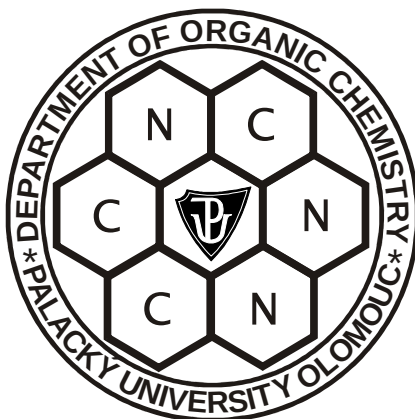


UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra organické chemie



Lenka KUBOVIČOVÁ

**Syntéza 2-substituovaných benzimidazolových
a 8-substituovaných purinových prekurzorů.**

Bakalářská práce

Studijní obor: Bioorganická chemie B1407

Vedoucí práce: Doc. RNDr. Jan Hlaváč, PhD.

Olomouc 2012

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně pod vedením Doc. RNDr. Jana Hlaváče, PhD. a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Olomouci, 3. 8. 2012

.....

Lenka Kubovičová

Poděkování:

Tímto bych chtěla upřímně poděkovat především vedoucímu mé bakalářské práce Doc. RNDr. Janu Hlaváčovi PhD. za odbornou pomoc, cenné rady, ochotu a trpělivost při řešení dané problematiky.

Dále bych rada poděkovala celému kolektivu katedry organické chemie PřF UP za pomoc a v neposlední řadě patří velké poděkování mým rodičům za jejich podporu během celého studia.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE:

Jméno a příjmení autora:	Lenka Kubovičová
Název práce:	Syntéza 2-substituovaných benzimidazolových a 8-substituovaných purinových prekurzorů.
Typ práce:	Bakalářská práce
Pracoviště:	Katedra organické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
Školitel:	Doc. RNDr. Jan Hlaváč, PhD.
Rok obhajoby práce:	2012
Abstrakt:	Předložená bakalářská práce je zaměřena na syntézu benzimidazolových derivátů substituovaných v poloze 2 a purinových derivátů substituovaných v poloze 8. Práce je členěna do dvou oblastí. První z nich je teoretická část, která si klade za cíl vyhledat v chemické databázi dosavadní známé metody přípravy 2-substituovaných benzimidazolových, 8-substituovaných purinových derivátů a ribosylace benzimidazolů. V druhé, experimentální části je pozornost zaměřena na syntézu vybraných příprav benzimidazolů či už podle literatury nebo s obměnami reakčních komponent než které uvádí literatura. Dále byla pozornost věnována hledání reakčních podmínek pro přípravu benzimidazolu. Zvláštní pozornost byla věnována přípravě 2-(<i>p</i>-nitrofenyl)-benzimidazolu a jeho redukci na příslušný aminoderivát. Nejlepší podmínky nalezené pro tvorbu benzimidazolu pak byly aplikovány na 4,5,6-triaminopyrimidin. Poslední reakce jsou věnovány ribosylaci benzimidazolů.
Klíčová slova:	benzimidazol, purin, ribosylace
Počet stran:	36
Jazyk:	Český

BIBLIOGRAPHICAL IDENTIFICATION:

Author's first name and surname: Lenka Kubovičová

Title: Synthesis of 2-substituted benzimidazole and 8-substituted purine precursors.

Type of thesis: Bachelor

Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc

Advisor: Doc. RNDr. Jan Hlaváč, PhD.

The year of presentation: 2012

Abstract: The submitted Bachelor thesis is focused on the synthesis of substituted derivatives of benzimidazole in position 2 and purine derivatives in position 8.

The bachelor thesis is divided into two parts. The first one, theoretical part is aimed to overview of known methods for preparation of 2-substituted benzimidazoles, 8-substituted purine derivatives and ribosylation of benzimidazoles. In the second, experimental part, attention is paid to the synthesis of selected preparations of benzimidazoles according to published procedures or with variations of reaction components than those are in the literature. Further reaction conditions were found for the preparation of benzimidazole, especially for 2-(*p*-nitrophenyl)benzimidazole and its reduction to aminoderivative. Ultimately these conditions were applied to 4,5,6-triaminopyrimidine. The last reaction is focused on ribosylation of benzimidazole.

Keywords: benzimidazole, purine, ribosylation

Number of pages: 36

Language: Czech

OBSAH

1 ÚVOD.....	7
2 CÍL	9
3 TEORETICKÁ ČÁST.....	10
3.1 Metody přípravy vedoucí ke známým derivátům benzimidazolu z <i>o</i> -fenylendiaminu.	10
3.1.1 Příprava benzimidazolů z aldehydů.....	10
3.1.2 Příprava benzimidazolů z chloridů kyselin.....	13
3.1.3 Příprava benzimidazolů z kyselin	14
3.1.4 Příprava benzimidazolů z orthoesterů.....	15
3.2 Příprava derivátů purinu substituovaných v poloze 8.....	16
3.3 Známé metody ribosylace benzimidazolu.	18
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	20
4.1 Cyklizace <i>o</i> -fenylendiaminu s deriváty benzaldehydu	20
4.2 Cyklizace <i>o</i> -fenylendiaminu s kyselinami a s deriváty karboxylových kyselin...	26
4.3 Reakce za přítomnosti síranu sodného.....	27
4.4 Redukce 2-(4-nitrofenyl)benzimidazolu na 2-(4-aminofenyl)benzimidazol.....	28
4.5 Reakce 4,5,6-triaminopyrimidinu	28
4.6 Studium ribosylace benzimidazolu.....	28
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	30
5.1 Metody	30
5.2 Přípravy.....	30
5.2.1 Obecný postup přípravy benzimidazolů z <i>o</i> -FD a aldehydů.....	30
5.2.2 Obecný postup přípravy benzimidazolů z <i>o</i> -FD a kyselin bez přítomnosti <i>p</i> -nitrobenzaldehydu.....	32
5.2.3 Obecný postup přípravy benzimidazolů z <i>o</i> -FD a chloridů kyselin	32
5.2.4 Redukce 2-(4-nitrofenyl)benzimidazolu.....	33
5.2.5 Příprava 8-(4-nitrofenyl)purinu	33
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	34
7 ZÁVĚR	35
8 LITERATURA.....	36

1 ÚVOD

Jednou z aplikací, ke které je benzimidazolový systém využíván, je tvorba modifikovaných nukleových kyselin, kde díky přerušení párování s protilehlými bázemi dochází k různým změnám standardních biochemických pochodů, jako je např. polymerace, což má za následek poškození buněčného cyklu vedoucí případně až k následné apoptóze. Této vlastnosti se pak využívá při vývoji nejrozumnějších typů léčiv, jako jsou protinádorová léčiva či antivirotika.

Změna v párování nukleobází má pak vliv mimo jiné i na expresi různých proteinů, čímž lze ovlivňovat tvorbu nežádoucích proteinů spojených s nemocemi cévní soustavy, imunitního systému či některých infekčních chorob. Na této vlastnosti je pak založena genová terapie, která patří mezi intenzivně studované oblasti medicínské chemie.

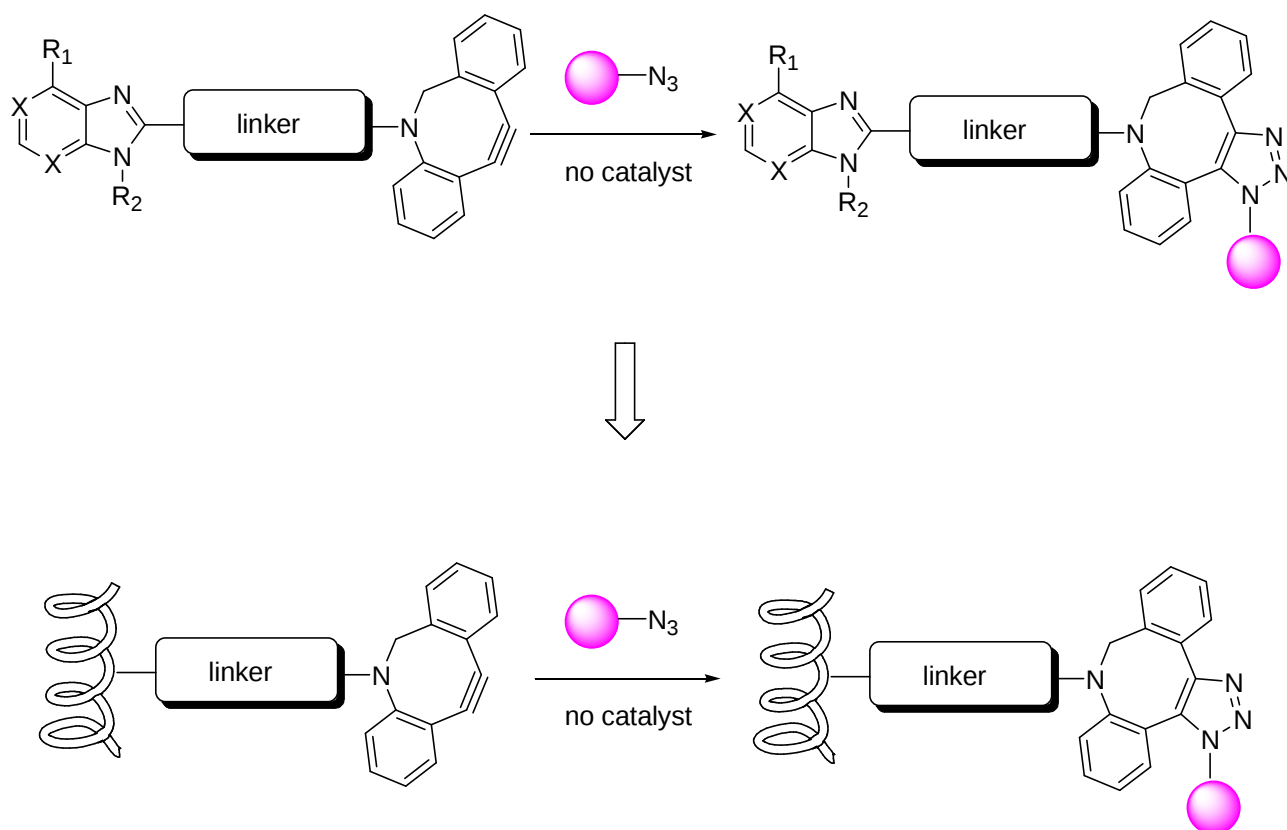
Velmi důležitou oblastí, kde se využívá analog purinových bází, je oblast diagnostiky, kdy se využívá různých metod pro jejich značení, ať už ve formě volných bází, nukleosidů nebo oligonukleotidových sekvencí. Tyto metody patří mezi velmi často využívané procesy studia vlivu genových mutací na změnu exprese medicínsky významných proteinů a tím pádem vzniku nejrozumnějších typů onemocnění či naopak zamezení či zpomalení jejich progresu. Rozpoznávání vlivu jednotlivých genomů je často spojeno právě se značením vybraných sekvencí oligonukleotidů.

