

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra organické chemie



Bc. Sandra SATKOVÁ

Studium reaktivity 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému

Diplomová práce

Studijní obor:
Organická chemie (NMgr.)

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.

Olomouc 2014

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně pod odborným dohledem doc. RNDr. Jakuba Stýskaly, Ph.D. a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.

Souhlasím s tím, aby byla má práce zpřístupněna v některé z knihoven Přírodovědecké fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne:

Podpis:
Sandra Satková

Poděkování:

Děkuji vedoucímu své diplomové práce, doc. RNDr. Jakubu Stýskalovi, Ph.D., za odborné vedení, věcné připomínky, rady a informace, které mi poskytl při zpracování této práce.

BIBLIOGRAFICKÁ IDENTIFIKACE

Jméno a příjmení autora: Sandra Satková
Název práce : Studium reaktivity 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému
Typ práce: Diplomová
Pracoviště: Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Vedoucí práce: doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.
Rok obhajoby: 2014

Abstrakt:

Oblast syntetických modifikací nukleobází skýtá velký potenciál, co se týče biologické aktivity. Jednou skupinu látek, které mohou ovlivňovat biologické pochody v živých organismech, jsou i systémy obsahující triazinový skelet. Na katedře organické chemie Přírodovědecké fakulty UP v Olomouci je oblast výzkumu zaměřena především na chemii heterocyklických sloučenin s biologickou aktivitou. Z tohoto důvodu bylo zvoleno předmětem této práce studium triazinového systému, jehož různá analoga a modifikace jeví biologickou aktivitu, působí např. jako inhibitory enzymatických pochodů, anebo enzymatické pochody ovlivňují interakcemi prostřednictvím vodíkových vazeb v DNA.

Text diplomové práce je členěn na část teoretickou a experimentální. Teoretická část shrnuje dosavadní známé přípravy látek podobných stěžejní látce diplomové práce. Tou je 2-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on, který byl v rámci této práce připraven několikastupňovou syntézou a následně u něj byla zkoumána stabilita k ataku různých nukleofilních činidel a byla srovnána s podobnými heterocyklickými systémy obsahujícími indolový, benzofuranový, naftofuranový a benzothiofenový skelet přikondenzovaný k 1,2,4-triazinovému. Kromě studia reaktivity byl triazinový systém rozšířen o nový cyklus a tím byla získána další látka zajímavá nejenom z hlediska potenciální biologické aktivity.

Klíčová slova: Triazin, triazinoindol, nukleofilní činidla
Počet stran: 74
Počet příloh: 12
Jazyk: Český

BIBLIOGRAPHIC IDENTIFICATION

Author's first name and surname: Sandra Satková
Title : Study of reactivity of 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indole system
Type of thesis: Diploma
Department: Department of Organic Chemistry, Faculty of Science, Palacký University Olomouc
Supervisor: doc. RNDr. Jakub Stýskala, Ph.D.
The year of presentation: 2014

Abstract:

An area of synthetic modifications of natural nucleobasis offers a great potential in biological activity. One group of substances which are able to impact biological processes are systems with triazine skeleton. There is an area of research focused on the chemistry of heterocyclic compounds with biological activity on the department of Organic Chemistry of Faculty of Science, Palacký University in Olomouc. Therefore, subject of this work was the study of triazine system. Its analogues and modifications appear to have the biological activity, e.g., act as inhibitors of enzymatic processes or it can affect enzymatic processes by interactions through hydrogen bonds in DNA.

Text of the thesis is divided into theoretical and experimental part. The theoretical part summarizes the known preparations of substances similar to the main substance of this work. This substance is 2-phenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazine[6,5-*b*]indole-3-one. It was prepared by the multistep synthesis and then it was studied for stability of various nucleophilic reagents attack and compared with similar systems containing heterocyclic indole, benzofurane, naphthofurane, benzothiophene skeleton condensed with 1,2,4-triazine. The triazine system was, except studying of reactivity, extended by a new cycle and thus, a further substance of interest not only in terms of potential biological activity was obtained.

Keywords: Triazine, triazinoindole, nucleophilic reagents
Number of pages: 74
Number of appendixes: 12
Language: Czech

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	Syntéza 1,2,4-triazino[5,6-<i>b</i>]indolového systému	9
2.1.1	[1,2,4]Triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-aminy	9
2.1.2	[1,2,4]Triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-hydraziny	10
2.1.3	[1,2,4]Triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-thiony	11
2.1.4	[1,2,4]Triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-ony	12
2.2	Reaktivita 1,2,4-triazinů s příkondenzovaným benzofuranovým, benzothiofenovým a indolovým skeletem	13
2.2.1	2,3-Dihydro[1]benzothieno[2,3- <i>e</i>][1,2,4]triazin-3-ony	13
2.2.2	2,3-Dihydro[1]benzofuro[2,3- <i>e</i>][1,2,4]triazin-3-ony.....	17
2.2.3	2,3-Dihydro-nafto[1',2':4,5]furo[2,3- <i>e</i>]1,2,4-triazin-3-ony	22
2.2.4	[1,2,4]Triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-thiony	24
2.2.5	[1,2,4]Triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-ony	25
2.2.6	[1,2,4]Triazino[6,5- <i>b</i>]indol-3-ony	26
3	PŘEHLED DOSAŽENÝCH VÝSLEDKŮ	28
3.1	Příprava výchozího 1,2,4-triazino[5,6-<i>b</i>]indol-3-onu	28
3.1.1	Příprava hydrazidu kyseliny indol-3-karboxylové II.....	28
3.1.2	Příprava azidu kyseliny indol-2-karboxylové III.....	29
3.1.3	Příprava ethyl-2-indolylkarbamátu IV	29
3.1.4	Příprava 3-fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindolu V	30
3.1.5	Příprava 2-fenyl-2,3-dihydro-5 <i>H</i> -1,2,4-triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-onu VI	32
3.2	Reaktivita 2-fenyl-2,3-dihydro-5<i>H</i>-1,2,4-triazino[5,6-<i>b</i>]indol-3-onu	33
3.2.1	Stabilita heterocyklického systému v kyselém prostředí	33
3.2.2	Stabilita heterocyklického systému v bazickém prostředí	34
3.2.3	Štěpení dusíkatými nukleofily	36
3.2.4	Štěpení kyslíkatými nukleofily	42
3.2.5	Štěpení uhlíkatými nukleofily.....	43
3.3	Stabilita připravených 6-azauracilů	45
3.3.1	Studium stability 4-piperidino-6-azacytosinu XVIII	46
3.4	Pokus o azokopulační reakce připravených 6-azauracilů	47
3.4.1	Studium azokopulačních reakcí na 4-piperidino-azacytosinu XVIII.....	47
3.5	Studium azo-hydrazonové tautomerie derivátů Va a Vb	48
3.6	Příprava 7<i>H</i>-benzo[4',5']imidazo[1',2':2,3][1,2,4]triazino[5,6-<i>b</i>]indolu	49
3.6.1	Příprava 3-(2-nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindolu XXV	50
3.6.2	Příprava 2-(2-nitrofenyl)-2,3-dihydro-5 <i>H</i> -1,2,4-triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-onu XXVI	50
3.6.3	Příprava 2-(2-aminofenyl)-2,3-dihydro-5 <i>H</i> -1,2,4-triazino[5,6- <i>b</i>]indol-3-onu XXVII.....	51
3.6.4	Příprava 7 <i>H</i> -benzo[4',5']imidazo[1',2':2,3][1,2,4]triazino[5,6- <i>b</i>]indolu XXVIII	52

4	DISKUSE	55
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	59
6	ZÁVĚR	70
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	73
8	PŘÍLOHY	75

1 ÚVOD

V oblasti biologicky aktivních látek je stále velký potenciál, co se týče rozmanitosti možných derivátů přírodních heterocyklických sloučenin, které ještě stále nebyly syntetizovány a zkoumány z pohledu jejich vlivu na biologické pochody.

Látky se strukturou podobnou přírodním heterocyklickým analogům mohou hrát důležitou roli v některých důležitých enzymatických pochodech. Tyto vlastnosti však mohou vykazovat i různé kondenzované heterocyklické sloučeniny svou strukturou přírodním heterocyklickým látkám velmi vzdálené. Mnohé takové vykazují výraznou biologickou aktivitu, kdy se díky své struktuře mohou interkalovat do dvojité šroubovice DNA a ovlivňovat tak činnost topoisomeráz. Takové látky pak vykazují antineoplastickou, resp. antibakteriální aktivitu. Rovněž mohou ovlivňovat enzymatické pochody prostřednictvím vodíkových vazeb, které se aktivně zapojují například při párování nukleobazí nukleových kyselin. Tímto způsobem ovlivňují přenos genetických informací.

Jedním typem sloučenin, u kterých se jeví možnost interakce s nukleovými kyselinami prostřednictvím intermolekulárních vodíkových vazeb, jsou i azaanaloga pyrimidinových bazí, u nichž byla prokázána řada biologických účinků.

Právě z těchto důvodů byla tato diplomová práce zaměřena na prozkoumání reaktivity 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového heterocyklického systému a na základě poznatků z výzkumů, které byly prováděny na Katedře organické chemie PřF UP v oblasti podobných heterocyklických systémů obsahujících indolový, benzofuranový, naftofuranový a benzothiofenový skelet přikondenzovaný k 1,2,4-triazinovému, bude porovnána jejich reaktivita s výše zmíněným 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolovým heterocyklickým systémem. Snahou je připravené sloučeniny využít k možným syntézám dalších heterocyklických sloučenin, které by byly zajímavé z pohledu potenciální biologické aktivity.

2 TEORETICKÁ ČÁST

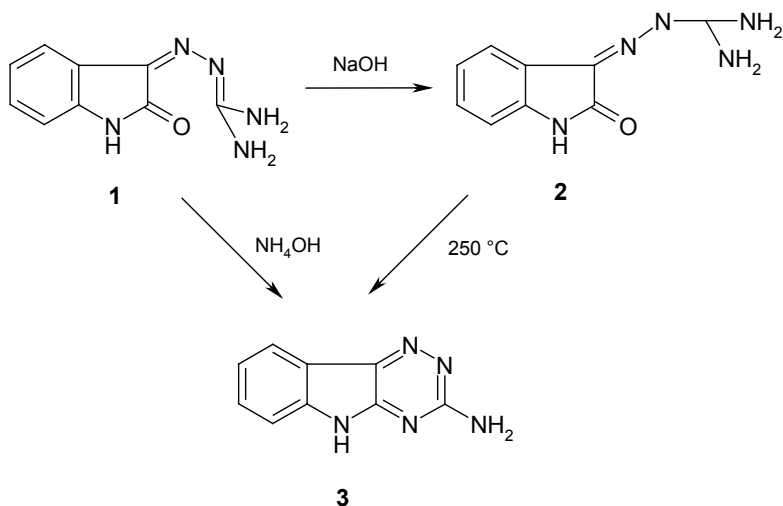
Teoretická část diplomové práce, která se zabývá studiem reaktivity 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového skeletu, je členěna do dvou podkapitol. Kromě chemie výše zmíněného heterocyklického systému je teoretická část zaměřena na reaktivitu podobných heterocyklických systémů, které obsahují 1,2,4-triazinový cyklus přikondenzovaný s podobnými pětičlennými heterocykly (indolový, benzofuranový, naftofuranový, benzothiofenový cyklus), jejichž reaktivita bude se zmíněným heterocyklickým systémem srovnána. První z podkapitol je věnována dosavadním poznatkům v oblasti syntézy 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému. Druhá podkapitola pojednává o reaktivitě těchto heterocyklických systémů, která byla nedávno prozkoumaná, což umožní vzájemné srovnání s 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolovým systémem.

2.1 Syntéza 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému

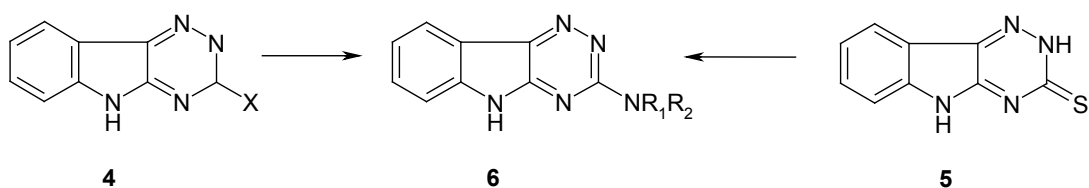
V této podkapitole bude podrobně popsána příprava [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indolů, jakožto stěžejních sloučenin diplomové práce.

2.1.1 [1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-aminy

Již dlouhou dobu je známa příprava 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-aminu **3** z isatinu a aminoguanidinu. Tímto způsobem lze připravit β -*syn*-guanylhydrazon **1**, který při zahřívání s hydroxidem sodným přechází na svou *anti* formu **2**, která se pak cyklizuje pouhým zahříváním při 250 °C, kdežto z derivátu **1** ve formě hydrochloridu vzniká 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-amin zahříváním s hydroxidem amonným.^{1, 2, 3}



1,2,4-Triazino[5,6-*b*]indol-3-aminy **6** mohou být rovněž připraveny z 3-chloro- nebo 3-(methylmerkpto)-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolů **4** anebo z 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-thionů **5** s dimethylaminem popř. s aminoalkoholy.^{4, 5}



X = Cl, SCH₃

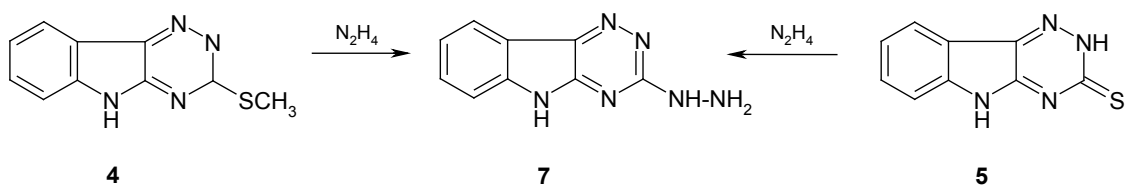
R₁, R₂ = CH₃

R₁ = H, R₂ = NHCH₂CH₂OH

R₁ = H, R₂ = NHCH₂CH₂CH₂OH

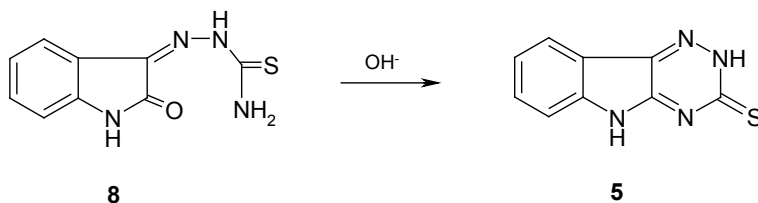
2.1.2 [1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-hydraziny

Obdobně jako *N*-substituované aminy lze připravit i 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-hydraziny **7**. Výchozími látkami jsou 3-(methylmerkpto)-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indoly **4** anebo 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-thiony **5**.^{4, 6 - 10}

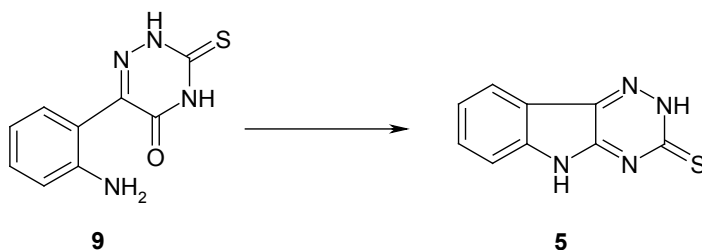


2.1.3 [1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-thiony

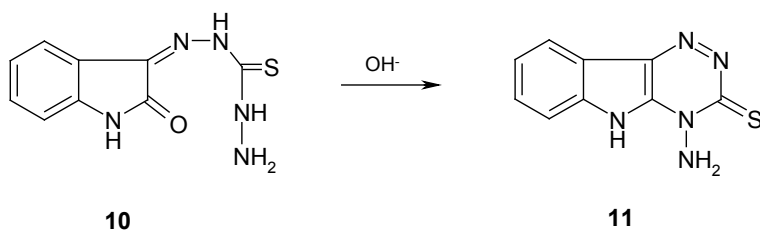
Nejjednodušším zástupcem této skupiny je 2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-thion **5**, který byl připraven bazickou cyklizací β -thiosemikarbazonů isatinu **8**.^{4, 5, 11, 12, 13}



[1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-thionů **5** lze rovněž dosáhnout působením kyseliny na 6-(2-aminofenyl)-3-thioxo-1,2,4-triazin-5-on **9** nebo jeho zahříváním v DMF.¹³

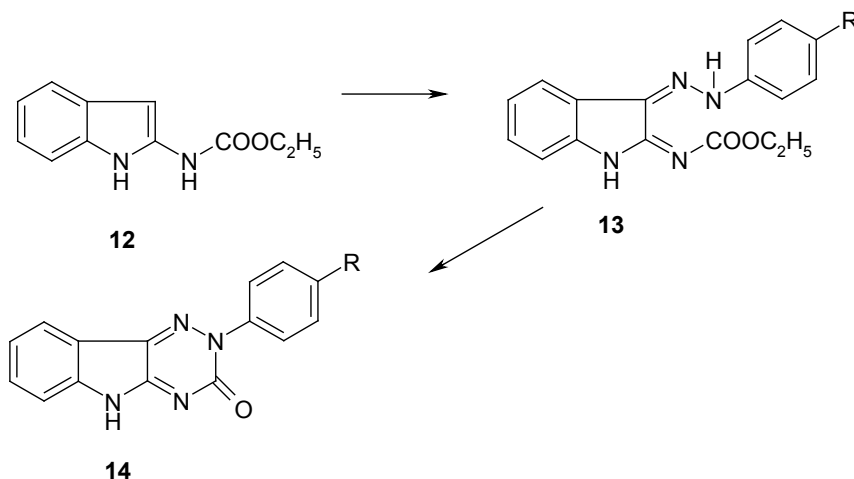


Jiné [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-thiony mohou být získány cyklizací β -thio-
karbohydrazonů **10** v bazickém prostředí vodného roztoku NaOH. Touto cestou lze
připravit 4-amino-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-thiony **11**.¹⁴



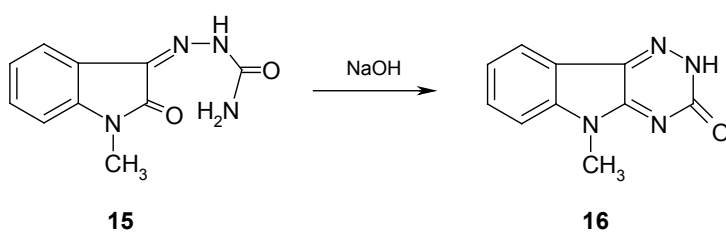
2.1.4 [1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-ony

Jednou z možných příprav 2-aryl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onů **14** je kopulace aryldiazoniových solí s 2-ethoxykarbonylaminoindolem **12**. Takto vzniklé hydrazono-karbamáty **13** podléhají cyklizaci varem v dekalinu za vzniku 2-aryl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino [5,6-*b*]indol-3-onů. ¹⁵

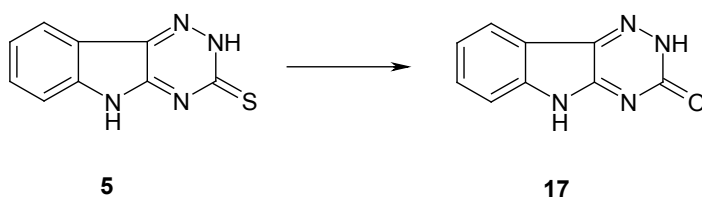


R = H, CH₃, F, Cl, Br, I, OCH₃, COCH₃

Dalším možným způsobem, kterým byly připraveny [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-ony **16** je bazická cyklizace isatin β-semikarbazonů **15**. ^{16, 17, 18}



1,2,4-Triazino[5,6-*b*]indol-3-thiony **5** mohou být na [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-ony **17** převedeny oxidací manganistanem draselným. ¹⁹



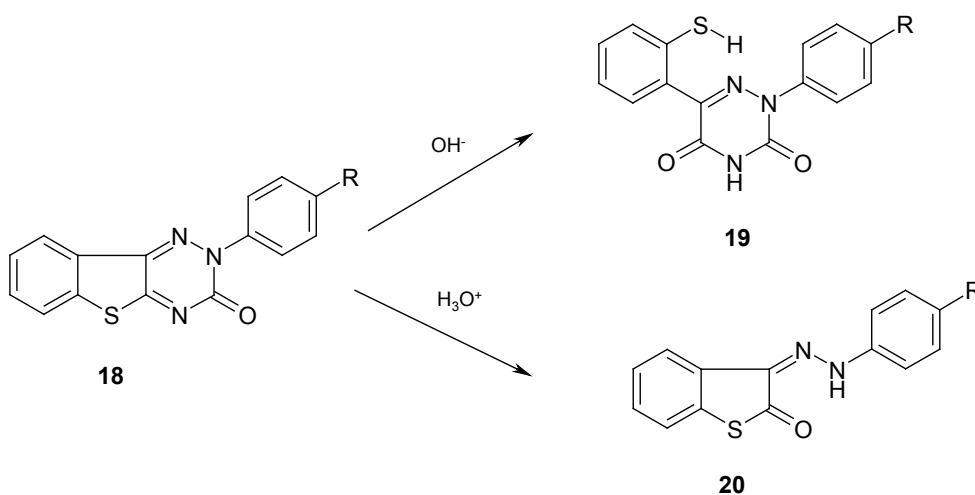
2.2 Reaktivita 1,2,4-triazinů s přikondenzovaným benzofuranovým, benzothiofenovým a indolovým skeletem

Tato kapitola shrnuje poznatky z oblasti reaktivity benzofuro, benzothieno, naftofuro[1,2,4]triazinů a [1,2,4]triazinoindolů. V následujících kapitolách jsou popsány doposud známé poznatky o chemii a reaktivitě výše zmíněných heterocyklických systémů. Tato fakta poslouží při srovnávání jejich reaktivity s reaktivitou [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-onů.

2.2.1 2,3-Dihydro[1]benzothieno[2,3-*e*][1,2,4]triazin-3-ony

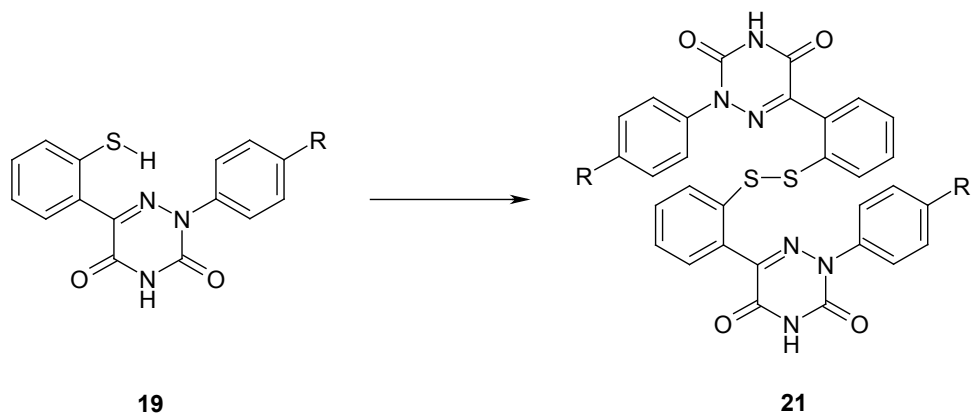
2,3-Dihydro[1]benzothieno[2,3-*e*][1,2,4]triazin-3-ony **18** se chovají jinak v kyselém prostředí a jinak v bazickém prostředí.

Při bazické katalýze se otevírá thiofenový cyklus za vzniku odpovídajících 1-aryl-5-(*o*-merkaptofenyl)-6-azauracilů **19**. Kyselou hydrolýzou pak dochází k otevření 1,2,4-triazinového kruhu. Tímto způsobem byly připraveny 3-arylhydrazono-2,3-dihydrobenzo[*b*]thiofen-2-ony **20**.^{20, 21}



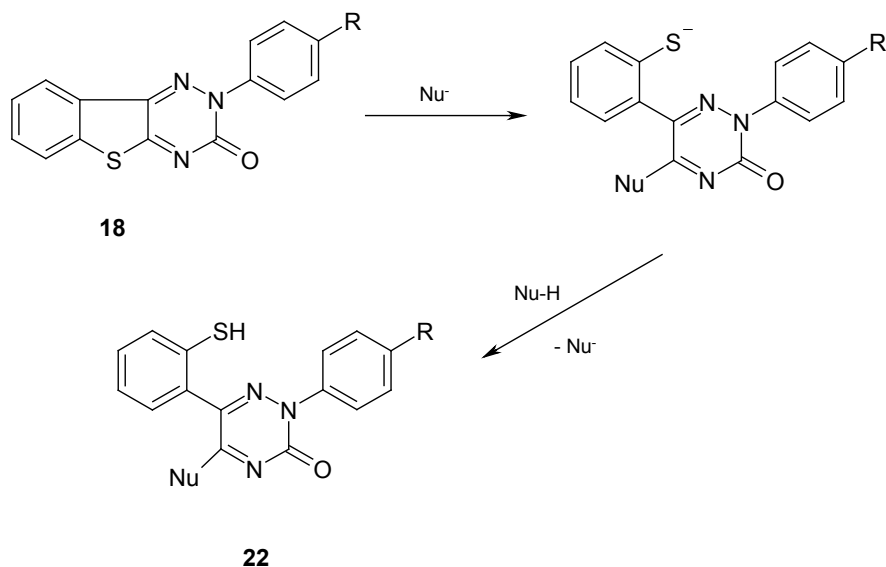
R = H, CH₃, Cl, OC₂H₅, NO₂

Při oxidaci thiolů **19** pak snadno vznikají odpovídající disulfidy **21**.²⁰



R = H, CH₃, Cl, OC₂H₅, NO₂

Obecně u reakcí [1]benzothieno[2,3-*e*][1,2,4]triazinů **18** s nukleofilními činidly, které vystupují v reakcích v podobě aniontů, dochází k ataku dvojné vazby mezi atomy 4 a 5, přičemž dochází k otevření thiofenového kruhu za vzniku 5,6-disubstituovaných 1,2,4-triazin-3-onů **22**.²¹

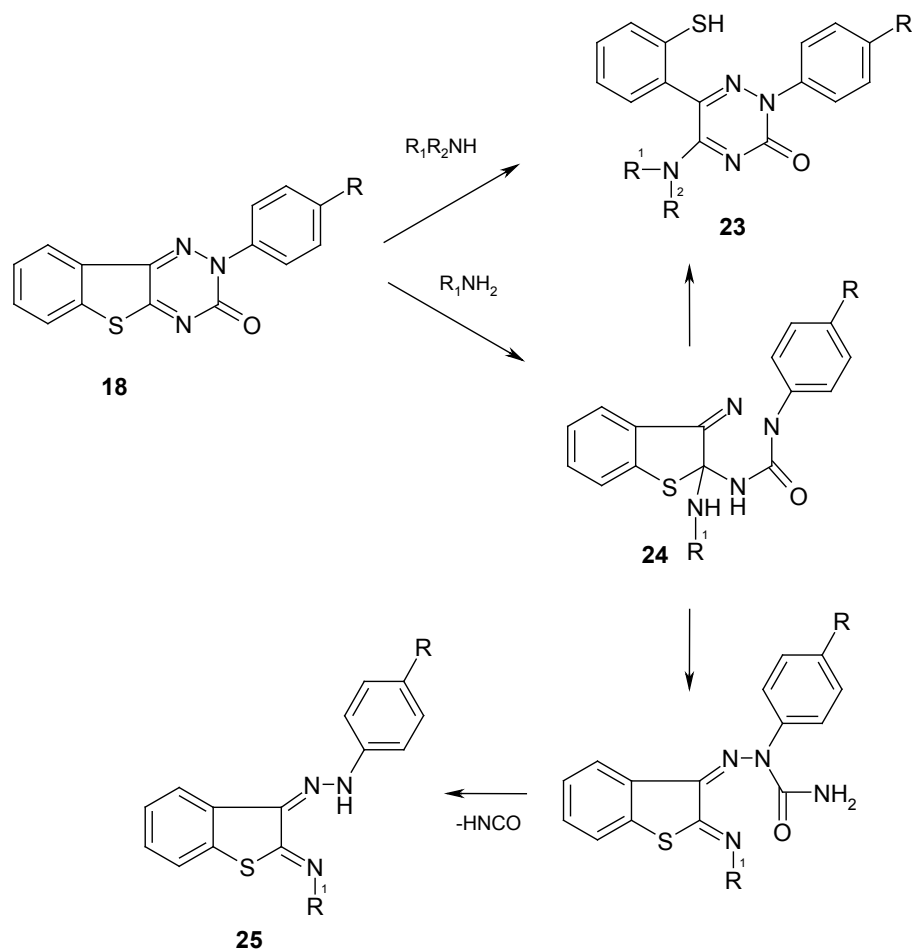


R = H

Nu = EtO, EtS, R₁R₂N, alkyl, aryl

Z nukleofilních činidel byl zkoumán vliv primárních a sekundárních aminů na triaziny **18** za účelem získání příslušných 6-azacytosinů. Se sekundárními aminy, kdy u meziproductu skupina Nu nese vodíkový atom, probíhá reakce jedním způsobem **23**.

