innych szeroko stosowanych metod w projektowaniu nowego i skuteczniejszego leku, o wyższym powinowactwie do miejsca działania, jest metoda polegająca na wymianie podstawników. Doświadczenie wykazuje, że wymiana podstawników często pozwala zoptymalizować cząsteczkę leku i dopasować ją do miejsca działania [127 d)]. Niektóre podstawniki alkilowe, np. w eterach, aminach, estrach, amidach, można stosunkowo łatwo wymienić na inne. Wymiana podstawników alkilowych wchodzących w skład szkieletu węglowego cząsteczki nie jest łatwa. W takim przypadku z reguły każdy nowy związek wymaga innej drogi syntezy. Modyfikację podstawników alkilowych, jak grupy: metylowa, etylowa, propylowa, butylowa, izobutylova, *tert*-butylowa, wykorzystuje się w badaniach wpływu długości i wielkości łańcucha na stopień wiązania związku w miejscu działania. Przykładem cząsteczki, dla której uzyskano wzrost selektywności w oddziaływaniu na receptory adrenergiczne poprzez wymianę grupy alkilowej jest izoprenalina, będąca analogiem adrenaliny. W cząsteczce izoprenaliny grupę metylową zastąpiono grupą izopropylową. Zmiana ta spowodowała zwiększenie selektywności izoprenaliny w oddziaływaniu z receptorami β -adrenergicznymi. Adrenalina wykazuje powinowactwo zarówno do receptorów α - jak i β -adrenergicznych (**Rys. 3.3.**).



Rys. 3.3. Modyfikacja adrenaliny daje selektywny inhibitor receptorów β -adrenergicznych [127 d)].

W cząsteczkach leków, które posiadają pierścień aromatyczny, stosunkowo łatwo można zmienić miejsce podstawnika w pierścieniu. W przypadku, gdy dotychczasowe położenie podstawnika nie było optymalne dla oddziaływania cząsteczki leku z receptorem, zmiana położenia podstawnika może spowo-

dować uzyskanie związku o większej aktywności. Przykładem mogą być pochodne benzopirany, stosowane jako leki przeciwaritmiczne (**Rys. 3.4.**). Wykazują one najkorzystniejsze działanie, gdy podstawnik metanosulfonylowy jest przyłączony w pozycji 7 pierścienia aromatycznego benzopirany [127 d)].



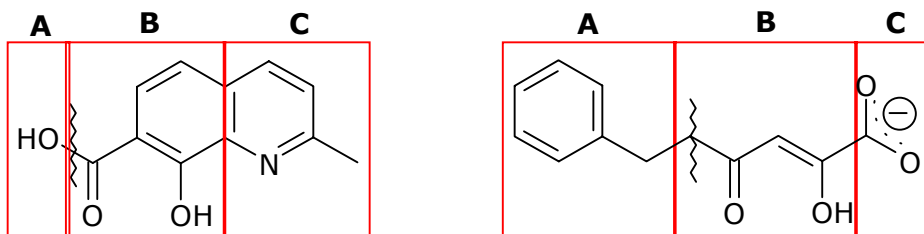
Rys. 3.4. Benzopirany.

Zmiana położenia jednego podstawnika może znacząco wpłynąć na właściwości innego podstawnika. Jako przykład można przytoczyć wpływ grupy nitrowej w cząsteczce aminy aromatycznej. Elektroakceptorowa grupa nitrowa, przyłączona w pozycji *para* w pierścieniu aromatycznym, obniży zasadowość aminy w znacznie wyższym stopniu, niż grupa nitrowa usytuowana w pozycji *meta*. Mniejsza zasadowość grupy aminowej obniży jej zdolność do przyłączania protonu i tym samym zmniejszy skłonność do oddziaływań jonowych w miejscu wiązania cząsteczki. Efekt ten w istotny sposób wpłynąć może na aktywność biologiczną związku [127 d)].

3.4. Projektowanie nowych inhibitorów integrazy HIV

Ważną grupą inhibitorów integrazy HIV są związki z szeregu pochodnych β -diketokwasów oraz pochodnych 8-hydroksychinoliny [111]. Obie grupy związków wykazują właściwości kompleksujące jony metali dwuwartościowych. Sądzi się, że zdolność kompleksowania kationów metali łączy się z aktywnością hamującą wobec integrazy HIV wymienionych szeregów pochodnych [159]. Analizując struktury obu klas związków można zauważyć pewne cechy wspólne. Porównując podzielone na segmenty struktury β -diketokwasu oraz pochodnej 8-hydroksychinoliny można zauważyć, że grupa karboksylowa β -diketokwasu odpowiada pierścieniowi heterocyklicznemu chinoliny **C (Rys. 3.5.)** [110, 123, 179, 180]. Pierścień heterocykliczny często stosuje się jako bioizostery grupy karboksylowej, ponieważ obecność tej grupy nie zawsze jest

korzystna w cząsteczce leku ze względów farmakokinetycznych. Pochodna chinolinowa nie zawiera części hydrofobowej, którą w cząsteczce β -diketokwasu stanowi fragment aromatyczny **A** [146].



Rys. 3.5. Odwrócona superpozycja pochodnej 8-hydroksychinoliny i β -diketokwasu. Grupa karboksylowa β -diketokwasu odpowiada heterocyklicznemu pierścieniowi chinoliny [112, 180].

Cząsteczki inhibitorów integrazy HIV należące do szeregu styrylochinolin (np. FZ-41) powstały z połączenia dwóch fragmentów molekularnych. Jednym z nich jest kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy (**1**). Zawiera on charakterystyczny dla β -diketokwasów układ β -ketoenolowy, który odpowiada za chelatowanie kationów metali dwuwartościowych [122]. Kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy stanowi podstawowy fragment molekularny szeregu aktywnych inhibitorów [36]. Fragment ten jako związek jest jednak nieaktywny wobec integrazy HIV w testach *in vitro* [37, 122]. Badania wykazały, że modyfikacja fragmentu molekularnego kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego (**1**) poprzez zmianę uporządkowania podstawników generować może związki o wyższej aktywności względem integrazy HIV. I tak kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowy (**2**) wykazuje średnią aktywność *in vitro* wobec integrazy HIV – wartość IC_{50} wynosi 47 μ M [112]. Różnica w aktywności obu izomerów może wynikać z różnej kwasowości grup hydroksylowych. Kwasowość grupy hydroksylowej może wpływać na zdolność kompleksowania dwudodatnich jonów metali [112, 146]. Oba kwasy zostały poddane funkcjonalizacji poprzez wprowadzenie grupy nitrowej, w wyniku czego otrzymano kolejne fragmenty molekularne. Wartości aktywności fragmentów molekularnych kwasów chinolinokarboksylowych i pochodnych nitrowych przedstawia **tabela 3.1**.

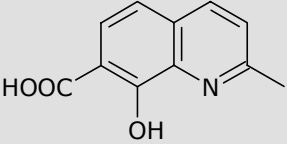
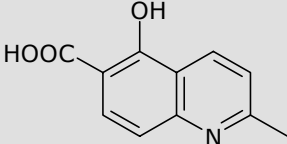
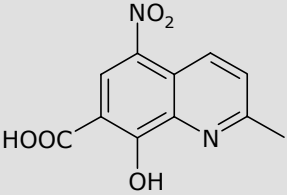
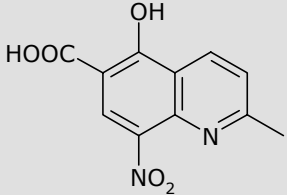
Nr	Związek ^(*)	IC ₅₀ [μM]	Nr	Związek ^(*)	IC ₅₀ [μM]
1		>100	3		47
2		>100 ^(**)	4		42

Tabela 3.1. Aktywność fragmentów molekularnych kwasów chinolinokarboksylovych i pochodnych nitrowych.

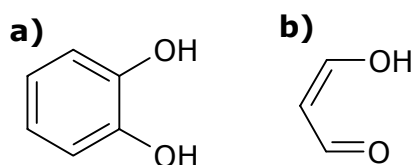
Fragmenty molekularne **1**, **2**, **3** i **4** wykorzystane zostały do skonstruowania nowych połączeń analogicznych do związku L-870,810 [110, 112].

3.5. Jednostka farmakoforowa odpowiedzialna za chelatowanie kationów magnezu i manganu

Aktywność enzymów z grupy transferaz polinukleotydowych, do których należy integraza HIV, jest zależna od dwuwartościowych kofaktorów metalicznych. W procesie oddziaływania cząsteczki inhibitora z enzymem również konieczny jest udział jonów metali dwuwartościowych takich jak Mg²⁺ lub Mn²⁺. Sądzi się, że funkcjami farmakoforowymi cząsteczek inhibitorów, odpowiedzialnymi za chelatowanie tych jonów, są między innymi ugrupowania katecholowe i β-ketoenolowe (**Rys. 3.6.**) [126]. Ugrupowania takie występują w dużej liczbie inhibitorów integrazy HIV. Obie grupy są zdolne do chelatowania dwuwartościowych kationów metali. Można zatem przyjąć, że tworzenie koordynacyjnego kompleksu inhibitora z jednym lub dwoma dwudodatnimi jonami metalu ma kluczowe znaczenie w hamowaniu katalitycznej aktywności integrazy HIV [69, 70, 85, 111].

^(*) Na szarym tle przedstawione są związki otrzymane w Zakładzie Chemii Organicznej w ramach wcześniej prowadzonych prac badawczych.

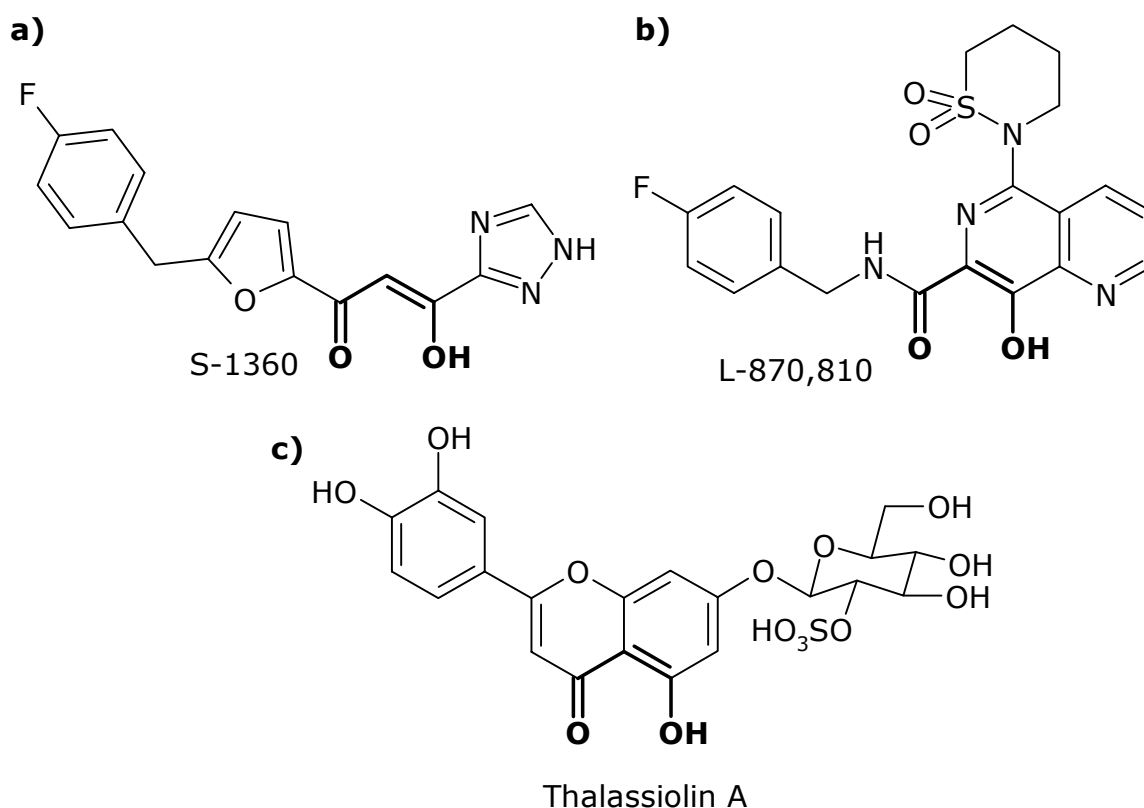
^(**) Otrzymany wynik jest niejednoznaczny.



Rys. 3.6. Katechol i β -ketoenol – funkcje farmakoforowe inhibitorów integrazy HIV.

3.5.1. Struktura funkcji farmakoforowej β -ketoenu

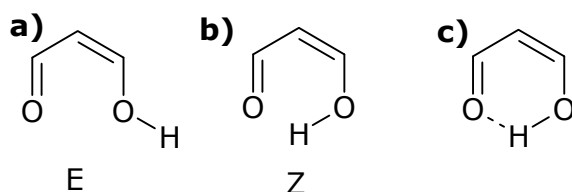
Fragment β -ketoenu jest bardzo powszechny w chemii i strukturalnie różnych cząsteczkach, będących inhibitorami integrazy HIV [34, 35, 126, 131]. Motyw β -ketoenu zawiera grupę hydroksylową i grupę karbonylową w konfiguracji *cis*. Obie grupy są rozdzielone jednym atomem węgla.



Rys. 3.7. Struktury przykładowych inhibitorów integrazy HIV opartych na fragmencie β -ketoenolowym, w którym; **a)** wszystkie atomy węgla są alifatyczne; **b)** karbonylowy atom węgla jest alifatyczny, pozostałe aromatyczne; **c)** wszystkie atomy węgla są aromatyczne [126].

Biorąc pod uwagę rodzaj atomów węgla (aromatyczny, alifatyczny) związki z fragmentem β -ketoenu można podzielić na trzy szeregi. Szereg pierwszy obejmuje β -ketoenole (**Rys. 3.7. a**), drugi - pochodne α -acylofenylowe (**Rys. 3.7. b**), a szereg trzeci zawiera cząsteczki z motywem β -ketoenu zawartym w układzie bicyklicznym (**Rys. 3.7. c**) [126].

Analiza danych strukturalnych uwidoczniała, że mimo różnic, zarówno pod względem chemicznym jak i w budowie cząsteczek, w większości β -ketoenoli grupa hydroksylowa przybiera konformację Z, która jest stabilizowana przez silne, wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe. W rezultacie powstaje sześcioczłonowy pseudopierścień $=C-O-H\cdots O=C-C$ (**Rys. 3.8.**) [126].



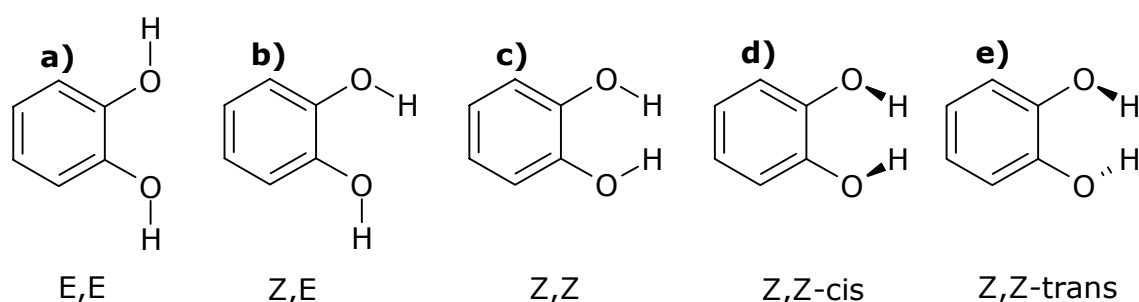
Rys. 3.8. Konformacje grupy hydroksylowej β -ketoenu: **a)** konformacja E; **b)** konformacja Z; **c)** wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w β -ketoenu [126].

W szeregu związków, w których wszystkie atomy węgla są alifatyczne (jak w strukturze S-1360), wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe jest bardzo silne. W sytuacji gdy karbonylowy atom węgla jest alifatyczny, a pozostałe aromatyczne (jak w inhibitorze L-870,810), wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe jest nieco słabsze. Natomiast w szeregu, w którym wszystkie atomy węgla są aromatyczne (jak w cząsteczce Thalassiolinu A) wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe jest najslabsze. W szeregu związków o bardzo silnym wewnątrzcząsteczkowym wiązaniu wodorowym występuje najsilniejszy efekt delokalizacji elektronów wiązań π . Wiązanie wodorowe jest wspierane silnym efektem rezonansu oraz wewnątrzcząsteczkowym efektem przeniesienia protonu. Z tego powodu pomiędzy cząsteczkami z ugrupowaniem β -ketoenu prawie nie tworzą się międzycząsteczkowe wiązania wodorowe [80, 87, 126, 141]. Motyw β -ketoenu posiada grupy zdolne do tworzenia wiązań wodorowych z innymi donorami lub akceptorami. Może on pełnić rolę centrum donorowego wiązań wodorowych poprzez grupę hydroksylową lub centrum

akceptorowego wiązań wodorowych poprzez atomy tlenu grupy karbonylowej i hydroksylowej. Silna stabilizacja β -ketoenu przez wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe powoduje, że tworzenie międzycząsteczkowych wiązań wodorowych z donorami i akceptorami jest mało efektywne [135]. Im silniejsze jest wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w β -ketoenu, tym słabsze są oddziaływania z innymi donorami i akceptorami. Oddziaływanie β -ketoenu z akceptorami wiązań wodorowych jest bardzo słabe, a w pierwszym szeregu związków, w którym występuje bardzo silne wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe, prawie nigdy nie występuje. Oddziaływanie ugrupowania β -ketoenolowego z donorami wiązań wodorowych nieco różni się w odniesieniu do poszczególnych szeregów związków. Najsilniejsza tendencja do oddziaływania z donorami wiązania wodorowego występuje w cząsteczkach szeregu drugiego. Siła oddziaływania donorów wiązania wodorowego z akceptorowym atomem tlenu grupy karbonylowej jest jednakowa we wszystkich szeregach, a oddziaływanie z centrum akceptorowym grupy hydroksylowej jest znacznie silniejsze w β -ketoenolach szeregu drugiego i trzeciego. Te małe różnice mogą mieć duży wpływ na farmakologiczne właściwości cząsteczek poszczególnych szeregów związków z motywem β -ketoenu [126].

3.5.2. Struktura funkcji farmakoforowej katecholu

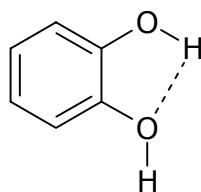
Ugrupowanie katecholu może przyjmować kilka konformacji w zależności od ukierunkowania grup hydroksylowych w przestrzeni (**Rys. 3.9.**).



Rys. 3.9. Konformacje katecholu.

Rozważania teoretyczne wykazały, że katechol przyjmuje wszystkie możliwe konformacje, ale przede wszystkim układy E,E i Z,E [132]. W konfor-

merze E,E atomy wodoru grup hydroksylowych są najbardziej oddalone od siebie, a w konformerze Z,E pozycja jednej z grup hydroksylowych sprzyja powstawaniu wewnątrzcząsteczkowego słabego wiązania wodorowego pomiędzy grupami hydroksylowymi (słabszego niż w β -ketoenolach). Grupa hydroksylowa w konformacji Z jest donorem, a grupa hydroksylowa w konformacji E jest akceptorem wiązania wodorowego (**Rys. 3.10.**). Obecność wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego powoduje wysokie ustabilizowanie struktury i największą częstotliwość występowania konformacji Z,E [126].



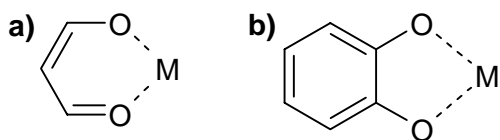
Rys. 3.10. Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w ugrupowaniu katecholu.

Ugrupowanie katecholowe może odgrywać rolę zarówno centrum donorowego, jak i centrum akceptorowego wiązań wodorowych. Objawia się ona w zdolności katecholu do wykorzystywania obu grup hydroksylowych w tworzeniu silnych, międzycząsteczkowych wiązań wodorowych. Dane strukturalne wskazują, że motyw katecholu w tworzeniu międzycząsteczkowych wiązań wodorowych bardziej efektywnie oddziałuje z akceptorami niż z donorami wiązań wodorowych. Wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w katecholu, stabilizujące konformację Z,E, jest zbyt słabe, aby zablokować możliwość tworzenia wiązań wodorowych katecholu z donorami lub akceptorami wiązań wodorowych. Powoduje to łatwe tworzenie wielu silnych, międzycząsteczkowych oddziaływań z udziałem motywu katecholowego [126, 134 - 136].

3.6. Koordynowanie jonów magnezu i manganu

Dla aktywności katalitycznej integrazy HIV wymaga obecności w centrum katalitycznym kationów Mg^{2+} lub Mn^{2+} , przy czym jon Mg^{2+} jest najbardziej prawdopodobnym kofaktorem *in vivo* [85, 142 - 145]. W zależności od rodzaju jonów metalu konformacja centrum aktywnego integrazy HIV może się

różnić. Efekt ten ma wpływ na sposób oddziaływania inhibitora w centrum aktywnym integrazy HIV [126]. Motywy katecholu i β -ketoenu są ligandami dwukleszczowymi i tworzą stabilne kompleksy chelatowe z jonami metali (**Rys. 3.11.**).



Rys. 3.11. Oddziaływanie ligandów z jonami Mg^{2+} i Mn^{2+} : **a)** geometria koordynowania w kompleksach β -ketoenu; **b)** geometria koordynowania w kompleksach katecholu.

3.6.1. Chelatowanie jonów magnezu i manganu w układzie β -ketoenolowym

W oparciu o dostępne dane strukturalne kompleksów ligandu β -ketoenolowego z kationami magnezu oraz kationami manganu na różnych stopniach utlenienia stwierdzono, że długość wiązań koordynacyjnych $M\cdots O$ rośnie w szeregu: Mn^{3+}/Mn^{4+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} . Wiązania $M\cdots O$ są symetryczne w kompleksach utworzonych z jonami manganu (Mn^{2+} , Mn^{3+}/Mn^{4+}) i lekko asymetryczne w kompleksach z kationami Mg^{2+} . Długość wiązania koordynacyjnego $Mn^{2+}\cdots O$ jest nieco większa niż długość wiązania $Mg^{2+}\cdots O$. Spowodowane jest to większym promieniem kationu Mn^{2+} w porównaniu z jonem Mg^{2+} . Na długość wiązań koordynacyjnych w kompleksach ligandu β -ketoenolowego z kationami manganu wpływa stopień utlenienia jonów metalu. Ze wzrostem stopnia utlenienia jonu manganu wiązanie koordynacyjne staje się krótsze. Kąt między wiązaniami koordynacyjnymi w układzie $O\cdots Mg^{2+}\cdots O$ jest nieznacznie większy niż w przypadku $O\cdots Mn^{2+}\cdots O$. Taki wynik sugeruje, że koordynowanie jonu magnezu może powodować mniejsze naprężenia, niż chelatowanie jonu manganu. W odniesieniu do stopnia utlenienia kationów manganu kąt między wiązaniami koordynacyjnymi w układzie $O\cdots Mn^{n+}\cdots O$ jest większy dla kationów Mn^{2+} i maleje w przypadku jonów Mn^{3+}/Mn^{4+} . W przypadku fragmentu β -ketoenolowego geometria koordynowania kationów metalu jest determinowana przez rodzaj metalu, rozmiar jego jonu oraz stopień utlenienia [126].

3.6.2. Chelatowanie jonów magnezu i manganu w układzie katecholowym

Na podstawie analizy dostępnych danych strukturalnych o kompleksach kationów magnezu oraz kationów manganu na różnych stopniach utlenienia w układzie katecholowym stwierdzono, że podobnie jak w przypadku kompleksów z ligandem β -ketoenolowym, wiązania koordynacyjne $M\cdots O$ są symetryczne w kompleksach utworzonych z jonami manganu (Mn^{2+} , Mn^{3+}/Mn^{4+}) i asymetryczne w kompleksach z kationami Mg^{2+} . Kąt utworzony w układzie $O\cdots M\cdots O$ jest mniejszy w przypadku kationów Mg^{2+} i Mn^{2+} , a większy dla jonów Mn^{3+}/Mn^{4+} . W przeciwieństwie do kompleksów jonów metali z ligandem β -ketoenolowym, wartość kąta koreluje z długością wiązania $M\cdots O$. Stwierdzono jednak, że w przypadku kompleksów ligandu katecholowego z kationami metalu geometria koordynowania zależy jedynie od stopnia utlenienia jonów metalu (Mn^{2+} , Mn^{3+}/Mn^{4+}), a nie zależy od rozmiaru kationu metalu [126].

3.6.3. Selektywność ugrupowania β -ketoenolowego i katecholowego w tworzeniu połączeń koordynacyjnych z kationami magnezu i manganu

Motywy β -ketoenolowy i katecholowy tworzą kompleksy z jonami magnezu i manganu [126]. Może się wydawać, że ligand β -ketoenolowy wykazuje preferencje w chelatowaniu jonów manganu, z którymi tworzy przeważającą większość połączeń kompleksowych w porównaniu z katecholem. Jeżeli jednak weźmie się pod uwagę stopień utlenienia manganu okazuje się, że liczba utworzonych kompleksów z dwuwartościowymi jonami Mg^{2+} i Mn^{2+} jest podobna. W przypadku ligandu katecholowego znaczną przewagę stanowią kompleksy z udziałem kationów manganu, zarówno Mn^{2+} , jak i jonów manganu na innych stopniach utlenienia. [126]. Kationy magnezu i manganu są chelatowane przez polarne, donorowe atomy tlenu grupy hydroksylowej i karbonylowej w ligandzie β -ketoenolowym lub dwóch grup hydroksylowych w ligandzie katecholowym. W kompleksach β -ketoenolu tworzy się układ sześciocząłowy, a w kompleksach katecholu powstaje układ pięciocząłowy. Chelatowanie jonów manganu zawsze prowadzi do utworzenia symetrycznych wiązań koordynacyjnych $Mn^{n+}\cdots O$. W przypadku koordynowania jonów magnezu wiązania koordynacyjne $Mg^{2+}\cdots O$ mają tendencję do asymetryczności. Oba ligandy tworzą przeważ-

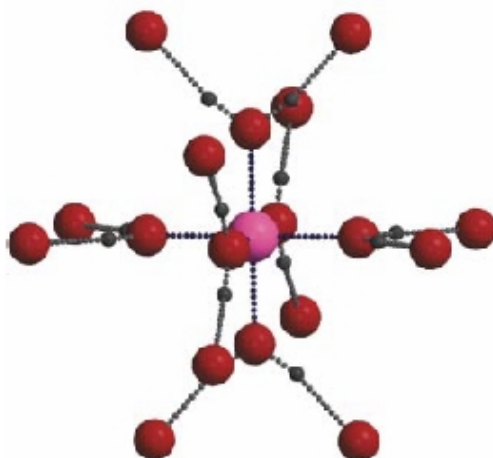
nie kompleksy sześciokoordynacyjne [126]. Układ β -ketoenu nie jest selektywnym ligandem jonów Mg^{2+} i Mn^{2+} , oba jony koordynuje równie chętnie. W kompleksie β -ketoenu z kationem Mg^{2+} występują najbardziej zlokalizowane wiązania kowalencyjne we fragmencie $O=C-C-C=C-O$. Świadczy to o tym, że jony Mg^{2+} tworzą kompleksy z formą β -ketoenolową. Z kolei jony Mn^{2+} przyłączają się do tautomerycznej formy diketonowej. Ligand β -ketoenolowy w kompleksie z jonami Mn^{3+}/Mn^{4+} wykazuje częściową lub całkowitą delokalizację elektronów, co odpowiada enolanowej formie anionowej. Wynika stąd, że rodzaj kationu przyłączonego do fragmentu β -ketoenolowego prawdopodobnie wpływa na stan ligandu. Z uwagi na to, że kation Mg^{2+} jest kofaktorem fizjologicznym, przyjmuje się, że motyw β -ketoenolowy stanowi najaktywniejszą postać inhibitora i ma najsilniejsze zdolności chelatujące [126].

Katechol i β -ketoenol są grupami stabilizowanymi przez wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe. Są one słabsze w katecholu i bardzo silne w β -ketoenu. Wiązanie wodorowe jest kluczowym czynnikiem w selektywnym oddziaływaniu białka z ligandem. Struktura funkcji farmakoforowych katecholu i β -ketoenu, zdolność kompleksowania jonów Mg^{2+} i Mn^{2+} oraz oddziaływanie z donorami i akceptorami wiązania wodorowego są podstawowymi czynnikami mającymi zastosowanie w projektowaniu i optymalizowaniu inhibitorów integrazy HIV metodą fragmentów molekularnych. Różnice w zdolności obu farmakoforów do odgrywania roli donora lub akceptora wiązań wodorowych wpływają na ich zdolność w kompleksowaniu jonów Mg^{2+} i Mn^{2+} oraz mają duże konsekwencje dla procesu oddziaływania cząsteczki inhibitora. β -Ketoenol chelatuje jony Mg^{2+} i Mn^{2+} znacznie efektywniej niż katechol, który z kolei jest bardziej selektywny w koordynowaniu kationu Mn^{2+} w porównaniu z jonem Mg^{2+} [126].

3.6.4. Solwatowane kationy metali jako centrum donorowe wiązań wodorowych

Wszystkie kationy metali w roztworze wodnym są otoczone cząsteczkami wody. Liczba cząsteczek wody zależy od właściwości danego kationu, a wokół jonu centralnego można wyróżnić kilka warstw hydratacyjnych. Pierwsza warstwa solwatacyjna jonów jest zwykle trwała i stabilna. Może ona mieć kształt np. tetraedryczny (Li^+) lub oktaedryczny (Mg^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+})

[116]. Ważną cechą wszystkich kationów jest oddziaływanie ładunek - dipol z cząsteczkami wody w pierwszej warstwie solwatacyjnej. W wyniku tego oddziaływania całkowicie solwatowane kationy stają się donorami wiązań wodorowych. Jon Mg^{2+} posiada trwałą pierwszą warstwę solwatacyjną i stosunkowo wysoką gęstość ładunku. Pierwsza warstwa solwatacyjna jonu Mg^{2+} jest tworzona przez sześć cząsteczek wody, które koordynują kation w geometrii oktaedrycznej (**Rys. 3.12.**) [116].



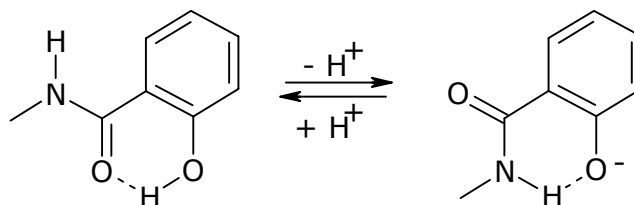
Rys. 3.12. Solwatowany kation magnezu.

Sposób oddziaływania ładunek - dipol powoduje, że cząsteczki wody są zorientowane atomami wodoru na zewnątrz. W ten sposób solwatowany kation Mg^{2+} posiada 12 atomów wodoru w pierwszej warstwie solwatacyjnej i może odgrywać rolę centrum donorowego wiązań wodorowych. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku kationu Mn^{2+} , który również może pełnić rolę donora wiązań wodorowych [116].

3.7. Funkcjonalizacja monoazanaftalenowych fragmentów molekularnych kwasów chinolinokarboksyłowych

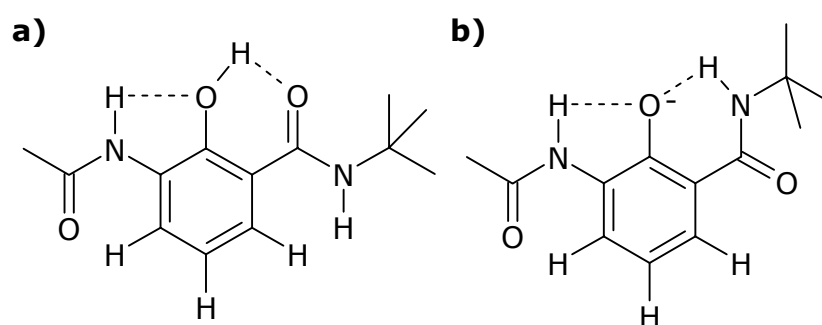
Fragment salicylowy jest funkcją farmakoforową występującą w wielu grupach inhibitorów integrazy HIV. Obecność układu salicylowego w cząsteczkach inhibitorów jest korzystna dla aktywności antywirusowej. Takie cząsteczki charakteryzują się niską cytotoksycznością [21]. Dodatkowo grupę karboksy-

lową można poddać funkcjonalizacji w celu zoptymalizowania cząsteczki inhibitora. Stwierdzono, że związki z fragmentem salicylamidu tworzą bardzo uporządkowane struktury z wewnątrzcząsteczkowymi wiązaniami wodorowymi (**Rys. 3.13.**) [57].



Rys. 3.13. Konformacje pochodnych salicylamidów [57].

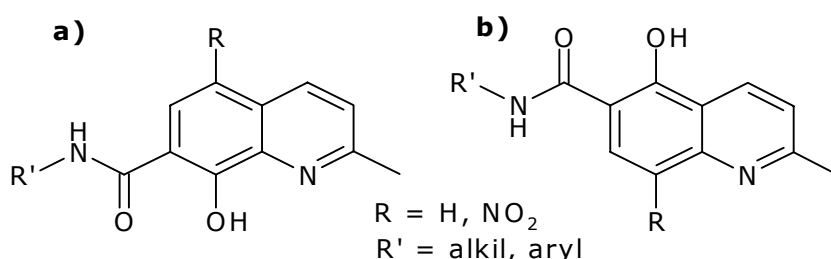
Pochodne salicylamidowe mogą utworzyć dwa rodzaje wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych, a ich układ zależy od wartości pK_a . Zmiana układu wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego, połączona z rotacją i przemieszczeniem grup funkcyjnych, spowodowana jest deprotonowaniem grupy hydroksylowej [50, 58]. Podobne przemiany konformacyjne były między innymi badane w aromatycznych amidach zawierających szkielet salicylamidowy (**Rys. 3.14.**).



Rys. 3.14. a) Wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe w cząsteczce salicylamidu; **b)** Przegrupowanie układu wiązań wodorowych po deprotonowaniu grupy hydroksylowej, które powoduje przemianę konformacyjną [57].

W badanym szeregu związków grupa fenolowa tworzy wewnątrzcząsteczkowe wiązania wodorowe: $NH \cdots OH$ i $OH \cdots O=C$ (**Rys. 3.14. a**). Po deprotonowaniu powstały oksyanion fenolanowy wytwarza dwa wewnątrzczą-

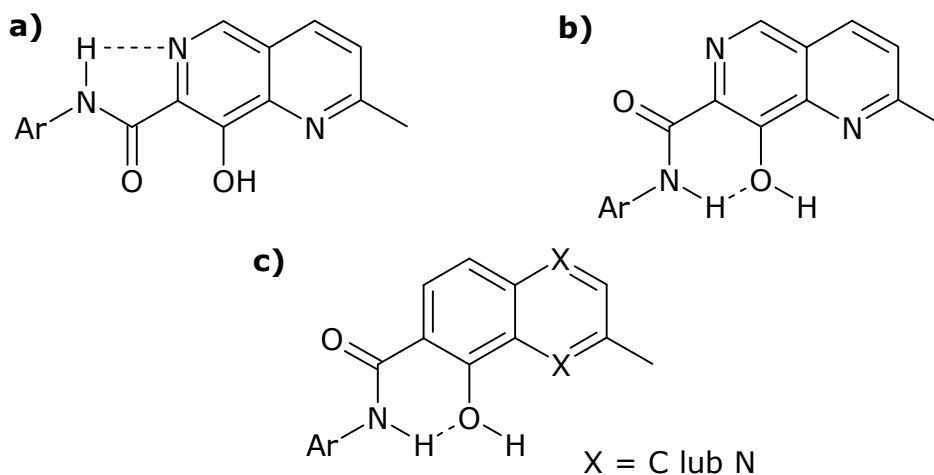
steczkowe wiązania wodorowe $\text{NH}\cdots\text{O}^-$ (**Rys. 3.14. b**). Podstawnik *N-tert*-butylokarbamoilowy może utworzyć dwa różne typy wiązań wodorowych, co oznacza, że deprotonowanie grupy hydroksylowej indukuje zmianę konformacji połączoną z rotacją o około 180° [57]. Grupa hydroksylowa pełni rolę centrum donorowego wiązania wodorowego, a anion fenolanowy posiada funkcję akceptora wiązania wodorowego. W fenolu wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe tworzy się pomiędzy atomem wodoru grupy hydroksylowej, a atomem tlenu grupy karbonylowej: $\text{OH}\cdots\text{O}=\text{C}$. Po deprotonowaniu grupy hydroksylowej wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe w anionie fenolanowym powstaje pomiędzy atomem wodoru przyłączonym do amidowego atomu azotu, a oksyanionem: $\text{NH}\cdots\text{O}^-$. Związki zawierające motyw salicylamidu wykazują więc możliwość zmian konformacyjnych połączoną z przegrupowaniem układu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych. Zmiana układu wiązań wodorowych jest wynikiem deprotonowania grupy hydroksylowej i stanowi siłę napędową przemiany konformacyjnej. Równowaga tej przemiany zależy od pK_a protonów grup OH i NH [57, 58]. Amidowe pochodne kwasów chinolinokarboksylowych zawierają w swojej strukturze fragment salicylamidowy (**Rys. 3.15.**).



Rys. 3.15. Struktury amidowych pochodnych kwasów chinolinokarboksylowych.

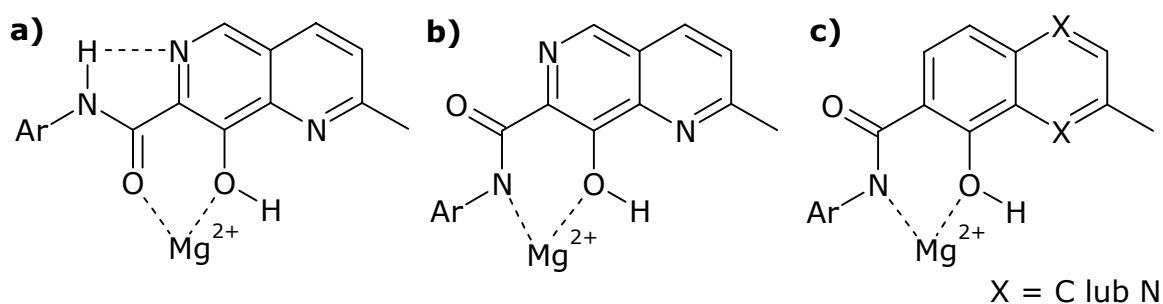
Wcześniejsze badania zależności między strukturą i aktywnością w grupie amidowych pochodnych kwasów chinolinokarboksylowych, będących potencjalnymi inhibitorami integrazy HIV wykazały, że istotne znaczenie w aktywności tych związków może odgrywać zdolność do tworzenia wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego [110]. Inhibitory zawierające układ naftyrydynowy, do których należy związek L-870,810, mogą przyjmować dwie kon-

formacje z udziałem amidowego atomu wodoru jako donora, w zależności od miejsca powstania wewnątrzcząsteczkowego wiązania wodorowego (**Rys. 3.16. a, b**) [110]. Spośród konformacji **a**) i **b**) pochodne amidowe kwasów chinolinokarboksylowych mają możliwość utworzenia tylko jednej konformacji, posiadającej wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe z udziałem atomu azotu (**Rys. 3.16. c**) [110].



Rys. 3.16. Konformacje związków naftyrydyny (**a, b**) i pochodnych amidowych kwasów chinolinokarboksylowych (**c**) [110].

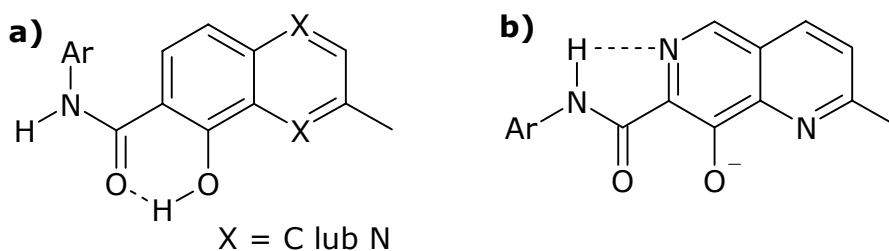
Konformacje te wpływają na kształt cząsteczki potencjalnego inhibitora poprzez inne położenie aromatycznej części hydrofobowej. Może to powodować inne oddziaływanie inhibitora z receptorem, a powstawanie wiązania wodorowego w cząsteczce inhibitora może wpływać na aktywność hamującą wobec integrazy [110]. Konformacje stabilizowane wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym wpływają na zdolność kompleksowania jonów Mg^{2+} . Najbardziej prawdopodobnym sposobem kompleksowania kationu Mg^{2+} do cząsteczki potencjalnego inhibitora jest koordynowanie go przez dwa atomy tlenu (**Rys. 3.17. a**). Koordynowanie jonu Mg^{2+} przez atomy azotu i tlenu jest znacznie mniej prawdopodobne z uwagi na niską zasadowość amidowej pary elektronowej atomu azotu (**Rys. 3.17. b, c**) [110]. Konforamacja taka preferowana jest w układzie naftyrydynowym (**Rys. 3.17. a**) przez dodatkowe wiązanie wodorowe.



Rys. 3.17. Wpływ konformacji stabilizowanych wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym na zdolność kompleksowania jonów Mg^{2+} .

