

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Lukáš Kolman

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

LUKÁŠ KOLMAN

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko technologická
Ústav organické chemie a technologie

**3-[Amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-ony s terciární
aminoskupinou**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Lukáš Kolman

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

2020

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Institute of Organic Chemistry and Technology

**3-[Amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-ones with
tertiary aminogroup**

BACHELOR WORK

AUTHOR: Lukáš Kolman

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

2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lukáš Kolman**
Osobní číslo: **C17067**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Téma práce: **3-[Amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-ony s terciární aminoskupinou**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte literární rešerši, týkající se přípravy a použití sloučenin obsahujících 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onový skelet s důrazem na deriváty obsahující terciární aminoskupinu.
2. Připravte a charakterizujte nejméně tři na benzenových jádrech substituované 3-[dimethylamino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-ony s využitím *Eschenmoserovy* reakce a proveďte možnost přípravy dalších derivátů s terciární aminoskupinou (např. s fenyl(methyl)amino a difenylamino skupinami).
3. Získané výsledky porovnejte s literaturou a zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.**
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **4. července 2020**



L.S.



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

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

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

PODĚKOVÁNÍ

V první řadě bych rád poděkoval prof. Ing. Jiřímu Hanuskovi, Ph. D. za odbornou pomoc, rady a připomínky při sestavování této práce a za předané znalosti v oboru organické chemie.

Obrovské díky patří také Ing. Lukášovi Markovi, který mně ukázal a naučil práce v laboratoři a byl ochotný mi pomoci a poradit vždy, když jsem se na něj obrátil.

Lukáš Kolman

ANOTACE:

Předložená práce se zabývá syntézou 3-[amino(aryl)methyliden]indol-2-onů s terciární aminoskupinou s využitím *Eschenmoserovy* reakce. Bylo připraveno a charakterizováno 7 nových dosud nepopsaných látek, nesoucích substituenty na obou aromatických jádrech a methylové skupiny na dusíku aminoskupiny. Výtěžky těchto látek jsou v rozmezí od 19 do 83 % a jsou ovlivněny jak substitucí, tak i podmínkami separace. Klíčová je i přítomnost thiofilu (trimethyl-fosfitu). Dále byl připraven a charakterizován i jeden derivát nesoucí na dusíku dvě ethylskupiny a to ve výtěžku 57 %. Byl učiněn i pokus o přípravu *N*-methyl-*N*-feryl derivátu 3-[amino(aryl)methyliden]indol-2-onu, který však díky nízké rozpustnosti nebylo možné řádně vyčistit a charakterizovat.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Eschenmoserova reakce, *N,N*-dialkylthiobenzamidy, 3-bromoxindoly, syntéza, inhibitory kináz.

ANNOTATION:

The present work deals with the synthesis of 3-[amino(aryl)methylidene]indol-2-ones with a tertiary aminogroup using the *Eschenmoser* reaction. Prepared and characterized were 7 new hitherto undescribed substances bearing substituents on both aromatic rings and methyl substituents on the nitrogen of the aminogroup. Yields of these substances are in the range from 19 to 83% and are affected by both substitution and separation conditions. The presence of thiophile (trimethyl-phosphite) is also crucial. Furthermore, one derivative bearing two ethyl groups on nitrogen was prepared and characterized in a yield of 57%. An attempt was also made to prepare the *N*-methyl-*N*-phenyl derivative of 3-[amino(aryl)methylidene]indol-2-one, which could not be properly purified and characterized due to its low solubility.

KEYWORDS:

Eschenmoser reaction, *N,N*-dialkylthiobenzamides, 3-bromooxindoles, synthesis, kinase inhibitors.

Obsah

1	Úvod.....	11
2	Teoretická část.....	12
2.1	Biologická aktivita a využití v medicíně.....	12
2.1.1	Inhibice tyrosin kináz.....	12
2.1.2	Zesílení účinků Flunitrazepamu.....	13
2.1.3	Léčba malárie	14
2.2	Publikované syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2 <i>H</i> -indol-2-onů s terciární aminoskupinou	15
2.2.1	Syntéza vycházející z indolin-2-onu s použitím diethylacetalu <i>N,N</i> -dimethylformamidu	15
2.2.2	Cyklizace substituovaných <i>o</i> -alkynylaryl isokyanátů pomocí FeCl ₃	16
2.2.3	Syntéza pomocí <i>Eschenmoserovy</i> reakce.....	18
3	Experimentální část.....	19
3.1	Přístrojové vybavení.....	19
3.2	Syntéza výchozích látek.....	20
3.2.1	Syntéza substituovaných 3-bromoxindolů (1a-c).....	20
3.2.2	Syntéza substituovaných thiobenzamidů (2a-c)	22
3.3	3-[Dialkylamino(aryl)methyliden]indol-2-ony (3a-h).....	25
4	Diskuze	30
4.1	Syntéza výchozích látek.....	30
4.2	<i>Eschenmoserova</i> reakce	30
4.3	Závěr	34
5	Seznam použité literatury	35

1 Úvod

V minulosti byly na Ústavu organické chemie a technologie intenzivně studovány mechanismy vzniku thiazolového kruhu z α -bromlaktamů a thioamidů. Při studiu reakce 3-bromindol-2-onu s primárními thiobenzamidy byl nečekaně získán místo požadovaného thiazolu produkt *Eschenmoserovy* reakce, kterým byl substituovaný 3-(amino(aryl)methyliden)indol-2-on.¹ Tímto zjištěním se otevřela doposud neprobádaná cesta k cílené přípravě sloučenin s 3-(amino(aryl)methyliden)indol-2-onovým skeletem, probíhající již za mírných podmínek a s vysokými výtěžky. Z hlediska uplatňujícího se mechanismu se v tomto případě jedná o variantu dobře známé *Eschenmoserovy* reakce², tradičně používané pro syntézu derivátů, obsahujících dvojnou vazbu.

Význam nově nalezené varianty *Eschenmoserovy* reakce spočívá ve skutečnosti, že u sloučenin s 3-(aminomethyliden)indol-2-onovým skeletem byly v minulosti pozorovány zajímavé biologické aktivity, především při inhibici tyrosin-kináz. Díky těmto inhibičním účinkům na tyrosin-kinázy mohou být tyto sloučeniny potenciálně použity při léčbě chorob, projevujících se nadměrnou proliferací buněk, jako je rakovina, nebo plicní fibróza³⁻⁷.

Využití aplikace *Eschenmoserovy* reakce při syntéze konkrétních inhibitorů kináz s primární aminoskupinou na dvojnou vazbu bylo dále předmětem výzkumu⁸, který je mým starším kolegou L. Markem v současnosti dále rozšiřován na deriváty se sekundární aminoskupinou.

Cílem této práce je ověřit a zhodnotit využití výše zmíněné *Eschenmoserovy* reakce při syntéze doposud nepopsaných sloučenin s 3-[amino(aryl)methyliden]indol-2-onovým skeletem, obsahujícím terciární aminoskupinu.

2 Teoretická část

2.1 Biologická aktivita a využití v medicíně

2.1.1 Inhibice tyrosin kináz

V několika patentech a řadě publikací je popsáno možné použití derivátu indolinonu jako inhibitoru tyrosinkináz.³⁻⁷ Tyto látky mohou být použity pro léčbu nebo prevenci degenerativní fibrózy a léčbu nadměrné proliferace buněk.

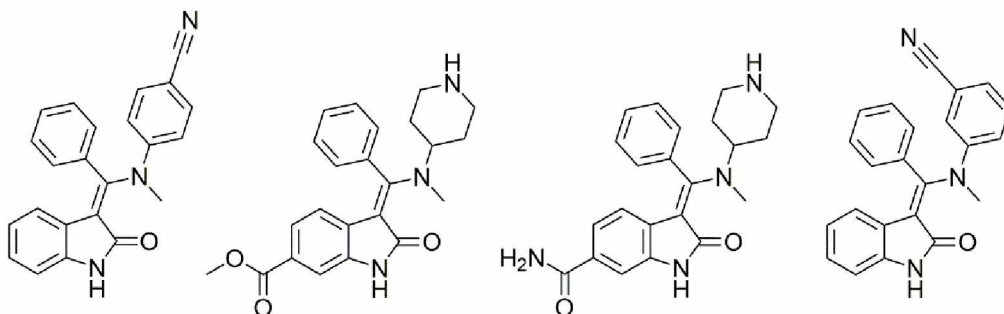
Proteinové tyrosinkinázy jsou třídou enzymů, které katalyzují přenos fosfátové skupiny z ATP na tyrosinový zbytek umístěný na proteinovém substrátu. Proteinové tyrosinkinázy hrají roli v normálním růstu buněk a fungují jako receptory růstového faktoru. Za určitých podmínek, v důsledku mutace nebo nadměrné exprese je výsledkem nekontrolovaná buněčná proliferace, která může vést k růstu nádoru a nakonec k rakovině. Inhibitory tyrosinkináz mohou inhibovat výše uvedený fosforylační proces, a proto se jedná o látky využitelné při léčbě rakoviny a jiných onemocněních, charakterizovaných nekontrolovaným nebo abnormálním buněčným růstem, jako je například výše zmíněná plicní fibróza.³⁻⁵

Při fibróze jsou některé receptory růstového faktoru nadměrně exprimovány a tím způsobují nadměrný růst pojivové tkáně. Výzkum ukazuje, že inhibice jediného růstového faktoru snižuje závažnost plicní fibrózy.⁴

Naproti tomu charakteristickým znakem rakoviny je nekontrolovaná angiogeneze. Angiogeneze je vytváření nových krevních cév v tkáni nebo orgánu a přirozeně ji pozorujeme při hojení ran, vývoji plodu a embrya a při tvorbě placenty.⁴

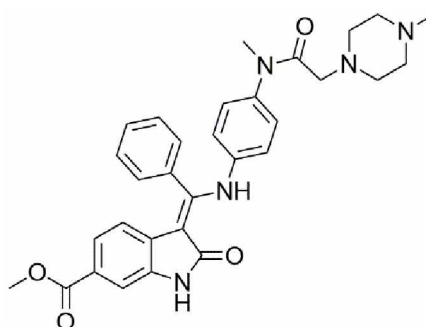
V roce 1971 publikoval Dr. Judah Folkman hypotézu, že růst nádoru závisí právě na angiogenezi. Podle tohoto autora může nádor růst pouze do určité velikosti bez růstu dalších krevních cév, aby se nádor vyživoval. Uvádí, že každému zvýšení populace nádorových buněk musí předcházet zvýšení počtu nových kapilár, které se sbíhají na nádoru.⁹ Na základě experimentálního výzkumu se ukázalo, že nádory mohou být léčeny inhibicí angiogeneze, což je alternativa ke známé inhibici proliferace samotných nádorových buněk. Angiogeneze navíc hraje hlavní roli v metastázování rakovinných buněk. Potlačení angiogenní aktivity by tak mohlo potlačit nebo dokonce úplně eliminovat vzniklý nádor.⁴

Jako potenciální protinádorová léčiva bylo navrženo přes 100 různých molekul s 3-(amino(aryl)methyliden)indol-2-onovým skeletem, avšak deriváty s terciární aminoskupinou jsou v tomto souboru pouze čtyři (viz. **Obr. 1**).^{6,7}



Obr. 1 – Struktury navržených látek obsahujících terciární aminoskupinu

Jako nejúčinnější látka z této skupiny se na farmaceutický trh dostal lék Nintedanib (**Obr. 2**), který je indikován pacientům s idiopatickou plicní fibrózou a rakovinou plic.¹⁰

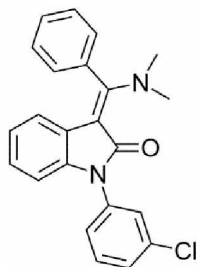


Obr. 2 – Nintedanib

2.1.2 Zesílení účinků Flunitrazepamu

U sloučenin s 1-aryl-3-(aminoalkyliden)oxindolovým skeletem byla experimentálně zjištěna schopnost zesilovat účinky léčiv působících na GABA receptory. Příkladem takových léčiv jsou benzodiazepiny, které mají afinitu ke GABA-a receptorům a zvyšují schopnost inhibičního neurotransmiteru γ -aminomáselné kyseliny otevírat tyto receptory. Kyselina γ -aminomáselná je přirozeným ligandem GABA receptoru, který se nachází na postsynaptické membráně neuronů. Funguje jako iontový kanál pro chloridové ionty, které jím po otevření procházejí ze synapse do postsynaptické buňky a způsobují hyperpolarizaci, která může vést k zastavení akčního potenciálu. U derivátů 1-aryl-3-(aminoalkyliden)oxindolů byl

experimentálně prokázán účinek zvyšovat schopnost Flunitrazepamu vázat se na GABA-a receptor. Nejlepší výsledek měla látka na **Obr. 3**, která zvýšila účinek Flunitrazepamu o více než 200%.¹¹



Obr. 3 – Struktura látky zesilující účinek Flunitrazepamu¹¹

2.1.3 Léčba malárie

Parazitě z rodu *Plasmodium*, způsobující nemoc malárii, se stávají rezistentními proti zavedeným léčivům na tuto nemoc. Proto je nutné vyvíjet nové lékové struktury, které by byly i proti těmto rezistentním parazitům účinné.^{12,13} Terapeutickými cíli u parazitů, způsobujících malárii jsou cysteinové proteázy, známé jako falcipainy, a to kvůli jejich klíčové roli ve vývoji parazitů.^{13,14} Byla popsána syntéza a testování různých substituovaných 3-(*N,N*-dimethylaminomethyliden)indol-2-onů, jako inhibitorů falcipainu a antiplasmodiálních látek. Pokud se tyto látky podrobí reakci s amidem isoleucinu, substituovaným na amidickém dusíku isoamyl skupinou, vznikají látky s mnohem výraznější falcipain-inhibiční aktivitou (**Schéma 1**). Tyto struktury byly vybrány na základě strukturní podobnosti s látkou **E-64-c**, která je inhibitorem falcipainu. Přítomnost chloru v polohách 5, 6 a 7 na benzenovém jádru indolinonu zvyšovala schopnost látky inhibovat falcipain.¹³

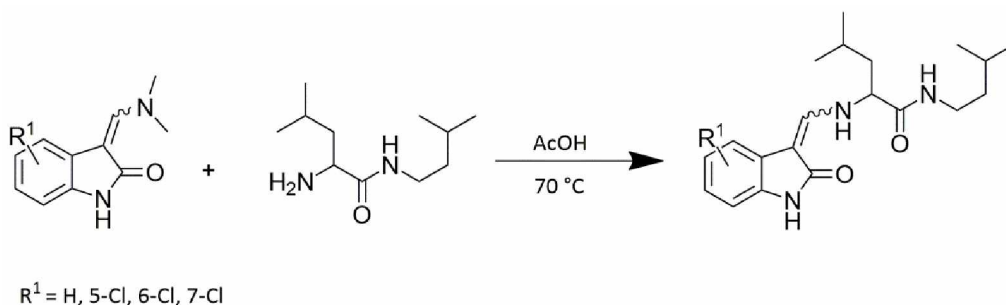


Schéma 1 – Syntéza inhibitorů falcipainu

2.2 Publikované syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onů s terciární aminoskupinou

2.2.1 Syntéza vycházející z indolin-2-onu s použitím diethylacetalu *N,N*-dimethylformamidu

V roce 1992 byla popsána snadná syntéza 3-(dimethylaminomethyliden)indol-2-onu, probíhající již za laboratorní teploty. Při ní byly jako reaktanty použity indolin-2-on a dimethylacetal, případně diethylacetal *N,N*-dimethylformamidu. Po 3 hodinách reakce, probíhající v absolutním ethanolu, poskytla 3-(dimethylaminomethyliden)indol-2-on v 88% výtěžku (**Schéma 2**).¹⁵

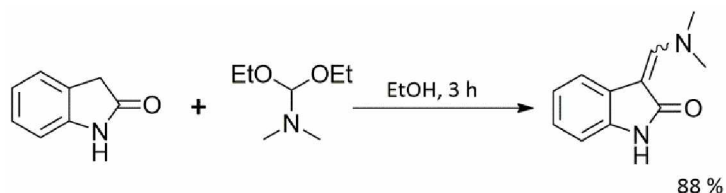


Schéma 2 – Syntéza vycházející z indolin-2-onu s použitím diethylacetalu DMF

Když byl jako reaktant použit diethylacetal *N,N*-dimethylacetamidu (**Schéma 3**), byla analogická látka získána pouze jako minoritní produkt reakce ve výtěžku 23 %. Hlavním produktem reakce byl 3-[ethoxy(methyl)methyliden]indol-2-on ve 49 % výtěžku. Pravděpodobným vysvětlením je, že stericky náročnější dimethylaminový substituent je eliminován snadněji, než ethoxyskupina, díky větší sterické náročnosti.¹⁵

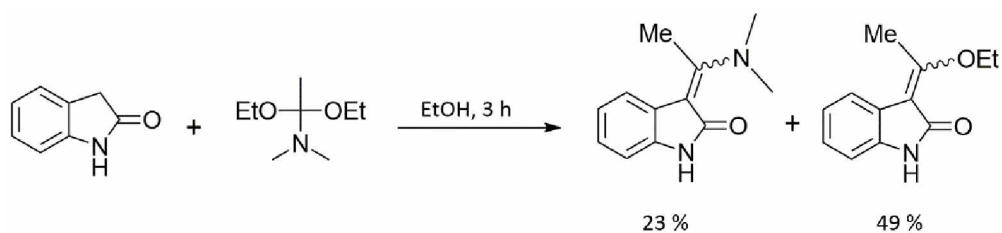


Schéma 3 – Syntéza s využitím diethylacetalu *N,N*-dimethylacetamidu

Připravené sloučeniny mohou dále reagovat s alkyl, nebo arylaminy (**Schéma 4**) za vzniku odpovídajících sekundárních enaminů.¹⁵

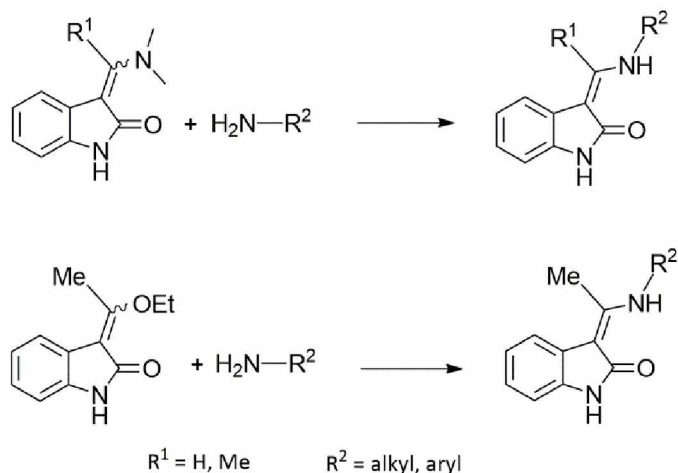


Schéma 4 – Vinylová substituce dimethylaminoskupiny a ethoxyskupiny.

2.2.2 Cyklizace substituovaných *o*-alkynylaryl isokyanátů pomocí FeCl₃

V roce 2009 popsal *Cantagrel* a kol. syntézu 3-(aminomethylen)oxindolů s použitím FeCl₃ (**Schéma 5**).

