

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A TECHNOLOGIE

SYNTÉZA A REAKTIVITA SUBSTITUOVANÝCH
***S*-(1-BENZOFURAN-2(3*H*)-ON-3-YL)**
ISOTHIOURONIUM-BROMIDŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2012

AUTOR PRÁCE: Bc. Richard Kammel

VEDOUCÍ PRÁCE: doc. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND
TECHNOLOGY

SYNTHESIS AND REACTIVITY OF SUBSTITUTED
***S*-(1-BENZOFURAN-2(3*H*)-ONE-3-YL)**
ISOTHIURONIUM-BROMIDES

THESIS

2012

AUTHOR: Bc. Richard Kammel

SUPERVISOR: doc. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Richard Kammel**
Osobní číslo: **C10829**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Organická chemie**
Název tématu: **Syntéza a reaktivita substituovaných *S*-(1-benzofuran-2(3*H*)-on-3-yl)isothiuronium-bromidů**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

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

1. Proveďte literární rešerši týkající se přípravy a vlastností substituovaných benzofuran-2(3*H*)-onů a transformačních reakcí isothiuroniových solí.
2. Připravte a charakterizujte nejméně pět substituovaných *S*-(1-benzofuran-2(3*H*)-on-3-yl)-isothiuronium-bromidů a jim odpovídajících produktů transformace.
3. Sledujte kinetické chování alespoň jednoho z připravených derivátů v roztocích aminových pufrů.
4. Získané experimentální výsledky diskutujte a srovnajte s předchozími pracemi, které se týkají transformace *S*-(1-fenylpyrrolidin-2-on-3-yl)isothiuronium bromidů a *S*-(2-oxotetrahydrofuran-3-yl)-*N*-(4-methoxyfenyl)isothiuronium bromidu.
5. Výsledky zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

Ústav organické chemie a technologie


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

Termín odevzdání diplomové práce: **25. května 2012**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.

děkan

L.S.


prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.

vedoucí katedry

V Pardubicích dne 24. února 2012

Prohlašuji:

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

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

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 4. 5. 2012

Bc. Richard Kammel

.....

Poděkování:

Velmi rád bych poděkoval vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Jiřímu Hanuskovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při realizaci této práce.

Dále bych chtěl poděkovat celé své rodině za poskytnuté zázemí, trpělivost a podporu. Poděkování také patří mé milované přítelkyni Míše za její lásku a velkou podporu. V neposlední řadě děkuji její rodině, která mě také velmi podpořila.

Souhrn

Reakcí 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-onu s thiomocovinou a jejími *N*-substituovanými (methyl, isopropyl, *tert*-butyl, fenylyl), *N,N'*-disubstituovanými (dimethyl, difenyl) a *N,N,N'*-trisubstituovanými (dimethyl-fenyl a dimethyl-4-methoxyfenyl) deriváty bylo připraveno 9 původních isothiuroniových solí **1a-i**. Tyto relativně nestálé soli byly charakterizovány ¹H a ¹³C NMR spektry, bodem tání a elementární analýzou. Přesmykem 7 solí v prostředí vodných aminových pufrů vznikají odpovídající substituované 2-imino-1,3-thiazolidin-4-ony **2a-g**, jejichž struktura byla rovněž ověřena spektrálními metodami. Z ¹H NMR spekter je patrné, že 2-alkylimino i 2-fenylimino deriváty **2b-e** se v roztoku hexadeuteriodimethylsulfoxidu nachází ve směsi dvou tautomerů lišících se polohou dvojné vazby C=N (endo- resp. exocyklické), kdy tautomer s exocyklickou dvojnou vazbou dále existuje ve formě dvou geometrických izomerů s rozdílnou konfigurací. Při zahřátí na 60 °C lze pozorovat vzájemnou přeměnu těchto isomerů.

Dále byla studována kinetika a mechanismus přesmyku *N*-fenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromidu (**1e**) na 5-(2-hydroxyfenyl)-2-(fenylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (**2e**) ve vodných roztocích tris(hydroxymethyl)aminomethanového (TRIS), *N*-methylmorfolinových (NMF) a *N*-methyldiethanolaminového (MDEA) pufru v rozmezí pH 7,7 – 9 při 25 °C a $I = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ za podmínek pseudoprvního řádu. Ze změřených závislostí bylo zjištěno, že přesmyk je obecně kyselé katalyzován, avšak prakticky nezávisí na pH. Rychlost určujícím krokem přesmyku je rozpad neutrálního tetraedráního intermediátu (**T⁰**), který je katalyzován kyselou složkou pufru [**BH⁺**].

Summary

Nine original substituted isothiuronium salts **1a-i** were prepared by the reaction of 3-bromo-1-benzofurane-2(3*H*)-one with thiourea and its *N*-substituted (methyl, isopropyl, *tert*-butyl, phenyl), *N,N'*-disubstituted (dimethyl, diphenyl) and *N,N,N'*-trisubstituted (dimethyl-phenyl and dimethyl-4-methoxyphenyl) derivatives. These relatively unstable salts were characterized by ^1H and ^{13}C NMR spectra, melting point and elemental analysis. The rearrangement of seven above-mentioned isothiuronium salts in aqueous amine buffers possesses substituted 2-imino-1,3-thiazolidin-4-ones **2a-g** whose structure was also determined by spectral methods. From the ^1H NMR spectra, it is evident that 2-alkylimino as well as 2-phenylimino derivatives **2b-e** occur as a mixture of two tautomers differing in the configuration of the double bond $\text{C}=\text{N}$ (endo- or exocyclic) in the solution of a hexadeuteriodimethylsulphoxide. The tautomer with exocyclic double bond exists in the form of two geometric isomers with different absolute configuration. The mutual interchange of these isomers is observable under heating (60 °C).

Next, the kinetics and the mechanism of the rearrangement of *N*-phenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofurane-3-yl) isothiuronium bromide to 5-(2-hydroxyphenyl)-2-(phenylimino)-1,3-thiazolidin-4-one (**2e**) were studied in aqueous tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS), *N*-methylnmorpholine (NMF) and *N*-methyldiethanolamine (MDEA) buffers within a pH range from 7.7 to 9 at 25 °C and ionic strength $I = 1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ under pseudo-first order conditions. From measured dependencies it was found that the rearrangement is subject to general acid catalysis but it is virtually independent on pH of the solution. From these observations it was concluded that the rate-limiting step involves general acid-catalyzed decomposition of the neutral tetrahedral intermediate (**T⁰**) under action of the acid buffer component [BH^+].

Obsah

1	Úvod	11
1.1	Biologická aktivita benzofuran-2(3 <i>H</i>)-onů	12
1.2	Příprava substituovaných benzofuran-2(3 <i>H</i>)-onů	13
1.3	Biologická aktivita derivatů thiazolidinonu	15
1.4	Příprava thiazolidinového kruhu	16
1.4.1	Reakce dithiokarbamátů.....	17
1.4.2	Reakce thiokarbamátů.....	17
1.4.3	Reakce thiomocovin.....	18
1.4.4	Reakce thiosemikarbazidů	19
1.4.5	Reakce thiokyanátů	20
1.4.6	Reakce α -sulfanylalkanových kyselin.....	20
1.4.7	Vzájemná přeměna mezi thiazolidinovými kruhy	21
1.5	Kinetické studie vzniku thiazolidinového kruhu.....	22
2	Teoretická část	28
2.1	Acidobazická katalýza.....	28
3	Experimentální část	30
3.1	Přehled provedených syntéz.....	30
3.2	Příprava látek.....	31
3.2.1	Příprava (2-hydroxy-5-methoxyfenyl)octové kyseliny (4b).....	31
3.2.2	Příprava 1-benzofuran-2(3 <i>H</i>)-onu (5a).....	31
3.2.3	Příprava 5-methoxy-1-benzofuran-2(3 <i>H</i>)-onu (5b)	32
3.2.4	Příprava 3-brom-1-benzofuran-2(3 <i>H</i>)-onu (3a)	32
3.2.5	Příprava isothiuroniových solí (1a-i)	32
3.2.6	Cyklizace isothiuroniových solí (1a-g).....	36
3.3	Použité chemikálie	38

3.4	Elementární analýza	38
3.5	Měření NMR spekter.....	38
3.6	Měření hmotnostních spekter	38
3.7	Příprava roztoků pufrů	39
3.8	Měření pH roztoků pufrů.....	39
3.9	Kinetická měření	39
4	Výsledky a diskuse.....	40
4.1	Zhodnocení syntézy.....	40
4.2	Struktura připravených 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onů.....	43
4.3	Kinetická měření	46
5	Seznam použité literatury	50
6	Přílohy	54

1 Úvod

Transformační reakce heterocyklických sloučenin patří k velmi důležitým nástrojům organické syntézy. Při využívání transformačních reakcí lze často jednoduše a ve velkých výtěžcích připravit látky, které by byly jinými cestami velmi těžko dosažitelné. Studium mechanismů transformačních reakcí je tedy velmi přínosné.

Na ústavu organické chemie a technologie je dlouhodobě řešena problematika přesmyku isothiuroniových solí odvozených od halogenoctových kyselin^{1,2}, γ -laktamů³⁻⁵ a γ -laktonů^{6,7} poskytujících deriváty 1,3-thiazolidin-2,4-dionu.

Bylo zjištěno, že uvedené transformace jsou obecně acidobazicky katalyzované a probíhají za velmi mírných podmínek, například i při fyziologických hodnotách pH. To má význam jak pro syntézu těchto látek, tak pro jejich potencionální využití, protože thiazolidinový cyklus, který je společným strukturním rysem vznikajících produktů, je významným farmakoforem.

Již v rámci své bakalářské práce⁸ jsem se zabýval syntézou isothiuroniových solí odvozených od 3-brom-3*H*-isobenzofuran-1-onu a jejich transformací v bazickém prostředí. Cílem předkládané diplomové práce pak bylo připravit různě substituované *S*-(1-benzofuran-2(3*H*)-on-3-yl)isothiuroniové soli (**1**), které jsou s předchozími solemi isomerní, připravené soli charakterizovat pomocí dostupných metod a identifikovat produkt bazicky katalyzované transformační reakce. Dalším cílem bylo vybrat vhodnou sůl, prostudovat mechanismus její transformace a porovnat jej s předchozími pracemi.

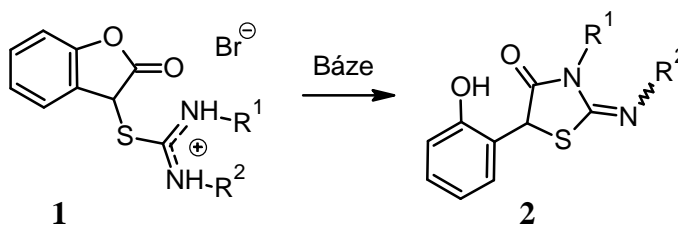


Schéma 1

Transformační reakcí isothiuroniových solí (**1**) odvozených od 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-onu (**3a**) (3-bromkumaran-2-onu) byly získány deriváty 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu (**2**), které se také někdy označují jako deriváty pseudothiohydantoinu. V tomto případě se jedná o tzv. pseudo-transformaci⁹ kruhu neboli o transformaci kruh-řetězec („*pseudo ring transformation*“, resp. „*ring-chain transfer*“), kde dochází k otevření původního kruhu a k uzavírání postranního řetězce

původního kruhu do kruhu nového. Při tomto typu transformace nalezneme v novém kruhu méně než polovinu atomů z kruhu původního (Schéma 2).

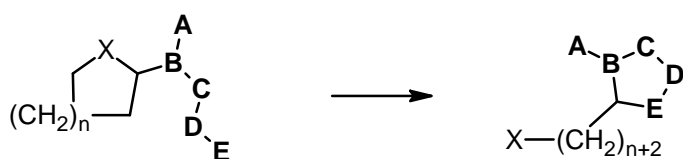
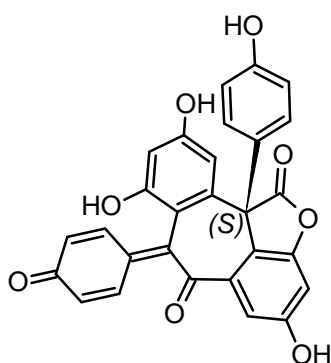


Schéma 2

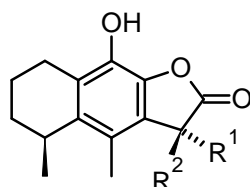
1.1 Biologická aktivita benzofuran-2(3H)-onů

Benzofuran-2(3H)-onový skelet lze nalézt v přírodních látkách jako je například rostlina¹⁰ *Hopea hainanensis*, ve které se vyskytuje jako Hopeahainol A, B a Hopeanol. Hopeahainol A byl zkoumán jako inhibitor acetylcholinesterázy, která má určitým způsobem vliv na vznik Alzheimerovy choroby.



Hopeahainol A

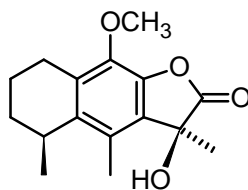
Dalšími přírodními látkami¹¹, které obsahují benzofuranový skelet, jsou 3-hydroxycacalolid a *epi*-3-hydroxycacalolid. Tyto látky byly izolovány z rostliny *Psacalium decompositum* a vykazují antihyperglykemické účinky, které byly pozorovány u myši.



$R^1 = \text{OH}, R^2 = \text{CH}_3$ 3-hydroxycacalolid

$R^1 = \text{CH}_3, R^2 = \text{OH}$ *epi*-3-hydroxycacalolid

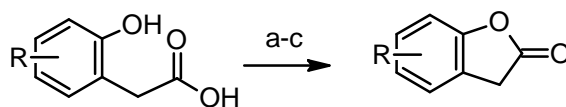
Radulifolin¹² B byl izolován z rostliny *Psacalium radulifolium* a vykazuje antimikrobiální biologickou aktivitu.



Radulifolin B

1.2 Příprava substituovaných benzofuran-2(3H)-onů

Benzofuran-2(3H)-onový skelet lze připravit několika způsoby, z nichž asi nejjednodušším je dehydratace (2-hydroxyfenyl)octových kyselin poskytující produkt v relativně velkých výtěžcích a v dostatečné čistotě. Tuto dehydrataci lze provést několika postupy. Snadná je azeotropická destilace¹³, kdy se pomalu oddestilovává azeotrop xylen-voda po dobu dvou hodin za přítomnosti *p*-toluensulfonové kyseliny. Následnou vakuovou destilací lze například získat čistý benzofuran-2(3H)-on ve výtěžku 90%. U substituovaných derivátů (2-hydroxyfenyl)octových kyselin na benzenovém jádře lze k dehydrataci¹⁴ použít trifluoracetanhydrid, který je míchan po dobu 30 minut s příslušnou (2-hydroxyfenyl)octovou kyselinou při laboratorní teplotě. Po odpaření přebytečného trifluoracetanhydridu a rekrystalizaci z heptanu se získá substituovaný benzofuran-2(3H)-on¹⁴. Dalším dehydratačním činidlem^{15,16} je oxychlorid fosforečný v dichlorethanu. V tomto případě probíhá dehydratace při laboratorní teplotě po dobu 16 hodin. Všechny tři uvedené postupy znázorňuje Schéma 3.



- a) *p*-toluensulfonová k., Δ, 2h: R = H (90 %)
- b) trifluoracetanhydrid, rt., 0,5h: R = 5-CH₃O
- c) POCl₃, rt., 16h: R = 5-CH₃ (82 %), 5-CH₃O (85 %), 6-CH₃O (90 %)

Schéma 3

Další možnosti konstrukce benzofuran-2(3H)-onového skeletu jsou značně komplikovanější a finančně náročnější, protože využívají katalýzy přechodných kovů jako je ruthenium, rhodium nebo palladium.

Benzofuran-2(3*H*)-on lze získat katalytickou dehydrogenací¹⁷ 1,2-benzendioldimethanolu za účasti ruthenia, které je ve formě komplexu [RuH(η^2 -BH₄)(tBu-PNN)] (PNN = 2-di-*terc*-butylfosfinmethyl-6-diethylaminomethyl pyridin). Reakce se provádí v toluenu pod inertní atmosférou při 115 °C po dobu 24 hodin a její výtěžek je 76 % (Schéma 4).

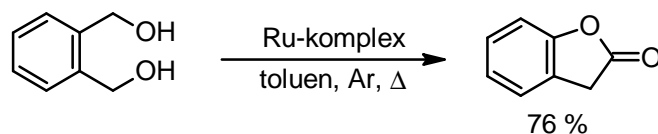


Schéma 4

Oxidace¹⁸ benzofuranu 2,6-dichlorpyridin *N*-oxidem za přítomnosti komplexu ruthenia [Ru^{IV}(2,6-Cl₂tpp)Cl₂] (2,6-Cl₂tpp = meso-tetrakis(2,6-dichlorfenyl)porfyrinato dianion) v dichlormethanu při 40 °C po dobu 6 hodin opět poskytuje benzofuran-2(3*H*)-on ve výtěžku 95 % (Schéma 5).

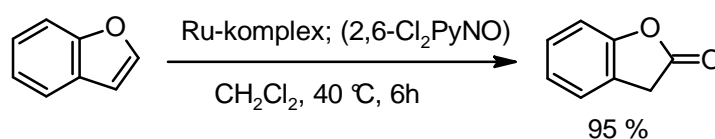


Schéma 5

Laktonový kruh lze vytvořit i cyklizací substituovaných fenyldiazoacetátů¹⁹. Tato reakce opět vyžaduje přítomnost komplexu rhodia [Rh₂(OAc)₄] a probíhá v dichlormethanu pod inertní atmosférou (Schéma 6).

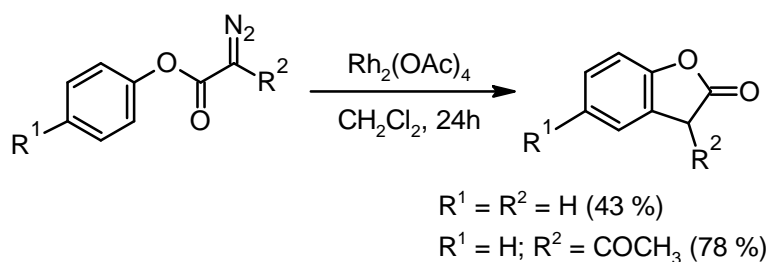


Schéma 6

Poslední nalezenou metodou syntézy benzofuran-2(3*H*)-onu je karbonylace²⁰ 2-hydroxybenzylalkoholu pomocí oxidu uhelnatého za účasti komplexu palladia a jodovodíku. Reakce probíhá ve směsi 1,4-dioxan/voda (15:1) při 120 °C. Při této reakci vznikají tři produkty, z nichž žádaný benzofuran-2(3*H*)-on je pouze minoritní

složkou (9%) reakční směsi po ukončení reakce (Schéma 7). Dalšími produkty jsou (2-hydroxyfenyl)octová kyselina (56%), kterou lze snadno dehydratovat na benzofuran-2(3*H*)-on a 2-methylfenol.

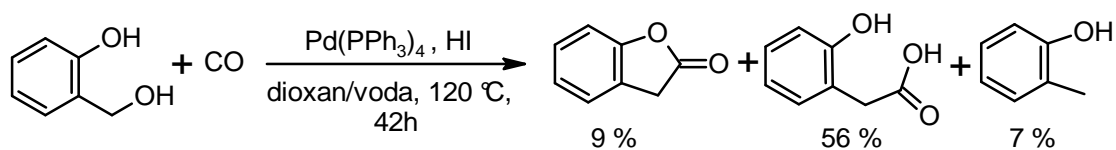


Schéma 7

1.3 Biologická aktivita derivátů thiazolidinonu

Thiazolidinový resp. thiazolový kruh můžeme najít v mnoha přírodních látkách. K neznámějším patří například peniciliny nebo vitamín B₁ (thiamin) (Schéma 8).

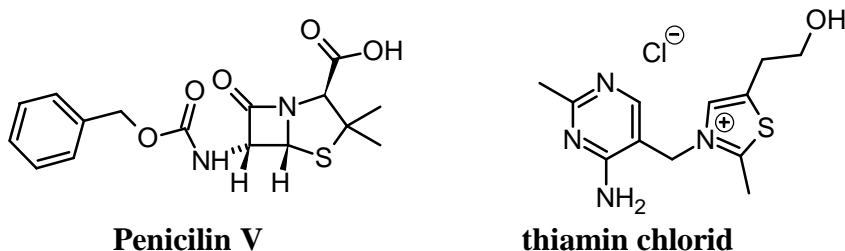
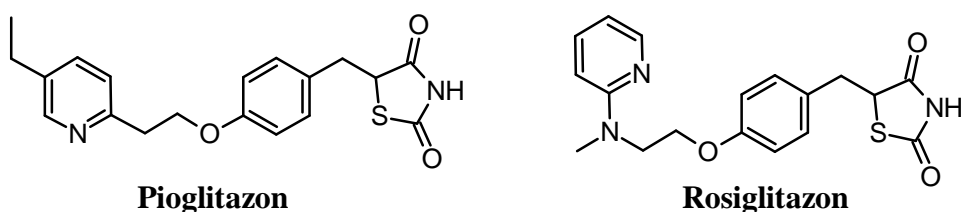


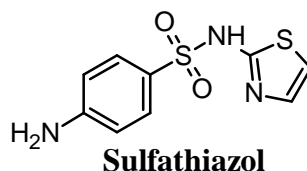
Schéma 8

Z přírodních penicilinů byl v minulosti nejvíce rozšířen Penicilin V, který patří do skupiny β -laktamových antibiotik, působících proti infekčnímu²¹ onemocnění bakteriálního a fungálního původu. Vitamín B₁ (thiamin)²² zase hraje roli v lidském metabolismu sacharidů a aminokyselin, působí příznivě na srdce a nervový systém.

Mezi komerčně dostupná farmaka obsahujícími thiazolidinový kruh patří takzvané glitazony, z nichž nejrozšířenější v klinické praxi jsou pioglitazon a rosiglitazon. Jedná se o perorální antidiabetika^{23,24}, jejichž účinek²⁵ komplexně ovlivňuje metabolismus, snižuje inzulínovou rezistenci a také glukoneogenezi v játrech.



Transformacemi isothiuroniových solí může vznikat nejen zmíněný thiazolidinový cyklus ale i thiazolový, thiazolinový nebo imidazolový cyklus. Tyto heterocyklické skelety se rovněž nalézají v přírodních biologicky aktivních látkách²⁶. Synteticky připravené deriváty vykazují účinky proti viru HIV²⁷, zhoubnému bujení²⁸ a dělení²⁹ buněk. Silné antibakteriální³⁰ účinky byly prokázány u sulfathiazolu, který patří do skupiny sulfonamidů.



Thiazolinový kruh lze rovněž využít jako dobrou řídicí skupinu u rutheniem katalyzovaných karbonylací aromátů³¹, při syntéze chalkogenbenzenů³² a v asymetrické syntéze, kde se uplatňuje jako součást chirálních ligandů³³.

Sloučeniny obsahující fragment 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu vykazují biologickou aktivitu jako kardiotonika³⁴ u morčat se samovolným stahováním srdeční síně nebo se mohou uplatnit jako fungicidy³⁵.

Velmi široká je i biologická aktivita 2-thioxothiazolidin-4-onu (rhodaninu) a jeho derivátů. Tyto látky rovněž vykazují antimikrobiální³⁶, antivirotické³⁷, antifungální³⁸ účinky a inhibují³⁹ aktivitu fosfodiesterázy 4 (PDE4), která je přítomna ve zvýšené koncentraci v buňkách imunitních a v buňkách tvořících zánětlivá onemocnění.

1.4 Příprava thiazolidinového kruhu

Při formování thiazolidinového kruhu se nejvíce využívá kyselin nebo jejich funkčních derivátů, které mají na α -uhlíku dobře odstupující halogeny, hydroxylovou skupinu nebo jsou α,β -nenasycené. K nim se jako druhý synton uplatňují dithiokarbamáty, thiokarbamáty, thiomocoviny, thiosemikarbazidy a thiokyanáty. Dále lze využít reakce α -sulfanylalkanových kyselin, kde druhým syntonem jsou isothiokyanáty, isokyanáty, kyanamidy nebo *Schiffovy* báze. Poslední možností je vzájemné přeměňování thiazolidinových kruhů.

1.4.1 Reakce dithiokarbamátů

První z možností, jak získat thiazolidinový kruh, je reakce dithiokarbamátů s α -halogen kyselinami. Konkrétně α -chloroctová kyselina reaguje⁴⁰ s dithiokarbamátem na sůl, která po refluxu s kyselinou chlorovodíkovou cyklizuje na 2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-on (Schéma 9).

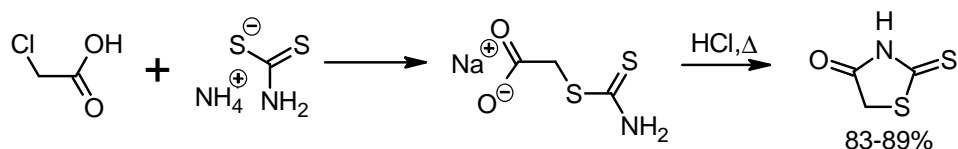


Schéma 9

Pro získání thiazolidinového kruhu lze využít i *N*-substituovaných dithiokarbamátů s estery α -halogen kyselin. Například (2-halogenfenyl)dithiokarbamát reaguje s ethylesterem kyseliny 2-brom-2-methylpropanové. V malých výtěžcích se takto získá substituovaný 2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-onový kruh (Schéma 10).

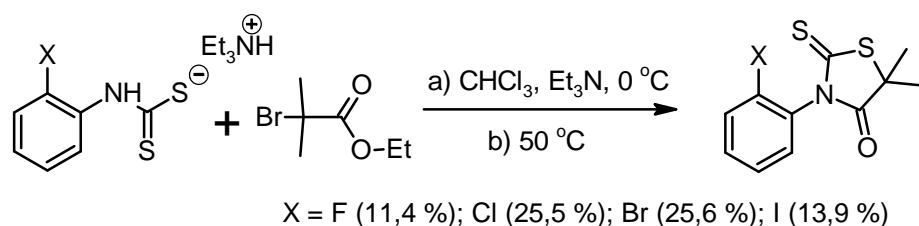


Schéma 10

1.4.2 Reakce thiokarbamátů

Analogicky probíhají i reakce thiokarbamátů⁴² s α -halogenkyselinou, kdy se získá 1,3-thiazolidin-2,4-dionový kruh. Konkrétně reakcí α -bromsukcinátu s *N*-alkyl-*S*-thiokarbamátem sodným za chladu dochází k nukleofilní substituci atomu bromu za atom síry. Následnou cyklizací v prostředí kyseliny chlorovodíkové dochází ke vzniku (3-methyl-2,4-dioxo-1,3-thiazolidin-5-yl)octové kyseliny (Schéma 11).

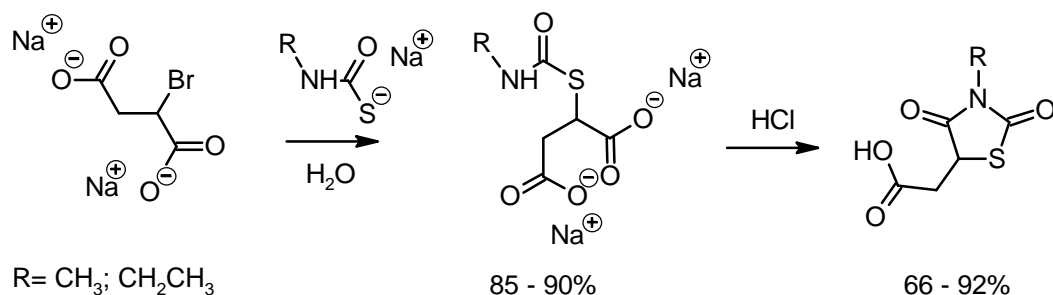


Schéma 11

Podobně probíhají⁴³ i reakce *N,O*-disubstituovaných thiokarbamátů s α -halogenkyselinami nebo s jejich estery. Ethylester kyseliny brompropionové s *O*-ethyl-*N*-fenylthiokarbamátem při zahřívání v ethanolu dává rovnou produkt cyklizace tedy 3-fenyl-5-methyl-1,3-thiazolidin-2,4-dion, výtěžek této reakce nebyl uveden (Schéma 12).

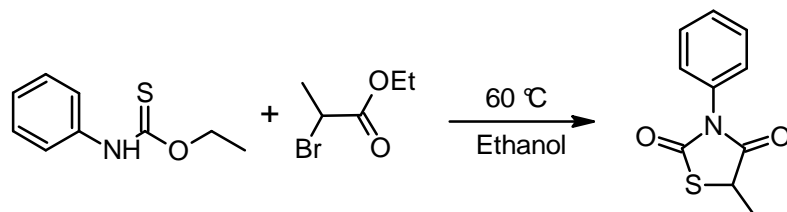


Schéma 12

1.4.3 Reakce thiomocovin

Další z možností, jak vytvořit thiazolidinový kruh, je reakce α -halogen kyselin, jejich esterů nebo amidů s thiomocovinou respektive *N*-substituovanou thiomocovinou. Jako konkrétní případ lze uvést reakci⁴⁴ ethylesteru kyseliny chloroctové s thiomocovinou, kdy vzniká 2-imino-1,3-thiazolidin-4-on (Schéma 13).

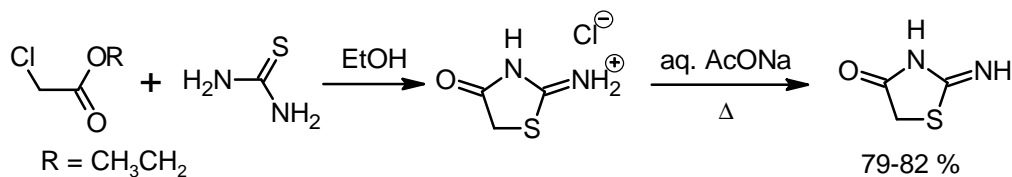


Schéma 13

Jak thiomocovina, tak i mono, di až trisubstituované thiomocoviny reagují⁴⁵ s α -halogenkyselinami nebo s jejich estery. Následnou cyklizací vznikají deriváty 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu. Pokud necháme reagovat rozdílně disubstituovanou *N,N'*-thiomocovinu můžeme získat dva produkty, jejichž výtěžek závisí na rozdílné nukleofilitě dusíkových atomů (Schéma 14).

