



**Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego  
w Poznaniu**

**Justyna Żwawiak**

**OTRZYMYWANIE I WŁAŚCIWOŚCI WYBRANYCH  
SKONDENSOWANYCH ZWIĄZKÓW BICYKLICZNYCH Z UKŁADEM  
NITROIMIDAZOLU**

**Praca wykonana w Katedrze i Zakładzie  
Chemii Organicznej  
Uniwersytetu Medycznego  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu**

**Przedstawiona Radzie Wydziału  
Farmaceutycznego celem uzyskania stopnia  
doktora nauk farmaceutycznych**

**Promotor: Prof. UM dr hab. Lucjusz Zaprutko**

**Poznań 2010**

**Słowa kluczowe:** dinitroimidazol, nitroimidazodihydroooksazol, nitroimidazotetrahydropirymidyna, substytucja nukleofilowa

*Panu Prof. UM dr hab. Lucjuszowi Zaprutko*

*za wskazanie interesującego tematu,*

*cenne wskazówki*

*udzielane w czasie wykonywania i pisania pracy*

*oraz życzliwą pomoc*

*składam wyrazy serdecznego podziękowania*

*Wszystkim,*

*którzy przyczynili się do powstania tej pracy*

*serdecznie dziękuję*

## SPIS TREŚCI

<b>1. WSTĘP</b>	4
<b>2. WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE IMIDAZOLU</b>	5
2.1. Reakcje z odczynnikami elektrofilowymi	7
2.1.1. Podstawienie elektrofilowe przy atomie azotu	7
2.1.2. Podstawienie przy atomie węgla	9
2.2. Reakcje z odczynnikami nukleofilowymi	10
<b>3. NIEKTÓRE WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE ZWIĄZKÓW AROMATYCZNYCH Z GRUPĄ NITROWĄ, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM NITROIMIDAZOLI</b>	12
3.1. Wprowadzanie grupy nitrowej do układu imidazolu	12
3.2. Metody cyklizacji związków nitrowych	13
3.3. Reakcje cyklizacji w pochodnych nitroimidazolu	15
3.4. Reakcje substytucji nukleofilowej	21
3.5. Reakcje substytucji elektrofilowej	23
3.6. Reakcje addycji	24
<b>4. NAJWAŻNIEJSZE WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOLOGICZNE POCHODNYCH NITROIMIDAZOLU</b>	26
4.1. Związki jednopierścieniowe	26
4.2. Związki dwupierścieniowe	26
<b>5. CHARAKTERYSTYKA ISTNIEJĄCYCH I POTENCJALNYCH LEKÓW PRZECIWGRUŹLICZYCH</b>	33
5.1. Charakterystyka istniejących, wybranych tuberkulostatyków	34
5.2. Charakterystyka niektórych substancji o działaniu tuberkulostatycznym, pozostających w różnych fazach badań klinicznych	41
5.3. Inne substancje o działaniu przeciwgruźliczym	45
<b>6. CEL PRACY</b>	49
<b>7. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ WŁASNYCH</b>	51
7.1. Synteza 4,5-dinitro- oraz 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu	51
7.2. Synteza bicyklicznych nitroimidazo[5,1- <i>b</i> ]dihydrooksazoli	52
7.3. Próby otrzymania związków typu nitroimidazo[5,1- <i>b</i> ]dihydrotiazoli	56
7.4. Reakcje substytucji nukleofilowej atomu chloru w 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1- <i>b</i> ]dihydrooksazolach	57

7.4.1.	Reakcje z fenolami	57
7.4.2.	Reakcje z tiofenolami i drugorzędowymi aminami cyklicznymi	65
7.4.3.	Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli z aminami pierwszorzędowymi	73
7.4.4.	Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli z $\alpha$ -aminokwasami	82
7.4.5.	Reakcje 3-chloro-1-(4,5-dinitroimidazol-1-ilo)-2-propanolu z drugorzędowymi aminami cyklicznymi	88
7.4.6.	Podsumowanie wyników części chemicznej	89
<b>8.</b>	<b>WYNIKI BADAŃ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ WYTYPOWANYCH POCHODNYCH NITROIMIDAZOLU</b>	<b>91</b>
8.1.	Zastosowanie metod obliczeniowych do określenia biodostępności otrzymanych związków	91
8.2.	Lipofilowość związków biologicznie aktywnych	91
8.3.	Powierzchnia polarna (Polar Surface Area – PSA)	92
8.4.	Wyznaczanie parametrów lipofilowości oraz określanie powierzchni polarnej dla wybranych, otrzymanych pochodnych nitroimidazolu	93
8.5.	Obliczenie poziomu potencjalnych aktywności biologicznych metodą <i>PASS C&amp;T</i> dla otrzymanych związków	96
8.6.	Ocena aktywności przeciwgruźliczej wybranych, bicyklicznych skondensowanych pochodnych nitroimidazolu w badaniach <i>in vitro</i>	106
8.7.	Ocena aktywności przeciwalkoholowej wybranych pochodnych nitroimidazolu w badaniach <i>in vivo</i>	110
8.8.	Ocena aktywności przeciwgrzybiczej wybranych pochodnych nitroimidazolu w badaniach <i>in vitro</i>	111
<b>9.</b>	<b>CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA</b>	<b>112</b>
9.1.	Część ogólna	112
9.2.	Syntezy substratów <b>(3-6)</b>	113
9.3.	Syntezy nitroimidazodihydrooksazoli <b>(7-18)</b>	114
9.4.	Synteza 3-fenoksy-1-(5-alkoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-oli <b>(19-49)</b>	120
9.5.	Synteza 3-chloro-1-(5-tiofenoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-oli <b>(50-51)</b> oraz 3-chloro-1-(5-amino-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-oli <b>(52-55)</b>	135
9.6.	Synteza 3-tiofenoksy-1-(5-tiofenoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-oli <b>(56-59)</b> oraz 3-amino-1-(5-amino-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-oli <b>(60-63)</b>	138
9.7.	Synteza nitroimidazo[5,1- <i>b</i> ]-1,4,5,6-tetrahydropirydyn <b>(64-81)</b>	143
9.8.	Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli <b>17</b> i <b>18</b> z pierwszorzędowymi aminami, bez dodatku $K_2CO_3$	152
9.9.	Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli <b>17</b> i <b>18</b> z $\alpha$ -aminokwasami w obecności $K_2CO_3$	158

9.10. Reakcja nitroimidazodihydroksazolu <b>18</b> z $\alpha$ -aminokwasami bez dodatku $K_2CO_3$	164
9.11. Otrzymywanie 3-chloro-1-(4,5-dinitroimidazol-1-ilo)-2-propanolu ( <b>107</b> ) oraz jego 4-aminowych pochodnych ( <b>108, 109</b> )	166
<b>10. WNIOSKI</b>	168
<b>11. STRESZCZENIE</b>	170
<b>12. WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE</b>	175
<b>13. PIŚMIENNICTWO</b>	176

## 1. WSTĘP

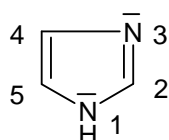
Jedną z najbardziej rozpowszechnionych i niebezpiecznych chorób zakaźnych jest gruźlica. Chorobę tę wywołuje *Mycobacterium tuberculosis* – prątek gruźlicy. Najczęściej atakuje on płuca, ale może również dochodzić do zakażeń innych układów np. kostno-stawowego, limfatycznego, nerwowego czy moczowo-płciowego [1]. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) prawie dwa biliony osób, czyli jedna trzecia populacji ludzkiej jest narażona na zakażenie gruźlicą [2]. Każdego roku osiem milionów osób zapada na tę chorobę, z czego dwa miliony umiera. W 2004 roku, prawie piętnaście milionów osób było nosicielami aktywnej postaci TB, a w tej liczbie zaobserwowano aż dziewięć milionów nowych przypadków. Dane te dotyczą głównie krajów rozwijających się. Gruźlica jest główną przyczyną śmierci pacjentów zakażonych wirusem HIV [3]. Odnowienie się gruźlicy jako choroby społecznej związane jest głównie ze wzrostem liczby zachorowań na AIDS oraz z niedostateczną kontrolą rozprzestrzeniania się *M. tuberculosis*. Ponadto, w miarę rozpowszechniania się stosowanych metod terapeutycznych, zaczęły pojawiać się szczepy lekooporne. Odsetek prątków opornych na rutynowo stosowane leki wzrósł nawet do 20%, natomiast na leki drugiego rzutu – do 2% [4]. Aktualnie znanych jest szereg czynników, które mogą przyczynić się do wzrostu podatności na gruźlicę. Oprócz wspomnianego wirusa HIV ryzyko zakażenia gruźlicą rośnie u osób palących papierosy [5], cukrzyków [6], nadużywających alkoholu i wyniszczonych niedożywieniem. Zaobserwowano również zależność pomiędzy rodzajem stosowanej diety a częstotliwością występowania tej groźnej choroby. Więcej zakażeń *M. tuberculosis* zanotowano wśród osób odżywiających się zgodnie z zasadami wegetariańskimi [7]. Prawdopodobnie jest to związane z niedostatkami niektórych mikroelementów, takich, jak: żelazo, witamina B12 i witamina D. Zauważono, że zwłaszcza brak witaminy D jest przyczyną zwiększonej podatności na zakażenie prątkami gruźlicy. Podstawową metodą leczenia gruźlicy jest stosowanie preparatów tuberkulostatycznych. Nasilające się zjawisko lekooporności *M. tuberculosis*, zwłaszcza wobec powszechnie stosowanych leków pierwszego rzutu, zmusza do podjęcia działań zmierzających do poszukiwania nowych substancji leczniczych o podobnej lub większej aktywności przeciwprątkowej.



## 2. WYBRANE WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE IMIDAZOLU

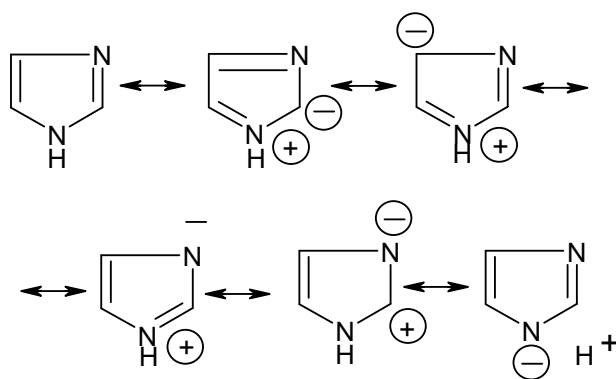
Właściwości chemiczne imidazolu są dobrze znane i omówione w wyczerpujący sposób w powszechnie dostępnych monografiach i podręcznikach [8, 9, 10]. Biorąc pod uwagę powyższe, w kolejnych rozdziałach przedstawiono tylko te cechy układu 1,3-diazolu, które mają istotne znaczenie dla dalej omawianych wyników badań własnych.

Imidazol (1,3-diazol, hist.: glioksalina, iminazol) jest pięciocłonową cykliczną cząsteczką aromatyczną, zawierającą w swym pierścieniu dwa różne atomy azotu: pirolowy o charakterze kwaśnym i pirydynowy zwany też azometinowym o charakterze zasadowym [8]. Pirolowy atom azotu wnosi dwa elektrony do sekstetu  $\pi$ -elektronów. Nadmiar  $\pi$ -elektronów w heterocyklicznym układzie pięciocłonowym powoduje zwiększenie podatności pierścienia na substytucję elektrofilową (**Rysunek 1**).



**Rysunek 1.** Cząsteczka imidazolu

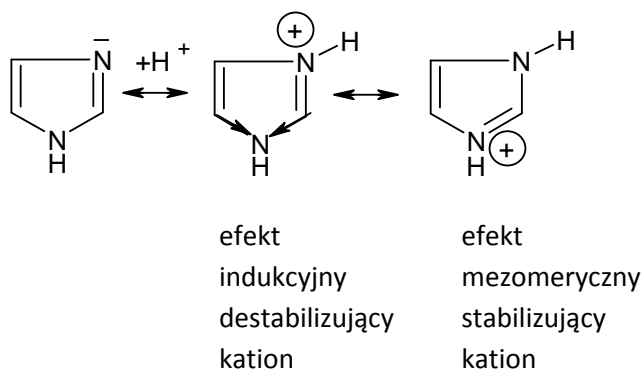
Analizując układ elektronowy imidazolu określono sześć struktur granicznych, przedstawionych na Schemacie 1:



**Schemat 1.** Struktury graniczne cząsteczki imidazolu

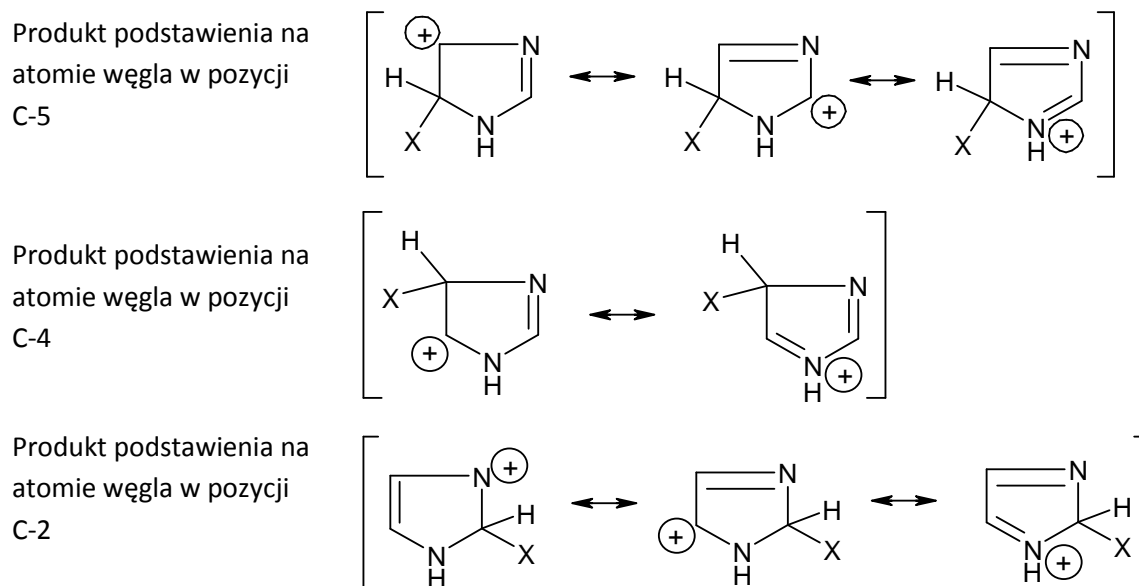
Ponadto możliwe są równocenne tautomery niektórych z powyższych struktur.

Cząsteczki o charakterze elektrofilowym mogą przyłączać się do azometinowego atomu azotu N-3 w taki sposób, w jaki przyłączają się do atomu azotu w pirydynie [9]. Wolna para elektronowa tego atomu nie wchodzi w skład sekstetu aromatycznego (**Schemat 2**).



**Schemat 2.** Efekty elektronowe w cząsteczce imidazolu

Na zasadowość azometinowego atomu azotu wpływa atom N-1. Wywiera on słaby elektronoakceptorowy efekt indukcyjny, ale jego efekt mezomeryczny jest silny, dzięki czemu imidazol jest mocniejszą zasadą od pirydyny. Podstawienie elektrofilowe przy atomie węgla zachodzi głównie w pozycji C-5, tj. sąsiedniej względem pirolowego atomu azotu, co jednocześnie odpowiada reaktywnej pozycji  $\beta$  w pirydynie, natomiast C-2 i C-4 – zdezaktywowanym pozycjom  $\alpha$  (**Schemat 3**). Jeżeli pozycja C-5 jest zajęta, podstawienie może zajść przy węglu C-4, lub znacznie rzadziej przy C-2 [10].

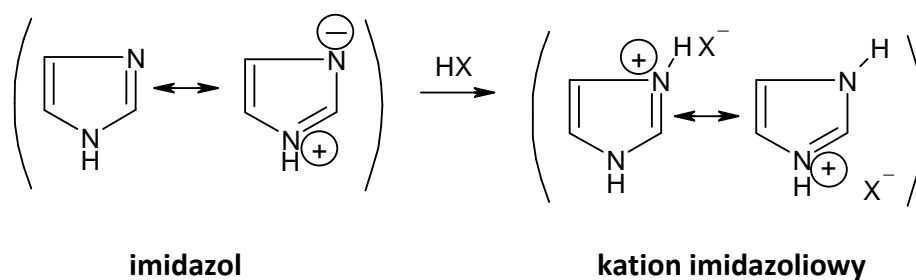


**Schemat 3.** Struktury mezomeryczne jednopodstawionych pochodnych imidazolu

## 2.1. Reakcje z odczynnikami elektrofilowymi

### 2.1.1. Podstawienie elektrofilowe przy atomie azotu

W wyniku przyłączenia do atomu N-3 imidazolu protonu pochodzącego od kwasu tworzą się krystaliczne sole (**Schemat 4**).

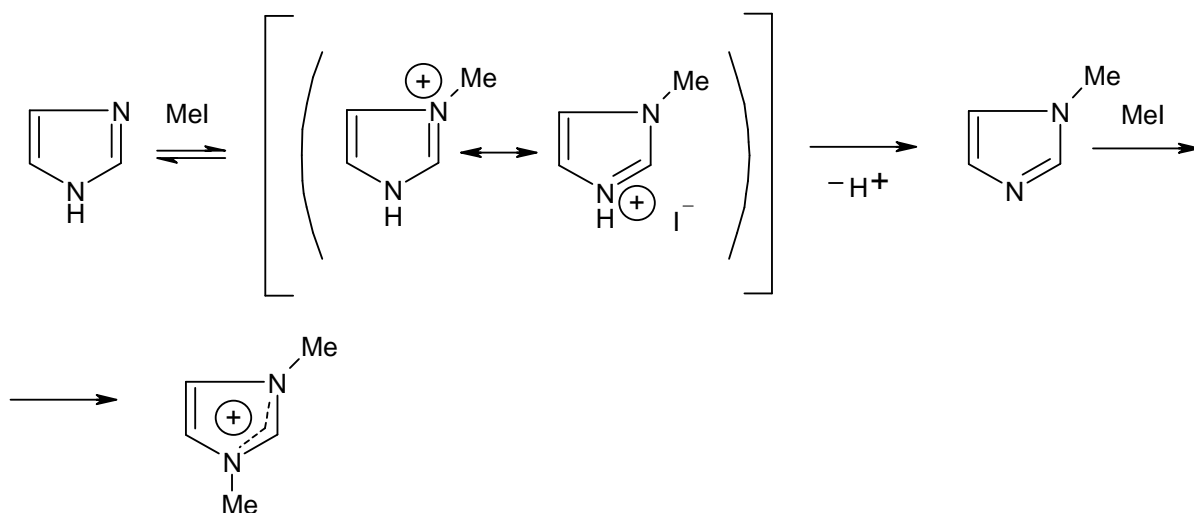


X = Cl, Br, HSO<sub>4</sub>, etc.

### **Schemat 4.** Reakcja imidazolu z kwasami mineralnymi

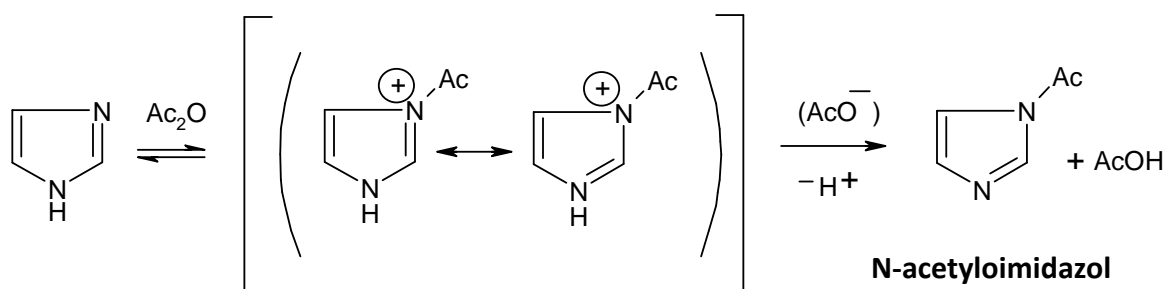
Produktem alkilowania imidazolu jest N-alkiloimidazol, który ulega odprotonowaniu przez niezmieniony imidazol, a następnie dalszemu alkilowaniu do soli 1,3-dialkiloimidazoliowej. W praktyce, rezultatem

alkilowania niepodstawionego imidazolu w środowisku kwaśnym jest mieszanina produktów złożona z soli imidazoliowej, 1-alkyloimidazoliowej i 1,3-dialkylimidazoliowej (**Schemat 5**).



**Schemat 5.** Reakcja alkilowania imidazolu

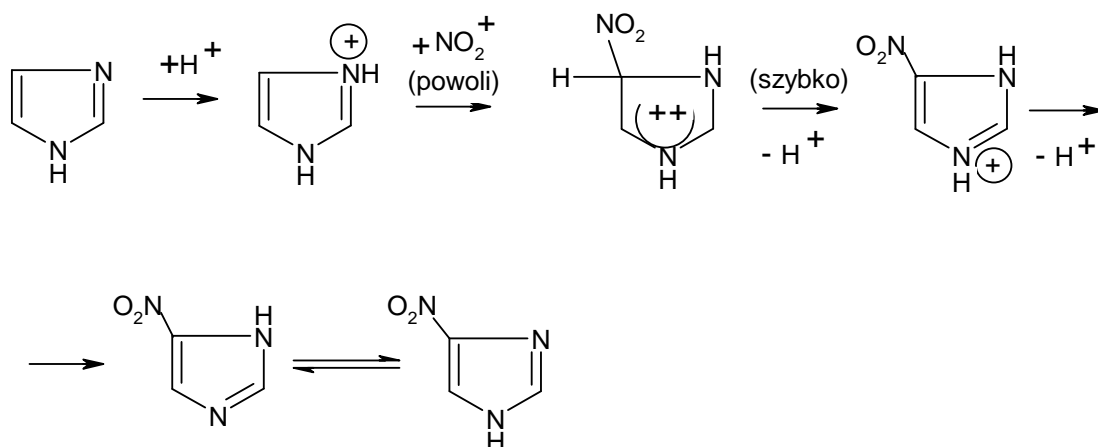
Natomiast acylowanie za pomocą chlorków i bezwodników kwasowych prowadzi do utworzenia reaktywnych soli (N-3)-acyloniowych, które po odprotonowaniu przy N-1 dają N-acetyloimidazol (**Schemat 6**).



**Schemat 6.** Reakcja acetylowania imidazolu

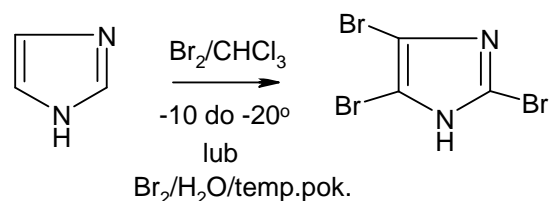
## 2.1.2. Podstawienie przy atomie węgla

Reakcjami substytucji elektrofilowej na atomie węgla są przede wszystkim: nitrowanie, sulfonowanie, sprzężanie z solami diazoniowymi, formylowanie i halogenowanie. Nitrowanie i sulfonowanie imidazolu zachodzi 10 razy wolniej niż benzenu, ale  $10^9$  razy szybciej niż w przypadku pirydyny. W reakcji nitrowania imidazolu nie uczestniczy cząsteczka obojętna lecz reakcji tej ulega kation imidazoliowy. W środowisku mocnych kwasów tworzy się wysokoenergetyczny kompleks Whelanda o charakterze dikationu. Podstawienie elektrofilowe w takim środowisku zachodzi tylko pod działaniem silnych czynników elektrofilowych i podstawnik kierowany jest w pozycję C-5. Atom C-2 jest wysoce odporny na bezpośrednie nitrowanie. Obecność w pozycji 2 lub 4 podstawników elektronodonorowych obniża energię kompleksu Whelanda, ułatwiając zajście reakcji [10], [11] (**Schemat 7**).



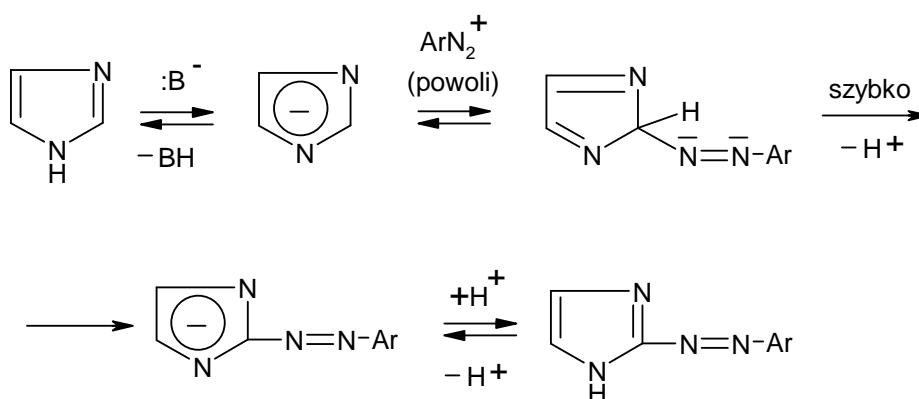
**Schemat 7.** Nitrowanie imidazolu

Otrzymanie 2-nitroimidazolu w reakcji bezpośredniego nitrowania jest niemożliwe. Substratami do syntezy 2-nitroimidazolu mogą być 2-benzenoazoimidazol lub jego pochodne podstawione w pierścieniu fenylowym podatne na specyficzne utlenienie [12]. Grupę nitrową w pozycję 2 pierścienia imidazolu można też wprowadzić działając na pochodną 2-litoimidazolu azotanem alkilowym [8]. Sulfonowanie imidazolu za pomocą oleum także prowadzi do produktu 4(5)-podstawienia. Pierścień imidazolu jest natomiast niezwykle podatny na halogenowanie. Z dużą łatwością reakcja ta zachodzi nawet w pozycji C-2 (**Schemat 8**).



**Schemat 8.** Bromowanie imidazolu

W środowisku obojętnym, a w jeszcze większym stopniu w zasadowym, pojawia się forma anionu imidazoliowego [10]. Jest on podatny na reakcje nawet ze słabymi elektrofilami, takimi jak kation nitrozoniowy lub aryldiazoniowy. Znana jest reakcja nitrozowania imidazolu azotynami alkilowymi, zachodząca w pozycji C-4, lub sprzężanie z solami aryldiazoniowymi, zachodzące w pozycji C-2 (**Schemat 9**).

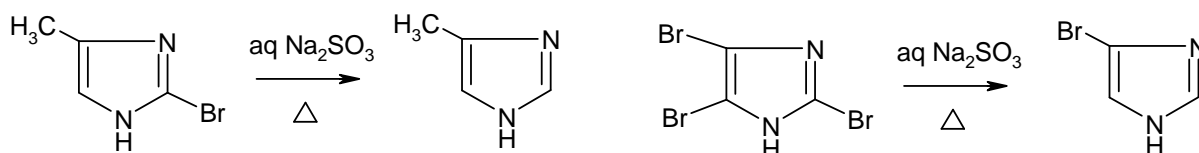


**Schemat 9.** Reakcja sprzężania z solami aryldiazoniowymi

Imidazol nie ulega acylowaniu metodą Friedela–Craftsa, ale N-alkiloimidazole reagują łatwo z halogenkami aryłowymi i z chlorkami trichlorowcoacetylowymi dając odpowiednie 2-acylo pochodne. Reakcja ta nie zachodzi z N-niepodstawionymi imidazolami.

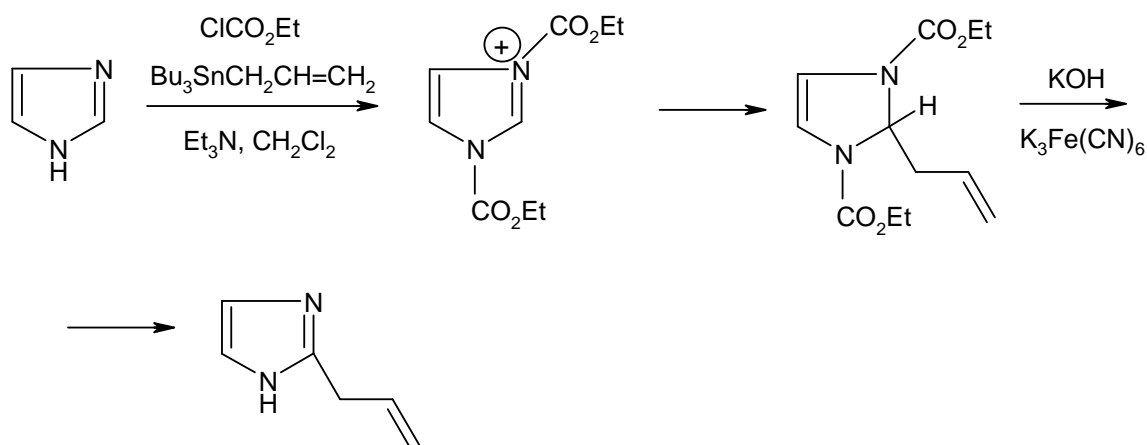
## 2.2. Reakcje z odczynnikami nukleofilowymi

Układ imidazolu jest odporny na czynniki nukleofilowe. Nie reaguje z amidkiem sodu, a chlorowcoimidazole ulegają reakcji podstawienia dopiero pod wpływem mocnej zasady np. piperydynolitu. Specyficzną reakcją bromo- i jodoimidazolu jest wodoroliza. Zachodzi ona najłatwiej przy C-2 oraz C-4(5) pod wpływem wodnego roztworu siarczanu (IV) sodu (**Schemat 10**).



**Schemat 10.** Reakcja wodorolizy halogenopochodnych imidazolu

Wprowadzenie podstawników elektronobiorczych lub utworzenie IV-rzędowej soli imidazoliowej powoduje zwiększenie podatności pierścienia imidazolowego na atak nukleofilowy [8]. Przykładem tego jest reakcja soli 1,3-bis(alkoksykarbonylo)imidazoliowej otrzymywanej *in situ* w reakcji z odczynnikami cyanoorganicznymi. W jej rezultacie powstaje produkt z łańcuchem alkenylowym w pozycji C-2 (**Schemat 11**).



**Schemat 11.** C-alkilowanie imidazolu po reakcji z odczynnikami cyanoorganicznymi

### **3. NIEKTÓRE WŁAŚCIWOŚCI CHEMICZNE ZWIĄZKÓW AROMATYCZNYCH Z GRUPĄ NITROWĄ, ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM NITROIMIDAZOLI**

Jedną z ważniejszych grup mogących występować w pierścieniu imidazolowym jest grupa nitrowa. Wiele prac badawczych dotyczy właśnie pochodnych nitroimidazoli. Związane jest to z aktywnością biologiczną, jaką wykazuje ta klasa związków. Od czasu, gdy wyizolowano azomycynę (2-nitroimidazol) [13], nastąpił znaczący wzrost zainteresowania tymi substancjami. W przeciągu wielu lat badań potwierdzono, że prawie wszystkie nitroimidazole wykazują aktywność przeciwpierwotniakową i radiouczulającą [14]. Zdolność radiosensybilizacji związana jest z ich potencjałem redukcji jednoelektrodowej  $E_{1/2}$  jak również bywa korelowana ze współczynnikiem podziału oktanol/woda. Suwiński i współpracownicy [15] badali wartości tego współczynnika dla pochodnych imidazoli różniących się zarówno położeniem grupy nitrowej jak i obecnością w pierścieniu takich podstawników jak:  $-CH_3$ ,  $-Cl$ ,  $-Br$ ,  $-OCH_3$ ,  $-NH_2$  lub drugą grupą  $-NO_2$ . Wykazali oni, że lipofilność nitroimidazoli zależy od położenia grupy nitrowej w cząsteczce i dla związków podobnie podstawionych maleje ona w kolejności 5-nitro-, 2-nitro-, 4-nitro- pochodne. Badacze ci dużo uwagi poświęcili podstawnikowi metylowemu. Dowiedli oni, że przez wprowadzenie go do pierścienia (przy węglu C-4 lub C-5) następuje wzrost lipofilności, natomiast substytucja przy N-1 wywołuje wzrost hydrofilności nitroimidazoli. Dodatkowo obecność grupy metylowej w pozycji C-2 wywiera istotny wpływ na łatwość zachodzenia reakcji podstawienia w pozycjach C-4 lub C-5 pierścienia imidazolowego. Poniżej scharakteryzowano wybrane reakcje, typowe dla nitroimidazoli.

#### **3.1. Wprowadzanie grupy nitrowej do układu imidazolu**

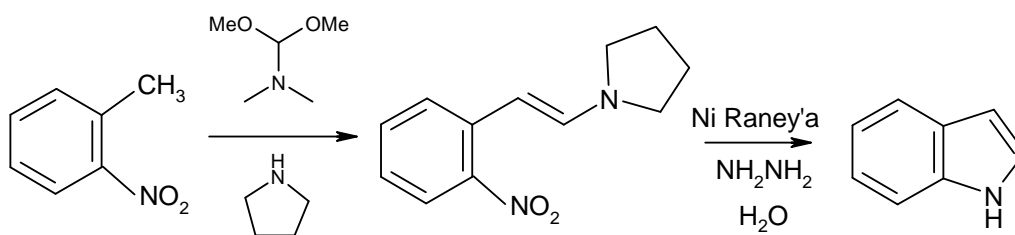
W reakcji nitrowania imidazolu, atakowi elektrofilowemu ulega kation imidazoliowy, a nie cząsteczka obojętna [9]. Syntezę 4(5)-nitroimidazolu prowadzi się z użyciem mieszaniny nitrującej, złożonej z 65% kwasu azotowego i stężonego kwasu siarkowego. Wprowadzenie drugiej grupy nitrowej w pozycję C-5 wymaga zastosowania bardziej drastycznych



warunków. W tym przypadku należy użyć stężonego, dymiącego kwasu azotowego w mieszaninie ze stężonym kwasem siarkowym [16]. W inny sposób następuje wprowadzenie grupy nitrowej w pozycję N-1 4(5)-nitroimidazolu. Reakcję tę przeprowadza się z użyciem mieszaniny lodowatego kwasu octowego, dymiącego kwasu azotowego oraz bezwodnika octowego. Proces zachodzi w temperaturze pokojowej. Bezpośrednim czynnikiem nitrującym jest azotan acetylu *in statu nascendi*. Powstający 1,4-dinitroimidazol, w chlorobenzenie, w podwyższonej temperaturze, stosunkowo łatwo ulega izomeryzacji do 2,4-dinitroimidazolu [17]. Pozycja C-2 jest niezwykle odporna na nitrowanie. Zastosowanie nawet bardzo drastycznych warunków w przebiegu syntezy, nie powoduje przekształcenia 4,5-dinitroimidazolu do tri-podstawionej nitrowej pochodnej. 2,4,5-Trinitroimidazol można otrzymać w wyniku nitrowania 2,4-dinitroimidazolu klasyczną mieszaniną nitrującą [17] lub dymiącym kwasem azotowym.

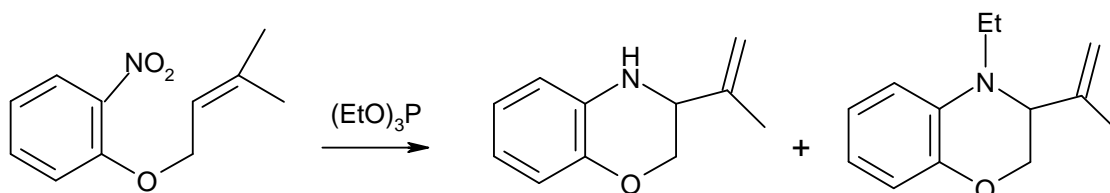
### 3.2. Metody cyklizacji związków nitrowych

Reakcje wewnątrz- i międzycząsteczkowych cyklizacji związków nitrowych należą do cennych metod otrzymywania pochodnych heterocyklicznych. Wyróżnić można dwa podstawowe typy reakcji z udziałem grupy nitrowej. Jest to cyklizacja redukcyjna, w której ugrupowanie NO<sub>2</sub> ulega redukcji do aminy I-rzędowej, a w drugim etapie cyklizacji oraz reakcja, podczas której grupa nitrowa, jako dobra grupa odchodząca, zostaje zastąpiona innym atomem w reakcji substytucji nukleofilowej, co może powodować utworzenie nowego pierścienia. W piśmiennictwie znaleziono wiele przykładów zastosowań tego typu cyklizacji. Batcho i współpracownicy [18] opisali syntezę indolu z *o*-nitrotoluenu. W pierwszym etapie reakcji wymagane jest utworzenie enaminy w reakcji *o*-nitrotoluenu z dimetylowym acetalem N,N-dimetyloformamidu oraz z pirolidyną. W drugim etapie, pod wpływem czynników redukujących zachodzi reakcja redukcyjnej cyklizacji, a w jej konsekwencji otrzymuje się indol (**Schemat 12**).



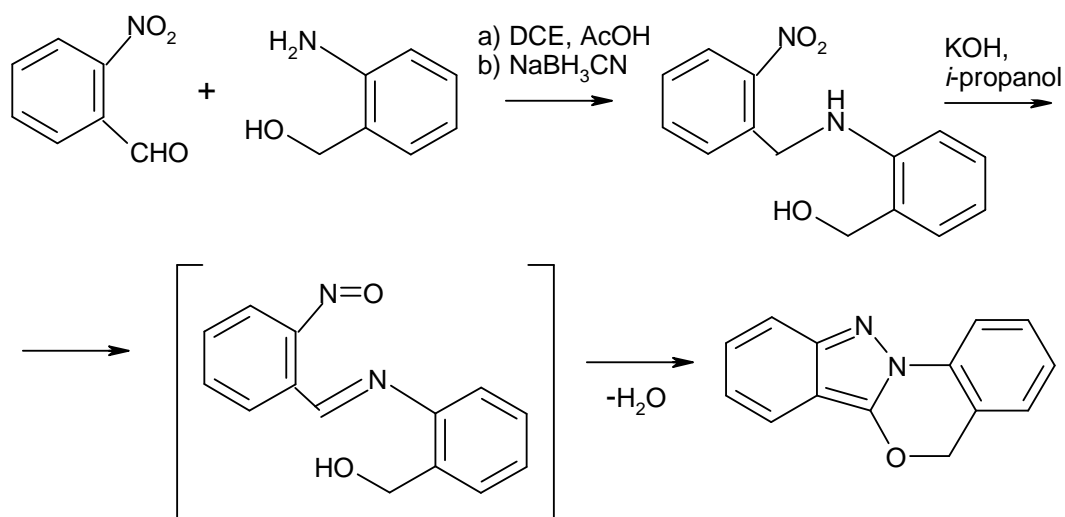
**Schemat 12.** Reakcja redukcyjnej cyklizacji w syntezie indolu

Kolejnym przykładem reakcji cyklizacji z udziałem grupy nitrowej jest metoda otrzymywania pochodnych benzoksazyny [19]. Jako związek wyjściowy wykorzystano eter allilo-2-nitrofenylowy, który poddano działaniu fosforynu trietylu. Produkty redukcyjnej cyklizacji otrzymano z dobrą wydajnością (**Schemat 13**).



**Schemat 13.** Otrzymywanie pochodnych benzoksazyny

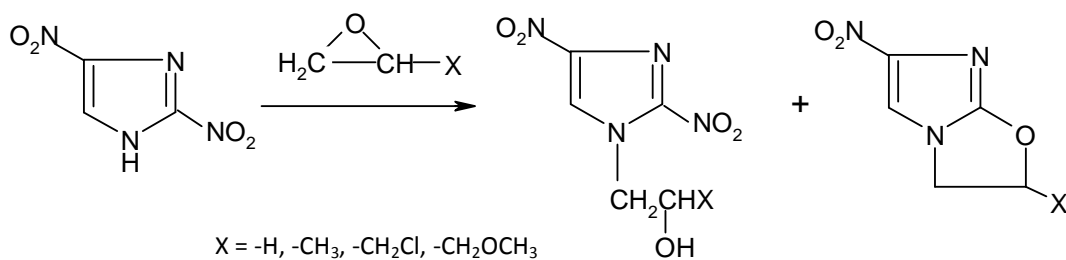
Butler i współpracownicy [20] opisali ciekawy przykład reakcji podwójnej cyklizacji prowadzącej do otrzymania szeregu pochodnych indazolobenzoksazyny. Jako podstawowe substraty użyto 2-nitrobenzaldehyd oraz alkohol 2-aminobenzylowy. Pod wpływem czynników zasadowych zachodziła reakcja dwukrotnej cyklizacji. Produktem pośrednim był związek prawdopodobnie o strukturze nitrozoiminy (**Schemat 14**).



**Schemat 14.** Synteza pochodnych indazolobenzoksazyny

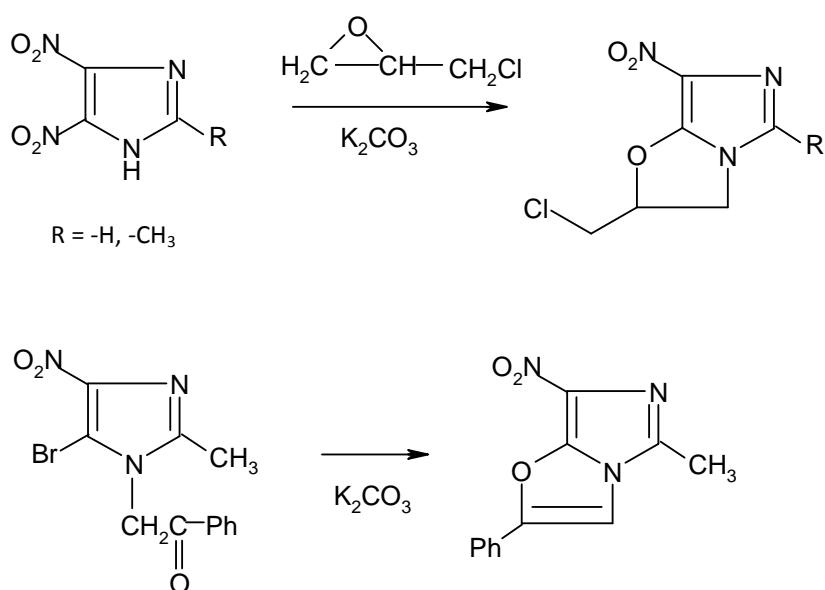
### 3.3. Reakcje cyklizacji w pochodnych nitroimidazoli

Układ nitroimidazolu odgrywa istotną rolę jako element strukturalny leków – zwłaszcza w postaci preparatów bakterio- i pierwotniakobójczych oraz przeciwgrzybiczych. Ponadto, bicykliczne nitroimidazodihydrooksazole oraz nitroimidazotetrahydrooksazyny wykazują niezwykle obiecującą aktywność przeciwgruźliczą. Ta klasa połączeń została odkryta niejako przy okazji poszukiwań nowych N-alkilo-2,4-dinitroimidazoli o spodziewanych właściwościach radiouczulających. Pierwsze związki z układem nitroimidazo[2,1-*b*]dihydrooksazolu opisali Sehgal i Agrawal w 1979 roku [21]. Autorzy ci otrzymali serię produktów o strukturze dwóch pięciocząłonowych pierścieni skondensowanych, działając różnie podstawionymi epoksydami na 2,4-dinitroimidazol w polarnym rozpuszczalniku. W tym przypadku miała miejsce cyklizacja wewnątrzcząsteczkowa z jednoczesną substytucją grupy nitrowej (**Schemat 15**).



**Schemat 15.** Otrzymywanie produktów bicyklicznych z 2,4-dinitroimidazoli

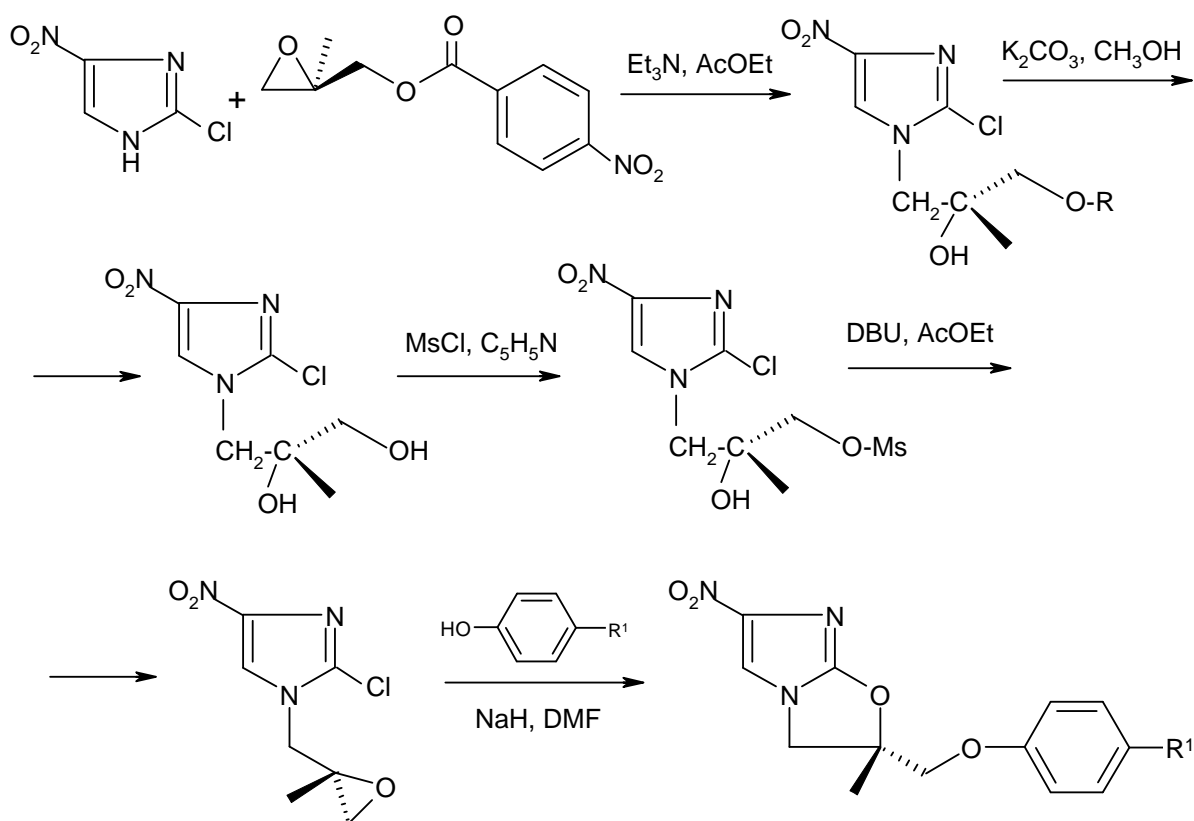
Metoda ta znalazła zastosowanie również w późniejszych latach. Grupę nitroimidazodihydrooksazoli wzbogacano o nowe produkty z innymi podstawnikami [22] oraz o izomerycznej strukturze [23], [24] (**Schemat 16**).



**Schemat 16.** Reakcje nitroimidazoli prowadzące do produktów dwupierścieniowych

W ostatnich latach szczególny nacisk położono na rozwinięcie metod syntezy asymetrycznej ze względu na znany fakt, iż enancjomery danego związku mogą przejawiać odmienne rodzaje aktywności farmakologicznej. Sasaki i współpracownicy wykazał, że w przypadku chiralnych pochodnych nitroimidazodihydrooksazoli aktywność tuberkulostatyczna formy (*R*) przewyższa siłą działania enancjomer (*S*) [25]. Autorzy ci opracowali sposób syntezy szeregu optycznie czynnych 6-nitroimidazo[2,1-*b*]-2,3-dihydrooksazoli podstawionych w pozycji 2. Substratami do powyższych reakcji był 2-chloro-4-nitro-1*H*-imidazol oraz (*R*) lub (*S*)-4-nitrobenzoesan 2-metylo-2,3-

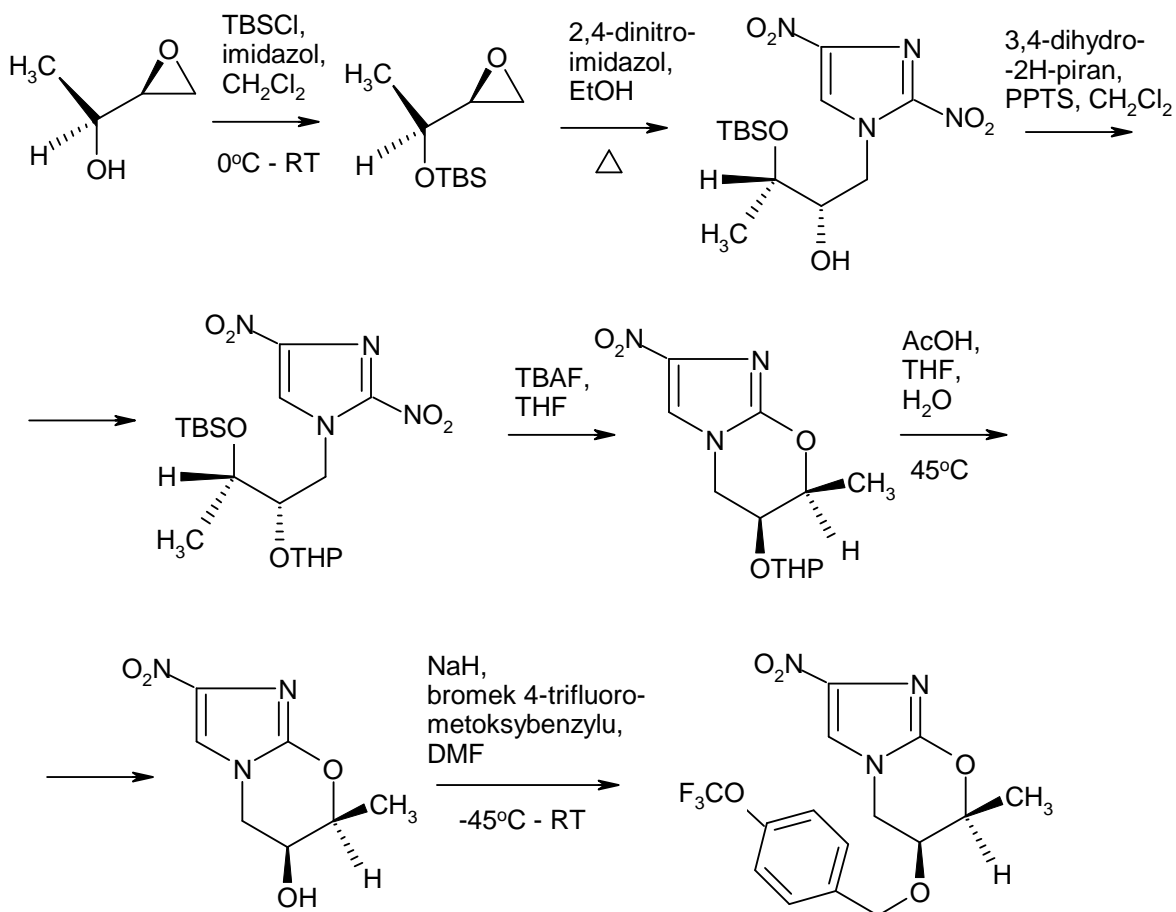
epoksypropylu. Synteza przebiegała poprzez etap alkilowania atomu N-1 imidazolu za pomocą epoksydu w obecności trietyloaminy w octanie etylu. Kolejnym etapem była reakcja hydrolizy estru za pomocą metanolu w obecności katalitycznej ilości węgla potasu, prowadząca do utworzenia diolu, który z kolei poddano reakcji z chlorkiem metylosulfonowym w pirydynie. Otrzymaną pochodną mesyłową przekształcono w nowy epoksyd za pomocą DBU. Ostatecznie otrzymano związki docelowe poprzez reakcję substytucji nukleofilowej epoksydu odpowiednimi fenolami. W obecności wodoroku sodu łatwo zachodziła reakcja zamknięcia pierścienia oksazolowego, tym razem z wydzieleniem cząsteczki HCl (**Schemat 17**).



R = *p*-nitrobenzoił, R<sup>1</sup> = -H, -Cl, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, reszty wywodzące się z cyklicznych amin II-rzędowych

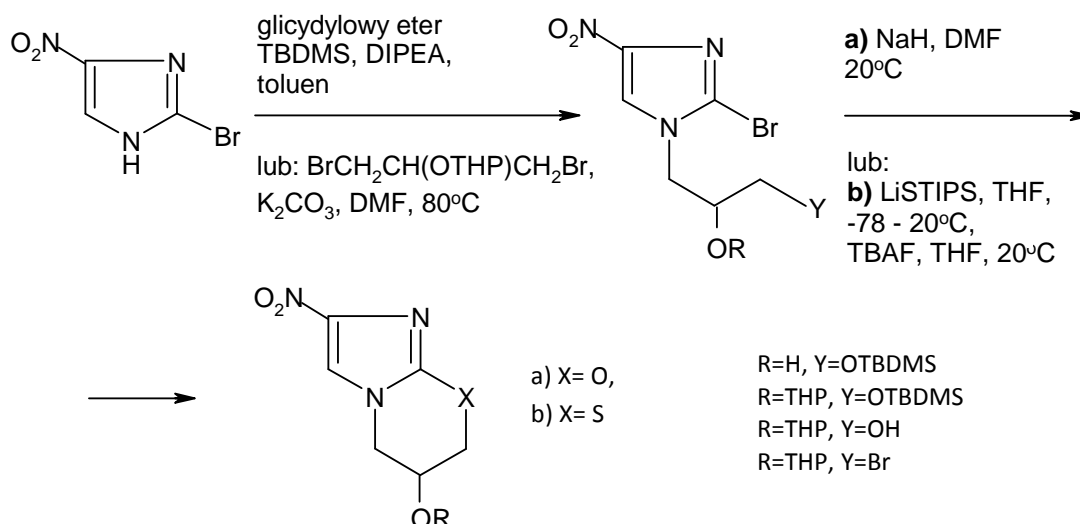
**Schemat 17.** Synteza asymetrycznych bicyklicznych pochodnych nitroimidazolu

Optycznie czynne epoksydy znalazły także zastosowanie w syntezie chiralnych pochodnych układów nitroimidazotetrahydrooksazynowych, złożonych z 5-członowego pierścienia imidazolowego skondensowanego z 6-członowym cyklicznym układem oksazyny [26]. Obecność dwóch ugrupowań hydroksylowych wywodzących się z cząsteczki epoksydu, wymagała selektywnego wprowadzenia grup ochronnych, takich, jak TBS i THP. W pierwszym etapie przeprowadzono reakcję z TBSCl. Dzięki temu zablokowano grupę  $-OH$  przy atomie węgla C-3 oksiranu. Otwarcie pierścienia epoksydowego następowało na skutek jego reakcji  $S_E$  z atomem N-1 2,4-dinitroimidazolu. Następnie wprowadzono grupę THP, której zadaniem było zabezpieczenie ugrupowania hydroksylowego znajdującego się przy atomie węgla C-2 w łańcuchu alkilowym nowo powstałej pochodnej nitroimidazolu. Selektywne wprowadzenie grup ochronnych zapobiegło tworzeniu się mieszaniny dwóch różnych produktów cyklizacji. Dzięki temu, w końcowym etapie, otrzymano pochodne wyłącznie z 6-członowym pierścieniem oksazynowym (**Schemat 18**).



