UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017 Hana Frgalová

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Intramolekulární C-N cross coupling vybraných enaminonitrilů

Hana Frgalová

Bakalářská práce

2017

UNIVERSITY OF PARDUBICE

FAKULTY OF CHEMICAL-TECHNOLOGY

Intramolecular C-N cross coupling of selected enaminonitriles

Hana Frgalová

Bachelor thesis

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: **2016/2017**

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Hana Frgalová**
Osobní číslo:	**C14067**
Studijní program:	**B2830 Farmakochemie a medicinální materiály**
Studijní obor:	**Farmakochemie a medicinální materiály**
Název tématu:	**Intramolekulární C-N cross-coupling vybraných enaminonitrilů**
Zadávající katedra:	**Ústav organické chemie a technologie**

Zásady pro vypracování:

1. Proveďte literární rešerši shrnující farmakologicky významné přírodní i syntetické deriváty indolu.
2. Proveďte retrosyntetickou analýzu indol-3-karbonitrilu vedoucí na enaminonitril.
3. Na základě retrosyntetické analýzy připravte a charakterizujte tři enaminonitrily, které se liší typem halogenu.
4. Prostudujte připravené enaminonitrily z hlediska jejich ochoty podléhat intramolekulárnímu C-N cross-couplingu na indol-3-karbonitril.
5. Získané výsledky vyhodnoťte a sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Petr Šimůnek, Ph.D.**
Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2017**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.

prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlášení autora

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

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

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 30. 7. 2017

Hana Frgalová

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěla poděkovat všem co se přímo i nepřímo podíleli na tvorbě této práce, či za jejich podporu. Ráda bych poděkovala panu doc. Ing. Petru Šimůnkovi PhD., za odbornou pomoc a trpělivost při vypracovávání této práce. Dále Janě Kolářové, se kterou jsme se společně vydaly na dráhu organické chemie a své rodině i všem lidem, kteří mě při studiu podporovali.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá přípravou a cyklizací halogenovaných enaminonitrilů. V úvodu je popsána struktura indolu a základní shrnutí derivátů. V teoretické části byly sepsány důležité farmakologicky významné deriváty látek indolové struktury. Dále byla provedena retrosyntetická analýza indol-3-karbonitrilu, která vedla na enaminonitril a tyto 3 enaminonitrily s odlišnými typy halogenu, byly připraveny a charakterizovány v experimentální části práce, která je výsledkem experimentální syntézy. Enaminonitrily byly prostudovány z hlediska ochoty podléhat intramolekulárnímu C-N cross-couplingu na indol-3-karbonitril a výsledky byly vyhodnoceny příslušnými metodami.

KLÍČOVÁ SLOVA

Indol, derivát, léčivo, enaminonitril, palladium, cross-coupling

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with preparation and cyclization of halogenated enaminonitriles. In the introduction are described, the structure of indole and the basic summary of derivatives. In the theoretical part were written pharmacologically important derivatives of indole structure. Also it had been done a retrosynthetic analysis of indole-3-carbonitrile, which led to enaminonitrile and these 3 enaminonitriles with different types of halogen, were prepared and characterized in the experimental part of the work resulting from the experimental synthesis. Enaminonitriles were studied for their ability to undergo intramolecular C-N cross-coupling to indole-3-carbonitrile and the results were evaluated by appropriate methods.

KEYWORDS

Indole, derivate, drug, enaminonitrile, palladium, cross-coupling

Obsah

1 Úvod....14
1.1 Indolová struktura....14
2 Teoretická část....16
Látky přírodní....16
2.1 Indolové alkaloidy....16
2.1.1 Indolizinové alkaloidy....16
2.1.1.1 Kastanospermin....16
2.1.1.2 Swainsonin (-) - forma....16
2.1.2 Tryptaminové alkaloidy....16
2.1.2.1 Bufotenin....16
2.1.2.2 N,N-Dimethyltryptamin....16
2.1.2.3 Fysostigmin (-) - forma....17
2.1.3 β-Karbolinové indolové alkaloidy....17
2.1.3.1 Harman, Harmalin, Harmin....17
2.1.4 Ergolinové alkaloidy....17
2.1.4.1 Ergin....17
2.1.4.2 Ergosin....17
2.1.4.3 Chanoklavin....17
2.1.5 Monoterpenové alkaloidy....17
2.1.5.1 Ajmalin....17
2.1.5.2 Reserpin....18
2.1.5.3 Serpertin....18
2.1.5.4 Strychnin....18
2.1.5.5 Brucin....18
2.1.6 Bis(indolové) alkaloidy....18
2.2 Tryptofan....19

2.3 Serotonin 20
2.4 Melatonin 21
2.5 Psilocybin 22
Látky uměle vytvořené 23
2.6 Indometacin 23
2.7 Indapamid 24
2.8 Vemurafenib 24
3 Experimentální část 26
3.1 Použitá zařízení a analýzy 26
3.2 Příprava 2-halofenylacetylchloridu 27
3.2.1 2-Chlorfenylacetylchlorid (IIa) 27
3.2.2 2-Jodfenylacetylchlorid (IIc) 28
3.3 Příprava 2-halofenylacetylamidu 28
3.3.1 2-Chlorfenylacetamid (IIIa) 29
3.3.2 2-Jodfenylacetamid (IIIc) 29
3.4 Příprava 2-halofenylacetonitrilu 30
3.4.1 2-Chlorfenylacetonitril (IVa) 30
3.4.2 2-Jodfenylacetonitril (IVc) 31
3.5 Příprava 3-hydroxy-2-(2-halofenyl)akrylonitrilu 32
3.5.1 3-Hydroxy-2-(2-chlorfenyl)akrylonitril (Va) 32
3.5.2 3-Hydroxy-2-(2-bromfenyl)akrylonitril (Vb) 33
3.5.3 3-Hydroxy-2-(2-jodfenyl)akrylonitril (Vc) 33
3.6 Příprava N, N-dimethyl-3-amino-2-(2-bromfenyl)akrylonitrilu (VIb) 34
3.7 Příprava 2-kyano-2-(2-jodfenyl)ethenyl methansulfonátu (VIIc) 35
Přehled metod k přípravě enaminonitrilu 36
3.8 Metoda A 36
3.9 Metoda B 37

3.10 Metoda C 37
3.11 Metoda D 38
3.9.1 3-Amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitril (VIIIa) 38
3.9.2 3-Amino-2-(2-bromfenyl)akrylonitril (VIIIb) 39
3.11.1 3-Amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitril (VIIIc) 39
3.12 Cyklizace na indolový kruh 41
3.12.1 Metoda A: 41
3.12.2 Metoda B: 41
3.12.3 Metoda C: 41
3.12.3.1 Cyklizace 3-Amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitrilu 42
3.12.3.2 Cyklizace 3-Amino-2-(2-bromfenyl)-akrylonitrilu 42
3.12.3.3 Cyklizace 3-Amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitrilu 42
4 Výsledky a diskuze 43
4.1 Retrosyntetická analýza 43
4.1.1 Příprava 2-halofenylacetonitrilu IV 44
4.1.2 Příprava enaminonitrilu VIII 45
4.1.3 Srovnání metod 48
4.1.4 Cyklizace enaminonitrilů na indol-3-karbonitril 49
5 Závěr 52
6 Literatura: 53

Seznam ilustrací

Obrázek č. 1: Indolový kruh....14
Obrázek č. 2: Tryptofan....19
Obrázek č. 3: Serotonin....20
Obrázek č. 4: Melatonin....21
Obrázek č. 5: Indapamid....24
Obrázek č. 6: Vemurafenib....25
Obrázek č. 7: Spektrum demonstrující přítomnost dvou izomerů....49
Obrázek č. 8: Použité ligandy....50

Seznam schémat

Schéma č. 1: Fischerova syntéza indolu....14
Schéma č. 2: Biosyntéza serotoninu....20
Schéma č. 3: Biosyntéza melatoninu....22
Schéma č. 4: Defosforylace psilocybinu....22
Schéma č. 5: Syntéza indometacinu....23
Schéma č. 6: Retrosyntetická analýza enaminonitrilu....43
Schéma č. 7: Reakční schéma přípravy 2-halofenylacetonitrilu....44
Schéma č. 8: Metoda A....45
Schéma č. 9: Metoda B a C....46
Schéma č. 10: Metoda D....47
Schéma č. 11: Schéma přípravy 2-halogenovaných enaminonitrilů....48
Schéma č. 12: Obecné cyklizační schéma....49

Seznam tabulek

Tabulka 1: Srovnání cyklizací....51

Seznam zkratek

AcOH kyselina octová

DCM dichlormethan

DESA N, *N*'diethyl salicylamid

DMEDA N, *N′*-Dimethylethylendiamin

DMF N, *N*'-dimethylformamid

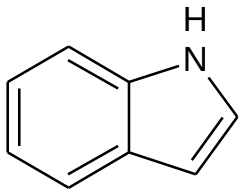
DMF-DMA N, *N'*-dimethylformamid dimethylacetal

EtOAc ethyl-acetát

1 ÚVOD

1.1 Indolová struktura

Látky vycházející ze struktury indolu (benzo[b]pyrrolu) (obrázek č. 1) můžeme rozřadit jako přírodně se vyskytující a uměle syntetizované. Jedná se o dusíkatou sloučeninu nemající bazický charakter. [1,2]



Obrázek č. 1: Indolový kruh

Nejčastějším způsobem přípravy indolových derivátů je Fischerova syntéza. Při ní dochází k zahřívání fenylhydrazonu aldehydu nebo ketonu s bezvodým chloridem zinečnatým, kyselinou polyfosforečnou nebo fluoridem boritým. Po přesunu dvojné vazby derivátu hydrazonu dojde v kyselém prostředí k sigmatropnímu přesmyku za vzniku diaminoderivátu, který odštěpí po cyklizaci amoniak (schéma č. 1). Fenylhydrazon může být i substituovaný. [1,2]

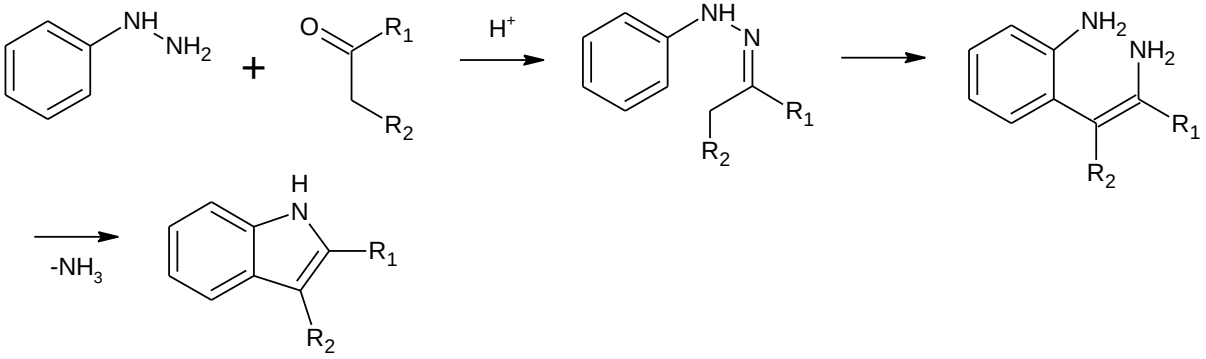


Schéma č. 1: Fischerova syntéza indolu

Samotný indol je látka přírodně se vyskytující v rostlinných olejích či uhelném dehtu. Indol je bezbarvý s využitím v parfumerii. [3]

Velkou skupinou přírodně vyskytujících se indolových derivátů jsou indolové alkaloidy. Tyto látky můžou být živočišného i rostlinného původu. Řadíme mezi ně například psilocybin (lysohlávky), reserpin, bufotenin (ropuchy), ergotamin (námel). [3]

Už od starověku byly indolové deriváty využívány například ve formě indiga. Jako modré barvivo jej znali v Egyptě, Řecku či Peru. Dnes jej stále využívá americké námořnictvo pro typickou (námořnickou modř). Struktura byla objevena až v roce 1883.[4]

Indolové deriváty jsou farmakologicky velmi významné, vyskytující se jako esenciální kyseliny v živých organizmech (tryptofan), jako neurotransmiter pro přenos nervových vzruchů s významným účinkem na lidskou psychiku (serotonin) nebo hormonální funkce (melatonin).

Kvůli rozsáhlým farmakologickým účinkům jsou používány v léčebných procesech různého původu. Byla syntetizována nová, uměle vytvořená léčiva s indolovým kruhem. Využívají se jako antidepresiva, diuretika, antiemetika, antiflogistika, vasokonstrikční látky atd.

Vzhledem důležitosti indolových derivátů je významným cílem organické syntézy nacházet různé způsoby jejich přípravy, přičemž na výzkum jedné z těchto metod je zaměřena i tato práce.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Látky přírodní

2.1 Indolové alkaloidy

Odvozené od tryptofanu (obrázek č. 2)

2.1.1 Indolizinové alkaloidy

2.1.1.1 Kastanospermin

Látka inhibující α a β glukosidázu – zabraňuje produkci glykoproteinů. Intoxikace je popsána zažívacími obtížemi a může vést k úmrtí skotu a koní.

Vyskytuje se u čeledi rostlin bobovité. [5]

2.1.1.2 Swainsonin (-) - forma

Symptomy požití swainsoninu: vyčerpanost, deprese, abnormální zvětšení jater a sleziny, neplodnost a může vést až ke smrti. Způsobuje axonopatii (lokoismus- axonové onemocnění u zvířat). Látka inhibuje enzym manoxidázu, která je využívána v produkci glykoproteinů. Inhibice Golgiho manoxidázy II zabraňuje glykolyzaci hormonů a důležitých proteinů, enzymů a membránových receptorů. Může způsobit rozpad Golgiho komplexu. Zdrojem jsou rostliny z čeledě bobovité. [5]

2.1.2 Tryptaminové alkaloidy

2.1.2.1 Bufotenin

Vyskytuje se v kůži žab (ropuch) a v některých houbách (muchomůrka citrónová). Sloučenina působící halucinogenně a hypertenzně. vyvolává poruchy vnímání, stavy úzkosti a dilatuje zorničky. Při toxické dávce nastává paralýza dýchání a motorickou paralýzou mozku a míchy. V mozku některých lidí dochází k přirozené přeměně serotoninu na bufotenin, tato hladina se při schizofrenii výrazně zvyšuje. [5,6]

2.1.2.2 N,N-Dimethyltryptamin

Krátkodobý halucinogen. Při parentálním podání se projevuje se změnami vnímání času a prostoru, halucinacemi a ztrátou schopnosti asociace.

