

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**  
Katedra anorganické a organické chemie

**SYNTÉZA SUBSTITUOVANÝCH  
ARYLGUANIDINŮ JAKO  
POTENCIÁLNÍCH LÉČIV VI.**

**SYNTHESIS OF SUBSTITUED  
ARYLGUANIDINES AS POTENTIAL  
DRUGS VI.**

Diplomová práce

Vedoucí práce: PharmDr. Karel Palát, CSc.

Hradec Králové 2008

Jan Korábečný

Na tomto místě bych rád poděkoval PharmDr. Karlu Palátovi, CSc. za všestrannou pomoc v průběhu plnění praktické i teoretické části diplomové práce. Dále pak celému kolektivu na katedře anorganické a organické chemie FaF UK v Hradci Králové, zejména pak doc. J. Kunešovi a P. Jančárkovi za provedení NMR spektroskopie, I. Vencovské za provedení IČ analýz, katedře biologických a lékařských věd, jmenovitě I. Dufkové za změření antifungální aktivity nasyntetizovaných látek a Národní referenční laboratoři pro *Mycobacterium kansasii* ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě za stanovení antimykobakteriální aktivity.

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

Práce byla podpořena výzkumným záměrem MSM 0021620822, grantem GAUK 299/2006/B-CH/FaF a grantem GAČR 203/04/0178.

# OBSAH

1	Úvod a cíl diplomové práce .....	4
1.1	Antituberkulotika a tuberkulóza .....	4
1.2	Antimykotika a mykózy .....	9
1.3	Cíl diplomové práce.....	12
2	Metodická část .....	13
2.1	Chemická část.....	13
2.2	Celkové schéma provedených syntéz .....	31
2.3	Mikrobiologická část .....	33
3	Experimentální část.....	35
3.1	Charakterizace připravených látek.....	35
3.2	Chemická část.....	36
3.2.1	Příprava 2-chlor-(1-alkylsulfanyl)-4-nitrobenzenů (metoda A).....	36
	Připravené 2-chlor-(1-alkylsulfanyl)-4-nitrobenzeny (metoda A) .....	37
	Příprava 2-chlor-(1-alkylsulfanyl)-4-nitrobenzenů (metoda B).....	39
	Připravené 2-chlor-(1-alkylsulfanyl)-4-nitrobenzeny (metoda B) .....	40
3.2.2	Příprava 4-alkylsufanyl-3-chloranilinů .....	41
	Připravené 4-alkylsufanyl-3-chloraniliny .....	42
3.2.3	Příprava 4-alkylsufanyl-3-chloranilinium-chloridů .....	44
	Připravené 4-alkylsufanyl-3-chloranilinium-chloridy .....	45
3.2.4	Příprava 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů (metoda A) .....	47
	Připravené 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidiny (metoda A) .....	48
	Příprava 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů (metoda B) .....	50
	Připravené 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidiny (metoda B).....	51
3.2.5	Příprava dalších a pomocných látek .....	52
3.3	Biologická část .....	56
4	Diskuze .....	59
5	Závěr .....	65
6	Abstrakt.....	66
6	Literatura.....	68

# 1 Úvod a cíl diplomové práce

## 1.1 Antituberkulotika a tuberkulóza

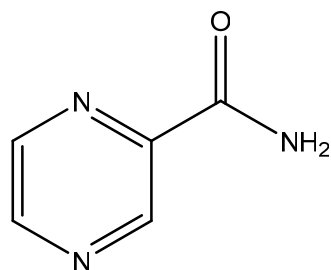
Vyvolavatelem tuberkulózy, závažného infekčního onemocnění, je acidorezistentní bakterie *Mycobacterium tuberculosis*, nepohyblivá, rovná nebo slabě zahnutá tyčkovitá bakterie<sup>1</sup> o přibližných rozměrech 3,0 x 0,3 μm. Tato mykobakterie zapříčiňuje specifickou formu zánětu, tvorbu tuberkulózních uzlíků, které většinou propadají kaseózní nekróze s následným vznikem kaverny. Tuberkulóza je multiorgánové onemocnění, nejvíce však bývají postiženy plíce, jedná se o tzv. plicní formu tuberkulózy. Lidé nakažení touto mykobakterií však nemusí hned vykazovat příznaky onemocnění; to se rozvíjí zpravidla u pacientů s oslabenou imunitou, zejména tedy u starých osob, u pacientů po transplantaci a také u HIV-pozitivních, kde bývá tuberkulóza diagnostikována dříve, než se objeví příznaky syndromu získaného imunodeficitu. Jako běžné nachlazení se tuberkulóza přenáší inhalací choroboplodných zárodků, zdrojem jsou nemocní s plicní tuberkulózou.

Současná léčba tuberkulózy<sup>2</sup> je založena na vícestupňové kombinované chemoterapii<sup>3</sup> antituberkulotiky, které dělíme do dvou řad:

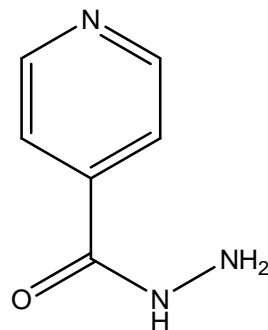
1. léčiva první řady (standardní): isoniazid, rifampin, rifapentin, rifabutin, ethambutol, pyrazinamid
2. léčiva druhé řady (rezervní): cykloserin, ethionamid, chinolonová chemoterapeutika (levofloxacin, moxifloxacin, gatifloxacin), kyselina p-aminosalicylová, aminoglykosidová antibiotika (streptomycin, amikacin, isepamicin, kanamycin), polypeptidová antibiotika (kapreomycin, viomycin).

Zde uvádím vzorce několika nejužívanějších látek. Isoniazid (I), hydrazid kyseliny nikotinové, pyrazinamid (II), amid kyseliny pyrazin-2-karboxylové,

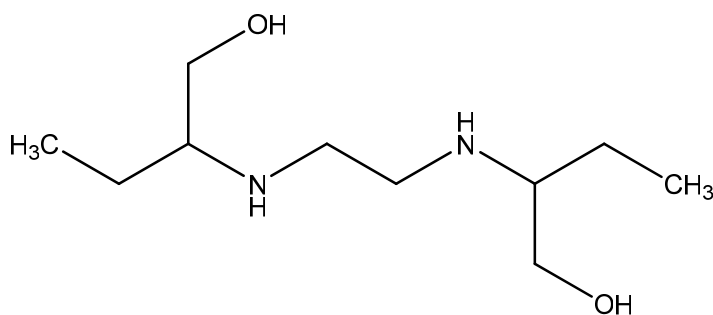
ethambutol (III), syntetický derivát ethylendiaminu, všechna tři patří mezi antituberkulotika první řady. Vyznačují se různou chemickou strukturou a jsou současně nepoužívanější a nejúčinnější.



I

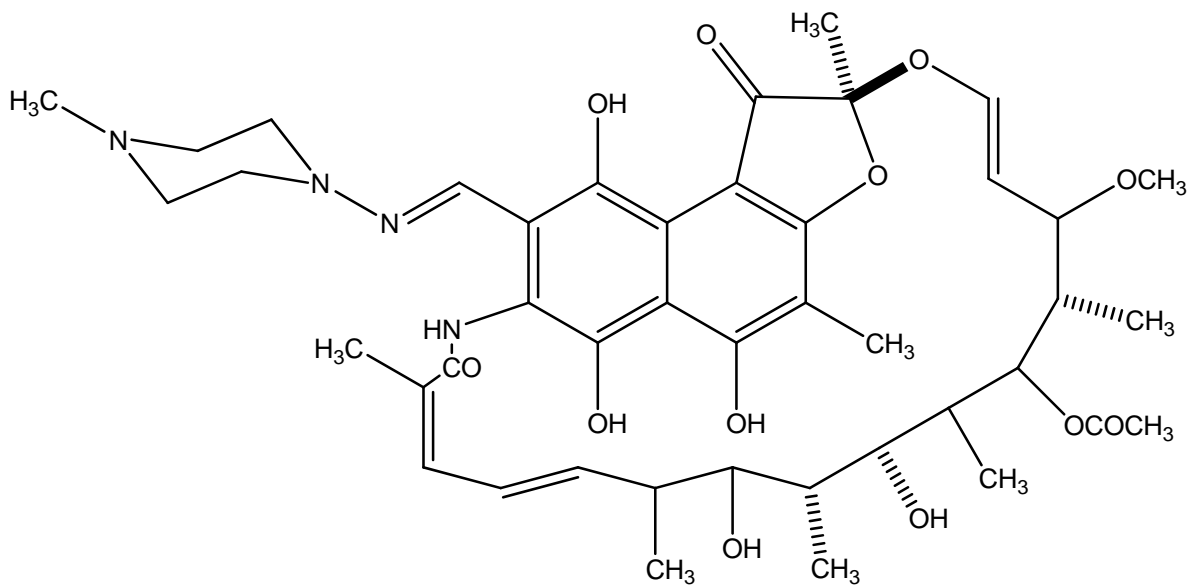


II

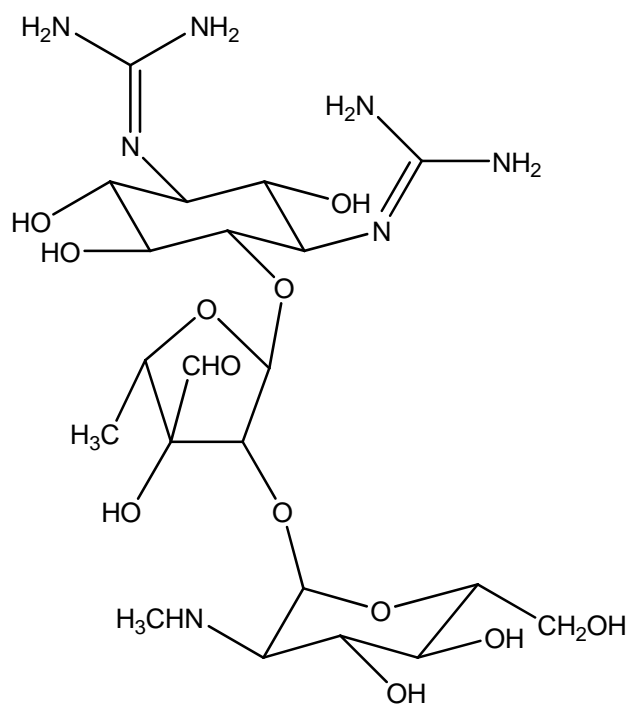


III

Tyto tři výše zmíněné jsou dále doplněny ansamycinovým antibiotikem rifampicinem (IV), polosyntetickým antibiotikem odvozeným od rifamycinu a streptomycinem (V), aminoglykosidovým antibiotikem, které ve své molekule obsahuje dvě guanidinové skupiny.



IV

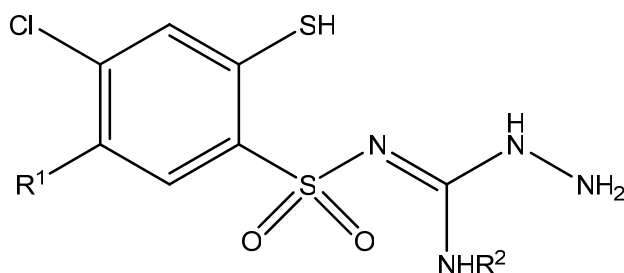


V

Pro léčbu se zpravidla volí troj- až čtyřkombinace léčiv<sup>1</sup> základní skupiny, většinou se jedná o isoniazid, rifampin, ethambutol a pyrazinamid, tedy léčiva s odlišným mechanismem účinku, aby se zabránilo vzniku rezistence a snížil možný výskyt nežádoucích účinků. V případě vzniku rezistence nebo

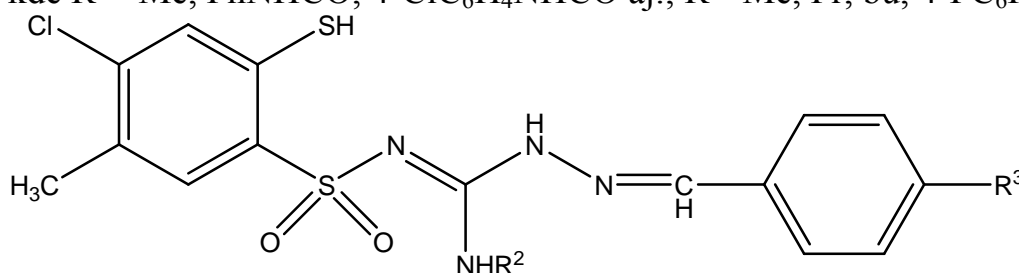
nedostatečné klinické odpovědi lze tuto kombinaci rozšířit o některá léčiva z řady rezervní. Standardní bývá léčba<sup>1</sup> trvající 6-9 měsíců.

Z guanidinových derivátů byli proti druhu *Mycobacterium tuberculosis* zkoušeny deriváty 1-amino-2-(4-chlor-2-sulfanylbenzensulfonyl)guanidinu<sup>4</sup> obecných vzorců XIII, XIV a XV.



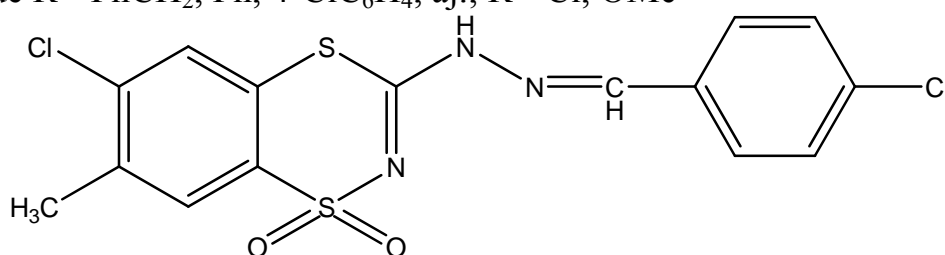
XIII

kde  $R^1 = \text{Me, PhNHCO, 4-ClC}_6\text{H}_4\text{NHCO aj.}$ ;  $R^2 = \text{Me, Pr, bu, 4-FC}_6\text{H}_4 \text{ aj.}$



XIV

kde  $R^2 = \text{PhCH}_2, \text{Ph, 4-ClC}_6\text{H}_4, \text{ aj.}$ ;  $R^3 = \text{Cl, OMe}$



XV

Význam onemocnění tuberkulózou v posledních letech stále vzrůstá. Tuberkulóza postihuje především lidi, kteří musí žít ve špatných životních podmínkách (podvýživa, nedostatečná hygiena, onemocnění s poruchou imunity). Světová zdravotnická organizace odhaduje<sup>5</sup>, že se ročně infikuje 100

milionů osob, zhruba devět milionů onemocní, 4 miliony je infekčních a přes 1,5 milionu pacientů umírá. Navíc terapii ztěžuje vzrůstající rezistence tuberkulózních bakterií vůči rutinním antituberkulotikům. Úspěšná terapie, která, jak známo, je značně dlouhodobá a předpokládá každodenní užívání léků, mimoto vyžaduje medicínskou infrastrukturu, která v mnoha oblastech světa chybí.

Další důležitá fakta<sup>5</sup>:

1. Každou vteřinu je někdo na světě infikován nějakou formou tuberkulózy.
2. Odhaduje se, že až jedna třetina světové populace je nakažena nějakou formou tuberkulózy.
3. U 5-10% lidí, kteří jsou infikováni tuberkulózou, se časem naplno projeví příznaky onemocnění nebo se stanou zdrojem infekce (statisticky jeden nemocný nakazí dalších 10 až 15 zdravých jedinců).
4. Lidé současně nakažení HIV a tuberkulózou mají větší pravděpodobnost, že se u nich dříve či později projeví příznaky infekčního onemocnění.

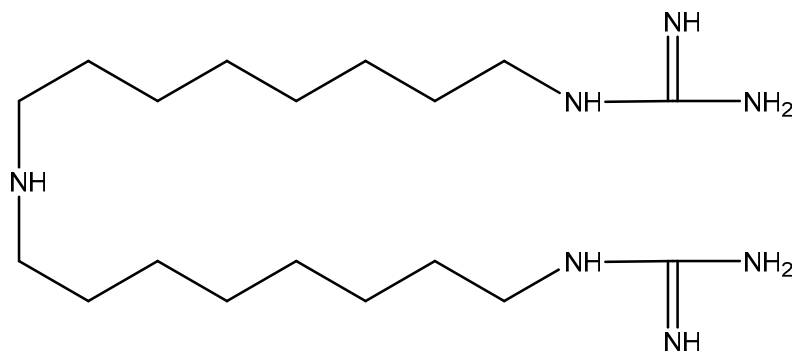


## 1.2 Antimykotika a mykózy

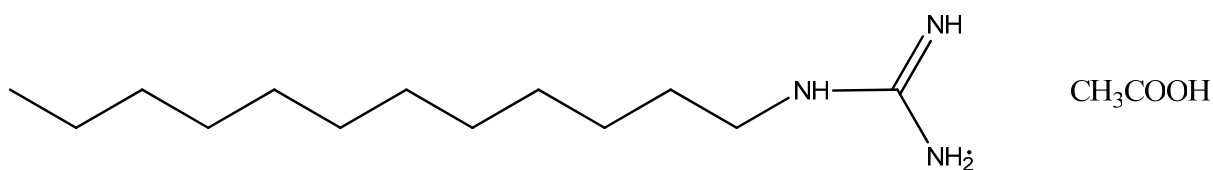
Stále se zvyšující výskyt rezistentních kmenů patogenních hub a plísní a s tím související zvýšený počet výskytu systémových mykóz a oportunistických onemocnění na současná, v praxi dlouhá léta zavedená, antifungální léčiva je poslední dobou předmětem zájmu syntézy nových léčiv. Ohroženi jsou zejména pacienti s nedostatečnou funkcí imunitního systému (HIV pozitivní jedinci) a v neposlední řadě jsou také pacienti po orgánových transplantacích. Mykotická onemocnění mohou být místní (lokalizace na povrchu sliznic a kůže, ve vlasech, na nehtech) nebo systémová. Zatímco prvá skupina představuje nepříjemná a obtěžující onemocnění, systémové mykózy (obvykle vyvolány *Candidou albicans*) jsou často výrazem oslabené imunity pacientů nebo jako komplikace po podávání cytostatik a širokospektrých antibiotik; některé z těchto stavů mohou být velmi závažné a někdy i život ohrožující<sup>6</sup>.

Antimykotika<sup>7</sup> jsou sloučeniny rozdílných struktur (rozdělují se na deriváty imidazolu, triazolu, polyeny a ostatní antimykotika jako griseofulvin, flucytosin nebo terbinafin). Jejich cílem je odstranit parazitující houby z napadené tkáně a současně léčit projevy nemoci. Některé z nich působí fungicidně, původce onemocnění přímo ničí, některé fungistaticky, zpomalují některé životní funkce hub, tj. kvasinek, kvasinkových mikroorganismů a plísní, aniž by je přímo usmrcovali.

Deriváty guanidinu vykazují široké spektrum biologické aktivity. V rámci této diplomové práce se zaměříme na antifungální a antimykobakteriální účinek těchto látek. V praxi používaný guazatin<sup>8</sup> (VI), bis(8-guanidinooktyl)aminu, a dodinu<sup>9</sup> (VII), 1-dodecylguanidinium acetát, představují efektivní způsob ovládnutí růstu plísní v různých prostředích<sup>10</sup>.

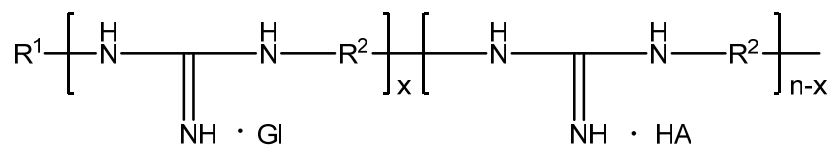


VI



VII

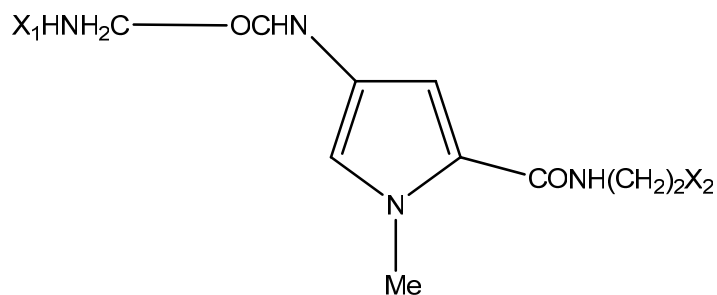
Rovněž nedávno nasyntetizované polyguanidinové (VIII) soli vykazují silné antifungální účinky<sup>11</sup>.



VIII

kde  $R^1$  je atom vodíku nebo vyšší alkyl,  $R^2$  je alkylen, oxy-alkylen nebo amino-alkylen, Gl je pak glukonát s obecným vzorcem  $C_6H_{12}O_7$ .

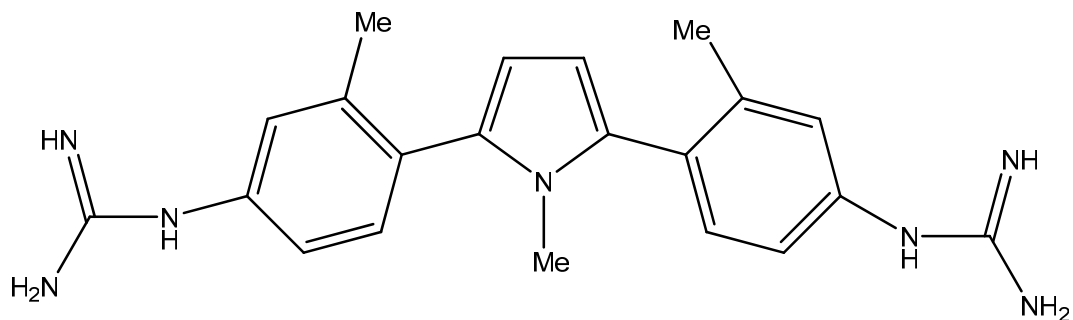
Z dalších látek jsou popsány deriváty 1H-pyrrolu (IX),



IX

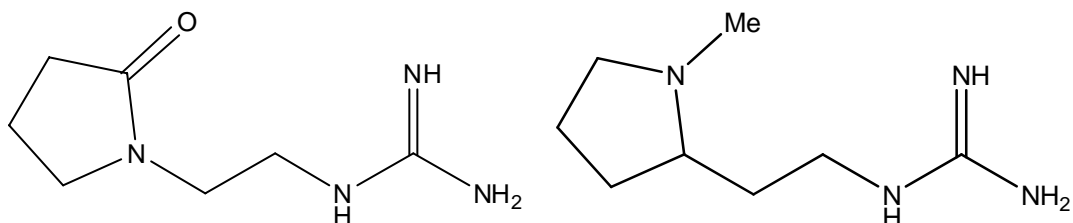
kde  $X_1$  a  $X_2$  jsou amidinová, guanidinová nebo imidazolová skupina<sup>12</sup>.

