

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

305 680

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07D 271/113 (2006.01)
C07D 285/125 (2006.01)
C07D 285/135 (2006.01)
C07D 413/04 (2006.01)
C07D 417/04 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)
A61K 31/4427 (2006.01)
A61P 31/06 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2013-263**
 (22) Přihlášeno: **04.04.2013**
 (40) Zveřejněno: **15.10.2014**
(Věstník č. 42/2014)
 (47) Uděleno: **23.12.2015**
 (24) Oznámení o udělení ve věstníku: **03.02.2016**
(Věstník č. 5/2016)

(56) Relevantní dokumenty:

Macaev F. et al: The structure-antituberculosis activity relationships study in a series of 5-aryl-2-thio-1,3,4-oxadiazole derivatives; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19, (2011) Pages 6792–6807
 ; Alireza Foroumadi et al: Antituberculosis agents. V. Synthesis, evaluation of in vitro antituberculosis activity and cytotoxicity of some 2-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4- thiadiazole derivatives; *Il Farmaco*; Volume 57, Issue 9, September 2002, Pages 765–769; Alireza Foroumadi et al: Synthesis and antibacterial activity of N-(5-benzylthio-1,3,4-thiadiazol-2-yl) and N-(5-benzylsulfonyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazinyl quinolone derivatives; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Volume 15, Issue 20, 15 October 2005, Pages 4488–4492
 ; Věra Klimešová et al: Synthesis and antimycobacterial activity of 1,2,4-triazole 3-benzylsulfonyl derivatives; *Il Farmaco*, Volume 59, Issue 4, April 2004, Pages 279–288

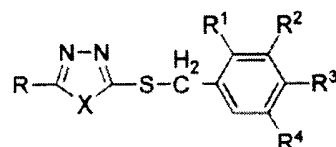
WO 2013/007663 A1; US 2010/0029685 A1; US 4245033; WO 02/064135 A1; WO 2014/165090 A1.

(73) Majitel patentu:
Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta
v Hradci Králové, Hradec Králové, CZ

(72) Původce:
prof. PharmDr. Alexandr Hrabálek, CSc., Hradec
Králové, CZ
PharmDr. Jaroslav Roh, Ph.D., Jihlava, CZ
Ing. Galina Karabanovich, Hradec Králové, CZ
doc. RNDr. Věra Klimešová, CSc., Hradec
Králové, CZ
Mgr. Jan Němeček, Černožice, CZ
doc. PharmDr. Petr Pávek, Ph.D., Hradec Králové,
CZ

(74) Zástupce:
Rott, Růžička & Guttman
Patentové, známkové a advokátní kanceláře, JUDr.
Ing. Michal Guttman, Vinohradská 37, 120 00
Praha 2

-COAr, -F, -Cl, -Br, -I, a/nebo jednou nebo více
elektrondonorovými skupinami,
zahrnujícími -NH₂, -NHalkyl, -N(alkyl)₂, -OH, -Oalkyl,
-Oaryl, -NHCOCH₃, -NHCOalkyl; -NHCOaryl; -alkyl,
-aryl, přičemž když je R₁ a R₃ je -NO₂, potom R₂ a R₄ je
-H, nebo když R₁ a R₃ je -H, potom R₂ a R₄ je -NO₂.
Tyto sloučeniny lze vyrobit jednoduchými syntézami a
vyznačují se nízkou toxicitou a vysokou účinností proti
mykobakteriím včetně jejich multirezistentních kmenů.
Vynález řeší i farmaceutický přípravek obsahující jako
účinnou látku substituovaný diazol vzorce I, jakož i
použití tohoto substituovaného diazolu jako
antituberkulotika.



I

(54) Název vynálezu:

**Substituovaný diazol, jeho použití a
farmaceutický přípravek ho obsahující**

(57) Anotace:

Substituované diazoly ze skupiny 1,3,4-oxadiazolů a
1,3,4-thiadiazolů obecného vzorce I, kde X = O nebo S;
R je vybrán ze skupiny sestávající z: H, -NH₂, C₁₋₁₁ alkyl,
cyklohexyl-, benzyl-, fenyln-, pyridyl- nebo
fenyl- substituovaný v polohách 2, 3, 4 a 5 jednou nebo
více elektronakceptorovými skupinami,
zahrnujícími -NO₂, -N(alkyl)₃, -CF₃,
CCl₃, -CN, -COOH, -COOalk, -COOAr, -CHO, -COalk,

CZ 305680 B6

Substituovaný diazol, jeho použití a farmaceutický přípravek ho obsahující

Oblast techniky

5

Vynález se týká nových antituberkulotik na bázi nitrosloučenin, které jsou účinné proti multirezistentním kmenům mykobakterií.

10 Současný stav techniky

Tuberkulóza (TB), způsobená *Mycobacterium tuberculosis complex* (M.tb), patří již řadu let k nejrozšířenějším infekčním onemocněním na světě. Její incidenci ani mortalitu se dosud nepodařilo i přes dosavadní antituberkulotickou (AT) léčbu snížit (World Health Organization, Stop TB Partnership. Tuberculosis Global Facts 2010). K léčbě se používá kombinace léků s antimykobakteriálním efektem, které se podávají zpravidla 6 až 9 měsíců. Již řadu let je k dispozici pouze 5 účinných preparátů označovaných jako AT 1. řady. Patří mezi ně baktericidně působící isoniazid, rifampicin, pyrazinamid, streptomycin a bakteriostaticky působící etambutol. Problémem současnosti je zvyšující se výskyt multirezistentních kmenů označovaných jako MDR-TB (Multi-drug-resistant tuberculosis), případně mimořádně závažné a rozsáhlé rezistence označované jako XDR-TB (Extensively drug-resistant tuberculosis), případně zcela rezistentní kmeny TDR-TB (Totally drug-resistant tuberculosis), vůči kterým je dosavadní léčba neadekvátní a léčebné možnosti se stávají velmi omezené. Na léčbu rezistentních forem se používají fluorochinolony, amikacin, kanamycin, cykloserin, ethionamid, protionamid, p-aminosalicylová kyselina, které se podávají v kombinaci minimálně 18 až 24 měsíců. V případě výskytu TDR-TB zcela bez léčebného efektu. Dalším problémem je kombinace tuberkulózy s HIV/AIDS. Příčinou toho je latentní forma TB, kterou Světová zdravotnická organizace předpokládá u 1/3 lidské populace a která v důsledku imunodeficiency u HIV pacientů, přechází do aktivní formy TB. Kombinace TB a HIV je smrtelné onemocnění.

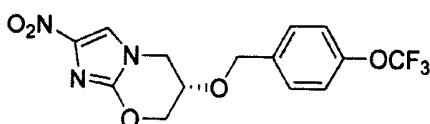
30

Z důvodů výše uvedených je snaha nalézt látky, které by působily vůči MDR-TB kmenům, případně vůči latentním formám TB. Musí se jednat o látky, které působí jiným mechanismem než současně používaná AT. Nová potenciální AT, které jsou nyní v preklinické a klinické fázi vývoje jsou často látky, které obsahují ve své molekule nitroskupinu. Jedná se o nitroimidazooxazin PA-824 (Singh, R.; Manjunatha, U.; Boshoff, H. I. M.; Ha, Y. H.; Niyomrattanakit, P.; Ledwidge, R.; Dowd, C. S.; Lee, I. Y.; Kim, P.; Zhang, L.; Kang, S.; Keller, T. H.; Jiricek, J. Barry, C. E. 3rd.

