

**UNIVERZITA PARDUBICE**

**Fakulta chemicko-technologická**

*Ústav organické chemie a technologie*

**SYNTÉZA A CHARAKTERIZACE 6-FLUOR-1,3-  
BENZTHIAZOLYLALKYLAMINŮ**

**Klára Bosáková**

**Bakalářská práce**

**2012**

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2011/2012

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: Klára Bosáková  
Osobní číslo: C09222  
Studijní program: B2830 Farmakochemie a medicínální materiály  
Studijní obor: Farmakochemie a medicínální materiály  
Název tématu: Syntéza a charakterizace 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů  
Zadávající katedra: Ústav organické chemie a technologie

### Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Na základě literární rešerše shrnout popsané postupy přípravy 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů.
2. Na základě získaných informací navrhnout vhodnou metodu přípravy 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů.
3. Prakticky vyzkoušet navržené syntetické postupy s různými aminokyselinami.
4. Připravené sloučeniny charakterizovat dostupnými analytickými metodami.
4. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

**Všechna dostupná chemická literatura.**

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Vladimír Pejchal, Dr.**

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **24. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **22. června 2012**



prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 24. února 2012

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 21.6. 2012

Klára Bosáková

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat panu Ing. Vladimíru Pejchalovi, Dr., vedoucímu mojí bakalářské práce, za cenné rady, připomínky a metodické pokyny při vypracování práce.

## **ANOTACE**

Tématem bakalářské práce je Syntéza a charakterizace 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů. Byla provedena literární rešerše s cílem nalézt popsané postupy přípravy 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů. Byly nalezeny dva popsané postupy 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů. Na základě této rešerše byly v experimentální části vybranou modifikovanou metodou připraveny tři nové sloučeniny. Jednalo se o 2-[(1*S*)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol 4-toluensulfonát, 2-[(1*R*)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol 4-toluensulfonát a (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin hydrochlorid.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

alanin, benzthiazol, fenylalanin, fosgen, fungicid, N-karboxyanhydrid, valin

**TITLE:** The Synthesis and the characterization 6-fluoro-1,3-benzothiazolylalkylamines

## **ANNOTATION**

The theme of the bachelor's thesis is the Synthesis and the characterization 6-fluoro-1,3-benzothiazolylalkylamines. It was made a literary research with the goal to find the described procedures of the preparation 6-fluoro-1,3-benzothiazolylalkylamines. There were found two described procedures 6-fluoro-1,3-benzothiazolylalkylamines. On the basis of this research were found free new compounds in the experimental part of the modified method. It was the 2-[(1*S*)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluoro-1,3-benzothiazol 4-toluensulfonate, 2-[(1*R*)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluoro-1,3-benzothiazol 4-toluensulfonate and (1*S*)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)-2-phenylethanamine hydrochloride.

## **KEY WORDS**

alanine, benzothiazole, phenylalanine, phosgene, fungicide, N-carboxyanhydride, valine

## Seznam použitých zkratek

|                   |                                             |
|-------------------|---------------------------------------------|
| CDCl <sub>3</sub> | Deuterovaný chloroform (deuteriochloroform) |
| DMSO              | Dimethylsulfoxid                            |
| DMAc              | Dimethylacetamid                            |
| HPLC              | Vysokoúčinná kapalinová chromatografie      |
| IR                | Infračervená spektroskopie                  |
| NMR               | Nukleární magnetická resonance              |
| NCA               | N-karboxyanhydrid                           |
| PheAla            | Fenylalanin                                 |
| PTS               | p-toluensulfonová kyselina                  |
| THF               | Tetrahydrofuran                             |
| Val               | Valin                                       |

# Obsah

|          |                                                                                                 |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>1</b> | <b>Úvod</b>                                                                                     | 11 |
| <b>2</b> | <b>Teoretická část</b>                                                                          | 12 |
| 2.1.     | Příprava (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylaminu s použitím 5-fluorthiofenolátu zinečnatého | 14 |
| 2.2.     | Proces výroby 1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanaminu                                             | 17 |
| 2.3.     | Průmyslová využitelnost                                                                         | 20 |
| <b>3</b> | <b>Experimentální část</b>                                                                      | 21 |
| 3.1.     | Komerčně dostupná chemická činidla                                                              | 21 |
| 3.2.     | 2-[(1S)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol                                             | 22 |
| 3.2.1.   | Příprava 6-fluor-1,3-benzthiazol-2-aminu                                                        | 22 |
| 3.2.2.   | Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného                                                | 23 |
| 3.2.3.   | Příprava (4S)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dionu                                        | 23 |
| 3.2.4.   | Příprava 2-[(1S)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazolu                                   | 24 |
| 3.3.     | 2-[(1R)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol                                             | 26 |
| 3.3.1.   | Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného                                                | 26 |
| 3.3.2.   | Příprava (4R)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dionu                                        | 26 |
| 3.3.3.   | Příprava 2-[(1R)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazolu                                   | 27 |
| 3.4.     | (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin                                          | 28 |
| 3.4.1.   | Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného                                                | 28 |
| 3.4.2.   | Příprava (4S)-4-benzyl-1,3-oxazolidin-2,5-dionu                                                 | 28 |
| 3.4.3.   | Příprava (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanaminu                                | 29 |
| 3.5.     | Metody charakterizace                                                                           | 30 |
| 3.6.     | Charakterizace látek                                                                            | 31 |
| 3.6.1.   | 2-amino-6-fluor-1,3-benzthiazol                                                                 | 31 |
| 3.6.2.   | (4S)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dion                                                  | 32 |
| 3.6.3.   | (4R)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dion                                                  | 32 |
| 3.6.4.   | (4S)-4-benzyl-1,3-oxazolidin-2,5-dion                                                           | 33 |
| 3.6.5.   | (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-toluensulfonát                    | 34 |
| 3.6.6.   | (1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-toluensulfonát                    | 35 |
| 3.6.7.   | (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin hydrochlorid                             | 36 |
| <b>4</b> | <b>Diskuze</b>                                                                                  | 37 |
| 4.1.     | 6-fluor-1,3-benzthiazol-2-amin                                                                  | 37 |

|          |                                                   |           |
|----------|---------------------------------------------------|-----------|
| 4.2.     | N-karboxyanhydridy.....                           | 38        |
| 4.3.     | 2-amino-5-fluorfenylthiolát draselný .....        | 38        |
| 4.4.     | 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylamin..... | 39        |
| 4.5.     | NMR analýza .....                                 | 41        |
| <b>5</b> | <b>Závěr.....</b>                                 | <b>44</b> |
| <b>6</b> | <b>Literatura .....</b>                           | <b>45</b> |

# 1 Úvod

Substituované benzthiazoly jsou heterocyklické systémy s celou řadou zajímavých biologických aktivit. Mezi nejdůležitější biologicky aktivní látky tohoto typu patří benzthiazoly substituované v poloze 2. Jedná se o biologické aktivity, například antibakteriální, fungicidní a protinádorový účinek. Benzthiazoly a benzoxazoly jsou také popisovány jako inhibitory různých enzymů, jako jsou 5-lipoxygenázy, cyklooxygenázy, aldosy a aldehyd reduktázy, serin hydrolázy nebo inhibitory trombinu, známého jako koagulační faktor II (F2). Obecně lze konstatovat, že benzthiazoly mohou být použity jako unikátní a všestranné látky pro experimentální přípravu léků.<sup>1</sup>

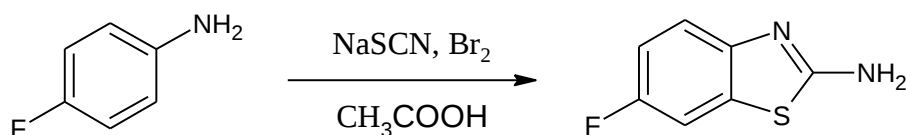
Výchozí látka 2-substituovaný-1,3-benzthiazol je základem pro některé antimikrobiální látky nebo herbicidy. Isopropyl[(S)-1-[(R)-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethylkarbamoyl]-2-methylpropyl]karbamát se běžně používá jako fungicid proti plísním vinné révy. Substituent v poloze 2 benzthiazolu je nejvhodnější pro ovlivnění fyzikálně-chemických vlastností těchto látek.<sup>1</sup>

## 2 Teoretická část

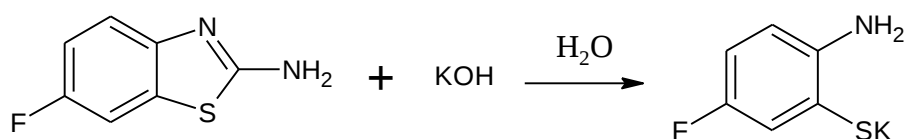
Na základě provedené literární rešerše byly nalezeny dva popsané 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminy. Jedná se o 1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin a to jak ve formě racemátu, tak ve formě R- a S- enantiomerů. Tato látka byla připravena ve formě hydrochloridu nebo ve formě stabilní 4-toluensulfonové soli. Druhým derivátem je 1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)-2-methylpropylamin a to pouze ve formě S-enantiomeru.

Produkt 1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin lze připravit čtyřstupňovou syntézou. Výchozí látka 4-fluoranilin reaguje s thiokyanatanem sodným v ledové kyselině octové a produkt této reakce reaguje dále s kapalným brómem za vzniku 2-amino-6-fluorbenzthiazolu (produkt kroku 1). Ten reaguje s vodným roztokem hydroxidu draselného za vzniku vodného roztoku 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného (produkt kroku 2). V dalším stupni reaguje D-alanin s fosgenem v tetrahydrofuranu za vzniku D-alanin-N-karboxyanhydridu (produkt kroku 3). Produkt kroku 2 reaguje v dalším stupni s produktem kroku 3 za vzniku vodného roztoku R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin hydrochloridu (produkt kroku 3). Připravená HCl sůl se buď převede reakcí s p-toluensulfonovou kyselinou na R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin-p-toluensulfonát (produkt kroku 4) a nebo se použije do další reakce.<sup>1</sup>

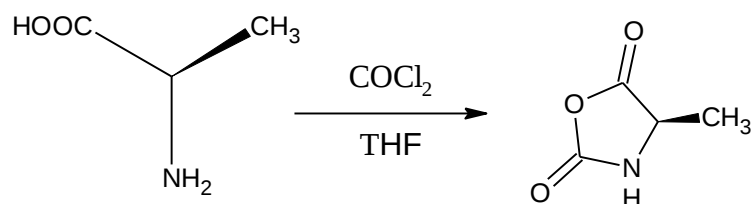
**Krok 1:** Příprava 2-amino-6-fluorbenzthiazolu<sup>2,3,4</sup>