U reakcí s primárními aminy pak dochází u meziproductu **24** k eliminaci dvěma směry. Reakce s anilinem ($R_1 = \text{fenyl}$) a cyklohexylaminu ($R_1 = \text{C}_6\text{H}_{11}$) probíhají jiným způsobem než reakce s ostatními aminy ze série zkoušených aminů. Vznikají imino-hydrazony **25**.²¹



$R = \text{H}$

23a) $R_1 = \text{pentyl}$, $R_2 = \text{H}$

23b) $R_1 = \text{allyl}$, $R_2 = \text{H}$

23c) $R_1 = \text{cyklopentyl}$, $R_2 = \text{H}$

23d) $R_1 = \text{cykloheptyl}$, $R_2 = \text{H}$

23e) $R_1 = \text{benzyl}$, $R_2 = \text{H}$

23f) $R_1 = \text{furfuryl}$, $R_2 = \text{H}$

23g) $R_1 = R_2 = \text{ethyl}$

23h) $R_1 + R_2 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$

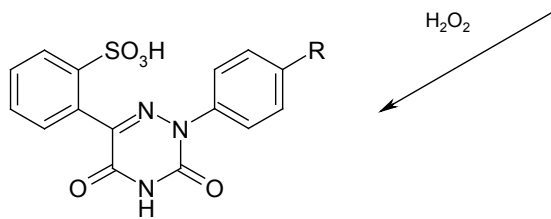
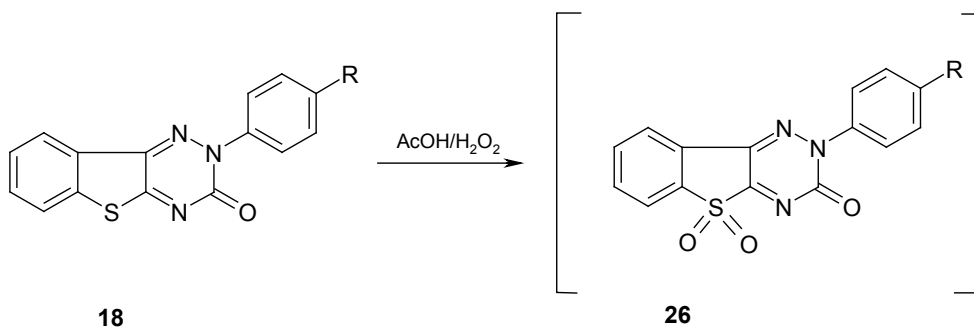
23i) $R_1 = \text{cyklohexyl}$, $R_2 = \text{H}$

23j) $R_1 = \text{fenyl}$, $R_2 = \text{H}$

25a) $R_1 = \text{cyklohexyl}$

25b) $R_1 = \text{fenyl}$

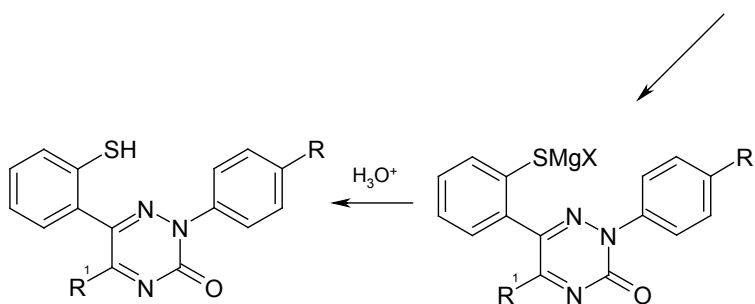
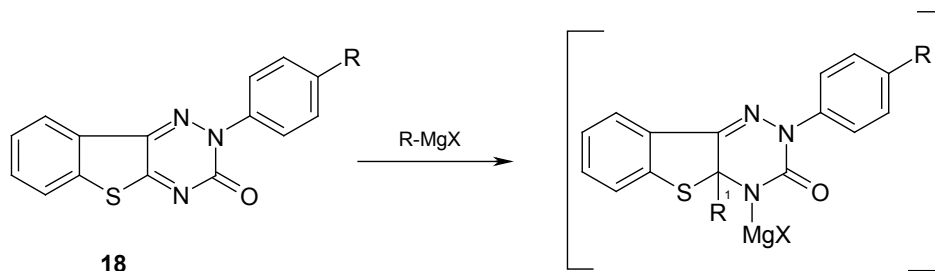
Při působení peroxidu vodíku v přítomnosti kyseliny octové na [1]benzothieno-[1,2,4]triazin **18** se otevírá thiofenový cyklus. Reakce probíhá přes sulfon **26**, který oxidací peroxidem přechází na benzensulfonovou kyselinu **27**.²¹



27

R = H

Benzothienotriazininy byly rovněž studovány z hlediska stability vůči uhlíkatým nukleofilním činidlům. Reakce s C - nukleofily, kterými jsou např. Grignardova činidla, probíhají za mírných podmínek. Tímto způsobem byly připraveny 5-C substituované 2,3-dihydro-1,2,4-triazin-3-ony **28**.²¹



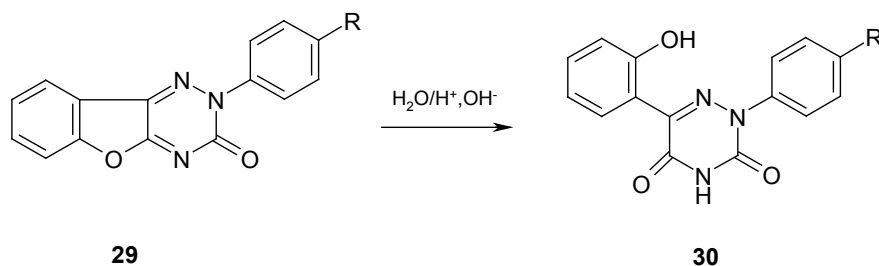
28

R = H

R₁ = propyl, fenyln

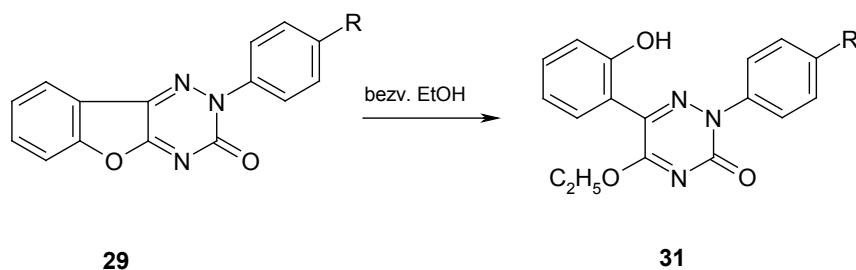
2.2.2 2,3-Dihydro[1]benzofuro[2,3-*e*][1,2,4]triazin-3-ony

Stabilita [1]benzofuro[1,2,4]triazinů **29** vůči hydrolytickému štěpení je malá. Již působením vodných roztoků (kyselých či bazických) dochází k otevření furanového cyklu. Touto cestou dochází ke vzniku 2-aryl-5-(*o*-hydroxyfenyl)-6-azauracilů **30**.^{22, 23}



R = H

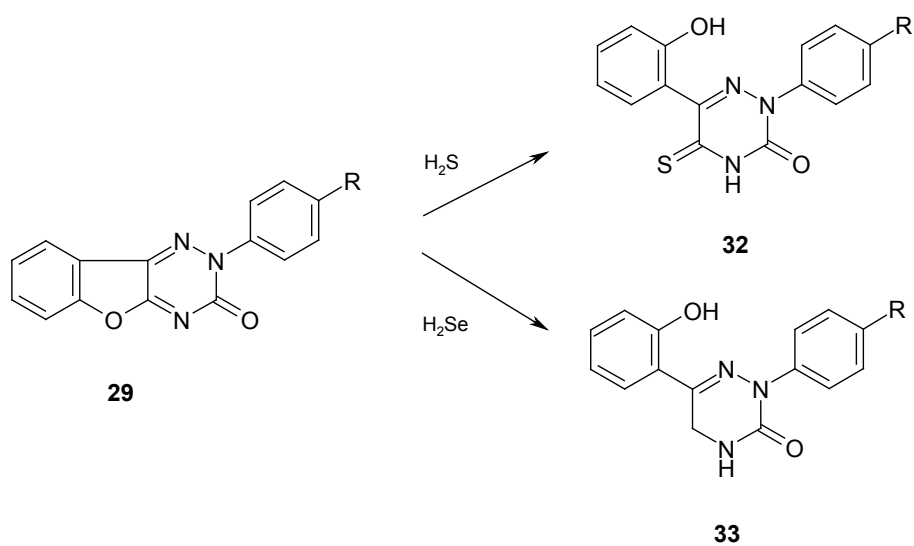
Podrobením benzofuro-1,2,4-triazinů reakcím s nukleofilními činidly je možné atakovat polohu 5 triazinového cyklu. Dochází zde k otevření furanového cyklu za vzniku 5-substituovaných 1,2,4-triazinů. Reakcí derivátu **29** s bezvodým ethanolom vzniká 5-ethoxy-1,2,4-triazin **31**.²⁴



R = H

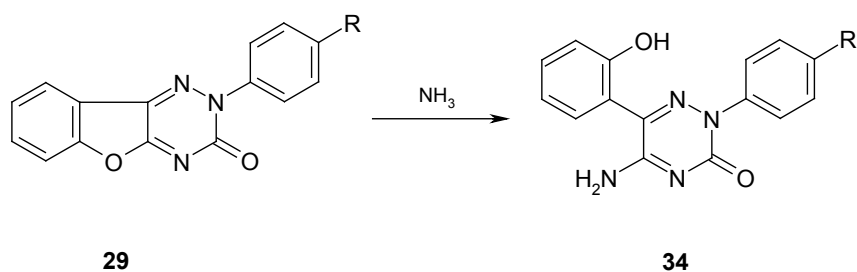
I za použití jiných nukleofilních činidel dochází ke štěpení furanového cyklu. Při bazicky katalyzované reakci benzofuro-1,2,4-triazinu **29** se sulfanem dochází ke vzniku 1-fenyl-5-(*o*-hydroxyfenyl)-4-thioxo-6-azauracilů **32**.

Analogickou reakcí za použití selenovodíku dochází k jinému průběhu oproti sulfanu. Dochází k reduktivnímu štěpení furanového cyklu, což vede ke vzniku 2-fenyl-6-(*o*-hydroxyfenyl)-2,3,4,5-tetrahydro[1,2,4]triazin-3-onů **33**.²⁴



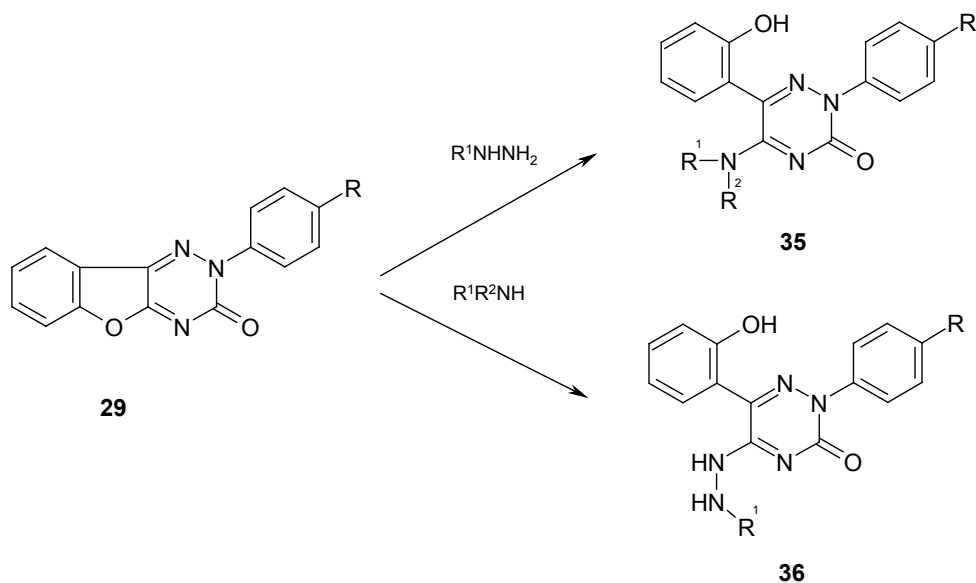
R = H

Další série reakcí benzofuro[1,2,4]triazin-3-onů **29** s nukleofilními činidly byla provedena s primárními aminy, sekundární aminy, hydrazinem a jeho deriváty. Reakcí benzofuro[1,2,4]triazinu **29** s amoniakem vzniká 6-azacytosin, konkrétně 2-fenyl-5-(*o*-hydroxyfenyl)-6-azacytosin **34**.²⁴



R = H

6-Azacytosiny **35** se substituovanou aminoskupinou pak vznikají reakcemi s primárními a se sekundárními aminy. I reakce s hydrazinem, fenyldiazinem a semikarbazidem probíhají obdobným způsobem. Vznikají 5-hydrazinoderiváty **36**.²⁴



R = H

35a) R¹=H; R²= CH₃

35b) R¹=H; R²= cyklohexyl

35c) R¹=H; R²= fenyl

35d) R¹=H; R²= CH₂CH₃

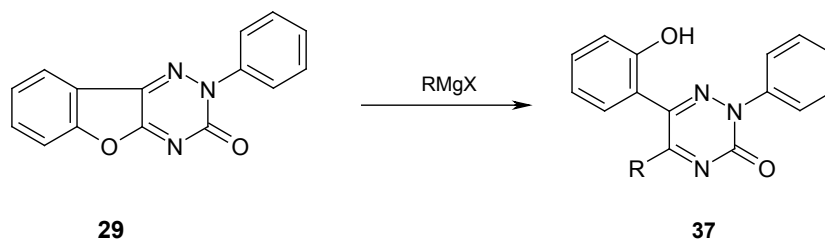
35e) R¹=H; R²= CH₂CH₂CH₂CH₂NH₂

36a) R = H

36b) R = fenyl

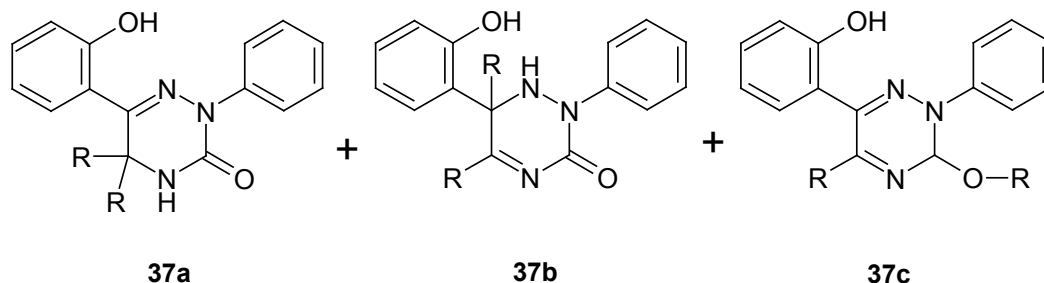
36c) R = CONH₂

I v benzofuranové řadě bylo provedeno štěpení uhlíkatými nukleofily, konkrétně Grignardovými činidly. Tímto způsobem byly připraveny 5-C substituované triaziny. Reakce benzofuro[1,2,4]triazin-3-onů **29** s alkyl- popř. arylmagnesiumhalogenidy dává příslušné 5-substituované deriváty **37**.²⁵

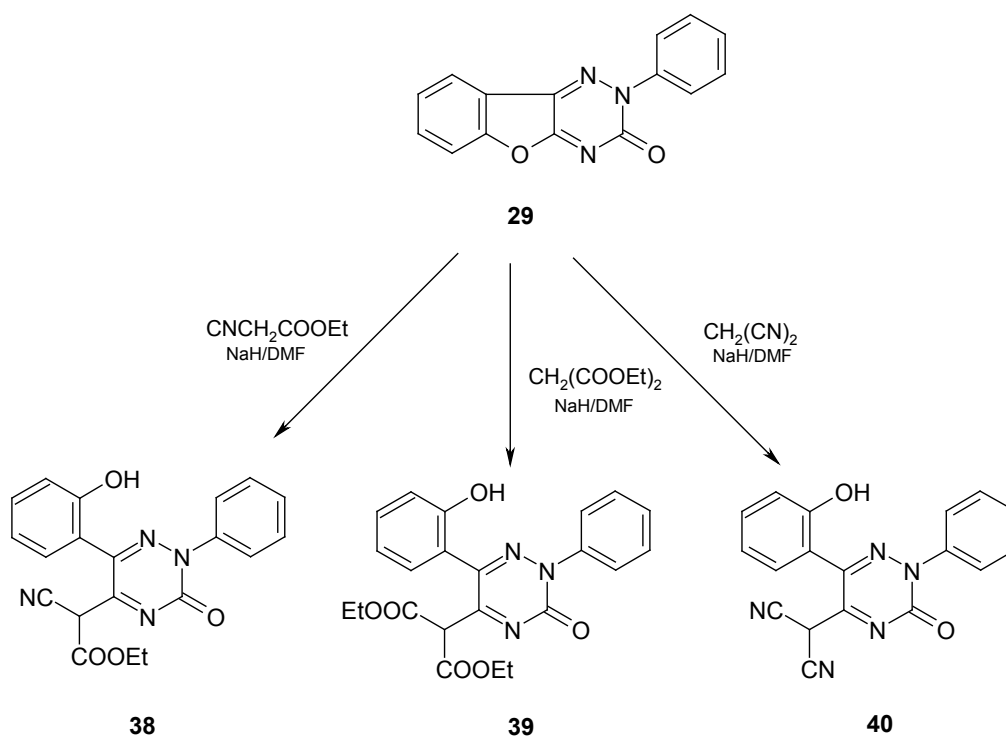


R = Pr, Ph, Bn

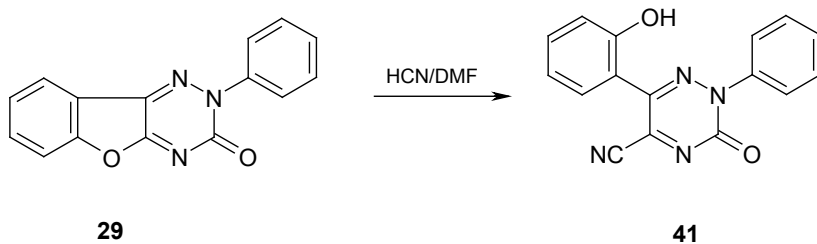
Při pokusu o získání samotného 5-C substituovaného 6-(2-hydroxyfenyl)-2,5-difenyl-1,2,4-triazin-3(2*H*)-onu **37** však dochází ke vzniku vícesubstituovaných triazinů **37a**, **37b**, **37c**, jejichž přesná struktura zatím není objasněna. ²⁵



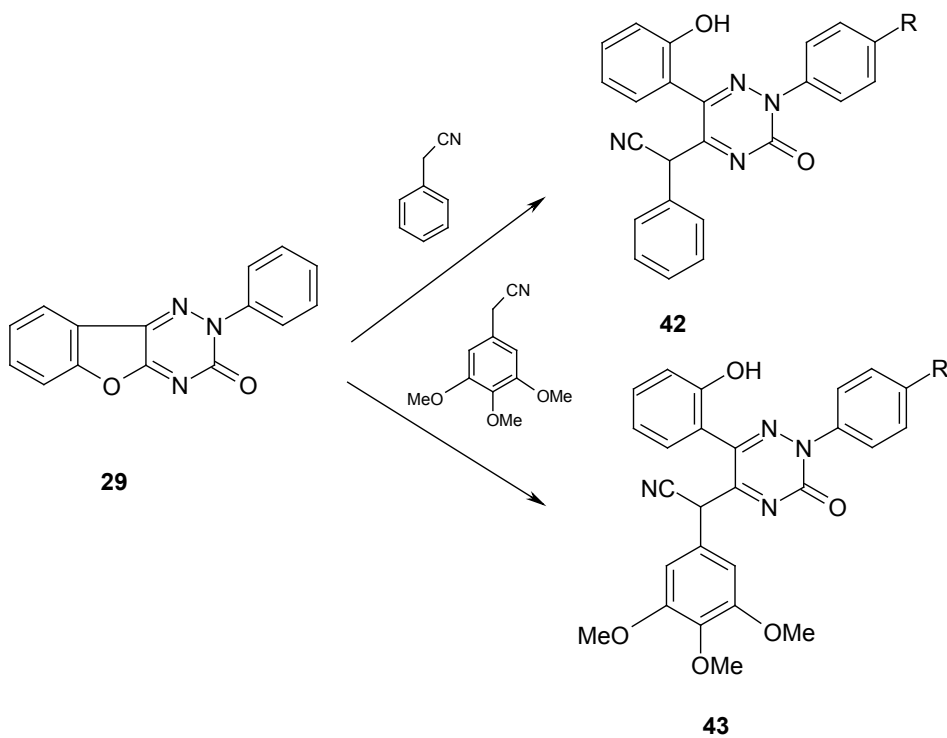
Zajímavé výsledky přinesly i reakce s karbanionty, které jsou konjugovanými basemi C-kyselin. Byly připraveny deriváty jako jsou ethyl(triazinyl)kyanoacetát **38**, diethyl(triazinyl)propandioát **39** a triazinylpropandinitril **40**. ²⁵



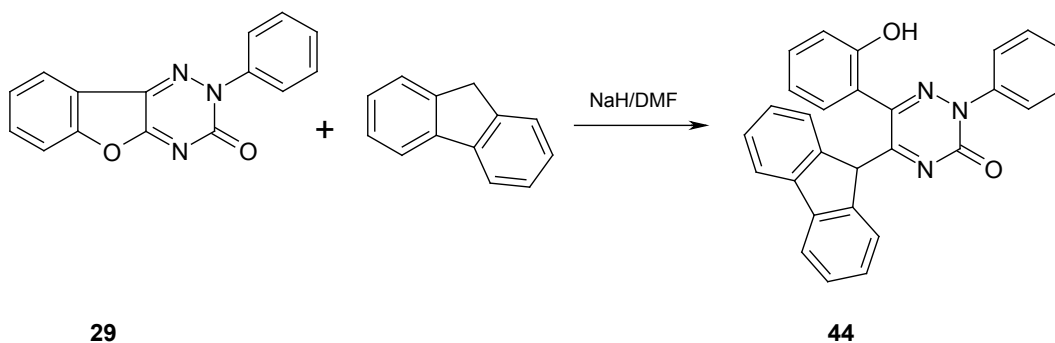
Při reakci sloučeniny **29** s kyanovodíkem byl připraven 6-(2-hydroxyfenyl)-3-oxo-2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazin-5-karbonitril **41**.²⁵



Jinými použitými karbanionty byly například anionty vzniklé z C-kyselin, jakými jsou fenylacetonitril a (3,4,5-trimethoxyfenyl)acetonitril. Byly připraveny příslušné fenylacetonitrily **42**, **43**.²⁵

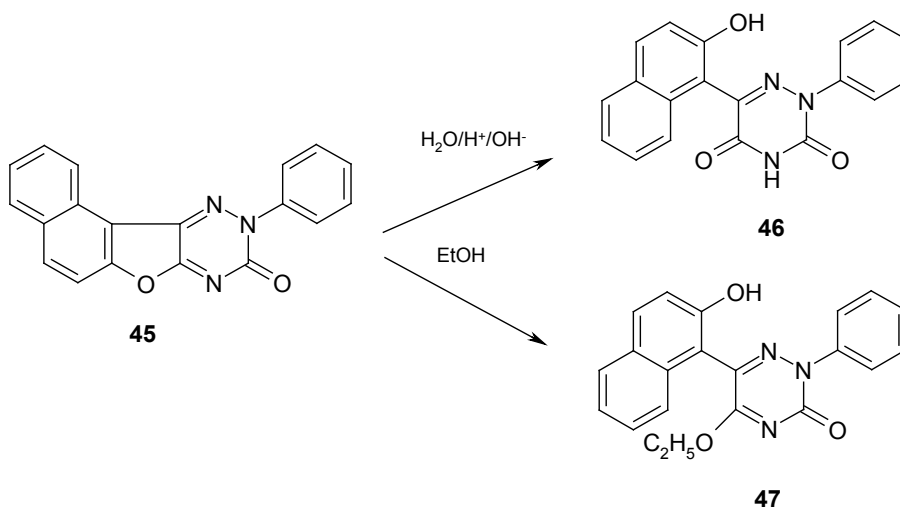


Taktéž byl v přítomnosti NaH/DMF s 9*H*-fluorenem připraven 5-(9*H*-fluoren-9-yl)-6-(2-hydroxyfenyl)-2-fenyl-1,2,4-triazin-3(2*H*)-on **44**.²⁵

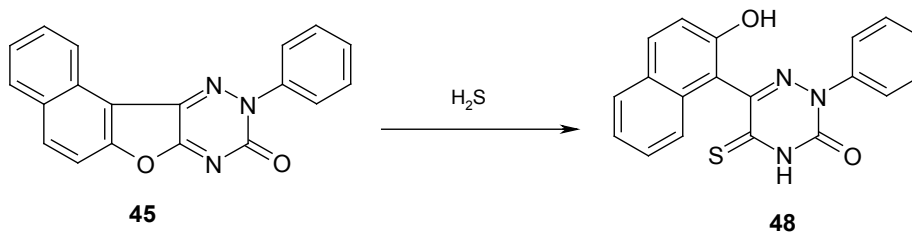


2.2.3 2,3-Dihydro-nafto[1',2':4,5]furo[2,3-*e*]1,2,4-triazin-3-ony

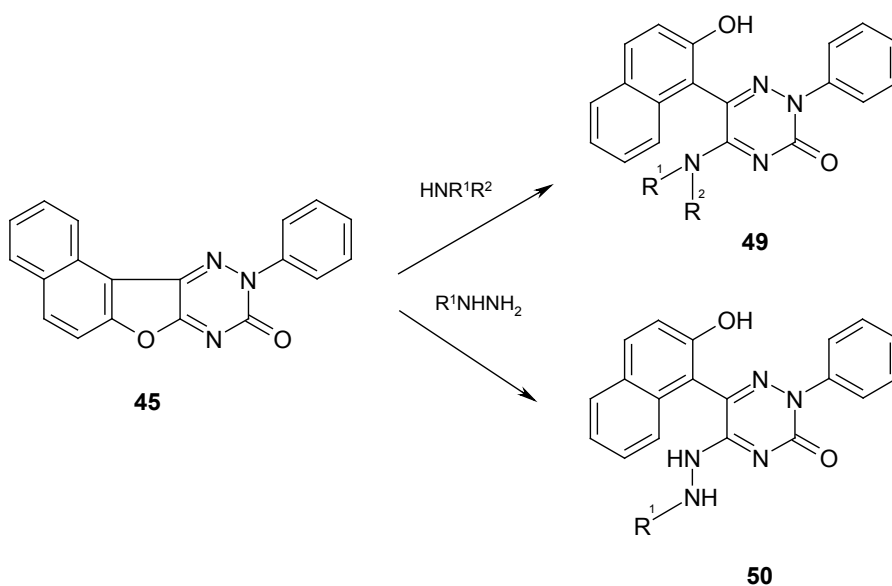
2,3-Dihydro-nafto[1',2':4,5]furo[2,3-*e*]1,2,4-triazin-3-ony **45** se štěpí analogicky jako tomu bylo u [1]benzofuro[1,2,4]triazinů. I v tomto případě je stabilita vůči štěpení malá. V přítomnosti vodně ethanolického roztoku dochází k hydrolytickému štěpení za vzniku 6-azauracilu **46**. V prostředí bezvodého ethanolu proběhla ethanolýza, při které vznikl 5-ethoxy-6-(2-hydroxynaftyl)-2-fenyl-1,2,4-triazin-3(2*H*)-on **47**.²⁴



Účinkem sulfanu v bazickém prostředí byl připraven 1-fenyl-4-thioxo-5-(2-hydroxynaftyl)-6-azauracil **48**.²⁴



Působením vodného roztoku amoniaku dochází k amonolýze. Tímto způsobem vznikají 1-fenyl-5-(2-hydroxynaftyl)-6-azacytosiny **49a**. Štěpení primárními **49b - 49d** i sekundárními **49e - 49f** aminy rovněž vede ke vzniku 6-azacytosinů. V prostředí hydrazinu, fenyhydrazinu, semikarbazidu dochází k hydrazinolýze za vzniku 2-fenyl-5-hydrazino-6-(2-hydroxynaftyl)-2,3-dihydro-1,2,4-triazin-3-onů **50a - 50c**.²⁴



49a) R₁ = R₂ = H

49b) R₁ = H; R₂ = CH₃

49c) R₁ = H; R₂ = fenyl

49d) R₁ = H; R₂ = cyklohexyl

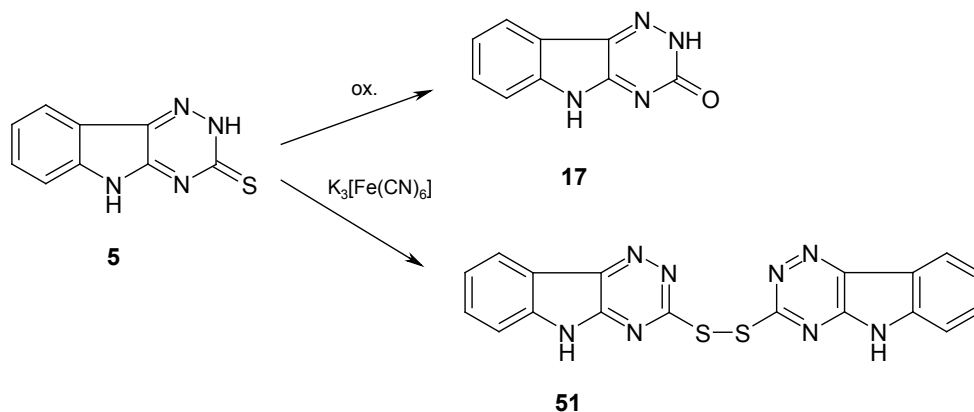
50a) R₁ = H

50b) R₁ = fenyl

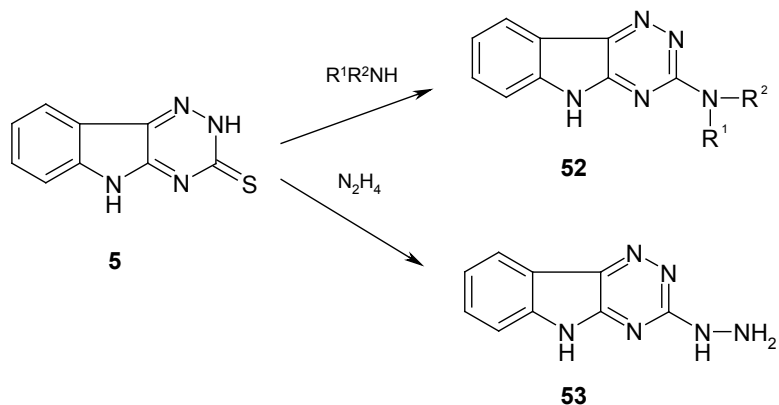
50c) R₁ = CONH₂

2.2.4 [1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-thiony

Oxidace [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol-3-thionů **5** probíhá dvěma možnými způsoby v závislosti na zvoleném oxidačním činidle. Oxidací a následnou hydrolyzou byly připraveny triazino-[5,6-*b*]indol-3-ony **17**,^{4, 19} zatímco oxidací hexakvanoželezitanem draselným vznikají disulfidy **51**.¹¹

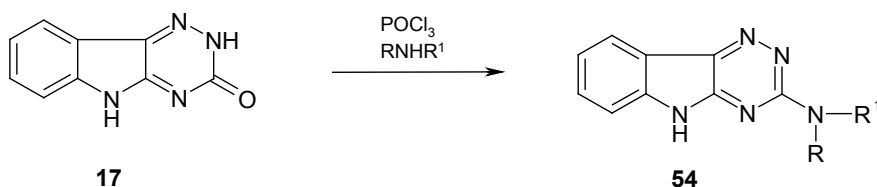


K nahrazení thioxo skupiny dochází při reakcích s aminy nebo hydraziny za vzniku 3-amino- **52**, popř. 3-hydrazinotriazinoindolů **53**.⁴

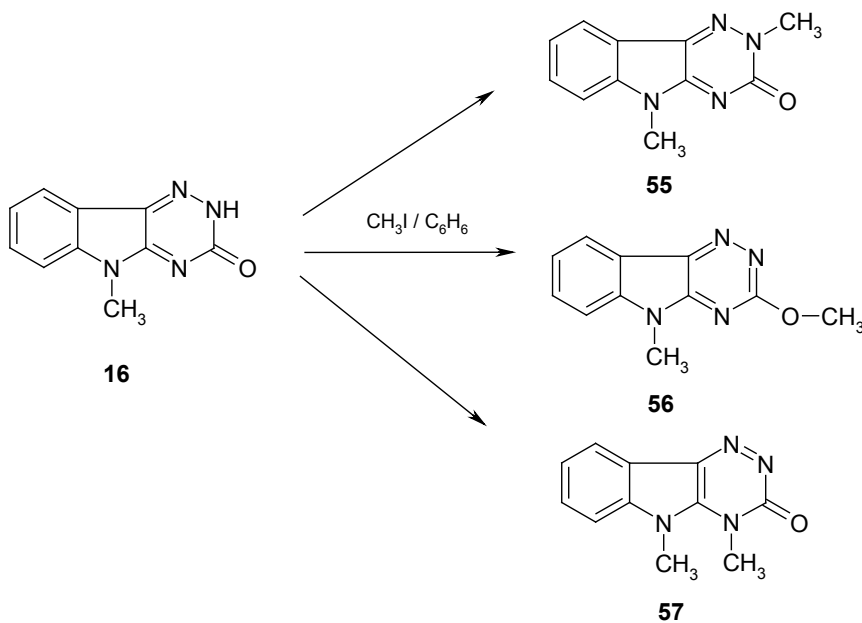


2.2.5 [1,2,4]Triazino[5,6-*b*]indol-3-ony

Při reakci [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indolu **17** s chloridem fosforu v prostředí *N,N*-dimethyl anilinu, následně s primárními nebo sekundárními aminy bylo dosaženo vzniku 3-amino-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolů **54**.^{26, 27, 28}



Methylace stříbrných solí triazino[5,6-*b*]indol-3-onů **16** methyljodidem v prostředí benzenu vede k derivátům **55**, **56**, **57**.¹⁹

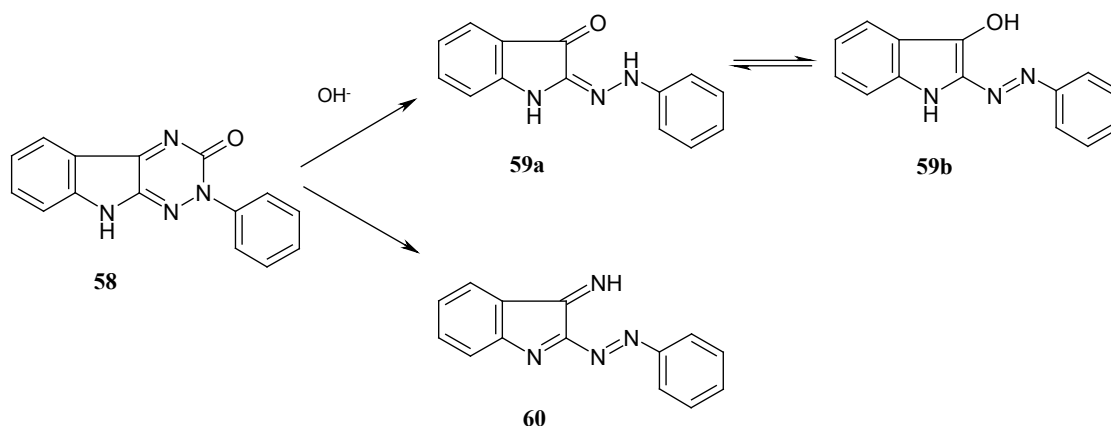


2.2.6 [1,2,4]Triazino[6,5-*b*]indol-3-ony

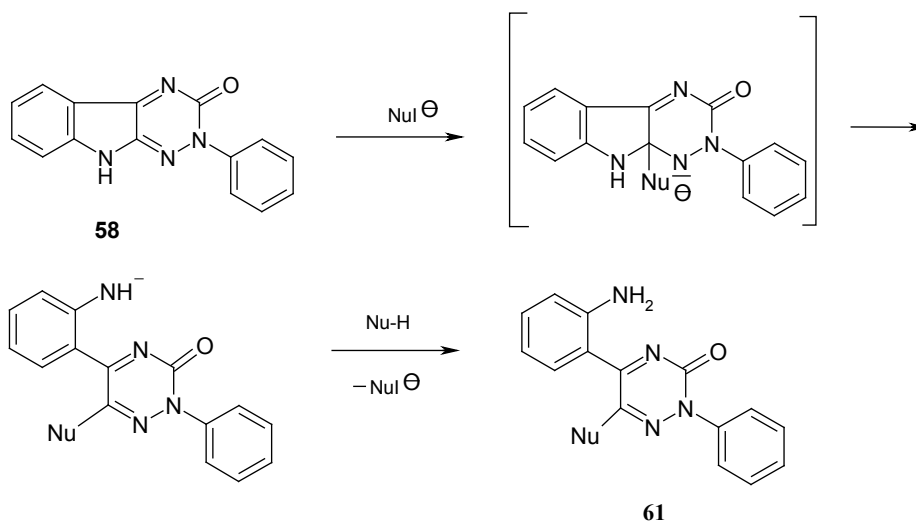
Z pohledu reaktivity tohoto systému jsou známy některé substituční reakce na přikondenzovaném 1,2,4-triazinovém, resp. pyrrolovém cyklu.

