

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2019

Bc. LUKÁŠ MAREK

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko technologická

Ústav organické chemie a technologie

Syntéza inhibitorů kináz s 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onovým skeletem

DIPLOMOVÁ PRÁCE

AUTOR PRÁCE: Bc. Lukáš Marek

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

2019

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

**Synthesis of kinase inhibitors with 3-
[amino(aryl)methylidene]-1,3-dihydro-2*H*-indole-2-one
structure moiety**

DIPLOMA THESIS

AUTHOR: Bc. Lukáš Marek

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

2019

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lukáš Marek**
Osobní číslo: **C17500**
Studijní program: **N1407 Chemie**
Studijní obor: **Organická chemie**
Název tématu: **Syntéza inhibitorů kináz s
3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onovým
skeletem**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

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

1. Proveďte literární rešerši týkající se přípravy a farmakologických vlastností derivátů 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onu.
2. Připravte alespoň osm inhibitorů kináz obsahujících 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onový skelet s využitím *Eschenmoserovy* reakce a proveďte jejich charakterizaci spektrálními metodami resp. elementární analýzou.
3. Studujte vliv substituce obou aromatických jader v připravených sloučeninách na průběh *Eschenmoserovy* reakce.
4. Získané experimentální výsledky diskutujte a zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí diplomové práce:

prof. Ing. Jiří Hanusek, Ph.D.

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání diplomové práce:

28. února 2019

Termín odevzdání diplomové práce:

10. května 2019



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2019

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

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejm. 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 9. 5. 2019.

Lukáš Marek

Poděkování

Na prvním místě bych rád poděkoval prof. Ing. Jiřímu Hanuskovi, Ph. D. za odborné vedení, předané zkušenosti a cenné rady a připomínky, které provázely vznik této práce.

Díky patří také celému Oddělení mechanismů organických reakcí při UOCHT UP, především pak Ing. Janu Bartáčkovi a Ing. Gábině Novákové za neskonalou ochotu nezištně participovat na řešení problémů výzkumného charakteru spojených s mým působením na zdejší katedře.

Vděk patří i mé rodině, především mamince Daně a otci Josefovi, jež mi byli ohromnou oporou celých pět let studia. Nesmím zapomenout poděkovat babičce Růženě, jejíž starostlivá péče v dobách volna mi dodávala chuť do dalšího studia.

Další díky patří i mé přítelkyni, slečně Tereze Korábkové, jež obětavou substitucí mé osoby v přípravě pokrmů, prováděním běžných domácích prací a příjemným rozptýlením usnadnila mé důstojné přežití během tvorby této práce.

Nakonec bych chtěl vyjádřit vděk dvěma věcem: matičce přírodě za to, že se při lučbě bromoxindolu s thioamidem uskuteční taková cesta molekul po energetické hyperploše, že se jejím výsledkem mohu chlubit v následujících řádcích, a náhodě za to, že stejnou věc dosud nezrealizoval nikdo přede mnou.

Lukáš Marek

ANOTACE:

V teoretické části této kvalifikační práce je diskutována významná role 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onů v moderní terapii nádorových onemocnění. Součástí je také rešerše veškerých, celkem 12-ti v literatuře dosud popsaných syntetických metod, poskytujících jako produkty právě tyto látky, z nichž některé byly publikovány teprve nedávno.

Experimentální část práce se zabývá novou a efektivní metodou pro syntézu látek s 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onovým. V rámci zkoumání reakce 3-bromo-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onů s thiobenzamidy mechanismem *Eschenmoserovy* reakce, resp. jejího průběhu v závislosti na substituci zmíněných sloučenin a dalších faktorech, bylo připraveno celkem 14 látek obsahujících 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolový skelet. Ze syntetizovaných látek již bylo 8 v literatuře popsáno, jedná se o látky mající stanovenou inhibiční aktivitu na tyrosin-kinázových VEGF receptorech. Pro tyto látky byla doplněna v literatuře chybějící charakterizace (NMR, HRMS). Zbývajících 6 látek jsou sloučeniny zcela nové – ty byly kompletně charakterizovány pomocí bodu tání, ¹H a ¹³C NMR, HRMS a elementární analýzy.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Eschenmoserova reakce, kancerostatika, inhibitory tyrosin-kináz, tyrosin kinázy, 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on.

ANNOTATION:

Importance of compounds containing 3-[amino(aryl)methylidene]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one structure moiety in modern cancer treatment is discussed in theoretical section of this diploma thesis together with up to date known synthetic methods. Overall 12 different known synthetic pathways giving mentioned compounds are also discussed; some of them were published very recently.

A new, efficient and high-yielding synthetic method giving compounds containing 3-[amino(aryl)methylidene]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one moiety is described in this diploma thesis. In summary, 14 compounds were prepared during exploration of very rare example of thiophile-free *Eschenmoser* reaction using various 3-bromo-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-ones and thiobenzamides as starting materials. Eight of them were previously described in literature as potent tyrosine-kinase VEGF receptor inhibitors. For these mentioned compounds, missing characterization such as NMR spectra or HRMS were completed. The rest represent original compounds unknown in literature up to date, for which complete characterization by melting point, ¹H and ¹³C NMR, HRMS spectra and elemental analysis is included.

KEYWORDS:

Eschenmoser reaction, cancerostatics, tyrosine-kinase inhibitors, tyrosin-kinases, 3-[amino(aryl)methylidene]-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-one.

Seznam použitých zkratek

ACN acetonitril

b.t. bod tání

BINAP 2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftyl

DCE 1,2-dichlorethan

DIPEA *N,N*-diisopropylethylamin

DMF *N,N*-dimethylformamid

EtOAc ethyl-acetát

EtOH ethanol

EWG z angl. electron withdrawing group – elektronakceptorní skupina

GTP guanosin-trifosfát

HOBT 1-hydroxybenztriazol

HRMS z angl. high resolution mass spectrometry – hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením

IC₅₀ poloviční maximální inhibiční koncentrace

IPA isopropylalkohol, propan-2-ol

MeOH methanol

MF mobilní fáze

NMDA *N*-methyl-*D*-aspartát

NMR nukleární magnetická resonance

RTK receptorová tyrosin-kináza

RVO rotační vakuová odparka

TBTU 2-(1*H*-benztriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium-tetrafluoroborát

TEA triethylamin

THF tetrahydrofuran

TK z angl. tyrosin kinase – tyrosin kináza

TKI z angl. tyrosin kinase inhibitor – inhibitor tyrosin kináz/y

Obsah

1	Úvod.....	13
2	Teoretická část.....	15
2.1	Kinázy a tyrosin kinázy.....	15
2.1.1	Inhibitory tyrosin-kináz a jejich mechanismus účinku	16
2.2	<i>Eschenmoserova</i> reakce	18
2.2.1	Historické aspekty	18
2.3	Varianty <i>Eschenmoserovy</i> reakce	19
2.3.1	<i>Eschenmoserova</i> reakce pro syntézu 1,3-diketonů.....	19
2.3.2	<i>Eschenmoserova</i> reakce pro syntézu vinylaminů	20
2.3.3	Role thiofilu při <i>Eschenmoserově</i> reakci	21
2.3.4	<i>Eschenmoserova</i> reakce bez asistence thiofilu	22
2.4	Dosud publikované syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů	24
2.4.1	Syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů v primární literatuře	24
2.4.2	Syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů v patentové literatuře.....	32
3	Experimentální část	35
3.1	Přístrojové vybavení	35
3.2	Substráty a činidla	36
3.3	Syntéza výchozích látek	37
3.3.1	Primární thioamidy	38
3.3.2	Isatin <i>p</i> -toluensulfonylhydrazidy (1a-e)	40
3.3.3	3-Diazooxindoly (2a-e).....	42
3.3.4	3-Bromoxindoly (3a-f)	45
3.3.5	(<i>Z</i>)-3-[amino(aryl)methyliden]oxindoly (4a-k)	47
4	Výsledky a diskuze	55
4.1	Syntéza výchozích látek	55
4.1.1	Primární thioamidy	55
4.1.2	Reakční cesta vedoucí k substituovaným 3-bromoxindolům.....	55
4.1.3	<i>Eschenmoserova</i> reakce/ <i>transformace kruhu</i> – reakce 3-bromoxindolů s thiobenzamidy	58
5	Závěr	70
6	Seznam použité literatury	71
7	Přílohy.....	78
7.1	Spektra EI_MS.....	78
7.1.1	Výchozí látky.....	78

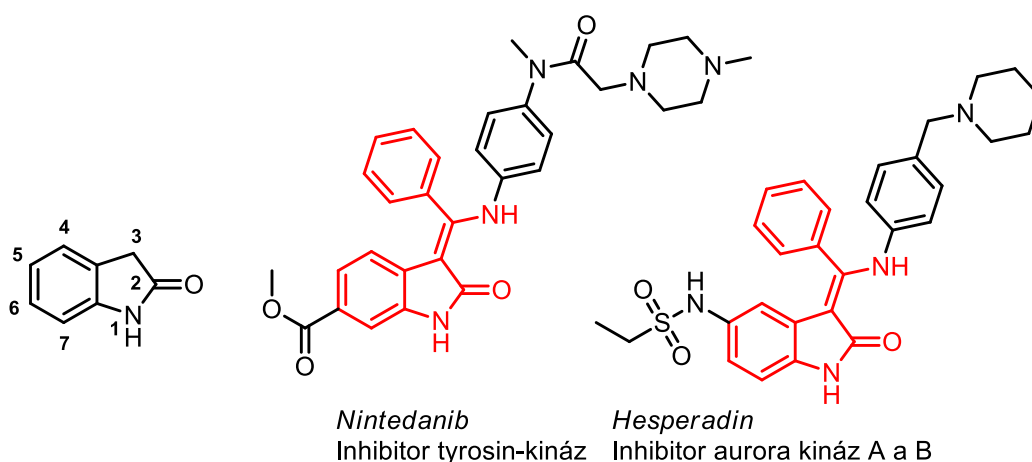
7.2	Spektra NMR	83
7.2.1	Výchozí látky.....	83
7.2.2	Produkty <i>Eschenmoserovy</i> reakce – 3-[amino(aryl)methyliden]oxindoly.....	97
7.3	Spektra HRMS	111
7.3.1	Produkty <i>Eschenmoserovy</i> reakce	111

1 Úvod

Psal se rok 1840, když *Auguste Laurent*, francouzský průkopník chemie, připravil reakcí indigové modři s roztokem soli šestimocného chromu v kyselině dusičné¹ červenou krystalickou látku, později nazvanou isatin. Stejný objev učinil téhož roku nezávisle na něm německý chemik *Otto Linné Erdmann*². Oba jmenovaní se tak dělí o prvenství v syntéze prvního zástupce 1,3-dihydro-2*H*-indol-2-onů, sloučenin v literatuře nazývaných triviálně oxindoly (**Obrázek 1**) nebo také indol-2-ony. Triviální název oxindol bude pro sloučeniny tohoto strukturního typu používán i v této práci.

S rychlým rozvojem chemie našly oxindoly mnohá uplatnění v praxi³ - v textilním průmyslu jako barviva a v zemědělství jako pesticidy. Zdaleka největší význam mají tyto látky v medicíně, uplatnění našly jako analgetika, NMDA antagonisté, blokátory vápníkového kanálu, kancerostatika a další⁴.

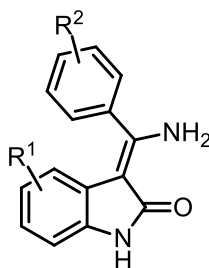
Podtřídu sloučenin s oxindolovým skeletem představují 3-[amino(aryl)methyliden]-oxindoly. Látky obsahující tuto strukturní doménu získaly v posledních dekáдах velký význam coby léčiva s indikací na celou škálu chorob, především ale jako kancerostatika. Příkladem může být *Nintedanib* (**Obrázek 1**), zástupce léčiv ze třídy inhibitorů tyrosin-kináz, schválený pro léčbu idiopatické plicní fibrózy a rakoviny plic⁵, od roku 2014 prodáváný pod obchodní značkou *Ofev* a *Vergatef*. Další sloučeninou s terapeutickým využitím je *Hesperadin* (**Obrázek 1**), inhibitor Aurora kináz A a B⁶.



Obrázek 1 – Strukturní vzorec oxindolu a biologicky aktivních 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů.

Logickým důsledkem rozvoje využití oxindolů v praxi byl a stále je velký zájem v oblasti výzkumu a vývoje syntetických metod poskytující jako produkty právě oxindoly a jejich deriváty. Kromě dnes již „klasických“ metod pro přípravu oxindolů, například podle *Stollého*⁷ nebo *Hinsberga*⁸ byla kupříkladu i v posledním desetiletí vypracována řada moderních syntetických cest⁹⁻¹¹ poskytující rozličné deriváty oxindolů ve výborných výtěžcích – především s využitím katalýzy pomocí organokovů.

V této práci bude rozpracována nová metoda syntézy v literatuře již známých¹² sloučenin s 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolovým skeletem, farmakoforů s inhibiční aktivitou na tyrosin-kinázových VEGF receptorech, a to pomocí tzv. *Eschenmoserovy* reakce. Metoda nevyžaduje katalýzu, probíhá za mírných reakčních podmínek a poskytuje výborné výtěžky zmíněných sloučenin.



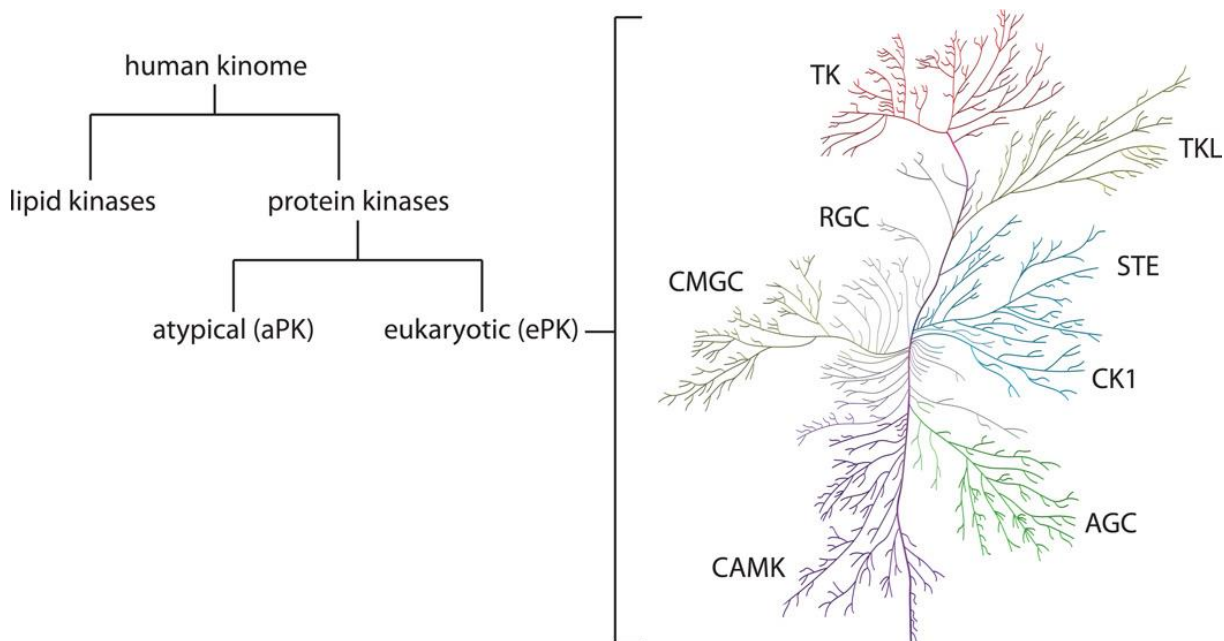
Obrázek 2 – Obecný strukturní vzorec syntetizovaných sloučenin.

2 Teoretická část

2.1 Kinázy a tyrosin kinázy

Neustálý koloběh hmoty je příznačný pro každý systém vykazující známky života. Přenos rozličných funkčních skupin mezi molekulami, ze kterých je živý systém složen, katalyzují enzymy zvané transferázy. Podtřídou transferáz jsou pak enzymy s názvem kinázy – ty katalyzují transfer fosfátové skupiny (PO_4^{3-}) z donorní molekuly na substrát – tento proces je nazýván fosforylací a vždy probíhá na volné hydroxylové funkci. Donorem fosfátové skupiny jsou makroergní sloučeniny, především ATP, v menší míře GTP. Procesem opačným jsou pak defosforylace, procesy, které katalyzují enzymy fosfatázy – proces fosforylace je tedy reverzibilní¹³.

Ke dnešnímu dni bylo prozkoumáno a v literatuře popsáno na stovky kináz, zajišťující fosforylace rozličných substrátů v lidském těle¹⁴. Soubor těchto enzymů se nazývá lidským kinomem (tvoří asi 1,7 % lidského genomu) a je dále dělen do tříd podle typu substrátu – na lipidové kinázy a proteinové kinázy, přičemž zdaleka největší význam mají kinázy zajišťující fosforylaci proteinů. Proteinové kinázy se dále dělí na skupinu eukaryotní (ePK) čítající přes 500 zástupců a skupinu atypických (aPK). Pro početnou skupinu eukaryotních proteinových kináz je dnes používáno členění do osmi hlavních skupin, které navrhnul *Mannig* v roce 2002¹⁴.



Obrázek 3 – Lidský kinom a jeho dělení podle Manniga¹⁴.

Podskupinou proteinových kináz jsou tyrosin-kinázy, dělí se na dvě skupiny – nereceptorové tyrosin-kinázy (nRTK), které jsou součástí cytosolu buněk a receptorové TK, vázané na povrchu buněčných membrán. Receptorové tyrosin-kinázy (RTK) zajišťují fosforylaci tyrosinových residuí umístěných na extracelulární doméně transmembránových proteinů (**Schéma 1**), přičemž fosforylace těchto residuí vede vždy ke změně konformace celého transmembránového proteinu. Změna konformace proteinu pak vede ke změně jeho enzymatické aktivity, čímž je způsobena transdukce signálu z vnějšku dovnitř buňky.

Komunikace buněk mezi sebou, tzv. buněčná signalizace, je soubor biochemických drah ovlivňující vznik a průběh procesů jako diferenciace, proliferace, angiogeneze a apoptóza. Jelikož mají RTK v těchto kaskádách nezastupitelnou roli, ovlivněním aktivity RTK je možné ovlivnit průběh všech jmenovaných dějů. Právě proto získaly látky modulující aktivitu RTK velký farmakologický význam¹⁵.

2.1.1 Inhibitory tyrosin-kináz a jejich mechanismus účinku

Inhibitory tyrosin kináz se kompetitivně váží na vazebné místo pro ATP¹⁶ v doméně kinázy (inhibiční koncentrace IC₅₀ řádově v mM - nM), která tak ztrácí schopnost přenosu fosfátové skupiny. Tím dochází k zamezení *O*-fosforylace tyrosinového residua (**Schéma 1**) a tedy k potlačení signální kaskády, kterou by fosforylace vyvolala.

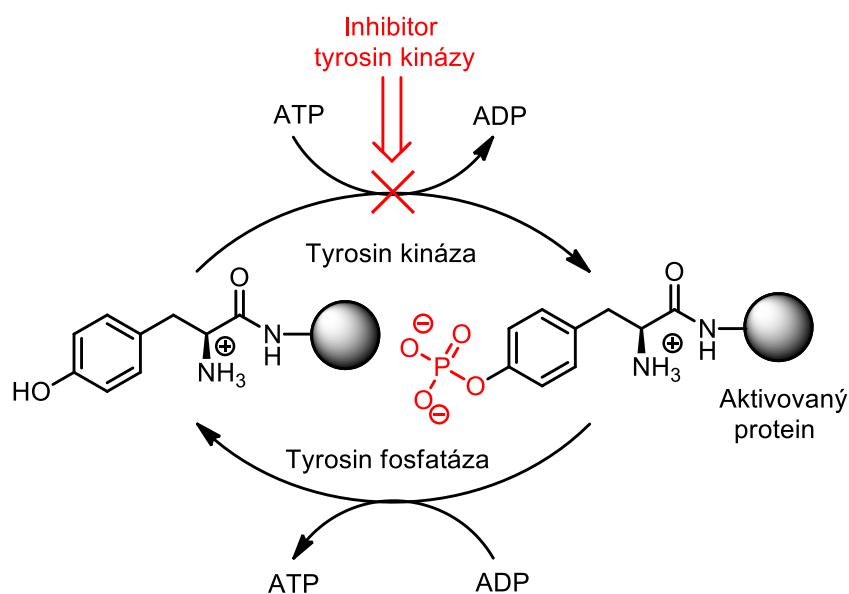


Schéma 1 – *O*-Fosforylace tyrosinu pomocí TK a její inhibice účinkem TKI.

Mezi farmakologicky nejvýznamnější skupiny RTK patří:

EGFR (epidermal growth factor receptor) - receptor epidermálního růstového faktoru, který je zodpovědný za regulaci signálních kaskád zodpovědných za vývoj tkání. Abnormality v jeho funkcích byly prokázány u několika typů rakovin¹⁷, ale například také genetické poruchy dwarfismu¹⁸.

FGFR (fibroblast growth factor receptor) - receptor růstového faktoru fibroblastů, ovlivňující vývoj vazivové tkáně. Jeho mutace, případně zvýšená aktivita byla prokázána v rychle proliferujících nádorech¹⁹ a také ve fibrotické tkáni u lidí trpících idiopatickou plicní fibrózou (IPF).

PDGFR (platelet-derived growth factor receptor) - receptor růstového faktoru krevních destiček, membránový protein odpovědný za krvetvorbu. Deficity jeho funkcí byly zjištěny u mnoha typů chronických i akutních leukemií¹⁵, dále byly deficity funkcí (spolu s FGFR) prokázány například i u IPF¹⁷.

VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor) – receptor vaskulárního a endoteliálního růstového faktoru, receptor hrající klíčovou roli při signalizaci vaskulogeneze a angiogeneze. Právě schopnost ovlivnění angiogeneze, tedy tvorby nových krevních vlásečnic, je klíčová pro boj s velkým počtem onkologických onemocnění¹⁷.

Maligní novotvary, pro něž je charakteristická rychlá proliferace, spotřebovávají pro svůj růst podstatně větší množství energie oproti okolní, zdravé tkáni, přičemž energetické zásobování rychle rostoucího novotvaru zajišťuje rychle vznikající síť krevních kapilár. Cílená inhibice angiogeneze má za důsledek stagnaci proliferace, kterou následuje postupný zánik maligní tkáně. Tuto myšlenku léčby onkologických onemocnění formuloval *Folkman*²⁰ již v roce 1971. Uvedený mechanismus byl podnětem, který nastartoval výzkum farmaceutické společnosti *Boehringer Ingelheim*^{17,21}, jež vyústil až ve schválení léčiva *Nintedanib* (**Obrázek 1**) pro použití v klinické praxi.

2.2 Eschenmoserova reakce

2.2.1 Historické aspekty

Historický milník pro objev *Eschenmoserovy* reakce představovaly experimenty, které učinil *Knott*²² již roku 1955. Při zkoumání vlastností sirných chromoforů podrobil reakci snadno dostupný bromovaný derivát *rhodaninu* (2-sulfanylidin-1,3-thiazolidin-4-onu) s 1-methylchinolin-2-thionem (**Schéma 2**).

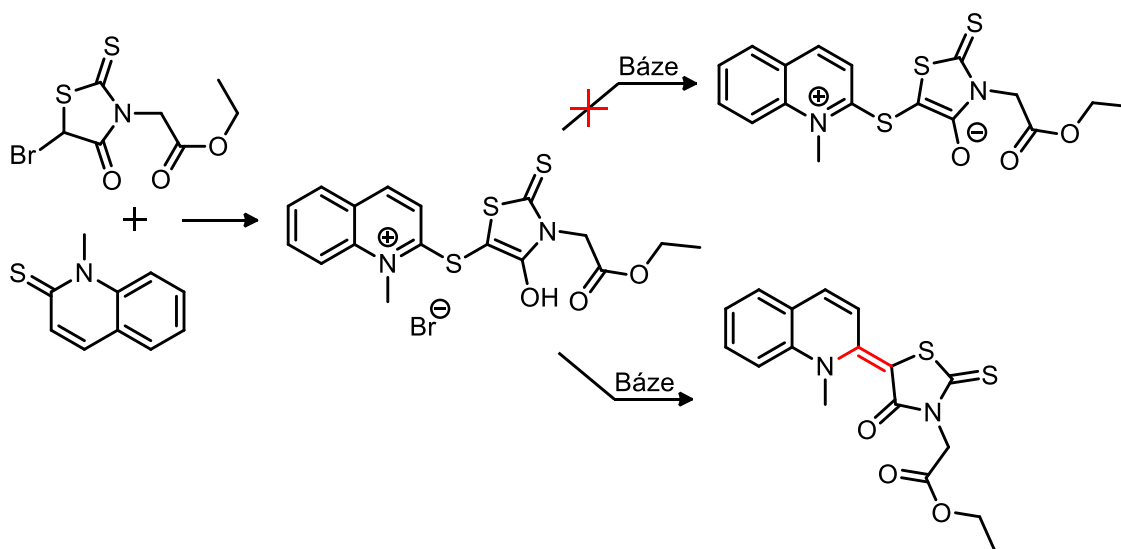
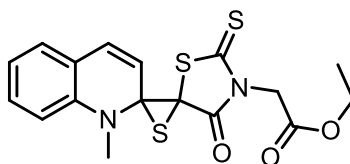


Schéma 2 – Reakce 5-bromrhodaninu s chinolin-2-thionem provedená *Knottem*²².

Po přidání báze ke vzniklé chinoliniové soli však nezískal požadovaný zwitterionický chromofor. Pomocí elementární analýzy zjistil, že vzniklá sloučenina neobsahuje sulfidový můstek a vzniklou látku identifikoval jako sloučeninu se strukturou obsahující nově zformovanou vazbou C–C. Podle *Knottovy* teorie její vznik podmiňovala existence intermediátu obsahující thiiranový cyklus (**Obrázek 3**), který ale nebyl schopen nikterak prokázat.



Obrázek 3 – *Knottem* předpokládaná struktura intermediátu obsahující thiiranový cyklus²².

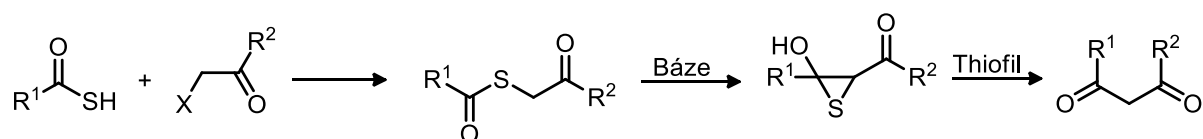
Na *Knottovu* práci navázal až o bezmála dvacet let později profesor *Albert Eschenmoser*^{23,24}, geniální chemik zabývající se v té době syntézou korrinoidních cyklů, působící na ETH v Curychu. Experimenty provedené v rámci jeho výzkumů vedly až ke vzniku dvou, zcela nových, obecných syntetických metod.

V literatuře je se reakce vyskytuje též pod názvy *Eschenmoserova* sulfidová kontrakce, *Eschenmoserův* coupling, *Eschenmoserova* sulfidová reakce nebo *Eschenmoserova* olefinace.

2.3 Varianty *Eschenmoserovy* reakce

2.3.1 *Eschenmoserova* reakce pro syntézu 1,3-diketonů

První syntetickou metodikou, kterou vypracoval *Eschenmoser*²³ na základě předchozích *Knottových*²² poznatků je obecná metoda syntézy nesymetrických 1,3-diketonů (**Schéma 4**). Jako reaktanty v ní vystupují *S*-thiokyselina a α -halogenketon. V prvním kroku syntézy dochází k nukleofilní substituci a vzniku 2-oxoalkyl-thiokarboxylátu. V případě použití jodderivátu coby α^2 syntonu je nutné, z důvodu jeho omezené chemické stability, generovat α -jodketon „*in situ*“. Následuje atak báze a uzavření thianového cyklu. Vzhledem k tomu, že štěpený vodík leží mezi karbonylovou funkcí a atomem síry esteru *S*-thiokyseliny, vykazuje relativně velkou aciditu - pro vznik karboaniontu tedy postačuje přítomnost slabé báze (typicky *N*-methylmorfolin aj. organické báze), což podmiňuje toleranci reakce k celé řadě funkčních skupin. Posledním krokem reakční sekvence je eliminace síry z thianového cyklu pomocí tzv. thiofilu – látky vážící síru (bude diskutováno dále, viz kapitola 3.3.3).



$R^1 = \text{Alk, Ar, COOR}', \text{CN, C}(\text{COOR}')_2$

$R^2 = \text{H, Alk, Ar, COOR}', \text{CN}$

$X = \text{Br, I}$

Schéma 3 – Reakce *S*-thiokyseliny s α -halogenketonu poskytující 1,3-diketon.

Tolerancí k celé škále funkčních skupin se *Eschenmoserova* metoda lišila od ostatních metod²⁵ syntéz 1,3-dikarbonylových sloučenin.

2.3.2 Eschenmoserova reakce pro syntézu vinylaminů

Druhou reakcí, která nese název po prof. *Eschenmoserovi*, je reakce thioamidu s alkylním činidlem poskytující jako produkt α -aminoalken, neboli vinylamin (**Schéma 4**). Prvním krokem reakční sekvence je S-alkylace thioamidu. Vzniklá thioimioniová sůl pak podléhá deprotonaci vlivem báze, a vzniklý C-aniont cyklizuje za vzniku thiiranového cyklu. Následuje, stejně jako v předchozím případě (kapitola 3.3.1), extruze síry ze vzniklého cyklu za vzniku vinylaminu. Obecná syntetická metodika byla publikována roku 1971²⁴.

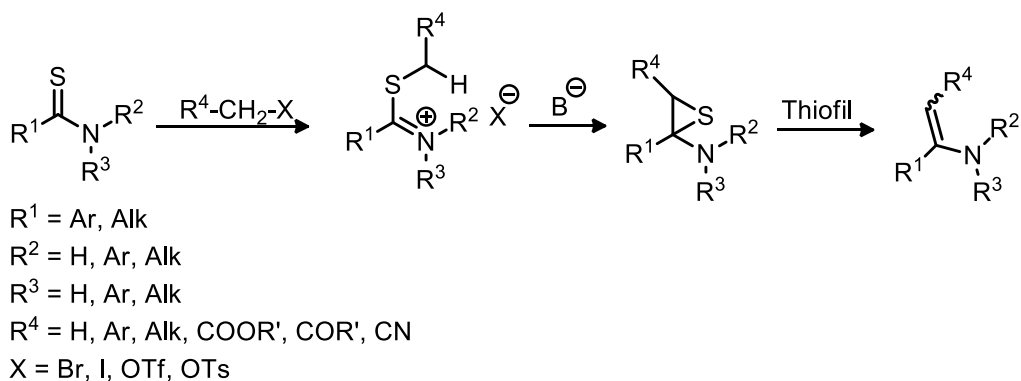


Schéma 4 – Reakce halogenderivátu s thioamidem poskytující vinylamin.

Tato reakce získala postupem času velký syntetický význam, byla využita při totální syntéze desítek přírodních látek²⁶, například (\pm)-saxitoxinu²⁷, (-)-kokainu²⁸, nejznámější je ale její použití při totální syntéze vitamínu B₁₂²⁹, dokončené roku 1972.

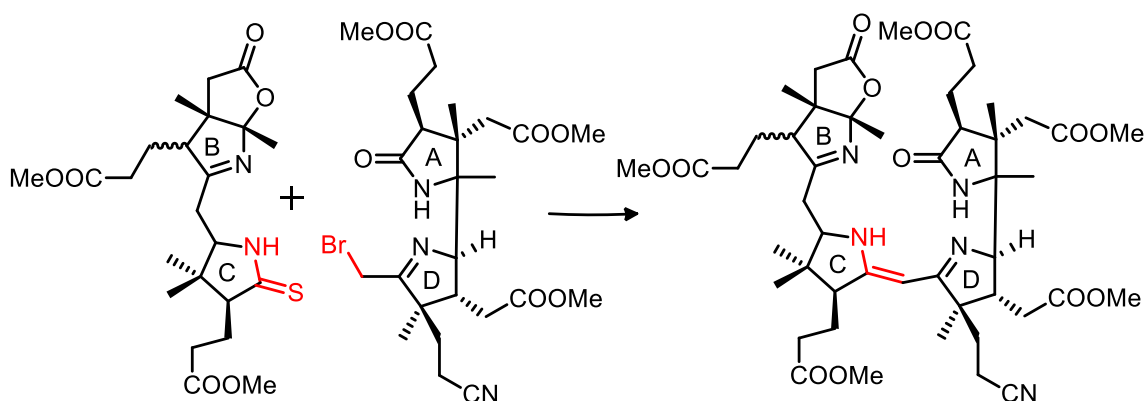
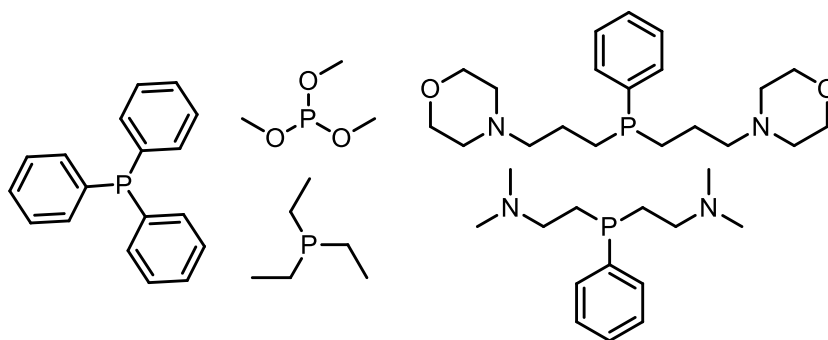


Schéma 5 – Použití Eschenmoserovy reakce při spojování kruhů C a D během totální syntézy vitamínu B₁₂.

2.3.3 Role thiofilu při *Eschenmoserově* reakci

K úspěšnému provedení syntézy vinylaminu pomocí *Eschenmoserovy* reakce je zpravidla nutná přítomnost tzv. thiofilu. Jak je zřejmé ze schématu výše (**Schéma 4**), thiofil asistuje rozpadu nestabilního 2-aminothiiranového cyklu. Přítomností látky ochotně tvořící vazbu X=S je snížena energetická bariéra eliminace a dochází ke vzniku dvojné vazby. Jako thiofily se běžně používají sloučeniny fosforu v oxidačním stavu +III, přičemž při extruzi síry dochází k redoxní reakci, při které se fosfor oxiduje na oxidační stav +V. Příkladem nejběžnějšího thiofilu je trifenylofosfin, jeho použití při provádění *Eschenmoserovy* reakce je však poněkud komplikované – čištění připravených látek od vedlejšího produktu reakce, trifenylofosfin-sulfidu, je problematické a v praxi často vyžaduje opakované použití sloupcové chromatografie³⁰. Alternativou poskytující lépe dělitelné směsi jsou alkylfosfiny, např. triethylfosfin, používané však zřídka pro svou nestabilitu (alkylfosfiny narozdíl od arylfosfinů velmi ochotně reagují se vzdušným kyslíkem) a vysokou cenu. Dalším, s oblibou užívaným thiofilem je trimethyl-fosfit³¹, reakcí vzniklý trimethyl-thiofosfát lze z reakční směsi odseparovat prostou vakuovou destilací (b.v. 80 °C/5 torr³²). Příkladem thiofilních látek vyvinutých speciálně pro *Eschenmoserovu* reakci jsou bis[3-(morfolin-4-yl)propyl]fenylfosfin a bis[2-(*N,N*-dimethylamino)ethyl]fenylfosfin – thiofily zastávající v reakci rovněž funkci báze²⁶. Vedlejší reakční produkty pak lze z reakční směsi odstranit ve formě kvarterních solí prostou extrakcí.



Obrázek 4 – Nejběžněji používané thiofily.

Pro reakci je předpokládán spřažený mechanismus eliminace²⁶. Extruzi síry z thiiranového intermediátu a předpokládanou strukturu tranzitního stavu znázorňuje schéma níže (**Schéma 6**).

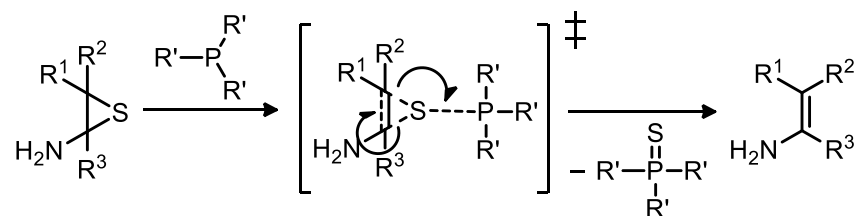


Schéma 6 – Rozpad thiiranového cyklu extruzí síry za asistence thiofilu²⁶.

2.3.4 Eschenmoserova reakce bez asistence thiofilu

I přes fakta uvedená v oddílu 3.3.3 může syntéza vinylaminů (viz kapitola 3.3.2) mechanismem *Eschenmoserovy* reakce ve výjimečných případech probíhat bez asistence thiofilu. Substráty, u nichž byla pozorována reakce bez přidavku thiofilu, jsou výlučně látky relativně kyselé povahy ($pK_a < 17$)³³⁻³⁵. Při provádění reakcí bylo dosaženo pouze nízkých výtěžků předpokládaných reakčních produktů (často < 20 %) a z reakční směsi byla izolována elementární síra S_8 ²². Pro reakci byl navržen cheletropní mechanismus předpokládající vznik singletové síry³⁴ (**Schéma 7**), přičemž je předpokládáno³⁶, že singletová síra se bude vykazovat silně thiofilní chování.

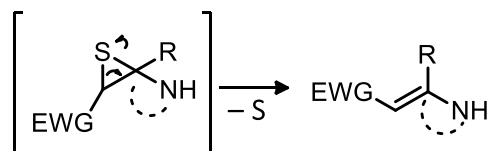


Schéma 7 – Cheletropní mechanismus extruze síry bez asistence thiofilu.

Další studie^{26,30} nicméně zpochybňují energetickou výhodnost takového děje. *Harpp* a *Chew*³⁷ navrhli mechanismus bimolekulární autokatalyzované extruze síry (**Schéma 8**). Žádná z publikovaných mechanistických studií však nepřinesla jednoznačné závěry.

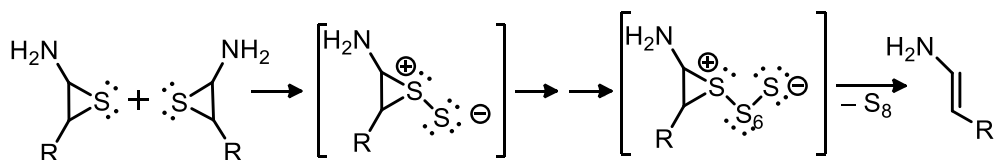


Schéma 8 – Mechanismus bimolekulární autokatalyzované extruze síry.

Naprostojedinečné jsou pak případy *Eschenmoserovy* reakce probíhající bez přítomnosti jak thiofilu, tak báze. V literatuře byly popsány prozatím jen pro reakci α -

bromovaných laktamů³⁸ a pro reakci terciárních cyklických thioamidů s chloracetonem prováděnou atypicky v silně polárním aprotickém DMSO³¹. Jakákoli mechanistická studie pro tyto reakce však v literatuře nebyla dosud popsána.

2.4 Dosud publikované syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů

Sloučeniny obsahující 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolový skelet jsou bezpochyby velice specifickou třídou látek. Navzdory tomuto faktu mezi mnoha miliony známých organických látek nepředstavují pověstnou „kapku v moři“. Výzkumu sloučenin s touto strukturální doménou byla zejména v posledních dekáдах věnována velká pozornost, a to především kvůli jejich biologické aktivitě (viz kapitola 3.1). Důsledkem pozornosti věnované výzkumu těchto sloučenin, ať již ze strany akademické obce nebo průmyslu, vznikla za několik posledních desetiletí řada syntetických metod poskytujících 3-[amino(aryl)methyliden]oxindoly jako produkty. Pro přehlednost jsou publikované syntézy rozděleny na dvě části – první z nich představuje syntetické metody publikované v odborné literatuře (v odborných periodikách), druhá z nich pak syntézy zveřejněné v patentové literatuře. V obou částech jsou syntézy seřazeny chronologicky, vzestupně od data publikace.

2.4.1 Syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů v primární literatuře

2.4.1.1 Syntéza vycházející z chinazolin-3-oxidu a acetylendikaroxylátu

Historicky nejstarší syntézou 3-[amino(fenyl)methyliden]oxindolu je reakce 2-methyl-4-fenylchinazolin-3-oxidu s alkyl-acetylendikarboxyláty (**Schéma 9**). Syntézu publikoval *Stauss et al.* roku 1973³⁹. První krok reakce probíhá ve smyslu 1,3-adice, kterou následuje přesmyk na ester fenylprop-2-enové kyseliny. Autoři uvádí výtěžek 20 % při použití dimethylesteru acetylendikarboxylové kyseliny a 28 % při použití diethylesteru. Druhým krokem přípravy je hydrolýza esteru připravené fenylprop-2-enové kyseliny, následovaná intramolekulární bazicky katalyzovanou cyklizací, při které vzniká konečný produkt ve výtěžku 69, resp. 83 %.

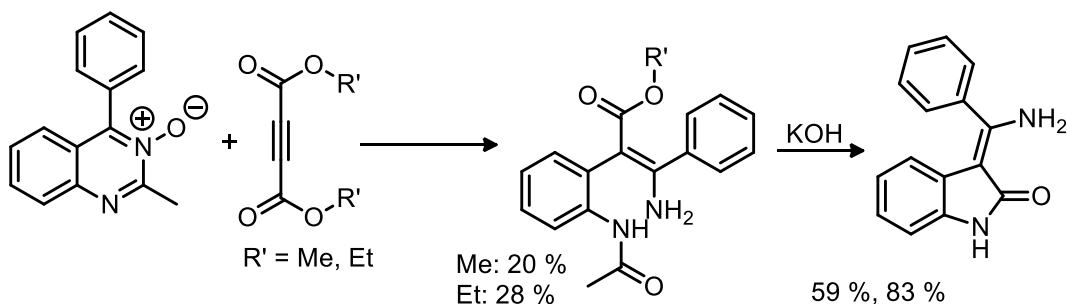
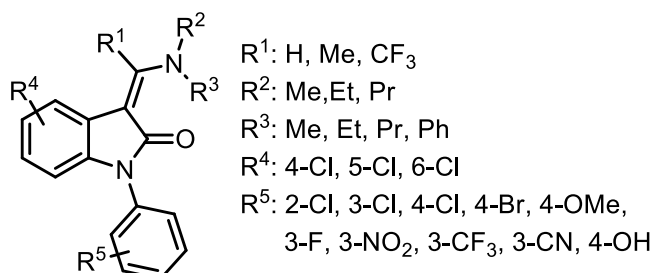


Schéma 9 – První popsaná syntéza 3-[amino(fenyl)methyliden]oxindolu.

2.4.1.2 Syntéza využívající *N*-aryloxindol a *Vilsmeierův* intermediát

Rozsáhlou sérii látek strukturně blízkých diskutovaným sloučeninám (**Obrázek 5**) připravili *Sarges et al.*⁴⁰ v rámci výzkumu látek potenciujících účinky *Flunitrazepamu* na GABA receptorech ve společnosti *Pfizer*.



Obrázek 5 – Strukturní vzorec sloučenin připravených *Sargesem et al.*

Mezi připravenými sloučeninami byl i jeden zástupce 3-[amino(aryl)methyliden]-oxindolů. Ten byl získán ve výtěžku 85 % kondenzací *N*-aryloxindolu a *Vilsmeierova* intermediátu připraveného z *N,N*-dimethylbenzamidem a POCl₃ (**Schéma 10**) Syntéza byla publikována v roce 1989.

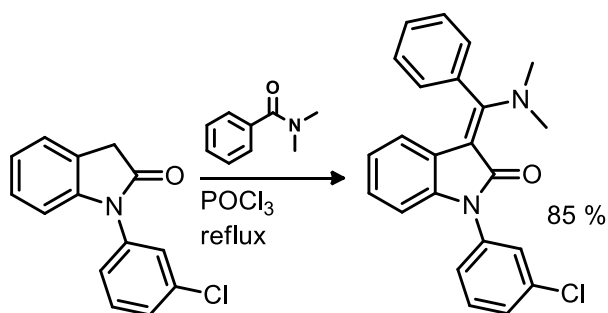


Schéma 10 – Kondenzace *N*-aryloxindolu s *N,N*-dimethylbenzamidem.

2.4.1.3 Syntéza vycházející z *N*-fenylpropiolamidu a ftalimidu katalyzovaná Pd(OAc)₂

Další metodu přípravy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů popsal *Tang et al.*⁴⁰ Jedná se o reakci *N*-fenylpropiolamidu s nadbytkem ftalimidu (**Schéma 11**) uskutečněnou pomocí C–H aktivace octanem palladnatým. Autoři zjistili, že pro provedení reakce s vysokou konverzí je nutný přídavek oxidačního činidla, série optimalizačních reakcí vedla k závěru, že nejlepší výtěžky poskytuje použití (diacetoxyjod)benzenu (PIDA). Reakce po optimalizaci poskytla produkty ve výtěžku 42 – 83 %.

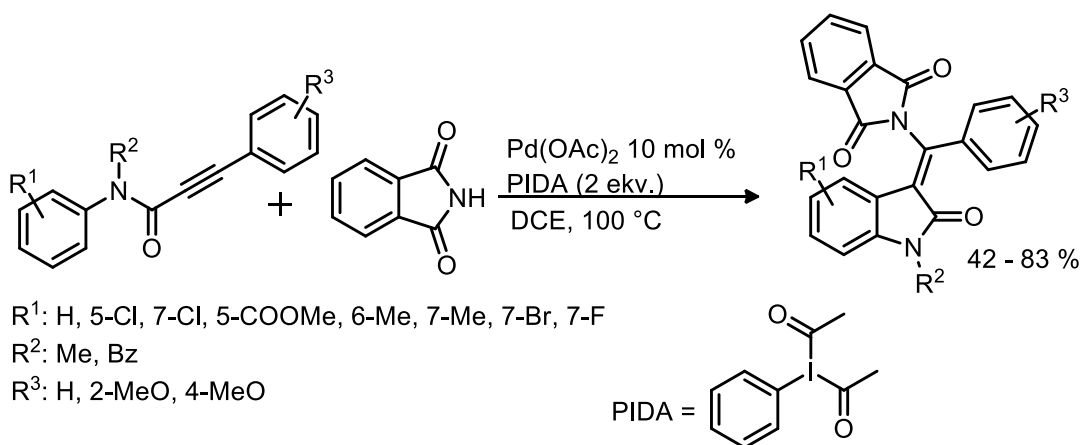


Schéma 11 – Syntéza vycházející z *N*-arylpropiolamidu.

2.4.1.4 Syntéza využívající cyklizaci 2-(fenylethynyl)fenylisokyanátu katalyzovanou $FeCl_3$

Další metodu přípravy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů popsali *Cantagrel et al.* v roce 2009⁴¹. Syntéza sestává ze dvou reakčních kroků (**Schéma 12**). V prvním je výchozí 2-(fenylethynyl)isokyanát intramolekulárně cyklizován přebytkem chloridu železitého za vzniku 3-[chlor(aryl)methyliden]oxindolu ve formě směsi *Z/E* izomerů, v závislosti na substituci poskytuje reakce výtěžky 54 – 99 %. V dalším kroku je na tomto chlorderivátu provedena substituce s použitím dusíkatého nukleofilu, reakce je prováděna v mikrovlnném reaktoru s použitím polárního ethanolu coby rozpouštědla. Produktem je odpovídající 3-[amino(aryl)methyliden]oxindol ve výtěžku 77 – 99 %. Výsledné látky byly identifikovány výlučně jako *Z*-izomery.

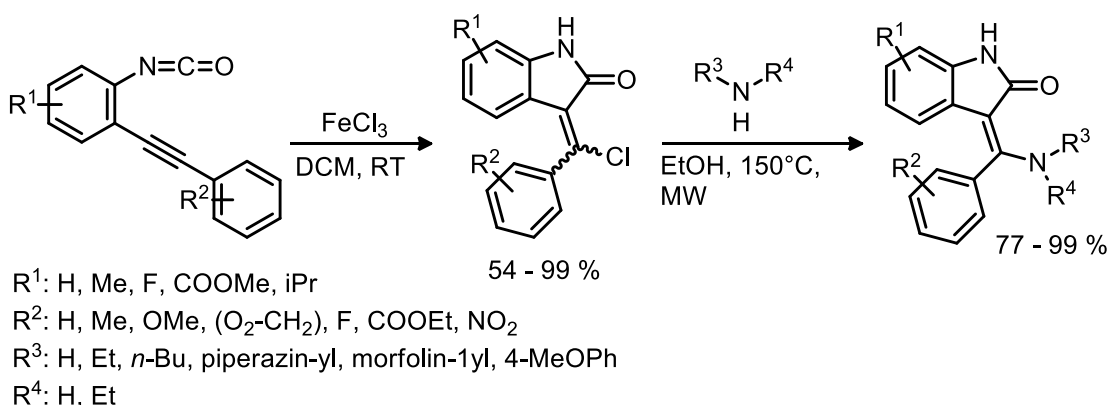


Schéma 12 – Reakce využívající 2-(fenylethynyl)isokyanát jako výchozí látku.

Výhodou této reakční sekvence je možnost přípravy na dusíku substituovaných derivátů, metoda je tedy poměrně univerzální. Nevýhodou však zůstává dostupnost výchozích 2-(fenylethynyl)isokyanátů, k jejichž přípravě se používá nejčastěji *Sonogashira*

C–C coupling 2-substituovaného anilinu s fenylacetylenem (ethynylbenzenem), následovaný fosgenací a eliminací chloru ze vzniklého karbamoylchloridu.

2.4.1.5 Syntéza využívající Pd(0) katalyzovanou cyklizaci 2-(fenylethynyl)fenylisokyanátu s trifluomethylacetamidem

2-Fenyl(ethynyl)isokyanáty využívá jako výchozí látky i další metoda přípravy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů (**Schéma 13**), popsaná v roce 2009 *Murakamim et al.*⁴². Výchozí isokyanát je cyklizován s přebytkem trifluoracetamidu za katalýzy bis(dibenzylidenaceton)palladiem. Vzniklý amidický meziproduct může být snadno hydrolyzován slabou bází (K_2CO_3), bohužel autoři demonstrovali tuto hydrolyzu pouze na jednom substrátu. Ač reakce poskytuje výborné výtěžky, nevýhodou zůstává opět dostupnost výchozích látek.

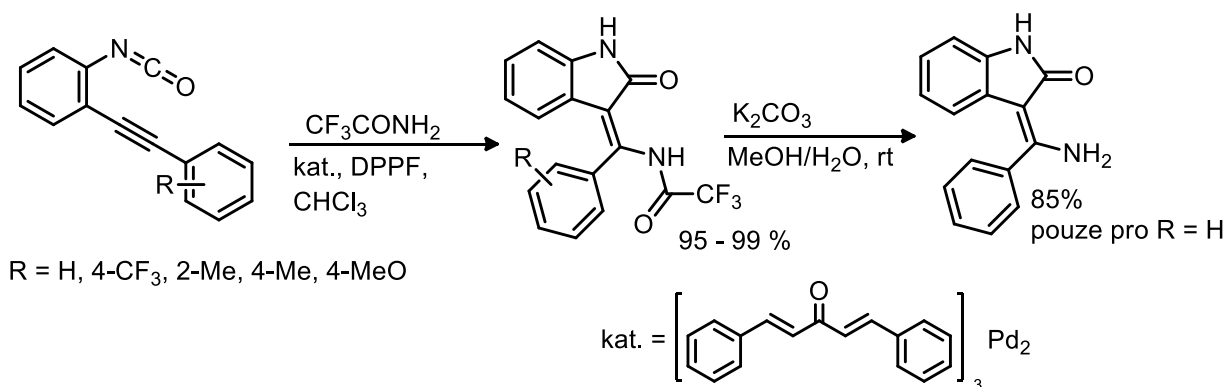


Schéma 13 – Syntéza využívající 2-(fenylethynyl)isokyanát a trifluoroacetamid.

