

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra organické a bioorganické chemie

SYNTÉZA NITROHETEROAROMÁTŮ S POTENCIÁLNÍ ANTIMYKOBAKTERIÁLNÍ AKTIVITOU

DIPLOMOVÁ PRÁCE



LUKÁŠ BARTOŠ

Vedoucí diplomové práce: doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Hradec Králové, 2021

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 8. 5. 2021

Lukáš Bartoš

Velmi děkuji svému školiteli doc. PharmDr. Jaroslavu Rohovi, Ph.D. a také Ing. Galině Karabanovich, Ph.D. za odborné vedení mé diplomové práce, za přínosné rady, čas a trpělivost, kterou mi věnovali.

OBSAH

1	ABSTRAKT	6
2	ABSTRACT	7
3	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	8
4	ÚVOD	9
4.1	Tuberkulóza	9
4.2	Léčba tuberkulózy	10
4.2.1	Standardní léčba tuberkulózy.....	10
4.2.2	Léčba lékově rezistentní tuberkulózy.....	10
4.3	Přehled léčiv v terapii tuberkulózy.....	11
4.3.1	Léčiva I. linie	11
4.3.1.1	Isoniazid.....	11
4.3.1.2	Rifampicin.....	12
4.3.1.3	Ethambutol.....	12
4.3.1.4	Pyrazinamid	13
4.3.2	Léčiva II. linie	13
4.3.2.1	Fluorochinolony.....	13
4.3.2.2	Linezolid.....	14
4.3.2.3	Cykloserin	14
4.3.2.4	Aminoglykosidy	15
4.3.2.5	Bedachilin	15
4.3.2.6	Delamanid.....	16
4.3.2.7	Pretomanid.....	16
4.3.3	Potenciální nové antituberkuloticky účinné látky	16
4.3.3.1	Benzothiazinony	17
4.3.3.2	SQ109	17
4.3.3.3	OPC-167832.....	18
4.3.3.4	Telacebec (Q203).....	18
4.4	(Di)nitrofenyl a dinitrobenzyl-substituované heteroaromáty jako potenciální antituberkulotika.....	19
4.4.1	Substituované 1,3,4-oxadiazoly a jejich analoga.....	19
4.4.2	Substituované tetrazoly a jejich analoga.....	20
4.5	Látky s antimykobakteriálním účinkem obsahující ve své struktuře 5-nitrofurán	21
5	CÍL PRÁCE.....	23
6	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	25
6.1	Chemikálie a přístroje.....	25
6.2	Příprava látek obsahujících 5-nitrofuranylovou skupinu.....	25

6.2.1	Příprava substituovaných 1,3,4-oxadiazolů (série I a II).....	25
6.2.1.1	Série I.....	25
6.2.1.2	Série II.....	30
6.2.2	Příprava substituovaných tetrazolů (série III).....	34
6.3	Příprava látek obsahujících 5-nitropyridinylovou skupinu.....	37
6.3.1	Příprava substituovaných 1,3,4-oxadiazolů (série IV).....	37
7	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	40
7.1	Příprava nitroheteroaromátů v této práci.....	40
7.2	Odlišnosti od obecných reakčních postupů u jednotlivých sérií.....	40
7.2.1	Série I a III.....	40
7.2.2	Série II.....	41
7.2.3	Série IV.....	41
7.3	Výsledky antimykobakteriální účinnosti <i>in vitro</i>	41
8	ZÁVĚR.....	46
9	SEZNAM SCHÉMAT, OBRÁZKŮ A TABULEK.....	47
9.1	Seznam schémat.....	47
9.2	Seznam obrázků.....	47
9.3	Seznam tabulek.....	48
10	POUŽITÁ LITERATURA.....	49

1 ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra organické a bioorganické chemie

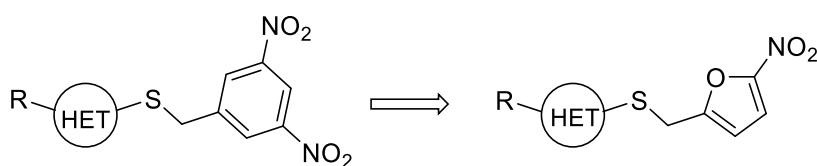
Autor: Lukáš Bartoš

Školitel: doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Název diplomové práce: Syntéza nitroheteroaromátů s potenciální antimykobakteriální aktivitou

Tuberkulóza (TB) je rozšířené infekční onemocnění, které je způsobeno především bakterií *Mycobacterium tuberculosis*. Na základě dat Světové zdravotnické organizace je TB stále mezi 10 nejčastějšími příčinami úmrtí na světě. V roce 2019 onemocnělo TB celosvětově okolo 10 milionů lidí a 1,4 milionu této nemoci podlehl. TB patří mezi hlavní příčiny úmrtí ve skupině HIV pozitivních osob.

Tato práce je založena na předchozím úspěšném objevu sloučenin s významnou antituberkulotickou aktivitou, konkrétně 1,5- a 2,5-disubstituovaných tetrazolů a 2,5-disubstituovaných oxadiazolů nesoucích 3,5-dinitrobenzylsulfanylovou skupinu, které vykazaly minimální inhibiční koncentraci (MIC) 0,03 μM proti *M. tuberculosis* (tzn. nižší MIC v porovnání s léčivou první linie isoniazidem nebo rifampicinem). V této práci jsme studovali vliv náhrady 3,5-dinitrofenylové skupiny za 5-nitrofurylovou a vliv umístění této skupiny na antimykobakteriální aktivitu sloučenin. Pokusili jsme se rovněž o přípravu látek s 5-nitropyridin-3-yllovou skupinou namísto 3,5-dinitrofenylové.



HET = 1,3,4-oxadiazol, tetrazol

Byly připraveny tři série nitrofuryl-substituovaných oxadiazolů a tetrazolů a byla studována jejich antimykobakteriální účinnost vůči *M. tuberculosis*, *M. avium* a *M. kansasii*. Vybrané sloučeniny vykazaly dobrou antimykobakteriální aktivitu v řádech jednotek $\mu\text{mol.l}^{-1}$, která však nepřevyšovala účinnost předlohových 3,5-dinitrofenylových látek.

2 ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Organic and Bioorganic Chemistry

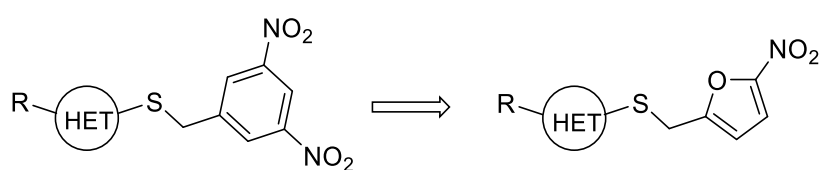
Author: Lukáš Bartoš

Supervisor: doc. PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D.

Title of Diploma Thesis: Synthesis of nitroheteroaromatic compounds with potential antimycobacterial activity

Tuberculosis (TB) is widespread infectious disease which is mainly caused by *Mycobacterium tuberculosis*. Referring to the World Health Organization, it is still among the top 10 causes of death in the world. Around 10 million people worldwide suffered from TB and 1.4 million died of TB only in 2019. TB is also a leading-killer in the group of HIV-positive people.

This work is based on a previous successful discovery of new compounds with significant antitubercular activity, namely 1,5- and 2,5-disubstituted tetrazoles and 2,5-disubstituted oxadiazoles bearing 3,5-dinitrobenzylsulfanyl fragment, that showed minimal inhibitory concentration (MIC) values as low as 0.03 μM (i.e. lower MIC compared to first line anti-TB drugs isoniazid or rifampicin). In this work we studied the influence of the replacement of 3,5-dinitrophenyl fragment with 5-nitrofuryl group and of the position of this fragment in the molecule on the antimycobacterial activity. We also attempted to prepare several 5-nitropyridin-3-yl analogues.



HET = 1,3,4-oxadiazole, tetrazole

Hence, three series of nitrofuryl-substituted tetrazoles and oxadiazoles were prepared and their antimycobacterial activity against *M. tuberculosis* and non-tuberculous *M. avium* and *M. kansasii* were studied. Some of the compounds showed good antimycobacterial activity with MIC in low micromolar range. However, all of them were less active than original 3,5-dinitrophenyl containing compounds.

3 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

DMSO	dimethylsulfoxid
DprE1	dekaprenylfosforyl- β -D-ribofuranóza-2-oxidáza
FaF UK	Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy
HET	heterocyklus
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti
KOBCH	Katedra organické a bioorganické chemie
<i>M. avium</i>	<i>Mycobacterium avium</i>
<i>M. kansasii</i>	<i>Mycobacterium kansasii</i>
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MDR-TB	multilékově rezistentní tuberkulóza
MIC	minimální inhibiční koncentrace
NMR	nukleární magnetická rezonance
RR-TB	rifampicin rezistentní tuberkulóza
TB	tuberkulóza
TLC	tenkovrstvá chromatografie
WHO	Světová zdravotnická organizace
XDR-TB	extenzivně rezistentní tuberkulóza

4 ÚVOD

4.1 Tuberkulóza

Tuberkulóza je vysoce nakažlivé infekční onemocnění postihující nejčastěji plíce. Je způsobeno především kmeny bakterie *Mycobacterium tuberculosis*. Nákaza se u plicní formy šíří kapénkami při kašláním, smrkáním nebo mluvením, a proto se snadno přenáší na další jedince. Je prokázáno, že k propuknutí nemoci stačí jen několik málo vdechnutých kapének obsahujících mykobakterie.¹ TB může postihnout i jiné orgány než plíce, například ledviny, mozek nebo kostní dřeň. Příznaky se pak objevují v závislosti na postižených orgánech.³

Dle údajů WHO každoročně onemocní TB v průměru cca 10 milionů lidí (z toho 1,2 milionu dětí v roce 2019²). Ačkoli TB patří mezi léčitelné nemoci, každoročně jí podlehe okolo 1,5 milionu lidí (v roce 2019 1,4 milionu úmrtí²). TB se vyskytuje především v rozvojových zemích s nízkou úrovní zdravotnictví nebo v zemích, kde si lidé zdravotní péči nemohou dovolit. Až dvě třetiny všech případů TB připadají na nejpostiženější Indii. Mezi další nejvíce postižené země patří Bangladéš, Čína, Filipíny, Indonésie, Jihoafrická republika, Nigérie a Pákistán. TB se řadí mezi hlavní příčiny úmrtí ve skupině infekčních onemocnění a je rovněž významnou hrozbou pro HIV pozitivní pacienty (až 18x vyšší riziko rozvoje TB²), kteří tvořili v roce 2019 téměř 15 % zemřelých na TB. Ve skupině všech diagnostikovaných HIV pozitivních osob s TB byla v roce 2019 úmrtnost 70 %². Existuje i tzv. latentní forma TB, kdy člověk není infekční, ale je pouze přenašečem nemoci. Odhaduje se, že až čtvrtina celosvětové populace má latentní formu TB, avšak pouze asi u 5–15 % z nich propukne během života aktivní forma (zejména při oslabení imunitního systému).¹ Mezi další rizikové faktory TB patří imunodeficience, podvýživa, alkoholismus nebo nikotinismus.²

Mezi hlavní příznaky TB patří kašel (zpočátku suchý, který se mění na produktivní s příměsí krve), horečka, bolest na hrudi, únava, ztráta hmotnosti a noční pocení. Často mají příznaky pozvolný nástup a pacient jim nevěnuje zvýšenou pozornost – nemoc se tak snadno rozšiřuje do okolí. Při podezření na plicní formu TB je pacientovi odebrán vzorek sputa. Při ostatních formách jsou odebrány vzorky tělních tekutin nebo postižených tkání. Mezi hlavní diagnostické postupy patří molekulární diagnostický test, rentgenové zobrazení hrudníku a mikroskopické vyšetření sputa.²

4.2 Léčba tuberkulózy

TB je léčitelné onemocnění, u kterého je důležitá včasná diagnostika a zahájení léčby (dle údajů WHO bylo od roku 2000 účinnou léčbou zachráněno nejméně 63 milionů lidí). Léčba je náročná a dlouhodobá. Používá se kombinační léčba antituberkulotiky po dobu nejméně 6 měsíců. Velmi důležitá je adherence pacienta k léčbě. Předčasné vysazení léčby přispívá ke vzniku rezistence na používaná léčiva a snižuje jejich účinnost při opětovném použití. Navíc při nedoléčení TB hrozí opětovné propuknutí nemoci.³

4.2.1 Standardní léčba tuberkulózy

Mezi základní antituberkulotika patří isoniazid, rifampicin, ethambutol a pyrazinamid. Léčba se zahajuje kombinací všech 4 základních antituberkulotik po dobu 2 měsíců a následně se pokračuje další 4 měsíce dvojkombinací rifampicinu a isoniazidu. Extrapulmonální formy TB vyžadují ještě delší léčbu, např. při postižení kloubů nebo kostí 9 měsíců, při zasažení mozku až 1 rok. U neohraničených forem TB se délka léčby posuzuje podle průběhu nemoci. Na základě údajů Institutu Roberta Kocha je existence dostupné léčby TB u 84,5 % lidí a úspěšně se podaří vyléčit okolo 81 % případů.⁴

Léčba je zpravidla dobře snášena. Mezi hlavní nežádoucí účinky patří gastrointestinální obtíže nebo vyrážka. Mezi závažnější lékové problémy patří hepatotoxicita (zejména zvýšení hladin jaterních enzymů – lze upravit dočasným vysazením léčby) nebo vzácně u méně jak 1 % případů optická neuritida (způsobuje ethambutol), periferní neuropatie nebo psychóza (způsobuje isoniazid).⁴

4.2.2 Léčba lékově rezistentní tuberkulózy

Problémem současné terapie TB je narůstající vznik rezistence na léčiva I. linie (existence různě citlivých kmenů *M. tuberculosis*, předčasné ukončení terapie, nevhodná preskripce léčiv, léky nízké kvality).¹