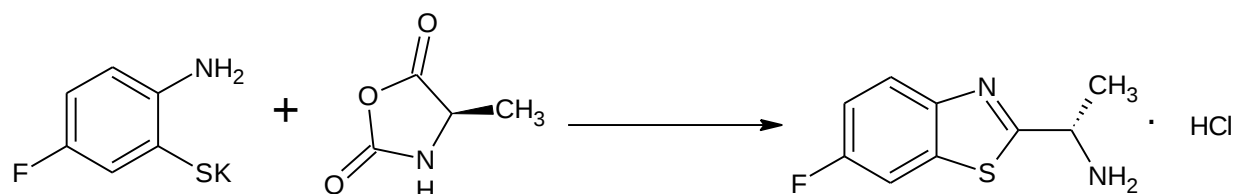
**Krok 2:** Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného popisuje reakci 2-amino-6-fluorbenzthiazolu s vodným roztokem hydroxidu draselného.<sup>5</sup>



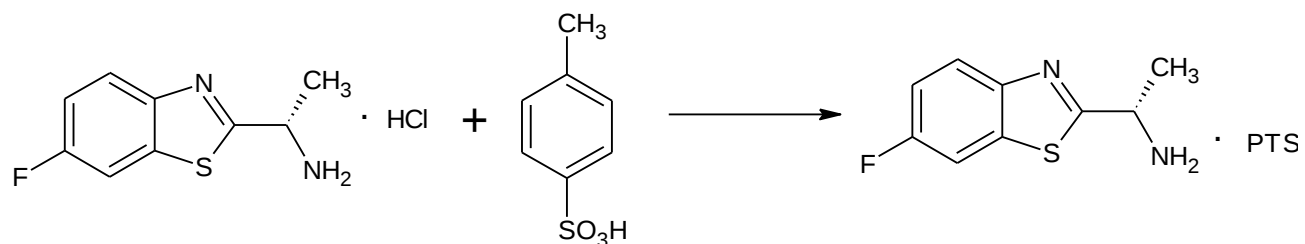
**Krok 3:** Příprava D-alanin-N-karboxyanhydridu (R-4-methyl-1,3-oxazolidin-2,5-dionu).  
 Reakce 2-aminopropanové kyseliny s fosgenem v THF.<sup>5, 6, 7</sup>



**Krok N:** Příprava R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin hydrochloridu

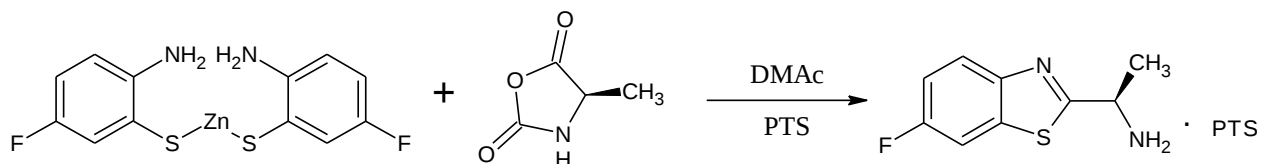


**Krok 4:** Příprava R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin-p-toluensulfonátu. Výsledný produkt byl připraven reakcí p-toluensulfonové kyseliny s 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)ethanamin hydrochloridem ve vodě.<sup>5</sup>



Produkt R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanamin-p-toluensulfonát lze také připravit původní technologií, která vede přes meziprodukt 2-amino-5-fluorthiofenolát draselný. Tato metoda však byla nahrazena výše popsanou technologií.

Meziprodukt kroku 3: R-4-methyl-1,3-oxazolidin-2,5-dion reaguje s roztokem 2-amino-5-fluorthiofenolátem zinečnatým v N,N-dimethylacetamidu a následně také s p-toluensulfonovou kyselinou.



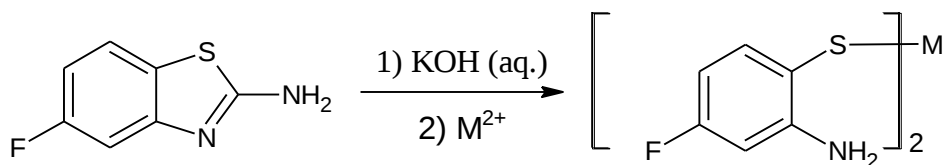
## 2.1. Příprava (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylaminu s použitím 5-fluorthiofenolátu zinečnatého <sup>8</sup>

Jedná se o původní technologii, jejíž cílem bylo vyvinout proces, kterým by bylo možné syntetizovat (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylamin nebo jeho sůl z 2-amino-5-fluorthiofenolu za vysokého výtěžku a snadné manipulace s derivátem.

Bylo zjištěno, že používané soli 2-amino-5-fluorthiofenolu jsou na rozdíl od báze stálé na vzduchu, nezapáchají, a proto jsou snadno průmyslově zpracovatelné. Soli 2-amino-5-fluorthiofenolu reagují s N-karboxyanhydridy příslušných aminokyselin za vzniku požadovaných (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)alkylaminů. Použitím této metody lze získat požadovaný produkt s uspokojivým výtěžkem.

Jako soli 2-amino-5-fluorthiofenolu mohou být použity jako suroviny pro výše uvedenou reakci například: sůl zinečnatá, měďnatá, nikelnatá, hořečnatá případně vápenatá. Pro reakci se nejběžněji používá zinečnatá sůl díky svým vysokým výtěžkům.

Požadované kovové soli 2-amino-5-fluorthiofenolu jsou produkovány jednoduše za vysokých výtěžků například hydrolýzou 2-amino-6-fluorbenzthiazolu s hydroxidem draselným a následnou reakcí s kovovou solí. <sup>9</sup>



N-karboxyanhydrid aminokyseliny bývá používán DL-alanin-N-karboxyanhydrid, D-alanin-N-karboxyanhydrid, L-alanin-N-karboxyanhydrid. Získaný (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylamin nebo jeho sůl se používá jako meziprodukt při výrobě fungicidů pro zemědělství a zahradnictví.<sup>10</sup>

N-karboxyanhydridy příslušných aminokyselin se připraví reakcí příslušné aminokyseliny s fosgenem, případně jeho deriváty (difosgen, trifosgen).<sup>6</sup>

V reakci soli 2-amino-5-fluorthiofenolu s N-karboxyanhydridem příslušné aminokyseliny se používá množství N-karboxyanhydridu 2,0 mol na 2,6 mol soli 2-amino-5-fluorthiofenolu. V tomto případě se může použít anhydrid N-karboxy aminokyseliny v sušeném nebo zvlhčeném stavu. Při výrobě se používá rozpouštědlo (tetrahydrofuran) nebo organické rozpouštědlo používané při rekrytalizaci.

Rozpouštědlo používané ve výše uvedené reakci je aprotické polární rozpouštědlo, které je schopné rozpustit zinečnatou sůl 2-amino-5-fluorthiofenolu a zároveň nereaguje s N-karboxyanhydridem aminokyseliny. Specifickými příklady používaných rozpouštědel jsou například rozpouštědla amidového typu: N,N-dimethylformamid, N,N-dimethylacetamid, N,N-diethylacetamid, 1,3-dimethyl-2-imidazolidin, 1-methyl-2-pyrrolidin, 1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2-(1H)-pyrimidin, 1,1,3,3-tetramethylmočovina, dále rozpouštědla obsahující síru jako je dimethylsulfoxid, a dále triamid hexamethylfosforečný. Z těchto rozpouštědel se nejčastěji používají aprotická polární rozpouštědla amidového typu.

Výše uvedená rozpouštědla mohou být použita samostatně nebo ve směsi dvou nebo více typů. Použité rozpouštědlo má bod tání vyšší než je reakční teplota, proto se dává přednost rozpouštědlu ve směsi. Množství použitého rozpouštědla se upřednostňuje 300 až 20 000 ml na jeden mol zinečnaté soli 2-amino-5-fluorthiofenolu. Lze použít i nepolární nebo málo polární rozpouštědlo (například chlorbenzen) a dále použít převod fáze katalyzátorem. Provedení takové dvoufázové reakce je nevýhodné z hlediska výtěžku a selektivita reakce je značně snížena.

Teplota reakcí je -50 až 60 °C, preferuje se však teplota -30 až 10 °C. Doba reakce se předpokládá 0,5 až 12 hodin. Reakce bývá prováděna za normálního tlaku. Zinečnatá sůl 2-amino-5-fluorthiofenolu se smíchá s rozpouštědlem a do této reakční směsi je postupně přidáván N-karboxyanhydrid příslušné aminokyseliny za stálého míchání a udržování požadované teploty.

V tomto procesu se cyklizace provádí až po uplynutí výše uvedené reakce. Cyklizace může být provedena přidáním kyseliny, vodného roztoku kyseliny nebo hydrátu kyseliny do reakční směsi po reakci mezi 2-amino-5-fluorthiofenolem soli kovu s anhydridem N-karboxy

aminokyseliny. Pro cyklizaci se mohou použít anorganické nebo organické kyseliny. Příkladem anorganické kyseliny může být kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina bromovodíková, kyselina jodovodíková nebo kyselina chloristá. Příkladem organické kyseliny může být substituovaná benzensulfonová kyselina jako je kyselina p-toluensulfonová, p-chlorbensensulfonová nebo 2,4-dichlorbensensulfonová. Dále může být příkladem organické kyseliny (substituovaná) methansulfonová kyselina jako je kyselina trifluormethansulfonová. Množství použité kyseliny je 0,5 až 6,0 molů, upřednostňuje se však 2,0 až 5,0 molů na jeden mol zinečnaté soli 2-amino-5-fluorthiofenolu. Je-li kyselina přidána do reakčního systému ve formě vodného roztoku, může obsahovat 0 až 5000 ml vody, upřednostňuje se však 0 až 1000 ml vody na jeden mol zinečnaté soli 2-amino-5-fluorthiofenolu.

Teplota cyklizační reakce se udržuje při -30 až 60 °C, preferuje se však -10 až 10 °C. Doba reakce je 0,5 až 6 hodin. Reakce bývá prováděna za normálního tlaku při dané teplotě a stálého míchání reakční směsi.

V procesu je (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)alkylamin po cyklizaci ve formě soli s kyselinou použitou v cyklizační reakci. Odstraněním rozpouštědla destilací může být substituovaný alkylamin ve formě soli. Použitím vodného roztok hydroxidu alkalického kovu (například hydroxid sodný nebo hydroxid draselný) dojde k uvolnění aminoskupiny ze substituovaného alkylaminu a následnou extrakcí organickým rozpouštědlem je možné izolovat volný substituovaný alkylamin.

Pokud má substituovaný alkylamin ve formě soli s kyselinou použitou při cyklizaci nízkou krystalizovatelnost (HCl – sůl), je možné převést substituovaný alkylamin do formy soli s kyselinou, která je odlišná od kyseliny použité při cyklizační reakci (sůl 4-toluensulfonové kyseliny).

