

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra organické a biorganické chemie

Diplomová práce

SYNTÉZA SUBSTITUOVANÝCH ARYLGUANIDINŮ JAKO
POTENCIONÁLNÍCH LÉČIV XIII.

SYNTHESIS OF SUBSTITUTED ARYLGUANIDINES AS POTENTIAL
DRUGS XIII.

Vedoucí katedry: prof. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc.

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Karel Palát, CSc.

2018

Ondřej Straka

Čestné prohlášení:

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 řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové

Ondřej Straka

Dne 9.5.2018

Podpis.....

Poděkování

Tímto krátkým textem bych chtěl poděkovat vedoucímu diplomové práce PharmDr. Karlu Palátovi, CSc. za ochotu, trpělivost, vstřícnost a vedení při vypracování diplomové práce. Dále bych rád poděkoval doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. za pečlivé měření NMR spekter látek, PharmDr. Marcelovi Špulákovi za změření hmotnostních spekter a Ivě Vencové za měření IČ spekter.

Poděkování také patří RNDr. Kláře Konečné, Ph.D., PharmDr. Ondřeji Jand'ourkovi, Ph.D. a Idě Dufkové za provedení mikrobiologických testů a v neposlední řadě MUDr. Pavlovi Nožičkovi za korekci textu.

Obsah

Abstrakt	6
Abstract	7
1. Úvod a cíle diplomové práce	8
2. Nejnovější poznatky o biologické aktivitě guanidinů	11
2.1. Antimykotická, antibakteriální a antivirotická účinnost guanidinů.....	11
2.2. Guanidiny a léčba rakoviny	15
2.3. Guanidiny a jejich možná role v léčbě psychiatrických onemocnění.....	17
2.4. Léčba diabetického makulárního edému pomocí guanidinů	20
3. Metodická část	21
3.1. Chemická část.....	21
3.1.1. Příprava sulfidů.....	21
3.1.2. Redukce nitrosloučenin.....	23
3.1.3. Příprava amonium chloridů.....	24
3.1.4. Příprava arylguanidinů	25
3.1.5. Celkové schéma syntézy.....	28
3.2. Mikrobiologická část.....	30
4. Experimentální část.....	31
4.1. Syntéza	31
4.1.1. Příprava aktivní mědi	32
4.1.2. Příprava decyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfidu.....	33
4.1.3. Příprava 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinu	34
4.1.4. Příprava 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinium-chloridu.....	35
4.1.5. Příprava 2-[5-methyl-2-(decylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu.....	36
4.1.6. Příprava undecyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfidu.....	37
4.1.7. Příprava 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinu	38
4.1.8. Příprava 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinium-chloridu	39
4.1.9. Příprava 2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu.....	40
4.1.10. Příprava 1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinu	41
4.1.11. Příprava tetradecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfidu	42
4.1.12. Příprava 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinu	43
4.1.13. Příprava 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinium-chloridu	44
4.1.14. Příprava 2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu.....	45
4.1.15. Příprava 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]-guanidinium-nitrátu.....	46
4.1.16. Příprava dodecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfidu	47
4.1.17. Příprava 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinu.....	48

4.1.18.	Příprava 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinium-chloridu	49
4.1.19.	Příprava 2-[3-trifluormethyl -4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu	50
4.1.20.	Příprava 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl -4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu.....	51
4.2.	Mikrobiologická část.....	52
4.2.1.	Antifungální aktivita	53
4.2.2.	Antibakteriální aktivita	54
4.3.	Přehled nově popsaných látek	55
5.	Diskuze	56
6.	Citovaná literatura.....	58
7.	Přílohy.....	Chyba! Záložka není definována.

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra organické a bioorganické chemie

Autor: Ondřej Straka

Vedoucí diplomové práce: PharmDr. Karel Palát, CSc.

Název diplomové práce: Syntéza substituovaných arylguanidinů jako potenciálních léčiv XIII.

Stále vzrůstající počet bakteriálních kmenů rezistentních na současně používaná antibiotika zesiluje poptávku na nové struktury s antibakteriální aktivitou. Stejně tak vysoká mortalita imunokompromitovaných jedinců způsobená patogenními houbami vyžaduje syntézu nových léčiv s antifungální aktivitou.

Na katedře organické a bioorganické chemie Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy probíhá dlouholetý výzkum arylguanidinů s potencionální antifungální a antibakteriální aktivitou, na který bylo touto prací navázáno.

V rámci diplomové práce byly syntetizovány dvě řady derivátů arylguanidinů, celkově sedm látek ve čtyřkrokové syntéze. V prvním kroku byl vytvořen sulfid reakcí substituovaného chlornitrobenzenu a thiolu. Nitroskupina byla v následujícím kroku redukována na aminoskupinu. Vytvořený anilin byl převeden na anilinium-chlorid pomocí plynného chlorovodíku. V posledním kroku syntézy reagoval anilinium-chlorid s kyanamidem za vzniku arylguanidinu.

U syntetizovaných látek byly provedeny testy antifungální a antibakteriální aktivity na katedře biologických a lékařských věd Farmaceutické fakulty Univerzity Karlovy.

Abstract

Charles university

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Organic and Bioorganic Chemistry

Author: Ondřej Straka

Supervisor: PharmDr. Karel Palát, CSc

Title of diploma thesis: Synthesis of substituted arylguanidines as potential drugs XIII.

The ever increasing number of bacterial strains resistant to the currently used antibiotics intensifies the demand for new structures with antibacterial activity. Similarly, the high mortality of immunocompromised individuals caused by pathogenic fungi requires the synthesis of new drugs with antifungal activity.

At the Department of Organic and Bioorganic Chemistry, the Faculty of Pharmacy, Charles University has been studying for many years with the potential antifungal and antibacterial activity of arylguanidins, which has been linked to this work.

Two series of derivatives of arylguanidines, totaling seven substances in four-step synthesis were synthesized in the thesis. In the first step, a sulfide was formed by the reaction of substituted chloronitrobenzene and thiol. The nitro group was reduced to the amino group in the next step. The aniline formed was converted to anilinium chloride using gaseous hydrogen chloride. At the last step of the synthesis, anilinium chloride reacted with cyanamide to form arylguanidine.

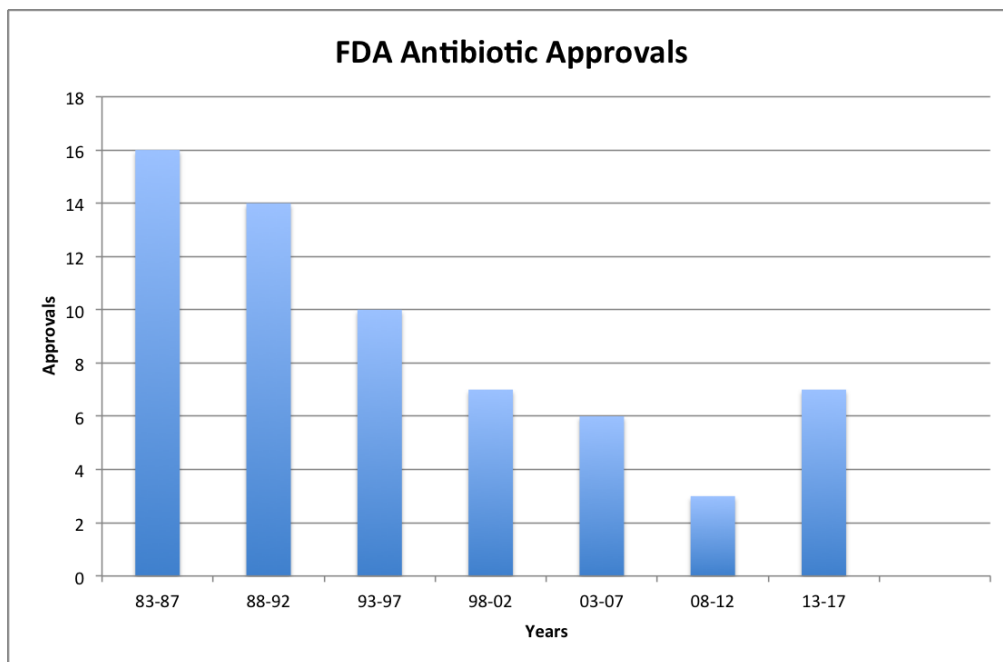
Antifungal and antibacterial tests were performed on the synthesized substances at the Department of Biological and Medical Sciences of the Faculty of Pharmacy, Charles University.

1. Úvod a cíle diplomové práce

Jeden ze zásadních problémů, se kterým se musí moderní medicína vypořádat je zvyšující se počet bakteriálních kmenů rezistentních na současně používaná antibiotika [1]. Mnoho desetiletí po prvním úspěšném terapeutickém použití antibiotik se bakteriální infekce znovu stávají hrozbou. Epidemiologické studie prokázaly přímý vztah mezi konzumací antibiotik a vznikem a šířením kmenů rezistentních bakterií [2]. Vzniká tedy potřeba racionalizovat užívání antibiotik a současně vyvinout nová antibiotika, které budou mít antibakteriální účinek na rezistentní kmeny.

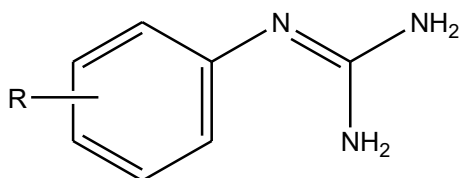
Vývoj nových antibiotik byla strategie, díky které se v minulosti podařilo účinně bojovat s rezistentními kmeny bakterií. Tento trend byl však téměř pozastaven kvůli ekonomickým a regulačním překážkám. Čtrnáct z osmnácti největších farmaceutických společností opustilo vývoj nových antibiotik [3] a fúze mezi farmaceutickými společnostmi také výrazně snížily počet a rozmanitost výzkumných týmů [4]. Vývoj antibiotik již není považován za ekonomicky výhodnou investici [3].

Analýza nákladů [5] vypočítala, že čistá současná hodnota nového antibiotika je pouze asi 50 milionů dolarů. Hodnota nového léčiva pro léčbu neuromuskulárních onemocnění byla vyčíslena přibližně na 1 miliardu dolarů. Mikrobiologové a specialisté na infekční onemocnění navíc doporučili omezení týkající se užívání antibiotik [4]. Po uvedení nového antibiotika lékaři často drží novou molekulu v rezervě a nadále předepisují starší látky, které prokázaly srovnatelnou účinnost. Nová antibiotika tedy často podávají jako léky poslední volby pro léčbu závažných onemocnění [6], což vede ke sníženému užívání nových antibiotik a snížení návratnosti investic. Obrázek 1 ukazuje počet antibiotik [7] schválených Americkým úřadem FDA k použití za posledních 35 let.



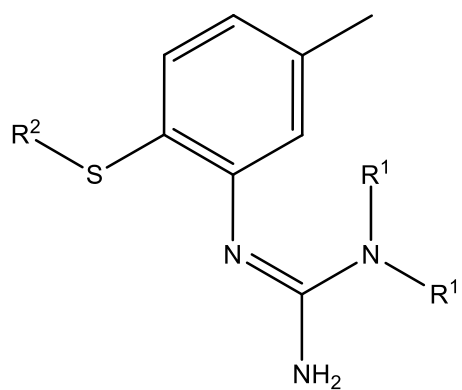
Dalším neopomenutelným problémem moderní medicíny je vzrůstající počet plísňových infekcí [8], zejména kandidózy a invazivní aspergilózy jsou častým problémem u imunokompromitovaných jedinců. Invazivní mykotické infekce jsou hlavní příčinou úmrtnosti související s HIV v celosvětovém měřítku a současně globální HIV pandemie je aktuálně hlavní příčinou mortality způsobené plísněmi [9]. Narůstající fungální onemocnění navyšuje poptávku po látkách s účinnou antifungální aktivitou.

Cílem diplomové práce bylo připravit nové doposud nepopsané deriváty fenyguanidinů a otestovat jejich antibakteriální a antifungální účinnost. Pro přehled je uveden obecný vzorec fenyguanidinů (I).



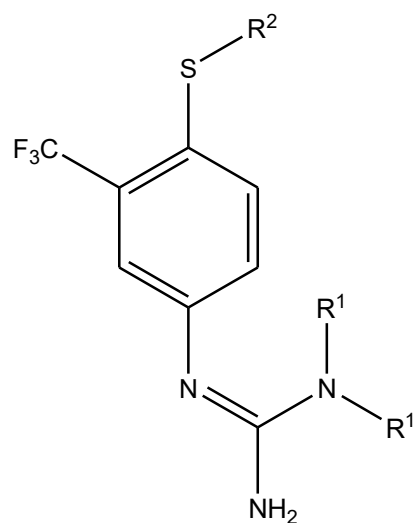
I

Při syntéze bylo navázáno na práci předchozích kolegů [10-12], byly syntetizovány látky spadající do dvou řad arylguanidinů (II) a (III).



R¹ = CH₃, -H
R² = (CH₂)₉CH₃, (CH₂)₁₀CH₃

II



R¹ = CH₃, -H
R² = (CH₂)₁₃CH₃, (CH₂)₁₁CH₃

III

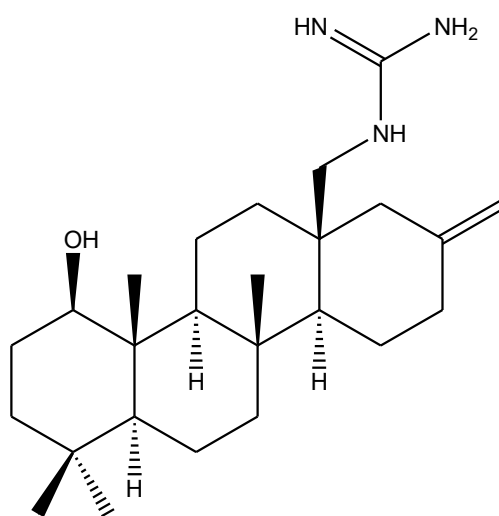
2. Nejnovější poznatky o biologické aktivitě guanidinů

Součástí diplomové práce bylo také shrnutí aktuálních poznatků o biologické aktivitě guanidinů. Data byla získávána z vědecké databáze Scifinder. Časové rozpětí rešerše bylo posledních 5 let, tedy roky 2013-2018 a jako výchozí jazyk byla zvolena angličtina.

Jako první klíčový termín bylo použito spojení „antifungal guanidine“. Byl nalezen jeden článek. Ke klíčovému termínu „fungicide guanidine“ vyhledávač Scifinderu nepřiradil žádný článek. Ani ke klíčovému spojení „guanidine fungi“ nebyl přiřazen žádný záznam. Jako další klíčový termín byl zvolen „antimicrobial guanidine“, bylo nalezeno 6 článků. Do vyhledávače byl jako další termín zadán „arylguanidine“ a bylo nalezeno 13 článků. Poslední termín, který byl zvolen byl „phenylguanidine“. Bylo nalezeno 47 článků. Z výsledků byly vybrány reference, které popisují biologickou aktivitu.

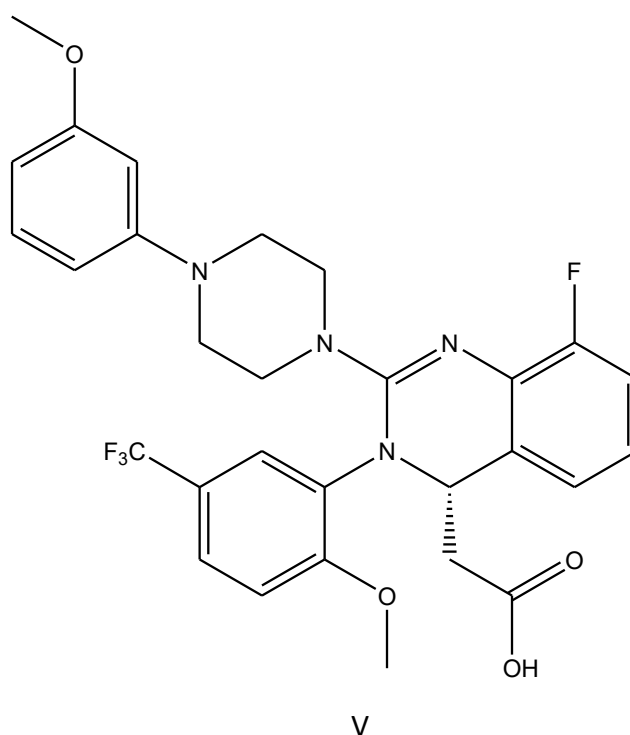
2.1. Antimykotická, antibakteriální a antivirotická účinnost guanidinů

Mezi biologicky aktivní přírodní látky s guanidinovou skupinou patří scytoscalarol. Scytoscalarol (IV) je přírodním seskviterpenem, který byl izolován z cyanobakterie *Scytonema sp.* [13]. Seskviterpeny vykazují cytotoxický účinek na lidské nádorové buňky a antimikrobiální aktivitu proti různým druhům mikroorganismů [14]. Scytoscalarol účinně inhibuje arabinosyltransferázu, díky čemuž je účinným v boji proti mykobakteriím [15]. U scytoscalarolu byla také prokázána antifungální účinnost [16].

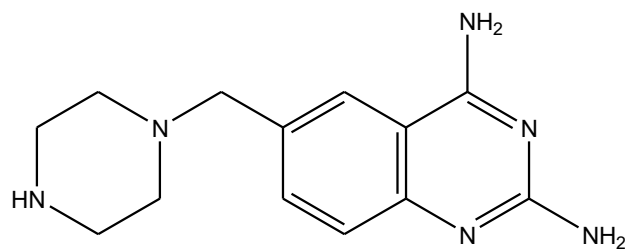


IV

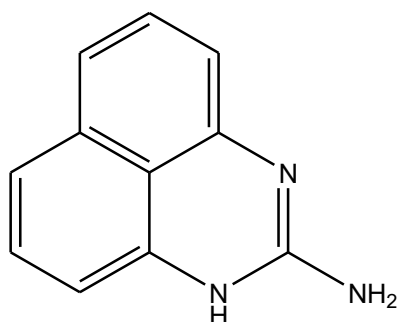
Neopomenutelným léčivem s guanidinovou skupinou zakomponovanou v heterocyklu je také letermovir (V), který se syntetizuje z arylguanidinu jako výchozí látky, což je moderně popsán způsob přípravy [17]. Letermovir je klinicky zkoušené antivirotikum pro léčbu lidského cytomegaloviru (HCMV) i pro profylaxi, současně je také testován pro své imunosupresivní vlastnosti. HCMV postihuje téměř 50 procent populace Spojených států a téměř 100 procent populace v rozvíjejících se zemích. Lidský cytomegalovirus způsobuje minimální morbiditu a primární infekce u zdravých jedinců zůstává asymptomatická. U imunokomprimovaných jedinců může být však infekce život ohrožující [18]. Například u jedinců po transplantaci hematopoetických kmenových buněk a bez profylaxe HCMV se onemocnění vyvíjí ve 20 až 35 procentech případů [19]. HCMV pneumonie, což je nejzávažnější projev nemoci, následně vede k úmrtnosti u 30-50 procent z této skupiny pacientů [20].