Pokud není kmen *M. tuberculosis* citlivý na hlavní anti-TB léčiva I. linie isoniazid a rifampicin, pak hovoříme o MDR-TB (multilékově rezistentní TB). V těchto případech je nutné použít léčiva z II. linie (Tabulka 1), která jsou mnohdy relativně toxická a některá z nich vyžadují parenterální podávání. Dalším problémem je nákladná dlouhotrvající léčba (až 2 roky). V některých případech může dojít k rozvoji silnější rezistence i na léčiva II. linie a pacienti se tak mohou ocitnout bez možnosti léčby. Dle údajů WHO bylo v roce 2019 celosvětově detekováno cca na 206 300 případů MDR-TB nebo RR-TB (rifampicin rezistentní TB) – nárůst o 10 % v porovnání s rokem 2018. Asi polovina všech těchto případů připadá na Indii, Čínu a Rusko. V současné době se úspěšnost léčby MDR-TB pohybuje okolo 57 %.²

Tabulka 1: Antituberkulotika II. linie dle zásad WHO (2020)⁵

				Skupiny		
				A	B	C
Léčiva		<i>levofloxacin</i> nebo <i>moxifloxacin</i>	<i>cykloserin</i> nebo <i>terizidon</i>	<i>ethambutol</i>		
		<i>bedachilin</i>	<i>klofazimin</i>	<i>delamanid</i>		
		<i>linezolid</i>		<i>pyrazinamid</i>		
				<i>imipenem–cilastatin</i> nebo <i>meropenem</i>		
						<i>amikacin</i> nebo <i>streptomycin</i>
						<i>ethionamid</i> nebo <i>prothionamid</i>
						<i>p-aminosalicylová kyselina</i>

V roce 2020 WHO vydala nové zásady v terapii MDR-TB (Tabulka 1), kde uvádí přehled i nových léčiv a doporučuje jejich podávání pouze perorální cestou (všechna léčiva ze skupiny A i B a některá skupiny C) po dobu 9 měsíců. Tento krok je významným přínosem pro zvýšení compliance pacientů k léčbě MDR-TB. WHO doporučuje podávat kombinaci následujících léčiv v počtu 5 látek: ze skupiny A všechna tři léčiva, ze skupiny B jedno nebo obě léčiva a ze skupiny C léčivo pro vytvoření pětikombinace nebo pokud nelze použít léčivo/léčiva ze skupin A nebo B.⁵

Ještě závažnější formou TB je tzv. XDR-TB (extenzivně rezistentní TB), kdy mykobakterie nejsou citlivé na isoniazid, rifampicin, fluorochinolony a alespoň jedno parenterálně podávané léčivo (kanamycin, amikacin aj.). V těchto případech je léčba ještě obtížnější, protože k dispozici zbývají jen méně účinná a drahá léčiva, často s četnými nežádoucími účinky. Odhadovaná úspěšnost léčby se pohybuje mezi 30 až 50 %.⁶

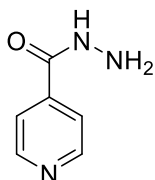
4.3 Přehled léčiv v terapii tuberkulózy

4.3.1 Léčiva I. linie

4.3.1.1 Isoniazid

Isoniazid (Obrázek 1), hydrazid kyseliny isonikotinové, je antituberkuloticky účinné léčivo I. linie s primárně bakteriostatickým účinkem, při rychlém dělení mykobakterií má i účinek baktericidní. Vykazuje specifickou aktivitu vůči *M. tuberculosis*, *M. bovis* a *M. kansasii*. Na ostatní mikroorganismy

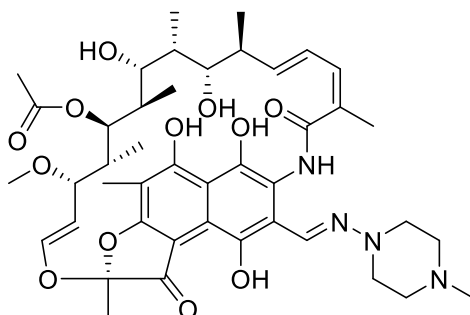
nepůsobí. Isoniazid je pro léčivo, které je aktivováno mykobakteriální katalázou na molekulu, která vazbou na enzym zabraňuje vzniku mykolové kyseliny, která je hlavním stavebním kamenem mykobakteriální buněčné stěny.⁷ Léčivo se podává v kombinacích perorální cestou před jídlem ve formě tablet v dávce 5 mg/kg tělesné hmotnosti/den s maximem 300 mg/den (u dětí 10–20 mg/kg), lze podávat i 2x týdně v dávce 15 mg/kg u dětí i dospělých (max. 900 mg 2x týdně).⁸



Obrázek 1: Isoniazid

4.3.1.2 Rifampicin

Rifampicin (Obrázek 2) je polosyntetické baktericidní širokospektré antibiotikum produkované bakterií *Streptomyces mediterranei*. V citlivých organismech se váže na DNA-dependentní RNA-polymerázu, zabraňuje tak tvorbě RNA a buňka umírá. Neovlivňuje savčí transkripční enzymy. Z důvodu vzrůstající rezistence je jeho používání zachováno pouze pro citlivé kmeny *M. tuberculosis*, případně na jiné vybrané infekce (např. způsobené *Pseudomonas aeruginosa* nebo *Mycobacterium leprae*).⁹ Rifampicin je podáván v kombinacích perorálně před jídlem ve formě tobolek v dávce 10 mg/kg tělesné hmotnosti/den, maximálně 300–600 mg/den.¹⁰

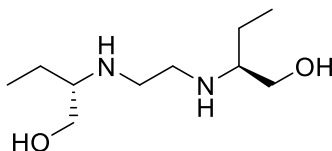


Obrázek 2: Rifampicin

4.3.1.3 Ethambutol

Ethambutol (Obrázek 3) je širokospektré baktericidní antituberkulotikum I. linie, které inhibuje mykobakteriální arabinosyltransferázy účastníci se syntézy buněčné stěny. Léčivo inhibuje také syntézu dvou hlavních arabinanů: arabinogalaktanu a lipoarabinomannanu. Nevýhodou léčiva je průnik

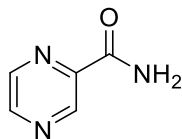
do lidských buněk a nežádoucí ovlivnění jejich funkcí. Ethambutol je podáván v kombinacích perorální cestou ve formě tablet v dávce 15 mg/kg tělesné hmotnosti/den nebo 30 mg/kg tělesné hmotnosti 3x týdně.^{11, 12}



Obrázek 3: Ethambutol

4.3.1.4 Pyrazinamid

Pyrazinamid (Obrázek 4) je specifické antituberkulotikum, které působí baktericidně na *M. tuberculosis*. Je to proléčivo, které se v mykobakteriích pomocí pyrazinamidasy přeměňuje na aktivní pyrazinovou kyselinu. V mírně kyselém prostředí se váže na enzym FAS I (fatty acid synthase), který je zodpovědný za syntézu mastných kyselin v mykobakteriích. Váže se také na ribosomální proteiny a zabraňuje tak translaci RNA.¹³ Pyrazinamid se podává v kombinacích perorální cestou ve formě tablet po jídle zpravidla v dávce 20–25 mg/kg tělesné hmotnosti/den nebo ve vyšších dávkách 50–70 mg/kg tělesné hmotnosti 3x týdně.¹⁴

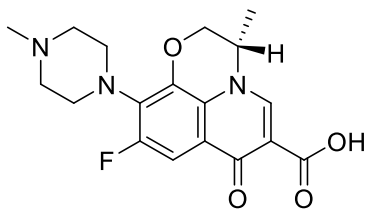


Obrázek 4: Pyrazinamid

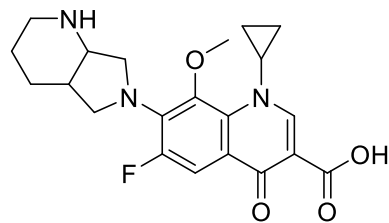
4.3.2 Léčiva II. linie

4.3.2.1 Fluorochinolony

V rámci léčiv II. linie se dle WHO uplatňují léčiva levofloxacin (Obrázek 5) a moxifloxacin (Obrázek 6). Jejich účinek spočívá v inhibici DNA gyrázy a topoisomerázy IV. Mají širokospektrý baktericidní účinek na bakterie včetně mykobakterií. Nevýhodou je snadný vznik rezistence. Levofloxacin se užívá ve formě tablet v dávce 500–1000 mg/den. Moxifloxacin se užívá ve formě tablet v dávce 400 mg/den.^{15, 16}



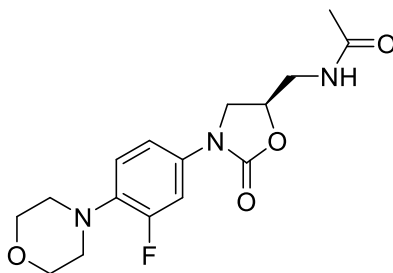
Obrázek 5: Levofloxacin



Obrázek 6: Moxifloxacin

4.3.2.2 Linezolid

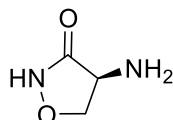
Linezolid (Obrázek 7) je rovněž antituberkuloticky účinným léčivem II. linie ze skupiny A dle WHO. Jeho hlavním využitím je ale u multirezistentních bakterií včetně MRSA (methicilin rezistentní *Staphylococcus aureus*). Mechanismus účinku spočívá v inhibici proteosyntézy odlišným způsobem než u jiných antibiotik, proto téměř nevykazuje zkříženou rezistenci. Inhibuje také neselektivně enzym monoaminoxidázu.¹⁷ Linezolid se podává 2x denně ve formě tablet v jednotlivé dávce 400–600 mg.¹⁸



Obrázek 7: Linezolid

4.3.2.3 Cykloserin

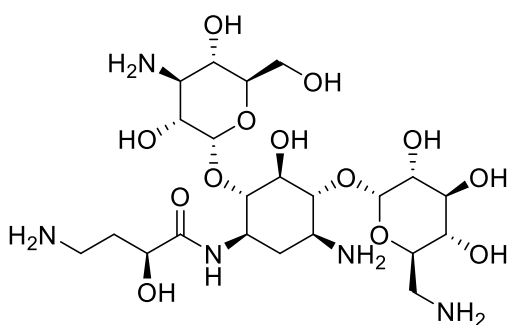
Cykloserin (Obrázek 8) je širokospektré antibiotikum produkované *Streptomyces garyphalus*, léčivo ze skupiny B antituberkulotik II. linie dle WHO. Je účinný proti *M. tuberculosis* i *M. avium complex*. Inhibuje enzymy L-alaninracemázu a D-alanylalaninsyntetázu, zabraňuje tak tvorbě bakteriální buněčné stěny.¹⁹ Při léčbě TB se podává ve formě tablet v dávce 250 mg 2–3x denně.²⁰



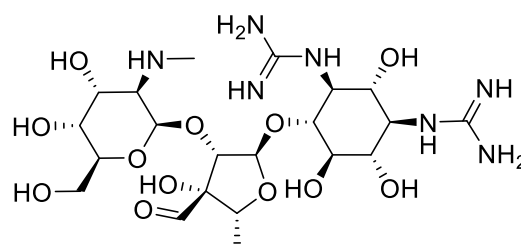
Obrázek 8: Cykloserin

4.3.2.4 Aminoglykosidy

Ze skupiny aminoglykosidových antibiotik se v léčbě TB jako léčiva II. linie využívají amikacin nebo streptomycin. Amikacin (Obrázek 9) je semisyntetické antibiotikum odvozené od kanamycinu A. Je účinný proti bakteriím rezistentním na běžná antibiotika. Je účinný zejména na *M. avium complex*. Streptomycin (Obrázek 10) je účinný proti *M. tuberculosis*. Obě léčiva se vážou na 30S podjednotku ribozomů a blokují tím proteosyntézu.²¹ Amikacin a streptomycin se podávají intravenózně nebo intramuskulárně v dávce 1 g 1x denně.^{22, 23}



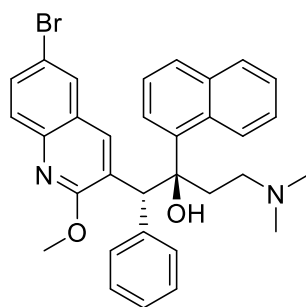
Obrázek 9: Amikacin



Obrázek 10: Streptomycin

4.3.2.5 Bedachilin

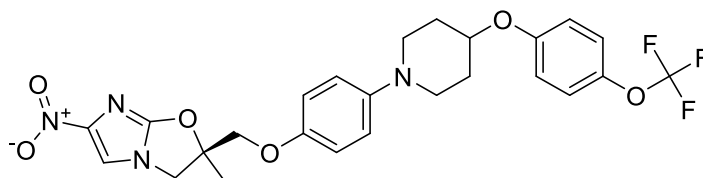
Bedachilin (Obrázek 11) je novější baktericidní antituberkulotikum, které se používá v terapii MDR-TB jako léčivo II. linie. Mechanismus účinku spočívá v inhibici protonové pumpy mykobakteriální ATP-syntázy, která je nezbytná pro tvorbu energie v mykobakteriích.²⁴ Užívá se perorálně ve formě tablet zpočátku 1x denně 400 mg, následně se přechází na podávání 200 mg 3x týdně s odstupem nejméně 48 hodin.²⁵



Obrázek 11: Bedachilin

4.3.2.6 Delamanid

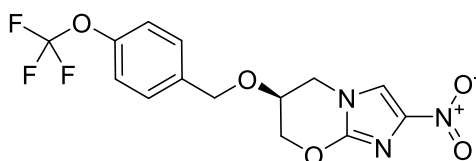
Delamanid (Obrázek 12) je antituberkulotikum II. linie využívané v kombinacích při terapii MDR-TB a XDR-TB, v rámci klinického hodnocení původně označované jako OPC-67683. Je to proléčivo, které se aktivuje mykobakteriální deazaflavin (F420)-dependentní nitroreduktázou a inhibuje syntézu derivátů mykolové kyseliny nutných pro tvorbu buněčné stěny.²⁶ Delamanid se podává perorálně ve formě tablet 100 mg 2x denně po dobu 6 měsíců.²⁷



Obrázek 12: Delamanid

4.3.2.7 Pretomanid

Pretomanid (Obrázek 13) je rezervní antituberkulotikum využívané při léčbě rezistentní MDR-TB, resp. XDR-TB a podávané společně s bedachilinem a linezolidem. Jedná se o molekulu ze skupiny nitroimidazolů (podobně jako delamanid) původně označovanou jako PA-824 v rámci klinického hodnocení. Léčivo se stává aktivním redukcí pomocí mykobakteriální deazaflavin (F420)-dependentní nitroreduktázy. Mechanismus účinku se za aerobních podmínek předpokládá jako inhibice syntézy lipidů a při anaerobních podmínkách jako vznik aktivních dusíkatých radikálů a jejich negativní působení na mykobakterie. Pretomanid se užívá v kombinacích perorálně po jídle 200 mg 1x denně po dobu 26 týdnů.²⁸



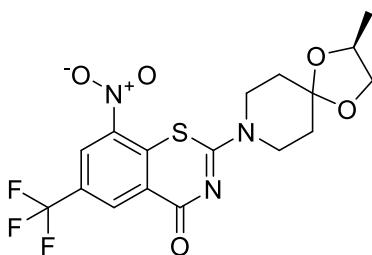
Obrázek 13: Pretomanid

4.3.3 Potenciální nové antituberkuloticky účinné látky

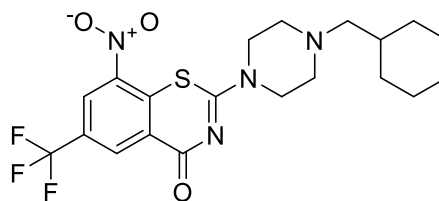
Vzhledem k narůstající rezistenci na klasická antituberkulotika a skutečnosti, že za posledních 40 let se na farmaceutickém trhu objevila jen tři nová léčiva v terapii plicní MDR-TB (delamanid, pretomanid a bedachilin), je vývoj nových látek s odlišným mechanismem účinku velmi žádoucí.

