MASARYKOVA
UNIVERZITA

FARMACEUTICKÁ FAKULTA

Nové potenciální inhibitory hCA- Set 2

Diplomová práce

BARBORA GREGOROVÁ

Vedoucí práce: RNDr. Eva Havránková Ph.D.

Ústav chemických léčiv
Program Farmacie

Brno 2026

MUNI
PHARM

Bibliografický záznam

Autor: Barbora Gregorová
Farmaceutická fakulta
Masarykova univerzita
Ústav chemických léčiv

Název práce: Nové potenciální inhibitory hCA- Set 2

Studijní program: Farmacie

Vedoucí práce: RNDr. Eva Havránková Ph.D.

Rok: 2026

Počet stran: 91

Klíčová slova: Alzheimerova choroba, 1,3,5-triazin, karboanhydráza, inhibitory karboanhydrázy, nukleofilní substituce

Bibliographic record

Author: Barbora Gregorová
Faculty of Pharmacy
Masaryk University
Department of Chemical Drugs

Title of Thesis: New potential hCA inhibitors set 2

Degree Programme: Pharmacy

Supervisor: RNDr. Eva Havránková Ph.D.

Year: 2026

Number of Pages: 91

Keywords: Alzheimer's disease, 1,3,5-triazine, carbonic anhydrase, carbonic anhydrase inhibitors, nucleophilic substitution

Anotace

Tato diplomová práce se zabývá syntézou vybraných mono- a disubstituovaných derivátů 1,3,5-triazinu, které představují strukturálně i reaktivně zajímavou skupinu sloučenin s potenciálním uplatněním v organické syntéze i ve vývoji biologicky aktivních látek. Syntetický přístup byl založen na nukleofilní substituci 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinu různými alifatickými a aromatickými aminy za přítomnosti bezvodého uhličitanu draselného. Pozornost byla věnována zejména vlivu rozpouštědla, reakční teploty a povahy nukleofilu na průběh substituce a na izolaci čistých produktů.

Během práce bylo připraveno a charakterizováno 23 látek vycházejících z triazinu. Získané látky byly analyzovány pomocí TLC a NMR spektroskopie, které umožnily posoudit míru konverze, identifikaci vedlejších produktů i rozdíly v reaktivitě jednotlivých nukleofilů.

Práce přináší přehled o syntetických možnostech triazinového jádra a shrnuje faktory, které významně ovlivňují úspěšnost jeho substituce. Získané poznatky mohou sloužit jako základ pro další experimentální optimalizaci triazinových derivátů a potenciálně i pro jejich aplikaci ve výzkumu nových účinných molekul.

Abstract

This diploma thesis deals with the synthesis of selected mono- and disubstituted 1,3,5-triazine derivatives, which represent a structurally and reactively interesting group of compounds with potential applications in both organic synthesis and the development of biologically active molecules. The synthetic approach was based on the nucleophilic substitution of 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazine with various aliphatic and aromatic amines in the presence of anhydrous potassium carbonate. Particular attention was paid to the influence of the solvent, reaction temperature, and the nature of the nucleophile on the course of the substitution reaction and on the isolation of pure products.

During the course of this work, 23 triazine-based compounds were prepared and characterized. The obtained compounds were analyzed by TLC and NMR spectroscopy, which made it possible to assess the degree of conversion, identify side products, and evaluate differences in the reactivity of the individual nucleophiles.

This thesis provides an overview of the synthetic possibilities of the triazine core and summarizes the factors that significantly affect the success of its substitution. The findings obtained may serve as a basis for further experimental optimization of triazine derivatives and potentially also for their application in the research and development of new bioactive molecules.

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma **Nové potenciální inhibitory hCA- Set 2** zpracovala sama**.** Veškeré prameny a zdroje informací, které jsem použila k sepsání této práce, byly citovány v textu a jsou uvedeny v seznamu použitých pramenů a literatury. Prohlašuji, že jsem nástroje AI využila v souladu s principy akademické integrity, a to pouze k formálním jazykovým úpravám.

Ve Křtinách 14. března 2026

.....
Barbora Gregorová

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat vedoucí mé práce RNDr. Evě Havránkové, Ph.D. za její čas, trpělivost, ochotu a lidský přístup, se kterým mě provázela po celou dobu psaní práce. Její podpora a cenné rady pro mě měly obrovský význam a velmi si jich vážím.

Velké poděkování patří hlavně mojí mamince a mému manželovi za bezmeznou podporu, porozumění a víru ve mě během celého studia.

Obsah

Seznam obrázků 13

Seznam tabulek 15

Seznam pojmů a zkratek 16

Úvod 21

1 Teoretická část 22

1.1 Karboanhydrázy 22

1.2 Triazin 25

1.3 Inhibitory karboanhydrázy IX 28

1.4 Triazinové deriváty jako moderní inhibitory hCA IX 31

1.5 Triazinové deriváty a jejich role u Alzheimerovy choroby 32

2 Experimentální část 38

2.1 Cíl práce 38

2.2 Obecné informace 38

2.3 Seznam použitých chemikálií 38

2.4 Syntéza monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů 39

2.5 Syntéza disubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů 52

3 Diskuze 65

3.1 Syntéza monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů 65

3.2 Syntéza disubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů 71

4 Závěr 77

Použité zdroje 78

Seznam obrázků

Obr. 1: Schématické znázornění vazby sulfonamidového inhibitoru v aktivním místě karboanhydrázy, převzato z [106] 23
Obr. 2: Úloha karboanhydrázy při katalýze reverzibilní hydratace oxidu uhličitého, převzato z [105] 24
Obr. 3: Úloha karboanhydrázy při regulaci acidobazické rovnováhy v renálním tubulu, převzato z [105] 25
Obr. 4: Strukturní izomery triazinu a struktura kyanurchloridu, převzato z [106] 26
Obr. 5: Teplotní závislost postupné nukleofilní substituce 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinu, převzato z [106] 26
Obr. 6: Obecné reakční schéma syntézy triazinových derivátů z aminoalkylesterů, převzato z [107] 27
Obr. 7: Příklady arylmethylových a thymolových derivátů 1,3,5-triazinu s afinitou k receptoru 5-HT_6, převzato z [108] 28
Obr. 8: Chemické struktury inhibitorů karboanhydrázy, převzato z [109] 29
Obr. 9: Farmakologické účinky triazinů, převzato z [110] 30
Obr. 10: Příklad struktury inhibitorů karboanhydrázy, převzato z [112] 31
Obr. 11: Ukládání amyloidů, převzato z [113] 33
Obr. 12: Rozdíl mezi zdravým mozkem a mozkem postiženým Alzheimerovou chorobou, převzato z [113] 33
Obr. 13: Léčiva schválená pro terapii AD, převzato z [114] 34
Obr. 14: Struktura sloučenin AA3E2 (9), AA3D2 (10) a jejich analogů, převzato z [114] 36
Obr. 15: Derivát 1A, vlastní tvorba 42
Obr. 16: Derivát 1B, vlastní tvorba 42
Obr. 17: Derivát 2, vlastní tvorba 43
Obr. 18: Derivát 3A, vlastní tvorba 44
Obr. 19: Derivát 3B, vlastní tvorba, dle [116] 44
Obr. 20: Derivát 4, vlastní tvorba 45
Obr. 21: Derivát 5, vlastní tvorba 46
Obr. 22: Derivát 6, vlastní tvorba 47
Obr. 23: Derivát 7, vlastní tvorba 48
Obr. 24: Derivát 8, vlastní tvorba 49
Obr. 25: Derivát 9, vlastní tvorba 50
Obr. 26: Derivát 10, vlastní tvorba 51
Obr. 27: Derivát 7d, vlastní tvorba 54
Obr. 28: Derivát 7c, vlastní tvorba 55
Obr. 29: Derivát 7b, vlastní tvorba 56
Obr. 30: Derivát 7e, vlastní tvorba 57
Obr. 31: Derivát 7a, vlastní tvorba 58
Obr. 32: Derivát 8b, vlastní tvorba 59
Obr. 33: Derivát 8a, vlastní tvorba 60

Obr. 34: Derivát 8c, vlastní tvorba 61
Obr. 35: Derivát 8d, vlastní tvorba 62
Obr. 36: Derivát 4a, vlastní tvorba 63
Obr. 37: Derivát 10a, vlastní tvorba.....64
Obr. 38: Reakční schéma syntézy monosubstituovaných derivátů, vlastní tvorba.....65
Obr. 39: Reakční schéma syntézy disubstituovaných derivátů, vlastní tvorba 71

Seznam tabulek

Tab. 1: Navážky k monosubstituovaným reakcím 41
Tab. 2: Navážky monosubstituovaných derivátů pro disubstituované reakce 52
Tab. 3: Navážky nukleofilů pro disubstituované reakce 53
Tab. 4: Přehled teoretických, reálných a procentuálních výtěžků monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinů 70
Tab. 5: Závislost výtěžku disubstituovaných derivátů na délce uhlíkového řetězce druhého nukleofilu 75

Seznam pojmů a zkratek

°C	stupeň Celsia
^{13}C-NMR	uhlíková nukleární magnetická rezonance
^{1}H-NMR	protonová nukleární magnetická rezonance
Aβ	amyloid beta
AChE	acetylcholinesteráza
AD	Alzheimerova choroba
ad.	a další
BACE1	beta-sekretáza 1
CA	karboanhydráza
CAI	inhibitor karboanhydrázy
CAIs	inhibitory karboanhydrázy
CAs	karboanhydrázy
CARP	CA related protein / protein příbuzný karboanhydráze
CARPs	CA related proteins / proteiny příbuzné karboanhydrázám
CDK5	cyklin-dependentní kináza 5
CNS	centrální nervový systém
DCl	dichloro
DCM	dichlormethan
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DMSO-d_6	deuterovaný dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
Et	ethyl
FAAH	fatty acid amide hydrolase / amidáza mastných kyselin
GABA	kyselina gama-aminomáselná
g/mol	gram na mol
GSK-3β	glykogensyntáza kináza 3 beta

hCA	humánní karboanhydráza
hCA I–XV	humánní izoenzymy karboanhydrázy I až XV
HIF-1α	hypoxia-inducible factor 1 alpha / hypoxií indukovaný faktor 1 alfa
His	histidin
IC_{50}	polomaximální inhibiční koncentrace
i.v.	intravenózně
K_i	inhibiční konstanta
kcat	katalytická konstanta
MAO-B	monoaminooxidáza B
MHz	megahertz
MR	molární hmotnost / relativní molekulová hmotnost
MTDL	multitarget-directed ligand / multicílově zaměřený ligand
n	látkové množství
NMR	nukleární magnetická rezonance
NMDA	N-methyl-D-aspartát
např.	například
PET	pozitronová emisní tomografie
pH	záporný dekadický logaritmus koncentrace protonů
pHe	extracelulární pH
pHi	intracelulární pH
PD-1	programmed cell death protein 1
PD-L1	programmed death-ligand 1
ppm	parts per million / miliontina
R	substituent
RNA	ribonukleová kyselina
SPECT	jednofotonová emisní výpočetní tomografie
t. t.	teplota tání
Tab.	tabulka
TLC	tenkovrstvá chromatografie

THF	tetrahydrofuran
UV	ultrafialové záření

Úvod

V současné době se farmaceutická chemie intenzivně zaměřuje na vývoj nových biologicky aktivních látek a na studium molekulárních mechanismů, které se podílejí na vzniku a rozvoji závažných onemocnění. Významnou roli v tomto směru hraje identifikace vhodných molekulárních cílů, jejichž ovlivnění by mohlo vést k účinnější a selektivnější terapii. Vedle onkologických onemocnění se stále větší pozornost věnuje také neurodegenerativním chorobám, zejména Alzheimerově chorobě, u níž je dosavadní léčba převážně symptomatická a možnosti kauzální terapie zůstávají omezené.

Jednu z významných skupin molekulárních cílů představují karboanhydrázy, tedy metaloenzymy katalyzující reverzibilní přeměnu oxidu uhličitého na hydrogenuhličitan a proton. Tímto způsobem se podílejí na regulaci pH, acidobazické rovnováze a dalších fyziologických procesech. V lidském organismu se vyskytuje několik izoforem α-karboanhydráz, které se liší svou lokalizací i biologickou funkcí [1, 2, 3]. Zatímco jejich význam v oblasti nádorových onemocnění je již poměrně dobře popsán, v posledních letech narůstá zájem také o jejich možnou úlohu v patofyziologii onemocnění centrálního nervového systému, včetně Alzheimerovy choroby.

Farmakologická modulace karboanhydráz tak představuje perspektivní přístup nejen v protinádorové terapii, ale potenciálně také v léčbě neurodegenerativních onemocnění. V této souvislosti je pozornost věnována triazinovým derivátům, které díky svým strukturním vlastnostem umožňují široké možnosti chemických modifikací vedoucích k ovlivnění biologické aktivity, selektivity i farmakokinetických parametrů. Triazinové jádro tak představuje vhodnou platformu pro návrh a přípravu nových inhibitorů karboanhydráz s možným využitím v onkologii i v terapii Alzheimerovy choroby.

1 Teoretická část

1.1 Karboanhydrázy

Karboanhydrázy představují rozsáhlou rodinu metaloenzymů, které katalyzují jednu z nejdůležitějších biochemických reakcí v lidském organismu, reverzibilní hydrataci oxidu uhličitého na kyselinu uhličitou, jež se dále disociuje na proton a bikarbonátový anion podle rovnice:

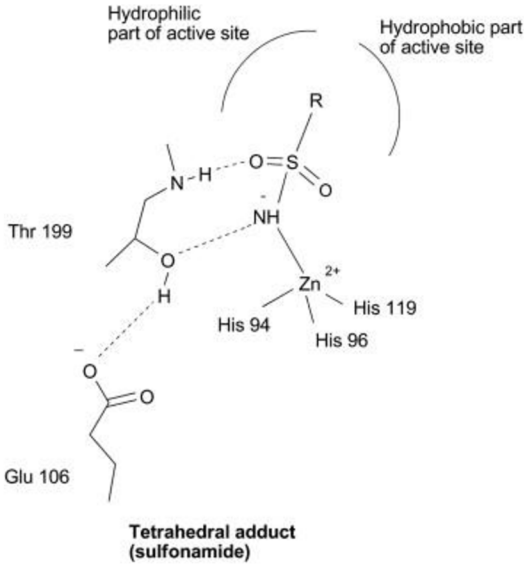
$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow H^+ + HCO_3^-$$

Tato reakce je zásadní pro udržování acidobazické rovnováhy, transport oxidu uhličitého z periferních tkání do plic a regulaci pH v různých orgánových systémech [1, 2].

Karboanhydrázy patří mezi nejrychlejší známé enzymy, například u lidské karboanhydrázy II (hCA II) dosahuje hodnota k_{cat} řádově 10^6–10^7 s^{-1}. Z hlediska struktury se jedná o zinečnaté metaloenzymy, jejichž aktivní centrum obsahuje ion Zn^{2+} koordinovaný třemi histidinovými zbytky (His94, His96 a His119) a molekulou vody. Zinečnatý ion působí jako Lewisova kyselina, stabilizuje vznikající negativní náboj a usnadňuje deprotonaci koordinované molekuly vody za vzniku hydroxidového iontu.

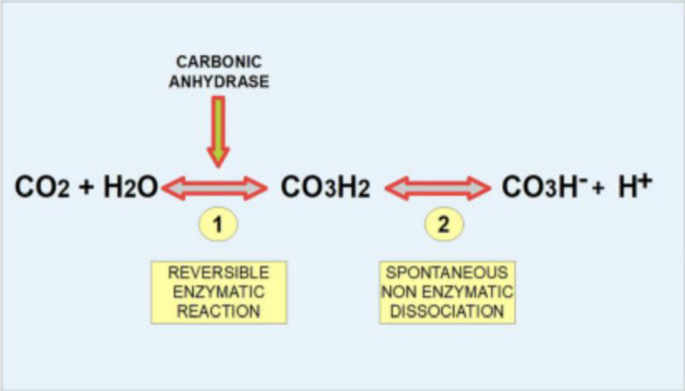
Takto aktivovaný hydroxid následně nukleofilně atakuje molekulu CO_2, čímž vzniká bikarbonát, který je po uvolnění z aktivního místa nahrazen další molekulou vody. Rychlost katalytického cyklu je dále podmíněna efektivním odvodem protonu z aktivního centra. Tento proces probíhá prostřednictvím tzv. protonového relé mechanismu, při němž je proton přenášen přes histidinový zbytek His64 a síť vodíkových vazeb do okolního prostředí, což umožňuje rychlou regeneraci aktivní formy enzymu [3, 4].

Na základě sekvenční a strukturní homologie se karboanhydrázy dělí do několika tříd (nejčastěji uváděné jsou α, β, γ, δ, ζ, η, θ; v některých pracích je popsána i třída ι), které se vyvinuly nezávisle, avšak konvergentně dosáhly obdobné katalytické funkce. [1]. U savců se vyskytují výhradně α-karboanhydrázy. U člověka bylo popsáno nejméně 15 izoenzymů (hCA I–XV) z nichž většina je katalyticky aktivních, zatímco CA VIII, CA X a CA XI jsou katalyticky neaktivní CA-related proteiny. Izoenzymy se liší tkáňovou distribucí i subcelulární lokalizací: rozlišujeme karboanhydrázy cytosolické (např. hCA I, II, III), membránově vázané (např. hCA IV, IX, XII, XIV), mitochondriální (hCA VA, VB) a sekretorické (hCA VI). [1, 2]



Obr. 1: Schématické znázornění vazby sulfonamidového inhibitoru v aktivním místě karboanhydrázy, převzato z [106]

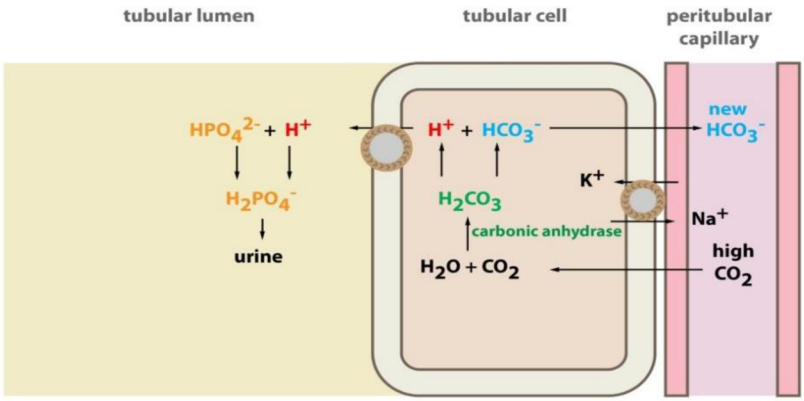
Z fyziologického hlediska se karboanhydrázy účastní celé řady procesů v lidském organismu. V respiračním systému umožňují rychlou přeměnu CO_2 na HCO_3^- v erytrocytech, čímž napomáhají transportu oxidu uhličitého z periferních tkání do plic, kde proces probíhá opačně a z bikarbonátu vzniká CO_2, který je následně vydechován [4]. V ledvinách se karboanhydrázy podílejí na reabsorpci bikarbonátu a sekreci protonů v proximálních tubulech, čímž přispívají k regulaci systémové acidobazické rovnováhy [1], jak je schematicky znázorněno na obr. 2. V gastrointestinálním traktu se karboanhydrázy (zejména hCA II a další izoformy dle tkáně) podílejí na acidobazické regulaci spojené se sekrecí H^+/HCO_3^-, sekrecí pankreatických hydrogenuhličitanů a ochranou slizniční bariéry [7]. V oku se na tvorbě komorové vody podílejí cytosolické i membránové izoenzymy karboanhydrázy (např. hCA II a membránové hCA IV/XII) a jejich inhibice tak snižuje nitrooční tlak [8]. V kostní tkáni zajišťuje hCA II aktivitu osteoklastů nezbytnou pro resorpci kostní hmoty a fyziologickou remodelaci skeletu [9]. V centrálním nervovém systému karboanhydrázy udržují pH mozkomíšního moku, ovlivňují neuronální excitabilitu a metabolismus CO_2 a pH homeostázu [10].



Obr. 2: Úloha karboanhydrázy při katalýze reverzibilní hydratace oxidu uhličitého, převzato z [105]

Rovnováha exprese jednotlivých izoenzymů karboanhydrázy je řízena transkripčními faktory, především HIF-1α (hypoxia-inducible factor 1α), který za hypoxických podmínek indukuje expresi hCA IX a hCA XII [11]. Tyto izoformy umožňují buněčnou adaptaci na nízkou hladinu kyslíku tím, že udržují intracelulární alkalózu a současně acidifikují extracelulární prostředí. Tento mechanismus významně zvyšuje invazivní potenciál nádorových buněk [12]. Obr. 3 schematicky ukazuje zapojení karboanhydrázy do regulace acidobazické rovnováhy v renálním tubulu, kde enzym usnadňuje přeměnu CO_2 a tím ovlivňuje reabsorpci hydrogenuhličitanu i sekreci protonů.