Vyskytuje se u čeledi rostlin bobovité, toješťovité. [5]

2.1.2.3 Fysostigmin (-) - forma

Vysoce toxický při intravenózním podání. Nyní se používá v očním lékařství. Funguje na principu reverzibilního a kompetitivního bránění odbourání acetylcholinu. Projev intoxikace- zvracení, průjem, pomalý pulz, závrať, pocení, respirační paralýza. Vyskytuje se u čeledi rostlin bobovité. [5]

2.1.3 β-Karbolinové indolové alkaloidy

2.1.3.1 Harman, Harmalin, Harmin

Výskyt těchto alkaloidů je v čeledi kacibovité, mořenovité, logániovité, mučenkovité. Vyskytují se v cikorkovém kořeni a tabákovém kouři. Funkce je založena na principu inhibice monoaminooxidázy - nárůst hladiny neurotransmiteru serotoninu. Intoxikace se projevuje bledostí, třasem, zvracením a agresivitou. Po jisté době se projeví zrakové halucinace a polospánek. [5,6]

2.1.4 Ergolinové alkaloidy

Takzvané námelové alkaloidy, které se vyskytují v houbě Claviceps purpurea (paličkovice nachová) známou jako námel. [5]

2.1.4.1 Ergin

Součást mexické drogy ololiuqui. Vyznačuje se halucinogenními účinky již v malých dávkách. [5]

2.1.4.2 Ergosin

Inhibice uvolnění prolaktinu. [5]

2.1.4.3 Chanoklavin

Součást mexické drogy ololiuqui s halucinogenním účinkem. [5]

2.1.5 Monoterpenové alkaloidy

Struktura vychází z tryptofanu a monoterpenové jednotky (loganinu). Sloučeniny se vyznačují vysokou toxickou a biologickou aktivitou. Výskyt těchto alkaloidů je v čeledi mořenovité, logániovité, toješťovité a mají významný farmakologický účinek snížení krevního tlaku. [5,6]

2.1.5.1 Ajmalin

Látka s inhibičním účinkem na využití glukózy v myokardu, což vede k poklesu krevního tlaku, což je farmakologicky využito jako antiarytmikum. Toxická dávka se projevuje křečí až

arytmií. Antagonisticky působí na aktivaci krevních destiček. Dlouhodobé vystavení toxické dávce vede ke kritickému poklesu granulocytů. [5]

2.1.5.2 Reserpin

Působí inhibičně na ATP-Mg^{2+}, čímž zabraňuje ukládání katecholaminů do zásobních vezikulí a tím vyčerpává zásoby neurotransmiterů. Dnešní využití se omezuje na antihypertenziva v kombinaci s jinými látkami. Jedno z prvních antipsychotik, dnes nepoužíváno pro depresivní účinky. [5,7]

2.1.5.3 Serpertin

Sloučenina s je vyšším účinkem na zpomalení srdeční frekvence srdce než ajmalin. Funguje na principu inhibice cholinesterázy. [5]

2.1.5.4 Strychnin

Vyskytuje se v rostlině kulčiba dávivá. Stimuluje respirační a vazomotorické centrum v prodloužené míše, díky blokování inhibiční aktivity glycinu. Používá se při otravě barbituráty, dále funguje jako spinální konvulzant. Toxická dávka vyvolává řadu symptomů, včetně velkých bolestí a křečí až smrtelnému ochrnutí dýchacích orgánů. [5, 8]

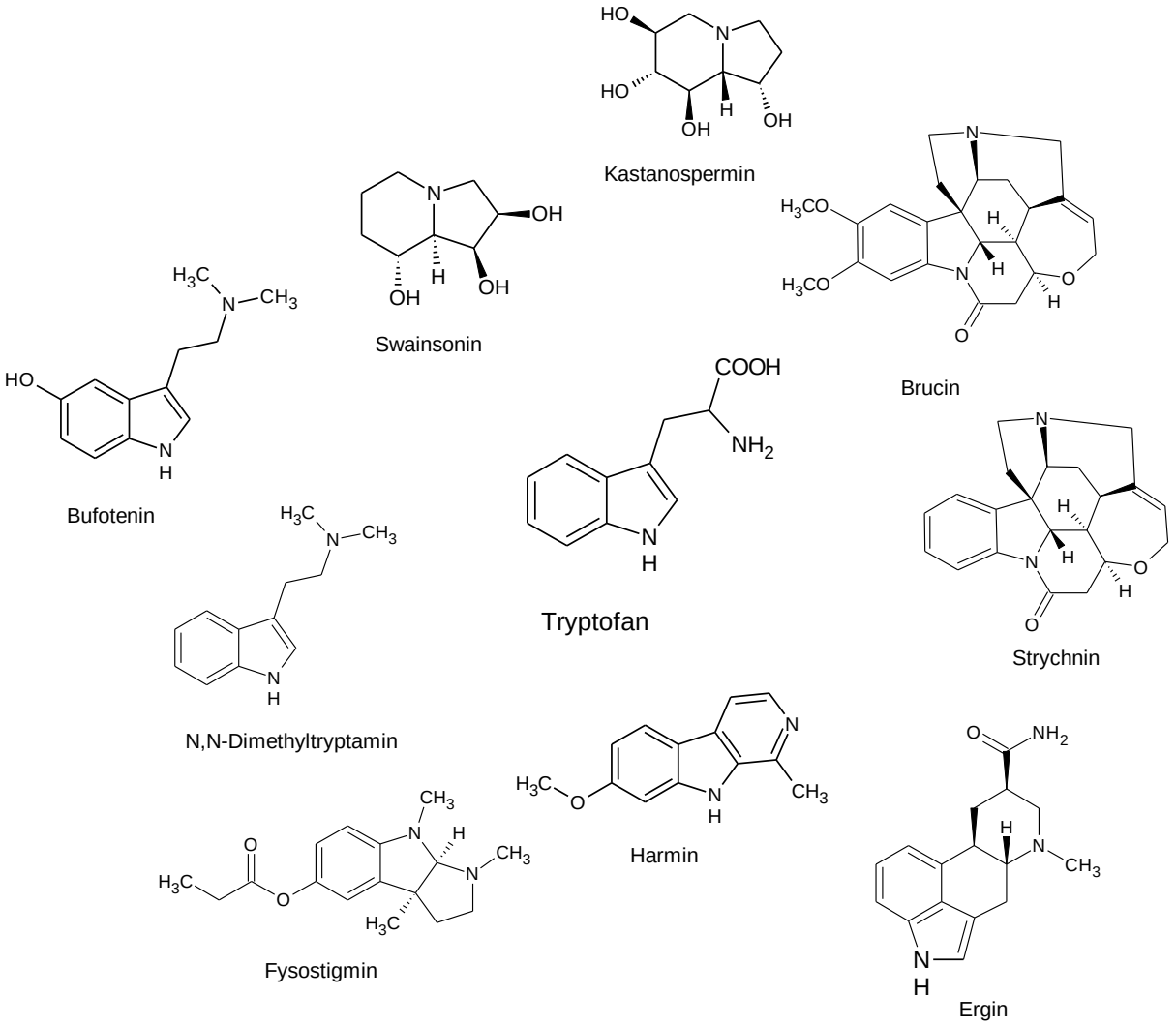
2.1.5.5 Brucin

Látka doprovázející strychnin v kulčibě dávivé převážně v semenech. Podobně jako strychnin je vysoce toxický i když jeho toxicita je trochu nižší. Funguje jako stimulant CNS. Používá se pro fotometrickou detekci NO_2^-, NO_3^-, ClO_3^-. Má extrémně hořkou chuť. [5, 9]

2.1.6 Bis(indolové) alkaloidy

Sloučeniny převážně vysoce toxické, vyskytující se v šípových jedech jihoamerických indiánů – kurare (C-dihydrotoxiferin, kalebasin, toxiferin I, …) [5]

2.2 Tryptofan

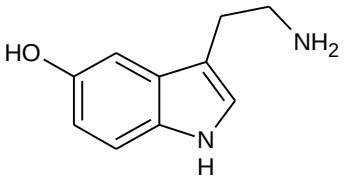


Obrázek č. 2: Tryptofan

Tryptofan **(**obrázek č. 2**)** je látka esenciálně se vyskytující v lidském organizmu. V těle je hlavní spotřeba tryptofanu učena pro syntézu serotoninu a vitamínu B_3. Správná denní dávka tryptofanu přijímaného ve stravě je důležitá hlavně pro děti kvůli správnému růstu. [10] Z této aromatické aminokyseliny se biogenezí látek syntetizují látky, které přenáší nervový vzruch-neurotransmitery např. serotonin, jehož syntéza je katalyzována jaterní fenylalaninhydroxylasou. Z tryptofanu vznikají další indolové deriváty. Metabolizmus tryptofanu probíhá v ledvinách, střevě a játrech dochází k dekarboxylaci tryptofanu na tryptamin a oxidací vznikne indol-3-acetát, což už je metabolit vhodný k vyloučení močí. [11,12]

2.3 Serotonin

Chemicky se sloučenina nazývá 5-hydroxytryptamin. V přírodě se vyskytuje v rostlinných i živočišných jedech např. vos a ropuch. [13]



Obrázek č. 3: Serotonin

Vzniká hydroxylací tryptofanhydrolázou z L-tryptofanu na polohu 5 a následnou dekarboxylací (schéma č. 2). [14]

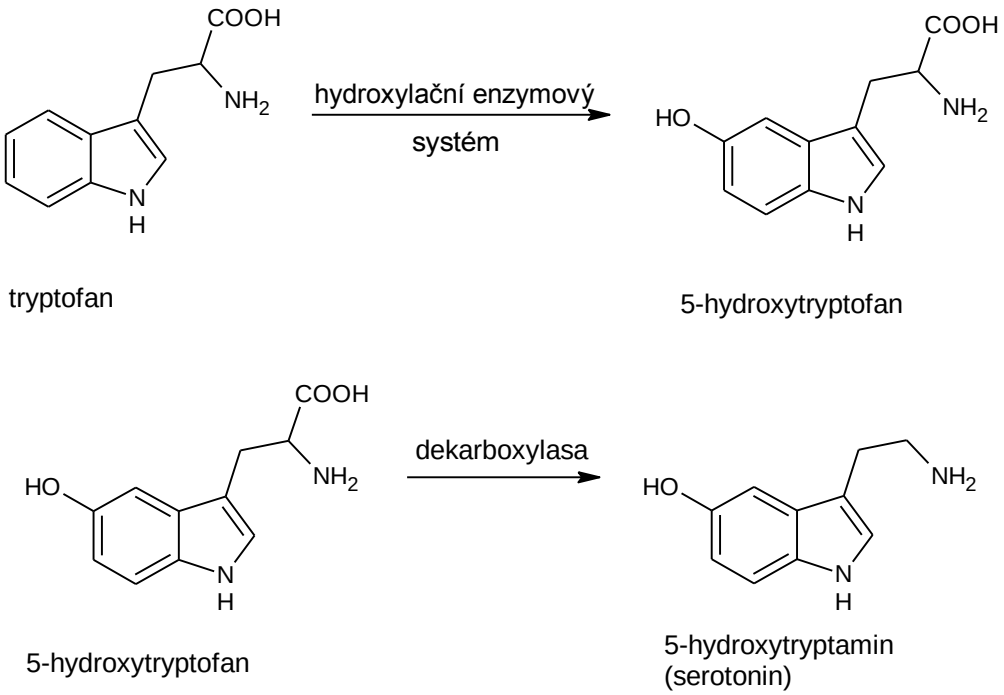


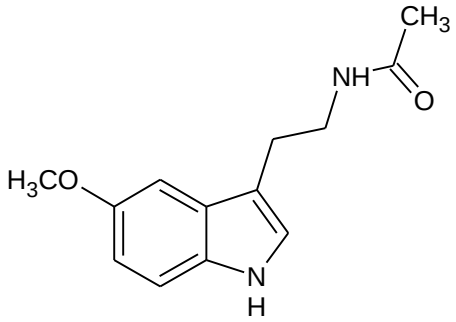
Schéma č. 2: Biosyntéza serotoninu **[14]**

Serotonin (obrázek č. 3) můžeme nalézt na trombocytech, které ho přenáší, ale nevytváří. Působí vasokonstrikčně a stimulačně na kontrakce hladkého svalstva a podporuje srážení krve. [15] V neuronech mozkového kmene ovlivňují tělesné funkce jako regulace tělesné teploty, krevního tlaku, spánek a vnímání bolesti. Dále se serotonin nachází ve střevní sliznici, kde zvyšuje svalový tonus a zvyšuje peristaltiku díky účinku na receptory hladké svaloviny a stimulaci ganglií ve stěně střeva. V GIT se nachází až 90 % serotoninu z celého

organismu. [16] U CNS funguje jako neurotransmiter. Serotonin se zde váže na serotonergní receptory (5-HT) a podle koncentrace v krvi ovlivňuje, jak se člověk cítí, což se využívá u léčby a regulace depresí zabráněním zpětného vychytávání neurotransmiteru ze synapsí nebo blokádou postsynaptických receptorů za účelem zvýšení hladiny serotoninu v presynaptickém prostoru. [15,17,18]. V opačném případě zvýšeného výskytu neurotransmiteru způsobuje migrény a nevolnost. [13]

2.4 Melatonin

Chemický název sloučeniny je 5-methoxy-N-acetyl-tryptamin nebo (N-[2-(5-methoxy-1*H*-Indol-3-yl)ethy]acetamid). [19]



Obrázek č. 4: Melatonin

Hormon řídící cirkadiální rytmy tzv. vnitřní hodiny, cyklus spánku a bdění tzv. cirkadiální rytmy, určuje kvalitu spánku, spouští pubertu a imunitní reakce. [19-21,23] Jeho produkce je řízena epifýzou (šišinka) N-acetylací serotoninu a potom O-methylací (schéma č. 3). Také je možnost vzniku přímou methylací serotoninu a 5-hydroxyindolacetátu. [22] Jeho funkcí v organizmu je, že ve spánku pomáhá snížit tepovou frekvenci a tělesnou teplotu. Dále má antioxidační účinky, podporuje imunitu a zpomaluje stárnutí. Hladina světla je detekována oční sítnicí a fotoreceptory, které se zde nacházejí, posílají signál do hypothalamu a dále do epifýzy. Produkce melatoninu se s přicházejícím světlem inhibuje, a to nejvýrazněji po probuzení, když podporuje bdělost. Melatoninové receptory jsou v těle rozptýleny v místech účinku cirkadiálních rytmů tedy vaječnících, cévách a střevním traktu. [23] Ve tmě se jeho hladina zvyšuje, což je protichůdné tvorbě serotoninu, která se naopak zvyšuje za světla. [19,23] Cirkulující melatonin je rychle metabolizován v tkáních, což je provedeno hydroxylací na polohu 6 a nato je konjugován buď s kyselinou glukuronovou, nebo sírovou. [22] Léčebné využití nachází při obtížích způsobených z přestupů časových pásem (pásmová nemoc). [21,23]

