

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra anorganické a organické chemie

SUBSTITUOVANÉ BENZOXAZOLY –
SYNTÉZA A BIOLOGICKÁ AKTIVITA

Diplomová práce

Hradec Králové, 2011

Lukáš Opálka

Abstrakt:

Bylo připraveno 14 sloučenin, z toho 7 Schiffových bází a 7 substituovaných benzoxazolů. Sloučeniny byly charakterizovány pomocí ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, TLC a teploty tání. Všechny připravené látky dosud nejsou popsány v Reaxys a Chemical Abstracts, takže je lze považovat za původní. Reakce probíhala ve dvou krocích, v prvním jsme kondenzovali příslušný aminofenol s benzaldehydem za vzniku Schiffovy báze a v druhém jsme Schiffovu bázi cyklizovali pomocí octanu olovičitého.

Abstract:

There were 14 compounds prepared, including 7 Schiff bases and 7 substituted benzoxazoles. The compounds were characterised by ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, TLC and by melting point. All the new compounds aren't described in Reaxys or in Chemical Abstracts, so they can be considered as original compounds. The reaction was done in two steps. First, the Schiff base was made by the condensation of proper aminophenol and benzaldehyde and in second step, the Schiff base was cyclized by lead (IV) acetate.

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

V Hradci Králové, 5. května 2011

.....

Rád bych zde poděkoval paní Doc. RNDr Jarmile Vinšové, CSc. za její odbornou pomoc, rady a ochotu při vypracování této diplomové práce, Doc. Jiřímu Kunešovi PhD. za měření a interpretace NMR spekter a slečně Haně Jílkové za měření IR spekter.

Obsah

| | |
|--|-----------|
| SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK: | 7 |
| POPIS ZADÁNÍ PRÁCE | 8 |
| ÚVOD: TUBERKULÓZA | 9 |
| HISTORIE..... | 9 |
| TERAPIE | 10 |
| ANTITUBERKULOTIKA..... | 11 |
| <i>Základní antituberkulotika</i> | <i>11</i> |
| <i>Rezervní antituberkulotika</i> | <i>12</i> |
| SOUČASNÉ TRENDY VE VÝVOJI LÉČBY TUBERKULÓZY | 13 |
| PŘEHLED BIOLOGICKÉ AKTIVITY BENZOXAZOLŮ | 14 |
| ANTIBAKTERIÁLNÍ A ANTIFUNGÁLNÍ AKTIVITA..... | 14 |
| PROTINÁDOROVÁ AKTIVITA | 17 |
| FLUORESCENČNÍ AKTIVITA | 19 |
| ANTAGONISTÉ 5-HT ₃ RECEPTORŮ..... | 21 |
| METODICKÁ ČÁST | 22 |
| RŮZNÉ METODY PŘÍPRAVY BENZOXAZOLŮ | 22 |
| <i>Cyklokondenzační reakce</i> | <i>22</i> |
| <i>Kontrakce nebo fotochemický přesmyk</i> | <i>22</i> |
| PŘÍPRAVA SCHIFFOVÝCH BÁZÍ | 23 |
| PŘÍPRAVA BENZOXAZOLŮ | 23 |
| EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST | 24 |
| DISKUSE A ZÁVĚR | 39 |
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 42 |

Seznam použitých zkratek:

| | |
|----------------|---|
| BCG | Bacillus Calmette-Guérin (vakcína proti tuberkulóze) |
| Boc | <i>tert</i> -butyloxykarbonyl |
| DMSO | dimethylsulfoxid |
| DNA | deoxyribonukleová kyselina |
| DOTS | Directly Observed Treatment Short-Course (standard pro léčbu tuberkulózy) |
| EMB | etambutol |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| INH | isoniazid |
| IR | infračervená spektroskopie |
| MDR-TB | multidrug resistant tuberculosis |
| NAD | nikotinamidadenin dinukleotid |
| NMR | nukleární magnetická rezonance |
| PAS | kyselina p-aminosalicylová |
| PZA | pyrazinamid |
| QSAR | Quantitative Structure-Activity Relationship |
| R _f | retenční faktor |
| RMP | rifampicin |
| RNA | ribonukleová kyselina |
| STM | streptomycin |
| TB | tuberkulóza |
| TLC | tenkovrstvá chromatografie |
| UV | ultrafialová spektroskopie |
| WHO | World Health Organisation |
| XDR-TB | extensively drug resistant tuberculosis |

Popis zadání práce

Cílem diplomové práce byla příprava vybraných derivátů různě substituovaného 2-fenylbenzoxazolu, jakožto potenciálně antituberkuloticky účinných látek. Práce navazuje na syntézy a zkoumání biologické aktivity předchozích výzkumných prací^{11,12}, kdy látky struktury benzoxazolu, substituované v poloze 2 aromatickým nebo heterocyklickým substituentem vykazovaly významnou biologickou aktivitu a proto i tato práce pokračuje ve výzkumu dosud nepopsaných modifikací.

Úkolem této diplomové práce bylo podat přehled a rozbor literatury za posledních několik let, související s biologickou aktivitou benzoxazolů, provedení rešerše zadaných sloučenin, vlastní příprava, čištění, charakterizace a ověření struktury daných sloučenin a zpracování výsledků jejich biologického hodnocení.

Úvod: Tuberkulóza

Historie

Tuberkulóza je infekční onemocnění, se kterým se u lidí setkáváme již od starověku. První doložený nález *Mycobacterium tuberculosis* je z pozůstatků bizona z doby přibližně před 18 tisíci lety. Není zatím jasné, zda se tuberkulóza vyvinula z dobytka a pak se přenesla na člověka nebo jestli se vyvíjely rozdílné kmeny tohoto mikroorganismu. Pozůstatky tuberkulózy byly nalezeny i u prehistorických lidí 7 tisíc let před naším letopočtem nebo u mumií datovaných kolem roku 3 tisíce př. n. l. Tuberkulózu identifikoval i Hippokrates v Řecku a nazval ji souchotiny. V 17. století se rozvíjí anatomie a patologie a dochází k popsání tuberkulózy Sylviem, který si jako první všiml změn na plicích a jiných orgánech. Vzhledem k nejednotným příznakům se nevědělo, zda jde o jednu nemoc, což se potvrdilo až v 20. letech 19. století. Název tuberkulóza dostala tato nemoc roku 1839 J. L. Schonleinem. V druhé polovině 19. století se začíná o tuberkulóze uvažovat jako o léčitelné nemoci. Přispělo k tomu zjištění, že lidem, nakaženým touto nemocí, prospěl pobyt na zdravém horském vzduchu a dostatek kvalitní potravy. To vedlo k postupnému otevírání sanatorií pro lidi s tuberkulózou. Postupem času se vyvinuly další metody léčby, jako například umělý pneumotorax, kdy došlo k umělému zkolabování plíce a úlevě pacienta. Po objevu rentgenu roku 1895 mohlo být toto onemocnění lépe sledováno. V průběhu druhé světové války po objevu sulfonamidů a penicilinu se doufalo, že tyto látky pomohou i proti *Mycobacterium tuberculosis*, ale bakterie byla rezistentní. Velký zlom nastal až po izolaci streptomycinu z bakterie *Streptomyces griseus*. Streptomycin okamžitě zastavoval rozvoj nemoci, vymýtil bakterii z organismu a došlo k plnému zotavení pacienta. Avšak na samotný streptomycin se rychle objevila rezistence (již po několika měsících). To bylo překonáno až s vývojem dalších látek, účinkujících na tuto bakterii a jejich používáním v kombinaci.¹

WHO (světová zdravotnická organizace) odhaduje, že touto nemocí je na světě nakažena přibližně třetina populace. Jen v Evropě každou hodinu přibývá 49 případů a každou hodinu 7 lidí na tuberkulózu zemře. Nejhorší situace je v rozvojových zemích, hlavně v Africe, jihovýchodní Asii, Jižní Americe a východní Evropě. Příčinou je zejména infekce virem HIV, která zvyšuje riziko nákazy 30 krát a i při vhodné léčbě je prognóza špatná. Dalším důvodem je nevhodná antituberkulózní léčba, ať už se to týká nevhodných lékových režimů nebo nedostatečné kontroly pacienta, což může vést ke vzniku rezistence. V dnešní

době se stále častěji objevují takzvané multirezistentní bakterie tuberkulózy (MDR-TB), což jsou kmeny, které získaly rezistenci na rifampicin a isoniazid, ale mohou být rezistentní i proti jiným látkám, užívaným k léčbě tuberkulózy. MDR-TB se poprvé objevila kolem roku 1990 u pacientů nakažených virem HIV. MDR-TB kmeny vykazují i vysokou mortalitu pacientů v řádu 50-80 % úmrtí v relativně krátké době (4-16 týdnů). Nejzávažnější jsou případy výskytu tzv. XDR-TB (extensively drug resistant TB), což jsou kmeny rezistentní i na antituberkulotika rezervní. I přes veškeré snahy WHO se stále nedaří narůstající trend této nemoci zastavit.^{2,3,4,5}

Původcem tuberkulózy je bakterie *Mycobacterium tuberculosis*, objevena 24. března 1882 Robertem Kochem. Podle něho bývá někdy označována jako Kochův bacil. *M. tuberculosis* má tyčinkovitý tvar a je obligátně aerobní. Na rozdíl od ostatních bakterií se velmi pomalu dělí, doba dělení je 15-20 hodin. Není barvitelná Gramovým barvením, musí se pro její barvení používat jiná barviva, například barvení podle Ziehl-Neelsena. Řadíme ji mezi acidorezistentní bakterie. V buněčné stěně obsahuje velké množství lipidů, zejména mykolové kyseliny, což je důvodem velké odolnosti. Ve vysušeném stavu přežívá i několik týdnů, za normální teploty přežívá 1-2 hodiny a sterilizací v autoklávu dojde k spolehlivému zničení.^{6,7}

Terapie

Od poloviny 20. století máme k dispozici látky s prokazatelnou aktivitou proti *M. tuberculosis*. Vzhledem k tomu, že se v každé populaci bakterií vyskytují jedinci s primární rezistencí na jeden druh antituberkulotika, využíváme je vždy v kombinaci. Při užití monoterapie by došlo k vymýcení citlivých organismů, ale rezistentní by se pomnožily, antituberkulotikum by ztratilo účinnost a onemocnění by se obnovilo. Další důvod kombinování těchto látek je, že při použití více léčiv s různým mechanismem účinku se jejich efekt sčítá. Můžeme tedy u jednotlivých léčiv snížit jejich dávku, což sníží i jejich nežádoucí účinky. Terapie je dlouhodobá, za standardní se dnes považuje terapie trvající 6-12 měsíců při použití čtyřkombinace antituberkulotik s různým mechanismem účinku.⁸

Další možností ochrany je profylaxe onemocnění. Provádí se očkováním pomocí BCG vakcíny, což je komplex oslabených živých mykobakterií. Veškeré BCG vakcíny pocházejí z jednoho původního kmene *Mykobakterium bovis*, který byl po dobu 13 let oslabován na speciální půdě. Účinnost očkování se různí, hlavně podle toho, že není možné přesně srovnat

všechny studie z důvodu jejich nejednotného vedení a hodnocení. V České republice lze odhadnout přibližně 93% úspěšnost očkování, z velké části je to díky vysoké proočkovanosti dětí do 13 let.⁹

Antituberkulotika

K dispozici máme tzv. základní a rezervní antituberkulotika. V naprosté většině případů se používá při terapii kombinace 4 antituberkulotik ze skupiny základních, které mohou mít baktericidní nebo bakteriostatický účinek. V případě rezistence nebo nesnášenlivosti pacienta můžeme použít rezervní antituberkulotika, ale jejich poměr přínosu a rizika není tak výhodný. Cílem léčby je úplné zničení bakterie tuberkulózy.