2.4.1.6 Syntéza využívající kondenzaci 3-(alkoxymethyliden)oxindolu s aniliny

Velmi významnou syntetickou metodiku poskytující 3-[arylamino(aryl)methyliden]oxindoly vyvinul v roce 2009 *Roth et al.*²¹ (**Schéma 14**). Ve dvoukrokové reakční sekvenci je nejprve výchozí 6-substituovaný oxindol „one pot“ reakcí ochráněn (*N*-protektce acetylací) a zkondenzován s triethyl-orthobenzoátem. Vzniklý (*E*)-3-(alkoxymethyliden)oxindol je poté podroben substituční reakci s anilinovými *N*-nukleofily za použití DMF jako rozpouštědla. Vzniklé produkty jsou poté deacetylovány přidáním piperidinu. Bylo prokázáno, že takto připravené 3-[arylamino(aryl)methyliden]oxindoly jsou výlučně v *Z*-konfiguraci.

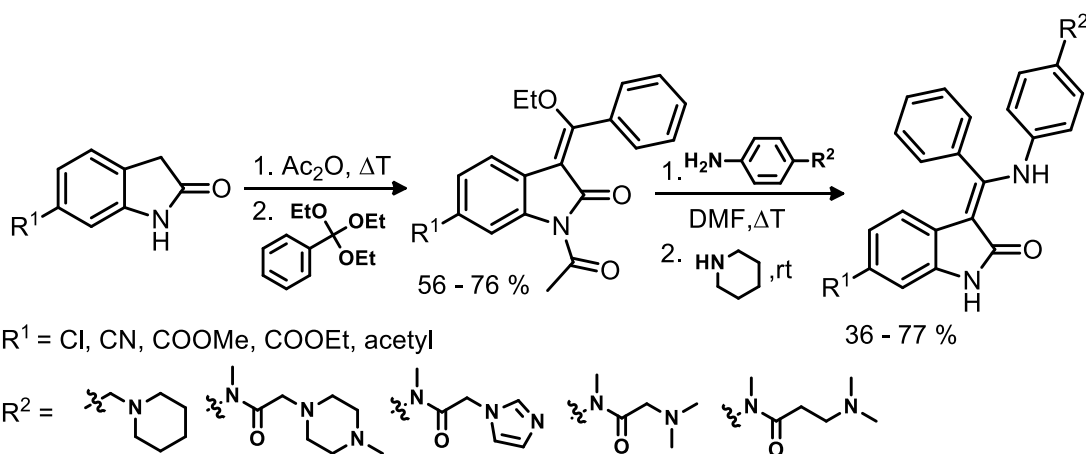
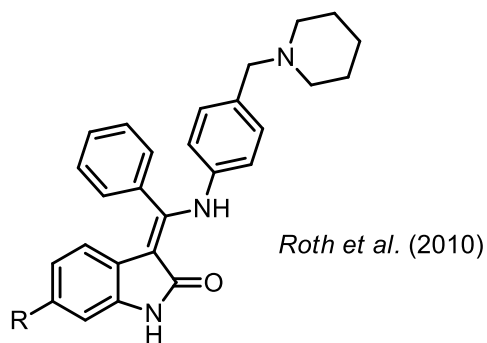


Schéma 14 – Metoda dle Rotha²¹.

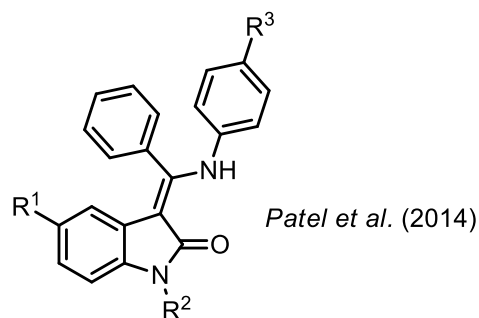
Z řady 6-substituovaných oxindolů byla touto reakcí připravena rozsáhlá série sloučenin, u nichž byla stanovena inhibiční aktivita pro EGFR, FGFR, PGDFR, VEGFR (viz kapitola 3.1.1). Mezi nimi i sloučenina s pracovním názvem BIBF 1120, která po úspěšném absolvování klinických testů vešla do klinické praxe pod názvem *Nintedanib* (**Obrázek 1**).

Zmíněná metoda syntézy má mnoho výhod – jako výchozí látky používá stabilní a snadno dostupné oxindoly a aminy, je jednoduchá a robustní a ukázala se jako vhodná pro provedení ve velkém měřítku (viz kapitola 3.4.2). Pro zmíněné vlastnosti se stal tento syntetický přístup nejpopulárnější pro přípravu látek s 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolovým skeletem napříč akademickou i průmyslovou sférou.

Například v roce 2010 *Roth et al.*⁴³ reakci použil pro syntézu další série látek, tentokrát aktivních na další podtřídě tyrosin-kinázových receptorech (TGFβRI a pSmad). Dalšího využití se metoda dočkala v roce 2014 při *Patelově*⁴⁴ přípravě série 5-substituovaných 3-[arylamino(aryl)methyliden]oxindolů coby zástupců inhibitorů Aurora-kináz (mezi nimi i *Hesperadinu*, **Obrázek 1**). *Huang et al.*⁴⁵ v roce 2017 publikoval v rámci výzkumu medikamentů pro léčbu IPF syntézu série inhibitorů tyrosin-kináz odvozených od struktury *Nintedanibu*, opět s využitím oxindolů jako výchozích látek. Autorem nejnovější publikace využívající *Rothovu* metodu je *Edupuganti et al.*⁴⁶. Pochází z roku 2017 a stejně jako předchozí publikace se zabývá syntézou a zkoumáním farmakologických vlastností nových inhibitorů tyrosin-kináz. Strukturní vzorce všech připravených sloučenin jsou znázorněny na obrázku níže (**Obrázek 6**).



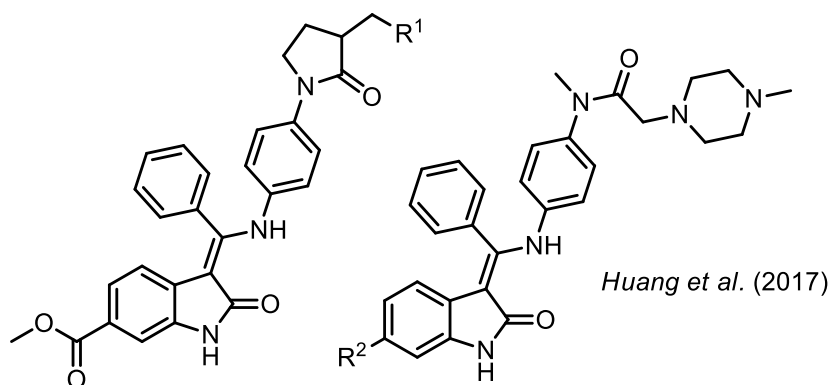
R = CONH₂, CONEtMe, CONHEt, CONHMe,
CONHMe₂, CONHBn, CONH(CH₂)₂OH



R¹ = H, NH₂, NO₂, NHSO₂Me, NHSO₂Et, NHSO₂Ph

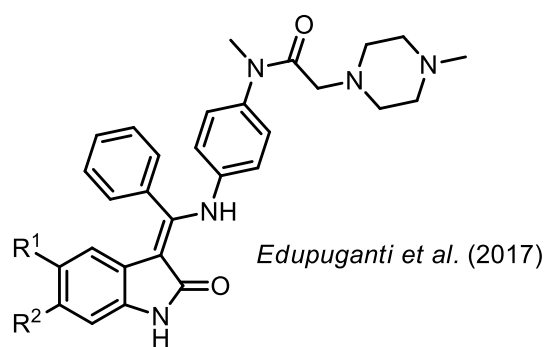
R² = H, Ac

R³ = 4-methylpiperazin-1-yl, morfolin-4-yl, piperidin-1-yl



R¹ = 4-methylpiperazin-1-yl, triazol-1-yl, morfolin-1-yl

R² = H, Br, OCF₃, oxadiazol-5-yl, oxazol-5-yl, 2-furanyl, 2-triazolyl



R¹ = H, COOMe, COOH, CONH(CH₃)₃NMe₂

R² = H, F, COMe, COOH, CONHMe, CONMe₂

Obrázek 6 – Strukturní vzorce látek, při jejichž přípravě byla použita metoda dle Rotha.

2.4.1.7 Syntéza využívající multikomponentní *Ugiho* reakci a kaskádovou reakci

Sérii *N*-substituovaných derivátů 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů připravili v roce 2011 *Bararjanian et al.*⁴⁷ Prvním krokem dvoustupňové syntézy (**Schéma 15**) je čtyřkomponentní *Ugiho* reakce, při které reaguje 2-jodanilin, isonitril, aldehyd a 3-fenylpropynkarboxylová kyselina. Vzniklý amidický meziprodukt je poté podroben kaskádové *Heckově/Buchwaldově-Hartwigově* domino reakci s *p*-substituovaným anilinem, za přítomnosti Pd(OAc)₂ jako katalyzátoru a racemického BINAPu coby ligandu. Reakce poskytuje výborné výtěžky produktů v *Z*-konfiguraci v rozmezí 79 – 96 %.

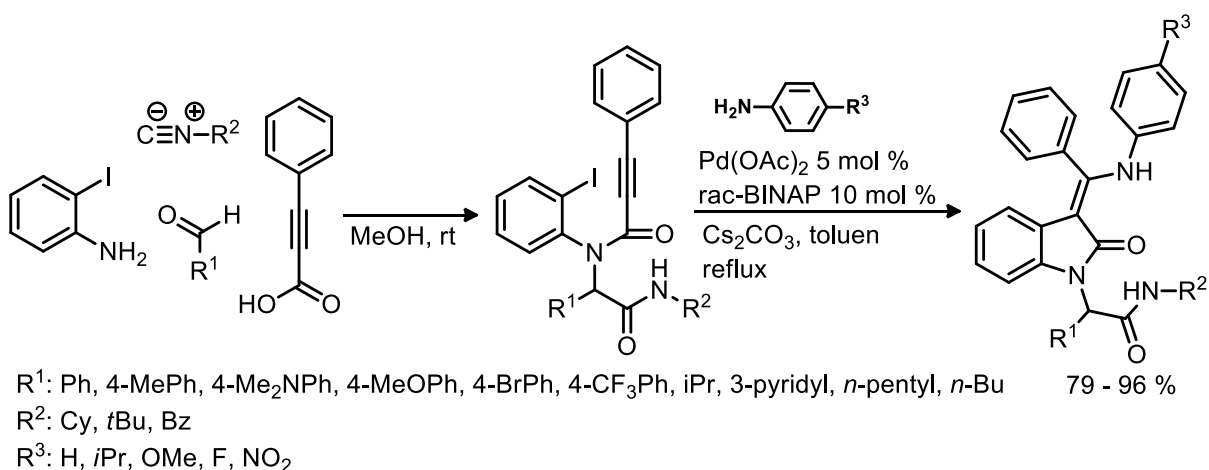


Schéma 15 – Multikomponentní *Ugiho* reakce následovaná kaskádovou reakcí.

2.4.1.8 Syntéza využívající intramolekulární cyklizaci *N*-(2-fenylethynyl)karbamoylchloridů

Další metoda syntézy diskutovaných sloučenin byla popsána v roce 2016. Intramolekulární, palladiem katalyzovanou C–C reakci *N*-(2-ethynylfenyl)karbamoylchloridů (**Schéma 16**) využil pro přípravu 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů *Le et al.*⁴⁸ V prvním kroku cyklizuje *N*-(2-ethynylfenyl)karbamoylchlorid na 3-[chlor(aryl)methyliden]oxindol, intermediát shodný s *Cantagrelovou* metodou syntézy (3.4.1.4). Na rozdíl od zmíněné reakce však *Le* získal chlorderivát jako směs *Z/E* isomerů, přičemž *Z*-isomer tvořil majoritní podíl (pro většinu popsaných sloučenin > 80 %). Ve druhém kroku následuje substituce na *sp*² uhlíku s použitím *N*-nukleofilů za vzniku odpovídajících produktů. Autoři uvádí pro cyklizační reakci výtěžky 33 – 89 %, pro substituční reakci pak 91 a 96 %.

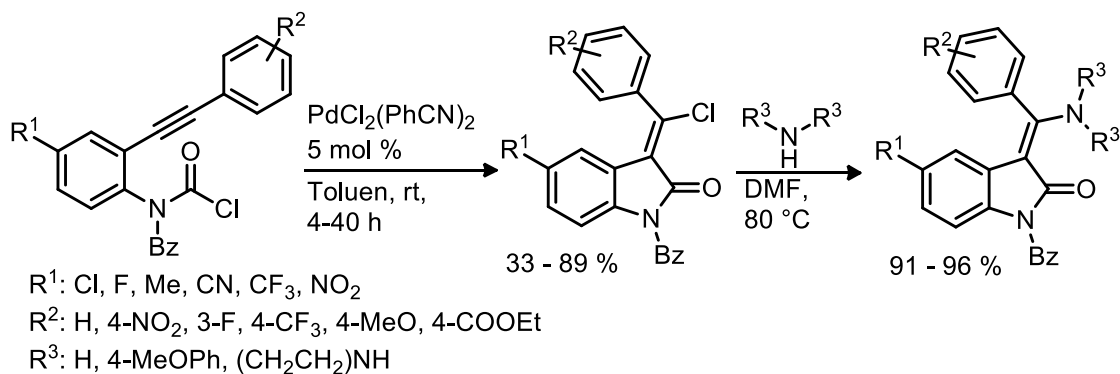


Schéma 16 – Intramolekulární cyklizace *N*-(2-fenylethynyl)karbamoylchloridů.

2.4.1.9 Syntéza využívající 3-brom-3-[brom(aryl)methyliden]oxindol a aniliny

Nejnovější syntéza, kterou popsal *Jiang et al.*⁴⁹ v roce 2018, využívá nukleofilní substituci na 3-brom-3-[brom(aryl)methyliden]oxindolových substrátech s využitím substituovaných anilinů, kterou následuje eliminace (**Schéma 17**). Reakcí byla připravena série 3-[arylamino(aryl)methyliden]oxindolů ve výtěžcích 43 – 73 %. Jako jediná z diskutovaných příprav pak tato metoda poskytuje produkty výlučně jako *E*-izomery. Výchozí dibromderivát je snadno dostupný *Knoevenagelovou* kondenzací odpovídajícího oxindolu s benzaldehydem za vzniku 3-(arylmethyliden)oxindolu, kterou následuje adice bromu na vzniklou dvojnou vazbu.

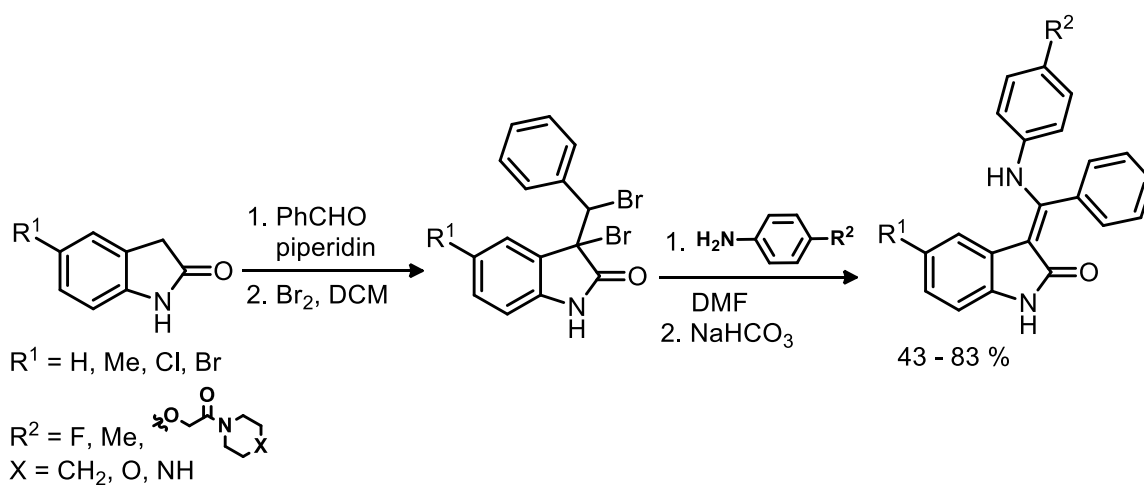


Schéma 17 – Nejnovější popsaná metoda syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů.

2.4.2 Syntézy 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů v patentové literatuře

2.4.2.1 Syntézy využívající kondenzaci oxindolu následovanou substitucí

Jako první získala výhradní oprávnění pro syntézu látek s 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolovým skeletem společnost *Boehringer Ingelheim* v roce 2000, a to aplikací patentu US 6043254⁵⁰. Patentovány byly dvě syntetické metody pro syntézu 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů, obě s použitím oxindolu jako výchozí látky.

První z reakcí je tříkroková. Nejprve dochází k „one-pot“ *N*-protekcí (acylace) a kondenzaci oxindolu s benzoovou kyselinou za přítomnosti TBTU a HOBT. Vzniklý 3-[hydroxy(aryl)methyliden]oxindol je poté převeden na halogenderivát, buď chlorací PCl_5 nebo *Appelovou* reakcí, směsí CBr_4 a PPh_3 . Halogenderivát je poté podroben nukleofilní substituci na sp^2 uhlíku s použitím anilinového nukleofilu za přítomnosti báze. Problémem zmíněné metody je cena použitých kaplovacích činidel (HOBT, HBTU) a velmi nízké výtěžky substituce na sp^2 uhlíku (3 – 15 %).

Druhou syntetickou metodou je dvoukroková reakce využívající „one-pot“ *N*-acetylaci a kondenzaci oxindolu s triethyl-orthobenzoátem. Vzniklý 3-[ethoxy(aryl)methyliden]oxindol je v druhém kroku kondenzován s anilinovým nukleofilem. Obě popsané reakční cesty znázorňuje schéma níže (**Schéma 18**).

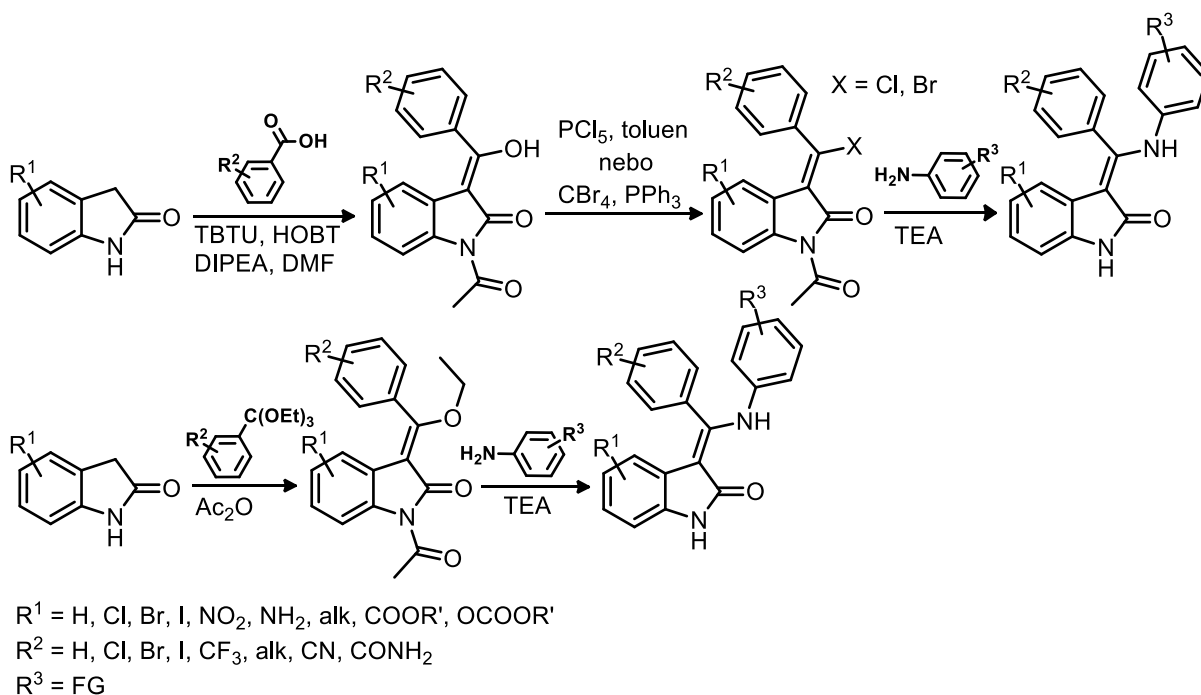


Schéma 18 – První patentované syntetické cesty vedoucí k 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolům.

První reakční kaskáda se pro průmyslovou přípravu neosvědčila – kvůli ceně použitých činidel, ale především kvůli žalostným výtěžkům⁵¹. Druhá diskutovaná cesta, jak již bylo řečeno v kapitole 3.4.1.6, nabyla obrovského významu. Po sérii optimalizací byl tento syntetický postup použit pro syntézu naprosté většiny v literatuře známých inhibitorů tyrosin-kináz s oxindolovým skeletem. Využívá ho například mezinárodní patent WO 13099 (2004), který jest základním patentem pro syntézu a léčebné využití *Nintedanibu*⁵², dále byl použit pro přípravu rozsáhlé série 5-acetyl-3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů v roce 2005⁵³ i ²H značeného *Nintedanibu* a z jeho struktury odvozených derivátů v roce 2015⁵⁴.

Posledním dokumentem stojícím za zmínku, chráněným duševním vlastnictvím společnosti *Boehringer Ingelheim*, je procesní patent EP 071524 A2 z roku 2009⁵⁵, popisující optimalizovanou syntézu *Nintedanibu* v provozním měřítku. Využívá opět stejný syntetický přístup (3.1.1) s jedinou výjimkou - jako činidlo pro *N*-protekcí výchozího oxindolu je použit chloracetanhydrid. Součástí patentu je také několik syntéz výchozího 6-methoxykarbonyloxindolu.

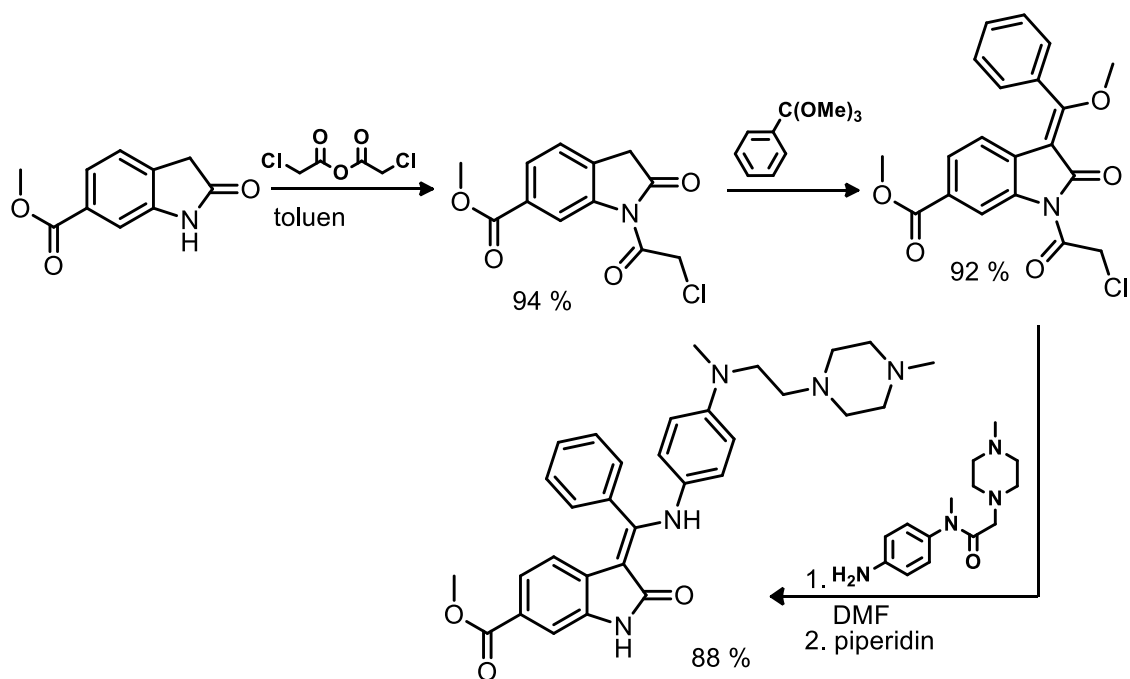


Schéma 19 – Syntéza *Nintedanibu* po optimalizaci.

2.4.2.2 Syntéza využívající kondenzaci oxindolu a benzimidátu

Další metoda pro přípravu 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů s biologickou aktivitou na VEGFR (viz kapitola 3.1.1) je popsána v mezinárodním patentu WO 131186 A1 společnosti Merck⁵⁶. Stejně jako předchozí metody je v reakci využito oxindolů, které jsou kondenzovány s iminoestery substituovaných benzoových kyselin (**Schéma 20**). Reakce je prováděna v mikrovlnném reaktoru s použitím *n*-butanolu coby vysokovroucího polárního rozpouštědla. Výchozí benzimidáty jsou snadno dostupné, a to alkoholózou odpovídajících benzonitrilů.

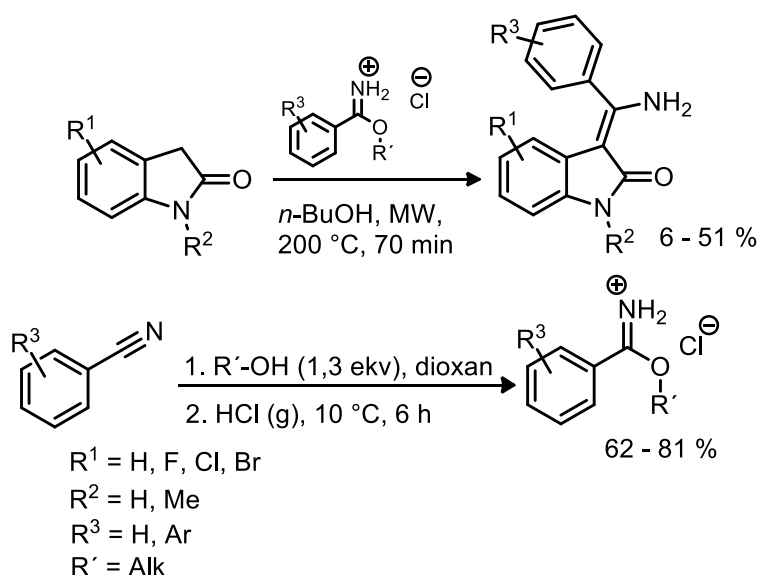


Schéma 20 – Syntéza 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů využívající kondenzaci oxindolu s imidáty.

Značnou nevýhodou této metody syntézy jsou nízké výtěžky (6 – 51 %) cílových molekul. Problémem znesnadňujícím syntézu látek ve větším měřítku pak může představovat nutnost asistence mikrovlnného záření během syntézy. V této práci bude představena nová metoda zmíněných sloučenin pomocí *Eschenmoserovy* reakce (viz kapitola 4.3.5) poskytující zmíněné sloučeniny ve výborných výtěžcích a za mírných reakčních podmínek, nevyžadujících složitou instrumentaci.

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-*tert*-butylfenyl)-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 metod 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 Heitzisch-Mikroskop 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 Substráty a činidla

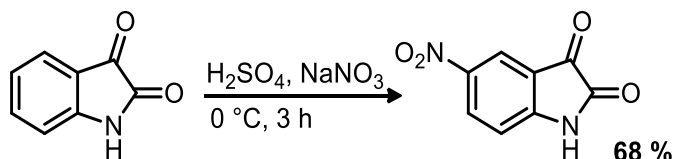
Použitá rozpouštědla - acetonitril a *N,N*-dimethylformamid byla použita v kvalitě p.a. a před použitím vysušena stáním nad molekulovým sítem 4Å.

Substituované thioamidy byly použity buď komerčně dostupné, nebo byly připraveny z odpovídajících nitrilů níže popsanými reakcemi, převzatými z literatury [57].

Výchozí 5- a 6- substituované 3-brom-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-ony (3-bromoxindoly) byly připraveny z odpovídajících, komerčně dostupných isatinů níže popsanými reakcemi.

3.3 Syntéza výchozích látek

5-Nitroisatin



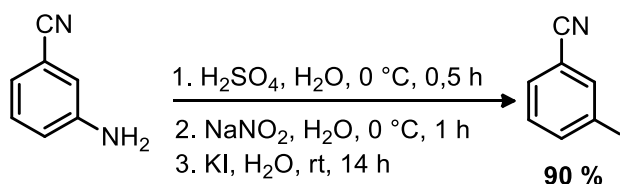
Do roztoku⁵⁸ isatinu (10,0 g, 68 mmol) v H₂SO₄ (98 %, 100 ml) vychlazeného v lázni na 0 – 5 °C byl během asi 0,5 h přidán NaNO₃ (6,0 g, 71 mmol, 1,04 ekv.) tak, aby teplota nepřekročila 5 °C. Poté byla reakční směs při této teplotě udržována další 3 h. Po zreagování veškerého isatinu (asi 3 h; sledováno pomocí TLC, MF *n*-hexan/EtOAc 1/5) byla reakční směs vylita do kádinky s 15 % vodným roztokem octanu sodného (400 ml). Kádinka byla ponechána stát 0,5 h při laboratorní teplotě, jelikož se produkt vylučoval pomalu. Vyloučená látka byla zfiltrována na vakuu a promyta vodou (6 x 50 ml) do neutrální reakce vytékajícího filtrátu (kontrolováno pH papírkem). Získaná surová látka (11,2 g, čistota 91 % dle GC) byla zkrystalizována z AcOH/H₂O 1:1 (v/v) a vysušena ve vakuu.

Výtěžek: 8,9 g (68 %) oranžové krystalické látky s b. t. 255 – 257,5 °C (lit.⁵⁸ 254 – 257 °C), čistoty >98 % (GC).

EI_MS (70 eV), *m/z* (%): 63,0 (30); 90,1 (40); 106,0 (20); 134,0 (10); 164,0 (100); 192,0 (40), [M⁺].

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,67 (s, 1H, NH); 8,44 (dd, *J* = 8,7, 2,4 Hz, 1H, Ar-H); 8,21 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H, Ar-H); 7,09 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, Ar-H). Získané NMR spektrum je ve shodě s literaturou⁵⁸.

3-Jodbenzonitril



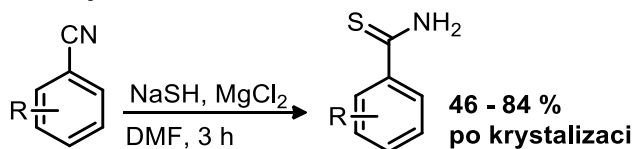
Do suspenze⁵⁹ 3-aminobenzonitrilu (3,0 g, 25 mmol) ve vodě (60 ml) vychlazené na 0 – 5 °C byla po kapkách přidána H₂SO₄ (98 %, 4,5 ml, 84 mmol) a po přidání kyseliny byla

reakční směs dále míchána do rozpuštění veškerého nitrilu (0,5 h). K roztoku byl poté přidán aceton (30 ml) a roztok míchán dalších 15 min. Poté byl po kapkách přidán roztok NaNO₂ (5,2 g, 75 mmol, 3 ekv) v H₂O (10 ml) tak, aby teplota reakční směsi nepřekročila 5 °C. Po přidání veškerého dusitanu byla reakční směs udržována při teplotě do 5 °C další 1 h. Konec diazotační reakce byl indikován jodidoškrobovým papírkem. Za stálého chlazení byl přikapán roztok KI (20,7 g, 125 mmol, 5 ekv) v H₂O (30 ml), baňka s reakční směsí byla vyjmuta z chladicí lázně a ponechána míchat přes noc (14 h). Obsah baňky byl poté přelit do dělicí nálevky a extrahován EtOAc (3 x 40 ml). Organická fáze byla promyta 5 % HCl (2 x 30 ml) a vodou (2 x 20 ml), 10 % roztokem Na₂S₂O₃ (2 x 20 ml) a vodou (2 x 20 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a odpařena na RVO.

Výtěžek: 5,18 g (90 %) hnědé krystalické látky s b.t. 40 – 41 °C (lit.⁶⁰ 40 °C).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,97 (t, *J* = 1,4 Hz, 1H, Ar-H); 7,93 (d, 1H, Ar-H); 7,63 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, Ar-H); 7,21 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ar-H). Získané NMR spektrum je ve shodě s literaturou⁶¹.

3.3.1 Primární thioamidy



R	4-Br	4-Cl	3-Cl	4-I
Výtěžek [%]	46	59	84	59

V DMF (50 ml) byl rozpuštěn⁵⁷ NaSH (obsah látky 70 %, 4,0 g, 50 mmol) a MgCl₂·6 H₂O (5,1 g, 25 mmol). Po rozpuštění reaktantů byl do roztoku přidán odpovídající benzonitril (25 mmol). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 3 h a poté nalita do vody (100 ml). Vyloučená látka byla zfiltrována a promyta vodou (2 x 10 ml). Filtrační koláč byl rozmíchán v 3 % HCl, směs ponechána stát 0,5 h a poté zfiltrována na vakuu. Filtrační koláč byl promyt vodou (2 x 10 ml). Surová látka byla bez předchozího sušení zkrystalizována z 50 % vodného EtOH.

4-Bromthiobenzamid

Výtěžek: 3,2 g (46 %) žluté krystalické látky s b.t. 140 – 143 °C (lit.⁶² 141,5 °C), čistoty 98 % (GC).

EI_MS (70 eV), m/z (%): 60,0 (30); 75,0 (35); 102,0 (20); 135,0 (5); 154,9 (10); 182,0 (70), [M⁺-S]; 200,9 (30); 214,9 (100), [M⁺].

4-Chlorthiobenzamid

Výtěžek: 2,5 g (59 %) žluté krystalické látky s b.t. 127 – 130 °C (lit.⁶³ 128 – 129 °C), čistoty 98 % (GC).

EI_MS (70 eV), m/z (%): 51,0 (10); 60,0 (20); 75,0 (20); 102,0 (15); 111,0 (15); 120,0 (5); 138,0 (75), [M⁺-S]; 155,0 (45); 171,0 (100), [M⁺].

3-Jodthiobenzamid

Výtěžek: 5,5 g (84 %) žluté krystalické látky s b.t. 119 – 121 °C (lit.⁶⁴ 122 °C), čistoty > 99 % (GC).

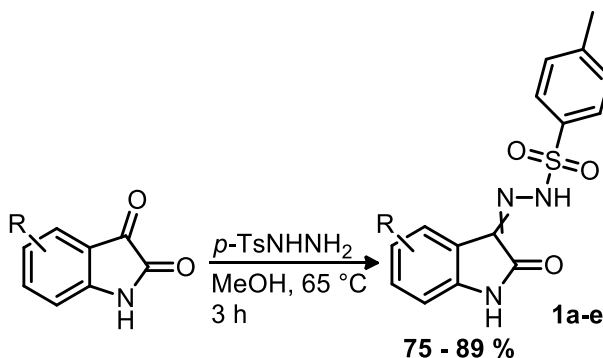
EI_MS (70 eV), m/z (%): 60,0 (15); 76,0 (20); 102,0 (20); 126,9 (10); 230,0 (30), [M⁺-S]; 246,9 (10); 262,9 (100), [M⁺].

4-Jodthiobenzamid

Výtěžek: 3,0 g (59 %) oranžové krystalické látky s b.t. 154 – 159 °C (lit.⁶² 150 °C), čistoty 97 % (GC).

EI_MS (70 eV), m/z (%): 51,0 (5); 61,9 (10); 75,0 (25); 102,0 (30); 126,9 (15); 207,0 (5); 228,9 (100), [M⁺-S]; 246,9 (10); 262,9 (55), [M⁺].

3.3.2 Isatin *p*-toluensulfonylhydrazidy (1a-e)



Látka	1a	1b	1c	1d	1e	1f
R	H	5-Br	5-Cl	5-Me	6-Cl	5-NO ₂
Výtěžek [%]	82	86	89	79	75	75

Do roztoku⁶⁵ odpovídajícího isatinu (50 mmol) v MeOH (150 ml) ohřátého na 50 °C byl za intenzivního míchání v jedné dávce přidán *p*-toluensulfonylhydrazid (10,2 g, 55 mmol, 1,1 ekv.). Reakční směs byla refluxována po dobu 3 h, poté ochlazena na 25 °C. Na odparce byl roztok zahuštěn na polovinu původního objemu a ochlazen v ledové lázni na 5 °C. Vyloučená látka byla zfiltrována na vakuum a promyta studeným (5 °C) MeOH (2 x 15 ml).

4-Methyl-*N'*-[(3*Z*/*E*)-2-oxo-1,3-dihydro-2*H*-indol-3-yliden]benzensulfonylhydrazid (1a)

Výtěžek: 12,9 g (82 %) žluté amorfnní látky s b.t. 199 – 203 °C (lit.⁶⁶ 194 – 195 °C).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12,52 a 10,75 (2×bs, 1H, NH); 11,22 (bs, 1H, NH); 7,79-7,91 (m, 2H, AA'XX'); 7,39-7,49 (m, 3H, Ar-H + AA'XX'); 7,30-7,39 (m, 1H, Ar-H); 6,99-7,09 (m, 1H, Ar-H); 6,85 a 6,89 (2×d, *J* 7,86 Hz, 1H, Ar-H); 2,37 a 2,39 (2×s, 3H, CH₃). Poměr konfiguračních isomerů je přibližně 80:20.

4-Methyl-*N'*-[(3*Z*/*E*)-5-brom-2-oxo-1,3-dihydro-2*H*-indol-3-yliden]benzensulfonylhydrazid

(1b)

Výtěžek: 17,0 g (86 %) žluté amorfnní látky s b.t. 226 – 227 °C (literatura⁶⁵ uvádí 217 °C u látky krystalizované z DMF).

¹H NMR: Nečitelné spektrum, viz diskuze (kapitola 5.1.2.1). Spektrum je součástí přílohy (viz kapitola 7.2.1)

4-Methyl-N'-[(3Z/E)-5-chlor-2-oxo-1,3-dihydro-2H-indol-3-yliden]benzensulfonylhydrazid

(1c)

Výtěžek: 15,6 (89 %) žluté amorfní látky s b.t. 232 – 233 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12,52 (bs, 1H, NH); 11,31 a 10,76 (2×bs, 1H, NH); 7,88 a 7,79 (2×, 2H, *J* = 8,2 Hz, Ar-H + AA'XX'); 7,40 – 7,47 (m, 3H, Ar-H + AA'XX'); 7,33 – 7,39 (m, 1H, Ar-H + AA'XX'); 6,89 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-H), 6,84 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H), 2,38 (s, 3H, CH₃). Poměr konfiguračních izomerů přibližně 85:15.

4-Methyl-N'-[(3Z/E)-5-methyl-2-oxo-1,3-dihydro-2H-indol-3-yliden]benzensulfonylhydrazid

(1d)

Výtěžek: 13,0 g (79 %) žluté amorfní látky s b.t. 194 – 196 °C (lit.⁶⁵ 205 – 206 °C).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12,56 (s, 1H, NH); 11,12 (s, 1H, NH); 7,86 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, Ar-H); 7,43 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, Ar-H); 7,23 (s, 1H, Ar-H); 7,13 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar-H); 6,76 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ar-H); 2,37 (s, 3H, CH₃); 2,24 (s, 3H, CH₃). Látka byla získána jako jeden konfigurační izomer.

4-Methyl-N'-[(3Z/E)-6-chlor-2-oxo-1,3-dihydro-2H-indol-3-yliden]benzensulfonylhydrazid

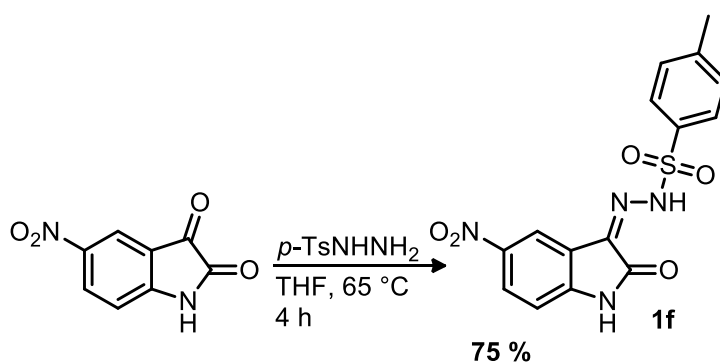
(1e)

Výtěžek: 13,1 g (75 %) žluté amorfní látky s b.t. 210 – 211 °C (lit.⁶⁷ 206 – 208 °C).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12,48 (bs, 1H, NH); 11,33 a 10,86 (2×s, 1H, NH); 7,40 – 7,45 (m, 3H, Ar-H + AA'XX'); 7,11 a 7,06 (dd, *J* = 8,1, 1,5 Hz, 1H, Ar-H), 6,91 a 6,85 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H, Ar-H), 2,37 (s, 1H, CH₃). Poměr konfiguračních izomerů přibližně 90:10.

4-Methyl-N'-[(3Z/E)-5-nitro-2-oxo-1,3-dihydro-2H-indol-3-yliden]benzensulfonylhydrazid

(1f)

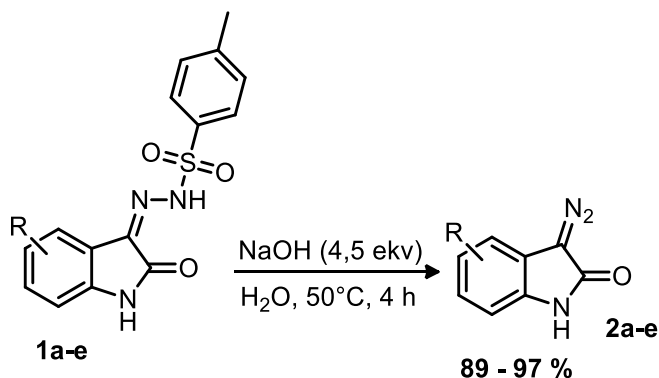


Do roztoku 5-nitroisatinu (3,8 g, 20 mmol) v THF (100 ml) byl při 40 °C přidán *p*-toluensulfonylhydrazid (4,1 g, 22 mmol, 1,1 ekv). Reakční směs byla zahřívána na 65 °C. Konverze byla sledována pomocí TLC (MF = DCM 100%). Po 4 h reakční směs neobsahovala žádnou výchozí látku, takže byla ochlazena na 25 °C a pomocí RVO zahuštěna na polovinu původního objemu. Roztok byl ponechán míchat přes noc na magnetické míchačce. Vyloučená látka byla zfiltrována a promyta MeOH (2 x 10 ml).

Výtěžek: 13,5 g (75 %) žluté amorfnní látky, b.t. 209 – 210 °C (lit.⁶⁵ uvádí 214 – 215 °C u látky krystalizované ze směsi aceton/EtOH).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,77 (s, 1H, NH); 11,32 (bs, 1H, NH); 8,78 (d, *J* = 2,1 Hz); 8,41 (d, *J* = 2,2 Hz); 8,26 – 8,15 (m), 8,08 (d, *J* = 2.2 Hz); 8,03 – 7,96 (m); 7,91 (d, *J* = 8,3 Hz); 7,81 (d, *J* = 8,2 Hz); 7,56 – 7,28 (m); 7,08 – 6,94 (m, 2H); 2,36 (s, 3H, CH₃).

3.3.3 3-Diazooxindoly (2a-e)



Látka	2a	2b	2c	2d	2e	2e
R	H	5-Br	5-Cl	5-Me	6-Cl	5-NO ₂
Výtěžek [%]	96	97	89	96	92	75

Do suspenze⁶⁸ *p*-toluensulfonylhydrazidu odpovídajícího isatinu (35 mmol) ve vodě (350 ml) byl přidán roztok NaOH (5,4 g, 135 mmol, 4,5 ekv) ve vodě (20 ml). Heterogenní směs byla zahřívána na vodní lázni při 50 °C po dobu 4 h. Výsledný roztok/suspenze byla ochlazena na 25 °C a extrahována EtOAc (3 x 150 ml). Organická fáze byla promyta vodou (100 ml), solankou (50 ml), vysušena bezv. Na₂SO₄ a odpařena na RVO. Takto získané látky byly (dle ¹H NMR) dostačující čistoty a byly proto použity bez dalšího čištění k následující reakci.

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

Výtěžek: 5,3 g (96 %) oranžové krystalické látky tající za rozkladu při 165 °C (lit.⁶⁹ uvádí rozklad při 168 °C).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,66 (s, 1H, NH); 7,39 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H); 7,09 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H, Ar-H); 6,99 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H); 6,91 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, Ar-H). Získané NMR spektrum je ve shodě s literaturou⁷⁰.

3-Diazo-5-brom-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (2b)

Výtěžek: 8,0 g (97 %) oranžové amorfnní látky tající za rozkladu při 220 – 222 °C (lit.⁶⁵ uvádí b.t. 218 – 219 °C u látky krystalizované z EtOH).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,78 (s, 1H, NH); 7,65 (s, 1H, Ar-H); 7,22 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 6,83 (dd, *J* = 8,3, 2,0 Hz, 1H, Ar-H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 167,2; 131,7; 127,4; 121,6; 112,8; 111,4; 60,5 (C=N⁺=N⁻).

3-Diazo-5-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (2c)

Výtěžek: 6,0 g (89 %) oranžové amorfnní látky tající za rozkladu při 219 – 222 °C (lit.⁷¹ 189 – 191 °C).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,78 (s, 1H, NH); 7,53 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, Ar-H); 7,09 (dd, *J* = 8,3, 2,1 Hz, 1H, Ar-H); 6,87 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 167,4; 131,3; 124,68; 124,7; 119,0; 118,9; 118,9; 111,0; 60,7 (C=N⁺=N⁻). Získaná NMR spektra jsou ve shodě s literaturou⁷¹.

3-Diazo-5-methyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (2d)

Výtěžek: 5,8 g (96 %) červené amorfnní látky s b.t. 190 – 194 °C (lit.⁶⁵ 193 – 195 °C).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,53 (s, 1H, NH); 7,18 (s, 1H, Ar-H); 6,89 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,79 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ar-H), 2,26 (s, 3H, CH₃).

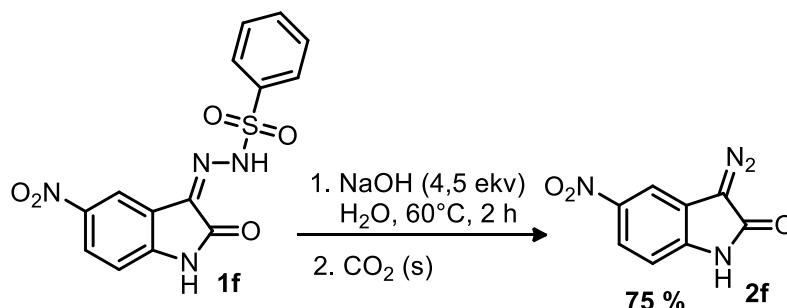
3-Diazo-6-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (2e)

Výtěžek: 6,2 g (92 %) oranžové krystalické látky tající za rozkladu při 192 °C (lit.⁷² uvádí rozklad při 197 – 199 °C).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 10,79 (s, 1H, NH); 7,38 (d, J = 8,2 Hz, 1H, Ar-H); 7,01 (dd, J = 8,2, 1,6 Hz, 1H, Ar-H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 167,6; 133,7; 129,3; 120,9; 120,3; 116,0; 109,9; 60,2 (C=N⁺=N⁻). Získaná NMR spektra jsou ve shodě s literaturou⁷⁰.

3-Diazo-5-nitro-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (2f)



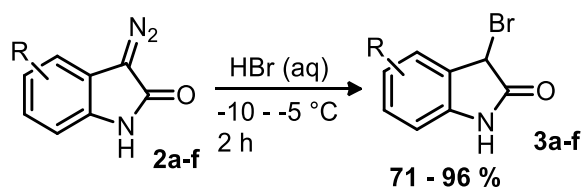
Do suspenze *p*-toluensulfonylhydrazidu 5-nitroisatinu (6,0 g, 16,5 mmol) ve vodě (150 ml) byl přidán roztok NaOH (3,0 g, 75 mmol, 4,5 ekv) ve vodě (10 ml). Heterogenní směs byla zahřívána na vodní lázni při 60 °C po dobu 2 h. Výsledný roztok byl ochlazen na 25 °C a míchán přes noc. Do výsledného červeného roztoku byl za současného přehřívání ve vodní lázni (45 °C) postupně přidáván suchý led (asi 15 g) do úplné neutralizace (kontrolováno pH papírkem). Vysrážená látka byla zfiltrována na vakuu, promyta vodou (3 x 10 ml) a usušena na vzduchu.

Výtěžek: 2,5 (75 %) žluté amorfnní látky tající za rozkladu při 235 °C (lit.⁶⁵ uvádí b.t. při 238 – 240 °C u látky krystalizované ze směsi EtOH/H₂O).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 8,44 (d, J = 2,3 Hz, 1H, Ar-H); 8,01 (dd, J = 8,7, 2,4 Hz, 1H, Ar-H); 7,05 (d, J = 8,7 Hz, 1H, Ar-H); 3,59 (bs, 1H, NH).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ (ppm): 167,7; 141,7; 138,4; 121,5; 118,4; 114,9; 109,6; 61,6 (C=N⁺=N⁻). Získaná NMR spektra jsou ve shodě s literaturou, s výjimkou signálu kyselého vodíku v ^1H NMR spektru, u kterého literatura⁷¹ uvádí posun 10,38 ppm. Při měření látky pomocí ^1H NMR byl získán široký signál s posunem 3,59, způsobený pravděpodobně výměnou protonu s rozpouštědlem.

3.3.4 3-Bromoxindoly (3a-f)



Látka	3a	3b	3c	3d	3e	3f
R	H	5-Br	5-Cl	5-Me	6-Cl	5-NO ₂
Výtěžek [%]	82	85	96	77	92	91

Do 400 ml vysoké kádinky byla předložena³⁸ kyselina bromovodíková (23 ml, w = 48 %, 200 mmol, 10 ekv) a vychlazena v lázni na -10 °C. Do ní byl za intenzivního míchání v jedné dávce vsypán odpovídající diazooxindol (20 mmol), který byl předem důkladně rozetřen na jemný prášek. Reakční směs byla udržována při -10 ÷ -5 °C po dobu 2 h. Poté byla kádinka s reakční směsí vyjmuta z chladicí lázně a ponechána doreagovat 2 h při 25 °C. Výsledná (bílá až slabě žlutá) suspenze byla zfiltrována na fritě a filtrační koláč byl promýván vodou do neutrální reakce (na pH papírek) vytékajícího filtrátu. Získaná látka byla vysušena na vzduchu.

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

Výtěžek: 3,5 g (82 %) bílé amorfnní látky s b.t. 162 – 163 °C (lit.⁷³ 162 – 164 °C).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,77 (s, 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 ve shodě s literaturou⁷³.

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

Výtěžek: 4,9 g (85 %) nažloutlé amorfnní látky rozkládající se při 170 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,92 (s, 1H, NH); 7,50 (s, 1H, Ar-H); 7,45 (dd, *J* = 8,3, 1,5 Hz, 1H, Ar-H); 6,82 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H), 5,70 (s, 1H, C(Br)-H).

3-Brom-5-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (3c)

Výtěžek: 4,7 g (96 %) bílé amorfnní látky rozkládající se při 179 °C.

¹H 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).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 173,3; 141,3; 130,0; 125,9; 125,9; 111,7; 39,6.