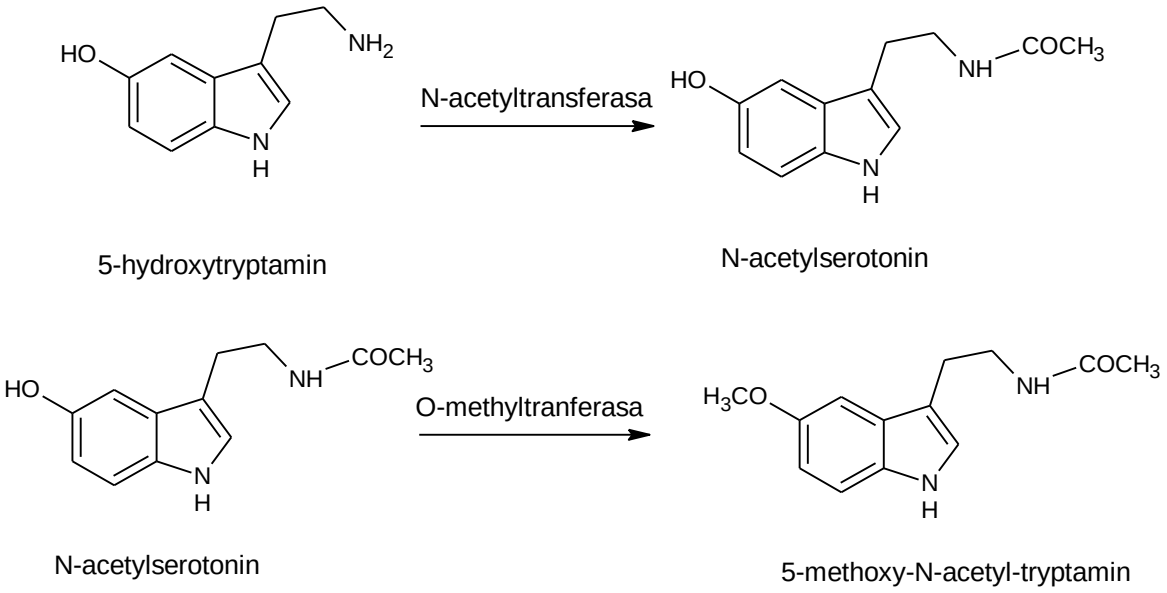


Schéma č. 3: Biosyntéza melatoninu [14]

2.5 Psilocybin

V přírodě se vyskytující *O*-fosfát psilocinu, nacházející se druzích hub *Conocybe, Inocybe, Panaeolus, Psilocybe* je také první v přírodě objevený fosforylovaný derivát indolu. [24]

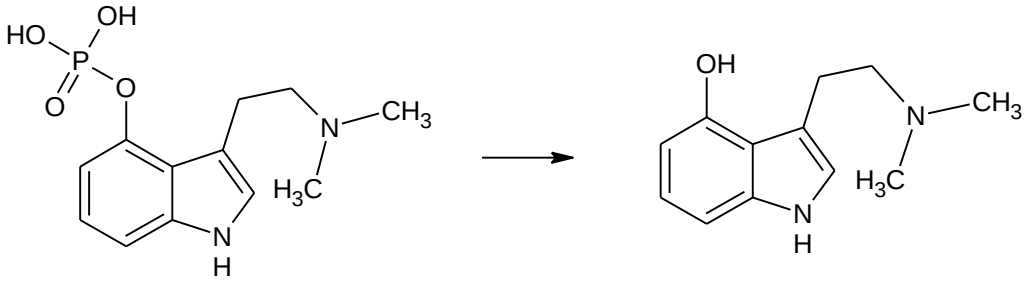


Schéma č. 4: Defosforylace psilocybinu

Psilocybin je látka s halucinogenními schopnostmi, projevující se již od dávky 4 mg. Při expozici dochází k rychlé defosforylaci na psilocin (schéma č. 4) a následnému přechodu do krevního řečiště. Farmakologický účinek funguje na principu podobnosti s biogenními aminy, díky čemuž psilocybin působí na periferních 5-HT receptorech. Účinky psilocybinu jsou velmi podobné účinkům LSD. Dochází ke změnám duševního stavu (změny nálad a vědomí, vnímání času). Podobnou reakci můžeme pozorovat na amfetamin a mezkalin. Toxická dávka se projevuje bezdůvodným smíchem a křečovitými pohyby a halucinacemi. [24]

Látky uměle vytvořené

2.6 Indometacin

[1-(4-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl]octová kyselina. Výroba tohoto farmaka je variantou Fischerovy syntézy indolu. [25] Indometacin se řadí mezi látky, někdy nazývané, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) -nesteroidní protizánětlivý lék, což je označení léků s antiflogistickými účinky. [25,26]

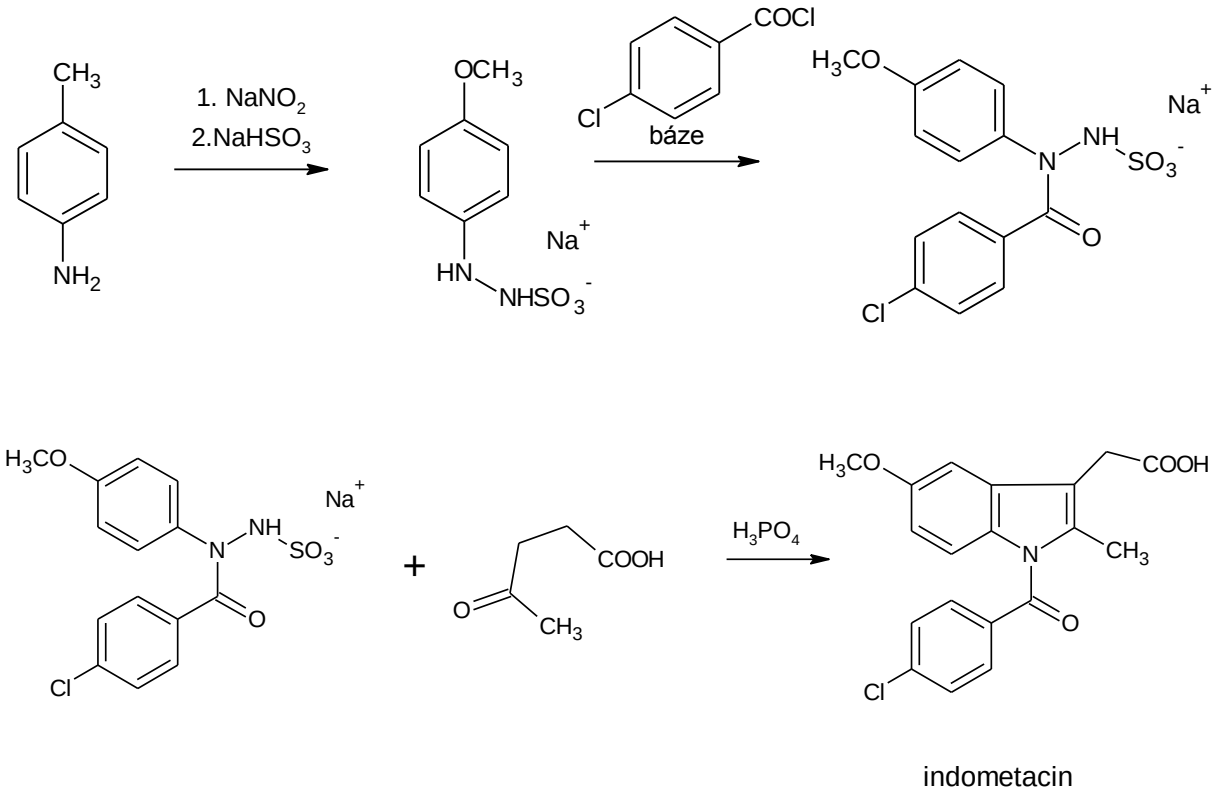


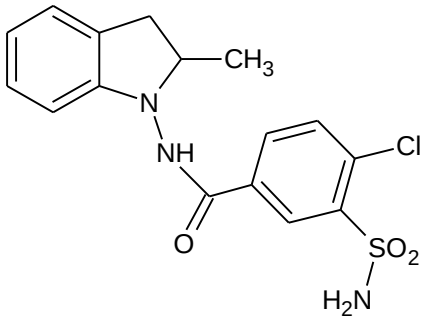
Schéma č. 5: Syntéza indometacinu [25]

Je to krystalická, bílá nebo světle žlutá sloučenina. Velmi dobře rozpustná v methanolu, dobře rozpustná v ethanolu a vodě. Řadí se mezi arylalkanové kyseliny. [25,27] Ve srovnání s kyselinou acetylsalicylovou působí toxičtěji a za jistých okolností účinněji. [28] Má význam pro své antirevmatické, antipyretické, antiflogistické a analgetické účinky. Funguje na principu inhibice enzymu cyklooxygenásy (COX iniciuje syntézu prostaglandinů, které působí v místě otoku či poranění bolestivě a zánětlivě). [25,26] Mezi nežádoucí účinky, které jsou u léčiva při perorálním podání, či vyšší dávce vyvolány se řadí dráždění gastrointesticiálního traktu, bolesti břicha a zánět slinivky břišní, silné bolesti hlavy, závratě a deprese. Dnes se indomethacin používá převážně na zevním způsobem, a to při pohybových

obtížích jako je revmatická artritida a artróza. [25,28,29] Podávání léčiva dětem je nevhodné s výjimkou nedonošených dětí s neuzavřenou ductus arteriosus (otevřená Bottalova dučej), kdy podání intravenózní infuze pomáhá potlačení tvorby prostaglandinů a tím jejího uzavření. [28]

2.7 Indapamid

Indapamid (obrázek č. 7) má chemický název (4-chlor-N-(2,3-dihydro-2-methyl-1H-indol-1-yl)-3-sulfamoylbenzamid. [30]

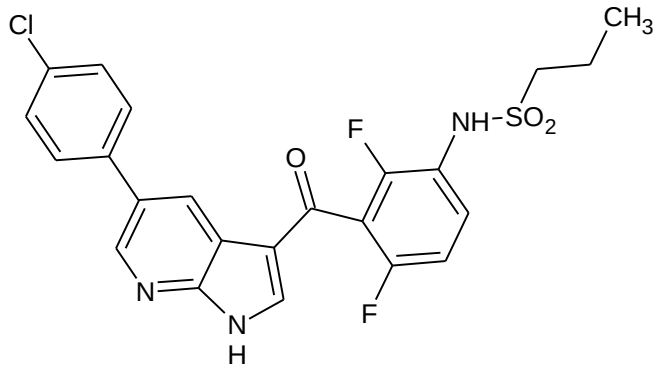


Obrázek č. 5: Indapamid

Nethiazidové sulfonamidové diuretikum s nesubstituovanou sulfonamidovou skupinou, které má kromě diuretických účinků i vasodilatační na hladké svaly cév. Díky tomu se funkce srdce nemění – po diuretiku by tlak měl poklesnout, takhle zůstává zachován nebo lehce stoupá. Indapamid potencuje léky založené na ACE inhibitorech, tedy pomáhá zabránit zužování koronárních arterií, léčbě hypertenze. Účinek sloučeniny je inhibice karbonátdehydrogenázy. Inhibuje zpětnou reabsorbci NaCl v distálním tubulu ledvin a snižuje vylučování vápníku močí. [31]

2.8 Vemurafenib

Chemicky propan-1-sulfonová kyselina {3-[5-(4-chlorfenyl)-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-3-karbonyl]-2,4-difluoro-fenyl}-amid propan-1-sulfonové kyseliny. [32]



Obrázek č. 6: Vemurafenib

Vemurafenib (obrázek č. 8) je léčivo prodlužující dobu života pro pacienty s melanomem způsobeném $BRAF^{V600E}$ mutací v metastazovaném nebo neoperovatelném stavu. Prognóza pacientů, kteří mají 4. stádium metastáze melanomu je cca 1 rok života. Funguje na principu inhibice BRAF kinázy. [32]

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

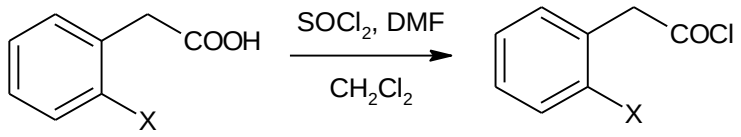
3.1 Použitá zařízení a analýzy

NMR spektra byla naměřena při laboratorní teplotě na přístroji Bruker AVANCE III s frekvencí 400,13 MHz (^{1}H) a 100,61 MHz (^{13}C) a Bruker Ascend^{TM} s frekvencí 500,13 MHz(^{1}H) a 125,78 MHz (^{13}C). NMR spektra byla měřena v deuteriochloroformu ($CDCl_3$) a dimethylsulfoxidu-d6. ^{1}H NMR spektra byla kalibrována v $CDCl_3$ na interní tetramethylsilan (δ = 0,00) a v DMSO-d6 na středový signál multipletu rozpouštědla (δ = 2,50). Uhlíkové chemické posuny byly kalibrovány ke středovému signálu multipletu rozpouštědla δ = 77,23 ($CDCl_3$) a δ = 39,51 (DMSO-d6). Uhlíková NMR spektra byla měřena standartním způsobem s širokopásmovým dekaplinkem protonů. Vzhled signálů je vyjádřen následovně: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), kv (kvintet), dd (dublet dubletů), td (triplet dubletů), m (multiplet). Pokud se jedná o rozšířený signál, je doplněn písmeny br.

Body tání byly stanoveny na Koflerově bloku a nebyly korigovány.

3.2 Příprava 2-halofenylacetylchloridu

Obecné schéma

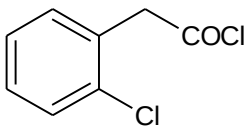


I **II**

Obecný postup

Bylo naváženo příslušné množství 2-halofenyloctové kyseliny. Ta byla umístěna do tříhrdlé baňky (100 ml), nasazen malý chladič a chlorkalciová zátka. Dále byl jehlou pod argonem do injekční stříkačky vytažen suchý CH_2Cl_2 a přidán k 2-halofenyloctové kyselině. Bylo přidáno pár kapek katalyzátoru DMF a roztok byl míchán magnetickým míchadlem. Přes přikapávačku s regulací tlaku se přibližnou rychlostí kapka/sec přidával $SOCl_2$ (1,2 ekv., d=1,64 g/cm^3.). Počátek reakce se projevil únikem bublinek plynu. Míchání bylo ponecháno do druhého dne. Stopy $SOCl_2$ a CH_2Cl_2, byly odstraněny destilací za sníženého tlaku. Destilační zbytek byl analyzován pomocí protonové NMR spektroskopie.

3.2.1 2-Chlorfenylacetylchlorid (IIa)



a: Cl

b: Br

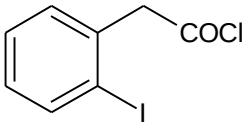
c: I

IIa

Sloučenina byla připravena z 2-chlorfenyloctové kyseliny (8,53 g, 0,05 mol) a thionylchloridu (4,35 ml, 0,06 mol). Při reakci bylo použito 30 ml suchého dichlormethanu. Produkt nebyl zvážen a byl rovnou použit do další reakce. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,30 (s, 2H); 7,26–7,31 (m, 3H); 7,43 (d, J = 7,8 Hz, 1H) ppm.