Kationy metali mają duże znaczenie w metabolizmie komórkowym mikroorganizmów. Oddziaływania jonów metali w komórkach mikroorganizmów próbowano wyjaśnić między innymi poprzez teorię miękkich i twardych kwasów i zasad [125, 153]. Kationy Mg^{2+} i Mn^{2+} należą do twardych kwasów i dążą do oddziaływania z ligandami o podobnej twardości. Amidy kompleksują kation Mg^{2+} przez atom tlenu. Atom tlenu w takim układzie odgrywa rolę zasadowego centrum koordynacyjnego. Dodatkowo stwierdzono, że kompleksowanie jonów Mg^{2+} odbywa się na drodze oddziaływań elektrostatycznych [80, 125]. Taki mechanizm kompleksowania jonów Mg^{2+} został zaproponowany dla związków z układem naftyrydynowym. Podobny mechanizm zaproponowano dla kationów Mn^{2+} [80].

Wydaje się, że w świetle powyższej dyskusji oraz pracy [57] interpretację podaną w publikacji [110] można rozszerzyć. W przypadku wystarczająco kwaśnych fenoli pochodne kwasów chinolinokarboksylowych tworzyć będą konformację przedstawioną na **rys. 3.16. c**. W wypadku fenoli o niższej kwasowości tworzyć może się konformacja przedstawiona na **rys. 3.18. a**. Obie konformacje (**Rys. 3.16. c, 3.18. a**) charakteryzują się silnym wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym, które utrudnia kompleksowanie metali. Unikalna budowa cząsteczki naftyrydyny polega w tym wypadku na dużej kwasowości grupy hydroksylowej (intensyfikowanej elektronoakceptowością dodatkowego atomu azotu), której towarzyszy korzystna konformacja stabilizująca ugrupowanie β -ketoenolowe. W rzeczywistości wzór cząsteczki naftyrydyny (**Rys. 3.16. a**) powinien zostać zapisany w postaci wzoru przedstawionego na **rys. 3.18. b**.



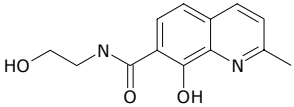
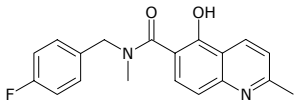
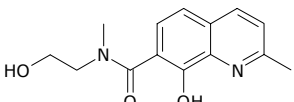
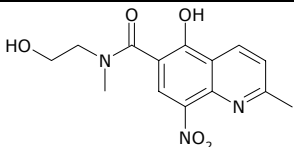
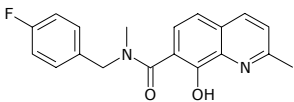
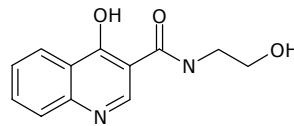
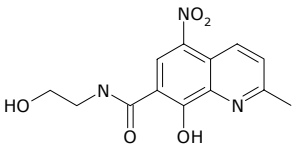
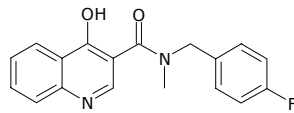
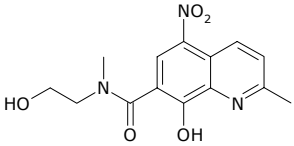
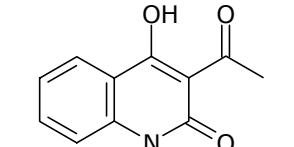
Rys. 3.18. Konformacja pochodnych amidowych kwasów chinolinokarboksylowych utworzona w przypadku fenoli o niższej kwasowości (**a**); cząsteczka 8-hydroksynaftyrydyny o wysokiej kwasowości grupy hydroksylowej (**b**).

W wypadku związków chinolinowych efekt wzmożonego kompleksowania uzyskać można dla związków z odpowiednio kwaśnymi atomami wodoru grup OH oraz NH. Omówione zależności wykorzystano do zaprojektowania szeregu nowych inhibitorów, w których fenolowy atom tlenu pozbawiono atomu wodoru, a amidowemu protonowi nadano wysoką kwasowość [113, 256]. Rzeczywiście związki takie charakteryzują się aktywnością w zakresie stężeń nanomolowych [113].

3.7.1. Nowe analogi amidów kwasów chinolinokarboksylowych

W celu zbadania wpływu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych oraz podstawników elektronoakceptorowych na aktywność inhibitorów z grupy amidowych pochodnych kwasów chinolinokarboksylowych otrzymano szereg związków przedstawionych w **tabeli 3.2**. Na podstawie wcześniej przeprowadzonych badań stwierdzono, że obecność podstawnika elektronoakceptorowego w pozycji *para* do grupy hydroksylowej jest jednym z czynników wpływających na aktywność pochodnych kwasów chinolinokarboksylowych [146]. Amidowe pochodne kwasu 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego wykazują wartości IC_{50} rzędu 40 – 50 μM w aktywności wobec integrazy HIV, podczas gdy pochodne amidowe kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego są nieaktywne. Obecność podstawnika nitrowego zwiększa działanie hamujące amidów wobec integrazy HIV. Grupa nitrowa jest podstawnikiem elektronoakceptorowym i zwiększa kwasowość grupy hydroksylowej. Efekt ten może mieć duże znaczenie dla aktywności wobec integrazy. Amidy kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego są nieaktywne, mimo

że sam kwas 5-hydroksy-2-metylocholino-6-karboksylowy (**3**) jest średnio aktywny ($IC_{50} = 47 \mu M$). Amidowanie powoduje obniżenie kwasowości grupy hydroksylowej, a w cząsteczce pochodnej amidowej kwasu 5-hydroksy-2-metylocholino-6-karboksylowego nie ma podstawnika bilansującego taki efekt [110, 146]. Ponadto po przekształceniu w amid związek tworzy dodatkowe wewnątrzcząsteczkowe wiązanie wodorowe N-H...O. Alkilowanie amidowego atomu azotu blokuje możliwość powstawania takiego wiązania wodorowego.

Nr	Związek	IC_{50} [μM]	Nr	Związek	IC_{50} [μM]
1a		>100	3c		>100
1b		>100	4a		b. d. (*)
1c		>100	8a		>100
2a		b. d. (*)	8b		>100
2b		b. d. (*)	9		>100

(*) Związki przekazane do testów na aktywność wobec integrazy HIV;
b. d. – brak danych.

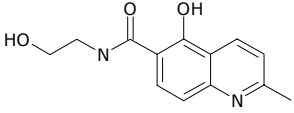
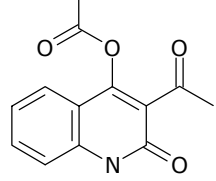
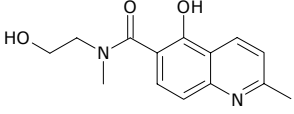
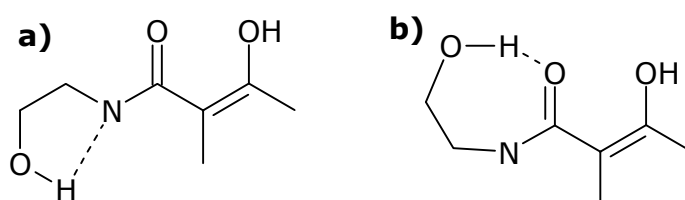
3a		>100	9a		>100
3b		>100			

Tabela 3.2. Aktywności *in vitro* otrzymanych pochodnych kwasów chinolino-karboksylowych.

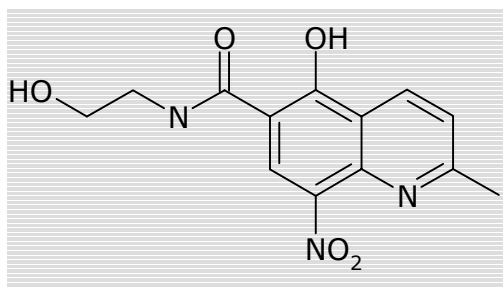
Z drugiej strony, jeżeli amidowy atom azotu bierze udział w kompleksowaniu jonów Mg^{2+} to temu procesowi powinna sprzyjać zwiększona zasadowość pary elektronowej atomu azotu. Efekt zwiększenia zasadowości pary elektronowej atomu azotu można uzyskać wprowadzając do cząsteczki elektronodonorową grupę alkilową. Wprowadzony podstawnik 2-hydroksyetylowy ($-CH_2-CH_2-OH$) posiada dodatkowy donór wiązania wodorowego, zdolny do zaburzania układu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych w cząsteczce amidu poprzez utworzenie dodatkowego wiązania $-OH \cdots N$ lub $-OH \cdots O=C$ i zaburzenie konformacji (**Rys. 3.19.**) [146].



Rys. 3.19. Zakłócenie układu wewnątrzcząsteczkowych wiązań wodorowych w cząsteczce amidu przez podstawnik 2-hydroksyetylowy.

Cząsteczka amidu zmodyfikowana w ten sposób, zawierająca grupę 2-hydroksyetylową oraz podstawnik nitrowy (**Rys. 3.20.**), jest aktywna wobec integrazy HIV – wartość IC_{50} dla tego inhibitora wynosi $0,5 \mu M$. Związek ten jest znacznie aktywniejszy od wcześniej otrzymanych amidów, dla których

wartość IC_{50} wynosiła około $50 \mu M$. Grupa 2-hydroksyetylowa może dodatkowo wspomagać kompleksowanie kationów Mg^{2+} . Powstające kompleksy miałyby struktury podobne do kompleksów, w których ligandami są glikole polietylenowe [146].



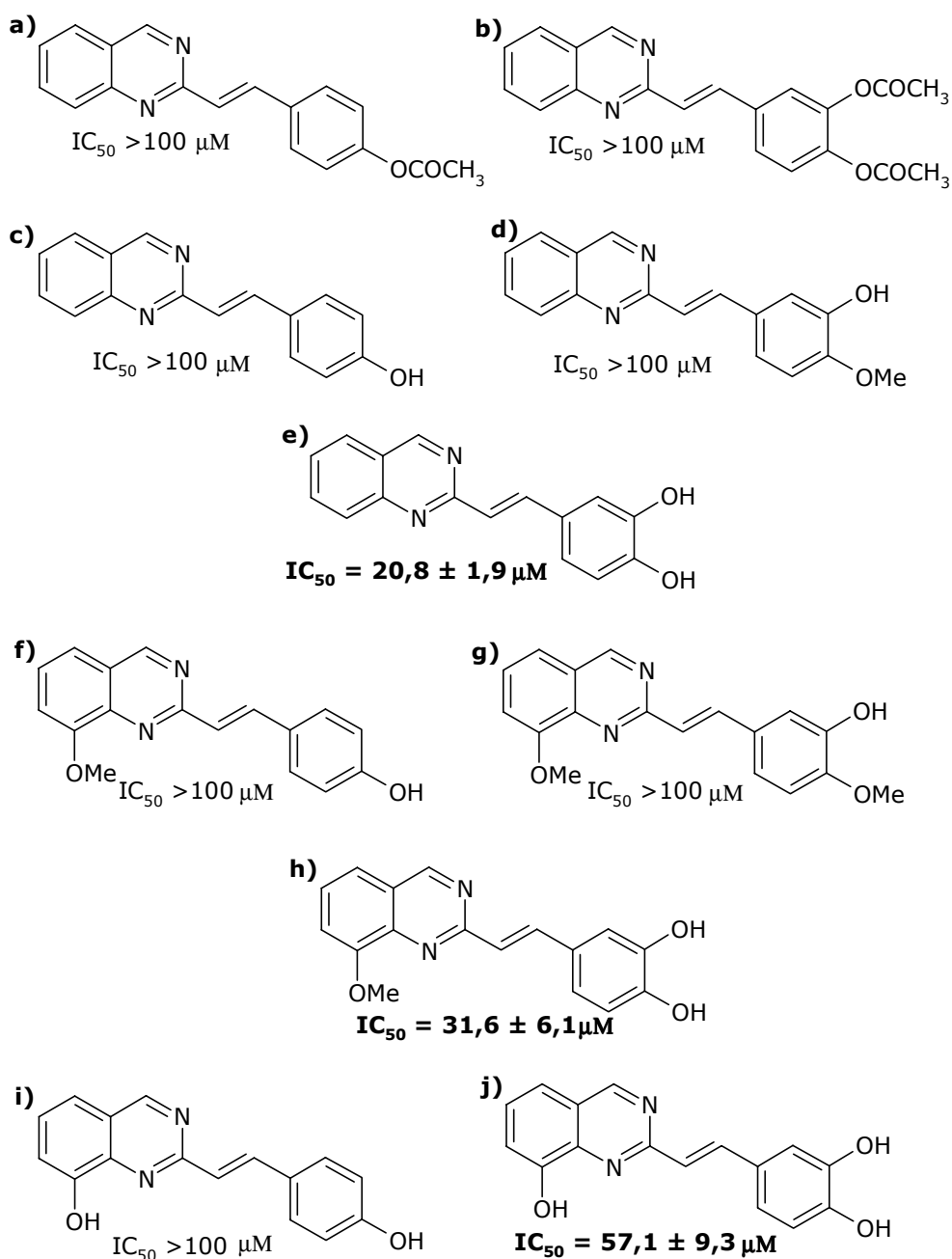
Rys. 3.20. Zmodyfikowana cząsteczka amidu, zawierająca grupę 2-hydroksyetylową oraz podstawnik nitrowy ($IC_{50} = 0,5 \mu M$)^(*) [146].

W **tabeli 3.2.** przedstawiono szereg zmodyfikowanych amidów testujących omawiane powyżej efekty. Amidy **1a** i **3a** nie wykazują aktywności wobec integrazy HIV. Potwierdza to, że obecność elektronoakceptorowego podstawnika w pozycji *para* do grupy hydroksylowej jest czynnikiem niezbędnym w celu wywołania aktywności związku. Otrzymane amidy **1b**, **1c**, **3b** i **3c**, które nie posiadają grupy nitrowej, a do amidowego atomu azotu dodatkowo przyłączona jest grupa metylowa są także nieaktywne wobec integrazy HIV. Usunięcie podstawnika nitrowego oraz zablokowanie atomu azotu grupą metylową powoduje zanik aktywności amidowych pochodnych kwasów chinolinokarboksylowych. Grupa metylowa może również stanowić zawadę steryczną utrudniającą kompleksowanie kationów Mg^{2+} . Związki **8a**, **8b**, **9** i **9a** zaprojektowane zostały przez zmianę uporządkowania podstawników pierścienia chinolinowego. Uzyskane wyniki prowadzą jednak do wniosku, że przetestowane kierunki modyfikacji nie generują związków o obiecującej zdolności hamowania integrazy HIV.

^(*) A. Mencil; Synteza wybranych pochodnych kwasu 5-hydroksychinaldino-6-karboksylowego jako potencjalnych inhibitorów integrazy HIV; Praca doktorska, Uniwersytet Śląski, Katowice, 2006.

3.8. Inhibitory integrazy HIV z izosterycznym układem diazanaftalenyowym – pochodne chinazolinowe

W poszukiwaniu nowych potencjalnych inhibitorów integrazy wirusa HIV otrzymano kilkanaście związków z grupy styrylowych pochodnych chinazolinu o budowie zbliżonej do pochodnych styrylochinolinowych (**Rys. 3.21.**).

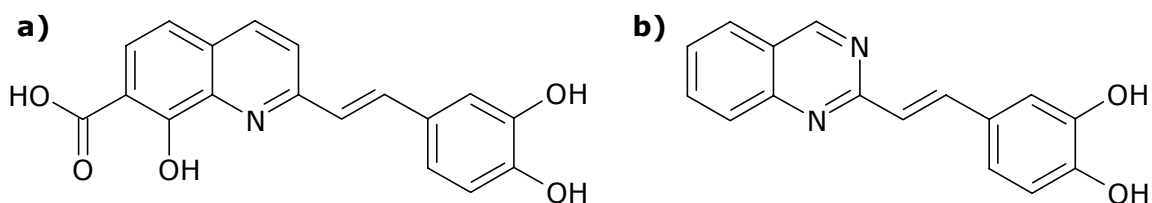


Rys. 3.21. Styrylowe pochodne chinazolinu jako inhibitory integrazy HIV [149].

Inhibitory te wykazały średnią aktywność wobec integrazy HIV [149]. Powyższe dane wskazują, że na aktywność przedstawionych inhibitorów wpływa obecność ugrupowania katecholowego. Związki zawierające motyw katecholu są średnio aktywne wobec integrazy HIV. Cząsteczki, w których nie ma ugrupowania katecholowego, bądź jest ono zablokowane w wyniku acylowania są nieaktywne. Katechol jest ważną funkcją farmakoforową wielu inhibitorów integrazy HIV [130]. Aktywność wobec integrazy HIV przedstawionej grupy związków była badana w obecności kationów Mn^{2+} [149].

3.8.1. Modyfikacje związków styrylochinazolinowych

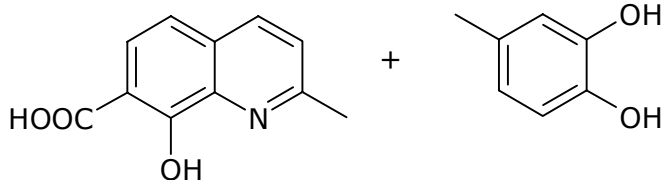
Porównanie budowy styrylochinolinowych oraz styrylochinazolinowych inhibitorów integrazy (**Rys. 3.22.**) pokazuje, że związki styrylochinolinowe zawierają dwie potencjalne funkcje farmakoforowe, zarówno ugrupowanie katecholowe, jak i funkcję β -ketoenolową utworzoną przez układ salicylowy związany z pierścieniem chinolinowym. Związki styrylochinazolinowe zawierają jedynie funkcję katecholową.



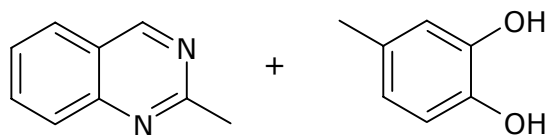
Rys. 3.22. Budowa styrylochinolinowych (a) oraz styrylochinazolinowych (b) inhibitorów integrazy wirusa HIV.

Formalnie konstrukcję tych grup inhibitorów zilustrować można następującym schematem łączenia fragmentów molekularnych (**Rys. 3.23.**):

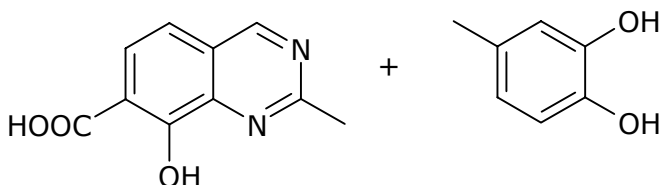
a)
inhibitory
styrylochinolinowe
(opisane)



b)
inhibitory
styrylochinazolinowe
(opisane)

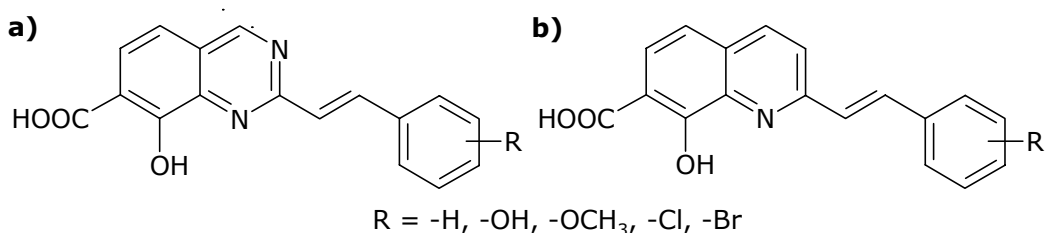


c)
inhibitory
styrylochinazolinowe
(projektowane)



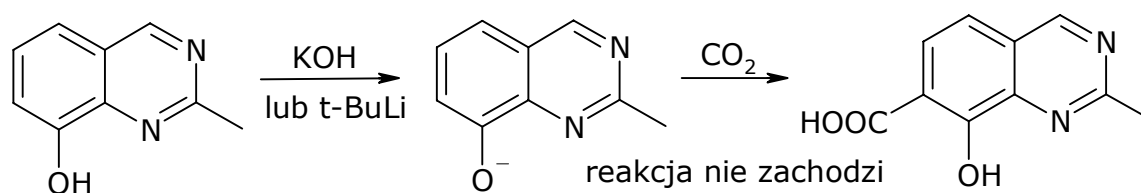
Rys. 3.23. Schemat łączenia fragmentów molekularnych w konstruowaniu styrylochinolinowych oraz styrylochinazolinowych inhibitorów integrazy HIV.

Wydaje się, że korzystnie na aktywność związków chinazolinowych wobec integrazy HIV mogłaby wpłynąć obecność układu salicylowego. Fragment salicylowy łatwo kompleksuje kationy metali. Jednym z pierwotnych celów obecnej pracy była synteza pochodnych styrylowych opartych na fragmencie molekularnym kwasu 8-hydroksy-2-metylochinazolino-7-karboksyowego (**Rys. 3.24. a**). Związki te zostały zaprojektowane jako analogi wcześniej opisanych inhibitorów opartych na układzie chinolinowym, zawierające układ diazynaftalenowy (**Rys. 3.24. b**). Opisane zależności między strukturą i aktywnością wskazują, że obecność układu salicylowego w cząsteczce inhibitora integrazy HIV jest korzystna dla aktywności antywirusowej.



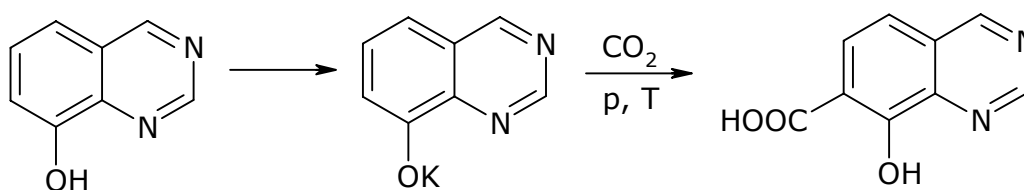
Rys. 3.24. Projektowane inhibitory styrylochinazolinowe (**a**), jako analogi pochodnych styrylochinolinowych (**b**).

Kwas 8-hydroksy-2-metylochinasolino-7-karboksyowy jest związkim, który nie został opisany w literaturze. Okazało się jednak, że przeprowadzone próby otrzymania omawianego kwasu metodą Kolbego – Schmidta poprzez karboksylowanie 8-hydroksy-2-metylochinasoliny (**20**) za pomocą gazowego dwutlenku węgla bądź dwutlenku węgla w postaci suchego lodu nie dają oczekiwanego rezultatu (**Rys. 3.25.**). Analogiczny kwas 8-hydroksy-2-metylochinasolino-7-karboksyowy (**1**) otrzymuje się przez karboksylowanie 8-hydroksy-2-metylochinasoliny [223, 224].



Rys. 3.25. Próby otrzymania kwasu 8-hydroksy-2-metylochinasolino-7-karboksyowego.

W literaturze patentowej opisana jest metoda otrzymania kwasu 8-hydroksychinasolino-7-karboksyowego [119, 120], nie zawierającego podstawnika metylowego w pozycji 2 (**Rys. 3.26.**). Synteza prowadzona jest w warunkach wysokiego ciśnienia 2 MPa w temperaturze 200 °C.



Rys. 3.26. Synteza kwasu 8-hydroksychinasolino-7-karboksyowego [120].

Problemy syntetyczne z otrzymaniem kwasu 8-hydroksy-2-metylochinasolino-7-karboksyowego zmodyfikowały wstępne założenia pracy.

Tabela 3.3. przedstawia modyfikacje chinazolinowego fragmentu molekularnego otrzymane w celu przetestowania ich powinowactwa do integrazy wirusa HIV. W drugiej części tabeli przedstawiono przykłady związków china-

zolinowych opartych na tych fragmentach molekularnych. Zawierają one wybrane funkcje farmakoforowe obecne w opisanych inhibitorach integrazy HIV. Niestety większość testowanych związków nie wykazała aktywności wobec integrazy.

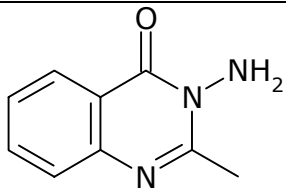
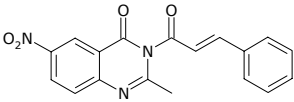
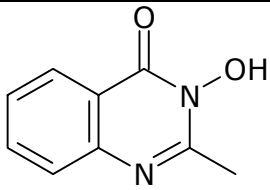
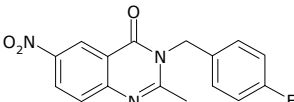
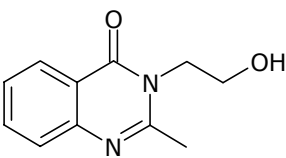
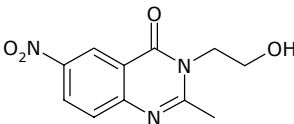
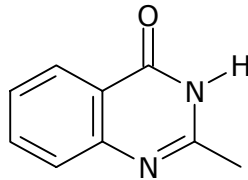
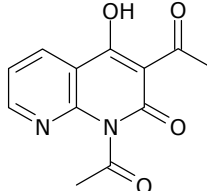
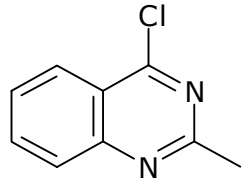
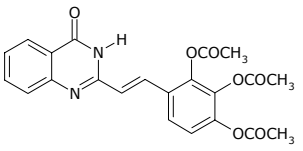
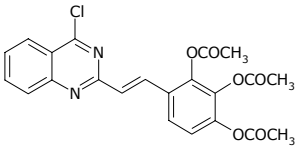
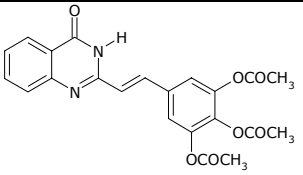
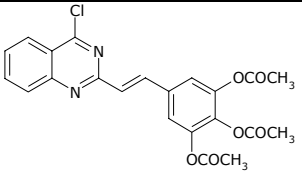
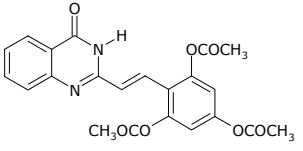
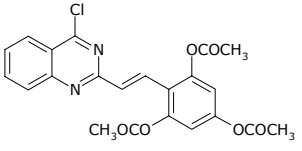
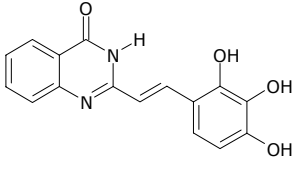
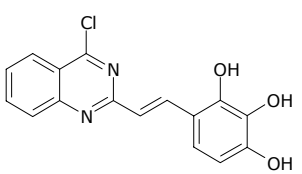
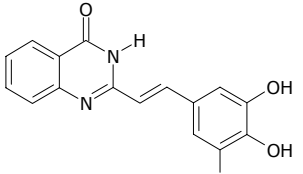
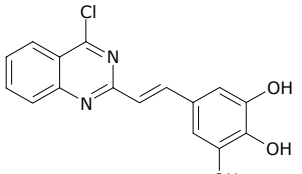
Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]	Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]
10a		b. d. ^(*)	24a		b. d. ^(*)
10b		b. d. ^(*)	24b		>100
10c		b. d. ^(*)	24c		>100
11		>100	25a		>100
12		>100			

Tabela 3.3. Modyfikacje chinazolinowych fragmentów molekularnych przez wymianę podstawników (**10a – 12**) oraz wybrane konstrukcje potencjalnych inhibitorów (**24a – 25a**).

^(*) Związki przekazane do testów na aktywność wobec integrazy HIV;
b. d. – brak danych.

3.8.2. Nowe polihydroksylowe pochodne styrylochinazolinowe

Analizując struktury inhibitorów integrazy HIV można zauważyć, że wiele cząsteczek zawiera ugrupowania polihydroksylowe [24, 29, 129]. Analizowane wcześniej inhibitory, będące styryłowymi pochodnymi chinazoliny, posiadają ugrupowanie katecholowe [149]. Dodatkowo aktywności sprzyja obecność podstawnika elektroujemnego, np. chloru [115]. Kierując się powyższymi faktami otrzymano szereg polihydroksylowych styrylowych pochodnych z układem chinazolinowym. Otrzymane pochodne oraz związki z zablokowanymi grupami hydroksylowymi przedstawione są w **tabeli 3.4.**

Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]	Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]
11b		b. d. (*)	12b		b. d. (*)
11c		b. d. (*)	12c		b. d. (*)
11d		b. d. (*)	12d		b. d. (*)
11e		b. d. (*)	12e		b. d. (*)
11f		b. d. (*)	12f		b. d. (*)

(*) Związki przekazane do testów na aktywność wobec integrazy HIV;
b. d. – brak danych.

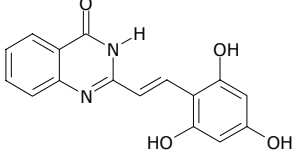
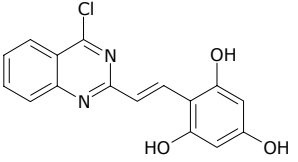
11g		b. d. ^(*)	12g		b. d. ^(*)
-----	---	----------------------	-----	--	----------------------

Tabela 3.4. Acylowane i polihydroksylowe styrylowe pochodne z układem chinazolinowym.

3.8.3. Wpływ zasadowości chinolinowego atomu azotu w pierścieniu azanaftalenowym na aktywność wobec integrazy HIV

Tabela 3.5. przedstawia kilka modyfikacji 8-hydroksychinazolinowego fragmentu molekularnego.

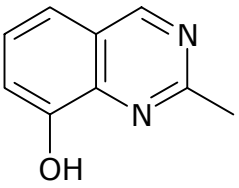
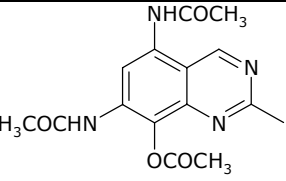
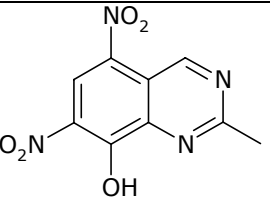
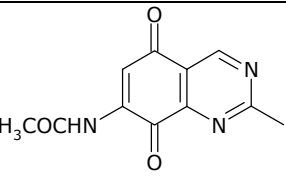
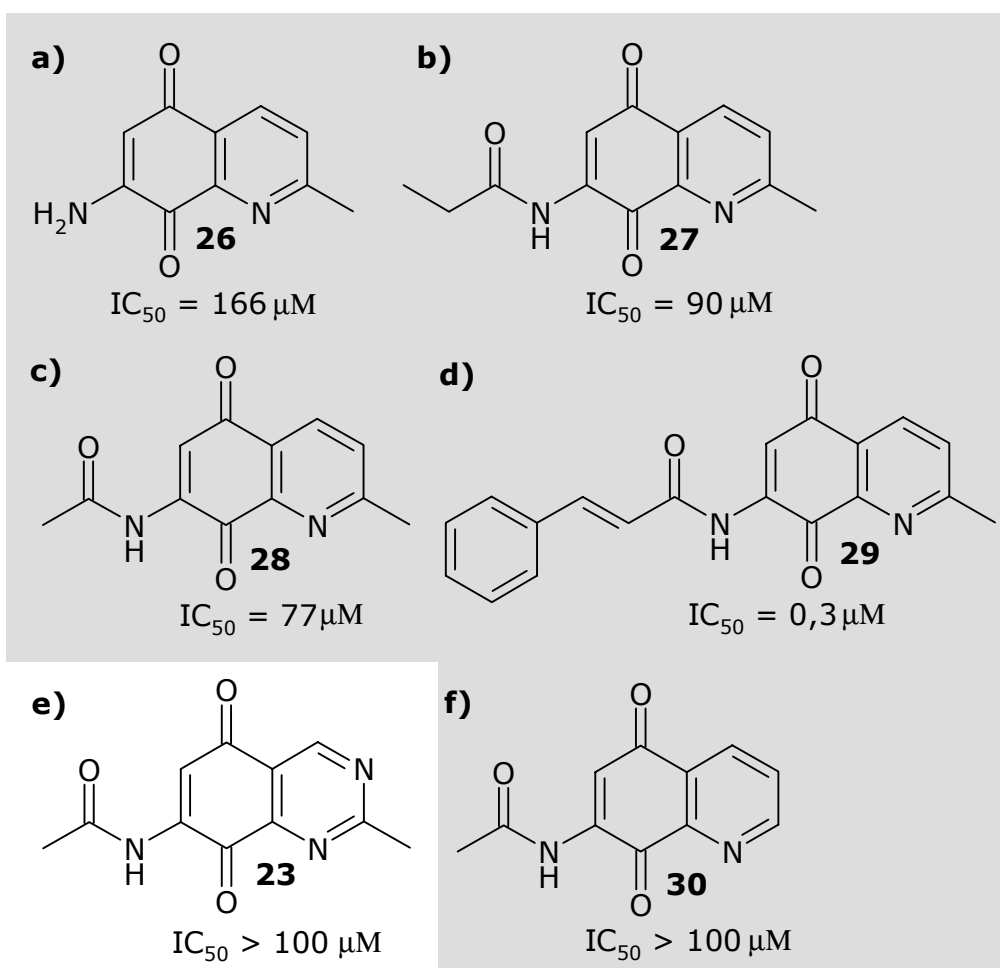
Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]	Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]
20		>100	22		>100
21		>100	23		>100

Tabela 3.5. Wybrane modyfikacje fragmentu molekularnego 8-hydroksychinazolinu.

Związki **20**, **21** i **22**, zawierające układ chinazolinowy, modyfikujący wcześniej opisane chinolinowe fragmenty molekularne, nie są aktywne wobec integrazy HIV, podobnie jak ich analogi chinolinowe. Inna sytuacja ma miejsce w przypadku 7-acetamido-2-metylochiazolino-5,8-dionu (**23**). Pomysł modyfikacji 8-hydroksy-2-metylochiazolinu do pochodnej 2-metylochiazolino-5,8-dionu (**26**) (**Rys. 3.27. a**) opiera się na idei radykalnego usunięcia labilnego kwaśnego protonu grupy hydroksylowej. Jeżeli obecność wiązań wodorowych

rzeczywiście utrudnia hamowanie integrazy HIV modyfikacja taka powinna generować związki o zwiększonej aktywności. Rzeczywiście 7-acetamido-2-metylochinolino-5,8-dion (**28**) (**Rys. 3.27. c**) wykazuje średnią aktywność wobec integrazy HIV (wartość IC_{50} dla tego związku wynosi $77 \mu\text{M}$). Jeszcze lepsze wyniki daje dalsza modyfikacja związku **26**. 7-Cynamoiloamino-2-metylochinolino-5,8-dion (**29**) (**Rys. 3.27. d**) okazał się najaktywniejszą pochodną zaprojektowaną i otrzymaną w Zakładzie Chemii Organicznej o aktywności $IC_{50} = 0,3 \mu\text{M}^{(*)}$ [113, 147].



Rys. 3.27. Porównanie aktywności analogów chinolinodionu.^(*)

Inaczej jednak niż 7-acetamido-2-metylochinolino-5,8-dion (**28**) związek **23** nie jest aktywny (**Rys. 3.27. e**). Jedyna różnica pomiędzy związkami

^(*) B. Podeszwa; Synteza wybranych pochodnych 7-amino-2-metylo-5,8-chinolinodionu w poszukiwaniu nowych inhibitorów integrazy HIV; Praca doktorska, Uniwersytet Śląski, Katowice, 2006. Na szarym tle przedstawione są związki otrzymane w Zakładzie Chemii Organicznej w ramach wcześniej prowadzonych prac badawczych.

23 i **28** sprowadza się do obecności drugiego heterocyklicznego atomu azotu. Obecnością drugiego atomu azotu tłumaczyć należy brak aktywności związku **23** w porównaniu do związku **28**. Porównując inne analogi chinolinodionu można zaobserwować, że 7-amino-2-metylochinolino-5,8-dion (**26**) (**Rys. 3.27. a**) wykazuje niską aktywność wobec integrazy HIV (wartość IC_{50} tego związku wynosi 166 μM), a funkcjonalizacja grupy aminowej powoduje znaczny wzrost aktywności [113]. Wartości IC_{50} wynoszą odpowiednio dla 7-propionoiloamino-2-metylochinolino-5,8-dionu - 90 μM (**27**) (**Rys. 3.27. b**), a dla 7-acetamido-2-metylochinolino-5,8-dionu - 77 μM (**28**) (**Rys. 3.27. c**). Z kolei 7-aminochinolino-5,8-dion (**30**) (**Rys. 3.27. f**) podobnie jak związek **23** nie jest aktywny wobec integrazy HIV [147]. Tak więc, brak grupy metylowej w pozycji 2 pierścienia heterocyklicznego prowadzi do zaniku aktywności. Taki kierunek zmian aktywności badanych pochodnych prowadzi do wniosku, że wyższej aktywności sprzyja obecność elektronodonorowej grupy metylowej w pozycji 2. Jej brak podobnie jak obecność elektronoakceptorowego heterocyklicznego atomu azotu w pozycji 3 powoduje spadek aktywności.

Wydaje się więc, że na aktywność związków z układem azanaftalenyowym, poza innymi elementami budowy, duży wpływ może mieć zasadowość heterocyklicznego atomu azotu w pozycji 1, która zależy od charakteru podstawników pierścienia heterocyklicznego. Zarówno brak podstawnika metylowego, jak i obecność drugiego atomu azotu działa w kierunku obniżenia zasadowości chinolinowego atomu azotu. Z drugiej strony stwierdzono, że styrylocholinowe inhibitory integrazy HIV występują w postaci jonów obojnaczych (zwitterjonów) [109].

3.8.4. Inne modyfikacje układu chinazolinowego

W **tabeli 3.6.** zestawiono kilka pochodnych ilustrujących inne modyfikacje układu chinazolinowego. Otrzymane pochodne styrylochiazolinowe **11k** i **11n** nie wykazują aktywności wobec integrazy HIV. Spowodowane jest to najprawdopodobniej brakiem w strukturze cząsteczek fragmentów zdolnych do kompleksowania jonów metali dwuwartościowych.

Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]	Nr	Związek	IC ₅₀ [μM]
11a		b. d. (*)	12a		b. d. (*)
11k		>100	14a		b. d. (*)
11n		>100			

Tabela 3.6. Pochodne styrylochinazolinowe.

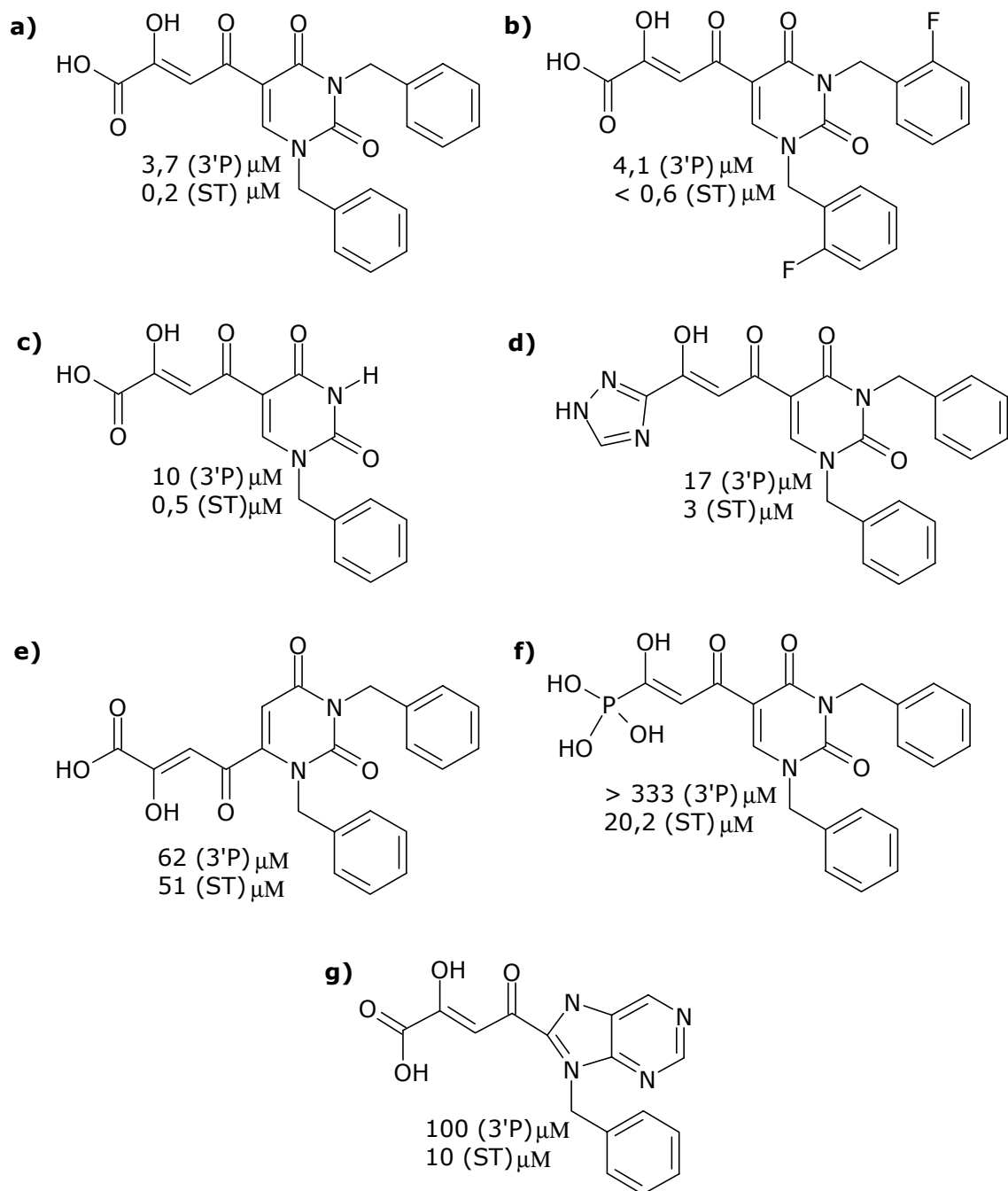
3.8.5. Fragment chinazolinowy jako element farmakoforowy inhibitorów integrazy HIV

W oparciu o szereg otrzymanych związków chinazolinowych stwierdzić można, że fragment molekularny chinazolinu, w porównaniu do fragmentu molekularnego chinoliny, nie stanowi obiecującego motywu pozwalającego na wzrost aktywności hamowania integrazy wirusa HIV.