4.3.3.1 Benzothiazinony

V současné době probíhají 2 klinické studie na nová léčiva ze skupiny benzothiazinonů, molekuly BTZ-043 (Obrázek 14) a PBTZ-169, macozinon (Obrázek 15). Obě léčiva se v roce 2020 nacházely ve IIa fázi klinického hodnocení. Léčiva z této skupiny jsou inhibitory mykobakteriální DprE1. DprE1 (dekaprenylfosforyl- β -D-ribofuranóza-2-oxidáza) je enzym, který se účastní syntézy dekaprenylfosforylarabinózy jako jediného donoru arabinosylových jednotek v syntéze arabinanových polymerů při tvorbě mykobakteriální buněčné stěny. PBTZ-169 je látka odvozená od BTZ-043, která postrádá chirální centra, má nižší náklady na syntézu a lepší farmakodynamiku. Obě léčiva vykazují synergický efekt s bedachilinem, rifampicinem nebo klofaziminem.^{29, 30}



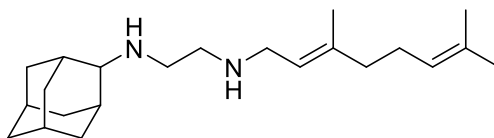
Obrázek 14: BTZ-043



Obrázek 15: PBTZ-169

4.3.3.2 SQ109

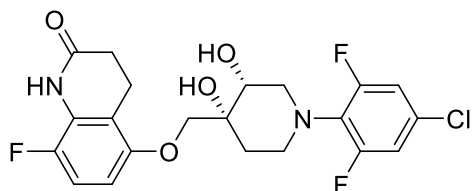
SQ109 (Obrázek 16) je látka, která v roce 2018 dokončila úspěšně IIb fázi klinického hodnocení. Chemicky je tato molekula odvozena od ethylendiaminu, podobá se léčivu ethambutolu. Vykazuje nový mechanismus účinku, kterým se odlišuje od konvenčních anti-TB léčiv. Inhibuje tvorbu buněčné stěny mykobakterií inhibicí transportéru MmpL3, který přenáší trehalózamonomykolát do buněčné stěny přes buněčnou membránu. Vykazuje synergický účinek s isoniazidem nebo rifampicinem.^{31, 32}



Obrázek 16: SQ109

4.3.3.3 OPC-167832

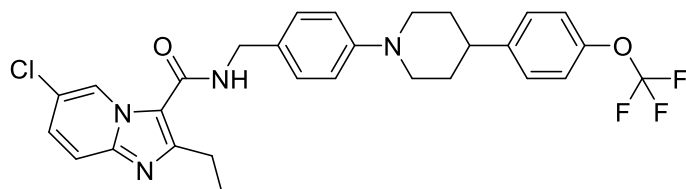
OPC-167832 (Obrázek 17) je rovněž nadějná látka s významnou antimykobakteriální aktivitou nacházející se v roce 2020 v I. a II. fázi klinického hodnocení. Chemicky se jedná o látku ze skupiny 3,4-dihydrokarbostyrylových derivátů. Mechanismus účinku je totožný jako ve skupině benzothiazinonů, inhibice DprE1 a výsledkem je inhibice syntézy buněčné stěny mykobakterií.³³



Obrázek 17: OPC-167832

4.3.3.4 Telacebec (Q203)

Telacebec, Q203 (Obrázek 18) je antimykobakteriálně účinné léčivo ve IIa fázi klinického hodnocení ze skupiny imidazopyridinamidů. Jedná se o selektivní inhibitor mykobakteriálního cytochrom bc1 komplexu (konkrétně qcrB podjednotky) jako nezbytné součásti elektronového transportního řetězce pro tvorbu energie v *M. tuberculosis*.³⁴



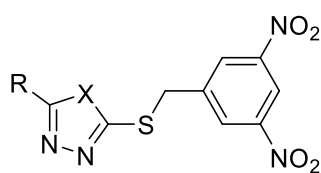
Obrázek 18: Telacebec (Q203)

4.4 (Di)nitrofenyl a dinitrobenzyl-substituované heteroaromáty jako potenciální antituberkulotika

V oblasti vývoje nových potenciálních antituberkuloticky účinných látek na Katedře organické a bioorganické chemie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy se soustředíme především na substituované dusíkaté heterocykly, které ve své molekule obsahují zpravidla alespoň jednu nitro skupinu. Mezi významné úspěchy výzkumu na KOBCH patří objev antituberkuloticky účinných substituovaných 1,3,4-oxadiazolů a tetrazolů a jejich analogů, které ve své struktuře obsahují 3,5-dinitrofenylovou skupinu.^{35, 36}

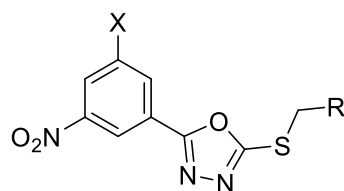
4.4.1 Substituované 1,3,4-oxadiazoly a jejich analoga

Jako velmi antituberkuloticky účinné se ukázaly substituované 5-alkyl/aryl-2-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-1,3,4-oxadiazoly připravené na KOBCH (Obrázek 19). Jako esenciální se ukázala pozice nitro skupin v polohách 3 a 5 na benzenovém jádře, pozice 2 a 4 nebo ponechání jen jedné nitro skupiny měly za důsledek významný pokles anti-TB aktivity. Byly také zkoumány stejné látky obsahující místo 1,3,4-oxadiazolu jeho sirný analog. Naměřené hodnoty antimykobakteriální aktivity byly srovnatelné. Studie rovněž ukázaly, že substituent v poloze 5 na oxadiazolu/thiadiazolu má minimální vliv na vlastní antimykobakteriální účinnost, ovlivňuje spíše lipofilitu molekuly a je místem, kde lze optimalizovat fyzikálně-chemické vlastnosti. Látky vykazaly vysokou selektivitu vůči mykobakteriím a nízkou cytotoxicitu na lidské jaterní hepatocyty.³⁵



Obrázek 19: 5-substituované 2-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-1,3,4-oxadiazoly a 1,3,4-thiadiazoly
(X = O, S; R = alkyl, aryl)

Byly připraveny i reverzní deriváty těchto substituovaných oxadiazolů (Obrázek 20), které vykazaly podobnou účinnost. Také se opět potvrdila nezbytnost přítomnosti dvou nitro skupin pro zachování účinku, nicméně v tomto případě bylo možno jednu nitro skupinu nahradit rovněž silně elektronakceptorovou trifluormethylovou skupinou.³⁷

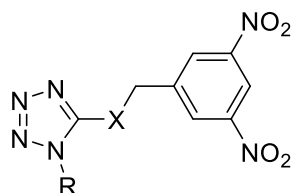


Obrázek 20: Reverzní deriváty původních 1,3,4-oxadiazolů ($X = \text{NO}_2, \text{CF}_3$; $R = \text{alkyl, aryl}$)

Antimykobakteriální aktivity vybraných látek z této kapitoly viz tabulky 3 a 5, kapitola 7.3.

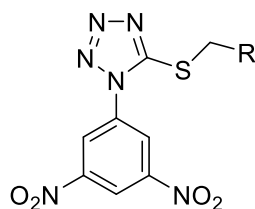
4.4.2 Substituované tetrazoly a jejich analoga

Mezi velmi antimykobakteriálně účinné látky objevené na KOBCH patří i substituované tetrazoly. Podobně jako u výše zmíněných substituovaných 1,3,4-oxadiazolů je nositelem účinku u 1-substituovaných 5-[(dinitrobenzyl)sulfanyl]-1*H*-tetrazolů právě 3,5-dinitrofenylová skupina, ostatní zkoumané polohy vykazaly nižší účinnost. Byl také zkoumán vliv záměny atomu síry za kyslík, selen, sulfinylovou nebo sulfonylovou skupinu – podobná antimykobakteriální aktivita byla naměřena pouze u analogů s kyslíkem a selenem (Obrázek 21). Všechny látky vykazaly vysoce selektivní účinek vůči mykobakteriím a nízký cytotoxický účinek na lidské hepatocyty. Substituent v poloze 1 u tetrazolu má především vliv na fyzikálně-chemické vlastnosti molekuly.³⁸



Obrázek 21: 1-substituované 1*H*-tetrazoly ($X = \text{S, O, Se, SO, SO}_2$; $R = \text{alkyl, aryl}$)

Kromě 1-alkyl substituovaných derivátů byly zkoumány také i 2-alkyl substituované tetrazoly a jejich selenová analoga. Opět se ukázalo, že pro zachování účinku je nutná přítomnost 3,5-dinitrofenylové skupiny. Vyšší antimykobakteriální účinnost a nižší cytotoxicita byla popsána u látek alkylovaných v poloze 2. U selenových analog se aktivita významně nelišila. Reverzní deriváty zkoumaných tetrazolů vykazaly mírný pokles anti-TB účinnosti, avšak stále zůstávají vysoce aktivními (Obrázek 22).^{36, 37}



Obrázek 22: Reverzní deriváty původních 1H-tetrazolů ($R = \text{alkyl, aryl}$)

U tetrazolů byl dále zkoumán vliv délky spojovacího řetězce mezi HET a 3,5-dinitrofenylovou skupinou. Zkrácení (vynechání methylenového můstku nebo přímé napojení 3,5-dinitrofenylu na tetrazol) či prodloužení řetězce (methylenová až butandiolová skupina) nemělo významný vliv na antimykobakteriální aktivitu látek. Z toho vyplývá, že spojovací řetězec má zanedbatelný vliv na anti-TB účinnost tohoto typu látek.³⁹

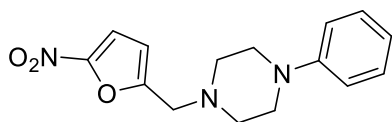
Antimykobakteriální aktivity vybraných látek z této kapitoly viz tabulky 6 a 7, kapitola 7.3.

4.5 Látky s antimykobakteriálním účinkem obsahující ve své struktuře 5-nitrofurán

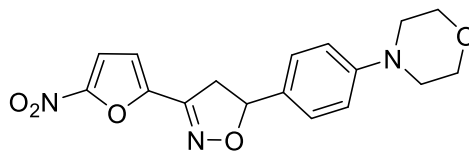
Nitro skupina jako nositel účinku se vyskytuje již v původních vysoce aktivních sloučeninách připravených dříve na KOBCH^{35,36}, navíc je součástí některých antibakteriálně působících léčiv (metronidazol, nitrofurantoin) a také nejnovějších antimykobakteriálně účinných látek delamanid a pretomanid (kapitoly 4.3.2.6, 4.3.2.7) nebo benzothiazinonů, které procházejí klinickým hodnocením (kapitola 4.3.3.1).

V několika publikovaných studiích bylo ověřeno, že nitroskupina navázaná na furan v poloze 5 má antimykobakteriální účinek. Mezi takové antituberkuloticky účinné molekuly patří následující skupiny látek: nitrofuranylmethylpiperaziny, nitrofuranylisoaxazoliny, pentacyklické nitrofurany a nitrofuranylamidy. Látky ze skupiny nitrofuranylmethylpiperazinů vykazaly vysokou aktivitu proti *M. tuberculosis* v hodnotách MIC 0,17 – 0,0072 μM a taktéž submikromolární aktivitu proti MDR-TB a RR-TB (Obrázek 23 vlevo nahoře)⁴⁰. Látky ze skupiny nitrofuranylisoaxazolinů vznikly jako ve vodě rozpustnější deriváty původních látek, na kterých došlo k obměnám na fenylovém a piperidinovém kruhu – jako nejúčinnější se ukázala záměna piperidinu za morfolin (Obrázek 23 vpravo nahoře) při MIC proti *M. tuberculosis* 0,17 μM ⁴¹. Látky ze skupiny pentacyklických nitrofuranů byly připraveny sloučením kruhů A a B nitrofuranylisoaxazolinů společně s kruhy C, D a E u delamanidu (OPC-67683) za vzniku vedoucí molekuly, od které byly připraveny deriváty s cílem zvýšení perorální biodostupnosti

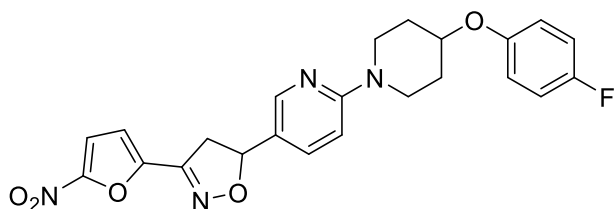
derivátů (Obrázek 23 vlevo dole). Získané hodnoty MIC proti *M. tuberculosis* se u těchto derivátů pohybovaly s minimálním rozptylem okolo hodnoty 0,04 μM .⁴² Mezi další látky s obsahem 5-nitrofuranylové skupiny, u kterých byla pozorována antimykobakteriální aktivita, patří látky ze skupiny nitrofuranylamidů (Obrázek 23 vpravo dole).⁴³