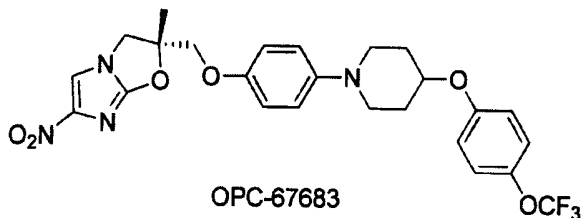
35

Bicyclic nitroimidazoles act as intracellular NO donors and kill non-replicating *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 2008, 322, 1392–1395),

40



PA-824

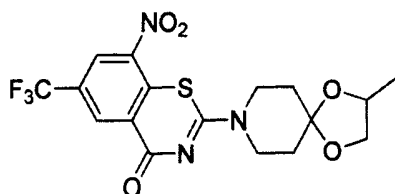


OPC-67683

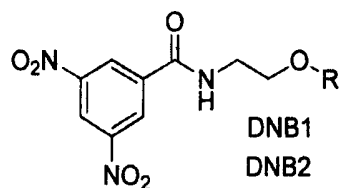
nitrodihydroimidazo-oxazol OPC-67683 (Matsumoto, M.; Hashizume, H.; Tomishige, T.; Kawasaki, M.; Tsubouchi, H.; Sasaki, H.; Shimokawa, Y.; Komatsu, M. OPC-67683, and nitrodihydroimidazooxazole derivative with promising action against tuberculosis *in vitro* and in mice. *PLOS Medicine* 2006, 3, 2131–2143), 1,3-benzothiazin-4-on BTZ043 (Makarov, V.; Manina, G.; Mikusova, K.; Möllmann, U.; Ryabova, O.; Saint-Joanis, B.; Dhar, N.; Pasca, M. R.; Buroni, S.; Lucarelli, A. P.; Milano, A.; De Rossi, E.; Belanova, M.; Bobovska, A.; Dianiskova, P.; Kordulakova, J.; Sala, C.; Fullnm, E.; Schneder, P.; McKinney, J. D.; Brodin, P.; Christophe, T.; Waddell, S.; Butcher, P.; Albrethesen, J.; Rosenkrands, I.; Brosch, R.; Nandi, V.; Bha-

45

- rath, S.; Gaonkar, S.; Shandil, R. K.; Balasubramanian, V.; Valganes, T.; Tyagi, S.; Grosset, J.; Riccardi, G.; Cole, S. T. Benzothiazinones kill *Mycobacterium tuberculosis* by blocking arabinan synthesis. *Science* 2009, 324, 801–804) a dinitrobenzamidy (Christophe, T.; Jackson, M.; Jeon, H. K.; Fenistein, D.; Contreras-Dominguez, M.; Kim, J.; Genovesio, A.; Carralot, J. P.; Ewann, F.; Kim, E. H.; Lee, S. Y.; Kang, S.; Seo, M. S.; Park, E. J.; Škovierová, H.; Pham, H.; Riccardi, G.; Nan, J. Y.; Marsollier, L.; Kempf, M.; Joly-Guillou, M. L.; Oh, T.; Shin, W. K.; No, Z.; Nehrbass, U.; Brosch, R.; Cole, S. T.; Brodin, P. High content screening identifies decaprenyl-phosphoribose 2'epimerase as a target for intracellular antimycobacterial inhibitors. *PLOS Pathog* 2009, 5, 1–10).



BTZ038; BTZ043 (S); BTZ044 (R)



DNB1 R = 4-methoxyfenyl-
DNB2 R = benzyl

dinitrobenzamidy

10

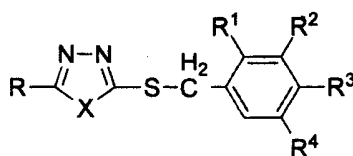
U všech těchto látek se nitro skupina ukázala jako esenciální pro jejich antimykobakteriální aktivitu, avšak mechanismem účinku se liší.

- V článku Klimešová V. et al: Synthesis and antimycobacterial activity of 1,2,4-triazole-3-benzylsulfanyl derivatives; *Il Farmaco*, Vol. 59, Issue 4, 279–288 se uvádí sloučenina s 4-nitrobenzylsulfanylovým uskupením, která je antituberkuloticky naprosto neúčinná. Tato publikace tedy vyvrací dřívější názor, že 4-nitrobenzylsulfanylové uskupení je farmakoforem antituberkulotické aktivity, jak bylo uvedeno v článku Foroumadi A. et al: Antituberculosis agents. V. Synthesis, evaluation of in vitro antituberculosis activity and cytotoxicity of some 2-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4-thiadiazole derivatives; *Il Farmaco*; Vol. 57, Issue 9, 765–769.

20

Podstata vynálezu

Významnou aktivitu proti *Mycobacterium tuberculosis* i proti atypickým kmenům, včetně patogenních kmenů izolovaných z nemocných pacientů vykazují nové sloučeniny obecného vzorce I



(I),

25

kde

- X = O, S; R = H, NH₂-, C₁-C₁₁ alkyl, cyklohexyl-, benzyl-, fenyl-, pyridyl-, fenyl- substitovaný jednou nebo více elektronakceptorovými a/nebo elektrondonorovými skupinami v polohách 2, 3, 4 a 5; přičemž, když R₁ a R₃ je -NO₂, potom R₂ a R₄ je -H, nebo když R₁ a R₃ je -H, potom R₂ a R₄ je -NO₂.

30

- Elektrondonorovými skupinami se rozumí takové substituenty, které zvyšují elektronovou hustotu na fenylovém substituentu R. Jsou to zejména: -NH₂, -NHAlk, -NAlk₂, -OH, -OAlk, -OAr, -NHCOCH₃, -NHCOAlk, -NHCOAr; -Alk, -Ar, kde Alk = Alkyl, Ar = Aryl. Elektronakceptorovými skupinami se rozumí takové substituenty, které snižují elektronovou hustotu na fenylovém substituentu R. Jsou to zejména: -NO₂, -NAlk₃, -CF₃, CCl₃, -CN, -COOH, -COOAlk, -COOAr, -CHO, -COAlk, -COAr, -F, -Cl, -Br, -I, kde Alk = alkyl, Ar = aryl. (zdroj: a) John McMurry: *Organic Chemistry*, Sixth edition, 2004, Brooks/Cole, a Thomson Learning Company;

35

b) L. G. Wade, Jr.: Organic Chemistry, Sixth edition, 2006, Pearson Prentice Hall Inc.; c) J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, P. Wothers: Organic Chemistry, 2001, Oxford University Press).

5 Dalším předmětem vynálezu je použití výše uvedeného substituovaného diazolu obecného vzorce I podle vynálezu pro použití jako antituberkulotikum.

Dalším aspektem vynálezu je farmaceutický přípravek obsahující jakou účinnou složku substituovaný diazol vzorce I.

10 Sloučeniny obecného vzorce I jsou přístupné běžnými postupy organické syntézy. Při syntéze výchozích látek pro syntézu sloučenin obecného vzorce I byly použity syntetické metody podle následujících prací: a) Baron, M.; Wilson, C. V.: *J. Org. Chem.* 1958, 23 (7), 1021–1023; b) Zarghi, A.; Faizi, M.; Shafaghi, B.; Ahadian, A.; Khojastehpoor, H. R.; Zanganeh, V.; Tabatabai, S. A.; Shafiee, A.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15 (12), 3126–3129; c) Wei, M. X.; Feng, L.; Li, X. Q.; Zhou, X. Z.; Shao, Z. H.: *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44 (8), 3340–3344; d) Hasan, A.; Thomas, N. F.; Gapil, S.: *Molecules* 2011, 16 (2), 1297–1309. (Schéma 1)

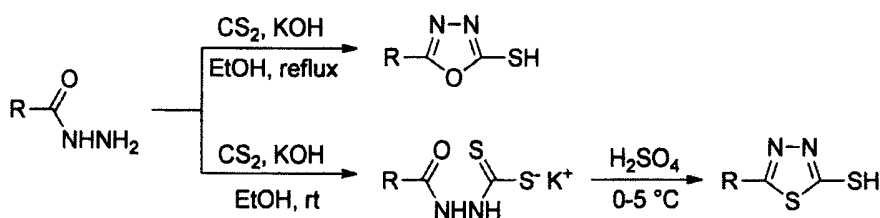


Schéma 1.