3-Brom-5-methyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (3d)

Výtěžek: 3,2 g (71 %) žluté amorfnní látky s b.t. 173 – 174 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,67 (s, 1H, NH); 7,13 (s, 1H, Ar-H); 7,05 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,74 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, Ar-H); 5,65 (s, 1H, C(Br)-H); 2,24 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 173,6; 139,9; 131,3; 130,5; 127,0; 126,5; 109,9; 40,7 (C-Br); 20,5 (CH₃).

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

Výtěžek: 4,5 g (92 %) nažloutlé amorfnní látky s b.t. 162 – 163 °C.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 10,92 (s, 1H, NH); 7,35 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar-H); 7,07 (dd, *J* = 8,0, 1,7 Hz, 1H, Ar-H); 6,88 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, Ar-H); 5,71 (s, 1H, C(Br)-H).

¹³C NMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 173,6; 143,8; 134,3; 127,5; 126,0; 122,1; 110,3; 39,4 (C-Br).

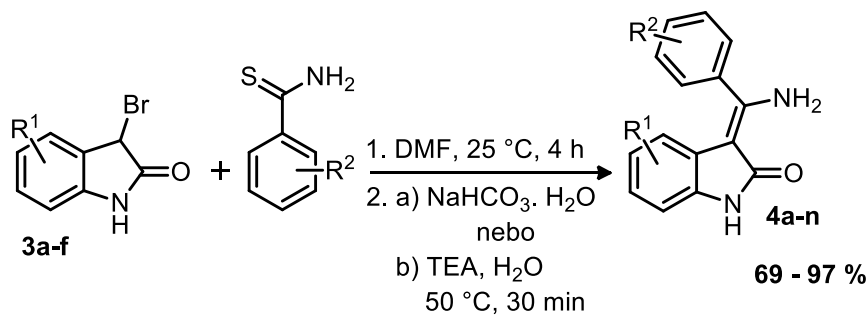
3-Brom-5-nitro-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (3f)

Výtěžek: 4,7 g (91 %) bílé amorfnní látky rozkládající se při 205 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,49 (s, 1H, NH); 8,22 (dd, *J* = 8,7, 1,8 Hz, 1H, Ar-H); 8,18 (s, 1H, Ar-H); 7,06 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H, Ar-H); 5,82 (s, 1H, C(Br)-H).

¹³C NMR (126 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 174,0; 148,7; 142,5; 128,3; 127,2; 121,5; 110,5; 38,6 (C-Br).

3.3.5 (Z)-3-[amino(aryl)methyliden]oxindoly (4a-k)



- a) pro R¹ = 5-Cl, 6-Cl, 5-Br, 5-Me, 5-NO₂
R² = H, 4-Br, 3-Cl, 4-MeO, 3-I
b) pro R¹ = H, R² = 4-I

Látka	R ¹	R ²	Výtěžek [%]
4a	5-Cl	H	97
4b	5-Cl	4-I	87
4c	6-Cl	H	84
4d	6-Cl	4-I	86
4e	H	4-I	93
4f	5-Br	H	88
4g	5-Br	3-I	89
4h	6-Cl	4-MeO	87
4i	5-Br	4-MeO	77
4j	5-Me	H	84
4k	5-Me	4-MeO	69
4l	5-Me	4-Cl	73
4m	5-NO ₂	4-CF ₃	96
4n	5-NO ₂	4-MeO	73

Do roztoku příslušného 3-bromoxindolu (1,5 mmol) v DMF (3 ml) byl přidán roztok odpovídajícího thioamidu (1,5 mmol) v DMF (2 ml) a reakční směs byla míchána po dobu 4 h za laboratorní teploty.

Zpracování A:

Roztok byl vlit do dělicí nálevky s vodou (100 ml), ve které byl předem rozpuštěn hydrogenuhličitan sodný (0,6 g, 7,5 mmol). Byla provedena extrakce ethyl-acetátem (3 x 75 ml). Organická fáze byla promyta vodou (3 x 30 ml), solankou (25 ml), usušena bezvodým Na₂SO₄ a odpařena na RVO.

V případě, že byl produkt čištěn kolonovou chromatografií za použití mobilní fáze obsahující THF jako eluent, byla surová látka rozpuštěna ve vroucím EtOH (30 ml), odpařena na RVO a tento postup ještě jednou opakován.

Zpracování B:

Reakční směs byla vlita do baňky s vodou (50 ml) a do roztoku přidán TEA (0,5 ml, 3,8 mmol, 2,5 ekv.). Reakční směs byla ohřáta na 50 °C a při této teplotě míchána 30 minut. Poté byla ochlazena na 25 °C, přelita do dělicí nálevky, naředěna vodou (50 ml) a extrahována ethyl-acetátem (3 x 75 ml). Organická fáze byla promyta vodou (3 x 30 ml), solankou (25 ml), usušena bezvodým Na₂SO₄ a odpařena na RVO.

(Z)-3-[amino(fenyl)methyliden]-5-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4a)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan/THF 70/25/5) bylo získáno 0,39 g (97 %) žluté látky s b.t. 192,5 – 193 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,52 (s, 1H, NH); 9,35 (s, 1H, NH); 7,66 – 7,47 (m, 5H, Ar-H); 6,94 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,63 (dd, *J* = 8,3, 1,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,18 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 5,39 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171,4; 159,9; 136,7; 135,6; 130,7; 129,3; 128,7; 127,7; 123,1; 120,4; 119,0; 109,6; 95,3.

HRMS: pro C₁₅H₁₁ClN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 271,0633; změřeno: 271,0652.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi *n*-hexan/EtOAc.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 66,55; H: 4,10; N: 10,35; Cl: 13,10; O: 5,91.

Nalezeno: C: 66,40; H: 4,05; N: 10,27; Cl: 13,09.

(Z)-3-[amino(4-jodfenyl)methyliden]-5-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4b)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan 9/1) bylo získáno 0,52 g (87 %) žluté látky s b.t. 257 – 258 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,59 (s, 1H, NH); 7,99 (s, 1H, NH); 7,93 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,31 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 6,95 (dd, *J* = 8,3, 2,0 Hz, 1H, Ar-H); 6,81 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 6,34 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H, Ar-H); 5,25 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,6; 159,0; 138,6; 134,6; 133,9; 129,3; 126,1; 125,8; 123,4; 118,4; 109,89; 97,4.

HRMS: pro C₁₅H₁₁ClIN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 396,9599; změřeno: 396,9600.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi MeOH/IPA.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 45,43; H: 2,54; N: 7,06; Cl: 8,94; I: 32,00, O: 4,03.

Nalezeno: C: 45,20; H: 2,39; N: 6,90.

(Z)-3-[amino(fenyl)methyliden]-6-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4c)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan 4/1) bylo získáno 0,34 g (84 %) béžové látky s b.t. 212 – 214 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,60 (s, 1H, NH); 9,07 (s, 1H, NH); 7,80 – 7,46 (m, 5H, Ar-H); 6,93 (dd, *J* = 8,2, 1,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H); 6,24 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H, Ar-H); 5,43 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171,2; 160,6; 135,3; 134,1; 130,9; 129,3; 127,6; 126,1; 125,8; 123,0; 118,4; 109,9; 95,3.

HRMS: pro C₁₅H₁₁ClN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 271,0633; změřeno: 271,0633.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/MeOH.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 66,55; H: 4,10; N: 10,35; Cl: 13,10; O: 5,91.

Nalezeno: C: 66,23; H: 3,98; N: 10,23; Cl: 13,00.

(Z)-3-[amino(4-jodfenyl)methyliden]-6-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4d)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan/THF 70/25/5) bylo získáno 0,51 g (86 %) oranžové látky s b.t. 256 – 260 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,46 (s, 1H, NH); 8,09 (s, 1H, NH); 7,90 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,30 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 6,90 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H, Ar-H); 6,69 (dd, *J* = 8,3, 1,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,25 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 5,20 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,7; 158,3; 138,6; 136,4; 134,9; 129,4; 129,1; 122,8; 120,7; 119,1; 109,5; 97,1; 95,6.

HRMS: pro C₁₅H₁₁ClIN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 396,9599; změřeno: 396,9605.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/MeOH a trituace *n*-hexanem.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 45,43; H: 2,54; N: 7,06; Cl: 8,94, I: 32,00; O: 4,03.

Nalezeno: C: 45,36; H: 2,44; N: 6,95.

(Z)-3-[amino(4-jodfenyl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4e)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: 100 % EtOAc) bylo získáno 0,50 g (93 %) žluté látky s b.t. 242 – 245 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,47 (s, 1H, NH); 7,90 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 7,86 (s, 1H, NH); 7,69 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,46 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,32 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 6,99 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H); 6,89 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, Ar-H); 6,72 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H); 6,36 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ar-H); 5,13 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,7; 158,0; 157,9; 138,5; 135,6; 134,7; 132,5; 129,6; 124,9; 123,8; 120,8; 118,5; 109,1; 96,9.

HRMS: pro C₁₅H₁₁IN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 362,99888; změřeno: 362,99893.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/MeOH.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 49,75; H: 3,06; N: 7,73; I: 35,00; O: 4,42.

Nalezeno: C: 49,64; H: 3,01; N: 7,68; I: 34,85.

(Z)-3-[amino(fenyl)methyliden]-5-brom-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4f)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hex/THF 70/25/5) bylo získáno 0,42 g (88 %) žluté látky s b.t. 203 – 204,5 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,60 (s, 1H, NH); 8,93 (s, 1H, NH); 7,58 (m, 5H, Ar-H); 7,07 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H, Ar-H); 6,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H); 6,38 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, Ar-H); 5,42 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,9; 160,6; 135,2; 134,5; 130,9; 129,3; 127,6; 126,6; 125,8; 121,2; 113,4; 110,4; 95,1.

HRMS: pro C₁₅H₁₁N₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 315,01275; změřeno: 315,01285.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi THF/petrolether, získaná látka byla 2x rozpuštěna v EtOH (za horka) a roztok odpařen na RVO.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 57,16; H: 3,52; N: 8,89; Br: 25,35; O: 5,08.

Nalezeno: C: 56,94; H: 3,44; N: 8,70; Br: 25,17.

(Z)-3-[amino(3-jodfenyl)methyliden]-5-brom-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4g)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan/THF 70/25/5) bylo získáno 0,59 g (89 %) žluté látky s b.t. 123 – 126 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,56 (s, 1H, NH); 8,40 (s, 1H, NH); 7,96 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, Ar-H); 7,54 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, Ar-H); 7,32 (t, *J* = 7,8 Hz, 1H, Ar-H); 7,26 (s, 1H, Ar-H); 7,10 (dd, *J* = 8,2, 1,8 Hz, 1H, Ar-H); 6,78 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H); 6,45 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, Ar-H); 5,31 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,6; 158,2; 140,0; 137,1; 136,3; 134,5; 130,9; 127,1; 126,2; 126,2; 121,3; 113,6; 110,5; 95,4; 94,7.

HRMS: pro C₁₅H₁₀IBrN₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 440,9094; změřeno: 440,9102.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/EtOH.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 40,85; H: 2,29; N: 6,35; O: 3,63; Br: 18,12; I: 28,77.

Nalezeno: C: 41,10; H: 2,31; N: 6,25.

(Z)-3-[amino(4-methoxyfenyl)methyliden]-6-chlor-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4h)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan 4/1) bylo získáno 0,39 g (87 %) žluté látky s b.t. 229,5 – 231 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,50 (s, 1H, NH); 8,38 (s, 1H, NH); 7,50 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,04 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 6,67 (dd, *J* = 8,3, 1,9 Hz, 1H, Ar-H); 6,37 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, Ar-H); 5,28 (s, 1H, NH); 3,91 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,9; 161,5; 160,0; 136,2; 129,4; 129,4; 127,8 123,4; 120,5; 119,1; 114,5; 109,4; 95,1; 55,5.

HRMS: pro C₁₆H₁₃ClN₂O₂; [M+H⁺]: vypočteno: 301,0738; změřeno: 301,0744.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/MeOH.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 66,80; H: 3,74; N: 10,39; Cl: 13,15; O: 5,93.

Nalezeno: C: 66,50; H: 3,63; N: 10,26; Cl: 12,98.

(Z)-3-[amino(4-methoxyfenyl)methyliden]-5-brom-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4i)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan/THF 70/25/5) bylo získáno 0,40 g (77 %) žluté látky s b.t. 238 – 240 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,42 (s, 1H, NH); 8,02 (s, 1H, NH); 7,32 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,06 (s, 1H, Ar-H), 6,95 – 6,81 (m, 3H, Ar-H); 6,57 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, Ar-H); 6,42 (s, 1H, Ar-H); 5,13 (s, 1H, NH); 3,72 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170,7; 161,7; 160,7; 134,1; 129,3; 127,4; 126,9; 125,7; 121,2; 114,6; 113,4; 110,3; 55,5.

HRMS: pro C₁₆H₁₃BrN₂O₂; [M+H⁺]: vypočteno: 345,0223 ; změřeno: 345,0221.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/EtOH.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 57,35; H: 3,21; N: 8,92; Br: 25,43; O: 5,09.

Nalezeno: C: 57,37; H: 3,17; N: 8,80; Br: 25,40.

(Z)-3-[amino(fenyl)methyliden]-5-methyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4j)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan 9/1) bylo získáno 0,32 g (84 %) béžové látky s b.t. 206 – 208 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,51 (s, 1H, NH); 8,37 (s, 1H, NH); 7,68 – 7,47 (m, 5H, Ar-H); 6,80 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, Ar-H); 6,10 (s, 1H, Ar-H); 5,23 (s, 1H, NH); 2,08 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171,2; 159,3; 136,0; 133,5; 130,4; 129,60; 129,1; 127,8; 124,7; 124,0; 119,2; 108,8; 95,9; 21,4.

HRMS: pro C₁₆H₁₄N₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 251,1179; změřeno: 251,1175.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi ACN/*n*-hexan.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 76,78; H: 5,64; N: 11,19; O: 6,39.

Nalezeno: C: 76,70; H: 5,64; N: 11,16.

(Z)-3-[amino(4-methoxyfenyl)methyliden]-5-methyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4k)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/*n*-hexan/ACN 75/20/5) bylo získáno 0,29 g (69 %) žluté látky s b.t. 213 - 215 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,52 (s, 1H, NH); 8,27 (s, 1H, NH); 7,53 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 7,04 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, AA'XX', Ar-H); 6,79 (s, 2H, Ar-H); 6,32 (s, 1H, Ar-H); 5,19 (s, 1H, NH); 3,91 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171,2; 161,3; 159,4; 133,4; 129,6; 129,5; 128,3; 124,9; 123,9; 119,12; 114,3; 108,7; 95,7; 55,5; 21,4.

HRMS: pro C₁₇H₁₆N₂O₂; [M+H⁺]: vypočteno: 281,1285; změřeno: 281,1279.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi ACN/EtOAc.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 72,84; H: 5,75; N: 9,99; O: 11,42.

Nalezeno: C: 72,72; H: 5,64; N: 9,81.

(Z)-3-[amino(4-chlorfenyl)methyliden]-5-methyl-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4l)

Čištěním surové látky pomocí sloupcové chromatografie (MF: EtOAc/MeOH 100/1) bylo získáno 0,31 g (73 %) žluté látky s b.t. 246 – 247,5 °C.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9,49 (s, 1H, NH); 8,27 (s, 1H, NH); 7,53 (s, 4H, Ar-H); 6,80 (s, 2H, Ar-H); 6,18 (s, 1H, Ar-H); 5,14 (s, 1H, NH); 2,12 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171,1; 157,7; 136,6; 134,3; 133,6; 129,9; 129,4; 124,4; 124,4; 119,1; 108,9; 96,2; 21,4.

HRMS: pro C₁₇H₁₃F₃N₂O; [M+H⁺]: vypočteno: 285,0789 ;změřeno: 285,0784.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi ACN/EtOAc.

Elementární analýza:

Vypočteno: C: 67,49; H: 4,60; N: 9,84; Cl: 12,45; O: 5,62.

Nalezeno: C: 67,51; H: 4,59; N: 9,77; Cl: 12,39.

(Z)-3-[amino(4-trifluormethylfenyl)methyliden]-5-nitro-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4m)

Čištěním surové látky pomocí flash chromatografie (MF: *n*-hexan/EtOAc; gradient 85/15 -> 20/80 během 20 min.) bylo získáno 0,50 g (96 %) látky tající za rozkladu při 345 – 350 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,18 (s, 1H, NH); 9,50 (s, 1H, NH); 8,78 (s, 1H, NH); 8,03 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, Ar-H, AA'XX'); 7,85 – 7,78 (m, 4H, Ar-H, AA'XX' + Ar-H); 6,96 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, Ar-H); 6,63 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H, Ar-H).

¹H NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 170,3; 160,9; 141,6; 140,71; 138,57; 130,9 (q, ²J_(C-F) = 32,1 Hz); 128,9; 126,3; 124,9; 124,0 (q, ¹J_(C-F) = 272,5 Hz); 119,3; 111,8; 108,5; 92,8.

HRMS: pro C₁₆H₁₀F₃N₃O₃; [M+H⁺]: vypočteno: 350,0747; změřeno: 350,0748.

(Z)-3-[amino(4-methoxyfenyl)methyliden]-5-nitro-1,3-dihydro-2H-indol-2-on (4n)

Čištěním surové látky pomocí flash chromatografie (MF: CHCl₃/MeOH; gradient 99/1 -> 90/10 během 25 min.) bylo získáno 0,34 g (73 %) látky s b.t. 328 - 331 °C.

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11,11 (s, 1H, NH); 9,56 (s, 1H, NH); 8,58 (s, 1H, NH); 7,82 (dd, *J* = 8,6, 2,3 Hz, 1H, Ar-H); 7,53 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, Ar-H, AA'XX'); 7,18 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, Ar-H, AA'XX'); 7,09 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H, Ar-H); 6,95 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, Ar-H); 3,88 (s, 3H, OCH₃).

¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ (ppm): 170,9; 163,3; 161,6; 141,5; 141,0; 130,0; 127,0; 125,81; 119,2; 114,9; 112,4; 108,7; 92,7; 55,9.

HRMS: pro C₁₆H₁₃N₃O₄; [M+H⁺]: vypočteno: 312,09788; změřeno: 312,09813.

Za účelem elementární analýzy byla provedena krystalizace ze směsi toluen/EtOH.

Elementární analýza:

Teorie: C: 61,73; H: 4,21; N: 13,50; O: 20,56.

Experiment: C: 61,68; H: 4,17; N: 13,44.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Syntéza výchozích látek

4.1.1 Primární thioamidy

Všechny použité thiobenzamidy byly syntetizovány již osvědčenou⁷⁴ thiolózou aromatických nitrilů katalyzovanou hořečnatou solí, s použitím hydrogensulfidu sodného jako zdroje SH⁻ iontu. Použití postupu popsaného v literatuře⁵⁷ poskytlo thioamidy ve výtěžcích 46 – 84 % (po krystalizaci).

Výchozí aromatické nitrily byly použity komerční, pouze 3-jodbenzonitril připraven podle literatury⁵⁹ (kapitola 4.3), popisující sice reakci pro 4-jodderivát, nicméně analogické reakční podmínky poskytly při použití *m*-derivátu výborný výtěžek 3-jodbenzonitrilu (90 %).

4.1.2 Reakční cesta vedoucí k substituovaným 3-bromoxindolům

Klíčové výchozí látky, substituované 3-bromoxindoly, byly připraveny z odpovídajících isatinů (1*H*-indol-2,3-dionů) třikrokovou reakcí, kterou vystihuje schéma níže (Schéma 21). Prvním krokem syntézy je kondenzace výchozí látky s *p*-toluensulfonylhydrazidem, vzniklý hydrazon je poté podroben eliminační reakci (E1cB) v přítomnosti silné báze (NaOH). Získaný 3-diazoderivát adičně-eliminační reakcí ve vodném roztoku HBr poskytuje finální produkt, substituovaný 3-bromoxindol.

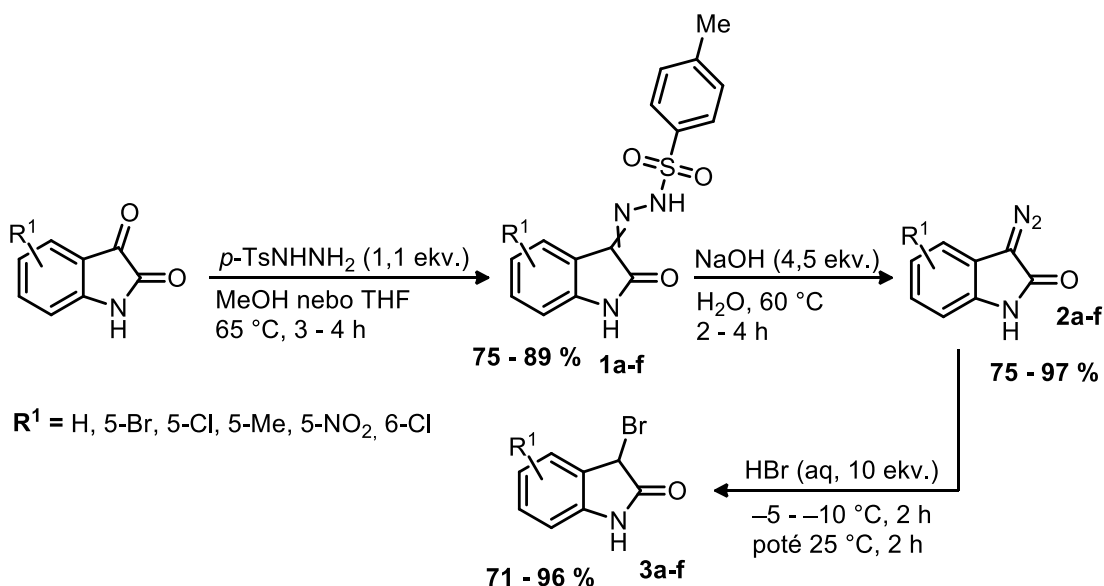


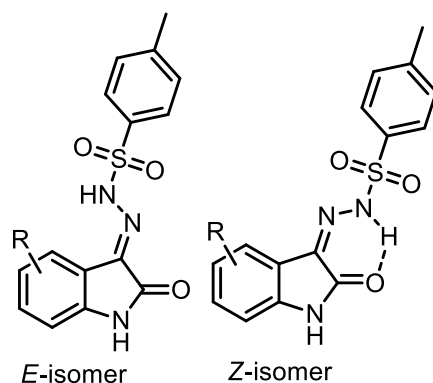
Schéma 21 – Syntéza výchozích 3-bromoxindolů.

Jedná se o syntetickou cestu původně popsanou *Tacconim et al.*⁷⁵, která byla již dříve optimalizována pro maximalizaci výtěžku. Tato reakční kaskáda byla již dříve s úspěchem použita pro přípravu sloučenin tohoto strukturního typu výzkumnou skupinou prof. *Hanuska* [73] [76] a kterou jsem i já využil pro přípravu *N*-methyl-3-bromoxindolu v rámci mé bakalářské práce [74].

4.1.2.1 Toluensulfonylhydrazidy substituovaných isatinů

Výchozí isatiny byly použity komerčně dostupné, pouze 5-nitroisatin byl připraven podle lit.⁵⁸ Syntézy tosylhydrazidů **1a-e** jsou v literatuře^{66,77-83} popsány a byly s úspěchem provedeny podle publikovaných postupů – reakcí odpovídajícího isatinu s 1,1 ekvivalentem *p*-toluensulfonylhydrazidu v methanolu. Výhodou je snadná izolace produktů, které se během reakce spontánně vylučují z reakční směsi. Reakcí byly získány látky **1a-e** ve výtěžcích v rozmezí 75 – 98 %. Pouze při reakci 5-nitroisatinu prováděné podle obecného postupu (viz kapitola 4.3.2) nebyl získán tosylát dostatečné čistoty. Při sledování průběhu reakce pomocí TLC (MF: EtOAc/MeOH 9:1) bylo zjištěno, že i po 24 h refluxu reakční směs obsahovala výchozí látku. Jelikož předpokládaný důvod problému představovala špatná rozpustnost 5-nitroisatinu v methanolu, resp. jeho koprecipitace z roztoku společně s produktem, byl pokus opakován s použitím poloviční koncentrace výchozích látek, avšak se stejným výsledkem. Úspěch nepřineslo ani zvýšení přebytku *p*-TsNHNH₂ z 1,1 na 1,5 molového ekvivalentu. Čistý tosylát **1f** poskytla až reakce dvou zmíněných reaktantů v tetrahydrofuranu, inspirovaná literaturou⁸³. Postup popsáný v citované literatuře byl mírně upraven – po dostatečné konverzi byla reakční směs opatrně zahuštěna na polovinu původního objemu z důvodu zvýšení výtěžku. Reakce po optimalizaci poskytla látku **1f** ve výtěžku 75 %.

Pomocí ¹H NMR bylo zjištěno, že produkty vznikají jako směs *Z/E* isomerů. Veškerá citovaná literatura však, vyjma bodu tání, neuvádí žádné další charakterizace připravených látek, o isomerii na vazbě C=N se taktéž nezmiňuje. Pouze literatura⁶⁷ sporadicky popisuje ¹H NMR, nicméně bez zmínky o *E/Z*-isomerii.



Obrázek 7 – Strukturní vzorce *E/Z*-izomerů připravených sloučenin **1a-f**.

Zastoupení jednotlivých konformačních izomerů zjištěné pomocí ^1H NMR shrnuje **Tabulka 1**. Pouze 5-methylderivát **1d** vznikl jako jeden konformer. Ostatní deriváty **1a-f** byly získány jako směsi *E/Z*-izomerů. Domnívám se, že z energetického hlediska bude preferovaným konformerem *Z*, a to z toho důvodu, že v *Z*-konfiguraci znázorněné na obrázku výše (**Obrázek 7**) může vznikat intramolekulární vodíková vazba uzavírající šestičlenný cyklus – stejně jako je tomu u 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů. U derivátu **1b** se nezdařila analýza získaného spektra vyššího řádu, nepodařilo se ani vyselektovat dva vhodné signály k určení poměru vzniklých konformerů. Analýza spektra látky **1f** byla taktéž obtížná, kvůli překryvu a interferenci signálů spinového systému AA'XX' s ostatními signály v aromatické oblasti. Z důvodu vzniku spektra vyššího řádu se podařilo pouze vyselektovat dva vhodné signály pro určení poměrů vzniklých konformerů. V experimentální sekci je u této látky z uvedeného důvodu pouze výpis spektra bez odpovídajících integrálních intenzit. Nutno konstatovat, že přípravy 3-diazo-oxindolů **2a-f** z těchto látek byly provedeny bez jakýchkoli problémů.

Látka	1a	1b	1c	1d	1e	1f
Z-izomer [%]	80	–	85	> 95	90	65
E-izomer [%]	20	–	15	–	10	35

Tabulka 1 – Poměr *E/Z*-izomerů v látkách **1a-f** stanovený pomocí ^1H NMR.

4.1.2.2 3-Diazo-oxindoly

Diazoderiváty **2a-e** byly připraveny bazicky katalyzovanou eliminací z odpovídajících tosylátů **1a-e**, popsanou v literatuře⁷⁵. Reakce provedená s vodným roztokem 4,5 ekv. NaOH poskytla výtěžky látek **2a-e** v rozmezí 75 – 97 %. Příprava 3-diazo-5-nitrooxindolu (**2f**) byla problematická. Při provádění syntézy dle obecného postupu (kapitola 4.3.3) sice vychází

látko zreagovala (sledováno pomocí TLC, MF: EtOAc/MeOH 8:2), ale ukázala se být nerozpustná v ethyl-acetátu. Pokusy o extrakci pomocí DCM a Et₂O byly taktéž neúspěšné. Na rozdíl od předchozích syntéz (**2a-e**) nebyla reakční směs po zreagování veškeré výchozí látko suspenzí, ale došlo ke vzniku homogenního roztoku. Zjevná nerozpustnost zbylých derivátů ve vodě mne přivedla k myšlence, že produkt je ve výsledném roztoku přítomen ve formě sodné soli. Proto byly provedeny pokusy o vysrážení produktu změnou pH roztoku. Přidáním zředěné kyseliny chlorovodíkové do roztoku vedlo k vysrážení tmavě rudé, lepivé látko, kterou nebylo možno izolovat filtrací. Vyloučená látko taktéž vykazovala špatnou rozpustnost v již jmenovaných rozpouštědlech. Úspěch přineslo až opatrné vykyselení na pH = 7 opatrným přidáváním suchého ledu za současného přihřívání reakční směsi v lázni s teplou vodou, následované filtrací vyloučené látko. Změření ¹H NMR ukázalo, že získaná látko má dostatečnou čistotu pro použití v dalším reakčním kroku. Použití tohoto postupu poskytlo derivát **2f** ve výtěžku 75 %.

4.1.2.3 3-Bromoxindoly

Poslední reakční krok, transformace látek **2a-f** na **3a-f** podle postupu popsaného pro derivát **2a** v literatuře³⁸, byl proveden bez jakýchkoli problémů. Před reakcí s vodným roztokem HBr však bylo nutné výchozí diazoderiváty **2a-f** rozetřít na jemný prášek (s použitím třecí misky a tloučku), jelikož reakce probíhá v heterogenní fázi. Použití postupu popsaného v kapitole 4.3.4, tedy reakci s deseti molovými ekvivalenty HBr poskytlo kýžené 5- a 6- substituované 3-bromoxindoly **3a-f** ve výtěžcích v rozmezí 71 – 96 %.

4.1.3 *Eschenmoserova reakce/transformace kruhu* – reakce 3-bromoxindolů s thiobenzamidy

4.1.3.1 Již prozkoumané reakce 3-bromlaktonů/laktamů s thioamidy

Skutečnost, že reakce 3-bromoxindolů s thioamidy může probíhat i cestou *Eschenmoserovy* reakce byla objevena během syntéz 2-fenyl-5-(2-aminofenyl)-1,3-thiazol-4(5*H*)-onů (resp. jejich enolforem)^{73,76} – sloučenin zajímavých svými spektrálními vlastnostmi. Tyto thiazoly byly připraveny jako analoga 2-fenyl-5-(2-hydroxyfenyl)-1,3-thiazol-4(5*H*)-onů (resp. jejich enolforem)⁸⁴, které byly získány reakcí thiobenzamidů s 3-brom-1-benzofuran-2(3*H*)onem, laktonovým analogem 3-bromoxindolu. Pro reakce obou zmíněných substrátů byla předpokládána transformace kruhu, tedy reakce zahrnující

transformaci thioimionové soli vzniklé substitucí na laktamovém/laktonovém substrátu (*S*-alkylací). Reakce vedoucí ke vzniku 3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů nebyla původně předpokládána, jelikož *Eschenmoserova* reakce v naprosté většině případů neprobíhá bez přítomnosti thiofilu (viz kapitola 3.3.3 a 3.3.4) a také je jen sporadicky popsána u primárních thioamidů. Jedná se tak o ojedinělý příklad *Eschenmoserovy* reakce bez přítomnosti jak thiofilu, tak báze. Prováděné reakce a jejich produkty znázorňuje **Schéma 22**.

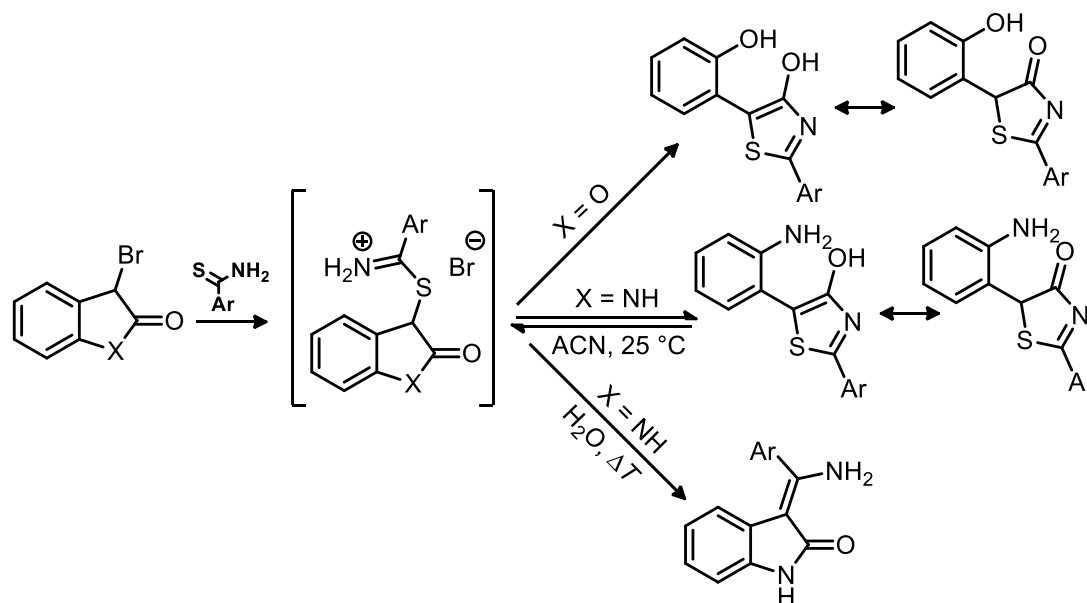


Schéma 22 – Reakce 3-bromlaktanu/laktamu s arylthioamidem.

Po tomto zjištění se stala reakce mezi 3-bromoxindoly a thioamidů cílem intenzivního výzkumu⁸⁵ skupiny prof. *Hanuska*. V rámci méj bakalářské práce jsem prozkoumal reaktivitu *N*-methyl-3-bromoxindolů se zajímavým zjištěním – *N*-alkylace laktamového substrátu zcela potlačuje reakční cestu vedoucí přes transformaci kruhu a reakčními produkty jsou výhradně 1-methyl-3-[amino(aryl)methyliden]oxindoly⁷⁴. Předpokládaný mechanismus reakcí je uveden na schématu níže (**Schéma 23**). Vysvětlení pro zablokování reakční cesty vedoucí ke 4-hydroxythiazolu je následující: při reakci vedoucí k thiazolu volný elektronový pár dusíku thioimionové soli atakuje karbonylovou funkci oxindolového skeletu (**Schéma 23**, zeleně zvýrazněno). Dochází k uzavření kruhu a vzniku tricycklého intermediátu, poté dochází k přesunu elektronového páru (**Schéma 23**, červeně zvýrazněno) z jeho deprotonované hydroxyskupiny a k odstoupení anilinové skupiny. Právě její substituce může mít rozhodující vliv na průběh reakce. U tricycklého intermediátu bez substituentu na dusíku může proběhnout odstoupení anilinové skupiny snadno. Pokud je zde přítomná methylskupina,

kteřá svým kladným induktivním efektem zvyšuje elektronovou hustotu na dusíku *N*-methylanilinového zbytku, stává tato skupina horší odstupující skupinou a přesmyk, jehož produktem by byl 4-hydroxythiazol, se stává energeticky nevýhodný. Reakcí s nižší energetickou bariérou se stává reakční cesta mechanismem *Eschenmoserovy* reakce, začínající štěpením kyselého vodíku (**Schéma 23**, modře zvýrazněno).

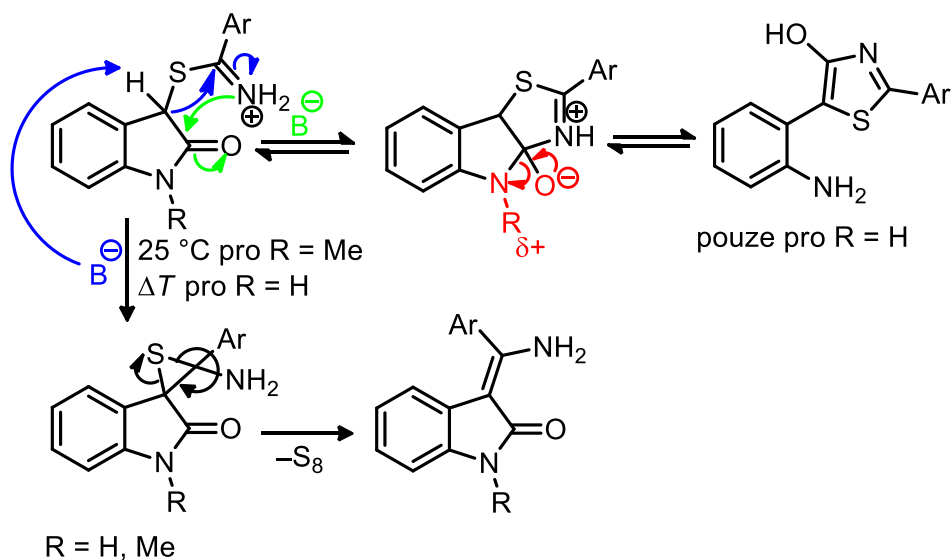
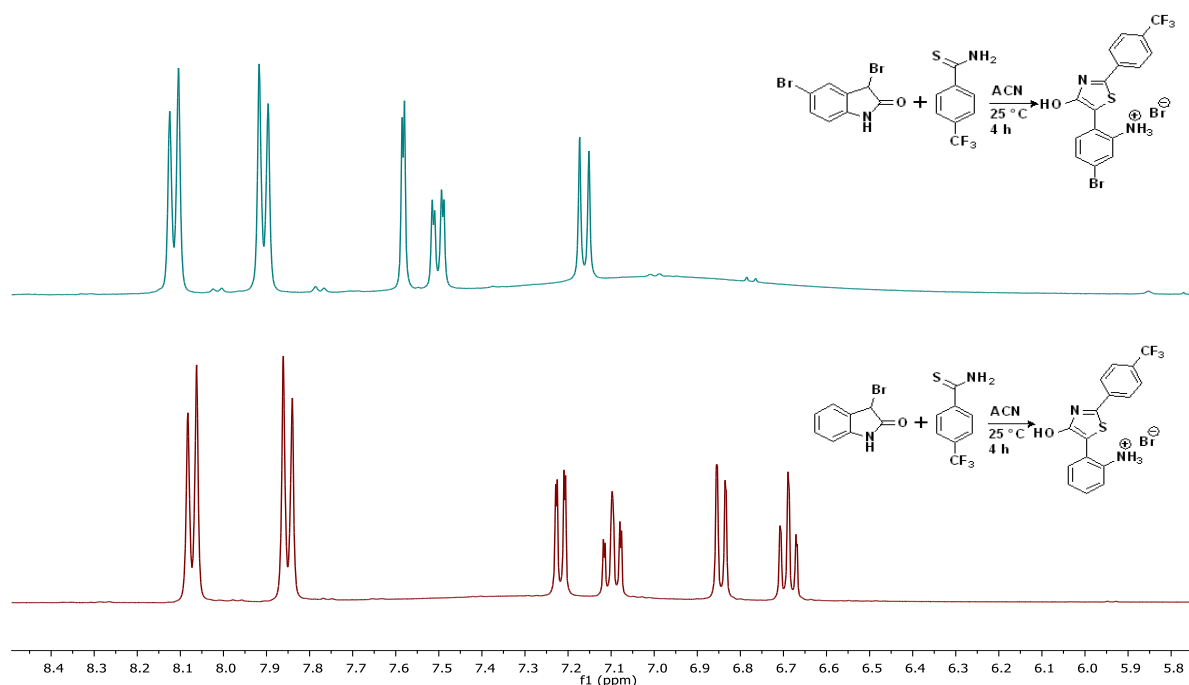


Schéma 23 – *Eschenmoserova* reakce/transformační reakce thioimionové soli.

4.1.3.2 Úvodní pokusy se substituovaným 3-bromoxindolem

Pro detailnější vhled do problematiky, především kvůli prozkoumání obecnosti reakce v závislosti na substituci – a to jak oxindolu, tak thioamidu, jsem svou pozornost zaměřil na reakci 5- a 6- substituovaných 3-bromoxindolů s thiobenzamidy. S ohledem na strukturu sloučenin (viz **Tabulka 1**), jejichž syntéza je cílem této práce, byly úvodní pokusy provedeny s 3,5-bromoxindolem **3b**. Zmíněný 3,5-bromoxindol **3b** v navázce 1 mmol byl podroben reakci s jedním ekvivalentem thiobenzamidu s použitím ACN jako rozpouštědla. Sledování reakce pomocí TLC (MF = *n*-hexan/EtOAc 1:1) prokázalo, že reakční směs po 4 h neobsahovala žádnou z výchozích látek. Zároveň došlo k precipitaci neznámé látky. Byla provedena filtrace a filtrát byl odpařen za vzniku červené olejovité látky. Oba získané podíly byly analyzovány pomocí ¹H NMR, které prokázalo, že oba produkty jsou složitou směsí nejméně tří látek, a tedy z tohoto experimentu nemohly být vyvozeny jednoznačné závěry o průběhu reakce. I poměr vyloučené látky a látky zůstávající v roztoku (asi 1:1) vypovídá o nejednoznačné chemoselektivitě reakce. Následovaly pokusy s 4-methoxythiobenzamidem, jakožto elektrondonorně substituovaným nukleofilním činidlem, nicméně se stejným výsledkem.

Jednoznačně interpretovatelné výsledky přinesla až reakce 3,5-dibromoxindolu (**3b**) s elektronově chudými thiobenzamidy. Reakce 3,5-dibromoxindolu (**3b**) s 4-trifluormethylthiobenzamidem, opět s využitím ACN jakožto rozpouštědla, poskytla za použití stejných podmínek i postupu poměrně větší množství vyloučené látky (asi 70 % hmotnosti reaktantů).



Obrázek 8 – Srovnání ^1H NMR spekter produktů reakce 3-bromoxindolů s 4-trifluormethylbenzamidem.

Analýzou vyloučené látky pomocí ^1H NMR byla prokázána přítomnost jedné majoritní látky. Při podrobnějším zkoumání získaného spektra (**Obrázek 8**, horní spektrum) bylo zjištěno: Sloučenina vzniklá reakcí 3,5-dibromoxindolu (**3b**) s 4-trifluormethylthiobenzamidem obsahuje dvě korelující sady protonů. První z nich odpovídá přítomnosti nesymetrické *p*-substituce a skládá se ze dvou dubletů (integrální intenzity $2 \times 2\text{H}$) vykazující typickou střechovitost, přičemž oba mají shodné interakční konstanty $^3J_{(1\text{H};1\text{H})} = 8,2$ Hz. Vysoký rozdíl chemických posunů těchto dvou dubletů, $\Delta \delta = 0,20$ ppm (1. dublet $\delta = 8,11$ ppm, 2. dublet: $\delta = 7,91$ ppm) pak ukazuje na přítomnost silně elektronakceptorní skupiny, kterou CF_3 skupina bezpochyby je. Druhou sadu signálů tvoří tři signály s integrální intenzitou $3 \times 1\text{H}$ – úzký dublet ($\delta = 7,58$ ppm, $^4J_{(1\text{H};1\text{H})} = 2,2$ Hz), dublet dubletu ($\delta = 7,50$ ppm, $^3J_{(1\text{H};1\text{H})} = 8,6$ Hz, $^4J_{(1\text{H};1\text{H})} = 2,2$ Hz) a dublet ($\delta = 7,16$ ppm, $^3J_{(1\text{H};1\text{H})} = 8,6$ Hz). Pozorování takto

štěpených signálů v aromatické oblasti ukazuje na přítomnost 1,2,4-trisubstituovaného jádra. Poslední signál v získaném ^1H NMR spektru, široký singlet splývající se základní linií, poukazuje na přítomnost centra nebo center se schopností rychlé chemické výměny vodíku s rozpouštědlem (měření provedeno v $\text{DMSO-}d_6$). Uvedené ^1H NMR spektrum také postrádá signál s posunem $\delta = 10 - 11$ ppm, který je typicky pozorován⁷⁶ ve spektrech oxindolů.

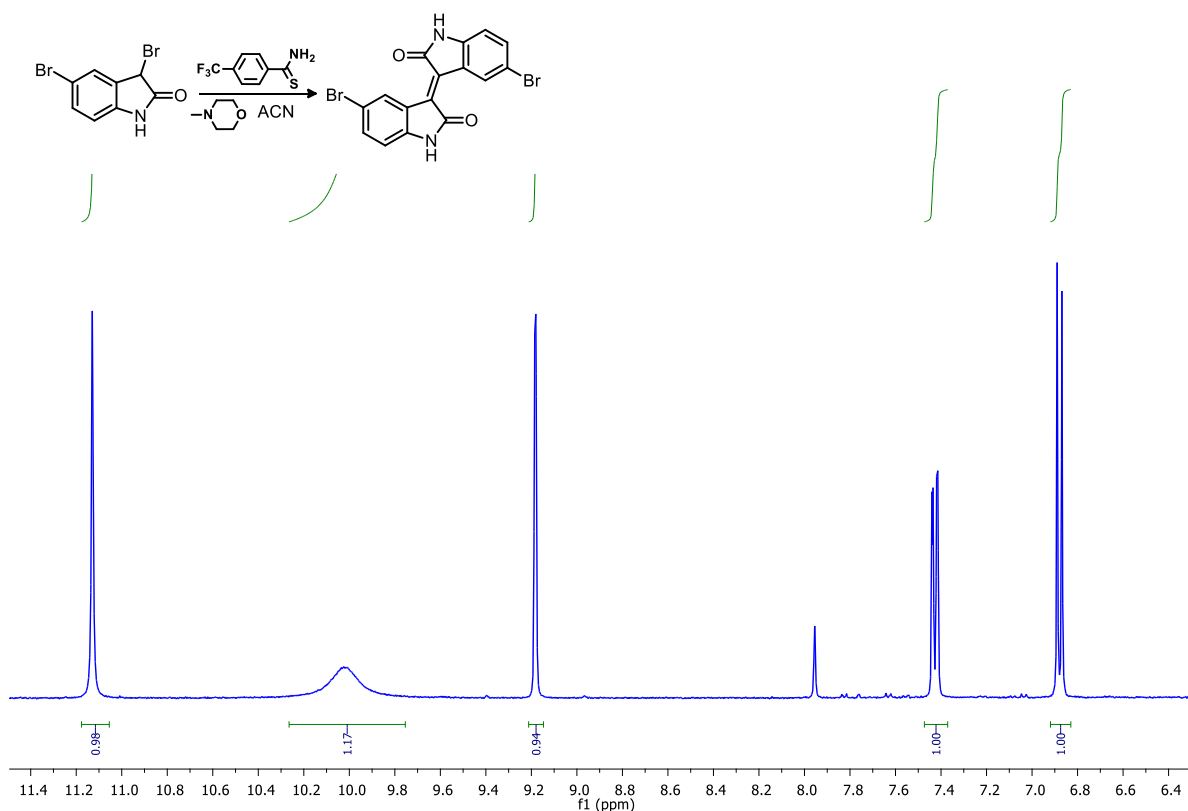
Srovnáním s ^1H NMR již dříve připravené³⁸ látky (**Obrázek 8**, dolní spektrum) a s využitím zde uvedených poznatků byla navržena struktura vzniklé látky – hydrobromid 5-(2-amino-5-bromofenyl)-2-(4-trifluormethylfenyl)thiazol-4-olu. Odlišnosti ve srovnávaných spektrech - absence jednoho signálu, jednodušší štěpení a posun k vyššímu poli, ke kterému došlo u jedné sady korelujících signálů - odpovídají substituci původního oxindolového jádra halogenem. Přítomnost ketoformy lze na základě zde uvedeného ^1H NMR spektra vyloučit, a to z důvodu absence typického signálu (singletu) C–H thiazolového cyklu, který by odpovídal ketoformě thiazolu.

Byly provedeny pokusy o izolaci 5-(2-amino-4-bromfenyl)-2-(4-(trifluormethyl)fenyl)thiazol-4-olu v čistotě dostatečné pro kompletní charakterizaci, nicméně i opatrná dekvarternizace vedla k jeho rozkladu. Neúspěšné byly i pokusy o čištění pomocí sloupcové chromatografie nebo krystalizace. Vzhledem k tomu, že příprava substituovaných 4-hydroxythiazolů nebyla primárním cílem této práce, bylo po několika neúspěšných pokusech zanecháno snahy o izolaci látky v neutrální formě.

4.1.3.3 Vliv přídavku báze do reakční směsi

Jak je zřejmé z mechanismu *Eschenmoserovy* reakce (viz **Schéma 23**), intramolekulárnímu nukleofilnímu ataku, který vede k uzavření thiiiranového cyklu, musí předcházet odtržení kyselého vodíku a tedy vznik karbaniontu. Z tohoto důvodu byl proveden experiment s přídavkem báze do reakční směsi. Vzhledem k předpokládané zvýšené aciditě vodíku v poloze 3 výchozího 3-bromoxindolu byla zvolena slabá organická báze, *N*-methylmorfolin ($\text{p}K_a = 7,38$). K roztoku 3,5-dibromoxindolu (**3b**) v ACN byl přikapán roztok 1 ekv. 4-trifluormethylthiobenzamidu v ACN, do kterého byl přidán 1 ekv. zmíněné báze. Ihned po začátku přikapávání se z reakční směsi začala vylučovat červenohnědá látka. Proto byl odebrán vzorek k TLC analýze (MF: *n*-hexan/EtOAc 1:1) – tou bylo zjištěno, že téměř ihned po smíchání roztoků reakční směs již neobsahuje výchozí 3-bromoxindol **3b**, vzniklá látka zůstala na startu ($R_f = 0$). Vyloučená látka byla zfiltrována na vakuu a promyta

ACN. Její analýza pomocí ^1H NMR ukázala následující: ve spektru (**Obrázek 9**) je přítomný signál s vysokým chemickým posunem $\delta = >11$ ppm typický pro amidický oxindolový vodík ⁶⁵ a pouze tři signály v aromatické oblasti, z nichž jeden má relativně vysoký chemický posun $\delta = >9$ ppm. Další dva signály svou střechovitostí a štěpením ukazují na přítomnost dvou sousedících vodíků. Výskyt pouze čtyř signálů svědčí a vysoké symetrii vznikuvší molekuly. Srovnáním s literaturou⁶⁸ bylo potvrzeno, že se jedná o 5,5'-dibromisoindigo. Vysvětlením pro tento jev může být mechanismus znázorněný níže (**Schéma 24**). Přídavek báze do reakční směsi obsahující 3-bromovaný oxindol vedl s odštěpení kyselého vodíku v poloze 3 oxindolového skeletu. Nukleofilní atak konjugované C-báze do polohy 3 další molekuly výchozí látky mající za následek zdvojení oxindolové struktury následovaný dehydrohalogenací odpovídá vzniku isoindiga.



Obrázek 9 – Látka vzniklá přidavkem báze do reakční směsi.

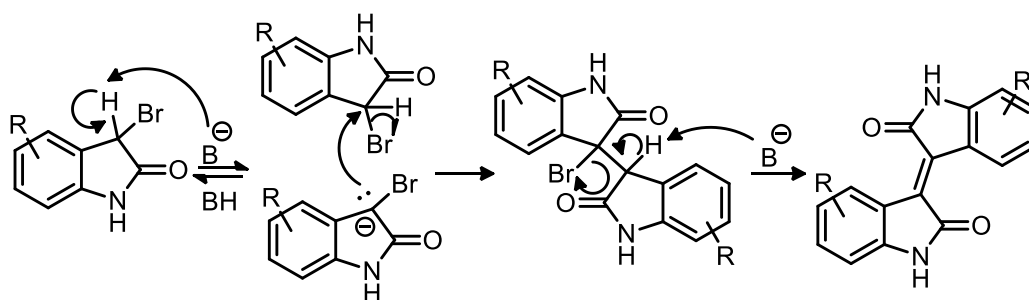


Schéma 24 - Navržený mechanismus vzniku isoindiga z 3-bromoxindolu.

Druhý možný mechanismus vysvětlující vznik 5,5'-dibromisoindiga je znázorněn na schématu níže (**Schéma 25**) a znázorňuje možnou transformaci vzniklé *S*-thioimioniové sole – kyselost vodíku v poloze 3 oxindolového cyklu bude pravděpodobně ještě vyšší, než v předchozím případě (u 3-bromoxindolu). Odtržením tohoto vodíku přítomnou bazí vzniká *C*-nukleofil, který následovně intermolekulárně atakuje další molekulu *S*-thioimioniové soli (případně 3-bromoxindolu) za odstoupení molekuly thioamidu. Následná eliminace další molekuly bromovodíku a thioamidu ze vzniklého *S*-imidothioesteru odpovídá vzniku isoindiga.