3.8.6. Nowa koncepcja projektowania potencjalnych inhibitorów integrazy HIV zawierających układ chinazolinowy

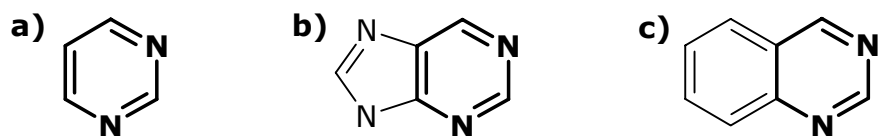
W najnowszej literaturze opisano β-diketokwasy zawierające w strukturze heterocykliczny pierścień pirymidyny lub puryny. Związki te stanowią nowy szereg potencjalnych inhibitorów integrazy wirusa HIV, wykazując aktywność zarówno w procesie 3' terminacji jak i w etapie przeniesienia nici (**Rys. 3.28.**) [261 - 266].

(*) Związki przekazane do testów na aktywność wobec integrazy HIV;
b. d. – brak danych.



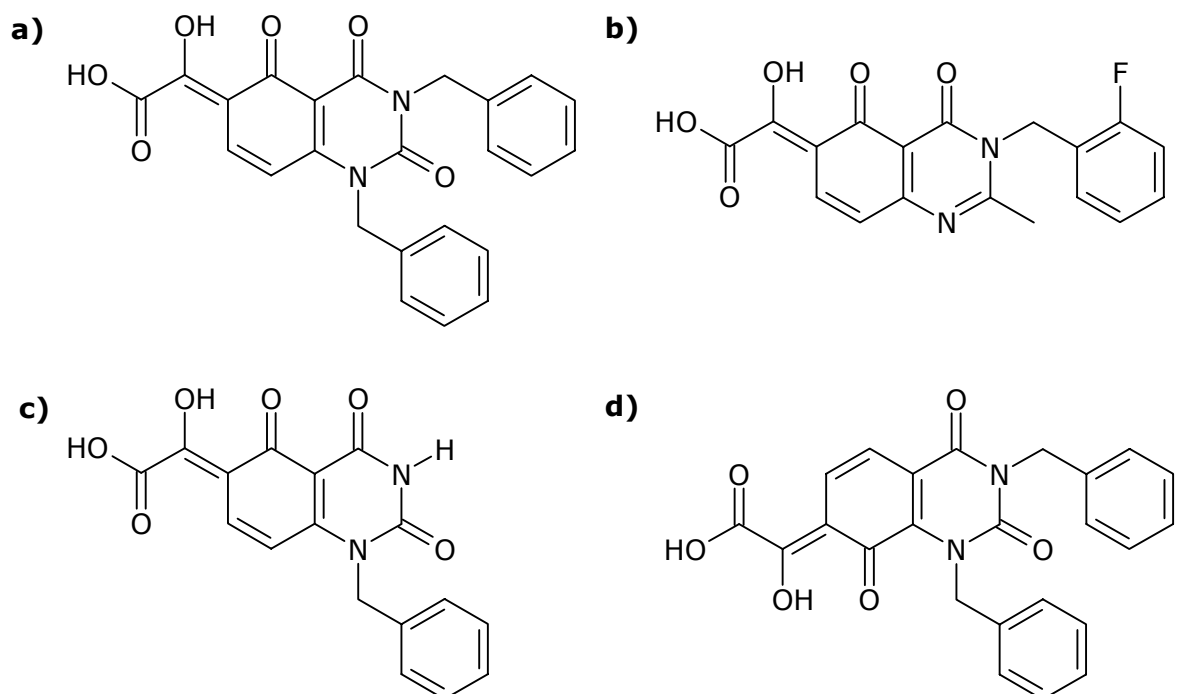
Rys. 3.28. Inhibitory integrazy wirusa HIV z heterocyklicznym pierścieniem pirymidyny lub puryny [261].

Przeprowadzone badania wykazały, że na aktywność tych związków wpływa obecność hydrofobowych grup benzytowych przyłączonych do atomów azotu w pozycjach N-1 i N-3 oraz motyw β -diketokwasu (w postaci dominującej formy enolowej) w pozycji C-5 [261]. Ugrupowania pirymidyny, puryny oraz chinazoliny zawierają podobny układ diazaaromatyczny (**Rys. 3.29.**).



Rys. 3.29. Porównanie układów azaaromatycznych pirymidyny **(a)**, puryny **(b)** i chinazolininy **(c)**.

W oparciu o powyższe dane zaprojektowano nowy szereg potencjalnych inhibitorów integrazy wirusa HIV z układem chinazolinowym. Wzory kilku zaprojektowanych nowych związków przedstawia **rys. 3.30**.

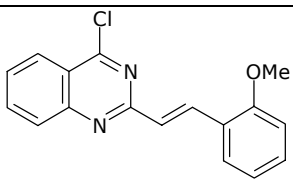
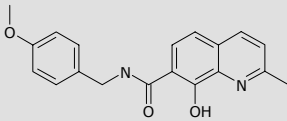


Rys. 3.30. Przykłady zaprojektowanych potencjalnych inhibitorów integrazy wirusa HIV z układem chinazolinowym.

3.9. Przeciwnowotworowa aktywność pochodnych styrylochinazolinowych

Nowotwory to grupa chorób charakteryzująca się nietypowym i niekontrolowanym podziałem komórek. Ich leczenie jest jednym z najtrudniejszych problemów współczesnej medycyny. Przyczyny powstawania chorób nowo-

tworowych nie zostały w pełni wyjaśnione, mała jest również skuteczność stosowanych dotychczas środków terapeutycznych. Wzrost zachorowalności na nowotwory jest dodatkowym bodźcem do poszukiwań nowych sposobów zwalczania chorób nowotworowych [148]. Jednym z kierunków poszukiwania leków przeciwnowotworowych jest projektowanie związków o strukturach zbliżonych do pirymidyn i puryn, które uczestniczą w biosyntezie DNA. Związki te, zaliczane do grupy chemoterapeutyków, znane są pod nazwą antymetabolitów, ponieważ przeszkadzają w tworzeniu lub wykorzystaniu normalnego metabolitu komórkowego [133 b)]. Pochodne chinoliny stanowią ciekawą grupę związków o potencjalnym zastosowaniu w terapiach przeciwnowotworowych. Ostatnio opisano na przykład w tym kontekście pochodne lawendamycyny oraz pochodne chinolino-5,8-dionu [117, 118]. Aktywność antyproliferacyjną tych związków stwierdzono między innymi wobec komórek rakowych białaczki [257, 258], komórek nowotworowych A549 [259] oraz komórek nabłoniaka nerkowego u szczurów [260]. Okazuje się jednak, że pochodne lawendamycyny oraz chinolino-5,8-dionu są związkami o silnej aktywności cytotoksycznej, a ich selektywność względem komórek nowotworowych jest stosunkowo niewielka [260]. Mimo tego pochodne chinoliny stanowią ważną grupę związków w poszukiwaniu potencjalnych leków przeciwnowotworowych [260]. **Tabela 3.7.** przedstawia wyniki badań aktywności antyproliferacyjnej szeregu pochodnych chinoliny (**31 – 42**) wobec komórek nowotworowych nabłoniaka nerwowego. Pochodne chinolino-5,8-dionu nie wykazują w tym przypadku aktywności (związek **33**) lub charakteryzują się jedynie niską aktywnością (związek **32**) [255].

Nr	Związek ^(*)	IC ₅₀ ^(**) [μM]	Nr	Związek ^(*)	IC ₅₀ ^(**) [μM]
12a		0,58	37		>6,25

(*) Na szarym tle przedstawione są związki otrzymane w Zakładzie Chemii Organicznej w ramach innych prac badawczych.

(**) IC₅₀ > 6,25 μM – związek nieaktywny, IC₅₀ < 6,25 μM – związek aktywny

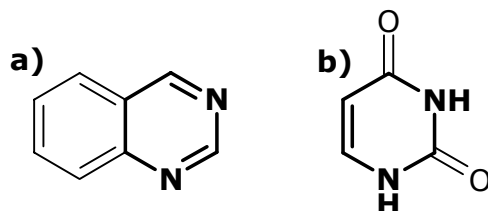
31		0,77	38		>6,25
32		4,26	39		>6,25
33		>6,25	40		>6,25
34		>6,25	41		>6,25
35		>6,25	42		>6,25
36		>6,25	42		>6,25
23		b. d. ^(***)			

Tabela 3.7. Aktywność przeciwnowotworowa syntezowanych związków.

Ciekawym kierunkiem modyfikacji jest zastąpienie pierścienia chinolowego chinazolinowym. W tym ostatnim obecny jest układ heterocykliczny dia-

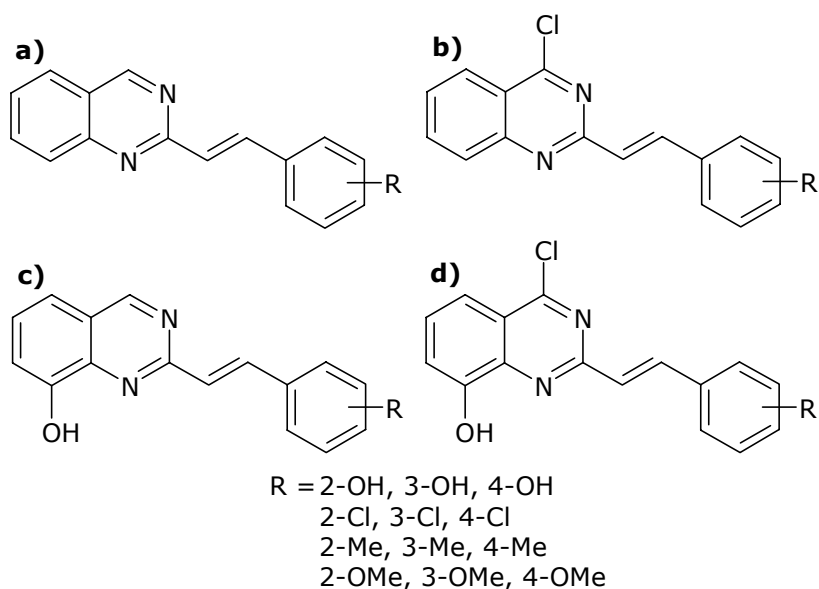
(***) Związek przekazany do testów na aktywność antyproliferacyjną;
b. d. – brak danych.

zaaromatyczny, przypominający pierścień pirymidyny, puryny lub uracylu (**Rys. 3.31.**). Rosnące komórki nowotworowe, budując materiał genetyczny, poszukują między innymi takich składników. Faktycznie jedna z testowanych pochodnych chinazoliny **12a** wykazała wysoką aktywność przeciwproliferacyjną w stosunku do ludzkich nowotworowych komórek nabłonniaka nerwowego – wartość IC_{50} wyniosła $0,58 \mu M$.



Rys. 3.31. Porównanie chinazoliny (a) i uracylu (b).

Innym interesującym efektem jest obecność atomów chloru w obu wysokoaktywnych związkach, będących styrylowymi pochodnymi chinoliny (**31**) i chinazoliny (**12a**). Dotychczas przetestowano niewielką liczbę związków. Nie upoważnia to do przedstawiania generalnego obrazu zależności pomiędzy strukturą i aktywnością. Uzyskane wyniki umożliwiły jednak zaprojektowanie nowego szeregu połączeń, które obecnie syntezowane są jako cele kolejnej generacji potencjalnych efektorów o działaniu antyproliferacyjnym (**Rys. 3.32.**).



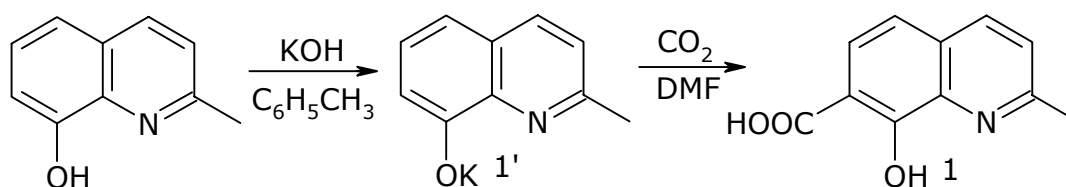
Rys. 3.32. Zaprojektowane pochodne styrylochinazolinowe o potencjalnej aktywności antyproliferacyjnej.

4. OMÓWIENIE PRZEPROWADZONYCH SYNTEZ

4.1. Synteza związków zawierających układ chinolinowy

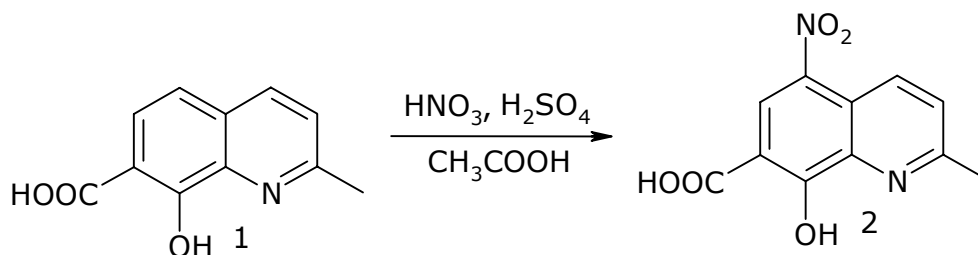
4.1.1. Kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy i kwas 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowy

Kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowy (**1**) otrzymano w reakcji karboksylowania 8-hydroksy-2-metylochinoliny metodą Kolbego – Schmidta [223, 224]. Na sól potasową 8-hydroksy-2-metylochinoliny (**1'**) działano gazowym dwutlenkiem węgla (**Rys. 4.1.**).



Rys. 4.1. Otrzymywanie kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego.

Kwas 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowy (**2**) otrzymano w wyniku reakcji nitrowania kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego (**1**) (**Rys. 4.2.**) [146, 147]. Mieszaninę nitrującą wkraplano do roztworu substratu w lodowatym kwasie octowym. Następnie po kilkuminutowym ogrzewaniu zawartość kolby przelano do zlewki z zimną wodą i odsączono wytrącony osad kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego.



Rys. 4.2. Nitrowanie kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego.

Wydajności reakcji oraz temperatury topnienia otrzymanych kwasów przedstawia **tabela 4.1**.

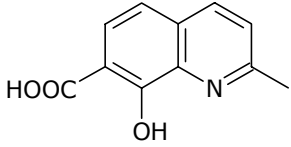
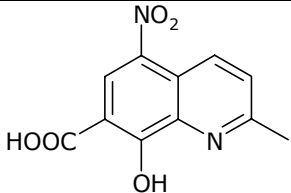
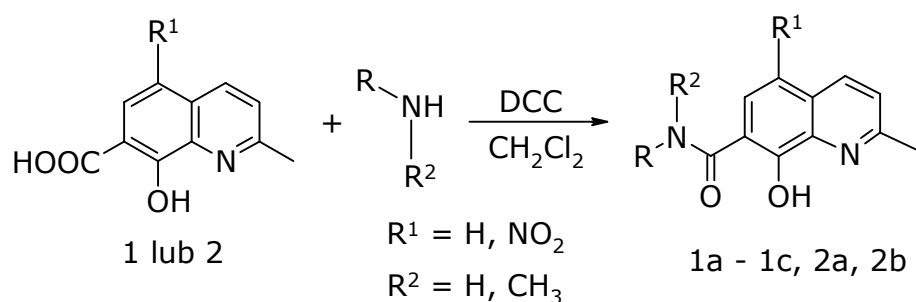
Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji [%]
1		206 – 208 (207 – 208) [223]	21
2		260 rozkład (260) [147]	42,5

Tabela 4.1. Kwas 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowy i kwas 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksyłowy.

4.1.2. Amidy kwasów 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego i 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksyłowego

Amidy można otrzymać w reakcji halogenków acylowych z amoniakiem lub aminami. Amidy są także produktami acylowania amin bezwodnikami kwasowymi, estrami lub kwasami karboksylowymi. Bezpośrednia reakcja amin z kwasami karboksylowymi nie prowadzi jednak do otrzymania amidów. Jest ona możliwa w obecności odczynników ułatwiających kondensację grupy karboksylowej z grupą aminową [233 – 251]. Amidy **1a** – **1c**, **2a** i **2b** kwasów 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego (**1**) i 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksyłowego (**2**) otrzymano w reakcji kondensacji odpowiedniego kwasu z aminą (**Rys. 4.3.**). W reakcjach otrzymywania amidów zastosowano N,N-dicykloheksylokarbodiimid (DCC), jako odczynnik umożliwiający kondensację kwasu i aminy.



Rys. 4.3. Otrzymywanie amidów kwasów 8-hydroksy-2-metylocholino-7-karboksyłowego i 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrocholino-7-karboksyłowego.

Reakcja była prowadzona w bezwodnym chlorku metylenu. Całość początkowo mieszano w temperaturze 0 °C, a następnie w temperaturze pokojowej. Produkt reakcji przemywano roztworem wodorowęglanu sodu, wodą i eterem dietylowym [110, 128]. Otrzymane powyższą metodą nowe pochodne amidowe przedstawia **tabela 4.2**.

Nr	Związek	Temperatura topnienia [°C]	Wydajność reakcji [%]
1a		228 - 229	78,5
1b		228	36
1c		242	41,5
2a		234 - 235 rozkład	63

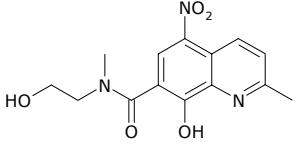
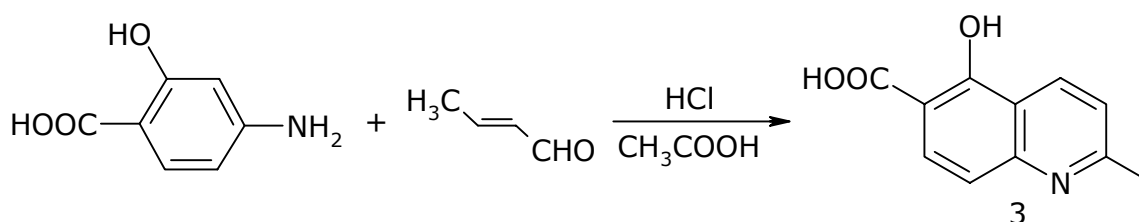
2b		220 - 222	89
----	---	-----------	----

Tabela 4.2. Amidy kwasów 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego i 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowego.

4.1.3. Kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowy i kwas 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowy

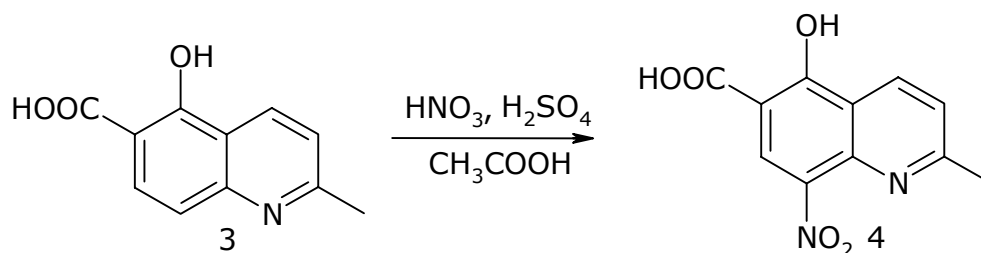
Kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowy (**3**) otrzymano w reakcji kwasu 4-amino-2-hydroksybenzoesowego z aldehydem krotonowym (**Rys. 4.4.**) [110, 112].



Rys. 4.4. Synteza kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego.

Syntezę przeprowadzono w oparciu o zmodyfikowaną procedurę literaturową [146, 206], w której, jako rozpuszczalnik, zastosowano mieszaninę stężonego kwasu solnego i lodowatego kwasu octowego. Zmodyfikowana również została procedura wydzielenia produktu z mieszaniny reakcyjnej poprzez zastosowanie do alkalizowania roztworu wodorotlenku sodu zamiast wody amoniakalnej. W takich warunkach kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowy występuje w postaci dobrze rozpuszczalnej soli sodowej, co pozwala na łatwe oddzielenie trudno rozpuszczalnych produktów ubocznych. Produkt reakcji wytrącił się po dodaniu do roztworu soli sodowej kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego roztworu kwasu solnego do uzyskania pH około 3,5 - 4. Bardzo czysty produkt reakcji uzyskano poprzez ekstrakcję w aparacie Soxhleta z zastosowaniem wody jako ekstrahenta.

Kwas 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksyowy (**4**) otrzymano w wyniku reakcji nitrowania kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksyowego (**3**) (**Rys. 4.5.**) [110]. Mieszaninę nitrującą wkraplano do roztworu substratu w lodowatym kwasie octowym, następnie po kilkuminutowym ogrzewaniu zawartość kolby przelano do zlewki z zimną wodą i odsączono wytrącony osad kwasu 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksyowego.



Rys. 4.5. Nitrowanie kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksyowego.

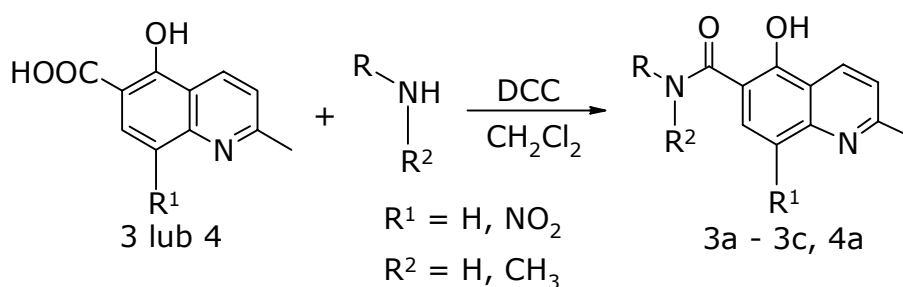
Wydajności reakcji oraz temperatury topnienia otrzymanych kwasów przedstawia **tabela 4.3.**

Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wydajność reakcji) [%]
3		230 – 235 (230 – 235) [146]	79 (68)
4		183 – 186 (183 – 186) [146]	58 (43)

Tabela 4.3. Kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksyowy oraz jego nitropochodna.

4.1.4. Amidy kwasów 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego i 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego

Amidy **3a** – **3c** i **4a** kwasów 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3**) i 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego (**4**) otrzymano w reakcji kondensacji odpowiedniego kwasu z aminą w obecności N,N-dicykloheksylokarbodiimidu (DCC) według wcześniej opisanej metody (**Rys. 4.6.**) [110, 128].



Rys. 4.6. Otrzymywanie amidów kwasów 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego i 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego.

Temperatury topnienia otrzymanych nowych pochodnych amidowych oraz wydajności reakcji zebrane zostały w **tabeli 4.4.**

Nr	Związek	Temperatura topnienia [°C]	Wydajność reakcji [%]
3a		236	29
3b		233	51
3c		254	35

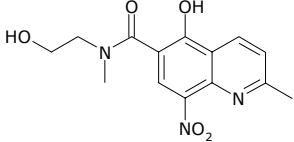
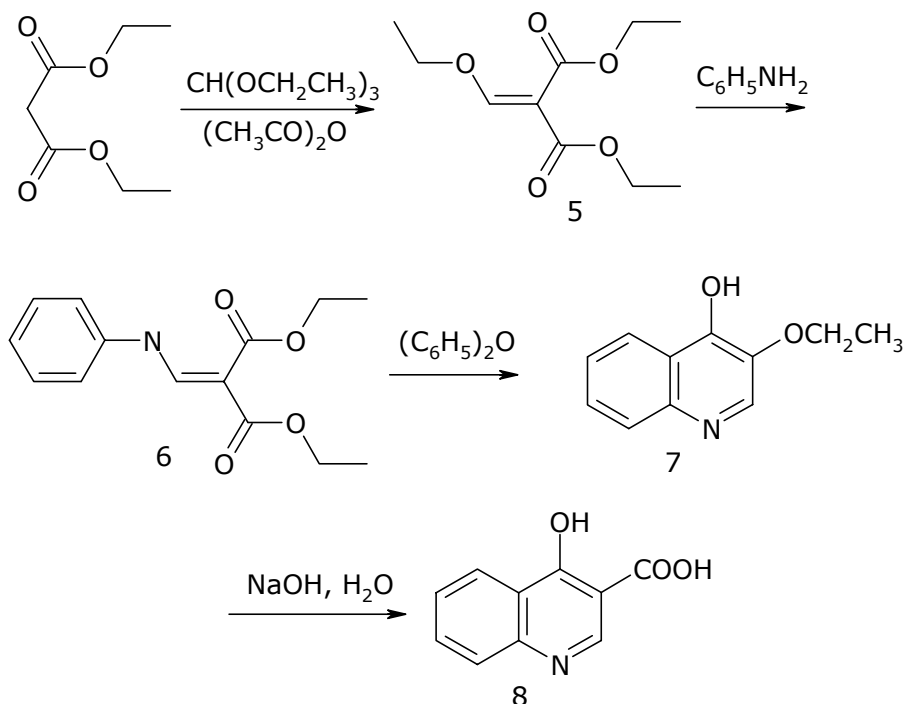
4a		212	45
----	---	-----	----

Tabela 4.4. Amidy kwasów 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksyowego i 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksyowego.

4.1.5. Kwas 4-hydroksychinolino-3-karboksyowy

Synteza kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyowego obejmuje następujące etapy opisane w literaturze (**Rys. 4.7.**):

- otrzymanie estru dietylowego kwasu 2-etoksymetylenomalonowego;
- otrzymanie estru dietylowego kwasu 2-fenylaminometylenomalonowego;
- otrzymanie w reakcji cyklizacji estru etylowego kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyowego;
- hydroliza estru i otrzymanie kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyowego.



Rys. 4.7. Synteza kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyowego.

W pierwszym etapie otrzymano ester dietylowy kwasu 2-etoksymetylenomalonowego (**5**) w reakcji malonianu dietylu, ortomrówczanu etylu i bezwodnika octowego [215, 216]. Powstały ciekły produkt w reakcji z aniliną daje ester dietylowy kwasu 2-feniloaminometylenomalonowego (**6**), który następnie poddano cyklizacji poprzez dodawanie stopionego substratu do wrzącego eteru difenylowego [211, 218, 219]. Otrzymany ester etylowy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (**7**) poddano hydrolizie w roztworze wodrotlenku sodu, w wyniku czego powstał kwas 4-hydroksychinolino-3-karboksylowy (**8**) [217, 221, 222]. **Tabela 4.5.** przedstawia dane dotyczące kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego oraz pośrednich produktów syntezy.

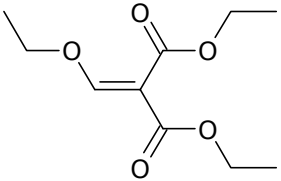
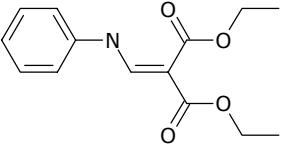
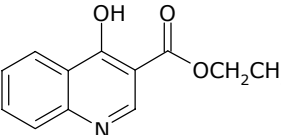
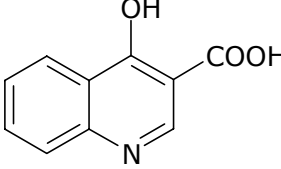
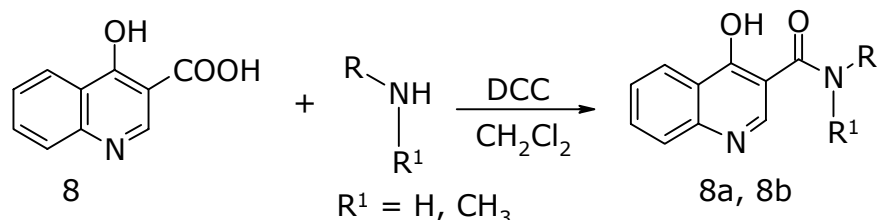
Nr	Związek	Temperatura topnienia / wrzenia (literaturowa temperatura topnienia / wrzenia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wydajność reakcji) [%]
5		150 / 12 mmHg (109 - 111 / 0,9 mmHg) [216]	68 (72)
6		47 - 48 (50) [211]	78,5 (83)
7		270 (271 - 273) [218]	79 (95,5)
8		269 (266 - 267) [221]	95 (97)

Tabela 4.5. Kwas 4-hydroksychinolino-3-karboksylowy oraz produkty pośrednie.

4.1.6. Amidy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowego

Amidy **8a** i **8b** kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowego (**8**) otrzymano w reakcji kondensacji kwasu z aminą w obecności N,N-dicykloheksylokarbodiimidu (DCC) według wcześniej opisanej metody (**Rys. 4.8.**).



Rys. 4.8. Synteza amidów kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowego.

Temperatury topnienia otrzymanych związków oraz wydajności reakcji przedstawia **tabela 4.6**. Związek **8b** jest związkiem nowym.

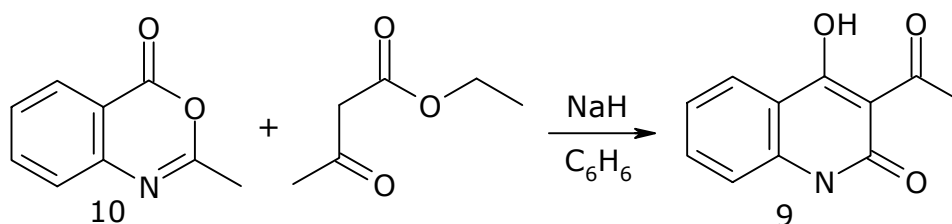
Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji [%]
8a		256 (253 – 254) [114]	46,5
8b		273	33

Tabela 4.6. Amidy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowego.

4.1.7. Inne związki zawierające układ chinolinowy

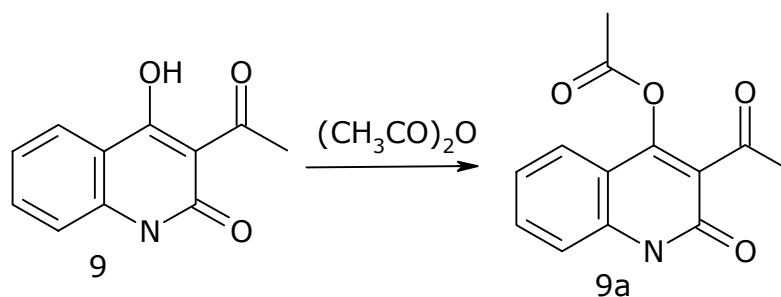
2-Metylo-3,1-benzoksazyn-4-on (**10**) i acetylooctan etylu są substratami, z których otrzymano 3-acetylo-4-hydroksy-1H-chinolin-2-on (**9**) (**Rys.**

4.9.) Reakcję prowadzono w bezwodnym benzenie w obecności wodoroku sodu [205, 213].



Rys. 4.9. Otrzymywanie 3-acetylo-4-hydrokso-1*H*-chinolin-2-onu.

W reakcji 3-acetylo-4-hydrokso-1*H*-chinolin-2-onu (**9**) z bezwodnikiem octowym nastąpiło zacylowanie grupy hydroksylowej i otrzymano 4-acetokso-3-acetylo-1*H*-chinolin-2-on (**9a**) (**Rys. 4.10.**).



Rys. 4.10. Otrzymanie 4-acetokso-3-acetylo-1*H*-chinolin-2-onu.

Dane dotyczące temperatur topnienia i wydajności reakcji otrzymanych związków przedstawia **tabela 4.7**. Związek **9a** jest związkiem nowym.

Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji [%]
9		255 (254 - 257) [213]	78

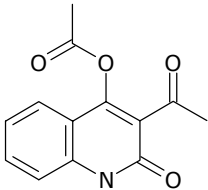
9a		310	92
----	---	-----	----

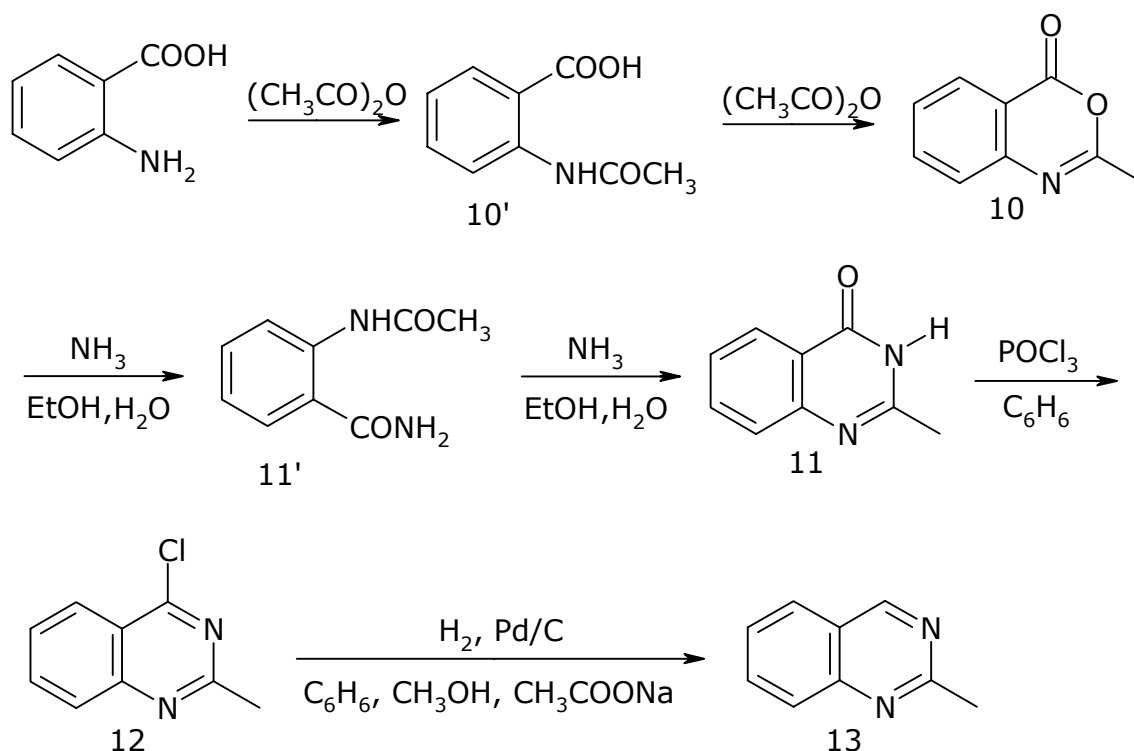
Tabela 4.7. Inne pochodne z układem chinolinowym.

4.2. Synteza związków zawierających układ chinazolinowy

4.2.1. Pochodne 2-metylochiazoliny

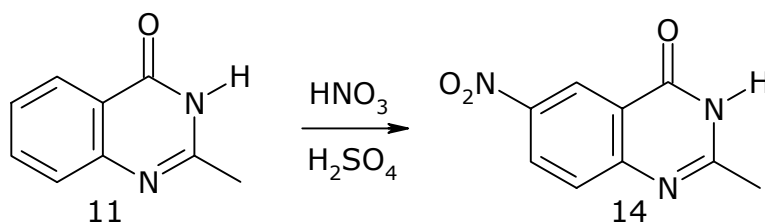
Synteza 2-metylochiazoliny została przeprowadzona w oparciu o procedurę opisaną w literaturze, która obejmuje następujące etapy (**Rys. 4.11.**):

- synteza 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu;
- synteza 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu;
- podstawienie atomu tlenu atomem chloru w 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onie;
- redukcja 4-chloro-2-metylochiazoliny.



Rys. 4.11. Synteza pochodnych 2-metylochiazoliny.

W początkowym etapie reakcji kwasu antranilowego z bezwodnikiem octowym następuje zacylowanie grupy aminowej kwasu antranilowego, powstały kwas N-acetyloantranilowy jest produktem pośrednim (**10'**). Ogrzewanie mieszaniny reakcyjnej prowadzi do powstania 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**). Czysty produkt otrzymano w wyniku ekstrakcji w aparacie Soxhleta z użyciem heptanu. Produkt reakcji jest wrażliwy na wilgoć i przy dłuższym przechowywaniu ulega rozkładowi [181, 191, 208]. 2-Metylo-3*H*-chinazolin-4-on (**11**) został otrzymany jako produkt reakcji 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**) z roztworem amoniaku. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej. Pośrednim etapem tej reakcji jest amid kwasu N-acetyloantranilowego (**11'**) [194, 195, 204]. Atom tlenu zostaje podstawiony atomem chloru w reakcji 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu (**11**) z tlenochlorkiem fosforu. Reakcję prowadzono w bezwodnym benzenie, a jej produktem jest 4-chloro-2-metylochinasolina (**12**) [182, 193]. 2-Metylochinasolinę (**13**) otrzymano w wyniku katalitycznej hydrogenacji 4-chloro-2-metylochinasoliny (**12**) za pomocą gazowego wodoru. Zastosowano katalizator palladowy (10 % na węglu) [185, 203]. W celu otrzymania 2-metylo-6-nitro-3*H*-chinazolin-4-onu (**14**) poddano reakcji nitrowania 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-on (**11**) (**Rys. 4.12.**). Reakcja wymagała zastosowania dymiącego kwasu azotowego(V) oraz ogrzewania [210].



Rys. 4.12. Nitrowanie 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu.

Temperatury topnienia oraz wydajności reakcji otrzymanych pochodnych 2-metylochinasoliny przedstawia **tabela 4.8**.

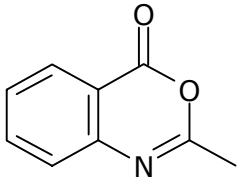
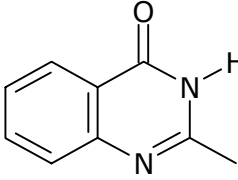
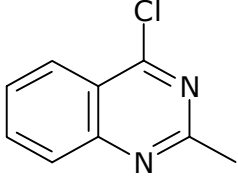
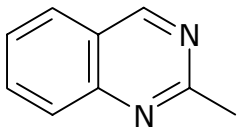
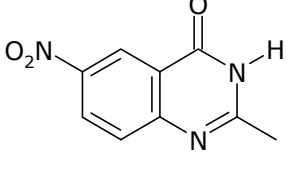
Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wydajność reakcji) [%]
10		80 (79 – 80) [181]	78 (74 – 80)
11		245 – 247 (242 – 244) [191]	77 (80)
12		82 (81,5 – 83) [189]	50 (59)
13		40 – 41 (41) [198]	58 (62)
14		299 – 300 (295) [210]	65

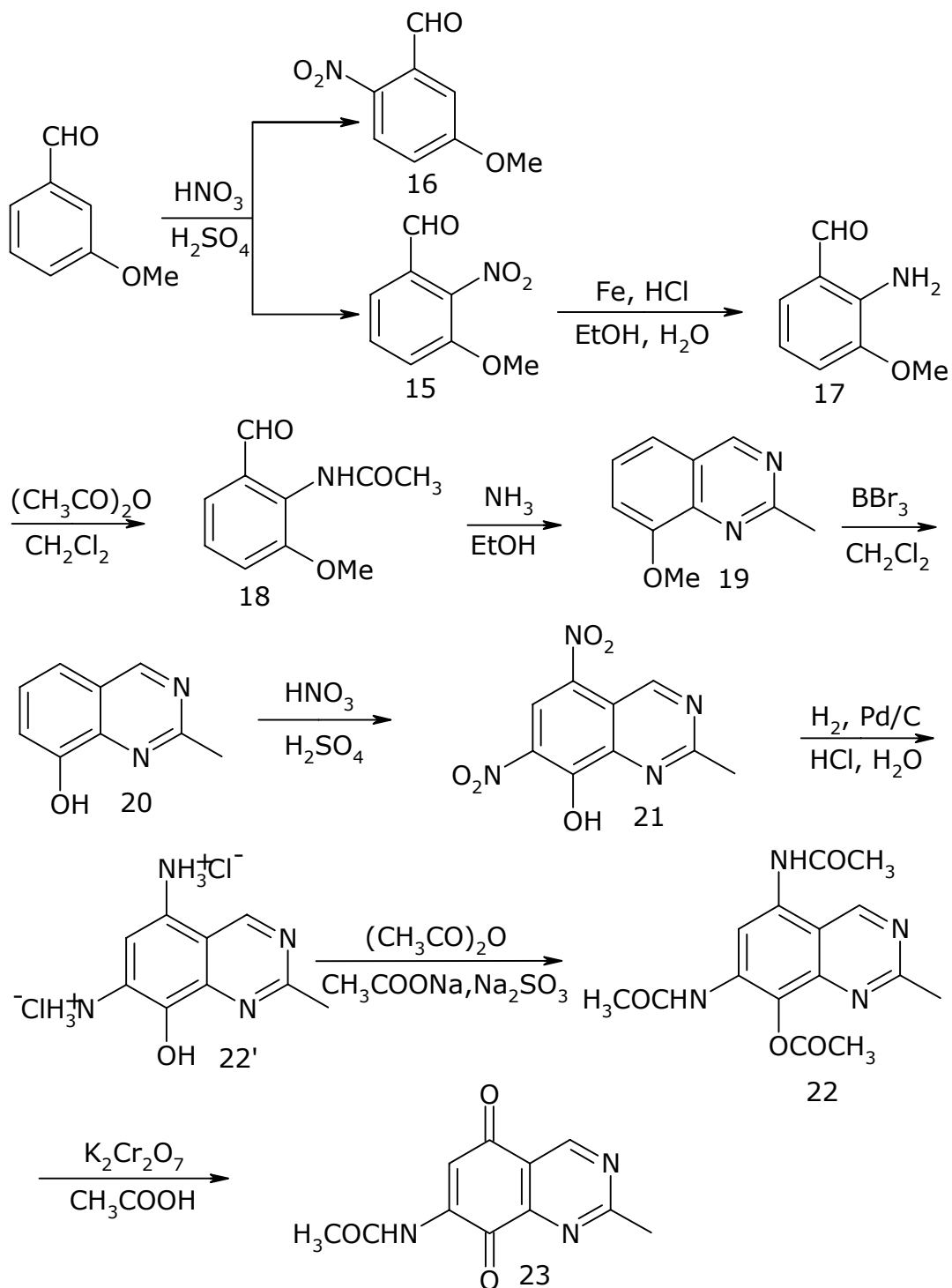
Tabela 4.8. Pochodne 2-metylochinazoliny.