U 2-aryl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[6,5-*b*]indol-3-onů **58** bylo zjištěno, že systém je velice stabilní. Za použití slabých i koncentrovaných roztoků kyselin, vodných alkoholických i bezvodných alkoholických prostředí nedochází k žádné reakci.

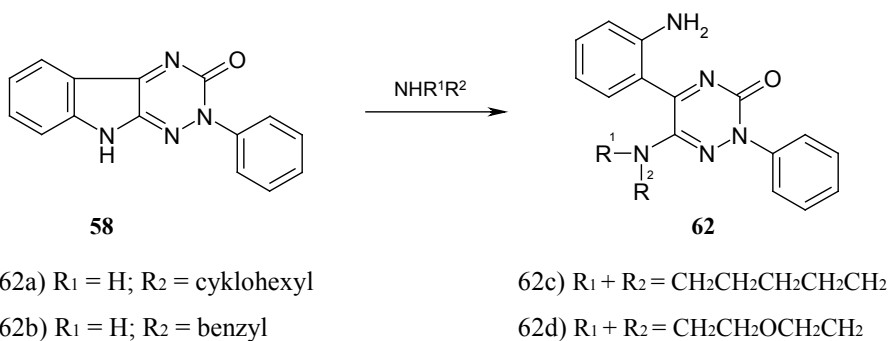
Neočekávaný průběh pak má reakce s alkalickým louhem, kdy v závislosti na reakčních podmínkách vznikají dva produkty. Za nepřístupu kyslíku byl připraven fenylylhydrazonoindol **59a**, resp. jeho tautomerní forma **59b**. V přítomnosti vzdušného kyslíku pak byla připravena iminoazosloučenina **60**.²⁹



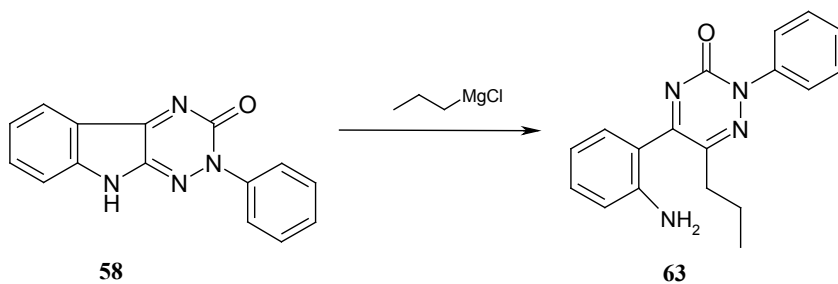
Působením nukleofilních činidel (primárních, sekundárních aminů a Grignardových sloučenin) dochází ke štěpení pyrrolového cyklu za vzniku příslušných 1,2,4-triazin-3-onů **61**, kdy opět bylo zapotřebí intenzivnějších reakčních podmínek.



Z nukleofilních činidel byl zkoumán vliv primárních a sekundárních aminů na triaziny **58** za účelem získání příslušných 6-azacytosinů **62**. Úspěšně probíhaly pouze reakce s cyklohexylaminem, benzylaminem, piperidinem a morfolinem.²⁹



Z uhlíkatých nukleofilů byla provedena reakce s Grignardovými činidly, konkrétně s propylmagnesiumchloridem, přičemž byl připraven příslušný 6-propyl-substituovaný 1,2,4-triazin-3-on **63**.²⁹

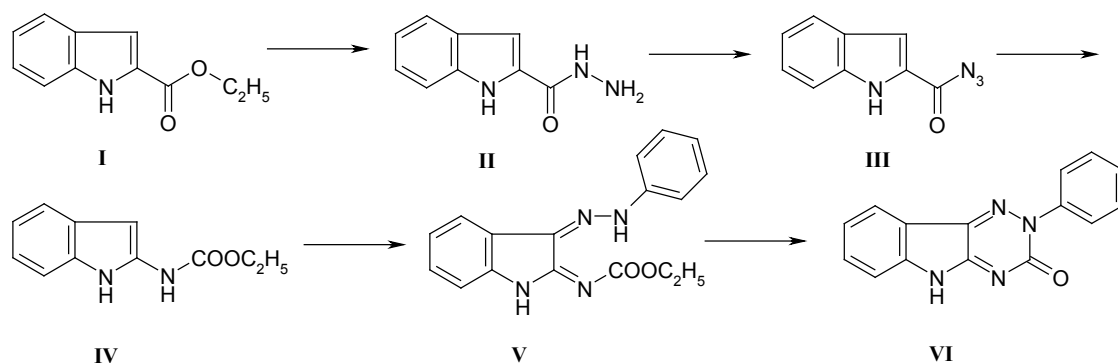


3 PŘEHLED DOSAŽENÝCH VÝSLEDKŮ

Tato diplomová práce je zaměřena na přípravu výchozího 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu a dále na zkoumání reaktivity tohoto systému v kyselém, bazickém prostředí a za použití kyslíkatých, dusíkatých a uhlíkatých nukleofilních činidel.

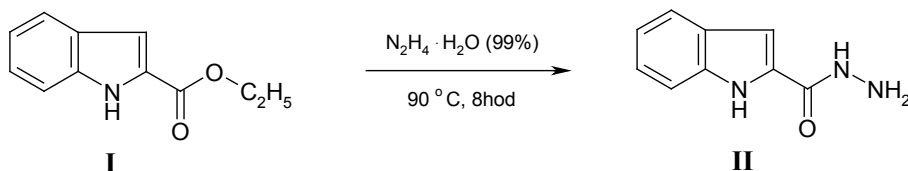
3.1 Příprava výchozího 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu

Tato podkapitola se věnuje syntéze stěžejní látky diplomové práce, která již byla v literatuře popsána.^{30 - 33} Jako zástupce 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému byl zvolen 2-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on **VI**, který byl připraven několikastupňovou syntézou.



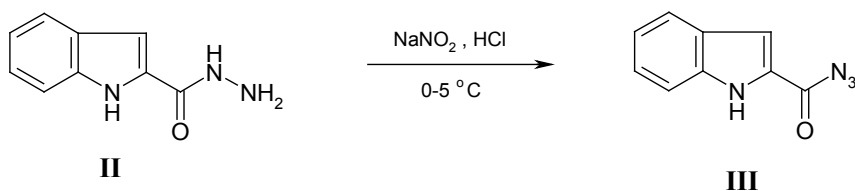
3.1.1 Příprava hydrazidu kyseliny indol-3-karboxylové **II**

Výchozí látkou pro syntézu hydrazidu **II** byl zvolen komerčně dostupný ethylester kyseliny indol-2-karboxylové **I**, který byl na hydrazid převeden reakcí esteru s hydrátem hydrazinu. Reakční doba 4 hodiny, jak uvádí literatura,³⁰ se ukázala být nedostatečná. Ethylester byl ponechán reagovat po dobu 8 hodin při teplotě 90 °C. Průběh reakce vzniku hydrazidu a postupné konverze ethylesteru byly monitorovány pomocí TLC s mobilní fází CHCl_3 : MeOH v poměru objemových dílů 9 : 0,5. Literatura udává 98,5% výtěžek, avšak reakce byla provedena s výtěžkem nejvýše 90%.



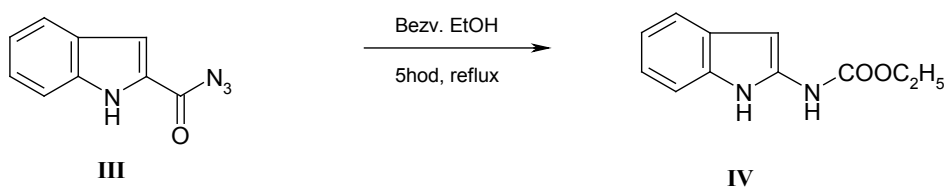
3.1.2 Příprava azidu kyseliny indol-2-karboxylové **III**

Nitrosací hydrazidu **II** byl připraven azid **III**.³¹ Tento azid byl uchován v exsikátoru bez přístupu světla, aby se zabránilo jeho fotolytickému rozkladu, který je u podobných derivátů pozorován. Průběh reakce a kontrola čistoty byly sledovány za použití TLC s mobilní fází v poměru objemových dílů CHCl_3 : MeOH (9 : 0,2). Reakcí bylo dosaženo 97% výtěžku světle žluté krystalické látky.



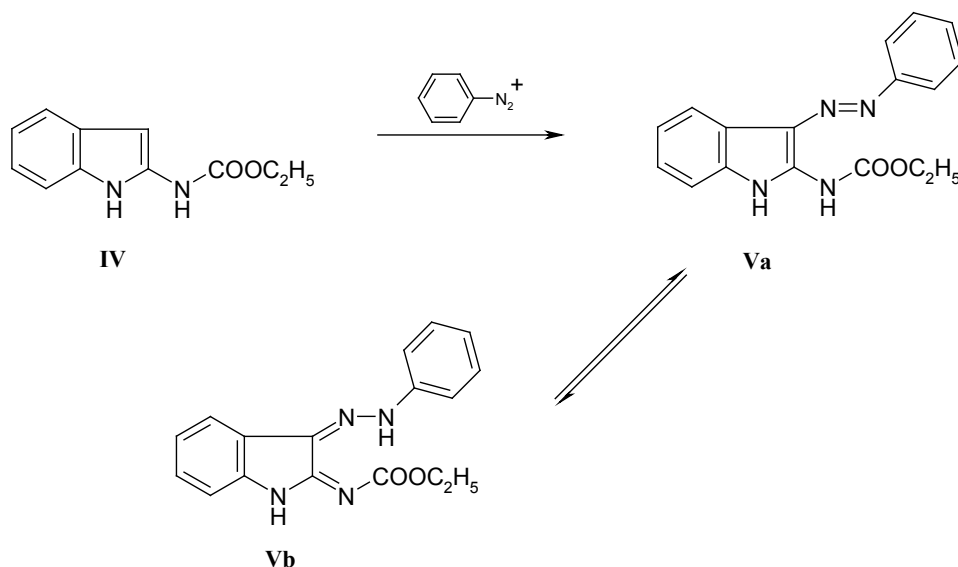
3.1.3 Příprava ethyl-2-indolylnkarbamátu **IV**

Ethyl-2-indolylnkarbamát **IV** byl připraven z pečlivě vysušeného azidu **III** refluxem po dobu 5 hodin v prostředí bezvodého ethanolu, kdy docházelo ke Curtiovu přesmyku.³² Ethanol byl po reakci s azidem odpařen na rotační vakuové odparce. Ač první pohled na tmavě zabarvenou reakční směs vzbuzoval obavy, krystalizací odparku z ethanolu za použití aktivního uhlí byl získán čistý karbamát **IV** v podobě tmavě zelené krystalické látky. I zde bylo k detekci produktu využito mimo měření na LC-MS i metody TLC.

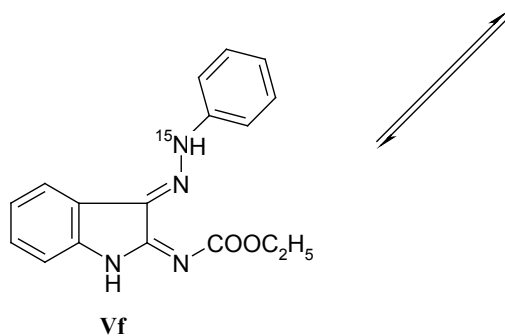
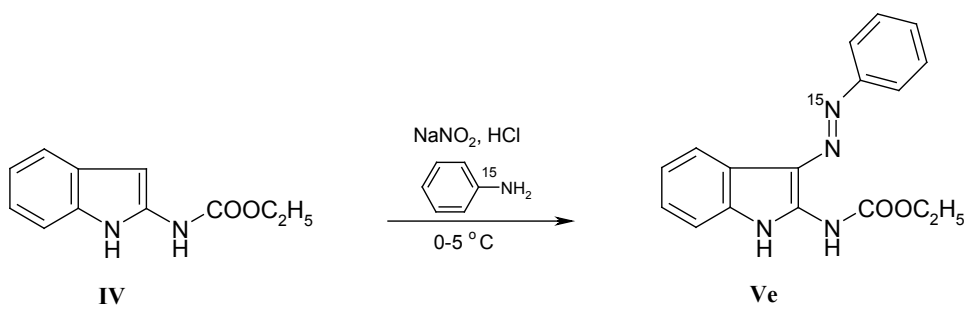
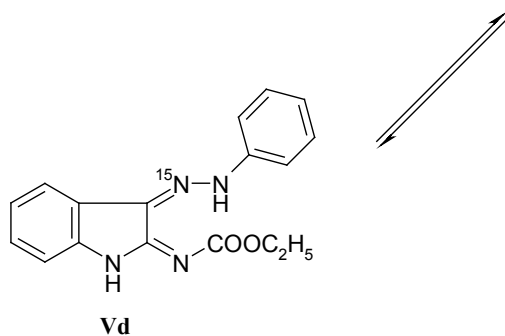
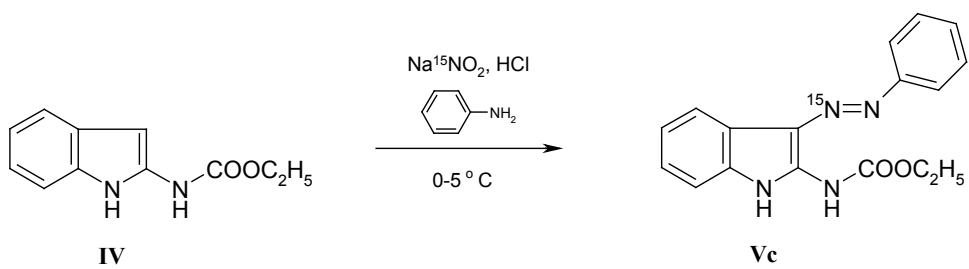


3.1.4 Příprava 3-fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindolu V

Azokopulací ethyl-2-indolytkarbamátu **IV** s benzendiazoniovou solí byl získán 3-fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindol **Va**, který je tautomerní se svou hydrazono formou **Vb**.³³ Množství rozpouštědla, kterým byl pro tuto reakci pyridin, muselo být oproti literatuře optimalizováno. Nadbytek 40 ml pyridinu na 410 mg karbamátu se jevil příliš velký pro přípravu ve větším měřítku, proto bylo při provádění reakce s většími navážkami množství pyridinu redukováno. Na 10 g karbamátu bylo použito 400 ml pyridinu. Výtěžek uvedený literaturou činil 94%, bylo dosaženo 96% výtěžku v podobě sytě oranžové krystalické látky.

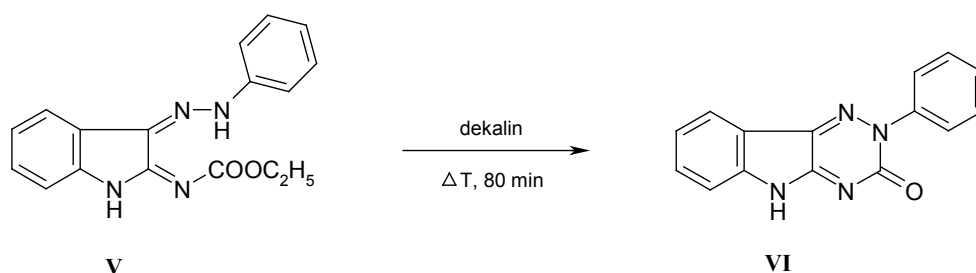


K prozkoumání problematiky azo-hydrazono tautomerie derivátu **V** a možné tautomerie cyklizovaného derivátu **VI** byly tyto deriváty připraveny azokopulací karbamátu **IV** se značeným dusitanem sodným Na¹⁵NO₂, potažmo značeným anilinem C₆H₅¹⁵NH₂, které byly podrobeny měření pokročilými NMR experimenty. Pozornost byla věnována zejména derivátu **V**, který byl připraven ze značeného anilinu ¹⁵N. Tento derivát byl použit k určení azo-hydrazonové tautomerie i pomocí IR spektroskopie (viz. kapitola 3.5).

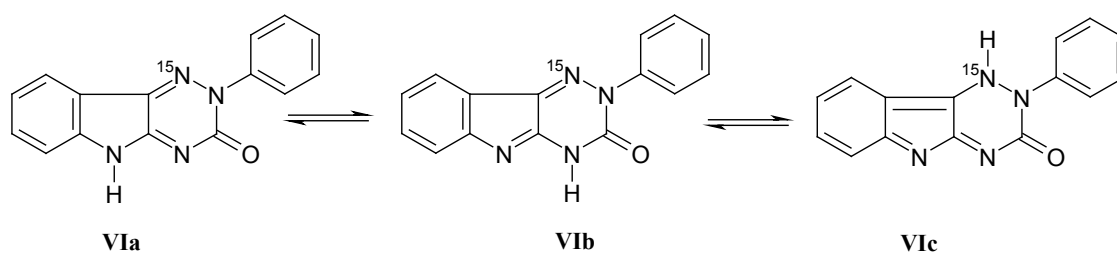


3.1.5 Příprava 2-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu VI

Stěžejní výchozí látka diplomové práce byla připravena varem 2-fenylazo-3-ethoxykarbonylaminoindolu **V** v dekalinu, kdy došlo k její cyklizaci za vzniku 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI**.³³ Oproti literaturou uvedené reakční době (15 minut) byla nutná optimalizace. Optimální dobou ke kvantitativní konverzi 3 g hydrazonokarbamátu **V** bylo celkem 80 minut. Výtěžek uvedený literaturou byl 98%, dosaženo bylo 92% výtěžku v podobě žluté krystalické látky.



Cyklizovaný produkt **VI** může existovat v několika tautomerních formách. K možnému vyloučení jedno ze tří možných tautomerů látky byla připravena látka **VI** s izotopicky značeným dusíkem v poloze 1. Následně pak s pomocí NMR spektroskopie měl být učiněn pokus o přesnější určení struktury triazinu **VI**.



Značení atomu dusíku z dusitanu $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$ nepomohlo k přesnějšímu určení struktury triazinoindolu **VI**, avšak na základě pokročilých korelačních NMR experimentů (hlavně ^1H - ^1H ROESY) bylo zjištěno, že není žádných interakcí N-H vodíků triazinového cyklu s navázaným benzenovým jádrem. Naopak byly zjištěny interakce mezi N-H vodíkem pyrrolového cyklu a vodíky přikondenzovaného benzenového jádra. To znamená, že struktura výchozí látky je ve formě **VIa**.

3.2 Reaktivita 2-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu

Ke zkoumání reaktivity triazinoindolového systému sloučeniny **VI** bylo prvním krokem stanovení rozpustnosti této látky v různých rozpouštědlech za účelem nalezení těch nejlepších rozpouštědel k uskutečnění plánovaných reakcí (viz. tabulka). Provedením této série pokusů se zjistilo, že 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on **VI** je celkově velice málo rozpustný ve většině běžných rozpouštědel, což do značné míry ovlivnilo provádění některých reakcí.

Tab.1.: Rozpustnost 2-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu

Rozpouštědlo	Laboratorní teplota	Var
Tetrahydrofuran	-	-
Dioxan	-	-
Pyridin	-	+
Dimethylformamid	-	+
Chloroform	-	-
Dichlormethan	-	-
Aceton	-	-
Dimethylsulfoxid	-	+
Kyselina octová	-	-
2-Methoxyethanol	-	-

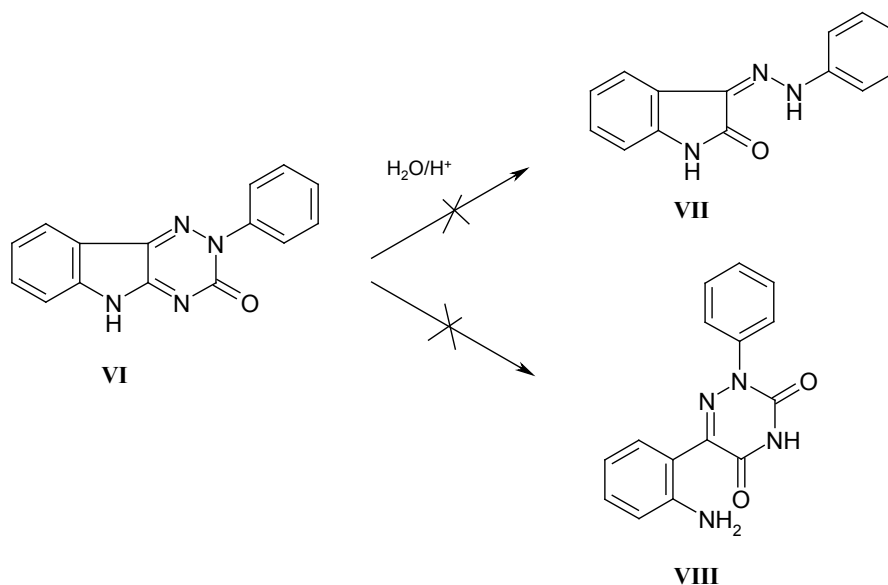
(10 mg látky, 1 ml rozpouštědla)

Ačkoliv se triazin **VI** v pyridinu, DMF a v DMSO za varu rozpouštěl, při chladnutí z roztoku zpětně vypadal ve formě žluté krystalické látky.

3.2.1 Stabilita heterocyklického systému v kyselém prostředí

S ohledem na poznatky z benzofuranové a benzothiofenové řady byla nejprve zkoumána stabilita sloučeniny **VI** působením silných kyselin. Předpokládané štěpení může probíhat buď na 1,2,4-triazinovém skeletu za vzniku hydrazonů **VII** jako tomu

bylo v benzo[*b*]thiofenové řadě anebo na pyrrolovém cyklu za vzniku příslušných 1,2,4-triazin-3,6-dionů **VIII** jako tomu bylo podobně v benzofuranové řadě. Tyto domněnky se však nepotvrdily, ke štěpení systému **VI** minerálními kyselinami nedocházelo ani mícháním za laboratorní teploty ani za varu ve 20% HCl po dobu 3 hodin. Rovněž indolová řada s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým skeletem tomuto štěpení nepodléhala.



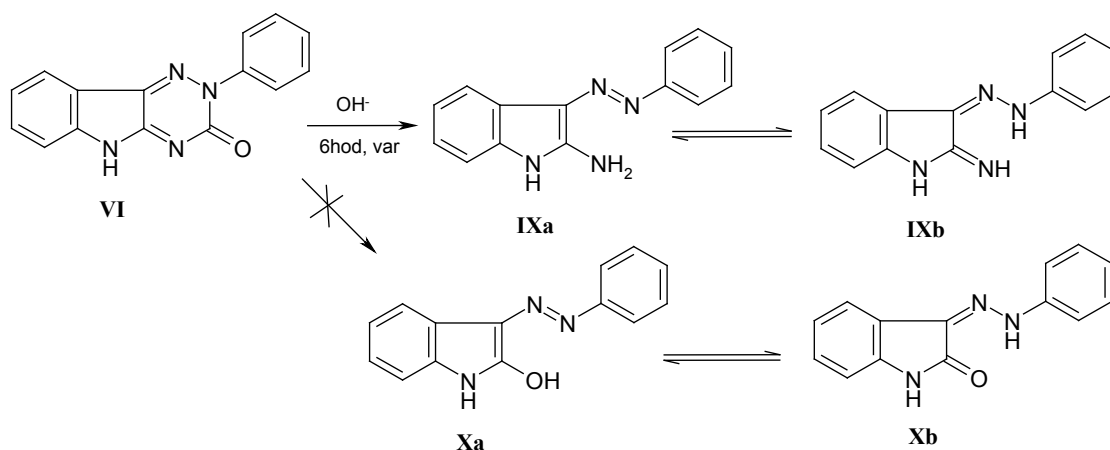
3.2.2 Stabilita heterocyklického systému v bazickém prostředí

Vzhledem k poznatkům uvedeným v literatuře, ³⁹ u podobných sloučenin obsahujících 1,2,4-triazino[4,5-*a*]benzimidazolový skelet, se předpokládalo, že v bazickém prostředí bude, na rozdíl od prostředí kyselého, docházet poměrně snadno ke štěpení 1,2,4-triazinového cyklu. Ve vodném pyridinovém prostředí však k žádné změně nedošlo a to ani při míchání za laboratorní teploty ani při dvouhodinovém varu.

Štěžejní látka diplomové práce **VI** nepodléhala žádným změnám ani při míchání v prostředí 2M ani 5M - NaOH za laboratorní teploty.

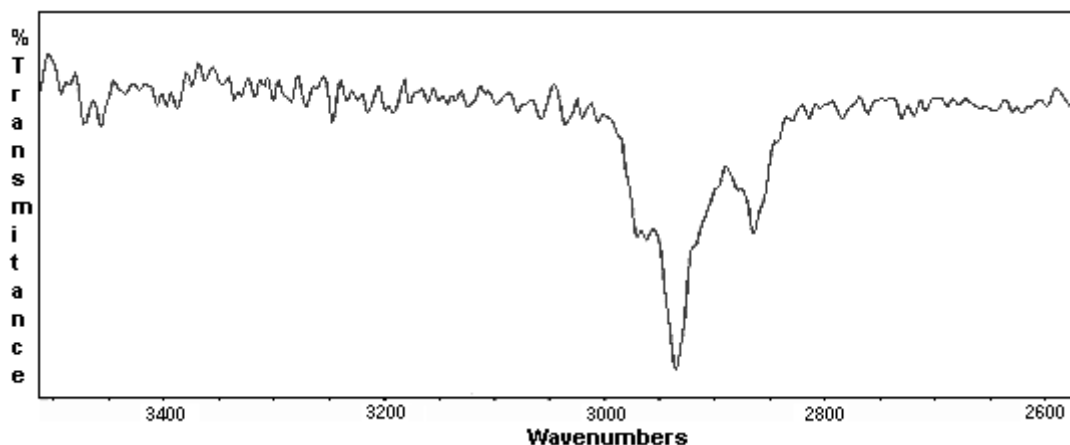
Štěpení nastalo až ve chvíli, kdy byl 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on **VI** vystaven působení 2M - NaOH za varu. Při zahřátí na 100 °C se otevíral 1,2,4-triazinový cyklus za vzniku příslušné azo sloučeniny **IX**. Zjistilo se však, že varem v 2M - NaOH dochází pouze k částečné konverzi, proto byla zvolena

koncentrace NaOH 5 mol/l. Po 6 hodinách varu nastala úplná konverze výchozí látky ve prospěch štěpené látky **IX**. Oproti indolovému systému s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem je reakce jednoznačná, nedochází zde ke vzniku azolátky **Xa**, potažmo jeho tautomerní hydrazono-formy **Xb**.



Jelikož látka **IX** může existovat ve dvou tautomerních formách, v azo formě **IXa** a hydrazono formě **IXb**, byla obdobně jako u výchozího azokopulačního produktu **V** (viz. kap. 3.5), řešena otázka azo-hydrazonové tautomerie. I zde byla změřena a srovnána IČ spektra jak značeného, tak i neznačeného derivátu **IX**. Značený derivát **IX** - ¹⁵N byl připraven výše uvedeným postupem z cyklizačního produktu **VI** obsahující izotop dusíku ¹⁵N v poloze 2 triazinového cyklu. Ze spekter nebyla patrná oblast N-H valenčních vibrací nad 3000 cm⁻¹. Nepodařilo se tudíž zjistit, o kterou tautomerní formu derivátu **IX** se jedná.