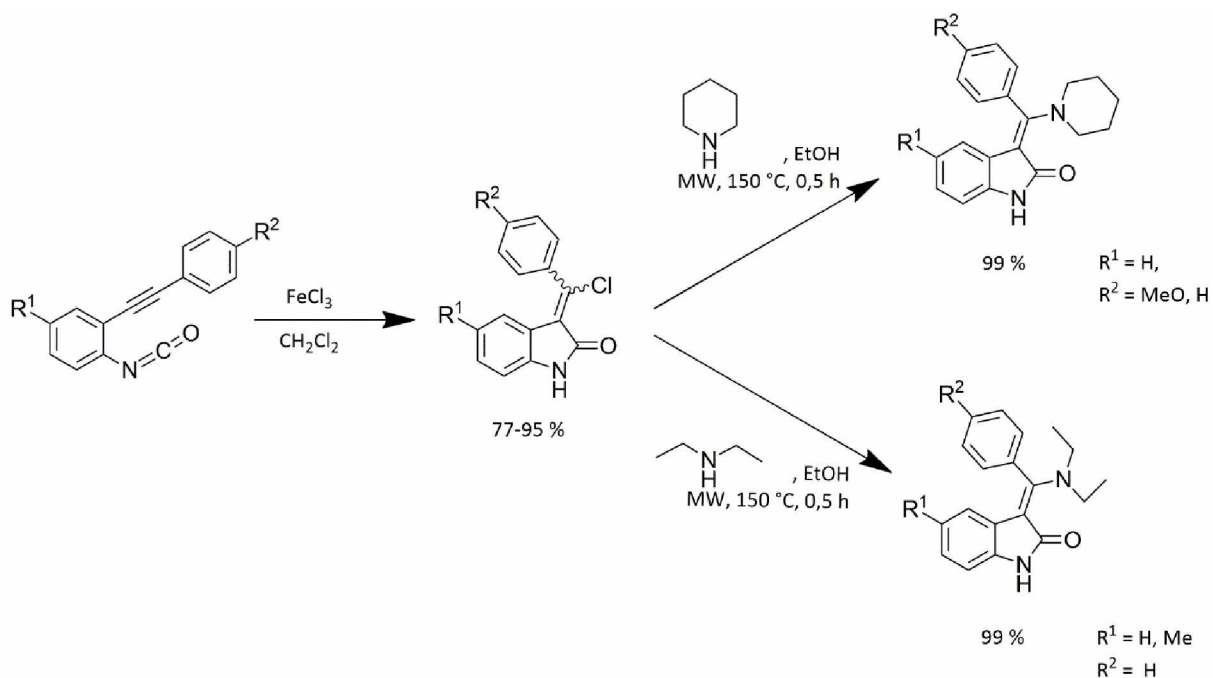


Schéma 5 – Syntéza vycházející z *o*-(arylethynyl)arylisokyanátů¹⁶

Lewisova kyselina FeCl_3 podporuje kationtovou cyklizaci *o*-(arylethynyl)arylisokyanátů, což vede k 3-(arylchlormethyliden)oxindolům, které lze stereoselektivně převést na (*Z*)-3-(amino(aryl)methyliden)oxindoly. Výchozí isokyanát poskytuje reakcí s FeCl_3 v DCM za laboratorní teploty příslušný 3-(arylchlormethyliden)oxindol v 77 – 95 % výtěžku. Ten dále reaguje při ozařování mikrovlnným zářením za zvýšené teploty se sekundárním aminem v EtOH za vzniku substituovaného 3-[amino(aryl)methyliden]indol-2-onu ve výtěžku 99 %.¹⁶

2.2.3 Syntéza pomocí *Eschenmoserovy* reakce

Eschenmoserova reakce, neboli *Eschenmoserova* sulfidová kontrakce, byla v naší výzkumné skupině nově aplikována při přípravě sloučenin s 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onovým skeletem.¹ Naší skupinou publikovaná syntéza pomocí *Eschenmoserovy* reakce je velmi výhodná, neboť jsou při ní použity snadno připravitelné výchozí látky (bromlaktam a thioamidy) a výtěžky jsou v rozmezí 69-82%, podle substituce. Samotná reakce probíhá v minimálním množství acetonitrilu za vzniku substituovaného thiazolu, který zahřátím na 70 °C poskytuje požadovaný substituovaný 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on. (**Schéma 6**)

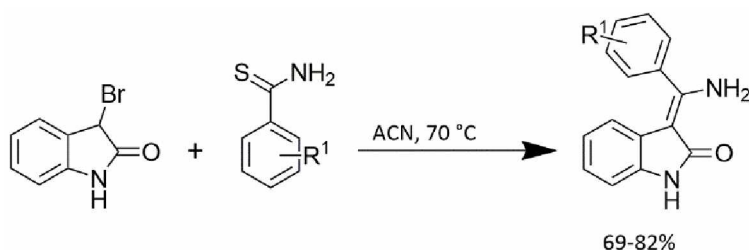


Schéma 6 – Syntéza s využitím *Eschenmoserovy* reakce

Tento typ reakce však doposud nebyl použit pro přípravu derivátů s terciární aminoskupinou. O jejím možném využití pro přípravu derivátů s terciární aminoskupinou pojednává tato bakalářská práce.

3 Experimentální část

3.1 Přístrojové vybavení

Měření ^1H a ^{13}C NMR spekter bylo provedeno na přístrojích Bruker Avance III 400 MHz nebo Bruker Ascend 500 MHz. Kalibrace získaných spekter byla provedena buď na tetramethylsilan (0 ppm) nebo vůči signálu residuálního rozpouštědla. $\delta(\text{DMSO-}d_6) = 2,50$ ppm (^1H), 39,6 ppm (^{13}C). $\delta(\text{CDCl}_3) = 7,26$ ppm (^1H), 77,0 ppm (^{13}C).

Hmotnostní spektroskopie MALDI byla provedena na přístroji MALDI LTQ Orbitrap XL s použitím dusíkového laseru (337 nm, 60 Hz, 8-20 μJ) v režimu pro pozitivní ionty. Jako matrice byla použita kyselina 2,5-dihydroxybenzoová kyselina (DHB) nebo *trans*-2-[3-(4-tercbutylfenyl)-2-methylprop-2-en-1-yliden]malonnitril (DCTB).

Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií byla prováděna na přístroji Agilent Technologies – 6890N Gas Chromatograph / Agilent Network 5973 MS detector.

Flash chromatografie byla prováděna na přístroji Reveleris® X2-UV flash chromatography system s použitím „dry load“ metody nanášení vzorku. Všechny separace byly provedeny na kolonách s náplní SiO_2 s gradientovou elucí. Specifikace parametrů, použitých při separacích jsou uvedeny zvlášť u každé připravené látky.

Elementární analýza byla provedena na přístroji EA Flash 2000 CHNS Organic Element Analyser. Pro případné stanovení obsahu halogenů byla použita merkurimetrická titrace.

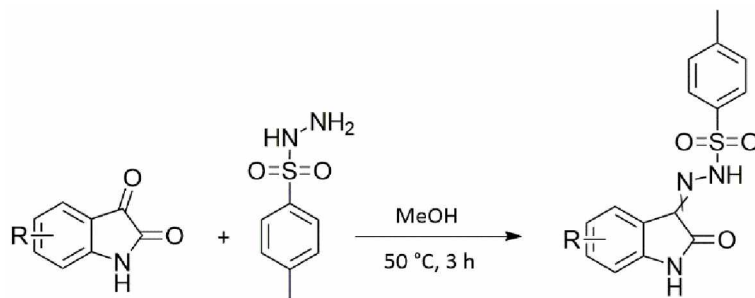
Body tání připravených sloučenin byly měřeny na bodotávku Polytherm A HeiztischMikroskop Wagner & Munz nebo na bodotávku Büchi M-560, body tání připravených sloučenin jsou uváděny bez korekce.

Tenkvrstvá chromatografie (TLC) byla prováděna na deskách Fluorochem® Aluminium Backed TLC Plates, SiO_2 hrubosti 60A, dopovaných indikátorem vykazujícím luminiscenci při 254 nm.

3.2 Syntéza výchozích látek

3.2.1 Syntéza substituovaných 3-bromoxindolů (1a-c)

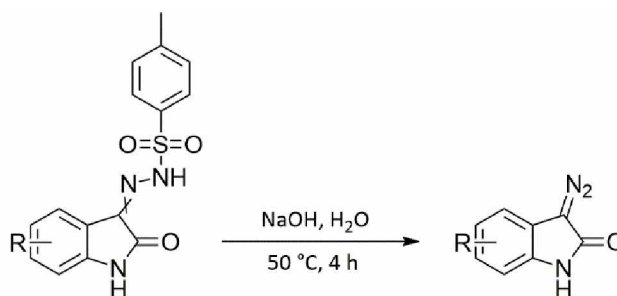
3.2.1.1 Isatin *p*-toluensulfonylhydrazidy



R	H	5-MeO	6-Cl
Výtěžek [%]	60	81	79

1 ekvivalent příslušného isatinu¹⁷ byl rozpuštěn v MeOH (na 1 mmol isatinu 1 ml MeOH). Po ohřátí směsi na 50 °C byl za velmi intenzivního míchání v jedné dávce přidán *p*-toluensulfonylhydrazid (1,1 ekv.). Reakční směs se zahřívala k varu pod zpětným chladičem po dobu 3 h a po uplynutí této doby byla ochlazená na 25 °C. Na vakuové odparce byl roztok zahuštěn zhruba na polovinu původního objemu a ochlazen v ledové lázni na 5 °C. Vyloučená látka byla zfiltrována na vakuu a promyta studeným (5 °C) MeOH.

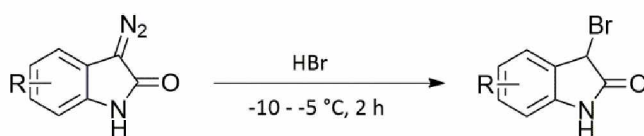
3.2.1.2 3-diazooxindoly



R	H	5-MeO	6-Cl
Výtěžek [%]	87	94	89

p-Toluensulfonylhydrazid¹⁸ příslušného isatinu byl suspendován ve vodě v poměru 1 mmol na 1 ml vody. Dále bylo přidáno 4,5 ekv. NaOH, rozpuštěného v minimálním množství vody. Baňka s heterogenní směsí byla zahřívána na 50 °C po dobu 4 h. Po uplynutí této doby byla reakční směs ochlazená na laboratorní teplotu a 3× extrahována EtOAc. Extrakty byly spojeny, promyty vodou a solankou. Následně byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny na vakuové odparce. Výsledné produkty byly bez dalšího čištění použity do následujících reakcí.

3.2.1.3 3-bromoxindoly



Látka	R	Navážka [g]	Výtěžek [%]
1a	H	8,3	80
1b	5-MeO	3,3	87
1c	6-Cl	6,0	85

Do vysoké kádinky¹ byla předložena 48% vodná HBr v molárním poměru 10:1 k příslušnému 3-diazooxindolu. Kádinka s kyselinou byla umístěna do ledové lázně a vychlazena na -10° C. Za intenzivního míchání byl v jedné dávce přidán příslušný 3-diazooxindol, který byl předtím rozetřen na velmi jemný prášek. Reakční směs (suspenze) byla udržována v teplotním rozmezí -10 až -5 °C po dobu 2 h. Po uplynutí této doby reakce pokračovala při laboratorní teplotě další 2 h. Výsledná suspenze byla zfiltrována na fritě a promývána vodou do neutrálního pH vytékajícího filtrátu. Získané produkty **1a-c** byly vysušeny na vzduchu.

3-Brom-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (1a)

Výtěžek: 7,2 g (80 %) béžové látky s b.t. 162-163,5 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,77 (bs, ¹H, NH); 7,33 (d, *J* = 7,5 Hz, ¹H, Ar-H); 7,26 (t, *J* = 7,7 Hz, ¹H, Ar-H), 7,01 (t, *J* = 7,5 Hz, ¹H, Ar-H); 6,85 (d, *J* = 7,8 Hz, ¹H, Ar-H); 5,70 (s, ¹H, C(Br)-H). Získané NMR spektrum je shodné s literaturou¹.

3-Brom-5-methoxy-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (1b)

Výtěžek: 3,7 g (87%) nazelenalé látky s b.t. 163-164,5 °C.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10,56 (bs, 1H, NH); 6,95 (s, 1H, Ar-H); 6,85 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, Ar-H), 6,77 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, Ar-H); 5,65 (s, 1H, C(Br)-H), 3,71 (s, 3H, OCH₃)

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 173,5; 155,2; 135,7; 128,1; 115,4; 112,4; 110,8; 55,7; 40,9.

3-Brom-6-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (1c)

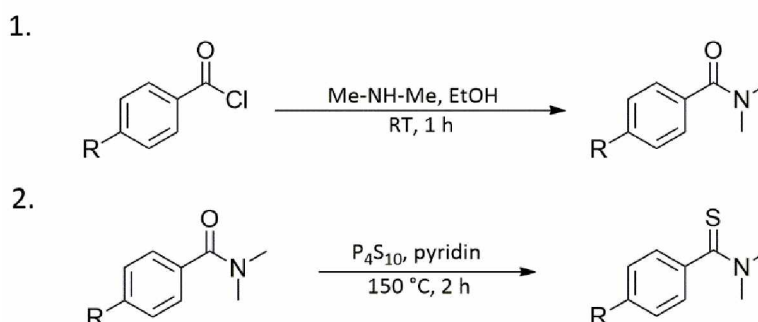
Výtěžek: 6,5 g (85%) narůžovělé látky s b.t. 160-161 °C.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10,90 (s, 1H, NH); 7,38 (s, 1H, Ar-H); 7,31 (dd, $J = 8,3$; 2,0 Hz, 1H, Ar-H); 6,87 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, Ar-H); 5,69 (s, 1H, C(Br)-H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 173,3; 141,3; 130,0; 125,9; 125,9; 111,7; 39,6

3.2.2 Syntéza substituovaných thiobenzamidů (2a-c)

3.2.2.1 Dvoustupňová syntéza



Látka	R	Navážka [g]	Výtěžek 1. st. [%]	Výtěžek 2. st. [%]
2a	Cl	12,25	95	75
2b	Me	2	85	93
2c	MeO	2	81	93

V trojhrdlé baňce, opatřené přikapávací nálevkou, případně septem s injekční stříkačkou, byl za stálého míchání pomalu přikapáván chlorid příslušné kyseliny benzoové (1 ekv.) do 33% roztoku dimethylaminu v EtOH (2 ekv.). Směs se ponechala reagovat 1 h od ukončení přikapávání za laboratorní teploty. Po ukončení reakce byla reakční směs odpařena na RVO, rozpuštěna v DCM, promyta vodou, solankou a vysušena bezvodým Na₂SO₄. Extrakty byly odpařeny na RVO a byly získány produkty ve formě olejů.

Dále byl¹⁹ příslušný *N,N*-dimethylbenzamid rozpuštěn v pyridinu v poměru 1 mmol amidu na 1 ml pyridinu. Za stálého míchání bylo přidáno 0,5 ekv. P₄S₁₀. Reakční směs se nechala 2 h míchat pod refluxem při 150 °C. Po doreagování byla baňka s reakční směsí ochlazena a vylita do kádinky se zředěnou HCl (1:10). Vzniklý produkt byl extrahován do DCM. Extrakt byl promyt vodou, poté nasyceným roztokem NaCl a nakonec vysušen bezvodým Na₂CO₃. Extrakt byl odpařen na vakuové odparce a byl získán příslušný substituovaný thioamid ve formě nažloutlých krystalů. Získaná NMR spektra látek **2a-c** se shodují s literaturou.²⁰

***N,N*-dimethyl-4-chlorthiobenzamid (2a)**

Výtěžek: 10 g (75 %) nažloutlých krystalů s b.t. 77-78 °C. (lit.²¹ uvádí 79-81 °C)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7,44 (AA'XX' *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-H); 7,31 (AA'XX' *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-H); 4,45 (s, 3H, NCH₃) 3,12 (s, 3H, NCH₃).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 197,5; 142,1; 133,1; 128,3; 127,8; 44,0; 43,0.

***N,N*-dimethyl-4-methylthiobenzamid (2b)**

Výtěžek: 1,8 g (93 %) nažloutlých krystalů s b.t. 51-52 °C. (lit.²² uvádí 51 °C)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7,17 (s, 4H, Ar-H); 3,47 (s, 3H, OCH₃); 3,11 (s, 3H, NCH₃); 2,30 (s, 3H, NCH₃).

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 199,3; 140,6; 138,1; 128,7; 126,0; 44,0; 43,0; 21,0.

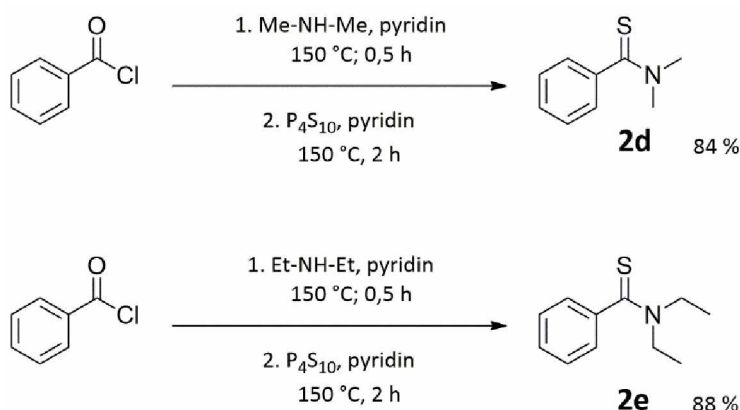
N,N-dimethyl-4-methoxythiobenzamid (2c)

Výtěžek: 1,75 g (93%) nažloutlých krystalů s b.t. 64-66 °C. (lit.²³ uvádí 67-68 °C)

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 7,28 (AA'XX' *J* = 8,6 Hz, 2H, Ar-H); 6,91 (AA'XX' *J* = 8,6 Hz, 2H, Ar-H); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,47 (s, 3H, NCH₃); 3,15 (s, 3H, NCH₃)

¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 199,1; 172,3; 159,5; 135,7; 128,1; 113,3; 55,4; 44,2; 43,3.

3.2.2.2 "One-pot" syntéza thioamidu 2d



Ve 250 ml trojhrdlé baňce bylo rozpuštěno 110 mmol hydrochloridu dimethylaminu (popřípadě 100 mmol bezvodého diethylaminu) ve 100 ml pyridinu. Za stálého míchání bylo po kapkách přidáváno 100 mmol chloridu kyseliny benzoové. Poté byla reakční směs zahřívána na 150 °C po dobu 30 min. Po uplynutí 30 min byla směs ochlazena a v jedné dávce bylo přidáno 50 mmol P₄S₁₀.¹⁹ Reakční směs byla opět zahřáta na 150 °C a ponechána reagovat pod refluxem po dobu 2 h. Po doreagování byla baňka s reakční směsí ochlazena a vylita do kádinky se zředěnou HCl (1:10). Vzniklý produkt byl extrahován do DCM. Extrakt byl promyt vodou, poté nasyceným roztokem NaCl a vysušen bezvodým Na₂CO₃. Extrakt byl odpařen na vakuové odparce a byl získán *N,N*-dimethylthiobenzamid (**2d**) ve formě žlutého oleje (13,9 g, 84 %), popřípadě *N,N*-diethylthiobenzamid (**2e**) ve formě oranžového oleje (17,1 g, 88 %).

N,N-Dimethylthiobenzamid (2d)

Výtěžek: 13,9 g (84 %) žlutého oleje

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7,38 (m, 3H, Ar-H); 7,30 (m, 2H, Ar-H); 3,09 a 3,51 (2xs, 6H, 2xNCH₃)

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 199,0; 143,2; 128,1; 127,9; 125,5; 42,6 a 43,6.

Změřená NMR spektra látky **2d** jsou shodná s literaturou²⁰.

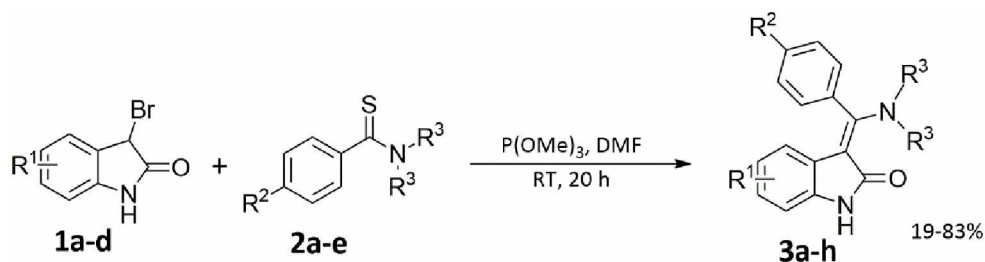
***N,N*-Diethylthiobenzamid (2e)**

Výtěžek: 17,1 g (88 %) oranžového oleje

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 7,36 (m, 3H, Ar-H); 7,23 (m, 2H, Ar-H); 3,39 a 4,09 (2xq, $J = 7,2$ Hz, 4H, 2xNCH₂); 1,06 a 1,32 (2xt, $J = 7,1$ Hz, 2xCH₃);

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 198,7; 143,6; 127,9; 127,5; 124,7; 45,4 a 47,4; 10,9 a 13,4. Změřená NMR spektra látky **2e** jsou shodná s literaturou²⁴.

3.3 3-[Dialkylamino(aryl)methyliden]indol-2-ony (3a-h)



Látka	R ¹	R ²	R ³	Navážka thioamidu 2a-e [mmol]	Výtěžek [%]
3a	H	H	Me	1	83
3b	H	Me	Me	1	61
3c	H	MeO	Me	1	48
3d	H	Cl	Me	1	60
3e	5-Me	H	Me	5	53
3f	5-MeO	H	Me	5	41
3g	6-Cl	H	Me	5	19
3h	H	H	Et	1	57

Příslušný substituovaný thioamid (1 ekv.) byl rozpuštěn v minimálním množství DMF. Dále byl připraven roztok odpovídajícího 3-bromoxindolu (1,1 ekv.), také v minimálním

množství DMF. Za stálého míchání na magnetické míchačce bylo k roztoku thioamidu přidáno 1,5 ekv. P(OMe)₃ a následně byl najednou přidán připravený roztok 3-bromoxindolu. Reakční směs byla ponechána reagovat v uzavřené vialce při laboratorní teplotě po dobu 20 h. Konec reakce byl experimentálně zjištěn pomocí TLC, kde byl sledován úbytek výchozího thioamidu. Na TLC byla použita směs EtOAc : Hexan v poměru 2 : 1. Po skončení reakce byla reakční směs nalita do kádinky s roztokem NaHCO₃. Vzniklá sraženina byla 3× extrahována EtOAc. Extrakty byly spojeny a promyty 5× vodou, solankou a poté vysušeny bezvodým Na₂SO₄. Extrakt byl odpařen na vakuové odparce a vzniklý produkt byl rozpuštěn v EtOH a znovu odpařen na RVO (odstranění azeotropu ethanolu s PS(OMe)₃). K separaci produktů byla použita sloupcová kolona, nebo flash chromatograf. Jako stacionární fáze byl použit silikagel, případně Al₂O₃. Při sloupcové koloně byla použita mobilní fáze z EtOAc a hexanu v poměru 2 : 1, případně DCM : IPA : NH₄OH v poměru 10 : 1 : 0,1. V případě flash chromatografie byla použita směs CHCl₃ a MeOH s gradientem 99,5/0,5 → 95/5. Výtěžky jsou uváděny po separaci na koloně.