4.2.2. Pochodne 8-hydroksy-2-metylochinazoliny

Wieloetapowa synteza obejmuje następujący ciąg reakcji (**Rys. 4.13.**):

- nitrowanie aldehydu 3-metoksybenzoesowego;
- redukcja grupy nitrowej do grupy aminowej w aldehydzie 3-metoksy-2-nitrobenzoesowym;
- acylowanie grupy aminowej 2-amino-3-metoksybenzaldehydu;
- synteza 8-metoksy-2-metylochinazoliny;
- synteza 8-hydroksy-2-metylochinazoliny;

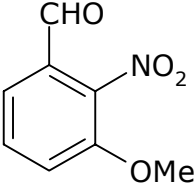
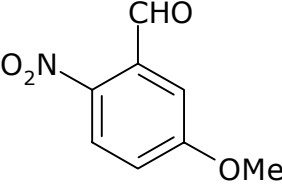
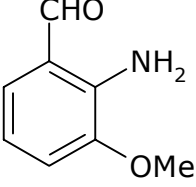
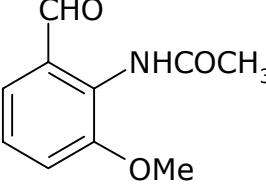
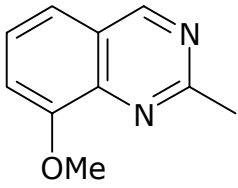
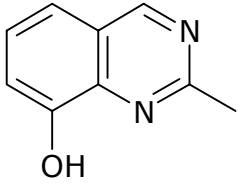
- f) nitrowanie 8-hydroksy-2-metylochiazoliny;
 g) redukcja grup nitrowych 8-hydroksy-2-metylo-5,7-dinitrochiazoliny;
 h) acylowanie grup aminowych 5,7-diamino-8-hydroksy-2-metylochiazoliny;
 i) utlenianie 5,7-diacetamido-8-acetoksy-2-metylochiazoliny.



Rys. 4.13. Synteza pochodnych 8-hydroksy-2-metylochiazoliny.

Reakcję nitrowania aldehydu 3-metoksybenzooesowego przeprowadzono poprzez wkraplanie aldehydu do mieszaniny nitrującej. Mieszaninę reakcyjną chłodzono w łaźni lodowej, a powstałą mieszaninę izomerów rozdzielono poprzez krystalizację z benzenu. Z nasyconego roztworu krystalizuje 3-metoksy-2-nitrobenzaldehyd (**15**), który odsączono i wysuszono na powietrzu. Przesącz, zawierający 5-metoksy-2-nitrobenzaldehyd (**16**), odparowano do sucha na wyparce obrotowej, a pozostały osad przekrystalizowano z etanolu [199 - 201]. Kolejnym etapem jest redukcja grupy nitrowej do grupy aminowej w aldehydzie 3-metoksy-2-nitrobenzooesowym (**15**). Zastosowanym reduktorem było żelazo w obecności kwasu solnego. Użycie metalicznego żelaza pozwala na selektywną redukcję grupy nitrowej. W takich warunkach reakcji grupa aldehydowa zostaje zachowana [184, 186, 207, 209]. Otrzymany 2-amino-3-metoksybenzaldehyd (**17**) rozpuszczono następnie w chlorku metylenu i poddano acylowaniu za pomocą bezwodnika octowego. Reakcję prowadzono w temperaturze pokojowej [196]. W reakcji cyklizacji 2-acetamido-3-metoksybenzaldehydu (**18**) otrzymano 8-metoksy-2-metylochinasolinę (**19**). Reakcję prowadzono w nasyconym, etanolowym roztworze amoniaku w temperaturze pokojowej [197]. 8-Hydroksy-2-metylochinasolinę (**20**) otrzymano poprzez rozszczepienie wiązania eterowego w 8-metoksy-2-metylochinasolinie (**19**) (demetylowanie) w obecności tribromku boru, który pozwala na prowadzenie reakcji w łagodnych warunkach. Reakcję prowadzono w atmosferze azotu [149, 150, 192]. Powyższe etapy syntezy zostały wcześniej opisane w literaturze chemicznej. W kolejnych etapach zaadaptowana została procedura opisana w syntezie 7-amino-2-metylochinolino-5,8-dionu, który jest produktem pośrednim w kilkietapowej syntezie lawendamyminy [117, 118]. Reakcję nitrowania 8-hydroksy-2-metylochinasoliny (**20**) przeprowadzono przy użyciu mieszaniny stężonych kwasów: azotowego(V) i siarkowego(VI). Mieszaninę reakcyjną chłodzono w łaźni lodowej. Produktem reakcji jest 8-hydroksy-2-metylo-5,7-dinitrochinazolina (**21**). Redukcję otrzymanego związku nitrowego przeprowadzono przez katalityczną hydrogenację za pomocą gazowego wodoru. Zastosowano katalizator palladowy (10 % na węglu). Reakcję redukcji prowadzono w roztworze kwasu solnego. W takich warunkach amina powstała w postaci soli amoniowej (**22'**), którą od razu poddano acylowaniu za pomocą bezwodnika kwasu octowego. Reakcję prowadzono w obecności octanu sodu i siarczanu(IV) sodu. Produktem acylowania jest 5,7-diacetamido-8-acetoksy-2-

metylochinasolina (**22**). W wyniku reakcji utleniania 5,7-diacetamido-8-ace-
toksy-2-metylochinasoliny (**22**) otrzymano 7-acetamido-2-metylochinasolin-
5,8-dion (**23**). Reakcję przeprowadzono w środowisku kwasu octowego. Za-
stosowanym utleniaczem był dichromian(VI) potasu w postaci roztworu wod-
nego, który wkraplano do mieszaniny reakcyjnej. Dane dotyczące produktów
pośrednich oraz otrzymanych pochodnych 8-hydroksy-2-metylochinasoliny
przedstawione zostały w **tabeli 4.9**. Związki **21 – 23** są związkami nowymi.

Nr	Związek	Temperatura top- nienia (literaturo- wa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wy- dajność reakcji) [%]
15		94 – 98 (94 – 98) [200]	47,5
16		83 – 84 (82 – 83) [200]	42
17		102 (102) [186]	91
18		156 (156) [196]	51
19		129 (131 – 132) [197]	87
20		160 (154 – 158) [150]	90 (74)

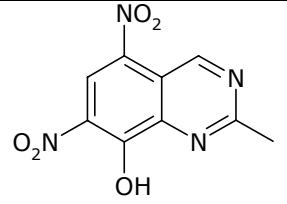
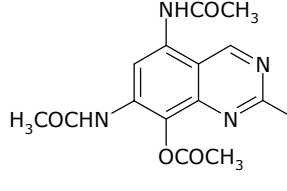
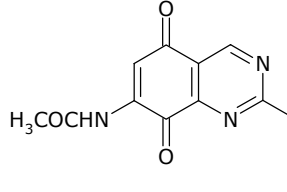
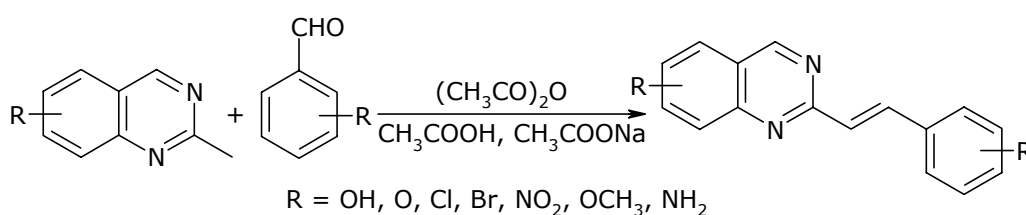
21		250 rozkład	85
22		274 – 276 rozkład	50
23		210 rozkład	80

Tabela 4.9. Produkty pośrednie i pochodne 8-hydroksy-2-metylochinazolinu.

4.2.3. Związki styrylochinazolinowe

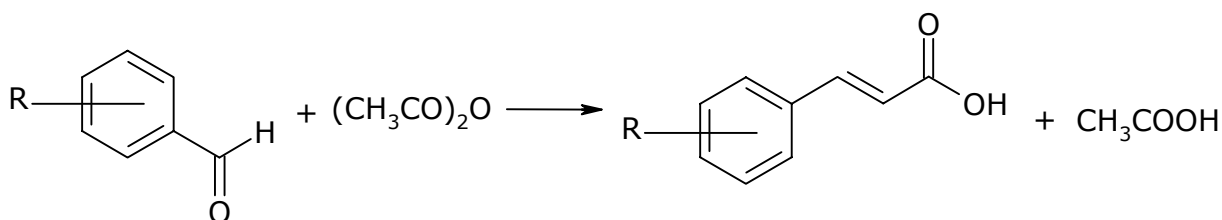
Wszystkie otrzymane pochodne chinazolinowe zawierają w pozycji 2 grupę metylową. Mogą one być wykorzystane jako substraty do otrzymywania związków styrylochinazolinowych. Synteza związków styrylochinazolinowych polega na reakcji kondensacji pochodnej 2-metylochinazolinowej z aldehydem aromatycznym (**Rys. 4.14.**).



Rys. 4.14. Synteza pochodnych styrylochinazolinowych.

W opisanych w literaturze metodach syntezy związków styrylowych reakcje kondensacji prowadzono w bezwodniku octowym lub w kwasie octowym w obecności octanu sodu [190]. Reakcje kondensacji często nie przebiegają zgodnie z oczekiwaniami, ich wydajność jest mała, a powstające produkty są trudne do wyizolowania i oczyszczenia ze względu na powstające liczne pro-

dukty uboczne [62 – 64]. W przypadku reakcji prowadzonej w bezwodniku octowym dodatkowym zanieczyszczeniem jest pochodna kwasu cynamonowego, która powstaje w wyniku kondensacji aldehydu aromatycznego i bezwodnika octowego (kondensacja Knoevenagela) (**Rys. 4.15.**).



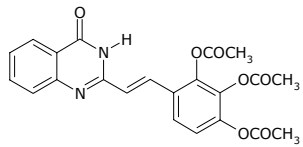
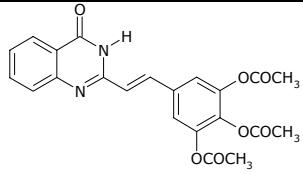
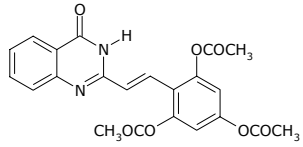
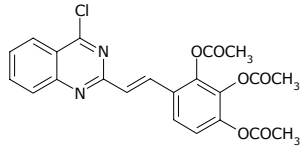
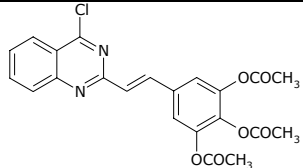
Rys. 4.15. Kondensacja Knoevenagela.

Dobre wyniki syntezy związków styrylochinazolinowych przyniosło zmodyfikowanie metody poprzez przeprowadzanie kondensacji w mieszaninie kwasu octowego i bezwodnika octowego w obecności octanu sodu [190]. Pochodne styrylochinazolinowe **11a**, **12a** i **14a** otrzymano z 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu (**11**), 4-chloro-2-metylochinazolinu (**12**) i 2-metylo-6-nitro-3*H*-chinazolin-4-onu (**14**). **Tabela 4.10.** przedstawia dane dotyczące nowych związków otrzymanych w oparciu o powyższą metodę.

Nr	Związek	Temperatura topnienia [°C]	Wydajność reakcji [%]
11a		317 - 319	35
12a		234 - 236	60
14a		322 - 325	54

Tabela 4.10. Związki styrylochinazolinowe.

Synteza pochodnych styrylochinazolinowych **11b** – **11d** i **12b** – **12d**, do otrzymania których używano polihydroksylowych aldehydów aromatycznych, wymagała dalszej modyfikacji opisanej poprzednio procedury. Koniecznym okazało się zabezpieczenie funkcji hydroksylowych aromatycznych grup aldehydu poprzez ich zacylowanie i dopiero w takiej postaci aldehyd mógł być dodawany do wrzącej mieszaniny reakcyjnej. Brak wcześniejszego zabezpieczenia grup hydroksylowych i dodanie aldehydu bezpośrednio do mieszaniny reakcyjnej powodowało rozkład substratów w próbach z zastosowaniem, jako rozpuszczalnika, zarówno czystego bezwodnika octowego, jak i czystego kwasu octowego w obecności octanu sodu oraz mieszaniny obu rozpuszczalników. Nowe związki otrzymane według powyższej procedury przedstawia **tabela 4.11**.

Nr	Związek	Temperatura topnienia [°C]	Wydajność reakcji [%]
11b		227 rozkład	91,5
11c		302 rozkład	31
11d		274 – 276 rozkład	43
12b		192 rozkład	82
12c		305 rozkład	65

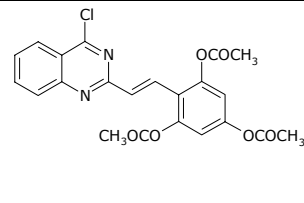
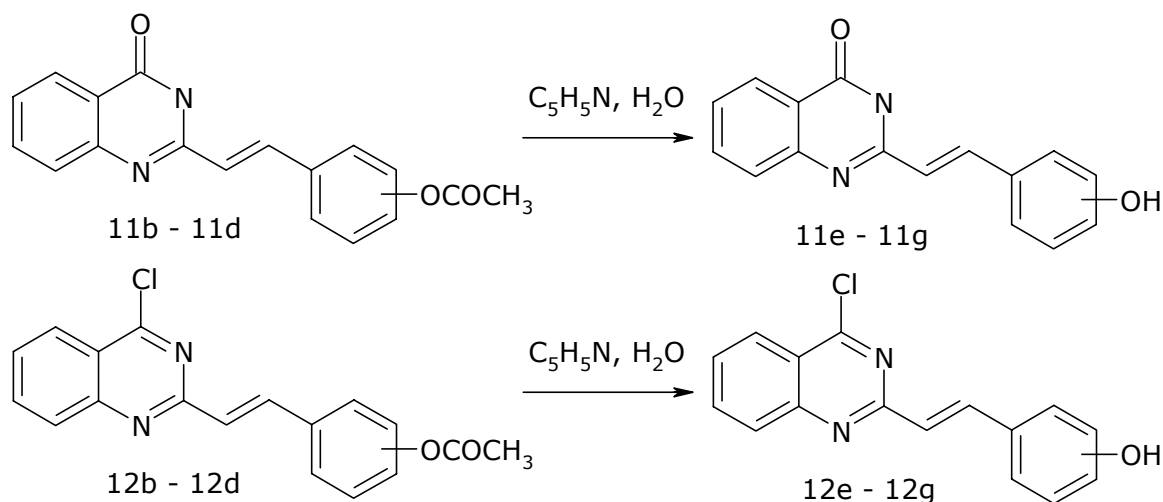
12d		235 rozkład	39
-----	---	----------------	----

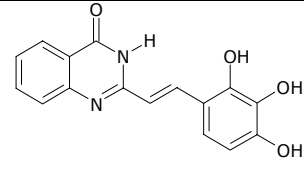
Tabela 4.11. Pochodne styrylochinazolinowe poliacetoilohydroksylowe.

W celu odbezpieczenia grup hydroksylowych otrzymane związki styrylochinazolinowe **11b – 11d** oraz **12b – 12d** poddano hydrolizie (**Rys. 4.16.**). Acylowane pochodne styrylochinazolinowe ogrzewano w pirydynie z dodatkiem wody [149]. W rezultacie otrzymano związki **11e – 11g** i **12e – 12g** z wolnymi grupami hydroksylowymi.



Rys. 4.16. Hydroliza acylowanych pochodnych styrylochinazolinowych.

Temperatury topnienia otrzymanych nowych związków oraz wydajności reakcji przedstawia **tabela 4.12.**

Nr	Związek	Temperatura topnienia [°C]	Wydajność reakcji [%]
11e		300 rozkład	60

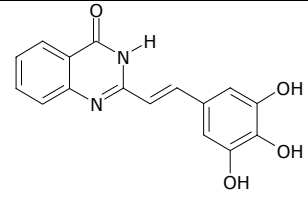
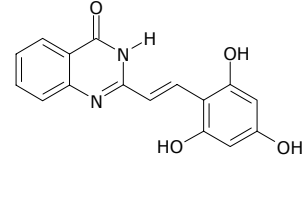
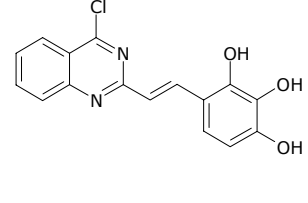
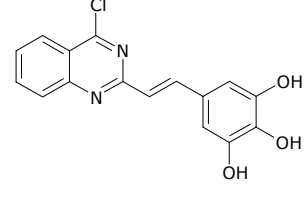
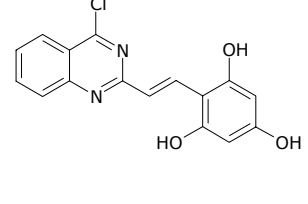
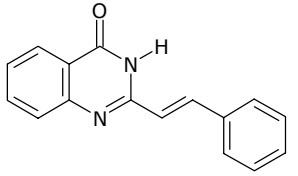
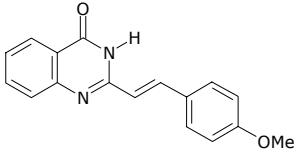
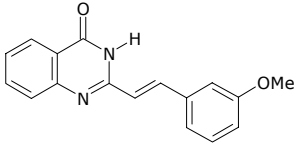
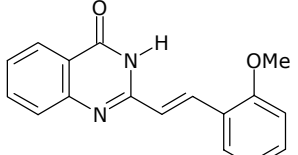
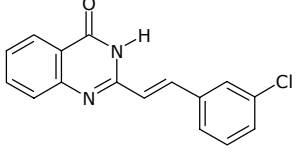
11f		280 rozkład	52
11g		220 rozkład	36
12e		291	62
12f		323	52
12g		270	35

Tabela 4.12. Pochodne polihydroksytyrylochinazolinowe.

Jedną z nowszych metod syntezy związków styrylowych są reakcje przebiegające z zastosowaniem promieniowania mikrofalowego [121]. Syntezy wykorzystujące promieniowanie mikrofalowe można prowadzić z zastosowaniem rozpuszczalnika oraz bezrozsuszczalnikowo [228 – 230]. W przypadku reakcji prowadzonej bezrozsuszczalnikowo można zastosować metodę ogrzewania w masie (*neat synthesis*) [231] oraz metodę ogrzewania substratów osadzonych na nośniku (*solid - phase synthesis*) [232]. W metodzie ogrzewania w masie działaniu promieniowania mikrofalowego poddaje się mieszaninę rozdrobnionych, dobrze wymieszanych ze sobą substratów, które umieszcza się w reaktorze mikrofalowym w otwartym naczyniu np. zlewce lub próbówce. Substraty zazwyczaj ulegają stopieniu, a ogrzewanie często prowadzi się w temperaturze wrzenia substratów. W metodzie ogrzewania substratów osa-

dzonych na nośniku działaniu promieniowania mikrofalowego poddaje się mieszaninę substratów, które wcześniej miesza się z odpowiednim nośnikiem. Jako nośniki mogą być zastosowane: nieorganiczne tlenki (Al_2O_3 , SiO_2), glinki (montmorylonit, bentonit) lub sole nieorganiczne (NaCl , CaCl_2). W celu otrzymania styrylowych związków chinazolinowych **11h** – **11n** i **12h** zastosowano metodę ogrzewania w masie. Sporządzoną mieszaninę pochodnej chinazolinowej **11** lub **12** i aldehydu aromatycznego poddawano działaniu promieniowania mikrofalowego. W wyniku reakcji kondensacji obu substratów otrzymano związki przedstawione w **tabeli 4.13**. Związki **11j**, **11l**, **11m** oraz **11n** są związkami nowymi.

Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wydajność reakcji) [%]
11h		248 (252 – 253) [190]	34 (76)
11i		284 (284 – 285) [190]	32 (27)
11j		198	32
11k		231 – 232 (234 – 236) [190]	82 (80)
11l		275 – 276	57

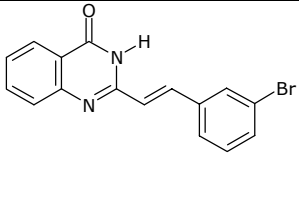
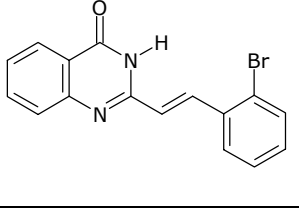
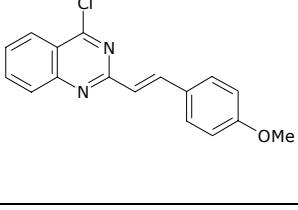
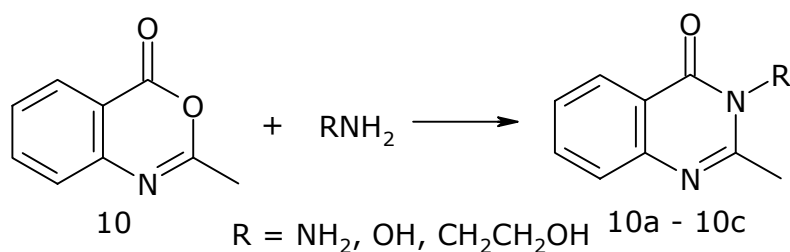
11m		277 - 279	43
11n		282	65
12h		135 (130 - 131) [103]	53

Tabela 4.13. Pochodne styrylochinazolinowe otrzymane z zastosowaniem promieniowania mikrofalowego.

4.2.4. Inne związki zawierające układ chinazolinowy

W reakcji 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**) z hydrazyną, hydroksyloaminą i 2-aminoetanolem otrzymano pochodne 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu **10a – 10c** z podstawnikiem w pozycji 3 (**Rys. 4.17.**). Reakcja pochodnej **10** ze związkami zawierającymi pierwszorzędową grupę aminową zachodzi łatwo w temperaturze pokojowej, a ogrzewanie mieszaniny reakcyjnej przyspiesza cały proces [187, 188, 212].



Rys. 4.17. Synteza pochodnych 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu z podstawnikiem w pozycji 3.

Temperatury topnienia otrzymanych związków oraz wydajności reakcji zestawione są w **tabeli 4.14**.

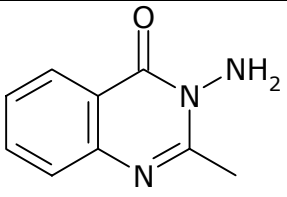
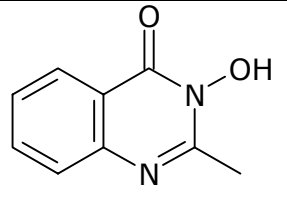
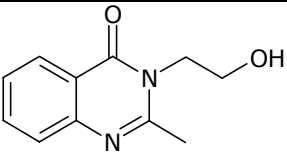
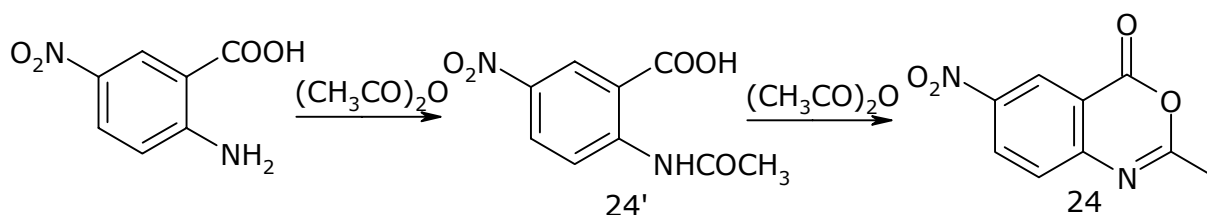
Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wydajność reakcji) [%]
10a		151 (152 - 153)	63 (65)
10b		223 - 225 (223 - 225)	54
10c		154 - 156 (156 - 157)	52

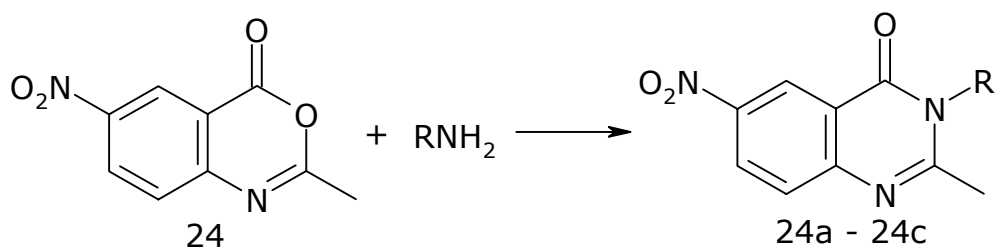
Tabela 4.14. Pochodne 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu z podstawnikiem w pozycji 3.

2-Metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-on (**24**) otrzymano w reakcji kwasu 2-amino-5-nitrobenzoesowego z bezwodnikiem octowym metodą podobną do metody, za pomocą której otrzymano związek **10**. Utworzonym produktem pośrednim jest kwas 2-acetyloamino-5-nitrobenzoesowy (**24'**) (**Rys. 4.18.**). Produkt reakcji jest wrażliwy na wilgoć i przy dłuższym przechowywaniu ulega rozkładowi [220].



Rys. 4.18. Synteza 2-metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-onu.

Związki **24a – 24c**, które są pochodnymi 2-metylo-6-nitro-3*H*-chinazolin-4-onu z podstawnikiem w pozycji 3 powstały w reakcji 2-metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-onu (**24**) z wybranymi pierwszorzędowymi aminami i amidami (**Rys. 4.19.**).



Rys. 4.19. Synteza pochodnych 2-metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-onu z podstawnikiem w pozycji 3.

Tabela 4.15. przedstawia temperatury topnienia i wydajności reakcji 2-metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-onu (**24**) oraz syntezowanych nowych pochodnych z podstawnikiem w pozycji 3 (**24a – 24c**).

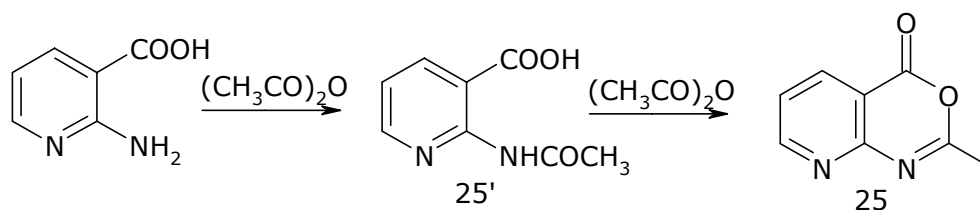
Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji [%]
24		159 (161 – 162)	96
24a		190	52
24b		167	39

24c		180	47
-----	--	-----	----

Tabela 4.15. 2-Metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-on oraz pochodne z podstawnikiem w pozycji 3.

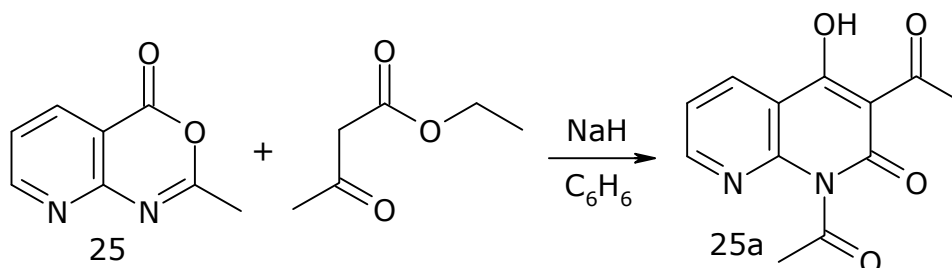
4.3. Synteza związków zawierających układ naftyrydynowy

W reakcji kwasu 2-aminonikotynowego z bezwodnikiem octowym otrzymano 2-metylopirydo-[2,3-*d*][1,3]-oksazyn-4-on (**25**) (**Rys. 4.20.**). Produktem pośrednim tej reakcji jest kwas 2-acetyloaminonikotynowy (**25'**) [78].



Rys. 4.20. Otrzymywanie 2-metylopirydo-[2,3-*d*][1,3]-oksazyn-4-onu.

1,3-Diacetylo-4-hydroksy-1*H*-1,8-naftyrydyn-2-on (**25a**) otrzymano w reakcji 2-metylopirydo-[2,3-*d*][1,3]-oksazyn-4-onu (**25**) i acetylooctanu etylu (**Rys. 4.21.**). Reakcję prowadzono w bezwodnym benzenie w obecności wodoru sodu [214].



Rys. 4.21. Otrzymanie 1,3-diacetylo-4-hydroksy-1*H*-1,8-naftyrydyn-2-onu.

Dane dotyczące temperatur topnienia i wydajności reakcji otrzymanych związków przedstawia **tabela 4.16.**

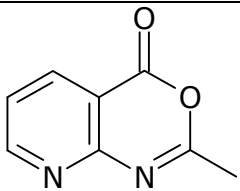
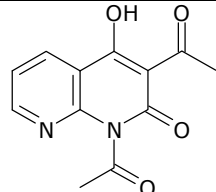
Nr	Związek	Temperatura topnienia (literaturowa temperatura topnienia) [°C]	Wydajność reakcji (literaturowa wydajność reakcji) [%]
25		165 – 166 (165 – 166) [78]	78 (90)
25a		205 (205) [214]	60 (67)

Tabela 4.16. Związki z układem naftyrydynowym.

4.4. Oznaczenia aktywności biologicznej

4.4.1. Aktywność wobec integrazy HIV

Oznaczenia aktywności otrzymanych związków wobec integrazy HIV były przeprowadzone w Laboratoire de Biotechnologies et Pharmacologie Génétique Appliquée, Ecole Normale Supérieure w Cachan we Francji. Oznaczenia biologiczne prowadzi się wobec wyizolowanej integrazy i krótkich oligonukleotydów, które symulują końce wirusowego DNA [81, 84, 86, 252]. W środowisku badania konieczna jest obecność dwudodatnich kationów metali takich jak Mg^{2+} lub Mn^{2+} . Okazuje się, że wybór metalu, którego kationy są obecne w oznaczeniach, ma duże znaczenie. Wykazano, że niektóre inhibitory charakteryzują się selektywną aktywnością tylko wobec jednego z nich. Ponadto zauważono, że związki aktywne w obecności kationu Mn^{2+} wykazują dużą cytotoxiczność i często bywają nie aktywne w badaniach *in vivo* [70, 86]. Pierwsza część oznaczenia polega na znakowaniu przy pomocy radionuklidu ^{32}P oligonukleotydu złożonego z 21 merów na 5' końcu. Pod wpływem działania integrazy uwalniane są oligonukleotydy składające się z 19 merów oraz łańcuchy dłuższe niż 21 nukleotydowe. Powstałe w ten sposób oligonukleotydy można łatwo oddzielić od wyjściowych, wykorzystując elektroforezę. Opracowano także metody, w których wykorzystuje się wiązanie nukleotydów na nośnikach i

zastosowanie substratów DNA znakowanych biotyną, co umożliwia wysoko-przepustowe oznaczenia przesiewowe (*High Throughput Screenig*). W analogiczny sposób przeprowadza się oznaczenie aktywności w obecności badanego związku wobec próby nie zawierającej potencjalnego inhibitora. Oznaczoną aktywność przedstawia się jako wartość IC_{50} to znaczy stężenie inhibitora, jakie jest konieczne dla zmniejszenia aktywności enzymu o 50 %. Wartość tę wyznacza się przeprowadzając odpowiednie oznaczenia dla kilku stężeń potencjalnego inhibitora i odczytując wynik ze sporządzonego wykresu. Oznaczenia *in vitro* są wykonywane w środowisku jonów Mg^{2+} ($MgCl_2$, $c = 7,5 \text{ mM/dm}^3$), przy pH równym 6,8. Próbkę zawierającą 10 nM integrazy i 10 nM substratów DNA inkubowane są w temperaturze 37 °C.

4.4.2. Aktywność przeciwproliferacyjna

Oznaczanie aktywności przeciwnowotworowej było prowadzone wobec ludzkich nowotworowych komórek nabłoniaka nerwowego szeregu SK-N-MC. Badania przeprowadzono w Children's Cancer Institute w Sydney w Australii. Komórki zostały posiane na mikroplątce z 96 studzienkami w ilości $1,5 \cdot 10^4$ komórek na studzienkę. Środowisko badania zawierało ludzką dwuferryiczną transferynę w stężeniu $0,06 \text{ mg/cm}^3$ oraz badany związek w stężeniach od 0,0 do $6,25 \text{ }\mu\text{M}$. Próba kontrolna zawierała tylko dwuferryiczną transferynę w stężeniu $0,06 \text{ mg/cm}^3$ bez jakichkolwiek ligandów. Komórki były inkubowane w temperaturze 37 °C w wilgotnej atmosferze zawierającej 5 % dwutlenku węgla i 95 % powietrza przez 96 godzin. Po inkubacji do każdej studzienki zostało dodane 10 μl 1-(4,5-dimetylotiazol-2-yl)-2,5-difenyloctetrazolu (MTT) o stężeniu 5 mg/cm^3 , następnie płytki inkubowano w temperaturze 37 °C przez 2 godziny. Po rozcieńczeniu zawartości każdej studzienki za pomocą 100 μl mieszaniny 10 % dodecylosiarczanu sodu – 50 % izobutanolu w roztworze kwasu solnego o stężeniu $0,01 \text{ mol/dm}^3$ została zbadana absorbanca roztworu z każdej studzienki na spektrofotometrze przy długości fali wynoszącej 570 nm. Wartość IC_{50} inhibitora została wyznaczona przy stężeniu niezbędnym do zmniejszenia absorbancaji o 50 % w stosunku do próby kontrolnej, nie zawierającej badanego związku [253].

5. PODSUMOWANIE

Praca stanowi kontynuację wcześniej prowadzonych z Zakładzie Chemii Organicznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego badań dotyczących poszukiwania, projektowania oraz syntezy inhibitorów integrazy wirusa HIV. Większość poprzednio badanych związków stanowiły pochodne chinoliny. Niniejsza praca rozszerza bibliotekę badanych związków o inne pochodne azanaftalenowe, w szczególności związki chinazoliny.

1. Ogółem otrzymano 66 związków stanowiących produkty przejściowe, prekursorzy oraz produkty główne, w tym 36 związków dotychczas nieopisanych w literaturze chemicznej. Ogólna liczba otrzymanych związków z układem azanaftalenowym wynosi 59, w tym 19 pochodnych chinolinowych, 38 chinazolinowych i 2 pochodne 1,8-naftyrydynowe, 11 amidów oraz 23 pochodne styrylowe.
2. Wykorzystując zależności między strukturą i aktywnością (SAR) ustalone we wcześniejszych pracach, zaprojektowano szereg nowych fragmentów molekularnych o potencjalnej aktywności wobec integrazy wirusa HIV. Zarówno same fragmenty molekularne, jak i dotychczas przetestowane pochodne nie wykazują jednak istotnej aktywności wobec integrazy HIV.
3. Przeprowadzone analizy wykazują także, że acetamidochinazolino-5,8-dion, analog chinolinodionu o wysokiej aktywności względem integrazy HIV, inaczej niż macierzysty związek chinolinowy nie wykazuje spodziewanej aktywności.
4. Obserwowane zależności między strukturą i aktywnością (SAR) wskazują, że obecność drugiego atomu azotu w heterocyklicznym pierścieniu chinoliny pogarsza podatność związków na oddziaływanie z integrazą wirusa HIV. Efekt ten przypisać należy prawdopodobnie obniżeniu zasadowości chinolinowego atomu azotu w obecności atomu azotu w pozycji 3.
5. W wyniku przeprowadzonych prac wykazano, że chinazolinowy fragment molekularny nie stanowi obiecującego motywu nowych inhibitorów integrazy HIV, a aktywność poprzednio syntezowanych styrylowych pochodnych chinazoliny przypisać należy obecności układu katecholowego.

6. Podobieństwo do zasad azotowych czyni związki chinazolinowe ciekawym obiektem modyfikacji związków chinolinowych o aktywności antyproliferacyjnej. Faktycznie jedna z testowanych styrylowych pochodnych chinazoliny wykazała wysoką aktywność przeciwnowotworową. W oparciu o wcześniejsze dane zaprojektowano nowy szereg połączeń jako potencjalnych bioefektorów o działaniu antyproliferacyjnym.

6. CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

6.1. Sprzęt wykorzystany w syntezach

Wszystkie syntezy zostały przeprowadzone z wykorzystaniem standardowego sprzętu szklanego i metalowego, który stanowi wyposażenie laboratorium. Syntezy mikrofalowe przeprowadzono z wykorzystaniem domowej kuchni mikrofalowej Electrolux EMS2820 oraz reaktora mikrofalowego Plazmatronika RM 800.

6.2. Pomiary instrumentalne

Temperatury topnienia otrzymanych związków oznaczono przy pomocy aparatu Boëtiusa (VEB Analytik). Widma ^1H NMR zostały wykonane w Pracowni Magnetycznego Rezonansu Jądrowego Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk w Łodzi na spektrometrze Bruker 200 MHz lub 500 MHz. Analizy elementarne związków wykonano w Katedrze Chemii i Technologii Nieorganicznej Politechniki Śląskiej w Gliwicach na automatycznym analizatorze elementarnym CHNS Perkin Elmer 2400 seria II.

6.3. Chromatografia

Czystość związków badano z wykorzystaniem technik chromatografii cienkowarstwowej (TLC), do której stosowano płytki pokryte tlenkiem krzemu lub tlenkiem glinu z indykatorem UV firmy Fluka, Merck i Aldrich - Sigma.

6.4. Odczynniki używane do syntez

POCH S. A.: aceton, aldehyd benzoesowy, aldehyd 3-chlorobenzoesowy, aldehyd tereftalowy, 2-aminoetanol, anilina, benzen, bezwodnik octowy, chlorek cynku bezwodny, chlorek metylenu, chlorek wapnia bezwodny, chloroform, chlorowodorek hydroksyloaminy, dichromian(VI) potasu, dimetyloformamid, etanol, eter dietylowy, heksan, heptan, kwas azotowy(V) 65 %, kwas octowy 99,5 %, kwas siarkowy(VI) 98 %, kwas solny 35 – 38 %, metanol, N,N-dimetyloanilina, octan etylu, octan sodu bezwodny, pirydyna, propan-2-ol,

toluen, siarczan(VI) magnezu bezwodny, siarczan(IV) sodu bezwodny, siarczan(VI) sodu bezwodny, węglan sodu bezwodny, woda amoniakalna 25 %, wodorotlenek potasu, wodorotlenek sodu, wodorowęglan sodu, wodzian hydrazyny 80 %, żelazo. **Fluka:** aldehyd 2-bromobenzoesowy, aldehyd 3-bromobenzoesowy, aldehyd 2-metoksybenzoesowy, aldehyd 3-metoksybenzoesowy, aldehyd 4-metoksybenzoesowy, 2,4,6-trihydroksybenzaldehyd, 8-hydroksy-2-metylocholinolina, kwas antranilowy, tlenochlorek fosforu. **Sigma – Aldrich:** acetylooctan etylu, aldehyd 2,3,4-trihydroksybenzoesowy, aldehyd 3,4,5-trihydroksybenzoesowy, aldehyd krotonowy, 2-amino-N-metyloetanol, N,N-dicykloheksylokarbodiimid, eter difenylowy, 4-fluorobenzylamina, N-(4-fluorobenzyl)-N-metyloamina, kwas 4-amino-2-hydroksybenzoesowy, kwas 2-aminonikotynowy, kwas 2-amino-5-nitrobenzoesowy, malonian dietylu, ortomrówczan etylu, tribromek boru, wodorek sodu. **International Enzymem Limitem:** 10 % pallad na węglu.

6.5. Oczyszczanie i przygotowanie rozpuszczalników i odczynników

Odczynniki i rozpuszczalniki stosowane do syntez (benzen, chlorek metylenu, metanol, etanol, bezwodnik octowy, roztwór amoniaku w etanolu) oczyszczano i przygotowywano według standardowych przepisów literaturowych [225 – 227].

6.6. Przeprowadzone syntezy

6.6.1. Synteza związków zawierających układ chinolinowy

6.6.1.1. Kwas 8-hydroksy-2-metylocholinolino-7-karboksylowy (1) [223, 224]

W kolbie trój szyjnej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, termometr i chłodnicę zwrotną z aparatem Dean-Starka sporządza się mieszaninę 10 g (0,0628 mola) 8-hydroksy-2-metylocholinoliny, 45 cm³ toluenu i 3,75 g (0,0668 mola) wodorotlenku potasu. Mieszaninę ogrzewa się w łaźni olejowej przez 24 godziny, następnie po ochłodzeniu do około 20 °C do mieszaniny dodaje się 33 cm³ dimetyloformamidu (DMF). Aparat Dean-Starka

zastępuje się kolumną destylacyjną połączoną z chłodnicą i mieszaninę ogrzewa się oddestylowując większość toluenu. Gdy temperatura mieszaniny osiągnie 140 °C za pomocą kapilary rozpoczyna się przepuszczanie strumienia dwutlenku węgla. Ogrzewanie i oddestylowywanie toluenu kontynuuje się do momentu, gdy temperatura mieszaniny reakcyjnej osiągnie 150 – 160 °C. W takiej temperaturze strumień dwutlenku węgla przepuszcza się przez 2 godziny. Następnie mieszaninę reakcyjną ochładza się do około 20 °C, odłącza strumień dwutlenku węgla i dodaje 82 cm³ wody, po czym mieszaninę zobojętnia się stężonym kwasem solnym do uzyskania pH ~ 7 i ekstrahuje octanem etylu. Fazę wodną zakwasza się następnie kwasem solnym do uzyskania pH = 4,2. Wytrącony żółty osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem i suszy na powietrzu. Produkt dwukrotnie krystalizuje się z propan-2-olu i suszy pod zmniejszonym ciśnieniem w temperaturze 100 °C. W reakcji powstało 2,65 g żółtego, krystalicznego produktu o temperaturze topnienia 206 – 208 °C (literaturowa temperatura topnienia 207 – 208 °C). Wydajność reakcji wyniosła 21 %.

