

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE

HETEROCYKlickÉ SLOUČENINY
S ANTIMYKOBakteriální AKTIVITOU

DISERTAČNÍ PRÁCE

červen 2009

Mgr. Petra Herzigová

Poděkování

Mé poděkování patří především školitelce Doc. RNDr. Věře Klimešové CSc. za její trpělivost, odborné vedení a cenné rady během mého postgraduálního studia. Dále za pomoc při tvorbě publikací a za podnětné připomínky k vypracování této disertační práce. Současně bych chtěla poděkovat celému pracovnímu kolektivu na katedře anorganické a organické chemie FaF UK v Hradci Králové za pomoc a ochotu podělit se o své profesionální zkušenosti. Dále bych chtěla poděkovat Petru Jančárkovi za měření NMR spekter, doc. PharmDr. Jiřímu Kunešovi, CSc. a prof. RNDr. Milanu Pourovi, Ph.D. za měření a pomoc při interpretaci NMR spekter, paní Ivě Vencovské za provedení IČ spektroskopie, paní Věnceslavě Hronové za provedení elementárních analýz, MUDr. Jarmile Kaustové, CSc. a kol. z Laboratoře pro diagnostiku mykobakterií v Krajské hygienické stanici v Ostravě za provedení antimykobakteriálního testování, Dr. Ute Möllmann a Dr. Dahse z Hans-Knöll-Institutu v Jeně za testování cytotoxické a antiproliferativní aktivity.

Speciální poděkování patří prof. Dr. rer. nat. habil. Raineru Beckertovi a DC Gunthru Bührdelovi z Institutu pro makromolekulární a organickou chemii Univerzity Friedricha Schillera v Jeně, kde jsem byla na půlročním studijním pobytu. Děkuji jim za odborné vedení, cenné rady a neocenitelnou pomoc při laboratorních syntézách, za umožnění účasti na přednáškách z organické chemie a samozřejmě za velmi vstřícný a přátelský přístup.

Děkuji agentuře Erasmus za stipendium a grantové agentuře GAUK za finanční podporu grantu. Za spolupráci při syntézách děkuji Mgr. Josefu Matykovi Ph.D. a Lukáši Sýkorovi. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za podporu při studiu a za poskytnutí tak potřebného zázemí.

Předkládaná disertační práce vznikla za finanční podpory grantu GAUK a výzkumného záměru.

GAUK 56807/B/2007

MSM 0021620822

Prohlášení:

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu literatury a v práci řádně citovány.“

Použité zkratky:

ACP	protein přenášející acyl
AIDS	syndrom získané imunodeficience
AT	antituberkulotika
CNCTC	Česká národní sbírka typových kultur
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
ENR	enoyl-ACP-reduktáza (u <i>M. tuberculosis</i> se tento enzym ozn. jako InhA; u <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> FabI)
FAS	mastná kyselina syntáza
H37Rv	virulentní kmen <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
HIV	virus lidské imunodeficience
IČ (IR)	infračervená spektroskopie
INH	isoniazid
MDR-TB	multirezistentní kmeny <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
NAD	nikotinamidadenindinukleotid
NADP	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
Mes	mesityl (2,4,6-trimethylfenyl)
MIC	minimální inhibiční koncentrace
NMR	nukleární magnetická rezonance
Ph	fenyl
SZO	Světová zdravotnická organizace
TBC	tuberkulóza
TLC	tenkovrstvá chromatografie
Tol	tolyl
UV	ultrafialová detekce
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR
XDR-TB	extenzivně rezistentní kmeny <i>Mycobacterium tuberculosis</i>

Obsah

1. Přehled současného stavu problematiky	1
1.1 Epidemiologie tuberkulózy	1
1.2 Léčba tuberkulózy	3
1.3 Antituberkulotika	4
2. Cíl práce	16
3. Teoretická část	17
3.1 Metody přípravy sulfidů	17
3.2 Metody biologického hodnocení	24
3.2.1 Antimykobakteriální hodnocení	24
3.2.2 Antiproliferativní a cytotoxické hodnocení	26
4. Výsledky a diskuse	28
4.1 Chemická část	28
4.1.1 4-(Subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidy/-2-karboxamidy	28
4.1.2 4-(Subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrily/-2-karbothioamidy	34
4.1.3 4-(Subst. fenylalkylsulfonyl)/4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin -2-karbonitrily/-2-karbothioamidy	35
4.2 Biologická část	37
4.2.1 Antimykobakteriální aktivita	37
4.2.1.1. Hodnocení 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů/-2-karboxamidů	37
4.2.1.2. Hodnocení 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů/-2-karbothioamidů ..	43
4.2.1.3. Hodnocení 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)/4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin -2-karbonitrilů/-2-karbothioamidů	45
4.2.2 Antiproliferativní a cytotoxická aktivita	48
5. Experimentální část	49
5.1 Syntéza 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin	51
5.1.1 Metoda A	51
5.1.1.1. Příprava meziproductů	51
5.1.1.2. Příprava 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin	52
5.1.2 Metoda B	55
5.1.2.1. Příprava meziproductů	55
5.1.2.2. Příprava 4-(nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin	59

5.2 Příprava ethylesterů 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin	60
5.3 Příprava 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů	63
5.4 Příprava 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamidů	67
5.5 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů	70
5.6 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidů	73
5.7 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)/4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilů/ -2-karbothioamidů	76
5.7.1 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)pyridin-2-karbonitrilů	76
5.7.2 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamidů	79
5.7.3 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilů	80
6. Hledání nových struktur potenciálních antituberkulotik	83
6.1 Příprava bis-elektrofilního činidla	84
6.2 Reakce bis-elektrofilů s deriváty hydrazinu	85
6.3 Reakce bis-elektrofilů s ketony	86
6.4 Reakce bis-elektrofilu se sulfidy	88
6.5 Reakce bis-elektrofilu s aminy	90
6.6 Příprava bis-sulfidu a bis-sulfonu	92
6.7 Příprava benzylsulfanyl derivátu thiofen-1,1-dioxidu	93
6.8 Antimykobakteriální hodnocení nových struktur	95
7. Závěr	96
8. Literatura	97
9. Seznam publikovaných prací	100
9.1 Originální články	100
9.2 Příspěvky na symposiích	100
9.2.1 Abstrakty v časopisech	100
9.2.2 Abstrakty ve sbornících	101
10. Jednotlivé práce	103

1. Přehled současného stavu problematiky

1.1 Epidemiologie tuberkulózy

Tuberkulóza je celosvětově rozšířené infekční onemocnění, které je řazené mezi specifické zánětlivé procesy. Původcem tuberkulózy člověka jsou acido-rezistentní, pomalu rostoucí bakterie patřící mezi tzv. *Mycobacterium tuberculosis* komplex, přičemž jako dominantní příčina tuberkulózy figuruje druh *Mycobacterium tuberculosis*. Dalšími mykobakteriemi, které se řadí do tohoto komplexu a způsobují onemocnění, jsou druhy *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*. Vedle těchto mykobakterií existují i druhy (nontuberculosis) vyvolávající onemocnění velmi podobné tuberkulóze. Jde například o *Mycobacterium kansasii* či *Mycobacterium avium* komplex¹. Zdrojem nákazy TBC je v dnešní době v naprosté většině případů nemocný člověk, vylučující patogenní mykobakteria. Nemoc se šíří kapénkovou nákazou².

Alarmujícím momentem se stává rozšiřující se rezistence na AT 1. a 2. řady. Příčin vzniku rezistence kmene je celá řada. Mezi časté příčiny patří tzv. „man made fenomén“. Do této skupiny patří neadekvátní léčebný režim a dávky AT, nekontrolovaná léčba, intolerance preparátů, přerušovaná a předčasně ukončená AT terapie při špatné spolupráci pacienta. V posledních letech představuje výrazný rizikový moment pro šíření rezistentních forem TBC zvýšená migrace obyvatel. Důsledkem těchto okolností pak vlastní rezistence mykobakterií vzniká genetickou mutací, selekcí a následným pomnožením rezistentních mutant³.

Jako monorezistentní TBC je označováno onemocnění, kdy prokázané *M. tuberculosis* je při testu citlivosti in vitro rezistentní pouze na jedno AT první řady. Polyrezistencí se rozumí rezistence kmene na více než jedno AT první řady, mimo současně se vyskytující rezistenci na isoniazid a rifampicin. Rezistence minimálně na kombinaci isoniazidu a rifampicinu se nazývá multirezistence (MDR-TB). V r. 2006 byl zaznamenán další výskyt mimořádně závažné a rozsáhlé rezistence, která dostala označení XDR-TB – extenzivní léková rezistence. Podle verze SZO z října 2006 je dnes XDR-TB označena jako onemocnění, kdy vyvolavatel je kromě multirezistence necitlivý na jakékoliv fluorochinolonové antibiotikum a současně minimálně na jedno ze třech parenterálních antibiotik – kapreomycin, kanamycin a amikacin. Udává se, že XDR-TB tvoří 4–19 % všech onemocnění MDR-TB. V kombinaci s HIV/AIDS se jedná o smrtelné onemocnění a dle zprávy z Jižní Afriky je medián přežití 16 dnů⁴.

Tak, jak se rozšiřuje spektrum mykobakterií rezistentních na AT 2. řady, lze předpokládat, že při provádění detailních testů rozšířené citlivosti na výše uvedené preparáty druhé řady dojde k zjištění XDR-TB i v našich podmínkách⁴.

Tuberkulóza je v posledních letech v popředí zájmu SZO a údaje o incidenci, prevalenci a mortalitě tohoto onemocnění ve světě se dlouhodobě nemění. Jedna třetina lidstva je touto nemocí infikována a každoročně onemocní na celém světě 8 milionů nových pacientů. Z tohoto počtu 2 až 3 miliony osob zemřou, přičemž 95 % jich je z rozvojových zemí. Tuberkulóza usmrtí každoročně 250 000 dětí. Největší výskyt tuberkulózy je v subsaharské Africe, která hlásí více než 100 případů na 100 tisíc obyvatel za rok, dále v jihovýchodní Asii, Mongolsku, Kazachstánu, Číně a Indii. Mezi státy s vysokou incidencí a prevalencí MDR-TB se řadí především bývalé země SSSR a asijské státy. Předpokládá se, že počet pacientů s MDR-TB ve světě dosáhl jeden milion¹. Největší znepokojení vyvolávají pobaltské země (Lotyšsko, Litva a Estonsko), Rusko, Turecko, Ukrajina, Moldavsko, Bělorusko, Kazachstán, Uzbekistán, Turkmenistán, Kyrgyzstán, Tádžikistán, Gruzie, Ázerbájdžán a Arménie.

I přesto, že ve vyspělých zemích incidence tuberkulózy stále klesá, je celosvětově epidemiologická situace u TBC nepříznivá, a proto byla TBC prohlášena SZO za „globální ohrožení“. K nárůstu incidence tuberkulózy dochází vždy v důsledku oslabení pozornosti vůči ní. Na zhoršení této situace se dále podílí epidemie AIDS, migrace obyvatel, nedodržování léčebných zásad².

Incidence tuberkulózy v České republice má od roku 1989 klesající tendenci³. Obdobná situace je i u případů multirezistentní tuberkulózy (MDR-TB), která představuje 2 % z celkového počtu tuberkulózních onemocnění a jedná se přibližně o 20 pacientů ročně³.

Už šest let spadá Česko mezi země s nízkým výskytem TBC. Světová zdravotnická organizace a EU považují za nízký výskyt 20 onemocnění na 100 000 obyvatel. Podle ÚZIS bylo v roce 2007 z 871 případů onemocnění u tuzemců 598 u mužů a 273 u žen. Nejvíce pacientů bylo v nejvyšších věkových kategoriích. Oproti roku 2006 klesl počet případů u občanů ČR o 102, na 100 000 obyvatel to je pokles o 11,6 procenta. Nejvíce případů bylo v Praze, nejnižší nemocnost hlásila Vysočina. U cizinců bylo hlášeno 153 případů TBC, což je 17,6 procenta ze všech onemocnění hlášených v ČR. Nejvíce nemocných bylo ze Slovenska, dále z Vietnamu, Ukrajiny a Mongolska. Mezi bezdomovci bylo zjištěno 39 případů TBC. Mortalita na TBC je velmi nízká – 0,5/100 000 obyvatel. Dlouhodobě zůstává zachován poměr 85 % TBC onemocnění dýchacího ústrojí a 15 % mimoplicních lokalizací².

1.2 Léčba tuberkulózy

Hlavní zásadou léčby tuberkulózy je dlouhodobé, nepřerušované podávání kombinace antituberkulotik, které je nutné pro předcházení vzniku rezistence. V současné době jsou za nejúčinnější považovány plně kontrolované krátkodobé režimy, pro které je používána zkratka DOTS (Directly Observed Treatment Short-Course). Léčebný režim je rozdělen na dvě fáze: iniciační a pokračovací. Iniciační (úvodní) fáze trvá obvykle 2 měsíce a doposud platí doporučení, aby probíhala za hospitalizace. Podmínkou propuštění je podle současných doporučení uspokojivý klinický stav a bakteriologická negativita. Pokračovací fáze následuje bezprostředně po iniciační fázi a obvykle trvá 4 až 6 měsíců, probíhá pod dohledem ambulance oboru TRN (tuberkulóza a respirační nemoci)^{2, 5}.

Mezi základní antituberkulotika patří: isoniazid, rifampicin, pyrazinamid, etambutol, streptomycin. U tuberkulózy vyvolané polyrezistentním kmenem *Mycobacterium tuberculosis* se k léčbě používá ofloxacin, ciprofloxacin, perfloxacin, rifabutin, klarithromycin, kanamycin, amikacin, kapreomycin, viomycin, erytromycin, cotrimoxazol, amoxicilin potencovaný klavulanovou kyselinou a další. Používání těchto léků vychází ze zjištěné citlivosti kmene nebo klinického efektu. Názory na podávání kortikoidů nejsou v rámci léčby tuberkulózy jednoznačné².

Podáváním antituberkulotik ovlivňujeme ložiska tuberkulózy uložená kdekoli v organismu, proto se léčba mimoplicní a plicní tuberkulózy od sebe neliší. Podávání antituberkulotik je doplňováno podle potřeby i dalšími léčebnými zákroky (chirurgická léčba) ve spolupráci s příslušnými odborníky pro mimoplicní tuberkulózu⁶.

1.3 Antituberkulotika

SZO třídí antituberkulotika do následujících skupin⁷:

- 1. skupina – první linie** (perorální antituberkulotika):
isoniazid-INH (1), rifampicin-RIF (2), rifabutin-RIFAB (3), pyrazinamid-PZA (4), ethambutol-ETH (5)
- 2. skupina** (injekční látky):
streptomycin-STR (6), amikacin-AMI (7), kanamycin-KAN (8), kapreomycin-CAP (9)
- 3. skupina – fluorochinolony**
moxifloxacin-MOXI (10), levofloxacin-LEV (11), ofloxacin-OFL
- 4. skupina – druhá linie** (perorální, bakteriostatické látky):
ethionamid-ETA (12), prothionamid-PRO (13), cykloserin-CYS (14), p-aminosalicylová kyselina-PAS (15)
- 5. skupina** – nedoporučované WHO pro rutinní užití:
klarithromycin-CLA (16), linezolid-LIN (17), klofazimin-CLOF (18), amoxicilin/klavulanát-AMX (19), thiacetazon-THA (20), imipenem-IMP

1. skupina – první linie (perorální antituberkulotika):

Isoniazid - INH (1)

Hydrazid kyseliny pyridin-4-karboxylové. Do praxe byl zaveden v roce 1952. Působí baktericidně na rostoucí tuberkulózní bacily. Na mnohé atypické mykobakterie působí INH s menší účinností, přestože *Mycobacterium kansasii* může být citlivé. INH dosahuje podobných koncentrací uvnitř i vně živočišných buněk, a proto může působit na intracelulární mykobakterie stejně jako na extracelulární. INH je podáván i v profylaxi. Zkřížená rezistence na INH, RIF a PZA neexistuje. Současné podávání dvou z těchto léčiv, výrazně oddaluje rozvoj rezistence vůči kterémukoli z nich. Dokud jej pacienti tolerují a pokud jsou mykobakterie citlivé, je INH nejúčinnějším antituberkulotikem. Hlavními nežádoucími účinky jsou hepatitida a neurotoxicita, které se dá předejít podáváním pyridoxinu⁸. INH představuje rovněž standard, se kterým je porovnávána účinnost ostatních antituberkulotik⁹.

Je terapeuticky nejdůležitější substancí skupiny inhibitorů mykolových kyselin. Pro vývoj i pro účinek řady antituberkulotik je asi nejdůležitějším enzymem FAS II systému enoyl-ACP-reduktáza (ENR). U *M. tuberculosis* je tento enzym většinou označován jako InhA. INH je látka, která ke své aktivitě potřebuje endogenní aktivaci. Touto aktivací je oxidace pomocí kataláza-peroxidázy (KatG). Vzniká nestabilní intermediát, který reaguje s NAD (NADP) za vzniku produktu inhibujícího InhA. Tento produkt inhibuje i dihydrofolátreduktázu (DHFR) a další proteiny¹⁰. Ztráta možnosti endogenní aktivace je jednou z hlavních příčin rezistence na INH. Mutace KatG je příčinou, že až 1/3 kmenů *M. tuberculosis* je rezistentních k INH¹¹.

Bylo připraveno mnoho modifikací této látky, ale žádná ji zatím svými vlastnostmi nepřekonala. Ze studií vyplynulo: pyridinové jádro nelze nahradit jiným cyklem či alifatickým zbytkem, další substituce pyridinového jádra se neosvědčila, příprava polohových izomerů, tj. derivátů ostatních pyridinkarboxylových kyselin, rovněž nevedla k účinnějším strukturám. Žádaný efekt nepřinesla ani záměna hydrazidové skupiny jinými skupinami¹².

Rifampicin (rifampin) - RIF (2)

Ansamycinové antibiotikum odvozené od rifamycinu SV. Působí na některé gram-positivní a gram-negativní koky a některé viry. Má baktericidní účinek na intracelulárně i extracelulárně uložené mykobakterie. Lze ho použít i při léčbě mykobakterióz, způsobených potenciálně patogenními mykobakteriemi. Snadno na něj vzniká rezistence, proto se při léčbě TBC podává v kombinaci s INH nebo ETH (5)⁸. RIF a jeho analoga patří mezi látky inhibující syntézu RNA primeru vazbou k DNA-dependentní RNA-polymeráze. Z klinického hlediska jsou jedinými zástupci s tímto mechanismem účinku. DNA-dependentní RNA-polymeráza působí v časně fázi transkripce. Předpokládá se, že rifamyciny se váží k β -podjednotce enzymu v blízkosti místa kde se spojuje RNA/DNA, tím fyzicky blokuje posun rostoucího řetězce už po 2-3 nukleotidech. Rifamyciny neinhibují savčí enzymy. Měly by být vyhrazeny přednostně pro terapii tuberkulózy^{13, 11}. Ansamycinová antibiotika patří dnes mezi nejvýznamnější antituberkulotika. Rezistence vůči RIF může být podmíněna nepropustností buněčné stěny nebo mutací DNA-dependentní RNA-polymerázy a není zkřížená s ostatními léčivy. RIF je celkem dobře tolerován. Způsobuje oranžové zbarvení moči, slz a potu, které je neškodné. Příležitostné nežádoucí účinky zahrnují nefritidu a poruchy funkce jater⁸.

Rifabutin - RIFAB (3)

Semisyntetické antibiotikum strukturně podobné RIF. Na rozdíl od něho má některé výhodné vlastnosti (delší poločas, nižší MIC a nežádoucí účinky), ale dosahuje nižších plazmatických koncentrací. Mezi RIFAB a RIF existuje zkřížená rezistence. Používá se k profylaxi a léčbě diseminovaných infekcí *M. avium* komplexu u osob s AIDS^{14,15}. Ze strukturní podobnosti s RIF plyne i stejný mechanismus účinku. RIFAB je více aktivní než RIF in vitro proti *M. avium* komplex, *M. tuberculosis* a *M. leprae*¹³.

Pyrazinamid - PZA (4)

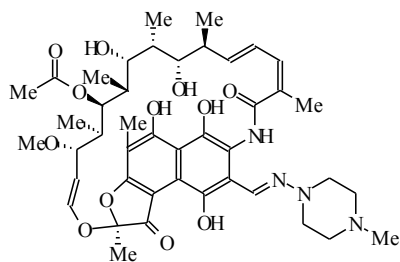
Pyrazinový analog nikotinamidu. PZA je vhodný především k iniciální fázi terapie tuberkulózy (urychlení usmrcení replikujících a částečně nereplikujících kmenů *M. tuberculosis*) nebo při postižení CNS (pro velmi dobrý průnik). Je aktivní proti *M. tuberculosis*, *M. xenopi*, *M. avium*¹². Pyrazinamid patří do skupiny inhibitorů biosyntézy mykolových kyselin. Jeho mechanismus účinku není zatím zcela jasný^{13,11}. PZA působí nespecificky. Pravděpodobně po konverzi na svůj metabolit - pyrazinovou kyselinu dochází ke snižování intracelulárního pH na suboptimální úroveň, při které by se mohla inaktivovat řada metabolických cest, včetně FAS nebo membránových transportních funkcí¹³. Mezi hlavní nežádoucí účinky patří hepatotoxicita, zvracení, léková horečka a hyperurikémie⁸. Pyrazinamid se vzhledem ke své hepatotoxicitě používá pouze v krátkodobé terapii⁹.

Ethambutol - ETH (5)

Syntetická, termostabilní sloučenina⁸ typu aminoalkoholu. ETH je opticky aktivní látka, která má dva izolované chirální atomy uhlíku. Účinný je pouze pravotočivý S,S-(+)-izomer. Používá se k léčbě plicní tuberkulózy vyvolané *M. avium* komplexem u pacientů se syndromem získané imunodeficiency. Jeho mechanismus účinku spočívá v polymerizaci arabinózy v buněčné stěně mykobakteria, místem jeho účinku je arabinofuranosyltransferáza, jež katalyzuje biosyntézu lipoarabinomannanu nezbytného pro zachování integrity mykobakteriální stěny. Na účinku se zřejmě projevuje chelatační schopnost této látky¹². Hypersenzitivita vůči ETH je vzácná. Nejčastějším nežádoucím účinkem jsou poruchy vidění⁸.

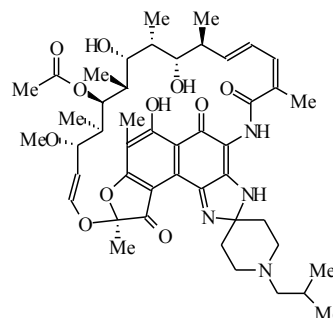
V závorce jsou uvedeny nejvyšší hodnoty MIC pro *M. tuberculosis* (H37Rv)¹³.

rifampicin (0,4 µg/ml)



2

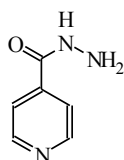
rifabutin (0,015 µg/ml)



3

isoniazid

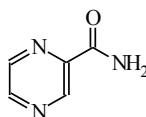
(0,025 µg/ml)



1

pyrazinamid

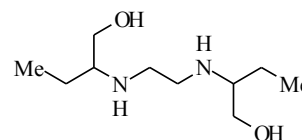
(50 µg/ml, pH 5,5)



4

ethambutol

(0,5 µg/ml)



5

2. skupina (injekční látky)

Tuto skupinu látek lze zařadit mezi inhibitory biosyntézy proteinů, konkrétně mezi inhibitory 30S podjednotky. Proteosyntézu umožňují ribozómy resp. polyribosómy. Ribozómy se skládají ze dvou podjednotek lišících se sedimentační konstantou (u prokaryont 30S a 50S). Oprávněnost použití látek inhibujících proteosyntézu, je umožněna rozdíly mezi eukaryontními a prokaryontními ribosomy. Liší se řadou parametrů, avšak mechanismus proteosyntézy je stejný. Stavební kameny budoucího proteinu zajišťuje enzym aminoacyl-tRNA-syntetáza. Tento enzym umožňuje tvorbu jak aktivovaných aminokyselin, tak i jejich přenos na příslušnou tRNA. Vznikají aminoacyl-tRNA, které se za pomoci ribosomů a templátu (mRNA) přetváří v protein. Aminoacyl-tRNA-syntetáza může být také cílem některých inhibitorů proteosyntézy¹¹.

Streptomycin - STR (6)

Patří mezi aminoglykosidová antibiotika. Působí baktericidně v zásaditém prostředí na extracelulárně uložená proliferující mykobakteria¹⁶. Většina potenciálně patogenních

mykobakterií je vůči STR rezistentních. Rezistence se vyvíjí rychle a je ireverzibilní⁸. Příčinou toxicity je aldehydická skupina. Dnes se STR používá s β -laktamovými antibiotiky ve veterinární praxi¹².

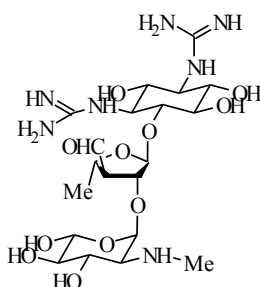
Amikacin - AMI (7) a kanamycin - KAN (8)

Stejně jako STR patří i AMI a KAN mezi aminoglykosidová antibiotika, která se uplatňují při léčbě MDR-TB¹⁷. AMI a KAN mají podobné užití jako STR. Jsou méně aktivní, proto je třeba podávat vysoké dávky¹². Vzhledem k velmi silné mykobakteriální stěně má význam podávat tato léčiva jen s látkami, které narušují buněčnou stěnu (např. ETH)¹¹.

Kapreomycin - CAP (9)

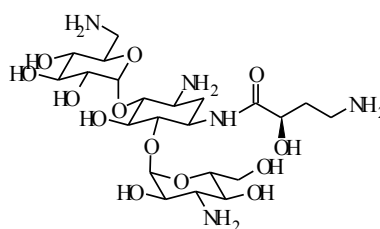
Polypeptidové antibiotikum produkované určitými kmeny Streptomyces. Někdy je pozorována částečná zkřížená rezistence mezi CAP, KAN a viomycinem. Nejvýznamnějšími projevy toxicity CAP jsou poškození ledvin a osmého nervu, které vede ke ztrátě rovnováhy a hluchotě. Toxické účinky jsou těžší než účinky STR⁸. Mechanismus účinku není zcela jasný, i když zjevně ovlivňuje ribozom a inhibuje syntézu proteinů¹³.

streptomycin (1 μ g/ml)



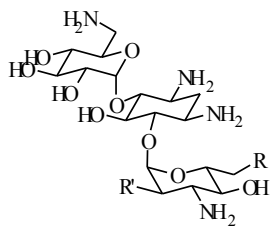
6

amikacin (1 μ g/ml)



7

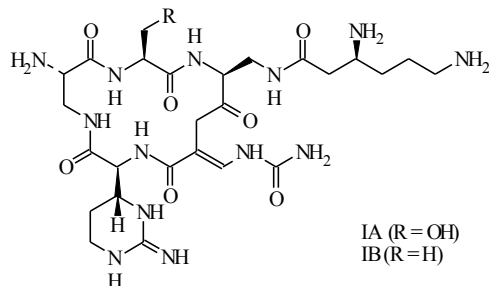
kanamycin (2 μ g/ml)



8

kanamycin:
A: R = NH₂, R' = OH;
B: R = NH₂, R' = NH₂;
C: R = OH, R' = NH₂.

kapreomycin (2 μ g/ml)



IA (R = OH)
IB (R = H)

9

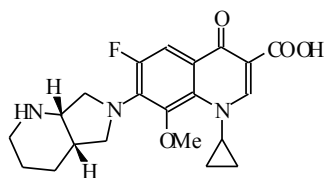
3. skupina – fluorochinolony

Mechanismus účinku fluorochinolonů spočívá ve vzniku komplexu DNA-fluorochinolon-enzym. Specificky inhibují enzymy topoisomerázu II (DNA gyrázu) a topoisomerázu IV (oba enzymy závisí na ATP). Topoisomeráza IV u *M. tuberculosis* chybí. DNA gyráza je enzym, který se podílí jak na vzniku DNA superhelixu, tak i na jeho rozvolnění. Takto se gyráza účastní replikace, transkripce i oprav bakteriální DNA. DNA gyráza je pravděpodobně jediným místem účinku fluorochinolonů^{13,11}.

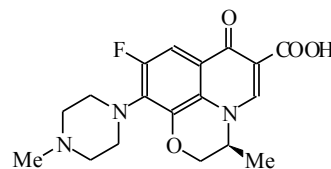
Moxifloxacin - MOXI (10) a levofloxacin - LEV (11)

Tyto látky mají širokospektrou aktivitu jak vůči gram-pozitivním tak i gram-negativním bakteriím. Neexistuje zkřížená rezistence mezi MOXI a ostatními třídami bakteriostatik, ale byla pozorována zkřížená rezistence mezi MOXI a ostatními fluorochinolony. Vůči MOXI je citlivých hodně MDR klinických kmenů. MOXI je aktivnější vůči *M. kansasii* než vůči *M. avium* komplex. Používá se v kombinaci s RIF a PZA, která zkrátila dobu léčení na dva měsíce¹³. LEV je (-)-(S)-enantiomer racemického OFL.

moxifloxacin (0,5 µg/ml)

**10**

levofloxacin (0,5 µg/ml)

**11**

4. skupina – druhá linie (perorální, bakteriostatické látky)

Použití alternativních antituberkulotik, uvedených níže, je většinou zvažováno pouze v případech rezistence vůči antituberkulotikům první řady, které se objevují stále častěji, dále při nedostatečné klinické odpovědi na konvenční léčbu a jestliže je dostupná odborná pomoc pro řešení toxických účinků⁸.

Ethionamid - ETA (12) a protionamid - PRO (13)

Thioamidy pyridin-4-karboxylové kyseliny. ETA a PRO jsou relativně toxická bakteriostatická antituberkulotika¹². Přes strukturální podobnost s INH se zkřížená rezistence mezi nimi neobjevuje. ETA účinkuje až při vyšší koncentraci, která je špatně snášena, protože silně dráždí žaludek a vyvolává neurologické poruchy⁸. Obě látky patří stejně jako INH

k inhibitorům InhA, podléhajícím endogenní aktivaci. ETA a PRO jsou oxidovány flavoproteinmonooxydázou (EthA), jejíž mutace jsou také příčinou rezistence. Vzniklé oxidační produkty dále podléhají nukleofilním reakcím. Cíle inhibice vzniklých aduktů však nejsou známy^{13, 11}.

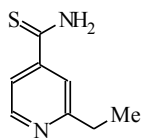
Cykloserin - CYS (14)

Nejvýznamnější látka působící v oblasti biosyntézy peptidoglykanu na úrovni transpeptidačních reakcí¹¹, která inhibuje D-alanin racemázu a D-Ala-D-Ala ligázu¹³.

p-Aminosalicilová kyselina - PAS (15)

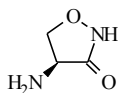
Strukturně je podobná s kyselinou p-aminobenzoovou (PABA) a se sulfonamidy⁸. Je pravděpodobné, že PAS a PABA kompetují o aktivní centrum enzymu dihydrofolátreduktázy, který se účastní konverze PABA na dihydropteroovou kyselinu⁸. Dále zasahuje do metabolismu železa^{13, 11}. Pro špatnou snášenlivost (nežádoucí účinky na gastrointestinální trakt, bolesti kloubů apod.) se v současné době používá v omezené míře⁹.

ethionamid
(0,25 µg/ml)



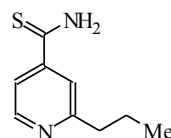
12

cykloserin
(25 µg/ml)



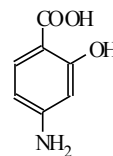
14

prothionamid
(~0,5 µg/ml)



13

p-aminosalicylová kyselina
(1 µg/ml)



15

5. skupina – nedoporučované WHO pro rutinní užití:

Klarithromycin - CLA (16)

Makrolidové antibiotikum, které se používá při léčbě infekcí způsobených potenciálně patogenními mykobakteriemi. V kombinaci s ETH nebo RIF se doporučují jako standardní léčba infekcí *M. avium* komplexu¹⁵. CLA patří mezi inhibitory biosyntézy proteinů, konkrétně mezi inhibitory 50S podjednotky.

Linezolid - LIN (17)

První z nové třídy oxazolidinonových antibiotik. Je aktivní proti gram-positivním a některým gram-negativním bakteriím, mykobakteriím i proti MDR-TB kmenům. Váže se na 23S podjednotku rRNA a inhibuje translaci. Syntézu bílkovin inhibuje jiným mechanismem než ostatní antibiotika, proto je zkřížená rezistence mezi LIN a jinými třídami antibiotik nepravděpodobná. Zatím nebyly zaznamenány kancerogenní účinky, ale může způsobovat euforii, ospalost, nervozitu, závratě, pocení, problémy koordinace a horečku¹³.

Klofazimin - CLOF (18)

Patří mezi iminofenaziny a používá se jako antileprotikum. Spektrum účinku (*M. leprae*, *M. avium*) jej předurčuje k léčbě lepry rezistentní na dapson a dále má využití u pacientů se syndromem získané imunodeficiency¹². Jeho mechanismus účinku není znám¹³.

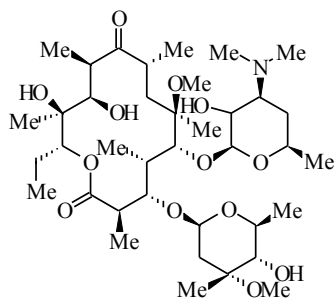
Amoxicilin - AMX/ klavulánová kyselina (19)

β -Laktámová antibiotika (peniciliny a cefalosporiny) patří mezi významné inhibitory transpeptidačních (zesíťovacích) reakcí. Tyto látky však u *M. tuberculosis* nelze dost dobře použít, jednak v důsledku zvýšené aktivity β -laktamázy a jednak z důvodu relativně nepropustné, lipofilní vrstvy mykolových kyselin¹⁸. Z tohoto důvodu je účinek AMX (v kombinaci s klavulánovou kyselinou), řazený někdy mezi antituberkulotika, diskutabilní.

Thiacetazon - THA (20)

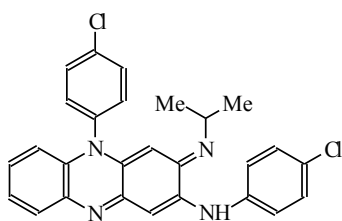
Patří do skupiny thiosemikarbazonů a používá se jako doplňkové léčivo v nejchudších oblastech světa¹². Stejně jako ETA a PRO patří mezi inhibitory biosyntézy mykolových kyselin.

klarithromycin
(8 µg/ml, pH 7,4)



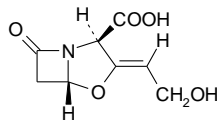
16

Klofazimin (0,1 µg/ml)

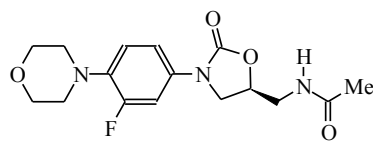


18

klavulánová kyselina

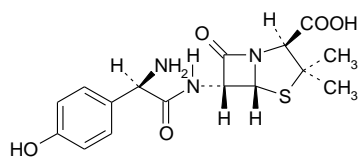


linezolid
(0,25 µg/ml)



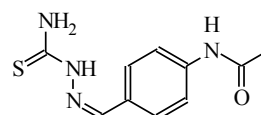
17

amoxicilin



19

thiacetazon



20

Antituberkulotika v klinických studiích

Mezi nová potenciální léčiva, která jsou nyní v preklinické nebo klinické fázi výzkumu, patří fluorochinolony **KRQ-10018 (21)** a **ATB-255 (22)**, diarylchinoliny **R207910 (23)** a **TMC207 (24)**, nitroimidazopyran **PA-824 (25)**, nitro-dihydroimidazo-oxazol **OPC-67683 (26)**, pyroly **LL-3858 (27)** a **BM-212 (28)** a diamin **SQ-109 (29)**^{19,20}.