Obr. 1 - IČ spektrum 2-amino-3-(fenylazo)-indolu **IX**



3.2.3 Štěpení dusíkatými nukleofily

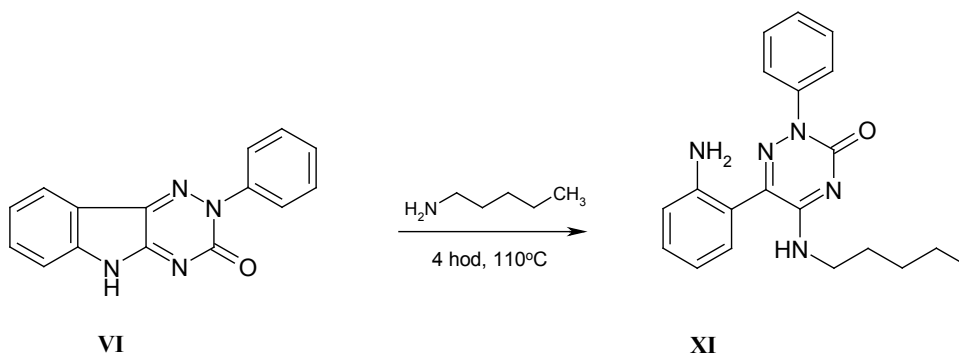
Tato diplomová práce si stanovila za cíl prozkoumat i vliv dusíkatých nukleofilních činidel na [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indolový skelet. Otevírá se zde totiž velká možnost přípravy derivátů 6-azacytosinů, které by mohly být zajímavé z pohledu biologické aktivity.

Ke zkoumání vlivu těchto činidel na výchozí triazin **VI** byli zvoleni zástupci některých primárních a sekundárních aminů. Z primárních aminů byly provedeny reakce s pentylaminem, cyklopentylaminem, cyklohexylaminem, cykloheptylaminem, benzylaminem a s anilinem. Ze sekundárních aminů pak byly provedeny reakce s piperidinem a dipropylaminem.

3.2.3.1 Štěpení primárními aminy

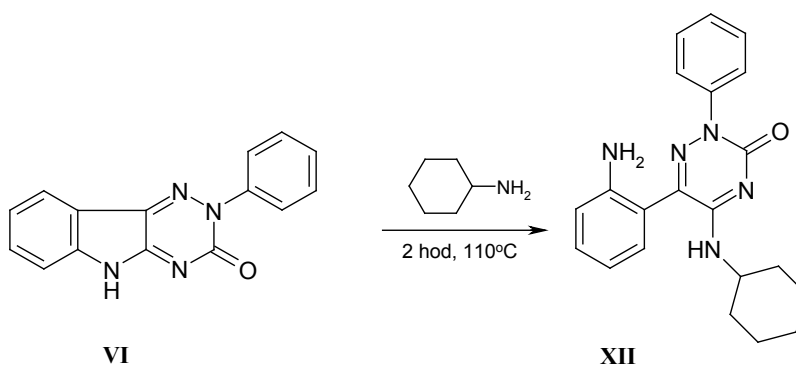
3.2.3.1.1 Štěpení pentylaminem

Za účelem přípravy derivátů 6-azacytosinů byl jedním ze zvolených aminů pentylamin. Vzhledem k poznatkům z benzofuranové a [6,5-*b*]indolové řady se předpokládalo štěpení pyrrolového cyklu triazinoindolu **VI**.²⁹ Pro reakci byly nalezeny obdobné reakční podmínky, jaké byly u indolového systému s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem. Prvotně zvolená reakční doba 2 hodiny se ukázala být nedostatečná. Produkt reakce, obsahující podíl výchozí látky do 10%, byl podroben krystalizaci z EtOH. LC-MS analýzou se však ukázalo, že látka i po krystalizaci obsahuje stále stejné množství výchozí látky **VI**. Pro úplnou konverzi triazinu **VI** v derivát **XI** bylo tudíž zapotřebí prodloužit reakční dobu a zahřívat směs s pentylaminem po dobu 4 hodin při teplotě 110 °C. Směs byla zpracována nalitím do vody obsahující 1,1 ekvivalent CH₃COOH vzhledem k použitému aminu. Tímto způsobem byla připravena okrově žlutě zbarvená krystalická látka **XI** ve více jak 90% čistotě (na základě LC-MS analýzy).



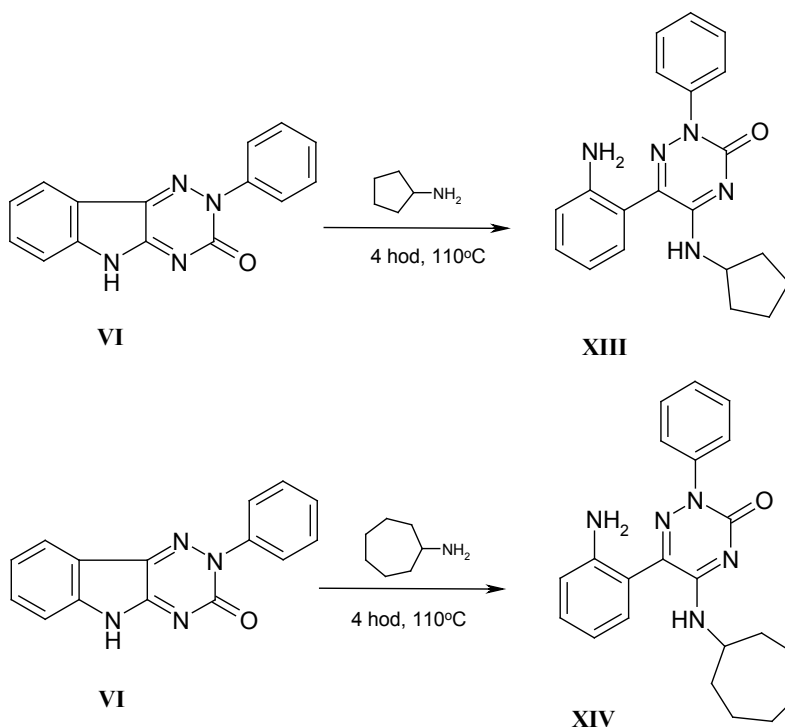
3.2.3.1.2 Štěpení cyklopentylaminem, cyklohexylaminem, cykloheptylaminem

Při přípravě dalších derivátů 6-azacytosinů byl jako první ze série homologické řady aminů použit cyklohexylamin. Opět byl brán ohled na reakční podmínky vzhledem k reakci výchozí látky **VI** s pentylaminem. Pro odreagování výchozího triazinoindolu **VI** a vznik derivátu **XII** bylo třeba zahřívát směs po dobu 2 hodin při teplotě 110 °C. Ke zpracování stačilo směs nalít do vody a zfiltrvat žlutou krystalickou látku za obdržení 95% výtěžku.



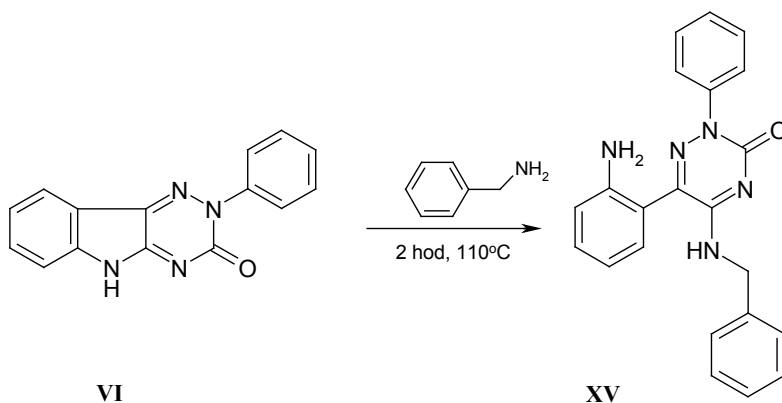
Ke kvantitativnímu štěpení pyrrolového cyklu triazinoindolu **VI** cyklopentylaminem a cykloheptylaminem už bylo už zapotřebí 4 hodin zahřívání směsi při teplotě 110 °C. Zpracováním směsi nalitím do vody se nevylučovala krystalická látka, směs byla ve formě emulze. Proto byla bazicita aminů otupena 1,1 ekv. CH₃COOH. To však vedlo ke vzniku jemně krystalické látky, která procházela při filtraci filtračním papírem, a tak bylo při dalších zpracováních využito ultrazvuku, který způsoboval, že se ze směsi

vysrážely dobře filtrovatelné krystalky produktu. Tímto způsobem byly připraveny okrově zbarvené krystalické látky **XIII** a **XIV** ve vysoké čistotě a výtěžcích.



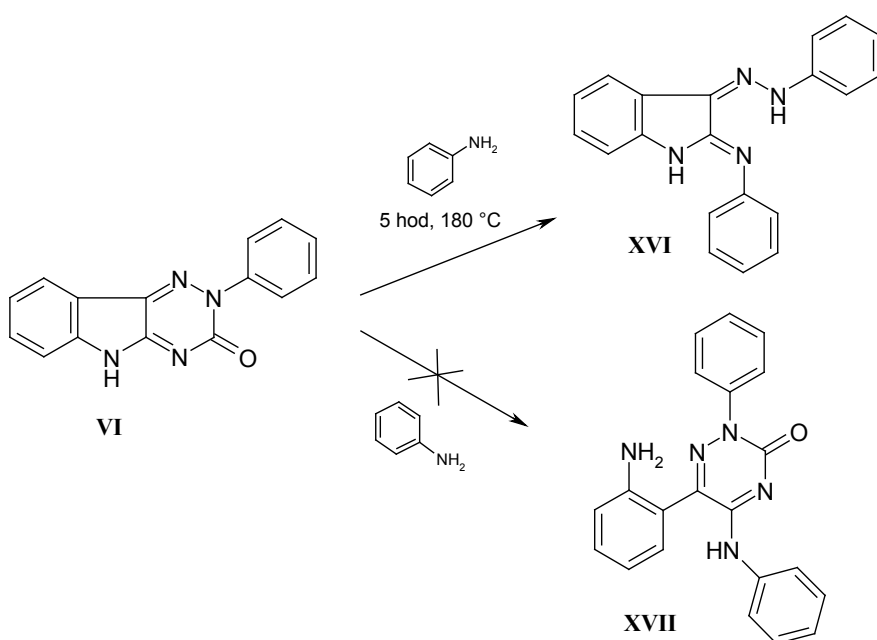
3.2.3.1.3 Štěpení benzylaminem

Dalším z použitých aminů byl benzylamin. K úplné konverzi došlo po 2 hodinách zahřívání směsi při teplotě 110 °C, jako tomu bylo u reakce s cyklohexylaminem. Zpracování reakční směsi pak probíhalo nalitím do vody a otupením její bazicity kyselinou octovou. Vypadávání produktu ve formě krystalků napomáhalo použití ultrazvuku. Bez tohoto kroku bylo závěrečnou směs téměř nemožné filtrovat, protože vzniklý derivát **XV** vypadával ve formě tak drobných krystalků, že docházelo k tomu, že celá směs procházela filtračním papírem. Reakcí bylo dosaženo 93% výtěžku ve formě jemně krystalické, okrově žluté látky **XV** opět ve vysoké čistotě (přes 90% na základě LC-MS analýzy).



3.2.3.1.4 Štěpení anilinem

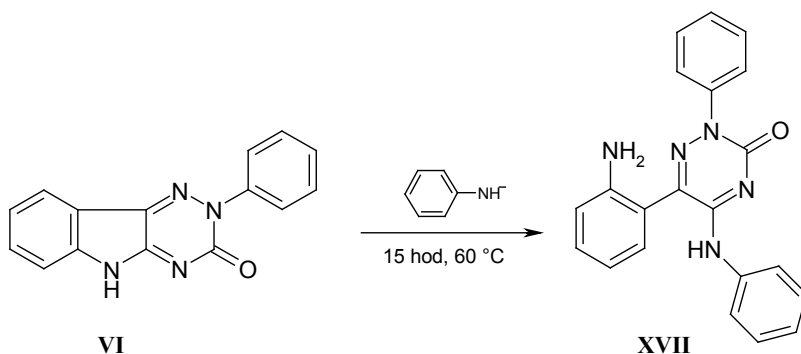
Při použití anilinu se vzhledem k poznatkům z benzofuranové a benzothiofenové řady předpokládalo štěpení triazinoindolového systému **VI** buďto na 1,2,4-triazinovém skeletu za vzniku hydrazonosloučeniny **XVI** jako tomu bylo v benzo[*b*]thiofenové řadě, anebo na pyrrolovém cyklu za vzniku *N*-fenyl derivátu **XVII** jak tomu bylo v řadě benzofuranové. Oproti [6,5-*b*]indolové řadě přinesla reakce triazinoindolu **VI** s anilinem pozitivní, zajímavé výsledky. Při zahřívání směsi po dobu 5 hodin (při teplotě olejové lázně 180 °C) v anilinu docházelo k otevírání 1,2,4-triazinového cyklu, obdobně jako u benzothiofenové řady, a byl připraven hydrazonoderivát **XVI** ve formě světle hnědě zbarvené krystalické látky ve výtěžku 82%.



3.2.3.1.5 Štěpení anilidem

Zvrátit průběh výše uvedené reakce triazinoindolového systému sloučeniny **VI** se podařilo za použití anilidu lithného. Odtržením atomu vodíku z anilinu vznikla částice, která má mnohem větší nukleofilitu než samotný anilin. Tímto způsobem došlo ke změně průběhu reakce, kdy se štěpil pyrrolový cyklus triazinu **VI** a vznikl tak žádaný derivát 6-azauracilu **XVII**, podobná látka jako v benzoforanové řadě, kde však k jeho vzniku stačil anilin samotný.

Experimentální podmínky byly přizpůsobeny podobným reakcím z literatury.²¹ Avšak navzdory vysoké nukleofilitě anilidu ani po dvou dnech míchání při T_{lab} k reakci sloučeniny **VI** nedocházelo. Proto bylo přistoupeno ke změně reakčních podmínek. Směs triazinu s anilidem (vzniklý z anilinu a roztoku butyllithia), která byla připravena za teploty $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, byla po vytemperování na laboratorní teplotu zahřívána v reakční vialce při teplotě $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 15 hodin. Při těchto reakčních podmínkách už k reakci došlo a byl připraven derivát **XVII** o vysoké čistotě ve výtěžku 92%.

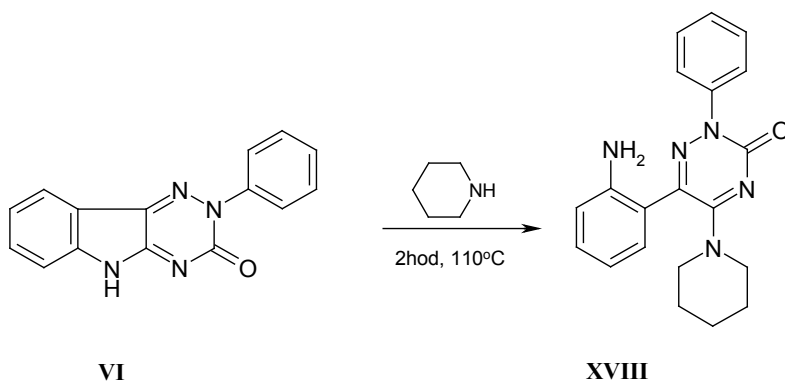


3.2.3.2 Štěpení sekundárními aminy

3.2.3.2.1 Štěpení piperidinem

Reakce s prvním z použitých sekundárních aminů - piperidinem probíhala hladce. Při teplotě $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ došlo už po 2 hodinách k otevření pyrrolového cyklu triazinoindolu **VI** za vzniku piperidinoderivátu **XVIII**, obdobně jako tomu bylo v benzofuranové,

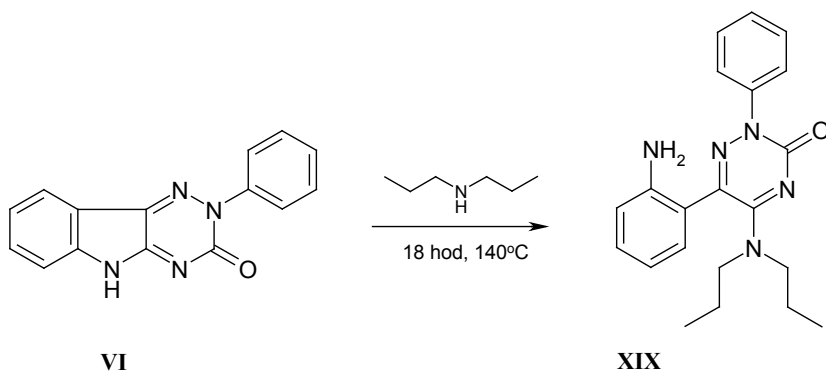
popř. naftofuranové řadě. Vzniklá směs byla nalita do vody, odsáta a promyta vodou. Výtěžek reakce činil 96% ve formě jasně žluté krystalické látky.



Nalezení optimálních podmínek nejenom pro štěpení triazinoindolu **VI** piperidinem bylo snazší než u indolového systému s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem, jehož produkty štěpení byly velmi náchylné k recyklizaci za vzniku výchozího triazinu. Z tohoto důvodu byla provedena i zkouška na stabilitu systému **XVIII** (viz kapitola 3.3).

3.2.3.2.2 Štěpení dipropylaminem

Nejobtížněji docházelo ke štěpení triazinoindolu **VI** za použití dipropylaminu, kdy původní 4 hodiny zahřívání směsi 110 °C nebyly dostatečné. Značný problém nastal již při rozpouštění triazinu **VI** v dipropylaminu. Muselo být použito velkého nadbytku zmíněného aminu. K úplné konverzi výchozí látky pak docházelo až po 18 hodinách zahřívání, a to při teplotě vyšší než u ostatních aminů - při 140 °C. Byl připraven produkt **XIX** ve vysoké čistotě (dle analýzy LC-MS), avšak výtěžek této reakce činil pouze 67%. Jedná se o žlutooranžovou krystalickou látku.

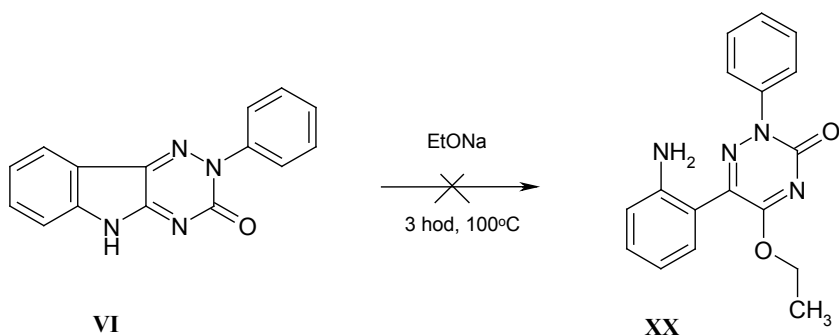


3.2.4 Štěpení kyslíkatými nukleofily

Byla provedena i reakce s jedním z kyslíkatých nukleofilů, konkrétně s ethoxidem sodným. Bylo zajímavé sledovat, zda k reakci bude docházet.

3.2.4.1 Štěpení ethoxidem sodným

Byl připraven ethoxid sodný, který byl okamžitě použit v reakci s triazinoindolem **VI**. Směs byla míchána 2 hodiny za laboratorní teploty a zpracována okyselením kyselinou octovou. Ke vzniku analogického derivátu **XX**, jako tomu bylo např. u [1]benzothieno[2,3-*e*][1,2,4]triazinů,²¹ nedocházelo, a to ani při zahřátí směsi na 100 °C. Ve směsi byl přítomen pouze výchozí triazinoindol **VI**.



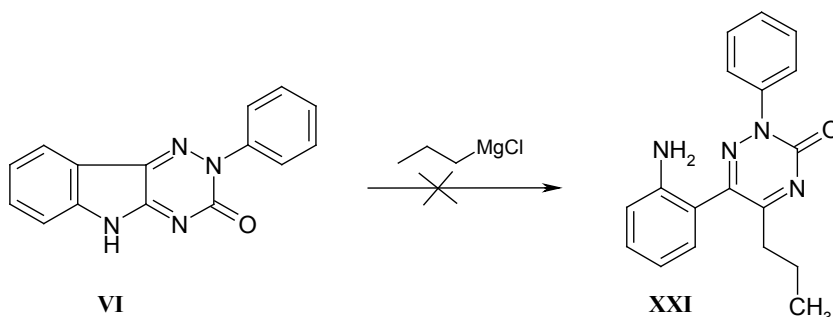
3.2.5 Štěpení uhlíkatými nukleofily

Z uhlíkatých nukleofilních činidel byly ke zkoušení stability triazinoindolu **VI** použity Grignardovy sloučeniny: propylmagnesiumchlorid a fenylmagnesiumchlorid. Systém uhlík - kov má velký rozdíl v elektronegativitě, proto se předpokládalo, že průběh reakcí s činidly o vysoké nukleofilitě bude hladší než u předchozích nukleofilních činidel.

3.2.5.1 Štěpení propylmagnesiumchloridem

Za účelem navázání alifatického uhlovodíkového zbytku do polohy 5 triazinového cyklu, který měl vzniknout štěpením pyrrolového cyklu výchozí sloučeniny **VI**, byl zvolen propylmagnesiumchlorid. Experimentální podmínky byly přizpůsobeny podobným reakcím z literatury,²¹ avšak ke vzniku derivátu **XXI** nedošlo.

Směs triazinoindolu **VI** s Grignardovým činidlem byla nejprve připravována za teploty $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a následně měla reakce proběhnout při temperování směsi na laboratorní teplotu. Výchozí látka po přidání propylmagnesiumchloridu přešla do roztoku tmavé barvy. Na základě analýzy LC-MS však bylo zjištěno, že reakční doba je nedostačující pro konverzi výchozí látky. Proto se po vytemperování směsi triazinoindolu **VI** s propylmagnesiumchloridem na T_{lab} pokračovalo v jejím míchání ještě 1 den. Ani tímto způsobem nevznikal ve směsi derivát **XXI**.



Analýzou reakční směsi na LC-MS se v záporném módu objevil požadovaný molekulární iont odpovídající sloučenině **XXI**, avšak spolu s ním se zde vyskytoval

i molekulární iont triazinoindolu **VI**. V poměru však produkt štěpení nedosahoval ani 10% výchozí látky a ani výše uvedenými modifikacemi reakčních podmínek se poměr ve prospěch produktu **XXI** nezměnil.

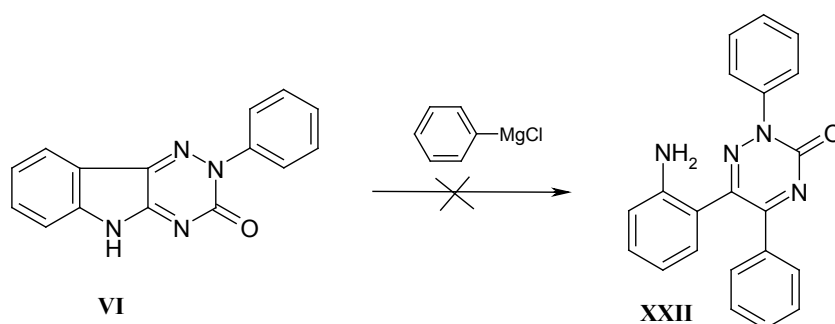
3.2.5.2 Štěpení fenylmagnesiumchloridem

Při práci s fenylmagnesiumchloridem nastalo stejné úskalí, které bylo pozorováno u propylmagnesiumchloridu. Provedení reakce na základě literatury ²¹ za účelem přípravy sloučeniny **XXII** reakcí triazinoindolu **VI** s fenylmagnesiumchloridem při temperování směsi z -50 °C na T_{lab} nevedlo ke vzniku derivátu **XXII**.

Proto byl vyzkoušen postup, kdy byla směs výchozí látky **VI** a Grignardova činidla připravena za laboratorní teploty a následně byla míchána 24 hodin za T_{lab}. Ani tento postup nevedl ke vzniku derivátu **XXII**.

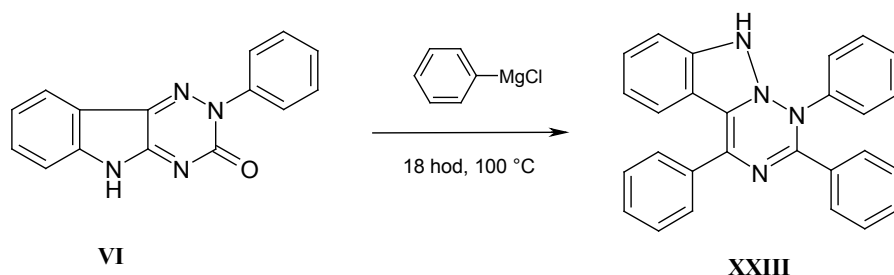
Při zahřívání směsi triazinoindolu **VI** s Grignardovým činidlem při teplotě olejové lázně 80 °C po dobu 5 hodin se na LC-MS objevil požadovaný molekulární iont, avšak spolu s ním se zde vyskytoval i molekulární iont triazinoindolu **VI**, který byl dominantní (přes 90%) a jeho podíl se nezměnil ani při dalším zahřívání směsi.

Poslední pokus o přípravu derivátu **XXII** byl realizovaný za intenzivních podmínek. Za T_{lab} byla připravena směs triazinoindolu **VI** s 6 mol nadbytkem fenylmagnesiumchloridu. Tmavý roztok pak byl zahříván 18 hodin při teplotě olejové lázně 100 °C.



Za podmínek, kdy byla směs s nadbytkem činidla zahřívána 18 hodin došlo k reakci, při níž byla za otevření pyrrolového kruhu triazinoindolu **VI** Grignardovým činidlem neočekávaně atakována nejenom poloha 5 triazinového cyklu, ale i karbonylová skupina tohoto triazinu za vzniku pravděpodobně derivátu **XXIII**. Tato struktura byla

navržena pouze na základě MS spektra z LC-MS analýzy, kdy se tato látka projevila. Snaha získat tuto látku v čistém stavu krystalizací nebyla úspěšná. Ve vodně ethanolickém roztoku docházelo k jejímu rozkladu za vzniku směsi, kde dominoval v kladném modu iont $m/z = 477,08$. Ten se ale identifikovat zatím nepodařilo.



3.3 Stabilita připravených 6-azauracilů

V [6,5-*b*]triazinoindolové řadě byly produkty vzniklé štěpením nukleofilními činidly náchylné k recyklizaci za vzniku výchozího triazinu. Obzvláště citlivé pak byly tyto deriváty v kyselém prostředí.²⁹ Obecně je totiž známo, že seskupení funkčních skupin, jako je tomu u *o*-aminofenyl-6-azauracilů je nestálé v kyselém prostředí, kdy tyto látky cyklizují v příslušné indolotriaziny, čehož se rovněž využívá při jejich přípravě⁴⁰

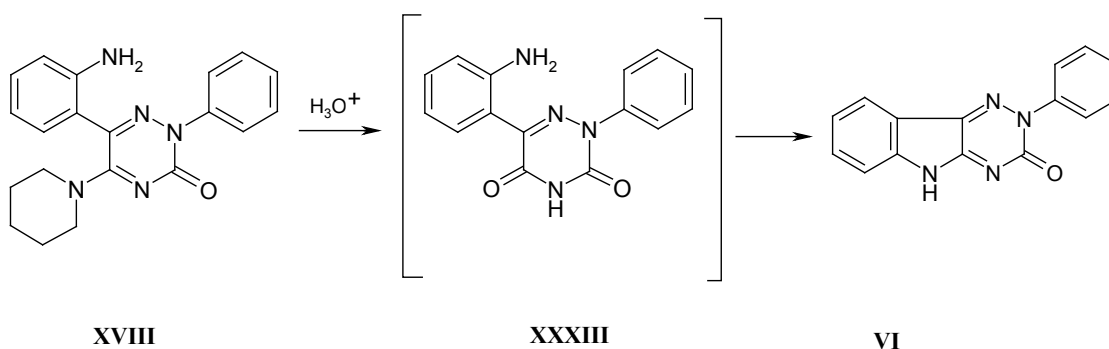
Z důvodu nalezení ideálních podmínek ke zpracování směsí po reakcích [5,6-*b*]triazinoindolu **VI** s aminy byla provedena zkouška stability připravených 6-azacytosinů, a to zejména v kyselém prostředí. Dalším důvodem této stabilitní studie byl záměr přeměnit volnou aminoskupinu, která vzniká po otevření pyrrolového kruhu triazinu **VI** na diazoniovou sůl, která by byla dále využita k azokupulačním reakcím za účelem syntézy dalších látek, kdy některé by mohly posloužit jako výchozí látky pro další z hlediska biologické aktivity zajímavé heterocyklické systémy (viz. kapitola 3.4).

3.3.1 Studium stability 4-piperidino-6-azacytosinu XVIII

Zástupcem pro zkoumání stability připravených 6-azauracilů byl zvolen piperidino-derivát XVIII. Bylo zjištěno, že k jeho recyklizaci nedochází při míchání ve vodném ethanolickém roztoku za laboratorní teploty.

V 10% roztoku HCl se ukázalo, že derivát XVIII není rozpustný, proto bylo nutné použít ethanolický roztok HCl.

Ke zpětné cyklizaci systému za vzniku výchozího triazino[5,6-*b*]indolu VI dochází v ethanolickém roztoku okyseleném kyselinou chlorovodíkovou. Tento jev je nejvýraznější při refluxu, kdy je ve směsi přítomen pouze výchozí triazin VI po 6 hod zahřívání (100 °C). Při míchání za laboratorní teploty je zpětná cyklizace piperidinoderivátu XVIII pomalejší. Ani po dvou dnech míchání směsi nedochází ke 100% konverzi látky.



V prostředí acetonu okyseleného kyselinou octovou není recyklizace při refluxu tak rychlá jako při refluxu v prostředí EtOH/HCl. Ještě po 10 hodinách zahřívání při 100 °C je ve směsi značný podíl piperidinoderivátu XVIII (cca 70%). Nejpomaleji recyklizace probíhá v prostředí acetonu okyseleného kyselinou octovou při míchání za laboratorní teploty. Po dvou dnech míchání směsi nedochází ani k 50% konverzi látky.

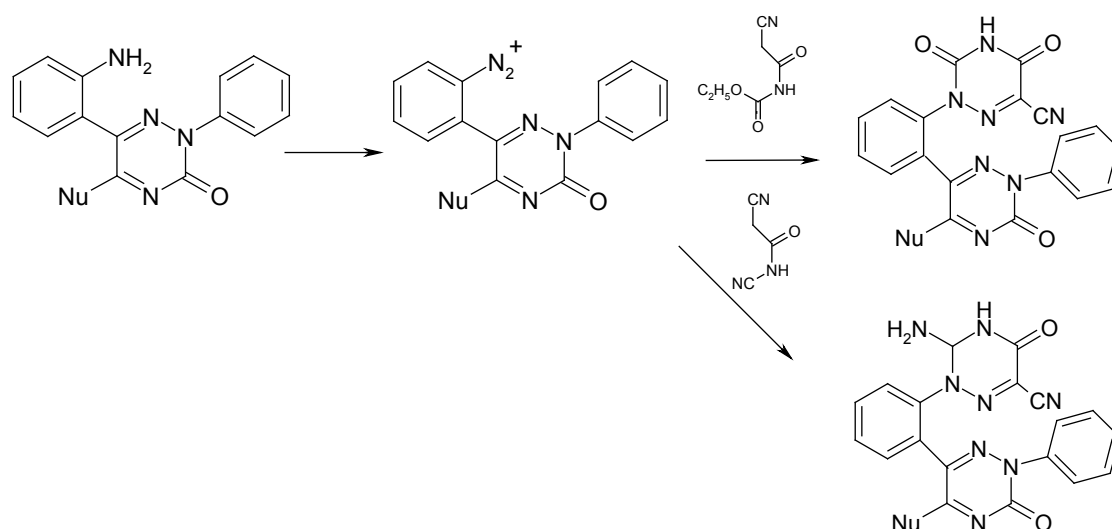
Z tohoto pozorování bylo usouzeno na zpracování směsí po reakcích s aminy vodou s malým přebytkem kyseliny octové (1,1 ekv). Piperidinoderivát XVIII se totiž ukázal být nejstabilnější za T_{lab} ve vodném prostředí okyseleném CH₃COOH.

