

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

**Příprava biologicky aktivních sulfonamidů obsahujících chirální
benzthiazolový blok**

Ingrid Galgaňáková

Bakalářská práce
2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ingrid Galgaňáková**
Osobní číslo: **C14200**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Příprava biologicky aktivních sulfonamidů obsahujících
chirální benzthiazolový blok**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

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

1. Na základě literární rešerše shrnout popsané metody přípravy sulfonamidů obsahující benzthiazolový blok, jejich antimikrobiální vlastnosti a metody jejich stanovení.
2. Navrhnout vhodné metody syntézy vybraných sulfonamidů a na jejich základě připravit vybrané deriváty.
3. Připravené sloučeniny charakterizovat dostupnými analytickými metodami.
4. Výsledky zpracovat formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Vladimír Pejchal, Ph.D.

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. listopadu 2016**

Termín odevzdání bakalářské práce: **7. července 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

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

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

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 19. 6. 2017

Ingrid Galgaňáková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala panu Ing. Vladimíru Pejchalovi, Ph.D., vedoucímu mé bakalářské práce za jeho cenné rady, připomínky a důležité pokyny při vypracování této práce.

ANOTACE

Tématem bakalářské práce je syntéza biologicky aktivních sulfonamidů obsahujících chirální benzthiazolový blok. V teoretické části byly nalezeny a popsány vhodné postupy pro syntézu vybraných sulfonamidů včetně jejich popsaných biologických aktivit. Dále byly nalezeny vhodné metody stanovení antimikrobiálních aktivit včetně používaných antibiotik.

V experimentální části byly vyvinutou metodou připraveny nové dosud nepopsané sulfonamidové deriváty. Připravené sloučeniny byly charakterizovány bodem tání, NMR spektrometrií a elementární analýzou. Optická čistota byla ověřena měřením optické otáčivosti.

KLÍČOVÁ SLOVA

antimikrobiální účinky, benzthiazol, sulfonamid, NMR

TITLE

The preparation of biologically active sulfonamides containing a chiral benzothiazole bloc

ANNOTATION

The topic of the bachelor thesis is the synthesis of biologically active sulfonamides containing a chiral benzothiazole bloc. In the theoretical part, suitable procedures for the synthesis of selected sulfonamides including their biological activities have been found and described. The appropriate methods for determining antimicrobial activity, including antibiotics used, have also been found.

In the experimental part, new so far not described sulfonamide derivatives were developed by the formed method. The prepared compounds were characterized by melting point, NMR spectroscopy and elemental analysis. Optical purity was verified by the optical rotation measuring.

KEYWORDS

antimicrobial effects, benzothiazole, sulfonamide, NMR

OBSAH

ÚVOD.....	13
1 TEORETICKÁ ČÁST.....	14
1.1 SULFONAMIDY	14
1.1.1 Obecná charakteristika	14
1.1.2 Biologická aktivita	15
1.1.3 Syntéza	16
1.2 BENZTHIAZOLY.....	16
1.2.1 Obecná charakteristika benzthiazolů.....	16
1.2.2 Biologická aktivita	16
1.2.3 Syntéza	18
1.3 SULFONAMIDY OBSAHUJÍCÍ BENZTHIAZOLOVÝ BLOK.....	20
1.3.1 Obecná charakteristika	20
1.3.2 Biologická aktivita	20
1.3.3 Syntéza	21
1.4 ANTIMIKROBIÁLNÍ ÚČINKY LÁTEK.....	21
1.4.1 Původ látek s antimikrobiálními účinky.....	22
1.4.2 Hodnocení účinku	22
1.4.3 Využití látek s antimikrobiálním účinkem	23
1.4.4 Rezistence mikroorganismů k antimikrobiálním látkám.....	23
1.5 ANTIBIOTIKA	24
1.5.1 Amfotericin B	24
1.5.2 Chloramfenikol	24
1.5.3 Cefoperazon	25
1.6 BIOLOGICKÉ METODY	25
1.6.1 Difuzní metody	25
1.6.1.1 Disková difuzní metoda	25
1.6.1.2 E-test	26
1.6.2 Diluční metody.....	26
1.6.2.1 Agarová diluční metoda.....	26
1.6.2.2 Bujónová diluční metoda	27
1.7 KULTIVAČNÍ MÉDIA	27
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	29

2.1	KOMERČNĚ DOSTUPNÁ CHEMICKÁ ČINIDLA	29
2.2	CHARAKTERISTIKA VÝCHOZÍCH LÁTEK.....	30
2.2.1	(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-hydrochlorid	30
2.2.2	(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-hydrochlorid ...	31
2.3	SYNTETIZOVANÉ LÁTKY	32
2.3.1	N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	32
2.3.2	N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	33
2.3.3	3-fluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	34
2.3.4	3-fluor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	35
2.3.5	3,5-difluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	36
2.3.6	3,5-difluor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	37
2.3.7	3-chlor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	38
2.3.8	3-chlor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	39
2.3.9	4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	40
2.3.10	4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	41
2.3.11	3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	42
2.3.12	3-fluor-4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]methylbenzensulfonamid	43
2.3.13	3-chlor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	44
2.3.14	3-chlor-4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid	45
2.4	METODY CHARAKTERIZACE.....	46
2.4.1	Bod tání.....	46
2.4.2	NMR spektroskopie	46

2.4.3	<i>Optická otáčivost</i>	46
2.5	CHARAKTERIZACE PŘIPRAVENÝCH LÁTEK	47
2.5.1	<i>N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	47
2.5.2	<i>N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	48
2.5.3	<i>3-fluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	49
2.5.4	<i>3-fluor-N-[(R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i> 50	
2.5.5	<i>3,5-difluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	51
2.5.6	<i>3,5-difluor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	52
2.5.7	<i>3-chlor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	53
2.5.8	<i>3-chlor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	54
2.5.9	<i>4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	55
2.5.10	<i>4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	56
2.5.11	<i>3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	57
2.5.12	<i>3-fluor-4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	58
2.5.13	<i>3-chlor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	59
2.5.14	<i>3-chlor-4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid</i>	60
3	VÝSLEDKY A DISKUSE	61
3.1	NMR ANALÝZA	61
4	ZÁVĚR	66
	SEZNAM POUŽITÝCH INFORMAČNÍCH ZDROJŮ	67

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Primární, sekundární a terciální struktura sulfonamidů	14
Obrázek 2 Strukturní podobnost kyseliny <i>p</i> -aminobenzoové a sulfanilamidu	15
Obrázek 3 Struktura sloučeniny č. 1	17
Obrázek 4 Sloučenina č. 1 – 4-amino- <i>N</i> -(4-methyl-1,3-benzthiazol-2-yl)benzensulfonamid	21
Obrázek 5 Sloučenina č. 3 – 4-amino- <i>N</i> -(6-ethoxy-1,3-benzthiazol-2-yl)benzensulfonamid	21
Obrázek 6 ¹ H NMR spektrum 3-fluor-4-methyl- <i>N</i> -[(1 <i>S</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamidu	62
Obrázek 7 ¹ H NMR spektrum (alifatická část) 3-fluor-4-methyl- <i>N</i> -[(1 <i>S</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamidu	63
Obrázek 8 ¹ H NMR spektrum (aromatická část) 3-fluor-4-methyl- <i>N</i> -[(1 <i>S</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamidu	64
Obrázek 9 ¹³ C NMR spektrum (aromatická část) 3-fluor-4-methyl- <i>N</i> -[(1 <i>S</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamidu	65

SEZNAM SCHÉMAT

Schéma 1 Transformace Prontosil rubrum na sulfanilamid	14
Schéma 2 Syntéza sulfanilamidu	16
Schéma 3 Konjugace takrinu s benzthiazolem	17
Schéma 4 Příprava benzthiazolů substituovaných v poloze 2	18
Schéma 5 Příprava benzthiazolů substituovaných v poloze 2 amino skupinou	18
Schéma 6 Syntéza 2-amino-5-fluorothiofenolátu draselného	18
Schéma 7 Syntéza D-alanin- <i>N</i> -karboxyanhydridu	19
Schéma 8 Syntéza (<i>R</i>)-1-(6-fluorobenzthiazol-2-yl)ethanamin- <i>p</i> -toluensulfonátu	19
Schéma 9 Syntéza sulfonamidů obsahující benzthiazolový blok	21

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Přehled nově syntetizovaných látek	17
Tabulka 2 Výsledky studie	20

SEZNAM ZKRATEK

AMB	Amfotericin B
DMF	N,N-dimethylformamid
HCl	Kyselina chlorovodíková
KOH	Hydroxid sodný
MBC	Minimální bakteriocidní koncentrace
MH	Mueller – Hintonův agar
MIC	Minimální inhibiční koncentrace
NMR	Nukleární magnetická resonance
PABA	Kyselina <i>p</i> -aminobenzoová
ÚOCHT	Ústav organické chemie a technologie

ÚVOD

Sulfonamidy jsou látky, které obsahují skupinu SO_2NH_2 a patří mezi nejstarší antimikrobiální látky. Je známo, že sulfonamidy mají široké spektrum biologických aktivit. Ráda bych uvedla účinky antibakteriální, protizánětlivé či protinádorové.

Benzthiazoly jsou heterocyklické systémy s celou škálou biologických vlastností. Mezi nejdůležitější biologicky aktivní látky tohoto typu patří benzthiazoly substituované v poloze 2. Příkladem biologické aktivity benzthiazolů jsou účinky antibakteriální či antifungální. Můžeme říct, že pro přípravu určitých typů léčiv jsou benzthiazoly nezbytné, jelikož slouží jako univerzální nosiče.

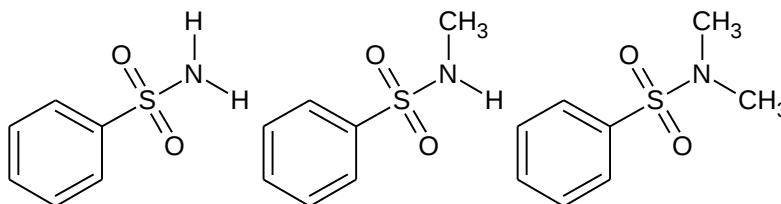
Jelikož sulfonamidy obsahující benzthiazolový blok nebyly ještě prozkoumány, rozhodla jsem se, že budou cílem mé bakalářské práce.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Sulfonamidy

1.1.1 Obecná charakteristika

Sulfonamidy jsou látky, které obsahují skupinu SO_2NH_2 . Na základě substituce dusíku mohou být klasifikovány jako primární, sekundární a terciální (obrázek 1).



Obrázek 1 Primární, sekundární a terciální struktura sulfonamidů

Sulfonamidy patří mezi nejstarší antimikrobiální látky, které byly objeveny při syntéze nových azobarviv ve 30. letech v německé firmě Bayer. Důležitým azobarvivem vyvinutým v této firmě bylo Prontosil rubrum. Postupem času se zjistilo, že Prontosil rubrum je mimořádně účinný proti streptokokovým infekcím *in vivo*, nikoliv však v testech *in vitro*. Tento rozdíl byl následně vysvětlen¹.

Faktem je, že se toto barvivo v organismu odbourává na sulfanilamid, který je antimikrobiálně účinný¹ (schéma 1).

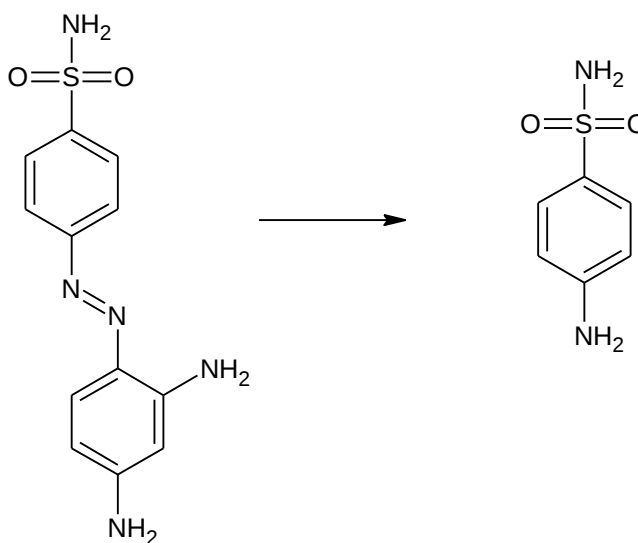


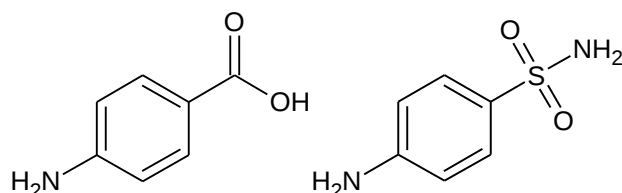
Schéma 1 Transformace Prontosil rubrum na sulfanilamid

1.1.2 Biologická aktivita

Obecně sulfonamidy vykazují rozsáhlé množství biologických aktivit, z kterých lze uvést antibakteriální² či protizánětlivé³ účinky. Je důležité uvést i protinádorovou aktivitu sulfonamidů⁴. Tato skupina sloučenin vykazuje také schopnost podporovat uvolňování inzulinu⁵, jehož úkolem je snižovat hladinu cukru v krvi.

Při absolutním nebo relativním nedostatku inzulinu dochází k onemocnění zvanému Diabetes mellitus. Toto onemocnění je rozšířeno po celém světě a zkracuje délku života až o 50 %⁶.

Primární sulfonamidy, především sulfanilamid, vykazují pozoruhodnou aktivitu proti streptokokovým infekcím. Principem účinku primárních sulfanilamidů je schopnost kompetitivní inhibice s kyselinou *p*-aminobenzoovou (PABA) na základě jejich vzájemné strukturní podobnosti (obrázek 2). PABA je kyselina, která je nepostradatelná pro růst grampozitivních i gramnegativních bakterií. Existenci kyseliny *p*-aminobenzoové je totiž podmíněna tvorbou kyseliny listové nezbytné pro syntézu DNA. Účinnost primárních sulfonamidů a jejich derivátů se však vztahuje pouze na buňky bakterií. Bakterie totiž kyselinu listovou syntetizují na rozdíl od buněk živočišných, které kyselinu listovou přijímají z potravy¹.



Obrázek 2 Strukturní podobnost kyseliny *p*-aminobenzoové a sulfanilamidu

Velmi dlouhou dobu byly sekundární sulfonamidy volbou číslo jedna jako léky proti pneumokokové či stafylokokové infekci. Příkladem jsou sulfathiazol či sulfapyridin. Nicméně v mnoha případech nebyly výsledky těchto sulfonamidů uspokojivé⁷. Sekundární sulfonamidy byly také využívány v dermatologii při léčbě bércových vředů a popálenin. Příkladem takové látky je sulfandiazin. Své využití našly sekundární sulfonamidy i při léčbě infekce gastrointestinálního traktu, močových cest a dalších¹.

V průběhu doby bylo syntetizováno několik tisíc různých derivátů sulfonamidů, nicméně do praxe jich bylo uvedeno asi 150. Různé deriváty sulfonamidů se tedy v současné době používají především k léčbě infekcí močových cest, střevních infekcí a malárie¹.

1.1.3 Syntéza

Princip výroby téměř všech sulfonamidů je reakce, kdy N-acetamid reaguje s primárním či sekundárním aminem v bázi. Nejčastější bázi bývá terciální amin. Následně proběhne hydrolytické štěpení, které má za úkol odstranit acetylovou skupinu v poloze 4¹ (schéma 2).

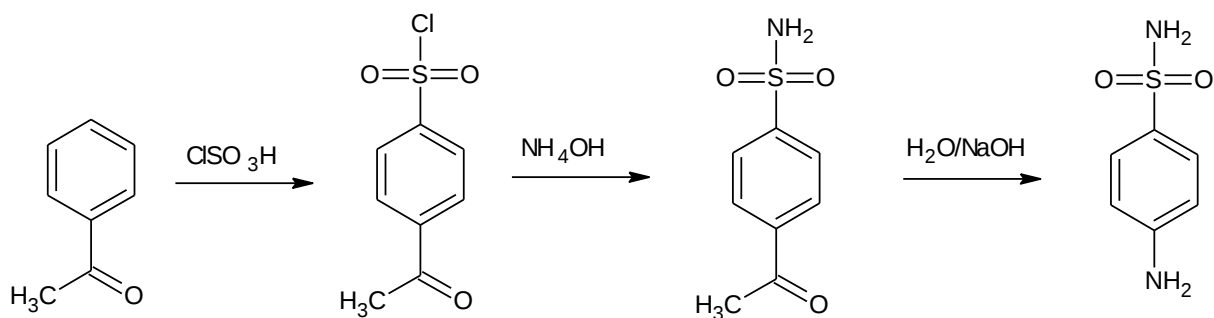


Schéma 2 Syntéza sulfanilamidu

1.2 Benzthiazoly

1.2.1 Obecná charakteristika benzthiazolů

Benzthiazoly jsou aromatické heterocyklické sloučeniny obsahující síru a dusík. I přesto, že základní sloučeniny nejsou příliš využívány, jejich deriváty jsou hojně používány v komerčních produktech díky svým zajímavým biologickým vlastnostem. Benzthiazoly substituované v poloze 2 patří mezi nejvýznamnější biologicky aktivní látky. U takto substituovaných sloučenin bylo popsáno široké spektrum biologických aktivit, z nichž lze zmínit antibakteriální⁸, antifungální⁹ či protinádorové účinky¹⁰. Neméně důležité jsou účinky antidiabetické¹¹.