20 Finální produkty obecného vzorce I pak byly získány Willimasonovou syntézou z odpovídajícího prekursoru reakcí s vhodně substituovaným benzyhalogenidem (Schéma 2). Jejich příprava není synteticky náročná a suroviny, ze kterých jsou připraveny, jsou snadno přístupné a levné.

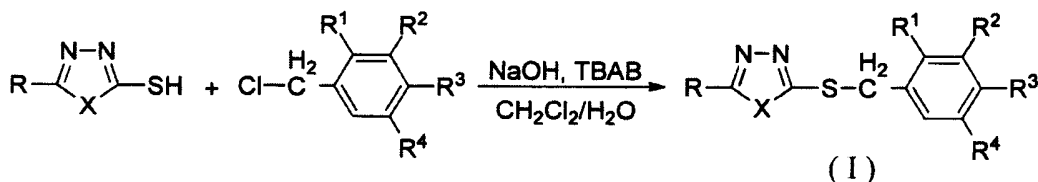


Schéma 2.

25

TBAB = tetra-*n*-butylamonium bromid

Připravené sloučeniny odpovídající obecnému vzorci I byly testovány na Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě (Oddělení bakteriologie a mykologie, laboratoř pro diagnostiku mykobakterií, 30 Partyzánské náměstí 7, 702 00 Ostrava) za podmínek *in vitro* v Šulově tekuté půdě a stanoveny jejich minimální inhibiční koncentrace (MIC). Připravené sloučeniny byly testovány na antimykobakteriální aktivitu proti sbírkovému kmenu *Mycobacterium tuberculosis* CNCTC My 331/88 a sbírkovým atypickým kmenům *M. avium* CNCTC My 330/88, *M. kansasii* CNCTC My 235/80 a 6509/96. Jejich aktivita byla vztažena na účinnost isoniazidu (INH), běžně používanému léčivu. 35 Výsledky testů jsou shrnuty v tabulce č. 4.

Nejúčinnější sloučeniny odpovídající obecnému vzorci I byly dále testovány na multirezistentní kmeny mykobakterií (MDR kmeny) s označením 8666/2010, 9449/2007, 234/2005, Praha 1, Praha 4 a Praha 131, které byly klinicky izolovány z pacientů a jsou uloženy na Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě (Oddělení bakteriologie a mykologie, laboratoř pro diagnostiku mykobakterií, 40 Partyzánské náměstí 7, 702 00 Ostrava). Citlivosti těchto klinicky izolovaných kmenů na běžná, antituberkulotika a antibiotika jsou shrnuty v tabulce č. 5a. Aktivita sloučenin odpovídající-

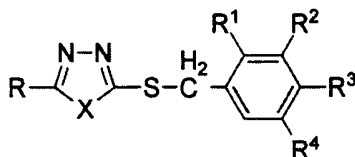
cí obecnému vzorci I byla vztažena na účinnost isoniazidu (INH), běžně používanému léčivu. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 5b.

Nejúčinnější sloučeniny, které byly účinné na standardní Mycobacteria i na MDR kmeny, byly podrobeny základním toxicitním MTT testům na lidských hepatocytech. Z výsledků vyplývá, že ani při nejvyšší testované koncentraci (20 $\mu\text{mol/l}$) testovaných potenciálních antituberkulotik odpovídajících obecnému vzorci I nebyla viabilita hepatocytů ovlivněna. Nejúčinnější potenciální antituberkulotika dle přihlášky vynálezu odpovídající obecnému vzorci I byla podrobena testům na cytotoxicitu metodou CellTiter96® na buněčné linii JEG3. Viabilita buněk nebyla ovlivněna ani při koncentracích sledovaných látek 10 $\mu\text{mol/l}$. V obou příkladech toxicitních testů byla použita 100 až 200 krát vyšší dávka, než je antituberkulotická aktivita testovaných látek.

Všechny sloučeniny podle obecného vzorce I obsahují ve své molekule nejméně jednu nitroskupinu, avšak jejich toxicita v provedených testech je velmi nízká. Tyto látky jsou svou nízkou toxicitou výjimečně, neboť nitroskupina v molekule léčiva je obvykle nositelem vyšší toxicity či dráždivosti. Dle dosavadních poznatků farmaceutické chemie byla tato substituce v oblasti syntézy nových perspektivních léčiv doposud vždy považována za nežádoucí. Zásadní roli pro účinek má také vybraný pětičlenný heterocyklus ze skupiny 1,3,4-oxadiazolů a 1,3,4-thiadiazolů, neboť stejným způsobem substituované 1,3,4-triazoly, které byly v naší skupině syntetizovány dříve, byly antituberkuloticky prakticky inaktivní. Podstatou vynálezu je tedy kombinace určitého pětičlenného heterocyklu obsahujícího dusík a dinitrofenylového uskupení, které je na zmíněný heterocyklus navázáno přes krátký methylsulfanylový spojovací řetězec.

Příklady uskutečnění vynálezu

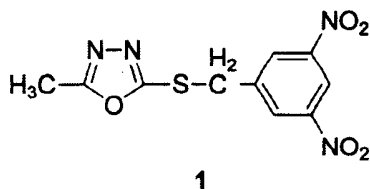
V dalším textu budou uvedeny substituované diazoly obecného vzorce I



(I),

kde symboly X, R, R₁, R₂, R₃, a R₄ mají výše uvedený význam.

Příklad 1: 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-methyl-1,3,4-oxadiazol (1)

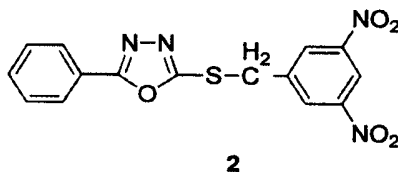


1

Sloučenina 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-methyl-1,3,4-oxadiazol 1 se připravuje reakcí 5-methyl-1,3,4-oxadiazol-5-thiolu (0,1g; 0,76 mmol) s 3,5-dinitrobenzylchloridem (0,15 mg; 0,69 mmol) v systému 5 ml CH₂Cl₂/5 ml H₂O, za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu (22 mg; 0,07 mmol) a NaOH (33 mg; 0,83 mmol) za laboratorní teploty po dobu 12 hodin. Po skončení reakce byla organická vrstva oddělena, vysušena pomocí Na₂SO₄ a zahuštěna na vakuové odparce. Produkt 1 byl izolován a purifikován pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (mobilní fáze: hexan/ethyl-acetát 4:1).

Výchozí 3,5-dinitrobenzylchlorid je komerčně běžně dostupná látka. Výchozí 5-methyl-1,3,4-oxadiazol-5-thiol byl připraven známými metodami (a) Hoggarth, E. *J. Chem. Soc.* 1952, 4811. b) Lacasse, G.; Muchowski, J. M. *Can. J. Chem.* 1972, 50, 3082.