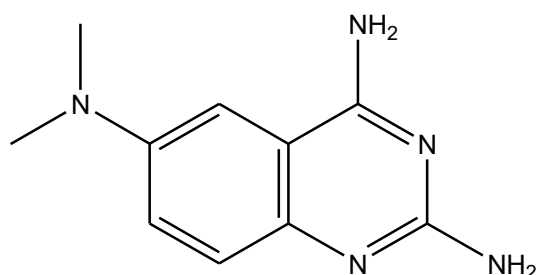
Další potencionální uplatnění cyklických guanidinů můžeme najít v léčbě HIV-1, přesněji guanidiny (VI), (VII) a (VIII) inhibují Tat-TAR spojení [21] [22]. Tat (Trans-Activator of Transcription) je malý základní protein, který drasticky zvyšuje účinnost virové transkripce [23]. Tat se váže na TAR (Trans-Activating Response element) umístěným na 5' konci narůstajících HIV-1 transkriptů, a tím zvyšuje produkci virové RNA.



VI

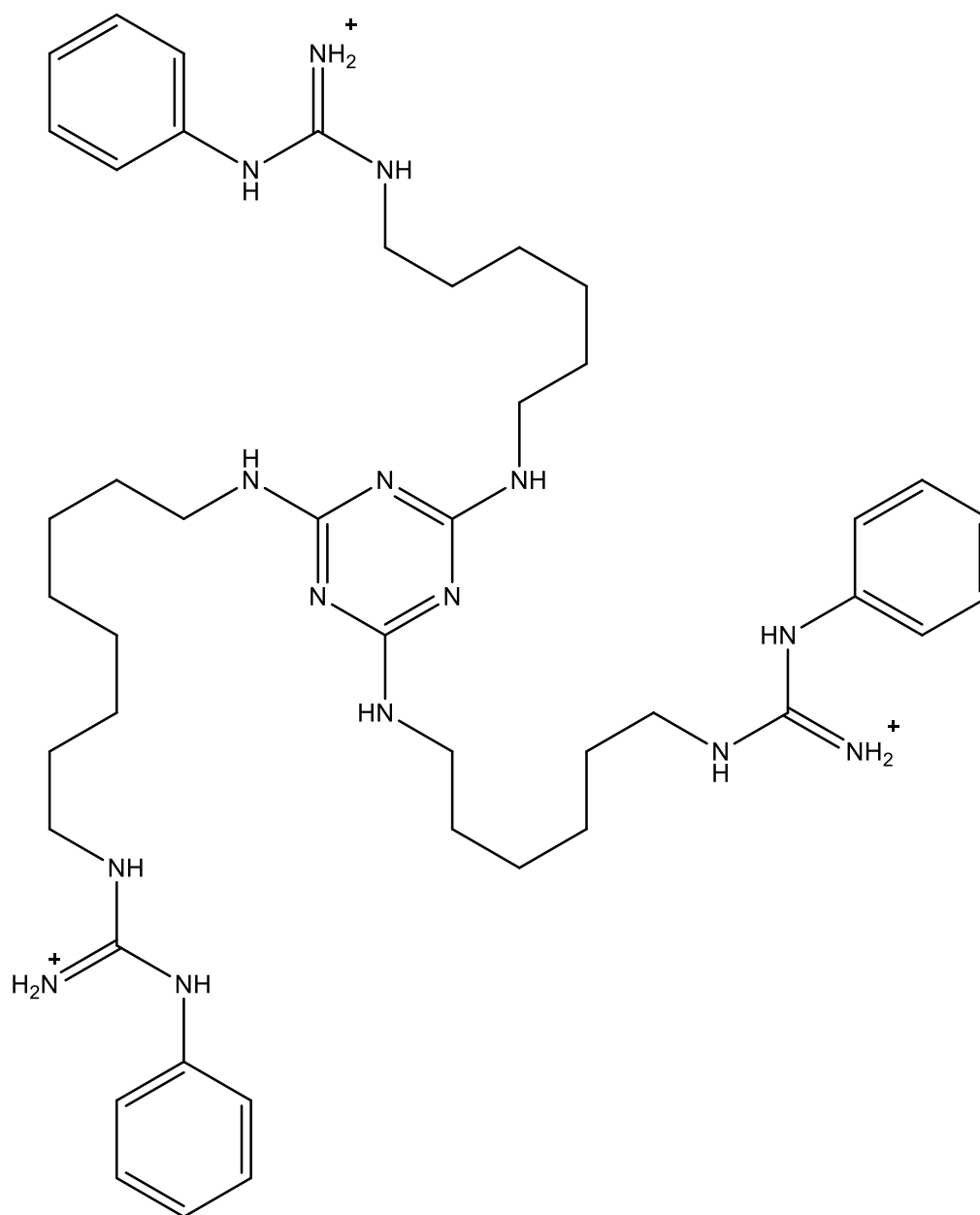


VII



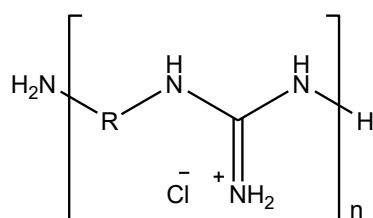
VIII

Nemálo důležitý je také objev [24] účinnosti fenylguanidinů proti methicilin rezistentnímu kmenu bakterie *Staphylococcus aureus* (MRSA). Na obrázku (IX) je demonstrována molekula THAM Trisphenylguanide, která měla z testovaných látek nejvyšší účinnost proti MRSA *in vitro*. Častější MRSA infekce tvoří velmi závažný problém nejen ve zdravotnických zařízeních. Postupem času se MRSA stal rezistentní vůči několika druhům antibiotik včetně betalaktamových, makrolidů a chinolonů. Stejně tak rezistence vůči vankomycinu stále roste. Syntetizovaná série látek s guanidinovou skupinou testovaná proti bakteriím *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus* ukazuje na možná nová léčiva v boji proti mikrobiálním onemocněním.

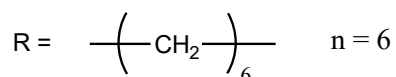


IX

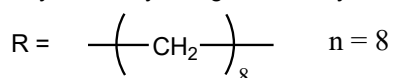
Mezi další látky s vysokou antimikrobiální účinností patří také polyhexamethylenguanidin hydrochlorid (PHGH) a analog polyoktamethylenguanidin hydrochlorid (POGH). Účinnost se prokázala [25] u 370 kmenů bakterií včetně 96 kmenů rezistentních na antibiotika. PHGH byl zvláště účinný proti MRSA. Mechanismem účinku látek POGH a PHGH je narušení cytoplazmatické fosfolipidové membrány bakteriální buňky. Struktury POGH a PHGH jsou zobrazeny ve vzorci (X).



Polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHGH, Polymer C6)

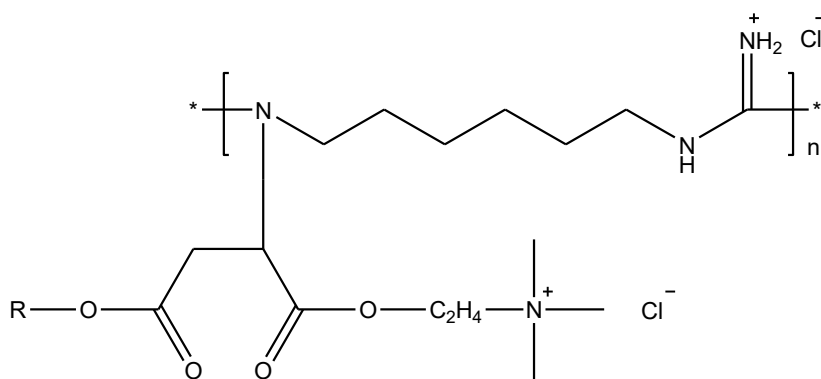


Polyoctanethylene guanidine hydrochloride (POGH, Polymer C8)



X

Antimikrobiální efekt vůči *E. coli* bakteriím se prokázal [26] také u oligomeru s guanidinovou skupinou syntetizovaným Michaelovou adicí. Guanidinový oligomer (XI) mění permeabilitu buněčné membrány *E. coli*.



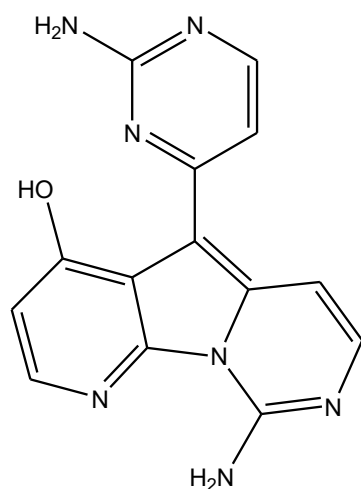
XI

2.2. Guanidiny a léčba rakoviny

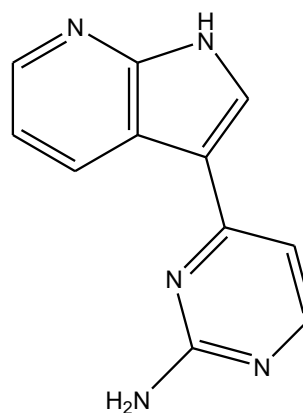
Fenylguanidinové deriváty jsou prezentovány také jako inhibitory proteinu Rac1. Fenylguanidinové deriváty blokují interakci Rac1 s GEFs (guanosine exchange factors), což je agent pro léčbu agresivních a rezistentních tumorů [27].

Fenylguanidy se ukázaly jako možný inhibitor OCT3 transportérů [28]. OCT (Organic Cation Transporters) jsou transportéry usnadňující intracelulární absorpci různorodého spektra malých organických kationtů. Doposud byly v lidské těle identifikovány 3 druhy transportérů. OCT1 je primárně exprimován v bazolaterální membráně hepatocytů, zatímco OCT2 je exprimován v bazolaterální membráně proximálních kanálků ledvin. Substráty pro OCT1 a OCT2 zahrnují metformin, cisplatinu, imatinib, procainamid, citalopram, cimetidin a chinidin. OCT3 je exprimován v různých tkáních včetně srdce, jater, kosterního svalstva a placenty. OCT exprese byla také detekována v několika liniích ve vzorcích rakovinných buněk a nádorových tkání [29].

Za zmínku také stojí molekuly variolin (XII) a meriolin (XIII), jež obsahují guanidinovou skupinu inkorporovanou v heterocyklu. Bylo zjištěno [30], že variolin B má účinnost při léčbě leukémie. Meriolin pomocí inhibice cyklin-dependentní kinázy dosahuje antiproliferativního a proapoptického účinku v nádorových buňkách [31].

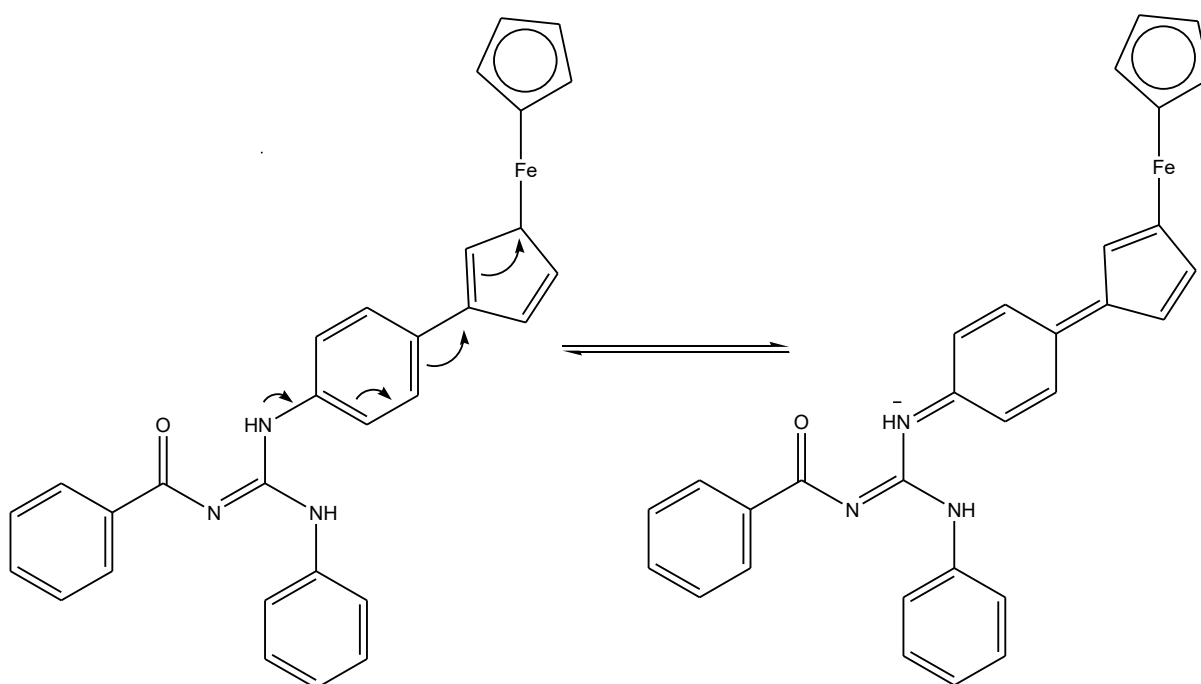


XII



XIII

Od těchto dvou molekul se pak odvíjel vývoj nových fenylguanidinů s potencionálním využitím při léčbě rakoviny. Byly syntetizovány [30] fenylguanidiny s integrovaným ferrocenem v molekule vykazující schopnost nekovalentně se vázat na DNA s následným antioxidantním působením. Nekovalentní vazba molekuly s DNA vzniká právě díky třem dusíkům guanidinové skupiny. Pro demonstraci byla vybrána struktura (XIV) fenylguanidinu se začleněným ferrocenem a vysokým antioxidantním působením.



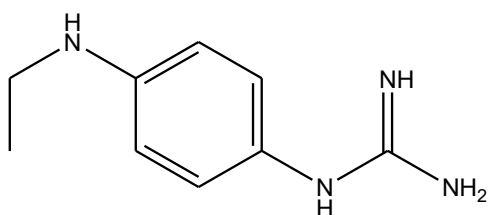
XIV

Inkorporace ferrocenu do molekuly zvyšuje lipofilitu a stabilitu molekuly a díky vysoké vazebnosti na DNA a vysokým antioxidačním vlastnostem může být struktura fenylguanidinu využita pro vývoj nových látek pro léčbu rakoviny.

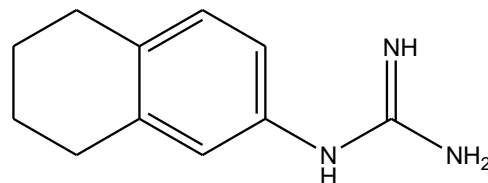
2.3. Guanidiny a jejich možná role v léčbě psychiatrických onemocnění

Zjevná je také antagonistická aktivita fenylguanidinů na α_2 adrenoreceptory, receptory spřaženými s G-proteiny. Adrenoreceptory hrají roli v léčbě psychiatrických onemocnění jako jsou schizofrenie a deprese. Patofyziologicky je deprese charakterizována snížením aktivity monoaminů zejména noradrenalinu a serotoninu. Korigování této nerovnováhy je mechanismem účinku současně používaných antidepresiv. Deprese je spojená se zvýšenou hustotou α_2 adrenoreceptorů a zvýšením afinity neuromediátorů k α_2 adrenoreceptorům. Navíc α_{2c} adrenoreceptory umístěné dorzolaterální prefrontální kůře ovlivňují noradrenergí aktivitu, která řídí bazální kognitivní aktivitu, která je spojena se symptomy schizofrenie. Antagonisté α_2 adrenoreceptorů zvyšují hladinu noradrenalinu v prefrontální mozkové kůře (PFC) a jeví se jako potencionální látky k léčbě psychiatrických onemocnění. Pro demonstraci

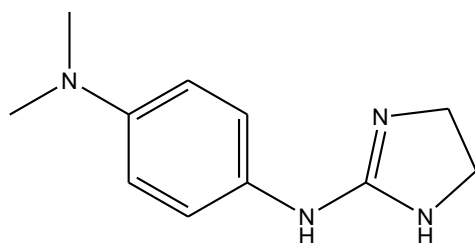
byly vybrány příklady struktur (XV), (XVI), (XVII) a (XVIII) s vysokou afinitou k α_2 receptorům a antagonistickým účinkem [32] [33].