Různá antituberkulotika mají různou pravděpodobnost, že vůči nim vznikne rezistence. Nejvyšší pravděpodobnost vzniku rezistence je u ethionamidu, cykloserinu nebo kapreomycinu, střední je u isoniazidu, etambutolu, streptomycinu, kanamycinu nebo kyseliny *p*-aminosalicylové a nejmenší riziko vzniku rezistence je u rifampicinu.

Základní antituberkulotika

Mezi základní antituberkulotika řadíme isoniazid (INH), rifampicin (RMP) a rifabutin, pyrazinamid (PZA), streptomycin (STM) a etambutol (EMB).

Isoniazid působí na proliferující bakterie baktericidně. Mechanismus jeho účinku není přesně znám, ale předpokládá se, že snadno prostupuje do mykobakteria, kde se oxiduje na kyselinu isonikotinovou pomocí enzymu katalázy-peroxidázy (Kat-G). Kyselina isonikotinová se v buňce kumuluje a pravděpodobně interferuje s kyselinou nikotinovou, která je součástí NAD. Tím je blokována část látkové přeměny a i vznik charakteristických mykolových kyselin. Mechanismus resistance pravděpodobně vzniká na podkladu mutace v enzymu Kat-G a tím pádem i nemožnosti oxidace isoniazidu.

Rifampicin a rifabutin jsou si strukturou i mechanismem účinku velice podobné látky. Působí baktericidně na množící se mikroby mechanismem inhibice DNA-dependentní RNA-polymerázy, čímž blokuje vznik RNA bakterií. Proti těmto látkám se vyskytuje jen vzácně primární rezistence. Rezistence vzniká na β -podjednotce (jedné ze 4 podjednotek) polymerázy záměnou, delecí nebo inzercí aminokyseliny v řetězci enzymu. Tím dochází k nemožnosti

navázání molekuly rifampicinu. Rifabutin navíc účinkuje i na bakterie rezistentní na rifampicin.

Pyrazinamid působí baktericidně na původce *M. tuberculosis*, ostatní původci jsou většinou rezistentní. Mechanismus účinku není přesně znám. Pyrazinamid se po průniku do buňky štěpí na pyrazinkarboxylovou kyselinu, která se v buňce kumuluje. Rezistence na pyrazinamid vzniká mutací v enzymu, který hydrolyzuje pyrazinamid na pyrazinkarboxylovou kyselinu. Ostatní původci tuberkulózy jsou rezistentní proto, že tento enzym nemají vůbec. Jeho nasazení v počátečních fázích onemocnění výrazně snižuje dobu léčení.

Streptomycin při vyšších koncentracích působí baktericidně mechanismem poruchy proteosyntézy. Dochází ke vzniku falešných bílkovin, které se zabudovávají do membrány a způsobují unikání důležitých látek z bakterie. Toto poškození je ireverzibilní. Využívá se hlavně proti zvláštním formám tuberkulózy, zejména proti tuberkulózní meningitidě. Snadno na něj vzniká rezistence, takže se musí vždy používat v kombinaci. K rezistenci dochází záměnou aminokyseliny v ribozomální bílkovině, která způsobí změnu vyšší struktury bílkoviny a tím i neúčinnost streptomycinu.

Etambutol působí bakteriostaticky proti množícím se bakteriím zásahem do stavby buněčné stěny. Používá se pouze v kombinaci a hlavně v případech rezistence na ostatní antituberkulotika.

Rezervní antituberkulotika

Mezi rezervní antituberkulotika řadíme kyselinu *p*-aminosalicylovou (PAS), ethionamid, protionamid, cykloserin, terizidon a mohou se sem řadit i tetracykliny a jiná antibiotika.

Kyselina *p*-aminosalicylová byla prvním chemoterapeutikem tuberkulózy, dnes se nepoužívá kvůli vysokým terapeutickým dávkám. Proti protionamidu rychle vzniká rezistence. Cykloserin a terizidon (obsahuje v molekule 2 cykloserinové jednotky) jsou řazeny do rezervních chemoterapeutik díky závažným nežádoucím účinkům na nervovou soustavu.^{8,4}

Současné trendy ve vývoji léčby tuberkulózy

Narůstající počet nových případů tuberkulózy a nové multirezistentní kmeny představují velkou hrozbu, proto byl přijat systém DOTS (Directly Observed Treatment Short-course). DOTS je 6-8 měsíční léčebný režim, plně kontrolovaný, což znamená, že nemocnému jsou léky po celou dobu aplikovány lékařem nebo zaškoleným zdravotním pracovníkem. Skládá se ze dvou fází, první z nich je intenzivní fáze, trvající 2 měsíce, kdy je v ideálním případě nemocný hospitalizován (v evropských podmínkách vždy na specializovaném oddělení). V rozvojových zemích je alespoň izolován sám doma a léky mu donáší zdravotník. V intenzivní fázi používáme léčbu čtyřkombinací léčiv, většinou rifampicin, isoniazid, pyrazinamid a etambutol. Druhá fáze je tzv. ambulantní, trvá zbývajících 4-6 měsíců a léčí se dvojkombinací, převážně rifampicinem a isoniazidem. Strategii DOTS používá na světě stále více států a stále se zvyšuje množství světové populace, spadající do tohoto programu. Cílem je k roku 2015 snížit výskyt tuberkulózy na světě o 50 % a zvýšit procento vyléčených.¹⁰

Další cestou boje proti tuberkulóze je vývoj nových léčiv s novým mechanismem účinku, účinných proti multirezistentním kmenům. Nejracionálnější přístup vychází ze zmapování genomu a biosyntetických pochodů v *Mycobacterium tuberculosis* a snažíme se o přímý zásah do tohoto systému. Od těchto nových léčiv očekáváme vysokou účinnost, nejlépe baktericidní působení a co nejmenší nežádoucí účinky.

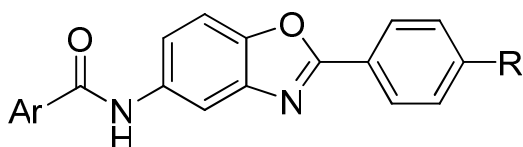
Přehled biologické aktivity benzoxazolů

Různou substitucí lze u benzoxazolových derivátů dosáhnout rozdílného účinku. Především se jedná o antibakteriální, antifungální, antivirotické a protinádorové účinky, dále vykazují vlastnosti herbicidní a insekticidní, anthelmintické, jsou antagonisty histaminových receptorů a některé mají i fluorescenční vlastnosti.¹³ Benzoxazoly snadno interagují s biopolymery lidského organismu díky velké podobnosti s nukleovými bázemi purinového typu, jako je adenin a guanin.

Antibakteriální a antifungální aktivita

Benzoxazoly byly zkoušeny na různých druzích bakterií a plísní. Mezi nejčastější patří z gram-negativních *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Klebsiella pneumoniae*, nejčastější z gram-pozitivních jsou *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* a *Bacillus subtilis*. Z plísní byly zkoušeny hlavně na různých druzích rodu *Candida*, jako *Candida albicans*, *Candida pseudotropicalis* a *Candida krusei*. Bylo připraveno mnoho různých derivátů a byl srovnáván vliv struktury na účinnost proti těmto bakteriím a plísním.

2-(*p*-Substituované-fenyl)-5-(substituované-karbonylamino)benzoxazoly

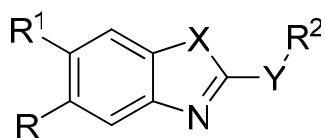


R = H, C₂H₅, F, N(CH₃)₂

Ar = 2-furyl, 2-thienyl, substituovaný fenyl

Tyto látky mají antimikrobiální potenciál proti gram-pozitivním bakteriím vyšší než proti gram-negativním. Proti *Candida albicans* se objevila také účinnost. Z této skupiny látek se jako nejlepší ukázala sloučenina, mající R = dimethylamino a Ar = 2-thienyl, která měla zvýšenou účinnost proti *S. aureus*, *S. faecalis*, *B. subtilis* a *C. albicans* s hodnotou MIC = 12,5 µg/ml při molární koncentraci 3,45 x 10⁻⁵.¹⁴

2,5/2,6-Substituované benzoxazoly, mající v poloze 2 alicyklický řetězec



R = H, Cl, NO₂, NH₂, CH₃

R¹ = H, CH₃, NO₂

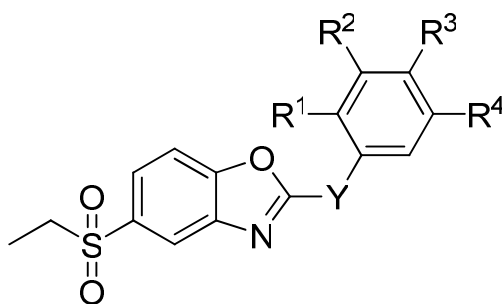
R² = cyklopentyl, cyklohexyl

X = O, NH

Y = -, CH₂, C₂H₄, CH₂NH

Tyto látky byly zkoušeny proti G⁺ i G⁻ bakteriím a kvasince *C. albicans*. Ze vztahu struktury a účinku vyplývá, že substituce cyklohexylem je lepší než substituce cyklopentylem. Pokud je v poloze 5 vázán chlor, je zvýšená účinnost proti *S. faecalis*. Nitroskupina v poloze 5 a cyklohexyl nebo cyklohexylmethyl v poloze 2 zvyšují účinek proti *B. subtilis*.¹⁵

5-Ethylsulfonyl-2-(substituované fenyl/benzyl/fenylethyl)benzoxazoly

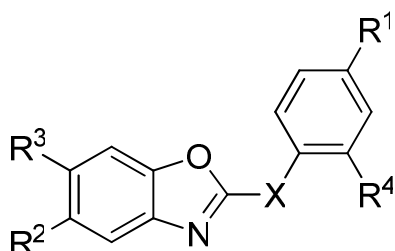


R¹, R², R³, R⁴ = H, CH₃, F, Cl, Br, NO₂, *terc*-butyl

Y = -, CH₂, C₂H₄

Tato série látek byla zkoušena proti G⁺ i G⁻ bakteriím, kvasinkám a i proti jejich rezistentním kmenům. Zjistilo se, že bez použití můstku mezi fenylem a benzoxazolovým jádrem a s použitím vhodného substituentu R₃ došlo ke zvýšení aktivity proti rezistentní *E. coli*. Použitím vhodných substituentů R¹ a R³ došlo ke zvýšení účinku proti *B. subtilis*. Substituce v poloze R¹ ovlivňovala účinnost proti *C. albicans*.¹⁶