3.4 Pokus o azokopulační reakce připravených 6-azauracilů

Vzhledem k přítomné, vzniklé primární aromatické NH₂ skupině derivátů **XI** - **XIX** se nabízí možnost připravit přes diazoniové soli další sloučeniny obsahující např. 6-azauracilový, resp. 6-azacytosinový skelet, které jsou zajímavé z pohledu potenciální biologické aktivity.

3.4.1 Studium azokopulačních reakcí na 4-piperidino-azacytosinu **XVIII**

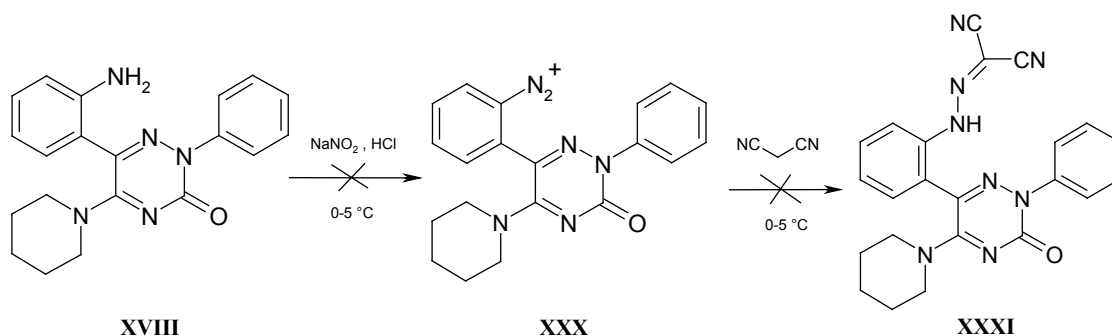
Po provedení zkoušky na stabilitu piperidinoderivátu **XVIII** byly provedeny pokusy o diazotaci NH₂ skupiny za účelem přípravy azokopulačních produktů, kdy některé by mohly posloužit jako výchozí látky pro další heterocyklické systémy.



Nu = RO-, RS-, R¹R²N-, alkyl-, aryl-

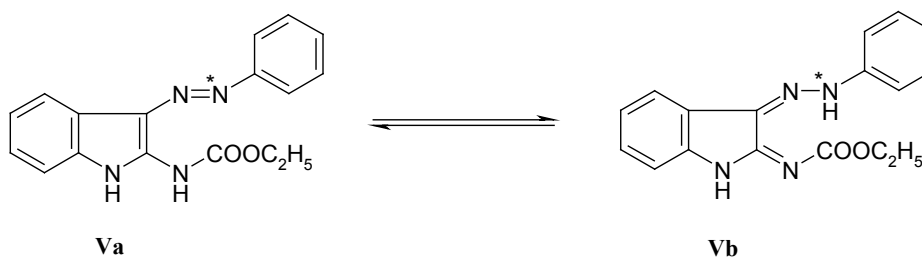
První pokus přeměnit piperidinoderivát **XVIII** na diazoniovou sůl **XXX** s následnou azokopulací byl proveden s malondinitrilem. U piperidinoderivátu **XVIII** nastalo úskalí ve špatné rozpustnosti látky. Po diazotaci látky **XVIII** v suspenzi a následné filtraci diazoniové soli nedošlo k azokopulaci. Ani při reakci, kdy bylo zfiltrováno větší množství piperidinoderivátu, které bylo následně okyseleno a diazotováno, azokopulace s malondinitrilem neproběhla. Poslední pokus o vytvoření diazoniové soli byl proveden ve vodném ethanolickém prostředí, kdy přešla do roztoku větší část piperidinoderivátu

XVIII než v předchozích pokusech. Ani tak ale diazoniová sůl nevzniká, ve směsi se vyskytuje pouze výchozí látka.

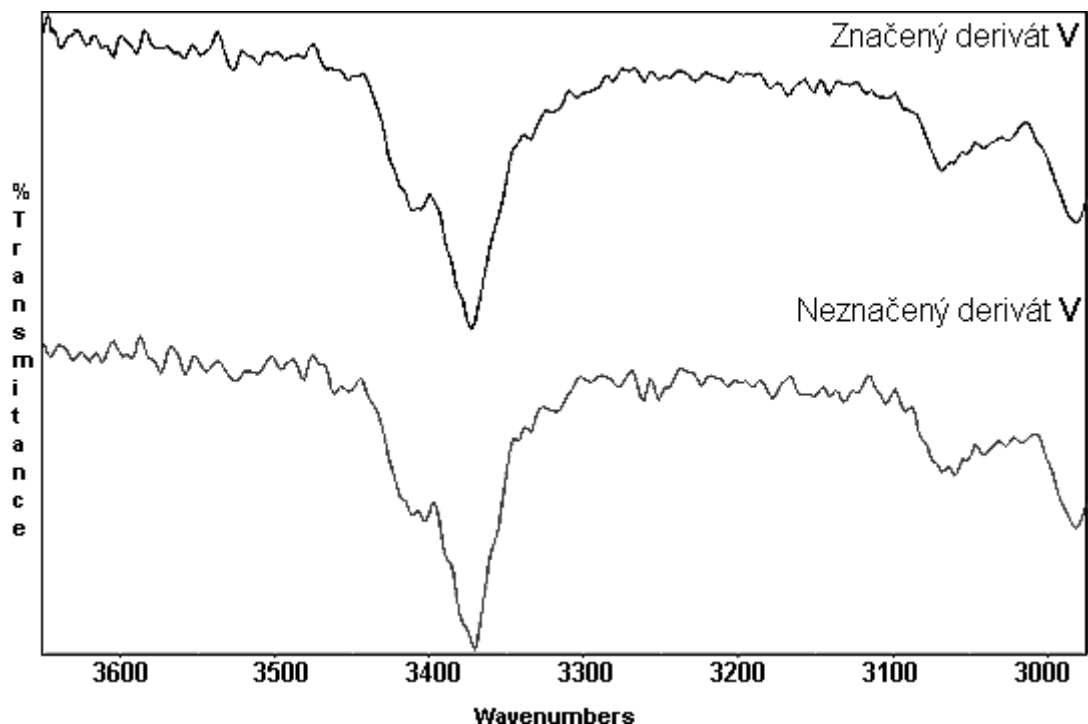


3.5 Studium azo-hydrazonové tautomerie derivátů Va a Vb

3-Fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindol **Va** může existovat ve své tautomerní hydrazono formě **Vb**. Azo-hydrazonová tautomerie byla studována pomocí IČ spektroskopie v tertachlormethanovém roztoku u izotopicky značeného derivátu **V**. Za tímto účelem byl za použití anilinu ^{15}N připraven derivát **V** obsahující tento izotop. Již pouhým srovnáním IČ spekter značeného a neznačeného derivátu bylo vidět, že spektra jsou v oblasti valenčních vibrací N-H vazeb, tedy nad 3000 cm^{-1} , zcela identická. V záznamu IČ spektra se projevil přítomný velice malý absorpční pás při 3370 cm^{-1} , který odpovídá N-H karbamátové (případně N-H v pyrrolo) valenční vibraci azo tautomerní formy **Va**. Pokud by se jednalo o hydrazono formu **Vb**, muselo by být absorpční maximum značeného derivátu atomem ^{15}N posunuto o 7 cm^{-1} k nižším hodnotám vlnočtu (tak by to bylo v souladu se vztahem $\tilde{\nu} = 1/2\pi(K/\mu)^{1/2}$). Přítomnost azo formy byla rovněž jednoznačně potvrzena pomocí ^{15}N -NMR spektroskopie, kdy chemický posun $\delta = 66\text{ ppm}$ v ^{15}N -NMR značeného derivátu jasně svědčí o převažující azo formě. Pro toto konstatování bylo použito tabulkových experimentálních hodnot pro azo formu, $\delta = 128\text{ ppm}$ a pro hydrazono formu, $\delta = -205\text{ ppm}$.⁴¹



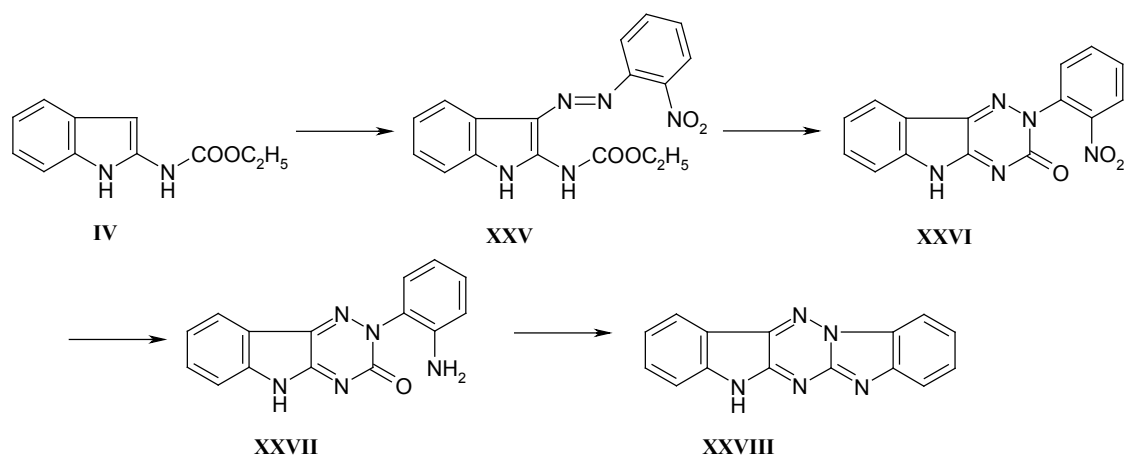
Obr. 2 - Srovnání IČ spekter značeného a neznačeného 3-fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindolu V



3.6 Příprava 7*H*-benzo[4',5']imidazo[1',2':2,3][1,2,4]triazino[5,6-*b*]indolu

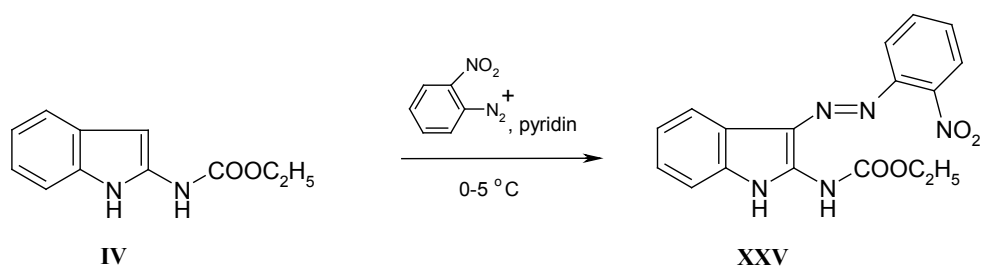
Na principu azokopulační reakce a následné cyklizace vzniklého hydrazono-karbamátu (viz. kapitola 3.1.4 a 3.1.5) se nabízela možnost připravit planární kondenzovaný heterocyklus. Je známo, že planární struktury se mohou interkalovat do dvojité šroubovice DNA, a tak ovlivnit činnost některých důležitých enzymů. Následná změna v terciární struktuře DNA se projeví např. inhibicí RNA polymerázy nebo DNA topoizomeráz. Interkalace patří mezi nejdůležitější mechanismy cytostatického působení planárních polycyklických molekul a z tohoto hlediska by mohl být zajímavý z pohledu potenciální biologické aktivity tento heterocyklus.

Princip přípravy kondenzovaného systému **XXVIII** byl založen na přípravě 2-fenyl derivátu [1,2,4]triazino[5,6-*b*]indolu **XXVII**, který obsahuje v poloze 2-benzenového jádra aminoskupinu, která by se pak kondenzovala s karbonylovou skupinou 1,2,4-triazinového jádra.



3.6.1 Příprava 3-(2-nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindolu XXV

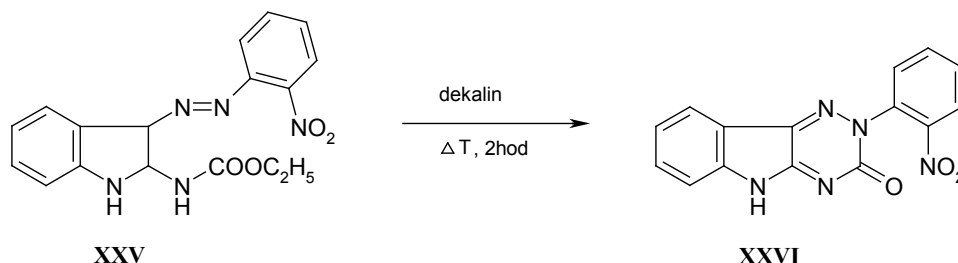
Za účelem přípravy 3-(2-nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindolu **XXV** byla s ethyl-2-indolykarmátem **IV** provedena azokopulace s *orto*-nitrobenzediazoniovou solí. Oranžová suspenze diazoniové soli byla připravena rozpuštěním pevného *o*-nitroanilinu za horka ve vodě s kyselinou chlorovodíkovou. Po zchlazení směsi na T_{lab} byl za chlazení přidán roztok NaNO_2 . Dále už byl postup stejný jako u přípravy derivátu **V**. Reakce byla provedena s výtěžkem 88% oranžové krystalické látky.



3.6.2 Příprava 2-(2-nitrofenyl)-2,3-dihydro-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol-3-onu XXVI

Stejným způsobem, jakým byl připraven triazinoindol **VI**, byl připraven i nitro derivát **XXVI**. Varem 3-(2-nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindolu **XXV** v dekalinu došlo během 2 hodin k cyklizaci a tím byl připraven derivát **XXVI** v 85%

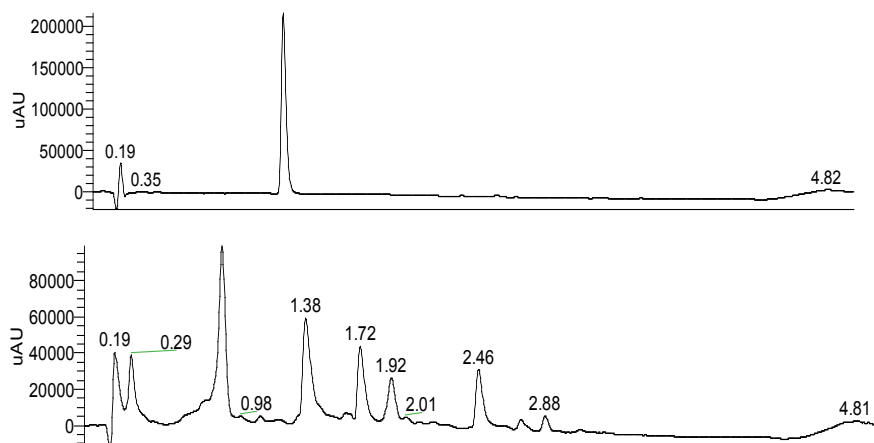
výtěžku. Produkt je téměř nerozpustný ve většině rozpouštědel, jako nejvhodnější rozpouštědlo pro krystalizaci byla použita kyselina octová. Ta musela být použita ve velkém nadbytku, kdy na 200 mg triazinu bylo použito 20 ml ledové kyseliny octové.



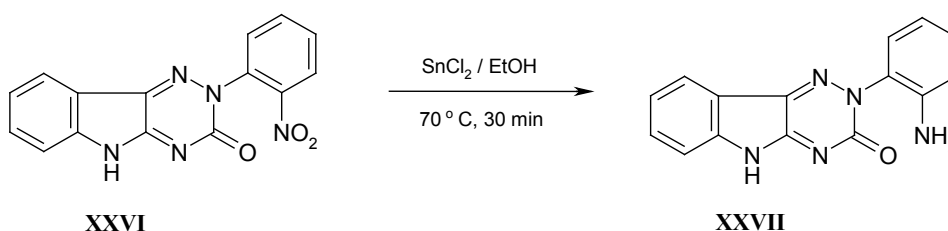
3.6.3 Příprava 2-(2-aminofenyl)-2,3-dihydro-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol-3-onu XXVII

K uzávěru nového cyklu bylo potřeba zredukovat nitroskupinu derivátu **XXVI** na aminoskupinu a připravit tak aminoderivát **XXVII**. Jedním ze způsobu jak pohodlně zredukovat nitro skupinu na amino je redukce vodíkem v přítomnosti hydrogenačního katalyzátoru. Jako první byla vyzkoušena tato metoda za použití palladia na aktivním uhlí. Nitroderivát **XXVI** byl rozpuštěn v kyselině octové a následně byla provedena redukce v autoklávu vodíkem v přítomnosti Pd/C při tlaku 5 bar. Po 20 hodinách byla kyselina octová odpařena na RVO. Během odpařování, ale hlavně při styku se vzdušným kyslíkem docházelo k intenzivnímu zabarvování produktu (od světle zelené přes azurově modrou až po temně fialovou), což svědčilo o snadné oxidaci produktu. Reakce proto byla zopakována a její zpracování bylo prováděno v atmosféře argonu. Avšak i v tomto případě se nepodařilo získat čistou látku. Opět při manipulaci docházelo k degradaci produktu a výsledkem byla bohatá směs, obsahující pravděpodobně i produkty redukce jak pyrrolového, tak i triazinového cyklu. Důkazem toho byl i bohatý chromatogram LC-MS analýzy s množstvím produktů.

Obr. 3 - Záznam chromatogramu nitroderivátu **XXVI** před a po redukcí vodíkem



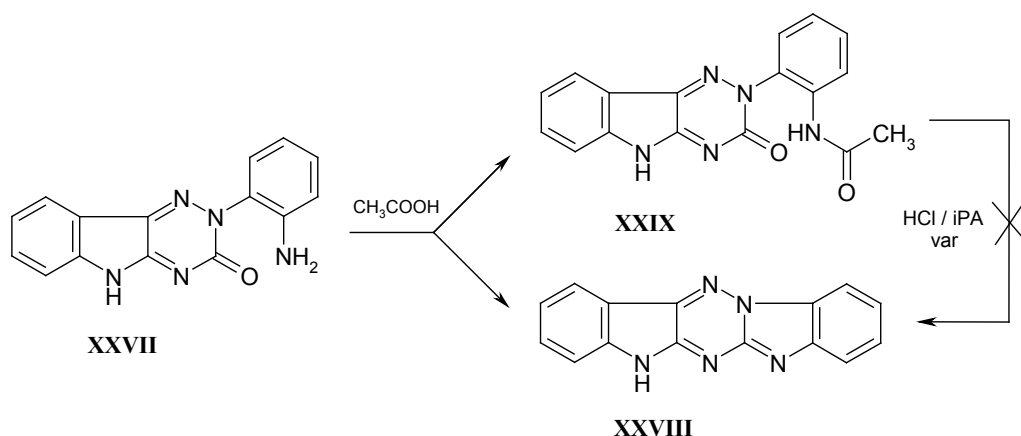
Z tohoto důvodu byl pro redukcí nitroskupiny použit chlorid cínatý, který má selektivní redukční vlastnosti pro NO_2 skupinu. V bezvodém EtOH okyseleném HCl byl při zahřátí rozpuštěn SnCl_2 . Do roztoku byl přidán nitroderivát **XXVI**. Směs byla míchána 30 minut při 70°C . Již po 5 minutách se z hnědé směsi začal vylučovat velký podíl žluté krystalické látky, která postupně přecházela v oranžovou. Směs byla zpracována nalitím do vody, kdy došlo ke kvantitativnímu vyloučení produktu. Derivát **XXVII** byl připraven v 88% výtěžku sytě červené krystalické látky ve více jak 90% čistotě na základě LC-MS analýzy.



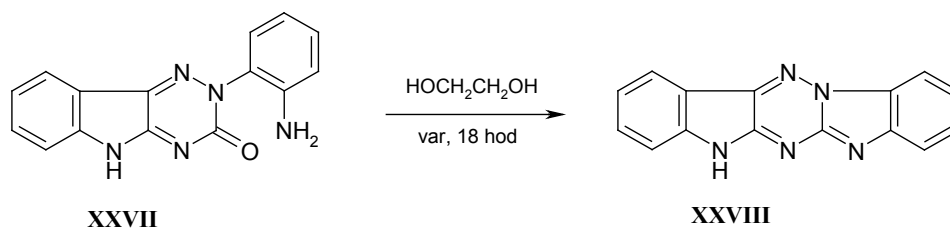
3.6.4 Příprava 7H-benzo[4,5]imidazo[1,2':2,3][1,2,4]triazino[5,6-b]indolu **XXVIII**

Podle literatury ^{34 - 38} stačí k uzavěru imidazolového cyklu u sloučenin podobného seskupení funkčních skupin jako je tomu u derivátu **XXVII** refluxovat látky v kyselině octové. Po 8 hodinách zahřívání v reakční vialce při teplotě 120°C však kromě vzniku

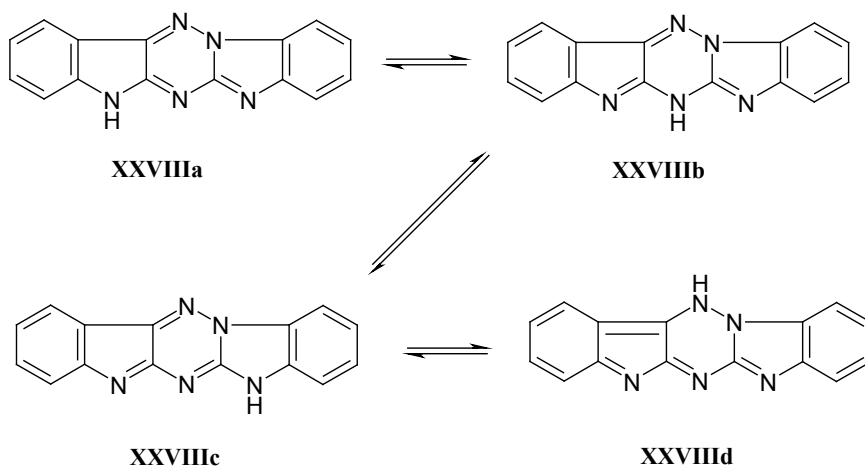
žádaného produktu **XXVIII** docházelo i k acetylaci aminoskupiny za vzniku acetylovaného produktu **XXIX**. Poměry acylovaného a cyklizačního produktu byly srovnatelně stejné a neměnily se dalším zahříváním. Pokus o ochránění aminoskupiny ve prospěch cyklizačního produktu byl proveden varem ve směsi isopropylalkohol / HCl. Došlo sice k hydrolyze acetylové skupiny, ale cyklizace už však dále neproběhla. Na základě této reakce vznikla domněnka, že mechanismus této cyklizace není oproti původnímu předpokladu podporován kyselé, ale jinak.



Zajímavý okamžik nastal, když byla stanovována teplota tání aminoderivátu **XXVII** pod mikroskopem. V rozmezí 260 - 320 °C byl zaznamenán nadměrný růst krystalů, což bylo považováno zprvu za rekrystalizaci. Analýza těchto krystalků však ukázala, že se jedná o cyklizační produkt **XXVIII**. K cyklizaci tedy dochází ne za kyselé katalýzy, ale termicky při zahřívání. Z preparativních důvodů byla reakce provedena v ethylenglykolu při teplotě olejové lázně 200 °C. Cyklizace probíhala 18 hodin. Pro dlouhou reakční dobu byla reakce provedena i s *N*-methylpyrolidonem. Ke zkrácení reakční doby však nedošlo, oproti cyklizaci v ethylenglykolu probíhala konverze v *N*-methylpyrolidonu pomaleji. Reakce v ethylenglykolu byla provedena s 52% výtěžkem.



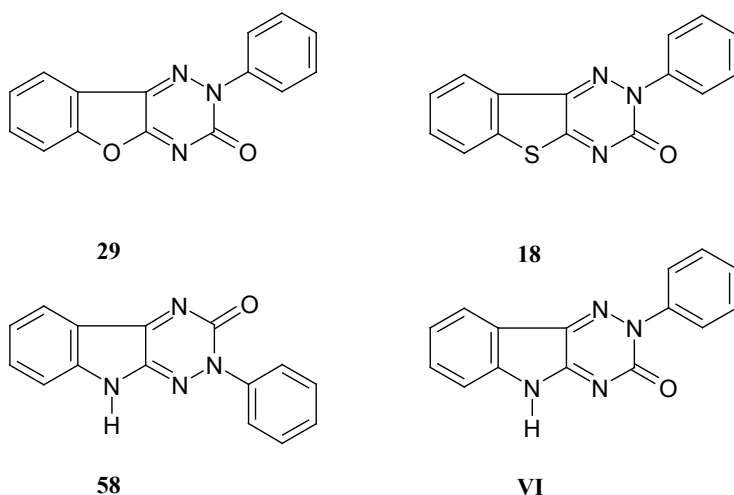
Připravená sloučenina má sytě hnědou barvu díky bohatému prokonjugování celého systému, což lze znázornit celou řadou možných tautomerních forem.



4 DISKUSE

Z poznatků učiněných v benzofuranové a benzothiofenové řadě bylo zjištěno, že benzo[b]furanový derivát **29** je kvůli své malé aromaticitě velmi málo stabilní a naproti tomu benzo[b]thiofenový derivát **18** je látka velmi stálá.

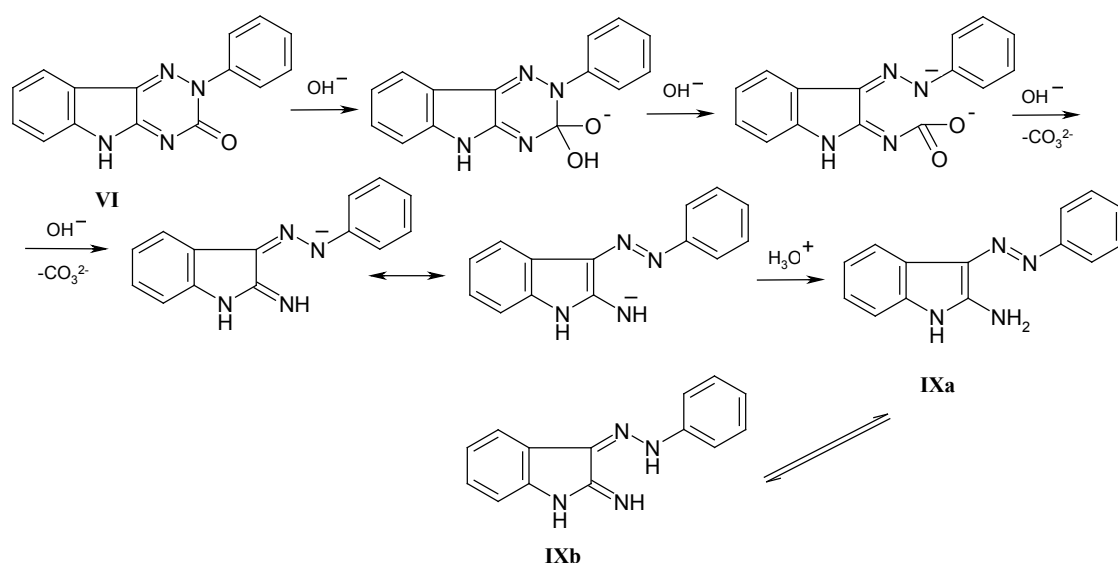
Předpoklad, že se 1,2,4-triazinoindolový skelet bude pohybovat svou stabilitou a reaktivitou někde mezi těmito dvěma heterocyklickými sloučeninami, se však nepotvrdil. Ukázalo se, že reaktivita a stabilita 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému **VI** je podobná 1,2,4-triazino[6,5-*b*]indolovému systému **58**, což znamená, že tyto systémy se v otázce stability podobají spíše benzothiofenovému skletu **18**.



1,2,4-Triazino[5,6-*b*]indolový systém je stabilnější než systémy benzo[b]furanový a benzo[b]thiofenový, což je zřejmě důsledkem rozložení elektronů na pyrrolovém jádru indolu. Volný elektronový pár stabilizuje celý systém, díky čemuž není snadné atakovat 1,2,4-triazinový cyklus v kyselém nebo alkalickém prostředí stejně snadno, jako tomu bývá u jiných typů přikondenzovaných heterocyklických systémů.

Stejně jako tomu bylo u 1,2,4-triazino[6,5-*b*]indolu **58**, je v prostředí slabých i koncentrovaných minerálních kyselin, dokonce i za zvýšené teploty, 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolový systém **VI** stálý, takže nedochází ani k otevření pyrrolového ani 1,2,4-triazinového cyklu.

U reakce s alkalickým louhem se předpokládalo, že v bazickém prostředí bude, na rozdíl od prostředí kyselého, docházet poměrně snadno ke štěpení 1,2,4-triazinového cyklu. K tomuto štěpení však dochází až za varu stěžejní látky diplomové práce **VI** v prostředí 5M - NaOH. Oproti indolovému systému s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem je reakce jednoznačná. Nedochází ke vzniku více produktů v důsledku působení či nepřístupu vzdušného kyslíku. 1,2,4-Triazinový cyklus se otevírá za vzniku azosloučeniny **IXa** (resp. její hydrazoneformy **IXb**).

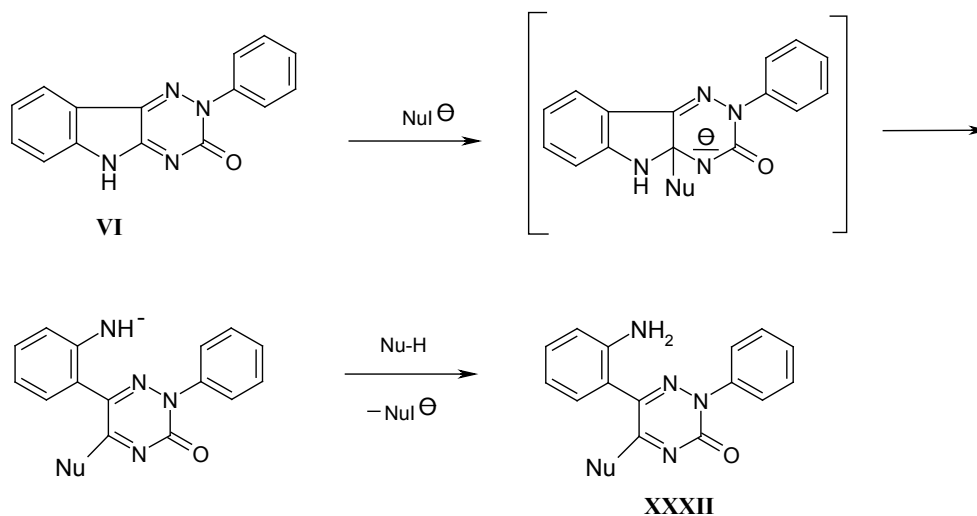


Působení ethoxidu sodného triazinoindol **VI** nepodléhá, v jeho prostředí je stabilní, a to za laboratorní teploty i při zahřívání. Štěpení pyrrolového cyklu, jako tomu bylo např. u benzothieno[1,2,4]triazinů **18**, neprobíhá.

Při působení dusíkatých nukleofilních činidel (primárních a sekundárních aminů) na 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol **VI** dochází oproti alkalickému prostředí ke štěpení pyrrolového cyklu za vzniku příslušných 1,2,4-triazin-3-onů. Reakce tedy probíhá analogicky s benzofuranovou, benzothiofenovou řadou. Stejně jako u indolového systému s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem vyžaduje štěpení pyrrolového skeletu intenzivnější reakční podmínky.