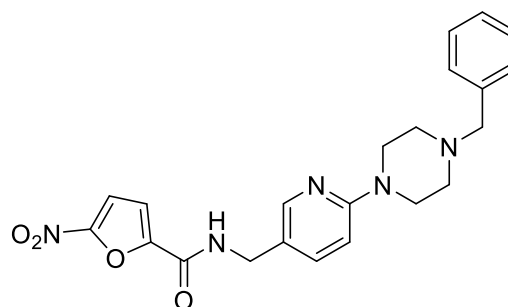
Látka ze skupiny nitrofuranylmethylpiperazinů
MIC 0,2 μM ⁴⁰



Látka ze skupiny nitrofuranylisoxazolinů
MIC 0,17 μM ⁴¹



Látka ze skupiny pentacyklických nitrofanů
MIC 0,04 μM ⁴²



Látka ze skupiny nitrofuranylamidů⁴³

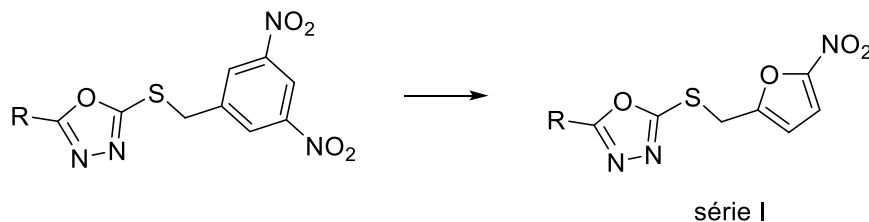
Obrázek 23: Příklad skupin antimykobakteriálně účinných látek obsahujících ve své struktuře 5-nitrofuranylovou skupinu a jejich MIC proti *M. tuberculosis*

5 CÍL PRÁCE

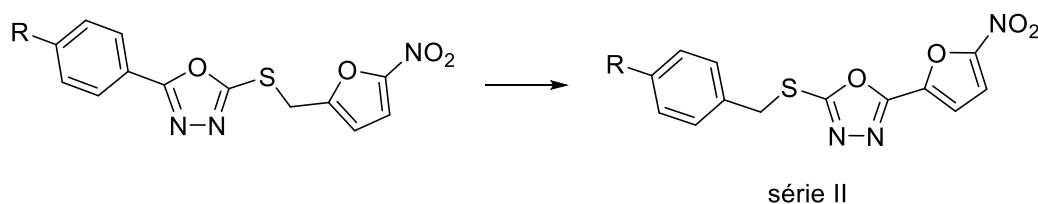
Tato práce navazuje na předchozí významné úspěchy výzkumné skupiny na KOBCH FaF UK, mezi které patří objev antituberkuloticky účinných substituovaných 1,3,4-oxadiazolů a tetrazolů a jejich analogů, které ve své struktuře obsahují 3,5-dinitrofenylovou skupinu (Obrázek 19, Obrázek 21).^{35, 36}

Na základě dostupných dat ze současně používaných léčiv v terapii TB a především potenciálních antituberkuloticky účinných látek v různých fázích výzkumu jsme hledali funkční skupinu, která by mohla nahradit 3,5-dinitrofenylovou skupinu. Jak bylo zmíněno v úvodu (kapitola 4.5), v několika publikovaných studiích bylo zjištěno, že nitroskupina navázaná na furan v poloze 5 má antimykobakteriální účinek. Z tohoto důvodu byla vybrána pro obměnu původních molekul právě 5-nitrofurylová skupina.

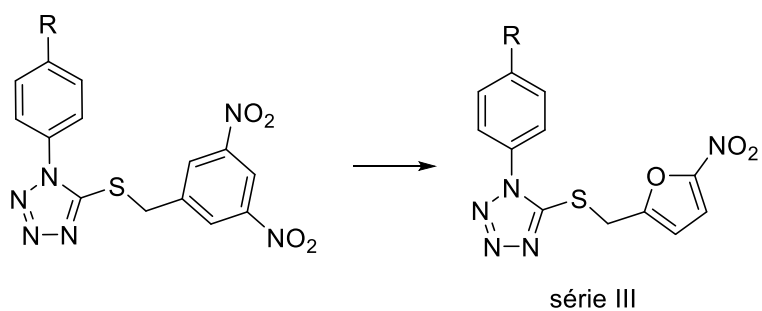
Cílem této práce je ověřit vliv záměny 5-nitrofurylové skupiny namísto 3,5-dinitrofenylové u substituovaných 1,3,4-oxadiazolů nebo tetrazolů na antimykobakteriální aktivitu těchto látek. Budou připraveny 4 série látek (I–IV). První tři série budou obsahovat 5-nitrofurylovou skupinu navázanou na původní HET (Obrázek 24–26), ve 4. sérii se pokusíme nahradit 5-nitrofurylovou skupinu za 5-nitropyridin-3-ylou, u které předpokládáme obdobný účinek (Obrázek 27).



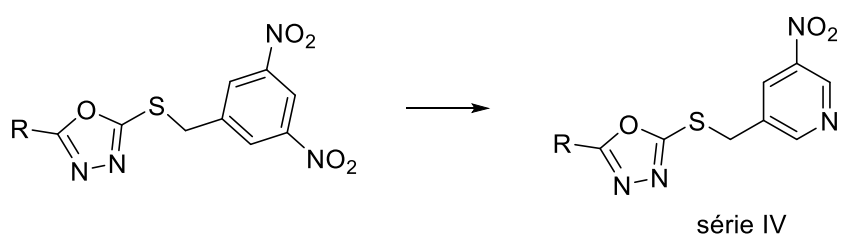
Obrázek 24: Záměna 3,5-dinitrofenylové skupiny u předlohových 1,3,4-oxadiazolů za 5-nitrofurylovou v sérii I



Obrázek 25: Příprava reverzních 1,3,4-oxadiazolů v sérii II odvozených od finálních látek v sérii I



Obrázek 26: Záměna 3,5-dinitrofenylové skupiny u předlohových tetrazolů za 5-nitrofuranylovou v sérii III



Obrázek 27: Záměna 3,5-dinitrofenylové skupiny u předlohových 1,3,4-oxadiazolů za 5-nitropyridin-3-yllovou v sérii IV

6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

6.1 Chemikálie a přístroje

Při syntéze všech látek této práce byly využity komerčně dostupné chemické látky a rozpouštědla od firmy Sigma-Aldrich bez jejich další purifikace před použitím.

Průběh reakcí byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC) za využití TLC desek Merck silica gel 60 F254. Mobilní fáze byla zvolena v závislosti na typu reakce (hexan:ethyl-acetát v poměru 2:1, 3:1, 5:2 nebo 7:1). Detekce byla provedena pod UV zářením o vlnových délkách 254 a 366 nm. Jako stacionární fáze pro sloupcovou chromatografii byl využit Merck Kieselgel 60 (0,040–0,063 mm).

Čistota jednotlivých syntetizovaných látek byla ověřena za využití ^1H a ^{13}C NMR spektrometrie. Tato spektra byla změřena pomocí VNMR S500 NMR spektrometru nebo JNM-ECZ 600R spektrometru. Hodnoty chemického posunu δ [ppm] v ^1H a ^{13}C NMR spektrech jsou nepřímo vztažené k vnitřnímu standardu tetramethylsilanu.

Elementární analýza jednotlivých látek byla změřena na přístroji Automatic Microanalyser EA1110CE. Teploty tání byly změřeny na přístroji Kofler block nebo Büchi B-545.

Názvy všech sloučenin byly získány v programu ChemDraw 19.1 a podle pravidel přeloženy do českého jazyka. Jednotlivé chemické vzorce, reakční schémata a vybrané analytické údaje (molekulová hmotnost, elementární analýza) byly získány ve stejném programu.

6.2 Příprava látek obsahujících 5-nitrofurylovou skupinu

6.2.1 Příprava substituovaných 1,3,4-oxadiazolů (série I a II)

6.2.1.1 Série I

Výchozí látkou pro syntézu heterocyklických sloučenin tohoto typu obsahujících 5-nitrofurylovou skupinu jsou substituované benzenkarboxylové kyseliny. V této práci byla využita kyselina benzoová a dále její deriváty substituované v poloze 4 bromem, chlorem nebo methoxy skupinou. Reakce I.–III. popisují přípravu 5-(4-bromfenyl)-2-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1,3,4-oxadiazolu **7**. Jsou však obecně platné pro přípravu ostatních látek v této sérii s odlišnou substitucí na benzenovém jádře.

- I. Výchozí karboxylová kyselina 4-brombenzoová kyselina (10 g, 49,75 mmol) byla esterifikována methanolem (200 ml) za přidání malého množství kyseliny sírové 96% (0,2 ml)

jako katalyzátoru. Reakční směs byla zahřívána 48 hodin, průběh reakce byl sledován pomocí TLC. Následně bylo odpařeno rozpouštědlo za sníženého tlaku a odparek rozpuštěn v ethylacetátu (30 ml). Byla provedena extrakce s NaHCO₃ (3x50 ml), organická vrstva oddělena, vysušena bezvodým Na₂SO₄, zfiltrována a rozpouštědlo odpařeno. Látka **1** byla připravena v dostatečné kvalitě pro další reakce.

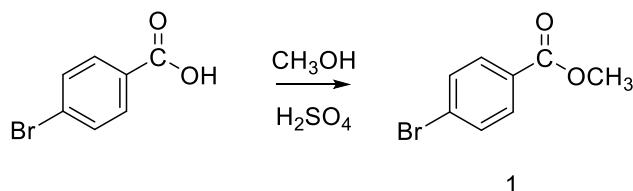


Schéma 1: Esterifikace výchozí karboxylové kyseliny za vzniku esteru 1

1: methylester kyseliny 4-brombenzoové

Vzhled: krystalická látka

Molární hmotnost: 215,046 g/mol

Teoretický výtěžek: 10,698 g

Praktický výtěžek: 9,850 g (92 %)

Celý výtěžek byl použit pro následnou reakci.

- II. Ester **1** byl převeden na příslušný hydrazid **2**. Do reakční směsi k esteru (1 eq., 9,85 g, 45,80 mmol) v ethanolu (100 ml) byl přidán po kapkách 80% roztok hydrazin-hydrátu (5 eq., 14,34 g, 286,46 mmol). Reakční směs byla zahřívána 30 hodin, vznik hydrazidu byl detekován pomocí TLC. Po ukončení reakce bylo přidáno malé množství vody a směs ochlazena v chladničce, kde došlo k vykrytalizování hydrazidu. Následně byl odfiltrován na Büchnerově nálevce, promyt vodou a ethanolem. Hydrazid **3** byl připraven v dostatečné kvalitě pro následnou reakci.

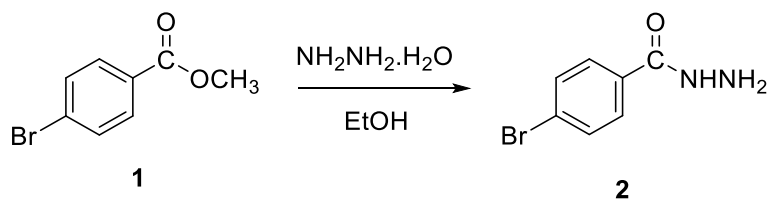


Schéma 2: Příprava hydrazidu 2 z esteru 1

2: 4-brombenzohydrazid

Vzhled: krystalická látka

Molární hmotnost: 215,050 g/mol

Teoretický výtěžek: 9,850 g

Praktický výtěžek: 6,050 g (61 %)

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 9,84 (s, 1H), 7,75 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,65 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 4,50 (s, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 165,05, 132,59, 131,51, 129,23, 124,93.

Celý výtěžek byl použit pro následnou reakci.

- III. Hydrazid **2** byl převeden na příslušný 1,3,4-oxadiazol-2-thiol **3**. K hydrazidu **2** (1 eq., 6 g, 27,90 mmol) rozpuštěném v ethanolu (100 ml) byl přidán roztok KOH (1 eq., 1,57 g, 27,92 mmol) a následně byl pomalu přidáván CS_2 (3 eq., 6,38 g, 83,76 mmol). Reakční směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 10 hodin, průběh reakce sledován pomocí TLC. Po dokončení byl odpařen ethanol na vakuové rotační odparce, získaná směs rozpuštěna ve vodě a okyselena 35% HCl na pH 2. Produkt byl extrahován ethyl-acetátem (3x50 ml), vysušen bezvodým síranem sodným, zfiltrován a následně bylo rozpouštědlo opět odpařeno za sníženého tlaku. Získaný substituovaný 1,3,4-oxadiazol **3** byl získán v dostatečné kvalitě pro použití v závěrečné reakci.

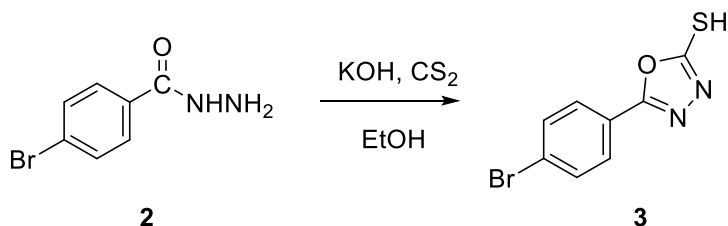


Schéma 3: Příprava substituovaného 1,3,4-oxadiazolu 3 z hydrazidu 2

3: 5-(4-bromfenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-thiol

Vzhled: bílá krystalická látka

Molární hmotnost: 257,105 g/mol

Teoretický výtěžek: 7,178 g

Praktický výtěžek: 3,876 g (54 %)

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 14,80 (s, 1H), 7,82–7,76 (m, 4H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 177,64, 159,97, 132,69, 128,14, 126,00, 121,92.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 37,37; H, 1,96; N, 10,90; S, 12,47

-> změřeno: C, 37,45; H, 1,76; N, 10,37; S, 13,29

Teplota tání: 191–193 °C (lit.⁴⁴ 190–192 °C)

IV. U připravené látky **3** a ostatních 1,3,4-oxadiazolů, připravených již dříve na KOBCH, byla uskutečněna závěrečná alkylační reakce s 5-brommethyl-2-nitrofuranem. Jednotlivé finální látky se liší substituentem na benzenovém jádře v poloze 4 (R = H, Br, Cl, OCH₃). Příslušný thiol (1,1 eq.) byl rozpuštěn v acetonitrilu (5–7 ml). K roztoku bylo přidáno alkylační činidlo 5-brommethyl-2-nitrofuran (1 eq., 0,1 g, 0,49 mmol) a triethylamin (1,2 eq., 0,059 g, 0,58 mmol) jako báze. Reakce proběhla do 30 minut, alkylace byla ověřena pomocí TLC. Následně byl odpařen acetonitril na rotační vakuové odparce, produkt rozpuštěn v ethyl-acetátu (30 ml), následně extrahován vodným roztokem NaHCO₃ (3x30 ml), organická vrstva oddělena, vysušena bezvodým síranem sodným, zfiltrována a v závěru bylo rozpouštědlo opět odpařeno za sníženého tlaku. Získané produkty **4**, **5**, **6** a **7** byly přečištěny na sloupcové chromatografii za využití silikagelu jako stacionární fáze a směsi hexan:ethyl-acetát v poměru 5:2 jako mobilní fáze. Po přečištění byly finální látky v dostatečné kvalitě pro odeslání na testování jejich antimykobakteriální aktivity *in vitro* na specializovaném pracovišti.