5/6-Nitro/amino-2-(substituovaný fenyl/benzyl)benzoxazol



$R^1 = \text{H, F, Cl, Br, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \textit{tert}\text{-butyl}$

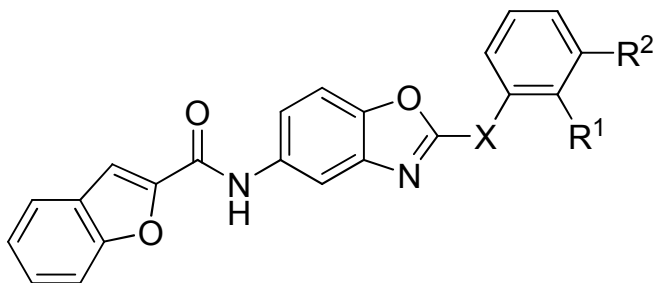
$R^2, R^3 = \text{H, CH}_3, \text{NO}_2, \text{NH}_2$

$R^4 = \text{H, F, Cl, CH}_3, \text{OCH}_3$

$X = -, \text{CH}_2$

Tyto látky byly zkoušeny hlavně proti *B. subtilis* a byla provedena QSAR analýza. Ze vztahu struktury a aktivity vyplývá, že pokud je v poloze 5 nebo 6 benzoxazolového jádra navázán methyl, zvyšuje se aktivita proti *B. subtilis*. Pokud je substituentem R^4 alkyl, účinnost se dále zvyšuje. Pokud do polohy 2 benzoxazolového jádra umístíme substituent odtahující elektrony, aktivita se také zvyšuje.¹⁷

2-(Substituovaný fenyl/benzyl)-5-[(2-benzofuryl)karboxamido]benzoxazol



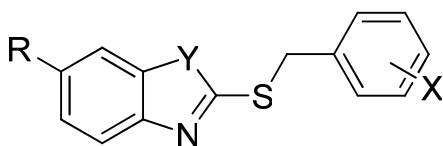
$R^1 = \text{H, Br}$

$R^2 = \text{H, F, Cl, Br, CH}_3, \text{C}_2\text{H}_5, \textit{tert}\text{-butyl}$

$X = -, \text{CH}_2$

Tyto látky byly zkoušeny proti některým G+ a G- bakteriím, kvasinkám a jejich rezistentním kmenům. Zjistilo se, že substituce v poloze 2 benzoxazolového jádra nemá významný vliv na aktivitu proti gram-pozitivním bakteriím. Avšak molekula obsahující (*p*-bromfenyl)benzoxazol vykazovala vysokou účinnost proti rezistentnímu kmeni *P. aeruginosa* a nesubstituovaná molekula, pouze s methylenovým můstkem vykazovala vysokou účinnost proti *C. krusei*, pouze o řád nižší než fluconazol. Dále se zjistilo, že záleží na konformaci molekuly, která způsobuje rozdílnou účinnost proti rezistentní *P. aeruginosa*.¹⁸

2-(Substituovaný benzyl)sulfanylbenzoxazol/benzimidazol/benzothiazol



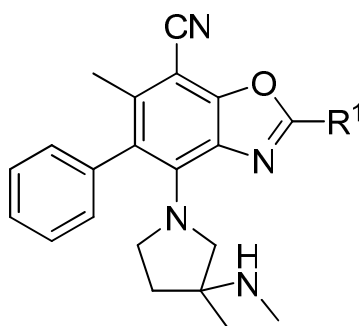
$Y = \text{NH, O, S}$

$R = \text{H, CH}_3$

X = H, CH₃, CH₃O, CF₃, F, Cl, Br, CN, NO₂, CSNH₂

Tato skupina látek byla hodnocena pomocí QSAR analýzy za účelem zjištění nejvhodnější substituce pro co nejlepší antimykobakteriální účinnost. Bylo zjištěno, že antimykobakteriální účinnost narůstá v řadě benzothiazol < benzoxazol < benzimidazol < 5-methylbenzimidazol. Dále bylo zjištěno, že citlivost různých kmenů mykobakterií je rozdílná a klesá v řadě *M. kansasii* (6509/96) > *M. avium* (330/88) > *M. kansasii* (235/80) > *M. tuberculosis* (331/88), avšak vůči sloučeninám typu benzoxazolu je nejcitlivější kmen *M. kansasii* (235/80). Nejvyšší antimykobakteriální účinnost vykazovaly sloučeniny se skupinami 3-CSNH₂, 2,4-(NO₂)₂, 4-CSNH₂, 3,5-(NO₂)₂ a částečně 4-NO₂ vázané na benzylsulfanylové části. Obecně lze říci, že nejlepších výsledků dosahovaly sloučeniny s vysokou schopností polarizace, s nízkou lipofilitou a s elektronodtahujícími substituenty.¹⁹

Substituované-benzoxazol-7-karbonitrily

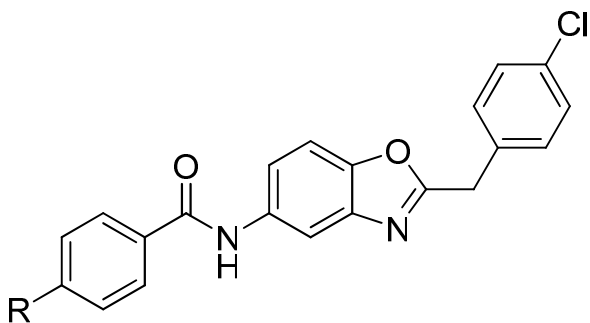


R¹ = cyklopropyl, CONMe₂

Tato skupina látek vykazovala vysokou aktivitu proti houbám, konkrétně kandidám. Dále byla zkoušena jejich rozpustnost a metabolická stálost. V poloze 4 benzoxazolu může být vázán různý substituent (většinou substituovaný nasycený dusíkatý heterocykl). Nejaktivnější sloučenina této skupiny měla v poloze 2 navázán hydrofilní substituent CONMe₂ a v poloze 4 metabolicky stabilní (3S)-3-methyl-3-(methylamino)pyrrolidin-1-yl. Tato sloučenina měla velmi dobrou *in vivo* účinnost u myši a biodostupnost u krysy.²⁰

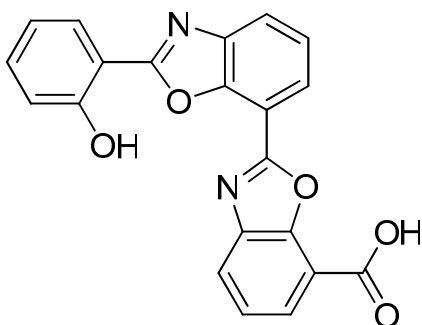
Protinádorová aktivita

2-(4-Chlorbenzyl)-5-(substituované benzamido)benzoxazoly



Aktivita benzoxazolů, benzimidazolů a benzoxazinů proti lidské topoizomeráze II byla zkoušena na lidské nádorové buněčné linii a na jejich rezistentních podtypech. Principem protinádorové aktivity je schopnost těchto látek zabránit znovu spojení DNA po jejím předchozím rozpojení pomocí topoizomerázy II. Z porovnání aktivit nasyntetizovaných benzoxazolů vyplývá následující vztah struktury a aktivity: pokud je v poloze 2 benzoxazolu vázán *p*-chlorbenzyl a v poloze 5 je vázána benzamido skupina, mají tyto látky vyšší účinnost proti rezistentním kmenům buněk. Účinnost se dá ještě zvýšit zavedením nitroskupiny do *p*-polohy benzamidové části molekuly. U některých kmenů (nádorových buněk ze střeva) se zjistilo, že je výhodnější substituce v poloze 2 benzoxazolu bez methylenového můstku, zřejmě kvůli koplanární konformaci. Všechny tyto látky byly srovnávány proti klasickým zástupcům blokátorů topoizomerázy II (etoposid, mitoxantron, anthracykliny) a některé vykazaly vysokou aktivitu, hlavně vůči podkmenům, rezistentním na klasickou léčbu. Výsledky klinického hodnocení nejsou dosud známy.²¹

Substituované bis(benzoxazoly)



Další látky, které účinkují na lidskou topoizomerázu II jsou bis(benzoxazoly). Původně jsou odvozené od přírodního bis(benzoxazolu) pojmenovaného zkratkou UK-1. Tato látka má pouze protinádorové účinky, proti bakteriím nebo houbám nemá prakticky žádnou aktivitu, navíc je schopna dobře vázat dvoumocné a trojmocné ionty. Její struktura se stala

předlohou pro mnohé obměny. Zjistilo se, že záměnou benzoxazolového kruhu za benzimidazolový se ztrácí aktivita.²²

Cytotoxickou a antibakteriální aktivitu vykazují také sloučeniny s navázanou nitrilovou skupinou na postranním řetězci.



X = N, O, S

Y = C, N

R¹ = H, CH₃

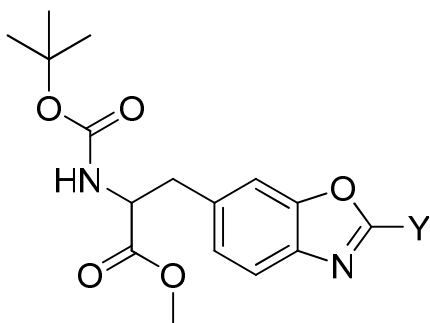
R² = 5-nitrothiofen-2-yl, 5-methoxythiofen-2-yl, 5-bromthiofen-2-yl, pyridin-2-yl, pyridin-3-yl, 5-nitrofuran-2-yl a další

R³ = delší řetězce obsahující na konci 5-nitrothiofen-2-yl nebo 5-nitrofuran-2-yl

Tyto látky mají specifický účinek na buněčný cyklus, který způsobuje akumulaci buněk ve fázi G2/M a G0/G1. Ze vztahu struktury a účinku vyplývá, že záměna heteroatomů v molekule benzimidazolu je možná, ale jiné záměny ne. Nitrilová skupina je nezbytná pro účinek, ale sama o sobě nestačí na cytotoxickou aktivitu. Změny na nitrothiofenovém kruhu, jako odstranění nitroskupiny vedou ke snížení nebo ztrátě účinku. Zjistilo se také, že poloha připojení části s nitrilovou skupinou nemá vliv na účinek. Zajímavé je, že stejný vztah struktury a aktivity platí i pro antibakteriální aktivitu.²³