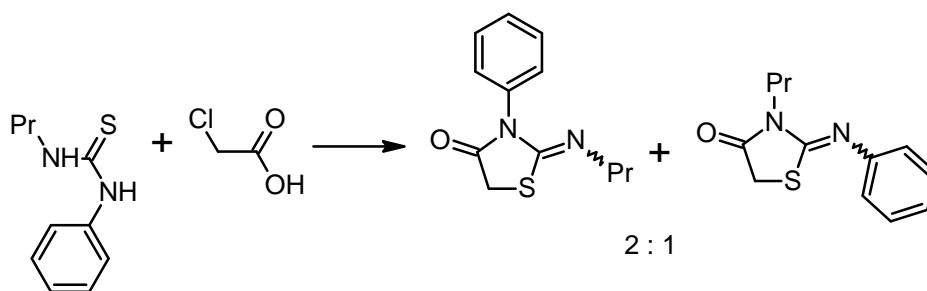


Schéma 14

Thiomočoviny lze adovat⁴⁶ na nenasycené karboxylové kyseliny, jako jsou například kyselina maleinová nebo fumarová, případně je lze adovat na jejich anhydridy nebo *N*-substituované amidy. Jedná se o adici Michaelova typu. Cyklizací aduktů získáme deriváty 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu, které jsou substituovány v poloze 5. Například reakcí maleinanhydridu s thiomočovinou získáme 2-imino-4-oxo-1,3-thiazolidin-5-karboxylovou kyselinu (Schéma 15). Zde lze opět využít reakce různě substituovaných thiomočovín⁴⁶ například *N,N'*-dibutylthiomočovinu.

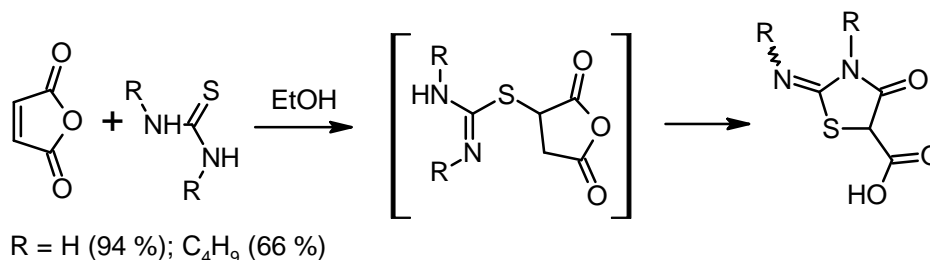
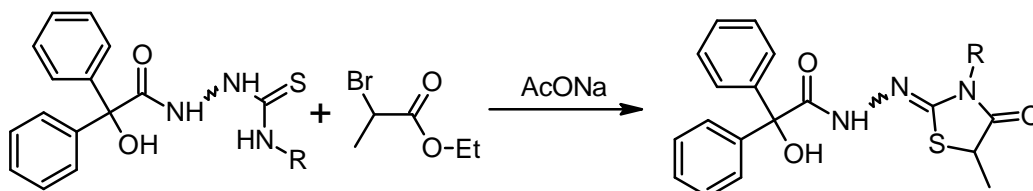


Schéma 15

1.4.4 Reakce thiosemikarbazidů

Obdobnou reakcí je reakce thiosemikarbazidů⁴⁷ s α -halogenalkanovými kyselinami nebo jejich estery, kdy se získají ve velkých výtěžcích deriváty 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu (Schéma 16).



R	C ₂ H ₅	C ₄ H ₉	CH ₂ CH ₂ Ph	CH ₂ Ph	Ph	4Br-Ph	4Cl-Ph	4F-Ph	4CH ₃ -Ph	4NO ₂ -Ph
%	78	98	93	88	95	98	96	89	92	66

Schéma 16

1.4.5 Reakce thiokyanátů

Reakcí⁴⁸ α -halogenkyselin nebo jejich esterů s thiokyanáty lze rovněž získat thiazolidinový kruh. Chloroctan sodný s thiokyanatanem sodným reaguje za vzniku thiokyanatooctanu sodného, který následně v prostředí kyseliny sírové cyklizuje na identický produkt jako při reakci s thiokarbamáty, tedy 1,3-thiazolidin-2,4-dion, výtěžek reakce však není v lit.⁴⁸ uveden (Schéma 17).

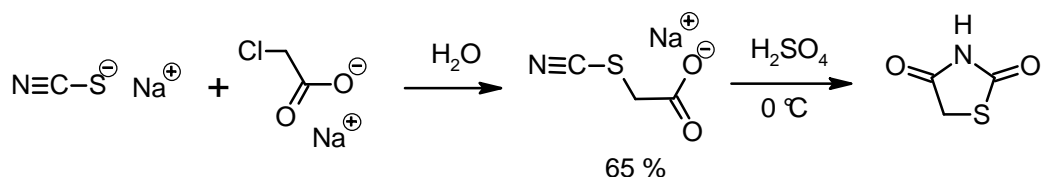


Schéma 17

Podobnou metodou lze adovat⁴⁹ thiooctovou kyselinu na ethylester kyseliny 2-methyl-2-thiokyanatomalonové, kde vzniklý meziprodukt okyselením cyklizuje na 5-methyl-2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-on (Schéma 18).

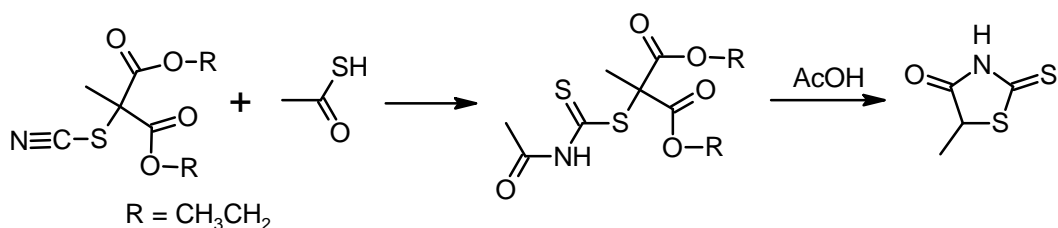


Schéma 18

1.4.6 Reakce α -sulfanylalkanových kyselin

Při formování thiazolidinového kruhu lze využít reakce α -sulfanylalkanových kyselin nebo jejich esterů s isothiokyanáty, isokyanáty, kyanamidy nebo s *Schiffovými* bázemi. Reakcí⁵⁰ ethylesteru kyseliny α -sulfanyloctové s thiokyanáty resp. isothiokyanáty se získá příslušně substituovaný 2-thioxo-1,3-thiazolidin-4-on resp. 2-oxo-1,3-thiazolidin-4-on (Schéma 19).

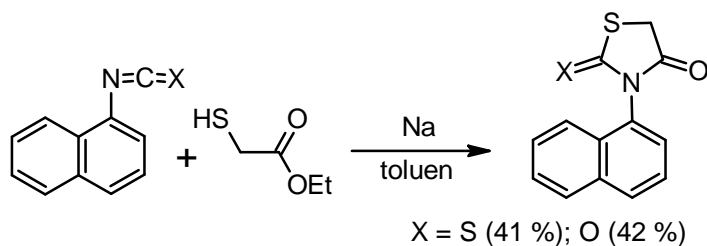


Schéma 19

Obdobnou reakcí jsou reakce kyanamidů⁵². Methyl ester kyseliny α -sulfanyloctové reaguje s kyanamidem za vzniku 2-amino-1,3-thiazol-4(5H)-onu (Schéma 20).

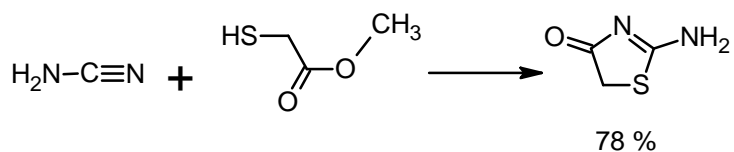
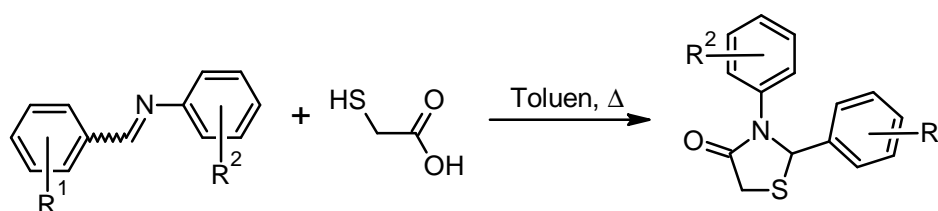


Schéma 20

Schiffovy báze⁵² reagují s α -sulfanyloctovou kyselinou za vzniku substituovaného 1,3-thiazolidin-4-onu (Schéma 21).



R¹	H	4-NO ₂	4-CH ₃ O	4-CH ₃	H	H	H	H	H
R²	H	H	H	H	4-NO ₂	3-NO ₂	4-Cl	3-Cl	4-CH ₃ O
%	60	72	48	31	69	62	69	53	55

Schéma 21

1.4.7 Vzájemná přeměna mezi thiazolidinovými kruhy

Změna substituce thiazolidinového kruhu je velmi široké téma, proto zde budou zmíněny pouze dvě reakce. Například 2-imino-1,3-thiazolidin-4-on lze snadno hydrolyzovat⁵³ kyselinou chlorovodíkovou na 1,3-thiazolidin-2,4-dion (Schéma 22).

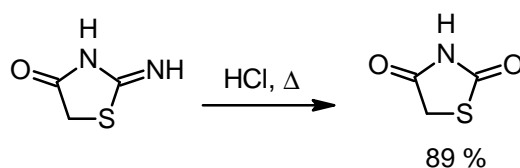


Schéma 22

2-Thioxothiazolidin-4-on lze oxidovat⁵⁴ pomocí peroxidu vodíku a oxidu manganického na 1,3-thiazolidin-2,4-dion (Schéma 23). Výtěžek reakce není v lit.⁵⁴ uveden.

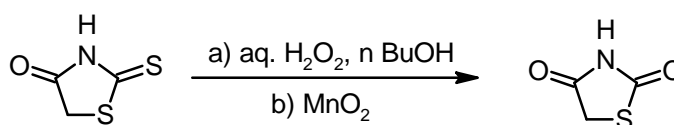


Schéma 23

1.5 Kinetické studie vzniku thiazolidinového kruhu

Naše pracoviště se již řadu let zabývá studiem mechanismů transformačních reakcí různých heterocyklických sloučenin. Doposud bylo publikováno sedm prací¹⁻⁷ týkajících se transformačních reakcí substituovaných isothiuroniových solí.

Jako první byla měřena¹ kinetika vzniku 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu, který vznikal cyklizační reakcí isothiuroniových solí získaných reakcí ethylesteru kyseliny chloroctové s thiomocovinou (Schéma 24).

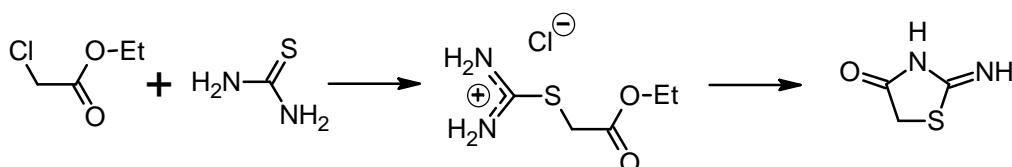


Schéma 24

Kinetika cyklizace byla měřena ve zředěné kyselině chlorovodíkové a v pufru chloracetátovém, acetátovém, formamidovém a fosfátovém za podmínek pseudoprvního řádu. Bylo zjištěno, že se jedná o obecně bazicky katalyzovanou reakci a rychlost limitujícím krokem je při $\text{pH} > 2$ odštěpování ethanolátového aniontu, při hodnotách $\text{pH} < 2$ je rychlost limitujícím krokem vznik tetraedráního intermediátu. Vypočtená rychlostní konstanta cyklizace je $k_1 = 2 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$. Mechanismus této cyklizace znázorňuje Schéma 25.

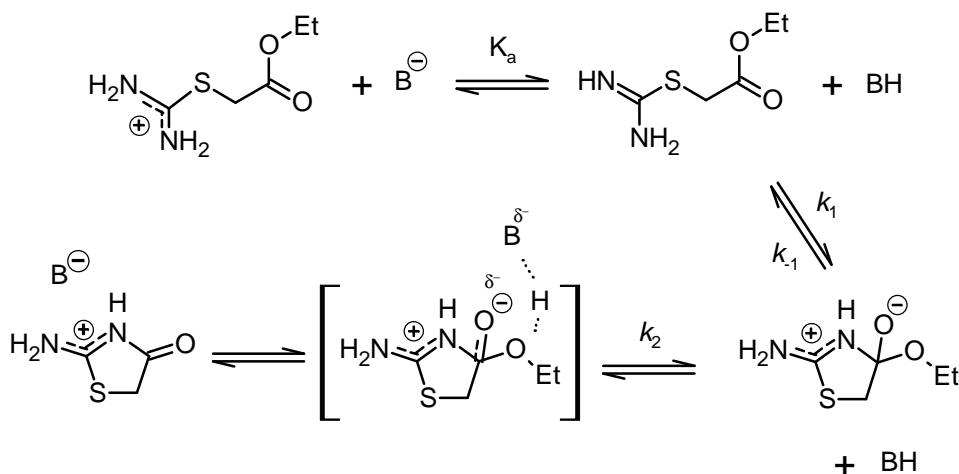


Schéma 25

Kromě cyklizace isothiuroniové soli odvozené od ethylesteru kyseliny chloroctové byla měřena² kinetika cyklizace solí získaných reakcí samotné kyseliny chloroctové a bromoctové s thiomocovinou (Schéma 26).

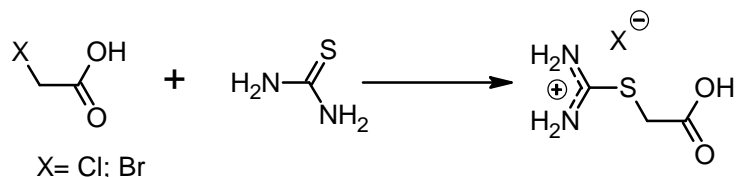


Schéma 26

Měření byla provedena v roztocích zředěné kyseliny chlorovodíkové a chloroctanového pufru. Opět se jednalo o obecně kyselou katalyzovanou cyklizaci, avšak změna rychlostní konstanty je relativně malá. Při hodnotách pH > 2 je rychlost limitujícím krokem (r.l.k.) odštěpování hydroxylové skupiny, při pH < 2 je opět rychlost limitujícím krokem vznik tetraedráního intermidátu. Rychlostní konstanty pro katalýzu pufrům nebyly stanoveny. Mechanismus této cyklizace znázorňuje Schéma 27.

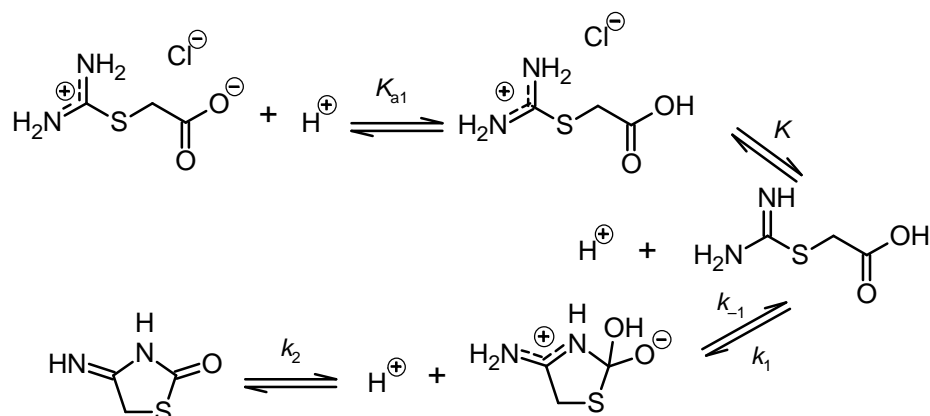


Schéma 27

V této kinetické studii byla dále měřena rychlostní konstanta vzniku isothiuroniové soli, která vznikala z thiomocoviny a kyseliny α -brom- a α -chloroctové. Rychlostní konstanta pro α -bromoctovou kyselinu je $k_2 = 1,07 \cdot 10^{-2} \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ a pro kyselinu α -chloroctovou je rychlostní konstanta $k_2 = 0,98 \cdot 10^{-4} \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Kyselina α -bromoctová reaguje s thiomocovinou téměř o dva řády rychleji než kyselina α -chloroctová. Rozdíl odpovídá odlišné reaktivitě bromu a chloru jako odstupujících skupin při S_N2 reakcích s reaktivními nukleofily.

Později byla studována⁴ kinetika a mechanismus transformace isothiuroniové soli odvozené od 3-brom-1-(4-methoxyfenyl)pyrrolidin-2-onu. Reakce byla studována ve vodných roztocích pufrů a v roztocích hydroxidu sodného za podmínek pseudoprvního

řádu. Transformační reakcí byl získán 2-methylimino-5-[(2-fenylamino)ethyl]thiazolidin-4-on a bylo zjištěno, že reakce je katalyzovaná obecně bazicky i kyselé a hydroxidovým iontem. Rychlost limitujícím krokem je odštěpování protonu z tetraedráního intermediátu **In** (Schéma 28).

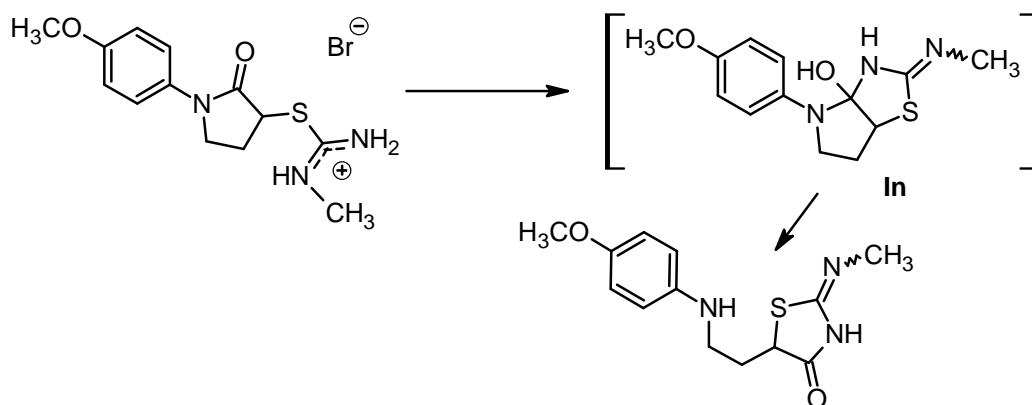


Schéma 28

Tato studie byla dále rozšířena⁵ o další isothiuroniové soli (Schéma 29). Transformace byly měřeny za stejných podmínek a bylo zjištěno, že reakce jsou opět katalyzovány obecně bazicky i kyselé a hydroxidovým iontem.

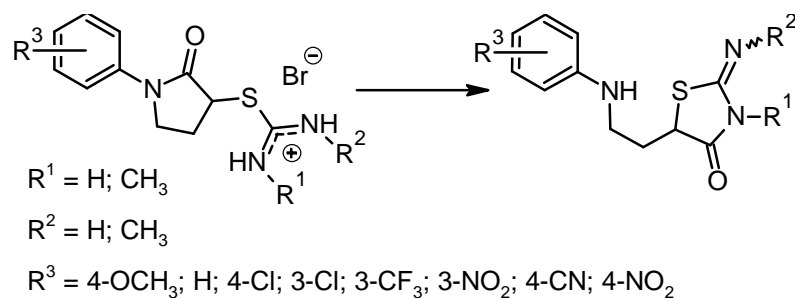


Schéma 29

U transformace isothiuroniové soli odvozené od 3-brom-1-(4-methoxyfenyl)pyrrolidin-2-onu a thiomocoviny je rychlost limitujícím krokem rozklad bicyckého tetraedráního intermediátu **In[±]** (Schéma 30).

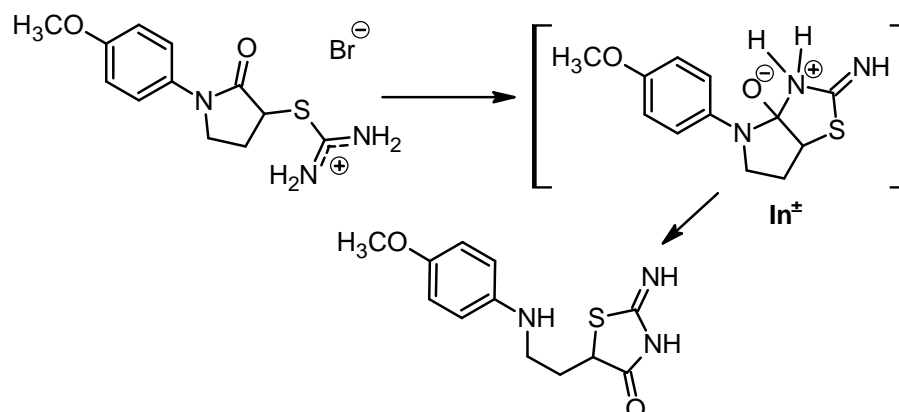


Schéma 30

V dalším případě, kdy byla použita *N,N'*-dimethylthiomočovina, je při bazické katalýze rychlost určujícím krokem rozpad bicycklického tetraedrálního intermediátu **In**. Kyselá katalyzovaná transformace jde také cestou intermediátu **In**, ale rychlost reakce je kontrolována difuzí (Schéma 31). V roztocích pufrů triethylaminu a butylaminu se obecná bazická katalýza mění na specifickou.

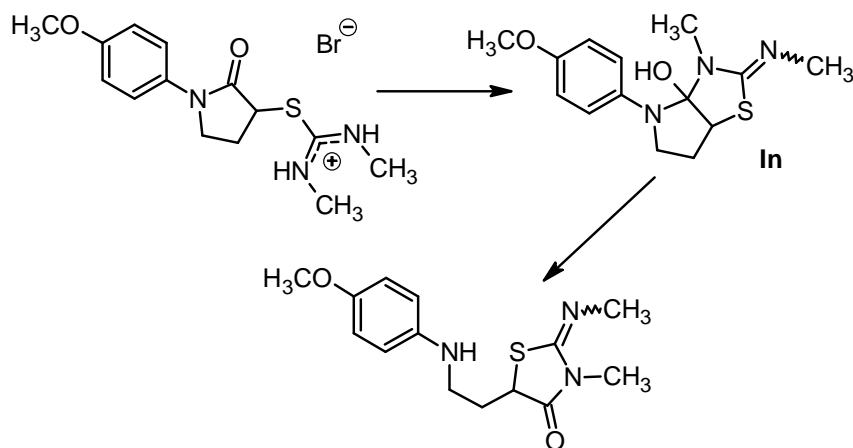


Schéma 31

Při transformaci isothiuroniových solí se může uplatňovat více intermediátů a taktéž vliv prostředí hraje zásadní vliv. Příkladem lze uvést mechanismus transformace⁷ *S*-(2-oxotetrahydrofuran-3-yl)-*N*-methyl-*N*-fenyl isothiuronium bromidu na 5-(2-hydroxyethyl)-2-(4-methylfenyl)amino-1,3-thiazol-4(5*H*)-on (Schéma 32).

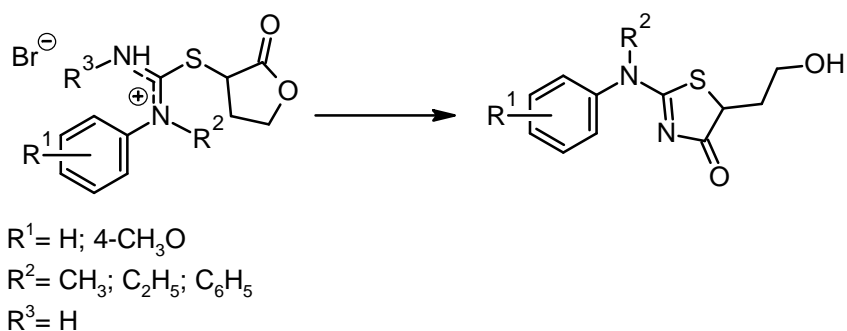


Schéma 32

Působením báze přechází isothiuroniová sůl ($pK_a = 6,7$) na volnou isothiomočovinu. Tato cyklizuje na zwitterionický intermediát **T[±]** (rychlost určující krok při $\text{pH} < 2$). Intermediát může dále reagovat třemi způsoby. Součinným, obecně kyselá katalyzovaným rozpadem ($\alpha = 0,47$), rozpadem na produkt (r.l.k. při $\text{pH} 2\text{-}3$) a nebo vodou zprostředkovaným “proton switchem” na intermediát **T⁰**, který následně

podléhá kyselé katalyzovanému rozpadu na produkt (pH 3-6). Třetí cestou, která se uplatňuje v roztocích s pH vyšším než 6, je vznik intermediátu T^- a jeho následný rozpad (Schéma 33).

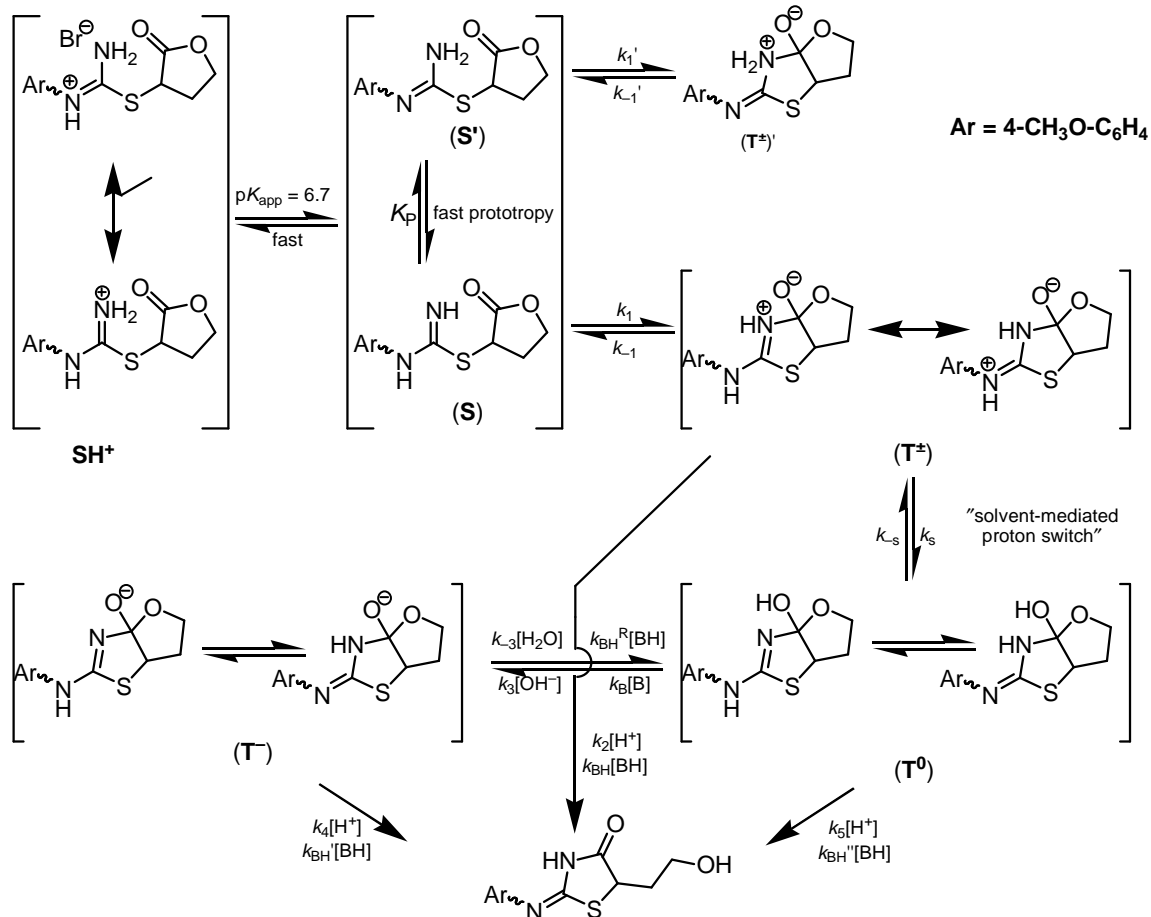


Schéma 33

Přesmyk⁸ *S*-(3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl) isothiuronium bromidu ve vodném roztoku amoniaku vede na 1-hydroxy-3-oxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-karbothioamid (Schéma 34).

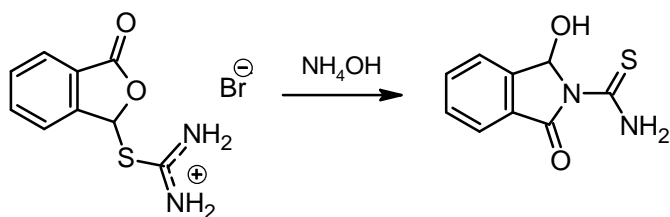


Schéma 34

V druhém případě, kdy byla použita *N,N'*-dimethylthiomočovina, nebyl získán analogický produkt cyklizace. Přesmyk *N,N'*-dimethyl-*S*-(3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl) isothiuronium-bromidu za stejných podmínek vede na 1,3-dimethyl-1-(3-oxo-1,3-dihydro-2-benzofuran-1-yl)thiomočovinu (Schéma 35).

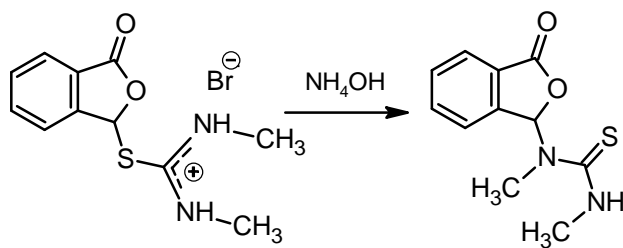


Schéma 35

2 Teoretická část

2.1 Acidobazická katalýza

Katalýzou se rozumí ovlivnění průběhu reakce přidávkem malého množství (významně menšího než je stechiometrické) látky, která se nazývá katalyzátor. Při katalýze dochází v některém z reakčních kroků k fyzikální nebo chemické interakci katalyzátoru s edukty za vzniku nestabilního meziprojektu. Tento meziprojekt vstupuje do dalších reakčních kroků a v některém z nich (nejpozději v posledním) se uvolňuje katalyzátor v nezměněné formě a množství. Výsledkem je umožnění nebo urychlení chemické reakce nebo vznik takových produktů, které by bez katalýzy nevznikly.⁵⁵

U reakcí probíhajících iontovým mechanismem jsou katalyzátory látky, které zvyšují nukleofilitu činidla nebo reaktivitu substrátu.