3-[N,N-dimethylamino(fenyl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (3a)

Výtěžek: 0,22 g (83 %) žluté látky s b.t. 239-240 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9,99 (bs, 1H, NH); 7,61 (m, 1H, Ar-H); 7,54 (m, 2H, Ar-H); 7,44 (m 2H, Ar-H); 6,69 (m, 2H, Ar-H); 6,33 (m, 1H, Ar-H); 5,34 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, Ar-H) 3,11 (vbs, 6H, 2×NCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 165,6; 161,4; 137,0; 135,6; 131,0; 130,3; 129,4; 127,6; 121,6; 118,9; 118,0; 108,0; 97,0; methylskupiny nejsou pozorovány při 25 °C

HRMS: pro C₁₇H₁₆N₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 265,1341; změřeno: 265,1341.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 77,25; H: 6,10; N: 10,60

Nalezeno: C: 76,65 ; H: 6,07; N: 10,43

3-[N,N-dimethylamino(4-methyl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (3b)

Výtěžek: 0,17 g (61 %) žluté látky s b.t. 214-215 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9,97 (bs, 1H, NH); 7,34 (m, 4H, Ar-H); 6,68 (m, 2H, Ar-H); 6,36 (m, 1H, Ar-H); 5,45 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, Ar-H); 3,09 (vbs, 6H, 2×NCH₃); 2,42 (s, 3H, CH₃)

HRMS: pro C₁₈H₁₈N₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 279,1497; změřeno: 279,1498.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 77,67; H: 6,52; N: 10,06.

Nalezeno: C: 77,79; H: 6,56; N: 9,99

3-[*N,N*-dimethylamino(4-methoxyfenyl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on (3c)

Výtěžek: 0,14 g (48 %) žluté látky s b.t. 272-273 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆, 60 °C) δ (ppm): 9,76 (bs, 1H, NH); 7,37 (AA'XX', 2H, *J* = 8,6 Hz); 7,07 (AA'XX'', 2H, *J* = 8,2 Hz, Ar-H); 6,70 (m, 2H, Ar-H); 6,39 (m, 1H, Ar-H); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 3,12 (vbs, 6H, 2×NCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆, 60 °C) δ (ppm): 165,4; 161,1; 136,7; 131,9; 127,7; 127,4; 121,0; 118,5; 117,7; 114,4; 107,6; 96,8; 55,2; 43,4 (bs).

HRMS: pro C₁₈H₁₈N₂O₂; [M+H⁺]: vypočteno: 295,1447; změřeno: 295,1448.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 73,45; H: 6,16; N: 9,52

Nalezeno: C: 71,88; H: 6,52; N: 9,18

3-[*N,N*-dimethylamino(4-chlorofenyl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on (3d)

Výtěžek: 0,18 g (83 %) žluté látky s b.t. 239,5-241 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9,84 (bs, 1H, NH); 7,59 (AA'XX' *J* = 8Hz, 2H Ar-H); 7,47 (AA'XX', *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-H); 6,72 (m, 2H, Ar-H); 6,41 (1H, Ar-H); 5,52 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, Ar-H); 3,11 (vbs, 6H, 2×NCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 60 °C: 165,3; 159,4; 137,0; 135,3; 134,1; 132,0; 129,1; 127,0; 121,6; 118,7; 117,8; 107,8; 97,4; 43,6 (bs).

HRMS: pro C₁₇H₁₅ClN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 299,0951; změřeno: 299,0954.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 68,34; H: 5,06; N: 9,38; Cl: 11,87

Nalezeno: C: 68,67; H: 5,09; N: 9,30; Cl: 11,69.

3-[*N,N*-dimethylamino(fenyl)methyliden]-5-methyl-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on (3e)

Výtěžek: 0,74 g (53 %) žluté látky s b.t. 228-230 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9,89 (bs, 1H, NH); 7,61 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H Ar-H); 7,54 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, Ar-H); 7,43 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H, Ar-H); 6,58 (d, *J* = 7,65, 1H, Ar-H); 6,51 (d, *J* = 7,65, 1H, Ar-H); 5,14 (s, 1H, Ar-H); 3,10 (vbs, 6H, 2x NCH₃), 1,82 (s, 3H, CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 165,6; 160,7; 135,6; 135,6; 134,8; 130,3; 130,0; 128,9; 127,5; 126,6; 121,9; 118,8; 107,3; 97,4; 43,5 (bs), 20,8.

HRMS: pro C₁₈H₁₈N₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 279,1497; změřeno: 279,1498.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 77,67; H: 6,52; N: 10,06

Nalezeno: C: 76,38; H: 6,43; N: 9,72.

3-[*N,N*-dimethylamino(fenyl)methyliden]-5-methoxy-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on (3f)

Výtěžek: 0,61 g (41 %) oranžové látky s b.t. 269,5-270,5 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9,59 (bs, 1H, NH); 7,57 (m, 3H, Ar-H); 7,44 (m, 2H, Ar-H); 6,58 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H); 6,31 (dd, *J* = 8,1 a 1,7 Hz); 4,99 (s, 1H Ar-H) 3,28 (s, 3H, OCH₃); 3,12 (vbs, 6H, 2xNCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm), 60 °C: 165,7; 160,9; 152,8; 135,4; 131,2; 130,4; 129,9; 129,0; 128,3; 107,5; 104,5; 97,6; 54,7; 43,6 (bs)

HRMS: pro C₁₈H₁₈N₂O₂; [M+H⁺]: vypočteno: 295,1447; změřeno: 295,1447.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 73,45; H: 6,16; N: 9,52

Nalezeno: C: 73,36; H: 6,22; N: 9,38.

3-[*N,N*-dimethylamino(fenyl)methyliden]-6-chlor-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on (3g)

Výtěžek: 0,28 g (19 %) oranžové látky s b.t. 269-270,5 °C. NMR ¹H:

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 9,95 (bs, 1H, NH); 7,61 (m, 1H, Ar-H); 7,54 (t, *J* = 7,5Hz, 2H, Ar-H); 7,44 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H, Ar-H); 6,71 (s, 1H Ar-H); 6,36 (d, *J* = 7,1Hz, 1H, Ar-H); 5,33 (d, *J* = 6,4 Hz, 1H Ar-H); 3,14 (vbs, 6H, 2×NCH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm), 60 °C: 165,1; 161,7; 137,8; 135,1; 130,6; 129,9; 129,0; 126,4; 125,4; 118,5; 118,1; 107,4; 96,0; 43,7 (bs).

HRMS: pro C₁₇H₁₅ClN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 299,0951; změřeno: 299,0952.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 68,34; H: 5,06; N: 9,38; Cl: 11,87

Nalezeno: C: 68,63; H: 5,17; N: 9,20; Cl: 11,71.

3-[*N,N*-diethylamino(fenyl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on (3h)

Výtěžek: 0,71 g (57 %) oranžové látky s b.t. 151-155 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm) 60 °C: 9,81 (bs, 1H, NH); 7,55 (m, 3H, Ar-H); 7,40 (m, 2H, Ar-H); 6,70 (m, 2h, Ar-H); 6,33 (1H, Ar-H); 5,36 (1H, Ar-H); 3,51 (m, 4H, 2×NCH₂); 1,11 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H, 2×CH₃)

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ (ppm), 60 °C: 165,2; 159,7; 137,0; 136,4; 130,2; 129,8; 128,9; 127,1; 121,7; 118,6; 118,2; 107,7; 99,8; 46,4; 13,5.

HRMS: pro C₁₉H₂₀N₂O₂; [M+H⁺]: vypočteno: 293,1654; změřeno: 293,1655.

4 Diskuze

4.1 Syntéza výchozích látek

Výchozí 3-bromoxindoly byly připraveny podle postupu, popsáno v literatuře^{1,17,18} tříkrokovou syntézou z odpovídajících isatinů. Ty byly v prvním kroku reakcí s tosylhydrazinem převedeny na hydrazony ve výtěžku od 60% do 81%, které v druhém kroku podléhaly bazicky katalyzované eliminaci za vzniku 3-diazooxindolu (výtěžek 87-84%). Takto připravené 3-diazooxindoly následně podléhaly reakci s vodným roztokem bromovodíku za vzniku požadovaných 3-bromoxindolů (**1a-c**) s výtěžkem 80-87%. Celkový výtěžek **1a-c**, vztahený na výchozí isatin se tak pohyboval od 42% pro nesubstituovaný derivát **1a** až k 60% resp. 66% pro 6-chlorderivát **1c** resp. 5-methoxyderivát **1b**. Nižší výtěžek **1a** byl způsoben zejména ztrátami při izolaci tosylhydrazonu v prvním kroku syntézy. Připravené 3-bromoxindoly **1a-c** byly charakterizovány ¹H a ¹³C NMR spektroskopii, přičemž změřené spektrum **1a** je totožné s literaturou¹.

Syntéza thioamidů byla provedena analogicky podle literatury¹⁹ z příslušného amidu a sulfidu fosforečného. Výchozí benzamid byl vždy připraven reakcí příslušného benzoylchloridu s dimethylaminem. Syntéza byla provedena buďto ve dvou izolovaných krocích, po nichž pokaždé následovala izolace a čištění, anebo byla realizována v tzv. „one pot“ uspořádání, tedy bez izolace intermediárního amidu. Oba postupy poskytly žádané *N,N*-dimethylthiobenzamidy ve výtěžcích od 75-93%.

4.2 Eschenmoserova reakce

Na základě předchozích údajů¹ byla provedena *Eschenmoserova* reakce připravených 3-bromoxindolů (**1a-c**) s *N,N*-dimethylthiobenzamidy (**2a-e**) v acetonitrilu. Ukázalo se však, že za těchto podmínek je hlavním produktem odpovídající isoindigo, vznikající ze dvou molekul 3-bromoxindolu **1a-c** (**Schéma 7**).

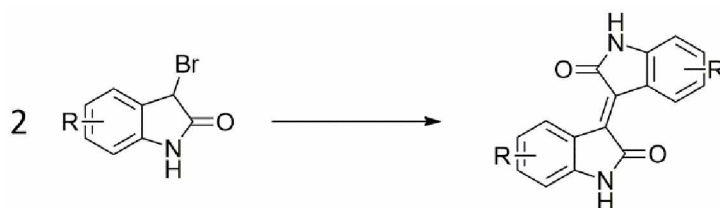


Schéma 7 – Reakce vedoucí k isoindigu

Proto byly podmínky *Eschenmoserovy* reakce upraveny tak, že namísto acetonitrilu byla jako rozpouštědla použita dichlormethan, aceton a dimethylformamid (DMF). Zatímco v acetonu a dichlormethanu vznikalo prakticky jen isoindigo, v případě DMF došlo ke zlepšení průběhu *Eschenmoserovy* reakce požadovaným směrem, avšak obsah 3-[*N,N*-dimethylamino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onů (**3a-h**) byl stále relativně nízký a separace od isoindiga obtížná. Vzhledem k tomu, že originální provedení *Eschenmoserovy* reakce vyžaduje přidavek činidla², které je schopno vázat odštěpující se síru (tzv. thiofil), zabýval jsem se v dalších pokusech vlivem různých přidaných thiofilů na průběh reakce. Nejprve jsem jako thiofil použil trifenyfosfin v množství odpovídajícím 1 ekvivalentu obou výchozích látek. Ve všech výše zmíněných rozpouštědlech však podle TLC vždy vznikaly směsi produktů. Separace této směsi byla velmi obtížná a to mimo jiné i proto, že vznikající trifenyfosfinsulfid je látka krystalická, mající při chromatografii podobné eluční charakteristiky, jako produkt.²⁵ Proto jsem jako alternativní thiofil použil trimethyl-fosfit. Jeho výhodou je jeho dobrá rozpustnost, resp. mísitelnost se všemi použitými rozpouštědly a navíc produkt po reakci tj. trimethyl-thiofosfát lze snadno oddělit např. destilací s ethanolem.²⁶ Optimalizační studie podmínek byla provedena s nesubstituovaným 3-bromoxindolem (**1a**) a *N,N*-dimethylthiobenzamidem (**2d**), resp. *N,N*-diethylthiobenzamidem. Výsledky optimalizačních pokusů shrnuje níže uvedená tabulka.

Thiobenzamid	Thiobenzamid [ekv]	3-bromoxindol [ekv]	P(OMe) ₃ [ekv]	Výtěžek [%]
2d	1	1,1	3	44
2d	1	1,1	1,5	83
2d	1	1,1	1	50
2e	1	1,1	3	30
2e	1	1,1	1,5	57
2e	1	1,1	1	47

Z tabulky vyplývá, že jako optimální množství thiofilu se jeví 1,5 ekv. Jak při nižších, tak i vyšších množstvích thiofilu dochází ke snížení výtěžku požadovaného produktu *Eschenmoserovy* reakce a to buď kvůli zpomalení této reakce anebo (při vyšších množstvích thiofilu) k nežádoucí redukci výchozího 3-bromoxindolů (**1a-c**) na odpovídající oxindol (*Schéma 8*).

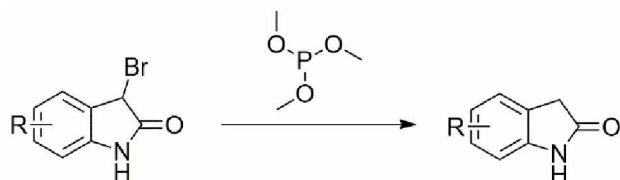


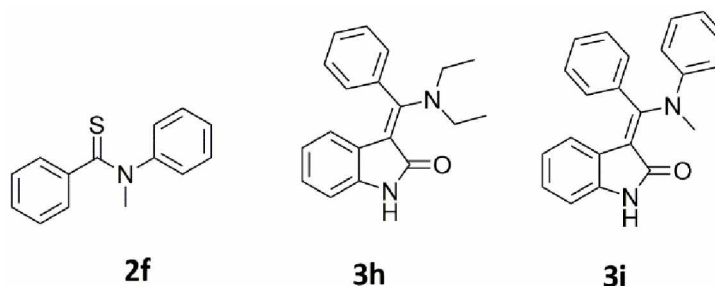
Schéma 8 – Redukce 3-bromoxindolu způsobená trimethyl-fosfitem

Proto byly optimalizované podmínky zahrnující 1,5 ekv. thiofilu dále využity i pro syntézu ostatních 3-[dialkylamino(aryl)methyliden]indol-2-onů (**3a-h**). I za těchto optimalizovaných podmínek však reakce probíhá relativně pomalu (více než 20 h), avšak její možné urychlení např. zahřátím, nebo přidavkem báze vždy vede k přednostní tvorbě nežádoucího isoindiga. Toto isoindigo doprovází požadovaný produkt **3a-h** i při laboratorní teplotě a je nutné jej separovat chromatograficky. Deriváty bez substituce na benzenovém jádře oxindolu **3a-d** a **3h** lze purifikovat krystalizací, následující již po jedné chromatografické separaci na koloně naplněné silikagelem s použitím elučního činidla skládajícího se z EtOAc a n-hexanu v objemovém poměru 2 : 1. Oproti tomu deriváty **3d-g** nesoucí substituent na benzenovém jádře oxindolu jsou po této separaci stále znečištěné, a proto je nutné po předchozí separaci na silikagelu podrobit tyto látky další chromatografické separaci na koloně naplněné porézním Al_2O_3 s použitím směsi DCM, IPA a NH_3 v objemovém poměru 10 : 1 : 0,1. Separace látek **3d-g** touto metodou se bez předchozího dělení na silikagelu se neosvědčila, neboť poskytuje látky **3d-g** značně znečištěné.

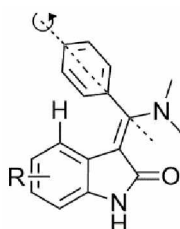
Jak vyplývá z tabulky výtěžků **3a-g** v experimentální části (viz strana 25) nejvyšší izolovaný výtěžek 83 % byl získán v případě nesubstituovaných výchozích komponent. Substituce na aromatickém jádře thioamidu vede k mírnému snížení výtěžků, které lze připsat na vrub obtížnější separaci. Naproti tomu substituce na oxindolu má výraznější vliv na izolovaný výtěžek, který je mnohem nižší, než u nesubstituovaných výchozích komponent a u 3-brom-6-chloroxindolu (**1c**) je pouhých 19 %. Přestože paleta substituentů není příliš široká, zdá se, že elektronakceptorní charakter substituentu na oxindolovém jádře přispívá ke snížení výtěžku. I zde však hraje roli faktor obtížné izolace, která je u substituovaných derivátů ztrátovější, než u nesubstituovaných derivátů.

V další části své práce jsem se věnoval možnosti rozšířit paletu substituentů na dusíku thioamidické funkční skupiny i o delší alkylskupinu (ethyl), ale také o aromatický zbytek. Z tohoto důvodu jsem si podle v literatuře popsanych postupů připravil *N,N*-

diethylthiobenzamid (**2e**) a *N*-fenyl-*N*-methylthiobenzamid (**2f**). Zatímco s *N,N*-diethylthiobenzamidem (**2e**) se *Eschenmoserovu* reakci za optimalizovaných podmínek podařilo realizovat s 57% výtěžkem, v případě *N*-fenyl-*N*-methylthiobenzamid (**2f**), se podle předběžných pozorování zdá, že reakce sice probíhá, avšak vznikající produkt **3i** je velmi málo rozpustný a nepodařilo se mi jej proto vyčistit a jednoznačně charakterizovat.



Připravené 3-[amino(aryl)methyliden]indol-2-ony (**3a-h**) mohou teoreticky existovat ve formě dvou konfiguračních izomerů, lišících se umístěním substituentů na uhlících dvojné vazby. Zatímco u v literatuře publikovaných derivátů³⁻⁷, nesoucích na dusíku aminoskupiny alespoň 1 vodík, je vlivem intramolekulární vodíkové vazby vždy molekula v konfiguraci^{8,13} *Z*, u mnou připravených derivátů s terciární aminoskupinou se tato intramolekulární vodíková vazba nemůže uplatnit a proto přichází v úvahu i tvorba konfiguračního *E*-izomeru. Proto jsem se detailně zabýval určením konfigurace u všech mnou připravených produktů. Z jejich ¹H NMR spekter je patrné, že všechny existují pouze ve formě jednoho konfiguračního izomeru (jedna sada signálů). Přiřazení této sady signálů konkrétnímu konfiguračnímu izomeru je možné učinit na základě v literatuře²⁷⁻²⁹ popsaného stínění protonu v pozici 4 oxindolového jádra (**Obr. 4**).



Obr. 4 – Stínění protonu na uhlíku 4 benzenovým jádrem

V případě, že je tento proton stíněn blízkým benzenovým jádrem, navázaným na uhlíku dvojné vazby, je jeho chemický posun mnohem nižší (5-5,5 ppm), než odpovídá běžnému aromatickému protonu (více než 6,5 ppm).^{28,29} Tomu odpovídají i mnou

pozorovaná spektra připravených derivátů. Lze tedy učinit závěr, že i oxindoly **3a-h** s terciární aminoskupinou se přednostně vyskytují v Z-konfiguraci. Důvodem pro tuto preferenci je pravděpodobně stericky výhodnější rozmístění substituentů na uhlících dvojné vazby.

4.3 Závěr

V rámci předložené bakalářské práce bylo úspěšně připraveno a charakterizováno celkem 8 derivátů 3-[dialkylamino(aryl)methyliden]indol-2-onu ve výtěžcích od 19 do 83 %. Tím byla potvrzena univerzálnost *Eschenmoserovy* reakce i pro přípravu těchto derivátů, nesoucích terciární dialkylaminoskupinu. Předběžné pokusy s thiobenzamidem, nesoucím aromatický zbytek na dusíku ukázaly, že reakce probíhá i v tomto případě, avšak obtížnost separace a purifikace znemožnily charakterizaci vznikajícího produktu. Oproti dříve publikovaným výsledkům, týkajících se derivátů s nesubstituovanou aminoskupinou bylo nutné pro žádoucí směr reakce použít vhodný thiofil, kterým byl trimethyl-fosfit.