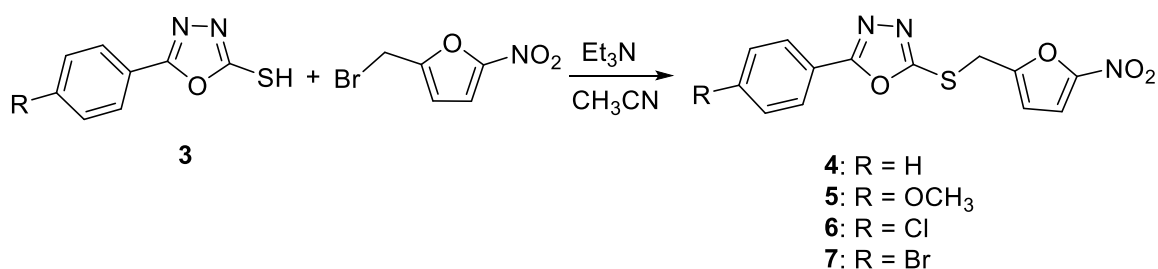


Schéma 4: Příprava finálních 1,3,4-oxadiazolů 4–7 alkylační reakcí

4: 2-fenyl-5-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: žlutá krystalická látka

Molární hmotnost: 303,299 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,147 g

Praktický výtěžek: 0,108 g (73 %)

¹H NMR (500 MHz, aceton) δ 8,08–8,00 (m, 2H), 7,67–7,56 (m, 3H), 7,48 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 6,9 (d, *J* = 3,7, 1H), 4,80 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, aceton) δ 166,95, 163,19, 155,07, 132,75, 130,11, 127,37, 124,51, 113,78, 113,73, 29,25.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 51,48; H, 2,99; N, 13,85; S, 10,57

-> změřeno: C, 51,65; H, 3,02; N, 13,77; S, 11,14

Teplota tání: 102–104 °C

5: 2-(4-methoxyfenyl)-5-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: žlutooranžová krystalická látka

Molární hmotnost: 333,318 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,162 g

Praktický výtěžek: 0,090 g (56 %)

¹H NMR (500 MHz, aceton) δ 7,97 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,48 (dd, J = 3,7, 0,5 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 6,88 (dd, J = 3,7, 0,6 Hz, 1H), 4,77 (s, 2H), 3,92 (s, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, aceton) δ 166,94, 163,51, 162,31, 155,16, 129,21, 116,82, 115,51, 113,73, 55,93, 29,28.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 50,45; H, 3,33; N, 12,61; S, 9,62

-> změřeno: C, 48,76; H 3,47; N, 11,50; S 9,21

Teplota tání: 108–110 °C

6: 2-(4-chlorfenyl)-5-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: hnědobílá krystalická látka

Molární hmotnost: 337,734 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,164 g

Praktický výtěžek: 0,100 g (61 %)

¹H NMR (500 MHz, aceton) δ 8,05 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,64 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,48 (dd, J = 3,7, 0,5 Hz, 1H), 6,89 (dd, J = 3,8, 0,7 Hz, 1H), 4,80 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, aceton) δ 166,17, 163,53, 155,00, 138,27, 130,36, 129,04, 123,27, 113,81, 113,73, 29,23.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 46,23; H, 2,39; N, 12,44; S, 9,49

-> změřeno: C, 46,46; H, 2,49; N, 11,73; S, 9,01

Teplota tání: 125–127 °C

7: 2-(4-bromfenyl)-5-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: hnědobílá krystalická látka

Molární hmotnost: 382,188 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,186 g

Praktický výtěžek: 0,080 g (43 %)

^1H NMR (500 MHz, aceton) δ 7,98 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,81 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,48 (dd, $J = 3,7, 0,6$ Hz, 1H), 6,89 (dd, $J = 3,8, 0,6$ Hz, 1H), 4,81 (s, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, aceton) δ 166,28, 163,57, 155,00, 133,38, 129,17, 126,71, 123,69, 113,82, 113,73, 29,24.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 40,86; H, 2,11; N, 10,99; S, 8,39

-> změřeno: C, 40,86; H, 1,94; N, 10,92; S, 8,48

Teplota tání: 143,5–145,5 °C

6.2.1.2 Série II

Všechny látky v této sérii jako reverzní deriváty látek ze série I byly připraveny z výchozí 5-nitrofurán-2-karboxylové kyseliny.

- I. Výchozí kyselina (0,5 g, 3,18 mmol; 2 g, 12,73 mmol) byla esterifikována methanolem (25 ml; 50 ml) za přidání malého množství 96% kyseliny sírové (0,2 ml) jako katalyzátoru. Reakční směs byla zahřívána 40 hodin, průběh reakce sledován pomocí TLC. Následně bylo odpařeno rozpouštědlo za sníženého tlaku a odparek rozpuštěn v ethyl-acetátu (30 ml), provedena extrakce s NaHCO_3 (3x40 ml), organická vrstva oddělena, vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo odpařeno. Látka **8** byla připravena v dostatečné kvalitě pro další reakce.

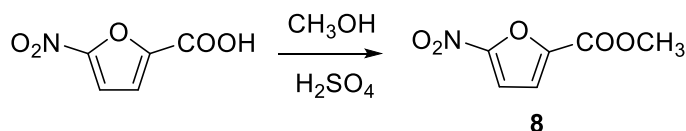


Schéma 5: Esterifikace výchozí karboxylové kyseliny za vzniku esteru 8

8: methylester kyseliny 5-nitrofurán-2-karboxylové

Vzhled: žlutá krystalická látka

Molární hmotnost: 171,108 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,545 g; 2,179 g

Praktický výtěžek: 0,270 g (50 %); 1,620 g (74 %)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,35 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 7,30 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H), 3,98 (s, 3H).

^{13}C NMR (126 MHz, CDCl_3) δ 157,36, 144,71, 118,84, 111,47, 52,90.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 42,12; H, 2,95; N, 8,19

-> změřeno: C, 42,21; H, 2,73; N, 8,03

Teplota tání: 75–77 °C (lit.⁴⁵ 77–79 °C)

- II. Ester **8** byl převeden na hydrazid **9**. Do reakční směsi k esteru (1 eq., 0,1 g, 0,58 mmol; 1 eq., 1 g, 5,84 mmol) v roztoku ethanolu (5 ml; 50 ml) byl za chlazení v ledu přidán po kapkách 64,5% roztok hydrazin-hydrátu (2 eq., 0,091 g, 1,81 mmol; 2 eq., 0,910 g, 18,10 mmol). Reakční směs byla dále chlazená v ledu, vznik hydrazidu byl po 1 hodině detekován pomocí TLC. Následně byla směs přemístěna do mrazáku, kde hydrazid vykrytalizoval. Poté byl odfiltrován na Büchnerově nálevce, promyt vodou a vysušen v exikátoru. Látka **9** byla připravena v dostatečné kvalitě pro další reakce.

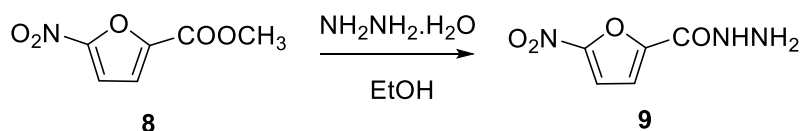


Schéma 6: Příprava hydrazidu 9 z esteru 8

9: 5-nitrofurán-2-karbohydrazid

Vzhled: olivově zelená krystalická látka

Molární hmotnost: 171,112 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,100 g; 1,000 g

Praktický výtěžek: 0,060 g (60 %); 0,845 g (85 %)

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 10,12 (s, 1H), 7,73 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H), 4,67 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 155,84, 151,73, 147,94, 114,96, 113,57.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 35,10; H, 2,95; N, 24,56

-> změřeno: C, 35,03; H, 2,74; N, 24,61

Teplota tání: 153–155 °C (lit.⁴⁶ 171–172 °C)

- III. Hydrazid **9** byl převeden na 5-(5-nitrofurán-2-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-thiol **10**. K hydrazidu **9** (1 eq., 0,1 g, 0,58 mmol; 1 eq., 0,2 g, 1,17 mmol) rozpuštěném v ethanolu (10 ml; 30 ml) byl přidán roztok KOH (1 eq., 0,033 g, 0,59 mmol; 1 eq., 0,066 g, 1,18 mmol) za chlazení v ledu a následně pomalu přidán CS₂ (3 eq., 0,134 g, 1,76 mmol; 1 eq., 0,268 g, 3,52 mmol). Reakční směs byla po vzniku zákalu zahřívána pod zpětným chladičem 10 hodin, proběhnutí reakce bylo sledováno pomocí TLC. Po dokončení byl odpařen ethanol, získaná směs rozpuštěna ve vodě a okyselena 35% HCl na pH 2. Produkt byl následně extrahován ethyl-acetátem (3x30 ml), vysušen bezvodým Na₂SO₄, zfiltrován a rozpouštědlo odpařeno. Získaný substituovaný 1,3,4-oxadiazol-2-thiol **10** byl získán v dostatečné kvalitě pro použití v závěrečné alkylační reakci.

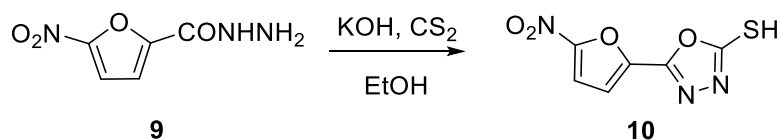


Schéma 7: Příprava substituovaného 1,3,4-oxadiazolu 10 z hydrazidu 9

10: 5-(5-nitrofuran-2-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-thiol

Vzhled: krystalická látka

Molární hmotnost: 213,167 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,125 g, resp. 0,249 g

Praktický výtěžek: 0,060 g (48 %); 0,120 g (96 %); 0,118 g (95 %), resp. 0,234 g (94 %)

¹H NMR (500 MHz, aceton) δ 13,62 (s, 1H), 7,77 (dd, *J* = 4,0, 0,6 Hz, 1H), 7,58 (dd, *J* = 3,9, 0,7 Hz, 1H).

¹³C NMR (126 MHz, aceton) δ 178,78, 152,94, 140,13, 117,03, 113,83.

Celé výtěžky byly použity pro následné reakce.

- IV. Thiol **10** (1,1 eq., 0,1 g, 0,47 mmol) byl rozpuštěn v acetonitrilu (10–15 ml). K roztoku bylo přidáno v poloze 4 substituované (R = H, Br, Cl, OCH₃) alkylační činidlo benzylbromid, resp. chlorid (1 eq.) a triethylamin (1,2 eq., 0,052 g, 0,51 mmol) jako báze. Reakce probíhala za míchání při laboratorní teplotě velmi pomalu, dokončení reakce bylo urychleno zahříváním reakční směsi po dobu 4–20 hodin. Průběh alkylace byl ověřován pomocí TLC. Následně byl odpařen acetonitril na rotační vakuové odparce. Produkt byl rozpuštěn v ethyl-acetátu (30 ml), extrahován vodným roztokem NaHCO₃ (3x30 ml), organická vrstva oddělena, vysušena bezvodým síranem sodným, zfiltrována a rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku. Získané finální látky **11**, **12**, **13** a **14** byly přečištěny na sloupcové chromatografii za využití silikagelu jako stacionární fáze a směsi hexan:ethyl-acetát v poměru 2:1 jako mobilní fáze. Po přečištění byly látky v dostatečné kvalitě pro odeslání na testování jejich antimykobakteriální aktivity *in vitro* na specializovaném pracovišti.

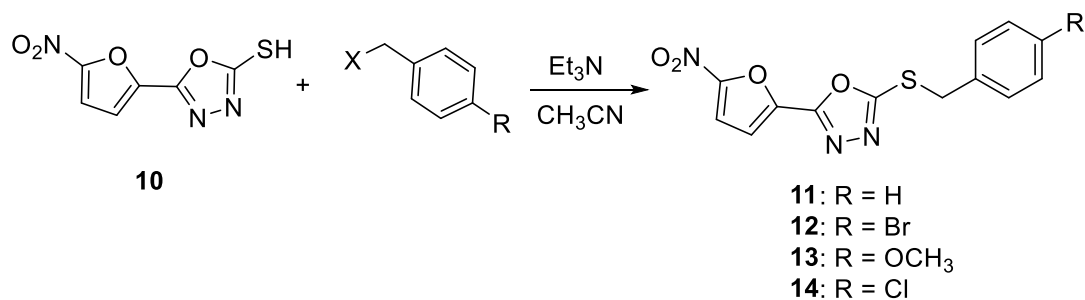


Schéma 8: Příprava finálních 1,3,4-oxadiazolů 11–14 alkylační reakcí

11: 2-(benzylsulfanyl)-5-(5-nitrofurán-2-yl)-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: světle hnědá krystalická látka

Molární hmotnost: 303,292 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,129 g

Praktický výtěžek: 0,120 g (93 %)

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,92 (dd, $J = 4,0, 0,5$ Hz, 1H), 7,66 (dd, $J = 4,1, 0,5$ Hz, 1H), 7,52–7,44 (m, 2H), 7,39–7,26 (m, 3H), 4,61 (s, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164,90, 156,87, 152,69, 139,75, 136,35, 129,29, 128,80, 128,07, 116,66, 114,26, 36,22.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 51,48; H, 2,99; N, 13,85; S, 10,57

-> změřeno: C, 51,24; H, 2,98; N, 13,71; S, 11,41

Teplota tání: 115,5–117,5 °C

12: 2-[(4-brombenzyl)sulfanyl]-5-(5-nitrofurán-2-yl)-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: žlutozelená krystalická látka

Molární hmotnost: 382,188 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,163 g

Praktický výtěžek: 0,129 g (79 %)

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,88 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 7,62 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 7,51 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,42 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 4,55 (s, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 165,11, 157,31, 153,07, 140,11, 136,51, 132,03, 131,89, 121,61, 117,05, 114,63, 35,81.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 40,86; H, 2,11; N, 10,99; S, 8,39

-> změřeno: C, 41,39; H, 2,24; N, 10,48; S, 8,01

Teplota tání: 131–133 °C

13: 2-[(4-methoxybenzyl)sulfanyl]-5-(5-nitrofurán-2-yl)-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: žlutá krystalická látka

Molární hmotnost: 333,318 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,156 g

Praktický výtěžek: 0,141 g (90 %)

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7,88 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 7,63 (d, $J = 4,1$ Hz, 1H), 7,37 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 6,86 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,53 (s, 2H), 3,69 (s, 3H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 165,37, 159,50, 157,19, 153,06, 140,15, 131,01, 128,34, 117,01, 114,64, 114,57, 55,65, 36,35.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 50,45; H, 3,33; N, 12,61; S, 9,62

-> změřeno: C, 48,45; H, 3,31; N, 11,86; S, 9,62

Teplota tání: 142–144 °C

14: 2-[(4-chlorbenzyl)sulfanyl]-5-(5-nitrofuran-2-yl)-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: žlutooranžová krystalická látka

Molární hmotnost: 337,734 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,179 g

Praktický výtěžek: 0,127 g (71 %)

^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,91 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 7,52 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,41 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 4,60 (s, 2H).