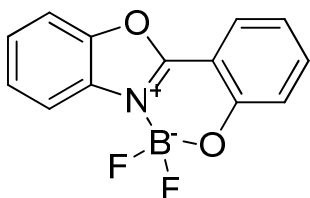
Fluorescenční aktivita

Deriváty benzoxazolů, substituované v poloze 2 aromatickým substituentem a vázané na aminokyseliny, vykazují fluorescenční aktivitu. Fluorescenční aktivita je závislá na druhu aminokyseliny, na substituci a na druhu rozpouštědla. Získáme tak malé a jednoduché fluorofory, použitelné k analýze přírodních aminokyselin, jako chemosenzory kovových iontů nebo jako pH senzory.²⁴



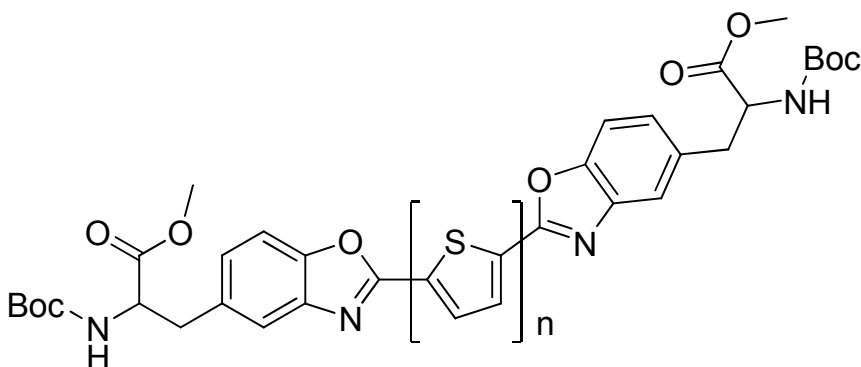
Y = aromatický substituent

Fotostabilní BF_2 chelátované flouorofory založené na 2-(2-hydroxyfenyl)benzoxazolu nebo 2-(2-hydroxyfenyl)benzothiazolu



Byly zkoušeny komplexy kovů založené na N- nebo O- donorových ligandech a vykazovaly slibnou luminiscenční aktivitu. Komplexy s hliníkem poskytovaly zelenou luminiscenci, ale byly méně stabilní než komplexy s borem. Komplexy s borem poskytovaly intenzivní tmavě modrou luminiscenci při vysoké stabilitě.²⁵

Bis-aminokyseliny spojené benzoxazolovým a thiofenovým můstkem

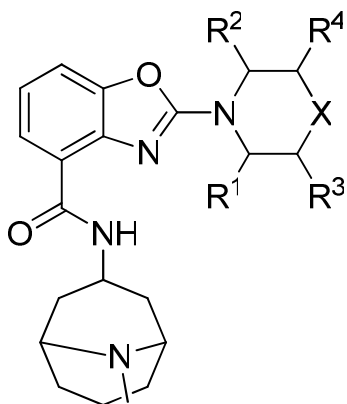


n může být od 1 do 3

Bylo zjištěno, že tyto sloučeniny vykazují zajímavé fotofyzikální vlastnosti, zejména silného emisivního charakteru. Jejich uplatnění by mohlo být hlavně v peptidové chemii jako UV-aktivní a fluorescenční chromofory.²⁶

Antagonisté 5-HT₃ receptorů

2-Substituované benzoxazolkarboxamidy



X = O, NH

R¹, R², R³, R⁴ = H, CH₃

Látky této struktury vykazovaly *in vitro* i *in vivo* antagonistické účinky proti serotoninovým receptorům podtypu 5-HT_{3A}. Této interakce by se dalo potenciálně využít při syndromu dráždivého tračníku s převládajícím průjmem, což je v dnešní době špatně léčitelné onemocnění a léčivé přípravky dnes používané vykazují četné nežádoucí účinky. Ze vztahu struktury a účinku vyplývá, že zaměníme-li heteroatomy v molekule benzoxazolu, sníží se účinnost. Nejvyšší účinnosti bylo dosaženo substitucí v poloze 2 benzoxazolu aminoskupinou, která může být dále substituována nebo součástí heterocyklu, substituce alkylem nebo arylem v poloze 2 je méně účinná. Nejvyšší účinnosti bylo dosaženo u sloučeniny, obsahující methyl v poloze 1 a 6 piperazinu.²⁷

Metodická část

Různé metody přípravy benzoxazolů

Existuje mnoho možností, jak připravit různě substituované benzoxazoly a to jak v roztoku, tak i na pevné fázi. Obecně tyto reakce můžeme shrnout do dvou skupin na cyklokondenzační reakce a na kontrakce nebo přestavbu jiných *ortho*-kondenzovaných heterocyklů za vzniku benzoxazolu.

Cyklokondenzační reakce

Mezi nejčastější cyklokondenzační reakce patří cyklizace *o*-aminofenolu pomocí různých činidel, například pomocí karboxylových kyselin a jejich derivátů. Tak například z *o*-aminofenolu a acetanhydridu získáme 2-methylbenzoxazol.²⁸ Při reakci *o*-aminofenolu s aromatickými kyselinami v kyselém prostředí dochází často k otevření benzoxazolového kruhu za vzniku Schiffovy báze. Tomu se dá předejít úpravou reakčních podmínek použitím benzenu, pyridinu nebo xylenu jako prostředí a kyseliny borité jako katalyzátoru.²⁹ S úspěchem lze použít i polyfosforečnou kyselinu.¹² Reakcí formamidu, formamidinu nebo mravenčí kyseliny s *o*-aminofenolem získáme nesubstituovaný benzoxazol.³⁰ Nesubstituovaný benzoxazol získáme rovněž zahříváním 2-hydroxybenzaldehyd oximu.³¹ Další výchozí sloučenina pro přípravu benzoxazolů je *o*-nitrofenol, který je *in situ* redukován a následně cyklizován.³² 2-Substituovaný benzoxazol získáme reakcí *o*-aminofenolu s odpovídajícím aldehydem a následnou cyklizací fotochemicky nebo katalyticky s použitím oxidu nebo acetátu olovičitého.³³ Primární alkyl aminy³⁴ a většina α -aminokyselin^{35,36} a dipeptidů majících N-koncový glycin³⁷ reagují s 3,5-di-*terc*-butyl-1,2-benzochinonem za vzniku 2-substituovaných 5,7-di-*terc*-butylbenzoxazolů. První reakce na pevné fázi byla uskutečněna roku 1997 za použití Mitsunobuovy reakce.³⁸

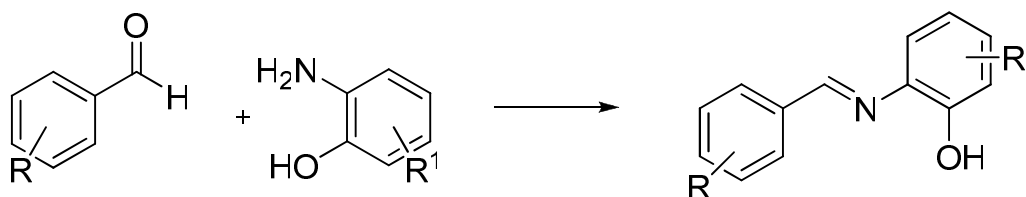
Kontrakce nebo fotochemický přesmyk

Zahříváním 1,2,4-benzoxadiazinu dojde k přesmyku, díky kterému získáme benzoxazol, amoniak a plynný dusík. Reakční mechanismus je pravděpodobně takový, že dojde k otevření kruhu na *o*-benzochinonimin, recyklizaci na diaziridin a vytlačení

nitrenového fragmentu.³⁹ Mezi další výchozí látky, ze kterých můžeme připravit zahříváním nebo fotochemicky benzoxazol, patří 2-fenylbenzo[1.3.5]oxadiazepin⁴⁰, benzo[d]isoxazol⁴¹ nebo 1-benzoylbenzotriazol.⁴²

Příprava Schiffových bází

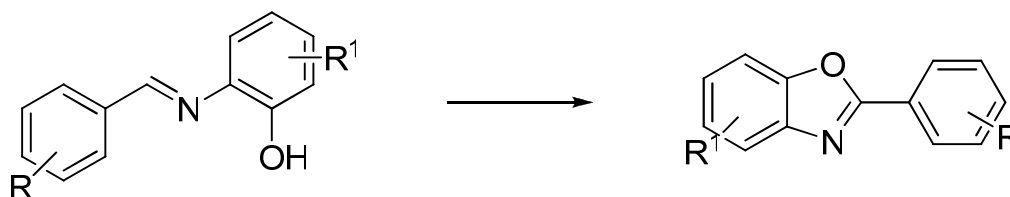
Obecné schéma:



Příslušný aminofenol byl rozpuštěn v ethanolu (99,9%), přidán aldehyd a byl zahříván k varu pod zpětným chladičem. Nechali jsme reagovat 3 hodiny za varu a poté den stát při laboratorní teplotě. Po odpaření části rozpouštědla byly vypadlé krystaly rekrystalizovány z ethanolu.

Příprava benzoxazolů

Obecné schéma:



Schiffova báze byla rozpuštěna v bezvodé kyselině octové, přidán octan olovičitý a směs byla zahřívána k varu po dobu 1 hodiny. Po vakuovém odpaření do sucha jsme přelili ethylacetátem a nerozpuštěná část byla odfiltrována. Z filtrátu byla část rozpouštědla oddestilována a vypadlé krystaly odfiltrovány. Čištění proběhlo dělením na chromatografické koloně.

K této sérii reakcí jsme využívali 2 aldehydy, konkrétně 2-brombenzaldehyd a 3-brombenzaldehyd a z aminofenolů to byly: 2-amino-4-chlor-6-nitrofenol, 2-amino-5-nitrofenol, 2-amino-4-(ethylsulfonyl)fenol, 2-amino-6-chlor-4-nitrofenol.

Experimentální část

Výchozí sloučeniny (brombenzaldehydy i substituované aminofenoly) byly komerčně dostupné a byly zakoupeny od firmy Aldrich.

Průběh reakce a čistota produktů byly ověřovány pomocí tenkovrstvé chromatografie na chromatografických deskách Silufol UV 254 a výsledky detekovány pod UV lampou při vlnové délce 254 nm. Jako mobilní fáze byla nejčastěji použita fáze hexan/ethylacetát v poměru 4:1 nebo 2:1.

Meziprodukty syntéz byly čištěny pomocí rekrystalizace z daného rozpouštědla a konečné produkty byly čištěny sloupcovou chromatografií.

Teploty tání byly stanoveny na přístroji pro měření teploty tání od firmy Büchi B-540 v otevřených kapilárách a nejsou korigovány.

Infračervená spektra byla naměřena na katedře anorganické a organické chemie na IČ spektrofotometru NICOLET 6700 FT-IR. Jelikož všechny látky byly pevné, byla spektra měřena na ATR-Ge v rozsahu 400 – 4000 cm^{-1} .

NMR spektra byla měřena rovněž na katedře anorganické a organické chemie v roztocích CDCl_3 při laboratorní teplotě na přístroji Varian Mercury – Vxbb 300 (300Mhz pro ^1H a 75,5 MHz pro ^{13}C) Chemické posuny byly změřeny jako hodnoty δ v ppm a byly nepřímo vztaženy k TMS jako standardu.