Zvýšená exprese hCA IX je proto považována za spolehlivý biomarker nádorové hypoxie a je spojována s horší prognózou karcinomu ledvin, plic, prsu i kolorekta [13]. Genetické deficity karboanhydráz mohou vést k závažným metabolickým onemocněním. Mutace v genu hCA II způsobují syndrom osteopetrózy s renální tubulární acidózou, zatímco mutace hCA VA vedou k hyperamonémii a poruše ureového cyklu [14]. Dysregulace exprese karboanhydráz se rovněž podílí na rozvoji neurodegenerativních onemocnění, například Alzheimerovy nemoci, kde snížená exprese hCA v hipokampu koreluje s poruchami metabolismu CO_2 a pH. Naopak zvýšená aktivita hCA je spojena s epileptickými záchvaty, což vysvětluje účinnost acetazolamidu v antikonvulzivní léčbě [15, 85].



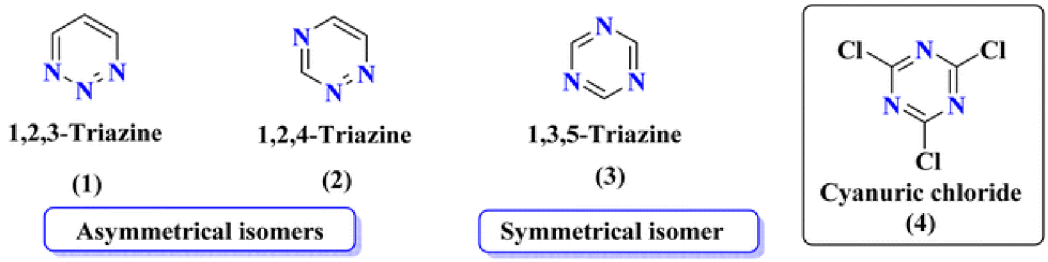
Obr. 3: Úloha karboanhydrázy při regulaci acidobazické rovnováhy v renálním tubulu, převzato z [105]

Karboanhydrázy jsou cílem mnoha léčiv. Klasické inhibitory (acetazolamid, metazolamid, dorzolamid nebo brinzolamid) se využívají v terapii glaukomu, epilepsie, vysokohorské nemoci, srdečního selhání a edematózních stavů [16]. Jak je patrné z obr. 1, tyto látky obvykle obsahují primární sulfonamidovou skupinu, která koordinuje ion Zn^{2+} v aktivním centru enzymu, čímž dochází k inhibici katalytické hydratace CO_2 [16, 17].

Novější generace inhibitorů se zaměřuje na látky selektivní vůči nádorově asociovaným izoformám hCA IX a hCA XII, které jsou nadměrně exprimovány v hypoxických oblastech solidních nádorů. Cílem této selektivity je zvýšení protinádorové účinnosti při současném omezení systémových nežádoucích účinků vyplývajících z inhibice ubiquitárně exprimovaných izoforem, zejména hCA I a hCA II [18].

1.2 Triazin

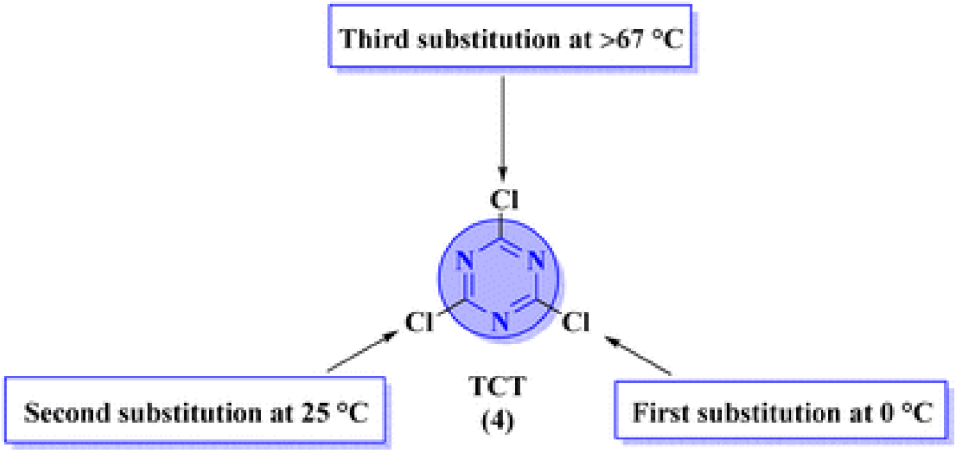
V syntetické chemii jsou triaziny ceněny pro svou reaktivitu, stabilitu a možnost snadné strukturální modifikace. Klasické syntetické přístupy zahrnují kondenzaci kyanamidu s formaldehydem, cyklizaci amidinů nebo trimerizaci nitrilů [4]. Jak ukazuje obr. 4, mezi strukturní izomery triazinu patří i 1,3,5-triazin a významným reaktivním derivátem této skupiny je kyanurochlorid.



Obr. 4: Strukturní izomery triazinu a struktura kyanurchloridu, převzato z [106]

K nejčastěji používaným prekurzorům patří kyanurochlorid, který umožňuje postupnou nukleofilní substituci za různých teplot. Jak je znázorněno na obr. 5, při teplotě 0–5 °C probíhá přednostně monosubstituce, při laboratorní nebo mírně zvýšené teplotě disubstituce a při teplotách 60 °C a vyšších trisubstituce, což umožňuje cíleně připravit mono-, di- a trisubstituované *s*-triaziny [4].

Tyto deriváty se následně funkcionalizují různými farmakologicky aktivními skupinami (např. sulfonamidy, piperaziny či aminokyselinovými fragmenty), které významně ovlivňují biologickou aktivitu výsledných molekul [8, 20].

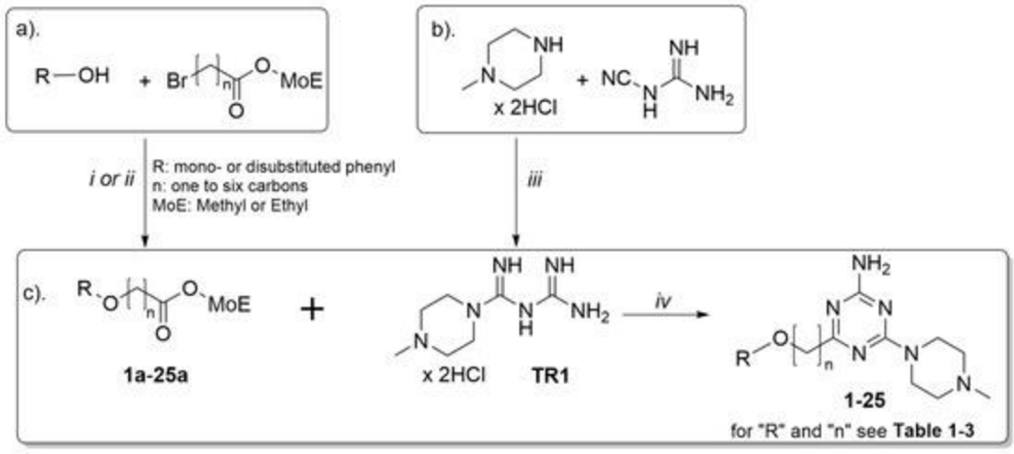


Obr. 5: Teplotní závislost postupné nukleofilní substituce 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinu, převzato z [106]

Triazinové deriváty představují mimořádně rozmanitou skupinu látek s rozsáhlým spektrem biologických účinků [16, 20]. Významné jsou zejména jejich antiproliferační, antimikrobiální, antivirové, protizánětlivé a antioxidační vlastnosti [8, 20]. V posledních letech se pozornost upíná na jejich využití jako inhibitorů karboanhydráz, protein kináz, proteáz či acetylcholinesterázy [8, 22].

V onkologii se triazinové sloučeniny využívají zejména jako inhibitory hCA typu IX a XII, které regulují acidobazickou rovnováhu nádorového mikroprostředí [4, 8]. Deriváty triazinyl-aminobenzen-sulfonamidového typu vykazují vysokou afinitu a

selektivitu vůči nádorovým izoformám, přičemž účinnost se pohybuje v nanomolárním rozmezí a je srovnatelná nebo lepší než u referenčního inhibitoru SLC-0111 [4, 40]. Jak ukazuje obr. 6, triazinové jádro lze vhodnou volbou aminoalkylesteru dále funkcionalizovat a připravit tak strukturně rozmanité deriváty.

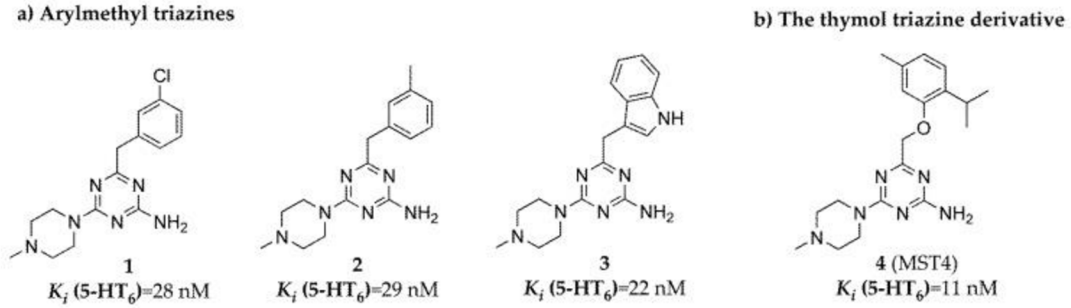


Obr. 6: Obecné reakční schéma syntézy triazinových derivátů z aminoalkylesterů, převzato z [107]

Zavedení polárních substituentů vede k výraznému zlepšení rozpustnosti, farmakokinetických parametrů a biologické dostupnosti [22]. Z tohoto důvodu je triazinové jádro často využíváno jako centrální stavební prvek pro návrh tzv. hybridních struktur, které kombinují více farmakologicky aktivních fragmentů v jedné molekule [20].

Takové hybridy (např. triazinflavonoidy nebo triazinchalkony) vykazují synergické antiproliferační účinky a zároveň sníženou cytotoxicitu vůči zdravým buňkám [20]. Významným směrem výzkumu jsou rovněž multicílové triazinové molekuly (MTDL, multitarget-directed ligands), schopné současně modulovat více biologických drah. Příkladem jsou deriváty s duální aktivitou vůči enzymu FAAH a serotoninovému receptoru 5-HT_6. Tyto sloučeniny působí jako selektivní inhibitory FAAH (IC_{50} = 0,3–0,9 μM) a antagonisté 5-HT_6R, čímž současně ovlivňují endokanabinoidní a serotonergní signalizaci [22]. Příklady arylmethylových a thymolových derivátů 1,3,5-triazinu s afinitou k receptoru 5-HT_6 jsou znázorněny na obr. 7.

Klíčovým strukturálním prvkem je 1,3,5-triazinové jádro nesoucí aromatický substituent v pozici 2 a lipofilní amidovou skupinu v pozici 4, umožňující efektivní interakci s oběma cílovými strukturami. Tento duální mechanismus činí tyto sloučeniny perspektivními kandidáty pro terapii neurodegenerativních onemocnění, zejména Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby [22].



Obr. 7: Příklady arylmethylových a thymolových derivátů 1,3,5-triazinu s afinitou k receptoru 5-HT$_6$, převzato z [108]

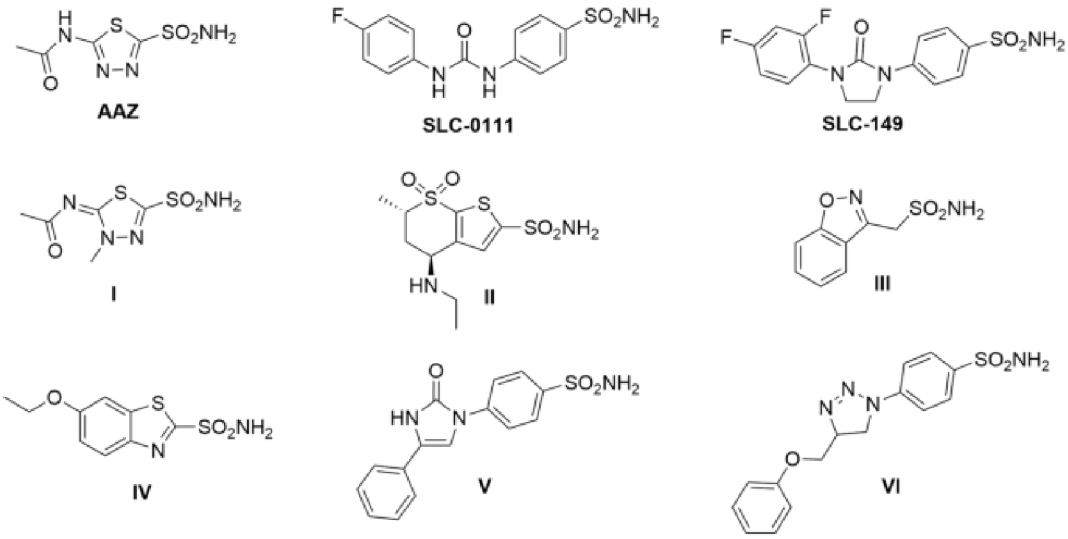
1.3 Inhibitory karboanhydrázy IX

Membránově vázaný izoenzym hCA IX patří do rodiny α-karboanhydráz. Za fyziologických podmínek je jeho exprese výrazně omezená a nachází se především v buňkách gastrointestinálního traktu a některých epitelových tkáních [23]. V hypoxickém nádorovém mikroprostředí však dochází k jeho výrazné nadregulaci prostřednictvím transkripčního faktoru HIF-1α, který aktivuje gen CA9, což vede k vysoké expresi hCA IX v nádorových buňkách [24].

Hlavní funkcí hCA IX je regulace acidobazické rovnováhy nádorových buněk prostřednictvím udržování relativně alkalického intracelulárního pH při současné acidifikaci extracelulárního prostoru. Tento obrácený pH gradient podporuje invazivitu, migraci a rezistenci nádorových buněk vůči terapii [25]. Inhibice hCA IX narušuje tuto adaptaci na hypoxické podmínky, omezuje extracelulární acidifikaci a zvyšuje citlivost nádorových buněk k chemoterapii i radioterapii [26,27]. Kombinace inhibitorů hCA IX s imunoterapií (anti-PD-1/PD-L1) nebo antiangiogenní léčbou navíc vykazuje synergický efekt [26,86].

Klinicky nejvýznamnějším zástupcem této skupiny je SLC-0111, selektivní inhibitor hCA IX, který ve studiích fáze I/II prokázal příznivý bezpečnostní profil u pacientů s pokročilými solidními nádory [28].

Nejrozšířenější skupinu inhibitorů hCA IX tvoří sulfonamidové sloučeniny, které koordinují katalytický ion Zn^{2+} v aktivním centru enzymu a tím inhibují jeho hydratační aktivitu [34]. Klasické sulfonamidy, například acetazolamid nebo methazolamid, sice vykazují vysokou afinitu k hCA IX, avšak jejich limitací je nedostatečná selektivita vůči fyziologickým izoenzymům, zejména hCA II, což vede k systémovým nežádoucím účinkům [35]. Současný výzkum se proto zaměřuje na strukturálně optimalizované inhibitory s upravenými postranními řetězci, které umožňují zvýšení izoformové selektivity a zlepšení farmakokinetických vlastností [33]. Příklady chemických struktur inhibitorů karboanhydrázy jsou uvedeny na obr. 8.



Obr. 8: Chemické struktury inhibitorů karboanhydrázy, převzato z [109]

Vedle sulfonamidů jsou studovány také nesulfonamidové inhibitory, které se liší strukturou i mechanismem vazby. Patří mezi ně karboxamidy, sulfamáty, dithiokarbamáty, thioxolany a různé heterocyklické deriváty, včetně látek na bázi 1,3,5-triazinů, triazolů, benzimidazolů či kumarinů. Tyto sloučeniny mohou působit blokádou přístupové cesty k aktivnímu místu, narušením protonového shuttle mechanismu nebo obsazením hydrofobní kapsy enzymu bez přímé koordinace ke Zn^{2+}. Heterocyklické scaffoldy zároveň umožňují rozsáhlou strukturální modifikaci vedoucí k optimalizaci selektivity a vazebné afinity. Některé deriváty jsou navrhovány jako hybridní molekuly kombinující více funkčních motivů (např. triazinové jádro a sulfonamidovou jednotku), což může vést k synergickému zvýšení inhibiční aktivity [30–33].

1.3.1 Mechanismus účinku inhibitorů hCA IX

Jak již bylo uvedeno výše, aktivní místo hCA IX obsahuje katalytický ion Zn^{2+} koordinovaný molekulou vody. Sulfonamidové inhibitory nahrazují tuto koordinovanou molekulu vody a vytvářejí vazbu se Zn^{2+}, čímž dochází k blokádě katalytického cyklu enzymu. Tím je narušena schopnost nádorových buněk udržovat patologický pH gradient, což vede k metabolickému stresu, omezení proliferace a zvýšení apoptotické odpovědi [8].

Normalizace pH nádorového mikroprostředí zároveň zvyšuje účinnost cytostatik, jejichž vstup do buněk je v kyselém prostředí omezen, a zvyšuje radiosenzitivitu nádorových buněk v důsledku zhoršené reparace poškození DNA [26,27,29]. Inhibice hCA IX může sekundárně ovlivnit buněčný metabolismus včetně glykolýzy a příjmu glukózy a přispět ke zlepšení protinádorové imunitní odpovědi, neboť kyselé prostředí tumoru tlumí aktivitu T-lymfocytů [26,30–32].

1.3.2 Farmakologické vlastnosti

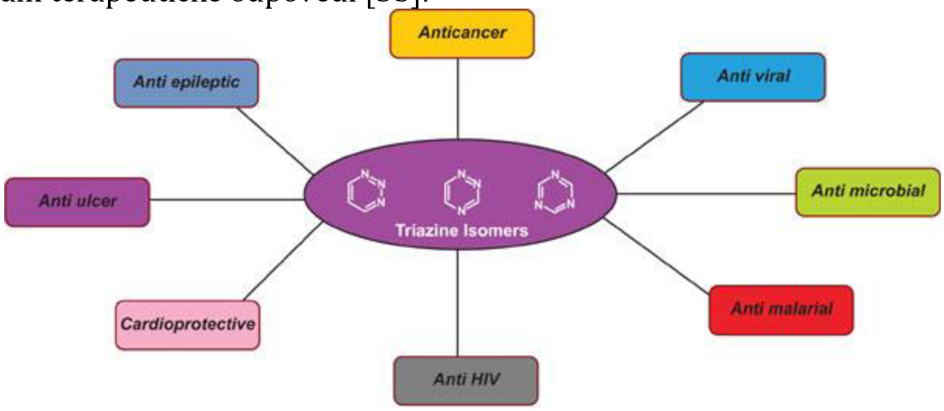
Z farmakologického hlediska je klíčovým parametrem inhibitorů jejich izoformová selektivita. Klasické sulfonamidy, jako acetazolamid nebo methazolamid, inhibují více izoforem karboanhydráz včetně fyziologické hCA II, což je spojeno se systémovými nežádoucími účinky [39].

Moderní nízkomolekulární inhibitory, zejména triazinové sulfonamidy a hybridní heterocyklické struktury, vykazují inhibiční konstanty (K_i) v nanomolárním rozmezí pro hCA IX, zatímco jejich účinek vůči hCA II se pohybuje v mikromolárních koncentracích, což znamená nižší afinitu k hCA II. Obecně platí, že čím nižší je hodnota K_i, tím silnější je inhibiční účinek. Nanomolární K_i tedy svědčí o vysoké afinitě a výrazné selektivitě vůči hCA IX [40, 41].

Strukturální optimalizace těchto inhibitorů umožňuje modulovat jejich vazebnou afinitu i farmakokinetické vlastnosti. Zavedení lipofilních substituentů na triazinový skelet podporuje průnik molekuly do hypoxických oblastí tumoru, zatímco elektronakceptorové skupiny mohou zvyšovat stabilitu interakcí v aktivním místě enzymu [40, 46, 47]. Jak ukazuje obr. 9, triazinové deriváty vykazují široké spektrum farmakologických účinků, což z nich činí perspektivní skupinu látek pro další výzkum. Triazinové deriváty vykazují antiproliferační aktivitu na různých nádorových liniích a v preklinických studiích se popisuje jejich synergický efekt v kombinacích s další terapií [11, 45].

Nejvíce studovaným zástupcem je SLC-0111, perorálně dostupný inhibitor preferenčně zaměřený na hCA IX a hCA XII s nízkou aktivitou vůči hCA II. Klinické studie fáze I/II prokázaly jeho příznivý bezpečnostní profil a stabilní farmakokinetické parametry [11, 46, 49, 56].