Avšak oproti indolovému systému s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem (triazino[6,5-*b*]indol **58**), kdy reakcemi s mnohými aminy vznikaly mazovité látky, bohaté směsi, které nebylo možno separovat za vyizolování požadovaných derivátů, přinesly stejné reakce s triazinoindolem **VI** lepší výsledky a byla připravena řada

nových derivátů. Atak nukleofilního činidla probíhá pravděpodobně mezi atomy 4 a 5 triazinového cyklu s následným otevřením pyrrolového cyklu.



Nu = C₅H₁₂N, C₅H₁₀N, C₆H₁₂N, C₇H₁₄N, C₇H₈N, C₆H₆N, C₅H₁₀N, C₆H₁₄N

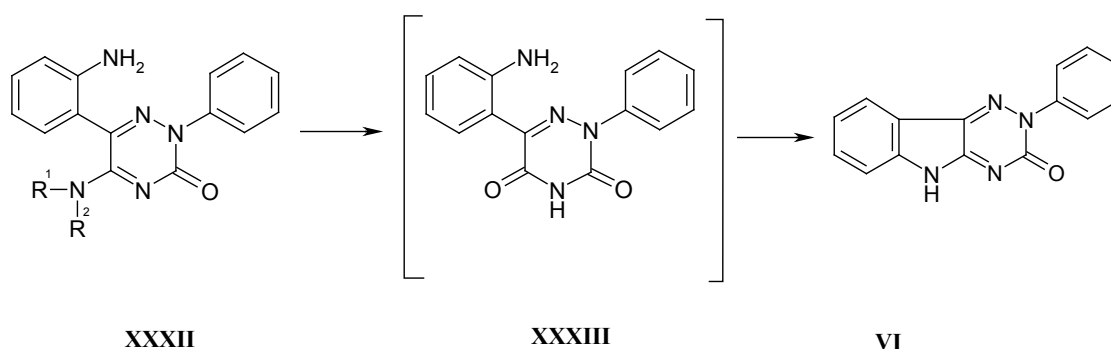
Tímto způsobem byla připravena řada 5-alkylamino-1,2,4-triazin-3-onů (**XI - XIX**). Odlišný průběh od výše uvedeného schématu měla pouze reakce s anilinem, při níž byla připravena hydrazonoslučenina **XVI** otevřením 1,2,4-triazinového cyklu. Ke štěpení pyrrolového cyklu v souladu s výše navrženým schématem pak docházelo až za použití anilidu lithného.

Ukázalo se však, že oproti benzofuranové, benzotiofenové a dokonce i indolové řadě s reverzně anelovaným 1,2,4-triazinovým cyklem, kde se podle tohoto schématu štěpil pyrrolový cyklus i za pomoci uhlíkatých nukleofilních činidel, reakce triazino[5,6-*b*]indolu **VI** s Grignardovými sloučeninami neprobíhají tak snadno. Bylo použito intenzivních reakčních podmínek, kdy k otevření pyrrolového cyklu opravdu došlo, ale zároveň s atakem uhlíku 5 vzniklého 1,2,4-triazinu, byl atakován i karbonylový uhlík triazinu **VI**. Tento derivát však nebyl připraven v dostatečné čistotě pro analýzu NMR, jeho krystalizací vznikala ve vodně ethanolickém roztoku směs, kde dominoval iont v kladném modu $m/z = 477,08$. Ten se ale identifikovat zatím nepodařilo.

Produkty štěpení pyrrolového cyklu triazinoindolu **VI** dusíkatými nukleofilními činidly, stejně jako tomu bylo u triazino[6,5-*b*]indolu **58**, jsou nestálé ke kyselé

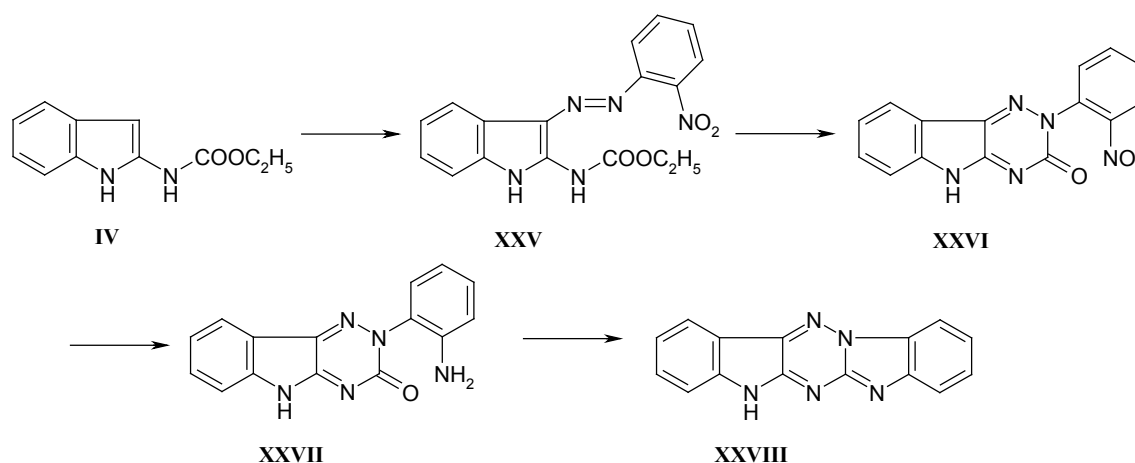
hydrolyze v prostředí polárních rozpouštědel. V reverzně anelované triazinoindolové řadě však byla otázka stability vzniklých derivátů mnohem náchylnější k hydrolyze. V 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolové řadě jsou produkty ve vodně kyselém i vodně ethanolickém prostředí stálé. Nestabilní jsou až v okyseleném vodně ethanolickém prostředí, obzvláště pak za zvýšené teploty.

Tento jev je znám z literatury, ⁴⁰ dochází ke vzniku 1,2,4-triazin-dionů **XXXIII**, které se pak za daných podmínek cyklizují. Tímto způsobem se cyklizují např. 5-(2-aminofenyl)-6-azaauracyly za vzniku izomerních derivátů 1,2,4-triazino [5,6-*b*]indolu **VI**.



Na principu azokopulační reakce a cyklizace vedoucí ke stěžejní sloučenině této diplomové práce se nabízela možnost připravit planární kondenzovaný heterocyclus, který díky této vlastnosti jeví možnost se interkalovat do dvojité šroubovice DNA, čímž by mohl ovlivňovat činnost některých důležitých enzymů. Proto se tato otázka jevila zajímavá z pohledu potenciální biologické aktivity tohoto heterocyklu.

Od karbamátu **IV**, přes 2-(2-nitrofenyl)-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on **XXVI**, který byl zredukován na amino derivát **XXVII**, byl získán planární heterocyklický derivát **XXVIII**.

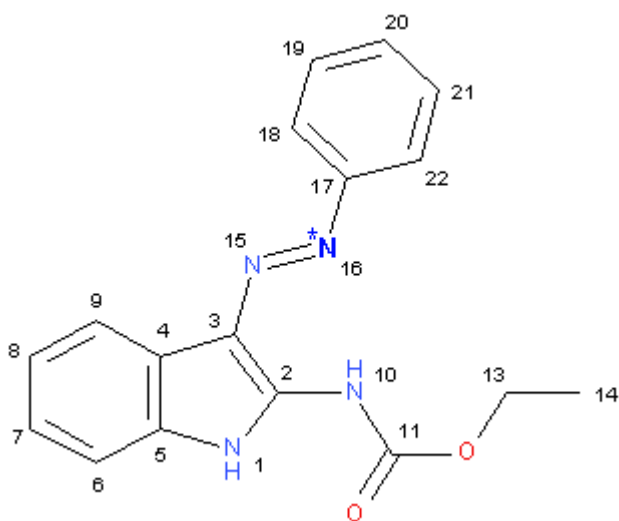


5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Měření NMR spekter bylo provedeno v roztoku DMSO – d_6 (popř. $CDCl_3$) na spektrometru Varian (400 MHz) a spektrometru NMR JEOL 500. Hodnoty chemického posunu jsou udány v ppm jednotkách, interakční konstanty v Hz. IČ spektra byla měřena na přístroji ATI Unicam Genesis FTIR za použití KBr tabletové techniky. Měření hmotnostních spekter bylo realizováno na hmotnostním spektrometru TSQ Quantum ACCES (Thermo Scientific, USA). TLC chromatografie byla prováděna na hliníkových deskách značky Merck pokrytých silikagelem.

3-Fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindol IV

133 mg (0,65 mmol) ethyl-2-indolylylkarbamátu **IV** bylo rozpuštěno ve 13 ml pyridinu. Do roztoku byla při teplotě 0-5 °C pozvolna přikapána směs benzen-diazoniumchloridu. Tato diazoniová sůl byla připravena následujícím způsobem: V 5 ml H_2O , do které bylo přidáno 1,14 ml konc. HCl, bylo pozvolna rozpuštěno 84 mg (0,65 mmol) anilinu s izotopicky značeným dusíkem. Po zchlazení byl do směsi přidán 1 g ledu a při teplotě 0-5 °C byl do směsi přikapán roztok dusitanu sodného - 45 mg $NaNO_2$ (0,65 mmol) a 2,55 ml H_2O . Již v průběhu azokopulace se z reakční směsi vylučoval oranžově zbarvený produkt. Celá směs pak byla ponechána stát 18 hodin při teplotě do 5 °C, po té byla zfiltrována a promyta vodou. Výtěžek činil 186 mg (93%).



C₁₇H₁₆N₄O₂ (M = 308,34 g/mol)

Výtěžek: 93%, oranžová krystalická látka

IR (cm⁻¹): 530.3, 697.7, 754.0, 1067.2, 1229.9, 1399. 2, 1575.3, 1642.3, 3494.4

MS (APCI, *m/z*): 310,01 [M+H]⁺

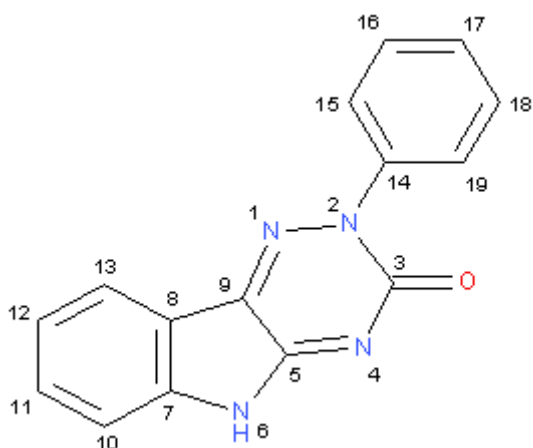
¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 1.31, 3H, *t*, 7.3, HC¹⁴; 4.28, 2H, *q*, 7.3, HC¹³; 7.13, 2H, *m*, HC^{7,8}; 7.25, 1H, *t*, 7.8, HC²⁰; 7.42, 2H, *t*, 7.8, HC^{19,21}; 7.49, 1H, *m*, HC⁶; 7.88, 2H, *d*, 7.8, HC^{18,22}; 8.16, 1H, *m*, HC⁹; 11.46, 1H, *br*, HN¹⁰; 11.87, 1H, *br*, HN¹

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 14.9 (C14); 62.3 (C13); 112.8 (C6); 118.8 (C3); 120.9 (C9); 121.4 (C18, 22); 122.0 (C4); 123.1 (C7); 123.8 (C8); 127.7 (C20); 129.4 (C19, 21); 134.7 (C5); 142.7 (C2); 153.1 (C17); 154.7 (C11).

¹⁵N-NMR (DMSO-*d*₆): 66 ppm (1N, *s*, ¹⁵N=N) chemický posun vztažen na CH₃NO₂ jako interní standard

2-Fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on VI

136 mg (0,44 mmol) 3fenylazo-2-ethoxykarbonylaminoindolu **IV** bylo refluxováno po dobu 2 hodin v 5 ml dekalinu. Už po 20 minutách varu směs přešla do roztoku a krátce po té se začaly vylučovat hnědé krystalky produktu. Po 2 hodinách byla reakční směs odstavena a po zchladnutí zfiltrována, promyta petroletherem a zvážena. Výtěžek činil 99 mg (86%).



C₁₅H₁₀N₄O (M = 262,27 g/mol)

Výtěžek: 86%, světle hnědá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 690,9, 752.5, 1126.8, 1416.8, 1613.1, 1653.0, 1672.0, 3385.6

MS (APCI, *m/z*): 263,98 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 7.23, 1H, *td*, 7.5, 1.1, HC¹²; 7.31, 1H, *d*, 8.0, HC¹⁰; 7.41, 1H, *tt*, 7.5, 2.0, HC¹⁷; 7.50, 2H, *tt*, 8.0, 2.0, HC^{16,18}; 7.52, 1H, *td*, 7.8, 1.3, HC¹¹; 7.58, 2H, *dt*, 8.0, 1.5, HC^{15,19}; 7.87, 1H, *d*, 7.7, HC¹³; 12.06, 1H, *br*, HN⁶

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 113.0 (C10); 118.52 (C8); 122.0 (C13); 123.1 (C12); 126.7 (C15, 19); 128.5 (C17); 129.2 (C16, 18); 131.8 (C11); 133.9 (C7); 143.1 (C14); 144.2 (C3); 153.5 (C9); 155.3 (C5)

2-Amino-3-(fenylazo)-indol IX

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu VI bylo suspendováno v 5 ml 5-M NaOH. Směs byla míchána 6 hod za stálého varu. Během této doby vznikl roztok červené barvy, ze kterého po zchladnutí a okyselení kyselinou chlorovodíkovou na pH = 1-2 vypadával produkt. Ten byl zfiltrován na Büchnerově nálevce a okrově žlutá sraženina byla promyta vodou, vysušena a zvážena ve výtěžku 39 mg (87%).

C₁₄H₁₂N₄ (M = 236,28 g/mol)

Výtěžek: 87%, okrově žlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 751.21, 1074.83, 1221.92, 1256.36, 1484.34, 1560.13, 1679.71, 2361.45, 2921.95, 3052.29

MS (APCI, *m/z*): 237,05 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 7.11 (t, 1 H), 7.13 (t, 1 H), 7.15 (m, 1 H), 7.19 (d, 1 H), 7.21 (d, 1 H), 7.35 - 7.37 (m, 1 H), 7.37 - 7.39 (m, 1 H), 7.94 (d, 1 H), 7.96 (d, 1 H), 8.63 (s, 2 H), 11.62 (br. s., 1 H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 112.8, 116.7, 117.0, 123.9, 124.8, 124.9, 125.7, 129.5, 129.9, 130.2, 141.3, 143.0, 143.5, 159.3

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-pentylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-on XI

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu VI bylo suspendováno v 1,5 ml pentylaminu. Vzniklá směs byla míchána 4 hodiny ve vialce při teplotě olejové lázně 110 °C. Za tuto dobu přešel triazinoindol VI do roztoku červené barvy. Po jeho zchladnutí na laboratorní teplotu byl naředěn 10 ml vody a okyselen 1,1 ekv. kyseliny octové a zfiltrován. Sraženina byla promyta a po vysušení byla zvážena ve výtěžku 56,2 g (84%).

C₂₀H₂₃N₅O (M = 349,44 g/mol)

Výtěžek: 84%, oranžovožlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 691.63, 745.63, 1229.35, 1608.25, 1677.77, 2929.72, 3062.61, 3282.63

MS (APCI, *m/z*): 350,11 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 0.88 (t, 3 H), 1.28 - 1.32 (m, 2 H), 1.32 - 1.38 (m, 2 H), 1.52 (quin, 2 H), 3.20 (q, 2 H), 3.32 (br. s., 2 H), 7.09 (d, 1 H), 7.12 - 7.16 (m, 1 H), 7.21 - 7.27 (m, 1 H), 7.30 - 7.37 (m, 1 H), 7.40 - 7.46 (m, 1 H), 7.48 - 7.56 (m, 1 H), 7.60 (d, 1 H), 7.73 (br. d, 1 H), 7.88 (d, 1 H), 11.70 - 11.89 (m, 1 H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 14.4, 22.3, 29.1, 29.59, 40.6, 112.6, 113.0, 118.6, 121.8, 122.9, 126.6, 128.3, 129.1, 129.5, 131.6, 134.0, 143.1, 144.7, 153.4, 155.4

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-cyklohexylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-on XII

100 mg (0,38 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu VI bylo suspendováno ve 2 ml cyklohexylaminu. Vzniklá směs byla po 2 hodinách míchání ve vialce při teplotě olejové lázně 110 °C, kdy vznikl roztok červené barvy, ochlazená na laboratorní teplotu, naředěna 10 ml vody a zfiltrována. Sraženina byla promyta a po vysušení byla zvážena ve výtěžku 128 mg (93%).

C₂₁H₂₃N₅O (M = 361,45 g/mol)

Výtěžek: 93%, okrově žlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 743.68, 1239.15, 1520.47, 1554.44, 1600.63, 2851.50, 2928.76, 3300.31

MS (APCI, m/z): 362,17 [M+H]⁺

¹H NMR (DMSO- d_6) δ ppm 1.01 - 1.14 (m, 2 H), 1.15 - 1.41 (m, 2 H), 1.51 - 1.63 (m, 2 H), 1.64 - 1.82 (m, 2 H), 1.85 - 1.97 (m, 2 H), 3.53 - 3.66 (m, 1 H), 5.58 (d, 2 H), 6.97 - 7.03 (m, 1 H), 7.11 (br. s., 1 H), 7.23 (br. s., 1 H), 7.29 (d, 1 H), 7.33 - 7.38 (m, 1 H), 7.45 (t, 1 H), 7.57 - 7.63 (m, 1 H), 7.76 (br. s., 1 H), 8.15 (br. s., 1 H), 9.30 - 10.93 (m, 1 H)
¹³C-NMR (DMSO- d_6): δ 24.8, 24.9, 33.8, 33.8, 50.1, 119.2, 120.7, 121.9, 126.4, 129.4, 130.7, 134.4, 135.3, 138.2, 152.4, 157.06, 160.8

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-cyklopentylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-on XIII

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** bylo suspendováno ve 2 ml cyklopentylaminu. Vzniklá směs byla po 4 hodinách míchání ve vialce při teplotě olejové lázně 110 °C, kdy došlo ke vzniku roztoku červenohnědé barvy, ochlazená na laboratorní teplotu, naředěna 10 ml vody, okyselena 1,1 ekv. kyseliny octové a zfiltrována. Žlutohnědá sraženina byla promyta a po vysušení byla zvážena ve výtěžku 60 mg (89%).

C₂₀H₂₁N₅O (M = 347,42 g/mol)

Výtěžek: 89%, žlutohnědá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 745.47, 1246.10, 1521.57, 1555.65, 1607.17, 2854.92, 2926.94, 3051.69, 3296.79

MS (APCI, m/z): 348,07 [M+H]⁺

Pro malou rozpustnost látky nebylo možné pořídit kvalitní ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektra.

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-cykloheptylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-on XIV

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** bylo suspendováno ve 2 ml cykloheptylaminu. Vzniklá směs byla po 4 hodinách míchání ve vialce při teplotě olejové lázně 110 °C, kdy došlo ke vzniku roztoku temně červené barvy, ochlazená na laboratorní teplotu, naředěna 10 ml vody okyselena 1,1 ekv.

kyseliny octové a zfiltrována. Vzniklá okrově žlutá sraženina byla promyta a po vysušení byla zvážena. Výtěžek činil 63 mg (85%).

C₂₂H₂₅N₅O (M = 375,48 g/mol)

Výtěžek: 85%, okrově žlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 743.07, 1172.99, 1215.71, 1524.31, 1561.30, 1600.63, 2959.08, 3273.23

MS (APCI, *m/z*): 376,09[M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 1.36 - 1.40 (m, 2 H), 1.44 - 1.53 (m, 2 H), 1.54 - 1.62 (m, 2 H), 1.63 - 1.73 (m, 2 H), 1.77 - 1.82 (m, 2 H), 1.87 - 1.97 (m, 2 H), 2.46 - 2.51 (m, 1 H), 4.01 - 4.08 (m, 2 H), 6.98 (t, 1 H), 7.05 - 7.09 (m, 1 H), 7.10 (m, 1 H), 7.17 - 7.25 (m, 1 H), 7.31 (m, 1 H), 7.33 - 7.36 (m, 1 H), 7.43 (t, 2 H), 7.74 (t, 1 H), 10.38 (br. s., 1 H)

Pro malou rozpustnost látky nebylo možné pořídit kvalitní ¹³C-NMR spektrum.

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-benzylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-on XV

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** bylo suspendováno v 1 ml benzylaminu. Vzniklá směs byla po 2 hodinách míchání ve vialce při teplotě olejové lázně 110 °C, kdy došlo ke vzniku hnědého roztoku, nalita do 10 ml vody a okyselena kyselinou octovou (1,1 ekv). Žlutá sraženina, která se vysrážela za použití ultrazvuku, byla následně odsáta na Büchnerově nálevce a po vysušení zvážena.

C₂₂H₁₉N₅O (M = 369,43 g/mol)

Výtěžek: 87%, žlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 692.77, 747.33, 1245.89, 1556.49, 1600.63, 1661.26, 3053.78, 3192.92, 3269.23, 3358.82

MS (APCI, *m/z*): 370,07 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 4.43 (d, 2 H), 4.75 (s, 2 H), 7.08 (d, 1 H), 7.22 - 7.25 (m, 1 H), 7.26 - 7.29 (m, 1 H), 7.32 (d, 1 H), 7.34 (d, 1 H), 7.34 - 7.36 (m, 1 H), 7.36 - 7.38 (m, 1 H), 7.39 - 7.41 (m, 1 H), 7.43 - 7.45 (m, 1 H), 7.51 (t, 1 H), 7.53 (t, 1 H), 7.77 (d, 1 H), 7.88 (d, 1 H), 7.99 (d, 1 H), 11.79 (br. s., 1 H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 42.9, 111.8, 111.9, 112.3, 122.0, 122.4, 126.0, 126.6, 126.8, 127.2, 127.8, 128.0, 128.2, 128.2, 128.4, 128.5, 130.5, 131.0, 142.4, 152.7, 154.6, 161.5

2-Fenylimino-3-phenylhydrazono-2,3-dihydroindol XVI

K 50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** byl přidán 1 ml anilinu. Směs byla zahřívána v reakční vialce po dobu 4 hodin při teplotě 180 °C. Po této době byl vzniklý roztok nalit do vody, v ultrazvuku potom vypadávala okrově žlutá krystalická látka. Produkt byl zfiltrován, promyt vodou, vysušen a zvážen. Výtěžek činil 59,6 mg, což je 89% teoretického výtěžku.

C₂₀H₁₆N₄ (M = 312,38 g/mol)

Výtěžek: 89%, okrově žlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 659.19, 752.07, 1165.56, 1266.75, 1492.36, 1555.16, 1596.78, 1646.83, 3282.81

MS (APCI, *m/z*): 313,03 [M+H]⁺

Pro malou rozpustnost látky nebylo možné pořídit kvalitní ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektra.

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-fenylamino-1,2,4-triazin-3(2*H*)-on XVII

Ke směsi 0,42 ml anilinu (4,6 mol) a 0,53 ml bezvodého tetrahydrofuranu bylo při teplotě -50 °C pozvolna přikapáno 0,7 ml 2M - roztoku *n*-butyllithia v hexanu. Po vytemperování na laboratorní teplotu byla tato směs přidána k 50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI**, který byl suspendován v 1,2 ml bezvodého toluenu. Vzniklá suspenze hnědé barvy byla zahřívána po dobu 15 hodin při teplotě olejové lázně 60 °C, kdy došlo ke vzniku roztoku. Po zchladnutí bylo do hnědého roztoku přidáno 2,6 ml EtOH, směs byla odpařena na RVO a ke vzniklému odparku bylo přidáno 8,3 ml H₂O a 1,3 ml AcOH za vzniku světle hnědé sraženiny. Ta byla odsáta na Büchnerově nálevce a po vysušení zvážena. Výtěžek činil 63 mg (92,5%).

C₂₁H₁₇N₅O (M = 355,40 g/mol)

Výtěžek: 92,5%, světle hnědá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 690.47, 742.79, 1212.18, 1238.08, 1436.71, 1585.20, 3053.43, 3298.71

MS (APCI, *m/z*): 356,06 [M+H]⁺

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ ppm 4.98 (br. s., 1 H), 6.44 (d, 1 H), 6.46 (d, 1 H), 6.48 (d, 1 H), 6.52 - 6.53 (m, 1 H), 6.53 - 6.55 (m, 1 H), 6.94 - 7.01 (m, 1 H), 7.02 - 7.08 (m, 1 H), 7.09 - 7.14 (m, 1 H), 7.16 - 7.25 (m, 1 H), 7.32 - 7.38 (m, 1 H), 7.45 (t, 1 H), 7.54 - 7.60 (m, 1 H), 7.63 - 7.80 (m, 1 H), 7.87 (d, 1 H), 7.89 (d, 1 H), 9.95 (br. s., 1 H)

Pro malou rozpustnost látky nebylo možné pořídit kvalitní $^{13}\text{C-NMR}$ spektrum.

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-(piperidin-1-yl)-1,2,4-triazin-3(2H)-on XVIII

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** bylo rozpuštěno v 1,5 ml piperidinu. Vzniklý roztok červené barvy byl po 2 hodinách míchání ve vialce při teplotě olejové lázně 110 °C ochlazen na laboratorní teplotu, zfiltrován a filtrát byl naředěn 15 ml vody. Vyloučila se sraženina, která byla promyta dalším podílem vody a po vysušení byla jemná, jasně žlutá sraženina zvážena.

$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}$ ($M = 347,42$ g/mol)

Výtěžek: 89%, jasně žlutá krystalická látka

IR (cm^{-1}): 699.07, 752.79, 783.24, 1140.49, 1224.00, 1252.61, 1409.80, 1612.20, 2851.05, 2936.87, 3328.11

MS (APCI, m/z): 348,08 $[\text{M}+\text{H}]^+$

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 1.50 - 1.55 (m, 1 H), 1.58 - 1.62 (m, 2 H), 1.65 (m, 2 H), 2.83 (br. d, 1 H), 3.67 (br. d, 2 H), 5.09 - 5.35 (m, 2 H), 7.08 (m, 1 H), 7.10 (d, 1 H), 7.12 (t, 1 H), 7.23 (d, 1 H), 7.26 (d, 1 H), 7.28 - 7.31 (m, 1 H), 7.36 (d, 2 H), 7.41 - 7.47 (m, 2 H), 7.66 (d, 1 H)

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 24.3, 25.9, 50.7, 112.2, 112.9, 114.5, 122.3, 129.5, 130.0, 131.1, 132.4, 139.7, 146.6, 154.5, 158.1, 162.8

6-(2-Aminofenyl)-2-fenyl-5-dipropylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-on XIX

50 mg (0,19 mmol) 2-fenyl-2,3-dihydro-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** bylo suspendováno ve 3 ml dipropylaminu. Vzniklá směs byla po 18 hodinách míchání ve vialce při teplotě olejové lázně 140 °C, kdy vznikl tmavě červený roztok, ochlazen na laboratorní teplotu, zfiltrována a filtrát byl naředěn 15 ml vody a 1,1 ekv. CH_3COOH .

Sraženina byla promyta dalším podílem vody. Po vysušení byla jemná žlutá sraženina zvážena. 46 mg (67%)

C₂₁H₂₅N₅O (M = 363,47 g/mol)

Výtěžek: 67%, žlutá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 750.94, 1157.75, 1247.10, 1412.93, 1555.02, 1595.08, 2872.61, 2930.06, 2961.61, 3287.71

MS (APCI, *m/z*): 364,11 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 0.87 (t, 6 H), 1.53 - 1.72 (m, 4 H), 2.48 (dt, 4 H), 3.51 (br. s., 2 H), 7.05 (d, 1 H), 7.06 - 7.09 (m, 1 H), 7.20 (d, 1 H), 7.24 (d, 1 H), 7.25 - 7.30 (m, 1 H), 7.35 (d, 1 H), 7.40 (t, 1 H), 7.50 (d, 1 H), 7.63 (d, 1 H)

Pro malou rozpustnost látky nebylo možné pořídit kvalitní ¹³C-NMR spektrum.

3-(2-Nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindol XXV

2,84 g (0,014 mol) ethyl-2-indolylní karbamátu **IV** bylo rozpuštěno v 250 ml pyridinu. Do roztoku byla při teplotě 0-5 °C pozvolna přikapána směs 2-nitrobenzodiazoniumchloridu. Tato diazoniová sůl byla připravena následujícím způsobem: Ve 120 ml H₂O, do které bylo přidáno 32 ml konc. HCl, bylo pozvolna rozpuštěno 2,5 g (0,018 mol) *o*-nitroanilinu. Po zchlazení bylo do směsi přidáno 30 g ledu a při teplotě 0-5 °C byl do směsi přikapán roztok dusitanu sodného - 1,25 g NaNO₂ (0,018 mol) a 30 ml H₂O. Již v průběhu azokopulace se z reakční směsi vylučoval oranžově zbarvený produkt. Celá směs pak byla ponechána stát 18 hodin při teplotě do 5 °C, po té byla zfiltrována a promyta vodou. Výtěžek činil 4,3 g (88%).

C₁₇H₁₅N₅O₄ (M = 353,34 g/mol)

Výtěžek: 88%, sytě oranžová krystalická látka

IR (cm⁻¹): 1062.37, 1233.67, 1251.82, 1368.30, 1466.51, 1536.36, 1591.40, 1660.68, 2928.74, 3372.13

MS (APCI, *m/z*): 354,06 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 1.33 (t, 3 H), 4.30 (br. s., 2 H), 7.11 - 7.17 (m, 1 H), 7.21 (br. s., 1 H), 7.36 (dd, 1 H), 7.50 (br. s., 1 H), 7.62 - 7.75 (m, 1 H), 7.85 (br. s., 1 H), 8.00 (br. s., 1 H), 8.39 (br. s., 1 H), 8.53 - 8.58 (m, 1 H), 11.48 (br. s., 1 H), 12.08 (br. s., 1 H)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ 14.8, 62.4, 106.8, 113.0, 120.0, 120.9, 123.6, 123.9, 124.2, 127.9, 131.1, 131.2, 135.5, 137.0, 150.1, 154.1

2-(2-Nitrofenyl)-2,3-dihydro-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol-3-on XXVI

3,3 g (0,0093 mol) 3-(2-nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindolu **XXV** bylo refluxováno po dobu 2 hodin ve 115 ml dekalinu. Už po 20 minutách varu směs přešla do roztoku a krátce po té se začaly vylučovat hnědé krystalky produktu. Po 2 hodinách byla reakční směs odstavena a po zchladnutí zfiltrována, promyta petroletherem a zvážena. Výtěžek činil 2,44 g (85%).

$\text{C}_{15}\text{H}_9\text{N}_5\text{O}_3$ (M = 307,27 g/mol)

Výtěžek: 85%, světle hnědá krystalická látka

IR (cm^{-1}): 746.63, 1135.20, 1206.38, 1347.41, 1420.18, 1521.25, 1614.44, 1652.13, 1681.63, 2847.27, 2982.45, 3053.68

MS (APCI, m/z): 307,98 $[\text{M}+\text{H}]^+$

^1H NMR (DMSO- d_6) δ ppm 7.28 (t, 1 H), 7.36 (d, 1 H), 7.55 - 7.61 (m, 1 H), 7.72 - 7.79 (m, 1 H), 7.81 (dd, 1 H), 7.90 (d, 1 H), 7.92 - 7.97 (m, 1 H), 8.16 (dd, 1 H), 12.31 (br. s., 1 H)

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ 112.8, 117.6, 121.7, 123.0, 124.8, 129.9, 130.0, 131.8, 134.2, 134.8, 135.2, 143.8, 144.8, 152.5, 155.2

2-(2-Aminofenyl)-2,3-dihydro-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol-3-on XXVII

50 mg (0,16 mmol) 2-(2-nitrofenyl)-2,3-dihydro-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol-3-onu **XXVI** bylo suspendováno ve směsi SnCl_2 / EtOH, která byla připravena smícháním 246 mg (1,3 mmol) SnCl_2 , 1,2 ml bezv. EtOH a 0,25 ml 37% HCl za zahřívání. Krátce po přidání sloučeniny **XXVI** do ethanolické směsi SnCl_2 se ze suspenze vyloučil velký podíl produktu. Celá směs potom byla míchána 30 minut při 70 °C. Po půl hodině byla směs nalita do vody a zfiltrována v podobě sytě červených krystalů. Výtěžek činil 40 mg (88%).