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164,74, 156,92, 152,68, 139,73, 135,70, 132,68, 131,18, 128,72, 116,67, 114,25, 35,38.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 46,23; H, 2,39; N, 12,44; S, 9,49

-> změřeno: C, 45,87; H, 2,31; N, 12,09; S, 9,75

Teplota tání: 126–128 °C

6.2.2 Příprava substituovaných tetrazolů (série III)

Všechny finální látky v této sérii byly připraveny z výchozích 1-substituovaných tetrazol-5-thiolů, které byly připraveny již dříve na KOBCH.

Příslušný substituovaný tetrazol-5-thiol (1,1 eq.; R = H, Br, Cl, OCH₃) byl rozpuštěn v acetonitrilu (10–15 ml). K roztoku bylo přidáno alkylační činidlo 5-brommethyl-2-nitrofuran (1 eq., 0,1 g, 0,49 mmol) a triethylamin (1,2 eq., 0,059 g, 0,58 mmol) jako báze. Reakce za míchání při laboratorní teplotě proběhla do 10 minut, ukončení bylo ověřeno pomocí TLC. Po odpaření acetonitrilu byl produkt rozpuštěn v ethyl-acetátu (30 ml), následně extrahován vodným roztokem NaHCO₃ (3x30 ml), vysušen bezvodým Na₂SO₄, zfiltrován a rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku. Získané látky **15**, **16**, **17** a **18** byly přečištěny na sloupcové chromatografii za využití silikagelu jako stacionární fáze a směsi

hexan:ethyl-acetát v poměru 2:1 (**15**, **17**) nebo 3:1 (**16**, **18**) jako mobilní fáze. Po přečištění byly finální látky v dostatečné kvalitě pro odeslání na testování jejich antimykobakteriální aktivity *in vitro* na specializovaném pracovišti.

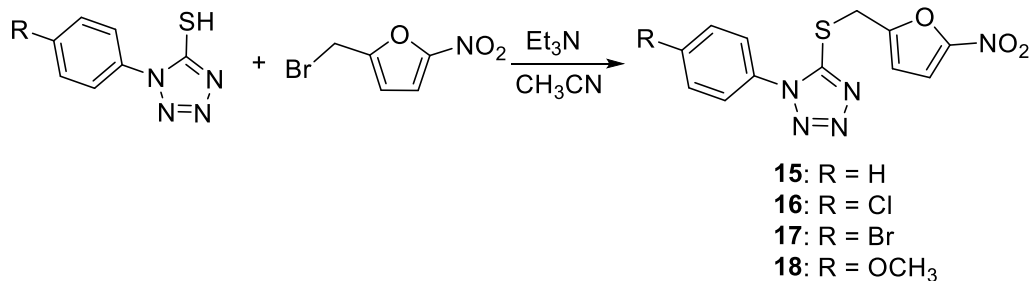


Schéma 9: Příprava finálních tetrazolů 15–18 alkylační reakcí

15: 1-fenyl-5-[(5-nitrofurán-2-yl)methylsulfany]-1H-tetrazol

Vzhled: oranžová krystalická látka

Molární hmotnost: 303,130 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,147 g

Praktický výtěžek: 0,083 g (56 %)

¹H NMR (500 MHz, aceton) δ 7,72–7,64 (m, 5H), 7,45 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 6,86 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 4,83 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, aceton) δ 154,77, 153,78, 134,41, 131,42, 130,85, 129,48, 125,23, 113,93, 113,70, 29,86.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 47,52; H, 2,99; N, 23,09; S, 10,57

-> změřeno: C, 48,37; H, 3,36; N, 20,79; S, 9,76

Teplota tání: 116–118 °C

16: 1-(4-chlorfenyl)-5-[(5-nitrofurán-2-yl)methylsulfany]-1H-tetrazol

Vzhled: žlutá krystalická látka

Molární hmotnost: 337,738 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,164 g

Praktický výtěžek: 0,120 g (73 %)

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,73 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,69 (d, J = 9,0 Hz, 2H), 7,60 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 4,75 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 154,35, 153,25, 151,29, 135,55, 131,85, 130,18, 126,73, 114,19, 113,60, 29,41.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 42,68; H, 2,39; N, 20,74; S, 9,49

-> změřeno: C, 42,77; H, 2,25; N, 20,64; S, 9,78

Teplota tání: 110–112 °C

17: 1-(4-bromfenyl)-5-[(5-nitrofurán-2-yl)methylsulfanyl]-1H-tetrazol

Vzhled: světle žlutá krystalická látka

Molární hmotnost: 382,192 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,186 g

Praktický výtěžek: 0,125 g (67 %)

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,86 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,64 – 7,59 (m, 3H), 6,81 (dd, *J* = 3,7, 0,8 Hz, 1H), 4,75 (s, 2H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 154,35, 153,21, 151,30, 133,13, 132,28, 126,89, 124,12, 114,20, 113,60, 29,42.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 37,71; H, 2,11; N, 18,32; S, 8,39

-> změřeno: C, 38,35; H, 2,01; N, 18,30; S, 8,43

Teplota tání: 148–150 °C

18: 1-(4-methoxyfenyl)-5-[(5-nitrofurán-2-yl)methylsulfanyl]-1H-tetrazol

Vzhled: světle žlutá krystalická látka

Molární hmotnost: 333,322 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,162 g

Praktický výtěžek: 0,145 g (90 %)

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 7,60 (dd, *J* = 3,8, 0,6 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 7,16 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 6,80 (dd, *J* = 3,7, 0,7 Hz, 1H), 4,73 (s, 2H), 3,84 (s, 3H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO) δ 161,15, 154,78, 153,55, 151,59, 126,89, 125,90, 115,45, 114,52, 113,80, 56,16, 29,52.

Elementární analýza:

-> vypočteno: C, 46,84; H, 3,33; N, 21,01; S, 9,62

-> změřeno: C, 46,27; H, 3,15; N, 20,85; S, 10,12

Teplota tání: 128–130 °C

6.3 Příprava látek obsahujících 5-nitropyridinylovou skupinu

6.3.1 Příprava substituovaných 1,3,4-oxadiazolů (série IV)

Všechny látky v této sérii byly připraveny z výchozí 5-nitropyridin-3-karboxylové kyseliny. Série IV nebyla dokončena.

- I. Výchozí karboxylová kyselina (1,85 g, 11,00 mmol) byla esterifikována methanolem (40 ml) za přidání 96% kyseliny sírové (0,5 ml) jako katalyzátoru. Reakční směs byla zahřívána 15 hodin, průběh reakce byl sledován pomocí TLC. Následně bylo odpařeno rozpouštědlo za sníženého tlaku. Ester **19** byl bez dalšího zpracování použit do další reakce.

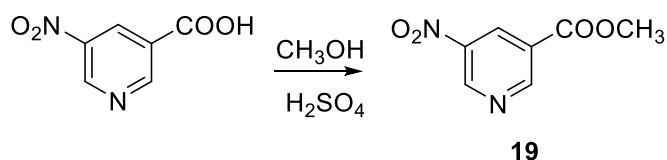


Schéma 10: Esterifikace výchozí karboxylové kyseliny za vzniku esteru 19

19: methylester 5-nitropyridin-3-karboxylové kyseliny

Vzhled: červená krystalická látka

Molární hmotnost: 182,135 g/mol

Teoretický výtěžek: 2,004 g

Praktický výtěžek: 1,850 g (92 %)

Celý výtěžek byl použit pro následnou reakci.

- II. Ester **19** byl převeden na hydrazid **20**. Do reakční směsi k esteru **19** (1 eq., 1,85 g, 10,16 mmol) v roztoku ethanolu (50 ml) byl přidán po kapkách 64,5% roztok hydrazin-hydrátu (2 eq., 1,58 g, 31,56 mmol). Reakční směs byla zahřívána 8 hodin, vznik hydrazidu **20** byl detekován pomocí TLC. Reakční směs byla bez dalšího zpracování použita pro následnou reakci, přípravu thiolu.

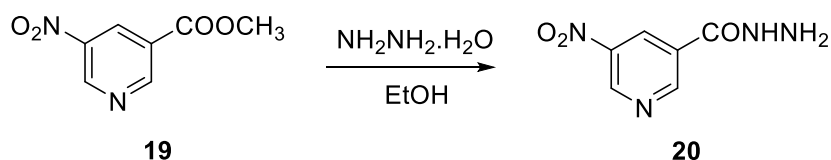


Schéma 11: Příprava hydrazidu 20 z esteru 19

20: 5-nitropyridin-3-karbohydrazid

Vzhled: červená látka

Molární hmotnost: 182,139 g/mol

Teoretický výtěžek: 2,004 g

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10,27 (s, 1H), 9,44 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 9,28 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,85 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H), 4,73 (s, 2H).

- III. Hydrazid **20** byl převeden na substituovaný thiol **21**. K hydrazidu **20** (1 eq., teoreticky 2,0 g, 10,16 mmol) rozpuštěném v ethanolu (60 ml) byl přidán roztok KOH (1 eq., 0,57 g, 10,16 mmol) a následně pomalu po kapkách přidáván CS₂ (3 eq., 2,32 g, 30,47 mmol). Reakční směs byla po vzniku zákalu zahřívána pod zpětným chladičem 19 hodin, průběh reakce byl sledován pomocí TLC. Po dokončení reakce byl odpařen ethanol na rotační vakuové odparce, získaná směs byla rozpuštěna ve vodě a okyselena 35% HCl na pH 2. Produkt byl následně extrahován ethyl-acetátem (3x60 ml), vysušen bezvodým síranem sodným, zfiltrován a rozpouštědlo opět odpařeno za sníženého tlaku. Získaný substituovaný thiol **21** obsahoval dle výsledků NMR nečistoty, i přesto byl použit pro následné alkylační reakce.

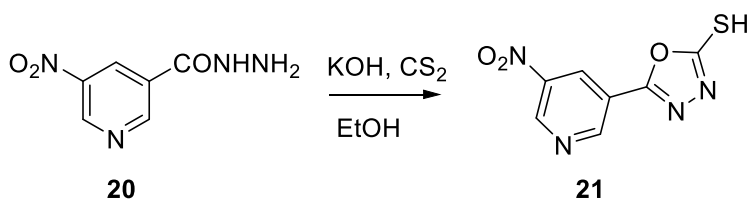


Schéma 12: Příprava substituovaného 1,3,4-oxadiazolu 21 z hydrazidu 20

21: 5-(5-nitropyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazol-2-thiol

Vzhled: červená látka

Molární hmotnost: 224,194 g/mol

Teoretický výtěžek: 2,462 g

Praktický výtěžek: 2,143 g (87 %)

NMR spektrum odhalilo přítomnost nečistot.

- IV. Thiol **21** (1,1 eq., 0,2 g, 0,89 mmol) byl rozpuštěn v acetonitrilu (15 ml) a k roztoku bylo přidáno alkylační činidlo benzylbromid (1 eq.), resp. 4-brombenzylbromid (1 eq.) a triethylamin (1,2 eq., 0,099 g, 0,97 mmol) jako báze. Reakce byla urychlena zahříváním reakční směsi po dobu 7 hodin. Průběh alkylace byl ověřován pomocí TLC. Po odpaření acetonitrilu na rotační vakuové odparce byl produkt rozpuštěn v ethyl-acetátu (30 ml), následně extrahován vodným roztokem

NaHCO₃ (3x30 ml), vysušen bezvodým síranem sodným, zfiltrován a rozpouštědlo odpařeno za sníženého tlaku. Získaný produkt **22** byl přečištěn na sloupcové chromatografii za využití silikagelu jako stacionární fáze a směsi hexan:ethyl-acetát v poměru 7:1 jako mobilní fáze. Na základě výsledků analýzy látky **22** nebyl produkt **23** přečištěn na sloupcové chromatografii a série nebyla dokončena.

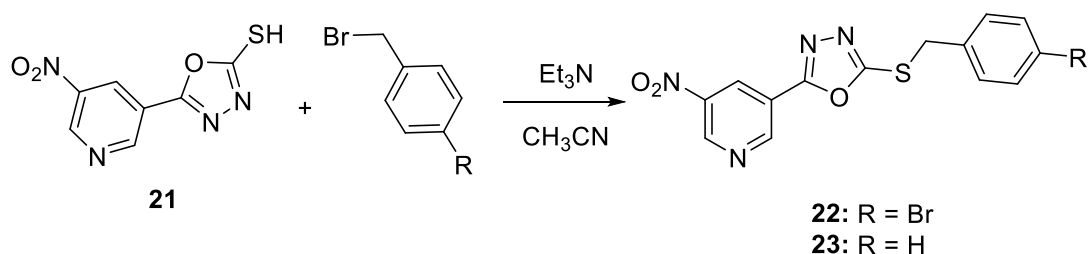


Schéma 13: Příprava finálních 1,3,4-oxadiazolů 22, 23 alkylační reakcí

22: 2-[(4-brombenzyl)sulfanyl]-5-(5-nitropyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: hnědá látka

Molární hmotnost: 393,215 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,351 g

NMR spektrum odhalilo přítomnost směsi o více látkách.