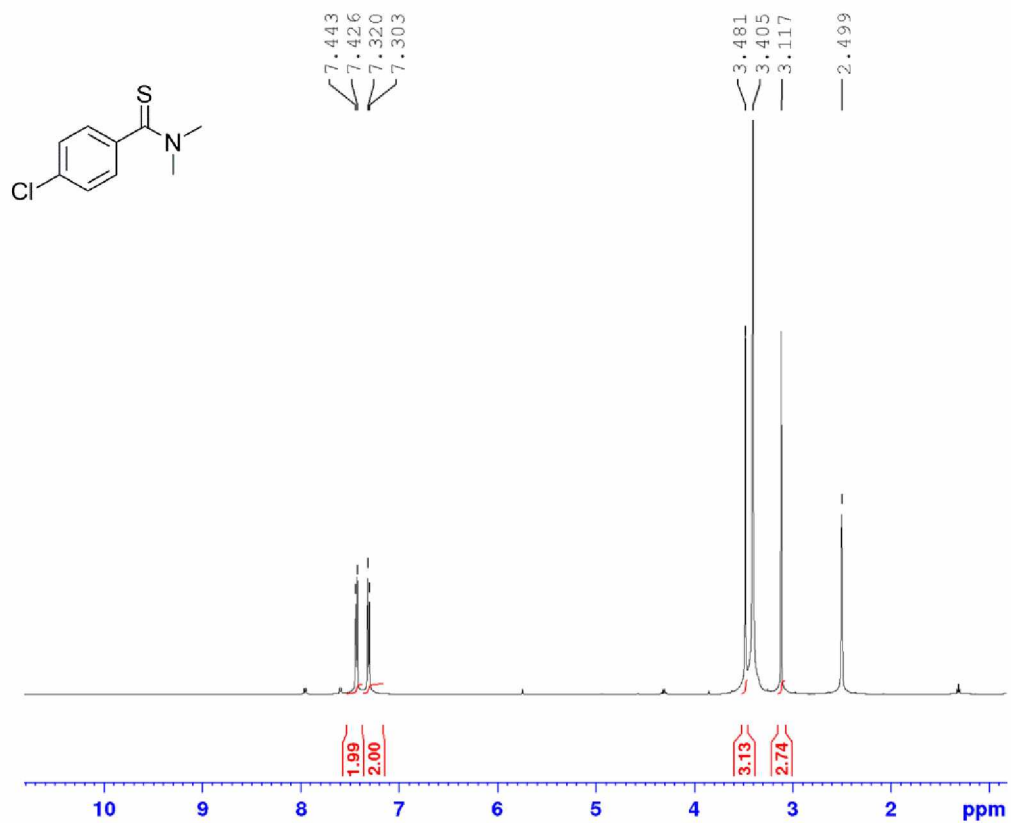
5 Seznam použité literatury

1. Kammel, R., Tarabová, D., Brož, B., Hladíková, V., Hanusek, J.; Formation of 3-[amino(aryl)-methylidene]-1,3-dihydro-2H-indol-2-ones involving ring transformation of 2-aryl-5-(2-aminophenyl)-4-hydroxy-1,3-thiazoles. *Tetrahedron*. **2017**, *73* (14), 1861–1866.
2. Eschenmoser, A.; Roth, M.; Götschi; Dubs, P.; Sulfidkontraktion via alkylative Kupplung: eine Methode zur Darstellung von β -Dicarbonylderivaten, Über synthetische methoden. *Helv. Chim. Acta*. **1971**; *54* (2), 710 - 730.
3. Boehringer Ingelheim Pharma KG. Indolinones having kinase-inhibiting activity. 09/277,063; US6043254A, 28.4.2000
4. KBP Biosciences Co., An indolinone derivative as tyrosine kinase inhibitor. PCT/CN2013/001512, EP 2 930 167 B1, 14.10.2015
5. ALLERGAN INC., 3-(arylamino)methylene-1, 3-dihydro-2h-indol-2-ones as kinase inhibitors. PCT/US02/30882, WO03027102 A1, 3.4.2003
6. Boehringer Ingelheim Pharma KG. Novel substituted indolinones with an inhibitory effect on various kinases and cyclin/cdk complexes. PCT/EP99/07040, WO2000/18734, A1, 6.4.2000
7. Boehringer Ingelheim Pharma KG. Substituted indolines which inhibit receptor tyrosine kinases. US6762180 B1, 13.7.2004
8. Marek, L.; Syntéza inhibitorů kináz s 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onovým skeletem. Pardubice, 2019. Diplomová práce. Univerzita Pardubice.
9. Folkman, J.; Tumor Angiogenesis: Therapeutic Implications. *New England J. Med.* **1971**, *285* (21), 1182–1186
10. Mazzei M. E.; Richeldi C.; Collard H. R.; Nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Ther. Adv. Respir. Dis.* **2015**; *1*(3); 121–129.
11. Sarges, R., Howard, H.R., Koe, B., Weissman, A.; A novel class of "GABAergic" agents: 1-aryl-3-(aminoalkylidene)oxindoles. *J. Med. Chem.* **1989**, *32* (2), 437–444
12. Martinelli, A., Moreira, R., Cravo, P.V.L.; Malaria combination therapies: Advantages and shortcomings. *Mini Rev. Med. Chem.* **2008**, *8* (3), 201-212.

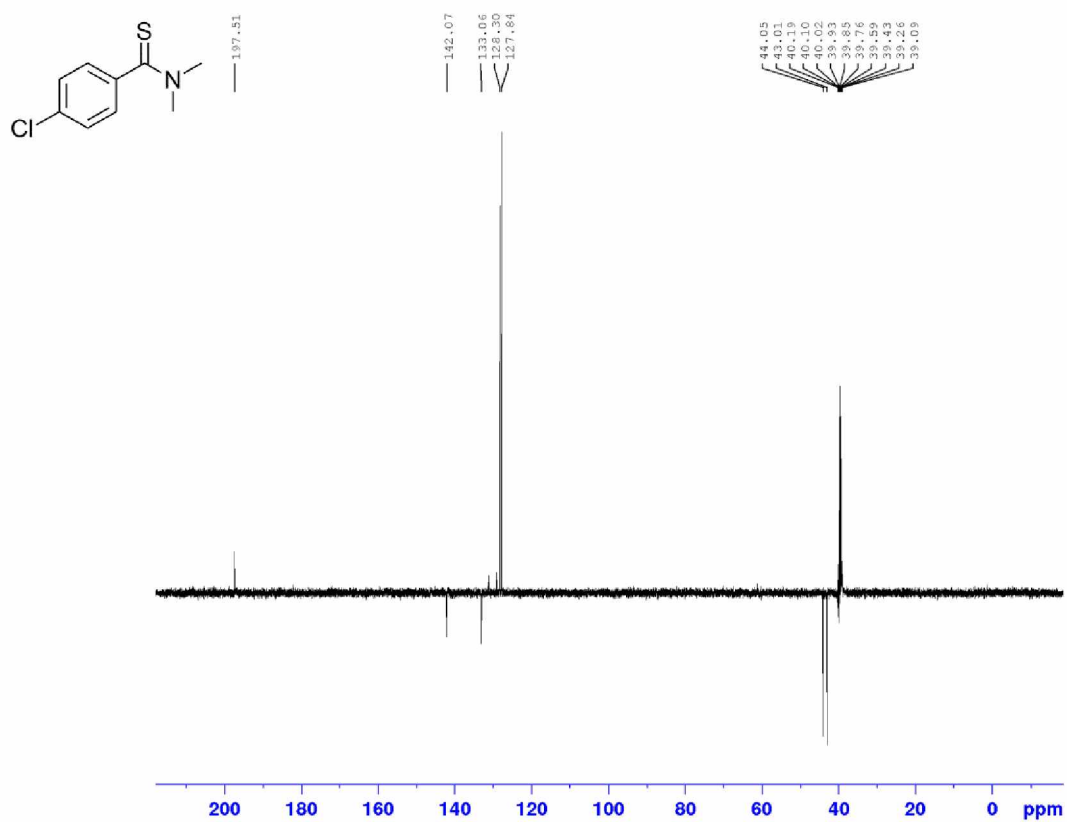
13. Praveen Kumar, S., Gut, J., Guedes, R. C., Rosenthal, P. J., Santos, M. M. M., & Moreira, R. Design, synthesis and evaluation of 3-methylene-substituted indolinones as antimalarials. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*(3), 927–933.
14. Schlitzer, M.; Antimalarial drugs - What is in use and what is in the pipeline. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2008**, *341* (3), 149-163.
15. Golovko, T. V., Solov'eva, N. P., Bogdanova, G. A., Sheinker, Yu. N., Granik V. G.; Acetals of lactams and acid-amides. 69. Synthesis and properties of some 3-aminomethylenindolinone-2-derivatives. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1991**, *27* (9), 952–959.
16. Cantagrel, G., Carné-Carvalet, B., Meyer, C., Cossy, J.; Iron Trichloride-Promoted Cyclization of *o*-Alkynylaryl Isocyanates: Synthesis of 3-(Chloromethylene)oxindoles. *Org. Lett.* **2009**, *11* (19), 4262–4265
17. Creger, P.; Alkoxyoxindoles. A Convenient Method for the Reduction of Isatins. *J. Org. Chem.* **1965**; *30*; 3610 – 3612.
18. Cava, M.P.; Litle, R.L.; Napier, D.R.; Condensed Cyclobutane Aromatic Systems. V. The Synthesis of Some α -Diazoindanones: Ring Contraction in the Indane Series, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**; *80*(9), 2257 - 2263,
19. Bergman, J., Pettersson, B., Hasimbegovic, V., Svensson, P.H.; Thionations Using a P4S10–Pyridine Complex in Solvents Such as Acetonitrile and Dimethyl Sulfone. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (6), 1546-1553
20. Liu, W., Chen, C., Liu, H.; Dimethylamine as the key intermediate generated in situ from dimethylformamide (DMF) for the synthesis of thioamides. *Beilstein J. Org. Chem.* **2015**, *11*, 1721–1726.
21. Kumar, S., Vanjari, R., Guntreddi, T., & Singh, K. N.; Sulfur promoted decarboxylative thioamidation of carboxylic acids using formamides as amine proxy. *Tetrahedron.* **2016** *72* (16), 2012–2017.
22. Brown, J. P., & Thompson, M.; Thiations with sulphur in dimethylformamide. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.* **1974**, 863-???
23. El'tsov, Lopatin; Synthesis and chemical conversions of 1,3-dimethyl-2-benzimidazolidene (n-chloro-n-methylamino)sulfonium salt. *J. Org. Chem. USSR (English Translation)*, **1971**, *7* (6), 1324-1326

24. Charette, A. B., Grenon, M.; Mild Method for the Conversion of Amides to Thioamides. *J. Org. Chem.*, **2003**, *68* (14), 5792–5794.
25. Shiosaki, K.; The Eschenmoser coupling reaction. In: Trost, B. M.; Fleming, I., *Comprehensive organic synthesis vol. 2*. Oxford: Pergamon Press, 1991, s. 865-892, ISBN 978-0-08-052349-1
26. Pettersson, B., Hasimbegovic, V., Bergman, J.; One-Pot Eschenmoser Episulfide Contractions in DMSO: Applications to the Synthesis of Fuligocandins A and B and a Number of Vinylogous Amides. *J. Org. Chem.* **2011**, *76* (6), 1554–1561.
27. Roth, G.J.; Heckel, A.; Colbatzky, F.; Handschuh, S.; Kley, J.; Lehmann-Lintz, T.; Lotz, R.; Tontsch-Grunt, U.; Walter, W.; Hilberg, F.; Design, Synthesis, and Evaluation of Indolinones as Triple Angiokinase Inhibitors and the Discovery of a highly specific 6-methoxycarbonyl-substituted indolinone (BIBF 1120). *J. Med. Chem.* **2009**; *52*; 4466 – 4480.
28. Montaudo, G., Caccamese, S., Finocchiaro, P., Bottino, F.; Conformational Factors Affecting the NMR Chemical Shifts of Nuclear Protons in Some Diarylmethanes. *Bull. Chem. Soc. Japan.* **1971**, *44*(5), 1439–1439
29. Papadopoulos, A. G., Charistos, N. D., Muñoz-Castro, A.; Magnetic Response of Aromatic Rings Under Rotation: Aromatic Shielding Cone of Benzene Upon Different Orientations of the Magnetic Field. *ChemPhysChem*, **2017**, *18*(12), 1499–1502.