Rozeznáváme dva typy acidobazické katalýzy a to obecnou a specifickou. Pokud v reakci dochází k přenosu protonu („proton transfer“) v rychlost určujícím stupni, označuje se katalýza jako obecná, jestliže naopak dochází k proton transferu před rychlost určujícím stupněm, tak se katalýza označuje jako specifická. Proton transfery z nebo na atom uhlíku jsou obvykle pomalé, zato proton transfery z nebo na atom kyslíku a dusíku jsou naopak velmi rychlé a rychlost bývá kontrolována difuzí, rychlostní konstanta se pohybuje řádově 10^9 - 10^{10} $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$. Na základě typu katalýzy lze usuzovat, jaké bude složení tranzitního stavu v rychlost určujícím stupni reakce.

Je důležité, aby při kinetických měřeních nedocházelo ke změně koncentrace katalyzujícího H^+ resp. OH^- , proto se měření provádí v pufrch nebo je katalyzátor (H^+ , OH^-) ve velkém nadbytku vůči substrátu. Takto nastavené podmínky zajišťují, že reakce se bude řídit kinetikou pseudoprvního řádu.

Kinetická měření se nejčastěji provádějí v roztocích pufrů, jejichž pH je v rozmezí 3-11. Pro pH 1-3 resp. 11-14 se používají zředěné roztoky kyselin resp. bází. Jelikož soli v roztocích mohou svou disociací ovlivňovat solvataci ostatních částic a tedy i ovlivňovat výsledky měření, udržuje se konstantní hodnota iontové síly přidávkem inertního elektrolytu a to nejčastěji roztokem KCl.

O jaký typ katalýzy se jedná, lze snadno zjistit měřením rychlosti reakce v několika roztocích pufrů o stejném pH, které je dáno poměrem kyselé a bazické složky $[\text{HB}]/[\text{B}]$, avšak mění se koncentrace těchto pufrů.

Pokud se rychlost reakce nemění se zvyšující se koncentrací pufru, jedná se o specificky katalyzovanou reakci, kde jediným účinným katalyzátorem je proton H^+ resp. hydroxidový anion OH^- . V různých oblastech pH mohou katalyzovat reakci obě částice. Reakce tedy bude specificky kyselé katalyzovaná resp. specificky bazicky katalyzovaná nebo reakce nemusí být katalyzovaná vůbec. Je-li substrát přítomen převážně ve své nedisociované formě, je obecná rovnice pozorované rychlostní konstanty dána vztahem:

$$k_{\text{poz}} = k_0 + k_{H^+} [H^+] + k_{OH^-} [OH^-] \quad (1)$$

kde k_0 je rychlost nekatalyzované reakce.

Případy, kdy je reakce specificky katalyzovaná jak kyselé, tak bazicky a zároveň nekatalyzovaná jsou velmi vzácné. Zpravidla se uplatňuje jeden nebo dva členy z pravé části rovnice (1).

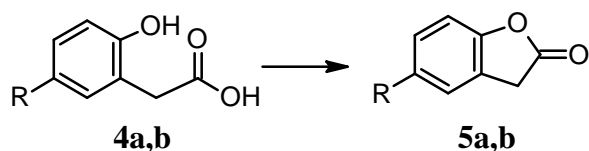
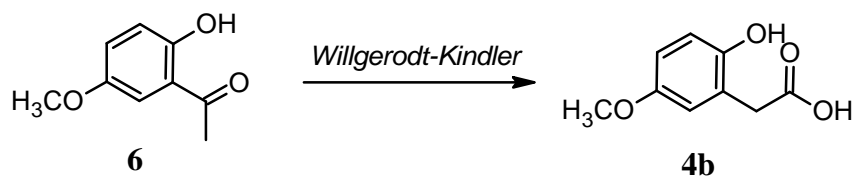
Zvyšuje-li se rychlost reakce s rostoucí koncentrací pufru, jedná se o obecně katalyzovanou reakci, kde se uplatňují jako katalyzátory všechny kyseliny resp. báze, které jsou přítomné v reakční směsi. Obecná rovnice pro obecnou katalýzu má tvar:

$$k_{\text{poz}} = k_0 + k_{H^+} [H^+] + k_{OH^-} [OH^-] + k_{HB^+} [HB^+] + k_B [B] \quad (2)$$

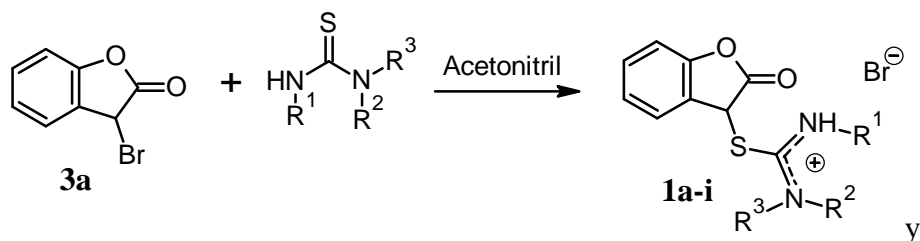
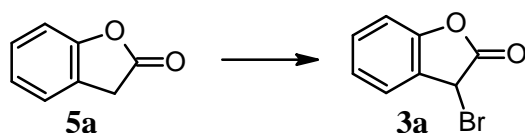
Zda se jedná o obecnou kyselou nebo obecnou bazickou katalýzu, lze rozlišit následujícím způsobem. Pro jednotlivé poměry složek pufru se zkonstruuje závislost pozorované rychlostní konstanty na koncentraci bazické složky pufru. Pokud se přímky paprskovitě rozbíhají, vynesou se stejné hodnoty pozorované rychlostní konstanty na koncentraci kyselé složky pufru. Získají-li se rovnoběžné přímky, jedná se o obecnou kyselou katalýzu. Pokud se opět přímky paprskovitě rozbíhají, uplatňuje se současně kyselá i bazická katalýza. Pro obecnou bazickou katalýzu také platí rovnoběžnost vynesení přímek.⁵⁶

3 Experimentální část

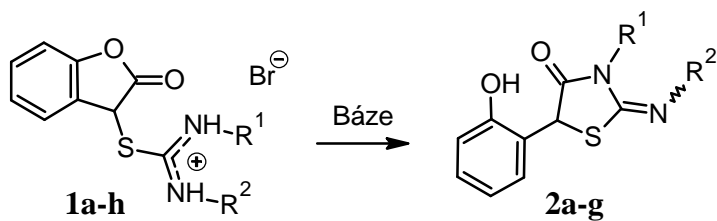
3.1 Přehled provedených syntéz



	a	b
R	H	CH ₃ O



	a	b	c	d	e	f	g	h	i
R¹	H	H	H	H	H	CH ₃	Ph	Ph	4-CH ₃ OPh
R²	H	CH ₃	<i>i</i> -Pr	<i>t</i> -Bu	Ph	CH ₃	Ph	CH ₃ ,	CH ₃ ,
R³	H	H	H	H	H	H	H	CH ₃	CH ₃

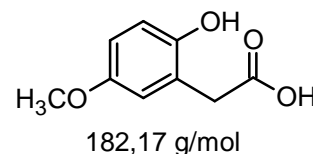


	a	b	c	d	e	f	g
R¹	H	H	H	H	H	CH ₃	Ph
R²	H	CH ₃	<i>i</i> -Pr	<i>t</i> -Bu	Ph	CH ₃	Ph

3.2 Příprava látek

3.2.1 Příprava (2-hydroxy-5-methoxyfenyl)octové kyseliny (**4b**)

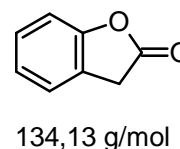
Směs 8,3 g (50 mmol) 2-hydroxy-5-methoxyacetofenonu (**6**), 3,2 g (50 mmol) síry, 15 ml (150 mmol) morfolinu a 0,3 g (1,75 mmol) *p*-toluensulfonové kyseliny bylo refluxováno 10 hodin při 130 °C za stálého míchání. Poté byla reakční směs ochlazená a bylo přidáno 70 ml 20% roztoku NaOH a 216 mg (1,25 mmol) tetrabutylammonium-bromidu. Směs byla hydrolyzována při 100 °C 10 hodin. Po ochlazení byl roztok okyselen kyselinou chlorovodíkovou na pH 1 a zfiltrován. Směs byla míchána 10 minut s karborafinem při 70 °C a následně za horka zfiltrována. K filtrátu bylo přidáno 8 g NaCl a poté byl filtrát extrahován třikrát 30 ml ethyl-acetátu. Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo vakuově oddestilováno. Surový produkt byl rekrystalizován z vody. Bylo získáno 1,9 g (21 %) (2-hydroxy-5-methoxyfenyl)octové kyseliny (**4b**) s teplotou tání 132,5- 134,5 °C (lit.¹⁵ uvádí 128-130 °C a výtěžek 65 % , lit.¹⁴ uvádí 131-133 °C).¹⁵ Pracovní postup byl upraven podle literatury⁵⁷.



¹H-NMR (CDCl₃): δ_H: 3,66 (s, 3H); 6,30 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H,H} = 2,0 Hz); 6,40 (s, 1H); 6,95 (d, 2H, ³J_{H,H} = 8,0 Hz); 9,46 (brs, 1H); 12,00 (brs, 1H).
¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C: 36,2; 55,1; 101,5; 104,1; 114,9; 131,5; 156,9; 159,3; 174,1.

3.2.2 Příprava 1-benzofuran-2(3H)-onu (**5a**)

Do 250 ml baňky bylo předloženo 10 g (65,7 mmol) komerční kyseliny (2-hydroxyfenyl)octové (**4a**) rozpuštěné ve 120 ml xylenu s přidavkem katalytického množství *p*-toluensulfonové kyseliny (0,6 g). Na baňku byl nasazen límcový nástavec s chladičem pro jímání azeotropu xylen-voda. Z reakční směsi byl za mírného refluxu 2 hodiny destilován azeotrop, a zbytek v baňce byl za horka zfiltrován. Filtrát byl odpařen a získaná olejovitá kapalina byla čištěna vakuovou destilací. Byla jímána frakce s bodem varu 115 °C (15 torr) (lit.¹³ uvádí 132-134 °C (18 torr)). Takto bylo získáno 7,3 g (83 %) 1-benzofuran-2(3H)-onu (**5a**).¹³

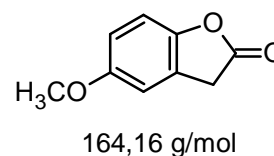


¹H-NMR (CDCl₃): δ_H: 3,63 (s, 2H); 7,02 (d, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz); 7,11 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, ⁵J_{H,H} = 0,8 Hz); 7,28-7,25 (m, 2H). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C: 32,3; 110,0;

122,9; 123,6; 124,2; 128,2; 154,1; 173,7. EI-MS: m/z 134 (M⁺); 106; 78 (100%); 63; 51; 39.

3.2.3 Příprava 5-methoxy-1-benzofuran-2(3H)-onu (**5b**)

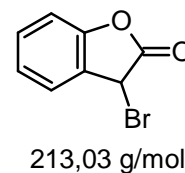
K 5,23 g (28,7 mmol) (2-hydroxy-5-methoxyfenyl)octové kyseliny (**4b**) bylo přidáno 15 ml trifluoracetanhydridu a směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 30 minut. Po vakuovém odpaření přebytku acetanhydridu byl získán surový produkt, který byl rekrystalizován z hexanu. Bylo získáno 3,3 g (70 %) 5-methoxy-1-benzofuran-2(3H)-onu (**5b**) s teplotou tání 95,5-99,0 °C (lit.¹⁴ uvádí 95-98 °C).¹⁴



¹H-NMR (CDCl₃): δ_H: 3,38 (s, 3H); 6,70 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 8,4 Hz, ⁴J_{H,H} = 2,4 Hz); 6,81 (d, 1H, ⁴J_{H,H} = 2,4 Hz); 7,23 (d, 1H, ³J_{H,H} = 8,4 Hz). ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C: 32,2; 55,6; 97,2; 109,5; 115,7; 125,2; 155,1; 159,9; 175,1. EI-MS: m/z 164 (M⁺)(100%); 136; 108; 78; 65; 51; 39.

3.2.4 Příprava 3-brom-1-benzofuran-2(3H)-onu (**3a**)

3 g (22,4 mmol) 1-benzofuran-2(3H)-onu (**5a**) bylo rozpuštěno v 15 ml etheru. K tomuto roztoku bylo přidáno 6,7 g (27 mmol) komplexu dioxan-brom rozpuštěného ve 20 ml etheru. Reakční směs byla míchána hodinu do úplného odbarvení. Po reakci byla směs promyta vodou, vysušena bezvodým Na₂SO₄ a ether byl vakuově oddestilován. Bylo přidáno 30 ml vody a surový produkt byl zfiltrován. Surový 3-brom-1-benzofuran-2(3H)-on (**3a**) byl rekrystalizován z cyklohexanu. Takto byly získány bílé krystalky 3 g (63 %) s bodem tání 95,5- 97,5 °C (lit.⁵⁸ uvádí 95-96 °C). Vniklý produkt je nestabilní a při laboratorní teplotě dochází k jeho rozkladu, je tedy nutné uchovávat ho v mrazícím boxu.⁵⁸



¹H-NMR (CDCl₃): δ_H: 5,51 (s, 1H); 7,14 (d, 1H, ³J_{H,H} = 8,4 Hz); 7,24 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, ⁵J_{H,H} = 0,8 Hz); 7,40-7,47 (m, 2H.) ¹³C-NMR (CDCl₃): δ_C: 34,6; 111,5; 124,8; 125,1; 126,0; 131,5; 153,3; 171,3.

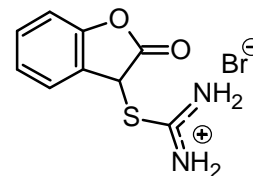
3.2.5 Příprava isothiuroniových solí (**1a-i**)

K 0,5 g (2,35 mmol) 3-brom-1-benzofuran-2(3H)-onu (**3a**) rozpuštěného v 4 ml acetonitrilu byl přidán roztok příslušné thiomocoviny (2,35 mmol) rozpuštěné v minimálním množství acetonitrilu pro její rozpuštění. Roztok byl míchán, dokud se

nevyloučily krystaly (všechny soli se vyloučily v rozmezí 1-24 hodin). Vyloučené krystaly byly zfiltrvány a důkladně vysušeny ve vakuovém exsikátoru.

S-(2-Oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1a)

Výtěžek: 87 % b.t.: 232,5-236,5 °C za rozkladu; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 5,73 (s, 1H); 6,80 (t, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz); 6,87 (d, 1H, ³J_{H,H} = 8,0 Hz); 7,20-7,27 (m, 2H); 10,42 (brd, 4H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 52,3; 115,7; 119,3; 120,7; 130,6; 131,5; 155,7; 176,7; 178,1; Elementární analýza pro

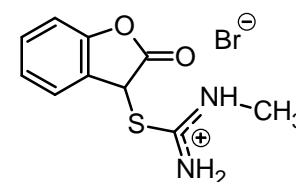


289,15 g/mol

C₉H₉BrN₂O₂S: Vypočteno 37,38 % C; 3,14 % H; 37,63 % Br; 9,69 % N; 11,07 % O; 11,09 % S. Nalezeno 37,18 % C; 3,05 % H; 27,45 % Br; 9,57 % N; 10,97 % S.

N-Methyl-S-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1b)

Výtěžek: 83 %; b.t.: 180,5-183,0 °C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 3,31 (s, 3H); 5,86 (s, 1H); 6,83 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 7,2 Hz, ⁵J_{H,H} = 0,8 Hz); 6,87 (d, 1H, ³J_{H,H} = 8,0 Hz); 7,25 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 8,0 Hz, ⁴J_{H,H} = 1,6 Hz); 7,37 (dd, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, ⁴J_{H,H} = 1,6 Hz); 10,33 (s, 1H); 11,28 (brs, 2H);

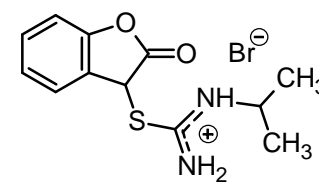


303,17 g/mol

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 30,3; 49,7; 115,7; 119,4; 119,8; 131,0; 131,7; 155,5; 172,9; 174,1; Elementární analýza pro C₁₀H₁₁BrN₂O₂S: Vypočteno 39,62 % C; 3,66 % H; 26,36 % Br; 9,24 % N; 10,55 % O; 10,58 % S Nalezeno 39,33 % C; 3,48 % H; 26,42 % Br; 9,04 % N; 10,55 % S.

N-Isopropyl-S-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1c)

Výtěžek: 83 %; b.t.: 223,5-232,5 °C za rozkladu; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 1,21 a 1,44 (d a dd, 6H, ³J_{H,H} = 18,8 Hz, ⁴J_{H,H} = 6,8 Hz); 4,14 a 4,69 (m a sept., 1H, ³J_{H,H} = 6,8 Hz); 5,53 a 5,71 (s, 1H); 6,75-6,89 (m, 2H); 7,11-7,17 a 7,24 (m a dt, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, ⁴J_{H,H} = 1,2 Hz); 7,11-7,17 a 7,34



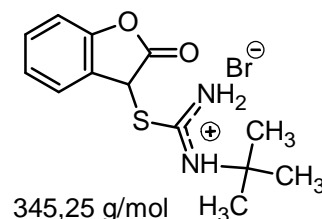
331,23 g/mol

(m a d, 1H, ³J_{H,H} = 6,8 Hz); 9,92 a 10,36 (s, 1H); 11,41 (brs, 2H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 17,8; 18,1; 49,1; 49,6; 115,7; 119,3; 120,2; 130,9; 132,1; 155,5; 173,5; 173,8; Elementární analýza pro C₁₂H₁₅BrN₂O₂S: Vypočteno 43,51 % C; 4,56 % H; 24,12 % Br; 8,46 % N; 9,66 % O; 9,68 % S Nalezeno 43,40 % C; 4,45 % H; 24,34 % Br; 8,56 % N; 9,45 % S.

N-terc-Butyl-S-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1d)

Výtěžek: 66,7 %; b.t.: 206,5-219,0 °C za rozkladu;

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 1,40 a 1,44 (s, 9H); 5,40 a 5,84 (s, 1H); 6,73-6,91 (m, 2H); 7,06-7,33 (m, 2H); 9,5 (s, 1H); 9,81 (brs, 2H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 28,0 a 28,4; 52,0; 55,7 a 56,7; 115,5 a 115,83; 119,3 a 119,6; 123,4; 129,5;

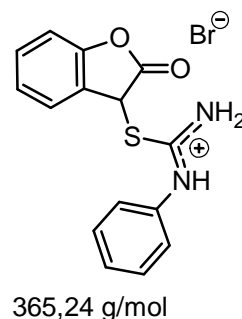


130,0; 131,0; 132,0; 155,6 a 155,9; 175,7; 185,6; Elementární analýza pro C₁₃H₁₇BrN₂O₂S: Vypočteno 45,22 % C; 4,96 % H; 23,14 % Br; 8,11 % N; 9,27 % O; 9,29 % S Nalezeno 45,38 % C; 4,91 % H; 23,03 % Br; 8,10 % N; 9,29 % S.

N-fenyl-S-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1e)

Výtěžek: 65 %; b.t.: 209,0-212,5 °C za rozkladu; ¹H-NMR

(DMSO-*d*₆): δ_H: 5,94 (s, 1H); 6,86 (t, 1H, ³J = 7,2 Hz); 6,95 (d, 1H, ³J = 8,0 Hz); 7,28 (t, 1H, ³J = 7,6 Hz); 7,45-7,49 (m, 3H); 7,64-7,70 (m, 3H); 10,62 (s, 1H); 10,95 (brs, 2H). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 50,2; 115,9; 119,4; 120,2; 128,2; 130,6; 131,1; 131,2; 131,7; 132,2; 155,5; 172,8; 174,1; Elementární analýza pro



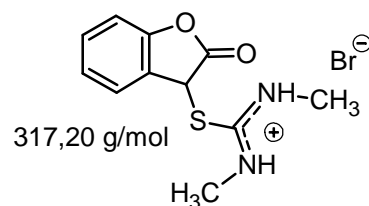
C₁₅H₁₂BrN₂O₂S: Vypočteno 49,33 % C; 3,59 % H; 21,88 % Br;

7,67 % N; 8,76 % O; 8,78 % S Nalezeno 49,44 % C; 3,54 % H; 21,76 % Br; 7,67 % N; 8,75 % S.

N,N'-Dimethyl-S-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1f)

Výtěžek: 77 %; b.t.: 231,5-238,0 °C za rozkladu;

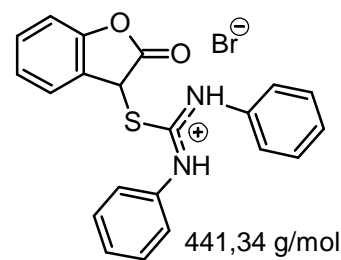
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 3,15 (s, 3H); 3,32 (s, 3H); 5,90 (s, 1H); 6,83 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 7,6 Hz, ³J_{H,H} = 0,8 Hz); 6,88 (d, 1H, ³J_{H,H} = 8,4 Hz); 7,24 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 8,0 Hz,



⁴J_{H,H} = 1,6 Hz.); 7,37 (d, 1H, ³J_{H,H} = 7,6); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 30,7; 33,2; 49,7; 115,7; 119,4; 119,8; 131,0; 131,5; 155,6; 171,2; 172,6; Elementární analýza pro C₁₁H₁₃BrN₂O₂S: Vypočteno 41,65 % C; 4,13 % H; 25,19 % Br; 8,83 % N; 10,09 % O; 10,11 % S Nalezeno 41,62 % C; 4,08 % H; 24,94 % Br; 8,79 % N; 10,03 % S.

***N,N'*-Difenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1g)**

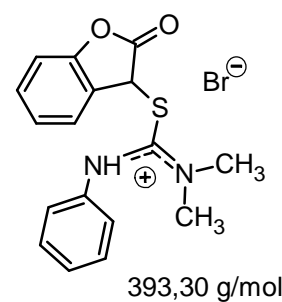
Výtěžek: 65 %; b.t.: 218,5-224,0 °C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 5,71 (s, 1H); 6,79 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,2 Hz); 6,85-6,90 (m, 3H); 7,06 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,2 Hz); 7,18 (dt, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1,2 Hz); 7,13-7,31 (m, 3H); 7,44-7,45 (m, 3H); 7,52-7,56 (m, 2H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 48,2; 115,9; 119,3; 121,0; 122,9; 124,4;



128,6; 128,8; 129,3; 129,4; 130,1; 130,9; 136,0; 148,2; 155,6; 173,2; Elementární analýza pro C₂₁H₁₇BrN₂O₂S: Vypočteno 57,15 % C; 3,88 % H; 18,10 % Br; 6,35 % N; 7,25 % O; 7,27 % S. Nalezeno 57,30 % C; 3,86 % H; 6,49 % N; 18,10% Br; 7,52 % S.

***N,N*-Dimethyl-*N'*-fenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1h)**

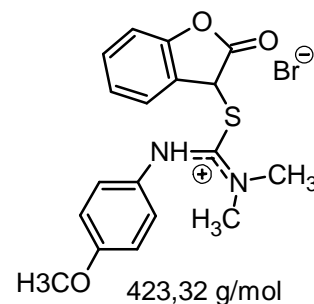
Výtěžek: 82 %; b.t.: 187,0-200,0 °C za rozkladu; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 2,82 (s, 3H); 3,46 (s, 3H); 6,13 (s, 1H); 6,87 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,6 Hz); 6,96 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8,4 Hz); 7,28 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,6 Hz); 7,42- 7,54 (m, 2H); 7,60-7,80 (m, 4H); 10,63 (s, 1H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 44,1; 45,7; 49,7; 115,8; 119,5; 119,8; 128,0; 129,3; 130,0;



130,1; 130,9; 131,2; 131,9; 134,7; 155,4; 171,4; 173,9; Elementární analýza pro C₁₇H₁₇BrN₂O₂S: Vypočteno 51,92 % C; 4,36 % H; 20,32 % Br; 7,12 % N; 8,14 % O; 8,15 % S Nalezeno 51,78 % C; 4,32 % H; 20,25 % Br; 7,10 % N; 8,08 % S.

***N,N*-Dimethyl-*N'*-(4-methoxyfenyl)-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (1i)**

Výtěžek: 83 %; b.t.: 199,0-207,5 °C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 2,86 (s, 3H); 3,45 (s, 3H); 3,84 (s, 3H); 6,10 (s, 1H); 6,87 (t, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,6 Hz); 6,96 (d, 1H, ³*J*_{H,H} = 8,0 Hz); 7,17 (dt, 2H, ³*J*_{H,H} = 7,2 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2,8 Hz); 7,28 (dt, 1H, ³*J*_{H,H} = 8,0 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1,6 Hz); 7,36 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8,8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2,8 Hz); 7,50 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 7,6 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 1,2 Hz); 7,56 (dd, 1H, ³*J*_{H,H} = 8,8 Hz, ⁴*J*_{H,H} = 2,8 Hz); 10,60 (s, 1H);



¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 43,9; 45,8; 49,4; 55,8; 115,1; 115,2; 115,8; 119,4; 119,8; 126,8; 129,3; 130,5; 131,1; 131,8; 155,4; 160,7; 171,5; 174,0; Elementární analýza pro

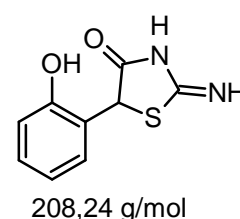
$C_{18}H_{19}BrN_2O_3S$: Vypočteno 51,07 % C; 4,52 % H; 18,88 % Br; 6,62 % N; 11,34 % O; 7,57 % S Nalezeno 51,27 % C; 4,47 % H; 18,86 % Br; 6,77 % N; 7,60 % S.

3.2.6 Cyklizace isothiuroniových solí (**1a-g**)

0,5 g Isothiuroniové sůli bylo suspendováno v 25 ml vody. Za stálého míchání bylo přidáno ekvivalentní množství 25% roztoku NH_4OH . Původní suspenze se postupně přesrážela a po dvou hodinách byla pevná látka zfiltrována, následně promyta 25 ml vody a surový produkt byl dále rekrystalizován ze směsi ethanol-voda (3:1). Tímto postupem byly získány příslušné cyklizáty (**2a-i**) isothiuroniových solí.

5-(2-Hydroxyfenyl)-2-imino-1,3-thiazolidin-4-on (**2a**)

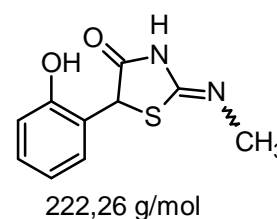
Výtěžek: 83 %; b.t.: 212,0-213,5 °C; 1H -NMR (DMSO- d_6): δ_H : 5,44 (s, 1H); 6,74-6,81 (m, 2H); 7,04 (d, 1H, $^3J_{H,H} = 7,6$ Hz); 7,12 (dt, 1H, $^3J_{H,H} = 8,0$ Hz, $^5J_{H,H} = 0,8$ Hz); 8,74 (s, 1H); 9,00 (s, 1H); 9,81 (s, 1H); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ_C : 54,7; 115,4; 119,2; 124,0; 129,2; 129,6; 155,5; 181,6; 188,4;



Elementární analýza pro $C_9H_8N_2O_2S$: Vypočteno 51,91 % C; 3,87 % H; 13,45 % N; 15,37 % O; 15,40 % S Nalezeno 51,62 % C; 3,88 % H; 13,35 % N; 15,32 % S.

5-(2-Hydroxyfenyl)-2-(methylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (**2b**)

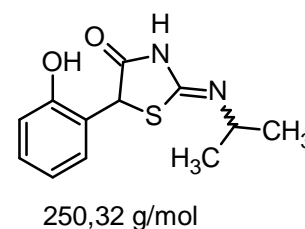
Výtěžek: 68 %; b.t.: 154,5-156,0 °C; 1H -NMR (DMSO- d_6): δ_H : 3,08 (s, 3H); 5,53 (s, 1H); 6,74-6,81 (m, 2H); 7,13-7,18 (m, 2H); 9,14 (s, 1H); 9,95 (s, 1H); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ_C : 28,4; 48,5; 115,7; 119,2; 123,2; 129,7; 130,3; 155,5; 157,6; 173,3. Elementární analýza pro



$C_{10}H_{10}N_2O_2S$: Vypočteno 54,04 % C; 4,53 % H; 12,60 % N; 14,40 % O; 14,43 % S. Nalezeno 53,92 % C; 4,49 % H; 12,55 % N; 14,33 % S.

5-(2-Hydroxyfenyl)-2-(isopropylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (**2c**)

Výtěžek: 68 %; b.t.: 126,0-127,0 °C; 1H -NMR (DMSO- d_6): δ_H : 1,21 a 1,42 (dd a d, 6H; $^3J_{H,H} = 6,4$ Hz a $^3J_{H,H} = 6,8$ Hz); 4,13-4,14 a 4,70 (m a m, 1H); 5,38 a 5,41 (s a s, 1H); 6,74-6,82 (m, 1H); 7,03-7,15 (m, 2H); 9,09 (s, 1H); 9,90 (s, 1H); ^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ_C : 18,0; 18,3; 21,7; 21,8;

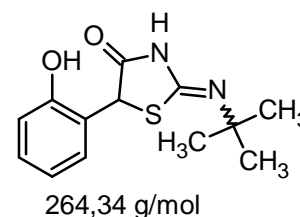


22,2; 45,8; 46,7; 47,0; 53,1; 115,3; 115,5; 118,9; 119,0; 124,0; 128,7; 128,9; 129,2; 129,5; 155,3; 177,6; 187,3; Elementární analýza pro $C_{12}H_{14}N_2O_2S$: Vypočteno 57,58 %

C; 5,64 % H; 11,19 % N; 12,78 % O; 12,81 % S Nalezeno 57,55 % C; 5,51 % H; 11,02 % N; 12,08 % S.