Příklad 2: 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-fenyl-1,3,4-oxadiazol (2)



Sloučenina 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-fenyl-1,3,4-oxadiazol 2 se připravuje reakcí 5-fenyl-1,3,4-oxadiazol-5-thiolu (0,1 g; 0,56 mmol) s 3,5-dinitrobenzylchloridem (0,11 mg; 0,51 mmol) v systému 5 ml CH₂Cl₂/5 ml H₂O, za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu (16 mg; 0,05 mmol) a NaOH (25 mg; 0,61 mmol) za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Po skončení reakce byla organická vrstva oddělena, vysušena pomocí Na₂SO₄ a zahuštěna na vakuové odparce. Produkt 2 byl izolován a purifikován pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (mobilní fáze: hexan/ethyl-acetát 4:1).

10

Výchozí 3,5-dinitrobenzylchlorid je komerčně běžně dostupná látka. Výchozí 5-fenyl-1,3,4-oxadiazol-5-thiol byl připraven známými metodami a) Baron, M.; Wilson, C. V.; *J. Org. Chem.* 1958, 23 (7), 1021–1023; b) Zarghi, A.; Faizi, M.; Shafaghi, B.; Ahadian, A.; Khojastehpoor, H. R.; Zanganeh, V.; Tabatabai, S. A.; Shafiee A.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15 (12), 3126–3129; c) Wei, M. X.; Feng, L.; Li, X. Q.; Zhou, X. Z.; Shao, Z. H.: *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44 (8), 3340–3344; d) Hasan, A.; Thomas, N. F.; Gapil, S.: *Molecules* 2011, 16 (2), 1297–1309.

15

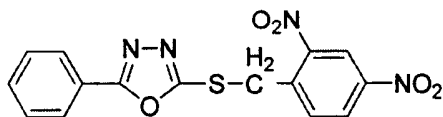
S využitím uvedených postupů syntézy lze syntetizovat četné další sloučeniny obecného vzorce I (sloučeniny 3 až 15)

20

Tabulka 1. Příklady látek obecného vzorce I (sloučeniny 2 až 15)

	X	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R
2	O	H	NO ₂	H	NO ₂	C ₆ H ₅
3	O	H	NO ₂	H	NO ₂	2-ClC ₆ H ₄
4	O	H	NO ₂	H	NO ₂	3-ClC ₆ H ₄
5	O	H	NO ₂	H	NO ₂	4-ClC ₆ H ₄
6	O	H	NO ₂	H	NO ₂	2,4-diClC ₆ H ₃
7	O	H	NO ₂	H	NO ₂	4-CH ₃ C ₆ H ₄
8	O	H	NO ₂	H	NO ₂	3-CH ₃ OC ₆ H ₄
9	O	H	NO ₂	H	NO ₂	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
10	O	H	NO ₂	H	NO ₂	3,5-diCH ₃ OC ₆ H ₃
11	O	H	NO ₂	H	NO ₂	3-NO ₂ C ₆ H ₄
12	O	H	NO ₂	H	NO ₂	4-NO ₂ C ₆ H ₄
13	O	H	NO ₂	H	NO ₂	3,5-diNO ₂ C ₆ H ₃
14	O	H	NO ₂	H	NO ₂	Pyridin-4-yl
15	O	H	NO ₂	H	NO ₂	<i>n</i> -C ₁₁ H ₂₃ -

Příklad 3: 2-((2,4-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-fenyl-1,3,4-oxadiazol (16)



16

Sloučenina 2-((2,4-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-fenyl-1,3,4-oxadiazol 16 se připravuje reakcí 5-fenyl-1,3,4-oxadiazol-5-thiolu (0,1 g; 0,56 mmol) s 2,4-dinitrobenzylchloridem (0,11 mg; 0,51 mmol) v systému 5 ml CH₂Cl₂/5 ml H₂O, za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu (16 mg; 0,05 mmol) a NaOH (25 mg; 0,61 mmol) za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Po skončení reakce byla organická vrstva oddělena, vysušena pomocí Na₂SO₄ a zahuštěna na vakuové odparce. Produkt 16 byl izolován a purifikován pomocí sloupcové chromatografie na silikage-
lu (mobilní fáze: hexan/ethyl-acetát 4:1).

10

Výchozí 2,4-dinitrobenzylchlorid je komerčně běžně dostupná látka. Výchozí 5-fenyl-1,3,4-oxadiazol-5-thiol byl připraven známými metodami a) Baron, M.; Wilson, C. V.; *J. Org. Chem.* 1958, 23 (7), 1021–1023; b) Zarghi, A.; Faizi, M.; Shafaghi, B.; Ahadian, A.; Khojastehpoor, H. R.; Zanganeh, V.; Tabatabai, S. A.; Shafiee A.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15 (12), 3126–3129; c) Hasan, A.; Thomas, N. F.; Gapil. S.; *Molecules* 2011, 16 (2), 1297–1309.

15

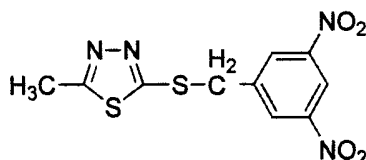
S využitím uvedených postupů syntézy lze syntetizovat četné další sloučeniny obecného vzorce I (sloučeniny 17 až 21)

Tabulka 2. Příklady látek obecného vzorce I (sloučeniny 16 až 21)

20

	X	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R
16	O	NO ₂	H	NO ₂	H	C ₆ H ₅
17	O	NO ₂	H	NO ₂	H	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
18	O	NO ₂	H	NO ₂	H	4-ClC ₆ H ₄
19	O	NO ₂	H	NO ₂	H	3-NO ₂ C ₆ H ₄
20	O	NO ₂	H	NO ₂	H	4-NO ₂ C ₆ H ₄
21	O	NO ₂	H	NO ₂	H	Pyridin-4-yl

Příklad 4: 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-methyl-1,3,4-thiadiazol (22)



22

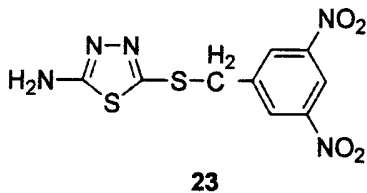
Sloučenina 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-methyl-1,3,4-thiadiazol 22 se připravuje reakcí 5-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-thiolu (0,165 g; 1,24 mmol) s 3,5-dinitrobenzylchloridem (0,246 mg; 1,14 mmol) v systému 5 ml CH₂Cl₂/5 ml H₂O, za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu (32 mg; 0,1 mmol) a NaOH (54 mg; 1,35 mmol) za laboratorní teploty po dobu 12 hodin. Po skončení reakce byla organická vrstva oddělena, vysušena pomocí Na₂SO₄ a zahuštěna na vakuové odparce. Produkt 22 byl izolován a purifikován pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (mobilní fáze: hexan/ethyl-acetát 4:1).

25

30

Výchozí 3,5-dinitrobenzylchlorid a 5-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-thiol jsou komerčně běžně dostupné látky.

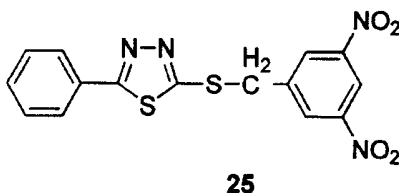
Příklad 5: 2-amino-5-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-1,3,4-thiadiazol (23)



- 5 Sloučenina 2-amino-5-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-1,3,4-thiadiazol 23 se připravuje reakcí 5-amino-1,3,4-thiadiazol-5-thiolu s 3,5-dinitrobenzylchloridem v systému 5 ml CH₂Cl₂/5 ml H₂O, za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu (32 mg; 0,1 mmol) a NaOH (54 mg; 1,35 mmol) za laboratorní teploty po dobu 12 hodin. Po skončení reakce byla organická vrstva oddělena, vysušena pomocí Na₂SO₄ a zahuštěna na vakuové odparce. Produkt 23 byl izolován a
10 purifikován pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (mobilní fáze: hexan/ethyl-acetát 4:1). Výchozí 3,5-dinitrobenzyl chlorid a 5-methyl-1,3,4-thiadiazol-5-thiol jsou komerčně běžně dostupné látky.