1.2.2 Biologická aktivita

Samotné benzthiazoly substituované v poloze 2 prokázaly účinnost proti rakovině¹². Díky různorodému spektru vlastností jsou benzthiazoly užitečné pro hledání potenciálních terapeutických látek, proto se u benzthiazolů i jejich substituovaných sloučenin často provádí cytotoxické testy, nejčastěji testy *in vitro*¹³.

Byla prokázána také inhibiční aktivita benzthiazolů vůči grampozitivním i gramnegativním bakteriím, například *Pseudomonas aeruginosa*¹⁴.

Můžeme říct, že pro přípravu určitých typů léčiv jsou benzthiazoly nezbytné, jelikož slouží jako univerzální nosiče. Léky připravené z benzthiazolů se dají využít k léčbě různých neuromuskulárních poruch či Alzheimerovy choroby¹⁵.

Alzheimerova choroba je onemocnění, které postihuje oblasti centrálního nervového systému¹⁶. Existuje mnoho potencionálních léčiv, avšak jedinou třídou léčiv na trhu vykazující výsledky jsou inhibitory acetylcholinesteráz. Ve studii z roku 2013 byla navržena velká řada nových sloučenin, které vznikaly konjugací benzthiazolu a takrinu pomocí různých linkerů (schéma 3). Tyto látky nevykazovaly tolik vedlejších účinků jako takrin a jsou uvedeny v tabulce 1¹⁷. U určitých látek byla hodnocena jejich inhibiční aktivita proti acetylcholinesterázám. Látka zobrazena na obrázku 3 vykazovala pozoruhodnou inhibiční aktivitu IC_{50} 0,34 μ M, která je velmi blízká inhibiční koncentraci takrinu IC_{50} 0,19 μ M¹⁹.

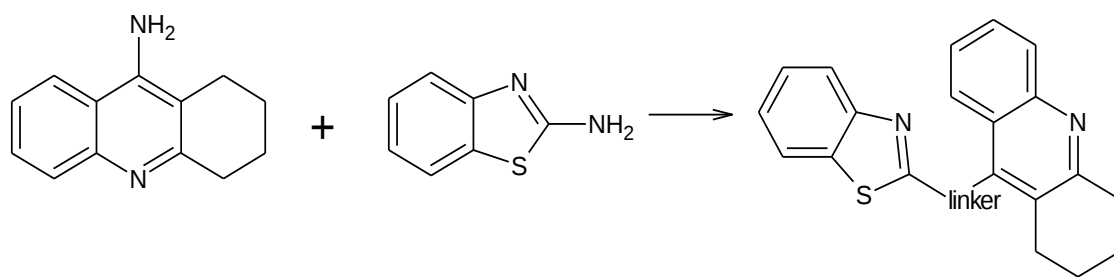
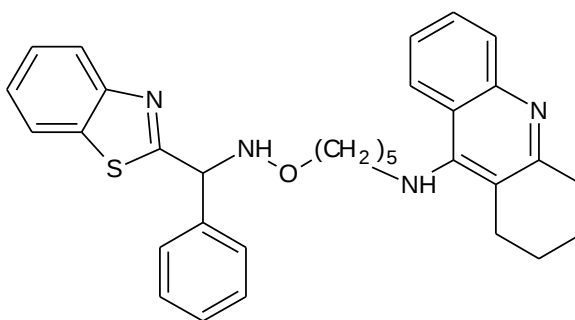


Schéma 3 Konjugace takrinu s benzthiazolem

Tabulka 1 Přehled nově syntetizovaných látek

Číslo	R	Inhibiční aktivita IC_{50} [μ M]	
1	-C ₆ H ₅ -	0,34±0,1	
2	-C ₆ H ₅ -CH ₂ -	0,57±0,1	
3	-CH ₂ - C ₆ H ₅ -	0,96±0,2	
4	-(CH ₂) ₃ -	0,76±0,3	



Obrázek 3 Struktura sloučeniny č. 1

1.2.3 Syntéza

V praxi se pro syntézu benzthiazolu substituovaného v poloze 2 používá metoda, kdy reaguje komerčně dostupný 2-aminothiofenol s příslušnými substituovanými aromatickými aldehydy a disiřičitanem sodným v N,N-dimethylformamidu (DMF) za refluxu. Produkt je izolován přidavkem destilované vody a následnou krystalizací z methanolu²⁰ (schéma 4).



Schéma 4 Příprava benzthiazolů substituovaných v poloze 2

Při syntéze benzthiazolů substituovaných v poloze 2 amino skupinou se využívá metoda, při které reaguje substituovaný anilin s thiokyanatanem sodným a bromem v kyselině octové. Produkt je izolován alkalizací vodným roztokem hydroxidu draselného (KOH) a následnou filtrací²¹ (schéma 5).

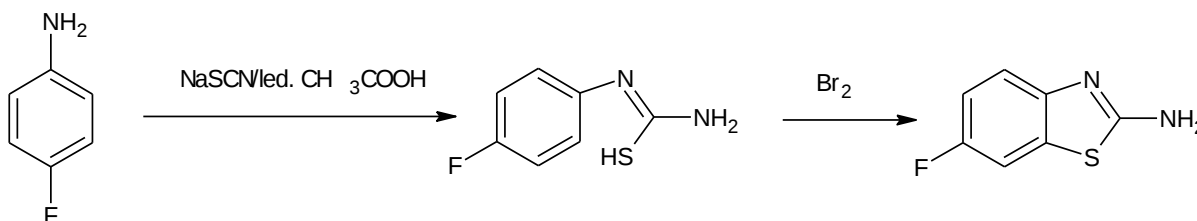


Schéma 5 Příprava benzthiazolů substituovaných v poloze 2 amino skupinou

Syntéza chirálních benzthiazolů vychází z reakce meziprojektu 6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-aminu, který dále reagoval s vodným roztokem KOH za vzniku vodného roztoku 2-amino-5-fluorothiofenolátu draselného²¹ (schéma 6).

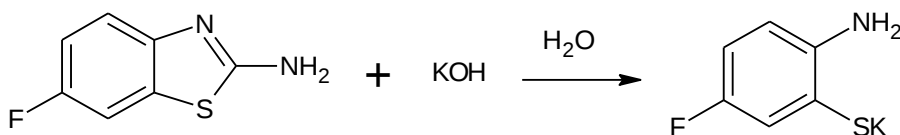


Schéma 6 Syntéza 2-amino-5-fluorothiofenolátu draselného

V dalším stupni byl syntetizován D-alanin-N-karboxyanhydrid reakcí D-alaninu s fosgenem v tetrahydrofuranu²¹ (schéma 7).

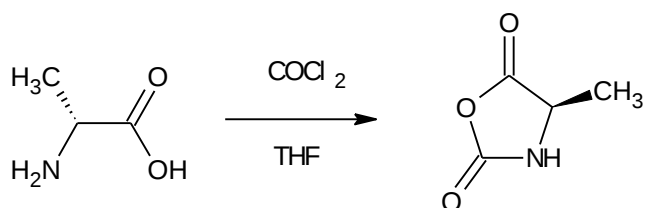


Schéma 7 Syntéza D-alanin-*N*-karboxyanhydridu

V dalším reakčním stupni reagoval 2-amino-5-fluorothiofenolát draselný ve formě vodného roztoku s připraveným D-alanin-*N*-karboxyanhydridem za vzniku vodného roztoku (*R*)-1-(6-fluorobenzthiazol-2-yl)ethanaminuhydrochloridu. Připravená sůl kyseliny chlorovodíkové (HCl) byla následně převedena reakcí s *p*-toluensulfonovou kyselinou na (*R*)-1-(6-fluorobenzthiazol-2-yl)ethanamin-*p*-toluensulfonát. Produkt byl izolován filtrací. Jedná se o stabilní, ve vodě nerozpustnou sůl, kterou lze dlouhodobě skladovat²¹ (schéma 8).

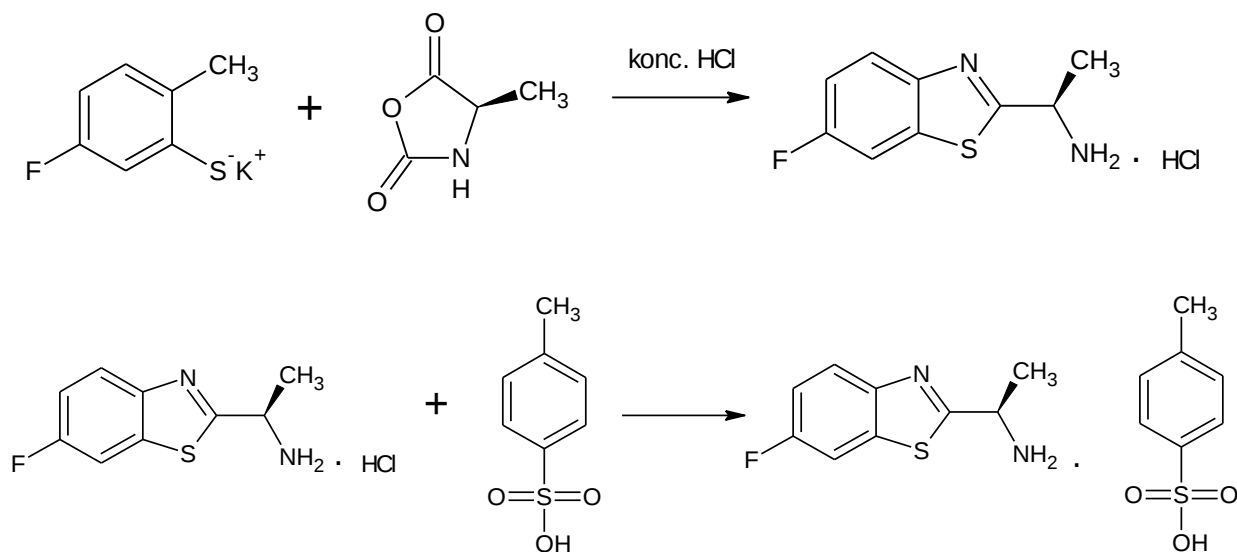


Schéma 8 Syntéza (*R*)-1-(6-fluorobenzthiazol-2-yl)ethanamin-*p*-toluensulfonátu

1.3 Sulfonamidy obsahující benzthiazolový blok

1.3.1 Obecná charakteristika

Už dlouho dobu je známo, že sulfonamidy mají široké spektrum biologických aktivit. Tyto aktivity jsou uvedeny v kapitole 1.1.2. Znovu bych uvedla účinky antibakteriální², protizánětlivé³ a protinádorové⁴.

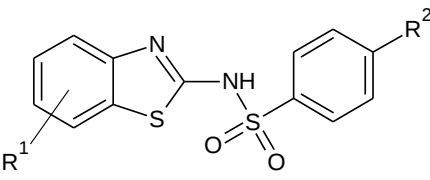
Na druhou stranu účinky benzthiazolů také nejsou zanedbatelné. Jsou to vlastně univerzální nosiče pro přípravu určitých typů léčiv¹⁵ a vykazují účinnost proti Alzheimerově chorobě¹⁵.

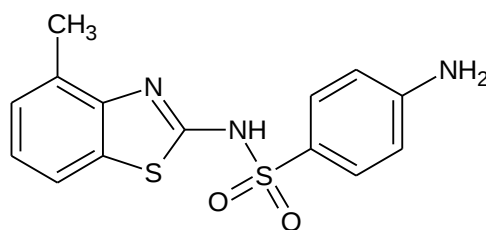
Sulfonamidy obsahující benzthiazolový blok nebyly ještě podrobně prozkoumány. Je však známo, že vykazují aktivitu proti určitým bakteriím, plísním i virům.

1.3.2 Biologická aktivita

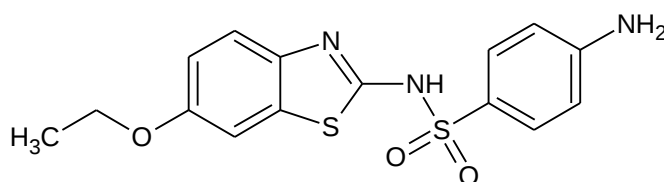
Byla provedena studie, při níž bylo syntetizováno a následně testováno mnoho derivátů sulfonamidů obsahujících benzthiazolový blok. Přehled těchto látek naleznete v tabulce 2. U připravených sulfonamidů byla stanovena *in vitro* jejich antimikrobiální aktivita. Přesněji byly testovány jejich účinky nejen proti gramnegativním, grampozitivním bakteriím, ale i proti kvasinkám a plísním. Například sloučenina č. 1 (obrázek 4) vykazovala nejlepší účinky proti grampozitivním bakteriím *Bacillus subtilis* (MIC 1,5 µg/ml) a *Staphylococcus aureus*. (MIC 12 µg/ml). Zajímavé účinky proti těmto kmenům vykazovala také sloučenina č. 3 (obrázek 5) (MIC 3 µg/ml a MIC 12 µg/ml)²².

Tabulka 2 Výsledky studie

Číslo	R ¹	R ²	
1	4-CH ₃	NH ₂	
2	6-Cl	NH ₂	
3	6-OC ₂ H ₅	NH ₂	
4	H	NO ₂	
5	4-CH ₃	NO ₂	
6	6-OC ₂ H ₅	NO ₂	
7	6-F	NO ₂	
8	6-Cl	NO ₂	
9	H	Cl	
10	6-Cl	Cl	



Obrázek 4 Sloučenina č. 1 – 4-amino-*N*-(4-methyl-1,3-benzthiazol-2-yl)benzensulfonamid



Obrázek 5 Sloučenina č. 3 – 4-amino-*N*-(6-ethoxy-1,3-benzthiazol-2-yl)benzensulfonamid

1.3.3 Syntéza

Na základě provedené literární rešerše byly nalezeny výsledky studie syntézy a testování antimikrobiálních aktivit derivátů obsahující sulfonamidickou skupinu v poloze 2 v benzthiazolovém bloku. Testované sloučeniny byly syntetizovány reakcí 2-aminobenzthiazolu v poloze 4 a 6 s benzensulfochloridem, který byl substituován v poloze 4. Reakce byla prováděna v pyridinu při teplotě 60 °C. Požadované deriváty byly poté izolovány z reakční směsi přidavkem vody a následnou krystalizací z ethanolu²¹ (schéma 9).

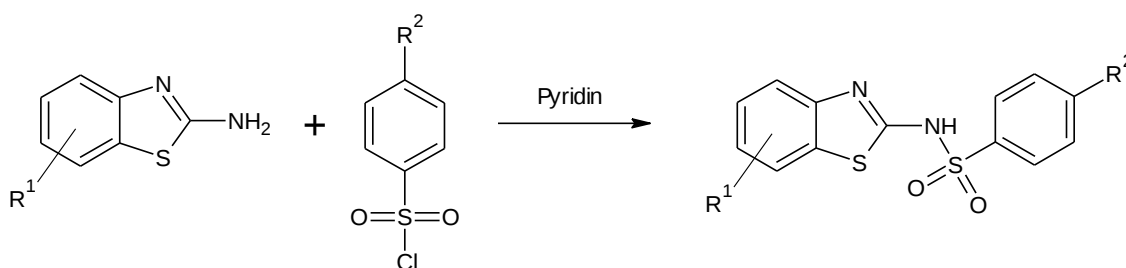


Schéma 9 Syntéza sulfonamidů obsahující benzthiazolový blok

1.4 Antimikrobiální účinky látek

Principem antimikrobiálního účinku je cíleně negativně působit na životní projevy mikroorganismů. Antimikrobiální účinky mají za následek inhibici růstu či smrt mikroorganismů²³. Sulfonamidy spolu s penicilinem patří mezi první látky využívané v praxi.