Jak již bylo uvedeno, substituovaný alkylamin získaný podle uvedeného procesu má stejnou prostorovou strukturu (absolutní konfiguraci) a optickou čistotu jako aminokyselina použitá jako výchozí surovina pro přípravu N-karboxyanhydridu aminokyseliny. Nicméně když předpokládáme, že substituovaný alkylamin je opticky aktivní sloučeninou, izolujeme ho nejlépe ve formě soli, aby se zabránilo například snížení optické čistoty způsobené racemizací. Izolace ve formě (substituované) soli benzensulfonové kyseliny (například sůl p-toluensulfonové kyseliny nebo sůl benzensulfonové kyseliny) vykazuje vysokou krystalizovatelnost, což je výhodné hlavně z hlediska bezpečnosti.

Substituovanou sůl kyseliny benzensulfonové: 1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylamin lze připravit ve formě opticky čistých isomerů R-konfigurace a S-konfigurace. Přednost se dává solím p-toluensulfonové kyseliny, protože jsou schopné velmi dobře krystalizovat.

Dále je uveden konkrétní postup výroby.<sup>8</sup>

#### Příklad:

Do 30 ml N,N-dimethylacetamidu bylo přidáno 1,75 g (0,005 mol) bis(5-fluor-2-aminothiofenol) zinečnaté soli. Reakční směs byla míchána a chlazena na teplotu -10 °C v proudu dusíku. Při této teplotě bylo do reakční směsi přidáno 1,14 g (0,01 mol) D-alanin-N-karboxyanhydridu. Směs byla míchána při teplotě -13 až -10 °C po dobu 3 hodin. Poté bylo do reakční směsi po kapkách přidáno 18 g 5% vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové po dobu 1 hodiny tak, aby teplota nepřestoupila 5 °C. Výsledná reakční směs byla analyzována HPLC chromatografií. (R)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylamin byl připraven s výtěžkem 99,1% na základě D-alanin-N-karboxyanhydridu. Po ukončení reakce bylo do reakční směsi přidáno 6 g 24% vodného roztoku hydroxidu sodného a pH bylo zvýšeno nad hodnotu 10. Reakční směs byla přefiltrována. K získanému filtrátu byla přidána voda. Tato reakční směs byla následně extrahována toluenem. Výsledná toluenová vrstva byla vysušena bezvodým síranem sodným a následně vakuově zahuštěna. Následnou krystalizací bylo získáno 1,91 g (0,00973 mol) (R)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylaminu. Získaný výtěžek byl 97,3% na základě D-alanin-N-karboxyanhydridu. Optická čistota produktu byla změřena HPLC chromatografií pomocí chirální kolony, která ji určila 99,8% e.e. Optická čistota D-alaninu použitého pro syntézu D-alanin-N-karboxyanhydridu byla 99,8% e.e.

## **2.2. Proces výroby 1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanaminu<sup>11</sup>**

Cílem této popsané metody je poskytnout postup pro syntézu 1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)ethanaminu, který má potenciální využití při syntéze léčiv či agrochemických přípravků. Tato několikastupňová metoda, která je vedena přes meziprodukt 2-amino-5-fluorthiofenol, poskytuje vysoké průmyslové výtěžky.

V prvním reakčním stupni je připraven 2-amino-6-fluorbenzthiazol reakcí 4-fluoranilinu s thiokyanatanem sodným v ledové kyselině octové a následnou reakcí s kapalným brómem. Tato reakce je bohatě popsána v řadě článcích.<sup>2, 12, 13</sup>

Metoda pro tuto syntézu je známá reakce: kondenzace mezi 2-amino-5-fluorthiofenolem a N-karboxyanhydridem aminokyseliny. Tato popsaná metoda však poskytuje nízké výtěžky při přípravě (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylaminu. Další problém při použití této metody je v tom, že 2-amino-5-fluorthiofenol používaný jako surovina má silný zápach sirovodíku a je nestabilní na vzduchu.<sup>14</sup>

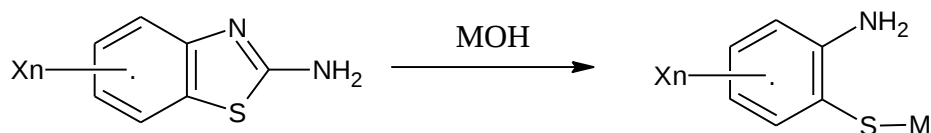
Při řešení výše uvedených problémů bylo zjištěno, že (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylamin lze získat s dosažením vysokého výtěžku převedením 2-amino-5-fluorthiofenolu na kovovou sůl (např. zinečnatou sůl), která je stabilní na vzduchu a je bez zápachu. Použití solí kovů přináší problém s odpadními vodami. Při přípravě zinečnaté soli příslušného aminothiofenolu dochází při izolaci soli ke kontaminaci odpadních vod zinečnatými solemi a N,N-dimethylacetamidem, který by bylo nutné z ekonomického hlediska recyklovat z odpadních vod. Konečný produkt by navíc obsahoval i větší množství výchozí zinečnaté soli a bylo by nutné jej rafinovat. Likvidace takto získaných odpadních vod by znamenalo větší ekonomickou zátěž a snížení rentability výroby.

Další metoda si klade za cíl poskytnout postup pro výrobu (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylaminu s dosažením uspokojivého průmyslového výtěžku, aniž by to vedlo ke znečištění životního prostředí.

V tomto procesu je sodná nebo draselná sůl 2-amino-5-fluorthiofenolu přidána do kyseliny a převedena na volný 2-amino-5-fluorthiofenol. V tomto případě se pH reakčního systému udržuje při hodnotě 6 nebo nižší. Poté se do reakční směsi přidá N-karboxyanhydrid aminokyseliny. Produktem této reakce je požadovaný (R,S)-1-(6-fluor-2-benzthiazolyl)ethylamin. V tomto případě se reakční prostředí upřednostňuje kyselejší, a to více než u reakce kondenzace, kde se udržovalo pH 6 nebo nižší.

Ze solí alkalických kovů 2-amino-5-fluorthiofenolu se upřednostňují sodná a draselná sůl, které se obvykle používají průmyslově a jsou preferovány z hlediska optimálních výtěžků požadovaných produktů. Kyselina, do které se přidává sůl 2-amino-5-fluorthiofenolu, může být minerální kyselina, např. kyselina chlorovodíková, sírová, bromovodíková, fosforečná a nebo organická kyselina, např. kyselina p-toluensulfonová, methansulfonová, trifluormethansulfonová. Tyto kyseliny se přednostně používají ve formě vodného roztoku.

Reakční schéma: Hydrolýza 2-amino-6-fluorbenzthiazolu hydroxidem alkalického kovu jako je hydroxid draselný a jiné.



kde „M“ je alkalický kov a „X“ je vodíkový atom, halogenový atom (zahrnující chlór, fluor, bróm nebo jód), alkylová skupina (mající 1 až 6 uhlíkových atomů, zahrnující například methyl-, ethyl-, n-propyl-, isopropyl-, n-butyl-, isobutyl-, n-pentyl-, n-hexyl- skupinu), alkoxy skupina (-O-alkyl skupina), kyano skupina nebo nitro skupina.

Teplota se během přidávání soli 2-amino-5-fluorthiofenolu do kyseliny udržuje 20 až 60 °C, preferuje se však -5 až 40 °C. V konkrétním případě se použije 1 mol draselné soli 2-amino-5-fluorthiofenolu na 1 nebo více molů koncentrované kyseliny chlorovodíkové, upřednostňuje se 2 a více molů kyseliny chlorovodíkové.

Používaný N-karboxyanhydrid aminokyseliny může být sušený produkt, nebo může být rozpuštěn např. v tetrahydrofuranu, používaného při krystalizaci.<sup>6</sup>

Reakce soli 2-amino-5-fluorthiofenolu s N-karboxyanhydridem aminokyseliny je udržována při teplotě -50 až 60 °C, preferuje se však -30 až 40 °C. Doba reakce je zpravidla 12 hodin a méně. Reakce probíhá za atmosférického tlaku a stálého míchání.

### Konkrétní postup výroby:

40 ml vody a 30 g (0,296 mol) 36% kyseliny chlorovodíkové se umístí do 300 ml reaktoru a ochladí na teplotu 3 °C. Po kapkách za stálého míchání se přidá 48,0 g (0,056 mol) vodného roztoku draselné soli 2-amino-5-fluorthiofenolu při teplotě 2 až 5 °C. Následuje míchání po dobu 1 hodiny. Reakční systém by měl mít pH 5,23. Dále se přidá 9,7 g (0,051 mol) monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny, 15 ml tetrahydrofuranu a směs se míchá 30 minut. Poté se přidá 8,1 g (0,055 mol) D-alanin-N-karboxyanhydridu (čistota 78,3%) při teplotě 0 °C. Výsledná směs se nechá stát při teplotě 15 až 20 °C po dobu 18 hodin. Výsledné krystaly se přefiltrují a vysuší při teplotě 60 °C. Získá se 16,6 g 2-(6-fluorbenzthiazolyl)ethylamin-p-toluensulfonátu (čistota: 93,5%). Výtěžek 82,8% je vztažen na draselnou sůl 2-amino-5-fluorthiofenolu.

### 2.3. Průmyslová využitelnost

Výše popsáný proces poskytuje průmyslový postup pro výrobu 2-amino-5-fluorthiofenolu, substituovaného alkylaminu (typicky pro 1-(2-benzthiazolyl)alkylamin) nebo soli o vysokých výtěžcích a snadné zpracovatelnosti. V tomto procesu je substituovaný alkylamin opticky aktivní sloučenina a produkt může být vyroben bez snížení optické čistoty použité opticky aktivní suroviny.<sup>8</sup>

Podle tohoto procesu jsou zde také k dispozici soli substituovaného alkylaminu, které jsou užitečné pro výrobu meziproduktů fungicidů pro zemědělství a zahradnictví. Tyto soli jsou snadno krystalizovatelné a stabilní jako například 1-(6-halogen-2-benzthiazolyl)ethylamin-p-toluensulfonát.<sup>10</sup>