KRQ-10018 (21) a **ATB-255 (22)** patří do skupiny fluorochinolonů, které inhibují DNA gyrázu. Jsou to širokospektrá antibiotika. **21** je aktivní jak na gram-pozitivní tak gram-negativní bakterie (*M. tuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*). Vykazuje aktivitu uvnitř makrofágu²¹.

22 je slibná antibakteriální látka, která vykazuje široké spektrum aktivity *in vitro* a *in vivo* působí jak proti klasickému tak proti rezistentním kmenům *M. tuberculosis*. MIC **22** proti kmenům *M. tuberculosis* rezistentním na RIF nebo ETH jsou 0,031 µg/ml. Vůči gram-negativním bakteriím je srovnatelně účinný jako ciprofloxacin a proti gram-pozitivním je dokonce několikrát účinnější²².

Skupina diarylchinolinů vykazuje silnou *in vitro* aktivitu proti *M. tuberculosis* a testy provedené na zvířecím modelu se zdají být také nadějně. Zástupcem této skupiny je sloučenina **R207910 (23)**, která je aktuálně v klinických testech ve fázi I studií. Je stejně aktivní proti senzitivnímu kmeni *M. tuberculosis* (MIC je 0,03 µg/ml) a kmenům rezistentním na různorodé, běžně užívané léky jako INH, RIF, PZA, ETH, STR a fluorochinolony. Podobná účinnost byla objevena i proti dalším mykobakteriím jako *M. smegmatis*, *M. bovis*, *M. avium*, a *M. fortuitum*. Mechanismus účinku **23** se zdá být jedinečný mezi běžně užívanými bakteriostatiky. Kombinace **23** s některými dvěma ze tří běžně užívaných léčiv (INH, RIF a PZA) byla více efektivní než standardní režim těchto antituberkulotik. Schopnost látky **23** zkrátit terapii aktivní TBC bude testována během fáze I klinických studií²³.

Podobnou látkou je **TMC207 (24)**, která má též velmi dobrou úroveň aktivity *in vitro* na růst *M. tuberculosis*¹¹. Dále inhibuje i *M. bovis*, *M. avium*, *M. kansasii*, *M. smegmatis* a *M. ulcerans*. Sloučenina se jeví jako účinná na myších modelech nakažených leprou. **24** je aktivní proti MDR-TB¹³.

První bicyklické nitroimidazoly bylo možné už koncem 70. let dvacátého století užívat jako radiosenzitizery v terapii rakoviny. Dalšími výzkumy byl zjištěn jejich účinek na *M. tuberculosis* a to vedlo k látce **PA-824 (25)**²³. Tato látka je tedy příkladem úspěšné

vývojové látky. Vychází ze struktury metronidazolu, ale na rozdíl od něj nemá mutagenní účinky. Jedná se o proléčivo, které pro svoji aktivaci vyžaduje *in vivo* redukci nitroskupiny na aminoskupinu¹². Tato látka je vysoce selektivní. Je aktivní pouze proti *M. tuberculosis* - BCG a *M. tuberculosis*, ale vůči široké škále gram-positivních a gram-negativních bakterií nevykazuje významnou aktivitu. Dle *in vitro* výzkumu na anaerobně pěstovaných modelech vykazuje **25** na rozdíl od INH aktivitu i proti nereplikujícím se bacilům, má aktivitu vůči kmenům mykobakterií se známou rezistencí na standardní antituberkulotickou terapii, což naznačuje jiný mechanismus účinku. Zdá se, že výrazně inhibuje syntézu proteinů a lipidů, ale nepůsobí na syntézu nukleové kyseliny. Výsledky testů ukazují, že není toxický pro genetický materiál²³. Preklinické studium na myších modelech ukázalo tuberkulocidní efekt i na MDR-TB kmeny¹². **25** aktuálně podstupuje klinické testy jako antituberkulotikum²³.

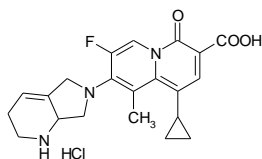
Další výzkum vedl k sériím strukturálně příbuzného nitroimidazo[2,1-b]oxazolu **OPC-67683 (26)**¹¹. Tato látka je aktivní vůči *M. tuberculosis* a *M. kansasii* a dále proti kmenům rezistentním na INH, RIF, PZA, ETH a STR. *In vitro* inhibuje biosyntézu mykolových kyselin a byla pozorována též změna v morfologii buněčné stěny. **26** není mutagenní a její použití by mohlo zkrátit dobu léčení na 2 měsíce¹³. Tato sloučenina podstupuje klinické testy od roku 2004¹¹ a již proběhla druhá fáze výzkumu, ovšem výsledky ještě nejsou zveřejněny¹³.

Sloučenina **LL3858 (27)**, odvozená od pyrolu, vykazuje velmi dobrou aktivitu na myších modelech. V kombinaci s aktuálně používanými antituberkulotiky sterilizuje **27** plíce a sleziny u nakažených zvířat v mnohem kratším čase než při tradiční léčbě²³.

Deriváty pyrolu mají silné antimykobakteriální účinky vůči některým kmenům *M. tuberculosis*. Nejaktivnější je sloučenina **BM 212 (28)**. Aktivita této látky proti MDR-TB je srovnatelná s aktivitou vůči klasickému *M. tuberculosis*. To ukazuje na nový mechanismus účinku²³. Série antibakteriálních pyrolů, odvozená z výchozí sloučeniny **28**, byla uvedena koncem 90-tých let. Ačkoli žádné vědecké poznatky ještě nejsou veřejně dostupné, byla tato série látek umístěna do fáze I klinických pokusů¹¹.

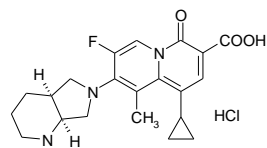
Další skupina látek vychází ze struktury ethambutolu (**5**). Moderní chemický přístup vedl k syntéze četných chemických knihoven diamino analogů. Například **SQ 109 (29)** se ukázal být efektivní antimykobakteriální látkou, účinnou *in vitro* také proti MDR-TB kmenům¹¹. Redukuje infekci v plicích a slezině na myších modelech. **29** můžeme zařadit mezi inhibitory buněčné stěny²³.

RQ 10018
(0,041 µg/ml)²¹



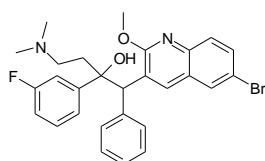
21

ATB 255
(0,031 µg/ml)²²



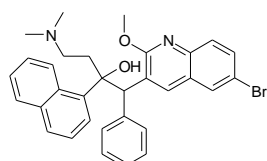
22

R207910



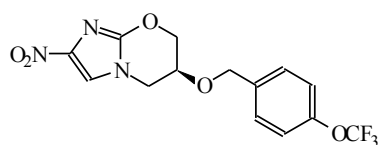
23

TMC-207 (0,12 µg/ml)



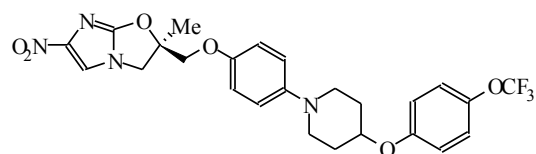
24

PA-824 (0,3 µg/ml)



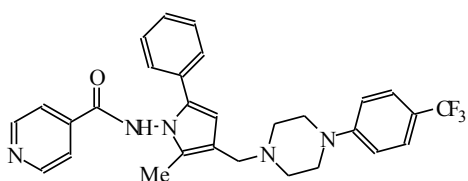
25

OPC-67683 (0,012 µg/ml)



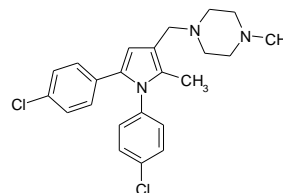
26

LL-3858 (0,025 µg/ml)



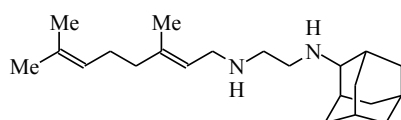
27

BM 212 (0,031 µg/ml)²³



28

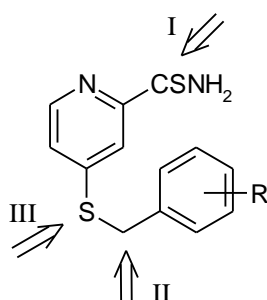
SQ-109 (0,35 µg/ml)



29

2. Cíl práce

Disertační práce je příspěvkem k výzkumu látek s antimykobakteriální aktivitou ze skupiny sulfidických derivátů pyridinu. Cílem této práce je příprava analog 4-(benzylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidů²⁴, u kterých byla dříve zjištěna signifikantní antimykobakteriální aktivita. Obměna modelové sloučeniny je provedena na 3 místech. (Obr. 1)



Obr. 1.

- **Obměna na pyridinovém kruhu (I)** – příprava série hydrazidů a amidů.
- **Obměna spojovacího alkylového řetězce (II)** mezi pyridinovým a benzenovým kruhem - příprava 4-fenylethyl/ 4-fenylpropyl/ 4-fenylbutyl derivátů.
- **Obměna na sulfidické síře (III)** - příprava sulfonů a sulfoxidů.

Na základě stanovené antimykobakteriální aktivity připravených látek budou řešeny vztahy mezi strukturou a antimykobakteriální aktivitou (SAR).

Část disertační práce byla vypracována na Institutu pro makromolekulární a organickou chemii na Univerzitě Friedricha Schillera v Jeně. Cílem této části práce je hledání nových struktur potenciálních antituberkulotik.

3. Teoretická část

3.1 Metody přípravy sulfidů

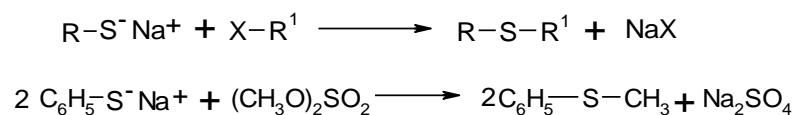
Sulfidy jsou sloučeniny obecného vzorce R^1-S-R^2 . Síra v sulfidech nese dva nevázebné elektronové páry a patří tedy mezi látky zásaditého charakteru jak ve smyslu Lewisovy koncepce, tak i ve smyslu teorie Brönsteda a Lowryho²⁵.

Pro syntézu sulfidů je k dispozici řada různých způsobů. Volba metody závisí především na tom, zda se připravují symetrické, nebo asymetrické sloučeniny této řady.

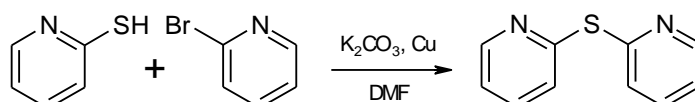
Alkylace thiolátů (thiofenolátů)

Nejčastěji vyhledávanou metodou pro přípravu sulfidů je alkylace thiolů v bazickém prostředí. Je možno alkylovat jednak nesubstituované, jednak jinými funkčními skupinami substituované thioly, a to převážnou většinou alkylačních činidel. Reakce je proto vhodná pro přípravu především asymetrických sulfidů. Jako alkylační činidlo se běžně používá primárních, sekundárních halogenderivátů (bromidy, chloridy), dále halogenderiváty benzylového a allylového typu. Vedle alkyhalogenidů jsou často užívány dialkylsulfáty, alkyhydrogensulfáty, aromatické alkyarylsulfonáty a Grignardova činidla (alkylmagnesiumhalogenidy)^{26, 25}.

Standardní příprava spočívá v působení ekvivalentního množství alkylačního činidla na thiolát ($R-S^-$) resp. thiofenolát ($Ar-S^-$), nejčastěji za použití alkoholu jako rozpouštědla. Reakce probíhá S_N2 mechanismem a je analogická k Williamsonově syntéze přípravy etherů.



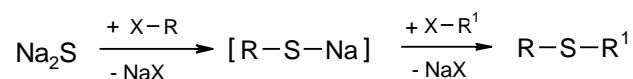
Alkylace thiolů probíhá rovněž v dipolárních aprotických rozpouštědlech (DMF) s přidavkem bezvodého uhličitanu draselného²⁷, případně v přítomnosti mědi, měďných nebo měďnatých solí (Ullmanova syntéza).



Zajímavým postupem je provedení této reakce za podmínek fázového přenosu. Tato metoda zahrnuje alkylation thiolů alkyhalogenidem ve dvoufázovém systému např. cyklohexan-vodný KOH, s použitím tetrabutylamonium bromidu jako katalyzátoru fázového přenosu²⁸.

Alkylation alkalických sulfidů

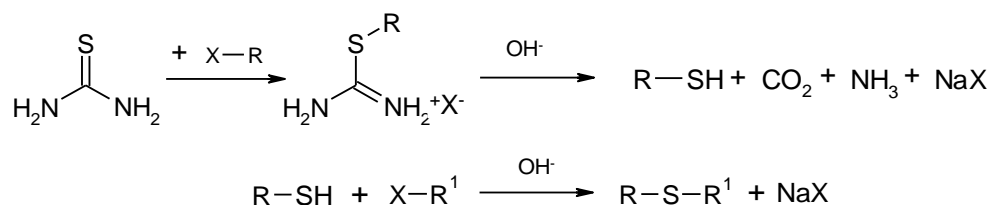
Pro přípravu symetrických sulfidů se hojně využívá nukleofilní substituce alkyhalogenidů alkalickými sulfidy, nejčastěji sulfidem sodným nebo draselným. Při této reakci se používá přebytek alkyhalogenidu, protože alkylation probíhá ve dvou stupních. Nejdříve vznikne thiolátový anion jako meziprodukt reakce a ten teprve dalším působením činidla přechází na sulfid²⁵.



Příprava sulfidů s malými alkyly probíhá lépe za použití dialkylsulfátů nebo alkalických solí alkyhydrogensulfátů jako alkylationních činidel^{26, 25}.

Alkylation thiomčoviny

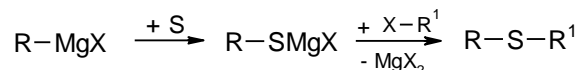
Velmi využívaná a preparativně jednoduchá je příprava, která spočívá v alkylation thiomčoviny. Reakcí vzniklá S-alkylisothiuroniová sůl se rozkládá alkalickým hydroxidem na thiol, oxid uhličitý a amoniak. Alkylation připraveného thiolu v alkalickém prostředí vzniká sulfid²⁹.



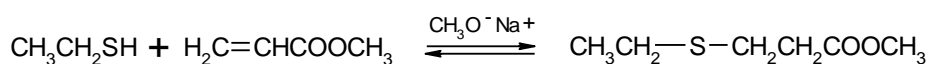
Alkylovat lze přímo i S-alkylisothiuroniovou sůl. Při reakci, která probíhá v alkalickém prostředí, vzniká potřebný thiolát „in situ“ a reakce dále probíhá jako Williamsonova syntéza²⁴.

Alkylace příslušných Grignardových činidel

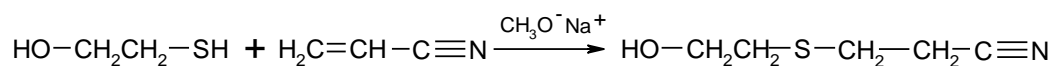
Cestou k přípravě sulfidů je také reakce Grignardova činidla se sírou a následnou alkylací takto vznikajícího alkylsulfanylmagnesium halogenidu. Reakce je možné využít pro přípravu symetrických i asymetrických sulfidů^{30, 31}.

**Adice thiolů na nenasyčené sloučeniny (alkeny)**

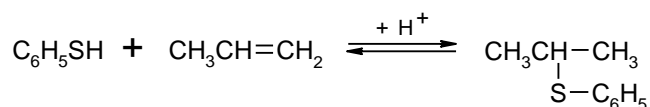
Nukleofilní adice thiolů na dvojnou vazbu probíhá velmi snadno především tam, kde s dvojnou vazbou sousedí skupina se záporným mezomerním efektem. Typickou reakcí tohoto druhu je bazicky katalyzovaná adice thiolů na α,β -nenasyčené estery³².



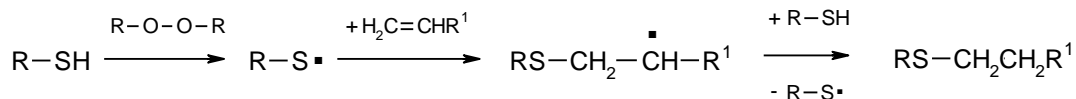
Nenasycené sloučeniny, které nesou na uhlíku, z něhož vychází dvojná vazba, elektronegativní substituenty, adují za přítomnosti zásad thioly snadněji než alkoholy²⁵, v důsledku vyšší nukleofility thiolů.



Elektrofilní adice probíhá za přítomnosti kyselých katalyzátorů a její orientace se řídí podle Markovnikova pravidla^{32, 33}.

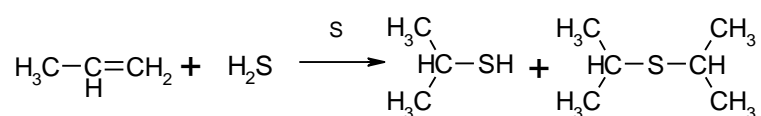


Snadný vznik radikálu z thiolů se využívá preparativně při adicích thiolů na alkeny (A_R), které probíhají proti Markovnikovu pravidlu, řetězovým mechanismem za přítomnosti dialkylperoxidů^{34, 33}.



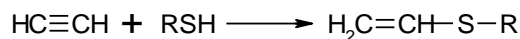
Adice sulfanu na nenasyčené sloučeniny (alkeny)

Adici sulfanu na neaktivovanou dvojnou vazbu lze uskutečnit za vyšších teplot (150-200 °C) na vhodných katalyzátorech (S, Al₂O₃, NiS). V prvním stupni adice vzniklý thiol se pak aduje na další molekulu alkenu za vzniku sulfidu. Pokud má být produktem sulfid, je nutno pracovat s přebytkem alkenu^{25, 34, 32}.



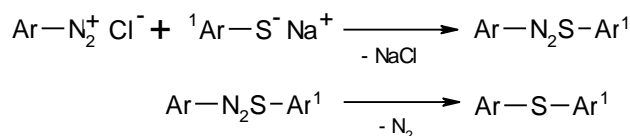
Nukleofilní adice thiolů na alkyne

Adicí thiolů na alkyne vznikají nenasyčené sulfidy (v případě ethynu jsou to alkylvinylsulfidy)³¹.



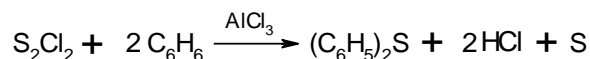
Reakce arylthiolů s diazosloučeninami

Pro přípravu aromatických sulfidů se používá rozklad diazonioných solí v alkalickém prostředí arylthioly. Reakce probíhá ve dvou stupních. V prvním stupni se tvoří diazosulfid, který se zahřátím rozkládá za vývoje dusíku^{32, 34}.



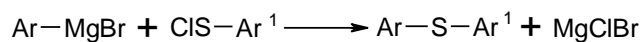
Reakce dichlordisulfanu s aromatickými sloučeninami

Symetrické diarylsulfidy lze získávat Friedel-Craftsovou arylací dichlordisulfanu za přítomnosti chloridu hlinitého nebo železa^{25, 32, 35}.

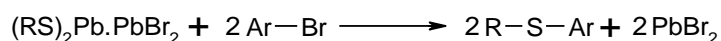
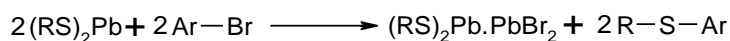


Reakce sulfenylchloridů

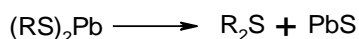
Vhodným postupem pro přípravu asymetrických sulfidů mohou být reakce Grignardových činidel se sulfenylchloridy^{30,32}.

**Příprava pomocí olovnatých sloučenin**

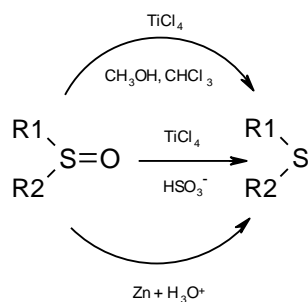
Především k přípravě sulfidů benzenu a naftalenu slouží metoda, při níž se zahřívá arylbromid s thiolátem olova, zinku nebo rtuti. Všechny tyto thioláty se rozkládají za teploty nad 200 °C, která je pro reakci nezbytná. Arylace se proto provádí dvoustupňovým pochodem.



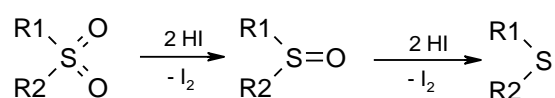
Bylo uvedeno, že thioláty olova jsou sloučeniny termicky nestálé. Při karbonizaci se rozkládají za vzniku sulfidů. V praxi se postupuje tak, že se arylthioly zahřívají s oxidem olovnatým³².

**Redukce sulfoxidů a sulfonů**

Sulfidy lze připravit redukcí sulfoxidů. Jako redukční činidlo se může použít chlorid titaničitý v prostředí methanolu a chloroformu³⁶ nebo hydrogensířičitanu sodného³⁷. Sulfidy takto vznikají v dobrých výtěžcích a jsou velmi čisté. Další možností je redukce zinkem v kyselém prostředí³⁸.

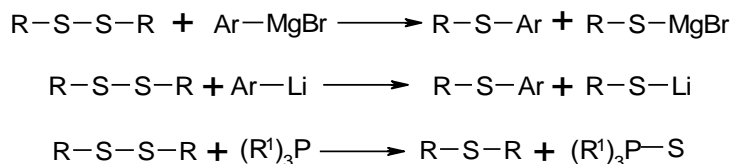


Sulfidy lze připravit ze sulfonů působením jodovodíku, kdy dojde v první fázi k redukci sulfonu na sulfoxid a postupně až na sulfid³⁸.



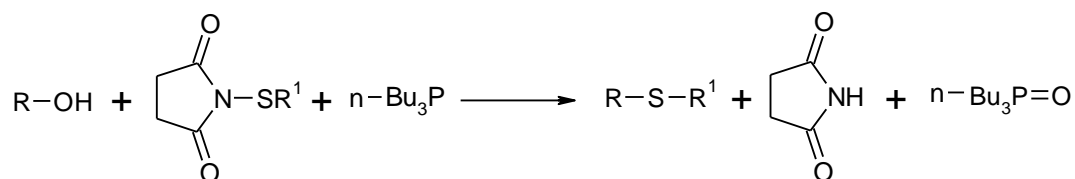
Příprava z disulfidů

Asymetrické sulfidy mohou být získány reakcí disulfidů s Grignardovým činidlem³⁹, fenyllithiem nebo trifenyfosfanem^{30,32}.



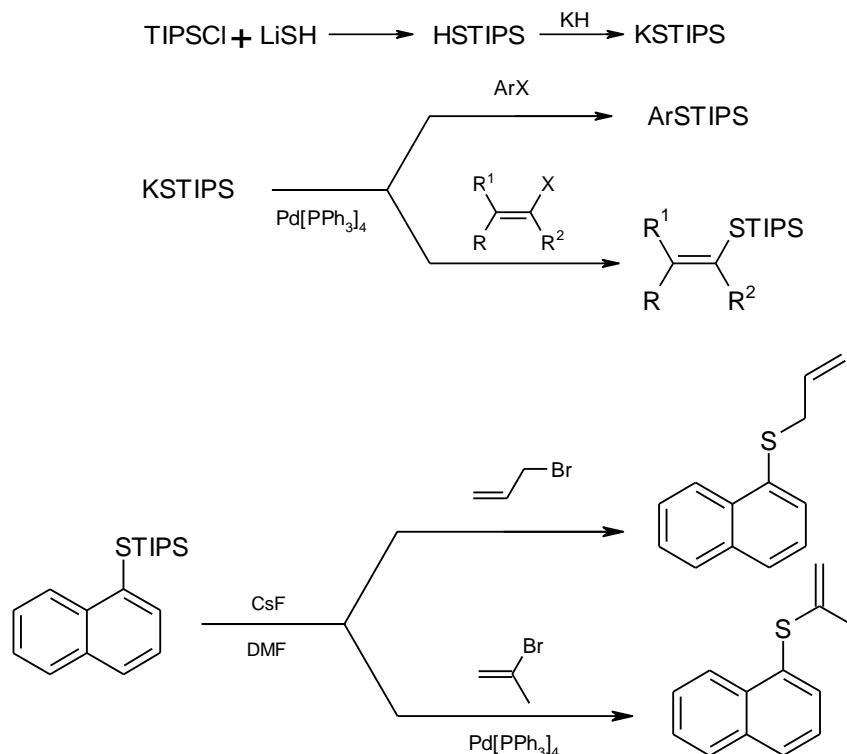
Příprava z alkoholů

Sulfidy je možné připravit metodou přímé konverze alkoholů. Tato metoda je vhodná pro primární a sekundární alkoholy. Reakce alkoholů se sulfenimidem (např. N-fenylsulfanylsuccinimidem) a tri-n-butylfosfanem probíhá v THF již za laboratorní teploty. Výhoda této reakce je rozpustnost vedlejších produktů (succinimid a tri-n-butylfosfan-oxid) ve vodě, která umožňuje snadnou izolaci produktu⁴⁰.

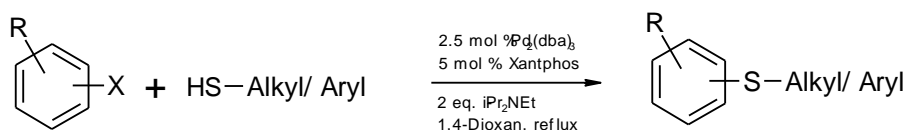


Palladiem katalyzovaný coupling

Vinyl- a arylhalogenidy mohou být efektivně převedeny s triisopropylsilanthiolátem draselným (KSTIPS) za katalýzy Pd na odpovídající silylsulfidy. Silylová skupina může být následně nahrazena různými substituenty. Například naftyl deriváty mohou být alkylovány nebo alkenylovány. Pd-katalyzovaný coupling tak usnadňuje přípravu asymetrických sulfidů⁴¹.



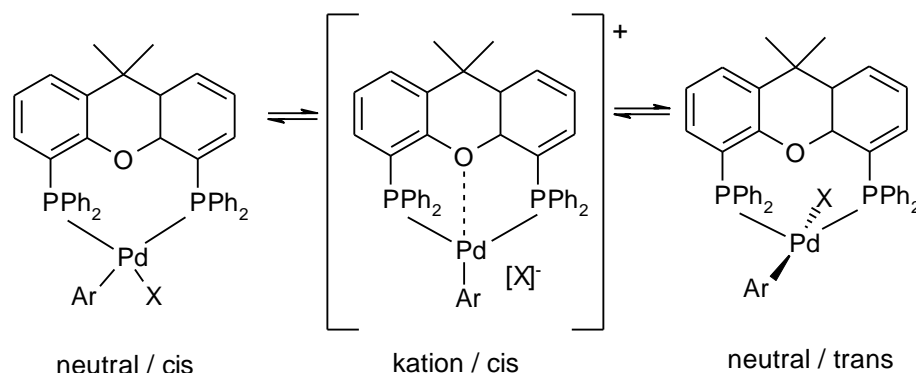
Další cestou k přípravě sulfidů je palladiem katalyzovaný coupling za použití Pd₂(dba)₃ (tris(dibenzylidenaceton)dipalladium) a Xantphosu (4,5-bis(difenylfosfin)-9,9-dimethylxanthen). Alkalické prostředí je tvořeno *i*-Pr₂NEt (*N,N*-diisopropylethylamin)⁴². Při syntéze sulfidů touto metodou nedochází k tvorbě nežádoucích disulfidů. Vazba C-S vzniká reakcí alkyl- nebo arylbromidů, triflátů (trifluormethansulfonátů) a aktivovaných chloridů s alkyl- nebo arylthioly.



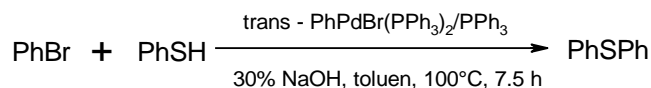
X = Br, Cl, CF₃SO₃⁻

R = funkční skupiny

Van Leeuwen⁴³ vysvětluje možný efekt atomu kyslíku v molekule Xantphosu na stabilizaci intermediátu, který může být formován během izomerizace cis-/ trans- komplexu.



Pd coupling může být použit i při reakci s fázovým přechodem. Aryl- a alkenylsulfidy mohou být připraveny palladiem katalyzovanou reakcí halogenidů s thioley, za podmínek fázového přenosu ve směsi toluen – 30% NaOH⁴⁴.



3.2 Metody biologického hodnocení

3.2.1 Antimykobakteriální hodnocení

Antimykobakteriální aktivita připravených sloučenin byla stanovena v Laboratoři pro diagnostiku mykobakterií v Krajské hygienické stanici v Ostravě.

Screeningové *in vitro* testy byly provedeny na sérii čtyř mykobakteriálních kmenů, z nichž tři byly získány z České národní sbírky typových kultur (CNCTC): *Mycobacterium tuberculosis* My 331/88, *Mycobacterium kansasii* My 235/80, *Mycobacterium avium* My 330/88 a jeden klinicky izolován z pacienta z Karviné: *Mycobacterium kansasii* 6509/96. Jako standard při antimykobakteriálních testech je použit isoniazid (INH). Hodnoty minimálních inhibičních koncentrací (MIC) klinicky používaných antituberkulotik a chemoterapeutik jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab. 1: Hodnoty MIC (v $\mu\text{mol/l}$) antituberkulotik a chemoterapeutik vůči standardně testovaným kmenům mykobakterií.

Antituberkulotika a chemoterapeutika	Kmeny									
	<i>Mycobact. tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobact. kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobact. kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobact. avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
Isoniazid	0,5	1	>250	>250	>250	2	2	4	>250	>250
Rifampicin	0,25	0,5	0,125	0,25	0,25	0,125	0,125	0,25	16	62
Ethambutol	1	2	1	2	2	1	2	2	16	16
Streptomycin	0,25	0,5	1	1	2	1	1	2	2	2
Amikacin	0,25	0,25	0,5	1	1	0,5	0,5	0,5	1	2
Ofloxacin	1	2	0,5	1	1	0,5	0,5	1	32	62
Clofazimin	0,125	0,25	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,25	0,25

Testování bylo provedeno mikrometodou pro stanovení minimální inhibiční koncentrace. MIC je nejnižší koncentrace látky, která inhibuje růst mykobakterií. Antimykobakteriální aktivita byla hodnocena v Šulově polysyntetické půdě (SEVAC, Praha). Sloučeniny byly přidány do média v roztoku dimethylsulfoxidu v následujících koncentracích: 1000, 500, 250, 125, 62, 32, 16, 8, 4, 2 a 1 $\mu\text{mol/l}$. Vlastní biologické hodnocení se provádí na plastové testovací destičce, kde je přítomno 11+1 jamek se standardním objemem. Jedna jamka zůstává bez analyzované látky. Po určité době inkubace mykobakterií (7, 14 či 21 dní) při 37 °C za působení studovaných látek se pozoruje, v které jamce, tj. při jaké koncentraci dochází k zastavení růstu mykobakterií. Srovnání se provádí vizuálně vzhledem k jamce bez sledované látky. Jamka s nejnižší koncentrací sledované látky, ve které je ještě inhibován růst mykobakterií, určuje minimální inhibiční koncentraci.

Vybrané sloučeniny byly dále testovány vůči třem klinicky izolovaným multirezistentním (MDR) kmenům: *Mycobacterium tuberculosis* 7357/98, *Mycobacterium tuberculosis* 9449/06 a *Mycobacterium tuberculosis* 2092/05. Charakteristika MDR kmenů vyplývá z Tab. 2, kde jsou uvedené MIC vůči MDR kmenům pro klinicky používaná antituberkulotika a chemoterapeutika. Pokud jsou hodnoty MIC vyšší než hodnoty uvedené v posledním sloupci této tabulky (hraniční MIC), daný kmen je označen za rezistentní k danému léčivu. Z tabulky 2 tedy vyplývá, že testovaný kmen *M. tuberculosis* 7357/98 je rezistentní na isoniazid, rifampicin, streptomycin, ethambutol, ofloxacin, ansamycin, kmen *M. tuberculosis* 9449/06 je rezistentní na isoniazid, rifampicin, streptomycin, ansamycin a kmen *M.*

tuberculosis 2092/05 je resistantní na isoniazid, rifampicin, streptomycin, ethambutol, ofloxacin, ansamycin.

Tab. 2: Hodnoty MIC (v mg/l) antituberkulotik a chemoterapeutik vůči MDR kmenům *M. tuberculosis*.

Antituberkulotika a chemoterapeutika	<i>M. tuberculosis</i>			hraniční MIC
	7357/98	9449/06	2092/05	
Streptomycin	>16,0	>16,0	16	4
Isoniazid	2	8	2	0,5
Etambutol	4	2	4	4
Rifampicin	8	>8,0	>8,0	1
Ofloxacin	4	1	4	4
Gentamicin	0,5	0,5	0,5	4
Clofazimin	0,06	0,06	0,03	0,25
Ansamycin	2	2	0,5	0,25
Amikacin	0,5	0,25	0,25	8

3.2.2 Antiproliferativní a cytotoxické hodnocení

Antiproliferativní a cytotoxická aktivita látek byla stanovena na Hans-Knöll-Institutu pro výzkum přírodních látek v Jeně (Německo).

Cytotoxicita byla stanovena na rakovinných cervikálních buňkách HeLa (buňky lidské rakoviny děložního hrdla) a je udána cytotoxickou koncentrací látky CC_{50}^{45} , která způsobuje u 50 % buněčné populace specifické destrukce projevující se jako lýza buněk. Množství rozpadlých buněk HeLa se určuje spektrofotometricky po obarvení buněk methylenovou modří (nerozpadlé buňky lze obarvit). Antiproliferativní aktivita byla stanovena na buňkách Huvec (endothelové buňky vény lidského pupečníku) a K-562 (buňky lidské chronické myeloidní leukémie) a je charakterizována hodnotou GI_{50} – koncentrace způsobující 50% snížení počtu namnožených buněk. Počet buněk v médiu po antiproliferativním hodnocení je určován elektronickým přístrojem a je srovnáván se standardním vzorkem buněk, vyrostlých bez přítomnosti zkoumané látky. Cytotoxická i antiproliferativní aktivita sledovaných látek je udávána $\mu\text{g/ml}$. Přestože cytotoxicita i antiproliferativní aktivita je určována na rakovinně transformovaných buňkách, představují tato biologická hodnocení široce uznávaný standardní model *in vitro*. Látky jsou považovány za netoxické při hodnotách GI_{50} a CC_{50} vyšších než 100 $\mu\text{g/ml}$, středně toxické při 10-100 $\mu\text{g/ml}$, vysoce toxické při 1-10 $\mu\text{g/ml}$ a extrémně

toxické při hodnotách nižších než 1 µg/ml. Na Hans-Knöll-Institutu se provádí měření pouze do koncentrace 50 µg/ml. U látek s nižší toxicitou je uveden údaj >50 µg/ml.

K posouzení bezpečnosti látky slouží poměr cytotoxicity a antimykobakteriální aktivity, vyjádřen jako Safety Index ($SI = CC_{50}/MIC$). Tento index udává, kolikrát je MIC nižší než cytotoxická koncentrace látky.

4. Výsledky a diskuse

4.1 Chemická část

4.1.1 4-(Subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidy/ -2-karboxamidy

V první části výzkumu jsme se zaměřili na přípravu 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů/ -2-karboxamidů. Navrhli jsme postup, který se osvědčil u přípravy modelových sulfidů série 4-(benzylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů, které byly připraveny Williamsonovou syntézou z 2-kyanpyridin-4-isothiuronium-chloridu a příslušných benzylhalogenidů v prostředí DMF a CH_3ONa ²⁴. Výchozími látkami měly být isothiuroniové soli pyridin-2-karbohydrazidu, resp. -2-karboxamidu (Schéma 1).