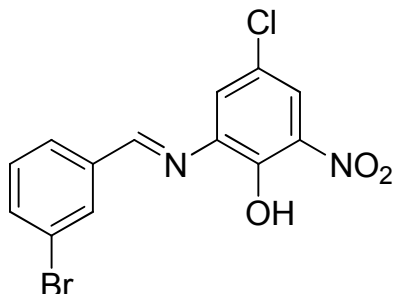
Chemické vzorce byly vytvořeny v programu ChemDraw 10.0.

4-Chlor-6-nitro-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenol (L11)

Sumární vzorec: $C_{13}H_8N_2O_3BrCl$

Molekulová hmotnost: 355,58

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 1,88 g (0,01 mol) 2-amino-4-chlor-6-nitrofenolu bylo rozpuštěno v 30 ml ethanolu (99,9%), přidáno 1,85 g (0,01 mol) 3-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrovány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci. Vzorek odeslaný na testování biologické aktivity byl navíc čištěn chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a rekrystalizován z ethanolu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 2,51 g (teorie 3,56 g), což odpovídá 70,5 %

Teplota tání: 140,9-142,8 °C

TLC: $R_f = 0,40$ (hexan/ethylacetát 4:1)

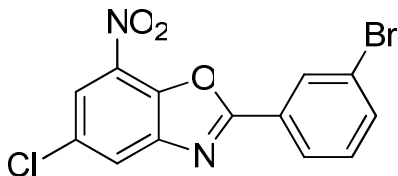
IR spektrum: 1630 (C=N), 1524 (NO_2), 1471 (C=C), 897, 837 (C-H_{Ar})

2-(3-Bromfenyl)-5-chlor-7-nitrobenzo[d]oxazol (L17)

Sumární vzorec: C₁₃H₆N₂O₃BrCl

Molekulová hmotnost: 353,56

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 2,00 g (0,0057 mol) 4-chlor-6-nitro-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenolu byly rozpuštěny v 50 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 2,5 g (0,0056 mol) octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrovány. Krystaly byly čištěny chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a překrytalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 0,56 g (teorie 1,98 g), což odpovídá 28,28 %

Teplota tání: 175,8-177,5 °C

TLC: R_f = 0,42 (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1628 (C=N), 1541 (NO₂), 1465 (C=C), 1077 (C-O-C), 827. 799 (C-H_{Ar})

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.46-8.44 (1H, m, H2'), 8.25 (1H, d, J=7.8 Hz, H6'), 8.18 (1H, d, J=1.9 Hz, H6), 8.04 (1H, d, J=1.9 Hz, H4), 7.74 (1H, d, J=7.8 Hz, H4'), 7.45 (1H, t, J=7.8 Hz, H5')

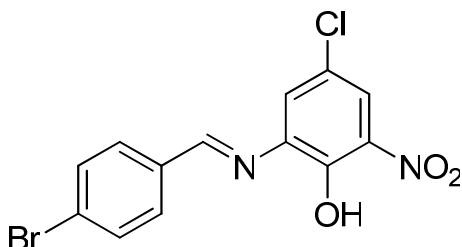
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 164.8, 146.1, 142.4, 135.9, 133.0, 131.1, 130.7, 130.4, 127.1, 126.8, 126.5, 123.3, 121.4

4-Chlor-6-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L12)

Sumární vzorec: $C_{13}H_8N_2O_3BrCl$

Molekulová hmotnost: 355,58

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 1,88 g (0,01 mol) 2-amino-4-chlor-6-nitrofenolu bylo rozpuštěno v 30 ml ethanolu (99,9 %), přidáno 1,85 g (0,01 mol) 4-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrovány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci. Vzorek odeslaný na testování biologické aktivity byl navíc čištěn chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a rekrystalizován z ethanolu.

Charakteristika: oranžová krystalická látka

Výtěžek: 1,50 g (teorie 3,56 g), což odpovídá 41,9 %

Teplota tání: 138,7-140,6 °C

TLC: $R_f = 0,40$ (hexan/ethylacetát 4:1)

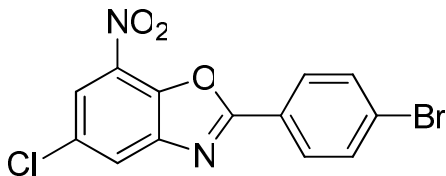
IR spektrum: 1629 (C=N), 1525 (NO₂), 1469 (C=C), 896, 837 (C-H_{Ar})

2-(4-Bromfenyl)-5-chlor-7-nitrobenzo[d]oxazol (L16)

Sumární vzorec: C₁₃H₆N₂O₃BrCl

Molekulová hmotnost: 353,56

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 1,50 g (0,0042 mol) 4-chlor-6-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenolu bylo rozpuštěno v 35 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 2,0 g (0,0045 mol) octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrovány. Krystaly byly čištěny chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a překrytalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 0,25 g (teorie 1,49 g), což odpovídá 16,78 %

Teplota tání: 201,8-203,2 °C

TLC: R_f = 0,42 (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1607 (C=N), 1530 (NO₂), 1445 (C=C), 1059 (C-O-C), 870, 749 (C-H_{Ar})

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.22-8.15 (3H, m, H₆, H_{2'}, H_{6'}), 8.03 (1H, d, J=1.7 Hz H₄), 7.74-7.67 (2H, m, AA', BB', H_{3'}, H_{5'})

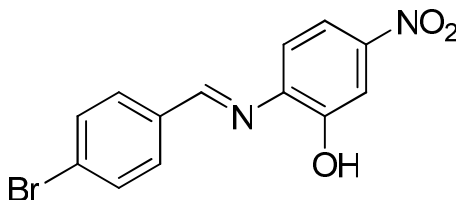
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 165.5, 146.2, 142.4, 132.6, 130.3, 129.7, 128.1, 126.3, 124.2, 121.2

5-Nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L14)

Sumární vzorec: $C_{13}H_9N_2O_3Br$

Molekulová hmotnost: 321,13

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 1,54 g (0,01 mol) 2-amino-5-nitrofenolu bylo rozpuštěno v 30 ml ethanolu (99,9 %), přidáno 1,85 g (0,01 mol) 4-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrovány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci. Vzorek odeslaný na testování biologické aktivity byl navíc čištěn chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a rekrystalizován z ethanolu.

Charakteristika: žlutooranžová krystalická látka

Výtěžek: 1,30 g (teorie 3,21 g), což odpovídá 40,5 %

Teplota tání: 198,3-200,5 °C

TLC: $R_f = 0,26$ (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1598 (C=N), 1513 (NO_2), 1491 (C=C), 878, 819 (C-H_{Ar})

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.69 (1H, s, CH), 7.86 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H3'), 7.84-7.80 (3H, m, H2, H6, H5'), 7.70-7.65 (2H, m, H3, H5), 7.34 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H6'), 7.17 (1H, bs, OH)

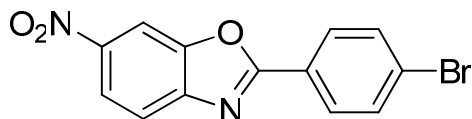
^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 160.2, 152.1, 147.6, 141.0, 133.8, 132.5, 132.4, 131.0, 130.7, 127.8, 116.4, 115.9, 110.6

2-(4-Bromfenyl)-6-nitrobenzo[d]oxazol (L15)

Sumární vzorec: $C_{13}H_7N_2O_3Br$

Molekulová hmotnost: 319,11

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 1,25 g (0,0039 mol) 5-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenolu bylo rozpuštěno v 30 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 1,7 g (0,0038 mol) octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrány. Krystaly byly čištěny chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a překrytalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 0,28 g (teorie 1,24 g), což odpovídá 22,60 %

Teplota tání: 174,5-176,0 °C

TLC: $R_f = 0,42$ (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1594 (C=N), 1525 (NO₂), 1479 (C=C), 1074 (C-O-C), 731, 828 (C-H_{Ar})

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.48 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H7), 8.33 (1H, dd, $J=8.8$ Hz, $J=2.2$ Hz, H5), 8.17-8.10 (2H, m, AA', BB', H2', H6'), 7.84 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H4), 7.74-7.67 (2H, m, AA', BB', H3', H5')

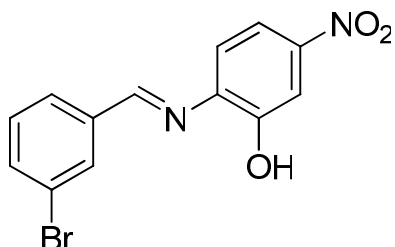
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 166.5, 149.8, 147.2, 145.2, 132.6, 129.5, 127.9, 124.8, 121.0, 119.9, 107.3

5-Nitro-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenol (L13)

Sumární vzorec: $C_{13}H_9N_2O_3Br$

Molekulová hmotnost: 321,13

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 1,54 g (0,01 mol) 2-amino-5-nitrofenolu bylo rozpuštěno v 30 ml ethanolu (99,9 %), přidáno 1,85 g (0,01 mol) 3-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrovány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci. Vzorek odeslaný na testování biologické aktivity byl navíc čištěn chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a rekrystalizován z ethanolu.

Charakteristika: žlutá krystalická látka

Výtěžek: 0,90 g (teorie 3,21 g), což odpovídá 28,04 %

Teplota tání: 185,0-187,1 °C

TLC: $R_f = 0,26$ (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1600 (C=N), 1516 (NO_2), 1432 (C=C), 877, 807 (C-H_{Ar})

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.68 (1H, s, CH), 8.13 (1H, t, $J=1.7$ Hz, Ar), 7.89-7.81 (3H, m, Ar), 7.70 (1H, ddd $J=8.3$ Hz, $J=2.0$ Hz, $J=1.0$ Hz, Ar), 7.41 (1H, t, $J=7.8$ Hz, Ar), 7.34 (1H, d, $J=8.8$ Hz, Ar), 7.16 (1H, bs, OH)

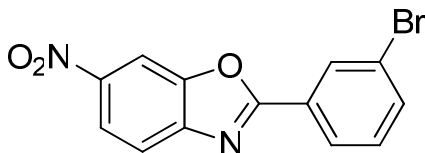
^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 159.8, 152.2, 147.8, 140.7, 136.8, 135.7, 131.7, 130.6, 128.3, 123.4, 116.5, 115.9, 110.7

2-(3-Bromfenyl)-6-nitrobenzo[d]oxazol (L18)

Sumární vzorec: $C_{13}H_7N_2O_3Br$

Molekulová hmotnost: 319,11

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 0,90 g (0,0028 mol) 5-nitro-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenolu bylo rozpuštěno v 25 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 1,2 g (0,0027 mol) octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrovány. Krystaly byly čištěny chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a překrytalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 0,16 g (teorie 0,89 g), což odpovídá 17,98 %