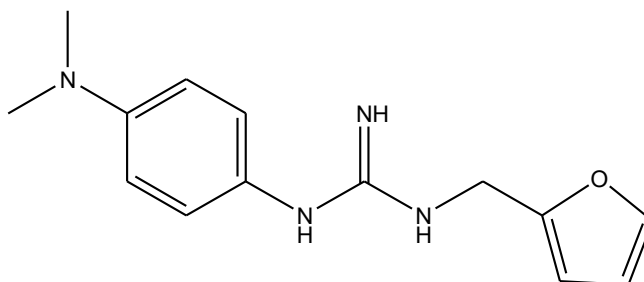
XV



XVI

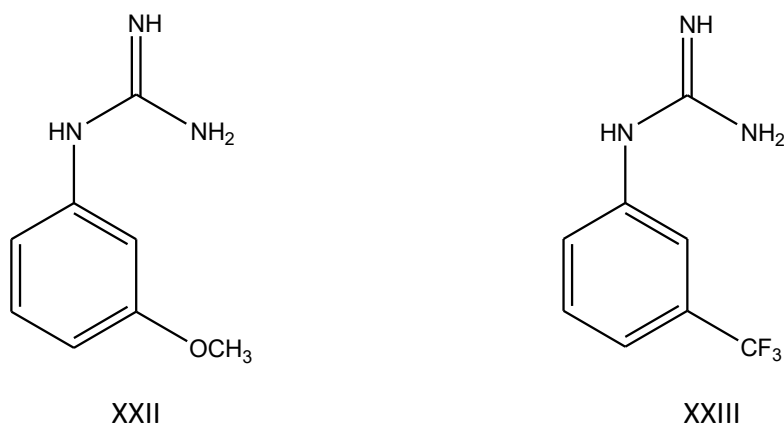
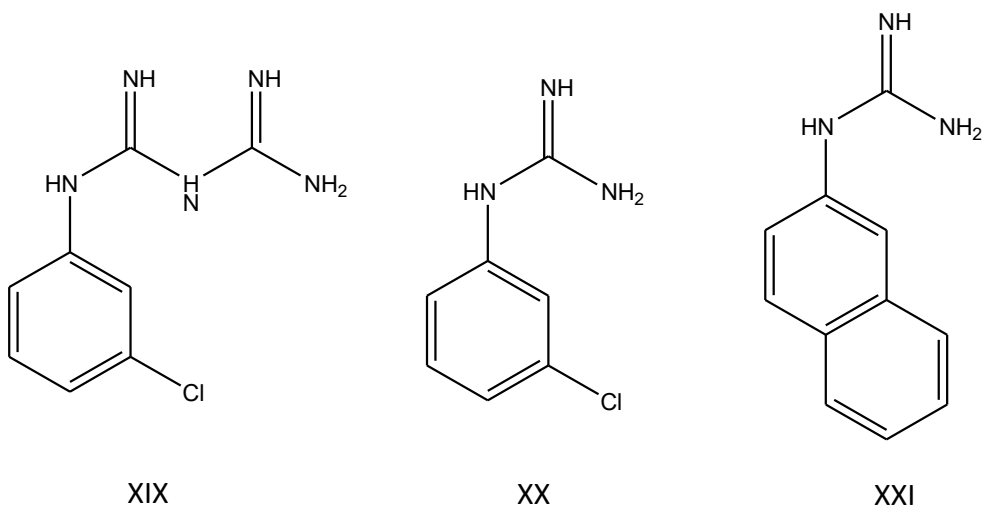


XVII

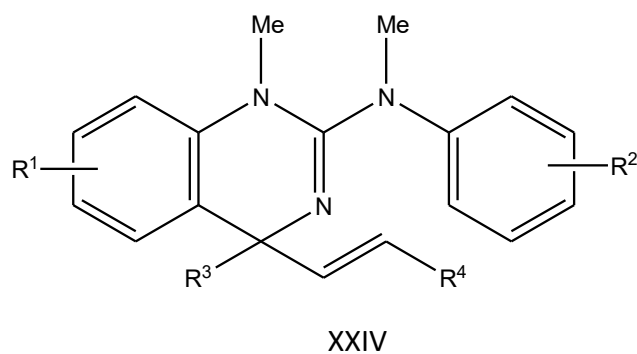


XVIII

Velmi zajímavým objevem je afinita arylguanidinů k 5-HT₃ receptorům. Receptory 5-HT₃ jsou součástí skupiny 5-HT receptorů ovlivňující bolest, vnímání, úzkost a jsou také součástí patofyziologie u duševních poruch [34]. V současnosti byla prokázána [35] superagonistická, plně agonistická, parciálně agonistická i antagonistická účinnost u arylguanidinů. Medicína v současné době využívá antagonisticky působící látky na 5-HT₃ receptory k léčbě nauzey vyvolané chemoterapií a radioterapií, parciální agonisté jsou zkoumané pro možnou léčbu syndromu dráždivého tračníku a role 5-HT₃ receptorových agonistů zatím nebyla objevena. Pro přehled bylo z publikace [34] amerických autorů vybráno několik z mnoha struktur, které autoři uvádějí jako agonisty 5-HT₃ receptorů (XIX), (XX) a (XXI), byly vybrány také struktury s antagonistickým účinkem (XXII) a (XXIII).

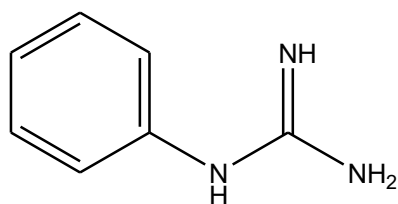


Díky oxidativní cykloadici arylguanidinů s alkyly můžeme získat také C4 substituované deriváty 1,4-dihydrochinazolin-2-aminu (XXIV) [36], jenž by mohly mít význam při léčbě neurodegenerativních onemocnění [37].

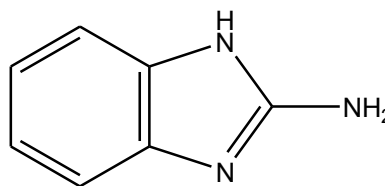


2.4. Léčba diabetického makulárního edému pomocí guanidinů

Další využití fenylguanidinů nacházíme v léčbě diabetického makulárního edému. Diabetický makulární edém je spolu s retinopatií hlavní příčinou ztráty zraku u pracující populace v západním světě [38] [39]. Jako možnou léčbou se zdají inhibitory vaskulárního adhezivního proteinu (VAP-1). Vaskulární adhezivní protein je endoteliální glykoprotein, který se vyskytuje v cévní stěně během vývoje zánětu [40]. VAP-1 také nalezneme v endoteliálních buňkách cév v sítnici oka, kde zvyšuje koncentraci leukocytů při zánětu. Akumulace toxických vedlejších produktů a zvýšená adhezivní aktivita leukocytů indikuje rozpad bariéry mezi krevním řečištěm a sítnicí, což vede k makulárnímu edému. Ten se často vyskytuje u diabetické retinopatie, která je hlavní příčinou slepoty u lidí. Fenylguanidiny se ukazují jako potencionální VAP-1 inhibitory, a tedy jako možné molekuly s potencionálním léčebným účinkem [41]. Z publikace [41] byly vybrány struktury (XXV) a (XXVI) s VAP-1 inhibiční aktivitou.



XXV



XXVI

3. Metodická část

3.1. Chemická část

Cílem chemické experimentální části diplomové práce bylo připravit sedm látek a následně stanovit jejich antifungální a antimikrobiální aktivitu. Jednalo se o látky:

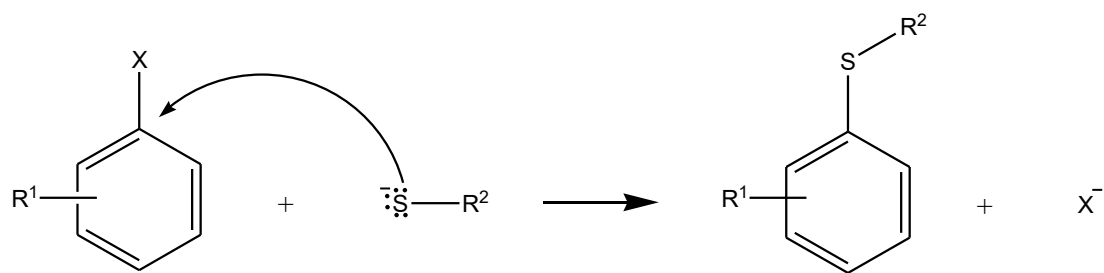
1. 2-[5-methyl-2-(decylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
2. 2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
3. 1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidin
4. 2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
5. 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
6. 2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
7. 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát

Látky 1-3 měly společnou výchozí látku 4-chlor-3-nitrotoluen, 4-chlor-3-trifluormethylnitrobenzen byla výchozí látka pro sloučeniny 4-7. V první řadě bylo třeba připravit sulfid pomocí výchozí látky a alkanthiolu, následovala redukce nitroskupiny na aminoskupinu. Amin byl převeden na anilinium-chlorid, ten následně reagoval s kyanamidem za vzniku fenylguanidinu.

3.1.1. Příprava sulfidů

Sulfidy jsou [42] sirnými analogy etherů. Bez ohledu na strukturální podobnost s ethery mají významně odlišné chemické vlastnosti. Valenční elektrony atomu síry (3p elektrony) jsou od jádra vzdálenější a jsou tedy volněji vázány než v atomu kyslíku (2p elektrony), vysoká elektronegativita atomu kyslíku též zajišťuje jejich pevnější vazbu. Dialkylsulfidy jsou na rozdíl od dialkyletherů dobrými nukleofily. Na rozdíl od etherů se sulfidy snadněji oxidují než ethery za vzniku sulfoxidů nebo následně sulfonů.

Sulfidy byly připraveny pomocí substituce nukleofilní bimolekulární, kdy thiolátový ion reaguje s arylhalogenidem za vzniku sulfidu. Reakce je analogem Williamsovy syntézy etherů. Schéma 1 demonstruje popsanou reakci.



R = alkyl, X = halogen

Schéma 1

V experimentální části bylo pro přípravu látky 1-3 použito schéma 2. Schéma 3 pro přípravu látek 4-7 je demonstrováno obrázkem (XVI). Sulfidy byly připraveny pomocí reakce alkanthiolů a substituovaných nitrobenzenů v suchém dimethylformamidu za přítomnosti uhličitanu draselného a aktivní mědi, která reakci katalyzovala [43].

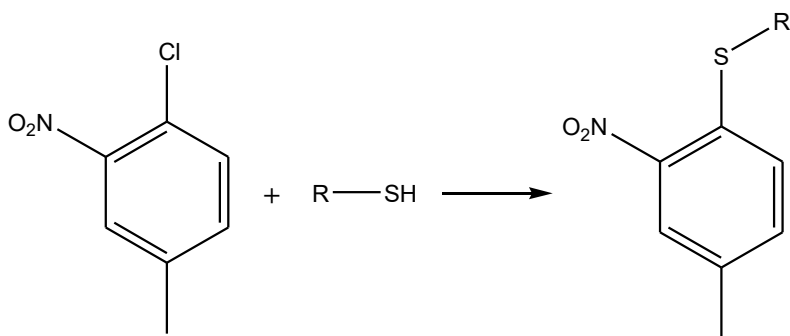


Schéma 2

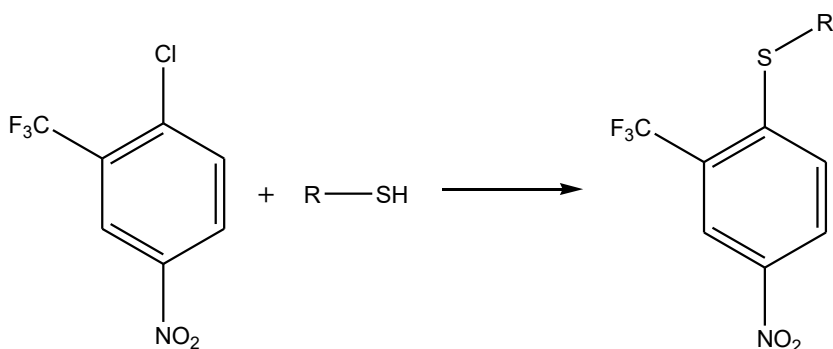


Schéma 3

3.1.2. Redukce nitrosloučenin

Pomocí redukce nitrosloučenin byly připraveny potřebné aromatické aminy. Při redukci nitrolátek jsou atomy kyslíku nahrazovány atomy vodíku. Závisí přitom také na pH prostředí. Redukce nitrosloučenin je katalytická redukce vodíkem za přítomnosti katalyzátoru. Jako katalyzátor lze použít platinu [44], palladium [45] a Raneyův nikl [46]. Redukce může být provedena také pomocí železa [47], chloridu cínatého [48], nebo také zinku [49], hliníku [50], tetrahydridohlinitanu lithného [51] nebo hydrazinu a jeho derivátů [52]. V kyselém prostředí se nitroskupina redukuje na nitrososkupinu a následně na aminoskupinu [53], reakce je znázorněna schématem 4.

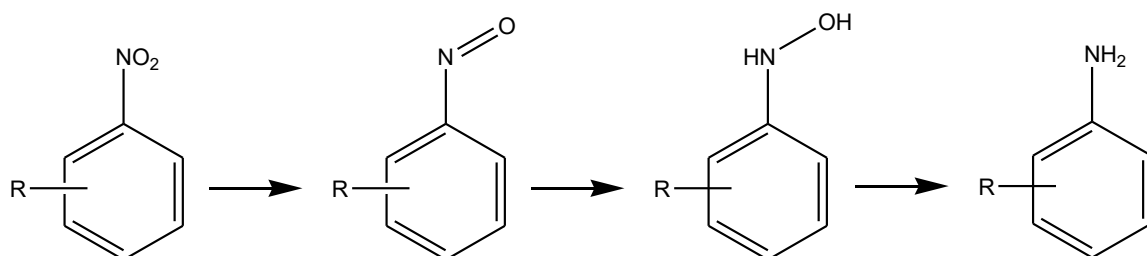


Schéma 4

V zásaditém prostředí se tvoří spíše bimolekulární látky. Schéma 5 ukazuje redukci nitroskupiny v alkalickém prostředí.

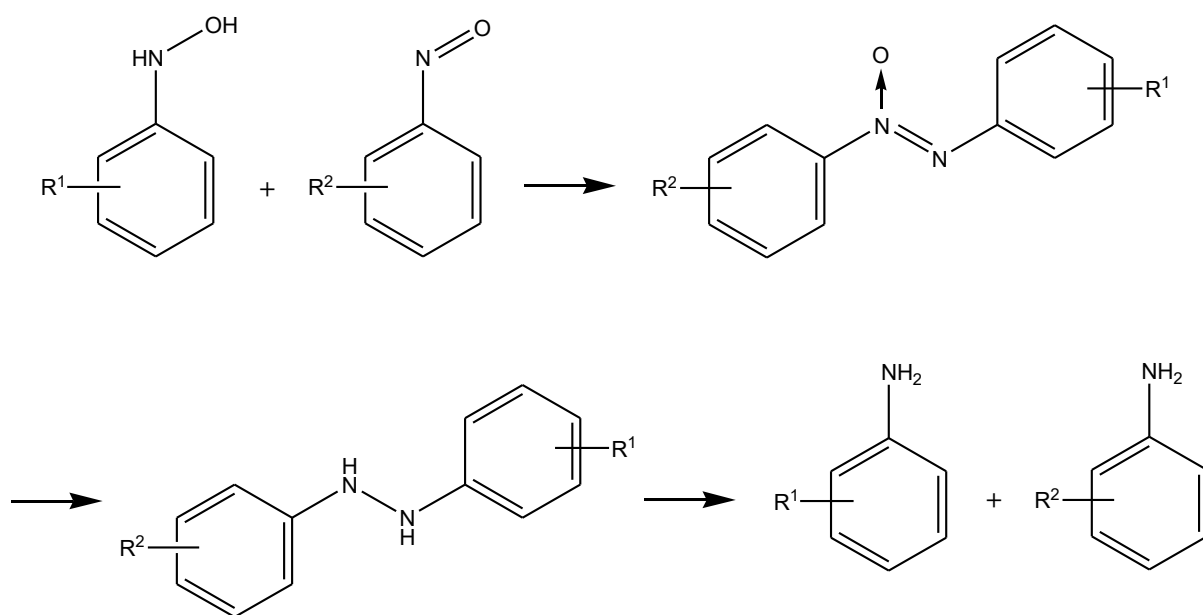


Schéma 5

V experimentální části bylo použito schéma 6 a 7. Reakce probíhala v neutrálním prostředí [54] pod ochrannou atmosférou dusíku. Jako redukční činidlo byl zvolen chlorid cínatý. Neutrální prostředí snižuje riziko vedlejších reakcí, jako například tvorba halogenderivatů [55] nebo štěpení molekul [56]

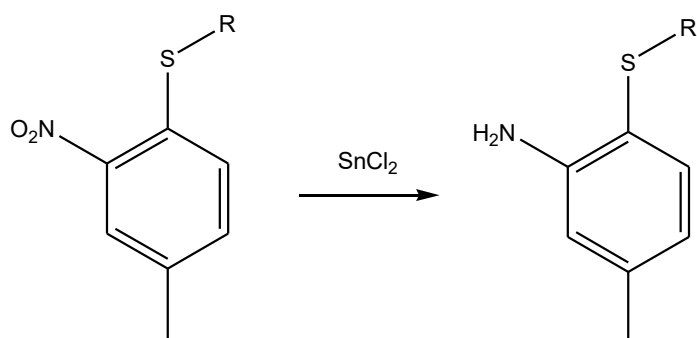


Schéma 6

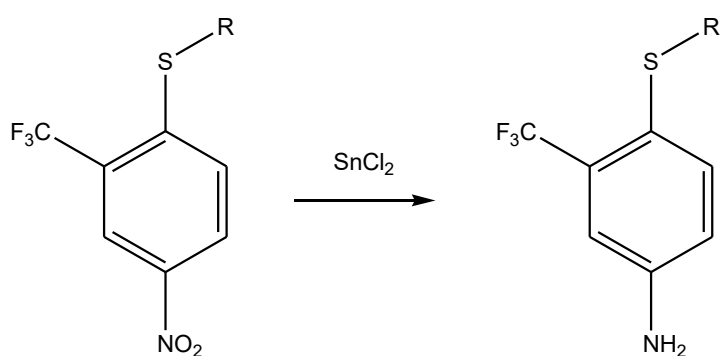


Schéma 7

3.1.3. Příprava amonium chloridů

Příprava amonium chloridů proběhla reakcí [57] aminu rozpuštěného v bezvodém etheru s plynným chlorovodíkem, který byl zaváděn do roztoku aminu podle schémat 8 a 9.

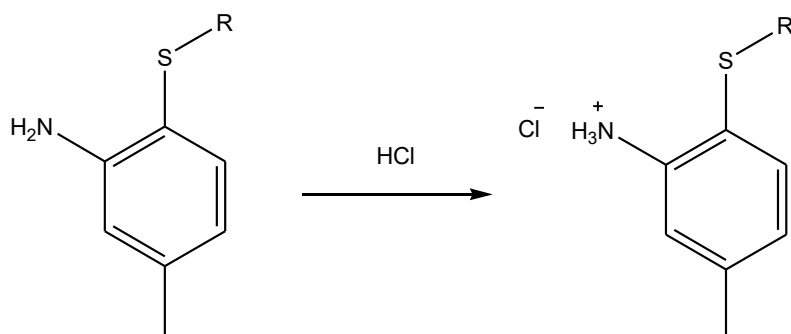


Schéma 8

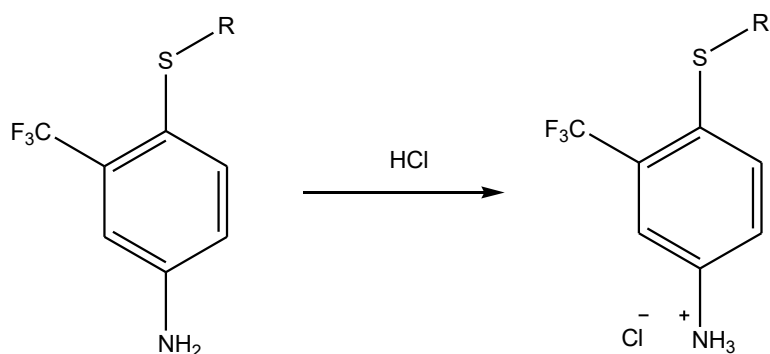
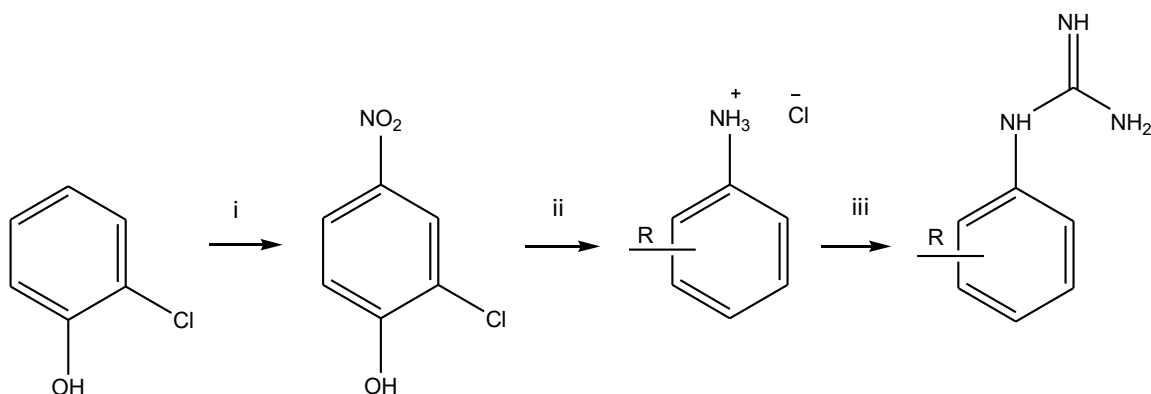


Schéma 9

3.1.4. Příprava arylguanidinů

Možným způsobem přípravy arylguanidinů je reakce [58] amonium-chloridu a kyanamidu v ethanolu či tavenině za normálního nebo zvýšeného tlaku. Reakci je možné provést i se substituovaným kyanamidem [59]. Lze využít i opačný způsob přípravy, tedy reakcí substituovaného kyanamidu s amoniakem [60]. Pokud je použit jako výchozí látka reakce diamin a dostatečný přebytek kyanamidu, vzniká diguanidin [61].