Jako výchozí surovina pro přípravu příslušných isothiuroniových solí byla použita komerčně dostupná pyridin-2-karboxylová kyselina (**30**). Reakcí **30** s thionylchloridem byl připraven chlorid kyseliny⁴⁶, který byl bez izolace převeden na ester **31**⁴⁷. Ester **31** reakcí s 80% roztokem hydrazinu v prostředí ethanolu⁴⁷ poskytl hydrazid **32**. Amid **33** byl připraven reakcí s plynným amoniakem, případně s 26% roztokem vodného amoniaku. Výtěžky obou těchto postupů byly srovnatelné - asi 60 %. Příslušné isothiuroniové soli **34**, **35** byly připraveny reakcí s thiomocovinou v ethanolu za varu. Výtěžky byly přibližně 50 %. Reakční doba více než dvě hodiny se nám, ve srovnání s reakční dobou vzniku 2-kyanpyridin-4-isothiuronium-chloridu (15 minut), zdála dlouhá, proto byl vyzkoušen i postup s využitím mikrovln, ale nedošlo k výraznému zkrácení reakční doby, ani ke zvýšení výtěžku.

Příprava 4-benzylsulfanylových derivátů **36**, **37** Williamsonovou syntézou z příslušné isothiuroniové soli **34**, **35** a benzylchloridu, provedená v prostředí DMF a CH_3ONa , se ani v jednom případě nezdařila. Proto jsme provedli syntézu dle Ullmanna, tj. za katalytického působení mědi v alkalickém prostředí, která také nevedla k požadovaným produktům **36**, **37**.

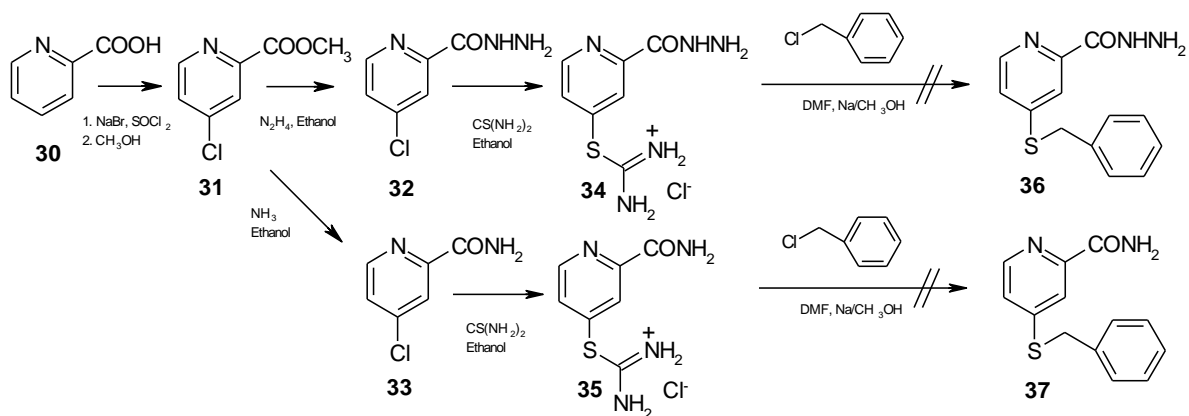


Schéma 1

Protože reakce neprobíhaly s isothiuroniovými solemi, chtěli jsme reakci uskutečnit s thioley. Pokus o získání 4-sulfanylderivátů **38**, alkalickou hydrolyzou isothiuroniových solí, nebyl úspěšný. K požadovanému thiolu nevedla ani reakce 4-chlorpyridinů **39** s KHS (Schéma 2).

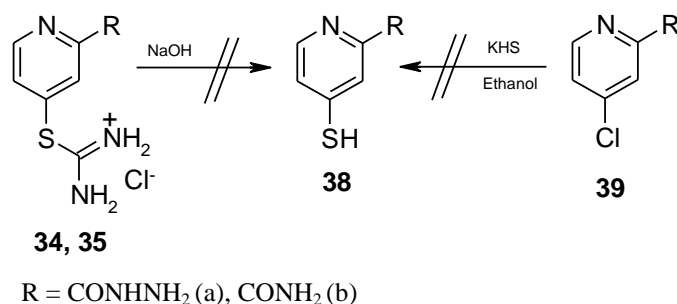
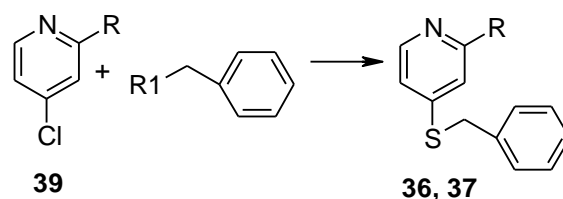


Schéma 2

Požadované sulfidy **36**, **37** jsme se snažili připravit rovněž alkylací benzylthiolu, příp. jeho isothiuroniové soli s 4-chlorpyridiny **39**. Williamsonova syntéza v DMF s CH₃ONa byla úspěšná pouze u hydrazidu **39a** avšak ve výtěžku pouhých 5 %. V případě použití syntézy dle Ullmanna byla úspěšná pouze reakce amidu **39b** a to ve výtěžku 12 %. Vyzkoušena byla rovněž příprava sulfidů za podmínek Pd katalyzovaného cross-couplingu dle Itoha a Mase⁴⁸, kteří připravují sulfidy reakcí chloridů s thioley v prostředí dioxanu za katalytického působení palladia (Pd₂(dba)₃) a Xantphosu. K vytvoření alkalického prostředí používají *i*-Pr₂NEt. Ani tento postup nebyl v našem případě úspěšný (Schéma 3).



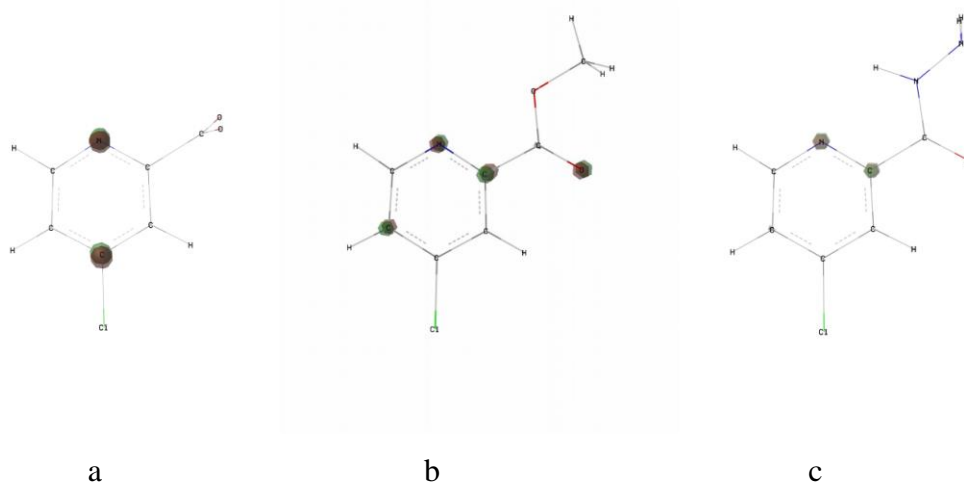
39a R = CONHNH₂

39b R = CONH₂

R1 = SH, SC(NH₂)₂Cl

Schéma 3

Na základě uvedených neúspěchů jsme provedli modelování potenciálních výchozích derivátů 4-chlorpyridinu. Vytvořili jsme 3D modely 4-chlorpyridin-2-karboxylátu, ethylesteru 4-chlorpyridin-2-karboxylové kyseliny a 4-chlorpyridin-2-karbohydrazidu. Na základě vytvořených modelů je možné z rozložení LUMO orbitalů usoudit na místo nukleofilní substituce pyridinového kruhu. Jak je patrné z Obr. 2, jsou hydrazid i ester pro nukleofilní atak do polohy 4 nevhodné. LUMO orbital je v poloze 4 umístěn pouze u 4-chlorpyridin-2-karboxylátu. Proto byla pro přípravu sulfidů jako výchozí látka zvolena 4-chlorpyridin-2-karboxylová kyselina (**40**) (Obr. 2).



3D modely 4-chlorpyridin-2-karboxylátu (a), ethyl-4-chlorpyridin-2-karboxylátu (b) a 4-chlorpyridin-2-karbohydrazidu (c) vypočítané programem RB3LYP/6-311+G(d,p) level, software Gaussian03W, v. 6.1; Gaussian, Inc.; Isovalue = 0.17, software GaussView, v. 4.1.2; Gaussian, Inc.

Obr. 2

Na rozdíl od předchozích neúspěšných reakcí byla příprava sulfidu z kyseliny **40** a benzylthiolu úspěšná. Reakce byla provedena za různých podmínek, výtěžky reakcí jsou

uvedeny v Tab. 3. Na základě výsledků této modelové reakce jsme sérii sulfidů, substituovaných na benzylové části molekuly, uskutečnili za podmínek Pd katalyzovaného couplingu. Výtěžky reakcí požadovaných derivátů **41** byly 32-68 %. Produkty byly čištěny krystalizací z ethanolu (Schéma 4).

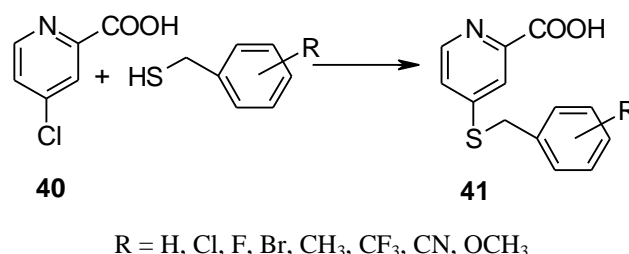


Schéma 4

Tab. 3: Reakční podmínky a výtěžky přípravy sulfidu **41**.

Reakční podmínky	Teplota/čas	Výtěžek (%)
DMF, CH ₃ ONa	lab.t./2dny	0
DMF, K ₂ CO ₃ , Cu	160 °C/6h	15
Dioxan, i-Pr ₂ NEt, Xantphos, Pd ₂ (dba) ₃	110 °C/13h	62

Pro výše uvedenou reakci bylo nutné připravit benzylthioly. Komerčně dostupný je pouze nesubstituovaný benzylthiol. Thioly jsme připravili alkyací thiomocoviny a následnou alkalickou hydrolyzou příslušné isothiuroniové soli (Schéma 5).

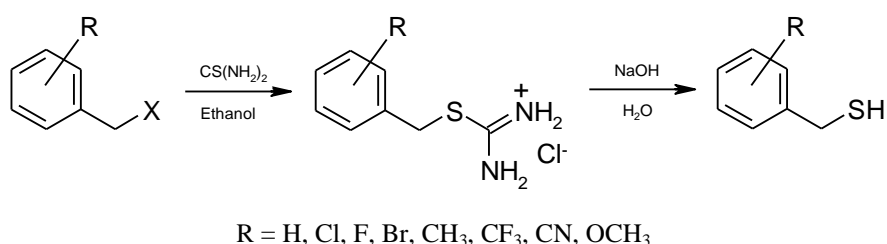


Schéma 5

Příprava sulfidů **41**, s nitrosubstitucí na benzylové části molekuly, byla po odzkoušení všech výše uvedených metod vždy neúspěšná. Pro vytvoření sulfidické C-S vazby jsme zvolili alkylation isothiuroniové soli pyridin-2-karbonitrilu (**42**) s příslušným benzylchloridem, čímž vznikl sulfid-nitril **43**, který jsme následnou kyselou hydrolyzou převedli na sulfid-kyselinu **41** (Schéma 6).

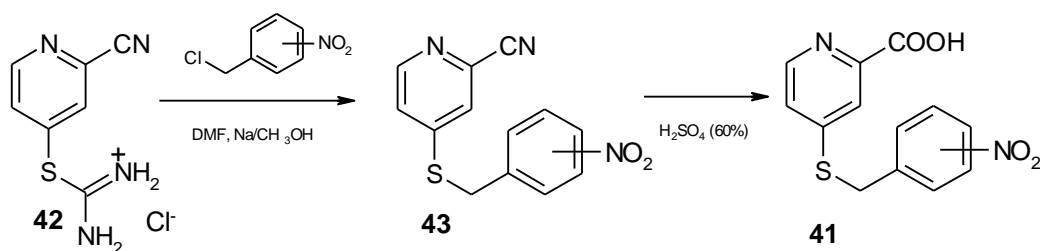


Schéma 6

Isothiuroniová sůl **42**, pro výše uvedené reakce, byla připravena z 4-chlorpyridin-2-karbonitrilu (**50**) reakcí s thioočovinou. Nitril **50** jsme připravovali dvěma způsoby. Nejprve jsme použili metodu²⁴, která byla na katedře již dříve používána pro přípravu této látky. Tato metoda vychází z komerčně dostupného 2-methylpyridinu (**44**), který oxidací dle Ochiai⁴⁹ je převeden na N-oxid **45**, jeho nitrací vzniká 4-nitroderivát **46**. Reakcí s CH_3COCl , dle Kato a Hayashi⁵⁰, vzniká 4-chlor-2-kyanpyridin-1-oxid (**47**), který je redukován chloridem fosforitým na požadovaný nitril **50**. Celkový výtěžek této 4 krokové syntézy je velmi nízký (cca 6-10 %), zvláště limitující je reakce s CH_3COCl . Proto jsme navrhli druhý způsob přípravy nitrilu **50**. Výchozí surovinou je komerčně dostupný 4-nitropyridin-1-oxid (**48**), který reakcí s CH_3COCl poskytuje 4-chlorderivát **49** ve vysokém výtěžku (cca 95 %)⁵¹. Nukleofilní reakcí alkalických kyanidů s **49** vzniká požadovaný nitril **50**, tzv. Reissertova reakce. Pyridin-1-oxidy této reakci obecně nepodléhají, ale 4-chlor a 4-trifluormethyl deriváty pyridin-1-oxidu jsou výjimkou⁵². Reakce s NaCN probíhá po aktivaci N-oxidu dimethylsulfátem⁵³, příp. benzoylchloridem⁵⁴. Lepší výtěžek byl dosažen při použití $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{SO}_2$ (Schéma 7).

Při přípravě isothiuroniové soli **42** alkylací thioočoviny 4-chlorpyridin-2-karbonitrilem (**50**) v ethanolu za reflexu byl na TLC pozorován vznik vedlejšího produktu, který byl identifikován jako 4,4'-sulfanyldipyridyl-2,2'-dikarbonitril. Identifikaci jsme provedli na základě teploty tání, která byla 179-180 °C, literatura⁵⁵ uvádí 179-181 °C a pomocí TLC srovnáním se standardem, který byl k dispozici. Vedlejší produkt byl odstraněn promytím horkým ethyl-acetátem, ve kterém se na rozdíl od isothiuroniové soli dobře rozpouští (Schéma 7).

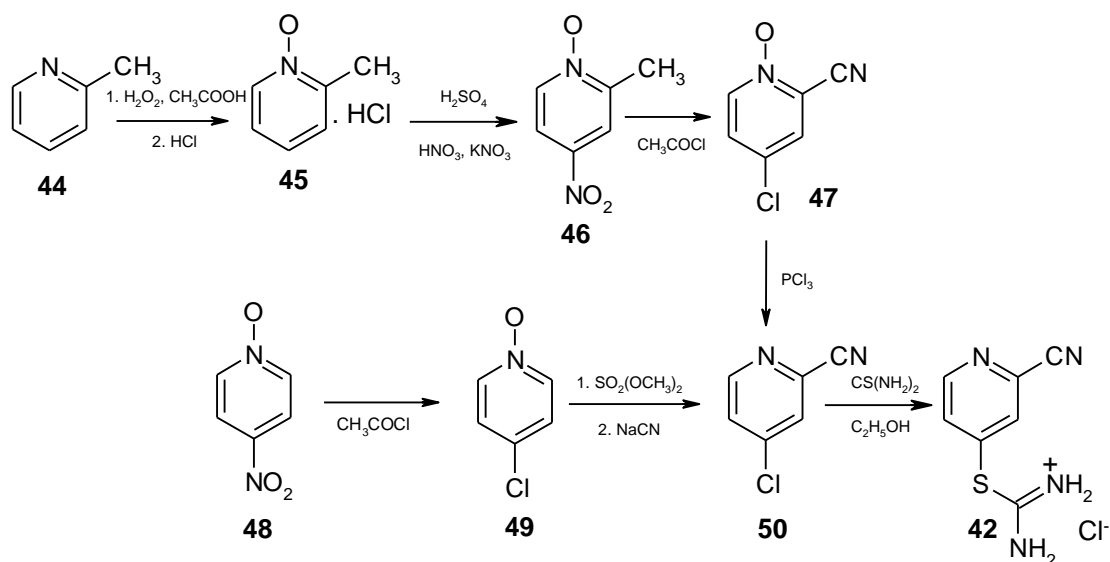


Schéma 7

Posledním stupněm syntézy požadovaných látek **36** a **37** byla hydrazinolýza, resp. amidolýza karboxylové skupiny. Z kyselin **41** byly připraveny estery **51** reakcí s SOCl_2 a ethanolu. Z příslušných esterů **51** byla reakcí s roztokem hydrazinu v prostředí ethanolu získána série hydrazidů **36**. Reakcí s plynným amoniakem, příp. 26% roztokem NH_3 , byla připravena série amidů **37**. Lepších výtěžků bylo dosaženo při reakci s plynným amoniakem. Látky **36**, **37** byly čištěny krystalizací z ethanolu (Schéma 8).

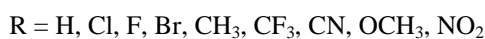
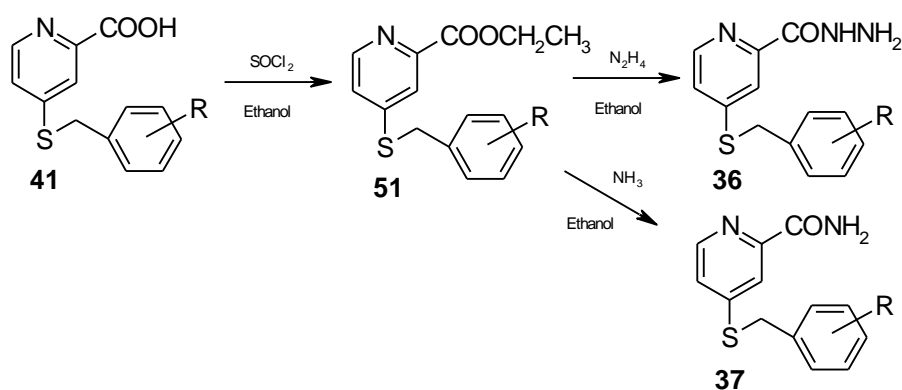


Schéma 8

Byly připraveny série karboxylových kyselin **41**, ethylesterů **51**, hydrazidů **36** a amidů **37** po patnácti derivátech.

4.1.2 4-(Subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrily/ -2-karbothioamidy

Ve druhé části výzkumu vztahu struktury a biologické aktivity jsme se zaměřili na modifikaci spojovacího alkylového řetězce mezi pyridinovým a benzenovým kruhem. Byly připraveny 4-(fenylethyl-, 4-(fenylpropyl-, 4-(fenylbutylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrily/-2-karbothioamidy. Použili jsme s výhodou metodu uplatněnou při syntéze analogů benzylové řady²⁴, která vychází z 2-kyanpyridin-4-isothiuronium-chloridu (**42**). Reakcí **42** s komerčně dostupnými fenylalkylhalogenidy v DMF a CH₃ONa při lab. t. vznikají příslušné fenylalkylsulfanylové deriváty **52**. Na TLC jsme vždy monitorovali vznik vedlejšího produktu, který byl odstraněn sloupcovou chromatografií na silikagelu v soustavě hexan : ethyl-acetát, 3:1. Vedlejším produktem byl 4,4'-sulfanyldipyridyl-2,2'-dikarbonitril, identifikovaný na základě t. tání (179-181 °C) a porovnáním na TLC s dříve připraveným standardem (Schéma 9).

Adicí sulfanu na nitrilovou skupinu v prostředí pyridinu a triethylaminu byly připraveny thioamidy **53**. Reakce poskytly poměrně vysoké výtěžky (50-91 %). Produkty byly čištěny krystalizací z ethanolu (Schéma 9).

Při přípravě 3-nitrofenylethyl derivátu **53** musel být nejprve připraven 4-sulfanylpyridin-2-karbothioamid, který Williamsonovou syntézou s 3-nitrofenylethylbromidem poskytl požadovaný sulfid. V případě 4-nitrofenylethyl derivátu byly úspěšně provedeny oba postupy přibližně ve stejném výtěžku (Schéma 9).

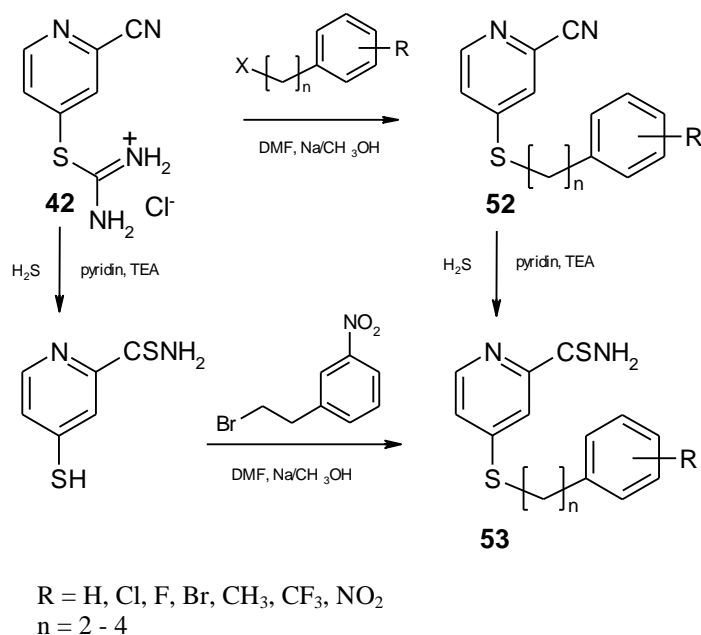


Schéma 9

Byly připraveny série 13 nitrilů **52** a 13 thioamidů **53**.

4.1.3 4-(Subst. fenylalkylsulfonyl)/4-(subst. fenylalkylsulfinyl) pyridin-2-karbonitrily/-2-karbothioamidy

Ve třetí fázi výzkumu jsme se zaměřili na přípravu sulfonů a sulfoxidů z fenylalkylsulfanylových derivátů.

Pro přípravu sulfonů jsme použili několik metod. Oxidací sulfidu **52** ($R = \text{H}, n = 2$) s 4-násobným nadbytkem 30% H_2O_2 v prostředí CH_3COOH proběhla oxidace atomu síry i dusíku. Na ^1H NMR spektru byl prokázán vznik sulfonu i jeho 1-oxidu, který byl v množství cca 30 % v porovnání s požadovaným sulfonem. Čistý sulfon jsme získali až po redukcí reakční směsi thiosíranem sodným v prostředí ethanolu. Dále jsme zkusili oxidaci podle Bahramiho⁵⁶, který uvádí oxidaci sulfidu 30% H_2O_2 s přídavkem ZrCl_4 v poměru 2:20:5 (sulfid : H_2O_2 : ZrCl_4) v CH_3OH za lab. teploty. Za těchto podmínek reakce neprobíhala, požadovaný sulfon jsme získali až po 5 h zahřívání reakční směsi na 70 °C. Výtěžek reakce byl 70 %. Jako nejvhodnější jsme vyhodnotili oxidaci sulfidů **52** kyselinou peroxyoctovou za lab. t. Reakce probíhaly ve velmi dobrém výtěžku (86-96 %). Sulfony **54** byly čištěny krystalizací z ethanolu (Schéma 10).

Některé sulfony-nitrily **54** byly adicí suchého H_2S v prostředí pyridinu a triethylaminu převedeny na thioamidy **55**. Reakce probíhaly ve výtěžku 43-73 %. Produkty byly čištěny krystalizací z ethanolu (Schéma 10).

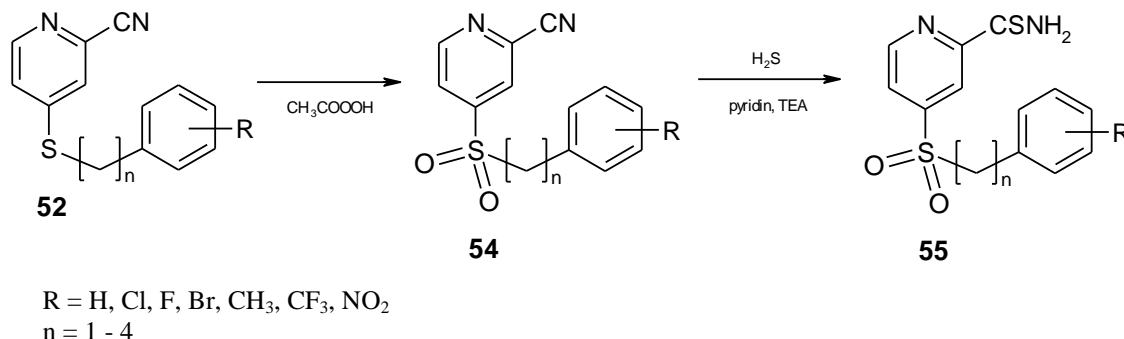


Schéma 10

Bylo připraveno 13 derivátů sulfonyl-nitrilů **54** a 5 derivátů sulfonyl-thioamidů **55**.

K přípravě sulfoxidů jsme vyzkoušeli několik způsobů oxidace pomocí 30% H_2O_2 za různých podmínek – viz Tab. 4. Reakce byly provedeny s výchozí látkou **52** (R = H, n = 2). Jak je patrné z Tab. 4, nejvýhodnějším způsobem přípravy sulfoxidů **56** je oxidace s přidavkem ZrCl_4 , který uvádí Bahrami⁵⁶. Za těchto reakčních podmínek, vzniká vedlejší produkt (sulfon **54**) ve velmi malém výtěžku. Produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií na silikagelu v soustavě hexan : ethyl-acetát, 1:1. Výtěžky se pohybovaly v rozmezí 38-68 % (Schéma 11).

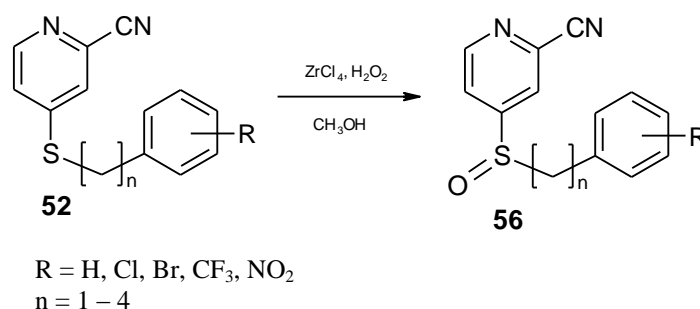


Schéma 11

Bylo připraveno 8 derivátů sulfoxidů-nitrilů **56**.

Tab. 4: Metody přípravy 4-(fenylethylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilu (**56**).

Činidlo	Stech. poměry	Prostředí	Teplota	Reakční doba	Výtěžek
H ₂ O ₂	1 : 2	CH ₃ COCH ₃	lab. t.	2 dny	-
H ₂ O ₂	1 : 2	CH ₃ COOH	lab. t.	1 den	-
H ₂ O ₂	1 : 2	CH ₃ COOH	70 °C	3 h	1 : 1 ^x
H ₂ O ₂ , ZrCl ₄	1 : 7 : 2	CH ₃ OH	lab. t.	70 min	45 %

^x vznikl sulfoxid **56** a sulfon **54** v poměru 1:1

4.2 Biologická část

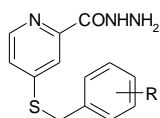
4.2.1 Antimykobakteriální aktivita

Připravené látky byly hodnoceny na antimykobakteriální aktivitu vůči *M. tuberculosis* a potenciálně patogenním kmenům *M. kansasii* a *M. avium*. Výsledky aktivit jsou uspořádány do tabulek 5-14. Symbol „>“ udává, že MIC nebylo možné přesně stanovit z důvodu vytvoření zákalu, sraženiny, příp. zbarvení při uvedené koncentraci.

4.2.1.1. Hodnocení 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů/ -2-karboxamidů

Hodnocení benzylsulfidů-hydrazidů **7** je uvedeno v Tab. 5. Látky vykazují široké spektrum účinnosti vůči všem testovaným kmenům. Vůči *M. tuberculosis* My 331/88 a *M. kansasii* My 235/80 jsou hodnoty MIC v rozmezí 2-32 μmol/l, nejčastěji mezi 8-16 μmol/l. Vůči *M. avium* My 330/88 a klinicky izolovanému kmenu *M. kansasii* 6 509/96 jsou látky vždy o jedno až dvě ředění méně účinné. V porovnání s INH byly sloučeniny méně aktivní proti *M. tuberculosis* My 331/88 a klinickému izolátu *M. kansasii* 6 509/96. Na druhé straně však byly výrazně aktivnější proti *M. kansasii* My 235/80 a *M. avium* My 330/88. Tyto kmeny jsou vůči INH rezistentní. Z tabulky je patrné, že aktivita 3,5-(NO₂)₂ derivátu se vůči kmenům *M. tuberculosis* My 331/88 a *M. kansasii* My 235/80 vymyká ostatním hodnotám v tabulce. U tohoto derivátu jsme očekávali mnohem vyšší aktivitu. Toto očekávání pramenilo z porovnání vlivu substituentů na aktivitu u modelových 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidů²⁴ (Obr. 1). Předpokládáme, že je to způsobeno velmi malou rozpustností ve zředěném DMSO, ve kterém se provádí odečítání MIC.

Tab. 5. Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů (**36**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
H	16	16	4	8	16	16	32	32	125	>125
3-Cl	8	16	8	8	16	16	16	32	62	62
4-Cl	8	8	4	8	8	16	32	32	62	62
3-F	8	16	4	8	8	16	32	32	62	125
4-F	16	16	8	8	16	16	16	32	125	250
3-Br	8	16	4	4	8	16	32	62	62	125
4-Br	4	8	2	4	8	8	16	32	32	62
3-CH₃	8	16	4	8	16	32	62	62	62	125
4-CH₃	8	16	4	8	8	8	16	32	32	62
3-CF₃	16	32	4	8	16	16	32	62	62	125
4-CF₃	8	16	4	8	16	8	16	16	32	62
3-CN	8	16	4	8	8	32	>62	>125	>62	>125
3-OCH₃	8	16	4	8	8	32	62	125	32	62
4-NO₂	8	8	8	8	16	8	16	16	62	62
3,5-(NO₂)₂	>62	125	>62	>62	>62	16	>16	>32	>32	>32
INH	0.5	1	>250	>250	>250	2	2	4	>250	>250

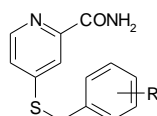
Vybrané hydrazidy **36** byly testovány rovněž vůči klinicky izolovaným multirezistentním kmenům *M. tuberculosis*. Jak vyplývá z Tab. 6, látky vykazují stejnou nebo lepší aktivitu vůči rezistentním kmenům než vůči klasickému kmeni *M. tuberculosis*. Na základě těchto výsledků předpokládáme, že nově připravené látky mají pravděpodobně jiný mechanismus účinku než INH.

Tab. 6: Antituberkulotické aktivity 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů (**36**) proti MDR *M. tuberculosis* (MIC v $\mu\text{mol/l}$).

Látky	Kmeny					
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 7357/98		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 9449/06		<i>Mycobacterium tuberculosis</i> 2092/05	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d
4-Cl	4	8	4	8	2	4
4-Br	4	4	4	4	4	8
3-OCH₃	4	8	8	16	8	16
4-NO₂	8	8	8	8	4	8
3,5-(NO₂)₂	>16	>62	>32	>62	32	>125
INH	16	16	16	32	16	16

Antimykobakteriální hodnocení benzylsulfidů-amidů **37** je shrnuto v Tab. 7. MIC se pohybují v rozmezí 8-500 $\mu\text{mol/l}$, nejčastěji mezi 16-62 $\mu\text{mol/l}$. Rovněž amidy **37** vykazují srovnatelnou aktivitu proti všem testovaným kmenům. Jejich MIC jsou o 1-3 ředění vyšší než u příslušných hydrazidů **36**, s výjimkou aktivity vůči *M. avium*. Vůči *M. avium* jsou amidy **37** a hydrazidy **36** srovnatelně účinné.

Tab. 7: Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamidů (**37**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



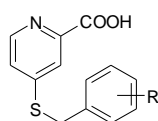
Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
H	>125	250	62	62	125	32	62	125	>62	>62
3-Cl	62	125	16	32	62	32	62	62	62	>62
4-Cl	32	62	32	32	32	16	32	62	32	32
3-F	125	>250	62	62	62	62	125	125	>62	>62
4-F	125	125	32	62	62	32	62	62	62	125
3-Br	32	32	16	32	32	8	16	32	16	32
4-Br	62	62	16	32	32	8	8	16	32	32
3-CH₃	>62	>62	16	32	32	32	62	>62	62	>62
4-CH₃	62	>62	16	32	32	32	62	>62	62	>62
3-CF₃	32	62	8	16	32	32	32	32	62	62
4-CF₃	16	32	16	16	32	16	16	32	32	32
3-CN	125	125	32	>62	>125	125	250	500	>125	>250
3-OCH₃	62	62	16	62	62	32	>62	>125	>62	>62
4-NO₂	>62	>62	>32	>62	>125	>16	>32	>62	>125	>125
3,5-(NO₂)₂	32	32	8	32	32	8	8	16	32	62
INH	0.5	1	>250	>250	>250	2	2	4	>250	>250

Hodnocení meziproductů

Několik vybraných benzylsulfidů-kyselin **41** a benzylsulfidů-esterů **42** bylo také testováno na antimykobakteriální aktivitu.

Lze konstatovat, že připravené karboxylové kyseliny **41** vykazují pouze slabou antituberkulotickou aktivitu s MIC v rozmezí 32-1000 $\mu\text{mol/l}$ (Tab. 8).

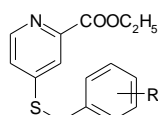
Tab. 8: Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin (**41**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
3-Br	1000	1000	1000	1000	1000	500	1000	1000	1000	1000
4-Br	500	500	250	500	500	250	500	500	62	125
4-CF₃	62	62	62	62	125	32	62	62	250	250
3-CN	500	500	250	500	1000	250	1000	1000	1000	1000
INH	0.5	1	>250	>250	>250	2	2	4	>250	>250

Benzylsulfidy-estery **51** vykazují signifikantní aktivitu proti všem testovaným kmenům mykobakterií (Tab. 9). Hodnoty MIC vůči kmenům *M. tuberculosis* My 331/88 a sbírkovému *M. kansasii* My 235/80 jsou srovnatelné s hodnotami hydrazidů **36**. Aktivita ethylesterů **51** je vystupňována vůči kmenům *M. avium* My 330/88 a klinickému *M. kansasii* My 6 509/96. Nejvyšší aktivita byla pozorována u 4-bromderivátu **51** (MIC 1-8 $\mu\text{mol/l}$).

Tab. 9: Antimykobakteriální aktivity ethylesterů 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin (**51**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



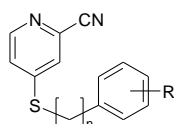
Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
4-Cl	8	8	2	8	8	2	2	4	8	8
3-F	16	32	8	32	32	4	8	16	32	32
3-Br	16	32	8	16	32	4	8	16	32	32
4-Br	4	4	2	4	4	1	2	2	4	8
3-CN	62	125	32	125	125	16	32	62	125	125
INH	0.5	1	>250	>250	>250	2	2	4	>250	>250

Shrnutí: S výjimkou aktivity vůči *M. avium* jsou připravené hydrazidy **36** účinnější než amidy **37**. Na kmen *M. avium* jsou amidy **37** a hydrazidy **36** srovnatelně účinné. Substituce na benzylové části nevede k výraznému zvýšení aktivity. Aktivity nově připravených látek nezávisí na elektronových vlastnostech substituentů na benzylové části molekuly, protože prakticky všechny látky vykazují podobnou aktivitu. Nejvyšší aktivitu vykazují hydrazidy **36** vůči kmenu *M. tuberculosis* My 331/88 a *M. kansasii* My 235/80 – MIC je 2-32 $\mu\text{mol/l}$. S výjimkou několika derivátů mají hydrazidy **36** srovnatelnou aktivitu vůči těmto dvěma kmenům s modelovými 4-(benzylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidy (MIC je 1-32 $\mu\text{mol/l}$)²⁴. Aktivity nejúčinnějších derivátů ze série modelových thioamidů nebylo u nově připravených hydrazidů **36** dosaženo. Nejnižší MIC vykazují estery **51**, zvláště 4-Cl a 4-Br derivát (MIC 1-8 $\mu\text{mol/l}$). Tyto látky mají nejvyšší hodnoty logP (4-Cl logP = 4,01, 4-Br logP = 4,28) ze všech testovaných benzylderivátů. Aktivita by mohl souviset s lepší propustností látek přes lipofilní membránu mykobakterií a tím vyšší biodostupností v místě účinku.