Tyto látky byly objeveny v třicátých letech 20. století²⁴. Rozlišují se dva typy antimikrobiálního účinku, a to baktericidní a bakteriostatický²⁴.

Bakteriocidní účinek je spojen s poškozením mikrobiální buňky, což vede k usmrcení bakterie. Tento účinek je nevratný²³.

Bakteriostatický účinek zabraňuje růstu a množení mikroorganismů²⁵. Sulfonamidy spolu s většinou bakteriostatických látek především inhibují syntézu bílkovin²⁴.

Existuje jev, kdy po odstranění mikroorganismů z prostředí, kde vykazoval antimikrobiální účinky, pokračuje stále jeho inhibiční účinek i bez jeho přítomnosti. Je to takzvaný postantibiotický účinek či efekt²⁶. Postantibiotický účinek může mít různou délku trvání. Tato doba je většinou 120 minut až několik hodin. Délka doby účinku je závislá na druhu působící látky, její koncentraci i na mikrobiálním druhu²⁷.

1.4.1 Původ látek s antimikrobiálními účinky

Antimikrobiální látky je možno rozdělit podle původu na přirozené, semisyntetické a syntetické. Antimikrobiální látky přirozené jsou často označovány jako antibiotika. Na rozdíl od látek syntetických jsou tyto látky produkovány živými organismy. Syntetické antimikrobiální látky, jinak nazývané chemoterapeutika, jsou tedy čistě chemické. V dnešní době jsou antibiotika semisyntetické či syntetické deriváty původních látek přirozeného původu²⁴.

Jak už bylo zmíněno, přirozené antimikrobiální látky jsou produkovány mikroorganismy, například rodem *Streptomyces*. Jako další příklad lze uvést různé rody plísní, zejména rod *Penicillium*²⁸.

Semisyntetické antimikrobiální látky vznikaly modifikací přirozených antibiotik. Tímto procesem lze zlepšit účinnost a zároveň snížit nežádoucí účinky²⁹. Příkladem semisyntetické antimikrobiální kultury může být transformace penicilinu G na semisyntetický penicilin, u kterého se neprojevují nežádoucí alergické reakce³⁰.

Syntetické antimikrobiální látky jsou připravovány z chemických substancí v laboratořích podle přesně daných postupů²⁸.

1.4.2 Hodnocení účinku

K vyhodnocení antimikrobiálních látek se využívá hodnota minimální inhibiční koncentrace (MIC) a minimální bakteriocidní koncentrace (MBC). Pro zjištění MIC a MBC musí být dodržován přesný způsob provedení³¹.

Minimální inhibiční koncentrace je nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která zastavuje růst a množení organismu²³. Hodnota MIC se udává v mg/l nebo v mg/kg³².

Minimální baktericidní koncentrace je nejnižší koncentrace antimikrobiální látky, která za danou dobu usmrtí mikroorganismus³². Hodnota MBC se udává v µg/ml nebo v mg/l³².

1.4.3 Využití látek s antimikrobiálním účinkem

Látky s antimikrobiálním účinkem mají široké spektrum uplatnění, příkladem je farmacie, zdravotnictví, potravinářský či kosmetický průmysl. V průmyslu našly své místo zejména jako konzervační, antiseptické, dezinfekční a sterilizační prostředky²⁸.

Látky konzervační zastavují proliferaci mikroorganismů a tím stabilizují produkty v době technologických procesů a skladování²⁸.

Úkolem dezinfekčních prostředků je zničení patogenních a podmíněně patogenních mikroorganismů. Používáním dezinfekčních prostředků došlo k značné redukci výskytu infekcí²⁸.

Dezinfekční prostředky mohou být aplikovány i na živé tkáně, pak však musí splňovat nejen antimikrobiální aktivitu, ale také toxicitu. Takovéto látky nazýváme antiseptické. Účinek dezinfekčních prostředků můžeme rozdělit na nízký, střední a vysoký. Nízký účinek má za následek usmrcení většiny buněk bakterií, virů a plísní. Střední účinek pak usmrcuje buňky bakterií včetně *Mycobacterium tuberculosis*, viry a plísně. Nakonec vysoký účinek zahrnuje usmrcení všech mikroorganismů kromě velmi odolných kmenů³³.

Pokud dochází k usmrcení všech buněk i spor mikroorganismů, jedná se o tzv. sterilizaci. Sterilizovat lze fyzikálními či chemickými metodami, popřípadě jejich kombinacemi. Mezi procesy sterilizace je možné zahrnout teplo, záření, chemikálie či přímé odstranění mikroorganismů²⁸.

1.4.4 Rezistence mikroorganismů k antimikrobiálním látkám

Rezistence je schopnost mikroorganismu odolávat působení antimikrobiálních látek. Všeobecně lze říci, že rezistence mikroorganismů nastává tehdy, pokud dojde ke ztrátě schopnosti antimikrobiální látky potlačit růst či usmrtit tyto mikroorganismy²⁴. Rozlišujeme dva typy rezistence, a to primární a sekundární³⁴.

Primární rezistence k určitým antimikrobiálním látkám je dána přirozeně³⁴. Základem této rezistence je vrozená necitlivost mikroorganismů vůči antimikrobiální látce³⁵.

Sekundární rezistence neboli rezistence získaná představuje mnohem závažnější problém. Ve skutečnosti jsou některé bakterie za normálních okolností vůči látce citlivé, nicméně v důsledku genetických změn se postupem času stanou rezistentní³⁵.

Při nadměrném používání antimikrobiálních látek dochází k rychlejšímu vzniku a šíření bakterií, které jsou vůči těmto látkám rezistentní. Mikroorganismy, které jsou rezistentní vůči antimikrobiální látce, přežívají i v její přítomnosti, a dokonce se i dále množí. Díky rezistenci mikroorganismů se prodlužuje doba trvání nemoci. Nemoci takto způsobené vyžadují použití alternativních antimikrobiálních látek, které mohou mít nepříznivé vedlejší účinky³⁴.

1.5 Antibiotika

1.5.1 Amfotericin B

Amfotericin B (AMB) spadá do skupiny antifungálních antibiotik, jejichž vlastností je poškozovat cytoplazmatickou membránu. Principem účinku AMB je vazba na steroly, konkrétně na ergosterol³⁶. AMB je přírodní antibiotikum žlutooranžové barvy. Toto antibiotikum je produkováno druhem *Streptomyces nodosus*³⁶. Využívá se při léčbě mykotických infekcí způsobených *Candida albicans*, *Asperillus fumigatis* a dalších³⁷. AMB má opravdu široké spektrum použití, nejen že má antimykotické vlastnosti, ale také je účinné antiparazitikum³⁶. Bohužel, v klinické praxi není příliš využíváno, a to kvůli špatné rozpustnosti ve vodě. Nicméně špatná rozpustnost AMB není jedinou negativní vlastností, jeho využití je limitováno především jeho toxickými účinky³⁶.

1.5.2 Chloramfenikol

Od konce čtyřicátých let patří toto antibiotikum k jednomu z nejspolehlivějších. Chloramfenikol je produkován *Streptomyces venezuelae*. Díky své jednoduché chemické struktuře je však v současnosti chloramfenikol připravován převážně chemicky³².

Účinky chloramfenikolu mají rozsáhlé využití, například lokální léčba bakteriálních infekcí³⁸. Principem účinku chloramfenikolu je inhibice proteosyntézy³⁹. Bohužel, i chloramfenikol vykazuje nežádoucí účinky. Mezi nejzávažnější nežádoucí účinky patří snižování aktivity kostní dřeně²⁸.

1.5.3 Cefoperazon

Cefoperazon je bakteriocidní antibiotikum. Princip jeho účinku spočívá v inhibici syntézy buněčné stěny. Jeho účinky byly prokázány proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím, konkrétně proti *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* a *Acinetobacter baumannii*⁴⁰. V klinické praxi se cefoperazon využívá při léčbě infekce žlučových a dýchacích cest, infekcích močových cest, infekcích kůže a dalších⁴¹.

1.6 Biologické metody

Na začátku této kapitoly bych chtěla upřesnit, co je to citlivost. Citlivost je schopnost daného mikroorganismu vnímat účinek antimikrobiální látky⁴².

V dnešní době se pro stanovení citlivosti používají kvalitativní i kvantitativní metody. Můžeme rozlišit dva typy metod, a to difuzní a diluční. Jako příklad těchto metod můžeme uvést diskovou difuzní metodu, bujónovou diluční metodu, agarovou diluční metodu a E-test⁴³. Uvedené metody se staly základním kamenem k určování vhodných antimikrobiálních látek k léčbě⁴⁴. Je třeba však uvést, že výsledky těchto metod se mohou lišit, a to v závislosti na okolních podmínkách. Je tedy důležité dodržování standardizovaných postupů těchto metod⁴⁵.

1.6.1 Difuzní metody

Metodou difuzní stanovíme pouze citlivost, nebo rezistenci mikroorganismu k antibiotikům. Jedná se tedy o metodu čistě kvalitativní. Tyto metody jsou vyhledávané zejména díky své jednoduché proveditelnosti a nízkým nákladům. Za nevýhodu můžeme pokládat dlouhé trvání⁴⁶.

1.6.1.1 Disková difuzní metoda

Dalším názvem pro diskovou difuzní metodu je Kirby-Bauerův test a jedná se o kvalitativní metodu. Principem této metody je difuze antimikrobiální látky z disku položeného na povrchu Mueller-Hintonova (MH) agaru, kde je naočkována daná mikrobiální kultura. Mikrobiální kultura je nejdříve rozptýlena v bujonu a její hodnota je upravena na koncentraci 0,5 McFarlanda. Pokud dojde k potlačení růstu testované mikrobiální kultury antibiotikem, vytvoří se tzv. inhibiční zóny. Velikost inhibičních zón určuje citlivost daného mikroorganismu vůči antimikrobiální kultuře. Porovnáním velikosti inhibičních zón

s referenční hodnotou zjistíme, zda se jedná o mikroorganismy vůči dané antimikrobiální látce citlivé, či rezistentní⁴³.

Pokud inhibiční zóny převyšují referenční hodnoty, bavíme o citlivých mikroorganismech. Pokud jsou inhibiční zóny menší, dají se pokládat za rezistenci vůči mikroorganismu⁴³.

1.6.1.2 E-test

Pro stanovení citlivosti je velmi často využíváný E-test. E-test je kombinací diskového difuzního testu s možností určení MIC. Principem této metody je difuze antimikrobiální látky ze speciálního papírového proužku opatřeného stupnicí do agarové půdy, kde je naočkovaná mikrobiální kultura. Papírový proužek je napuštěn postupně rostoucí koncentrací antimikrobiální látky⁴⁴.

Pokud je mikrobiální kultura citlivá na antimikrobiální látku, vytvoří se eliptická inhibiční zóna, která protíná bod na stupnici právě v místě udávajícím hodnotu MIC⁴⁴.

1.6.2 Diluční metody

Diluční metody jsou metodami kvantitativními. V porovnání s metodami difuzními jsou přesnější. Diluční metoda se užívá ke stanovení MIC, což je minimální koncentrace (největší možné zředění), kdy je antimikrobiální látka schopna zastavit růst mikroorganismů. K tomuto účelu se používají antimikrobiální látky naředěné tzv. geometrickou řadou⁴⁷.

Za kladnou stránku stanovování MIC dilučními metodami lze považovat citlivost, reprodukovatelnost a fakt, že lze být snadno standardizováno⁴⁷.

Mezi dvě nejžádanější metody stanovení MIC patří agarová a bujonová diluční metoda⁴⁵.

1.6.2.1 Agarová diluční metoda

Základem agarové diluční metody je inhibice růstu mikroorganismů antimikrobiální látkou. Předem daný počet bakterií je nanesen na agar, který obsahuje různou koncentraci antimikrobiálních látek. Po inkubační době při určité vhodně zvolené teplotě zjišťujeme nárůst bakterií⁴⁵.

1.6.2.2 Bujónová diluční metoda

I u této metody můžeme říct, že jejím principem je inhibice růstu mikroorganismu, nicméně při této metodě používáme tekuté živné médium (bujón). Toto médium obsahuje postupně vzrůstající koncentrace antimikrobiálních látek⁴⁵.

Existují dvě metody, a to makrodiluční a mikrodiluční v závislosti na objemu média. Bakterie jsou nanášeny na bujón a po inkubační době při vhodně zvolené teplotě hodnotíme zákal nebo sediment, který značí nárůst bakterií⁴⁵.

Když však porovnáme výsledky MIC obou metod, může docházet k odchylkám, jelikož bujónové diluční metody mají obecně nižší hodnoty než agarové diluční metody⁴⁷.

1.6.2.2.1 Mikrodiluční metoda

Výhodou mikrodiluční metody je použití malých objemů, což je v mikrobiologii praktické a vítané. Za tímto účelem jsou dodávány sterilní plastové mikrotitrační destičky obsahující 96 jamek, které mají kulaté či konické dno. Každá z jamek by měla obsahovat pouze 0,1 ml živné půdy. Jako živná půda se nejčastěji používá MH bujón spolu s určitými koncentracemi antibiotik⁴⁸.

Obvykle se připravuje 8 různých koncentrací jednoho antimikrobiálního činidla v dvojnásobné geometrické řadě. Každá destička by měla obsahovat pozitivní i negativní kontrolu. Naplněné mikrotitrační destičky se v igelitových pytlíčcích uchovávají v chladničce. Takto umístěné zásobníky vydrží stabilní až několik měsíců. Rozmražené zásobníky se již nesmí znovu zamrazit kvůli degradaci některých antimikrobiálních činidel⁴⁸.

Inokulum o koncentraci 0,5 McFarlanda se následně očkuje do jamek mikrotitrační destičky. Objem naředěného inokula by neměl být větší než 10 % objemu jamky.

Po naočkování se provádí inkubace 16–20 hodin při teplotě 25 ± 2 °C. Po inkubaci zhodnotíme pozitivní, negativní kontroly a zjišťujeme hodnotu MIC⁴⁸.

1.7 Kultivační média

Kultivační média mají zásadní význam pro většinu mikrobiologických testů, získání čistých kultur, růst i kultivaci. Kultivační média jsou látky, které podporují nejen růst, ale i následné přežití mikroorganismů⁴⁹.

Kultivační média obsahují živiny, faktory podporující růst, zdroje energie, pufové soli, minerály, kovy a želírující látky⁵⁰.

K dispozici je dnes široké spektrum různých kultivačních médií. Na základě fyzického stavu jsou kultivační média obvykle rozdělena na tekutá kultivační média, tuhá a polotuhá média⁴⁹.

Tekutá kultivační média jsou jinak nazývána „vývar“⁴⁹.

Tuhá a polotuhá kultivační média jsou běžně nazývána „agar“. Tato média jsou obvykle dále rozdělována do kategorií, jako jsou růstová média, transportní média, obohacovací média a selektivní růstová média⁴⁹.

2 Experimentální část

2.1 Komerčně dostupná chemická činidla

Toluen p.a. – Penta

n-Hexan 95% – Sigma-Aldrich

Kyselina chlorovodíková p.a. – Penta

Destilovaná voda

Pyridin – Penta

Benzensulfonylchlorid 99% – Fluorochem

3-chlorbenszensulfonylchlorid 98% – Fluorochem

3-fluorbenszensulfonylchlorid 99% – Fluorochem

4-toluensulfonylchlorid 97% – Fluorochem

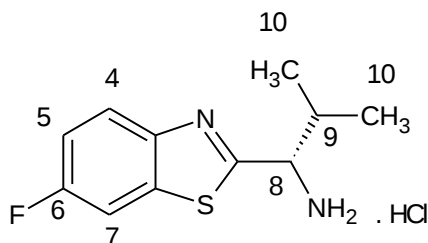
3,5-difluorbenszensulfonylchlorid 98% – Fluorochem

3-fluor-4-methylbenszensulfonylchlorid 97% – Fluorochem

3-chlor-4-methylbenszensulfonylchlorid 98% – Fluorochem

2.2 Charakteristika výchozích látek

2.2.1 (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-hydrochlorid



Byl připraven na pracovišti ÚOCHT. Látka byla před použitím analyzována NMR spektrometrií.