3.2.2 2-Jodfenylacetylchlorid (IIc)



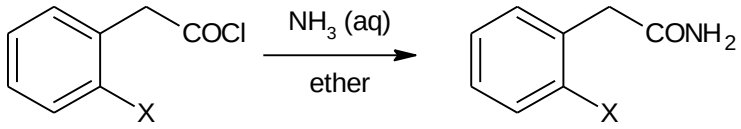
IIc

Sloučenina byla připravena z 2-jodfenyloctové kyseliny (18,34 g, 0,07 mol) a thionylchloridu (6,127 ml, 0,084 mol). Při reakci bylo použito 42 ml suchého dichlormethanu. Produkt nebyl zvážen a byl rovnou použit do další reakce. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,34 (s, 2H); 7,04 (td, J_1 = 1,6 Hz, J_2 = 7,7 Hz, 1H); 7,28 (dd, J_1 = 1,7 Hz, J_2 = 7,7 Hz); 7,36 (td, J_1 = 1,2 Hz, J_2 = 7,5 Hz, 1H); 7,88 (dd, J_1 = 1,1 Hz, J_2 = 7,9 Hz, 1H) ppm.

3.3 Příprava 2-halofenylacetylamidu

Obecné schéma

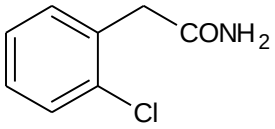


II **III**

Obecný postup

Bylo použito tříhrdlé baňky (100 ml), malého chladiče a přikapávačky. Byl přidán ether jako rozpouštědlo a do přikapávačky koncentrovanývodný roztok amoniaku. Baňka byla postavena do ledové lázně. Za stálého míchání byl přikapáván NH_3. Přídavky NH_3 hned reagovaly s 2-halofenylacetylchloridem. Ihned byla pozorována bouřlivá reakce v podobě masivního vývoje plynu, směs se rychle zahušťovala, že bylo ji nutné ředit přídavky diethyletheru, aby bylo míchání magnetickým míchadlem umožněno. Po přídavku veškerého NH_3 byl vzniklý 2-halofenylacetamid odsát a důkladně promyt vodou a sušen na vzduchu.

3.3.1 2-Chlorfenylacetamid (IIIa)

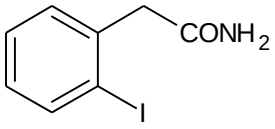


IIIa

Sloučenina byla připravena z 2-chrorfenylacetylchloridu, který byl okamžitě použit z předchozí reakce (0,05 mol) a amoniaku (40 ml). Při reakci bylo použito 15 ml etheru. Výtěžek činil 5,11 g, což je 60 % teoretického výtěžku 2-chlorfenylacetamidu po dvou krocích. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 3,55 (s, 2H); 6,95 (br s, 1H); 7,24–7,29 (m, 2H); 7,34–7,35 (m, 1H); 7,39–7,41 (m, 2H), 7,45 (br s, 1H) ppm.

3.3.2 2-Jodfenylacetamid (IIIc)



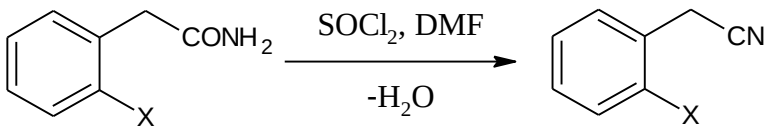
IIIc

Sloučenina byla připravena z 2-jodfenylacetylchloridu, který byl okamžitě použit z předchozí reakce (0,07 mol) a amoniaku (56 ml). Při reakci bylo použito 21 ml etheru. Výtěžek byl 18,01g, což činí 98,5 % 2-jodfenylacetamidu po dvou krocích. Výsledný produkt **IIIc** měl barvu nažloutlou. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění. Bod tání byl naměřen 181–182 °C. Literatura [33] udává 180–182 °C.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 3,55 (s, 2H); 6,96–7,00 (m, 2H); 7,29–7,36 (m, 2H); 7,44 (br s, 1H), 7,81–7,83 (m, 1H) ppm.

3.4 Příprava 2-halofenylacetonitrilu

Obecné schéma



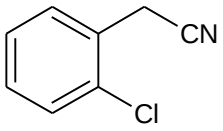
III **IV**

Obecný postup

Na tříhrdlou baňku byl nasazen vzdušný chladič opatřený chlorkalciovou zátkou, teploměrem a přikapávačkou . Válcem bylo nalito (7 ekv., d=0,944 g/cm³) DMF. Baňka byla zchlazena v Dewarově nádobě na teplotu –11 °C směsí ledu a acetonu. Po ochlazení bylo do přikapávačky přidáno (4,2 ekv., d = 1,64 g/cm^3) $SOCl_2$, Z přikapávačky byl přidáván thionylchlorid za míchání rychlostí cca kapka/5 sec. Po přidání veškerého thionylchloridu byl do směsi přidán 2-halofenylacetamid a ponechán v ledové lázni do druhého dne.

Poté byla směs vylita do 200 ml vody a extrahována dichlormethanem (50 ml). Separované vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla extrahována dichlormethanem (50 ml). Spojené organické vrstvy byly střídavě extrahovány vodou a solankou (3 × 100 ml). Organická vrstva byla sušena bezvodým síranem sodným a odpařena na vakuové odparce, čímž byl získán surový nitril.

3.4.1 2-Chlorfenylacetonitril (IVa)

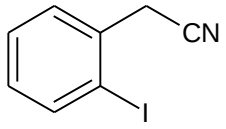


IVa

Sloučenina byla připravena z 2-chlorfenylacetamidu (5 g, 0,0295 mol), thionylchloridu (8,98 ml, 0,1239 mol) a DMF (16ml, 0,2065mol). Po noci míchání je produkt nahnědlý. Výtěžek činil 3,74 g, což je 84 % 2-chlorfenylacetonitrilu. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,84 (s, 2H); 7,29–7,35 (m, 2H); 7,40–7,44 (m, 1H); 7,51–7,54 (m, 1H) ppm.

3.4.2 2-Jodfenylacetonitril (IVc)



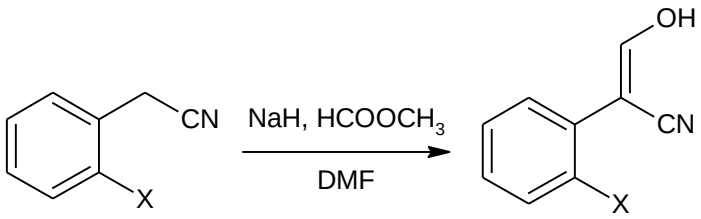
IVc

Sloučenina byla připravena z 2-jodfenylacetamidu (18,01 g, 0,068 mol), thionylchloridu (20,7 ml, 0,2856 mol) a DMF (36,9 ml, 0,476 mol). Výtěžek činil 12,87 g, což je 77 % 2-jodfenylacetonitrilu. Surový produkt byl čištěn vakuovou destilací. Produkt měl barvu nažloutlého oleje.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,82 (s, 2H); 7,04 (td, J_1 = 1,4 Hz, J_2 = 7,7 Hz, 1H); 7,40 (td, J_1 = 1,1 Hz, J_2 = 7,5 Hz, 1H); 7,54 (dd, J_1 = 1,1 Hz, J_2 = 7,7 Hz, 1H); 7,88 (dd, J_1 = 1,1 Hz, J_2 = 7,9 Hz, 1H) ppm.

3.5 Příprava 3-hydroxy-2-(2-halofenyl)akrylonitrilu

Obecné schéma

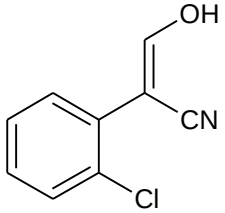


IV **V**

Obecný postup

Aparatura musela být dobře vysušena, kvůli provedení na lince vakuum inert. Byla připravena tříhrdlá baňka se vzdušným chladičem, přikapávačka a přívod argonu. Na vzdušný chladič byl nasazen navrch kohout a na přikapávačku bylo nasazeno septum. Do baňky bylo naváženo na analytických vahách (2,2 ekv.) NaH. Aparatura byla 3 × evakuována a zpětně naplněna argonem. Do přikapávačky byl přes septum stříkačkou předložen suchý DMF a vpuštěn do baňky. Do přikapávačky bylo předloženo 12 ml suchého DMF a předem připravený roztok 2-halofenylacetonitrilu v suchém DMF. Poté byl přidán ester kyseliny mravenčí (10 ekv., d = 0.98 g/cm^3). Směs v přikapávačce byla velice pomalu (cca kapka/2 sec.) přidávána k suspenzi hydridu v DMF za chlazení. Postupně bylo pozorováno vyvíjení bublinek vodíku a změna barvy směsi na žlutou až oranžovou. Roztok byl ponechán reagovat do druhého dne. Reakce byla zastavena přídavkem nasyceného vodného roztoku chloridu amonného (30 ml) za chlazení. Poté bylo přilito dalších 15 ml HCl (1:1). Směs byla poté extrahována EtOAc (100 ml) a vzniklé vrstvy byly odděleny. Vodná vrstva byla opět extrahována 50 ml.EtOAc Spojené organické vrstvy byly střídavě extrahovány vodou a solankou (3 × 100 ml), poté vysušeny síranem sodným a odpařeny.

3.5.1 3-Hydroxy-2-(2-chlorfenyl)akrylonitril (Va)



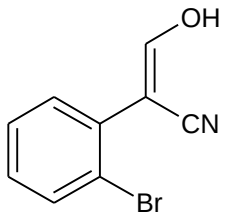
Va

Sloučenina byla připravena z 2-(chlorfenyl)acetonitrilu (3,74 g, 0,025 mol), ethylesteru kyseliny mravenčí (19,7 ml, 0,25 mol), DMF (26 ml, 0,335 mol) + DMF na rozpuštění (15 ml) a NaH (1,3 g, 0,055 mol). Bylo naváženo 4,43 g, což činí 99 % 3-hydroxy-2-(2-chlorfenyl)akrylonitrilu ve formě pevné žlutooranžové látky. Produkt je směs E/Z izomerů v poměru cca 1:3:1. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění. Bod tání: 117–119 °C.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 7,34–7,43 (m, $3H_A$ + $3H_B$); 7,50–7,53 (m, H_A + H_B); 7,61 (s, H_A); 7,72 (s, H_B) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO): δ = 87,2; 116.4; 127,9; 129,8; 130,06; 131,6; 132,7; 162,7 ppm (izomer A); δ = 87,2; 119,5; 127,4; 129,5; 130,09; 130,8; 132,5; 133,0; 159,8 ppm (izomer B).

3.5.2 3-Hydroxy-2-(2-bromfenyl)akrylonitril (Vb)

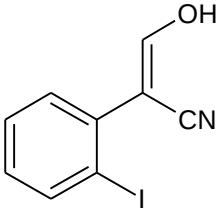


Vb

Sloučenina byla připravena z 2-bromfenylacetonitrilu **(IVb)** (4,9 g, 0,025 mol), methylesteru kyseliny mravenčí (15 ml, 0,25 mol), DMF (26 ml, 0,335 mol) + DMF na rozpuštění (15 ml) a NaH (1,3 g, 0,055 mol). Výtěžek je 5,23 g, což činí 93,3 % 3-hydroxy-2-(2-bromfenyl)akrylonitrilu. Produkt je směs E/Z izomerů v poměru cca 4:5. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 7,27–7,31 (m, H_A + H_B); 7,37–7,43 (m, $2H_A$ + $2H_B$); 7,55 (s, $1H_A$); 7,67–7,69 (m, $2H_B$ + H_A) ppm.

3.5.3 3-Hydroxy-2-(2-jodfenyl)akrylonitril (Vc)



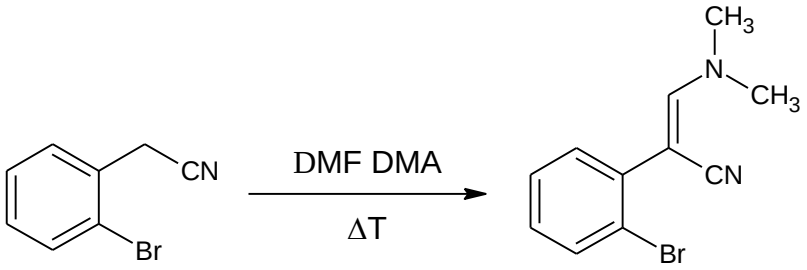
Vc

Sloučenina byla připravena z 2-jodfenylacetonitrilu **(IVc)** (4,9 g, 0,025 mol), methylesteru kyseliny mravenčí (6 ml, 0,01 mol), DMF (26 ml, 0,335 mol) + DMF na rozpuštění (15 ml) a NaH (1,3 g, 0,055 mol). Výtěžek činil 6,25 g, což je 92 % 3-hydroxy-2-(2-jodfenyl)akrylonitrilu. Produkt je směs E/Z izomerů v poměru cca 1:1. Podle NMR byl produkt dostatečně čistý pro použití do dalšího reakčního kroku bez čištění. Bod tání:85–87 °C.

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO): δ = 7,08–7,12 (m, H_A + H_B); 7,31 (dd, J_1 = 1,6 Hz, J_2 = 7,7 Hz, H_A); 7,36 (dd, J_1 = 1,7 Hz, J_2 = 7,6 Hz, H_B); 7,40–7,44 (m, H_A + H_B); 7,47 (s, H_A); 7,67 (s, H_B); 7,92–7,94 (m, H_A + H_B) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO): δ = 92,4; 100,6; 119,4; 129,0; 130,3; 131,5; 136,3; 139,7; 159,1 ppm (izomer A); δ = 92,9; 101,0; 116,3; 128,7; 130,1; 131,9; 135,5; 139,3; 162,3 ppm (izomer B).

3.6 Příprava N, N-dimethyl-3-amino-2-(2-bromfenyl)akrylonitrilu (VIb)

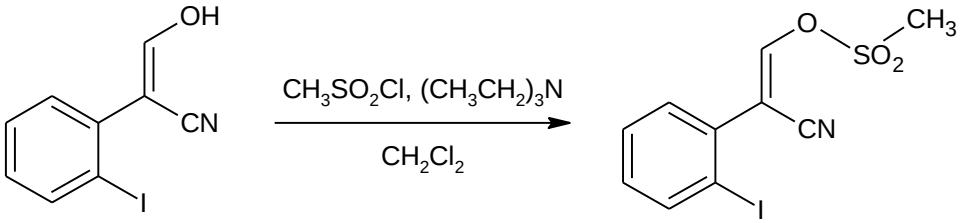


IVb **VIb**

Sloučenina byla připravena z 2-bromfenylacetonitrilu (2 g, 0,01 mol), DMF DMA (12,2 ml, 0,09 mol, d = 0.897 g/cm^3). Na baňku byl nasazen chladič a směs byla zahřívána na 90 °C a míchá do druhého dne. Druhý den bylo přebytečný DMF DMA odpařen. Výtěžek byl 3,59 g, což odpovídá více než 100 % teoretického výtěžku. Surový reakční produkt byl použit do dalšího reakčního kroku. Produkt je směsí E/Z izomerů v poměru cca 1:2,7.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 2,72 (br s, 6H_A); 3,22 (s, 6H_B); 6,60 (s, H_B); 6,82 (s, H_A); 7,06–7,10 (m, H_B); 7,12–7,16 (m, H_A); 7,24–7,37 (m, 2H_A + 2H_B); 7,56–7,59 (m, H_A + H_B) ppm.