4.2.1.2. Hodnocení 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů/ -2-karbothioamidů

V Tab. 10 je uvedena antimykobakteriální aktivita fenylalkylsulfidů-nitrilů **52**. Hodnoty MIC pro benzyl derivát ($n = 1$) byly převzaty z lit²⁴ a jsou zde uvedeny pro názornější vztah struktury a aktivity. MIC vůči všem testovaným kmenům se pohybují v rozmezí 4-500 $\mu\text{mol/l}$, nejčastěji mezi 8-32 $\mu\text{mol/l}$. Prodloužení spojovacího alkylového řetězce mezi pyridinovým a benzenovým kruhem nevede ke zvýšení antimykobakteriální aktivity. Rovněž substituce na benzenovém kruhu, sledovaná u fenylethylsulfidů, výrazně neovlivňuje účinek látek. Nejúčinnější z této série je 4- CF_3 derivát (MIC 4-32 $\mu\text{mol/l}$).

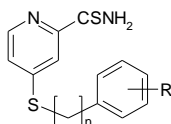
Tab. 10: Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů (**52**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



Látky R	Kmeny									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
n = 1										
H	125	125	-	32	62	-	62	62	125	125
n = 2										
H	125	125	8	16	32	32	32	125	62	125
4-Cl	32	62	8	16	32	32	32	62	32	62
4-F	62	125	16	32	32	32	32	62	62	125
4-Br	62	125	16	32	32	8	16	32	16	32
4-CH₃	250	500	32	62	250	250	250	500	62	125
4-CF₃	16	32	8	16	32	4	8	16	16	32
4-NO₂	62	62	32	32	>62	32	32	>32	>62	>62
3-Cl	62	125	16	32	62	16	32	62	32	62
3-Br	32	62	8	16	32	8	16	32	32	62
3-CF₃	32	62	8	16	62	8	16	32	32	62
3-NO₂	>32	>62	32	32	62	32	>32	>32	>32	>62
n = 3										
H	62	125	32	62	125	16	32	62	32	62
n = 4										
H	32	62	16	32	125	16	32	62	62	125
INH	0.5	1	>25	>25	>25	2	2	4	>25	>25

Série fenylalkylsulfidů-thioamidů **53** je nejúčinnější z připravených látek. MIC jsou v rozmezí 1-32 $\mu\text{mol/l}$ vůči všem testovaným kmenům (Tab. 11). Signifikantní je aktivita vůči rezistentnímu kmeni *M. avium* My 330/88, zvláště u fenylethyl derivátů se substitucí 4- CF_3 a 4- NO_2 (MIC 1 $\mu\text{mol/l}$). V Tab. 11 je pro zhodnocení vlivu délky spojovacího alkylového řetězce uvedena i MIC dříve připraveného benzyl derivátu ($n = 1$)²⁴. Látky se sudým počtem uhlíků ve spojovacím řetězci mají MIC o 1-2 řadění nižší. Vliv substituce na benzenovém kruhu sledovaný u fenylethyl derivátů není výrazný. Z porovnání MIC modelové série $n = 1$ ²⁴ a série $n = 2$ vyplývá, že u nově připravené série fenylethylových derivátů došlo ke zvýšení aktivity u derivátů se substituentem v poloze para.

Tab. 11: Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidů (**53**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



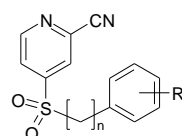
Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
n = 1										
H	16	32	-	8	32	-	16	32	16	32
n = 2										
H	4	8	2	4	8	16	32	32	32	32
4-Cl	4	8	2	2	4	8	16	16	2	4
4-F	4	8	2	2	4	8	16	16	4	8
4-Br	2	4	4	4	8	4	4	4	2	2
4-CH₃	4	8	4	4	4	8	8	8	8	16
4-CF₃	4	8	2	2	4	4	4	4	1	2
4-NO₂	8	8	4	4	4	8	16	16	1	2
3-Cl	8	16	4	8	16	4	8	16	8	16
3-Br	8	16	4	8	16	4	8	16	8	16
3-CF₃	4	8	4	8	16	4	8	8	4	8
3-NO₂	16	32	4	8	16	16	32	32	16	32
n = 3										
H	32	>32	8	16	32	8	16	32	32	>32
n = 4										
H	8	16	4	4	8	4	8	16	4	8
INH	0.5	1	>25	>25	>25	2	2	4	>25	>25

Shrnutí: Vliv délky spojovacího alkylového řetězce mezi pyridinovým a benzenovým kruhem se projevuje pouze u série thioamidů, kde se aktivita zvýšila s rostoucí délkou řetězce se sudým počtem uhlíků.

4.2.1.3. Hodnocení 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)/4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilů/-2-karbothioamidů

Antimykobakteriální aktivita připravených sulfonů-nitrilů **54** je shrnuta v Tab. 12. MIC se pohybují v rozmezí 32-1000 $\mu\text{mol/l}$. Substituce atomu síry dvěma kyslíky vede ke snížení aktivity. MIC sulfonů **54** jsou o 1-3 ředění vyšší oproti odpovídajícím sulfidům **52**.

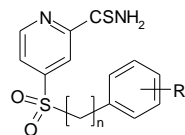
Tab. 12: Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)pyridin-2-karbonitrilů (**54**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
n = 1										
H	>1000	>1000	250	500	>1000	500	1000	1000	1000	1000
n = 2										
H	>250	>250	250	>250	>250	250	>250	>500	>250	>500
4-Cl	62	125	32	62	62	62	125	>125	125	>125
4-F	62	250	62	62	125	62	62	125	250	>500
4-CH₃	125	>250	32	62	125	62	62	125	>250	>250
4-CF₃	62	>250	32	32	62	62	62	62	125	>250
4-NO₂	62	>125	32	32	62	62	62	62	>62	>62
3-Cl	>250	>500	125	250	>250	125	250	>250	>250	>250
3-Br	>125	>250	>62	>62	>125	62	>62	>125	>125	>125
3-CF₃	>125	>250	62	>62	>62	62	>62	>125	>125	>125
3-NO₂	>62	>125	>32	>62	>125	>32	>62	>125	>62	>62
3-NO₂	16	32	4	8	16	16	32	32	16	32
n = 3										
H	500	500	125	250	500	125	500	500	500	500
n = 4										
H	250	250	16	62	125	62	250	>250	250	250
INH	0.5	1	>25	>25	>25	2	2	4	>25	>25

Antimykobakteriální aktivita sulfonů-thioamidů **55** je uvedena v Tab. 13. Substituce atomu síry dvěma atomy kyslíku vede ke snížení aktivity oproti odpovídajícím sulfidům **53**.

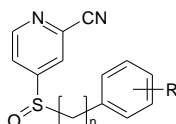
Tab. 13: Antimykobakteriální aktivity 4-(fenylalkylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamidů (**55**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
n = 1										
H	>125	>125	>62	>62	250	>62	>62	>125	>125	>125
n = 2										
H	>125	>250	125	>125	>125	125	>125	>125	>62	>125
4-F	32	32	32	62	62	32	62	62	32	62
n = 3										
H	16	16	16	32	62	32	62	62	32	32
n = 4										
H	16	32	32	62	125	62	125	125	32	62
INH	0.5	1	>25	>25	>25	2	2	4	>25	>25

Tab. 14 uvádí antimykobakteriální aktivitu připravených sulfoxidů-nitrilů **56**. Sulfoxidy patří k nejméně účinným látkám s MIC 125-1000 $\mu\text{mol/l}$. Substituce síry atomem kyslíku se jeví z hlediska antimykobakteriální aktivity nevýhodná.

Tab. 14: Antimykobakteriální aktivity 4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilů (**56**) vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.



Látky R	<i>Kmeny</i>									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
n = 1										
H	>1000	>1000	1000	>1000	>1000	1000	1000	1000	1000	>1000
n = 2										
H	1000	1000	500	1000	1000	500	500	500	1000	1000
3-Cl	1000	1000	500	1000	1000	250	500	500	1000	1000
3-Br	1000	1000	250	500	>500	250	500	>500	>1000	>1000
3-CF₃	500	500	125	250	500	62	125	250	1000	1000
3-NO₂	>1000	>1000	500	1000	1000	250	1000	1000	1000	>1000
n = 3										
H	1000	1000	250	500	1000	500	1000	1000	1000	1000
n = 4										
H	250	250	125	250	500	250	500	500	500	500
INH	0.5	1	>25	>25	>25	2	2	4	>25	>25

Shrnutí: Zavedením atomů kyslíku dochází ke snižování antimykobakteriální aktivity, přičemž sulfoxidy jsou méně účinné než sulfony. Pro antimykobakteriální aktivitu je pravděpodobně nutná sulfidická skupina s 2 volnými el. páry na atomu síry.

4.2.2 Antiproliferativní a cytotoxická aktivita

Vybrané látky ze série benzylsulfidů-hydrazidů **36** a benzylsulfidů-amidů **37** byly testovány na antiproliferativní a cytotoxickou aktivitu. Podle naměřených koncentrací (Tab. 15), při nichž se projevil cytotoxický efekt ($CC_{50} = 23\text{--}50\mu\text{g/ml}$) nebo došlo k inhibici růstu testovaných buněčných linií ($GI_{50} = 12,1\text{--}50\mu\text{g/ml}$), lze označit studované sloučeniny za středně cytotoxické. Za středně cytotoxické se označují látky s hodnotami v rozmezí 10–100 $\mu\text{g/ml}$. Z údajů antimykobakteriální a cytotoxické aktivity látek jsme vypočítali tzv. safety index SI ($SI = CC_{50}/MIC$). Pro výpočet SI byly hodnoty CC_{50} v $\mu\text{g/ml}$ přepočteny na koncentrace $\mu\text{mol/l}$. SI jsou vypočteny z hodnot MIC vůči *M. tuberculosis*. Na základě nízkých hodnot SI lze konstatovat, že připravené benzylsulfidy-amidy **37** nejsou perspektivními antituberkulotiky.

Tab. 15: Antiproliferativní a cytotoxická aktivita látek **36** a **37** vyjádřená v $\mu\text{g/ml}$ ($\mu\text{mol/l}$). Safety index (SI) vybraných derivátů látek **36** a **37** vůči kmenu *M. tuberculosis* My 331/88 po 14 dnech.

Látka R	Antiproliferativní aktivita		Cytotoxicita		SI
	Huvec GI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	K-562 GI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	HeLa CC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	HeLa CC_{50} ($\mu\text{mol/l}$)	CC_{50}/MIC
4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidy (36)					
H	>50	50	35,7	137,7	9
4-Cl	47,2	12,1	37,6	128,0	16
3-F	>50	37,9	38,9	140,3	18
4-Br	>50	21	31,8	94,0	24
4-CH₃	>50	18,4	>50	182,9	23
3-CF₃	42,7	12,9	31,8	97,1	6
3-OCH₃	>50	>50	48,4	167,3	21
4-NO₂	>50	>50	50	164,3	21
3,5-(NO₂)₂	>50	>50	>50	143,1	2
4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamidy (37)					
H	>50	>50	36,8	150,6	1
4-Cl	41,9	20,6	49,7	178,2	6
4-Br	33,1	28	44,2	136,8	5
4-CH₃	>50	>50	>50	193,5	2
4-CF₃	25,6	18,9	23,4	74,9	3

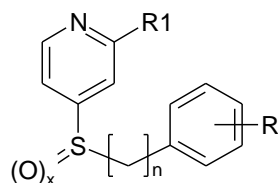
5. Experimentální část

Chemikálie použité při syntéze byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich a Lachema, silikagel pro sloupcovou a tenkovrstvou chromatografii od firmy Merck. Rozpouštědla byla před použitím sušena standardními postupy.

Teploty tání připravených látek byly změřeny na Kofflerově bloku a nejsou korigovány. Vzorky na elementární, biologickou, IR a NMR analýzu byly sušeny ve vakuové sušící pistolí nad $P_{4O_{10}}$, příp NaOH při teplotě 78 °C nebo 25 °C za sníženého tlaku 2,4 – 2,6 kPa po dobu 2 hodin. Elementární analýza byla provedena na přístroji CHNS-O CE (FISONS EA 1110, Milano) a naměřené hodnoty jsou v rozmezí $\pm 0,4\%$ od teoretických. Měření IR spekter bylo provedeno přístrojem NICOLET IMPACT 400 v KBr peletách s navázkou 0,7 mg vzorku/250 mg KBr, nebo na ATR (měření na ZnSe krystalu). NMR spektra byla měřena přístrojem VARIAN MERCURY-Vx BB 300 pracujícím při 300 MHz pro 1H a při 75 MHz pro ^{13}C . Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v parts per million (ppm) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla. NMR analýza byla provedena s roztoky vzorků v chloroformu $CDCl_3$ nebo dimethylsulfoxidu DMSO (DMSO- d_6 : 2.49 (1H), 39.7 (^{13}C), $CDCl_3$: 7.26 (1H), 77.0 (^{13}C)). Data jsou prezentována v následujícím pořadí: Chemické posun (δ), multiplicita (s: singlet, d: dublet, t: triplet, q: kvartet, qu: kvintet, dd: dublet dubletu, dt: dublet tripletu, dq: dublet kvartetu, ddd: dublet dubletu dubletu, m: multiplet), integrovaná intenzita (v protonových spektrech), interakční konstanty (J) v Hz a přiřazení. LogP byl vypočítán programem ChemBioDraw Ultra 11.0.

Průběh reakce a čistota výsledných produktů byly kontrolovány pomocí TLC (Merck TLC silikagelové desky 60 F₂₅₄) v soustavách chloroform : methanol : triethylamin, butanol : kyselina mravenčí : voda (pro deriváty kyselin) a hexan : ethyl-acetát. Detekce byla provedena pomocí UV.

Všechny připravené látky obsahují skelet, který je znázorněn v Obr. 3. Látky jsou označeny číslicí dle substituentu R1. Substituce na benzenovém kruhu (R) je označena písmeny a-p (Tab. 16). Délka spojovacího alkylového řetězce (n) je označena velkými písmeny A-D (Tab. 17).



R1 = COOH (**41**), COOC₂H₅ (**51**), CONHNH₂ (**36**), CONH₂ (**37**), CN (**52**), CSNH₂ (**53**), x = 0

R1 = CN (**56**), x = 1

R1 = CN (**55**), CSNH₂ (**55**), x = 2

R = H, Cl, F, Br, CH₃, CF₃, CN, OCH₃, NO₂

n = 1 – 4

Obr. 3

Tab. 16: Označení látek písmeny, která představují substituci na benzenovém kruhu (R). Platí pro látky **36, 37, 41, 51-56**.

R	Látky	R	Látky
H	a	4-CH ₃	i
3-Cl	b	3-CF ₃	j
4-Cl	c	4-CF ₃	k
3-F	d	3-CN	l
4-F	e	3-OCH ₃	m
3-Br	f	3-NO ₂	n
4-Br	g	4-NO ₂	o
3-CH ₃	h	3,5-(NO ₂) ₂	p

Tab. 17: Označení látek písmeny, která představují délku spojovacího řetězce (n). Platí pro látky **52-56**.

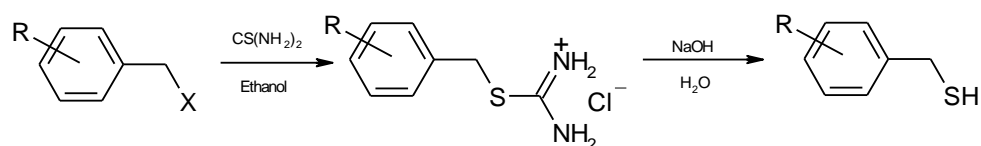
n	Látky
1	A
2	B
3	C
4	D

5.1 Syntéza 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin

5.1.1 Metoda A

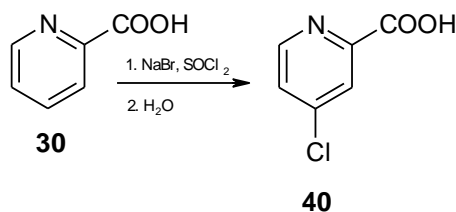
5.1.1.1. Příprava meziproductů

Příprava substituovaných benzylthiolů



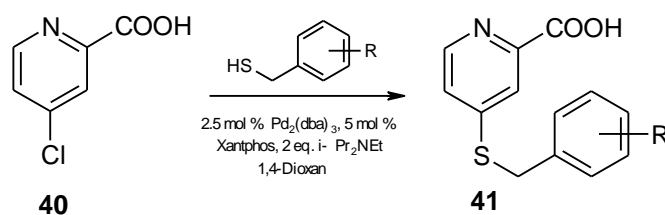
2 g (26 mmol) Thiomočoviny bylo za horka rozpuštěno v bezvodém ethanolu a přidáno 26 mmol příslušného benzylhalogenidu. Reakční směs byla zahřívána k varu 3-5 hodin. Po ochlazení se vyloučily bílé krystaly, které byly odfiltrovány a bez dalšího čištění za varu rozpuštěny v destilované vodě. Aparatura byla naplněna argonem. Do reakční směsi bylo přidáno 1,6 g (39 mmol) NaOH (v případě substituentu CN na benzylu bylo použito 2,1 g (20 mmol) Na_2CO_3) rozpuštěného v malém množství destilované vody. Reakční směs byla zahřívána k varu 2-3 hodiny. Po ukončení reakce byla směs ochlazena a neutralizována zředěnou kyselinou sírovou přibližně na pH 3. Produkt byl vytřepán do chloroformu (3x). Chloroformová vrstva byla následně protřepána s mírně okyselenou destilovanou vodou a sušena bezvodým Na_2SO_4 . Při oddestilování chloroformu se pracuje pod argonem, aby se minimalizovala oxidace na dibenzyldisulfid. Reakce probíhá ve velmi dobrém výtěžku asi 95%.

Příprava 4-chlorpyridin-2-karboxylové kyseliny



V suché 250 ml baňce byla zahřívána směs 10 g (0,08 mol) pyridin-2-karboxylové kyseliny (**30**), 17 g (0,16 mol) NaBr a 50 ml SOCl_2 pod zpětným chladičem po dobu 22 hodin. Původně tmavě zelená směs se změnila na tmavě červenou. SOCl_2 byl oddestilován za sníženého tlaku a zbytek byl rozpuštěn v CH_2Cl_2 (200 ml) a zfiltrován přes fritu. Výsledný červený roztok byl nalit do tříhrdlé baňky. Roztok byl chlazen na -5°C a za intenzivního míchání byla po kapkách přidávána voda (200 ml). Reakční směs byla udržována při teplotě -5 až 2°C . Roztok změnil barvu na oranžovou a začaly se vytvářet béžové krystaly. Směs byla dále míchána při laboratorní teplotě po dobu 25 hodin. Vyloučené béžové krystaly byly odfiltrovány a filtrát byl zahuštěn do sucha. Pevná látka byla rekrystalizována z ethanolu a dává 7,5 g (58 %) světle žlutého produktu. Teplota tání je 178 - 179°C , literatura⁴⁷ uvádí 175 - 176°C .

5.1.1.2. Příprava 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin



0,95 g (6 mmol) kyseliny **40** bylo za horka rozpuštěno v 50 ml bezvodého dioxanu. Do reakční směsi byly přidány 4 ml (24 mmol) $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$ a celá aparatura byla vevakuována a napuštěna argonem (3x). Do směsi byly dále přidány 0,133 g (0,15 mmol) $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, 0,167 g (0,30 mmol) Xantphos a 6 mmol příslušného benzylthiolu. Aparatura byla vevakuována a napuštěna argonem (2x). Reakční směs byla zahřívána k varu 9-12 hodin. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě butanol : kyselina mravenčí : voda, 14:3:2. Po skončení reakce byla směs ochlazená, zfiltrována a neutralizována zředěnou kyselinou sírovou na pH 5.

Dioxan byl oddestilován. Medovitý zbytek byl rozpuštěna v malém množství ethanolu a nalit do cca 100 ml destilované vody s ledovou tříští. Směs byla ponechána přes noc v mrazničce. Odfiltrovaný produkt byl krystalován z ethanolu.

4-(Benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41a

$C_{13}H_{11}NO_2S$; Mr = 245.30 g/mol; Výtěžek 67 %, žluté krystaly; t.t. 170-172 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3500-2400 (COOH), 1718 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.46 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.53 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.46-7.43 (m, 2H, Ar-H), 7.36-7.26 (m, 3H, Ar-H), 4.44 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 150.4, 149.0, 148.4, 136.2, 129.1, 128.8, 127.7, 123.5, 121.4, 34.3; **logP** = 2.85.

4-(3-Chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41b

$C_{13}H_{10}ClNO_2S$; Mr = 279.75 g/mol; Výtěžek 68 %, žluté krystaly; t.t. 143-145 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3500-2400 (COOH), 1718 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.54-7.52 (m, 2H, H₅, Ar-H), 7.43-7.33 (m, 3H, Ar-H), 4.46 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 149.9, 149.2, 148.4, 139.0, 133.3, 130.7, 128.9, 127.8, 127.6, 123.6, 121.5, 33.5; **logP** = 3.41.

4-(4-Chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41c

$C_{13}H_{10}ClNO_2S$; Mr = 279.75 g/mol; Výtěžek 66 %, žluté krystaly; t.t. 159-161 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3500-2400 (COOH), 1701 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.46 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.86 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.52 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.49-7.46 (m, 2H, Ar-H), 7.40-7.37 (m, 2H, Ar-H), 4.44 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 150.0, 149.1, 148.5, 135.4, 132.3, 130.9, 128.8, 123.6, 121.5, 33.4; **logP** = 3.41.

4-(3-Fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41d

$C_{13}H_{10}FNO_2S$; Mr = 263.29 g/mol; Výtěžek 68 %, žluté krystaly; t.t. 160-162 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3500-2400 (COOH), 1719 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.50 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.55 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.41-7.28 (m, 3H, Ar-H), 7.14-7.06 (m, 1H, Ar-H), 4.47 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.8, 162.3 (d, *J* = 244.1 Hz), 149.6, 148.2, 147.4, 139.3 (d, *J* = 7.6 Hz), 130.8 (d, *J* = 8.6 Hz), 125.2 (d, *J* = 2.9 Hz), 123.5, 121.5, 115.8 (d, *J* = 21.9 Hz), 114.5 (d, *J* = 21.3 Hz), 33.6; **logP** = 3.01.

4-(4-Fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41e

$C_{13}H_{10}FNO_2S$; Mr = 263.29 g/mol; Výtěžek 56 %, žluté krystaly; t.t. 172-174 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3500-2400 (COOH), 1722 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.50 (dd, 1H, *J* = 5.5 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.96 (dd, 1H, *J* = 1.8 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.65 (dd, 1H, *J* = 5.5 Hz, *J* = 1.8 Hz, H₅), 7.52-7.48 (m, 2H, Ar-H), 7.20-7.14 (m, 2H, Ar-H), 4.49 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.8, 161.7 (d, *J* = 244.0 Hz), 153.3, 147.3, 146.3, 132.1 (d, *J* = 3.0 Hz), 131.2 (d, *J* = 8.2 Hz), 123.7, 121.7, 115.7 (d, *J* = 21.4 Hz), 33.6; **logP** = 3.01.

4-(3-Brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 4If

$C_{13}H_{10}BrNO_2S$; Mr = 324.20 g/mol; Výtěžek 50 %, žluté krystaly; t.t. 156-158 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1717 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.87 (dd, 1H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.67-7.66 (m, 1H, Ar-H), 7.52 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 1.9 Hz, H₅), 7.46 (dd, 2H, *J* = 7.8 Hz, *J* = 1.8 Hz, Ar-H), 7.31-7.26 (m, 1H, Ar-H), 4.45 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 149.9, 149.1, 148.4, 139.3, 131.8, 130.9, 130.6, 128.1, 123.6, 121.9, 121.5, 33.5; **logP** = 3.68.

4-(4-Brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 4Ig

$C_{13}H_{10}BrNO_2S$; Mr = 324.20 g/mol; Výtěžek 42 %, žluté krystaly; t.t. 166-168 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1718 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.46 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.86 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.54-7.51 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.42-7.39 (m, 2H, Ar-H), 4.43 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 149.9, 149.1, 148.4, 135.9, 131.7, 131.3, 123.6, 121.5, 120.8, 33.5; **logP** = 3.68.

4-(3-Methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 4Ih

$C_{14}H_{13}NO_2S$; Mr = 259.33 g/mol; Výtěžek 60 %, žluté krystaly; t.t. 148-150 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2400 (COOH), 1717 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.7 Hz, H₆), 7.89 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.7 Hz, H₃), 7.54 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.27-7.22 (m, 3H, Ar-H), 7.10-7.08 (m, 1H, Ar-H), 4.40 (s, 2H, CH₂), 2.28 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 150.7, 149.0, 148.2, 138.0, 136.0, 129.7, 128.7, 128.4, 126.2, 123.5, 121.3, 34.3, 21.1; **logP** = 3.34.

4-(4-Methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 4Ii

$C_{14}H_{13}NO_2S$; Mr = 259.33 g/mol; Výtěžek 52 %, žluté krystaly; t.t. 183-185 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1716 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.4 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.91 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.57 (dd, 1H, *J* = 5.4 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.34-7.31 (m, 2H, Ar-H), 7.15-7.12 (m, 2H, Ar-H), 4.40 (s, 2H, CH₂), 2.25 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.5, 152.0, 148.2, 147.4, 137.0, 132.8, 129.4, 129.0, 123.6, 121.5, 34.1, 20.9; **logP** = 3.34.

4-(3-Trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 4Ij

$C_{14}H_{10}F_3NO_2S$; Mr = 313.30 g/mol; Výtěžek 32 %, žluté krystaly; t.t. 150-152 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1717 (C=O), 1332 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.92 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.84 (s, 1H, Ar-H), 7.77 (d, 1H, *J* = 7.5 Hz, Ar-H), 7.65-7.57 (m, 3H, H₅, Ar-H), 4.58 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.6, 150.6, 148.6, 147.9, 138.0, 133.2, 129.9, 129.4 (q, *J* = 31.8 Hz), 125.7 (q, *J* = 3.5 Hz), 124.5 (q, *J* = 3.5 Hz), 124.2 (q, *J* = 272.9 Hz), 123.8, 121.6, 33.5; **logP** = 3.77.

4-(4-Trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 4Ik

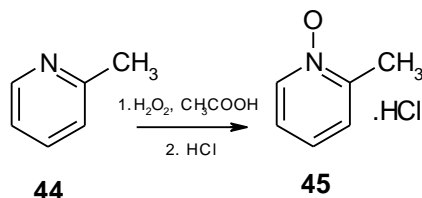
$C_{14}H_{10}F_3NO_2S$; Mr = 313.30 g/mol; Výtěžek 45 %, žluté krystaly; t.t. 148-150 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1718 (C=O), 1326 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.73-7.66 (m, 4H, Ar-H), 7.54 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 4.56 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 149.7, 149.2, 148.4, 141.5, 129.8, 128.2 (q, *J* = 31.8 Hz), 125.7 (q, *J* = 3.9 Hz), 124.4 (q, *J* = 272.9 Hz), 123.6, 121.5, 33.6; **logP** = 3.77.

4-(3-Kyanbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41l

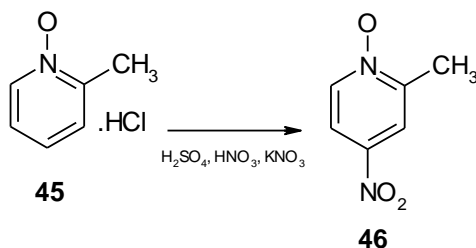
$C_{14}H_{10}N_2O_2S$; Mr = 270.31 g/mol; Výtěžek 44 %, žluté krystaly; t.t. 184-186 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3600-2500 (COOH), 2230 (CN), 1716 (C=O); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.93 (s, 1H, Ar-H), 7.88 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.80 (dd, 1H, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.0$ Hz, Ar-H), 7.74 (dd, 1H, $J = 7.8$ Hz, $J = 1.0$ Hz, Ar-H), 7.57-7.52 (m, 2H, H₅, Ar-H), 4.52 (s, 2H, CH₂); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 165.9, 149.8, 149.1, 148.3, 138.3, 134.0, 132.6, 131.5, 130.1, 123.6, 121.6, 118.7, 111.7, 33.3; **logP** = 2.88.

4-(3-Methoxybenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina 41m

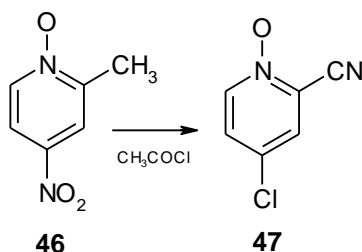
$C_{14}H_{13}NO_3S$; Mr = 275.33 g/mol; Výtěžek 37 %, žluté krystaly; t.t. 90-92 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3600-2500 (COOH), 1718 (C=O), 1270 (OCH₃), 1040 (OCH₃); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.50 (dd, 1H, $J = 5.6$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.01 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.68 (dd, 1H, $J = 5.6$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.25 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 7.04-7.01 (m, 2H, Ar-H), 6.86-6.82 (m, 1H, Ar-H), 4.47 (s, 2H, CH₂), 3.73 (s, 3H, OCH₃); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 164.4, 159.6, 154.6, 146.7, 145.6, 137.3, 130.0, 123.8, 121.8, 121.3, 114.8, 113.3, 55.3, 34.5; **logP** = 2.72.

5.1.2 Metoda B**5.1.2.1. Příprava meziproductů****Příprava hydrochloridu 2-methylpyridin-1-oxidu**

300 ml (3,0 mol) 2-Methylpyridinu (**44**), 1640 ml konc. kyseliny octové a 350 ml 30% H₂O₂ bylo zahříváno 3 hodiny při 90 °C. Po ochlazení bylo přidáno dalších 250 ml 30% H₂O₂ a zahříváno při 80 °C další 3 hodiny. K ochlazené směsi bylo přidáno 1200 ml konc. HCl a následně byla reakční směs vakuově oddestilována. Surový produkt byl krystalován z ethanolu a sušen za vakua při 65 °C. Bylo získáno 337 g (76 %) produktu. Teplota tání produktu je 92-94 °C, literatura⁵⁷ uvádí 89-90 °C.

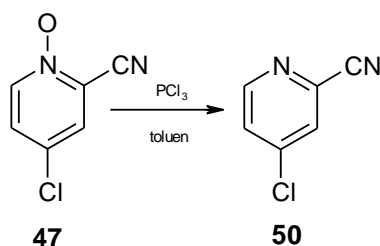
Příprava 2-methyl-4-nitropyridin-1-oxidu

44,8 g (0,31 mol) 2-Methylpyridin-1-oxidu (**45**) bylo za chlazení ledem postupně rozpuštěno v 73 ml konc. H_2SO_4 . Za stálého míchání a chlazení ledem byla postupně přikapána vychlazená (5 °C) nitrační směs složená ze 70 ml konc. HNO_3 , 74 ml konc. H_2SO_4 a 16,2 g KNO_3 . Teplota reakční směsi během přikapávání nepřesáhla 7 °C. Poté byla směs zahřívána 3 hod při 100 °C. Po vychladnutí bylo pH upraveno na pH 3 pomocí 26% vodného roztoku NH_3 . Vyloučený produkt byl odfiltrován, na filtru promyt vodou a krystalován z ethanolu. Bylo získáno 30,1 g (63%). Teplota tání je 153,5-155 °C, literatura uvádí 156-156,5 °C⁵⁸, 153-154 °C⁵⁹.

Příprava 4-chlor-2-kyanpyridin-1-oxidu⁴⁹

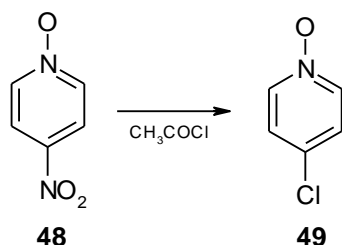
25,0 g (0,162 mol) 2-Methyl-4-nitropyridin-1-oxidu (**46**) bylo smíšeno za chlazení ledem s 80 ml vychlazeného (5 °C) acetylchloridu. Teplota reakční směsi byla postupně opatrně zvyšována (nebezpečí velmi prudkého vypěnění!) na 70 °C a na této hodnotě udržována po dobu 3 hodin. Poté byl přebytečný acetylchlorid vakuově oddestilován. Zbytek byl smísen s 25 ml destilované vody a za chlazení pH upraveno nasyceným roztokem Na_2CO_3 na pH 8. Směs byla vytřepána 4x 50 ml chloroformu. Chloroformové výtřepky byly vysušeny bezvodým Na_2SO_4 a chloroform oddestilován. Surový produkt 13,2 g (53 %) byl 2x krystalován z ethanolu s aktivním uhlím. Získáno bylo 5,2 g (21 %) produktu o teplotě tání 127-129 °C, literatura^{50, 60} uvádí 130,5-131 °C.

Příprava 4-chlorpyridin-2-karbonitrilu



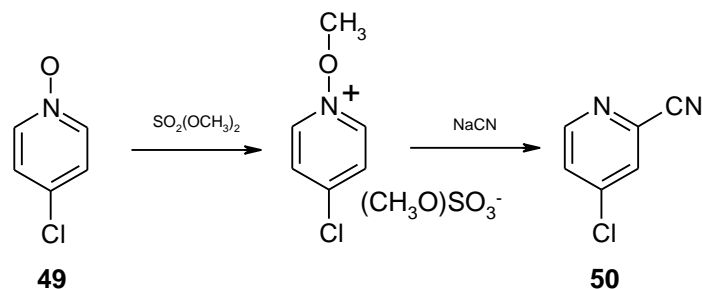
11,2 g (0,072 mol) 4-Chlor-2-kyanpyridin-1-oxidu (**47**) bylo smíseno se 150 ml bezvodého toluenu. Za chlazení ledem a míchání bylo postupně přikapáno 13,3 ml (0,15 mol) PCl_3 . Směs byla postupně zahřata na $80\text{ }^\circ\text{C}$ a tato teplota udržována po dobu 1 hodiny. Po ochlazení byla vyloučená pevná látka odfiltrována a filtrát vakuově zahuštěn dosucha. Surový produkt 7,3 g (73 %) byl krystalován z ethanolu. Výtěžek činil 6,1 g (61 %). Teplota tání je $82\text{-}84\text{ }^\circ\text{C}$, literatura uvádí $84\text{-}86\text{ }^\circ\text{C}^{24}$, $83\text{-}84\text{ }^\circ\text{C}^{61}$, $85\text{-}86\text{ }^\circ\text{C}^{60}$.

Příprava 4-chlorpyridin-1-oxidu



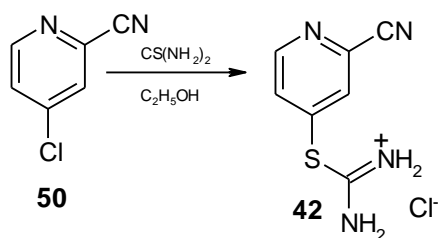
1 g (7 mmol) 4-Nitropyridin-1-oxidu (**48**) byl smíchán s 5 ml acetylchloridu a zahříván na $50\text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 10 minut. Reakční směs, která se zahříváním okamžitě změnila na krystalovou hmotu, byla smíchána s ledovou vodou, alkalizována roztokem Na_2CO_3 na pH 8-9 a poté vytřepána do chloroformu (5x50 ml). Chloroformová vrstva byla sušena bezvodým Na_2SO_4 . Produkt byl krystalován z acetonu. Výtěžek činil 0,88 g (95 %). Teplota tání je $170\text{-}171\text{ }^\circ\text{C}$, literatura⁵¹ uvádí $169,5\text{ }^\circ\text{C}$.