Mezi reakce, které je možné využít pro značení biomolekul, jsou tzv. *click reakce*. Mezi tyto reakce patří tvorba triazolů reakcí azidů se substituovanými acetyleny většinou za katalýzy měďnými ionty. Přítomnost měďných iontů je ovšem v oblasti značení biomolekul velmi nežádoucí, zejména z důvodu jejich komplexačních vlastností.

Nekatalyzované click reakce nabízejí možnost rychle, efektivně a bez vedlejších reakcí připojit na předem známé úseky NK např. fluorescenční značku a následně tak sledovat další procesy spojené s touto sekvencí NK bez toho, aniž by došlo k ovlivnění struktury NK či sledovaných proteinů souvisejících s jejich přeměnou přítomnými měďnými ionty, jako katalyzátorem. Rovněž může být této reakce využito i pro připojení jiné molekuly na konkrétní místo v NK a cíleně tak působit na určitou její sekvenci.

Bakalářská práce je zaměřena na první krok celého tohoto procesu – vývoj syntetických metod vedoucích k tvorbě základních systémů purin/benzimidazol – linker. K tomuto systému bude pak v další části výzkumu v této oblasti připojen azocinový systém nebo

azidová skupina. Azocin je díky svému silnému Bayerovu pnutí velmi reaktivní s různě substituovanými azidy a to bez přítomnosti standardně používaných měďných iontů jakožto katalyzátoru. Této vlastnosti lze tak využít pro nekatalyzované navazování různých značek, případně zachycování jiných biomolekul nebo léčiv na nukleové kyseliny (Obr. I).



Linker = fenylyl, alkyn, alkyl nebo kombinace

$X = CH, N$

$R_1 = H, NH_2$

$R_2 = H, ribosa$

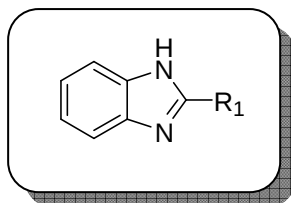
 = fluorescenční značka nebo léčivo

Obr.č. I Obrázek cílu výzkumného projektu.

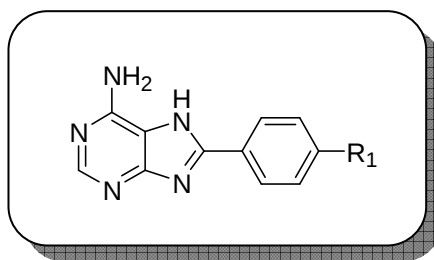
2 CÍL

Cílem předložené bakalářské práce je vybrat a ověřit vhodné syntetické metody pro přípravu benzimidazolu substituovaného v poloze 2 (Obr. II) a uplatnění těchto reakčních podmínek pro přípravu purinů substituovaných v poloze 8 (Obr. III).

R₁ – alkylový zbytek
arylový zbytek



Obr. II Struktura cílového derivátu benzimidazolu.



Obr. III Struktura cílového derivátu purinu.

Jednotlivé dílčí cíle bakalářské práce lze shrnout následovně:

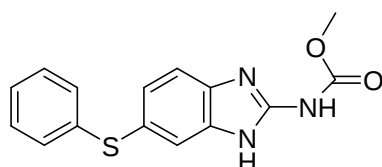
- Vybrat vhodné známé metody vedoucí k syntéze benzimidazolu.
- Vyzkoušet vybrané metody na derivátech *o*-fenylendiaminu.
- Aplikovat nejlepší metodiku na derivát 4,5,6-triaminopyrimidinu.
- Vyzkoušet ribosylace benzimidazolu a případně 8-substituovaného adeninu.

3 TEORETICKÁ ČÁST

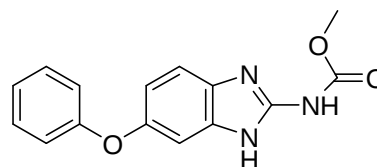
Teoretická část bakalářské práce je členěna do 3 částí. První část zahrnuje přípravy benzimidazolových derivátů, druhá část přípravy purinových derivátů a třetí část je zaměřená na ribosylaci benzimidazolů.

3.1 Metody přípravy vedoucí ke známým derivátům benzimidazolu z *o*-fenylendiaminu.

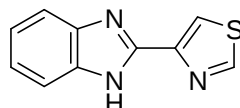
Syntéza benzimidazolových sloučenin získala značnou pozornost díky širokému spektru svých biologických a farmaceutických vlastností. Tato třída molekul našla komerční aplikace v několika terapeutických oblastech, jako jsou antiparazitika, kancerostatika, antimikrobiální látky či látky využívané ve veterinární medicíně¹ (Obr. IV).



FENBENDAZOL



MEBENDAZOL



THIABENDAZOL

Obr. IV Struktury látek využívaných ve veterinární medicíně.

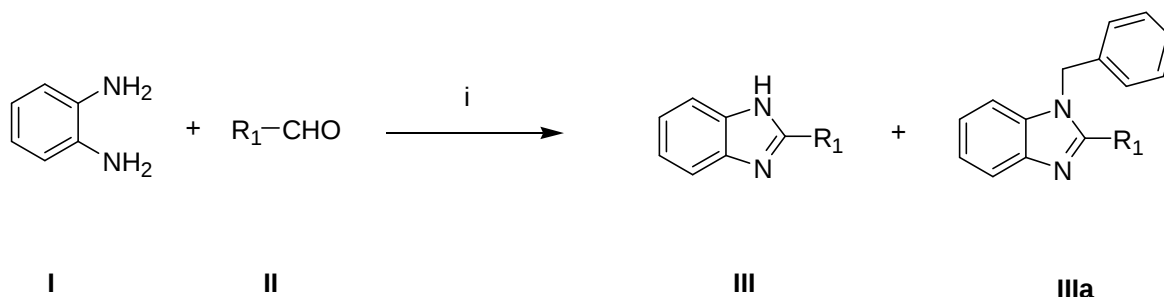
Vzhledem k jejich značné důležitosti je vyvinutých mnoho syntéz. Nejoblíbenější syntetické přístupy obecně zahrnují kondenzaci *o*-fenylendiaminů s karboxylovými kyselinami. Jinou metodou je kondenzace aldehydů s *o*-fenylendiaminy.

3.1.1 Příprava benzimidazolů z aldehydů

Jednou z metod je syntéza benzimidazolů 1,2-fenylendiaminu (1mmol) **I** a aldehydů (1,2mmol) **II** s pomocí $\text{Co}(\text{OH})_2$ a podobně CoO jako efektivních pevných

katalyzátorů v etanolu při pokojové teplotě za přístupu vzduchu².

Katalyzátor $\text{Co}(\text{OH})_2$ dává porovnatelné výtěžky (82 - 98%) v kratších reakčních časech (4-7h) jako katalyzátor CoO (80 - 94%, 6-9h). Tyto komerčně dostupné levné katalyzátory jsou aktivnější než mnohé drahé heterogenní katalyzátory. Při této reakci vznikal benzimidazol **III**. Autoři uvádějí poněkud zvláštní tvorbu vedlejšího produktu **IIIa**, který vznikl jen bez přítomnosti kobaltového katalyzátoru (Schéma I).

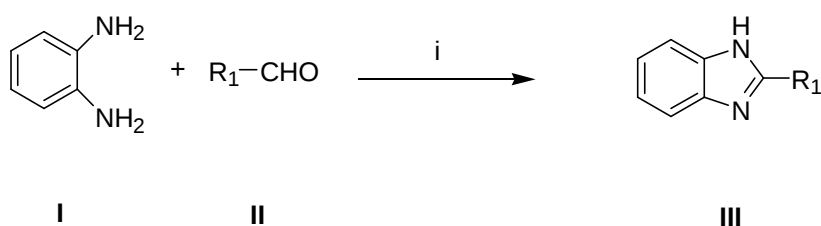


i) $\text{Co}(\text{OH})_2$ / CoO , Et-OH, air, r.t., 4-7h / 6-9h

Schéma I Syntéza benzimidazolu za přítomnosti kobaltového katalyzátoru.

Dalším příkladem metody přípravy benzimidazolu **III** je katalytická kondenzace o-fenylendiaminu **I** a aldehydů **II**, které byly provedeny s použitím prvků vzácných zemin perfluoroktansulfonátů ($\text{RE}(\text{OPf})_3$), $\text{RE} = \text{Sc}, \text{Y}, \text{La}, \text{Lu}$) jako katalyzátory používané ve fluorovaných rozpouštědlech³. V těchto rozpouštědlech katalyzuje vysoce účinnou syntézu benzimidazolových derivátů ytterbium perfluorooctanesulfonát ($\text{Yb}(\text{OPf})_3$).