Obr. 1: Plíseň révy vinné<sup>15</sup>

### 3 Experimentální část

#### 3.1. Komerčně dostupná chemická činidla

4-fluoranilin 99% - Aldrich

Brom - Lachema

Rhodanid sodný p.a. - Lachema

Kyselina octová p.a. - Penta

Fosgen - Synthesia

L-Valin 99% - Acros

D-Valin 98% - Acros

L-Fenylalanin 99% - Acros

Kyselina 4-toluensulfonová monohydrát 98% - Sigma-Aldrich

Tetrahydrofuran extra dry - Acros

Fosgen - Synthesia

Toluen p.a. - Penta

NaOH pevný p.a. - Penta

KOH pevný p.a. - Penta

*n*-Hexan 95% - Sigma-Aldrich

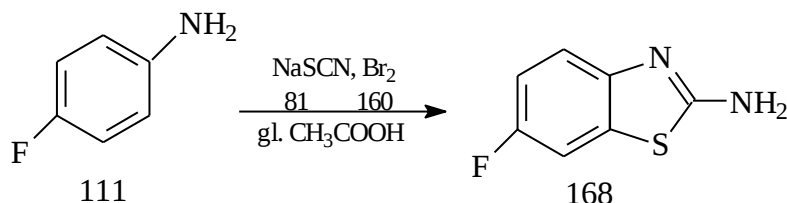
Kyselina chlorovodíková p.a. - Penta

Destilovaná voda

## 3.2. 2-[(1S)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol

### 3.2.1. Příprava 6-fluor-1,3-benzthiazol-2-aminu

**Reakční schéma:**



**Násada:**

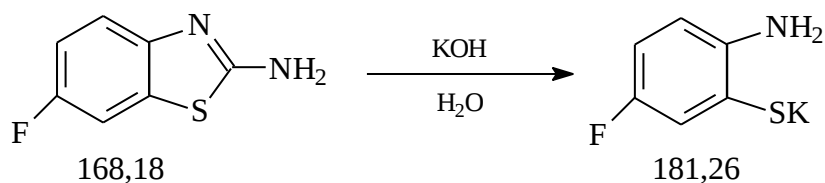
|                        |                   |
|------------------------|-------------------|
| 4-fluoranilin          | 68,8 g (0,62 mol) |
| NaSCN                  | 105,6 g (1,3 mol) |
| Voda                   | 600 l             |
| Toluen                 | 116 g             |
| Ledová kyselina octová | 348,4 g           |
| Brom                   | 104 g (0,65 mol)  |
| 40 % NaOH              | 80 ml             |

**Pracovní postup:**

Do 1 l reaktoru bylo předloženo 105,6 g NaSCN a 348,4 g ledové kyseliny octové. Do této reakční směsi bylo nadávkováno při teplotě 15 – 25 °C 68,8 g 4-fluoranilinu. Reakční směs byla 1 hodinu míchána při teplotě 15 – 25 °C. Poté bylo do reakční směsi během 3 hodin nadávkováno 104 g bromu tak, aby se teplota reakční směsi udržovala v rozmezí teplot 15 – 25 °C. Reakční směs byla v tomto teplotním rozmezí míchána ještě 1 hodinu. Do této reakční směsi bylo dále přidáno 600 ml vody 116 g toluenu. Reakční směs byla vyhřáta na teplotu 70 °C a při této teplotě 30 minut míchána. Reakční směs byla při této teplotě zfiltrována přes nuč. Oddělená vodná vrstva byla zalkalizována na hodnotu pH >13 přidavkem 80 ml 40% roztoku NaOH. Teplota reakční směsi během alkalizace byla udržována v rozmezí 30 – 40 °C. Vyloučený produkt byl odfiltrován na nuči a promyt 5 x 100 ml vody. Produkt byl sušen na vzduchu. Bylo připraveno 94,5 g produktu (89% výtěžek).

### 3.2.2. Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného

#### Reakční schéma:



#### Násada:

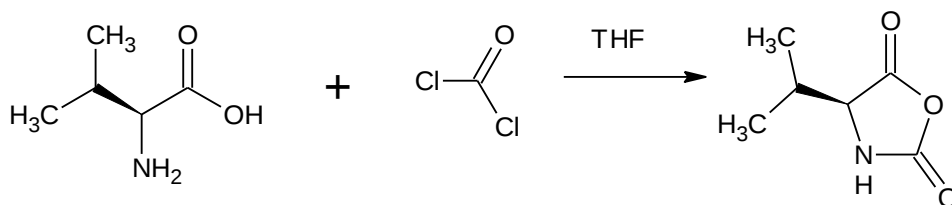
|                            |                      |                 |
|----------------------------|----------------------|-----------------|
| 48% KOH                    | 43,2 g (0,37 mol)    | 20,7 g 100% KOH |
| 2-amino-6-fluorbenzthiazol | 12,0 g (0,07135 mol) |                 |

#### Pracovní postup:

Do zadusíkované 100 ml tříhrdlé baňky bylo vloženo 43,2 g 48% KOH a 12 g 2-amino-6-fluorbenzthiazolu a reakční směs byla refluxována v inertní dusíkové atmosféře po dobu 5 hodin při teplotě 110 – 115 °C. Pak byla reakční směs ochlazená na teplotu 50 °C a bylo přidáno 30 ml toluenu. Reakční směs byla 0,5 hod. míchána a 0,5 hod. byla ponechána v klidu. Vodná vrstva byla oddělena a použita do další reakce. Bylo připraveno 53 g vodného roztoku K<sup>+</sup> soli.

### 3.2.3. Příprava (4S)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dionu

#### Reakční schéma:

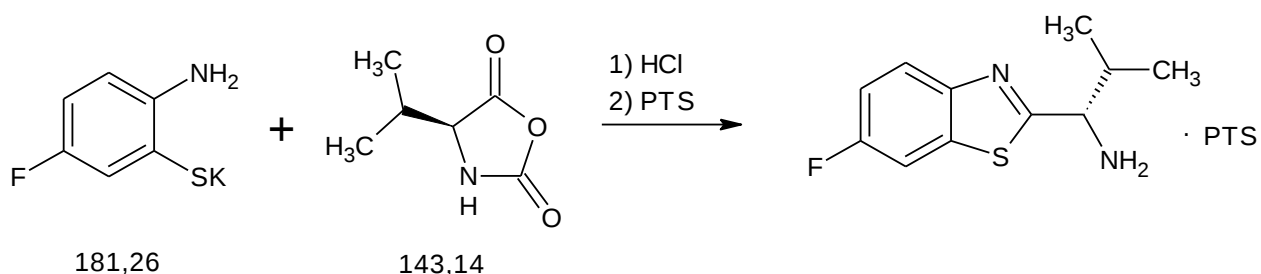


**Násada:**

|        |                  |
|--------|------------------|
| L-Val  | 12 g (0,102 mol) |
| THF    | 150 ml           |
| Fosgen | 30 g (0,3 mol)   |

**Pracovní postup:**

Do 0,25 reaktoru se vložilo 12 g L-valinu a 150 ml suchého THF a reakční směs byla 0,5 hod. míchána při laboratorní teplotě. Do reakční směsi bylo během 1 hodiny nadávkováno 30 g fosgenu. Po nadávkování fosgenu se reakční směs postupně vyhřála na teplotu 40 °C. Reakční směs byla míchána při teplotě 40 – 42 °C, dokud se veškerý L-valin nerozpustil (2 hod.). Poté bylo z reakční směsi oddestilováno 350 ml THF, teplota reakční směsi během destilace nepřesáhla 40 °C. Do destilačního zbytku bylo přidáno 150 ml hexanu. Vyloučený produkt byl odfiltrován a promyt 50 ml hexanu. Bylo získáno 15,15 g produktu (91,7% výtěžek).

**3.2.4. Příprava 2-[(1S)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazolu****Reakční schéma:****Násada:**

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| Konc. HCl                   | 45,5 g |
| Voda                        | 53,0 g |
| 2-amino-5-fluorfenylthiolát | 53,0 g |
| draselný                    |        |
| L-Val-NCA (94,5%)           | 11,4 g |
| THF                         | 26,0 g |
| PTS                         | 12,8 g |

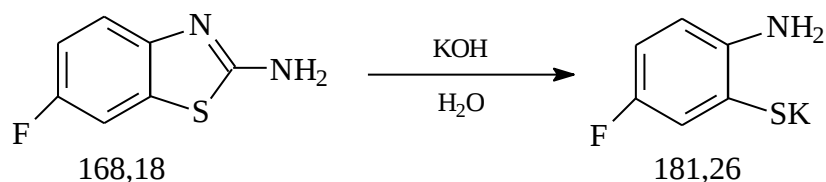
**Pracovní postup:**

Do 0,5 ml reaktoru bylo předloženo 45,5 g konc. HCl a 53 ml vody. Reakční směs byla ochlazená na teplotu 0 °C a do ní byl postupně nadávkován vodný roztok K<sup>+</sup> soli tak, aby teplota nepřestoupila 5 °C. Po nadávkování byla upravena hodnota pH na 1,2. Do reakční směsi bylo potom nadávkováno během 1 hodiny 11,4 g L-Val-NCA v 26 g THF (0 – 5 °C). Poté byla opět upravena hodnota pH na 0,88 pomocí 2,5 g HCl. Reakční směs byla vyhřátá na teplotu 50 °C a při této teplotě byla míchána 4 hodiny. Po této době bylo do reakční směsi přidáno 50 ml toluenu a reakční směs byla míchána 0,5 hod a 0,5 hod byla ponechána v klidu. Byla oddělena toluenová vrstva a vodná vrstva stejným způsobem extrahována ještě jednou. Do vodné vrstvy bylo dále při teplotě 40 °C přidáno 12,8 g p-toluensulfonové kyseliny a reakční směs byla při této teplotě míchána 0,5 hod. Reakční směs byla následně ochlazená na teplotu 20 °C. Vyloučený produkt byl odfiltrován a promyt vodou do neutrálna. Produkt byl sušen na vzduchu. Bylo připraveno 21,5 g (82% výtěžek).

### 3.3. 2-[(1R)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol

#### 3.3.1. Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného

Reakční schéma:



Násada:

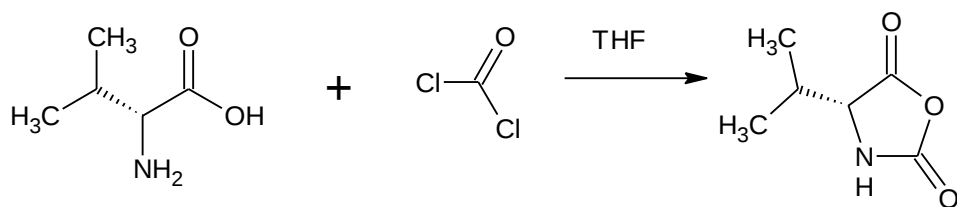
|                            |                      |                  |
|----------------------------|----------------------|------------------|
| 48% KOH                    | 43,2 g (0,37 mol)    | 20,7 g 100 % KOH |
| 2-amino-6-fluorbenzthiazol | 12,0 g (0,07135 mol) |                  |

Pracovní postup:

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 3.2.2. Bylo připraveno 55 g vodného roztoku  $K^+$  soli.