Teplota tání: 147,7-149,4 °C

TLC: $R_f = 0,40$ (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1614 (C=N), 1572 (NO₂), 1437 (C=C), 1074 (C-O-C), 824, 795 (C-H_{Ar})

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8.50 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H7), 8.43 (1H, t, $J=1.9$ Hz, H2'), 8.34 (1H, dd, $J=8.8$ Hz, $J=2.1$ Hz, H5), 8.24-8.18 (1H, m, H6'), 7.86 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H4), 7.77-7.71 (1H, m, H4'), 7.45 (1H, t, $J=8.0$ Hz, H5')

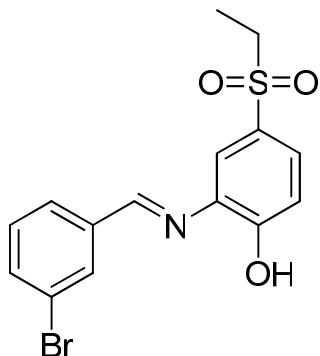
¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 165.8, 149.9, 147.1, 145.4, 135.7, 131.0, 130.7, 127.8, 126.7, 123.2, 121.0, 120.1, 107.3

4-Ethylsulfonyl-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenol (L20)

Sumární vzorec: C₁₅H₁₄NO₃SBr

Molekulová hmotnost: 368,26

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 4,02 g (0,02 mol) 2-amino-4-ethylsulonylfenolu bylo rozpuštěno v 60 ml ethanolu (99,9 %), přidáno 3,70 g (0,02 mol) 3-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci. Vzorek odeslaný na testování biologické aktivity byl navíc čištěn chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a rekrystalizován z ethanolu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 5,90 g (teorie 7,35 g), což odpovídá 80,27 %

Teplota tání: 136,8-138,7 °C

TLC: R_f = 0,10 (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1626 (C=N), 1492 (C=C), 811, 780 (C=H_{Ar})

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.72 (1H, s, CH), 8.12 (1H, s, H₂), 7.84 (1H, s, H₂'), 7.80 (1H, d, J=7.8 Hz, H₆), 7.74 (1H, d, J=8.3 Hz, H₄'), 7.66 (1H, d, J=7.8 Hz, H₄), 7.62 (1H, bs, OH), 7.38 (1H, t, J=7.8 Hz, H₅), 7.16 (1H, d, J=8.3 Hz, H₃'), 3.13 (2H, q, J=7.3 Hz, CH₂), 1.29 (3H, t, J=7.3 Hz, CH₃)

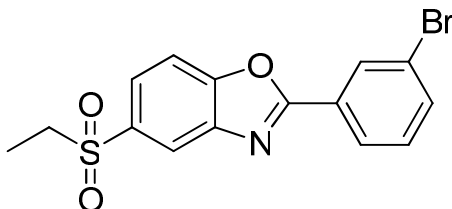
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 158.2, 156.4, 136.9, 135.3, 131.3, 130.5, 129.9, 129.3, 128.3, 123.3, 116.6, 115.9, 50.9, 7.6

2-(3-Bromfenyl)-5-ethylsulfonylbenzo[d]oxazol (L22)

Sumární vzorec: $C_{15}H_{12}NO_3SBr$

Molekulová hmotnost: 366,24

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 2,50 g (0,0068 mol) 4-ethylsulfonyl-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenolu bylo rozpuštěno v 60 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 3,4 g (0,0076 mol) octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrovány. Krystaly byly čištěny chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a překrytalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: bílá krystalická látka

Výtěžek: 0,48 g (teorie 2,48 g), což odpovídá 19,35 %

Teplota tání: 165,2-166,3 °C

TLC: $R_f = 0,30$ (hexan/ethylacetát 2:1)

IR spektrum: 1619 (C=N), 1425 (C=C), 1073 (C-O-C), 829, 790 (C-H_{Ar})

1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.41 (1H, t, $J=1.7$ Hz, H2'), 8.33 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H4), 8.21-8.18 (1H, m, H6'), 7.95 (1H, dd, $J=8.3$ Hz, $J=1.8$ Hz, H6), 7.75 (1H, d, $J=8.3$ Hz, H7), 7.73-7.69 (1H, m, H4'), 7.43 (1H, t, $J=7.8$ Hz, H5'), 3.18 (2H, q, $J=7.5$ Hz, CH₂), 1.30 (3H, t, $J=7.5$ Hz, CH₃)

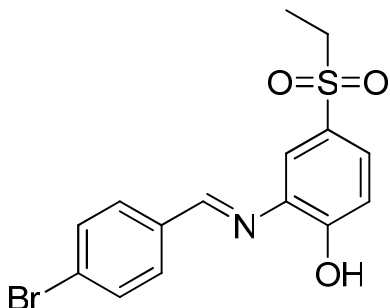
^{13}C NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ 163.8, 153.7, 142.4, 135.5, 135.3, 130.8, 130.6, 128.0, 126.5, 125.7, 123.1, 121.2, 111.5, 51.0, 7.6

4-Ethylsulfonyl-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L19)

Sumární vzorec: C₁₅H₁₄NO₃SBr

Molekulová hmotnost: 368,26

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 4,02 g (0,02 mol) 2-amino-4-ethylsulfonylfenolu bylo rozpuštěno v 60 ml ethanolu (99,9 %), přidáno 3,70 g (0,02 mol) 4-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrovány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci. Vzorek odeslaný na testování biologické aktivity byl navíc čištěn chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a rekrystalizován z ethanolu.

Charakteristika: hnědá krystalická látka

Výtěžek: 5,05 g (teorie 7,35 g), což odpovídá 68,71 %

Teplota tání: 151,3-153,0 °C

TLC: R_f = 0,10 (hexan/ethylacetát 4:1)

IR spektrum: 1626 (C=N), 1453 (C=C), 872, 820 (C-H_{Ar})

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.73 (1H, s, CH), 7.84 (1H, s, H6'), 7.82-7.76 (2H, m, AA', BB', H2, H6), 7.73 (1H, d, J=8.1 Hz, H4'), 7.68-7.59 (2H, m, AA', BB', H2, H6, OH), 7.14 (1H, d, J=8.1 Hz, H3'), 3.13 (2H, q, J=7.1 Hz, CH₂), 1.29 (3H, t, J=7.1 Hz, CH₃)

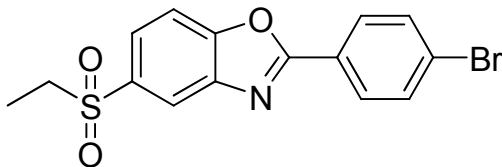
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 158.7, 156.6, 135.5, 133.9, 132.4, 130.4, 129.9, 129.1, 127.3, 116.6, 115.8, 50.9, 7.6

2-(4-Bromfenyl)-5-ethylsulfonylbenzo[d]oxazol (L21)

Sumární vzorec: C₁₅H₁₂NO₃SBr

Molekulová hmotnost: 366,24

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 2,50 g (0,0068 mol) 4-ethylsulfonyl-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenolu bylo rozpuštěno v 60 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 3,4 g (0,0076 mol) octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrovány. Krystaly byly čištěny chromatograficky na sloupcové koloně naplněné silikagelem s mobilní fází hexan/ethylacetát 4:1 a překrystalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: bílá krystalická látka

Výtěžek: 0,55 g (teorie 2,48 g), což odpovídá 22,18 %

Teplota tání: 159,1-159,8 °C

TLC: R_f = 0,30 (hexan/ethylacetát 2:1)

IR spektrum: 1617 (C=N), 1479 (C=C), 1044 (C-O-C), 814, 780 (C-H_{Ar})

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.32 (1H, d, J=1.8 Hz, H4), 8.14-8.10 (2H, m, AA', BB', H2', H6'), 7.94 (1H, dd, J=8.3 Hz, J=1.8 Hz, H5), 7.77 (1H, d, J=8.3 Hz, H7), 7.71-7.67 (2H, m, AA', BB', H3', H5'), 3.17 (2H, q, J=7.3 Hz, CH₂), 1.30 (3H, t, J=7.3 Hz, CH₃)

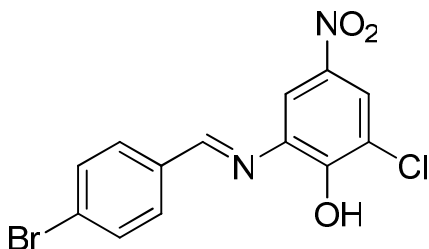
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 164.4, 153.7, 142.6, 135.4, 132.4, 129.3, 127.4, 125.5, 125.0, 121.1, 111.4, 51.0, 7.6

6-Chlor-4-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L23)

Sumární vzorec: $C_{13}H_8N_2O_3BrCl$

Molekulová hmotnost: 355,58

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 25 mg (0,13 mmol) 2-amino-6-chlor-4-nitrofenolu bylo rozpuštěno v 3 ml ethanolu (99,9 %), přidáno 25 mg (0,13 mmol) 4-brombenzaldehydu a zahříváno k varu po dobu 3 hodin. Po 24 hodinách stání byla část rozpouštědla oddestilována a vyloučené krystaly zfiltrovány. Krystaly byly rekrystalizovány z ethanolu. Produkt spontánně cyklizuje za vzniku benzoxazolu. Tento produkt byl rovnou využit k další reakci.

Charakteristika: světle hnědá krystalická látka

Výtěžek: 24 mg (teorie 47,14 mg), což odpovídá 50,91 %

Teplota tání: 206,2-208,5 °C

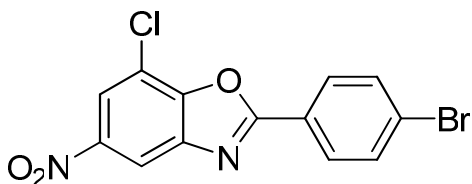
TLC: $R_f = 0,40$ (hexan/ethylacetát 4:1)

2-(4-Bromfenyl)-7-chlor-5-nitrobenzo[d]oxazol (L24)

Sumární vzorec: $C_{13}H_6N_2O_3BrCl$

Molekulová hmotnost: 353,56

Strukturní vzorec:



Pracovní postup: 20 mg 6-chlor-4-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenolu bylo rozpuštěno v 3 ml bezvodé kyseliny octové, přidáno 75 mg octanu olovičitého a zahříváno k varu po dobu jedné hodiny. Obsah baňky byl vakuově oddestilován do sucha, přelit ethylacetátem a nerozpuštěná část odfiltrována. Takto bylo provedeno třikrát. Část rozpouštědla z filtrátu byla oddestilována a vypadlé krystaly zfiltrovány. Krystaly byly překrytalizovány z ethylacetátu.

Charakteristika: světle hnědá krystalická látka

Výtěžek: 10,6 mg (teorie 19,89 mg), což odpovídá 53,29 %

Teplota tání: 195,8 – 197,7 °C

TLC: $R_f = 0,42$ (hexan/ethylacetát 4:1)

Diskuse a závěr

V této diplomové práci bylo připraveno 14 sloučenin, z toho 7 Schiffových bází a 7 substituovaných benzoxazolů. Sloučeniny byly charakterizovány pomocí ^1H NMR, ^{13}C NMR, IR, TLC a teploty tání. Všechny připravené látky dosud nejsou popsány v Reaxys a Chemical Abstracts, proto je lze považovat za původní.