3.7 Příprava 2-kyano-2-(2-jodfenyl)ethenyl methansulfonátu (VIIc)

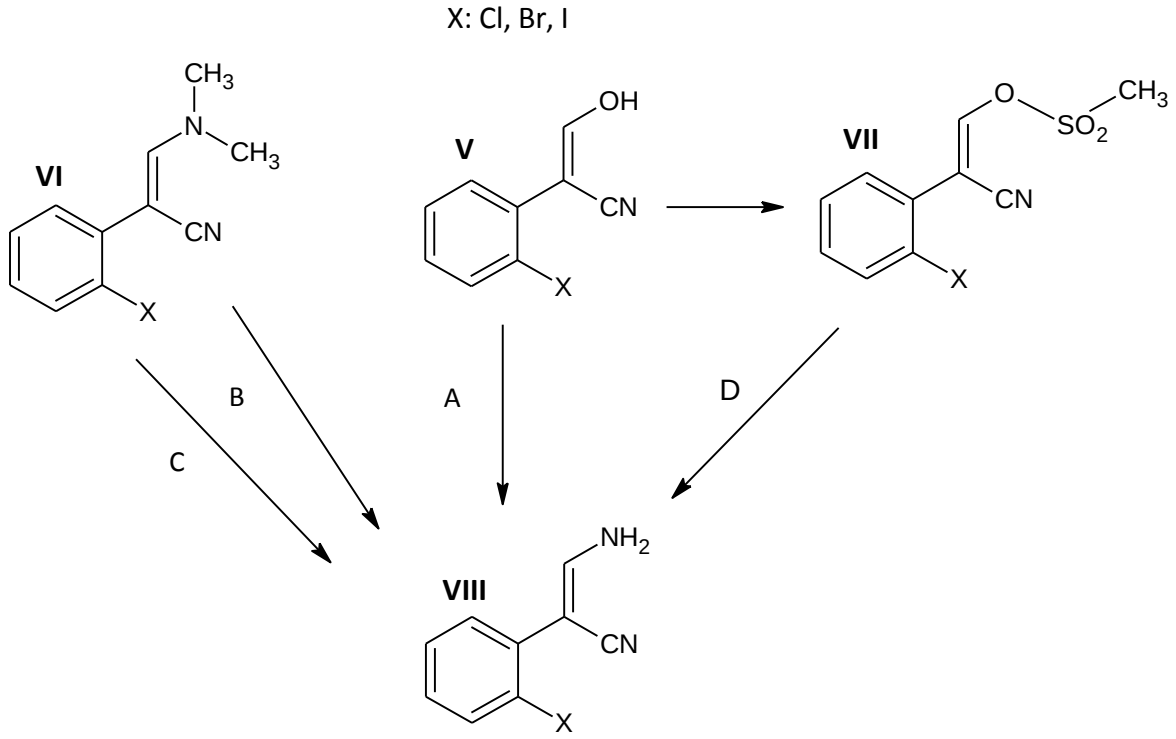


Vc **VIIc**

Sloučenina byla připravena z 3-hydroxy-2-(2-jodfenyl)akrylonitrilu **(Vc)** (4,5 g, 0,017 mol), suchého dichlormethanu (20 ml), triethylaminu (3,47 ml, 0,0249 mol) a methansulfonyl chlorid (1,41 ml, 0,018 mol). Byla použita 50 ml tříhrdlá baňka se vzdušným chladičem, přikapávačkou a chlorkalciovou zátkou. Do baňky byl předložen 3-hydroxy-2-(2-jodfenyl)akrylonitril, přidán suchý CH_2Cl_2 a pipetován $(CH_3CH_2)_3N$. Do přikapávačky bylo vloženo 1,41 ml (1,1 ekv.) CH_3SO_2Cl, který byl opatrně přikapáván. Reakční směs byla míchána za laboratorní teploty přes noc, až bylo pomocí TLC potvrzeno úplné vymizení výchozí látky. Ke směsi byla přidána voda (3 × 100ml), organická vrstva byla oddělena, sušena bezvodým síranem sodným a odpařena. Bylo získáno 3,77 g (65 %) pevného, cihlově červeného 2-kyano-2-(2-jodfenyl)ethenyl methansulfonátu. Produkt je směsí E/Z izomerů v poměru cca 1,2:1.

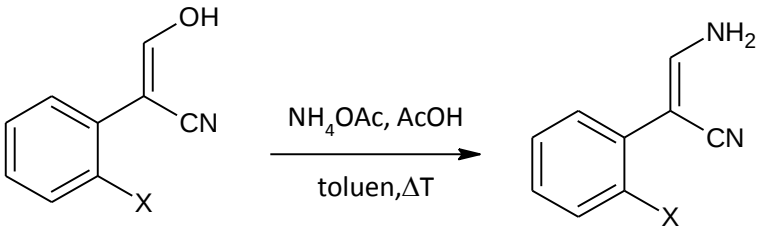
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,20 (s, $3H_A$); 3,35 (s, $3H_B$); 7,13–7,16 (m, $H_A + H_B$); 7,27–7,29 (m, H_A); 7,33–7,35 (m, H_B); 7,42–7,45 (m, $H_A + 2H_B$); 7,61 (s, H_A); 7,93–7,96 (m, $H_A + H_B$) ppm.

Přehled metod k přípravě enaminonitrilu



3.8 Metoda A

Obecné schéma



V **VIII**

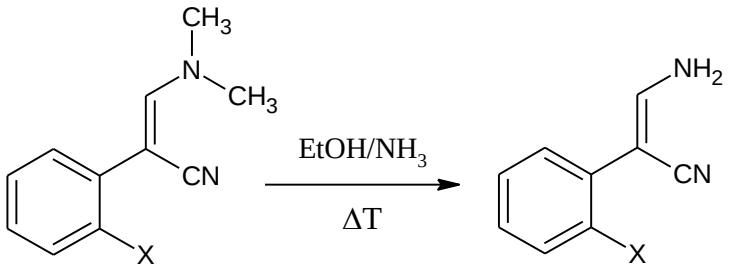
Obecný postup

Do 250 ml baňky s míchadlem, Dewarovou nádobou a chladičem. Míchačka byla opatřena tepelným čidlem. Do baňky bylo předloženo (0,023 mol) 3-hydroxy-2-(2-halofenyl)-akrylonitrilu **V** a (10 ekv., 0,23 mol) $AcONH_4$ přes násypku. Poté bylo přilito 120 ml toluenu/EtOH a pipetováno (1,8 ml, 0,03 mol) CH_3COOH jako katalyzátoru. Po nastavení míchání a teploty na 110 °C byla směs ponechána reagovat do druhého dne.

Druhý den byl na baňku přidán mi-so nástavec a byla vydestilována ze směsi přebytečná voda. Obsah baňky částečně zkrystalizoval a do baňky bylo vlito 60 ml ethylacetátu a 60 ml nasyceného vodného roztoku $NaHCO_3$, dokud obsah nebyl rozpuštěn. Organická vrstva byla oddělena a následně extrahována 2 × 100 ml solanky a 2 × 100 ml vody, vysušena bezvodým síranem sodným a odpařena.

3.9 Metoda B

Obecné schéma



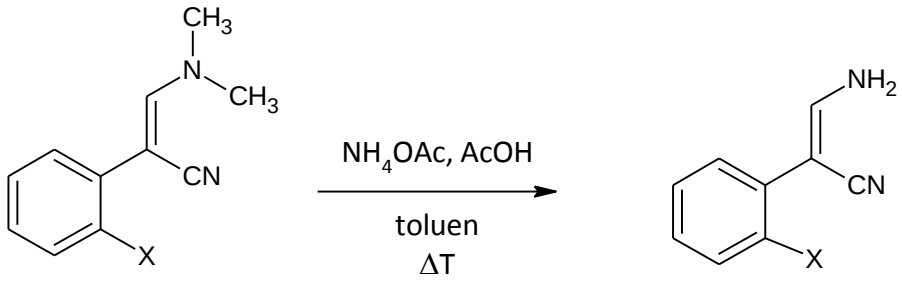
VI **VIII**

Obecný postup

Do 100 ml baňky bylo vloženo 0,0046 mol **VIb** a bylo přilito se 50 ml ethanolického amoniaku. Bylo vloženo míchadlo a směs byla po 2 týdny míchána za laboratorní teploty. Následně byla reakční směs zahřívána k varu po dobu 7 h. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua.

3.10 Metoda C

Obecné schéma



VI **VIII**

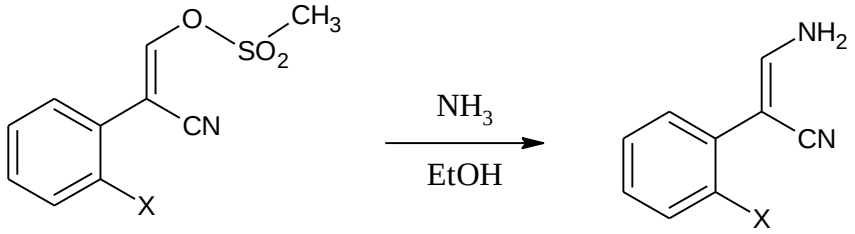
Obecný postup

Do baňky opatřené magnetickým míchadlem a zpětným chladičem bylo k (1,15 g, 0,0046 mol) *N, N*‘-dimethyl-3-amino-2-(2-bromfenyl)akrylonitrilu **VI** nasypáno (3,5 g, 10

ekv.) CH_3COONH_4, CH_3COOH (1 ml, 3,7 ekv.) a 20 ml toluenu. Do baňky bylo vloženo míchadlo a nasazen chladič. Směs byla refluxována při 150 °C po dobu 5 a ¼ hod. Druhý den byl obsah baňky vytřepán s (2 × 20ml) nasyceným vodným roztokem $NaHCO_3$ a 1 × 100 ml solankou. Horní vrstva byla vysušena Na_2SO_4, zfiltrována do baňky a odpařena. Výtěžek je 1,07 g, což je více než 100 % teoretického výtěžku.

3.11 Metoda D

Obecné schéma

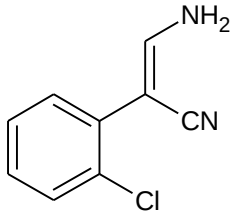


VII **VIII**

Obecný postup

Do baňky opatřené magnetickým míchadlem a vzdušným chladičem k (0,01mol) mesylátu **VII** bylo nalito 30 ml ethanolického amoniaku a vloženo míchadlo. Směs byla míchána za laboratorní teploty přes noc. Rozpouštědlo bylo odpařeno na odparce a odparek byl rozmíchán v dichlormethanu. Směs byla vysušena síranem sodným a rozpouštědlo bylo odpařeno.

3.9.1 3-Amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitril (VIIIa)



VIIIa

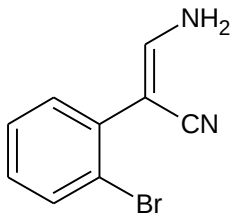
Metoda A: Sloučenina byla připravena z 3-hydroxy-2-(2-chlorfenyl)akrylonitrilu **(Va)** (4,43 g, 0,025 mol), kyseliny octové (1,8 ml, 0,018 mol) a octanu amonného (19 g, 0,246 mol). Směs byla po smíchání látek udržována při teplotě 100 °C do druhého dne. Výtěžek činil 3,63 g (83 %) výsledného, kapalného produktu temně červené barvy. Surový produkt

byl podroben sloupcové chromatografii (silikagel/DCM: EtOAc 20:1) a bylo obdrženo 2,06 g (47 %) 3-amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitrilu. Produkt byl nahnědlý v pevném skupenství. Bod tání:70–72 °C.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,68 (br d, J = 9,5 Hz, $2H_A$); 5,22 (br d, J = 8,6 Hz, $2H_B$); 7,09 (t, J = 11,1 Hz, H_A); 7,14–7,31 (m, $2H_A + 4H_B$); 7,35–7,37 (m, $H_A + H_B$); 7,44–7,46 (m, H_A) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 80,0; 121,5; 127,7; 129,7; 130,0; 130,6; 131,9; 134,5; 146,7 ppm (izomer A); 80,1; 118,1; 127,3; 128,2; 130,1; 130,4; 132,3; 132,6; 150,2 ppm (izomer B).

3.9.2 3-Amino-2-(2-bromfenyl)akrylonitril (VIIIb)

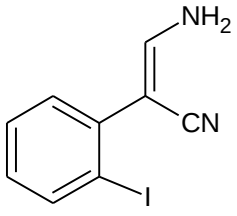


VIIIb

Metoda A: Sloučenina byla připravena z 3-hydroxy-2-(2-bromfenyl)akrylonitrilu (**IV**) (5,23 g, 0,023 mol), kyseliny octové (1,8 ml, 0,018 mol) a octanu amonného (18 g, 0,234 mol). Bylo získáno 4,43 g, což odpovídá 83 % teoretického výtěžku ve formě nažloutlého oleje. Produkt byl přečištěn na chromatografické koloně (silikagel/DCM: EtOAc 20:1), kde bylo získáno 2,99 g bílé krystalické látky, což odpovídá 57 %. Produkt je směsí E/Z izomerů v poměru cca 1:1,7.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,44 (br s, $2H_A$); 5,01 (br s, $2H_B$); 7,05–7,17 (m, $H_A + 2H_B$); 7,21–7,25 (m, H_A); 7,26–7,31 (m, $2H_A + H_B$); 7,36–7,37 (m, H_B); 7,58–7,60 (m, H_B); 7,67–7,69 (m, H_A) ppm.

3.11.1 3-Amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitril (VIIIc)



VIIIc

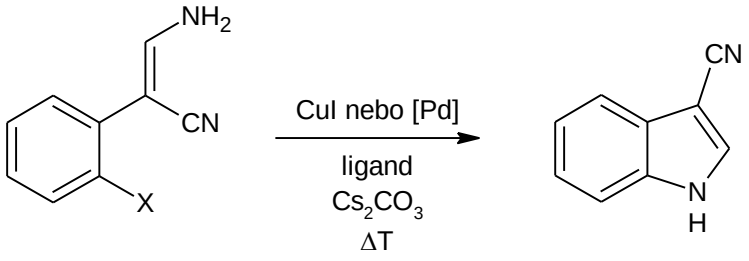
Metoda D: Sloučenina byla připravena z (3,77 g, 0,01 mol) 2-kyano-2-(2-jodfenyl)ethenyl methansulfonátu **(VIIc)** a 30 ml ethanolického amoniaku. Bylo získáno 2,88 g (99 %). Byla provedena sloupcová chromatografie (silikagel/DCM: EtOAc 20:1). Bylo získáno 0,62 g 3-amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitrilu, což je 21 % teoretického výtěžku. Produkt byl v sypké formě béžové barvy. Bod tání: 100–102 °C.