Vzhled: Bílá pevná látka

Bod tání: 210–211 °C

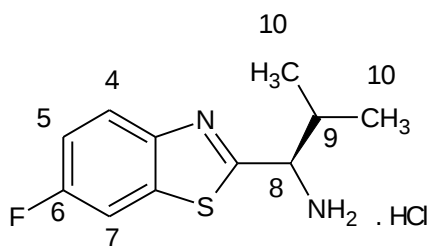
$[\alpha]_D^{25} = -18,5$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400.13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 9,11$ (3H, s, NH_3^+); 8,12 (1H, dd, $^4J = 2,8$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 8,07 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,43 (1H, dt, $^4J = 2,7$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 4,68 (1H, d, $^3J = 6,5$ Hz, H8); 2,40 (1H, m, H9); 1,05 (3H, d, $^3J = 6,6$ Hz, H9); 0,89 (3H, d, $^3J = 6,6$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100.62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 166,8$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,3$ Hz); 159,9 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 148,7; 136,1 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 124,1 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,6$ Hz); 115,2 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 109,0 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 57,1; 32,0; 21,0; 18,6; 18,0.

^{19}F NMR (376.46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -115,3$.

2.2.2 (1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-4-hydrochlorid



Byl připraven na pracovišti ÚOCHT. Látka byla před použitím analyzována NMR spektrometrií.

Vzhled: Bílá pevná látka

Bod tání: 211–212 °C

$[\alpha]_D^{25} = +18,8$ (c = 1, methanol)

¹H NMR (400.13 MHz, DMSO-d₆): δ = 9,09 (3H, s, NH₃⁺); 8,12 (1H, dd, ⁴J = 2,6 Hz, ³J(¹⁹F, ¹H) = 8,9 Hz, H7); 8,07 (1H, dd, ³J = 9,0 Hz, ⁴J(¹⁹F, ¹H) = 4,8 Hz, H4); 7,43 (1H, dt, ⁴J = 2,6 Hz, ³J(¹H, ¹H) 9,2 Hz, ³J(¹⁹F, ¹H) = 9,2 Hz), H5); 4,68 (1H, d, ³J = 6,5 Hz, H8); 2,40 (1H, m, H9); 1,05 (3H, d, ³J = 6,6 Hz, H9); 0,89 (3H, d, ³J = 6,6 Hz, H10).

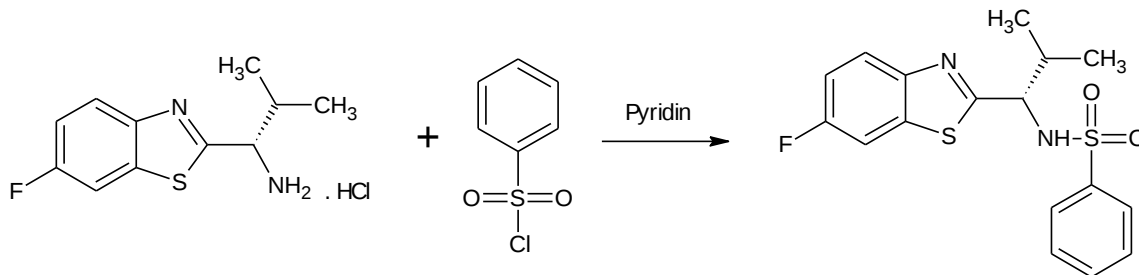
¹³C NMR (100.62 MHz, DMSO-d₆): δ = 166,8 (d, ⁴J(¹⁹F, ¹³C) = 3,1 Hz); 159,9 (d, ¹J(¹⁹F, ¹³C) = 243,8 Hz); 148,7; 136,1 (d, ³J(¹⁹F, ¹³C) = 12,0 Hz); 124,1 (d, ³J(¹⁹F, ¹³C) = 9,7 Hz); 115,2 (d, ²J(¹⁹F, ¹³C) = 25,0 Hz); 109,0 (d, ²J(¹⁹F, ¹³C) = 27,3 Hz); 57,1; 32,0; 21,0; 18,6; 18,0.

¹⁹F NMR (376.46 MHz, DMSO-d₆): δ = -115,3.

2.3 Syntetizované látky

2.3.1 N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

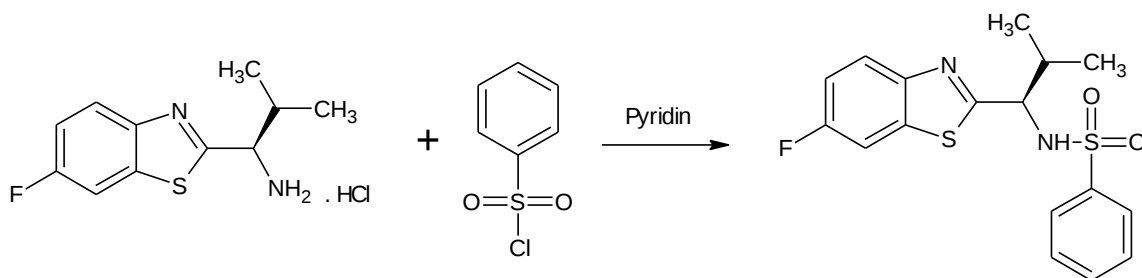
(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-aminhydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
Benzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Do 50 ml baňky bylo předloženo 1,04 g (0,004 mol) (1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-aminhydrochloridu, 20 ml pyridinu a 1,4 g (0,008 mol) benzensulfonylchloridu. Reakční směs byla následně zahřána na teplotu 70 °C a při této teplotě byla dále míchána dvě hodiny. Reakční směs byla poté ochlazená na teplotu 20 °C a byla převedena do 100 ml baňky. Do reakční směsi bylo přidáno 30 ml destilované vody a 30 ml toluenu a reakční směs byla 0,5 hodiny míchána. Poté bylo míchání zastaveno a z reakční směsi byla oddělena organická vrstva. Vodná vrstva byla následně extrahována 30 ml toluenu. Toluénové vrstvy byly spojeny a byly extrahovány 50 ml 10% vodného roztoku HCl. Organická vrstva byla oddělena a následně byla extrahována dvakrát 50ml vody. Z takto extrahované organické vrstvy byl destilací za sníženého tlaku (50 °C/100–10 mm) oddestilován veškerý toluen. K destilačnímu zbytku bylo přidáno 20 ml n-hexanu, reakční směs byla zahřána k varu. Následným ochlazením na teplotu 0–5 °C byl vykrystalizován požadovaný produkt. Produkt byl izolován filtrací. Izolovaný produkt byl promyt dvakrát 10ml n-hexanu a byl sušen na vzduchu za laboratorní teploty. Bylo připraveno 1,1 g (73% výtěžek).

2.3.2 N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

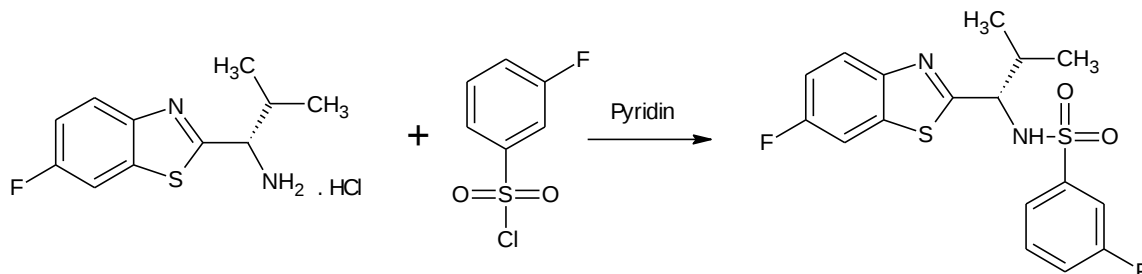
(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
Benzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,0 g produktu (67% výtěžek).

2.3.3 3-fluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

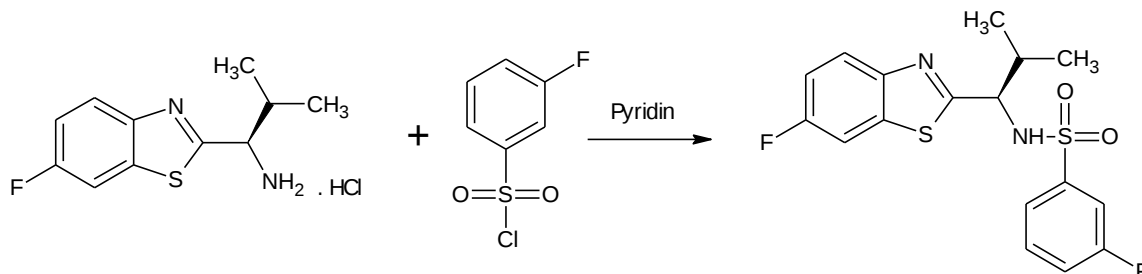
(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-fluorbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,2 g produktu (80% výtěžek).

2.3.4 3-fluor-N-[(1*R*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

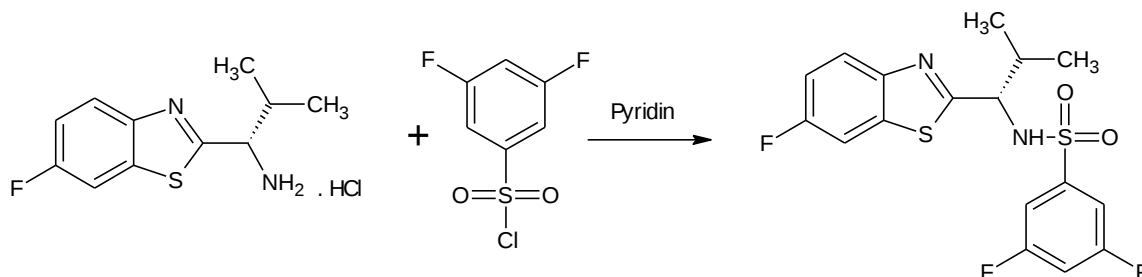
(1 <i>R</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-fluorbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsáným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,1 g produktu (73% výtěžek).

2.3.5 3,5-difluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

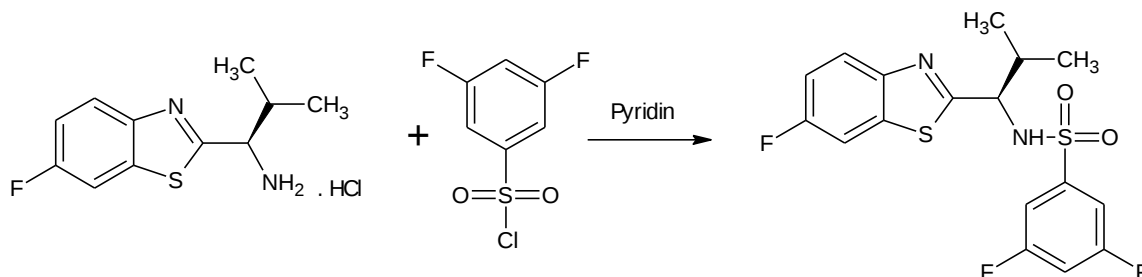
(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3,5-difluorbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsáným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,2 g produktu (75% výtěžek).

2.3.6 3,5-difluor-N-[(1*R*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

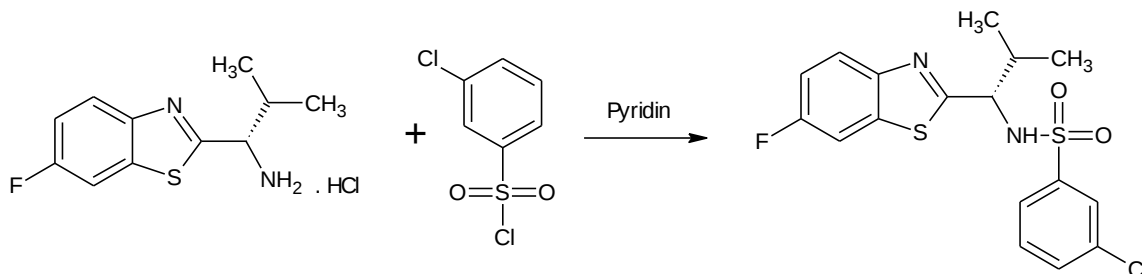
(1 <i>R</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3,5-difluorbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,1 g produktu (69% výtěžek).

2.3.7 3-chlor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

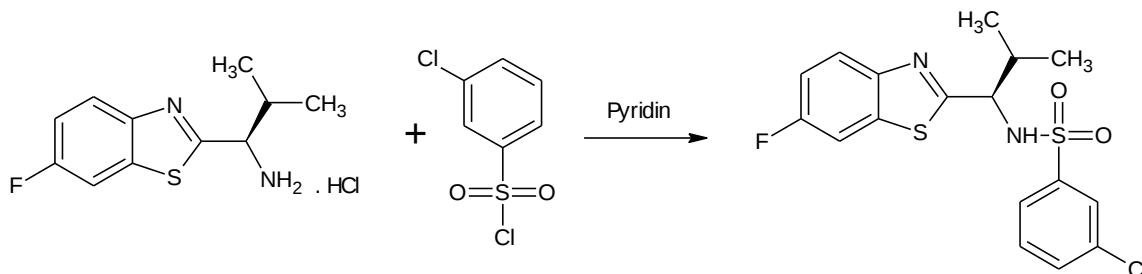
(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-aminhydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-chlorbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,2 g produktu (75% výtěžek).

2.3.8 3-chlor-N-[(1*R*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

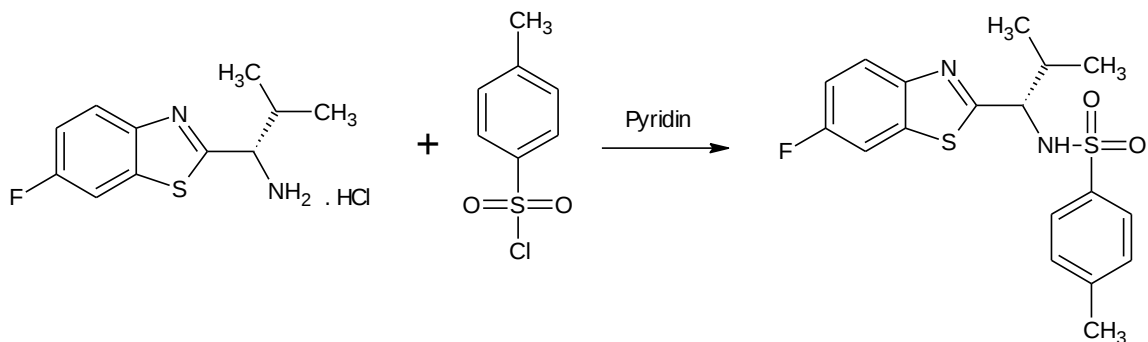
(1 <i>R</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-chlorbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,3 g produktu (81% výtěžku)

2.3.9 4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

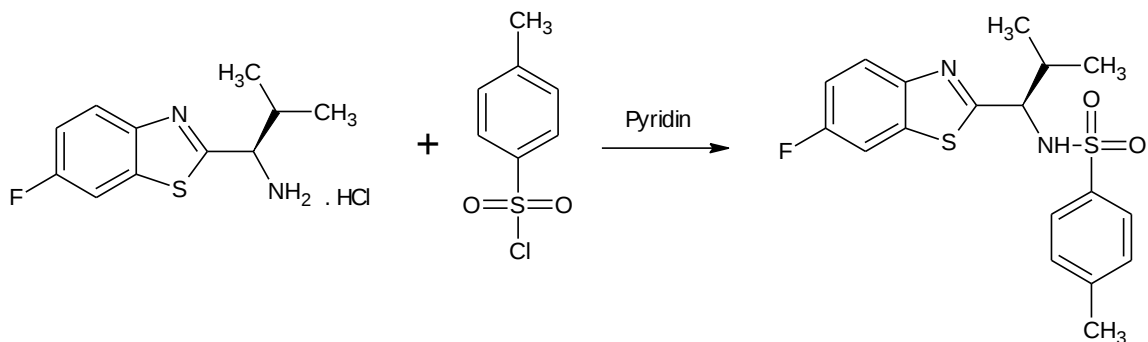
(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
4-toluensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,1 g produktu (73% výtěžek).

2.3.10 4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

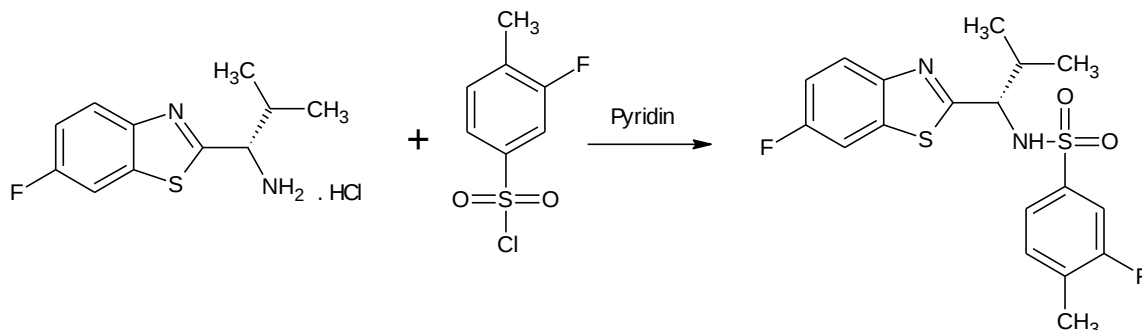
(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
4-toluensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsáním v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,2 g produktu (80% výtěžek).