- 15 Výchozí 3,5-dinitrobenzylchlorid a 5-amino-1,3,4-thiadiazol-5-thiol jsou komerčně běžně dostupné látky.

Příklad 6: 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-fenyl-1,3,4-thiadiazol (25)



- 20 Sloučenina 2-((3,5-dinitrobenzyl)sulfanyl)-5-fenyl-1,3,4-thiadiazol 25 se připravuje reakcí 5-fenyl-1,3,4-thiadiazol-5-thiolu (0,1 g; 0,51 mmol) s 3,5-dinitrobenzylchloridem (0,1 g; 0,46 mmol) v systému 5 ml CH₂Cl₂/5 ml H₂O, za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu (16 mg; 0,05 mmol) a NaOH (23 mg; 0,57 mmol) za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Po skončení reakce byla organická vrstva oddělena, vysušena pomocí Na₂SO₄ a zahuštěna na vakuové odparce. Produkt 25 byl izolován a purifikován pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu (mobilní fáze: hexan/ethyl-acetát 4:1).

- 25 Výchozí 3,5-dinitrobenzylchlorid je komerčně běžně dostupná látka. Výchozí 5-fenyl-1,3,4-thiadiazol-5-thiol byl připraven známými metodami (a) Baron, M.; Wilson, C. V.: *J. Org. Chem.* 1958, 23 (7), 1021–1023; b) Wei, M. X.; Feng, L.; Li, X. Q.; Zhou, X. Z.; Shao, Z. H.: *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44 (8), 3340–3344).

- 30 S využitím uvedených postupů syntézy lze syntetizovat četné další sloučeniny obecného vzorce I (sloučeniny 24, 26 až 34)

Tabulka 3. Příklady látek obecného vzorce I (sloučeniny 24 až 34)

	X	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R
24	S	H	NO ₂	H	NO ₂	Pyridin-4-yl
25	S	H	NO ₂	H	NO ₂	C ₆ H ₅
26	S	H	NO ₂	H	NO ₂	2-ClC ₆ H ₄
27	S	H	NO ₂	H	NO ₂	3-ClC ₆ H ₄
28	S	H	NO ₂	H	NO ₂	4-ClC ₆ H ₄
29	S	H	NO ₂	H	NO ₂	4-CH ₃ C ₆ H ₄
30	S	H	NO ₂	H	NO ₂	3,5-diCH ₃ C ₆ H ₃
31	S	H	NO ₂	H	NO ₂	3-CH ₃ OC ₆ H ₄
32	S	H	NO ₂	H	NO ₂	4-CH ₃ OC ₆ H ₄
33	S	H	NO ₂	H	NO ₂	3-NO ₂ C ₆ H ₄
34	S	H	NO ₂	H	NO ₂	4-NO ₂ C ₆ H ₄

5 Tabulka 4. Minimální inhibiční koncentrace ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) *in vitro* látek obecného vzorce I – mikrometoda pro stanovení minimálních inhibičních koncentrací léků v Šulově půdě v plastických P-destičkách, po 14 a 21 dnech inkubace pro *M. tuberculosis* a *M. avium* a po 7, 14 a 21 dnech inkubace pro *M. kansasii*

	M. tuberculosis	M. avium	M. kansasii	M. kansasii
	My 331/88	My 330/88	My 235/80	6509/96
1	4/8	500/500	4/8/16	16/16/32
2	0,06 / 0,06	16/32	0,5 / 1 / 1	0,5 / 1 / 2
3	0,125 / 0,125	16 / 32	0,125 / 0,25 / 0,5	0,125 / 0,5 / 1
4	0,03/0,06	16 / 16	0,125 / 0,25 / 0,5	0,125 / 0,5 / 1
5	0,125 / 0,125	>125/>125	0,125 / 0,25 / 0,25	0,125 / 0,25 / 0,5
6	0,03/0,06	16 / 32	0,125 / 0,5 / 0,5	0,125/0,25/0,5
7	0,03 / 0,06	8 / 16	0,125/0,125/0,125	0,06/0,125/0,125 5
8	0,125 / 0,125	16 / 16	0,125 / 0,25 / 0,5	0,125 / 0,5 / 1
9	0,125 / 0,125	16 / 32	0,125 / 0,25 / 0,25	0,125 / 0,25 / 0,5
10	0,125 / 0,125	16 / 16	0,125 / 0,25 / 0,5	0,125 / 0,5 / 1
11	0,125 / 0,125	16 / 16	0,25 / 0,5 / 0,5	0,5 / 1 / 2
12	0,125 / 0,125	>125/>125	0,25 / 0,25 / 0,5	0,25 / 0,5 / 1
13	0,25 / 0,5	4 / 4	0,5 / 1 / 1	0,5 / 1 / 1
14	0,5 / 0,5	62,5 / 62,5	1 / 2 / 2	2 / 2 / 4
15	0,125/0,25	8/16	0,5/1/1	0,5/1/1
16	2 / 4	>16/>16	4 / 8 / 16	2 / 8 / 8
17	0,5 / 1	4 / 4	2 / 8 / 16	2 / 8 / 16
18	2 / 2	8 / 16	2 / 4 / 4	4 / 8 / 8

19	16 / 16	32 / 32	8 / 16 / 32	16 / 16 / 32
20	2 / 2	>125/>125	2 / 4 / 8	2 / 4 / 8
21	8 / 8	62,5 / 62,5	16 / 32 / 32	32 / 32 / 32
22	4/4	125/125	4/4/8	8/8/16
23	16/32	1000/1000	16/32/32	32/32/62,5
24	0,125 / 0,125	>125/>125	0,5 / 1 / 1	0,5 / 1 / 1
25	0,06 / 0,125	8 / 16	0,25 / 0,5 / 1	0,25 / 0,5 / 1
26	0,125 / 0,125	16 / >16	0,5 / 1 / 1	0,5 / 1 / 1
27	0,125 / 0,125	8 / 16	0,25 / 1 / 1	0,25 / 0,5 / 0,5
28	0,125 / 0,125	8 / 16	0,25 / 1 / 1	0,25 / 0,5 / 1
29	0,125 / 0,125	>125/>125	0,5 / 0,5 / 1	0,5 / 1 / 2
30	0,125 / 0,125	>16 / >16	0,25 / 1 / 1	0,25 / 0,5 / 0,5
31	0,03/0,06	8 / 16	0,25/0,5/0,5	0,25 / 0,5 / 0,5
32	0,125 / 0,125	8 / 16	0,25 / 1 / 1	0,25 / 1 / 1
33	0,125 / 0,125	>16 / >16	0,25 / 1 / 1	0,5 / 1 / 1
34	0,125 / 0,125	>16 / >16	0,25 / 0,5 / 1	0,25 / 0,5 / 1
INH	0,5/1	>250	>250	2/4/4

Tabulka 5a. Minimální inhibiční koncentrace ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) *in vitro* běžně používaných antibiotik a antituberkulotik – mikrometoda pro stanovení minimálních inhibičních koncentrací léků v Šulově půdě v plastických P–destičkách – pro multiresistentní kmeny *M. tuberculosis*.