Série 2,5-bis(guanidino-aryl)-1-methyl-1*H*-pyrrolů byla testována na kmeny *Candida spp.* a *Aspergillus spp.*<sup>13</sup> Sloučenina (X) vykazuje dokonce silnější antimykotické účinky než v praxi zavedený flukonazol.



X

Aminoalkylguanidiny (XI a XII) mají kromě antifungální aktivity i antimikrobiální účinek<sup>14</sup>.



XI

XII

Sloučeniny obecného vzorce N-alkyl-N'-(fenylethyl- a cyklohexenylethyl)guanidinů a N<sup>2</sup>-substituovaných 2-imidazolinaminů<sup>15</sup> vykazují dokonce antimykotickou aktivitu srovnatelnou s itrakonazolem.

### **1.3 Cíl diplomové práce**

Cílem diplomové práce bylo připravit sérii substituovaných arylguanidinů, konkrétně 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů, které jsou testovány na antifungální i antimykobakteriální aktivitu, kterou lze předpokládat ze strukturální podobnosti u výše zmíněných látek.

## 2 Metodická část

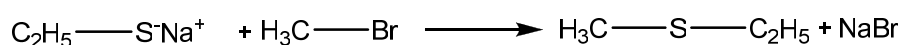
### 2.1 Syntetická část

#### 2.1.1 Přehled metod k přípravě sulfidů

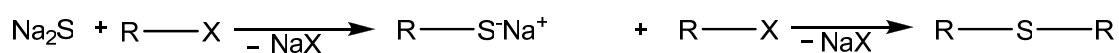
Sulfidy jsou sloučeniny, ve kterých je vodíkový atom uhlovodíku nahrazen skupinou –SR. Sulfidy je možno považovat za sirné analogy etherů, v kterých atom síry utváří dvě vazby s alkyly nebo aryly (R-S-R). Jako příklad uvádím nejběžnější metody syntéz sulfidů<sup>16</sup>.

##### 1) alkylace a arylace thiolů

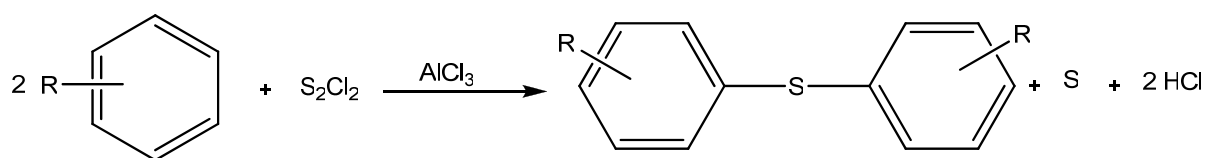
Atom síry vykazuje v molekulách thiolů (R-SH) nukleofilní charakter, který je zvláště patrný u thiolátů alkalických kovů. Jako alkylační činidla lze použít např.: Grignardova činidla (alkylmagnesiumhalogenidy), halogenuhlovodíky<sup>17</sup> nebo dimethylsulfát. Lze připravit jak symetrické, tak i asymetrické sulfidy.



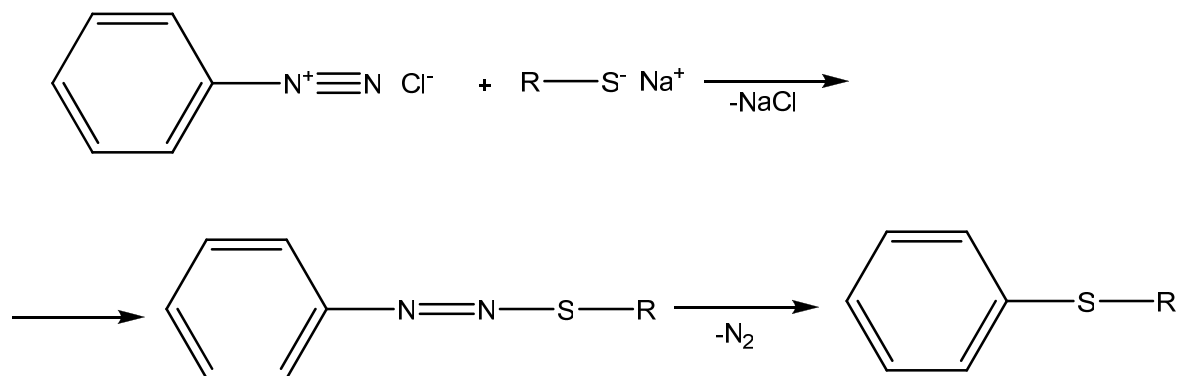
Nukleofilní substitucí alkylhalogenidů alkalickými sulfidy<sup>18</sup> lze získat symetrické sulfidy. Reakce probíhá dvoustupňově za přítomnosti sulfidu sodného<sup>19</sup>, přičemž se nejprve tvoří thiolátový anion a teprve ten dále reaguje s další molekulou alkylhalogenidu.



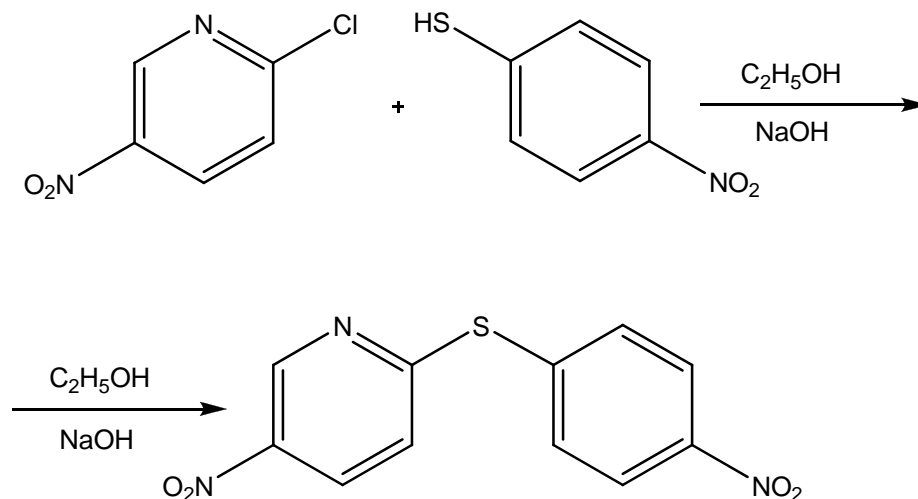
Friedel-Craftsovou arylací<sup>17,20</sup> lze nasyntetizovat symetrické arylsulfidy. Reakce probíhá v přítomnosti chloridu sirného, aromátu a za katalýzy Lewisovy kyseliny (AlCl<sub>3</sub>).



Aromatické sulfidy se rovněž často připravují reakcí diazóniových solí s alkylthioláty nebo arylthioláty. Reakce probíhá přes diazothioether, který zahřátím odštěpí dusík a vzniká tak příslušný sulfid.



Asymetrické aromatické sulfidy mohou být také připravovány reakcí halogenpyridinů<sup>21</sup> s thiofenoly resp. thiofenoláty (které vznikají v průběhu) nebo s thioley jiných heterocyklů.



Další možnou reakcí je zahřívání 2-pyridinthiolu a 2-brompyridinu v přítomnosti uhličitanu draselného, aktivní mědi jako katalyzátoru a v prostředí suchého N,N-dimethylformamidu<sup>22</sup>.

Rovněž reakcí sulfenylchloridů s Grignardovými činidly vznikají nesymetrické sulfidy<sup>23</sup>.



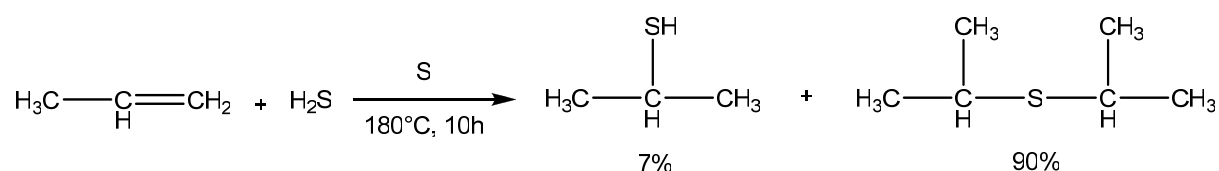
Poměrně novou a vysoce efektivní reakcí za vzniku asymetrických sulfidů je reakce arylbromidů, arylchloridů či aryltrifluormethansulfonátů s thioly za přítomnosti 2 katalyzátorů - tris(dibenzylidenaceton)dipalladia a 9,9-dimethyl-4,5-bis(difenylphosphino)xanthenu,  $i\text{-Pr}_2\text{NEt}$  jako báze a prostředí bezvodého 1,4-dioxanu<sup>24</sup>.

## 2) redukce kyslíkatých sloučenin síry

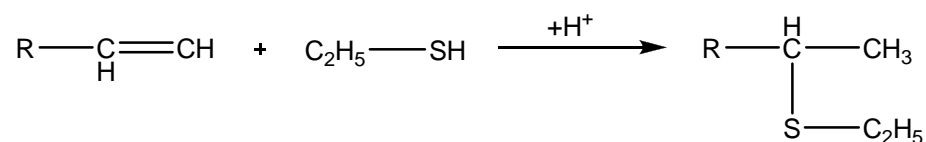
Redukcí sulfoxidů chloridem titaničitým<sup>25</sup> nebo hydrogensířičitanem sodným<sup>26</sup> v prostředí methanolu a chloroformu vznikají ve vysokých výtěžcích příslušné sulfidy.

## 3) adiční reakce na nenasycené sloučeniny

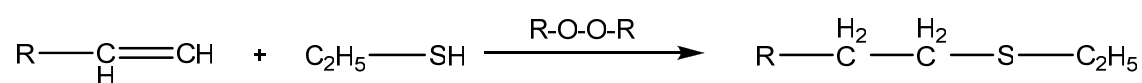
Adicí sulfanu na alkenyl vzniká nejprve thiol, který poskytuje s další molekulou alkenylu sulfid<sup>17,27</sup>. Celá reakce je katalyzována elementární sírou a probíhá za vysoké teploty.



Další možností adice v přítomnosti kyselých katalyzátorů je reakce alkenylu s thioly. Orientace probíhá dle Markovnikova pravidla<sup>17</sup>.

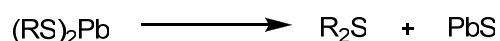
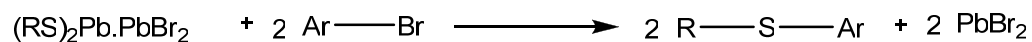


Při katalýze organickými peroxidy se adice řídí mechanismem jdoucím proti Markovnikovu pravidlu<sup>17</sup>.



#### 4) příprava pomocí olovnatých sloučenin

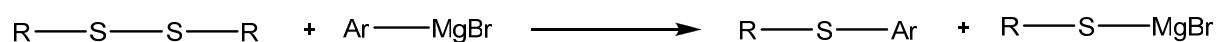
Arylbromid zde reaguje s thiolátem olovnatým, zinečnatým nebo rtuťnatým<sup>28</sup>. Uvedené thioláty se rozkládají při teplotě nad 200°C, která je pro reakci nezbytná. Reakční schéma lze uvést následovně:



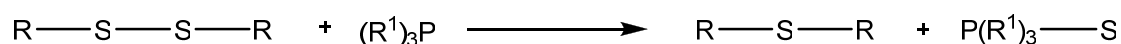
V praxi je tato metoda využívána výhradně přípravě sulfidů benzenu a naftalenu.

#### 5) příprava z disulfidů

Reakce disulfidů s Grignardovými činidly<sup>29</sup> probíhá za vzniku sulfidů.



Trifenylfosfan, jako silný nukleofil, může štěpit vazbu S-S na příslušné sulfidy<sup>30</sup>.

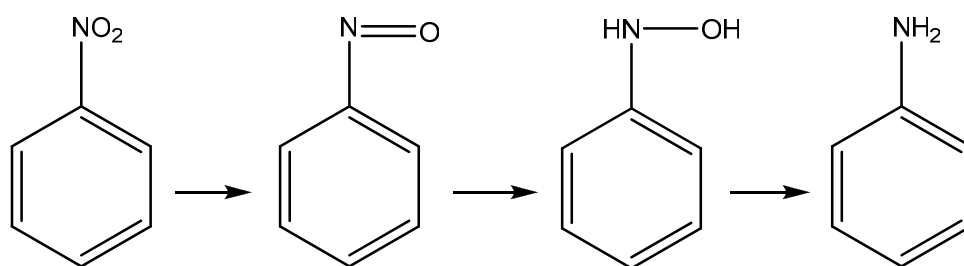




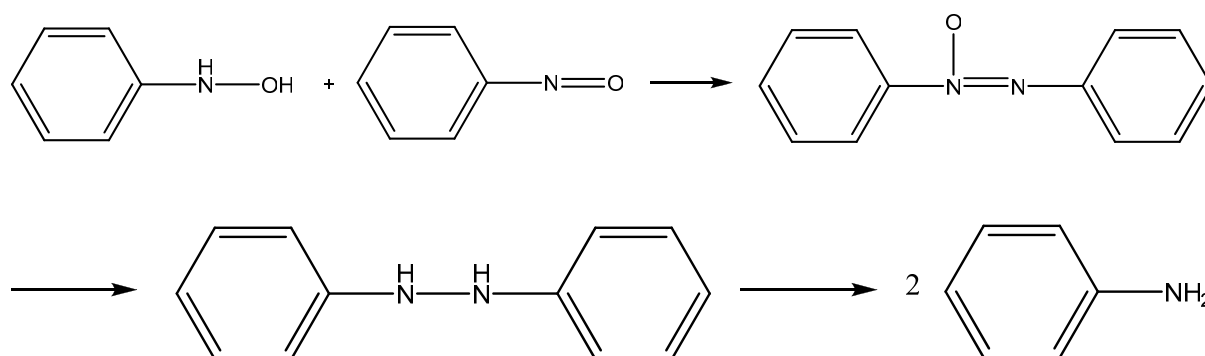
## 2.1.2 Přehled metod k přípravě aromatických aminů z aromatických nitrosloúčenin

Všeobecné metody přípravy primárních aromatických aminů zahrnují především redukce příslušných nitrosloúčenin. Dochází k náhradě obou atomů kyslíku dvěma atomy vodíku. Průběh reakce je následující<sup>31,97</sup>: Nitroskupina je nejprve redukována na nitrososkupinu a dále, v závislosti na prostředí, postupně zredukována přes hydroxylamin (a) na amin nebo nitrososkupina kondenzuje s hydroxylaminem a přes azoxysloúčeninu (b) poskytuje opět příslušný amin. Reakce prvně uvedená probíhá v kyselém prostředí, zatímco druhá je charakteristická pro alkalické prostředí.

a)



b)



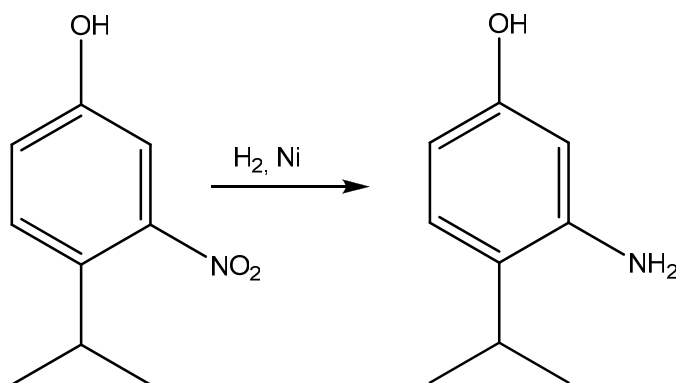
Používá se celá řada různých redukčních činidel, zejména se jedná o tyto reakce<sup>16</sup>:

- 1) katalytická redukce
- 2) redukce železem
- 3) redukce tetrahydroxylitanem lithným

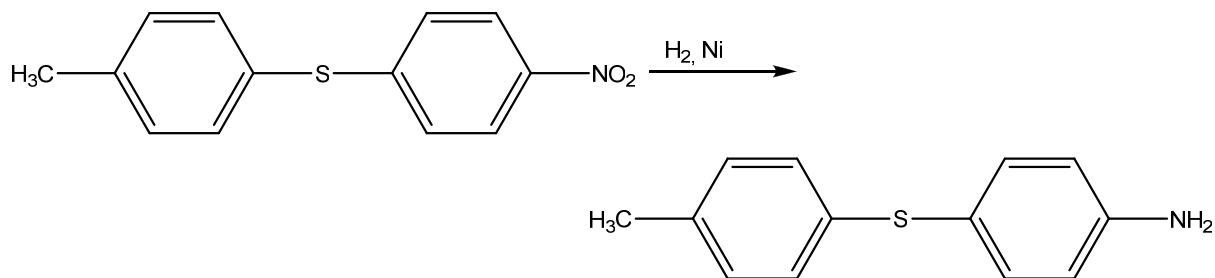
- 4) redukce zinkem
- 5) redukce chloridem cínnatým
- 6) redukce hydrazinem
- 7) redukce hliníkem

### 1) katalytická redukce

Vodík v přítomnosti různých katalyzátorů (paladium<sup>32</sup>, platina<sup>33</sup> nebo Raneyův nikl<sup>34</sup>) redukuje nitrosoučineniny na příslušné aminy (viz příklad).

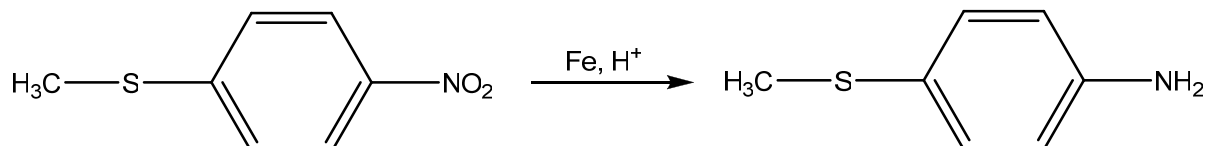


Problematickou redukcí derivátů nitrodiarylsulfidů vyřešili Broadbent a Gilman<sup>35</sup>. Zjistili, že optimální podmínky pro tuto reakci jsou: laboratorní teplota, malý přídavek Raneyova niklu a vodík pod tlakem 100-400 kPa.



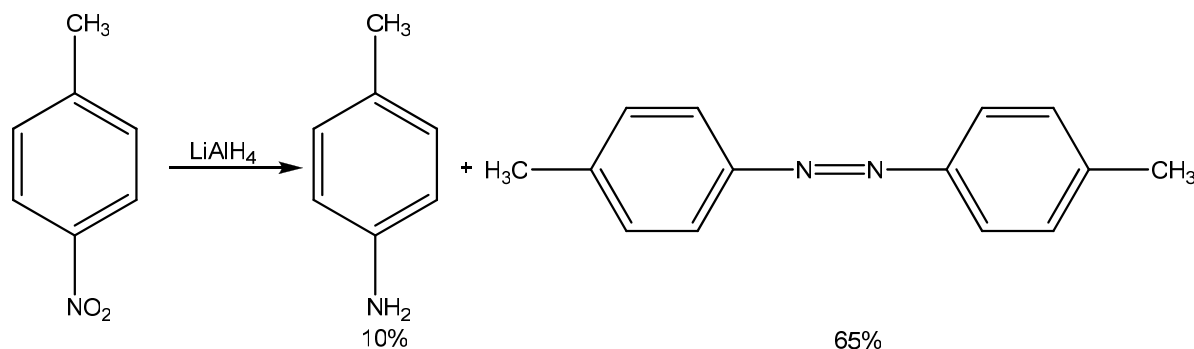
## 2) redukce železem

Patří mezi nejčastěji používané redukční metody. Reakce probíhá převážně v kyselém prostředí, nejčastěji kys. chlorovodíkové nebo kys. octové. Tímto způsobem probíhá např. příprava<sup>36</sup> 4-methylthiofenylaminu.



## 3) redukce tetrahydrohlitanem lithným

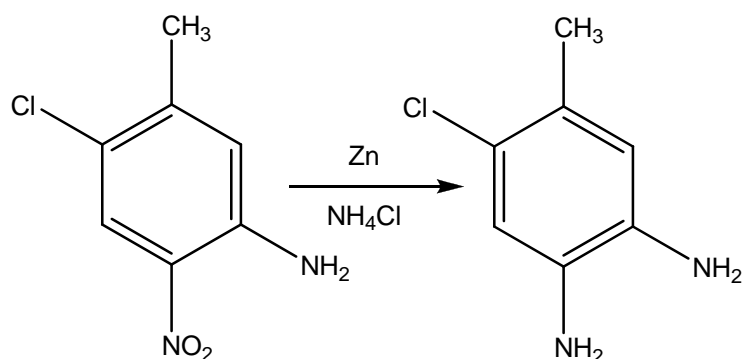
Dlouhodobým působením tetrahydrohlitanu lithného na 4-nitrotoluen<sup>37</sup> vznikají vedle p-toluidinu také bis(4-methylfenyl)diazen.



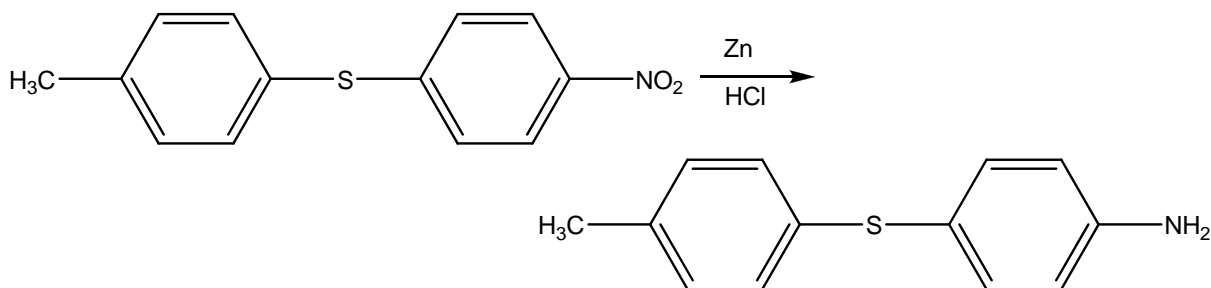
## 4) redukce zinkem

Redukce zinkem probíhají v neutrálním nebo kyselém prostředí. Zásadité prostředí je pro tyto reakce nežádoucí, vznikají totiž hydrazosloučeniny.