2.3.11 3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

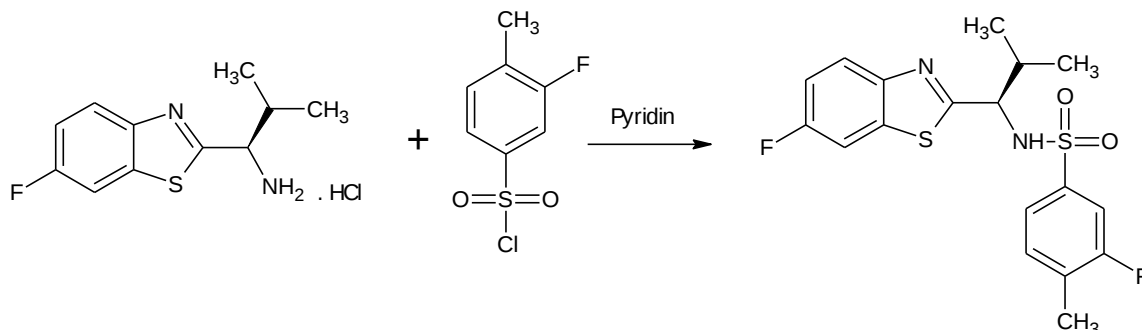
(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-fluor-4-methylbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,3 g produktu (81% výtěžek).

2.3.12 3-fluor-4-methyl-N-[(1*R*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

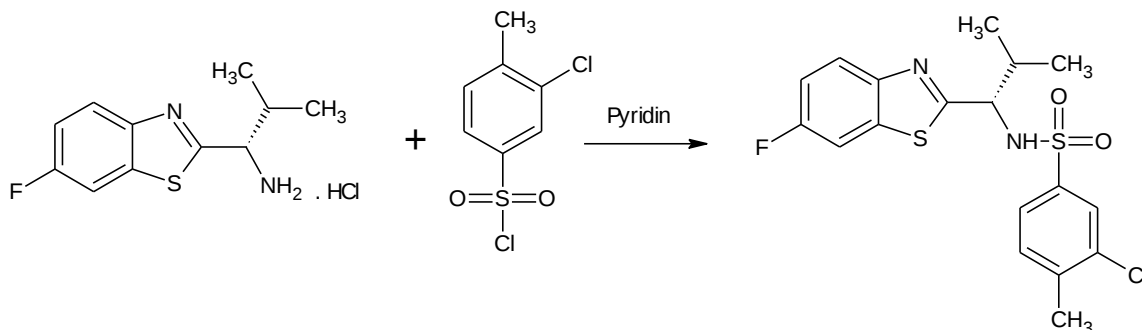
(1 <i>R</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-fluor-4-methylbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,1 g produktu (69% výtěžek).

2.3.13 3-chlor-4-methyl-N-[(1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

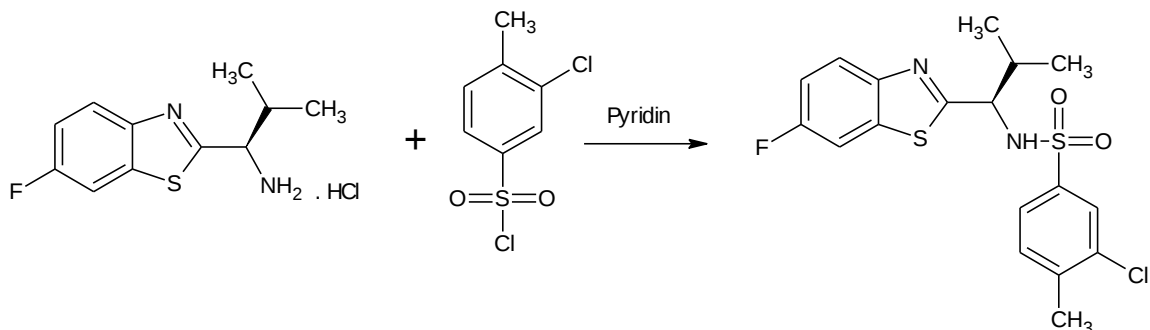
(1 <i>S</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-chlor-4-methylbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,3 g produktu (77% výtěžek).

2.3.14 3-chlor-4-methyl-N-[(1*R*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid

Reakční schéma:



Násada:

(1 <i>R</i>)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin hydrochlorid	1,04 g (0,004 mol)
Pyridin	20 ml
3-chlor-4-methylbenzensulfonylchlorid	1,4 g (0,008 mol)
Toluen	60 ml

Postup:

Produkt byl připraven postupem popsaným v kapitole 2.3.1. Bylo získáno 1,2 g produktu (71% výtěžek).

2.4 Metody charakterizace

2.4.1 Bod tání

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

2.4.2 NMR spektroskopie

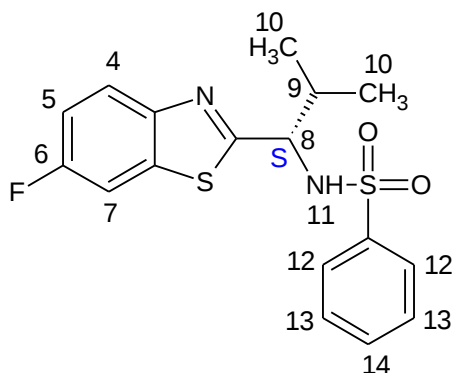
NMR spektra byla měřena v deuteriochloroformu a hexadeuteriodimethylsulfoxidu při teplotě 300 K na přístroji Bruker Avance 400 MHz v pulzním módu s Fourierovou transformací. Spektra byla měřena v 5-ti milimetrové širokopásmové laditelné sondě a frekvence použité při měření byly u ^1H spekter 400,13 MHz, pro ^{13}C spektra pak 100,62 MHz, a ^{19}F spektra 376,46 MHz. Všechna NMR spektra (^1H , ^{13}C a ^{19}F) byla měřena standardním způsobem. Hodnoty ^1H a ^{13}C chemických posunů byly vztaženy vůči signálu rozpouštědla ($\delta(^1\text{H}) = 7,25 \text{ ppm}$ ($\delta(^{13}\text{C}) = 77,0 \text{ ppm}$ (CDCl_3), ($\delta(^1\text{H}) = 2,5 \text{ ppm}$ ($\delta(^{13}\text{C}) = 39,5 \text{ ppm}$ (DMSO) a přepočteny do δ -stupnice.

2.4.3 Optická otáčivost

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

2.5 Charakterizace připravených látek

2.5.1 N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,1 g (73 %)

Bod tání: 105,5–106,2 °C

$[\alpha]_D^{25} = -51,0$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,67$ (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, NH 11); 7,92 (1H, dd, $^4J = 2,7$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 7,88 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,72 (2H, d, $^3J = 7,0$ Hz, H12); 7,47 – 7,39 (3H, m, H13, H14); 7,33 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 4,41 (1H, t, $^3J = 7,5$ Hz, H8); 2,13 (1H, m, H9); 0,83 (3H, d, $^3J = 6,6$ Hz, H10); 0,66 (3H, d, $^3J = 6,6$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 173,8$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,0$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,5 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,4$ Hz); 140,6; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,9$ Hz); 132,3; 128,8; 126,5; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,4$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,8$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,1$ Hz); 61,6; 33,0; 18,9; 18,0.

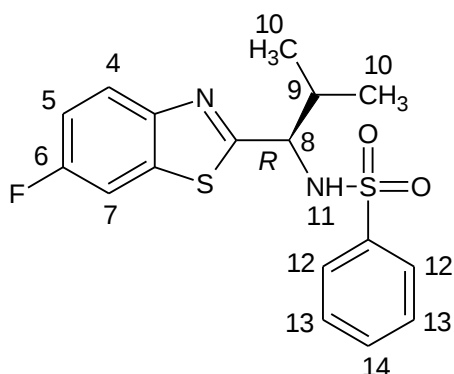
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,3$

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 364,46$)

Vypočteno: C(56,02 %), H(4,70 %), N(7,69 %), S(17,60 %)

Stanoveno: C(56,21 %), H(4,78 %), N(7,53 %), S(17,45 %)

2.5.2 N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1 g (67 %)

Bod tání: 104,9–105,9 °C

$[\alpha]_D^{25} = +51,8$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,66 (1H, d, $^3J = 7,9$ Hz, NH 11); 7,92 (1H, dd, $^4J = 2,8$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H7); 7,88 (1H, dd, $^3J = 9,1$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,72 (2H, d, $^3J = 7,1$ Hz, H12); 7,47 – 7,39 (3H, m, H13, H14); 7,33 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,0$ Hz, H5); 4,41 (1H, t, $^3J = 7,5$ Hz, H8); 2,13 (1H, m, H9); 0,83 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10); 0,66 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 173,8 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,2$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,0$ Hz); 149,5 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,5$ Hz); 140,6; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 132,3; 128,8; 126,5; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,6$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 61,6; 33,0; 18,9; 18,0.

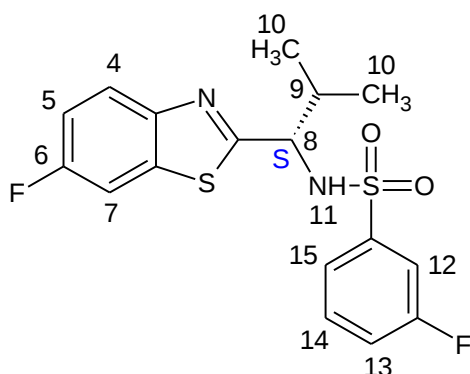
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,3$

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 364,46$)

Vypočteno: C(56,02 %), H(4,70 %), N(7,69 %), S(17,60 %)

Stanoveno: C(56,25 %), H(4,76 %), N(7,50 %), S(17,42 %)

2.5.3 3-fluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,2 g (80 %)

Bod tání: 68,5–70,9 °C

$[\alpha]_D^{25} = -55,4$ (c = 1, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,81$ (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, NH 11); 7,92 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 7,87 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$ Hz, H4); 7,54 (1H, dt, $^4J = 1,5$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,3$ Hz, H12); 7,47 – 7,40 (2H, m, H14, H15); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 7,28 (1H, dt, $^4J = 2,5$ Hz, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,0$ Hz, H13); 4,48 (1H, t, $^3J = 7,8$ Hz, H8); 2,15 (1H, m, H9); 0,88 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,70 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 173,1$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,2$ Hz); 161,4 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 248,5$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,2 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,4$ Hz); 142,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 6,6$ Hz); 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 131,1 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 8,1$ Hz); 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,6$ Hz); 122,7 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 2,9$ Hz); 119,1 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 21,1$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,1$ Hz); 113,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,3$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,1$ Hz); 61,7; 33,0; 18,9; 18,0.

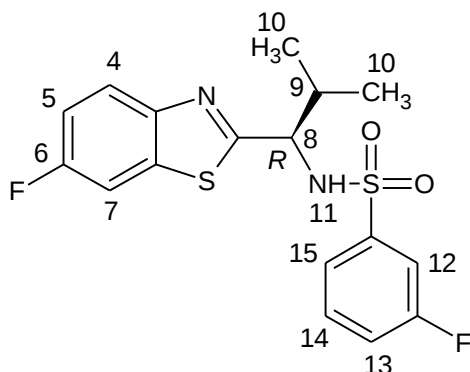
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -111,0$; -116,3

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 382,45$)

Vypočteno: C(53,39 %), H(4,22 %), N(7,32 %), S(16,77%)

Stanoveno: C(53,25 %), H(4,18 %), N(7,43 %), S(16,95 %)

2.5.4 3-fluor-N-[(R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,1 g (73 %)

Bod tání: 69,7–71,9 °C

$[\alpha]_D^{25} = +55,0$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,80 (1H, d, $^3J = 8,2$ Hz, NH 11); 7,92 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H7); 7,87 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,54 (1H, dt, $^4J = 1,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,5$ Hz, H12); 7,47 – 7,40 (2H, m, H14, H15); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,0$ Hz, H5); 7,28 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,0$ Hz, H13); 4,48 (1H, t, $^3J = 7,8$ Hz, H8); 2,15 (1H, m, H9); 0,88 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10); 0,70 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 173,1 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,0$ Hz); 161,4 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 248,4$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,3$ Hz); 149,2 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,3$ Hz); 142,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 6,6$ Hz); 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,6$ Hz); 131,1 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 8,1$ Hz); 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,8$ Hz); 122,7 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 2,7$ Hz); 119,1 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 21,0$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 113,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,3$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 61,7; 33,0; 18,9; 18,0.

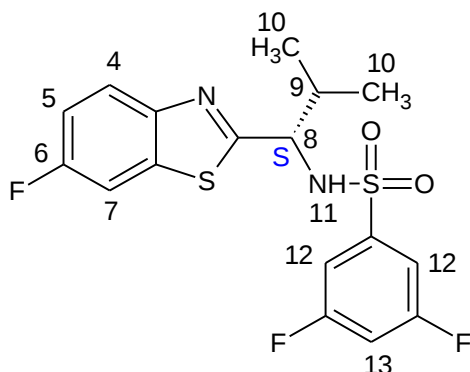
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ -111,0; -116,3

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 382,45$)

Vypočteno: C(53,39 %), H(4,22 %), N(7,32 %), S(16,77 %)

Stanoveno: C(53,27 %), H(4,16 %), N(7,47 %), S(16,90 %)

2.5.5 3,5-difluor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,2 g (75 %)

Bod tání: 154,3–156,4 °C

$[\alpha]_D^{25} = -57,7$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,94 (1H, d, $^3J = 8,5$ Hz, NH 11); 7,94 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,7$ Hz, H7); 7,87 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,38 – 7,29 (4H, m, H5, H12, H13); 4,53 (1H, t, $^3J = 8,0$ Hz, H8); 2,17 (1H, m, H9); 0,92 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10); 0,74 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 172,5 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,3$ Hz); 162,0 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 251,1$ Hz); 161,9 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 251,1$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,0; 144,1 (t, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 8,3$ Hz); 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,5$ Hz); 114,6 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,9$ Hz); 110,2 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 28,2$ Hz); 108,3 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,1$ Hz); 107,8 (t, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,9$ Hz); 61,7; 33,0; 18,9; 18,2.

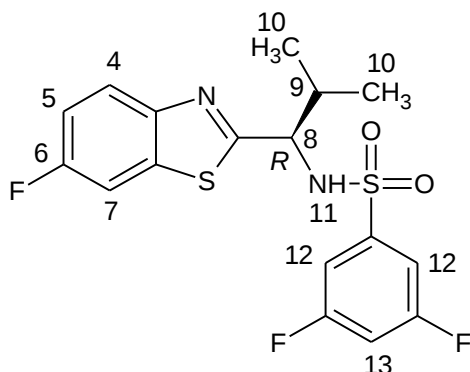
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ -107,0; -116,3

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 400,44$)

Vypočteno: C(50,99 %), H(3,78 %), N(7,00 %), S(16,01%)

Stanoveno: C(51,13 %), H(3,73 %), N(7,15 %), S(15,90 %)

2.5.6 3,5-difluor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,1 g (69 %)

Bod tání: 153,7–156,3 °C

$[\alpha]_D^{25} = +57,2$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,94 (1H, d, $^3J = 8,7$ Hz, NH 11); 7,94 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 7,87 (1H, dd, $^3J = 8,9$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$ Hz, H4); 7,38 – 7,29 (4H, m, H5, H12, H13); 4,53 (1H, t, $^3J = 8,1$ Hz, H8); 2,17 (1H, m, H9); 0,92 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10); 0,74 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 172,5 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,1$ Hz); 162,0 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 251,0$ Hz); 161,9 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 251,0$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,3$ Hz); 149,0; 144,1 (t, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 8,3$ Hz); 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,6$ Hz); 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,5$ Hz); 114,6 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 110,2 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 28,2$ Hz); 108,3 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 107,8 (t, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,9$ Hz); 61,7; 33,0; 18,9; 18,2.