2-(*tert*-Butylimino)-5-(2-hydroxyfenyl)-1,3-thiazolidin-4-on (2d)

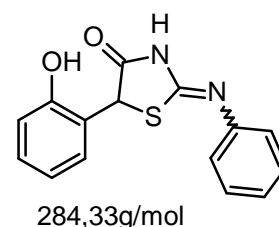
Výtěžek: 95 %; b.t.: 137,5-139,5 °C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 1,45 (s, 9H); 5,37 (s, 1H); 6,79-6,85 (m, 2H); 7,03-7,07 (m, 2H); 7,13-7,18 (m, 2H); 8,96 (s, 1H); 9,78 (brs, 1H). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 28,4 (3·C); 52,6; 54,9; 115,4; 119,2; 124,2; 129,0; 129,4; 155,5; 177,1; 188,2.



Elementární analýza pro C₁₃H₁₆N₂O₂S: Vypočteno 59,07 % C; 6,10 % H; 10,60 % N; 12,11 % O; 12,13 % S Nalezeno 58,89 % C; 6,02 % H; 6,03 % N; 11,93 % S.

5-(2-Hydroxyfenyl)-2-(fenylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (2e)

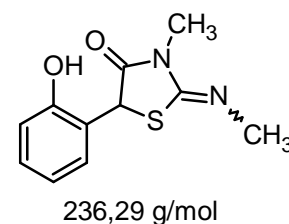
Výtěžek: 71 %; b.t.: 200,0-202,5 °C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 5,53 (s, 1H); 6,76-6,83 (m, 2H); 6,97 (d, 1H, ³J_{H,H} = 6,4 Hz); 7,10-7,17 (m, 3H); 7,32-7,43 (m, 2H); 7,75 (d, 1H, ³J_{H,H} = 6,4 Hz); 9,95 (d, 1H); 11,47 (d, 1H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 49,7; 53,6; 88,2; 115,1; 115,6; 118,5; 119,2;



120,4; 121,6; 122,8; 123,3; 124,7; 128,4; 128,7; 129,2; 129,4; 129,8; 130,2; 138,9; 154,4; 155,6; 173,7; 176,9; 188,8; Elementární analýza pro C₁₅H₁₂N₂O₂S: Vypočteno 63,36 % C; 4,25 % H; 9,85 % N; 11,25 % O; 11,28 % S. Nalezeno 63,25 % C; 4,22 % H; 9,75 % N; 11,15 % S.

5-(2-Hydroxyfenyl)-3-methyl-2-(methylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (2f)

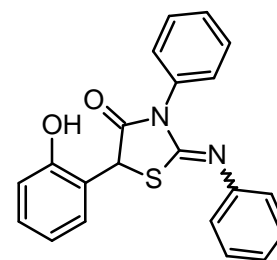
Výtěžek: 80 %; b.t.: 136,0-161,0 °C za rozkladu ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 3,04 (s, 3H); 3,11 (s, 3H); 5,58 (s, 1H); 6,77-6,83 (m, 2H); 7,16-7,20 (m, 2H); 10,04 (s, 1H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 29,4; 37,5; 47,7; 115,7; 119,3; 122,7;



130,0; 130,5; 155,5; 156,0; 173,0; Elementární analýza pro C₁₁H₁₂N₂O₂S: Vypočteno 55,91 % C; 5,12 % H; 11,86 % N; 13,54 % O; 13,57 % S Nalezeno 55,90 % C; 5,09 % H; 11,81 % N; 13,50 % S.

5-(2-Hydroxyfenyl)-3-fenyl-2-(fenylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (2g)

Výtěžek: 88 %; b.t.: 217,0-219,5 °C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ_H: 5,70 (s, 1H); 6,80 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 7,2 Hz, ⁵J_{H,H} = 0,8 Hz); 6,87 (ddd, 1H, ³J_{H,H} = 7,2 Hz, ⁴J_{H,H} = 2,8 Hz, ⁵J_{H,H} = 1,2 Hz); 7,07 (t, 1H, ³J_{H,H} = 8,4 Hz); 7,2 (dt, 1H, ³J_{H,H} = 8 Hz, ⁴J_{H,H} = 1,6 Hz); 7,28-7,32 (m, 3H); 7,44-7,48 (m, 3H); 7,54 (m, 2H); 10,30 (brs, 1H). ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ_C: 48,1; 115,8; 119,2; 120,9; 122,9; 124,3; 128,5; 128,7; 129,2;



360,42 g/mol

129,3; 130,1; 130,9; 136,0; 148,3; 155,4; 155,6; 173,1; Elementární analýza pro C₂₁H₁₆N₂O₂S: Vypočteno 69,98 % C; 4,47 % H; 7,77 % N; 8,88 % O; 8,90 % S. Nalezeno 69,77 % C; 4,38 % H; 7,61 % N; 8,65 % S.

3.3 Použité chemikálie

K přípravě látek bylo použito chemikálií dodávaných komerčně firmami Sigma Aldrich, Acros Organics a Maybridge.

3.4 Elementární analýza

Elementární analýza byla provedena na přístroji FISON Instruments EA 1108 CHN.

3.5 Měření NMR spekter

NMR spektra byla měřena na spektrometru Bruker Avance III 400 při frekvencích 400,13 MHz (¹H) a 100,61 MHz (¹³C). Jako rozpouštědlo byl použit hexadeuterovaný dimethylsulfoxid (DMSO-*d*₆) a deuterovaný chloroform (CDCl₃). Chemické posuny δ_H a δ_C byly vztaženy ke středům signálu multipletu rozpouštědla (δ_H = 2,50 ppm a δ_C = 39,6 ppm pro DMSO a δ_H = 7,26 ppm a δ_C = 77,0 ppm pro chloroform). Uhlíková NMR spektra byla měřena s širokopásmovým dekaplinkem protonů buď standardním způsobem anebo s použitím pulzní sekvence APT, kterou byly rozlišeny skupiny CH, CH₂, CH₃ a C_{kvartérní}. Spektra isothiuroniových solí musela být změřena ihned po přípravě vzorku.

3.6 Měření hmotnostních spekter

Uvedená hmotnostní spektra byla měřena na sestavě firmy Agilent Technologies (plynový chromatograf 6890N s hmotnostním detektorem 5973 Network). Vzorky byly rozpouštěny v acetonu.

3.7 Příprava roztoků pufrů

Zásobní roztoky *N*-methylmorfolinových (NMF), tris(hydroxymethyl)aminomethanových (TRIS) a diethanolmethylaminových (MDEA) pufrů byly připraveny navážením příslušných množství aminů a jejich částečnou neutralizací roztokem kyseliny chlorovodíkové o známé koncentraci. Z těchto zásobních roztoků bylo odpipetováno příslušné množství do 25 ml odměrných baněk a doplněno vypočteným množstvím 2M roztoku KCl a redestilovanou vodou tak, aby hodnota iontové síly byla $I = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

3.8 Měření pH roztoků pufrů

Měření bylo provedeno na přístroji PHM 93 RADIOMETER COPENHAGEN. Kalibrace pH metru byla provedena vždy na dva pufrы standardní série IUPAC od firmy Radiometer.

3.9 Kinetická měření

Kinetická měření byla provedena na přístroji HP UV/VIS 8453 Diode Array v kyvetě tloušťky 1 cm temperované na 25 °C. Do kyvety byly pipetovány 2 ml roztoku pufru a nechány 3 minuty temperovat. Po temperaci bylo do kyvety nastříknuto takové množství methanolickeho roztoku substrátu **2e**, aby se hodnoty absorbance nalézaly v rozmezí 0,2-0,8. K výpočtům pozorovaných rychlostní konstant bylo použito programu KINETIKA. Pozorovaná rychlostní konstanta byla vypočtena při vlnové délce, při které docházelo k největší změně absorbance – typicky v oblasti absorpčního pásu produktu ($\lambda = 262 \text{ nm}$).

4 Výsledky a diskuse

4.1 Zhodnocení syntézy

Výchozí (2-hydroxyfenyl)octová kyselina (**4a**) byla zakoupena od firmy Maybridge, kdežto komerčně nedostupná (2-hydroxy-5-methoxyfenyl)octová kyselina (**4b**) byla získána *Willgerodtovou-Kindlerovou* reakcí z 2-hydroxy-5-methoxyacetofenonu (**6**) podle postupu popsáno v literatuře¹⁵ (Schéma 36). Při této reakci byl 2-hydroxy-5-methoxyacetofenon (**6**) rozpuštěný v morfolinu zahříván k varu (cca 130 °C) za přítomnosti síry a *p*-toluensulfonové kyseliny. Následně byla při 100 °C provedena hydrolyza vzniklého meziprojektu hydroxidem sodným za přítomnosti tetrabutylamonium-bromidu jako katalyzátoru fázového přenosu. Vzniklý produkt však obsahoval okolo 5-10% nečistot, které nebylo možné oddělit chromatografií resp. jednoduchou krystalizací. Proto byl použit postup převzatý z literatury⁵⁷, spočívající v přidavku karborafinu do roztoku surové reakční směsi při 70 °C. Tímto postupem se sice podařilo získat čistý produkt **4b** avšak pouze ve výtěžku okolo 21%.

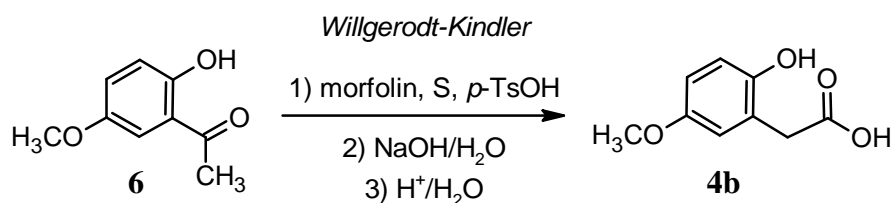


Schéma 36

Laktonizace kyselin **4a** a **4b** na 1-benzofuran-2(3*H*)-ony **5a** a **5b** byly provedeny buď azeotropickou destilací s xylenem dle postupu¹³ (takto byl připraven lakton **5a**) nebo působením trifluoracetanhydridu¹⁴ při laboratorní teplotě (příprava **5b**) (Schéma 37).

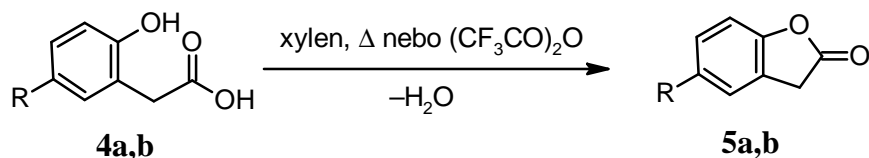


Schéma 37

U takto získaných laktonů bylo zapotřebí zavést do polohy 3 jeden atom bromu jako dobrou odstupující skupinu. Nejprve byla vyzkoušena radikálová bromace laktonu **4a** *N*-bromsukcinimidem v tetrachlormetanu⁵⁹, avšak požadovaný 3-brom-2-benzofuran-1(3*H*)-on (**3a**) nebyl v reakční směsi po reakci vůbec detekován (TLC). Namísto něj byla získána oranžová kapalina neznámého složení. Chováním 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-onu (**3a**) za podmínek radikálové reakce se nedávno zabývali⁶⁰ *Scaiano et al.*, kteří zjistili, že tato látka tvoří při fotolýze relativně stabilní radikál (vznikající pravděpodobně i při radikálové bromaci), podléhající přeměnám na 3-benzyl-1-benzofuran-2(3*H*)-on, benzylbromid a také na odpovídající dimer. Kromě toho se v molekule 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-onu (**3a**) nachází v poloze 3 kyselý vodík, jehož odštěpením může vznikat karbaniont schopný nukleofilně atakovat druhou molekulu **3a** za vzniku oranžového⁶¹ isoxindiga (Schéma 38). Vznik isoxindiga při bromaci však doposud nebyl definitivně potvrzen.

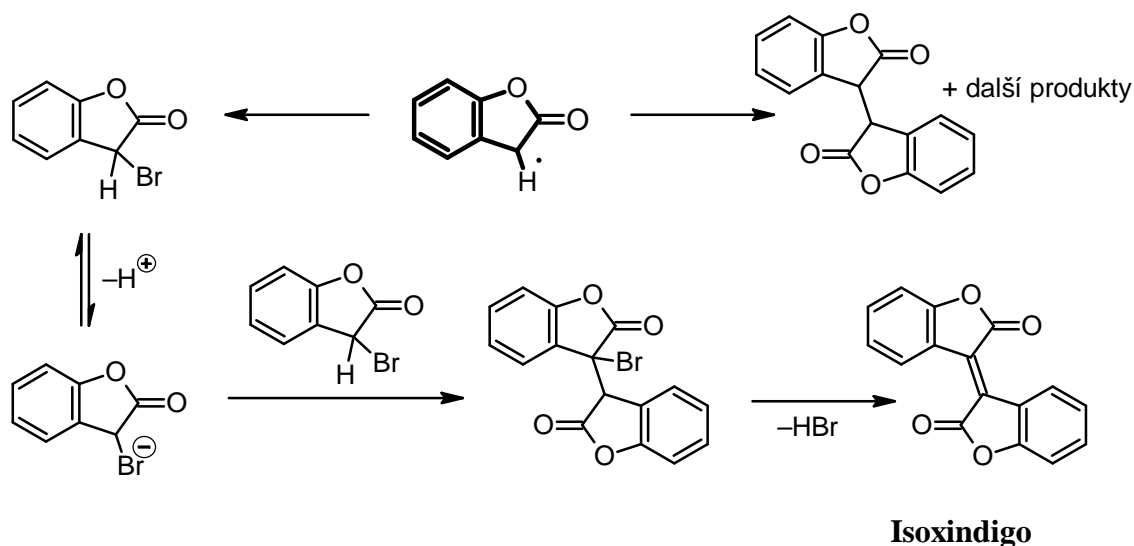


Schéma 38

Na základě literární rešerše byl nalezen alternativní postup bromace pomocí komplexu dioxanu a bromu v etheru při laboratorní teplotě. Tímto postupem již byl získán požadovaný 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-on (**3a**) (Schéma 39) v cca 60% výtěžku. 3-Brom-1-benzofuran-2(3*H*)-on (**3a**) je nestabilní a proto bylo nutné jej co nejdříve použít k dalším reakcím, nebo jej krátkodobě uchovávat v mrazicím boxu.

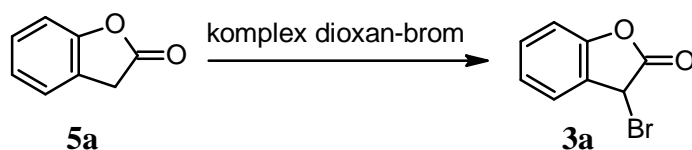
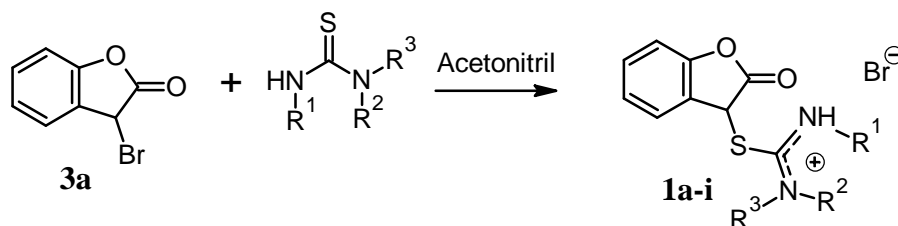


Schéma 39

U 5-methoxy-1-benzofuran-2(3*H*)-onu (**5b**) byl rovněž učiněn pokus o bromaci uvedeným postupem, avšak po přidání etherového roztoku komplexu dioxan-brom se okamžitě vysrážela pevná červená látka. Po 24 hodinovém míchání bylo rozpouštědlo odpařeno a vzniklý produkt se začal okamžitě na vzduchu rozkládat. Z tohoto důvodu nebyl 3-brom-5-methoxy-1-benzofuran-2(3*H*)-on (**3b**) získán a nemohl být tedy použit pro další přípravu isothiuroniových solí. Vzniklý červeně zbarvený produkt by mohl odpovídat substituovanému isoxindigu – jeho struktura však nebyla potvrzena.

Isothiuroniové soli **1a-i** byly proto připraveny pouze reakcí 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-onu (**3a**) s různě substituovanými thiomocovinami v acetonitrilu. Po několikahodinovém stání při laboratorní teplotě se z roztoku vyloučily krystaly odpovídajících isothiuroniových solí **1a-i** (Schéma 40). Výtěžky takto získaných solí se pohybovaly v rozmezí 65-87%. Vzniklé isothiuroniové soli jsou poměrně nestabilní a již v samotné vodě dochází k jejich přesmyku na odpovídající deriváty 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu. Z tohoto důvodu bylo nutné provést charakterizaci isothiuroniových solí pomocí ¹H, ¹³C NMR spektroskopie a elementární analýzy prakticky ihned po jejich přípravě.



	a	b	c	d	e	f	g	h	i
R ¹	H	H	H	H	H	CH ₃	Ph	Ph	4-CH ₃ OPh
R ²	H	CH ₃	<i>i</i> -Pr	<i>t</i> -Bu	Ph	CH ₃	Ph	CH ₃ ,	CH ₃ ,
R ³	H	H	H	H	H	H	H	CH ₃	CH ₃

Schéma 40

O nestabilitě isothiuroniových solí svědčí i fakt, že reakcí⁶² 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)-onu (**3a**) s 1-cyklohexylthiomocovinou v acetonu při 60 °C bez přítomnosti báze vzniká přímo produkt cyklizace (Schéma 41).

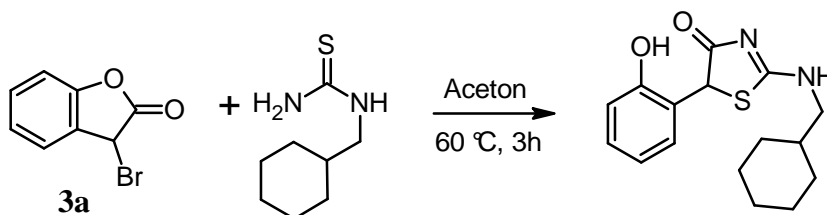
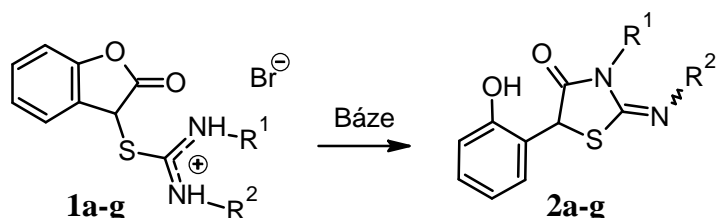


Schéma 41

Mnou izolované isothiuroniové soli **1a-g** byly suspendovány ve vodě a k této suspenzi bylo přidáno ekvivalentní množství vodného roztoku amoniaku. Za těchto podmínek došlo během několika desítek minut k jejich přesmyku na substituovaný 2-imino-1,3-thiazolidin-4-on (Schéma 42). V případě solí **1h-i**, které nemohou cyklizovat se sice při předběžných kinetických pokusech prokázal jejich rozklad, avšak struktura produktů tohoto rozkladu nebyla doposud určena.



	a	b	c	d	e	f	g
R ¹	H	H	H	H	H	CH ₃	Ph
R ²	H	CH ₃	<i>i</i> -Pr	<i>t</i> -Bu	Ph	CH ₃	Ph

Schéma 42

4.2 Struktura připravených 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onů

Při přesmyku *N*-substituovaných isothiuroniových solí mohou vznikat formálně dva isomerní produkty, lišící se polohou substituentu na atomu dusíku. Jak u *N*-fenyli⁶ tak i u *N*-alkylisothiuroniových^{3,4} solí však bylo zjištěno, že karbonylovou skupinu laktamu resp. laktonu přednostně atakuje nesubstituovaný dusík (*N'*) a alkylový resp. arylový substituent zůstává vždy vázán na iminoskupině vznikajícího 2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu (Schéma 43).

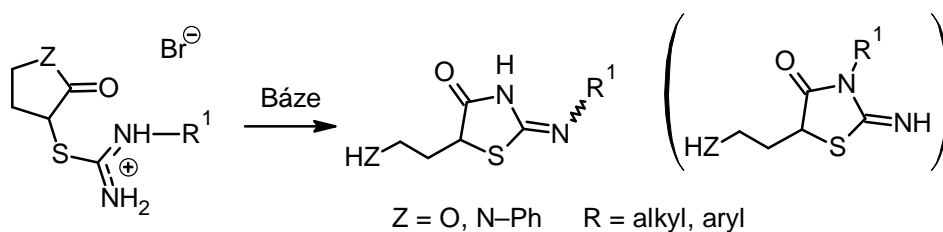


Schéma 43

Důvodem jsou jednak elektronické efekty (fenylskupina silně snižuje nukleofilitu dusíku delocalizací volného elektronového páru) a sterický vliv (alkyl i arylskupiny stíní dusík, který pak jen obtížně atakuje karbonylovou skupinu). Dominanci sterického efektu v tomto případě potvrzuje i zhruba trojnásobný rozdíl

v reaktivitě na dusících nesubstituované a N,N' -dimethylisothiuroniové soli odvozené od 3-brom-1-fenylpyrrolidin-2-onu⁵ ($k_{\text{OH}}^{\text{H}} > k_{\text{OH}}^{\text{Me}}$).

Vzniklé 2-(subst.imino)-1,3-thiazolidin-4-ony **2a-g** se mohou dále vyskytovat ve dvou tautomerních formách s endocyklickou a exocyklickou dvojnou vazbou, z nichž exocyklická forma může mít konfiguraci iminové vazby (*E*)- nebo (*Z*)- (Schéma 44). Všechny tři formy (65 % endo, 17,5 % *exo-E* a 17,5 % *exo-Z*) byly pozorovány například u 2-methylimino-5-[2-(4-nitrofenylamino)ethyl]thiazolidin-4-onu³ v roztoku hexadeuteriodimethylsulfoxidu. Naproti tomu deriváty thiazolidin-4-onu vznikající přesmykem N,N -disubstituovaných isothiuroniových solí⁶ mohou obsahovat pouze endocyklickou dvojnou vazbu, jejíž poloha je fixována disubstituovanou aminoskupinou, neschopnou tautomerního přesmyku.

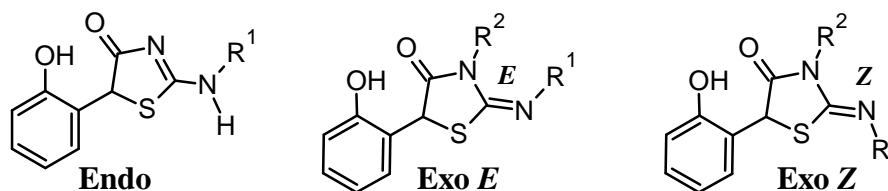
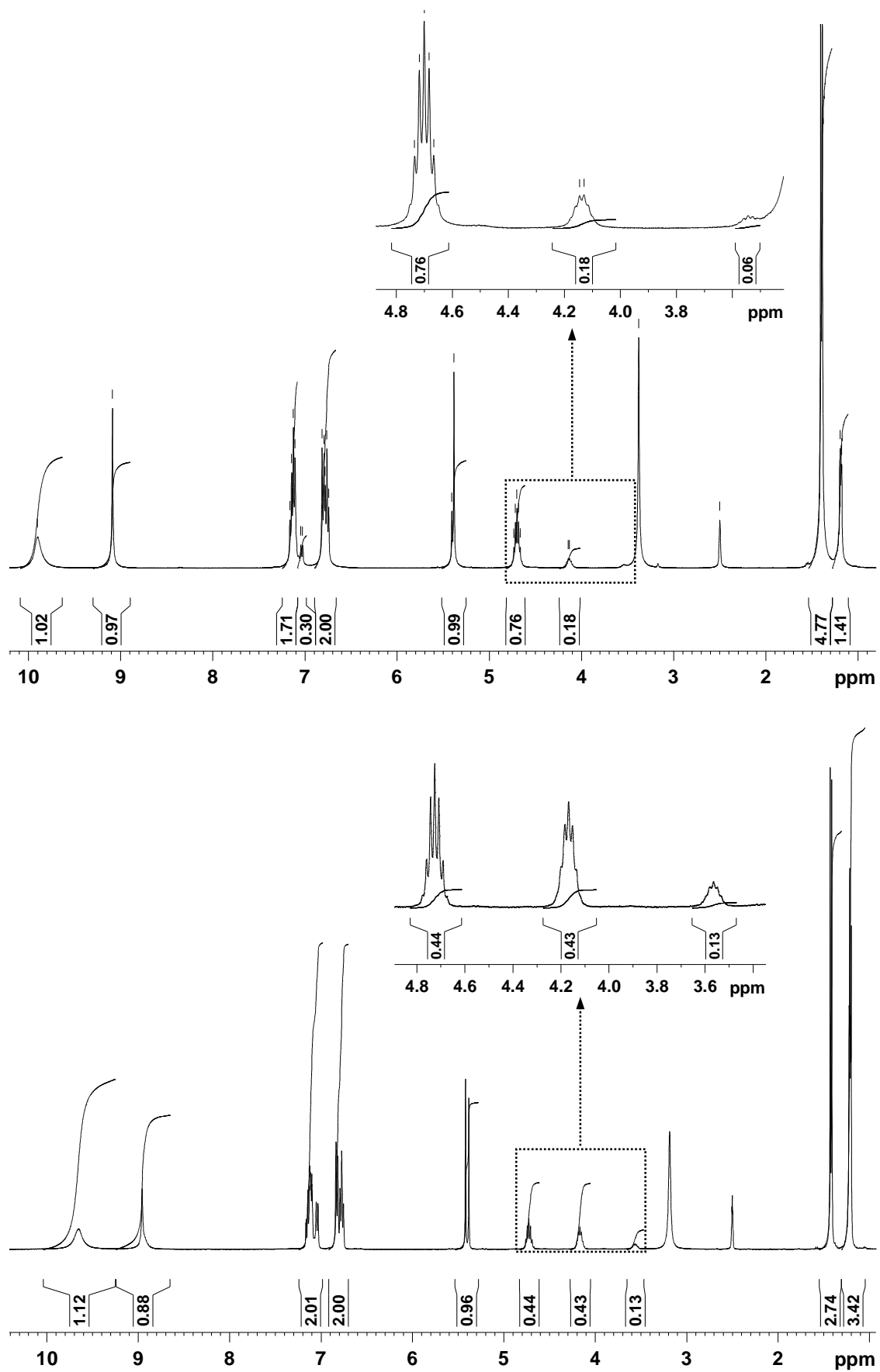


Schéma 44

V mém případě jsem se zabýval strukturou produktu přesmyku nesubstituované soli **1a**, monosubstituovaných solí **1b-e** a N,N' -disubstituovaných solí **1f,g**. U produktu transformace soli **1a** je v ¹H NMR spektru patrná pouze jedna sada signálů odpovídající exocyklickému produktu (tj. dva rozšířené singlety NH skupin a nikoliv jen jeden příslušející skupině NH₂). U produktů **2b** a **2c** vzniklých z N -monosubstituovaných solí **1b** a **1c** (substituentem je methyl a isopropyl skupina) byly v ¹H NMR spektru pozorovány všechny tři tautomerní resp. isomerní formy, jejichž zastoupení se mění s teplotou. Ustavování této rovnováhy je relativně pomalé – v bezprostředně po sobě změřených ¹H NMR spektrech lze při zahřátí pozorovat měnící se intenzitu (integrál) signálů příslušejících jednotlivým formám. O relativní stabilitě jednotlivých forem rovněž svědčí fakt, že surový produkt získaný po transformaci soli **1b** obsahuje jiný dominantní isomer než produkt po krystalizaci (tj. po zahřívání ve vodném ethanolu k varu). Změnu integrální intenzity píků příslušných jednotlivým formám při zahřívání nejlépe znázorňuje Obrázek 1 u protonu CH isopropylvé skupiny a částečně také v aromatickém regionu ¹H NMR spektra. Podobně lze pozorovat změnu integrální intenzity protonů CH₃ skupiny u produktu **1b**.

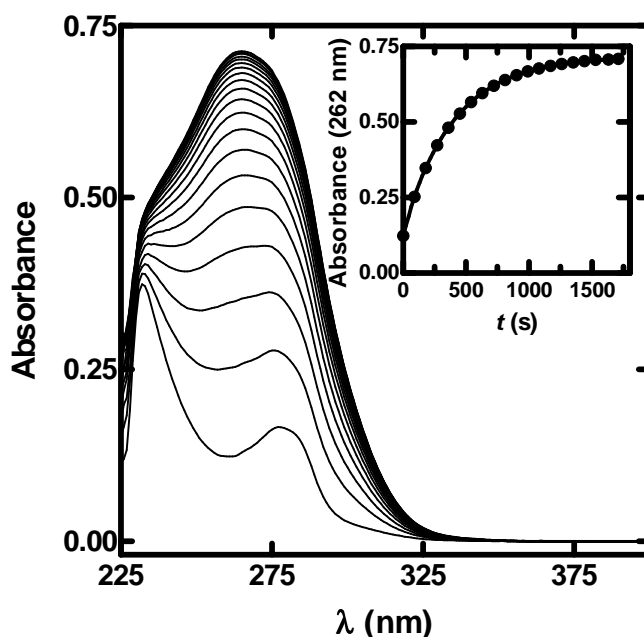


Obrázek 1- ^1H NMR spektrum látky **2c** při 25 °C (nahore) a 60 °C (dole; měřeno cca 5 minut po zahřátí).