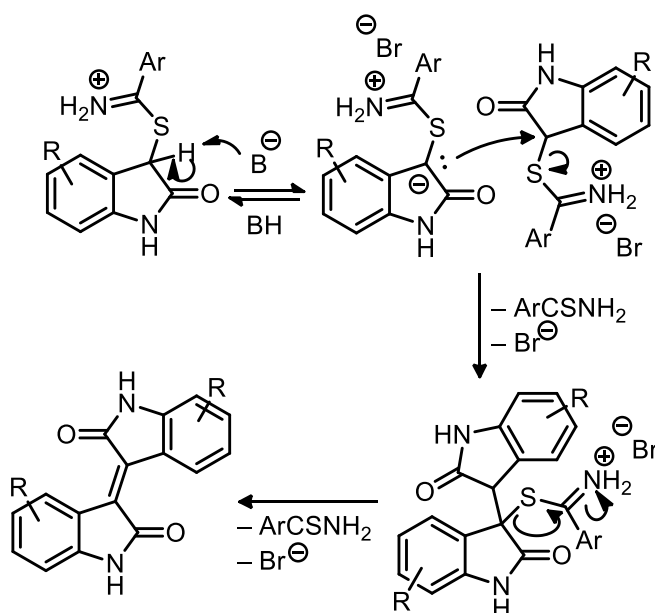


Schéma 25 - Navržený mechanismus vzniku isoindiga z thioimioniové sole.

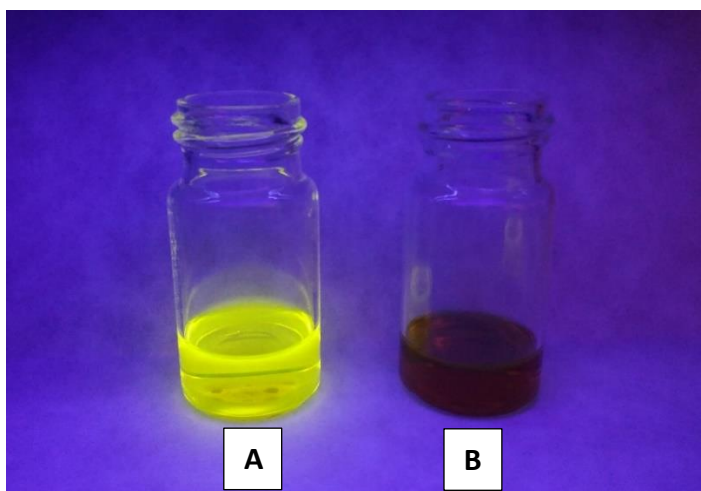
Nutno zmínit, že vznik 5,5' případně 6,6' symetrických isoindigových derivátů (viz dále, kapitola 5.1.3.5) coby vedlejších produktů prováděné reakce provázelo přípravu celé série látek **4a-n**. Ačkoli nebylo stanovováno přesné množství vzniklé při preparacích jednotlivých derivátů, vizuálně se vznik isoindiga projevoval zčervenáním až zčernáním

reakční směsi. Při úvodních pokusech o syntézu látky **4a** docházelo k vysrážení větších množství tohoto meziprojektu, což ve výsledku znamenalo téměř nemožnou separaci pomocí sloupcové chromatografie z důvodu rozmývání isoindiga při provádění sloupcové chromatografie. Částečně byla tato vedlejší reakce potlačena použitím bezvodého rozpouštědla.

4.1.3.4 Vliv rozpouštědla na průběh reakce, reakce v DMF

Po zjištění, že při použití ACN jako rozpouštědla vznikají jako hlavní produkty látky vzniklé transformací kruhu (4-hydroxythiazoly, **Schéma 22**), bylo rozhodnuto o změně rozpouštědla. Byl zvolen polární a aprotický *N,N*-dimethylformamid (DMF). S ním byla zopakována reakce, která v případě provedení v ACN vedla k získání čistého 4-hydroxythiazolu, tedy reakce 3,5-dibromoxindolu **3b** a 4-trifluormethylbenzamidem.

Během sledování předchozí reakce 3,5-dibromoxindolu (**3b**) a 4-trifluormethylbenzamidem v ACN pomocí TLC bylo zjištěno, že vznikající produkt (4-hydroxythiazol) vykazuje, vystaven UV ($\lambda = 366 \text{ nm}$) výraznou žlutou fluorescenci. Přítomnost 2,5-diaryl-4-hydroxythiazolu může být jednoduše indikována vystavením reakční směsi UV záření. Vlevo na fotografii níže (**Obrázek 10**) je snímek reakční směsi látky **3b** a 4-trifluormethylbenzamidem v ACN naředěný EtOAc, vykazující silnou fluorescenci. Vpravo (**Obrázek 10**) je pak vzorek reakční směsi stejných reagujících komponent v DMF, také naředěnou EtOAc, která však žádnou fluorescenci nevykazuje. Následná analýza (po 4h reakčního času) pomocí TLC (MF: EtOAc/*n*-hexan 8/2) odhalila přítomnost tří látek, z nichž jedna ($R_f = 0,6$) tvořila majoritní podíl. Dále bylo v reakční směsi prokázáno 5,5'-dibromisoindigo ($R_f = 0,05$) a výchozí 4-trifluormethylthiobenzamid).



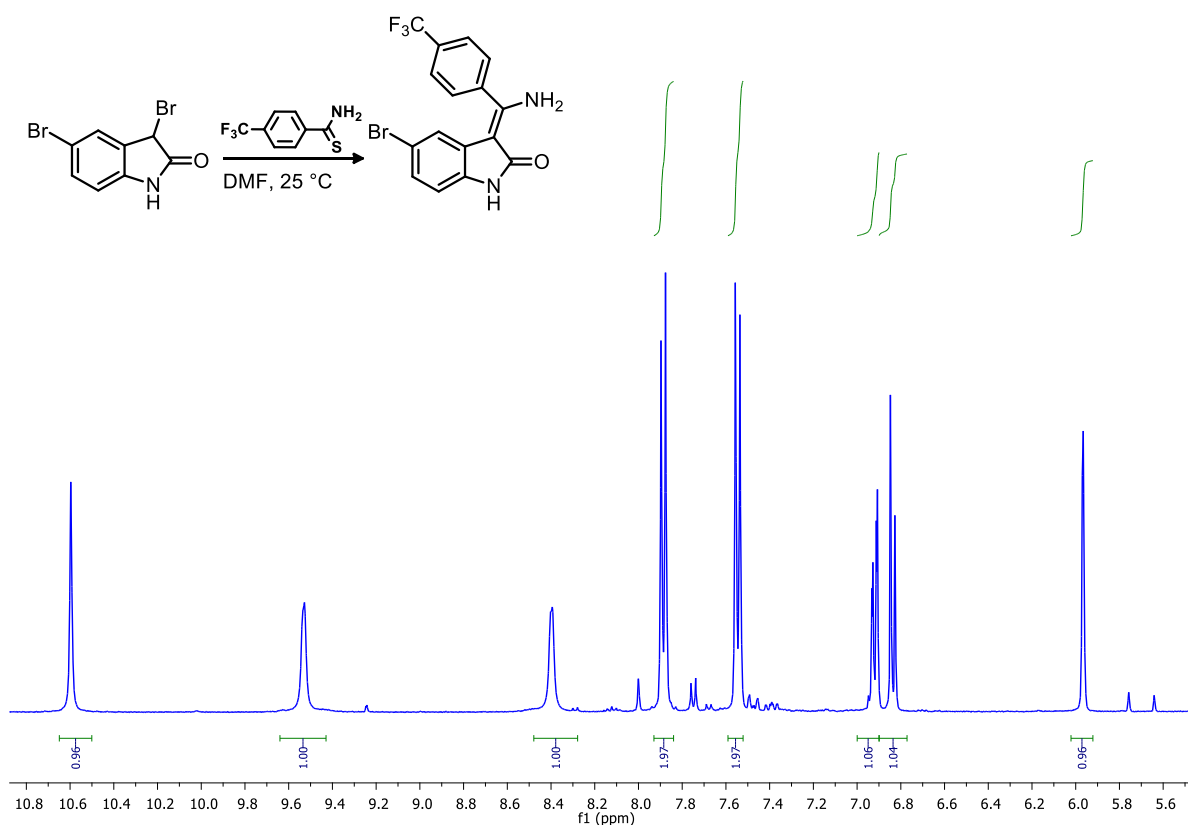
Obrázek 10

Vzorky reakčních směsí v expozici UV záření ($\lambda = 366 \text{ nm}$).

A: **3b** + CF_3TBA v ACN, naředěno EtOAc.

B: **3b** + CF_3TBA v DMF, naředěno EtOAc.

Během celé reakční doby zůstal roztok homogenní, nejspíše kvůli dobré rozpustnosti vznikající látky v DMF. Po zreagování veškerého 3,5-dibromoxindolu (**3b**) byla reakční směs vлита do vody, což vedlo k vyloučení hnědé látky. Přidáním EtOAc nedošlo k jejímu rozpuštění. Nepřítomnost báze v reakční směsi a fakt, že při reakci musí být nukleofugem bromidový aniont mne vedlo k úvaze, že by vyloučená látka mohla být ve formě kvarterní amoniové soli. Přídavek báze (2 ekv. NaHCO₃) do směsi vedl k rozpuštění vyloučené látky v EtOAc. Odpařením organické fáze byla získána hnědá látka, jejíž ¹H NMR je na **Obrázku 11**.

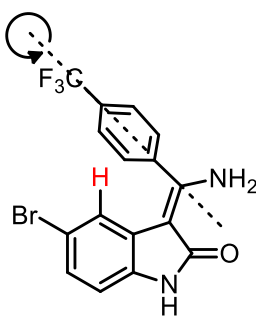


Obrázek 11 – ¹H NMR spektrum získané reakcí látky **3b** a 4-CF₃TBA.

Z ¹H NMR analýzy lze usoudit následující: spektrum obsahuje dvě sady spolu korelujících protonů. První z nich jsou dva dublety s integrální intenzitou 2H, první s $\delta = 7,89$ ppm a druhý s $\delta = 7,55$ ppm se shodnou interakční konstantou $^3J_{(1H;1H)} = 8,4$ Hz. Dublet s chemickým posunem $\delta = 7,55$ navíc vykazuje náznak štěpení způsobené interakcí ¹H-¹⁹F – tyto dva signály tedy vypovídají o přítomnosti 4-CF₃Ph (AA'XX' spinový systém) fragmentu v molekule. Druhou sadou korelujících signálů jsou dva dublety s $\delta = 6,92$ ppm a 6,84 ppm s integrální intenzitou ¹H, vykazující typickou střechovitost a mající stejnou interakční konstantu $^3J_{(1H;1H)} = 8,2$ Hz. Spolu s úzkým singletem $\delta = 5,97$ ppm ($^4J_{(1H;1H)} = 1,1$ Hz) tato sada signálů prokazuje přítomnost trisubstituovaného jádra. Hlavní rozdíl oproti ¹H NMR spektru

2,5-diaryl-4-hydroxythiazolu (**Obrázek 8** v kapitole 5.1.3.2) však spočívá v přítomnosti signálu vodíku amidické funkce, pro oxindoly typicky s δ přibližně 10 ppm (v tomto případě $\delta = 10,60$ ppm) a dvou širokých singletů s $\delta = 9,53$ ppm a $\delta = 8,39$ ppm, ukazujících na přítomnost NH_2 skupiny. Tyto poznatky potvrzují vznik 3-[amino(4-trifluormethylfenyl)-methyliden]-5-bromoxindolu.

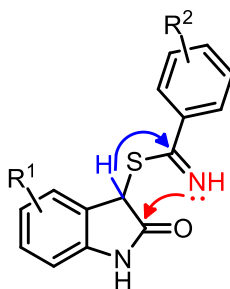
^1H NMR prokazuje další důležitou věc. Signál odpovídající vodíku v poloze 4 oxindolového skeletu (**Obrázek 12**, červeně zvýrazněno) má navzdory faktu, že je vázán na aromatický skelet a navíc sousedí s halogenem, netypicky malý chemický posun ($\delta = 5,97$ ppm). Tento posun k nižšímu poli („*downfield shift*“) lze dobře vysvětlit stínícím efektem magnetického pole oblaku π -elektronů fenylskupiny nad vodíkem H4. U (Z)-3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů má fenylskupina velkou energetickou bariéru rotace (kolem osy vazby spojující aromatické jádro s sp^2 methylidenovým uhlíkem, znázorněno na **Obrázku 12**) a tudíž omezenou rotaci, což podmiňuje tento jev, nazývaný se anizotropním efektem kruhových proudů⁸⁷. Tento jev byl u (Z)-3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů již popsán^{21,38,42}. Nízký chemický posun vodíku H4 oxindolového skeletu je tudíž důkazem toho, že 3-[amino(aryl)methyliden]oxindoly připravené *Eschenmoserovou* reakcí vznikají výlučně jako konfigurační Z-izomery.



Obrázek 12 – Původ efektu posunu k nižšímu poli vodíku v poloze 4 oxindolového skeletu.

Upřednostnění *Eschenmoserovy* reakce před reakční cestou vedoucí k 4-hydroxythiazolu (**Schéma 23**) při použití polárního aprotického DMF jako rozpouštědla si vysvětlují na rozpouštědle závislými vlastnostmi S-thioimionové soli, která je společným meziproduktem pro obě reakce. V případě použití málo polárního ACN je vodík H3 oxindolového skeletu (**Obrázek 13**, modře zvýrazněno) málo kyselý pro vznik karbaniontu, nutného pro vznik thiiranového kruhu. Naproti tomu v DMF bude tento vodík oxindolového skeletu mnohem kyslejší, navíc bude vzniklý karbaniont velmi slabě solvatován (tzv. „nahý

karbanion²⁵). Tento fakt bude usnadňovat jeho atak vůči C=N, tedy cyklizaci vedoucí ke vzniku thiiranového kruhu, přeměňujícího se dále mechanismem *Eschenmoserovy* reakce.



Obrázek 13 – Klíčová místa ataku při transformační/*Eschenmoserově* reakci.

4.1.3.5 Ovlivnění průběhu reakce substitucí oxindolu/thioamidu při přípravě 4a-n

Postup uvedený v předchozí kapitole (5.1.3.4) byl doplněn o promytí organické fáze vodou z důvodu odstranění residuálního DMF a použit pro přípravu prakticky celé série látek **4a-n** (Postup A v kapitole 4.3.5). Výjimkou byl derivát **4e**. Při kontrole reakce nesubstituovaného 3-bromoxindolu (**3a**) s 4-jodthiobenzamidem bylo zjištěno, že produktem reakce jsou dvě látky v poměru přibližně 1:1. Při expozici vůči UV záření ($\lambda = 366 \text{ nm}$) vykazovala jedna z látek fluorescenci stejnou jako na **Obrázku 10**. Při reakci zmíněných komponent tedy pravděpodobně vzniknul i 4-hydroxythiazol, navzdory použití DMF coby rozpouštědla. Jelikož byla cesta vedoucí k 4-hydroxythiazolu identifikována jako vratná (**Schéma 22**, kapitola 5.1.3.1), transformace vzniklého thiazolu na produkt *Eschenmoserovy* reakce byla uskutečněna vlitím reakční směsi do vody, přidávkem báze a zahříváním roztoku (Postup B v kapitole 4.3.5). Již po 30 min. zahřívání na 50 °C byla reakční směs prostá 4-hydroxythiazolu (kontrolováno TLC, MF: EtOAc/*n*-hexan 8:2).

Vliv dalších substituentů lze diskutovat s využitím **Obrázku 13**. V případě substituce oxindolového jádra (R^1) elektronakceptorními substituenty nebyl vznik thiazolů pozorován vůbec, což lze vysvětlit tím, že způsobují zvýšení kyselosti vodíku v poloze 3 oxindolu a tudíž usnadňují vznik thiiranového kruhu. V případě substituce oxindolového jádra elektrondonorní methylskupinou ($R^1 = \text{Me}$) při syntéze derivátů **4j-k** jsem očekával efekt opačný (snížení kyselosti vodíku H3) a tudíž vznik 4-hydroxythiazolu. Substituce na oxindolovém skeletu elektrondonorním substituentem se ale projevila jen o něco menším výtěžkem reakcí (69 – 84 %), vznik 4-hydroxythiazolu pozorován nebyl. Vliv substituce na oxindolovém jádře totiž není jednoznačný – ač dochází ke zmíněné změně kyselosti H3

vodíku, dochází taktéž ke změně elektronové hustoty na oxindolovém dusíku, který se tak stává horší odstupující skupinou při rozpadu tricyklického intermediátu cestou transformace kruhu (viz **Schéma 23**). Substituce výchozího thioamidu se projevila především na výtěžnosti reakce. Zatímco při reakcích elektronakceptorně substituovaných thioamidů se výtěžky téměř blížily kvantitativním, s použitím 4-methoxythiobenzamidu (deriváty **4h**, **4i**, **4l**, **4m**) byla výtěžnost nižší, 69 – 87 %. Vizuálně taktéž docházelo ke vzniku většího množství isoindig, což se projevilo až zčernáním reakční směsi. Vysvětlením pro tento jev může být vyšší bazicita 4-methoxythiobenzamidu, umožňující vznik karbaniontu z výchozích 3-bromoxindolů a tudíž směřování reakce ke vzniku isoindiga podle mechanismu uvedeného v kapitole 5.1.3.3 (**Schéma 24**).

Isoindiga vzniklá bočnou reakcí představovala hlavní problém při závěrečném čištění připravených sloučenin pomocí sloupcové chromatografie. V některých případech (**4a**, **4d**, **4f**, **4g**, **4i**) vedlo rozmývání elučních zón isoindiga ke kontaminaci výsledných produktů, přičemž selhaly separace s použitím klasických dvojsložkových směsí z eluotropické řady (EtOAc/*n*-hexan, DCM/MeOH, CHCl₃/aceton aj.). Úspěch přineslo až použití tříložkové směsi *n*-hexan/EtOAc/THF, které ve všech případech vedlo k úspěšné separaci produktů od isoindig. Při měření takto vyčištěných sloučenin pomocí ¹H NMR byla získána spektra bez jakýchkoli nečistot v oblasti chemických posunů aromátů. V oblasti alifatických posunů však byly identifikovány signály náležící právě THF. Překvapením byla stálá přítomnost zbytků THF poté, co byly látky vakuově sušeny přes noc. Ani sušení připravených látek v hlubokém vakuu (< 100 Pa) a za zvýšené teploty (60 °C) nevedlo k odstranění residuálního rozpouštědla. Z toho usuzuji, že THF bylo ve zmíněných sloučeninách přítomno ve formě klathrátů nebo clusterů. THF z produktů byl nakonec úspěšně odstraněn azeotropickou destilací s EtOH, prostým rozpuštěním látek v tomto rozpouštědle a odpařením roztoku, přičemž byl tento postup třikrát opakován pro odstranění i stopových množství residuálního THF, které by mohlo ovlivnit výsledky elementární analýzy.

5 Závěr

Eschenmoserova reakce mezi 3-bromoxindoly (**3a-f**) a substituovanými thioamidami se ukázala být velice univerzální metodou pro přípravu substituovaných (Z)-3-[amino(aryl)methyliden]oxindolů (**4a-n**), a to bez významnějšího ovlivnění průběhu reakce substitucí. Volbou použitého rozpouštědla (DMF) bylo docíleno chemoselektivního průběhu reakce. Reakce, na rozdíl od většiny v literatuře popsanych metod (diskutovaných v kapitole 3.4) poskytuje produkty v dobrých až vynikajících výtěžcích a to bez použití organokovových katalyzátorů nebo obtížně dostupných prekurzorů. Celkem bylo připraveno 14 derivátů **4a-n** ve výtěžcích 69 – 97 %.

Látky **4a-h** jsou již známé z patentu⁵⁶, kde byly připraveny ve výtěžcích pouze 6 – 29 %. V tomto patentu je u všech připravených látek stanovena i jejich inhibiční aktivita na tyrosin-kinázových VEGF receptorech, která se pohybuje v rozmezí 0,26 – 8,7 μM . Je tedy zřejmé, že *Eschenmoserova* reakce mezi substituovanými 3-bromoxindoly a thioamidami představuje novou a efektivní metodu pro jejich syntézu. Porovnání výtěžků s použitím původní metody (diskutované v kapitole 3.4.2.2) včetně jejich biologických aktivit shrnuje **Tabulka 2**.

Látka	IC ₅₀ [μM](lit. ⁵⁷)	Výtěžek [%] (lit. ⁵⁷)	Výtěžek [%]
4a	0,26	29	97
4b	1,10	8	87
4c	1,10	22	84
4d	4,10	15	86
4e	2,70	6	93
4f	0,66	22	88
4g	3,40	10	89
4h	8,70	20	87

Tabulka 2 – Připravené biologicky aktivní sloučeniny, porovnání výtěžků s literaturou⁵⁷.

Případná selektivní redukce aromatické nitroskupiny látek **4m** a **4n** následovaná dalšími transformacemi funkčních skupin pak otevírá novou syntetickou cestu pro celou řadu biologicky aktivních sloučenin, například pro syntézu *Hesperadinu* (**Obrázek 1**).

6 Seznam použité literatury

- [1] Laurent, A.; Recherches sur l'indigo. *Annales de Chimie et de Physique*. **1840**; 3, 393 – 434.
- [2] Erdmann, O.L.; Untersuchungen über den Indigo. *J. Prakt. Chem.* **1840**; 19(1), 321 – 362.
- [3] Sumpter, W. C.; The Chemistry of Oxindole. *Chem. Rew.* **1945**; 37(3); 443 – 479.
- [4] Bogdanov, A.; Musin, L.; Mirono, V.; Advances in the synthesis and application of isoindigo derivatives. *Arch. Org. Chem.* **2015**; 6; 362 – 392.
- [5] 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.
- [6] Hauf, S.; Cole, R.W.; LaTerra, S.; Zimmer, C.; Schnapp, G.; Walter, R.; Heckel, A.; Meel, J., Rieder, C.L.; Peters J.M.; The small molecule Hesperadin reveals a role for Aurora B in correcting kinetochore–microtubule attachment and in maintaining the spindle assembly checkpoint. *J. Cell Biol.* **2003**; 9(2); 281 – 294.
- [7] Stollé, R.; Über eine neue Methode zur Darstellung N-substituierter Isatine. *Chem. Ber.* **1913**; 46(3); 3915 – 3916.
- [8] Hinsberg, O.; Eber die Einwirkung der Natriumbisulfidverbindung des Glyoxals auf aromatische Monamine. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1888**; 21 (110).
- [9] Ackermann, L.; Vicente, R.; Hoffman, N.; „Ackermann, L.; Air-Stable Secondary Phosphine Oxide as Preligand for Palladium-Catalyzed Intramolecular α -Arylations with Chloroarenes. *Org. Lett.* **2009**; 11(19); 4274 – 4276.
- [10] Klein; J. E.; Perry A.; Pugh, D.S.; Taylor R.J.K.; First C–H Activation Route to Oxindoles using Copper Catalysis. *Org. Lett.* **2010**; 12(15); 3446–3449.
- [11] Liu, X.; Li, B.; Gu, Z.; Palladium-Catalyzed Heck-type Domino Cyclization and Carboxylation to Synthesize Carboxylic Acids by Utilizing Chloroform as the Carbon Monoxide Source. *J. Org. Chem.* **2015**; 80(15); 7547–7554.
- [12] Burgdorf, L.; Bruge, D.; Greiner, H.; Kordowicz, M.; Sirrenberg, C.; Zenke, F.; Oxindoles as Kinase Inhibitors; US 0131506 A1, **2009**.
- [13] Cox, M.; Nelson, D.; Lehninger, A.; Principles of Biochemistry, 6th edition. *Freeman & Co.*, **2008**.
- [14] Manning, G.; Whyte, D.B.; Martinez, R.; Hunter, T.; Sudarsanam, S.; The protein kinase complement of the human genome. *Science*. **2002**; 298 (5600), 1912 – 1934.
- [15] Ward, R.A.; Goldberg, F.W.; Kinase Drug Discovery, *RSC*; **2011**. ISBN: 978-1-84973-174-4.

- [16] Tanramluk, D.; Schreyer, A.; Pitt, W.R.; Blundell, T.L.; On the Origins of Enzyme Inhibitor Selectivity and Promiscuity: A Case Study of Protein Kinase Binding to Staurosporine. *Chem. Biol. Drug Des.* **2009**; 74(1); 16 – 24.
- [17] Bernstein P.; , Successful Drug Discovery Vol. 3. Edited by Fischer J.; Klein, Ch.; Childers, W.; **2018**. Weinheim: *Wiley-VCH*. ISBN 978-3-527-34303-4.
- [18] Horton W.; Lunstrum, G.; Fibroblast Growth Factor Receptor 3 Mutations in Achondroplasia and Related Forms of Dwarfism. *Rev. Endocr. Metab. Dis.* **2002**; 3(4); 381 – 385.
- [19] Weisburger E. K.; Cancer Growth and Progression: Mechanisms of Carcinogenesis. **1989**. *Springer Netherlands*. ISBN: 978-94-009-2526-7.
- [20] Folkman, J.;Tumor Angiogenesis: Therapeutic Implications,“ *N. Eng. J. Med.* **1971**; 285(21); 1182 – 1186.
- [21] 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-substitued indolinone (BIBF 1120). *J. Med. Chem.* **2009**; 52; 4466 – 4480.
- [22] Knott E.B.; Jeffreys, R.A.; Compounds containing sulphur chromophores. Part II. Attempts to prepare sulphide analogues of merocyanines. *J. Chem. Soc.* **1955**; 927 – 933.
- [23] Eschenmoser, A.; The role of transition metals in the chemical synthesis of corrins. *Pure Appl. Chem.* **1969**; 20 (1); 1 – 24.
- [24] 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.
- [25] Liška, F.; Organická syntéza: Syntonový přístup, Praha: VŠCHT, **1993**.
- [26] Hussaini, S.R.; Chamala, R.R.; a Wang, Z.; The Eschenmoser sulfide contraction method and its application in the synthesis of natural products. *Tetrahedron.* **2015**; 71 (36), 6017 – 6086.
- [27] Tanino, H.; Nakata, T.; Kaneko , T.; Kishi, Y.; A stereospecific total synthesis of dl-saxitoxin. *J. Am Chem. Soc.* **1977**; 99 (8), 2818–2819.
- [28] Lin, R.; Castells, J.; Rapoport, H.; Enantiospecific Synthesis of Natural (-)-Cocaine and Unnatural (+)-Cocaine from d- and l-Glutamic Acid,“ *J. Org. Chem.* **1998**; 63 (12); 4069 – 4078.

- [29] Woodward, R.B.; The total synthesis of vitamin B12. *Pure Appl. Chem.* **1973**; 33(1), 145 – 178.
- [30] Shiosaki, K.; The Eschenmoser coupling reaction. *Comprehensive organic synthesis 2.* **1991.** 865 - 892.
- [31] 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.
- [32] Loewus, D.; Eckstein, F.; Symmetrical Monothiopyrophosphate. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**; 105(10), 3287 – 3292.
- [33] Corsaro, A.; Perrini, G.; Testa, M.G.; Chiacchio, U.; Study of the Eschenmoser sulfide contraction method with and without thiophile. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **1992**; 71(1), 197 - 203.
- [34] Williams, C.R.; Harpp, D.N.; Sulfur Extrusion Reactions - Scope and Mechanistic Aspects. *Sulfur Reports.* **1990**; 10(2), 103 – 191.
- [35] BRoth, B; Laube, R.; Tidwell, M.Y.; Raucman, B.S.; Extrusion of sulfur from [(acylmethyl)thio]pyrimidinones. *J. Org. Chem.* **1980**; 45(18), 3651 – 3657.
- [36] 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.
- [37] Chew, W.; Harpp, D.N.; Mechanism of sulfur extrusion in 2,2 dichloro-3-[9-fluorenyl] episulfide. *Tetrahedron Lett.* **1992**; 33(1), 45-48.
- [38] 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.* **2019**; 73(16), 1861 – 1866.
- [39] Stauss, U.; Härter, H.; Neuenschwander, M.; Schindler, O.; Die 1,3-dipolare Cycloaddition von Acetylendicarbonsäure-estern and 2-Methyl-4-phenyl-chinazolin-3-oxid. *Helv. Chim. Acta.* **1972**; 55; 991 – 980.
- [40] Sarges, R.; Howard, H.R.; Koe, B.K.; Weissman, A.; A novel class of “GABAergic” agents: 1-aryl-3-(aminoalkylidene)oxindoles. *J. Med. Chem.* **1989**; 32 (2), 437 – 444.
- [41] Cantagrel, G.; de Carné-Carvalet, B.; Meyer, C.; Cossy, J.; Iron Trichloride-Promoted Cyclization of α -Alkynylaryl Isocyanates: Synthesis of 3-(Chloromethylene)oxindoles. *Org. Lett.* **2009**; 11(19); 4262 – 4265.
- [42] Miura, T.; Toyoshima, T.; Takahashi, Y.; Murakami, M.; Stereoselective Oxindole Synthesis by Palladium-Catalyzed Cyclization Reaction of 2-(Alkynyl)aryl Isocyanates

- with Amides. *Org. Lett.* **2009**; 11(10), 2141 – 2143.
- [43] Roth, G.J.; Heckel, A.; Brandl, T.; Grauert, M.; Hoerer, S.; Kley, J.T.; Park, J.E.; Design, Synthesis, and Evaluation of Indolinones as Inhibitors of the Transforming Growth Factor β Receptor I (TGF β RI). *J. Med. Chem.* **2010**; 53(20), 7287 – 7295.
- [44] Patel, G.; Roncal, N.E.; Lee, P.J.; Leed, S.E.; Erath, J.; Rodriguez, A.; Pollastri, M. P.; Repurposing human Aurora kinase inhibitors as leads for anti-protozoan drug discovery. *Med. Chem. Commun.* **2014**; 5(5), 655 – 658.
- [45] Huang, Z.; Li, H.; Zhang, Q.; Lu, F.; Hong, M.; Zhang, Z.; Liu, H.; Discovery of Indolinone-Based Multikinase Inhibitors as Potential Therapeutics for Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *ACS Med. Chem. Lett.* **2017**; 8(11), 1142 – 1147.
- [46] Edupuganti, R.; Taliaferro, J. M.; Wang, Q.; Xie, X.; Cho, E.J.; Vidhu, F.; Discovery of a potent inhibitor of MELK that inhibits expression of the anti-apoptotic protein Mcl-1 and TNBC cell growth. *Bioorg. Med. Chem.* **2017**; 25(9); 2609 – 2616.
- [47] Bararjanian, M.; Hosseinzadeh, S.; Balalaie, S; Bijanzadeh, H.R.; Palladium catalyzed stereoselective synthesis of 3-(anilinoarylmethylene)-2-oxindoles as Hesperadin analogues. *Tetrahedron.* **2011**; 67(14), 2644 – 2650.
- [48] Le, Ch.M.; Sperger, T.; Fu, R.; Hou, X.; Lim, H; Schoenebeck, F.; LAutens, M.; Stereoselective Synthesis of Methylene Oxindoles via Palladium(II)-Catalyzed Intramolecular Cross-Coupling of Carbamoyl Chlorides. *J. Am. Chem. Soc.* **2016**; 138(43), 14441 – 14448.
- [49] Jiang, H.; Feng, Z.; Chen, T.; Li, Z.; Huang, W.; Luo, Y.; Zhao, Y.; (E)-3-(Aryl(arylamino)methylene)indolin-2-one derivatives: an efficient synthetic approach and evaluation of their cancer inhibitory activity. *J. Chem. Res.* **2018**; 42(1), 44 – 49.
- [50] Grell, W.; Wittneben, H.; van Meel, J.; Redemann, N.; Walter, R.; Heckel, A.; Himmelsbach, A.; Haigh, R.; Indolines Having Kinase-Inhibiting Activity. *Boehringer Ingelheim Pharma GmbH*. US 6043254. **2000**.
- [51] Roth, G.; Binder, R.; Colbatzky, F.; Dallinger, C.; Schlenker-Herceg, R.; Hilberg, F.; Wollin, S.L.; Kaiser, R.; Nintedanib: From Discovery to the Clinic. *J. Med. Chem.* **2014**; 58(3), 1053 - 1056.
- [52] Roth, G.; Sieger, P.; Guenter, L.; Werner, R.; Frank, H.; Bock, T.; 3-Z-[1-(4-(N-((4-METHYL-PIPERAZIN-1-YL)-METHYLCARBONYL)-N-METHYL-AMINO)-ANILINO)-1-PHENYL-METHYLENE]-6-METHOXYCARBONYL-2-INDOLINONE-MONOETHANESULPHONATE AND THE USE THEREOF AS A PHARMACEUTICAL COMPOSITION. *Boehringer Ingelheim Pharma GmbH*. WO 013099 A1. **2004**.

- [53] Heckel, A.; Roth, G.; Kley, J.; Hoerer, S.; Uphues, I.; Alkyl-containing 5-acylindolinones, the Preparation Thereof and their Use as Medicaments. *Boehringer Ingelheim Pharma GmbH*. US 0209302. **2005**.
- [54] Rao, T.; Zhang, C.; Oxindole Inhibitors of Tyrosine Kinase. *Auspex Pharmaceuticals Inc.* US 0284327. **2015**.
- [55] Merten, J.; Renner, S.; Reichel, C.; Indolinone Derivatives and Process for their Manufacture. *Boehringer Ingelheim International GmbH*. WO 071524 A2. **2009**.
- [56] Burgdorf, L.T.; Bruge, D.; Greiner, H.; Kordowicz, M.; Sirrenberg, C.; OXINDOLES AS KINASE INHIBITORS. *Merck Patent GmbH*. WO 131186 A1. **2006**.
- [57] Manaka, A.; Sato, M.; Synthesis of aromatic thioamide from nitrile without handling of gaseous hydrogen sulfide. *Synth. Comm.* **2005**; 35(5), 761 – 764.
- [58] Wang, Z.; Wu, X.; Wang, L.; Zhang, J.; Tang, Z.; Facile and efficient synthesis and biological evaluation of 4-anilinoquinazoline derivatives as EGFR inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**; 26(11), 2589 – 2593.
- [59] Xiang, Y.; Caron, P.; Lillie, B.; Vaidyanathan, R.; Sulfur Contamination Due to Quenching of Halogenation Reactions with Sodium Thiosulfate: Resolution of Process Problems via Improved Quench Protocols. *Org. Process. Res. Dev.* **2008**; 12(1), 116 – 119.
- [60] Exner, O.; Boček, K.; Substituent Effects In Infrared Spectroscopy. III.* Frequences And Intensities Of The CN Band In meta- And para- Substitued Benzonitriles. *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1973**; 38; 50 – 53.
- [61] Exner, O.; Budešinský, M.; CORRELATION OF SUBSTITUENT-INDUCED CHEMICAL SHIFTS OF AROMATIC PROTONS: SUBSTITUTED BENZONITRILES AND METHYL BENZOATES. *Coll. Czech. Chem. Comm.* **1991**; 56(11), 2234 – 2250.
- [62] Kindler, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1927**; 452 (118).
- [63] JCashman, J.; Hanzlik, R.; Oxidation and other reactions of thiobenzamide derivatives of relevance to their hepatotoxicity. *J. Org. Chem.* **1982**; 47(24), 4645 - 4650.
- [64] Nagl, M.; Panuschka, C.; Barta, A.; Schmid, W.; The BF₃·OEt₂-Assisted Conversion of Nitriles into Thioamides with Lawesson's Reagent. *Synthesis*. **2008**; 24; 4012 – 4018.
- [65] [80] Creger, P.; Alkoxyoxindoles. A Convinient Method for the Reduction of Isatins. *J. Org. Chem.* **1965**; 30; 3610 – 3612.
- [66] Hepples, C.; Murphy, G.; Synthesis of 3,3-dichloro-2-oxindoles from isatin-3-p-tosylhydrazones and (dichloroiodo)benzene. *Tetrahedron Lett.* **2015**; 35(26), 4971 – 4974.

- [67] , [70] Varano, F.; Catarzi, D.; Calabri, F.R.; Filacchioni, G.; Galli, A.; Costagli, C.; 1-Substituted pyrazolo[1,5-c]quinazolines as novel Gly/NMDA receptor antagonists: synthesis, biological evaluation and molecular modeling study. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**; 13(19), 5536 - 5549.
- [68] [79] 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, 1958.
- [69] Marti, C.; Carreira, E.; Total Synthesis of (-)-Spirotryprostatin B: Synthesis and Related Studies. *J. Am Chem. Soc.* **2005**; 127(32), 11505 – 11515.
- [71] Muzalevskiy, V.; Balenkova, E.; Shastin, A.; Magerramov, A.; Shikhaliev, A.; Nenajdenko, A.; New method for the preparation of 3-diazo-1,3-dihydroindol-2-ones. *Russ. Chem. Bull.* **2011**; 13(11), 2343 – 2346.
- [72] , [78] Vogt, R.B.; Pyrazolo[1,5-c]quinazoline derivatives and related compounds. US 4128644. **1978**.
- [73] 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.
- [74] Marek, L.; Syntéza derivátů 3-[amino(aryl)methyliden]-1,3-dihydro-2H-indol-2-onů s využitím Eschenmoserovy reakce. *Bakalářská práce.* **2017**. Univerzita Pardubice.
- [75] Tacconi, G.; Marinoni, G.; Righetti, P.; Desimoni, G.; Heterocycles with potential heterodienes. I. A New Synthesis of 3-Methyl-1-phenyl-4-phenylazomethine-5-pyrazolone: Comparison with other synthetic routes. *J. Prakt. Chem.* **1980**; 322(4), 679 – 684.
- [76] [85] Kammel, R.; Tarabová, D.; Růžičková, Z.; Hanusek, J.; Reaction of a brominated benzolactone/lactam with 4-methoxythiobenzamide and thiourea: an Eschenmoser coupling reaction, ring transformation, or dimerization? *Tetrahedron Lett.* **2015**; 56 (20); 2548 – 2550.
- [77] Jiang, T.; Kuhen, K.L.; Yin, H.; Wolff, K.; Bieza, K. Caldwell, J.; Bursulaya, B.; Hu, Y.; Design, synthesis and biological evaluations of novel oxindoles as HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Part I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**; 16 (8); 2105 – 2108.
- [81] Kumari, G.; Nutan, N.; Modi, M.; Gupta, S.; Singh, R.; Rhodium(II) acetate-catalyzed stereoselective synthesis, SAR and anti-HIV activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2011**; 46(4); 1181 – 1188.

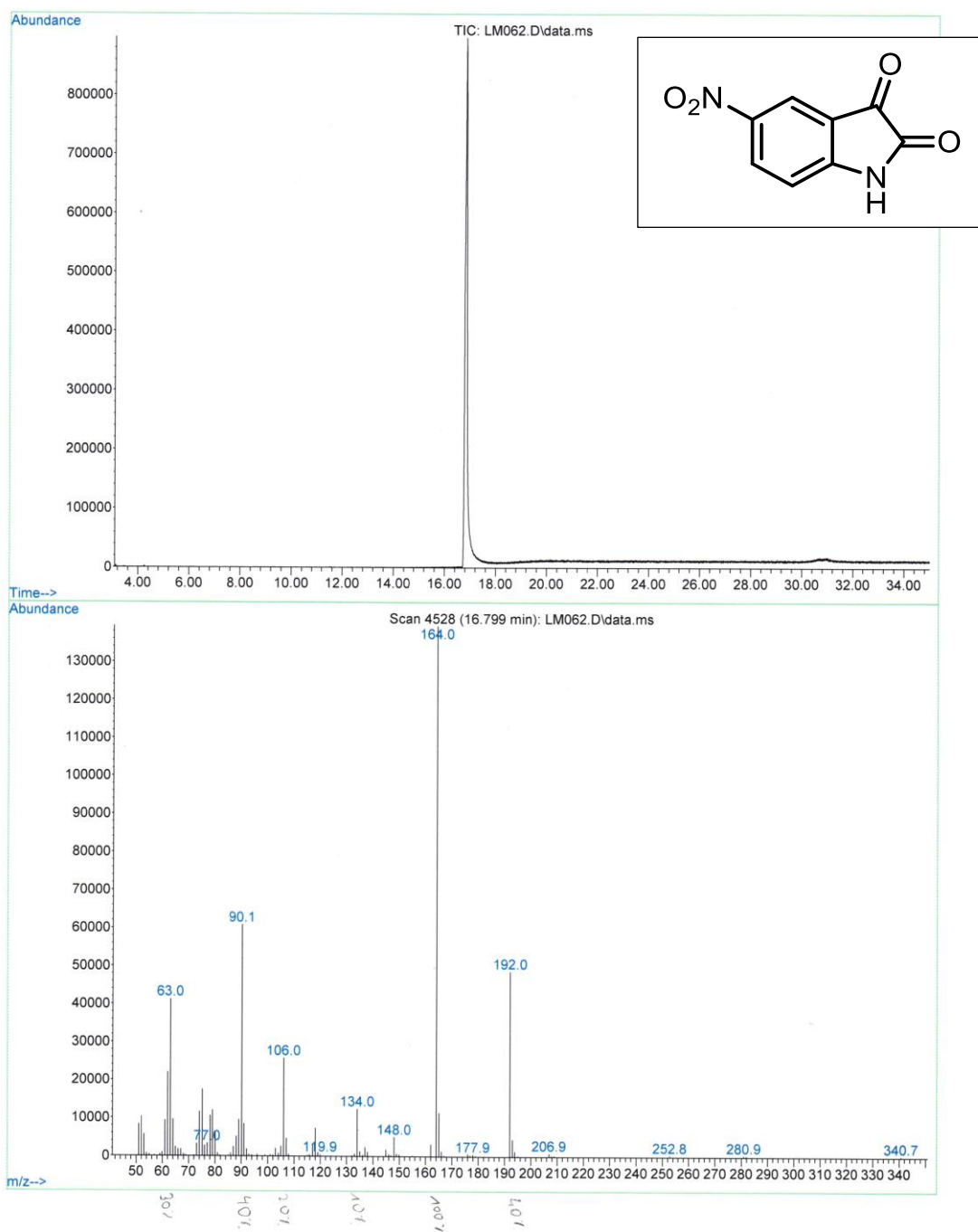
- [82] Popp, F.D.; Potential Anticonvulsants. IX. Some Isatin Hydrazones and Related Compounds. *J. Heterocyclic Chem.* **1984**; 21(6); 1641 – 1642.
- [83] Song, H.; Yang, J.; Chen, W.; Qin, Y.; Synthesis of Chiral 3-Substituted Hexahydropyrroloindoline via Intermolecular Cyclopropanation. *Org. Lett.* **2006**; 8(26); 6011 – 6014.
- [84] Kammel, R.; Tarabová, D.; Machalický, O.; Nepraš, M.; Frumarová, B.; Hanusek, J.; Synthesis, characterization and spectral properties of new, highly fluorescent, 4-hydroxythiazoles. *Dyes and Pigments.* **2016**; 128(1), 101 – 110.
- [86] Liu, M.; Qiu, S.; Ye, Y.; Yin, G.; Mild and efficient synthesis of isoindigo derivatives catalyzed by Lewis acid. *Tetrahedron Lett.* **2016**; 57(52); 5856–5858.
- [87] Šimůnek, P.; Nukleární magnetická resonance - přednášky. **2019**. Univerzita Pardubice.

7 Přílohy

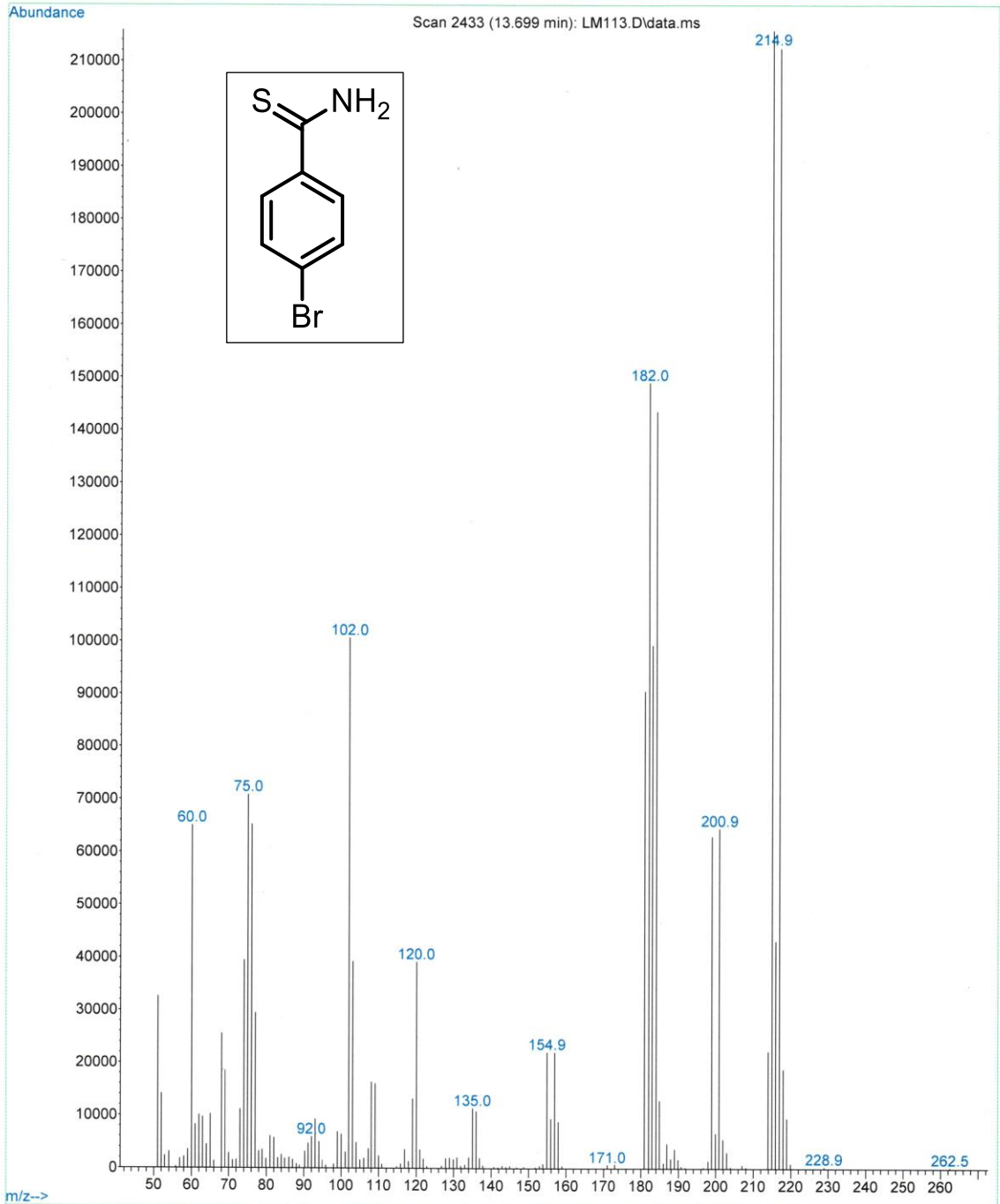
7.1 Spektra EI_MS

7.1.1 Výchozí látky

File :D:\MassHunter\GCMS\2\2018\LM062.D
Operator : DESKTOP-D279FM8\Student
Acquired : 18 Dec 2018 17:18 using AcqMethod SYLVA_35min_HP5_HPST.M
Instrument : GCMS_02
Sample Name : 5NO2isatin
Misc Info :
Vial Number: 1

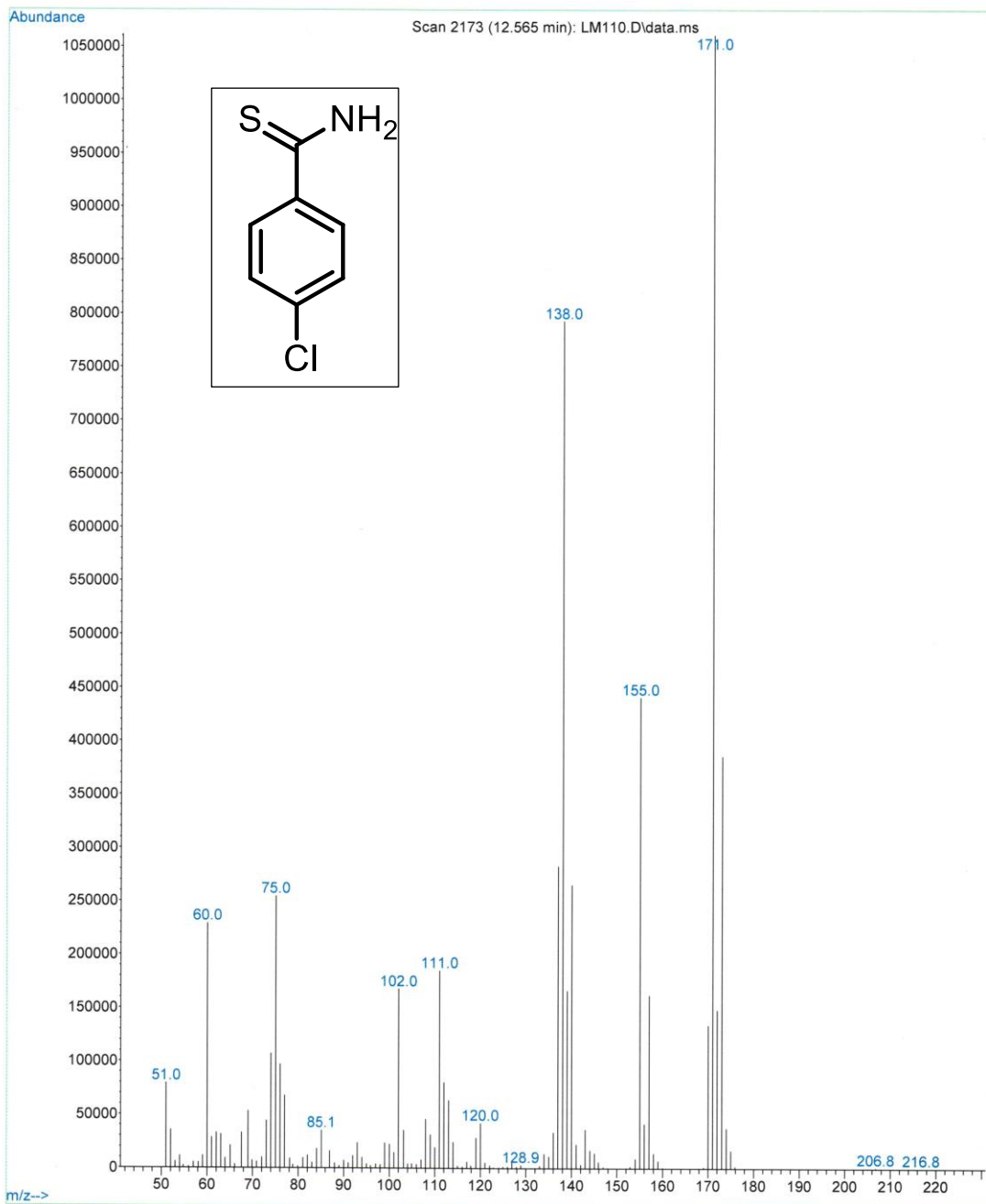


File :D:\MassHunter\GCMS\2\data\LM113.D
Operator : DESKTOP-D279FM8\Student
Acquired : 28 Feb 2019 14:08 using AcqMethod PEVNE_20min_HP5_HPST.M
Instrument : GCMS_02
Sample Name: 4Br-TBA
Misc Info :
Vial Number: 66



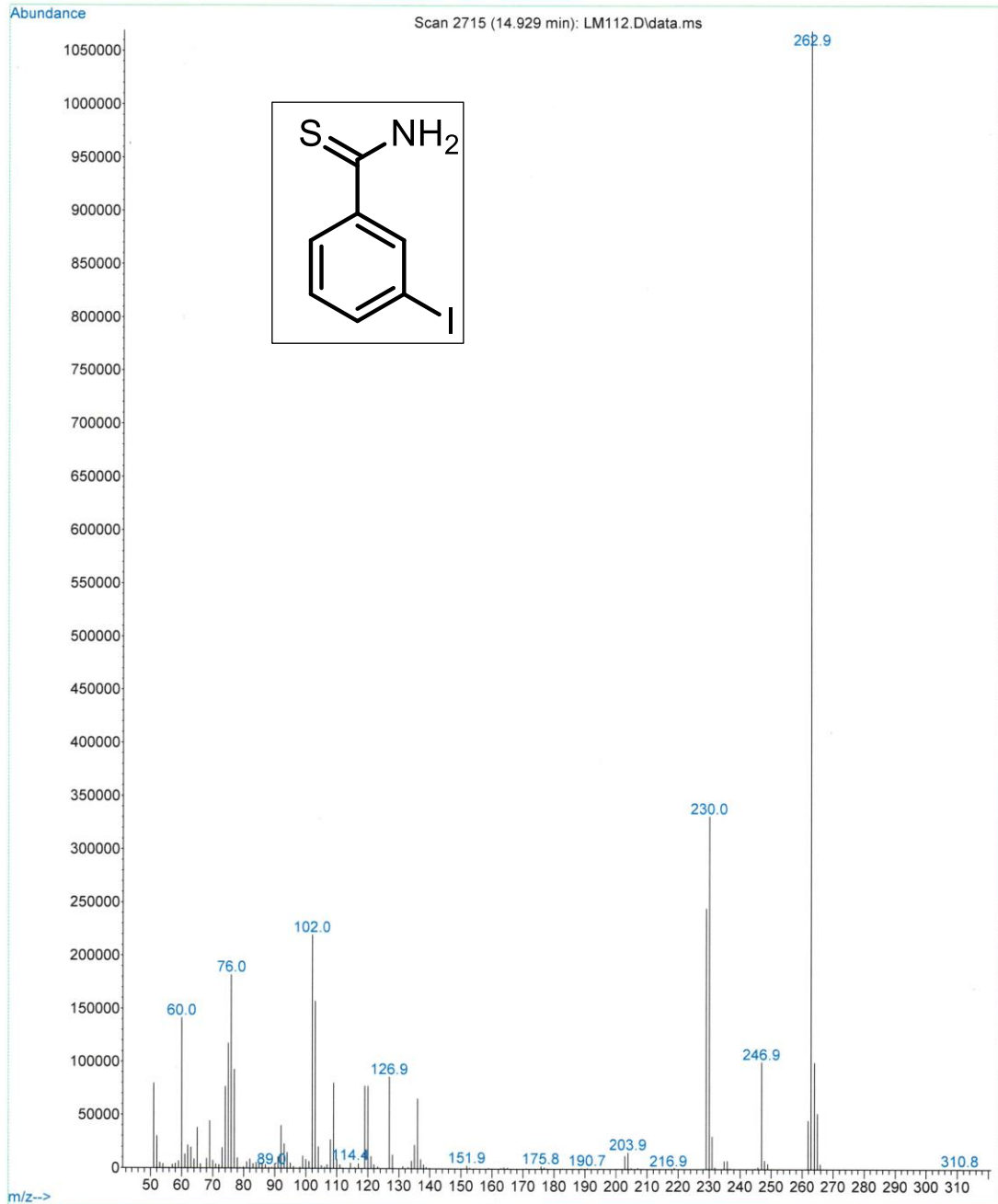
EI_MS spektrum 4-bromthiobenzamidu.