Příprava 4-chlorpyridin-2-karbonitrilu



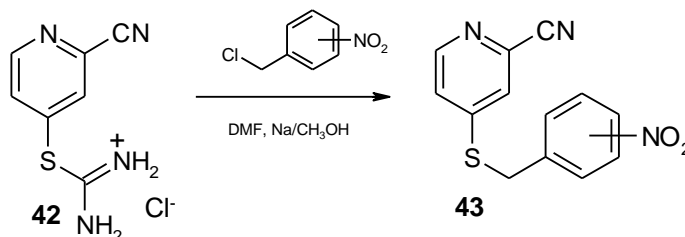
0,5 g (4,00 mmol) 4-chlorpyridin-1-oxidu (**49**) s 0,5 g (4,0 mmol) dimethylsulfátu bylo pozvolna zahříváno na 45-55 °C, dokud se nevytvořil červený roztok. (Pozor, při rychlém zahřátí dojde k prudkému vykypění!) Reakční směs byla poté zahřívána na 65 °C 4 hodiny. Po ochlazení na lab. teplotu byl přidán roztok 0,3 g (6,0 mmol) NaCN ve vodě (3,5 ml). Ihned se začala vylučovat černá sraženina, která byla asi po 15 minutách míchání odfiltrována a vysušena. Surový produkt byl zahříván 3x s 50 ml hexanu, směs byla vždy dekantována a spojené hexanové vrstvy zahuštěny dosucha. Bílé jehlicovité krystaly byly čištěny sloupcovou chromatografií v soustavě hexan : ethyl-acetát, 4:1. Výtěžek činil 0,16 g (30 %), teplota tání je 84-86 °C, literatura uvádí 84-85 °C⁵³, 85-86 °C⁶².

Příprava 2-kyanpyridin-4-isothiuronium-chloridu



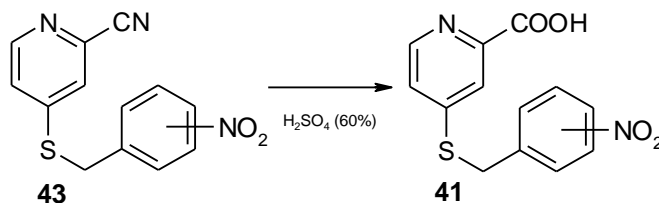
4,1 g (29 mmol) 4-Chlorpyridin-2-karbonitril (**50**), 2,2 g (29 mmol) thiomčoviny a 20,0 ml ethanolu bylo zahříváno k varu po dobu 30 minut. Po ochlazení byl vyloučený produkt odfiltrován a promyt horkým ethyl-acetátem, aby se odstranil vedlejší produkt 4,4'-sulfanyldipyridyl-2,2'-dikarbonitril. Bylo získáno 5,8 g (92 %) isothiuroniové soli **42**. Teplota tání je 192-194 °C, literatura²⁴ uvádí 193-196 °C.

Příprava 4-(nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů



K roztoku 0,11 g (4,6 mmol) sodíku ve 1,3 ml bezvodého methanolu byla přidána suspenze 0,8 g (3,7 mmol) isothiuroniové soli **42** v 4,3 ml bezvodého DMF a po chvíli (5 minut) roztok příslušného nitrobenzylchloridu ve 1,1 ml bezvodého DMF. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod chlorkalciovým uzávěrem. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě hexan : ethyl-acetát 2:1. Po 4-10 hodinách byla reakční směs nalita do destilované vody (100 ml), vyloučený produkt byl odfiltrován, vysušen a krystalován z ethanolu. Teplota tání 4-NO₂ derivátu **43** je 140-142 °C, literatura²⁴ uvádí 140,5-143 °C. Teplota tání 3,5-(NO₂)₂ derivátu je 148-150 °C, literatura²⁴ uvádí 148-151 °C.

5.1.2.2. Příprava 4-(nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin



3 mmol Příslušného nitrilu **43** byly rozpuštěny v 9 ml 60% kyseliny sírové a reakční směs byla zahřívána 2 hodiny na 150 °C. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla směs neutralizována roztokem Na₂CO₃ na pH 6. Vyloučené krystaly byly odfiltrovány a krystalovány z ethanolu.

4-(4-Nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina **41o**

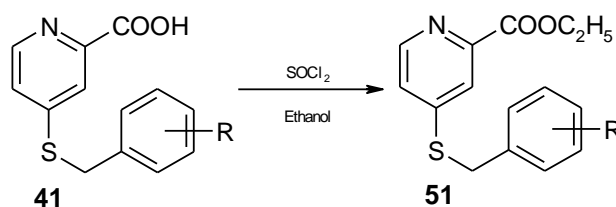
C₁₃H₁₀N₂O₄S; Mr = 290.30 g/mol; Výtěžek 81 %, béžové krystaly (Metoda B); t.t. 193-195 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1718 (C=O), 1519 (NO₂), 1347 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.20-8.17 (m, 2H, Ar-H), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.74-7.71, (m, 2H, Ar-H), 7.54 (dd, 1H,

$J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.61 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.9, 149.3, 149.2, 148.5, 146.9, 144.7, 130.3, 123.9, 123.7, 121.6, 33.5; logP = 2.88.

4-(3,5-Dinitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylová kyselina **41p**

C₁₃H₉N₃O₆S; Mr = 335.30 g/mol; Výtěžek 49 %, béžové krystaly (Metoda B); t.t. 202-204 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3600-2500 (COOH), 1709 (C=O), 1544 (NO₂), 1529 (NO₂), 1342 (NO₂), 1320 (NO₂); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.77 (d, 2H, $J = 2.1$ Hz, Ar-H), 8.70 (t, 1H, $J = 2.1$ Hz, Ar-H), 8.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.92 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.59 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.76 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 166.0, 149.4, 148.7, 148.6, 148.3, 141.7, 129.4, 123.8, 121.8, 117.9, 32.6; logP = 2.92.

5.2 Příprava ethylesterů 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylových kyselin



R = H, Cl, F, Br, CH₃, CF₃, CN, OCH₃, NO₂

3 mmol Příslušné kyseliny **41** byly za horka rozpuštěny v 70 ml bezvodého ethanolu. Roztok byl ochlazen na -2 °C a k němu bylo postupně přidáváno celkem 2,2 ml (30 mmol) SOCl₂ tak, aby teplota reakční směsi nepřesáhla 0 °C. Reakční směs byla dále míchána asi 10 minut za lab. teploty a následně zahřívána k varu 5-7 hodin. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě chloroform : methanol : triethylamin, 9:1:0.25. Po ukončení reakce byl nadbytečný ethanol oddestilován. Zahuštěná reakční směs byla nalita do destilované vody s ledovou tříští. Směs byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO₃ na pH 8 a přes noc ponechána v mrazničce. Vyloučený produkt byl odfiltrován a krystalován z ethanolu.

Ethyl-4-(benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát **51a**

C₁₅H₁₅NO₂S; Mr = 273.36 g/mol; Výtěžek 53 %, béžové krystaly; t.t. 46-47 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 1720 (C=O); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.45 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.88 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.51 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.48-7.43 (m, 2H, Ar-H), 7.37-7.23 (m, 3H, Ar-H), 4.42 (s, 2H, CH₂), 4.30 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH₂), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm)

164.7, 150.5, 149.4, 148.3, 136.2, 129.1, 128.8, 127.7, 123.8, 121.5, 61.5, 34.3, 14.3; **logP** = 3.45.

Ethyl-4-(3-chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51b

$C_{15}H_{14}ClNO_2S$; Mr = 307.80 g/mol; Výtěžek 58 %, bílé krystaly; t.t. 60-62 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 1735 (C=O); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, $J = 5.2$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_6), 7.87 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_3), 7.56-7.53 (m, 2H, H_5 , Ar-H), 7.44-7.31 (m, 3H, Ar-H), 4.46 (s, 2H, CH_2), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2), 1.31 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH_3); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 164.6, 149.7, 149.5, 147.8, 139.1, 133.3, 130.6, 128.9, 127.7, 127.6, 123.8, 121.6, 61.5, 33.5, 14.3; **logP** = 4.01.

Ethyl-4-(4-chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51c

$C_{15}H_{14}ClNO_2S$; Mr = 307.80 g/mol; Výtěžek 87 %, bílé krystaly; t.t. 101-103 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 1730 (C=O); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.86 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.54 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H_5), 7.49-7.46 (m, 2H, Ar-H), 7.40-7.37 (m, 2H, Ar-H), 4.45 (s, 2H, CH_2), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH_3); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 164.6, 149.9, 149.5, 147.7, 135.5, 132.3, 130.9, 128.8, 123.8, 121.6, 61.5, 33.5, 14.3; **logP** = 4.01.

Ethyl-4-(3-fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51d

$C_{15}H_{14}FNO_2S$; Mr = 291.35 g/mol; Výtěžek 82 %, béžové krystaly; t.t. 75-77 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 1724 (C=O); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.87 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.55 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H_5), 7.41-7.28 (m, 3H, Ar-H), 7.13-7.06 (m, 1H, Ar-H), 4.47 (s, 2H, CH_2), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH_3); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 164.6, 162.3 (d, $J = 244.1$ Hz), 149.8, 149.5, 147.7, 139.3 (d, $J = 7.6$ Hz), 130.8 (d, $J = 8.0$ Hz), 125.2 (d, $J = 2.8$ Hz), 123.8, 121.6, 115.8 (d, $J = 21.9$ Hz), 114.5 (d, $J = 20.7$ Hz), 61.5, 33.6, 14.2; **logP** = 3.61.

Ethyl-4-(4-fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51e

$C_{15}H_{14}FNO_2S$; Mr = 291.35 g/mol; Výtěžek 61 %, bílé krystaly; t.t. 77-79 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 1728 (C=O); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, $J = 5.2$ Hz, $J = 1.1$ Hz, H_6), 7.86 (dd, 1H, $J = 1.7$ Hz, $J = 1.1$ Hz, H_3), 7.56-7.47 (m, 2H, H_5 , Ar-H), 7.36-7.32 (m, 1H, Ar-H), 7.20-7.13 (m, 2H, Ar-H), 4.44 (s, 2H, CH_2), 4.31 (dq, 2H, $J = 7.1$ Hz, $J = 1.7$ Hz, CH_2), 1.30 (dt, 3H, $J = 7.1$ Hz, $J = 1.7$ Hz, CH_3); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 164.7, 161.6 (d, $J = 243.0$ Hz), 150.0, 149.5, 147.7, 132.5 (d, $J = 3.2$ Hz), 131.1 (d, $J = 8.3$ Hz), 123.8, 121.6, 115.6 (d, $J = 21.6$ Hz), 61.5, 33.4, 14.3; **logP** = 3.61.

Ethyl-4-(3-brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51f

$C_{15}H_{14}BrNO_2S$; Mr = 352.25 g/mol; Výtěžek 80 %, béžové krystaly; t.t. 66-68 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 1733 (C=O); **1H -NMR** (300 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_6), 7.86 (dd, 1H, $J = 1.8$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_3), 7.67 (s, 1H, Ar-H), 7.54 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H_5), 7.46 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 7.29 (t, 1H, $J = 7.8$ Hz, Ar-H), 4.45 (s, 2H, CH_2), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH_2), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH_3); **^{13}C -NMR** (75 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm) 164.6, 149.7, 149.5, 147.8, 139.3, 131.8, 130.9, 130.5, 128.1, 123.8, 121.9, 121.6, 61.5, 33.5, 14.3; **logP** = 4.28.

Ethyl-4-(4-brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 5Ig

$C_{15}H_{14}BrNO_2S$; Mr = 352.25 g/mol; Výtěžek 83 %, bílé krystaly; t.t. 108-110 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1730 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.85 (dd, 1H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.55-7.51 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.43-7.40 (m, 2H, Ar-H), 4.43 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 1.30 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.6, 149.8, 149.5, 147.7, 135.9, 131.7, 131.2, 123.8, 121.6, 120.8, 61.5, 33.5, 14.3; **logP** = 4.28.

Ethyl-4-(3-methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 5Ih

$C_{16}H_{17}NO_2S$; Mr = 287.38 g/mol; Výtěžek 63 %, bílé krystaly; t.t. 44-46 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1720 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 7.87 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.53 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.26-7.18 (m, 3H, Ar-H), 7.08-7.06 (m, 1H, Ar-H), 4.38 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 2.27 (s, 3H, CH₃), 1.31 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.7, 150.3, 149.4, 147.7, 138.0, 136.0, 129.7, 128.7, 128.3, 126.2, 123.7, 121.5, 61.5, 34.3, 21.1, 14.3; **logP** = 3.94.

Ethyl-4-(4-methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 5Ii

$C_{16}H_{17}NO_2S$; Mr = 287.38 g/mol; Výtěžek 60 %, béžové krystaly; t.t. 75-77 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1722 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.45 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.90 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.56 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.33 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz, Ar-H), 7.14 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz, Ar-H), 4.39 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 2.25 (s, 3H, CH₃), 1.30 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.6, 150.4, 149.3, 147.8, 137.0, 132.9, 129.4, 129.0, 123.8, 121.6, 61.5, 34.0, 20.9, 14.3; **logP** = 3.94.

Ethyl-4-(3-trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 5Ij

$C_{16}H_{14}F_3NO_2S$; Mr = 341.35 g/mol; Výtěžek 76 %, béžové krystaly; t.t. 45-47 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1716 (C=O), 1331 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.88 (dd, 1H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.83 (s, 1H, Ar-H), 7.78-7.76 (m, 1H, Ar-H), 7.64-7.54 (m, 3H, H₅, Ar-H), 4.56 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 1.30 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.6, 149.6, 149.5, 147.8, 138.1, 133.2, 129.9, 129.4 (q, *J* = 31.8 Hz), 125.7 (q, *J* = 3.9 Hz), 124.4 (q, *J* = 3.9 Hz), 124.3, (q, *J* = 272.9 Hz), 123.9, 121.7, 61.5, 33.5, 14.2; **logP** = 4.37.

Ethyl-4-(4-trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 5Ik

$C_{16}H_{14}F_3NO_2S$; Mr = 341.35 g/mol; Výtěžek 68 %, bílé krystaly; t.t. 84-86 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1728 (C=O), 1327 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, *J* = 5.2 Hz, *J* = 0.4 Hz, H₆), 7.87 (dd, 1H, *J* = 1.2 Hz, *J* = 0.4 Hz, H₃), 7.70-7.65 (m, 4H, Ar-H), 7.56 (dd, 1H, *J* = 5.2 Hz, *J* = 1.2 Hz, H₅), 4.56 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz, CH₂), 1.30 (t, 3H, *J* = 7.1 Hz, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.6, 149.6, 149.5, 147.8, 141.5, 129.8, 128.2 (q, *J* = 31.8 Hz), 125.7 (q, *J* = 3.9 Hz), 124.3, (q, *J* = 272.9 Hz), 123.8, 121.6, 61.5, 33.6, 14.2; **logP** = 4.37.

Ethyl-4-(3-kyanbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 5Il

$C_{16}H_{14}N_2O_2S$; Mr = 298.37 g/mol; Výtěžek 66 %, béžové krystaly; t.t. 104-106 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2230 (CN), 1735 (C=O); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 7.93 (s, 1H, Ar-H), 7.86 (dd, 1H, *J* = 1.9 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.82-7.73 (m, 2H, Ar-H), 7.57-7.52 (m, 2H, H₅, Ar-H), 4.51 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, *J* = 7.1 Hz,

CH₂), 1.31 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.6, 149.5, 149.4, 147.8, 138.4, 133.9, 132.6, 131.5, 130.1, 123.8, 121.7, 118.7, 111.7, 61.5, 33.3, 14.3; **logP** = 3.48.

Ethyl-4-(3-methoxybenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51m

C₁₆H₁₇NO₃S; Mr = 303.38 g/mol; Výtěžek 66 %, béžové krystaly; t.t. 73-75 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1714 (C=O), 1266 (OCH₃), 1044 (OCH₃); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.87 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.54 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.24 (t, 1H, $J = 8.1$ Hz, Ar-H), 7.03-7.01 (m, 2H, Ar-H), 6.85-6.81 (m, 1H, Ar-H), 4.40 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH₂), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.7, 159.5, 150.3, 149.4, 147.7, 137.8, 129.9, 123.7, 121.5, 121.2, 114.7, 113.1, 61.5, 55.2, 34.3, 14.3; **logP** = 3.32.

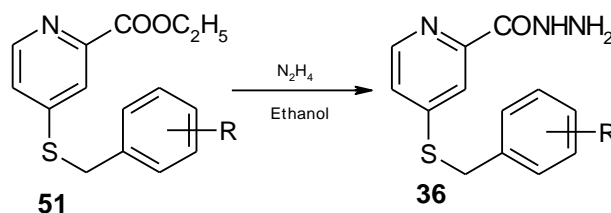
Ethyl-4-(4-nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51o

C₁₅H₁₄N₂O₄S; Mr = 318.35 g/mol; Výtěžek 72 %, bílé krystaly; t.t. 106-107 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1733 (C=O), 1523 (NO₂), 1349 (NO₂); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.19 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, Ar-H), 7.87 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.73 (d, 2H, $J = 8.8$ Hz, Ar-H), 7.56 (ddd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₅), 4.61 (s, 2H, CH₂), 4.30 (dq, 2H, $J = 7.1$ Hz, $J = 0.7$ Hz, CH₂), 1.30 (dt, 3H, $J = 7.1$ Hz, $J = 0.7$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.6, 149.6, 149.3, 147.8, 147.8, 147.0, 144.8, 130.3, 123.9, 121.8, 61.6, 33.5, 14.3; **logP** = 3.48.

Ethyl-4-(3,5-dinitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxylát 51p

C₁₅H₁₃N₃O₆S; Mr = 363.35 g/mol; Výtěžek 72 %, béžové krystaly; t.t. 136-138 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 1726 (C=O), 1536 (NO₂), 1339 (NO₂); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.78 (d, 2H, $J = 2.1$ Hz, Ar-H), 8.70 (t, 1H, $J = 2.1$ Hz, Ar-H), 8.49 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.91 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.61 (ddd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₅), 4.76 (s, 2H, CH₂), 4.31 (q, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH₂), 1.30 (t, 3H, $J = 7.1$ Hz, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 164.5, 149.7, 148.6, 148.3, 147.9, 141.8, 129.4, 124.0, 121.9, 117.9, 61.6, 32.6, 14.2; **logP** = 3.52.

5.3 Příprava 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazidů



R = H, Cl, F, Br, CH₃, CF₃, CN, OCH₃, NO₂

1,3 mmol Příslušného ethylesteru **51** bylo rozpuštěno v 2-3 ml bezvodého ethanolu. K roztoku bylo přidáno 0,9 ml (30 mmol) 80% roztoku hydrazinu. Reakční směs byla míchána 2-3 hodiny za lab. teploty. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě chloroform : methanol : triethylamin, 9:1:0.25. Reakční směs byla ponechána přes noc v mrazničce. Vyloučené krystaly byly odfiltrovány, promývány destilovanou vodou a krystalovány z ethanolu.

4-(Benzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36a

$C_{13}H_{13}N_3OS$; Mr = 259.33 g/mol; Výtěžek 63 %, béžové krystaly; t.t. 132-134 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3301 (N-H), 3202 (N-H), 1664 (C=O), 1627 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.37 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.48-7.43 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.36-7.23 (m, 3H, Ar-H), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.42 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.4, 150.5, 149.8, 148.3, 136.2, 129.1, 128.8, 127.6, 122.7, 118.4, 34.2; **logP** = 1.95.

4-(3-Chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36b

$C_{13}H_{12}ClN_3OS$; Mr = 293.78 g/mol; Výtěžek 70 %, bílé krystaly; t.t. 120-122 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3305 (N-H), 3203 (N-H), 1664 (C=O), 1624 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.54 (t, 1H, $J = 1.8$ Hz, Ar-H), 7.47 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.45-7.33 (m, 3H, Ar-H), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.46 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 150.0, 149.8, 148.4, 139.1, 133.3, 130.6, 128.9, 127.7, 127.6, 122.7, 118.5, 33.4; **logP** = 2.51.

4-(4-Chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36c

$C_{13}H_{12}ClN_3OS$; Mr = 293.78 g/mol; Výtěžek 56 %, bílé krystaly; t.t. 119-121 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3376 (N-H), 3323 (N-H), 1671 (C=O), 1624 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.38 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.82 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.50-7.45 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.42-7.37 (m, 2H, Ar-H), 4.55 (s, 2H, NH₂), 4.45 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 150.1, 149.8, 148.4, 135.5, 132.2, 130.9, 128.8, 122.7, 118.5, 33.4; **logP** = 2.51.

4-(3-Fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36d

$C_{13}H_{12}FN_3OS$; Mr = 277.32 g/mol; Výtěžek 78 %, žluté krystaly; t.t. 94-95 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3290 (N-H), 1662 (C=O), 1618 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.47 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.42-7.28 (m, 3H, Ar-H), 7.14-7.06 (m, 1H, Ar-H), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.47 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 162.3 (d, $J = 244.1$ Hz), 150.0, 149.8, 148.4, 139.4 (d, $J = 7.6$ Hz), 130.7 (d, $J = 8.6$ Hz), 125.2 (d, $J = 2.9$ Hz), 122.7, 118.5, 115.8 (d, $J = 21.9$ Hz), 114.5 (d, $J = 21.3$ Hz), 33.6; **logP** = 2.11.

4-(4-Fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36e

$C_{13}H_{12}FN_3OS$; Mr = 277.32 g/mol; Výtěžek 58 %, béžové krystaly; t.t. 112-114 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3306 (N-H), 3202 (N-H), 1664 (C=O), 1626 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.82 (dd, 1H, $J = 2.0$

Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.52-7.46 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.20-7.13 (m, 2H, Ar-H), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.44 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 161.6 (d, $J = 244.0$ Hz), 150.2, 149.8, 148.4, 132.5 (d, $J = 3.0$ Hz), 131.1 (d, $J = 8.2$ Hz), 122.7, 118.4, 115.6 (d, $J = 21.4$ Hz), 33.4; **logP** = 2.11.

4-(3-Brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36f

C₁₃H₁₂BrN₃OS; Mr = 338.23 g/mol; Výtěžek 71 %, bílé krystaly; t.t. 127-129 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3304 (N-H), 3202 (N-H), 1663 (C=O), 1623 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.68 (t, 1H, $J = 1.7$ Hz, Ar-H), 7.48-7.45 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.32-7.27 (m, 1H, Ar-H), 4.57 (s, 2H, NH₂), 4.46 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 150.0, 149.8, 148.4, 139.3, 131.7, 130.9, 130.5, 128.1, 122.7, 121.9, 118.5, 33.5; **logP** = 2.78.

4-(4-Brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36g

C₁₃H₁₂BrN₃OS; Mr = 338.23 g/mol; Výtěžek 73 %, bílé krystaly; t.t. 137-138 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3375 (N-H), 3319 (N-H), 1669 (C=O), 1618 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.38 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.55-7.51 (m, 3H, H₅, Ar-H), 7.43-7.39 (m, 2H, Ar-H), 4.57 (s, 2H, NH₂), 4.46 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 150.7, 149.5, 148.3, 135.8, 131.7, 131.3, 122.9, 120.8, 118.8, 33.5; **logP** = 2.78.

4-(3-Methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36h

C₁₄H₁₅N₃OS; Mr = 273.36 g/mol; Výtěžek 79 %, béžové krystaly; t.t. 104-105 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3308 (N-H), 3197 (N-H), 1678 (C=O), 1618 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.38 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.46 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.27-7.19 (m, 3H, Ar-H), 7.09-7.06 (m, 1H, Ar-H), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.38 (s, 2H, CH₂), 2.28 (s, 3H, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.4, 150.6, 149.7, 148.3, 138.0, 136.0, 129.7, 128.7, 128.3, 126.2, 122.6, 118.3, 34.3, 21.1; **logP** = 2.44.

4-(4-Methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36i

C₁₄H₁₅N₃OS; Mr = 273.36 g/mol; Výtěžek 62 %, béžové krystaly; t.t. 124-126 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3338 (N-H), 1693 (C=O), 1617 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.85 (s, 1H, NH), 8.37 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.82 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.46 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.33 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 7.14 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.38 (s, 2H, CH₂), 2.26 (s, 3H, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.4, 150.5, 149.7, 148.3, 136.9, 133.0, 129.4, 129.0, 122.7, 118.4, 34.0, 20.9; **logP** = 2.44.

4-(3-Trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36j

C₁₄H₁₂F₃N₃OS; Mr = 327.33 g/mol; Výtěžek 87 %, béžové krystaly; t.t. 96-98 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3332 (N-H), 1678 (C=O), 1617 (NH₂), 1331 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.87 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.85-7.83 (m, 2H, H₃, Ar-H), 7.77 (d, 1H, $J = 7.4$ Hz, Ar-H), 7.66-7.55 (m, 2H, Ar-H), 7.49 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.57 (s, 4H, NH₂, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 149.9, 149.8, 148.4, 138.1, 133.2, 129.9, 129.5 (q, $J = 31.8$ Hz), 125.6 (q, $J = 3.9$ Hz), 124.4 (q, $J = 3.9$ Hz), 124.3 (q, $J = 272.3$ Hz), 122.8, 118.5, 33.5; **logP** = 2.87.

4-(4-Trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36k

$C_{14}H_{12}F_3N_3OS$; Mr = 327.33 g/mol; Výtěžek 45 %, bílé krystaly; t.t. 159-161 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3323 (N-H), 1699 (C=O), 1617 (NH₂), 1324 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.87 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.83 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.72-7.65 (m, 4H, Ar-H), 7.49 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.57 (s, 2H, NH₂), 4.56 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 149.9, 149.7, 148.4, 141.5, 129.8, 128.3 (q, $J = 31.8$ Hz), 125.6 (q, $J = 3.9$ Hz), 124.4 (q, $J = 272.9$ Hz), 122.9, 118.4, 33.6; **logP** = 2.87.

4-(3-Kyanbenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36l

$C_{14}H_{12}N_4OS$; Mr = 284.34 g/mol; Výtěžek 76 %, bílé krystaly; t.t. 130-132 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3351 (N-H), 3313 (N-H), 2229 (CN), 1660 (C=O), 1629 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.87 (s, 1H, NH), 8.39 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.4$ Hz, H₆), 7.94 (t, 1H, $J = 1.4$ Hz, Ar-H), 7.83-7.73 (m, 3H, H₃, Ar-H), 7.56 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz, Ar-H), 7.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.56 (s, 2H, NH₂), 4.52 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.3, 149.9, 149.7, 148.5, 138.4, 134.0, 132.6, 131.5, 130.1, 122.8, 118.7, 118.5, 111.7, 33.3; **logP** = 1.99.

4-(3-Methoxybenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36m

$C_{14}H_{15}N_3O_2S$; Mr = 289.36 g/mol; Výtěžek 60 %, béžové krystaly; t.t. 94-95 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3300 (N-H), 3201 (N-H), 1664 (C=O), 1626 (NH₂), 1270 (OCH₃), 1049 (OCH₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.86 (s, 1H, NH), 8.38 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.84 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.46 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.28-7.22 (m, 1H, Ar-H), 7.04-7.01 (m, 2H, Ar-H), 6.85-6.82 (m, 1H, Ar-H), 4.57 (s, 2H, NH₂), 4.40 (s, 2H, CH₂), 3.74 (s, 3H, OCH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.4, 159.5, 150.5, 149.8, 148.3, 137.8, 129.9, 122.7, 121.2, 118.4, 114.7, 113.1, 55.2, 34.2; **logP** = 1.83.

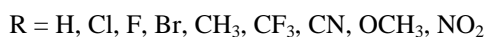
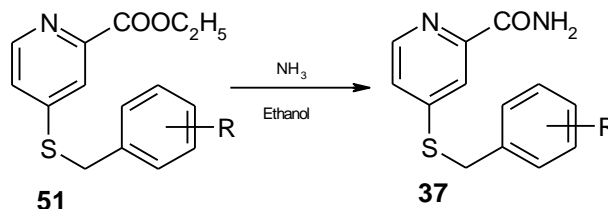
4-(4-Nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36o

$C_{13}H_{12}N_4O_3S$; Mr = 304.33 g/mol; Výtěžek 76 %, bílé krystaly; t.t. 150-152 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3390 (N-H), 3314 (N-H), 1676 (C=O), 1628 (NH₂), 1514 (NO₂), 1349 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.85 (s, 1H, NH), 8.38 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 8.19 (d, 2H, $J = 8.9$ Hz, Ar-H), 7.82 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.73 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, Ar-H), 7.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.61 (s, 2H, CH₂), 4.55 (s, 2H, NH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.2, 149.9, 149.5, 148.4, 146.9, 144.8, 130.3, 123.9, 122.8, 118.6, 33.4; **logP** = 1.30.

4-(3,5-Dinitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karbohydrazid 36p

$C_{13}H_{11}N_5O_5S$; Mr = 349.33 g/mol; Výtěžek 69 %, béžové krystaly; t.t. 230-232 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3334 (N-H), 3256 (N-H), 1660 (C=O), 1626 (NH₂), 1534 (NO₂), 1530 (NO₂), 1342 (NO₂), 1329 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 9.85 (s, 1H, NH), 8.78 (d, 2H, $J = 2.1$ Hz, Ar-H), 8.71 (t, 1H, $J = 2.1$ Hz, Ar-H), 8.40 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.85 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.54 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.76 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 162.2, 150.0, 148.9, 148.6, 148.3, 141.8, 129.4, 122.9, 118.8, 117.9, 32.6; **logP** = 1.26.

5.4 Příprava 4-(subst. benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamidů



1,3 mmol Příslušného ethylesteru **51** bylo rozpuštěno v 2-3 ml bezvodého ethanolu. Reakční směs byla sycena plynným amoniakem po dobu 12-20 hodin. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě chloroform : methanol : triethylamin, 9:1:0.25. Reakční směs byla ponechána přes noc v mrazničce. Vyloučený produkt byl odfiltrován a krystalován z ethanolu.

4-(Benzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid **37a**

C₁₃H₁₂N₂OS; Mr = 244.32 g/mol; Výtěžek 42 %, bílé krystaly; t.t. = 108-110 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3382 (N-H), 3276 (N-H), 3200 (N-H), 1679 (C=O), 1604 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.7 Hz, H₆), 8.10 (s, 1H, NH), 7.90 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.50 (ddd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₅), 7.48-7.43 (m, 2H, H_{Ar}), 7.38-7.24 (m, 3H, H_{Ar}), 4.44 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.5, 150.5, 150.2, 148.3, 136.2, 129.1, 128.8, 127.6, 122.9, 118.6, 34.2; **logP** = 2.20.

4-(3-Chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid **37b**

C₁₃H₁₁ClN₂OS; Mr = 278.86 g/mol; Výtěžek 58 %, bílé krystaly; t.t. = 131-132 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3389 (N-H), 3165 (N-H), 1663 (C=O), 1625 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.42 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.89 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.69 (s, 1H, NH), 7.54 (s, 1H, H_{Ar}), 7.50 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.44-7.31 (m, 3H, H_{Ar}), 4.46 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.3, 150.0, 148.3, 139.0, 133.3, 130.6, 128.9, 127.7, 127.6, 123.0, 118.7, 33.5; **logP** = 2.76.

4-(4-Chlorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid **37c**

C₁₃H₁₁ClN₂OS; Mr = 278.86 g/mol; Výtěžek 40 %, béžové krystaly; t.t. 123-124 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3383 (N-H), 3279 (N-H), 3169 (N-H), 1682 (C=O), 1599 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.50-7.45 (m, 3H, H₅, H_{Ar}), 7.42-7.37 (m, 2H, H_{Ar}), 4.45 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.3, 150.1, 148.3, 135.5, 132.2, 130.9, 128.8, 123.0, 118.7, 33.4; **logP** = 2.76.

4-(3-Fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37d

$C_{13}H_{11}FN_2OS$; Mr = 262.31 g/mol; Výtěžek 72 %, béžové krystaly; t.t. = 144-146 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3388 (N-H), 3278 (N-H), 3160 (N-H), 1682 (C=O), 1619 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.89 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.50 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.42-7.28 (m, 3H, H_{Ar}), 7.14-7.06 (m, 1H, H_{Ar}), 4.47 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 162.3 (d, *J* = 244.3 Hz), 150.3, 150.1, 148.3, 139.3 (d, *J* = 7.6 Hz), 130.7 (d, *J* = 8.5 Hz), 125.2 (d, *J* = 2.9 Hz), 123.0, 118.7, 115.8 (d, *J* = 21.9 Hz), 114.5 (d, *J* = 20.9 Hz), 33.6; **logP** = 2.36.

4-(4-Fluorbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37e

$C_{13}H_{11}FN_2OS$; Mr = 262.31 g/mol; Výtěžek 59 %, béžové krystaly; t.t. = 131-135 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3378 (N-H), 3286 (N-H), 3170 (N-H), 1687 (C=O), 1604 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.52-7.47 (m, 3H, H₅, H_{Ar}), 7.21-7.13 (m, 2H, H_{Ar}), 4.44 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 161.6 (d, *J* = 243.9 Hz), 150.2, 150.3, 148.3, 132.5 (d, *J* = 3.0 Hz), 131.1 (d, *J* = 8.2 Hz), 123.0, 118.6, 115.6 (d, *J* = 21.6 Hz), 33.4; **logP** = 2.36.

4-(3-Brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37f

$C_{13}H_{11}BrN_2OS$; Mr = 323.21 g/mol; Výtěžek 75 %, bílé krystaly; t.t. = 123-124 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3392 (N-H), 3285 (N-H), 3139 (N-H), 1683 (C=O), 1617 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.42 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.10 (s, 1H, NH), 7.89 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.68-7.67 (m, 2H, NH, H_{Ar}), 7.51-7.45 (m, 3H, H₅, H_{Ar}), 7.32-7.27 (m, 1H, H_{Ar}), 4.46 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.3, 150.0, 148.3, 139.3, 131.8, 130.9, 130.5, 128.1, 123.0, 122.0, 118.7, 33.4; **logP** = 3.03.

4-(4-Brombenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37g

$C_{13}H_{11}BrN_2OS$; Mr = 323.21 g/mol; Výtěžek 35 %, bílé krystaly; t.t. = 141-143 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3369 (N-H), 3151 (N-H), 1686 (C=O), 1603 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.40 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.3 Hz, H₆), 8.08 (s, 1H, NH), 7.87 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.3 Hz, H₃), 7.67 (s, 1H, NH), 7.53-7.50 (m, 2H, H_{Ar}), 7.47 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.42-7.39 (m, 2H, H_{Ar}), 4.42 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.3, 150.1, 148.3, 135.9, 131.7, 131.2, 123.0, 120.8, 118.7, 33.5; **logP** = 3.03.

4-(3-Methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37h

$C_{14}H_{14}N_2OS$; Mr = 258.34 g/mol; Výtěžek 58 %, béžové krystaly; t.t. = 131-132 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3380 (N-H), 3280 (N-H), 3158 (N-H), 1687 (C=O), 1604 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.90 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.48 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz, H₅), 7.27-7.19 (m, 3H, H_{Ar}), 7.10-7.06 (m, 1H, H_{Ar}), 4.38 (s, 2H, CH₂), 2.28 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.6, 150.2, 148.3, 138.0, 136.0, 129.7, 128.7, 128.3, 126.2, 122.8, 118.5, 34.3, 21.1; **logP** = 2.69.

4-(4-Methylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37i

$C_{14}H_{14}N_2OS$; Mr = 258.34 g/mol; Výtěžek 40 %, žluté krystaly; t.t. = 116-118 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3384 (N-H), 3285 (N-H), 3193 (N-H), 1683 (C=O), 1601 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.40 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.88 (dd, 1H, *J* = 2.0 Hz, *J* = 0.5 Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.48 (dd, 1H, *J* = 5.3 Hz, *J* = 2.0 Hz,

H₅), 7.33 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.14 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 4.38 (s, 2H, CH₂), 2.26 (s, 3H, CH₃); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 150.6, 150.2, 148.3, 136.9, 133.0, 129.4, 129.0, 122.9, 118.6, 34.0, 20.9; **logP** = 2.69.