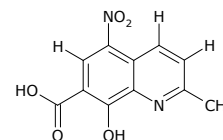
6.6.1.2. Kwas 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksyłowy (2) [147]

W kolbie trójszyjnej o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr i mieszadło magnetyczne przygotowuje się mieszaninę 11 cm³ stężonego kwasu azotowego(V) i 4,5 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI). Zawartość kolby miesza się i chłodzi w łaźni lodowej do osiągnięcia temperatury poniżej 10 °C. Następnie do mieszaniny nitrującej dodaje się małymi porcjami 1,02 g (0,005 moli) kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego (**1**) kontrolując jednocześnie temperaturę, tak by nie przekroczyła 10 °C. Po dodaniu ostatniej porcji kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego mieszaninę chłodzi się w łaźni lodowej ciągle mieszając przez 2 godziny. Po tym czasie zawartość kolby przelewa się do zlewki o pojemności 1 dm³, w której znajdowało się 250 cm³ wody oraz 250 g lodu. Całość energicznie miesza się w ciągu kilku minut, a powstały żółtopomarańczowy osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa kilkakrotnie wodą z lodem, następnie 150 cm³ eteru dietylowego i suszy na powietrzu. W

reakcji powstało 0,53 g produktu o temperaturze topnienia 260 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 42,5 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,92 (s, 3H, CH₃); 8,11 (d, J = 8,1 Hz, 1H, Ar-H); 8,95 (s, 1H, Ar-H); 9,59 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	53,48	3,21
Wartość obliczona	53,23	3,25

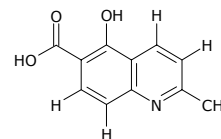


6.6.1.3. Kwas 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowy (3) [112, 206]

W kolbie trój szyjnej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr, mieszadło magnetyczne i wkraplacz umieszcza się 60 cm³ stężonego kwasu solnego, 60 cm³ lodowatego kwasu octowego oraz 3,83 g (0,025 mola) kwasu 4-amino-2-hydroksybenzoesowego. Całość miesza się i ogrzewa w łaźni olejowej utrzymując temperaturę około 100 °C. Do gorącej mieszaniny wkrapla się 8,2 cm³ (7 g, 0,1 mola) aldehydu krotonowego. Podczas dodawania aldehydu zawartość kolby musi być intensywnie mieszana, a aldehyd wkrapla się możliwie szybko, gdyż powolne dodawanie prowadzi do dużych strat z powodu rozkładu. Ponadto wkraplanie przeprowadza się uważnie ze względu na możliwość intensywnego wrzenia i pienia mieszaniny reakcyjnej. Po wdropleniu całej ilości aldehydu mieszaninę reakcyjną utrzymuje się w stanie wrzenia przez 45 minut. W reakcji powstaje pewna ilość trudno rozpuszczalnego osadu, stanowiącego produkty uboczne i pochodzące z rozkładu. Ze względu na straty na tym etapie nie trzeba go oddzielać. Po ochłodzeniu do mieszaniny dodaje się stężony roztwór wodorotlenku sodu do momentu prawie całkowitego rozpuszczenia początkowo wytrącającego się osadu, aż do uzyskania wyraźnie zasadowego odczynu mieszaniny. Część nierozpuszczalną odsącza się, a roztwór zakwasza kwasem solnym do uzyskania pH około 3,5 - 4. Przy takiej wartości pH wytrąca się produkt reakcji, który odsącza się, przemywa zimną wodą i suszy na powietrzu. Bardzo czysty produkt reakcji uzyskuje się przez ekstrakcję w aparacie Soxhleta z zastosowaniem wody jako ekstrahenta. W reakcji powstało 4 g żółtobieżowego produktu o temperaturze topnienia 230 - 235 °C (literaturowa temperatura topnienia 230 - 235 °C). Wydajność reakcji wyniosła 79 % (wydajność literaturowa 68 %).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,82 (s, 3H, CH₃); 7,32 (d, J = 8,85 Hz, 1H, Ar-H); 7,58 (d, J = 8,55 Hz, 1H, Ar-H); 8,2 (d, J = 8,9 Hz, 1H, Ar-H); 8,9 (d, J = 8,55 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	59,80	5,44
Wartość obliczona [\cdot H ₂ O]	59,73	5,01

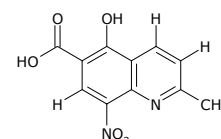


6.6.1.4. Kwas 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowy (4) [146]

W kolbie trójszyjnej sercowej o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, mieszadło magnetyczne, termometr i wkraplacz rozpuszcza się 1,524 g (0,0075 mola) kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3**) w 7 cm³ lodowatego kwasu octowego. Osobno przygotowuje się mieszaninę 3,6 cm³ stężonego kwasu azotowego(V) z 3,6 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI). Zawartość kolby miesza się i do roztworu wkrapla wcześniej przygotowaną mieszaninę nitrującą. Po dodaniu mieszaniny nitrującej całość ogrzewa się ostrożnie w łaźni olejowej przez 15 minut w temperaturze 50 °C. Po zakończonym ogrzewaniu gorącą mieszaninę reakcyjną wylewa się do zlewki z lodem. Powstały pomarańczowy osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa zimną wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 1,08 g produktu o temperaturze topnienia 183 – 186 °C (literaturowa temperatura topnienia 183 – 186 °C). Wydajność reakcji wyniosła 58 % (wydajność literaturowa 44 %).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,95 (s, 3H, CH₃); 7,91 (d, J = 8,45 Hz, 1H, Ar-H); 9,01 (d, J = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 9,06 (s, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	49,18	3,17
Wartość obliczona [\cdot H ₂ O]	49,62	3,79



6.6.1.5. Ester dietylowy kwasu 2-etoksymetylenomalonowego (5) [215, 216]

W kolbie trójszyjnej o pojemności 500 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr i mieszadło magnetyczne umieszcza się 76 cm³ (80,09 g,

0,5 mola) malonianu dietylu, 83 cm³ (74,1 g, 0,5 mola) ortomrówczanu etylu, 95 cm³ (102,09 g, 1 mol) bezwodnika octowego i 1 g bezwodnego chlorku cynku. Zawartość kolby ogrzewa się w łaźni olejowej przez 6,5 godziny, mieszanina osiąga temperaturę 104 – 113 °C. Po tym czasie chłodnicę zwrotną zastępuje się krótką kolumną połączoną z chłodnicą destylacyjną. Destylację prowadzi się do momentu, aż temperatura zawartości kolby podniesie się do 124 °C. Następnie do mieszaniny dodaje się 42 cm³ (37,5 g, 0,25 mol) ortomrówczanu etylu, 47 cm³ (51,05 g, 0,5 mol) bezwodnika octowego i destylację kontynuuje się do osiągnięcia przez mieszaninę reakcyjną temperatury 130 °C. Po ogrzewaniu mieszaninę reakcyjną pozostawia się na 18 godzin w temperaturze pokojowej i po tym czasie do mieszaniny dodaje się 125 cm³ eteru dietylowego i 150 cm³ wody. Mieszaninę wytrząsa się, oddziela warstwę organiczną, którą suszy się bezwodnym siarczanem(VI) magnezu. Eter dietylowy usuwa się na wyparce obrotowej, a surowy produkt poddaje się destylacji próżniowej zbierając frakcję wrzącą w temperaturze 150 °C / 12 mmHg (literaturowa temperatura wrzenia 109 – 111 °C / 0,9 mmHg). W reakcji powstało 73,53 g ciekłego, oleistego produktu o barwie słomkowej. Wydajność reakcji wyniosła 68 % (wydajność literaturowa 72 %).

6.6.1.6. Ester dietylowy kwasu 2-fenyloaminometylenomalonowego (6) [211]

W kolbie trój szyjnej o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, zestaw do wprowadzania gazu obojętnego i chłodnicę destylacyjną umieszcza się 32,44 g (0,15 mola) estru dietylowego kwasu 2-etoksymetylenomalonowego **(5)** i 13,7 cm³ (13,97 g, 0,15 mola) aniliny. Zawartość kolby ogrzewa się w łaźni olejowej i jednocześnie oddestylowuje powstający w reakcji etanol. W celu szybszego usuwania etanolu przez mieszaninę reakcyjną przepuszcza się strumień azotu. Ogrzewanie prowadzi się do momentu zaniku powstawania etanolu. Po ochłodzeniu pozostały w kolbie brązowy olej zestala się. Surowy produkt krystalizuje się z etanolu i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 31 g produktu o temperaturze topnienia 47 - 48 °C (literaturowa temperatura topnienia 50 °C). Wydajność reakcji wyniosła 78,5 % (wydajność literaturowa 83 %).

6.6.1.7. Ester etylowy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowego (7) [218, 219]

W kolbie trójszyjnej o pojemności 500 cm³, zaopatrzonej w długą chłodnicę powietrzną i zestaw do wprowadzania gazu obojętnego umieszcza się 330 cm³ eteru difenyłowego. Zawartość kolby ogrzewa się do wrzenia i przez chłodnicę powietrzną dodaje się porcjami 30,02 g (0,114 mola) stopionego estru dietylowego kwasu 2-fenyloaminometylenomalonowego **(6)**. Ogrzewanie prowadzi się do momentu, kiedy przestaje powstawać etanol. W celu szybszego usuwania etanolu przez mieszaninę reakcyjną przepuszcza się strumień azotu. Po ochłodzeniu zawartości kolby do mieszaniny reakcyjnej dodaje się 660 cm³ heksanu. Wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa heksanem i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 19,57 g białego produktu o temperaturze topnienia 270 °C (literaturowa temperatura topnienia 271 - 273 °C). Wydajność reakcji wyniosła 79 % (wydajność literaturowa 95,5 %).

6.6.1.8. Kwas 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowy (8) [217]

W kolbie o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną rozpuszcza się 18 g (0,0829 mola) estru etylowego kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksyłowego **(7)** w 120 cm³ 10 % roztworu wodorotlenku sodu. Mieszaninę ogrzewa się przez 2 godziny. Po tym czasie zawartość kolby ochładza się i sączy pod zmniejszonym ciśnieniem, a do przesączu dodaje się kwas solny do momentu wytrącania całości osadu. Osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa wodą, krystalizuje z kwasu octowego i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 14,89 g produktu z wydajnością 95 % (wydajność literaturowa 97 %). Temperatura topnienia produktu wyniosła 269 °C (literaturowa temperatura topnienia 266 - 267 °C).

6.6.1.9. Procedura ogólna otrzymywania amidów kwasów chinolino-karboksyłowych [110, 128]

W kolbie trójszyjnej sercowej o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia, wkraplacz, termometr i miesza-

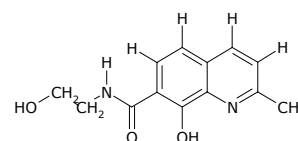
dło magnetyczne umieszcza się 0,0015 mola odpowiedniego kwasu chinolino-karboksyłowego, 10 cm³ bezwodnego chlorku metylenu oraz 0,37 g (0,0018 mola) N,N-dicykloheksylokarbodiimidu (DCC), rozpuszczonego uprzednio w 5 cm³ bezwodnego chlorku metylenu. Mieszaninę reakcyjną miesza się przez 30 minut w temperaturze pokojowej, a następnie ochładza w łaźni lodowej do temperatury 0 °C. W takiej temperaturze wkrapla się roztwór 0,0017 mola aminy rozpuszczonej w 5 cm³ bezwodnego chlorku metylenu i całość miesza przez 30 minut utrzymując temperaturę 0 °C. Mieszanie kontynuuje się jeszcze przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Powstały osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa chlorkiem metylenu, 5 % roztworem wodorowęglanu sodu, wodą, eterem dietylowym i suszy na powietrzu.

6.6.1.9.1. Amid N-2-hydroksyetyłowy kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego (1a)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,305 g (0,0015 mola) kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego (**1**) i 0,1 cm³ (0,104 g, 0,0017 mola) 2-aminoetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,29 g białego produktu o temperaturze topnienia 228 - 229 °C. Wydajność reakcji wyniosła 78,5 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,60 (s, 3H, CH₃); 2,86 (t, 2H, CH₂); 3,57 (t, 2H, CH₂); 5,17 (s, 1H, OH); 6,93 (d, J = 8,42 Hz, 1H, Ar-H); 7,30 (d, J = 8,33 Hz, 1H, Ar-H); 7,75 (d, J = 7,87 Hz, 1H, Ar-H); 8,00 (d, J = 8,37 Hz, 1H, Ar-H); 8,58 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	55,42	6,49
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	55,31	6,43



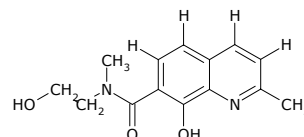
6.6.1.9.2. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metyłowy kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego (1b)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,305 g (0,0015 mola) kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksyłowego (**1**) i 0,14 cm³ (0,128 g, 0,0017 mola) 2-amino-N-metyloetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9.

W reakcji powstało 0,14 g białego produktu o temperaturze topnienia 228 °C. Wydajność reakcji wyniosła 36 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,59 (s, 3H, CH₃); 2,86 (t, 2H, CH₂); 3,56 (t, 2H, CH₂); 5,14 (t, 1H, OH); 6,93 (d, J = 7,84 Hz, 1H, Ar-H); 7,30 (d, J = 8,59 Hz, 1H, Ar-H); 7,52 (d, J = 8,20 Hz, 1H, Ar-H); 9,07 (d, J = 7,96 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	55,97	6,92
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	56,75	6,80

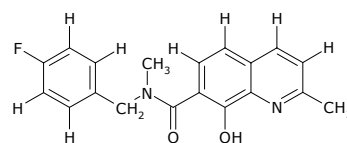


6.6.1.9.3. Amid N-4-fluorobenzylowy-N-metylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego (**1c**)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,305 g (0,0015 mola) kwasu 8-hydroksy-2-metylochinolino-7-karboksylowego (**1**) i 0,22 cm³ (0,237 g, 0,0017 mola) N-(4-fluorobenzyl)-N-metyloaminy według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,202 g białego produktu o temperaturze topnienia 242 °C. Wydajność reakcji wyniosła 41,5 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,59 (s, 3H, CH₃); 2,69 (s, 3H, CH₃); 3,91 (s, 2H, CH₂); 7,32 (d, 2H, Ar-H); 7,42 (d, J = 8,12 Hz, 1H, Ar-H); 7,48 (d, 2H, Ar-H); 7,63 (d, J = 8,59 Hz, 1H, Ar-H); 7,96 (d, J = 7,9 Hz, 1H, Ar-H); 8,36 (d, J = 8,1 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	70,45	5,33
Wartość obliczona	70,36	5,28

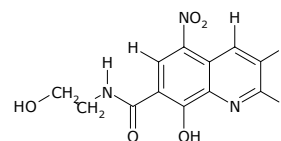


6.6.1.9.4. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowego (**2a**)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,372 g (0,0015 mola) kwasu 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowego (**2**) i 0,1 cm³ (0,104 g, 0,0017 mola) 2-aminoetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,275 g żółtego produktu o temperaturze topnienia 234 - 235 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 63 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,58 (s, 3H, CH₃); 2,87 (t, 2H, CH₂); 3,57 (t, 2H, CH₂); 5,15 (t, 1H, OH); 7,52 (d, J = 8,75 Hz, 1H, Ar-H); 8,38 (s, 1H, Ar-H); 9,07 (d, J = 8,70 Hz, 1H, Ar-H); 9,13 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	50,38	4,96
Wartość obliczona [·H ₂ O]	50,49	4,89

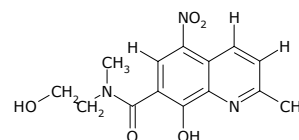


6.6.1.9.5. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 8-hydroksy-2-metylo-5-nitrochinolino-7-karboksylowego (2b)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,372 g (0,0015 mola) kwasu 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego (**2**) i 0,14 cm³ (0,128 g, 0,0017 mola) 2-amino-N-metyloetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,408 g żółtego produktu o temperaturze topnienia 220 - 222 °C. Wydajność reakcji wyniosła 89 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,59 (s, 3H, CH₃); 2,98 (t, 2H, CH₂); 3,62 (q, 2H, CH₂); 5,24 (t, 1H, OH); 7,52 (d, J = 8,66 Hz, 1H, Ar-H); 9,07 (d, J = 8,60 Hz, 1H, Ar-H); 9,13 (s, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	52,13	5,41
Wartość obliczona [·H ₂ O]	52,01	5,30

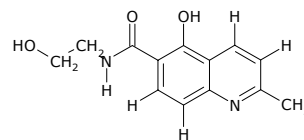


6.6.1.9.6. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (3a)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,305 g (0,0015 mola) kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3**) i 0,1 cm³ (0,104 g, 0,0017 mola) 2-aminoetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,106 g beżowego produktu o temperaturze topnienia 236 °C. Wydajność reakcji wyniosła 29 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,86 (t, 2H, CH₂); 3,57 (t, 2H, CH₂); 6,94 (d, J = 8,71 Hz, 1H, Ar-H); 7,21 (d, J = 8,33 Hz, 1H, Ar-H); 7,76 (s, 1H, NH); 7,84 (d, J = 8,77 Hz, 1H, Ar-H); 8,39 (d, J = 8,35 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	58,91	5,92
Wartość obliczona [$\cdot\text{H}_2\text{O}$]	59,08	6,10

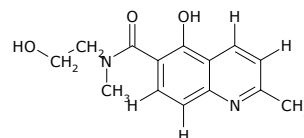


6.6.1.9.7. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3b**)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,305 g (0,0015 mola) kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3**) i 0,14 cm³ (0,128 g, 0,0017 mola) 2-amino-N-metyloetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,201 g beżowego produktu o temperaturze topnienia 233 °C. Wydajność reakcji wyniosła 51 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,54 (s, 3H, CH₃); 2,58 (s, 3H, CH₃); 2,85 (t, 2H, CH₂); 3,59 (t, 2H, CH₂); 6,96 (d, J = 8,75 Hz, 1H, Ar-H); 7,15 (d, J = 7,92 Hz, 1H, Ar-H); 7,86 (d, J = 8,50 Hz, 1H, Ar-H); 8,26 (d, J = 8,51 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	60,33	6,38
Wartość obliczona [$\cdot\text{H}_2\text{O}$]	60,42	6,52

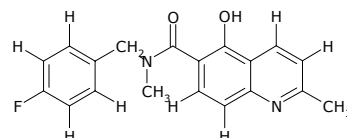


6.6.1.9.8. Amid N-4-fluorobenzylowo-N-metylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3c**)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,305 g (0,0015 mola) kwasu 5-hydroksy-2-metylochinolino-6-karboksylowego (**3**) i 0,22 cm³ (0,237 g, 0,0017 mola) N-(4-fluorobenzylowo)-N-metyloaminy według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,17 g szarego produktu o temperaturze topnienia 254 °C. Wydajność reakcji wyniosła 35 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,72 (s, 3H, CH₃); 3,93 (s, 2H, CH₂); 7,29 (d, 2H, Ar-H); 7,32 (d, J = 8,22 Hz, 1H, Ar-H); 7,53 (d, 2H, Ar-H); 7,59 (d, J = 8,55 Hz, 1H, Ar-H); 8,01 (d, J = 7,8 Hz, 1H, Ar-H); 8,25 (d, J = 8,4 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	70,48	5,39



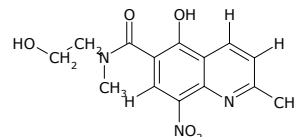
Wartość obliczona 70,36 5,28

6.6.1.9.9. Amid N-2-hydroksyetylo-N-metylowy kwasu 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego (4a)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,372 g (0,0015 mola) kwasu 5-hydroksy-2-metylo-8-nitrochinolino-6-karboksylowego (**4**) i 0,14 cm³ (0,128 g, 0,0017 mola) 2-amino-N-metyloetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,205 g białego produktu o temperaturze topnienia 212 °C. Wydajność reakcji wyniosła 45 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,55 (s, 3H, CH₃); 2,57 (s, 3H, CH₃); 2,96 (t, 2H, CH₂); 3,60 (t, 2H, CH₂); 7,26 (d, J = 8,23 Hz, 1H, Ar-H); 8,48 (d, J = 8,23 Hz, 1H, Ar-H); 8,96 (s, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	51,95	5,25
Wartość obliczona [\cdot H ₂ O]	52,01	5,30

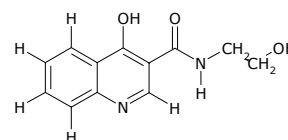


6.6.1.9.10. Amid N-2-hydroksyetylowy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (8a)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,284 g (0,0015 mola) kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (**8**) i 0,1 cm³ (0,104 g, 0,0017 mola) 2-aminoetanolu według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,162 g białego produktu o temperaturze topnienia 256 °C (literaturowa temperatura topnienia 253 – 254 °C). Wydajność reakcji wyniosła 46,5 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,83 (t, 2H, CH₂); 3,57 (t, 2H, CH₂); 7,47 (t, 1H, Ar-H); 7,73 (t, 1H, Ar-H); 7,77 (d, J = 8,16 Hz, 1H, Ar-H); 8,22 (d, J = 7,94 Hz, 1H, Ar-H); 8,81 (s, 1H, Ar-H); 8,86 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	61,89	5,11
Wartość obliczona	62,06	5,21



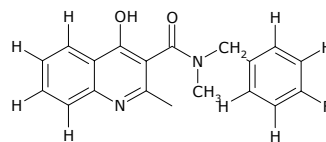
6.6.1.9.11. Amid N-4-fluorobenzylu-N-metylowy kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (**8b**)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,284 g (0,0015 mola) kwasu 4-hydroksychinolino-3-karboksylowego (**8**) i 0,22 cm³ (0,237 g, 0,0017 mola) N-(4-fluorobenzylu)-N-metyloaminy według procedury opisanej w punkcie 6.6.1.9. W reakcji powstało 0,154 g białego produktu o temperaturze topnienia 273 °C. Wydajność reakcji wyniosła 33 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,69 (s, 3H, CH₃); 3,90 (s, 2H, CH₂); 7,32 (d, 2H, Ar-H); 7,44 (t, 1H, Ar-H); 7,51 (d, 2H, Ar-H); 7,78 (t, 1H, Ar-H); 7,86 (d, J = 8,10 Hz, 1H, Ar-H); 8,28 (d, J = 7,99 Hz, 1H, Ar-H); 8,54 (s, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna

	% C	% H
Wartość oznaczona	69,54	4,73
Wartość obliczona	69,67	4,87



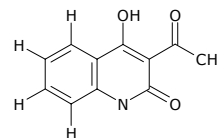
6.6.1.10. 3-Acetylo-4-hydroksy-1H-chinolin-2-on (**9**) [205, 213]

W kolbie trójzszyjnej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia, wkraplacz i mieszadło magnetyczne przygotowuje się mieszaninę 180 cm³ bezwodnego benzenu i 2,4 g (0,06 mola) wodoru sodu (60 % zawiesina w oleju). Do mieszaniny dodaje się powoli z wkraplacza 7,6 cm³ (7,8 g, 0,06 mola) acetylooctanu etylu i powstałą mlecznobiałą zawiesinę miesza przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodaje się 3,22 g (0,02 mola) 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**) i mieszanie kontynuuje się do następnego dnia. Następnie zawartość kolby przelewa się do kolby stożkowej o pojemności 2 dm³, dodaje 180 cm³ wody i 150 cm³ eteru dietylowego, po czym całość wytrząsa w ciągu kilku minut i pozostawia na 1 godzinę. Warstwę wodną oddziela się, schładza w lodówce i zakwasza 10 % roztworem kwasu solnego. Wytrącony biały osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa zimną wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 3,17 g produktu o temperaturze topnienia 255 °C (literaturowa temperatura topnienia 254 – 257 °C). Wydajność reakcji wyniosła 78 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,12 (s, 3H, CH₃); 7,13 (t, 1H, Ar-H);

7,56 (t, 1H, Ar-H); 7,95 (d, J = 7,17 Hz, 1H, Ar-H); 8,44 (d, J = 8,34 Hz, 1H, Ar-H); 11,04 (s, 1H, NH); 13,58 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	65,12	4,52
Wartość obliczona	65,02	4,46

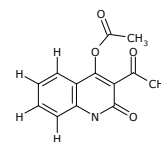


6.6.1.11. 4-Acetoksy-3-acetylo-1*H*-chinolin-2-on; ester 3-acetylo-2-okso-1,2-dihydrochinolin-4-yłowy kwasu octowego (9a)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się 0,3 g (0,0015 mola) 3-acetylo-4-hydroksy-1*H*-chinazolin-2-onu (**9**) i 10 cm³ bezwodnika octowego. Zawartość kolby ogrzewa się przez 25 minut, po czym bezwodnik częściowo usuwa na wyparce obrotowej. Po ochłodzeniu wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 0,333 g białego produktu o temperaturze topnienia 310 °C. Wydajność reakcji wyniosła 92 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 1,70 (s, 3H, CH₃); 2,01 (s, 3H, CH₃); 6,88 (t, 1H, Ar-H); 7,19 (t, 1H, Ar-H); 7,93 (d, J = 7,60 Hz, 1H, Ar-H); 8,39 (d, J = 8,05 Hz, 1H, Ar-H); 14,35 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	63,56	4,61
Wartość obliczona	63,67	4,52



6.6.2. Synteza związków zawierających układ chinazolinowy

6.6.2.1. 2-Metylo-3,1-benzoksazyn-4-on (**10**) [181, 191]

W kolbie o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia umieszcza się 13,7 g (0,1 mola) kwasu antranilowego i 100 cm³ bezwodnika octowego. Mieszaninę ogrzewa się przez 2,5 godziny. Nadmiar bezwodnika octowego usuwa się na wyparce obrotowej. Pozostały ciemnobrązowy olej została się po ochłodzeniu do temperatury pokojowej. Stały produkt umieszcza się w gilzie i prowadzi ekstrakcję w aparacie Soxhleta za pomocą heptanu. Po ochłodzeniu ekstraktu w lodówce wytrąca się biały osad produktu, który odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem i suszy na po-

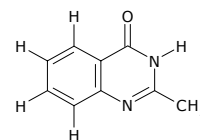
wietrzu. Powstało 12,56 g produktu o temperaturze topnienia 80 °C (literaturowa temperatura topnienia 79 – 80 °C). Wydajność reakcji wyniosła 78 % (wydajność literaturowa 74 – 80 %).

6.6.2.2. 2-Metylo-3*H*-chinazolin-4-on (**11**) [191, 194, 204]

W kolbie o pojemności 250 cm³ rozpuszcza się 8,6 g (0,0534 mola) 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**) w 27 cm³ absolutnego etanolu. Zawartość kolby miesza się i do otrzymanego roztworu dodaje porcjami 70 cm³ 25 % roztworu amoniaku. Mieszanie przerywa się, kolbę zabezpiecza korkiem i mieszaninę pozostawia na około 2,5 dnia. Wytrącony krystaliczny biały osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, suszy na powietrzu i krystalizuje z mieszaniny wody z etanolem. Masa uzyskanego produktu wyniosła 6,58 g. Wydajność reakcji wyniosła 77 % (wydajność literaturowa 80 %). Temperatura topnienia produktu wynosi 245 – 247 °C (literaturowa temperatura topnienia 242 – 244 °C).

¹H NMR (500 MHz, (CD₃)₂CO), δ[ppm]: 2,45 (s, 3H, CH₃); 7,44 (t, 1H, Ar-H); 7,59 (d, J = 8,15 Hz, 1H, Ar-H); 7,76 (t, 1H, Ar-H); 8,13 (d, J = 7,94 Hz, 1H, Ar-H); 11,00 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	67,55	5,18
Wartość obliczona	67,49	5,03



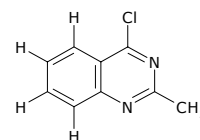
6.6.2.3. 4-Chloro-2-metylochiazolina (**12**) [189, 193]

W kolbie trójściennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia, wkraplacz i termometr, umieszcza się 4,8 g (0,03 mola) 2-metylo-3*H*-chinazolin-4-onu (**11**), 100 cm³ suchego benzenu i 9,5 cm³ (9,1 g, 0,075 mola) N,N-dimetyloaniliny. Całość miesza się i ogrzewa w łaźni olejowej za pomocą mieszadła magnetycznego. Gdy temperatura mieszaniny reakcyjnej osiągnie około 60 °C wkrapla się ostrożnie 1,9 cm³ (3,1 g, 0,02 mola) tlenochlorku fosforu, następnie zawartość kolby ogrzewa się przez 2,5 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę sączy się pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostały osad przemywa używając 100 cm³ benzenu i odrzuca, a połączone przesącze schładza w lodówce. Ochłodzony roztwór benzenowy prze-

mywa się kolejno używając: 100 cm³ zimnej wody, dwukrotnie 125 cm³ schłodzonego w lodówce 20 % roztworu wodorotlenku sodu i ponownie 100 cm³ zimnej wody. Po rozdzieleniu warstwę organiczną suszy się za pomocą bezwodnego siarczanu(VI) magnezu i rozpuszczalnik usuwa na ewaporatorze. Pozostały w kolbie żółty olej została się po ochłodzeniu do temperatury pokojowej. Surowy produkt krystalizuje się z heptanu. W reakcji otrzymano 2,68 g żółtego produktu o temperaturze topnienia 82 °C (literaturowa temperatura topnienia 81,5 – 83 °C). Wydajność reakcji wyniosła 50 % (wydajność literaturowa 59 %).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2,86 (s, 3H, CH₃); 7,65 (t, 1H, Ar-H); 7,87 - 8,00 (m, 2H, Ar-H); 8,23 (d, J= 8,14 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	60,44	3,88
Wartość obliczona	60,52	3,95

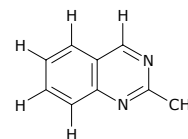


6.6.2.4. 2-Metylochinasolina (**13**) [198, 202]

W kolbie trójściennej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia, mieszadło magnetyczne i kapilarę do wprowadzania gazu przygotowuje się roztwór 4,47 g (0,025 mola) 4-chloro-2-metylochinasoliny (**12**) w 180 cm³ bezwodnego benzenu. W osobnym naczyniu sporządza się roztwór 3,12 g (0,038 mola) bezwodnego octanu sodu w 70 cm³ bezwodnego metanolu i dodaje do zawartości kolby. Do mieszaniny reakcyjnej dodaje się 1,8 g 10 % katalizatora palladowego na węglu i poddaje hydrogenacji. Strumień wodoru przez zawartość kolby przepuszcza się w ciągu 4 godzin. Po tym czasie katalizator odsącza się grawitacyjnie, a rozpuszczalnik usuwa na wyparce obrotowej. Do pozostałego oleju dodaje się 40 cm³ wody amoniakalnej i mieszaninę czterokrotnie ekstrahuje się porcjami po 60 cm³ benzenu. Ekstrakt benzenowy suszy się bezwodnym siarczanem(VI) magnezu, po czym rozpuszczalnik usuwa na ewaporatorze. Pozostały olej została się po ochłodzeniu do temperatury pokojowej. Produkt reakcji krystalizuje się z benzenu. W reakcji powstało 2,09 g żółtego produktu o temperaturze topnienia 40 - 41 °C (literaturowa temperatura topnienia 41 °C). Wydajność reakcji wyniosła 58 % (wydajność literaturowa 62 %).

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2,88 (s, 3H, CH₃); 7,65 (t, 1H, Ar-H); 7,87 (d, J = 6,34 Hz, 1H, Ar-H); 7,94 (t, 1H, Ar-H); 8,21 (d, J = 6,21 Hz, 1H, Ar-H); 9,33 (s, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	74,86	5,63
Wartość obliczona	74,98	5,59

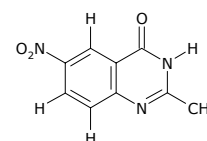


6.6.2.5. 2-Metylo-6-nitro-3H-chinazolin-4-on (14) [210]

W kolbie trójzszyjnej o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, mieszadło magnetyczne, termometr i wkraplacz rozpuszcza się 1,51 g (0,0094 mola) 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu (**11**) w 5 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI). Do mieszaniny w kolbie wkrapla się powoli 2,5 cm³ dymiącego kwasu azotowego(V) i jej zawartość ogrzewa w łaźni olejowej przez 3 godziny. Temperatura mieszaniny reakcyjnej nie powinna przekroczyć 75 °C. Po tym czasie zawartość kolby wylewa się do zlewki z około 60 g lodu, wytrącony osad odsącza pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa wodą i suszy na powietrzu. Osad krystalizuje się z kwasu octowego. W reakcji powstało 1,26 g jasnożółtego produktu o temperaturze topnienia 299 – 300 °C (literaturowa temperatura topnienia 295 °C). Wydajność reakcji wyniosła 65 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,47 (s, 3H, CH₃); 7,40 (d, J = 8,15 Hz, 1H, Ar-H); 7,58 (s, 1H, Ar-H); 8,06 (d, J = 7,94 Hz, 1H, Ar-H); 10,80 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	52,82	3,51
Wartość obliczona	52,69	3,44



6.6.2.6. 3-Metoksy-2-nitrobenzaldehyd (15) i 5-metoksy-2-nitrobenzaldehyd (16) [199 - 201]

W kolbie trójzszyjnej o pojemności 500 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr i wkraplacz umieszcza się mieszaninę 195 cm³ stężonego kwasu azotowego(V) i 80 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI). Zawartość kolby miesza się i chłodzi w łaźni lodowej do temperatury 3 – 5 °C. Do ochłodzonej mieszaniny nitrującej wkrapla się 35 cm³ (39,2 g, 0,288 mola) 3-me-

toksybenzaldehydu z taką prędkością, aby temperatura nie przekroczyła 10 °C. Po dodaniu całej ilości aldehydu mieszanie kontynuuje się przez 40 minut w temperaturze pokojowej, następnie zawartość kolby wylewa się do zlewki z lodem. Wytrącony osad mieszaniny izomerów 3-metoksy-2-nitrobenzaldehydu i 5-metoksy-2-nitrobenzaldehydu odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem i przemywa zimną wodą. Wysuszony osad rozpuszcza się w 39 cm³ benzenu ogrzewając mieszaninę do wrzenia, po czym roztwór pozostawia w lodówce do następnego dnia. Z nasyconego roztworu krystalizuje 3-metoksy-2-nitrobenzaldehyd (**15**), który odsącza się i suszy na powietrzu. Przesącz, zawierający 5-metoksy-2-nitrobenzaldehyd (**16**), odparowuje się do sucha na wyparce obrotowej, a pozostały osad krystalizuje z etanolu. W reakcji powstało 24,75 g jasnożółtego 3-metoksy-2-nitrobenzaldehydu o temperaturze topnienia 94 – 98 °C (literaturowa temperatura topnienia 94 - 98 °C) z wydajnością 47,5 %. Ciemnożółty 5-metoksy-2-nitrobenzaldehyd, o temperaturze topnienia 83 - 84 °C (literaturowa temperatura topnienia 82 – 83 °C), powstał w ilości 22,13 g z wydajnością 42 %.

6.6.2.7. 2-Amino-3-metoksybenzaldehyd (**17**) [184, 186]

W kolbie trój szyjnej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, mieszadło magnetyczne, termometr i wkraplacz przygotowuje się roztwór 4,2 g (0,023 mola) 3-metoksy-2-nitrobenzaldehydu (**15**) w 90 cm³ etanolu. Roztwór miesza się i ogrzewa w łaźni olejowej. Po osiągnięciu temperatury około 50 °C do roztworu dodaje się porcjami 3,21 g (0,0575 mola) żelaza metalicznego i równocześnie wkrapla powoli roztwór 0,6 cm³ stężonego kwasu solnego w 22,5 cm³ wody. Całość miesza się i ogrzewa w temperatury 65 °C przez 1 godzinę, następnie mieszaninę sączy się grawitacyjnie, pozostały na sączku osad przemywa etanolem i odrzuca, a rozpuszczalnik usuwa na ewaporatorze. Do pozostałości w kolbie po usunięciu etanolu dodaje się 100 cm³ wody i ekstrahuje pięciokrotnie porcjami po 50 cm³ eteru dietylowego. Roztwór eterowy suszy się bezwodnym siarczanem(VI) magnezu, a eter usuwa na wyparce. Produkt bez oczyszczania był wykorzystany do dalszej syntezy. W reakcji powstało 3,2 g czerwonego produktu o temperaturze topnienia 102 °C (literaturowa temperatura topnienia 102 °C). Wydajność reakcji wyniosła 91 %.

6.6.2.8. N-(2-formylo-6-metoksyfenylo)acetamid (**18**) [196]

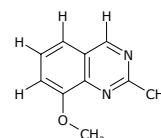
W kolbie trójszyjnej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, mieszadło magnetyczne i wkraplacz sporządza się roztwór 3,2 g (0,021 mola) 2-amino-3-metoksybenzaldehydu (**17**) w 150 cm³ chlorku metylenu. Do roztworu wkrapla się 20 cm³ bezwodnika octowego i mieszanie kontynuuje się przez 48 godzin w temperaturze pokojowej. Rozpuszczalnik i nadmiar bezwodnika usuwa się na wyparce w możliwie najniższej temperaturze, a wydzielony produkt suszy na powietrzu i poddaje krystalizacji z etanolu. W reakcji powstało 2,1 g pomarańczowego produktu z wydajnością 51 %. Temperatura topnienia produktu wyniosła 156 °C (literaturowa temperatura topnienia 156 °C).