Nejnovější publikované schéma 10 [35] přípravy arylguanidinů se mírně lišilo od schémat 15 a 16 znázorňující syntézu v experimentální části diplomové práce. Rozdíly se schématem použitým v experimentální části jsou zjevné. K přípravě aminu v experimentální části byla použita redukce nitrolátek pomocí chloridu cínatého namísto dithioničitanu sodného. Reakce amonium chloridu a kyanamidu byla provedena v tavenině a guanidiniumnitrát byl v experimentální části diplomové práce vytvořen pomocí kyseliny dusičné místo dusičnanu amonného.



Reaktanty: (i) HNO_3 , 1,2-dichlorethan; (ii) (a) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, NaOH , H_2O ; (b) HCl , EtOAc ;
 (iii) (a) NH_2CN , EtOH ; (b) NH_4NO_3 , H_2O

Schéma 10

Arylguanidiny v experimentální části byly připraveny podle publikací [62] a [63]. V experimentální části byl zvolen způsob přípravy v tavenině za normálního tlaku a mírně kyselého pH 4-5, které je ideální pro vznik guanidinů. Při pH vyšším jak 5 má tendenci dimerizovat a při pH nižším než 4 podléhá hydrolyze [58]. Schéma 11 demonstruje přípravu látek 1 a 2, schéma 12 pak přípravu látky 3.

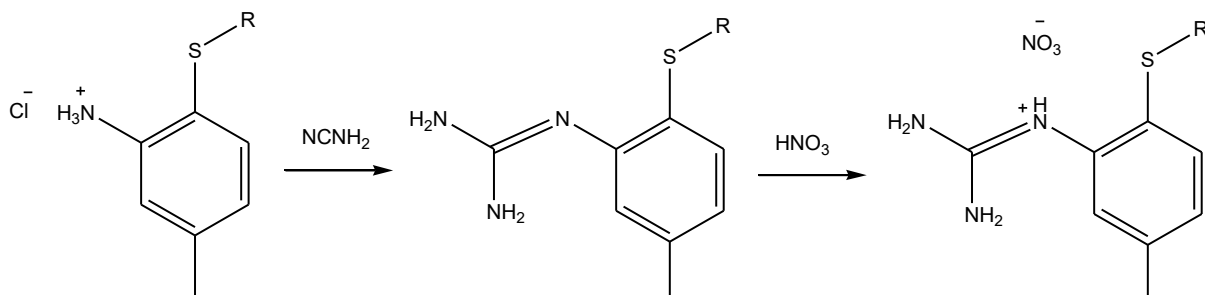


Schéma 11

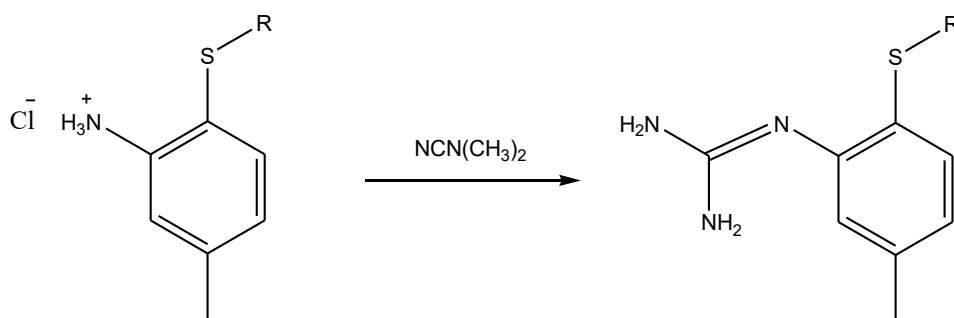


Schéma 12

Látky 4-7 byly připravené podle schémat 13 a 14.

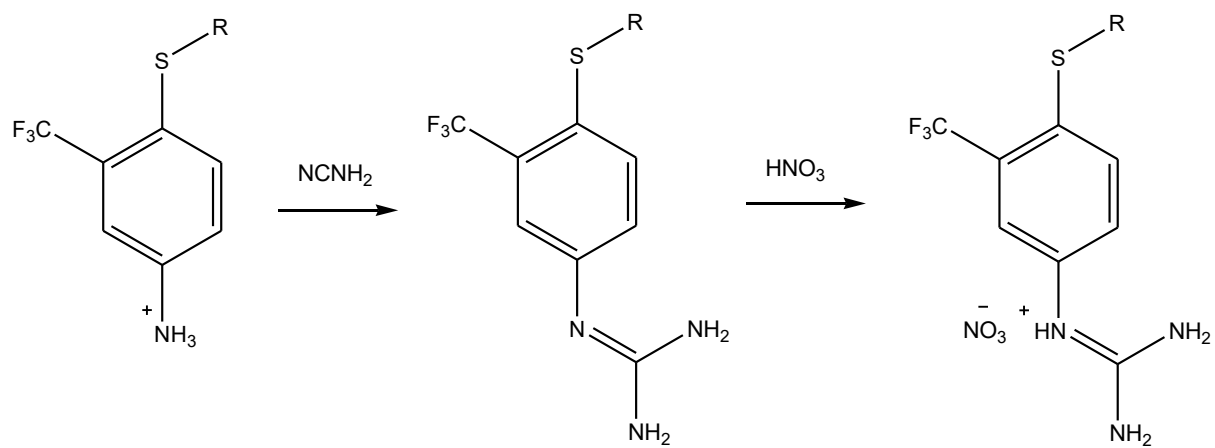


Schéma 13

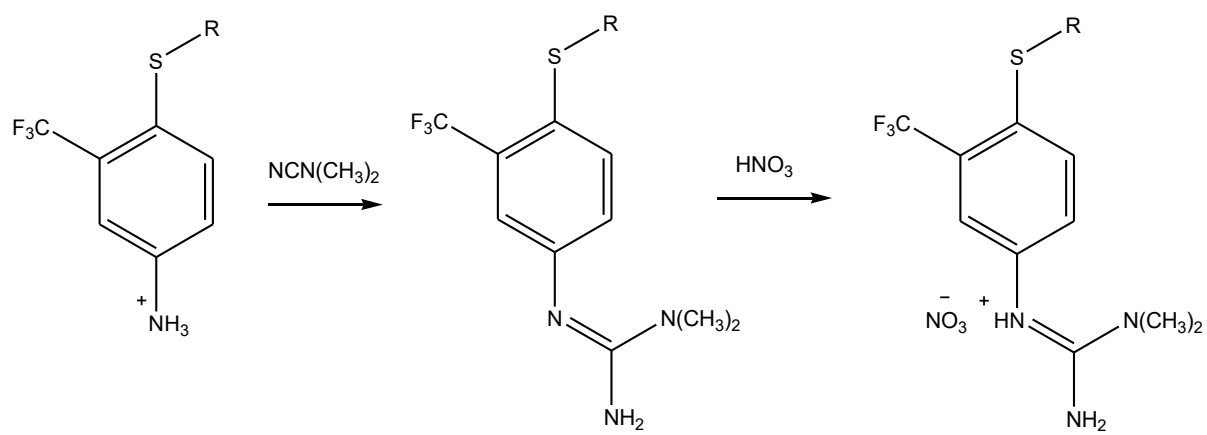


Schéma 14

3.1.5. Celkové schéma syntézy

Schéma 15 a 16 znázorňuje celou syntézu.

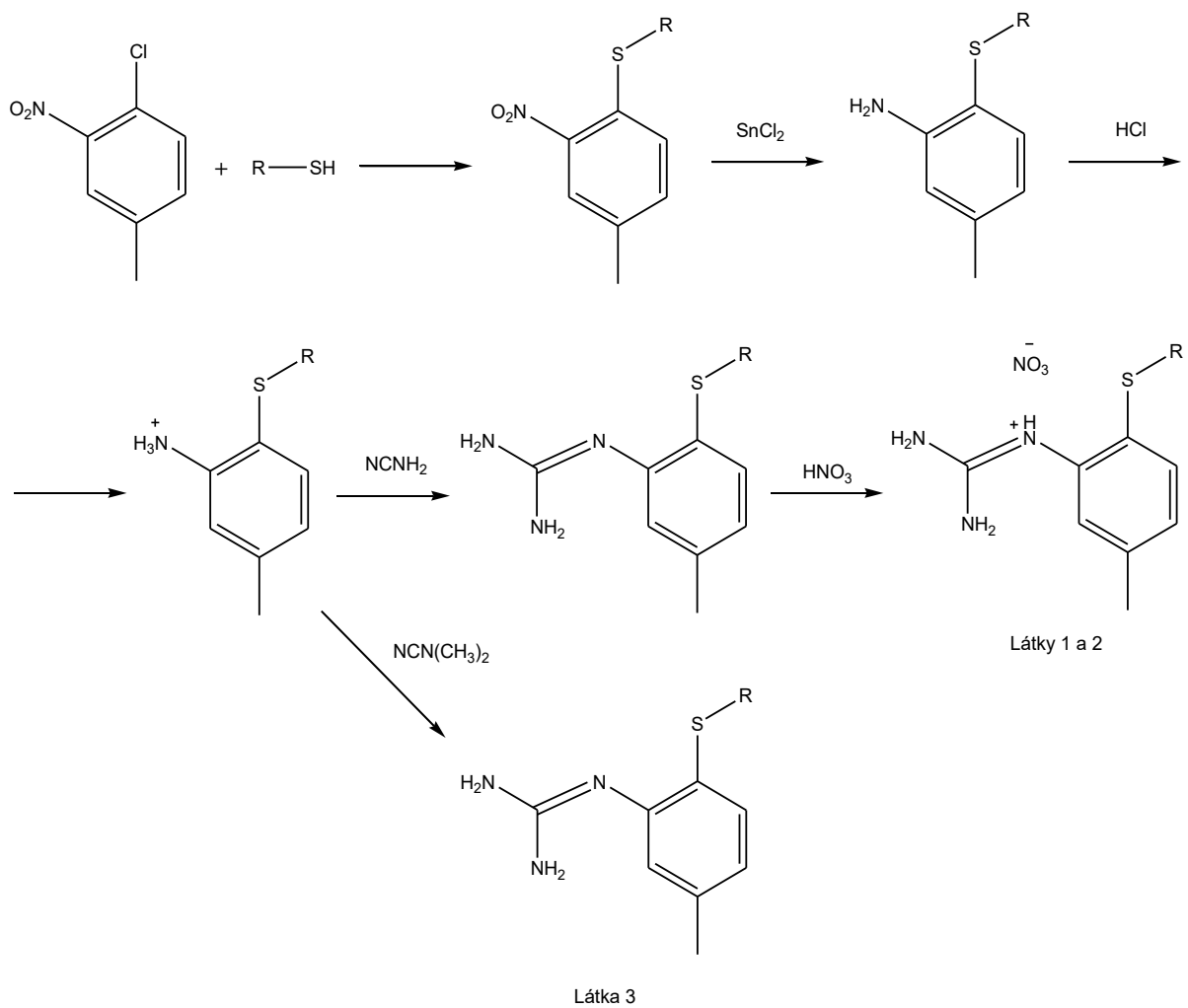


Schéma 15

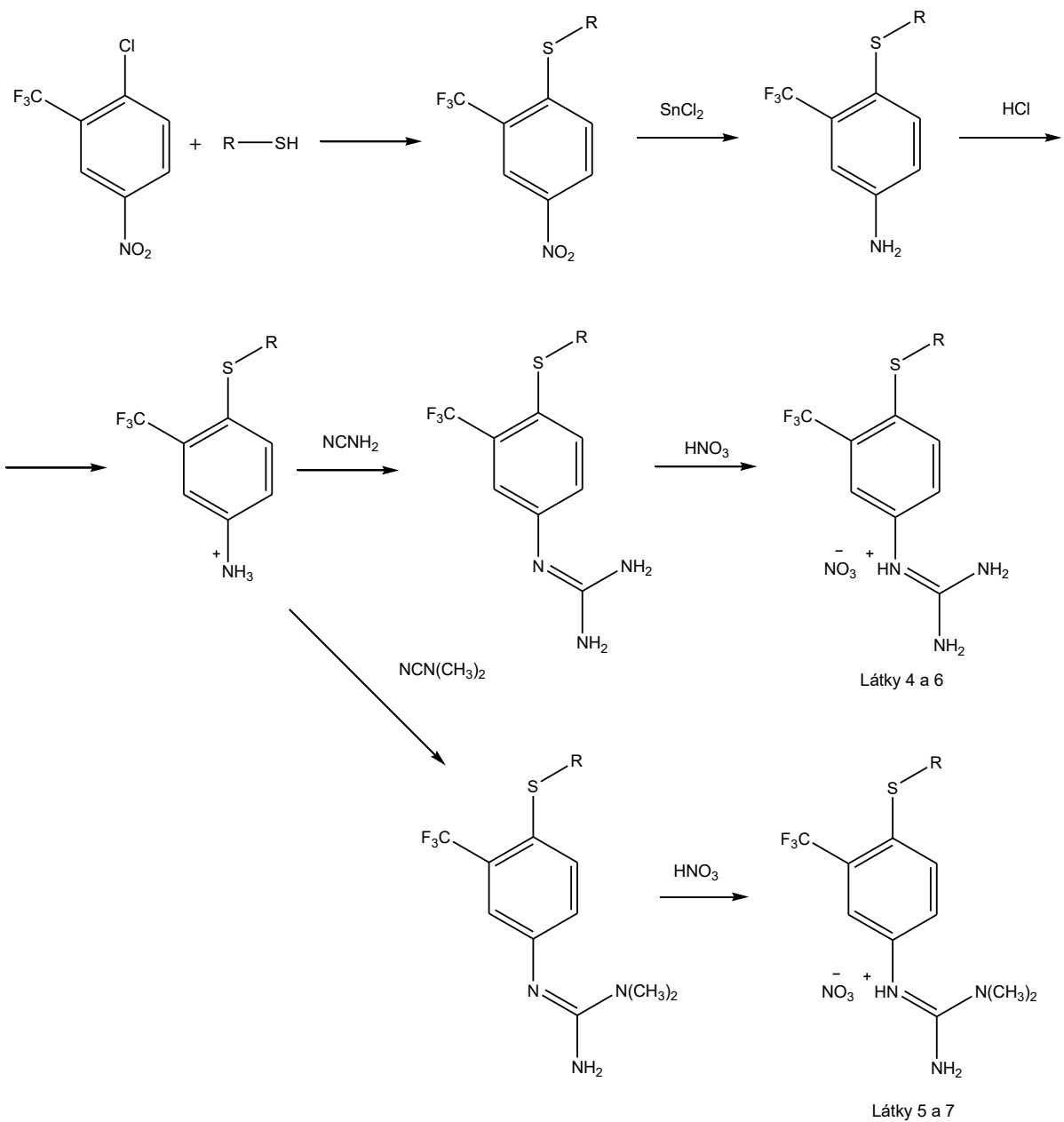


Schéma 16

3.2. Mikrobiologická část

Testování mikrobiologické aktivity látek bylo provedeno na Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy na katedře biologických a lékařských věd.

Jako metoda stanovení antifungální účinnosti byl zvolen mikrodiluční bujónový test v destičkách. Pro mikroorganismy *Candida albicans* (CA), *Candida krusei* (CK), *Candida parapsilosis* (CP), *Candida Tropicalis* (CT), *Aspergillus fumigatus* (AF), *Aspergillus Flavus* (AFla), *Absidia corymbifera* (AC) a *Trichophyton interdigitale* (TI) bylo použito médium RPMI 1640 s glutamanem a 2% glukózou, které bylo pufrováno 0,165 mol.l⁻¹ morfolinopropansulfonovou kyselinou na pH 7,0. Objem média byl 200 µl s 10 µl suspenze inokula. Délka inkubace byla 24-48 h, u kultivace *Trichophyton interdigitale* byla délka inkubace 48-72h při teplotě 35 °C s odchylkou 2 °C. Způsob inkubace byl statický, ve tmě s humidní atmosférou. Při testu byl použit Inkubátor AlamarBlue. Odečítání bylo vizuální – MIC v µmol.l⁻¹.

Pro stanovení antimikrobiální účinnosti byly použity kmeny *Staphylococcus aureus* (SA), *Methicilin rezistentní Staphylococcus aureus* (MRSA), *Staphylococcus epidermidis* (SE), *Enterococcus faecalis* (EF), *Escherichia coli* (EC), *Klebsiella pneumoniae* (KP), *Serratia marcescens* (SEMA) a *Pseudomonas aeruginosa* (PA), byl použit jako médium Mueller-Hintonův bujon č. 2 (CAMHB) pH 7,0. Objem média byl opět 200 µl s 10 µl suspenze inokula. Způsob inkubace byl opět statický, ve tmě s humidní atmosférou. Délka inkubace v inkubátoru AlamarBlue byla u všech kmenů 24-48 h a teplota byla stejná jako u předešlého testu. Odečítání bylo vizuální – MIC = IC₉₅ (95% inhibice kontroly).

4. Experimentální část

4.1. Syntéza

V experimentální části byl použit následující výčet chemikálií od firmy Aldrich: 4-chlor-3-nitrotoluen, 4-chlor-3-trifluormethylnitrobenzen, dekanthiol, undekanthiol, dodekanthiol, tetradekanthiol, dimethylkvanamid. Od firmy Sigma-Aldrich byly použity chemikálie: bezvodý N,N- dimethylformamid a bezvodý ether. Použitý kvanamid byl vyroben firmou Fluka. Od firmy Lach-ner byl použit ethylacetát a trihydrát chloridu cínatého. Použitá kyselina chlorovodíková, hexan, ethanol, bezvodý hydroxid sodný, síran sodný a kyselina dusičná byly vyrobeny společností Penta. Suroviny od firmy Lachema byly: pentahydrát síranu měďnatého a práškový zinek. Firma Meck vyrobila silikagel, který byl použit v experimentální části.