4-(3-Trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37j

C₁₄H₁₁F₃N₂OS; Mr = 312.32 g/mol; Výtěžek 58 %, žluté krystaly; t.t. = 107-108 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3328 (N-H), 3191 (N-H), 1684 (C=O), 1616 (NH₂), 1331 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.42 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.91 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.84 (s, 1H, H_{Ar}), 7.77 (d, 2H, $J = 7.4$ Hz, H_{Ar}), 7.69 (s, 1H, NH), 7.65-7.54 (m, 2H, H_{Ar}), 7.51 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.57 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.7, 150.3, 149.8, 148.3, 138.1, 133.2, 129.9, 129.4 (q, $J = 31.8$ Hz), 125.7 (q, $J = 3.9$ Hz), 124.4 (q, $J = 3.9$ Hz), 124.3 (q, $J = 272.9$ Hz), 123.1, 118.8, 33.5; **logP** = 3.12.

4-(4-Trifluormethylbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37k

C₁₄H₁₁F₃N₂OS; Mr = 312.32 g/mol; Výtěžek 55 %, bílé krystaly; t.t. = 123-124 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3378 (N-H), 3290 (N-H), 3180 (N-H), 1682 (C=O), 1619 (NH₂), 1324 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.90 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.73-7.67 (m, 5H, H_{Ar}, NH), 7.51 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.56 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.7, 150.3, 149.8, 148.4, 141.5, 129.8, 128.3 (q, $J = 31.8$ Hz), 125.7 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.4 (q, $J = 272.9$ Hz), 123.0, 118.7, 33.6; **logP** = 3.12.

4-(3-Kyanbenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37l

C₁₄H₁₁N₃OS; Mr = 269.33 g/mol; Výtěžek 60 %, bílé krystaly; t.t. = 196-198 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3377 (N-H), 3282 (N-H), 3161 (N-H), 2229 (CN), 1683 (C=O), 1605 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.42 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.94 (t, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_{Ar}), 7.89 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.83-7.73 (m, 2H, H_{Ar}), 7.56 (t, 1H, $J = 7.7$ Hz, H_{Ar}), 4.52 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.7, 150.3, 149.7, 148.4, 138.4, 134.0, 132.6, 131.5, 130.1, 123.0, 118.7, 111.7, 33.3; **logP** = 2.23.

4-(3-Methoxybenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37m

C₁₄H₁₄N₂O₂S; Mr = 274.34 g/mol; Výtěžek 20 %, bílé krystaly; t.t. = 111-113 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3384 (N-H), 3293 (N-H), 3220 (N-H), 1677 (C=O), 1600 (NH₂), 1050 (OCH₃); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.09 (s, 1H, NH), 7.90 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.68 (s, 1H, NH), 7.48 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 7.28-7.22 (m, 1H, H_{Ar}), 7.04-7.01 (m, 2H, H_{Ar}), 6.85-6.82 (m, 1H, H_{Ar}), 4.41 (s, 2H, CH₂), 3.74 (s, 3H, OCH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.8, 159.5, 150.5, 150.2, 148.3, 137.8, 129.9, 122.9, 121.2, 118.6, 114.7, 113.1, 55.2, 34.2; **logP** = 2.07.

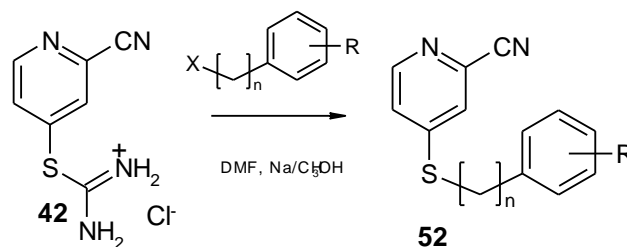
4-(4-Nitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37o

C₁₃H₁₁N₃O₃S; Mr = 289.31 g/mol; Výtěžek 60 %, žluté krystaly; t.t. = 143-145 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3377 (N-H), 3284 (N-H), 3185 (N-H), 1685 (C=O), 1601 (NH₂), 1519 (NO₂), 1347 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.41 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 8.20 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_{Ar}), 8.08 (s, 1H, NH), 7.89 (d, 1H, $J = 2.0$ Hz, H₃), 7.74 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, H_{Ar}), 7.68 (s, 1H, NH), 7.51 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.62 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.7, 150.4, 149.5, 148.4, 146.9, 144.8, 130.3, 123.9, 123.1, 118.8, 33.4; **logP** = 1.46.

4-(3,5-Dinitrobenzylsulfanyl)pyridin-2-karboxamid 37p

$C_{13}H_{10}N_4O_5S$; Mr = 334.31 g/mol; Výtěžek 25 %, béžové krystaly; t.t. = 180-182 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3388 (N-H), 3262 (N-H), 3163 (N-H), 1676 (C=O), 1615 (NH₂), 1535 (NO₂), 1342 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 8.78-8.77 (m, 2H, H_{Ar}), 8.71-8.70 (m, 1H, H_{Ar}), 8.42 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 8.07 (s, 1H, NH), 7.92 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 7.67 (s, 1H, NH), 7.56 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 4.76 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 165.7, 150.4, 148.9, 148.5, 148.3, 141.8, 129.4, 123.2, 119.1, 117.9, 32.6; **logP** = 1.42.

5.5 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbonitrilů



K roztoku 0,11 g sodíku (4,6 mmol) v 1,3 ml bezvodého methanolu byla přidána suspenze 0,8 g isothiuroniové soli **42** (3,7 mmol) v 4,3 ml bezvodého DMF a po chvíli (5 minut) roztok příslušného fenylalkylhalogenidu v 1,1 ml bezvodého DMF. Směs byla míchána za laboratorní teploty pod chlorkalciovým uzávěrem. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě hexan : ethyl-acetát 2:1. Po 2-8 hodinách byla reakční směs nalita do destilované vody (100 ml), vyloučený produkt byl odfiltrován, vysušen a čištěn sloupcovou chromatografií v soustavě hexan : ethyl-acetát, 3:1.

4-(Benzylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Aa

$C_{13}H_{10}N_2S$; Mr = 226.30 g/mol; Výtěžek 63 %, bílé krystaly; t.t. = 90-92 °C. Tato látka byla již popsána v literatuře²⁴, t.t. = 90.5-92.5 °C.

4-(Fenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Ba

$C_{14}H_{12}N_2S$; Mr = 240.33 g/mol; Výtěžek 55 %, bílé krystaly; t.t. = 49-51 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2242 (CN); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.43 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.42 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.37-7.22 (m, 6H, H₅, H_{Ar}), 3.30-3.24 (m, 2H, CH₂), 3.05-3.00 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 151.6, 150.0, 138.7, 133.7, 128.8, 128.5, 127.1, 124.9, 123.1, 117.0, 34.5, 32.3; **logP** = 3.61.

4-(3-Chlorfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bb

$C_{14}H_{11}ClN_2S$; Mr = 274.77 g/mol; Výtěžek 51 %, bílé krystaly; t.t. = 42-44 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2234 (CN); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.45 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.43 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.27-7.22 (m, 4H, H_5 , H_{Ar}), 7.13-7.09 (m, 1H, H_{Ar}), 3.29-3.23 (m, 2H, CH_2), 3.00 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 151.2, 150.1, 140.6, 134.5, 133.8, 130.0, 128.7, 127.3, 126.7, 124.9, 123.1, 116.9, 34.1, 32.0; **logP** = 4.16.

4-(4-Chlorfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bc

$C_{14}H_{11}ClN_2S$; Mr = 274.77 g/mol; Výtěžek 65 %, bílé krystaly; t.t. = 91-92 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2238 (CN); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.44 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.43 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.31-7.28 (m, 2H, H_{Ar}), 7.25 (ddd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_5), 7.17-7.14 (m, 2H, H_{Ar}), 3.24 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2), 2.99 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 151.3, 150.1, 137.1, 133.7, 132.9, 129.8, 128.9, 124.9, 123.1, 117.0, 33.7, 32.1; **logP** = 4.16.

4-(4-Fluorfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Be

$C_{14}H_{11}FN_2S$; Mr = 258.32 g/mol; Výtěžek 65 %, bílé krystaly; t.t. = 45-46 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2234 (CN); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.48 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.49 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.34 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H_5), 7.29-7.19 (m, 2H, H_{Ar}), 7.11-7.01 (m, 2H, H_{Ar}), 3.29 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2), 3.04 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 161.9 (d, $J = 245.9$ Hz), 151.4, 150.1, 134.4, 133.8, 130.0 (d, $J = 8.0$ Hz), 124.9, 123.1, 117.0, 115.6 (d, $J = 21.6$ Hz), 33.6, 32.4; **logP** = 3.76.

4-(3-Bromfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bf

$C_{14}H_{11}BrN_2S$; Mr = 319.23 g/mol; Výtěžek 42 %, bílé krystaly; t.t. = 44-46 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2243 (CN); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.45 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.43 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.42-7.38 (m, 2H, H_{Ar}), 7.26 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H_5), 7.23-7.13 (m, 2H, H_{Ar}), 3.28-3.23 (m, 2H, CH_2), 3.02-2.97 (m, 2H, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 151.2, 150.1, 140.9, 133.8, 131.6, 130.3, 130.2, 127.2, 124.9, 123.1, 122.8, 116.9, 34.01, 32.0; **logP** = 4.43.

4-(4-Bromfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bg

$C_{14}H_{11}BrN_2S$; Mr = 319.23 g/mol; Výtěžek 45 %, bílé krystaly; t.t. = 87-89 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2236 (CN); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.45 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.47-7.43 (m, 3H, H_3 , H_{Ar}), 7.27-7.24 (m, 1H, H_5), 7.10 (dd, 2H, $J = 8.0$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_{Ar}), 3.25 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2), 2.29 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 151.3, 150.1, 137.5, 133.8, 131.9, 130.2, 124.9, 123.1, 121.0, 117.0, 33.8, 32.0; **logP** = 4.43.

4-(4-Methylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bi

$C_{15}H_{14}N_2S$; Mr = 254.36 g/mol; Výtěžek 47 %, bílé krystaly; t.t. = 40-41 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2237 (CN); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.43 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_6), 7.40 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H_3), 7.25 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H_5), 7.14-7.11 (m, 4H, H_{Ar}), 3.27-3.22 (m, 2H, CH_2), 2.98 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH_2), 2.34 (s, 3H, CH_3); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 151.7, 150.0, 136.7, 135.6, 133.6, 129.4, 128.4, 124.9, 123.1, 117.0, 34.1, 32.5, 21.0; **logP** = 4.09.

4-(3-Trifluormethylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bj

$C_{15}H_{11}F_3N_2S$; Mr = 308.33 g/mol; Výtěžek 35 %, bílé krystaly; t.t. = 46-48 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2239 (CN), 1344 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.45 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.55-7.40 (m, 5H, H₃, H_{Ar}), 7.26 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 3.32-3.27 (m, 2H, CH₂), 3.12-3.07 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 151.1, 150.2, 139.5, 133.8, 132.0, 131.1 (q, $J = 32,35$ Hz), 129.3, 125.3 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.9, 124.0 (q, $J = 3.7$ Hz), 123.9 (q, $J = 272.5$ Hz), 123.1, 116.9, 34.3, 31.9; **logP** = 4.53.

4-(4-Trifluormethylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bk

$C_{15}H_{11}F_3N_2S$; Mr = 308.33 g/mol; Výtěžek 50 %, bílé krystaly; t.t. = 39-41 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2240 (CN), 1321 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.46 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.60 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, H_{Ar}), 7.45 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.35 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, H_{Ar}), 7.26 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 3.29 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH₂), 3.09 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 151.1, 150.2, 142.6, 133.9, 129.5 (q, $J = 32.5$ Hz), 128.9, 125.8 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.9, 124.0 (q, $J = 272.9$ Hz), 123.1, 117.0, 34.2, 31.8; **logP** = 4.53.

4-(3-Nitrofenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bn

$C_{14}H_{11}N_3O_2S$; Mr = 285.33 g/mol; Výtěžek 33 %, bílé krystaly; t.t. = 97-98 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2241 (CN), 1516 (NO₂), 1357 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 8.16-8.10 (m, 2H, H_{Ar}), 7.59-7.49 (m, 2H, H_{Ar}), 7.46 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.28 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 2.0$ Hz, H₅), 3.36-3.30 (m, 2H, CH₂), 3.18-3.13 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 150.8, 150.2, 148.4, 140.5, 134.8, 133.8, 129.8, 124.9, 123.4, 123.1, 122.2, 116.9, 33.9, 31.7; **logP** = 3.64.

4-(4-Nitrofenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Bo

$C_{14}H_{11}N_3O_2S$; Mr = 285.33 g/mol; Výtěžek 42 %, bílé krystaly; t.t. = 101-103 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2243 (CN), 1516 (NO₂), 1348 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.47 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.22-8.17 (m, 2H, H_{Ar}), 7.46 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 7.42-7.39 (m, 2H, H_{Ar}), 7.28 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 3.32 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH₂), 3.15 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 151.0, 150.1, 147.1, 146.1, 133.7, 129.4, 125.0, 124.0, 123.1, 116.8, 34.0, 31.5; **logP** = 3.64.

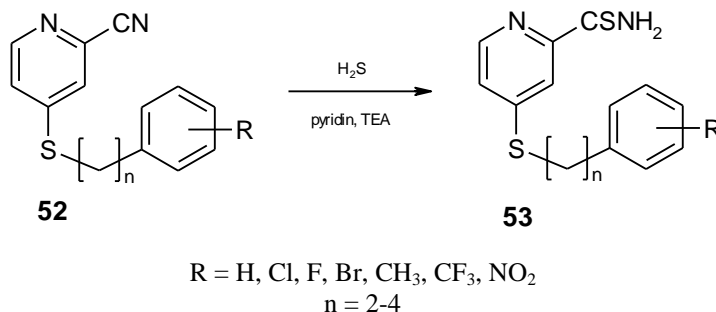
4-(3-Fenylpropylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Ca

$C_{15}H_{14}N_2S$; Mr = 254.36 g/mol; Výtěžek 73 %, bílé krystaly; t.t. = 54-56 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2232 (CN), **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.40 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.37 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.35-7.17 (m, 6H, H₅, H_{Ar}), 2.97 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, CH₂), 2.80 (t, 2H, $J = 7.3$ Hz, CH₂), 2.05 (qu, 2H, $J = 7.3$ Hz, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 151.7, 150.0, 140.2, 133.7, 128.6, 128.4, 126.4, 124.8, 123.1, 117.0, 34.5, 29.6, 29.6; **logP** = 4.02.

4-(4-Fenylbutylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 52Da

$C_{16}H_{16}N_2S$; Mr = 268.38 g/mol; Výtěžek 58 %, bílé krystaly; t.t. = 40-42 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2236 (CN); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.42 (dd, 1H, $J = 5.4$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.42 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.33-7.16 (m, 6H, H₅, H_{Ar}), 3.02-2.97 (m, 2H, CH₂), 2.70-2.65 (m, 2H, CH₂), 1.88-1.70 (m, 4H, 2x CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.0, 150.0, 141.4, 133.6, 128.4, 128.3, 126.0, 124.8, 123.0, 117.1, 35.2, 30.6, 30.3, 27.5; **logP** = 4.44.

5.6 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidů



Příslušný nitril **52** (0,6 mmol) byl rozpuštěn ve směsi bezvodého pyridinu (6,0 ml) a bezvodého triethylaminu (0,6 ml). Do roztoku byl zaváděn suchý sulfan. Reakční směs byla zahřívána na 40-50 °C 4-5 hodin. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě hexan : ethyl-acetát 2:1. Po ukončení reakce byl roztok nalit do destilované vody (150 ml) a ponechán přes noc v mrazničce. Vyloučený produkt byl odfiltrován, vysušen a krystalován z ethanolu.

4-(Fenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid **53Ba**

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{S}_2$; Mr = 274.41 g/mol; Výtěžek 50 %, žluté krystaly; t.t. = 85-87 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3331 (N-H), 3267 (N-H), 3163 (N-H), 1625 (NH_2); **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.50 (s, 1H, NH), 8.60 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H_3), 8.27 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H_6), 7.73 (s, 1H, NH), 7.37-7.26 (m, 5H, H_{Ar}), 7.24 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H_5), 3.33-3.28 (m, 2H, CH_2), 3.05-3.00 (m, 2H, CH_2); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 195.7, 151.0, 150.2, 146.6, 139.2, 128.7, 128.6, 126.8, 123.0, 121.3, 34.8, 32.2; **logP** = 3.04.

4-(3-Chlorfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid **53Bb**

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{S}_2$; Mr = 308.85 g/mol; Výtěžek 72 %, žluté krystaly; t.t. = 86-88 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3332 (N-H), 3265 (N-H), 3166 (N-H), 1625 (NH_2); **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.50 (s, 1H, NH), 8.58 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.4$ Hz, H_3), 8.28 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H_6), 7.76 (s, 1H, NH), 7.29-7.15 (m, 5H, H_5 , H_{Ar}), 3.32-3.26 (m, 2H, CH_2), 3.02-2.97 (m, 2H, CH_2); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 195.6, 150.6, 150.2, 146.7, 141.1, 134.4, 130.0, 128.8, 127.0, 126.8, 123.1, 121.2, 34.5, 31.9; **logP** = 3.60.

4-(4-Chlorfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid **53Bc**

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{S}_2$; Mr = 308.85 g/mol; Výtěžek 60 %, žluté krystaly; t.t. = 113-115 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3355 (N-H), 3228 (N-H), 3136 (N-H), 1607 (NH_2); **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.50 (s, 1H, NH), 8.58 (dd, 1H, $J = 1.7$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_3), 8.27 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_6), 7.77 (s, 1H, NH), 7.31-7.26 (m, 2H, H_{Ar}), 7.24-7.20 (m, 3H, H_5 , H_{Ar}), 3.30-3.25 (m, 2H, CH_2), 3.02-2.97 (m, 2H, CH_2); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 195.5, 150.7, 150.1, 146.6, 137.6, 132.6, 130.0, 128.8, 123.1, 121.2, 34.2, 32.0; **logP** = 3.60.

4-(4-Fluorfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Be

$C_{14}H_{13}FN_2S_2$; Mr = 292.40 g/mol; Výtěžek 73 %, žluté krystaly; t.t. = 109-110 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3378 (N-H), 3240 (N-H), 3143 (N-H), 1612 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.51 (s, 1H, NH), 8.58 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 8.27 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.79 (s, 1H, NH), 7.26-7.22 (m, 3H, H₅, H_{Ar}), 7.04-6.98 (m, 2H, H_{Ar}), 3.30-3.25 (m, 2H, CH₂), 2.99 (t, 2H, $J = 7.4$ Hz, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.5, 161.8 (d, $J = 244.7$ Hz), 150.9, 150.1, 146.5, 134.8 (d, $J = 3.3$ Hz), 130.1 (d, $J = 8.1$ Hz), 123.1, 121.2, 115.5 (d, $J = 21.5$ Hz), 34.0, 32.3; **logP** = 3.02.

4-(3-Bromfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bf

$C_{14}H_{13}BrN_2S_2$; Mr = 353.31 g/mol; Výtěžek 72 %, žluté krystaly; t.t. = 94-96 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3331 (N-H), 3263 (N-H), 3165 (N-H), 1624 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.49 (s, 1H, NH), 8.58 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 8.28 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 7.74 (s, 1H, NH), 7.44-7.37 (m, 2H, H_{Ar}), 7.25-7.20 (m, 3H, H₅, H_{Ar}), 3.31-3.26 (m, 2H, CH₂), 3.01-2.97 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.6, 150.6, 150.2, 146.7, 141.4, 131.7, 130.3, 130.0, 127.3, 123.1, 122.7, 121.2, 34.5, 31.9; **logP** = 3.87.

4-(4-Bromfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bg

$C_{14}H_{13}BrN_2S_2$; Mr = 353.31 g/mol; Výtěžek 91 %, žluté krystaly; t.t. = 126-128 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3335 (N-H), 3266 (N-H), 3162 (N-H), 1624 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.52 (s, 1H, NH), 8.58 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 8.28 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.75 (s, 1H, NH), 7.47-7.43 (m, 2H, H_{Ar}), 7.23 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 7.18-7.13 (m, 2H, H_{Ar}), 3.30-3.25 (m, 2H, CH₂), 3.01-2.95 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.4, 150.8, 150.1, 146.5, 138.1, 131.8, 130.4, 123.2, 121.2, 120.7, 34.2, 32.0; **logP** = 3.87.

4-(4-Methylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bi

$C_{15}H_{16}N_2S_2$; Mr = 288.44 g/mol; Výtěžek 56 %, žluté krystaly; t.t. = 127-130 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3303 (N-H), 3158 (N-H), 1633 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.50 (s, 1H, NH), 8.59 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 8.27 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.76 (s, 1H, NH), 7.23 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 7.20-7.11 (m, 4H, H_{Ar}), 3.31-3.26 (m, 2H, CH₂), 3.01-2.96 (m, 2H, CH₂), 2.34 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.7, 151.1, 150.1, 146.6, 136.4, 136.1, 129.4, 128.5, 123.0, 121.3, 34.3, 32.3, 21.0; **logP** = 3.53.

4-(3-Trifluormethylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bj

$C_{15}H_{13}F_3N_2S_2$; Mr = 342.41 g/mol; Výtěžek 72 %, žluté krystaly; t.t. = 75-76 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3384 (N-H), 3235 (N-H), 3133 (N-H), 1599 (NH₂), 1346 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.49 (s, 1H, NH), 8.59 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 8.28 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.74 (s, 1H, NH), 7.53-7.45 (m, 4H, H_{Ar}), 7.24 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 3.35-3.30 (m, 2H, CH₂), 3.12-3.06 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.6, 150.4, 150.2, 146.7, 140.0, 132.1, 131.0 (q, $J = 32,25$ Hz), 129.2, 125.4 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.0 (q, $J = 272.4$ Hz), 123.7 (q, $J = 3.7$ Hz), 123.2, 121.2, 34.6, 31.9; **logP** = 3.96.

4-(4-Trifluormethylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bk

$C_{15}H_{13}F_3N_2S_2$; Mr = 342.41 g/mol; Výtěžek 77 %, žluté krystaly; t.t. = 131-133 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3332 (N-H), 3224 (N-H), 3131 (N-H), 1616 (NH₂), 1322 (CF₃); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.51 (s, 1H, NH), 8.59 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 8.28 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.78 (s, 1H, NH), 7.59 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.40 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}), 7.24 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 3.35-3.30 (m, 2H, CH₂), 3.11-3.06 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.4, 150.6, 150.1, 146.6, 143.1, 129.0, 128.7 (q, $J = 32.4$ Hz), 125.6 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.1 (q, $J = 273.1$ Hz), 123.2, 121.1, 34.6, 31.8; **logP** = 3.96.

4-(3-Nitrofenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bn

$C_{14}H_{13}N_3S_2O_2$; Mr = 319.41 g/mol; Výtěžek 50 %, žluté krystaly; t.t. = 112-115 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3381 (N-H), 3266 (N-H), 3185 (N-H), 1609 (NH₂), 1524 (NO₂), 1349 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.48 (s, 1H, NH), 8.57 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 8.29 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 8.15-8.03 (m, 2H, H_{Ar}), 7.75 (s, 1H, NH), 7.66-7.51 (m, 2H, H_{Ar}), 7.24 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 3.38-3.33 (m, 2H, CH₂), 3.17-3.12 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.5, 150.3, 150.1, 148.4, 146.8, 141.0, 135.0, 129.7, 123.6, 123.3, 122.0, 121.0, 34.4, 31.7; **logP** = 3.07.

4-(4-Nitrofenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Bo

$C_{14}H_{13}N_3O_2S_2$; Mr = 319.41 g/mol; Výtěžek 66 %, žluté krystaly; t.t. = 186-188 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3364 (N-H), 3329 (N-H), 3132 (N-H), 1607 (NH₂), 1515 (NO₂), 1344 (NO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.50 (s, 1H, NH), 8.58 (dd, 1H, $J = 1.8$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 8.29 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 8.21-8.17 (m, 2H, H_{Ar}), 7.76 (s, 1H, NH), 7.47-7.44 (m, 2H, H_{Ar}), 7.25 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.8$ Hz, H₅), 3.37-3.32 (m, 2H, CH₂), 3.17-3.12 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.4, 150.3, 150.2, 146.7, 146.6, 129.6, 124.0, 123.3, 121.0, 34.6, 31.5; **logP** = 3.96.

4-(3-Fenylpropylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Ca

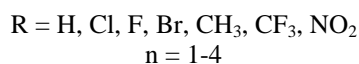
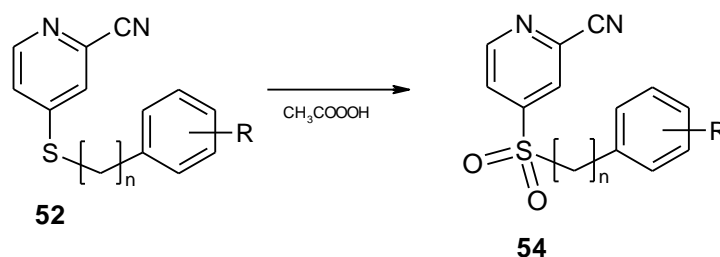
$C_{15}H_{16}N_2S_2$; Mr = 288.44 g/mol; Výtěžek 86 %, žluté krystaly; t.t. = 143-144 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3310 (N-H), 3154 (N-H), 1628 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.49 (s, 1H, NH), 8.54 (dd, 1H, $J = 1.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₃), 8.25 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H₆), 7.76 (s, 1H, NH), 7.34-7.19 (m, 5H, H_{Ar}), 7.17 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 1.9$ Hz, H₅), 3.07-3.02 (m, 2H, CH₂), 2.84-2.79 (m, 2H, CH₂), 2.12-2.05 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.7, 151.2, 150.1, 146.6, 140.6, 128.5, 128.5, 126.2, 122.8, 121.6, 34.7, 29.9, 29.8; **logP** = 3.46.

4-(4-Fenylbutylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamid 53Da

$C_{16}H_{18}N_2S_2$; Mr = 302.46 g/mol; Výtěžek 77 %, žluté krystaly; t.t. = 90-92 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 3333 (N-H), 3170 (N-H), 1617 (NH₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.49 (s, 1H, NH), 8.53 (dd, 1H, $J = 2.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₃), 8.25 (dd, 1H, $J = 5.3$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 7.78 (s, 1H, NH), 7.32-7.27 (m, 2H, H_{Ar}), 7.21-7.17 (m, 4H, H₅, H_{Ar}), 3.06 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH₂), 2.68 (t, 2H, $J = 7.1$ Hz, CH₂), 1.86-1.75 (m, 4H, 2x CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 195.7, 151.4, 150.0, 146.5, 141.7, 128.4, 128.3, 125.9, 122.8, 121.5, 35.3, 30.6, 30.4, 27.8; **logP** = 3.87.

5.7 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)/4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilů/ -2-karbothioamidů

5.7.1 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)pyridin-2-karbonitrilů



0,8 mmol Příslušného nitrilu **52** bylo rozpuštěno v 6 ml kyseliny peroxyoctové. Reakční směs byla míchána za lab. teploty asi 4 hodiny a poté byla nalita do destilované vody a ponechána přes noc v lednici. Vyloučené krystaly byly odfiltrovány a krystalovány z ethanolu.

4-(Fenylethylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril **54Ba**

C₁₄H₁₂N₂O₂S; Mr = 272.33 g/mol; Výtěžek 94 %, bílé krystaly; t.t. = 93-94 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2249 (CN), 1316 (SO₂), 1146 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.95 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₆), 8.01 (dd, 1H, *J* = 1.6 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₃), 7.92 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 1.5 Hz, H₅), 7.29-7.25 (m, 3H, H_{Ar}), 7.13-7.10 (m, 2H, H_{Ar}), 3.55-3.50 (m, 2H, CH₂), 3.18-3.12 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.3, 149.0, 135.9, 135.3, 128.9, 128.4, 127.5, 125.9, 124.2, 115.8, 57.0, 28.6; **logP** = 2.05.

4-(3-Chlorfenylethylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril **54Bb**

C₁₄H₁₁ClN₂O₂S; Mr = 306.77 g/mol; Výtěžek 87 %, bílé krystaly; t.t. = 99-100 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2245 (CN), 1326 (SO₂), 1141 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.97 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₆), 8.03 (dd, 1H, *J* = 1.6 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₃), 7.91 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 1.6 Hz, H₅), 7.22-7.20 (m, 2H, H_{Ar}), 7.08 (s, 1H, H_{Ar}), 7.03-7.00 (m, 1H, H_{Ar}), 3.49-3.44 (m, 2H, CH₂), 3.13-3.08 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.5, 148.8, 138.0, 135.4, 134.8, 130.3, 128.5, 127.7, 126.6, 125.8, 124.2, 115.7, 56.6, 28.1; **logP** = 2.60.

4-(4-Chlorfenylethylsulfonil)pyridin-2-karbonitril 54Bc

$C_{14}H_{11}ClN_2O_2S$; Mr = 306.77 g/mol; Výtěžek 86 %, bílé krystaly; t.t. = 117-119 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2244 (CN), 1312 (SO₂), 1152 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.99 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₆), 8.08 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.93 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.27-7.23 (m, 2H, H_{Ar}), 7.08-7.04 (m, 2H, H_{Ar}), 3.47-3.41 (m, 2H, CH₂), 3.13-3.07 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.5, 148.8, 135.5, 134.6, 133.4, 129.7, 129.1, 125.9, 124.3, 115.7, 56.9, 27.8; **logP** = 2.60.

4-(4-Fluorfenylethylsulfonil)pyridin-2-karbonitril 54Be

$C_{14}H_{11}FN_2O_2S$; Mr = 290.32 g/mol; Výtěžek 92 %, bílé krystaly; t.t. = 90-91 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2244 (CN), 1327 (SO₂), 1141 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.98 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₆), 8.07 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.7$ Hz, H₃), 7.93 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.11-7.06 (m, 2H, H_{Ar}), 6.98-6.92 (m, 2H, H_{Ar}), 3.47-3.41 (m, 2H, CH₂), 3.12-3.06 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 161.9 (d, $J = 245.9$ Hz), 152.5, 148.8, 135.4, 131.8 (d, $J = 3.4$ Hz), 129.9 (d, $J = 8.0$ Hz), 125.9, 124.3, 115.9 (d, $J = 21.5$ Hz), 57.0, 27.6; **logP** = 2.20.

4-(3-Bromfenylethylsulfonil)pyridin-2-karbonitril 54Bf

$C_{14}H_{11}BrN_2O_2S$; Mr = 351.22 g/mol; Výtěžek 93 %, bílé krystaly; t.t. = 125-126 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2244 (CN), 1326 (SO₂), 1142 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.97 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H₆), 8.03 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.91 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.36 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_{Ar}), 7.23 (s, 1H, H_{Ar}), 7.14 (t, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_{Ar}), 7.06 (d, 1H, $J = 7.9$ Hz, H_{Ar}), 3.49-3.44 (m, 2H, CH₂), 3.13-3.08 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.4, 148.8, 138.3, 135.4, 131.4, 130.7, 130.5, 127.1, 125.8, 124.2, 122.9, 115.7, 56.6, 28.1; **logP** = 2.87.

4-(4-Methylfenylethylsulfonil)pyridin-2-karbonitril 54Bi

$C_{15}H_{14}N_2O_2S$; Mr = 286.36 g/mol; Výtěžek 47 %, bílé krystaly; t.t. = 96-97 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2242 (CN), 1319 (SO₂), 1140 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.90 (dd, 1H, $J = 4.9$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₆), 7.90 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.87 (dd, 1H, $J = 4.9$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.02 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, H_{Ar}), 6.94 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, H_{Ar}), 3.51-3.46 (m, 2H, CH₂), 3.10-3.05 (m, 2H, CH₂), 2.30 (s, 3H, CH₃); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.2, 149.0, 137.3, 135.2, 132.8, 129.6, 128.3, 125.9, 124.2, 115.7, 57.1, 28.3, 21.0; **logP** = 3.53.

4-(3-Trifluormethylfenylethylsulfonil)pyridin-2-karbonitril 54Bj

$C_{15}H_{11}F_3N_2O_2S$; Mr = 340.33 g/mol; Výtěžek 93 %, bílé krystaly; t.t. = 112-114 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2247 (CN), 1342 (CF₃), 1328 (SO₂), 1146 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.97 (d, 1H, $J = 5.0$ Hz, H₆), 8.06 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.93 (ddd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₅), 7.52-7.33 (m, 4H, H_{Ar}), 3.52-3.46 (m, 2H, CH₂), 3.23-3.18 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.6, 148.7, 137.1, 135.5, 131.9, 131.4 (q, $J = 32.2$ Hz), 129.6, 125.8, 125.1 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.4 (q, $J = 3.7$ Hz), 124.2, 123.7 (q, $J = 272.9$ Hz), 115.7, 56.6, 28.2; **logP** = 2.97.

4-(4-Trifluormethylfenylethylsulfonil)pyridin-2-karbonitril 54Bk

$C_{15}H_{11}F_3N_2O_2S$; Mr = 340.33 g/mol; Výtěžek 80 %, bílé krystaly; t.t. = 100-101 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2250 (CN), 1326 (CF₃), 1326 (SO₂), 1124 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.99 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₆), 8.12 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.95 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.55 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, H_{Ar}), 7.28-7.25 (m, 2H,

H_{Ar}), 3.49-3.43 (m, 2H, CH₂), 3.22-3.16 (m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.6, 148.7, 140.2, 135.6, 129.9 (q, *J* = 32.5 Hz), 128.8, 125.9 (q, *J* = 3.7 Hz), 124.3, 123.8 (q, *J* = 272.4 Hz), 115.7, 56.6, 28.1; logP = 2.97.

4-(3-Nitrofenylethylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril 54Bn

C₁₄H₁₁N₂O₄S; Mr = 317.33 g/mol; Výtěžek 90 %, bílé krystaly; t.t. = 145-147 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 2245 (CN), 1522 (NO₂), 1354 (NO₂), 1328 (SO₂), 1144 (SO₂); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.03 (td, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 0.7 Hz, H₆), 8.15-8.11 (m, 2H, H₃, H_{Ar}), 8.08-8.01 (m, 1H, H_{Ar}), 8.00 (ddd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 1.7 Hz, *J* = 0.6 Hz, H₅), 7.54-7.51 (m, 2H, H_{Ar}), 3.52-3.46 (m, 2H, CH₂), 3.30-3.24 (m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.7, 148.6, 138.3, 134.6, 130.1, 125.9, 124.3, 123.2, 122.6, 100.1, 56.4, 27.8; logP = 2.08.

4-(4-Nitrofenylethylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril 54Bo

C₁₄H₁₁N₃O₄S; Mr = 317.33 g/mol; Výtěžek 96 %, bílé krystaly; t.t. = 144-145 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 2241 (CN), 1515 (NO₂), 1349 (NO₂), 1323 (SO₂), 1149 (SO₂); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.04 (d, 1H, *J* = 4.9 Hz, H₆), 8.18-8.15 (m, 3H, H₃, H_{Ar}), 8.01 (d, 1H, *J* = 4.9 Hz, H₅), 7.36 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz, H_{Ar}), 3.49-3.43 (m, 2H, CH₂), 3.28-2.22 (m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 153.1, 148.3, 146.5, 145.8, 134.2, 130.3, 126.7, 125.3, 123.5, 116.7, 53.7, 27.8; logP = 2.08.