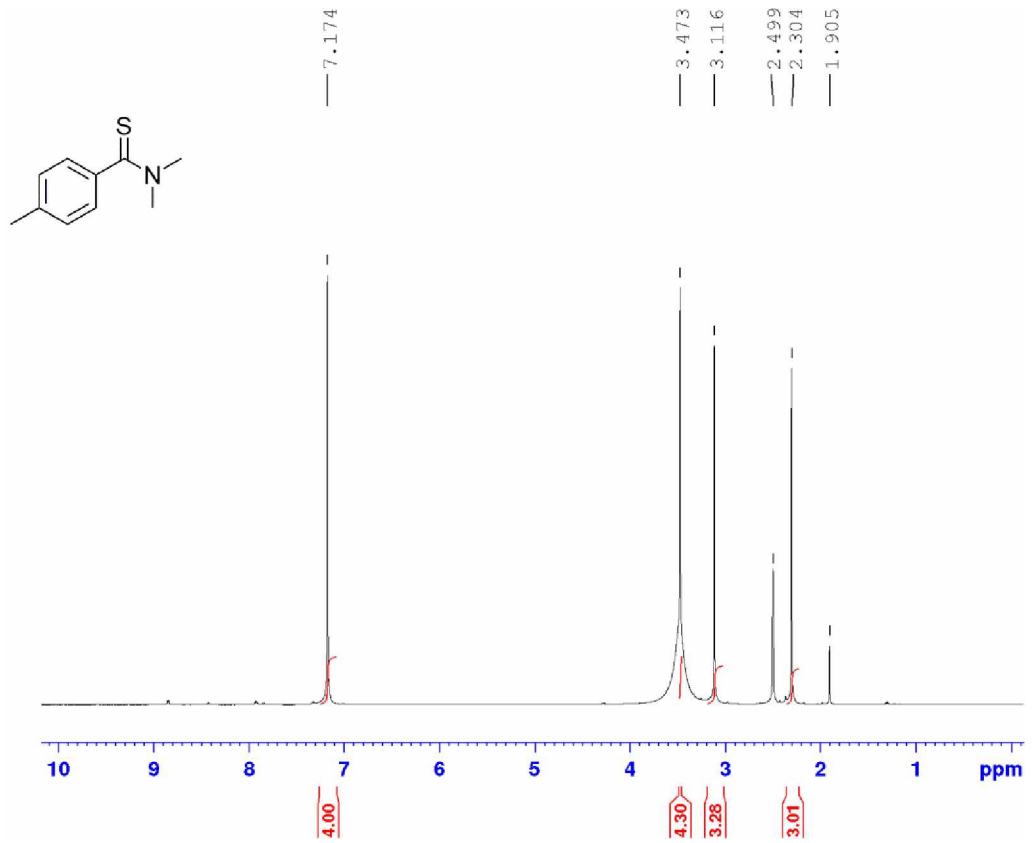
Přílohy



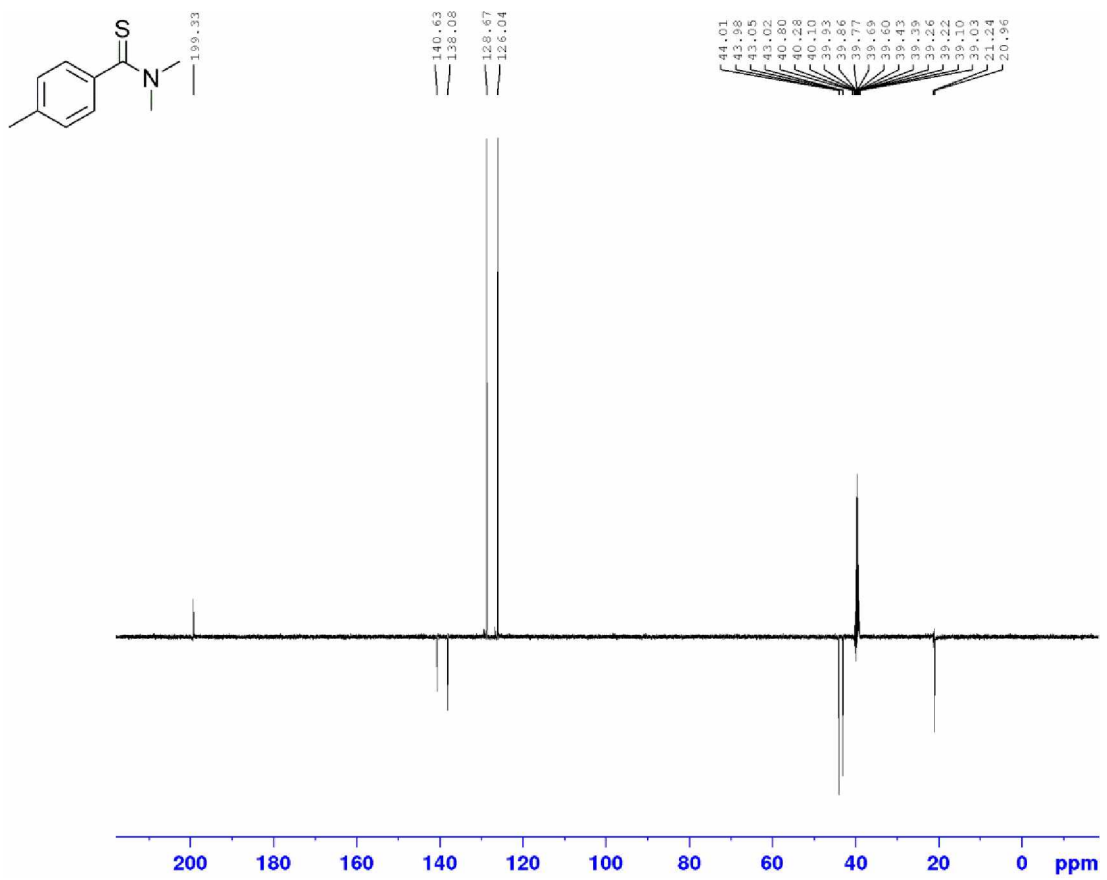
¹H NMR spektrum látky 2a



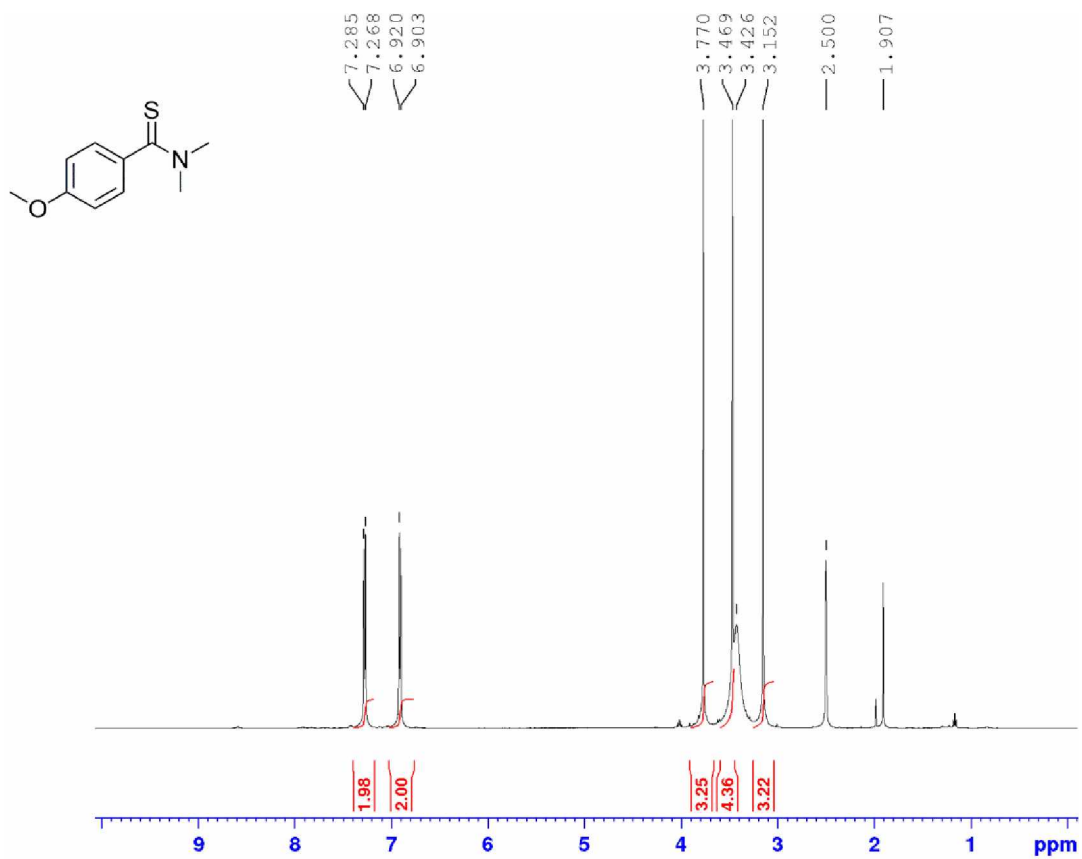
¹³C NMR spektrum látky 2a



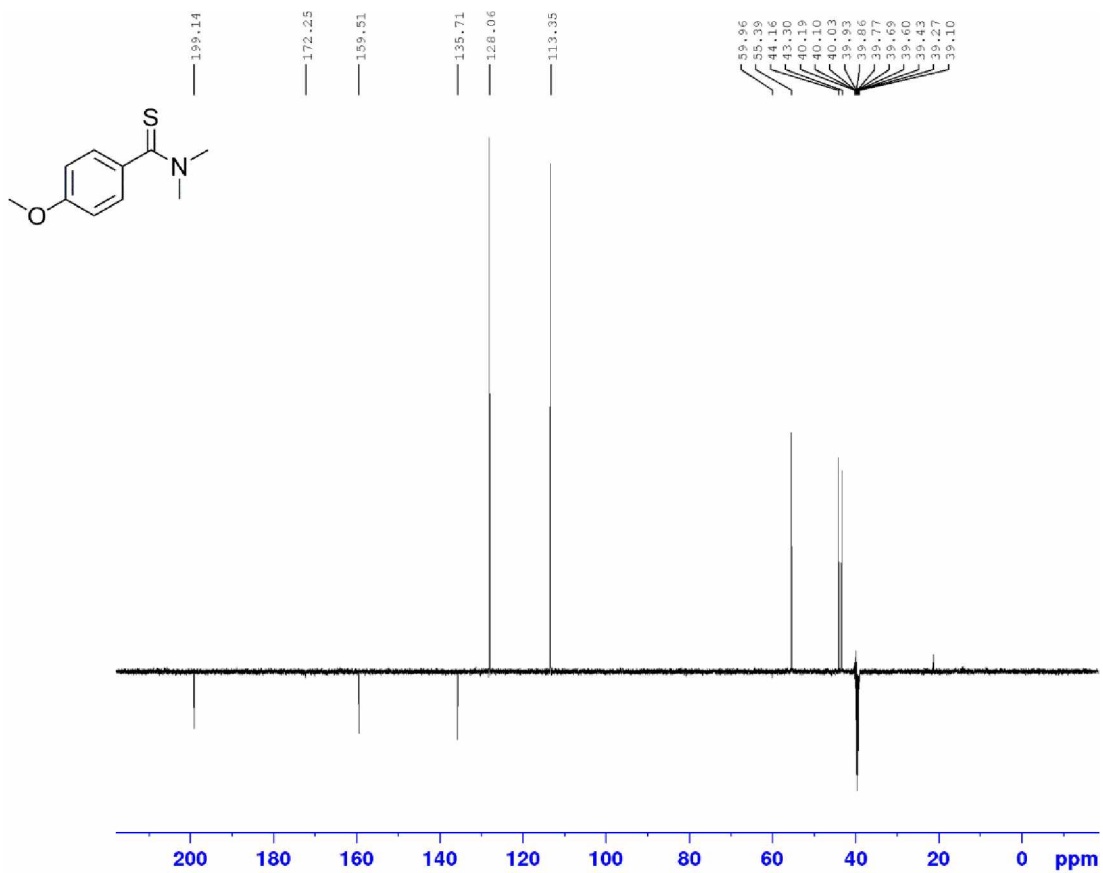
^1H NMR spektrum látky **2b**



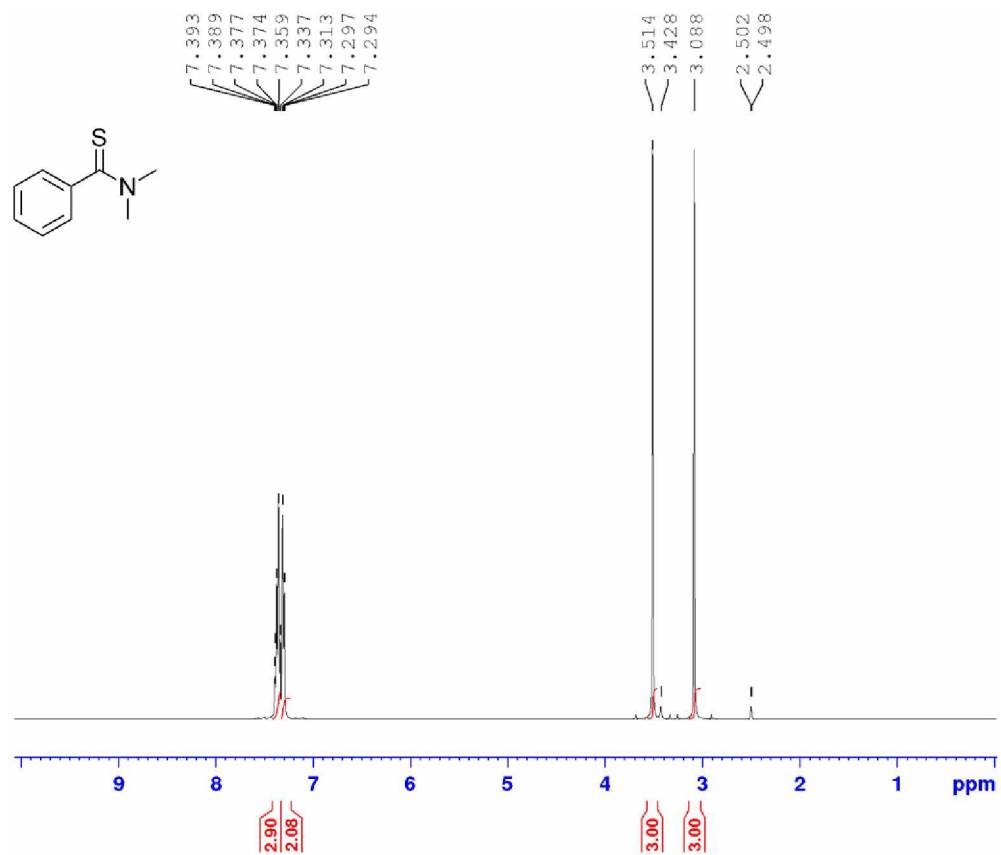
^{13}C NMR spektrum látky **2b**



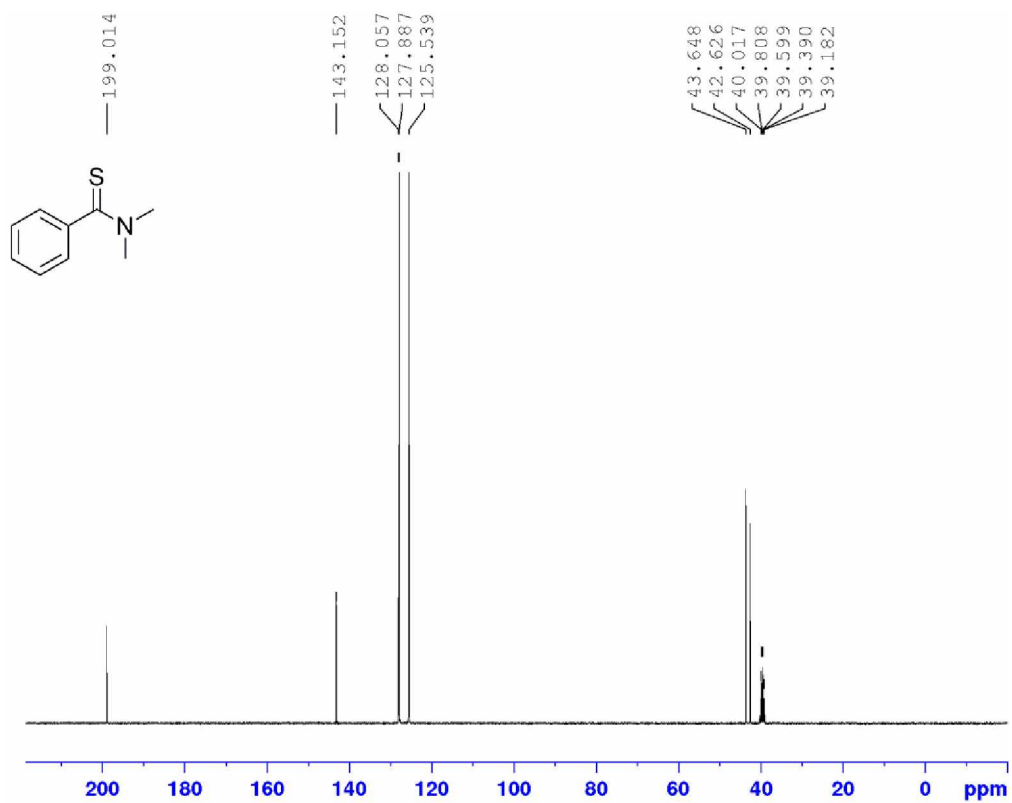
¹H NMR spektrum látky 2c



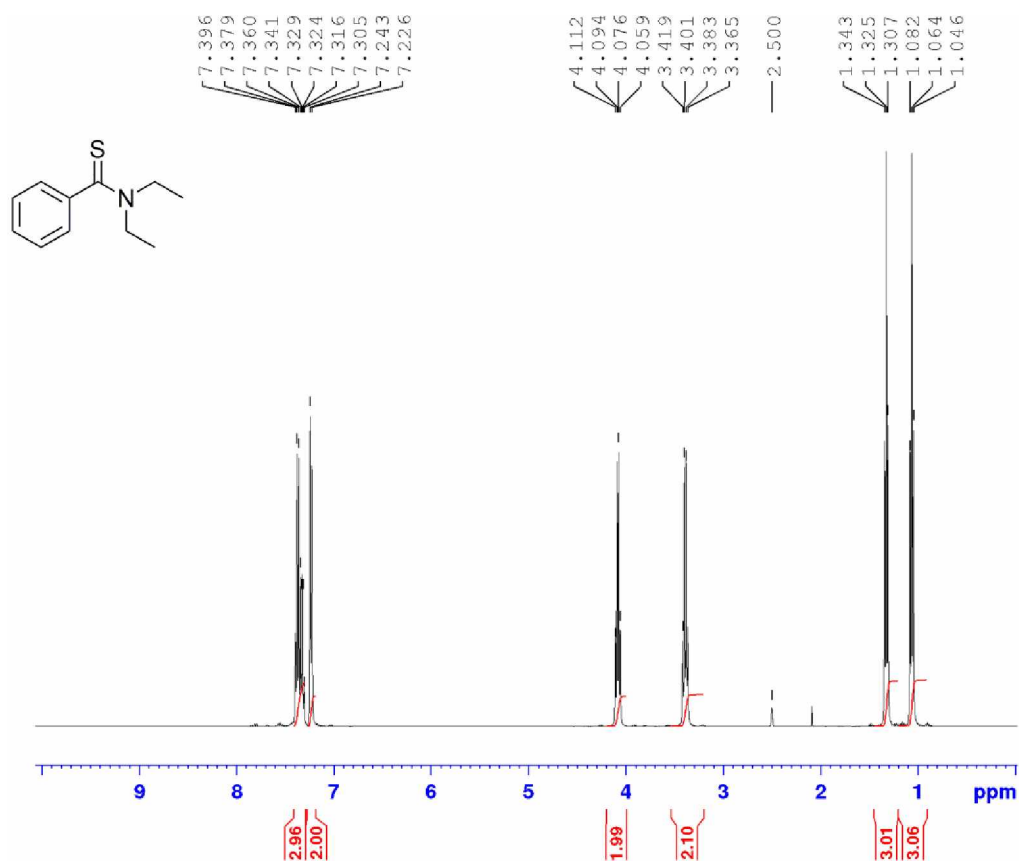
¹³C NMR spektrum látky 2c



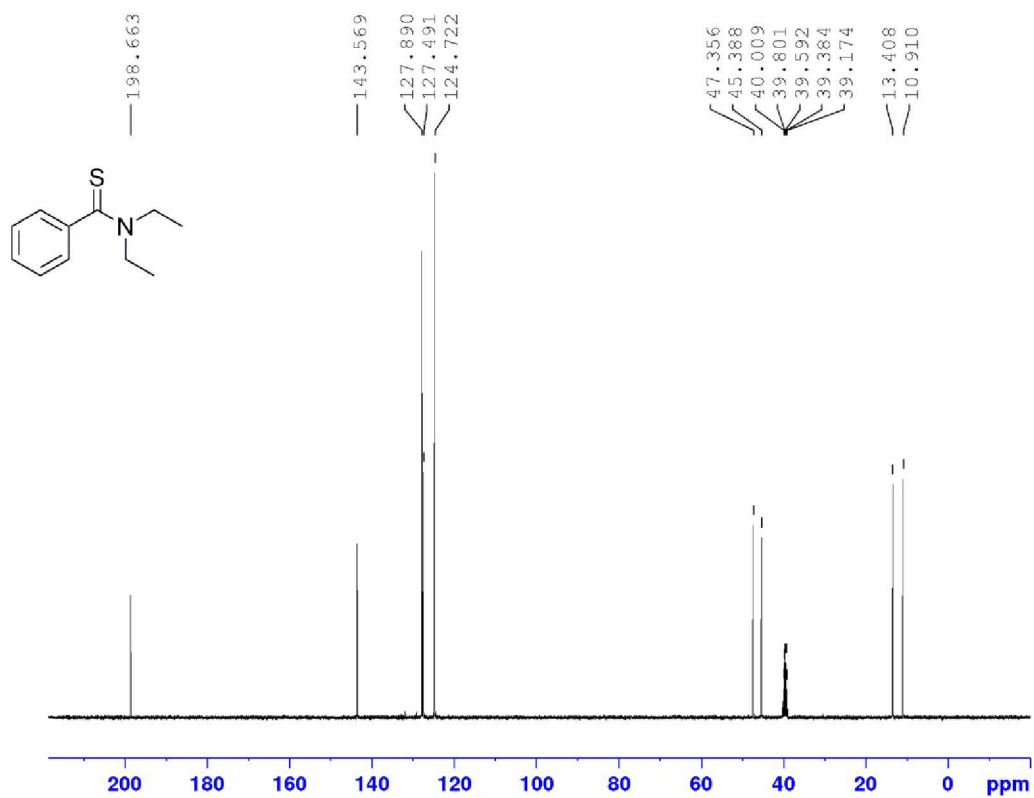