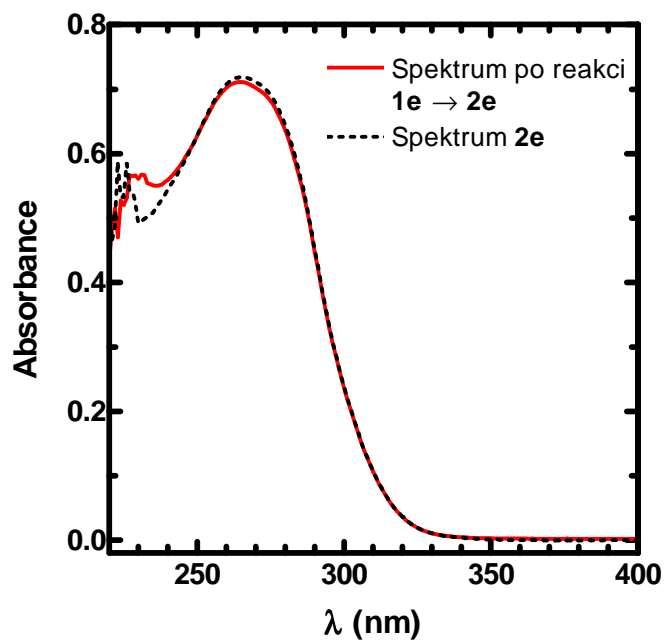
4.3 Kinetická měření

Rychlost přesmyku isothiuroniových solí **1a-i** silně závisí na substituentech přítomných na atomu resp. obou atomech dusíku isothiuroniové části. Zatímco u nesubstituované soli **1a**, monoalkylsubstituovaných solí **1b-d** a *N,N'*-dimethyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium bromidu (**1f**) je rychlost přesmyku příliš vysoká i v pufrch s nízkým pH, lze kinetiku přesmyku *N*-fenyl soli **1e** a *N,N'*-difenyl soli **1h** sledovat spektrofotometricky. Důvodem vysoké rychlosti přesmyku solí **1a-d** je zejména dobrá odstupující skupina (fenolát) v kombinaci s relativně silným interním nukleofilem (iminový dusík volné isothiomočoviny). Naproti tomu fenylskupina snižuje nukleofilitu iminového dusíku i hodnotu pK_a výchozí isothiuroniové soli (reaktivní formou je volná isothiomočovina). Z tohoto důvodu byl pro podrobnější kinetické studium vybrán *N*-fenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromid (**1e**).

Kinetika přesmyku soli **1e** (Obrázek 2) byla studována za podmínek pseudoprvního řádu ve vodných tris(hydroxymethyl)aminomethanových (TRIS), methylmorfolinových (NMF) a *N*-methyl-diethanolaminových (MDEA) pufrch při 25 °C a iontové síle $I = 1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Nejprve bylo srovnáním UV-VIS spektra reakční směsi po reakci se spektrem nezávisle připraveného standardu ověřeno (Obrázek 3), že za uvedených podmínek je konečným produktem reakce 5-(2-hydroxyfenyl)-2-(fenylimino)-1,3-thiazolidin-4-on (**2e**).

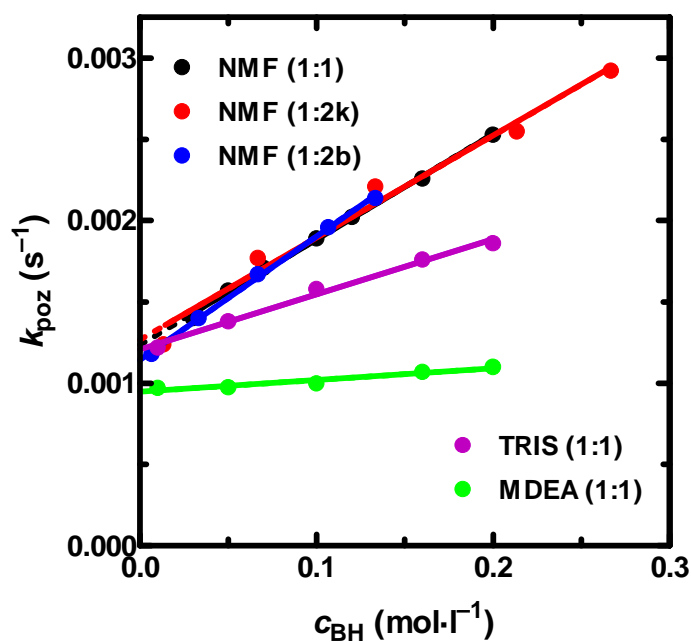


Obrázek 2 – Spektrální záznam reakce **1e** \rightarrow **2e** v *N*-methylmorfolinovém pufru (1:1) při pH = 7,95. Spektra snímána v 90 s intervalech. Inset: Kinetická křivka při 262 nm.



Obrázek 3 – Srovnání spekter produktu $2e$ a reakční směsi po reakci $1e \rightarrow 2e$ v *N*-methylmorfolinovém pufru (1:1) při $\text{pH} = 7,95$ a stejné koncentraci $1e$ a $2e$.

(Obrázek 4) dané hodnotou pH .



Obrázek 4 – Závislost pozorované rychlostní konstanty (k_{poz}) na koncentraci kyselé složky NMF, TRIS a MDEA pufru (c_{BH}).

Protože lze předpokládat, že pK_a výchozí soli **1e** bude podobné, nebo dokonce nižší než hodnota 6,7 určená pro strukturně příbuzný *S*-(2-oxotetrahydrofuran-3-yl)-*N*-(4-methoxyfenyl)isothiouronium-bromid, není nutné provádět korekci pozorované rychlostní konstanty. Téměř veškerá sůl je i v nejkyseljším *N*-methylmorfolinovém pufru (1:2k, pH = 7.69) převedena na svou konjugovanou bázi (volnou isothiomočovinu), která je reaktivním species při vlastním přesmyku.

Z Obr. 4 vyplývá, že přesmyk isothiuroniové soli **1e** je katalyzován pouze kyselou složkou pufrů. Uplatnění této obecné kyselé katalýzy vyjádřené hodnotou k_{BH} (Tabulka 1) výrazně klesá s klesající aciditou kyselé složky pufru vyjádřené pomocí $pK_a(BH^+)$ této kyselé složky pufru.

Tabulka 1 – Katalytické konstanty k_{BH} změřené v jednotlivých pufrech.

Pufr (BH^+/B)	pH	$pK_a(BH^+)^{63}$	$10^3 \cdot k_{BH}$ ($l \cdot mol^{-1} s^{-1}$)
NMF (1:2k)	7,69	7,41	6,285
NMF (1:1)	7,95	7,41	6,488
NMF (1:2b)	8,24	7,41	7,587
TRIS (1:1)	8,36	8,10	3,383
MDEA (1:1)	9,03	8,52	0,720

Z měření v pufrech lze konstruovat Brønstedovu závislost $\log k_{BH}$ vs. $\log K_a(BH^+)$ a z ní odhadnout hodnotu Brønstedova koeficientu $\alpha \approx 0,9$. Tuto hodnotu, která je blízká limitní hodnotě 1, lze interpretovat tak, že kyselá složka pufru je mnohem slabší než konjugovaná kyselina reaktivního species, které se v průběhu přesmyku rozpadá na produkty a rychlost určujícím dějem je difúze obou komponent tvořících reaktivní species od sebe po skončení předchozího přenosu protonu⁵⁶. Jinými slovy lze říci, že v tranzitním stavu tohoto rychlost určujícího stupně je proton z více než 90% přenesen z kyseliny na klíčovou species. Na základě předchozích kinetických studií⁷ analogického laktonu se jeví jako nepravděpodobnější reaktivní species neutrální intermediát T^0 , jehož obecně kyselé katalyzovaným rozpadem vzniká konečný produkt **2e** (Schéma 45). Role obecné kyseliny (kyselé složky pufru) spočívá v protonaci kyslíku a zlepšení kvality odstupující skupiny (fenolátu na fenol). Fenol resp. fenolát jsou mnohonásobně lepšími odstupujícími skupinami než alkohol resp. alkoholát a není tak zapotřebí otevření nové reakční cesty vedoucí přes intermediát T^- , které by vyžadovalo uplatnění bazické katalýzy.

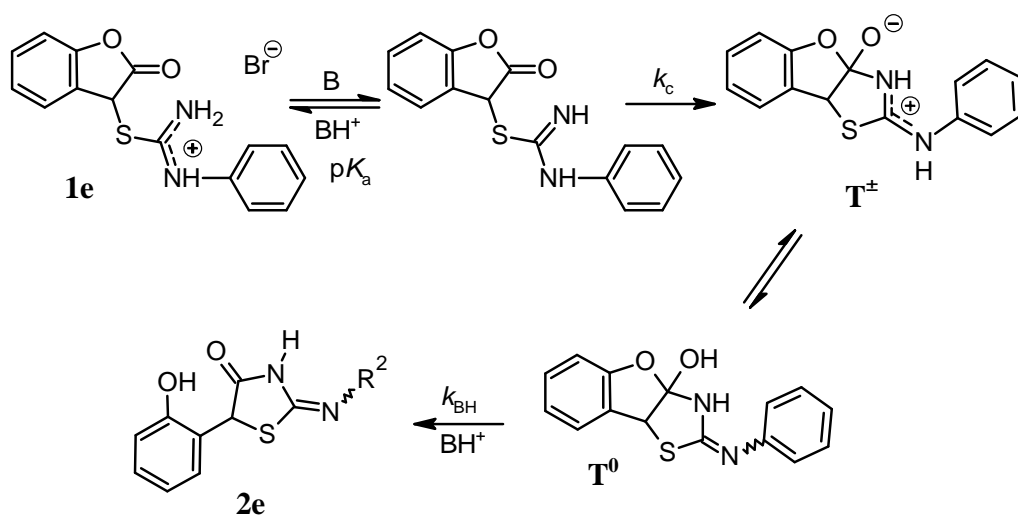


Schéma 45

5 Seznam použité literatury

1. Macháček V., El-Bahaie S., Štěrbá V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1979**, *44*, 912-917.
2. Kaválek J., El-Bahaie S., Štěrbá V.: *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1980**, *45*, 263-268.
3. Sedlák M., Hejtmánková L., Hanusek J., Macháček V.: *J. Heterocycl. Chem.* **2002**, *39*, 1105-1107.
4. Sedlák M., Hanusek J., Hejtmánková L., Kašparová P.: *Org. Biomol. Chem.* **2003**, *1*, 1204-1209.
5. Hanusek J., Hejtmánková L., Štěrbá V., Sedlák M.: *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1756-1763.
6. Váňa J., Hanusek J., Růžička A., Sedlák M.: *J. Heterocycl. Chem.* **2009**, *46*, 635-639.
7. Váňa J., Sedlák M., Hanusek J.: *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3729-3736.
8. Kammel R. Příprava a reakce isothiuroniových solí odvozených od 3-brom-3*H*-isobenzofuran-1-onu. *Bakalářská práce*. Univerzita Pardubice, **2010**.
9. Hajós G., Riedl Z., Kollenz G.: *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *18*, 3405-3414.
10. Ge H. M., Zhu Ch. H., Shi D. H., Zhang L. D. Xie D. Q., Yang J., Ng S. W., Tan R. X.: *Chem Eur. J.* **2008**, *14*, 376-381.
11. Inman W. D., Luo J., Jomand S. D., Kind S. R., Cooper R.: *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1088-1092.
12. Garduño-Ramírez M. L., Trejo A., Navarro V., Bye R., Linares E., Delgado G.: *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1088-1092.
13. Kadin S. B.: *J. Med. Chem.* **1972**, *15*, 551-552.
14. Eliger C. A., Waiss A. C., Lundin R. E.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1973**, 2209-2212.
15. Venkateswarlu S., Panchagnula G. P., Guraiah M. B., Subbaraju G. V.: *Tetrahedron* **2005**, *61*, 3013-3017.
16. Venkateswarlu S., Panchagnula G. P., Guraiah M. B., Subbaraju G. V.: *Tetrahedron* **2006**, *62*, 9855-9860.

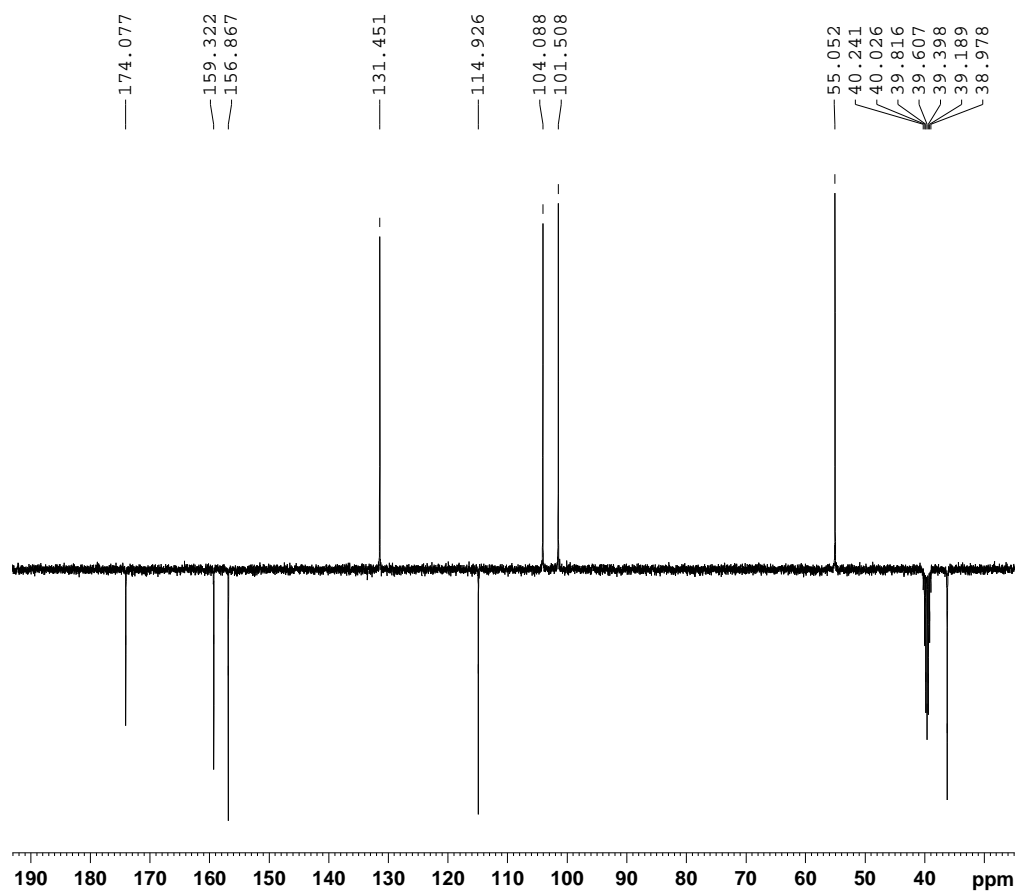
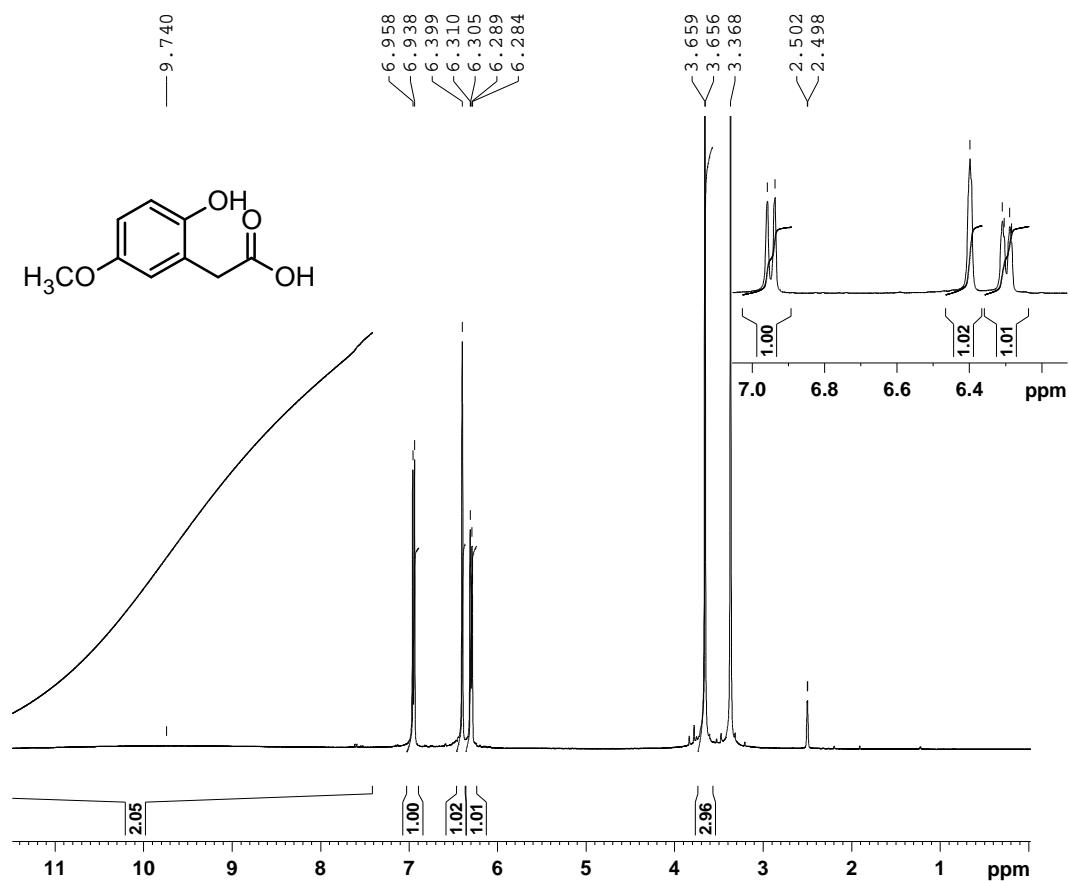
17. Zhang J., Balaraman E., Leitus G., Milstein D.: *Organometallics* **2011**, *30*, 5716-5724.
18. Zhang J.-L., Che C.-M.: *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 3899-3914.
19. Motallebi S., Müller P.: *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 2803-2813.
20. Lin Yong-Shou, Yamamoto A.: *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3747-3750.
21. Garrod, L. P.: *Br. Med. J.* **1960**, 5214, 1695-1696.
22. Gubler C. J.: *J. Biol. Chem.* **1961**, *236*, 3112-3120.
23. Cantello B. C. C., Cawthorne M. A., Cottam G. P, Duff P. T., Haigh D., Kindley R. M., Lister C .A., Smith S. A., Thurlby P. L.: *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3977-3985.
24. Lehman J. M., Moore L B., Smitholiver T. A., Wilkinson W. O., Wilson T. M., Kliewer S. A.: *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 12953-12956.
25. Kvapil M.: *Farmakoterapie* **2005**, 26-29.
26. Lewis J. R.: *Nat. Prod. Rep.* **2002**, *19*, 223-258.
27. Pattenden G., Mulqueen B., Falck J.: *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 5705-5708.
28. Hawkins C. J., Lavin M. F, Marshall K. A., van den Brenk A. L., Watters D. J.: *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1634-1638.
29. Lai J.-H. Yu J., Makennen B., Falck J.: *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 7167-7170.
30. Muir R. D., Shamleffer V. J., Jones L. R.: *J. Bacteriol.* **1942**, *44*, 95-110.
31. Ie Y., Chatani N., Ogo T., Marshall D. R., Fukuyama T., Kakiuchi F., Murai S.: *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1475-1488.
32. Christiaens L., Luxen A., Evers M., Thibaut P., Mbuyi M., Welter A.: *Chem. Scr.* **1984**, *24*, 178-184.
33. Abrunhosa I., Gulea M., Levillain J., Masson S.: *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, *12*, 2851-2859.
34. Andreani A., Rambaldi M., Leoni A., Locatelli A., Bossa R., Chiericozzi M., Galatulas I., Salvatore G.: *Eur. J. Org. Chem.* **1996**, 383-387.
35. Bakbardina O. V., Nurmagambetova R. T., Gazaliev M. A., Fazylov S. D., Temreshev I. I.: *Pharm. Chem. J.* **2006**, *40*, 537-539.

36. Insuasty B., Insuasty A., Tigreros A., Quiroga J., Abonia R., Nogueras M., Cobo J., Derita M., Zacchino S.: *J. Heterocycl. Chem.* **2011**, *48*, 347-350.
37. Abdel-Ghani E.: *J. Chem. Res. Synop.* **1999**, *3*, 174-175.
38. Sortino M., Delgado P., Juárez S. F., Quiroga J., Abonía R., Insuasty B., Nagueras M., Rodero L., Gariboto F. M., Enriz R. D., Zacchino S. A.: *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 484-494.
39. Irvine M. W., Patrick G. L., Kewney J., Hastings S. F., MacKanzie J. S.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2032-2037.
40. Redeman C. E., Icke R. N., Alles G. A.: *Org. Synth.* **1947**, *27*, 73.
41. Yilmaz E. M., Doğan İ.: *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 2184-2191.
42. Kallenberg S.: *Chem. Ber.* **1923**, *56*, 316-331.
43. Wheeler H. L., Barnes B.: *American Chemical Journal* **1900**, *24*, 60-82.
44. Allen C. F. H., VanAllan J. A.: *Org. Synth.* **1955**, *Coll. Vol. 3*, 751; **1947** *Vol. 27*, 71.
45. Ottanà R., Maccari R., Barreca M. L., Bruno G., Rotondo A., Rossi A., Chiricosta G., Di Paola R., Sautebin L., Cuzzocrea S., Vigorita M. G.: *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4243-4252.
46. Arakelian A. N., Dunn H., Grieshammer L. L., Coleman L. E.: *J. Org. Chem.* **1960**, *25*, 465-467.
47. Güzeldemirci N. U., Ilhan E., Küçükbasmaci Ö., Satana D.: *Arch. Pharm. Res.* **2010**, *33*, 17-24.
48. Hendry C. M.: *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 973-976.
49. Wheeler H. L., Johnson T. B.: *J. Am. Chem. Soc.* **1902**, *24*, 680-690.
50. Demir-Ordu Ö., Yılmaz E. M., Doğan İ.: *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 3752-3761.
51. Ried W., Kuhnt D.: *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 780-784.
52. Tierney J.: *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26*, 997-1001.
53. Prashanta Kumar B. R., Nanjan M. J.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 1953-1956.
54. Walter W., Randau G.: *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1965**, *681*, 55-63.

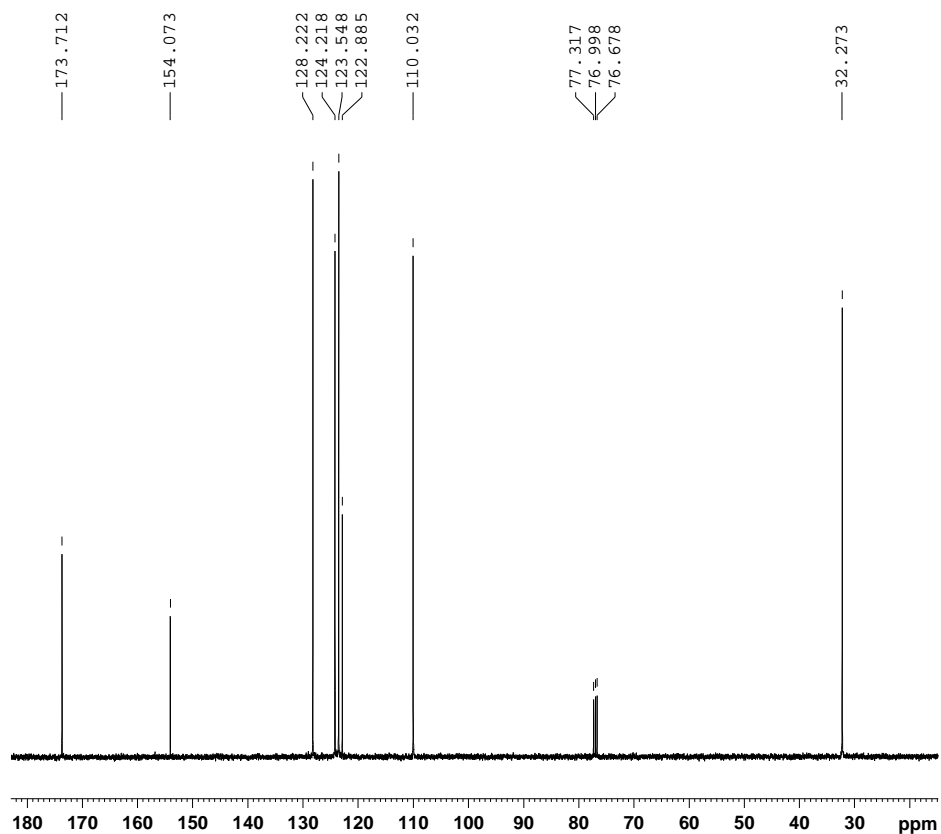
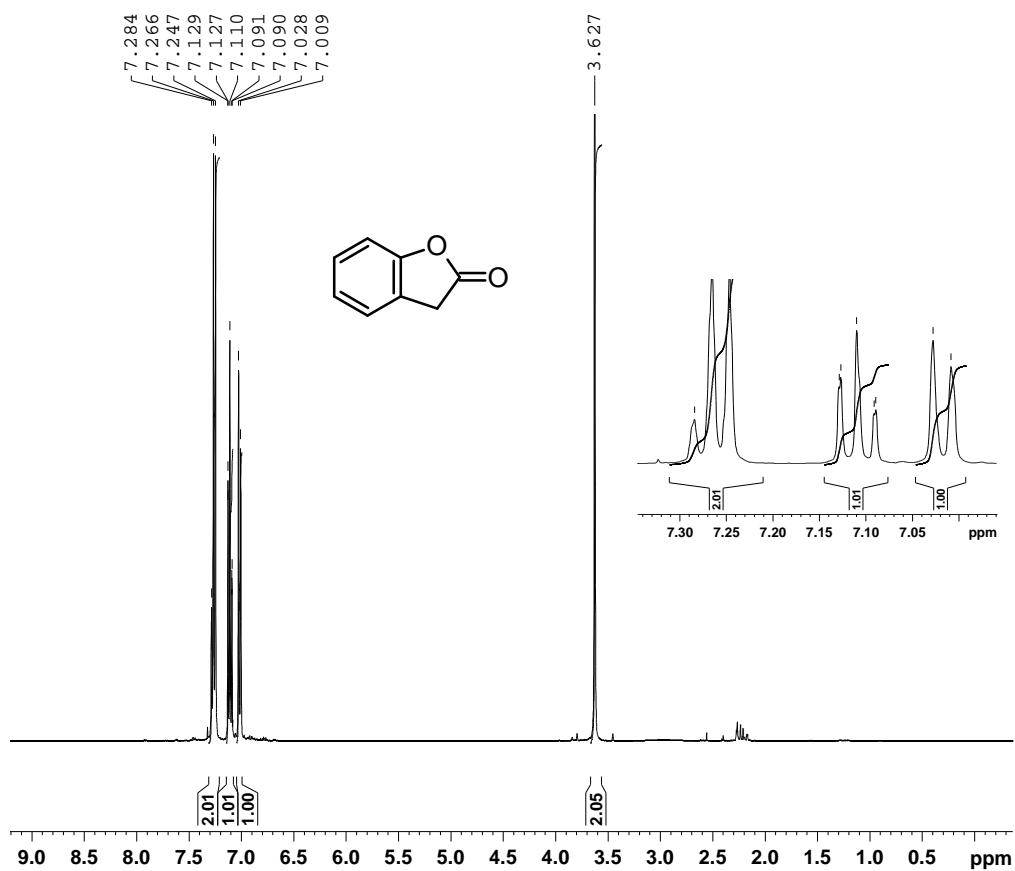
55. Pytela O.: *Organická chemie Názvosloví a obecné principy*; Univerzita Pardubice, **2005**.
56. Štěrbá V., Panchartek J.: *Reaction Kinetics in Organic Chemistry*, University of Pardubice, Pardubice **1995**.
57. Ott A. C., Mattano L. A., Coleman G. H.: *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 2633-2634.
58. Abramenko P. I., Zhiryakov V. G.: *Chem. Heterocycl. Comp.* **1977**, 13, 1194-1197.
59. Kotten I. A.; Sauer R. J.: *Org. Synth.* **1973**, Coll. Vol. 5,145; **1962**, Vol. 42, 26.
60. Bejan E. V., Font-Sandis E., Scaiano J. C.: *Org. Lett.* **2001**, 25, 4069-4052
61. Bigi F., Casiraghi G., Sartori G.: *Tetrahedron* **1983**, 39, 2147-2150.
62. Amgen INC., Biovitrum AB.: *Patent WO2007061661 (A2)*, May 31, **2007**.
63. Perrin, D. D. *In Dissociation Constants of Organic Bases in Aqueous Solution*; Butterworths: London, 1965.