Přehled připravených sloučenin:

Schiffovy báze:

4-Chlor-6-nitro-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenol (L11)

4-Chlor-6-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L12)

5-Nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L14)

5-Nitro-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenol (L13)

4-Ethylsulfonyl-2-[(3-brombenzyliden)-amino]-fenol (L20)

4-Ethylsulfonyl-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L19)

6-Chlor-4-nitro-2-[(4-brombenzyliden)-amino]-fenol (L23)

Benzoxazoly:

2-(3-Bromfenyl)-5-chlor-7-nitrobenzo[d]oxazol (L17)

2-(4-Bromfenyl)-5-chlor-7-nitrobenzo[d]oxazol (L16)

2-(4-Bromfenyl)-6-nitrobenzo[d]oxazol (L15)

2-(3-Bromfenyl)-6-nitrobenzo[d]oxazol (L18)

2-(3-Bromfenyl)-5-ethylsulfonylbenzo[d]oxazol (L22)

2-(4-Bromfenyl)-5-ethylsulfonylbenzo[d]oxazol (L21)

2-(4-Bromfenyl)-7-chlor-5-nitrobenzo[d]oxazol (L24)

Příprava substituovaných benzoxazolů proběhla kondenzací příslušného aminofenolu s 3/4-brombenzaldehydem, za vzniku Schiffovy báze. Schiffovy báze po odpaření části rozpouštědla vykristalizovaly a po překristalizování jsme je bez dalšího čištění používali k další reakci. Cyklizace Schiffových bází na benzoxazol probíhala v prostředí bezvodé kyseliny octové působením octanu olovičitého. Benzoxazoly byly čištěny chromatograficky s použitím sloupcové chromatografie a následně překristalizovány, protože samotná rekristalizace nestačila na oddělení ostatních nečistot.

Připravené vzorky L11 – L22 byly odeslány na ověření tuberkulostatických vlastností. Vzorky byly rozpuštěny v 5% DMSO v koncentraci 1-1000 $\mu\text{mol/l}$ a INH (standard pro porovnání) byl rozpuštěn v destilované vodě na koncentrace 0,5-250 $\mu\text{mol/l}$. Vzorky byly

testovány proti 4 kmenům mykobakterií, konkrétně proti *M. tuberculosis* (331/88), *M. avium* (330/88), *M. kansasii* (235/80) a *M. kansasii* (6509/96). Hodnocení bylo provedeno po 7, 14 a 21 dnech pro *M. kansasii* a po 14 a 21 dnech pro *M. tuberculosis* a *M. avium*. Kultivace probíhala při 37 °C na Šulově půdě.

| | <i>M. tuberculosis</i> | | <i>M. avium</i> | | <i>M. kansasii</i> | | | <i>M. kansasii</i> | | |
|-----|------------------------|--------|-----------------|--------|--------------------|--------|--------|--------------------|--------|--------|
| | 331/88 | | 330/88 | | 235/80 | | | 6509/96 | | |
| | 14 dní | 21 dní | 14 dní | 21 dní | 7 dní | 14 dní | 21 dní | 7 dní | 14 dní | 21 dní |
| L11 | 32 | 125 | 125 | 500 | 62,5 | 125 | 500 | 32 | 62,5 | 250 |
| L12 | 32 | 125 | 62,5 | 250 | 62,5 | 125 | 250 | 32 | 62,5 | 250 |
| L13 | 32 | 62,5 | 16 | 32 | 32 | 32 | 125 | 32 | 32 | 32 |
| L14 | 62,5 | 62,5 | 62,5 | 125 | 32 | 62,5 | 125 | 16 | 16 | 32 |
| L15 | 250 | 250 | 62,5 | 62,5 | 32 | 62,5 | 125 | 32 | 62,5 | 62,5 |
| L16 | 250 | 250 | 250 | 250 | 62,5 | 125 | 125 | 32 | 62,5 | 62,5 |
| L17 | 250 | 250 | 125 | 125 | 62,5 | 62,5 | 62,5 | 32 | 32 | 62,5 |
| L18 | 250 | 250 | 62,5 | 62,5 | 32 | 62,5 | 62,5 | 16 | 32 | 125 |
| L19 | 62,5 | 125 | 62,5 | 125 | 125 | 250 | 500 | 32 | 62,5 | 250 |
| L20 | 125 | 125 | 32 | 125 | 125 | 250 | 500 | 62,5 | 250 | 500 |
| L21 | 32 | 62,5 | 4 | 16 | 32 | 62,5 | 62,5 | 32 | 32 | 62,5 |
| L22 | 62,5 | 62,5 | 62,5 | 62,5 | 62,5 | 125 | 125 | 62,5 | 62,5 | 125 |
| INH | 0,5 | 0,5 | >250 | >250 | >250 | >250 | >250 | 4 | 4 | 8 |

Nasyntetizované látky vykazují aktivitu proti mykobakteriím v rozsahu 4 – 500 µmol/l. Nejúčinnější se ukázala sloučenina L21 (2-(4-Bromfenyl)-5-ethylsulfonylbenzo[d]oxazol) proti *M. avium* s MIC 4 µmol/l. Proti INH citlivé *M. tuberculosis* se nejvíce osvědčily necyklizované Schiffovy báze, zejména sloučeniny L11 a L12, mající v poloze 4 chlor a v poloze 6 nitroskupinu, L13, mající v poloze 5 nitroskupinu a dále cyklizovaný benzoxazol L21, mající v poloze 5 ethylsulfonylovou skupinu. Proti INH rezistentní *M. avium* se nejvíce osvědčila sloučenina L 21 a dále Schiffova báze L13, mající v poloze 5 nitroskupinu. Proti INH rezistentní *M. kansasii* byly nejúčinnější sloučeniny L13 a L14, což jsou Schiffovy báze s nitroskupinou v poloze 5, sloučeniny L15 a L18, což jsou benzoxazoly vycházející z L13 a L14 a rovněž sloučenina L21. Proti INH citlivému kmeni *M. kansasii* byly nejúčinnější látky L14 a L18. Všechny testované sloučeniny vykazují aktivitu vůči *M. avium* a *M. kansasii* 235/80, na které je INH neúčinný.

Při porovnání struktury a účinku jsme došli k závěru, že u Schiffových bází je nejvýhodnější nitroskupina v poloze 5, při uspořádání 4-chlor-5-nitro- se účinnost snižuje. Stejně to platí i pro benzoxazoly, kdy sloučeniny mající pouze nitroskupinu bez chloru byly účinnější než sloučeniny obsahující chlor. V těchto případech nebyl rozdíl, jestli obsahovala sloučenina brom vázaný na benzenovém jádře v poloze 3 nebo 4. Substituce ethylsulfonylem v poloze 5 benzoxazolu se rovněž osvědčila, na rozdíl od Schiffových bází, které

nevykazovaly tak vysokou aktivitu. Avšak zde je patrné, že záleží na poloze bromu v molekule. Vyšší aktivity dosahovala sloučenina s bromem vázaným v poloze 4 benzenového jádra vázaného na benzoxazol. Pro detailnější studium struktury a aktivity je třeba připravit širší paletu sloučenin.

Seznam použité literatury

Pro citace literatury byla použita norma ISO 690.

¹ *Tuberculosis history* [online]. Health Information Brought to Life, aktualizováno 17. 12. 2008 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<<http://tuberculosis.emedtv.com/tuberculosis/tuberculosis-history.html>>

² *Tuberculosis in the European Region* [online]. World Health Organisation, aktualizováno 2011 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<<http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/communicable-diseases/tuberculosis>>

³ *Global Tuberculosis Control* [online]. World Health Organisation, aktualizováno 2011 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<http://www.who.int/tb/publications/global_report/2010/en/index.html>

⁴ ASHOK, R., AWDHESH, K., NISHAT, A. Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular Perspectives. *Emerging Infectious Diseases* [online]. 1998, vol. 4, no. 2, April – June [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<<http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no2/rattan.htm>> ISSN

⁵ van RIE, A., WARREN, R. M., BEYERS, N., GIE, R. P., CLASSEN, C. N., RICHARDSON, M., SAMPSON, S. L., VICTOR, T. C., van HELDEN, P. D. Transmission of a multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain resembling "strain W" among noninstitutionalized, human immunodeficiency virus-seronegative patients. *J. Infect. Dis.* [online]. 1999, November [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10515823>> ISSN

⁶ *Tuberkulóza* [online]. Vitalion, aktualizováno 2011 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW: <<http://nemoci.vitalion.cz/tuberkuloza/>>

⁷ *Mycobacterium tuberculosis* [online]. Wikipedie, aktualizováno 24. 3. 2011 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Mycobacterium_tuberculosis>

⁸ LÜLLMANN, H., MOHR, K., WEHLING, M.: *Farmakologie a toxikologie*, Vyd 2., Praha: Grada 2004. 728 s. ISBN 80-247-0836-1

⁹ *OČKOVÁNÍ proti tuberkulóze (TBC)* [online]. Očkování: Internetové Informační Centrum, aktualizováno 8. 3. 2010 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<http://www.vakciny.net/pravidelne_ockovani/TBC.htm>

¹⁰ *Současný stav tuberkulózy ve světě* [online]. Postgraduální medicína, aktualizováno 9. 6. 2003 [cit. 2011-03-25]. Dostupný na WWW:

<<http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/soucasny-stav-tuberkulozy-ve-svete-154740>>

¹¹ VINŠOVÁ J., HORÁK V., BUCHTA B., KAUSTOVÁ J. Highly lipophilic benzoxazoles with potential antibacterial activity. *Molecules* [online]. 2005, Vol. 10, no. 7, July, Pages 760–770 [cit. 2011-04-21]. Dostupný na WWW:

<<http://www.mdpi.com/1420-3049/10/7/783/>> ISSN 1420-3049

¹² VINŠOVÁ J., ČERMÁKOVÁ K., TOMEČKOVÁ A., ČEČKOVÁ M., BUCHTA V., JAMPÍLEK J., ČERMÁK P., KUNEŠ J., DOLEŽAL M., ŠTAUD F. Synthesis and antimicrobial evaluation of new 2-substituted 5,7-di-tert-butylbenzoxazoles. *Bioorg. Med. Chem.* [online]. 2006, Vol. 14, no. 17, September, Pages 5850-5865 [cit. 2011-04-21]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0968-0896

¹³ VINŠOVÁ J. Biologicky aktivní benzoxazoly. *Česká a Slovenská Farmacie*. 2003, Vol. 52, no. 6, Pages 282-290 [cit. 2011-04-21]. ISSN 1803-6597