**Schemat 18.** Asymetryczna reakcja syntezy pierścienia oksazynowego skondensowanego z układem nitroimidazolu

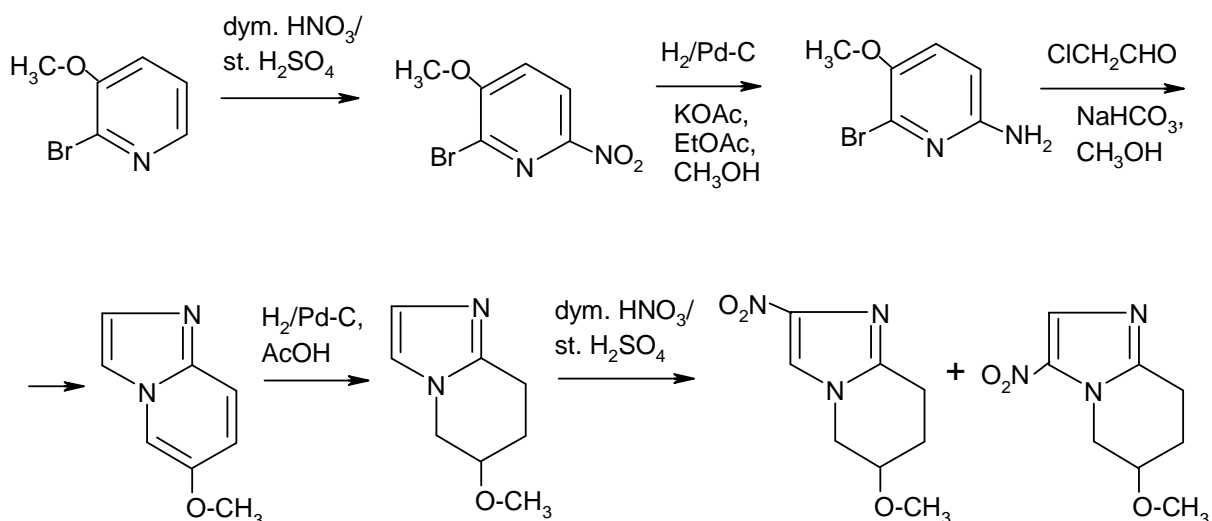
Podobne, lecz nie stereoselektywne reakcje otrzymywania układów nitroimidazooksazynowych zostały opisane przez Thompsona i wsp. w 2009 roku [27]. Związkiem wyjściowym dla tych syntez był 2-bromo-4-nitroimidazol. Reakcje te również wymagały selektywnego wprowadzenia grup ochronnych. W tej samej pracy przedstawiono metodę otrzymywania związków o charakterze nitroimidazotiazyn. Etapem kluczowym tych reakcji było wprowadzenie atomu siarki do układu, za pomocą soli litowej triizopropylsilanotolu (LiSTIPS) (**Schemat 19**).



**Schemat 19.** Reakcje otrzymywania układów nitroimidazooksazynowych i ich siarkowych analogów

W pracy tej [27] przedstawiono także metodę otrzymywania związków typu nitroimidazotetrahydropirydyny. Substratem w tej syntezie była odpowiednia pochodna 2-nitropyridyny. Redukcja grupy nitrowej prowadziła do 2-aminopyridyny, którą poddano działaniu chloroacetaldehydu. Obecność czynnika zasadowego powodowała reakcję cyklizacji z wytworzeniem pierścienia imidazolowego. W kolejnym etapie zachodziło uwodornienie pierścienia pirydynowego. Następnie, pod wpływem mieszaniny nitrującej, do aromatycznego pierścienia imidazolowego wprowadzono grupę nitrową. Powstałą mieszaninę dwóch izomerów 4- i 5-nitropochodnych imidazolu rozdzielono metodą HPLC w układzie odwróconych faz (**Schemat 20**).



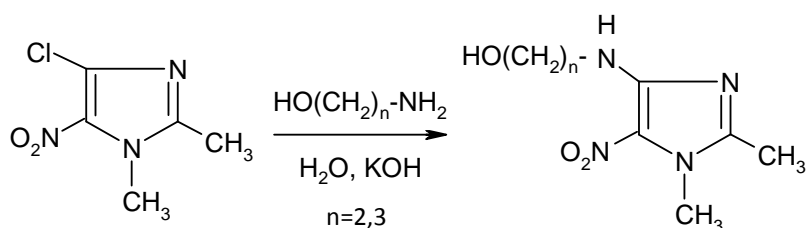


**Schemat 20.** Reakcja otrzymywania układów nitroimidazotetrahydropirydynowych

### 3.4. Reakcje substytucji nukleofilowej

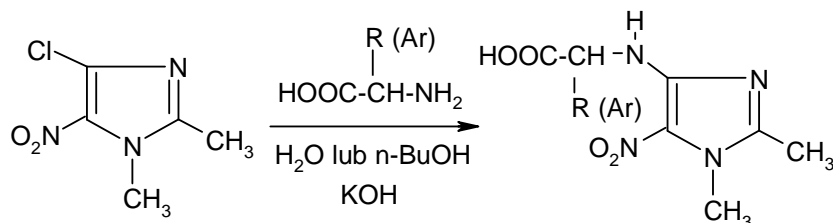
Imidazol, jako związek aromatyczny, jest odporny na atak nukleofilowy [28]. Stabilność i odporność zmniejsza się jedynie w przypadku kationu imidazoliowego oraz w wyniku obecności podstawników silnie wyciągających elektrony [29]. Tylko wtedy można zaobserwować podstawienie nukleofilowe tych grup, a nawet atomu wodoru [30]. Podstawienie nukleofilowe może nastąpić w miejsce atomu chlorowca w pierścieniu imidazolowym. Podatność na substytucję nukleofilową uzależniona jest od pozycji atomu halogenu w pierścieniu imidazolu. Wzrasta w kierunku od 4- przez 5- do 2-chlorowcoimidazolu. Przykładem substytucji nukleofilowej jest synteza 1-alkilo-5-amino-4-nitroimidazoli, w której wykorzystuje się reakcję nukleofilowego podstawienia grupy nitrowej np. w 1,2-dimetylo-4,5-dinitroimidazolu aminami I- lub II-rzędowymi oraz amoniakiem [15]. Porównując właściwości niektórych tego typu związków ze znanymi produktami podstawienia halogenu grupą aminową w 5-halogeno-1-metylo-4-nitroimidazolach i 4-halogeno-1-metylo-5-nitroimidazolach zauważono, że w 4,5-dinitroimidazolach substytucji nukleofilowej ulega grupa nitrowa w

pozycji 5. Prawdopodobną przyczyną tego typu wymiany jest stabilizacja kompleksu pośredniego dzięki wewnątrzcząsteczkowemu wiązaniu wodorowemu tworzącemu się pomiędzy tlenem grupy nitrowej z pozycji C-4 a atomem wodoru z grupy aminowej. Koczergin i współpracownicy opisał także reakcję zachodzącą pomiędzy 4(5)-halogeno-5(4)-nitroimidazolami i aminoalkoholami [31]. W wyniku przeprowadzonej syntezy otrzymali oni 5-hydroksyalkiloamino-4-nitro- oraz izomeryczne 4-hydroksyalkiloamino-5-nitroimidazole, w zależności od użytego substratu. Przykładowy przebieg reakcji przedstawiono na **Schemacie 21**.



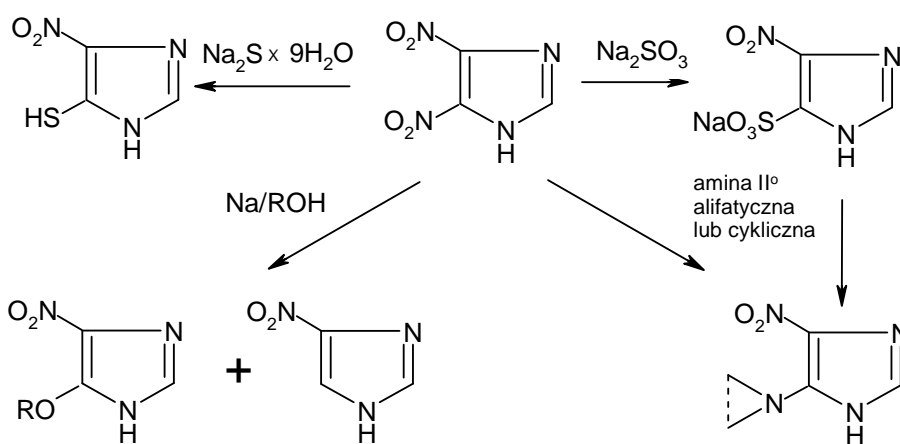
**Schemat 21.** Synteza pochodnych 4-hydroksyalkiloamino-5-nitroimidazolu

Innym przykładem syntezy przebiegającej według mechanizmu substytucji nukleofilowej jest reakcja nitrohalogenoimidazoli z aminokwasami [32]. Do reakcji wykorzystano w tym celu jako substraty 1-metylo- i 1,2-dimetylo-4-nitro-5-bromo(chloro)imidazol oraz 1-metylo-4-chloro-5-nitroimidazol i poddano je reakcji z alifatycznymi i aromatycznymi aminokwasami takimi jak: walina, glicyna, kwas *p*-aminofenylooctowy,  $\beta$ -alanina, kwas *m*- i *o*-aminobenzoesowy. W ten sposób otrzymano pochodne *N*-(4-nitroimidazoilo-5)- i *N*-(5-nitroimidazoilo-4)- odpowiednich aminokwasów. Procesy te zachodziły łatwo w wodzie lub *n*-butanolu w obecności KOH. Jedynie 1-metylo-5-chloro-4-nitroimidazol z kwasem antranilowym reagował trudniej i wymagał obecności katalizatora. Przykładowy przebieg reakcji przedstawiono na **Schemacie 22**.



**Schemat 22.** Synteza pochodnych 4-hydroksyalkiloamino-5-nitroimidazolu

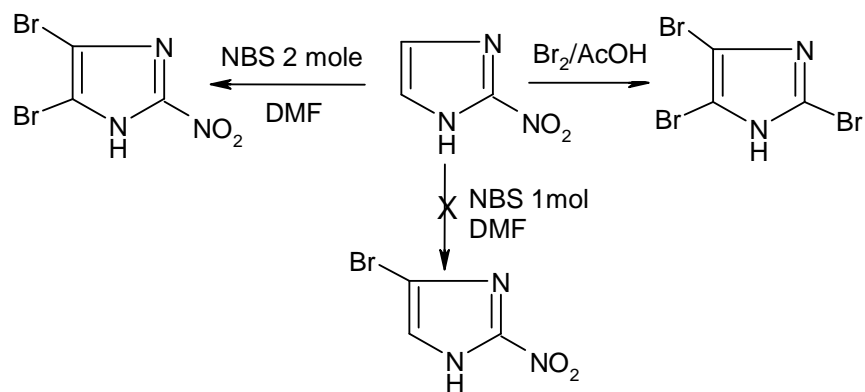
Obecność w związku dwóch grup nitrowych sprawia, że podstawienie nukleofilowe może zachodzić zarówno w pozycji C-4 jak i C-5. Jednak stwierdzono, że grupa nitrowa związana z węglem C-5 jest bardziej mobilna, co wiąże się z jej większą podatnością na atak nukleofilowy. Twierdzenie to poparto licznymi przykładami reakcji, w wyniku których otrzymano 4-nitro-5-podstawione produkty [33], [34] (**Schemat 23**).



**Schemat 23.** Reakcje 4,5-dinitroimidazolu z odczynnikami nukleofilowymi

### 3.5. Reakcje substytucji elektrofilowej

Według mechanizmu substytucji elektrofilowej zachodzi bromowanie pochodnych 2-nitroimidazolu [35]. Proces ten uzależniony jest od środowiska oraz rodzaju użytych reagentów elektrofilowych (**Schemat 24**) a także od podstawników obecnych w pierścieniu imidazolu.



**Schemat 24.** Bromowanie pochodnych 2-nitroimidazolu

Synteza N-alkilowych pochodnych 4-nitroimidazolu zachodzi łatwo i wydajnie w środowisku zasadowym. Reakcje z m. in. chlorkami i bromkami alkilowymi prowadzone są najczęściej w DMF, dioksanie lub chloroformie w obecności węglańu potasu [8].

Łatwo przebiegają również reakcje N-acylowania pod działaniem odczynników acylujących, np. halogenków benzoilu, izocyjanianów, izotiocyjanianów i chloromrówczanów w warunkach reakcji Schottena-Baumanna lub w rozpuszczalniku obojętnym [10].

### 3.6. Reakcje addycji

Addycja w pierścieniu nitroimidazolu dotyczyć może jedynie przyłączenia protonu do azometinowego atomu azotu N-3, z utworzeniem kationu imidazoliowego.

Znanych jest również wiele przykładów reakcji addycji Michaela związków nienasyconych do atomu N-1 układu 2-metylo-4-nitroimidazolu [8]. Addycję tę katalizuje anion fluorkowy. Produkt N-podstawienia powstaje z niemal ilościową wydajnością.

Inne reakcje addycji związane są głównie z grupą karbonylową, która ewentualnie może być obecna w łańcuchu bocznym. Przykładem jest reakcja 2-metylo-4(5)-nitro- i 5(4)-bromo-2-metylo-4(5)-nitroimidazolu z  $\alpha$ -halogenoketonami [36]. Przebiega ona łatwo w obecności niższych alkoholi i alkoholanu sodu prowadząc do powstania 1-alkilo-2-metylo-4-nitroimidazolu i 1-alkilo-2-metylo-4-nitro-5-bromoimidazolu. Drugi z otrzymanych związków wykazywał możliwość łatwego przejścia pod wpływem hydrazyny w

pochodne imidazo[5,1-c]1,2,4-triazyny. Reakcja ta zachodziła w temperaturze 155°C. Natomiast, gdy zastosowano temperaturę pokojową lub nieco wyższą, dochodziło do powstania hydrazonów, odpowiednich dla wyjściowych  $\beta$ -ketoalkilowych pochodnych 5-bromo-2-metylo-4-nitroimidazolu. Pod wpływem podwyższonej temperatury hydrazony te miały tendencję do przekształcania się w wymienione wcześniej, skondensowane pochodne triazyny.

Będące ketonami pochodne 2-aroilo-5-nitroimidazolu w reakcji z chlorowodorkiem hydroksyloaminy w etanolowym roztworze pirydyny ulegały przekształceniu do odpowiednich oksymów, które w następnym etapie, poddane przegrupowaniu Beckmanna dawały końcowe produkty o charakterze karboamidów [37].

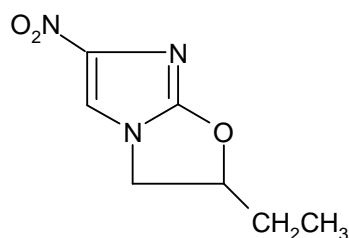
## 4. NAJWAŻNIEJSZE WŁAŚCIWOŚCI FARMAKOLOGICZNE POCHODNYCH NITROIMIDAZOLU

### 4.1. Związki jednopierścieniowe

Pochodne nitroimidazolu wykazują szeroki zakres właściwości farmakologicznych [38]. Najczęściej znajdują zastosowanie jako leki przeciwko bakteriom beztlenowym, a także jako środki działające przeciwprzotniakowo i przeciwgrzybiczo. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa polega na hamowaniu wzrostu chorobotwórczych mikroorganizmów. Związki zawierające pierścień nitroimidazolu w swej strukturze, charakteryzują się ponadto właściwościami radioczułymi. Cecha ta jest niezwykle użyteczna w zwalczaniu nowotworów, ponieważ pozwala na znaczne zmniejszenie dawki terapeutycznej promieniowania przy zachowaniu tej samej skuteczności. Wśród tych ostatnich najbardziej popularny jest misonidazol nadający niedotlenionym komórkom dużą wrażliwość na promieniowanie jonizujące [39]. W ostatnich latach badaniami objęto nowe kierunki zastosowań, wykorzystujące niektóre pochodne nitroimidazolu w roli inhibitorów odwrotnej transkryptazy, w terapii zakażeń wirusem HIV [40].

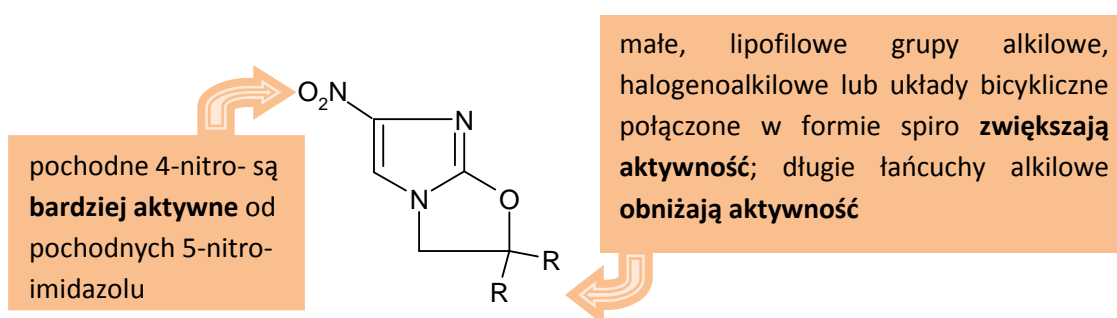
### 4.2. Związki dwupierścieniowe

W latach pięćdziesiątych ubiegłego wieku odkryto, że pochodne nitroazolu o bicyklicznej strukturze nitroimidazo[2,1-*b*]dihydrooksazolu mogą wykazywać aktywność przeciwgruźliczą [41]. Substancją wiodącą z tej serii był 2-etylo-5-nitroimidazo[2,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol, oznaczony symbolem CGI-17341 (**Rysunek 2**).



**Rysunek 2.** Struktura cząsteczki CGI-17341

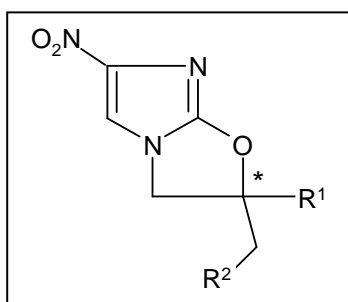
Wyniki badań biologicznych wskazywały, że aktywność tuberkulostatyczna związku CGI-17341 była porównywalna z aktywnością izoniazydu (INH) i ryfampicyny (RIF), a zatem z lekami pierwszego rzutu, oraz była wyższa od aktywności antybiotyków takich, jak streptomycyna i cyprofloksacyna. Ponadto, CGI-17341 nie wykazywał krzyżowej oporności z INH i RIF. W dalszych badaniach poczyniono kolejne obserwacje dotyczące relacji pomiędzy działaniem biologicznym a obecnością wpływających na nie elementów strukturalnych cząsteczki. Okazało się, że wprowadzenie atomu chlorowca w pozycję 2 układu imidazooksazolowego spowodowało szesnastokrotny wzrost aktywności w badaniach *in vitro*. Obecność pierścienia fenyloвого, jako podstawnika przy tym samym atomie węgla, wywoływała dwukrotne zwiększenie działania przeciwgruźliczego, podczas gdy długi łańcuch alkilowy przy C-2 obniżał aktywność w warunkach *in vitro*. Zauważono również, że pochodne z grupą nitrową w pozycji 5 pierścienia imidazolu są od dwóch do dwóch tysięcy razy mniej aktywne (w zależności od rodzaju podstawnika przy C-2) od izomerów 4-nitroimidazolu [42] **(Rysunek 3)**.



**Rysunek 3.** Zależność między strukturą a siłą działania tuberkulostatycznego 5-nitroimidazo[2,1-*b*]-2,3-dihydrooksazoli

Sasaki i współpracownicy zsyntezowali szereg nitroimidazodihydrooksazoli z różnie podstawionymi grupami fenylowymi przy C-2 [43] (**Tabela 1**).

**Tabela 1.** Szereg nitroimidazodihydrooksazoli z różnymi podstawnikami w pozycji C-2 [43]

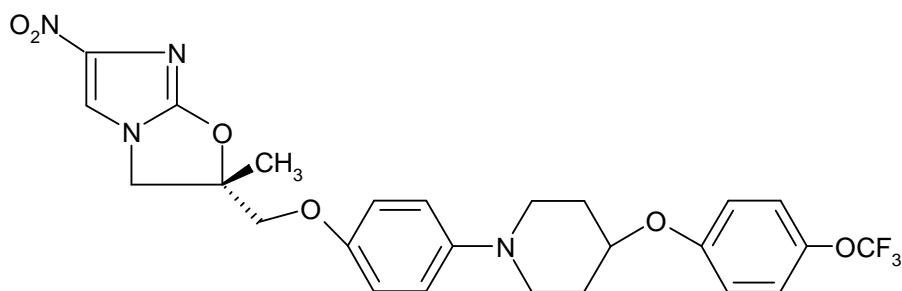


produkt	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	konfiguracja	MIC (µg/ml)
<b>a</b>	H	OPh	racemat	0,78
<b>b</b>	H	OCH <sub>2</sub> Ph	racemat	3,13
<b>c</b>	H	O(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Ph	racemat	1,56
<b>d</b>	H	OCH <sub>2</sub> CH=CHPh	racemat	12,5
<b>e</b>	CH <sub>3</sub>	OPh	racemat	0,1
<b>f</b>	CH <sub>3</sub>	OPh	( <i>R</i> )	0,05
<b>g</b>	CH <sub>3</sub>	OPh	( <i>S</i> )	3,13

Początkowo otrzymano cztery racemiczne związki (**a-d**). Wartości MIC w badaniach tuberkulostatycznych przeciwko szczepom Tb H37Rv wynosiły dla nich odpowiednio: 0,78; 3,13; 1,56 i 12,5 µg/ml. Najlepszy rezultat otrzymano dla pochodnej z grupą fenoksymetylową w pozycji C-2. Następnie zsyntezowano pochodną, w której, oprócz grupy fenoksymetylowej znalazł się dodatkowo podstawnik metylowy w tym samym położeniu. Wartość MIC dla związku **e** w porównaniu z **a** była niższa i wynosiła 0,1 µg/ml. W trakcie dalszych badań zauważono, że enancjomery związku **e** różnią się między sobą siłą działania przeciwpłatkowego. Forma (*R*) okazała się bardziej aktywna (MIC = 0,05 µg/ml) od formy (*S*) (MIC = 3,13 µg/ml). W celu zwiększenia biodostępności tych dobrze rokujących substancji, podjęto próby wprowadzenia hydrofilowych podstawników złożonych z reszt amin cyklicznych, w pozycję 4 pierścienia benzenowego. Jednak poziom aktywności przeciwpłatkowej nowo otrzymanych pochodnych zmniejszył się istotnie w stosunku do związków wyjściowych. Aby poprawić parametry biologiczne, do cząsteczki takiej dodatkowo wprowadzono lipofilowe grupy



fenoksylowe w pozycję 4 pierścienia aminy cyklicznej. Testy farmakologiczne wykazały, że szczególnie związki z ugrupowaniem  $\text{CF}_3$  i  $\text{OCF}_3$  są bardzo dobrymi tuberkulostatykami i to zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*. Substancja z grupą trifluorometoksylową, pod względem stopnia skuteczności przeciwgruźliczej, okazała się bardziej aktywna od izoniazydu. Związek ten, oznaczony symbolem OPC-67683, przeznaczono do dalszych badań farmakologicznych i klinicznych (**Rysunek 4**).

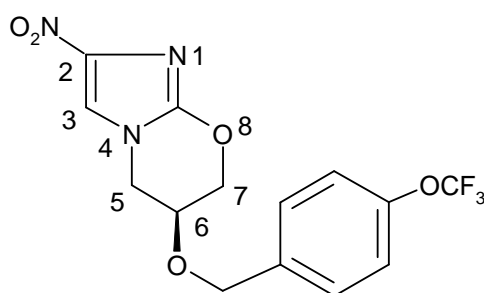


**Rysunek 4.** Struktura związku OPC-67683

W warunkach *in vitro* charakteryzuje się on doskonałą aktywnością wobec opornych na leki szczepów gruźlicy, a przy tym nie wykazuje oporności krzyżowej ze stosowanymi lekami pierwszego rzutu. Dowiedziono również jego efektywności w niskich dawkach oraz rzadkim stosowaniu [44]. Ze względu na długi okres półtrwania, brak metabolizmu przez enzymy cytochromu P450 oraz wykazaną u myszy skuteczność w upośledzeniu odporności, może być użyteczny u pacjentów z jednocześnie występującymi u nich gruźlicą i AIDS. Lek ten nie wykazuje działania antagonistycznego wobec tzw. leków pierwszego rzutu, takich jak: ryfampicyna, izoniazyd, etambutol i streptomycyna, a udowodniono jego synergizm z ryfampicyną oraz etambutolem w warunkach *in vitro*. Mechanizmy działania tuberkulostatycznego związku OPC-67683 i izoniazydu są bardzo zbliżone i polegają na hamowaniu syntezy kwasów mykoloowych – głównych składników ściany komórkowej *M. tuberculosis* [44]. Różnica w działaniu pomiędzy tym nitroimidazodihydrooksaazolem a INH polega na tym, że OPC-67683 jest inhibitorem syntezy kwasów metoksy- oraz ketomykoloowych, natomiast izoniazyd hamuje powstawanie wszystkich rodzajów tych specyficznych kwasów tłuszczowych [44]. OPC-67683 jest prolekiem. Jest aktywowany przez jeden z enzymów *M. tuberculosis* – Rv3547, który

redukuje grupę nitrową. Wykazuje on działanie przeciwko szczepom opornym na ryfampicynę (RIF), etambutol (ETH), pyrazynamid (PZA), izoniazyd (INH) oraz streptomycynę (SM). Nie jest mutagenny, a czas terapii prawdopodobnie będzie można skrócić do dwóch miesięcy. Obecnie lek ten przeszedł pomyślnie drugi etap badań klinicznych [45].

Drugim, niezwykle obiecującym potencjalnym tuberkulostatykiem z grupy bicyklicznych pochodnych nitroimidazoli jest związek oznaczony symbolem PA-824. Pod względem chemicznym jest to substancja o strukturze skondensowanej nitroimidazooksazyny [46], [47] (**Rysunek 5**).

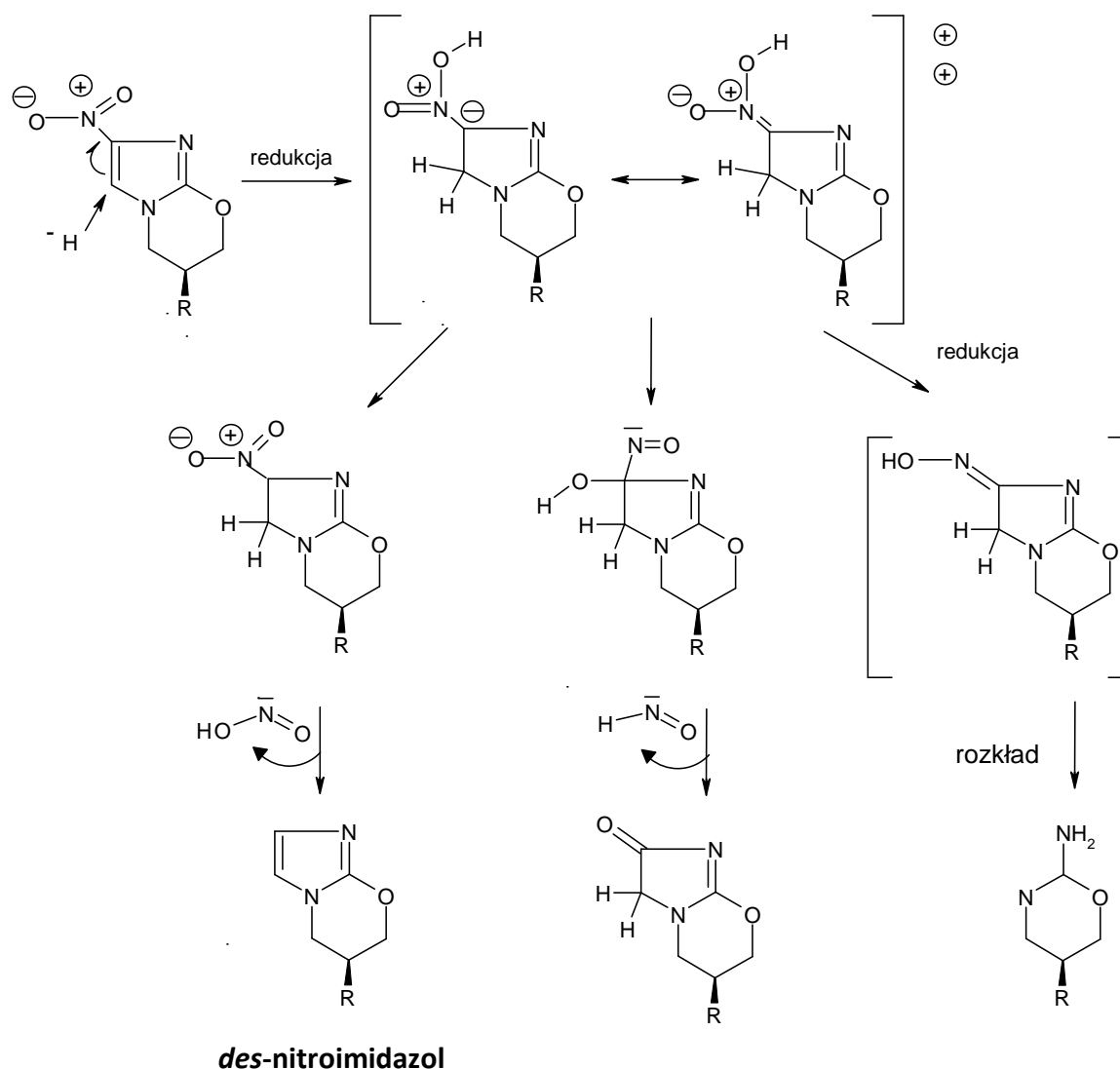


**Rysunek 5.** Struktura związku PA-824 wraz z numeracją atomów

W warunkach *in vitro* potwierdzono jego wysoką aktywność przeciwko bakteriom gruźlicy, nawet wobec szczepów opornych na inne leki. Ważną zaletą tego związku jest również to, że nie wykazuje oporności krzyżowej z innymi lekami tuberkulostatycznymi [48], a w warunkach *in vivo* potwierdza swoją aktywność wobec bakterii niereplikujących. Mechanizm działania PA-824 nie został do końca poznany, ale przypuszczalnie polegać on może na tworzeniu rodników wykazujących zdolność do uszkodzenia DNA *M. tuberculosis* [49]. Ponadto zauważono, że podobnie jak OPC-67683, również PA-824 hamuje syntezę kwasów mykoloowych oraz biosyntezę protein [48]. Związek ten jest prolekiem, aktywowanym wewnątrz komórki. Mechanizm aktywności przeciwgruźliczej jest złożony i uzależniony od enzymu nitroreduktazy Ddn (Rv3547) [49]. Enzym ten wywołuje trójkierunkową redukcję biochemiczną, w wyniku której otrzymuje się trzy różne produkty. Jednym z metabolitów jest *des*-nitroimidazol. Jego powstawanie jest ściśle związane z jednoczesnym wydzielaniem reaktywnych związków azotowych.

Aktywność PA-824 w warunkach beztlenowych powiązana jest z dużą ilością uwalnianego podczas redukcji, toksycznego dla bakterii, tlenku azotu NO (Schemat 25).

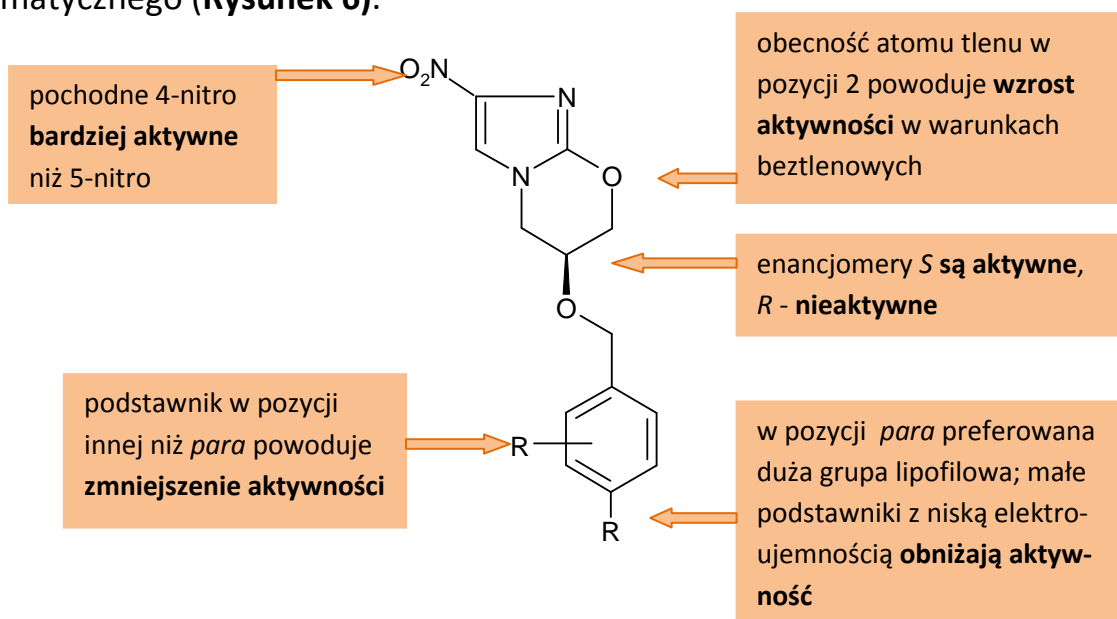
W najbliższych latach PA-824 może stać się głównym lekiem stosowanym w leczeniu gruźlicy. Obecnie znajduje się on w III fazie badań klinicznych.



**Schemat 25.** Produkty rozpadu związku PA-824 powstające w wyniku jego działania w komórce [49]

Ostatnio opublikowane rezultaty badań zależności pomiędzy strukturą nitroimidazodihydrooksazyn a siłą ich działania tuberkulostatycznego wskazały na pewne elementy strukturalne, których obecność w cząsteczce jest warunkiem koniecznym pojawienia się aktywności [50], [51].

Wystąpieniu działania przeciwpłatkowego sprzyja konfiguracja *S* na chiralnym atomie węgla C-6 w pierścieniu oksazynowym, a sztywny układ bicykliczny zapobiega zmianom tej konfiguracji. Podobnie jak w przypadku nitroimidazodihydrooksazoli, pochodne 4-nitro są bardziej aktywne. Zauważono także wpływ rodzaju atomu w pozycji 8 bicyklicznej cząsteczki. Najkorzystniejsza jest obecność atomu o charakterze elektronodonorowym, a preferowany jest atom tlenu. Zastąpienie go atomem azotu lub siarki nie wpłynęło niekorzystnie na wartości MIC w warunkach aerobowych. Natomiast w warunkach beztlenowych, pochodne 8-aza i 8-tia związku PA-824 wykazywały zmniejszoną aktywność tuberkulostatyczną, odpowiednio 10-cio i 5-cio krotnie, w porównaniu z PA-824. Obecność atomu o charakterze elektronodonorowym w tej pozycji jest konieczna ze względu na możliwość utworzenia wiązania wodorowego pomiędzy cząsteczką substancji czynnej a miejscem aktywnym enzymu nitroreduktazy. Wprowadzenie w pozycję 8 ugrupowania  $-CH_2-$  niemal całkowicie eliminowało działanie przeciwgruźlicze, i to zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych. Korzystny wpływ wykazywał natomiast podstawnik o charakterze lipofilowym połączony poprzez grupę alkoksyłową z asymetrycznym atomem węgla C-6. Zauważono również pozytywny wpływ ugrupowania trifluorometoksyłowego umiejscowionego w pozycji *para* pierścienia aromatycznego (**Rysunek 6**).



**Rysunek 6.** Zależności SAR dla pochodnych nitroimidazooksazyny

## 5. CHARAKTERYSTYKA ISTNIEJĄCYCH I POTENCJALNYCH LEKÓW PRZECIWGRUŻLICZYCH

Światowa Organizacja Zdrowia WHO rekomenduje obecnie terapię przeciwprątkową polegającą na podawaniu kombinacji czterech leków: izoniazydu (INH), ryfampicyny (RIF), pyrazynamidu (PZA) oraz etambutolu (ETH) lub streptomycyny (SM) przez pierwsze dwa miesiące leczenia. Przez kolejne cztery miesiące pacjent powinien przyjmować tylko izoniazyd lub ryfampicynę [52]-[54]. Półroczna kuracja jest często wydłużana nawet do dwunastu miesięcy. Niestety, nie w każdym przypadku prowadzi ona do pełnego wyleczenia. Związane jest to ze zjawiskiem lekooporności. Organizacja WHO szacuje, że obecnie u około pięćdziesięciu milionów osób rozwija się wielolekooporna forma gruźlicy (MDR-TB). Zdiagnozowanie oporności wobec leków pierwszego rzutu nie przekreśla szansy na całkowite zwalczenie choroby. Wówczas podaje się leki drugiego rzutu, takie jak kapreomycyna, etionamid, kwas para-aminosalicylowy, kanamycyna lub cykloseryna. Są one jednak mniej efektywne, wymagają podawania większych dawek i są bardziej toksyczne. Leczenie za pomocą terapeutyków drugiego rzutu jest ponadto dziesięć razy droższe. Czas kuracji wydłuża się nawet do dwóch lat. W roku 2006 wyizolowano ekstremalnie lekooporne formy *M. tuberculosis* (XDR-TB). Bakterie te nie poddawały się terapii za pomocą RIF i INH oraz były odporne wobec przynajmniej dwóch grup leków drugiego rzutu. [55].

Obecnie stosowane tuberkulostatyki pierwszego rzutu zostały wprowadzone w 1940 roku (SM), 1950 (INH, PZA), 1960 (EMB) i w 1970 (RIF). Pomimo wielu osiągnięć z zakresu wiedzy biologicznej i genetycznej dotyczącej *M. tuberculosis* oraz zrozumienia dla ogromnej potrzeby opracowania bardziej aktywnych substancji, w ciągu ostatnich blisko czterdziestu lat nie wprowadzono żadnych nowych leków przeciwgruźliczych, oprócz kongenerów terapeutyków z grupy ryfamycyn. Obecnie, co najmniej pięć nowych potencjalnych tuberkulostatyków przechodzi badania kliniczne i zostało zakwalifikowanych do drugiej lub trzeciej fazy tych badań [56].

## 5.1. Charakterystyka istniejących, wybranych tuberkulostatyków

Obecnie stosowane leki pierwszego i drugiego rzutu, ze względu na mechanizm działania można podzielić na:

- hamujące powstawanie ściany komórkowej (izoniazyd, etambutol, etionamid, cykloseryna),
- hamujące syntezę kwasów nukleinowych (ryfampicyna, chinolony),
- hamujące syntezę białek (streptomycyna, kanamycyna),
- hamujące metabolizm energii w błonie komórkowej (pyrazynamid).

Obecna terapia przeciwprątkowa polega głównie na stosowaniu preparatów hamujących procesy metaboliczne bakterii, ze szczególnym naciskiem na leki inhibitujące syntezę ściany komórkowej *M. tuberculosis* [57].

Dotychczas stosowane leki przeciwgruźlicze wpływają zatem na te bakterie, które w sposób szybki i aktywny wzrastają w zakażonym organizmie. Natomiast preparaty te wykazują niewielkie działanie wobec latentnych (utajonych) form tych mikroorganizmów, które mogą przetrwać np. wewnątrz makrofagów.

### *Leki tuberkulostatyczne pierwszego rzutu*

Streptomycyna (SM) jest antybiotykiem z grupy aminoglikozydów, wytwarzanym przez niektóre szczepy promieniowców *Streptomyces griseus*. Jest bakteriobójcza nie tylko w stosunku do *M. tuberculosis*. Zwalcza także inne prątki, tlenowe pałeczki Gram-ujemne oraz niektóre szczepy gronkowców [58]. Streptomycyna obecnie została zarezerwowana wyłącznie do użytku w terapii przeciwgruźliczej. Podawanie jej w przypadkach innych niż zakażenie TB mogłoby w krótkim czasie doprowadzić do wytworzenia form *M. tuberculosis* odpornych na ten lek. Mechanizm działania streptomycyny polega na włączaniu się jej cząsteczki pomiędzy podjednostki rybosomowe - proteiny S12 rybosomu 30S oraz 16S rRNA, przez co zostaje zakłócona biosynteza białka [59], [60]. Analogiczny mechanizm aktywności wykazują pokrewne substancje z tej samej grupy aminoglikozydów:

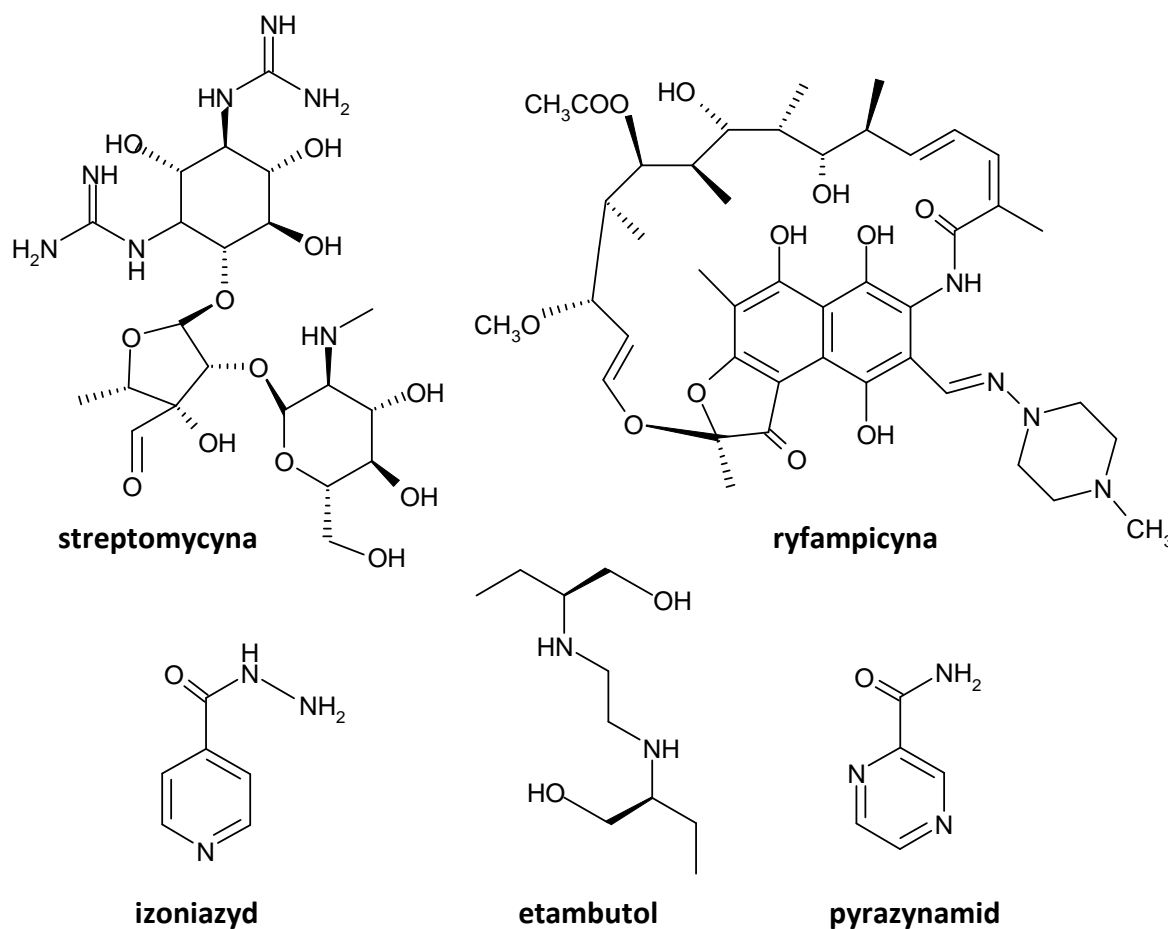
kanamycyna i amikacyna oraz związki o charakterze cyklicznych peptydów: kapreomycyna i viomycyna [61].

Izoniazyd (INH) jest tuberkulostatycznym powszechnie używanym. Działa bakteriobójczo na *M. tuberculosis* oraz *M. kansasii* [58]. Izoniazyd jest prolekiem, działającym jako inhibitor biosyntezy kwasów mykoloowych. Związek ten, aby działać, musi zostać zaktywowany przez katalazę bakteryjną KatG dzięki czemu może reagować z dinukleotydem nikotynoamidowym (NAD) [62]. Otrzymany addukt NAD-INH łączy się z enzymem niezbędnym w procesie biosyntezy kwasów mykoloowych – reduktazą proteinową 2-*trans*-enoiloacylową (InhA) dezaktywując ją. W konsekwencji zostaje zaburzony szereg procesów życiowych *M. tuberculosis* [63].

Etambutol (ETH) jest lekiem przeciwprątkowym działającym słabiej niż izoniazyd, ryfampicyna, streptomycyna i etionamid, ale silniej niż PAS [58]. Mechanizm działania etambutolu polega na hamowaniu enzymu transferazy arabinozylowej, odpowiedzialnej za przyłączanie D-arabinozy do jednego ze składników budulcowych ściany komórkowej bakterii – arabinogalaktanu [64]. Przez to zakłócony zostaje proces podstawiania kwasów mykoloowych w pozycję 5 reszty D-arabinozy [65]. W takim przypadku, kwasy mykoloowe łączą się z disacharydem trehalozą. Połączenie to wywołuje cały szereg zmian w metabolizmie lipidów prątka gruźlicy i w rezultacie prowadzi do jego destrukcji.

Ryfampicyna (RIF) – jest syntetyczną pochodną antybiotyku ansamycynowego ryfamycyny o działaniu bakteriobójczym w stosunku do prątków gruźlicy oraz bakterii Gram-dodatnich, szczególnie gronkowców. Zwalcza także niektóre tlenowe pałeczki Gram-ujemne. Jest najsilniejszym lekiem przeciwprątkowym, ponadto wykazuje skuteczność w leczeniu trądu [58]. W ostatnich latach opracowano metody otrzymywania kilku analogów tego związku – ryfampiny i ryfapentiny o lepszych właściwościach farmakokinetycznych [66]. Wszystkie antybiotyki z grupy ansamycyn działają według tego samego mechanizmu. Polega on na hamowaniu syntezy RNA poprzez trwałe wiązanie się z podjednostką  $\beta$  polimerazy DNA-zależnej. Zablokowanie tego enzymu prowadzi do wstrzymania syntezy białek, replikacji DNA i podziału komórkowego [67].

Pyrazynamid (PZA) działa na prątki w środowisku kwaśnym. Jest jednym z najsilniejszych leków przeciwprątkowych zwalczających bakterie wolno rosnące wewnątrz makrofagów. Nie jest aktywny wobec *M. bovis* i prątków niegruźliczych [58]. Przez wiele lat nie był znany mechanizm działania pyrazynamidu. Niedawno odkryto, że PZA przenika do wnętrza *M. tuberculosis* drogą pasywnej dyfuzji i jest tam przekształcany w kwas pyrazynowy (POA) za pomocą enzymu pyrazynamidazy. W konsekwencji, proces ten prowadzi do zaburzenia równowagi pH i zniszczenia struktur komórkowych drobnoustrojów [68], [69]. Ponadto, pyrazynamid wpływa destrukcyjnie na procesy metaboliczne błony komórkowej, przyczyniając się do zakłóceń w transporcie śród błonowym. Struktury chemiczne omówionych substancji przedstawiono poniżej (**Rysunek 7**).



**Rysunek 7.** Struktury leków przeciwgruźliczych pierwszego rzutu



### *Leki tuberkulostatyczne drugiego rzutu*

Kapreomycyna - jest to cykliczny przeciwbakteryjny polipeptyd izolowany ze *Streptomyces capreolus*. Działa od dwu- do czterokrotnie słabiej od streptomycyny. Większość szczepów *M. tuberculosis* odpornych na streptomycynę, jest wrażliwa wobec kapreomycyny [58]. Oba antybiotyki wykazują ten sam mechanizm działania [60].

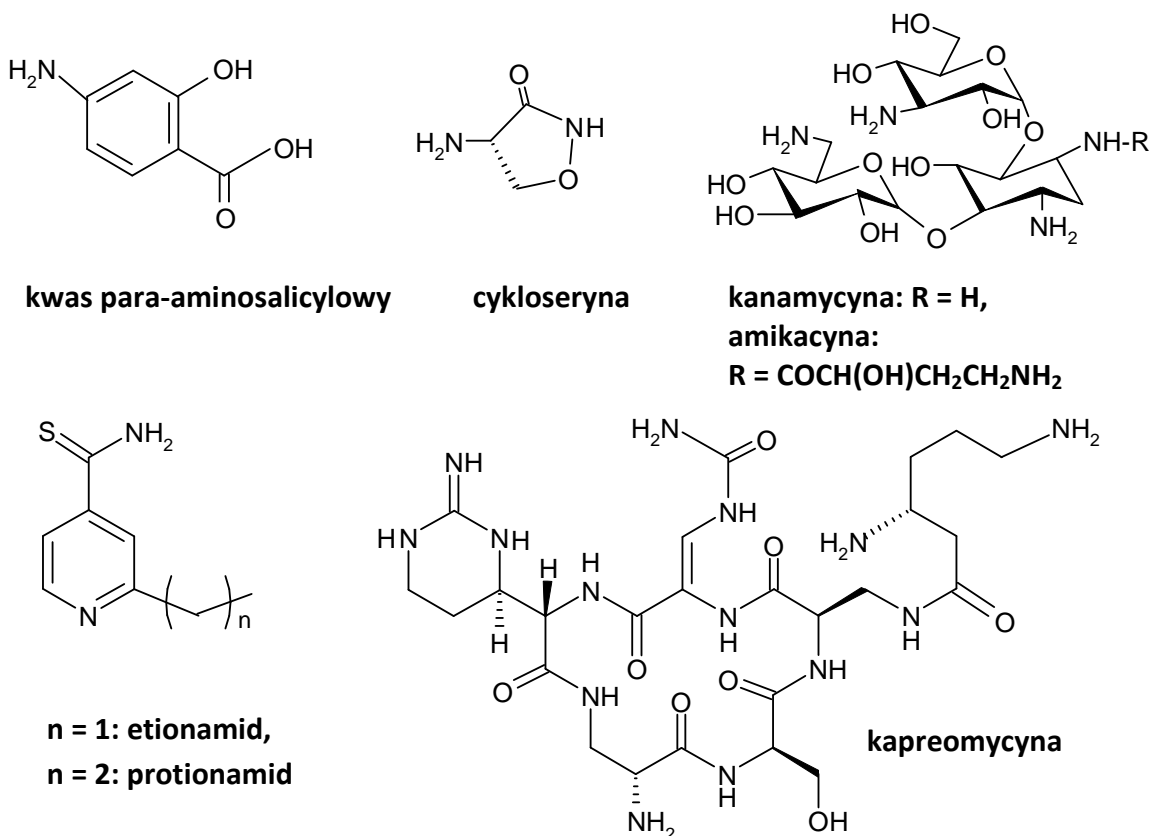
Kwas para-aminosalicylowy (PAS) jest lekiem o słabym działaniu przeciwgruźliczym (MIC = 1-8 µg/ml). Mechanizm jego aktywności nie został do końca wyjaśniony. Sugeruje się, że działanie tuberkulostatyczne PASu polega na jego interferencji z kwasem salicylowym wykorzystywanym do transportu żelaza. W ten sposób zostaje zaburzony metabolizm *M. tuberculosis* [70], [71]. Druga teoria zakłada hamowanie reduktazy kwasu foliowego [70].

Cykloseryna jest antybiotykiem z grupy stymulatorów wzrostu, stosowanym w leczeniu gruźlicy. Ten cykliczny aminokwas hamuje powstawanie dwóch enzymów: racemazy L-alaniny, która przekształca L-alaninę w formę D, oraz syntazy D-alaniloalaninowej, łączącej cząsteczki D-alaniny w pentapeptyd. Ten ostatni jest niezbędny do utworzenia peptydoglikanów – budulca ściany komórkowej bakterii [72], [73].

Amikacyna należy do grupy półsyntetycznych antybiotyków aminoglikozydowych. Jest pochodną kanamycyny A o bardzo szerokim spektrum działania przeciwbakteryjnego i jednocześnie o najmniejszej wrażliwości na działanie enzymów dezaktywujących antybiotyki aminoglikozydowe [58]. Wykazuje aktywność przeciwprątkową, niszczy szczepy odporne na streptomycynę. Ponadto jest bakteriobójcza w stosunku do tlenowych pałeczek Gram-ujemnych, m.in. *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* oraz bakterii z rodzaju *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*. Spośród bakterii Gram-dodatnich działa najsilniej na *Staphylococcus aureus* i *S. epidermidis*. Mechanizm działania amikacyny polega na nieodwracalnym łączeniu się jej z podjednostką rybosomową i zaburzaniu procesu biosyntezy białka [74].

Kanamycyna – jest antybiotykiem aminoglikozydowym otrzymanym ze szczepu *Streptomyces kanamyceticus* [58]. Kanamycyna odznacza się dużą bakteriobójczością szczególnie wobec bakterii Gram-ujemnych, m.in. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, i niektórych Gram-dodatnich, m.in. *Staphylococcus spp.*, *Corynebacterium spp.*, działa także na *Mycobacterium tuberculosis*, w tym na szczepy odporne na streptomycynę. Oba antybiotyki charakteryzują się tym samym mechanizmem działania, zaburzającym biosyntezę białek bakterii [60]. Kanamycyna w leczeniu gruźlicy jest stosowana stosunkowo rzadko, ze względu na znaczną toksyczność. Wskazaniem do jej użycia jest występowanie prątków wielolekoopornych.

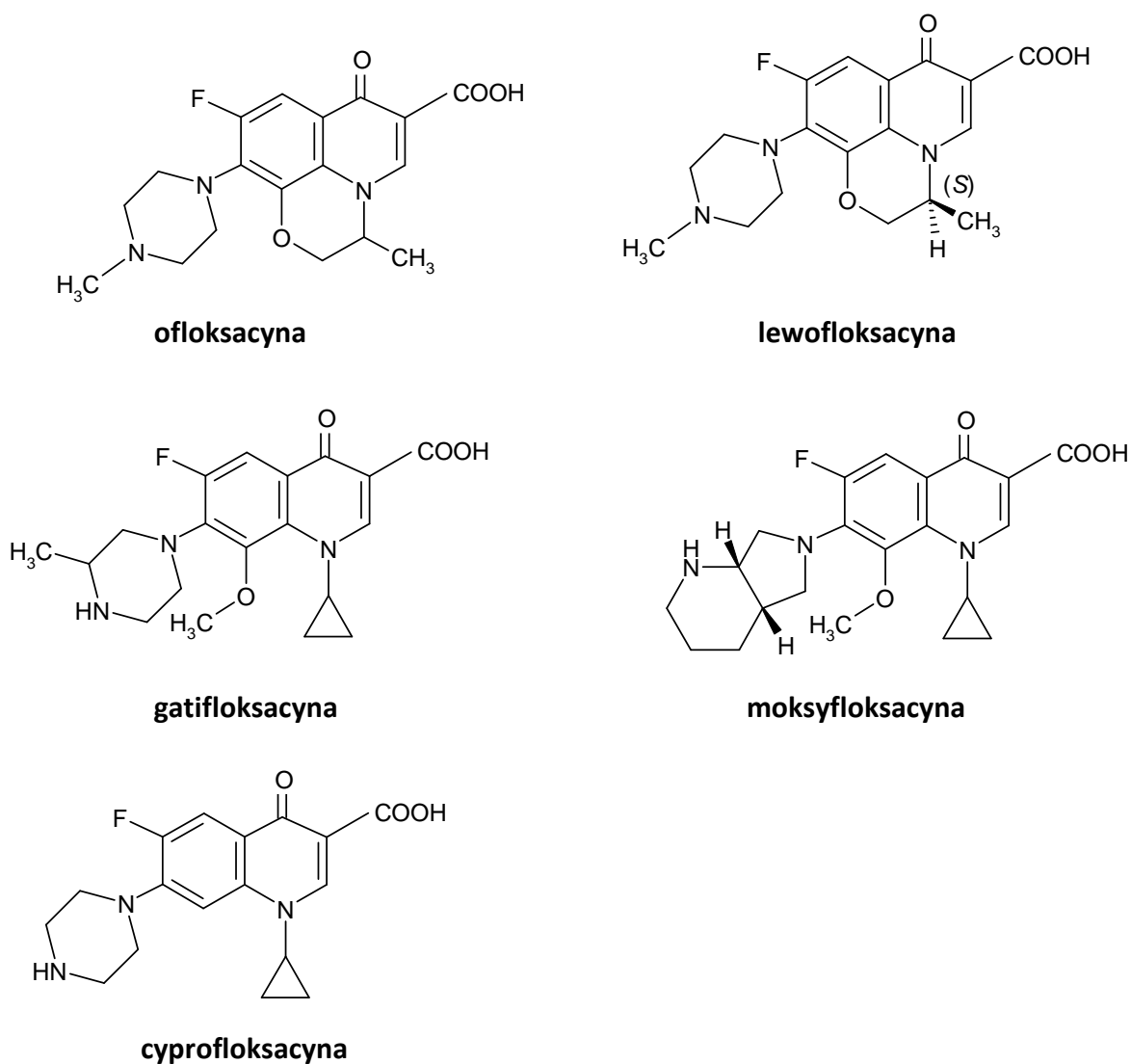
Etionamid - pod względem budowy chemicznej jest to amid kwasu 2-etylotioizonikotynowego. Działa bakteriostatycznie na szczepy *M. tuberculosis* odporne na inne leki przeciwgruźlicze [58]. Zwalcza także *M. bovis* i *M. kansasii*. Jest antybiotykiem silniejszym od streptomycyny. Etionamid oraz jego propylowy analog protionamid są prolekami. Aktywowane są poprzez reakcję utlenienia za pomocą monooksygenazy flawoproteinowej (EthA) [75], [76]. Utlenienie etionamidu prowadzi do otrzymania kwasu sulfinowego, który jest nietrwały i łatwo przekształca się w amid i alkohol [77]. Związki te łącząc się z enzymem InhA powodują jego dezaktywację i uniemożliwiają syntezę kwasów mykolowych [78]. Struktury chemiczne leków drugiego rzutu przedstawiono na **Rysunku 8**.