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 4,54 (br d, J = 9,2 Hz, $2H_A$); 5,12 (br d, J = 9,2 Hz, $2H_B$); 6,95 (td, J_1 = 1,7 Hz, J_2 = 7,8 Hz, H_B); 6,98–7,09 (m, $2H_A + H_B$); 7,24 (dd, J_1 = 1,7 Hz, J_2 = 7,6 Hz, H_B); 7,29–7,33 (m, $H_A + H_B$); 7,39 (td, J_1 = 1,2 Hz, J_2 = 7,6 Hz, H_A); 7,86 (dd, J_1 = 1,2 Hz, J_2 = 8,0 Hz, H_B); 7,94 (dd, J_1 = 1,0 Hz, J_2 = 8,0 Hz, H_A) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ = 86,0; 101,2; 121,0; 129,3; 130,4; 131,8; 135,6; 140,4; 146,3 ppm (izomer A); 85,4; 100,0; 117,7; 128,8; 129,1; 130,6; 137,9; 140,1; 150,2 ppm (izomer B).

3.12 Cyklizace na indolový kruh

Obecné schéma



VIII **IX**

3.12.1 Metoda A:

Byla připravena lahvička s míchadlem, dobře vysušená v sušárně. Do ní bylo naváženo 3-amino-2-(2-halofenyl)-akrylonitrilu **VIII** (0,5 mmol), 9,5 mg (10 mol.%) CuI, 195,5 mg (1,2 ekv.) Cs_2CO_3 a 19,3mg (20 mol.%) příslušného ligandu. Lahvička byla uzavřena víčkem se septem a 3× evakuována a zpětně naplněna argonem. Do lahvičky byl ze stříkačky přidán suchý toluen. Směs byla zahřívána na 100 °C a míchána danou dobu. Poté byla přefiltrována přes vrstvu Cellitu, která byla následně důkladně promyta ethyl-acetátem. Filtrát byl odpařen.

3.12.2 Metoda B:

Do lahvičky bylo naváženo 22,9 mg (5 mol.%) $Pd_2(dba)_3$ s 24,2 mg (10 mol.%) tBu Brett Phos. Lahvička byla uzavřena víčkem se septem a 3× evakuována a plněna argonem. Dále byly stříkačkou přidány 3 ml tBuOH a půl hodiny byla směs udržována při teplotě 80 °C. Poté byl obsah lahvičky převeden stříkačkou k obsahu druhé lahvičky, která obsahovala 3-amino-2-(2-halofenyl)-akrylonitril a 195 mg (1,2 ekv.) Cs_2CO_3 a byla taktéž evakuována a zpětně naplněna argonem. Směs byla rozpuštěna v ethylacetátu, zfiltrována na fritě přes Cellit a odpařena.

3.12.3 Metoda C:

Do lahvičky s míchadlem bylo naváženo (0,5 mmol) 3-amino-2-(2-halofenyl)-akrylonitrilu, 12,6 mg (4 mol. %) Pd allyl tBuBrett Phos$^+$ TfO_4^-, 195 mg Cs_2CO_3 a 9,7 mg (4 mol.%) t-Bu Brett Phos. Lahvička byla uzavřena víčkem se septem a 3× evakuována a naplněna argonem. Ke směsi bylo stříkačkou přidáno 3 ml tBuOH. Směs byla ponechána reagovat při teplotě 80 °C po dobu, než bylo TLC destičkou určeno, že došlo ke konverzi. Směs byla poté rozpuštěna v ethylacetátu, zfiltrována na fritě přes celit a odpařena.

3.12.3.1 Cyklizace 3-Amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitrilu

Metoda B: Bylo naváženo 89 mg 3-amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitrilu. Reakce byla ukončena po 3 dnech, než byla zpracována.

3.12.3.2 Cyklizace 3-Amino-2-(2-bromfenyl)-akrylonitrilu

Metoda A: Sloučenina byla připravena z (112 mg, 0,05 mol) 3-amino-2-(2-bromfenyl)-akrylonitrilu a DESA (19,3 g, 0,1 mmol). Směs byla zpracována po 3 dnech.

Metoda B: Bylo naváženo 111,5 mg 3-amino-2-(2-bromfenyl)-akrylonitrilu. Směs byla zpracována po 3 dnech.

Metoda C: Bylo naváženo 111,5 mg 3-amino-2-(2-bromfenyl)-akrylonitrilu. Reakce byla ukončena po 22 hod.

3.12.3.3 Cyklizace 3-Amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitrilu

Metoda A: Sloučenina byla připravena z (135 mg, 0,05 mol) 3-amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitrilu a DESA (19,3 g, 0,1 mmol). Směs byla zpracována po 3 dnech.

Metoda A: Sloučenina byla připravena z (135 mg, 0,05 mol) 3-amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitrilu, DMEDA (10,7 ml, 0,1 mmol). DMEDA byl vstříknut až po přidání toluenu. Směs byla zpracována po 3 dnech.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Retrosyntetická analýza

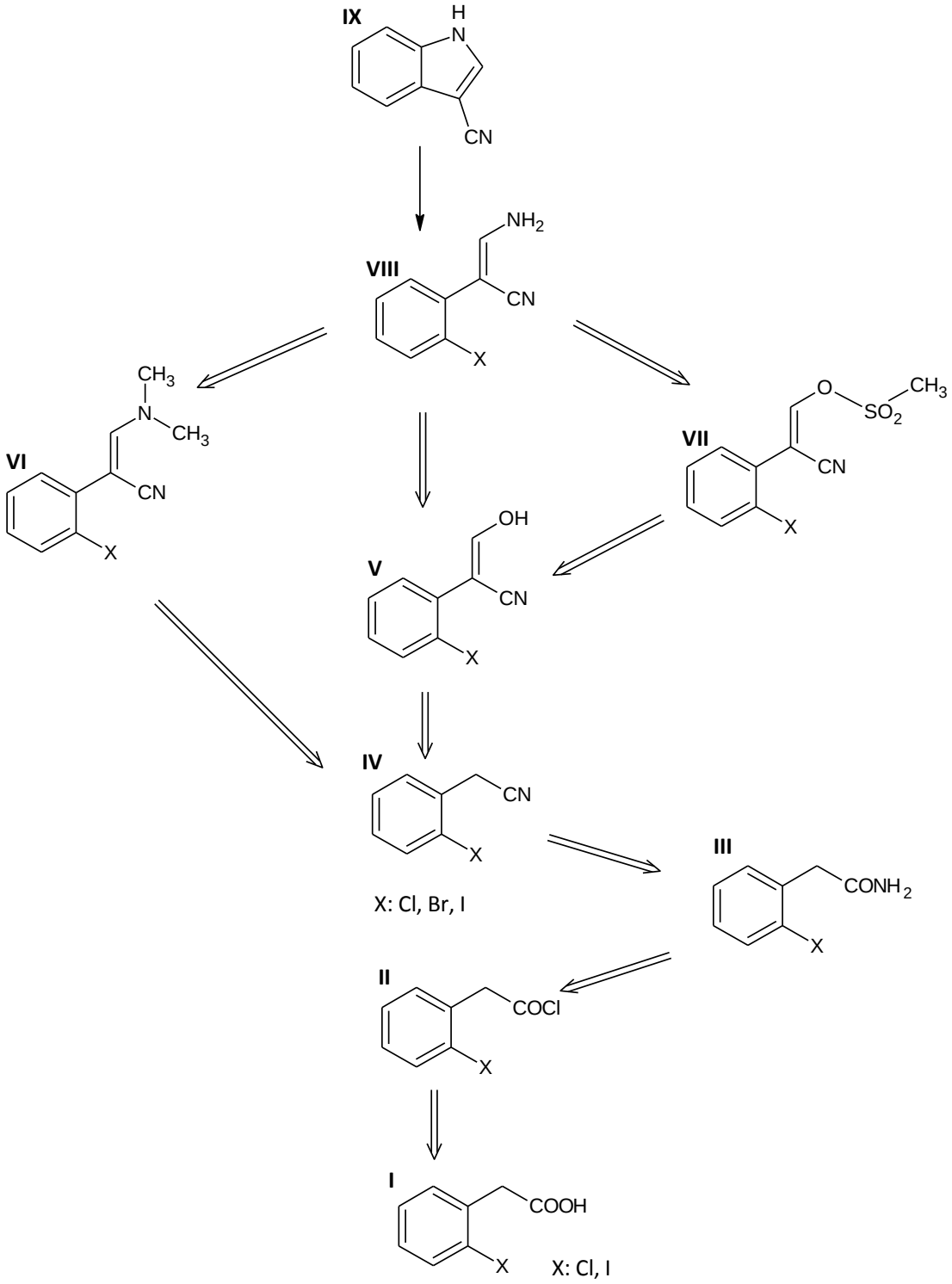


Schéma č. 6: Retrosyntetická analýza enaminonitrilu

Toto schéma retrosyntetické analýzy indol-3-karbonitrilu zobrazuje cesty, které vedou na příslušný 2-halofenylacetonitril. Tyto zkoumané cesty byly tři a ne všechny byly úspěšné. Dále zmíněné 2-halofenylacetonitrily byly připraveny dehydratací příslušných 2-halofenylacetamidů získaných z 2-halofenylacetchloridů zavedením aminoskupiny. 2-Halofenylacetylchloridy byly připraveny z příslušných kyselin.

4.1.1 Příprava 2-halofenylacetonitrilu IV

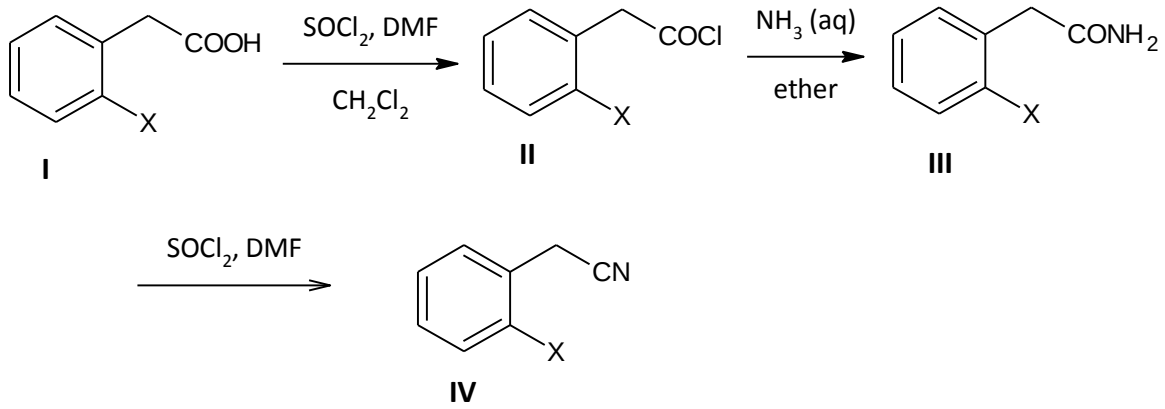


Schéma č. 7: Reakční schéma přípravy 2-halofenylacetonitrilu

Pro přípravu 2-halofenylacetonitrilu se vycházelo z 2-halofenyloctové kyseliny, kde (X= Cl, I). K převedení 2-halofenyloctové kyseliny na příslušný chlorid (schéma č. 7) bylo použito $SOCl_2$. Vzniklý chlorid byl reakcí s vodným roztokem amoniaku převeden na příslušný 2-halofenylacetamid. Výtěžek 2-chloracetamidu byl pouze 60 % oproti 2-jodacetamidu (98 %). Oba vzniklé amidy byly dehydratovány působením Villsmeierova činidla (DMF + $SOCl_2$) na příslušné nitrily s dobrými výsledky: 84 % 2-chlofenylacetonitril a 77 % 2-jodfenylacetonitril.

4.1.2 Příprava enaminonitrilu VIII

4.1.2.1 Metoda A

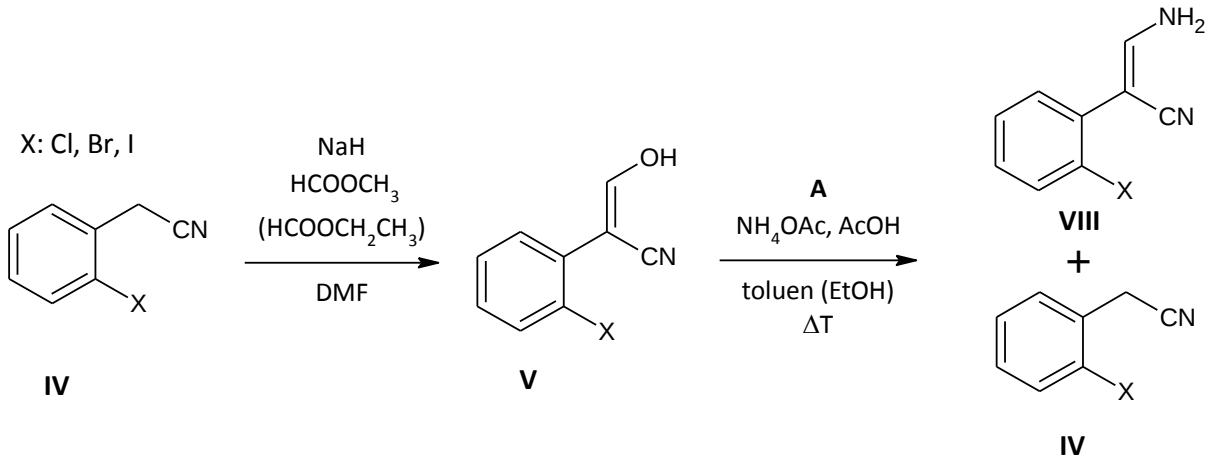


Schéma č. 8: Metoda A

U metody **A** se vycházelo z 2-halofenylacetonitrilu, přičemž bylo použito Claisenovy kondenzace s esterem kyseliny mravenčí, za účelem vytvoření příslušného hydroxyakrylonitrilu. Tato reakce se ukázala být velice úspěšnou, když ve všech reakcích s různými halogeny byla výsledkově téměř kvantitativní. Pro náhradu hydroxyskupiny za primární aminoskupinu byla nejprve vyzkoušena klasická metoda (Metoda A) využívající octanu amonného jako zdroje amoniaku. [34] Analýzou NMR bylo zjištěno, že reakční směs je silně kontaminována vedlejším produktem, který byl identifikován jako příslušný 2-halofenylacetonitril. Jeho vznik lze vysvětlit pomocí retro-Claisenovy reakce (Schéma 8). Změna rozpouštědla z toluenu na ethanol vedla pouze k produktu retro-Claisenovy reakce. Z důvodu výše uvedené vedlejší reakce byly výtěžky enaminonitrilů pouze průměrné (Br:57 %; Cl: 47 %).