Perfluoroktansulfonáty mají charakteristické rysy, jako je nízká hygroskopičnost, možnost opakovaného používání a vysoká rozpustnost ve fluorovaných rozpouštědlech (Schéma II).



i) $\text{Yb}(\text{OPf})_3$ (0,2mol%), 90°C, 6h

Schéma II Syntéza benzimidazolu za použití prvků vzácných zemí perfluoroktansulfonátů.

Reakci *o*-fenylendiaminu **Ia** (*o*-FD, 1,85mmol) s aldehydy **IIa** (1,0 ekv *o*-FD) je možné provádět ve vodném roztoku kyseliny borité (5mol%) a glycerolu (0,05ml) při 80°C ⁴. Tato reakce je vhodná pro tzv. „green chemistry“ a poskytuje výtěžky **IIIb** až kolem 80-90% (Schéma III).

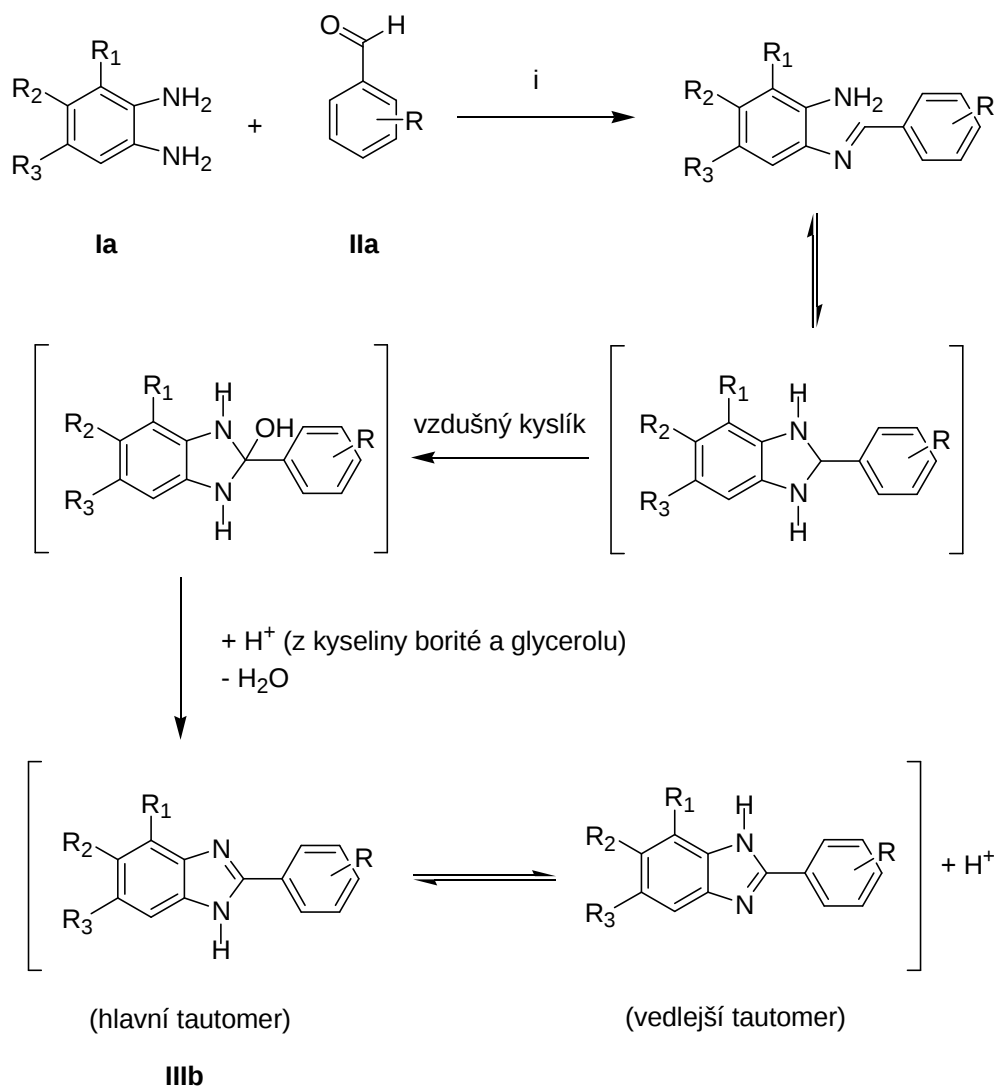


Schéma III Syntéza benzimidazolu v prostředí vodného roztoku kyseliny borité a glycerolu.

Další modifikací přípravy benzimidazolů touto metodou je reakce *o*-fenylendiaminu s aldehydy za přítomnosti příslušných sirných činidel⁵. Směs *o*-fenylendiaminu **I** (1mmol), *n*-heptylaldehydu **IIb** (1mmol) a sirných činidel (NaHSO₃,

Na₂S₂O₅, KHSO₄) bylo zahříváno v *N,N*-dimethylacetamidu (DMA). Výtěžky byly kolem 30-60% závislosti na teplotě, čase a množství sirného reagentu. (Schéma IV).

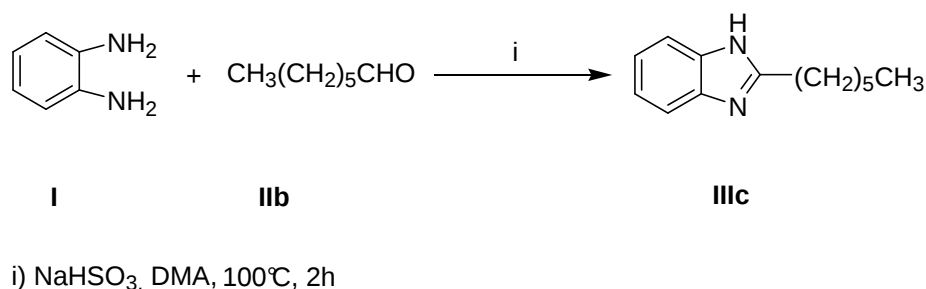


Schéma IV Syntéza benzimidazolu za přítomnosti sirných činidel.

Pro tvorbu benzimidazolů je důležitá oxidace, při které se odštěpují dva atomy vodíku. Proto se reakce často provádí za oxidačních podmínek. Tato oxidace může být podpořena vzduchem nebo pohodlněji, použitím jiných oxidačních činidel, jako např. octan měďnatý. Toto druhé činidlo nejprve představil Weidenhagen⁶. Weidenhagenova metoda spočívá v reakci diaminu a aldehydu ve vodě nebo alkoholickém roztoku obsahující octan měďnatý nebo podobné měďnaté soli. Měďnatá sůl se od benzimidazolu oddělí pomocí sirovodíku a následné filtraci vzniklého sulfidu. Pomocí této metody lze dosáhnout výborných výtěžků 2-substituovaných benzimidazolů **III**. Velký počet alkyl, aryl, a heterocyklických aldehydů bylo vyzkoušeno s podobně dobrými výsledky (Schéma V).

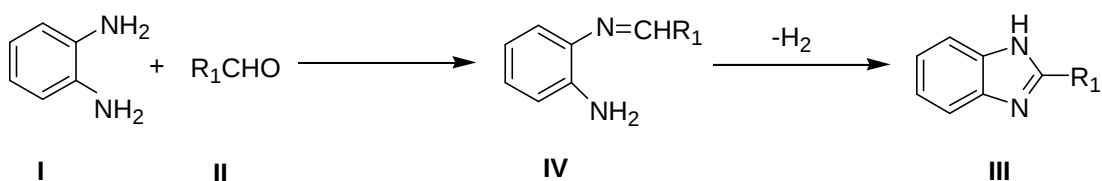
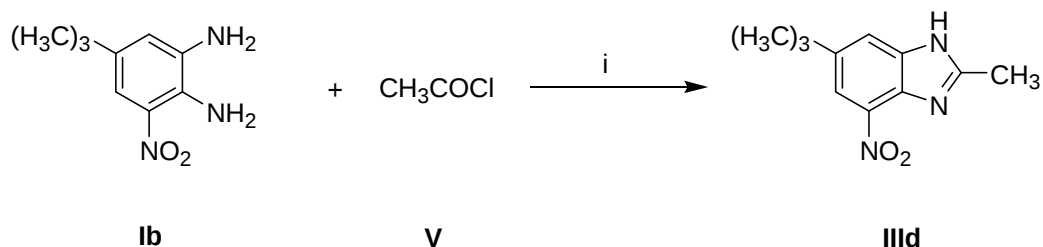


Schéma V Oxidace, při které se odštěpují dva atomy vodíku.

3.1.2 Příprava benzimidazolů z chloridů kyselin

Reakcí mezi *o*-fenylendiaminy a chloridy kyselin za vzniku benzimidazolů je možné provádět s alkyl i aryl chloridy. Jedním z příkladů může být reakce 3-nitro-5-*t*-butyl-*o*-fenylendiaminu **Ib** s metylchloridem **V**⁶. Reakce se provádí obvykle zahříváním

pod zpětným chladičem, nebo zahříváním na vodní lázni v přítomnosti pyridinu nebo podobné báze. (Schéma VI).

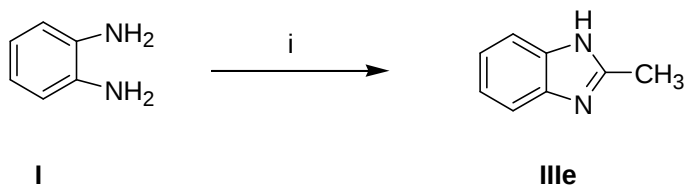


i) pyridin

Schéma VI Syntéza derivátu benzimidazolu pomocí chloridů kyselin.