23: 2-(benzylsulfanyl)-5-(5-nitropyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazol

Vzhled: hnědá látka

Molární hmotnost: 314,319 g/mol

Teoretický výtěžek: 0,280 g

Nebylo přistoupeno k čištění produktu a jeho charakterizaci.

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Příprava nitroheteroaromátů v této práci

V rámci této práce jsme se pokusili připravit nové antituberkuloticky účinné látky obsahující ve své struktuře 5-nitrofurylovou nebo 5-nitropyridinylovou skupinu. Vycházeli jsme z dříve objevených antituberkuloticky účinných 3,5-dinitrofenyl-substituovaných látek, které vykazaly velmi dobrou antimykobakteriální účinnost, a u kterých jsme zaměnili právě klíčovou 3,5-dinitrofenylovou skupinu.³⁵ Veškeré reakce vycházely z obecného kaskádovitého postupu 4 reakcí ověřeného v rámci dřívějšího výzkumu na KOBCH:

1. Přeměna substituované výchozí karboxylové kyseliny na její ester.
2. Přeměna esteru kyseliny na její hydrazid.
3. Přeměna hydrazidu na substituovaný 1,3,4-oxadiazol-2-thiol.
4. Závěrečná alkylace sulfanylové skupiny alkylačním činidlem a získání finálních látek.

Byly připraveny celkem 4 série látek (I–IV). Série I a II jsou založeny na substituovaných oxadiazolech obsahujících 5-nitrofurylovou skupinu vždy v počtu 4 finální látky v sérii. Série III je založena na substituovaných tetrazolech obsahujících 5-nitrofurylový zbytek v počtu 4 finální látky. Série IV nebyla dokončena, nepodařilo se připravit požadované substituované oxadiazoly obsahující 5-nitropyridinylovou skupinu. Jednotlivé finální látky v každé sérii se liší ve své substituci na benzenovém jádře v poloze 4 – byl vybrán nesubstituovaný derivát a dále se substitucí methoxy skupinou, chlorem a bromem. Výběr byl proveden na základě předchozích studií a dříve připravených sérií, aby bylo možné přímé srovnání antimykobakteriálního účinku finálních látek této práce s již v minulosti připravenými látkami na KOBCH.

7.2 Odlišnosti od obecných reakčních postupů u jednotlivých sérií

7.2.1 Série I a III

U série I a III bylo cílem ověřit antimykobakteriální účinnost 5-nitrofurylové skupiny, která nahradila 3,5-dinitrofenylovou, vázané na dvou základních heterocyklech (substituované 1,3,4-oxadiazoly a tetrazoly).

7.2.2 Série II

V rámci série II jsme připravili reverzní deriváty finálních látek ze série I a ověřili jejich antimykobakteriální účinnost. Výchozí kyselina 5-nitrofuran-2-karboxylová je dle výsledků práce náchylnější k rozkladu, a proto byly některé reakční postupy odlišné.

Při uplatnění postupu syntézy hydrazidu ze série I (kapitola 6.2.1.1, reakce II., **2**) došlo po přidání 5 eq. hydrazin-hydrátu k rozkladu produktů reakce. Empiricky se jako vhodné množství jeví 2 eq. hydrazin-hydrátu (kapitola 6.2.1.2, reakce II., **9**). Jako nevhodné se ukázalo zahřívání reakční směsi, resp. následné zpracování nevykrytalizovaného produktu za využití vakuové rotační odparky. Dalším problémem byla částečná rozpustnost hydrazidu ve vodě. Po proběhnutí reakce za chlazení v ledu byl proto hydrazid ponechán k vykrytalizování v mrazáku a následně odfiltrován na Büchnerově nálevce.

Při následné reakci, přípravě 1,3,4-oxadiazol-2-thiolu z hydrazidu (kapitola 6.2.1.2, reakce III., **10**), bylo rovněž použito chlazení v ledu při přidávání roztoku KOH z obavy o jeho rozkladný účinek na nitrofurán.

7.2.3 Série IV

U série IV bylo snahou zaměnit 5-nitrofuran za strukturně podobný 5-nitropyridin. Byl uplatněn postup reakcí ze série II, avšak závěrečná alkylační reakce z neznámého důvodu neproběhla očekávaným způsobem (kapitola 6.3.1, reakce IV., **22**) – po přečištění na sloupcové chromatografii, za využití silikagelu jako stacionární fáze a směsi hexan:ethyl-acetát v poměru 7:1 jako mobilní fáze, byly získány dvě hlavní frakce, avšak ani jedna z nich finální látku dle výsledků NMR spektra neobsahovala. Z tohoto důvodu nebyla ani látka **23** čištěna na sloupcové chromatografii a zbývající dvě látky k dokončení série IV již nebyly vůbec připraveny. Problémem při snaze o zpracování meziproductů v rámci této série byla také vysoká rozpustnost hydrazidu **20** ve vodě.

7.3 Výsledky antimykobakteriální účinnosti *in vitro*

Všechny finální látky v rámci sérií I–III byly odeslány na specializované pracoviště (Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě) k testování jejich antimykobakteriální aktivity *in vitro*. Byly využity 3 kmeny mykobakterií: *M. tuberculosis* a netuberkulózní kmeny *M. avium* a *M. kansasii*. Pro představu efektivity klasických antituberkulotik Tabulka 2 zachycuje účinnost standardně používaných anti-TB léčiv I. linie. Tabulky 3, 4 a 6 ukazují výsledky jednotlivých finálních látek ze sérií I–III zároveň s výsledky

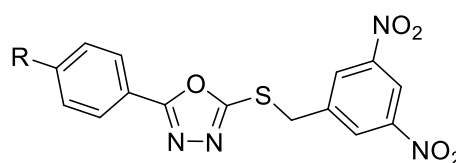
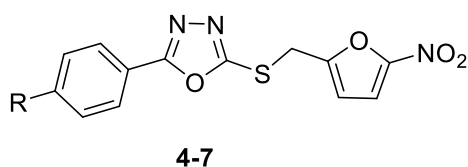
antimykobakteriální aktivity u jednotlivých předlohových látek. Tabulky 5 a 7 ukazují výsledky dalších podobných látek z předchozího výzkumu na KOBCH (kapitola 4.4).

Antimykobakteriální aktivita je u všech látek vyhodnocena jako minimální inhibiční koncentrace (MIC) v $\mu\text{mol.l}^{-1}$. Tato hodnota udává nejnižší koncentraci testované látky v $\mu\text{mol.l}^{-1}$, která způsobuje inhibici růstu mykobakterií. Hodnoty MIC, pokud není uvedeno jinak, byly zjišťovány po 14 a 21 dnech měření u *M. tuberculosis*, *M. avium* a po 7, 14 a 21 dnech u *M. kansasii*.

Tabulka 2: Antimykobakteriální aktivita anti-TB léčiv I. linie (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$)

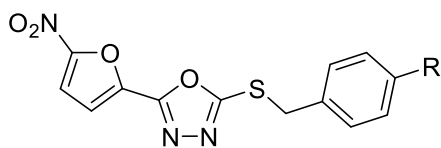
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>
rifampicin	0,25 (14 dnů) ^{39, 47}	31 (14 dnů) ^{39, 47}	0,125 (14 dnů) ^{39, 47}
isoniazid	0,5 / 1 (14 / 21 dnů) ^{35, 47}	>250 / >250 (14 / 21 dnů) ^{35, 47}	4 / 4 / 4 (7 / 14 / 21 dnů) ^{35, 47}
ethambutol	7,8 (7 dnů) ⁴²	–	–

Tabulka 3: Antimykobakteriální aktivita finálních látek 4–7 ze série I a srovnání s předlohovými 3,5-dinitrobenzylsulfanylovými deriváty (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$)³⁵

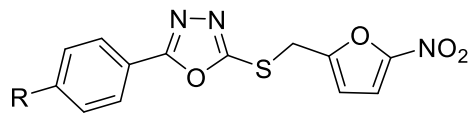


	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>		<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>
	14 / 21 dnů	14 / 21 dnů	7 / 14 / 21 dnů		14 / 21 dnů	14 / 21 dnů	7 / 14 / 21 dnů
4 (R = H)	16 / 32	32 / 62	32 / >32 / >32	R = H	0,06 / 0,06	16 / 32	1 / 1 / 2
5 (R = OCH ₃)	>32 / >32	64 / 64	>32 / >32 / >32	R = OCH ₃	0,125 / 0,125	16 / 32	0,125 / 0,25 / 0,25
6 (R = Cl)	16 / 32	>32 / >32	>32 / >32 / >32	R = Cl	0,125 / 0,125	>125 / >125	0,125 / 0,25 / 0,25
7 (R = Br)	8 / 16	16 / 32	16 / 16 / 32	R = Br	0,125 / 0,125	250 / 250	0,125 / 0,25 / 0,25

Tabulka 4: Antimykobakteriální aktivita finálních látek 11–14 ze série II a srovnání s předlohovými látkami 4-7 ze série I (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$)



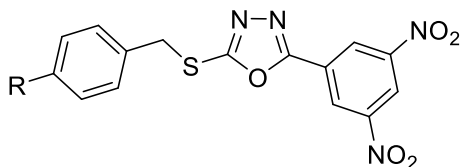
11-14



4-7

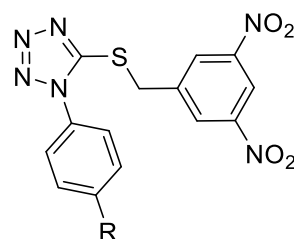
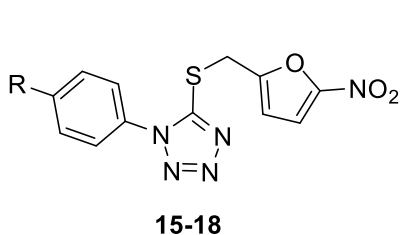
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>		<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>
	14 / 21 dnů	14 / 21 dnů	7 / 14 / 21 dnů		14 / 21 dnů	14 / 21 dnů	7 / 14 / 21 dnů
11 (R = H)	1 / 2	16 / 32	1 / 1 / 2	4 (R = H)	16 / 32	32 / 62	32 / >32 / >32
12 (R = Br)	1 / 1	32 / 32	2 / 2 / 4	7 (R = Br)	>32 / >32	64 / 64	>32 / >32 / >32
13 (R = OCH ₃)	1 / 1	32 / 32	1 / 1 / 2	5 (R = OCH ₃)	16 / 32	>32 / >32	>32 / >32 / >32
14 (R = Cl)	2 / 4	1000 / >1000	2 / 2 / 4	6 (R = Cl)	8 / 16	16 / 32	16 / 16 / 32

Tabulka 5: Antimykobakteriální aktivita původních reverzních 1,3,4-oxadiazolů (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$)³⁷



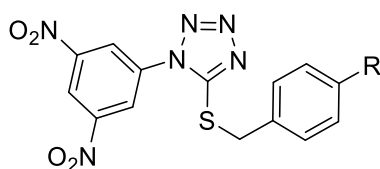
	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>
	14 dnů	14 dnů	14 dnů
R = H	0,5	4	0,5
R = Cl	0,03	–	0,06
R = OCH ₃	0,03	4	0,125
R = Br	0,03	125	0,03

Tabulka 6: Antimykobakteriální aktivita finálních látek 15–18 ze série III a srovnání s předlohovými 3,5-dinitrobenzylsulfanylovými deriváty (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$)³⁸



	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>		<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>
	14 / 21 dnů	14 / 21 dnů	7 / 14 / 21 dnů		14 / 21 dnů	14 / 21 dnů	7 / 14 / 21 dnů
15 (R = H)	>32 / >32	500 / 500	>32 / >32 / >32	R = H	4 / 4	62 / 62	2 / 4 / 16
16 (R = Cl)	8 / 16	125 / 250	32 / 64 / 125	R = Cl	1 / 2	125 / 125	2 / 4 / 4
17 (R = Br)	16 / 32	125 / 125	32 / 64 / 125	R = Br	1 / 1	125 / 125	1 / 2 / 2
18 (R = OCH ₃)	8 / 16	64 / 125	32 / 64 / 125	R = OCH ₃	2 / 4	16 / 32	1 / 4 / 4

Tabulka 7: Antimykobakteriální aktivita původních reverzních tetrazolů (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$)³⁷



	<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. avium</i>	<i>M. kansasii</i>
	14 dnů	14 dnů	14 dnů
R = H	0,5	4	2
R = Cl	0,5	8	2

Ze sérií I–III, ve kterých byla u finálních látek změřena jejich antimykobakteriální aktivita, nejvyšší účinnost vykazuje série II (Tabulka 4 vlevo). Všechny látky v této sérii mají podobnou aktivitu proti kmenu *M. tuberculosis* a netuberkulóznímu kmenu *M. kansasii* v řádech 1–4 $\mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Tuto aktivitu lze označit za velmi dobrou. V porovnání se současně používanými léčivy v terapii TB v I. linii (Tabulka 2) nebo předlohovými látkami této práce (Tabulky 3 vpravo, 5, 6 vpravo, 7) však látky ze sérií I–III nepřekračují jejich antimykobakteriální aktivitu nebo se jí pouze přibližují. U série I nejnižší MIC vykazuje látka **7**, substituovaná na benzenovém jádře v poloze 4 atomem bromu. U série II a III se jeví jako nejúčinnější substituent na benzenovém jádře v poloze 4 methoxy skupina, látky **13** a **18**. Dle výsledků předchozích studií naší výzkumné skupiny lze usoudit, že substituent na benzenovém jádře nemá významný vliv na antimykobakteriální aktivitu, ale ovlivňuje spíše fyzikálně-chemické vlastnosti molekuly, především lipofilitu.³⁵

8 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo navázat na předchozí úspěšný objev vysoce antituberkuloticky účinných látek, 1,5- a 2,5-disubstituovaných tetrazolů a 2,5-disubstituovaných oxadiazolů obsahujících 3,5-dinitrobenzylsulfanylovou skupinu, které byly připraveny na Katedře organické a biorganické chemie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy. V této práci byla 3,5-dinitrofenylová skupina nahrazena 5-nitrofurylovou, resp. 5-nitropyridin-3-ylou, které byly navázány na vybrané 1,3,4-oxadiazoly a tetrazoly. Úspěšně byly připraveny celkem 3 série látek (I–III), sérii IV se nepodařilo dokončit.