Infračervená spektra byla naměřena na spektrometrech Nicolet Impact 400 a Nicolet 6700 FT-IR. Pro měření teploty tání byl použit mikrovýhřevný stolec Nagema Boëtius PHMK 05. Spektra nukleární magnetické rezonance byla naměřena pomocí NMR spektrometru Varian VNMR S500 v laboratoři VNMR NET. Při měření hmotnostních spekter byl využit spektrometr AGILENT Technologies 500 IonTrap v ESI módu. Pro tenkovrstvou chromatografii byly využity jako stacionární fáze desky SILUFOL UV 254/366. Jako detekce skvrn byla použita UV lampa s vlnovou délkou 254 nm. Měření IČ, NMR a hmotnostních spekter byla provedena na katedře organické chemie stejně jako TLC a měření teploty tání.

4.1.1. Příprava aktivní mědi [64]

Molární hmotnost: 63,55 g.mol⁻¹

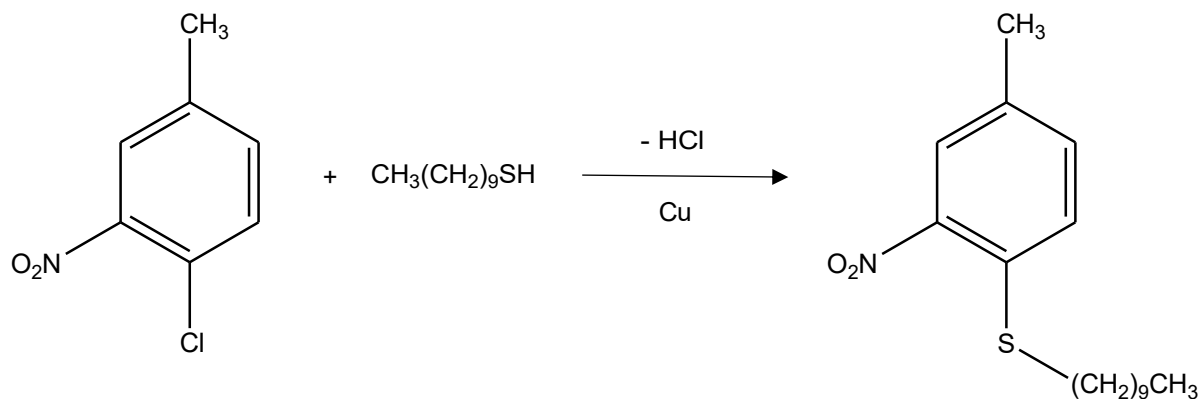


Ve 150 ml horké vodě bylo rozpuštěno 30,00 g (0,1202 mol) pentahydrátu síranu měďnatého. Po ochlazení bylo postupně přidáno 9,00 g (0,1376 mol) práškového zinku.

Po hodině byla směs třikrát dekantována 5% procentním roztokem kyseliny chlorovodíkové do ustání vývoje vodíku. Získaná měď byla následně pětkrát dekantována vodou a dvakrát ethanolem. Po následném odfiltrování a vysušení byla měď ihned použita do reakce.

4.1.2. Příprava decyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfidu

Molární hmotnost: 309,47 g.mol⁻¹



V 132 ml bezvodného N,N- dimethylformamidu bylo rozpuštěno 16,40 g (0,09407 mol) dekanthiolu a následně bylo přidáno 15,00 g (0,08742 mol) 4-chlor-3-nitrotoluenu, 3,34 g (0,05256 mol) aktivní mědi a 24,40 g (0,1765 mol) bezvodného uhličitanu draselného. Směs byla zahřívána za stálého míchání při teplotě 160 °C na olejové lázni pod ochrannou atmosférou dusíku po dobu deseti hodin.

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází. Po ochlazení byla směs ihned zfiltrována a k filtrátu byla přidána voda do zákalu. Následně byla směs ponechána krystalovat 60 hodin při teplotě -20 °C.

Produkt byl zfiltrován a třikrát přečištěn pomocí rekrystalizace z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 21,75 g (80,4 %)

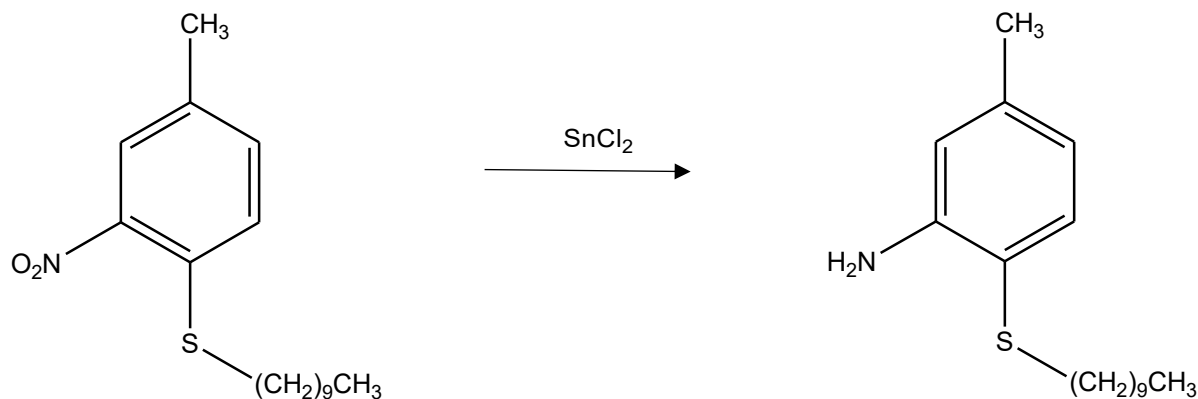
Teplota tání produktu: 35,6 - 36,2 °C

IČ spektrum: Příloha č. 1 (OKA-1)

NMR spektrum: Příloha č. 2 a 3 (01A-4K)

4.1.3. Příprava 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinu

Molární hmotnost: 279,48 g.mol⁻¹



Do 130 ml bezvodého ethanolu bylo přidáno 10,00 g (0,03231 mol) decyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfidu a 30,63 g (0,1616 mol) chloridu cínatého. Směs byla za stálého míchání zahřívána na teplotu 70 °C po dobu pěti hodin.

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po ukončení reakce a po následném vychladnutí byla směs zalkalizována 20% roztokem hydroxidu sodného. Směs byla čtyřikrát vytřepávána do ethylacetátu. Ethylacetátové fáze (500 ml) byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Po hodině byl síran sodný odfiltrován a ethylacetát byl vakuově oddestilován. Produkt reakce byl přečištěn rekrytalizací z ethanolu. U přečištěného produktu bylo změřeno infračervené spektrum.

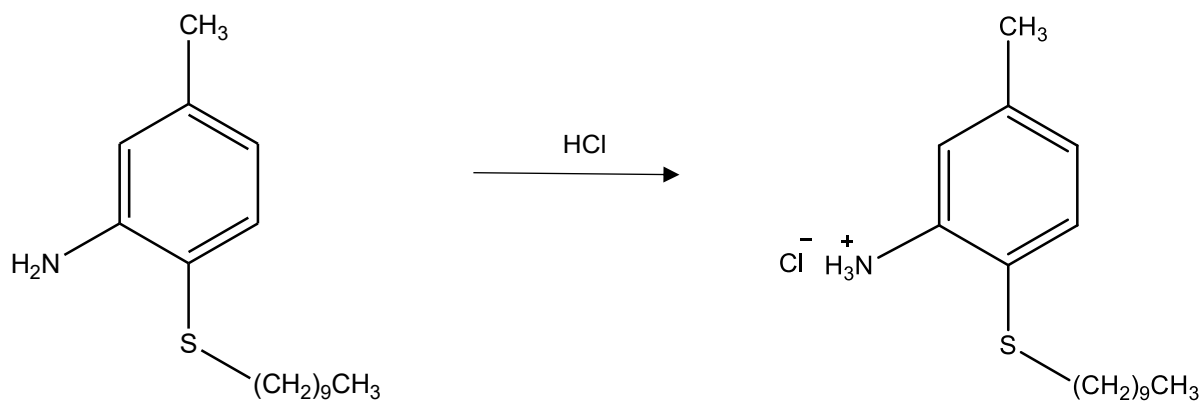
Výtěžek reakce: 6,71 g (74,3 %)

Teplota tání produktu: Produkt taje za teploty pod 15 °C [65] – teplota tání neuvedena

IČ spektrum: Příloha č. 4 (OKA-3)

4.1.4. Příprava 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinium-chloridu

Molární hmotnost: 315, 95 g.mol⁻¹



V 35 ml bezvodého etheru bylo rozpuštěno 5,00 g (0,01789 mol) 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinu. Roztok byl umístěn do vodní ledové lázně a byl sycen plynným chlorovodíkem. Směs byla ponechána krystalovat při teplotě -20 °C. Vzniklý produkt byl odfiltrován a byl použit do následující reakce. U produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 5,5 g (97,3 %)

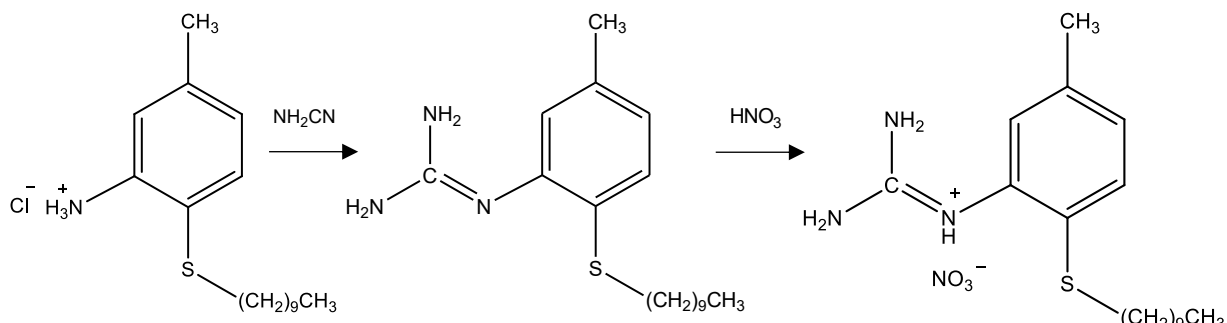
Teplota tání produktu: 99,1 - 100,8 °C

IČ spektrum: Příloha č. 5 (OKA-4)

NMR spektrum: Příloha č. 6 a 7 (OKB-2)

4.1.5. Příprava 2-[5-methyl-2-(decylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu

Molární hmotnost: 384,54 g.mol⁻¹



2,94 g (0,009305 mol) 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,48 g (0,01170 mol) kyanamidu. Směs byla zahřívána 40 min na 120 °C, pak dalších 35 min na 125 °C.

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs okyselena kyselinou dusičnou a ponechána krystalovat v chladu. Vzniklé krystaly byly vakuově zfiltrány a třikrát přečištěny pomocí rekrystalizace ve směsi voda, ethanol v poměru 1:1 a dvakrát pomocí ethanolu. Následně byl produkt přečištěn pomocí sloupcové chromatografie, kde jako stacionární fáze byl do kolony umístěn oxid hlinitý a jako mobilní fáze byla použita směs hexanu a ethanolu v poměrech (1:0, 19:1, 8:2, 1:1). U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 1,78 g (49,7 %)

Teplota tání produktu: 82,0 - 83,0 °C

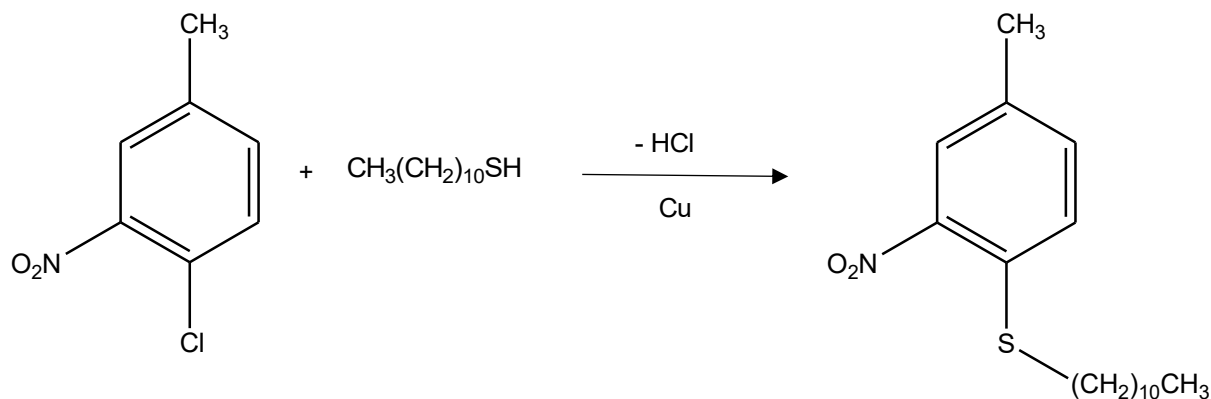
HS spektrum: Příloha č. 8 (PG-70), LRMS (ESI) m/z 322,5 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 9 (OKA-5)

NMR spektrum: Příloha č. 10 a 11 (OKA-5)

4.1.6. Příprava undecyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfidu

Molární hmotnost: 323,49 g.mol⁻¹



V 132 ml bezvodého N,N- dimethylformamidu bylo rozpuštěno 15,00 g (0,07963 mol) undekanthiolu a následně bylo přidáno 16,40 g (0,09558 mol) 4-chlor-3-nitrotoluenu, 2,50 g (0,03934 mol) aktivní mědi a 18,79 g (0,1360 mol) bezvodého uhličitanu draselného. Směs byla zahřívána za stálého míchání při teplotě 160 °C na olejové lázni pod ochrannou atmosférou dusíku po dobu deseti hodin.

Průběh reakce byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází. Po ochlazení byla směs ihned zfiltrována a k filtrátu byla přidána voda do zákalu. Následně byla směs ponechána krystalovat 60 hodin při teplotě -20 °C.

Produkt byl zfiltrován a třikrát přečištěn pomocí rekrystalizace z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 16,95 g (65,8 %)

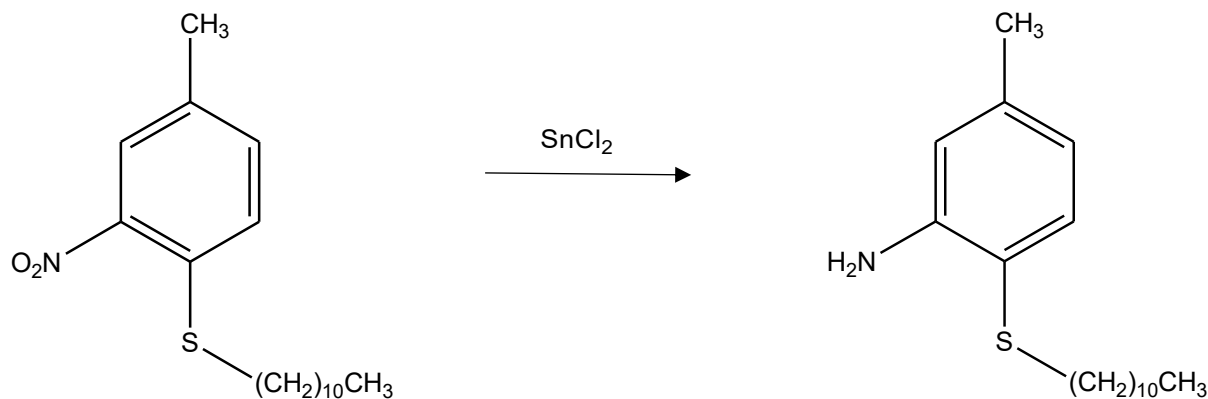
Teplota tání produktu: 49,8 - 50,6 °C

IČ spektrum: Příloha č. 12 (NONA-1)

NMR spektrum: Příloha č. 13 a 14 (NONA-1-F)

4.1.7. Příprava 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinu

Molární hmotnost: 293,51 g.mol⁻¹



Do 130 ml bezvodého ethanolu bylo přidáno 10,00 g (0,03091 mol) undecyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfidu a 29,30 g (0,1545 mol) chloridu cínatého. Směs byla za stálého míchání zahřívána na teplotu 70 °C po dobu tří hodin.

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po ukončení reakce a po následném vychladnutí byla směs zalkalizována 20% roztokem hydroxidu sodného. Směs byla pětkrát vytřepávána do ethylacetátu. Ethylacetátové fáze (650 ml) byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Po hodině byl síran sodný odfiltrován a ethylacetát byl vakuově oddestilován. Produkt reakce byl přečištěn rekrytalizací z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 5,01 g (55,2 %)

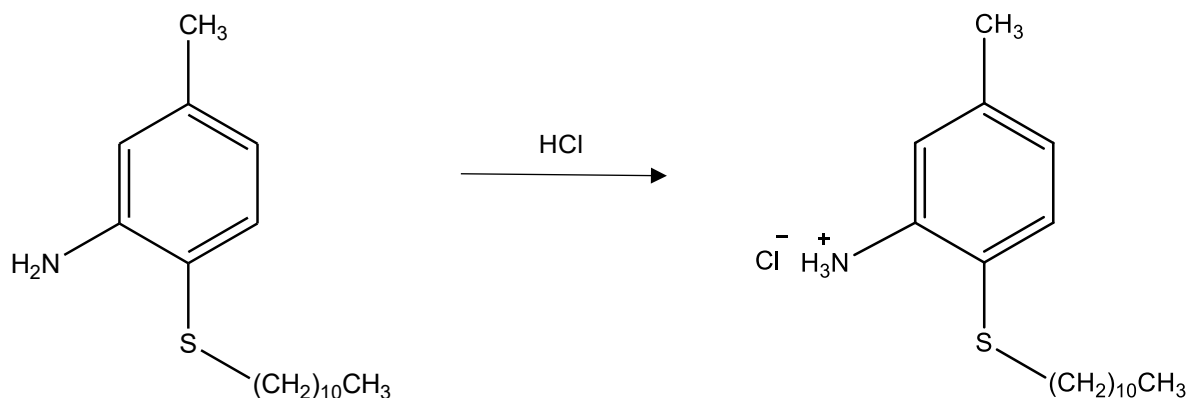
Teplota tání produktu: 15,9 - 17,9 °C

IČ spektrum: Příloha č. 15 (NONA-2)

NMR spektrum: Příloha č. 16 a 17 (NONA-2)

4.1.8. Příprava 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinium-chloridu

Molární hmotnost: 329,97 g.mol⁻¹



V 35 ml bezvodého etheru bylo rozpuštěno 5,00 g (0,01704 mol) 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinu. Roztok byl umístěn do vodní ledové lázně a byl sycen plynným chlorovodíkem. Směs byla ponechána krystalovat při teplotě -20 °C. Vzniklý produkt byl odfiltrován a byl použit do následující reakce. U produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 5,07 g (90,2 %)

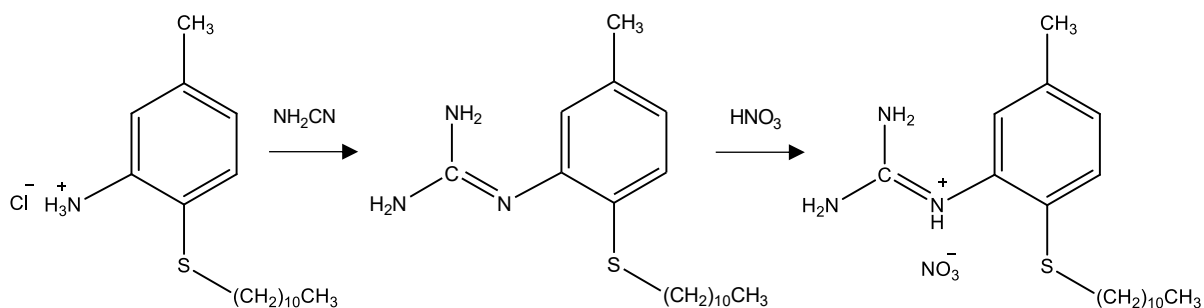
Teplota tání produktu: 106,7 - 108,9 °C

IČ spektrum: Příloha č. 18 (NONA-3A)

NMR spektrum: Příloha č. 19 a 20 (NONA-3)

4.1.9. Příprava 2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu

Molární hmotnost: 398,56 g.mol⁻¹



2,00 g (0,006061 mol) 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,31 g (0,007555 mol) kyanamidu. Směs byla zahřívána 35 min na 120 °C (směs očividně reagovala již při 80 °C).