3.1.3 Příprava benzimidazolů z kyselin

Příkladem této reakce může být kondenzace *o*-fenyldiaminu **I** s kyselinou octovou za refluxu po dobu dvou hodin. Poměrně jednoduchá izolace spočívající v úpravě pH a filtraci pak poskytla výsledný produkt ve výtěžku 77% (Schéma VII).



i) CH₃COOH, led, KOH, 100°C, 2h

Schéma VII Syntéza benzimidazolu pomocí kyselin.

O-fenylenediamin **I** snadno reaguje s většinou karboxylových kyselin **VI** a poskytuje 2-substituované benzimidazoly **III** obvykle ve velmi dobrém výtěžku. Reakce se provádí při zvýšené teplotě za různě dlouhých reakčních časů (Schéma VIII).

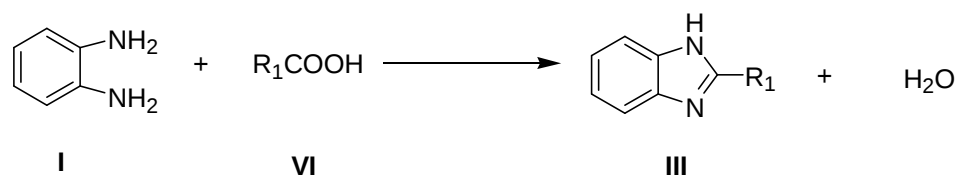


Schéma VIII Syntéza benzimidazolu za použití karboxylových kyselin.

2-Nesubstituované benzimidazoly mohou být připraveny v 83 - 85 % výtěžku pomocí 90 procentní kyseliny mravenčí. Kyselina octová dává 68 % výtěžek 2-methylbenzimidazolu⁶. Kyselina akrylová **VIa** nedává 2-vinylbenzimidazol. Místo toho vzniká sloučenina se sedmi-členným kruhem **VII** ve výtěžku 67% (Schéma IX).

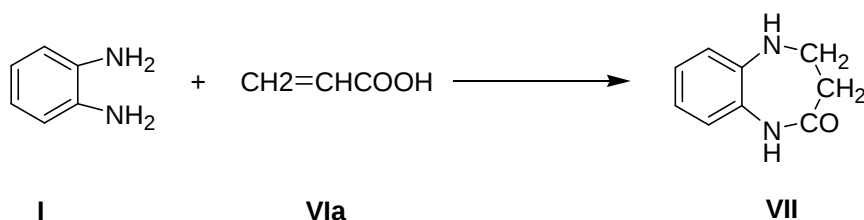
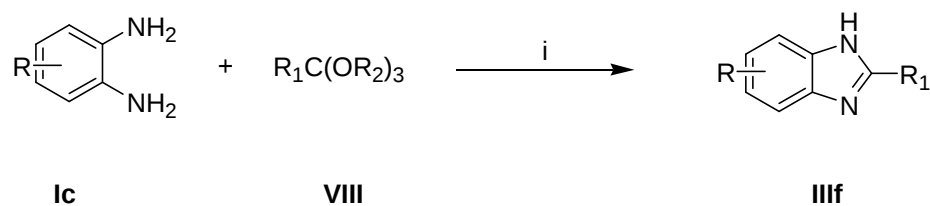


Schéma IX Syntéza benzimidazolu pomocí kyseliny akrylové.

3.1.4 Příprava benzimidazolů z orthoesterů

Jedna z metod, která vychází ze substituovaných *o*-fenylendiaminů **Ic** a orthoesterů **VIII** v přítomnosti Yb(OTf)₃ nebo zeolitu při vysoké teplotě, byla také použita pro syntézu derivátů benzimidazolů **III f**¹ (Schéma X).

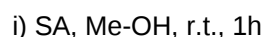


i) Yb(OTf)₅, r.t., 1h

Schéma X Syntéza benzimidazolu pomocí orthoesterů.

V poslední době se provádí reakce se sulfamovou kyselinou¹ (SA). Byla představena jako slibný katalyzátor při různých organických přeměnách. Je to permanentní, hygroskopická, krystalická pevná látka bez zápachu s vynikající stabilitou, která je komerčně dostupná a levná.

Kondenzační reakce *o*-fenylendiaminu **Ic** (1mmol) pomocí triethylorthoformátu **VIIIa** (1,2mmol) v Me-OH při pokojové teplotě v přítomnosti SA (0,05mmol) byla dokončena po 1h (Schéma XI).



Vliv relativní množství SA na výsledek reakce byla také studován. Bylo prokázáno, že katalytické množství SA (5mol%) je dostačující pro dosažení požadovaného produktu ve vysokých výtěžcích (kolem 75-95%). Reakce byla také provedena v některých jiných organických rozpouštědlech. Bylo například zjištěno, že v methanolu byl dosažen mnohem lepší výtěžek produktu ve srovnání s ethanolem a dichlormethanem (DCM).

V literatuře je popsána celá řada 8-substituovaných purinů **XI** za pomoci nejrůznějších metod. Jako jedna z prvních a stále nejhojněji používaných metod je

cyklizace diaminopyrimidinu s aldehydy, kyselinami a jejich deriváty.

Příkladem reakce diaminopyrimidinu s esterem kyseliny může být kondenzace ethyl glykolátu **IX** s 4,5-diaminopyrimidinem **X** při 140°C po dobu 2 hodin⁷. Izolace produktu spočívá v předestilování za sníženého tlaku a následným čistěním přes aktivní uhlí. (Schéma XII).

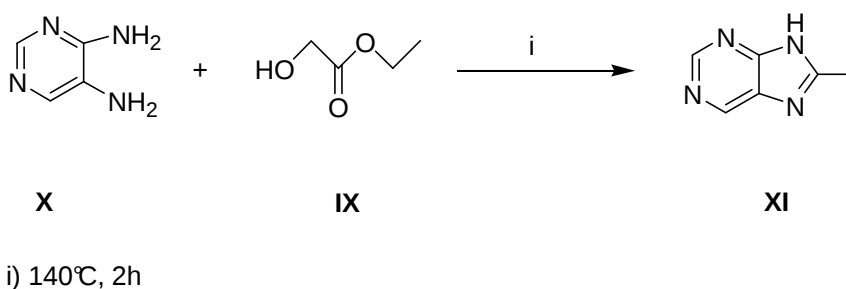


Schéma XII Syntéza derivátu purinu.

Příkladem reakce diaminopyrimidinu s aldehydy je benzaldehyd **IIb** s diaminem **X** pod vlivem mikrovlnného záření. Při této reakci⁸ vzniká při teplotě 220°C produkt **XIa** s výtěžkem 32%. (Schéma XIII).

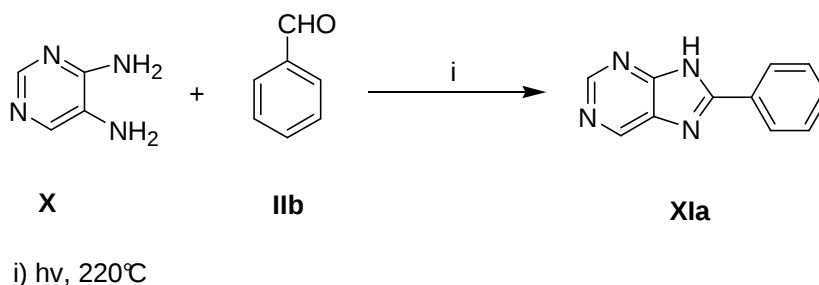
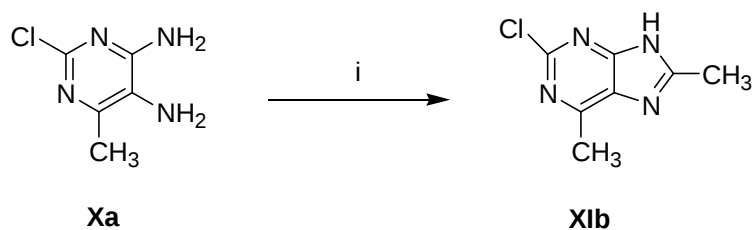


Schéma XIII Syntéza derivátu purinu cyklizací diaminopyrimidinu s aldehydem.

Dalším příkladem je reakce, vedoucí k přípravě trisubstituovaného purinu **XIb**⁹, která spočívá ve dvou krocích. V prvním kroku reaguje 2-chloro-4,5-diamino-6-methylpyrimidin **Xa** s kyselinou octovou při teplotě 20°C po dobu 3h. Výtěžek je 96%. V druhém kroku se přidá nitrobenzen, a směs se nechá reagovat 3h za zvýšené teploty. Konečný výtěžek produktu **XIb** je 81% (Schéma XIV).

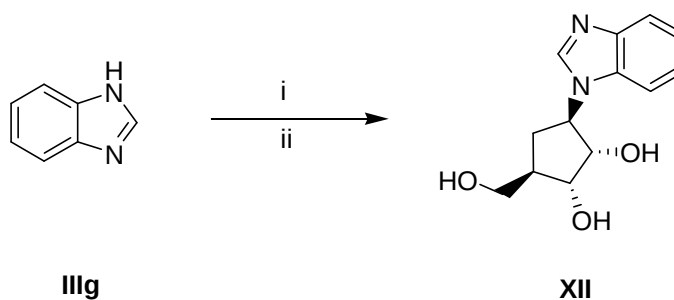


- i) 1. CH₃COOH, 20°C, 3h
 2. Ph-NO₂, 3h

Schéma XIV Syntéza derivátu purinu pomocí karboxylové kyseliny.