<i>M.tuberculosis</i>	7357/1998	234/2005	8666/2010	9449/2007	Praha 1	Praha 4	Praha 131
Streptomycin	>27,5 R	27,5 R	>27,5 R	>27,5 R	13,7 R	>27,5 R	>27,5 R
Isoniazid	14,6 R	14,6 R	29,2 R	58,3 R	14,6 R	14,6 R	14,6 R
Etambutol	19,6 R	19,6 R	19,6 R	9,8 C	39,2 R	19,6 R	39,2 R
Rifampicin	>9,7 R	>9,7 R	>9,7 R	>9,7 R	>9,7 R	>9,7 R	>9,7 R
Ofloxacin	11,1 R	0,69 C	11,1 R	2,75 C	1,38 C	>22,2 R	22,2 R
Gentamicin	1,05 C	0,26 C	2,09 C	1,05 C	1,05 C	0,52 C	>8,37 R
Clofazimin	0,13 C	0,06 C	2,11 R	0,13 C	0,53 R	0,53 R	0,26 C
Amikacin	0,85 C	0,43 C	1,7 C	0,43 C	0,43 C	0,85 C	>27,2 R

R – kmen rezistentní k danému antituberkulotiku

C – kmen citlivý k danému antituberkulotiku

5

Tabulka 5b. Minimální inhibiční koncentrace ($\mu\text{mol.l}^{-1}$) *in vitro* látek obecného vzorce I – mikrometoda pro stanovení minimálních inhibičních koncentrací léků v Šulově půdě v plastických P–destičkách – po 14 a 21 dnech inkubace pro multiresistentní kmeny *M. tuberculosis*.

	M.tuberculosis (MDR kmeny)					
	234/2005	9449/2007	8666/2010	Praha 1	Praha 4	Praha 131
2	0,03/0,06	0,06/0,06	0,03/0,06	0,06/0,06	0,03/0,06	0,03/0,06
9	0,06/0,125	0,06/0,125	0,06/0,06	0,06/0,125	0,06/0,125	0,06/0,125
12	0,06/0,125	0,06/0,125	0,06/0,06	0,06/0,125	0,06/0,125	0,06/0,125
32	0,125/0,25	0,125/0,25	0,06/0,125	0,125/0,25	0,125/0,25	0,125/0,25
34	0,06/0,06	0,06/0,06	0,03/0,06	0,06/0,06	0,06/0,06	0,06/0,06

Tabulka 6. NMR spektra látek obecného vzorce I

	¹ H NMR	¹³ C NMR
1	¹ H NMR (500 MHz, Acetone) δ 8.85 (s, 3H,), 4.81 (s, 2H, SCH ₂), 2.45 (s, 3H, CH ₃).	¹³ C NMR (126 MHz, Acetone) δ 166.23, 163.04, 149.31, 143.18, 130.41, 118.62, 35.08, 10.71.
2	¹ H NMR (300 MHz, Acetone) δ 8.92 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 2H), 8.86 (t, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 8.02 – 7.92 (m, 2H), 7.62 – 7.52 (m, 3H), 4.92 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, Acetone) δ 166.77, 163.63, 149.37, 143.19, 132.71, 130.49, 130.09, 127.28, 124.41, 118.70, 35.27.
3	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.84 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 2H), 8.74 (t, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.91 (dd, <i>J</i> = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.73 – 7.45 (m, 3H), 4.82 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 163.69, 163.64, 148.11, 142.16, 133.51, 131.82, 131.36, 131.30, 129.90, 128.01, 122.19, 118.06, 34.36.
4	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.96 – 8.64 (m, 3H), 7.97 – 7.84 (m, 2H), 7.72 – 7.53 (m, 2H), 4.83 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 164.49, 163.49, 148.10, 142.27, 134.23, 132.05, 131.56, 129.89, 126.11, 125.27, 124.98, 118.03, 34.22.
5	¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃) δ 8.97	¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) δ 165.70,

	(t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.74 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.67 (s, 3H, SCH ₂).	162.33, 148.57, 140.82, 138.35, 129.54, 129.33, 127.95, 121.58, 118.43, 34.90.
6	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.84 (d, $J = 2.0$ Hz, 2H), 8.74 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.62 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H), 4.82 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 163.81, 163.03, 148.10, 142.10, 137.39, 132.89, 132.47, 130.92, 129.89, 128.31, 121.19, 118.06, 34.33.
7	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.84 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.73 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 4.81 (s, 2H, SCH ₂), 2.37 (s, 3H, CH ₃).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 165.70, 162.55, 148.09, 142.47, 142.34, 130.09, 129.87, 126.54, 120.31, 118.02, 34.24, 21.29.
8	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.84 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.73 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.52 – 7.38 (m, 3H), 7.20 – 7.13 (m, 1H), 4.82 (s, 2H, SCH ₂), 3.82 (s, 3H, OCH ₃).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 165.50, 163.01, 159.80, 148.08, 142.27, 130.86, 129.87, 124.20, 118.89, 118.30, 118.03, 111.32, 55.62, 34.25.
9	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.83 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.72 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.80 (s, 2H, SCH ₂), 3.83 (s, 3H, OCH ₃).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 165.58, 162.26, 162.10, 148.08, 142.35, 129.86, 128.47, 118.02, 115.39, 114.98, 55.71, 34.29.
10	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.83 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.72 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 2.3$ Hz, 2H), 6.71 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H), 4.82 (s, 2H, SCH ₂), 3.80 (s, 6H, OCH ₃).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 165.47, 163.06, 161.12, 148.08, 142.23, 129.85, 124.62, 118.01, 104.33, 104.18, 55.78, 34.23.
11	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.86 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.74 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.58 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H),	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 164.14, 163.96, 148.36, 148.12, 142.21, 132.66, 131.48, 129.92, 126.59, 124.58, 121.10,

	8.46 – 8.33 (m, 2H), 7.87 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.85 (s, 2H, SCH ₂).	118.05, 34.29.
12	¹ H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.87 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.74 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.20 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 4.85 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.40, 164.30, 149.33, 148.11, 142.12, 129.92, 128.61, 127.98, 124.70, 118.08, 34.27.
13	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.97 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.92 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.88 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H), 8.75 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 4.89 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 164.86, 163.00, 148.87, 148.12, 142.08, 129.93, 126.40, 125.87, 121.23, 118.05, 34.25.
14	¹ H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.86 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.78 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 8.73 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 4.84 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.41, 164.10, 151.04, 148.09, 142.10, 130.12, 129.91, 120.15, 118.05, 34.24.
15	¹ H NMR (500 MHz, dmso) δ 8.78 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H), 8.73 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 4.72 (s, 2H), 2.76 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.64 – 1.55 (m, 2H), 1.31 – 1.13 (m, 16H), 0.83 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H).	¹³ C NMR (126 MHz, dmso) δ 168.43, 162.15, 148.04, 142.31, 129.76, 117.92, 34.19, 31.44, 29.11, 28.95, 28.85, 28.59, 28.38, 25.75, 24.64, 22.24, 14.08.
16	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.78 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.57 (dd, $J = 8.6$, 2.4 Hz, 1H), 8.10 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.97 – 7.88 (m, 2H), 7.66 – 7.51 (m, 3H), 4.93 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 165.83, 162.76, 148.06, 147.27, 139.17, 134.33, 132.32, 129.61, 128.25, 126.64, 123.06, 120.75, 33.17.
17	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.77 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 8.62 – 8.51 (m, 1H), 8.08 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.91 (s, 2H, SCH ₂), 3.83 (s, 3H, OCH ₃).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 165.79, 162.30, 161.90, 148.04, 147.25, 139.24, 134.30, 128.52, 128.22, 120.74, 115.38, 115.04, 55.71, 33.18.