File :D:\MassHunter\GCMS\2\data\LM110.D
Operator : DESKTOP-D279FM8\Student
Acquired : 28 Feb 2019 12:57 using AcqMethod PEVNE_20min_HP5_HPST.M
Instrument : GCMS_02
Sample Name: 4Cl-TBA
Misc Info :
Vial Number: 63



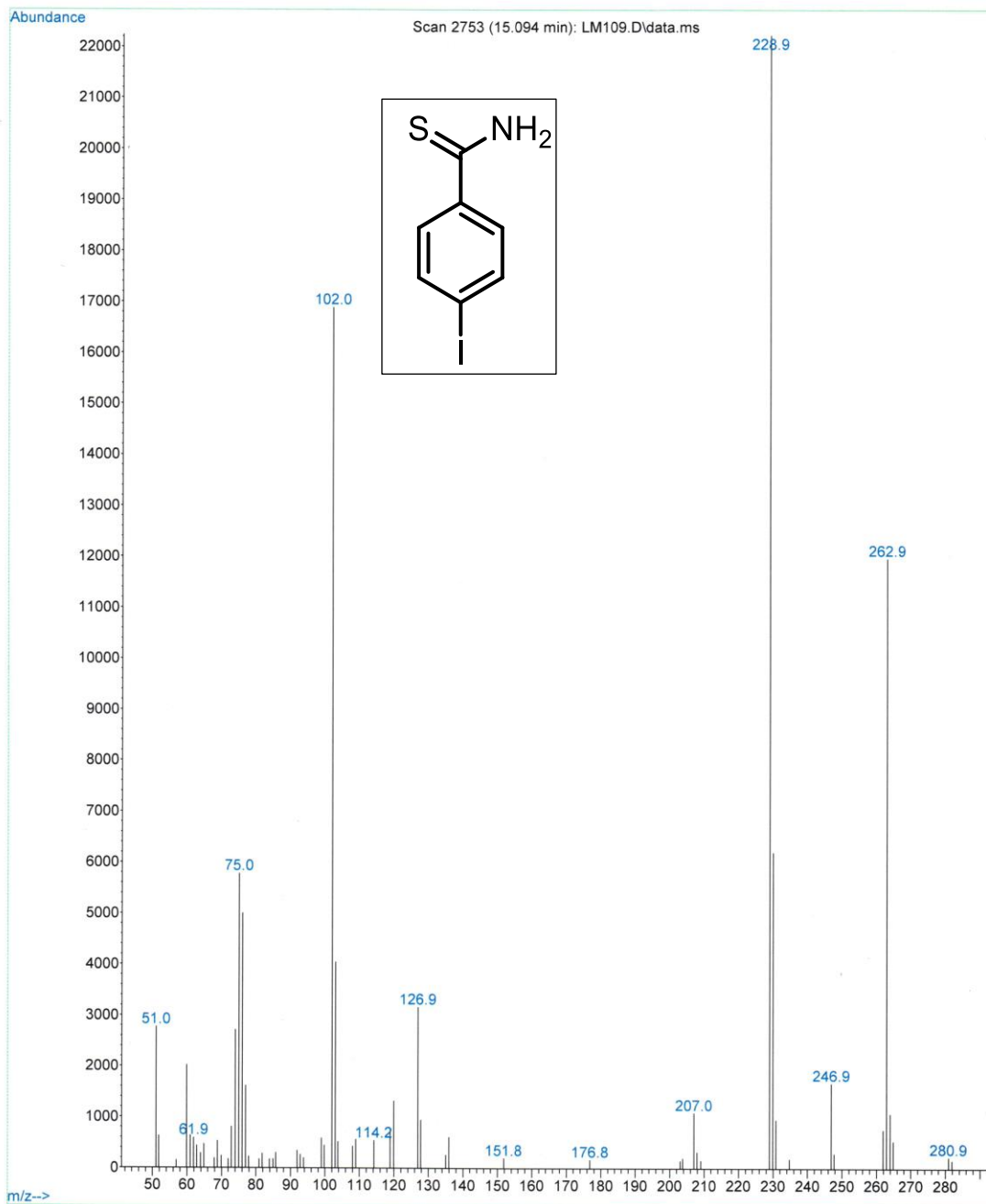
EI_MS spektrum 4-chlorthiobenzamidu.

File :D:\MassHunter\GCMS\2\data\LM112.D
Operator : DESKTOP-D279FM8\Student
Acquired : 28 Feb 2019 13:44 using AcqMethod PEVNE_20min_HP5_HPST.M
Instrument : GCMS_02
Sample Name: 3I-TBA
Misc Info :
Vial Number: 65



EI_MS spektrum 3-jodthiobenzamidu.

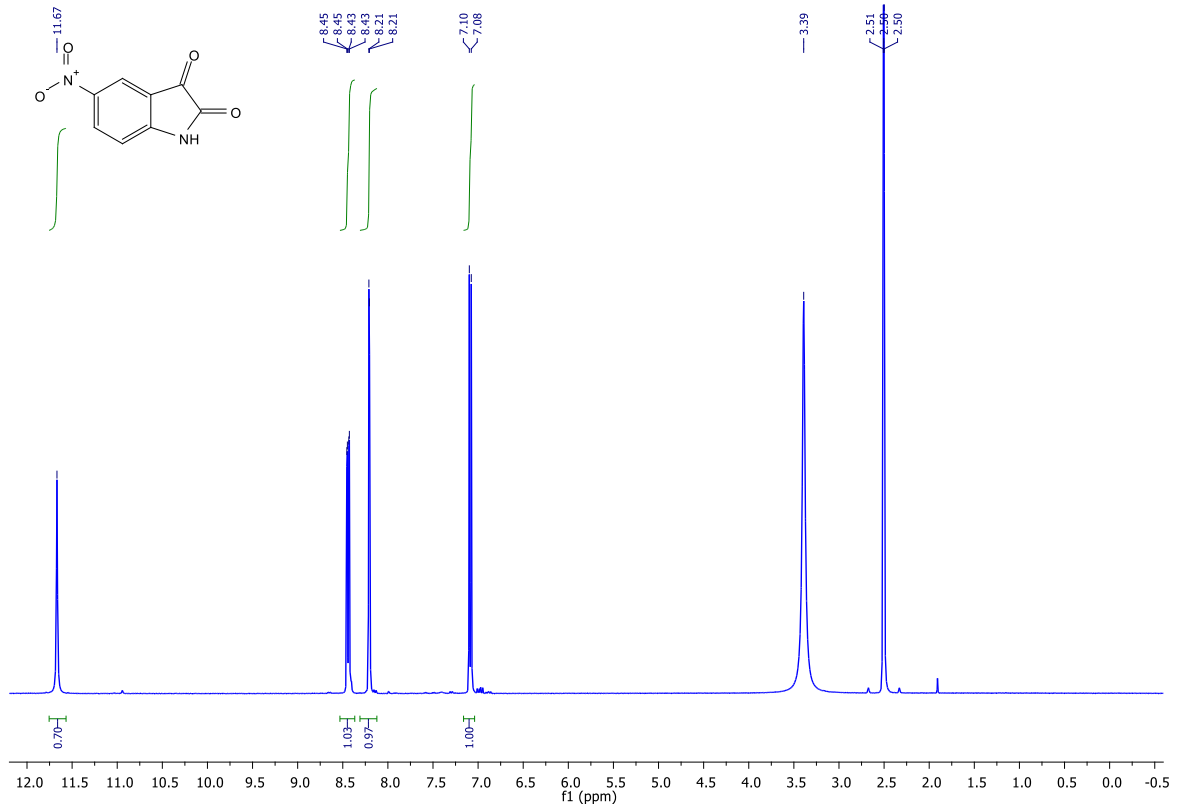
File :D:\MassHunter\GCMS\2\data\LM109.D
Operator : DESKTOP-D279FM8\Student
Acquired : 28 Feb 2019 12:33 using AcqMethod PEVNE_20min_HP5_HPST.M
Instrument : GCMS_02
Sample Name: 4I-TBA
Misc Info :
Vial Number: 62



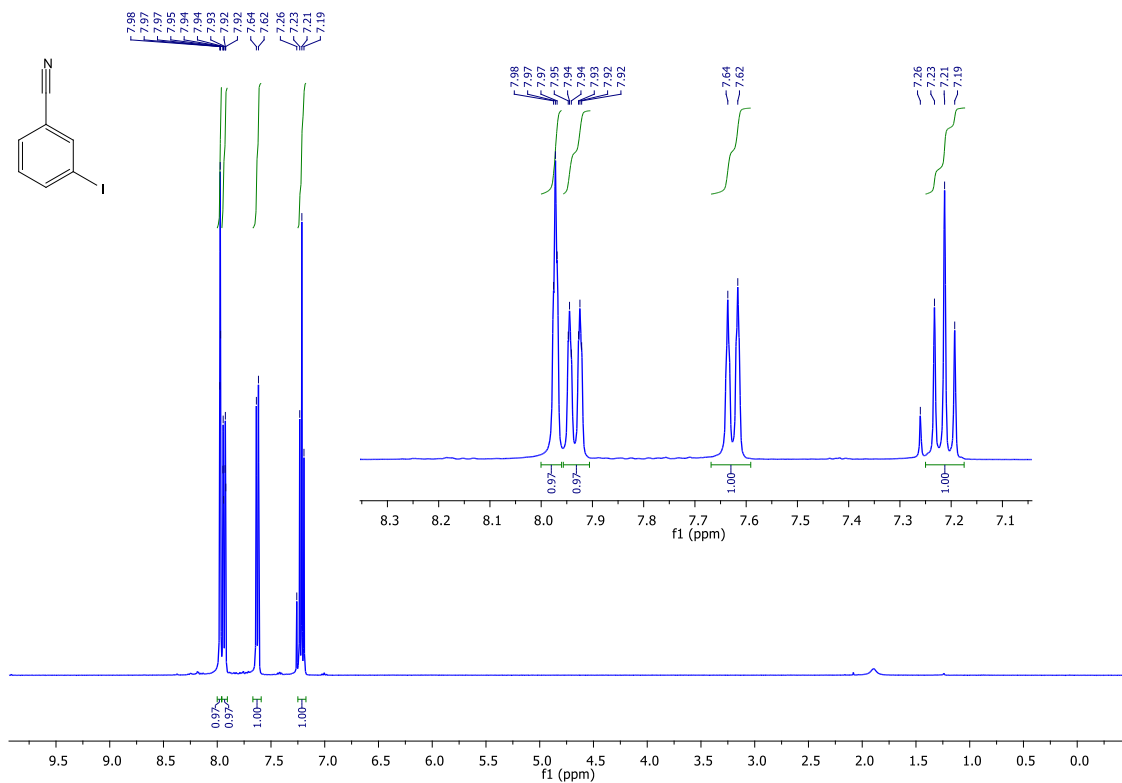
EI_MS spektrum 4-jodthiobenzamidu.

7.2 Spektra NMR

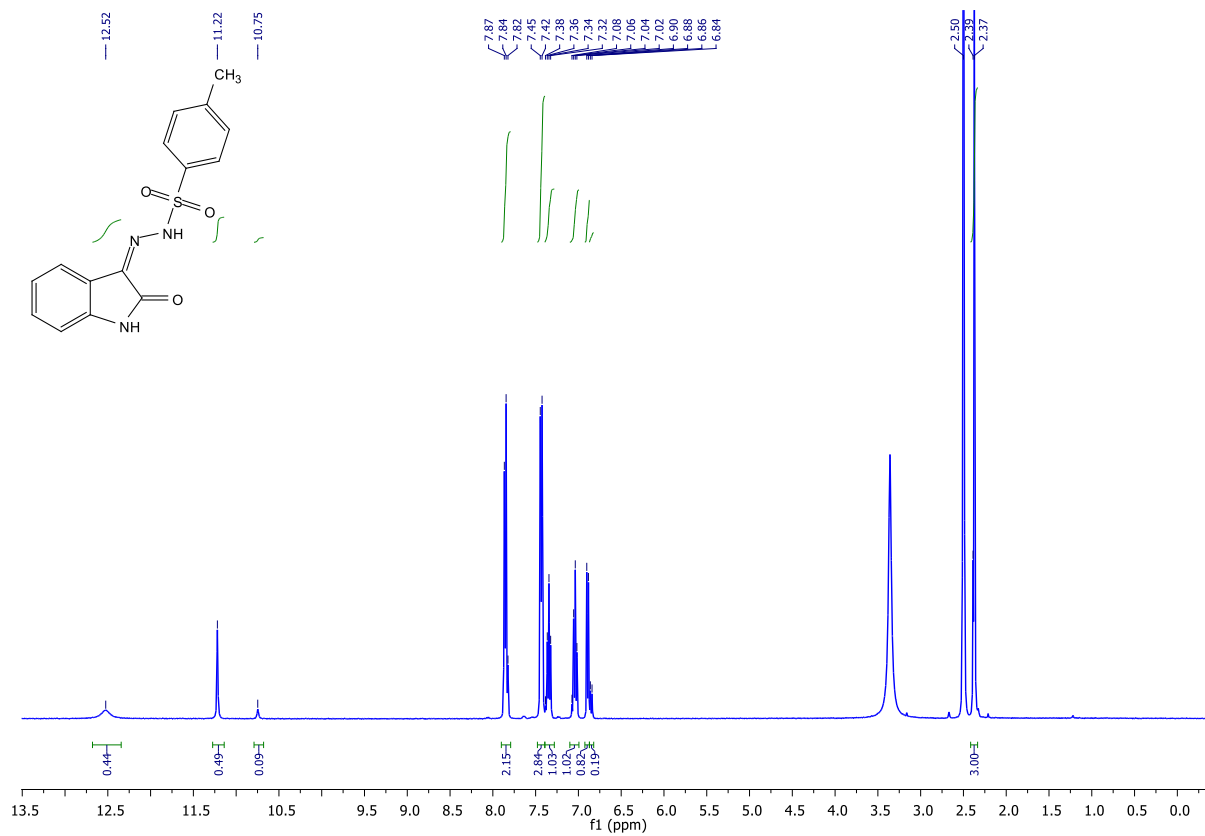
7.2.1 Výchozí látky



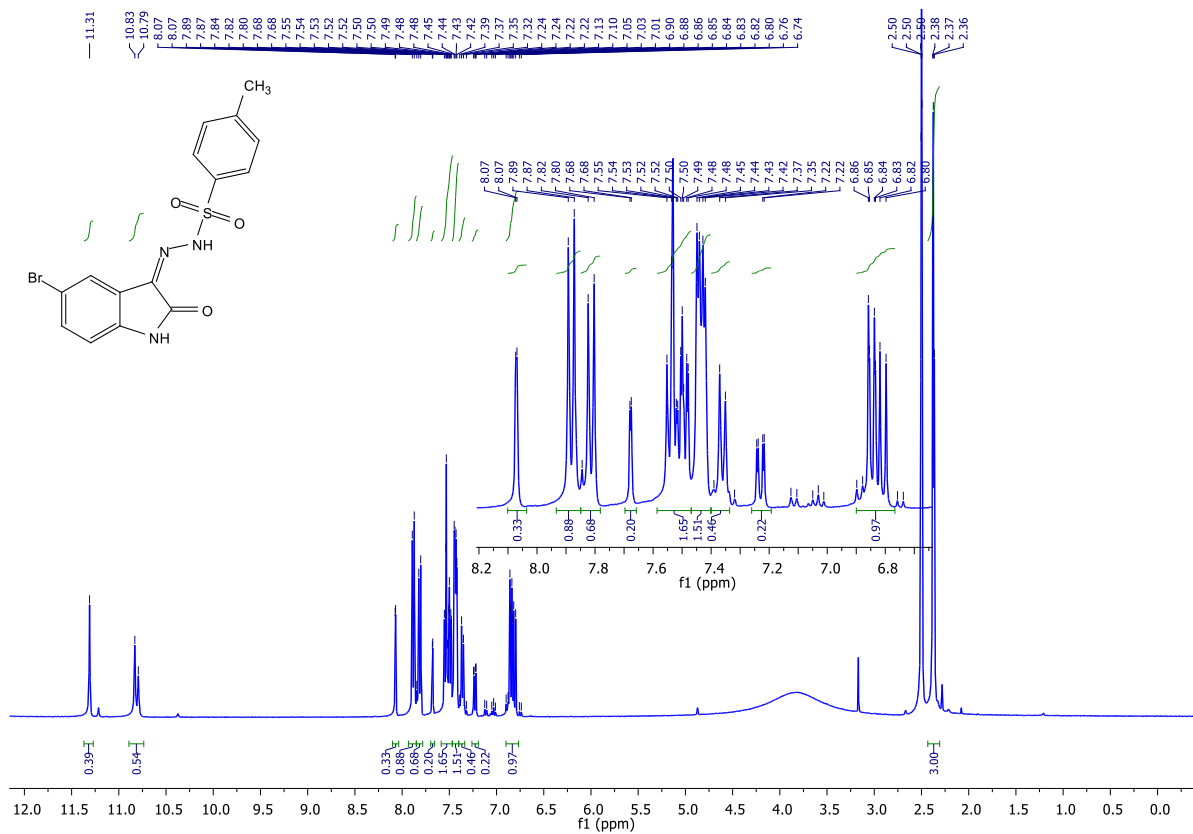
¹H NMR spektrum 5-nitroisatinu.



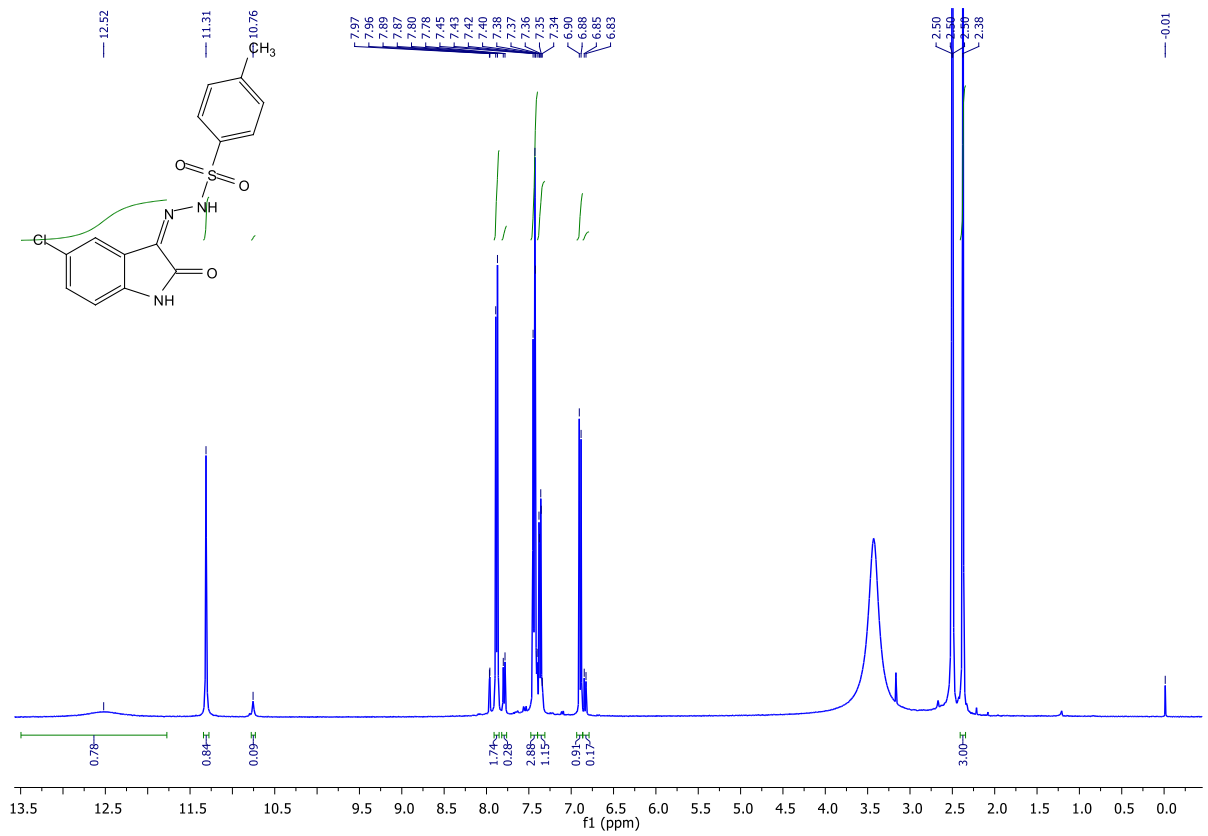
¹H NMR spektrum 3-jodbenzonitrilu.



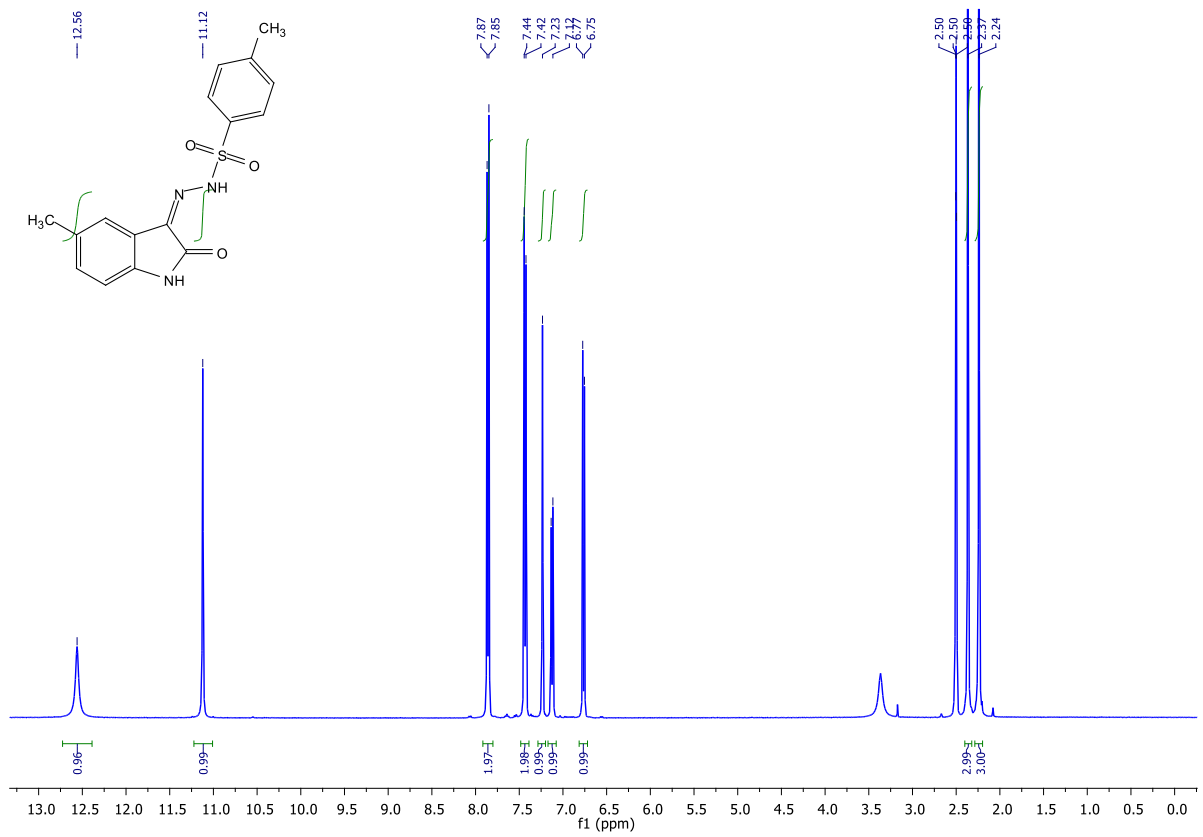
¹H NMR spektrum látky **1a**.



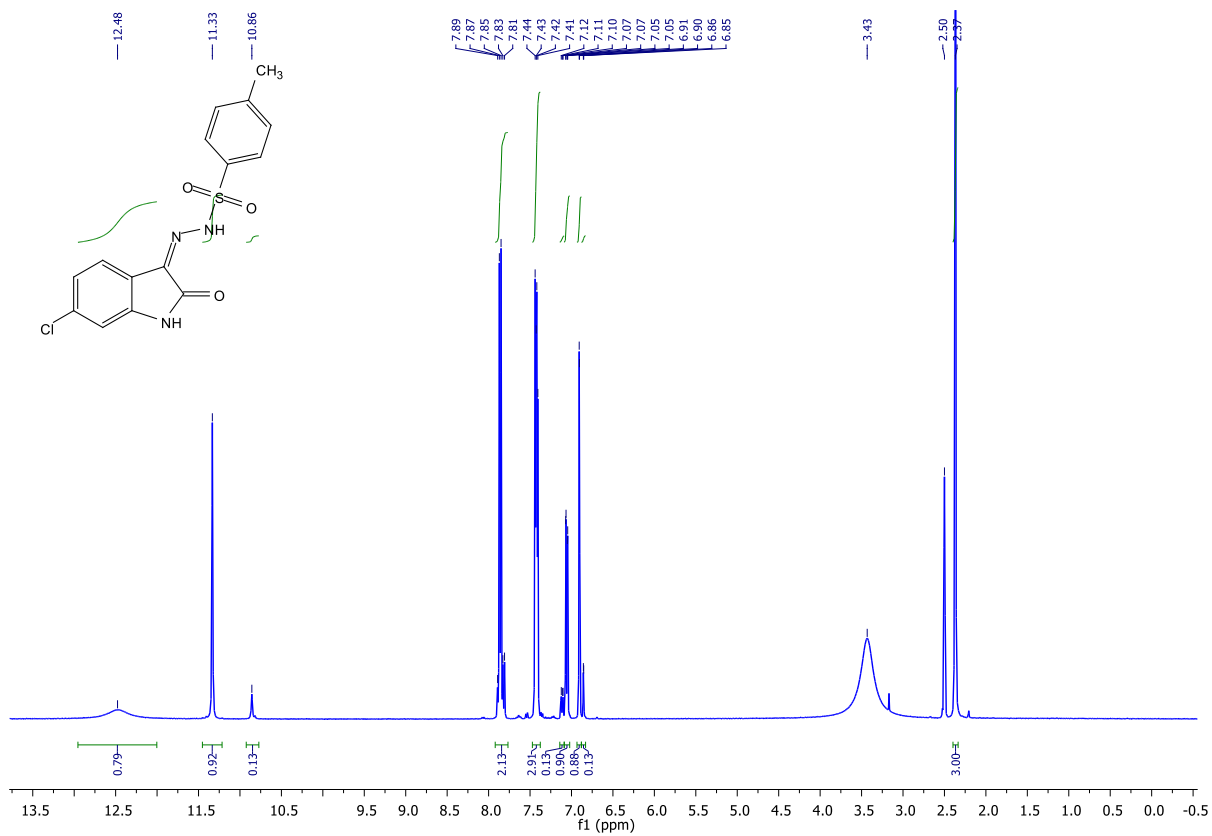
¹H NMR spektrum látky **1b**.



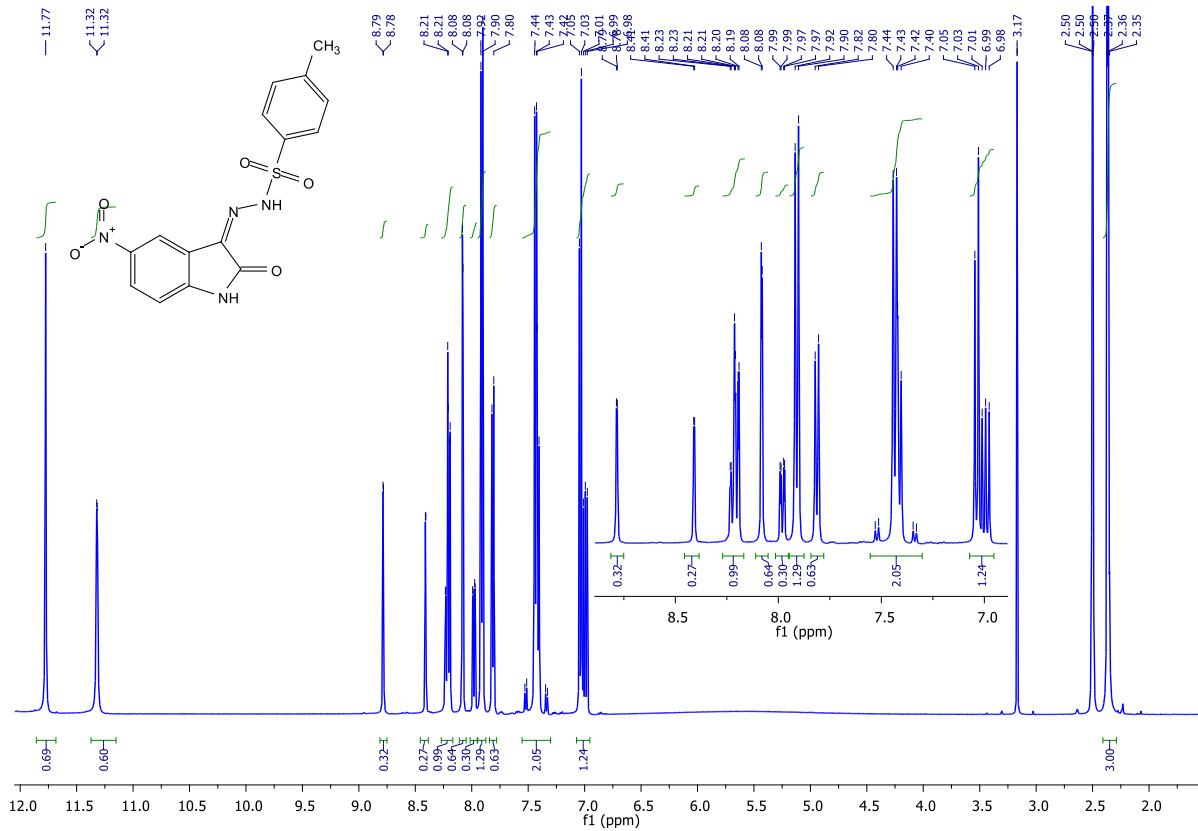
¹H NMR spektrum látky **1c**.



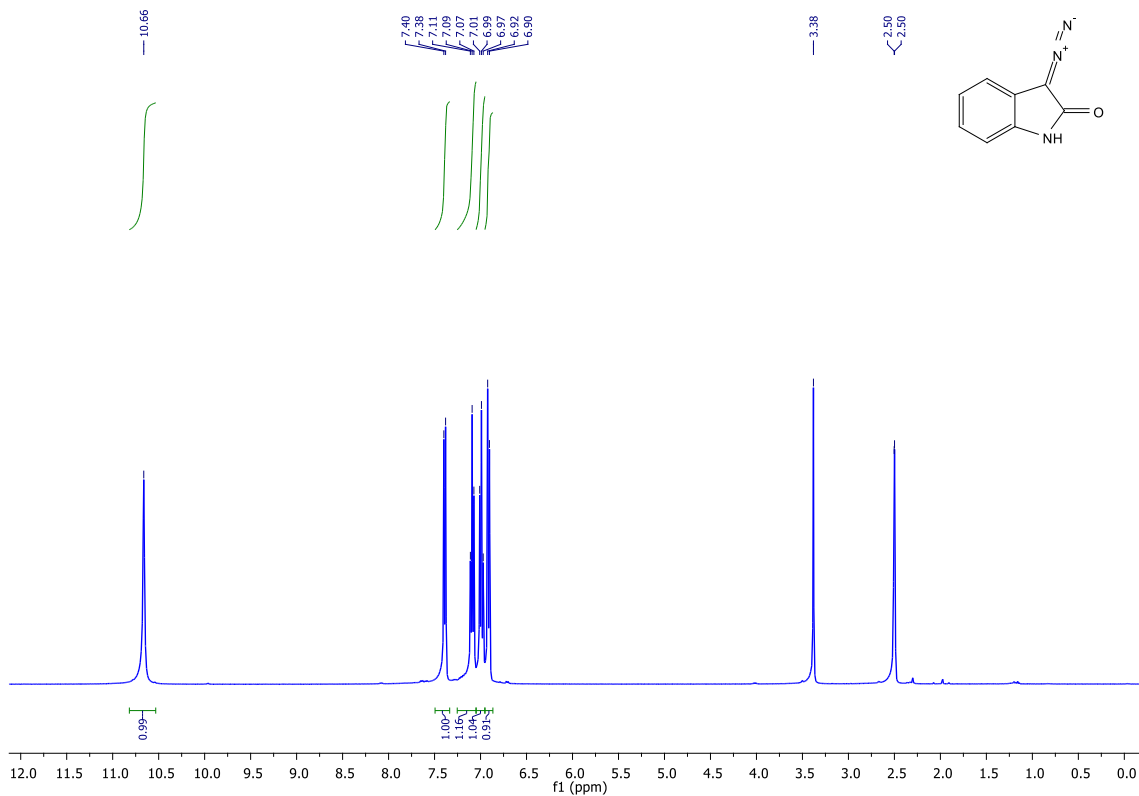
¹H NMR spektrum látky **1d**.



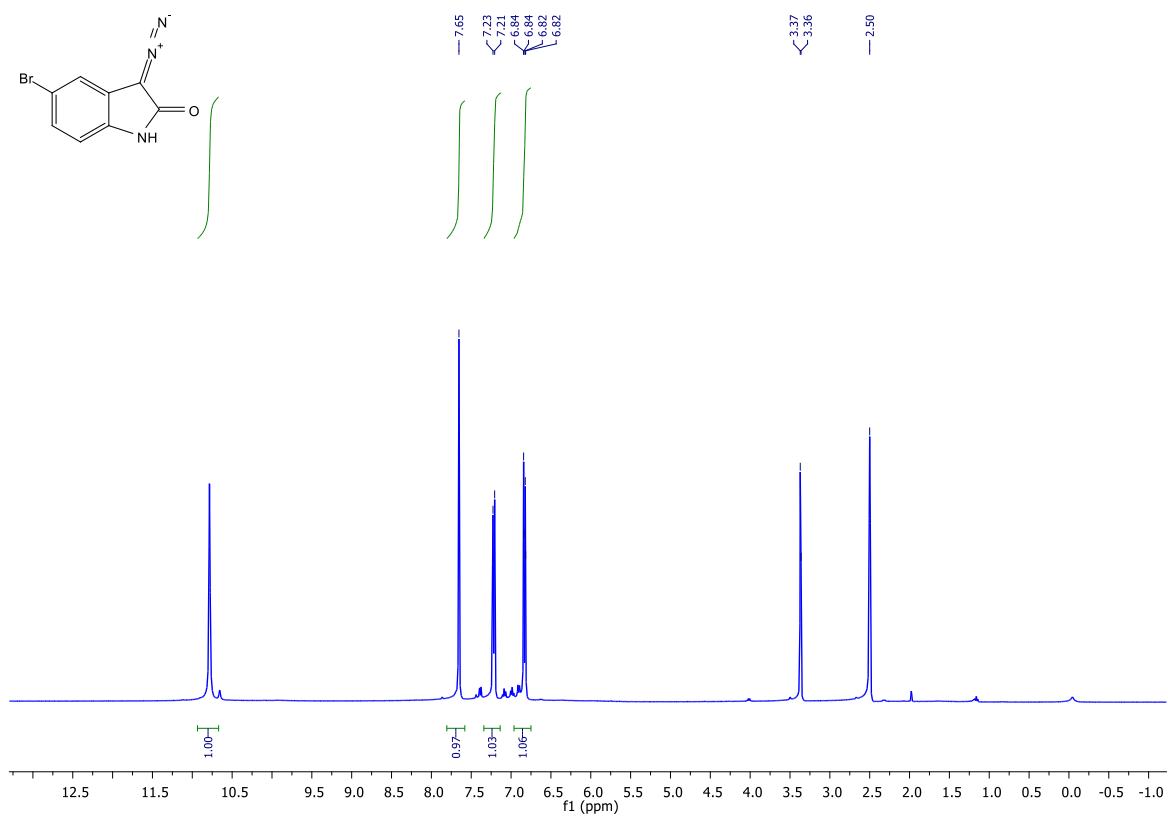
¹H NMR spektrum látky **1e**.



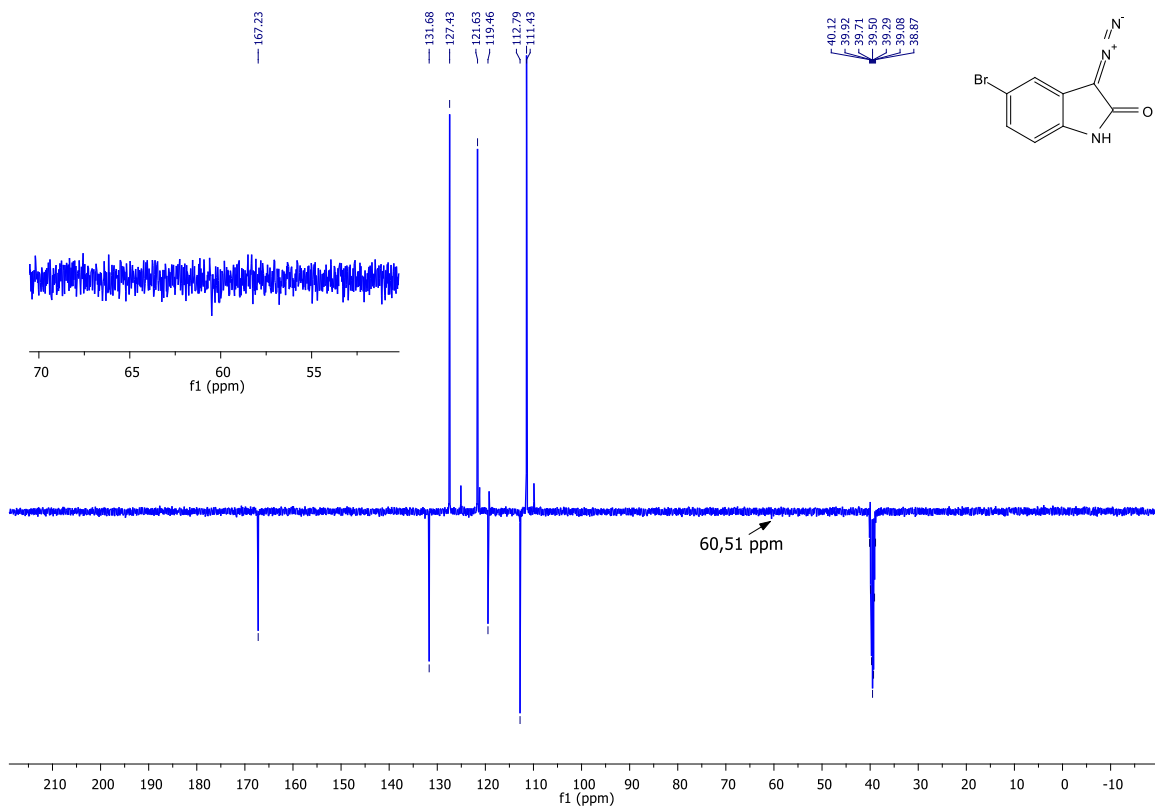
¹H NMR spektrum látky **1f**.



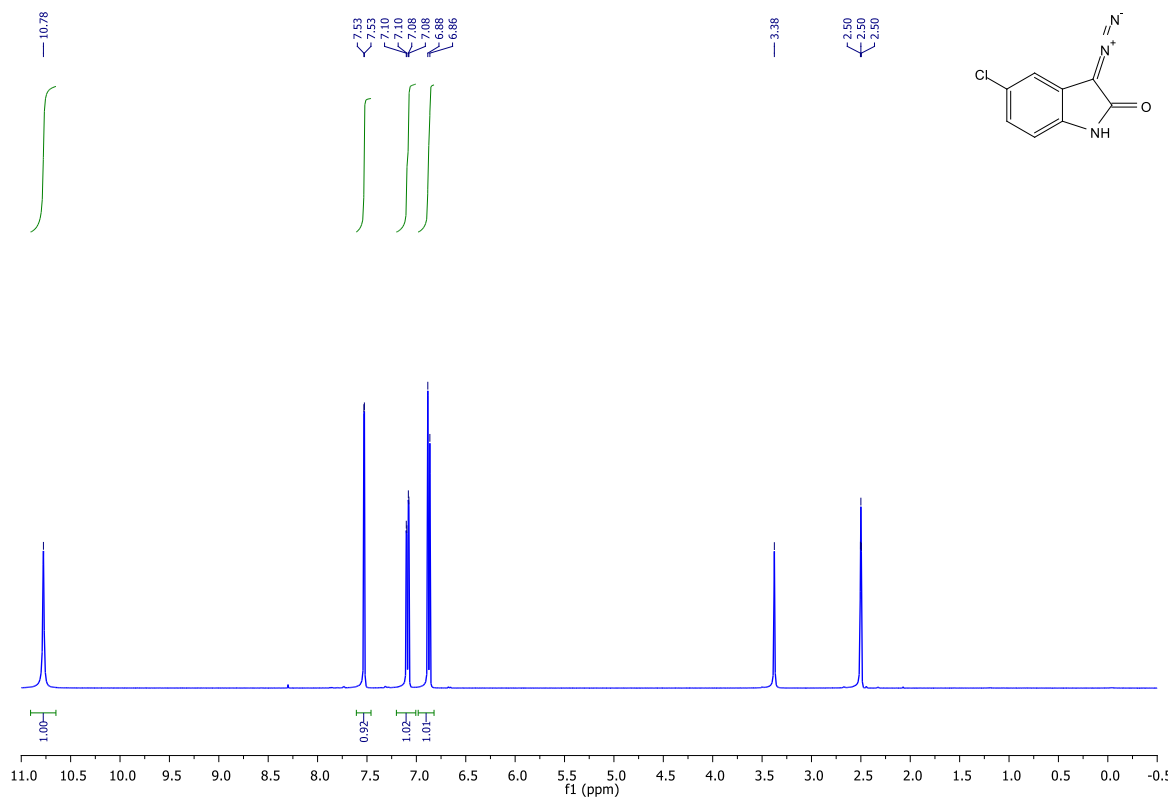
^1H NMR spektrum látky 2a.



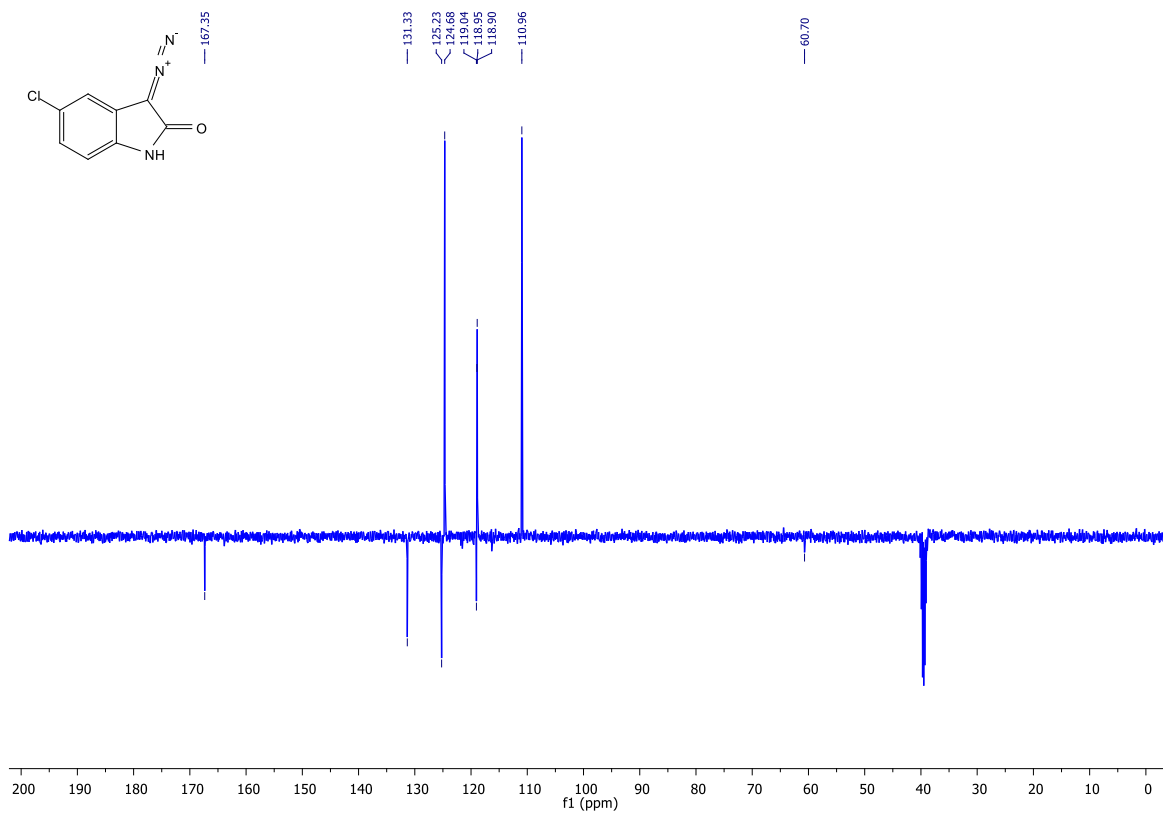
^1H NMR spektrum látky 2b.



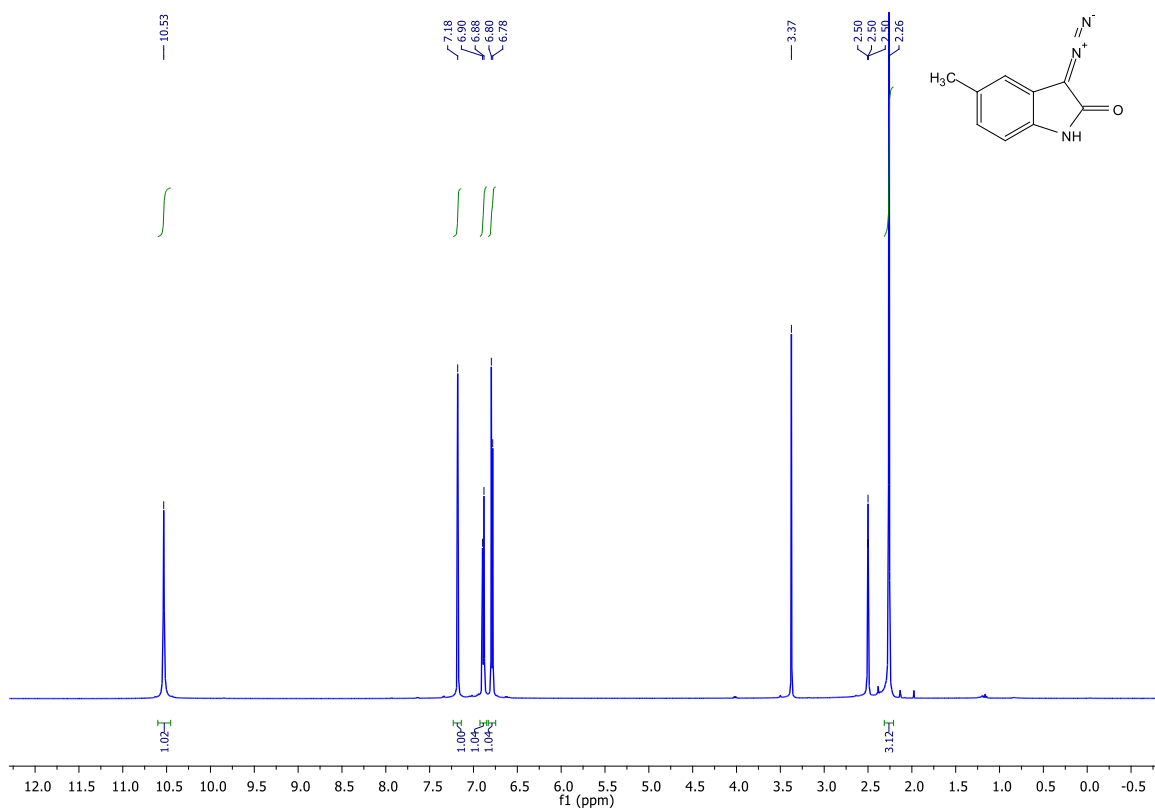
¹³C-APT NMR spektrum látky 2b.