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs naředěna horkou vodou, okyselena kyselinou dusičnou a ponechána krystalovat v chladu. Vzniklé krystaly byly vakuově odfiltrovány a přečištěny pomocí rekrystalizace z destilované vody. U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 1,56 g (64,7 %)

Teplota tání produktu: 88,7 - 89,8 °C

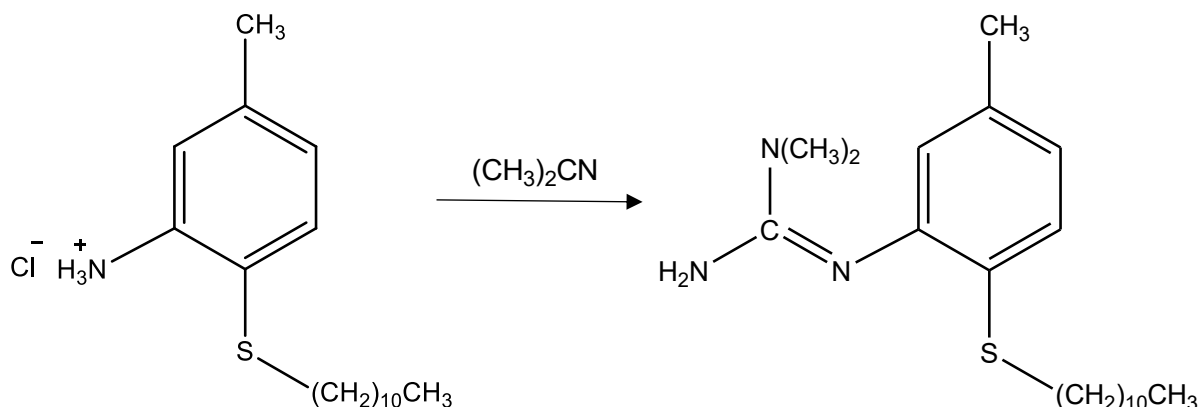
HS spektrum: Příloha č. 21 (PG-71), LRMS (ESI) m/z 336,3 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 22 (NONA-4)

NMR spektrum: Příloha č. 23 a 24 (NONA-4)

4.1.10. Příprava 1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinu

Molární hmotnost: 363,60 g.mol⁻¹



1,4 g (0,004243 mol) 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,36 g (0,005136 mol) dimethylkvanamidu. Směs byla zahřívána 50 min na 110 °C (směs očividně reagovala již při 90 °C).

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs naředěna horkou vodou a byla zalkalizována 20% roztokem hydroxidu sodného. Směs byla třikrát vytřepávána do ethylacetátu. Organické fáze (300ml) byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Po odfiltrování sušidla byla směs vakuově oddestilována. Produkt byl dvakrát přečištěn pomocí rekrystalizace z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 0,65 g (42,1 %)

Teplota tání produktu: 46,8 - 47,8 °C

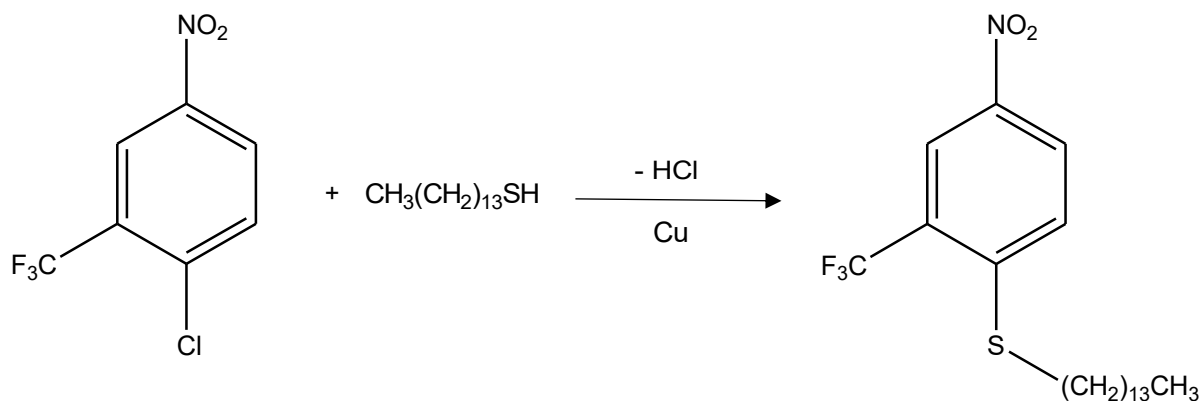
HS spektrum: Příloha č. 25 (PGDM-23), LRMS (ESI) m/z 364,7 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 26 (NONB-4-F)

NMR spektrum: Příloha č. 27 a 28 (NONB-4-Fa)

4.1.11. Příprava tetradecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfidu

Molární hmotnost: 419,54 g.mol⁻¹



V 155 ml bezvodého N,N- dimethylformamidu bylo rozpuštěno 21,80 g (0,09460 mol) tetradekanthiolu a následně bylo přidáno 17,78 g (0,07883 mol) 4-chlor-3-trifluormethylnitrobenzenu, 3,00 g (0,04721 mol) aktivní mědi a 18,41 g (0,1332 mol) bezvodého uhličitanu draselného. Směs byla zahřívána za stálého míchání při teplotě 160 °C na olejové lázni pod ochrannou atmosférou dusíku po dobu devíti hodin.

Průběh reakce byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází. Po ochlazení byla směs ihned zfiltrována a k filtrátu byla přidána voda do zákalu. Následně byla směs ponechána v chladu krystalovat.

Produkt byl zfiltrován a třikrát přečištěn pomocí rekrystalizace z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 26,29 g (79,5 %)

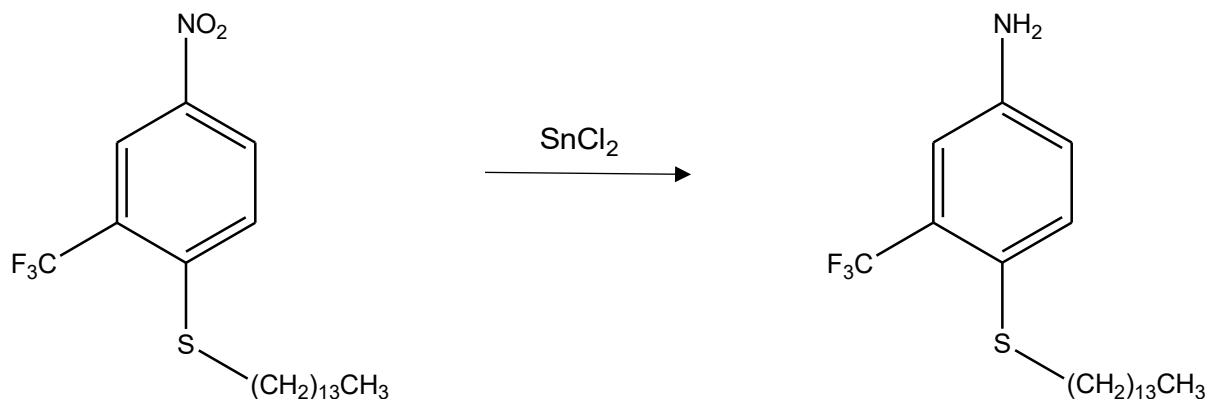
Teplota tání produktu: 48,8 - 49,8 °C

IČ spektrum: Příloha č. 29 (TETA-1)

NMR spektrum: Příloha č. 30 a 31 (TETA-1)

4.1.12. Příprava 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinu

Molární hmotnost: 389,56 g.mol⁻¹



Do 70 ml bezvodého ethanolu bylo přidáno 15,00 g (0,03575 mol) tetradecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfidu a 33,4 g (0,1761 mol) chloridu cínatého. Směs byla za stálého míchání zahřívána na teplotu 70 °C po dobu čtyř hodin.

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po ukončení reakce a po následném vychladnutí byla směs zalkalizována 20% roztokem hydroxidu sodného. Směs byla pětkrát vytřepávána do ethylacetátu. Ethylacetátové fáze (650 ml) byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Po hodině byl síran sodný odfiltrován a ethylacetát byl vakuově oddestilován. Produkt reakce byl přečištěn rekrytalizací z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 6,78 g (48,7 %)

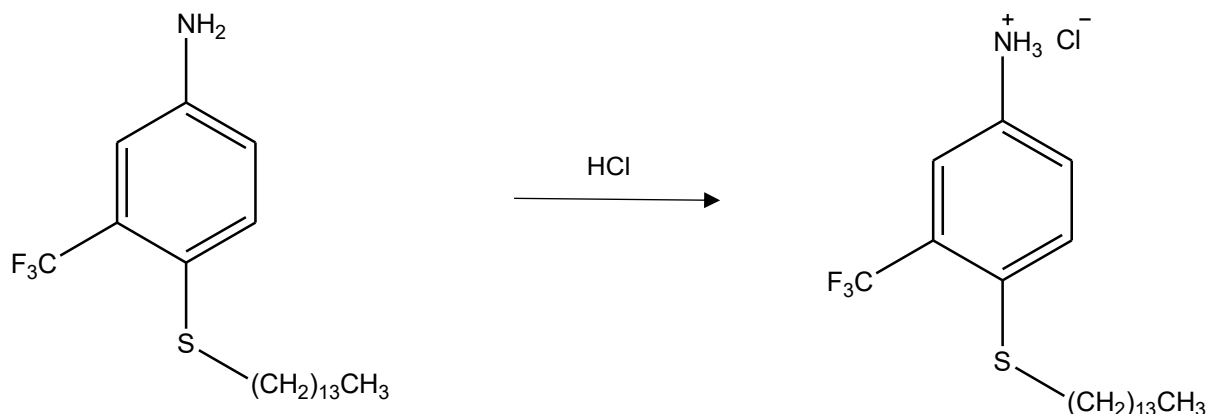
Teplota tání produktu: 36,4 - 37,6 °C

IČ spektrum: Příloha č. 32 (TETA-2-K)

NMR spektrum: Příloha č. 33 a 34 (TETA-2-K)

4.1.13. Příprava 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinium-chloridu

Molární hmotnost: 426,02 g.mol⁻¹



V 30 ml bezvodého etheru bylo rozpuštěno 3,14 g (0,008060 mol) 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinu. Roztok byl umístěn do vodní ledové lázně a byl sycen plynným chlorovodíkem. Směs byla ponechána krystalovat při teplotě -20 °C. Vzniklý produkt byl odfiltrován a byl použit do následující reakce. U produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 2,97 g (86,6 %)

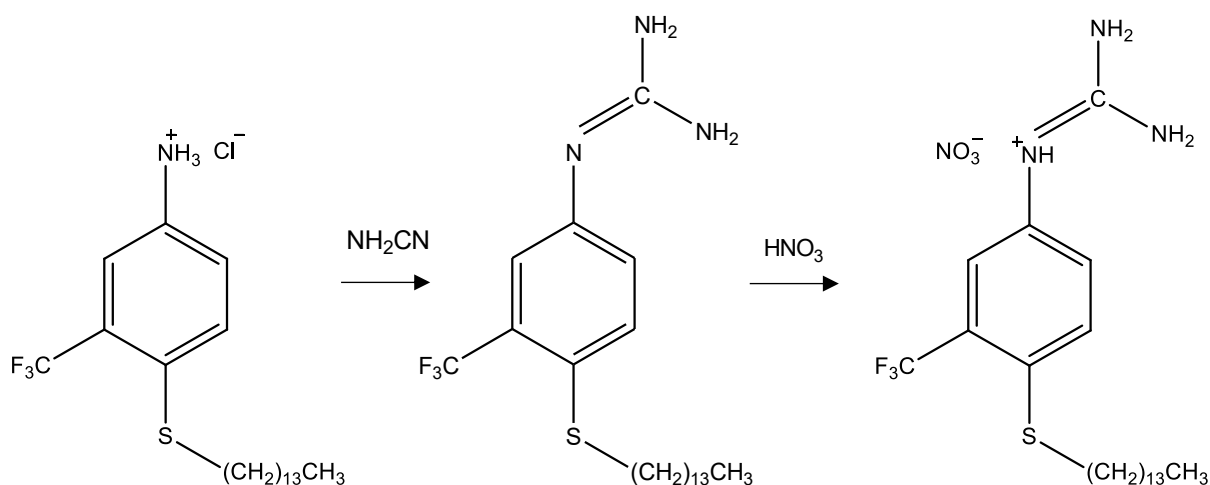
Teplota tání produktu: 131,0 - 133,9 °C

IČ spektrum: Příloha č. 35 (TETA-3)

NMR spektrum: Příloha č. 36 a 37 (TETA-3)

4.1.14. Příprava 2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu

Molární hmotnost: 495,62 g.mol⁻¹



1,3 g (0,003052 mol) 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,154 g (0,003753 mol) kyanamidu. Směs byla zahřívána 55 min na 120 °C (směs očividně reagovala již při 95 °C).

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs naředěna horkou vodou, okyselena kyselinou dusičnou a ponechána krystalovat v chladu. Vzniklé krystaly byly vakuově zfiltrány a přečištěny pomocí rekrystalizace z destilované vody. U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 0,92 g (61,0 %)

Teplota tání produktu: 123,3 - 124,2°C

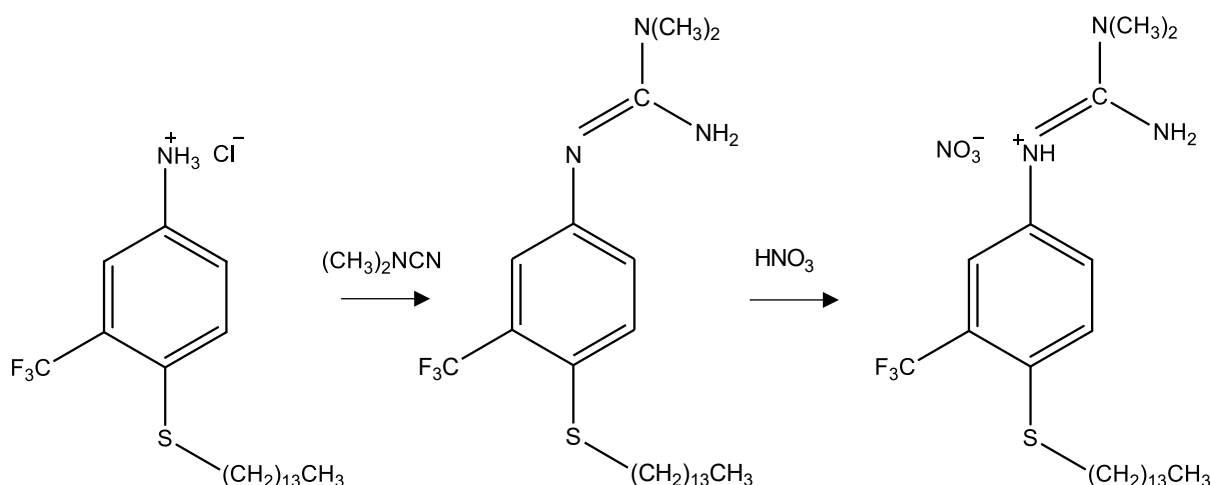
HS spektrum: Příloha č. 38 (PG-73), LRMS (ESI) m/z 432,7 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 39 (TETA-4)

NMR spektrum: Příloha č. 40 a 41 (TETA-4)

4.1.15. Příprava 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu

Molární hmotnost: 522,68 g.mol⁻¹



1,45 g (0,003404 mol) 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,29 g (0,004137 mol) dimethylkvanamidu. Směs byla zahřívána 55 min na 120 °C (směs očividně reagovala již při 90 °C).

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs naředěna horkou vodou, okyselena kyselinou dusičnou a ponechána krystalovat v chladu. Vzniklé krystaly byly vakuově odfiltrovány a přečištěny pomocí rekrystalizace z destilované vody. U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 0,60 g (33,9 %)

Teplota tání produktu: 92,7 - 93,5 °C

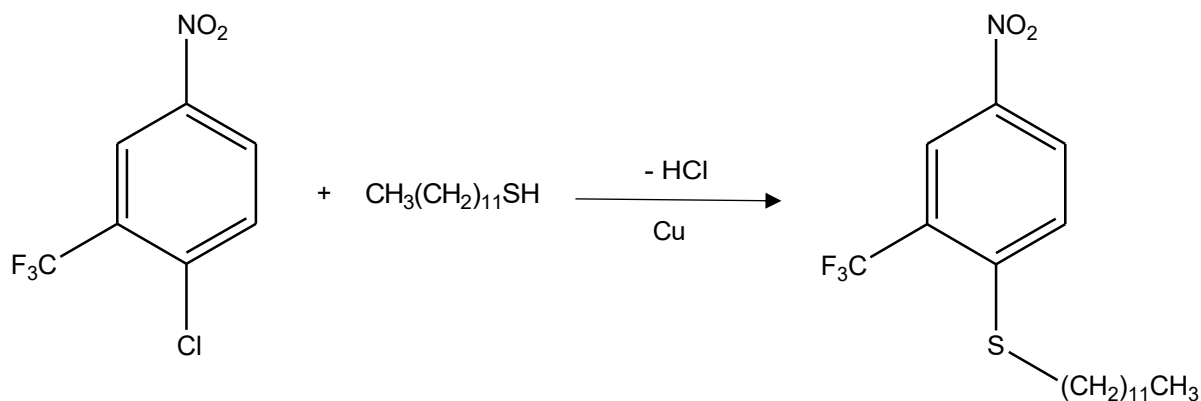
HS spektrum: Příloha č. 42 (PGDM-22), LRMS (ESI) m/z 460,7 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 43 (TETB-4)

NMR spektrum: Příloha č. 44 a 45 (TETB-4)

4.1.16. Příprava dodecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfidu

Molární hmotnost: 391,49 g.mol⁻¹



V 132 ml bezvodého N,N- dimethylformamidu bylo rozpuštěno 21,25 g (0,1050 mol) dodekanthiolu a následně bylo přidáno 15,00 g (0,06650 mol) 4-chlor-3-trifluormethylnitrobenzenu, 3,34 g (0,05256 mol) aktivní mědi a 26,46 g (0,1915 mol) bezvodého uhličitanu draselného. Směs byla zahřívána za stálého míchání při teplotě 160 °C na olejové lázni pod ochrannou atmosférou dusíku po dobu osmi hodin.