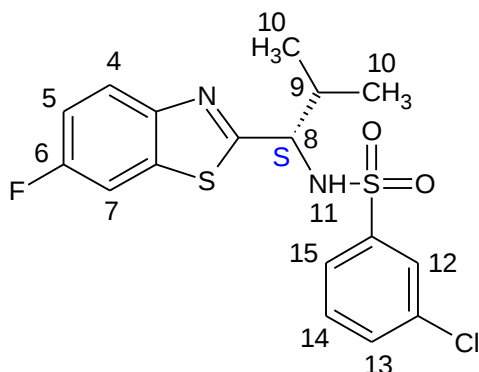
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ -107,0; -116,3

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 400,44$)

Vypočteno: C(50,99 %), H(3,78 %), N(7,00 %), S(16,01 %)

Stanoveno: C(51,15 %), H(3,72 %), N(7,19 %), S(15,91 %)

2.5.7 3-chlor-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,2 g (75 %)

Bod tání: 58,3–59,6 °C

$[\alpha]_D^{25} = -58,3$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,82$ (1H, d, $^3J = 8,6$ Hz, NH 11); 7,91 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,7$ Hz, H7); 7,85 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,63 (2H, m, H12, H15); 7,45 (1H, td, $^3J = 7,9$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H13); 7,38 (1H, t, $^3J = 8,2$ Hz, H14); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 4,48 (1H, t, $^3J = 7,8$ Hz, H8); 2,16 (1H, m, H9); 0,91 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,72 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172,6$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,2$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,2 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,5$ Hz); 142,6; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,9$ Hz); 133,3; 132,0; 130,7; 126,1; 125,1; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,6$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,8$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,1$ Hz); 61,7; 33,0; 18,9; 18,3.

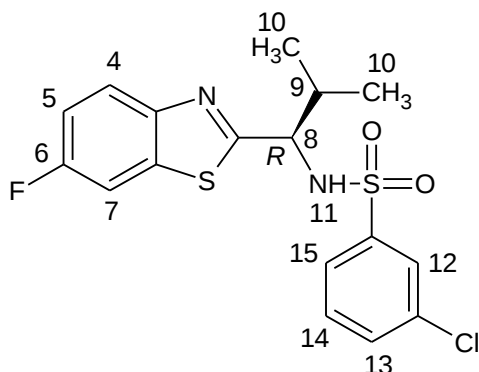
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,3$

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClFN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 398,90$)

Vypočteno: C(51,19 %), H(4,04 %), N(7,02 %), S(16,08%)

Stanoveno: C(51,36 %), H(4,00 %), N(7,21 %), S(15,95 %)

2.5.8 3-chlor-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,3 g (81 %)

Bod tání: 60,1–62,0 °C

$[\alpha]_D^{25} = +58,0$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,81 (1H, d, $^3J = 8,7$ Hz, NH 11); 7,91 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H7); 7,85 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$ Hz, H4); 7,63 (2H, m, H12, H15); 7,45 (1H, td, $^3J = 7,9$ Hz, $^4J = 1,8$ Hz, H13); 7,38 (1H, t, $^3J = 8,0$ Hz, H14); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,0$ Hz, H5); 4,48 (1H, t, $^3J = 7,8$ Hz, H8); 2,16 (1H, m, H9); 0,91 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,72 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 172,6 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,4$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,2 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,3$ Hz); 142,6; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 133,3; 132,0; 130,7; 126,1; 125,1; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,8$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 61,7; 33,0; 18,9; 18,3.

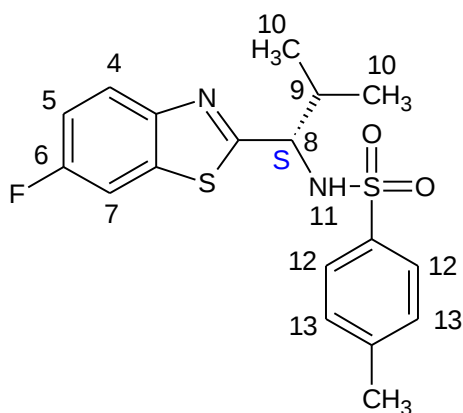
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,3$

Elementární analýza: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{ClFN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 398,90$)

Vypočteno: C(51,19 %), H(4,04 %), N(7,02 %), S(16,08 %)

Stanoveno: C(51,32 %), H(3,98 %), N(7,19 %), S(15,93 %)

2.5.9 4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,1 g (73 %)

Bod tání: 153,2–154,0 °C

$[\alpha]_D^{25} = -56,3$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,55 (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, NH 11); 7,91 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H7); 7,87 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$ Hz, H4); 7,58 (2H, d, $^3J = 8,1$ Hz, H12); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,0$ Hz, H5); 7,16 (2H, d, $^3J = 8,1$ Hz, H13); 4,37 (1H, t, $^3J = 7,5$ Hz, H8); 2,21 (3H, s, CH₃ 10); 2,12 (1H, m, H9); 0,84 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,66 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 173,8 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,3$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,3 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,3$ Hz); 142,5; 137,8; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,7$ Hz); 129,1; 126,6; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,6$ Hz); 114,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,9$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 61,7; 33,0; 20,8; 18,9; 18,2.

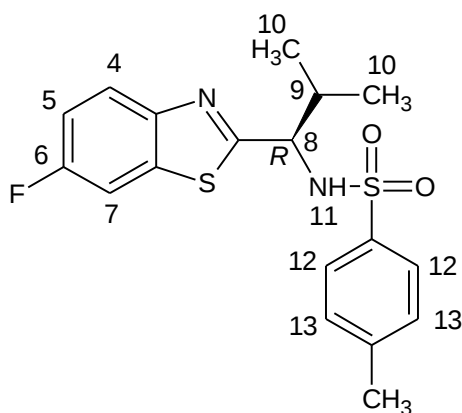
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,4$

Elementární analýza: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 378,48$)

Vypočteno: C(57,12 %), H(5,06 %), N(7,40 %), S(16,94%)

Stanoveno: C(57,00 %), H(5,00 %), N(7,55 %), S(17,05 %)

2.5.10 4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,2 g (80 %)

Bod tání: 153,1–154,6 °C

$[\alpha]_D^{25} = -56,7$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,54 (1H, d, $^3J = 8,2$ Hz, NH 11); 7,91 (1H, dd, $^4J = 2,7$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 7,87 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,58 (2H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H12); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 7,16 (2H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H13); 4,37 (1H, t, $^3J = 7,6$ Hz, H8); 2,21 (3H, s, CH_3 2,12 (1H, m, H9); 0,84 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,66 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 173,8 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,0$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,3 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,5$ Hz); 142,5; 137,8; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 129,1; 126,6; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,8$ Hz); 114,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,2$ Hz); 61,7; 33,0; 20,8; 18,9; 18,2.

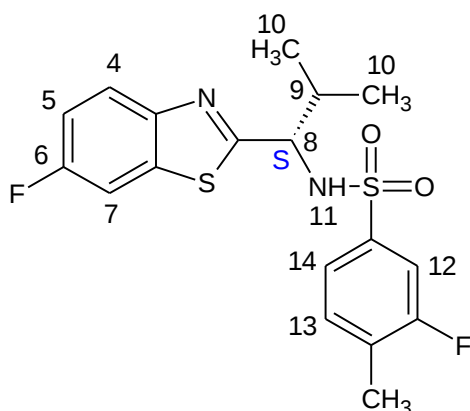
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,4$

Elementární analýza: $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ ($M_r = 378,48$)

Vypočteno: C(57,12 %), H(5,06 %), N(7,40 %), S(16,94 %)

Stanoveno: C(56,98 %), H(5,01 %), N(7,53 %), S(17,09 %)

2.5.11 3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,3 g (81 %)

Bod tání: 134,5–135,7 °C

$[\alpha]_D^{25} = -52,8$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,69$ (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, NH 11); 7,92 (1H, dd, $^4J = 2,5$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 7,85 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,35 (2H, m, H12, H14); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 8,9$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H5); 7,24 (1H, t, $^3J = 7,8$ Hz, H13); 4,42 (1H, kv, $^3J = 7,9$ Hz, H8); 2,13 (1H, m, H9); 2,09 (3H, s, CH₃); 0,90 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,71 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172,9$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,3$ Hz); 159,8 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 247,0$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,1; 140,1 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 6,8$ Hz); 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,7$ Hz); 131,9 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 4,9$ Hz); 129,1 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 17,0$ Hz); 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,8$ Hz); 122,5 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,3$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 24,9$ Hz); 113,2 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,5$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,1$ Hz); 61,8; 33,0; 18,9; 18,3; 14,0.

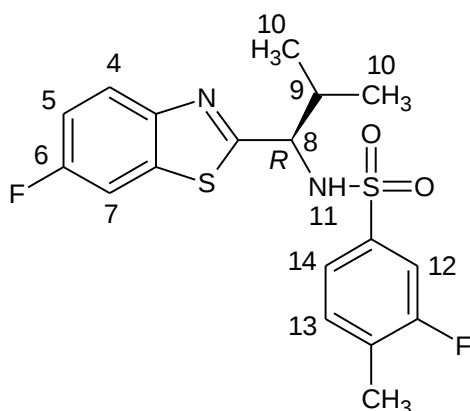
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -115,4$; $-116,4$

Elementární analýza: C₁₈H₁₈F₂N₂O₂S₂ ($M_r = 396,47$)

Vypočteno: C(54,53 %), H(4,58 %), N(7,07 %), S(16,18%)

Stanoveno: C(54,25 %), H(5,02 %), N(7,25 %), S(16,00 %)

2.5.12 3-fluor-4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,1 g (69 %)

Bod tání: 134,2–135,1 °C

$[\alpha]_D^{25} = +52,2$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,68$ (1H, d, $^3J = 8,6$ Hz, NH 11); 7,92 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H7); 7,85 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$ Hz, H4); 7,35 (2H, m, H12, H14); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 7,24 (1H, t, $^3J = 7,6$ Hz, H13); 4,42 (1H, kv, $^3J = 7,9$ Hz, H8); 2,13 (1H, m, H9); 2,09 (3H, s, CH₃); 0,90 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,71 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172,9$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,1$ Hz); 159,8 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 246,8$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,1; 140,1 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 6,7$ Hz); 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,8$ Hz); 131,9 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 4,9$ Hz); 129,1 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 17,0$ Hz); 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,6$ Hz); 122,5 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,3$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 113,2 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,5$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 61,8; 33,0; 18,9; 18,3; 14,0.

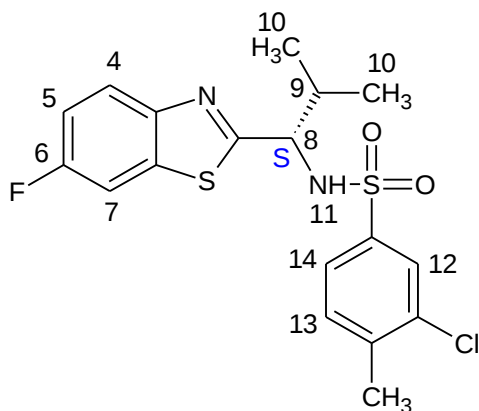
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -115,4$; $-116,4$

Elementární analýza: C₁₈H₁₈F₂N₂O₂S₂ ($M_r = 396,47$)

Vypočteno: C(54,53 %), H(4,58 %), N(7,07 %), S(16,18 %)

Stanoveno: C(54,28 %), H(5,03 %), N(7,30 %), S(15,91 %)

2.5.13 3-chlor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,3 g (77 %)

Bod tání: 102,0–103,1 °C

$[\alpha]_D^{25} = -57,1$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,71$ (1H, d, $^3J = 7,2$ Hz, NH 11); 7,90 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,8$ Hz, H7); 7,82 (1H, dd, $^3J = 9,0$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,9$ Hz, H4); 7,55 (1H, d, $^4J = 1,6$ Hz, H12); 7,48 (1H, dd, $^4J = 1,7$ Hz, $^3J = 7,9$ Hz, H14); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,1$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,1$ Hz, H5); 7,27 (1H, t, $^3J = 7,9$ Hz, H13); 4,42 (1H, kv, $^3J = 7,3$ Hz, H8); 2,15 (3H, s, CH₃); 2,12 (1H, m, H9); 0,93 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10); 0,72 (3H, d, $^3J = 6,7$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 172,4$ (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,5$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,0 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,5$ Hz); 140,1; 139,9; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,5$ Hz); 133,3; 131,3; 126,8; 125,1; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,7$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,0$ Hz); 61,9; 33,0; 19,4; 19,0; 18,5.

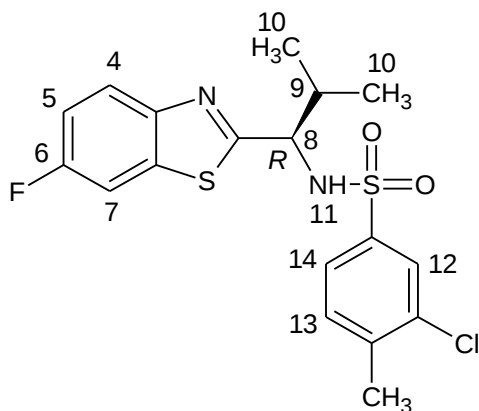
^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,4$

Elementární analýza: C₁₈H₁₈ClFN₂O₂S₂ ($M_r = 412,93$)

Vypočteno: C(52,36 %), H(4,39 %), N(6,78 %), S(15,53%)

Stanoveno: C(52,21 %), H(4,32 %), N(6,95 %), S(15,69 %)

2.5.14 3-chlor-4-methyl-N-[(1R)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamid



Vzhled: Bílá pevná látka

Výtěžek: 1,2 g (71 %)

Bod tání: 102,7–103,3 °C

$[\alpha]_D^{25} = +56,5$ ($c = 1$, methanol)

^1H NMR (400,13 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 8,72 (1H, d, $^3J = 7,4$ Hz, NH 11); 7,90 (1H, dd, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 8,9$ Hz, H7); 7,82 (1H, dd, $^3J = 9,1$ Hz, $^4J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 4,8$ Hz, H4); 7,55 (1H, d, $^4J = 1,7$ Hz, H12); 7,48 (1H, dd, $^4J = 1,7$ Hz, $^3J = 7,9$ Hz, H14); 7,32 (1H, dt, $^4J = 2,6$ Hz, $^3J = 9,0$ Hz, $^3J(^{19}\text{F}, ^1\text{H}) = 9,0$ Hz, H5); 7,27 (1H, t, $^3J = 7,9$ Hz, H13); 4,42 (1H, kv, $^3J = 7,4$ Hz, H8); 2,15 (3H, s, CH₃); 2,12 (1H, m, H9); 0,93 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10); 0,72 (3H, d, $^3J = 6,8$ Hz, H10).

^{13}C NMR (100,62 MHz, DMSO- d_6): $\delta =$ 172,4 (d, $^4J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 3,2$ Hz); 159,5 (d, $^1J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 242,2$ Hz); 149,0 (d, $^5J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 1,3$ Hz); 140,1; 139,9; 135,8 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 11,6$ Hz); 133,3; 131,3; 126,8; 125,1; 123,7 (d, $^3J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 9,8$ Hz); 114,5 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 25,0$ Hz); 108,4 (d, $^2J(^{19}\text{F}, ^{13}\text{C}) = 27,2$ Hz); 61,9; 33,0; 19,4; 19,0; 18,5.