6 Přílohy

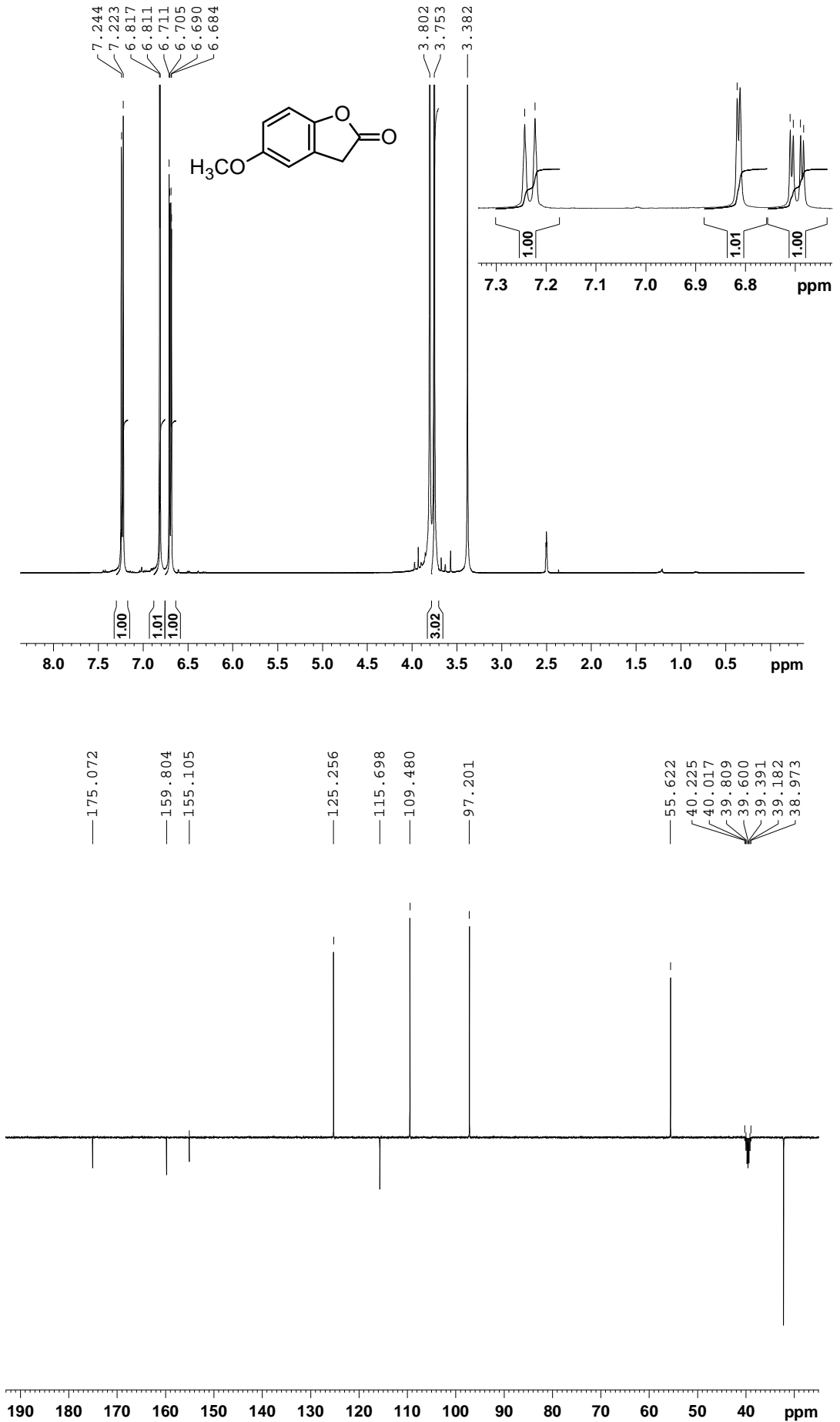
^1H a ^{13}C NMR spektrum (2-hydroxy-5-methoxyphenyl)octové kyseliny (**4b**)



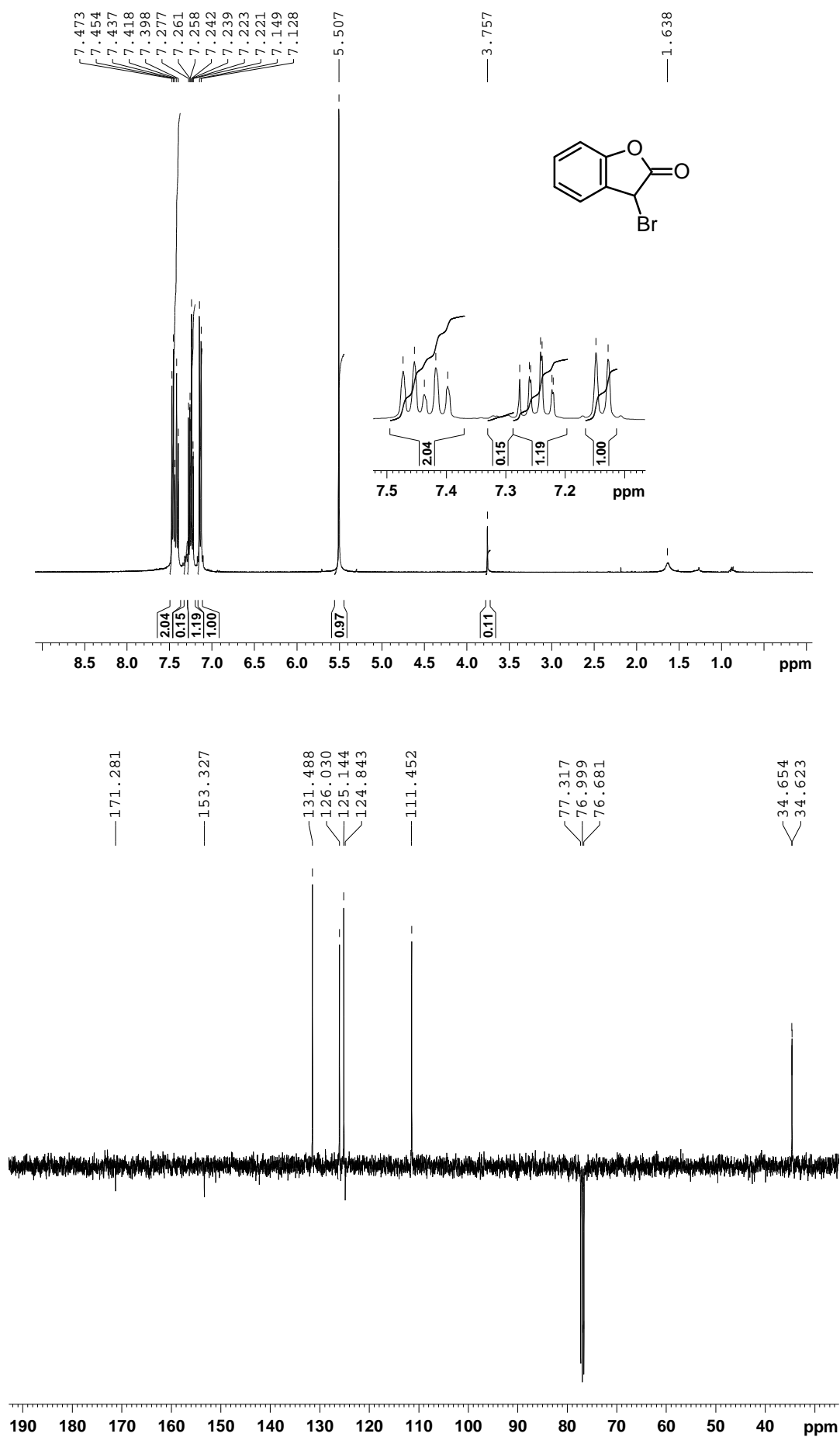
^1H a ^{13}C NMR spektrum 1-benzofuran-2(3H)-onu (**5a**)



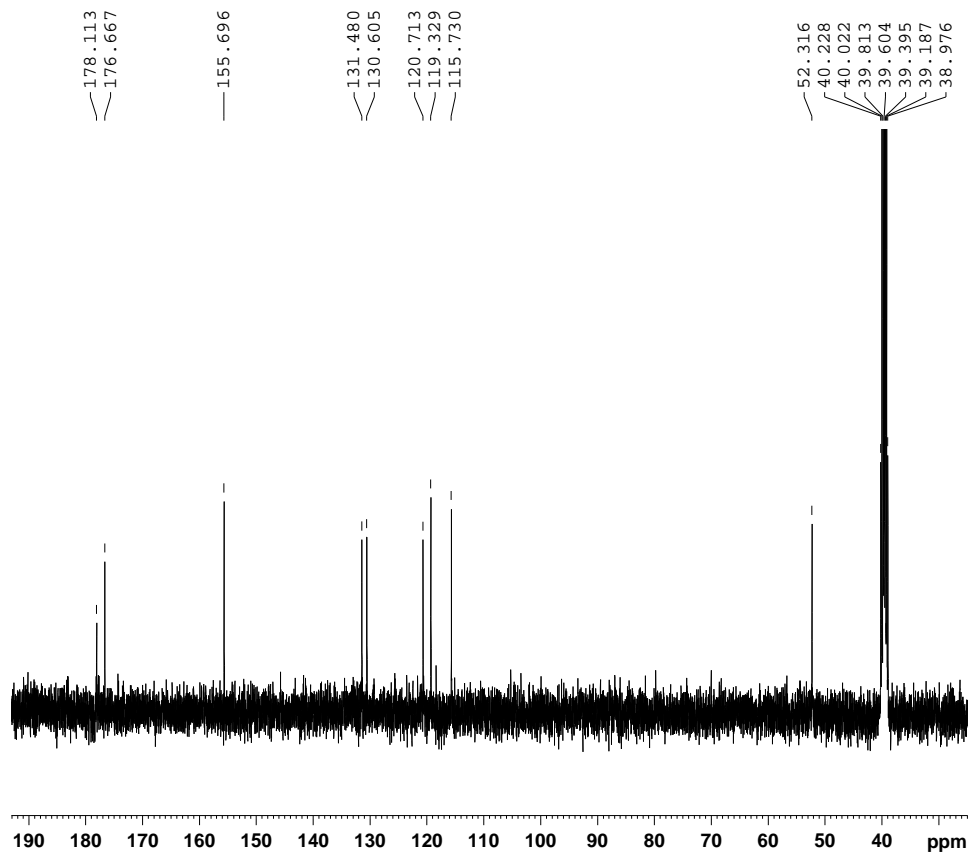
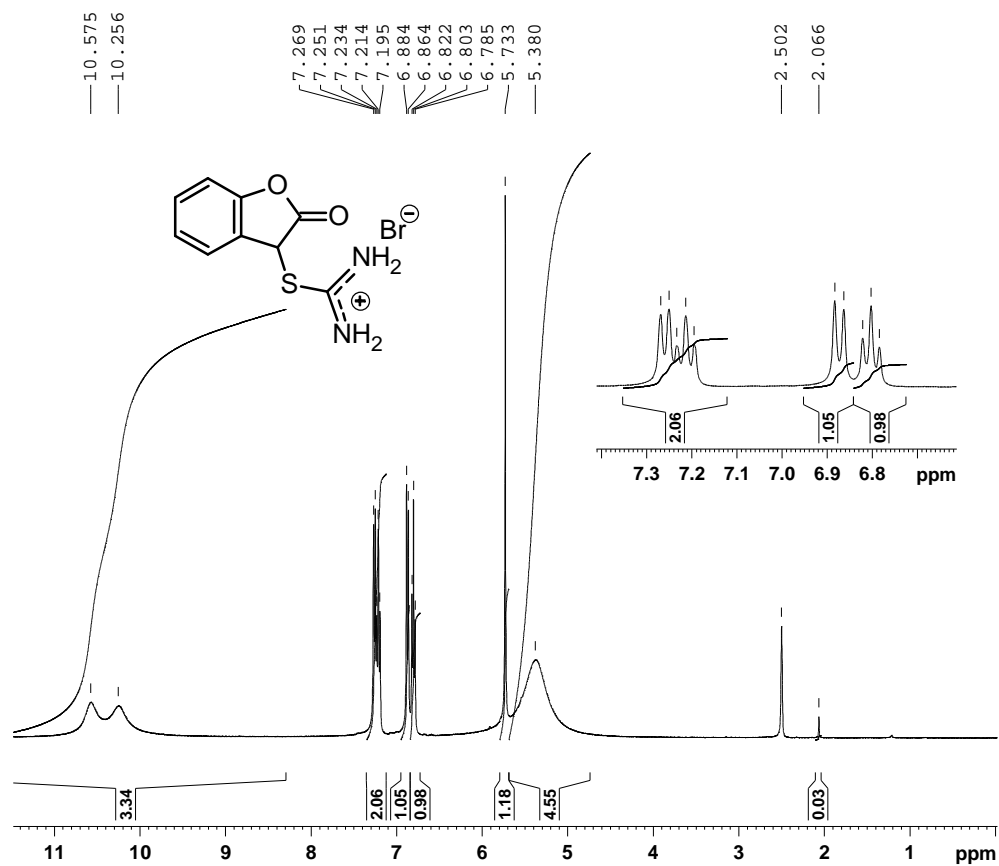
^1H a ^{13}C NMR spektrum 5-methoxy-1-benzofuran-2(3H)-onu (5b)



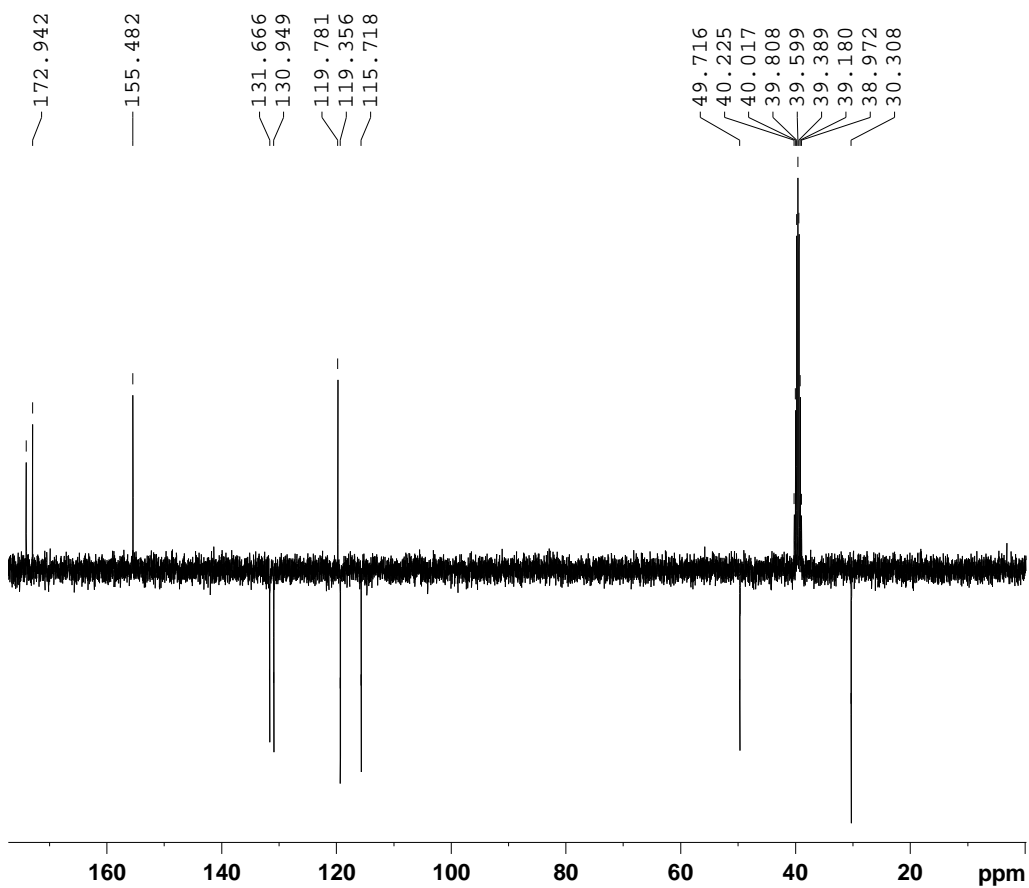
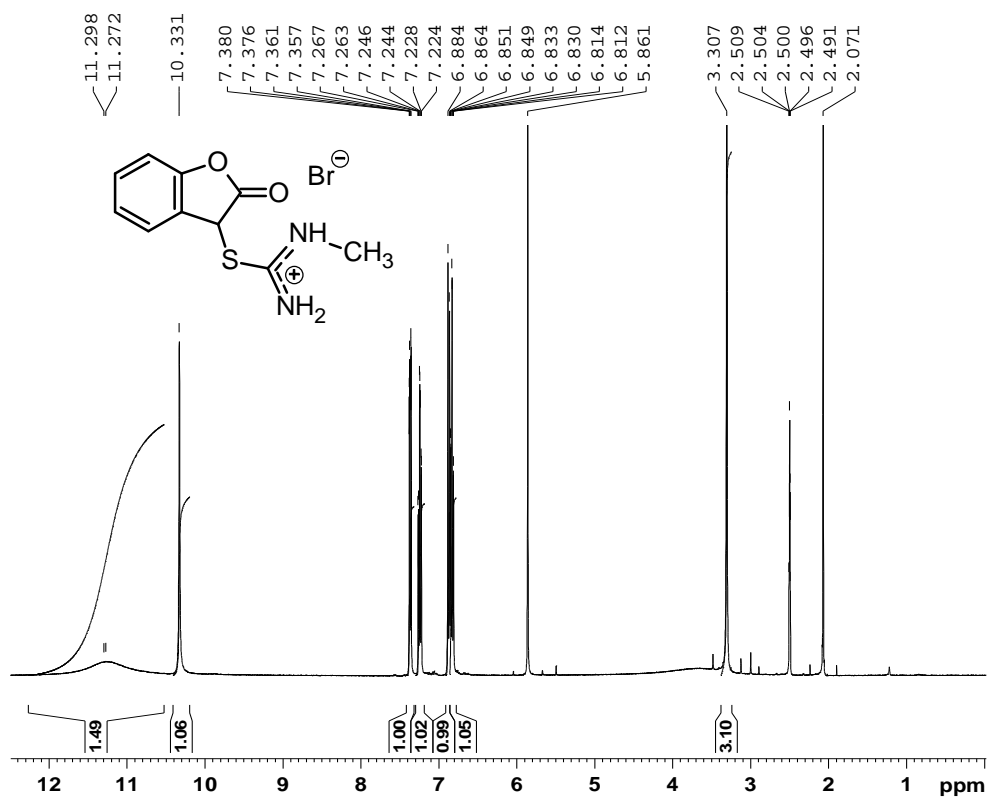
^1H a ^{13}C NMR spektrum 3-brom-1-benzofuran-2(3H)-onu (**3a**)



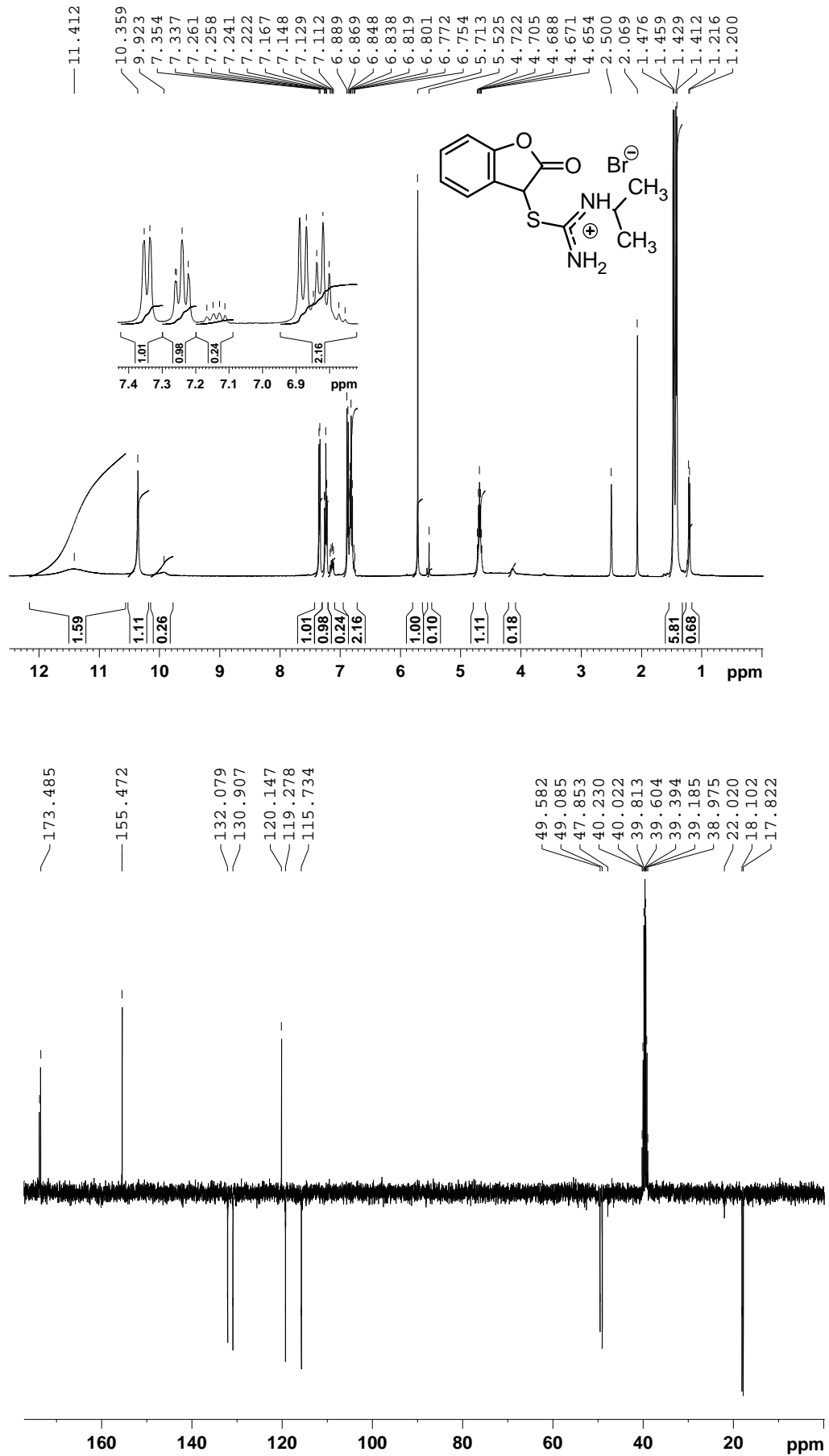
^1H a ^{13}C NMR spektrum *S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl) isothiuronium-bromidu (1a**)**



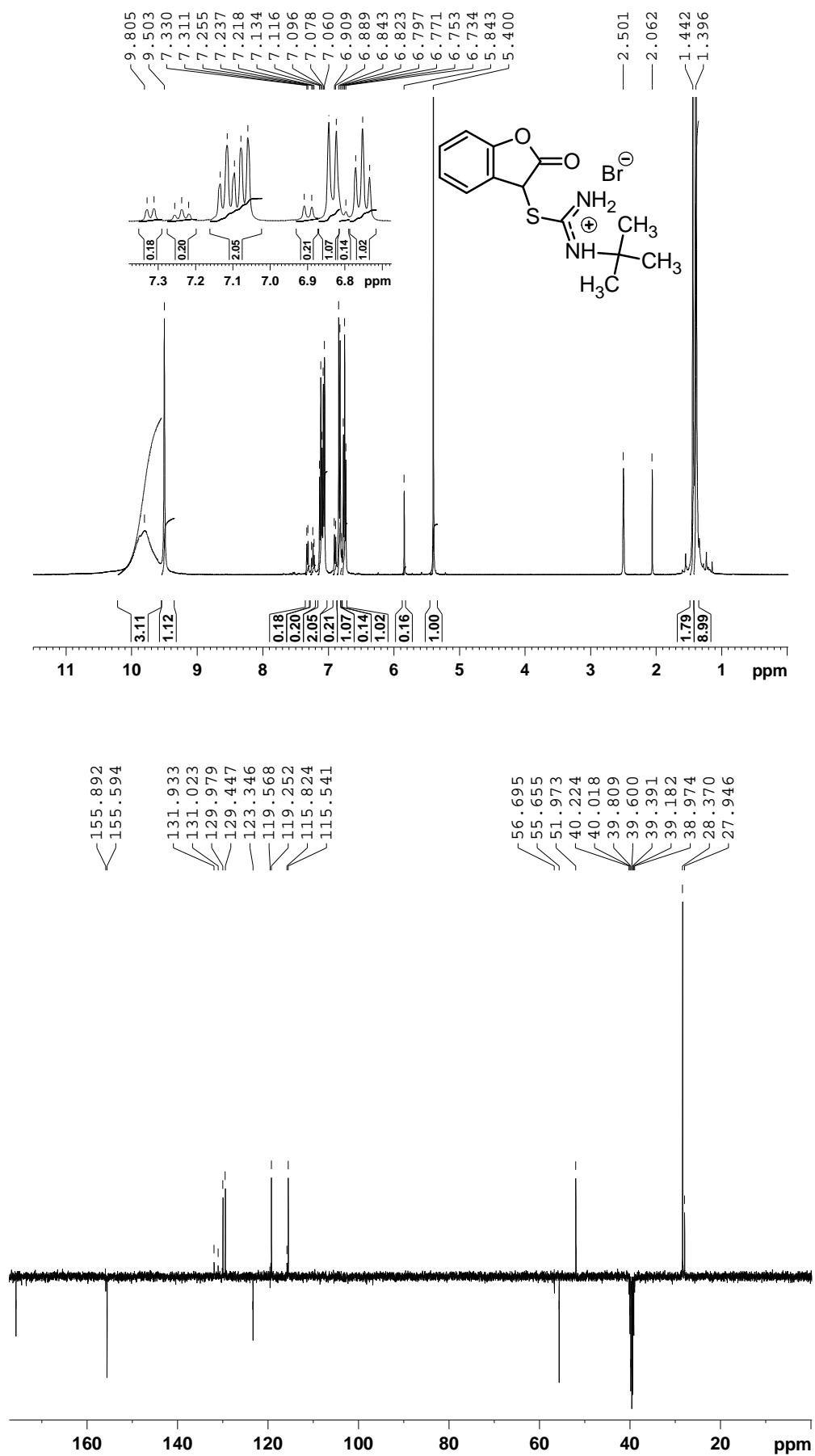
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N*-methyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromidu (**1b**)



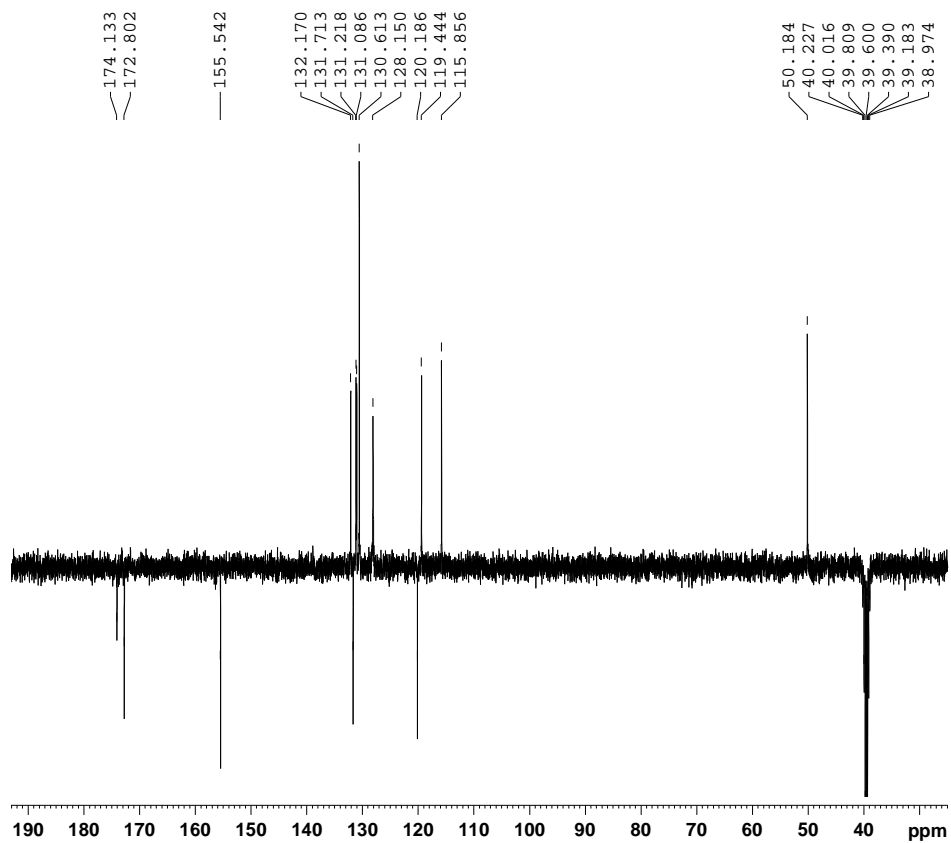
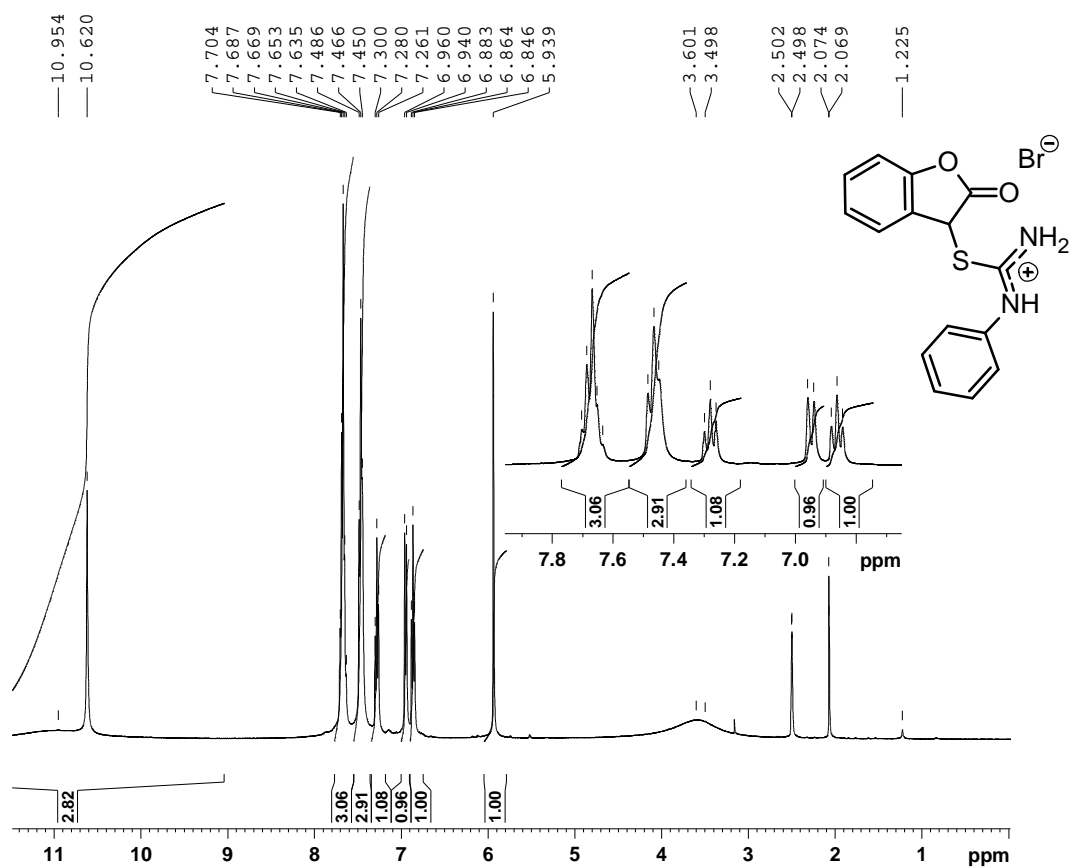
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N*-isopropyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromidu (**1c**)