#### 3.3.2. Příprava (4R)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dionu

Reakční schéma:

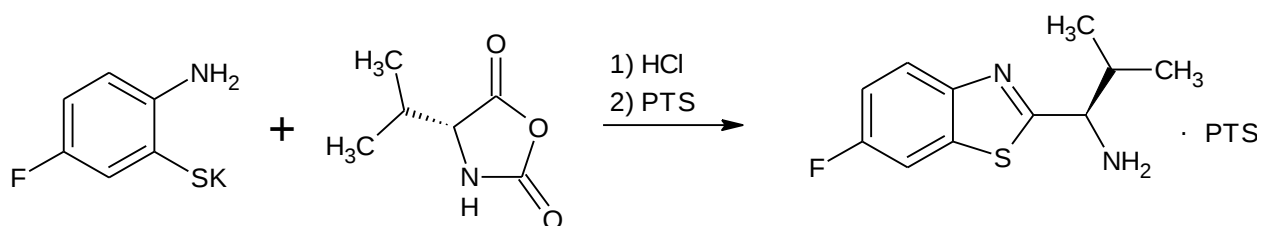


Násada:

|        |                  |
|--------|------------------|
| D-Val  | 12 g (0,102 mol) |
| THF    | 150 ml           |
| Fosgen | 30 g (0,3 mol)   |

**Pracovní postup:**

Produkt byl připraven postupem popsáným v kapitole 3.2.3. Bylo získáno 15,35 g produktu (92% výtěžek).

**3.3.3. Příprava 2-[(1R)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazolu****Reakční schéma:****Násada:**

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| Konc. HCl                            | 45,5 g |
| Voda                                 | 53,0 g |
| 2-amino-5-fluorfenylthiolát draselný | 55,0 g |
| D-Val-NCA (94,5%)                    | 11,4 g |
| THF                                  | 26,0 g |
| PTS                                  | 12,8 g |

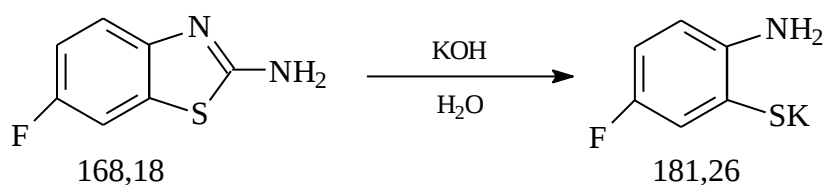
**Pracovní postup:**

Produkt byl připraven postupem popsáným v kapitole 3.2.4. Bylo připraveno 20,95 g produktu (výtěžek 81,2%).

### 3.4. (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin

#### 3.4.1. Příprava 2-amino-5-fluorfenylthiolátu draselného

Reakční schéma:



Násada:

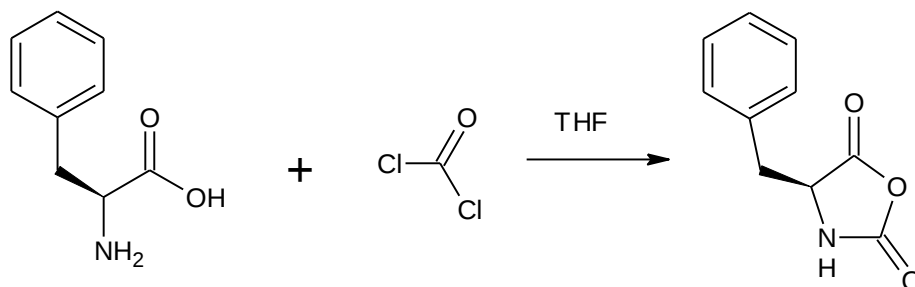
|                            |                      |                 |
|----------------------------|----------------------|-----------------|
| 48% KOH                    | 43,2 g (0,37 mol)    | 20,7 g 100% KOH |
| 2-amino-6-fluorbenzthiazol | 12,0 g (0,07135 mol) |                 |

Pracovní postup:

Produkt byl připraven postupem popsáným v kapitole 3.2.2. Bylo připraveno 55 g vodného roztoku K<sup>+</sup> soli.

#### 3.4.2. Příprava (4S)-4-benzyl-1,3-oxazolidin-2,5-dionu

Reakční schéma:

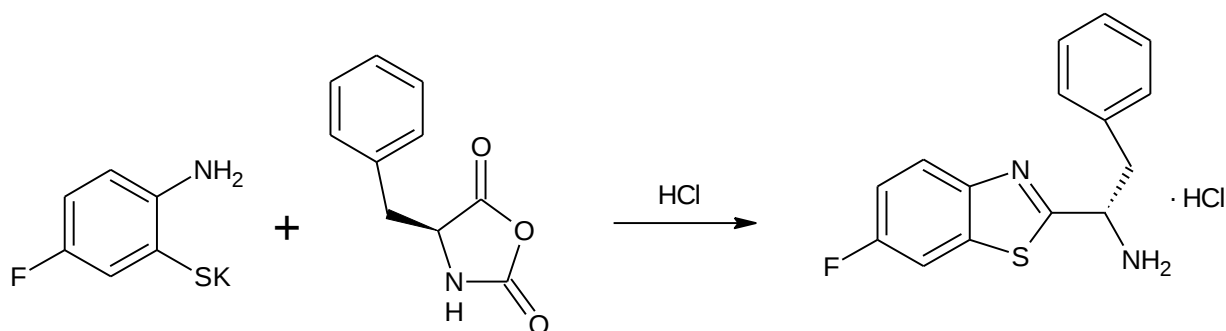


**Násada:**

|          |                    |
|----------|--------------------|
| L-PheAla | 16,8 g (0,102 mol) |
| THF      | 150 ml             |
| Fosgen   | 30,0 g (0,3 mol)   |

**Pracovní postup:**

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 3.2.3. Bylo získáno 18,5 g produktu (95% výtěžek).

**3.4.3. Příprava (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanaminu****Reakční schéma:****Násada:**

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| Konc. HCl                            | 45,5 g |
| Voda                                 | 53,0 g |
| Krok 1. (3.4.1.): K <sup>+</sup> sůl | 55,0 g |
| L-PheAla-NCA                         | 15,6 g |
| THF                                  | 26,0 g |

**Pracovní postup:**

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 3.2.4. Bylo připraveno 17,6 g produktu (výtěžek 80%).

### 3.5. Metody charakterizace

#### Bod tání

Teplota tání byla stanovena pomocí Bodotávku Büchi Melting Point B -540. U bodotávku je možnost sledovat proces tání přes zvětšovací sklo a průběh reakce je viditelný na LCD displeji.

#### NMR spektroskopie

NMR spektra byla měřena v deuteriochloroformu a hexadeuteriodimethylsulfoxidu při teplotě 300 K na přístroji Bruker Avance 400 MHz v pulzním módu s Fourierovou transformací. Spektra byla měřena v 5-ti milimetrové širokopásmové laditelné sondě a frekvence použité při měření byly u  $^1\text{H}$  spekter 400,13 MHz, pro  $^{13}\text{C}$  spektra pak 100,62 MHz, a  $^{19}\text{F}$  spektra 376,46 MHz. Všechna NMR spektra ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  a  $^{19}\text{F}$ ) byla měřena standardním způsobem. Hodnoty  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  chemických posunů byly vztaženy vůči signálu rozpouštědla ( $\delta(^1\text{H}) = 7,25 \text{ ppm}$  ( $\delta(^{13}\text{C}) = 77,0 \text{ ppm}$  ( $\text{CDCl}_3$ ), ( $\delta(^1\text{H}) = 2,5 \text{ ppm}$  ( $\delta(^{13}\text{C}) = 39,5 \text{ ppm}$  (DMSO) a přepočteny do  $\delta$ -stupnice.

#### Optická otáčivost

K měření byl použit Polarimetr M341 Perkin-Elmer. Polarimetr má zabudovanou sodíkovou výbojku (Na 589 nm) a rtuťovou výbojku (Hg 578, 546, 436 a 365 nm). Přístroj byl kalibrován na methanol.

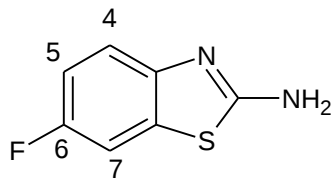
$$[\alpha]_{\text{D}^{25}} = \frac{\alpha \cdot 100}{c \cdot l}$$

$$l = 1$$

$$c = \text{g}/100\text{ml}$$

### 3.6. Charakterizace látek

#### 3.6.1. 2-amino-6-fluor-1,3-benzthiazol



**Vzhled:** nažloutlá pevná látka

**Výtěžek:** 89%

**Bod tání:** 183 - 185 °C

**<sup>1</sup>H NMR (400,13 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 7,57 (1H, dd, <sup>4</sup>*J* = 2,5 Hz, <sup>3</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>1</sup>H) = 8,8 Hz, H7); 7,46 (2H, s, NH<sub>2</sub>); 7,29 (1H, dd, <sup>3</sup>*J* = 8,7 Hz, <sup>4</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>1</sup>H) = 4,9 Hz, H4); 7,03 (1H, dt, <sup>4</sup>*J*(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 2,4 Hz, <sup>3</sup>*J*(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 9,2 Hz, <sup>3</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>1</sup>H) = 9,2 Hz, H5).

**<sup>13</sup>C NMR (100,62 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ 166,4 (d, <sup>4</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 2,4 Hz); 157,2 (d, <sup>1</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 235,7 Hz); 149,5; 131,8 (d, <sup>3</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 11,5 Hz); 118,1 (d, <sup>3</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 8,6 Hz); 112,7 (d, <sup>2</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 23,6 Hz); 107,8 (d, <sup>2</sup>*J*(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 27,0 Hz).

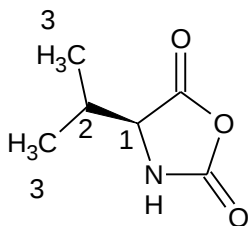
**<sup>19</sup>F NMR (376,46 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>):** δ = -122,4.

**Elementární analýza:** C<sub>7</sub>H<sub>5</sub>FN<sub>2</sub>S (M<sub>r</sub> = 168,2)

Vypočteno: C(49,99 %), H(3,00 %), N(16,66 %), S(19,06 %)

Stanoveno: C(50,19 %), H(3,22 %), N(16,52 %), S(19,28 %)

### 3.6.2. (4S)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dion



**Vzhled:** bílá krystalická látka

**Výtěžek:** 91%

**Bod tání:** nestanoven

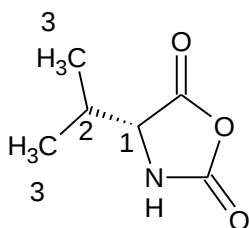
**<sup>1</sup>H NMR (400,13 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,33 (1H, s, CONH); 4,25 (1H, d, *J* = 4,1 Hz, H1); 2,25 (1H, m, H2); 1,08 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H3); 1,02 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H3).