C₁₅H₁₁N₅O (M = 277,29 g/mol)

Výtěžek: 88%, sytě červená krystalická látka

IR (cm⁻¹): 735.90, 754.00, 1418.14, 1459.05, 1613.07, 1660.89, 1670.61, 3075.30, 3235.52, 3339,23, 3390.87

MS (APCI, *m/z*): 277,96 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 4.82 - 5.40 (m, 2 H), 6.58 (td, 1 H), 6.76 (dd, 1 H), 7.06 (dd, 1 H), 7.09 - 7.15 (m, 1 H), 7.23 (td, 1 H), 7.26 - 7.39 (m, 1 H), 7.52 (td, 1 H), 7.85 (d, 1 H), 11.98 (s, 1 H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 112.7, 115.8, 116.1, 118.1, 118.6, 122.8, 128.0, 128.8, 129.7, 131.4, 144.0, 153.6, 153.6, 155.6, 157.2

7*H*-benzo[4',5']imidazo[1',2':2,3][1,2,4]triazino[5,6-*b*]indol XXVIII

100 mg (0,36 mmol) 2-(2-amino)-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **XXVII** bylo zahříváno v 1,5 ml ethylenglykolu v reakční vialce 18 hodin při teplotě 200 °C. Vznikl roztok temně hnědá barvy, ze kterého při chladnutí vypadal produkt ve formě hnědých krystalků. Ty byly odsáty, promyty vodou a po vysušení zváženy. Výtěžek činil 48 mg (52%).

C₁₅H₉N₅ (M = 259,27 g/mol)

Výtěžek: 52%, sytě hnědá krystalická látka

IR (cm⁻¹): 747.45, 1098.23, 1262.45, 1384.92, 1454.16, 1521.57, 1613.05, 2637.49, 2739.18, 2931.96, 3051.98

MS (APCI, *m/z*): 259,93 [M+H]⁺

¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ ppm 7.30 - 7.36 (m, 1 H), 7.39 - 7.43 (m, 1 H), 7.45 (d, 1 H), 7.51 (td, 1 H), 7.62 - 7.69 (m, 1 H), 7.73 (m, 1 H), 7.80 (d, 1 H), 8.18 (dd, 1 H), 11.57 - 11.64 (m, 1 H)

¹³C-NMR (DMSO-*d*₆): δ 110.8, 112.8, 116.9, 117.3, 118.9, 121.1, 121.9, 122.1, 122.4, 125.1, 125.4, 128.5, 132.4, 142.3, 146.0

6 ZÁVĚR

Cílem předložené diplomové práce bylo prozkoumat reaktivitu 2-fenyl-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** a zároveň připravit nové sloučeniny s vyhlídkou možné biologické aktivity.

První část této práce je věnována rešerši, ve které jsou shrnuty doposud známé postupy syntéz a štěpení triazinů s přikondenzovanými heterocykly jako jsou benzothiofen, benzofuran, naftofuran a benzopyrrol (indol). Přehled dosažených výsledků podává podrobný popis všech provedených reakcí a postupů s dosaženými výsledky. Kapitola diskuse se zabývá učiněnými poznatky ohledně reaktivity a stability 1,2,4-triazino-[5,6-*b*]indol-3-onu **VI** v porovnání s poznatky z benzofuranové, benzothiofenové a reverzně anelované indolové řady. V experimentální části jsou shrnuty postupy, které se ukázaly jako optimální při syntéze jednotlivých derivátů stěžejní látky diplomové práce. Vzhledem k malé rozpustnosti připravených derivátů bylo obtížné najít vhodná rozpouštědla a způsob krystalizace vzniklých produktů. Z tohoto důvodu zůstala bohužel tato otázka otevřená.

Z poznatků učiněných v rámci této diplomové práce se ukázalo, že stabilita 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolu **VI** je stejně jako 1,2,4-triazino[6,5-*b*]indolu značně vyšší, než tomu je u benzofuro[1,2,4]triazinů nebo benzothieno[1,2,4]triazinů. Kyselá hydrolyze triazinoindol **VI** nepodléhá, bazická hydrolyza potom probíhá až za vyšší koncentrace louhu a vyšší teploty reakční směsi, kdy se štěpí 1,2,4-triazinový cyklus za vzniku azolátky **IXa** resp. hydrazonolátky **IXb**. Naproti tomu reakce s ethoxidem sodným neprobíhá vůbec, stabilita systému je značná, při reakci nedochází ke štěpení pyrrolového ani triazinového cyklu.

Působením dusíkatých nukleofilních činidel na 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol **VI** bylo zjištěno, že se štěpí pyrrolový cyklus za vzniku příslušných derivátů 1,2,4-triazin-3-onů (6-azacytosinů). Tento průběh je obdobný, jako je tomu i v benzofuranové a benzothiofenové řadě.

Působením primárních a sekundárních aminů byly připraveny příslušné 5-alkylamino-1,2,4-triazin-3-ony (**XI - XIX**). Zajímavý byl průběh reakce s anilinem, kdy došlo k otevření triazinového cyklu 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolu **VI** za vzniku hydrazonolátky **XVI**, zatímco s anilidem lithným došlo k otevření pyrrolového cyklu, kdy byl připraven anilino-6-azacytosin derivát **XVII**. Připravené 6-azacytosiny vykazují nestabilitu ve vodně ethanolickém kyselém prostředí, kdy dochází k hydrolyze alkylamino skupiny v poloze 5 1,2,4-triazinového cyklu a vznikají 1,2,4-triazino-3,5-diony **XXXIII**, které se dále cyklizují na výchozí 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolový skelet **VI**. Tato záležitost byla podrobně sledována u piperidinoderivátu **XVIII**, který byl podroben zkoušce na stabilitu.

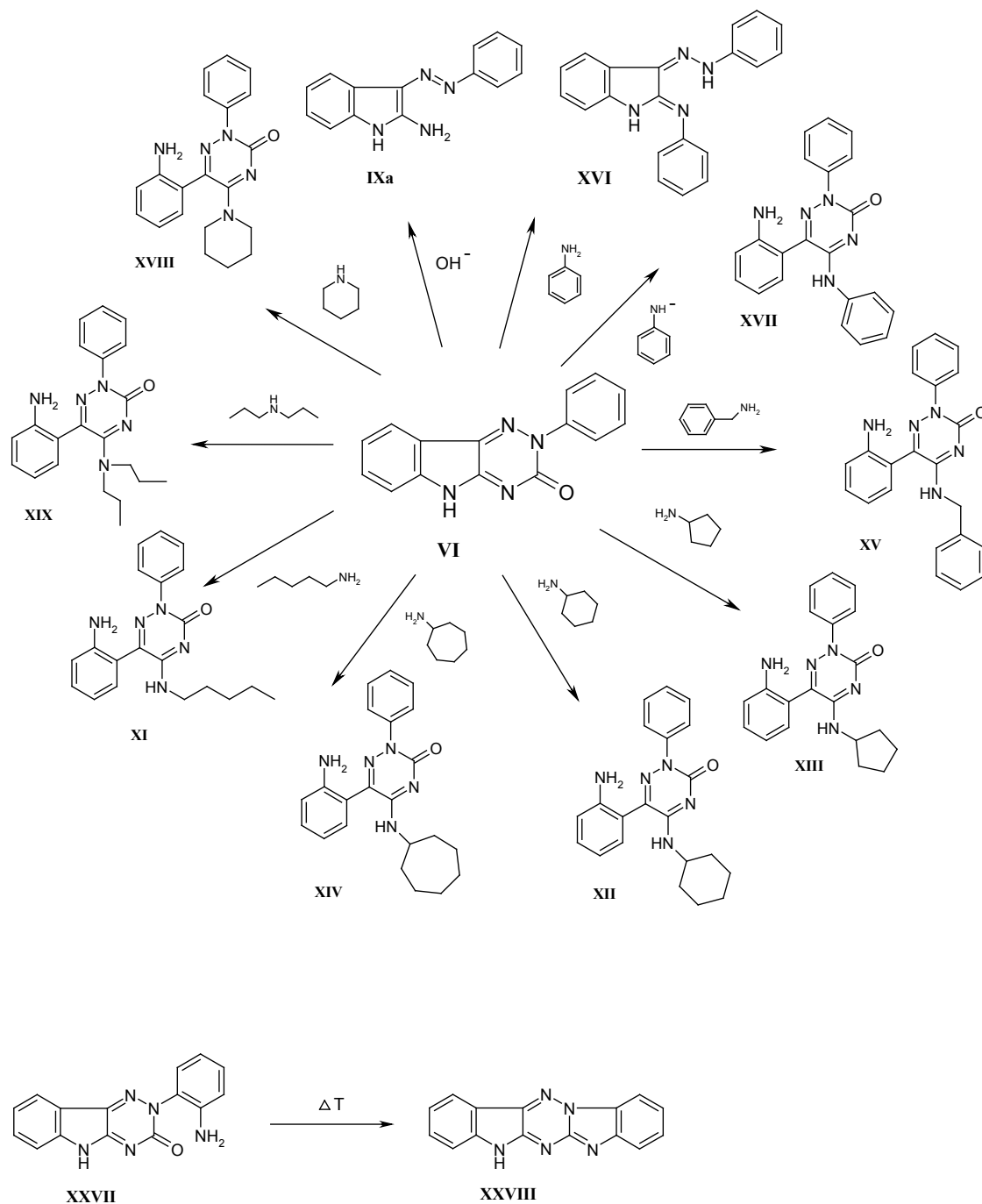
Překvapivě velká je i stabilita vůči uhlíkatým nukleofilním činidlům - Grignardovým sloučeninám. Byl očekáván hladký průběh reakce za vzniku 5-C-substituovaných 1,2,4-triazin-3-onů, nicméně za mírných podmínek se s triazinoindolem **VI** neděje žádná změna. Až při intenzivních podmínkách se štěpí pyrrolový cyklus triazinoindolu a vzniká pravděpodobně derivát **XXIII**, který se rozkládá ve vodně ethanolickém prostředí. Proto nebyla připravena čistá látka **XXIII**, která by mohla být podrobena analýze NMR. Přesný průběh reakce triazinoindolu s fenylmagnesium chloridem za vyšších teplot nebyl z důvodů nedostatku času dále podrobně prozkoumán.

Taktéž byla sledována otázka azo-hydrazonové tautomerie u fenyl derivátu **V**, kdy se zjistilo, že u tohoto derivátu a jeho isotopicky značeného analogu připraveného z anilinu ^{15}N se shodují IČ spektra. V záznamu IČ spektra se projevil přítomný velice malý absorpční pás při 3370 cm^{-1} , který odpovídá N-H karbamátové (případně N-H v pyrrolu) valenční vibraci azo tautomerní formy **Va**. Tímto pozorováním byla vyvrácena přítomnost hydrazono formy **Vb**.

Nad rámec sledování reaktivity 1,2,4-triazino[5,6-*b*]indolového systému byl připraven i pětijaderný planární heterocyklus **XXVIII**, zajímavý z pohledu potenciální biologické aktivity. 2-(2-Nitrofenyl)-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-on **XXVI** byl získán azokopulací karbamátu **IV** s 2-nitrobenzen-diazoniovou solí. Následně byl tento nitroderivát zredukován na amino derivát **XXVII**, jehož kondenzací byl připraven zmíněný pětijaderný heterocyklus **XXVIII**.

Celkově bylo v rámci této diplomové práce připraveno 11 nových sloučenin, které budou testovány na biologickou aktivitu.

Obr. 4 - Přehled připravených látek



7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ S. C. De, *J. Indian Chem. Soc.*, **4**, 183, (1927).
- ² S. C. De, P. C. Dutta, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **64**, 2604, (1931).
- ³ H. King, J. Wright, *J. Indian Chem. Soc.*, 2314, (1948).
- ⁴ Allen and Hanburys Ltd., *Neth. Pat. Appl.* 6, 410, 823 (Mar. 18, 1965); *C. A.*, **63**, 13295f, (1965).
- ⁵ J. M. Z. Gladych, R. Hornby, J. H. Hunt, D. Jack, J. J. Boyle, R. J. Ferlanto, R. F. Haff, C. G. Kormendy, F. J. Stanfield, R.C. Stewart, *J. Med. Chem.*, **15**, 277, (1972).
- ⁶ D. Kaminsky, *U. S. Pat.* 3, 752, 891, (Aug. 14, 1973); *C. A.*, **79**, 149328b, (1973).
- ⁷ A. B. Tomchin, I. S. Ioffe, E. N. Zhukova, *Zh. Org. Khim.*, **7**, 173, (1971).
- ⁸ A Monge, J Palop, C Ramirez, M Font, E Fernandez-Alvarez, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **26**, 179 - 188 (1991).
- ⁹ S. Y. Hassan, *Molecules*, **18**, 2683 - 2711, (2013).
- ¹⁰ K. C. Joshi, P. Chand, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **17**, 1783 - 1784, (1980).
- ¹¹ *Ibid.*, 78.
- ¹² R. E. Hagenbach, E. Hodel, H. Gysin, *Angew. Chem.*, **66**, 359, (1954).
- ¹³ G. Doleschall, K. Lempert, *Acta Chim. (Budapest)*, **64**, 369, (1970).
- ¹⁴ A. B. Tomchin, I. S. Ioffe, E. N. Zhukova, *Zh. Org. Khim.*, **8**, 199, (1972).
- ¹⁵ J. Slouka, P. Peč, *Chemické Zvěsti*, **29**, 418 - 420, (1975).
- ¹⁶ A. B. Tomchin, I. S. Ioffe, E. A. Rusakov, *Zh. Obsch. Khim.*, **39**, 2345, (1969).
- ¹⁷ A. B. Tomchin, Y. V. Lenn, *Zh. Org. Khim.*, **10**, 1962, (1974).
- ¹⁸ A. B. Tomchin, I. S. Ioffe, *Zh. Org. Khim.*, **8**, 1740, (1972).
- ¹⁹ A. B. Tomchin, I. S. Ioffe, E. N. Zhukova, *Zh. Obsch. Khim.*, **39**, 2111, 2339 (1969).
- ²⁰ J. Slouka, J. Stýskala, *Heterocycl. Commun.*, **5**, 157-158, (1999).
- ²¹ J. Slouka, J. Stýskala, J. Filipčík, *Heterocycles*, **78**, 707-710, (2009).
- ²² J. Slouka, J. Stýskala, M. Hejsek, V. Bekárek, *Collect Czech Chem Commun.*, **62**, 1754-1775, (1997).
- ²³ J. Slouka, J. Stýskala, *Acta Univ. Palacki Olomuc Chemica*, **37**, 73-74, (1998).
- ²⁴ J. Slouka, J. Stýskala, I. Wiedermannová, P. Bednář, *J. Heterocyclic Chem.*, **40**, 805-807, (2003).
- ²⁵ F. Zvardoň, *Bakalářská práce*, PŘF UP, (2010).

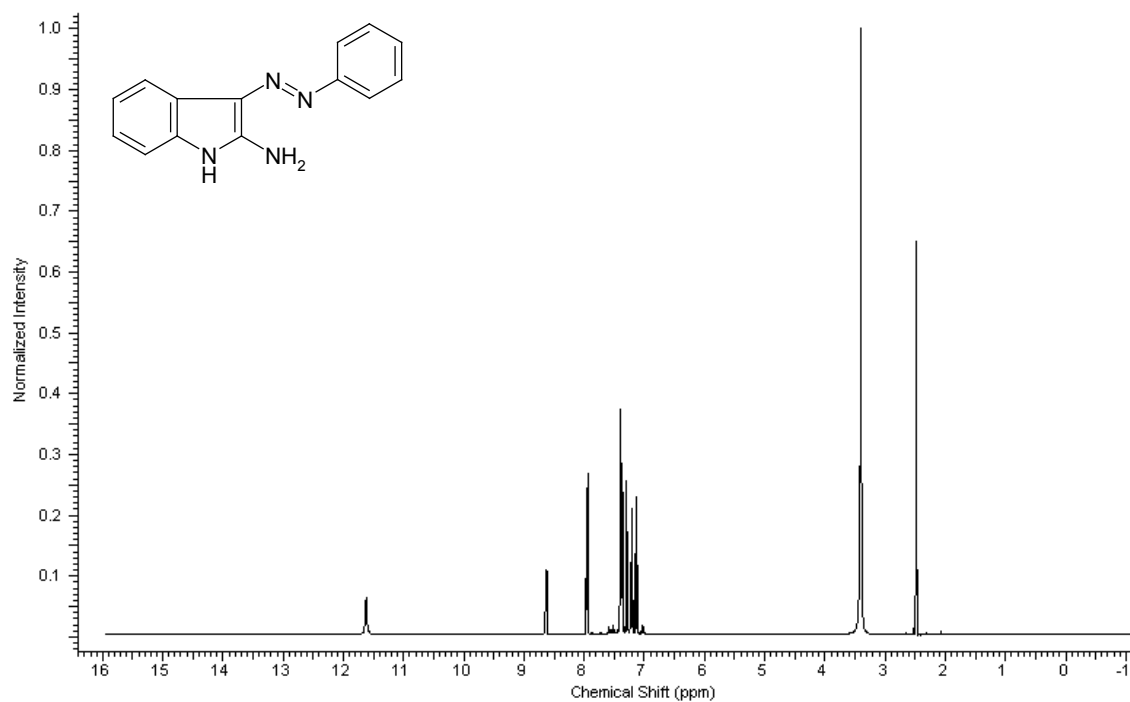
- ²⁶ J. M. Z. Gladych, J. H. Hunt, *S. Afr. Pat.* 68, 04, 428, (Nov. 22, 1968); *C. A.*, **71**, 81436m, (1970).
- ²⁷ C. G. Kormendy, *U. S. Pat.* 3, 444, 298, (May 13, 1969); *C. A.*, **71**, 49997k, (1969).
- ²⁸ A. W. J. Chow, *Ger. Orfej.* 2, 119, 375, (Nov. 4, 1971); *C. A.*, **76**, 25315p, (1972).
- ²⁹ S. Satková, *Bakalářská práce*, PřF UP, (2012).
- ³⁰ A. A.O. Sarhan, *Monatshefte für Chemie*, **132**, 754-757, (2001).
- ³¹ A. Piccinini, L. Salmoni, *Gazzetta Chimica Italiana*, **32(I)**, 246-253, (1902).
- ³² Y. Sato, T. Tahala, T. Nagasaki, *Yakugaku Zasshi*, **90**, 618-625, (1970).
- ³³ P. Peč, J. Slouka, *Chemické zvěsti*, **29**, 418-420, (1975).
- ³⁴ P. Bílek, J. Slouka, *Heterocycl. Commun.*, 325-331, (1998).
- ³⁵ P. Bílek, J. Slouka, *Heterocycl. Commun.*, 231-234, (2002).
- ³⁷ P. Bílek, J. Slouka, *Heterocycl. Commun.*, **10**, 67-70, (2011).
- ³⁸ P. Bílek, J. Slouka, *Heterocycl. Commun.*, **5**, 231-234, (2011).
- ³⁹ J. Slouka, M. Budíková, *Acta Univ. Palacki. Olomuc, Fac. Rerum Natur*, **45**, 113, (1974).
- ⁴⁰ J. Hlaváč, J. Slouka, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **34**, 917-920, (1997).
- ⁴¹ A. Lyčka, *Annu. Rep. NMR Spectr.* 42, 1 (2000).

8 PŘÍLOHY

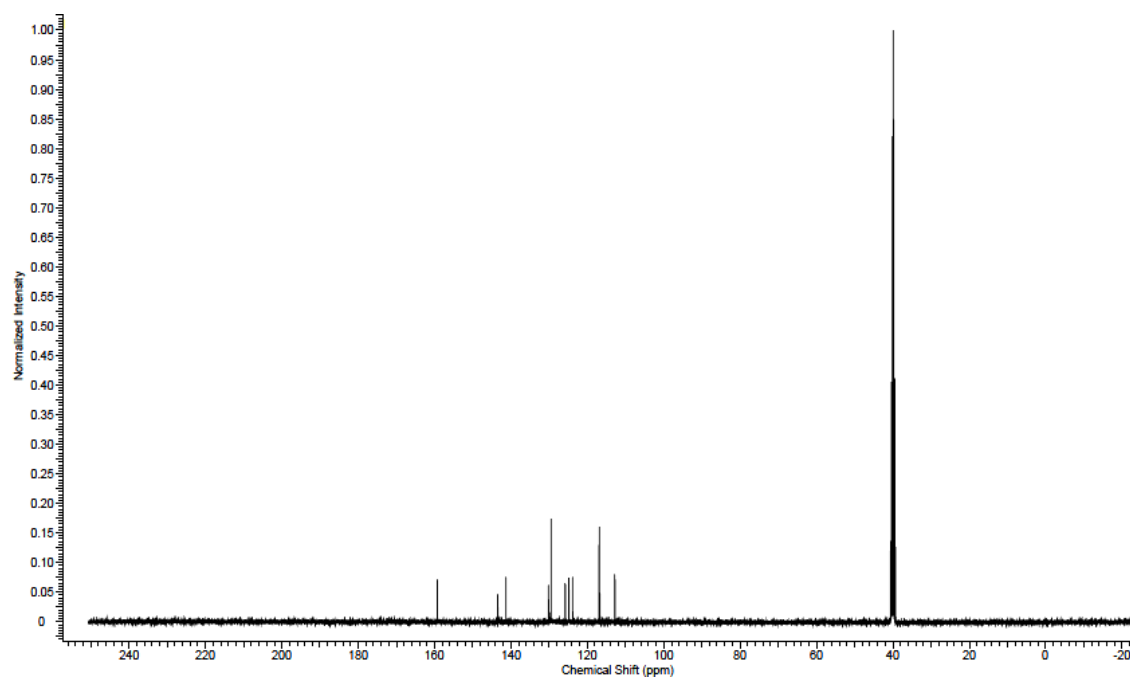
Příloha č.1

NMR spektrum 2-amino-3-(fenzylazo)-indolu IX

$^1\text{H-NMR}$



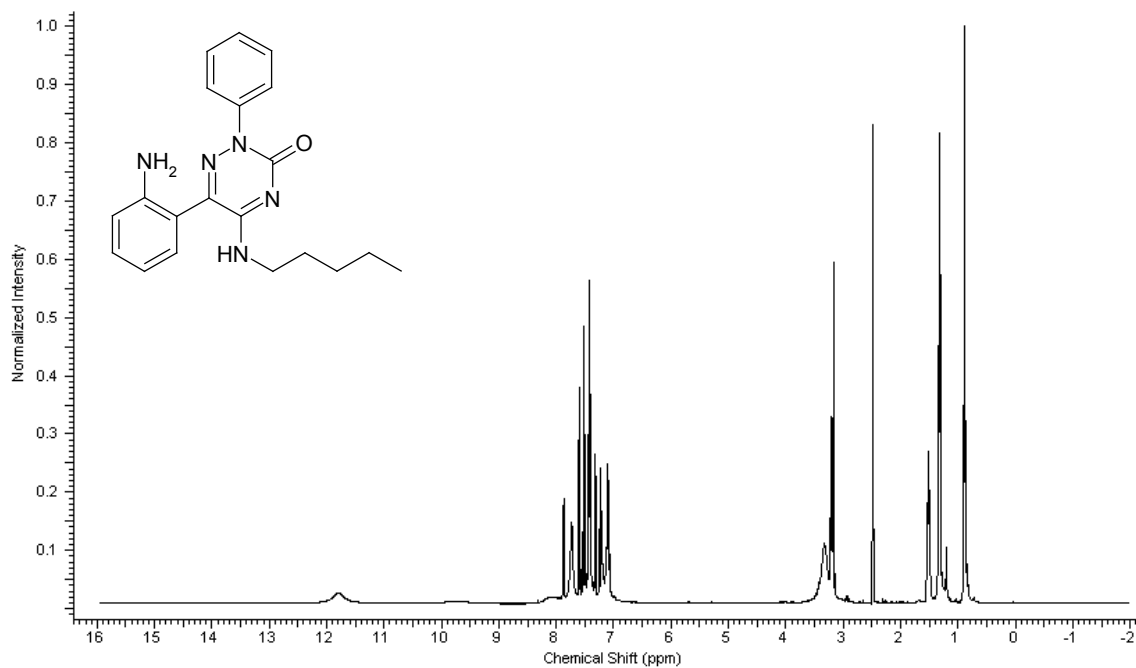
$^{13}\text{C-NMR}$



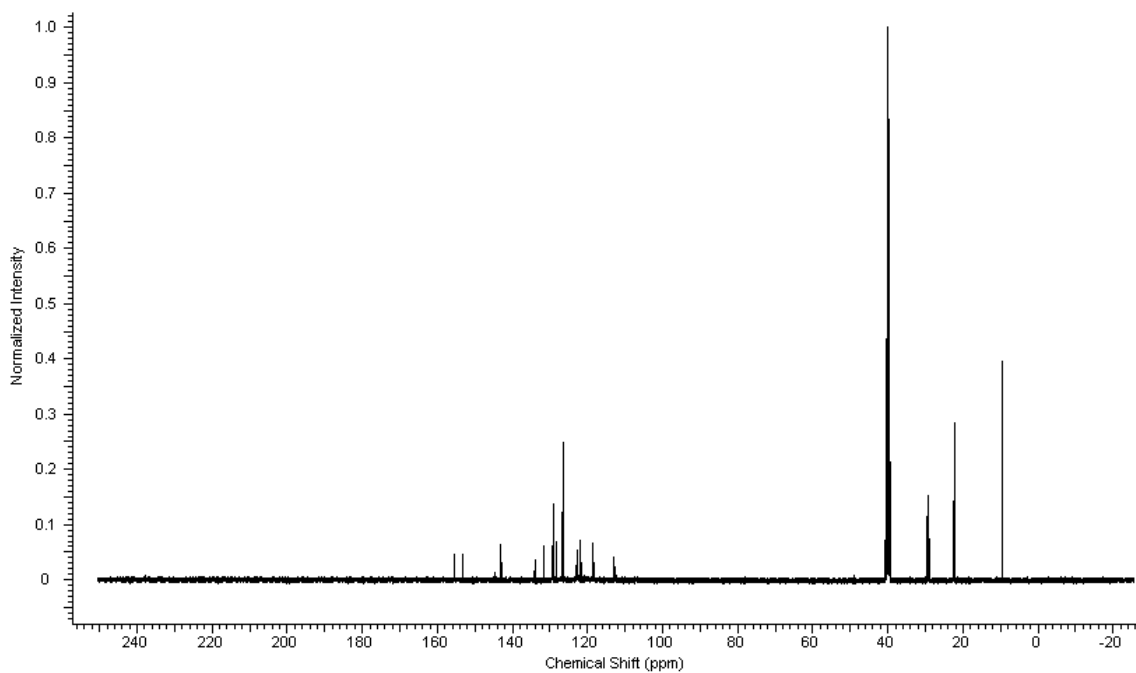
Příloha č.2

NMR spektrum 6-(2-aminofenyl)-2-fenyl-5-pentylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-onu **XI**

$^1\text{H-NMR}$



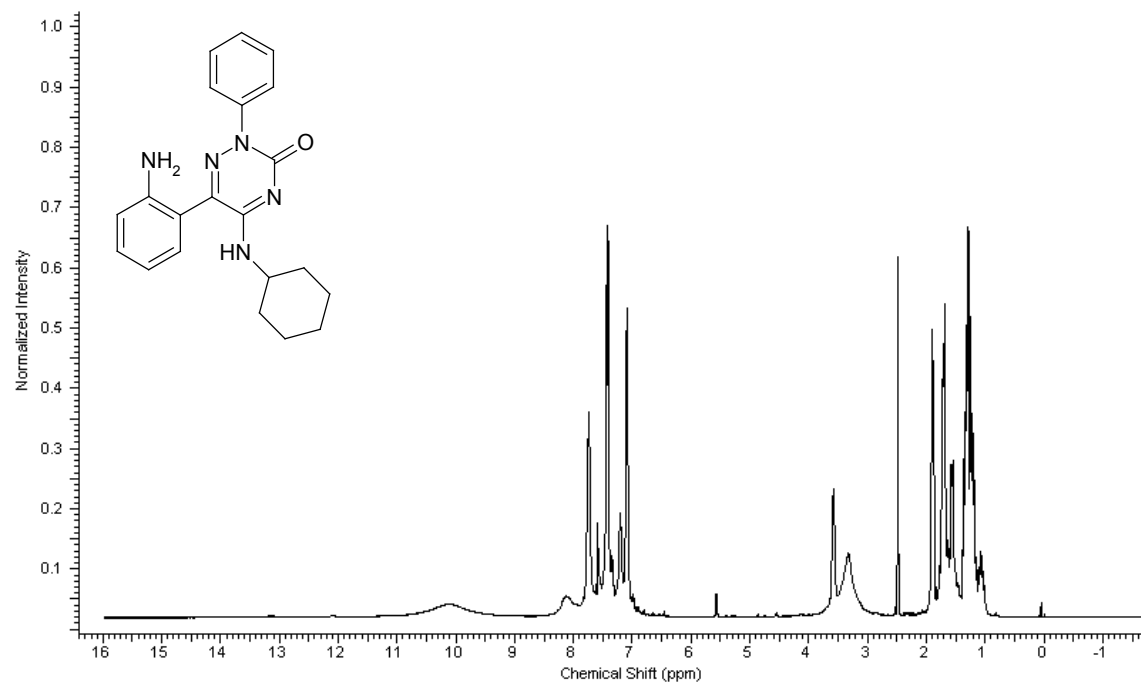
$^{13}\text{C-NMR}$



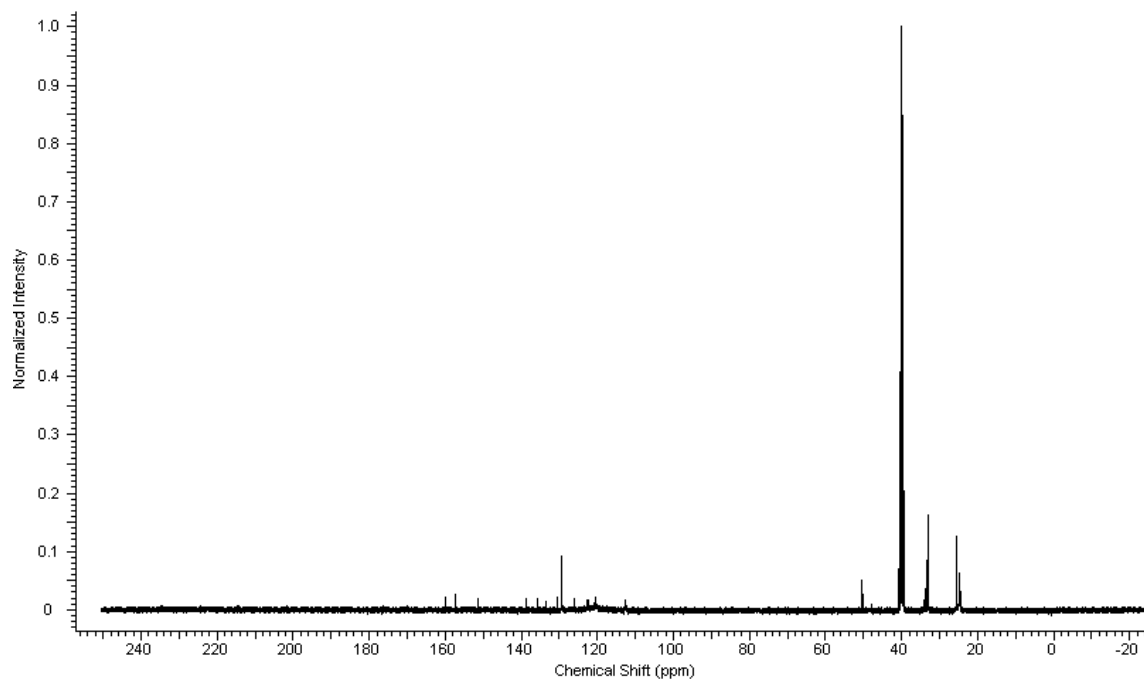
Příloha č.3

NMR spektrum 6-(2-aminofenyl)-2-fenyl-5-cyklohexylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-onu **XII**