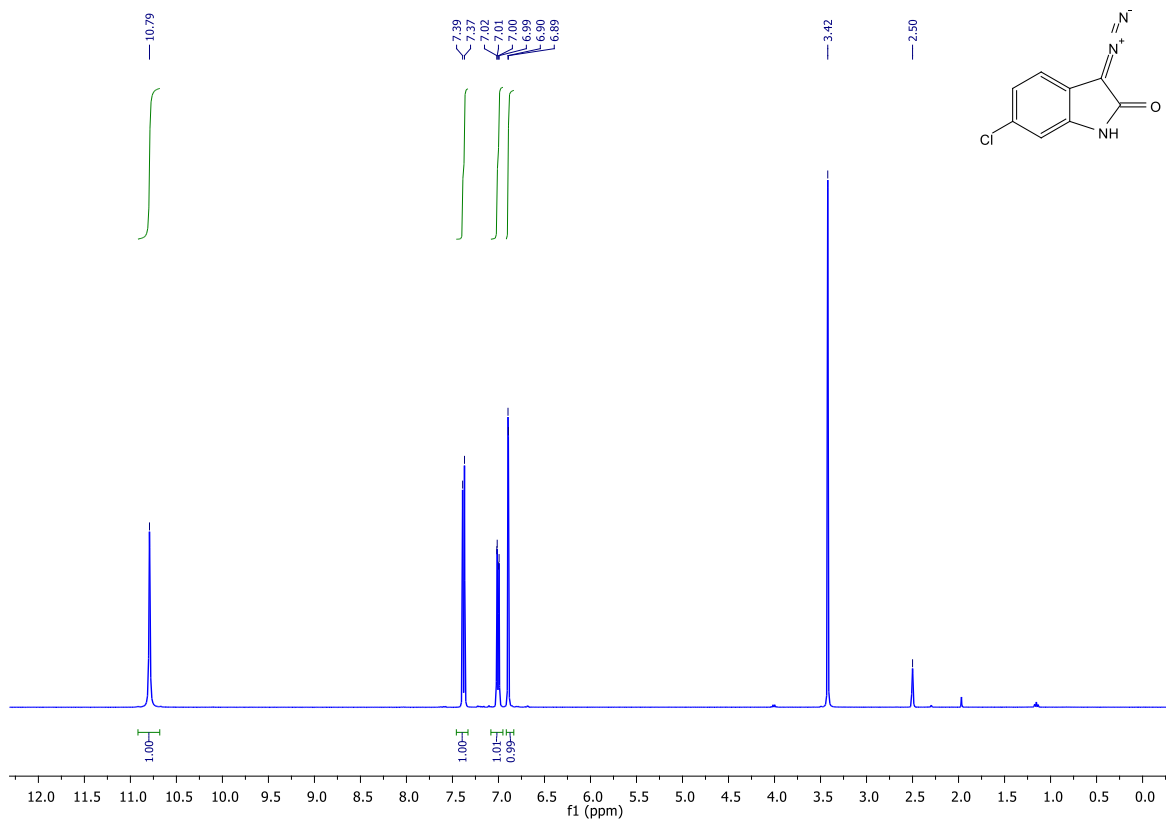
¹H NMR spektrum látky 2c.



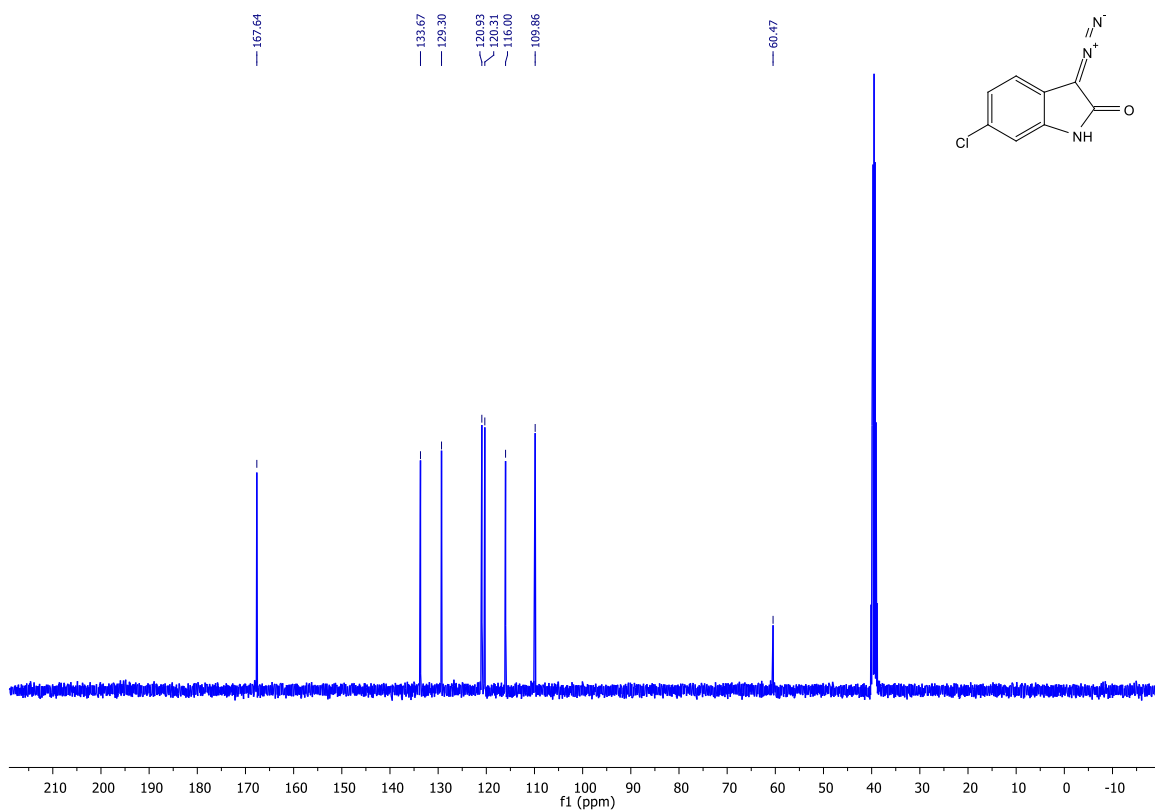
¹³C-APT NMR spektrum látky **2c**.



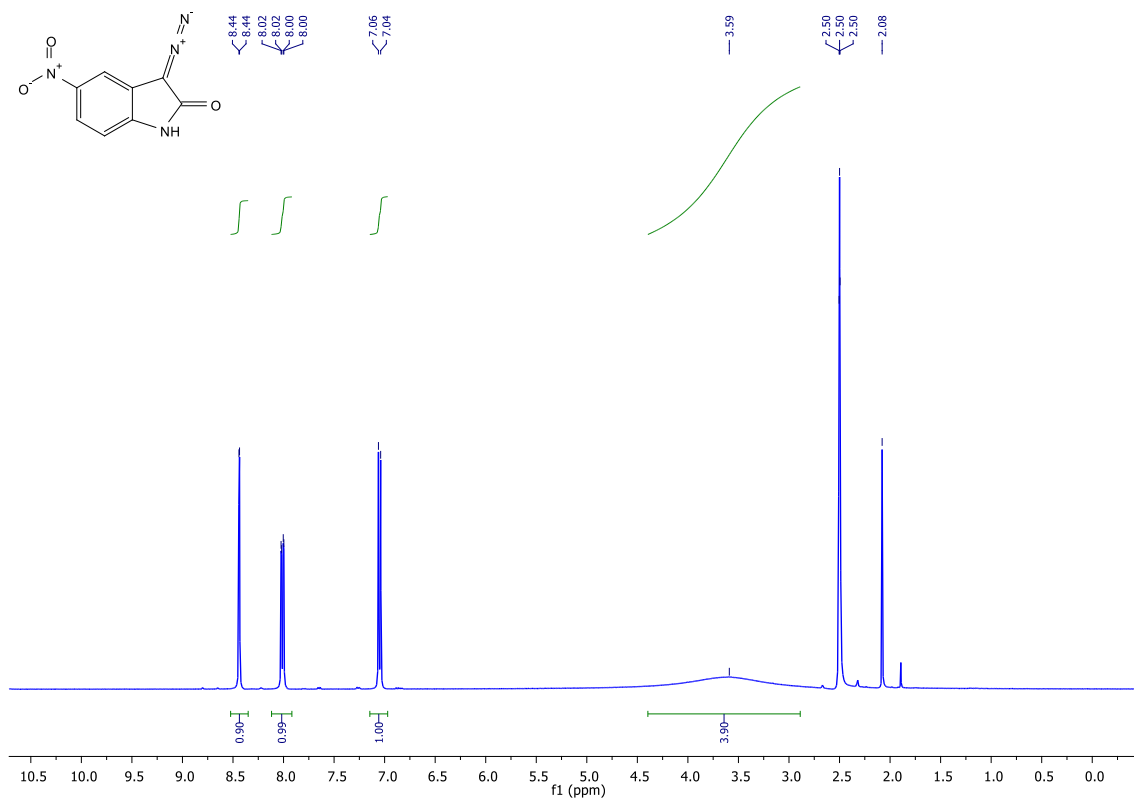
¹H NMR spektrum látky **2d**.



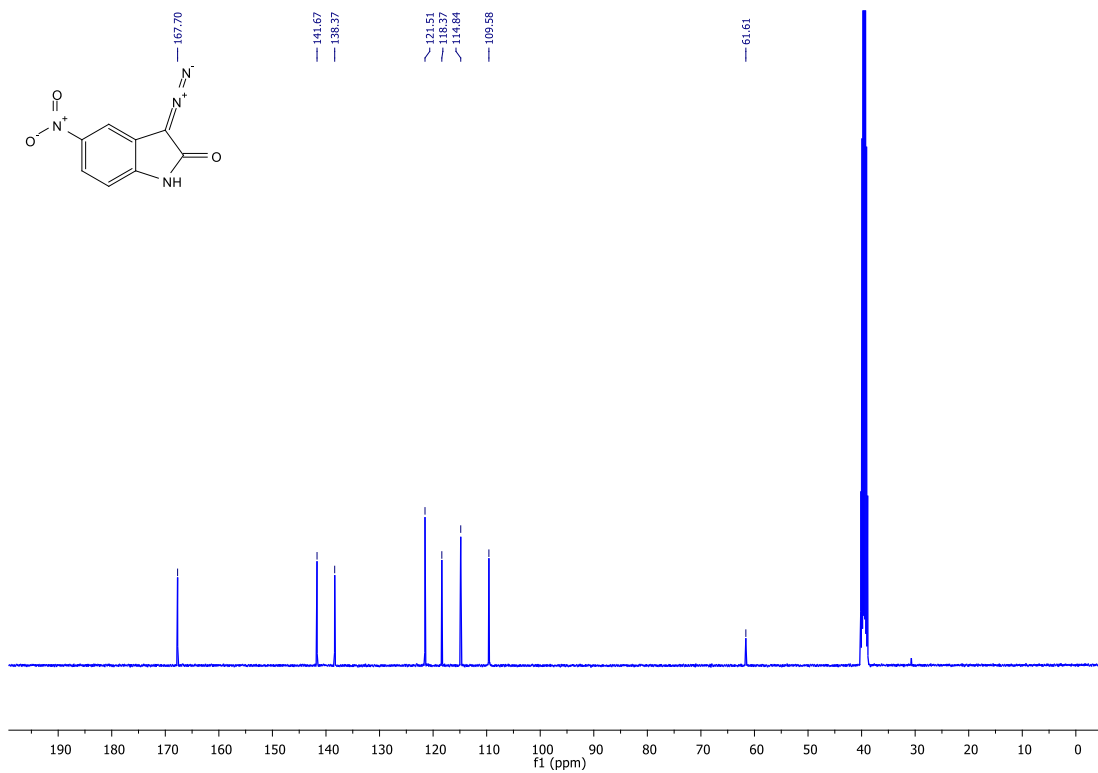
^1H NMR spektrum látky **2e**.



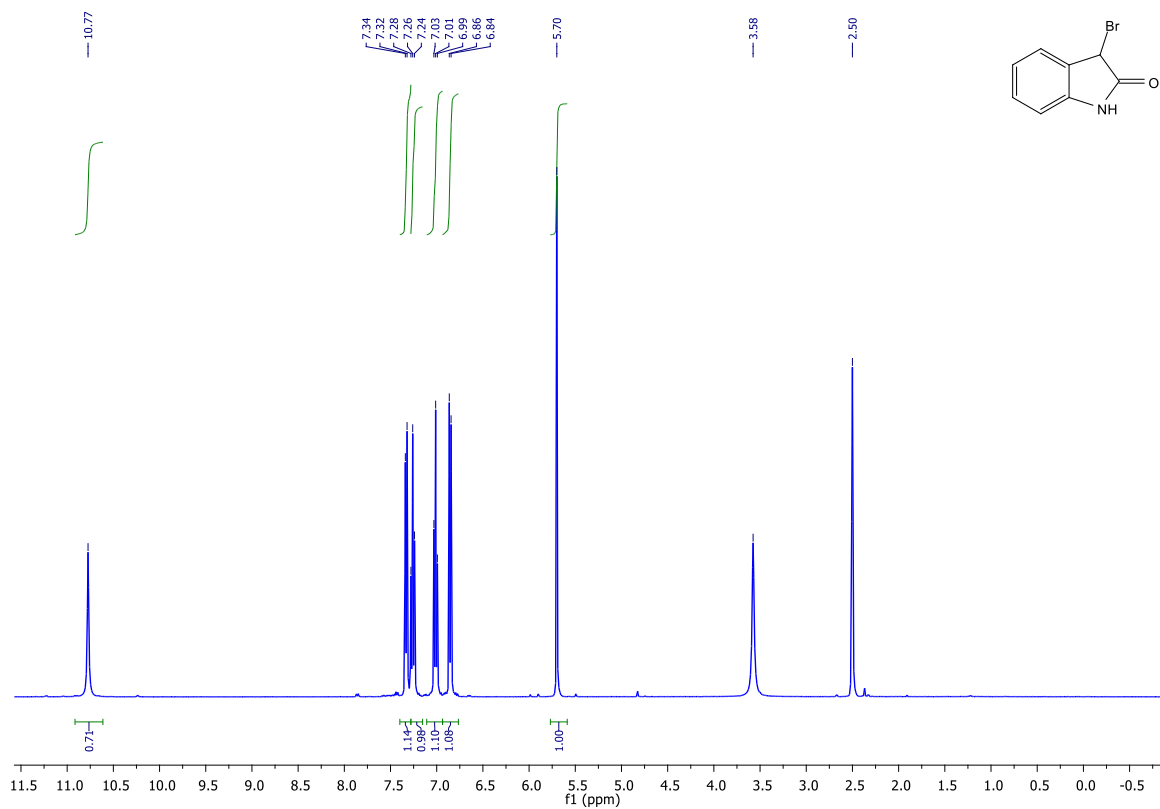
^{13}C NMR spektrum látky **2e**.



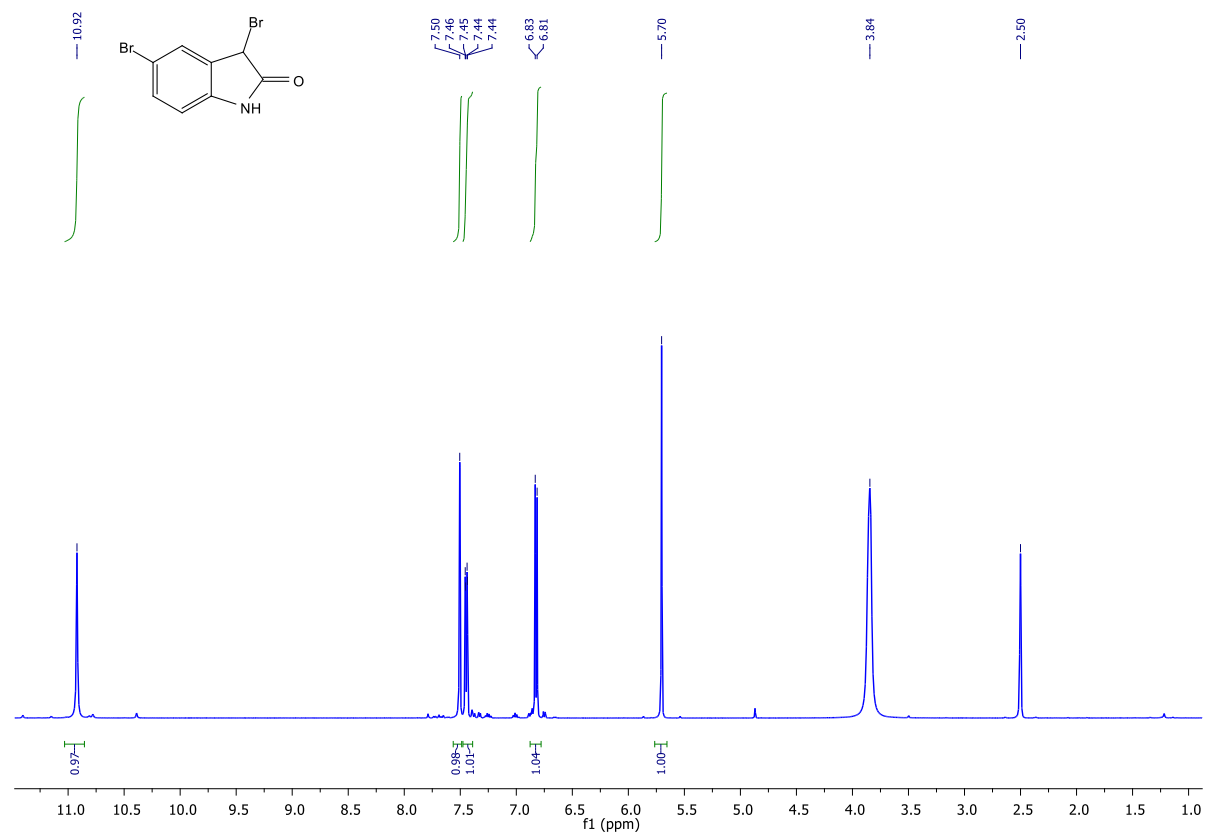
¹H NMR spektrum látky **2f**.



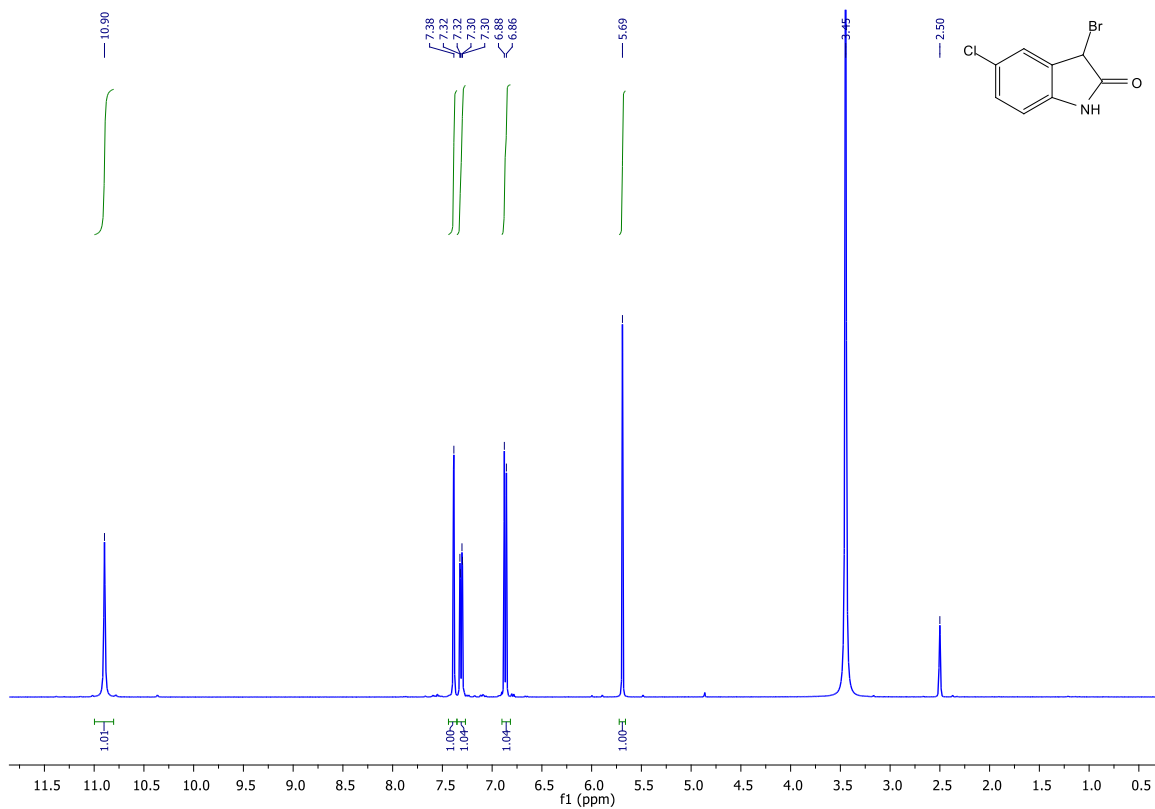
¹³C NMR spektrum látky **2f**.



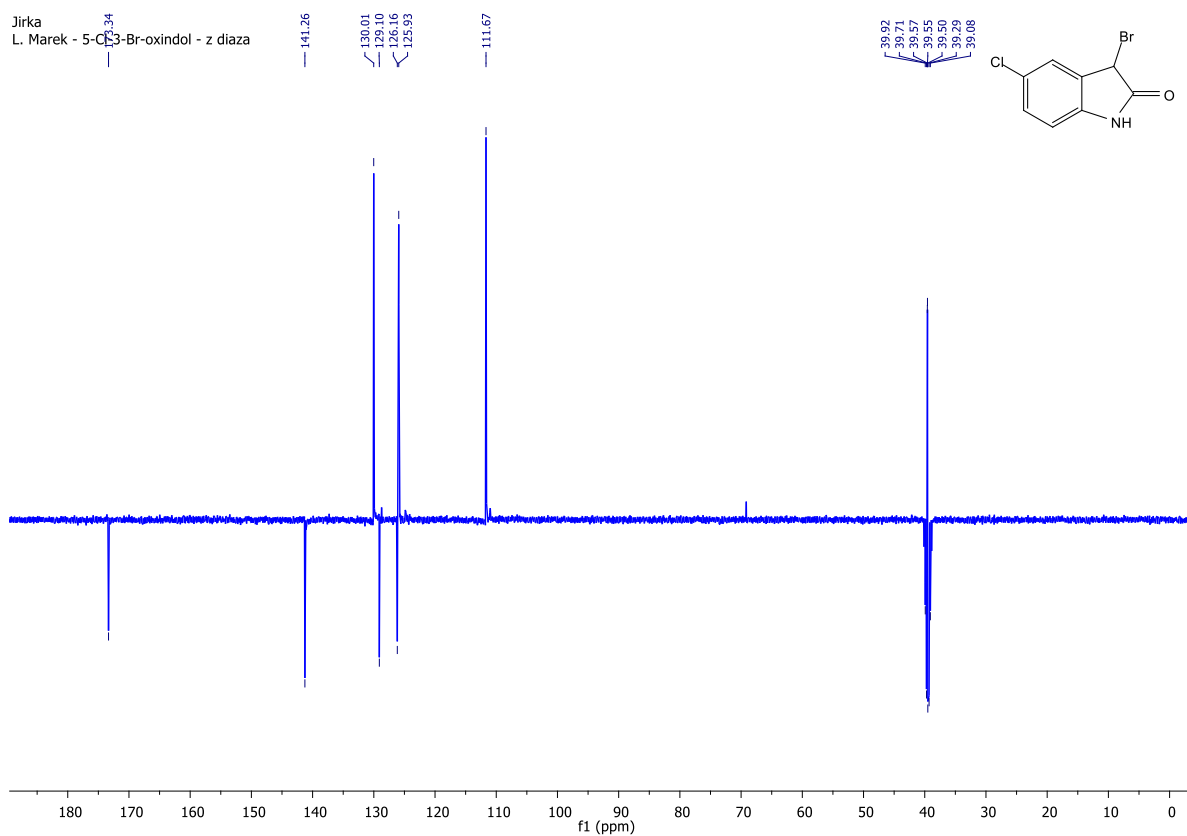
¹H NMR spektrum látky **3a**.



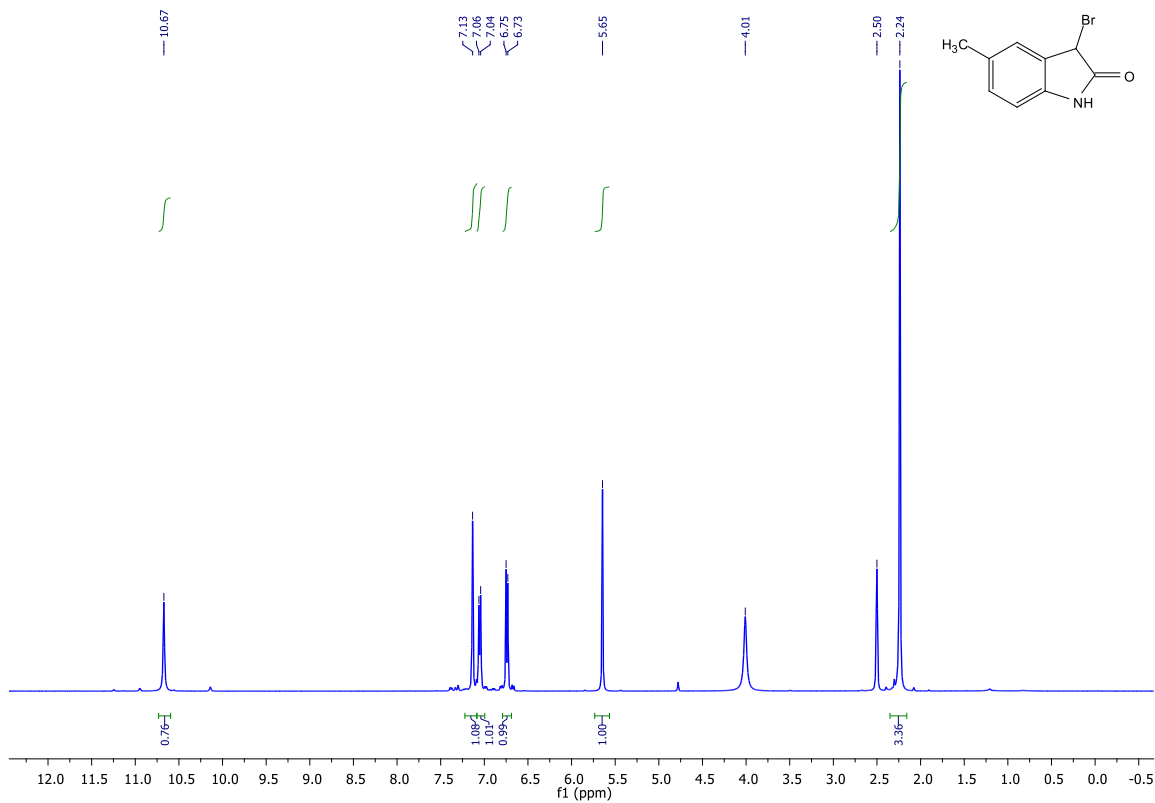
¹H NMR spektrum látky **3b**.



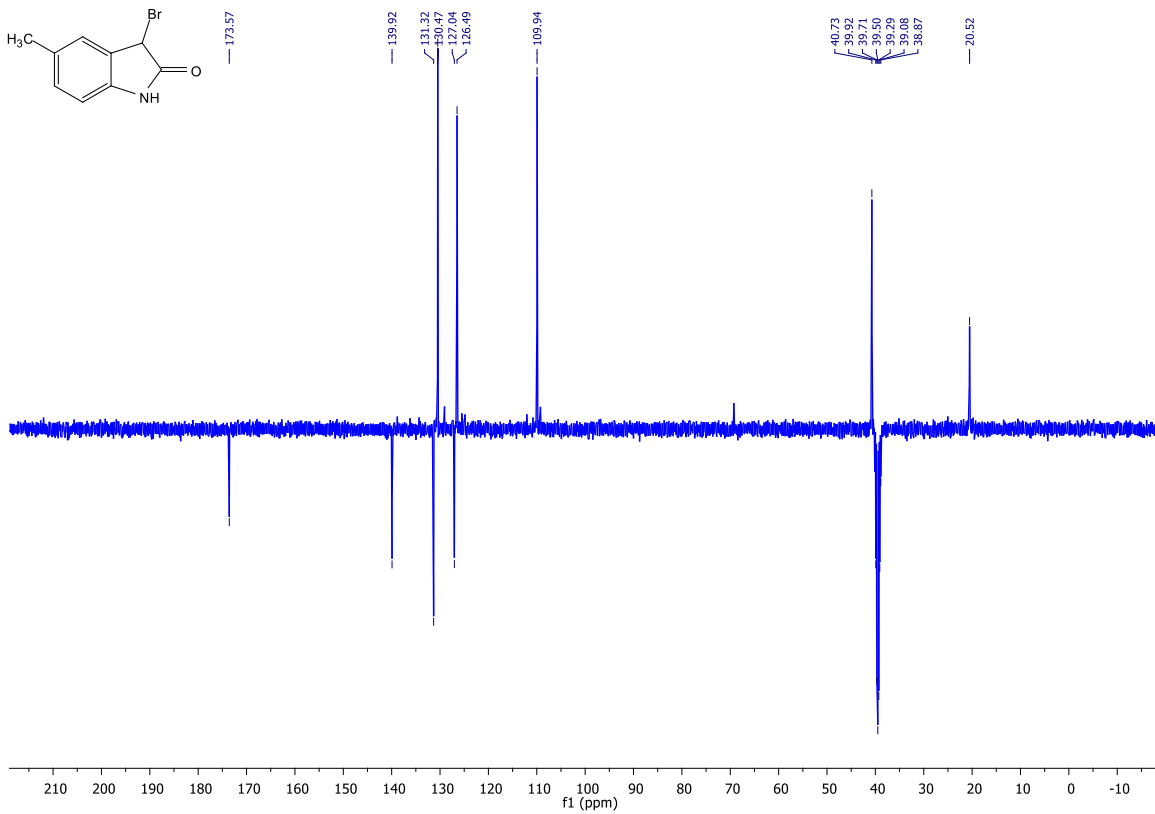
¹H NMR spektrum látky **3c**.



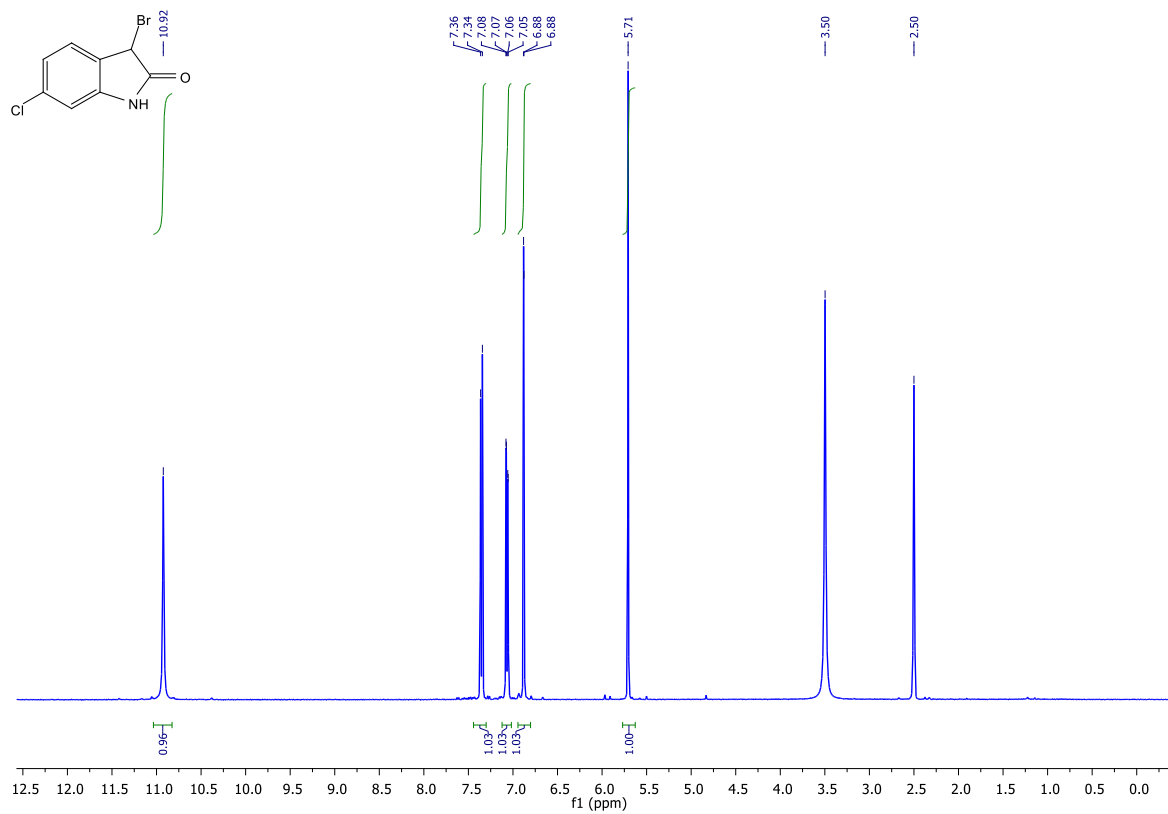
¹³C-APT NMR spektrum látky **3c**.



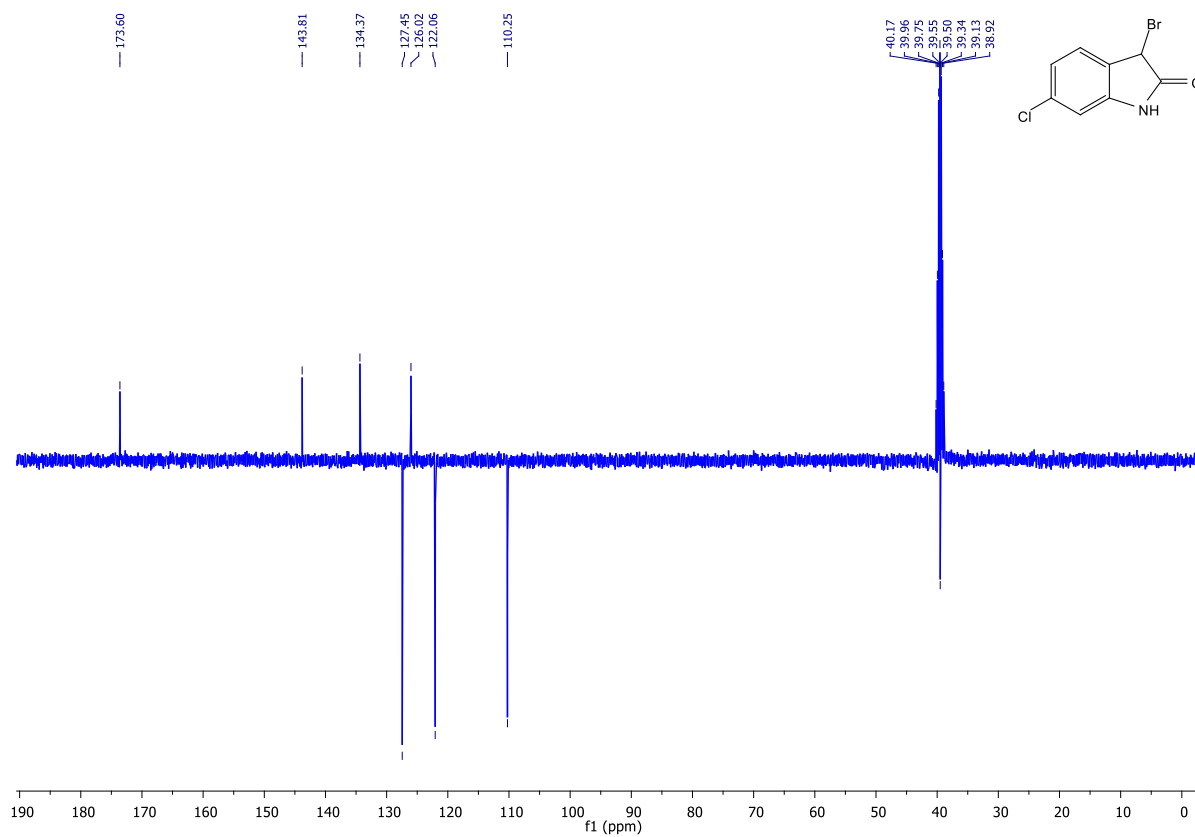
¹H NMR spektrum látky **3d**.



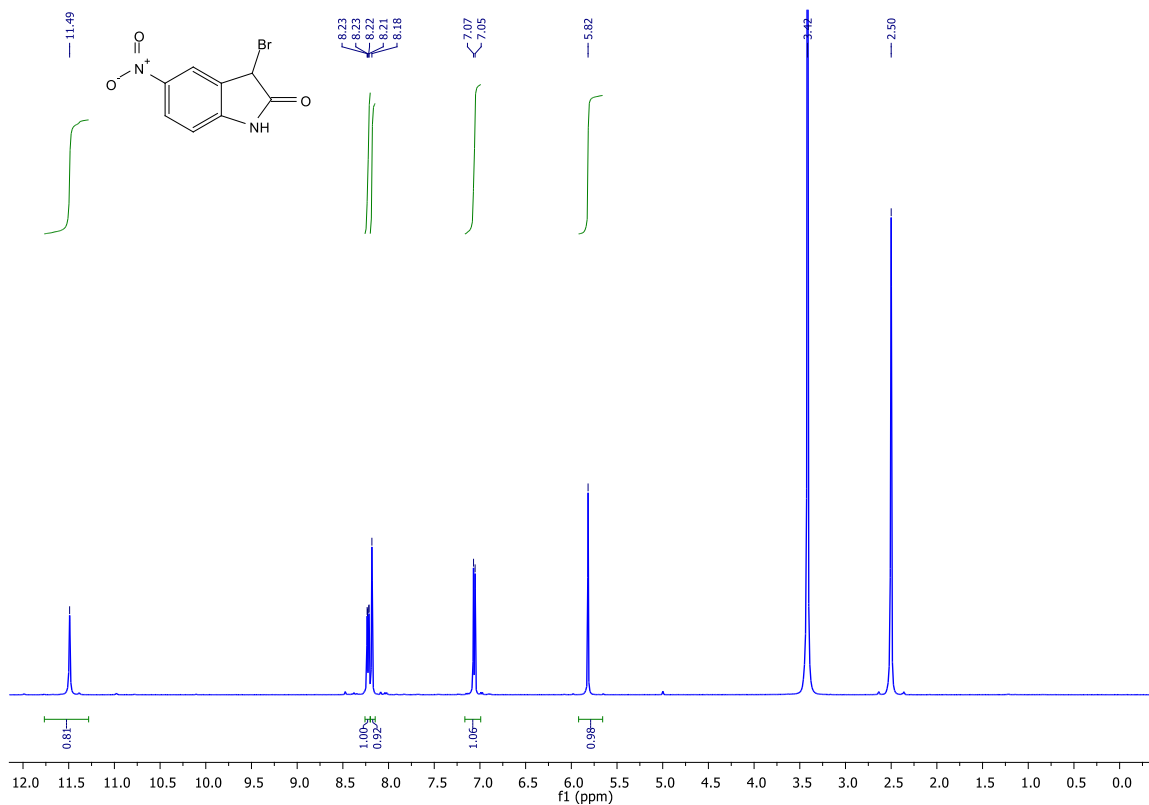
¹³C-APT NMR spektrum látky **3d**.



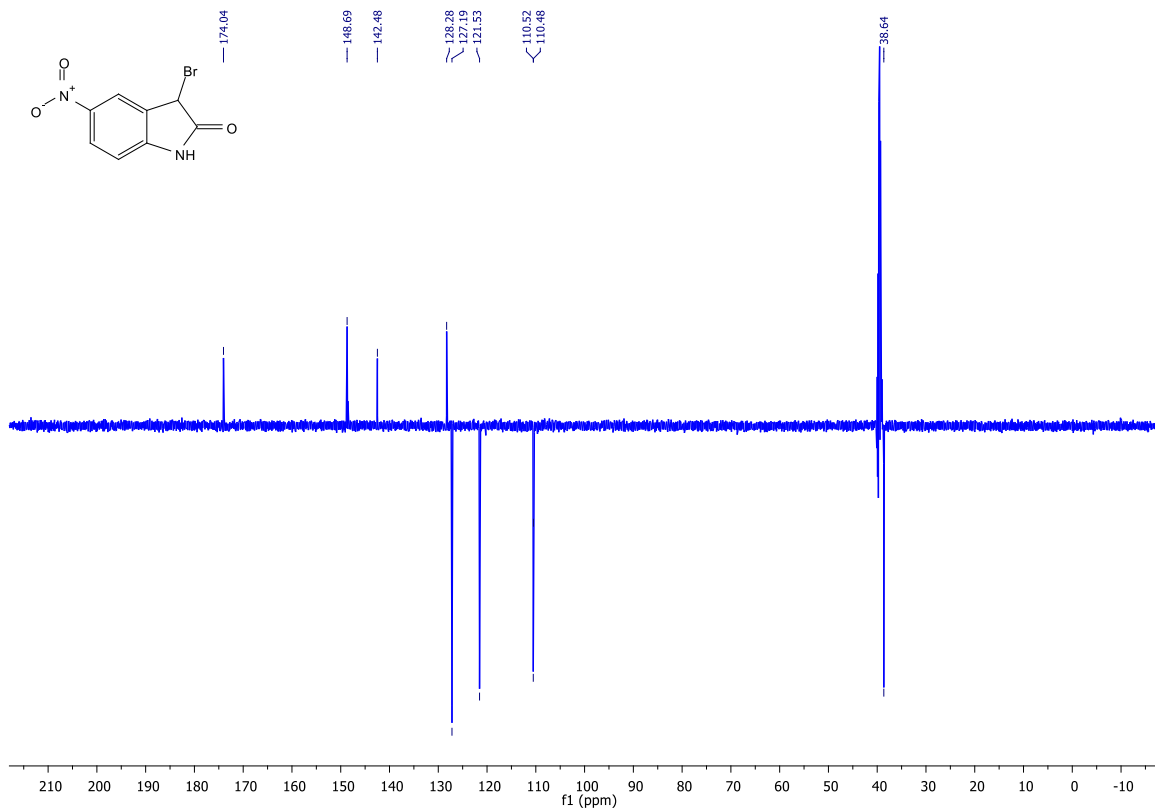
¹H NMR spektrum látky **3e**.



¹³C-APT NMR spektrum látky **3e**.

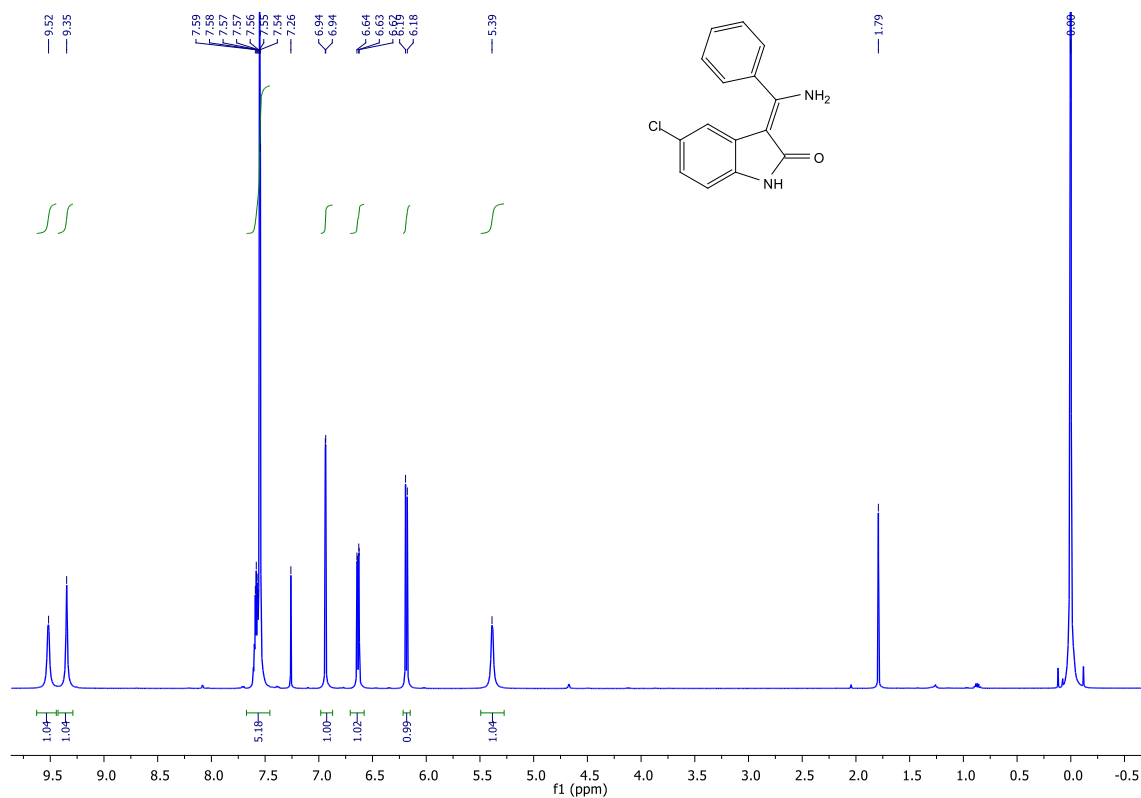


¹H NMR spektrum látky **3f**.

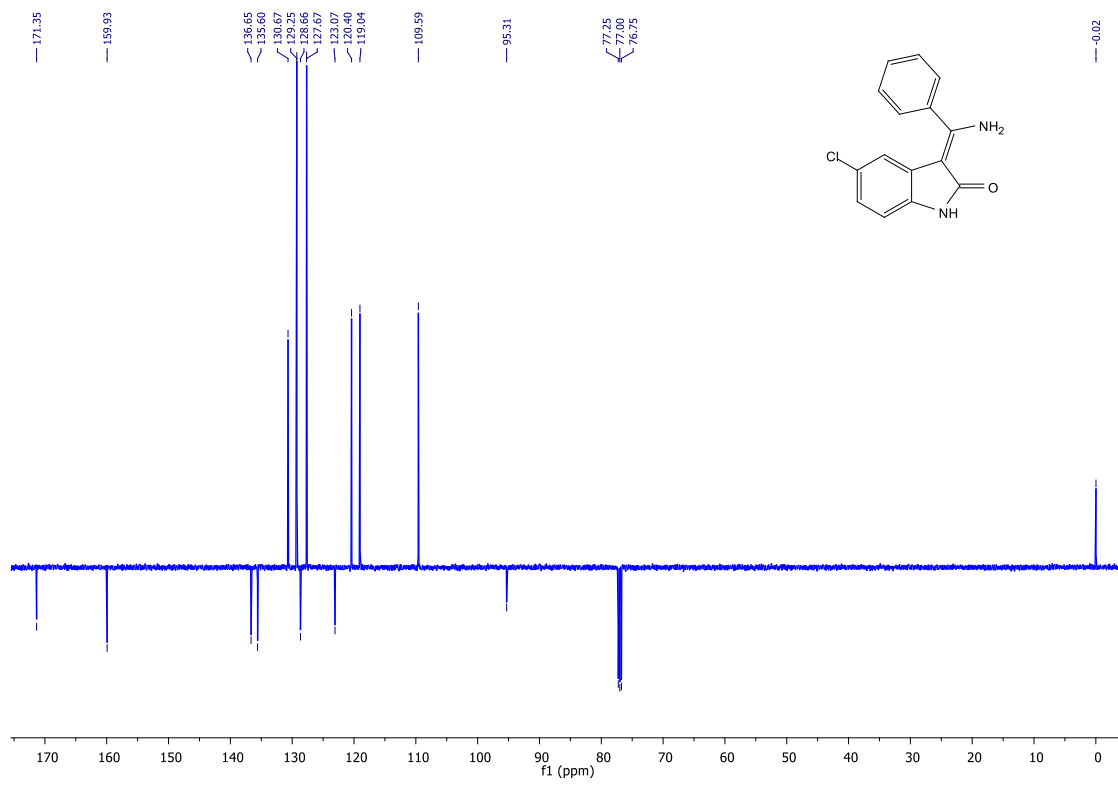


¹³C-APT NMR spektrum látky **3f**.

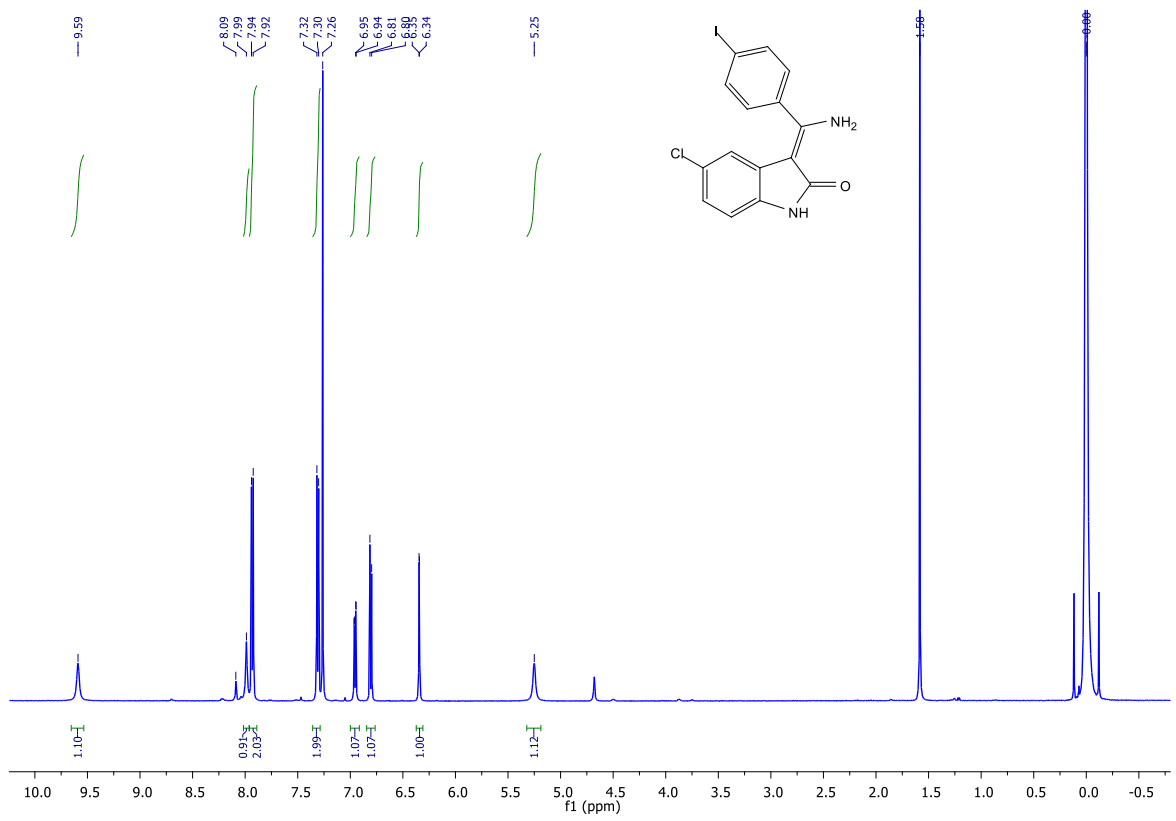
7.2.2 Produkty Eschenmoserovy reakce – 3-[amino(aryl)methylen]oxindoly



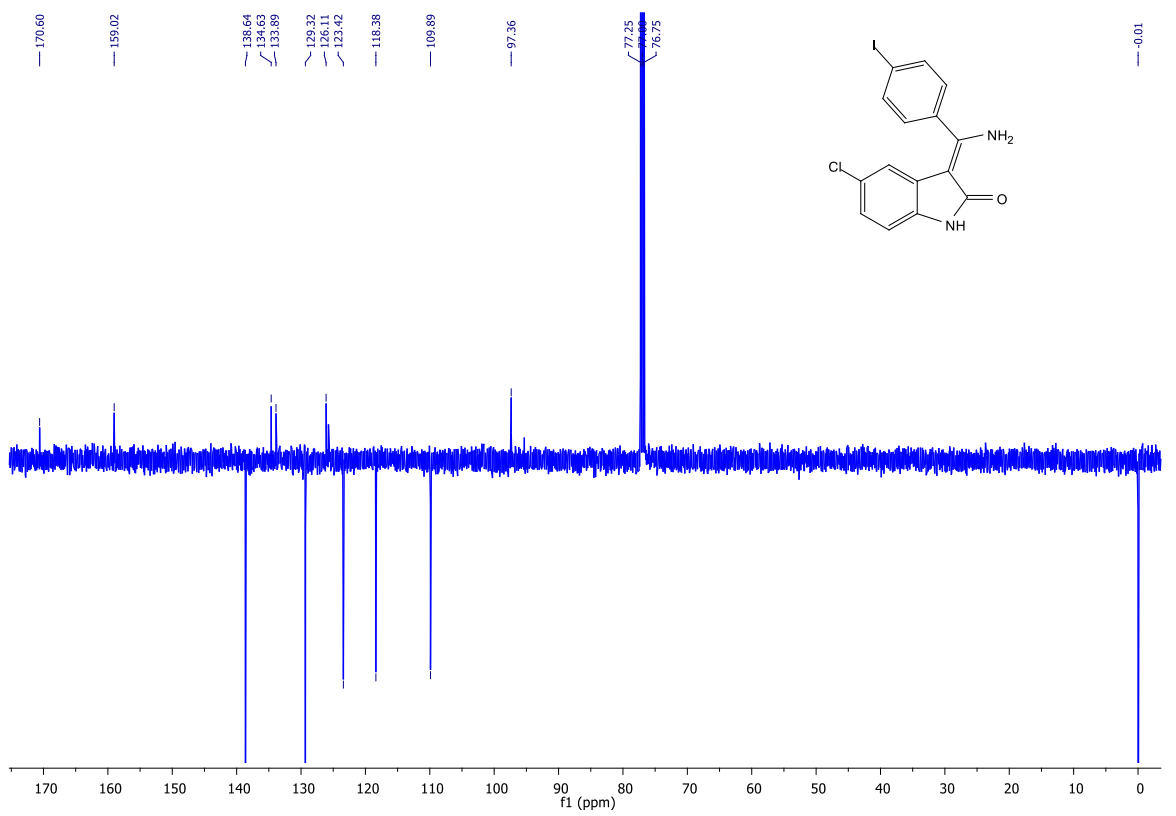
¹H NMR spektrum látky 4a.