3.3 Známé metody ribosylace benzimidazolu.

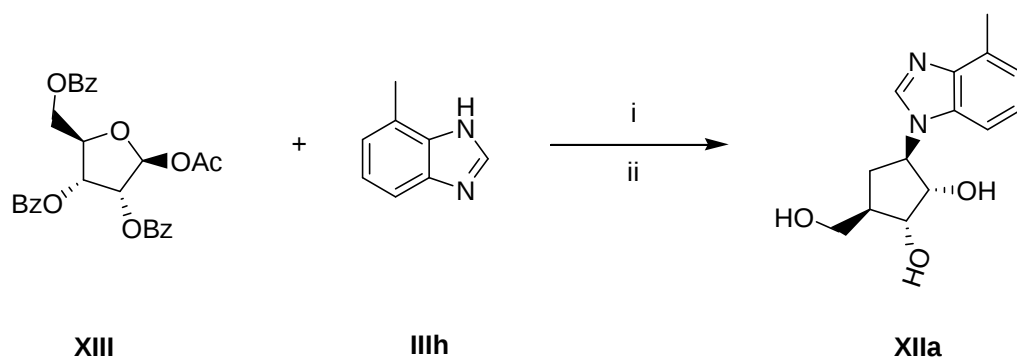
Příkladem ribosylace benzimidazolu **IIIg** je reakce s tri-*O*-acetyl- α -D-ribofuranosylchloridem v NaOH a CuCl₂. Následný meziprodukt **XII** se odchrání v metanolu s amoniakem¹⁰ (Schéma XV).



- i) NaOH, CuCl₂
 ii) Me-OH, NH₃

Schéma XV Ribosylace benzimidazolu.

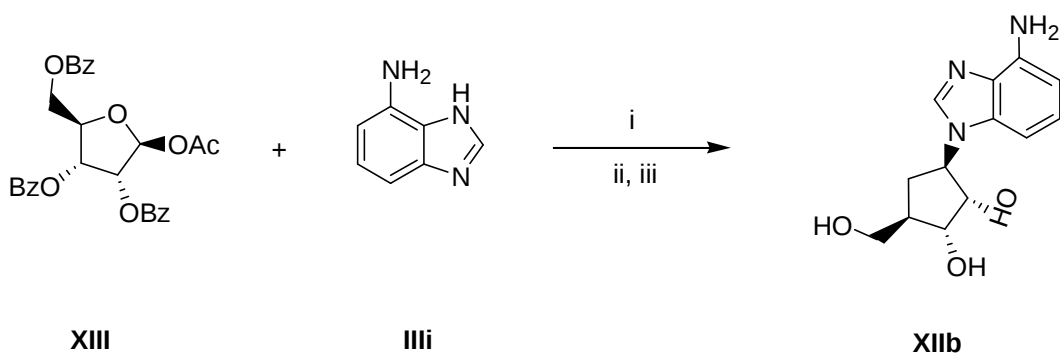
Dalším možným způsobem¹¹ je míchání 4-methylbenzimidazolu **IIIh** s tri-*O*-acetyl- α -D-ribofuranosylchloridem **XIII** v DCE s SnCl₄ za teploty 83°C 5h. Odchránění proběhne znovu s amoniakem v metanolu. Výtěžek produktu **XIIa** činí podle literatury 55% (Schéma XVI).



i) DCE, SnCl₄
 ii) Me-OH, NH₃
 83°C, 5h

Schéma XVI Ribosylace benzimidazolu.

Reakce 1-H-benzimidazol-4-ylaminu **IIIi** s 1,1,1,3,3,3-hexamethyl-disilazanem v acetonitrilu je reakce, při které se chrání amino skupina na benzimidazolu. Následně se přidá 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranosa **XIII** s SnCl₄ a na závěr se provede odchránění v hydroxidu amonném. Reakce se provádí při teplotě 60°C po dobu 5h, kdy vzniká produkt **XIIb** (Schéma XVII)¹².



i) CH₃CN, HMDS
 ii) SnCl₄
 iii) NaOH
 60°C, 5h

Schéma XVII Ribosylace benzimidazolu.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Jak již bylo zmíněno v úvodní části této bakalářské práce, cílem zkoumané problematiky bylo připravit deriváty 2-substituovaného benzimidazolu a aplikovat reakční podmínky na přípravu derivátů purinu substituovaných v poloze 8.

4.1 Cyklizace *o*-fenylendiaminu s deriváty benzaldehydu

Příprava 2-fenyl benzimidazolu

Prvním krokem přípravy cílových benzimidazolů byla reakce *o*-fenylendiaminu (*o*-FD) **1** a benzaldehydu (BA) **2** podle postupu popsáno v literatuře⁶. Reakční komponenty byly rozpuštěny a refluxovány ve směsi nitrobenzen/ethanol po dobu 2,5 hodiny na olejové lázni za varu. Výtěžek požadovaného benzimidazolu **3** byl malý, jen asi 13%. Další podíl vykrytalizoval ve filtrátu, který už ale nebyl čistý, jelikož obsahoval látku **4** (Schéma 1).

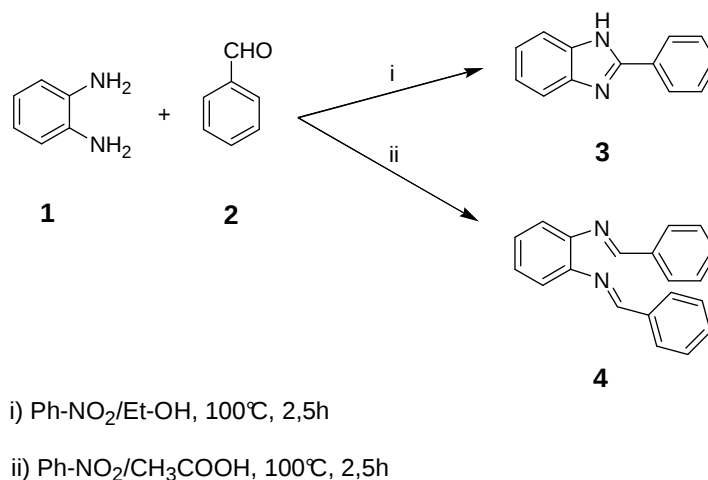
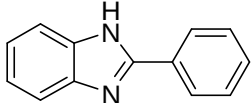
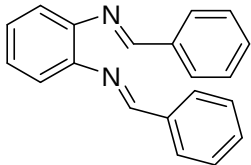
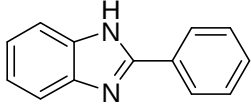
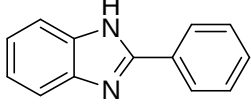
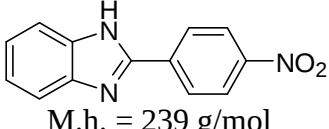
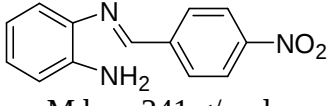


Schéma 1 Syntéza 2-fenylbenzimidazolu.

Tato stejná reakce byla provedena obměnou ethanolu za kyselinu octovou, kde nevznikl daný benzimidazol **3** ani v malém množství, ale jen nezcyklizovaný intermediát **4** (Tabulka 1).

Tabulka 1 Tabulka reakcí za vzniku benzimidazolu s obměnami reakčních komponent.

Číslo pokusu	Složení reakční směsi	Podmínky	Výtěžek izolované směsi (%)	Čistota surové směsi LC-MS (%)	Struktury látek ve směsi s M.h.
1	o-FD (1ekv) BA (1,1ekv) Ph-NO ₂ (1,1ekv) Et-OH	reflux 2,5 h	13%	94,5%	 M.h. = 194 g/mol
2	o-FD (1ekv) BA (1,1ekv) Ph-NO ₂ (1,1ekv) CH ₃ COOH	reflux 1h	65%	96,7%	 M.h. = 284 g/mol
3	o-FD (1ekv) BA (1,1ekv) Et-OH	reflux 1h 40 min	15%	82%	 M.h. = 194 g/mol
4	o-FD(1ekv) BA (1,1ekv) CH ₃ COOH	reflux 1h 40 min	1,3%	79%	 M.h. = 194 g/mol
5	o-FD (1ekv) p-NBA (1,1ekv) Ph-NO ₂ (1,1ekv) Et-OH	reflux 1,5 h	71% ¹	98,8% ²	 M.h. = 239 g/mol  M.h. = 241 g/mol

¹ Jedná se o výtěžek směsi obou látek spočítaný na derivát benzimidazolu

² Jedná se o čistotu směsi obou látek, majících stejný retenční čas, oproti jiným nečistotám

Podle použité literatury⁶ má nitrobenzen sloužit jako oxidační činidlo, usnadňující odštěpení dvou vodíků (Schéma 2).

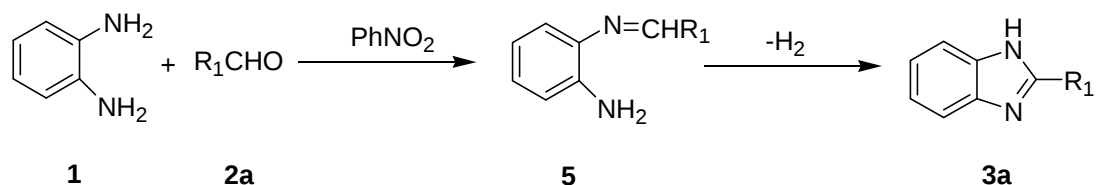
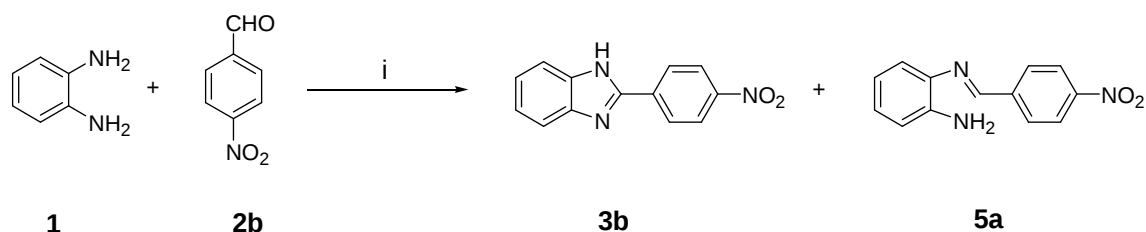


Schéma 2 Syntéza benzimidazolu za použití oxidačního činidla.