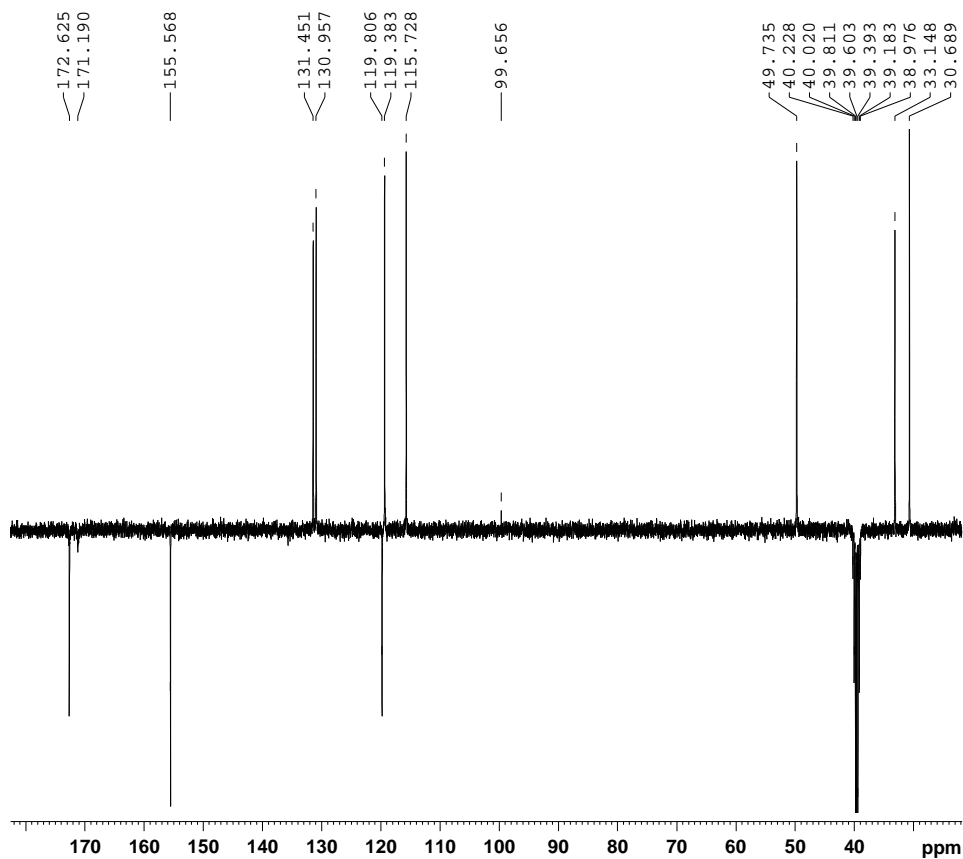
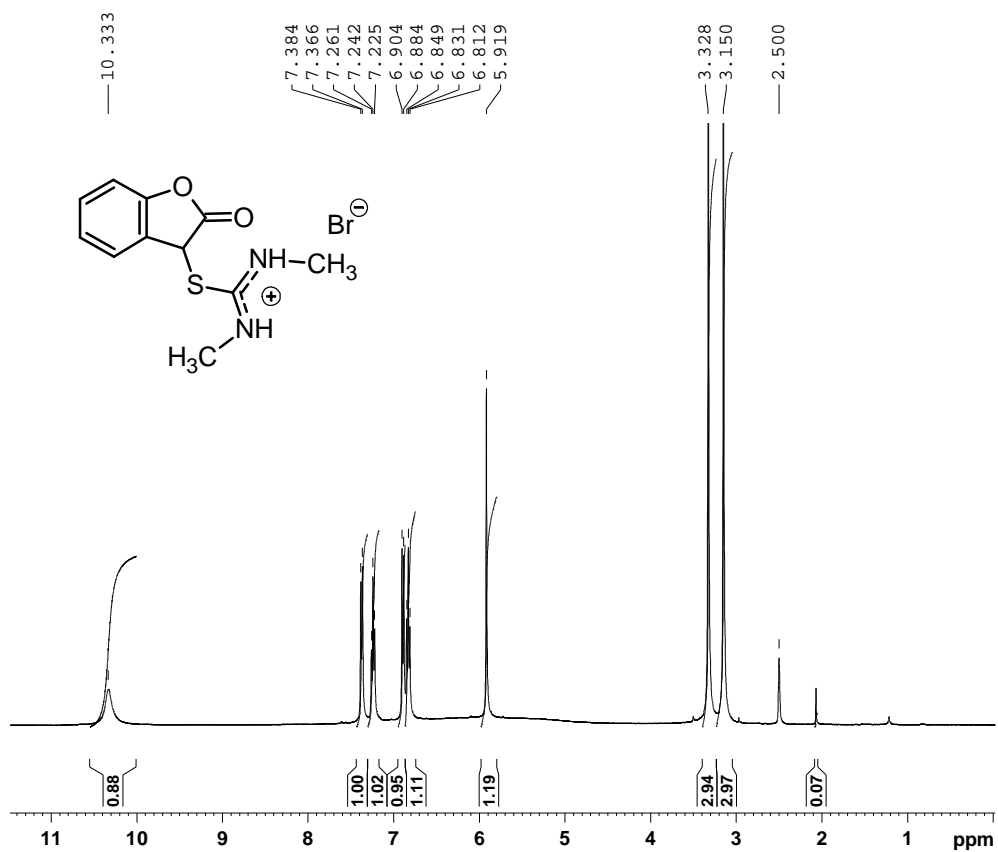
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N*-*tert*-butyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromidu (**1d**)



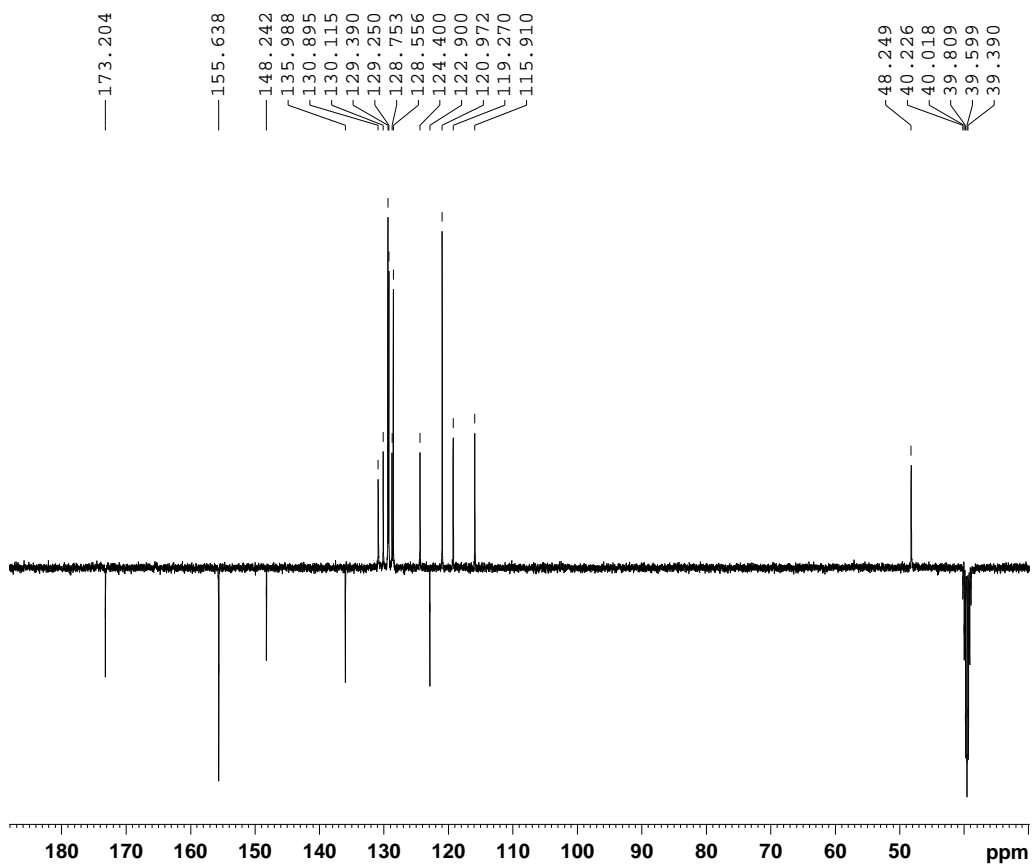
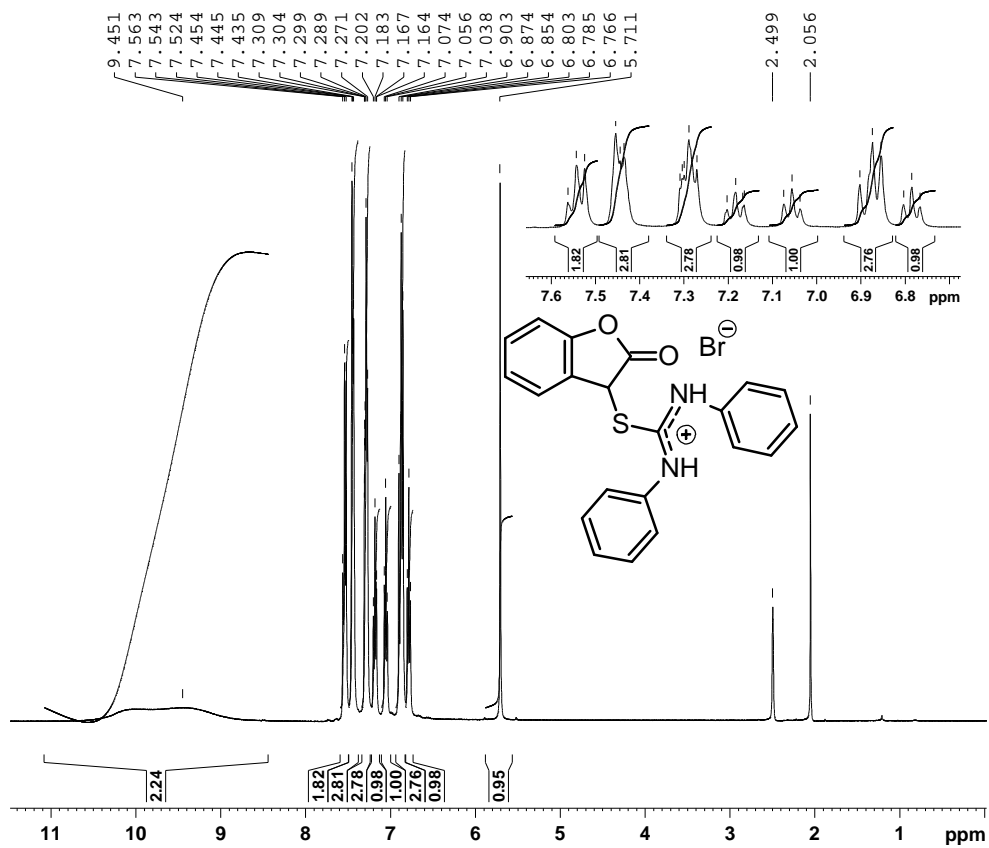
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N*-fenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)isothiuronium-bromidU (**1e**)



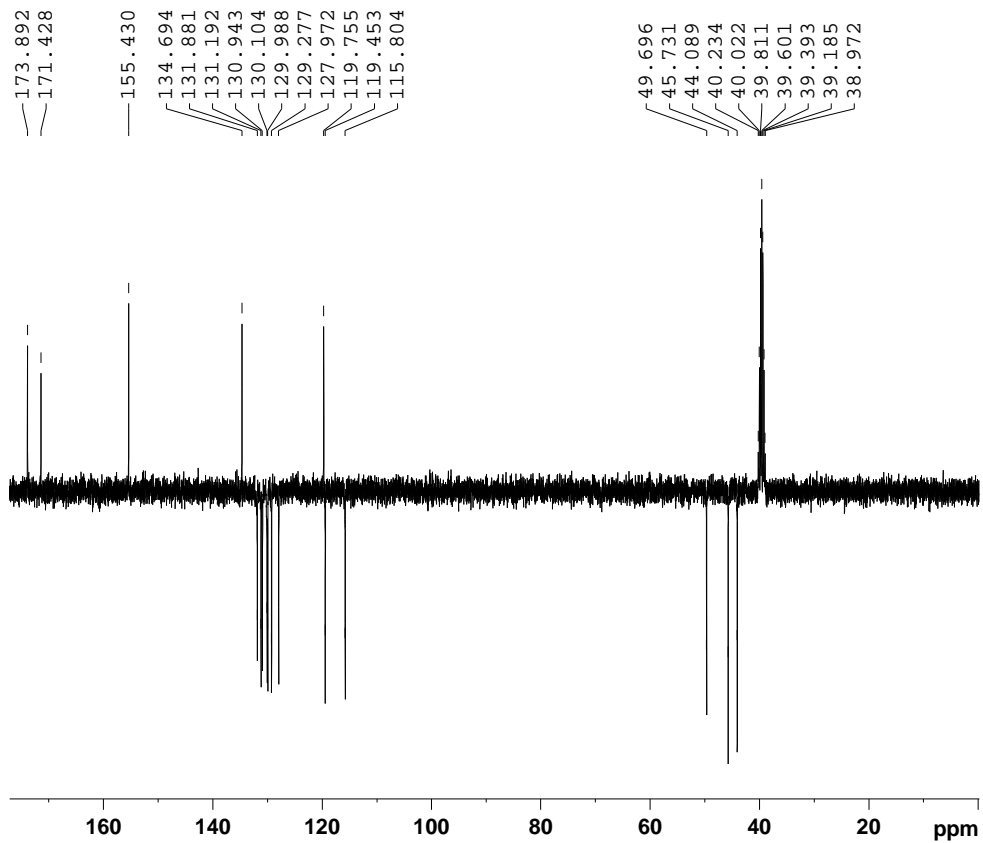
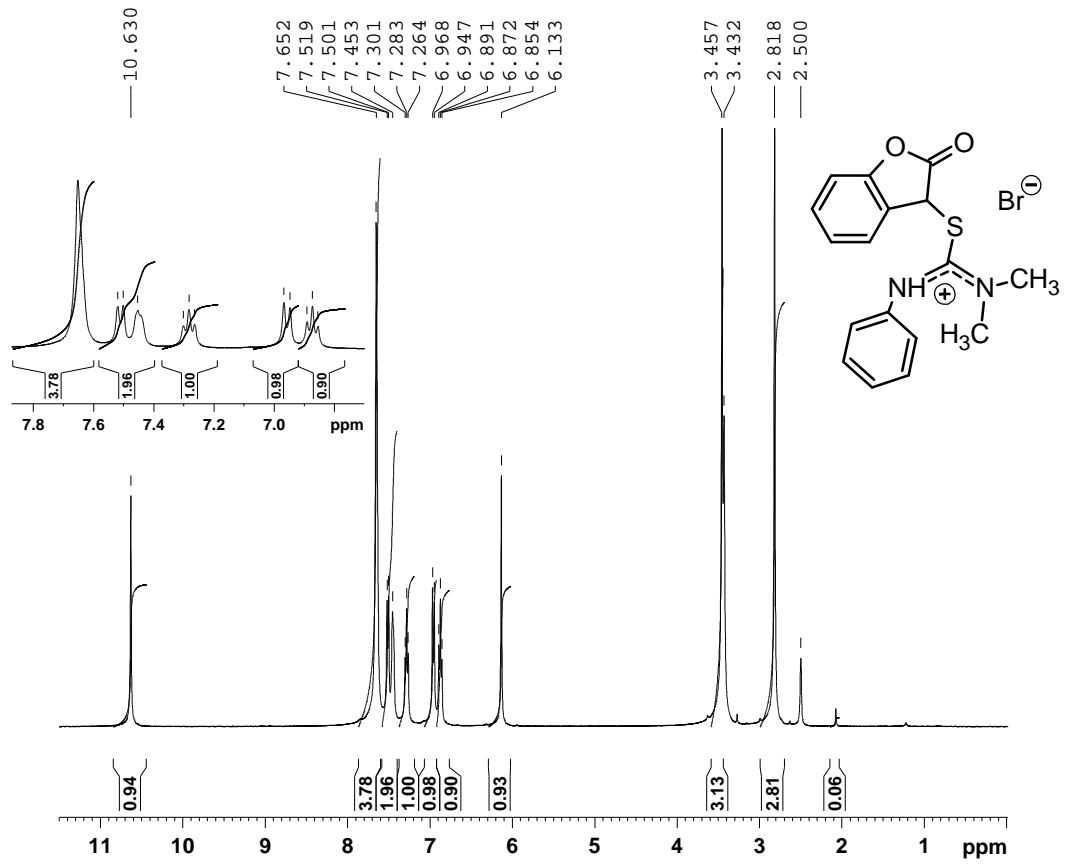
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N,N'*-dimethyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl) isothiuronium-bromidu (**1f**)



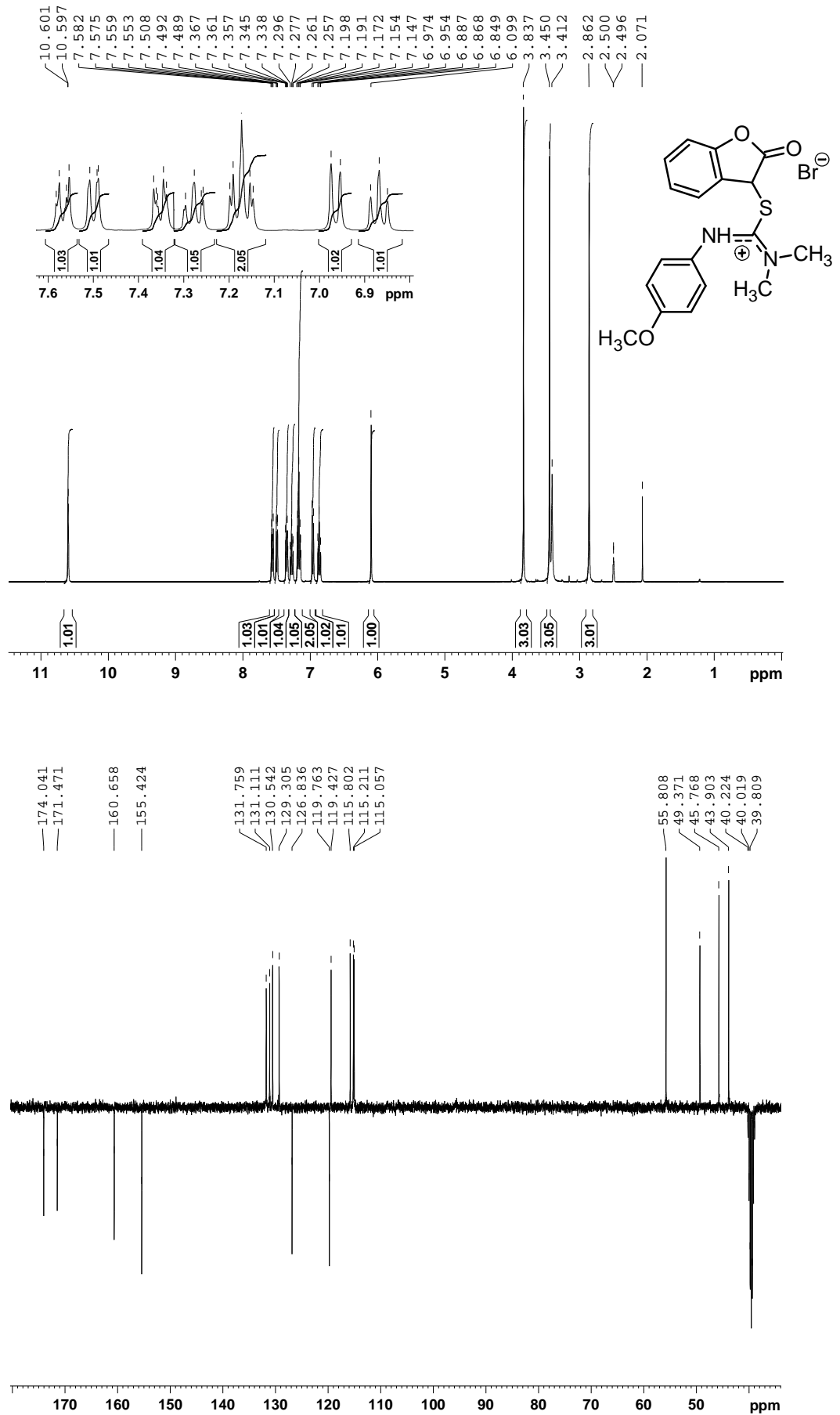
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N,N'*-difenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl) isothiuronium-bromidu (**1g**)



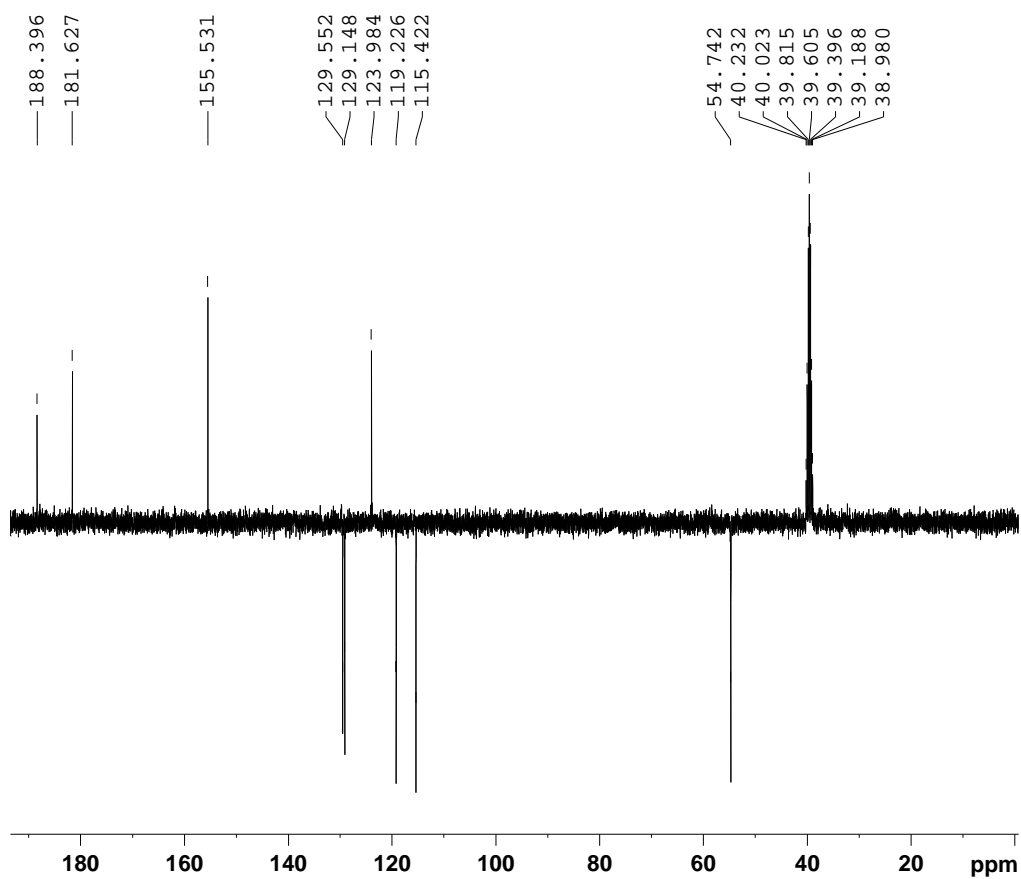
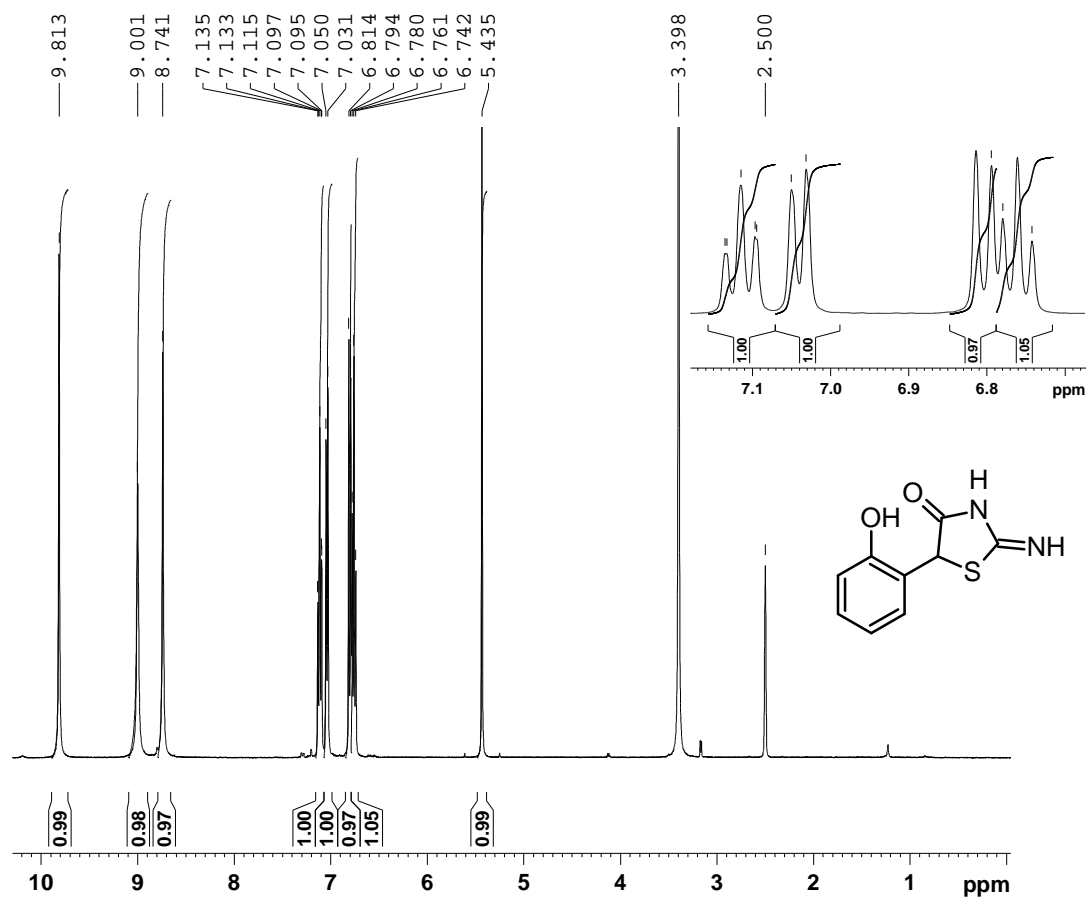
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N,N*-dimethyl-*N'*-fenyl-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl) isothiuronium- bromidu (**1h**)



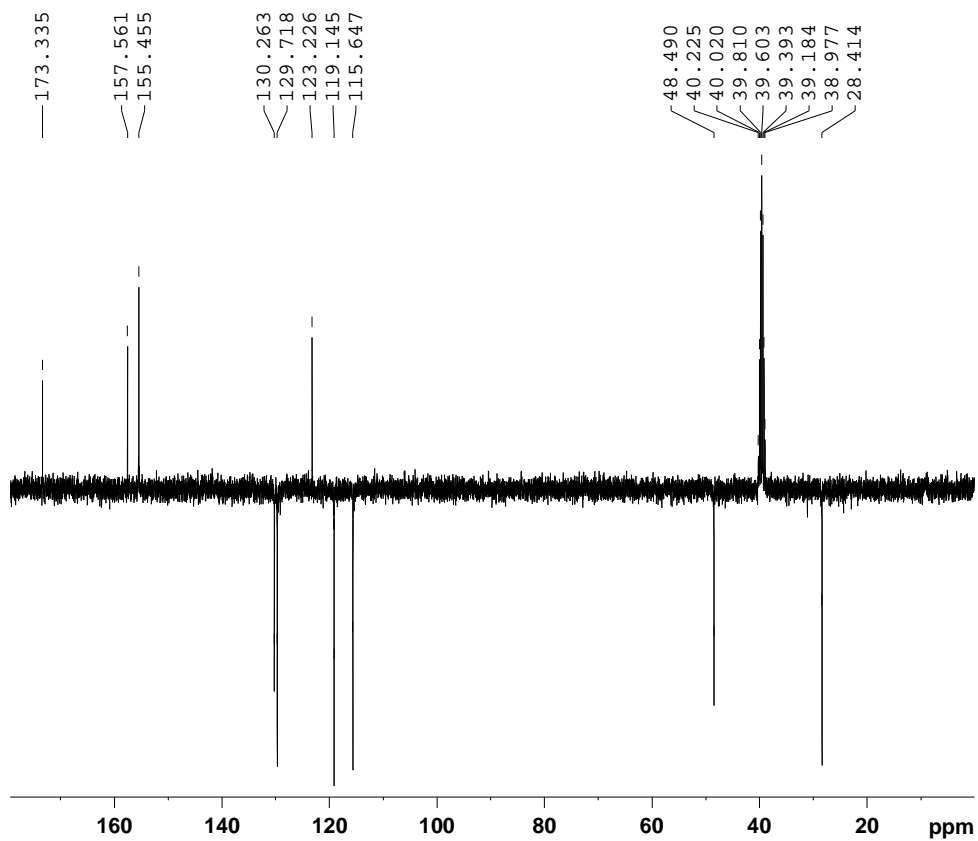
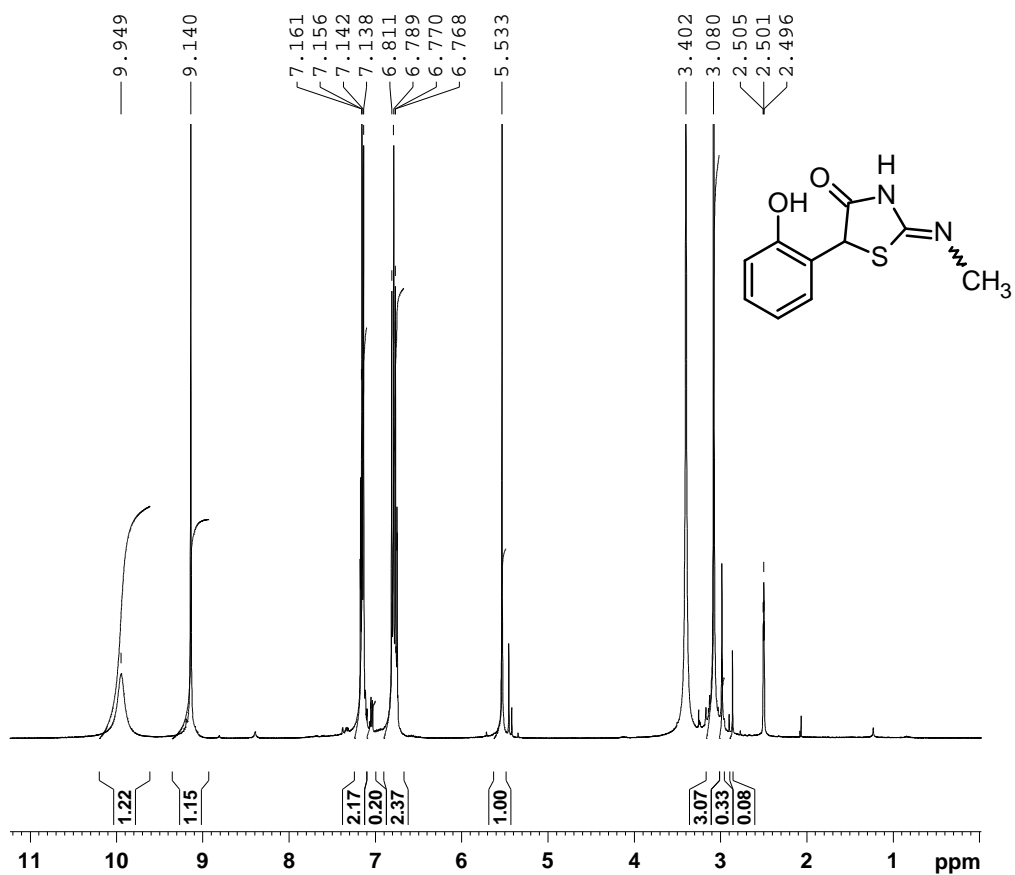
^1H a ^{13}C NMR spektrum *N,N*-dimethyl-*N'*-(4-methoxyfenyl)-*S*-(2-oxo-2,3-dihydro-1-benzofuran-3-yl)-isothiuronium-bromidu (**ii**)