18	^1H NMR (300 MHz, Acetone) δ 8.88 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.58 (dd, J = 8.5, 2.4 Hz, 1H), 8.24 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.99 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.61 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 5.03 (s, 2H, SCH ₂).	^{13}C NMR (75 MHz, Acetone) δ 166.08, 164.14, 148.55, 140.14, 138.24, 135.30, 130.35, 129.03, 128.97, 128.69, 123.19, 121.53, 34.09.
19	^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.79 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.60 – 8.55 (m, 2H), 8.48 – 8.42 (m, 1H), 8.39 – 8.33 (m, 1H), 8.13 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.89 (t, J = 8.1 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H, SCH ₂).	^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 164.33, 163.77, 148.39, 148.11, 147.31, 139.11, 134.41, 132.70, 131.55, 128.25, 126.64, 124.57, 121.19, 120.78, 33.18.
20	^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.78 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 8.59 (dd, J = 8.5, 2.6 Hz, 1H), 8.40 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.19 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 8.13 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 4.97 (s, 2H, SCH ₂).	^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.46, 164.20, 149.35, 148.06, 147.31, 139.02, 134.38, 128.59, 128.27, 128.02, 124.77, 120.75, 33.15.
21	^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.81 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 8.78 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.58 (dd, J = 8.6, 2.4 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.96 (s, 2H, SCH ₂).	^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 164.29, 164.24, 151.10, 148.06, 147.30, 138.99, 134.37, 130.14, 128.27, 120.74, 120.20, 33.12.
22	^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.77 (s, 2H), 8.71 (s, 1H), 4.80 (s, 2H, SCH ₂), 2.64 (s, 3H, CH ₃).	^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 166.36, 163.54, 148.06, 142.39, 129.75, 117.88, 35.41, 15.40.
23	^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.71 (s, 1H), 8.65 (s, 2H), 7.33 (s, 2H, NH ₂), 4.59 (s, 3H, SCH ₂).	^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 170.36, 148.28, 148.04, 142.91, 129.63, 117.71, 36.52.
24	^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.83 (d, J = 2.1 Hz, 2H), 8.77 – 8.70 (m, 3H), 7.84 (d, J = 6.1 Hz, 2H), 4.91 (s, 2H, SCH ₂).	^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 166.67, 166.17, 151.06, 148.11, 142.06, 136.13, 129.82, 121.45, 117.96, 35.69.
25	^1H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.81	^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.76,

	(d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.72 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.91 – 7.82 (m, 2H), 7.60 – 7.47 (m, 3H), 4.88 (s, 2H, SCH ₂).	163.94, 148.10, 142.23, 131.63, 129.79, 129.66, 129.26, 127.70, 117.92, 35.69.
26	¹ H NMR (300 MHz, Acetone) δ 8.93 – 8.82 (m, 3H), 8.23 – 8.15 (m, 1H), 7.67 – 7.47 (m, 3H), 5.00 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, Acetone) δ 165.92, 164.88, 149.36, 143.29, 133.11, 132.76, 131.66, 131.49, 130.48, 129.32, 128.63, 118.57, 36.56.
27	¹ H NMR (300 MHz, Acetone) δ 8.88 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H), 8.84 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.94 – 7.91 (m, 1H), 7.86 – 7.80 (m, 1H), 7.60 – 7.50 (m, 2H), 4.98 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, Acetone) δ 168.14, 165.06, 149.37, 143.23, 135.56, 132.42, 131.95, 131.90, 130.45, 127.78, 127.07, 118.57, 36.58.
28	¹ H NMR (300 MHz, Acetone) δ 8.88 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.85 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 4.98 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, Acetone) δ 167.58, 164.46, 148.11, 142.20, 136.24, 129.80, 129.73, 129.40, 128.14, 117.94, 35.69
29	¹ H NMR (500 MHz, CDCl ₃) δ 8.87 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.65 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 7.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.21 – 7.15 (m, 2H), 4.68 (s, 2H, SCH ₂), 2.33 (s, 3H, CH ₃).	¹³ C NMR (126 MHz, cdcl ₃) δ 169.53, 161.51, 148.50, 141.95, 141.67, 129.91, 129.30, 127.65, 126.69, 118.09, 35.87, 21.49.
30	¹ H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.81 (d, $J = 2.2$ Hz, 2H), 8.71 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 7.46 (s, 2H), 7.16 (s, 1H), 4.86 (s, 2H, SCH ₂), 2.31 (s, 6H, CH ₃).	¹³ C NMR (126 MHz, DMSO) δ 168.95, 163.56, 148.05, 142.23, 138.95, 133.03, 129.78, 129.12, 125.29, 117.88, 35.65, 20.83.
31	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.81 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.72 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.53 – 7.31 (m, 3H), 7.19 – 7.03 (m, 1H), 4.87 (s, 2H, SCH ₂), 3.81 (s, 3H, OCH ₃).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.55, 164.07, 159.87, 148.09, 142.24, 130.90, 130.45, 129.79, 120.29, 117.93, 117.48, 112.29, 55.58, 35.69.
32	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.80	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 168.55,

	(d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.71 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.79 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 4.85 (s, 2H, SCH ₂), 3.81 (s, 3H, OCH ₃).	162.65, 161.84, 148.07, 142.31, 129.76, 129.35, 121.78, 117.89, 115.02, 55.66, 35.71.
33	¹ H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.83 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 8.72 (t, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.59 (t, $J = 2.0$ Hz, 1H), 8.36 (dd, $J = 8.3, 2.3$ Hz, 1H), 8.32 – 8.24 (m, 1H), 7.82 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 4.90 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (75 MHz, DMSO) δ 166.59, 165.57, 148.42, 148.11, 142.11, 134.03, 131.40, 130.65, 129.83, 125.84, 121.77, 117.96, 35.71.
34	¹ H NMR (500 MHz, DMSO) δ 8.83 (s, 2H), 8.73 (s, 1H), 8.34 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.15 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H), 4.91 (s, 2H, SCH ₂).	¹³ C NMR (126 MHz, DMSO) δ 166.63, 166.19, 148.89, 148.11, 142.07, 134.87, 129.83, 128.93, 124.77, 117.97, 35.69.