Přesto, že reakce se samotným benzaldehydem poskytovala velmi malé výtěžky, obrátili jsme další pozornost na reaktivitu *o*-FD s *p*-nitrobenzaldehydem. Výsledný produkt je pak mimo jiné možno využít k tvorbě benzimidazolů resp. purinů s aromatickými linkry, na které jde přes aminoskupinu vzniklou redukcí nitroskupiny navázat další požadovaný substrát.

Aplikace podmínek č.1 se zkrácením reakčního času vedly překvapivě k poměrně vysokému výtěžku (cca 70%) požadovaného benzimidazolu **3b** (Tabulka 1, pokus 5). Kromě požadovaného benzimidazolu vznikala i nezcyklizovaná forma **5a** s molekulovou hmotností o 2 jednotky vyšší než produkt (Schéma 3).



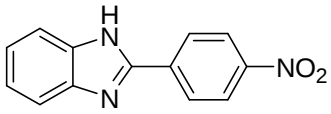
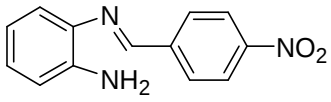
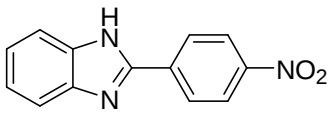
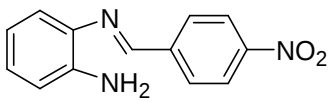
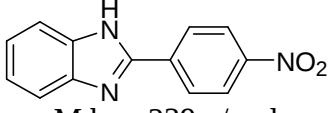
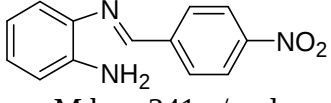
i) Ph-NO₂/Et-OH

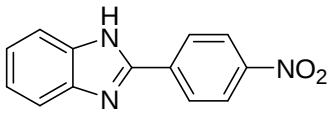
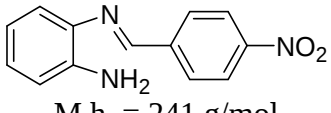
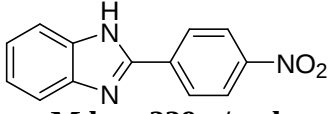
Schéma 3 Vznik nezcyklizované formy **5a**.

Pro budoucí potencionální využití glykosylovaných derivátů *o*-FD pro tvorbu nukleosidových analogů substituovaných v poloze 2, resp. purinových nukleosidů substituovaných v poloze 8 jsme se snažili aplikovat šetrnější podmínky popsané v literatuře⁴, kdy se reakce provádí ve vodném roztoku kyseliny borité a glycerolu při 80°C. Tato reakce proběhla s výtěžkem směsi požadovaného benzimidazolu **3b** a derivátu **5a** kolem 80-90% (Tabulka 2). Optimalizací reakčních podmínek jsme se

snažili snížit zastoupení nezcyklizované formy. Optimální reakční podmínky zahrnuje experiment č. 5 v tabulce 2.

Tabulka 2 Tabulka optimalizace reakčních podmínek ve vodném prostředí kyseliny borité a glycerolu.

Číslo pokusu	Složení reakční směsi	Podmínky	Výtěžek izolované směsi ¹ (%)	Čistota surové směsi LC-MS (%)	Struktury látek ve směsi s M.h.
1	o-FD (1ekv) p-NBA (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃	2 h 80°C	90,5%	84,9%	 M.h. = 239 g/mol  M.h. = 241 g/mol
2	o-FD (1ekv) p-NBA (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃ (2ekv)	2 h 80°C	95%	85,5%	 M.h. = 239 g/mol  M.h. = 241 g/mol
3	o-FD (1ekv) p-NBA (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃	18,5 h 80°C	85%	77,7%	 M.h. = 239 g/mol  M.h. = 241 g/mol

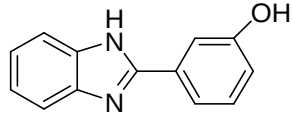
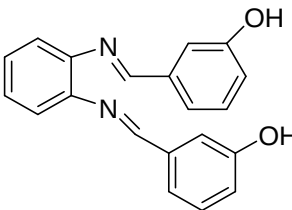
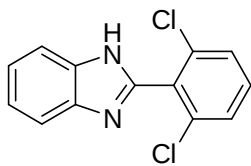
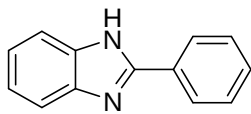
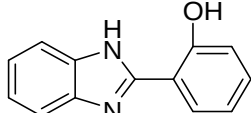
4	<i>o</i> -FD (1ekv) <i>p</i> -NBA (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃	2 h 100°C	95%	vznik izomerů 25,6% 70,1%	 Mh. = 239 g/mol  M.h. = 241 g/mol
5	<i>o</i> -FD (1ekv) <i>p</i> -NBA (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃	reflux 6 h 100°C	78%	82,9%	 M.h. = 239 g/mol

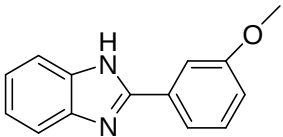
¹spočítáno na produkt benzimidazolu

Příprava benzimidazolů z různých benzaldehydů

Optimalizované reakční podmínky ve vodném roztoku kyseliny borité a glycerolu jsme se pokusili ověřit na přípravě i jiných derivátů benzimidazolu. Různé benzaldehydy poskytovaly příslušný benzimidazol ve směsi s různými nečistotami ve formě mazlavé hmoty a ve velmi malém výtěžku. Lze říct, že optimalizované podmínky ne zcela platí pro všechny aldehydy (Tabulka 3).

Tabulka 3 Aplikace optimalizovaných podmínek na různé aldehydy.

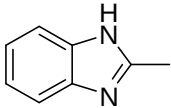
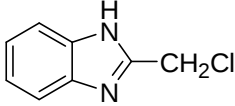
Číslo pokusu	Složení reakční směsi	Podmínky	Výtěžek izolované směsi (%)	Čistota surové směsi LC-MS (%)	Struktury látek ve směsi s M.h.
1	o-FD (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃ 3-hydroxyBA (1ekv)	6 h 100°C	mazlavá hmota	-	 M.h. = 210 g/mol  M.h. = 316g/mol
2	o-FD (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃ (2ekv) 2,6-dichloroBA (1ekv)	6 h 100°C	mazlavá hmota	-	 M.h. = 262 g/mol
3	o-FD (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃ BA (1ekv)	6 h 100°C	mazlavá hmota	-	 M.h. = 194 g/mol
4	o-FD (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃ 2-hydroxyBA (1ekv)	6 h 100°C	mazlavá hmota	-	 M.h. = 210 g/mol

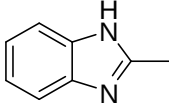
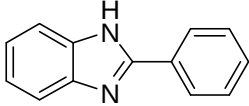
5	o-FD (1ekv) voda glycerol H ₃ BO ₃ 3-methoxyBA (1ekv)	6 h 100°C	mazlavá hmota	-	 M.h. = 224 g/mol
---	--	--------------	------------------	---	---

4.2 Cyklizace o-fenylendiaminu s kyselinami a s deriváty karboxylových kyselin

Dalším typem reakcí přípravy benzimidazolů byly reakce o-FD s kyselinami. Nejlepší reakce byla s kyselinou chloroctovou, kde čistota surové směsi byla 96,6% (Tabulka 4, pokus 2). Chloridová skupina na benzimidazolu může být využita při reakci s jinými molekulami, což je výhoda při tvorbě linkeru pro navazování dalších molekul.

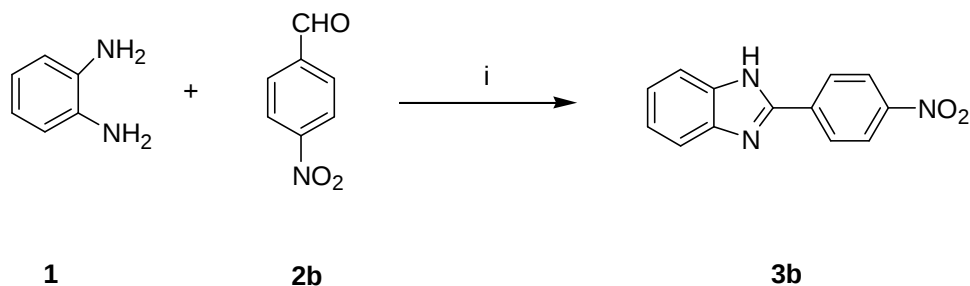
Tabulka 4 Tabulka reakcí za vzniku benzimidazolů z kyselin a chloridů kyselin.