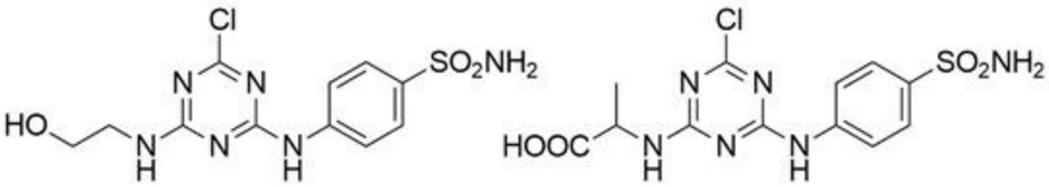
Kromě terapeutického využití nacházejí triazinové deriváty uplatnění také v diagnostice. Po značení radionuklidy (např. ^{68}Ga nebo ^{18}F) mohou sloužit jako radiofarmaka pro PET či SPECT zobrazování nádorů s vysokou expresí hCA IX. Vysoká afinita těchto inhibitorů umožňuje přesnou vizualizaci hypoxických oblastí a monitorování terapeutické odpovědi [53].



Obr. 9: Farmakologické účinky triazinů, převzato z [110]

1.4 Triazinové deriváty jako moderní inhibitory hCA IX

Struktura 1,3,5-triazinového jádra se v posledních letech ukázala jako mimořádně vhodná platforma pro návrh selektivních inhibitorů hCA IX, a to díky své rigidní aromatické povaze a možnosti vícenásobné substituce. Tato struktura umožňuje přesně definovat prostorovou orientaci funkčních skupin i jejich elektronové a lipofilní vlastnosti, které přímo ovlivňují farmakologický účinek [40]. Triazinový skelet vytváří stabilní interakce v aktivním centru enzymu, zejména prostřednictvím vodíkových můstků, π–π interakcí a hydrofobních kontaktů, což přispívá k vysoké afinitě a dlouhodobé stabilizaci inhibitoru hCA IX [60].



Obr. 10: Příklad struktury inhibitorů karboanhydrázy, převzato z [112]

Substitucí na triazinovém skeletu lze dále modifikovat fyzikálně-chemické parametry inhibitorů, včetně lipofility a distribuce v nádorové tkáni [63]. Zavedení lipofilních substituentů může zvyšovat permeabilitu buněčnými membránami, zatímco elektronakceptorové skupiny (např. $-CF_3$, $-NO_2$) mohou ovlivnit elektronovou hustotu molekuly a tím i její interakci s aktivním místem enzymu, tyto efekty jsou však závislé na konkrétní struktuře a nelze je zobecnit na všechny triazinové deriváty [64].

V práci Havránkové a kol. jsou popsány 1,3,5-triazinové benzensulfonamidové deriváty vykazující vysokou inhibiční aktivitu vůči nádorově asociovaným izoformám hCA IX a hCA XII. Autoři uvádějí hodnoty K_i pro hCA IX v rozmezí přibližně 12–31 nM, zatímco pro hCA XII dosahují některé sloučeniny ještě nižších hodnot kolem 4,4–10 nM. Současně byly u těchto derivátů zaznamenány výrazně vyšší hodnoty K_i vůči fyziologické izoformě hCA II, v některých případech až o tři řády vyšší, což odpovídá mikromolárnímu rozmezí. Tyto výsledky svědčí o výrazné izoformové selektivitě ve prospěch hCA IX a hCA XII [103].

1.4.1 Strukturální aspekty a mechanismus interakce

Jak je již zmíněno výše, jádro 1,3,5-triazinu představuje rigidní aromatickou platformu umožňující vícenásobnou substituci a systematickou optimalizaci fyzikálně-chemických vlastností inhibitorů. Charakter a poloha substituentů na triazinovém skeletu významně ovlivňují vazebnou afinitu i izoformovou selektivitu vůči hCA IX [68].

Strukturní studie naznačují, že vhodně navržené triazinové deriváty mohou využívat rozdílů v architektuře aktivního místa jednotlivých izoforem, zejména v oblasti hydrofobní kapsy a přístupového kanálu ke katalytickému centru. Tyto rozdíly umožňují cílené ladění selektivity prostřednictvím racionální modifikace substituentů [68].

1.5 Triazinové deriváty a jejich role u Alzheimerovy choroby

Zatímco role karboanhydrázy IX je nejlépe charakterizována v kontextu nádorové biologie, stále více experimentálních poznatků naznačuje, že dysregulace karboanhydráz může mít význam také v patogenezi neurodegenerativních onemocnění, včetně Alzheimerovy choroby. Karboanhydrázy se podílejí na regulaci pH, neuronální excitability a funkci neurovaskulární jednotky, což jsou procesy relevantní pro homeostázu centrálního nervového systému.

1.5.1 Alzheimerova choroba

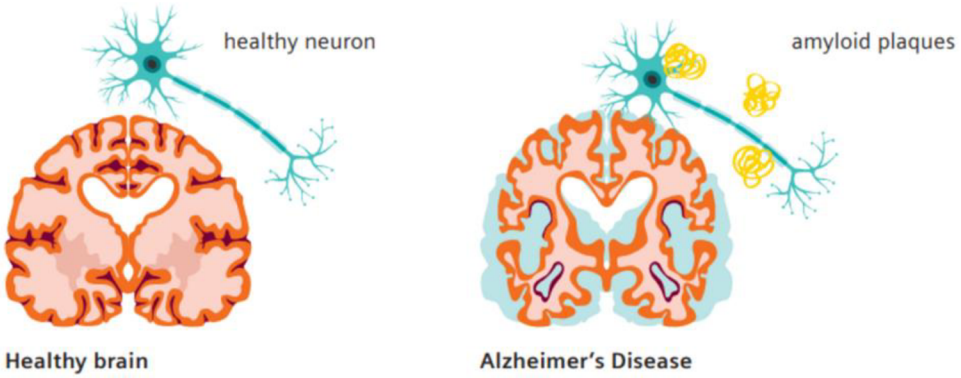
Alzheimerova choroba je progresivní neurodegenerativní onemocnění a nejčastější příčina demence u starší populace. Patofyziologicky je charakterizována ukládáním extracelulárních amyloidových plaků tvořených β-amyloidem (Aβ) a intracelulárních neurofibrilárních klubek složených z hyperfosforylovaného tau proteinu [71]. Tyto patologické změny vedou k poruše synaptické plasticity, neuronální signalizace a postupné neuronální ztrátě, zejména v oblasti hippokampu.

K progresi onemocnění přispívá také chronický neurozánět, oxidační stres, mitochondriální dysfunkce a porucha neurovaskulární jednotky, která je nezbytná pro metabolické zásobení mozkové tkáně [72]. Vzniká tak komplexní patologická kaskáda vedoucí k postupnému úbytku kognitivních funkcí.

Prevalence Alzheimerovy choroby v České republice dlouhodobě roste. Podle České alzheimerovské společnosti žije v ČR přibližně 170 000 osob s demencí, přičemž významnou část případů představuje právě AD [73]. Klinicky se onemocnění projevuje především poruchou krátkodobé paměti, dezorientací a zhoršením exekutivních funkcí; v pokročilých stadiích dochází k poruchám řeči, změnám osobnosti i k poruchám mobility a polykání [72, 73].

1.5.2 Patogeneze Alzheimerovy choroby

Patologické změny začínají dlouho před manifestací klinických příznaků. V časných fázích dochází k nerovnováze mezi tvorbou a odbouráváním β-amyloidu, což vede k jeho agregaci do oligomerů a následně k tvorbě amyloidových plaků [75].

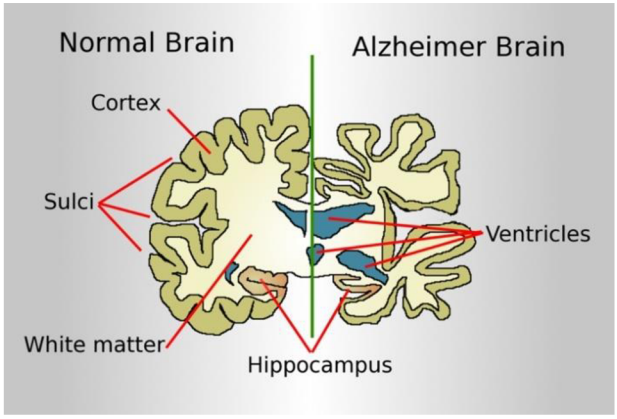


Obr. 11: Ukládání amyloidů, převzato z [113]

Obrázek schématicky znázorňuje rozdíl mezi zdravým neuronem a neuronem obklopeným extracelulárními amyloidovými agregáty. Vlevo je fyziologický stav bez patologických depozit, zatímco vpravo je patrná akumulace β-amyloidu v mezibuněčném prostoru. Tyto agregáty narušují synaptickou komunikaci, poškozují buněčné membrány a přispívají k aktivaci zánětlivých procesů.

Současně dochází k patologické hyperfosforylaci tau proteinu, jehož agregace do neurofibrilárních klubek narušuje stabilitu mikrotubulů a intracelulární transport. Rozsah tau patologie úzce koreluje se stupněm kognitivního deficitu [76].

K neurodegeneraci dále přispívá dlouhodobá aktivace mikroglie a uvolňování prozánětlivých mediátorů, které zvyšují oxidační stres a podporují mitochondriální dysfunkci. Vzájemné působení amyloidové a tau patologie spolu se zánětlivými a metabolickými změnami vede k progresivní neuronální smrti [76, 77].



Obr. 12: Rozdíl mezi zdravým mozkem a mozkem postiženým Alzheimerovou chorobou, převzato z [113]

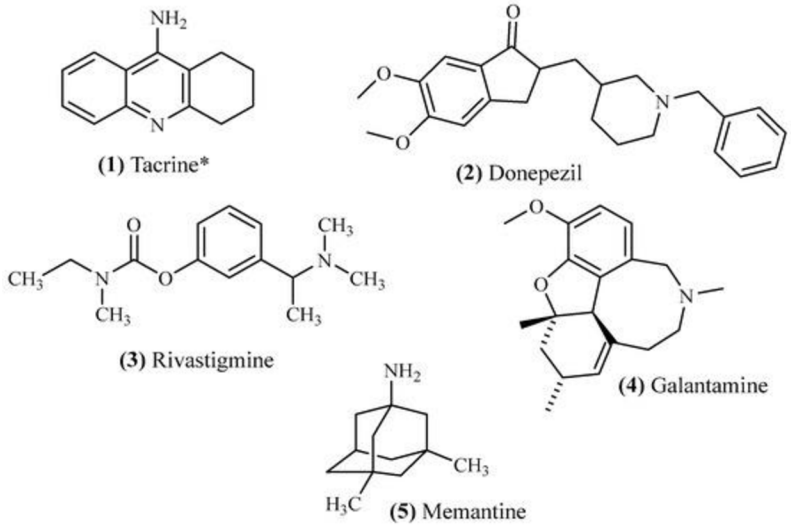
Na obr. 12 je patrná výrazná atrofie mozkové kůry a hipokampu u Alzheimerovy choroby ve srovnání se zdravým mozkem. Zároveň dochází k rozšíření mozkových komor a ztenčení bílé hmoty. Tyto morfologické změny odpovídají rozsahu neuronální ztráty a korelují s klinickými projevy onemocnění.

Vznik Alzheimerovy choroby je tedy výsledkem propojení více patologických procesů zahrnujících ukládání β-amyloidu, tau patologii, chronický neurozánět a metabolickou dysfunkci. Tato komplexnost vysvětluje, proč současné léčebné možnosti nedokážou onemocnění zastavit, ale pouze zmírňují jeho příznaky [77,80].

1.5.3 Farmakoterapie Alzheimerovy choroby

Farmakoterapie Alzheimerovy choroby je v současnosti převážně symptomatická. Inhibitory acetylcholinesterázy (donepezil, galantamin, rivastigmin) zvyšují koncentraci acetylcholinu v synaptické štěrbině a tím podporují cholinergní neurotransmisi. Memantin, jako nekompetitivní antagonista NMDA receptorů, snižuje excitotoxicitu vyvolanou nadměrnou glutamátergní aktivitou [74]. Přehled léčiv schválených pro terapii Alzheimerovy choroby je uveden na obr. 13.

Přestože tyto léčivé přípravky mohou přechodně zlepšit kognitivní funkce a zpomalit funkční deterioraci, nezasahují přímo do základních patofyziologických mechanismů neurodegenerace. V posledních letech jsou zkoumány také biologické přístupy, zejména monoklonální protilátky cílené proti β-amyloidu (např. aducanumab, lecanemab). Jejich klinická účinnost, bezpečnostní profil i dlouhodobý přínos však zůstávají předmětem odborné diskuse [72].



Obr. 13: Léčiva schválená pro terapii AD, převzato z [114]

1.5.4 Karboanhydrázy v patogenezi Alzheimerovy choroby

V kontextu AD jsou nejčastěji diskutovány izoformy hCA II, hCA VII a hCA XIV. Změněná exprese či aktivita těchto enzymů byla popsána v oblastech postižených amyloidovou patologií [8, 87]. Zvýšená exprese hCA II byla opakovaně detekována v reaktivních astrocytech lokalizovaných v bezprostřední blízkosti amyloidových plaků u pacientů s AD [82].

Experimentální studie naznačují, že aktivita některých izoforem hCA může modulovat neurozánětlivé procesy a oxidační stres. Farmakologická inhibice karboanhydráz vedla v preklinických modelech ke snížení exprese vybraných prozánětlivých mediátorů a ke zlepšení některých behaviorálních parametrů. Tyto účinky jsou dávány do souvislosti s úpravou lokálního pH a signalizací závislou na acidobazické rovnováze [81–83].

Z hlediska neurovaskulární jednotky je významné, že porucha hematoencefalické bariéry a snížená mozková perfuze patří k časným změnám u Alzheimerovy choroby a podílejí se na zhoršené clearance β-amyloidu (Aβ) z mozkové tkáně [72,79]. Karboanhydrázy se podílejí na regulaci pH a iontového transportu v endoteliálních buňkách hematoencefalické bariéry, a mohou tak nepřímo ovlivňovat funkci transportérů a tight junction proteinů. Lemon *et al*. (2021) shrnují, že změny lokálního pH mohou modulovat permeabilitu bariéry a tím přispívat k dysfunkci clearance Aβ [10].

1.5.5 Inhibitory karboanhydrázy jako potenciální neuroprotektivní strategie u Alzheimerovy choroby

Farmakologická inhibice karboanhydráz může ovlivnit několik patogenetických os AD současně. Jedním z diskutovaných mechanismů je stabilizace lokální acidobazické rovnováhy v neuronálním a perivaskulárním mikroprostředí. Patologická acidifikace je spojována se zvýšenou agregací β-amyloidu, vyšší stabilitou jeho neurotoxických forem a narušením synaptické plasticity. Inhibice karboanhydráz může tyto procesy částečně tlumit a přispívat ke snížení amyloidové zátěže [83, 88].

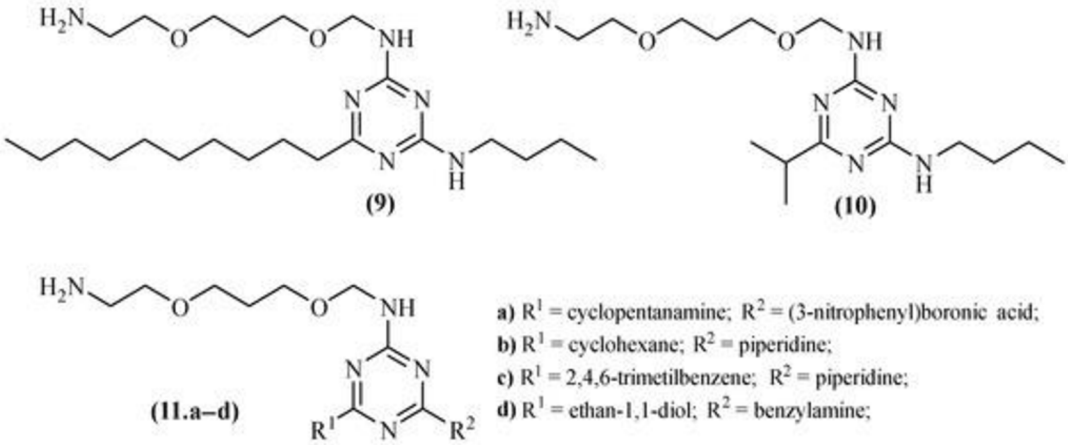
V neuronálních buněčných modelech vedla selektivní inhibice hCA II ke snížení amyloidové toxicity, omezení oxidačního stresu a zpomalení buněčné degenerace [88]. Současně byla pozorována modulace neurozánětlivé odpovědi, včetně snížení exprese prozánětlivých cytokinů a částečné regulace aktivace mikroglie. Tyto efekty jsou dávány do souvislosti s úpravou intracelulárního pH a sekundární stabilizací mitochondriálního metabolismu [81–83].

1.5.6 Triazinové deriváty jako perspektivní léčiva Alzheimerovy choroby

V posledních letech se v oblasti vývoje léčiv pro Alzheimerovu chorobu prosazuje koncept multitarget molekul schopných současně modulovat více patogenetických drah. 1,3,5-triazinové deriváty představují vhodnou platformu pro takový přístup díky aromatické povaze triazinového jádra a možnosti vícenásobné substituce v pozicích 2, 4 a 6. Triazinový skelet umožňuje racionální kombinaci různých farmakoforů v rámci jediné molekuly a tím současné zacílení na více patogenetických drah Alzheimerovy choroby. 1,3,5-Triazinové deriváty tak mohou být navrženy jako inhibitory karboanhydrázy, současně modulovat aktivitu acetylcholinesterázy nebo zasahovat do amyloidové kaskády prostřednictvím ovlivnění β-sekretázy či agregace amyloidu β.

Některé struktury byly rovněž koncipovány tak, aby modulovaly aktivitu kináz podílejících se na patologické hyperfosforylaci tau proteinu, zejména GSK-3β a CDK5 [91, 96].

Publikovány byly například sloučeniny typu AA3E2 (9) a AA3D2 (10), jejichž struktura je založena na 1,3,5-triazinovém jádře nesoucím substituenty umožňující interakci s amyloidovými fibrilami a současně modulaci dalších enzymových cílů. Variabilita substituce na jednotlivých pozicích triazinového kruhu umožňuje jemné ladění lipofility, elektronových vlastností i prostorové orientace funkčních skupin, což se promítá do biologické aktivity i potenciální mozkové dostupnosti [96, 117].



Obr. 14: Struktura sloučenin AA3E2 (9), AA3D2 (10) a jejich analogů, převzato z [114]

Zobrazené molekuly ilustrují, jak lze 1,3,5-triazinový scaffold využít pro kombinaci více biologicky aktivních fragmentů v jediné molekule. Substituce v jednotlivých pozicích umožňuje modulaci afinity k různým molekulárním cílům a podporuje koncept multitarget léčiv.

Aktuální výzkum tento koncept dále posiluje. Giovannuzzi a kol. (2024) popsali duální inhibitory karboanhydrázy a MAO-B jako potenciální strategii pro AD, přičemž návrh těchto molekul cílí současně na enzymové zdroje oxidačního stresu [91]. Nedávno byla rovněž publikována práce, která identifikovala inhibici karboanhydráz jako protektivní faktor v modelu tauopatie a navrhla souvislost s urychlením clearance tau prostřednictvím mechanismů spojených s lysozomální exocytózou [100]. 1,3,5-triazinové deriváty jsou aktivně studovány jako multifunkční ligandy ovlivňující cholinergní systém (AChE), amyloidovou dráhu (včetně BACE1) i agregaci Aβ a zdůrazňují možnost cíleného ladění fyzikálně-chemických vlastností relevantních pro CNS [96].

Některé triazinové sloučeniny byly navrženy tak, aby kombinovaly inhibici karboanhydrázy s antioxidačními nebo protizánětlivými farmakofory, což může vést k synergickému neuroprotektivnímu účinku [94,95].

1.5.7 Perspektiva dalšího výzkumu

Navzdory slibným preklinickým výsledkům zůstává vývoj inhibitorů karboanhydrázy, schopných průniku do mozku, spojen s několika zásadními limitujícími faktory. Klíčovým problémem je schopnost molekul překonat hematoencefalickou bariéru, což vyžaduje optimalizaci lipofility, molekulové hmotnosti [90].

Další výzvou je izoformní selektivita, neboť systémová inhibice hojně exprimované hCA II může vést k poruchám acidobazické rovnováhy a dalším nežádoucím účinkům [82, 83].

Otevřenou otázkou zůstává také dlouhodobý dopad inhibice karboanhydráz na synaptickou signalizaci, protože tyto enzymy se podílejí na regulaci pH v synaptickém prostoru a modulují GABAergní i glutamátergní neurotransmisi [81, 85].

Většina dosud publikovaných triazinových sloučenin byla hodnocena především v *in vitro* systémech a časných preklinických modelech, údaje o jejich farmakokinetice, mozkové penetraci a dlouhodobé bezpečnosti jsou zatím omezené [96, 117].