Příkladem redukce zinkem v neutrálním prostředí<sup>38</sup> je reakce 4-nitro-6-chlor-3-toluidinu<sup>39</sup> v ethanolu, za přítomnosti chloridu amonného, na 4-chlor-5-methylbenzen-1,2-diamin.

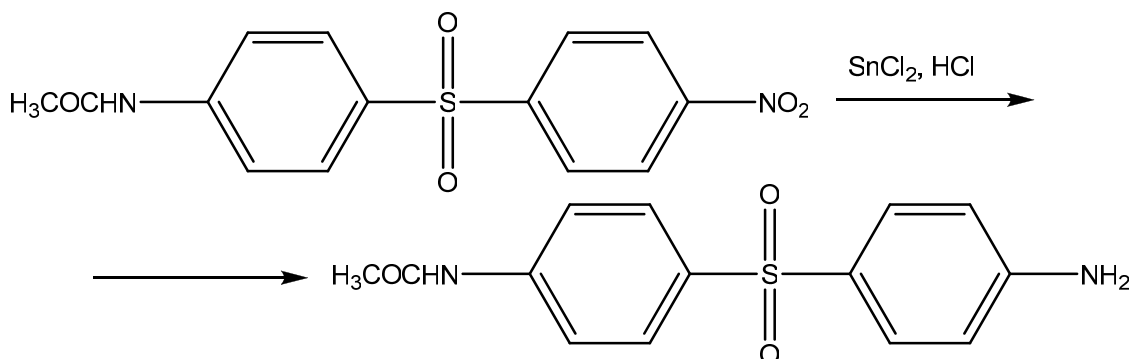


Redukce 1-methyl-4-[(4-nitrofenyl)sulfanyl]benzenu na 4-(4-methylfenylthio)fenylamin<sup>40</sup> je příkladem reakce v kyselém prostředí.

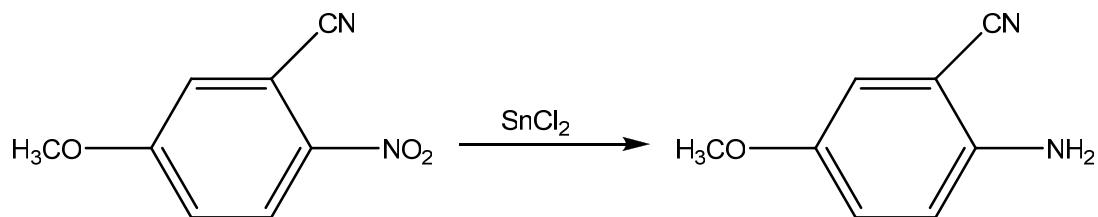


## 5) redukce chloridem cínatým

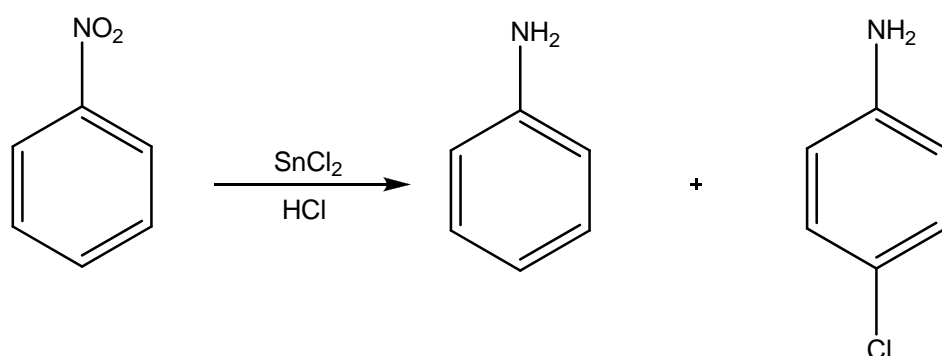
Redukce cínem nebo chloridem cínatým<sup>41</sup> probíhá obdobně jako redukce zinkem a to buď v kyselém nebo neutrálním prostředí. Redukce N-4-{4-[(4-nitrofenyl)sulfonyl]fenyl}acetamidu probíhá v kyselém prostředí.



Příkladem redukce v neutrálním<sup>42</sup> prostředí za použití bezvodého rozpouštědla je příprava 5-methoxy-2-nitrobenzonitrilu.

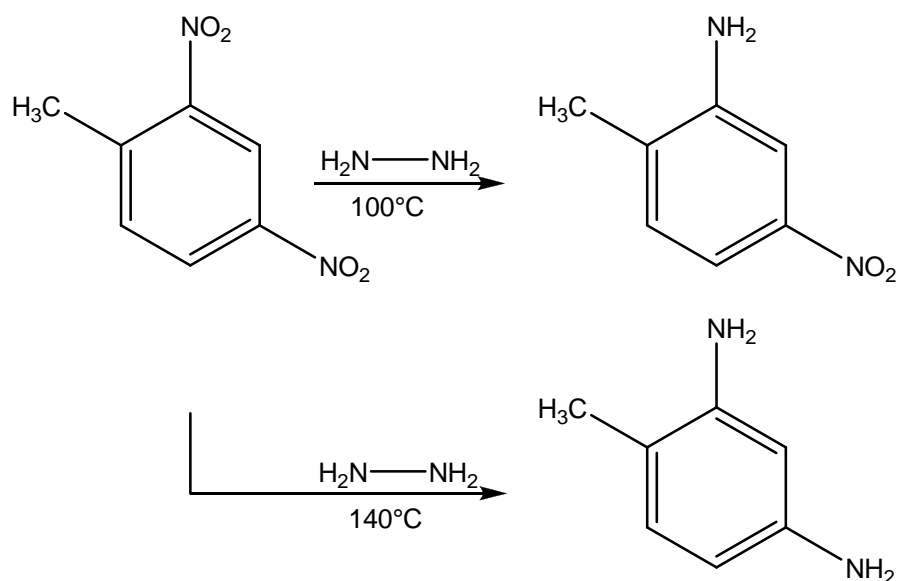


V případě použití kyselého reakčního prostředí mohou vznikat jako vedlejší produkt halogenderiváty<sup>43</sup> nebo může docházet ke štěpení molekul<sup>44, 45, 46, 47</sup>.



## 6) redukce hydrazinem

Používá se hydrazin nebo fenyldiazin jako redukční činidla. Reakce je závislá na teplotě, jako to deklaruje uvedené schéma redukce 2,4-dinitrotoluenu<sup>48</sup>.



## 7) redukce hliníkem

Podobně jako při redukci chloridem cínatým či zinkem, je i tato reakce závislá na pH prostředí. Alkalické redukce<sup>49</sup> se s výhodou využívá u nitrofenolů či nitroarylsulfonamidů. V neutrálním prostředí se redukují alifatické aminy ve vysokých výtěžcích. V kyselém prostředí aminy prakticky nevznikají.

### 2.1.3 Příprava amonium-chloridů

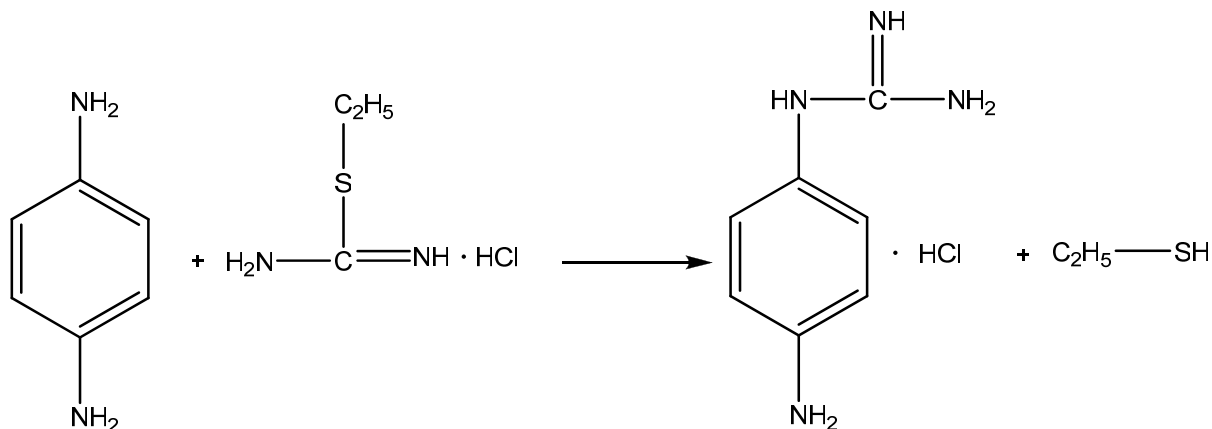
Příslušný arylamin byl rozpuštěn<sup>50</sup> v malém množství bezvodého etheru, položen do ledové lázně a následně sycen suchým, plynným chlorovodíkem. Amoniumchlorid byl poté odfiltrován, rekrystalizován z bezvodého ethanolu a následně použit do další reakce.

### 2.1.4 Přehled metod k přípravě aryl a heteroarylguanidinů

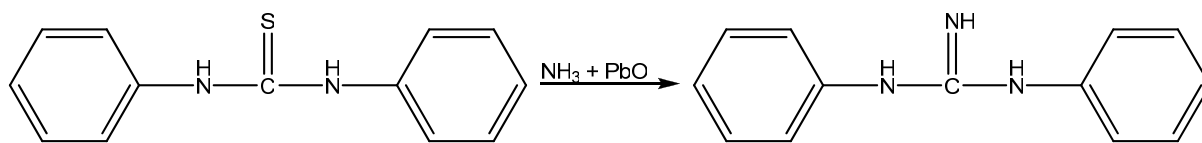
#### 1) aminolýza 2-alkylisothiomočovín

Při této metodě spolu reaguje amin s 2-alkylisothiouroniovou solí. Reakce vede ke vzniku guanidinu a alkanthiolu a lze ji podpořit přidavkem desulfuračních činidel, např. oxidu olovičitého<sup>51</sup>, oxidu olovnatého<sup>52,53</sup> nebo různých sloučenin zinku<sup>54</sup>. K reakci dochází při dostatečné bazicitě<sup>55</sup> reagujícího aminu. Ta je stanovena hodnotou  $pK_a > 6,8$ . Vznikající thiol je možno z reakce odebírat pomocí destilace za sníženého tlaku<sup>56</sup>, reakční rovnováha se tím výrazně zvýší ve prospěch produktu.

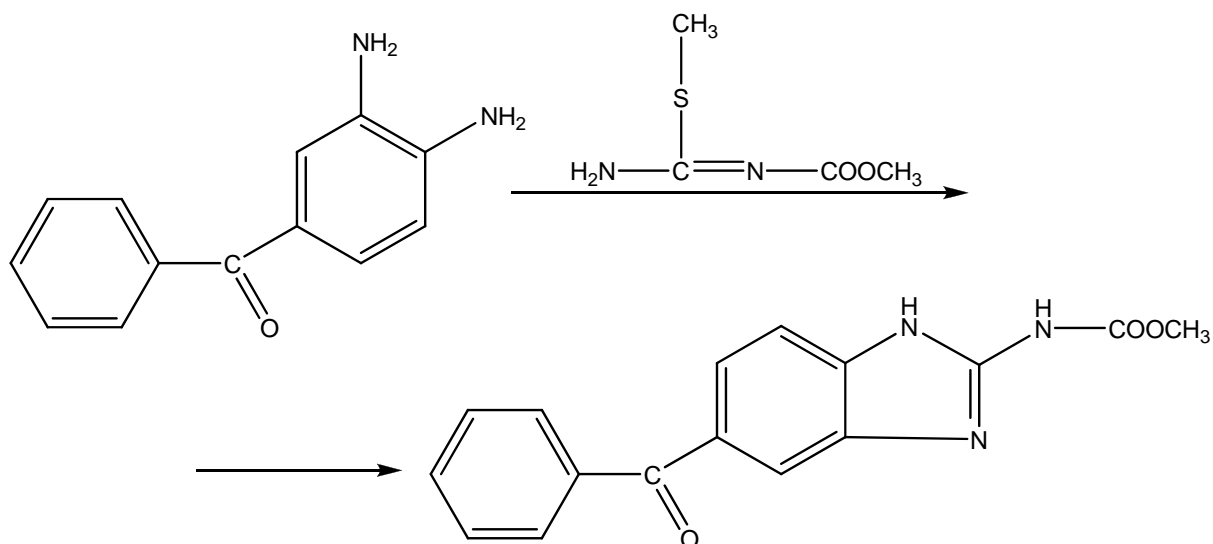
Reakcí ekvimolárního množství 1,4-fenylendiaminu a 2-ethylisothiuronium-chloridu vzniká 4-aminofenylguanidinium-chlorid<sup>57</sup>.



Zavedení guanidinové skupiny je také možno docílit reakcí aminu s thiomocovinou. Průběh reakce je usnadněn přidavkem metaloxidu jako dehydrogensulfuračního činidla<sup>58</sup>. Příkladem je příprava 1,3-difenylguanidinu.

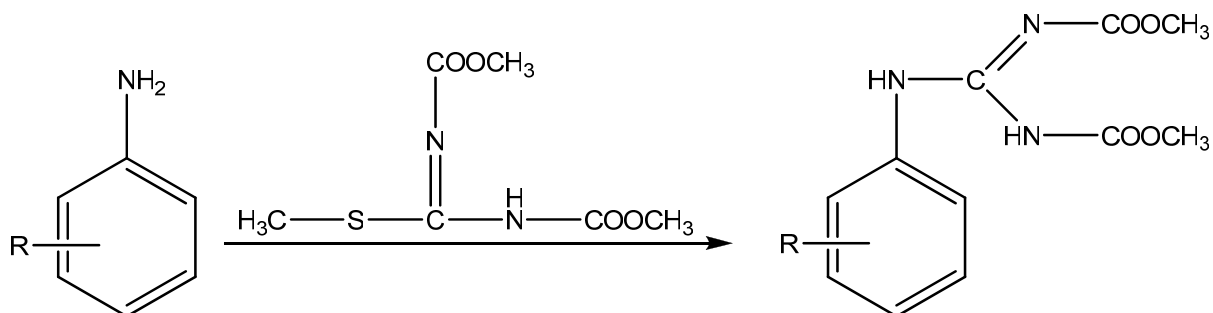


Další důležitou reakcí, popsanou autory Murrayem a Dainsem<sup>59</sup>, je aminolýza derivátů *o*-fenylendiaminu s estery 2-alkyl-1-thioisoureidokarboxylové kyseliny za vzniku anthelminticky účinných derivátů 2-benzimidazolkarbamátů. Takto byl připraven např. mebendazol<sup>60</sup>, methylester kyseliny 5-benzoyl-2-benzimidazolkarbámové, což je významné a do terapie zavedené anthelmintikum (viz. reakční schéma).



V případě syntézy anthelmintika oxfenadazolu<sup>61</sup>, methylesteru kyseliny 5-(fenylsulfinyl)-1-*H*-benzimidazolyl-2-ylkarbamové, byl k syntéze použit derivát močoviny namísto výše uvedeného derivátu thiomčoviny.

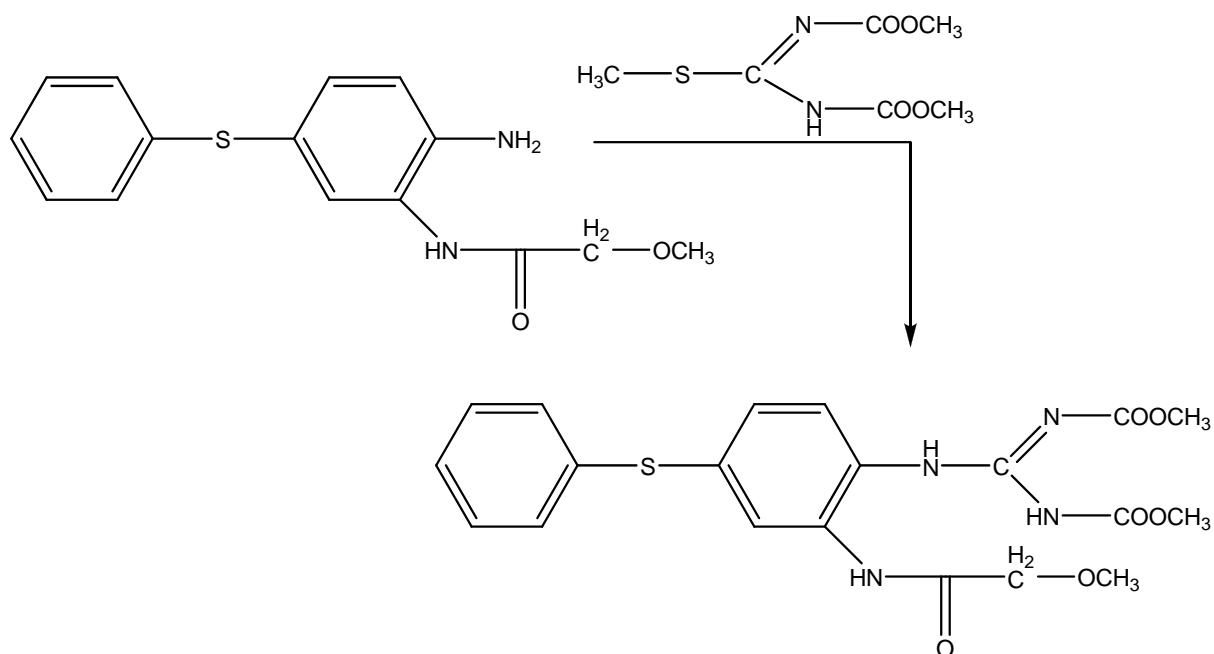
Chybí-li aminoskupina v *o*-poloze, je možné připravit necyklické guanidiny, tak reagují např. *p*-bromanilin, anilin, *p*-nitroanilin, *m*- a *p*-chloranilin s 1,3-dimethoxykarbonyl-2-isothiomčovinou, kdy do reakce ještě vstupuje kyselina *p*-toluensulfonová jako katalyzátor<sup>62</sup> a vznikají tak příslušné deriváty necyklických guanidinů.



U anthelmintika febantelu, N-{2-[2,3-bis(methoxykarbonyl)guanidino]-5-(fenylthio)fenyl}-2'-methoxyacetamidu, je aminoskupina v poloze *o*-acylována, díky čemuž reakcí 1,3-bis(methoxykarbonyl)-1-methylisothiomčovinou s 2-methoxyacetylamino-4-fenylthioanilinem

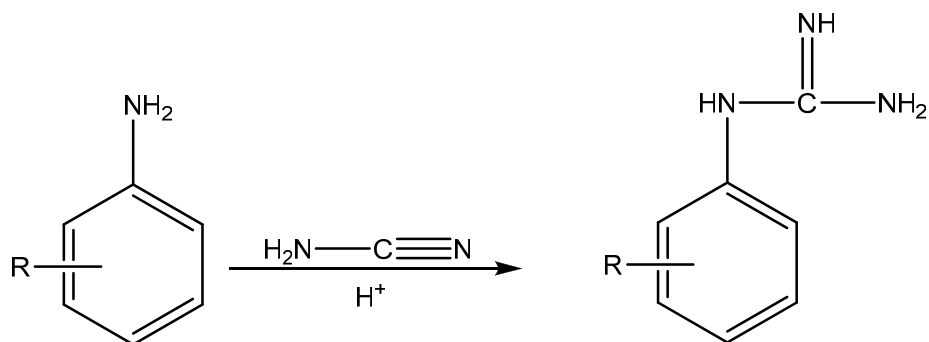


nedochází k zacyklení imidazolového kruhu. Reakce je rovněž katalyzována přidavkem kyseliny *p*-toluensulfonové<sup>63, 64</sup>.

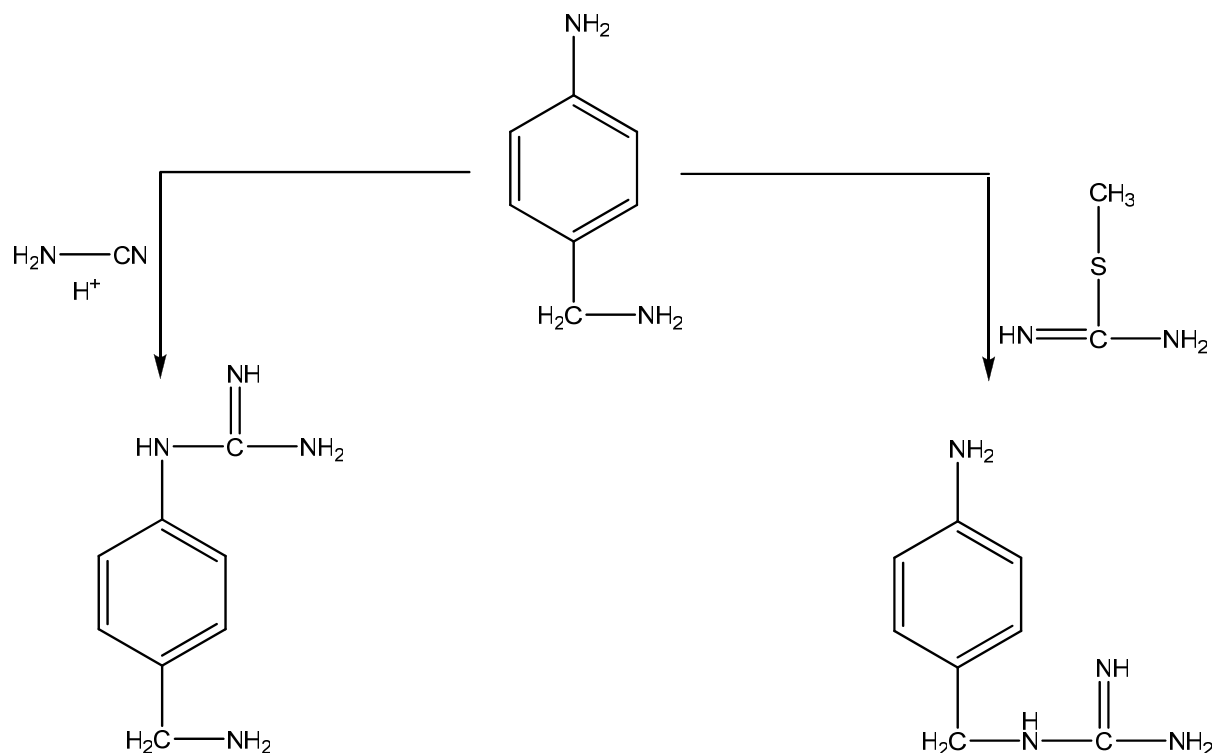


## 2) reakce amoniaku nebo aminů s kyanamidem

Jedná se o reakci aminů nebo amoniových solí s kyanamidem. Nejčastěji se provádí v tavenině nebo roztoku, kde se jako rozpouštědlo nejčastěji volí absolutní ethanol a tuto reakci je možné provádět za normálního tlaku nebo za zvýšeného tlaku v autoklávu.