Číslo pokusu	Složení reakční směsi	Podmínky	Výtěžek izolované látky (%)	Čistota surové látky LC-MS (%)	Výsledná struktura s M.h.
1	o-FD (1ekv) 4M-HCl CH ₃ COOH(1ekv)	reflux 2 h	120%	87,6%	 M.h. = 132 g/mol
2	o-FD (1ekv) 4M-HCl CH ₂ ClCOOH (1ekv)	reflux 4 h	103%	96,6%	 M.h. = 166 g/mol

3	o-FD (1ekv) 4M-HCl benzoová kys.(1ekv)	reflux 3 h	-	-	-
4	o-FD (1ekv) toluen TEA (1,1ekv) Acetylchlorid (1,1ekv)	reflux 2,5 h	81%	(Dva izomery) 19,8% 72%	 M.h. = 132 g/mol
5	o-FD (1ekv) toluen TEA (1,1ekv) Benzoylchlorid (1,1ekv)	reflux 2,5 h	75%	72%	 M.h. = 194 g/mol

4.3 Reakce za přítomnosti síranu sodného

Tato reakce byla provedena s o-FD **1**, *p*-NBA **2b** a heptahydrátem síranu sodného v DMF podle reakčních podmínek uvedených v literatuře⁵ a to ve dvou variantách. První varianta spočívala v tom, že reakční komponenty se najednou smíchaly a refluxovaly v DMF po dobu 2 hodin. V druhé variantě byly připraveny dva roztoky. Jeden roztok byl *p*-NBA v DMF a druhý byl o-FD, Na₂SO₄·7H₂O v DMF. První roztok byl přidán do druhého, který byl zahřát na 100°C, v 10 minutovém intervalu po kapkách a celá směs se refluxovala ještě 2 hodiny. Obě varianty přinesly vysoký a velmi podobný výtěžek látky **3b** 82 – 89% (Schéma 4).



i) Na₂SO₄·7H₂O, DMF

Schéma 4 Syntéza benzimidazolu za přítomnosti síranu sodného.

4.4 Redukce 2-(4-nitrofenyl)benzimidazolu na 2-(4-aminofenyl)benzimidazol

Připravený 2-(4-nitrofenyl)benzimidazol **3b** byl rozpuštěný v methanolu a po přidavku 10% paládía na uhlí byla reakční směs vystavena působení vodíku pod tlakem 3MPa v autoklávu. Nitro skupina byla zredukována na amino skupinu **3c** po 20h (Schéma 5).

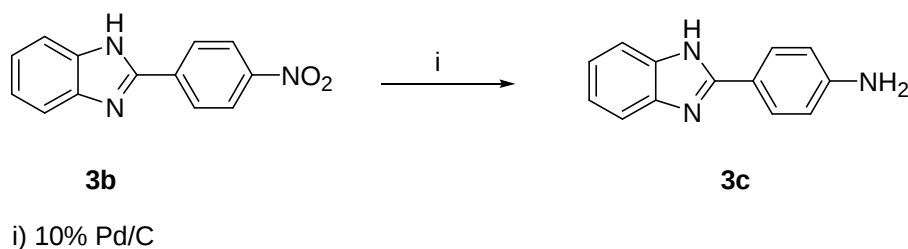


Schéma 5 Redukce nitroderivátu benzimidazolu na aminoderivát.

4.5 Reakce 4,5,6-triaminopyrimidinu

Optimální reakční podmínky z předešlé reakce využívající kyselinu boritou a glycerol jako reagentie při 100° po dobu 6h byly použité na 4,5,6-triaminopyrimidin **6**, který reagoval s *p*-NBA **2b** ve vodném roztoku kyseliny borité a glycerolu. Vzniklého produktu **7** oranžové barvy bylo 68% (Schéma 6).

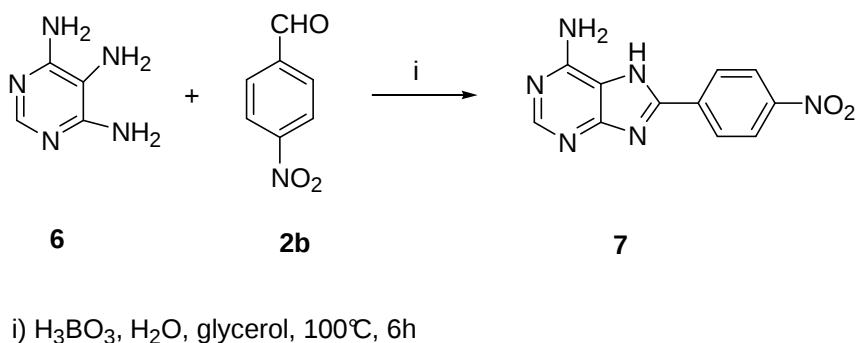
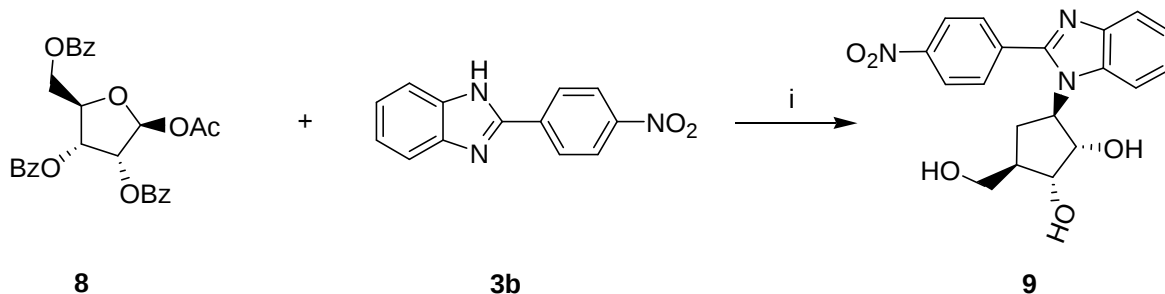


Schéma 6 Optimální reakční podmínky uplatněné na 4,5,6-triaminopyrimidine.

4.6 Studium ribosylace benzimidazolu

Pro ribosylaci benzimidazolového derivátu byla využita Vorbrügenova metoda. Po rozpuštění nitrofenylbenzimidazolu **3b** a 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-

ribofuranosy **8** v DCM byla do směsi přidána Lewisova kyselina (TMSOTf). Reakce¹¹ byla zkoušena i s DME jako rozpouštědlem a SnCl₄ jako Lewisovou kyselinou. Ani po reakční době 72h nebyl nalezen produkt **9** (Schéma 7).



i) DCM / DCE, TMSOTf / SnCl₄, r.t., 72h

Schéma 7 Ribosylace benzimidazolu.

Příčinou může být příliš nízká nukleofilita dusíku imidazolového cyklu způsobená silnou elektronegativitou a velkým záporným mezomerním efektem nitroskupiny.

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Metody

TLC chromatografie byla prováděna na hliníkových deskách pokrytých silikagelem 60 F254 značky Merck. Teploty tání byly měřeny na Boetiově bloku a nejsou korigovány. Měření NMR spekter bylo provedeno v roztoku DMSO – *d*₆ na Bruker AMX-300 spektrometru (300 MHz) se zbytkovým signálem nedeuterovaného rozpouštědla jako standardem. Hodnoty chemického posunu jsou udány v ppm jednotkách, interakční konstanty v Hz. Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na hmotnostním spektrometru TSQ Quantum ACCES, THERMO SCIENTIFIC, USA. Preparativní HPLC byla prováděna s využitím přístroje Agilent 1200 series a preparativní kolony YMC-Pack Pro C18 100x20 mm I.D. s-5μm, 12 nm.

5.2 Přípravy

5.2.1 Obecný postup přípravy benzimidazolů z *o*-FD a aldehydů

5.2.1.1 V ethanolu, resp. kyselině octové za přítomnosti benzaldehydu:

o-FD (0,2g, 1,849mmol) byl spolu s aldehydem (1,1ekv) suspendován rozpouštědlem (10ml) za/bez přídavku Ph-NO₂ (1,1ekv). Směs byla refluxována za varu po určitou dobu v olejové lázni, sraženina byla zfiltrována, promyta ledovým methanolem a nechána pod infralampou na dosušení.

2-fenylbenzimidazol (3)

- Jako rozpouštědlo byl použit ethanol. Reakční doba byla 1 hodinu a 40 minut. Výtěžek 79,2mg (15%).
- Jako rozpouštědlo byl použit ethanol. Reakční doba byla 2,5 hodiny. Výtěžek 47mg (13%).
- Jako rozpouštědlo byla použita kyselina octová. Reakční doba byla 1 hodina a 40 minut. Výtěžek 6,9mg (1,3%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7.05 - 7.89 (m, 7 H) 8.11 - 8.30 (m, 2 H) 12.94 (br. s., 1 H). MS m/z pro C₁₃H₁₀N₂: 194,08, nalezeno 194,90 [M+1]⁺.

Bod tání: 292,1 – 293,7 °C

***N,N'*-benzen-1,2-diylbis(1-benzylmethanimin) (4)**

Jako rozpouštědlo byla použita kyselina octová. Reakční doba byla 1 hodinu. Výtěžek 346mg (65%).

¹H NMR: ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 5,52 – 5,66 (m, 1 H) 6,96 – 7,05 (m, 1 H) 7,18 – 7,34 (m, 3 H) 7,43 – 7,59 (m, 2 H) 7,67 – 7,79 (m, 1 H). MS m/z pro C₂₀H₁₆N₂: 284,13, nalezeno 285,01 [M+1]⁺.

Bod tání: 127,2 – 132,4°C

4-nitrofenylbenzimidazol (3b)

Jako rozpouštědlo byl použit ethanol a jako aldehyd *p*-nitrobenzaldehyd. Reakční doba byla 1,5 hodiny. Výtěžek 315 mg (71%).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,14 – 7,37 (m, 2 H) 7,52 – 7,81 (m, 2 H) 8,30 – 8,51 (m, 4 H) 13,28 (br. s., 1 H). MS m/z pro C₁₃H₉N₃O₂: 239,07, nalezeno 239,99 [M+1]⁺.

Bod tání: 318,3 – 319,2°C

5.2.1.2 Ve vodném roztoku kyseliny borité s glycerolem za přítomnosti aldehydu

o-FD (0,2g, 1,849mmol) byl spolu s aldehydem (1,0 ekv) suspendován ve vodě (4ml) obsahující kyselinu boritou (5mol%) a glycerol (50μL). Směs byla refluxována 6 hodin v olejové lázni, sraženina byla zfiltrována, promyta ledovým methanolem a nechána pod lampou na dosušení.