**<sup>13</sup>C NMR (100,62 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 169,1; 153,6; 63,1; 30,7; 18,1; 16,5.

**Elementární analýza:** C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub> (M<sub>r</sub> = 143,1)

Nestanoveno

### 3.6.3. (4R)-4-(1-methylethyl)-1,3-oxazolidin-2,5-dion



**Vzhled:** bílá krystalická látka

**Výtěžek:** 92%

**Bod tání:** nestanoven

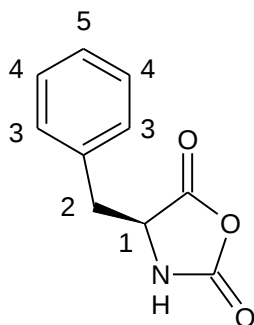
**<sup>1</sup>H NMR (400,13 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,34 (1H, s, CONH); 4,25 (1H, d, *J* = 4,1 Hz, H1); 2,24 (1H, m, H2); 1,08 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H3); 1,03 (3H, d, *J* = 6,8 Hz, H3).

**<sup>13</sup>C NMR (100,62 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 169,0; 153,6; 63,0; 30,7; 18,1; 16,5.

**Elementární analýza:** C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub> (M<sub>r</sub> = 143,1)

Nestanoveno

### 3.6.4. (4S)-4-benzyl-1,3-oxazolidin-2,5-dion



**Vzhled:** bílá krystalická látka

**Výtěžek:** 95%

**Bod tání:** nestanoven

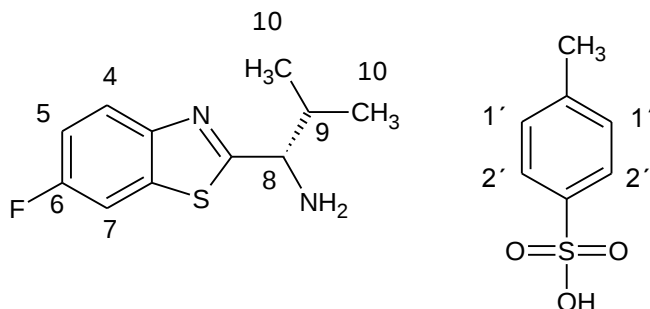
**<sup>1</sup>H NMR (400,13 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 7,33 (3H, m, H4, H5); 7,18 (2H, dd, *J* = 7,8 Hz, *J* = 1,8 Hz, H3); 6,65 (1H, m, CONH); 4,54 (1H, m, H1); 3,24 (1H, m, H2); 3,02 (1H, m, H2).

**<sup>13</sup>C NMR (100,62 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 169,3; 152,3; 134,0; 129,5; 129,1; 127,9; 59,0; 37,6.

**Elementární analýza:** C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub> (M<sub>r</sub> = 191,2)

Nestanoveno

### 3.6.5. (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-toluensulfonát



**Vzhled:** bílá pevná látka

**Výtěžek:** 82%

**Bod tání:** 239 - 241 °C

$[\alpha]_D^{25} = -16,6$  (c = 1, methanol)

**$^1\text{H}$  NMR (400.13 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  = 8,76 (3H, s,  $\text{NH}_3^+$ ); 8,07 (2H, m, H4, H7); 7,49 (2H, d, J = 8,0 Hz, H1'); 7,42 (1H, dt,  $^4J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = 2,5$  Hz,  $^3J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = 9,2$  Hz,  $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,2$  Hz), H5); 7,08 (2H d, J = 8.0 Hz, H2'); 4,71 (1H, d, J = 6,6 Hz, H8); 2,31 (1H, m, J = 6,6 Hz, H9); 2,25 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ); 1,01 (3H, d, J = 6,6 Hz, H9); 0,90 (3H, d, J = 6.6 Hz, H10).

**$^{13}\text{C}$  NMR (100.62 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  166,8 (d,  $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,2$  Hz); 160,0 (d,  $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 243,6$  Hz); 148,9 (d,  $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,5$  Hz); 145,0; 138,5; 136,2 (d,  $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 12,0$  Hz); 128,5; 125,7; 124,4 (d,  $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,5$  Hz); 115,5 (d,  $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,4$  Hz); 109,0 (d,  $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,5$  Hz); 57,3; 32,4; 21,0; 18,4; 18,2.

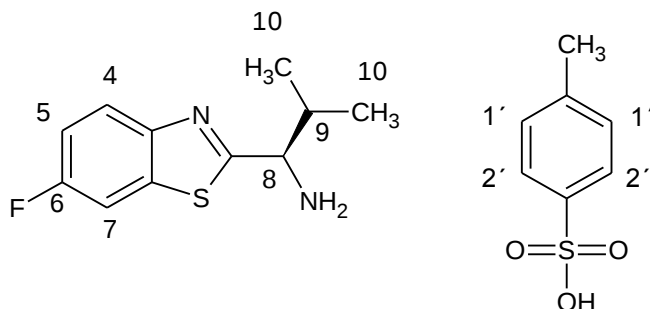
**$^{19}\text{F}$  NMR (376.46 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  = -115,1.

**Elementární analýza:**  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}_2$  ( $M_r = 396,5$ )

Vypočteno: C(54,53 %), H(5,34 %), N(7,07 %), S(16,17 %)

Stanoveno: C(54,65 %), H(5,23 %), N(6,92 %), S(16,37 %)

### 3.6.6. (1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-toluensulfonát



**Vzhled:** bílá pevná látka

**Výtěžek:** 81,2%

**Bod tání:** 235 - 237 °C

$[\alpha]_D^{25} = +15,4$  (c = 1, methanol)

**$^1\text{H}$  NMR (400.13 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  = 8,73 (3H, s,  $\text{NH}_3^+$ ); 8,12 (1H, dd,  $^4J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = 2,5$  Hz,  $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,6$  Hz, H7); 8,09 (1H, dd,  $^3J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = 8,9$  Hz,  $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$  Hz, H4); 7,48 (2H, d, J = 8,0 Hz, H1'); 7,45 (1H, dt,  $^4J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = 2,5$  Hz,  $^3J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = 9,1$  Hz,  $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$  Hz, H5); 7,08 (2H d, J = 8.0 Hz, H2'); 4,77 (1H, d, J = 6,6 Hz, H8); 2,32 (1H, m, J = 6,6 Hz, H9); 2,27 (3H, s,  $\text{CH}_3$ ); 1,02 (3H, d, J = 6,6 Hz, H9); 0,92 (3H, d, J = 6.6 Hz, H10).

**$^{13}\text{C}$  NMR (100.62 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  166,7 (d,  $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,2$  Hz); 160,0 (d,  $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 243,8$  Hz); 148,6 (d,  $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,2$  Hz); 145,4; 137,8; 136,0 (d,  $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,9$  Hz); 128,1; 125,5; 124,1 (d,  $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,7$  Hz); 115,3 (d,  $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,9$  Hz); 108,9 (d,  $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,5$  Hz); 57,0; 32,1; 20,8; 18,2; 18,0.

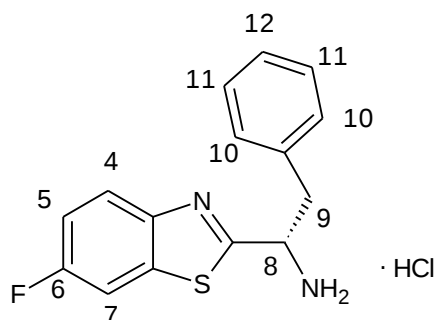
**$^{19}\text{F}$  NMR (376.46 MHz, DMSO- $d_6$ ):**  $\delta$  = -115,2.

**Elementární analýza:**  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O}_3\text{S}_2$  ( $M_r = 396,5$ )

Vypočteno: C(54,53 %), H(5,34 %), N(7,07 %), S(16,17 %)

Stanovenno: C(54,66 %), H(5,23 %), N(6,96 %), S(16,10 %)

### 3.6.7. (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin hydrochlorid



**Vzhled:** bílá pevná látka

**Výtěžek:** 80%

**Bod tání:** 235 - 237 °C

**[α]<sub>D</sub><sup>25</sup>** = - 10,7 (c = 1, methanol)

**<sup>1</sup>H NMR (400.13 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 9,32 (3H, s, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>); 8,04 (1H, dd, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 9,1 Hz, <sup>4</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>1</sup>H) = 4,8 Hz, H4); 8,01 (1H, dd, <sup>4</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 2,7 Hz, <sup>3</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>1</sup>H) = 8,8 Hz, H7); 7,39 (1H, dt, <sup>4</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 2,6 Hz, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H, <sup>1</sup>H) = 9,1 Hz, <sup>3</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>1</sup>H) = 9,1 Hz, H5); 7,20 (5H m, H10, H11, H12); 5,14 (1H, s (br), H8); 3,61 (1H, m, H9); 3,28 (1H, m, H9).

**<sup>13</sup>C NMR (100.62 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ 167,0 (d, <sup>4</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 3,2 Hz); 160,1 (d, <sup>1</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 244,0 Hz); 148,7 (d, <sup>5</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 1,3 Hz); 136,4 (d, <sup>3</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 12,0 Hz); 135,3; 129,6; 128,8; 127,5; 124,4 (d, <sup>3</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 9,8 Hz); 115,5 (d, <sup>2</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 25,0 Hz); 109,1 (d, <sup>2</sup>J(<sup>19</sup>F, <sup>13</sup>C) = 27,4 Hz); 53,4; 39,6.

**<sup>19</sup>F NMR (376.46 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** δ = -115,1.

**Elementární analýza:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClFN<sub>2</sub>S (M<sub>r</sub> = 308,8)

Vypočteno: C(58,34 %), H(4,57 %), N(9,07 %), S(10,38 %)

Stanovenno: C(58,14 %), H(4,64 %), N(9,22 %), S(10,20 %)

## 4 Diskuze

Pro přípravu dalších 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylaminů byla vybrána metoda vedoucí přes 2-amino-5-fluorthiofenolát draselný popsaná v kapitole 2.2.. Jedná se o čtyřstupňovou syntézu. Výchozí látka 4-fluoranilin reaguje s thiokyanatanem sodným v ledové kyselině octové a produkt této reakce reaguje dále s kapalným bromem za vzniku 2-amino-6-fluorbenzthiazolu. Ten reaguje s vodným roztokem hydroxidu draselného za vzniku vodného roztoku 2-amino-5-fluorthiofenolátu draselného. V dalším stupni reaguje příslušná aminokyselina s fosgenem v tetrahydrofuranu za vzniku N-karboxyanhydridu příslušné aminokyseliny. Produkt kroku 2 reaguje v dalším stupni s produktem kroku 3 za vzniku vodného roztoku R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)alkylamin hydrochloridu. Připravená HCl sůl se buď převede reakcí s p-toluensulfonovou kyselinou na R-1-(6-fluorbenzthiazol-2-yl)alkylamin-p-toluensulfonát, nebo bude ve formě hydrochloridu izolována. Výchozí postup uvedený v kapitole 2.2. byl modifikován a získané poznatky jsou diskutovány v následujících kapitolách.

### 4.1. 6-fluor-1,3-benzthiazol-2-amin

Produkt prvního reakčního kroku 2-amino 6-fluor-1,3-benzthiazol byl připraven reakcí 4-fluoranilinu s thiokyanatanem sodným v ledové kyselině octové a následnou reakcí s kapalným bromem.