2 Experimentální část

2.1 Cíl práce

Experimentální část se zabývá syntézou nových potenciálních inhibitorů karboanhydrázy s 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinovým skeletem. Syntéza probíhala pomocí nukleofilní substituce na polohách chloru.

Produkty i meziprodukty byly následně charakterizované pomocí analytických metod, jako je ^{13}C-NMR spektroskopie, ^{1}H-NMR spektroskopie. Z fyzikálních vlastností byla určena teplota tání.

Syntetizované látky byly předány skupině doc. Hritze (CEITEC MU) ke stanovení inhibiční aktivity vůči hCA II a hCA IX. V době odevzdání práce však bohužel výsledky nebyly ještě k dispozici.

2.2 Obecné informace

Průběh jednotlivých kroků syntézy byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC). Vzorky byly nanášeny na chromatografické destičky se silikagelem (DC-Alufolien Kieselgel 60 F^{254}, Merck), které byly následně vyvíjeny v chromatografické komoře s použitím mobilních fází specifických pro dané reakce. Detekce přítomných sloučenin probíhala za využití UV světla (v rozmezí 254-356 nm), par jodu a připraveného reaktivního ninhydrinového činidla.

Teplota tání byla stanovovaná jak u meziproduktů, tak finálních látek pomocí Koflerova bloku (HMK Franz, Kustner, Německo).

K detailní charakterizaci produktů byla využita nukleární magnetická rezonance (NMR). Spektra ^{1}H-NMR a ^{13}C-NMR byla získána na FT NMR přístroji JEOL ECZR 400 (JEOL, Japonsko), který je osazen 5mm sondou typu High Sensitivity PulseField Gradient Autotune. Měření probíhala při frekvenci 400MHz pro ^{1}H a 100Mhz pro ^{13}C. Chemické posuny (*d*, ppm) byly kalibrovány vůči standardu tetramethylsilanu (TMS). Pro deuterované rozpouštědlo DMSO-d_6 byly použity referenční hodnoty d=2,5 ppm (^{1}H) a d=39,5 ppm (^{13}C). Všechna měření probíhala při konstantní teplotě 30°C a získaná data byla zpracována v softwaru Delta 5.2.1 (Jeol Resonance, Tokyo).

Čistota látek byla kvantifikována integrací ploch píků ve spektrech ^{1}H-NMR.

2.3 Seznam použitých chemikálií

2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin 99 % Sigma-Aldrich®
Uhličitan draselný, bezvodý Sigma-Aldrich®

Uhličitan sodný 99,5 % Sigma-Aldrich®
Methanol 99,9 % Lach:ner
Aceton 99,5 % Lach:ner
Dimethylformamid, bezvodý (DMF) 99,8 % Sigma-Aldrich®
Dichlormethan (DCM) 99,8 % Lach:ner
Acetonitril Sigma-Aldrich®
Tetrahydrofuran (THF) Sigma-Aldrich®
Diethylether, bezvodý 99 % Lach:ner
Ethylacetát Lach:ner
Ethanol Sigma-Aldrich®
Isopropylalkohol 99,7 % Lach:ner
Chlorid sodný 99,5 % Lach:ner
Piperazin Sigma-Aldrich®
3,4,5-trimethoxybenzenamin Sigma-Aldrich®
Isopropylamin Sigma-Aldrich®
Piperidin Sigma-Aldrich®
Allylamin Sigma-Aldrich®
2,2,2-trifluorethylamin Sigma-Aldrich®
2,2,2-trifluorethylamin hydrochlorid Sigma-Aldrich®
3-amino-4-methylbenzoová kyselina Sigma-Aldrich®
2-amino-5-methylbenzoová kyselina Sigma-Aldrich®
4-aminoacetofenon Sigma-Aldrich®
4-amino-3,5-dichloroacetofenon Sigma-Aldrich®
Methyl-2-amino-4-chlor-5-pyrimidinkarboxylát Sigma-Aldrich®
Sulfanilamid Sigma-Aldrich®
4-(aminomethyl)benzensulfonamid hydrochlorid Sigma-Aldrich®
4-(2-aminoethyl)benzensulfonamid Sigma-Aldrich®
4-(trifluormethyl)anilin Sigma-Aldrich®

2.4 Syntéza monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů

2.4.1 Obecný experimentální postup

Reakční aparatura byla tvořena tříhrdlou baňkou s přikapávací nálevkou a mechanickým míchadlem. Do baňky bylo za chlazení v ledové lázni přidáno příslušné rozpouštědlo (20–150 ml podle specifického experimentu) a teplota byla stabilizována v rozmezí 0–5 °C. Po dosažení konstantní teploty byl za intenzivního míchání přidán jeden ekvivalent 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu, který se nechal zcela rozpustit.

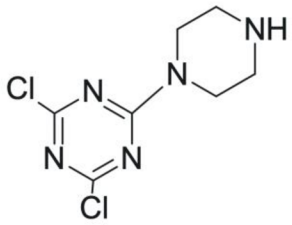
Následně byl po malých částech za stejné teploty přidáván 1 ekvivalent bezvodého uhličitanu draselného, čímž došlo k ustanovení slabě zásaditého prostředí vhodného pro nukleofilní substituci. Paralelně byl v minimálním množství identického rozpouštědla připraven roztok 1 ekvivalentu příslušného nukleofilu, který byl za kontinuálního míchání pomalu přikapáván do reakční směsi. Teplota směsi byla po celou dobu udržována v rozmezí 0–5 °C, aby byla zajištěna selektivní monosubstituce.

Po ukončení dávkování se reakce ponechala probíhat za míchání po dobu minimálně 3 hodin u běžně reaktivních substrátů, u méně reaktivních látek byla reakce prodloužena až na 7 hodin. Konverze byla pravidelně monitorována TLC. Po dokončení reakce byla pevná báze oddělena filtrací přes fritu a filtrát byl zahuštěn odpařením rozpouštědla na rotační vakuové odparce nebo byl produkt sražen pomocí ledu, v závislosti na konkrétním experimentu.

Získané surové produkty byly dále přečištěny rekrystalizací nebo kolonovou chromatografií (eluent dichlormethan / ethylacetát v daném poměru). Čisté produkty byly vysušeny do konstantní hmotnosti v exsikátoru a charakterizovány pomocí ^{1}H-NMR a ^{13}C-NMR spektroskopie, která potvrdila či vyvrátila úspěšnou monosubstituci triazinového jádra.

Tab. 1 Navážky k monosubstituovaným reakcím:

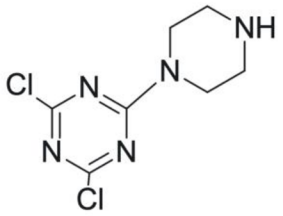
Reakce	n	Triazin m (g)	Báze m (g)	Nukleofil	Nukleofil m (g) (ml)	Rozpouštědlo
1A	0,0116	2,139	1,603	Piperazin	1,000	DMF
2	0,0050	0,874	0,655	Trimethoxyben-zenamin	0,897	aceton
1B	0,0271	5,000	4,170	Piperazin	1,000	DCM
3A	0,0271	5,000	3,732	Isopropylamin	1,596	DCM
3B	0,0270	5,000	3,732	Isopropylamin	1,88 ml	THF
4	0,0132	2,434	1,824	3-amino-4-methylbenzoová kys.	2,000	Aceton
5	0,0325	6,000	4,492	Piperidin	3,20 ml	DCM
6	0,0033	0,608	0,456	2-amino-5-methylbenzoová kys.	0,500	Aceton
7	0,0053	1,000	0,724	4-amino-acetofenon	1,000	Aceton
8	0,0098	1,807	1,354	4-amino-3,5-di-chloroacetofenon	2,000	Aceton
9	0,0330	6,000	4,492	Allylamin	2,44 ml	Aceton
10	0,0020	0,295	0,220	Methyl-2-amino-4-chloro-5-pyrimidin karboxylát	0,300	Acetonitril



Obr. 15: Derivát 1A, vlastní tvorba

2,4-dichloro-6-(piperazin-1-yl)-1,3,5-triazin
Vzorec: $C_7H_9Cl_2N_5$
Mr: 234.08
Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 0,226 g (8,30%)
Teplota tání: 200-201°C
Reakční čas: 3h
Specifika reakce: Reakce probíhala v DMF (20 ml) při 0–5 °C. Jako báze byl použit K_2CO_3 a nukleofilem byl piperazin. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC s methanolem jako mobilní fází; detekce probíhala pomocí UV a ninhydrinu. Po reakci byla směs filtrována přes fritu a filtrát byl odpařen do sucha.

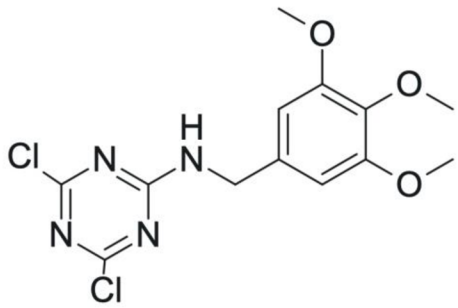
Alternativní postup:



Obr. 16: Derivát 1B, vlastní tvorba

Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 0,336 g (3,60%)
Teplota tání: 198-200°C
Reakční čas: 4h
Specifika reakce: Reakce probíhala v DCM (20 ml) při 0 °C s piperazinem jako nukleofilem a K_2CO_3 jako bází. TLC bylo vyvíjeno v methanolu, detekce probíhala pomocí UV a ninhydrinu. Po reakci byla směs filtrována a filtrát odpařen do sucha.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ *ppm*: 3,71–3,73 (4H, m, CH_2), 2,68–2,75 (4H, m, CH_2), 2,16 (1H, br s, NH).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d_6) δ *ppm*: 169,8, 165,5, 47,4, 45,5.

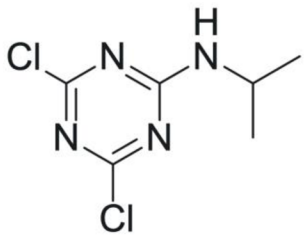


Obr. 17: Derivát 2, vlastní tvorba

4,6-dichloro-N-[(3,4,5-trimethoxyfenyl)methyl]-1,3,5-triazin-2-amin
Vzorec: $C_{13}H_{14}Cl_2N_4O_3$
Mr: 345.18
Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 1,660 g (92,70%)
Teplota tání: 215-216°C
Reakční čas: 4 h
Specifika reakce: Reakce probíhala v acetonu (50ml). Směs byla míchána do maximální konverze výchozích látek, průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC, jako eluent byl použit dichlormethan. Po ukončení reakce byla směs zfiltrována přes fritu, pevná část byla usušena na Petriho misce, kapalná byla odsáta do sucha na rotační vakuové odparce. Zfiltrovaná sraženina byla rozpustná ve vodě, byl odpařen aceton, látka byla vysrážena a promyta etherem.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 6,55–6,54 (2H, m, CH_{Ar}), 6,28 (1H, br s, NH), 4,63–4,67 (2H, m, CH_2), 3,81 (6H, s, OCH_3), 3,79 (3H, s, OCH_3).

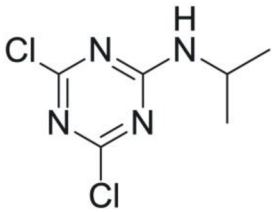
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 171,0, 165,9, 159,2, 159,1, 132,1, 105,5, 60,9, 56,4, 45,8.



Obr. 18: Derivát 3A, vlastní tvorba

4,6-dichloro-N-(propan-2-yl)-1,3,5-triazin-2-amin
Vzorec: $C_6H_8Cl_2N_4$
Mr: 207.06
Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 2,897 g (51,60%)
Teplota tání: 227-228°C
Reakční čas: 4h
Specifika reakce: Triazin byl rozpuštěn v DMF (150 ml), směs byla chlazena na 5 °C. Nukleofil, isopropylamin, byl dávkován jako směs s dichlormethanem (50 ml). TLC bylo prováděno s methanolem jako mobilní fází, detekce pomocí UV a ninhydrinu. Po reakci byla odstraněna báze filtrací a filtrát byl odpařen.

Alternativní postup:

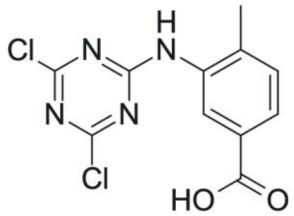


Obr. 19: Derivát 3B, vlastní tvorba, dle [116]

Reakční čas: 3h
Výtěžek: 3,654 g (65,30%)
Specifika reakce: Alternativní postup probíhal v THF (120 ml) při 0 °C. Nukleofil byl dávkován jako roztok isopropylaminu v THF (50 ml). Po reakci bylo rozpouštědlo odpařeno, poté byl přidán ethylacetát (100 ml) a směs byla promyta vodou (100 ml) a dvakrát nasyceným roztokem NaCl (2×100 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým uhličitanem sodným. TLC bylo vyvíjeno v methanolu, detekce probíhala pomocí UV a ninhydrinu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 5,05 (1H, s, NH), 4,50 (1H, sept, *J* = 6,15 Hz, CH), 1,19 (6H, d, *J* = 6,15 Hz, CH_3);

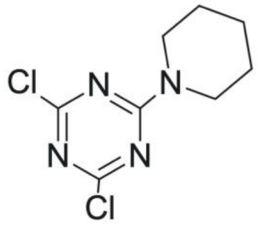
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 170,8, 165,4, 42,4, 22,9.



Obr. 20: Derivát 4, vlastní tvorba

3-[(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-4-methylbenzoová kyselina
Vzorec: $C_{11}H_8Cl_2N_4O_2$
Mr: 299.11
Charakteristika: hnědá pevná látka
Výtěžek: 0,4167 g (10,60%)
Teplota tání: 225-226°C
Reakční čas: 5h
Specifika reakce: Triazin byl rozpuštěn v acetonu (100 ml) a kyselina 3-amino-4-methylbenzoová byla rozpuštěna v acetonu (50 ml). Reakce probíhala při 5 °C za přítomnosti K_2CO_3. TLC bylo prováděno s dichlormethanem jako eluentem, detekce pomocí UV a ninhydrinu. Po reakci byl produkt promyt etherem (40 ml) a následně ještě ethanolem (20 ml).

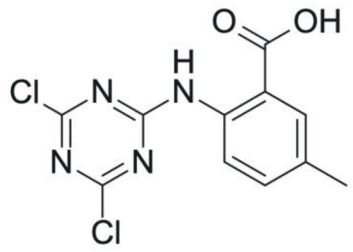
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 9,11 (1H, br s, NH), 7,79–7,82 (2H, m, CH_{Ar}), 7,32–7,35 (1H, m, CH_{Ar}), 2,39 (3H, s, CH_3).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 171,0, 167,9, 164,5, 150,6, 150,0, 132,1, 131,6, 124,4, 121,4, 17,6.



Obr. 21: Derivát 5, vlastní tvorba

2,4-dichloro-6-(piperidin-1-yl)-1,3,5-triazin
Vzorec: $C_8H_{10}Cl_2N_4$
Mr: 233.10
Charakteristika: nažloutlá pevná látka
Výtěžek: 0,7094 g (9,40%)
Teplota tání: 180-182°C
Reakční čas: 5h
Specifika reakce: Triazin byl rozpuštěn v dichlormethanu (50 ml), a piperidin byl rovněž rozpuštěn v dichlormethanu (20 ml). TLC bylo prováděno s dichlormethanem jako eluentem, detekce pomocí UV a ninhydrinu. Produkt byl zfiltrován přes papír a následně odpařen do sucha. Produkt byl po reakci přečištěn rekrystalizací za horka s isopropylalkoholem, zchlazen na ledu a odsát přes fritu.

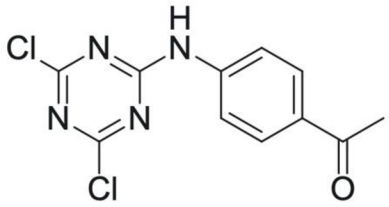
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) *δ ppm*: 3,70–3,72 (4H, m, CH_2), 1,50–1,70 (6H, m, CH_2).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d_6) *δ ppm*: 169,9, 165,3, 44,2, 25,9, 24,8.



Obr. 22: Derivát 6, vlastní tvorba

2-[(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]-5-methylbenzoová kyselina
Vzorec: $C_{11}H_8Cl_2N_4O_2$
Mr: 299.11
Charakteristika: narůžovělá pevná látka
Výtěžek: 0,133 g (13,50%)
Teplota tání: 220-222°C
Reakční čas: 7 h
Specifika reakce: Reakce probíhala v acetonu (50 ml). Nukleofil, 2-amino-5-methylbenzoová kyselina, byl přikapáván v minimálním množství acetonu (5 ml). TLC bylo vyvíjeno v methanolu, detekce probíhala pomocí UV, par jódu a ninhydrinu.

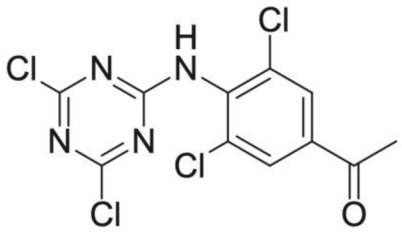
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 10,07 (1H, br s, NH), 7,82 (1H, s, CH_{Ar}), 7,53 (1H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 7,21 (1H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 2,43 (3H, s, CH_3).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 171,1, 169,8, 164,2, 144,6, 131,8, 126,3, 118,3, 114,0, 20,6.



Obr. 23: Derivát 7, vlastní tvorba

1-{4-[(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]fenyl}ethan-1-on
Vzorec: $C_{11}H_8Cl_2N_4O$
Mr: 283.11
Charakteristika: světle šedá pevná látka
Výtěžek: 1,08g (72,60%)
Teplota tání: >230°C
Reakční čas: 6h
Specifika reakce: Triazin byl rozpuštěn v acetonu (50 ml), 4-aminoacetofenon byl rozpuštěn v acetonu (20 ml). Reakce probíhala při 0 °C za přítomnosti K_2CO_3. TLC bylo vyvíjeno v čistém methanolu. Po reakci byl produkt vysrážen na ledu a následně několikrát promyt acetonem.

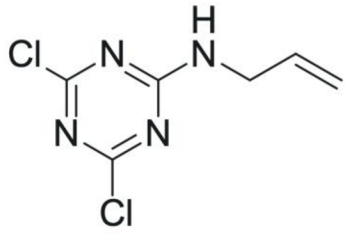
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 8,96 (1H, br s, NH), 7,82 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, CH_{Ar}), 7,26 (2H, d, *J* = 8,1 Hz, CH_{Ar}), 2,50 (3H, s, CH_3).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 190,5, 171,2, 169,0, 142,1, 130,9, 118,7, 31,2.



Obr. 24: Derivát 8, vlastní tvorba

1-{3,5-dichloro-4-[(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]fenyl}ethan-1-on
Vzorec: $C_{11}H_6Cl_4N_4O$
Mr: 352.00
Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 2,344 g (67,95%)
Teplota tání: 140-141°C
Reakční čas: 6h
Specifika reakce: Triazin byl rozpuštěn v acetonu (50 ml) a nukleofil 4-amino-3,5-dichloroacetofenon v acetonu (20 ml). Reakce probíhala při 0–5 °C. TLC bylo prováděno s dichlormethanem jako eluentem. Produkt byl následně čištěn kolonovou chromatografií s mobilní fází ethylacetát : dichlormethan = 1 : 1.

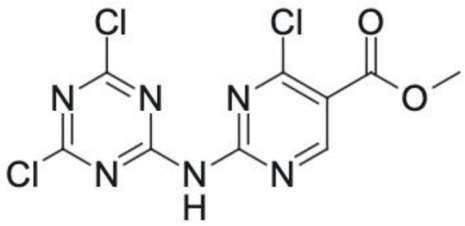
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 8,61 (1H, br s, NH), 7,91 (2H, s, CH_{Ar}), 2,24 (3H, s, CH_3).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 192,7, 171,0, 164,0, 150,9, 130,7, 129,7, 128,2, 26,4.



Obr. 25: Derivát 9, vlastní tvorba

4,6-dichloro-N-(prop-2-en-1-yl)-1,3,5-triazin-2-amin
Vzorec: $C_6H_6Cl_2N_4$
Mr: 205.04
Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 0,567 g (8,40%)
Teplota tání: 198-199°C
Reakční čas: 3h
Specfika reakce: Triazin byl rozpuštěn v acetonu (100 ml), nukleofil allylamin také v acetonu (50 ml). TLC bylo prováděno s dichlormethanem jako eluentem. Reakční směs byla míchána po dobu 3h a následně po dobu 48h ponechána v lednici, kde došlo ke krystalizaci. Krystalický produkt byl odsát přes fritu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 6,52 (1H, br s, NH), 6,01–6,04 (1H, m, CH), 5,30–5,35 (2H, m, CH2), 4,19–4,21 (2H, m, CH2).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 170,5, 165,6, 165,5, 146,1, 43,4.