¹H NMR spektrum látky **2d**



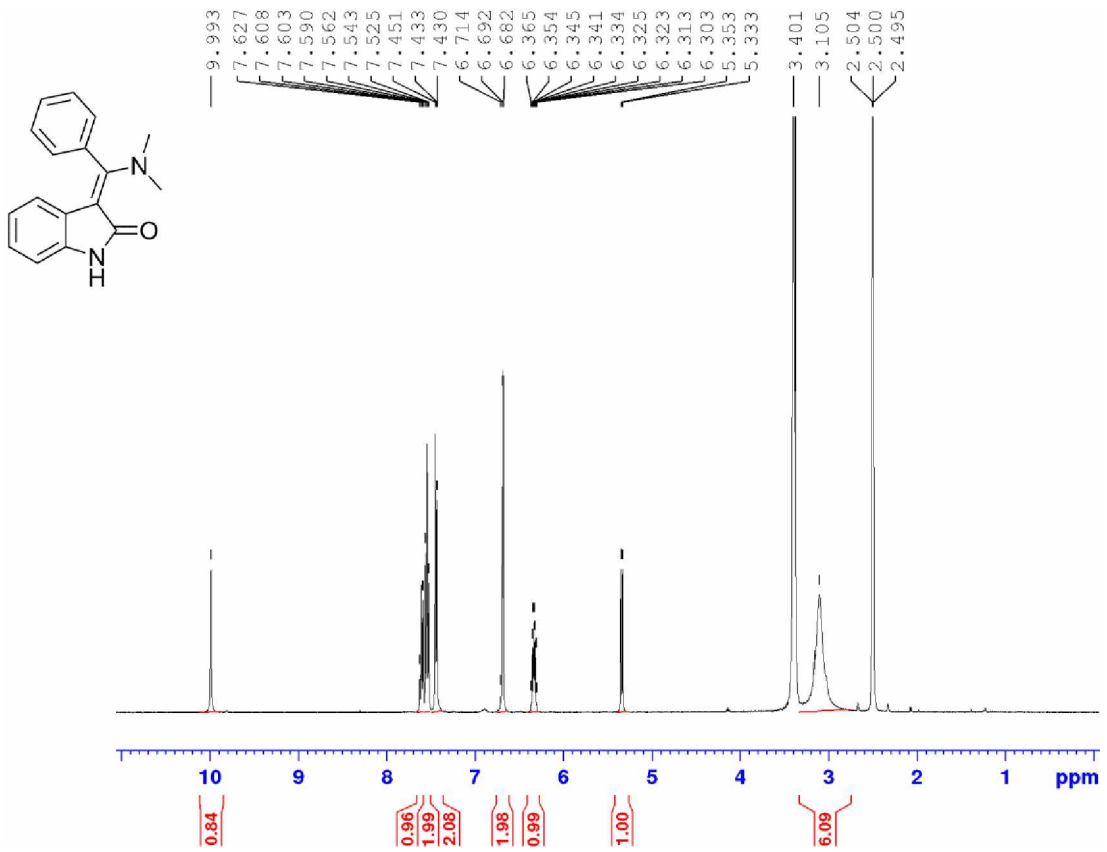
¹³C NMR spektrum látky **2d**



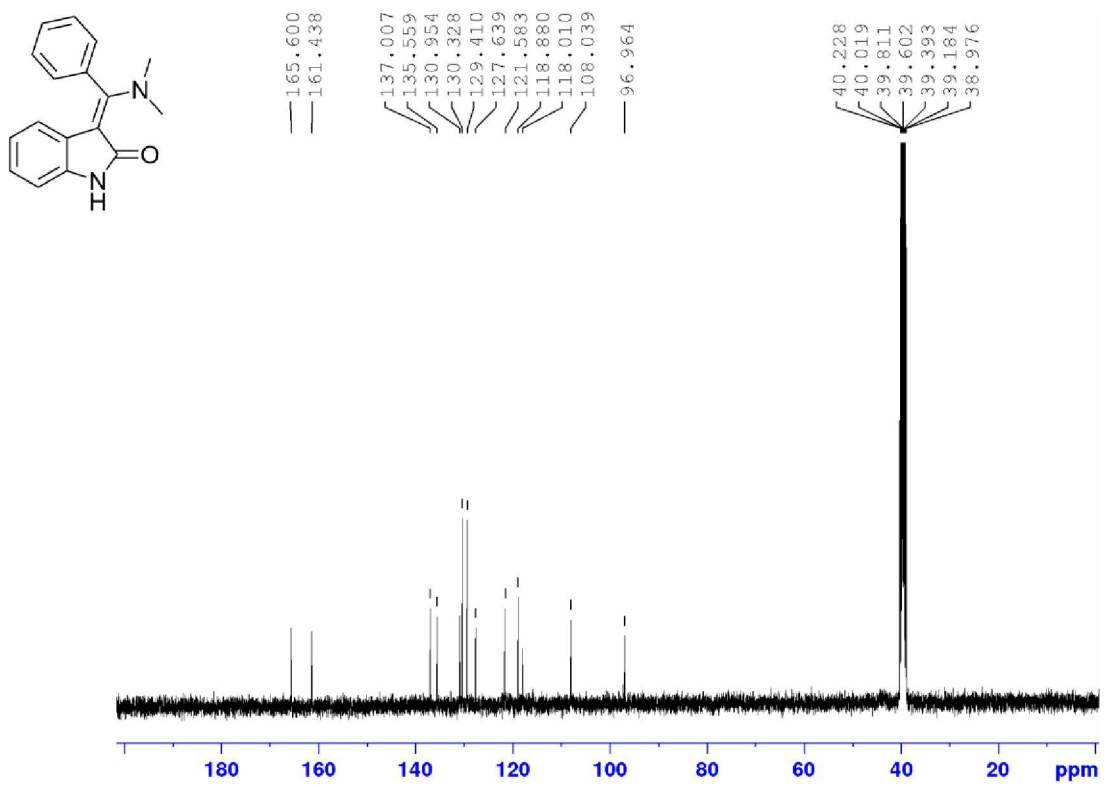
¹H NMR spektrum látky 2e



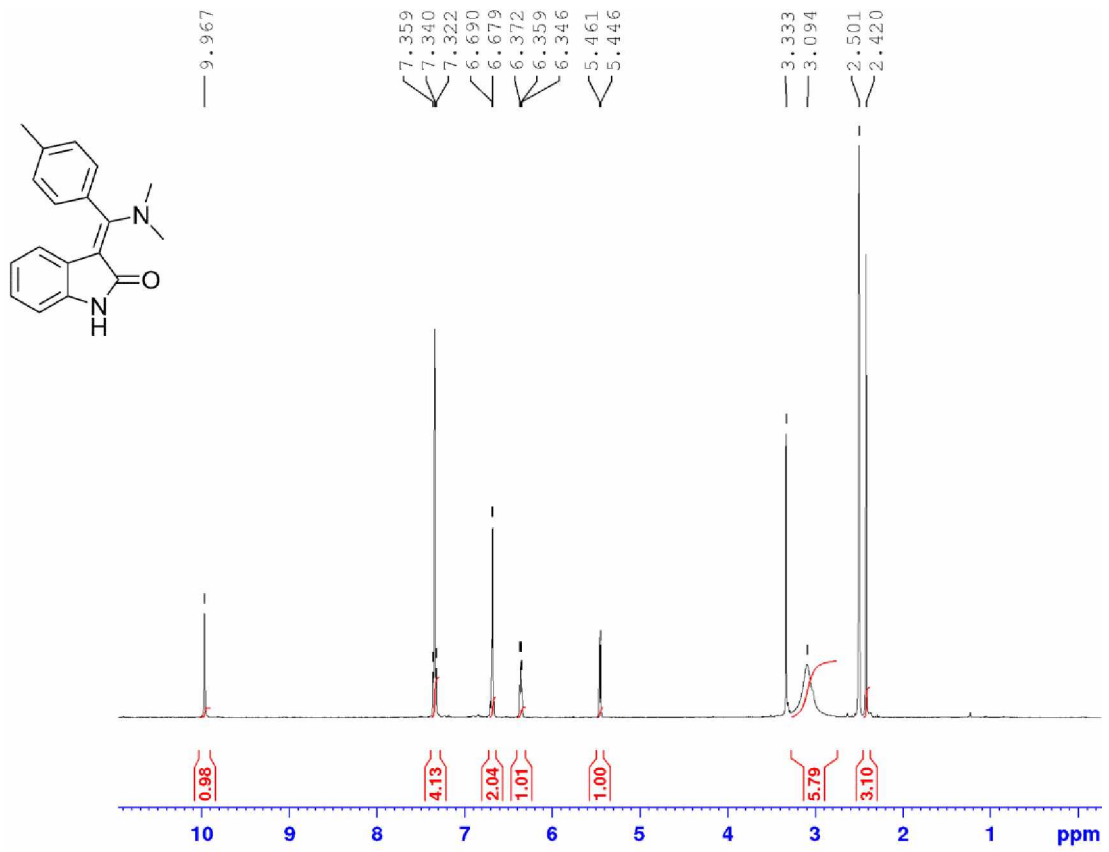
¹³C NMR spektrum látky 2e



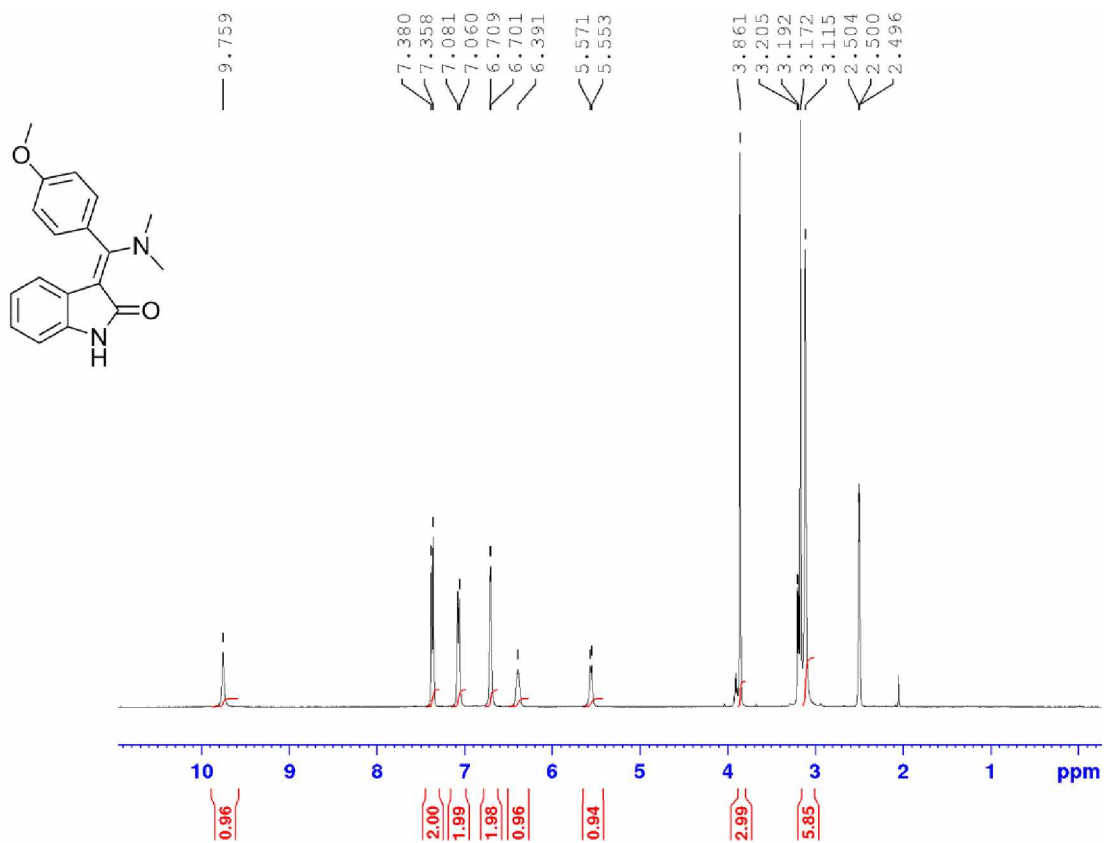
¹H NMR spektrum látky 3a



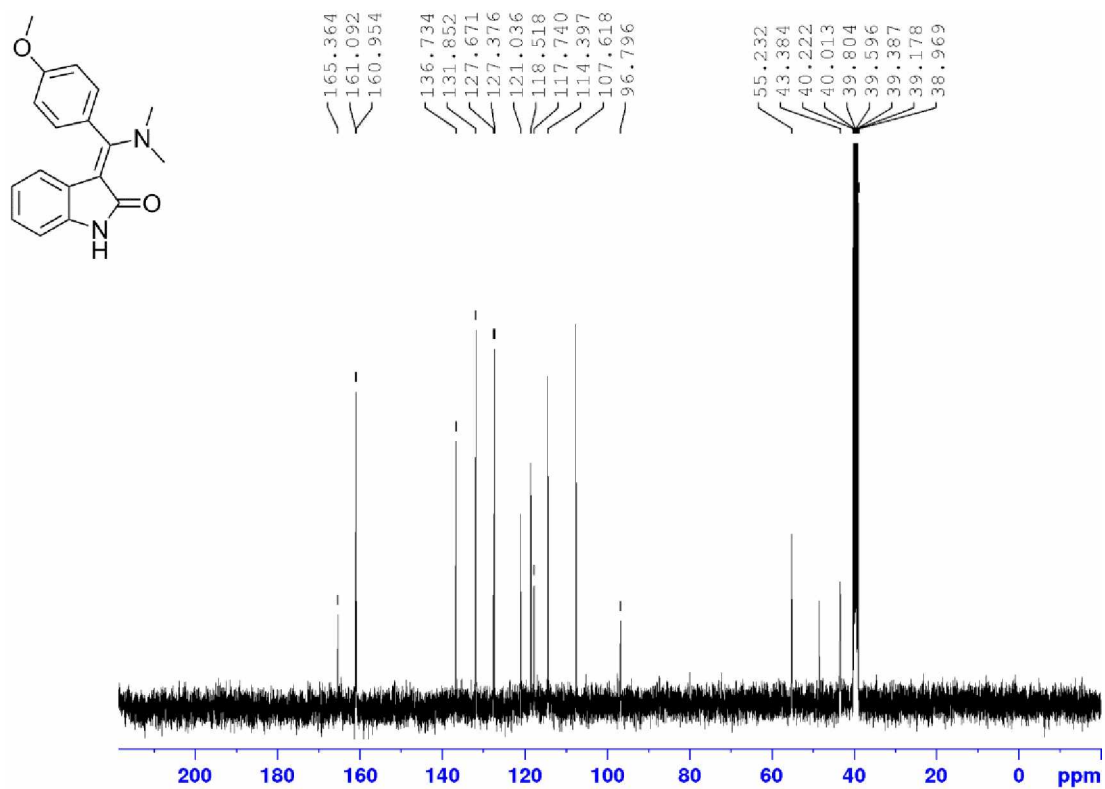
¹³C NMR spektrum látky 3a



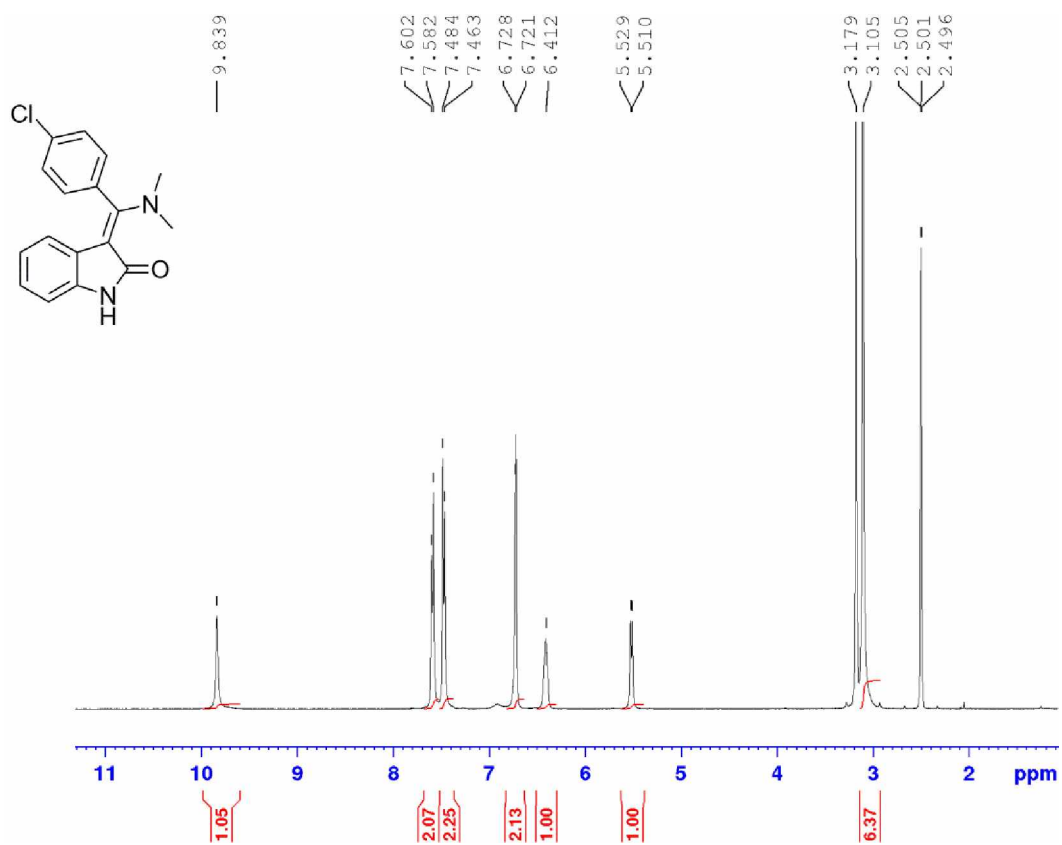
^1H NMR spektrum látky **3b**



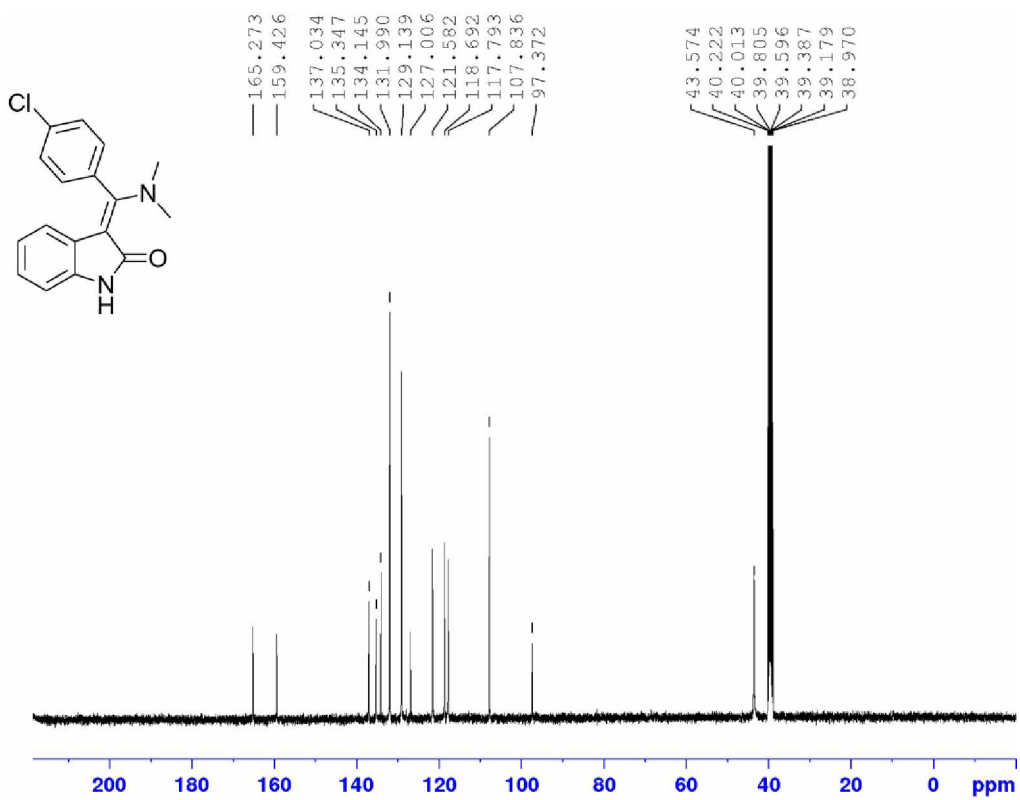