Stabilita kyanamidu v reakční směsi je ovlivněna hodnotami pH. Při  $\text{pH} > 5$  dochází k jeho dimerizaci za vzniku dikyandiamidu, při  $\text{pH} < 4$  podléhá hydrolyze<sup>65</sup>, případně aminolýze, v oblasti  $\text{pH} 4-5$  vykazuje stabilitu. Rozdílnost reaktivity alifatických a aromatických aminů deklaruje následující schéma.

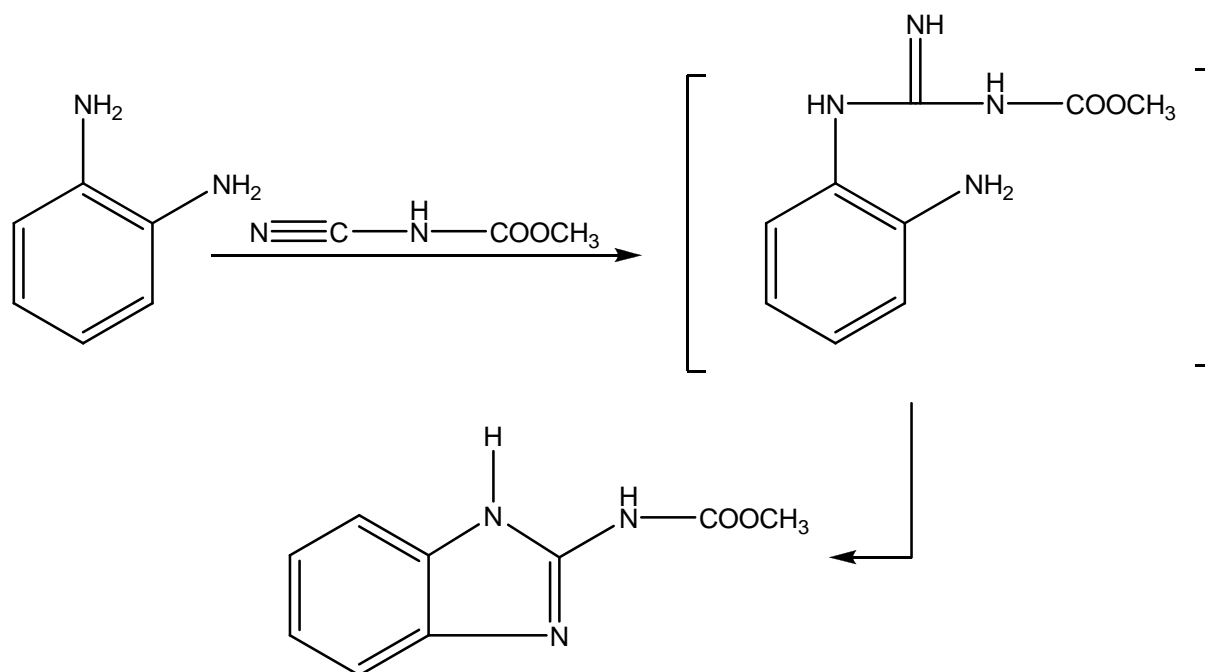


Touto metodou tak lze připravit celou řadu různě substituovaných guanidinů; fenyguanidin vzniká reakcí anilinium-chloridu s kyanamidem<sup>66,67,68,69</sup>, *o*-, *m*- i *p*-nitroguanidiny<sup>70,71,72</sup> vznikají z příslušných nitroderivátů anilinu v tavenině za současného přidání kyseliny chlorovodíkové.

Použije-li se diamin a dostatečný nadbytek kyanamidu, dochází ke vzniku diguanidinů; takto vzniká např. 4,4'-diguanidinodifenylmethan<sup>73</sup> nebo 1,4-fenylendiguanidin<sup>73</sup>.

Rovněž místo kyanamidu lze použít substituovaný kyanamid, jako příklad lze uvést reakci anilinium-chloridu s *N,N*-diethylkyanamidem<sup>74,75</sup> za vzniku 1,1-diethyl-3-fenyguanidinu nebo 1-kyanamidoftalazinu<sup>76</sup> s *n*-butylaminem za vzniku 1-*n*-butyl-3-(ftalazin-1-yl)guanidinu.

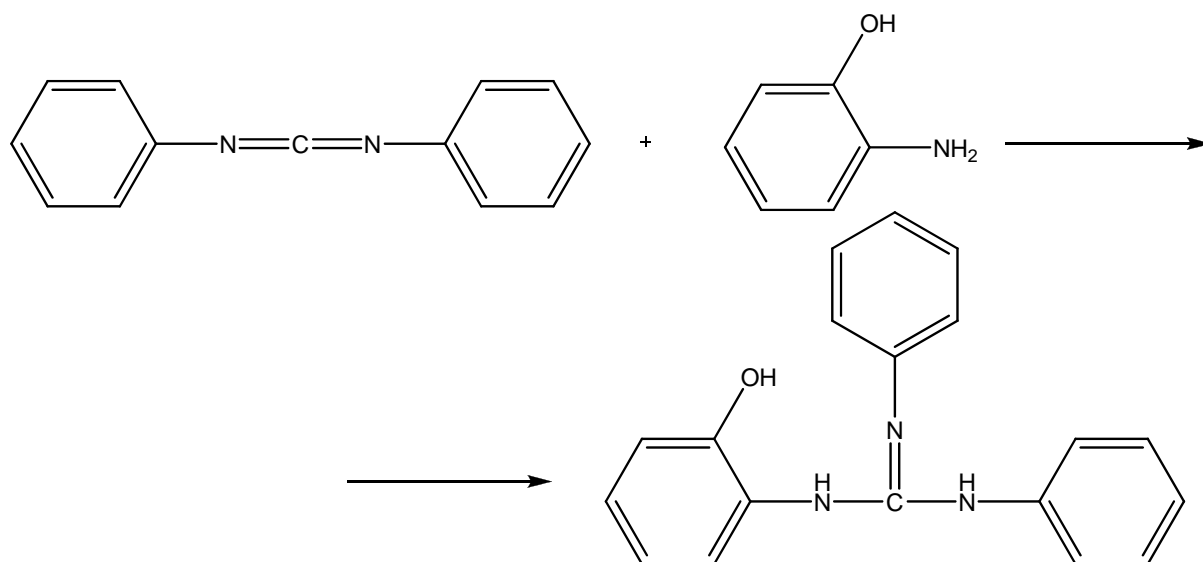
Touto metodou lze také připravit 2-benzimidazolkarbamáty, konkrétně 2-methoxykarbonylbenzimidazol a to z *o*-fenylendiaminu s methylesterem kyseliny kyankarbamové ve vysokém výtěžku<sup>77,78</sup>.



Opačným postupem, reakcí substituovaného kyanamidu (1-naftylkanamidu) s amoniakem, byl připraven 1-naftylguanidin<sup>79</sup>.

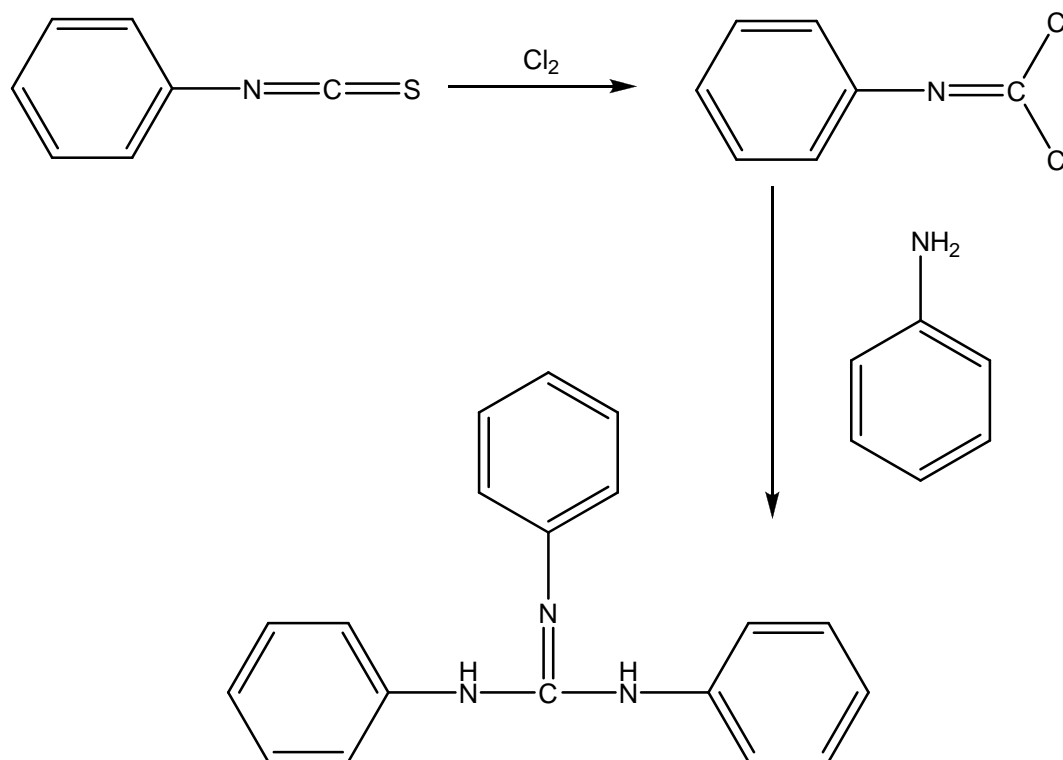
### 3) reakce karbodiimidů s aminy

Slouží k přípravě  $N,N'$ -disubstituovaných a  $N,N',N''$ -trisubstituovaných guanidinů. Příkladem je reakce difenylkarbodiimidu s *o*-aminofenolem<sup>80</sup> vedoucí ke vzniku 2,3-difenyl-1-(*o*-hydroxyfenyl)guanidinu. Průběh reakce může být katalyzován tetrafluoroboritou kyselinou<sup>81</sup> nebo lze namísto arylaminu použít arylamoniovou sůl<sup>82</sup>.

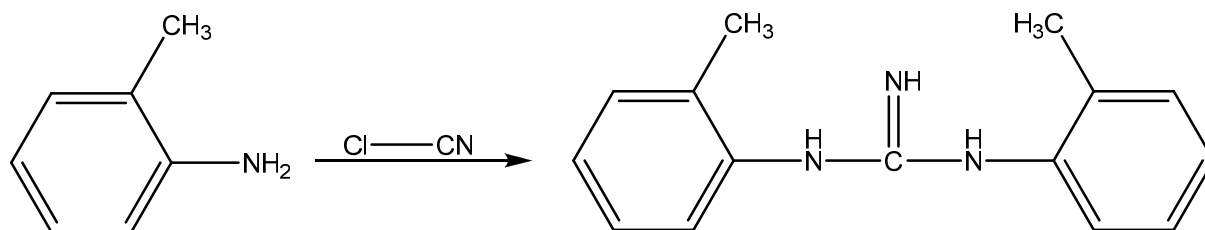


#### 4) aminolýza N-fenylkarbonimidoyldichloridů

Chlorací fenyliothiokyanatanu vzniká reaktivní meziprodukt N-fenylkarbonimidoyldichlorid, který poskytuje s anilinem 1,2,3-trifenylyguanidin<sup>83,84</sup>. Reakci lze provádět i s různě substituovanými deriváty anilinu<sup>85,86</sup>.



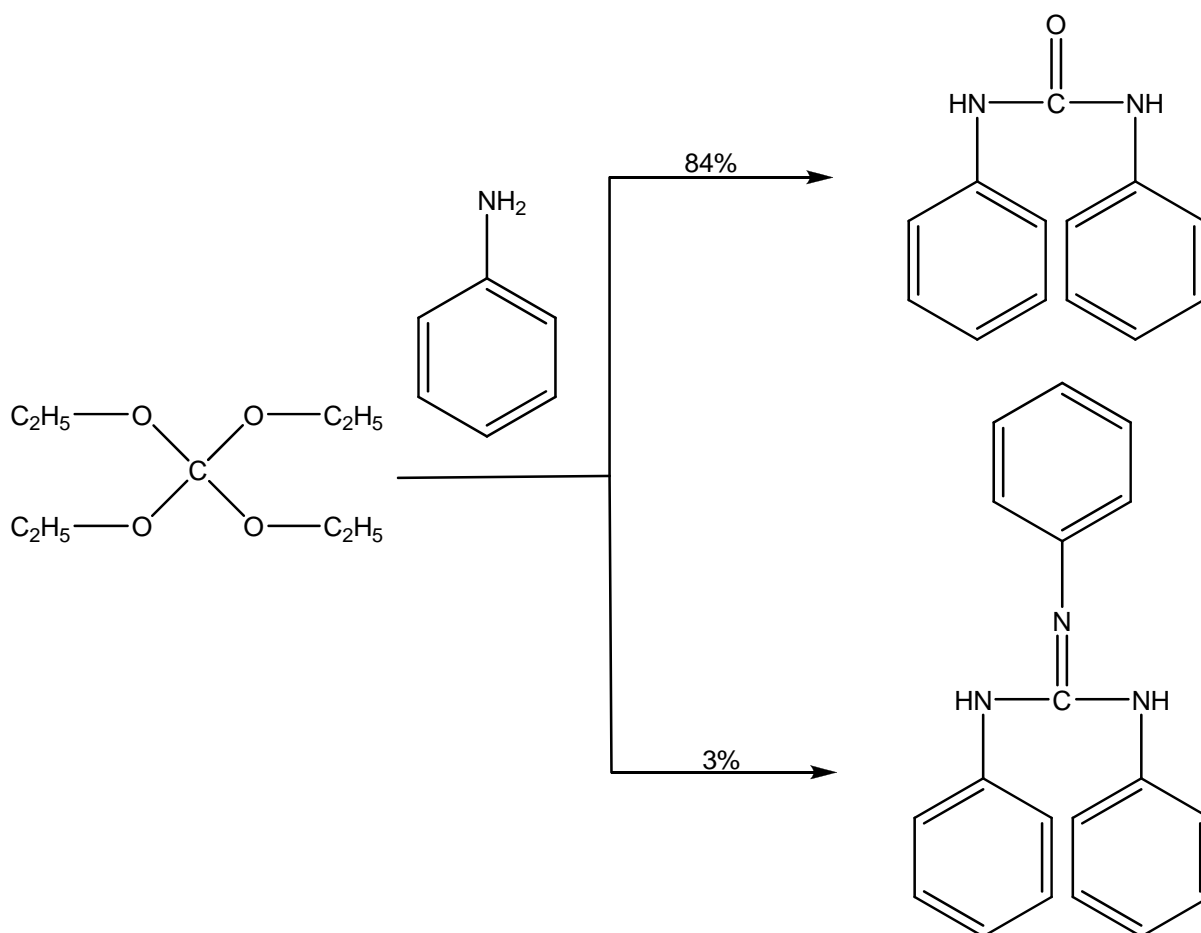
Reakcí chlorkyanu nebo fluorkyanu s *o*-toluidinem vzniká symetrický disubstituovaný guanidin<sup>85,86</sup>, tedy 1,3-bis(2-tolyl)guanidin.



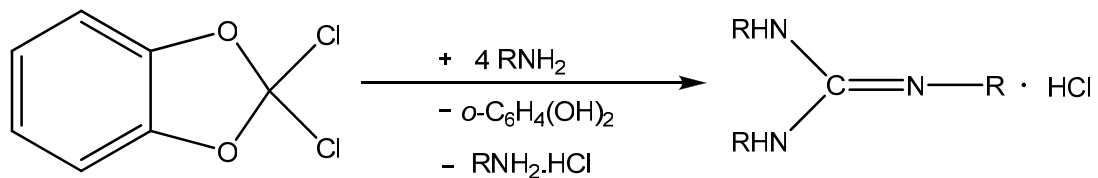
Obdobně lze připravit 1,3-difenyguanidin, výchozí látkou je zde nesubstituovaný anilin<sup>87</sup>.

### 5) aminolýza derivátů orthokyselin

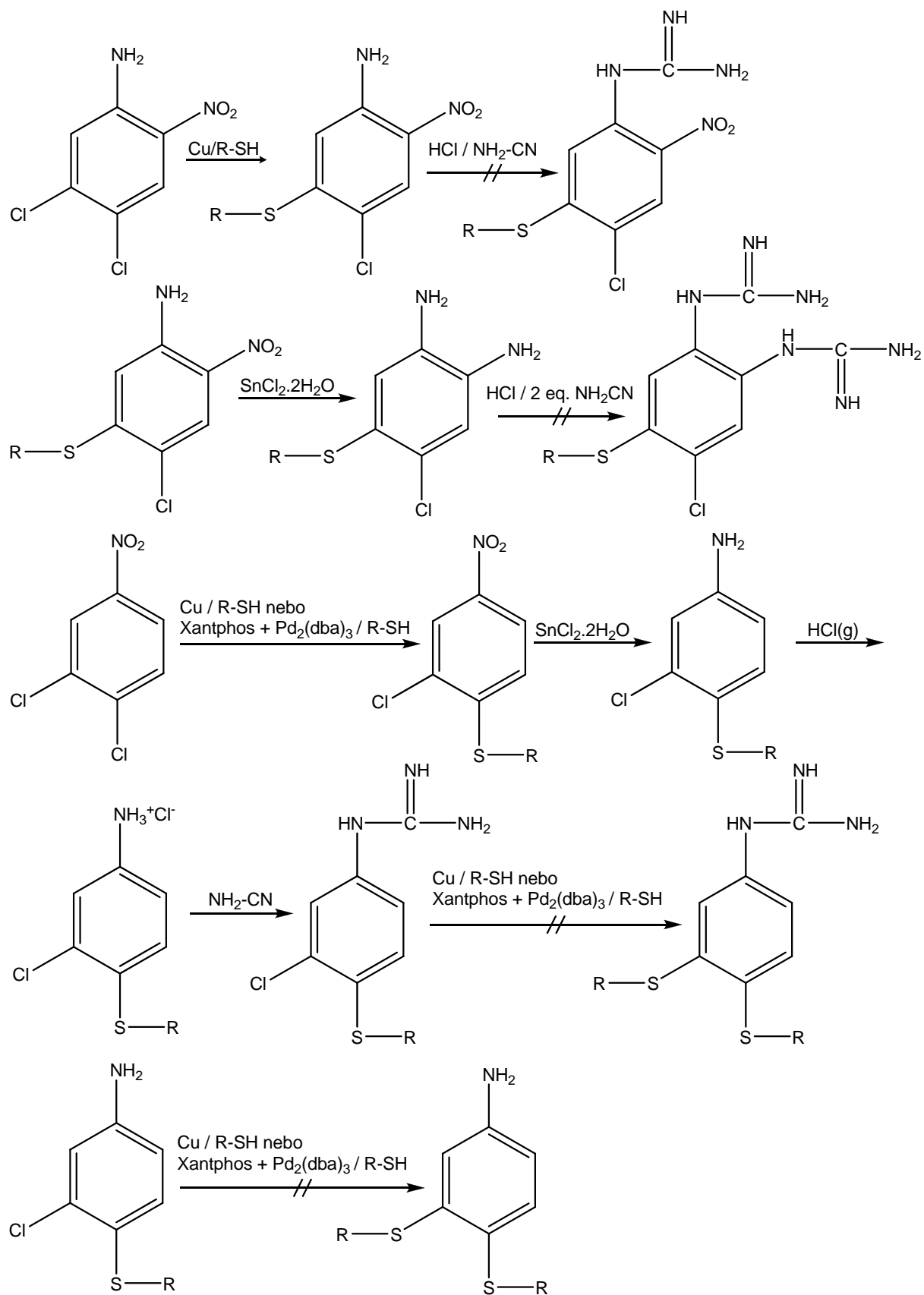
Poměrně specifickou reakci dává tetraethoxymethan s anilinem, kdy byl zaznamenán jako vedlejší produkt 1,2,3-trifenyguanidin<sup>88</sup>.

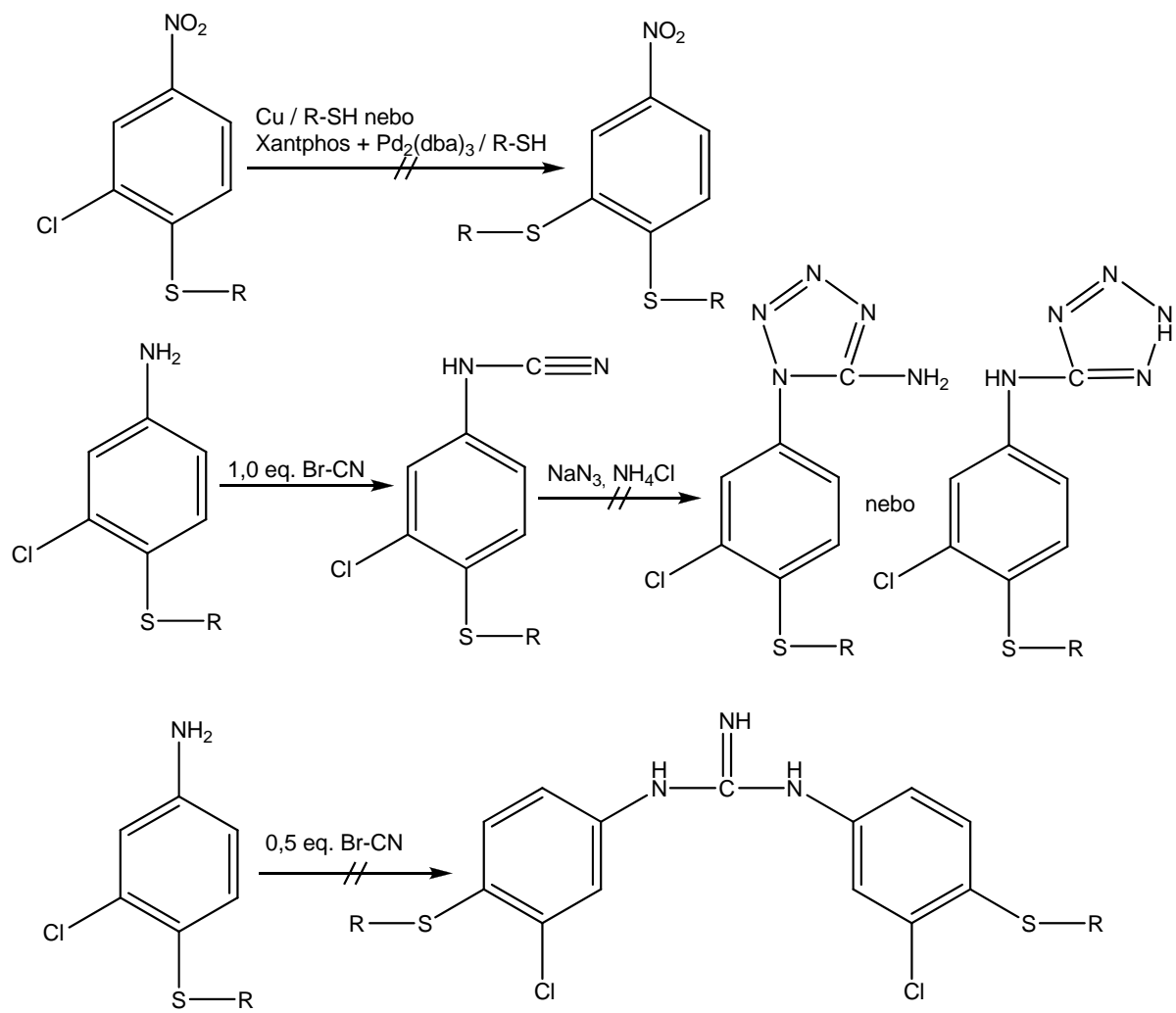


Podobně lze připravit triarylguanidinium-chlorid<sup>89</sup> a to reakcí 2,2-dichlor-1,3-benzodioxolu se čtyřmi moly primárního aromatického aminu.