Obr. 26: Derivát 10, vlastní tvorba

methyl 4-chloro-2-[(4,6-dichloro-1,3,5-triazin-2-yl)amino]pyrimidin-5-karboxylát

Vzorec: $C_9H_5Cl_3N_6O$

Mr: 319.53

Charakteristika: bílá pevná látka

Výtěžek: 1,66 g (89,80%)

Teplota tání: 204-206°C

Reakční čas: 6h

Specifika reakce: Triazin byl rozpuštěn v acetonitrilu (5 ml) a nukleofil byl přikapáván jako roztok v acetonitrilu (10 ml). Reakce probíhala při 0–5 °C po dobu 3 hodin. Produkt byl čištěn kolonovou chromatografií s mobilní fází chloroform : ethylacetát = 5 : 2.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 14,43 (1H, s, NH), 8,92 (1H, s, CH_{Ar}), 3,87 (3H, s, OCH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 170,8, 170,8, 163,1, 161,9, 161,3, 158,1, 147,6, 119,0, 52,2.

2.5 Syntéza disubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů

2.5.1 Obecný experimentální postup pro syntézu disubstituovaných triazinů

Monosubstituovaný derivát triazinu (navážky viz tab. 2) byl rozpuštěn v dimethylformamidu (DMF, 2 ml). Do vzniklého roztoku byl následně přidán 1 ekvivalent bezvodého uhličitanu draselného. Následně byl přidán jeden ekvivalent nukleofilu, obvykle rozpuštěného v malém objemu DMF. Reakční směs byla umístěna na termostat a za stálého míchání temperována na 40 °C.

Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC. Po dosažení úplné konverze byl obsah zkumavky vylitý na led, čímž došlo k vysrážení produktu.

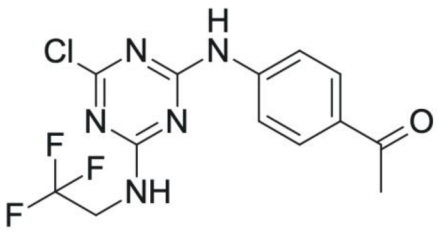
Vzniklá pevná fáze byla oddělena filtrací přes fritu, promyta malým množstvím studené vody a následně sušena v exsikátoru do konstantní hmotnosti. V případě tvorby olejovitých meziproduktů byl DMF odstraněn rotační vakuovou odparkou a zbytek byl přečištěn kolonovou chromatografií. Struktura finálních disubstituovaných derivátů byla potvrzena pomocí ^{1}H a ^{13}C NMR spektroskopie.

Tab. 2: Navážky monosubstituovaných derivátů pro disubstituované reakce

Výchozí monoderivát	n (mol)	M (g/mol)	m (g)
4	0,0010	299,113	0,300
7	0,0006	285,113	0,180
8	0,0015	352,009	0,530
10	0,0008	247,000	0,200

Tab. 3: Navážky nukleofilů pro disubstituované reakce

Produkt	Výchozí monoderivát	Nukleofil	m (g)	M (g/mol)	n (mol)	K_2CO_3 (g)
4a	4	Trifluorethylamin	0,099	99,060	0,0010	0,276
7a	7	Sulfanilamid	0,110	172,120	0,0006	0,088
7b	7	4-Aminomethylbenzensulfonamid·HCl	0,142	227,690	0,0006	0,121
7c	7	4-(2-Aminoethyl)benzensulfonamid	0,127	200,260	0,0006	0,088
7d	7	2,2,2-Trifluorethylamin·HCl	0,086	155,520	0,0006	0,176
7e	7	4-(Trifluormethyl)anilin	0,910	161,120	0,0006	0,087
8a	8	Sulfanilamid	0,259	172,120	0,0015	0,203
8b	8	4-Aminomethylbenzensulfonamid·HCl	0,384	227,690	0,0015	0,417
8c	8	4-(2-Aminoethyl)benzensulfonamid	0,302	200,260	0,0015	0,208
8d	8	4-(Trifluormethyl)anilin	0,427	161,120	0,0015	0,201
10a	10	methyl-2-amino-4-chloro-5-pyridin karboxylát	0,151	187,580	0,0008	0,112



Obr. 27: Derivát 7d, vlastní tvorba

1-[4-({4-chloro-6-[(2,2,2-trifluoroethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl}amino)fenyl]ethan-1-on

Vzorec: $C_{13}H_{11}ClF_3N_5O$

Mr: 345.71

Charakteristika: bílá pevná látka

Výtěžek: 0,1598 g (72,30%)

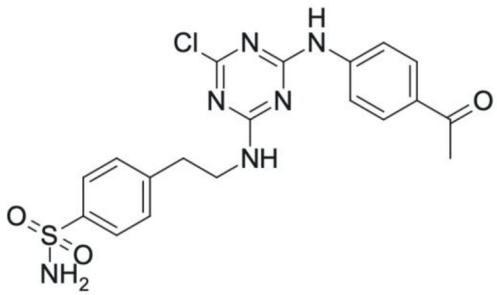
Teplota tání: 225-227 °C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu. Produkt byl přečištěn pomocí kolonové chromatografie, mobilní směs byla tvořena 5% roztokem DCM a ethylacetátu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 8,96 (2H, br s, NH), 7,68–7,71 (2H, m, CH_{Ar}), 7,19–7,22 (2H, m, CH_{Ar}), 4,32 (2H, s, CH_2).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 169,9, 166,9, 165,3, 165,2, 142,1, 130,9, 127,1, 115,8, 43,6.



Obr. 28: Derivát 7c, vlastní tvorba

4-[2-({4-[(4-acetylfenyl)amino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl}amino)ethyl]benzen-1-sulfonamid

Vzorec: $C_{19}H_{19}ClN_6O_3S$

Mr: 446.91

Charakteristika: hnědá pevná látka

Výtěžek: 0,2376g (30,70%)

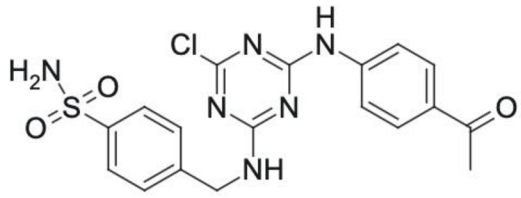
Teplota tání: 191-192°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu. Při hledání vhodné mobilní fáze pro kolonovou chromatografii, která byla zamýšlena jako čisticí metoda i pro tento produkt, se nepodařilo nalézt takový eluční systém, ve kterém by došlo k dostatečnému oddělení složek na TLC. Z tohoto důvodu nebyla kolonová chromatografie pro čištění produktu využita. Produkt byl proto rozpuštěn v acetonu, zfiltrován přes fritu a matečný louh byl následně znovu promyt acetonem a opět přefiltrován přes fritu. Získaný filtrát byl nakonec odpařen na rotační vakuové odparce.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 9,28 (3H, br s, NH, NH_2), 7,31–7,48 (4H, m, CH_{Ar}), 7,25–7,29 (4H, m, CH_{Ar}), 3,61 (2H, d, *J* = 6,9 Hz, CH_2), 2,99 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 190,1, 167,0, 166,3, 166,2, 155,0, 142,6, 142,1, 130,9, 129,5, 126,0, 118,8, 42,9, 84,6.



Obr. 29: Derivát 7b, vlastní tvorba

4-[({4-[(4-acetylfenyl)amino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl}amino)methyl]benzene-1-sulfonamid

Vzorec: $C_{18}H_{17}ClN_6O_3S$

Mr: 432.88

Charakteristika: žlutá pevná látka

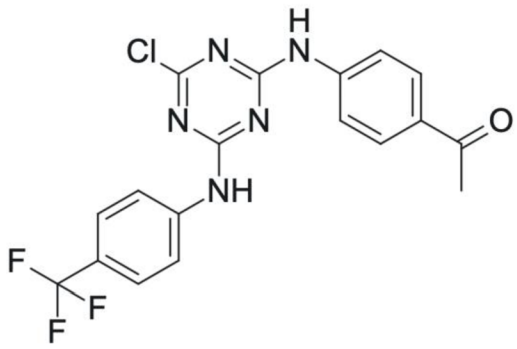
Výtěžek: 0,222 g (80,10%)

Teplota tání: 223-225°C

Reakční čas: 168h**Specifika reakce:** Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu. Produkt byl přečištěn kolonovou chromatografií s ethylacetátem a DCM v poměru 1:1 jako mobilní fází.)

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 9,26 (2H, br s, NH), 7,68–7,72 (4H, m, CHAr), 7,36–7,24 (4H, m, CH_{Ar}), 4,26 (2H, s, CH_2), 2,98 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 190,6, 166,9, 165,8, 165,2, 142,8, 142,1, 130,9, 128,0, 126,1, 118,8, 44,9.



Obr. 30: Derivát 7e, vlastní tvorba

1-{4-[(4-chloro-6-{[4-(trifluoromethyl)fenyl]amino}-1,3,5-triazin-2-yl)amino]fenyl}ethan-1-on

Mr: 388.78

Charakteristika: bílá pevná látka

Výtěžek: 0,235 g (94,30%)

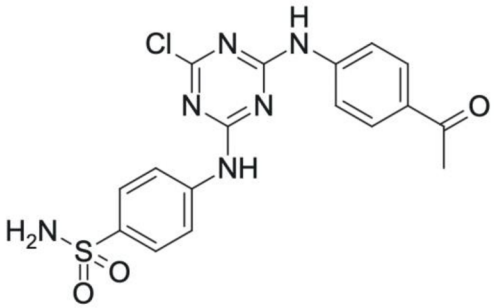
Teplota tání: 193-194°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu. Produkt byl čištěn kolonovou chromatografií s mobilní fází tvořenou ethylacetátem a DCM v poměru 5:95.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) δ *ppm*: 9,23 (2H, br s, NH), 7,79–7,83 (4H, m, CH_{Ar}), 7,41–7,46 (4H, m, CH_{Ar}), 2,61 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) δ *ppm*: 200,6, 166,3, 165,5, 165,4, 142,1, 130,9, 127,1, 125,3, 124,8, 122,6, 120,5, 119,2, 29,1.



Obr. 31: Derivát 7a, vlastní tvorba

4-({4-[(4-acetylfenyl)amino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl}amino)benzen-1-sulfonamid

Vzorec: $C_{17}H_{15}ClN_6O_3S$

Mr: 418.86

Charakteristika: žlutá pevná látka

Výtěžek: 0,231 g (86,30%)

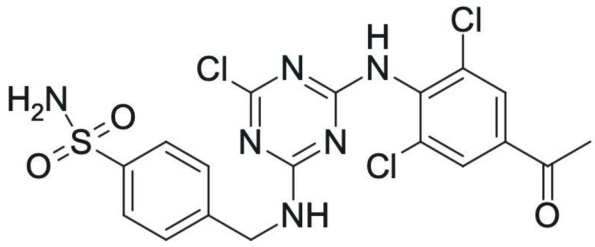
Teplota tání: 220-221°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu. Produkt byl přečištěn kolonovou chromatografií s ethylacetátem a DCM v poměru 1:1 jako mobilní fází.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ *ppm*: 9,98 (2H, br s, NH), 8,06 (3H, s, CH_3), 7,71–7,76 (4H, m, CH_{Ar}), 7,63–7,69 (4H, m, CH_{Ar}).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d6) δ *ppm*: 190,7, 166,4, 163,4, 163,2, 155,6, 150,9, 142,6, 142,1, 130,2, 118,8, 118,7.



Obr. 32: Derivát 8b, vlastní tvorba

4-[({4-[(4-acetyl-2,6-dichlorofenyl)amino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl}amino)methyl]benzen-1-sulfonamid

Vzorec: $C_{18}H_{15}Cl_3N_6O_3S$

Mr: 501.77

Charakteristika: světle žlutá pevná látka

Výtěžek: 0, 0335 g (4,40%)

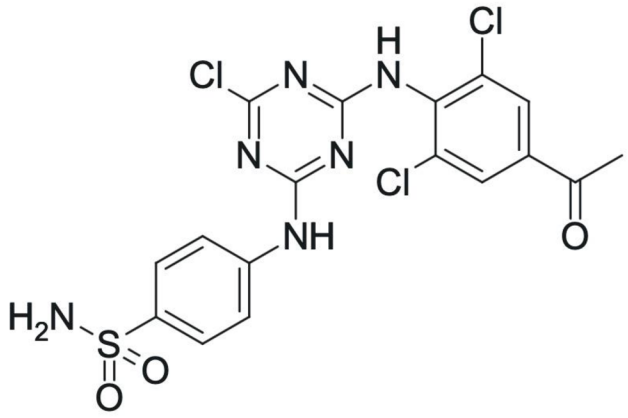
Teplota tání: 143-145°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 9,17 (1H, br s, NH), 7,21 (1H, br s, NH), 7,87 (2H, s, CH_{Ar}), 7,76 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 7,41 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 4,36 (2H, s, CH_2), 2,27 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 192,7, 166,8, 165,8, 163,3, 142,8, 142,1, 140,8, 130,7, 129,7, 128,2, 128,0, 126,1, 44,9, 26,1.



Obr. 33: Derivát 8a, vlastní tvorba

4-({4-[(4-acetyl-2,6-dichlorofenyl)amino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl}amino)benzen-1-sulfonamid

Vzorec: $C_{17}H_{13}Cl_3N_6O_3S$

Mr: 487.74

Charakteristika: bílá pevná látka

Výtěžek: 0,363 g (49,60%)

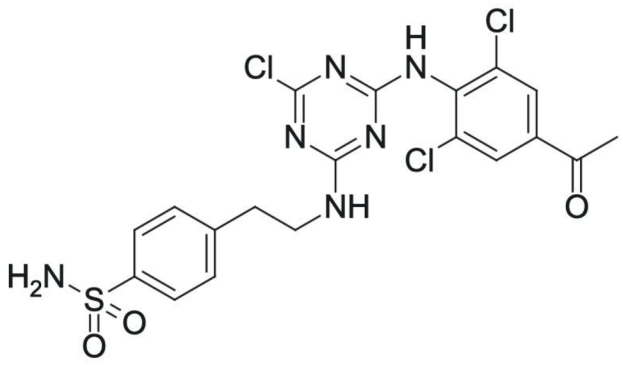
Teplota tání: 144-145°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 9,06 (1H, br s, NH), 7,91 (1H, br s, NH), 7,82 (2H, s, CH_{Ar}), 7,72 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 7,49 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 2,26 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 192,6, 166,2, 165,3, 162,6, 142,6, 140,9, 135,6, 130,7, 130,2, 129,7, 128,1, 118,7, 26,8.



Obr. 34: Derivát 8c, vlastní tvorba

4-[2-({4-[(4-acetyl-2,6-dichlorofenyl)amino]-6-chloro-1,3,5-triazin-2-yl}amino)ethyl]benzen-1-sulfonamid

Vzorec: $C_{19}H_{17}Cl_3N_6O_3S$

Mr: 515.79

Charakteristika: bílá pevná látka

Výtěžek: 0,2463 g (31,80%)

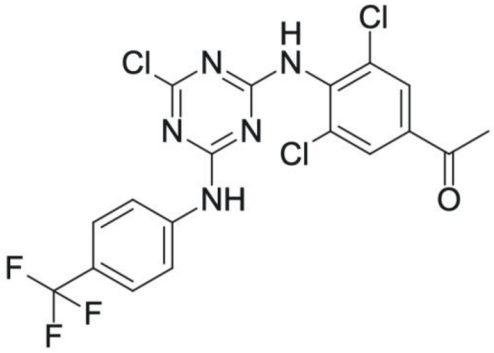
Teplota tání: 144-145°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 9,21 (1H, br s, NH), 7,84 (2H, s, CH_{Ar}), 7,76 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 7,51 (2H, d, *J* = 6,8 Hz, CH_{Ar}), 7,20 (1H, br s, NH), 3,85–3,87 (2H, m, CH_2), 2,91–2,99 (2H, m, CH_2), 2,31 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 192,9, 167,0, 166,1, 165,2, 142,9, 142,6, 141,2, 131,9, 130,3, 129,8, 126,7, 44,8, 36,2, 26,7.



Obr. 35: Derivát 8d, vlastní tvorba

1-{3,5-dichloro-4-[(4-chloro-6-{[4-(trifluormethyl)fenyl]amino}-1,3,5-triazin-2-yl)amino]fenyl}ethan-1-on

Vzorec: $C_{18}H_{11}Cl_3F_3N_5O$

Mr: 476.67

Charakteristika: žlutá pevná látka

Výtěžek: 0,2859 g (40,00%)

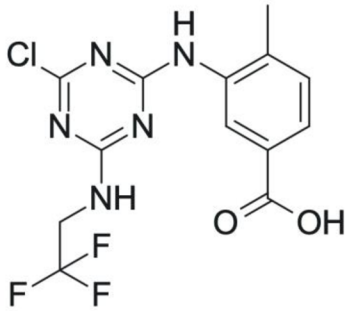
Teplota tání: 144-145°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Reakční složky byly rozpuštěny v DMF (2 ml), přičemž k úplnému rozpuštění bylo využito ultrazvuku. Následně byla reakční směs míchána v termostatu při 40 °C po dobu 168 h. Po ukončení reakce byla směs vylita na led, čímž došlo k vysrážení produktu, který byl následně zfiltrován přes fritu.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 9,08 (2H, br s, NH), 7,81 (2H, s, CHAr), 7,74–7,78 (2H, m, CHAr), 7,39–7,46 (2H, m, CHAr), 2,45 (3H, s, CH3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d6) δ ppm: 201,6, 190,6, 166,7, 165,8, 164,3, 143,1, 142,5, 142,1, 140,5, 131,9, 131,1, 130,2, 129,5, 127,1, 125,3, 124,7, 122,7, 121,6, 118,8, 28,3.



Obr. 36: Derivát 4a, vlastní tvorba

3-({4-chloro-6-[(2,2,2-trifluorethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl}amino)-4-methyl benzoová kyselina

Vzorec: $C_{13}H_{11}ClF_3N_5O_2$

Mr: 361.71

Charakteristika: žlutá pevná látka

Výtěžek: 0,06 g (16,60%)

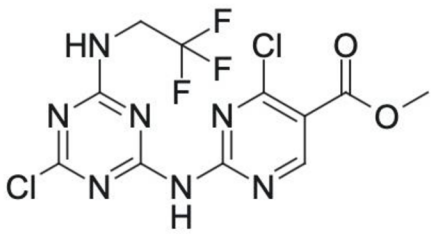
Teplota tání: 214-215°C

Reakční čas: 168h

Specifika reakce: Jako rozpuštědlo byl použit DMF (15 ml), reakce byla vedena při 40°C po dobu 168h.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) δ *ppm*: 10,86 (1H, br s, OH), 8,25 (1H, br s, NH), 7,21–7,23 (2H, m, CH_{Ar}), 3,53 (2H, s, CH_2), 2,22 (3H, s, CH_3).

^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) δ *ppm*: 169,3, 169,2, 167,4, 159,9, 142,7, 130,5, 129,5, 125,0, 123,4, 122,2, 46,1, 43,3, 17,5.



Obr. 37: Derivát 10a, vlastní tvorba

methyl 4-chloro-2-({4-chloro-6-[(2,2,2-trifluorethyl)amino]-1,3,5-triazin-2-yl}amino)pyrimidin-5-karboxylát
Vzorec: $C_{11}H_8Cl_2F_3N_7O_2$
Mr: 398.13
Charakteristika: bílá pevná látka
Výtěžek: 0,088g (27,30%)
Teplota tání: 194-195°C
Reakční čas: 168h
Specifika reakce: Po ukončení reakce byla reakční směs zfiltrována přes fritu a filtrát byl odpařen na rotační vakuové odparce za vzniku odparku olejovité konzistence. Následně bylo provedeno vysrážení v petroletheru, které však nebylo úspěšné ani za použití ultrazvuku. Směs byla proto naředěna acetonem, čímž došlo k rozpuštění olejovité hmoty. Po opětovném přidání petroletheru byla směs ponechána v lednici po dobu 48 h. Následně byl přidán ethylacetát, po jehož přidání došlo ke vzniku zákalu. Vzniklá pevná látka byla zfiltrována přes fritu, znovu rozpuštěna v DMF a přečištěna kolonovou chromatografií s dichlormethanem jako mobilní fází.

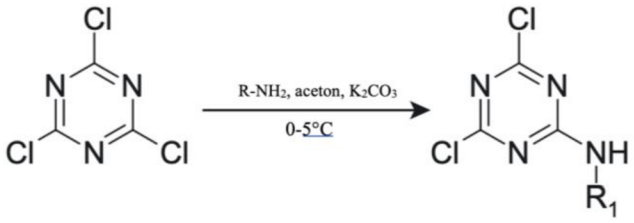
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d$_6$) δ *ppm*: 13,79 (1H, s, NH), 8,89 (1H, s, NH), 7,61 (1H, s, NH), 4,46 (2H, q, *J*= 6,58 Hz, CH_2), 3,87 (3H, s, OCH_3).
^{13}C-NMR (101 MHz, DMSO-d$_6$) *δ ppm*: 169,6, 164,3, 163,1, 162,5, 159,1, 157,8, 147,5, 123,4, 118,9, 52,2, 51,2.