Reakční směs byla po předložení výchozích surovin ochlazená na teplotu 15 °C. Při ochlazení na teplotu nižší než 15 °C docházelo k tunutí kyseliny octové. Teplota reakční směsi při bromaci byla udržována v rozmezí 15 – 25 °C. Při nižší teplotě docházelo opět k tunutí kyseliny octové. Produkt vznikl ve formě HBr soli. Reakční směs byla dále extrahována toluenem, čímž byly z reakční směsi odstraněny ostatní organické nečistoty, produkt ve formě HBr soli je v toluenu nerozpustný. Teplota reakční směsi při extrakci byla udržována na teplotě 70 °C, zabránilo se tak vylučování HBr soli produktu. Produkt byl z vodné vrstvy vysrážen úpravou pH na hodnotu 13 pomocí vodného 40% roztoku hydroxidu sodného. Alkalizace byla prováděna při teplotě 30 – 40 °C. Při nižších teplotách může docházet k současnému vylučování octanu sodného. Vyloučený produkt byl sušen na vzduchu. Při přípravě 2-amino-6-fluor-1,3-benzthiazolu bylo dosaženo výtěžku 89%.

## 4.2. N-karboxyanhydridy

N-karboxyanhydridy byly připraveny reakcí příslušné aminokyseliny (L-Val, D-Val, L-PheAla) s plynným fosgenem v suchém tetrahydrofuranu. Aminokyselina tvořila v tetrahydrofuranu mléčnou suspenzi. Tetrahydrofuranový roztok se následně ochladil na teplotu 5 – 10 °C a takto ochlazený roztok se nasýtil plynným fosgenem. Následným ohřevem na 40 – 42 °C docházelo k reakci příslušné aminokyseliny s fosgenem. Konec reakce byl signalizován rozpuštěním suspenze. Při ohřevu nad teplotu 45 °C může docházet k nežádoucí racemizaci produktu. Doba reakce se zkracuje s molárním nadbytkem fosgenu. Při použití 1,3 eq. molárního nadbytku probíhala reakce 4 hodiny. Při použití 2 eq. molárního nadbytku se reakční čas zkrátil na 1,5 hodiny. Délka reakce neměla vliv na kvalitu ani kvantitu produktu. Do reakce musí být použit suchý tetrahydrofuran. S rostoucí vlhkostí THF klesá výtěžek reakce. Do reakce byla vždy použita velmi jemně mletá příslušná aminokyselina. Aminokyselina o větších velikostech částic s fosgenem reaguje velmi pomalu a významně se tak prodlužuje průběh reakce. Výtěžky příprav jednotlivých N-karboxyanhydridů jsou uvedeny v následující tabulce.

**Tabulka 1:** Výtěžky příprav jednotlivých N-karboxyanhydridů

| Aminokyselina | NCA     |         |
|---------------|---------|---------|
|               | m       | výtěžek |
| L-Val         | 15,15 g | 91,7%   |
| D-Val         | 15,35 g | 92,0%   |
| L-Phe         | 18,50 g | 95,0%   |

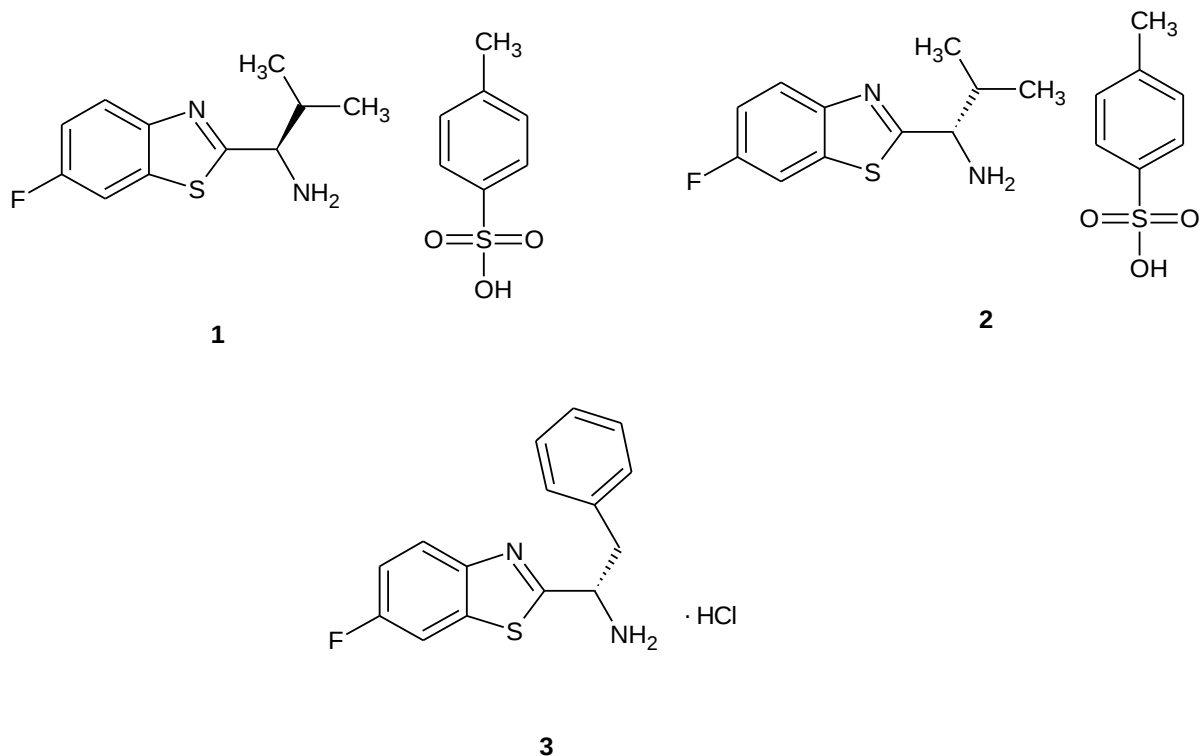
## 4.3. 2-amino-5-fluorfenylthiolát draselný

Produkt kroku 2: 2-amino-5-fluorfenylthiolát draselný byl připraven reakcí 2-amino-6-fluorbenzothiazolu s vodným roztokem hydroxidu draselného. Reakce byla doprovázena vývojem amoniaku. Teplota varu reakční směsi byla závislá na koncentraci KOH v reakční směsi. Teplota varu reakční směsi musí být minimálně 115 °C. Byly provedeny pokusy, kdy teplota varu reakční směsi dosahovala 120 °C. Zvýšení teploty varu reakční směsi nemělo žádný vliv na další průběh reakce. Reakce probíhala za neustálého zavádění dusíku do reakční směsi. Zabraňuje se tím tvorbě sulfidů a dochází k lepšímu odstranění vznikajícího amoniaku z reakční

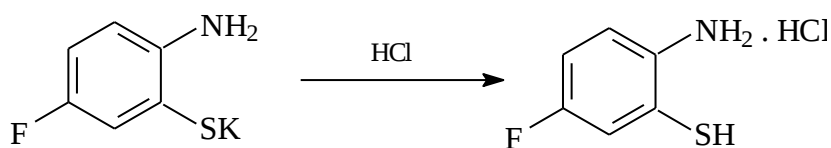
směsi. Reakční směs byla dále extrahována toluenem, čímž byly z reakční směsi odstraněny organické nečistoty. Konečný produkt připravený ve formě vodného roztoku se použije do následujícího reakčního kroku.

#### 4.4. 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylamin

Produkt 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylamin byl syntetizován třístupňovou reakcí (1*R*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-toluensulfonát (- **1**), (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-toluensulfonát – **2**), resp. dvoustupňovou reakcí ((1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin hydrochlorid - **3**).



V prvním reakčním stupni byl vždy 2-amino-5-fluorbenzothiolen draselný převeden reakcí s kyselinou chlorovodíkovou na 2-amino-5-fluorbenzenthion hydrochlorid.



Při této reakci je nutno udržovat teplotu reakční směsi do 5 °C a reakci je nutno provádět pod dusíkovou ochrannou atmosférou. Tím se zabrání tvorbě nežádoucích sulfidů.

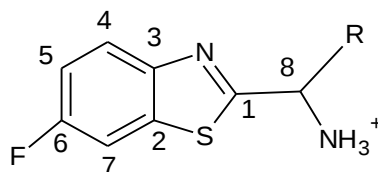
2-amino-5-fluorbenzenthiool hydrochlorid reaguje ve druhém stupni s příslušným N-karboxyanhydridem za vzniku produktu požadovaného 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylamin hydrochloridu. N-karboxyanhydrid se do reakce dává ve formě tetrahydrofuranového roztoku. Předtím je nutno upravit hodnotu pH reakční směsi na 1 – 2 pomocí HCl. Při vyšší hodnotě pH vznikají v reakční směsi nežádoucí sulfidy. Teplotu reakční směsi při dávkování D-Ala-NCA je nutno udržovat pod 5 °C. Po nadávkování D-Ala-NCA je nutné upravit hodnotu pH v reakční směsi minimálně na hodnotu 1. Reakční směs je nutno následně ohřát na 50 °C a při této teplotě 3 – 5 hodin míchat, aby byla reakce dokončena. Při ohřevu nad 50 °C může docházet k racemizaci produktu. Reakční směs se dále extrahuje toluenem, čímž se z reakční směsi odstraní organické nečistoty na bázi sulfidů. Produkt se připraví ve formě hydrochloridu ve vodném roztoku. Tento roztok je při extrakcích toluenem udržován při teplotě 50 °C. Při nižší teplotě dochází k vylučování produktu. Reakční směs se udržuje po celou dobu pod ochrannou dusíkovou atmosférou.

Konečné produkty **1** a **2** se v posledním stupni převedly reakcí s 4-toluensulfonovou kyselinou ve vodě na nerozpustnou PTS sůl. 4-toluensulfonovou kyselinu lze do reakční směsi dávkovat pevnou nebo rozpuštěnou ve vodě. Vyloučený produkt se po filtraci promývá vodou do ztráty kyselé reakce. Produkt **3** je ve formě hydrochloridu ve vodě nerozpustný a byl ve formě hydrochloridu izolován filtrací. Výtěžky jsou uvedeny v tabulce 2.