^{19}F NMR (376,46 MHz, DMSO- d_6): $\delta = -116,4$

Elementární analýza: C₁₈H₁₈ClFN₂O₂S₂ ($M_r = 412,93$)

Vypočteno: C(52,36 %), H(4,39 %), N(6,78 %), S(15,53 %)

Stanoveno: C(52,25 %), H(4,34 %), N(6,97 %), S(15,66 %)

3 Výsledky a diskuse

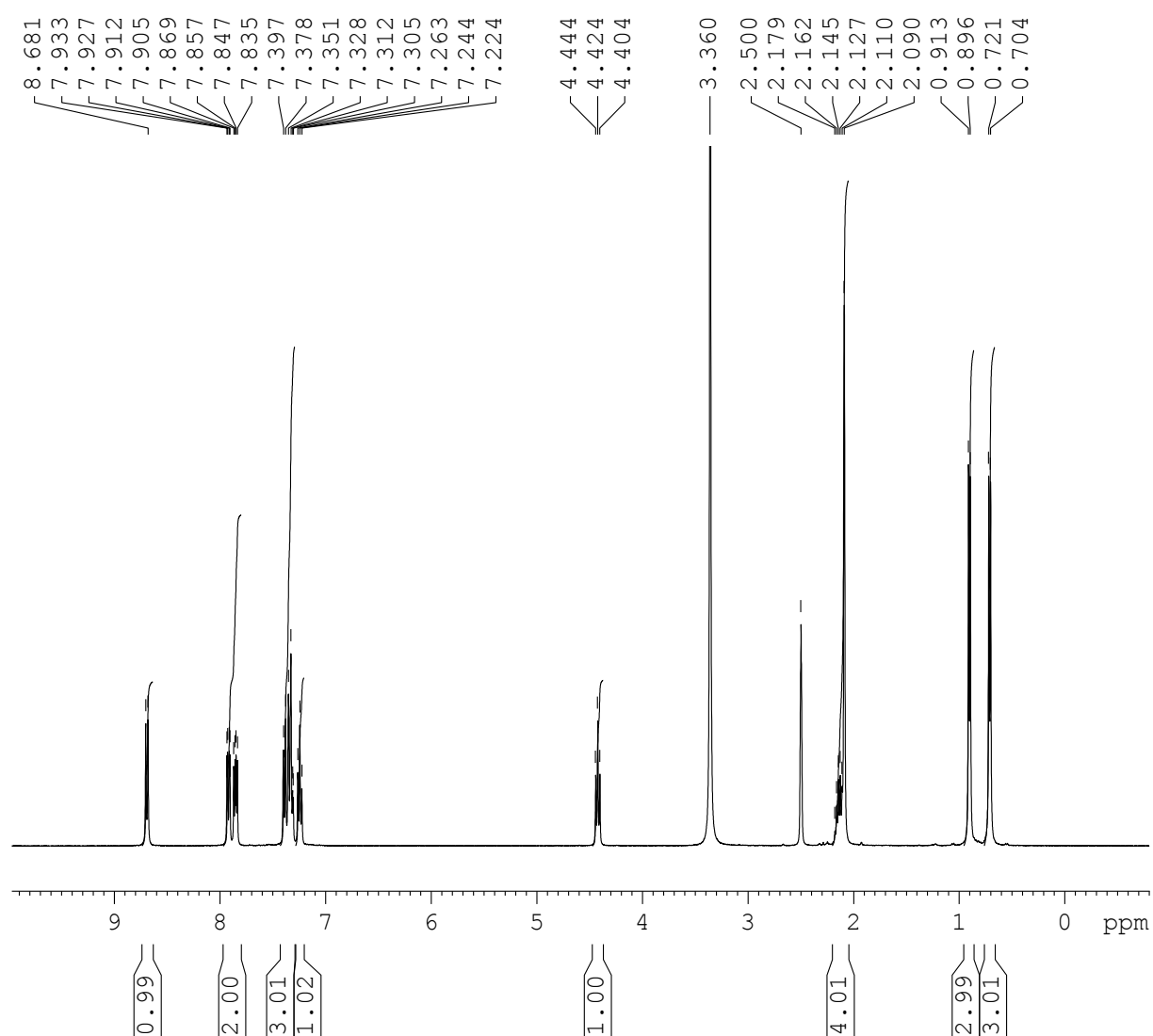
Cílem bakalářské práce bylo provést syntézu chirálních sulfonamidů, kde byl jako výchozí amin vybrán chirální (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin-hydrochlorid, respektive jeho *R*-forma.

Vybrané sulfonamidy byly syntetizovány reakcí (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-aminu s vybranými substituovanými benzensulfonylchloridy. Reakce byla prováděna v pyridinu. Chirální (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin, respektive jeho *R*-forma, vstupuje do reakce ve formě stabilní hydrochloridové soli. Pyridin byl do reakce použit jako báze. Jednak uvolnil v reakční směsi (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin z jeho hydrochloridové soli a jednak reagoval s reakcí vzniklým chlorovodíkem za vzniku pyridin hydrochloridu. Reakce probíhala při teplotě 70 °C. Substituované benzensulfonylchloridy byly do reakce použity v 2 molárním nadbytku. Tento nadbytek byl postupně snížen na hodnotu 1,5. Po ukončení reakce byl do reakční směsi přidán toluen. Z reakční směsi byl přídavkem 10% roztoku kyseliny chlorovodíkové převeden pyridin na hydrochloridovou sůl a následnou násobnou extrakcí vodou byl z reakční směsi odstraněn. Přídavkem kyseliny chlorovodíkové byl zároveň převeden i nezreagovaný výchozí amin na hydrochloridovou sůl. Hydrochloridová sůl byla následně z reakční směsi také odstraněna. Dále byl z reakční směsi destilací za sníženého tlaku odstraněn veškerý toluen a konečný produkt byl krystalizován z *n*-hexanu. Vyloučený produkt byl izolován filtrací a byl sušen stáním na vzduchu. Touto metodou bylo dosaženo výtěžku 67–81 %. Připravené sulfonamidy byly charakterizovány pomocí bodu tání, NMR spektrometrie a měření optické otáčivosti. Čistota produktů byla potvrzena elementární analýzou.

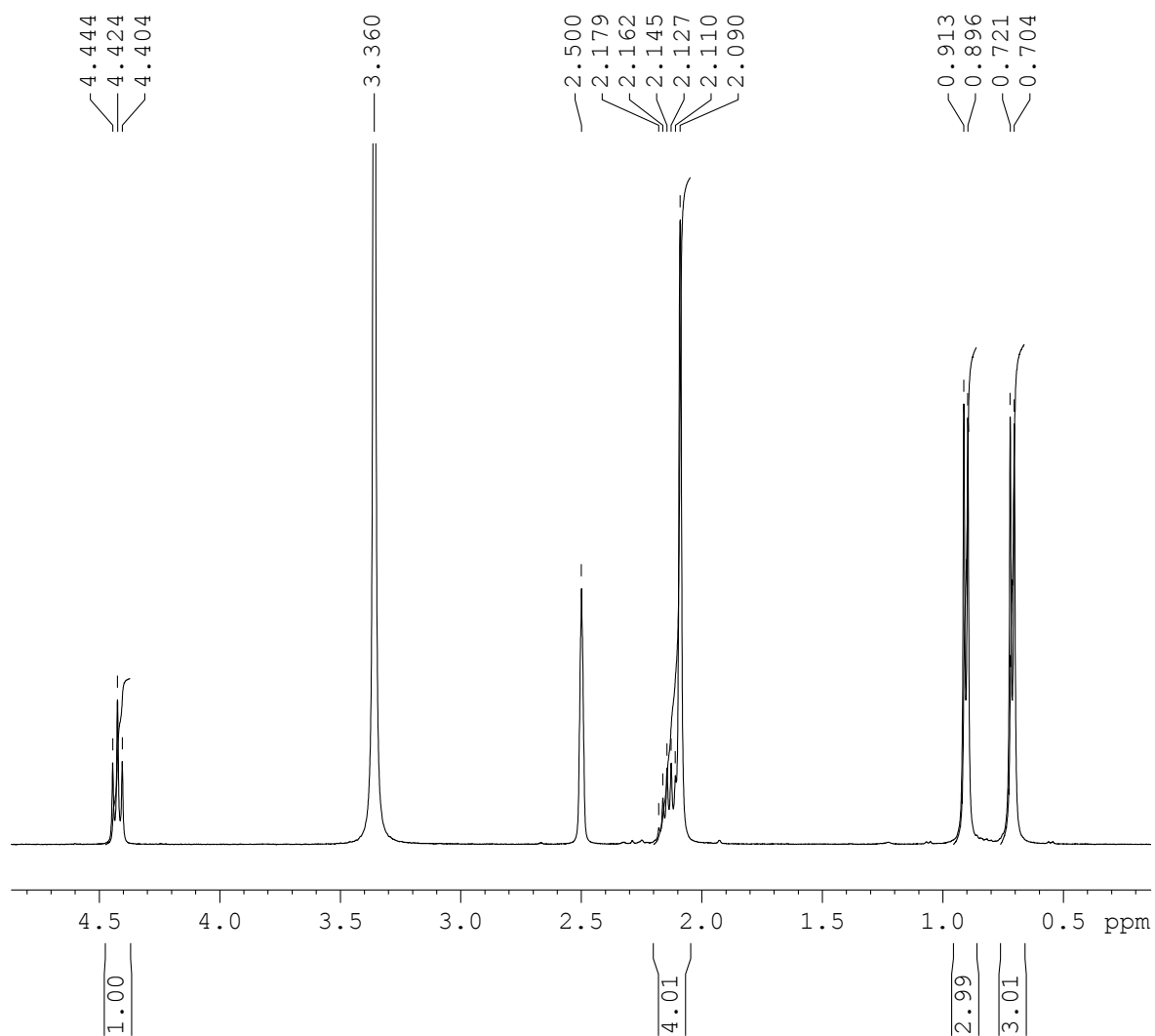
3.1 NMR analýza

Připravené sloučeniny obsahují jednu sulfonamidovou skupinu SO₂NH, která je v ¹H NMR spektrech zobrazena jako dublet s odpovídající interakční hodnotou. Signál protonu 8 (CH – CH) vlivem interakce protonů alkylové skupiny (isopropyl) a protonu amidové NH skupiny zobrazen jako triplet s příslušnými interakčními konstantami. Přítomnost fluoru navázaného v poloze 6 v benzthiazolovém bloku dokazují signály protonů 4,5 a 7. Signál protonu H4 je zobrazen jako dublet dubletu. Proton H4 interaguje přes tři vazby s protonem H5 (d, ³J(¹H,¹H) = cca 9 Hz) a zároveň s fluorem v poloze 6 přes čtyři vazby (d, ⁴J(¹H,¹⁹F) = cca 4,9 Hz). Proton H5 interaguje přes tři vazby s protonem

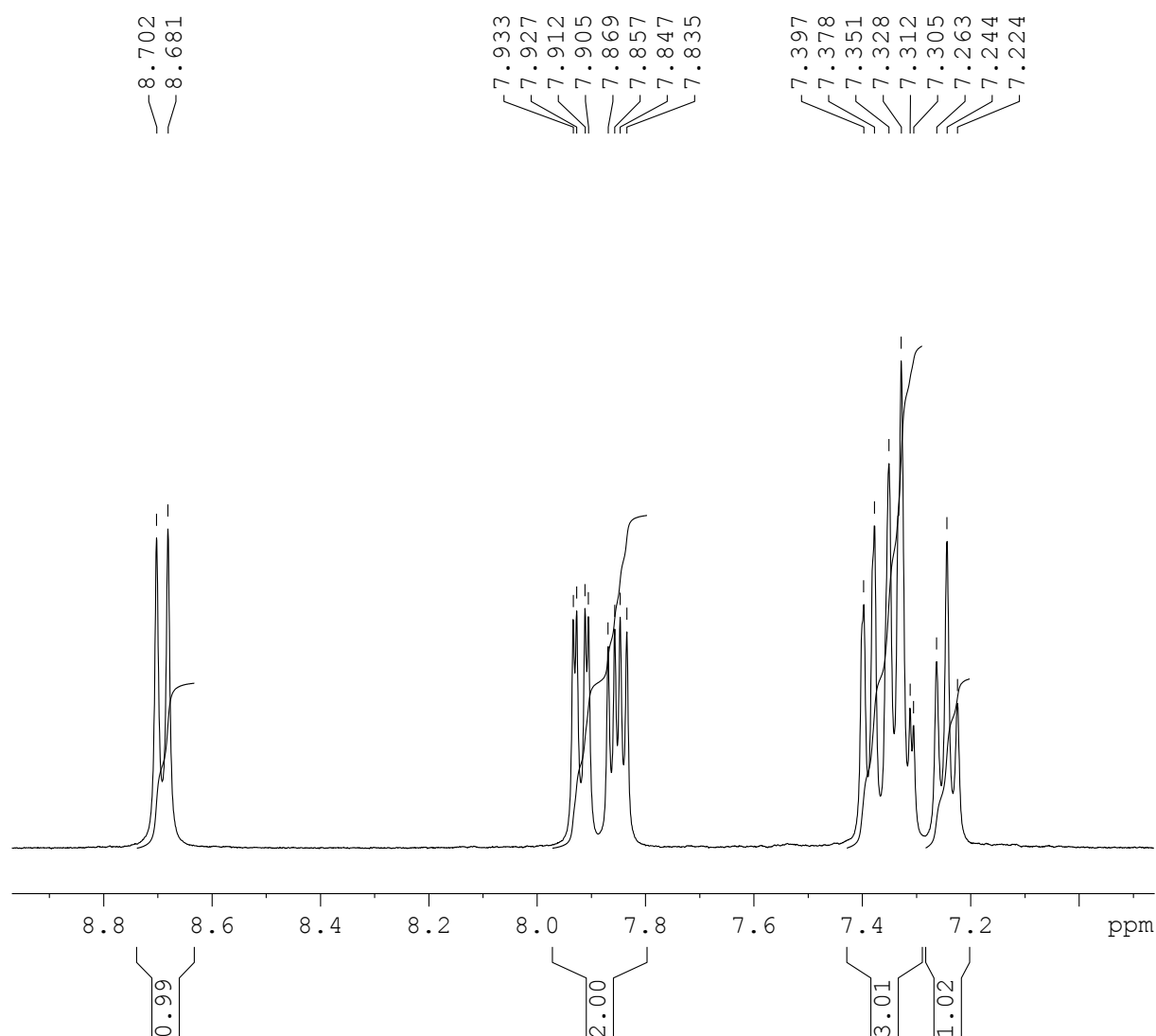
H4 ($^3J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = \text{cca } 9 \text{ Hz}$), přes čtyři vazby s protonem H7 ($^4J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = \text{cca } 2,6 \text{ Hz}$) a také přes tři vazby s fluorem vázaném v poloze 6 ($^3J(^1\text{H}, ^{19}\text{F}) = \text{cca } 9 \text{ Hz}$). Tento signál by měl být zobrazen jako dublet dubletu. Protože interakční konstanty H – H a H – F přes tři vazby jsou shodné, je tento signál zobrazen jako dublet tripletu. Signál protonu H7 je zobrazen jako dublet dubletu. Proton H7 interaguje přes čtyři vazby s protonem H5 (d, $^4J(^1\text{H}, ^1\text{H}) = \text{cca } 2,6 \text{ Hz}$) a zároveň s fluorem v poloze 6 přes tři vazby (d, $^3J(^1\text{H}, ^{19}\text{F}) = \text{cca } 9 \text{ Hz}$) (Obrázek 7, 8, 9).



Obrázek 6 ^1H NMR spektrum 3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzenesulfonamidu

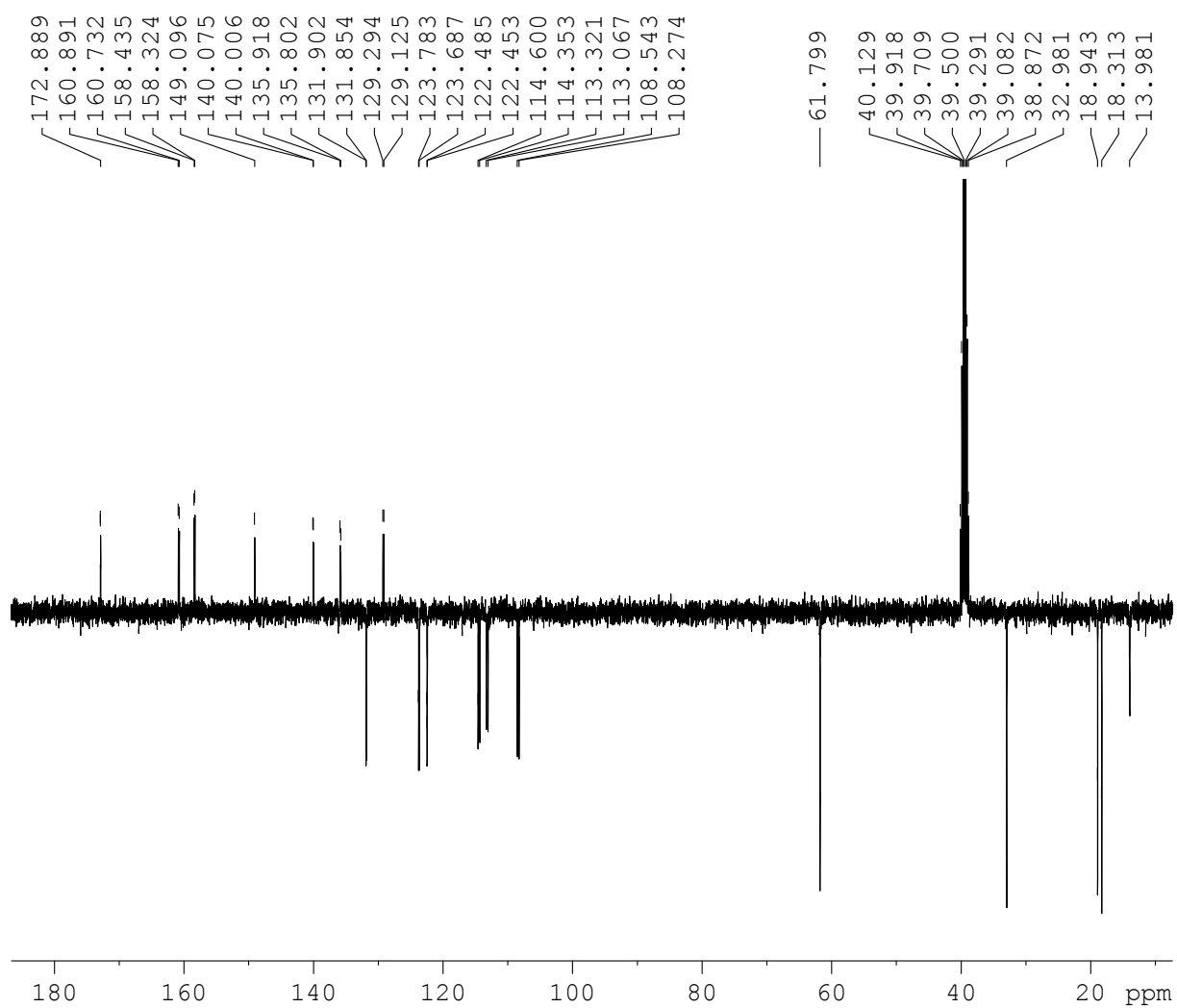


Obrázek 7 ^1H NMR spektrum (alifatická část) 3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamidu



Obrázek 8 ^1H NMR spektrum (aromatická část) 3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzensulfonamidu

V uhlíkovém ^{13}C NMR spektru je přítomen signál odpovídající amidové skupině SO_2NH . Dále jsou v uhlíkovém NMR spektru přítomny signály odpovídající jednotlivým uhlíkům benzthiazolového bloku, benzylové skupiny a substituovaného benzenového jádra. Jelikož jaderný spin fluorového isotopu ^{19}F je $\frac{1}{2}$ a má přírodní zastoupení 100 %, jsou všechny signály vlivem interakce fluor – uhlík zobrazeny jako dublety s různou velikostí interakční konstanty C-F, která závisí na poloze uhlíku v molekule vůči fluoru. Jsou zde zaznamenány i fluorové interakce přes pět vazeb u uhlíku C1 ($^5J(^{13}\text{C}, ^{19}\text{F}) = \text{cca } 1,5 \text{ Hz}$). S rostoucí vzdáleností atomu uhlíku od fluoru hodnota interakční konstanty klesá.