6.6.2.9. 8-Metoksy-2-metylochinasolina (**19**) [197]

W kolbie o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne rozpuszcza się 4,1 g (0,0212 mola) N-(2-formylo-6-metoksyfenylo)acetamidu (**18**) w 220 cm³ nasyconego etanolowego roztworu amoniaku. Kolbę zabezpiecza się korkiem, a jej zawartość miesza się w temperaturze pokojowej przez 24 godziny. Następnie rozpuszczalnik usuwa się na wyparce obrotowej, a pozostałość w kolbie rozpuszcza w 10 % roztworze kwasu solnego. Mieszaninę zobojętnia się i następnie lekko alkalizuje 10 % roztworem wodorotlenku sodu, po czym ekstrahuje czterokrotnie porcjami po 50 cm³ chloroformu. Warstwę organiczną osusza się za pomocą bezwodnego siarczanu(VI) magnezu, a rozpuszczalnik usuwa na wyparce obrotowej. Produkt krystalizuje się z octanu etylu. W reakcji powstało 3,22 g ciemnożółtego produktu o temperaturze topnienia 129 °C (literaturowa temperatura topnienia 131 – 132 °C). Wydajność reakcji wyniosła 87 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2,96 (s, 3H, CH₃); 4,09 (s, 3H, OCH₃); 7,45 - 7,53 (m, 3H, Ar-H); 9,30 (s, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	69,04	5,90
Wartość obliczona	68,95	5,79

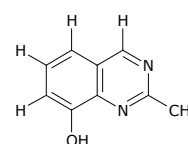


6.6.2.10. 8-Hydroksy-2-metylochiazolina; 2-metylochiazolin-8-ol (20) [149, 150, 192]

Reakcję prowadzi się w atmosferze azotu. W kolbie trój szyjnej o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia, zestaw do wprowadzania gazu obojętnego, mieszadło magnetyczne, termometr i wkraplacz rozpuszcza się 4,5 g (0,0258 mola) 8-metoksy-2-metylochiazoliny (**19**) w 20 cm³ bezwodnego chlorku metylenu. Mieszaninę ochładza się do temperatury 5 °C i następnie w ciągu 30 minut ostrożnie wkrapla roztwór 4,9 cm³ tribromku boru w 47 cm³ bezwodnego chlorku metylenu. Mieszanie kontynuuje się przez 2 godziny w temperaturze pokojowej, następnie mieszaninę ogrzewa w łaźni olejowej w ciągu 14 godzin. Po ochłodzeniu mieszaninę zobojętnia się roztworem wodorowęglanu sodu do pH = 7 i ekstrahuje czterokrotnie porcjami po 50 cm³ chlorku metylenu. Warstwę organiczną osusza się za pomocą bezwodnego siarczanu(VI) magnezu, a rozpuszczalnik usuwa na wyparce. Produkt krystalizuje się z etanolu. W reakcji powstało 3,72 g żółtoszarego produktu o temperaturze topnienia 160 °C (literaturowa temperatura topnienia 154 - 158 °C). Wydajność reakcji wyniosła 90 % (wydajność literaturowa 74 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2,89 (s, 3H, CH₃); 7,32 (d, J = 7,51 Hz, 1H, Ar-H); 7,41 (d, J = 8,13, 1H, Ar-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,80 (s, 1H, Ar-H); 9,31 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	67,58	5,15
Wartość obliczona	67,49	5,03



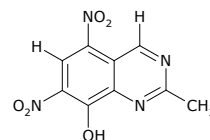
6.6.2.11. 8-Hydroksy-2-metylo-5,7-dinitrochiazolina; 2-metylo-5,7-dinitrochiazolin-8-ol (21)

W kolbie trój szyjnej sercowej o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, termometr i mieszadło magnetyczne umieszcza się mieszaninę 3,5 cm³ stężonego kwasu azotowego(V) i 1,5 cm³ stężonego kwasu siarkowego(VI). Zawartość kolby miesza się i chłodzi do temperatury 3 - 5 °C w łaźni lodowej. Do ochłodzonej mieszaniny nitrującej dodaje się porcjami 0,6 g (0,00375 mola) 8-hydroksy-2-metylochiazoliny (**20**), po czym mieszanie

kontynuuje się przez 2 godziny cały czas chłodząc zawartość kolby. Następnie mieszaninę reakcyjną wylewa się do zlewki z lodem, wytrącony osad odsącza pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa wodą i suszy na powietrzu. W przypadku, gdy osad nie wytrąca się od razu należy podnieść pH mieszaniny dodając ostrożnie nasycony roztwór węgla sodu. W reakcji powstało 0,796 g pomarańczowego produktu o temperaturze topnienia 250 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 85 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,78 (s, 3H, CH₃); 9,10 (s, 1H, Ar-H); 10,22 (s, 1H, Ar-H); 11,23 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	43,32	2,48
Wartość obliczona	43,21	2,42



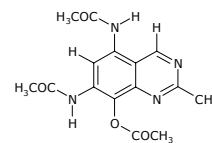
6.6.2.12. 5,7-Diacetamido-8-acetoksy-2-metylochiazolina; ester 5,7-bisacetyloamino-2-metylochiazolin-8-yłowy kwasu octowego (22)

W kolbie trójszyjnej sercowej o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne i kapilarę do wprowadzania gazu sporządza się zawiesinę 0,4 g (0,0016 mola) 8-hydroksy-2-metylo-5,7-dinitrochinazolinu (**21**) w roztworze kwasu solnego (0,66 cm³ stężonego kwasu solnego w 6 cm³ wody). Do zawiesiny dodaje się 0,13 g 10 % katalizatora palladowego na węglu i zawiesinę poddaje się hydrogenacji. Wodór przepuszcza się tak długo, aż roztwór zmieni kolor z żółtego na intensywnie czerwony. Po zakończonej redukcji katalizator odsącza się grawitacyjnie, a roztwór 5,7-diamino-8-hydroksy-2-metylochiazolinu (w postaci soli amoniowej) od razu poddaje się acylowaniu. Do mieszaniny dodaje się 1,33 g bezwodnego octanu sodu, 0,66 g siarczanu(IV) sodu i wkrapla powoli 4,5 cm³ bezwodnika octowego. Mieszaninę pozostawia się na 1 godzinę w temperaturze pokojowej, następnie przez 30 minut chłodzi w łaźni lodowej. Wytrącony produkt odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa zimną wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 0,253 g białego produktu o temperaturze topnienia 274 - 276 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 50 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,16 (s, 3H, CH₃); 2,34 (s, 3H, CH₃); 2,42 (s, 3H, CH₃); 2,62 (s, 3H, CH₃); 7,88 (s, 1H, Ar-H); 9,47 (s, 1H, Ar-H);

9,57 (s, 1H, NH); 11,40 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	56,85	5,01
Wartość obliczona	56,96	5,10

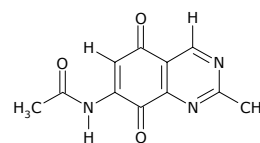


6.6.2.13. 7-Acetamido-2-metylochinasolin-5,8-dion; N-(2-metylo-5,8-diokso-5,8-dihydrochinazolin-7-ylo)acetamid (23)

W kolbie trójzcyjnej o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, wkraplacz i mieszadło magnetyczne sporządza się zawiesinę 0,15 g (0,00047 mola) 5,7-diacetamido-8-acetoksy-2-metylochinasoliny (**22**) w 5,8 cm³ lodowatego kwasu octowego. Do zawiesiny wkrapla się roztwór 0,42 g dichromianu(VI) potasu w 5,5 cm³ wody. Mieszaninę reakcyjną lekko ogrzewa się w łaźni wodnej, a mieszanie kontynuuje się przez 1,5 godziny. Roztwór następnie ekstrahuje się dwunastokrotnie porcjami po 2,5 cm³ chlorku metylenu. Warstwę organiczną przemywa się 3 % roztworem wodorowęglanu sodu, wodą, po czym suszy za pomocą bezwodnego siarczanu(VI) magnezu. Po odparowaniu rozpuszczalnika pozostał żółty osad produktu o masie 0,088 g. Wydajność reakcji wyniosła 80 %. Temperatura topnienia produktu wyniosła 210 °C (rozkład).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2,33 (s, 3H, CH₃); 2,98 (s, 3H, CH₃); 7,98 (s, 1H, Ar-H); 8,31 (s, 1H, Ar-H); 9,43 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	57,25	4,00
Wartość obliczona	57,14	3,92



6.6.2.14. 1,4-Bis-((E)-2-(2-(3H-chinazolin-4-on)winylo)benzen (11a)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną przygotowuje się mieszaninę: 0,32 g (0,002 mola) 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu (**11**), 0,134 g (0,001 mola) aldehydu tereftalowego, 0,248 g (0,003 mola) bezwodnego octanu sodu, 8 cm³ kwasu octowego i 0,5 cm³ bezwodnika octowego. Zawartość kolby ogrzewa się przez 6 godzin. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 0,146 g jasnożółtego

produktu o temperaturze topnienia 317 - 319 °C. Wydajność reakcji wyniosła 35 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 7,16 (d, J = 16,13 Hz, 2H, 2C=C-H); 7,50 (t, 2H, Ar-H); 7,69 (d, J = 8,10 Hz, 2H, Ar-H); 7,82 (t, 2H, Ar-H); 7,87 (d, J = 8,14 Hz, 2H, Ar-H); 7,97 (d, J = 8,15 Hz, 2H, Ar-H); 8,00 (d, J = 16,21 Hz, 2H, 2C=C-H); 8,11 (d, J = 7,30 Hz, 2H, Ar-H); 10,02 (s, 2H, 2NH)

Analiza elementarna

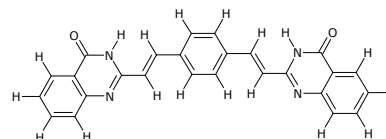
Wartość oznaczona

Wartość obliczona

% C % H

74,45 4,46

74,63 4,34



6.6.2.15. 4-Chloro-2-((E)-2-(2-metoksyfenylo)winylo)chinazolina (12a)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną przygotowuje się mieszaninę: 0,893 g (0,005 mola) 4-chloro-2-metylochinasoliny (**12**), 1,5 g (0,011 mola) aldehydu 2-metoksybenzoesowego, 0,615 g (0,0075 mola) bezwodnego octanu sodu, 20 cm³ kwasu octowego i 2 cm³ bezwodnika octowego. Zawartość kolby ogrzewa się przez 6 godzin. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 0,89 g jasnożółtego produktu o temperaturze topnienia 234 - 236 °C. Wydajność reakcji wyniosła 60 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 3,90 (s, 3H, OCH₃); 7,03 (t, 1H, Ar-H); 7,07 (d, J = 16,12 Hz, 1H, C=C-H); 7,11 (d, J = 8,32 Hz, 1H, Ar-H); 7,40 (t, 1H, Ar-H); 7,46 (t, 1H, Ar-H); 7,60 (d, J = 8,05 Hz, 1H, Ar-H); 7,68 (d, J = 8,09 Hz, 1H, Ar-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 8,09 (d, J = 7,56 Hz, 1H, Ar-H); 8,15 (d, J = 16,13 Hz, 1H, C=C-H)

Analiza elementarna

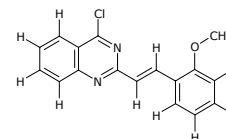
Wartość oznaczona

Wartość obliczona

% C % H

68,69 4,36

68,81 4,42



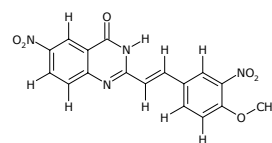
6.6.2.16. 2-((E)-2-(4-Metoksy-3-nitrofenylo)winylo)-6-nitro-3H-chinazolin-4-on (14a)

W kolbie o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną przygotowuje się mieszaninę: 0,256 g (0,00125 mola) 2-metylo-6-nitro-3H-chinazolin-4-onu (**14**), 0,498 g (0,00275 mola) aldehydu 4-metoksy-3-nitrobenzoesowego, 0,156 g (0,0019 mola) bezwodnego octanu sodu, 25 cm³ kwasu octowego i 2 cm³ bezwodnika octowego. Zawartość kolby ogrzewa się przez 6 godzin. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 0,248 g żółtego produktu o temperaturze topnienia 322 - 325 °C. Wydajność reakcji wyniosła 54 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 3,98 (s, 3H, OCH₃); 7,03 (d, J = 16,15 Hz, 1H, C=C-H); 7,48 (d, J = 8,84 Hz, 1H, Ar-H); 7,81 (d, J = 9,01 Hz, 1H, Ar-H); 8,00 (d, J = 8,79 Hz, 1H, Ar-H); 8,05 (d, J = 16,07 Hz, 1H, C=C-H); 8,22 (s, 1H, Ar-H); 8,52 (d, J = 6,34 Hz, 1H, Ar-H); 8,78 (s, 1H, Ar-H); 12,78 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna

	% C	% H
Wartość oznaczona	55,56	3,19
Wartość obliczona	55,44	3,28



6.6.2.17. Procedura ogólna otrzymywania związków styrylochinazolinowych w reakcji pochodnych 2-metylochinasoliny z aldehydami polihydroksybenzoesowymi [190]

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i wkraplacz przygotowuje się mieszaninę: 0,001 mola odpowiedniej pochodnej 2-metylochinasoliny, 0,124 g (0,0015 mola) bezwodnego octanu sodu, 3 cm³ kwasu octowego i 0,5 cm³ bezwodnika octowego. Mieszaninę ogrzewa się do wrzenia. W osobnym naczyniu sporządza się roztwór 0,0022 mola aldehydu polihydroksybenzoesowego w 3 cm³ bezwodnika octowego. Mieszaninę aldehydu i bezwodnika należy lekko ogrzać do uzyskania jednorodnego roztworu. Do wrzącej mieszaniny reakcyjnej wkrapla się ciepły roztwór zacylowanego aldehydu i następnie mieszaninę ogrzewa przez 6 godzin. Po ochłodzeniu zawartości kolby wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem.

Przesącz zateżą się na wyparce obrotowej i schładza w lodówce uzyskując drugą porcję osadu. Połączone osady przemywa się wodą i suszy na powietrzu.

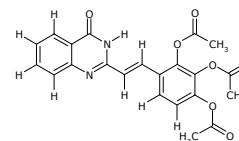
6.6.2.17.1. 2-((E)-2-(2,3,4-Triacetoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on; ester 2,3-diacetoksy-4-((E)-2-(4-okso-3,4-dihydrochinazolin-2-ylo)winylo)fenylowy kwasu octowego (11b)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,16 g (0,001 mola) 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu (**11**) i 0,34 g (0,0022 mola) aldehydu 2,3,4-trihydroksybenzoesowego według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.17. W reakcji powstało 0,386 g białego produktu o temperaturze topnienia 227 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 91,5 %.

¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,29 (s, 3H, CH₃); 2,33 (s, 3H, CH₃); 2,44 (s, 3H, CH₃); 7,04 (d, J = 16,41 Hz, 1H, C=C-H); 7,32 (d, J = 8,75 Hz, 1H, Ar-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,68 (d, J = 7,79 Hz, 1H, Ar-H); 7,77 - 7,87 (m, 3H, Ar-H oraz C=C-H); 8,11 (d, J = 7,92 Hz, 1H, Ar-H); 12,09 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna

	% C	% H
Wartość oznaczona	62,46	4,49
Wartość obliczona	62,56	4,30

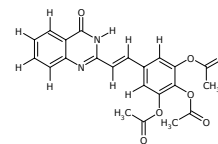


6.6.2.17.2. 2-((E)-2-(3,4,5-Triacetoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on; ester 2,3-diacetoksy-5-((E)-2-(4-okso-3,4-dihydrochinazolin-2-ylo)winylo)fenylowy kwasu octowego (11c)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,16 g (0,001 mola) 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu (**11**) i 0,34 g (0,0022 mola) aldehydu 3,4,5-trihydroksybenzoesowego według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.17. W reakcji powstało 0,13 g białego produktu o temperaturze topnienia 302 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 31 %.

¹H NMR (200 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,31 (s, 9H, 3CH₃); 6,99 (d, J = 16,2 Hz, 1H, C=C-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,52 (s, 2H, Ar-H); 7,67 (d, J = 7,76 Hz, 1H, Ar-H); 7,81 (t, 1H, Ar-H); 7,89 (d, J = 16,07 Hz, 1H, C=C-H); 8,11 (d, J = 7,76 Hz, 1H, Ar-H); 12,32 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	62,64	4,44
Wartość obliczona	62,56	4,30

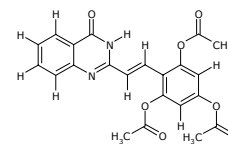


6.6.2.17.3. 2-((E)-2-(2,4,6-Triacetoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on; ester 3,5-diacetoksy-2-((E)-2-(4-okso-3,4-dihydrochinazolin-2-yl)winylo)fenyloowy kwasu octowego (11d)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,16 g (0,001 mola) 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu (**11**) i 0,34 g (0,0022 mola) aldehydu 2,4,6-trihydroksybenzoesowego (floroglucynokarboaldehydu) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.17. W reakcji powstało 0,18 g jasnopomarańczowego produktu o temperaturze topnienia 274 - 276 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 43 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,29 (s, 3H, CH₃); 2,41 (s, 6H, 2CH₃); 7,02 (d, J = 16,37 Hz, 1H, C=C-H); 7,13 (s, 2H, Ar-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,70 (d, J = 8,13 Hz, 1H, Ar-H); 7,81 (t, 1H, Ar-H); 7,81 (d, J = 16,09 Hz, 1H, C=C-H); 8,10 (d, J = 7,99 Hz, 1H, Ar-H); 12,57 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	62,60	4,25
Wartość obliczona	62,56	4,30

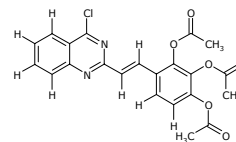


6.6.2.17.4. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,3,4-triacetoksyfenylo)winylo)chinazolina; ester 2,3-diacetoksy-4-((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-yl)winylo)fenyloowy kwasu octowego (12b)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,18 g (0,001 mola) 4-chloro-2-metylochiazoliny (**12**) i 0,34 g (0,0022 mola) aldehydu 2,3,4-trihydroksybenzoesowego według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.17. W reakcji powstało 0,364 g białego produktu o temperaturze topnienia 192 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 82 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,29 (s, 3H, CH₃); 2,33 (s, 3H, CH₃); 2,44 (s, 3H, CH₃); 7,04 (d, J = 16,42 Hz, 1H, C=C-H); 7,32 (d, J = 8,77 Hz, 1H, Ar-H); 7,50 (t, 1H, Ar-H); 7,69 (d, J = 8,08 Hz, 1H, Ar-H); 7,79 - 7,85 (m, 3H, Ar-H); 8,11 (d, J = 16,21 Hz, 1H, C=C-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	59,88	3,94
Wartość obliczona	59,94	3,89

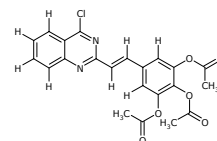


6.6.2.17.5. 4-Chloro-2-((E)-2-(3,4,5-triacetoksyfenylo)winylo)chinaszolina; ester 2,3-diacetoksy-5-((E)-2-(4-chlorochinazol-2-yl)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (12c)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,18 g (0,001 mola) 4-chloro-2-metylochinazoliny (**12**) i 0,34 g (0,0022 mola) aldehydu 3,4,5-trihydroksybenzo- esowego według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.17. W reakcji powstało 0,29 g białego produktu o temperaturze topnienia 305 °C (rozkład). Wydaj- ność reakcji wyniosła 65 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,31 (s, 6H, 2CH₃); 2,32 (s, 3H, CH₃); 7,02 (d, J = 16,14 Hz, 1H, C=C-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,53 (s, 2H, Ar-H); 7,67 (d, J = 8,13 Hz, 1H, Ar-H); 7,81 (t, 1H, Ar-H); 7,88 (d, J = 16,19 Hz, 1H, C=C-H); 8,10 (d, J = 7,82 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	59,81	3,72
Wartość obliczona	59,94	3,89

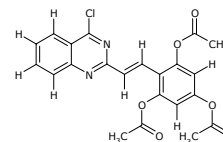


6.6.2.17.6. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,4,6-triacetoksyfenylo)winylo)chinaszolina; ester 3,5-diacetoksy-2-((E)-2-(4-chlorochinazol-2-yl)winylo)fenylo- wy kwasu octowego (12d)

Związek otrzymuje się w reakcji 0,18 g (0,001 mola) 4-chloro-2-metylochinazoliny (**12**) i 0,34 g (0,0022 mola) aldehydu 2,4,6-trihydroksybenzo- esowego (floroglucynokarboaldehydu) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.17. W reakcji powstało 0,173 g jasnopomarańczowego produktu o tem- peraturze topnienia 235 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 39 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,29 (s, 3H, CH₃); 2,41 (s, 6H, 2CH₃); 7,02 (d, J = 16,27 Hz, 1H, C=C-H); 7,13 (s, 2H, Ar-H); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,70 (d, J = 8,08 Hz, 1H, Ar-H); 7,81 (t, 1H, Ar-H); 7,81 (d, J = 16,32 Hz, 1H, C=C-H); 8,10 (d, J = 7,66 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	60,09	3,94
Wartość obliczona	59,94	3,89



6.6.2.18. Procedura ogólna hydrolizy acylowanych pochodnych styrylochinazolinowych

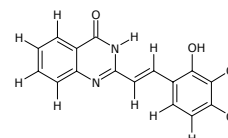
W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i wkręplacz przygotowuje się mieszaninę acylowanej pochodnej styrylochinazolinowej i 3 cm³ pirydyny. Roztwór ogrzewa się przez 2 godziny. Po tym czasie do mieszaniny reakcyjnej dodaje się 1,5 cm³ wody i ogrzewanie prowadzi się dalej przez 3 godziny. Po ochłodzeniu mieszaninę reakcyjną ekstrahuje się kilkoma porcjami chlorku metylenu. Oddzieloną warstwę organiczną osusza się bezwodnym siarczanem(VI) sodu i rozpuszczalnik częściowo usuwa na wyparce. Zatężony roztwór odparowuje się pod dygestorium, a produkt suszy na powietrzu.

6.6.2.18.1. 2-((E)-2-(2,3,4-Trihydroksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11e)

Związek otrzymuje się w wyniku hydrolizy 0,358 g (0,00085 mola) 2-((E)-2-(2,3,4-triacetoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-onu (**11b**) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.18. W reakcji powstało 0,15 g brązowego produktu, którego temperatura topnienia wynosi 300 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 60 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 6,39 (d, J = 8,56 Hz, 1H, Ar-H); 6,83 (d, J = 15,98 Hz, 1H, C=C-H); 6,88 (d, J = 8,51 Hz, 1H, Ar-H); 7,40 (t, 1H, Ar-H); 7,63 (d, J = 8,13 Hz, 1H, Ar-H); 7,75 (t, 1H, Ar-H); 8,05 (d, J = 7,96 Hz, 1H, Ar-H); 8,10 (d, J = 16,05 Hz, 1H, C=C-H); 8,57 (s, 1H, OH); 9,07 (s, 1H, OH); 9,68 (s, 1H, OH); 12,19 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	57,94	4,76
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	57,83	4,85

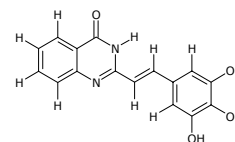


6.6.2.18.2. 2-((E)-2-(3,4,5-Trihydroksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11f)

Związek otrzymuje się w wyniku hydrolizy 0,117 g (0,00028 mola) 2-((E)-2-(3,4,5-triacetoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-onu (**11c**) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.18. W reakcji powstało 0,043 g pomarańczowego produktu, którego temperatura topnienia wynosi 280 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 52 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 6,58 (s, 2H, Ar-H); 6,61 (d, J = 15,98 Hz, 1H, C=C-H); 7,43 (t, 1H, Ar-H); 7,63 (d, J = 8,12 Hz, 1H, Ar-H); 7,69 (d, J = 15,90 Hz, 1H, C=C-H); 7,77 (t, 1H, Ar-H); 8,07 (d, J = 7,68 Hz, 1H, Ar-H); 8,71 (s, 1H, OH); 9,17 (s, 2H, 2OH); 12,22 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	57,68	4,67
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	57,83	4,85

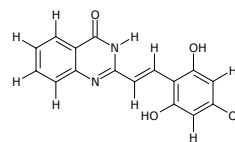


6.6.2.18.3. 2-((E)-2-(2,4,6-Trihydroksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11g)

Związek otrzymuje się w wyniku hydrolizy 0,16 g (0,00038 mola) 2-((E)-2-(2,4,6-triacetoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-onu (**11d**) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.18. W reakcji powstało 0,04 g brązowego produktu, którego temperatura topnienia wynosi 220 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 36 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 6,88 (s, 2H, Ar-H); 7,19 (d, J = 15,96 Hz, 1H, C=C-H); 7,37 (t, 1H, Ar-H); 7,64 (d, J = 8,13 Hz, 1H, Ar-H); 7,73 (t, 1H, Ar-H); 8,03 (d, J = 7,67 Hz, 1H, Ar-H); 8,24 (d, J = 16,24 Hz, 1H, C=C-H); 9,62 (s, 1H, OH); 10,00 (s, 2H, 2OH); 12,11 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	57,71	4,88
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	57,83	4,85

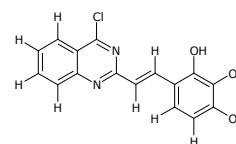


6.6.2.18.4. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,3,4-trihydroksyfenylo)winylo)chiazolina; 4-((E)-2-(4-chlorochiazolin-2-ylo)winylo)benzeno-1,2,3-triol (12e)

Związek otrzymuje się w wyniku hydrolizy 0,33 g (0,00075 mola) 4-chloro-2-((E)-2-(2,3,4-triacetoksyfenylo)winylo)chiazoliny (**12b**) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.18. W reakcji powstało 0,146 g pomarańczowego produktu, którego temperatura topnienia wynosi 291 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 62 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 6,39 (d, J = 8,44 Hz, 1H, Ar-H); 6,82 (d, J = 16,04 Hz, 1H, C=C-H); 6,87 (d, J = 8,66 Hz, 1H, Ar-H); 7,40 (t, 1H, Ar-H); 7,63 (d, J = 8,10 Hz, 1H, Ar-H); 7,75 (t, 1H, Ar-H); 8,05 (d, J = 8,04 Hz, 1H, Ar-H); 8,10 (d, J = 16,09 Hz, 1H, C=C-H); 8,58 (s, 1H, OH); 9,07 (s, 1H, OH); 9,68 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	54,85	4,49
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	54,79	4,31

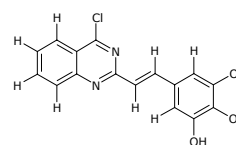


6.6.2.18.5. 4-Chloro-2-((E)-2-(3,4,5-trihydroksyfenylo)winylo)chiazolina; 5-((E)-2-(4-chlorochiazolin-2-ylo)winylo)benzeno-1,2,3-triol (12f)

Związek otrzymuje się w wyniku hydrolizy 0,212 g (0,00048 mola) 4-chloro-2-((E)-2-(3,4,5-triacetoksyfenylo)winylo)chiazoliny (**12c**) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.18. W reakcji powstało 0,079 g brązowego produktu, którego temperatura topnienia wynosi 323 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 52 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 6,59 (s, 2H, Ar-H); 6,61 (d, J = 16,07 Hz, 1H, C=C-H); 7,44 (t, 1H, Ar-H); 7,63 (d, J = 8,13 Hz, 1H, Ar-H); 7,71 (d, J = 15,93 Hz, 1H, C=C-H); 7,78 (t, 1H, Ar-H); 8,07 (d, J = 7,56 Hz, 1H, Ar-H); 8,73 (s, 1H, OH); 9,18 (s, 2H, 2OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	54,58	4,19
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	54,79	4,31

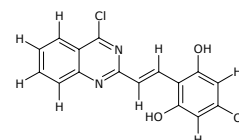


6.6.2.18.6. 4-Chloro-2-((E)-2-(2,4,6-trihydroksyfenylo)winylo)chinazolina; 2-((E)-2-(4-chlorochinazolin-2-ylo)winylo)benzeno-1,3,5-triol (12g)

Związek otrzymuje się w wyniku hydrolizy 0,163 g (0,00037 mola) 4-chloro-2-((E)-2-(2,4,6-triacetoksyfenylo)winylo)chinazoliny (**12d**) według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.18. W reakcji powstało 0,041 g pomarańczowego produktu, którego temperatura topnienia wynosi 270 °C (rozkład). Wydajność reakcji wyniosła 35 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 6,88 (s, 2H, Ar-H); 7,19 (d, J = 15,88 Hz, 1H, C=C-H); 7,36 (t, 1H, Ar-H); 7,59 (d, J = 8,19 Hz, 1H, Ar-H); 7,73 (t, 1H, Ar-H); 8,03 (d, J = 7,85 Hz, 1H, Ar-H); 8,24 (d, J = 16,00 Hz, 1H, C=C-H); 9,61 (s, 1H, OH); 9,99 (s, 2H, 2OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	54,91	4,22
Wartość obliczona [$\cdot 2\text{H}_2\text{O}$]	54,79	4,31



6.6.2.19. Procedura ogólna otrzymywania pochodnych styrylowych 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu z zastosowaniem promieniowania mikrofalowego [110, 121]

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, miesza się 0,4 g (0,0025 mola) 2-metylo-3H-chinazolin-4-onu (**11**) z 0,01 mola odpowiedniego aldehydu. Kolbę umieszcza się w reaktorze mikrofalowym i mieszaninę ogrzewa przez 10 minut w temperaturze 245 – 255 °C i mocy 500 W. Po ochłodzeniu do mieszaniny reakcyjnej dodaje się eteru dietylowego. Powstały osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa eterem dietylowym i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z kwasu octowego.

6.6.2.19.1. 2-((E)-Styrylo)-3H-chinazolin-4-on (11h)

Do reakcji używa się 1,02 cm³ (1,06 g, 0,01 mola) aldehydu benzoowego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.19. Otrzymano 0,21 g białego związku o temperaturze topnienia 248 °C (literatu-

rowa temperatura topnienia 252 – 253 °C). Wydajność reakcji wyniosła 34 % (wydajność literaturowa 76 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 7,00 (d, J = 16,48 Hz, 1H, C=C-H); 7,32 - 7,45 (m, 5H, Ar-H); 7,48 (t, 1H, Ar-H); 7,68 (d, J = 8,03 Hz, 1H, Ar-H); 7,77 (t, 1H, Ar-H); 8,03 (d, J = 16,50 Hz, 1H, C=C-H); 8,29 (d, J = 7,57 Hz, 1H, Ar-H); 11,99 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna

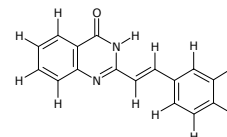
Wartość oznaczona

Wartość obliczona

% C % H

77,24 4,98

77,40 4,87



6.6.2.19.2. 2-((E)-2-(4-Metoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11i)

Do reakcji używa się 1,22 cm³ (1,36 g, 0,01 mola) aldehydu 4-metoksybenzoesowego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.19. Otrzymano 0,22 g białego produktu o temperaturze topnienia 284 °C (literaturowa temperatura topnienia 284 – 286 °C). Wydajność reakcji wyniosła 32 % (wydajność literaturowa 27 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 3,88 (s, 3H, OCH₃); 6,86 (d, J = 16,41 Hz, 1H, C=C-H); 6,98 (d, J = 8,43 Hz, 2H, Ar-H); 7,48 (t, 1H, Ar-H); 7,63 (d, J = 8,41 Hz, 2H, Ar-H); 7,69 (d, J = 8,07 Hz, 1H, Ar-H); 7,78 (t, 1H, Ar-H); 7,97 (d, J = 16,4 Hz, 1H, C=C-H); 8,29 (d, J = 7,90 Hz, 1H, Ar-H); 11,89 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna

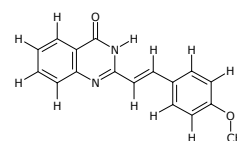
Wartość oznaczona

Wartość obliczona

% C % H

73,22 4,95

73,37 5,07

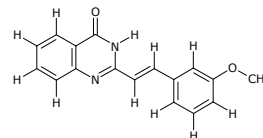


6.6.2.19.3. 2-((E)-2-(3-Metoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11j)

Do reakcji używa się 1,22 cm³ (1,36 g, 0,01 mola) aldehydu 3-metoksybenzoesowego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.19. W reakcji powstało 0,22 g białego produktu o temperaturze topnienia 198 °C. Wydajność reakcji wyniosła 32 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 3,89 (s, 3H, OCH₃); 6,98 (d, J = 16,27 Hz, 1H, C=C-H); 7,28 (s, 1H, Ar-H); 7,38 (t, 1H, Ar-H); 7,50 (t, 1H, Ar-H); 7,69 (d, J = 8,12 Hz, 1H, Ar-H); 7,76 - 7,80 (m, 3H, Ar-H); 7,93 (d, J = 16,43 Hz, 1H, C=C-H); 8,29 (d, J = 7,57 Hz, 1H, Ar-H); 11,08 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	73,49	4,98
Wartość obliczona	73,37	5,07

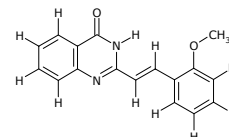


6.6.2.19.4. 2-((E)-2-(2-Metoksyfenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11k)

Do reakcji używa się 1,36 g (0,01 mola) aldehydu 2-metoksybenzoeso-
wego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.19.
W reakcji powstało 0,57 g żółtego produktu o temperaturze topnienia 231 -
232 °C (literaturowa temperatura topnienia 234 - 236 °C). Wydajność reakcji
wyniosła 82 % (wydajność literaturowa 81 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 3,95 (s, 3H, OCH₃); 6,96 - 7,04 (m, 2H,
Ar-H); 7,06 (d, J = 16,54 Hz, 1H, C=C-H); 7,38 (t, 1H, Ar-H); 7,47 (t, 1H, Ar-
H); 7,66 (d, J = 6,97 Hz, 1H, Ar-H); 7,75 - 7,80 (m, 2H, Ar-H); 8,05 (d, J =
16,69 Hz, 1H, C=C-H); 8,32 (d, J = 7,69 Hz, 1H, Ar-H); 10,58 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	73,25	5,15
Wartość obliczona	73,37	5,07

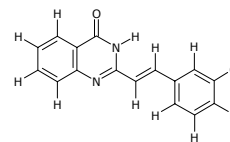


6.6.2.19.5. 2-((E)-2-(3-Chlorofenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11l)

Do reakcji używa się 1,13 cm³ (1,41 g, 0,01 mola) aldehydu 3-chloro-
benzoesowego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie
6.6.2.19. W reakcji powstało 0,4 g białego produktu o temperaturze topnienia
275 - 276 °C. Wydajność reakcji wyniosła 57 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 6,93 (d, J = 16,41 Hz, 1H, C=C-H); 7,39
(d, J = 4,47 Hz, 2H, Ar-H); 7,46 - 7,53 (m, 2H, Ar-H); 7,64 (s, 1H, Ar-H);
7,79 (d, J = 16 Hz, 1H, C=C-H); 7,77 - 7,83 (m, 2H, Ar-H); 8,33 (d, J = 7,58,
1H, Ar-H); 10,64 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	68,12	3,99
Wartość obliczona	67,97	3,92

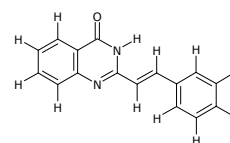


6.6.2.19.6. 2-((E)-2-(3-Bromofenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11m)

Do reakcji używa się 1,17 cm³ (1,85 g, 0,01 mola) aldehydu 3-bromobenzoowego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.19. W reakcji powstało 0,35 g białego produktu o temperaturze topnienia 277 – 279 °C. Wydajność reakcji wyniosła 43 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 6,91 (d, J = 16,33 Hz, 1H, C=C-H); 7,33 (t, 1H, Ar-H); 7,50 - 7,56 (m, 2H, Ar-H); 7,55 (s, 1H, Ar-H); 7,73 (d, J = 16,49 Hz, 1H, C=C-H); 7,76 - 7,82 (m, 3H, Ar-H); 8,33 (d, J = 7,92 Hz, 1H, Ar-H); 10,31 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	58,88	3,32
Wartość obliczona	58,74	3,39

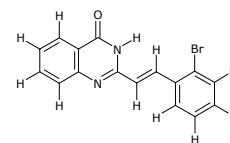


6.6.2.19.7. 2-((E)-2-(2-Bromofenylo)winylo)-3H-chinazolin-4-on (11n)

Do reakcji używa się 1,17 cm³ (1,41 g, 0,01 mola) aldehydu 2-bromobenzoowego, a syntezę przeprowadza według procedury opisanej w punkcie 6.6.2.19. W reakcji powstało 0,53 g białego produktu o temperaturze topnienia 282 °C. Wydajność reakcji wyniosła 65 %.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 6,93 (d, J = 16,47 Hz, 1H, C=C-H); 7,40 (t, 1H, Ar-H); 7,50 (t, 1H, Ar-H); 7,67 (d, J = 7,90 Hz, 1H, Ar-H); 7,74 - 7,82 (m, 4H, Ar-H); 8,12 (d, J = 16,45 Hz, 1H, C=C-H); 8,36 (d, J = 7,88 Hz, 1H, Ar-H); 10,96 (s, 1H, NH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	58,57	3,46
Wartość obliczona	58,74	3,39

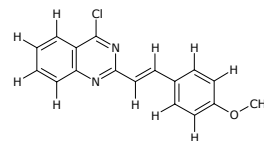


6.6.2.20. 4-Chloro-2-((E)-2-(4-metoksyfenylo)winylo)chinazolina (12h)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, miesza się 0,3 g (0,0017 mola) 4-chloro-2-metylochinaszolidu (**12**) z 0,85 cm³ (0,952 g, 0,007 mola) aldehydu 4-metoksybenzoesowego. Kolbę umieszcza się w reaktorze mikrofalowym i mieszaninę ogrzewa przez 10 minut w temperaturze 245 – 255 °C i mocy 500 W. Po ochłodzeniu do mieszaniny reakcyjnej dodaje się eteru dietylowego. Żółty osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa eterem dietylowym i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z propan-2-olu. W reakcji powstało 0,254 g produktu o temperaturze topnienia 135 °C (literaturowa temperatura topnienia 130 – 131 °C). Wydajność reakcji wyniosła 53 %.

¹H NMR (200 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 3,88 (s, 3H, OCH₃); 6,83 (d, J = 16,42 Hz, 1H, C=C-H); 6,98 (d, J = 8,78 Hz, 1H, Ar-H); 7,44 - 7,80 (m, 6H, Ar-H); 7,86 (d, J = 16,23 Hz, 1H, C=C-H); 8,32 (d, J = 8,00 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	68,50	4,31
Wartość obliczona	68,81	4,42

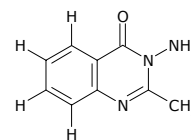


6.6.2.21. 3-Amino-2-metylo-3H-chinazolin-4-on (10a) [188, 212]

W kolbie o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, rozpuszcza się 2,42 g (0,015 mola) 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**) w 10 cm³ bezwodnego etanolu. Do roztworu dodaje się 1,52 cm³ (1,252 g, 0,025 mola) 80 % wodzianu hydrazyny i mieszaninę ogrzewa przez 3 godziny. Po ochłodzeniu zawartości kolby wytrąca się biały, krystaliczny osad, który odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z etanolu. W reakcji powstało 1,657 g produktu o temperaturze topnienia 151 °C (literaturowa temperatura topnienia 152 – 153 °C). Wydajność reakcji wyniosła 63 % (wydajność literaturowa 65 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃), δ[ppm]: 2,73 (s, 3H, CH₃); 4,90 (s, 2H, NH₂); 7,46 (t, 1H, Ar-H); 7,66 (d, J = 8,17 Hz, 1H, Ar-H); 7,74 (t, 1H, Ar-H); 8,24 (d, J = 8,23 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	61,68	5,25
Wartość obliczona	61,70	5,18

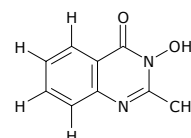


6.6.2.22. 3-Hydroksy-2-metylo-3*H*-chinazolin-4-on (**10b**) [187]

W kolbie o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne i wkraplacz rozpuszcza się 5,318 g (0,033 mola) 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**) w 10 cm³ bezwodnego etanolu. W osobnym naczyniu sporządza się roztwór 2,99 g (0,043 mola) chlorowodoru hydroksyloaminy i 1,8 g (0,045 mola) wodorotlenku sodu w 40 cm³ bezwodnego etanolu, który następnie wkrapla się do roztworu w kolbie. Po dodaniu całości roztworu hydroksyloaminy mieszanie kontynuuje się jeszcze przez 20 minut, po czym mieszaninę reakcyjną pozostawia na 2 dni. Wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, suszy na powietrzu i krystalizuje z metanolu. W reakcji powstało 3,139 g białego produktu o temperaturze topnienia 223 – 225 °C (literaturowa temperatura topnienia 223 - 225 °C). Wydajność reakcji wyniosła 54 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,49 (s, 3H, CH₃); 7,49 (t, 1H, Ar-H); 7,61 (d, J = 8,15 Hz, 1H, Ar-H); 7,78 (t, 1H, Ar-H); 8,11 (d, J = 7,81 Hz, 1H, Ar-H); 11,60 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	61,25	4,49
Wartość obliczona	61,36	4,58



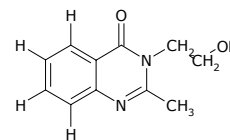
6.6.2.23. 3-(2-Hydroksyetylo)-2-metylo-3*H*-chinazolin-4-on (**10c**)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się mieszaninę 1 g (0,0062 mola) 2-metylo-3,1-benzoksazyn-4-onu (**10**), 0,56 cm³ (0,568 g, 0,0093 mola) 2-aminoetanolu i 15 cm³ bezwodnego etanolu. Zawartość kolby ogrzewa się przez 3 godziny. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem. Przesącz zateża się na wyparce obrotowej i schładza w lodówce uzyskując drugą porcję osadu. Połączone osady przemywa się etanolem i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z etanolu. W reakcji powstało 0,66 g białego

produktu o temperaturze topnienia 154 – 156 °C (literaturowa temperatura topnienia 156 - 157 °C). Wydajność reakcji wyniosła 52 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,65 (s, 3H, CH₃); 3,66 (q, 2H, CH₂); 4,12 (t, 2H, CH₂); 5,00 (t, 1H, OH); 7,46 (t, 1H, Ar-H); 7,57 (d, J = 8,14 Hz, 1H, Ar-H); 7,77 (t, 1H, Ar-H); 8,08 (d, J = 8,00 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	64,78	6,04
Wartość obliczona	64,69	5,92



6.6.2.24. 2-Metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-on (24) [220]

W kolbie o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia umieszcza się 9,11 g (0,05 mola) kwasu 2-amino-5-nitrobenzoesowego (5-nitroantranilowego) i 45 cm³ bezwodnika octowego. Mieszaninę ogrzewa się przez 2,5 godziny. Bezwodnik octowy usuwa się do sucha na wyparce obrotowej. Otrzymany żółty stały produkt nie oczyszcza się, tylko od razu zużywa jako substrat do następnej reakcji. Powstało 9,899 g produktu o temperaturze topnienia 159 °C (literaturowa temperatura topnienia 161 – 162 °C). Wydajność reakcji wyniosła 96 %.