## 2.2 Celkové schéma provedených syntéz







## 2.3 Mikrobiologická část

### Antifungální aktivita

Biologické hodnocení bylo prováděno na sérii patogenních i nepatogenních plísní na katedře biologických a lékařských věd Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Antifungální aktivita in vitro byla stanovena pomocí mikrodiluční bujónové metody v tkáňovém mediu RPMI 1640 (SEVAPHARMA, Praha) pufovaného 0,165 M morfolinopropansulfonovou kyselinou (Sigma) na pH 7,0. Látky byly testovány na osmi kmenech potenciálně patogenních hub: *Candida albicans* (CA), *Candida tropicalis* (CT), *Candida krusei* (CK), *Candida glabrata* (CG), *Trichosporon beigelii* (TB), *Trychophyton mentagrophytes* (TM), *Aspergillus fumigatus* (AF), *Absidia corymbifera* (AC). Testované koncentrace byly 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 16, 8, 4, 2 a 1  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . Minimální inhibiční koncentrace (CITACE GB) byly odečítány po 24 a 48 hodinách inkubace při 35°C, v případě *Trychophyton mentagrophytes* po 72 a 120 hodinách. Jako standard bylo použito imidazolové antimykotikum ketokonazol (KET, Janssen-Cilag) a kontaktní fungicidum dodin (Sigma-Aldrich).

## **Antimykobakteriální aktivita**

Antimykobakteriální aktivita některých látek byla stanovena v Národní referenční laboratoři pro *Mycobacterium kansasii* ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě.

*In vitro* testování sloučenin bylo provedeno na sérii čtyř mykobakteriálních kmenů: *Mycobacterium tuberculosis* CNCTC My 331/88, *Mycobacterium kansasii* CNCTC My 235/80, *Mycobacterium kansasii* 6509/96 a *Mycobacterium avium* CNCTC My 330/88, za použití mikrodiluční metody pro stanovení minimálních inhibičních koncentrací. Všechny kmeny byly získány z České národní sbírky kmenových kultur (CNCTC), kromě kmenu *Mycobacterium kansasii* 6509/96, který byl klinicky izolovaný od pacienta. Antimykobakteriální aktivita sloučenin byla určena na Šulově semisyntetickém mediu (SEVAC, Praha). Testované látky byly přidány rozpuštěny v dimethylsulfoxidu a byly použity následující koncentrace: 500, 250, 125, 62, 32, 16, 8, 4, 2, 1 a 0,5  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ . Hodnoty minimální inhibiční koncentrace (MIC) byly stanoveny po 7 a 14 dnech (*M.tuberculosis*, *M.avium*) a po 7, 14 a 21 dnech (*M.kansasii*) inkubace při 37°C. MIC byly určeny jako nejnižší koncentrace látky, při které se objeví inhibice růstu mykobakterií. Pro srovnání aktivit byl jako standard použit isoniazid (INH).

## 3 Experimentální část

### 3.1 Charakterizace připravených látek

Použité chemikálie byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich Co. (USA), Merck KGaA (SRN) a Lach-Ner s.r.o.

Teploty tání byly měřeny na mikrovýhřevném stolku Nagema Boëtius a jsou uváděny bez korekce. Infračervená spektra byla změřena na spektrofotometru Nicolet Impact 400 a to buď v tabletách KBr nebo metodou ATR jednodrazovým ZnSe krystalem. NMR spektra byla změřena na NMR spektrofotometru Varian Mercury Vx BB 300 v laboratoři VNMR NET na katedře anorganické a organické chemie.

Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna v různých soustavách uvedených v jednotlivých reakcích chemické části. Stacionární fázi tvořila vrstva silikagelu na deskách SILUFOL UV 254/366. Vzorky byly detekovány pod UV lampou.

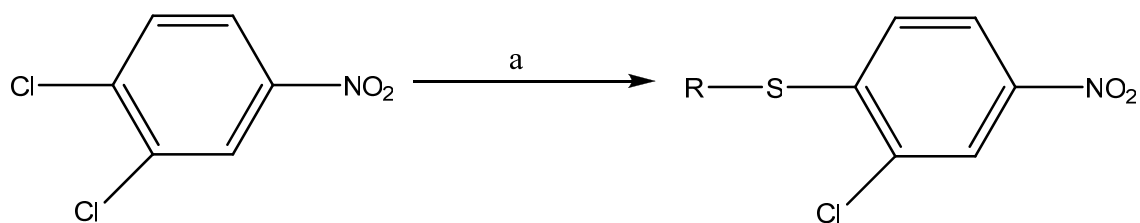
Sloupcová chromatografie byla prováděna postupně eluční řadou: 1. hexan/ethanol 8:1, 2. hexan/ethanol 4:1, 3. samotný ethanol. Stacionární fázi tvořil neutrální oxid hlinitý pro chromatografii dle Brockmanna.

## 3.2 Chemická část

### 3.2.1 Příprava substituovaných 2-chlor-1-(alkylsulfanyl)-4-nitrobenzenů

#### Metoda A<sup>22</sup>

Ke směsi 0,01 mol 3,4-dichlornitrobenzenu v 15 ml bezvodého N,N-dimethylformamidu, bylo přidáno 0,019 mol bezvodého uhličitanu draselného, 0,006 mol aktivní mědi a 0,012 mol alkylthiolu. Směs byla za stálého míchání pod zpětným chladičem a pod ochranou atmosférou dusíku zahřívána na 155°C po dobu 8-12h. Ukončení reakce byla detekováno pomocí tenkovrstvé chromatografie (stacionární fáze: silikagel, SILUFOL UV 254/366, mobilní fáze: benzen/ethanol/triethylamin=8:2:1, případně hexan/ethylacetát=8:1). Po ukončení reakce byla směs za horka zfiltrována a po vychladnutí přidána voda. Následně byl surový produkt uložen do chladu, kde byl ponechán krystalovat. Produkt byl rekrystalován z ethanolu.



a: alkylthiol, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Cu, DMF, 155°C, 8-12h

R: alkyl

1. 2-chlor-1-(oktylsulfanyl)-4-nitrobenzen  
Molární hmotnost: 301,83g/mol  
Reakční čas: 9,5h  
Výtěžek: 63%, t.t.: olej  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3098, 2953, 2924, 2853, 1572, 1509, 1451, 1335, 1248, 1130, 1121, 1032, 885, 766, 737  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.67 (3H, bs,  $\text{NH}_3$ ), 8.13 (1H, t,  $J=2.3$  Hz, H3), 8.02 (1H, dt,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.3$  Hz, H5), 7.21 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 2.95 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.79-1.63 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.52-1.36 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.36-1.10 (8H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.82 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.4, 144.3, 131.2, 124.5, 124.1, 121.8, 31.7, 31.2, 29.0, 28.9, 28.8, 27.8, 22.4, 13.9
2. 2-chlor-1-(decylsulfanyl)-4-nitrobenzen  
Molární hmotnost: 329,89g/mol  
Reakční čas: 8,5h  
Výtěžek: 57%, t.t.: olej  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3098, 2953, 2924, 2853, 1572, 1509, 1451, 1335, 1248, 1130, 1121, 1032, 885, 766, 737  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.21 (1H, d,  $J=2.5$  Hz, H3), 8.08 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.5$  Hz, H5), 7.25 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 3.00 (2H, t,  $J=7.1$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.84-1.69 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.41 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.40-1.19 (12H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.88 (3H, t,  $J=7.1$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.6, 144.5, 131.5, 124.6, 124.4, 121.9, 31.8, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 28.9, 27.9, 22.6, 14.1
3. 2-chlor-1-(undecylsulfanyl)-4-nitrobenzen  
Molární hmotnost: 343,91g/mol  
Reakční čas: 8h  
Výtěžek: 56%, t.t.: olej  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2953, 2922, 2852, 1573, 1511, 1452, 1336, 1245, 1130, 1121, 1032, 885, 766, 738  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.18 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, H3), 8.06 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.6$  Hz, H5), 7.24 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 3.00 (2H, t,  $J=6.6$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.85-1.68 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.41 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.41-1.19 (14H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=6.6$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.5, 144.4, 131.4, 124.5, 124.3, 121.9, 39.1, 31.8, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 28.9, 27.9, 22.6, 14.1
4. 2-chlor-1-(dodecylsulfanyl)-4-nitrobenzen  
Molární hmotnost: 357,94g/mol  
Reakční čas: 8h  
Výtěžek: 67%, t.t.: 39,7-42,5°C, lit.<sup>90</sup> 48°C  
IČ (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3108, 2959, 2927, 2852, 1588, 1571, 1508, 1466, 1337, 1242, 1121, 1031, 886, 766, 742  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H3), 8.07 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.4$  Hz, H5), 7.25 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 2.99 (2H, t,  $J=7.2$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.84-1.68 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.59-1.41 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.41-1.12 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=7.2$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.6, 144.5, 131.5, 124.6, 124.4, 121.9, 31.9, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 27.9, 22.7, 14.1
5. 2-chlor-1-(tetradecylsulfanyl)-4-nitrobenzen  
Molární hmotnost: 386g/mol  
Reakční čas: 8h  
Výtěžek: 72%, t.t.: 29,7-34,3°C  
IČ (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3104, 2954, 2918, 2851, 1575, 1518, 1509, 1471, 1352, 1254, 1132, 1124, 1037, 886, 770, 735  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.21 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H3), 8.07 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.4$  Hz, H5), 7.25 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 2.99 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.83-1.67 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.57-1.41 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.41-1.12 (20H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.6, 144.5, 131.5, 124.6, 124.4, 122.0, 31.9, 31.8, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 28.0, 22.7, 14.1

6. 2-chlor-1-(pentadecylsulfanyl)-4-nitrobenzen

Molární hmotnost: 400,02g/mol

Reakční čas: 9h

Výtěžek: 63%, t.t.: 40,3-42,7°C

IC (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3076, 2953, 2918, 2850, 1577, 1522, 1472, 1371, 1342, 1130, 890, 738

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.21 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H3), 8.08 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.3$  Hz, H5), 7.25 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 3.00 (2H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.85-1.70 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.42 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.42-1.12 (22H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.6, 144.5, 131.5, 124.6, 124.4, 121.9, 39.2, 31.9, 31.9, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 28.5, 27.9, 22.7, 14.1

7. 2-chlor-1-(hexadecylsulfanyl)-4-nitrobenzen

Molární hmotnost: 414,04g/mol

Reakční čas: 8h

Výtěžek: 54%, t.t.: 42,5-45,8°C

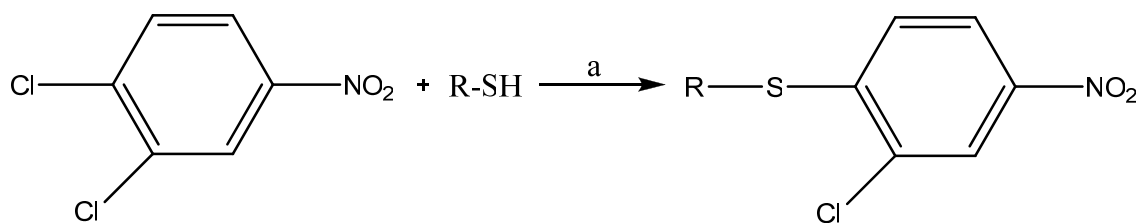
IC (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3104, 2954, 2918, 2851, 1575, 1512, 1471, 1350, 1132, 1123, 886, 735

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H3), 8.08 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.3$  Hz, H5), 7.25 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 3.00 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.84-1.69 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.57-1.42 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.41-1.15 (24H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.6, 144.5, 131.5, 124.6, 124.3, 121.9, 39.2, 31.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.4, 29.3, 29.2, 29.1, 29.0, 28.5, 27.9, 22.7, 14.1

### Metoda B<sup>24</sup>

Do destilační baňky byly vloženy 2 mmol 3,4-dichlornitrobenzenu, 4 mmol *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, tj. diisopropylethylaminu a 15 ml bezvodého 1,4-dioxanu. Soustava byla zbavena vzduchu a poté naplněna plynným dusíkem, celý proces byl takto třikrát opakován. Následně byly přidány katalyzátory reakce, 0,05 mmol Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, tris(dibenzylidenaceton)dipalladia, 0,1 mmol Xantphosu, 9,9-Dimethyl-4,5-bis(difenyolphosphino)xanthenu a 2 mmol alkylthiolu. Celá soustava pak byla následně znovu zbavena vzduchu a zavzdušněna plynným dusíkem, opět třikrát. Směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 12-22,5h na 120-130°C. Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie (stacionární fáze: silikagel, SILUFOL UV 254/366, mobilní fáze: benzen/ethanol/triethylamin=8:2:1 nebo hexan/ethylacetát=8:1). Po ukončení reakce byl 1,4-dioxan vakuově oddestilován, a surový produkt byl čištěn krystalizací z ethanolu.



a: Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, Xantphos, *i*-Pr<sub>2</sub>NEt, 1,4-dioxan, 120-130°C, 12-22,5h

1. 2-chlor-1-(heptylsulfanyl)-4-nitrobenzen

Molární hmotnost: 287,81g/mol

Reakční čas: 12h

Výtěžek: 83%, t.t. olej

IC (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2953, 2926, 2855, 1572, 1509, 1451, 1379, 1335, 1244, 1128, 1121, 1032, 885, 818, 766, 737

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.20 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H3), 8.07 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.3$  Hz, H5), 7.25 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 3.00 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.83-1.67 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.57-1.41 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.41-1.21 (6H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.88 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.5, 144.5, 131.5, 124.6, 124.3, 121.9, 31.9, 31.6, 28.9, 28.8, 27.9, 22.5, 14.0

2. 2-chlor-1-(nonylsulfanyl)-4-nitrobenzen

Molární hmotnost: 315,86g/mol

Reakční čas: 22,5h

Výtěžek: 77%, t.t.: olej

IC (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2953, 2923, 2853, 1572, 1511, 1452, 1336, 1246, 1129, 1121, 1032, 885, 766, 738

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.18 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H3), 8.06 (1H, dd,  $J_1=8.8$  Hz,  $J_2=2.4$  Hz, H5), 7.24 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H6), 2.99 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.82-1.67 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.55-1.41 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.39-1.17 (10H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.86 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.5, 144.4, 131.4, 124.5, 124.2, 121.9, 39.1, 31.8, 29.3, 29.1, 29.1, 28.9, 27.9, 22.6, 14.0

3. 2-chlor-1-(tridecylsulfanyl)-4-nitrobenzen

Molární hmotnost: 371,97g/mol

Reakční čas: 22,5h

Výtěžek: 85%, t.t.: 43,3-45,2°C

IC (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3100, 2951, 2915, 2847, 1571, 1504, 1462, 1333, 1251, 1237, 1120, 1031, 884, 768, 737

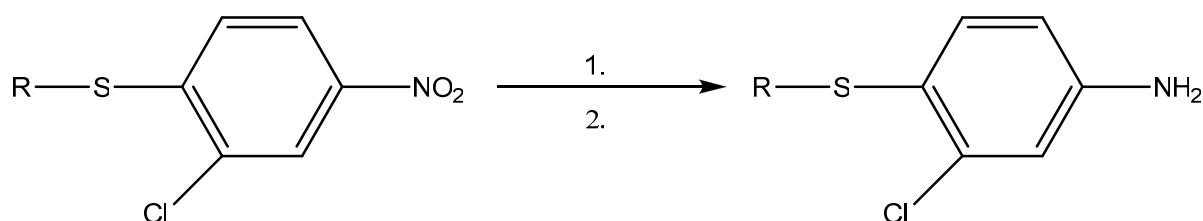
$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.25 (1H, d,  $J=2.5$  Hz, H3), 8.13 (1H, dd,  $J_1=8.9$  Hz,  $J_2=2.5$  Hz, H5), 7.57 (1H, d,  $J=8.9$  Hz, H6), 3.11 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.73-1.58 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.49-1.35 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.35-1.15 (18H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.83 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )

$^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  147.0, 144.4, 130.1, 126.0, 124.1, 122.7, 31.5, 30.9, 29.3, 29.2, 29.1, 29.1, 28.9, 28.7, 28.4, 27.7, 22.3, 14.1



### 3.2.2 Příprava 4-alkylsulfanyl-3-chloranilinů<sup>41,42</sup>

Ke směsi 0,01 mol 2-chlor-1-(alkylsulfanyl)-4-nitrobenzenu v 40 ml bezvodého ethanolu bylo přidáno 0,05 mol dihydrátu chloridu cínatého a směs byla pod zpětným chladičem v ochranné atmosféře dusíku zahřívána na 70°C po dobu 4,5-11h. Průběh reakce byl sledován tenkovrstvou chromatografií (stacionární fáze: silikagel, SILUFOL UV 254/366, mobilní fáze: hexan/ethanol/triethylamin= 8:1:1). Po skončení byla reakční směs ponechána vychladnout a následně zalkalizována 50% roztokem hydroxidu sodného. Směs byla 3x vytřepána do ethylacetátu nebo diethyletheru, organické fáze spojeny a poté sušeny bezvodým síranem sodným. Celá směs byla poté zfiltrována rozpouštědlo vakuově oddestilováno. Produkt byl stejně jako v případě syntézy 2-chlor-1-(alkylsulfanyl)-4-nitrobenzenů čištěn krystalizací z ethanolu.



1.  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , ethanol, 70°C, 4,5-11h

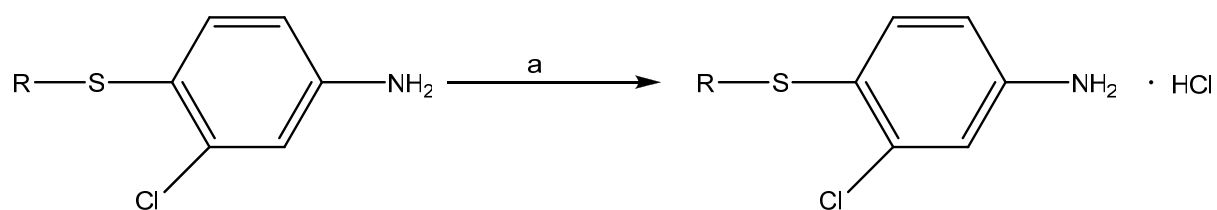
2. NaOH

1. 3-chlor-4-(heptylsulfanyl)anilin  
Molární hmotnost: 257,82g/mol  
Reakční čas: 10h  
Výtěžek: 88%, t.t.: olej  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3474, 3362, 3217, 2953, 2924, 2853, 1619, 1594, 1554, 1473, 1377, 1281, 1234, 1123, 1024, 898, 847, 810, 692  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.24 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H5), 6.75 (1H, d,  $J=2.4$  Hz, H2), 6.52 (1H, dd,  $J_1=8.2$  Hz,  $J_2=2.4$  Hz, H6), 3.74 (2H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.79 (2H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.64-1.49 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.45-1.17 (8H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.7, 137.6, 134.6, 122.2, 116.1, 113.9, 34.9, 31.7, 29.1, 28.8, 28.7, 22.6, 14.0
2. 3-chlor-4-(oktylsulfanyl)anilin  
Molární hmotnost: 271,85g/mol  
Reakční čas: 10h  
Výtěžek: 88%, t.t.: olej  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3467, 3358, 3215, 2952, 2923, 2852, 1668, 1620, 1594, 1555, 1473, 1378, 1281, 1234, 1123, 1094, 1024, 898, 847, 811, 692  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.25-7.18 (1H, m, H5), 6.77-6.70 (1H, m, H2), 6.54-6.45 (1H, m, H6), 3.73 (2H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.82-2.72 (2H, m,  $\text{SCH}_2$ ), 1.64-1.47 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.45-1.12 (10H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.90-0.81 (3H, m,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.7, 137.5, 134.5, 122.1, 116.0, 113.9, 34.8, 31.7, 29.1, 29.0, 28.7, 22.6, 14.0
3. 3-chlor-4-(nonylsulfanyl)anilin  
Molární hmotnost: 285,87g/mol  
Reakční čas: 5,5h  
Výtěžek: 82%, t.t.: olej  
IČ (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3389, 3315, 3213, 2959, 2921, 2850, 1633, 1597, 1552, 1474, 1379, 1302, 1285, 1240, 1130, 1080, 1025, 897, 863, 817, 721, 597  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.24 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H5), 6.75 (1H, d,  $J=2.6$  Hz, H2), 6.51 (1H, dd,  $J_1=8.5$  Hz,  $J_2=2.6$  Hz, H6), 3.73 (2H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.79 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.63-1.49 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.45-1.33 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.33-1.19 (10H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.7, 137.6, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 34.9, 31.8, 29.4, 29.2, 29.2, 29.1, 28.7, 22.6, 14.1
4. 3-chlor-4-(decylsulfanyl)anilin  
Molární hmotnost: 299,9g/mol  
Reakční čas: 4,5h  
Výtěžek: 83%, t.t.: olej  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3467, 3364, 3212, 2953, 2922, 2851, 1686, 1619, 1594, 1555, 1473, 1377, 1281, 1234, 1124, 1024, 898, 847, 810, 721, 692  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.23 (1H, d,  $J=8.4$  Hz, H5), 6.75 (1H, d,  $J=2.5$  Hz, H2), 1.65-1.48 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.47-1.14 (14H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.87 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.7, 137.6, 134.6, 122.2, 116.1, 113.9, 34.9, 31.9, 29.5, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.7, 22.6, 14.1
5. 3-chlor-4-(undecylsulfanyl)anilin  
Molární hmotnost: 313,93g/mol  
Reakční čas: 7,5h  
Výtěžek: 80%, t.t.: 61,3-62,7°C  
IČ (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3389, 3315, 3213, 2958, 2919, 2849, 1633, 1597, 1552, 1473, 1419, 1285, 1240, 1130, 1025, 898, 863, 851, 816, 721, 695, 597  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.23 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H5), 6.75 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H2), 6.51 (1H, dd,  $J_1=8.2$  Hz,  $J_2=2.3$  Hz, H6), 3.73 (2H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.79 (2H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.62-1.50 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.46-1.17 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.88 (3H, t,  $J=7.0$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  146.7, 137.6, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 34.9, 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.7, 22.7, 14.1