4.1.2.2 Metoda B a C

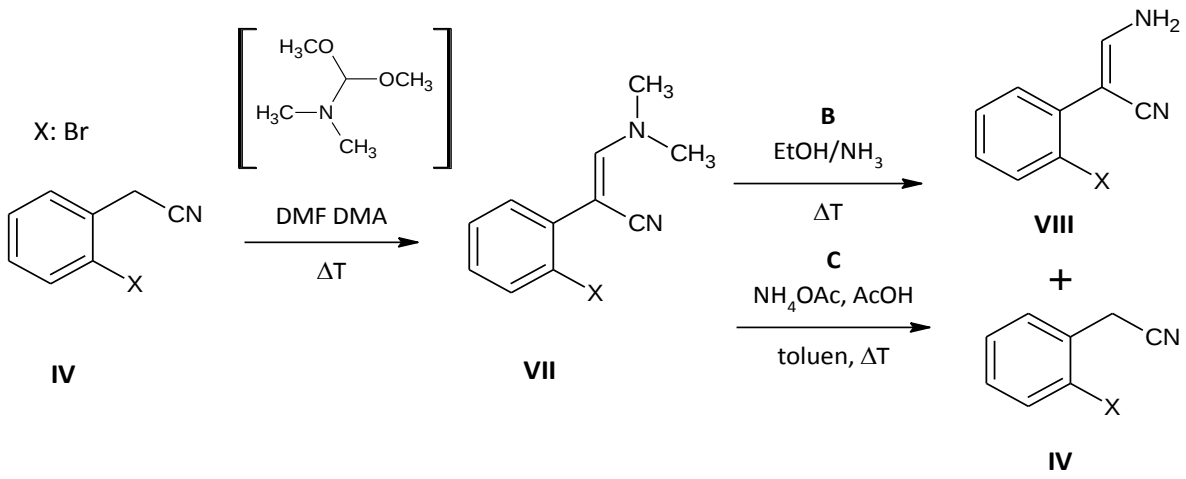


Schéma č. 9: Metoda B a C

Pro potlačení výše uvedené vedlejší reakce (retro Claisenovy kondenzace) a tím i zvýšení výtěžků požadovaných enaminonitrilů bylo přistoupeno k odlišné strategii. Místo hydroxyderivátu byl jako výchozí sloučenina zvolen dimethylaminoderivát **VII**. Sloučeniny tohoto typu nalezly značné využití v organické syntéze. [35] Jedním z jejich charakteristických rysů je snadná náhrada dimethylamino skupiny jiným nukleofilem, čehož jsme chtěli využít pro syntézu požadovaného enaminonitrilu **VIII**. Výchozí dimethylaminoderivát **VII** byl připraven reakcí příslušného fenylacetonitrilu s DMF DMA (Schéma č. 9). Dalším krokem bylo nahradit dimethylamino skupinu za primární aminoskupinu působením amoniaku. Byly vyzkoušeny dva způsoby: reakce s octanem amonným (metoda B) a ethanolickým amoniakem (metoda C). Výsledky však byly velmi podobné jako při použití hydroxyderivátu (Schéma 8). Reakce byly ověřeny na Br derivátu.

4.1.2.3 Metoda D

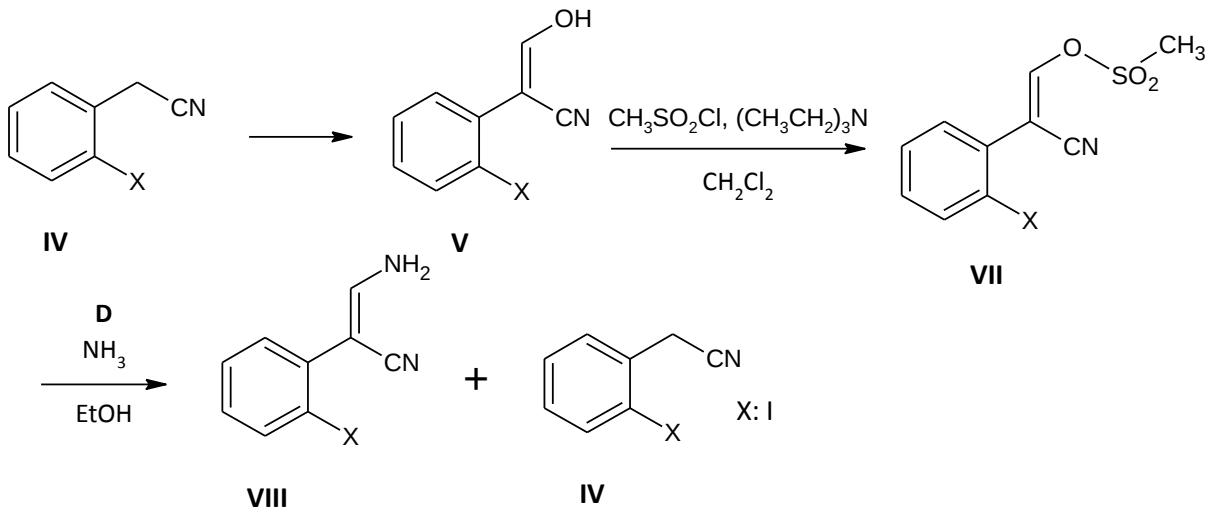


Schéma č. 10: Metoda D

Na základě neuspokojivých výsledků předchozích metod jsme přistoupili k vylepšení odstupující skupiny, od čehož jsme si slibovali zvýšení reaktivity k nukleofilům a tím i potlačení nežádoucí retro-Claisenovy reakce. Pro vylepšení odstupující skupiny byla zvolena mesylace hydroxyderivátu (Schéma 10). Vzniklý mesylát byl podroben reakci s ethanolickým amoniakem. Výsledek však byl opět zklamáním, majoritním produktem byl opět příslušný fenylacetonitril.

Reakční schéma přípravy 2-halogenovaných enaminonitrilů

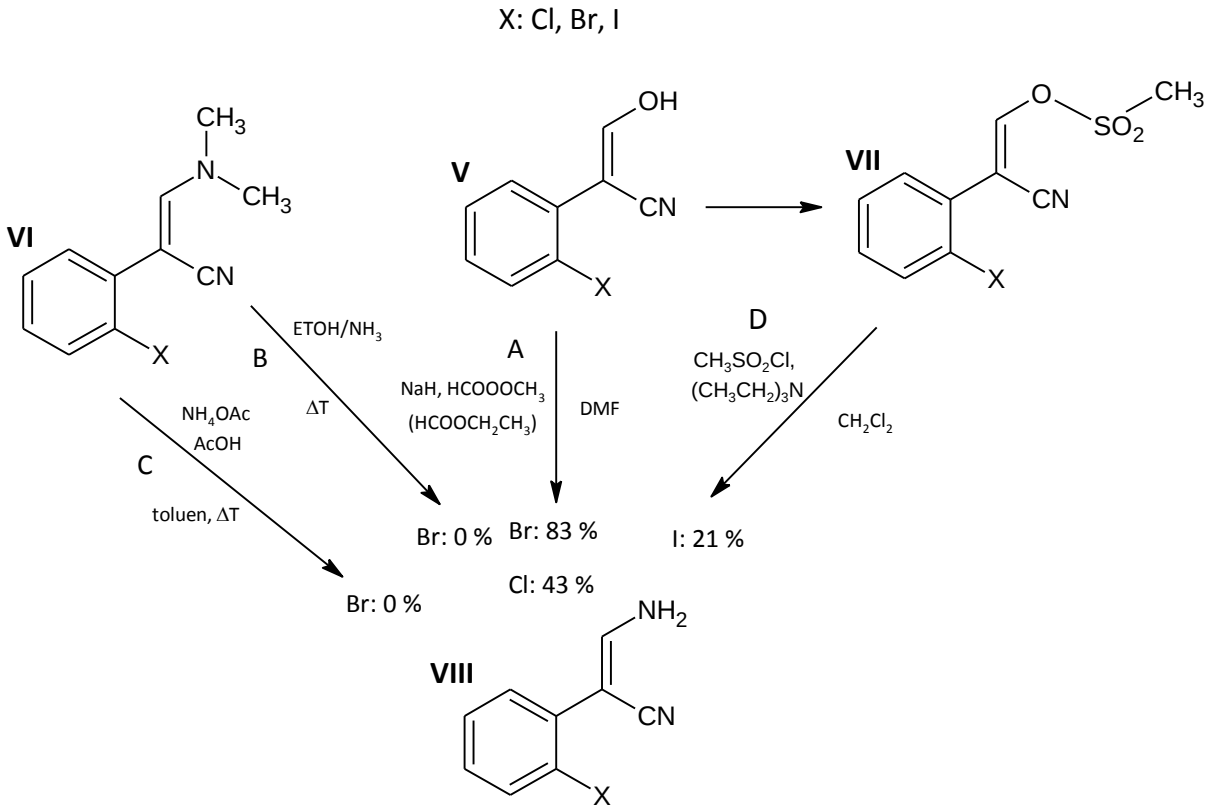


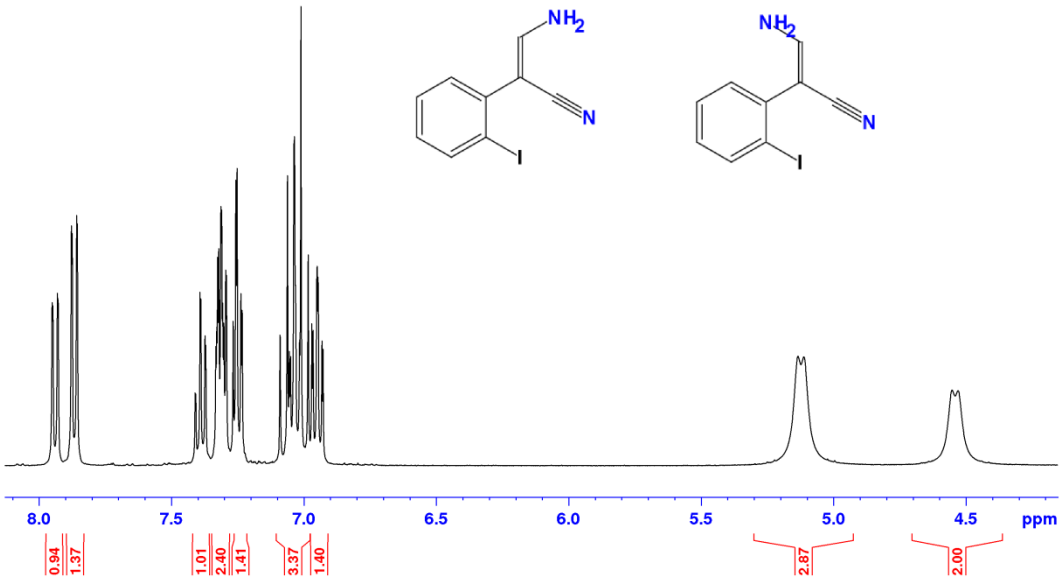
Schéma č. 11: Schéma přípravy 2-halogenovaných enaminonitrilů

Schéma znázorňuje sled reakcí od výchozích látek k požadovanému indol-3-karbonitrilu. Abecední značení označuje jednotlivé metody. Počet zkoušených metod je odrazem nesnadnosti přípravy potřebného enaminonitrilu. První byla vyzkoušena metoda A. Kvůli přítomnosti vedlejší produktu reakce byla následně provedena metoda B a C s dimethylaminoderivátem, nicméně jsme dosáhli ještě horších výsledků se zvýšenou produkcí 2-halofenylacetonitrilu. Proto byla vyzkoušena metoda D se zavedením mesylové skupiny, nicméně ani tyto výsledky nebyly uspokojivé.

4.1.3 Srovnání metod

Srovnáním tří vyzkoušených metod vyplývá, že nejlepších výsledků bylo dosaženo klasickou metodou popsanou Baraldim a spolupracovníky (Metoda A). [34] Použití mesylátu poskytlo jen nízkou konverzi a dimethylaminoderivát se ukázal jako zcela nevhodným. Retro-Claisenova reakce se ukázala jako závažná komplikace. Nitrily jsou k této reakci silně náchylné, zatímco při použití stejné metody pro ketony a estery podobné komplikace pozorovány nebyly a enaminoderiváty byly získány ve vysokých výtěžcích. [36,37]

Připravené 2-haloenaminonitrily existují v roztoku deuterovaného chloroformu jako směs izomerů E a Z (Obrázek č. 7).



Obrázek č. 7: Spektrum demonstrující přítomnost dvou izomerů

400 MHz ^{1}H NMR spektrum enaminonitrilu měřené v $CDCl_3$ demonstrující přítomnost dvou izomerů.

4.1.4 Cyklizace enaminonitrilů na indol-3-karbonitril

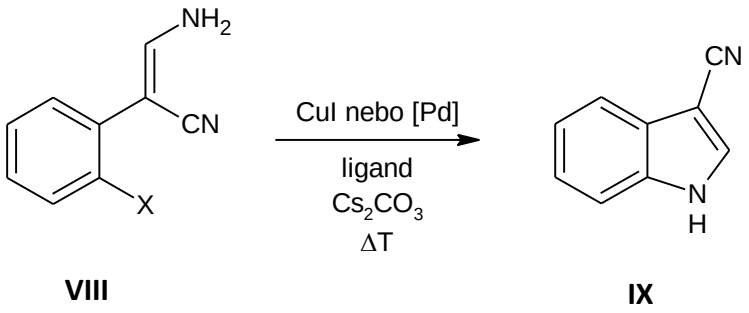
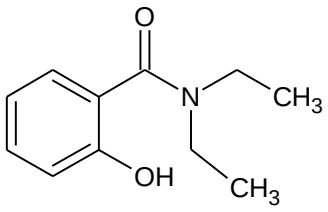
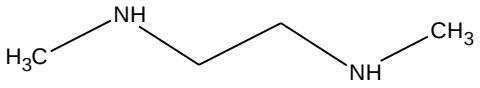


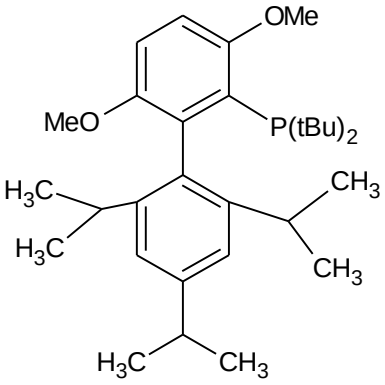
Schéma č. 12: Obecné cyklizační schéma



DESA



DMEDA



tBuBrettPhos

Obrázek č. 8: Použité ligandy

Intramolekulární cyklizace enaminonitrilu číslo na indol-3-karbonitril představuje reakci, která se nazývá Buchwald-Hartwigova nebo také Goldbergova. Ty jsou katalyzovány přechodnými kovy, nejčastěji paladiem nebo mědí. V závislosti na typu halogenu jsme zvolili příslušnou katalýzu.