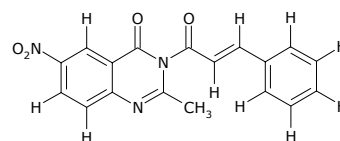
6.6.2.25. 2-Metylo-6-nitro-3-((E)-3-fenyloakryloilo)-3H-chinazolin-4-on (24a)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się mieszaninę 0,72 g (0,0035 mola) 2-metylo-6-nitro-3,1-benzoksazyn-4-onu (**24**), 0,77 g (0,00525 mola) 3-fenyloakrylamidu (amidu kwasu cynamonowego) i 10 cm³ bezwodnego etanolu. Zawartość kolby ogrzewa się przez 3 godziny. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem. Przesącz zateża się na wyparce obrotowej i schładza w lodówce uzyskując drugą porcję osadu. Połączone osady przemywa się zimnym etanolem i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z etanolu. W reakcji powstało 0,608 g białego produktu o temperaturze topnienia 190 °C. Wydajność reakcji wyniosła 52 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,20 (s, 3H, CH₃); 6,59 (d, J = 15,94

Hz, 1H, C=C-H); 7,34 – 7,41 (m, 6H, Ar-H); 7,53 (s, 1H, Ar-H); 7,54 (d, J = 7,03 Hz, 1H, Ar-H); 8,42 (d, J = 16,02 Hz, 1H, C=C-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	64,33	3,84
Wartość obliczona	64,48	3,91

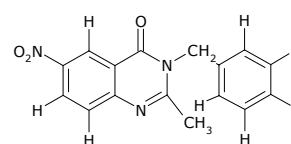


6.6.2.26. 3-(4-Fluorobenzyl)-2-metylo-6-nitro-3H-chinazolin-4-on (24b)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się mieszaninę 1,443 g (0,007 mola) 2-metylo-6-nitro-3,1-benzok-sazyn-4-onu (**24**), 1,2 cm³ (1,31 g, 0,0105 mola) 4-fluorobenzylaminy i 15 cm³ bezwodnego etanolu. Zawartość kolby ogrzewa się przez 3 godziny. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem. Przesącz zateża się na wyparce obrotowej i schładza w lodówce uzyskując drugą porcję osadu. Połączone osady przemywa się zimnym etanolem i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z etanolu. W reakcji powstało 0,85 g białego produktu o temperaturze topnienia 167 °C. Wydajność reakcji wyniosła 39 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,11 (s, 3H, CH₃); 4,02 (s, 2H, CH₂); 7,28 (d, 2H, Ar-H); 7,40 (d, J = 8,11 Hz, 1H, Ar-H); 7,58 (d, 2H, Ar-H); 7,69 (s, 1H, Ar-H); 8,16 (d, J = 7,91 Hz, 1H, Ar-H)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	61,28	3,75
Wartość obliczona	61,34	3,86



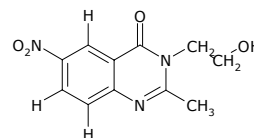
6.6.2.27. 3-(2-Hydroksyetylo)-2-metylo-6-nitro-3H-chinazolin-4-on (24c)

W kolbie o pojemności 50 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się mieszaninę 1,443 g (0,007 mola) 2-metylo-6-nitro-3,1-benzok-sazyn-4-onu (**24**), 0,63 cm³ (0,64 g, 0,0105 mola) 2-aminoetanolu i 15 cm³ bezwodnego etanolu. Zawartość kolby ogrzewa się przez 3 godziny. Po ochłodzeniu mieszaniny reakcyjnej wytrącony osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem. Przesącz zateża się na wyparce obrotowej i schładza w lodówce

uzyskując drugą porcję osadu. Połączone osady przemywa się zimnym etanolem i suszy na powietrzu. Produkt krystalizuje się z etanolu. W reakcji powstało 0,82 g białego produktu o temperaturze topnienia 180 °C. Wydajność reakcji wyniosła 47 %.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,11 (s, 3H, CH₃); 2,86 (t, 2H, CH₂); 3,57 (t, 2H, CH₂); 6,20 (s, 1H, Ar-H); 8,15 (d, J = 6,22 Hz, 1H, Ar-H); 8,77 (d, J = 5,84 Hz, 1H, Ar-H); 14,72 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna	% C	% H
Wartość oznaczona	52,88	4,52
Wartość obliczona	53,01	4,45



6.6.3. Synteza związków zawierających układ naftyrydynowy

6.6.3.1. 2-Metylopirydo-[2,3-*d*][1,3]-oksazyn-4-on (**25**) [214]

W kolbie o pojemności 100 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną umieszcza się 7 g (0,051 mola) kwasu 2-aminonikotynowego i 35 cm³ bezwodnika octowego. Mieszaninę ogrzewa się przez 1 godzinę, po czym bezwodnik octowy usuwa na wyparce obrotowej, a produkt przemywa benzyną lekką, odsącza pod zmniejszonym ciśnieniem i krótko suszy na powietrzu. Otrzymany produkt natychmiast zużywa się do dalszych reakcji. Powstało 6,42 g białego produktu o temperaturze topnienia 165 – 166 °C (literaturowa temperatura topnienia 165 – 166 °C). Wydajność reakcji wyniosła 78 % (wydajność literaturowa 90 %).

6.6.3.2. 1,3-Diacetylo-4-hydroksy-1*H*-1,8-naftyrydyn-2-on (**25a**) [214]

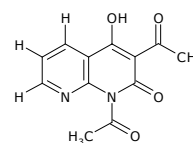
W kolbie trójszyjnej o pojemności 250 cm³, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką z chlorkiem wapnia, wkraplacz i mieszadło magnetyczne przygotowuje się mieszaninę 90 cm³ bezwodnego benzenu i 1,2 g (0,03 mola) wodoru sodu (60 % zawiesina w oleju). Do mieszaniny dodaje się powoli z wkraplacza 3,8 cm³ (3,9 g, 0,03 mola) acetylooctanu etylu i powstałą mlecznobiałą zawiesinę miesza przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej. Po tym czasie dodaje się 1,62 g (0,01 mola) 2-metylopirydo-[2,3-*d*][1,3]-oksazyn-4-onu (**25**) i mieszanie kontynuuje się przez 2 godziny. Następnie zawartość

kolby przelewa się do kolby stożkowej o pojemności 1 dm³, dodaje 90 cm³ wody i 75 cm³ eteru dietylowego, po czym całość wytrząsa w ciągu kilku minut. Warstwę wodną oddziela się, schładza w lodówce i zakwasza 10 % roztworem kwasu solnego. Wytrącony biały osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa zimną wodą i suszy na powietrzu. W reakcji powstało 1,48 g produktu o temperaturze topnienia 205 °C. Wydajność reakcji wyniosła 60 % (literaturowa wydajność reakcji 67 %).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆), δ[ppm]: 2,52 (s, 3H, CH₃); 2,57 (s, 3H, CH₃); 7,61 (t, 1H, Ar-H); 8,79 (d, J = 6,44 Hz, 1H, Ar-H); 9,23 (d, J = 6,33 Hz, 1H, Ar-H); 15,96 (s, 1H, OH)

Analiza elementarna

	% C	% H
Wartość oznaczona	58,69	4,16
Wartość obliczona	58,54	4,09



7. ODNOŚNIKI LITERATUROWE

- [1] www.unaids.org
- [2] Barbaro G., Scozzafava A., Mastrolorenzo A., Supuran C. T.; Highly Active Antiretroviral Therapy: Current State of the Art, New Agents and Their Pharmacological Interactions Useful for Improving Therapeutic Outcome; *Curr. Pharm. Des.*, **2005**, 11, 1805 – 1843.
- [3] Cohen J.; Therapies. Confronting the Limits of Success; *Science*, **2002**, 296, 2320 – 2324.
- [4] Pommier Y., Johnson A. A., Marchand C.; Integrase Inhibitors to Treat HIV / AIDS; *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **2005**, 4, 236 - 248.
- [5] Marchand C., Johnson A. A., Semenova E., Pommier Y.; Mechanisms and Inhibition of HIV Integration; *Drug Discov. Today Dis. Mech.*, **2006**, 3, 2, 253 – 260.
- [6] Bukrinsky M.; A Hard Way to the Nucleus; *Mol. Med.*, **2004**, 10, 1 – 5.
- [7] Chiu T. K., Davies D. R.; Structure and Function of HIV-1 Integrase; *Curr. Top. Med. Chem.*, **2004**, 4, 965 – 977.
- [8] Wang J. Y., Ling H., Yang W., Craigie R.; Structure of a Two - Domain Fragment of HIV-1 Integrase: Implications for Domain Organization in the Intact Protein; *EMBO J.*, **2001**, 20, 7333 – 7343.
- [9] Cotelle P.; Patented HIV-1 Integrase Inhibitors (1998 - 2005); *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discovery*, **2006**, 1, 1 – 15.
- [10] Pommier Y., Neamati N.; Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Integrase; *Adv. Virus Res.*, **1999**, 52, 427 - 458.
- [11] Dyda F., Hickman A. B., Jenkins T. M., Engelman A., Craigie R., Davies D. R.; Crystal Structure of the Catalytic Domain of HIV-1 Integrase: Similarity to Other Polynucleotidyl Transferases; *Science*, **1994**, 266, 1981 - 1986.
- [12] Bujacz G., Alexandratos J., Zhou - Liu Q., Clément - Mella C., Wlodawer A.; The Catalytic Domain of Human Immunodeficiency Virus Integrase: Ordered Active Site in the F185H Mutant; *FEBS Lett.*, **1996**, 398, 175 - 178.
- [13] Goldgur Y., Dyda F., Hickman A. B., Jenkins T. M., Craigie R., Davies D. R.; Three New Structures of the Core Domain of HIV-1 Integrase: An Active Site That Binds Magnesium; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**,

95, 9150 - 9154.

- [14] Lubkowski J., Yang F., Alexandratos J., Wlodawer A., Zhao H., Burke Jr. T. R., Neamati N., Pommier Y., Merkel G., Skalka A. M.; Structure of the Catalytic Domain of Avian Sarcoma Virus Integrase with a Bound HIV-1 Integrase - Targeted Inhibitor; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1998**, 95, 4831 - 4836.
- [15] Fujiwara T., Mizuuchi K.; Retroviral DNA Integration: Structure of an Integration Intermediate; *Cell*, **1997**, 54, 497 - 504.
- [16] Brown P. O., Bowerman B., Varmus H. E., Bishop J. M.; Retroviral Integration: Structure of the Initial Covalent Product and Its Precursor, and a Role for the Viral IN Protein; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1989**, 86, 2525 - 2529.
- [17] Palella F. J., Delaney K. M., Moorman A. C., Loveless M. O., Fuhrer J., Satten G. A., Aschman D. J., Scott D., Holmberg S. D.; Declining Morbidity and Mortality Among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection; *N. Engl. J. Med.*, **1998**, 338, 853 - 860.
- [18] Ramratnam B., Mittler J. E., Zhang L., Boden D., Hurley A., Fang F., Macken C. A., Perelson A. S., Markowitz M., Ho D. D.; The Decay of the Latent Reservoir of Replication - Competent HIV-1 Is Inversely Correlated with the Extent of Residual Viral Replication During Prolonged Antiretroviral Therapy; *Nat. Med.*, **2000**, 6, 82 - 85.
- [19] Finzi D., Blankson J., Siliciano J. D., Margolick J. B., Chadwick K., Pierson T., Smith K., Lisziewicz J., Lori F., Flexner C., Quinn T. C., Chaisson R. E., Rosenberg E., Walker B., Gange S., Gallant J., Siliciano R. F.; Latent Infection of CD4⁺T Cells Provides a Mechanism for Lifelong Persistence of HIV-1, Even in Patients on Effective Combination Therapy; *Nat. Med.*, **1999**, 5, 512 - 517.
- [20] Beese L. S., Steitz T. A.; Structural Basis for the 3'-5' Exonuclease Activity of *Escherichia coli* DNA Polymerase I: A Two Metal Ion Mechanism; *EMBO J.*, **1991**, 10, 25 - 33.
- [21] d'Angelo J., Mouscadet J.-F., Desmaële D., Zouhiri F., Leh H.; HIV-1 Integrase: The Next Target for AIDS Therapy?; *Pathol. Biol.*, **2001**, 49, 237 - 246.
- [22] Cushman M., Sherman P.; Inhibition of HIV-1 Integration Protein by Aurintricarboxylic Acid Monomers, Monomer Analogs, and Polymer Frac-

- tions; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1992**, 185, 85 - 90.
- [23] La Femina R. L., Graham P. L., Le Grow K., Hastings J. C., Wolfe A., Young S. D., Emini E. A., Hazuda D. J.; Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Integrase by Bis-catechols; *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1995**, 39, 320 - 324.
- [24] Fesen M. R., Pommier Y., Leteurtre F., Hiroguchi S., Yung J., Kohn K. W.; Inhibition of HIV-1 Integrase by Flavones Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE) and Related Compounds; *Biochem. Pharmacol.*, **1994**, 48, 595 - 608.
- [25] Mazumder A., Raghavan K., Weinstein J., Kohn K. W., Pommier Y.; Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase by Curcumin; *Biochem. Pharmacol.*, **1995**, 49, 1165 - 1170.
- [26] Mazumder A., Gazit A., Levitzki A., Nicklaus M., Yung J., Kohlhagen G., Pommier Y.; Effects of Tyrphostins, Protein Kinase Inhibitors on Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase; *Biochemistry*, **1995**, 34, 15111 - 15122.
- [27] Eich E., Pertz H., Kaloga M., Schulz J., Fesen M. R., Mazumder A., Pommier Y.; (-)-Arctigenin as a Lead Structure for Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Integrase; *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 86 - 95.
- [28] Zhao H., Neamati N., Hong H., Mazumder A., Wang S., Sunder S., Milne G. W. A., Pommier Y., Burke Jr. T. R.; Coumarin - Based Inhibitors of HIV Integrase; *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 242 - 249.
- [29] Cushman M., Golebiewski W. M., Pommier Y., Mazumder A., Reymen D., De Clercq E., Graham L., Rice W. G.; Cosalane Analogues with Enhanced Potencies as Inhibitors of HIV-1 Protease and Integrase; *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 443 - 452.
- [30] Neamati N., Hong H., Sunder S., Milne G. W. A., Pommier Y.; Potent Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase: Identification of a Novel Four - Point Pharmacophore and Tetracyclines as Novel Inhibitors; *Mol. Pharmacol.*, **1997**, 52, 1041 - 1055.
- [31] Zhao H., Neamati N., Sunder S., Hong H., Wang S., Milne G. W. A., Pommier Y., Burke Jr. T. R.; Hydrazide - Containing Inhibitors of HIV-1 Integrase; *J. Med. Chem.*, **1997**, 40, 937 - 941.
- [32] Neamati N., Mazumder A., Zhao H., Sunder S., Burke Jr. T. R., Schultz

- R. J., Pommier Y.; Diarylsulfones, a Novel Class of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase Inhibitors; *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **1997**, 41, 385 - 393.
- [33] King P. J., Ma G., Miao W., Jia Q., McDougall B. R., Reinecke M. G., Cornell C., Kuan J., Kim T. R., Robinson Jr. W. E.; Structure - Activity Relationships: Analogues of the Dicafeoylquinic and Dicafeoyltartaric Acids as Potent Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase and Replication; *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 497 - 509.
- [34] Goldgur Y., Craigie R., Cohen G. H., Fujiwara T., Yoshinaga T., Fujishita T., Sugimoto H., Endo T., Murai H., Davies D. R.; Structure of the HIV-1 Integrase Catalytic Domain Complexed with an Inhibitor: A Platform for Antiviral Drug Design; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1999**, 96, 13040 - 13043.
- [35] Hazuda D. J., Felock P., Witmer M., Wolfe A., Stillmock K., Grobler J. A., Espeseth A., Gabryelski L., Schleif W., Blau C., Miller M. D.; Inhibitors of Strand Transfer That Prevent Integration and Inhibit HIV-1 Replication in Cells; *Science*, **2000**, 287, 646 - 650.
- [36] Mekouar K., Mouscadet J.-F., Desmaële D., Subra F., Leh H., Savouré D., Auclair C., d'Angelo J.; Styryloquinoline Derivatives: A New Class of Potent HIV-1 Integrase Inhibitors That Block HIV-1 Replication in CEM Cells; *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 2846 - 2857.
- [37] Zouhiri F., Mouscadet J.-F., Mekouar K., Desmaële D., Savouré D., Leh H., Subra F., Le Bret M., Auclair C., d'Angelo J.; Structure - Activity Relationships and Binding Mode of Styrylquinolines as Potent Inhibitors of HIV-1 Integrase and Replication of HIV-1 in Cell Culture; *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 1533 - 1540.
- [38] Pelletier H., Sawaya M. R., Wolfle W., Wilson S. H., Kraut J.; A Structural Basis for Metal Ion Mutagenicity and Nucleotide Selectivity in Human DNA Polymerase β ; *Biochemistry*, **1996**, 35, 12762 - 12777.
- [39] Leh H., Brodin P., Bischerour J., Deprez E., Tauc P., Brochon J.-C., Le Cam E., Coulaud D., Auclair C., Mouscadet J.-F.; Determinants of Mg^{2+} -Dependent Activities of Recombinant Human Immunodeficiency Virus Type I Integrase; *Biochemistry*, **2000**, 39, 9285 - 9294.
- [40] Deprez E., Tauc P., Leh H., Mouscadet J.-F., Auclair C., Brochon J. C.; Oligomeric States of the HIV-1 Integrase as Measured by Time - Re-

- solved Fluorescence Anisotropy; *Biochemistry*, **2000**, 39, 9275 – 9284.
- [41] Carteau S., Mouscadet J.-F., Goulaouic H., Subra F., Auclair C.; Effect of Topoisomerase Inhibitors on the *in vitro* HIV DNA Integration Reaction; *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **1993**, 192, 1409 - 1414.
- [42] Bouziane M., Cherny D. I., Mouscadet J.-F., Auclair C.; Alternate Strand DNA Triple Helix - Mediated Inhibition of HIV-1 U5 Long Terminal Repeat Integration *in vitro*; *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 10359 - 10364.
- [43] Carteau S., Mouscadet J.-F., Goulaouic H., Subra F., Auclair C.; Inhibitory Effect of the Polyanionic Drug Suramin in the *in vitro* HIV DNA Integration Reaction; *Arch. Biochem. Biophys.*, **1993**, 305, 606 - 610.
- [44] Guare J., Wai J., Gomez R., Anthony N., Jolly S., Cortez A., Vacca J., Felock P., Stillmock K., Schleif W., Moyer G., Gabryelski L., Jin L., Chen I., Hazuda D., Young S.; A Series of 5-Aminosubstituted 4-Fluorobenzyl-8-hydroxy-[1,6]naphthyridine-7-carboxamide HIV-1 Integrase Inhibitors; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 11, 2900 – 2904.
- [45] Embrey M. W., Wai J. S., Funk T. W., Homnick C. F., Perlow D. S., Young S. D., Vacca J. P., Hazuda D. J., Felock P. J., Stillmock K. A., Witmer M. V., Moyer G., Schleif W. A., Gabryelski L. J., Jin L., Chen I. W., Ellis J. D., Wong B. K., Lin J. H., Leonard Y. M., Tsou N. N., Zhuang L.; A Series of 5-(5,6)-Dihydrouracil Substituted 8-Hydroxy-[1,6]-naphthyridine-7-carboxylic Acid 4-Fluorobenzylamide Inhibitors of HIV-1 Integrase and Viral Replication in Cells; *229th Acs. Natl. Meet.*, **2005**, Abstr. MEDI – 319.
- [46] Embrey M. W., Wai J. S., Funk T. W., Homnick C. F., Perlow D. S., Young S. D., Vacca J. P., Hazuda D. J., Felock P. J., Stillmock K. A.; A Series of 5-(5,6)-Dihydrouracil Substituted 8-Hydroxy-[1,6]-naphthyridine-7-carboxylic Acid 4-Fluorobenzylamide Inhibitors of HIV-1 Integrase and Viral Replication in Cells; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 20, 4550 – 4554.
- [47] Egbertson M., Langfort H. M., Melamed J. Y., Wai J. S., Han W., Perlow D. S., Zhuang L., Embrey M.; Preparation of N-(Substituted benzyl)-8-hydroxy-[1,6]-naphthyridine-7-carboxamides Useful as HIV Integrase Inhibitors for Treatment of HIV Infection / AIDS; Merck and Company Inc., U. S. A., **2003**, patent WO 03077850114.
- [48] Zhuang L., Wai J. S., Embrey M. W., Fisher T. E., Egbertson M. S., Pay-

- ne L. S., Guare J. P., Vacca J. P., Hazuda D. J., Felock P. J., Wolfe A. L., Stillmock K. A., Witmer M. V., Moyer G., Schleif W. A., Gabryelski L. J., Leoard Y. M., Lynch J. J., Michelson S. R., Young S. D.; Design and Synthesis of 8-Hydroxy-[1,6]naphthyridines as Novel Inhibitors of HIV-1 Integrase *in vitro* and in Infected Cells; *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 453 – 456.
- [49] Metobo S., Jin H., Tsiang M., Kim C.; Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Tricyclic HIV-1 Integrase Inhibitors by Modification of Its Pyridine Ring; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 15, 3985 – 3988.
- [50] Verschuere W. G., Dierynck I., Amsoms K. I. E., Hu L., Boonants P. M. J. G., Pille G. M. E., Daeyaert F. F. D., Hertogs K., Surleraux D. L. N. G., Wigerinck P. B. T. P.; Design and Optimization of Tricyclic Phtalimide Analogues as Novel Inhibitors of HIV-1 Integrase; *J. Med. Chem.*, **2005**, 48, 6, 1930 – 1940.
- [51] Cohen J.; Retrovirus Meeting. Novel Attacks on HIV Move Closer to Reality; *Science*, **2006**, 311, 943.
- [52] Sato M., Motomura T., Aramaki H., Matsuda T., Yamashita M., Ito Y., Kawakami H., Matsuzaki Y., Watanabe W., Yamataka K., Ikeda S., Kodama E., Matsuoka M., Shinkai H.; Novel HIV-1 Integrase Inhibitors Derived from Quinolone Antibiotics; *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 1506 – 1508.
- [53] Chen J. C.-H., Krucinski J., Miercke L. J. W., Finer - Moore J. S., Tang A. H., Leavitt A. D., Stroud R. M.; Crystal Structure of the HIV-1 Integrase Catalytic Core and C-Terminal Domains: A Model for Viral DNA Binding; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2000**, 97, 8233 – 8238.
- [54] DeJesus E., Berger D., Markowitz M., Cohen C., Hawkins T., Ruane P., Elion R., Farthing C., Cheng A., Kearney B. P.; Gilead HIV-1 Integrase Inhibitor GS-9137 (JTK-303) Exhibits Potent Antiviral Activity in Treatment-Naive and Experienced Patients; *13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*, 5 – 8 February **2006**, Denver, Co, USA, presentation 160LB.
- [55] Grinsztejn B., Nguyen B. Y., Katlama C., Gatell J., Lazzarin A., Vittecoq D., Gonzalez C., Chen J., Isaacs R.; Potent Antiretroviral Effect of MK-0518, a Novel HIV-1 Integrase Inhibitor, in Patients with Triple - Class

- Resistant Virus; *13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*, 5 – 8 February **2006**, Denver, Co, USA, presentation 159LB.
- [56] Matsuzaki Y., Watanabe W., Yamataka K., Sato M., Enya S., Kano M., Kodama E., Matsuoka M., Ikeda S.; JTK-303 / GS-9137, a Novel Small Molecule Inhibitor of HIV-1 Integrase: Anti - HIV Activity Profile and Pharmacokinetics in Animals; *13th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections*, 5 – 8 February **2006**, Denver, Co, USA, poster 508.
- [57] Kanamori D., Okamura T., Yamamoto H., Ueyama N.; Linear-to-Turn Conformational Switching Induced by Deprotonation of Unsymmetrically Linked Phenolic Oligoamides; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, 44, 969 – 972.
- [58] Kanamori D., Furukawa A., Okamura T. A., Yamamoto H., Ueyama N.; Contribution of the Intramolecular Hydrogen Bond to the Shift of the pKa Value and the Oxidation Potential of Phenols and Phenolate Anions; *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 1453 - 1459.
- [59] Richman D. D.; HIV Chemotherapy; *Nature*, **2001**, 410, 995 – 1001.
- [60] Hazuda D. J., Young S. D., Guare J. P., Anthony N. J., Gomez R. P., Wai J. S., Vacca J. P., Handt L., Motzel S. L., Klein H. J., Dornadula G., Danovich R. M., Witmer M. V., Wilson K. A. A., Tussey L., Schleif W. A., Gabryelski L. S., Jin L., Miller M. D., Casimiro D. R., Emini E. A., Shiver J. W.; Integrase Inhibitors and Cellular Immunity Suppress Retroviral Replication in Rhesus Macaques; *Science*, **2004**, 305, 528 – 532.
- [61] Chow S. A., Vincent K. A., Ellison V., Brown P. O.; Reversal of Integration and DNA Splicing Mediated by Integrase of Human Immunodeficiency Virus; *Science*, **1992**, 255, 723 – 726.
- [62] Williams J. L. R., Adel R. E., Carlson J. M., Reynolds G. A., Borden D. G., Ford J. A.; A Comparison of Methods for the Preparation of 2- and 4-Styrylpyridines; *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 387 – 390.
- [63] Shaw B. D., Wagstaff E. A.; The Reaction between 2-Picoline and Aromatic Aldehydes; *J. Chem. Soc.*, **1933**, 77 – 79.
- [64] Phillips J. P., Breese R., Barral E. M.; Styryl Derivatives of 8-Quinolinol; *J. Org. Chem.*, **1959**, 24, 1104 – 1106.
- [65] Yang W., Steitz T. A.; Recombining the Structures of HIV Integrase, RuvC and RNase H; *Structure*, **1995**, 3, 131 – 134.

- [66] Song J. J., Smith S. K., Hannon G. J., Joshua - Tor L.; Crystal Structure of Argonaute and Its Implications for RISC Slicer Activity; *Science*, **2004**, 305, 1434 – 1437.
- [67] Rice P. A., Baker T. A.; Comparative Architecture of Transposase and Integrase Complexes; *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2001**, 8, 302 – 307.
- [68] Bujacz G., Alexandratos J., Wlodawer A., Merkel G., Andrade M., Katz R. A., Skalka A. M.; Binding of Different Divalent Cations to the Active Site of Avian Sarcoma Virus Integrase and Their Effects on Enzymatic Activity; *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 18161 – 18168.
- [69] Grobler J. A., Stillmock K., Hu B., Witmer M., Felock P., Espeseth A. S., Wolfe A., Egbertson M., Bourgeois M., Melamed J., Wai J. S., Young S., Vacca J., Hazuda D. J.; Diketo Acid Inhibitor Mechanism and HIV-1 Integrase: Implications for Metal Binding in the Active Site of Phosphotransferase Enzymes; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2002**, 99, 6661 - 6666.
- [70] Marchand C., Johnson A. A., Karki R. G., Pais G. C., Zhang X., Cowansage K., Patel T. A., Nicklaus M. C., Burke Jr. T. R., Pommier Y.; Metal - Dependent Inhibition of HIV-1 Integrase by β -Diketo Acids and Resistance of the Soluble Double - Mutant (F185K/C280S); *Mol. Pharmacol.*, **2003**, 64, 600 - 609.
- [71] Engelman A., Craigie R.; Identification of Conserved Amino Acid Residues Critical for Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase Function *in vitro*; *J. Virol.*, **1992**, 66, 6361 – 6369.
- [72] Pluymers W., Neamati N., Pannecouque C., Fikkert V., Marchand C., Burke Jr. T. R., Pommier Y., Schols D., De Clercq E., Debyser Z., Witvrouw M.; Viral Entry as the Primary Target for the Anti - HIV Activity of Chicoric Acid and Its *tetra*-Acetyl Esters; *Mol. Pharmacol.*, **2000**, 58, 641 – 648.
- [73] Johnson A. A., Marchand C., Pommier Y.; HIV-1 Integrase Inhibitors: A Decade of Research and Two Drugs in Clinical Trial; *Curr. Topics in Med. Chem.*, **2004**, 4, 671 - 686.
- [74] Dayam R., Neamati N.; Small - Molecule HIV-1 Integrase Inhibitors: The 2001 – 2002 Update; *Curr. Pharm. Des.*, **2003**, 9, 1789 – 1802.
- [75] Neamati N.; Patented Small Molecules Inhibitors of HIV-1 Integrase: A 10 - Year Saga; *Expert Opin. Ther. Patents*, **2002**, 12, 709 – 724.
- [76] Witvrouw M., Van Maele B., Vercaemmen J., Hantson A., Engelborghs Y.,

- De Clercq E., Pannecouque C., Debyser Z.; Novel Inhibitors of HIV-1 Integration; *Curr. Drug. Metab.*, **2004**, 5, 291 – 304.
- [77] Young S. D.; Inhibition of HIV-1 Integrase by Small Molecules: The Potential for a New Class of AIDS Chemotherapeutics; *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.*, **2001**, 4, 402 – 410.
- [78] Littell R., Allen D. S.; 5-Aryl-1,3-dihydro-2H-pyrido-1,4-diazepin-2-ones; *J. Med. Chem.*, **1965**, 8, 722 – 724.
- [79] Bonnenfant S., Thomas C. M., Vita C., Subra F., Deprez E., Zouhiri F., Desmaële D., d'Angelo J., Mouscadet J.-F., Leh H.; Styrylquinolines, Integrase Inhibitors Acting Prior to Integration: A New Mechanism of Action for Antiintegrase Agents; *J. Virol.*, **2004**, 78, 5728 – 5736.
- [80] Hazuda D. J., Anthony N. J., Gomez R. P., Jolly S. M., Wai J. S., Zhuang L., Fisher T. E., Embrey M., Guare Jr. J. P., Egbertson M. S., Vacca J. P., Huff J. R., Felock P. J., Witmer M. V., Stillmock K. A., Danovich R., Grobler J., Miller M. D., Espeseth A. S., Jin L., Chen I. W., Lin J. H., Kassahun K., Ellis J. D., Wong B. K., Xu W., Pearson P. G., Schleif W. A., Cortese R., Emini E., Summa V., Holloway M. K., Young S. D.; A Naphthyridine Carboxamide Provides Evidence for Discordant Resistance Between Mechanistically Identical Inhibitors of HIV-1 Integrase; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2004**, 11, 11233 - 11238.
- [81] Sherman P. A., Fyfe J. A.; Human Immunodeficiency Virus Integration Protein Expressed in *Escherichia Coli* Possesses Selective DNA Cleaving Activity; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1990**, 87, 5119 - 5123.
- [82] Deprez E., Barbe S., Kolaski M., Leh H., Zouhiri F., Auclair C., Brochon J. C., Le Bret M., Mouscadet J.-F.; Mechanism of HIV-1 Integrase Inhibition by Styrylquinoline Derivatives *in vitro*; *Mol. Pharmacol.*, **2004**, 65, 85 - 98.
- [83] Mousnier A., Leh H., Mouscadet J.-F., Dargemont C.; Nuclear Import of HIV-1 Integrase Is Inhibited *in vitro* by Styrylquinoline Derivatives; *Mol. Pharmacol.*, **2004**, 66, 783 – 788.
- [84] Craigie R., Mizuuchi K., Bushman F. D., Engelman A.; A Rapid *in vitro* Assay for HIV DNA Integration; *Nucleic Acids Res.*, **1991**, 19, 2729 - 2734.
- [85] Neamati N., Lin Z., Karki R. G., Orr A., Cowansage K., Strumberg D., Pais G. C., Voigt J. H., Nicklaus M. C., Winslow H. E., Zhao H., Turpin J.

- A., Yi J., Skalka A. M., Burke Jr. T. R., Pommier Y.; Metal - Dependent Inhibition of HIV-1 Integrase; *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 5661 - 5670.
- [86] Hazuda D. J., Hastings J. C., Wolfe A. L., Emini E. A.; A Novel Assay for the DNA Strand - Transfer Reaction of HIV-1 Integrase; *Nucleic Acids Res.*, **1994**, 22, 1121 - 1122.
- [87] Billich A.; S-1360 Shionogi - Glaxo Smith Kline; *Curr. Opin. Investig. Drugs*, **2003**, 4, 206 - 209.
- [88] Hazuda D. J., Felock P. J., Hastings J. C., Pramanik B., Wolfe A. L.; Differential Divalent Cation Requirements Uncouple the Assembly and Catalytic Reactions of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase; *J. Virol.*, **1997**, 71, 7005 - 7011.
- [89] Lataillade M., Kozal M. J.; The Hunt for HIV-1 Integrase Inhibitors; *AIDS Patient Care and STDs*, **2006**, 20, 489 - 501.
- [90] Hazuda D., Blau C. U., Felock P., Hastings J., Pramanik B., Wolfe A., Bushman F., Farnet C., Goetz M., Williams M., Silverman K., Lingham R., Singh S.; Isolation and Characterization of Novel Human Immunodeficiency Virus Integrase Inhibitors from Fungal Metabolites; *Antivir. Chem. Chemother.*, **1999**, 10, 63 - 70.
- [91] Butler S. L., Johnson E. P., Bushman F. D.; Human Immunodeficiency Virus cDNA Metabolism: Notable Stability of Two - Long Terminal Repeat Circles; *J. Virol.*, **2002**, 76, 3739 - 3747.
- [92] Hong T., Drlica K., Pinter A., Murphy E.; Circular DNA of Human Immunodeficiency Virus: Analysis of Circle Junction Nucleotide Sequences; *J. Virol.*, **1991**, 65, 551 - 555.
- [93] Svarovskaia E. S., Barr R., Zhang X., Pais G. C. G., Marchand C., Pommier Y., Burke Jr. T. R., Pathak V. K.; Azido - Containing Diketo Acid Derivatives Inhibit Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase *in vivo* and Influence the Frequency of Deletions at Two - Long - Terminalrepeat - Circle Junctions; *J. Virol.*, **2004**, 78, 3210 - 3222.
- [94] Pais G. C. G., Zhang X., Marchand C., Neamati N., Cowansage K., Svarovskaia E. S., Pathak V. K., Tang Y., Nicklaus M., Pommier Y., Burke Jr. T. R.; Structure Activity of 3-Aryl-1,3-diketo-containing Compounds as HIV-1 Integrase Inhibitors; *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 3184 - 3194.
- [95] Marchand C., Zhang X., Pais G. C. G., Cowansage K., Neamati N., Burke Jr. T. R., Pommier Y.; Structural Determinants for HIV-1 Integrase Inhi-

- bition by β -Diketo Acids; *J. Biol. Chem.*, **2002**, 277, 12596 – 12603.
- [96] Johnson E. P., Bushman F. D.; Paired DNA Three - Way Junctions as Scaffolds for Assembling Integrase Complexes; *Virology*, **2001**, 286, 304 - 316.
- [97] Temesgen Z., Cainelli F., Poeschla E. M., Vlahakis S. A. R., Vento S.; Approach to Salvage Antiretroviral Therapy in Heavily Antiretroviral - Experienced HIV - Positive Adults; *Lancet Infect. Dis.*, **2006**, 6, 496 – 507.
- [98] Bujacz G., Jaskólski M., Alexandratos J., Wlodawer A., Merkel G., Katz R. A., Skalka A. M.; High - Resolution Structure of the Catalytic Domain of Avian Sarcoma Virus Integrase; *J. Mol. Biol.*, **1995**, 253, 333 – 346.
- [99] Bujacz G., Jaskólski M., Alexandratos J., Wlodawer A., Merkel G., Katz R. A., Skalka A. M.; The Catalytic Domain of Avian Sarcoma Virus Integrase: Conformation of the Active - Site Residues in the Presence of Divalent Cations; *Structure*, **1996**, 4, 89 – 96.
- [100] Ouali M., Laboulais C., Leh H., Gill D., Xhuvani E., Zouhiri F., Desmaële D., d'Angelo J., Auclair C., Mouscadet J.-F., Le Bret M.; Tautomers of Styrylquinoline Derivatives Containing a Methoxy Substituent: Computation of Their Population in Aqueous Solution and Their Interaction with RSV Integrase Catalytic Core; *Acta Biochim. Pol.*, **2000**, 47, 11 – 22.
- [101] Didierjean J., Isel C., Querré F., Mouscadet J.-F., Aubertin A.-M., Valnot J.-Y., Piettre S. R., Marquet R.; Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase, RNase H, and Integrase Activities by Hydroxytropolones; *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**, 49, 4884 - 4894.
- [102] Gulick R. M.; New Antiretroviral Drugs; *Clin. Microbiol. Infect.*, **2003**, 9, 186 – 193.
- [103] Botros S., Shaban M.; Synthesis of Some 2-Styrylquinazoline Derivatives Structurally Related to Certain Chemotherapeutic Agents; *Pharmazie*, **1978**, 33, 10, 646 - 647.
- [104] Groth A. C., Calos M. P.; Phage Integrases: Biology and Applications; *J. Mol. Biol.*, **2004**, 335, 667 – 678.
- [105] Di Santo R., Costi R., Artico M., Ragno R., Greco G., Novellino E., Marchand C., Pommier Y.; Design, Synthesis and Biological Evaluation of Heteroaryl Diketohexenoic and Diketobutanoic Acids as HIV-1 Integrase

- Inhibitors Endowed with Antiretroviral Activity; *Farmaco*, **2005**, 60, 409 – 417.
- [106] Rice P., Craigie R., Davies D. R.; Retroviral Integrases and Their Cousins; *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **1996**, 6, 76 – 83.
- [107] Pommier Y., Marchand C., Neamati N.; Retroviral Integrase Inhibitors Year 2000: Update and Perspectives; *Antiviral Res.*, **2000**, 47, 139 – 148.
- [108] Asante - Appiah E., Skalka A. M.; Molecular Mechanisms in Retrovirus DNA Integration; *Antiviral Res.*, **1997**, 36, 139 – 156.
- [109] Firley D., Courcot B., Gillet J.-M., Fraisse B., Zouhiri F., Desmaële D., d'Angelo J., Ghermani N. E.; Experimental / Theoretical Electrostatic Properties of a Styrylquinoline - Type HIV-1 Integrase Inhibitor and Its Progenitors; *J. Phys. Chem. B*, **2006**, 110, 537 – 547.
- [110] Polanski J., Niedbala H., Musiol R., Podeszwa B., Tabak D., Palka A., Mencil A., Mouscadet J.-F., Le Bret M.; Fragment Based Approach for the Investigation of HIV-1 Integrase Inhibitors; *Lett. Drug Des. Disc.*, **2007**, 4, 99 – 105.
- [111] Long Y.-Q., Jiang X.-H., Dayam R., Sanchez T., Shoemaker R., Sei S., Neamati N.; Rational Design and Synthesis of Novel Dimeric Diketoacid-Containing Inhibitors of HIV-1 Integrase: Implication for Binding to Two Metal Ions on the Active Site of Integrase; *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 2561 – 2573.
- [112] Polanski J., Niedbala H., Musiol R., Podeszwa B., Tabak D., Palka A., Mencil A., Finster J., Mouscadet J.-F., Le Bret M.; 5-Hydroxy-6-quinaldic Acid as a Novel Molecular Scaffold for HIV-1 Integrase Inhibitors; *Lett. Drug Des. Disc.*, **2006**, 3, 175 - 178.
- [113] Podeszwa B., Musioł R., Tabak D., Finster J., Polański J., Niedbała H., Pałka A.; 2-Oksoamidy jako inhibitory integrazy HIV, ich prekursorzy oraz ich zastosowanie; zgłoszenie patentowe, **2006**, P 380818.
- [114] Phillips A. P., Baltzly R.; Rearrangements between Primary Ethanolamides of Carboxylic Acids and the Corresponding Aminoethylesters; *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, 69, 200 – 204.
- [115] Majerz - Maniecka K. A., Musioł R., Nitek W., Oleksyn B. J., Mouscadet J.-F., Le Bret M., Polański J.; Intermolecular Interactions in the Crystal Structures of Potential HIV-1 Integrase Inhibitors; *Bioorg. Med. Chem.*

- Lett.*, **2006**, 16, 1005 – 1009.
- [116] Subirana J. A., Soler - López M.; Cations as Hydrogen Bond Donors: A View of Electrostatic Interactions in DNA; *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **2003**, 32, 27 – 45.
- [117] Behforouz M., Haddad J., Cai W., Arnold M. B., Mohammadi F., Sousa A. C., Horn M. A.; Highly Efficient and Practical Synthesis of Lavendamycin Methyl Ester and Related Novel Quinolinedione; *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, 6552 - 6555.
- [118] Behforouz M., Cai W., Stockdale M. G., Lucas J. S., Jung J. Y., Briere D., Wang A., Katen A. S., Behforouz N. C.; Novel Lavendamycin Analogues as HIV Reverse Transcriptase Inhibitors: Synthesis and Evaluation of Anti Reverse Transcriptase Activity of Amide and Ester Analogues of Lavendamycin; *J. Med. Chem.*, **2003**, 46, 5773 - 5780.
- [119] Kok G. B., Leung B. K., Gautier E. C. L., Barnham K. J.; Neurologically-Active Compounds; Prana Biotechnology Limited, **2003**, patent WO 2004031161 A1.
- [120] Ragulin V. V., Ragulina I. R., Shakirov L. G.; Carboxylation of 8-Hydroxyquinoline to 8-Hydroxyquinoline-7-carboxylic Acid; *Russ. J. Appl. Chem.*, **1994**, 67, 7, 1227 - 1229.
- [121] Musiol R., Podeszwa B., Finster J., Niedbala H., Polanski J.; An Efficient Microwave - Assisted Synthesis of Structurally Diverse Styrylquinolines; *Monatsh. Chem.*, **2006**, 137, 1211 – 1217.
- [122] Ouali M., Laboulais C., Leh H., Gill D., Desmaële D., Mekouar K., Zouhiri F., d'Angelo J., Auclair C., Mouscadet J.-F., Le Bret M.; Modeling of the Inhibition of Retroviral Integrases by Styryloquinoline Derivative; *J. Med. Chem.*, **2000**, 43, 1949 - 1957.
- [123] Zouhiri F., Desmaële D., d'Angelo J., Ourevitch M., Mouscadet J.-F., Leh H., Le Bret M.; HIV-1 Replication Inhibitors of the Styrylquinoline Class: Incorporation of a Masked Diketo Acid Pharmacophore; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 8189 - 8192.
- [124] Benard C., Zouhiri F., Normand - Bayle M., Danet M., Desmaële D., Leh H., Mouscadet J.-F., Mbemba G., Thomas C.-M., Bonnenfant S., Le Bret M., d'Angelo J.; Linker - Modified Quinoline Derivatives Targeting HIV-1 Integrase: Synthesis and Biological Activity; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 2473 - 2476.