Průběh reakce byl monitorován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází. Po ochlazení byla směs ihned zfiltrována a k filtrátu byla přidána voda do zákalu. Následně byla směs ponechána v chladu krystalovat.

Produkt byl zfiltrován a přečištěn pomocí rekrystalizace z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 19,78 g (76,0 %)

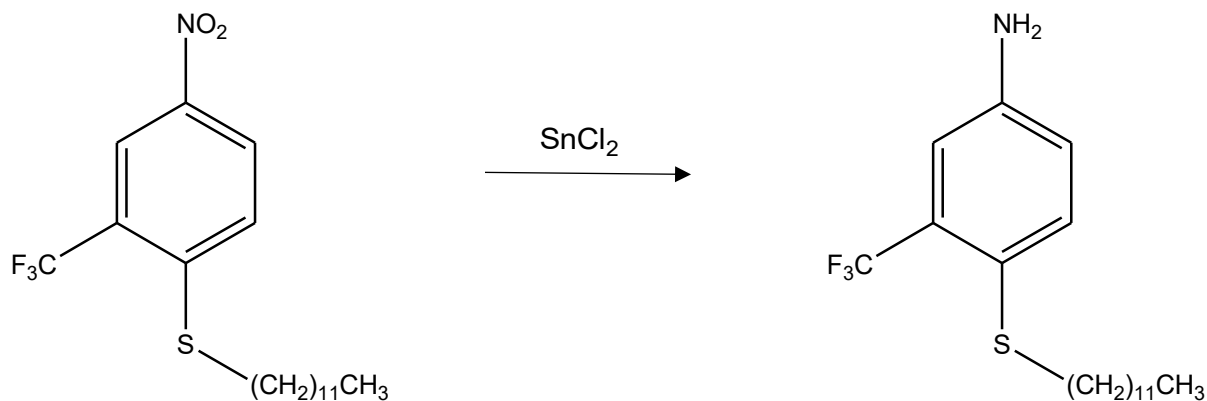
Teplota tání produktu: 35,4 - 37,2 °C [66]

IČ spektrum: Příloha č. 46 (I2A-4K)

NMR spektrum: Příloha č. 47 a 48 (I2A-4K)

4.1.17. Příprava 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinu

Molární hmotnost: 361,51 g.mol⁻¹



Do 70 ml bezvodého ethanolu bylo přidáno 10,50 g (0,02682 mol) dodecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfidu a 30,51 g (0,1609 mol) chloridu cínatého. Směs byla za stálého míchání zahřívána na teplotu 70,0 °C po dobu čtyř hodin.

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po ukončení reakce a po následném vychladnutí byla směs zalkalizována 20% roztokem hydroxidu sodného. Směs byla pětikrát vytřepávána do ethylacetátu. Ethylacetátové fáze (650 ml) byly spojeny a vysušeny bezvodým síranem sodným. Po hodině byl síran sodný odfiltrován a ethylacetát byl vakuově oddestilován. Produkt reakce byl přečištěn rekrytalizací z ethanolu. U přečištěného produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 5,75 g (59,3 %)

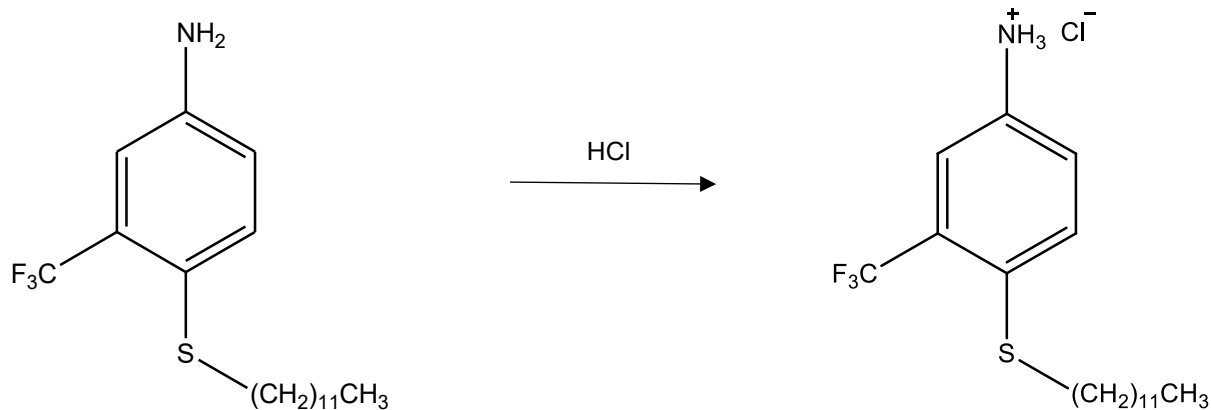
Teplota tání produktu: 30,4 - 31,6 °C

IČ spektrum: Příloha č. 49 (PDA-2)

NMR spektrum: Příloha č. 50 a 51 (PDA-2)

4.1.18. Příprava 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinium-chloridu

Molární hmotnost: 397,97 g.mol⁻¹



V 30 ml bezvodého etheru bylo rozpuštěno 3,00 g (0,008299 mol) 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinu. Roztok byl umístěn do vodní ledové lázně a byl sycen plynným chlorovodíkem. Směs byla ponechána v chladu krystalovat. Vzniklý produkt byl odfiltrován a byl použit do následující reakce. U produktu byla změřena infračervená a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 2,98 g (90,1 %)

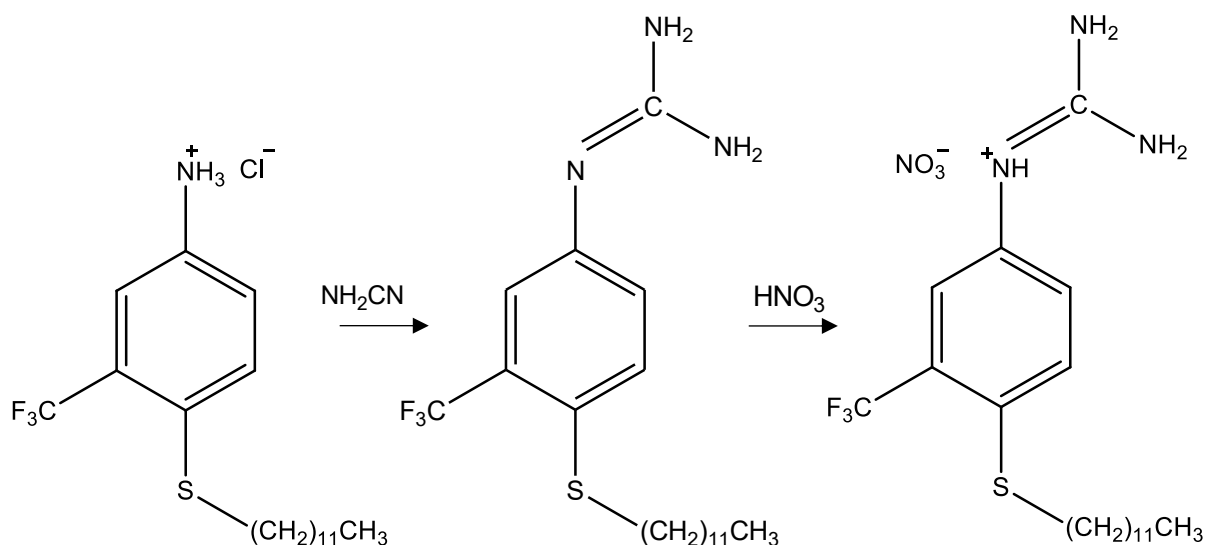
Teplota tání produktu: 132,0 - 134,3 °C

IČ spektrum: Příloha č. 52 (PDA-3)

NMR spektrum: Příloha č. 53 a 54 (PDA-3)

4.1.19. Příprava 2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu

Molární hmotnost: 466,57 g.mol⁻¹



0,95 g (0,002387 mol) 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,12 g (0,0028644 mol) kyanamidu. Směs byla zahřívána 45 min na 110 °C (směs očividně reagovala již při 95 °C).

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs naředěna horkou vodou, okyselena kyselinou dusičnou a ponechána krystalovat v chladu. Vzniklé krystaly byly vakuově odfiltrány a přečištěny pomocí rekrystalizace z destilované vody. U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 0,70 g (62,8 %)

Teplota tání produktu: 116,2 - 118,0 °C

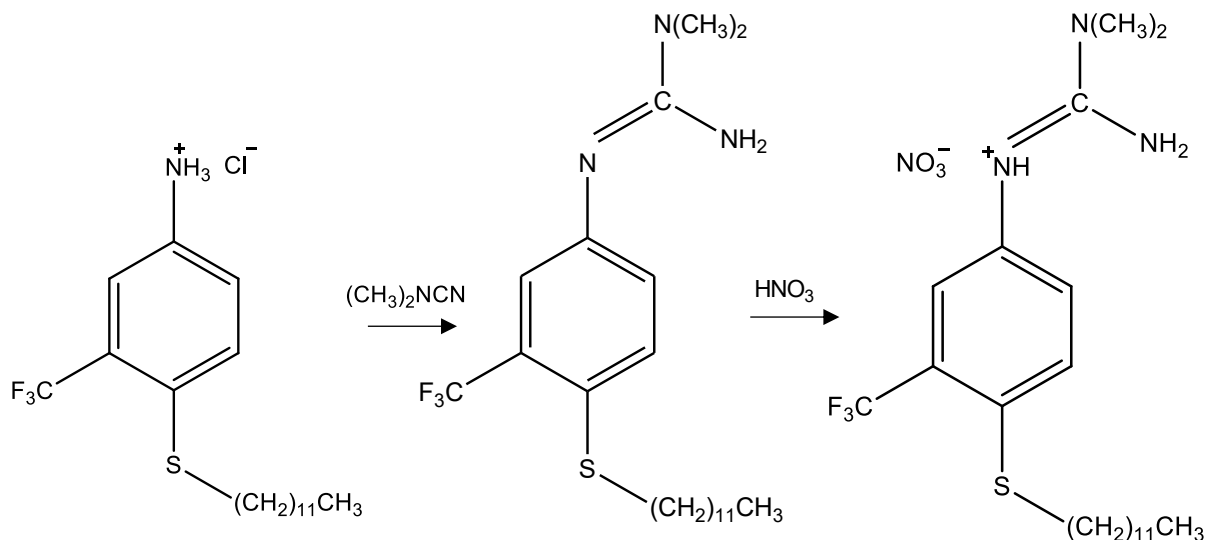
Příloha č. 55 (PG-a4f2), LRMS (ESI) m/z 404,4 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 56 (PDA-4-F)

NMR spektrum: Příloha č. 57 a 58 (PDA-4-F)

4.1.20. Příprava 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu

Molární hmotnost: 494,62 g.mol⁻¹



0,25 g (0,0006282 mol) 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinium-chloridu bylo smícháno s 0,032 g (0,0004565 mol) dimethylkvanamidu. Směs byla zahřívána 50 min na 120 °C (směs očividně reagovala již při 90 °C).

Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie se stacionární fází SILUFOL UV 254/366 a směsí hexan, ethanol a trimethylamin v poměru 8:1:0,5 jako mobilní fází.

Po vychladnutí byla směs naředěna horkou vodou, okyselena kyselinou dusičnou a ponechána krystalovat v chladu. Vzniklé krystaly byly vakuově zfiltrány a přečištěny pomocí rekrystalizace z destilované vody. U přečištěného produktu byla změřena infračervená, hmotnostní a NMR spektra.

Výtěžek reakce: 0,13 g (43,2%)

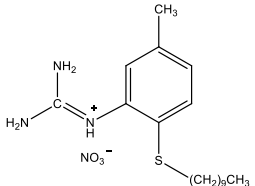
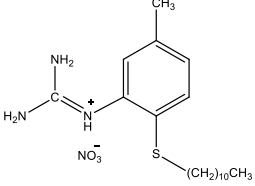
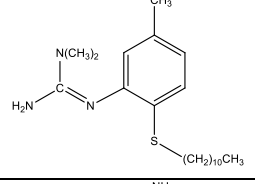
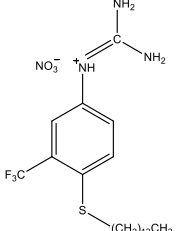
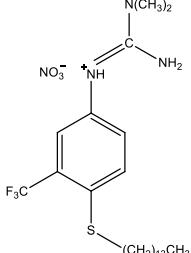
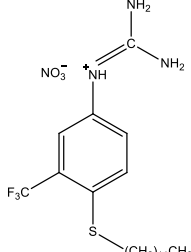
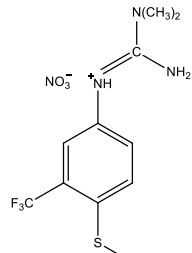
Teplota tání produktu: 99,8 - 100,9 °C

Příloha č. 59 (PGDM-21), LRMS (ESI) m/z 432,4 [M+H]⁺

IČ spektrum: Příloha č. 60 (PDB-4-F)

NMR spektrum: Příloha č. 61 a 62 (PDB-4-F)

4.2. Mikrobiologická část

	Název testované látky	Struktura
A	2-[5-methyl-2-(decylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát	
B	2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát	
C	1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidin	
D	2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát	
E	1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát	
F	2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát	
G	1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát	

4.2.1. Antifungální aktivita

Antifungální aktivita byla testována na kmenech: *Candida albicans* (CA), *Candida krusei* (CK), *Candida parapsilosis* (CP), *Candida Tropicalis* (CT), *Aspergillus fumigatus* (AF), *Aspergillus Flavus* (AFla), *Absidia corymbifera* (AC) a *Trichophyton interdigitale* (TI). Jako referenční látka byl použit dodin (DOD) a ketokonazol (KET).

KMEN (kód)		TESTOVANÁ LÁTKA (kód) – MIC ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)								
		A	B	C	D	E	F	G	DOD	KET
CA	24 h	62,5	31,25	250	>500	>500	250	250	7,81	<0,24
	48 h	125	31,25	>500	>500	>500	>500	>500	7,81	<0,24
CK	24 h	125	125	500	>500	>500	250	500	3,91	0,98
	48 h	125	125	>500	>500	>500	>500	>500	3,91	0,98
CP	24 h	125	62,5	500	>500	>500	125	500	-	-
	48 h	125	62,5	>500	>500	>500	>500	>500	-	-
CT	24 h	31,25	31,25	250	>500	>500	500	500	3,91	1,95
	48 h	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500	>500	3,91	3,91
AF	24 h	31,25	62,5	>500	>500	>500	500	500	7,81	7,81
	48 h	31,25	62,5	>500	>500	>500	>500	>500	15,63	7,81
AFla	24 h	62,5	31,25	>500	>500	>500	500	500	-	-
	48 h	62,5	31,25	>500	>500	>500	>500	>500	-	-
AC	24 h	31,25	31,25	500	>500	>500	250	250	62,5	31,25
	48 h	62,5	31,25	>500	>500	>500	>500	>500	62,5	31,25
TI	24 h	125	250	250	>500	>500	250	125	15,63	0,98
	48 h	125	250	>500	>500	>500	>500	>500	15,63	0,98

4.2.2. Antibakteriální aktivita

Antimikrobiální aktivita byla testována na kmenech: *Staphylococcus aureus* (**SA**), *Methicilin rezistentní Staphylococcus aureus* (**MRSA**), *Staphylococcus epidermidis* (**SE**), *Enterococcus faecalis* (**EF**), *Escherichia coli* (**EC**), *Klebsiella pneumoniae* (**KP**), *Serratia marcescens* (**SEMA**) a *Pseudomonas aeruginosa* (**PA**). Jako referenční látka byl použit bacitracin (**BAC**) a neomycin (**NEOM**).

KMEN (kód)		TESTOVANÁ LÁTKA (kód) – MIC ($\mu\text{mol.l}^{-1}$)								
		A	B	C	D	E	F	G	BAC	NEOM
SA	24 h	1,95	1,95	125	15,62	15,62	62,5	125	3,9	15,62
	48 h	3,9	3,9	125	62,5	62,5	125	250	3,9	31,25
MRSA	24 h	3,9	1,95	125	62,5	15,62	62,5	125	0,98	15,62
	48 h	7,81	3,9	250	250	62,5	250	250	0,98	31,25
SE	24 h	7,81	1,95	125	500	62,5	125	125	3,9	15,62
	48 h	7,81	3,9	250	>500	62,5	500	250	7,81	31,25
EF	24 h	15,62	1,95	125	62,5	62,5	250	250	250	31,25
	48 h	15,62	3,9	250	250	62,5	500	500	250	31,25
EC	24 h	31,25	31,25	500	>500	>500	>500	>500	0,98	>500
	48 h	31,25	31,25	>500	>500	>500	>500	>500	0,98	>500
KP	24 h	250	31,25	500	>500	>500	>500	>500	0,98	>500
	48 h	500	31,25	>500	>500	>500	>500	>500	0,98	>500
SEMA	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	-	-
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	-	-
PA	24 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	7,81	>500
	48 h	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	15,6	>500

4.3. Přehled nově popsaných látek

Při experimentální práci bylo nasyntetizováno 17 látek, které doposud nebyly popsány v literatuře. Struktury byly vyhledávány v databázi Scifinder.

1. decyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfid
2. 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinium-chlorid
3. 2-[5-methyl-2-(decylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
4. undecyl-(4-methyl-2-nitrofenyl)sulfid
5. 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilin
6. 5-methyl-2-(undecylsulfanyl)anilinium-chlorid
7. 2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
8. 1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidin
9. tetradecyl-(4-nitro-2-trifluormethyl)sulfid
10. 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilin
11. 3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)anilinium-chlorid
12. 2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
13. 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
14. 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilin
15. 3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)anilinium-chlorid
16. 2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát
17. 1,1-dimethyl-2-[3-trifluormethyl-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát

Syntetizované látky byly popsány pomocí infračervených spekter, hmotnostních spekter a spekter nukleární magnetické rezonance v přílohách diplomové práce.