3 Diskuze

Struktury připravovaných derivátů 1,3,5-triazinu byly navrženy s ohledem na známou reaktivitu 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu vůči nukleofilům a na možnost postupné, teplotně řízené náhrady jednotlivých atomů chloru. Jako základní syntetická strategie byla proto zvolena nukleofilní aromatická substituce, která umožňuje připravit strukturně rozmanité mono- i disubstituované deriváty za relativně mírných podmínek. Zvolený přístup vycházel z literárních údajů o rozdílné reaktivitě jednotlivých chlorů na 1,3,5-triazinovém jádře, podle nichž první substituce probíhá ochotněji při nízké teplotě, zatímco další substituce vyžadují delší reakční čas a vyšší reakční teplotu [103, 104].

Jako výchozí látka byl ve všech případech použit 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin, který byl v prvním stupni syntézy podroben reakci s různými typy nukleofilů, zahrnujícími alifatické aminy, cyklické sekundární aminy, aromatické aminy, aminobenzoové kyseliny, aminoacetofenony i heterocyklické deriváty. Ve druhém stupni syntézy byly vybrané monosubstituované meziprodukty dále derivatizovány reakcí s druhým nukleofilem. Tímto postupem byl připraven nejprve soubor monosubstituovaných meziproduktů a na ně navazujících disubstituovaných derivátů, jejichž struktura byla ověřena pomocí ^{1}H NMR a ^{13}C NMR spektroskopie a doplněna stanovením teplot tání.

3.1 Syntéza monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů



Obr. 38: Reakční schéma syntézy monosubstituovaných derivátů, vlastní tvorba

První část experimentální práce byla zaměřena na přípravu monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu prostřednictvím nukleofilní aromatické substituce jednoho atomu chloru na triazinovém jádře. Ve všech případech byl jako výchozí látka použit 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin, který reagoval s vybranými alifatickými, aromatickými nebo heterocyklickými nukleofily v molárním poměru 1 : 1. Zvolený postup vycházel z literárních poznatků i z praktického předpokladu, že první substituce triazinového skeletu probíhá za nízkých teplot relativně selektivně [103, 104].

Reakce byly prováděny v prostředí aprotických rozpouštědel, zejména acetonu, DMF, acetonitrilu, DCM nebo THF. Volba rozpouštědla byla přizpůsobena především rozpustnosti výchozích látek a použitého nukleofilu, současně však ovlivňovala i homogenitu reakční směsi, rychlost reakce a následnou izolaci produktu. Jako báze byl ve většině případů použit bezvodý uhličitan draselný, který zajišťoval neutralizaci vznikající kyseliny chlorovodíkové a zároveň vytvářel mírně bazické prostředí vhodné pro průběh substituce. Ve srovnání s použitím silnějších zásad představoval K_2CO_3 dostatečně účinný, ale současně relativně šetrný prostředek, který umožnil provádět reakce bez výraznější degradace citlivějších substrátů.

Reakce byly vedeny při snížené teplotě, zpravidla v rozmezí 0–5 °C. Tato podmínka byla důležitá zejména z hlediska omezení nežádoucí polysubstituce, protože i po první substituci zůstává triazinové jádro dostatečně reaktivní. Průběh reakcí byl monitorován pomocí TLC, přičemž jako mobilní fáze byl podle charakteru substrátu nejčastěji použit methanol nebo dichlormethan. Detekce skvrn probíhala za použití UV záření a ninhydrinového činidla, v některých případech i par jódu. Produkty byly po ukončení reakce izolovány filtrací, odpařením rozpouštědla nebo srážením a následně charakterizovány pomocí ^{1}H NMR a ^{13}C NMR spektroskopie.

Získané výtěžky se pohybovaly v širokém rozmezí od 3,6 % do 89,8 %, přičemž tyto hodnoty bylo nutné vždy interpretovat v kontextu analytických dat a průběhu izolace. Vysoký izolovaný podíl totiž neznamenal automaticky vznik čistého cílového produktu, zatímco nízký výtěžek mohl být v některých případech důsledkem náročného čištění spíše než nízké chemické konverze.

3.1.1 Vliv povahy nukleofilu na průběh monosubstituce

Průběh první substituce byl výrazně ovlivněn strukturou použitého nukleofilu. Rozhodující roli hrála zejména jeho nukleofilita, počet potenciálně reagujících center a sterická náročnost. Tyto faktory se promítaly nejen do samotného průběhu reakce, ale i do čistoty vznikajících produktů a jejich následné izolovatelnosti.

Typickým příkladem problematického substrátu byl piperazin, použitý v experimentech **1A a 1B**. V obou případech byl 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin rozpuštěn v aprotickém prostředí, ochlazen na 0–5 °C a po přidání bezvodého uhličitanu draselného byl nukleofil zaváděn za stálého míchání a chlazení reakční směsi. V experimentu **1A** byl jako rozpouštědlo použit DMF, v experimentu **1B** DCM. V obou případech byla pomocí TLC sice pozorována spotřeba výchozí látky, avšak následná ^{1}H NMR analýza neprokázala vznik čistého definovaného produktu. Reakční směs obsahovala směs látek, což lze vysvětlit bifunkční povahou piperazinu. Přítomnost dvou sekundárních aminoskupin umožňuje vícečetné reakce s triazinovým jádrem, a tím snižuje selektivitu požadované monosubstituce. Změna rozpouštědla z DMF na DCM přitom nevedla ke zlepšení výsledku, což naznačuje, že limitujícím faktorem nebylo samotné reakční prostředí, ale právě chemická povaha nukleofilu. Nízké

výtěžky 8,3 % a 3,6 % tak v tomto případě odpovídají spíše vzniku směsi produktů než úspěšné selektivní reakci.

Podobně nejednoznačně se choval i 3,4,5-trimethoxybenzenamin v experimentu **2**. V tomto případě byl 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin rozpuštěn v acetonu, směs byla ochlazena přibližně na 5 °C a roztok aromatického aminu v acetonu byl následně přikapáván do reakční směsi. Přestože TLC naznačovala plnou konverzi, NMR analýza opět prokázala přítomnost směsi látek. V tomto případě lze předpokládat kombinovaný vliv nižší nukleofility aromatického aminu a zvýšené sterické náročnosti trimethoxysubstituovaného aromatického systému. Přítomnost tří methoxyskupin sice mění elektronovou distribuci v aromatickém jádře, současně však zvyšuje objemnost substrátu a může zhoršovat přístup aminoskupiny k elektrofilnímu centru. Izolovaný podíl činil 92,7 %, tuto hodnotu však nelze považovat za výtěžek čisté cílové sloučeniny, protože analytická charakterizace nepotvrdila vznik definovaného produktu, samotná hodnota izolovaného podílu bez odpovídající analytické kontroly nemusí být dostatečným ukazatelem syntetického úspěchu.

Naopak příznivější výsledky byly pozorovány u jednodušších monofunkčních alifatických aminů. U isopropylaminu byl nejprve použit postup **3A**, v němž byl 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin rozpuštěn v DMF, reakční směs ochlazena a nukleofil dávkován jako směs isopropylaminu a DCM. Tento postup vedl k izolaci produktu s výtěžkem 51,6 %. Přestože šlo již o použitelný výsledek, alternativa **3B**, založená na použití THF a důslednějším řízení teploty během dávkování nukleofilu, vedla k vyššímu výtěžku 65,3 % a současně k lepšímu průběhu reakce. V tomto druhém postupu byl 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin rozpuštěn přímo v THF a roztok isopropylaminu v THF byl přikapáván tak, aby teplota reakční směsi nepřekročila 0 °C. Následné zpracování zahrnovalo extrakci ethylacetátem, promývání vodou a nasyceným roztokem NaCl a vysušení organické fáze. THF se zde ukázal jako vhodnější prostředí než systém DMF/DCM, pravděpodobně díky lepší rozpustnosti reagujících složek a příznivějším podmínkám pro následnou izolaci produktu.

Podobně selektivněji se choval i piperidin v experimentu **5**. Jako cyklický sekundární amin obsahuje pouze jedno efektivně reagující centrum, takže se u něj neuplatňuje problém bifunkčnosti známý z reakcí s piperazinem. Reakce byla vedena v DCM za přítomnosti K_2CO_3 a piperidin byl dávkován jako roztok v témže rozpouštědle. Výsledkem byl definovaný produkt, nicméně výtěžek po odpaření a následné rekrystalizaci za horka s isopropylakoholem a následném sražením na ledu činil pouze 9,4 %. Zde se tedy ukazuje, že selektivní vznik produktu sám o sobě ještě nezaručuje vysoký izolovaný výtěžek. V tomto případě hrály roli ztráty při rekrystalizaci a méně příznivé vlastnosti produktu z hlediska izolace.

Analogicky lze hodnotit i experiment **9** s allylaminem, kde byla reakce vedena v acetonu za chlazení a allylamin byl dávkován do směsi za obdobných podmínek jako ostatní monofunkční aminy. I zde byl získán produkt jen v nízkém výtěžku 8,4 %. Vzhledem k tomu, že allylamin nepředstavuje výrazně stericky zatížený nukleofil, lze

předpokládat, že limitujícím faktorem zde nebyla pouze samotná chemická reakce, ale i chování vznikajícího produktu v reakční směsi.

3.1.2 Aromatické a funkčně substituované nukleofily

Další skupinu použitých nukleofilů tvořily aromatické aminy, aminobenzoové kyseliny, aminoacetofenony a heterocyklické deriváty. Tyto substráty byly zvoleny nejen z hlediska strukturní variability, ale také jako perspektivní meziprodukty pro následnou přípravu disubstituovaných derivátů.

V případě kyseliny 3-amino-4-methylbenzoové vedla reakce v experimentu **4** ke vzniku definovaného monosubstituovaného meziproduktu, avšak izolovaný výtěžek činil pouze 10,6 %. Reakce byla vedena v acetonu při 0–5 °C a produkt bylo nutné po ukončení reakce dále promývat ethanolem, protože obsahoval nezreagovanou kyselinu, která komplikovala čištění. Reakce tedy neprobíhala zcela neúspěšně, avšak limitujícím faktorem se ukázala zejména následná izolace a odstranění nezreagované výchozí kyseliny promytím ethanolem. Přítomnost karboxylové skupiny zvyšuje polaritu produktu a komplikuje jeho chování při purifikaci, což se promítlo do nízkého izolovaného výtěžku. Přesto byl vznik této sloučeniny významný, protože poskytla vhodný meziprodukt pro další syntetický krok.

Naopak kyselina 2-amino-5-methylbenzoová v experimentu **6** vedla k ještě problematičtějšímu výsledku. Přestože byl izolován materiál odpovídající výtěžku 13,5 %, reakce vedla k neidentifikovatelné směsi. Ve srovnání s experimentem **4**se tedy ukázalo, že i změna vzájemné polohy methylové a karboxylové skupiny může mít významný dopad na průběh reakce. Tento rozdíl lze vysvětlit odlišnými sterickými a elektronovými poměry v aromatickém jádře, které ovlivňují jak samotný atak aminoskupiny, tak vlastnosti vznikajícího produktu.

Za synteticky velmi přínosné se ukázaly aminoacetofenonové deriváty. U 4-aminoacetofenonu vznikl v experimentu **7**definovaný monosubstituovaný derivát, který bylo možné po promytí acetonem získat v relativně dobré čistotě bez nutnosti kolonové chromatografie. Reakce probíhala v acetonu při 0 °C, po přikapání nukleofilu byla směs míchána přibližně 6 hodin a produkt byl následně vysrážen ochlazením na ledě. Protože ^{1}H NMR ukázala přítomnost nezreagované výchozí látky, byl surový produkt opakovaně promýván acetonem, v němž je 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin dobře rozpustný. Tento jednoduchý, ale účinný purifikační krok vedl k odstranění nečistot bez zásadní ztráty cílové sloučeniny. Současně byl dosažen výtěžek 72,6 %, což tuto sloučeninu řadí mezi nejúspěšněji připravené monosubstituované meziprodukty. Přítomnost acetylové skupiny zde zjevně nevedla k zásadnímu omezení nukleofility aminoskupiny a produkt současně vykazoval příznivé vlastnosti z hlediska čištění.

Podobně byl připraven i derivát z 4-amino-3,5-dichloroacetofenonu v experimentu **8**, kde byl izolován produkt s výtěžkem 67,95 %. Reakce byla vedena v acetonu při 0–5 °C a následná purifikace vyžadovala kolonovou chromatografii v

systému ethylacetát/dichlormethan 1 : 1. Vzhledem k přítomnosti dvou chlorových substituentů v aromatickém jádře lze tento výsledek hodnotit jako velmi dobrý. Chlorové substituenty sice zvyšují elektronové i sterické zatížení systému, avšak v tomto případě neomezily průběh reakce natolik, aby zabránily vzniku dobře definovaného produktu. Oba acetofenonové deriváty se tak ukázaly jako synteticky velmi cenné meziprodukty pro další derivatizaci.

Další důležitý substrát představoval methyl-2-amino-4-chlor-5-pyrimidinkarboxylát v experimentu **10**. Reakce byla vedena v acetonitrilu při 0–5 °C, což se z hlediska samotné konverze ukázalo jako vhodné. Samotný reakční krok vedl k vysokému izolovanému výtěžku 89,8 %, což ukazuje, že konverze mohla probíhat velmi efektivně. Současně se však ukázalo, že následná purifikace produktu byla obtížná, protože látka vykazovala silnou interakci se stacionární fází při kolonové chromatografii a produkt se na koloně zachycoval, pravděpodobně v důsledku vyšší polarity nebo částečné krystalizace, přestože podle TLC měl projít s mobilní fází.

3.1.3 Vliv reakčního prostředí a izolace produktů

Vedle povahy nukleofilu se jako důležitý faktor ukázala také volba reakčního prostředí a způsob zpracování reakční směsi. Ačkoli byla většina reakcí vedena podle obdobného principu, i menší změny v rozpouštědle nebo v pracovním postupu měly významný vliv na kvalitu a izolovatelnost produktů.

Nejlépe je to patrné na příkladu isopropylaminu, kde změna rozpouštědla z DCM ve variantě **3A** na THF ve variantě **3B**vedla ke zvýšení výtěžku z 51,6 % na 65,3 %. Tento rozdíl nelze vysvětlit pouze rozdílnou chemickou reaktivitou, ale i odlišným charakterem reakčního prostředí a následného zpracování. THF zde pravděpodobně poskytl homogennější reakční systém a příznivější podmínky pro izolaci produktu.

Význam vhodně zvolené izolace se ukázal také u aminoacetofenonových derivátů. U sloučenin **7** a **8** se osvědčilo promývání acetonem, případně následná chromatografická purifikace, protože výchozí 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin je v tomto rozpouštědle dobře rozpustný. Tento postup umožnil odstranění zbytků výchozí látky bez významnějších ztrát cílového produktu a přispěl k dosažení výtěžků 72,6 % a 67,95 %.

Naopak u polárnějších nebo funkčně bohatších látek, zejména aminobenzoových kyselin a pyrimidinových derivátů, se jako limitující ukázala purifikace. Často bylo nutné použít kolonovou chromatografii, která však vedla ke ztrátám produktu v důsledku silné interakce se stacionární fází. To je patrné zejména u experimentů **4** a **6**, kde byly výtěžky pouze 10,6 % a 13,5 %, ale také u **10**, kde sice izolovaný podíl dosahoval 89,8 %, avšak praktická purifikace byla komplikovaná. Z toho je patrné, že úspěšnost syntézy nelze posuzovat pouze podle konverze, ale i podle reálných možností izolace a čištění produktu.

3.1.4 Zhodnocení monosubstituovaných meziproduktů

Získané výsledky ukázaly, že příprava monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazin je obecně dobře proveditelná, avšak její úspěšnost výrazně závisí na povaze použitého nukleofilu.

Tab. 4: Přehled teoretických, reálných a procentuálních výtěžků monosubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů

Látka	Teoretický výtěžek (g)	Reálný výtěžek (g)	Výtěžek (%)
1A	2,715	0,226	8,30
2	1,726	1,600	92,70
1B	6,344	0,226	3,60
3A	5,611	2,897	51,60
3B	5,591	3,654	65,30
4	3,948	0,417	10,60
5	7,576	0,709	9,40
6	0,987	0,133	13,50
7	1,489	1,080	72,60
8	3,450	2,344	67,95
9	6,766	0,567	8,40
10	0,668	0,600	89,80

3.2 Syntéza disubstituovaných derivátů 2,4,6-trichloro-1,3,5-triazinů

Obr. 39: Reakční schéma syntézy disubstituovaných derivátů, vlastní tvorba

Druhý stupeň syntézy byl zaměřen na přípravu disubstituovaných derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinů reakcí připravených monosubstituovaných meziproduktů s druhým nukleofilem. Ve srovnání s přípravou monosubstituovaných derivátů se tento krok ukázal jako synteticky náročnější, a to nejen z hlediska samotného průběhu reakce, ale i z hlediska následné izolace a purifikace produktů. Po zavedení prvního substituentu dochází ke snížení reaktivity zbývajících chlorových atomů na triazinovém jádře, a proto bylo nutné reakce vést za přísnějších podmínek, zejména při zvýšené teplotě a delší době reakce.

Reakce byly prováděny při 40 °C a ponechávány po dobu 168 hodin za stálého míchání v termostatu, což se ukázalo jako nezbytné pro dosažení dostatečné konverze výchozích látek. Jako rozpouštědlo byla volena polární aprotická média, zejména DMF, v některých případech též acetonitril, podle rozpustnosti příslušného meziproduktu a druhého nukleofilu. Jako báze byl opět použit bezvodý uhličitan draselný, který neutralizoval vznikající kyselinu chlorovodíkovou a udržoval reakční prostředí v mírně bazickém rozmezí. Vzhledem ke snížené reaktivitě již monosubstituovaného 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinového derivátu bylo nutné použít delší reakční čas než v prvním stupni syntézy a pravidelně sledovat průběh substituce pomocí TLC.

Produkty byly po ukončení syntézy izolovány nejčastěji vysrážením na led nebo filtrací pevné fáze a charakterizovány pomocí ^{1}H-NMR a ^{13}C-NMR spektroskopie. Praktická stránka izolace se ukázala jako mimořádně důležitá. V případech, kdy produkt po nalití reakční směsi na led nevysrážel ihned, bylo nutné nejprve odstranit část rozpouštědla odpařením, reakční směs zkoncentrovat a teprve poté znovu provést srážení. Tento pracovní postup odpovídá i obecným zkušenostem s izolací polárnějších triazinových derivátů, u nichž právě přítomnost DMF nebo jiného polárního rozpouštědla významně ovlivňuje ochotu produktu krystalizovat. Ve vybraných případech byla pro zvýšení výtěžku využita i sekundární izolace z matečných louhů.

Z hlediska izolovaných výtěžků se ukázalo, že příprava disubstituovaných derivátů byla výrazně proměnlivá. Procentuální výtěžky se pohybovaly v širokém

rozmezí od 4,4 % do 94,3 %, což potvrzuje, že druhá substituce byla výrazně citlivější na strukturu meziproduktu i druhého zaváděného nukleofilu než substituce první

3.2.1 Vliv struktury monosubstituovaného meziproduktu

Ukázalo se, že úspěšnost druhé substituce byla významně ovlivněna již strukturou použitého monosubstituovaného meziproduktu. Rozhodující byl především charakter substituentu zavedeného v prvním kroku syntézy, který mohl měnit elektronové vlastnosti triazinového jádra, sterické poměry v jeho okolí i fyzikálně-chemické vlastnosti výsledného produktu.

U derivátu **4**, reagujícího s 2,2,2-trifluorethylaminem, sice došlo ke vzniku finální látky **4a**, avšak její izolovaný výtěžek činil pouze 16,6 %. Tento nízký výtěžek ukazuje, že v případě meziproduktů odvozených od aminobenzoových kyselin nebyla druhá substituce příliš efektivní. Přítomnost karboxylové skupiny v molekule zvyšuje polaritu systému a může komplikovat jak samotný reakční průběh, tak i následnou izolaci produktu. Současně nelze vyloučit, že karboxylová skupina a aromatický systém ovlivňují elektronové poměry v molekule natolik, že dochází ke snížení reaktivity druhého chloru na triazinovém jádře.