Obrázek 9 ^{13}C NMR spektrum (aromatická část) 3-fluor-4-methyl-N-[(1S)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropyl]benzenesulfonamidu

4 Závěr

Tato bakalářská práce byla zaměřena na syntézu vybraných sulfonamidů na bázi (1*S*)-1-(6-fluor-1,3-benzthiazol-2-yl)-2-methylpropan-1-amin, respektive i na jeho *R*-optické formě. Cílem práce bylo provést literární rešerši a nalézt vhodné postupy přípravy sulfonamidů obsahující chirální substituovaný 6-fluor-1,3-benzthiazolový blok, případně nalézt jejich popsané biologické aktivity. Dále byly v rámci bakalářské práce popsány metody stanovení antimikrobiálních aktivit včetně používaných standardů se zaměřením na využití mikrodiluční metody dle normy EUCAST.

V rámci experimentální části byl vyvinut vhodný postup syntézy chirálních sulfonamidů. Tímto postupem bylo připraveno 14 nových nepopsaných chirálních derivátů. Při syntéze vybraných sulfonamidů bylo dosaženo výtěžku 67–81 %. Připravené sloučeniny byly charakterizovány bodem tání, optickou otáčivostí a NMR spektrometrií. Kvalita produktů byla ověřena elementární analýzou. U syntetizovaných derivátů bude provedeno stanovení antibakteriální a antifungální aktivity.

SEZNAM POUŽITÝCH INFORMAČNÍCH ZDROJŮ

1. HAMPL, F. a J. PALEČEK. *Farmakochemie*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2002. ISBN 80-7080-495-5.
2. GADAD, A.K.; MAHAJAMSHETTI, C.S.; NIMBALKAR, S.; RAICHURKAR, A. Synthesis and antibacterial activity of some 5-guanylylhydrazono/thiocyanato-6-arylimidazo[2,1-b]-1,3, 4-thiadiazole-2-sulfonamide derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2000, **35**(9), 853–857.
3. LI, J.J.; ANDERSON, D.; BURTON, E.G.; COGBURN, J.N.; COLLINS, J.T.; GARLAND, D.J.; GREGORY, S.A.; HUANG, H.C.; ISAKSON, P.C.; KOBOLDT, C.M.; LOGUSCH, E.W.; NORTON, M.B.; PERKINS, W.E.; REINHARD, E.J.; SEIBERT, K.; VEENHUIZEM, A.W.; ZANG, Y.; REITZ, D.B.J. 1,2-Diarylcyclopentenones as selective cyclooxygenase-2 inhibitors and orally active anti-inflammatory agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1995, **38**(22), 4570–4578.
4. YOSHINO, H.; UEDA, N.; NIJIMA, J.; SUGUMI, H.; KOTAKE, Y.; KOYANAGI, N.; YOSHIMATSU, K.; ASADA, M.; WATANABE, T.; NAGASU, T.; TSUKAHARA, K.; LIJIMA, A.; KITO, K. Novel sulfonamides as potential, systemically active antitumor agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1992, **35**(13), 2496–2497.
5. SUPURAN, C.T.; SCOZZAFAVA, A.; JURCA, B.C.; ILIES, M.A. Carbonic anhydrase inhibitors - Part 49: Synthesis of substituted ureido and thioureido derivatives of aromatic/heterocyclic sulfonamides with increased affinities for isozyme I. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 1998, **33**(2), 83–93.
6. RYBKA, J. *Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění: diagnostické a léčebné postupy*. Praha: Grada, 2007. ISBN 8024716718.
7. HAIM, A. Sulfonamide group of drugs: general properties, use and dosage. *California and Western Medicine*. 1941, **55**(3), 123–125.
8. ABBS FEN REJIA, T.F.; RAJASEKHARAN, K.N. Synthesis of 2-[2,4-diaminothiazol-5-oyl]benzothiazoles. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2010, **47**(4), 994–997.
9. HUANG, W.; YANG, G. Microwave-assisted, one-pot syntheses and fungicidal activity of polyfluorinated 2-benzylthiobenzothiazoles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2006, **14**, 8280–8285.
10. HAVRYLYUK, D.; MOSLA, L.; ZIMENKOVSKY, B.; VASYLENKO, O.; GZELLA, A.; LESYK, R. Synthesis and anticancer activity evaluation of 4-thiazolidinones containing benzothiazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010, **45**(11), 5012–5021.

11. PATTAN, S.R.; SURESH, Ch.; PUJAR, V.D.; REDDY, V.V.K.; RASAL, V.P.; KOTI, B.C. Synthesis and antidiabetic activity of 2-amino [5' (4-sulphonylbenzylidene-2,4-thiazolidenedinone)-7-chloro-6-fluorobenzothiazole. *Indian Journal of Chemistry, Sect. B: Organic chemistry, including medical chemismy*. 2005, **44**(11), 2404–2408.
12. GRANDOLINI, G.; AMBROGI, V.; ROSSI, C.; TIRALTI, M.C.; TUTTOBELLO, L. Synthesis, antibacterial and antifungal activities of several new benzo- naphtho- and quinolino-1,4-thiazine and 1,5-thiazepine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 1990, **25**(5), 403–411.
13. IMRAMOVSKÝ, A.; PECHAL, V.; ŠIMŮNEK, P.; ŠTĚPÁNKOVÁ, Š.; KRÁLOVEC, K.; BRUČKOVÁ, L.; VORČÁKOVÁ, K.; JAMPÍLEK, J.; VANČO, J.; MANDÍKOVÁ, J.; TREJTNAR, F. Synthesis and in vitro evaluation of new derivatives of 2-substituted-6fluorobenzo[d]thiazoles as cholinesterase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2013, **21**(7), 1735–1748.
14. PANDURANGAN, A.; SHARMA, A.; SHARMA, N.; SHARMA, P.K.; VISHT, S. Synthesis and structural studies of novel benzothiazole derivative and evaluation of their antimicrobial activity. *Der Pharma Chemica*. 2010, **2**(3), 316–324.
15. ALAGILLE, D.; DACOSTA, H.; BALDWIN, R.M.; TAMAGNAN, G.D. 2-Arylimidazo[2,1-*b*]benzothiazoles: A new family of amyloid binding agents with potential for PET and SPECT imaging of Alzheimer's brain. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2011, **21**(10), 2966–2968.
16. HOLDEN, M.; KELLY, C. Use of cholinesterase inhibitors in dementia. *Advances in Psychiatric Treatment*. 2002, **8**(2), 89–96.
17. TUMIATTI, V.; MINARINI, A.; BOLOGNESI, M. L.; MILELLI, A.; ROSINI, M.; MELCHIORRE, C. Tacrine derivatives and Alzheimer's disease. *Current Medicinal Chemistry*. 2010, **17**(17), 1825–1838.
18. GIACOBINI, E. Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease therapy: from tacrine to future applications. *Neurochemistry International*. 1998, **32**(5-6), 413–419.
19. KERI, R.S.; Quintanova, C.; MARQUES, S.M.; ESTEVES, A.R.; CARDOSO, S.M.; SANTOS, M.A. Design, synthesis and neuroprotective evaluation of novel tacrine–benzothiazole hybrids as multi-targeted compounds against Alzheimer's disease. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2013, **21**(15), 4559–4569.

20. KHAN, K.M.; RAHIM, F.; TAHA, M.; KHAN, M.; HAQ, Z.U.; CHOUDLARY, M.I.; MESAIK, M.A.; HALIM, S.A. Synthesis of novel inhibitors of β -glucuronidase based on benzothiazole skeleton and study of their binding affinity by molecular docking. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2011, **19**(14), 4286–4294.
21. PEJCHAL, V.; ŠTĚPÁNKOVÁ, Š.; DRABINA, P. Synthesis of 1-[(1R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-3-substituted phenyl ureas and their inhibition activity to acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2011, **48**(1), 57–62.
22. ARGYROPOULOU, I.; GERONIKAKI, A.; VICINI, P.; ZANI, F. Synthesis and biological evaluation of sulfonamide thiazole and benzothiazole derivatives as antimicrobial agents. *Arkivoc*. 2009, **6**, 89–102.
23. LEEKHA, S.; TERRELL, CH.L.; EDSON, R.S. General principles of antimicrobial therapy. *Mayo Clinic Proceedings*. 2011, **86**(2), 156–167.
24. VOKURKA, M. a J. HUGO. *Velký lékařský slovník*. 4. vydání. Praha: Jessenius Maxdorf, 2004. ISBN 8073450372.
25. BERNÁTOVÁ, S.; SAMEK, O.; PILÁT, Z.; ŠERÝ, M.; JEŽEK, J.; JÁKL, P.; ŠILER, M.; KRZYŽÁNEK, V.; ZEMÁNEK, P.; HOLÁ, V.; DVOŘÁČKOVÁ, M.; RŮŽIČKA, F. Following the mechanisms of bacteriostatic versus bactericidal action using raman spectroscopy. *Molecules*. 2013, **18**(11), 13188–13199.
26. AMMAN, V.; BASRILI, D.F.; HUYOP, F. Determination of the post-antibiotic effect (PAE) of combinations of extracts from galls of *Quercu sinfectoria* with vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *African Journal of Biotechnology*. 2011, **10**(79), 18274–18278.
27. BEDNÁŘ, M.; FRAŇKOVÁ, V.; SCHINDLER, J.; SOUČEK, A.; VÁVRA, J. *Lékařská mikrobiologie – Bakteriologie, virologie, parazitologie*. Praha: Marvil, 1996. ISBN 80-238-0297-6.
28. TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L.; BERDELL, R. *Microbiology: an introduction*. 11. vydání. Boston: Pearson, 2013. ISBN 978-0321733603.
29. DOUGHERTY, T.J.; PUCCI, M.J. *Antibiotic discovery and development*. 2. vydání. New York: Springer, 2012. ISBN 978-14611414001.
30. HAMPL F.; MORAVCOVÁ J.; ČOPÍKOVÁ J.; OPLETAL L.; LAPČÍK O.; DRAŠAR P. Krása a rozmanitost struktur přírodních antibiotik. *Chemické Listy*. 2009, **103**, 15–27.
31. ANDREWS, J.M. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001, **48**(1), 5–16.

32. HEJZLAR, M. *Antibiotika v praxi*. 2. vydání. Praha: Galén, 1995. ISBN 80-901776-4-6.
33. LERNER, K.; LERNER, B.W. *World of microbiology and immunology*. Detroit: Gale, 2003. ISBN 978-0787665401.
34. TENOVER, F.C. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *American Journal of Infection Control*. 2006, **34**(5), 3–10.
35. SIMON, C.; STILLE, W.; HEJZLAR, M. *Antibiotika v současné lékařské praxi*. Praha: Grada, 1998. ISBN 80-7169-268-9.
36. LEMKE, A.; KIDERLEN, A.F.; KAYSER, O. Amphotericin B. *Microbiology and Biotechnology*. 2005, **68**(2), 151–162.
37. MOEN, M.D.; LYSENG-WILLIAMSON, K.A.; SCOTT, L.J. Liposomal amphotericin B: a review of its use as empirical therapy in febrile neutropenia and in the treatment of invasive fungal infections. *Drugs*. 2009, **69**(3), 361–392.
38. FERNANDEZ, M.; CONDE, S.; DE LA TORRE, J.; MOLINA-SANTIAGO, C.; RAMOS, J.L.; DOQUE, E. Mechanisms of resistance to chloramphenicol in *Pseudomonas putida* KT 2440. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2012, **56**(2), 1001–1009.
39. XAPLANTERIM, M.A.; ANDREOU, A.; DINOS G.P.; KALPAXIS, D.L. Effect of polyamines on the inhibition of peptidyltransferase by antibiotics: revisiting the mechanism of chloramphenicol action. *Nucleic Acids Research*. 2003, **31**(17), 5074–5083.
40. PATANKAR, M.; SUKUMARAN, S.; CHIBBA, A.; NAYAK, U.; SEQUEIRA, L. Comparative in-vitro activity of cefoperazone-tazobactam and cefoperazone-sulbactam combinations against ESBL pathogens in respiratory and urinary infections. *Journal of Association of Physicians of India*. 2012, **60**(11), 22–24.
41. SCHLOSSBERH, D.; SAMUEL, R. *Antibiotics manual: a guide to common lyused antimicrobials*. Connecticut: People's Medical Publishing House, 2011. ISBN 978-1607950844.
42. SAX, N.I. *Dangerous properties of industrial materials*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1975. ISBN 0-442-27368-1.
43. SCHINDLER, J. *Mikrobiologie: pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-8024731704.
44. LEBOFFE, M.J.; PIERCE, B.E. *A phorographic atlas for the mikrobiology laboratory*. 4. vydání. Englewood, CO: Morton Publishing, 2011. ISBN 978-0895828729.
45. WIEGAND, I.; HILPERT, K.; HANCOCK, R.E.W. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*. 2008, **3**(2), 163–175.

46. KLANČNIK, A.; PISKERNIK, S.; JERŠEK, B.; MOŽINA, S.S. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*. 2010, **81**(2), 121–126.
47. JIANG, L.; WANG, F.; HAN, F.; PRINYAWIWATKUL, W.; NO, H.K.; GE, B. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antimicrobial activity of water-soluble chitosan derivatives. *Journal of Applied Microbiology*. 2013, **114**(4), 956–963.
48. COCKERILL, F.R.; WIKLER, M.A.; ALDER, J.; DUDLEY, M.N.; ELIOPOILOS, G.M.; FERARRO, M.J.; HARDY, D.J.; HECHT, D.W.; HINDLER, J.A.; PATEL, J.B.; POWELL, M.; SWENSON, J.M.; THOMSON, R.B.; TRACZEWSKI, M.M.; TURNIDGE, J.D.; WEINSTEIN, M.P.; ZIMMER, B.L. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved standard—Ninth edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. 2012, **32**(2), 10–16.
49. SADLE, T. Assessment of culture media in pharmaceutical microbiology. *American Pharmaceutical Review*. 2014, **17**(4), 60–65.
50. BRIDSON, E.; BECKER, A. Design and formulation of microbiological culture media. *Methods in Microbiology*. 1970, **3**, 229–295.