$^1\text{H-NMR}$



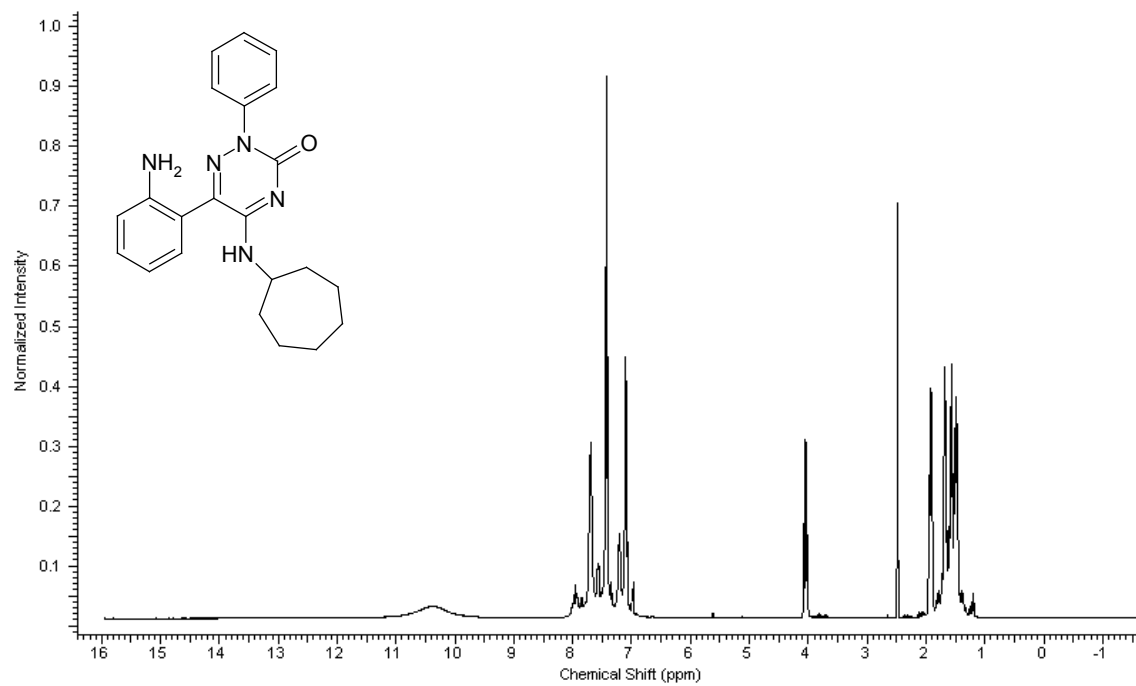
$^{13}\text{C-NMR}$



Příloha č.4

NMR spektrum 6-(2-aminofenyl)-2-fenyl-5-cykloheptylamino-1,2,4-triazin-3(2*H*)-onu **XIV**

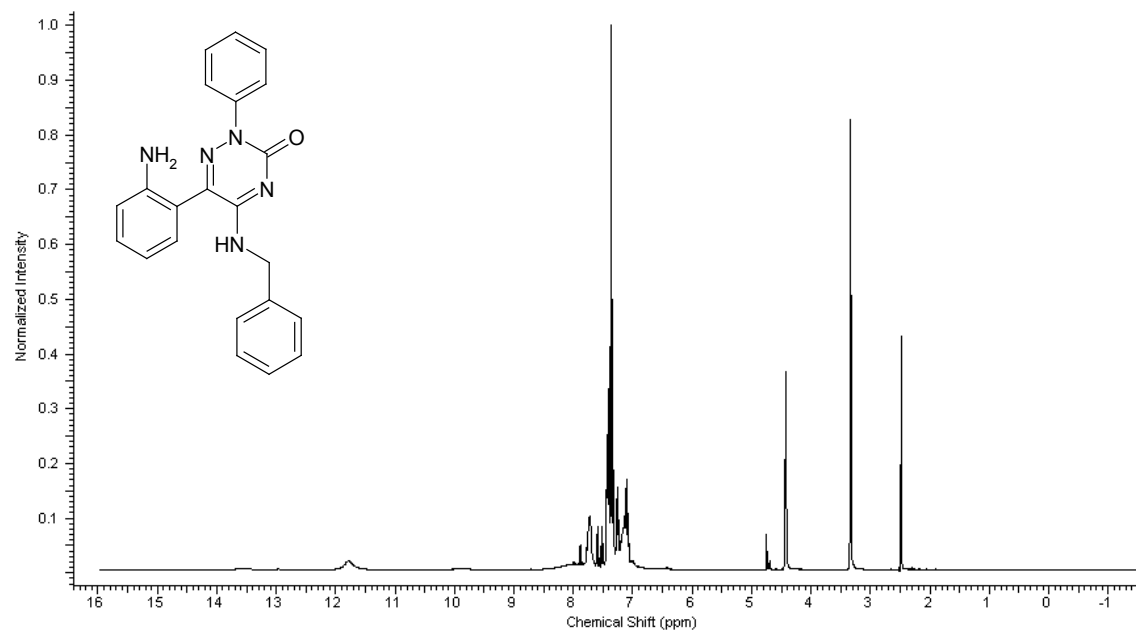
$^1\text{H-NMR}$



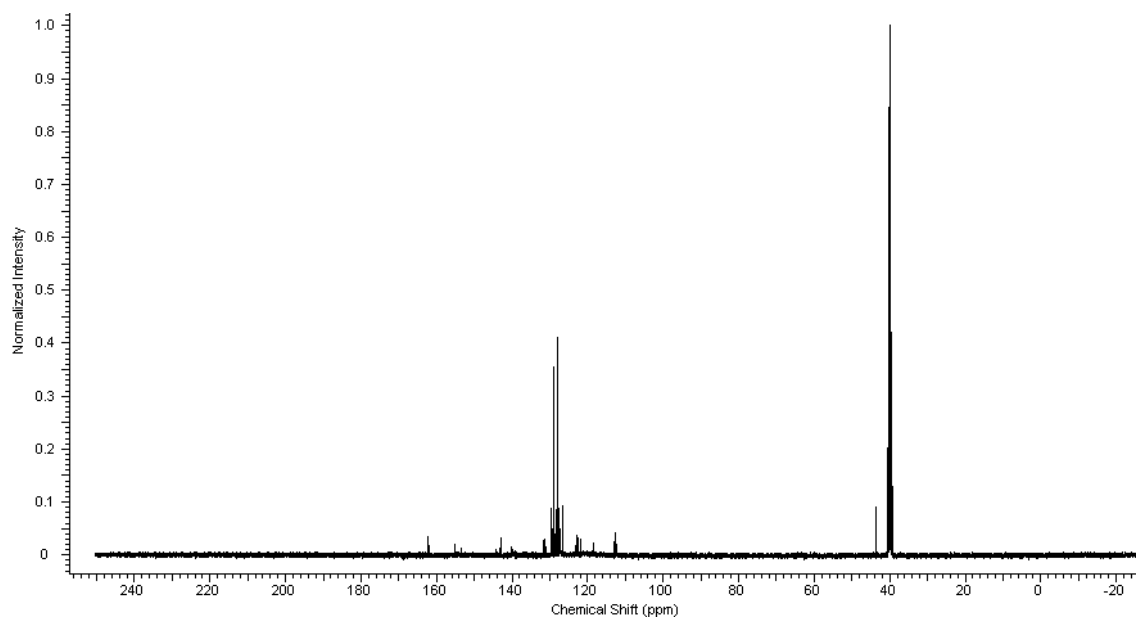
Příloha č.5

NMR spektrum 6-(2-aminofenyl)-2-fenyl-5-benzylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-onu **XV**

$^1\text{H-NMR}$



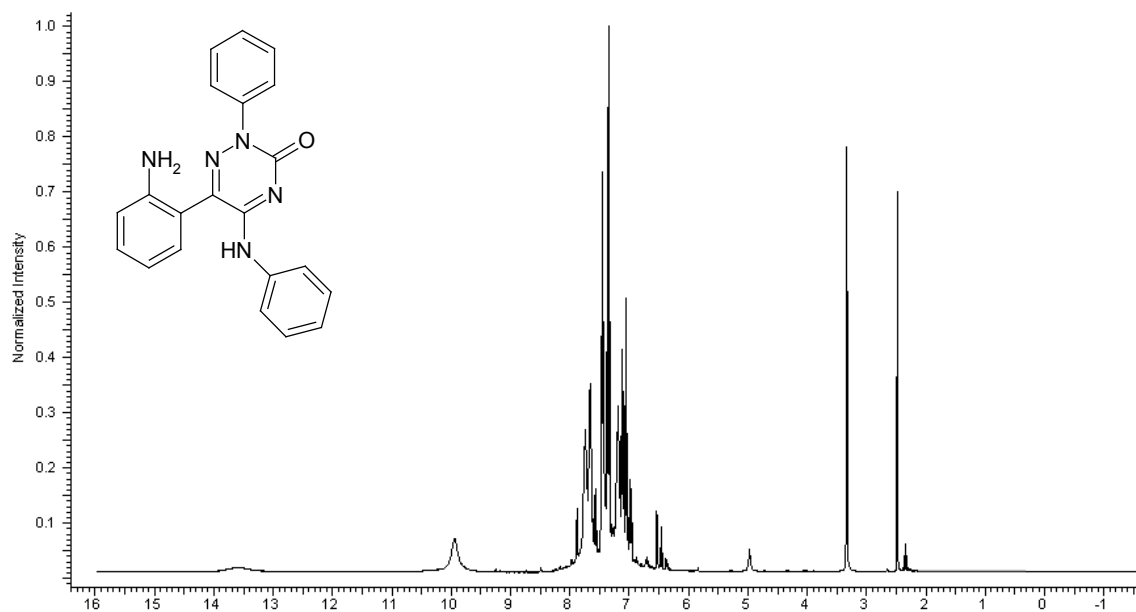
$^{13}\text{C-NMR}$



Příloha č.6

NMR spektrum 6-(2-aminofenyl)-2-fenyl-5-fenylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-onu **XVII**

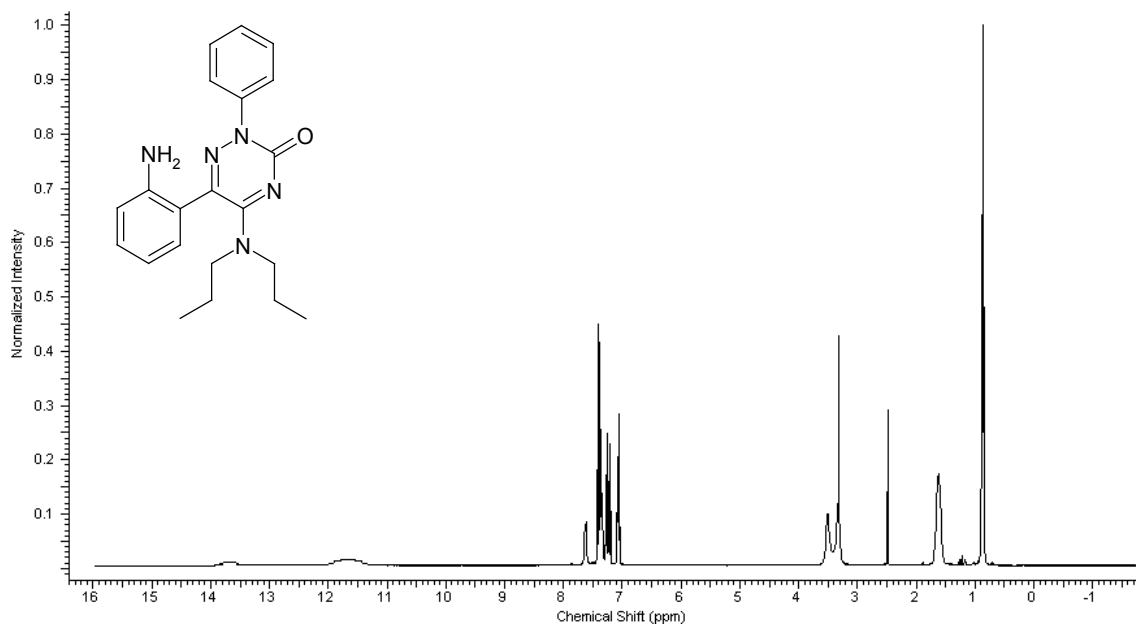
$^1\text{H-NMR}$



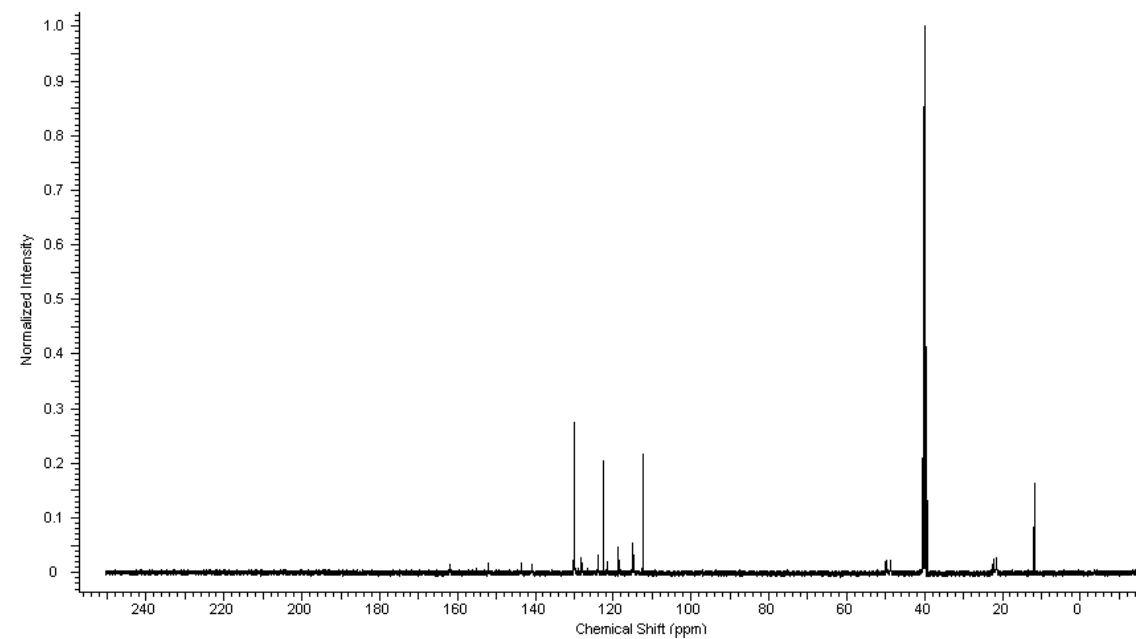
Příloha č.8

NMR spektrum 6-(2-aminofenyl)-2-fenyl-5-dipropylamino-1,2,4-triazin-3(2H)-onu **XIX**

$^1\text{H-NMR}$



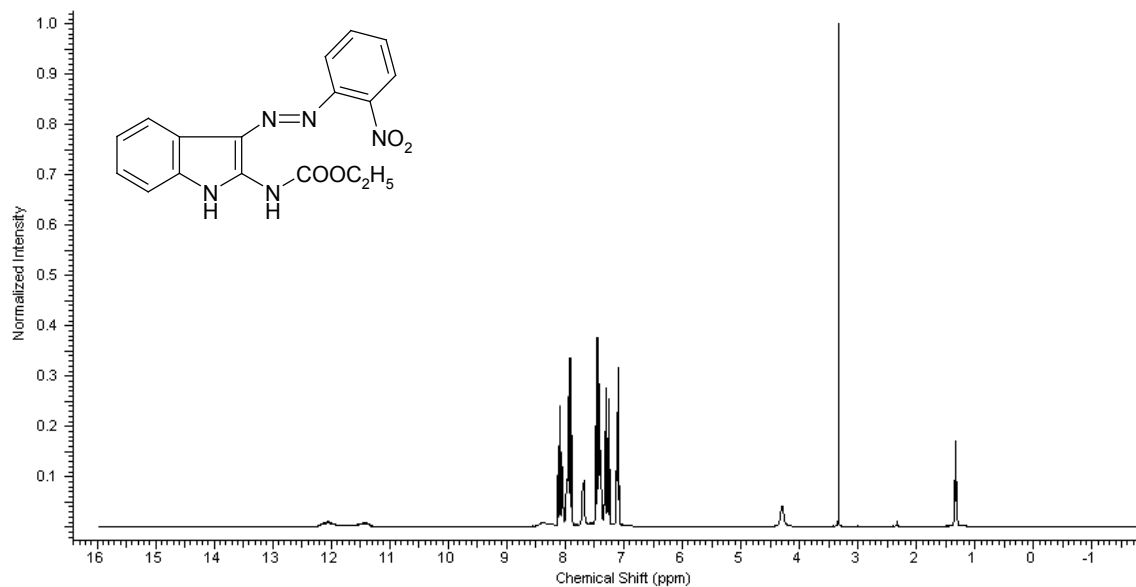
$^{13}\text{C-NMR}$



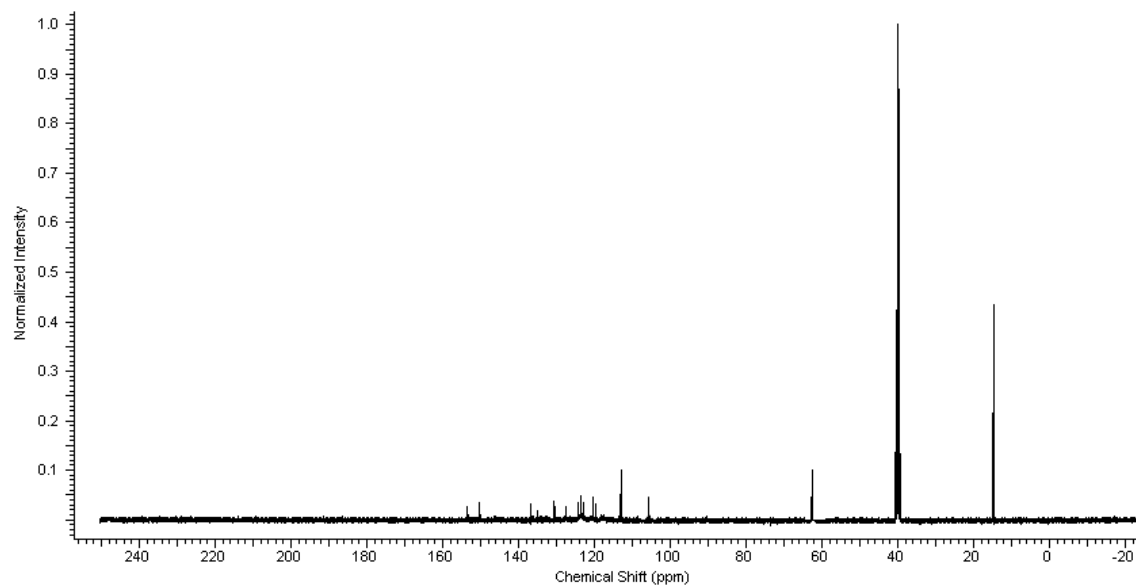
Příloha č.9

NMR spektrum 3-(2-nitrofenylazo)-2-ethoxykarbonylaminoindolu **XXV**

$^1\text{H-NMR}$



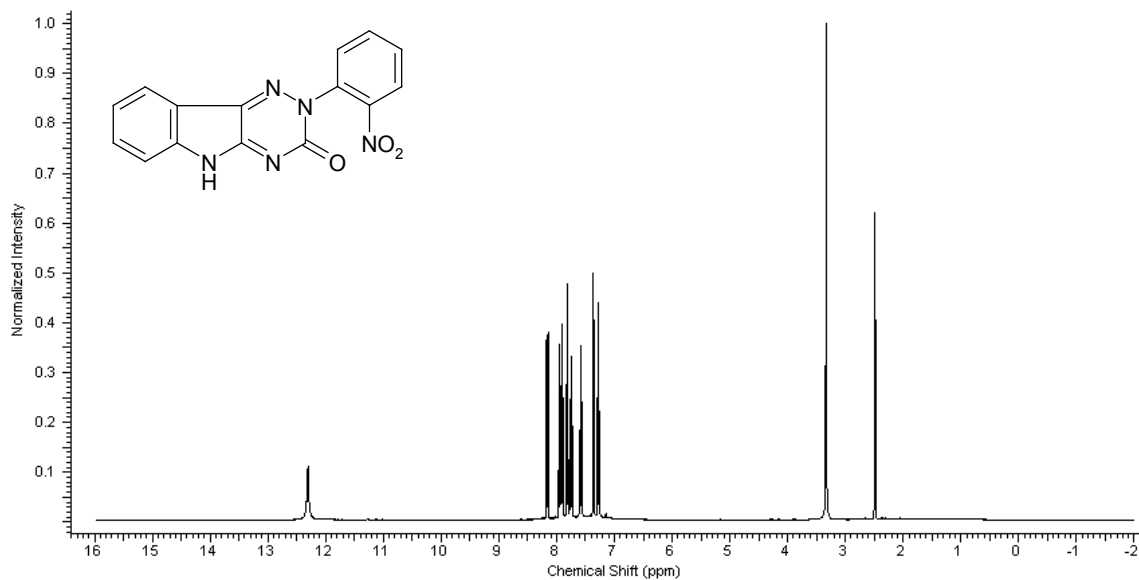
$^{13}\text{C-NMR}$



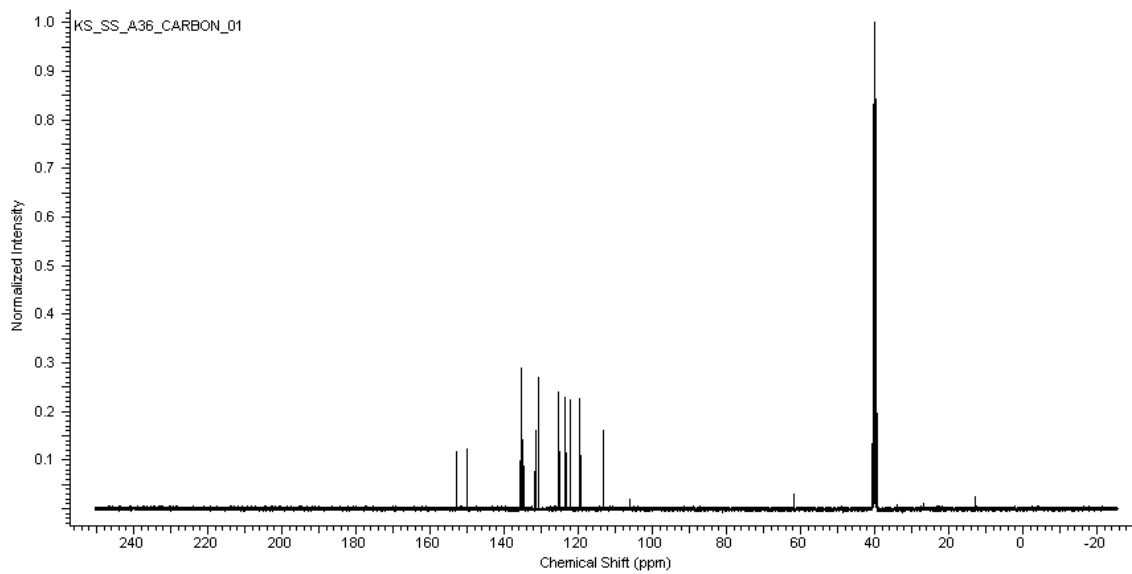
Příloha č.10

NMR spektrum 2-(2-nitrofenyl)-2,3-dihydro-5*H*-1,2,4-triazino[5,6-*b*]indol-3-onu **XXVI**

¹H-NMR



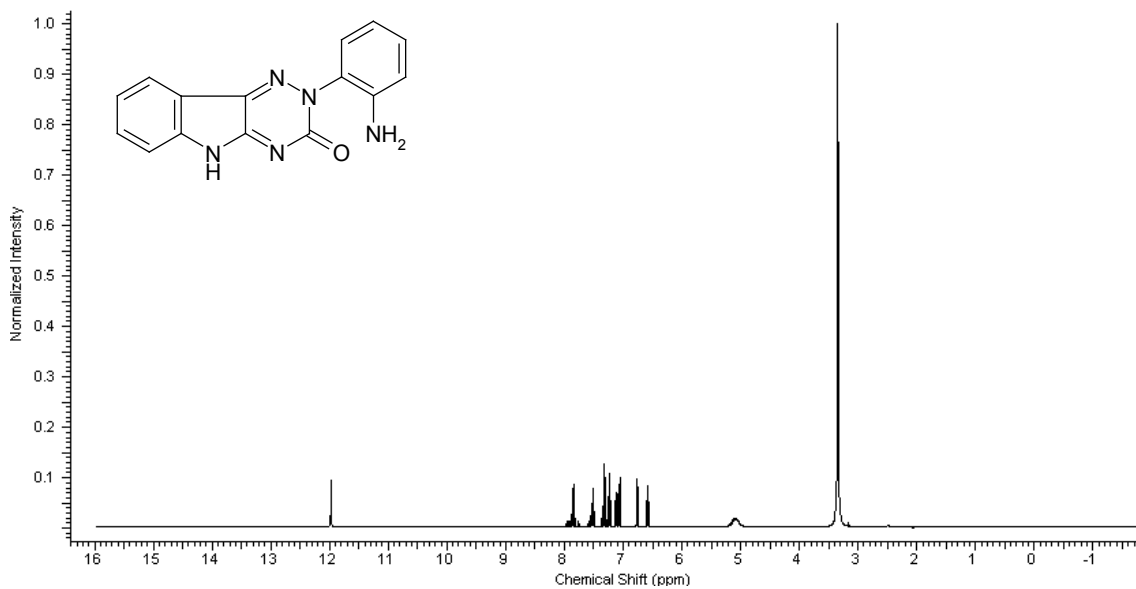
¹³C-NMR



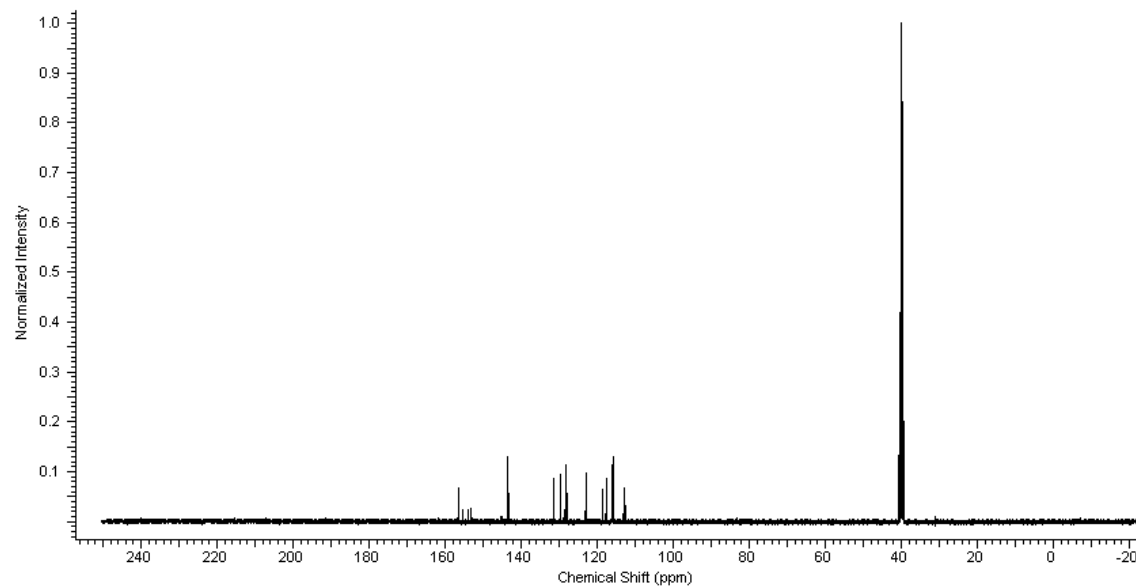
Příloha č.11

NMR spektrum 2-(2-aminofenyl)-2,3-dihydro-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol-3-onu **XXVII**

$^1\text{H-NMR}$



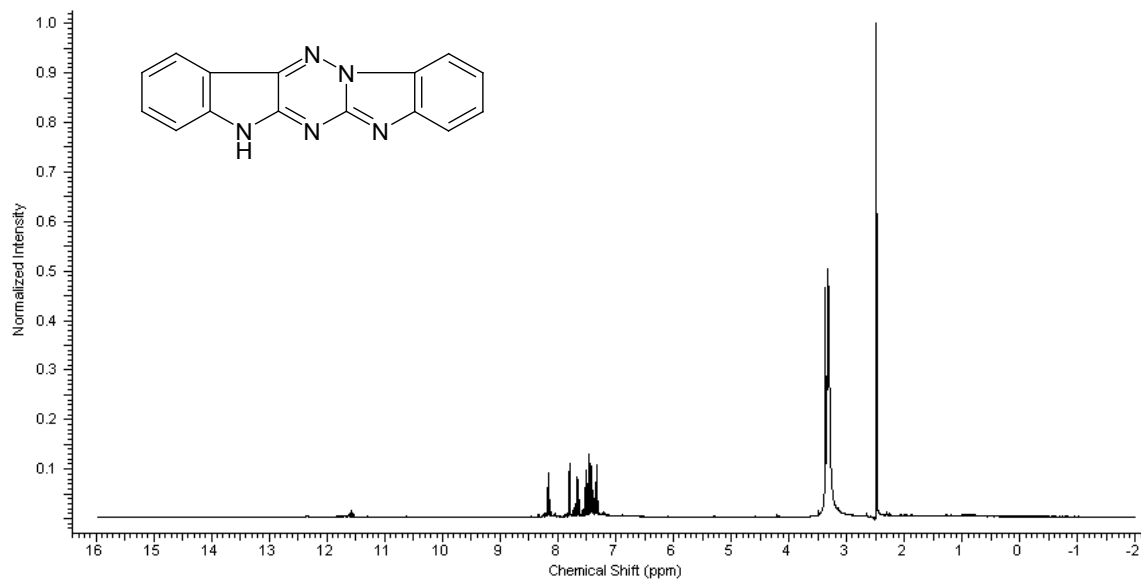
$^{13}\text{C-NMR}$



Příloha č.12

NMR spektrum 7*H*-benzo[4',5']imidazo[1',2':2,3][1,2,4]triazino[5,6-*b*]indolu **XXVIII**

¹H-NMR



¹³C-NMR