**Rysunek 8.** Struktury leków przeciwgruźliczych drugiego rzutu

Chinolony – ta szeroka klasa antybiotyków wywodząca się od kwasu nalidyksowego, wykazuje silne działanie bakteriobójcze skierowane przeciwko tlenowym i beztlenowym bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym. Wyróżnia się cztery generacje chinolonów: I generacja (chinolony) – obejmuje kwas nalidyksowy (Nevigramon), kwas pipemidowy (Palin), norfloksacynę (Nolicin), rosoksacynę, cinoksacynę, flumechinę, kwas piromidowy oraz kwas oksolinowy. W skład II generacji wchodzi fluorochinolony: pefloksacyna (Abaktal), ciprofloksacyna (Proxacin, Cipropol, Cipronex, Ciprobay), grepfloksacyna, ofloksacyna (Tarivid, Oflofinex, Zanocin), fenoksacyna, fleroksacyna, sparfloksacyna, lomefloksacyna, temafloksacyna. Do III generacji zalicza się gatifloksacynę, gemifloksacynę, temafloksacynę, lewofloksacynę (Tavanic), pazufloksacynę, moksyfloksacynę, sparfloksacynę oraz tosufloksacynę. Generacja IV obejmuje

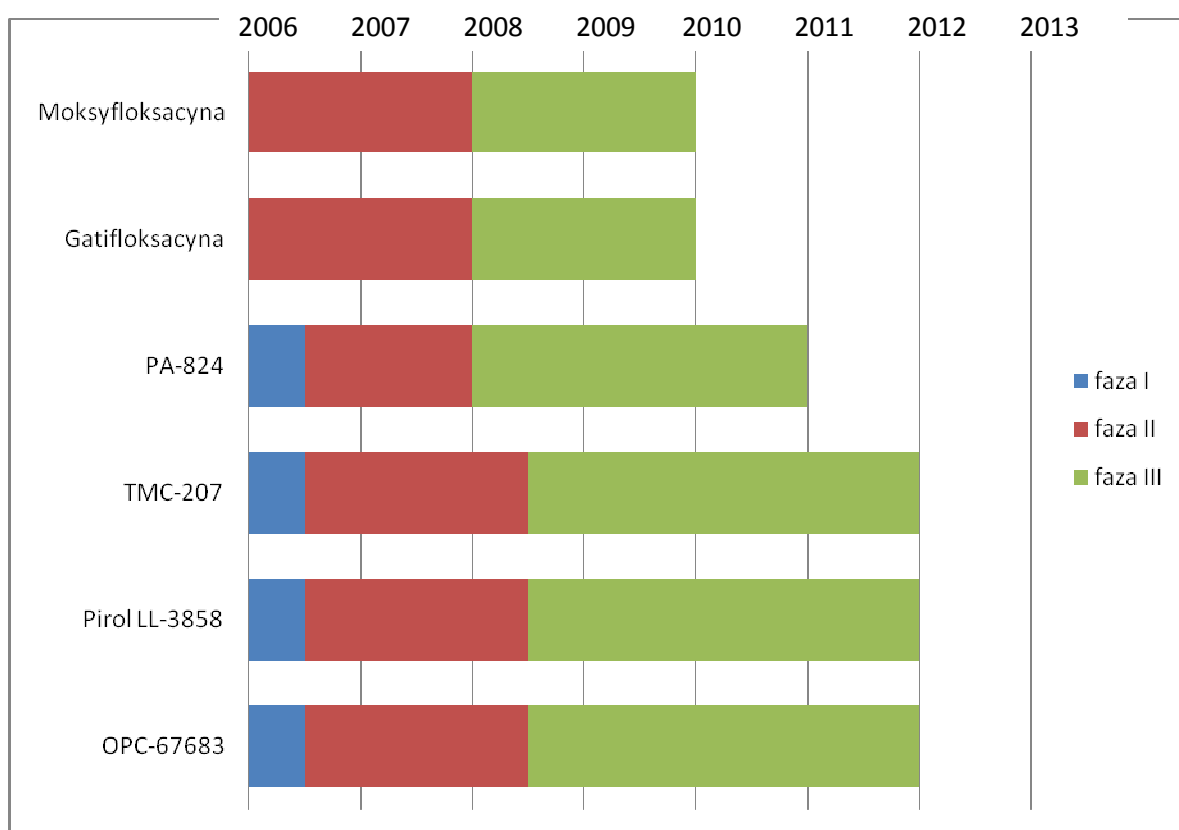
naftyrydynochinolony: kinafloksacyny, trowafloksacyny oraz alatrofloksacyny [79]. Poszczególne generacje różnią się między sobą przede wszystkim spektrum przeciwbakteryjnym. Szereg antybiotyków z grupy fluorochinolonów, m.in. cyprofloksacyna, ofloksacyna, lewofloksacyna, gatifloksacyna oraz moksyfloksacyna wykazuje aktywność przeciwgruźliczą [80], [81]. Działanie fluorochinolonów opiera się na hamowaniu dwóch enzymów: topoizomerazy IV DNA i gyrazy DNA związanych z replikacją, rekombinacją i transkrypcją oraz związaniem się nici DNA [82]. Struktury chemiczne niektórych fluorochinolonów przedstawiono na Rysunku 9.



**Rysunek 9.** Struktura wybranych fluorochinolonów

## 5.2. Charakterystyka niektórych substancji o działaniu tuberkulostatycznym, pozostających w różnych fazach badań klinicznych

Szereg związków o zróżnicowanej budowie chemicznej, wykazujących aktywność przeciwprątkową, przechodzi obecnie kolejne fazy badań klinicznych [56], [83], [84] (**Wykres 1**). W najbliższych latach, farmakologiczne zasoby pulmonologów powinny wzbogacić się o przynajmniej kilka nowych, skutecznych leków. Wśród testowanych substancji można znaleźć także omówione wcześniej, dwie bicykliczne pochodne nitroimidazolu: PA-824 oraz OPC-67683.



**Wykres 1.** Przewidywany czas zakończenia serii badań klinicznych dla wybranych, potencjalnych leków o działaniu przeciwgruźliczym [85].

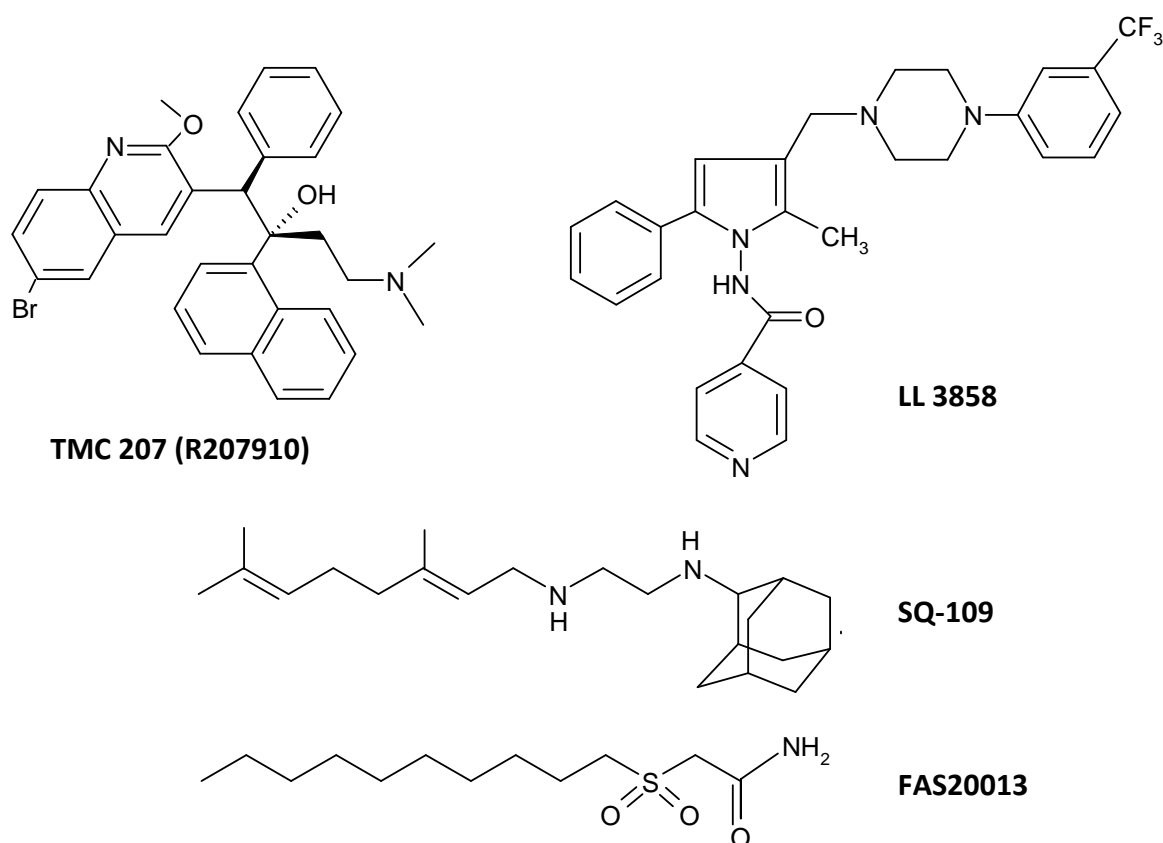
Drugi etap badań został pomyślnie zakończony dla jednego ze związków typu diarylochinoliny o symbolu TMC 207 (R207910). Jest to jeden z najbardziej obiecujących tuberkulostatyków. W serii diarylochinolin znaleziono dwadzieścia substancji, których wartości MIC wynosiły poniżej 0,5 µg/ml w badaniach *in vitro* wobec *M. tuberculosis* H37Rv. Aktywność przeciwgruźlicza została potwierdzona w testach *in vivo* dla trzech połączeń diarylochinolinowych [86]. Spośród nich wybrano jedną substancję o najkorzystniejszych parametrach i pod symbolem TMC 207 poddano szeregowi dalszych badań. Związek ten jest inhibitorem rozwoju *M. tuberculosis* w warunkach *in vitro* i to zarówno wobec szczepów wrażliwych na podstawowe leki jak i lekoopornych [87]. W badaniach *in vivo*, R207910 wykazywał większą aktywność niż izoniazyd i ryfampicyna, a ponadto zwalczał latentne formy bakterii. Zastąpienie ryfampicyny, izoniazydu lub pirazynamidu w kombinacjach tych preparatów diarylochinoliną TMC 207, powoduje wzrost aktywności przeciwgruźliczej, prowadząc do całkowitej eliminacji prątków już po dwóch miesiącach leczenia. Ponadto związek ten posiada nowy mechanizm działania – jest on inhibitorem pompy protonowej  $F_0F_1H^+$  syntazy ATP, co w konsekwencji prowadzi do uszkodzenia struktury ATP i naruszenia równowagi kwasowo-zasadowej w komórce bakterii.

Kolejnym, potencjalnym lekiem przeciwgruźliczym jest substancja o symbolu SQ-109. Związek ten został wyodrębniony w wyniku poszukiwań preparatów przeciwprątkowych w grupie diamin [88]-[91]. Mechanizm działania tej substancji polega na hamowaniu procesu powstawania ściany komórkowej prątka gruźlicy. SQ-109 charakteryzuje się znaczącym, bo nawet 35-krotnym wzrostem aktywności przeciwgruźliczej w porównaniu z etambutolem, w warunkach *in vitro*. Zauważono, że substancja ta jest skuteczna również wobec drobnoustrojów z wykształconą wielolekoopornością. Połączenie SQ-109 w terapii z izoniazydem i ryfampiną znacznie zwiększa efektywność terapii przeciwprątkowej. Planuje się przeprowadzenie dalszych badań oceniających skuteczność kombinacji SQ-109 z innymi lekami tuberkulostatycznymi oraz określających efekty przyjmowania tej substancji w monoterapii.

W wyniku poszukiwań nowych, ulepszonych leków przeciwgruźliczych, odkryto grupę związków  $\beta$ -sulfonyloacetamidowych. Wyselekcjonowano z

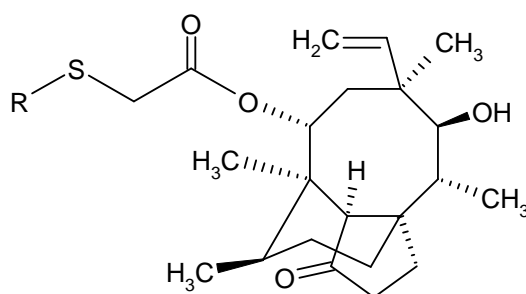
nich substancję o najwyższej aktywności – FAS20013. Dowiedziono, że związek ten jest inhibitorem syntazy kwasów mykoloowych oraz zakłóca produkcję energii w komórkach drobnoustrojów, powodując ich zamieranie. Potwierdzono jego skuteczność w przypadkach wielolekooporności. Ponadto zauważono, że lek ten nie wywołuje poważnych efektów ubocznych [92], [93].

Zaobserwowano również, że niektóre pochodne pirolu wykazują właściwości tuberkulostatyczne wobec szczepów *M. tuberculosis* w warunkach *in vitro*. Wyselekcjonowany, najbardziej aktywny związek z tej grupy – LL-3858 charakteryzuje się wyższą skutecznością w monoterapii od izoniazydu *in vivo*. Wartość MIC wynosi dla niego 0,125 – 0,25 µg/ml, również wobec szczepów lekoopornych [94]. Do tej pory nie poznano jego mechanizmu działania. Struktury chemiczne opisanych związków przedstawiono na **Rysunku 10**.



**Rysunek 10.** Struktury wybranych tuberkulostatyków przechodzących badania kliniczne

Pleuromutiliny reprezentują klasę antybiotyków półsyntetycznych, otrzymywanych ze szczepu promieniowca *Pleurotus mutilis*. Dwa preparaty z tej grupy związków – tiamulina i valnemulina, stosowane są w weterynarii. Pleuromutiliny zaburzają syntezę białka poprzez łączenie się z podjednostką rybosomową 50S rRNA, hamując w ten sposób tworzenie się wiązań peptydowych [95]. Taki mechanizm działania zasugerował ewentualną możliwość wykorzystania tych substancji w terapii przeciwprątkowej. W trakcie dalszych badań wykazano, że antybiotyki te wykazują właściwości przeciwgruźlicze, również wobec szczepów lekoopornych. Struktury chemiczne opisanych związków przedstawiono na **Rysunku 11**.



tiamulina:  $R = (\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{N}(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2-$

valnemulina:  $R = (\text{CH}_3)_2\text{CHCO}(\text{NH}_2)\text{C-NH-CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2-$

**Rysunek 11.** Struktury wybranych pleuromutilin

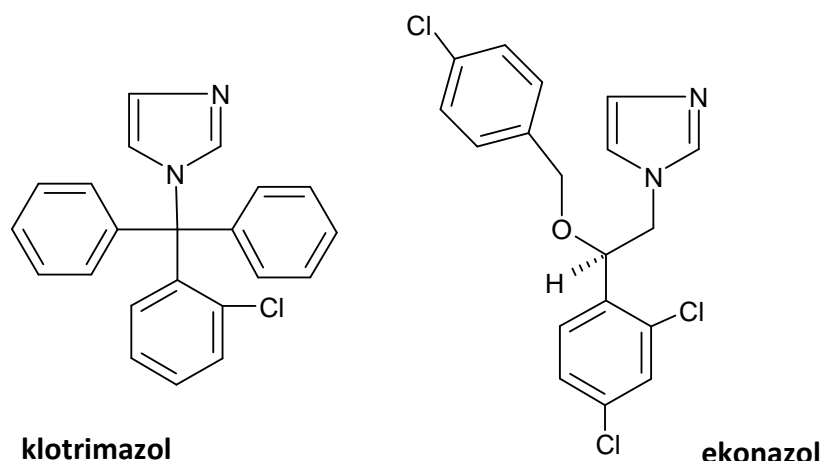
Poszukując nowych leków przeciwgruźliczych, przeanalizowano także grupy antybiotyków już istniejących. W ten sposób znaleziono dwie substancje z szeregu fluorochinolonów – gatifloksacynę (GAT) oraz moksyfloksacynę (MXF) [96]. Oba związki są obecnie poddawane badaniom klinicznym. Gatifloksacyna wykazuje właściwości tuberkulostatyczne zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*. W badaniach *in vitro* gatifloksacyna charakteryzowała się najsilniejszą aktywnością przeciwprątkową w ciągu dwóch pierwszych dni testu [97]. Analogiczne wyniki osiągnięto w momencie użycia gatifloksacyny w kombinacji z izoniazydem lub ryfampicyną. GAT podwyższał aktywność przeciwgruźliczą INH lub RIF, ale także tylko podczas dwóch pierwszych dni testu. Bardziej obiecującym tuberkulostatykiem z



grupy fluorochinolonów jest moksyflokscyna. *In vitro*, MXF niszczy populacje tych prątków gruźlicy, które wytworzyły oporność wobec ryfampicyny. Cecha ta odróżnia moksyflokscynę od fluorochinolonów poprzednich generacji działających tuberkulostatycznie: cyprofloksacyny i ofloksacyny [96]. Prawdopodobnie, moksyflokscyna wpływa na syntezę białek wolno metabolizujących bakterii. Mechanizm ten znacznie różni się od sposobu, w jaki działa ryfampicyna. W modelach *in vivo* aktywność MXF jest porównywalna z izoniazydem. Ponadto, użycie jej w kombinacji z pyrazynamidem jest bardziej efektywne niż zastosowanie kombinacji izoniazydu, ryfampicyny i pyrazynamidu.

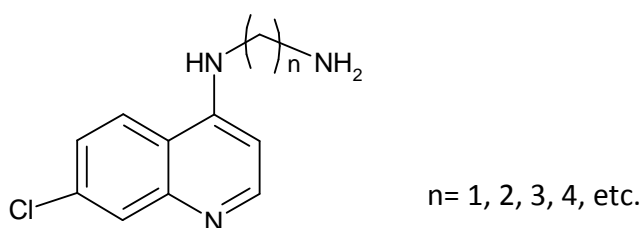
### 5.3. Inne substancje o działaniu przeciwgruźliczym

Każdego roku ukazuje się szereg doniesień naukowych, opisujących związki należące do różnego rodzaju grup chemicznych i prezentujących wyniki wstępnych badań tuberkulostatycznych, przeprowadzonych dla tych właśnie substancji. Poniżej przedstawiono kilka najciekawszych przykładów takich związków, które w przyszłości mogą stać się nowymi strukturami wiodącymi w walce z gruźlicą. Dwie, znane od szeregu lat, pochodne imidazolu o działaniu przeciwgrzybiczym – ekonazol i klotrimazol (**Rysunek 12**), zostały poddane testom przeciwgruźliczym w warunkach *in vitro* i *ex vivo* [98]. Otrzymane rezultaty wskazały, że badane azole wykazują właściwości hamujące wzrost *M. tuberculosis*, a wartości MIC w obu przypadkach wynosiły 0,12 µg/ml. Klotrimazol i ekonazol są zatem substancjami o wyższej aktywności niż powszechnie stosowana ryfampicyna, dla której MIC = 0,2 µg/ml. Autorzy zauważyli także synergizm działania tych pochodnych imidazolu użytych w kombinacjach z ryfampicyną i izoniazydem.



**Rysunek 12.** Struktury chemiczne klotrimazolu i ekonazolu

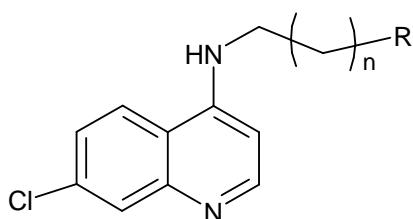
W innej pracy przedstawiono syntezę i ocenę aktywności przeciwprątkowej pochodnych chinoliny [99]. Strategię otrzymywania tych związków oparto na podstawieniu atomu chloru w pozycji C-4 w cząsteczce 4,7-dichlorochinoliny łańcuchem etylenodiaminowym, stanowiącym farmakofor etambutolu, oraz jego homologami. Celem dalszych przekształceń było ustalenie zależności SAR (**Rysunek 13**).



**Rysunek 13.** Struktura pochodnych 4,7-dichlorochinoliny o aktywności przeciwgruźliczej

W badaniach *in vitro* zaobserwowano, że w serii związków pochodnych 4-amino-7-chlorochinoliny z różnymi podstawnikami przy terminalnym atomie węgla w łańcuchu alkilowym, najbardziej aktywny był związek z atomem chloru (MIC = 12,5 µg/ml). Wartość ta zmieniła się niekorzystnie po zastąpieniu atomu halogenu grupą aminową lub azydkową -N<sub>3</sub>. Sprawdzone również wpływ długości podstawnika alkilowego na poziom aktywności przeciwprątkowej. Zauważono, że wydłużenie łańcucha bocznego do

dziesięciu atomów węgla prowadzi do zwiększenia siły działania tuberkulostatycznego (**Rysunek 14**).



R= -NH<sub>2</sub>

n=6 MIC=25 µg/ml

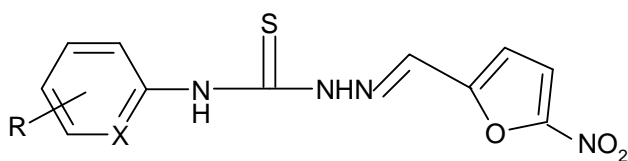
n=8 MIC=6,25 µg/ml

n=10 MIC=3,12 µg/ml

R= -H, -NH<sub>2</sub>, -OH, halogen, -N<sub>3</sub>, etc.

**Rysunek 14.** Wartości MIC pochodnych chinolinowych w stosunku do *M. tuberculosis*

Inni autorzy wykazali przeciwgruźliczą aktywność N-podstawionych semikarbazonowych pochodnych 5-nitrofurfuralu [100] (**Rysunek 15**).



R	X	MIC (µg/ml)
3-Br	CH	0,54
2,4-(NO <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	CH	0,52
3,5-Br <sub>2</sub>	N	0,22
H	N	12,1

**Rysunek 15.** N-Podstawione semikarbazonowe pochodne 5-nitrofurfuralu o aktywności tuberkulostatycznej

Najwyższa efektywność związana była z obecnością we fragmencie arylowym podstawników elektronobiorczych, takich jak atom chlorowca lub grupa nitrowa. W niektórych przypadkach wartości MIC były wyższe od ich odpowiedników dla izoniazylu, ryfampicyny i cyprofloksacyny. Stwierdzono także większą aktywność pochodnych pirydyltiosemikarbazonowych, w porównaniu z ich odpowiednikami fenyłowymi. Wykazano, że związki te

niszczą również mykobakterie wolno rosnące, co mogłoby przyczynić się do skrócenia czasu terapii. Natomiast poważną wadą przedstawianych pochodnych 5-nitrofuranowych jest ich znacząca cytotoksyczność.

## 6. CEL PRACY

Możliwości zastosowania w leczeniu związków z układem nitroimidazolu są przedmiotem szczególnego zainteresowania już od szeregu lat. Substancje te znane są głównie ze swoich właściwości przeciwbakteryjnych, przeciwpierwotniakowych i grzybobójczych oraz radiouczulających. W ostatnich latach zauważono również interesującą aktywność przeciwgruźliczą, ujawnianą zwłaszcza przez pochodne dwupierścieniowe.

Celem pracy jest otrzymanie zespołu nowych pochodnych heterocyklicznych, zawierających dwa skondensowane pierścienie pięcio- lub sześciocłonowe, z których jeden jest pierścieniem imidazolowym z grupą nitrową w pozycji 4. Wykorzystując tę strukturę wiodącą zamierza się uzyskać szereg nowych związków o budowie bicyklicznej, łączących w sobie elementy nitroimidazodihydroooksazolu oraz innych leków tuberkulostatycznych tzw. pierwszego rzutu, bądź substancji przeciwbakteryjnych o udokumentowanym działaniu i zbliżonej do związków przeciwgruźliczych budowie. Pochodne te, ze względu na swoje duże pokrewieństwo strukturalne ze znanymi tuberkulostatykami PA-824 oraz CGI-17341 powinny charakteryzować się podobnymi do nich właściwościami. Na wybranych, modelowych związkach zamierza się przeprowadzić modyfikacje otrzymanych cząsteczek, co pozwoli na dokładne zbadanie ich właściwości chemicznych oraz zachowania w różnych warunkach. Zagadnieniem kluczowym w prowadzonych badaniach będzie określenie możliwości i skuteczności łączenia w jedną strukturę fragmentów o podobnym efekcie działania, ale różnym jego mechanizmie.

Na podstawie powyższych założeń postanowiono:

- otrzymać szereg dwupierścieniowych nitroimidazodihydroooksazoli wywodzących się z 4,5-dinitroimidazolu oraz jego 2-metylo-pochodnej,
- określić ich właściwości chemiczne na podstawie reakcji z czynnikami nukleofilowymi, takimi jak fenole, tiofenole, aminy I- i II-rzędowe,
- zaproponować mechanizm powyższych reakcji,
- otrzymać związki bicykliczne, o pierścieniach skondensowanych i strukturze nitroimidazotetrahydropirymidyny.

Celem pracy, w jej części biologicznej, jest wyodrębnienie z grupy otrzymanych związków heterocyklicznych substancji charakteryzujących się najkorzystniejszymi właściwościami, dzięki którym będą one mogły być wykorzystane w terapii jako leki przeciwgruźlicze. Badania te dotyczyć będą oceny aktywności tuberkulostatycznej otrzymanych związków, zwłaszcza wobec szczepów bakterii opornych na izoniazyd oraz ryfampicynę.

Badania biologiczne prowadzone będą w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy w Warszawie.

Ponadto, większość z otrzymanych substancji zostanie poddana analizie metodą *PASS C&T*, opisującej pozostałe potencjalne możliwości wykorzystania tych związków w leczeniu. Zebrany materiał doświadczalny umożliwi podjęcie prób wyciągnięcia wniosków dotyczących korelacji pomiędzy budową a ewentualną aktywnością farmakologiczną uzyskanych pochodnych.

## 7. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ WŁASNYCH

Znane z piśmiennictwa rezultaty badań, dotyczą głównie bicyklicznych pochodnych, wywodzących się z 2,4-dinitro- lub 2-halogeno-4-nitroimidazolu. Zauważono, że obecność grupy nitrowej w pozycji 4 determinuje wzrost aktywności przeciwgruźliczej. Niezwykle korzystne jest również wprowadzenie do pierścienia oksazolowego, dodatkowego, bocznego łańcucha alkilowego o niewielkiej liczbie atomów węgla.

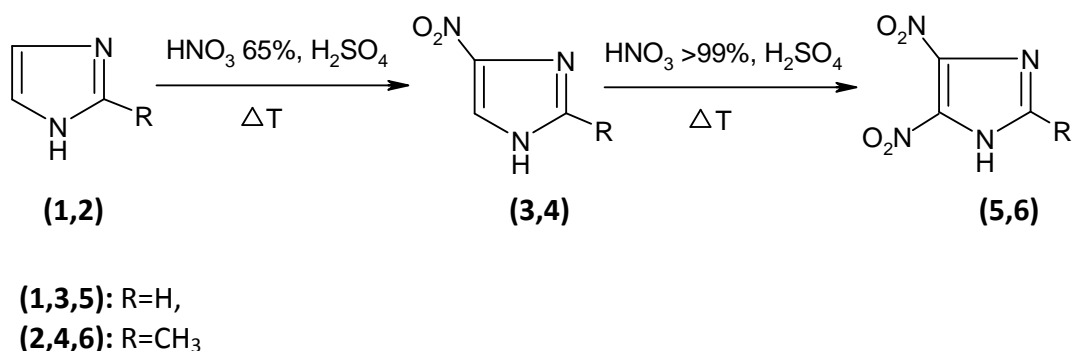
Powyższe obserwacje skłoniły do poszukiwań nowych substancji o właściwościach tuberkulostatycznych wśród dwupierścieniowych pochodnych otrzymywanych z 4,5-dinitroimidazoli. Podjęto próby uzyskania szeregu nowych substancji o strukturze bicyklicznej, będących analogami strukturalnymi wcześniej znanych tuberkulostatyków oraz określenia ich podstawowych właściwości chemicznych i biologicznych.

### 7.1. Synteza 4,5-dinitro- oraz 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu

Podstawowymi substratami w cyklu opisywanych syntez były imidazol **(1)** oraz jego homolog, 2-metyloimidazol **(2)**. Związki te nitrowano stosując znane z piśmiennictwa metody z użyciem mieszanin nitrujących, zawierających kwas azotowy o różnym stężeniu [17].

Syntezę mononitroimidazoli **(3)** i **(4)** prowadzono z użyciem mieszaniny 65% kwasu azotowego i stężonego kwasu siarkowego. Otrzymane produkty poddano następnie dalszemu nitrowaniu za pomocą mieszaniny, w której skład wchodził dymiący kwas azotowy. Zauważono, że na wydajność tej reakcji decydujący wpływ miała intensywność wrzenia – silna w ciągu pierwszych 20 minut reakcji, a łagodna przez następne 2 godziny (**Schemat 26**).

Uzyskane tą drogą surowe produkty **(5)** i **(6)**, po wygotowaniu w wodzie z dodatkiem węgla aktywnego, łatwo krystalizowały w postaci dużych, żółtych słupków. Zaobserwowano, że reakcja wprowadzenia drugiej grupy nitrowej do układu 2-metylo-4(5)-nitroimidazolu przebiega znacznie łatwiej i z lepszą wydajnością (70%) niż w przypadku 4(5)-nitroimidazolu (37%).



**Schemat 26.** Synteza 4,5-dinitroimidazolu i jego 2-metylowej pochodnej

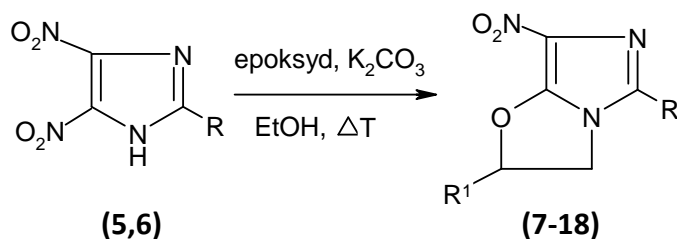
## 7.2. Synteza bicyklicznych nitroimidazo[5,1-*b*]dihydroooksazoli

Syntezę dwupierścieniowych nitroimidazodihydroooksazoli prowadzono wykorzystując metodę opracowaną wcześniej w macierzystym Zakładzie [23]. Polegała ona na N-alkilowaniu dinitroimidazoli epichlorohydryną w obecności K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, w stosunku molowym odpowiednio 1:3:0,75 oraz następczej wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji z eliminacją HNO<sub>2</sub> pod wpływem czynnika zasadowego. Sposób ten, po modyfikacjach dotyczących czasu reakcji oraz zmian w proporcjach użytych substratów, bądź współobecności dodatkowego rozpuszczalnika został wykorzystany do syntezy kolejnych związków o podobnej strukturze bicyklicznej. Otrzymano tą metodą szereg nowych nitroimidazodihydroooksazoli wykorzystując do tego celu różne epoksydy (1,2-epoksypropan, 1,2-epoksybutan, epibromohydryna, tlenek styrenu, 3-izopropoksy-1,2-epoksypropan).

Nitroimidazodihydroooksazole (**7**, **9**, **11**, **13**) wywodzące się z 4,5-dinitroimidazolu (**5**) najkorzystniej powstawały w trakcie od 25 do 120 minutowego ogrzewania substratów zmieszanych w proporcjach 1:3:1 (odpowiednio: związek (**5**) : epoksyd : K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) w roztworze etanolowym. Przebieg reakcji kontrolowano metodą TLC. W momencie gdy na chromatogramie nie stwierdzano już obecności substratu, przerywano ogrzewanie mieszaniny i wkraplało do niej trzykrotną ilość zimnej wody. W przypadku użycia epoksydów zawierających w swej strukturze atom chloru



lub bromu, dodatek wody powodował wytrącenie się stałego produktu. Natomiast zastosowanie w reakcji oksiranu z łańcuchem alkilowym lub pierścieniem fenylowym, prowadziło do powstania produktów, które były w znacznym stopniu rozpuszczalne, zarówno w alkoholu jak i w mieszaninie wodno-alkoholowej. Dlatego większość bicyklicznych produktów z tej serii wyodrębniano na drodze ekstrakcji chlorkiem metylenu. Wydzielone związki krystalizowano z małej ilości wody z dodatkiem węgla aktywowanego. Z kolei substancje typu nitroimidazodihydrooksazoli wywodzące się ze związku **(6)**, otrzymywano w wyniku ogrzewania substratów rozpuszczonych w *n*-propanolu, w czasie od 15 minut (dla epibromohydryny) do 120 minut (dla oksiranów z podstawnikami alkilowymi i fenyłowymi). Proporcje substratów oraz metody wyodrębniania produktów zastosowano podobne jak w wyżej opisanym przypadku nitroimidazolu 2-niepodstawionego. Opisana metoda zawiodła jednak przy próbie otrzymania 2-izopropoksy-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolu **(15)** oraz jego 2-metylowego odpowiednika **(16)** ze względu na znaczną rozpuszczalność powstających produktów w alkoholu i mieszaninie wodno-alkoholowej. W przypadku reakcji z 3-izopropoksy-1,2-epoksypropanem najkorzystniejsza okazała się synteza bez udziału dodatkowego rozpuszczalnika, zachodząca w temperaturze pokojowej i przy zwiększonej ilości epoksydu (**Schemat 27**).



**7:** R=H, R<sup>1</sup>=CH<sub>3</sub>

**8:** R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= CH<sub>3</sub>

**9:** R=H, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

**10:** R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>

**11:** R=H, R<sup>1</sup>=Ph

**12:** R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>=Ph

**13:** R=H, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>Br

**14:** R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>Br

**15:** R=H, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>O-*i*-Pr\*

**16:** R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>O-*i*-Pr\*

**17:** R=H, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>Cl \*\*

**18:** R= CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup>= CH<sub>2</sub>Cl \*\*

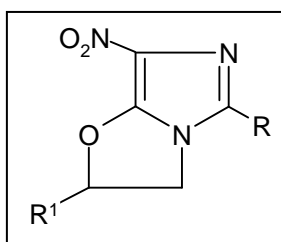
\* - produkty otrzymane bez udziału dodatkowego rozpuszczalnika

\*\* - związki opisane wcześniej, w pracy [24]

**Schemat 27.** Synteza oksazolowych, bicyklicznych pochodnych wywodzących się z 4,5-dinitroimidazoli.

W **Tabeli 2** zestawiono parametry fizykochemiczne otrzymanych związków **7-18**:

**Tabela 2.** Parametry fizykochemiczne nitroimidazodihydrooksazoli **7-18**



Nr produktu	R	R <sup>1</sup>	t.t. [°C]	R <sub>f</sub> *
<b>7</b>	-H	-CH <sub>3</sub>	141-143	0,66
<b>8</b>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	130-131	0,68
<b>9</b>	-H	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	162-163	0,74
<b>10</b>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	91-92	0,77
<b>11</b>	-H	-Ph	137-139	0,48
<b>12</b>	-CH <sub>3</sub>	-Ph	138-140	0,68
<b>13</b>	-H	-CH <sub>2</sub> Br	155-157	0,43
<b>14</b>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> Br	162-165	0,60
<b>15</b>	-H	-CH <sub>2</sub> O- <i>i</i> -Pr	118-119	0,66
<b>16</b>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> O- <i>i</i> -Pr	72-74	0,71
<b>17</b>	-H	-CH <sub>2</sub> Cl	147-149	0,42
<b>18</b>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>2</sub> Cl	152-154	0,57

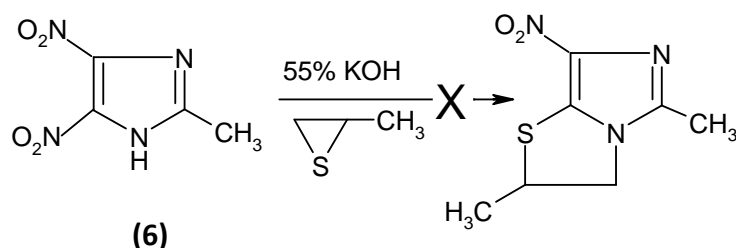
\* faza ruchoma: chlorek metylenu : metanol (9:1), faza stacjonarna: SiO<sub>2</sub>

Struktury powyższych produktów potwierdzone zostały na podstawie analizy widm spektrometrii mas oraz protonowego i węglowego rezonansu magnetycznego.

W widmach MS otrzymanych związków (**7-16**) piki molekularne charakteryzowały się wysoką intensywnością. Ich wartości były zgodne z wyliczonymi masami cząsteczkowymi dla otrzymanych substancji. W widmach  $^1\text{H}$  NMR sygnały pochodzące od protonów związanych ze wspólnymi dla produktów **7-16** elementami strukturalnymi, charakteryzowały się zbliżonymi wartościami przesunięć chemicznych  $\delta$ . Protony grupy metylowej z pozycji C-2 pierścienia imidazolowego widoczne były w postaci singletu, przy około 2,0 ppm. Dla związków (**7-10**) i (**13-16**) w zakresie 4,3 – 4,6 ppm obserwowano dublet dubletów pochodzący od protonu z ugrupowania N-CH<sub>2</sub> pierścienia oksazolowego. Drugi atom wodoru widoczny był także w postaci dubletu dubletów w obszarze 3,9 – 4,2 ppm. Analizując widma  $^1\text{H}$  NMR wykonane dla związków posiadających w strukturze grupę fenylową (**11, 12**), zauważono, że sygnały związane z analogicznymi protonami grupy N-CH<sub>2</sub> są przesunięte w kierunku wyższych wartości  $\delta$  i wynoszą odpowiednio: 5,89 – 5,94 ppm oraz 5,73 – 5,79 ppm. Piki pochodzące od atomu wodoru związanego z atomem węgla C-2 w układzie nitroimidazodihydrooksazolu, zostały wyodrębnione w postaci multipletów, pojawiających się w obszarze 5,6 – 6,0 ppm. W widmach związków (**11, 12**) ponownie zaobserwowano przesunięcie analogicznych sygnałów. Tym razem pojawiły się one przy wyższym natężeniu pola magnetycznego. Piki te umiejscowione były w zakresie 5,2 – 5,3 ppm. Singlet widoczny przy 7,45 ppm, dla którego krzywa integracji odpowiadała jednemu protonowi, ujawniający się w widmach związków (**7, 9, 11, 13, 15**), czyli pochodnych 2H dinitroimidazolu, odpowiadał atomowi wodoru związanemu z atomem C-2 pierścienia imidazolowego. Pozostałe sygnały przypisane zostały protonom łańcucha bocznego pierścienia oksazolowego.

### 7.3. Próby otrzymania związków typu nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrotiazolu

W dalszych badaniach podjęto próby zsyntezowania pochodnych nitroimidazolu z dobudowanym 5-członowym pierścieniem tiazolowym. W tym celu zastosowano metodę znaną z piśmiennictwa [101]. W pracy tej opisano reakcję zachodzącą pomiędzy pochodną indolu – izatyną i  $\alpha$ -chlorometylotiiranem w wodnym roztworze KOH. W rezultacie otrzymywano produkt N-alkilowania izatyny. Podobne warunki zastosowano w próbie otrzymania nitroimidazodihydrotiazolu. Do 55% wodnego roztworu KOH dodano 2-metylo-4,5-dinitroimidazol (**6**), a następnie wkroplono metyloitiiran w ilości stanowiącej niewielki nadmiar w stosunku do substratu (**6**) (**Schemat 28**). Otrzymaną mieszaninę pozostawiono na 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie przeprowadzono analizę chromatograficzną roztworu. Stwierdzono obecność wyłącznie nieprzereagowanego substratu. Celem zainicjowania i przyspieszenia przebiegu reakcji, substraty ogrzewano. Nawet po 36 godzinach utrzymywania mieszaniny reakcyjnej w temperaturze wrzenia, nie stwierdzono powstawania nowych produktów. Także próba mikrofalowego zainicjowania powyższej reakcji nie przyniosła oczekiwanych efektów. Nieprzereagowany substrat wyizolowano z niemal ilościową wydajnością a jego tożsamość dodatkowo potwierdzono na podstawie pomiaru temperatury topnienia.



**Schemat 28.** Próba syntezy nitroimidazodihydrotiazolu

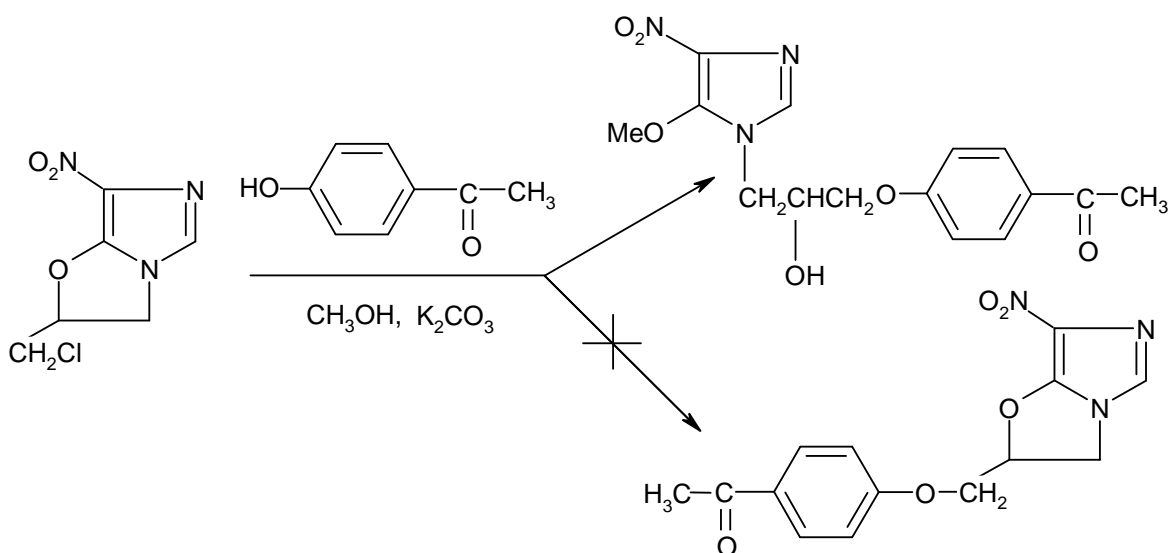
## 7.4. Reakcje substytucji nukleofilowej atomu chloru w 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolach

### 7.4.1. Reakcje z fenolami

W toku dalszych badań podjęto próby reakcji substytucji atomu chloru w otrzymanych 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu (**17**) oraz 2-chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu (**18**) związkami o charakterze fenoli. Reakcja *O*-alkilowania fenoli, która *de facto* tutaj miała miejsce, znana jest także jako synteza eterów Williamsona. Może ona być prowadzona według kilku znanych schematów postępowania. Do najpopularniejszych zaliczyć należy katalizę przeniesienia międzyfazowego [102], klasyczne ogrzewanie substratów [103] oraz wspomaganie techniką mikrofalową [104]. W piśmiennictwie przedstawiono także przykłady otrzymywania 3-aryloksy-1,2-epoksypropanu. Reakcja polegała na jednoetapowym *O*-alkilowaniu związku o charakterze fenolu przy pomocy epichlorohydryny, w obecności zasady [105,106]. Łatwość, z jaką zachodziły powyższe, opisywane przez różnych autorów reakcje, zachęciła do podjęcia prób przeprowadzenia substytucji atomu chloru w nitroimidazodihydrooksazolach (**17** i **18**) fenolami o różnych podstawnikach.

Jako pierwszy, do reakcji z 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolem (**17**) wykorzystano *p*-hydroksyacetofenon. Syntezę prowadzono w obecności węgla potasu, w proporcji 1:2:2. Jako rozpuszczalnik użyto 10 ml metanolu. Otrzymaną mieszaninę utrzymywano w temperaturze wrzenia. Podczas ogrzewania obserwowano zmianę zabarwienia roztworu na brunatne. Przebieg reakcji monitorowano przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej. Po godzinie, na chromatogramie zauważono plamę produktu, któremu towarzyszyła niewielka ilość substratu. Dalsze, kilkugodzinne ogrzewanie nie spowodowało znaczącego przesunięcia równowagi reakcji w kierunku powstawania produktu. Ogrzewanie przerwano i do mieszaniny reakcyjnej wkroplono ok. 40 ml schłodzonej wody. Po około 15 minutach zaczął wydzielać się beżowy osad, który odsączono i wysuszono. Po krystalizacji z wody uzyskano produkt w postaci bezbarwnych, cienkich igieł.

Analiza spektralna otrzymanego związku potwierdziła zajście reakcji substytucji nukleofilowej atomu chloru grupą fenoksylową. Jednocześnie zaobserwowano otwarcie pierścienia dihydrooksazolowego oraz podstawienie nukleofilowe pozycji 5 pierścienia imidazolu grupą metoksyową pochodzącą od cząsteczki alkoholu użytego jako rozpuszczalnik (**Schemat 29**).



**Schemat 29.** Reakcja nitroimidazodihydrooksazolu z *p*-hydroksyacetofenonem

W widmie <sup>1</sup>H NMR otrzymanego produktu obecne były trzy sygnały związane z protonami pierścieni aromatycznych. Dwa multiplety występujące przy 7,94 i 7,07 ppm, odpowiadały czterem aromatycznym atomom wodoru związanym z fragmentem acetofenonowym. Atom wodoru w pozycji C-2 pierścienia imidazolowego dawał sygnał w postaci singletu przy 7,59 ppm. Proton grupy hydroksylowej występował jako dublet przy 5,71 ppm. Natomiast szeroki multiplet obserwowany w zakresie 3,9 – 4,2 ppm, o intensywności pięciu atomów wodoru, został przypisany ugrupowaniu CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>. Dodatkowy singlet usytuowany przy 4,09 ppm odpowiadał trzem protonom. Został on zinterpretowany jako sygnał pochodzący od grupy metoksyowej związanej z atomem węgla C-5 pierścienia imidazolu, potwierdzając tym samym czynny udział rozpuszczalnika w tworzeniu produktu. W analizowanym widmie obserwowano ponadto sygnał przy 2,53

ppm w postaci singletu. Przypisano go trzem atomom wodoru z grupy acetylowej układu acetofenonowego. Na podstawie widma  $^{13}\text{C}$  NMR stwierdzono w otrzymanym związku obecność grupy karbonylowej, przypisując jej pik przy 196,1 ppm. Ponadto w widmie tym występowało siedem sygnałów odpowiadających dziewięciu atomom węgla dwóch pierścieni aromatycznych. Dwa sygnały charakteryzowały się dwukrotnie większą intensywnością od pozostałych, co wskazywało na obecność dwóch par równocennych atomów. W pobliżu 70 ppm umiejscowiony był sygnał pochodzący od atomu węgla związanego z grupą hydroksylową. Pozostałe dwa atomy węgla łańcucha alkilowego występowały w okolicy 68 ppm. Grupie metoksyłowej związanej z atomem węgla C-5 imidazolu przypisano pik przy 46,77 ppm, natomiast grupa  $-\text{CH}_3$  stanowiąca fragment ugrupowania acetylowego dawała sygnał przy 26,48 ppm. Dodatkowym potwierdzeniem przyjętej struktury była obecność jonu molekularnego przy  $m/z$  335 w widmie MS. Nie stwierdzono ponadto charakterystycznego układu pików izotopowych wskazującego na obecność atomu chloru. Wśród jonów potomnych sygnał przy  $m/z$  292 odpowiadał masie cząsteczki po oddzieleniu jonu acetyliowego, natomiast pik przy  $m/z$  216 powstał w wyniku dalszej fragmentacji obejmującej całą resztę acetofenonową.

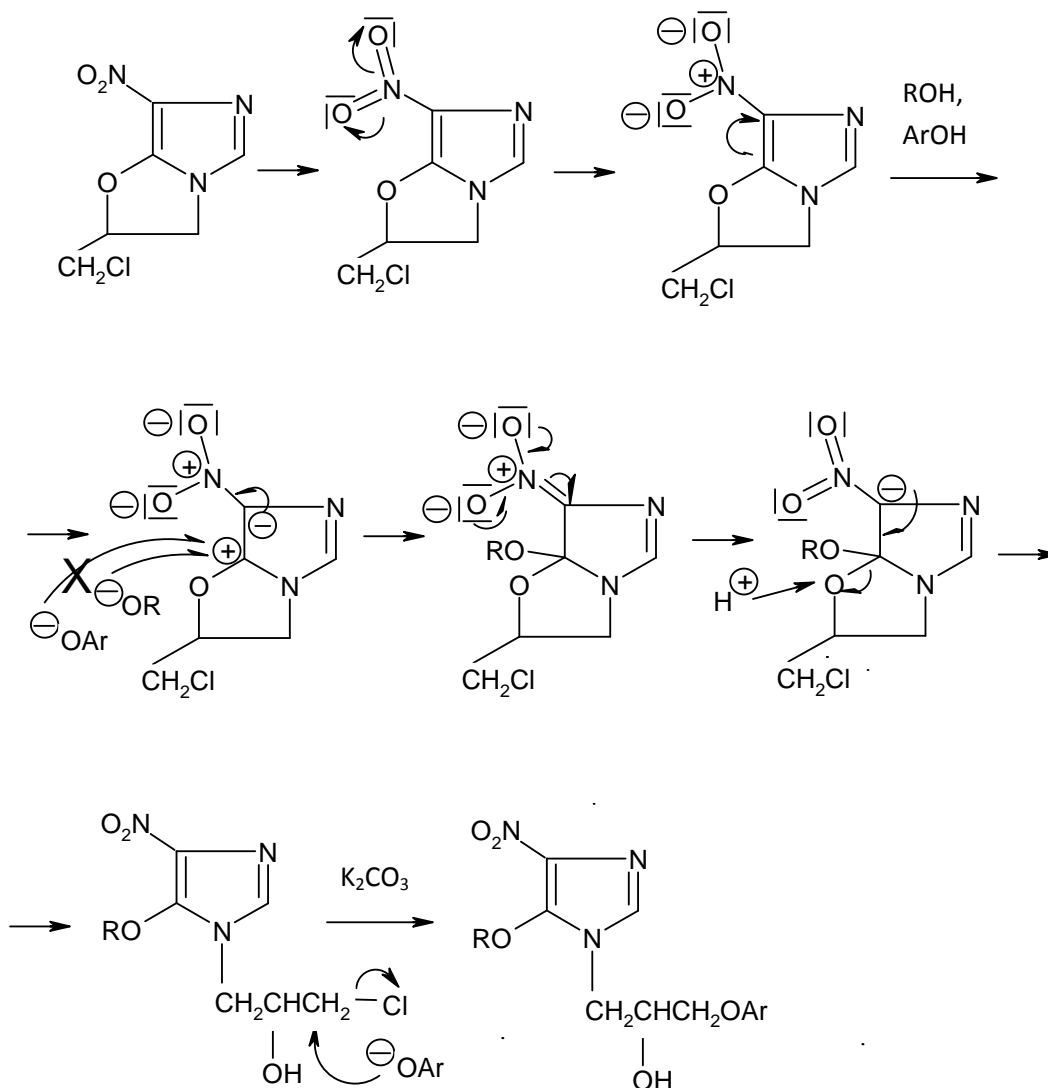
W kolejnych badaniach sprawdzono wpływ rodzaju rozpuszczalnika na budowę tworzących się produktów. Zaobserwowano, że zastosowanie innego alkoholu (etanolu, *n*-propanolu oraz izopropanolu) prowadzi do otrzymania odpowiednich 5-etoksy- i 5-propoksy- pochodnych. Natomiast użycie jako medium reakcyjnego rozpuszczalnika aprotowego, takiego jak aceton lub THF, było przyczyną braku reakcji, pomimo obecności czynnika zasadowego. Ponadto nie zauważono wpływu temperatury na rodzaj tworzącego się produktu. Związki otrzymane w wyniku syntez prowadzonych w temperaturze pokojowej były tożsame z ich odpowiednikami powstałymi w wyniku ogrzewania mieszaniny reakcyjnej. Zaobserwowano jedynie wydłużenie czasu reakcji. W temperaturze pokojowej wyizolowanie związków końcowych z podobną wydajnością było możliwe dopiero po około siedmiu dniach. Próby reakcji przeprowadzone z pochodną nitroimidazodihydroksazolu wywodzącą się z 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu dostarczyły informacji na temat wpływu grupy metylowej w pozycji C-2

imidazolu na przebieg tej syntezy. Zauważono, że pochodne 2-metylowe tworzyły się ze znacznie mniejszą wydajnością. Niekiedy trudności sprawiało wyizolowanie produktów, gdyż okazywało się, że cechują się one znaczną higroskopijnością.

Powyższe wyniki stały się podstawą do przeprowadzenia dalszych badań. Tym razem czynnikiem zmiennym stały się różnego rodzaju związki o charakterze fenoli. W tym celu wykorzystano fenole znane ze swej aktywności dezynfekcyjnej i przeciwbakteryjnej (np. Triclosan, krezole, nipaginy) oraz wykorzystywane jako leki przeciwzapalne (np. p-acetaminofen, salicylany). Połączenia nitroimidazol - fenol mają duże szanse okazać się skutecznymi lekami przejawiającymi addytywną aktywność obydwu tworzących je składników. W nowo otrzymanych związkach elementem różnicującym były grupy funkcyjne związane z pierścieniem fenylowym oraz ich położenie względem atomu tlenu grupy fenolowej. W każdym z przypadków podstawienie atomu chloru zachodziło w środowisku zasadowym, w roztworze alkoholowym. Takie warunki reakcji powodowały otwarcie pierścienia dihydrooksazolowego oraz podstawienie nukleofilowe pozycji C-5 pierścienia imidazolu grupą alkoksyłową pochodzącą od cząsteczki alkoholu użytego jako rozpuszczalnik.