Tabulka 7. Elementární analýza látek obecného vzorce I

	vypočteno	změřeno
1	C, 40.54; H, 2.72; N, 18.91; S, 10.82	C, 40.21; H, 2.49; N, 18.65; S, 11.21
2	C, 50.28; H, 2.81; N, 15.64; S, 8.95	C, 50.71; H, 3.14; N, 15.45; S, 9.21
3	C, 45.87; H, 2.31; N, 14.26; S, 8.16	C, 45.58; H, 2.62; N, 14.07; S, 8.35
4	C, 45.87; H, 2.31; N, 14.26; S, 8.16	C, 46.12; H, 2.68; N, 14.10; S, 8.39
5	C, 45.87; H, 2.31; N, 14.26; S, 8.16	C, 46.02; H, 2.28; N, 14.41; S, 8.39
6	C, 42.17; H, 1.89; N, 13.11; S, 7.51	C, 42.63; H, 2.28; N, 13.14; S, 7.88
7	C, 51.61; H, 3.25; N, 15.05; S, 8.61	C, 51.60; H, 3.47; N, 14.97; S, 8.95
8	C, 49.48; H, 3.11; N, 14.43; S, 8.26	C, 49.26; H, 3.30; N, 14.30; S, 8.49
9	C, 49.48; H, 3.11; N, 14.43; S, 8.26	C, 49.58; H, 3.30; N, 14.41; S, 8.61
10	C, 48.80; H, 3.37; N, 13.39; S, 7.66	C, 48.89; H, 3.55; N, 13.36; S, 8.02
11	C, 44.67; H, 2.25; N, 17.36; S, 7.95	C, 44.69; H, 2.52; N, 17.39; S, 8.21
12	C, 44.67; H, 2.25; N, 17.36; S, 7.95	C, 44.28; H, 2.39; N, 17.68; S, 8.19
13	C, 40.19; H, 1.80; N, 18.75; S, 7.15	C, 40.43; H, 2.12; N, 18.92; S, 7.48
14	C, 46.80; H, 2.52; N, 19.49; S, 8.92	C, 46.28; H, 2.74; N, 19.30; S, 9.19
15	C, 55.03; H, 6.47; N, 12.83; S, 7.35	C, 55.12; H, 6.18; N, 12.75; S, 7.29

Příklady farmaceutických přípravků – tablet

- Při výrobě pevných lékových forem se postupuje technologií v tomto oboru obvyklou, tedy suchou či vlhkou granulací, která je odborníkovi dostatečně známa. Používají se běžné a osvědčené pomocné látky a vhodné přísady dodávající lékové formy požadované fyzikální vlastnosti.

Příklady na suchou granulaci:

Příklad 1 (obsah účinné látky 100 mg):

	Léčivá látka obecného vzorce I 1	100,0 mg
10	Celulóza mikrokrytalická	75,0 mg
	Karboxymethylškrob sodná sůl	3,5 mg
	Stearan hořečnatý	0,5 mg
	Oxid křemičitý koloidní	0,5 mg

Příklad 2 (obsah účinné látky 200 mg):

15	Léčivá látka obecného vzorce I 13	200,0 mg
	Celulóza mikrokrytalická	95,0 mg
	Karboxymethylškrob sodná sůl	7,0 mg
	Stearan hořečnatý	1,0 mg
	Oxid křemičitý koloidní	1,0 mg

20 Příklad 3 (obsah účinné látky 300 mg):

	Léčivá látka obecného vzorce I 9	300,0 mg
	Celulóza mikrokrytalická	115,0 mg
	Karboxymethylškrob sodná sůl	10,5 mg
	Stearan hořečnatý	1,5 mg
25	Oxid křemičitý koloidní	1,5 mg

Příklad 4 (obsah účinné látky 400 mg):

	Léčivá látka obecného vzorce I 31	400,0 mg
	Celulóza mikrokrytalická	130,0 mg
	Karboxymethylškrob sodná sůl	14,5 mg
30	Stearan hořečnatý	2,0 mg
	Oxid křemičitý koloidní	2,0 mg

Příklad 5 (obsah účinné látky 500 mg):

	Léčivá látka obecného vzorce I 24	500,0 mg
	Celulóza mikrokrytalická	140,0 mg
35	Karboxymethylškrob sodná sůl	17,5 mg
	Stearan hořečnatý	2,5 mg
	Oxid křemičitý koloidní	2,5 mg

- Léčivá látka se smísí s jednotlivými složkami tabletoviny a směs se obvyklým způsobem tabletuje na tabletovacím lisu.

Příklad na vlhkou granulaci:

Příklad 6 (obsah účinné látky 100 mg):

	Léčivá látka obecného vzorce I 19	100,0 mg
45	Škrob bramborový	48,0 mg
	Laktóza	27,0 mg

Povidon	3,0 mg
Karboxymethylškrob sodná sůl	4,0 mg
Stearan hořečnatý	0,2 mg
Mastek	1,8 mg

5 Příklad 7 (obsah účinné látky 200 mg):

Léčivá látka obecného vzorce I 6	200,0 mg
Škrob bramborový	60,8 mg
Laktóza	34,2 mg
Povidon	6,0 mg
10 Karboxymethylškrob sodná sůl	8,0 mg
Stearan hořečnatý	0,4 mg
Mastek	3,6 mg

Příklad 8 (obsah účinné látky 300 mg):

Léčivá látka obecného vzorce I 33	300,0 mg
15 Škrob bramborový	73,6 mg
Laktóza	41,4 mg
Povidon	9,0 mg
Karboxymethylškrob sodná sůl	12,0 mg
Stearan hořečnatý	0,6 mg
20 Mastek	5,4 mg

Příklad 9 (obsah účinné látky 400 mg):

Léčivá látka obecného vzorce I 15	400,0 mg
Škrob bramborový	82,3 mg
Laktóza	46,8 mg
25 Povidon	12,0 mg
Karboxymethylškrob sodná sůl	16,0 mg
Stearan hořečnatý	0,8 mg
Mastek	7,2 mg

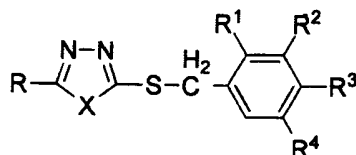
Příklad 10 (obsah účinné látky 500 mg):

30 Léčivá látka obecného vzorce I 3	500,0 mg
Škrob bramborový	96,0 mg
Laktóza	54,0 mg
Povidon	15,0 mg
Karboxymethylškrob sodná sůl	20,0 mg
35 Stearan hořečnatý	1,0 mg
Mastek	9,0 mg

40 Léčivá látka se postupně smíchá s laktózou, bramborovým škrobem, směs se zgranuluje povidone-
nem, vysušený granulát se smíchá se sodnou solí karboxymethylškrobu, stearanem hořečnatým a
s mastkem a vzniklá směs se obvyklým způsobem tabletuje na tabletovacím lisu.

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Substituovaný diazol obecného vzorce I



(I),

kde

X je O nebo S;

10

R je vybrán ze skupiny sestávající z: H, -NH₂, C₁-C₁₁ alkyl, cyklohexyl-, benzyl-, fenyl-, pyridyl- nebo fenyl- substituovaný v polohách 2, 3, 4 a 5 jednou nebo více elektronakceptorovými skupinami, zahrnujícími -NO₂, -N(alkyl)₃, -CF₃, CCl₃, -CN, -COOH, -COOAlk, -COOAr, -CHO, -COAlk, -COAr, -F, -Cl, -Br, -I, a/nebo jednou nebo více elektrondonorovými skupinami, zahrnujícími -NH₂, -NHalkyl, -N(alkyl)₂, -OH, -Oalkyl, -Oaryl, -NHCOCH₃, -NHCOalkyl; -NHCOaryl; -alkyl, -aryl,

15

přičemž když R₁ a R₃ je -NO₂, potom R₂ a R₄ je -H, nebo když R₁ a R₃ je -H, potom R₂ a R₄ je -NO₂.

20

2. Substituovaný diazol obecného vzorce I podle nároku 1, kde X je O.

3. Substituovaný diazol obecného vzorce I podle nároku 1, kde X je S.

25

4. Substituovaný diazol obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3 pro použití jako antituberkulotikum.

5. Použití substituovaného diazolu obecného vzorce I podle kteréhokoliv z nároků 1 až 3 pro přípravu léčiva k léčení tuberkulózy.

30

6. Farmaceutický přípravek, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že obsahuje jako účinnou složku substituovaný diazol vzorce I podle nároku 1.

35

7. Farmaceutický přípravek podle nároku 6, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že obsahuje jeden nebo více farmaceuticky přijatelných excipientů.

40

Konec dokumentu