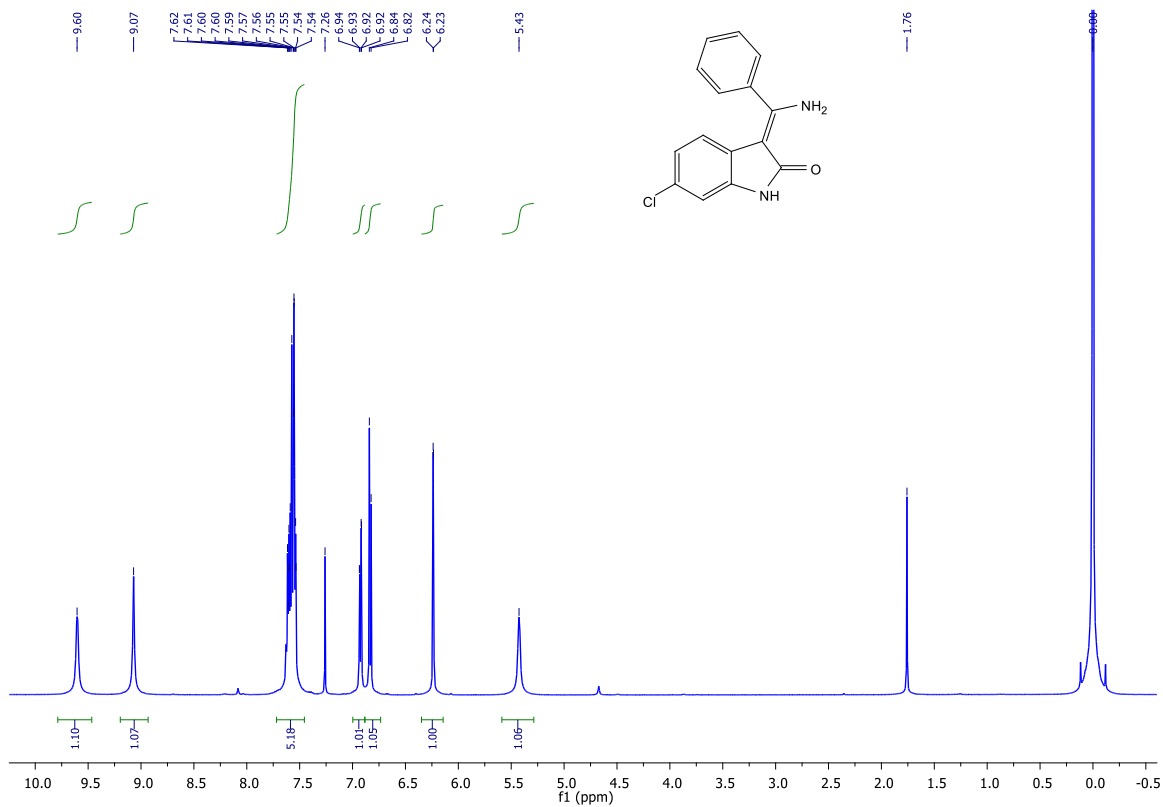
¹³C-APT NMR spektrum látky 4a.



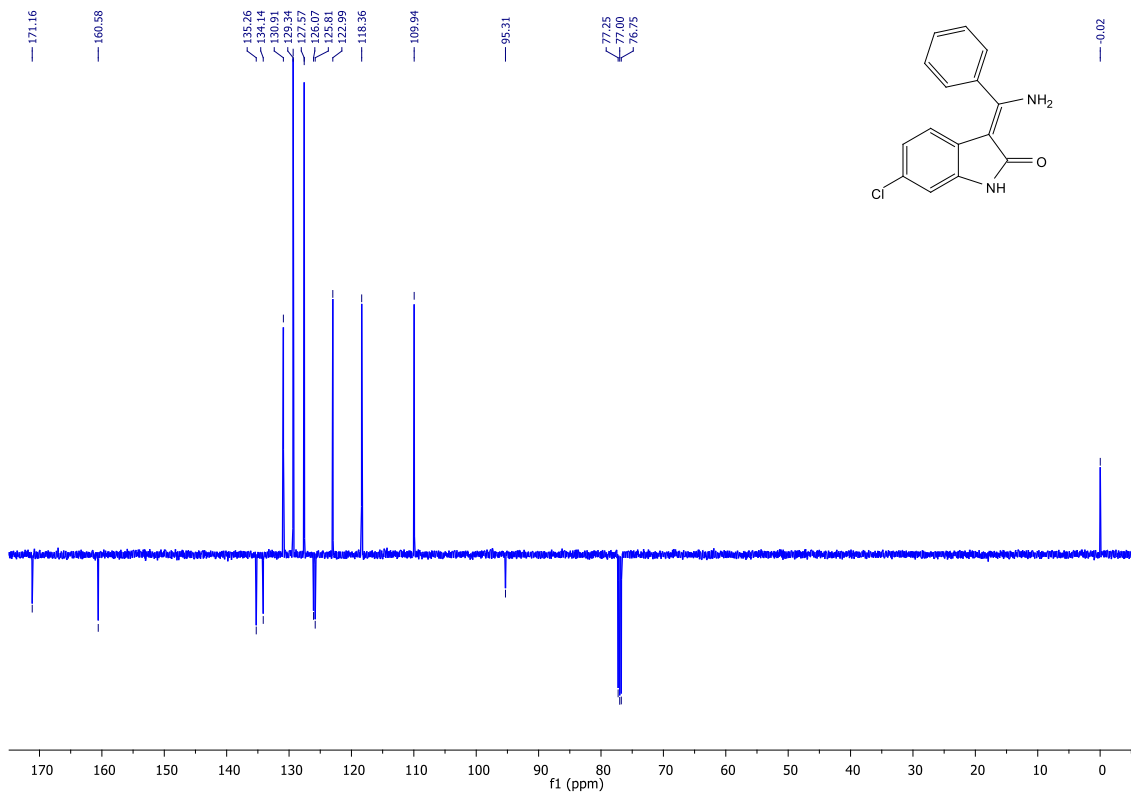
¹H NMR spektrum látky **4b**.



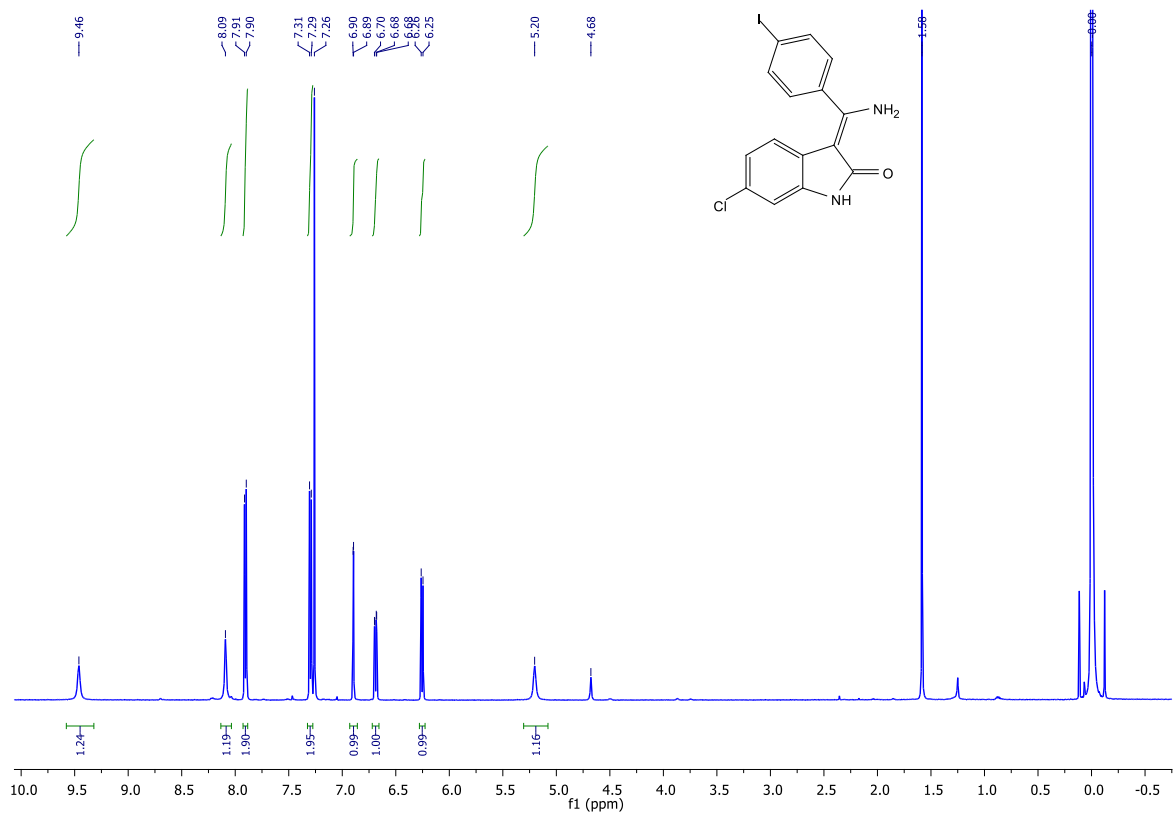
¹³C-APT NMR spektrum látky **4b**.



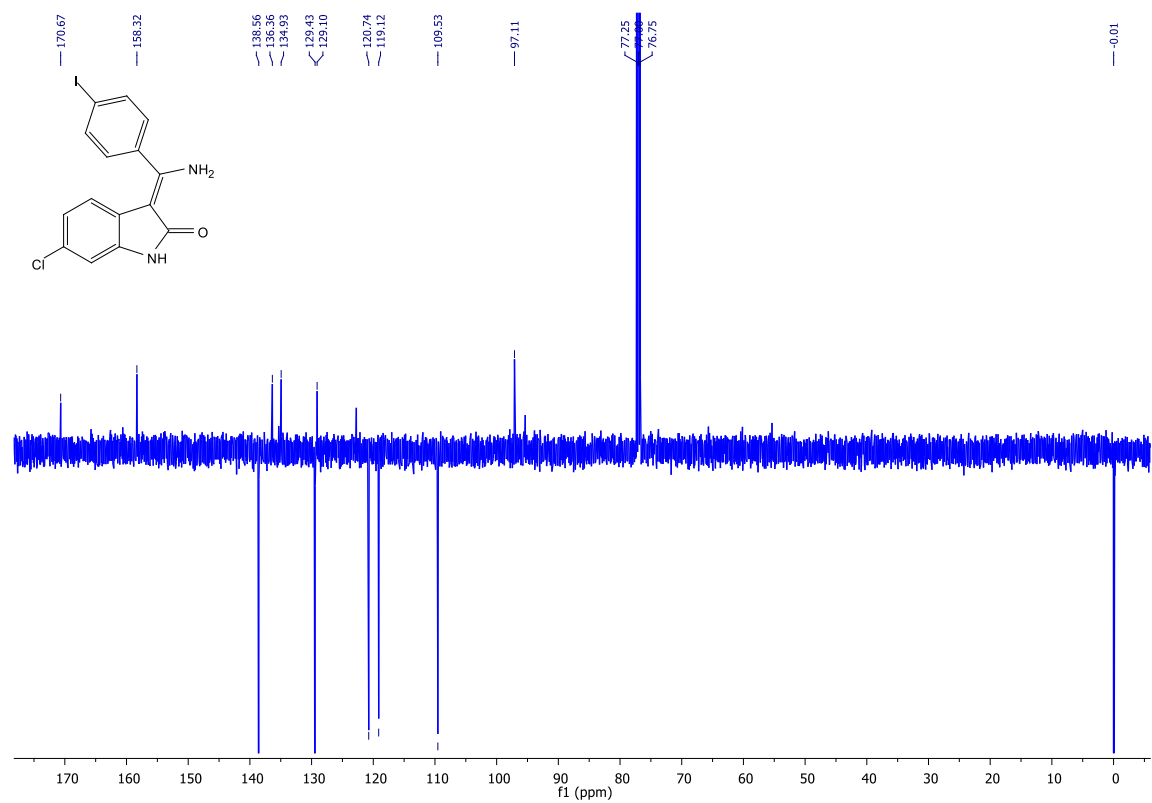
¹H NMR spektrum látky **4c**.



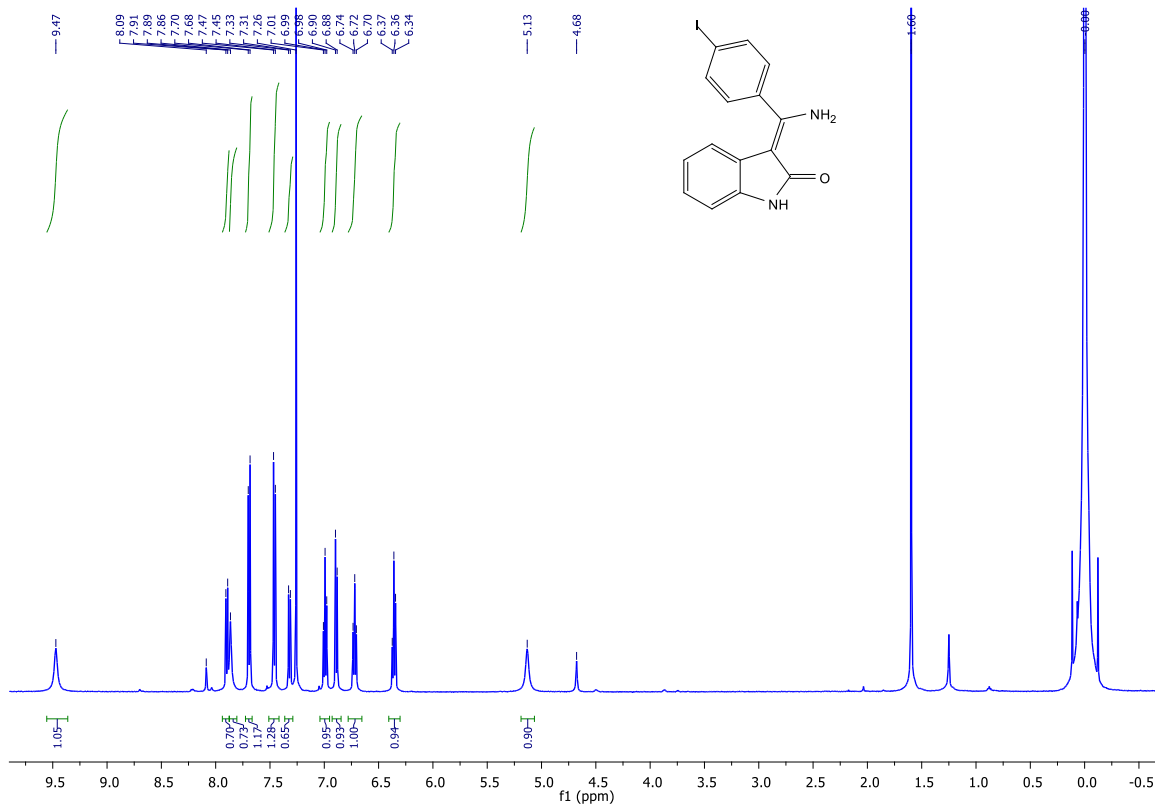
¹³C-APT NMR spektrum látky **4c**.



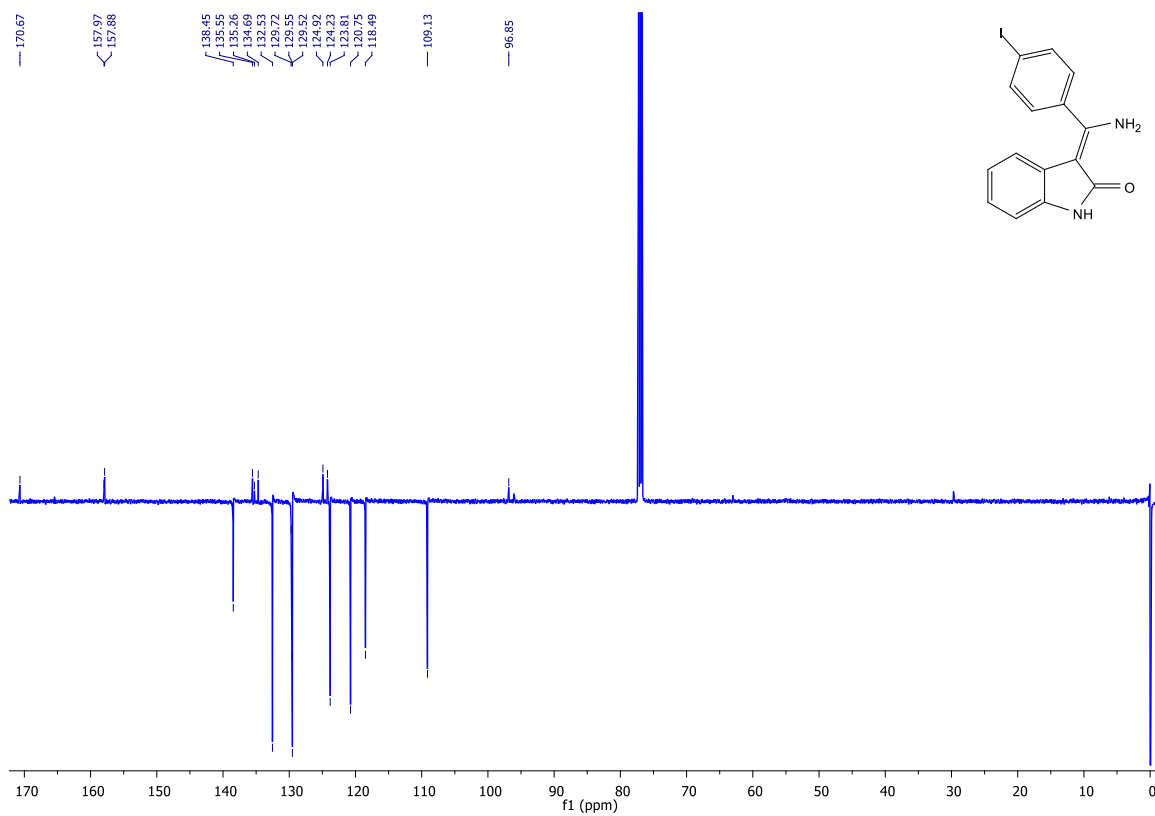
¹H NMR spektrum látky **4d**.



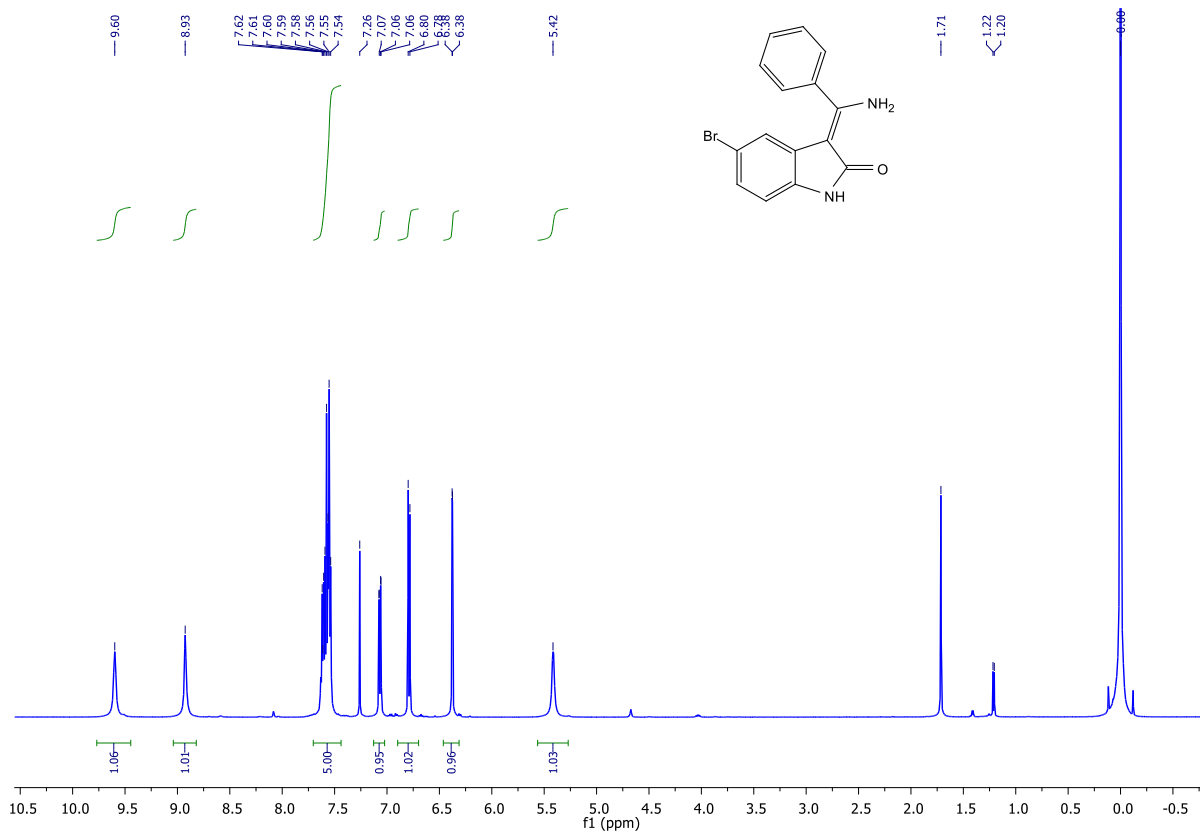
¹³C-APT NMR spektrum látky **4d**.



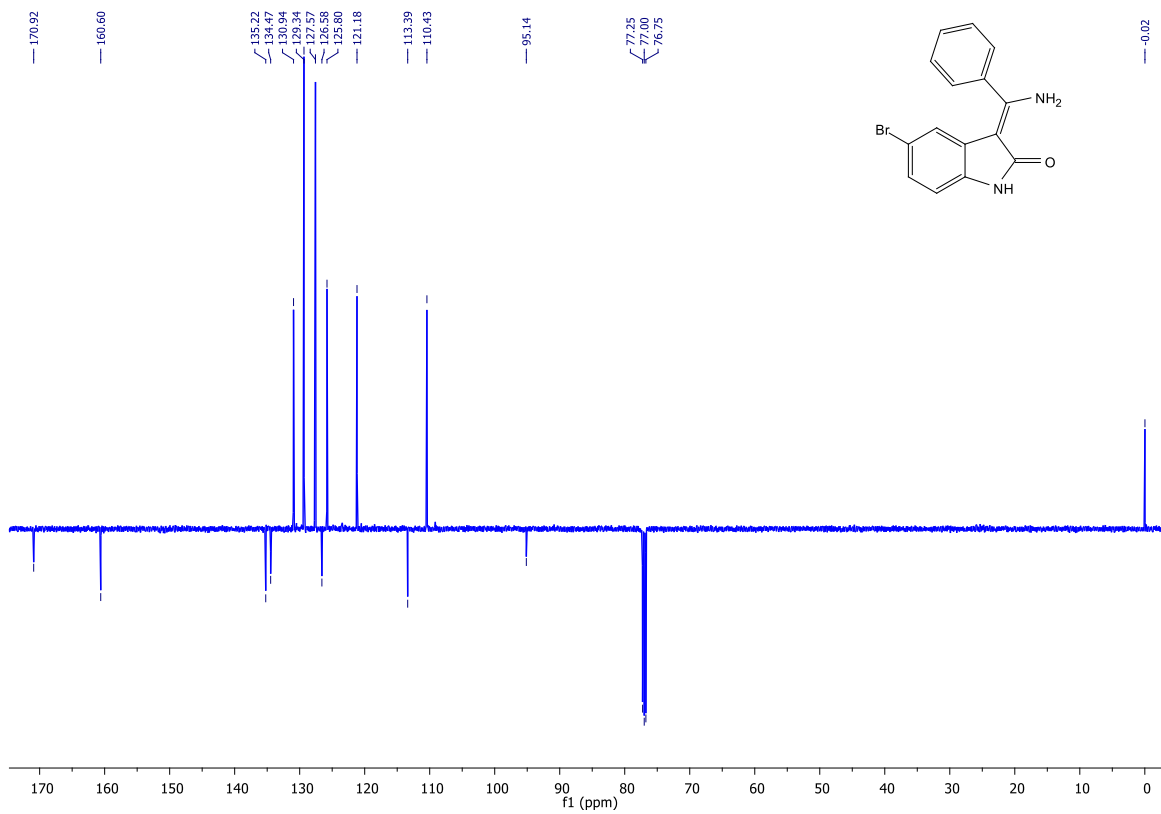
¹H NMR spektrum látky **4e**.



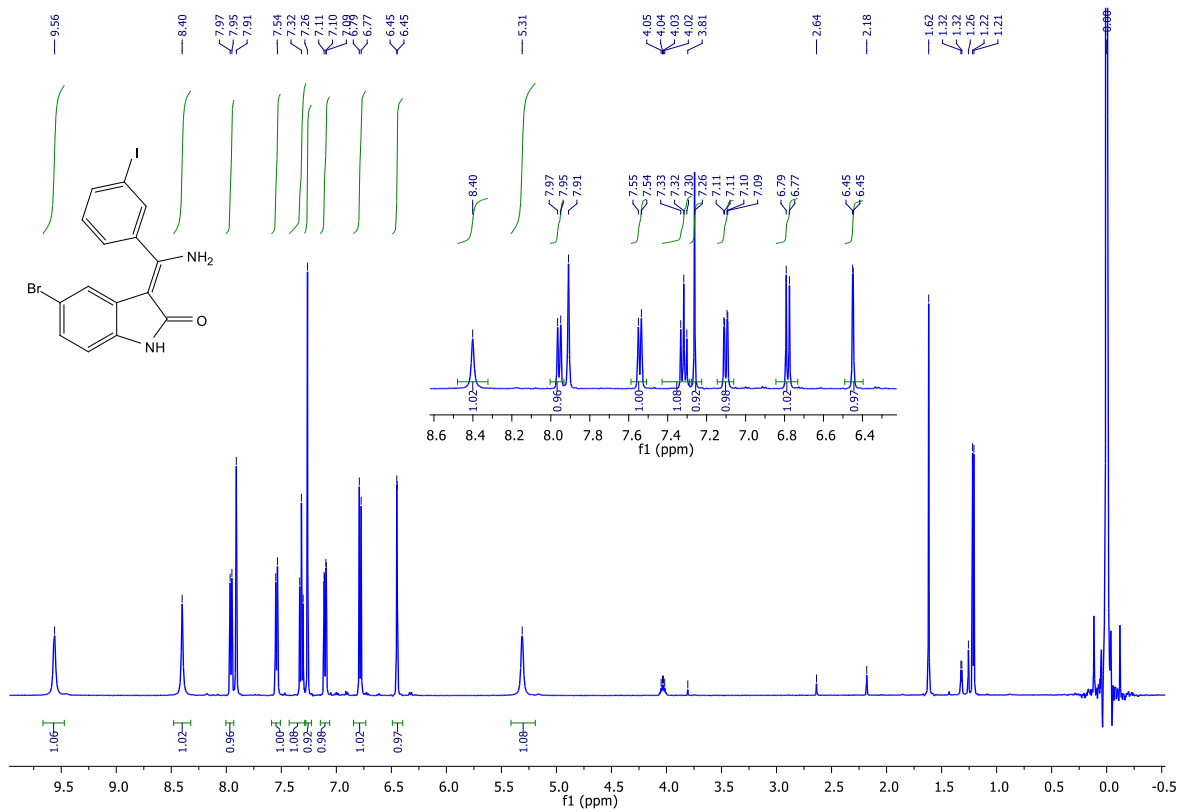
¹³C-APT NMR spektrum látky **4e**.



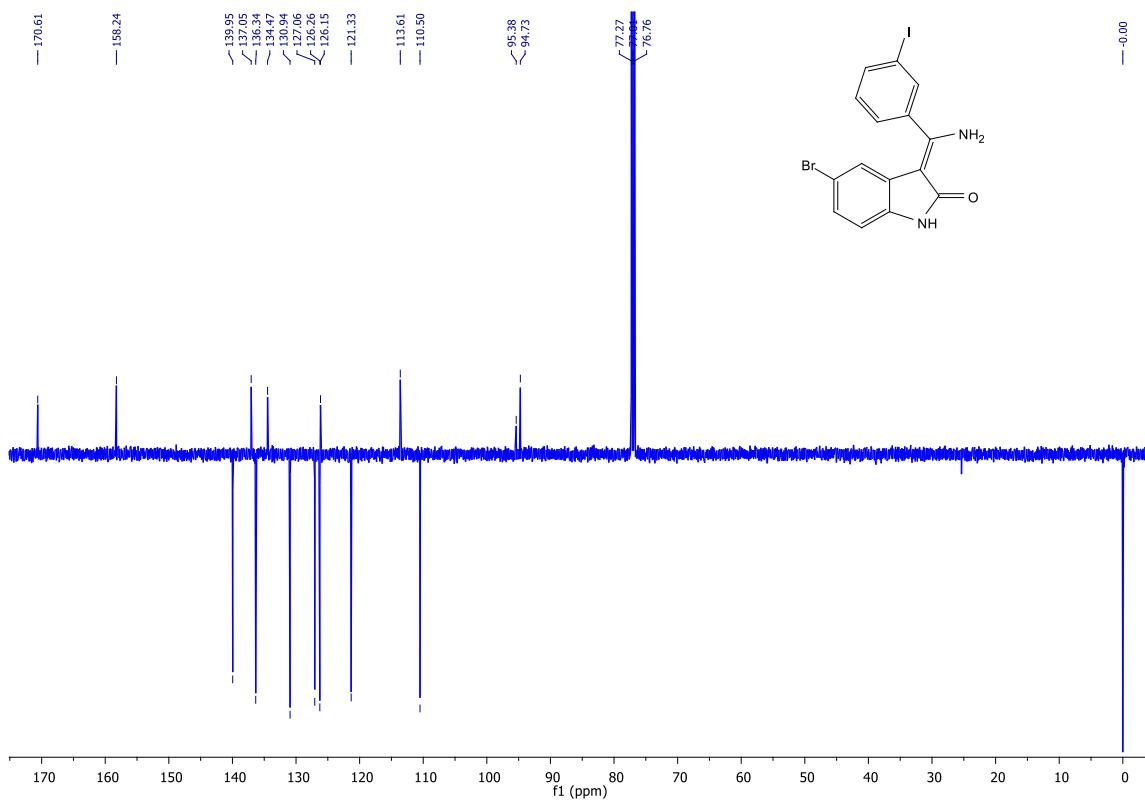
¹H NMR spektrum látky 4f.



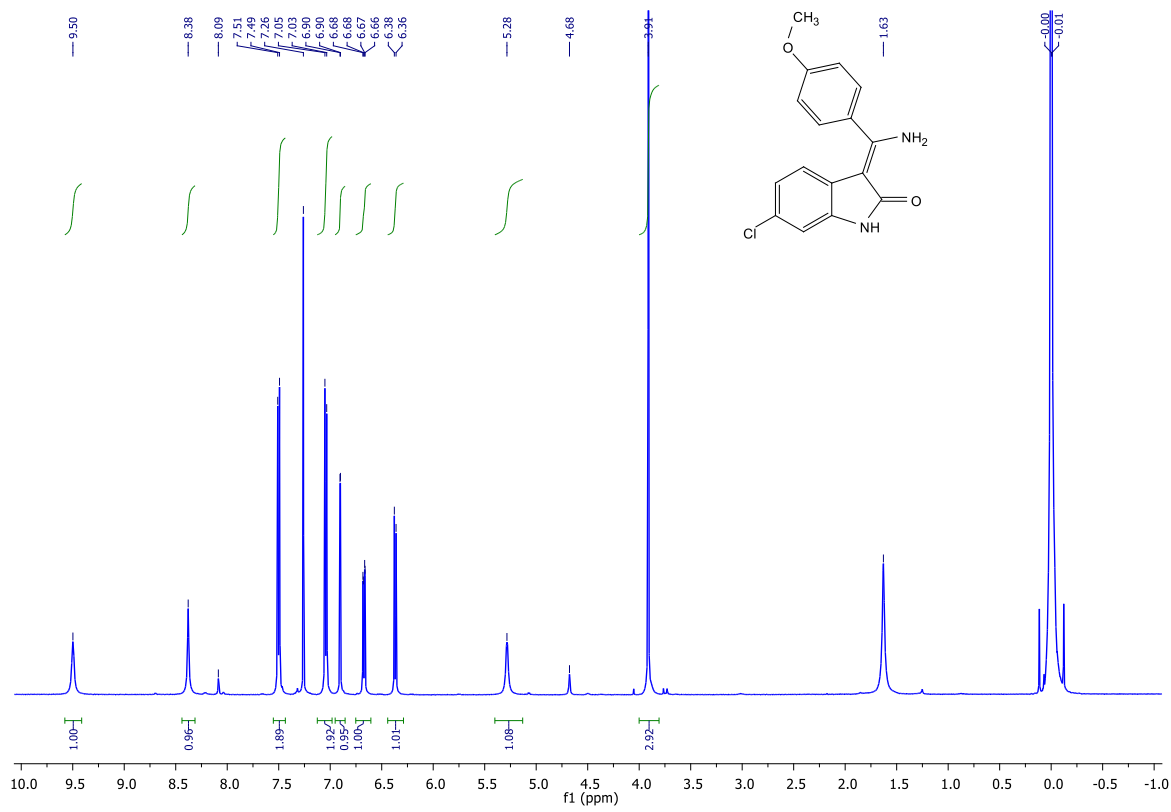
¹³C-APT NMR spektrum látky 4f.



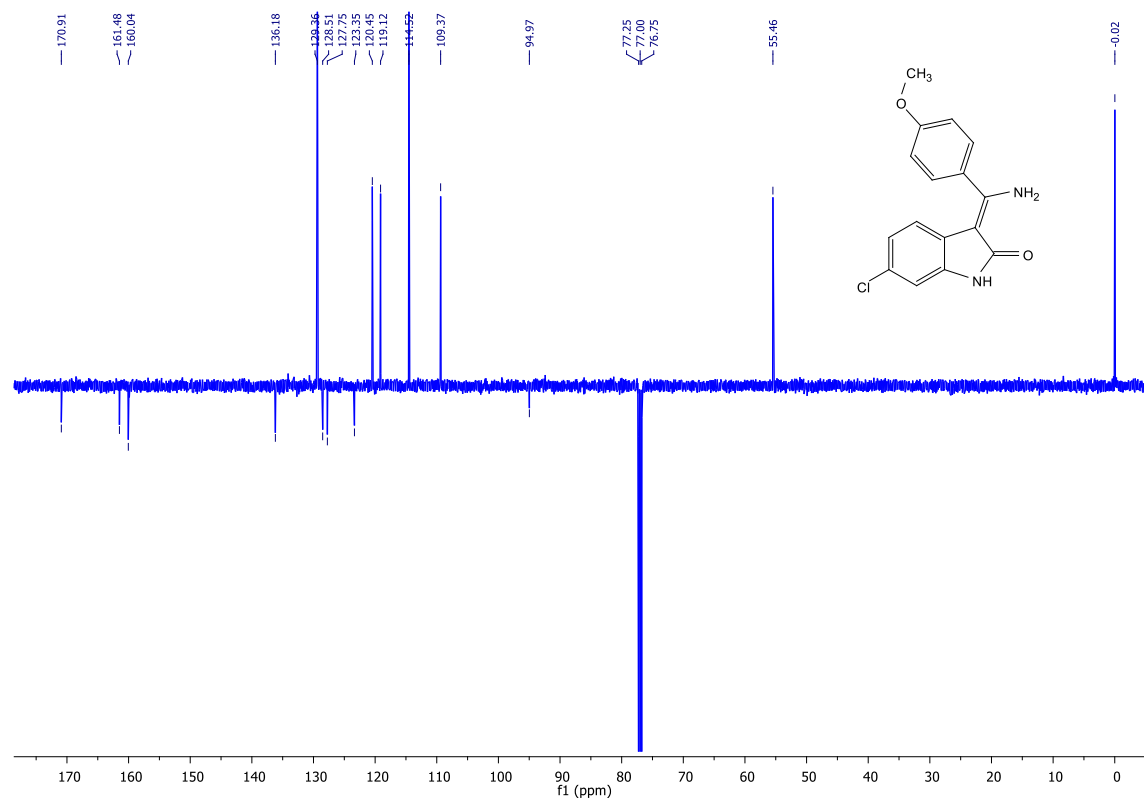
¹H NMR spektrum látky 4g.



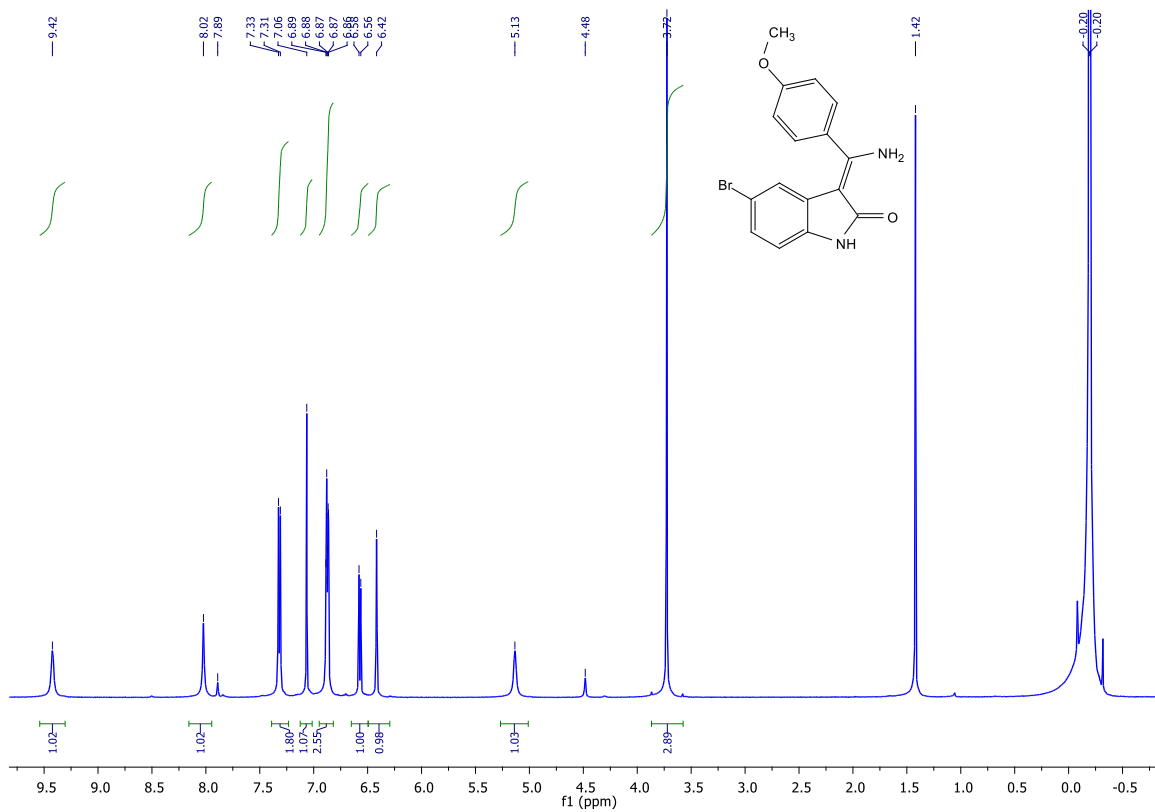
¹³C-APT NMR spektrum látky 4g.



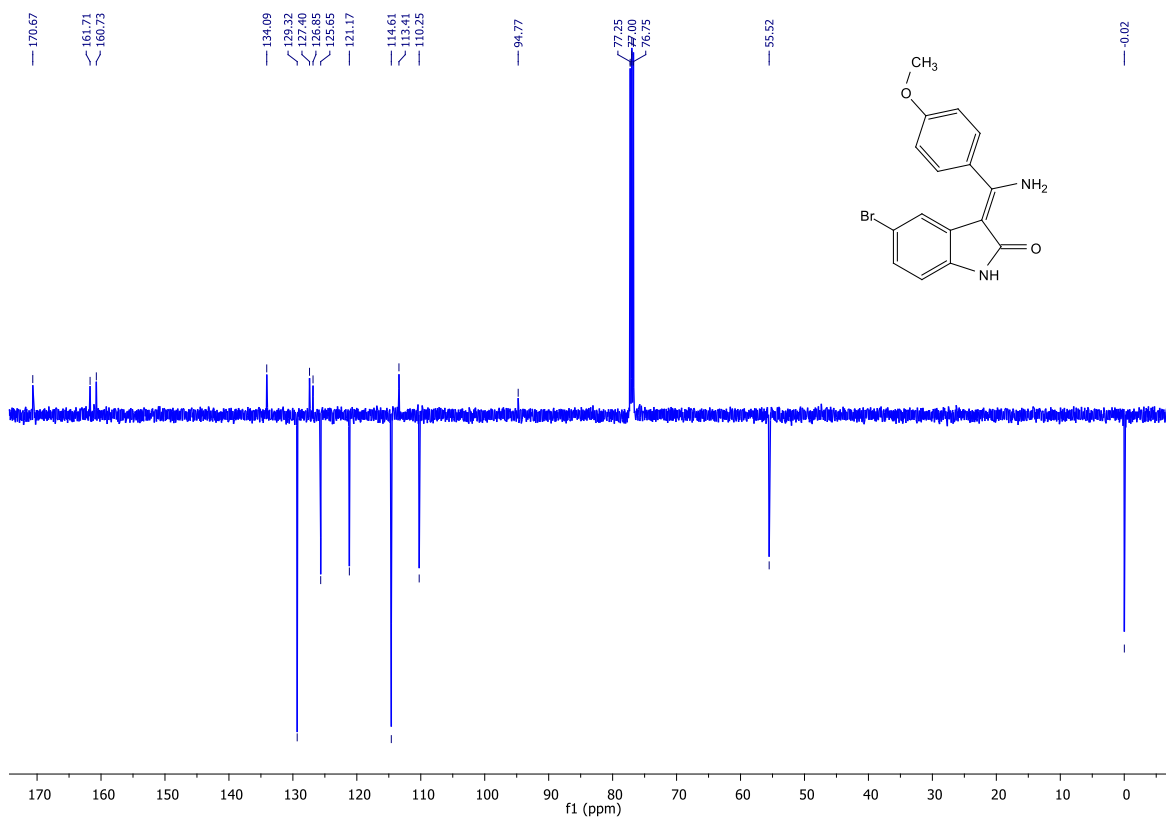
¹H NMR spektrum látky 4h.



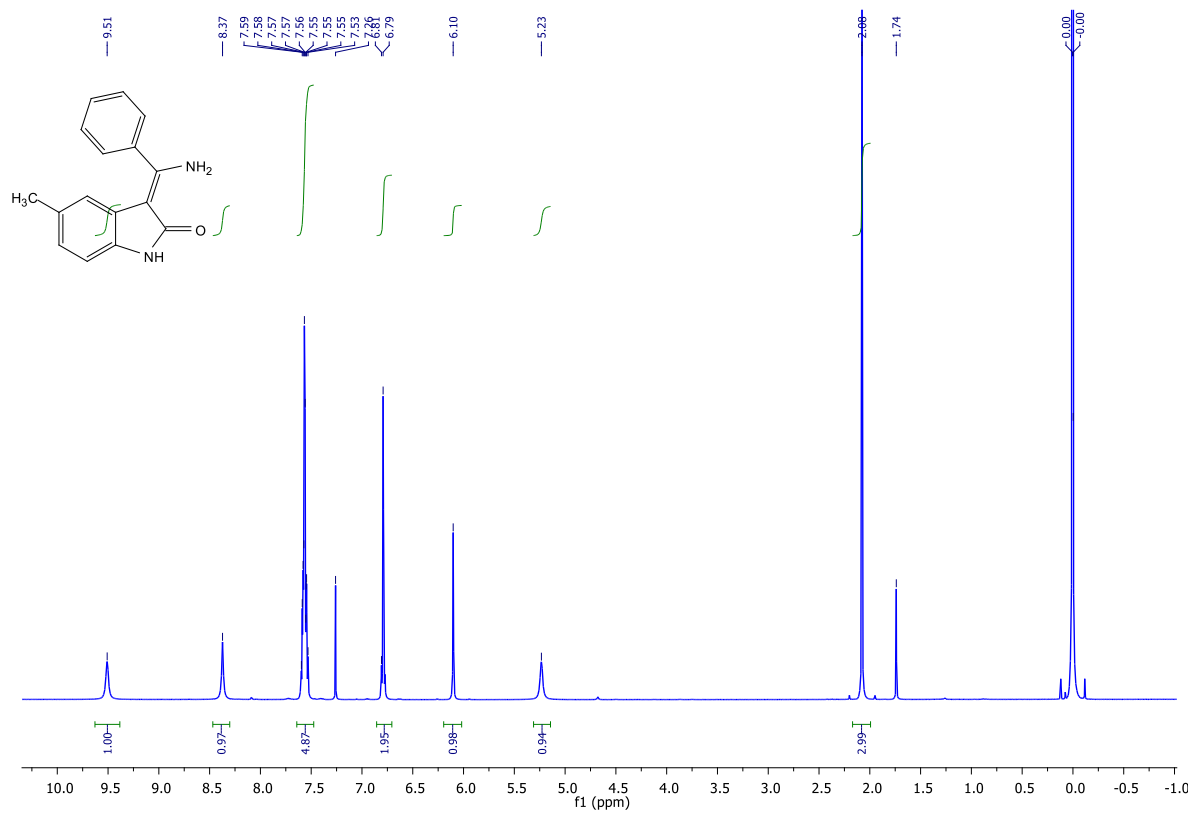
¹³C-APT NMR spektrum látky 4h.



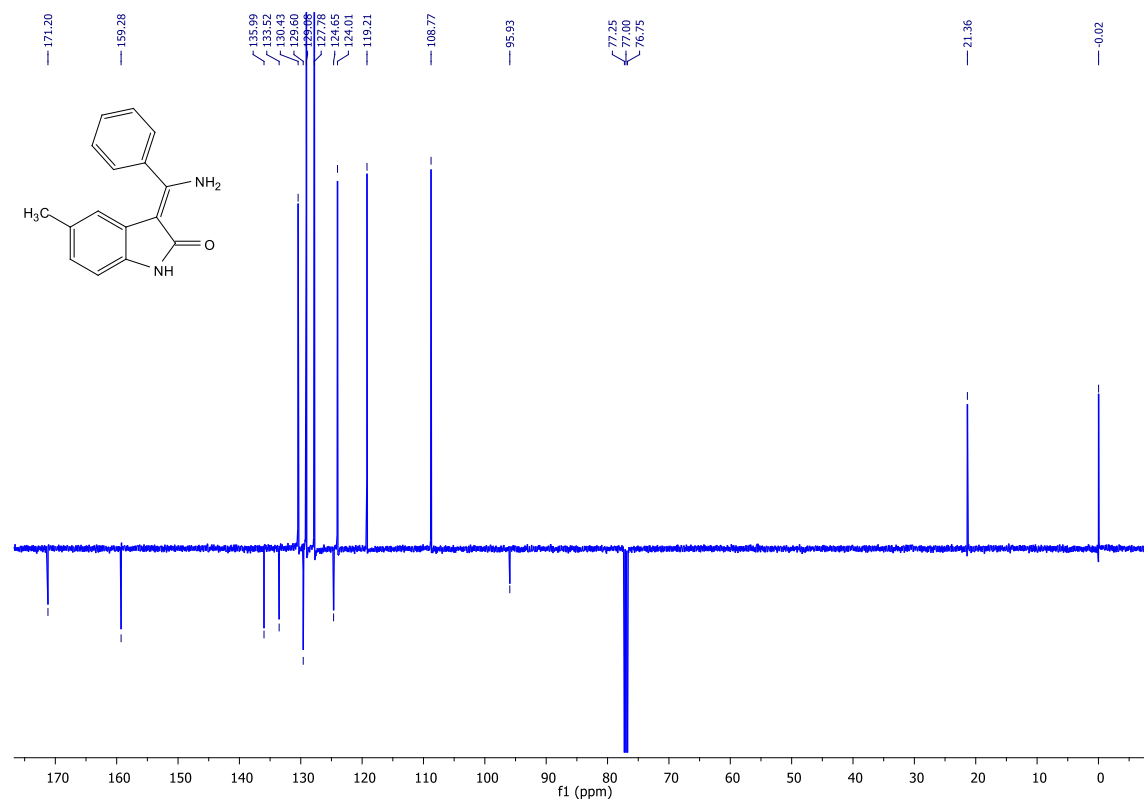
¹H NMR spektrum látky 4i.