6. 3-chlor-4-(dodecylsulfanyl)anilin  
 Molární hmotnost: 327,96g/mol  
 Reakční čas: 6h  
 Výtěžek: 89%, t.t.: 40,0-45,3°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3370, 2953, 2922, 2849, 1707, 1637, 1596, 1560, 1474, 1414, 1282, 1235, 1127, 1025, 899, 852, 804, 692, 641  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.21 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H5), 6.73 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H2), 6.49 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.4 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.5 Hz, H6), 3.89 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.76 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.59-1.46 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.43-1.10 (18H, m, CH<sub>2</sub>), 0.85 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 146.8, 137.6, 134.6, 122.1, 116.0, 113.9, 34.8, 31.8, 29.5, 29.5, 29.4, 29.3, 29.1, 29.0, 28.7, 22.6, 18.2, 14.0
7. 3-chlor-4-(tridecylsulfanyl)anilin  
 Molární hmotnost: 341,98g/mol  
 Reakční čas: 11h  
 Výtěžek: 97%, t.t.: 62,1-63,8°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3385, 3314, 3212, 2951, 2919, 2849, 1633, 1597, 1553, 1473, 1418, 1284, 1238, 1129, 1025, 899, 864, 852, 816, 721, 695, 596  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H5), 6.76 (1H, d, *J*=2.3 Hz, H2), 6.52 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.2 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 3.73 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.79 (2H, t, *J*=7.0 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.63-1.49 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.47-1.14 (20H, m, CH<sub>2</sub>), 0.88 (3H, t, *J*=7.0 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 146.7, 137.7, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 34.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.8, 22.7, 14.1
8. 3-chlor-4-(tetradecylsulfanyl)anilin  
 Molární hmotnost: 356,01g/mol  
 Reakční čas: 7h  
 Výtěžek: 71%, t.t.: 56,6-59,1°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3367, 3300, 3193, 2954, 2919, 2849, 1631, 1601, 1473, 1417, 1282, 1235, 1129, 1025, 899, 868, 852, 804, 727, 721, 640, 581  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H5), 6.75 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H2), 6.51 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.5 Hz, H6), 4.40 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.79 (2H, t, *J*=7.1 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.62-1.49 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.14 (22H, m, CH<sub>2</sub>), 0.88 (3H, t, *J*=7.1 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 146.6, 137.6, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 34.9, 31.9, 29.6, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.7, 28.5, 22.7, 14.1
9. 3-chlor-4-(pentadecylsulfanyl)anilin  
 Molární hmotnost: 370,04g/mol  
 Reakční čas: 8h  
 Výtěžek: 54%, t.t.: 52,7-55,2°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3368, 3300, 3192, 3065, 2953, 2919, 2849, 1630, 1597, 1473, 1438, 1283, 1235, 1127, 1027, 898, 804, 640, 581  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H5), 6.76 (1H, d, *J*=2.5 Hz, H2), 6.52 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.2 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.5 Hz, H6), 3.73 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.79 (2H, t, *J*=7.1 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.67-1.49 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.47-1.16 (24H, m, CH<sub>2</sub>), 0.88 (3H, t, *J*=7.1 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 146.7, 137.7, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 34.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.7, 28.5, 22.7, 14.1
10. 3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)anilin  
 Molární hmotnost: 384,06g/mol  
 Reakční čas: 7h  
 Výtěžek: 60%, t.t.: 57,6-61,8°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3367, 3300, 3196, 3065, 2955, 2919, 2849, 1635, 1601, 1559, 1474, 1417, 1282, 1235, 1127, 1027, 899, 868, 852, 804, 728, 641  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.24 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H5), 6.75 (1H, d, *J*=2.3 Hz, H2), 6.52 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 3.73 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.79 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.64-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.45-1.14 (26H, m, CH<sub>2</sub>), 0.88 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 146.7, 137.7, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 34.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.7, 22.7, 14.1

### 3.2.3 Příprava 4-alkylsufanyl-3-chloranilinium-chloridů<sup>50</sup>

Potřebné množství 4-alkylsulfanyl-3-chloranilinu bylo rozpuštěno v co nejmenším množství bezvodého etheru, následně uloženo do ledové lázně a syceno plynným, suchým chlorovodíkem zpravidla po dobu 20-25 minut. Celá směs byla uložena ke krystalizaci do chladu, vzniklé krystaly odfiltrovány a rekrystalizovány z bezvodého ethanolu.



a: HCl, ether

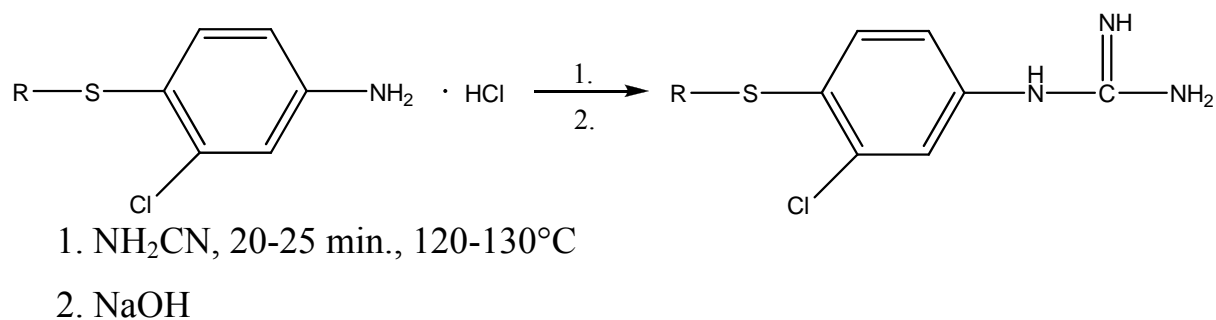
1. 3-chlor-4-(heptylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 294,28g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 93%, t.t.: 165,4-167,9°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3057, 2957, 2926, 2857, 2560, 2346, 1498, 1470, 1407, 1267, 1125, 1096, 1037, 815, 546  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.65 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.40 (1H, d, J=8.8 Hz, H5), 7.32 (1H, d, J=2.3 Hz, H2), 7.17 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.8 Hz, J<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 2.93 (2H, t, J=7.2 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.61-1.49 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.16 (8H, m, CH<sub>2</sub>), 0.84 (3H, t, J=7.2 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 134.4, 132.5, 132.2, 129.7, 122.1, 120.9, 31.9, 31.3, 28.4, 28.3, 28.2, 22.2, 14.1
  
2. 3-chlor-4-(oktylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 308,31g/mol  
 Reakční čas: 25 min.  
 Výtěžek: 83%, t.t.: 105,5-110,5°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3057, 2956, 2925, 2855, 2556, 2346, 1497, 1470, 1408, 1269, 1125, 1096, 1037, 818, 547  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.90 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.40 (1H, d, J=8.5 Hz, H5), 7.32 (1H, d, J=2.2 Hz, H2), 7.16 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.5 Hz, J<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 2.93 (2H, t, J=7.0 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.63-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.45-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.14 (8H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, J=7.0 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 134.5, 132.6, 132.1, 129.7, 122.1, 120.9, 32.0, 31.4, 28.8, 28.7, 28.3, 28.2, 22.3, 14.2
  
3. 3-chlor-4-(nonylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 322,34g/mol  
 Reakční čas: 25 min.  
 Výtěžek: 92%, t.t.: 148,1-150,7°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3058, 2958, 2923, 2854, 2599, 2344, 1499, 1471, 1408, 1268, 1125, 1096, 1038, 815  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.40 (1H, d, J=8.5 Hz, H5), 7.34 (1H, d, J=2.3 Hz, H2), 7.19 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.5 Hz, J<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 5.69 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.93 (2H, t, J=7.0 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.63-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.45-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.12 (10H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, J=7.0 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 133.9, 132.7, 132.4, 129.5, 122.4, 121.2, 31.9, 31.5, 29.1, 28.9, 28.8, 28.4, 28.2, 22.3, 14.2
  
4. 3-chlor-4-(decylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 336,36g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 84%, t.t.: 165-170,8°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3056, 2957, 2923, 2853, 2557, 2346, 1498, 1471, 1408, 1269, 1125, 1096, 1037, 817, 546  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.19 (1H, d, J=8.5 Hz, H5), 7.09 (1H, d, J=2.2 Hz, H2), 6.93 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.5 Hz, J<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 2.72 (2H, t, J=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.43-1.27 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.25-1.11 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.11-0.93 (12H, m, CH<sub>2</sub>), 0.64 (3H, t, J=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 135.1, 132.7, 131.5, 129.9, 121.8, 120.6, 32.1, 31.5, 29.1, 28.9, 28.7, 28.3, 28.2, 22.2, 14.2
  
5. 3-chlor-4-(undecylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 350,39g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 78%, t.t.: 156,2-159,2°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3057, 2957, 2922, 2852, 2557, 2344, 1498, 1471, 1409, 1269, 1126, 1096, 1037, 813, 546  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 8.58 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.41 (1H, d, J=8.8 Hz, H5), 7.35 (1H, d, J=2.3 Hz, H2), 7.20 (1H, dd, J<sub>1</sub>=8.8 Hz, J<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 2.93 (2H, t, J=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.63-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.45-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.12 (14H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, J=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 133.6, 132.9, 132.3, 129.4, 122.5, 121.3, 31.8, 31.5, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 28.4, 28.2, 22.3, 14.2

6. 3-chlor-4-(dodecylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 364,42g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 98%, t.t.: 139,3-143,1°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3057, 2956, 2920, 2852, 2560, 2344, 1498, 1471, 1409, 1269, 1125, 1096, 1037, 817, 546  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.38 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H5), 7.28 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H2), 7.12 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 2.91 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.62-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.09 (16H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 135.3, 132.7, 131.4, 130.0, 121.7, 120.5, 32.1, 31.5, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.7, 28.3, 28.2, 22.3, 14.2
7. 3-chlor-4-(tridecylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 378,44g/mol  
 Reakční čas: 25 min.  
 Výtěžek: 89%, t.t.: 154,0-155,2°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3057, 2957, 2919, 2851, 2564, 2345, 1498, 1471, 1407, 1267, 1125, 1096, 1037, 815, 546  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.38 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=1.4 Hz, H5), 7.28-7.23 (1H, m, H2), 7.14-7.06 (1H, m, H6), 6.65 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.91 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.62-1.47 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.15 (18H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 135.7, 132.9, 131.0, 130.1, 121.5, 120.3, 32.1, 32.5, 29.3, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.7, 28.3, 28.2, 22.3, 14.2
8. 3-chlor-4-(tetradecylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 392,47g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 80%, t.t.: 154,1-158,6°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3056, 2957, 2919, 2852, 2561, 2347, 1498, 1471, 1408, 1269, 1125, 1097, 1038, 815, 546  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.67 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 7.38 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H5), 7.30 (1H, d, *J*=2.3 Hz, H2), 7.14 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.2 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 2.91 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.61-1.47 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.10 (20H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 134.9, 132.6, 131.7, 129.8, 121.9, 120.7, 32.0, 31.5, 29.3, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.7, 28.4, 28.3, 22.3, 14.2
9. 3-chlor-4-(pentadecylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 406,5g/mol  
 Reakční čas: 25 min.  
 Výtěžek: 93%, t.t.: 154,9-158,7°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3053, 2953, 2915, 2849, 2555, 2346, 1497, 1469, 1409, 1269, 1124, 1096, 1037, 818, 719  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.37 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H5), 7.25 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H2), 7.10 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 5.82 (3H, bs, NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), 2.90 (2H, t, *J*=6.7 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.61-1.48 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.45-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.12 (22H, m, CH<sub>2</sub>), 0.83 (3H, t, *J*=6.7 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 132.9, 131.0, 130.1, 121.5, 120.3, 32.2, 31.5, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.7, 28.3, 28.2, 22.3, 14.2
10. 3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)anilinium-chlorid  
 Molární hmotnost: 420,52g/mol  
 Reakční čas: 25 min.  
 Výtěžek: 75%, t.t.: 156,9-159,6°C  
 IČ (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3055, 2956, 2918, 2851, 2560, 2344, 1498, 1471, 1408, 1268, 1124, 1092, 1037, 815, 545  
<sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR nebyla změřena, látka vypadává z roztoku při použití různých rozpouštědel.

### 3.2.4 Příprava 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinu

#### Metoda A<sup>70,71,72</sup>

0,01 mol 4-alkylsufanyl-3-chloranilinium-chloridu bylo za laboratorní teploty důkladně promícháno s 0,012 mol kyanamidu a taveno postupně na teplotu 120-130°C za stálého míchání. Reakční čas se pohyboval v rozmezí 20-25 minut a vznikající derivát guanidinu byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie (stacionární fáze: silikagel, SILUFOL UV 254/366, mobilní fáze: benzen/ethanol/triethylamin=8:2:1). Po ukončení reakce byla vychladlá tavenina rozpuštěna ve směsi hexan-ethanol (8:1), následně naadsorbována na oxid hlinitý a čištěna chromatograficky na sloupci oxidu hlinitého (mobilní fáze hexan/ ethanol 8:1, dále hexan/ ethanol 4:1 a samotný ethanol až do vymytí veškerého produktu). Vyčištěný derivát guanidinu byl následně zalkalizován 50% roztokem hydroxidu sodného a třikrát vytřepán do etheru. Spojená etherová fáze byla sušena bezvodým síranem sodným, zfiltrována a rozpouštědlo vakuově odpařeno. 4-Alkylsulfanyl-3-chlorfenylguanidin byl rekrystalizován z heptanu.



1. 1-[3-chlor-4-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidin  
Molární hmotnost: 355,97g/mol  
Reakční čas: 25 min.  
Výtěžek: 36%, t.t.: 90,2-93,4°C  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3432, 3371, 3319, 3067, 2956, 2917, 2850, 1664, 1615, 1582, 1530, 1456, 1377, 1302, 1120, 1024, 986, 812  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.21 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H5), 6.82 (1H, s, H2), 6.69 (1H, dd,  $J_1=8.2$  Hz,  $J_2=1.2$  Hz, H6), 5.32 (4H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.83 (2H, t,  $J=6.7$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.60-1.45 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.44-1.32 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.32-1.14 (14H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.84 (3H, t,  $J=6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  153.3, 151.3, 134.1, 131.5, 123.9, 123.7, 122.8, 33.0, 31.5, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 28.6, 28.3, 22.3, 14.2
2. 1-[3-chlor-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidin  
Molární hmotnost: 370,00g/mol  
Reakční čas: 25 min.  
Výtěžek: 96%, t.t.: 100,6-102,1°C  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3375, 3329, 2954, 2918, 2850, 1664, 1660, 1581, 1530, 1461, 1379, 1118, 1024, 986, 812  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  9.63 (1H, bs, NH), 7.45 (3H, bs, NH,  $\text{NH}_2$ ), 7.40 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H5), 7.36 (1H, d,  $J=2.3$  Hz, H2), 7.19 (1H, dd,  $J_1=8.5$  Hz,  $J_2=2.3$  Hz, H6), 2.98 (2H, t,  $J=6.5$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.68-1.52 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.48-1.33 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.33-1.09 (16H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.84 (3H, t,  $J=6.5$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  156.0, 134.5, 133.4, 131.6, 128.1, 126.0, 124.6, 31.5, 31.3, 29.3, 29.2, 29.2, 28.9, 28.8, 28.4, 28.2, 22.3, 14.2
3. 1-[3-chlor-4-(tridecylsulfanyl)fenyl]guanidin  
Molární hmotnost: 384,02g/mol  
Reakční čas: 20 min.  
Výtěžek: 59%, t.t.: 98,1-100,1°C  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3430, 3372, 3328, 3071, 2955, 2915, 2849, 1663, 1617, 1581, 1530, 1461, 1377, 1302, 1119, 1024, 986, 813  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.22 (1H, d,  $J=8.2$  Hz, H5), 6.83 (1H, d,  $J=2.1$  Hz, H2), 6.70 (1H, dd,  $J_1=8.2$  Hz,  $J_2=2.1$  Hz, H6), 5.41 (4H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.83 (2H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.59-1.45 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.42-1.14 (20H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.84 (3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  163.0, 153.4, 150.9, 134.0, 131.4, 123.9, 123.9, 122.8, 33.0, 31.5, 29.3, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 28.6, 28.3, 22.3, 14.2
4. 1-[3-chlor-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidin  
Molární hmotnost: 398,05g/mol  
Reakční čas: 20 min.  
Výtěžek: 76%, t.t.: 101,2-103,3°C  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3433, 3370, 3324, 3065, 2954, 2916, 2849, 1663, 1616, 1583, 1530, 1458, 1378, 1302, 1119, 1024, 986, 813  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.20 (1H, d,  $J=8.5$  Hz, H5), 6.82 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H2), 6.69 (1H, dd,  $J_1=8.5$  Hz,  $J_2=2.2$  Hz, H6), 3.93 (4H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.82 (2H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.59-1.44 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.42-1.10 (22H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.84 (3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  153.5, 151.5, 134.2, 131.6, 123.8, 123.4, 122.7, 33.1, 31.5, 29.3, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 28.6, 28.3, 22.3, 14.2

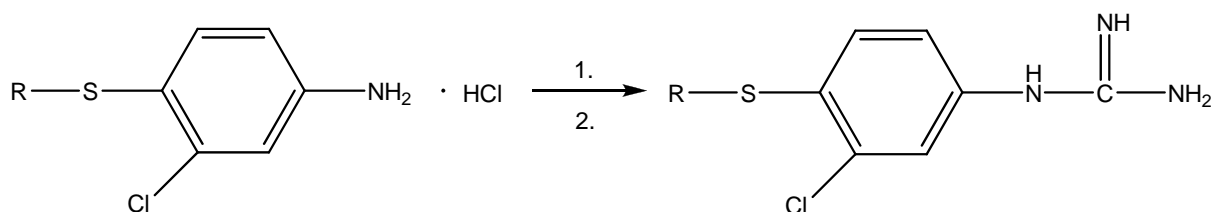


5. 1-[3-chlor-4-(pentadecylsulfanyl)fenyl]guanidin  
 Molární hmotnost: 412,08g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 52%, t.t.: 101,2-104,7°C  
 IČ (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3432, 3369, 3324, 3065, 2955, 2915, 2848, 1664, 1612, 1581, 1530, 1459, 1376, 1298, 1120, 1024, 987, 814  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.21 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H5), 6.81 (1H, bs, H2), 6.68 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 5.28 (4H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.82 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.59-1.45 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.43-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.14 (22H, m, CH<sub>2</sub>), 0.84 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 153.3, 151.4, 134.1, 131.5, 123.8, 123.6, 122.7, 33.1, 31.5, 29.2, 29.2, 29.2, 29.1, 28.9, 28.8, 28.6, 28.3, 22.3, 14.2
6. 1-[3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)fenyl]guanidin  
 Molární hmotnost: 426,10g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 37%, t.t.: 102,0-104,0°C  
 IČ (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3433, 3369, 3318, 3067, 2954, 2915, 2849, 1668, 1612, 1582, 1530, 1460, 1378, 1303, 1120, 1024, 986, 813  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.20 (1H, d, *J*=8.5 Hz, H5), 6.82 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H2), 6.69 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.5 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 5.29 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 4.36 (2H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.82 (2H, t, *J*=6.8 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.60-1.44 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.31 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.10 (24H, m, CH<sub>2</sub>), 0.84 (3H, t, *J*=6.8 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 153.4, 151.3, 134.1, 131.5, 123.9, 123.7, 122.8, 33.1, 31.5, 29.3, 29.2, 29.2, 29.0, 28.8, 28.7, 28.3, 22.3, 18.8, 14.2
7. 1-[3-chlor-4-(nonylsulfanyl)fenyl]guanidin  
 Molární hmotnost: 327,92g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 86%, t.t.: 93,4-95,9°C  
 IČ (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3467, 3432, 3369, 3315, 3064, 2955, 2919, 2850, 1662, 1614, 1581, 1531, 1455, 1377, 1301, 1120, 1024, 985, 813  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.21 (1H, d, *J*=8.4 Hz, H5), 6.82 (1H, d, *J*=2.2 Hz, H2), 6.69 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.4 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.2 Hz, H6), 5.29 (4H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.83 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.59-1.45 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.34 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.31-1.16 (10H, m, CH<sub>2</sub>), 0.84 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 153.3, 151.4, 134.1, 131.5, 123.8, 123.6, 122.8, 33.0, 31.5, 29.1, 28.8, 28.8, 28.6, 28.3, 22.3, 14.2
8. 1-[3-chlor-4-(heptylsulfanyl)fenyl]guanidin  
 Molární hmotnost: 299,86g/mol  
 Reakční čas: 20 min.  
 Výtěžek: 43%, t.t.: 87,5-89,0°C  
 IČ (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3484, 3446, 3305, 3141, 3955, 2922, 2853, 1659, 1623, 1580, 1459, 1376, 1340, 1289, 1239, 1120, 1024, 887, 862  
<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO) δ 7.22 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H5), 6.82 (1H, d, *J*=2.3 Hz, H2), 6.70 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.2 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.3 Hz, H6), 5.34 (4H, bs, NH<sub>2</sub>), 2.83 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.60-1.46 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.44-1.16 (8H, m, CH<sub>2</sub>), 0.84 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO) δ 153.3, 151.3, 134.1, 131.5, 123.9, 123.7, 122.8, 33.0, 31.4, 28.6, 28.4, 28.3, 22.2, 14.1

### Metoda B<sup>70,71,72</sup>

0,01 mol 4-alkylsufanyl-3-chloranilinium-chloridu bylo rozpuštěno v 15ml bezvodého ethanolu, přidáno 0,012 mol kyanamidu a reakce byla prováděna v autoklávu při tlaku 4-5 bar (400-500 kPa).

Reakce probíhala 2-4 hodiny a po jejím skončení byl ethanol vakuově oddestilován. Následné zpracování surového produktu je obdobné jako u A metody, chromatografické čištění probíhalo přes sloupec oxidu hlinitého (stacionární a mobilní fáze viz.výše).