- [125] Avery S. V., Tobin J. M.; Mechanism of Adsorption of Hard and Soft Metal Ions to *Saccharomyces cerevisiae* and Influence of Hard and Soft Anions; *Appl. Environ. Microbiol.*, **1993**, 59, 2851 – 2856.
- [126] Tchertanov L., Mouscadet J.-F.; Target Recognition by Catechols and β -Ketoenols: Potential Contribution of Hydrogen Bonding and Mn / Mg Chelation to HIV-1 Integrase Inhibition; *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 1133 – 1145.
- [127] Patrick G. L.; *Chemia medyczna*; WNT Warszawa, **2003**, a) s. 227, b) s. 191, c) s. 178, d) s. 232.
- [128] Niedbała H., Musioł R., Pałka A., Podeszwa B., Mencil A., Tabak D., Polański J., Finster J.; Sposób otrzymywania amidów kwasów chinaldynokarboksylowych; zgłoszenie patentowe, **2005**, P 374130.
- [129] Burke Jr. T. R., Fesen M. R., Mazumder A., Wang J., Carothers A. M., Grunberger D., Driscoll J., Kohn K., Pommier Y.; Hydroxylated Aromatic Inhibitors of HIV-1 Integrase; *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, 4171 - 4178.
- [130] Dupont R., Jeanson L., Mouscadet J.-F., Cotelle P.; Synthesis and HIV-1 Integrase Inhibitory Activities of Catechol and Bis-catechol Derivatives; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, 3175 - 3178.
- [131] Espeseth A. S., Felock P., Wolfe A., Witmer M., Grobler J., Anthony N., Egbertson M., Melamed J. Y., Young S., Hamill T., Cole J. L., Hazuda D. J.; HIV-1 Integrase Inhibitors that Compete with the Target DNA Substrate Define a Unique Strand Transfer Conformation for Integrase; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2000**, 97, 11244 - 11249.
- [132] Konschin H.; An STO - 3G Molecular Orbital Investigation of the Molecular Structure and Internal Rotation of Phenol and Catechol; *J. Mol. Struct.*, **1983**, 92, 173 - 189.
- [133] Silverman R. B.; *Chemia organiczna w projektowaniu leków*; WNT Warszawa, **2004**, a) s. 10, b) s. 222.
- [134] Bilton C., Allen F. H., Shields G. P., Howard J. A. K.; Intra - Molecular Hydrogen Bonds: Common Motifs, Probabilities of Formation and Implications for Supramolecular Organization; *Acta Crystallogr. B*, **2000**, 56, 849 - 856.
- [135] Infantes L., Motherwell W. D. S.; Hydrogen Bond Competition Between Chemical Groups: New Methodology and the Cambridge Structural Database; *Z. Kristallogr.*, **2005**, 220, 333 - 339.

- [136] Jeffrey G. A., Saenger W.; Hydrogen Bonding in Biological Structures; Springer - Verlag Berlin - Heibleberg, **1991**, 425 - 451.
- [137] Schiavoni M. M., Di Lorento H. E., Hermann A., Mack H. G., Ulic S. E., Della Védova C. O.; Keto - Enol Tautomerism in Ketoesters: $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})\text{CHXC}(\text{O})\text{OY}$ ($\text{X} = \text{H}, \text{Cl}$; $\text{Y} = \text{CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5$). Vibrational Analyses, NMR Spectra and Quantum Chemical Calculations; *J. Raman Spectr.*, **2001**, 32, 319 - 329.
- [138] Bertolasi V., Gilli P., Ferretti V. G. G.; Resonance - Assisted O-H \cdots O Hydrogen Bonding: Its Role in the Crystalline Self - Recognition of beta-Diketone, Enols and Its Structural and IR Characterization; *Chem. Eur. J.*, **1996**, 2, 925 - 934.
- [139] Madsen G. K. H., Iversen B. B., Larsen F. K., Kapon M., Reisner G. M., Herbstein F. H.; Topological Analysis of the Charge Density in Short Intramolecular O-H \cdots O Hydrogen Bonds. Very Low Temperature X - Ray and Neutron Diffraction Study of Benzoylacetone; *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 10040 - 10045.
- [140] Schiøtt B., Iversen B. B., Madsen G. K. H., Larsen F. K., Bruice T. C.; Characterization of the Short Strong Hydrogen Bond in Benzoylacetone by *ab initio* Calculations and Accurate Diffraction Experiments. Implications for the Electronic Nature of Low - Barrier Hydrogen Bonds in Enzymatic Reactions; *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120, 12117 - 12124.
- [141] Rowley D. C., Hansen M. S., Rhodes D., Sotriffer C. A., Ni H., McCammon J. A., Bushman F. D., Fenical W.; Thalassiolins A - C: New Marine-Derived Inhibitors of HIV cDNA Integrase; *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 3619 - 3625.
- [142] Feng M., Patel D., Dervan J. J., Ceska T., Suck D., Haq I., Sayers J. R.; Roles of Divalent Metal Ions in Flap Endonuclease - Substrate Interactions; *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2004**, 11, 450 - 456.
- [143] Steitz T. A.; A Mechanism for All Polymerases; *Nature*, **1998**, 391, 231 - 232.
- [144] Steitz T. A.; DNA Polymerases: Structural Diversity and Common Mechanisms; *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 17395 - 17398.
- [145] Cowan J. A.; The Biological Chemistry of Magnesium; VCH New York, **1995**, 254.
- [146] Mencil A.; Synteza wybranych pochodnych kwasu 5-hydroksychinaldy-

- no-6-karboksyłowego jako potencjalnych inhibitorów integrazy HIV; Praca doktorska, Uniwersytet Śląski, Katowice, **2006**.
- [147] Podeszwa B.; Synteza wybranych pochodnych 7-amino-2-metylo-5,8-chinolinodionu w poszukiwaniu nowych inhibitorów integrazy HIV; Praca doktorska, Uniwersytet Śląski, Katowice, **2006**.
- [148] Zejc A., Gorczyca M.; *Chemia leków*; Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa, **2002**, s. 728.
- [149] Lee J. Y., Park J. H., Lee S. J., Park H., Lee Y. S.; Styrylquinazoline Derivatives as HIV-1 Integrase Inhibitors; *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **2002**, 6, 277 – 282.
- [150] Park J. H., Min H. Y., Kim S. S., Lee J. Y., Lee S. K., Lee Y. S.; Styrylquinazolines: A New Class of Inhibitors on Prostaglandin E2 Production in Lipopolysaccharide – Activated Macrophage Cells; *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, **2004**, 337, 20 – 24.
- [151] Gao K., Wong S., Bushman F.; Metal Binding by the D,DX₃₅E Motif of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase: Selective Rescue of Cys Substitutions by Mn²⁺ *in vitro*; *J. Virol.*, **2004**, 78, 13, 6715 – 6722.
- [152] Blaskó A., Bruice T. C.; Recent Studies of Nucleophilic, General - Acid, and Metal Ion Catalysis of Phosphate Diester Hydrolysis; *Acc. Chem. Res.*, **1999**, 32, 475 – 484.
- [153] Blackwell K. J., Tobin J. M., Avery S. V.; Manganese Uptake and Toxicity in Magnesium - Supplemented and Unsupplemented *Saccharomyces cerevisiae*; *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1997**, 47, 180 – 184.
- [154] Bernardi F., Bottoni A., De Vivo M., Garavelli M., Keseru G., Naray-Szabo G.; A Hypothetical Mechanism for HIV-1 Integrase Catalytic Action: DFT Modelling of a Biomimetic Environment; *Chem. Phys. Lett.*, **2002**, 362, 1 - 7.
- [155] Gerton J. L., Herschlag D., Brown P. O.; Stereospecificity of Reactions Catalyzed by HIV-1 Integrase; *J. Biol. Chem.*, **1999**, 274, 33480 - 33487.
- [156] Greenwald J., Le V., Butler S. L., Bushman F. D., Choe S.; The Mobility of an HIV-1 Integrase Active Site Loop is Correlated with Catalytic Activity; *Biochemistry*, **1999**, 38, 8892 - 8898.
- [157] Lubkowski J., Yang F., Alexandratos J., Merkel G., Katz R. A., Gravuer K., Skalka A. M., Wlodawer A.; Structural Basis for Inactivating Muta-

- tions and pH - Dependent Activity of Avian Sarcoma Virus Integrase; *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 32685 - 32689.
- [158] Maignan S., Guillotea J. P., Zhou - Liu Q., Clement - Mella C., Mikol V.; Crystal Structures of the Catalytic Domain of HIV-1 Integrase Free and Complexed with Its Metal Cofactor: High Level of Similarity of the Active Site with Other Viral Integrases; *J. Mol. Biol.*, **1998**, 282, 359 - 368.
- [159] Sechi M., Bacchi A., Carcelli M., Compari C., Duce E., Fisicaro E., Rogolino D., Gates P., Derudas M., Al - Mawsawi L. Q., Neamati N.; From Ligand to Complexes: Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase by β -Diketo Acid Metal Complexes; *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 4248 - 4260.
- [160] Horton N. C., Perona J. J.; Making the Most of Metal Ions; *Nat. Struct. Biol.*, **2001**, 8, 290 - 293.
- [161] Maurin C., Bailly F., Buisine E., Vezin H., Mbemba G., Mouscadet J.-F., Cotelle P.; Spectroscopic Studies of Diketoacids - Metal Interactions. A Probing Tool for the Pharmacophoric Distance in the Integrase Active Site; *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 5583 - 5586.
- [162] Zheng R., Jenkins T., Craigie R.; Zinc Folds the N-Terminal Domain of HIV-1 Integrase, Promotes Multimerization, and Enhances Catalytic Activity; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1996**, 93, 13659 - 13664.
- [163] Ellison V., Brown P. O.; A Stable Complex Between Integrase and Viral DNA Ends Mediates Human Immunodeficiency Virus Integration *in vitro*; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1994**, 91, 7316 - 7320.
- [164] Vink C., Lutzke R. A. P., Plasterk R. H. A.; Formation of a Stable Complex Between the Human Immunodeficiency Virus Integrase Protein and Viral DNA; *Nucleic Acids Res.*, **1994**, 22, 4103 - 4110.
- [165] Wolfe A. L., Felock P. J., Hastings J. C., Blau U. C., Hazuda D. J.; The Role of Manganese in Promoting Multimerization and Assembly of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase as a Catalytically Active Complex on Immobilized Long Terminal Repeat Substrates; *J. Virol.*, **1996**, 70, 1424 - 1432.
- [166] Asante - Appiah E., Seeholzer S., Skalka A. M.; Structural Determinants of Metal - Induced Conformational Changes in HIV-1 Integrase; *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273, 35078 - 35087.
- [167] Asante - Appiah E., Skalka A. M.; A Metal - Induced Conformational

- Change and Activation of HIV-1 Integrase; *J. Biol. Chem.*, **1997**, 272, 16196 - 16205.
- [168] Chow S. A., Brown P. O.; Substrate Features Important for Recognition and Catalysis by Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase Identified by Using Novel DNA Substrates; *J. Virol.*, **1994**, 68, 3896 - 3907.
- [169] Mazumder A., Neamati N., Pilon A. A., Sunder S., Pommier Y.; Chemical Trapping of Ternary Complexes of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase, Divalent Metal, and DNA Substrates Containing an Abasic Site. Implications for the Role of Lysine-136 in DNA Binding; *J. Biol. Chem.*, **1996**, 271, 27330 - 27338.
- [170] Brodin P., Pinskaya M., Buckle M., Parsch U., Romanova E., Engels J., Gottikh M., Mouscadet J.-F.; Disruption of HIV-1 Integrase - DNA Complexes by Short 6-Oxocytosine - Containing Oligonucleotides; *Biochemistry*, **2002**, 41, 1529 - 1538.
- [171] Farnet C. M., Wang B., Lipford J. R., Bushman F. D.; Differential Inhibition of HIV-1 Preintegration Complexes and Purified Integrase Protein by Small Molecules; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1996**, 93, 9742 - 9747.
- [172] Farnet C. M., Wang B., Hansen M., Lipford J. R., Zalkow L., Robinson Jr. W. E., Siegel J., Bushman F.; Human Immunodeficiency Virus Type 1 cDNA Integration: New Aromatic Hydroxylated Inhibitors and Studies of the Inhibition Mechanism; *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1998**, 42, 2245 - 2253.
- [173] Pauwels R., Andries K., Desmyter J., Schols D., Kukla M. J., Breslin H. J., Raeymaeckers A., van Gelder J., Woestenborghs R., Heykants J., Schellekens K., Janssen M. A. C., De Clercq E., Janssen P. A. J.; Potent and Selective Inhibition of HIV-1 Replication *in vitro* by a Novel Series of TIBO Derivatives; *Nature*, **1990**, 343, 470 - 474.
- [174] Pluymers W., Pais G., Van Maele B., Pannecouque C., Fikkert V., Burke Jr. T. R., De Clercq E., Witvrouw M., Neamati N., Debyser Z.; Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integration by Diketo Derivatives; *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2002**, 46, 3292 - 3297.
- [175] Mekouar K., d'Angelo J., Desmaële D., Mouscadet J.-F., Subra F., Auclair C.; Quinoline Derivatives, Having in Particular Antiviral Properties, Preparation and Biological Application Thereof; patent, **1998**, WO 9845269A1.

- [176] Erlanson D. A., McDowell R. S., O'Brien T.; Fragment - Based Drug Discovery; *J. Med. Chem.*, **2004**, 47, 14, 3463 – 3482.
- [177] Maly D. J., Choong I. C., Ellman J. A.; Combinatorial Target - Guided Ligand Assembly: Identification of Potent Subtype - Selective c-Src Inhibitors; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **2000**, 97, 2419 - 2424.
- [178] Mueller G.; Medicinal Chemistry of Target Family - Directed Masterkeys; *Drug Discov. Today*, **2003**, 8, 681 - 691.
- [179] Siemion I. Z.; Biostereochemia; PWN Warszawa, **1985**.
- [180] Polański J.; World Conference on Magic Bullets, Celebrating Paul Ehrlich's 150th Birthday; Nürnberg, Germany, 9 – 11 September, **2004**.
- [181] Osborne A. G., Goolamali Z.; ¹H and ¹³C NMR Spectral Studies of Some 4H-3,1-Benzoxazin-4-ones and Their 2-Acylaminobenzoic Acid Precursors; *Spectrochim. Acta Part A*, **2000**, 56, 6, 1079 – 1100.
- [182] Tobe M., Isobe Y., Tomizawa H., Matsumoto M., Obara F., Nagasaki T., Hayashi H.; Structure - Activity Relationship of Quinazoline Derivatives: Dual - Acting Compounds with Inhibitory Activities Toward Both TNF- α Production and T - Cell Proliferation; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, 4, 545 – 548.
- [183] Segarra V., Crespo M. I., Pujol F., Beleta J., Doménech T., Miralpeix M., Palacios J. M., Castro A., Martinez A.; Phosphodiesterase Inhibitory of Losartan. Design and Synthesis of New Lead Compounds; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, 8, 5, 505 – 510.
- [184] Tsoungas P. G., Searcey M.; A Convenient Access to Benzo - Substituted Phthalazines as Potential Precursors to DNA Intercalators; *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 37, 6589 – 6592.
- [185] Kreher R., Bergmann, U.; Untersuchungen zur Bildung von Cyclischen N-Diazonium - Ionen; *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 47, 4259 – 4262.
- [186] Merlic C. A., Motamed S., Quinn B.; Structure Determination and Synthesis of Fluoro Nissl Green: An RNA - Binding Fluorochrome; *J. Org. Chem.*, **1995**, 60, 11, 3365 – 3369.
- [187] Mamalis P., Rix M. J., Sarsfield A. A.; Amino-Oxy-Derivatives. Part VI. Some Quinazol-4-ones; *J. Chem. Soc.*, **1965**, 6278 – 6288.
- [188] Hand E. S., Baker D. C.; A Definitive Synthesis of 2-[(5-Methyl-s-triazolo[4,3-c]quinazolin-3-yl)thio]-N-benzylacetanilide and Other Reactions of Its Precursors; *Can. J. Chem.*, **1984**, 62, 2570 – 2577.

- [189] Scarborough H. C., Lawes B. C., Minielli J. L., Compton J. L.; Pyrrolidines. VI. Synthesis of 4-(1-Substituted-3-Pyrrolidinylmethylamino)- and 4-(1-Substituted-3-Pyrrolidinylmethoxy)quinazolines; *J. Org. Chem.*, **1962**, 27, 957 – 961.
- [190] Kovalenko S., Belenichev I., Nikitin V., Karpenko A.; Search for Substances with Antioxidant and Antiamnestic Activities Among 2-Substituted 4-(3H)-quinazolones; *Acta Pol. Pharm.*, **2003**, 60, 4, 275 – 280.
- [191] Santagati N. A., Bousquet E., Spadaro A., Ronsisvalle G.; 4-Quinazolones: Synthesis and Reduction of Prostaglandin E2 Production; *Farmaco*, **1999**, 54, 11 – 12, 780 – 784.
- [192] Abe Y., Kayakiri H., Satoh S., Inoue T., Sawada Y., Inamura N., Asano M., Aramori I., Hatori C., Sawai H., Oku T., Tanaka H.; A Novel Class of Orally Active Non - Peptide Bradykinin B₂ Receptor Antagonists. 3. Discovering Bioisosteres of the Imidazo[1,2- α]pyridine Moiety; *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 4062 – 4079.
- [193] Bowie R. A., Thomason D. A.; Ring Transformations Involving Chloroheterocycles. Part III. Reaction of 4-Chloroquinazolines with Hydrazines; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1972**, 1842 – 1848.
- [194] Nielsen K. E., Pedersen E. B.; Phosphoramides. XII. Phosphorus Pentoxide – Amine Hydrochloride as Reagents in the Synthesis of 4-(3H)-Quinazolinones and 4-Quinazolinamines; *Acta Chem. Scand. Ser. B*, **1980**, 34, 9, 637 – 642.
- [195] Irwin W. J., Wibberley, D. G.; Pyrido[3,2-d]pyrimidin-4(3H)-ones; *J. Chem. Soc.*, **1965**, 4240 – 4246.
- [196] Lempert - Sréter M., Lempert K., Moeller J.; Electron Deficient Heteroaromatic Ammonioamidates. Part 25. N-(Quinazolin-3-yl)amidates. Part 12. The Synthesis of N-(6,7-Dimethoxy-2-methylquinazolin-3-yl)ethoxythioformamidate and of 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-8,9-dimethoxy-5-methyl-10bH-[1,3,4]-thiadiazolo[3,2-c]quinazoline, the Ring Isomer of N-(6,7-Dimethoxy-2-methylquinazolin-3-yl)-3,4-dimethoxy(thiobenzamidate); *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1983**, 2011 – 2015.
- [197] Lempert - Sréter M., Lempert K., Moeller J.; Electron Deficient Heteroaromatic Ammonioamidates. Part 26. N-(Quinazolin-3-yl)amidates. Part 13. Phototransformations of an N-(Quinazolin-3-yl)thioamidate and of a

- 10bH-1,3,4-thiadiazolo[3,2-c]quinazoline, the Ring Isomer of an N-(Quinazolin-3-yl)thioamide, and the Photochemical Formation of Some 4,4'-Biquinazolinyls; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*; **1984**, 6, 1143 – 1152.
- [198] Higashino T., Kokubo H., Goto A., Takemoto M., Hayashi E.; Ring Fission of Quinazolines by Means of the Reissert Reaction; *Chem. Pharm. Bull.*, **1984**, 32, 9, 3690 – 3694.
- [199] Tiemann F.; Ueber die Mononitriten Oxybenzaldehyde und Ihre Methyläther; *Chem. Ber.*, **1889**, 22, 2341.
- [200] Hodgson H. H., Beard H. G.; The Preparation of Some Nitrohydroxybenzaldehydes and the Colour Relationship of their Substituted Phenylhydrazones; *J. Chem. Soc.*, **1927**, 2375 – 2384.
- [201] Hinkel L. E., Ayling E. E., Morgan W. H.; Substituted Aromatic Aldehydes in Hantzsch's Pyridine Condensation. Part III. Nitromethoxy- and Nitrohydroxy-benzaldehydes; *J. Chem. Soc.*, **1932**, 1112 – 1118.
- [202] Armarego W. L. F.; Quinazolines. Part IV. Covalent Hydration in the Cation of Substituted Quinazolines; *J. Chem. Soc.*, **1962**, 561 – 572.
- [203] Armarego W. L. F., Smith J. I. C.; Quinazolines. Part IX. Covalent Hydration in the Neutral Species of Substituted Quinazolines; *J. Chem. Soc. B*, **1967**, 449 – 454.
- [204] Stevenson T. M., Kaźmierczak F., Leonard N. J.; Defined Dimensional Alterations in Enzyme Substrates. General Synthetic Methodology for the Bent Dihydro – Lin – Benzopurines; *J. Org. Chem.*, **1986**, 51, 5, 616 – 620.
- [205] Baruah B., Dasu K., Vaitilingam B., Vanguri A., Casturi S. R., Yeleswarapu K. R.; 1,2-Diaryl-1-ethanone and Pyrazolo-[4,3-c]quinoline-4-one as Novel Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, 445 – 448.
- [206] Choi H. Y., Chi D. Y.; Simple Preparation of 7-Alkylamino-2-methylquinoline-5,8-diones: Regiochemistry in Nucleophilic Substitution Reactions of the 6- or 7-Bromo-2-methylquinoline-5,8-dione with Amines; *Tetrahedron*, **2004**, 60, 4945 – 4951.
- [207] Theeraladanon C., Arisawa M., Nishida A., Nakagawa M.; A Novel Synthesis of Substituted Quinolines Using Ring – Closing Metathesis (RCM): Its Application to the Synthesis of Key Intermediates for Anti – Malarial

- Agents; *Tetrahedron*, **2004**, 60, 3017 – 3035.
- [208] Welch W. M., Ewing F. E., Huang J., Menniti F. S., Pagnozzi M. J., Kelly K., Seymour P. A., Guanowsky V., Guhan S., Guinn M. R., Critchett D., Lazzaro J., Ganong H., DeVries K. M., Staigers T. L., Chenard B. L.; Atropisomeric Quinazolin-4-one Derivatives are Potent Noncompetitive α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic Acid (AMPA) Receptor Antagonists; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2001**, 11, 177 – 181.
- [209] Snow R. A., Cottrell D. M., Paquette L. A.; Demonstration and Analysis of Bridging Regioselectivity Operative During Di- π -Methane Photorearrangement of Ortho - Substituted Benzonorbornadienes and *anti*-7,8-Benzotricyclo[4.2.2.0^{2,5}]deca-3,7,9-trienes; *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, 99, 3734 – 3744.
- [210] Leonard N. J., Morrice A. G., Sprecker M. A.; Linear Benzoadenine. A Stretched - Out Analog of Adenine; *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, 3, 356 – 363.
- [211] He J.-F., Yun L.-H., Yang R.-F., Xiao Z.-Y., Cheng J.-P., Zhou W.-X., Zhang Y.-X.; Design, Synthesis and Biological Evaluation of Novel 4-Hydro-quinoline-3-carboxamide Derivatives as an Immunomodulator; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, 2980 – 2985.
- [212] Alagarsamy V.; Synthesis and Pharmacological Investigation of Some Novel 2-Methyl-3-(substituted methylamino)-(3H)-quinazolin-4-ones as Histamine H₁ - Receptor Blockers; *Pharmazie*, **2004**, 59, 10, 753 – 755.
- [213] Detsi A., Bardakos V., Markopoulos J., Igglessi - Markopoulou O.; Reactions of 2-Methyl-3,1-benzoxazin-4-one with Active Methylene Compounds: A New Route to 3-Substituted 4-Hydroxyquinolin-2(1H)-ones; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1996**, 24, 2909 – 2914.
- [214] Delieza V., Detsi A., Bardakos V., Igglessi - Markopoulou O.; Reactions of 2-Methyl-4H-pyrido[2,3-d]-(3,1)oxazin-4-one with Active Methylene Compounds: A New Efficient Route to 3-Substituted 4-Hydroxy-1,8-naphthyridin-2-(1H)-ones; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1997**, 10, 1487 – 1490.
- [215] Nielsen A. T., Moore D. W., Schuetze B. D.; A ¹⁴C and ¹H NMR Study of Formaldehyde Reactions with Acetaldehyde and Acrolein. Synthesis of 2-(Hydroxymethyl)-1,3-propanediol; *Pol. J. Chem.*, **1981**, 55, 6, 1393 – 1403.

- [216] Duffin G. F., Kendall J. D.; The Preparation of 4-Hydroxyquinoline Derivatives from Aromatic Amines and Ethyl Ethoxymethylenemalonate; *J. Chem. Soc.*, **1948**, 893.
- [217] Schofield K., Simpson J. C. E.; The Preparation of Quinoline Derivatives from Aromatic Amines and Ethyl Ethoxymethylenemalonate; *J. Chem. Soc.*, **1946**, 1033 - 1035.
- [218] Riegel B., Lapin G. R., Adelson B. H., Jackson R. I., Albisetti C. J., Dodson R. M., Baker R. H.; The Synthesis of Some 4-Quinolinols and 4-Chloroquinolines by the Ethoxymethylenemalonic Ester Method; *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68, 1264 - 1266.
- [219] Price C. C., Roberts R. M.; The Synthesis of 4-Hydroxyquinolines. I. Through Ethoxymethylenemalonic Ester; *J. Am. Chem. Soc.*, **1946**, 68, 1204 - 1208.
- [220] Errede L. A., Oien H. T., Yarian D. R.; Acylantranils. 3. The Influence of Ring Substituents on Reactivity and Selectivity in the Reaction of Acylantranils with Amines; *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, 1, 12 - 18.
- [221] Clemence F., Le Martret O., Delevallee F., Benzoni J., Jouanen A., Jouquey S., Mouren M., Deraedt R.; 4-Hydroxy-3-quinolinecarboxamides with Antiarthritic and Analgesic Activities; *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 1453 - 1462.
- [222] Hayashi H., Miwa Y., Ichikawa S., Yoda N., Miki I., Ishii A., Kono M., Yasuzawa T., Suzuki F.; 5-HT₃ Receptor Antagonists. 2. 4-Hydroxy-3-quinolinecarboxylic Acid Derivatives; *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, 617 - 626.
- [223] Meek W. H., Fuchsman C. H.; Carboxylation of Substituted Phenols in N,N-Dimethylamide Solvents at Atmospheric Pressure; *J. Chem. Eng. Data*, **1969**, 14, 3, 388 - 391.
- [224] Lindsey A. S., Jeskey H.; The Kolbe - Schmitt Reaction; *Chem. Rev.*, **1957**, 57, 583.
- [225] Armarego W. L. F., Perrin D. D.; Purification of Laboratory Chemicals; Elsevier, **1996**.
- [226] Wróbel J. T.; Preparatyka i elementy syntezy organicznej; PWN Warszawa, **1983**.
- [227] Vogel A. I.; Preparatyka organiczna; WNT Warszawa, wydanie 2, **1984**.
- [228] Loupy A.; Solvent - Free Reactions; *Top. Curr. Chem.*, **1999**, 206, 153 -

208.

- [229] Kidwai M.; Dry Media Reactions; *Pure Appl. Chem.*, **2001**, 73, 147 - 151.
- [230] Bogdał R.; Zastosowanie promieniowania mikrofalowego w reakcjach przeniesienia międzyfazowego w układach bezrozpuszczalnikowych; Kraków, **1999**.
- [231] Varma R. S.; Solvent - Free Accelerated Organic Syntheses Using Microwaves; *Pure Appl. Chem.*, **2001**, 73, 193 - 198.
- [232] Alloum A. B., Labiad B., Villemin D.; Application of Microwave Heating Techniques for Dry Organic Reactions; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1989**, 7, 386 - 387.
- [233] Irving H., Pinnington A. R.; 8-Hydroxyquinaldic Acid; *J. Chem. Soc.*, **1954**, 3782 - 3785.
- [234] Bogert M. T., Fisher H. L.; The Preparation and Properties of 5-Aminoquinoline-6-carboxylic Acid and Certain Related Compounds; *J. Am. Chem. Soc.*, **1912**, 34, 1569 - 1576.
- [235] Da Re J.; *Ann. Chim. (Rome)*; **1970**, 60, 215 - 221.
- [236] Beckwith A. L. J., Zabicky J.; In *The Chemistry of Amides*; Interscience London, **1970**, 73.
- [237] Klausner Y. S., Bodansky M.; Coupling Reagents in Peptide Synthesis; *Synthesis*, **1972**, 9, 453 - 463.
- [238] Challis B. C., Barton D. H. R., Ollis W. D.; In *Comprehensive Organic Chemistry*; Pergamon Oxford, **1979**, 2, 957.
- [239] Sandler S. R., Karo W., Wasserman H. H.; In *Organic Functional Group Preparations*, Ed.; Academic New York, **1983**, 1, 315.
- [240] Benz G., Trost B. M.; In *Comprehensive Organic Chemistry*; Pergamon Oxford, **1991**, 6, 381.
- [241] Bailey P. D., Collier I. D., Morgan K. M., Katrizky A. L., Meth - Cohn O., Rees C. W.; In *Comprehensive Organic Functional Groups Transformations*; Pergamon New York, **1995**, 5, 257.
- [242] North M.; Amines and Amides; *Contemp. Org. Synth.*, **1995**, 2, 269 - 287.
- [243] North M.; Amines and Amides; *Contemp. Org. Synth.*, **1996**, 3, 323 - 343.
- [244] North M.; Amines and Amides; *Contemp. Org. Synth.*; **1997**, 4, 326 -

351.

- [245] Humphrey J. M., Chamberlin A. R.; Chemical Synthesis of Natural Product Peptides: Coupling Methods for the Incorporation of Noncoded Amino Acids into Peptides; *Chem. Rev.*, **1997**, 97, 2243 - 2266.
- [246] North M.; Amines and Amides; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1998**, 2959 - 2972.
- [247] North M.; Amines and Amides; *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, **1999**, 2209 - 2229.
- [248] March J.; Chemia organiczna – reakcje, mechanizmy, budowa; Wydawnictwa Naukowo – Techniczne Warszawa, **1975**, 293 - 296.
- [249] Sonntag N. O. V.; The Reactions of Aliphatic Acid Chlorides; *Chem. Rev.*, **1953**, 52, 258 - 294.
- [250] Sheehan J. C., Hess G. P.; A New Method of Forming Peptide Bonds; *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 1067 - 1068.
- [251] Kunishima M., Kawachi Ch., Hioki K., Terao K., Tani S.; Formation of Carboxamides by Direct Condensation of Carboxylic Acids and Amines in Alcohols Using a New Alcohol- and Water - Soluble Condensing Agent: DMT - MM; *Tetrahedron*, **2001**, 57, 1551 - 1558.
- [252] Vink C., Banks M., Bethell R., Plasterk R. H. A.; A High - Throughput, Non - Radioactive Microtiter Plate Assay for Activity of the Human Immunodeficiency Virus Integrase Protein; *Nucleic Acids Res.*, **1994**, 22, 2176 - 2177.
- [253] Musiol R., Jampilek J., Kralova K., Richardson D. R., Kalinowski D., Podeszwa B., Finster J., Niedbala H., Palka A., Polanski J.; Investigating Biological Activity Spectrum of Novel Quinoline Analogues; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 1280 - 1288.
- [254] Kazicyna L. A., Kupletska N. B.; Metody spektroskopowe wyznaczania struktury związków organicznych; PWN Warszawa, **1976**.
- [255] Podeszwa B., Niedbala H., Polanski J., Musiol R., Tabak D., Finster J., Serafin K., Milczarek M., Wietrzyk J., Boryczka S., Mol W., Jampilek J., Dohnal J., Kalinowski D. S., Richardson D. R.; Investigating the Antiproliferative Activity of Quinoline-5,8-diones and Styrylquinolinecarboxylic Acids on Tumour Cell Lines; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, w przygotowaniu do druku.
- [256] Polanski J., et al.; *J. Med. Chem.*, w przygotowaniu.

- [257] Balitz D. M., Bush J. A., Bradner W. T., Doyle T. W., O'Herron F. A., Nettleton D. E.; Isolation of Lavendamycin, a New Antibiotic from *Streptomyces lavendulae*; *J. Antibiot.*, **1982**, 35, 259 - 265.
- [258] Abe N., Nakakita Y., Nakamura T., Enoki N., Uchida H., Takeo S., Mune-kata M.; Novel Cytocidal Compounds, Oxopropalines from *Streptomyces* sp. G324 Producing Lavendamycin. I. Taxonomy of the Producing Organism, Fermentation, Isolation and Biological Activities; *J. Antibiot.*, **1993**, 46, 1672 - 1677.
- [259] Fang Y., Linardic C. M., Richardson D. A., Cai W., Behforouz M., Abraham R. T.; Characterization of the Cytotoxic Activities of Novel Analogues of the Antitumor Agent, Lavendamycin; *Mol. Cancer Ther.*, **2003**, 2, 517 - 526.
- [260] Behforouz M., Cai W., Mohammadi F., Stocksdales M. G., Gu Zh., Ahmadian M., Baty D. E., Etling M. R., Al - Anzi Ch. H., Swiftney T. M., Tanzer L. R., Merriman R. L., Behforouz N. C.; Synthesis and Evaluation of Antitumor Activity of Novel N-Acyllavendamycin Analogues and Quinoline-5,8-diones; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 495 - 510.
- [261] Nair V., Chi G.; HIV Integrase Inhibitors as Therapeutic Agents in AIDS; *Rev. Med. Virol.*, **2007**, 17, 277 - 295.
- [262] Nair V., Chi G., Ptak R., Neamati N.; HIV Integrase Inhibitors with Nucleobase Scaffolds: Discovery of a Highly Potent Anti-HIV Agent; *J. Med. Chem.*, **2006**, 49, 445 - 447.
- [263] Nair V., Uchil V., Neamati N.; β -Diketoacids with Purine Nucleobase Scaffolds: Novel, Selective Inhibitors of the Strand Transfer Step of HIV Integrase; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 1920 - 1923.
- [264] Chi G., Nair V., Semenova E., Pommier Y.; A Novel Diketo Phosphonic Acid that Exhibits Specific, Strand Transfer Inhibition of HIV Integrase and Anti-HIV Activity; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, 17, 1266 - 1269.
- [265] Nair V., Chi G., Uchil V. R.; Diketo Acids with Nucleobase Scaffolds: Anti-HIV Replication Inhibitors Targeted at HIV Integrase; *US Pat. Appl. Publ.*, US 2006 / 0172973A1, **2006**, s. 33.
- [266] Nair V., Chi G., Uchil V. R.; Diketo Acids with Nucleobase Scaffolds: Anti-HIV Replication Inhibitors Targeted at HIV Integrase; *WO* **2006** / 083553A2, s. 46

8. DOROBEK NAUKOWY

8.1. Wykaz publikacji

1. Musiol R., Podeszwa B., Finster J., Polanski J.; *E003, 1 - 8. in: Proceedings of ECSOC-9; 2005, CD-ROM edition, MDPI, Basel, Switzerland.*
2. Musiol R., Jampilek J., Kralova K., Podeszwa B., Finster J., Niedbala H., Palka A., Polanski J.; *C005, 1 - 9. in: Proceedings of ECSOC-9; 2005, CD-ROM edition, MDPI, Basel, Switzerland.*
3. Musiol R., Podeszwa B., Finster J., Niedbala H., Polanski J.; An Efficient Microwave - Assisted Synthesis of Structurally Diverse Styrylquinolines; *Monatsh. Chem.*, **2006**, 137, 1211 – 1217.
4. Polanski J., Niedbala H., Musiol R., Podeszwa B., Tabak D., Pałka A., Mencil A., Finster J., Mouscadet J.-F., Le Bret M.; 5-Hydroxy-6-quinolindic Acid as a Novel Molecular Scaffold for HIV-1 Integrase Inhibitors; *Lett. Drug Des. Disc.*, **2006**, 3, 175 – 178.
5. Musiol R., Jampilek J., Kralova K., Richardson D. R., Kalinowski D., Podeszwa B., Finster J., Niedbala H., Palka A., Polanski J.; Investigating Biological Activity Spectrum of Novel Quinoline Analogues; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 1280 – 1288.
6. Bestwina A., Musiol R., Podeszwa B., Finster J.; Design and Synthesis of Potential Bioeffectors Based on 5,8-Quinolindione moiety; *Ann. Pol. Chem. Soc.*, **2007**, w druku.
7. Podeszwa B., Niedbala H., Polanski J., Musiol R., Tabak D., Finster J., Serafin K., Milczarek M., Wietrzyk J., Boryczka S., Mol W., Jampilek J., Dohnal J., Kalinowski D. S., Richardson D. R.; Investigating the Antiproliferative Activity of Quinoline-5,8-diones and Styrylquinolinecarboxylic Acids on Tumour Cell Lines; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, w druku.
8. Musiol R., Tabak D., Niedbala H., Podeszwa B., Jampilek J., Kralova K., Dohnal J., Finster J., Mencil A., Polanski J.; Investigating Biological Activity Spectrum for Novel Quinoline Analogues 2: Hydroxyquinolinecarboxamides with Photosynthesis Inhibiting Activity; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, wysłany.

8.2. Zgłoszenia patentowe

1. Niedbała H., Musioł R., Pałka A., Podeszwa B., Mencil A., Tabak D., Polański J., Finster J.; Nowe inhibitory integrazy HIV, ich prekursorzy oraz ich stosowanie; zgłoszenie patentowe, **2005**, P 371842.
2. Niedbała H., Musioł R., Pałka A., Podeszwa B., Mencil A., Tabak D., Polański J., Finster J.; Sposób otrzymywania amidów kwasów chinaldyno-karboksylowych; zgłoszenie patentowe, **2005**, P 374130.
3. Musioł R., Jampilek J., Buchta V., Kralowa K., Finster J., Podeszwa B., Tabak D., Polański J.; Analogi chinazoliny jako fungicydy i herbicydy oraz ich zastosowanie; zgłoszenie patentowe, **2006**, P 379252.
4. Musioł R., Niedbała H., Pałka A., Podeszwa B., Finster J., Mencil A., Serafin K., Tabak D., Polański J.; Amidy heterocykliczne hamujące działanie integrazy HIV oraz ich zastosowanie; zgłoszenie patentowe, **2006**, P 379432.
5. Podeszwa B., Musioł R., Tabak D., Finster J., Polański J., Niedbała H., Pałka A.; 2-Oksoamidy jako inhibitory integrazy HIV, ich prekursorzy oraz ich zastosowanie; zgłoszenie patentowe, **2006**, P 380818.

8.3. Udział w konferencjach

1. Musioł R., Finster J., Niedbała H.; Techniki MAOS w syntezie chinoliny-owych i chinazolinowych inhibitorów integrazy HIV; XLVII PTChem, Wrocław **2004**, poster.
2. Musioł R., Podeszwa B., Finster J., Polanski J.; Microwave - Assisted Synthesis Facilitating Obtaining of Structurally Diverse Styrylquinolines; 9th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-9), 1 - 30 November **2005**,
<http://www.usc.es/congresos/ecsoc/9/ecsoc9.htm>
http://www.usc.es/congresos/ecsoc/9/mas/conference_hall_e.htm
3. Musioł R., Jampilek J., Kralowa K., Podeszwa B., Finster J., Niedbała H., Pałka A., Polanski J.; New Quinoline Derivatives Possesing Herbicidal Activity; 9th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-9), 1 - 30 November **2005**,

<http://www.usc.es/congresos/ecsoc/9/ecsoc9.htm>

http://www.usc.es/congresos/ecsoc/9/bocnp/conference_hall_c.htm

4. Podeszwa B., Musiol R., Finster J.; Design and Synthesis of Biologically Active Styrylquinoline Derivatives; IV Ogólnopolskie Seminarium Doktorantów: „Na pograniczu biologii i chemii”, Nahod - Czechy, 11 - 14 czerwiec **2006**.
5. Musiol R., Jampilek J., Podeszwa B., Finster J., Tabak D., Polanski J.; Structure – Lipophilicity Relationship in Series of Quinoline Derivatives; 18th International Conference on Physical Organic Chemistry, Warszawa 20 – 25 sierpień **2006**, poster.
6. Bestwina A., Podeszwa B., Finster J., Musioł R.; Problemy syntezy biologicznie aktywnych analogów 5,8-chinolinodionu; XLIX Zjazd PTChem i SITPChem, Gdańsk, 18 - 22 września **2006**, poster.
7. Jampilek J., Musiol R., Buchta V., Podeszwa B., Finster J., Niedbala H., Palka A., Polanski J.; Preparation and Antifungal Activity of 8-Hydroxyquinoline Derivatives; The 8th Tetrahedron Symposium Challenges in Organic Chemistry 50th Anniversary Meeting, Berlin, Germany, 26 - 29 June **2007**, P 2.1.

9. CURRICULUM VITAE

Jacek Finster

Adres:
ul. Kazimierza Odnowiciela 1/7
43 - 200 Pszczyna
Telefon:
(0) 504764142
E-mail:
jacekfinster@orange.pl

Informacje osobiste Wiek: 29 lat

Data i miejsce urodzenia: 7 kwiecień 1978 r., Mikołów

Wykształcenie 01.10.2002 – 30.09.2006 Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii, Instytut Fizyki, Studia Doktoranckie.

1997 – 2002 Uniwersytet Śląski w Katowicach, Wydział Matematyki, Fizyki i Chemii. Ukończony kierunek studiów: chemia, uzyskany tytuł magistra chemii. Przygotowanie pedagogiczne do nauczania chemii.

1993 – 1997 Liceum Ogólnokształcące im. Bolesława Chrobrego w Pszczynie

Doświadczenie zawodowe

Okresy zatrudnienia	Nazwa zakładu pracy	Rodzaj wykonywanej pracy
01.10.2007 - aktualnie	Uniwersytet Śląski w Katowicach	Asystent naukowo - dydaktyczny w Zakładzie Chemii Organicznej Instytutu Chemii. Umowa o pracę na zastępstwo na czas określony w wymiarze ½ etatu.
01.09.2003-31.08.2006	Zespół Szkół Rolniczych im. Karola Miarki	Nauczyciel chemii, uzyskany stopień nauczyciela mianowanego. Umowa o pracę na czas określony

		w niepełnym wymiarze godzin.
01.10.2002- 30.09.2003	Uniwersytet Śląski w Ka- towicach	Asystent naukowo - dy- daktyczny w Zakładzie Chemii Organicznej In- stytutu Chemii. Umowa o pracę na czas określony.
01.09.2002- 31.08.2003	Publiczne Gimnazjum nr 4 w Pszczynie	Nauczyciel chemii, uzy- skany stopień nauczyciela kontraktowego. Umowa o pracę na czas określony w niepełnym wymiarze godzin.
24.06.2002- 31.07.2002		
26.06.2001- 31.08.2001	Okręgowa Spółdzielnia Mleczarska w	Pomoc mleczarska. Umo- wa o pracę na czas okre- ślony lub umowa zlece- nie.
03.07.2000- 31.08.2000	Pszczynie	
02.08.1999- 31.08.1999		

Dodatkowe umie-
jętności

Obsługa komputera, prawo jazdy, znajomość języka an-
gielskiego