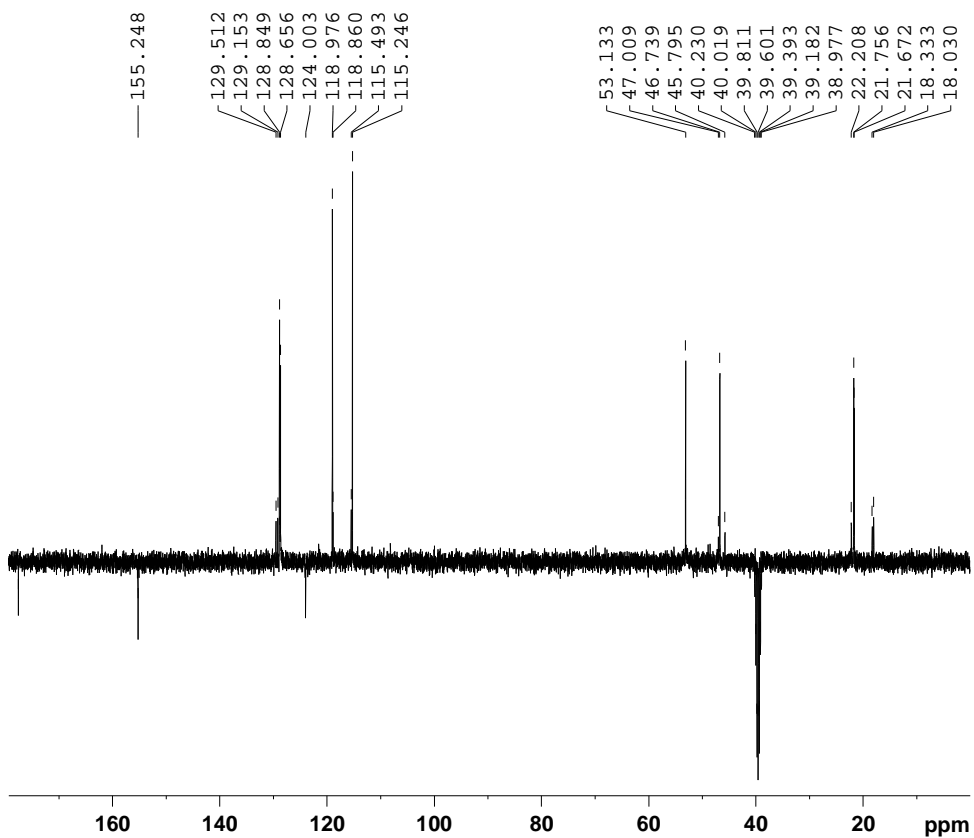
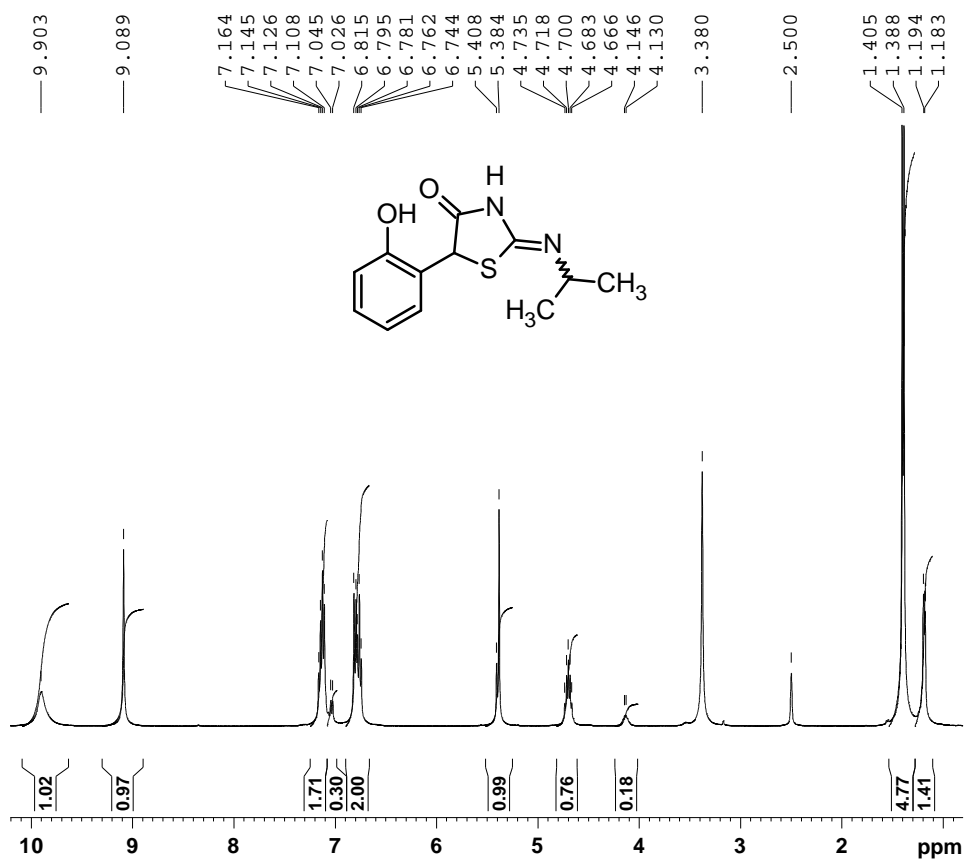
^1H a ^{13}C NMR spektrum 5-(2-hydroxyfenyl)-2-imino-1,3-thiazolidin-4-onu (**2a**)



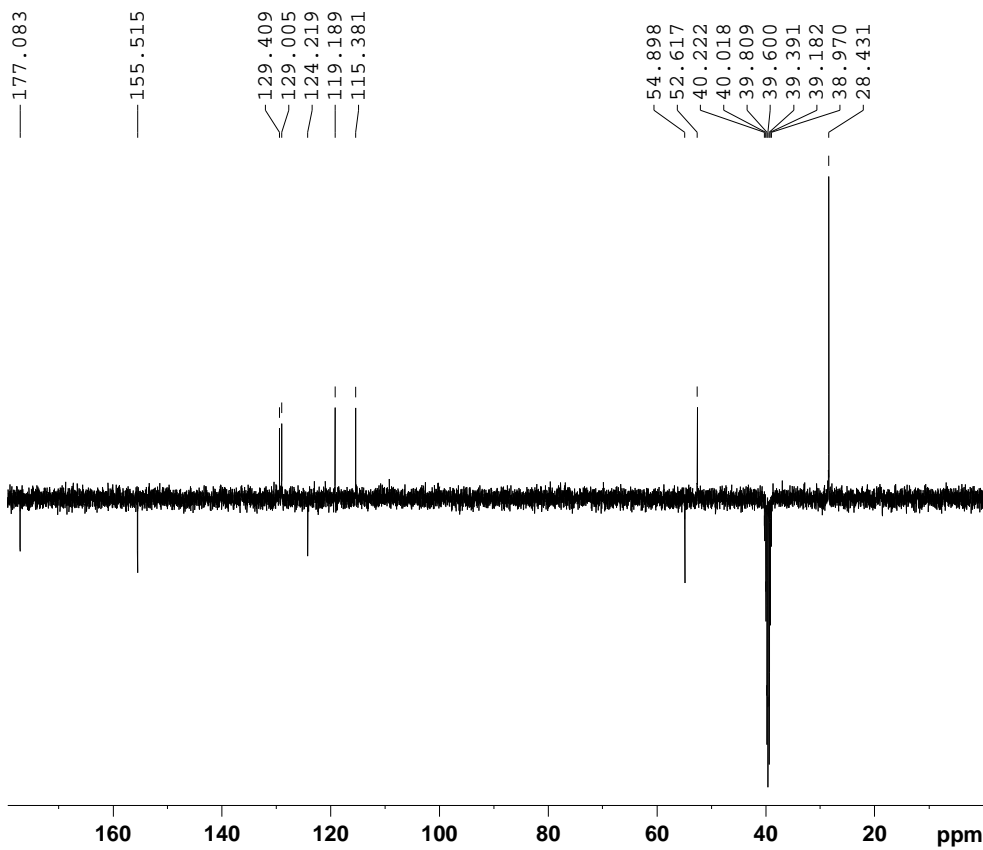
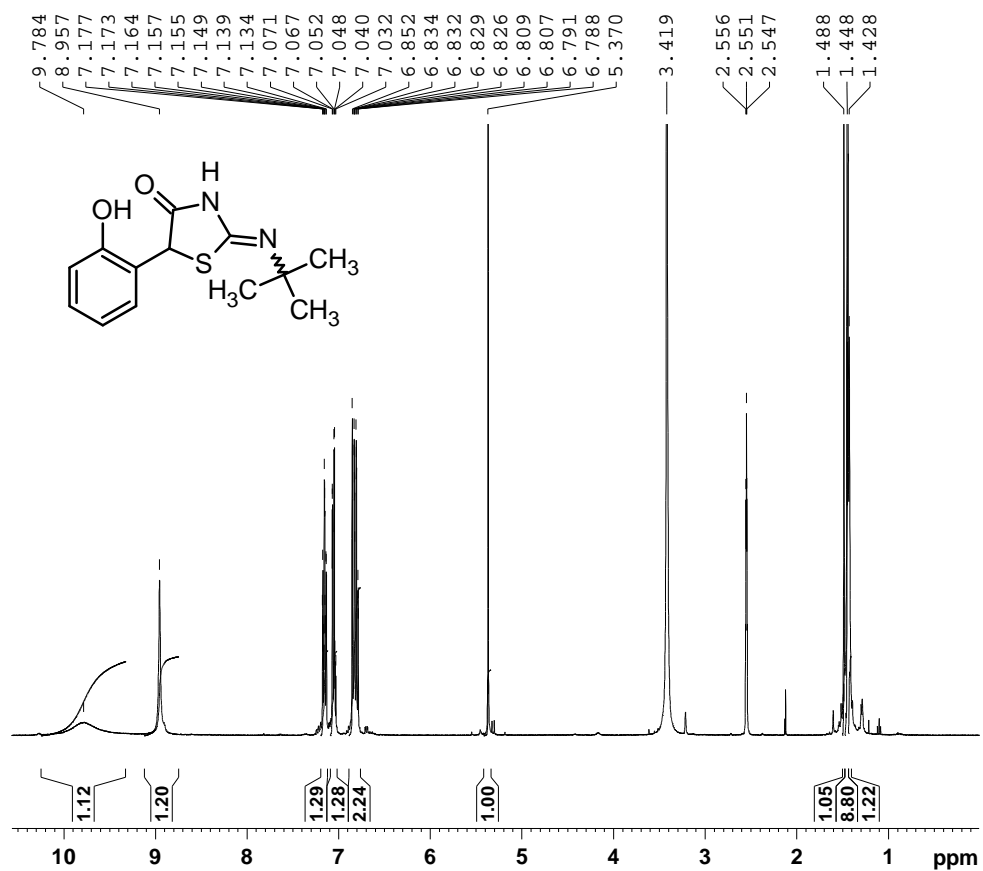
¹H a ¹³C NMR spektrum 5-(2-hydroxyfenyl)-2-(methylimino)-1,3-thiazolidin-4-onu (2b)



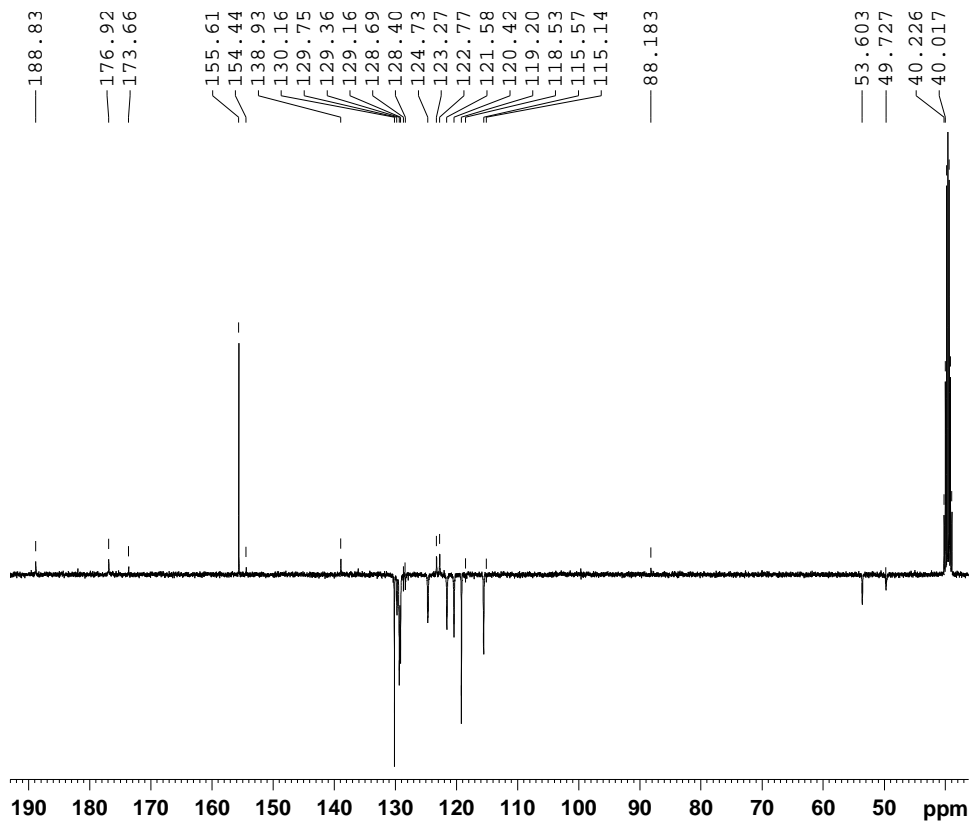
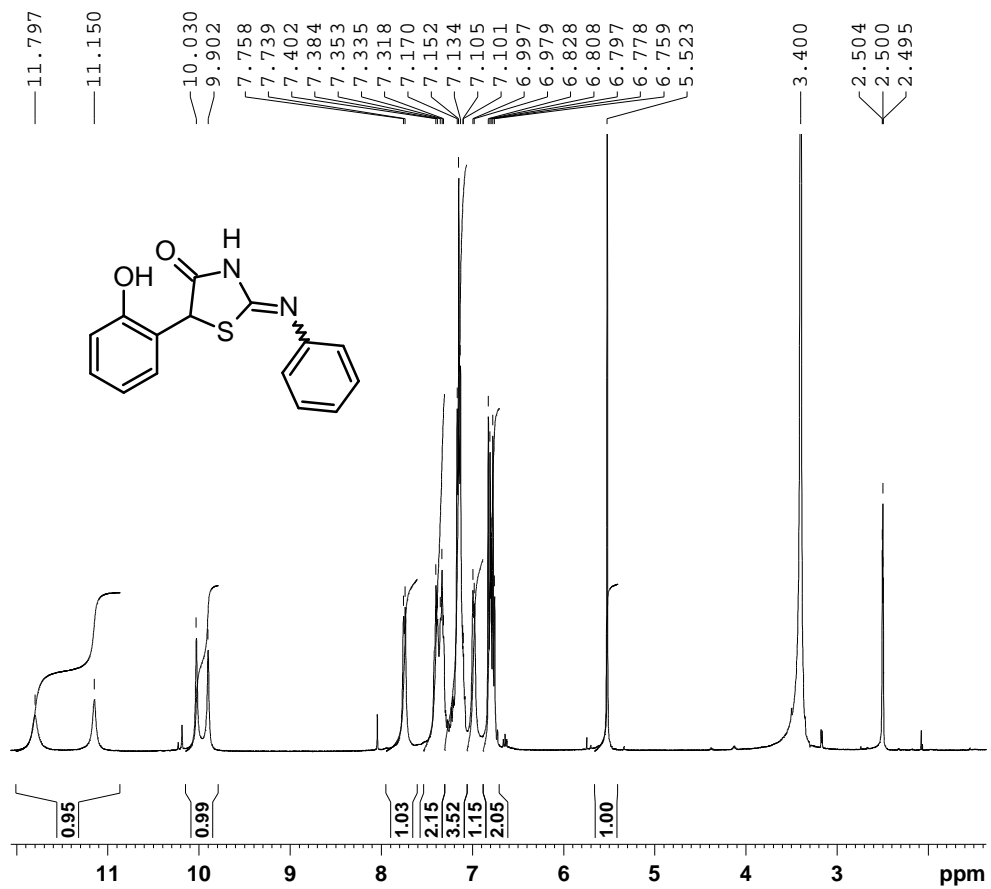
^1H a ^{13}C NMR spektrum 5-(2-hydroxyfenyl)-2-(isopropylimino)-1,3-thiazolidin-4-onu (2c)



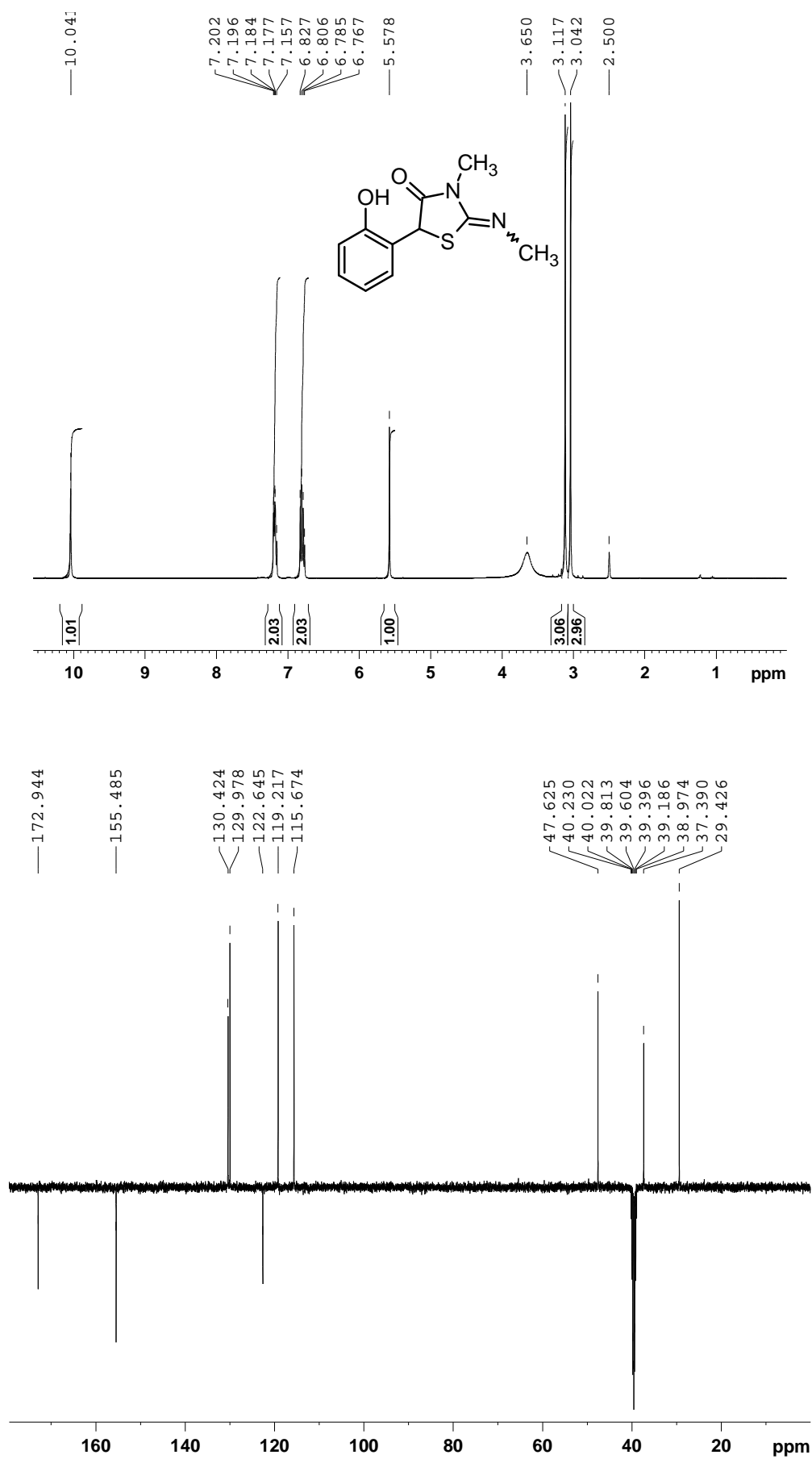
¹H a ¹³C NMR spektrum 2-(*terc*-butylimino)-5-(2-hydroxyfenyl)-1,3-thiazolidin-4-onu (2d)



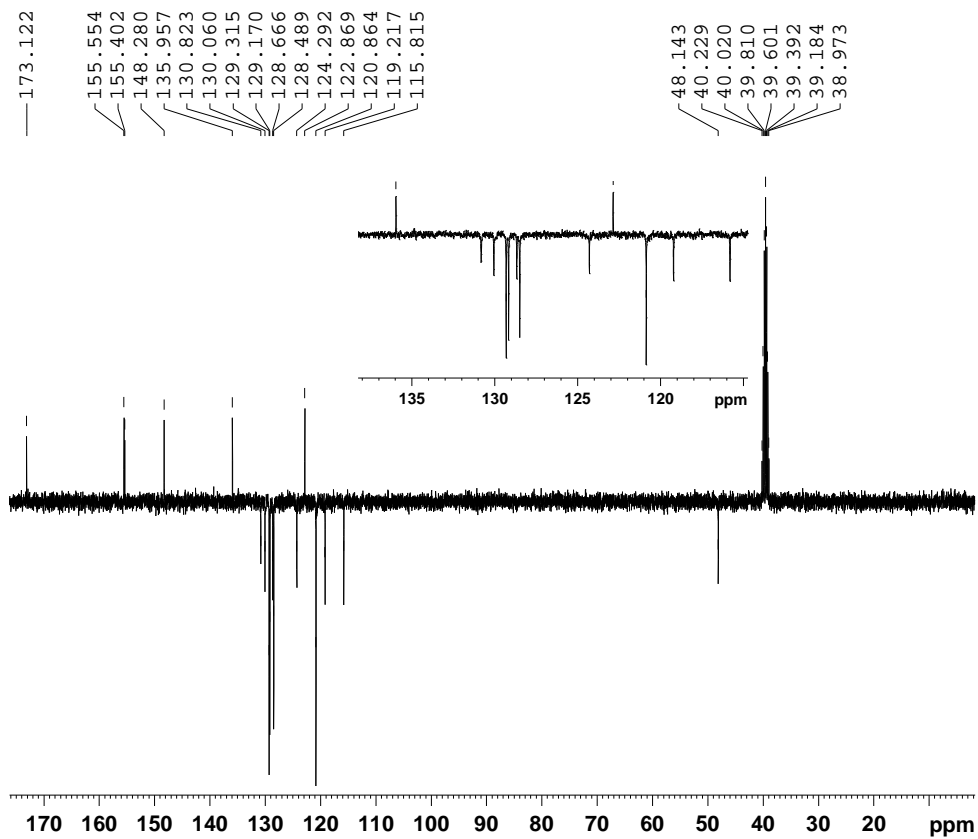
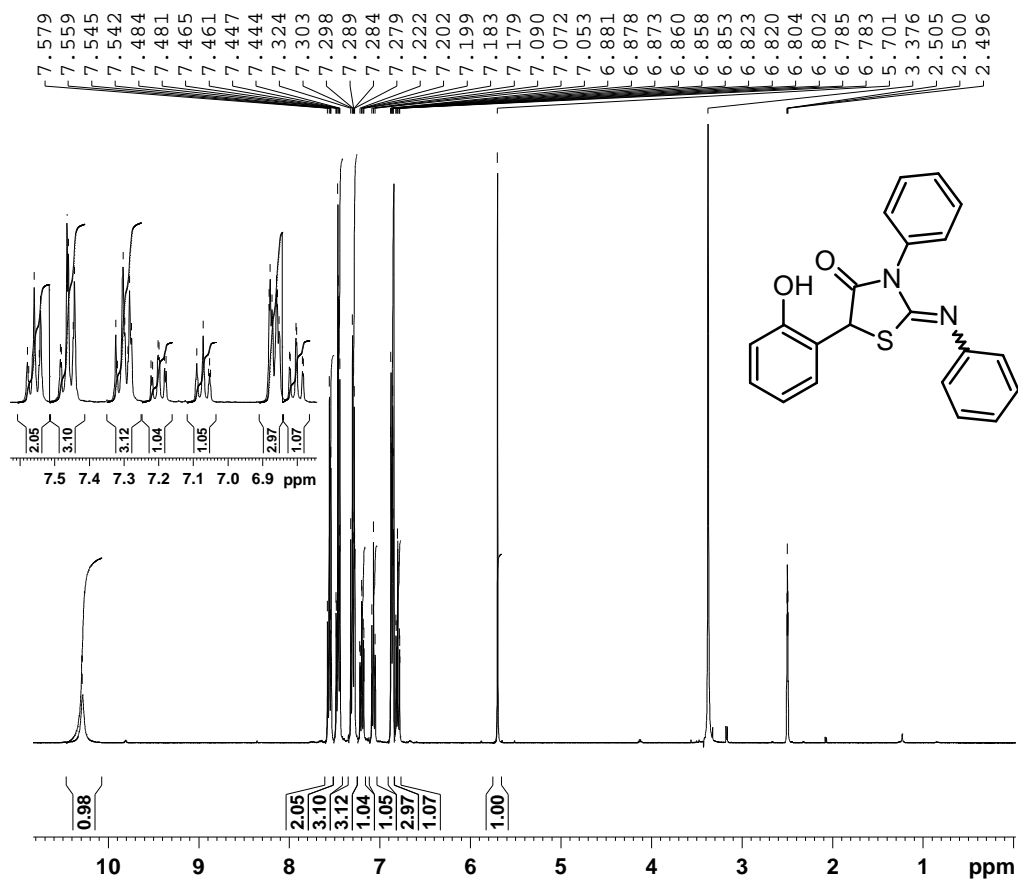
^1H a ^{13}C NMR spektrum 5-(2-hydroxyfenyl)-3-methyl-2-(fenylimino)-1,3-thiazolidin-4-onu (2e)



^1H a ^{13}C NMR spektrum 5-(2-hydroxyfenyl)-3-metyl-2-(methylimino)-1,3-thiazolidin-4-onu (2f)



^1H a ^{13}C NMR spektrum 5-(2-hydroxyfenyl)-3-fenyl-2-(fenylimino)-1,3-thiazolidin-4-onu (2g)



Tabulky středních hodnot pozorovaných rychlostních konstant, poločasy transformační reakce **1e**→**2e** pro různé koncentrace vodných roztoků pufrů, které byly pozorovány při vlnové délce 262 nm.

N-methylmorfolinový pufr o poměru složek 1:2b

c (mol·l ⁻¹)	c_{BH} (mol·l ⁻¹)	pH	$10^3 \cdot k_{\text{poz}}$	$\tau_{1/2}$ (s ⁻¹)
0,02	0,00667	8,24	1,18	588,2
0,10	0,03330	8,24	1,40	495,9
0,20	0,06670	8,24	1,67	414,9
0,32	0,10667	8,23	1,96	353,3
0,40	0,13333	8,23	2,14	324,3

N-methylmorfolinový pufr o poměru složek 1:1

c (mol·l ⁻¹)	c_{BH} (mol·l ⁻¹)	pH	$10^3 \cdot k_{\text{poz}}$	$\tau_{1/2}$ (s ⁻¹)
0,06	0,03	7,95	1,40	495,6
0,10	0,05	7,95	1,57	442,0
0,14	0,07	7,95	1,71	404,4
0,20	0,10	7,95	1,89	365,9
0,24	0,12	7,94	2,02	342,9
0,32	0,16	7,94	2,26	307,2
0,40	0,20	7,93	2,53	273,7

N-methylmorfolinový pufr o poměru složek 2:1k

c (mol·l ⁻¹)	c_{BH} (mol·l ⁻¹)	pH	$10^3 \cdot k_{\text{poz}}$	$\tau_{1/2}$ (s ⁻¹)
0,02	0,01333	7,71	1,24	556,8
0,10	0,06667	7,70	1,77	391,9
0,20	0,13333	7,69	2,21	313,1
0,32	0,21333	7,68	2,55	274,5
0,40	0,26667	7,67	2,92	237,2

TRISový pufr o poměru složek 1:1

c (mol·l ⁻¹)	c_{BH} (mol·l ⁻¹)	pH	$10^3 \cdot k_{\text{poz}}$	$\tau_{1/2}$ (s ⁻¹)
0,02	0,01	8,34	1,22	569,2
0,10	0,05	8,37	1,38	503,5
0,20	0,10	8,36	1,58	438,1
0,32	0,16	8,41	1,76	392,9
0,40	0,20	8,35	1,86	371,7

N-methyl-diethanolaminový pufr o poměru složek 1:1

c (mol·l ⁻¹)	c_{BH} (mol·l ⁻¹)	pH	$10^3 \cdot k_{\text{poz}}$	$\tau_{1/2}$ (s ⁻¹)
0,02	0,01	9,03	0,97	712,1
0,10	0,05	9,03	0,98	710,5
0,20	0,10	9,03	0,95	726,4
0,32	0,16	9,03	1,07	651,2
0,40	0,20	9,03	1,10	627,9