Ještě méně příznivě se choval pyrimidinový meziprodukt **10**, z něhož vznikal produkt **10a** s výtěžkem 27,3 %. Po sundání z termostatu byl produkt odpařen na rotační vakuové odparce a byla získána látka olejovité konzistence, kterou jsme se pokusili srazit pomocí petroletheru, ale neúspěšně. Směs byla následně naředěna acetonem, kdy došlo k rozpuštění olejovité hmoty, následným přidáním ethylacetátu došlo k vytvoření zákalu, přičemž byla pevná fáze zfiltrována přes fritu a následně rozpuštěna v DMF, navázána na silikagel a čištěna pomocí kolonové chromatografie. Pyrimidinový systém s esterovou funkcí představuje výrazně polární a elektronově diferencovaný substituent, který může ovlivňovat nejen reaktivitu triazinového jádra, ale také rozpustnost a adsorpční vlastnosti finální sloučeniny. Výsledky proto potvrzují, že u heterocyklicky substituovaných meziproduktů může být limitujícím krokem nejen samotná substituce, ale i následná purifikace.

Naopak příznivější výsledky byly zaznamenány u derivátů odvozených od aminoacetofenonových meziproduktů. Tyto látky se ukázaly jako synteticky velmi vhodné jak z hlediska přípravy v prvním kroku, tak z hlediska další derivatizace. Acetylová skupina v aromatickém jádře pravděpodobně nepůsobila tak výrazně nepříznivě z hlediska druhé substituce jako karboxylové nebo heterocyklické substituenty, a současně produkty vzniklé z těchto meziproduktů vykazovaly příznivější vlastnosti při izolaci.

3.2.2 Deriváty aminoacetofenonu jako klíčové meziprodukty

Jako nejperspektivnější se ukázaly monosubstituované deriváty připravené z **7** a **8**. Tyto meziprodukty byly dále podrobeny reakcím s několika typy nukleofilů,

zejména se sulfanilamidem, 4-aminomethylbenzensulfonamidem, 4-(2-aminoethyl)benzensulfonamidem, 2,2,2-trifluorethylaminem a 4-(trifluormethyl)anilinem.

V případě meziproduktu **7** byly získány produkty se středními až velmi vysokými výtěžky. Derivát **7d** poskytl výtěžek 72,3 %, derivát **7c** výtěžek 80,1 %, derivát **7a** výtěžek 86,3 % a nejvyšší výtěžek byl zaznamenán u derivátu **7e**, konkrétně 94,3 %. Naopak derivát **7b** byl získán pouze s výtěžkem 30,7 %. Soubor výsledků ukazuje, že samotný meziprodukt **7**představoval velmi vhodný základ pro druhou substituci a že rozdíly ve výtěžcích byly v tomto případě dány především charakterem druhého nukleofilu a průběhem následné izolace.

U meziproduktu **8** byly výtěžky obecně nižší. Derivát **8b** byl izolován pouze s výtěžkem 4,4 %, derivát **8a** s výtěžkem 49,6 %, derivát **8c** s výtěžkem 31,8 % a derivát **8d** s výtěžkem 40,0 %. Ve srovnání s odpovídajícími deriváty připravenými z **7** je patrné, že přítomnost dvou chlorových atomů v aromatickém jádře meziproduktu měla na průběh druhé substituce nepříznivý vliv.

Chlorové substituenty zvyšují elektronovou diferenciaci aromatického systému a současně zvyšují sterické zatížení v blízkosti navázaného aminosubstituentu. V důsledku toho může být přístup druhého nukleofilu k reaktivnímu centru na triazinovém jádře zhoršen, což se projeví nižší konverzí i nižším izolovaným výtěžkem.

3.2.3 Vliv typu druhého nukleofilu a purifikace

Významnou roli hrál také typ druhého nukleofilu. Reaktivita a výsledný výtěžek závisely nejen na tom, zda šlo o amin alifatický, aromatický či sulfonamidový, ale také na jeho velikosti, polaritě a schopnosti poskytovat dobře izolovatelný produkt.

Velmi příznivě se projevil 4-(trifluormethyl)anilin, který vedl u meziproduktu **7** ke vzniku derivátu **7e** s výtěžkem 94,3 %. Takto vysoký výtěžek naznačuje, že navzdory aromatickému charakteru nukleofilu byla reakce velmi selektivní a finální produkt bylo možné dobře izolovat. U analogického derivátu **8d** připraveného z meziproduktu **8** však výtěžek klesl na 40,0 %, což opět potvrzuje význam struktury výchozího meziproduktu.

Dobré výsledky byly získány také u sulfanilamidového derivátu **7a**, který byl izolován s výtěžkem 86,3 %. U dichlorovaného analogu **8a** však výtěžek činil jen 49,6 %, což potvrzuje, že nižší reaktivita zde nesouvisela primárně s nukleofilem samotným, ale spíše s méně příznivým charakterem výchozího meziproduktu.

U derivátů odvozených od 4-aminomethylbenzensulfonamidu a 4-(2-aminoethyl)benzensulfonamidu byly výsledky rozdílné. Derivát **7c** byl získán s výtěžkem 80,1 %, zatímco derivát **7b** pouze s výtěžkem 30,7 %. U dichlorovaných analogů byl tentýž trend zachován: **8b** poskytl velmi nízký výtěžek 4,4 %, zatímco **8c** dosáhl 31,8 %. Tyto rozdíly naznačují, že prodloužení uhlíkového můstku mezi aminoskupinou a aromatickým jádrem může významně ovlivnit průběh reakce,

avšak výsledný trend není zcela lineární a zjevně se uplatňuje kombinace sterických, elektronových i izolačních faktorů.

U 2,2,2-trifluorethylaminu byl výtěžek u derivátu **7d** 72,3 %, což lze hodnotit jako velmi dobrý výsledek. Naproti tomu u derivátu **4a** byl výtěžek pouze 16,6 %, což ukazuje, že samotný typ druhého nukleofilu nemůže být interpretován izolovaně bez ohledu na strukturu meziproduktu.

Vedle samotného průběhu substituční reakce se jako limitující faktor ukázala také následná izolace a purifikace finálních produktů. Ve většině případů se jako nejvhodnější srážedlo osvědčila voda nebo led. Pokud však po nalití reakční směsi na led nedošlo k okamžité precipitaci produktu, bylo nutné reakční směs nejprve částečně zkoncentrovat odpařením rozpouštědla. Teprve poté bylo možné cílovou látku úspěšně vysrážet a izolovat. V případech, kdy ani tento postup nevedl k dostatečné čistotě produktu, bylo nutné přistoupit ke kolonové chromatografii.

3.2.4 Vliv délky uhlíkového řetězce a zhodnocení disubstituovaných derivátů

Vzhledem k tomu, že ve druhém stupni syntézy byly jako druhé nukleofily použity i deriváty benzensulfonamidu lišící se délkou alkylového můstku mezi aromatickým jádrem a aminoskupinou, bylo možné sledovat vztah mezi délkou uhlíkového řetězce a výtěžností reakce. Pro názornější porovnání je v tabulce č. 5 uveden přehled disubstituovaných derivátů se zohledněním délky alifatického spojovacího řetězce druhého nukleofilu.

Tab. 5: Závislost výtěžku disubstituovaných derivátů na délce uhlíkového řetězce druhého nukleofilu

Látka	Délka alkylového řetězce	n (mol)	Teoretický výtěžek (g)	Reálný výtěžek (g)	% výtěžek
7d	C2	0,00064	0,221	0,1598	72,30
7b	C2	0,0015	0,774	0,2376	30,70
7c	C1	0,00064	0,277	0,222	80,10
7e	C0	0,00064	0,249	0,235	94,30
7a	C0	0,00064	0,268	0,2314	86,30
8b	C1	0,0015	0,753	0,0335	4,40
8a	C0	0,0015	0,732	0,3627	49,60
8c	C2	0,0015	0,774	0,2463	31,80
8d	C0	0,0015	0,715	0,2859	40,00
4a	C2	0,001	0,362	0,06	16,60
10a	C0	0,000809	0,322	0,088	27,30

Z tabulky je patrné, že výtěžnost disubstituovaných derivátů byla výrazně ovlivněna nejen strukturou výchozího monosubstituovaného meziproduktu, ale i délkou uhlíkového řetězce druhého nukleofilu. U derivátů připravených z meziproduktu **7** lze pozorovat, že nejvyšších výtěžků bylo dosaženo u látek bez alkylového spojovacího řetězce, tedy u derivátů **7e** (94,3 %) a **7a** (86,3 %). Naopak při zavedení methylenového nebo ethylenového můstku docházelo u některých derivátů k poklesu výtěžku, nejvýrazněji u látky **7b**, kde výtěžek činil pouze 30,7 %, zatímco odpovídající methylový analog **7c** poskytl výtěžek 80,1 %.

Prodloužení spojovacího řetězce mezi aromatickým jádrem a reaktivní aminoskupinou může v některých případech snižovat efektivitu druhé substituce. Pravděpodobným vysvětlením je vyšší konformační flexibilita delšího ethylenového můstku, která může zhoršovat optimální orientaci nukleofilu při ataku na elektrofilní triazinové jádro. Současně nelze vyloučit ani vliv odlišné rozpustnosti vznikajících produktů a jejich chování při srážení nebo následném chromatografickém dočištění.

U derivátů odvozených od meziproduktu **8** nebyl vztah mezi délkou řetězce a výtěžkem již tak jednoznačný, protože do průběhu reakce současně výrazně zasahoval nepříznivý vliv dvou chlorových substituentů v aromatickém jádře. Přesto lze pozorovat, že derivát bez spojovacího můstku, **8a**, poskytl vyšší výtěžek (49,6 %) než methylový analog **8b** (4,4 %), zatímco ethylový derivát **8c** dosáhl střední hodnoty (31,8 %). V elektronově i stericky více zatíženém systému již nelze vliv délky alkylového řetězce posuzovat izolovaně, protože se současně uplatňují i další faktory ovlivňující reaktivitu a izolovatelnost produktu.

Celkově se výtěžnost reakcí disubstituovaných derivátů pohybovala v širokém rozmezí od 4,4 % do 94,3 %. Ve srovnání s monosubstituovanými meziprodukty se druhá substituce ukázala jako výrazně náročnější, a to nejen z hlediska reakční kinetiky, ale i z hlediska izolace finálních látek. Reakce vyžadovala zvýšenou teplotu, dlouhou dobu míchání a ve všech případech i chromatografické dočištění.

4 Závěr

Cílem této práce byla syntéza a charakterizace nové série derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu připravených postupnou nukleofilní aromatickou substitucí atomů chlóru v molekule 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu. Práce byla zaměřena zejména na optimalizaci reakčních podmínek jednotlivých substitučních kroků a na přípravu monosubstituovaných a disubstituovaných triazinových derivátů vhodných pro další funkční modifikaci a potenciální biologické hodnocení.

V první fázi byly připraveny monosubstituované deriváty 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu pomocí reakce s různými typy nukleofilů. Ukázalo se, že selektivní monosubstituce je silně závislá na povaze nukleofilu, zvoleném rozpouštědle a teplotních podmínkách. Silně nukleofilní aminy vedly k tvorbě směsí produktů, zatímco alifatické a aromatické aminy umožňovaly kontrolovanější průběh reakce. Důležitým faktorem se ukázala také vhodná volba čistící metody, která v některých případech umožnila získání produktů dostatečné čistoty bez nutnosti náročnější chromatografické separace.

Na monosubstituované meziprodukty navazovala syntéza disubstituovaných derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinů. Tento krok již vyžadoval zvýšení teploty a delší reakční časy v důsledku snížené elektrofility 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinového jádra po první substituci. Přesto se podařilo připravit celou řadu disubstituovaných derivátů. Výsledky potvrdily, že druhá substituce je obecně probíhá méně ochotně a je výrazně citlivější na sterickou náročnost a nukleofilitu zaváděného substituentu.

Všechny izolované produkty byly charakterizovány pomocí spektroskopických metod ^{1}H-NMR a ^{13}C-NMR, které potvrdily odpovídající strukturu připravených sloučenin. Získané výsledky ukazují, že zvolená syntetická strategie je vhodná pro systematickou přípravu strukturálně rozmanitých derivátů 2,4,6-trichlor-1,3,5-triazinu.

Přestože se v rámci práce podařilo úspěšně připravit a charakterizovat řadu cílových sloučenin, některé reakce byly limitovány tvorbou směsí nebo obtížnou izolací produktů. Tyto skutečnosti poukazují na možnosti další optimalizace syntetického postupu, například úpravou reakčních podmínek, použitím ochranných skupin nebo alternativních bází.

Použité zdroje

[1] SUPURAN, Claudiu. Carbonic Anhydrases and Metabolism. Metabolites [online]. 2018, 8(2), 25. ISSN 2218-1989. Dostupné z: https://www.mdpi.com/2218-1989/8/2/25

[2] SUPURAN, Claudiu T. a Andrea SCOZZAFAVA. Carbonic anhydrases as targets for medicinal chemistry. Bioorganic & Medicinal Chemistry [online]. 2007, 15(13), 4336–4350. ISSN 0968-0896. DOI: 10.1016/j.bmc.2007.04.020

[3] ALTERIO, Vincenzo, Alessio DI FIORE, K. D'AMBROSIO, Claudiu T. SUPURAN a Giuseppina DE SIMONE. Multiple binding modes of inhibitors to carbonic anhydrases. Chemical Reviews [online]. 2012, 112(8), 4421–4468. ISSN 0009-2665, 1520-6890. DOI: 10.1021/cr200176r

[4] SUPURAN, Claudiu T. Carbonic anhydrases—an overview. Current Pharmaceutical Design [online]. 2008, 14(7), 603–614. ISSN 1381-6128. DOI: 10.2174/138161208783877884

[7] KIVELÄ, Antti J. a kol. Carbonic anhydrases in normal gastrointestinal tract and gastrointestinal tumours. World Journal of Gastroenterology [online]. 2005, 11(2), 155–163. ISSN 1007-9327. DOI: 10.3748/wjg.v11.i2.155

[8] SUPURAN, Claudiu T. Carbonic anhydrases: novel therapeutic applications for inhibitors and activators. Nature Reviews Drug Discovery [online]. 2008, 7(2), 168–181. ISSN 1474-1776. DOI: 10.1038/nrd2467

[9] LEHENKARI, P., T. A. HENTUNEN, T. LAITALA-LEINONEN, J. TUUKKANEN a H. K. VÄÄNÄNEN. Carbonic anhydrase II plays a major role in osteoclast differentiation and bone resorption by effecting the steady state intracellular pH and Ca2+. Experimental Cell Research [online]. 1998, 242(1), 128–137. ISSN 0014-4827. DOI: 10.1006/excr.1998.4071

[10] LEMON, Nicole, Elisa CANEPA, Marc A. ILIĆ a Silvia FOSSATI. Carbonic anhydrases as potential targets against neurovascular unit dysfunction in Alzheimer's

disease and stroke. Frontiers in Aging Neuroscience [online]. 2021, 13, 772278. ISSN 1663-4365. DOI: 10.3389/fnagi.2021.772278

[11] PASTOREKOVÁ, Silvia a Robert J. GILLIES. The role of carbonic anhydrase IX in cancer development: links to hypoxia, acidosis, and beyond. Cancer and Metastasis Reviews [online]. 2019, 38(1–2), 65–77. Dostupné z: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31076951/

[12] SWIETACH, Pawel, Richard D. VAUGHAN-JONES a Adrian L. HARRIS. Regulation of tumor pH and the role of carbonic anhydrase 9. Cancer and Metastasis Reviews [online]. 2007, 26(2), 299–310. DOI: 10.1007/s10555-007-9064-0

[13] POTTER, C. a Adrian L. HARRIS. Hypoxia Inducible Carbonic Anhydrase IX, Marker of Tumour Hypoxia, Survival Pathway and Therapy Target. Cell Cycle [online]. 2004, 3(2), 159–162. Dostupné z: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4161/cc.3.2.618

[14] OLGAÇ, Asburce, Çiğdem Seher KASAPKARA, Mustafa KILIÇ, Ebru Yılmaz KESKİN, Gonca SANDAL, David Stephen CRAM, Johannes HABERLE a Deniz TORUN. Carbonic anhydrase VA deficiency: a very rare case of hyperammonemic encephalopathy. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism [online]. 2020, 33(10), 1349–1352 DOI: 10.1515/jpem-2020-0117

[15] PROVENSI, G., F. CARTA, A. NOCENTINI, C. T. SUPURAN, F. CASAMENTI, M. B. PASSANI a S. FOSSATI. A New Kid on the Block? Carbonic Anhydrases as Possible New Targets in Alzheimer's Disease. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2019, 20(19), 4724. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms20194724

[16] ASLAM, S. Carbonic anhydrase inhibitors. In: StatPearls [online]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557736/

[17] ANGELI, Andrea, V. KARTSEV, A. PETROU, M. PINTEALA, V. BROVARETS, R. VYDZHAK, S. PANCHISHIN, A. GERONIKAKI a C. T. SUPURAN. Carbonic Anhydrase Inhibition with Sulfonamides Incorporating Pyrazole- and Pyridazinecarboxamide

Moieties Provides Examples of Isoform-Selective Inhibitors. Molecules [online]. 2021, 26(22), 7023. ISSN 1420-3049. DOI: 10.3390/molecules26227023

[18] SUPURAN, Claudiu T. Carbonic anhydrase inhibitors as emerging agents for the treatment and imaging of hypoxic tumors. Expert Opinion on Investigational Drugs [online]. 2018, 27(12), 963–970. ISSN 1354-3784, 1744-7658. DOI: 10.1080/13543784.2018.1548608

[20] ANGELI, A., CARTA, F., NOCENTINI, A., WINUM, J.-Y., ZALUBOVSKIS, R., AKDEMIR, A., ONNIS, V., ELDEHNA, W. M., CAPASSO, C., SIMONE, G. D., MONTI, S. M., CARRADORI, S., DONALD, W. A., DEDHAR, S. a SUPURAN, C. T. Carbonic Anhydrase Inhibitors Targeting Metabolism and Tumor Microenvironment. Metabolites[online]. 2020, 10(10), 412. DOI: 10.3390/metabo10100412

[22] GHAFIR EL IDRISSI, I.; SANTO, A.; LACIVITA, E.; LEOPOLDO, M. Multitarget-Directed Ligands Hitting Serotonin Receptors: A Medicinal Chemistry Survey. Pharmaceuticals [online]. 2024, 17, 1238. DOI: 10.3390/ph17091238

[23] PASTOREKOVÁ, Silvia, Seppo PARKKILA, Jaromir PASTOREK a Claudiu T. SUPURAN. Carbonic anhydrase IX: from biology to therapy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer [online]. 2014, 1845(2), 268–286. ISSN 0304-419X. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.08.002

[24] WYKOFF, C. C. a kol. Hypoxia-inducible expression of carbonic anhydrase IX is associated with hypoxic regions of tumours. Cancer Research [online]. 2000, 60(24), 7075–7083. ISSN 0008-5472. Dostupné z: https://cancerres.aacrjournals.org/content/60/24/7075

[25] SWIETACH, Pawel, A. HULIKOVA, R. D. VAUGHAN-JONES a A. L. HARRIS. New insights into the physiological role of carbonic anhydrase IX in tumour pH regulation. Oncogene [online]. 2010, 29(50), 6509–6519. ISSN 0950-9232, 1476-5594. DOI: 10.1038/onc.2010.455

[26] McINTYRE, A., PATIAR, S., WIGFIELD, S., LI, J. L., LEDAKI, I., TURLEY, H. a kol. Carbonic Anhydrase IX promotes tumor growth and necrosis in vivo and inhibition

enhances anti-VEGF therapy. Clinical Cancer Research[online]. 2012, 18(11), 3100–3111. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1877

[27] DUIVENVOORDEN, Wilhelmina C. M., Angelique M. W. HUISMAN, Liesbeth H. J. HERMANNS, Claudiu T. SUPURAN a Egbert OOSTERWIJK. Inhibition of carbonic anhydrase IX sensitizes renal cell carcinoma to ionizing radiation. Oncology Reports [online]. 2015, 34(3), 1379–1386. ISSN 1021-335X. DOI: 10.3892/or.2015.4184

[28] LOUIS, C., C. LAFAYE, S. C. CHAFE, Claudiu T. SUPURAN a Adrian L. HARRIS. Phase I clinical trial of the carbonic anhydrase IX inhibitor SLC-0111 in patients with advanced solid tumors. Clinical Cancer Research [online]. 2020, 26(6), 1372–1381. ISSN 1078-0432, 1557-3265. Dostupné z: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32251122/

[30] PASTOREK, Jaromír a Silvia PASTOREKOVA. Hypoxia-induced carbonic anhydrase IX as a target for cancer therapy: from biology to clinical use. Seminars in Cancer Biology [online]. 2015, 31, 52–64. ISSN 1044-579X. DOI: 10.1016/j.semcancer.2014.08.002

[31] RONCA, Roberto a Claudiu T. SUPURAN. Carbonic anhydrase IX: An atypical target for innovative therapies in cancer. Biochimica et Biophysica Acta – Reviews on Cancer [online]. 2024, 1879, 189120. ISSN 0304-419X. DOI: 10.1016/j.bbcan.2024.189120

[32] KALININ, Serafima, Claudiu T. SUPURAN a kol. Carbonic anhydrase IX inhibitors as candidates for cancer therapy: focus on mechanistic, preclinical and clinical evidence. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2021, 22(24), 13405. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms222413405