Reakcja powyższa prawdopodobnie zachodzi w kilku etapach. Grupa nitrowa w bicyklicznym układzie nitroimidazodihydrooksazolu wyciągając elektrony z pierścienia, powoduje ich niedobór na atomie węgla C-5 imidazolu. Efekt ten jest dodatkowo potęgowany przez obecność w jego bezpośrednim sąsiedztwie atomu tlenu układu dihydrooksazolowego. Stąd, atom węgla C-5 staje się szczególnie podatny na atak nukleofilowy. W środowisku reakcji znajdują się dwa związki o właściwościach nukleofilowych – alkohol ( $pK_a \approx 16$ ) oraz fenol ( $pK_a \approx 10$ ). W tym przypadku alkohol jest silniejszym nukleofilem, stąd cząsteczka ROH atakuje atom węgla C-5 pierścienia imidazolowego. Szybko następuje rozerwanie wiązania C-O w pierścieniu oksazolowym i w konsekwencji traci on charakter cykliczny. Ładunek ujemny zostaje przemieszczony na atom tlenu w łańcuchu bocznym. W ostatnim etapie następuje substytucja nukleofilowa atomu chloru grupą fenoksyłową. Etap ten jest katalizowany obecnością węglanu potasu (**Schemat 30**).

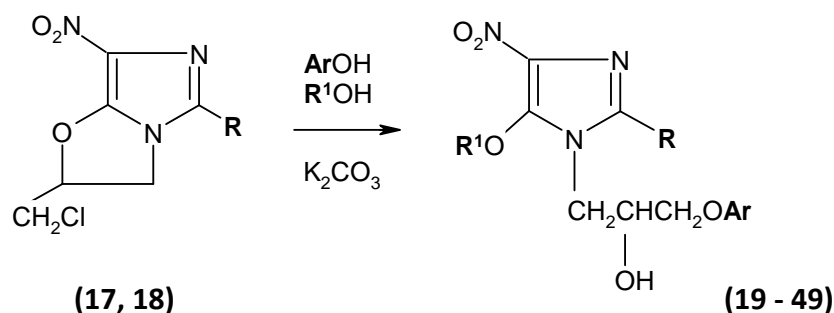




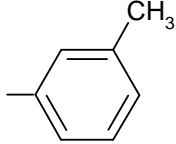
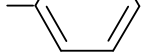
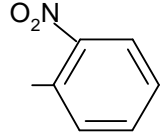
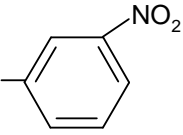
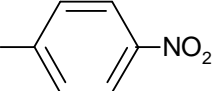
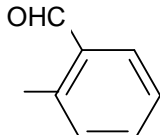
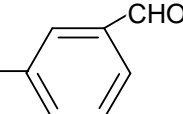
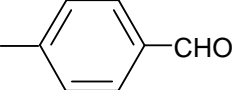
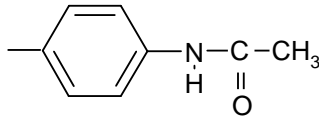
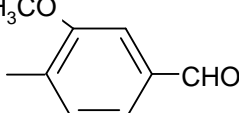
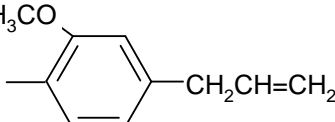
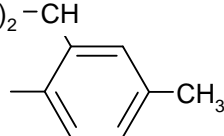
**Schemat 30.** Proponowany mechanizm reakcji nitroimidazodihydrooksazolu z fenolami w środowisku zasadowym

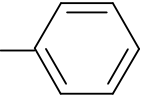
W rezultacie powyższych reakcji otrzymano 49 związków, które potencjalnie wykazywać mogą interesującą aktywność farmakologiczną. W **Tabeli 3** zestawiono parametry fizykochemiczne zsyntezowanych substancji.

**Tabela 3.** Parametry fizykochemiczne otrzymanych produktów (19 – 49)



Nr produktu	R	Ar	R <sup>1</sup>	t.t. [°C]	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>	Wyd. po kryst. [%]
19	-H		CH <sub>3</sub>	157-158	0,74	18
20	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	145-146	0,76	66
21	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	109-110	0,82	44
22	-H		<i>izo</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	124-125	0,66	14
23	-CH <sub>3</sub>		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	128-130	0,70	40
24	-H		CH <sub>3</sub>	116-117	0,68	42
25	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	146-148	0,57	60
26	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	120-121	0,69	42
27	-H		<i>izo</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	116-117	0,77	14
28	-CH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub>	158-160	0,69	12
29	-CH <sub>3</sub>		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	74-75	0,69	18
30	-CH <sub>3</sub>		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	125-126	0,67	35
31	-CH <sub>3</sub>		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	72-74	0,83	57
32	-CH <sub>3</sub>		CH <sub>3</sub>	138-140	0,84	39
33	-H		CH <sub>3</sub>	82-83	0,71	27
34	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	133-134	0,78	36

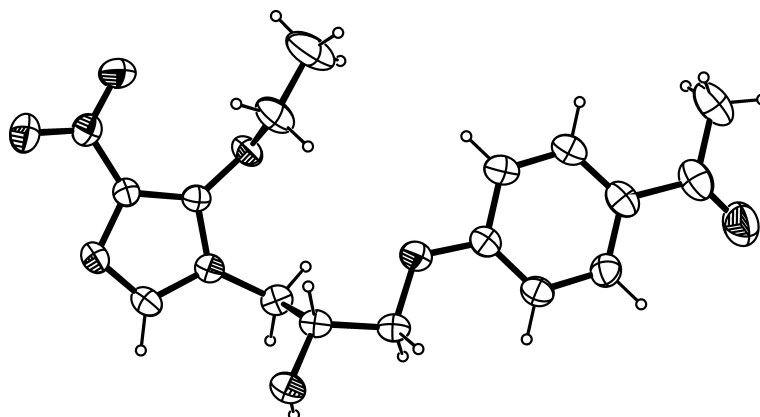
<b>35</b>	-H		CH <sub>3</sub>	88-89	0,69	27
<b>36</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	58-60	0,74	64
<b>37</b>	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	107-109	0,76	45
<b>38</b>	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	104-106	0,88	64
<b>39</b>	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	140-141	0,69	53
<b>40</b>	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	97-98	0,64	35
<b>41</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	110-112	0,61	35
<b>42</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	126-128	0,58	17
<b>43</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	153-155	0,48	40
<b>44</b>	-H		<i>n</i> -C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	163-164	0,48	43
<b>45</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	113-115	0,70	35
<b>46</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	82-83	0,68	38
<b>47</b>	-CH <sub>3</sub>		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	85-86	0,66	35
<b>48</b>	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	48-50	0,80	65

49	-H		C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	91-92	0,63	64
----	----	---	-------------------------------	-------	------	----

\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (9:1)

Wszystkie otrzymane produkty poddano analizie spektralnej <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR oraz MS. W widmach <sup>1</sup>H NMR pochodnych 2H nitroimidazolu obecny był singlet występujący przy około 7,6 ppm, który przypisano atomowi wodoru związanemu z atomem węgla C-2 pierścienia imidazolowego. W zakresie od 7,0 do 8,0 ppm znajdowały się również piki w postaci multipletów odpowiadające protonom pierścieni aromatycznych. Dublet przy około 5,7 ppm przypisano atomowi wodoru grupy hydroksylowej w łańcuchu bocznym, natomiast nieregularny multiplet występujący w przedziale 3,9 – 4,2 ppm, wskazujący na obecność pięciu protonów, odpowiadał ugrupowaniu alkilowemu CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>. Piki pojawiające się w szerokim zakresie od 1,0 do 4,1 ppm zinterpretowano jako pochodzące od ugrupowania alkoksylowego występującego przy atomie węgla C-5 pierścienia nitroimidazolu. W przypadku pochodnych wywodzących się z 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu obserwowano wyraźny singlet przy około 2,5 ppm pochodzący od grupy metylowej. Pozostałe sygnały występujące w widmach <sup>1</sup>H NMR związków **19** – **49** charakterystyczne były dla podstawników występujących w pierścieniu benzenowym pochodzącym od użytego do reakcji związku fenolowego. Także w widmie węglowym <sup>13</sup>C NMR obecnych było szereg sygnałów, charakterystycznych dla całej grupy związków. W obszarze od 114 do 160 ppm znajdowały się piki odpowiadające atomom węgla pierścieni aromatycznych. W pobliżu 70 ppm położony był sygnał pochodzący od atomu węgla związanego z grupą hydroksylową. Pozostałe dwa atomy węgla łańcucha alkilowego występowały w okolicy 68 ppm. Grupy alkoksylowe związane z atomem węgla C-5 imidazolu uwidocznione były w postaci pików w przedziale 10 - 46 ppm a ich dokładne położenie zależało od rodzaju tej grupy. Pozostałe sygnały pochodziły od ewentualnych podstawników zawierających atom węgla, obecnych w pierścieniu fenylowym. Dodatkowo, wykonane w Katedrze i Zakładzie Chemii Organicznej, badanie krystalograficzne dla przykładowo wybranego związku

**20**, ostatecznie potwierdziło strukturę otrzymanych produktów (**Rysunek 16**).



**Rysunek 16.** Struktura 3-(*p*-acetylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-olu (**20**)

Obserwacje będące efektem przeprowadzonych eksperymentów świadczą o tym, że tylko wspólne działanie fenolu, alkoholu i czynnika zasadowego na nitroimidazodihydrooksazol mogą spowodować otrzymanie tego typu produktów. Powyższe związki złożone z elementów, z których każdy przejawia aktywność biologiczną, mogą być substancjami o ciekawych właściwościach farmakologicznych.

#### **7.4.2. Reakcje z tiofenolami i drugorzędowymi aminami cyklicznymi**

Kontynuując badania nad reaktywnością nitroimidazodihydrooksazoli, postanowiono przeprowadzić próbę reakcji podstawienia atomu chloru za pomocą tiofenoli oraz II-rzędowych amin cyklicznych. Na podstawie rezultatów uzyskanych w reakcjach z fenolami, przypuszczać należało, że substytucja nukleofilowa atomu chloru związkami o charakterze amin i tiofenoli przebiegać będzie podobnie. W piśmiennictwie chemicznym znaleziono szereg przykładów tego typu reakcji, podstawienia atomu chlorowca. Bhaumik i Akamanchi [107] opisali reakcję zachodzącą pomiędzy 2-chlorometylo-6-nitroimidazo[2,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolem i *p*-metylotiofenolem. Synteza prowadzona była w bezwodnym DMF i w obecności zasady. Po 10 minutach mieszania w temperaturze pokojowej uzyskiwano

tylko produkt podstawienia atomu chloru. Nie obserwowano natomiast rozerwania wiązania C-O; cykliczny układ oksazolu pozostawał nienaruszony (**Schemat 31**).

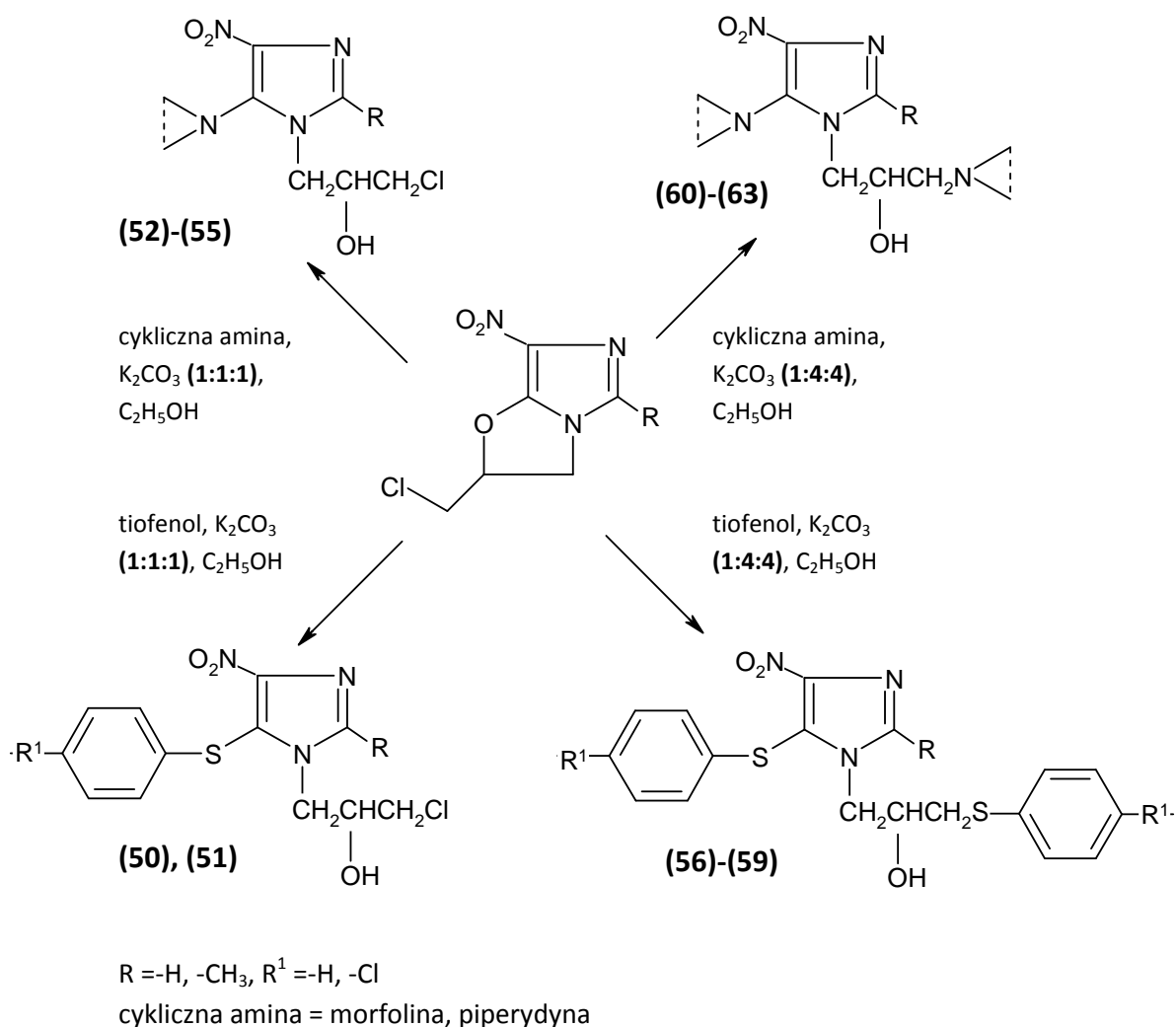


**Schemat 31.** Podstawienie atomu chloru w 2-chlorometylo-6-nitroimidazo[2,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolu tiofenolem [107]

W prowadzonych badaniach własnych, do analogicznej reakcji zastosowano, izomeryczny z wyżej opisanym, 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazol (**17**) oraz tiofenol lub *p*-chlorotiofenol względnie II-rzędowe aminy cykliczne: morfolinę i piperydynę. Jako pierwszego użyto tiofenolu. Początkowo reakcję prowadzono zgodnie z procedurą według piśmiennictwa [107], stosując substraty w stosunku molowym 1:1:1. Związek (**17**) rozpuszczono w odpowiedniej ilości DMF. Do otrzymanego roztworu dodano węglanu potasu oraz tiofenol. Mieszaninę pozostawiono w temperaturze pokojowej na 10 minut. Kontrola przebiegu reakcji metodą TLC wykazała obecność nowo powstałych produktów w analizowanym roztworze. Po dodaniu wody, w mieszaninie reakcyjnej pojawiła się niekryształująca zawiesina. Niezbędna stała się jej ekstrakcja za pomocą chlorku metylenu. Pozostałość po osuszeniu i zagęszczeniu wyciągu organicznego naniesiono na kolumnę żelu krzemionkowego, którą rozwijano mieszaniną chlorku metylenu i metanolu o stopniowo wzrastającym gradiencie polarności od 100:1 do 100:9. W rezultacie wyizolowano dwa produkty, odpowiednio z wydajnościami 25 i 18%, dla których wyznaczone metodą MS wartości *m/z* wynosiły 313,1 oraz 387,4. Aby zwiększyć wydajność oraz aby ukierunkować reakcję w stronę jednego z produktów, przeprowadzono próbę analogicznej syntezy z wykorzystaniem etanolu jako rozpuszczalnika. Po 30 minutach mieszania w temperaturze pokojowej, chromatogram TLC wykazał obecność dwóch produktów, przy czym jeden z

nich występował w widocznej przewodzie. Po dodaniu wody z mieszaniny reakcyjnej zaczął wytrącać się żółty osad. Odsączono go i przekryształowano z 25% etanolu. W efekcie uzyskano jednorodny produkt z 57% wydajnością.

Analiza spektralna dowiodła, że głównym produktem reakcji zachodzącej w etanolu jest 3-chloro-1-(5-nitroimidazol-4-ilo)propan-2-ol (**50**) (**Schemat 32**).



**Schemat 32.** Reakcja substytucji nukleofilowej zachodząca pomiędzy nitroimidazodihydrooksazolami i tiofenolami oraz aminami cyklicznymi

W cząsteczce nitroimidazodihydrooksazolu nastąpiło, podobnie jak w przypadku reakcji z fenolami, rozerwanie wiązania C-O. Pozycja C-5 pierścienia nitroimidazolu uległa podstawieniu resztą tiofenolową. Tiofenole są jednymi z najsilniejszych znanych czynników nukleofilowych, stąd w

pozycji C-5 nastąpiło podstawienie resztą tiofenolową, a nie, jak w przypadku reakcji z fenolami, grupą alkoksylową. Natomiast reakcja substytucji nukleofilowej atomu chloru nie miała w tym przypadku miejsca. Analogiczne wyniki otrzymano stosując proporcje substratów 1:2:2.

W widmie MS, pik jonu molekularnego  $m/z = 313,1$  odpowiadał wyliczonej masie cząsteczkowej dla 5-tiofenoksy- pochodnej. Zaobserwowano ponadto układ pików izotopowych charakterystyczny dla jednego atomu chloru, co świadczyło o obecności tego pierwiastka w badanym związku. W protonowym widmie  $^1\text{H}$  NMR stwierdzono obecność singletu przy 8,13 ppm, który przypisano protonowi z pozycji C-2 pierścienia imidazolu. Natomiast multiplet, który pojawił się w przedziale 7,2 – 7,4 ppm, wskazywał na obecność pięciu atomów wodoru w aromatycznym pierścieniu tiofenolu. Przy 5,78 ppm obserwowano dublet odpowiadający protonowi grupy hydroksylowej. Dwa multiplety z zakresów: 4,1 – 4,2 i 3,8 – 3,9 ppm o intensywności 1H każdy, związane były z występowaniem ugrupowania N-CH<sub>2</sub>. Kolejny multiplet przy 3,6 – 3,7 ppm o intensywności 2H, świadczył o obecności protonów z grupy CH<sub>2</sub>Cl. W widmie węglowym  $^{13}\text{C}$  NMR występowały trzy sygnały przy 148,6, 139,5 i 129,6 ppm, które zinterpretowano jako pochodzące od atomów węgla pierścienia imidazolu, odpowiednio: C-4, C-2 i C-5. Sygnały atomów węgla reszty tiofenolowej obserwowano przy 133,4, 127,6, 127,2 oraz 121,9 ppm, natomiast piki przy 68,8, 49,2 i 46,7 ppm przypisano atomom węgla łańcucha alifatycznego, odpowiednio: CH-OH, N-CH<sub>2</sub> i CH<sub>2</sub>Cl.

W wyniku reakcji, w której stosunek substratów wynosił 1:1:1, nie nastąpiło podstawienie atomu chloru. Dopiero czterokrotne zwiększenie udziału tiofenolu i węglanu potasu w mieszaninie reakcyjnej umożliwiło powstanie produktu dipodstawionego z 82% wydajnością. Substytucji nukleofilowej resztą tiofenolu uległa w tych warunkach zarówno pozycja C-5 pierścienia imidazolu jak również atom chloru w łańcuchu propylowym.

W widmie MS tego związku, wartość  $m/z$  dla jonu molekularnego, wynosząca 387, potwierdziła tożsamość otrzymanego produktu. Stwierdzono także brak sygnałów w układzie wskazującym na obecność atomu chloru. Analizując widmo  $^1\text{H}$  NMR, stwierdzono występowanie singletu przy 8,10 ppm, odpowiadającego atomowi wodoru w pozycji C-2 pierścienia imidazolu.



W zakresie 7,1 – 7,5 ppm obecny był multiplet, dla którego krzywa integracji wskazywała, że odpowiada on dziesięciu protonom. Sygnały te związane były z atomami wodoru dwóch pierścieni tiofenolowych. Przy 5,69 ppm obserwowano dublet przypisany grupie hydroksylowej. Obszar 4,3 – 4,4 ppm zajmował multiplet pochodzący od protonu związanego z atomem węgla C-2 łańcucha alkilowego. Dwa multiplety z zakresu: 4,0 – 4,1 ppm oraz 3,8 – 3,9 ppm o intensywności 1H każdy, odpowiadały dwóm atomom wodoru z ugrupowania N-CH<sub>2</sub>. W widmie protonowym nie znaleziono multipletu przy około 3,6 – 3,7 ppm, który świadczyłby o obecności grupy chlorometylenowej - CH<sub>2</sub>Cl. Zauważono natomiast sygnał w zakresie 3,0 – 3,2 ppm, odpowiadający dwóm protonom grupy tiometylenowej -CH<sub>2</sub>-S. W widmie <sup>13</sup>C NMR stwierdzono obecność szeregu pików o wartościach przesunięć chemicznych charakterystycznych dla atomów węgla pierścieni aromatycznych. Sygnały te, związane z atomami węgla pierścienia imidazolu, usytuowane były przy około 148 ppm (C-4), 139 ppm (C-2) oraz 129 ppm (C-5). Piki pochodzące od atomów węgla dwóch pierścieni tiofenolu zaobserwowano przy 135,7 ppm, 133,2 ppm, 129,3 ppm, 128,9 ppm, 127,3 ppm, 126,9 ppm, 125,7 ppm oraz 121,4 ppm. Atomy węgla alifatycznego łańcucha propylowego dawały sygnały przy 68,1 ppm (CH-OH), 50,7 ppm (N-CH<sub>2</sub>) oraz 48,6 ppm (CH<sub>2</sub>-S).

Kontynuując badania, założono przebieg kolejnych reakcji substytucji podobny do tego, jaki miał miejsce w przypadku użycia tiofenolu. W dalszych próbach reakcji wykorzystano *p*-chlorotiofenol oraz II-rzędowe aminy cykliczne – morfolinę i piperydynę. Sprawdzone także wpływ obecności grupy metylowej w pozycji C-2 imidazolu na przebieg reakcji. W większości przypadków, jej obecność powodowała zwiększenie wydajności uzyskiwanych produktów. Niepowodzeniem natomiast zakończyły się próby otrzymania 2-metylowych analogów związków: 3-chloro-1-(4-nitro-5-tiofenoksyimidazol-1-ilo)propan-2-olu a także 3-chloro-1-(4-nitro-5-(*p*-chlorotiofenoksy)imidazol-1-ilo)propan-2-olu. Rezultatem tych reakcji były trudne do rozdzielenia, wieloskładnikowe mieszaniny złożone z produktów o zbliżonych wartościach R<sub>f</sub>.

Analizując widma <sup>1</sup>H NMR związków typu 3-chloro-1-(4-nitro-5-aminoimidazol-1-ilo)propan-2-olu (**52**, **54**), odnotowano występowanie w

nich singletu przy około 7,7 ppm, który przypisano protonowi znajdującemu się przy atomie C-2 pierścienia imidazolowego. Natomiast w pochodnych metylowych (**53**, **55**) widoczny był sygnał o natężeniu 3H przy 2,3 ppm. W widmach wszystkich czterech produktów, przy około 5,7 ppm, usytuowany był dublet związany z grupą hydroksylową. W obszarze 3,9 - 4,1 ppm obserwowano multiplet pochodzący od protonów CH-OH oraz N-CH<sub>2</sub>, natomiast multiplet w zakresie 3,6 – 3,8 ppm odpowiadał protonom ugrupowania CH<sub>2</sub>-Cl. Pozostałe sygnały w postaci multipletów pojawiające się w obszarach 3,6 – 3,7 ppm i 2,9 – 3,2 ppm, a także 1,5 – 1,6 ppm, charakterystyczne były dla atomów wodoru odpowiednich II-rzędowych amin cyklicznych.

W widmach <sup>1</sup>H NMR pochodnych z dwoma nowo wprowadzonymi pierścieniami amin cyklicznych (**60**, **62**), proton związany z atomem C-2 imidazolu widoczny był w postaci singletu przy około 7,6 ppm. Dublet znajdujący się przy około 5,1 ppm odpowiadał protonowi grupy OH. W obszarze 4,0 – 4,1 ppm umiejscowiony był multiplet związany z obecnością atomu wodoru CH-OH. Multiplet widoczny w zakresie 3,5 – 4,0 ppm pochodził od pozostałych protonów łańcucha propylowego. Ponadto, w widmach związków **60** i **61** w obszarze tym występowały sygnały pochodzące od czterech atomów wodoru pierścienia morfoliny. Pozostałe sygnały odpowiadające kolejnym protonom morfoliny widoczne były w zakresach: 3,0 – 3,1 oraz 2,3 – 2,5 ppm. Natomiast multiplety związane z obecnością atomów wodoru piperidyny znajdowały się w obszarach: 2,9 – 3,3, 2,2 – 2,5 oraz 1,4 – 1,6 ppm. W widmach pochodnych metylowych (**61**, **63**) w miejsce sygnału protonu aromatycznego pojawiał się sygnał przy około 2,3 ppm pochodzący od protonów grupy CH<sub>3</sub>.

Wyniki wszystkich przeprowadzonych reakcji potwierdziły wstępne obserwacje. Zastosowanie równomolowych ilości nitroimidazodihydrooksazolu, tiofenolu lub aminy oraz węgla potasu, zmieszanych w etanolu, prowadziło do otwarcia pierścienia oksazolowego i utworzenia jednopodstawionej pochodnej, w której reszta wywodząca się z tiofenolu lub aminy cyklicznej związana była z węglem C-5 pierścienia imidazolu. Natomiast dopiero czterokrotny nadmiar molowy tiofenolu lub aminy oraz K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> w stosunku do ilości nitroimidazodihydrooksazolu powodował

powstawanie produktu, w którym dodatkowo znajdował się drugi pierścień tiofenolu lub cyklicznej aminy, wprowadzony do cząsteczki w wyniku reakcji substytucji nukleofilowej atomu chloru (**Schemat 32**).

W **Tabeli 4** zebrano warunki i produkty reakcji nitroimidazodihydrooksazoli (**17**) i (**18**) z tiofenolami oraz II-rzędowymi aminami cyklicznymi.

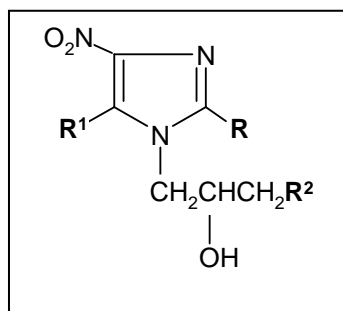
**Tabela 4.** Warunki reakcji i rodzaj produktów powstających w wyniku mono- i dipodstawienia tiofenolami i cyklicznymi aminami związków **17** i **18**

Substraty (proporcje)	Rozpuszczalnik	Produkt Nr	Wyd. [%]
(17): tiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	DMF	(50) +(56)*	25 + 18
(17): tiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	(50)	57
(18): tiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	mieszanina wieloskładnikowa	-
(17): tiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:2:2)	EtOH	(50)	59
(17): tiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(56)*	82
(18): tiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(57)*	81
(17): <i>p</i> -chlorotiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	(51)	70
(18): <i>p</i> -chlorotiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	mieszanina wieloskładnikowa	-
(17): <i>p</i> -chlorotiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(58)*	86
(18): <i>p</i> -chlorotiofenol: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(59)*	82
(17): morfolina: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	(52)	65
(18): morfolina: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	(53)	75
(17): morfolina: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(60)*	34
(18): morfolina: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(61)*	40
(17): piperodyna: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	(54)	65
(18): piperodyna: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:1:1)	EtOH	(55)	72
(17): piperodyna: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(62)*	40
(18): piperodyna: K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1:4:4)	EtOH	(63)*	61

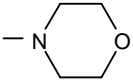
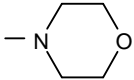
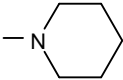
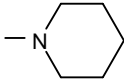
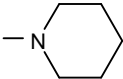
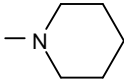
\*- produkty dipodstawienia

W **Tabeli 5** zebrano wartości parametrów fizykochemicznych otrzymanych produktów.

**Tabela 5.** Parametry fizykochemiczne związków **50-63**



Nr produktu	R	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	t.t. [°C]	R <sub>f</sub> *	wyd. po kryst. [%]
50	-H		-Cl	92-93	0,65	57
51	-H		-Cl	124-126	0,72	70
52	-H		-Cl	124-126	0,50	65
53	-CH <sub>3</sub>		-Cl	185-186	0,53	75
54	-H		-Cl	127-128	0,56	65
55	-CH <sub>3</sub>		-Cl	158-159	0,62	72
56	-H			59-61	0,83	82
57	-CH <sub>3</sub>			51-53	0,86	81
58	-H			65-67	0,64	86
59	-CH <sub>3</sub>			95-96	0,72	82
60	-H			110-112	0,34	34

61	-CH <sub>3</sub>			152-154	0,37	40
62	-H			58-60	0,48	40
63	-CH <sub>3</sub>			129-130	0,54	61

\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (9:1)

Na podstawie uzyskanych rezultatów stwierdzono, że w przypadku reakcji zachodzących pomiędzy nitroimidazodihydrooksazolami a tiofenolami lub II-rzędowymi aminami cyklicznymi można otrzymać dwa rodzaje produktów substytucji nukleofilowej – mono- i dipodstawione, zależnie od ilości użytego tiofenolu lub II-rzędowej aminy cyklicznej oraz węglanu potasu. Wydajność, z jaką powstaje produkt jest uwarunkowana ilością katalizatora zasadowego oraz rodzajem polarnego rozpuszczalnika stanowiącego medium reakcyjne. Najkorzystniejszy okazał się w tym celu etanol.

#### 7.4.3. Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli z aminami pierwszorzędowymi

We wcześniejszych badaniach stwierdzono, że podstawienie atomu chloru w grupie halogenometylenowej związków typu nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu zachodziło w środowisku zasadowym, korzystnie w roztworze alkoholowym. Takie warunki reakcji powodowały jednakże jednoczesne otwarcie pierścienia dihydrooksazolowego oraz podstawienie nukleofilowe w pozycji C-5 pierścienia imidazolu cząsteczką II-rzędowej aminy cyklicznej lub tiofenolu, a w przypadku reakcji z fenolami, cząsteczką alkoholu użytego jako medium reakcyjne. Oczekiwać można, że tego typu właściwość opisywanego układu bicyklicznego można również wykorzystać do utworzenia sześciocząłowego pierścienia tetrahydropirimidynowego, skondensowanego z układem nitroimidazolu.

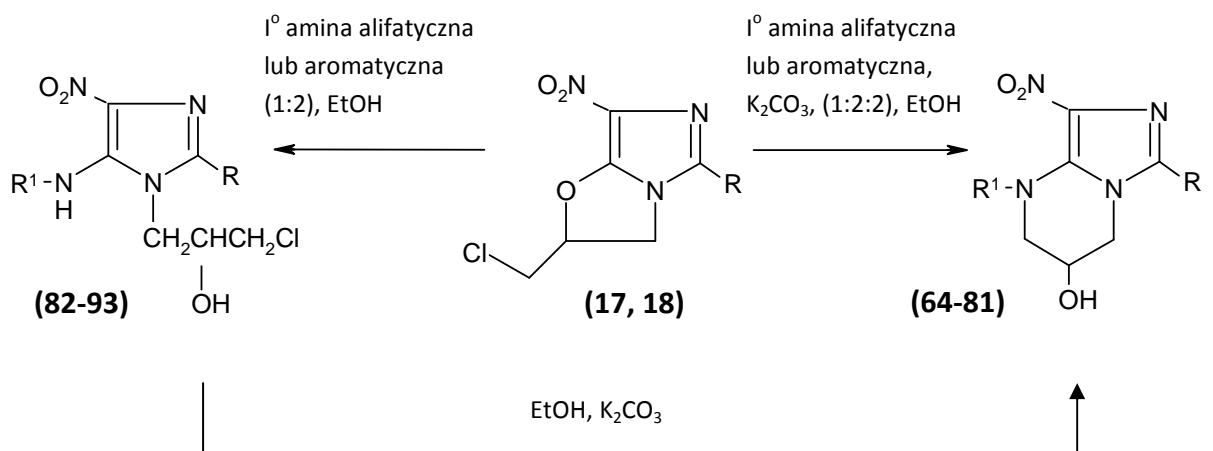
Założenie to zrealizowano poprzez poddanie nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu działaniu związków zawierających w swej strukturze I-rzędową grupę aminową. Powoduje to oczekiwane otwarcie pierścienia dihydrooksazolowego oraz podstawienie nukleofilowe pierścienia imidazolu

w pozycji C-5. Następnie, pod wpływem zasady, zachodzi wewnątrzcząsteczkowa substytucja nukleofilowa atomu chloru drugorzędową grupą aminową utworzoną przez podstawienie aminy pierwszorzędowej. Taki złożony mechanizm podstawienia powoduje powstanie nowego, uwodornionego pierścienia tetrahydropiryminy. Oczekiwano również, że zależnie od pH środowiska będzie można otrzymać dwa rodzaje produktów substytucji nukleofilowej – bicykliczny oraz monocykliczny. W tym przypadku natomiast nie tworzył się produkt dipodstawienia.

Reakcje powyższe prowadzono, rozpuszczając nitroimidazodihydroksazol (**17**) lub (**18**) w odpowiedniej, niezbędnej ilości etanolu i dodając do otrzymanego roztworu węglan potasu oraz I-rzędową aminę alifatyczną lub aromatyczną (*n*-butyloamina, *izo*-butyloamina, anilina, *p*-chloroanilina, *p*-bromoanilina, *p*-jodoanilina) w stosunku 1:2:2. Tak otrzymane mieszaniny reakcyjne ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 1 godzinę. Podczas ogrzewania obserwowano stopniową zmianę barwy z żółtej na ciemnobrunatną, co świadczyło o zachodzeniu reakcji. Po ostudzeniu, do powstałych roztworów dodawano powoli około 40 ml zimnej wody. Zwykle po około 15 minutach zaczynał wytrącać się bezpostaciowy beżowy osad. W przypadku syntez prowadzonych z użyciem 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydroksazolu (**17**) (czyli związku bez grupy metylowej w pozycji C-2 pierścienia imidazolowego), niejednokrotnie niezbędna była ekstrakcja produktu chlorkiem metylenu.

Podobnie jak w przypadku syntez prowadzonych z użyciem tiofenoli i II-rzędowych amin cyklicznych, w reakcjach z I-rzędowymi aminami alifatycznymi i aromatycznymi na kierunek zachodzenia reakcji wpływ miała obecność bądź nieobecność węglanu potasu. Brak czynnika zasadowego wywoływał powstawanie produktu, w którym pierścień imidazolu nie był skondensowany z drugim pierścieniem heterocyklicznym. Ponadto, nawet czterokrotne zwiększenie udziału I-rzędowej aminy w mieszaninie reakcyjnej, nie powodowało podstawienia atomu chloru przez drugą cząsteczkę aminy. Zauważono także, że ogrzewanie roztworu etanolowego produktu jednopierścieniowego w obecności  $K_2CO_3$ , powoduje zachodzenie

wewnątrzcząsteczkowej cyklizacji i przekształcanie w odpowiednie skondensowane związki dwupierścieniowe (**Schemat 33**).



R= -H: **82, 84, 86, 88, 90, 92**

R= -CH<sub>3</sub>: **83, 85, 87, 89, 91, 93**

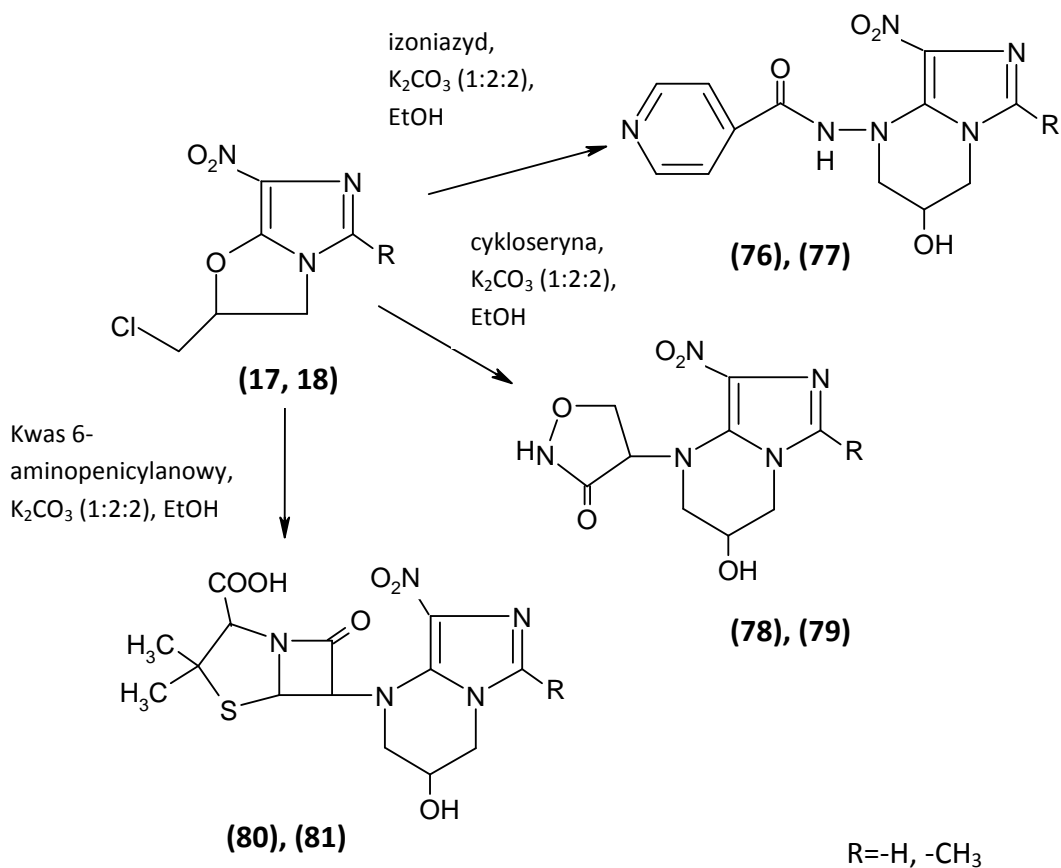
R= -H: **64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80**

R= -CH<sub>3</sub>: **65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81**

R<sup>1</sup>-reszta wywodząca się z I<sup>o</sup> aminy alifatycznej lub aromatycznej

### **Schemat 33.** Synteza dwupierścieniowych, skondensowanych nitroimidazotetrahydropirymidyn

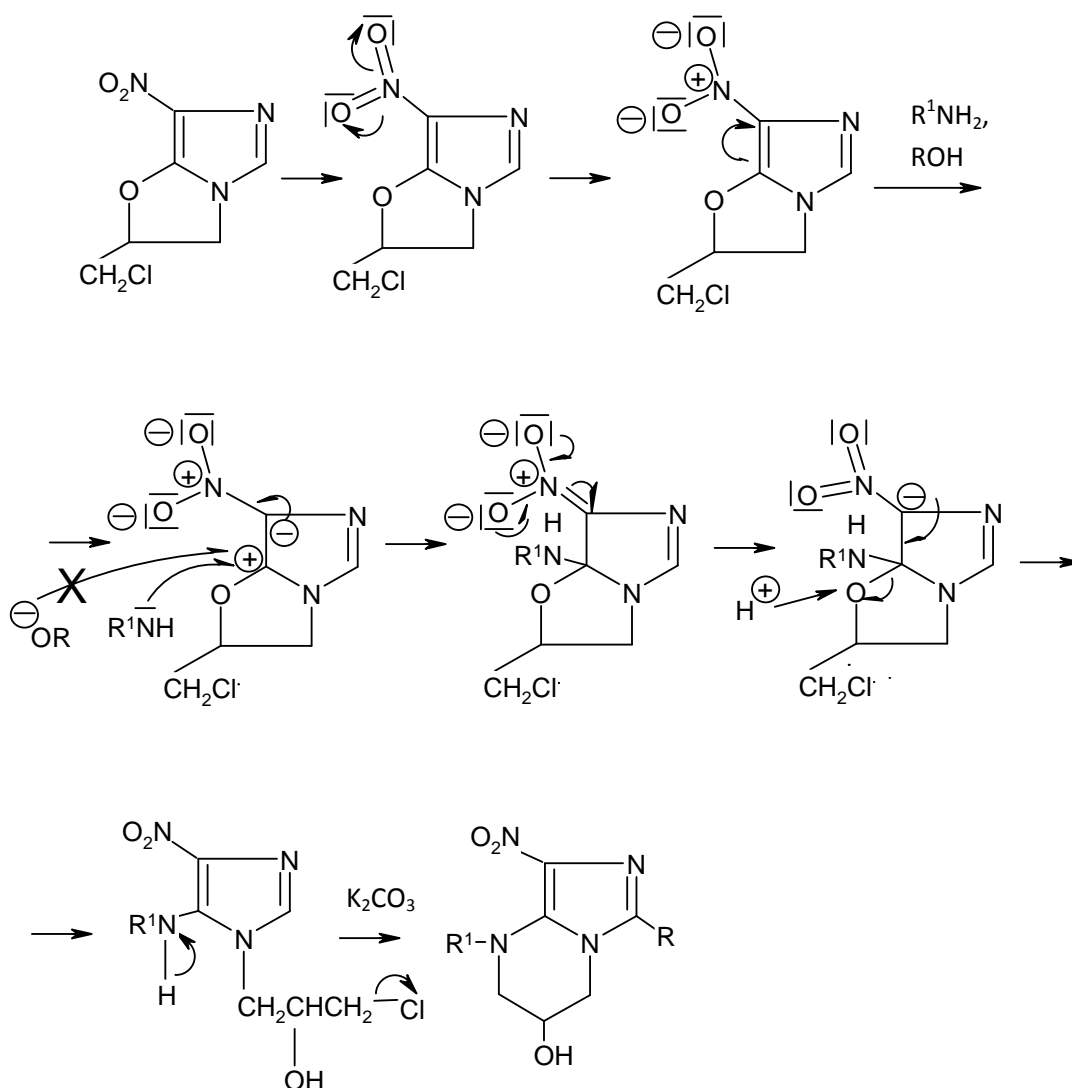
Reakcje analogiczne do powyższych przeprowadzono wykorzystując także związki będące znanymi substancjami przeciwbakteryjnymi (kwas 6-aminopenicylanowy) oraz tuberkulostatykami (izoniazyd, cykloseryna) i posiadającymi w swej strukturze ugrupowanie aminowe. Powstające w tych reakcjach produkty są nośnikami dwóch elementów farmakoforowych o różnicowanym działaniu na komórki *M. tuberculosis*, dzięki czemu mogą wykazywać cechy obu typów związków i działać w sposób niezależny na dwa rodzaje enzymów, zaburzając funkcjonowanie tej bakterii (**Schemat 34**).



**Schemat 34.** Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli z izoniazydem, cykloseryną i kwasem 6-aminopenicylanowym

Na podstawie dokonanych obserwacji zaproponowano mechanizm reakcji powstawania dwupierścieniowych skondensowanych związków typu nitroimidazotetrahydropirydyn (**Schemat 35**).





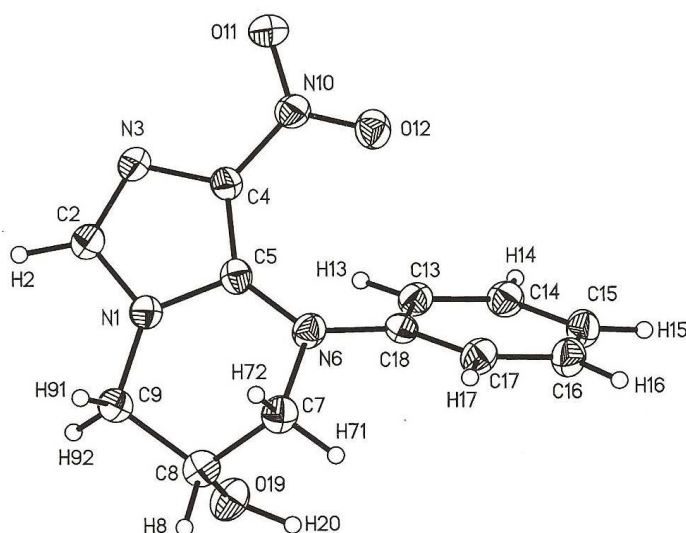
**Schemat 35.** Proponowany mechanizm reakcji pomiędzy nitroimidazodihydrooksazolami i aminami I-rzędowymi

Grupa nitrowa wyciąga elektrony z układu nitroimidazolu, dzięki czemu atom węgla C-5 staje się bardziej podatny na atak nukleofilowy (por. p. **7.4.1.**, **Schemat 30**). W przypadku tej reakcji, czynnikiem nukleofilowym może być zarówno alkohol jak i I-rzędowa amina alifatyczna lub aromatyczna. Jak wynika z piśmiennictwa [108], nukleofilowość amin, w przeciwieństwie do większości innych, znanych nukleofili, jest ściśle uzależniona od rodzaju rozpuszczalnika. Obserwując przebieg syntezy nitroimidazotetrahydro-pyrimidyn, zauważono, że aminy I- i II-rzędowe charakteryzuje wyższa nukleofilowość od alkoholi. Stąd, w początkowym etapie reakcji, w pozycji C-

5 pierścienia imidazolu zachodzi substytucja nukleofilowa reszty wywodzącej się z I-rzędowej aminy alifatycznej lub aromatycznej. Szybko następuje rozerwanie wiązania C-O w pierścieniu oksazolowym i w konsekwencji traci on charakter cykliczny. Ładunek ujemny zostaje przemieszczony na atom tlenu w łańcuchu bocznym. W ostatnim etapie następuje wewnątrzcząsteczkowa substytucja nukleofilowa atomu chloru drugorzędową grupą aminową, powstałą w wyniku podstawienia aminy pierwszorzędowej w pierścieniu imidazolowym. Etap ten zachodzi pod wpływem węgla potasu i prowadzi do cyklizacji układu i utworzenia sześciocłonowego pierścienia tetrahydropirymidynowego.

Tożsamość i strukturę otrzymanych związków potwierdzono metodą analizy spektralnej. Wartości  $m/z$  dla jonów molekularnych tych związków są zgodne z wyliczonymi masami cząsteczkowymi. W widmie protonowym  $^1\text{H}$  NMR atomy wodoru związane z atomem węgla C-2 w pierścieniu imidazolu widoczne były w postaci singletów o natężeniu 1H przy około 7,6 ppm (**64, 66, 68, 70, 76**) oraz 7,3 ppm (**72, 74, 78, 80**). Protony pierścienia benzenowego w układzie aniliny i jej *para*-podstawionych halogenopochodnych dawały sygnały w postaci multipletów, które obserwowano w zakresie 7,0 – 7,7 ppm. W widmach związków (**76, 77**), przy 8,8 i 7,7 ppm występowały dublety pochodzące od atomów wodoru pierścienia pirydynowego. Pik usytuowany przy około 5,4 ppm (**64-71, 76,77**) lub 5,2 ppm (**72-75, 78-81**) przypisano grupie hydroksylowej. Proton pochodzący od atomu węgla związanego z grupą -OH widoczny był w postaci multipletu w obszarze 4,7 – 4,8 ppm (**64-71, 76,77**), a w przypadku związków podstawionych aminami alifatycznymi (**72-75, 78-81**) sygnały te były przesunięte w kierunku większego natężenia pola magnetycznego i znajdowały się w przedziale 4,4 – 4,5 ppm. Pozostałe atomy wodoru pochodzące z pierścienia tetrahydropirymidynowego obserwowano w zakresach: 3,8 – 4,5 ppm dla związków (**64-71, 76,77**) oraz 4,0 – 4,4 ppm dla substancji (**72-75, 78-81**). W widmach związków z grupą metylową w pozycji C-2 pierścienia imidazolowego stwierdzono obecność singletu przy 2,13 ppm (**73, 75, 77, 79, 81**) względnie przy 2,27 ppm (**65, 67, 69, 71**) pochodzącego od trzech atomów H tejże grupy metylowej. Pozostałe multiplety, występujące w zakresie 0,8 – 4,0 ppm w widmach związków (**72-75, 78-81**),

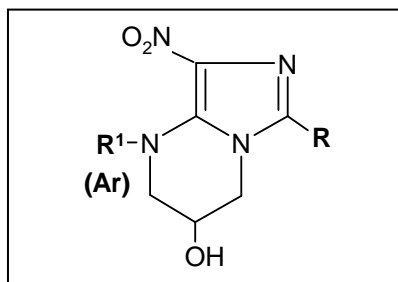
pochodziły od atomów wodoru łańcuchów alifatycznych, stanowiących reszty *n*- oraz *izo*-butyloaminy. W widmach  $^{13}\text{C}$  NMR sygnały pochodzące od atomów węgla pierścienia imidazolu zwykle znajdowały się przy około 146 (C-4), 134 (C-2) i 126 (C-5) ppm. Piki obserwowane w przedziale 122 – 140 ppm przypisano atomom węgla pierścieni aromatycznych: aniliny (**64-71**) oraz pirydyny (**76,77**). Węgiel związany z drugorzędową grupą hydroksylową dawał sygnał przy około 60 ppm, natomiast sąsiednie atomy C widoczne były w postaci pików przy około 55 i 44 ppm (**64-71, 76, 77**). W widmach związków z podstawnikiem alifatycznym (**72-75, 78-81**) wartości charakteryzujące to ugrupowanie wynosiły odpowiednio 69 i 44 ppm. Celem ostatecznego potwierdzenia struktury otrzymanych produktów, w Zakładzie Krystalografii UAM przeprowadzono analizę krystalograficzną dla przykładowo wybranego związku **64** (**Rysunek 17**).



**Rysunek 17.** Struktura rentgenograficzna związku **64**

Podstawowe dane charakteryzujące związki o skondensowanych pierścieniach imidazolu i tetrahydropirydyny zamieszczono w **Tabeli 6**.

**Tabela 6.** Charakterystyka nitroimidazotetrahydropirymidyn (**64-81**)



Nr produktu	R	R <sup>1</sup> (Ar)	t.t. [°C]	R <sub>f</sub>	wyd. po kryst. [%]
<b>64</b>	-H		212-213	0,42*	38
<b>65</b>	-CH <sub>3</sub>		208-210	0,58*	52
<b>66</b>	-H		182-184	0,45*	23
<b>67</b>	-CH <sub>3</sub>		233-234	0,44*	80
<b>68</b>	-H		207-208	0,36*	18
<b>69</b>	-CH <sub>3</sub>		220-221	0,48*	50
<b>70</b>	-H		202-204	0,37*	15
<b>71</b>	-CH <sub>3</sub>		236-237	0,40*	23
<b>72</b>	-H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	126-128	0,61*	85
<b>73</b>	-CH <sub>3</sub>		178-180	0,50*	81
<b>74</b>	-H	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	164-166	0,54*	50
<b>75</b>	-CH <sub>3</sub>		193-195	0,64*	62
<b>76</b>	-H		140-142	0,61**	17
<b>77</b>	-CH <sub>3</sub>		148-150	0,62**	58
<b>78</b>	-H		128-130	0,57**	24
<b>79</b>	-CH <sub>3</sub>		80-82	0,43**	51
<b>80</b>	-H		71-73	0,68**	15
<b>81</b>	-CH <sub>3</sub>		168-170	0,70**	22

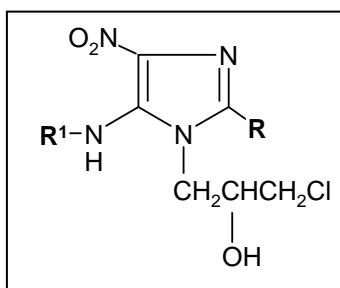
\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (9:1)

\*\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (1:1)

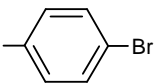
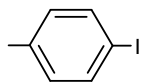
W widmach  $^1\text{H}$  NMR zarejestrowanych dla monocyklicznych pochodnych 5-aminoalkilowych nitroimidazolu (**90-93**) charakterystyczny był pik przy 7,5 ppm, natomiast dla związków zawierających pierścień aromatyczny połączony z grupą aminową (**82-89**) odpowiedni sygnał pojawiał się przy około 8,9 ppm. Piki te pochodziły od protonu grupy NH-R (Ar), umiejscowionej w pozycji C-5 pierścienia imidazolu. Brak tych sygnałów w widmach  $^1\text{H}$  NMR związków (**64-89**) świadczył o podstawieniu w obrębie grupy aminowej i jej przekształceniu w grupę III-rzędową, a w konsekwencji o obecności w nich układu pierścieni skondensowanych. Porównując widma  $^1\text{H}$  NMR odpowiadających sobie 5-aminoalkilowych pochodnych nitroimidazolu i bicyklicznych związków skondensowanych, w tych pierwszych zauważono zmianę położenia sygnału protonu grupy hydroksylowej w kierunku wyższych wartości przesunięcia chemicznego  $\delta$  o około 0,7 ppm. Wyniki analizy widm węglowych  $^{13}\text{C}$  NMR związków (**82-93**) były w pełni zgodne z danymi uzyskanymi z widm  $^1\text{H}$  NMR i w ten sposób dodatkowo potwierdziły ustaloną ich strukturę.

Podstawowe dane charakteryzujące związki **82-93** zamieszczono w **Tabeli 7**.

**Tabela 7.** Charakterystyka 5-aminoalkilowych i 5-aminoarylowych pochodnych nitroimidazolu (**82-93**)



Nr produktu	R	R <sup>1</sup> (Ar)	t.t. [°C]	R <sub>f</sub> *	Wyd. po kryst. [%]
<b>82</b>	-H		149-150	0,68	81
<b>83</b>	-CH <sub>3</sub>		126-127	0,84	66
<b>84</b>	-H		170-172	0,80	74
<b>85</b>	-CH <sub>3</sub>		120-121	0,83	69

<b>86</b>	-H		199-200	0,84	55
<b>87</b>	-CH <sub>3</sub>		220-221	0,90	68
<b>88</b>	-H		202-204	0,65	26
<b>89</b>	-CH <sub>3</sub>		152-153	0,70	50
<b>90</b>	-H	-(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>	65-67	0,86	80
<b>91</b>	-CH <sub>3</sub>		98-99	0,90	42
<b>92</b>	-H	-CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	83-84	0,80	65
<b>93</b>	-CH <sub>3</sub>		118-119	0,85	58

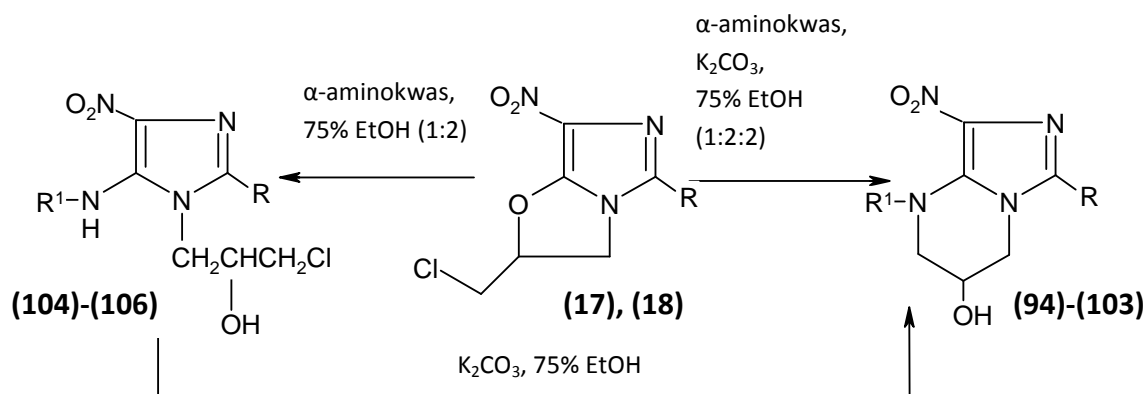
\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (9:1)

W wyniku reakcji przeprowadzonych z aminami I-rzędowymi, otrzymano 18 związków o strukturze bicyklicznej i skondensowanych pierścieniach oraz 12 związków będących pochodnymi aminonitroimidazolu bez układu skondensowanego. Podczas syntezy zaplanowanych substancji (**64-81**) wykorzystano wcześniejsze obserwacje dotyczące nietrwałości pierścienia oksazolowego. Cecha ta okazała się szczególnie korzystna w konstruowaniu układów typu nitroimidazotetrahydropirymidyny. Ponadto opracowano metodę otrzymywania związków będących pochodnymi 1-alkilo-5-aryloamino- oraz 1-alkilo-5-alkiloamino-4-nitroimidazolu. Tego rodzaju substancje są wprawdzie zazwyczaj mniej aktywne od pochodnych zawierających grupę nitrową w pozycji 5, ale są zwykle także mniej toksyczne.