Nejprve byla připravena série I, 2-substituované 5-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1,3,4-oxadiazoly. Připravené 4 finální látky vykázaly antimykobakteriální účinnost vyjádřenou v MIC 8–64 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (Tabulka 3 vlevo).

Dále byla připravena série II, 2-alkylsulfanyl 5-(5-nitrofuran-2-yl)-1,3,4-oxadiazoly, které obsahují 5-nitrofurylovou skupinu zrcadlově navázanou na základní HET. Připravené 4 finální látky vykázaly antimykobakteriální účinnost vyjádřenou v MIC 1–32 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (Tabulka 4 vlevo). Tyto látky mají nejvyšší anti-TB účinnost ze všech připravených finálních látek v této práci.

Následně byla připravena série III, 1-substituované 5-[(5-nitrofuran-2-yl)methylsulfanyl]-1*H*-tetrazoly. Připravené 4 finální látky vykázaly antimykobakteriální účinnost vyjádřenou v MIC 8–500 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (Tabulka 6 vlevo). Tyto látky mají nejnižší anti-TB účinnost ze všech připravených finálních látek v této práci.

Nakonec jsme se pokusili připravit sérii IV, 2-alkylsulfanyl 5-(5-nitropyridin-3-yl)-1,3,4-oxadiazoly. Připravené 2 finální látky však dle výsledků NMR neobsahují požadované produkty, a proto série nebyla dokončena.

Většina připravených látek v této práci nepřevyšuje účinnost léčiv používaných v I. linii (Tabulka 2), resp. předlohových látek této práce (Tabulky 3 vpravo, 5, 6 vpravo, 7). Nicméně produkty **11–14** ze série II se svou účinností blíží standardně používaným antituberkulotikům a jejich účinnost lze tedy považovat za velmi dobrou.

9 SEZNAM SCHÉMAT, OBRÁZKŮ A TABULEK

9.1 Seznam schémat

Schéma 1: Esterifikace výchozí karboxylové kyseliny za vzniku esteru 1.....	26
Schéma 2: Příprava hydrazidu 2 z esteru 1	26
Schéma 3: Příprava substituovaného 1,3,4-oxadiazolu 3 z hydrazidu 2	27
Schéma 4: Příprava finálních 1,3,4-oxadiazolů 4–7 alkylační reakcí	28
Schéma 5: Esterifikace výchozí karboxylové kyseliny za vzniku esteru 8.....	30
Schéma 6: Příprava hydrazidu 9 z esteru 8	31
Schéma 7: Příprava substituovaného 1,3,4-oxadiazolu 10 z hydrazidu 9	32
Schéma 8: Příprava finálních 1,3,4-oxadiazolů 11–14 alkylační reakcí	32
Schéma 9: Příprava finálních tetrazolů 15–18 alkylační reakcí	35
Schéma 10: Esterifikace výchozí karboxylové kyseliny za vzniku esteru 19.....	37
Schéma 11: Příprava hydrazidu 20 z esteru 19	37
Schéma 12: Příprava substituovaného 1,3,4-oxadiazolu 21 z hydrazidu 20	38
Schéma 13: Příprava finálních 1,3,4-oxadiazolů 22, 23 alkylační reakcí	39

9.2 Seznam obrázků

Obrázek 1: Isoniazid	12
Obrázek 2: Rifampicin	12
Obrázek 3: Ethambutol.....	13
Obrázek 4: Pyrazinamid.....	13
Obrázek 5: Levofloxacin.....	14
Obrázek 6: Moxifloxacin.....	14
Obrázek 7: Linezolid	14
Obrázek 8: Cykloserin.....	14
Obrázek 9: Amikacin.....	15
Obrázek 10: Streptomycin.....	15
Obrázek 11: Bedachilin.....	15
Obrázek 12: Delamanid	16
Obrázek 13: Pretomanid	16

Obrázek 14: BTZ-043.....	17
Obrázek 15: PBTZ-169.....	17
Obrázek 16: SQ109.....	17
Obrázek 17: OPC-167832.....	18
Obrázek 18: Telacebec (Q203).....	18
Obrázek 19: 5-substituované 2-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-1,3,4-oxadiazoly a 1,3,4-thiadiazoly (X = O, S; R = alkyl, aryl).....	19
Obrázek 20: Reverzní deriváty původních 1,3,4-oxadiazolů (X = NO ₂ , CF ₃ ; R = alkyl, aryl).....	20
Obrázek 21: 1-substituované 1H-tetrazoly (X = S, O, Se, SO, SO ₂ ; R = alkyl, aryl).....	20
Obrázek 22: Reverzní deriváty původních 1H-tetrazolů (R = alkyl, aryl).....	21
Obrázek 23: Příklady skupin antimykobakteriálně účinných látek obsahujících ve své struktuře 5-nitrofuranylovou skupinu a jejich MIC proti M. tuberculosis.....	22
Obrázek 24: Záměna 3,5-dinitrofenylové skupiny u předlohových 1,3,4-oxadiazolů za 5-nitrofuranylovou v sérii I.....	23
Obrázek 25: Příprava reverzních 1,3,4-oxadiazolů v sérii II odvozených od finálních látek v sérii I.....	23
Obrázek 26: Záměna 3,5-dinitrofenylové skupiny u předlohových tetrazolů za 5-nitrofuranylovou v sérii III.....	24
Obrázek 27: Záměna 3,5-dinitrofenylové skupiny u předlohových 1,3,4-oxadiazolů za 5-nitropyridin-3-ylou v sérii IV.....	24

9.3 Seznam tabulek

Tabulka 1: Antituberkulotika II. linie dle zásad WHO (2020) ⁵	11
Tabulka 2: Antimykobakteriální aktivita anti-TB léčiv I. linie (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$).....	42
Tabulka 3: Antimykobakteriální aktivita finálních látek 4–7 ze série I a srovnání s předlohovými 3,5-dinitrobenzylsulfanylovými deriváty (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$) ³⁵	42
Tabulka 4: Antimykobakteriální aktivita finálních látek 11–14 ze série II a srovnání s předlohovými látkami 4-7 ze série I (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$).....	43
Tabulka 5: Antimykobakteriální aktivita původních reverzních 1,3,4-oxadiazolů (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$) ³⁷	43
Tabulka 6: Antimykobakteriální aktivita finálních látek 15–18 ze série III a srovnání s předlohovými 3,5-dinitrobenzylsulfanylovými deriváty (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$) ³⁸	44
Tabulka 7: Antimykobakteriální aktivita původních reverzních tetrazolů (uvedeny hodnoty MIC v $\mu\text{mol.l}^{-1}$) ³⁷	44

10 POUŽITÁ LITERATURA

- 1 Tuberculosis. *World Health Organization* [online]. c2021 [cit. 9.1.2021]. Dostupné z: www.who.int/health-topics/tuberculosis#tab=tab_1
- 2 Tuberculosis. *World Health Organization* [online]. c2020 [cit. 9.1.2021]. Dostupné z: www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis
- 3 Tuberculosis. *Healthline: Medical information and health advice you can trust* [online]. c2018 [cit. 9.1.2021]. Dostupné z: www.healthline.com/health/tuberculosis#symptoms
- 4 SUARÉZ, I.; FÜNGER, S. M. et al. The Diagnosis and Treatment of Tuberculosis. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2019, **116**(43), 729-735. DOI: 10.3238/arztebl.2019.0729
- 5 *WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment – drug-resistant tuberculosis treatment*. Geneva: WHO. 2020, 27-28. ISBN 978-92-4-000704-8.
- 6 Fact Sheet, Extensively Drug-Resistant Tuberculosis (XDR TB). *Centers for Disease Control and Prevention* [online]. c2016 [cit. 9.1.2021]. Dostupné z: www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/drtb/xdrtb.htm
- 7 Isoniazid. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00951>
- 8 Isoniazid. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 112-116. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70011-8
- 9 Rifampicin. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01045>
- 10 Rifampin. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 151-154. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70024-6
- 11 Ethambutol. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00330>
- 12 Ethambutol. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 102-105. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70008-8
- 13 Pyrazinamide. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00339>
- 14 Pyrazinamide. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 141-144. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70021-0
- 15 Levofloxacin. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 119-121. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70013-1
- 16 Moxifloxacin. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 127-131. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70016-7
- 17 Linezolid. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00601>
- 18 Linezolid. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 122-125. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70014-3
- 19 Cycloserine. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00260>

- 20 Cycloserine. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 100-101. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)7007-6
- 21 Amikacin. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00479>
- 22 Amikacin. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 87-88. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70003-9
- 23 Streptomycin. *Tuberculosis*. 2008, **88**(2), 162-163. DOI: 10.1016/S1472-9792(08)70027-1
- 24 Bedaquiline. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB08903>
- 25 *Souhrn údajů o přípravku: Sirturo 100MG TBL NOB 24* [online]. c2019 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0209090&tab=texts
- 26 Delamanid. *DrugBank Online* [online]. c2021 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB11637>
- 27 *Souhrn údajů o přípravku: Deltyba 50MG TBL FLM 48* [online]. c2020 [cit. 10.1.2021]. Dostupné z: www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0210404&tab=texts
- 28 *Souhrn údajů o přípravku: Dovprela 200MG TBL NOB 182* [online]. c2020 [cit. 31.1.2021]. Dostupné z: www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0249857&tab=texts
- 29 Macozinone (MCZ, PBTZ-169). *Working Group for New TB Drugs* [online]. c2018 [cit. 31.1.2021]. Dostupné z: www.newtbdrugs.org/pipeline/compound/macozinone-mcz-pbtz-169-0
- 30 BTZ-043. *Working Group for New TB Drugs* [online]. c2020 [cit. 31.1.2021]. Dostupné z: www.newtbdrugs.org/pipeline/compound/btz-043
- 31 SQ109. *Working Group for New TB Drugs* [online]. c2018 [cit. 31.1.2021]. Dostupné z: www.newtbdrugs.org/pipeline/compound/sq109
- 32 SACKSTEDER, A. K.; PROTOPOPOVA, M. et al. Discovery and development of SQ109: a new antitubercular drug with a novel mechanism of action. *Future Microbiology*. 2012, **7**(7), 823-837. DOI: 10.2217/fmb.12.56
- 33 OPC-167832. *Working Group for New TB Drugs* [online]. c2020 [cit. 31.1.2021]. Dostupné z: www.newtbdrugs.org/pipeline/compound/opc-167832
- 34 Telacebec (Q203). *Working Group for New TB Drugs* [online]. c2020 [cit. 31.1.2021]. Dostupné z: www.newtbdrugs.org/pipeline/compound/telacebec-q203
- 35 KARABANOVICH, G.; ZEMANOVÁ, J. et al. Development of 3,5-Dinitrobenzylsulfanyl-1,3,4-oxadiazoles and Thiadiazoles as Selective Antitubercular Agents Active Against Replicating and Nonreplicating Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016, **59**(6), 2362-2380. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00608
- 36 KARABANOVICH, G.; ROH, J. et al. Tetrazole regioisomers in the development of nitro group-containing antitubercular agents. *Medicinal Chemistry Communications*. 2015, **6**, 174-181. DOI: 10.1039/c4md00301b

- 37 KARABANOVICH, G.; NĚMEČEK, J. et al. S-substituted 3,5-dinitrophenyl 1,3,4-oxadiazole-2-thiols and tetrazole-5-thiols as highly efficient antitubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017, **126**, 369-383. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.11.041
- 38 KARABANOVICH, G.; ROH, J. et al. 1-Substituted-5-[(3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl]-1H-tetrazoles and their isosteric analogs: A new class of selective antitubercular agents active against drug-susceptible and multidrug-resistant mycobacteria. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014, **82**, 324-340. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.05.069
- 39 NĚMEČEK, J.; SYCHRA P. et al. Structure-activity relationship studies on 3,5-dinitrophenyl tetrazoles as antitubercular agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017, **130**, 419-432. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.02.058
- 40 YEMPALLA, K. R.; MUNAGALA G. et al. Nitrofuranyl Methyl Piperazines as New Anti-TB Agents: Identification, Validation, Medicinal Chemistry, and PK Studies. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2015, **6**(10), 1041-1046. DOI: 10.1021/acsmedchemlett.5b00141
- 41 RAKESH; BRUHN, D. et al. Antitubercular nitrofuranyl isoxazolines with improved pharmacokinetic properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2012, **20**(20), 6063-6072. DOI: 10.1016/j.bmc.2012.08.023
- 42 RAKESH; BRUHN, D. et al. Pentacyclic Nitrofurans with *In Vivo* Efficacy and Activity against Nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*. *PLOS One*. 2014, **9**(2), e87909. DOI: 10.1371/journal.pone.0087909
- 43 BUDHA, N. R.; MEHROTRA, N. et al. Pharmacokinetically-Guided Lead Optimization of Nitrofuranyl amide Anti-Tuberculosis Agents. *The AAPS Journal*. 2008, **10**(1), 157-165. DOI: 10.1208/s12248-008-9017-8
- 44 DEEPAK, S.; RAKSHIT, A.; RITU, V. Microwave assisted synthesis and evaluation of some substituted 1,3,4-oxadiazoles as free radical scavenger. *Hindawi Publishing Corporation Organic Chemistry International*. 2014, **95**(6), 661-666. DOI: 10.1155/2014/694060
- 45 DA COSTA, C. F.; DE SOUZA, M. V. N. et al. Synthesis and SAR study of simple aryl oximes and nitrofuranyl derivatives with potent activity against *Mycobacterium tuberculosis*. *Letters in drug design and Discovery*. 2020, **17**(1), 12-20. DOI: 10.2174/1570180816666181227115738
- 46 PERVEZ, A.; HYUNJUNG, W. et al. Design, synthesis, topoisomerase I & II inhibitory activity, antiproliferative activity, and structure-activity relationship study of pyrazoline derivatives: An ATP-competitive human topoisomerase II α catalytic inhibitor. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2016, **24**(8), 1898-1908. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.03.017
- 47 ROH, J.; KARABANOVICH, G. et al. Development of water-soluble 3,5-dinitrophenyl tetrazole and oxadiazole antitubercular agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2017, **25**(20), 5468-5476. DOI: 10.1016/j.bmc.2017.08.010