[33] SUPURAN, Claudiu T. A simple yet multifaceted 90 years old, evergreen enzyme: Carbonic anhydrase, its inhibition and activation. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [online]. 2023, 93, 129411. ISSN 0960-894X. DOI: 10.1016/j.bmcl.2023.129411

[34] SUPURAN, Claudiu T. Carbonic anhydrases as drug targets—an overview. Current Topics in Medicinal Chemistry[online]. 2007, 7(9), 825–833. ISSN 1568-0266. DOI: 10.2174/156802607780636690

[35] SUPURAN, Claudiu T. Carbonic anhydrase inhibitors and their therapeutic applications. Expert Opinion on Therapeutic Patents [online]. 2008, 18(7), 681–699. ISSN 1354-3776, 1744-7674. DOI: 10.1517/13543776.16.12.1627

[36] SINGH, Priti, Mohammed ARIFUDDIN, Claudiu T. SUPURAN a Sridhar Goud NERELLA. Carbonic anhydrase inhibitors: Structural insights and therapeutic potential. Bioorganic Chemistry [online]. 2025, 156, 108224. ISSN 0045-2068. DOI: 10.1016/j.bioorg.2025.108224

[37] SEDLAKOVA, Olga a kol. Carbonic anhydrase IX, a hypoxia-induced catalytic component of the pH regulating machinery in tumors. Frontiers in Physiology [online]. 2014, 4, 400. DOI: 10.3389/fphys.2013.00400

[39] SUPURAN, Claudiu T. Novel carbonic anhydrase inhibitors. Future Medicinal Chemistry [online]. 2021, 13(22), 1935–1937. ISSN 1756-8919, 1756-8927. DOI: 10.4155/fmc-2021-0222

[40] CARTA, Fabrizio, Vladimir GARAJ, Alfonso MARESCA, Jason WAGNER, Balendu S. AVVARU, Arthur H. ROBBINS, Andrea SCOZZAFAVA, Robert MCKENNA a Claudiu T. SUPURAN. Sulfonamides incorporating 1,3,5-triazine moieties selectively and potently inhibit carbonic anhydrase transmembrane isoforms IX, XII and XIV over cytosolic isoforms I and II: solution and X-ray crystallographic studies. Bioorganic & Medicinal Chemistry [online]. 2011, 19(10), 3105–3119. ISSN 0968-0896. DOI: 10.1016/j.bmc.2011.04.005

[41] DUDUTIENĖ, Vilmante, Scott MCCAULEY, Ernesto COSTA, Claudiu T. SUPURAN a kol. Discovery of novel carbonic anhydrase IX inhibitors: Design, synthesis and biological evaluation. Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2014, 57(9), 4108–4121. ISSN 0022-2623. DOI: 10.1021/jm501003k

[42] BECKER, Holger M. Carbonic anhydrase IX and acid transport in cancer. British Journal of Cancer [online]. 2020, 122(2), 157–167. ISSN 0007-0920, 1532-1827. DOI: 10.1038/s41416-019-0642-z

[44] BENEJ, M., S. PASTOREKOVA a J. PASTOREK. Carbonic anhydrase IX: regulation and role in cancer. Subcellular Biochemistry [online]. 2014, 75, 199–219. DOI: 10.1007/978-94-007-7359-2_11

[45] CARTA, Fabrizio, Vladimir GARAJ, Alfonso MARESCA, Jason WAGNER, Balendu S. AVVARU, Arthur H. ROBBINS, Andrea SCOZZAFAVA, Robert MCKENNA a Claudiu T. SUPURAN. Sulfonamides incorporating 1,3,5-triazine moieties selectively and potently inhibit carbonic anhydrase transmembrane isoforms IX, XII and XIV over cytosolic isoforms I and II: Solution and X-ray crystallographic studies. Bioorganic & Medicinal Chemistry [online]. 2011, 19(10), 3105–3119. DOI: 10.1016/j.bmc.2011.04.005.

[46] LAU, Joseph a kol. Past, Present, and Future: Development of Theranostic Agents Targeting Carbonic Anhydrase IX. Theranostics [online]. 2017, 7(17), 4322–4339. DOI: 10.7150/thno.21848

[47] SUPURAN, Claudiu T. Structure-based drug discovery of carbonic anhydrase inhibitors. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry [online]. 2012, 27(6), 759–772. ISSN 1475-6366, 1475-6374. DOI: 10.3109/14756366.2012.672983

[48] ASPATWAR, A., J.-Y. WINUM, F. CARTA, C. T. SUPURAN, M. HAMMAREN, M. PARIKKA, M. PARKKILA a S. PARKKILA. Carbonic Anhydrase Inhibitors as Novel Drugs against Mycobacterial β-Carbonic Anhydrases: An Update on In Vitro and In Vivo Studies. Molecules [online]. 2018, 23(11), 2911. DOI: 10.3390/molecules23112911

[49] NERELLA, S. G. a kol. PET radiotracers for imaging CA IX and XII. Bioorganic Chemistry [online]. 2023, 133, 106399. ISSN 0045-2068. DOI: 10.1016/j.bioorg.2023.106399

[50] LIU, H., S. LONG, K. P. RAKESH a G. F. ZHA. Structure-activity relationships (SAR) of triazine derivatives: Promising antimicrobial agents. European Journal of

Medicinal Chemistry [online]. 2020, 185, 111804. ISSN 0223-5234. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.111804

[51] MALISZEWSKI, Dawid a Danuta DROZDOWSKA. Recent Advances in the Biological Activity of s-Triazine Core Compounds. Pharmaceuticals [online]. 2022, 15(2), 221. ISSN 1424-8247. DOI: 10.3390/ph15020221

[52] RODRIGUES-SOACHA, Diego A., Matthias SCHEINER a Michael DECKER. Multi-target-directed ligands acting as enzyme inhibitors and receptor ligands. European Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2019, 180, 690–706. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.07.040

[53] CHEN, K.-T. a Y. SEIMBILLE. New Developments in Carbonic Anhydrase IX-Targeted Fluorescence and Nuclear Imaging Agents. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2022, 23, 6125. DOI: 10.3390/ijms23116125

[56] KALININ, S. a kol. Carbonic Anhydrase IX Inhibitors as Candidates for Combination Therapy of Solid Tumors. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2021, 22(24), 13405. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms222413405

[58] SARNELLA, Annachiara, Ylenia FERRARA, Luigi AULETTA, Sandra ALBANESE, Laura CERCHIA, Vincenzo ALTERIO, Giuseppina DE SIMONE, Claudiu T. SUPURAN a Antonella ZANNETTI. Inhibition of carbonic anhydrases IX/XII by SLC-0111 boosts cisplatin effects in hampering head and neck squamous carcinoma cell growth and invasion. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research [online]. 2022, 41, 122. ISSN 1756-9966. DOI: 10.1186/s13046-022-02345-x

[60] MAHON, Brian P. a kol. The Structure of Carbonic Anhydrase IX Is Adapted for Low-pH Catalysis. Biochemistry[online]. 2016, 55(33), 4642–4653. ISSN 0006-2960. DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00243

[61] BUABENG, Emmanuel Ramsey a Martin HENARY. Developments of small molecules as inhibitors for carbonic anhydrase isoforms. Bioorganic & Medicinal Chemistry [online]. 2021, 39, 116140. ISSN 0968-0896. DOI: 10.1016/j.bmc.2021.116140

[62] AGGARWAL, M. a kol. Structural annotation of human carbonic anhydrases. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry [online]. DOI: 10.3109/14756366.2012.737323

[63] DE CAMPOS, Vanessa L., Ya TANG, Maria VELASQUEZ a kol. Carbonic anhydrase IX as an immunotherapy target in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities. Cancers [online]. 2022, 14(4), 1012. ISSN 2072-6694. DOI: 10.3390/cancers14041012

[64] GRANDĀNE, Aiga, Alessio NOCENTINI, Ilona DOMRAČEVA, Raivis ŽALUBOVSKIS a Claudiu T. SUPURAN. Development of oxathiino[6,5-b]pyridine 2,2-dioxide derivatives as selective inhibitors of tumor-related carbonic anhydrases IX and XII. European Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2020, 200, 112300. ISSN 0223-5234. DOI: 10.1016/j.ejmech.2020.112300

[65] SALUJA, Amrita K., Meena TIWARI, Daniela VULLO a Claudiu T. SUPURAN. Substituted benzene sulfonamides incorporating 1,3,5-triazinyl moieties potently inhibit human carbonic anhydrases II, IX and XII. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters [online]. 2014, 24(5), 1310–1314. DOI: 10.1016/j.bmcl.2014.01.048

[66] PACCHIANO, Franco, Fabrizio CARTA, Patrick C. MCDONALD, Yizhi LOU, Daniela VULLO, Andrea SCOZZAFAVA a kol. Ureido-substituted benzenesulfonamides potently inhibit carbonic anhydrase IX and show antimetastatic activity in a model of breast cancer metastasis. Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2011, 54(6), 1896–1902. ISSN 0022-2623. DOI: 10.1021/jm101541x

[67] DAI, Qian a Yuxin SUN a kol. Antitumor Activity of s-Triazine Derivatives: A Systematic Review. Molecules[online]. 2023, 28(11), 4278. ISSN 1420-3049. DOI: 10.3390/molecules28114278

[68] KCIUK, Mateusz a kol. Targeting carbonic anhydrase IX and XII isoforms with small molecule inhibitors and monoclonal antibodies. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry [online]. 2022, 37(1), 1278–1298. DOI: 10.1080/14756366.2022.2052868

[71] DETURE, Michael A. a Dennis W. DICKSON. The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration* [online]. 2019, 14(1), 32. ISSN 1750-1326. DOI: 10.1186/s13024-019-0333-5

[72] LONG, John M. a David M. HOLTZMAN. Alzheimer disease: an update on pathobiology and treatment strategies. *Cell*[online]. 2019, 179(2), 312–339. ISSN 0092-8674. DOI: 10.1016/j.cell.2019.09.001

[73] ČESKÁ ALZHEIMEROVSKÁ SPOLEČNOST. Alzheimerova nemoc a další typy demencí – epidemiologická data v ČR [online]. Praha, aktuální vydání. Dostupné z: https://www.alzheimer.cz

[74] LANE, Catherine A., John HARDY a Jonathan M. SCHOTT. Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*[online]. 2018, 25(1), 59–70. ISSN 1351-5101. DOI: 10.1111/ene.13439

[75] SELKOE, Dennis J. a John HARDY. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine* [online]. 2016, 8(6), 595–608. ISSN 1757-4676. DOI: 10.15252/emmm.201606210

[76] BUSCHE, Marc A. a Bradley T. HYMAN. Synergy between amyloid-β and tau in Alzheimer's disease. *Nature Neuroscience* [online]. 2020, 23(10), 1183–1193. ISSN 1097-6256. DOI: 10.1038/s41593-020-0687-6

[77] MASTERS, Colin L., Randall J. BATEMAN, Kaj BLENNOW a kol. Alzheimer's disease. *Nature Reviews Disease Primers* [online]. 2015, 1, 15056. ISSN 2056-676X. DOI: 10.1038/nrdp.2015.56

[79] SWEENEY, Melanie D., Abhay P. SAGARE a Berislav V. ZLOKOVIC. Blood–brain barrier breakdown in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology* [online]. 2018, 14(3), 133–150. ISSN 1759-4758. DOI: 10.1038/nrneurol.2017.188

[81] FOSSATI, Silvia, Patrizia GIANNONI, Maria E. SOLESIO, Sarah L. COCKLIN, Erwin CABRERA, Jorge GHISO a Agueda ROSTAGNO. The carbonic anhydrase inhibitor methazolamide prevents amyloid beta-induced mitochondrial dysfunction and caspase activation protecting neuronal and glial cells in vitro and in the mouse

brain. *Neurobiology of Disease* [online]. 2016, 86, 29–40. ISSN 0969-9961. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.11.006

[82] SLY, William S. a P. Y. HU. Human carbonic anhydrases and carbonic anhydrase deficiencies. *Annual Review of Biochemistry* [online]. 1995, 64, 375–401. ISSN 0066-4154. DOI: 10.1146/annurev.bi.64.070195.002111

[83] DI CESARE MANNELLI, Lorenzo, Federica CARTA, Elisabetta COPPI, Irene BULLI, Carla GHELARDINI a Claudiu T. SUPURAN. Carbonic anhydrase inhibition for the management of cerebral ischemia: in vivo evaluation of sulfonamide and coumarin inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* [online]. 2016, 31(6). ISSN 1475-6366. DOI: 10.3109/14756366.2015.1113407

[85] DEITMER, Joachim W., Shefeeq M. THEPARAMBIL, Iván RUMINOT a Holger M. BECKER. The role of membrane acid/base transporters and carbonic anhydrases for cellular pH and metabolic processes. *Frontiers in Neuroscience*[online]. 2015, 8, 430. ISSN 1662-453X. DOI: 10.3389/fnins.2014.00430

[88] LÓPEZ, Alberto, F. H. SIDDIQI, J. VILLENEUVE a kol. Carbonic anhydrase inhibition ameliorates tau toxicity via enhanced tau secretion. *Nature Chemical Biology* [online]. 2025, 21, 577–587. DOI: 10.1038/s41589-024-01762-7

[90] PAJOUHESH, Hamed a G. R. LENZ. Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *NeuroRx*[online]. 2005, 2(4), 541–553. ISSN 1545-5343. DOI: 10.1602/neurorx.2.4.541

[91] GIOVANNUZZI, Simone, Daniel CHAVARRIA, Gustavo PROVENSI, Manuela LERI, Monica BUCCIANTINI, Simone CARRADORI, Alessandro BONARDI, Paola GRATTERI, Fernanda BORGES, Alessio NOCENTINI a Claudiu T. SUPURAN. Dual Inhibitors of Brain Carbonic Anhydrases and Monoamine Oxidase-B Efficiently Protect against Amyloid-β-Induced Neuronal Toxicity, Oxidative Stress, and Mitochondrial Dysfunction. *Journal of Medicinal Chemistry*[online]. 2024, 67(5), 4170–4193. ISSN 0022-2623. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.4c00045

[93] CANEPA, Elisa a kol. FDA-approved carbonic anhydrase inhibitors reduce amyloid β pathology and improve cognition, by ameliorating cerebrovascular health and glial fitness. Alzheimer's & Dementia [online]. 2023, 19(11), 5048–5073. DOI: 10.1002/alz.13063

[94] CAVALLI, Andrea, Marco L. BORTOLIN, Enrico ROSSI, Gabriele COSTA a Stefano BELLUZZI. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. Journal of Medicinal Chemistry [online]. 2008, 51(3), 347–372. ISSN 0022-2623. DOI: 10.1021/jm7009364

[95] DAI, Qian, SUN, Yuxin a kol. Antitumor Activity of s-Triazine Derivatives: A Systematic Review. Molecules[online]. 2023, 28(11), 4278. ISSN 1420-3049. DOI: 10.3390/molecules28114278

[96] SILVA, Carlos F. M., Ana P. D. de M. S. GUERRINHA, Sofia CARVALHO, Diana C. G. A. PINTO a Artur M. S. SILVA. 1,3,5-Triazine: A Promising Molecular Scaffold for Novel Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2025, 26(3), 882. ISSN 1422-0067. DOI: 10.3390/ijms26030882

[100] LÓPEZ, Ana, F. H. SIDDIQI, Julien VILLENEUVE a kol. Carbonic anhydrase inhibition ameliorates tau toxicity via enhanced tau secretion. *Nature Chemical Biology* [online]. 2024, 21, 577–587. ISSN 1552-4450. DOI: 10.1038/s41589-024-01762-7

[103] HAVRÁNKOVÁ, Eva, Viliam GARAJ, Štefan MASCARETTI, Alessio ANGELI, Zuzana SOLDÁNOVÁ, Martin KEMKA, Jan MOTYČKA, Marie BRÁZDOVÁ, Ján CSÖLLEI, Josef JAMPÍLEK a kol. Novel 1,3,5-Triazinyl Aminobenzenesulfonamides Incorporating Aminoalcohol, Aminochalcone and Aminostilbene Structural Motifs as Potent Anti-VRE Agents, and Carbonic Anhydrases I, II, VII, IX, and XII Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, 23(1), 231. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23010231

[104] HAVRÁNKOVÁ, Eva, Nikola ČALKOVSKÁ, Tereza PADRTOVÁ, Jozef CSÖLLEI, Radka OPATŘILOVÁ a Pavel PAZDERA. Antioxidative Activity of 1,3,5-Triazine

Analogues Incorporating Aminobenzene Sulfonamide, Aminoalcohol/Phenol, Piperazine, Chalcone, or Stilbene Motifs. *Molecules* [online]. 2020, 25(8), 1787. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules25081787

[105] *Acetazolamid – starý známý? Akutní medicína* [online]. 18. 4. 2023 [cit. 14. 3. 2026]. Dostupné z: https://akutnimedicina.cz/farmacka/acetazolamid-srdecniselhani/

[106] SUPURAN, Claudiu T. a Andrea SCOZZAFAVA. Carbonic anhydrases as targets for medicinal chemistry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* [online]. 2007, 15(13), 4336–4350. ISSN 0968-0896. Dostupné z: doi:10.1016/j.bmc.2007.04.020

[107] ALI, Muhammad Imran a Muhammad NASEER. Recent biological applications of heterocyclic hybrids containing s-triazine scaffold. *RSC Advances* [online]. 2023, 13, 30462. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D3RA05953G

[108] ŁAŻEWSKA, D., M. WIĘCEK, G. SATAŁA, P. CHAŁUPNIK, E. ŻESŁAWSKA, E. HONKISZ-ORZECHOWSKA, M. TARASEK, G. LATACZ, W. NITEK, E. SZYMAŃSKA a kol. New Triazine Derivatives as Serotonin 5-HT6 Receptor Ligands. *Molecules* [online]. 2023, 28(3), 1108. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules28031108

[109] LATACZ, G., A. LUBELSKA, M. JASTRZĘBSKA-WIĘSEK, A. PARTYKA, M. A. MARĆ, G. SATAŁA, D. WILCZYŃSKA, M. KOTAŃSKA, M. WIĘCEK, K. KAMIŃSKA a kol. The 1,3,5-Triazine Derivatives as Innovative Chemical Family of 5-HT6 Serotonin Receptor Agents with Therapeutic Perspectives for Cognitive Impairment. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, 20(14), 3420. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20143420

[110] ZAIN-ALABDEEN, A. I., T. F. EL-MOSELHY, N. SHARAFELDIN a kol. Synthesis and anti-cancer activity of new benzensulfonamides incorporating s-triazines as cyclic linkers for inhibition of carbonic anhydrase IX. *Scientific Reports* [online]. 2022, 12, 16756. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-022-21024-7

[111] GANAI, A. Majeed, T. Khan PATHAN, G. A. HAMPANNAVAR, C. PAWAR, V. A. OBAKACHI, B. KUSHWAHA, N. Deshwar KUSHWAHA a R.

KARPOORMATH. *ChemistrySelect* [online]. 2021, 6, 1616. Dostupné z: doi:10.1002/slct.202004591

[112] HAVRÁNKOVÁ, Eva, Ján CSÖLLEI a Pavel PAZDERA. New Approach for the One-Pot Synthesis of 1,3,5-Triazine Derivatives: Application of Cu(I) Supported on a Weakly Acidic Cation-Exchanger Resin in a Comparative Study. *Molecules* [online]. 2019, 24(19), 3586. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules24193586

[113] SIEMENS HEALTHINEERS. Alzheimer's disease [online]. [cit. 14. 3. 2026]. Dostupné z: https://www.siemens-healthineers.com/cz/clinical-specialities/neurology/neurological-disorders/alzheimer-disease

[114] SILVA, Carlos F. M., Ana P. D. de M. S. GUERRINHA, Sofia CARVALHO, Diana C. G. A. PINTO a Artur M. S. SILVA. 1,3,5-Triazine: A Promising Molecular Scaffold for Novel Agents for the Treatment of Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2025, 26(3), 882. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms26030882

[116] XU, L., A. M. ABD EL-ATY, J. ZHAO, X. LEI, X. ZHANG, Y. ZHAO, X. CUI, Y. SHE, F. JIN, J. WANG a kol. Obtaining a Monoclonal Antibody against a Novel Prometryn-Like Hapten and Characterization of Its Selectivity for Triazine Herbicides. *Biosensors* [online]. 2023, 13(1), 22. ISSN 2079-6374. Dostupné z: doi:10.3390/bios13010022

[117] SHAYKHALISHAHI, H., M. TAGHIZADEH, R. YAZDANPARAST a Y. CHANG. Anti-amyloidogenic effect of AA3E2 attenuates β-amyloid induced toxicity in SK-N-MC cells. Chemical Biology & Interactions [online]. 2010, 186(1), 16–23. DOI: 10.1016/j.cbi.2010.03.042