Jako zdroj mědi (Metoda A) jsme zvolili klasický způsob (CuI) spolu s aminovými ligandy DESA [38] a DMEDA [39]. Paladiovou katalýzu jsme zvolili jednak tradičním způsobem (Metoda B), kdy jako zdroj přechodného kovu sloužil $Pd_2(dba)_3$. Pro reakce tohoto typu se obvykle používají fosfinové ligandy. [40] Na základě neúspěšných experimentů při syntéze indol-3-karbonitrilu [36] jsme zvolili jako ligand tBuBrettPhos, který je popsán jako vysoce účinný pro arylaci primární aminoskupiny. [41] Použití tradiční metody má určité nevýhody spočívající v nutnosti nejprve vytvořit vlastní katalyzátor ze zdroje kovu a ligandu. [42] Trendem v současné době je používat již vytvořené prekatalyzátory, což zjednodušuje celý proces a zlepšuje reprodukovatelnost výsledků. [43] Proto jsme vyzkoušeli i tento přístup (Metoda C), kdy jsme použili jeden z prekatalyzátorů obsahující výše zmíněný tBuBrettPhos. Prekatalyzátorů existuje několik typů, v našem případě jsme použili ten zavedený Colacotem. [44] Výsledky jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 1: Srovnání cyklizací

Halogen na enaminonitrilu	**Použitý katalyzátor**	**Báze**	**ligand**	**Rozpouštědlo**	**Doba reakce**	**Konverze (%)**
Br	CuI	Cs_2CO_3	DESA	Toluen	3 dny	61
I	CuI	Cs_2CO_3	DESA	Toluen	3 dny	100
I	CuI	Cs_2CO_3	DMEDA	Toluen	3 dny	100
Br	$Pd_2(dba)_3$	Cs_2CO_3	tBu Brett Phos.	tBuOH	3 dny	100
Cl	$Pd_2(dba)_3$	Cs_2CO_3	tBu Brett Phos.	tBuOH	3 dny	55
Br	tBuBrett Phos$^+$ TfO^{4-}	Cs_2CO_3	tBu Brett Phos	tBuOH	1 den	37
Cl	tBuBrett Phos$^+$ TfO^{4-}	Cs_2CO_3	tBu Brett Phos	tBuOH	3 dny	0

Z tabulky 2 vyplývá několik závěrů: 1) Cu katalýza je vhodná především pro jod deriváty, u bromderivátů už tak úspěšná není. U chlorderivátů je obecně málo účinná [45] a proto jsme ji ani nezkoušeli.

2) Katalýza paladiem Metodou B byla účinná pro bromderivát a částečně i pro chlorderivát.

3) Moderní prekalatyzátor (Metoda C) v porovnání s tradičním způsobem selhal.

5 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce byla zaměřena na intramolekulární C-N cross coupling halogenovaných enaminonitrilů. V teoretické části byly popsány některé z přírodních i uměle připravených sloučenin obsahujících indolovou strukturu a jejich farmakologický význam.

V praktické části byly vyzkoušeny 4 metody pro získání 3 halogenovaných enaminonitrilů. Metodou A (klasickou metodou popsanou Baraldim a spolupracovníky) [34], byly úspěšně připraveny 3-amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitril a 3-amino-2-(2-bromfenyl)-akrylonitril. Metody B a C, kde byl meziproduktem dimethylaminoderivát byly neúspěšné a naprosto zde převážila vedlejší retro Claisenova reakce. Metodou D, kde bylo užito mesylátu, byl připraven 3-amino-2-(2-jodfenyl)-akrylonitril. Nicméně tato reakce byla dosažena s nižším výtěžkem než metoda A.

Cyklizace na indol-3-karbonitril byly provedeny třemi metodami. Metoda A byla založena na metodě klasické- měděný katalyzátor CuI a aminový ligand DESA nebo DMEDA. Tato metoda se ukázala účinná, zvláště pro jod derivát, kde bylo dosaženo absolutní konverze. U metody B byl použit palladiový katalyzátor, kdy jako přechodný kov posloužil $Pd_2(dba)_3$. Tato cyklizace byla rovněž úspěšná, povedlo se touto rekcí zcyklizovat připravený 3-amino-2-(2-chlorfenyl)-akrylonitril s 55% konverzí což je nejlepší doposud získaný výsledek u tohoto typu derivátů. Metoda C byla provedena na moderním prekatalyzátoru, nicméně konverze nebyla zdaleka tak vysoká jako u předchozích metod.

6 LITERATURA:

[1] ČERVINKA, Otakar. DĚDEK, Václav. FERLES, Miloslav. *Organická chemie*. 3. vyd. Praha: SNTL/ALFA, 1982. s. 243, 686-687. ISBN 04-608-82.

[2] HANUSEK, Jiří, ŠIMŮNEK, Petr. *Základy organické syntézy*. 1. vyd. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2012. s. 76. ISBN 978-80-7395-531-1.

[3] Indole. *Britannica Academic*, Encyclopædia Britannica [online]. Last Revised 3. 2. 2017 [cit. 27. 3. 2017]. Dostupné z: http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/indole/42336#.

[4] Indigo. *Britannica Academic*, Encyclopædia Britannica [online]. Last Revised 21. 4. 2016 [cit. 8. 6. 2017]. Dostupné z: http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/indigo/42322

[5] HRDINA, Vratislav, HRDINA, Radomír, JAHODÁŘ, Luděk, MARTINEC, Zdeněk, MĚRKA, Vladimír. *Přírodní toxiny a jedy*. Praha: Galén, 2004. s. 56-61. ISBN 80-726-2256-0.

[6] ALBERTS, Andreas, MULLEN, Peter. *Psychoaktivní rostliny, houby a živočichové: od lilkovitých po mochomůrkovité: určování, sběr, účinky*. Praha: Svojtka & Co, 2002. s. 242, 254-255. ISBN 80-7237-518-0.

[7] MELICHAR, Bohuslav. *Chemická léčiva*. 3. přeprac. vyd. Praha: Avicenum, 1987. s. 134.

[8] Strychnin. *Britannica Academic*, Encyclopædia Britannica [online]. Last Revised 7. 5. 2017 [cit. 19. 6. 2017]. Dostupné z: http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/strychnine/70014

[9] STEGLICH, Wolfgang, FUGMANN, Burkhard, LANG-FUNMANN, Susanne. *ROMPP Encyclopedia Natural Products*. Stuttgart: Thieme Medical Publishers Inc., **2000**. s. 411. s. [cit. 19. 6. 2017]. ISBN 978-3-13-117711-7. Dostupné z: https://app.knovel.com/web/view/swf/show.v/rcid:kpRMPPENP5/cid:kt00AQ00T1/viewerType:pdf/root_slug:r-mpp-encyclopedia-natural?cid=kt00AQ00T1&page=10&b-q=brucine&sort_on=default&b-off-set=10&b-rows=10&b-group-by=true&b-search-type=tech-reference&b-sort-on=default&scrollto=Brucine.%20Formula%20see%20u&q=brucine

[10] Tryptophan. *Britannica Academic*, Encyclopædia Britannica [online]. Last Revised 7. 4. 2016 [cit. 23. 6. 2017]. Dostupné z: http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/tryptophan/73577

[11] HANČ, Oldřich, PÁDR, Zdeněk. *Hormony,Úvod do jejich chemie a biologie*.2.vyd. Praha: ACADEMIA, 1982. s. 26,88. ISBN 509-21-857.

[12] MURRAY, Robert K., GRANNER, Daryl K, MAYES, Peter A., RODWELL, Victor W. *Harperova biochemie*. Vyd. 23, (4. české vyd.). Jinočany: H & H, 2002. s. 346, 348. ISBN 80-7319-013-3.

[13] Serotonin. *Britannica Academic*, Encyclopædia Britannica [online]. Last Revised 3. 2. 2017 [cit. 27. 3. 2017]. Dostupné z: http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/serotonin/66858#.

[14] HANČ, Oldřich, PÁDR, Zdeněk. *Hormony, Úvod do jejich chemie a biologie*. 2. vyd. Praha: ACADEMIA, 1982. s. 26,88. ISBN 509-21-857.

[15] LÜLLMANN, Heinz, MOHR, Klaus, HEIN, Lutz. *Barevný atlas farmakologie*. 4. Vyd. Praha: GRADA, 2012. s. 116. ISBN 978-80-247-3908-3.

[16] KATZUNG, Bertram G. *Základní & klinická farmakologie*. ed. ŠVIHOVEC, Jan a Milan ŠMÍD. Jinočany: H & H, 1995. s. 250-251. ISBN 80-85787-35-0.

[17] GRYCOVÁ, Lenka. Serotonin, hormon štěstí. *gate2biotech* [online]. 13. 3. 2013. [cit. 24. 2. 2017]. Dostupné z: http://www.gate2biotech.cz/serotonin-hormon-stesti/

[18] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 2. Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007. s. 148. ISBN 978-80-7080-639-5.

[19] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 2. Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007. s. 145. ISBN 978-80-7080-639-5.

[20] LÜLLMANN, Heinz, MOHR, Klaus, HEIN, Lutz *Barevný atlas farmakologie*. 4. Vyd. Praha: GRADA, 2012. s. 330. ISBN 978-80-247-3908-3.

[21] VOKURKA, Martin, HUGO, Jan. *Velký lékařský slovník*. 5. aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, 2005. s. 529. ISBN 9788073450588.

[22] MURRAY, Robert K., GRANNER, Daryl K, MAYES, Peter A., RODWELL, Victor W. *Harperova biochemie*. Vyd. 23, (4. české vyd.). Jinočany: H & H, 2002. s. 346. ISBN 80-7319-013-3.

[23] Melatonin. *Britannica Academic,* Encyclopædia Britannica [online]. Last Revised 23. 4. 2016. [cit. 27. 3. 2017]. Dostupné z: http://academic.eb.com/levels/collegiate/article/melatonin/51873#.

[24] HRDINA, Vratislav, HRDINA, Radomír, JAHODÁŘ, Luděk, MARTINEC, Zdeněk, MĚRKA, Vladimír. *Přírodní toxiny a jedy*. Praha: Galén, 2004. s. 126,132. ISBN 80-726-2256-0.

[25] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 2. Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007. s. 109-110. ISBN 978-80-7080-639-5.

[26] ALLEN, Helen. Indometacin for pain and inflammation. *Patient: Trusted medical information and support* [online]. Last checked. 17. 4. 2014 [cit. 20. 3. 2017]. Dostupné z: https://patient.info/medicine/indometacin-for-pain-and-inflammation

[27] Indomethacin. *The Merck Index* online* [online]. Whitehouse Station (New Jersey): Royal Society of Chemistry, ©2017. Last Revised 2013 [cit. 27. 3. 2017]. Dostupné z: https://www.rsc.org/Merck-Index/monograph/m6279/indomethacin?q=authorize

[28] KATZUNG, Bertram G. *Základní & klinická farmakologie*. ed. ŠVIHOVEC, Jan a Milan ŠMÍD. Jinočany: H & H, 1995. s. 518. ISBN 80-85787-35-0.

[29] MELICHAR, Bohuslav. *Chemická léčiva*. 3. přeprac. vyd. Praha: Avicenum, 1987. s. 198.

[30] HAMPL, František, RÁDL, Stanislav, PALEČEK, Jaroslav. *Farmakochemie*. 2. Vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2007. s. 305. ISBN 978-80-7080-639-5.

[31] KATZUNG, Bertram G. *Základní & klinická farmakologie*. ed. ŠVIHOVEC, Jan a Milan ŠMÍD. Jinočany: H & H, 1995. s. 142, 159, 229. ISBN 80-85787-35-0.

[32] FLAHERTY, Keith T, YASOTHAN, Uma, KIRKPATRICK, Peter. Vemurafenib. *Nature Reviews Drug Discovery.* Macmillan Publishers Limited. © 2011, *10*, 811-812. ISSN 1474-1776.

[33] SZABÓ, D, KUTI, M, KAPOVITS, I, RABAI, J, KUCSMAN, A, ARGAY, Gy, CZUGLER, M, KÁLMÁN, A, PÁMÁNYI, L . Spiro-λ^4-sulfanes with intramolecular sulfur–oxygen interactions: Syntheses and molecular structures. *Journal of Molecular Structure*. 1997, *415* (1-2), s. 1 - 16. ISSN 0022-2860.

[34] BARALDI, P. G., SIMONI, D., MANFREDINI, S. An Improved Preparation of Enaminones from 1,3-Diketones and Ammonium Acetate or Amine Acetates. *Synthesis* 1983, (11) s. 902-903. 0039-7881.

[35] STANOVNIK, B., SVETE, J. Synthesis of Heterocycles from Alkyl 3-(Dimethylamino)propenoates and Related Enaminones, *Chemical Reviews*. 2004, *104* (5), s. 2433–2480. ISSN 0009-2665.

[36] KRATOCHVÍLOVÁ, E. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, 2015.

[37] HRSTKOVÁ, P. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, 2013.

[38] KWONG, F. Y., BUCHWALD, S. L. Mild and Efficient Copper-Catalyzed Amination of Aryl Bromides with Primary Alkylamines. *Organic Letters*. 2003, *5* (6), s. 793–796. ISSN 1523-7060.

[39] SURRY, D. S., BUCHWALD, S. L. Diamine ligands in copper-catalyzed reactions, *Chem. Sci*. 2010, *1* (1), s. 13-31. ISSN 2041-6539.

[40] SURRY, D. S., BUCHWALD, S. L. Biaryl Phosphane Ligands in Palladium-Catalyzed Amination. Angewandte Chemie International Edition. 2008, *47* (34), s. 6338-6361. ISSN 1521-3773.

[41] MAITI, D., FORS, B. P., HENDERSON, J. L., NAKAMURA, Y., BUCHWALD, S. L. Palladium-catalyzed coupling of functionalized primary and secondary amines with aryl and heteroaryl halides: Two ligands suffice in most cases. *Chemical Science.* 2011, *2* (1), s. 57-68. ISSN 2041-6539.

[42] SURRY, D. S., BUCHWALD, S. L. Dialkylbiaryl phosphines in Pd-catalyzed amination: A user's guide. *Chemical Science*. 2011, *2* (1), s. 27-50. ISSN 2041-6539.

[43] LI, H., JOHANSSON, Seechurn C. C. C., COLACIT, T. J. Development of preformed Pd catalysts for cross-coupling reactions, beyond the 2010 nobel prize. *ACS Catal*ysis. 2012, *2* (6), s. 1147-1164. ISSN 2155-5435.

[44] DEANGELIS, A. J., GILDNER P. G., CHOW, R., COLACOT, T. J. Generating Active "L-Pd(0)" via Neutral or Cationic π-Allylpalladium Complexes Featuring Biaryl/Bipyrazolylphosphines: Synthetic, Mechanistic, and Structure–Activity Studies in Challenging Cross-Coupling Reactions. *Journal of Organic Chemistry*. 2015, *80* (13), s. 6794-6813. ISSN 1520-6904.

[45] BELETSKAYA, I. P., CHEPRAKOV, A. V. The complementary competitors: Palladium and copper in C-N cross-coupling reactions. *Organometallics*. 2012, *31* (22), 7753-7808. ISSN 1520-6041.