#### 7.4.4. Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli z $\alpha$ -aminokwasami

W reakcjach nitroimidazodihydrooksazoli z aminami pierwszorzędowymi zauważono, że specyficzne podstawienie atomu chloru w grupie halogenometylenowej mogło zachodzić w środowisku zasadowym, w roztworze alkoholowym. Jednakże w warunkach takich następowało jednoczesne otwarcie pierścienia dihydrooksazolowego oraz podstawienie w pozycji 5 pierścienia imidazolu cząsteczką zastosowanego czynnika nukleofilowego, w tym przypadku aminy pierwszorzędowej. Wykorzystując powyższe obserwacje i przyjmując w dalszym ciągu układ 7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolu (**17**) oraz 5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolu (**18**) za struktury wiodące, postanowiono w kolejnym etapie

przeprowadzić podobne reakcje z aminami pierwszorzędowymi innego typu, tym razem z wykorzystaniem cząsteczek biogennych  $\alpha$ -aminokwasów, będących nośnikami własnej aktywności farmakologicznej (**Schemat 36**).



R=-H, -CH<sub>3</sub>, R<sup>1</sup> – reszta wywodząca się z  $\alpha$ -aminokwasu

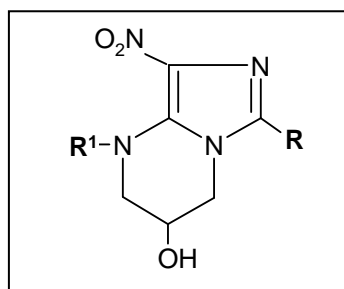
### Schemat 36. Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli z $\alpha$ -aminokwasami

Na początku skupiono się na otrzymaniu bicyklicznych układów imidazotetrahydropirymidyny przy wykorzystaniu aminokwasów alifatycznych, takich jak alanina, metionina, walina, a następnie aromatycznych tryptofanu i fenyloalaniny. Reakcjom z użyciem wymienionych związków poddano zarówno pochodną metylową nitroimidazodihydrooksazolu (**18**) jak i pozbawioną grupy metylowej (**17**). Reakcje te prowadzono rozpuszczając odpowiedni nitroimidazodihydrooksazol (**17**) lub (**18**),  $\alpha$ -aminokwas oraz  $K_2CO_3$  (1:2:2) w 75% etanolu. Zastosowanie rozcieńczonego etanolu istotnie różniło te reakcje od opisanych wcześniej reakcji z innymi aminami pierwszorzędowymi i wpływało korzystnie na rozpuszczalność aminokwasów użytych jako substraty. Gdy stosunek substratów wynosił 1:1:1, po jednej godzinie ogrzewania w temperaturze wrzenia, na chromatogramie TLC obserwowano plamę produktu oraz, dodatkowo, nieprzereagowanego nitroimidazodihydrooksazolu. Uzasadnionym więc było użycie nadmiaru aminokwasu i węgla potasu podobnie jak to było w przypadku innych amin pierwszorzędowych.

W wyniku reakcji prowadzonych w proporcjach 1:2:2, zazwyczaj otrzymywano mieszaninę złożoną z produktu oraz pozostającego w nadmiarze nieprzereagowanego  $\alpha$ -aminokwasu. Mieszaninę odparowywano do sucha i наносono na kolumnę żelu krzemionkowego. Po przeprowadzeniu chromatografii kolumnowej, w układzie chlorek metylenu : metanol (1:1) dla aminokwasów alifatycznych i (3:1) dla aminokwasów aromatycznych, izolowano czysty oczekiwany produkt. Tak jak wstępnie zakładano, syntezy z użyciem aminokwasów przebiegały w sposób identyczny jak reakcje, w których wykorzystywano aminy pierwszorzędowe. W ich wyniku, także otrzymano produkty o strukturze dwupierścieniowej skondensowanej. Syntezy, które prowadzone były bez udziału węglanu potasu, prowadziły natomiast do powstawania produktów 5-(N-podstawionych) – aminowych pochodnych 4-nitroimidazolu. Polarna grupa karboksylowa, stanowiąca fragment reszty aminokwasu w nowo otrzymanych cząsteczkach, może przyczynić się do zwiększenia biodostępności tych związków, ponieważ otrzymane produkty są lepiej rozpuszczalne w wodzie, w porównaniu z innymi pochodnymi nitroimidazolu otrzymanymi w tej pracy.


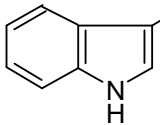
W **Tabeli 8** zestawiono podstawowe właściwości fizykochemiczne związków otrzymanych w reakcjach nitroimidazodihydrooksazoli z aminokwasami.

**Tabela 8.** Właściwości fizykochemiczne produktów reakcji nitroimidazodihydrooksazoli z aminokwasami (**94-106**)



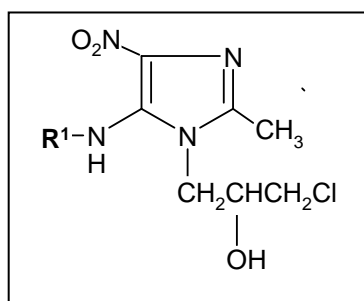
Nr produktu	R	R <sup>1</sup>	t.t. [°C]	R <sub>f</sub>	Wyd. po kryst. [%]
94	-H	CH <sub>3</sub> -CH-COOH 	188-189	0,58*	40
95	-CH <sub>3</sub>		208-210	0,55*	77

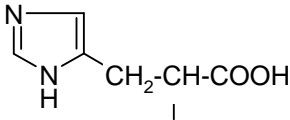


<b>96</b>	-H	$(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH-COOH}$ 	171-173	0,50*	31
<b>97</b>	-CH <sub>3</sub>		170-172	0,50*	69
<b>98</b>	-H	$\text{CH}_3\text{-S-CH}_2\text{CH}_2\text{-CH-COOH}$ 	175-177	0,43*	49
<b>99</b>	-CH <sub>3</sub>		167-169	0,69*	89
<b>100</b>	-H		191-192	0,75**	51
<b>101</b>	-CH <sub>3</sub>		218-220	0,68**	89
<b>102</b>	-H		231-233	0,68**	40
<b>103</b>	-CH <sub>3</sub>		217-220	0,59**	53

\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (1:1)

\*\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (3:1)



Nr produktu	R <sup>1</sup>	t.t. [°C]	R <sub>f</sub> *	Wyd. po kryst. [%]
<b>104</b>	$\text{CH}_3\text{-CH-COOH}$ 	155-157	0,55	8
<b>105</b>	$(\text{CH}_3)_2\text{-CH-CH-COOH}$ 	168-171	0,79	24
<b>106</b>		127-130	0,46	28

\* faza rozwijająca: chlorek metylenu : metanol (1:1)

Struktury zsyntezowanych substancji zostały potwierdzone przy pomocy analizy spektralnej. Analizując widma <sup>1</sup>H NMR otrzymanych skondensowanych związków bicyklicznych, można odnotować występowanie w nich, wspólnego dla wszystkich, dubletu przy 5,3 – 5,8 ppm charakterystycznego dla atomu wodoru grupy hydroksylowej. Ponadto

protony grupy  $\text{CH}_3$  pierścienia imidazolowego w pochodnych metylowych widoczne były jako singlet w obszarze 1,9 – 2,2 ppm, zaś dla pochodnych niemetylowych, atom wodoru w pozycji C-2 pierścienia imidazolowego pojawiał się jako singlet w obszarze 7,2 – 7,3 ppm. Sygnał ten w przypadku związków otrzymanych z aminokwasów aromatycznych: tryptofanu i fenyloalaniny, występował jako część multipletu, razem z pikami pochodzącymi od protonów pierścienia aromatycznego tych aminokwasów w zakresie  $\delta$  6,8 – 7,3 ppm. W widmach tych można było zauważyć również sygnały charakterystyczne dla danego aminokwasu. Dla związków **(102)** i **(103)** obserwowano multiplet w zakresie 3,0 – 4,0 ppm pochodzący od protonów  $\text{CH-CH}_2$  tryptofanu. W widmach produktów **(96)** i **(97)** widoczne były sygnały w postaci multipletów charakterystyczne dla atomów wodoru grupy izopropylowej występującej w walinie. Piki te występowały w przedziale od 2,2 do 2,3 ppm dla atomu  $\text{CH}$  oraz od 0,8 do 1,1 ppm dla dwóch grup metylowych.

Protony grupy metylowej, wywodzącej się z reszty alaniny, w związkach **(94)** i **(95)**, były widoczne jako multiplet w zakresie od 1,2 – 1,5 ppm. Natomiast w protonowych widmach produktów **(100)** i **(101)** sygnały dla wodorów układu  $\text{CH-CH}_2$  reszty fenyloalaninowej występowały wspólnie w postaci multipletu z sygnałami protonów pierścienia diazynowego i zawierały się w przedziale od 2,8 do 4,5 ppm. Dla związków **(98)** i **(99)** obserwowano multiplety w zakresie od 1,9 do 2,9 ppm. Pochodziły one od protonów grupy  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{S}$  oraz  $\text{S-CH}_3$  reszty metioninowej.

Protony pierścienia tetrahydropirymidynowego w każdym przypadku były widoczne w postaci multipletu w zakresie od 2,9 do 3,9 ppm. W tym przedziale znajdował się również sygnał pochodzący od protonu położonego w pozycji  $\alpha$  względem grupy karboksylowej  $\text{CH-COOH}$ .

Dla każdego z otrzymanych produktów, celem dalszej, pełnej identyfikacji, przeprowadzono analizę widm MS. Standardowo wykonane widma EIMS nie dostarczyły wystarczających informacji. W warunkach ich rejestrowania otrzymane produkty **(94)** – **(106)** okazały się nietrwałe i ulegały zwęgleniu. Stąd dla potwierdzenia struktury, wykonywano widma typu LSIMS (Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry) wykorzystujące technikę nie wymagającą zastosowania wysokiej temperatury celem jonizacji substancji. Na widmach

LSIMS obserwuje się występowanie piku molekularnego, którego wartość jest powiększona lub pomniejszona o 1 (odpowiednio:  $[M^+H]$  lub  $[M^+-H]$ ) w zależności od rodzaju grup funkcyjnych w analizowanym związku.

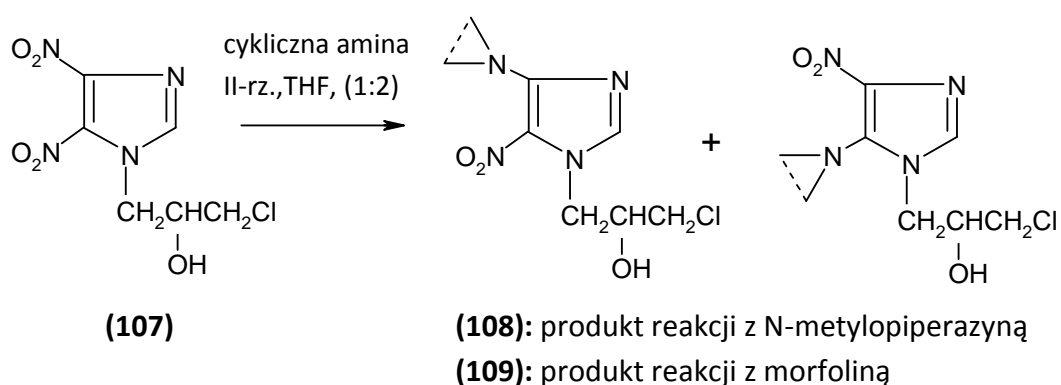
W przypadku produktów **(94)** - **(106)** obserwowano piki jonów molekularnych typu  $[M^+-H]$  ze względu na łatwość, z jaką można było oderwać proton od kwasowej grupy  $-OH$ . Analiza widm LSIMS potwierdziła tożsamość otrzymanych substancji.

Analiza widm węglowych  $^{13}C$  NMR związków **(94)** – **(103)** udowodniła obecność w ich strukturze grupy karboksylowej, której sygnał znajdował się w przedziale od 173 do 181 ppm. Ponadto obserwowano pojedyncze sygnały przy około 129, 138 i 149 ppm, które zostały przypisane trzem atomom węgla (odpowiednio: C-4, C-2 i C-5) pierścienia imidazolu. Sygnał atomu węgla związanego z grupą hydroksylową znajdował się w zakresie 64 – 69 ppm. Piki pochodzące od atomów węgla grupy  $CH_2$  związanej z atomem N-1 imidazolu występowały w obszarze 60 – 62 ppm. Natomiast w zakresie 42 – 48 ppm obserwowano sygnały pochodzące od atomów węgla pierścienia tetrahydropirymidynowego, połączonego z aminokwasowym atomem azotu. Pojawienie się pików w obszarze 12 – 16 ppm potwierdziło obecność grupy  $-CH_3$  związanej z C-2 pierścienia imidazolu w pochodnych **(95)**, **(97)**, **(99)**, **(101)** i **(103)**. W widmach produktów **(94)** – **(103)** widoczne były również odpowiednie piki charakterystyczne dla danego aminokwasu.

W widmach  $^{13}C$  NMR dla związków **(104-106)**, sygnał atomu węgla pochodzącego od grupy karboksylowej występował przy około 181 ppm. Piki związane z atomami węgla pierścienia imidazolowego obserwowano przy wartościach około: 149 ppm (C-4), 148 ppm (C-2) oraz 132 ppm (C-5). Sygnał przy 71,3 ppm przypisano atomowi węgla związanemu z grupą  $-OH$ , natomiast pik przy 57,7 ppm świadczył o obecności ugrupowania  $N-CH_2$ . Atom węgla związany z atomem chloru dawał sygnał przy 48,9 ppm. Ponadto zaobserwowano pik przy 16,3 ppm, który przypisano grupie metylowej znajdującej się w pozycji 2 pierścienia imidazolu. Pozostałe piki pochodziły od atomów węgla podstawników charakterystycznych dla aminokwasu wykorzystanego do syntezy danego związku.

#### 7.4.5. Reakcja 3-chloro-1-(4,5-dinitroimidazol-1-ilo)-2-propanolu z drugorzędownymi aminami cyklicznymi

Dodatkowo, celem porównania wyników reakcji substytucji nukleofilowej atomu chloru, poddano 3-chloro-1-(4,5-dinitroimidazol-1-ilo)-2-propanol (**107**) działaniu II-rzędowych amin cyklicznych, takich, jak N-metylopiperazyna i morfolina, w stosunku molowym 1:2, w THF. Otrzymano mieszaniny izomerycznych produktów substytucji grup nitrowych w pozycji C-4 i C-5, ze znaczną przewagą pierwszego z wymienionych izomerów. Zidentyfikowano go za pomocą analizy rentgenograficznej jako 3-chloro-1-[4-(N-metylopiperazyn-1-ilo)-5-nitroimidazol-1-ilo]-2-propanol (**108**) [109, 110]. Atom chloru nie uległ w tych warunkach podstawieniu (**Schemat 37**).



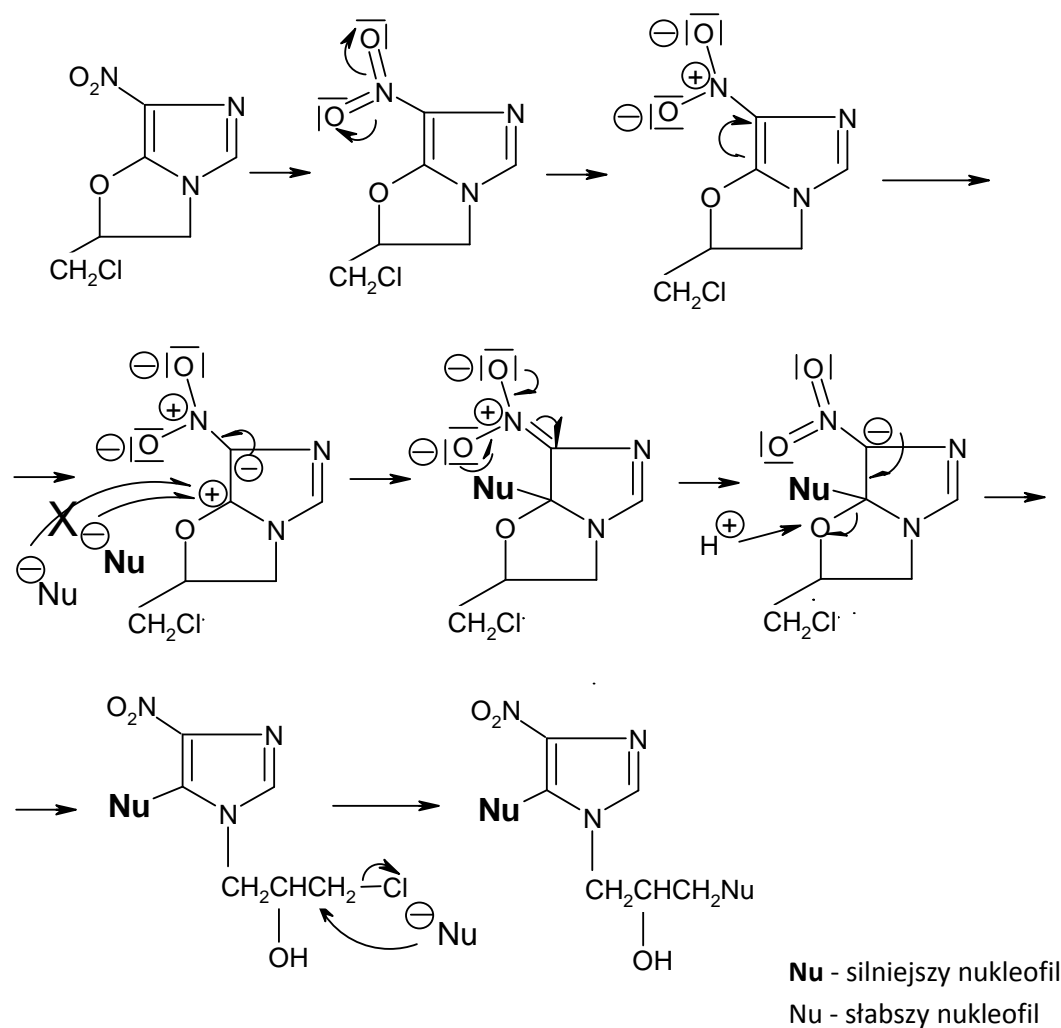
**Schemat 37.** Reakcja 3-chloro-1-(4,5-dinitroimidazol-1-ilo)-2-propanolu z drugorzędownymi aminami cyklicznymi

Również czterokrotny nadmiar aminy cyklicznej nie spowodował spodziewanego podstawienia atomu chloru, jak to obserwowano w przypadku nitroimidazodihydrooksazoli. Przypuszczalnie, obecność dwóch grup nitrowych w pozycjach 4 i 5 pierścienia imidazolowego sprawia, że wymiana atomu chloru w łańcuchu propylowym przy atomie N-1 imidazolu staje się w tych warunkach niemożliwa.

#### 7.4.6. Podsumowanie wyników części chemicznej

W wyniku przeprowadzonych syntez otrzymano blisko 100 nowych pochodnych nitroimidazolu. Wśród nich znajduje się szereg związków o strukturze bicyklicznej ze skondensowanymi pierścieniami. Otrzymano dwa rodzaje tego typu substancji: nitroimidazodihydrooksazole oraz nitroimidazotetrahydropiryminy. Na przykładzie 2-chlorometylo-6-nitroimidazo[2,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolu określono reaktywność tej grupy związków. Na podstawie obserwacji przebiegu reakcji z odczynnikami nukleofilowymi ustalono wpływ proporcji substratów, rodzaju środowiska oraz polarności rozpuszczalnika na tworzące się produkty. Pozwoliło to na zaproponowanie prawdopodobnego mechanizmu opisywanych przekształceń.

Reakcje powyższe prawdopodobnie zachodzą w kilku etapach. Grupa nitrowa w bicyklicznym układzie nitroimidazodihydrooksazolu, wyciągając elektrony z pierścienia, powoduje ich niedobór na atomie węgla C-5 imidazolu. Ponadto, sąsiedztwo atomu tlenu układu dihydrooksazolowego dodatkowo wzmacnia ten efekt. Stąd, atom węgla C-5 staje się szczególnie podatny na atak nukleofilowy. Gdy w środowisku reakcji znajdują się dwa związki o właściwościach nukleofilowych, różniące się znacznie wartościami  $pK_a$ , np. alkohol i fenol, wówczas silniejszy nukleofil atakuje atom węgla C-5 pierścienia imidazolowego. Szybko następuje rozerwanie wiązania C-O w pierścieniu oksazolowym i w konsekwencji traci on charakter cykliczny. W ostatnim etapie następuje substytucja nukleofilowa atomu chloru słabszym nukleofilem np. grupą fenoksyłową. Etap ten jest katalizowany węglanem potasu (**Schemat 38**).



**Schemat 38.** Proponowany mechanizm reakcji substytucji nukleofilowej w układzie nitroimidazodihydrooksazolu

W przypadku, gdy związkiem atakującym jest bardzo silny nukleofil, np. tiofenol, użyty w co najmniej dwukrotnym nadmiarze w stosunku do nitroimidazodihydrooksazolu, wówczas czynnik ten podstawia się w pozycję C-5 pierścienia imidazolu. Użycie czterokrotnego nadmiaru silnego nukleofila powoduje dodatkowo substytucję atomu chloru w łańcuchu propylowym, utworzonym na skutek otwarcia pierścienia oksazolowego.

## 8. WYNIKI BADAŃ AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ WYTYPOWANYCH POCHODNYCH NITROIMIDAZOLU

### 8.1. Zastosowanie metod obliczeniowych do określenia biodostępności otrzymanych związków

Analiza farmakokinetyczna z wykorzystaniem metod *in silico* jest jednym z najważniejszych narzędzi weryfikacji potencjalnej charakterystyki DMPK (Drug Metabolism and Pharmacokinetics) leku [111]. Aktywność biologiczna cząsteczki związku chemicznego powiązana jest bezpośrednio z jego właściwościami chemicznymi i fizycznymi. Do najistotniejszych właściwości molekularnych związków biologicznie aktywnych zalicza się lipofilowość, liczbę tworzonych wiązań wodorowych, właściwości elektronowe i steryczne. Stąd, do określenia SAR, najczęściej wykorzystuje się wartości współczynnika podziału ( $\log P$ ) oraz wielkości powierzchni polarnej (PSA).

### 8.2. Lipofilowość związków biologicznie aktywnych

Lipofilowość charakteryzuje powinowactwo cząsteczki do fazy lipidowej i wodnej, a jej miarą jest współczynnik podziału, najczęściej wyrażany w formie logarytmu i definiowany jako:

$$\log P = \log c_o - \log c_w$$

gdzie:  $c_o$  – stężenie substancji badanej w *n*-oktanolu,  $c_w$  – stężenie substancji badanej w wodzie, zmierzone w stanie równowagowym. Lipofilowość jest głównym czynnikiem mającym wpływ na biodostępność, stopień biodegradacji i toksyczność leku. Miarą lipofilowości jest dystrybucja substancji w układzie dwufazowym ciecz-ciecz, o której decydują oddziaływania międzycząsteczkowe występujące pomiędzy daną substancją i fazą niepolarną. Standardowym rozpuszczalnikiem do wyznaczania współczynnika podziału jest *n*-oktanol, stosowany wespół z wodą, ponieważ spośród wielu układów modelowych jest on najbardziej zbliżony do układu faz polarnych i niepolarnych w ustroju biologicznym. Współczynnik podziału można określić doświadczalnie na drodze pomiaru stężeń w układzie *n*-oktanol/woda, lub też alternatywnymi metodami chromatograficznymi,

można też zastosować obliczenia teoretyczne, przy wykorzystaniu odpowiednich programów komputerowych.

Metody obliczeniowe podzielić można na trzy grupy [112,113]:

- **metody oparte na fragmentach cząsteczek** gdzie określonym fragmentom, tzn. atomom lub grupom atomów, przyporządkowane są pewne doświadczalnie wyznaczone wartości, których suma stanowi całkowitą wartość  $\log P$  cząsteczki;
- **metody atomowe** gdzie każdy atom charakteryzuje pewna stała - wkład w lipofilowość cząsteczki, przy czym atomy tego samego typu, w zależności od konfiguracji, mają różne wartości stałych atomowych; sumowanie stałych atomowych prowadzi do wartości  $\log P$  cząsteczki jako całości;
- **metody oparte na właściwościach całych cząsteczek**, w których na podstawie obliczonych kwantowo-mechanicznie energii solwatacji cząsteczki w fazie wodnej i organicznej wyznacza się wartość  $\log P$ .

### 8.3. Powierzchnia polarna (Polar Surface Area – PSA)

Jest to parametr, dzięki któremu można przewidzieć łatwość, z jaką zachodzi transport bierny cząsteczki przez błony biologiczne [111, 114-116]. Określony zostaje zatem przybliżony stopień absorpcji danej substancji czynnej przez organizm. PSA jest wielkością definiowaną jako suma powierzchni wszystkich polarnych atomów (najczęściej azotu i tlenu) znajdujących się w cząsteczce. Dodatkowo bierze się również pod uwagę powierzchnie wszystkich atomów wodoru związanych z rozpatrywanymi heteroatomami. W trakcie badań ustalono, iż wartości PSA leżące poniżej 60-70 Å<sup>2</sup> sugerują bardzo dobry poziom przenikania przez barierę krew – mózg. Wielkości PSA powyżej 140 Å<sup>2</sup> charakteryzują cząsteczki, które tylko w niewielkim stopniu mogą być zaabsorbowane z żołądka i układu pokarmowego. Natomiast PSA powyżej 250 Å<sup>2</sup> wskazuje na znaczną utratę biodostępności przez substancję chemiczną. Określanie wartości powierzchni polarnej metodami klasycznymi jest bardzo czasochłonne. Wymaga wygenerowania modelu 3D cząsteczki, a następnie obliczenie jej powierzchni. Ertl i współpracownicy [114] zaprezentowali znacznie szybszą metodę *in silico* obliczania PSA, polegającą na zsumowaniu powierzchni



składników polarnych, w oparciu o istniejące bazy danych (TPSA – Topological Polar Surface Area). Wyniki otrzymane metodą 3D PSA i TPSA są niemal identyczne. Współczynnik korelacji pomiędzy wynikami z obu metod, zastosowanych wobec 34810 cząsteczek opisanych w World Drug Index, wynosi 0,99.

#### 8.4. Wyznaczanie parametrów lipofilowości oraz określanie powierzchni polarnej dla wybranych, otrzymanych pochodnych nitroimidazolu

W poniższej Tabeli zestawiono wyniki obliczeń log P i PSA uzyskane metodami komputerowymi. Do wyznaczenia obu wielkości wykorzystano program New ClogP Calculator firmy ChemAxon Ltd., dostępny na stronie: [www.intro.bio.umb.edu/111-112/OLLM/111F98/newclogp.html](http://www.intro.bio.umb.edu/111-112/OLLM/111F98/newclogp.html). Podobne wartości obu parametrów uzyskano stosując program Molinspiration, dostępny na stronie: [www.molinspiration.com](http://www.molinspiration.com)

**Tabela 9.** Wartości log P i PSA dla wybranych pochodnych nitroimidazolu

Nr produktu	Wartość log P	Wartość PSA [Å <sup>2</sup> ]	Nr produktu	Wartość log P	Wartość PSA [Å <sup>2</sup> ]
7	0,79	72,87	72	1,33	87,11
8	0,91	72,87	73	1,46	87,11
9	1,31	72,87	74	1,25	87,11
10	1,44	72,87	75	1,38	87,11
11	2,16	72,87	76	-0,52	129,10
12	2,28	72,87	77	-0,40	129,10
13	1,28	72,87	78	-0,91	125,44
14	1,41	72,87	79	-0,78	125,44
15	1,16	82,10	80	0,06	170,02
16	1,28	82,10	81	0,18	170,02
25	1,92	128,63	82	3,48	95,90
31	3,44	128,63	83	3,60	95,90

<b>32</b>	4,99	111,56	<b>84</b>	4,08	95,90
<b>37</b>	2,38	148,15	<b>85</b>	4,20	95,90
<b>40</b>	2,15	119,40	<b>86</b>	4,25	95,90
<b>43</b>	1,15	131,43	<b>87</b>	4,37	95,90
<b>45</b>	1,47	128,63	<b>88</b>	4,41	95,90
<b>46</b>	2,86	111,56	<b>89</b>	4,53	95,90
<b>48</b>	3,67	102,33	<b>90</b>	2,18	95,90
<b>52</b>	0,63	96,34	<b>91</b>	2,31	95,90
<b>53</b>	0,75	96,34	<b>92</b>	2,10	95,90
<b>55</b>	1,82	87,11	<b>93</b>	2,23	95,90
<b>60</b>	0,24	108,81	<b>96</b>	0,94	124,41
<b>61</b>	0,12	108,81	<b>97</b>	1,07	124,41
<b>62</b>	1,90	90,35	<b>100</b>	1,71	124,41
<b>63</b>	2,02	90,35	<b>101</b>	1,83	124,41
<b>64</b>	1,56	87,11	<b>102</b>	1,81	140,20
<b>65</b>	1,69	87,11	<b>103</b>	1,93	140,20
<b>66</b>	2,17	87,11	<b>104</b>	1,03	133,20
<b>67</b>	2,29	87,11	<b>105</b>	1,92	133,20
<b>68</b>	2,33	87,11	<b>106</b>	0,26	161,88
<b>69</b>	2,46	87,11	<b>CGI-17341</b>	1,91	72,87
<b>70</b>	2,49	87,11	<b>PA-824</b>	4,14	91,33
<b>71</b>	2,62	87,11	<b>OPC-67683</b>	6,14	103,80

Kolorem pomarańczowym wyróżniono korzystne wartości logP i PSA,  
Kolorem żółtym wyróżniono wartości przeciętne,  
Kolorem niebieskim wyróżniono wartości niekorzystne.

Na podstawie uzyskanych rezultatów, stwierdzono, że najwyższą lipofilowością spośród testowanych substancji charakteryzowały się pochodne 3-chloro-1-(5-aryloamino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-olu (**82-89**), które w pozycji C-5 posiadały podstawnik wywodzący się od I-rzędowej aminy aromatycznej. Wartość log P dla tej grupy związków wahała się w granicach 3,48 – 4,53, a zatem była zbliżona do obliczonego log P dla znanego tuberkulostatyku PA-824. Na podobnym poziomie kształtowały się wielkości współczynnika podziału niektórych związków typu 3-fenoksy-1-(5-alkoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-olu (**31, 32, 48**). Większość pochodnych typu 1-(*p*-halogenofenylo)-3,4-dihydro-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]tetrahydropirymidyny (**66-71**) wykazywała wartości współczynnika podziału wynoszące nieco powyżej 2.

Wartości PSA otrzymanych produktów zakwalifikowały je do grupy substancji o dobrej i umiarkowanie dobrej biodostępności. Większość zsyntezowanych związków charakteryzuje się wartością powierzchni polarnej porównywalną z PSA pochodnych, wykorzystanych jako wzorcowe: CGI-17341, PA-824 i OPC-67683. Najkorzystniejszym PSA (72,87 oraz w dwóch przypadkach 82,10 Å<sup>2</sup>) cechowały się produkty o strukturze nitroimidazodihydrooksazolu (**7-16**). Niewiele większą powierzchnię polarną wyliczono dla bicyklicznych związków typu nitroimidazo[5,1-*b*]tetrahydropirymidyno-3-olu (**64-75**), dla których PSA było równe 87,11 Å<sup>2</sup>. Największe wartości (124,41-161,88 Å<sup>2</sup>) PSA przybierało dla pochodnych z wbudowanym fragmentem  $\alpha$ -aminokwasu (**96, 97, 100-106**). Szereg substancji charakteryzuje identyczna wielkość PSA. Jest to związane z występowaniem w cząsteczce bardzo zbliżonej lub takiej samej liczby heteroatomów, np. azotu, tlenu itd. Powierzchnia polarna nie jest tożsama z powierzchnią ogólną cząsteczki.

Biorąc pod uwagę oba parametry łącznie, najkorzystniejszym poziomem biodostępności charakteryzują się związki o strukturze 3-chloro-1-(5-aryloamino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-olu (**84-89**). Spośród substancji testowanych wykazywały one najwyższą lipofilowość, a ponadto obliczona powierzchnia polarna ich cząsteczek nie przekraczała 100 Å<sup>2</sup>.

## 8.5. Obliczenie poziomu potencjalnych aktywności biologicznych metodą *PASS C&T* dla otrzymanych związków

Doświadczalne określenie aktywności biologicznej substancji chemicznej jest procedurą czasochłonną i kosztowną [117,118]. Testy biologiczne tworzone są przy zachowaniu analogii strukturalnych nowych związków w odniesieniu do już istniejących, o poznanym działaniu. Analizy podobieństwa lub odmienności wykonywane są zarówno na etapie projektowania jak i badania leku [119].

Do oszacowania działania biologicznego substancji wykorzystywany jest m.in. program *PASS* (Prediction of Activity Spectra for Substance – Przewidywanie Spektrum Aktywności dla Substancji). Został on opracowany w Instytucie Chemii Biomedycznej Rosyjskiej Akademii Nauk w Moskwie, w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku, a w późniejszym okresie był systematycznie modyfikowany i aktualizowany [120,121]. Program jest dostępny na stronie internetowej Instytutu ([www.ibmc.msk.ru/PASS/](http://www.ibmc.msk.ru/PASS/)). Na podstawie struktury związku przewiduje on z odpowiednim prawdopodobieństwem wystąpienie efektu farmakologicznego, mechanizm działania, mutagenność związku, jego karcynogenność, teratogenność i embriotoksyczność. Tego typu zależności opisywane są na bazie deskryptorów MNA (Multilevel Neighborhoods of Atoms). Program *PASS* określa prawdopodobieństwo wystąpienia danej aktywności ( $P_a$ ) lub jej braku ( $P_i$ ) dla pojedynczego związku chemicznego na bazie prawdopodobieństwa jej obecności w zestawie substancji czynnych i nieaktywnych zbioru *SAR* (Structure - Activity Relationship). Na bazie podanego wzoru strukturalnego związku, program przewiduje równolegle kilkanaście rodzajów aktywności biologicznej rozpatrywanego połączenia. Istnieje także możliwość przewidywania prawdopodobieństwa molekularnego mechanizmu działania, np. agonista receptorów 5-HT<sub>1A</sub> oraz wystąpienia efektów niepożądanych, np. arytmogenność, kardiotoxyczność itp. [119,122]. Podstawowe elementy programu *PASS* obejmują: opis struktury związku chemicznego, prezentację aktywności farmakologicznych, bazę danych, na którą składają się znane, aktywne biologicznie cząsteczki, a także model matematyczny wykorzystywany do oszacowania

prawdopodobieństwa wystąpienia danej aktywności dla analizowanych substancji. Baza danych do programu tworzona jest na podstawie informacji zawartych w różnego rodzaju doniesieniach naukowych i jest nadal rozszerzana. Obecna wersja programu obejmuje ponad 46 tysięcy biologicznie aktywnych substancji. Wśród nich znajduje się 16 tysięcy związków aktywnych stosowanych w lekach, a 30 tysięcy to substancje będące w trakcie badań klinicznych. Ponadto, w bazie SAR wymienia się 900 efektów farmakologicznych oraz 783 wybrane typy aktywności biologicznej [121]. Obliczone wielkości  $P_a$  i  $P_i$  zawierają się w przedziale 0 - 1 lub 0% - 100%. Jeżeli wynik  $P_a > 70\%$ , dana substancja prawdopodobnie wykazywać będzie określoną aktywność biologiczną w warunkach eksperymentu *in vitro*. W większości przypadków  $P_a > 70\%$  posiadają połączenia o strukturze zbliżonej do struktury znanej substancji aktywnej leku. Wartości  $P_a$  mieszczące się w przedziale 50 – 70% mają połączenia, dla których prawdopodobieństwo potwierdzenia aktywności w badaniach biologicznych jest nieco mniejsze. Wartości  $P_a < 50\%$  odnoszą się do związków, dla których prawdopodobieństwo potwierdzenia aktywności w badaniach biologicznych jest małe, lecz do tej grupy połączeń mogą należeć związki o nowej strukturze wiodącej [119-122]. Dla każdego rodzaju aktywności tworzona jest oddzielna baza, którą stanowi określona liczba połączeń z podanym maksymalnym błędem obliczeń [119]. Dla obecnej wersji programu PASS średni maksymalny błąd obliczeń wynosi 15 %.

Niemal wszystkie otrzymane w tej pracy pochodne nitroimidazolu zostały poddane analizie metodą PASS C&T. W **Tabeli 10** zestawiono wyniki przewidywanych aktywności biologicznych i mechanizmów działania, uzyskane dla  $P_a > 0,6$ . Wszystkie badane substancje wykazały szerokie spektrum aktywności. Wiele z tych związków wykazuje bardzo wysoki poziom prawdopodobieństwa wystąpienia aktywności biologicznej przekraczający 70 %. Otrzymane połączenia mają dużą szansę stać się skutecznymi:

- ✓ inhibitorami reduktazy ferredoksyna-NADP<sup>+</sup>,
- ✓ lekami antyalkoholowymi
- ✓ inhibitorami proteazy tiolowej
- ✓ lekami przeciw dusznicy bolesnej

- ✓ lekami przeciw osteoporozie
- ✓ w leczeniu chorób kości
- ✓ inhibitorami NADPH
- ✓ lekami wzmacniającymi układ sercowo-naczyniowy
- ✓ lekami stosowanymi w niedokrwieniu mięśnia sercowego
- ✓ regulatorami metabolizmu nukleotydów
- ✓ inhibitorami fosfatazy
- ✓ lekami chroniącymi układ nerwowy
- ✓ lekami przeciwinfekcyjnymi
- ✓ lekami przeciwprwotniakowymi
- ✓ lekami w terapii choroby Gauschera
- ✓ lekami przeciwbakteryjnymi
- ✓ lekami w terapii chorób proliferacyjnych.

**Tabela 10.** Prognozowana aktywność biologiczna otrzymanych pochodnych nitroimidazolu, określona metodą *PASS C&T*

Nr związku	Ilość deskryptorów/ Ilość nowych deskryptorów	Ważniejsze działania i efekty (Pa/Pi)
7	27/3	Inhibitor reduktazy ferredoksyna-NADP+ (0,726 / 0,025) Antyalkoholowy (0,664 / 0,013) Agonista cyklicznego AMP (0,653 / 0,005) Radiouczulający (0,653 / 0,007) Przeciwprwotniakowy (0,610 / 0,007)
8	26/3	Antyalkoholowy (0,761 / 0,005) Leczenie uzależnień (0,683 / 0,022) Radiouczulający (0,654 / 0,007) Przeciwprwotniakowy (0,624 / 0,007) Agonista cyklicznego AMP (0,603 / 0,007)
9	30/3	Inhibitor reduktazy ferredoksyna-NADP+ (0,699 / 0,028) Antyalkoholowy (0,634 / 0,019)
10	30/3	Antyalkoholowy (0,737 / 0,006) Leczenie uzależnień (0,633 / 0,029)
11	30/3	Inhibitor reduktazy ferredoksyna-NADP+ (0,685 / 0,030) Antyalkoholowy (0,658 / 0,014) Inhibitor acyloamidazy aryloalkilowej (0,684 / 0,066)

		Antagonista receptorów GABA A (0,620 / 0,051)
<b>12</b>	31/3	Antyalkoholowy (0,745 / 0,006) Inhibitor acyloamidazy aryloalkilowej (0,687 / 0,065) Leczenie uzależnień (0,624 / 0,030) Substrat CYP3A3 (0,608 / 0,022)
<b>13</b>	29/3	Inhibitor proteazy tiolowej (0,934 / 0,001) Przeciw dusznicy bolesnej (0,931 / 0,003) Przeciw osteoporozie (0,845 / 0,004) Leczenie chorób kości (0,732 / 0,004) Inhibitor NADPH (0,723 / 0,021)
<b>14</b>	30/3	Inhibitor proteazy tiolowej (0,930 / 0,001) Przeciw dusznicy bolesnej (0,928 / 0,003) Przeciw osteoporozie (0,812 / 0,004) Przeciw artretyzmowi (0,677 / 0,014)
<b>15</b>	30/3	Anestetyk ogólny (0,908 / 0,002) Antyneoplastyczny 0,699 / 0,029) Antyalkoholowy (0,634 / 0,019)
<b>16</b>	33/3	Leczenie uzależnień (0,743 / 0,014) Antyalkoholowy (0,704 / 0,007) Ochronny wobec układu nerwowego (0,725 / 0,031)
<b>17</b>	29/4	Karcynogeny (0,872 / 0,003) Inhibitor reduktazy ferredoksyna-NADP+ (0,684 / 0,030) Inhibitor hydrolazy epoksydowej (0,626 / 0,004) Antyalkoholowy (0,619 / 0,023)
<b>18</b>	30/4	Karcynogeny (0,852 / 0,004) Antyalkoholowy (0,734 / 0,006) Teratogeny (0,641 / 0,042) Inhibitor hydrolazy epoksydowej (0,629 / 0,004)
<b>25</b>	52/2	Inhibitor aryldialkilofosfatazy (0,725 / 0,026) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,724 / 0,053) Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,702 / 0,076) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,686 / 0,021) Fibrynolityczny (0,625 / 0,046)
<b>31</b>	53/2	Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,730 / 0,049) Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,714 / 0,065) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,658 / 0,024) Antyalkoholowy (0,610 / 0,025)
<b>32</b>	52/2	Jonotropowy (0,620 / 0,016) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,655 / 0,112) Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,656 /

		0,126)
<b>33</b>	47/2	Wywołujący wymioty (0,799 / 0,038) Regulator metabolizmu nukleotydów (0,710 / 0,014) Radiouczulający (0,670 / 0,005) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,634 / 0,014) Hepatotoksyczny (0,649 / 0,042)
<b>35</b>	48/2	Wywołujący wymioty (0,745 / 0,052) Regulator metabolizmu nukleotydów (0,670 / 0,017) Rozszerzający naczynia wieńcowe (0,667 / 0,009) Hepatotoksyczny (0,621 / 0,049)
<b>37</b>	49/2	Antagonista kanału chlorkowego (0,762 / 0,018) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,691 / 0,010) Inhibitor chymozyny (0,685 / 0,067) Inhibitor sacharopepsyny (0,685 / 0,067)
<b>38</b>	50/2	Inhibitor chymozyny (0,766 / 0,040) Inhibitor sacharopepsyny (0,766 / 0,040) Radiouczulający (0,661 / 0,005) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,659 / 0,012)
<b>39</b>	45/2	Inhibitor aryliodialkilofosfatazy (0,798 / 0,016) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,737 / 0,045) Przeciwniedokrwienny (0,654 / 0,020) Radiouczulający (0,607 / 0,008)
<b>40</b>	53/2	Inhibitor fosfatazy (0,795 / 0,022) Chroniący układ nerwowy (0,665 / 0,053)
<b>41</b>	54/2	Inhibitor fosfatazy (0,800 / 0,021) Chroniący układ nerwowy (0,753 / 0,024) Radiouczulający (0,623 / 0,007) Substrat CYP3A4 (0,633 / 0,042)
<b>42</b>	52/2	Inhibitor fosfatazy (0,801 / 0,021) Chroniący układ nerwowy (0,754 / 0,024) Substrat FMO1 (0,696 / 0,023) Radiouczulający (0,621 / 0,007)
<b>43</b>	52/2	Inhibitor aminopeptydazy prolinowej (0,886 / 0,032) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,724 / 0,053) Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,702 / 0,076) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,686 / 0,021)
<b>45</b>	54/2	Chroniący układ nerwowy (0,776 / 0,019) Inhibitor fosfatazy (0,746 / 0,034) Substrat FMO1 (0,715 / 0,018) Radiouczulający (0,622 / 0,007)
<b>46</b>	54/2	Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,716 / 0,062) Inhibitor aminopeptydazy prolinowej (0,732 / 0,096)



		Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,678 / 0,088) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,612 / 0,030)
<b>48</b>	52/2	Fibrynolityczny (0,725 / 0,020) Hamujący przepuszczalność błon (0,686 / 0,050) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,632 / 0,014) Chroniący układ nerwowy (0,668 / 0,052)
<b>49</b>	42/2	Inhibitor reduktazy NADPH (0,778 / 0,014) Stymulant transferazy (0,819 / 0,019) Substrat CYP2A1 (0,717 / 0,007) Rozszerzający naczynia wieńcowe (0,686 / 0,009)
<b>50</b>	40/1	Karcynogeny (0,933 / 0,003) Przeciwiinfekcyjny (0,819 / 0,005) Przeciwprwotniakowy (0,731 / 0,003) Cytostatyczny (0,717 / 0,007) Immunosupresyjny (0,623 / 0,016)
<b>51</b>	42/0	Karcynogeny (0,930 / 0,003) Przeciwiinfekcyjny (0,801 / 0,005) Przeciwprwotniakowy (0,695 / 0,003) Cytostatyczny (0,664 / 0,008) Immunosupresyjny (0,614 / 0,017)
<b>52</b>	38/2	Przeciwiinfekcyjny (0,827 / 0,005) Przeciwprwotniakowy (0,731 / 0,003) Karcynogeny (0,671 / 0,009) Radiouczulający (0,631 / 0,007)
<b>53</b>	39/2	Przeciwiinfekcyjny (0,827 / 0,005) Przeciwprwotniakowy (0,748 / 0,002) Radiouczulający (0,617 / 0,007) Antyalkoholowy (0,628 / 0,021)
<b>54</b>	37/2	Przeciwiinfekcyjny (0,829 / 0,005) Przeciwprwotniakowy (0,743 / 0,002) Karcynogeny (0,668 / 0,009) Radiouczulający (0,604 / 0,008)
<b>55</b>	38/2	Przeciwiinfekcyjny (0,828 / 0,005) Przeciwprwotniakowy (0,760 / 0,002) Antyalkoholowy (0,647 / 0,016)
<b>56</b>	39/0	Karcynogeny (0,911 / 0,004)
<b>57</b>	40/1	Karcynogeny (0,898 / 0,004) Antyalkoholowy (0,621 / 0,022)
<b>58</b>	43/0	Karcynogeny (0,896 / 0,004)
<b>59</b>	44/1	Karcynogeny (0,881 / 0,004) Antyalkoholowy (0,626 / 0,021)
<b>60</b>	35/2	Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,802 / 0,016)

		Radiouczulający (0,726 / 0,005) Przeciw niedotlenieniu (0,602 / 0,057)
<b>61</b>	36/2	Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,781 / 0,022) Radiouczulający (0,720 / 0,005) Antyalkoholowy (0,668 / 0,012)
<b>62</b>	34/2	Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,808 / 0,015) Radiouczulający (0,716 / 0,005) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,738 / 0,045) Rozszerzający naczynia obwodowe (0,604 / 0,031)
<b>63</b>	35/2	Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,786 / 0,021) Radiouczulający (0,710 / 0,005) Antyalkoholowy (0,692 / 0,008) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,679 / 0,087)
<b>64</b>	32/2	Antagonista receptorów GABA A (0,729 / 0,016) Antyneoplastyczny (0,717 / 0,025) Antyalkoholowy (0,659 / 0,014)
<b>65</b>	33/2	Antyalkoholowy (0,740 / 0,006) Leczenie uzależnień (0,652 / 0,026) Antagonista receptorów GABA A (0,634 / 0,045)
<b>66</b>	36/2	Antagonista receptorów GABA A (0,729 / 0,016) Antyneoplastyczny (0,682 / 0,033) Antyalkoholowy (0,660 / 0,013)
<b>67</b>	37/2	Antyalkoholowy (0,733 / 0,006) Leczenie uzależnień (0,670 / 0,024) Antagonista receptorów GABA A (0,649 / 0,040)
<b>68</b>	36/2	Inhibitor aminopeptydazy proliłowej (0,902 / 0,023) Antyneoplastyczny (0,719 / 0,024) Antagonista receptorów GABA A (0,652 / 0,039)
<b>69</b>	37/2	Inhibitor aminopeptydazy proliłowej (0,909 / 0,021) Antyalkoholowy (0,698 / 0,008) Leczenie uzależnień (0,600 / 0,035)
<b>70</b>	36/2	Inhibitor reduktazy NADPH (0,654 / 0,017) Antagonista receptorów GABA A (0,652 / 0,039) Antyneoplastyczny (0,638 / 0,047)
<b>71</b>	37/2	Leczenie uzależnień (0,740 / 0,014) Antyalkoholowy (0,698 / 0,008)
<b>72</b>	36/2	Terapia choroby Gauschera (0,803 / 0,016) Antyneoplastyczny (0,671 / 0,036) Antyalkoholowy (0,638 / 0,018)
<b>73</b>	36/2	Terapia choroby Gauschera (0,803 / 0,016) Antyalkoholowy (0,724 / 0,007)

		Miotyczny (0,608 / 0,008)
<b>74</b>	35/2	Agonista interferonu alfa (0,659 / 0,005) Antyneoplastyczny (0,673 / 0,036) Przeciw niedokrwieniu mięśnia sercowego (0,706 / 0,072)
<b>75</b>	35/2	Antyalkoholowy (0,707 / 0,007) Agonista interferonu alfa (0,674 / 0,004) Substrat CYP3A3 (0,609 / 0,022)
<b>76</b>	48/4	Inhibitor transaminazy fenyloalaninowej (0,643 / 0,033) Inhibitor acyloaminazy aryloalkilowej (0,657 / 0,077)
<b>77</b>	46/3	Antyalkoholowy (0,656 / 0,014) Inhibitor acyloaminazy aryloalkilowej (0,690 / 0,014) Leczenie uzależnień (0,625 / 0,030)
<b>78</b>	42/5	Terapia choroby Gauschera (0,984 / 0,001) Inhibitor racemazy aminokwasowej (0,992 / 0,001) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,898 / 0,007) Nootropowy (0,729 / 0,021)
<b>79</b>	43/5	Terapia choroby Gauschera (0,984 / 0,001) Inhibitor acyloaminazy aryloalkilowej (0,918 / 0,001) Wzmacniający układ sercowo-naczyniowy (0,885 / 0,008) Nootropowy (0,769 / 0,008) Antyalkoholowy (0,684 / 0,029)
<b>80</b>	51/2	Drgawkotwórczy (0,789 / 0,022) Przeciwbakteryjny (0,738 / 0,006) Antybiotyk (0,631 / 0,007)
<b>81</b>	50/2	Przeciwbakteryjny (0,778 / 0,006) Drgawkotwórczy (0,779 / 0,024) Antybiotyk (0,662 / 0,006)
<b>82</b>	40/1	Przeciwinfekcyjny (0,812 / 0,005) Radiouczulający (0,738 / 0,004) Przeciwpierwotniakowy (0,720 / 0,005) Karcynogeny (0,665 / 0,009)
<b>83</b>	41/1	Przeciwinfekcyjny (0,838 / 0,004) Przeciwpierwotniakowy (0,783 / 0,005) Radiouczulający (0,713 / 0,005) Antyalkoholowy (0,710 / 0,007)
<b>84</b>	43/1	Przeciwinfekcyjny (0,806 / 0,005) Radiouczulający (0,729 / 0,005) Przeciwpierwotniakowy (0,701 / 0,006) Karcynogeny (0,612 / 0,011)
<b>85</b>	44/1	Przeciwinfekcyjny (0,832 / 0,005) Przeciwpierwotniakowy (0,761 / 0,005) Antyalkoholowy (0,708 / 0,007)

		Radiouczulający (0,701 / 0,006) Drgawkotwórczy (0,618 / 0,084)
<b>86</b>	44/1	Inhibitor aminopeptydazy proliłowej (0,864 / 0,043) Przeciwiinfekcyjny (0,821 / 0,005) Radiouczulający (0,729 / 0,005) Przeciwpierwotniakowy (0,691 / 0,003)
<b>87</b>	45/1	Przeciwiinfekcyjny (0,843 / 0,004) Inhibitor aminopeptydazy proliłowej (0,875 / 0,038) Przeciwpierwotniakowy (0,741 / 0,002) Radiouczulający (0,703 / 0,006) Antyalkoholowy (0,671 / 0,011)
<b>88</b>	44/1	Przeciwiinfekcyjny (0,825 / 0,005) Radiouczulający (0,728 / 0,005) Przeciwpierwotniakowy (0,695 / 0,006)
<b>89</b>	45/1	Przeciwiinfekcyjny (0,845 / 0,004) Przeciwpierwotniakowy (0,744 / 0,002) Radiouczulający (0,700 / 0,006) Antyalkoholowy (0,671 / 0,011) Drgawkotwórczy (0,627 / 0,078)
<b>90</b>	43/1	Przeciwiinfekcyjny (0,797 / 0,005) Radiouczulający (0,736 / 0,004) Przeciwpierwotniakowy (0,706 / 0,003)
<b>91</b>	43/1	Przeciwiinfekcyjny (0,830 / 0,005) Przeciwpierwotniakowy (0,776 / 0,005) Radiouczulający (0,716 / 0,005) Antyalkoholowy (0,706 / 0,007) Drgawkotwórczy (0,625 / 0,080)
<b>92</b>	42/1	Przeciwiinfekcyjny (0,779 / 0,006) Radiouczulający (0,733 / 0,004) Przeciwpierwotniakowy (0,692 / 0,003)
<b>93</b>	42/1	Przeciwiinfekcyjny (0,819 / 0,005) Przeciwpierwotniakowy (0,759 / 0,005) Radiouczulający (0,710 / 0,005) Antyalkoholowy (0,710 / 0,007)
<b>94</b>	39/2	Terapia choroby Gauschera (0,642 / 0,055) Antyneoplastyczny (0,600 / 0,062)
<b>95</b>	39/2	Inhibitor hydrolazy (0,753 / 0,014) Antymetastatyczny (0,767 / 0,030) Stymulant transferazy (0,741 / 0,135)
<b>96</b>	42/2	Antymetastatyczny (0,802 / 0,020) Inhibitor hydrolazy (0,724 / 0,025) Terapia chorób proliferacyjnych (0,682 / 0,016)
<b>97</b>	42/2	Antymetastatyczny (0,778 / 0,026) Inhibitor hydrolazy (0,714 / 0,030) Terapia chorób proliferacyjnych (0,652 / 0,024)

<b>98</b>	47/3	Antymetastatyczny (0,803/ 0,019) Terapia zapalenia błony śluzowej jamy ustnej (0,698 / 0,047) Terapia chorób proliferacyjnych (0,632 / 0,031)
<b>99</b>	48/3	Antymetastatyczny (0,782/ 0,025)
<b>100</b>	45/2	Terapia chorób proliferacyjnych (0,830 / 0,003) Antymetastatyczny (0,763/ 0,031) Inhibitor hydrolazy (0,719 / 0,028)
<b>101</b>	46/2	Terapia chorób proliferacyjnych (0,821 / 0,003) Antymetastatyczny (0,736/ 0,041) Inhibitor hydrolazy (0,713 / 0,031)
<b>102</b>	56/2	Terapia chorób proliferacyjnych (0,824 / 0,003) Inhibitor peptydazy procesów mitochondrialnych (0,688 / 0,015) Antymetastatyczny (0,666/ 0,072)
<b>103</b>	57/2	Terapia chorób proliferacyjnych (0,816 / 0,003) Antymetastatyczny (0,631/ 0,091)
<b>104</b>	45/1	Hipertermiczny (0,922 / 0,008) Przeciwpirotniakowy (0,834 / 0,003) Hepatotoksyczny (0,703 / 0,032) Przeciwwirusowy (0,677 / 0,038)
<b>105</b>	48/1	Hipertermiczny (0,900 / 0,010) Przeciwpirotniakowy (0,718 / 0,004) Antymetastatyczny (0,703/ 0,054)
<b>106</b>	57/1	Hipertermiczny (0,913 / 0,009) Przeciwpirotniakowy (0,618 / 0,005) Radiouczulający (0,619 / 0,007)

Podczas testowania otrzymanych związków system wykorzystywał od 26 do 57 deskryptorów. Większość substancji charakteryzowana była przez 2 do 5 nowych deskryptorów. W wielu przypadkach program *PASS C&T* z około 70% prawdopodobieństwem przewidywał pojawienie się aktywności przeciwalkoholowej. Dotyczyło to głównie związków z szeregu nitroimidazodihydrooksazoli (**7-18**). Analizując wyniki dla pozostałych grup substancji, zauważono, że pojawienie się tej aktywności związane było z obecnością grupy metylowej w pozycji C-2 pierścienia imidazolowego. Rezultaty otrzymane tą drogą zachęciły do przeprowadzenia testów przeciwalkoholowych metodą *in vivo* dla dwóch wybranych substancji o wysokim prawdopodobieństwie wystąpienia takiego działania. Obecnie badania te są w trakcie realizacji.