5. Diskuze

Syntéza fenylguanidinů se skládala ze čtyř základních kroků. Syntéza alkyl-nitrofenylsulfidů, redukce jejich nitroskupiny na aminoskupinu, převedení anilinu na anilinium-chlorid a následná syntéza fenylguanidinů. Ve všech krocích se vyskytly komplikace.

Syntéza derivátů alkyl-nitrofenylsulfidů byla nejméně problémová. Čistota produktů byla zvýšena pomocí opakované rekrystalizace z horkého ethanolu. Reakce byla prováděna pod ochrannou atmosférou dusíku z důvodu zabránění nežádoucích reakcí a zvýšení výtěžku produktu. Všechny nitrofenylsulfidy krystalizovaly takřka bez problémů. Výtěžky se pohybovaly v rozmezí 66-80 %.

Redukce alkyl-nitrofenylsulfidů se ukázala jako mnohem více problémová. Teplota tání produktů se u některých látek pohybovala okolo laboratorní teploty, což výrazně komplikovalo čištění a izolaci produktů. Zejména u 5-methyl-2-(decylsulfanyl)anilinu byla rekrystalizace extrémně problematická, jelikož produkt tál téměř okamžitě při filtraci krystalů. Čistota vytvořených derivátů anilinu byla zásadní, jelikož po převedení látky na anilinium-chlorid je čištění látky značně obtížné. Výtěžky reakcí byly v rozmezí 48-74 %.

Převedení derivátů anilinu na odpovídající hydrochlorid probíhalo poměrně snadno, díky převedení na iontovou sůl se teplota tání produktu výrazně zvýšila. Rozmezí výtěžků reakcí bylo 87-97 %.

Syntéza finálních látek - guanidinů byla značně problematická ve stanovení potřebného množství kyanamidu. Po empirické zkušenosti se ukázalo jako optimální množství kyanamidu 120% látkového množství anilinium-chloridu. Nesnadné bylo také určení ideální teploty pro syntézu. Reakce probíhala většinou již kolem 90 stupňů Celsia, což zapříčinilo uvolnění par z taveniny. Průběh reakce byl opakovaně sledován pomocí TLC, teplota a čas zahřívání se individuálně měnil. Nemethylované guanidiny se kvůli neochotě krystalovat převáděly na nitrát, který žádoucím způsobem krystaloval. U trifluormethylového jádra se převáděly na nitrát i dimethylované guanidiny, opět kvůli zvýšené schopnosti krystalizace. 1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidin se ponechal ve formě báze, k čištění produktu bylo použito vytřepávání do ethylacetátu s následnou krystalizací.

Krystalizacím guanidinů pravděpodobně bránily nečistoty. Pro čištění 2-[5-methyl-2-(decylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrátu byla zvolena sloupcová chromatografie, jako stacionární fáze byl použit starší oxid hlinitý z důvodu snížené schopnosti

absorpce látek. U nově koupeného oxidu hlinitého byla zaznamenána vysoká absorpce, která se ukázala jako problémová.

Další problém se týkal správného výběru rozpouštědla pro krystalizaci 1,1-dimethyl-2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinu. Nakonec se ukázal jako nejlepší hexan, ve kterém báze ochotně krystalizovala. U ostatních nitrátů guanidinů byla k čištění použita rekrystalizace z ethanolu nebo ze směsi voda-ethanol. Výtěžky reakcí se pohybovaly v rozmezí 34-65 %.

Mikrobiologické testy odhalily, že deriváty guanidinů, u kterých byl použit 4-chlor-3-nitrotoluen jako výchozí látka, mají vyšší antimykotickou účinnost i antibakteriální účinnost než deriváty vycházející z 4-chlor-3-trifluormethylnitrobenzenu. Nejsilnější antimykotickou i antibakteriální aktivitu vykazoval 2-[5-methyl-2-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidinium-nitrát. Zmíněná látka vykazovala vyšší antibakteriální aktivitu než standardy (bacitracin a neomycin) u bakteriálních kmenů: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* a *Enterococcus faecalis*.

6. Citovaná literatura

- [1] C. L. Ventola: The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats, *Pharmacy and Therapeutics*, 2015, 40(4), 277–283.
- [2] The antibiotic alarm, *Nature*, 2013, 495(7440), 141.
- [3] J. Bartlett, D. Gilbert a B. Spellberg: Seven ways to preserve the miracle of antibiotics., *Clinical Infectious Diseases*, 2013, 56(10), 1445–1450.
- [4] L. J. Piddock: The crisis of no new antibiotics--what is the way forward?, *The Lancet Infectious Diseases*, 2012, 12(3), 249-253.
- [5] R. Watson: Europe launches 12 point plan to tackle antimicrobial resistance, *British Medical Journal (Online)*, 2011, 343, 7528.
- [6] G. Zhabiz, B. Omar a P. D. Gene: Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis, *Journal of infection in developing countries*, 2014, 8(2), 129-136.
- [7] Food and Drug Administration: www.fda.gov, [Online], 2018, [cit. 19-3-2018]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/>.
- [8] D. Bitar, O. Lortholary, Y. L. Strat, J. Nicolau, B. Coignard, P. Tattevin, D. Che a F. Dromer: Population-Based Analysis of Invasive Fungal Infections, France, 2001–2010, *Emerging Infectious Diseases*, 2014, 7, 1149–1155.
- [9] D. Armstrong-James, G. Meintjes a G. D. Brown: A neglected epidemic, fungal infections in HIV/AIDS, *Trends in Microbiology*, 2014, 22(3), 120-127.
- [10] O. Vidrna: Syntéza na jádře substituovaných arylguanidinů jako potenciálních léčiv IX., *Diplomová práce*, Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové 2014, 72 s.
- [11] E. Emelin: Syntéza na jádře substituovaných arylguanidinů jako potenciálních léčiv V., *Diplomová práce*, Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové 2006, 70 s.
- [12] D. Jarešová, Syntéza substituovaných arylguanidinů jako potenciálních léčiv X., *Diplomová práce*, Farmaceutická fakulta Univerzity Karlovy, Hradec Králové 2015, 83 s.
- [13] M. Shunyan, K. Aleksej, P. S. D., S. G. Franzblau a O. Jimmy: An antimicrobial guanidine-bearing sesterterpene from the cultured cyanobacterium *Scytonema* sp, *Journal of Natural Products*, 2009, 72(11), 2043-2045.
- [14] Prof. RNDr. Jiří Patočka, DrSc.: Scytoscalarol, terpenický cyanotoxin s guanidinovou skupinou [Online], 2018, [cit.4-1-2018]. Dostupné z: <http://toxicology.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=1031>.
- [15] S. S. Swain, S. K. Paidesetty a R. N. Padhy: Antibacterial, antifungal and antimycobacterial compounds from cyanobacteria, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 90, 760-776.

- [16] M. Espinoza-Moraga, N. M. Njuguna, G. Mugumbate a J. Caballero: In silico Comparison of Antimycobacterial Natural Products with Known Antituberculosis Drugs, *Journal of Chemical Information and Modelling*, 2013, 53, 649-660.
- [17] C. K. Chung, Z. Liu, K. W. Lexa, T. Andreani, Y. Xu, Y. Ji, D. A. Di Rocco, G. R. Humphrey a R. T. Ruck: Asymmetric Hydrogen Bonding Catalysis for the Synthesis of Dihydroquinazoline-Containing Antiviral, Letemovir, *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(31), 10637-10640.
- [18] D. Kropf, O. v. Richter, H.-P. Stobernack, H. Rübsamen-Schaeff a H. Zimmermann: Pharmacokinetics and Safety of Letemovir Coadministered With Cyclosporine A or Tacrolimus in Healthy Subjects, *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 2018, 7(1), 9-21.
- [19] E. Maffini, L. Giaccone, M. Festuccia, L. Brunello, A. Busca a B. Bruno: Treatment of CMV infection after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, *Expert Review of Hematology*, 2016, 9(6), 585-596.
- [20] S. Konoplev, E. Champlin R., S. Giralt, T. Ueno N., I. Khouri, I. Raad, K. Rolston, K. Jacobson, J. Tarrand, M. Luna, Q. Nguyen a E. Whimbey: Cytomegalovirus pneumonia in adult autologous blood and marrow transplant recipients, *Bone marrow transplantation*, 2001, 27(8), 877-881.
- [21] M. Zeiger, S. Stark, E. Kalden, B. Ackermann, J. Ferner, U. Scheffer, F. Shoja-Bazargani, V. Erdel, H. Schwalbe a M. W. Goebel: Fragment based search for small molecule inhibitors of HIV-1 Tat-TAR, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, 24(24), 5576-5580.
- [22] A. Mujeeb, K. Bishop, B. M. Peterlin, C. Turck, T. G. Parslow a T. L. James: NMR structure of a biologically active peptide containing the RNA-binding domain of human immunodeficiency virus type 1 Tat, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(17), 8248-8252.
- [23] D. Solene, R. Fabienne, Y. Hocine a B. Bruno: The ins and outs of HIV-1 Tat *Traffic (Oxford, United Kingdom)*, 2012, 13(3), 355-363.
- [24] A. J. Weaver, J. B. Shepard, R. A. Wilkinson, R. L. Watkins, S. K. Walton, A. R. Radke, T. J. Wright, M. B. Awel, C. Cooper, E. Erikson, M. E. Labib, J. M. Voyich a M. Teintze: Antibacterial activity of THAM Trisphenylguanide against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *PLoS one*, 2014, 9(5), 9.
- [25] X. Luo, Z. Jiang, N. Zhang, Z. Yang a Z. Zhou: Interactions of biocidal polyhexamethylene guanidine hydrochloride and its analogs with POPC model membranes, *Polymers (Basel, Switzerland)*, 2017, 9(10), 517.
- [26] B. Wang, B. Liu, G. Peng, X. Meng, Z. Jiang a H. Chen: Synthesis and antimicrobial properties of a guanidine-based oligomer grafted with a reactive cationic surfactant through Michael addition, *Journal of Applied Polymer Science*, 2013, 130(5), 3489-3497.
- [27] P. Lorenzano Menna, J. Comin, D. E. Gomez a D. F. Alonso: Phenyl-guanidine derivatives., Patent US 20140228388, 2014.
- [28] X. Pan, K. A. Iyer, H. Liu, D. H. Sweet a M. Dukat: A new chemotype inhibitor for the human organic cation transporter 3, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 27(18), 4440-4445.

- [29] S. Padmanabhan a Editor: Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine, Elsevier Ltd., London 2014, s. 528-529.
- [30] R. Gul, A. Badshah, A. Khan, A. Junaid a M. K. Rauf: Preliminary investigation of anticancer activity by determining the DNA binding and antioxidant potency of new ferrocene incorporated N,N', N''-trisubstituted phenylguanidines, *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, 117, 264-269.
- [31] K. Bettayeb, O. M. Tirado, S. Marionneau-Lambot, Y. Ferandin, O. Lozach, J. C. Morris, S. Mateo-Lozano, P. Drucekes, C. Schaechtele, M. H. G. Kubbutat, F. Liger, B. Marquet a B. Joseph, Meriolins: A new class of cell death inducing kinase inhibitors with enhanced selectivity for cyclin-dependent kinases., *Cancer Research*, 2007, 67(17), 8325-8334.
- [32] B. Kelly, M. McMullan, C. Muguruza, J. E. Ortega, J. J. Meana, L. F. Callado a I. Rozas: α 2-Adrenoceptor Antagonists: Synthesis, Pharmacological Evaluation, and Molecular Modeling Investigation of Pyridinoguanidine, Pyridino-2-aminoimidazoline and Their Derivatives, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, 58(2), 963-977.
- [33] D. H. O'Donovan, C. Muguruza, L. F. Callado a I. Rozas: Guanidine-based α 2-adrenoceptor ligands: Towards selective antagonist activity, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 82, 242-254.
- [34] B. K. Rao, D. Samanta, S. Joshi, K. Basu, S. D. Baldwin a A. Jha: Receptor-Ligand Interaction at 5-HT₃ Serotonin Receptors: A Cluster, *Journal of Physical Chemistry A*, 2014, 118(37), 8471-8476.
- [35] K. Alix, S. Khatri, P. D. Mosier, S. Casterlow, D. Yan a H. L. Nyce: Superagonist, Full Agonist, Partial Agonist, and Antagonist Actions, *ACS Chemical Neuroscience*, 2016, 7, 1565-1574.
- [36] A. Cajaraville, J. Suarez, S. Lopez, J. A. Varela a C. Saa: Rh(III)-catalyzed [5+1] oxidative cycloaddition of arylguanidines with alkynes: a novel access to C4-disubstituted 1,4-dihydroquinazolin-2-amines, *Chemical Communications (Cambridge, United Kingdom)*, 2015, 51(82), 15157-15160.
- [37] G. A. Almario, A. Lothead, M. Saady a P. Yaiche: Preparation of substituted tricyclic derivatives against neurodegenerative diseases. Patent EP 2138498, 2009.
- [38] J. Studnicka, M. Lasticova, T. Sosna, P. Rozsival a A. Smahelova: Diabetický makulární edém z pohledu oftalmologa a diabetologa, *Mladá fronta* [Online], 2013, [cit. 26-2-2018]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/diabeticky-makularni-edem-z-pohledu-oftalmologa-a-diabetologa-470193>.
- [39] M. Blaha, E. Rencova, H. Langrova, J. Studnicka, V. Blaha, P. Rozsival, M. Lanska a L. Sobotka: Rheohaemapheresis in the treatment of nonvascular age-related, *Atherosclerosis Supplements*, 2013, 14(1), 179-184.
- [40] R. Pannecoeck, D. Serruys, L. Benmeridja, J. R. Delanghe, N. v. Geel, R. Speeckaert a M. M. Speeckaert: Vascular adhesion protein-1: Role in human pathology and application as a biomarker., *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 2015, 52(6), 284-300.

- [41] T. Inoue, M. Morita, T. Tojo, A. Nagashima, A. Moritomo a H. Miyake: Novel 1H-imidazol-2-amine derivatives as potent and orally active vascular adhesion protein-1 (VAP-1) inhibitors for diabetic macular edema treatment, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2013, 21(13), 3873-3881.
- [42] J. McMurry: Organická chemie, Nakladatelství VUTIUM, Brno 2015, s. 586.
- [43] M. Uher, K. Antos a L. Floch: Synthesis and infrared spectra of p-isothiocyanatophenyl alkyl sulfides and p-isothiocyanatophenyl alkyl sulfones, *Sbornik Prac Chemické Fakulty SVST*, 1967, 23-28.
- [44] D. R. Levering, F. L. Morritz a E. Lieber: The Promoter Effect of Platinic Chloride on Raney Nickel. I. General Effects on Type W-6 Catalyst, *Journal of the American Chemical Society*, 1950, 72(3), 1190–1194.
- [45] J. G. Young, W. H. Hartung a H. H. Daniels: Palladium catalysis. VI. The reproducibility of palladium-charcoal catalysts, *Journal of Organic Chemistry*, 1953, 18, 229-234.
- [46] H. Gilman a D. L. Esmay: The Cleavage of Heterocycles with Raney Nickel and with Lithium, *Journal of the American Chemical Society*, 1953, 2947–2949.
- [47] A. T. Fuller, I. M. Tonkin a J. Walker: Chemotherapeutic agents of the sulphone type. Part II. Sulphones related to benzimidine and benzylamine, *Journal of the Chemical Society*, 1945, 633.
- [48] R. Baltzly a C. Ferry: New Compounds. Some Mono- and Disubstituted Guanidines, *Journal of the American Chemical Society*, 1942, 64(9), 2231–2232.
- [49] G. T. Verlag: Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl), sv. XI/1, Stuttgart, 1957, 468.
- [50] K. Burgdorf a W. Neumann: Verfahren zur Ruktion aromatischer Nitroverbindungen zu Aminen, DE Patent DE934290, 1953.
- [51] E. Wiberg a A. Jahn: Über die hydrierende Wirkung ätherischer Lösungen von Aluminiumwasserstoffhalogeniden, *Zeitschrift für Naturforschung*, 1952, 7(9-10), 581.
- [52] E. Müller a G. Zimmermann: Über die Einwirkung von Hydrazin auf Nitro- und Chlornitroderivate des Benzols und Naphthalins. II. Abhandlung: Über die Einwirkung von Hydrazinhydrat auf einige Nitro- und Chlornitroverbindungen, *Advanced Synthesis & Catalysis*, 1925, 111(1), 277.
- [53] H. e. a. Becker: Organická synthesa (Organikum): Academia, Praha 1971, 546.
- [54] F. D. Bellamy a K. Ou: Selective reduction of aromatic nitro compounds with stannous chloride in nonacidic and nonaqueous medium, *Tetrahedron Letters*, 1984, 25(8), 839-42.
- [55] K. G. Misutsch: Die Nebenreaktionen bei der Reduktion von Nitroverbindungen der aromatischen Reihe. Über die Rolle des zweiwertigen Eisensalzes im Reduktionsprozeß, *Advanced Synthesis & Catalysis*, 1936, 145(1-2), 60-64.
- [56] B. H. Nicolet a J. R. Sampey: Positive halogens attached to carbon in the aromatic series. II. Iodine derivatives of m-phenylenediamine and of resorcinol, *Journal of the American Chemical Society*, 1927, 49(7), 1796.

- [57] K. Palat, V. Jesina, V. Dusek a C. Vrba: Studies on local anesthetics. XXV. Basic esters of diphenylcarbamic acids. II, *Česko-Slovenská Farmacie*, 1959, 8.
- [58] R. Lihotzky: Cyanamid. In: Ullmans: Encyklopadie der technischem chemie, 4. Auflage, Weinheim: Verlag Chemie, 1975, 9, 642-645.
- [59] A. G. Schering-Kahlbaum: Procédé de préparation de guanidine substitué, Patent FR 659004, 1928.
- [60] Klinger: Hoppe-Seyler's Zeitschrift Fur Physiologische Chemie, 155(237), 1926. In: Beilstein, 12(2), 693.
- [61] C. E. Braun, J. D. Erit a G. C. Crooks: Guanidine structure and hypoglucemia. Some carbocyclic diguanidines, *Journal of Organic Chemistry*, 1938, 3, 146-152.
- [62] R. H. McKee: *Angewandte Chemie*, 1901, 26, 209.
- [63] R. Waditschatka: Process for the production of guanidine derivatives, Patent US 5276186, 1994.
- [64] M. Marko a Ľ. Krasnec, *Základy preparatívnej organickej chemie I.*, Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, Bratislava 1962, s. 144.
- [65] CAS Registry Number: 1490860-64-4, Aurora Building Blocks, Order Number: A03.280.084
- [66] Y. Goriya a C. V. Ramana: The [Cu]-catalyzed SNAR reactions: direct amination of electron deficient aryl halides with sodium azide and the synthesis of arylthioethers under Cu(II)-ascorbate redox system, *Tetrahedron*, 2010, 66(38), 7642-7650.