1. NH<sub>2</sub>CN, ethanol, 400-500kPa, 90°C, 2-4 hod.

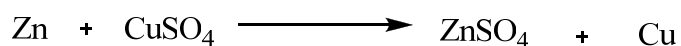
2. NaOH

1. 1-[3-chlor-4-(oktylsulfanyl)fenyl]guanidin  
Molární hmotnost: 313,89g/mol  
Reakční čas: 4h  
Výtěžek: 52%, t.t.: 90,6-92,9°C  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3432, 3317, 3067, 2954, 2918, 2850, 1664, 1614, 1581, 1530, 1456, 1377, 1302, 1120, 1024, 985, 812  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  9.60 (1H, bs, NH), 7.48-7.40 (3H, bs, NH,  $\text{NH}_2$ ), 7.41 (1H, d overlapped,  $J=8.7$  Hz, H5), 7.37 (1H, d,  $J=2.2$  Hz, H2), 7.19 (1H, dd,  $J_1=8.7$  Hz,  $J_2=2.2$  Hz, H6), 2.99 (2H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.68-1.53 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.48-1.34 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.33-1.14 (8H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.84 (3H, t,  $J=6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  156.0, 134.5, 133.4, 131.6, 128.1, 126.1, 124.6, 31.4, 31.2, 28.8, 28.7, 28.4, 28.2, 22.3, 14.2
2. 1-[3-chlor-4-(decylsulfanyl)fenyl]guanidin  
Molární hmotnost: 341,94g/mol  
Reakční čas: 2h  
Výtěžek: 61%, t.t.: 90,5-92,4°C  
IČ (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3071, 2953, 2919, 2851, 1664, 1616, 1581, 1530, 1458, 1378, 1303, 1120, 1024, 986, 813  
 $^1\text{H}$  NMR (300 MHz, DMSO)  $\delta$  7.22 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H5), 6.83 (1H, s, H2), 6.74-6.67 (1H, m, H6), 5.45 (4H, bs,  $\text{NH}_2$ ), 2.83 (2H, t,  $J=6.7$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ), 1.60-1.44 (2H, m,  $\text{CH}_2$ ), 1.44-1.14 (14H, m,  $\text{CH}_2$ ), 0.84 (3H, t,  $J=6.7$  Hz,  $\text{CH}_3$ )  
 $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO)  $\delta$  153.4, 150.9, 134.0, 131.4, 123.9, 122.8, 33.0, 31.5, 29.1, 28.9, 28.8, 28.6, 28.3, 22.3, 14.2

### 3.2.5 Příprava dalších a pomocných látek

#### 1. Příprava aktivní mědi<sup>91</sup>

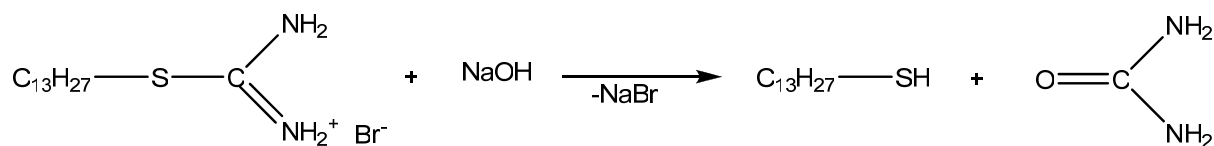
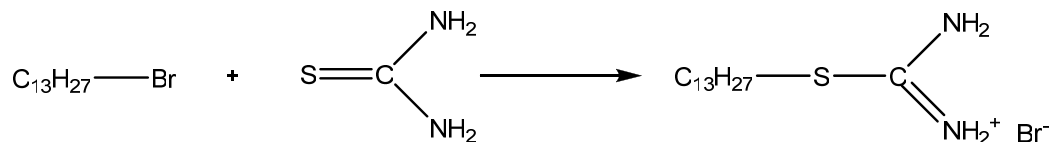
Molární hmotnost: 63,55g/mol



40,0 g (0,16 mol) pentahydrátu síranu měďnatého bylo za horka rozpuštěno ve 140 ml vody, po ochlazení bylo do roztoku postupně přidáno 12,0 g (0,18 mol) práškového zinku. Po 2 hodinách byla celá směs dvakrát dekantována horkou vodou a pro odstranění nadbytečného zinku 5% roztokem kyseliny chlorovodíkové tak dlouho, až ustal vývoj vodíku. Měď byla dále opakovaně dekantována vodou až do neutrální reakce a poté dvakrát až třikrát absolutním ethanolem. Po odfiltrování byla měď ihned použita do reakce.

## 2. Příprava tridekanthiolu<sup>92</sup>

Molární hmotnost. 216,06g/mol

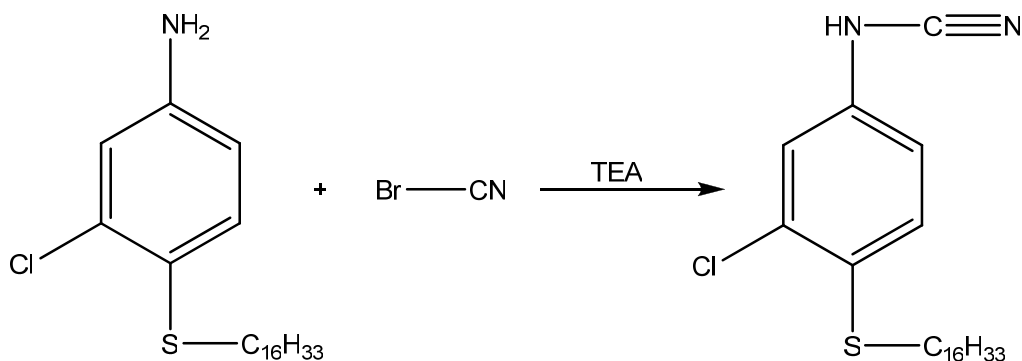


Do baňky s 9,82 g (0,129 mol) thiomocoviny a 240 ml bezvodého ethanolu bylo přidáno 30,9 g (0,117 mol) tridecylbromidu. Směs byla zahřívána 7,5 hodin k varu, následně vakuově zahuštěno do konzistence sirupu. K reakční směsi bylo přidáno 35,02 ml 5M NaOH a opět zahříváno k varu po 2 hodiny. Po ochlazení byla horní organická vrstva oddělena a sušena bezvodým síranem sodným. Vodná vrstva byla okyselena kyselinou sírovou a tridekanthiol byl vyjmut do etheru, který byl poté sušen bezvodým síranem sodným, odfiltrován a ether oddestilován. Zbytek po destilaci byl potom spojen s původní organickou vrstvou a tridekanthiol byl vakuově predestilován.

Výtěžek: 94%, t.v. 103°C/1,6kPa, lit.<sup>92</sup> 169,6-171,7°C/2,9kPa

### 3. Příprava [3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)fenyl]kyanamidu<sup>95</sup>

Molární hmotnost: 409,07g/mol



V baňce o objemu 100 ml opatřené míchadlem umístěné na magnetické míchačce byl rozpuštěn 1,0 g (0,0026 mol) 3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)anilin v 50ml bezvodého etheru a přidán 0,276 g (0,0026 mol) bromkyanu. Reakce byla zahájena přidáním 0,37 ml (0,0026 mol) triethylaminu a průběh byl pozorován pomocí tenkovrstvé chromatografie (stacionární fáze: silikagel, SILUFOL UV 254/366, mobilní fáze: hexan/ethylacetát=8:1). Za laboratorní teploty po 90 minutách byla reakce ukončena, hrubý produkt byl odfiltrován na Büchnerově nálevce a filtrát dvakrát vytřepáván s vodou. Etherová vrstva byla oddělena, sušena bezvodým síranem sodným a ether vakuově oddestilován.

Výtěžek: 89%, t.t. 49,9-53,5°C

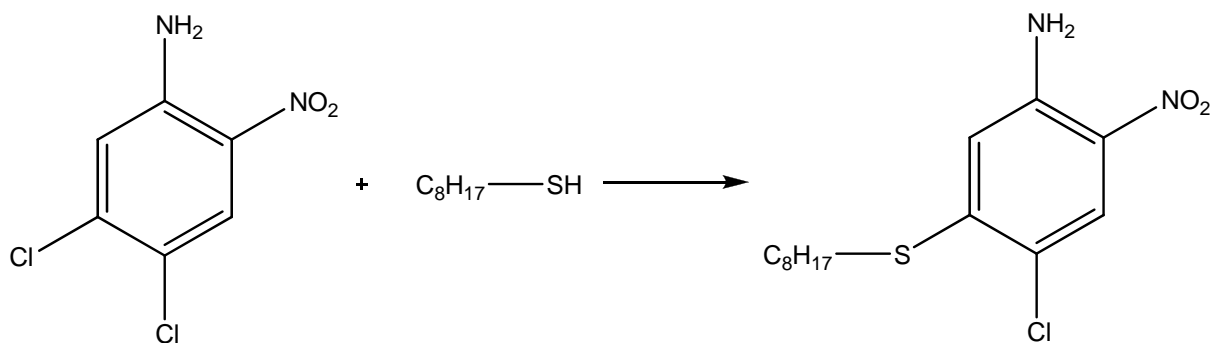
IČ (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3365, 2918, 2848, 2209, 1596, 1522, 1508, 1472, 1419, 1380, 1282, 1234, 1123, 1026, 898, 804, 720

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.26 (1H, bs, NH), 7.24 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H5), 6.76 (1H, d, *J*=2.6 Hz, H2), 6.52 (1H, dd, *J*<sub>1</sub>=8.2 Hz, *J*<sub>2</sub>=2.6 Hz, H6), 2.79 (2H, t, *J*=6.9 Hz, SCH<sub>2</sub>), 1.73-1.49 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.48-1.15 (26H, m, CH<sub>2</sub>), 0.88 (3H, t, *J*=6.9 Hz, CH<sub>3</sub>)

<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 146.7, 137.7, 134.6, 122.3, 116.1, 113.9, 39.2, 34.9, 31.9, 29.7, 29.6, 29.5, 29.3, 29.2, 29.1, 28.7, 22.7, 14.1

#### 4. Příprava 5-(oktylsulfanyl)-4-chloro-2-nitroanilinu

Molární hmotnost: 316,87g/mol



Ke směsi 7,0 g (0,034 mol) 4,5-dichlornitrobenzenu v 15ml bezvodého N,N-dimethylformamidu, bylo přidáno 8,88 g (0,064 mol) bezvodého uhličitanu draselného, 1,29 g (0,02 mol) aktivní mědi a 5,94 g (7,04 ml, 0,041 mol) oktanthiolu. Směs byla za stálého míchání pod zpětným chladičem a pod ochranou atmosférou dusíku zahřívána na 155°C po dobu 6hodin. Ukončení reakce byla detekováno pomocí tenkovrstvé chromatografie (stacionární fáze: silikagel, SILUFOL UV 254/366, mobilní fáze: benzen/ethanol/triethylamin=8:2:1. Po ukončení reakce byla směs za horka zfiltrována a po vychladnutí přidána voda. Následně byl surový produkt uložen do chladu, kde byl ponechán krystalovat. Rekrystalizace byla prováděna pomocí ethanolu.

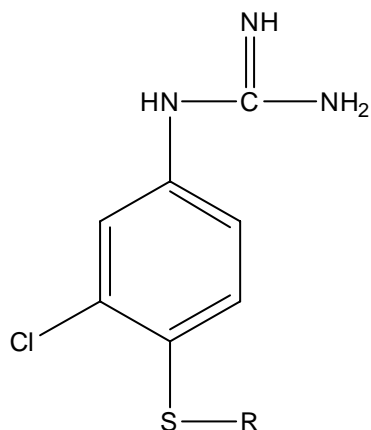
Výtěžek: 57%, t.t. 109,8-112,4°C

IČ (ATR, cm<sup>-1</sup>): 3470, 3342, 2956, 2920, 2852, 1617, 1587, 1553, 1466, 1444, 1400, 1376, 1298, 1238, 1129, 963, 878, 840, 760, 727, 681

### 3.3 Biologická část

Připravené deriváty 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů byli testovány na antifungální a některé na antimykobakteriální aktivitu. Z původců mykotických infekcí byli testovány následující kmeny: *Candida albicans* (CA), *Candida tropicalis* (CT), *Candida krusei* (CK), *Candida glabrata* (CG), *Trichosporon beigeli* (TB), *Trychophyton mentagrophytes* (TM), *Aspergillus fumigatus* (AF), *Absidia corymbifera* (AC).

Hodnocení účinnosti inhibice růstu mykotických kmenů bylo prováděno vizuálním odečtem minimálních inhibičních koncentrací (MIC,  $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ).



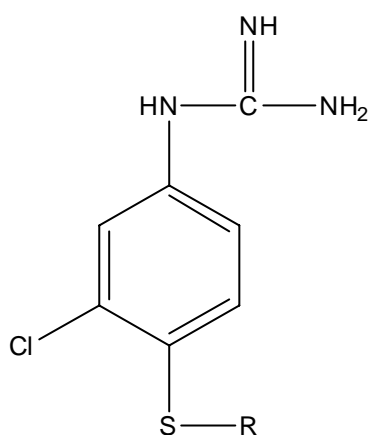
Látka	R	Látka	R
a	C <sub>7</sub> H <sub>15</sub> -	f	C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> -
b	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> -	g	C <sub>13</sub> H <sub>27</sub> -
c	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> -	h	C <sub>14</sub> H <sub>29</sub> -
d	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> -	i	C <sub>15</sub> H <sub>31</sub> -
e	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> -	j	C <sub>16</sub> H <sub>33</sub> -

Výsledky shrnuje následující tabulka:



KMEN (kód)		Testovaná látka (kód) – MIC/IC <sub>80</sub> (μmol.l <sup>-1</sup> )											
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	dodine	ketokonazol
CA	24h	31,25	7,81	3,9	3,9	7,81	62,5	7,81	62,5	31,25	31,25	7,81	<0,24
	48h	31,25	15,62	15,62	7,81	15,62	62,5	31,25	125	31,25	125	7,81	<0,24
CT	24h	15,62	15,62	3,9	7,81	7,81	62,5	7,81	62,5	31,25	62,5	3,91	1,95
	48h	15,62	15,62	7,81	7,81	7,81	62,5	7,81	125	31,25	62,5	3,91	3,91
CK	24h	7,81	7,81	1,95	3,9	3,9	62,5	7,81	31,25	15,62	31,25	3,91	0,98
	48h	15,62	7,81	3,9	7,81	7,81	62,5	7,81	62,5	31,25	31,25	3,91	1,95
CG	24h	7,81	3,9	0,98	3,9	0,98	15,65	7,81	15,62	3,9	3,9	7,81	0,49
	48h	15,62	7,81	3,9	3,9	1,95	62,5	7,81	15,62	15,62	15,62	7,81	1,95
TB	24h	15,62	7,81	1,95	3,9	3,9	31,25	7,81	31,25	31,25	31,25	7,81	<0,24
	48h	15,62	7,81	3,9	3,9	7,81	62,5	7,81	62,5	31,25	62,5	7,81	<0,24
AF	24h	31,25	15,62	15,62	15,62	15,62	62,5	7,81	>125	>125	>125	7,81	7,81
	48h	31,25	15,62	15,62	31,25	31,25	250	31,25	>125	>125	>125	15,63	7,81
AC	24h	62,5	15,62	15,62	15,62	15,62	62,5	7,81	>125	>125	>125	62,5	31,25
	48h	62,5	31,25	15,62	31,25	15,62	250	31,25	>125	>125	>125	62,5	31,25
TM	72h	31,25	7,81	0,48	3,9	1,95	15,62	0,98	15,62	1,95	0,48	15,63	0,98
	120h	31,25	7,81	0,48	7,81	1,95	62,5	3,9	15,62	3,9	1,95	15,63	1,95

Na antimykobakteriální aktivitu byli doposud zkoušeny pouze tři látky (viz. tabulka níže). Jejich aktivita byla porovnána s antituberkulotikem isoniazidem (INH) a to na kmenech: *Mycobacterium tuberculosis* (MT), *Mycobacterium avium* (MA), *Mycobacterium kansasii* (MK1), *Mycobacterium kansasii* (kmen izolovaný od pacienta z okresu Karviná, MK2). Hodnocení účinnosti bylo prováděno obdobně jako v předešlém případě, odečtem minimálních inhibičních koncentrací.

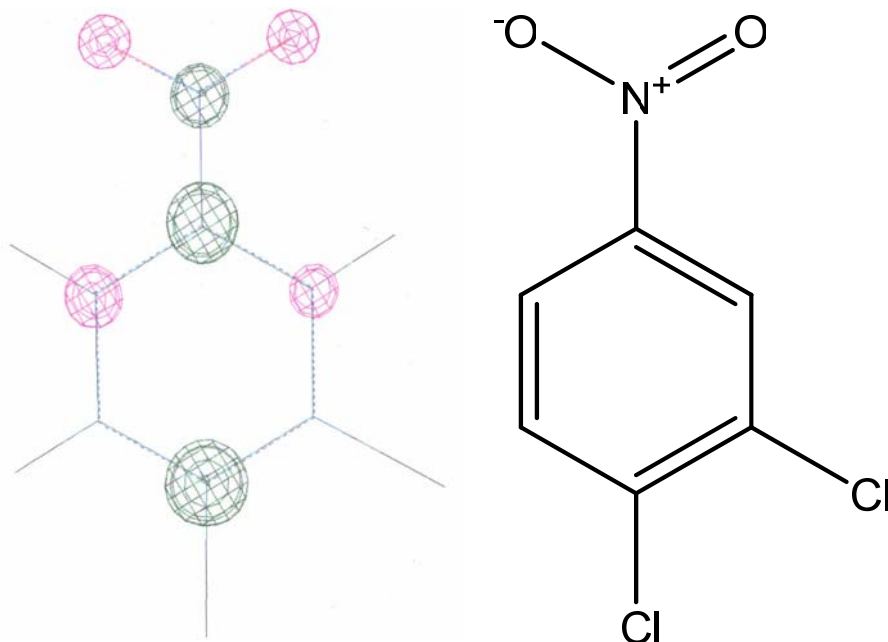


Látka	R
c	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> -
d	C <sub>10</sub> H <sub>21</sub> -
e	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> -

KMEN (kód)		Testovaná látka (kód) – MIC (μmol.l <sup>-1</sup> )			
		c	d	e	INH
MT	14dní	8	8	8	0,5
	21dní	16	16	8	0,5
MA	14dní	8	8	8	>250
	21dní	16	16	8	>250
MK1	7dní	16	16	16	>250
	14dní	16	16	16	>250
	21dní	16	16	16	>250
MK2	7dní	4	8	8	2
	14dní	8	16	8	4
	21dní	16	16	8	4

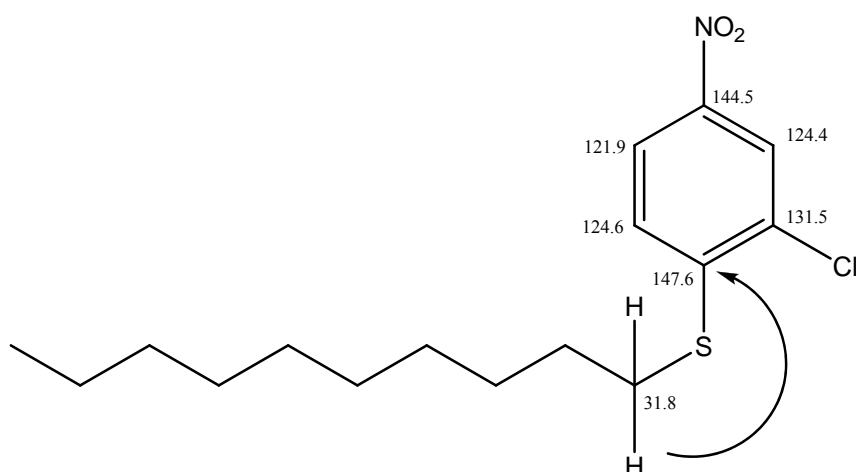
## 4. Diskuze

V prvním kroku syntézy derivátů 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů byla prováděna u 3,4-dichlornitrobenzenu náhrada atomu chloru v poloze 4- mechanismem nukleofilní substituce za alkylsulfanylový řetězec. Její průběh byl pozorován pomocí tenkovrstvé chromatografie, přičemž byla zaznamenána pouze jedna skvrna (náhrada probíhá za jeden atom chloru, přičemž vzniká pouze jedna látka). Zaměřuje se pouze skupina v poloze 4-; je tomu tak proto, že nitro-skupina působí zvýšení reaktivity v poloze *p*- poloze, kde se projevuje její záporný mezomerní efekt, zatímco v poloze *o*- tento efekt zcela chybí. Vše je možné znázornit pomocí modelu LUMO orbitalů, které podle teorie hraničních orbitalů ukazují místa na molekule, která by měla být náchylná právě k nukleofilní substituci (viz. obrázek 1).



Obr.1 LUMO 3,4-dichlornitrobenzenu

Na základě provedených 2D experimentů byla prokázána jasná korelace vodíku SCH<sub>2</sub> skupiny na uhlík C-S aromatického jádra, který leží v p-poloze vůči nitro skupině. Tímto je jasně prokázáno, že substituce alkylsulfanyl skupinou proběhla do polohy 4 a ne do polohy 3 aromatického systému vůči nitroskupině.



Nahrazování atomu chloru alkylsulfanylovým řetězcem bylo prováděno dvěma různými metodami (popsané výše v praktické části). Při použití metody A, s přidavkem aktivní mědi jako katalyzátoru, byla výtěžnost reakcí řádově o 20-30% nižší oproti metodě B, která probíhala za katalýzy Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> a Xantphosu, kde se výtěžky pohybovaly okolo 80-90%.

V druhém kroku byla nitro- skupina redukována na amino- skupinu pomocí redukčního činidla dihydrátu chloridu cínatého. Reakční časy byly téměř ve všech případech stejné; výtěžky reakcí byly vyšší u látek s krátkými alkylsulfanylovými řetězci. K zabránění nežádoucích oxidačních reakcí a posunutí rovnováhy reakce ve prospěch produktu byla redukce prováděna v ochranné atmosféře dusíku.

Tvorba 4-alkylsulfanyl-3-chloranilinium-chloridů probíhala ve velkých výtěžcích, zpravidla nad 75%; sycení plynným chlorovodíkem postačovalo po dobu 20-25 minut.

V poslední části reagovala amoniová sůl s kyanamidem. Nejvýhodněji se jevila metoda A (viz. výše) prováděná v tavenině. Je časově nenáročná (20-25 minut) a výtěžky reakcí jsou srovnatelné s metodou B, reakcí prováděnou v autoklávu (viz. výše). Ta probíhala 2-4 hodiny.