4-nitrofenyl benzimidazol (3b)

Jako aldehyd byl použit *p*-nitrobenzaldehyd. Výtěžek 346mg (78%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 7,22 – 7,34 (m, 2 H) 7,59 (d, *J*=7.43 Hz, 1 H) 7,73 (d, *J*=7.43 Hz, 1 H) 8,37 – 8,48 (m, 4 H) 13,30 (br. s., 1 H). MS m/z pro C₁₃H₉N₃O₂: 239,07, nalezeno 239,99 [M+1]⁺.

Bod tání: 317,2 – 318,5°C

2-fenylbenzimidazol (3)

Jako aldehyd byl použit benzaldehyd. Výtěžek 10,62mg (3%). MS m/z pro $C_{13}H_{10}N_2$: 194,08, nalezeno 194,90 $[M+1]^+$.

5.2.2 Obecný postup přípravy benzimidazolů z o-FD a kyselin bez přítomnosti p-nitrobenzaldehydu

o-FD (0,2g, 1,849mmol) byl suspendován spolu s příslušnou kyselinou (1,1ekv.) a 4M-HCl (5ml). Směs byla refluxována po určitou dobu na olejové lázni, sraženina byla zfiltrována, promyta ledovým methanolem a nechána pod lampou na dosušení.

2-methylbenzimidazol

Použitá byla kyselina octová. Reakční doba byla 2 hodiny. Výtěžek surové směsi činil 120%. Nutno dořešit způsob izolace a čištění.

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 2,80 (s, 3 H) 7,50 (dd, $J=6,04, 3,11$ Hz, 2 H) 7,75 (dd, $J=6,04, 3,11$ Hz, 2 H). MS m/z pro $C_8H_8N_2$: 132,07, nalezeno 132,97 $[M+1]^+$.

Bod tání: $>300^\circ C$

2-(methylchlorid) benzimidazol

Jako kyselina byla použita kyselina chloroctová. Reakční doba byla 4h. Výtěžek surové směsi 103 %. Nutno dořešit způsob izolace a čištění. MS m/z pro $C_8H_7ClN_2$: 166,03, nalezeno 166,97 $[M+1]^+$.

5.2.3 Obecný postup přípravy benzimidazolů z o-FD a chloridů kyselin

o-FD (0,2g, 1,849mmol) byl suspendován ve směsi s příslušným chloridem karboxylové kyseliny (1,1ekv), toluenem (5ml) a triethylaminem (1,1ekv). Směs byla refluxována po dobu 2,5 hodiny na olejové lázni, sraženina byla zfiltrována, promyta ledovým methanolem a nechána pod lampou na dosušení.

2-fenylbenzimidazol (3)

Jako chlorid karboxylové kyseliny byl použit benzoylchlorid. Výtěžek surové směsi 568mg (75%). MS m/z pro $C_{13}H_{10}N_2$: 194,08, nalezeno 194,90 $[M+1]^+$.

Bod tání: 288,1 – 289,8°C

2-methylbenzimidazol

Jako chlorid karboxylové kyseliny byl použit acetylchlorid. Výtěžek surové směsi 396mg (81%). MS m/z pro $C_8H_8N_2$: 132,07, nalezeno 132,97 $[M+1]^+$.

5.2.4 Redukce 2-(4-nitrofenyl)benzimidazolu (3c)

Připravený 2-(4-nitrofenyl)benzimidazol (100mg) byl rozpuštěný v metanolu (15ml) a po přidavku 10% paládía na uhlíku (80mg) byla reakční směs ponechána pod vodíkovou atmosférou za tlaku 3MPa v autoklávu po dobu 20h. Reakční směs byla zfiltrována přes křemelinu, odpařená dosucha a ponechána v lyofilizátoru na úplné dosušení.

1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 6,65 (d, $J=8,05$ Hz, 2 H) 7,08 (dd, $J=5,67$, 2,93 Hz, 2 H) 7,46 (br. s., 2 H) 7,84 (d, $J=7,50$ Hz, 2 H). MS m/z pro $C_{13}H_{11}N_3$: 209,10, nalezeno 209,90 $[M+1]^+$.

Bod tání: 195,9 – 199,0°C

5.2.5 Příprava 8-(4-nitrofenyl)purinu (7)

4,5,6-triaminopyrimidin (1,12mmol, 250mg) byl spolu s *p*-NBA (1,12mmol, 170mg) refluxován v roztoku kyseliny borité a glycerolu po dobu 6h na olejové lázni. Sraženina byla zfiltrována a promyta ledovým methanolem. Oranžový produkt byl ponechán pod lampou na dosušení. Výtěžek činil 68%. MS m/z pro $C_{11}H_8N_6O_2$: 256,07, nalezeno 258,91 $[M+1]^+$.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

BA	benzaldehyd
BI	benzimidazol
DCE	dichlorethan
DCM	diclormethan
DMA	dimethylacedamid
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
HMDS	hexamethyldisilazan
LA	Lewisova kyselina
NK	nukleová kyselina
<i>o</i> -FD	<i>o</i> -fenylendiamin
<i>p</i> -NBA	<i>p</i> -nitrobenzaldehyd
RT	pokojová teplota
SA	sulfamová kyselina
TEA	triethylamin
TMSOTf	trimethylsilyl trifluoromethan sulfonát

7 ZÁVĚR

V této bakalářské práci byly zkoušeny tři způsoby přípravy benzimidazolů dle postupů popsanych v literatuře. Pozornost byla věnována cyklizaci *o*-FD s deriváty benzaldehydu, cyklizace *o*-FD s kyselinami a s deriváty karboxylových kyselin.

Komplikací těchto metod byl vznik vedlejších produktů jako nezcyklizovaných iminoderivátů **5** a bisiminoderivátů **4**. Proto jsme se snažili zvýšit čistotu surové směsi a odstranit zejména nezcyklizovanou formu produktu, která nám vznikala ve většině případů. Proto byly studovány podmínky optimalizace změnou reakčního času a teploty. Nalezené optimální reakční podmínky byly aplikované na vícere aldehydy, ale ne každá reakce vedla ke vzniku požadovaných benzimidazolů v dostatečné čistotě. U některých vznikala mazlavá, těžko izolovatelná hmota. Nejlepší reakce byla s *p*-nitrobenzaldehydem, kde vznikl příslušný nitroderivát benzimidazolu **3b**, z kterého se nám podařilo katalytickou redukcí připravit jeho aminoderivát **3c**.

Tyto optimální podmínky byly také aplikované i na reakci 4,5,6-triaminopyrimidinu s *p*-nitrobenzaldehydem, kde reakce proběhla bez problémů za vzniku 8-(4-nitrofenyl)-adeninu **7**.

Dále byla vícekrát zkoušena ribosylace benzimidazolu **3b** reakcí s 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -D-ribofuranosou za katalýzy trifluormethansulfonátem, která nebyla úspěšná, ale bude předmětem studií v další části tohoto výzkumu. Ribosylace bude rovněž aplikována na 8-(4-nitrofenyl)-adenin **7**, který bude sloužit jako výchozí sloučenina pro tvorbu systému s připojeným azocinovým skeletem a budou provedeny *click reakce*, které se budou dále studovat pro vývoj sloučenin s biologickou aktivitou či látek vhodných pro značení nukleových kyselin.

8 LITERATURA

Reference List

1. Zhang, Z.-Z.; Li, T.-S.; Li, J.-J. A Highly Effective Sulfamic Acid=Methanol Catalytic System for the Synthesis of Benzimidazole Derivatives at Room Temperature. 138 ed.; 2007; pp 89-94.
2. Chari, M. A.; Shobha, D.; Sasaki, T. Room temperature synthesis of benzimidazole derivatives using reusable cobalt hydroxide (II) and cobalt oxide (II) as efficient solid catalysts. 52 ed.; 2011; pp 5575-5580.
3. Shen Ming-Gui; Cai, C. Ytterbium perfluorooctanesulfonates catalyzed synthesis of benzimidazole derivatives in fluoruous solvents. 128 ed.; 2007; pp 232-235.
4. Mukhopadhyay, C.; Tapaswi, P. K.; Butcher, R. J. Water-Mediated Synthesis of 2-Substitued Benzimidazoles by Boric Acid and Glycerol. 62(2) ed.; 2009; pp 140-144.
5. Yamashita, T.; Yamada, S.; Yamazaki, Y.; Tanaka, H. New Procedure for the Synthesis of 2-Alkylbenzimidazoles. 39 ed.; 2009; pp 2982-2988.
6. JOHN B.WRIGHT THF: CHEMISTRY OF THE BENZIMIDAZOLES. 1951.
7. Sankyo, C. 2-Hydromethyl-3H-imidazo[5,4-d]pyrimidine. 1997.
8. Lin, S.-Y.; Isome, Y.; Stewart, E.; Liu, J.-F.; Yohannes, D.; Yu, L. Microwave-assisted one step high-throughput synthesis of benzimidazoles. 47 ed.; 2006; pp 2883-2886.
9. Srinivas, K.; Rao, K. S.; Narsaiah, B.; Rao, J. M. Reactions of 2-chloro-4,5-diamino-6-methylpyrimidine with 1,3-diketones - Formation of new substituted purines. 40 ed.; 2001; pp 191-194.
10. Davoll; Brown A New Synthesis of 1-Glycosylbenzimidazoles. 73 ed.; 1951; p 5781.
11. Ji, Q.; Li, J.; Huang, F.; Han, J.; meng, J. Regioselective Synthesis of 2-Substituted-4-Methylbenzimidazole Nucleosides. 8 ed.; 2005; pp 1301-1305.
12. Srivavstava, R.; Bhargava, A.; Singh, R. K. Synthesis and antimicrobial activity of some novel nucleoside analogues of adenosine and 1,3-dideazaadenosine. 17 ed.; 2007; pp 6239-6244.