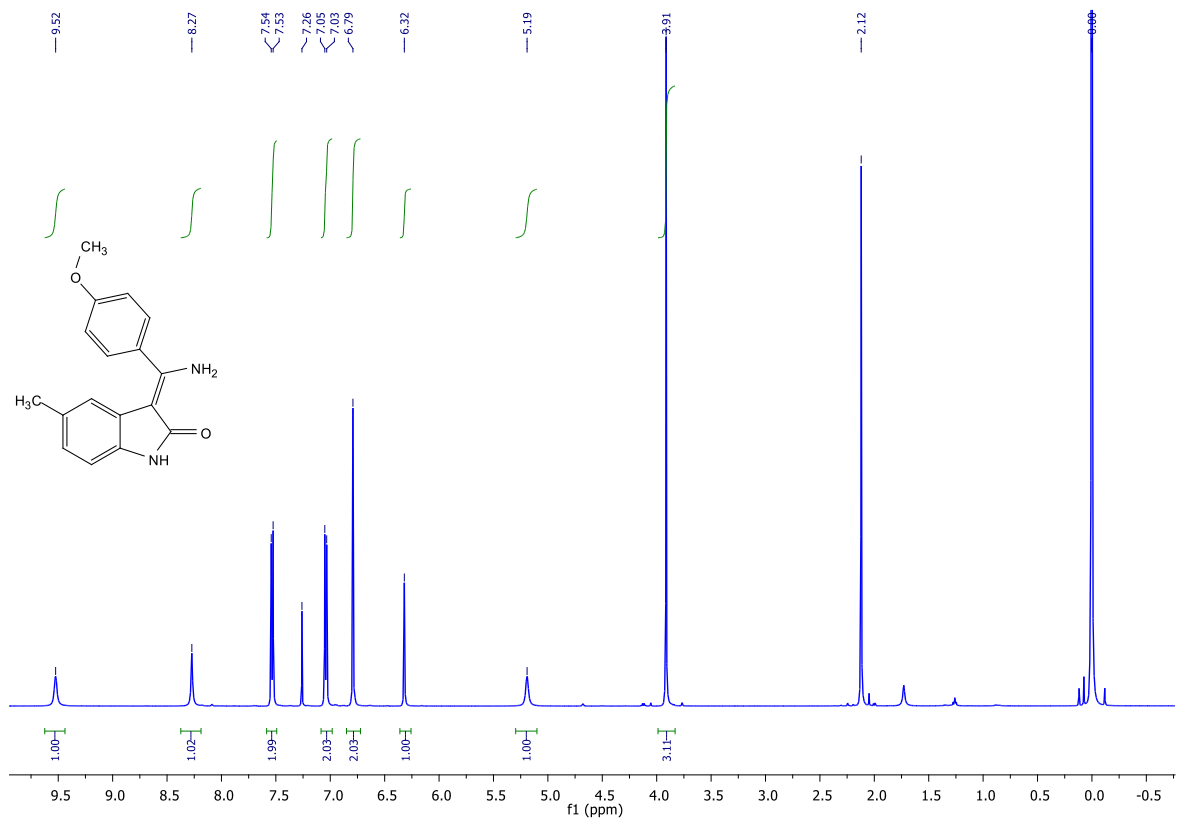
¹³C-APT NMR spektrum látky 4i.



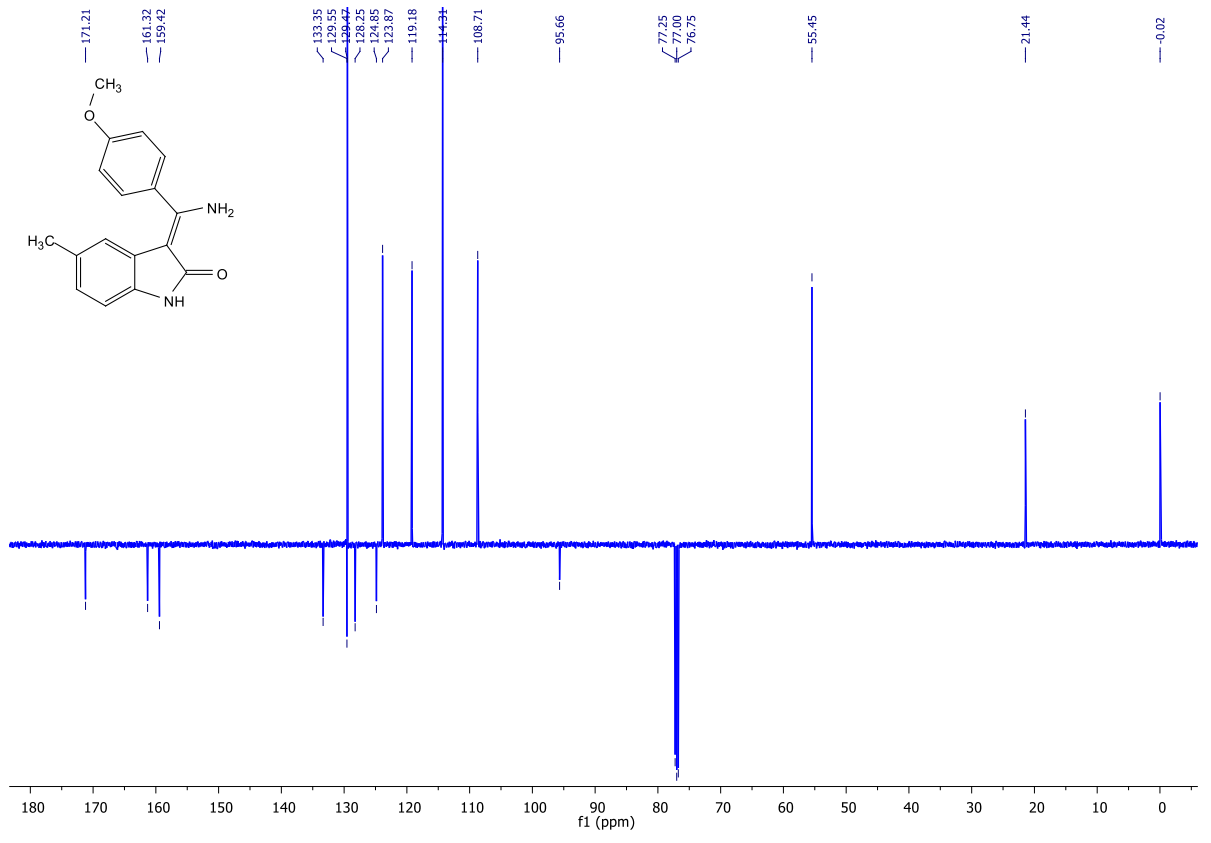
¹H NMR spektrum látky 4j.



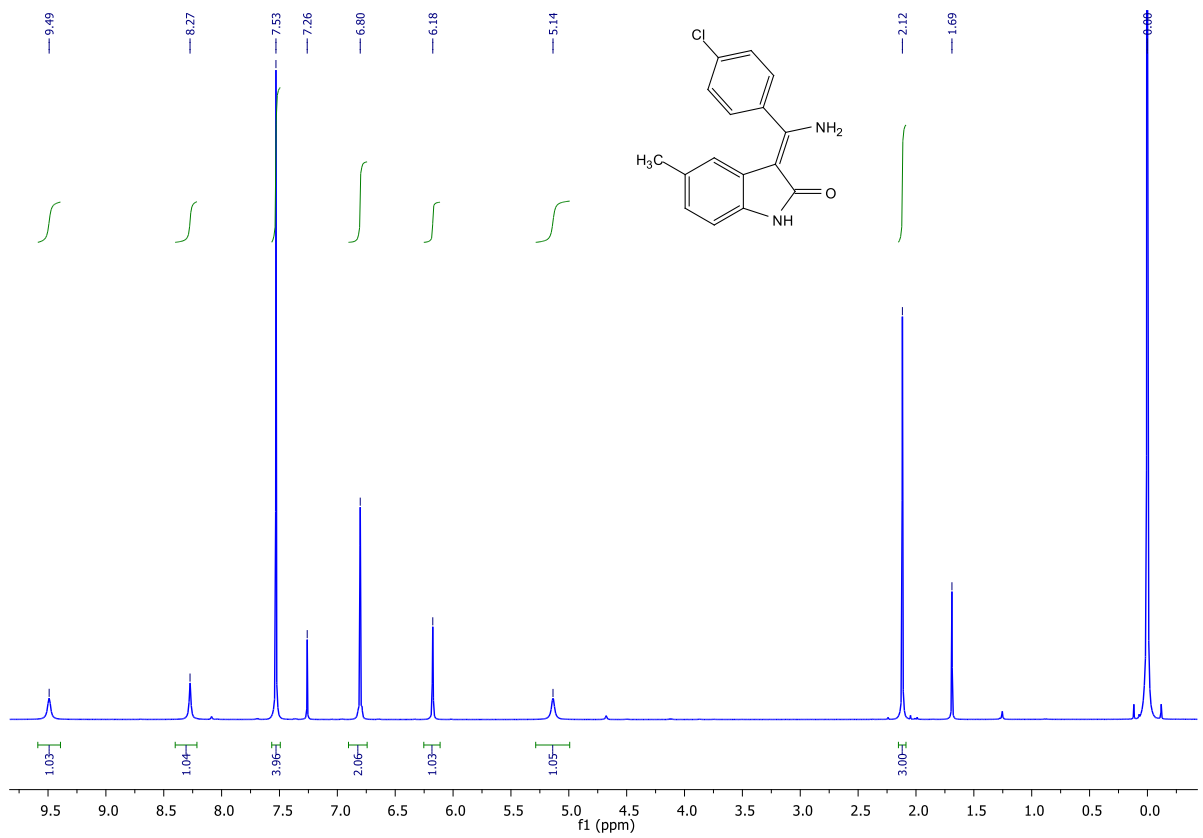
¹³C-APT NMR spektrum látky 4j.



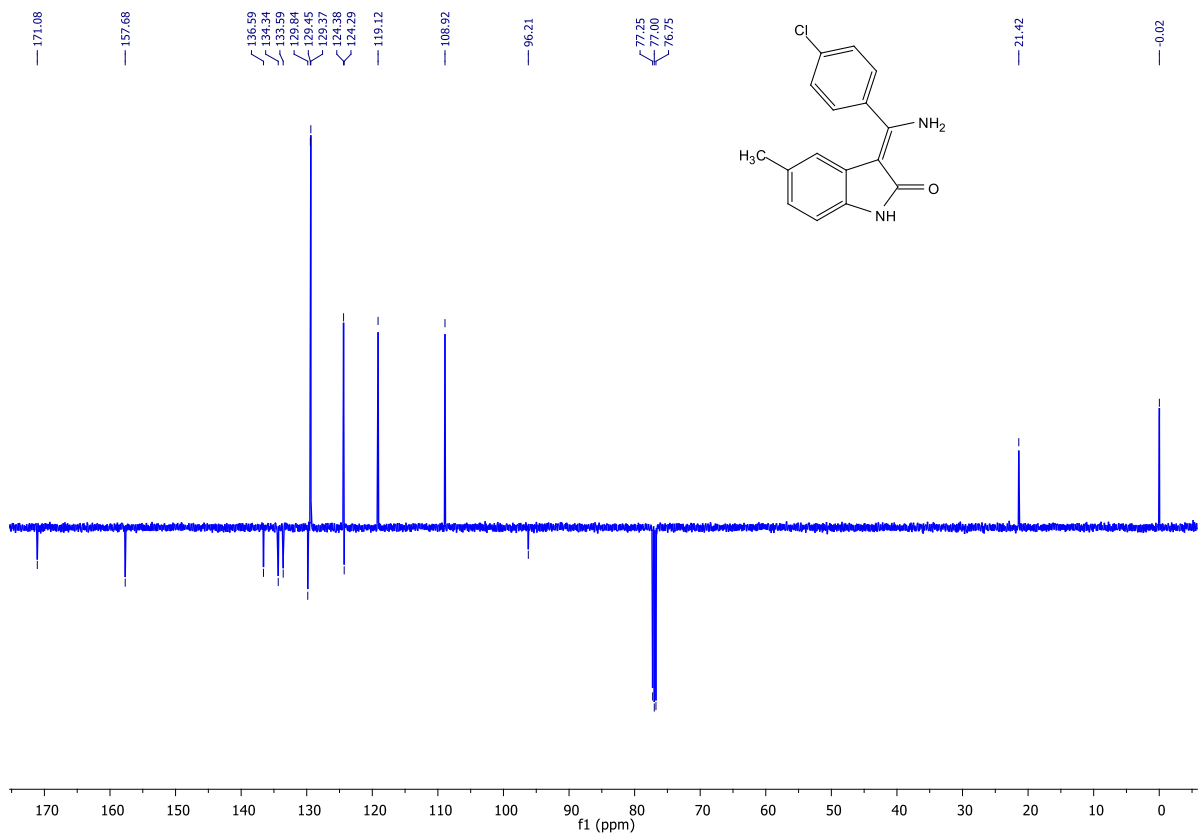
¹H NMR spektrum látky 4k.



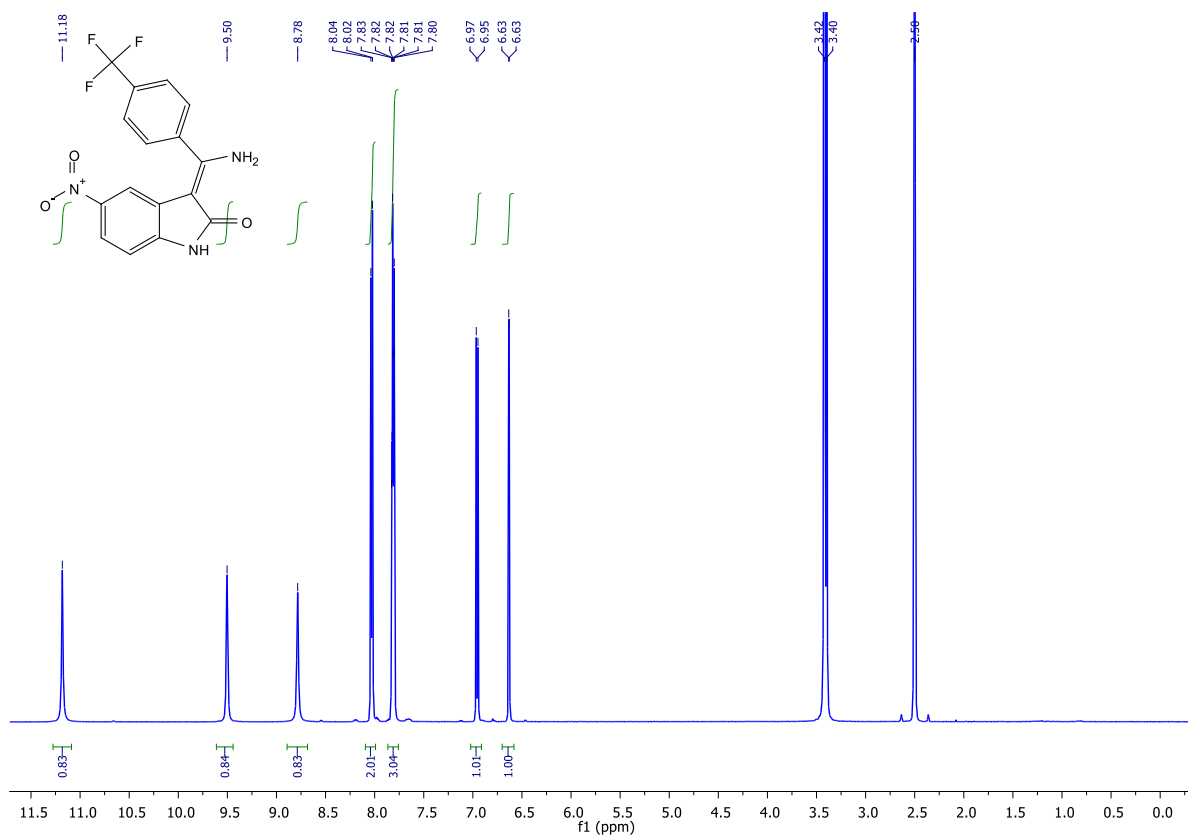
¹³C-APT NMR spektrum látky 4k.



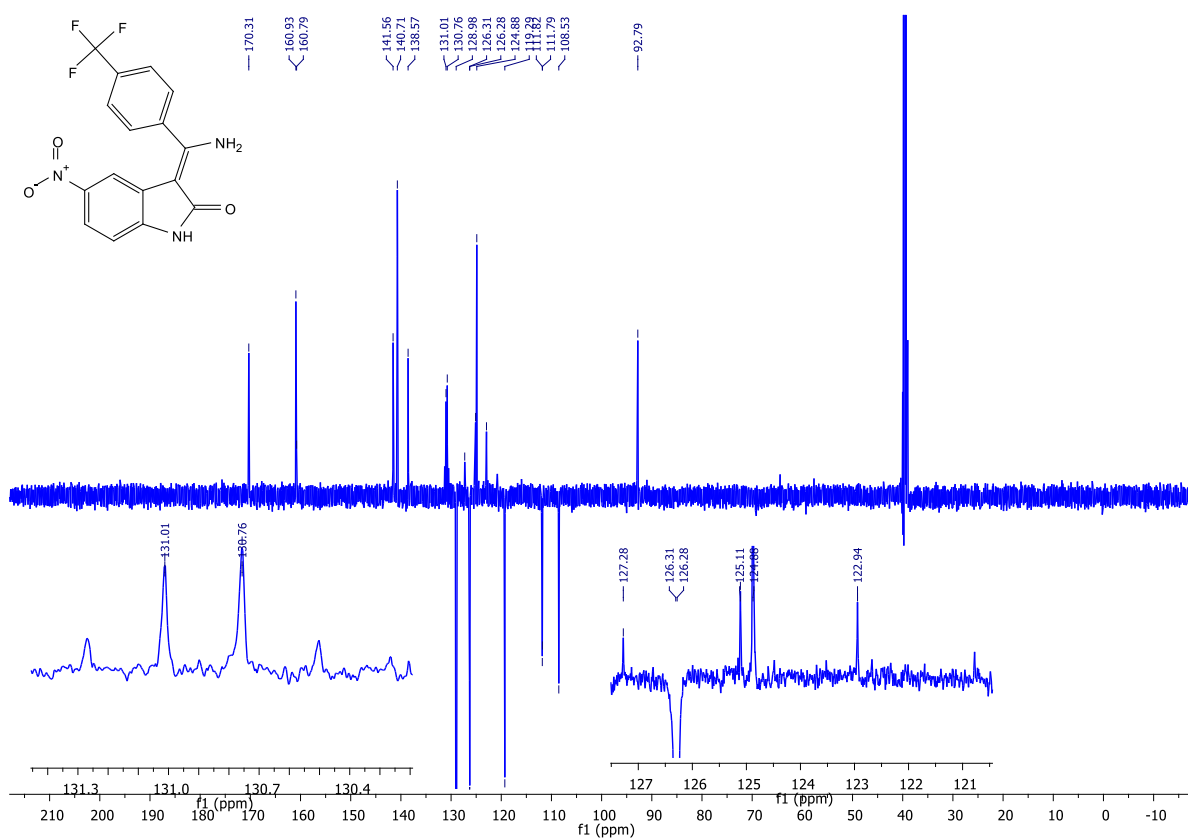
¹H NMR spektrum látky 4I.



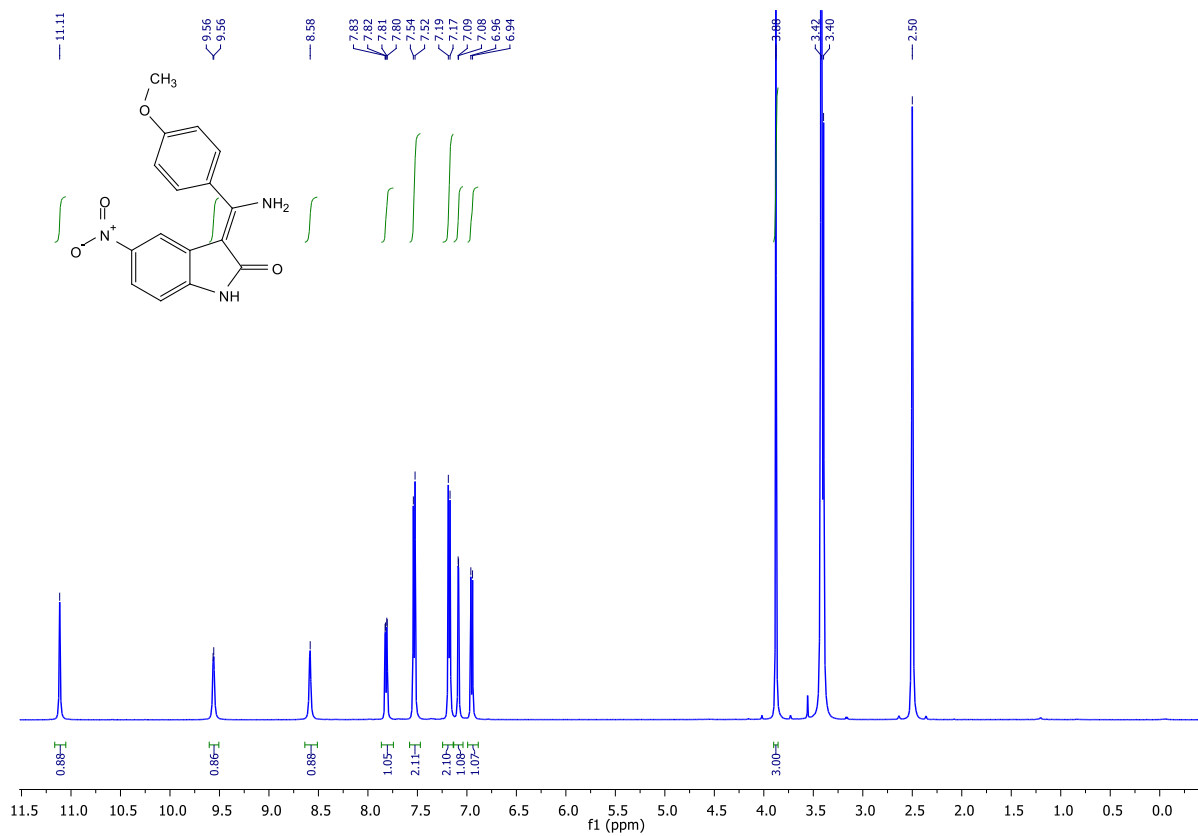
¹³C-APT NMR spektrum látky 4I.



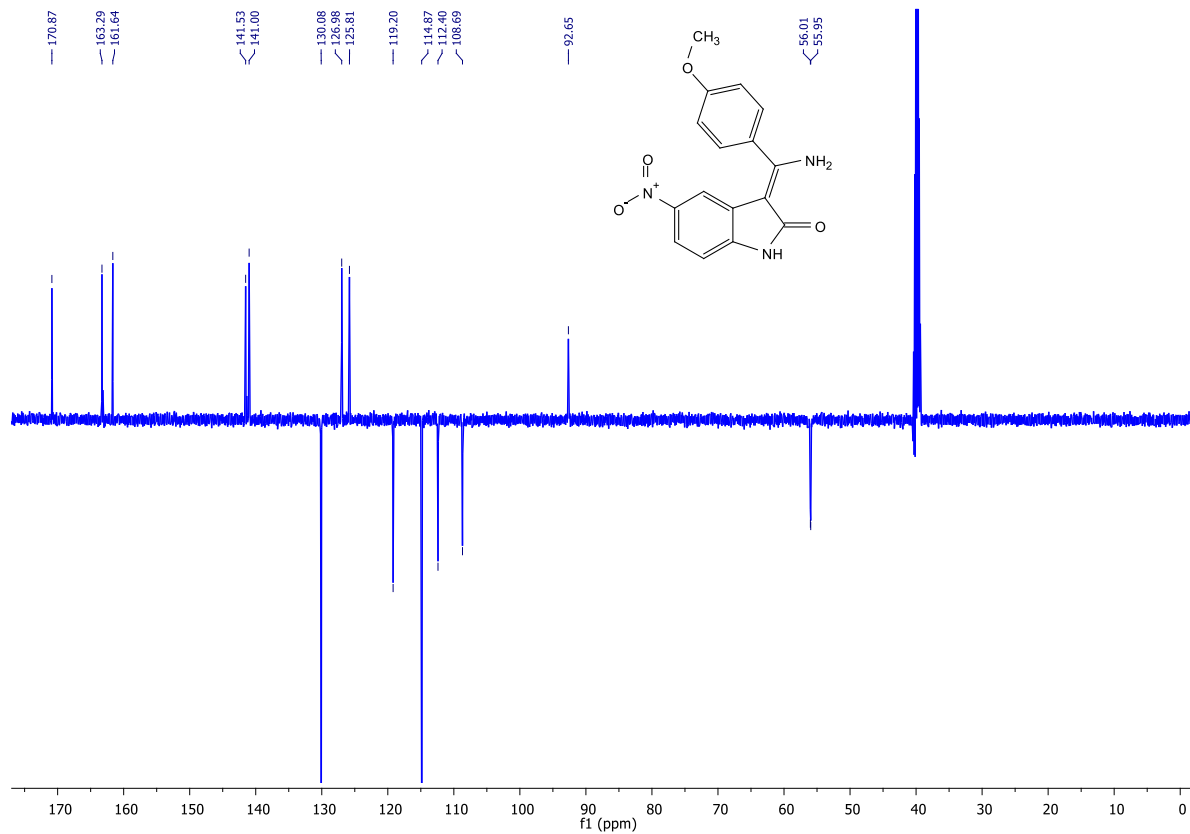
¹H NMR spektrum látky 4m.



¹³C-APT NMR spektrum látky 4m.



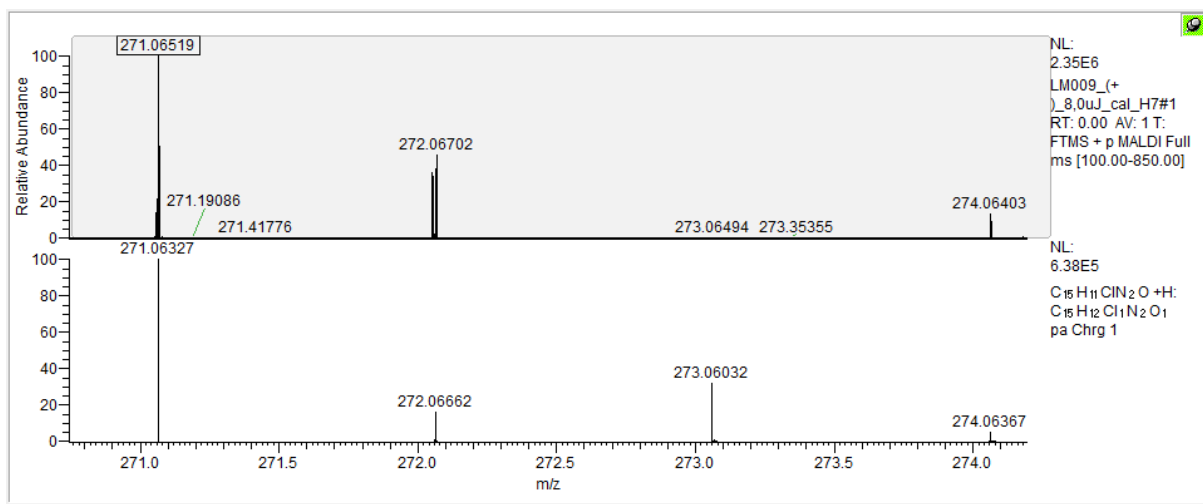
¹H NMR spektrum látky 4n.



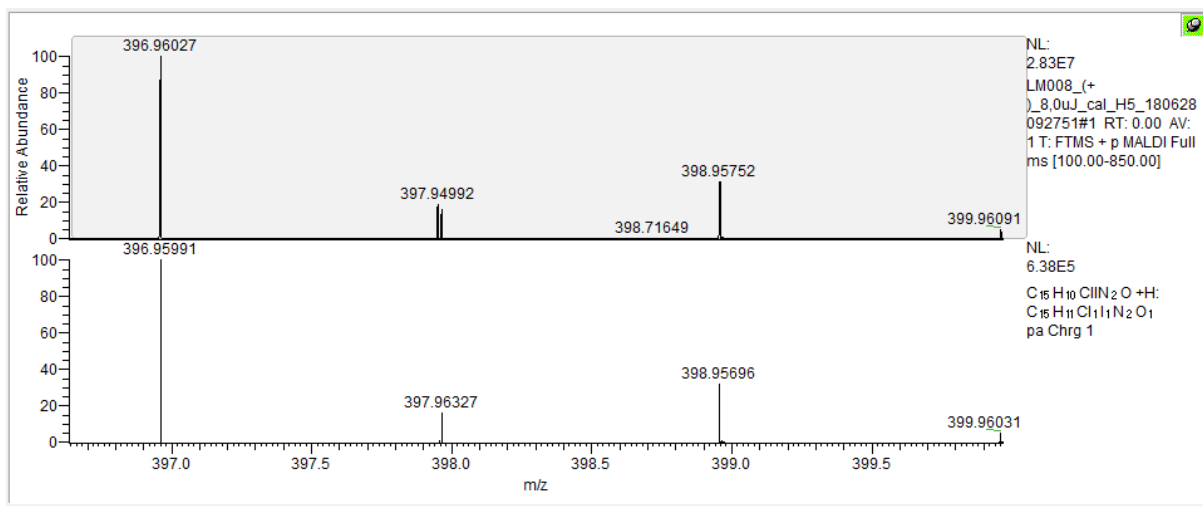
¹³C-APT NMR spektrum látky 4n.

7.3 HRMS spektra

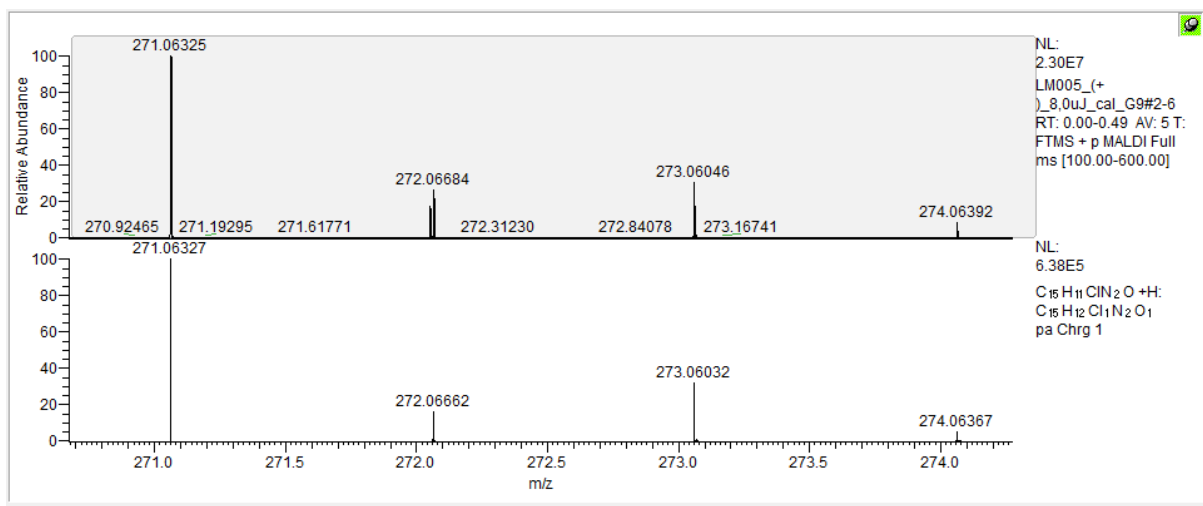
7.3.1 Produkty *Eschenmoserovy* reakce



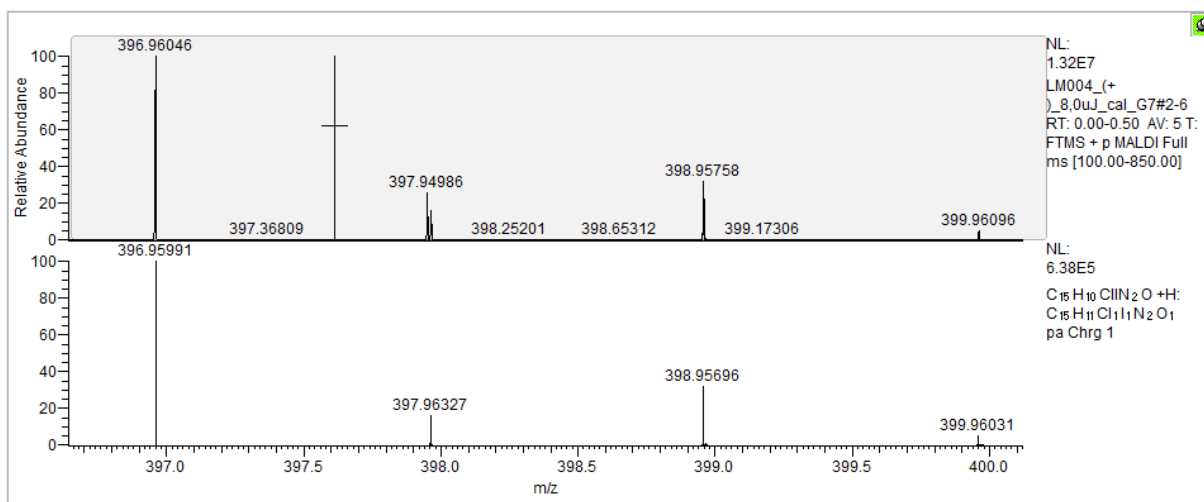
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4a**.



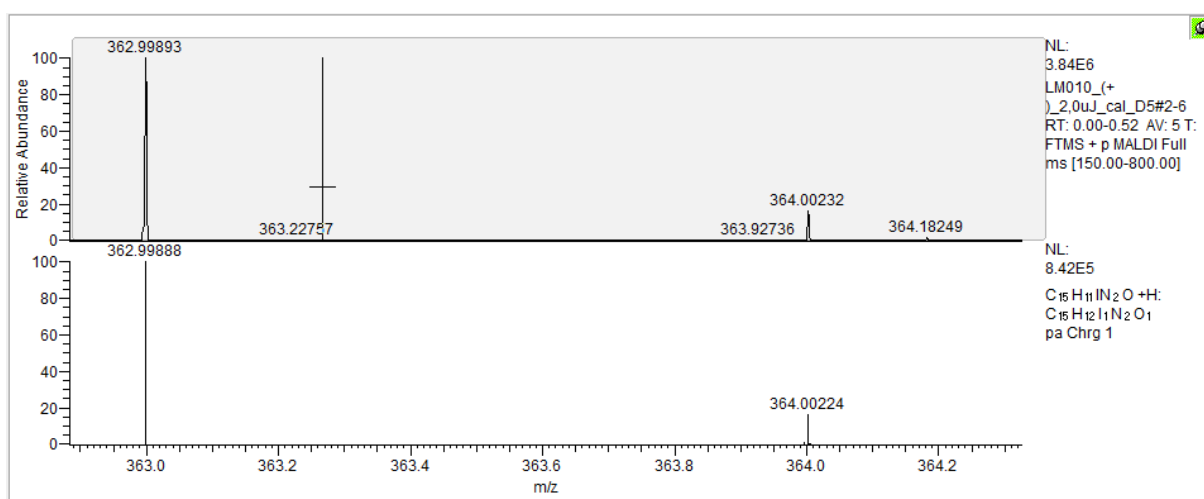
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4b**.



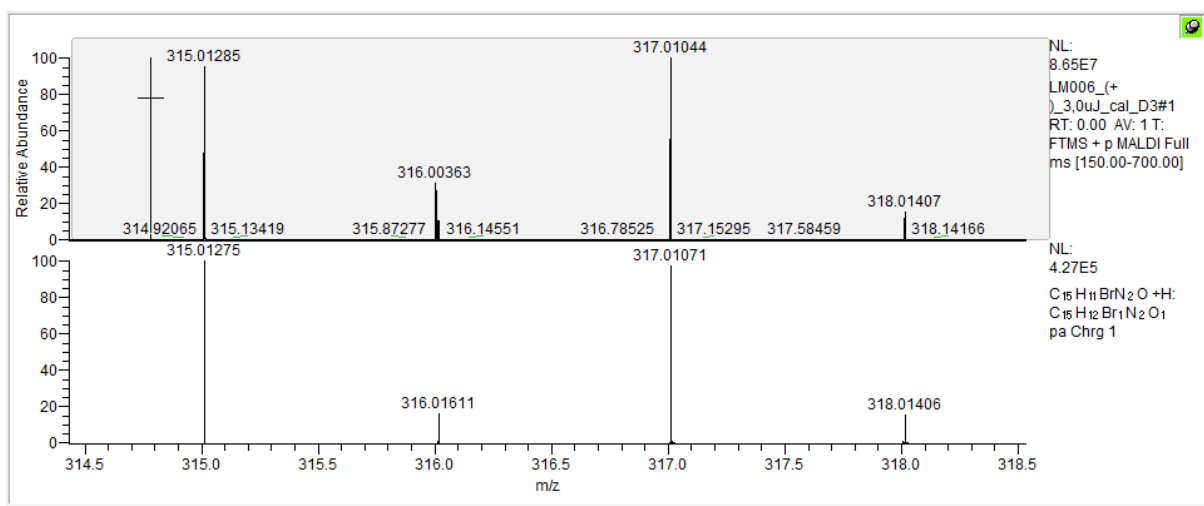
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4c**.



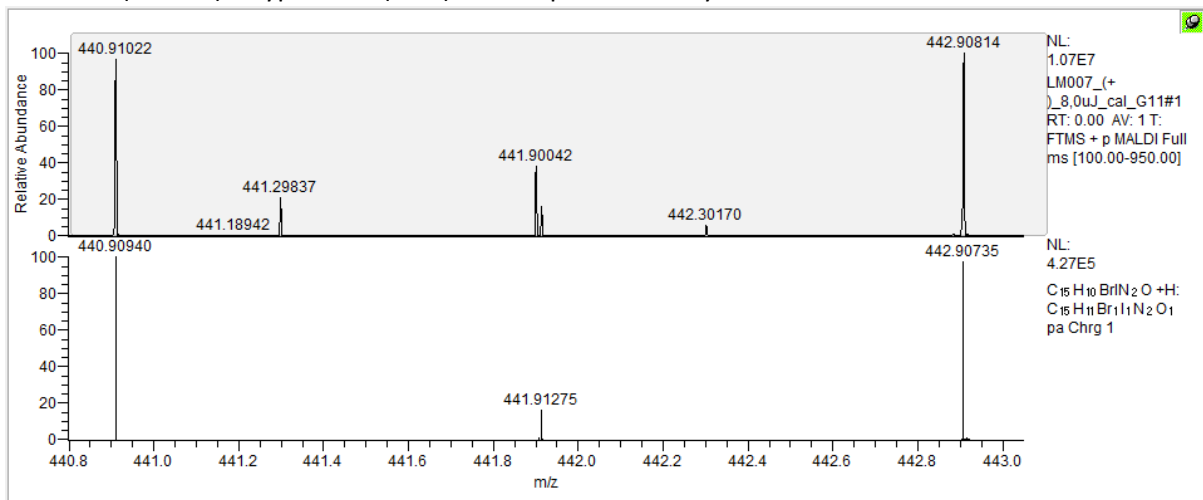
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4d**.



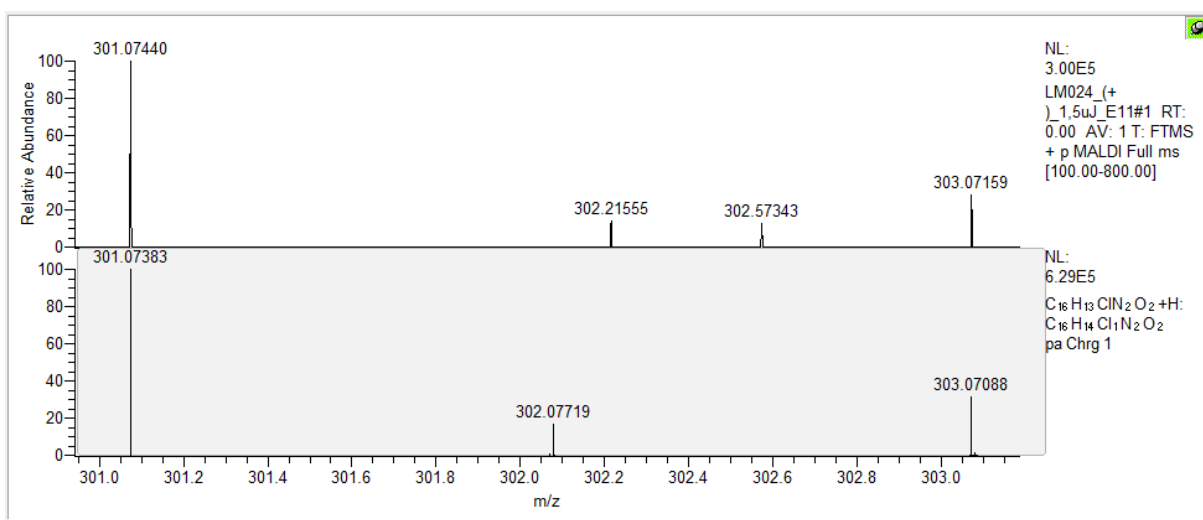
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4e**.



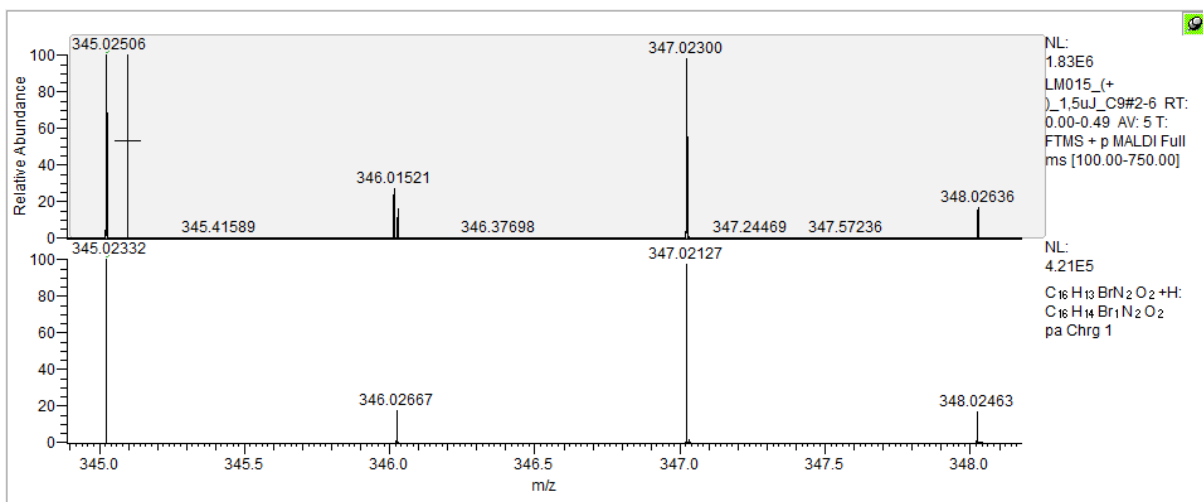
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4f**.



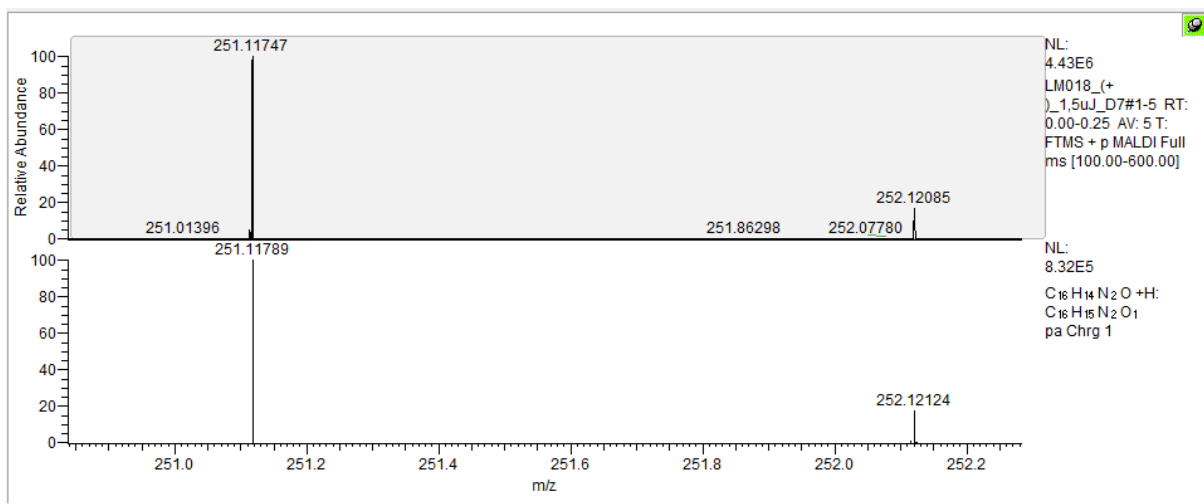
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4g**.



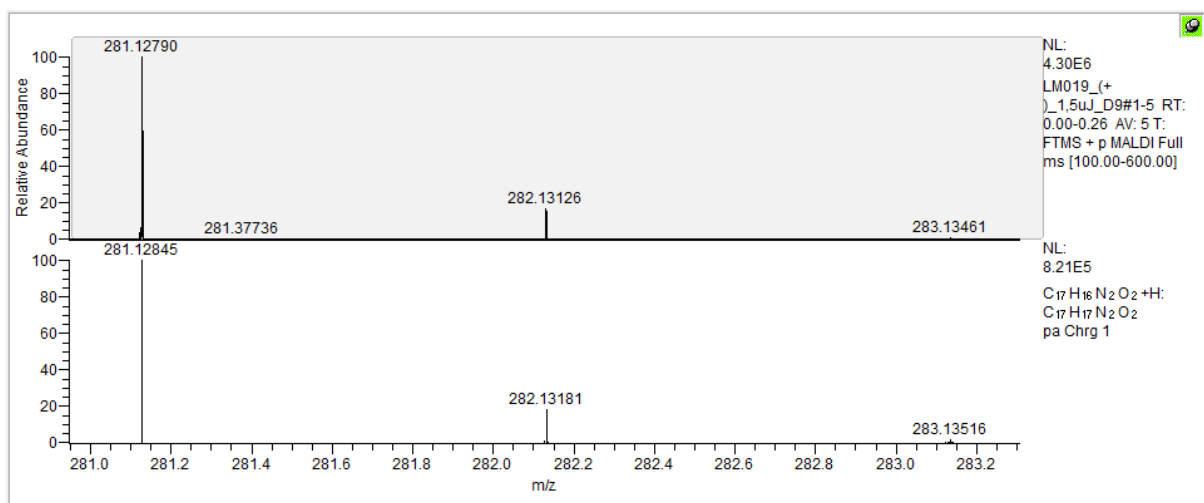
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4h**.



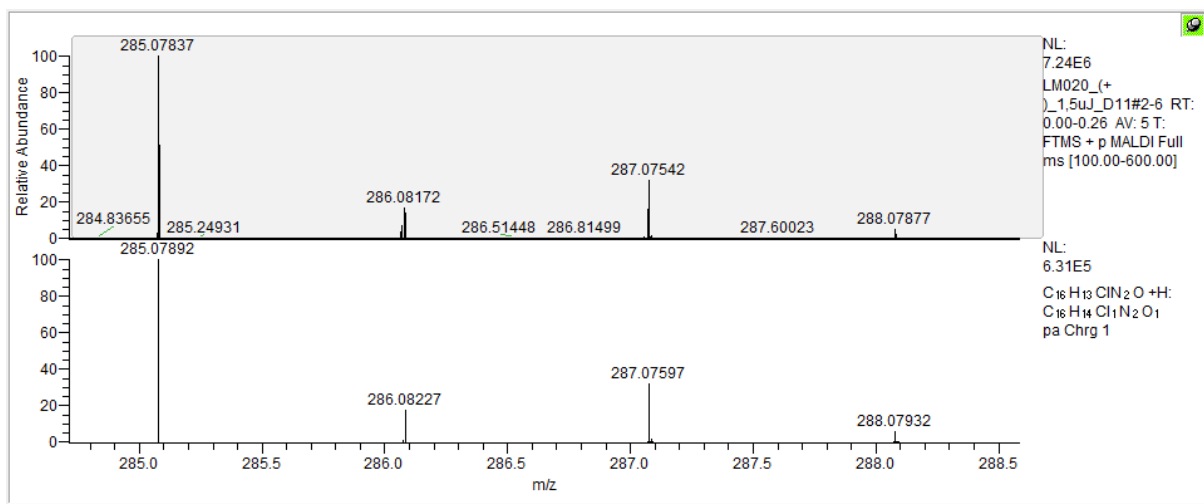
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4i**.



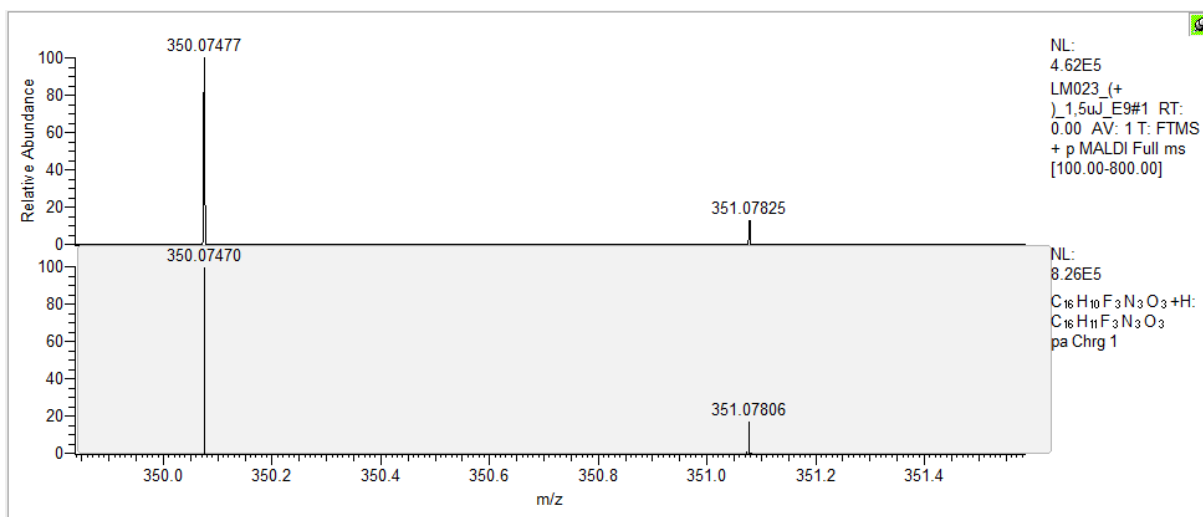
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4j**.



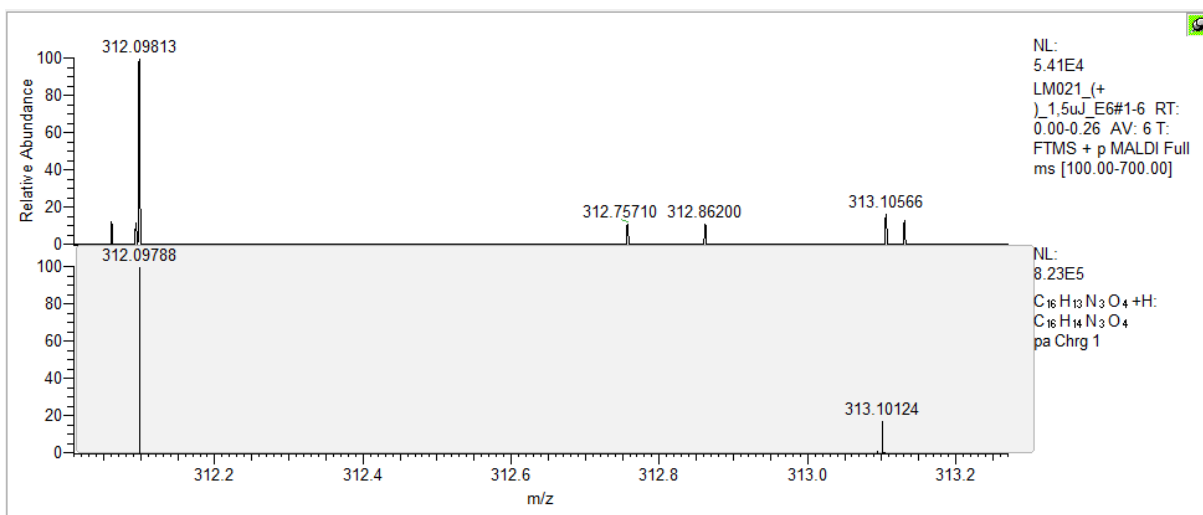
Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4k**.



Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4l**.



Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4m**.



Skutečné (nahore) a vypočtené (dole) HRMS spektrum látky **4n**.