Zauważono ponadto, że program *PASS C&T* nie prognozował pojawienia się aktywności przeciwgruźliczej, spodziewanej zwłaszcza dla pochodnych nitroimidazolu o budowie bicyklicznej skondensowanej, ze względu na bliskie pokrewieństwo strukturalne ze znanymi substancjami przeciwprątkowymi, takimi jak CGI-17341 oraz PA-824. Brak działania tuberkulostatycznego tych związków został potwierdzony metodą *in vitro*. Świadczyć to może o dużej skuteczności programu *PASS C&T*.

Ponadto obecnie trwają badania aktywności przeciwgrzybiczej dla kilkunastu spośród otrzymanych substancji, stąd na razie nie jest możliwe porównanie wyników doświadczalnych z danymi otrzymanymi metodą komputerową. Program *PASS C&T* nie prognozował w sposób bezpośredni pojawienia się tej aktywności wśród testowanych pochodnych.

#### **8.6. Ocena aktywności przeciwgruźliczej wybranych, bicyklicznych skondensowanych pochodnych nitroimidazolu w badaniach *in vitro***

Niektóre spośród otrzymanych w tej pracy związków poddano analizie w warunkach *in vitro* celem ustalenia poziomu ich aktywności tuberkulostatycznej wobec *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, *M. BCG.*, *M. avium* oraz dwóch szczepów wyizolowanych od pacjentów: szczepu 1676 opornego wobec izoniazydu oraz szczepu 456 opornego wobec izoniazydu i ryfampicyny (RMP) [123]. Badania zostały przeprowadzone w Zakładzie Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie. Zastosowana tam metoda polegała na sporządzeniu roztworów badanych substancji o dziewięciu stężeniach: 0,035; 0,07; 0,15; 0,3; 0,6; 1,2; 2,5; 5 i 10 µg/ml. Związki rozpuszczane były w płynnej pożywce Youmansa 10 % z dodatkiem surowicy OADC (Oleic Acid Albumin Dextrose Complex). Aktywność przeciwprątkową określano wobec wzorców: izoniazydu (INH) oraz pochodnej nitroimidazodihydroooksazolu CGI-17341. Wzrost szczepów mykobakterii kontrolowano po dwudziestu jeden dniach. Najniższe stężenie badanej substancji, przy którym nie stwierdzano wzrostu szczepów bakteryjnych, stanowiło wartość MIC (Minimal Inhibitory Concentration – Minimalne Stężenie Hamujące). Otrzymane wyniki zestawiono w **Tabeli 11**.

**Tabela 11.** Aktywność przeciwgruźlicza wybranych pochodnych nitroimidazolu wyrażona jako MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

Nr związku	Myc. tbc. H <sub>37</sub> R <sub>v</sub>	Myc. BCG	Myc. avium	Myc. tbc. 456 (op. INH, RMP)	Myc. tbc. 1676 (op. INH)
<b>7</b>	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0
<b>8</b>	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0
<b>17</b>	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0
<b>18</b>	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0
<b>CGI-17341</b>	0,15	1,2	>10,0	5,0	>10,0
<b>INH</b>	0,3	>10,0	>10,0	>10,0	>10,0

W efekcie przeprowadzonych badań biologicznych stwierdzono brak aktywności tuberkulostatycznej testowanych pochodnych nitroimidazolu w zastosowanych stężeniach.

W drugiej serii badań, analizie aktywności tuberkulostatycznej poddano wybrane związki z grupy pochodnych nitroimidazo-tetrahydropiryminy (**64, 65, 74-81, 100, 101**). Badano działanie przeciwprątkowe wobec pięciu szczepów bakteryjnych *M. tuberculosis*: wzorcowego H<sub>37</sub>R<sub>v</sub> oraz wielolekoopornych: 2441, 5318, 9656 i 14023. Zastosowano metodę analogiczną do wyżej opisanej, z tą różnicą, że roztwory substancji sporządzono w pięciu stężeniach (1,56; 3,12; 6,25; 12,5 i 25,0  $\mu\text{g/ml}$ ), a nie jak dotychczas, w dziewięciu. Wzrost szczepów mykobakterii kontrolowano po siedmiu i czternastu dniach. Otrzymane wyniki zestawiono w **Tabeli 12**.

**Tabela 12.** Aktywność przeciwgruźlicza wybranych związków z grupy nitroimidazotetrahydropirydyn wyrażona jako MIC ( $\mu\text{g/ml}$ )

Nr związku	Myc. tbc. H <sub>37</sub> R <sub>v</sub>	Myc. tbc. 2441 (op. SM, INH, RMP)	Myc. tbc. 5318 (op. SM, INH, RMP, EMB)	Myc. tbc. 9656 (op. SM, INH, RMP)	Myc. tbc. 14023 (op. SM, INH, RMP)
64	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
65	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
74	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
75	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
76	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
77	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
78	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
79	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
80	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
81	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
100	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0
101	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0	>25,0

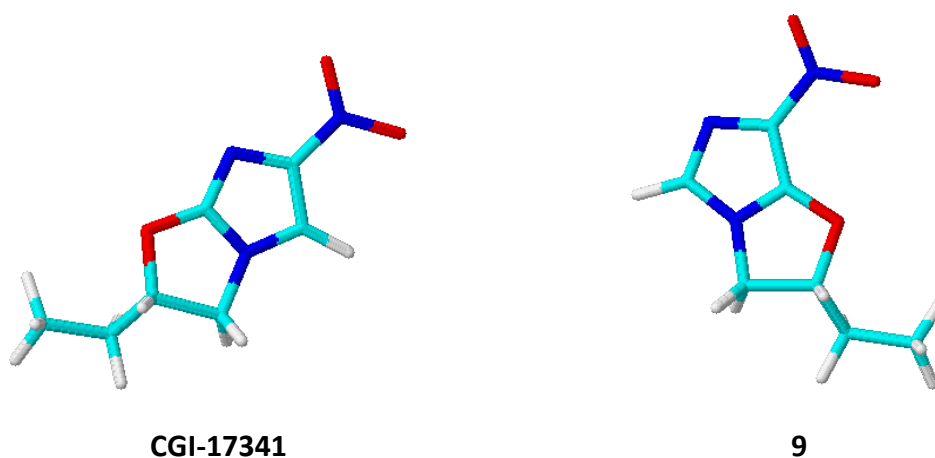
Powyższe wyniki wskazują, że badane substancje w stężeniu 25  $\mu\text{g/ml}$  nie wywierają działania hamującego wzrost prątków w zastosowanym modelu doświadczalnym.

Aby wyjaśnić otrzymane rezultaty, wykorzystując program PC GAMESS 7.0 [124], przeprowadzono analizę przestrzenną dwóch cząsteczek nitroimidazodihydrooksazolu, z których jedna jest substancją o poznanej działaniu przeciwprątkowym (CGI-17341), a drugą stanowi jej izomer (związek 9). Obliczenia odległości międzyatomowych zostały przeprowadzone dla konformacji o najniższej energii. Porównanie obu cząsteczek wykazało podobieństwa w odległościach pomiędzy atomem tlenu



pierścienia oksazolu i grupą  $-CH_3$  łańcucha alkilowego (**Tabela 13**). Jednak odległości pomiędzy grupą nitrową i łańcuchem alkilowym oraz grupą  $-NO_2$  i atomem tlenu pierścienia oksazolu różniły się istotnie. Możliwe, że orientacja przestrzenna związku **9** oraz strukturalnie zbliżonego **7** zaburzała możliwość prawidłowego utworzenia się kompleksu typu „gość - gospodarz” z receptorem. Prawdopodobnie była to jedna z przyczyn braku aktywności tuberkulostatycznej testowanych substancji.

**Tabela 13.** Analiza przestrzenna związków CGI-17341 oraz jego izomeru **9**

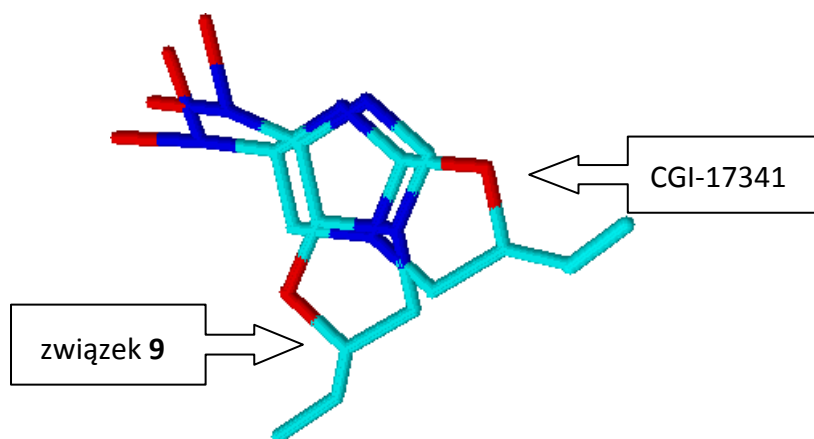


Odległości międzyatomowe:

	<b>CGI-17341</b>	<b>9</b>
$NO_2 - O$ (z pierścienia oksazolu)	4,5140 Å	3,0355 Å
$NO_2 - CH_3$	7,1154 Å	5,6678 Å
$O$ (z pierścienia oksazolu) - $CH_3$	2,7071 Å	2,8154 Å

Znaczenie odpowiedniego usytuowania przestrzennego podkreśla obraz, jaki otrzymuje się po nałożeniu struktur obu cząsteczek na siebie (**Rysunek 18**). Przy równolegle ułożonych pierścieniach nitroimidazolowych, wyraźnie ujawniają się różnice w orientacji przestrzennej atomów pierścieni dihydroksazolowych. Szczególnie dotyczy to położenia atomu tlenu, ze względu na możliwość tworzenia wiązań wodorowych oraz podstawnika alkilowego. Prawdopodobnie, przestrzenne rozmieszczenie tych dwóch elementów determinuje pojawienie się efektu tuberkulostatycznego. Związki nawet o bardzo rozbudowanym podstawniku w pierścieniu oksazolowym, skondensowanym w pozycji 1,2, wykazują silne działanie tuberkulostatyczne. Zmiana sposobu kondensacji tych pierścieni działanie to praktycznie zupełnie niweczy.

**Rysunek 18.** Orientacja przestrzenna pierścieni dihydroksazolowych w związku **9** i CGI-17341.



### 8.7. Ocena aktywności przeciwalkoholowej wybranych pochodnych nitroimidazolu w badaniach *in vivo*

Do pomiaru działania przeciwalkoholowego zaproponowano dwie pochodne nitroimidazolu: 2,5-dimetylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroksazol (**8**) oraz 3-piperydino-1-(2-metylo-4-nitro-5-piperydinoimidazol-1-ilo)propan-2-ol (**63**). Zaprojektowane badania polegają na podaniu szczurom dożołądkowo analizowanego związku w dawce 200 mg/kg, a następnie aplikowaniu 1,0 g/kg 20% roztworu etanolu. Po czasie 3 godzin mierzy się

poziom alkoholu oraz aldehydu octowego we krwi obwodowej szczurów metodą chromatografii gazowej. Badania te są w trakcie realizacji.

#### **8.8. Ocena aktywności przeciwgrzybiczej wybranych pochodnych nitroimidazolu w badaniach *in vitro***

Działanie przeciwgrzybicze dla kilkunastu zsyntezowanych pochodnych nitroimidazolu szacowane jest za pomocą metody dyfuzyjno-krążkowej (metoda Kirby-Bauera). Oparta jest ona na dyfuzji antybiotyku zawartego w krążku do podłoża. Antybiotyk dyfunduje promieniście, tworząc gradient stężeń. Największa jego koncentracja występuje przy brzegach krążka i spada wraz z odległością od krążka. Wielkość strefy zahamowania wzrostu bakterii jest wprost proporcjonalna do stopnia wrażliwości bakterii na antybiotyk - im większa jest strefa zahamowania, tym bakteria jest bardziej wrażliwa. W zależności od wielkości strefy, bakterie określa się jako: wrażliwe, średnio wrażliwe lub odporne na podstawie przyjętych standardów. Badania te są w trakcie realizacji.

## 9. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

### 9.1. Część ogólna

Przebieg reakcji oraz jednorodność otrzymanych związków badano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) na płytkach pokrytych żelalem krzemionkowym Kieselgel 60F<sub>254</sub> DC-Alufolien firmy MERCK®. Jako fazy rozwijającej używano mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH w stosunku objętościowym 9:1, a w niektórych przypadkach 1:1. Położenie plam analizowanych produktów na chromatogramach ustalono obserwując płytki w świetle UV o długości fali  $\lambda=254$  nm. Chromatografię preparatywną (CC) wykonano metodą grawitacyjną na kolumnach chromatograficznych o długości 30 cm i średnicy wewnętrznej 1,5 do 2,0 cm, względnie o długości 20 cm i średnicy wewnętrznej 1,0 cm, stosując żel krzemionkowy do chromatografii kolumnowej 70-230 Mesh firmy ALDRICH®. Temperatury topnienia otrzymanych produktów zmierzono w otwartych kapilarach przy użyciu aparatu Boetiusa i podano bez korekty dla warunków pomiaru. Widma magnetycznego rezonansu protonowego (<sup>1</sup>H NMR) oraz węglowego (<sup>13</sup>C NMR) wykonano w DMSO-d<sub>6</sub>, (ewentualnie DMSO-d<sub>6</sub> z dodatkiem D<sub>2</sub>O), wobec wzorca wewnętrznego - tetrametylosilanu (TMS), przy użyciu spektrometru Varian Gemini 300 VT (odpowiednio 300MHz i 75MHz). Wartości przesunięć chemicznych ( $\delta$ ) podano z dokładnością  $\pm 0,01$  ppm. Stałe sprzężenia podano w Hz. Widma masowe MS i HRMS rejestrowano na aparatach AMD 402, AMD 404 oraz AMD 406 i AMD 604 metodą EI oraz w kilku przypadkach metodą LSIMS, co zostało zaznaczone.

W części doświadczalnej pracy zamieszczono opisy tych doświadczeń, które przyniosły pozytywne wyniki, pominięto natomiast opisy doświadczeń różniących się jedynie proporcjami użytych substratów i prowadzących do wyników identycznych z innymi, opisanymi wcześniej. Pełną analizę spektralną, wzbogaconą niekiedy o analizę krystalograficzną, przeprowadzono dla wybranych reprezentatywnych związków spośród otrzymanych w poszczególnych etapach badań. Pozostałe analizowano w zakresie niezbędnym do ich jednoznacznej identyfikacji.

## 9.2. Syntezy substratów (3-6)

### 4(5)-Nitroimidazol (3)

W kolbie o pojemności 500 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i wkraplacz, chłodząc oraz równocześnie mieszając, rozpuszczono 68,1 g (1,0 mol) imidazolu w 135 ml 65% HNO<sub>3</sub> (d=1,4 g/ml). Następnie dodano powoli z wkraplacza 135 ml stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1,84 g/ml). Po zakończeniu egzotermicznej reakcji ogrzewano powstały roztwór 2 godziny w temperaturze łagodnego wrzenia. Następnie ochłodzono i wylano do około 2,7 litra wody z lodem. Wydzielony osad odsączono i przemyto zimną wodą.

W wyniku reakcji otrzymano 69,5 g (61% wydajności teoretycznej) produktu w postaci drobnokrystalicznego, białego osadu o t.t.=310-312°C (R), (lit.[125]: 312-313°C)

### 2-Metylo-4(5)-nitroimidazol (4)

W kolbie o pojemności 500 ml zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i wkraplacz, chłodząc oraz równocześnie mieszając, rozpuszczono 82,1 g (1,0 mol) 2-metyloimidazolu w 135 ml 65% HNO<sub>3</sub> (d=1,4 g/ml). Następnie dodano powoli z wkraplacza 135 ml stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1,84 g/ml). Po zakończeniu egzotermicznej reakcji ogrzewano powstały roztwór 2 godziny w temperaturze łagodnego wrzenia. Następnie ochłodzono i wylano do około 2,7 litra wody z lodem. Wydzielony osad odsączono i przemyto zimną wodą. Uzyskano 70,9 g produktu (56% wydajności teoretycznej), który po krystalizacji z wody tworzy niemal białe igły o t.t. 253-254°C (R), (lit.[125]: 254°C).

### 4,5-Dinitroimidazol (5)

W kolbie o pojemności 250 ml zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, zawierającej 22,5 ml dymiącego HNO<sub>3</sub> (d=1,5 g/ml), chłodząc, rozpuszczono 14,7 g (0,13 mola) 4(5)-nitroimidazolu. Następnie, zachowując niską temperaturę, z wkraplacza dodano ostrożnie porcjami 33 ml stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Powstały roztwór ogrzewano około 20 minut, utrzymując go w stanie

silnego, a następnie przez około 190 minut w stanie słabego wrzenia. Po zakończeniu reakcji ochłodzono mieszaninę do temperatury pokojowej i powoli wylano do 300 ml zimnej wody (bez lodu). Roztwór przybrał barwę zielonkawą co świadczyło o pozytywnym przebiegu reakcji. W czasie kilkunastu godzin wydzielił się żółty osad, który odsączono na lejku Büchnera i przemyto zimną wodą. Otrzymany surowy produkt (8,5 g; 41,5% wydajności teoretycznej) odsączono i oczyszczono przez krystalizację z wody.

Po krystalizacji otrzymano 7,6 g (37% wydajności teoretycznej) osadu w postaci grubych, żółtych igieł o t.t.=185-187°C, (lit.[17]: 187-188°C).

### 2-Metylo-4,5-dinitroimidazol (6)

W kolbie o pojemności 250 ml zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, zawierającej 22,5 ml dymiącego HNO<sub>3</sub> (d=1,5 g/ml), chłodząc, rozpuszczono 16,5 g (0,13 mola) 4(5)-nitroimidazolu. Następnie, zachowując niską temperaturę, z wkraplacza dodano ostrożnie porcjami 37,4 ml stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Powstały roztwór ogrzewano około 20 minut, utrzymując go w stanie silnego, a następnie przez około 190 minut w stanie słabego wrzenia. Po zakończeniu reakcji ochłodzono mieszaninę do temperatury pokojowej i powoli wylano do 300 ml zimnej wody (bez lodu). Roztwór przybrał barwę zielonkawą co świadczyło o pozytywnym przebiegu reakcji. W czasie kilkunastu godzin wydzielił się żółty osad, który odsączono na lejku Büchnera i przemyto zimną wodą. Otrzymany surowy produkt (15,0 g; 84% wydajności teoretycznej) odsączono i oczyszczono przez krystalizację z wody.

Uzyskano 12,6 g czystego 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu (70,2% wydajności teoretycznej) w postaci grubych, żółtych igieł o t.t.= 207-208°C, (lit.[17]: 207-208°C).

### **9.3. Syntezy nitroimidazodihydrooksazoli (7-18)**

#### Metoda otrzymywania związków 7, 9, 11

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml zmieszano 1,6 g (10 mmoli) 4,5-dinitroimidazolu (5), 30 mmoli odpowiedniej pochodnej oksiranu i 10 ml etanolu, a następnie dodano 1,35 g (10 mmoli) bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny, po czym wylano do około 100 ml wody i odstawiono na kilkanaście godzin. Jeśli w tym czasie nie wydzielił się osad, roztwór ekstrahowano trzykrotnie chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty organiczne osuszono bezwodnym  $MgSO_4$  i oddestylowano rozpuszczalnik przy pomocy rotacyjnej wyparki próżniowej. Ciemnopomarańczową stałą pozostałość krystalizowano z  $H_2O$  z dodatkiem węgla aktywowanego.

#### 2-Metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (7)

Do reakcji użyto 2,1 ml 1,2-epoksypropanu. Otrzymano 0,63 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (37% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 141-143°C,  $R_f = 0,66$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR  $\delta$  (ppm): 7,43 (s, 1H, Im), 5,90-5,78 (m, 1H, CH-O), 4,51 (dd,  $J = 8,2$ ; 10,2 Hz, 1H, N- $CH_2$ ), 4,00 (dd,  $J = 7,9$ ; 10,3 Hz, 1H, N- $CH_2$ ), 1,62 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H,  $CH_3$ );

$^{13}C$  NMR  $\delta$  (ppm): 151,1 (C-5 Im), 135,6 (C-4 Im), 124,9 (C-2 Im), 91,9 (CH-O), 49,4 (N- $CH_2$ ), 19,7 ( $CH_3$ );

MS  $m/z$  (%): 169,0  $M^+$  (83,7);

HRMS (ES): obliczone dla  $C_6H_7O_3N_3$ : 169,04874, znaleziono: 169,04848.

#### 2-Etylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (9)

Do reakcji użyto 2,6 ml 1,2-epoksybutanu. Otrzymano 0,32 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (17% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 162-163°C,  $R_f = 0,74$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR  $\delta$  (ppm): 7,45 (s, 1H, Im), 5,75-5,65 (m, 1H, CH-O), 4,54 (dd,  $J = 8,1$ ; 10,1 Hz, 1H, N- $CH_2$ ), 4,00 (dd,  $J = 8,1$ ; 10,0 Hz, 1H, N- $CH_2$ ), 2,06-1,87 (m, 2H,  $CH_2CH_3$ ), 1,00 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H,  $CH_2CH_3$ );

$^{13}C$  NMR  $\delta$  (ppm): 151,3 (C-5 Im), 133,2 (C-4 Im), 120,4 (C-2 Im), 96,8 (CH-O), 46,6 (N- $CH_2$ ), 26,8 ( $CH_2CH_3$ ), 8,7 ( $CH_2CH_3$ );

MS  $m/z$  (%): 183,3  $M^+$  (11,8);

HRMS (ES): obliczone dla  $C_7H_9O_3N_3$ : 183,16046, znaleziono: 183,16088.

### 2-Fenilo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (11)

Do reakcji użyto 3,7 ml tlenku styrenu. Otrzymano 0,61 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (26% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 137-139°C,  $R_f = 0,48$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR δ (ppm): 7,52-7,28 (m, 6H, Ph (5H), Im C-2 (1H)), 5,93 (dd,  $J = 6,1; 8,5$  Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 5,77 (t,  $J = 8,8$  Hz, 1H, CH-O), 5,24 (dd,  $J = 6,0; 9,2$  Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>);

<sup>13</sup>C NMR δ (ppm): 151,2 (C-5 Im), 144,1 (Ph), 132,8 (C-4 Im), 130,4 (Ph), 128,5 (Ph), 121,3 (C-2 Im), 111,8 (Ph), 95,1 (CH-O), 46,6 (N-CH<sub>2</sub>);

MS  $m/z$  (%): 231,0 M<sup>+</sup> (50,2);

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>: 231,20746, znaleziono: 231,20767.

### Metoda otrzymywania związków 8, 10, 12

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml zmieszano 1,7 g (10 mmoli) 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu (6), 30 mmoli odpowiedniej pochodnej oksiranu i 10 ml *n*-propanolu, a następnie dodano 1,35 g (10 mmoli) bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny, po czym wylano do około 100 ml wody i odstawiono na kilkanaście godzin. Jeśli w tym czasie nie wydzielił się osad, roztwór ekstrahowano trzykrotnie chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty organiczne osuszono bezwodnym MgSO<sub>4</sub> i oddestylowano rozpuszczalnik przy pomocy rotacyjnej wyparki próżniowej. Ciemnopomarańczową stałą pozostałość krystalizowano z H<sub>2</sub>O z dodatkiem węgla aktywowanego.

### 2,5-Dimetylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (8)

Do reakcji użyto 2,1 ml 1,2-epoksypropanu. Otrzymano 0,62 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (34% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 130-131°C,  $R_f = 0,68$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR δ (ppm): 5,89-5,78 (m, 1H, CH-O), 4,42 (dd,  $J = 8,0; 9,9$  Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,93 (dd,  $J = 7,7; 10,0$  Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 2,20 (s, 3H, CH<sub>3</sub> przy C-2 Im), 1,60 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub>, Oks);



$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  (ppm): 151,2 (C-5 Im), 133,2 (C-4 Im), 120,7 (C-2 Im), 92,1 (CH-O), 48,4 (N-CH<sub>2</sub>), 19,9 (CH<sub>3</sub> Oks), 13,0 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im);

MS  $m/z$  (%): 183,1 M<sup>+</sup> (43,4);

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>: 183,16046, znaleziono: 183,16107.

### 2-Etylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (10)

Do reakcji użyto 2,6 ml 1,2-epoksybutanu. Otrzymano 0,64 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (33% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 91-92°C, R<sub>f</sub> = 0,77 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  (ppm): 5,74-5,64 (m, 1H, CH-O), 4,40 (dd,  $J$  = 8,1; 10,0 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 4,01 (dd,  $J$  = 7,8; 10,0 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 2,21 (s, 3H, CH<sub>3</sub> przy C-2 Im), 2,04-1,86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0,98 (t,  $J$  = 7,4 Hz, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  (ppm): 151,2 (C-5 Im), 133,2 (C-4 Im), 120,6 (C-2 Im), 96,4 (CH-O), 46,6 (N-CH<sub>2</sub>), 26,8 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 13,0 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im), 8,7 (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>);

MS  $m/z$  (%): 197,0 M<sup>+</sup> (23,0);

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>: 197,08005, znaleziono: 197,08031.

### 2-Fenylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (12)

Do reakcji użyto 3,7 ml tlenku styrenu. Otrzymano 0,64 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (26% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 138-140°C, R<sub>f</sub> = 0,68 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR  $\delta$  (ppm): 7,51-7,27 (m, 5H, Ph), 5,92 (dd,  $J$  = 6,1; 8,4 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 5,76 (t,  $J$  = 8,8 Hz, 1H, CH-O), 5,22 (dd,  $J$  = 6,0; 9,1 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 1,86 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR  $\delta$  (ppm): 151,2 (C-5 Im), 144,6 (Ph), 133,2 (C-4 Im), 130,5 (Ph), 128,6 (Ph), 120,6 (C-2 Im), 112,1 (Ph), 96,4 (CH-O), 46,6 (N-CH<sub>2</sub>), 13,0 (CH<sub>3</sub>);

MS  $m/z$  (%): 245,0 M<sup>+</sup> (52,4);

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>: 245,23404, znaleziono: 245,23435.

Metoda otrzymywania związków: 2-bromometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazolu (13) i 2-bromometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazolu (14)

W kolbie okrągłodennej zmieszano 10 mmoli odpowiedniego dinitroimidazolu, 2,4 ml (30 mmoli) epibromohydryny i 20 ml etanolu lub *n*-propanolu, a następnie dodano 1,4 g (10 mmoli) bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 25 minut, po czym wylano do około 100 ml wody i odstawiono na kilkanaście godzin. Wydzielony surowy ciemnobrązowy produkt odsączono i przemyto zimną wodą, a następnie przekrystalizowano z 40% etanolu z dodatkiem węgla aktywowanego.

2-Bromometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazol (13)

Do reakcji użyto 1,6 g związku 5. Otrzymano 2,0 g ciemnobrązowego surowego produktu (80% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 40% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 155-157°C, R<sub>f</sub> = 0,60 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR δ (ppm): 7,45 (s, 1H, Im), 6,05-5,97 (m, 1H, CH-O), 4,54 (dd, *J* = 8,9; 10,7 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 4,18-3,99 (m, 3H, N-CH<sub>2</sub> (1H), CH<sub>2</sub>Br (2H));

<sup>13</sup>C NMR δ (ppm): 151,0 (C-5 Im), 124,9 (C-4 Im), 121,5 (C-2 Im), 92,2 (CH-O), 47,3 (N-CH<sub>2</sub>), 34,1 (CH<sub>2</sub>Br);

MS *m/z* (%): 247,0 M<sup>+</sup> (53,9);

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>Br: 246,95926, znaleziono: 246,96008.

2-Bromometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazol(14)

Do reakcji użyto 1,7 g związku 6. Otrzymano 2,4 g ciemnobrązowego surowego produktu (93% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 40% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 162-165°C, R<sub>f</sub> = 0,43 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ (ppm): 6,04-5,96 (m, 1H, CH-O), 4,53 (dd, *J* = 8,9; 10,7 Hz, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 4,20-3,99 (m, 3H, N-CH<sub>2</sub> (1H), CH<sub>2</sub>Br (2H)), 2,23 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

<sup>13</sup>C NMR δ (ppm): 151,0 (C-5 Im), 124,8 (C-4 Im), 121,5 (C-2 Im), 92,4 (CH-O), 47,3 (N-CH<sub>2</sub>), 34,2 (CH<sub>2</sub>Br), 13,0 (CH<sub>3</sub>);

MS *m/z* (%): 261,0 M<sup>+</sup> (62,4);

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>Br: 260,97491, znaleziono: 260,97425.

### Otrzymywanie 2-izopropoksymetylo-7-nitroimidazodihydrooksazoli (15, 16)

W kolbie stożkowej o pojemności 50 ml mieszano 10 mmoli odpowiedniego dinitroimidazolu, 3,8 ml (30 mmoli) 3-izopropoksy-1,2-epoksypropanu oraz 1,4 g (10 mmoli) bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Synteza przebiegała bez udziału rozpuszczalnika. Całość pozostawiono w temperaturze pokojowej na 2 do 5 dni, po czym dodano około 20 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście godzin. Wydzielony surowy jasnobrązowy produkt odsączono i przemyto zimną wodą, a następnie przekrystalizowano z wody.

### 2-Izopropoksymetylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (15)

Do reakcji użyto 1,6 g związku **5**. Otrzymano 0,6 g jasnobrązowego surowego produktu (26% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 118-119°C, R<sub>f</sub> = 0,66 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);  
<sup>1</sup>H NMR: δ (ppm): 7,43 (s, 1H, Im), 5,79-5,87 (m, 1H, CH-O Oks), 4,41-4,47 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 4,10-4,16 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,60-3,86 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-O łańcuch (2H), CH-O łańcuch (1H)), 1,05-1,10 (m, 6H, 2x CH<sub>3</sub>);  
<sup>13</sup>C NMR δ (ppm): 151,4 (C-5 Im), 124,8 (C-4 Im), 93,6 (C-2 Im), 71,7 (CH-O), 67,3 (N-CH<sub>2</sub>), 44,8 (O-CH łańcuch), 21,9 (CH<sub>2</sub>-O łańcuch), 21,8 (OCH(C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)<sub>2</sub>);  
MS *m/z* (%): 227,1 M<sup>+</sup> (79,6).

### 2-Izopropoksymetylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazol (16)

Do reakcji użyto 1,7 g związku **6**. Otrzymano 0,2 g jasnobrązowego surowego produktu (8% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać bezbarwnych cienkich igieł o t.t. 72-74°C, R<sub>f</sub> = 0,71 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);  
<sup>1</sup>H NMR: δ (ppm): 5,80-5,88 (m, 1H, CH-O Oks), 4,34-4,41 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 4,04-4,10 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,59-3,85 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-O łańcuch (2H), CH-O łańcuch (1H)), 2,22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,07-1,11 (m, 6H, 2x CH<sub>3</sub>);  
<sup>13</sup>C NMR δ (ppm): 151,6 (C-5 Im), 133,2 (C-4 Im), 93,8 (C-2 Im), 71,8 (CH-O), 67,3 (N-CH<sub>2</sub>), 43,9 (O-CH łańcuch), 21,9 (CH<sub>2</sub>-O łańcuch), 21,8 (OCH(C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>)<sub>2</sub>), 12,9 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im);  
MS *m/z* (%): 241,1 M<sup>+</sup> (84,9)

Otrzymywanie 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazolu (17) i 2-chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazolu (18)

2-Chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazol (17)

W kolbie okrągłodennej zmieszano 3,2 g (20 mmoli) 4,5-dinitroimidazolu, 4,8 ml epichlorohydryny (60 mmoli) i 20 ml etanolu, a następnie dodano 2,0 g (15 mmoli) bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 25 minut, po czym wylano do około 60 ml wody i odstawiono na kilkanaście godzin. Wydzielony surowy produkt odsączono, a następnie przekrystalizowano z H<sub>2</sub>O. Otrzymano 1,3 g (32% wydajności teoretycznej) kremowego osadu o t.t.=147-148°C, (lit.[23]: 147-149°C).

2-Chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydroooksazol (18)

W kolbie okrągłodennej zmieszano 3,4 g (20 mmoli) 2-metylo-4,5-dinitroimidazolu, 3,2 ml (40 mmoli) epichlorohydryny i 10 ml etanolu, a następnie dodano 1,4 g (10 mmoli) bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 15 minut, po czym wylano do około 60 ml wody i odstawiono na kilkanaście godzin. Wydzielony surowy produkt odsączono, a następnie przekrystalizowano z H<sub>2</sub>O. Otrzymano 0,9 g (21% wydajności teoretycznej) jasnokremowego osadu o t.t.=151-152°C, (lit.[23]: 152-154°C).

**9.4. Synteza 3-fenoksy-1-(5-alkoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-oli (19-49)**

Metoda ogólna otrzymywania związków 19-49

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml zmieszano 0,84 mmola odpowiedniego nitroimidazodihydroooksazolu (17) lub (18), 1,68 mmola odpowiedniego fenolu oraz 10 ml alkoholu I lub II-rzędowego. Do otrzymanej mieszaniny dodano następnie 0,22 g (1,68 mmola) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość utrzymywano w temperaturze wrzenia przez 1 godzinę. Po ochłodzeniu, do roztworu wkroplono około 40 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście minut. W tym czasie wytrącał się beżowy osad, który odsączono i przemyto

schłodzoną wodą. Surowy produkt krystalizowano z 25% etanolu z dodatkiem węgla aktywowanego.

3-(*p*-Acetylofenoksy)-1-(5-metoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (19):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *p*-hydroksyacetonu w metanolu otrzymano 0,07 g jasnobieżowego surowego produktu (25% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 157-158°C,  $R_f = 0,74$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  7,94 (d, 2H,  $J = 8,8$  Hz, 2,6-Ph), 7,59 (s, 1H, Im), 7,07 (d, 2H,  $J = 8,8$  Hz, 3,5-Ph), 5,71 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 3,95-4,16 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4,09 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 2,53 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ );

$^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  196,09 (C=O), 161,95 (Ar), 145,61 (C-4 Im), 131,34 (C-2 Im), 130,63 (Ar), 130,37 (Ar), 129,97 (C-5 Im), 114,24 (Ar), 69,75 (CH-OH), 67,08 (N- $\text{CH}_2$ ), 63,17 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 46,77 ( $\text{OCH}_3$  przy C-5 Im), 26,48 ( $\text{COCH}_3$ ).

MS  $m/z$  (%): 335,4  $\text{M}^+$  (44,7).

HRMS (ES): obliczone dla  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{O}_6\text{N}_3$ , 335,32338, znaleziono: 335,32431.

3-(*p*-Acetylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (20):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *p*-hydroksyacetonu w etanolu otrzymano 0,23 g jasnobieżowego surowego produktu (79% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 145-146°C,  $R_f = 0,76$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  7,94 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,58 (s, 1H, Im), 7,06 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,71 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH), 4,38 (q,  $J = 7,0$ , 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,94-4,17 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,53 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,35 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  196,32 (C=O), 162,11 (Ar), 144,81 (C-4 Im), 131,66 (C-2 Im), 130,88 (Ar), 130,50 (Ar), 130,12 (C-5 Im), 114,33 (Ar), 72,50 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,67 (CH-OH), 67,05 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,69 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 26,43 ( $\text{COCH}_3$ ), 15,12 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 349,2  $\text{M}^+$  (31,2).

HRMS (ES): obliczone dla  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}_3$ , 349,12738, znaleziono: 349,12920.

3-(*p*-Acetylofenoksy)-1-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (21):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *p*-hydroksyacetylofenonu w *n*-propanolu otrzymano 0,17 g jasnobieżowego surowego produktu (58% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 109-110°C,  $R_f = 0,82$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,94 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,58 (s, 1H, Im), 7,05 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,70 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,28 (t,  $J = 6,5$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,94-4,17 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,53 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,76 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 0,97 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  196,02 (C=O), 161,84 (Ar), 144,70 (C-4 Im), 131,42 (C-2 Im), 130,69 (Ar), 130,33 (Ar), 129,95 (C-5), 114,15 (Ar), 77,62 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,62 (CH-OH), 66,94 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,76 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 26,43 ( $\text{COCH}_3$ ), 22,61 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 10,06 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 363,0  $\text{M}^+$  (10,2).

3-(*p*-Acetylofenoksy)-1-(5-*izo*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (22):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *p*-hydroksyacetylofenonu w izopropanolu otrzymano 0,06 g jasnobieżowego surowego produktu (22% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 124-125°C,  $R_f = 0,66$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,95 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,59 (s, 1H, Im), 7,06 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,70 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,87 (m, 1H, O-CH<), 3,94-4,17 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,51 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,32, 1,30 (dwa d,  $J = 2,2$  Hz, 2 x 3H,  $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  196,45 (C=O), 162,16 (Ar), 143,86 (C-4 Im), 132,03 (C-2 Im), 131,26 (Ar), 130,57 (Ar), 130,17 (C-5 Im), 114,37 (Ar), 80,66 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,60 (CH-OH), 66,89 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,74 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$  przy C-5 Im), 26,44 ( $\text{COCH}_3$ ), 22,13 i 22,10 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ).

MS  $m/z$  (%): 363,1  $\text{M}^+$  (4,2).

3-(*p*-Acetylofenoksy)-1-(5-etoksy-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol  
**(23):**

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,23 g *p*-hydroksyacetonu w etanolu otrzymano 0,15 g jasnobieżowego surowego produktu (51% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 128-130°C,  $R_f = 0,70$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  7,91 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,06 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,73 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH), 4,38 (q,  $J = 7,0$ , 2H, przy OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> C-5 Im), 3,91-4,14 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 2,52 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2,32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,35 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

<sup>13</sup>C NMR:  $\delta$  195,41 (C=O), 162,16 (Ar), 145,61 (C-4 Im), 132,60 (C-2 Im), 132,06 (Ar), 131,50 (Ar), 130,12 (C-5 Im), 114,32 (Ar), 72,50 (CH<sub>2</sub>-OAr), 69,68 (CH-OH), 67,03 (N-CH<sub>2</sub>), 46,78 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 25,90 (COCH<sub>3</sub>), 15,13 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 13,0 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im).

MS  $m/z$  (%): 363,1 M<sup>+</sup> (34,8).

Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(5-metoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propoksy)benzoesowego **(24):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g Nipaginy M w metanolu otrzymano 0,16 g jasnobieżowego surowego produktu (55% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 116-117°C,  $R_f = 0,68$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  7,93 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,58 (s, 1H, Im), 7,08 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,72 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 3,94-4,17 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 4,09 (s, 3H, OCH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 3,82 (s, 3H, COOCH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C NMR:  $\delta$  165,93 (C=O), 162,21 (Ar), 145,81 (C-4 Im), 131,51 (C-2 Im), 131,30 (Ar), 130,81 (Ar), 122,16 (C-5 Im), 114,61 (Ar), 69,81 (CH<sub>2</sub>-OAr), 67,14 (CH-OH), 63,23 (N-CH<sub>2</sub>), 51,90 (COOCH<sub>3</sub>), 46,79 (OCH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 351,1 M<sup>+</sup> (23,1).

HRMS (ES): obliczone dla C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>O<sub>7</sub>N<sub>3</sub>, 351,32278, znaleziono: 351,32422.

Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propoksy)benzoesowego (25):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g Nipaginy M w etanolu otrzymano 0,22 g jasnobieżowego surowego produktu (73% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 146-148°C,  $R_f = 0,57$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,93 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,58 (s, 1H, Im), 7,07 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,69 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,94-4,16 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 1,35 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  165,85 (C=O), 162,14 (Ar), 144,80 (C-4 Im), 131,67 (C-2 Im), 131,26 (Ar), 130,87 (Ar), 122,12 (C-5 Im), 114,53 (Ar), 69,65 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 67,04 (CH-OH), 66,94 (N- $\text{CH}_2$ ), 51,85 ( $\text{COOCH}_3$ ), 46,69 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 15,11 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 365,2  $\text{M}^+$  (19,5).

HRMS (ES): obliczone dla  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{N}_3$ , 365,35004, znaleziono: 365,35139.

Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)-propoksy)benzoesowego (26):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g Nipaginy M w *n*-propanolu otrzymano 0,16 g jasnobieżowego surowego produktu (52% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 120-121°C,  $R_f = 0,69$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,93 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,58 (s, 1H, Im), 7,07 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,72 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH), 4,27 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,94-4,22 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 1,73 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 0,96 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  165,91 (C=O), 162,15 (Ar), 144,94 (C-4 Im), 131,63 (C-2 Im), 131,30 (Ar), 130,91 (Ar), 122,16 (C-5 Im), 114,54 (Ar), 69,69 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 67,02 (CH-OH), 65,83 (N- $\text{CH}_2$ ), 51,89 ( $\text{COOCH}_3$ ), 46,81 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 22,63 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 10,05 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 379,1  $\text{M}^+$  (2,0).



Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(5-izo-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propoksy)benzoowego (27):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g Nipaginy M w izopropanolu otrzymano 0,09 g jasnobieżowego surowego produktu (27% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 116-117°C,  $R_f = 0,77$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,93 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,59 (s, 1H, Im), 7,07 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,71 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,86 (m, 1H,  $-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,93-4,15 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 1,31, 1,29 (dwa d,  $J = 2,6$  Hz, 2 x 3H,  $-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  165,92 (C=O), 162,15 (Ar), 143,83 (C-4 Im), 131,99 (C-2 Im), 131,31 (Ar), 131,24 (Ar), 122,14 (C-5 Im), 114,56 (Ar), 80,67 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,58 (CH-OH), 66,88 (N- $\text{CH}_2$ ), 51,90 ( $\text{COOCH}_3$ ), 46,75 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), 22,16 i 22,12 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ).

MS  $m/z$  (%): 379,1  $\text{M}^+$  (1,2).

Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(5-metoksy-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propoksy)benzoowego (28):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,25 g Nipaginy M w metanolu otrzymano 0,06 g jasnobieżowego surowego produktu (27% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 158-160°C,  $R_f = 0,69$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,93 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,08 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,72 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 3,94-4,17 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4,09 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$  przy C-5 Im), 3,82 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2,32 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  165,93 (C=O), 162,21 (Ar), 145,81 (C-4 Im), 131,51 (C-2 Im), 131,30 (Ar), 130,81 (Ar), 122,16 (C-5 Im), 114,61 (Ar), 69,81 (CH-OH), 67,14 (N- $\text{CH}_2$ ), 63,23 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 51,91 ( $\text{COOCH}_3$ ), 46,78 ( $\text{OCH}_3$  przy C-5 Im), 12,99 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im).

MS  $m/z$  (%): 365,1  $\text{M}^+$  (50,0).

Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(5-etoksy-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propoksy)benzoesowego (29):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,25 g Nipaginy M w etanolu otrzymano 0,08 g jasnobieżowego surowego produktu (27 % wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 74-75°C,  $R_f = 0,69$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,94 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,06 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,67 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,34 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,92-4,12 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2,33 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 1,36 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  165,80 (C=O), 163,56 (Ar), 146,81 (C-4 Im), 131,66 (C-2 Im), 131,26 (Ar), 128,53 (Ar), 122,13 (C-5 Im), 115,13 (Ar), 70,23 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 67,15 (CH-OH), 66,90 (N- $\text{CH}_2$ ), 51,90 ( $\text{COOCH}_3$ ), 46,69 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 15,13 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 13,03 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im).

MS  $m/z$  (%): 379,2  $\text{M}^+$  (17,0).

Ester metylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(2-metylo-4-nitro-5-*n*-propoksyimidazol-1-ilo)propoksy)benzoesowego (30):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,25 g Nipaginy M w *n*-propanolu otrzymano 0,15 g jasnobieżowego surowego produktu (46% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 125-126°C,  $R_f = 0,67$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,93 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,07 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,72 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH), 4,26 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,93-4,22 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{COOCH}_3$ ), 2,31 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,73 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 0,96 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  165,91 (C=O), 162,18 (Ar), 145,09 (C-4 Im), 131,66 (C-2 Im), 131,30 (Ar), 130,83 (Ar), 122,19 (C-5 Im), 114,56 (Ar), 69,69 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 67,09 (CH-OH), 65,88 (N- $\text{CH}_2$ ), 51,96 ( $\text{COOCH}_3$ ), 47,11 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 22,65 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 12,98 ( $\text{CH}_3$  przy C-2), 10,05 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 393,2  $\text{M}^+$  (6,8).

Ester propylowy kwasu 4-(2-hydroksy-3-(2-metylo-4-nitro-5-*n*-propoksyimidazol-1-ilo)propoksy)benzoesowego (31):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,25 g Nipaginy P w *n*-propanolu otrzymano 0,24 g ciemnobeżowego surowego produktu (70% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 72-74°C,  $R_f = 0,83$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 7,94 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 2,6-Ph), 7,07 (d,  $J = 9,1$  Hz, 2H, 3,5-Ph), 5,69 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, OH), 3,89-4,31 (m, 9H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im; OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> Nip, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 2,33 (s, 3H, CH<sub>3</sub> przy C-2), 1,66-1,78 (m, 4H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im; OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> Nip), 0,94-0,99 (m, 6H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im; OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> Nip).

<sup>13</sup>C NMR: δ 165,46 (C=O), 162,11 (Ar), 145,30 (C-4 Im), 138,50 (C-2 Im), 131,28 (Ar), 130,43 (Ar), 122,43 (C-5 Im), 114,52 (Ar), 77,49 (CH<sub>2</sub>-OAr), 69,74 (CH-OH), 67,09 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> Nip), 65,84 (N-CH<sub>2</sub>), 46,21 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 22,64, 21,71 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im i OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> Nip), 13,69 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im), 10,42, 10,09 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im i OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> Nip).

MS  $m/z$  (%): 421,1 M<sup>+</sup> (3,7).

3-(5-Chloro-2-(2,4-dichlorofenoksy)fenoksy)-1-(5-metoksy-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (32):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,48 g Triclosanu w metanolu otrzymano 0,21 g beżowego surowego produktu (52% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 138-140°C,  $R_f = 0,84$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 6,71-7,73 (m, 6H, Ar), 5,56 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H, OH), 3,60-4,13 (m, 8H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, -OCH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 2,18 (s, 3H, CH<sub>3</sub> przy C-2 Im).

<sup>13</sup>C NMR: δ 152,04 (Ar), 150,55 (Ar), 146,09 (C-4 Im), 141,99 (Ar), 138,16 (C-2 Im), 130,31 (Ar), 130,03 (Ar), 129,89 (Ar), 128,46 (Ar), 126,79 (Ar), 122,96 (Ar), 122,80 (C-5 Im), 121,55 (Ar), 117,82 (Ar), 115,24 (Ar), 70,62 (CH<sub>2</sub>-OAr), 66,90 (CH-OH), 62,99 (N-CH<sub>2</sub>), 45,92 (OCH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 13,40 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im).

MS  $m/z$  (%): 501,0 M<sup>+</sup> (14,6).

3-(*o*-Metylofenoksy)-1-(5-metoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (33):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *o*-krezolu w metanolu otrzymano 0,10 g beżowego surowego produktu (42% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 82-83°C,  $R_f = 0,71$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,56 (s, 1H, Im), 7,01 (m, 4H, Ar), 5,57 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 3,92-4,19 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 4,10 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$  przy C-5 Im), 2,19 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  krezol).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  158,09 (Ar), 144,77 (C-4 Im), 133,04 (C-2 Im), 131,98 (Ar), 129,39 (Ar), 124,02 (Ar), 121,16 (C-5 Im), 116,29 (Ar), 72,52 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,31 ( $\text{CH-OH}$ ), 67,35 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,60 ( $\text{OCH}_3$  przy C-5), 22,60 ( $\text{CH}_3$  krezol).

MS  $m/z$  (%): 307,1  $\text{M}^+$  (4,3).

3-(*o*-Metylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (34):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *o*-krezolu w etanolu otrzymano 0,12 g beżowego surowego produktu (44% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 133-134°C,  $R_f = 0,78$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,56 (s, 1H, Im), 7,14, 6,88 (m, 4H, Ar), 5,57 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 6,9$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,93-4,20 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,19 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  krezol), 1,35 (t,  $J = 6,9$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  157,98 (Ar), 144,86 (C-4 Im), 131,98 (C-2 Im), 131,54 (Ar), 129,57 (Ar), 123,72 (Ar), 121,14 (C-5 Im), 115,63 (Ar), 72,50 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,37 ( $\text{CH-OH}$ ), 67,22 (N- $\text{CH}_2$ ), 47,21 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 22,61 ( $\text{CH}_3$  krezol), 15,12 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 321,2  $\text{M}^+$  (3,0).

3-(*m*-Metylofenoksy)-1-(5-metoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (35):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *m*-krezolu w metanolu otrzymano 0,10 g beżowego surowego produktu (39% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 88-89°C,  $R_f = 0,69$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,55 (s, 1H, Im), 7,16 (m, 1H, Ar), 6,76 (m, 3H, Ar), 5,56 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,05-4,15 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,99 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$  przy C-5 Im), 2,28 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  krezol).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  158,27 (Ar), 144,78 (C-4 Im), 131,57 (C-2 Im), 131,20 (Ar), 129,56 (Ar), 124,15 (Ar), 120,53 (C-5 Im), 114,63 (Ar), 72,48 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,30 (CH-OH), 67,22 (N- $\text{CH}_2$ ), 47,36 ( $\text{OCH}_3$ ), 15,13 ( $\text{CH}_3$ ).

MS  $m/z$  (%): 307,1  $\text{M}^+$  (3,7).

### 3-(*m*-Metylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (36):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *m*-krezolu w etanolu otrzymano 0,25 g beżowego surowego produktu (82% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 58-60°C,  $R_f = 0,74$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,55 (s, 1H, Im), 7,17 (m, 1H, Ph), 6,76 (m, 3H, Ph), 5,56 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 6,8$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,92-4,15 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,28 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  krezol), 1,35 (t,  $J = 6,9$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  158,65 (Ar), 145,24 (C-4 Im), 131,64 (C-2 Im), 131,78 (Ar), 129,03 (Ar), 123,73 (Ar), 121,61 (C-5 Im), 115,23 (Ar), 72,48 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,64 (CH-OH), 67,20 (N- $\text{CH}_2$ ), 47,20 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 22,65 ( $\text{CH}_3$  krezol), 15,10 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 321,2  $\text{M}^+$  (3,0).

### 3-(*o*-Nitrofenoksy)-1-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (37):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *o*-nitrofenolu w *n*-propanolu otrzymano 0,18 g ciemnobieżowego surowego produktu (59% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 107-109°C,  $R_f = 0,76$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,91, 7,67, 7,40, 7,15 (m, 4 x 1H, Ar), 7,56 (s, 1H, Im), 5,71 (d,  $J = 4,5$  Hz, 1H, OH), 4,27 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,95-4,22 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 1,76 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 0,94 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  150,80 (Ar), 144,62 (C-4 Im), 139,25 (C-2 Im), 134,42 (Ar), 131,42 (Ar), 130,63 (Ar), 124,94 (Ar), 120,72 (C-5 Im), 115,02 (Ar), 77,69 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ),

70,49 (CH-OH), 66,78 (N-CH<sub>2</sub>), 46,69 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 22,53 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 9,91 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

MS *m/z* (%): 366,0 M<sup>+</sup> (3,3).

3-(*m*-Nitrofenoksy)-1-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (38):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *m*-nitrofenolu w *n*-propanolu otrzymano 0,24 g ciemnobieżowego surowego produktu (78% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 104-106°C, R<sub>f</sub> = 0,88 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 7,82, 7,45, 7,42 (m, 1H, 2H, 1H, Ar), 7,60 (s, 1H, Im), 5,72 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H, OH), 4,28 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 3,95-4,23 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1,75 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 0,97 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

<sup>13</sup>C NMR: δ 154,62 (Ar), 148,53 (C-4 Im), 144,73 (C-2 Im), 131,44 (Ar), 130,71 (Ar), 130,63 (Ar), 121,78 (C-5 Im), 115,65 (Ar), 108,75 (Ar), 77,64 (CH<sub>2</sub>-OAr), 70,12 (CH-OH), 66,92 (N-CH<sub>2</sub>), 46,70 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 22,63 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 10,07 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

MS *m/z* (%): 366,1 M<sup>+</sup> (5,9).

3-(*p*-Nitrofenoksy)-1-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (39):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g *p*-nitrofenolu w *n*-propanolu otrzymano 0,21 g ciemnobieżowego surowego produktu (69% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 140-141°C, R<sub>f</sub> = 0,69 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 8,23, 7,17 (m, 2 x 2H, Ar), 7,59 (s, 1H, Im), 5,77 (d, *J* = 3,8 Hz, 1H, OH), 4,28 (t, *J* = 6,6 Hz, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 3,95-4,17 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 1,76 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 0,98 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

<sup>13</sup>C NMR: δ 163,36 (Ar), 144,72 (C-4 Im), 140,84 (C-2 Im), 131,45 (Ar), 130,70 (Ar), 125,77 (C-5 Im), 114,95 (Ar), 77,65 (CH<sub>2</sub>-OAr), 70,23 (CH-OH), 66,87 (N-CH<sub>2</sub>), 46,66 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 22,63 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 10,08 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

MS *m/z* (%): 366,1 M<sup>+</sup> (9,1).