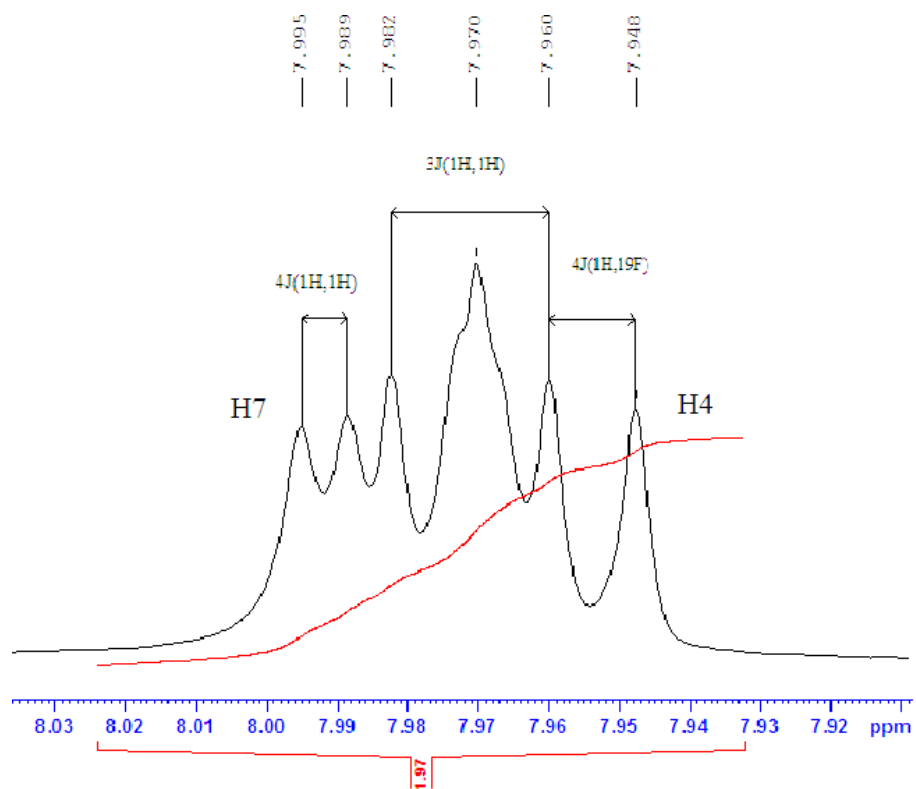
**Tabulka 2:** Výtěžky příprav jednotlivých 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylaminů

| NCA   | 1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-alkylamin |         |
|-------|----------------------------------------------|---------|
|       | m                                            | výtěžek |
| L-Val | 21,5 g                                       | 82,0%   |
| D-Val | 20,9 g                                       | 81,2%   |
| L-Phe | 17,6 g                                       | 80,0%   |

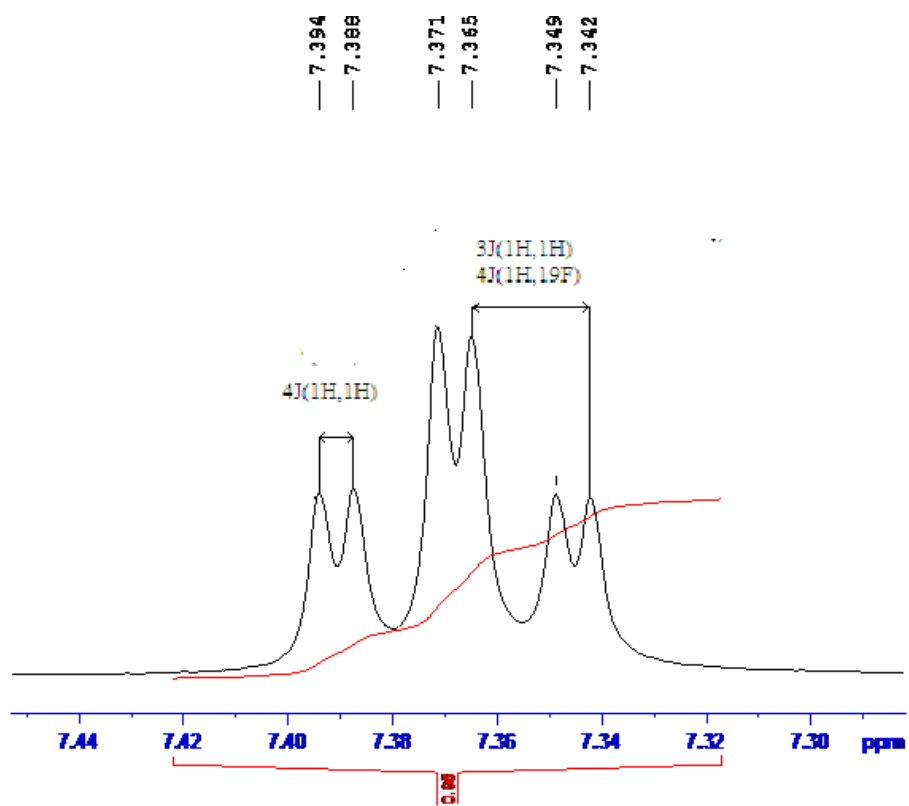
#### 4.5. NMR analýza



Připravené sloučeniny obsahují amoniovou skupinu NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, která je ve <sup>1</sup>H NMR spektrech zobrazena jako singlet s odpovídající integrální hodnotou. Proton 8 (CH – R) je vlivem interakce protonů alkylové skupiny (isopropyl – **1** a **2**, CH<sub>2</sub> – **3**) zobrazen jako dublet, u sloučeniny **3** jako široký singlet. Přítomnost fluoru navázaného v poloze 6 v benzthiazolovém bloku dokazují signály protonů 4,5 a 7. Signál protonu H4 je zobrazen jako dublet dubletu. Proton H4 interaguje přes tři vazby s protonem H5 (d, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = cca 9 Hz) a zároveň s fluorem v poloze 6 přes čtyři vazby (d, <sup>4</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>19</sup>F) = cca 4,9 Hz). Proton H5 interaguje přes tři vazby s protonem H4 (<sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = cca 9 Hz), přes čtyři vazby s protonem H7 <sup>4</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = cca 2,6 Hz) a také přes tři vazby s fluorem vázaném v poloze 6 <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H<sup>19</sup>F) = cca 9 Hz). Tento signál by měl být zobrazen jako dublet dubletu dubletu. Protože interakční konstanty H – H a H – F přes tři vazby jsou shodné, je tento signál zobrazen jako dublet tripletu. Signál protonu H7 je zobrazen jako dublet dubletu. Proton H7 interaguje přes čtyři vazby s protonem H5 (d, <sup>4</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H) = cca 2,6 Hz) a zároveň s fluorem v poloze 6 přes tři vazby (d, <sup>3</sup>J(<sup>1</sup>H,<sup>19</sup>F) = cca 9 Hz).



Obr. 2: Stanovení interakčních konstant ze signálu protonů H4 a H7.



Obr. 3: Stanovení interakčních konstant ze signálu protonů H5

V uhlíkovém  $^{13}\text{C}$  NMR spektru jsou přítomny signály odpovídající jednotlivým uhlíkům benzthiazolového bloku a substituovaného benzenového jádra. Jelikož jaderný spin fluorového isotopu  $^{19}\text{F}$  je  $\frac{1}{2}$  a přírodní zastoupení = 100%, jsou všechny signály vlivem interakce fluor-uhlík zobrazeny jako dublety s různou velikostí interakční konstanty C-F, která závisí na poloze uhlíku v molekule vůči fluoru. Jsou zde zaznamenány i fluorové interakce přes pět vazeb u uhlíku C1 ( $^5J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = \text{cca } 1,5 \text{ Hz}$ ). S rostoucí vzdáleností atomu uhlíku od fluoru hodnota interakční konstanty klesá.

## 5 Závěr

Tato bakalářská práce byla zaměřena na přípravu 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů. Jedná se především o benzthiazoly substituované v poloze 6 atomem fluoru, které se vyznačují řadou biologických aktivit. Substituované alkylaminy jsou průmyslově využitelné produkty s vysokými výtěžky a jsou užitečné pro výrobu meziproduktů fungicidů pro zemědělství a zahradnictví. Cílem práce bylo provést literární rešerši a nalézt postupy přípravy 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů. Teoretická část obsahuje dva nalezené popsání postupy přípravy 6-fluor-1,3-benzthiazolylalkylaminů. Na základě této rešerše byly v experimentální části vybranou modifikovanou metodou připraveny tři nové sloučeniny. Jednalo se o 2-[(1*S*)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol 4-toluensulfonát, 2-[(1*R*)-1,2-dimethylpropyl]-6-fluor-1,3-benzthiazol 4-toluensulfonát a (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-fenylethanamin hydrochlorid. Připravené sloučeniny byly charakterizovány bodem tání, optickou otáčivostí a NMR spektrometrií. Čistota připravených látek byla ověřena elementární analýzou.

## 6 Přehled použité literatury:

1. V. Pejchal, Š. Štěpánková, Z. Padělková, A. Imramovský, J. Jampílek; *Molecules*, **2011**, 16, 7565-7582.
2. M. Wang, M. Gao, B. H. Mock, K. D. Miller, G. W. Sledge, G. D. Hutchins, Q. Zheng; *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2006**, 14 (24), 8599-8607.
3. A. Rana, N. Siddiqui, S. A. Khan, S. E. Haque, M. A. Bhat; *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2008**, 43 (5), 1114-1122.
4. S. J. Hays, M. J. Rice, D. F. Ortwine, G. Johnson, R. D. Schwarz; *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1994**, 83 (10), 1425-1432.
5. V. Pejchal, Š. Štěpánková, P. Drabina; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **2010**, 48, 57.
6. T. J. Blacklock, R. F. Shuman, J. W. Butcher, W. E. Schearin, J. Budavari, V. J. Grenda; *Journal of Organic Chemistry*, **1988**, 53 (4), 836-844.
7. Bailey; *Journal of the Chemical Society*, **1950**, 3461-3465.
8. Umezū, K.; Taniguchi, S.; Ogawa, M.; Hiyoshi H. (Ihara Chemical Industry Co., LTD., Tokyo JP) US 6,197,969 B1; 2001.
9. Nakamura, S.; Takiguchi, T.; Iwaki, T.; Tokanoue, G.; Yamada, Y. (Canon INC) JP 6145158 (A), 1994.
10. Shibata, T.; Sugiyama, K.; Yonekura, N.; Sakai, M.; Kojima, Y.; Hayashi, S. (Kumiai Chemical Industry Co., Ihara Chemical Industry Co.) JP 8176115 (A), 1996.
11. Hijikata, Ch. (Ihara Chemical Industry Co., LTD., Taitoh-ku, Tokyo JP) EP 1 188 752 A1, 2002.
12. J. Charris, M. Monasterios, J. Dominguez, W. Infante, N. De Castro; *Heterocyclic Communications*, **2002**, 8 (3), 257-280.
13. A. J. Lin, S. Kasina; *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **1981**, 18, 759-761.
14. Sugiyama, K.; Yoshimura, T.; Shibata, T.; Yonekura, N.; Ogawa, M.; Hiyoshi, H. (Ihara Chemical Industry Co., Kumiai Chemical Industry Co.) JP 8325235 (A), 1996.
15. *Vše pro vás a vaše květiny: Plíseň révy vinné* [online]. 2008 [cit. 2012-04-22]. Dostupné z: <http://www.kvetiny-chudejova.cz/Plisen-revy-vinne.html>