¹⁴ TEMIZ-ARPACI, Ö., AKI-SENER, E., YALCIN, I., ALTANLAR, N. Synthesis and Antimicrobial Activity of Some 2-[p-Substituted-phenyl]benzoxazol-5-ylarylcarboxyamides. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* [online]. 2002, August [cit. 2011-04-10]. Dostupný na WWW: <[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-4184\(200208\)335:6%3C283::AID-ARDP283%3E3.0.CO;2-M/pdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-4184(200208)335:6%3C283::AID-ARDP283%3E3.0.CO;2-M/pdf)> ISSN 1521-4184

¹⁵ ÖREN, I., TEMIZ, Ö., YALCIN, I., SENNER, E., ALTANLAR, N.: Synthesis and antimicrobial activity of some novel 2,5- and/or 6-substituted benzoxazole and benzimidazole derivatives. *Eur. J. Pharm. Sci.* [online]. 1999, Vol. 7, no. 2, January, Pages 153-160 [cit. 2011-04-10]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0928-0987

¹⁶ TEMIZ-ARPACI, Ö., YILDIZ, I., ÖZKAN, S., KAYNAK, F., AKI-ŞENER E., YALCIN, İ. Synthesis and biological activity of some new benzoxazoles. *Eur. J. Med. Chem.* [online]. 2008, Vol. 43, no. 7, July, Pages 1423-1431 [cit. 2011-04-10]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0223-5234

¹⁷ ERTAN, T., YILDIZ, I., TEKINER-GULBAS, B., BOELLI, K., TEMIZ-ARPACI, Ö., OZKAN, S., KAYNAK, F., YALCIN, I., AKI, E.. Synthesis, biological evaluation and 2D-QSAR analysis of benzoxazoles as antimicrobial agents. *Eur. J. Med. Chem.* [online]. 2009, Vol. 44, no. 2, February, Pages 501-510 [cit. 2011-04-10]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0223-5234

- ¹⁸ ALPER-HAYATA, S., ARISOY, M., TEMIZ-ARPACI, Ö., YILDIZ, I., AKI, E., ÖZKAN, S., KAYNAK, F.. Synthesis, antimicrobial activity, pharmacophore analysis of some new 2-(substitutedphenyl/benzyl)-5-[(2-benzofuryl)carboxamido]benzoxazoles. *Eur. J. Med. Chem.* [online]. 2008, Vol. 43, no. 11, November, Pages 2568-2578 [cit. 2011-04-12]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0223-5234
- ¹⁹ PYTELA, O., KLIMEŠOVÁ, V.. Effect of Substitution on the Antimycobacterial Activity of 2-(Substitued benzyl)sulfanyl Benzimidazoles, Benzoxazoles, and Benzothiazoles – A Quantitative Structure – Activity Relationship Study. *Chem. Pharm. Bull.* [online]. 2011, Vol. 59, no. 2, February, Pages 179-184 [cit. 2011-04-20]. Dostupný na WWW: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/59/2/59_179/_article> ISSN 0009-2363
- ²⁰ KUROYANAGI, J., KANAI, K., HORIUCHI, T., TAKESHITA, H., KOBAYASHI, S., ACHIWA, I., YOSHIDA, K., NAKAMURA, K., KAWAKAMI, K. Structure – Activity Relationship of 1,3-Benzoxazole-4-carbonitriles as Novel Antifungal Agents with Potent *in Vivo* Efficacy. *Chem. Pharm. Bull.* [online]. 2011, Vol. 59, no. 3, March, Pages 341-352 [cit. 2011-04-20]. Dostupný na WWW: <http://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb/59/3/59_341/_article> ISSN 0009-2363
- ²¹ LAGE, H., AKI-SENER, E., YALCIN, II. High antineoplastic activity of new heterocyclic compounds in cancer cells with resistance against classical DNA topoisomerase II-targeting drugs. *Int. J. Cancer* [online]. 2006, Vol. 119, no. 1, July, Pages 213–220 [cit. 2011-04-12]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0020-7136
- ²² REYNOLDS, M. B., DeLUCA, M. R., KERWIN, S. M. The novel bis(benzoxazole) cytotoxic natural product UK-1 is a magnesium ion-dependent DNA binding agent and inhibitor of human topoisomerase II. *Bioorg. Chem.* [online]. 1999, Vol. 27, no. 4, August, Pages 326-337 [cit. 2011-04-12]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0045-2068
- ²³ SACZEWSKI, F., STENCEL, A., BIENCZAK, A. M., LANGOWSKA, K. A., MICHAELIS, M., WEREL, W., HALASA, R., RESZKA, P., BEDNARSKI, P. J. Structure-activity relationships of novel heteroaryl-acrylonitriles as cytotoxic and antibacterial agents. *Eur. J. Med. Chem.* [online]. 2008, Vol. 43, no. 9, September, Pages 1847-1857 [cit. 2011-04-13]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0223-5234

- ²⁴ GURZOW, K., SZMIGIEL, D., WRÓBLEWSKI, D., MILEWSKA, M., KAROLCZAK, J., WICZKA, W. New fluorescent probes based on 3-(2-benzoxazol-5-yl)alanine skeleton—Synthesis and photophysical properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [online]. 2007, Vol. 187, no. 1, March, Pages 87-96 [cit. 2011-04-15]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 1010-6030
- ²⁵ KWAK, M., KIM, Y.. Photostable BF₂-Chelated Fluorophores Based on 2-(2'-Hydroxyphenyl)benzoxazole and 2-(2'-Hydroxyphenyl)benzothiazole. *Bull. Korean Chem. Soc.* [online]. 2009, Vol. 30, no. 12, October, [cit. 2011-04-17]. Dostupný na WWW: <http://img.kisti.re.kr/originalView/originalView.jsp?url=/soc_img/society//chemical/JCGMCS/2009/v30n12/JCGMCS_2009_v30n12_2865.pdf> ISSN 0253-2964
- ²⁶ COSTA, S. P. G., BATISTA, R. M. F., RAPOSO, M. M. M. Synthesis and photophysical characterization of new fluorescent bis-amino acids bearing a heterocyclic bridge containing benzoxazole and thiophene. *Tetrahedron* [online]. 2008, Vol. 64, no. 41, October, Pages 9733-9737 [cit. 2011-04-12]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0040-4020
- ²⁷ YANG, Z., FAIRFAX, D. J., MAENG, J., MASIH, L., USYATINSKY, A., HASSLER, C., ISAACSON, S., FITZPATRICK, K., DeORAZIO, R. J., CHEN, J., HARDING, J. P., et al. Discovery of 2-substituted benzoxazole carboxamides as 5-HT₃ receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* [online]. 2010, Vol. 20, no. 22, November, Pages 6538-6541 [cit. 2011-04-20]. Dostupný na WWW: <www.sciencedirect.com> ISSN 0960-894X
- ²⁸ THEILACKER W. On the formation of Benz-oxazole from o-Amino phenols. *J. Prakt. Chem.* 1939, Vol. 153, no. 1, Pages 54-56 [cit. 2011-04-21] ISSN 1436-9966
- ²⁹ TERASHIMA M., ISHII M. A Facile Synthesis of 2-Substitued Benzoxazoles. *Synthesis Stuttgart* 1982, no. 6, Pages 484-485 [cit. 2011-04-21] ISSN 0039-7881
- ³⁰ *Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie* 27, 42, I 213, II 17, IV 1069 [cit. 2011-04-21] ISSN 0028-0836
- ³¹ TAUER E., GRELLMANN K. H. Photochemical Reactions of 3-phenyl-2H-1,4-benzoxazin-2-one and of Related Compounds in the Singlet and Triplet State. *Chem. Ber.* 1986, Vol. 119, no. 1, January, Pages 215-228 [cit. 2011-04-21] ISSN 0009-2940

- ³² CLARCK J. H., McCLINTON M. A., BLADE R. J. The Reactions of Copper Dibromodifluoromethane Amide Systems with Alcohols. *J. Fluorine Chem.* 1992, Vol. 59, no. 2, Pages 257-267 [cit. 2011-04-21] ISSN 0022-1139
- ³³ TEMIZ Ö., ÖREN I., SENER E. et al. Synthesis and microbiological activity of some novel 5- or 6-methyl-2-(2,4-disubstituted phenyl)benzoxazole derivatives. *Il Farmaco.* 1998, Vol. 53, no. 5, Pages 337-341 [cit. 2011-04-21] ISSN 0014-827X
- ³⁴ HORAK V., MERMERSKY Y., GUIRGUIS D. B. 3,5-Di-*tert*-butyl-1,2-benzoquinone Cleaves a CC-bond in Vicinal Aminobenzyl Alcohols. *Collect. Czech Chem. Commun.* 1994, Vol. 59, no. 1, Pages 227-231 [cit. 2011-04-21] ISSN 0010-0765
- ³⁵ LOURAK M., VANDERESSE R., VICHERAT A. et al. The carbonylhydrazone pseudopeptide link via quinonic oxidation of the peptide amino terminus. *Tetrahedron Lett.* 2000, Vol. 41, no. 45, Pages 8773-8777 [cit. 2011-04-21] ISSN 0040-4020
- ³⁶ VINŠOVÁ J., HORÁK V.: Nепublikované výsledky
- ³⁷ COREY E. J., ACHIWA K. A New Method for Oxidation of Primary Amines to Ketones. *J. Amer. Chem. Soc.* 1969, Vol. 91, no. 6, Pages 1429 [cit. 2011-04-21] ISSN 0002-7863
- ³⁸ WANG F., HAUSKE J. R. Solid-phase synthesis of benzoxazoles via Mitsunobu reaction. *Tetrahedron Lett.* 1997, Vol. 38, no. 37, Pages 6529-6532 [cit. 2011-04-21] ISSN 0040-4020
- ³⁹ GILCHRIST T. L., HARRIS C. J., KING F. D., PEEK M. E. Ring Contraction of 1,2,4-Benzoxazidines to Benzoxazoles. *J. Chem. Soc. Perkin Trans I.* 1988, no. 8, Pages 2169-2173 [cit. 2011-04-21] ISSN 1472-7781
- ⁴⁰ KANEKO C., YAMADA S. Photolysis of 4-phenylquinazoline-3-oxides to Benzo[f]-1,3,5-oxadiazepines. *Tetrahedron Lett.* 1967, no. 52, Pages 5233 [cit. 2011-04-21] ISSN 0040-4020
- ⁴¹ HEINZELMANN W., MAERSKY M. Photochemistry of Benzoxazoles. *Helv. Chim. Acta* 1974, Vol. 57, no. 2, Pages 376-382 [cit. 2011-04-21] ISSN 0018-019X
- ⁴² MAQUESTIAN A., BEUGNIES D., FLAMMANG R., FREIRMUTH B. Flash-Vacuum Pyrolysis of 1-Acylbenzotriazole – Direct Observation of Cyclopenta-2,4-dienylidenemethanimines by Tandem Mass-Spectrometry Low Temperature Infrared Spectrometry. *Org. Mass. Spectrom.* 1990, Vol. 25, no. 4, Pages 197-203 [cit. 2011-04-21] ISSN 1096-9888