¹H NMR spektrum látky 3c



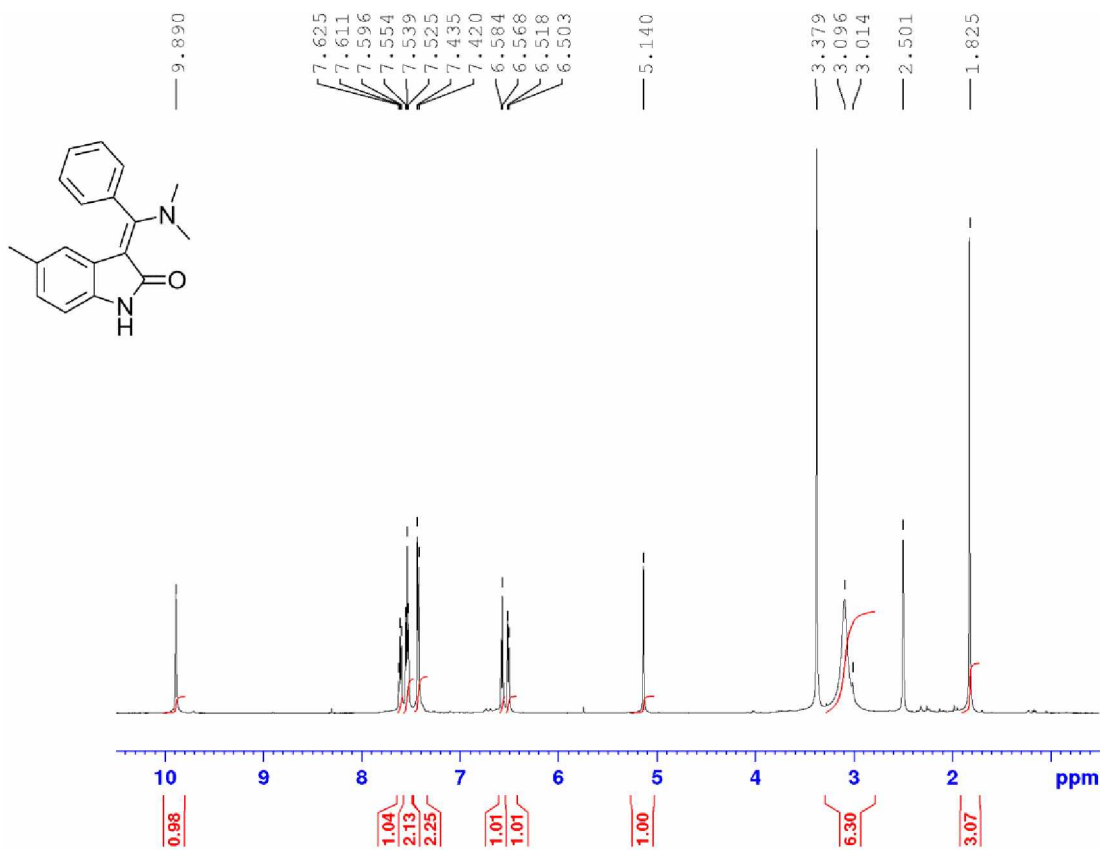
¹³C NMR spektrum látky 3c



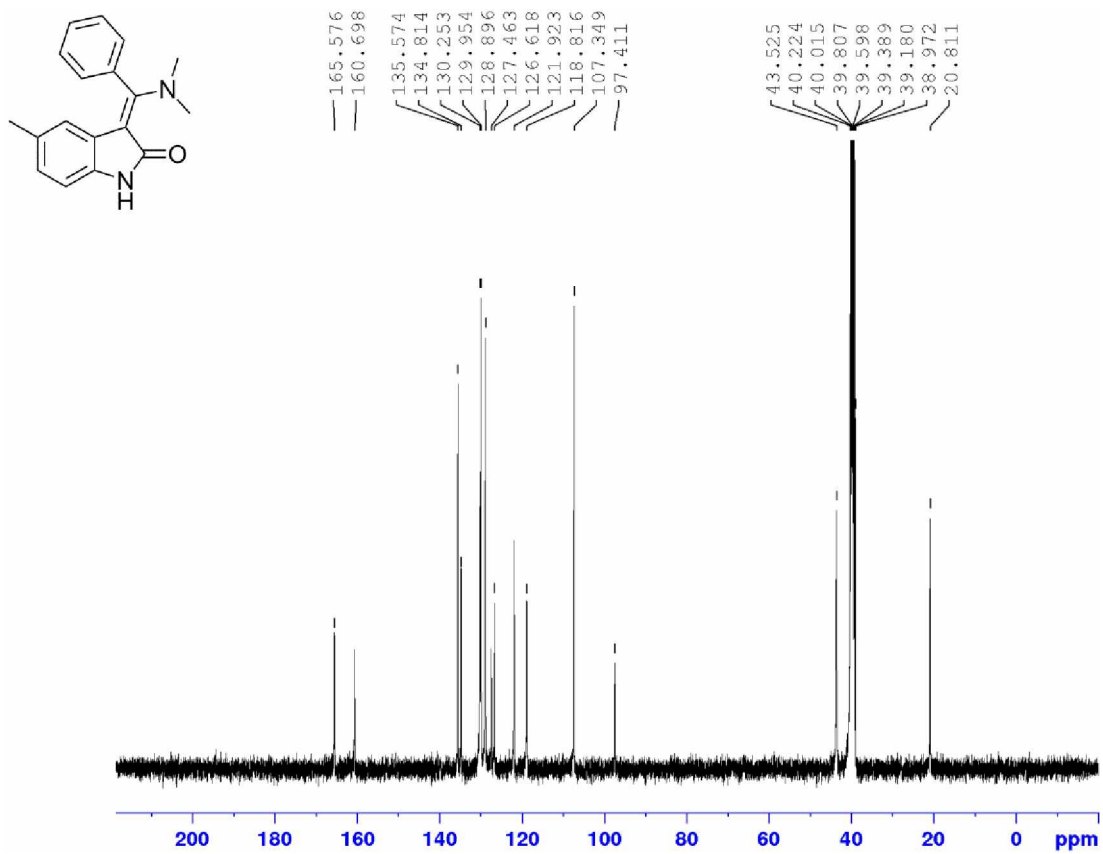
¹H NMR spektrum látky 3d



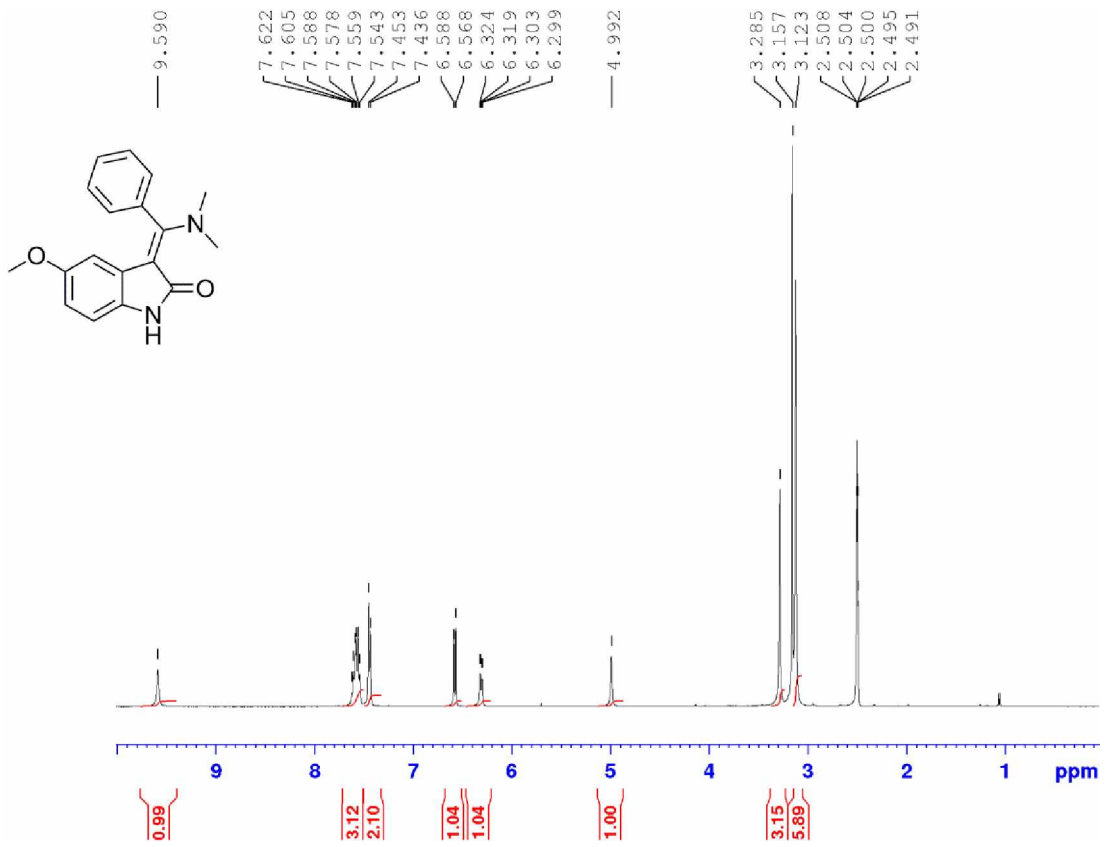
¹³C NMR spektrum látky 3d



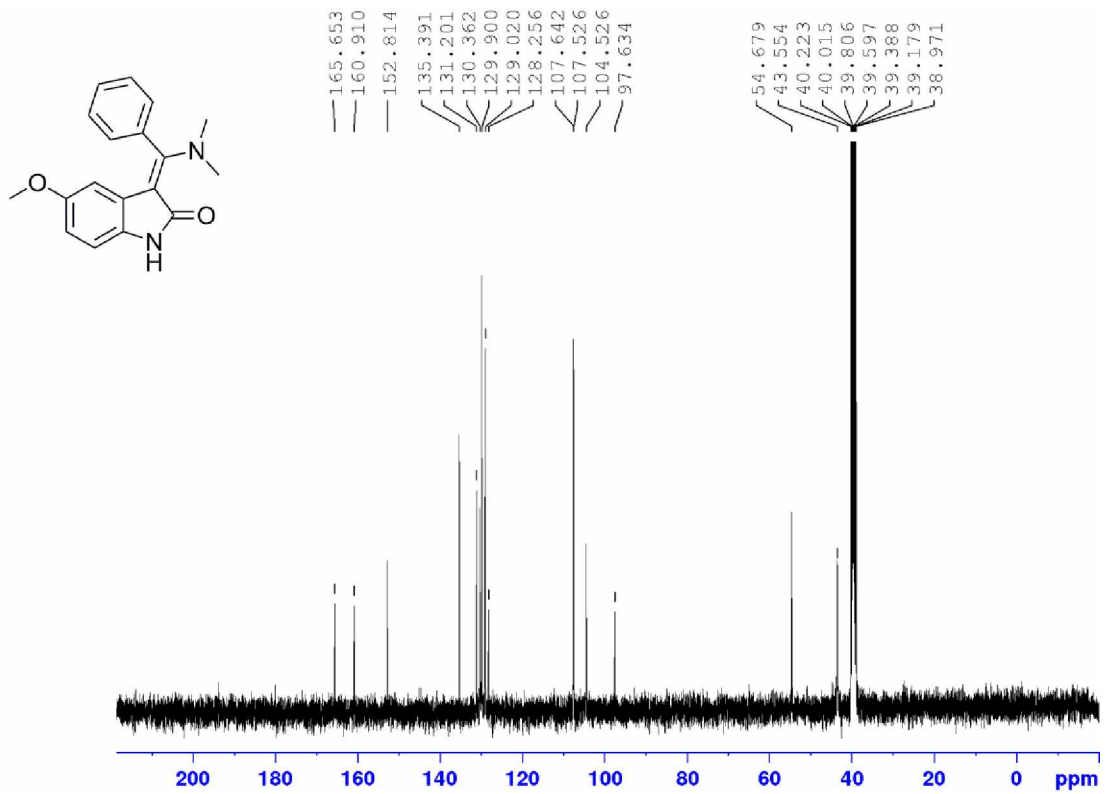
¹H NMR spektrum látky 3e



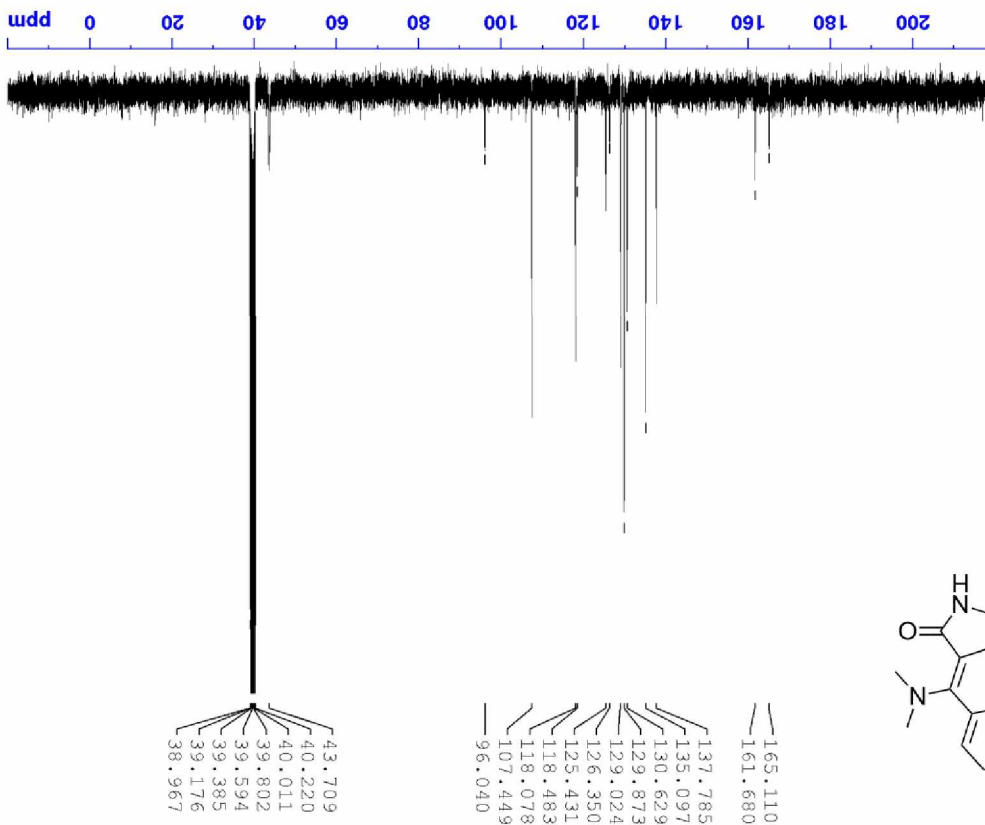
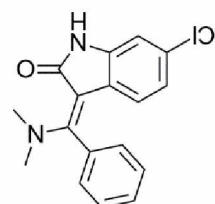
¹³C NMR spektrum látky 3e



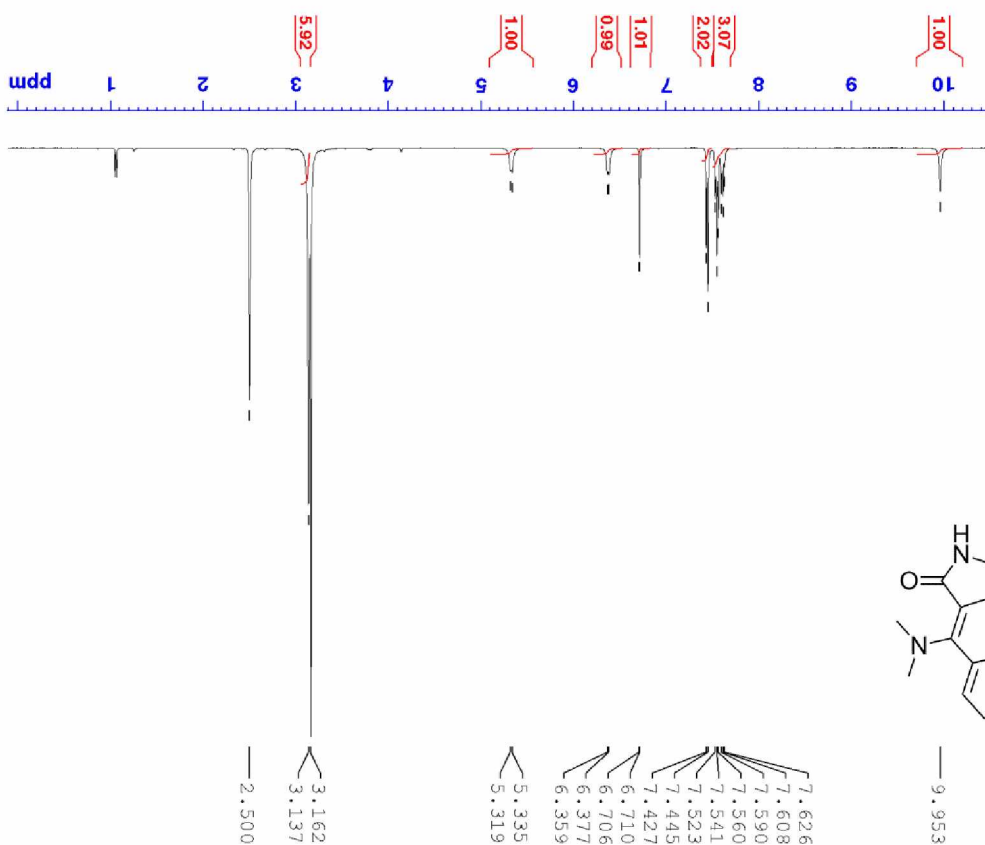
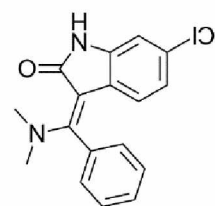
¹H NMR spektrum látky 3f