4-(Benzylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril 54Aa

C₁₃H₁₀N₂O₂S; Mr = 258.31 g/mol; Výtěžek 89 %, bílé krystaly; t.t. = 100-101 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 2244 (CN), 1320 (SO₂), 1139 (SO₂); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.86 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 0.9 Hz, H₆), 7.76 (dd, 1H, *J* = 1.6 Hz, *J* = 0.9 Hz, H₃), 7.63 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 1.6 Hz, H₅), 7.43-7.29 (m, 3H, H_{Ar}), 7.12-7.08 (m, 2H, H_{Ar}), 4.40 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.1, 147.2, 135.0, 130.7, 129.7, 129.1, 126.5, 126.4, 124.9, 115.7, 62.5; logP = 1.77.

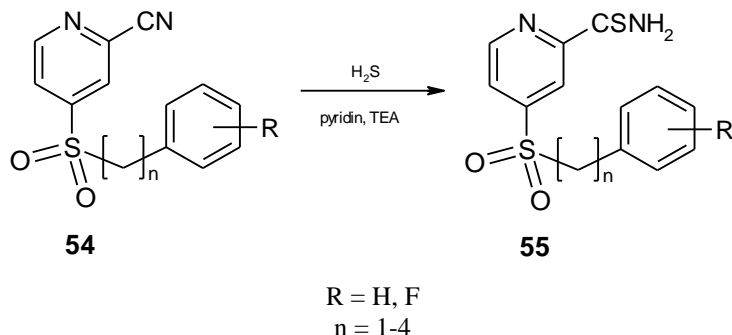
4-(3-Fenylpropylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril 54Ca

C₁₅H₁₄N₂O₂S; Mr = 286.36 g/mol; Výtěžek 91 %, bílé krystaly; t.t. = 59-60 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 2243 (CN), 1325 (SO₂), 1140 (SO₂); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.94 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₆), 8.02 (dd, 1H, *J* = 1.6 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₃), 7.87 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 1.6 Hz, H₅), 7.24-7.17 (m, 3H, H_{Ar}), 7.06-7.02 (m, 2H, H_{Ar}), 3.09-3.01 (m, 2H, CH₂), 2.71-2.66 (m, 2H, CH₂), 2.07-1.97 (m, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.5, 148.7, 139.0, 135.5, 128.8, 128.3, 126.8, 125.9, 124.4, 115.8, 54.7, 33.8, 23.8; logP = 2.46.

4-(4-Fenylbutylsulfonyl)pyridin-2-karbonitril 54Da

C₁₆H₁₆N₂O₂S; Mr = 300.38 g/mol; Výtěžek 96 %, bílé krystaly; t.t. = 68-69 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 2245 (CN), 1322 (SO₂), 1137 (SO₂); ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.99 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₆), 8.09 (dd, 1H, *J* = 1.6 Hz, *J* = 0.8 Hz, H₃), 7.92 (dd, 1H, *J* = 5.0 Hz, *J* = 1.6 Hz, H₅), 7.31-7.18 (m, 3H, H_{Ar}), 7.11 (d, 2H, *J* = 7.3 Hz, H_{Ar}), 3.17-3.12 (m, 2H, CH₂), 2.63-2.61 (m, 2H, CH₂), 1.78-1.73 (m, 4H, 2x CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 152.5, 148.7, 140.6, 135.5, 128.5, 128.3, 126.3, 125.9, 124.4, 115.8, 55.5, 35.0, 29.6, 21.8; logP = 2.88.

5.7.2 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamidů



Příslušný sulfon-nitril **54** (0,6 mmol) byl rozpuštěn ve směsi bezvodého pyridinu (6,0 ml) a bezvodého triethylaminu (0,6 ml). Do roztoku byl zaváděn suchý sulfan. Reakční směs byla zahřívána na 40-50 °C 4-5 hodin. Poté byl roztok nalit do destilované vody (150 ml) a ponechán přes noc v mrazničce. Vyloučený produkt byl odfiltrován, vysušen a krystalován z ethanolu.

4-(Fenylethylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamid **55Ba**

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$; Mr = 306.41 g/mol; Výtěžek 57 %, žluté krystaly; t.t. = 169-171 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3398 (N-H), 3287 (N-H), 3187 (N-H), 1606 (NH_2); 1313 (SO_2), 1126 (SO_2); **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.36 (s, 1H, NH), 9.11 (dd, 1H, $J = 1.7$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_3), 8.75 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_6), 7.91 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.7$ Hz, H_5), 7.79 (s, 1H, NH), 7.28-7.19 (m, 3H, H_{Ar}), 7.13-7.10 (m, 2H, H_{Ar}), 3.50-3.44 (m, 2H, CH_2), 3.14-3.08 (m, 2H, CH_2); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 193.3, 152.0, 148.7, 136.5, 128.9, 128.3, 127.2, 123.4, 122.8, 56.8, 28.4; **logP** = 1.48.

4-(4-Fluorfenylethylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamid **55Be**

$\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}_2$; Mr = 324.40 g/mol; Výtěžek 60 %, žluté krystaly; t.t. = 130-132 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3369 (N-H), 3266 (N-H), 3140 (N-H), 1607 (NH_2), 1321 (SO_2), 1128 (SO_2); **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.36 (s, 1H, NH), 9.10-9.09 (m, 1H, H_3), 8.77 (dd, 1H, $J = 4.9$ Hz, $J = 0.5$ Hz, H_6), 7.91 (dd, 1H, $J = 4.9$ Hz, $J = 1.7$ Hz, H_5), 7.82 (s, 1H, NH), 7.11-7.07 (m, 2H, H_{Ar}), 6.96-6.91 (m, 2H, H_{Ar}), 3.47-3.42 (m, 2H, CH_2), 3.12-3.07 (m, 2H, CH_2); **$^{13}\text{C-NMR}$** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 193.2, 161.8 (d, $J = 245.7$ Hz), 152.0, 148.8, 148.7, 132.2 (d, $J = 3.3$ Hz), 129.9 (d, $J = 8.1$ Hz), 123.4, 122.7, 115.8 (d, $J = 21.6$ Hz), 56.8, 27.6; **logP** = 1.64.

4-(Benzylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamid **55Aa**

$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$; Mr = 292.39 g/mol; Výtěžek 73 %, žluté krystaly; t.t. = 198-200 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3430 (N-H), 3315 (N-H), 3171 (N-H), 1594 (NH_2), 1297 (SO_2), 1115 (SO_2); **$^1\text{H-NMR}$** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.33 (s, 1H, NH), 8.97 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_3), 8.62 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_6), 7.71 (s, 1H, NH), 7.54 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$

Hz, H₅), 7.36-7.27 (m, 3H, H_{Ar}), 7.16-7.13 (m, 2H, H_{Ar}), 4.41 (s, 2H, CH₂); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 193.3, 151.7, 148.2, 147.4, 130.8, 129.4, 129.0, 126.8, 124.2, 123.2, 62.3; **logP** = 1.20.

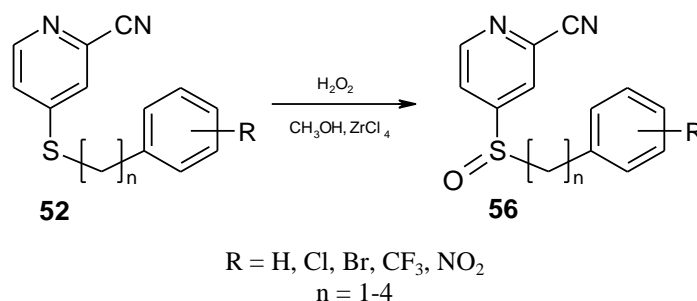
4-(3-Fenylpropylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamid **55Ca**

C₁₅H₁₆N₂O₂S₂; Mr = 320.43 g/mol; Výtěžek 43 %, žluté krystaly; t.t. = 104-106 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3371 (N-H), 3230 (N-H), 3134 (N-H), 1607 (NH₂) 1322 (SO₂), 1138 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.36 (s, 1H, NH), 9.08 (s, 1H, H₃), 8.77-8.74 (m, 1H, H₆), 7.90-7.87 (m, 1H, H₅), 7.78 (s, 1H, NH), 7.29-7.19 (m, 3H, H_{Ar}), 7.11-7.08 (m, 2H, H_{Ar}), 3.16-3.10 (m, 2H, CH₂), 2.72 (t, 2H, J = 7.4 Hz, CH₂), 2.12-2.02 (m, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 193.4, 152.0, 148.8, 148.6, 139.3, 128.7, 128.4, 126.8, 123.5, 122.7, 54.7, 33.9, 23.8; **logP** = 1.90.

4-(4-Fenylbutylsulfonyl)pyridin-2-karbothioamid **55Da**

C₁₆H₁₈N₂O₂S₂; Mr = 334.46 g/mol; Výtěžek 45 %, žluté krystaly; t.t. = 119-121 °C; **IR** (KBr) ν_{max} (cm⁻¹) 3459 (N-H), 3333 (N-H), 3178 (N-H), 1593 (NH₂), 1311 (SO₂), 1126 (SO₂); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.38 (s, 1H, NH), 9.11 (dd, 1H, J = 1.7 Hz, J = 0.8 Hz, H₃), 8.77 (dd, 1H, J = 4.9 Hz, J = 0.8 Hz, H₆), 7.90 (ddd, 1H, J = 4.9 Hz, J = 1.7 Hz, J = 0.7 Hz, H₅), 7.81 (s, 1H, NH), 7.29-7.18 (m, 3H, H_{Ar}), 7.12-7.10 (m, 2H, H_{Ar}), 3.20-3.15 (m, 2H, CH₂), 2.64-2.59 (m, 2H, CH₂), 1.82-1.72 (m, 4H, 2x CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 193.4, 152.0, 148.7, 148.7, 140.9, 128.5, 128.3, 126.1, 123.5, 122.7, 55.4, 35.1, 29.8, 21.8; **logP** = 2.31.

5.7.3 Příprava 4-(subst. fenylalkylsulfinyl)pyridin-2-karbonitrilů



K roztoku 0,5 mmol příslušného nitrilu **52** ve 4 ml methanolu bylo přidáno 0,4 ml (3,5 mmol) 30% H₂O₂ a 0,93 g (1 mmol) ZrCl₄. Reakční směs byla míchána za laboratorní teploty 1-2,5 hodiny. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC v soustavě hexan : ethylacetát, 1:1. Reakční směs byla poté nalita do destilované vody a ponechána přes noc v mrazničce. Vyloučený produkt byl odfiltrován, vysušen a čištěn sloupcovou chromatografií v soustavě hexan : ethylacetát, 1:1.

4-(Fenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 56Ba

$C_{14}H_{12}N_2OS$; Mr = 256.33 g/mol; Výtěžek 45 %, bílé krystaly; t.t. = 68-70 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2239 (CN), 1050 (SO); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.78 (td, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H_6), 7.83-7.81 (m, 1H, H_3), 7.67 (ddd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.4$ Hz, H_5), 7.26-7.10 (m, 5H, H_{Ar}), 3.20-2.84 (m, 4H, 2x CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 156.5, 151.4, 137.4, 134.6, 128.9, 128.5, 127.2, 123.1, 121.5, 116.3, 57.6, 27.8; **logP** = 2.00.

4-(3-Chlormethylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 53Bb

$C_{14}H_{11}ClN_2OS$; Mr = 290.77 g/mol; Výtěžek 38 %, bílé krystaly; t.t. = 65-67 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2240 (CN), 1051 (SO); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.87 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_6), 7.90 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_3), 7.73 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H_5), 7.14-7.22 (m, 2H, H_{Ar}), 7.17 (s, 1H, H_{Ar}), 7.09-7.06 (m, 1H, H_{Ar}), 3.25-2.87 (m, 4H, 2x CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 156.3, 151.4, 139.4, 134.7, 130.2, 128.7, 127.4, 126.8, 123.0, 121.4, 116.2, 57.1, 27.4; **logP** = 2.56.

4-(3-Bromfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 53Bf

$C_{14}H_{11}BrN_2OS$; Mr = 319.41 g/mol; Výtěžek 44 %, bílé krystaly; t.t. = 78-80 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2240 (CN), 1047 (SO); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.80 (dd, 1H, $J = 4.8$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H_6), 7.83 (dd, 1H, $J = 1.5$ Hz, $J = 0.6$ Hz, H_3), 7.66 (dd, 1H, $J = 4.8$ Hz, $J = 1.5$ Hz, H_5), 7.32-7.04 (m, 4H, H_{Ar}), 3.18-2.80 (m, 4H, 2x CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 156.3, 151.4, 139.7, 134.7, 131.6, 130.5, 130.4, 127.3, 123.0, 122.9, 121.4, 116.2, 57.1, 27.3; **logP** = 2.83.

4-(3-Trifluormethylfenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 53Bj

$C_{15}H_{11}F_3N_2OS$; Mr = 324.33 g/mol; Výtěžek 58 %, bílé krystaly; t.t. = 68-70 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2244 (CN), 1341 (CF_3), 1073 (SO); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.86 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_6), 7.91 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_3), 7.74 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H_5), 7.53-7.38 (m, 4H, H_{Ar}), 3.30-3.19 (m, 2H, CH_2), 3.14-2.97 (m, 2H, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 156.2, 151.5, 138.5, 134.8, 132.1, 131.3 (q, $J = 32.2$ Hz), 129.5, 125.3 (q, $J = 3.7$ Hz), 123.8 (q, $J = 272.9$ Hz), 124.1 (q, $J = 3.7$ Hz), 123.0, 121.4, 116.2, 57.0, 27.5; **logP** = 2.92.

4-(3-Nitrofenylethylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 53Bn

$C_{14}H_{11}N_3O_3S$; Mr = 301.33 g/mol; Výtěžek 68 %, bílé krystaly; t.t. = 115-117 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2244 (CN), 1520 (NO_2), 1351 (NO_2), 1063 (SO); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.88 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_6), 8.13-8.02 (m, 2H, H_{Ar}), 7.93 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_3), 7.77 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H_5), 7.58-7.48 (m, 2H, H_{Ar}), 3.39-3.20 (m, 2H, CH_2), 3.17-2.99 (m, 2H, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 156.1, 151.6, 148.5, 139.6, 135.0, 134.8, 130.0, 123.4, 123.0, 122.3, 121.5, 116.2, 56.6, 27.4; **logP** = 2.03.

4-(Benzylsulfanyl)pyridin-2-karbonitril 53Aa

$C_{13}H_{10}N_2OS$; Mr = 242.31 g/mol; Výtěžek 45 %, bílé krystaly; t.t. = 109-111 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm^{-1}) 2235(CN), 1051 (SO); **1H -NMR** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 8.73 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_6), 7.51 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H_3), 7.40 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H_5), 7.37-7.27 (m, 3H, H_{Ar}), 6.98-6.95 (m, 2H, H_{Ar}), 4.14 (q, 2H, $J = 12.9$ Hz, CH_2); **^{13}C -NMR** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 155.2, 151.0, 134.1, 130.3, 129.2, 128.9, 127.1, 123.4, 121.8, 116.2, 62.6; **logP** = 1.72.

4-(3-Fenylpropylsulfinyl)pyridin-2-karbonitril 53Ca

C₁₅H₁₄N₂OS; Mr = 270.36 g/mol; Výtěžek 48 %, bílé krystaly; t.t. = 79-81 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2239 (CN), 1056 (SO); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.83 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₆), 7.82 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.67 (dd, 1H, $J = 5.0$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.31-7.19 (m, 3H, H_{Ar}), 7.11 (d, 2H, $J = 7.3$ Hz, H_{Ar}), 2.96-2.86 (m, 1H, CH), 2.80-2.71 (m, 3H, CH, CH₂), 2.28-2.13 (m, 1H, CH), 1.97-1.81 (m, 1H, CH); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 156.6, 151.4, 139.5, 128.7, 128.4, 126.6, 123.1, 121.5, 116.3, 55.3, 34.1; **logP** = 2.42.

4-(4-Fenylbutylsulfinyl)pyridin-2-karbonitril 53Da

C₁₆H₁₆N₂OS; Mr = 284.38 g/mol; Výtěžek 50 %, bílé krystaly; t.t. = 46-48 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 2242 (CN) 1055 (SO); **¹H-NMR** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 8.84 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₆), 7.85 (dd, 1H, $J = 1.6$ Hz, $J = 0.8$ Hz, H₃), 7.69 (dd, 1H, $J = 5.1$ Hz, $J = 1.6$ Hz, H₅), 7.31-7.12 (m, 5H, H_{Ar}), 2.94-2.75 (m, 2H, CH₂), 2.65 (t, 2H, $J = 6.9$ Hz, CH₂), 1.95-1.58 (m, 4H, 2x CH₂); **¹³C-NMR** (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 156.7, 151.4, 141.1, 134.6, 128.5, 128.3, 126.2, 123.0, 121.5, 116.3, 56.4, 35.2, 30.0, 21.4; **logP** = 2.83.

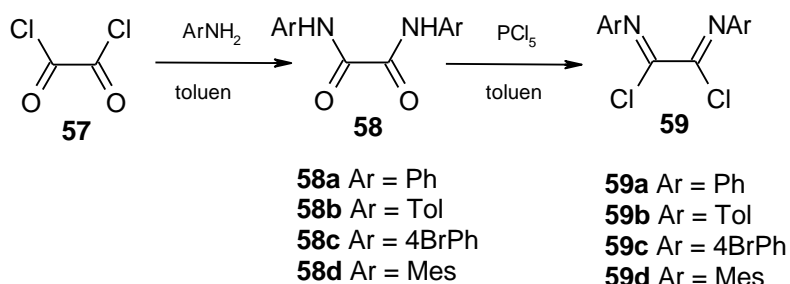
6. Hledání nových struktur potenciálních antituberkulotik

Tato část disertační práce byla vypracována během studijního pobytu na Institutu pro makromolekulární a organickou chemii na Univerzitě Friedricha Schillera v Jeně. Jedná se o hledání nových struktur potenciálních antituberkulotik. Následující látky byly syntetizovány v rámci výzkumného projektu zmíněného institutu a poté byla stanovena jejich antimykobakteriální aktivita v Laboratoři pro diagnostiku mykobakterií v Krajské hygienické stanici v Ostravě.

Všechny použité chemikálie byly buď komerčně dostupné, nebo byly již dříve připraveny na tomto institutu. Průběh reakce a čistota výsledných produktů byly kontrolovány pomocí TLC (Merck TLC silikagelové desky 60 F₂₅₄) v soustavě chloroform : heptan, detekce byla provedena pomocí UV. Pro sloupcovou chromatografii byl použit silikagel (Merck silikagel 60, hrubost 0,040-0,063 mm), Teploty tání připravených látek byly změřeny na digitálním přístroji KSPS 1000 firmy KRÜSS nebo na Kofflerově bloku (*Cambridge Instruments* Galen III). Elementární analýza byla provedena na přístroji vario EL III CHNS firmy *Elementar Analysensysteme GmbH* a naměřené hodnoty jsou v rozmezí $\pm 0.4\%$ od teoretických. Měření IR spekter bylo provedeno přístrojem NICOLET IMPACT 400 v KBr peletách s navázkou 0.7 mg vzorku/250 mg KBr. UV-Vis spektra byla měřena na UNICAM UV 500 spektrometru firmy *Thermo Electron Corporation* a fluorescenční spektra na spektrofluorometru FP-6500 firmy JASCO a na LS 50 B firmy *Perkin Elmer*. Hmotnostní spektra byla měřena na TRIO 2000 firmy *FISONS* nebo na Finnagen MAT SSQ 710. NMR spektra byla měřena na AVANCE 250, *BRUKER*, pracujícím při 250 MHz pro ¹H a při 63 MHz pro ¹³C. Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v parts per million (ppm) a byly nepřímo vztaženy k tetramethylsilanu jako standardu pomocí zbytkového signálu rozpouštědla. NMR analýza byla provedena s roztoky vzorků v chloroformu CDCl₃ (7.26 (¹H), 77.0 (¹³C)). Data jsou prezentována v následujícím pořadí: Chemické posun (δ), multiplicita (s: singlet, d: dublet, t: triplet, m: multiplet), intergrovaná intenzita (v protonových spektrech), interakční konstanty (J) v Hz a přiřazení.

6.1 Příprava bis-elektrofilního činidla

Základem následujících syntéz byla reakce s připraveným bis-elektrofilním činidlem **59**. Bis(arylimidoylchloridy) kyseliny šťavelové (**59**) byly připraveny „one-pot“ reakcí, kdy v prvním kroku proběhla reakce oxalychloridu (**57**) s příslušným anilinem (v poměru 1 : 2) v toluenu, připravený oxalylanilid (**58**) byl bez izolace v druhém kroku převeden s chloridem fosforečným na bis(arylimidoylchlorid) **59**. Reakce probíhala ve velmi vysokých výtěžcích (Schéma 12).



(Schéma 12)

Obecný postup přípravy bis-elektrofilního činidla **59**

Výchozí látka i produkt jsou hygroskopické látky, proto je nutné pracovat v aparatuře s vlhkostním uzávěrem. K roztoku příslušného anilinu (0,5 mol) v toluenu (400 ml) byl v průběhu 10 minut pomalu přidáván oxalychlorid (33 g, 0,26 mol) (**57**) rozpuštěný ve 20 ml toluenu. Reakční směs byla intenzivně míchána pomocí KPG míchadla. Ihned se tvořil oxalylanilid **58**, reakční směs byla míchána ještě 20 minut při lab. teplotě. Poté byl přímo do reakční směsi přidán PCl_5 (105 g, 0,505 mol). Reakční směs byla zahřívána k varu, dokud byl pozorován vývoj HCl . Při této reakci docházelo k intenzivnímu vývoji HCl , který byl odváděn do roztoku NaOH . Po ukončení reakce byla reakční směs ještě za horka zfiltrována přes fritu. Filtrát byl koncentrován za vakua do sucha a surový produkt byl krystalován ze směsi toluen : heptan a krystaly byly následně promývány acetonem.

*N*¹,*N*²-difenyloxaldiimidoyldichlorid **59a**

C₁₄H₁₀Cl₂N₂; Mr = 277.16 g/mol; Výtěžek 82 %, žluté krystaly; t.t. = 114.7-115.4 °C; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.53-7.44 (m, 4H, H_{Ar}), 7.33-7.27 (m, 2H, H_{Ar}), 7.16-7.13 (m, 4H, H_{Ar}); ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 145.8, 138.7, 129.0, 127.0, 120.4.

*N*¹,*N*²-di(*p*-tolyl)oxaldiimidoyldichlorid **59b**

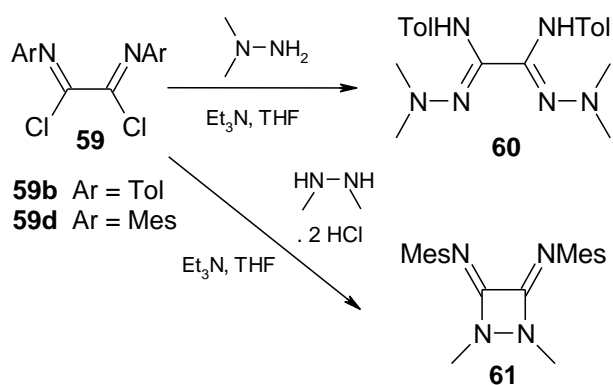
C₁₆H₁₄Cl₂N₂; Mr = 305.21 g/mol; Výtěžek 93 %, žluté krystaly; t.t. = 110.6-111.3 °C; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.17 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 6.96 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 2.30 (s, 6H, CH₃); ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 143.0, 137.8, 136.8, 129.5, 120.9, 21.1.

*N*¹,*N*²-bis(4-bromfenyl)oxaldiimidoyldichlorid **59c**

C₁₄H₈Br₂Cl₂N₂; Mr = 434.95 g/mol; Výtěžek 81 %, žluté krystaly; t.t. = 190.3-191.5 °C; ¹H-NMR (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.58 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 7.02 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}); ¹³C-NMR (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 144.4, 139.1, 132.2, 122.3, 120.4.

6.2 Reakce bis-elektrofilů s deriváty hydrazinu

Reakcí bis-elektrofilního činidla s deriváty hydrazinu jsme chtěli připravit bisamidrazony. Bisamidrazon **60** se nám podařilo připravit reakcí bis(arylimidoylchloridu) **59** s *N,N*-dimethylhydrazinem, avšak reakcí s *N,N'*-dimethylhydrazinium(2+)-chloridem vznikl derivát 1,2-diazetidinu **61**. Je to pravděpodobně způsobeno vysokým sklonem činidla **59** k cyklizaci s upřednostněním tvorby malého kruhového systému. I když byl *N,N'*-dimethylhydrazin použit v nadbytku, došlo k tvorbě čtyřčlenného cykloamidienu (Schéma 13).



(Schéma13)

Obecný postup přípravy látek 60 a 61

Roztok odpovídajícího dimethylhydrazinu (22 mmol) v bezvodém THF (40 ml) a TEA (8 ml) byl ochlazen na 0 °C. K roztoku byl přidán příslušný bis(arylimidoychlorid) **59** (5,5 mmol). Reakční směs byla míchána při pokojové teplotě dva dny. Po odfiltrování vyloučené sraženiny, byl filtrát s reakční směsí oddestilován do sucha. Produkt byl čištěn krystalizací ze směsi dichlormethan : hexan.

N¹,N²-Di-p-tolyl-N¹,N¹,N²,N²-tetramethyloxalyldiazonamid 60

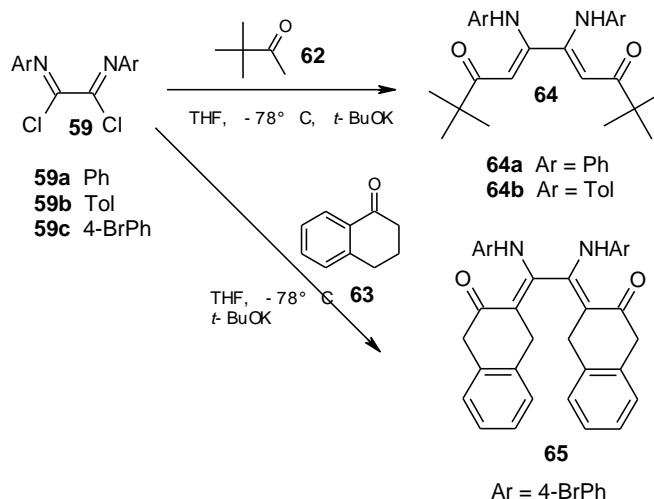
C₂₀H₂₈N₆; Mr = 352.49 g/mol; Výtěžek 84 %, žluté krystaly; t.t. = 122.1-123.1 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3329, 2851, 2820, 2777, 1596, 1581, 1511, 1437, 1254, 981, 805; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.95 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 6.76 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 2.49 (s, 12H, N-CH₃), 2.27 (s, 6H, CH₃); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 151.3, 135.8, 133.3, 129.0, 121.7, 46.1, 20.7; **MS** (EI) *m/z*: 352 (10) [M⁺], 306 (20), 265 (30), 107 (100), 91 (50).

1,2-Dimethyl-3,4-bis(2,4,6-trimethylfenylimino)-1,2-diazetidín 61

C₂₂H₂₈N₄; Mr = 348.50 g/mol; Výtěžek 92 %, žluté krystaly; t.t. = 173.0-173.6 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3423, 2962, 2917, 2855, 1738, 1703, 1476, 1444, 1383, 1207, 1132, 856; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.79 (s, 4H, H_{Ar}), 3.25-1.75 (m, 24H, CH₃); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 140, 132.9, 128.3, 126.7, 39.5-38.2, 20.7, 18.3; **MS** (EI) *m/z*: 348 (100) [M⁺], 289 (40), 203 (50), 174 (95), 159 (80), 58 (100), 43 (65).

6.3 Reakce bis-elektrofilů s ketony

Reakcí bis-elektrofilů s ketony vznikají za mírných podmínek enaminony. Reakcí bis-elektrofilu **59** s ketonem **62**, resp. **63** v THF s *t*-BuOK vznikl očekávaný 1,6-di(*t*-butyl)-3,4-diarylaminohexa-2,4-dien-1,6-dion (**64**), resp. naftalenový derivát **65**. Připravené látky jsou velmi dobře rozpustné v organických rozpouštědlech a intenzivně žluté (Schéma 14).



(Schéma 14)

Obecný postup přípravy 1,6-diaryl/alkyl-3,4-diarylaminohexa-2,4-dien-1,6-dionů (64, 65)

Roztok odpovídajícího ketonu **62** nebo **63** (12 mmol) v bezvodém THF (50 ml) byl ochlazen na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a byl přidán *t*-BuOK (2,7 g, 24 mmol). K roztoku byl přidán příslušný bis-arylimidoylchlorid **59** (6 mmol). Tmavě červená reakční směs byla míchána při teplotě $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ještě 30 minut. Směs byla okyselena HCl/isopropanol na $\text{pH} = 7$. Po oddestilování rozpouštědla byl surový produkt rozpuštěn v chloroformu (100 ml), roztok byl sušen bezvodým Na_2SO_4 a zfiltrován na fritě s 1 cm vrstvou silikagelu. Po odstranění rozpouštědla ve vakuu byl produkt krystalován ze směsi chloroform : pentan a promyt diethyletherem (látko **65**) nebo byl čištěn kolonovou chromatografií ve směsi chloroform : pentan (látko **64**).

1,6-Di(terc-butyl)-3,4-difenylaminohexa-2,4-dien-1,6-dion 64a

$\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_2$; Mr = 404.56 g/mol; Výtěžek 83 %, žluté krystaly; t.t. = $166.6\text{--}167.1\text{ }^{\circ}\text{C}$; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3034, 2964, 2867, 1594, 1515, 1475, 1446, 1330, 1245, 1108, 1016, 793, 755, 691; **$^1\text{H-NMR}$** (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 12.00 (s, 2H, NH), 7.12–6.95 (m, 6H, H_{Ar}), 6.78–6.75 (m, 4H, H_{Ar}), 5.60 (s, 2H, CH), 1.16 (s, 18H, CH_3); **$^{13}\text{C-NMR}$** (63 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 206.8, 153.1, 138.3, 128.6, 124.4, 121.4, 95.1, 42.5, 27.3; **MS** (EI) m/z : 404 (1) [M^+], 319 (100), 263 (40), 77 (15), 57 (25).

1,6-Di(terc-butyl)-3,4-di(p-tolylamino)hexa-2,4-dien-1,6-dion 64b

$\text{C}_{28}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_2$; Mr = 432.61 g/mol; Výtěžek 87 %, žluté krystaly; t.t. = $145.6\text{--}146.1\text{ }^{\circ}\text{C}$; **IR** (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3199, 3027, 2965, 2925, 2866, 1585, 1460, 1365, 1328, 1244, 1103, 1014, 802, 710; **$^1\text{H-NMR}$** (250 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 11.98 (s, 2H, NH), 6.90 (d, 4H, $J = 8.0\text{ Hz}$, H_{Ar}), 6.67 (d, 4H, $J = 8.0\text{ Hz}$, H_{Ar}), 5.55 (s, 2H, CH), 2.25 (s, 6H, Tol- CH_3), 1.15 (s, 18H, CH_3); **$^{13}\text{C-NMR}$** (63 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 206.6, 153.6, 135.8, 134.1, 129.2, 121.5, 94.6,

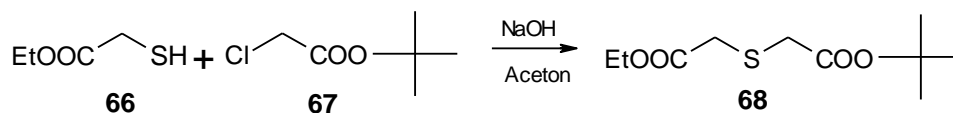
42.3, 27.4, 20.8; **MS** (EI) m/z: 433 (1, [M+H⁺]), 347 (80, [C₂₃H₂₇N₂O⁺]), 291 (20), 216 (10), 174 (10), 91 (15), 57 (100).

Bis[1-(4-bromfenylaminomethylen)-2-oxotetrahydronaftalen] 65

C₃₄H₂₆Br₂N₂O₂; Mr = 654.41 g/mol; Výtěžek 76 %, žluté krystaly; t.t. = 245.6-246.9 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3441, 3062, 2931, 1672, 1584, 1491, 1303, 1238, 1167, 1074, 761; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 13.37 (s, 2H, NH), 7.94 (m, 2H, H_{Ar}), 7.63-7.40 (m, 4H, H_{Ar}), 7.38-7.35 (m, 4H, H_{Ar}), 7.24 (d, 2H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 7.11 (d, 4H, *J* = 8 Hz, H_{Ar}), 2.78-2.72 (m, 2H, CH₂) 2.63-2.50 (m, 6H, CH₂); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 187.6, 148.1, 142.5, 138.6, 134.7, 132.6, 132.0, 128.3, 127.0, 122.9, 117.0, 104.2, 28.5, 25.3; **MS** (EI) m/z: 656 (5), 654 (10), 652 (5, [M⁺]), 482 (100), 326 (100).

6.4 Reakce bis-elektrofilu se sulfidy

Sulfidy, které mají kyselé vodíky na methylenových skupinách v sousedství sulfidické síry, reagují s bis-elektrofilním činidlem za uzavření thiofenového kruhu. Nejprve bylo nutné sintetizovat tyto sulfidy. Sulfid **68** byl připraven reakcí ethyl-sulfanylacetátu (**66**), který byl deprotonován v přítomnosti NaOH a dále reagoval s *tert*-butyl-chloracetátem (**67**) v prostředí acetonu. Vzniklý sulfid **68** byl izolován ve formě bezbarvého oleje (Schéma 15).



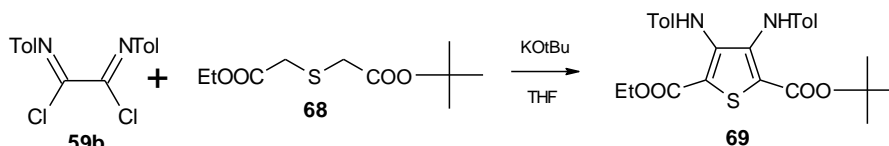
(Schéma 15)

Příprava ethyl-*tert*-butoxykarbonylmethylsulfanylacetátu (**68**)

V dvojhrdlé baňce se zpětným chladičem a teploměrem bylo rozpuštěno 2,56 g (64 mmol) NaOH v 5 ml H₂O. Pod argonem a za intenzivního míchání bylo přikapáváno 7 ml (7,7 g, 1,096 g/cm³, 64 mmol) ethyl-sulfanylacetátu (**66**). Po chvíli bylo přidáno 30 ml acetonu a pomalu přikapáno 9,2 ml (9,64 g, 1,053 g/cm³, 64 mmol) *tert*-butyl-chloracetátu (**67**). Reakční směs byla zahřívána dvě hodiny na 55-65 °C. Po zchladnutí byla vodná fáze oddělena a ještě dvakrát extrahována do CH₂Cl₂. Organické fáze byly spojeny a sušeny bezvodým Na₂SO₄. Po oddestilování rozpouštědla zůstal v baňce žlutý olej, který byl čištěn sloupcovou chromatografií ve směsi chloroform : pentan.

$C_{10}H_{18}O_4S$; Mr = 234.32 g/mol; Výtěžek 45 %, bezbarvý olej; t.v. = 105 °C/ 2.5 bar; 1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 4.17 (q, 2H, $J = 7$ Hz, CH_2); 3.35 (s, 2H, CH_2); 3.27 (s, 2H, CH_2); 1.45 (s, 9H, CH_3); 1.27 (t, 3H, $J = 7$ Hz, CH_3); ^{13}C -NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 169.8, 168.9, 81.8, 61.6, 34.8, 33.5, 27.9, 14.1; MS (EI) m/z: 235 (8) $[M^+]$, 179 (80), 57 (100).

Reakce sulfidu **68**, který má kyselé vodíky na uhlících sousedících s atomem síry, s bis-elektrofilem **59b** poskytuje očekávaný derivát thiofenu **69** v dobrém výtěžku (Schéma 16).