3-(*o*-Formylofenoksy)-1-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol

**(40):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *o*-hydroksybenzaldehydu w *n*-propanolu otrzymano 0,15 g ciemnobieżowego surowego produktu (50% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 97-98°C,  $R_f = 0,64$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  10,45 (d,  $J = 0,5$  Hz, 1H, CHO), 7,68, 7,16 (m, 2 x 2H, Ar), 7,61 (s, 1H, Im), 5,74 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,28 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 4,00-4,22 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 1,75 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 0,96 (t,  $J = 7,3$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  189,25 (C=O), 160,42 (Ar), 144,73 (C-4 Im), 136,25 (C-2 Im), 131,41 (Ar), 130,71 (Ar), 127,40 (Ar), 124,18 (Ar), 120,83 (C-5 Im), 113,36 (Ar), 77,67 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,96 (CH-OH), 67,03 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,72 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 22,61 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 9,99 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 348,9  $\text{M}^+$  (3,8).

3-(*m*-Formylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol **(41):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,20 g *m*-hydroksybenzaldehydu w etanolu otrzymano 0,13 g ciemnobieżowego surowego produktu (48% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 110-112°C,  $R_f = 0,61$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  9,99 (s, 1H, CHO), 7,59 (s, 1H, Im), 7,43 (m, 4H, Ar), 5,69 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, OH), 4,38 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,95-4,17 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 1,35 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C NMR}$ :  $\delta$  192,69 (C=O), 158,59 (Ar), 144,62 (C-4 Im), 137,47 (C-2 Im), 131,51 (Ar), 130,72 (Ar), 130,31 (Ar), 122,67 (Ar), 121,26 (C-5 Im), 113,52 (Ar), 72,44 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,68 (CH-OH), 67,04 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,77 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 15,17 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 335,1  $\text{M}^+$  (45,9).

3-(*p*-Formylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol **(42):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,20 g *p*-hydroksybenzaldehydem w etanolu otrzymano 0,08 g ciemnobieżowego surowego produktu (29% wyd.

teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 126-128°C,  $R_f = 0,58$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  9,88 (s, 1H, CHO), 7,89, 7,15 (dwa d,  $J = 8,6$  Hz, 2 x 2H, Ar), 7,59 (s, 1H, Im), 5,71 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,94-4,16 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 1,35 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  191,09 (C=O), 163,00 (Ar), 144,63 (C-4 Im), 131,67 (C-2 Im), 131,63 (Ar), 130,72 (Ar), 129,70 (C-5 Im), 114,87 (Ar), 72,46 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,78 (CH-OH), 66,98 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,70 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 15,17 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 335,1  $\text{M}^+$  (41,2).

#### 3-(*p*-Acetaminofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (43):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g *p*-hydroksyacetaaminofenu w etanolu otrzymano 0,16 g beżowego surowego produktu (52% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 153-155°C,  $R_f = 0,48$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  9,81 (s, 1H, NH), 7,53 (s, 1H, Im), 7,47, 6,88 (dwa d,  $J = 9,1$  Hz, 2 x 2H, Ar), 5,62 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 7,1$ , 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,87- 4,15 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,00 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,35 (t,  $J = 7,0$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  167,57 (C=O), 153,76 (Ar), 144,63 (C-4 Im), 132,71 (C-2 Im), 130,73 (Ar), 120,34 (Ar), 120,24 (C-5 Im), 114,36 (Ar), 72,44 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,59 (CH-OH), 67,16 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,88 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 23,85 ( $\text{COCH}_3$ ), 15,18 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 364,3  $\text{M}^+$  (2,4).

HRMS (ES): obliczone dla  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_4$ : 364,36525, znaleziono: 364,36368.

#### 3-(*p*-Acetaminofenoksy)-1-(5-*n*-propoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (44):

W wyniku reakcji związku **17** z *p*-hydroksyacetaaminofenem w *n*-propanolu otrzymano 0,17 g beżowego surowego produktu (54% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 163-164°C,  $R_f = 0,48$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);



$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  9,81 (s, 1H, NH), 7,57 (s, 1H, Im), 7,49, 6,88 (dwa d,  $J = 9,1$  Hz, 2 x 2H, Ar), 5,63 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H, OH), 4,27 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,87-4,24 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,00 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 1,76 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 0,98 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  167,55 (C=O), 153,72 (Ar), 144,71 (C-4 Im), 132,71 (C-2 Im), 130,72 (Ar), 120,34 (Ar), 120,23 (C-5 Im), 114,30 (Ar), 77,63 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,55 (CH-OH), 67,03 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,90 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 23,80 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 22,63 ( $\text{COCH}_3$ ), 10,09 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 377,9  $\text{M}^+$  (3,2).

### 3-(4-Formylo-2-metoksyfenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (45):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g waniliny w etanolu otrzymano 0,16 g beżowego surowego produktu (53% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 113-115°C,  $R_f = 0,70$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  9,86 (s, 1H, CHO), 7,57 (s, 1H, Im), 7,57, 7,42, 7,22 (m, 3 x 1H, Ar), 5,71 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 6,9$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,94-4,17 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 1,36 (t,  $J = 6,9$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  191,19 (C=O), 152,90 (Ar), 149,08 (Ar), 144,61 (C-4 Im), 131,54 (C-2 Im), 130,72 (Ar), 129,80 (Ar), 125,80 (C-5 Im), 112,28 (Ar), 109,63 (Ar), 72,44 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 70,15 (CH-OH), 66,97 (N- $\text{CH}_2$ ), 55,56 ( $-\text{OCH}_3$ ), 46,84 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 15,07 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 364,9  $\text{M}^+$  (18,8).

### 3-(4-Allilo-2-metoksyfenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (46):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,27 g eugenolu w etanolu otrzymano 0,16 g ciemnobieżowego surowego produktu (51% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 82-83°C,  $R_f = 0,68$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,56 (s, 1H, Im), 6,92, 6,81, 6,69 (m, 3 x 1H, Ar), 5,94 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5,59 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 5,05 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 4,37 (q,  $J$

= 7,0, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 3,84-4,17 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 1,35 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

<sup>13</sup>C NMR: δ 149,06 (Ar), 146,00 (Ar), 144,77 (C-4 Im), 137,91 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 133,04 (C-2 Im), 131,68 (Ar), 130,86 (Ar), 120,26 (C-5 Im), 115,55 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 113,99 (Ar), 112,64 (Ar), 72,46 (CH<sub>2</sub>-OAr), 70,48 (CH-OH), 67,23 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 67,14 (N-CH<sub>2</sub>), 55,48 (-OCH<sub>3</sub>), 46,96 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 15,02 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im).

MS *m/z* (%): 377,2 M<sup>+</sup> (83,7).

### 3-(4-Allilo-2-metoksyfenoksy)-1-(5-etoksy-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)-propan-2-ol (47):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,27 g eugenolu w etanolu otrzymano 0,16 g ciemnobieżowego surowego produktu (49% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 85-86°C, *R<sub>f</sub>* = 0,66 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 6,92, 6,81, 6,69 (m, 3 x 1H, Ar), 5,95 (m, 1H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 5,60 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H, OH), 5,05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 4,37 (q, *J* = 7,0, 2H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 4,18-3,85 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 3,75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 1,35 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 2,18 (s, 3H, CH<sub>3</sub> przy C-2 Im).

<sup>13</sup>C NMR: δ 149,09 (Ar), 146,21 (Ar), 145,63 (C-4 Im), 138,55 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 133,04 (C-2 Im), 131,69 (Ar), 130,76 (Ar), 120,65 (C-5 Im), 115,78 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 114,68 (Ar), 112,31 (Ar), 72,50 (CH<sub>2</sub>-OAr), 70,57 (CH-OH), 67,21 (CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), 67,15 (N-CH<sub>2</sub>), 55,48 (-OCH<sub>3</sub>), 46,90 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 15,03 (OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> przy C-5 Im), 13,22 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im).

MS *m/z* (%): 391,2 M<sup>+</sup> (93,3).

### 3-(4-Metylo-2-izo-propylofenoksy)-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (48):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,25 g tymolu w etanolu otrzymano 0,25 g jasnobieżowego surowego produktu (82% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 48-50°C, *R<sub>f</sub>* = 0,80 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,58 (s, 1H, Im), 7,06 (m, 1H, Ar), 6,73 (m, 2H, Ar), 5,62 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,38 (q,  $J = 7,0$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,90-4,19 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 3,24 (m, 1H,  $-\text{CH}<$ ), 2,26 (s, 3H, Ph- $\text{CH}_3$ ), 1,36 (t,  $J = 7,1$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 1,17, 1,14 (dwa s, 2 x 3H,  $-\text{C}<(\text{CH}_3)_2$ ).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  154,92 (Ar), 144,54 (C-4 Im), 135,78 (C-2 Im), 132,88 (Ar), 131,49 (Ar), 130,71 (Ar), 125,43 (Ar), 121,11 (C-5 Im), 112,19 (Ar), 72,44 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,45 ( $\text{CH-OH}$ ), 67,32 (N- $\text{CH}_2$ ), 47,11 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 26,00 ( $-\text{CH}<$ ), 22,75, 22,72 (2x $\text{CH}_3$  izopropyl), 21,00 ( $\text{CH}_3$  tymol), 15,08 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 363,0  $\text{M}^+$  (3,5).

### 3-Fenoksy-1-(5-etoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (49):

W wyniku reakcji związku **17** z fenolem w etanolu otrzymano 0,20 g jasnobieżowego surowego produktu (77% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać bezbarwnych cienkich blaszek o t.t. 91-92°C,  $R_f = 0,63$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,58 (s, 1H, Im), 7,31 (m, 2H, Ar), 6,95 (m, 3H, Ar), 5,64 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,37 (q,  $J = 6,9$  Hz, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 3,92-4,16 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 1,35 (t,  $J = 6,9$  Hz, 3H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  158,23 (Ar), 144,82 (C-4 Im), 131,67 (C-2 Im), 130,90 (Ar), 129,56 (Ar), 120,85 (C-5 Im), 114,47 (Ar), 72,50 ( $\text{CH}_2\text{-OAr}$ ), 69,33 ( $\text{CH-OH}$ ), 67,19 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,91 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im), 15,13 ( $\text{OCH}_2\text{CH}_3$  przy C-5 Im).

MS  $m/z$  (%): 307,0  $\text{M}^+$  (53,5).

HRMS (ES): obliczone dla  $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{N}_3$ : 307,11682, znaleziono: 307,11721.

### **9.5. Synteza 3-chloro-1-(5-tiofenoksy-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-oli (50-51) oraz 3-chloro-1-(5-amino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-oli (52-55)**

#### Metoda otrzymywania związków 50 i 51

W kolbie stożkowej o pojemności 100 ml mieszano 0,84 mmola nitroimidazodihydrooksazolu (**17**), 0,84 mmola odpowiedniego tiofenolu oraz 10 ml etanolu. Do otrzymanej mieszaniny dodano następnie 0,11 g (0,84 mmola)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Całość pozostawiono w temperaturze pokojowej na 1

godzinę. Następnie, do roztworu wdroplono około 40 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście minut. W tym czasie wydzielił się żółty osad, który odsączono, przemyto schłodzoną wodą, wysuszono i krystalizowano z rozcieńczonego etanolu.

#### 3-Chloro-1-(4-nitro-5-tiofenoksyimidazol-1-ilo)propan-2-ol (50):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,1 ml tiofenolu otrzymano 0,21 g jasnobieżowego surowego produktu (82% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 92-93°C,  $R_f = 0,65$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,13 (s, 1H, Im), 7,19-7,37 (m, 5H, Ph), 5,78 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H, OH), 4,28-4,34 (m, 1H, CH-OH), 4,07-4,15 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,86-3,92 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,56-3,67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Cl);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  148,57 (C-4 Im), 139,50 (Ph), 133,37 (Ph), 129,63 (C-2 Im), 127,64 (Ph), 127,20 (Ph), 121,86 (C-5 Im), 68,83 (CH-OH), 49,19 (N-CH<sub>2</sub>), 46,67 (CH<sub>2</sub>Cl);

MS  $m/z$  (%): 313,1  $\text{M}^+$  (34,4).

#### 3-Chloro-1-(4-nitro-5-(*p*-chlorotiofenoksy)imidazol-1-ilo)propan-2-ol (51):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,12 g *p*-chlorotiofenolu otrzymano 0,27 g jasnobieżowego surowego produktu (94% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 124-126°C,  $R_f = 0,72$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,15 (s, 1H, Im), 7,12-7,57 (m, 4H, Ph), 5,80 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H, OH), 4,29-4,38 (m, 1H, CH-OH), 4,09-4,16 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,87-3,92 (m, 1H, N-CH<sub>2</sub>), 3,58-3,69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Cl);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  148,36 (C-4 Im), 139,38 (Ph), 132,34 (Ph), 129,30 (C-2 Im), 129,17 (Ph), 129,02 (Ph), 121,29 (C-5 Im), 68,83 (CH-OH), 49,18 (N-CH<sub>2</sub>), 46,60 (CH<sub>2</sub>Cl);

MS  $m/z$  (%): 346,9  $\text{M}^+$  (28,1).

#### Metoda otrzymywania związków 52 - 55

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml rozpuszczono 0,84 mmola nitroimidazodihydrooksazolu (**17**) lub (**18**) w 10 ml etanolu. Dodano

następnie 0,84 mmola odpowiedniej II-rzędowej aminy cyklicznej (morfolina lub piperodyna) oraz 0,11 g (0,84 mmola)  $K_2CO_3$ . Całość pozostawiono w temperaturze pokojowej na 1 godzinę. Następnie, do roztworu wkroplono około 40 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście minut. W tym czasie wydzielił się żółty osad, który odsączono, przemyto schłodzoną wodą, wysuszono i krystalizowano z rozcieńczonego etanolu.

**3-Chloro-1-(5-morfolino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (52):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,07 ml morfoliny otrzymano 0,18 g żółtego surowego produktu (76% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 124-126°C,  $R_f = 0,50$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  7,68 (s, 1H, 1m), 5,75 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H, OH), 3,90-4,18 (m, 3H, CH-OH, N- $CH_2$ ), 3,63-3,76 (m, 6H,  $CH_2Cl$ , 2x $CH_2$  3,5-morfolina), 2,99-3,18 (m, 4H, 2x $CH_2$  2,6-morfolina);

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  140,36 (C-4 1m), 138,93 (C-2 1m), 133,34 (C-5 1m), 68,85 (CH-OH), 66,38 (2x $CH_2$  morfolina), 49,18 (N- $CH_2$ ), 47,27 (2x $CH_2$  morfolina), 46,90 ( $CH_2Cl$ );

MS  $m/z$  (%): 290,0  $M^+$  (47,2).

**3-Chloro-1-(2-metylo-5-morfolino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (53):**

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,07 ml morfoliny otrzymano 0,22 g żółtego surowego produktu (87% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 185-186°C,  $R_f = 0,53$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  5,71 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, OH), 3,91-4,11 (m, 3H, CH-OH, N- $CH_2$ ), 3,67-3,77 (m, 6H,  $CH_2Cl$ , 2x $CH_2$  3,5-morfolina), 2,99-3,26 (m, 4H, 2x $CH_2$  2,6-morfolina), 2,34 (s, 3H,  $CH_3$ );

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  141,30 (C-4 1m), 139,34 (C-2 1m), 138,51 (C-5 1m), 69,01 (CH-OH), 66,44 (2x $CH_2$  morfolina), 48,45 (N- $CH_2$ ), 47,08 (2x $CH_2$  morfolina), 46,64 ( $CH_2Cl$ ), 13,95 ( $CH_3$ );

MS  $m/z$  (%): 304,0  $M^+$  (73,6).

### 3-Chloro-1-(4-nitro-5-piperydinoimidazol-1-ilo)propan-2-ol (54):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,8 ml piperydyny otrzymano 0,19 g żółtego surowego produktu (80% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 127-128°C,  $R_f = 0,56$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,62 (s, 1H, Im), 5,76 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 3,84-4,14 (m, 3H,  $\text{CH-OH}$ , N- $\text{CH}_2$ ), 3,62-3,68 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 2,94-3,12 (m, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$  2,6-piperydyna), 1,56-1,62 (m, 6H,  $3 \times \text{CH}_2$  3,4,5-piperydyna);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  140,42 (C-4 Im), 138,40 (C-2 Im), 133,14 (C-5 Im), 68,78 (CH-OH), 49,76 (N- $\text{CH}_2$ ), 47,29 ( $2 \times \text{CH}_2$  2,6-piperydyna), 46,84 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 25,71 ( $2 \times \text{CH}_2$  3,5-piperydyna), 23,48 ( $\text{CH}_2$  4-piperydyna);

MS  $m/z$  (%): 288,0  $\text{M}^+$  (21,3).

### 3-Chloro-1-(2-metylo-4-nitro-5-piperydinoimidazol-1-ilo)propan-2-ol (55):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,8 ml piperydyny otrzymano 0,21 g żółtego surowego produktu (85% wyd. teoret.), który po krystalizacji z 25% etanolu ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 158-159°C,  $R_f = 0,62$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,70 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 3,84-4,06 (m, 3H,  $\text{CH-OH}$ , N- $\text{CH}_2$ ), 3,68-3,71 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 2,93-4,00 (m, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$  2,6-piperydyna), 2,32 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,55-1,63 (m, 6H,  $3 \times \text{CH}_2$  3,4,5-piperydyna);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  140,87 (C-4 Im), 140,61 (C-2 Im), 137,90 (C-5 Im), 69,05 (CH-OH), 49,50 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,96 ( $2 \times \text{CH}_2$  2,6-piperydyna), 46,68 ( $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 25,67 ( $2 \times \text{CH}_2$  3,5-piperydyna), 23,51 ( $\text{CH}_2$  4-piperydyna), 14,00 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 302,2  $\text{M}^+$  (27,5).

## **9.6. Synteza 3-tiofenoksy-1-(4-nitro-5-tiofenoksyimidazol-1-ilo)propan-2-oli (56-59) oraz 3-amino-1-(4-nitro-5-aminoimidazol-1-ilo)propan-2-oli (60-63)**

### Metoda otrzymywania związków 56 - 59

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml rozpuszczono 0,84 mmola nitroimidazodihydrooksazolu (**17**) lub (**18**) w 10 ml etanolu. Dodano następnie 3,36 mmola odpowiedniego tiofenolu (tiofenol lub *p*-

chlorotiofenol) oraz 0,44 g (0,84 mmola)  $K_2CO_3$ . Całość ogrzewano przez 1 godzinę. Następnie, do roztworu wkroplono około 40 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście minut. W tym czasie wydzielił się żółty osad, który odsączono, przemyto schłodzoną wodą, wysuszono i krystalizowano z wody.

### 3-Tiofenoksy-1-(4-nitro-5-tiofenoksyimidazol-1-ilo)propan-2-ol (56):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,4 ml tiofenolu otrzymano 0,32 g żółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 59-61°C,  $R_f = 0,83$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  8,10 (s, 1H, Im), 7,12-7,55 (m, 10H, 2xAr), 5,69 (d,  $J = 5,5$  Hz, 1H, OH), 4,35-4,40 (m, 1H, CH-OH), 4,04-4,14 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,79-3,85 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,04-3,18 (m, 2H,  $CH_2$ -S);

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  148,43 (C-4 Im), 139,45 (Ar), 135,73 (Ar), 133,21 (Ar), 129,47 (C-2 Im), 129,36 (Ar), 128,91 (Ar), 127,27 (Ar), 126,96 (Ar), 125,74 (Ar), 121,39 (C-5 Im), 68,09 (CH-OH), 50,70 (N- $CH_2$ ), 48,62 ( $CH_2$ -S);

MS  $m/z$  (%): 387,0  $M^+$  (7,5).

### 3-Tiofenoksy-1-(2-metylo-4-nitro-5-tiofenoksyimidazol-1-ilo)propan-2-ol (57):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,4 ml tiofenolu otrzymano 0,34 g żółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 51-53°C,  $R_f = 0,86$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  7,09-7,38 (m, 10H, 2xPh), 5,63 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H, OH), 4,29-4,34 (m, 1H, CH-OH), 4,03-4,11 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,78-3,86 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,11-3,13 (m, 2H,  $CH_2$ -S), 2,46 (s, 3H,  $CH_3$ );

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  147,57 (C-4 Im), 147,49 (Ar), 135,66 (Ar), 133,62 (Ar), 129,42 (C-2 Im), 128,92 (Ar), 128,19 (Ar), 126,89 (Ar), 126,75 (Ar), 125,76 (Ar), 120,98 (C-5 Im), 68,63 (CH-OH), 49,83 (N- $CH_2$ ), 37,03 ( $CH_2$ -S), 14,27 ( $CH_3$ );

MS  $m/z$  (%): 401,2  $M^+$  (8,9).

3-(*p*-Chlorotiofenoksy)-1-(4-nitro-5-(*p*-chlorotiofenoksy)imidazol-1-ilo)propan-2-ol (58):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,48 g *p*-chlorotiofenolu otrzymano 0,38 g żółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 65-67°C,  $R_f = 0,64$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,12 (s, 1H, Im), 7,11-7,57 (m, 8H, 2xPh), 5,71 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H, OH), 4,36-4,42 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,03-4,11 (m, 1H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,63-3,76 (m, 1H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,04-3,11 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-S}$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  148,70 (C-4 Im), 139,78 (Ar), 134,94 (Ar), 134,53 (Ar), 132,57 (Ar), 131,70 (Ar), 130,46 (Ar), 129,77 (Ar), 129,52 (C-2 Im), 128,84 (Ar), 120,91 (C-5 Im), 68,05 (CH-OH), 50,76 (N- $\text{CH}_2$ ), 36,82 ( $\text{CH}_2\text{-S}$ );

MS  $m/z$  (%): 455,1  $\text{M}^+$  (6,9).

3-(*p*-Chlorotiofenoksy)-1-(2-metylo-4-nitro-5-(*p*-chlorotiofenoksy)imidazol-1-ilo)propan-2-ol (59):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,48 g *p*-chlorotiofenolu otrzymano 0,39 g żółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać jasnożółtych cienkich igieł o t.t. 95-96°C,  $R_f = 0,72$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,08-7,35 (m, 8H, 2xPh), 5,65 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H, OH), 4,29-4,35 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,02-4,10 (m, 1H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,73-3,77 (m, 1H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,07-3,15 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-S}$ ), 2,47 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  147,76 (C-4 Im), 147,54 (Ar), 134,69 (Ar), 132,79 (Ar), 131,30 (Ar), 130,28 (Ar), 129,53 (Ar), 129,21 (Ar), 128,73 (C-2 Im), 128,29 (Ar), 120,32 (C-5 Im), 68,53 (CH-OH), 49,87 (N- $\text{CH}_2$ ), 38,67 ( $\text{CH}_2\text{-S}$ ), 14,29 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 471,4  $\text{M}^+$  (5,6).

Metoda otrzymywania związków 60 - 63

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml rozpuszczono 0,84 mmola nitroimidazodihydroooksazolu (**17**) lub (**18**) w 10 ml etanolu. Dodano następnie 3,36 mmola odpowiedniej II-rzędowej aminy cyklicznej (morfolina lub piperidyna) oraz 0,44g (0,84 mmola)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Całość ogrzewano przez 1 godzinę. Następnie, do roztworu wkroplono około 40 ml zimnej wody i



odstawiono na kilkanaście minut. Jeśli w tym czasie nie wydzielił się osad, mieszaninę ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po jej osuszeniu i odparowaniu rozpuszczalnika, żółtą oleistą pozostałość oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej.

### 3-Morfolino-1-(5-morfolino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (60):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,26 ml morfoliny otrzymano 0,24 g żółtego surowego produktu (86% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (9:1). Zebrano 10 frakcji, po około 5 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 1-7. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskaną substancję przekryształizowano z wody. Otrzymano 0,19 g żółtych cienkich igieł o t.t. 110-112°C,  $R_f = 0,34$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,66 (s, 1H, 1m), 5,16 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 4,13-4,18 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,57-4,08 (m, 8H, N- $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}$ , 2x $\text{CH}_2$  morfolina), 3,00-3,17 (m, 4H, 2x $\text{CH}_2$  morfolina), 2,35-2,52 (m, 8H, 4x $\text{CH}_2$  morfolina);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  138,98 (C-4 1m), 138,82 (C-2 1m), 133,45 (C-5 1m), 66,49 (CH-OH), 66,31 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 66,20 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 62,47 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 54,00 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 48,72 (N- $\text{CH}_2$ ), 48,56 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ );

MS  $m/z$  (%): 341,3  $\text{M}^+$  (1,0).

### 3-Morfolino-1-(2-metylo-5-morfolino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (61):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,26 ml morfoliny, uzyskano 0,16 g żółtego surowego produktu (54% wyd. teoret.), który wydzielono na drodze ekstrakcji roztworu poreakcyjnego chlorkiem metylenu. Po krystalizacji z wody substancja ma postać żółtych cienkich igieł o t.t. 152-154°C,  $R_f = 0,37$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,12 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH), 4,03-4,08 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,49-3,89 (m, 8H, N- $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-N}$ , 2x $\text{CH}_2$  morfolina), 3,00-3,34 (m, 4H, 2x $\text{CH}_2$  morfolina), 2,36-2,55 (m, 8H, 4x $\text{CH}_2$  morfolina), 2,33 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  141,13 (C-4 1m), 139,17 (C-2 1m), 138,24 (C-5 1m), 66,63 (CH-OH), 66,48 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 66,22 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 62,76 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 54,12 (2x $\text{CH}_2$  morfolina), 48,38 (N- $\text{CH}_2$ ), 48,29 ( $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 14,06 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 355,1  $M^+$  (1,6).

3-Piperydino-1-(4-nitro-5-piperydinoimidazol-1-ilo)propan-2-ol (62):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,33 ml piperydyny otrzymano 0,14 g żółtego surowego produktu (50% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą szybkiej chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (9:1). Zebrano 12 frakcji, po około 5 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 1-8. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskaną substancję przekrystalizowano z wody. Otrzymano 0,22 g żółtych cienkich igieł o t.t. 58-60°C,  $R_f = 0,48$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  7,58 (s, 1H, 1m), 5,10 (d,  $J = 4,5$  Hz, 1H, OH), 4,10-4,16 (m, 1H, CH-OH), 3,71-3,84 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,64-3,68 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,50-3,54 (m, 2H,  $CH_2$ -N), 2,94-3,12 (m, 4H, 2x $CH_2$  piperydyna), 2,24-2,51 (m, 6H, 3x $CH_2$  piperydyna), 1,38-1,62 (m, 10H, 5x $CH_2$  piperydyna);

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  140,27 (C-4 1m), 138,23 (C-2 1m), 133,30 (C-5 1m), 66,37 (CH-OH), 63,14 (2x $CH_2$  piperydyna), 54,85 (2x $CH_2$  piperydyna), 49,72 ( $CH_2$ -N), 49,02 (N- $CH_2$ ), 25,73 (2x $CH_2$  piperydyna), 23,93 (2x $CH_2$  piperydyna), 23,43 (2x $CH_2$  piperydyna);

MS  $m/z$  (%): 337,0  $M^+$  (0,6).

3-Piperydino-1-(2-metylo-4-nitro-5-piperydinoimidazol-1-ilo)propan-2-ol (63):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,33 ml piperydyny otrzymano 0,21 g żółtego surowego produktu (72% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych cienkich igieł o t.t. 129-130°C,  $R_f = 0,54$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  5,06 (d,  $J = 4,5$  Hz, 1H, OH), 4,00-4,06 (m, 1H, CH-OH), 3,82-3,84 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,57-3,68 (m, 1H, N- $CH_2$ ), 3,50-3,54 (m, 2H,  $CH_2$ -N), 2,94-3,34 (m, 4H, 2x $CH_2$  piperydyna), 2,24-2,51 (m, 9H, 3x $CH_2$  piperydyna,  $CH_3$ ), 1,39-1,60 (m, 10H, 5x $CH_2$  piperydyna);

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  141,06 (C-4 1m), 140,56 (C-2 1m), 137,76 (C-5 1m), 66,87 (CH-OH), 63,49 (2x $CH_2$  piperydyna), 54,98 (2x $CH_2$  piperydyna), 49,48 ( $CH_2$ -N), 48,61 (N-

CH<sub>2</sub>), 25,71 (2xCH<sub>2</sub> piperodyna), 23,95 (2xCH<sub>2</sub> piperodyna), 23,46 (2xCH<sub>2</sub> piperodyna), 14,09 (CH<sub>3</sub>);

MS *m/z* (%): 351,1 M<sup>+</sup> (0,7).

### 9.7. Synteza nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyn (64-81)

#### Metoda otrzymywania związków 64 - 81

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml rozpuszczono 0,84 mmola nitroimidazodihydrooksazolu (**17**) lub (**18**) w 10 ml etanolu. Następnie dodano 1,68 mmola odpowiedniej I-rzędowej aminy aromatycznej (anilina, *p*-chloroanilina, *p*-bromoanilina, *p*-jodoanilina) lub alifatycznej (*n*-butyloamina, *izo*-butyloamina), względnie innego związku posiadającego w swej strukturze pierwszorzędową grupę aminową (izoniazyd, cykloseryna, kwas 6-aminopenicylanowy) oraz 0,88 g (1,68 mmola) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość ogrzewano przez 45 minut. Następnie, po ochłodzeniu, do roztworu wkroplono około 40 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście minut. Jeśli w tym czasie nie wydzielił się osad, mieszaninę ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po odparowaniu rozpuszczalnika, ciemnożółtą oleistą pozostałość oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej otrzymując czysty produkt, najczęściej w postaci żółtych słupków.

#### 1-Fenyl-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna

##### **(64):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,15 ml aniliny otrzymano 0,12 g żółtego surowego produktu (55% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 33 frakcje, po około 5 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 12-31. Po odparowaniu rozpuszczalnika stałą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,08 g związku w postaci żółtych słupków o t.t. 212-213°C, R<sub>f</sub> = 0,42 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 7,59 (s, 1H, Im), 7,25-7,34 (m, 2H, Ar), 7,02-7,12 (m, 3H, Ar), 5,55 (d, *J* = 3,3 Hz, 1H, OH), 4,74-4,82 (m, 1H, CH-OH), 4,30-4,41 (m, 2H, Pirym. N-CH<sub>2</sub>), 4,05-4,14 (m, 2H, Im N-CH<sub>2</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  146,27 (C-4 Im), 135,15 (C-2 Im), 131,83 (Ar), 128,73 (C-5 Im), 128,33 (Ar), 123,80 (Ar), 120,65 (Ar), 60,18 (CH-OH), 55,79 (Im N-CH<sub>2</sub>), 48,29 (Piry. N-CH<sub>2</sub>);

MS  $m/z$  (%): 260,0 M<sup>+</sup> (100).

1-Fenylo-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-  
midyna (65):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,15 ml aniliny otrzymano 0,18 g żółtego surowego produktu (79% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 208-210°C,  $R_f = 0,58$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,01-7,38 (m, 5H, Ar), 5,32 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1H, OH), 4,75-4,82 (m, 1H, CH-OH), 4,31-4,42 (m, 2H, Piry. N-CH<sub>2</sub>), 4,06-4,14 (m, 2H, Im N-CH<sub>2</sub>), 2,26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  146,26 (C-4 Im), 140,15 (Ar), 135,44 (C-2 Im), 128,49 (Ar), 128,09 (C-5 Im), 124,60 (Ar), 122,18 (Ar), 61,81 (CH-OH), 55,10 (Im N-CH<sub>2</sub>), 44,17 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 12,73 (CH<sub>3</sub>);

MS  $m/z$  (%): 274,1 M<sup>+</sup> (100).

1-(*p*-Chlorofenylo)-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-  
midyna (66):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,21 g *p*-chloroaniliny otrzymano 0,10 g żółtego surowego produktu (41% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 40 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 26-39. Po odparowaniu rozpuszczalnika pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,10 g związku w postaci żółtych słupków o t.t. 182-184°C,  $R_f = 0,45$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,54 (s, 1H, Im), 7,31-7,42 (m, 2H, Ar), 7,03-7,17 (m, 2H, Ar), 5,55 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1H, OH), 4,75-4,80 (m, 1H, CH-OH), 4,44-4,47 (m, 2H, Piry. N-CH<sub>2</sub>), 3,81-3,90 (m, 2H, Im N-CH<sub>2</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  145,28 (C-4 Im), 134,84 (C-2 Im), 132,07 (Ar), 128,80 (C-5 Im), 128,54 (Ar), 127,80 (Ar), 124,27 (Ar), 60,17 (CH-OH), 55,70 (Im N-CH<sub>2</sub>), 48,36 (Piry. N-CH<sub>2</sub>);

MS  $m/z$  (%): 294,0  $M^+$  (100).

1-(*p*-Chlorofenylo)-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (67):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,21 g *p*-chloroaniliny otrzymano 0,25 g żółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 233-234°C,  $R_f = 0,44$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  7,28-7,40 (m, 2H, Ar), 7,02-7,18 (m, 2H, Ar), 5,35 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1H, OH), 4,78-4,83 (m, 1H, CH-OH), 4,38-4,45 (m, 2H, Pirym. N- $CH_2$ ), 4,08-4,19 (m, 2H, Im N- $CH_2$ ), 2,28 (s, 3H,  $CH_3$ );

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  145,28 (C-4 Im), 135,14 (C-2 Im), 128,51 (Ar), 128,31 (C-5 Im), 127,92 (Ar), 123,98 (Ar), 122,14 (Ar), 61,77 (CH-OH), 55,02 (Im N- $CH_2$ ), 44,21 (Pirym. N- $CH_2$ ), 12,75 ( $CH_3$ );

MS  $m/z$  (%): 308,0  $M^+$  (100).

1-(*p*-Bromofenylo)-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (68):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,29 g *p*-bromoaniliny otrzymano 0,12 g żółtego surowego produktu (43% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 29 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 12-25. Po odparowaniu rozpuszczalnika pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,10 g związku w postaci żółtych słupków o t.t. 207-208°C,  $R_f = 0,36$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$  9:1);

$^1H$  NMR:  $\delta$  7,62 (s, 1H, Im), 7,42-7,55 (m, 2H, Ar), 6,97-7,09 (m, 2H, Ar), 5,54 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 4,74-4,81 (m, 1H, CH-OH), 4,32-4,46 (m, 2H, Pirym. N- $CH_2$ ), 4,08-4,20 (m, 2H, Im N- $CH_2$ );

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  145,68 (C-4 Im), 134,72 (C-2 Im), 131,03 (Ar), 128,20 (C-5 Im), 124,51 (Ar), 122,73 (Ar), 115,48 (Ar), 60,20 (CH-OH), 55,63 (Im N- $CH_2$ ), 48,37 (Pirym. N- $CH_2$ );

MS  $m/z$  (%): 339,0  $M^+$  (28,0).

1-(*p*-Bromofenylo)-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirydyna (69):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,29 g *p*-bromoaniliny otrzymano 0,20 g żółtego surowego produktu (69% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 220-221°C,  $R_f = 0,48$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 7,41-7,53 (m, 2H, Ar), 6,51-7,08 (m, 2H, Ar), 5,35 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 4,76-4,83 (m, 1H, CH-OH), 4,31-4,41 (m, 2H, Piry. N-CH<sub>2</sub>), 4,04-4,12 (m, 2H, Im N-CH<sub>2</sub>), 2,26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

<sup>13</sup>C NMR: δ 145,67 (C-4 Im), 134,99 (C-2 Im), 131,19 (Ar), 130,80 (C-5 Im), 124,22 (Ar), 122,47 (Ar), 116,60 (Ar), 61,81 (CH-OH), 54,95 (Im N-CH<sub>2</sub>), 44,21 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 12,75 (CH<sub>3</sub>);

MS  $m/z$  (%): 353,8 M<sup>+</sup> (98,7).

1-(*p*-Jodofenylo)-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-  
midyna (70):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,36 g *p*-jodoaniliny otrzymano 0,10 g żółtego surowego produktu (31% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 36 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 10-23. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,048 g związku w postaci żółtych słupków o t.t. 202-204°C,  $R_f = 0,37$  (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 7,61 (s, 1H, Im), 7,42-7,55 (m, 2H, Ar), 6,96-7,09 (m, 2H, Ar), 5,54 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 4,75-4,82 (m, 1H, CH-OH), 4,32-4,46 (m, 2H, Piry. N-CH<sub>2</sub>), 4,09-4,21 (m, 2H, Im N-CH<sub>2</sub>);

<sup>13</sup>C NMR: δ 146,15 (C-4 Im), 141,02 (Ar), 139,36 (Ar), 136,65 (Ar), 134,25 (C-2 Im), 124,36 (C-5 Im), 120,14 (Ar), 61,93 (CH-OH), 54,86 (Im N-CH<sub>2</sub>), 44,24 (Piry. N-CH<sub>2</sub>);

MS  $m/z$  (%): 386,0 M<sup>+</sup> (100,0).

1-(*p*-Jodofenylo)-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (71):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,36 g *p*-jodoaniliny otrzymano 0,12 g żółtego surowego produktu (35% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 236-237°C,  $R_f = 0,40$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,56-7,67 (m, 2H, Ar), 6,82-6,92 (m, 2H, Ar), 5,50 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1H, OH), 4,76-4,81 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,11-4,37 (m, 2H, Im N- $\text{CH}_2$ ), 3,92-4,10 (m, 2H, Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 2,29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  146,33 (C-4 Im), 140,18 (Ar), 139,62 (Ar), 136,80 (Ar), 135,05 (C-2 Im), 124,35 (C-5 Im), 122,80 (Ar), 61,94 (CH-OH), 54,88 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 44,24 (Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 12,75 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 400,0  $\text{M}^+$  (100,0).

1-*n*-Butylo-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (72):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,16 ml *n*-butyloaminy otrzymano 0,19 g żółtego surowego produktu (95% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 126-128°C,  $R_f = 0,61$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,28 (s, 1H, Im), 5,18 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 4,44-4,52 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,23-4,32 (m, 2H, Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 4,02-4,12 (m, 2H, Im N- $\text{CH}_2$ ), 3,92-4,00 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,42-1,62 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,21-1,33 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0,88 (t,  $J = 7,3$  Hz, 3H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  146,68 (C-4 Im), 131,33 (C-2 Im), 127,75 (C-5 Im), 69,56 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,42 (CH-OH), 45,31 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 44,35 (Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 38,66 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 19,19 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 13,72 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 240,2  $\text{M}^+$  (35,7).

1-*n*-Butylo-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (73):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,16 ml *n*-butyloaminy otrzymano 0,19 g żółtego surowego produktu (90% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 178-180°C,  $R_f = 0,50$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,18 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 4,47-4,55 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,05-4,25 (m, 2H, Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 3,87-3,92 (m, 2H, Im N- $\text{CH}_2$ ), 3,62-3,71 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,13 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,37-1,65 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,23-1,30 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0,87 (t,  $J=7,2$  Hz, 3H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  147,22 (C-4 Im), 136,05 (C-2 Im), 124,02 (C-5 Im), 69,80 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,56 (CH-OH), 45,32 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 43,58 (Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 39,78 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 19,23 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 13,77 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 12,58 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS  $m/z$  (%): 254,1  $\text{M}^+$  (78,2).

1-izo-Butylo-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (74):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *izo*-butyloaminy otrzymano 0,12 g żółtego surowego produktu (62% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 164-166°C,  $R_f = 0,54$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,27 (s, 1H, Im), 5,16 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 4,43-4,48 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,28-4,34 (m, 2H, Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 3,96-4,08 (m, 2H, Im N- $\text{CH}_2$ ), 3,13-3,21 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 1,88-1,97 (m, 1H, N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 0,85 (dwa d,  $J = 6,8$  Hz, 6H, N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  146,70 (C-4 Im), 127,74 (C-2 Im), 124,62 (C-5 Im), 69,56 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,30 (CH-OH), 51,81 (N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 44,27 (Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 27,51 (N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 19,65, 19,24 (N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ );

MS  $m/z$  (%): 240,2  $\text{M}^+$  (54,8).

1-izo-Butylo-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydro pirymidyna (75):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,17 ml *izo*-butyloaminy otrzymano 0,15 g żółtego surowego produktu (71% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 193-195°C,  $R_f = 0,64$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,16 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 4,44-4,48 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 4,28-4,35 (m, 2H, Pirym. N- $\text{CH}_2$ ), 3,94-4,07 (m, 2H, Im N- $\text{CH}_2$ ), 3,13-3,22 (m, 2H, N-



$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,12 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,87-1,96 (m, 1H, N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 0,85 (dwa d,  $J = 6,8$  Hz, 6H, N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  146,12 (C-4 Im), 126,18 (C-2 Im), 124,60 (C-5 Im), 69,56 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,28 (CH-OH), 51,86 (N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 44,29 (Piryd. N- $\text{CH}_2$ ), 27,54 (N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 19,68, 19,24 (N- $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 12,58 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS  $m/z$  (%): 254,3  $\text{M}^+$  (98,6).

1-(4-Pirydylokarbonylamino)-3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (76):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,23 g izoniazydu otrzymano 0,08 g ciemnopomarańczowego surowego produktu (31% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (4:1). Zebrano 22 frakcje, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 5-21. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskano 0,086 g krystalicznego związku w postaci żółtych słupków o t.t. 140-142°C,  $R_f = 0,61$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  11,58 (s, 1H, NH), 8,77 (d,  $J = 5,7$  Hz, 2H, Piryd.), 7,75 (d,  $J = 5,9$  Hz, 2H, Piryd.), 7,51 (s, 1H, Im), 5,76 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 3,56-4,42 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  163,12 (C=O), 150,46 (C-4 Im), 138,81 (Piryd.), 137,34 (C-2 Im), 130,90 (Piryd.), 121,49 (C-5 Im), 60,86 (CH-OH), 56,22 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 48,01 (Piryd. N- $\text{CH}_2$ );

MS (LSIMS)/NBA:  $m/z = 305,2$  ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

1-(4-Pirydylokarbonylamino)-3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyna (77):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,23 g izoniazydu otrzymano 0,19 g ciemno-pomarańczowego surowego produktu (72% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (7:3). Zebrano 12 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 4-8. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskano 0,15 g krystalicznego związku w postaci żółtych słupków o t.t. 148-150°C,  $R_f = 0,62$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  11,59 (s, 1H, NH), 8,76 (d,  $J = 5,7$  Hz, 2H, Piryd.), 7,75 (d,  $J = 5,9$  Hz, 2H, Piryd.), 5,76 (d,  $J = 3,4$  Hz, 1H, OH), 3,54-4,41 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,11 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  163,35 (C=O), 150,28 (C-4 Im), 138,74 (Piryd.), 136,96 (C-2 Im), 130,90 (Piryd.), 121,55 (C-5 Im), 60,81 (CH-OH), 56,35 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 48,07 (Pir N- $\text{CH}_2$ ), 12,50 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS (LSIMS)/NBA:  $m/z = 319,2$  ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

4-(3-Hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyno-1-ilo)-1,2-oksazolidyno-3-on (78):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 g cykloseryny otrzymano 0,08 g żółtego surowego produktu (36% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (7:3). Zebrano 27 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 11-23. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskano 0,053 g krystalicznego związku w postaci żółtych słupków o t.t. 128-130°C,  $R_f = 0,57$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,41 (s, 1H, NH), 7,36 (s, 1H, Im), 5,73 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, OH), 3,31-4,49 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}$  cykloseryna);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  169,75 (C=O), 147,84 (C-4 Im), 140,45 (C-2 Im), 127,74 (C-5 Im), 69,62 (O- $\text{CH}_2\text{CH}$  cykloseryna), 60,96 (CH-OH), 56,46 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 53,85 (O- $\text{CH}_2\text{CH}$  cykloseryna), 49,66 (Piryd. N- $\text{CH}_2$ );

MS (LSIMS)/NBA:  $m/z = 270,2$  ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

4-(3-Hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyno-1-ilo)-1,2-oksazolidyno-3-on (79):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,17 g cykloseryny otrzymano 0,142 g żółtego surowego produktu (62% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (7:3). Zebrano 34 frakcje, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 7-33. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskano 0,117 g krystalicznego związku w postaci ciemnożółtych słupków o t.t. 80-82°C,  $R_f = 0,43$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,41 (s, 1H, NH), 5,71 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, OH), 3,33-4,50 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ , O- $\text{CH}_2\text{CH}$  cykloseryna), 2,12 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  169,33 (C=O), 146,04 (C-4 Im), 140,81 (C-2 Im), 128,48 (C-5 Im), 69,61 (O-CH<sub>2</sub>CH cykloseryna), 61,68 (CH-OH), 57,21 (Im N-CH<sub>2</sub>), 53,86 (O-CH<sub>2</sub>CH cykloseryna), 48,87 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 12,75 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im);  
MS (LSIMS)/NBA:  $m/z$  = 284,2 (M<sup>+</sup>+H).

Kwas 6-(3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyno-1-ilo)-3,3-dimetylo-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptano-2-karboksylowy (80):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,36 g kwasu 6-aminopenicylanowego otrzymano 0,089 g żółtego surowego produktu (28% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol o wzrastającej polarności (7:3 - 1:1). Zebrano 36 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 15-31. Po odparowaniu rozpuszczalnika uzyskano 0,046 g krystalicznego związku w postaci ciemnożółtych płytek o t.t. 71-73°C,  $R_f$  = 0,68 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,46 (s, 1H, Im), 5,83 (d,  $J$  = 4,9 Hz, 1H, OH), 3,25-4,42 (m, 8H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>; 3xCH kwas 6-aminopenicylanowy), 1,51 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,15 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  174,64 (C=O), 173,69 (C=O), 147,31 (C-4 Im), 140,32 (C-2 Im), 127,96 (C-5 Im), 69,21 (Im N-CH<sub>2</sub>), 60,35 (CH-OH), 58,83 (CH-COOH), 52,01 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 28,27 (N-CHCH), 27,79 (N-CHCH), 27,54 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 14,50, 14,17 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>);

MS (LSIMS)/NBA:  $m/z$  = 384,1 (M<sup>+</sup>+H).

Kwas 6-(3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropirymidyno-1-ilo)-3,3-dimetylo-7-okso-4-tia-1-azabicyklo[3.2.0]heptano-2-karboksylowy (81):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,36 g kwasu 6-aminopenicylanowego otrzymano 0,10 g żółtego surowego produktu (30% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol o wzrastającej polarności (7:3 - 1:1). Zebrano 37 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 15-34. Po odparowaniu rozpuszczalnika

uzyskano 0,072 g krystalicznego związku w postaci ciemnożółtych płytek o t.t. 168-170°C,  $R_f = 0,70$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,73 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, OH), 3,16-4,65 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ; 3xCH kwas 6-aminopenicylanowy), 2,15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1,51 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 1,15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  174,10 (C=O), 173,53 (C=O), 146,81 (C-4 Im), 141,04 (C-2 Im), 127,32 (C-5 Im), 69,01 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,78 (CH-OH), 58,80 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$ ), 51,81 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 28,27 (N- $\underline{\text{C}}\text{HCH}$ ), 27,75 (N-CH $\underline{\text{C}}\text{H}$ ), 14,54, 14,16 (C( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ) $_2$ ), 12,78 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 395,9$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

### 9.8. Reakcje nitroimidazodihydrooksazoli **17** i **18** z pierwszorzędowymi aminami, bez dodatku $\text{K}_2\text{CO}_3$

#### Metoda otrzymywania związków **82** - **93**

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml rozpuszczono 0,84 mmola nitroimidazodihydrooksazolu (**17**) lub (**18**) w 10 ml etanolu. Następnie dodano 1,68 mmola odpowiedniej I-rzędowej aminy aromatycznej (anilina, *p*-chloroanilina, *p*-bromoanilina, *p*-jodoanilina) lub alifatycznej (*n*-butyloamina, izo-butyloamina). Całość ogrzewano przez 1 godzinę. Następnie, po ochłodzeniu, do roztworu wdroplono około 40 ml zimnej wody i odstawiono na kilkanaście minut. Jeśli w tym czasie nie wydzielił się osad, mieszaninę ekstrahowano chlorkiem metylenu. Po odparowaniu rozpuszczalnika, ciemnożółtą oleistą pozostałość oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej.

#### 3-Chloro-1-(5-fenylamino-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (**82**):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,15 ml aniliny otrzymano 0,22 g żółtego surowego produktu (91% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 149-150°C,  $R_f = 0,68$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,70 (s, 1H, NH), 7,69 (s, 1H, Im), 7,20-7,25 (m, 2H, Ar), 6,87-6,92 (m, 1H, Ar), 6,73-6,76 (m, 2H, Ar), 5,85 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, OH), 3,35-4,05 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  142,07 (C-4 Im), 136,01 (C-2 Im), 134,10 (Ar), 132,87 (Ar), 128,91 (C-5 Im), 120,79 (Ar), 116,0 (Ar), 68,39 (CH-OH), 48,14 (N-CH<sub>2</sub>), 46,77 (CH<sub>2</sub>-Cl);

MS  $m/z$  (%): 296,1 M<sup>+</sup> (44,9).

3-Chloro-1-(5-fenylamino-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (83):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,15 ml aniliny otrzymano 0,20 g żółtego surowego produktu (77% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 126-127°C, R<sub>f</sub> = 0,84 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,55 (s, 1H, NH), 7,18-7,23 (m, 2H, Ar), 6,84-6,89 (m, 1H, Ar), 6,70-6,73 (m, 2H, Ar), 5,83 (d,  $J$  = 4,2 Hz, 1H, OH), 3,43-4,10 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>), 2,83 (s, 3H, CH<sub>3</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  142,40 (C-4 Im), 141,91 (Ar), 135,32 (C-2 Im), 132,86 (Ar), 128,95 (Ar), 120,56 (C-5 Im), 115,74 (Ar), 68,83 (CH-OH), 47,15 (N-CH<sub>2</sub>), 46,80 (CH<sub>2</sub>-Cl), 13,84 (CH<sub>3</sub>);

MS  $m/z$  (%): 310,0 M<sup>+</sup> (43,6).

3-Chloro-1-(5-(*p*-chlorofenylamino)-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (84):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,21 g *p*-chloroaniliny otrzymano 0,25 g żółtego surowego produktu (91% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 170-172°C, R<sub>f</sub> = 0,80 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,80 (s, 1H, NH), 7,72 (s, 1H, Im), 7,03-7,61 (m, 4H, Ar), 5,82 (d,  $J$  = 4,7 Hz, 1H, OH), 3,51-4,36 (m, 5H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  141,56 (C-4 Im), 136,49 (C-2 Im), 134,34 (Ar), 132,03 (Ar), 128,75 (C-5 Im), 122,38 (Ar), 117,27 (Ar), 68,49 (CH-OH), 48,34 (N-CH<sub>2</sub>), 46,74 (CH<sub>2</sub>-Cl);

MS  $m/z$  (%): 330,0 M<sup>+</sup> (56,1).

3-Chloro-1-(5-(*p*-chlorofenylamino)-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (85):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,21 g *p*-chloroaniliny otrzymano 0,26 g żółtego surowego produktu (92% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 120-121°C, R<sub>f</sub> = 0,83 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,67 (s, 1H, NH), 7,02-7,40 (m, 4H, Ar), 5,50 (d,  $J = 3,1$  Hz, 1H, OH), 3,53-4,38 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  141,74 (C-4 Im), 135,62 (C-2 Im), 135,28 (Ar), 132,23 (Ar), 128,68 (C-5 Im), 122,26 (Ar), 117,0 (Ar), 68,88 (CH-OH), 47,83 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,79 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 12,73 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 344,3  $\text{M}^+$  (40,1).

**3-Chloro-1-(5-(*p*-bromofenyloamino)-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (86):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,29 g *p*-bromoaniliny otrzymano 0,21 g żółtego surowego produktu (69% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 199-200°C,  $R_f = 0,84$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,80 (s, 1H, NH), 7,72 (s, 1H, Im), 7,35-7,38 (m, 2H, Ar), 6,66-6,70 (m, 2H, Ar), 5,82 (d,  $J = 4,6$  Hz, 1H, OH), 3,43-4,12 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  142,05 (C-4 Im), 136,57 (C-2 Im), 134,40 (Ar), 132,05 (Ar), 131,63 (C-5 Im), 117,69 (Ar), 111,76 (Ar), 68,53 (CH-OH), 48,0 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,77 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ );

MS  $m/z$  (%): 374,2  $\text{M}^+$  (37,5).

**3-Chloro-1-(5-(*p*-bromofenyloamino)-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (87):**

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,29 g *p*-bromoaniliny otrzymano 0,27 g żółtego surowego produktu (83% wyd. teoret.), który po krystalizacji z wody ma postać żółtych słupków o t.t. 220-221°C,  $R_f = 0,90$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,67 (s, 1H, NH), 7,40-7,45 (m, 2H, Ar), 6,95-7,0 (m, 2H, Ar), 5,82 (d,  $J = 4,6$  Hz, 1H, OH), 3,82-4,35 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  142,11 (C-4 Im), 135,20 (C-2 Im), 132,10 (Ar), 131,56 (Ar), 131,38 (C-5 Im), 117,43 (Ar), 111,45 (Ar), 68,91 (CH-OH), 47,86 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,81 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 12,76 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 390,1  $\text{M}^+$  (21,0).

**3-Chloro-1-(5-(*p*-jodofenyloamino)-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (88):**

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,36 g *p*-jodoaniliny otrzymano 0,14 g żółtego surowego produktu (40% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano

mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 12 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 2-11. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,091 g krystalicznego związku w postaci ciemnożółtych płytek o t.t. 202-204°C,  $R_f = 0,65$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,78 (s, 1H, NH), 7,72 (s, 1H, Im), 7,48-7,55 (m, 2H, Ar), 6,53-6,58 (m, 2H, Ar), 5,78 (d,  $J = 4,6$  Hz, 1H, OH), 3,49-4,08 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  142,54 (C-4 Im), 137,38 (C-2 Im), 136,60 (Ar), 134,40 (Ar), 131,88 (C-5 Im), 118,05 (Ar), 115,71 (Ar), 68,50 (CH-OH), 47,95 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,76 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ );

MS  $m/z$  (%): 421,9  $\text{M}^+$  (75,7).

#### 3-Chloro-1-(5-(*p*-jodofenyloamino)-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (89):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,36 g *p*-jodoaniliny otrzymano 0,23 g żółtego surowego produktu (64% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 14 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 3-11. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,18 g krystalicznego związku w postaci ciemnożółtych płytek o t.t. 152-153°C,  $R_f = 0,70$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  8,78 (s, 1H, NH), 7,47-7,53 (m, 2H, Ar), 6,50-6,57 (m, 2H, Ar), 5,78 (d,  $J = 4,5$  Hz, 1H, OH), 3,50-4,09 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,28 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  143,12 (C-4 Im), 137,26 (C-2 Im), 137,10 (Ar), 134,63 (Ar), 132,08 (C-5 Im), 118,34 (Ar), 114,34 (Ar), 68,48 (CH-OH), 47,83 (N- $\text{CH}_2$ ), 46,62 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 12,76 ( $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 436,0  $\text{M}^+$  (28,1).

#### 3-Chloro-1-(5-(*n*-butyloamino)-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (90):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,16 ml *n*-butyloaminy otrzymano 0,22 g ciemnożółtego surowego produktu (96% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 14 frakcji,

po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 3-13. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,18 g krystalicznego związku w postaci jasnożółtych igieł o t.t. 65-67°C,  $R_f = 0,86$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,40 (t,  $J = 6,1$  Hz, 1H, NH), 7,30 (s, 1H, Im), 5,84 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, OH), 4,13-4,20 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,94-4,04 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 3,62-3,73 (m, 2H, N- $\text{CH}_2$  przy N-1 Im), 3,48-3,55 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,50-1,59 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,27-1,39 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0,89 (t,  $J = 7,3$  Hz, 3H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  143,47 (C-4 Im), 134,17 (C-2 Im), 130,37 (C-5 Im), 68,40 (CH-OH), 48,90 (N- $\text{CH}_2$  przy N-1 Im), 46,95 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 43,77 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 31,94 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 19,19 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 13,58 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 276,2  $\text{M}^+$  (22,3).