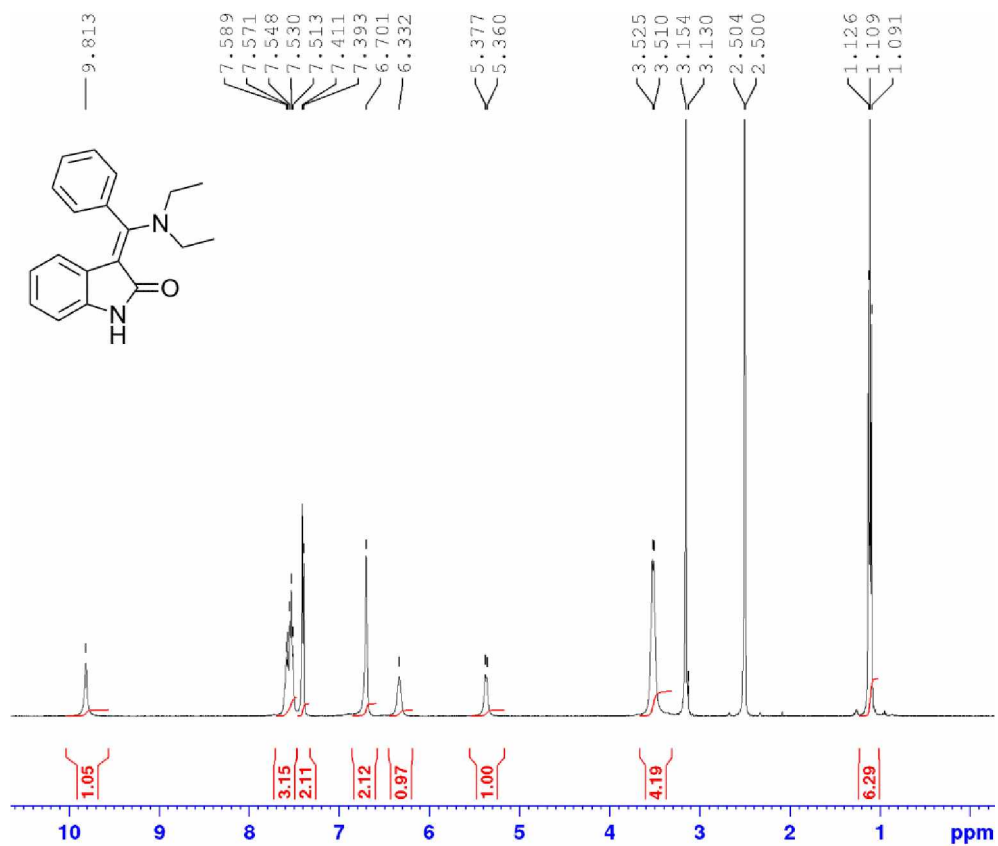
¹³C NMR spektrum látky 3f



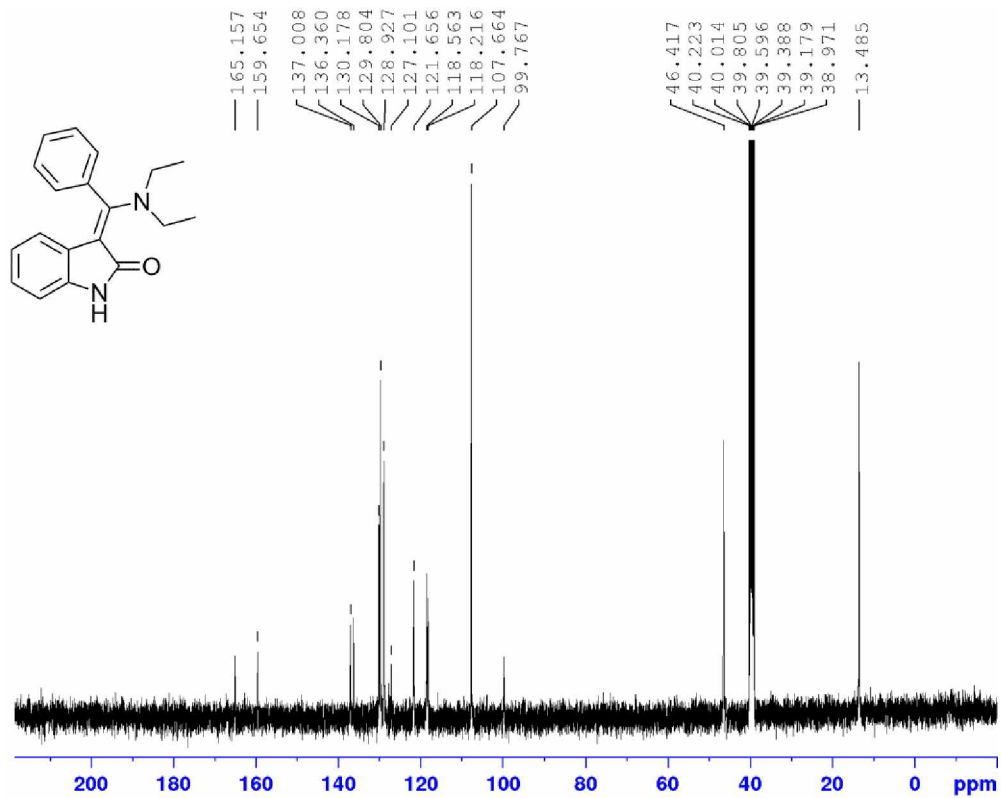
¹³C NMR spektrum látky 3g



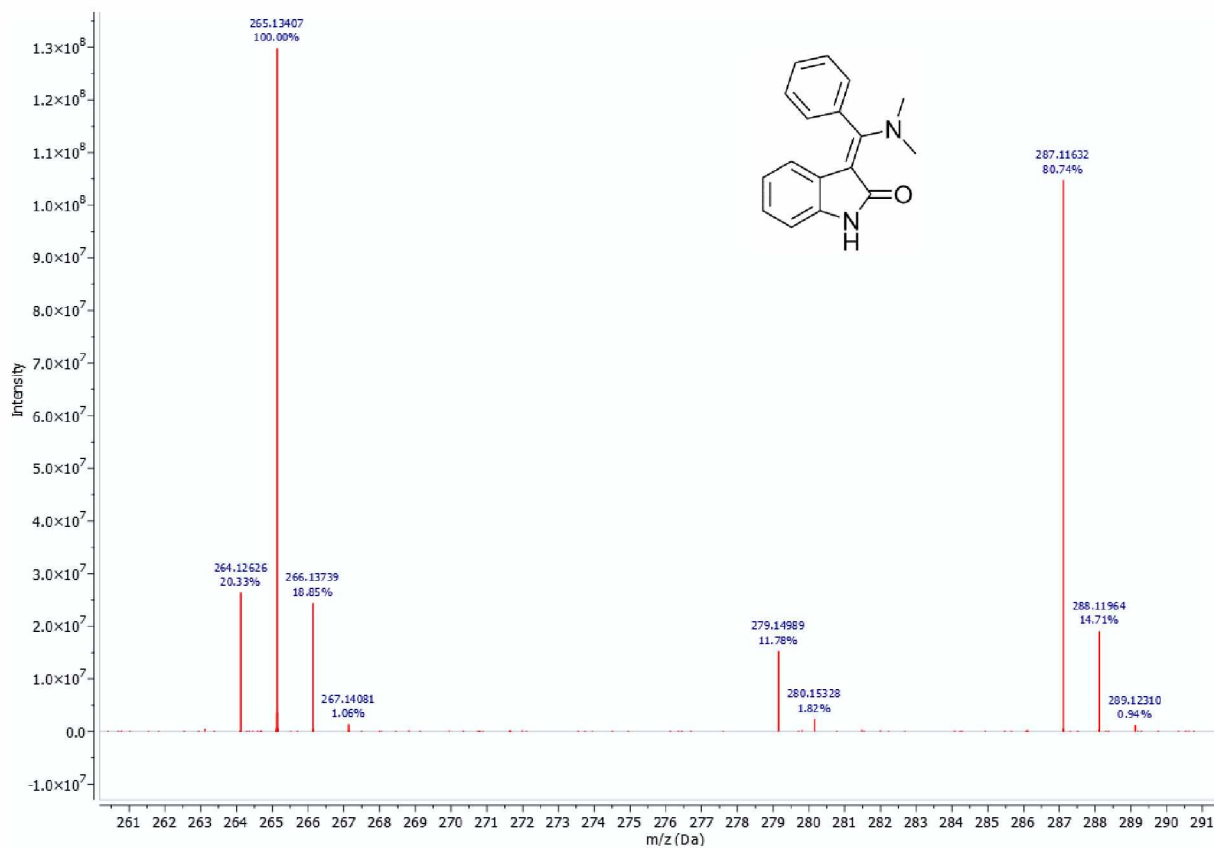
¹H NMR spektrum látky 3g



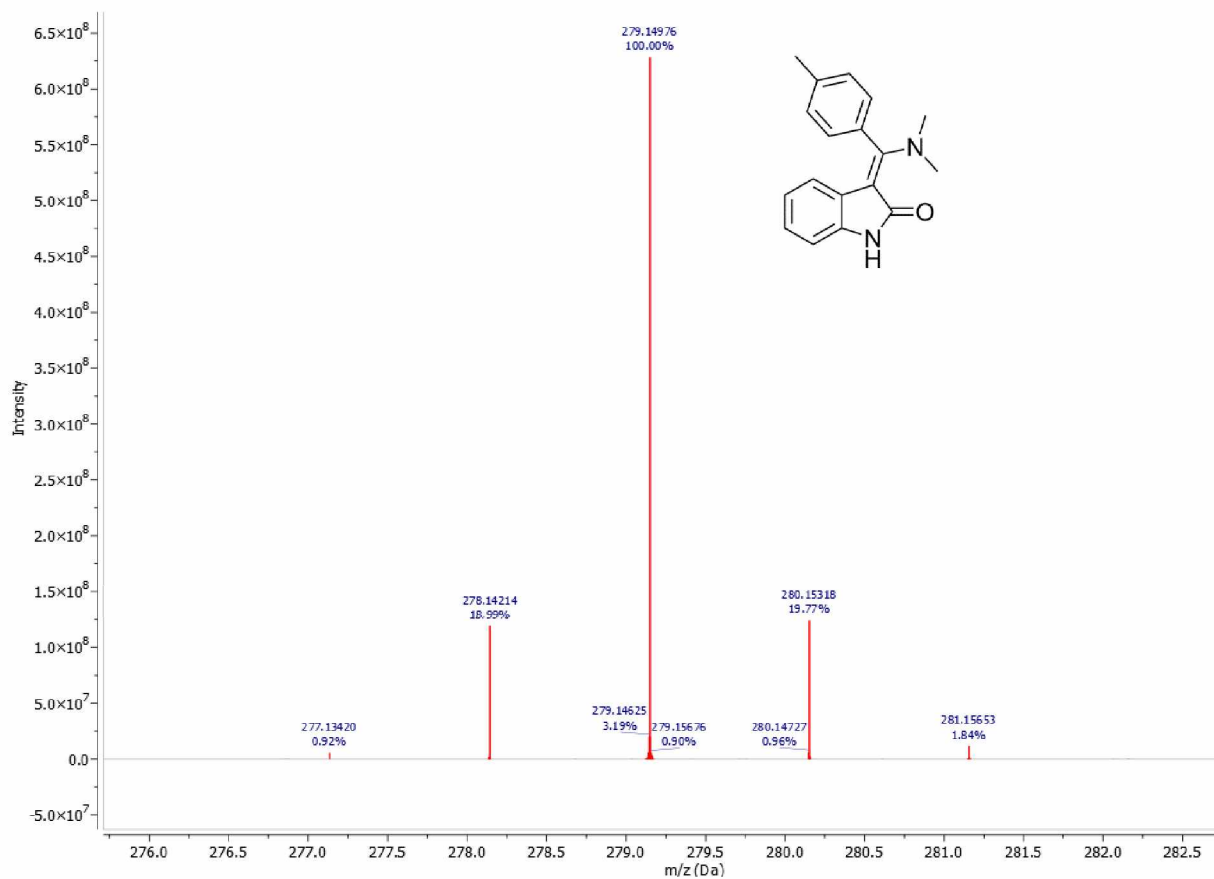
¹H NMR spektrum látky 3h



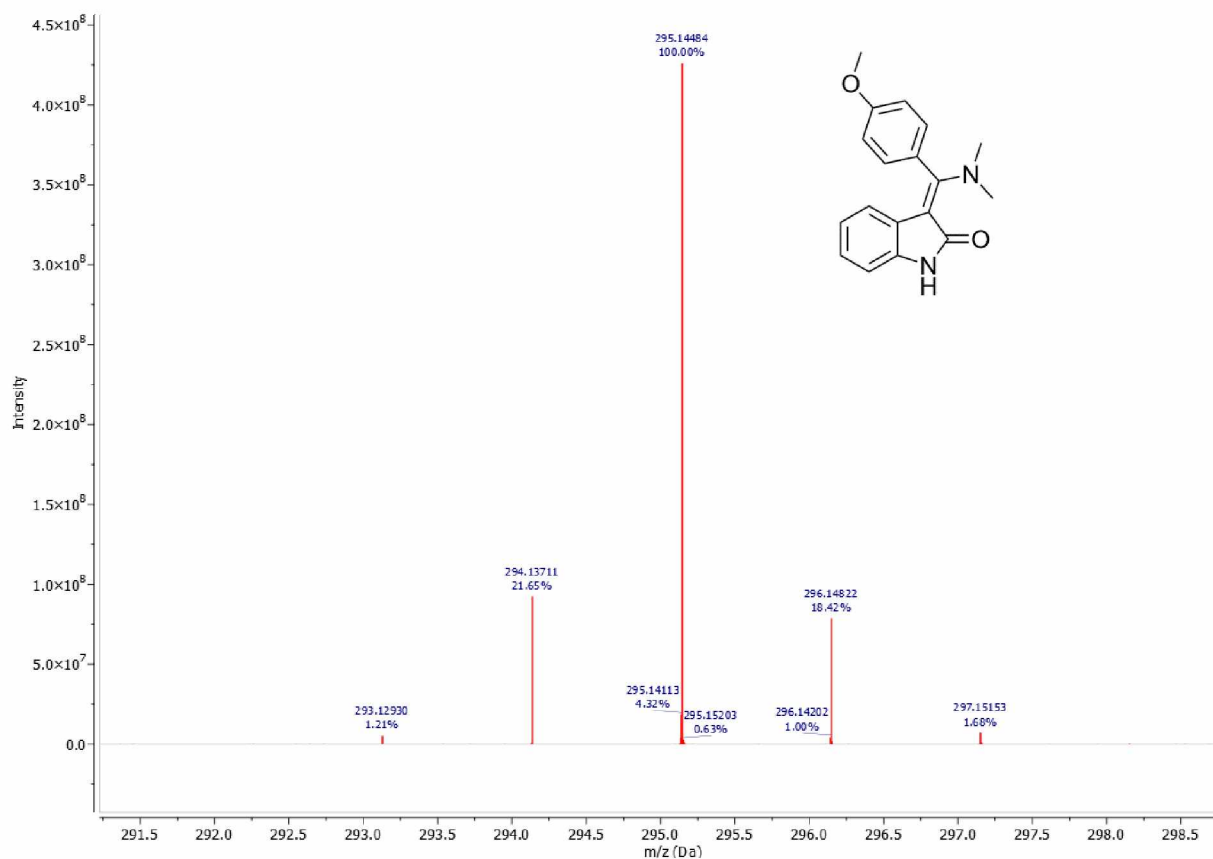
¹³C NMR spektrum látky 3h



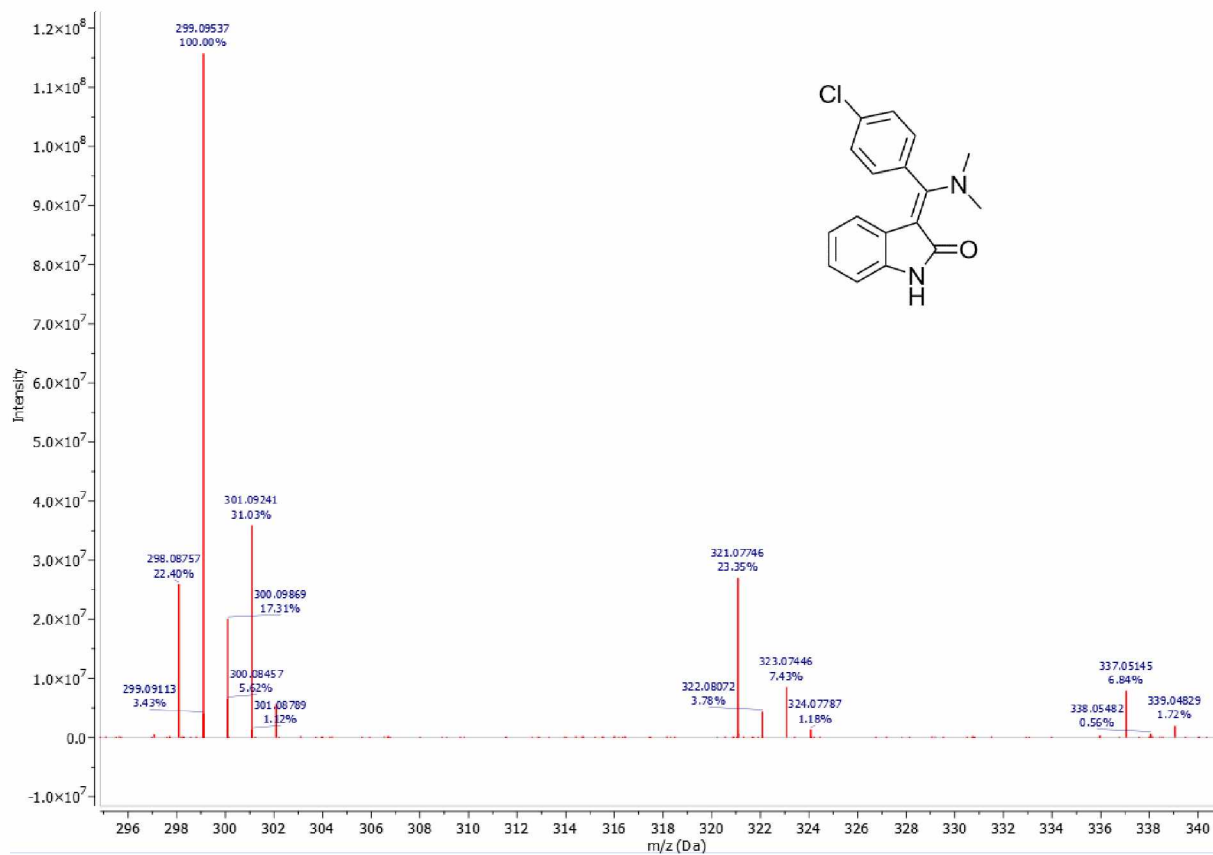
HRMS spektrum látky **3a**



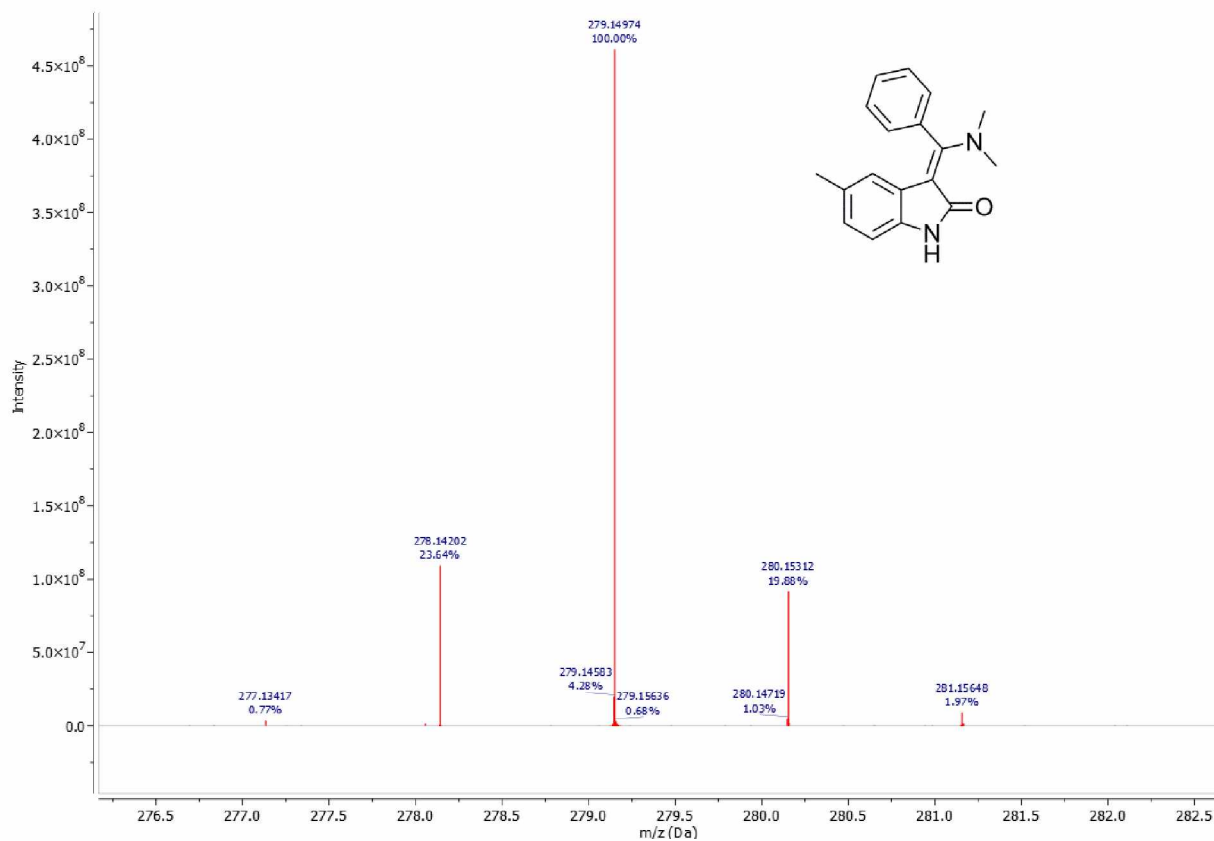
HRMS spektrum látky **3b**



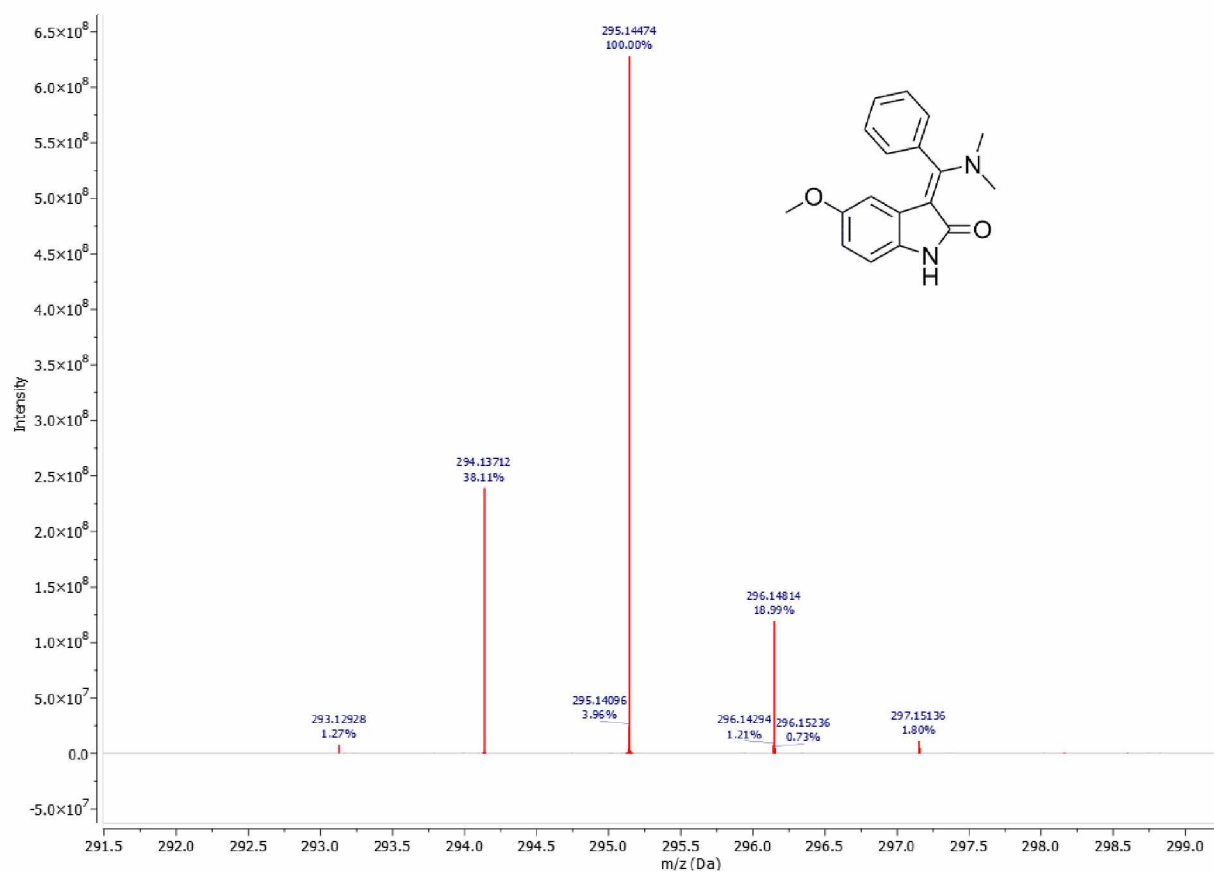
HRMS spektrum látky **3c**



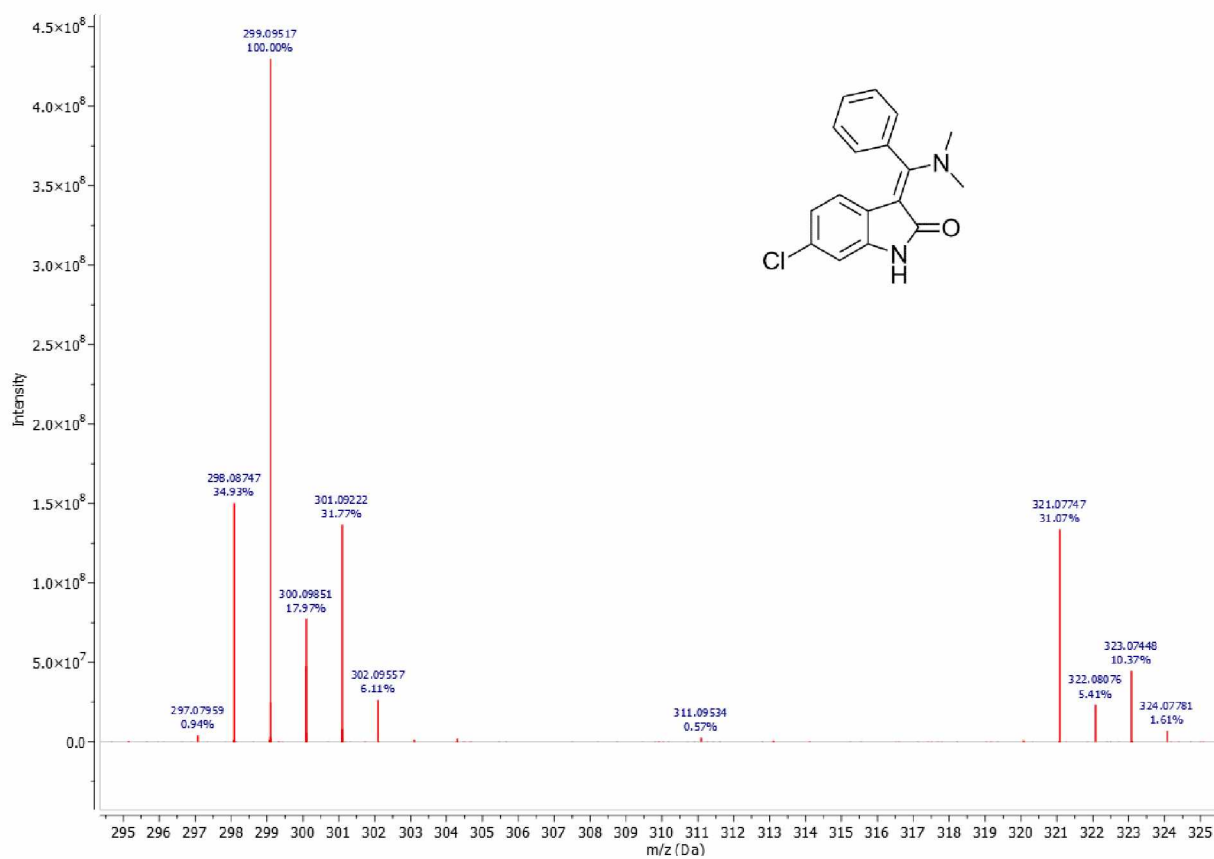
HRMS spektrum látky **3d**



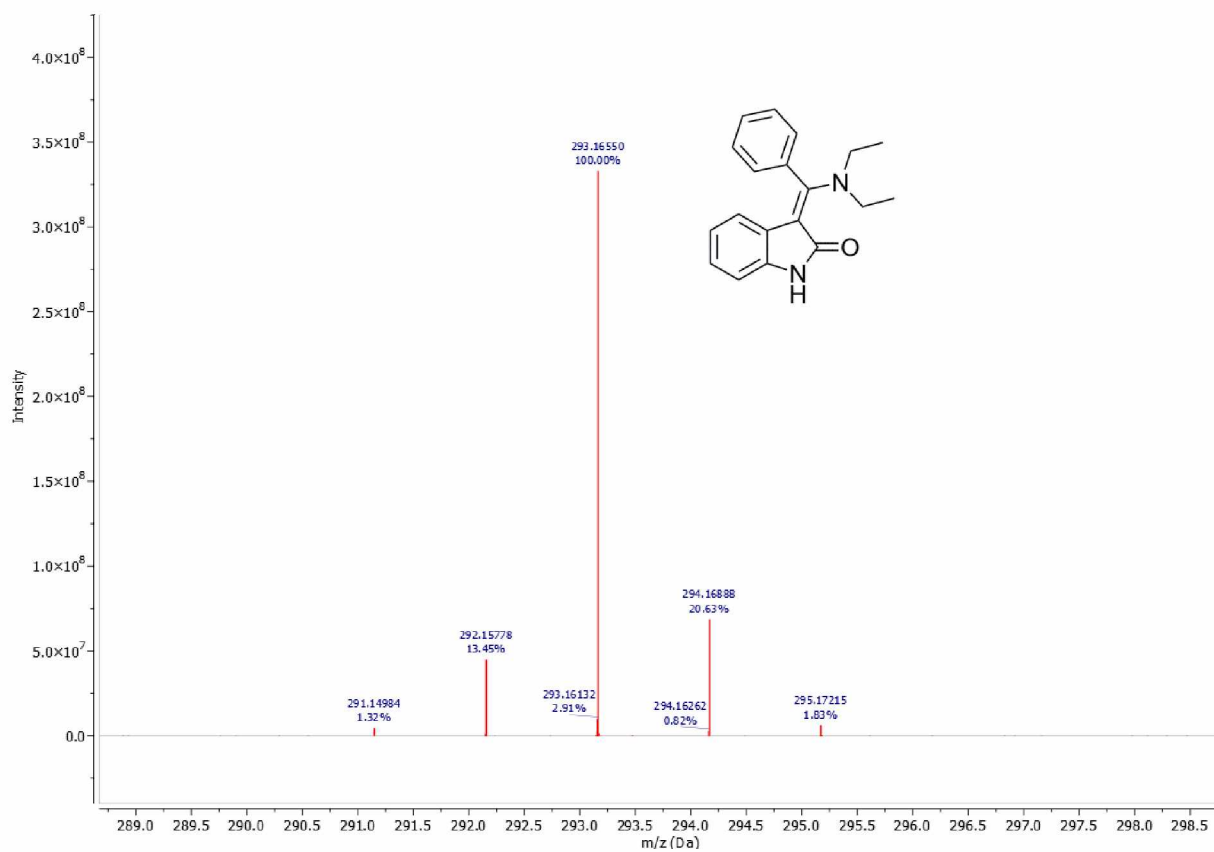
HRMS spektrum látky **3e**



HRMS spektrum látky **3f**



HRMS spektrum látky **3g**



HRMS spektrum látky **3h**