Čištění těchto látek bylo značně problematické. Prvotní pokusy přes sloupec silikagelu končily většinou nezdarem (nízké výtěžky). Docházelo totiž k navázání bazického 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinu na silikagel kyselé povahy. Z tohoto důvodu se upustilo od jeho užívání a byla tak nahrazen neutrálním oxidem hlinitým pro chromatografii dle Brockmanna. Na 0,1 g látky byly použity 4 g oxidu hlinitého. Čištění probíhalo eluční řadou hexan/ethanol=8:1, hexan/ethanol=4:1 a na závěr samotným ethanolem až do vymytí veškerého produktu.

Původně zamýšlenou výchozí látkou pro syntézu derivátu guanidinů byla, namísto 3,4-dichlornitrobenzenu, molekula 4,5-dichlor-2-nitroanilinu. Odpadl by tak jeden z kroků, redukce nitro- skupiny.

Reakcí 4,5-dichlor-2-nitroanilinu s alkylthiolem dochází k záměně atomu chloru v poloze *p*- vůči nitro-skupině. I zde se projevuje záporný mezomerní efekt a může tak probíhat nukleofilní substituce. Takto byl připraven 5-(oktylsulfanyl)-4-chlor-2-nitroanilin.

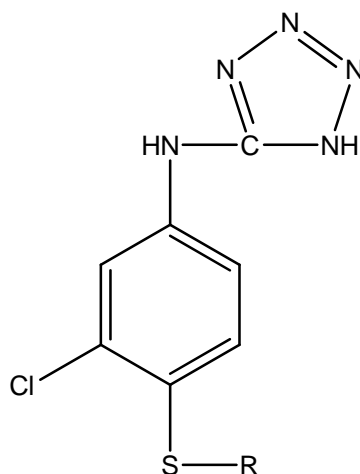
V dalším kroku, sycení plynným chlorovodíkem, však příslušná amoniová sůl nevznikla. Zde se nejspíš projevuje silný deaktivující efekt sousedící nitro-skupiny na amino-skupinu, který tak výrazně snižuje její bazicitu a nedovoluje následnou reakci vedoucí ke vzniku příslušného derivátu guanidinu.

Ani reakce kyanamidu s výše uvedenou nitro-sloučeninou prováděná za zvýšeného tlaku v autoklávu v prostředí bezvodého ethanolu s přídavkem plynného chlorovodíku nevedla k získání derivátu guanidinu.

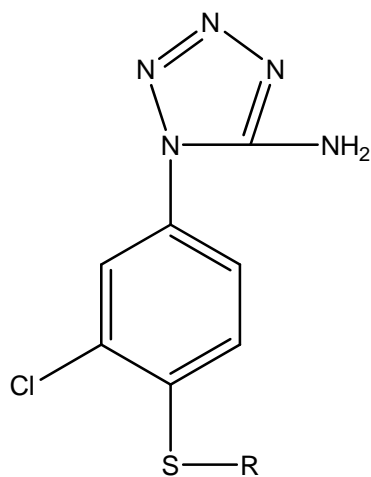
Dalším cílem diplomové práce byla snaha o obměnu cílové struktury guanidinů. Ta probíhala ve dvou směrech:

- 1) syntéze 1,3-bis[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů<sup>93</sup> nebo
- 2) *N*-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]-1*H*-tetrazol-5-aminu<sup>96</sup> případně jeho izomeru 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]-1*H*-tetrazol-5-amin<sup>94</sup>, kde je guanidinová skupina vnitřně maskována do struktury tetrazolu.

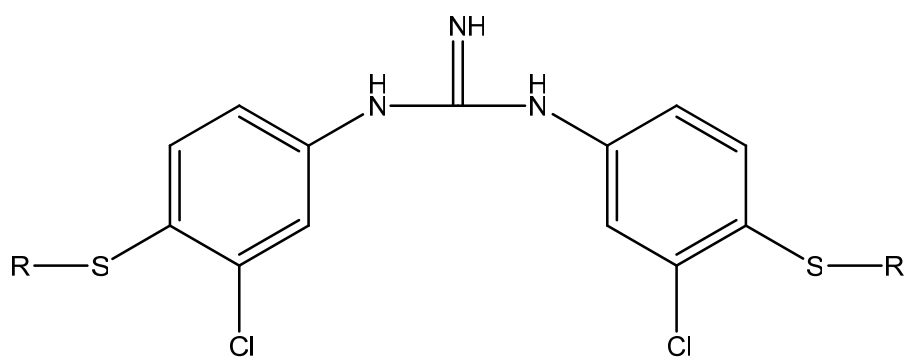
Vznikly by tak látky značně odlišných vlastností od guanidinů, zejména by se jednalo o rozdílné acidobazické vlastnosti (v případě *N*-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]-1*H*-tetrazol-5-aminu). V prvním kroku reagoval, téměř kvantitativně, příslušný amin s bromkyanem<sup>95</sup> (reakce popsána výše). Vzniklý [3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)fenyl]kyanamid byl podroben reakci s azidem sodným a chloridem amonným v dimethylformamidu<sup>96</sup>, avšak ani jeden z uvedených derivátů tetrazolu se nepodařilo připravit. Rovněž neúspěšná byla reakce vedoucí k 1,3-bis[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinu.



*N*-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]-1*H*-tetrazol-5-amin; R=alkyl



1-[3-chloro-4-(alkylsulfanyl)fenyl]-1*H*-tetrazol-5-amin; R=alkyl



1,3-bis[3-chloro-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidin; R=alkyl

Z hlediska antimykotické účinnosti se nejvýhodněji jeví látky **c,d,e** (o délce řetězce 9-11 uhlíků), které jsou svou antimykotickou aktivitou vůči některým kmenům (*Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia corymbifera*) srovnatelné s ketokonazolem, některé dokonce účinnější než dodine (zejména látka **c** a to na všechny testované kmeny). S rostoucí nebo klesající délkou řetězce od látek **c,d,e** se účinnost postupně snižuje. Aktivita všech látek je po 24 a 48 hodinách stejná nebo srovnatelná, což svědčí pro jejich fungicidní, nikoliv fungistatický, mechanismus účinku.

Z antimykobakteriálního pohledu dosud testovaných látek dokonce převyšují aktivitu isoniazidu na některé kmeny (*Mycobacterium avium*, *Mycobacterium kansasii* (MK1)). Nejvýhodnější se zdá být látka **c** (9 uhlíků v postranním řetězci).



## 5. Závěr

V rámci diplomové práce bylo vytvořeno 42 látek, z toho 41 nových, tj. v literatuře dosud nepopsaných. Z cílových struktur byli připraveny následující:

- 1-[3-chlor-4-(heptylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(oktylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(nonylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(decylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(undecylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(dodecylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(tridecylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(tetradecylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(pentadecylsulfanyl)fenyl]guanidin
- 1-[3-chlor-4-(hexadecylsulfanyl)fenyl]guanidin

Všechny uvedené látky byly testovány na antifungální aktivitu na katedře biologických a lékařských věd na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové, některé byly zaslány k testování antimykobakteriální účinnosti do Národní referenční laboratoře pro *Mycobacterium kansasii* ve Zdravotním ústavu se sídlem v Ostravě.

## ABSTRAKT

# SYNTÉZA SUBSTITUOVANÝCH ARYLGUANIDINŮ JAKO POTENCIÁLNÍCH LÉČIV VI.

**Autor:** Korábečný Jan

**Konzultant diplomové práce:** PharmDr. Karel Palát, CSc.

**Katedra anorganické a organické chemie,**

**Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Univerzita Karlova v Praze, Česká republika**

**Úvod:** Vysoký počet život ohrožujících mykotických infekcí sebou nese zvýšenou potřebu antifungálních léčiv a potřebu nových, širokospektrých látek. Podobně je tomu i v případě užívání antimykobakteriálních látek. Narůstající rezistence patogenních organismů nutí lidskou populaci hledat stále nová, účinná léčiva.

**Cíl práce:** Cílem diplomové práce bylo připravit sérii substituovaných arylguanidinů, konkrétně 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidinů, které jsou testovány na antifungální a antimykobakteriální aktivitu.

**Metodika:** 2-Chlor-1-(alkylsulfanyl)-4-nitrobenzeny byly připravovány z 3,4-dichlornitrobenzenu obvyklými metodami, buď za použití aktivní mědi<sup>22</sup> nebo Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> a Xantphosu<sup>24</sup> jako katalyzátorů. Následná redukce nitroskupiny za vzniku aminů byla prováděna pomocí dihydrátu chloridu cínatého pod dusíkovou atmosférou. Vznik příslušných amóniových solí probíhal téměř kvantitativně reakcí s plynným suchým chlorovodíkem. Reakce vedoucí ke vzniku guanidinů probíhala s přidavkem kyanamidu v tavenině nebo ethanolickém roztoku v autoklávu při zvýšeném tlaku.

**Výsledky:** Struktura nasyntetizovaných látek byla potvrzena IČ, <sup>13</sup>C NMR a <sup>1</sup>H NMR spektry. U koncových produktů byla následně stanovena antifungální a antimykobakteriální aktivita. Některé z látek mají antifungální účinnost srovnatelnou s fungicidem ketokonazolem vůči některým kmenům (*Trychophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia corymbifera*), některé převyšují účinnost antituberkulotika isoniazidu proti některým kmenům mykobakterií (*Mycobacterium avium*, *Mycobacterium kansasii*).

**Závěr:** V rámci diplomové práce bylo připraveno 42 látek, z toho 41 nových, v literatuře dosud nepopsaných. Cílové struktury, tj. 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)fenyl]guanidiny, byly testovány na antifungální, některé na antimykobakteriální aktivitu.

## SUMMARY

### SYNTHESIS OF SUBSTITUED ARYLGUANIDINES AS POTENTIAL DRUGS VI.

**Author:** Korábečný J.

**Tutor:** Palát K.

**Dept. of Inorganic and Organic Chemistry**

**Faculty of Pharmacy in Hradec Kralové**

**Charles University in Prague, Czech Republic**

**Background:** High number of life imperilling mycotic infection carries with itself increased need of antifungal drugs and need of new substances. In usage of antimycobacterial drugs it is also the same. Increasing resistance of pathogenic organisms urges human population to search for new, effective drugs.

**Aim of study:** The aim of my diploma work was to prepare series of substituted arylguanidines, mainly 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)phenyl]guanidines, which are tested on antifungal and antimycobacterial activity.

**Methods:** 2-Chloro-1-(alkylsulfanyl)-4-nitrobenzenes were synthesized from 3,4-dichloronitrobenzene by custom methods; either by using of active copper or by using Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub> and Xantphos as catalyzers. The following reduction of nitrogroup to aminogroup was made by stannous chloride under nitrogen atmosphere. Rise of appropriate ammonium salts proceeded in reaction with gaseous dry hydrogen chloride, almost quantitatively. Reaction leading to rise of guanidines proceeded with cyanamide in the melt or ethanolic solution in autoclave at increased pressure.

**Results:** Structures of prepared substances were confirmed by IR, <sup>13</sup>C NMR and <sup>1</sup>H NMR spectra. Subsequently, antifungal and antimycobacterial activities were defined on final substances. Some of them have antifungal activity comparabile with antifungal ketoconazole against some species (*Trychophyton mentagrophytes*, *Aspergillus fumigatus*, *Absidia corymbifera*), some of them exceed activity of antituberculosis drug isoniazid against some species of mycobacterium (*Mycobacterium avium*, *Mycobacterium kansasii*).

**Conclusions:** Within diploma work it was prepared 42 substances, out of which 41 are new, till this time unpublished in literature. Final substances, i.e. 1-[3-chlor-4-(alkylsulfanyl)phenyl]guanidines were tested on antifungal and some on antimycobacterial activity.

## 6. Literatura

1. Greenwood D., Slack R., Peuthuer J.F. a kol.: Lékařská mikrobiologie. 1.vydání. Grada publishing, spol. s.r.o. 1999, s. 215.
2. MMWR, Treatment of tuberculosis, American Thoracic Society, CDC, and Infectious Diseases Society of America. June 20, 2003, vol. 52. No. RR-11
- 3 Lüllmann, Mohr K., Wehling M.: Farmakologie a toxikologie, 1.vydání, Grada Publishing, spol. s.r.o., Praha 2002, s.503.
4. Pomaranacka E., Kornicka A.: Acta Pol. Pharm., 56(2), 143-153, (1999).
5. World Health Organization, Fact sheet No 104, March 2007.
6. Medicabaze.cz, lékařské repetitorium online.
7. Melichar B. a kol.: Chemická léčiva, 3.vydání, Avicenum, Praha 1987, s.662.
8. Guanidine derivates, Dutch Pat., 6511047, ref. Chem. Abstr. 65, 15242b, (1959).
9. Lamb, Glenworth: US Pat. 2867562, ref. Chem. Abstr. 53, 47349, (1959).
10. Braunerová G., Buchta V., Silva L., Kuneš J., Palát K.: Farmaco 59, 443, (2004).
11. Gembitskii P. A., Efimov K. M., Martynenko S. V.: Russ. RU 2217417, (2003).
12. Bolonick J.L., Terrance J.Y., Ida K.: PCT Int. Appl. WO 9615104, ref. Chem. Abstr. 125:107762, (1996).
13. Hari J.G., Sanjay J., Sudershan K.A., Neepika S.: Erratum in: Bioorg. Med. Chem. Lett. 16(3): 751, 2006. Bioorg. Med. Chem. Lett., 15(15), 3592-5, (2005).
14. Calis, Unsal, Koksai, Meric, Ozalp, Meral: FABAD J. Pharm. Sci., 26(3), 119-123, (2001).
15. Gossnitzer E., Malli R., Schuster S., Favre B., Ryder N.S.: Arch. Phram. (Weinheim, Ger.) (2003), 2002, 335(11-12), 535-546.
16. Braunerová G.: Příprava biologicky aktivních látek s amidinovou skupinou v molekule, Disertační práce, 18-32, (2005).
17. Červinka O., Dědek V., Ferles M.: Organická chemie. 2.vydání. SNTL/ALFA, Praha 1980, s. 687.
18. Landini D., Rolla F.: Synthesis 8, 565 (1974).
19. Dai Y., Chen J.: Ziran Kexueban 2, 32 (1983).
20. Tagaki W.: Sulphides, Organic Chemistry of Sulphur (Ed. S. Oae): Plenum Press, New York 1977.
21. Winter H.C., Reinhart F.E.: J.Am.Chem. Soc. 62, 3508 (1940).
22. Chachaty C., Pappalardo G.C., Scarlata G.: J. Chem. Soc. Perkin II, 1234 (1976).
23. Lecher H., Köberle K., Speer W.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 58, 409 (1925).
24. Takahiro I., Toshiaki M.: Org.Lett. 6(24), 4587-90, (2004).
25. Ho T.L.,Wing C.M.: Syn. Commun. 3, 37 (1973).

26. Johnson C.R.: J. Org. Chem. Soc. 60, 2452 (1938).
27. Jones S.O., Reid E.E.: J. Am. Chem. Soc. 60, 2452 (1938).
28. Červinka O. a kol.: Chemie organických sloučenin, díl první, 1.vydání, SNTL/ALFA, Praha 1985, s.781.
29. Enerby M., Waigh R.D.: Synth. Commun. 11, 849 (1981).
30. Amos R.A., Fawcett S.M.: J. Org. Chem. 49, 2637 (1984).
31. Hrabálek A. a kol.: Laboratorní cvičení z organické chemie, 1.vydání, Nakladatelství Karolinum, Praha 2004, s.124.
32. Young J.G. a kol.: J. Org. Chem. 18, 229 (1953).
33. Levering D. R., Morrirtz F.L., Lieber E.: J. Am. Chem. Soc. 72, 1190 (1952).
34. Gilman H. a kol.: J. Org. Chem. 19, 1067 (1954).
35. Broadbent H.S., Gilman H.: J. Am. Chem. Soc. 69, 2053 (1947).
36. Fuller A.T., Tonkin I.M., Walker J.: J. Chem. Soc. 633 (1945).
37. Jahn A., Wiberg E.: Z. Naturforsch. 7b, 581 (1952).
38. Bamberger E.: B. 28, 245 (1895). In: Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl) XI/1. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1957, s.463.
39. Morgan G.T., Drew H.D.K.: J. Chem. Soc. 117, 784 (1920).
40. Bergel F., Döring H.: Chem. Ber. 61, 844 (1928).
41. Ferry C.W., Buck J.S., Baltzly R.: Org. Syn. 22, 31 (1942).
42. Bellamy F.D., Ou K.: Tetrahedron Lett. 25, 839 (1984).
43. Misutsch K.G.: J. Prakt. Chem. 145, 60 (1936).
44. Nicolet B.H., Sampey J.R.: J. Am. Chem. Soc. 49, 1796 (1927).
45. Nicolet B.H., Ray W.L.: J. Am. Chem. Soc. 49, 1801 (1927).
46. Nicolet B.H., Ray W.L.: J. Am. Chem. Soc. 49, 1806 (1927).
47. Nicolet B.H.: J. Am. Chem. Soc. 49, 1810 (1927).
48. Müller E., Zimmermann G.: J. Prakt. Chem. 111, 277 (1925).
49. Burgdorf K., Neumann W.: DE 934 290 (1955). ref. Chem. Abstr. 52, 92679 (1958).
50. Palát K., Ješina V., Dušek, Vrba Č.: Českoslov. Farm. 8, 569 (1959).
51. Kiselev L.A., Shvestsova-Shilovskaya K.D., Khanina L.N., Mel'nikov N.N.: Ž. Org. Chim. 4, 469 (1968).
52. Machold-Erdniss J.: Chem. Ber. 91, 1992 (1958).
53. Baltzly R., Ferry C.W.: J. Am. Chem. Soc. 64, 2231 (1942).

54. Meis H.: DE 481 994 (1926). ref. Chem. Abstr. 23, 45170 (1929).
55. Portňagina V.A., Danilenko V.F., Děnisov N.D., Vinnikova A.V.: Chim. Geterocikl. Sojedin. 7, 249 (1971).
56. Smith G.B.L.: J. Am. Chem. Soc. 51, 476 (1929).
57. Braun Ch.E.: J. Am. Chem. Soc. 54, 1511 (1932).
58. Machold-Erdniss J.: Chem. Ber. 91, 1992 (1958).
59. Murray J.A., Dains f.B.: J. Am. Chem. Soc. 56, 144 (1934).
60. Van Gelder J.L.H., Raeymaekers A.H.M., Roevens L.F.C.: DE 2 029 637 (1971), ref. Chem. Abstr. 74, 100 047 (1971).
61. Kreidl J., Turcsanyi P., Arcs Z., Stefko B., Neszaros J., Deutsch I., Szilberek J., Csizer E., Vezer S.et al.: US 4 710 323. ref. Chem. Abstr. 109, 73 134 (1988).
62. Viswanathan N., Sindhaye A.R.: Indian J. Chem. 25B, 659 (1986).
63. Wollweber H., Kölling H., Widding A., Thomas H., Schulz H.P., Murmann P.: Arzneim.-Forsch. 28, 2193 (1978).
64. Wollweber H., Kölling H., Niemers E., Widding A., Andrews P., Schulz H.P., Thomas H.: Arzneim.-Forsch. 34, 531 (1984).
65. Lihotzky R.: Cyanamid. In: Ulmans. Encyklopädie der technischen Chemie, 4. Auflage, Band 9, Verlag Chemie, Weinheim/Berhstr. 1975, s. 642-5.
66. Kämpf A.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 37, 1682 (1904).
67. McKee R.H.: Am. Chem. J. 26, 209 (1901).
68. Waditschatka R.: EP 560 726 (1993). ref. Chem.Abstr. 119, 203177(1993).
69. Waditschatka R.: US 5 279 186 (1994). ref. Chem.Abstr. 120, 133837(1994).
70. Pazdera P., Potáček M.: Chem. Papers 42, 527 (1988).
71. Arndt F.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 46, 3522 (1913).
72. Arndt F., Rosenau B.: Ber. Dtsch. Chem. Ges. 50, 1248 (1917).
73. Braun C.E., Erit J.D., Crooks G.C.: J. Org. Chem. 3, 146 (1938).
74. Schering-Kahlbaum A.-G.: GB 297 029 (1927). ref. Chem. Abstr. 23, 20622 (1929).
75. Schering Kahlbaum A.-G.: FR 659 004 (1928). ref. Chem. Abstr. 23, 45147(1929).
76. Chapleo Ch.B., Doxey J.C., Myers P.L.: J. Med. Chem. 25, 821-824 (1982).
77. Suto I., Friesz A., Szelestei M., Lengyel J., Haynal G., Csermely G.: HU 19 964 (1981).ref. Chem. Abstr. 95, 203 953 (1981).
78. Sawicki K., Bielska M., Heinrich R., Krol Z., Gorski A.: PL 94 209 (1977). ref. Chem. Abstr. 90, 121 597 (1979).
79. Klingner: Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 155, 237 (1926). In: Beilstein 12, II 693.

80. Kurzer F., Sanderson P.H.: J. Chem. Soc. 1963, 240.
81. Hartke K., Radau M.: Arch. Pharm. 305, 708 (1972).
82. Hughes J.L., Liu R.C., Enkoji T., Smith-Carrol M., Bastian J., Luna P.D.: J. Med.Chem, 18, 1077 (1975).
83. Anders B., Kühle E.: DE 1 170 931 (1964). ref. Chem. Abstr. 61, 40227 (1964).
84. Dyson G.M., Harrington T.: J. Chem. Spc. 1940, 191; ref. Chem. Abstr. 34, 2806 (1940).
85. Young J.: US 1 727 916 (1929). ref. Chem. Abstr. 23, 45172 (1929).
86. Barsky G.: US 1 727 093 (1929). ref. Chem. Abstr. 23, 45148 (1929).
87. Heuser R.F.: US 1 727 060 (1929). ref. Chem. Abstr. 23, 4171 (1929).
88. Tieckelmann H., Post H.W.: J. Org. Chem. 13, 268 (1948).
89. Gross H., Rusche J., Bornowski H.: Justus Liebigs Ann. Chem. 675, 142 (1964).
90. Takikawa et al.; NKAKB8; Nippon Kagaku Kaishi; 1976; 631,633.
91. Marko M., Krasnec L': Základy preparatívnej organickej chémie I., Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, Bratislava 1962, s. 144.
92. Smith W.V.: J. Am. Chem. Soc. 68, 2064 (1964).
93. Nauton: J. Soc. Chem. Ind. London 368, 45 (1926).
94. Herbst, Frobergen: J. Org. Chem. 1050-1052, 22 (1957).
95. Xian M., Fujiwara N., Wen Z., Cai T.: Bioorg. Med. Chem., 3049-3056, 10 (2002).
96. Finnegan W.G., Henry R.A. Lofquist R.: J. Am. Chem. Soc., 1958, vol. 80, p. 3908.
97. Červinka O. a kol.: Chemie organických sloučenin, díl první, 1.vydání, SNTL/ALFA, Praha 1985, s.995.