(Schéma 16)

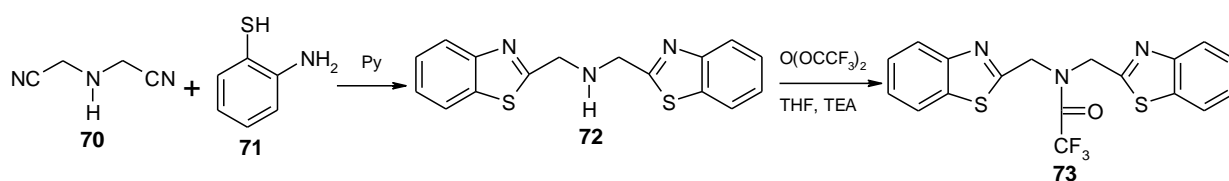
Příprava 2-*tert*-butyl-5-ethyl-3,4-di(*p*-tolylamino)thiofen-2,5-dikarboxylátu (**69**)

Roztok sulfidu 1 g (4,3 mmol) **68** v bezvodém THF (50 ml) byl ochlazen na -78 °C a byl přidán *t*-BuOK 1,70 g (13.6 mmol). K roztoku bylo přidáno 1,52 g (5 mmol) bis(*p*-tolylimido)chloridu **59b**. Tmavě červená reakční směs byla míchána při teplotě 10 °C ještě 30 minut. Směs byla okyselena HCl/isopropanol na pH = 7. Po oddestilování rozpouštědla byl surový produkt rozpuštěn v chloroformu (100 ml), roztok byl sušen bezvodým Na_2SO_4 a zfiltrován na fritě s 1 cm vrstvou silikagelu. Po odstranění rozpouštědla ve vakuu byl produkt **69** čištěn kolonovou chromatografií ve směsi chloroform : pentan.

$C_{26}H_{30}O_4N_2S$; Mr = 466.60 g/mol; Výtěžek 6 %, žluté krystaly; t.t. = 143.5-144.7 °C; IR (KBr) ν_{max} (cm^{-1}) 3323, 3178, 2976, 1700, 1672, 1573, 1522, 1328, 1250, 1153, 1097, 854, 772; 1H -NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 6.74 (d, 4H, $J = 8.0$ Hz, H_{Ar}); 6.35 (d, 4H, $J = 7.0$ Hz, H_{Ar}), 4.33 (q, 2H, $J = 7.0$ Hz, CH_2), 2.20 (s, 6H, Tol- CH_3), 1.57 (s, 9H, CH_3), 1.37 (t, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3); ^{13}C -NMR (63 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm) 164.3, 163.7, 141.7, 141.1, 137.5, 137.3, 131.5, 131.3, 128.1, 120.4, 120.3, 113.6, 111.2, 82.3, 61.0, 28.3, 20.7, 14.3; MS (EI) m/z: 466 (15) $[M^+]$, 410 (90), 346 (40), 319 (100), 107 (65), 91 (70), 41 (55), fluorescence ($CDCl_3$): Ex_{max} 270 nm, Em_{max} 365 nm.

6.5 Reakce bis-elektrofilu s aminy

Reakcí bis-elektrofilu s aminy, které mají kyselé vodíky na sousedních methylenových skupinách se uzavírá pyrrolový kruh. Nejprve jsme tedy museli připravit tyto aminy. Reakcí 2-aminobenzothioliu (**71**) s iminodiacetonitrilem (**70**) v prostředí pyridinu vzniká derivát benzothiazolu **72**. Pro cyklizační reakci s bis-elektrofilem **59b** je bezpodmínečně nutné blokovat imino skupinu v molekule **72**. To lze provést velmi snadno a rychle reakcí s anhydridem kyseliny trifluoroctové, která vede k trifluoroacetamidu **73** (Schéma 17).



(Schéma 17)

Postup přípravy *N,N*-bis(benzothiazol-2-ylmethyl)aminu (**72**)

V baňce, opatřené zpětným chladičem a vzdušným uzávěrem, bylo smíšeno 5,00 g (52,5 mmol) iminodiacetonitrilu (**70**) s 12,9 ml (15,14 g, 1,172 g/cm³, 120,7 mmol) 2-aminobenzothioliu (**71**) v přítomnosti 2,5 ml pyridinu. Reakční směs byla zahřívána pod argonem na 200 °C dva dny a poté krystalována z xylenu. Bílé krystaly benzothiazolu **72** byly promývány nejprve xylenem a potom směsí dichlormethan : pentan.

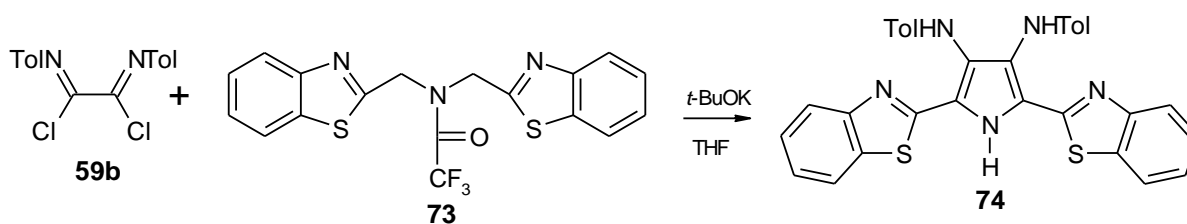
C₁₆H₁₃N₃S₂; Mr = 311.43 g/mol; Výtěžek 77 %, béžové krystaly; t.t. = 133.4-133.9 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3252, 3058, 2900, 1528, 1436, 1306, 1174, 1156, 839, 763, 732, 660; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.94 (m, 4H, H_{Ar}), 7.45 (m, 4H, H_{Ar}), 4.41 (s, 4H, CH₂), 2.78 (s, 1, NH); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 171.4, 153.3, 135.1, 126.0, 125.0, 122.9, 121.8, 50.9; **MS** (EI) m/z: 312 (2) [M⁺], 268 (12), 163 (30), 149 (100), 108 (12), 45 (15) nm; **fluorescence** (CHCl₃) Ex_{max} 340 nm, Em_{max} 400 nm.

Postup přípravy *N,N*-bis(benzothiazol-2-ylmethyl)-2,2,2-trifluoracetamidu (73)

V baňce bylo rozpuštěno 6,44 g (20,7 mmol) benzothiazolu **72** v suchém THF a přidáno 5 ml TEA. Roztok byl ochlazen na 0 °C. Do reakční směsi bylo přikapáno 4,3 ml (6,52 g, 1,54 g/cm³, 31 mmol) anhydridu trifluoroctové kyseliny. Směs byla míchána ještě 1,5 hodiny při laboratorní teplotě a poté byla zfiltrována přes 1 cm vrstvu silikagelu. Po oddestilování rozpouštědla byl benzothiazol-trifluoracetamid **73** krystalován ze směsi chloroform : pentan.

C₁₈H₁₂N₃S₂OF₃; Mr = 407.45 g/mol; Výtěžek 92 %, růžové krystaly; t.t. = 102.6-103.3 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3072; 3056; 1691; 1512; 1434; 1360; 1146; 1114; 455; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) δ = 7.96 (m, 4H, H_{Ar}), 7.46 (m, 4H, H_{Ar}), 5.23 (s, 2H, CH₂), 5.21 (s, 2H, CH₂); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 164.3, 164.0, 157.3 (q, *J* = 148 Hz, C=O), 152.9, 152.5, 135.5, 135.1, 126.5, 126.3, 125.8, 125.7, 123.5, 125.3, 121.75 (q, *J* = 1145 Hz, CF₃); **MS** (EI) *m/z*: 407 (2) [M⁺], 149 (100), 45 (10); **UV/VIS** (CHCl₃): λ_{\max} (lg ϵ) = 257(4,2); 287(3,6); 296(3,5)nm; **fluorescence** E_{x,max} 275 nm, E_{m,max} 373 nm.

Kyselý účinek trifluoracetamidové skupiny na methylenové skupiny umožňuje deprotonaci **73** silnými bázemi a dochází k tvorbě tmavě fialového aniontu, který následně s bis-elektrofilem **59b** v přítomnosti *t*-BuOK poskytuje pyrol **74**. V průběhu této reakce došlo při okyselení směsi HCl neočekávaně k deblokaci NH skupiny a byl izolován přímo *1H*-pyrol **74** (Schéma 17).



(Schéma 18)

Postup přípravy 3,4-di(p-tolylamino)-2,5-bis(benzothiazol-2-yl)-1H-pyrrolu (74)

V baňce byl pod argonem rozpuštěn 1,00 g (2,45 mmol) benzothiazol-trifluoracetamidu **73** ve 40 ml suchého THF. Roztok byl ochlazen na -78 °C, a bylo přidáno 0,92 g (7,36 mmol) *t*-BuOK. K intenzivně fialovému roztoku bylo přidáno 0,82 g (2,7 mmol) bis(p-tolylimido)chloridu (**59b**). Tmavě červená reakční směs byla míchána při pokojové teplotě ještě 30 minut. Nakonec byla neutralizována směsí HCl/ isopropanol na pH = 7.

Po oddestilování rozpouštědla byl zůstatek rozpuštěn ve směsi chloroform : pentan a sušen bezvodým Na₂SO₄. Získaný pyrol **74** byl čištěn sloupcovou chromatografií, kde byl jako eluent použit chloroform, a dále překrystalován ze směsi chloroform : pentan.

C₃₂H₂₅N₅S₂; Mr = 543.72 g/mol; Výtěžek 12 %, žluté krystaly; t.t. = 255-256 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3397, 3371, 2999, 2916, 1613, 15,38, 1511, 1491, 1311, 1241, 1214, 756; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) δ = 12.04 (s, 2H, NH pyrrol), 8.04-7.98 (m, 8H, CH), 7.52-7.31 (m, 4H, CH), 7.28 (s, 2H, NH), 6.81 (d, 4H, *J* = 8 Hz, Tol-CH), 6.56 (d, 4H, *J* = 8 Hz, Tol-CH), 2.10 (s, 6H, CH₃); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 156.8, 152.6, 144.1, 134.9, 129.7, 126.9, 126.8, 126.5, 125.1, 124.3, 122.5, 122.3, 114.3, 79.6, 20.6; **MS** (EI) *m/z*: 543 (70) [M⁺], 264 (80), 219 (100), 91 (40), 65 (40); **UV/VIS** (CHCl₃): λ_{\max} (lg ϵ) = 386 (4.4); 406 (4.4) nm.

Poznámka: při měření teploty tání krystaly při teplotě 144 °C zčernaly, ale roztály až při teplotě 255-256 °C.

Sloučenina vykazuje solvatofluorescenci

Emisní maximum a fluorescenční kvantový výtěžek závisí na rozpouštědle. Fluorescenční pás je nestrukturovaný, s prudkým čelem u menší vlnové délky (od 420 nm) a klesá v dlouhovlnném rozsahu (od 630 nm).

Excitační maximum a emisní maximum

Toluen: Ex_{max} 385 + 410 nm, Em_{max} 475 nm, silná fluorescence

Chloroform: Ex_{max} 385 + 410 nm, Em_{max} 485 nm, silná fluorescence

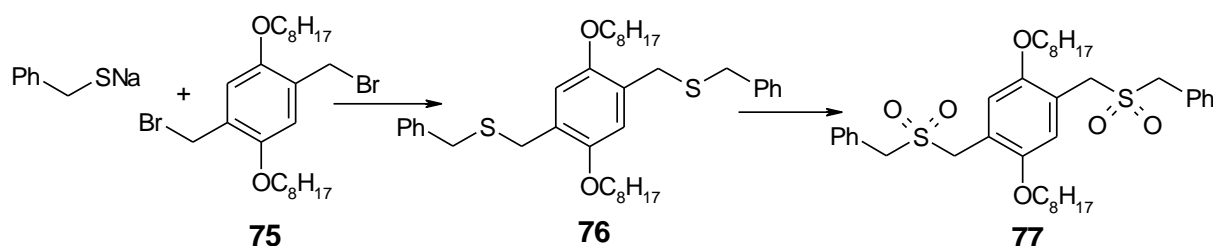
Aceton: Ex_{max} 385 + 410 nm, Em_{max} 525 nm, silná fluorescence

DMSO: Ex_{max} 385 + 415 nm, Em_{max} 550 nm, mírná fluorescence

Aminy ve vyšší koncentraci zeslabují fluorescenci.

6.6 Příprava bis-sulfidu a bis-sulfonu

Bis-sulfid **76**, připravený reakcí benzylothiolátu sodného s bis(brommethyl)benzenem **75**, byl dále podroben oxidaci peroxidem vodíku v prostředí kyseliny octové za vzniku bis-sulfonu **77** (Schéma 19). I tento produkt byl použit jako výchozí látka pro reakci s bis-elektrofilem **59b**, za vzniku thiofen-1,1-dioxidu⁶³.



(Schéma 19)

Postup přípravy 1,4-bis(benzylsulfanylmethyl)-2,5-bis(oktyloxy)benzenu (76)

V baňce byl rozpuštěn 1 g (25 mmol) NaOH v 5 ml H₂O a bylo přidáno 40 ml DMF. Pomalu bylo přidáno 2,8 ml (3 g; 1,05 g/cm³; 24 mmol) benzylthiolu. Reakční směs byla míchána za lab. teploty 10 minut a poté bylo přidáno 5 g (9,6 mmol) benzylbromidu **75**. Reakční směs byla tři hodiny míchána a zahřívána na 60 °C. Po ochlazení na lab. teplotu byla reakční směs nalita do 200 ml studené vody, pevný sulfid **76** byl odfiltrován a krystalován z ethanolu.

C₃₈H₅₄S₂O₂; Mr = 606.90 g/mol; Výtěžek 84 %, bezbarvé krystaly; t.t. = 61.2-61.4 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3436, 3062, 3029, 2950, 2925, 2848, 1514, 1469, 1392, 1215, 1071, 712, 691; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.27 (m, 10H, H_{Ar}), 6.79 (s, 2H, H_{Ar}), 3.91 (t, 4H, *J* = 6,5 Hz, O-CH₂), 3.71 (s, 4H, S-CH₂), 3.68 (s, 4H, S-CH₂), 1.8-1.7 (m, 4H, CH₂), 1.5-1.3 (m, 20H, CH₂), 1.0-0.9 (m, 6H, CH₃); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 150.7, 138.6, 128.9, 128.4, 126.8, 126.3, 114.4, 69.1, 36.3, 31.9, 30.2, 29.5, 29.4, 29.3, 26.2, 22.7, 14.1; **MS** (EI) *m/z*: 607 (5) [M⁺], 484 (10), 167 (10), 137 (25), 91 (100), 43 (60).

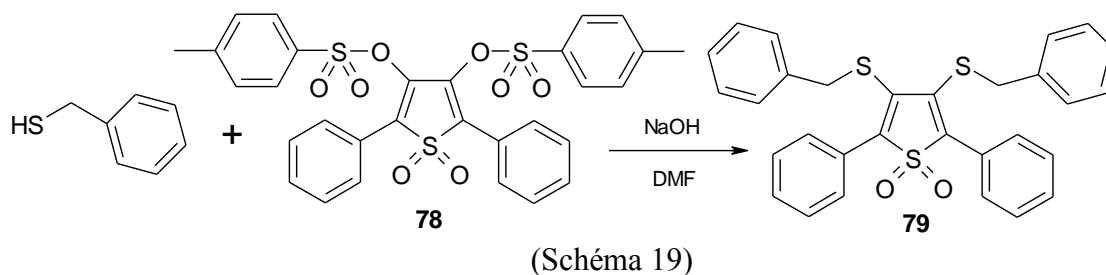
Postup přípravy 1,4-bis(benzylsulfonylmethyl)-2,5-bis(oktyloxy)benzenu (77)

V baňce bylo rozpuštěno 4,6 g (7,58 mmol) sulfidu **76** ve 40 ml kyseliny octové a zahříváno na 60 °C. Pomalu bylo přidáváno 4,8 ml (5,4 g, 1,13 g/cm³, 55,4 mmol) 35% peroxidu vodíku. Potom se reakční směs zahřívala ještě 3 hodiny na 80 °C. Po ochlazení na lab. teplotu byla reakční směs nalita do 200 ml vody, pevný sulfon **77** (bezbarvé krystaly) byl odfiltrován, promyt vodou a krystalován z ethanolu.

C₃₈H₅₄O₆S₂; Mr = 670.98 g/mol; Výtěžek 88 %, bezbarvé krystaly; t.t. = 161.5-162.9 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3061, 2129, 2850, 1510, 1469, 1397, 1304 (SO₂), 1221, 1142 (SO₂), 1124, 880, 700; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.37 (m, 10H, H_{Ar}), 7.07 (s, 2H, H_{Ar}), 4.37 (s, 4H, S-CH₂), 4.16 (s, 4H, S-CH₂), 3.99 (t, 4H, *J* = 6,5 Hz, O-CH₂), 1.75 (m, 4H, CH₂), 1.30 (m, 20H, CH₂), 0.88 (m, 6H, CH₃); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 150.9, 131.0, 128.9, 128.8, 127.0, 118.2, 116.0, 69.3, 58.4, 53.0, 31.8, 29.4, 29.3, 29.2, 26.1, 22.6, 14.1; **MS** (EI) *m/z*(%): 671 (1) [M⁺], 452 (5), 359 (15), 137 (20), 91 (100), 43 (50).

6.7 Příprava benzylsulfanyl derivátu thiofen-1,1-dioxidu

V rámci hledání nových struktur byla syntetizována ještě jedna látka, kterou je 3,4-bis(benzylsulfanyl)-2,5-difenylthiofen-1,1-dioxid (**79**). Tato látka byla připravena reakcí tosyloxy derivátu thiofendioxidu **78** s benzylthiolem v prostředí DMF a NaOH. Při této reakci dochází k substituci tosyloxy skupiny benzylsulfanylovou za vzniku látky **79** (Schéma 19).



Postup přípravy 3,4-bis(benzylsulfanyl)-2,5-diphenylthiophen-1,1-dioxidu (79)

Ke směsi 0,4 g NaOH, 0,4 ml H₂O a 3 ml DMF bylo přidáno 1,2 ml benzylthiolu. Po chvíli byl do reakční směsi přidán tosyloxy derivát thiofendioxidu **78** a směs se zbarvila do červena. Směs byla poté zahřáta na 55 °C a ponechána vychladnout při laboratorní teplotě. Do baňky byla přilita voda a produkt byl vytřepán do dichlormethanu. Po vysušení bezvodým Na₂SO₄ a odpaření rozpouštědla byl produkt **79** čištěn krystalizací ze směsi chloroform : heptan.

C₃₀H₂₄O₂S₃; Mr = 512.72 g/mol; Výtěžek 36 %, žluté krystaly; t.t. = 170-172 °C; **IR** (KBr) ν_{\max} (cm⁻¹) 3441, 3061, 3028, 2928, 1600, 1494, 1453, 1318, 1182, 1132, 699, 544; **¹H-NMR** (250 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.43-7.26 (m, 18H, H_{Ar}), 7.06-7.03 (m, 2H, H_{Ar}), 3.75-3.61 (m, 4H, CH₂); **¹³C-NMR** (63 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 136.7, 134.0, 129.8, 129.6, 129.0, 128.9, 128.8, 128.7, 127.7, 72.1, 36.4; **MS** (EI) m/z: 512 (1) [M⁺], 359 (10), 235 (15), 91 (100), 64 (20).

6.8 Antimykobakteriální hodnocení nových struktur

Hodnoty MIC nově připravených látek jsou uvedeny v Tab. 18. Látky vykazují slabou antimykobakteriální aktivitu vůči všem testovaným kmenům mykobakterií a MIC se pohybují v rozmezí 8-1000 $\mu\text{mol/l}$. Nejnižší hodnoty MIC byly stanoveny u derivátů benzothiazolu **72** a **73** (8-62 $\mu\text{mol/l}$). Žádná z testovaných látek nevykazuje signifikantní antimykobakteriální aktivitu, čili není perspektivní pro další vývoj. Výjimkou jsou již zmíněné bis(benzothiazol-2-ylmethyl)aminy připravené jako meziproducty syntéz.

Tab. 18: Antimykobakteriální aktivity nových struktur, vyjádřené jako MIC v $\mu\text{mol/l}$.

Látky	Kmeny									
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> My 331/88		<i>Mycobacterium kansasii</i> My 235/80			<i>Mycobacterium kansasii</i> 6 509/96			<i>Mycobacterium avium</i> My 330/88	
	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	7 d	14 d	21 d	14 d	21 d
60	62	62	125	125	250	62	125	250	1000	1000
61	62	62	>62	125	>125	62	125	125	62	62
64a	>62	>125	>125	>125	>250	>62	>62	>125	>250	>250
64b	32	>32	32	62	125	62	>62	125	32	>32
65	>32	>32	>62	>125	>125	32	>62	>125	>125	>125
69	62	62	62	62	125	62	62	62	62	>62
72	62	62	62	62	62	62	62	62	16	16
73	16	16	16	32	32	8	8	8	8	16
76	>62	>62	>250	>500	>500	250	250	250	>250	>250
77	>250	>250	>250	>250	>500	>125	>125	>250	>250	>250
79	>32	>32	>32	>62	>125	>125	>125	>125	>125	>125
INH	0.5	1	>250	>250	>250	2	2	4	>250	>250

7. Závěr

V rámci disertační práce bylo připraveno 112 v literatuře dosud nepopsaných derivátů 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karboxylové kyseliny a 16 různorodých, nových struktur látek, syntetizovaných jako možná potenciální antituberkulotika.

Pro přípravu sulfidů byla použita alkylace příslušných derivátů pyridin-4-isothiouronium-chloridu fenylalkylhalogenidy nebo Pd katalyzovaný coupling 4-chlorpyridin-2-karboxylové kyseliny s příslušnými benzylthioly.

Většina připravených látek byla testována v podmínkách *in vitro* na antimykobakteriální aktivitu vůči *M. tuberculosis*, *M. avium* a dvěma kmenům *M. kansasii*. Z biologického hodnocení vyplynulo, že látky vykazují vždy srovnatelnou antimykobakteriální aktivitu vůči všem testovaným kmenům. Nejúčinnějšími látkami jsou deriváty ze série 4-(subst. fenylalkylsulfanyl)pyridin-2-karbothioamidů, které sice nedosahují aktivity vůči klasickému *M. tuberculosis* používaných antituberkulotik, avšak vůči *M. avium* mají srovnatelnou nebo vyšší aktivitu.

Ze vztahu struktury a antimykobakteriální aktivity připravených sloučenin lze odvodit následující závěry:

- nejvhodnější substituce v poloze 2 na pyridinovém kruhu je thioamidová skupina, příp. esterová
- spojovací alkylový řetězec mezi pyridinovým a benzenovým kruhem má mít sudý počet uhlíků ($n = 2, 4$)
- pro aktivitu je důležitý sulfidický můstek, jeho oxidací se aktivita výrazně snižuje
- substituce na benzenovém kruhu se jeví jako málo významná.

Žádná z 11 testovaných nových struktur látek připravených v Jeně se nejeví pro další vývoj perspektivní. Výjimkou mohou být bis(benzothiazol-2-ylmethyl)aminy připravené jako meziproducty syntéz. Modifikování jejich struktury by mohlo vést k antimykobakteriálně aktivním látkám.

8. Literatura

- 1 V. Bártů, *Med. pro Praxi* **2008**, 5(6), 245–248.
- 2 S. Potrepčiaková, J. Skříčková, *Practicus* **2008**, 4, 24-29.
- 3 V. Bártů, *Interní Med.* **2007**, 9(9), 372–373.
- 4 V. Bártů, *Kazuistiky v alergologii, pneumologii a ORL* **2007**, 4, S2.
- 5 D. A. Mitchison, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2005**, 171, 699-706.
- 6 J. Homolka, V. Votava, *Tuberkulóza*, Karolinum, Praha **2003**.
- 7 World Health Organization (2008). Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis. Emergency update **2008**,
http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241547581_eng.pdf
- 8 B. Katsung, *Základní a klinická farmakologie*, Nakladatelství a vydavatelství H & H Praha **1994**.
- 9 F. Hampl, S. Rádl, J. Paleček, *Farmakochemie*, Vydavatelství VŠCHT, Praha **2007**.
- 10 A. Argyrou, M. W. Vetting, J. S. Blanchard, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129(31), 9582–9583. Supplementary Material S1-S4.
- 11 Y. L. Janin, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, 15, 2479-2513.
- 12 J. Hartl a kol.: *Farmaceutická chemie IV (chemoterapeutika)*, Praha, Karolinum **2006**.
- 13 P. J. Brennan, D. B. Young et al. *Tuberculosis* **2008**, 88 (2), 85-169.
- 14 S. Houston, A. Fanning, *Drugs* **1994**, 48(5), 689-708.
- 15 W. W. Yew, C. H. Chau, *Monaldi Arch. Chest. Dis.* **1996**, 51(5), 394-404.
- 16 Současná léčba tuberkulózy. *Farmakoterapeutické informace* **1999**, 8, 1-3.
- 17 I. Bastian, R. Colebunders, *Drugs* **1999**, 58(4), 633-661.
- 18 L. G. Dover, L. J. Alderwick, A.K. Brown, K. Futterer, G.S. Besra. *Curr Mol Med.* **2007**, 7, 247-276.
- 19 L. Ballell, R. A. Field, K. Duncan, R. J. Young, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005, 49(6), 2153-2163.
- 20 H. Tomioka, Y. Tatano, K. Yasumoto, T. Shimizu, *Expert Rev. Resp. Med.* **2008**, 2(4), 455-471.
- 21 A. J. Lenaerts, C. Bitting, L. Woolhiser, V. Gruppo, K. S. Marietta, Ch. M. Johnson, I. M. Orme, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**, 52(4), 1513–1515.
- 22 A. Oleksijew, J. Meulbroek, P. Ewing, K. Jarvis, M. Mitten, L. Paige, A. Tovcimak, M. Nukkula, D. Chu, J. D. Alder, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1998**, 42(10), 2674-2677.

-
- 23 R. J. O'Brien, M. Spigelman, *Clin. Chest. Med.* **2005**, *26*, 327-340.
 - 24 V. Klimešová, M. Svoboda, K. Waisser, M. Pour, J. Kaustová, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1999**, *64*, 417-433.
 - 25 O. Červinka, V. Dědek, M. Ferles, *Organická chemie*. 2. vydání. SNTL/ALFA, Praha **1980**.
 - 26 I. Ernest, S. Heřmánek, M. Hudlický; *Preparativní reakce v organické chemii IV*. Alkylace, funkční přeměny aldehydů, ketonů, karboxylových kyselin. ČSAV, Praha **1959**.
 - 27 C. Chachaty, G. C. Pappalardo, G. Scarlata, *J. Chem. Soc. Perkin II* **1976**, 1234.
 - 28 W. E. Keller; *Phase – Transfer Reactions (1)*, Fluka-compendium. Georg Thieme Verlag, Stuttgart **1986**.
 - 29 H. G. O. Becker, R. Beckert, G. Domschke, E. Fanghänel a kol.; *Organikum*. 21. vydání. WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim **2001**.
 - 30 K. Bláha; *Preparativní reakce v organické chemii VI*. Reakce organokovových činidel. ČSAV, Praha **1961**.
 - 31 J. Kováč, Š. Kováč; *Organická chémia*. ALFA, Bratislava **1977**.
 - 32 K. Bláha, O. Červinka, V. Dědek, M. Ferles, J. Kopecký, J. Šrogl, M. Večeřa; *Chemie organických sloučenin (1)*. SNTL/ALFA, Praha **1985**.
 - 33 O. Červinka; *Mechanismy organických reakcí*. SNTL/ALFA, Praha **1981**.
 - 34 V. Macháček, J. Panchartek, O. Pytela; *Organická chemie 2*. 2. vydání. (skriptum) Univerzita Pardubice, Pardubice **1998**.
 - 35 W. Tagaki, *Sulphides, Organic Chemistry of Sulphur (Ed. S. Oae)*: Plenum Press, New York **1977**.
 - 36 T. L. Ho, C. M. Wong, *Syn. Commun.* **1973**, *3*, 37.
 - 37 C. R. Johnson, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 919.
 - 38 J. Slouka, I. Fryšová, P. Hradil, *Stručný přehled organické chemie ve formě reakčních schémat, 5. organické deriváty síry*. Univerzita Palackého v Olomouci **2006**.
 - 39 M. Enerby, R. D. Waigh, *Synth. Commun.* **1981**, *11*, 849.
 - 40 K. A. M. Walker, *Tetrahedron Lett.* **1977**, *51*, 4475-4478.
 - 41 A. M. Rane, E. I. Miranda, J. A. Soderquist, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3225-3226.
 - 42 T. Itoh, T. Mase, *Org. Lett.* **2004**, *6(24)*, 4587-4590.

-
- 43 M. A. Zuideveld, B. H. G. Swennenhuis, M. D. K. Boele, Y. Guari, G. P. F. van Strijdonck, J. N. H. Reek, P. C. J. Kamer, K. Goubitz, J. Fraanje, M. Lutz, A. L. Spek, P. W. N. M. van Leeuwen, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **2002**, 2308-2317.
- 44 T. Kondo, T. Mitsudo, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3205-3220.
- 45 H. M. Dahse, B. Schlegel, U. Gräfe; *Pharmazie* **2001**, *56*, 489-491.
- 46 O. Belda, Ch. Moberg, *Synthesis* **2002**, *11*, 1601-1606.
- 47 H. S. Mosher, M. Look, *J. Org. Chem.* **1955**, *20*, 283-286.
- 48 T. Itoh, T. Mase, *Org. Lett.* **2004**, *6(24)*, 4587-4590.
- 49 E. Ochiai, I. Suzuki, *J. Pharm. Soc. Japan* **1947**, *67*, 158; *Chem. Abstr.* **1951**, *45*, 9541.
- 50 T. Kato, H. Hayashi, *Yakugaku Zasshi* **1963**, *83*, 352-458; *Chem. Abstr.* **1963**, *59*, 7473c.
- 51 E. Ochiai, *J. Org. Chem.* **1953**, *18*, 534-551.
- 52 Y. Kobayashi, I. Kamadaki, *Chem. Pharm. Bull.* **1969**, *17(3)*, 510-514.
- 53 D. Varlet, E. Fourmaintraux, P. Depreux, D. Lesieur, *Heterocycles* **2000**, *53 (4)*, 797-804.
- 54 A.R. Katritzky, J.M. Lagowski, *Chemistry of The Heterocyclic N-Oxides*. Academic Press, London **1971**.
- 55 M. Čeladník, J. Vinšová, V. Klimešová, K. Waisser, K. Palát, Ž. Odlerová, *Českoslov. Farm.* **1983**, *32*, 97-102.
- 56 K. Bahrami, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 2009-2012.
- 57 S. D. Ross, D. J. Kelley, M. M. Labes, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 3625-3627.
- 58 H. J. den Hertog, C. R. Kolder, W.P. Combe, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **1951**, *70*, 591-599; *Chem. Abstr.* **1952**, *46*, 8655b.
- 59 E. Ochiai, K. Arima, M. Ishikawa, *J. Pharm. Soc. Jpn.* **1943**, *63*, 79; *Chem. Abstr.* **1951**, *45*, 5151g.
- 60 H. Tani, *Chem. Pharm. Bull.* **1959**, *7*, 930; *Chem. Abstr.* **1961**, *55*, 6477i.
- 61 I. M. Robinson, G. J. Janz, US **1950**, 2494204; *Chem. Abstr.* **1950**, *44*, 7353g.
- 62 H. Tani, *Yakugaku Zasshi* **1960**, *80*, 1418.
- 63 G. Buehrdel, E. Petrlíková, P. Herzigová, R. Beckert, H. Goerls, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon* **2009**, *184(5)*, 1161-1174.

9. Seznam publikovaných prací

9.1 Originální články

Herzigová P., Klimešová V., Palát K., Kaustová J., Dahse H.-M., Möllmann U.: *Preparation and In vitro Evaluation of 4-Benzylsulfanylpyridin-2-karbohydrazids as Potential Antituberculosis Agents*. Arch. Pharm. Chem. Life Sci. **2009**, 342, 000. (IF 1,3)

Buehrdel G., Beckert R., Petrlíková E., Herzigová P., Klimešová V.: *A New Synthesis of Bis-Enaminones via Acylation of Ketones*. Synthesis-Stuttgart **2008**, 19, 3071-3080. (IF 2,257)

Buehrdel G., Petrlíková E., Herzigová P., Beckert R., Goerls H.: *Synthesis of New Lipophilic Sulfones and their Use in Cyclization Reactions*, Phosphorus, Sulfur, and Silicon **2009**, 184(5), 1161–1174. (IF 0,669)

Herzigová P., Buehrdel G., Fleischhauer J., Kaustová J., Beckert R., Klimešová V.: *New Structures of Potential Antituberculosis Agents*. Folia Pharm. Univ. Carol. **2009**, 38, 000.

9.2 Příspěvky na symposiích

9.2.1 Abstrakty v časopisech

Herzigová P., Klimešová V., Palát K., Kaustová J.: *Antimykobakteriální aktivita sulfidů funkčních derivátů pyridin-2-karboxylové kyseliny*. 41. Konference Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii, Nymburk 4. - 6. 12. 2006, Chem. Listy **2006**, 100(11), 1010. (IF 0,431)

Klimešová V., Herzigová P., Matyk J., Kaustová J.: *Příprava 4-benzylsulfanylpyridin-2-karboxylových kyselin jako meziproductů antimykobakteriálně aktivních látek*. 59. Sjezd chemiků, Vysoké Tatry 2. - 6. 9. 2007, ChemZi **2007**, 1/3, 113.

Herzigová P., Klimešová V., Palát K., Matyk J., Kaustová J.: *Příprava a antimykobakteriální aktivita 4-benzylsulfanylderivátů pyridin-2-karbohydrazidu a pyridin-2-karboxamidu*. 42. Konference Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii, Nymburk 16. - 18. 11. 2007, Chem. Listy **2007**, 101(11), 941. (IF 0,683)

Herzigová P., Klimešová V., Palát K., Matyk J., Kaustová J.: *Příprava sérií derivátů pyridin-2-karbohydrazidu, pyridin-2-karboxamidu a porovnání jejich antimykobakteriální aktivity*. 37. Konference Syntéza a analýza léčiv, Brno 8. - 10. 9. 2008, Chem. Listy **2008**, 102(S), s 218. (IF 0,683)

Herzigová P., Sýkora L., Kaustová J., Klimešová V.: *Syntéza a Antimykobakteriální aktivita fenethylsulfanylových derivátů pyridinu*. 43. Konference Pokroky v organické, bioorganické a farmaceutické chemii, Nymburk 14. - 16. 11. 2008, Chem. Listy **2008**, 102(11), 1036. (IF 0,683)

9.2.2 Abstrakty ve sbornících

Herzigová P., Palát K., Klimešová V.: *Metody přípravy sulfidů funkčních derivátů pyridin-2-karboxylové kyseliny*. 35. Konference Syntéza a analýza léčiv, Velké Karlovice 12. - 15. 9. 2006, Sborník str. 92.

Herzigová P., Klimešová V., Palát K., Kaustová J.: *Příprava modelových pyridinkarbohydrazidů s předpokládanou antimykobakteriální aktivitou*. 36. Konference Syntéza a analýza léčiv, Bratislava 11. - 13. 9. 2007, Zborník str. 68.

Klimešová V., Kaustová J., Waisser K., Herzigová P., Doležal R.: *Novel classes of antimycobacterially active compounds*. 29th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, Plovdiv 6. - 9. 7. 2008, Bulharsko, Abstract Book – p. 190-191.

Herzigová P., Klimešová V., Palát K.: *Synthesis of sulfides of pyridin-2-carboxylic acid derivatives*. 16. Lecture Conference ORCHEM 2008, Weimar 1. - 3. 9. 2008, Německo, Abstract CD – 5321-0178.

Buehrdel G., Beckert R., Herzigova P., Birckner E., Grummt U-W., Goerls H.: *Highly Substituted Thiophenes and Pyrroles by Cycloacylation-Prototropism Sequence*. 16. Lecture Conference ORCHEM 2008, Weimar 1. - 3. 9. 2008, Německo, Abstract CD – 5321-0171.

Buehrdel G., Beckert R., Herzigova P., Birckner E., Grummt U-W., Goerls H.: *Highly Substituted Thiophenes and Pyrroles by Cycloacylation-Prototropism Sequence*. 23. European Colloquium on Heterocyclic Chemistry, Antwerpen 9. - 13. 9. 2008, Belgie

10. Jednotlivé práce