### 3-Chloro-1-(5-(*n*-butyloamino)-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (91):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,16 ml *n*-butyloaminy otrzymano 0,12g ciemnożółtego surowego produktu (52% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 14 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 3-9. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,10 g krystalicznego związku w postaci jasnożółtych igieł o t.t. 98-99°C,  $R_f = 0,90$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,41 (t,  $J = 6,1$  Hz, 1H, NH), 5,85 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, OH), 4,03-4,10 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,93-4,0 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 3,71-3,74 (m, 2H, N- $\text{CH}_2$  przy N-1 Im), 3,49-3,57 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2,27 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 1,48-1,56 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1,29-1,36 (m, 2H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 0,89 (t,  $J = 7,3$  Hz, 3H, N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  144,25 (C-4 Im), 141,34 (C-2 Im), 130,31 (C-5 Im), 68,07 (CH-OH), 47,04 (N- $\text{CH}_2$  przy N-1 Im), 43,66 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 42,07 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 31,91 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 19,20 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 13,87 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 13,58 (N- $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 290,1  $\text{M}^+$  (11,9).



3-Chloro-1-(5-(izo-butyloamino)-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (92):

W wyniku reakcji 0,17 g związku **17** z 0,17 ml *izo*-butyloaminy otrzymano 0,17 g ciemnożółtego surowego produktu (76% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 14 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 2-13. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,15 g krystalicznego związku w postaci jasnożółtych igieł o t.t. 83-84°C,  $R_f = 0,80$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,49 (t,  $J = 6,1$  Hz, 1H, NH), 7,30 (s, 1H, Im), 5,86 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 4,13-4,20 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,93-4,05 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 3,64-3,72 (m, 2H,  $\text{N-CH}_2$  przy N-1 Im), 3,35 (t,  $J = 5,9$  Hz, 2H,  $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 1,76-1,85 (m, 1H,  $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 0,91 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H,  $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  143,55 (C-4 Im), 134,26 (C-2 Im), 130,38 (C-5 Im), 68,30 (CH-OH), 51,24 ( $\text{N-CH}_2$  przy N-1 Im), 48,97 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 46,93 ( $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 28,62 ( $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 19,55 ( $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ );

MS  $m/z$  (%): 276,2  $\text{M}^+$  (13,7).

3-Chloro-1-(5-(izo-butyloamino)-2-metylo-4-nitroimidazol-1-ilo)propan-2-ol (93):

W wyniku reakcji 0,18 g związku **18** z 0,17 ml *izo*-butyloaminy otrzymano 0,18 g ciemnożółtego surowego produktu (75% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (25:1). Zebrano 15 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 2-10. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,14 g krystalicznego związku w postaci jasnożółtych igieł o t.t. 118-119°C,  $R_f = 0,85$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,54 (t,  $J = 6,2$  Hz, 1H, NH), 5,88 (d,  $J = 4,7$  Hz, 1H, OH), 4,06-4,10 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,91-4,03 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 3,70-3,75 (m, 2H,  $\text{N-CH}_2$  przy N-1 Im), 3,38 (t,  $J = 3,4$  Hz, 2H,  $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,27 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 1,75-1,84 (m, 1H,  $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 0,91 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H,  $\text{N-CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  144,36 (C-4 Im), 141,47 (C-2 Im), 129,03 (C-5 Im), 68,0 (CH-OH), 51,10 (N-CH<sub>2</sub> przy N-1 Im), 47,55 (CH<sub>2</sub>-Cl), 47,02 (N-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 28,56 (N-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 19,59 (N-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 13,90 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im);  
MS  $m/z$  (%): 290,1 M<sup>+</sup> (13,4).

### 9.9. Reakcja nitroimidazodihydrooksazoli **17** i **18** z $\alpha$ -aminokwasami w obecności K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

#### Metoda otrzymywania związków **94-103**

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml rozpuszczono 1,68 mmola nitroimidazodihydrooksazolu (**17**) lub (**18**), w 10 ml rozcieńczonego (75%) etanolu. Następnie dodano 3,36 mmola odpowiedniego  $\alpha$ -aminokwasu oraz 3,36 mmola bezwodnego K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Całość ogrzewano przez 1 godzinę w temperaturze wrzenia, po czym oddestylowano rozpuszczalnik na rotacyjnej wyparce próżniowej. Pozostałość oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na kolumnie wypełnionej żelem krzemionkowym, używając jako eluentu mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH 1:1, dla aminokwasów alifatycznych, oraz odpowiednio 3:1 dla aminokwasów aromatycznych. Wyizolowane produkty krystalizowano z mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (2:1), poprzez powolne swobodne odparowywanie rozpuszczalnika.

#### Kwas 2-(3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiryminylo)propanowy (**94**):

W wyniku reakcji 0,34 g związku **17** z 0,30 g alaniny otrzymano 0,24 g żółtego surowego produktu (56% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (1:1). Zebrano 25 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 4-18. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (2:1). Uzyskano 0,17 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=188-189°C (R), R<sub>f</sub>=0,58 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1);  
 $^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,32 (s, 1H, Im), 5,64 (d,  $J$  = 5,2 Hz, 1H, OH), 3,17 – 4,52 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, CH-COOH), 1,26 – 1,48 (m, 3H, CH<sub>3</sub>, Ala);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  174,84 (C=O), 147,57 (C-4 Im), 135,55 (C-2 Im), 125,52 (C-5 Im), 64,36 (CH-OH), 61,03 (Im N-CH<sub>2</sub>), 54,91 (CH-COOH Ala), 43,72 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 18,99 (N-CHCH<sub>3</sub> Ala), 15,77 (CH<sub>3</sub> przy C-2 Im);  
MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z$  = 255,0 (M<sup>+</sup>-H).

Kwas 2-(3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropi-  
rymidyno-1-ilo)propanowy (95):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,30 g alaniny otrzymano 0,41 g ciemnożółtego surowego produktu (93% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (1:1). Zebrano 28 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 2-23. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (2:1). Uzyskano 0,35 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=208-210°C (R), R<sub>f</sub>=0,55 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,27 (d,  $J$  = 5,4 Hz, 1H, OH), 3,16 – 4,59 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, CH-COOH), 2,16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,38 – 1,42 (m, 3H, CH<sub>3</sub> Ala);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  173,86 (C=O), 148,32 (C-4 Im), 132,61 (C-2 Im), 127,91 (C-5 Im), 64,34 (CH-OH), 60,43 (Im N-CH<sub>2</sub>), 56,82 (CH-COOH Ala), 45,85 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 19,49 (N-CHCH<sub>3</sub> Ala);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z$  = 269,1 (M<sup>+</sup>-H).

Kwas 2-(3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiryimidyno-1-  
ilo)-3-metylobutanowy (96):

W wyniku reakcji 0,34 g związku **17** z 0,38 g waliny otrzymano 0,23 g ciemnożółtego surowego produktu (48% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (1:1). Zebrano 26 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 5-18. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (2:1). Uzyskano 0,14 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t. = 171-173°C (R), R<sub>f</sub>=0,50 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,24 (s, 1H, Im), 5,63 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 4,63 – 4,80 (m, 1H,  $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$ ); 3,23 – 4,37 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,22 – 2,27 (m, 1H,  $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$  Val), 0,77 – 1,09 (m, 6H,  $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$  Val);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  173,12 (C=O), 148,31 (C-4 Im), 135,73 (C-2 Im), 126,43 (C-5 Im), 68,11 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$  Val), 66,74 (CH-OH), 60,84 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 42,38 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 31,72 ( $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$  Val), 20,34, 18,82 ( $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$  Val);

MS (LSIMS)/NBA<sup>neg</sup>:  $m/z = 283,1$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

Kwas 2-(3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-midyno-1-ilo)-3-metylobutanowy (97):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,38 g waliny otrzymano 0,42 g ciemnożółtego surowego produktu (85% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (1:1). Zebrano 33 frakcje, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 4-23. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1). Uzyskano 0,35 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t. = 170–172°C (R),  $R_f=0,50$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  5,60 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H, OH), 4,70 – 4,75 (m, 1H,  $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$ ), 3,38 – 4,46 (m, 5H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,23 – 2,27 (m, 1H,  $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$  Val), 2,15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 1,05 – 0,80 (m, 6H,  $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$  Val);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  172,92 (C=O), 149,38 (C-4 Im), 135,51 (C-2 Im), 125,37 (C-5 Im), 68,06 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$  Val), 67,81 (CH-OH), 62,64 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 45,33 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 29,01 ( $\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$  Val), 20,13, 18,83 ( $\text{CH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$  Val), 12,64 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im),

MS (LSIMS)/NBA<sup>neg</sup>:  $m/z = 297,2$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

Kwas 2-(3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiryimidyno-1-ilo)-4-metylotiobutanowy (98):

W wyniku reakcji 0,34 g związku **17** z 0,50 g metioniny otrzymano 0,34 g jasnożółtego surowego produktu (65% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (1:1). Zebrano 26 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 4-19. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (2:1). Uzyskano 0,26 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=175-177°C (R), R<sub>f</sub>=0,43 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 7,30 (s, 1H, Im), 5,62 (d, J = 5,2 Hz, 1H, OH), 3,24 – 4,46 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, CH-COOH), 2,26 – 2,87 (m, 4H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S Met), 1,94 (s, 3H, S-CH<sub>3</sub> Met);

<sup>13</sup>C NMR: δ 174,85 (C=O), 146,17 (C-4 Im), 135,71 (C-2 Im), 123,86 (C-5 Im), 67,53 (CH-OH), 60,89 (Im N-CH<sub>2</sub>), 57,78 (CH-COOH Met), 43,75 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 32,10 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S Met), 31,12 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S Met), 14,49 (S-CH<sub>3</sub> Met);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>: m/z = 314,9 (M<sup>+</sup>-H).

Kwas 2-(3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-b]-1,4,5,6-tetrahydropiry-midyno-1-ilo)-4-metylotiobutanowy (99):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,50 g metioniny otrzymano 0,55 g jasnożółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (1:1). Zebrano 25 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 2-16. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH (2:1). Uzyskano 0,49 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=167-169°C (R), R<sub>f</sub>=0,69 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:CH<sub>3</sub>OH, 1:1);

<sup>1</sup>H NMR: δ 5,35 (d, J = 5,3 Hz, 1H, OH), 3,45 – 4,69 (m, 6H, CH<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub>, CH-COOH), 1,94 – 2,71 (m, 10H, S-CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S Met, CH<sub>3</sub> przy C-2 Im);

<sup>13</sup>C NMR: δ 174,11 (C=O), 147,90 (C-4 Im), 135,56 (C-2 Im), 123,57 (C-5 Im), 67,50 (CH-OH), 60,86 (Im N-CH<sub>2</sub>), 58,51 (CH-COOH Met), 43,63 (Piry. N-CH<sub>2</sub>), 31,11 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S Met), 31,04 (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-S Met), 14,75, 14,64 (2xCH<sub>3</sub> C-2 Im i S-CH<sub>3</sub> Met);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>: m/z = 329,2 (M<sup>+</sup>-H).

Kwas 2-(3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-b]-1,4,5,6-tetrahydropiry-midyno-1-ilo)-3-fenylopropanowy (100):

W wyniku reakcji 0,34 g związku **17** z 0,54 g fenyloalaniny otrzymano 0,37 g ciemnożółtego surowego produktu (67% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 35 frakcji, po

około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 5-34. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1). Uzyskano 0,28 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=191-192°C (R),  $R_f=0,75$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,08 – 7,38 (m, 6H, Phe (5H), Im (1H)), 5,79 (d,  $J = 5,2$  Hz, 1H, OH), 2,86 – 4,50 (m, 8H, CH- $\text{CH}_2$  Phe,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  173,89 (C=O), 147,55 (C-4 Im), 139,60 (C-2 Im), 129,39 (Phe), 129,21 (Phe), 128,69 (Phe), 127,96 (Phe), 126,06 (C-5 Im), 67,00 (CH-OH), 61,00 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,38 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$  Phe), 44,51 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 34,80 (CH- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$  Phe);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 331,2$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

Kwas 2-(3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-midyno-1-ilo)-3-fenylpropanowy (101):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,54 g fenyloalaniny otrzymano 0,58 g ciemnożółtego surowego produktu (100% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 35 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 5-34. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1). Uzyskano 0,51 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=218-220°C (R),  $R_f=0,68$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,00 – 7,54 (m, 5H, Phe), 5,87 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H, OH), 3,18 – 4,55 (m, 8H, CH- $\text{CH}_2$  Phe,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,03 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  174,44 (C=O), 148,11 (C-4 Im), 139,59 (C-2 Im), 135,33 (Phe), 128,35 (Phe), 126,1 (Phe), 125,79 (C-5 Im), 123,56 (Phe), 67,37 (CH-OH), 61,11 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 60,27 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$  Phe), 43,55 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 34,68 (CH- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$  Phe), 12,38 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 345,2$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

Kwas 2-(3-hydroksy-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-midyno-1-ilo)-3-(indol-3-ilo)propanowy (102):

W wyniku reakcji 0,34 g związku **17** z 0,67 g tryptofanu otrzymano 0,38 g ciemnożółtego surowego produktu (61% wyd. teoret.), który oczyszczono

metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 39 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 15-36. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1). Uzyskano 0,25 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=231-233°C (R),  $R_f=0,68$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 3:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  6,83 – 7,62 (m, 6H, Trp (5H), Im (1H)), 5,86 (d,  $J = 4,8$  Hz, 1H, OH), 2,96 – 3,98 (m, 8H, CH- $\text{CH}_2$  Trp,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  174,65 (C=O), 147,81 (C-4 Im), 143,42 (C-2 Im), 136,38 (Trp), 136,01 (C-5 Im), 127,69 (Trp), 127,30 (Trp), 124,19 (Trp), 122,35 (Trp), 120,93 (Trp), 112,38 (Trp), 109,53 (Trp), 69,45 (CH-OH), 61,32 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 59,83 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$  Trp), 47,51 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 44,45 (CH- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$  Trp);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 370,1$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

Kwas 2-(3-hydroksy-6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]-1,4,5,6-tetrahydropiry-midyno-1-ilo)-3-(indol-3-ilo)propanowy (103):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,67 g tryptofanu otrzymano 0,46 g ciemnożółtego surowego produktu (72% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 60 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 13-54. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z mieszaniny  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  (2:1). Uzyskano 0,34 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.= 217-220°C (R),  $R_f=0,59$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 3:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  6,99–7,72 (m, 5H, Trp), 5,79 (d,  $J = 4,9$  Hz, 1H, OH), 3,21–4,07 (m, 8H, CH- $\text{CH}_2$  Trp,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,09 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  180,90 (C=O), 152,72 (C-4 Im), 139,04 (C-2 Im), 138,18 (Trp), 136,46 (C-5 Im), 129,18 (Trp), 127,84 (Trp), 124,95 (Trp), 122,05 (Trp), 121,28 (Trp), 114,40 (Trp), 110,33 (Trp), 69,22 (CH-OH), 64,94 (Im N- $\text{CH}_2$ ), 57,91 ( $\underline{\text{C}}\text{H-COOH}$  Trp), 47,58 (Piry. N- $\text{CH}_2$ ), 44,21 (CH- $\underline{\text{C}}\text{H}_2$  Trp), 14,23 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 384,0$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

## 9.10. Reakcja nitroimidazodihydrooksazolu **18** z $\alpha$ -aminokwasami bez dodatku $K_2CO_3$

### Metoda otrzymywania związków **104-106**

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml umieszczono 0,36 g (0,84 mmola) 2-chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooksazolu (**18**) oraz 1,68 mmola odpowiedniego  $\alpha$ -aminokwasu (alaniny, waliny, histydyny) i dodano 10 ml rozcieńczonego (75%) etanolu. Roztwór ogrzewano przez 1 godzinę w temperaturze wrzenia, po czym oddestylowano rozpuszczalnik na rotacyjnej wyparce próżniowej. Z pozostałości wydzielono produkt metodą chromatografii kolumnowej.

### Kwas N-(1-(3-chloro-2-hydroksypropylo)-2-metylo-4-nitroimidazol-5-ilo)-2-aminopropanowy (**104**):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,30 g alaniny otrzymano 0,11 g ciemnożółtego surowego produktu (21% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 31 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 9-26. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,042 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=155-157°C (R),  $R_f=0,55$  ( $CH_2Cl_2:CH_3OH$ , 1:1);

$^1H$  NMR ( $D_2O$ ):  $\delta$  4,63–4,60 (m, 2H, N- $CH_2$ ), 4,10–4,58 (m, 3H,  $CH_2$ -Cl,  $CH$ -OH), 3,76–3,89 (m, 1H,  $CH$ -COOH), 2,39 (s, 3H,  $CH_3$  przy C-2 Im), 1,50–1,54 (m, 3H,  $CH_3$  Ala);

$^{13}C$  NMR:  $\delta$  181,71 (C=O), 148,98 (C-4 Im), 148,69 (C-2 Im), 131,87 (C-5 Im), 71,28 (CH-OH), 57,74 (N- $CH_2$ ), 50,91 ( $CH$ -COOH Ala), 48,87 ( $CH_2$ -Cl), 22,54 (CH- $CH_3$  Ala), 16,27 ( $CH_3$  przy C-2 Im);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 305,0$  ( $M^+ - H$ ).

### Kwas N-(1-(3-chloro-2-hydroksypropylo)-2-metylo-4-nitroimidazol-5-ilo)-2-amino-3-metylobutanowy (**105**):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,38 g waliny otrzymano 0,21 g ciemnożółtego surowego produktu (38% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę



rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 20 frakcji, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 7-19. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,13 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=168-171°C (R),  $R_f=0,79$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1);

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  4,70–4,75 (m, 1H,  $\text{CH-OH}$ ), 3,38–4,46 (m, 5H, N- $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ,  $\text{CH-COOH}$ ), 2,21 –2,26 (m, 1H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  Val ), 2,15 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im), 0,81 – 1,04 (m, 6H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  Val );

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  173,09 (C=O), 147,98 (C-4 Im), 136,12 (C-2 Im), 125,67 (C-5 Im), 68,06 ( $\text{CH-COOH}$  Val ), 67,63 (CH-OH), 61,96 (N- $\text{CH}_2$ ), 45,47 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 29,01 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  Val), 20,21, 18,67 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$  Val), 16,64 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im),

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 333,0$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

Kwas N-(1-(3-chloro-2-hydroksypropylo)-2-metylo-4-nitroimidazol-5-ilo)-2-amino-3-(imidazol-5-ilo)propanowy (106):

W wyniku reakcji 0,36 g związku **18** z 0,52 g histydyny otrzymano 0,23 g ciemnożółtego surowego produktu (37% wyd. teoret.), który oczyszczono metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Kolumnę rozwijano mieszaniną chlorek metylenu-metanol (3:1). Zebrano 33 frakcje, po około 3 ml każda. Oczekiwany produkt znajdował się we frakcjach 9-29. Po odparowaniu rozpuszczalnika suchą pozostałość krystalizowano z wody. Uzyskano 0,173 g krystalicznego związku w postaci żółtych płytek o t.t.=127-130°C (R),  $R_f=0,46$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ , 1:1);

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  7,48 (s, 1H, Ar, His), 6,70 (s, 1H, Ar, His), 3,60–4,03 (m, 6H, CH His,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ), 2,92–2,98 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-CH-COOH}$  His), 2,21 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

$^{13}\text{C}$  NMR:  $\delta$  172,53 (C=O), 144,47 (C-4 Im), 143,56 (C-2 Im), 141,15 (His), 140,80 (His), 134,56 (His), 129,30 (C-5 Im), 68,21 (CH-OH), 67,92 ( $\text{CH}_2\text{-CH}$  His), 57,34 (N- $\text{CH}_2$ ), 47,46 ( $\text{CH}_2\text{-Cl}$ ), 31,20 ( $\text{CH}_2\text{-CH}$  His), 13,83 ( $\text{CH}_3$  przy C-2 Im);

MS (LSIMS)/NBA<sub>neg</sub>:  $m/z = 370,9$  ( $\text{M}^+-\text{H}$ ).

### 9.11. Otrzymywanie 3-chloro-1-(4,5-dinitroimidazol-1-ilo)-2-propanolu (107) oraz jego 4-aminowych pochodnych (108, 109)

#### Metoda otrzymywania związku 107

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml umieszczono 1,6 g (10 mmoli) 4,5-dinitroimidazolu (**5**) oraz 10 ml etanolu. Do otrzymanej zawiesiny dodano 2,4 ml (30 mmoli) epichlorohydryny. Roztwór ogrzewano przez 3,5 godz. w temperaturze wrzenia. Następnie ochłodzono i wylano do około 60 ml wody. Wydzielony krystaliczny osad odsączono i przemyto zimną wodą. Po krystalizacji z 40% metanolu otrzymano 1,2 g (48%) jasnożółtego produktu o t.t. 67-70°C (t.t. lit. 66-70°C [23]).

#### Metoda otrzymywania związków 108 i 109

W kolbie stożkowej o pojemności 50 ml rozpuszczono 0,25 g (1 mmol) związku **107** w 5 ml THF i dodano 2 mmole odpowiedniej II-rzędowej aminy cyklicznej. Otrzymany roztwór pozostawiono na 1 godzinę w temperaturze pokojowej. W tym czasie obserwowano jego stopniową zmianę barwy z jasnej na ciemnożółtą. Po godzinie do mieszaniny poreakcyjnej dodano około 30 ml wody. Wydzielony żółty osad odsączono i przemyto zimną wodą. Krystalizowano z metanolu.

#### 3-Chloro-1-(4-N-metylopiperazyno-5-nitroimidazol-1-ilo)-2-propanol (108):

W wyniku reakcji 0,25 g związku **107** z 0,21 ml N-metylopiperazyny otrzymano 0,16 g żółtego surowego produktu (54% wyd. teoret.), który po krystalizacji z metanolu ma postać żółtych słupków o t.t. 161-163°C,  $R_f = 0,66$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H NMR}$ :  $\delta$  7,79 (s, 1H, Im), 5,65 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 4,56-4,60 (m, 1H, CH-OH), 3,98-4,04 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3,60-3,65 (m, 2H, N- $\text{CH}_2$ ), 3,47 (t,  $J = 5,6$  Hz, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$  2,6-piperazyna), 2,42 (t,  $J = 4,8$  Hz, 4H,  $2 \times \text{CH}_2$  3,5-piperazyna), 2,42 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ );

MS  $m/z$  (%): 303,0  $\text{M}^+$  (24,1).

3-Chloro-1-(4-N-morfolino-5-nitroimidazol-1-ilo)-2-propanol (109):

W wyniku reakcji 0,25 g związku **107** z 0,16 ml morfoliny otrzymano 0,23 g żółtego surowego produktu (78% wyd. teoret.), który po krystalizacji z metanolu ma postać żółtych słupków o t.t. 150-151°C,  $R_f = 0,75$  ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$  9:1);

$^1\text{H}$  NMR:  $\delta$  7,83 (s, 1H, Im), 5,63 (d,  $J = 5,1$  Hz, 1H, OH), 4,56-4,60 (m, 1H, CH-OH), 4,00-4,05 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3,47-3,60 (m, 10H, 4x $\text{CH}_2$  morfolina i N- $\text{CH}_2$ );

MS  $m/z$  (%): 290,0  $\text{M}^+$  (87,4).

## 10. WNIOSKI

Wyniki prac opisanych w części doświadczalnej, jak również obserwacje poczynione w trakcie wykonywania poszczególnych eksperymentów, pozwoliły na wyciągnięcie pewnych uogólnień oraz wniosków wynikających z wpływu rodzaju użytych substratów oraz zastosowanych warunków reakcji na kierunek ich przebiegu oraz budowę otrzymanych produktów. To z kolei pozwoliło określić sposób zachowania się układów imidazooksazolowych pod wpływem różnych czynników nukleofilowych oraz zaproponować mechanizm zachodzenia tych reakcji. Prześledzenie wyników doświadczeń biologicznych oraz testów przeprowadzonych metodami teoretycznymi, umożliwiło podjęcie prób wyjaśnienia zależności pomiędzy strukturą otrzymanych związków a rodzajem określonej aktywności farmakologicznej.

W rezultacie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że:

1. Atak czynnika nukleofilowego poza podstawieniem powoduje jednoczesne otwarcie pierścienia oksazolowego. Cecha ta odróżnia 2-alkilo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydroooksazole od izomerycznych z nimi 2-alkilo-6-nitroimidazo[2,1-*b*]dihydroooksazoli, otrzymywanych z 2,4-dinitroimidazolu.
2. Podstawienie atomu chloru w bicyklicznych związkach o strukturze 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydroooksazolu oraz 2-chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydroooksazolu zachodzi łatwo w środowisku zasadowym.
3. Reakcji powyższej sprzyja rozpuszczalnik protonowy, zwłaszcza alkohol o niewielkiej liczbie atomów węgla.
4. Podstawienie atomu chloru w wymienionych związkach uzależnione jest od ilości użytego czynnika nukleofilowego.
5. Atom C-5 układu imidazolowego jest bardziej podatny na substytucję nukleofilową niż atom chloru grupy 2-chlorometylowej.
6. W przypadku reakcji z fenolami, pozycja C-5 pierścienia imidazolowego ulega podstawieniu resztą alkoksyłową wywodzącą się z cząsteczki

alkoholu użytego jako rozpuszczalnik. Związane jest to z większą nukleofilowością alkoholu.

Ilość użytego fenolu nie wpływa w tym przypadku na kierunek reakcji.

7. Poddając 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazol oraz 2-chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazol działaniu tiofenoli lub II-rzędowych amin cyklicznych, zaobserwowano dwukierunkowość i jednocześnie dwuetapowość reakcji w zależności od ilości użytego czynnika nukleofilowego. Gdy stosunek substratów wynosił 1:2, otrzymywano pochodne jednopodstawione – w pozycji C-5 pierścienia imidazolu. W przypadku użycia substratów w proporcji 1:4 – uzyskiwano produkty dwupodstawione; substytucji ulegał dodatkowo atom chloru.
8. Reakcję otwarcia pierścienia oksazolowego można z powodzeniem wykorzystać do otrzymania innego bicyklicznego układu – nitroimidazo[5,1-*b*]tetrahydropirymidynowego, z użyciem różnych związków zawierających I-rzędową grupę aminową.
9. W środowisku zasadowym zachodzi reakcja cyklizacji, prowadząca do utworzenia nowego heterocyklicznego pierścienia sześcioczołowego; ma to miejsce w wyniku substytucji II-rzędowej grupy aminowej znajdującej się w pozycji C-5 pierścienia imidazolowego.
10. Otrzymane związki typu 7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu, 5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu oraz 8-nitroimidazo[5,1-*b*]tetrahydropirymidyny i 6-metylo-8-nitroimidazo[5,1-*b*]tetrahydropirymidyny nie wykazywały oczekiwanego działania tuberkulostatycznego, w przeciwieństwie do ich odmiennie skondensowanych izomerów otrzymywanych z 2,4-dinitroimidazolu.
11. Metoda *PASS* wskazała na szereg innych potencjalnych zastosowań terapeutycznych dla zsyntezowanych pochodnych nitroimidazolu. Są to m.in. leczenie choroby alkoholowej, działanie przeciwinfekcyjne, radioczułające i przeciwpierwotniakowe.

## 11. STRESZCZENIE

Biorąc pod uwagę duże zainteresowanie lekami tuberkulostatycznymi będącymi pochodnymi nitroimidazolu o strukturze skondensowanych układów bicyklicznych, postanowiono podjąć próbę syntezy oraz określić właściwości chemiczne i biologiczne nowych związków z tej grupy.

Na wstępie, imidazol oraz 2-metyloimidazol poddano nitrowaniu do odpowiednich 4(5)-mononitropochodnych, które, w drugim etapie, zostały przekształcone do 4,5-dinitropochodnych. Substancje te poddano działaniu epoksyzwiązków, takich, jak: epichlorohydryna, epibromohydryna, 1,2-epoksypropan, 1,2-epoksybutan, tlenek styrenu oraz 3-izopropoksy-1,2-epoksypropan, w obecności węgla potasu. Otrzymano odpowiednie bicykliczne pochodne nitroimidazodihydrooksazolu.

W kolejnych badaniach podjęto próby poddania reakcji substytucji atomu chloru w otrzymanych 2-chlorometylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu oraz 2-chlorometylo-5-metylo-7-nitroimidazo[5,1-*b*]dihydrooksazolu związkami o charakterze fenoli, w obecności  $K_2CO_3$ . Potwierdzono zajście reakcji substytucji nukleofilowej atomu chloru grupą fenoksylową. Jednocześnie zaobserwowano otwarcie pierścienia dihydrooksazolowego oraz podstawienie nukleofilowe pozycji 5 pierścienia imidazolu grupą alkoksylową pochodzącą od cząsteczki alkoholu użytego jako rozpuszczalnik. Następnie, w analogicznych warunkach, przeprowadzono próbę reakcji podstawienia atomu chloru w wyżej wymienionych nitroimidazodihydrooksazolach za pomocą tiofenoli oraz drugorzędowych amin cyklicznych. Na podstawie rezultatów uzyskanych w reakcjach z fenolami, przypuszczano, że substytucja nukleofilowa atomu chloru związkami o charakterze tiofenoli i drugorzędowych amin cyklicznych przebiegać będzie podobnie. Analiza spektralna dowiodła, że w cząsteczce nitroimidazodihydrooksazolu nastąpiło, podobnie jak w przypadku reakcji z fenolami, rozerwanie wiązania C-O. Natomiast pozycja C-5 pierścienia nitroimidazolu uległa podstawieniu resztą tiofenolową. Ponadto, reakcja substytucji nukleofilowej atomu chloru nie miała w tym przypadku miejsca. Dopiero czterokrotne zwiększenie udziału tiofenolu lub cyklicznej aminy i węgla potasu w mieszaninie reakcyjnej umożliwiło powstanie produktu

dipodstawionego. Substytucji nukleofilowej resztą tiofenolu lub cyklicznej aminy uległa w tych warunkach pozycja C-5 pierścienia imidazolu oraz atom chloru w łańcuchu propylowym.

Łatwość, z jaką następowało otwarcie pierścienia dihydroksazolowego postanowiono wykorzystać do utworzenia sześciocłonowego pierścienia tetrahydropirymidynowego, skondensowanego z układem nitroimidazolu.

Założenie to zrealizowano poprzez poddanie nitroimidazo[5,1-*b*]dihydroksazolu działaniu związków zawierających w swej strukturze I-rzędową grupę aminową. Powodowało to oczekiwane otwarcie pierścienia dihydroksazolowego oraz podstawienie nukleofilowe pierścienia imidazolu w pozycji C-5. Następnie, pod wpływem obecności zasady, zachodziła wewnątrzcząsteczkowa substytucja nukleofilowa atomu chloru z łańcucha propylowego drugorzędową grupą aminową utworzoną w wyniku podstawienia aminy pierwszorzędowej w pozycji C-5 imidazolu. Taki złożony mechanizm podstawienia powodował powstanie nowego uwodornionego pierścienia tetrahydropirymidynowego. Zależnie od obecności bądź braku węglanu potasu w mieszaninie reakcyjnej, można było otrzymać dwa rodzaje produktów substytucji nukleofilowej – bicykliczny o pierścieniach skondensowanych oraz monocykliczny – 1-alkilo-5-alkiloamino- lub 1-alkilo-5-aryloamino-4-nitroimidazol. W przypadku reakcji z aminami pierwszorzędowymi nie tworzył się produkt dipodstawienia.

Reakcje analogiczne do powyższych przeprowadzono także z wykorzystaniem związków będących znanymi substancjami przeciwbakteryjnymi (kwas 6-aminopenicylanowy, Triclosan) oraz tuberkulostatykami (izoniazyd, cykloseryna) i zawierającymi w swej strukturze ugrupowanie fenolowe lub aminowe, a także z biogennymi  $\alpha$ -aminokwasami. Na podstawie rezultatów przeprowadzonych syntez, zaproponowano wyjaśnienie mechanizmu tych reakcji.

Niemal wszystkie otrzymane związki zostały poddane analizie *in silico*, określającej poziom ich potencjalnych aktywności biologicznych metodą PASS C&T oraz szacującej ich biodostępność poprzez obliczenie współczynnika podziału oraz powierzchni polarnej PSA. Wybrane spośród nowo otrzymanych substancji przebadane zostały pod kątem ich właściwości

tuberkulostatycznych. Obecnie trwają badania oceniające aktywność przeciwalkoholową oraz przeciwgrzybiczą.

W pracy opisano syntezę 98 nowych pochodnych nitroimidazolu, których tożsamość oraz strukturę potwierdzono metodami spektralnymi, przeprowadzając analizę widm MS,  $^1\text{H}$  NMR oraz  $^{13}\text{C}$  NMR.



## SUMMARY

### „The synthesis and the properties of the chosen bicyclic compounds condensed with nitroimidazole ring”

Taking into consideration the growing interest in bicyclic derivatives of nitroimidazoles with condensed rings as tuberculostatic agents, it has been decided to take up an attempt to synthesize a set of new compounds from this group and to determine their chemical and biological properties.

First, imidazole and 2-methylimidazole were nitrated to the respective 4(5)-mononitro- derivatives and then to 4,5-dinitro- derivatives.

These substances were treated with epoxy- compounds, such as: epichlorohydrin, epibromohydrin, 1,2-epoxypropane, 1,2-epoxybutane, styrene oxide and 3-isopropoxy-1,2-epoxypropane in the presence of potassium carbonate. As a result, the respective bicyclic nitroimidazodihydrooxazoles were obtained.

In the next stage of the research, there were attempts of the substitution reaction of chlorine atom in 2-chloromethyl-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooxazole and 2-chloromethyl-5-methyl-7-nitroimidazo[5,1-*b*]-2,3-dihydrooxazole with phenols in the presence of potassium carbonate. The chlorine atom proved to undergo nucleophilic substitution with phenoxy-group. Simultaneously, the reaction of dihydrooxazole ring opening was observed and, additionally, there was also the reaction of nucleophilic substitution at the C-5 position of the imidazole ring with the molecule of alcohol used as a solvent. Then, in analogous conditions, it was taking the attempt of the nucleophilic substitution of chlorine atom in mentioned above nitroimidazodihydrooxazoles with thiophenols and secondary cyclic amines. On the basis of results obtained from reactions with phenols, it was presumed that the reactions with thiophenols and secondary cyclic amines will direct in similar way. The spectral analysis has proved the C-O bond cleavage in dihydrooxazole ring. However, the C-5 position of nitroimidazole moiety was substituted with thiopheno- or amino- group. Moreover, the nucleophilic substitution reaction of chlorine atom did not take place. But increasing the ratio to 4 equivalents of thiophenol or secondary cyclic amine and  $K_2CO_3$ , lead to form respective derivatives with two newly introduced

cyclic moieties – the first one at C-5 position of imidazole ring and the second one – at N-1 propyl chain, as a result of nucleophilic substitution of chlorine atom.

Unstability of dihydrooxazole ring could be used for building of new, six-membered tetrahydropyrimidine ring, condensed with nitroimidazole. This hypothesis was confirmed by reaction of nitroimidazodihydrooxazoles with compounds having primary amino- group. It caused ring cleavage reaction and the nucleophilic substitution at C-5 position of imidazole moiety. Then, the presence of basic agent facilitated the intramolecular nucleophilic substitution of chlorine atom with secondary amino- group formed by substitution of the primary amino- group at C-5 position of imidazole ring. Such a complex mechanism caused the formation of new tetrahydropyrimidine ring. Depending on the presence of potassium carbonate, two kinds of nucleophilic substitution products might be obtained – bicyclic with condensed rings and 1-alkyl-5-alkylamino- or 1-N-alkyl-5-aryl-amino-4-nitroimidazole. In the case of reactions with primary amines, the products with two introduced moieties was not formed. Analogous reactions with compounds having phenolic or primary amino group and possessing antibacterial and antitubercular properties itself e.g. Triclosan, isoniazide, cycloserine, 6-aminopenicillanic acid and additionally, with biogenic  $\alpha$ -aminoacids were carried out.

On the basis of obtained results, the explanation of mechanism of these reactions was proposed.

Almost all of the synthesized compounds were put to the analyses *in silico*, providing prediction of biological activity types with *PASS C&T* method and determining their bioavailability by the partition coefficient (logP) and polar surface area (PSA) calculations.

Selected newly obtained substances were examined as tuberculostatic agents. Nowadays, some products undergo antialcoholic and antifungal tests.

In this work, the synthesis of 98 new nitroimidazole derivatives was described. The identity and structures were confirmed by spectral methods with use of MS,  $^1\text{H}$  NMR and  $^{13}\text{C}$  NMR analyses.

## 12. WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W TEKŚCIE

CC – chromatografia kolumnowa

d - dublet

DBU – 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undecen-7

DIPEA – N,N-diizopropylloaminy

DMF – dimetyloformamid

DMSO – dimetylosulfotlenek

HPLC – wysokociśnieniowa chromatografia cieczowa

HRMS – wysokorozdzielcza spektrometria mas

LiSTIPS – sól litowa triizopropylsilanotolu

LSIMS – Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry

m – multiplet

MIC – Minimal Inhibitory Concentration

MS – spektrometria mas

MsCl – chlorek mesylu

NMR – spektrometria magnetycznego rezonansu jądrowego

PASS – Prediction of Activity Spectra for Substance

PSA – Polar Surface Area

PPTS – p-toluenosulfonian pirydyny

R – rozkład substancji

R<sub>f</sub> – współczynnik retencji

RT – temperatura pokojowa

s – singlet

SAR – Structure - Activity Relationship

t - triplet

TB – tuberculosis (łac.), gruźlica

TBAF – fluorek tetra-*n*-butyloamoniowy

TBDMS lub TBS – tert-butyldimetylosilan

THF – tetrahydrofuran

THP – tetrahydropiperyna

TLC – chromatografia cienkowarstwowa

TMS – tetrametylosilan

t.t. – temperatura topnienia

UV - ultrafiolet

### 13. PIŚMIENNICTWO

1. Kasper D. L., Braunwald E., Hauser S., Longo D., Fauci A. S., Larry J. J. Harrison's Principles of Internal Medicine, McGraw-Hill Professional, 16<sup>th</sup> Edition, New York 2004, 953-966
2. Dye C., Scheels S., Dolin P., Pathania V., Raviglione M. C., *JAMA*, **1999**, 282(7), 677-686
3. Ayles H., Schapp A., Nota A., Sismanidis C., Tembwe R., De Haas P., Muyoyeta M., Beyers N., Godfrey-Faussett P., *PLoS ONE*, **2009**, 4(5), e5602
4. CDC, *MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.* **2006**, 55(11), 301-305
5. Jha P., Jacob B., Gajalakshmi V., Gupta P. C., Dhingra N., Kumar R., Sinha D. N., Dikshit R. P., Parida D. K., Kamadod R., Boreham J., Peto R., *N. Engl. J. Med.*, **2008**, 358(11), 1137-1147
6. Restrepo B. I., *Clin. Infect. Dis.* **2007**, 45(4), 436-438
7. Strachan D. P., Powell K. J., Thaker A., Millard F. J., Maxwell J. D., *Thorax*, **1995**, 50(2), 175-80
8. Katrizky A.R.; Rees C.W.; Grimmet M.R., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, a review of the literature 1982-1995*. Imidazoles, Pergamon Press, Glasgow, 1996
9. Joule J.A.; Smith G.F. *Chemia związków heterocyklicznych*, PWN, Warszawa 1984, s. 387, 395, 399
10. Młochowski J.; *Chemia związków heterocyklicznych*, PWN, Warszawa 1994, s. 356, 358
11. Barton D., Ollis W. D. *Comprehensive Organic Chemistry, The Synthesis and Reactions of Organic Compounds*, Vol. **4**, Heterocyclic Compounds, Pergamon Press, London 1979, s. 360, 361, 372, 374
12. Beaman A. G., Tautz W., Gabriel T., Duschinsky R., *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 389-390
13. Nair M.D.; Nagarajan K.L., *Prog. Drug Res.*, **1983**, 27, 163-252
14. Adams G.E.; Clarke E.D.; Flockhart I.R.; Jacobs R.S.; Sehmi D.S., *Int. J. Radiat. Biol.*, **1979**, 35, 133-150
15. Suwiński J., Król W., Pacocha C., *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej*, s. Chemia, **1985**, z. 111, 13-18

16. Novikov S. S., Khmel'nitskii L. I., Lebedev O. V., Sevast'yanova V. V., Epishina L. V., *Khim. Geterotsykl. Soedin.*, **1970**, 503-507
17. Cho J. R., Kim K. J., Cho S. G., Kim J. K., *J. Heterocyclic Chem.*, **2002**, 39, 141-147
18. Batcho A. D., Leimgruber W., US Patent 3.732.245 (**1970**) & US Patent 3.976.639 (**1975**)
19. Merisor E., Conrad J., Klaiber I., Mika S., Beifuss U., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46, 3353-3355
20. Butler J. D., Solano D. M., Robins L. I., Haddadin M. J., Kurth M. J. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 234-240
21. Sehgal R. K., Agrawal K. C., *J. Heterocyclic Chem.*, **1979**, 16, 1499-1500
22. Nagarajan K., Shankar K. G., Rajappa S., Shenoy S. J., Costa-Pereira R., *Eur. J. Med. Chem.* **1989**, 24, 631-633
23. Zaprutko L., Gajdziński M., Michalska W., Pietkiewicz K., Lutomski K, Łukaszewski Z., Wrzeciono U. *Pharmazie*, **1989**, 44, 817-820
24. Aleksandrova E. V., Kochergin N. M., *Chem. Heterocyclic Comp.* **2007**, 43(5), 669-670
25. Sasaki H., Haraguchi Y., Itotani M., Kuroda H., Hashizume H., Tomishige T., Kawasaki M., Matsumoto M., Komatsu M., Tsubouchi H., *J. Med. Chem.*, **2006**, 49(26), 7854-7860
26. Li X., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 2256-2263
27. Thompson A. M., Blaser A., Anderson R. F., Shinde S. S., Franzblau S. G., Ma Z., Denny W. A., Palmer B. D., *J. Med. Chem.*, **2009**, 52(3), 637-645
28. McMurry J., *Chemia Organiczna*, PWN Warszawa, **2003**, 557
29. Suwiński J., Pawlus W., Salwińska E., Świerczek K., *Heterocycles*, **1994**, 37, 1511-1520
30. Cavalleri B., Bellani P., Lancini G., *J. Heterocyclic Chem.*, **1973**, 10, 357-362
31. Kochergin P. M., Reznichenko L. A., Gireva R. N., Aleksandrova E. V., *Khim. Geterotsykl. Soedin.*, **1998**, 1346-1351

32. Kochergin P. M., Reznichenko L. A., Gireva R. N., Aleksandrova E. V., *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, **1999**, 48-53
33. Mokrushin V. C., Bielyaev N. A., Kolobov M. J., Fedotov A. N., *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, **1983**, 808-810
34. El'tsov O. S., Mokrushin V. S., *Chem. Heterocyclic Comp.*, **2002**, 38, 1331- 1335
35. Palmer B. D., Denny W. A., *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **1989**, 95-99
36. Povstanoy M. B., Klykov M. A., Klujev H. A. *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, **1981**, 833-837
37. Nair M. D., Sudarsanam V., Desai J. A., *Indian J. Chem.*, **1982**, 21B, 1027-1029
38. Mital A., *Sci. Pharm.*, **2009**, 77, 497-520
39. Wing T. W., Withmore G. F., S. Guya's, *Radiat. Res.*, **1978**, 75, 541-55
40. Silvestri R., Artico M., De Martino G., Ragno R., Massa S., Loddo R., Pani A., *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, 1567-1576
41. Ashtekar D. R., Costa-Pereira R., Nagarajan K., Vishvanathan N., Bhatt A. D., Rittel W., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1993**, 37(2), 183-186
42. Barry C. E. 3<sup>rd</sup>, Boshoff H. I. M., Dowd C. S., *Curr. Pharm. Design*, **2004**, 10(26), 3239-3262
43. Sasaki, H., Haraguchi, Y., Itotani, M., Kuroda, H., Hashizume, H., Tomishige, T., Kawasaki, M., Matsumoto, M., Komatsu, M., Tsubouchi, H., *J. Med. Chem.*, **2006**, 49(26), 7854-7860
44. Matsumoto M., Hashizume H., Tomishige T., Kawasaki M., Tsubouchi H., Sasaki H., *Plos Medicine*, **2006**, 3(11), 2131-2144
45. *Tuberculosis*, **2008**, 88(2), 132-133
46. *Tuberculosis*, **2008**, 88(2), 134-136
47. Saliu O. Y., Crismale C., Schwander S. K., Wallis R. S., *J. Antimicrob. Chemother.*, **2007**, 60, 994-998
48. Stover C. K., Warrenner P., VanDevanter D. R., Sherman D. R., Arain T. M., Langhorne M. H., Anderson S. W., Towell J. A., Yuan

- Y., McMurray D. N., Kreiswirth B. N., Barry C. E., Baker W. R. *Nature*, **2000**, *405*, 962-966
49. Singh R., Manjunatha U., Boshoff H. I. M., Ha Y. H., Niyomrattanakit P., Ledwidge R., Dowd C. S., Lee I. Y., Kim P., Zhang L., Kang S., Keller T. H., Jiricek J., Barry 3<sup>rd</sup> C. E., *Science*, **2008**, *322*, 1392-1395
50. Kim P., Zhang L., Manjunatha U. H., Singh R., Patel S., Jiricek J., Keller T. H., Boshoff H. I., Barry 3<sup>rd</sup> C. E., Dowd C. S., *J. Med. Chem*, **2009**, *52*, 1317 – 1328
51. Kim P., Kang S., Boshoff H. I., Jiricek J., Collins M., Singh R., Manjunatha U. H., Niyomrattanakit P., Zhang L., Goodwin M., Dick T., Keller T. H., Dowd C. S., Barry 3<sup>rd</sup> C. E., *J. Med. Chem*, **2009**, *52*, 1329 – 1344
52. WHO. Fact Sheet No. 104. Tuberculosis. Revised March, **2004**
53. Centers for Disease Control and Prevention. Treatment of Tuberculosis. American Thoracic Society, CDC, and Infectious Diseases Society of America. *MMWR*, **2003**, *52* (RR-11), 1-77
54. Douglas J. G., McLeod M. J., *Clin. Pharmacokinet.*, **1999**, *37*, 127-146
55. Centers for Disease Control and Prevention, *MMWR*, **2006**, *55*(11), 301-305
56. Protopopova M., Bogatcheva E., Nikonenko B., Hundert S., Einck L., Nacy C. A., *Med. Chem.* **2007**, *3*, 301-316
57. Zhang Y., *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2005**, *45*, 529-564
58. J. K. Podlewski, A. Podlewska, *Leki Współczesnej Terapii 1996*, Warszawa 1995, Split Trading sp. z o. o., Wydawnictwa Fundacji Büchnera, s. 39, 140, 206, 349, 352, 473, 481, 745, 762, 797
59. Johansen S. K., Maus C. E., Plikaytis B. B., Douthwaite S., *Mol. Cell*, **2006**, *23*, 173-182
60. Carter A. P., Clemons W. M., Brodersen D. E., Morgan-Warren R. J., Wimberly B. T., Ramakrishnan V., *Nature*, **2000**, *407*, 340-348
61. Busscher G. F., Rutjes F. P., van Delft F. L., *Chem. Rev.*, **2005**, *105*, 775-791

62. Johnsson K., King J. S., Schultz P. G., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 5009-5010
63. Banerjee A., Dubnau E., Quemard A., Balasubramanian V., Um K. S., Wilson T., Collins D., de Lisle G., Jacobs W. R. Jr, *Science*, **1994**, *263*(5144), 227-230
64. Azuma J., Yamamura Y., *J. Biochem.*, **1963**, *53*, 275-281
65. Takayama K., Kilburn J. O., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1989**, *33*(9), 1493-1499
66. De Souza M., V., N., *Recent Pat. Anti-Infective Drug Discov.*, **2006**, *1*, 33-34
67. Janin Y., *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, *15*, 2479-2514
68. Zhang Y., Scorpio A., Nikaido H., Sun Z., *J. Bacteriol.* **1999**, *181*, 2044-2049
69. Zhang Y., Mitchison D., *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, **2003**, *7*(1), 6-21
70. Rengarajan J., Sasseti C. M., Naroditskaya V., Sloutsky A., Bloom B. R., Rubin E. J., *Mol. Microbiol.*, **2004**, *53*, 275-282
71. Ratledge C., *Tuberculosis*, **2004**, *84*, 110-130
72. Chacon O., Feng Z., Harris N. B., Caceres N. E., Adams L. G., Barletta R. G., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46*, 47-54
73. Feng Z., Barletta R. G., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 283-291
74. Johansen S. K., Maus C. E., Plikaytis B. B., Douthwaite S., *Moll. Cell*, **2006**, *23*, 173-182
75. Baulard A. R., Betts J. C., Engohang-Nolong J., Quan S., McAdam R. A., Brennan P. J., Locht C., Besra G. S., *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 28326-28331
76. Vanelli T. A., Dykman A., Ortiz de Montellano P. R., *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 12824-12829
77. De Barber A. E., Mdluli K., Bosman M., Bekker L. G., Barry 3<sup>rd</sup> C. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 9677-9682
78. Morlock G. P., Metchock B., Sikes D., Crawford J. T., Cooksey R. C., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 3799-3805



79. Ferech M., Coenen S., Malhotta-Kumar S., Dvorakova K., Hendrickx E., Suetens C., Goossens H., *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, 58(2), 423-427
80. Tomioka H., *Curr. Pharm. Design*, **2006**, 12(31), 4047 – 4070
81. Berning S. E., *Drugs*, **2001**, 61(1), 9-18
82. Schedletzky H., Wiedemann B., Heising P., *J. Antimicrob. Chemother.* **1999**, 43(Suppl. B), 31-37
83. Laughon B. E., *Curr. Topics Med. Chem.* **2007**, 7(5), 463-473
84. Showalter H. D. H., Denny W. A., *Tuberculosis* **2008**, 88 Suppl. 1, S3-S17
85. Global TB Alliance Annual report 2004-2005; *Stop TB Partnership Working Group on New Drugs for TB. Strategic Plan 2006-2015*
86. Andries K., Verhasselt P., Guillemont J., Gohlmann H. W., Neefs J. M., Winkler H., Van Gestel J., Timmerman P., Zhu M., Lee E., *Science* **2005**, 307, 223-227
87. Lounis N., Veziris N., Truffot-Perrot C., Andries K., Jarlier V., 45<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy [ICAAC], Washington, D.C., **2005**, Abstrakt B-735, 41
88. Bogatcheva E., Hanrahan C., Nikonenko B., Samala R., Chen P., Gearhart J., Barbosa F, Einck L., Nacy C. A., Protopopova M., *J. Med. Chem.* **2006**, 49(11), 3045-3048
89. Chen P., Gearhart J., Protopopova M., Einck L., Nacy C. A., *J. Antimicrob. Chemother.* **2006**, 58, 332-337
90. Nikonenko B. V., Protopopova M., Samala R., Einck L., Nacy C. A., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, 51(4), 1563-1565
91. *Tuberculosis* **2008**, 88(2), 159-161
92. Jones P. B., Parrish N. M., Houston T. A., Stapon A., Bansal N. P., Dick J. D., Townsend C. A., *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3304-3314
93. Parrish N. M., Houston T. A., Jones P. B., Townsend C. A., Dick J. D., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, 45, 1143-1150
94. Hampton T., *JAMA*, **2005**, 293, 2705 – 2707
95. Schlunzen F., Pyetan E., Fucini P., Yonath A., Harms J. M., *Mol. Microbiol.*, **2004**, 54, 1287-1294

96. Hu Y., Coates A. R., Mitchison D. A., *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, *47*, 653-657
97. Paramasivan C. N., Sulochana S., Kubendiran G., Venkatesan P., Mitchison D. A. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2005**, *49*, 627-631
98. Ahmad Z., Sharma S., Khuller G. K., *FEMS Microbiol. Lett.*, **2005**, *251*, 19-22
99. De Souza M. V. N., Pais K. C., Kaiser C. R., Peralta M. A., Ferreira M. L., Lourenco M. C. S. *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 1474-1480
100. Sriram D., Yogeewari P., Dhakla P., Senthilkumar P., Banerjee D., Manjashetty T. H. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1152-1154
101. Butkevich A. N., Sokolov V. V., Tomashevskii A. A., Potekhin A. A. *Russ. J. Org. Chem.* **2006**, *42* (8), 1244 – 1245
102. Toda F., *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 480-486
103. Deshayes S., Liagre M., Loupy A., Luche J., Petit A. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 10851-10870
104. Villa C., Genta M., Bargagna A., Mariani E., Loupy A., *Green Chem.* **2001**, *13*, 196-200
105. Stephenson O., *J. Chem. Soc.*, **1954**, 1571-1577
106. Pchelka B. K., Loupy A., Petit A., *Tetrahedron*, **2006**, *62*, 10968-10979
107. Bhaumik K., Akamanchi K. G., *J. Heterocyclic Chem.* **2004**, *41*, 51-55
108. Kanzian T., Nigst T. A., Maier A., Pichl S., Mayr H., *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, *36*, 6379-6385
109. Gzella A., Żwawiak J., Zaprutko L., *Acta Cryst. Sect. E*, **2005**, E61, o4231-o4232
110. Gzella A., Żwawiak J., Zaprutko L., *Acta Cryst. Sect. E*, **2005**, E61, o4071-o4072
111. Grabowski T., Gumułka S. W., Borucka B., Raszewski W., *Adv. Clin. Exp. Med.* **2008**, *17*(3), 285-292

112. Ghose A. K., Viswanadhan V. V., Wendoloski J. J., *J. Phys. Chem.*, **1998**, 102(21), 3762-3772
113. Moriguchi I., Hirono S., Liu Q., Nakagome I., Matsushita Y., *Chem. Pharm. Bull.*, **1992**, 40(1), 127-130
114. Ertl P., Rohde B., Selzer P., *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3714-3717
115. Prasanna S., Doerksen R. J., *Curr. Med. Chem.* **2009**, 6(1), 21-41
116. Egan W. J., Lauri G., US Patent 6,522,975 B1, **2003**
117. Maggon K. K., Mechkovski A., *Drug News Perspect.*, **1992**, 5, 261-270
118. Walker S., *Pharma Japan*, **1994**, 1424, 7-10
119. Jaśkowska J., Kowalski P., *Czasopismo Techniczne Chemia*, Wydawnictwo Politechniki Krakowskiej, **2007**, 37-45
120. Poroikov V. V., Filimonov D. A., *Comput. Aid. Molec. Des.*, **2002**, 16, 819-824
121. Stepanchikova A. V., Lagunin A. A., Filimonov D. A., Poroikov V. V., *Curr. Med. Chem.* **2003**, 10, 225-233
122. Lagunin A. A., Stepanchikova A. V., Filimonov D. A., Poroikov V. V., *Bioinformatics*, **2000**, 16, 747-748
123. Żwawiak J., Olender D., Zwolska Z., Augustynowicz-Kopeć E., Zaprutko L., *Acta Pol. Pharm.* **2008**, 65(2), 229-233
124. Nemukhin A. V., Grigorenko B. L., Granovsky A. A., Molecular modeling by using the PC GAMESS program: From diatomic molecules to enzymes. *Moscow University Chemistry Bulletin* **2004**, 45(2), 75-102
125. Fargher R. G., Pyman F. L., *J. Chem. Soc.*, **1919**, 115, 217-260