

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Monika Dargytė

INDOLO KARBOKSIRŪGŠČIŲ DARINIŲ SINTEZĖ

Baigiamasis magistro darbas

Vadovas

lek. dr. Vida Buinauskaitė

Kaunas, 2015

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS
ORGANINĖS CHEMIJOS KATEDRA**

TVIRTINU

Padalinio vadovas

prof. dr. Vytas Martynaitis

**INDOLO KARBOKSIRŪGŠČIŲ DARINIŲ
SINTEZĖ**

Baigiamasis magistro darbas

Studijų programa Taikomoji chemija (kodas 621F10003)

Vadovas

lekt. dr. Vida Buinauskaitė

Recenzentas

j. m. d. dr. Dalius Gudeika

Lietuvių kalbos konsultantė

Virginija Stankevičienė

Darbą atliko

Monika Dargytė

Kaunas, 2015



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Monika Dargytė

Studijų programa Taikomoji chemija (kodas 621F10003)

Baigiamojo darbo „Indolo karboksirūgščių darinių sintezė“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2015 m. gegužės mėn. 25 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Monika Dargytė** baigiamasis darbas tema „Indolo karboksirūgščių darinių sintezė“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjusi.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(studento vardas ir pavardė,)

(parašas)

Turinys

SUMMARY

SANTRUMPOS

IŽANGA	1
1. LITERATŪROS APŽVALGA	2
1.1. Kvorumo jutimas	2
1.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> kvorumo jutimo inhibavimas	2
1.1.2. Titnagdumblių kvorumo jutimo inhibavimas	4
1.1.3. <i>N</i> -sulfonilhomoserino laktonai	5
1.1.4. Kalpains aktyviojo centro inhibitoriai	6
1.1.5. Fluorescenciniai žymekliai kvorumo jutime	7
1.2. AUGALŲ HORMONAS 3-INDOLILACTO RŪGŠTIS	9
1.2.1. 3-Indolilacto rūgšties biosintezė augaluose	11
1.2.2. 3-Indolilacto rūgšties darinių sintezė laboratorijoje	13
1.2.3. (4-Chlor-1 <i>H</i> -indol-3-il)acto rūgšties biosintezė	14
1.2.4. Halogenintų 3-indolilacto rūgšties darinių sintezė laboratorijoje	14
2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI	18
2.1. Analizės atlikimo metodika	18
2.2. Naujų junginių sintezės aprašymai ir charakterizavimas	19
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	33
3.1. Potencialių fluorescencinių žymeklių sintezė	33
3.1.1. 5-Arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų sintezė	33
3.1.2. 5-Arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų redukcinis žiedo atidarymas	34
3.1.3. 4-(1,3,3-Trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -indol-2-il)butanamidų redukcija	35
3.1.4. 4-(1,3,3-Trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -indol-2-il)butanamidų hidrolizė	36
3.1.5. 1,3,3-Trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -indolo darinių optinių savybių tyrimas	37
3.2. Augalų hormono – auksino analogų sintezė	39
3.2.1. (5-Brom-1 <i>H</i> -indol-3-il)acto rūgšties sintezė	39
3.2.2. 5-Pakeistų 3-indolilacto rūgšties darinių sintezė	42
3.2.3. Metilintos indolilacto rūgšties sintezė	45
3.2.4. 3-Indolilacto rūgšties darinių optinių savybių tyrimas	48
IŠVADOS	52

LITERATŪROS SĄRAŠAS	53
MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS	61

Dargytė, M. Indolo karboksirūgščių darinių sintezė. *Taikomosios chemijos magistro baigiamasis darbas / vadovas* lekt. dr. Vida Buinauskaitė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas, Organinės chemijos katedra.

Kaunas, 2015. 62 psl.

Summary

Dargytė, M. Applied Chemistry Master's thesis: "Synthesis of indole carboxylic acid derivatives".

Indole core derivatives are one of the most widely used and tested. These compounds are still important between synthetic chemists as upon minor transformations these molecules could be used for fluorescence labeling or biologically active heteroauxins.

The aim of this work is to synthesize and characterize biologically active indole carboxylic acid derivatives.

For this purpose 5-arylspiro[indole-2,2'-piperidin]-6'-ones have been synthesized according to the reported in literature method. These compounds have been used for ring opening reaction, catalyzed by Pd/C. The previously got amides have been reduced by LiAlH₄ and hydrolyzed. One of the final products (ester) has been proposed as a potential agent of quorum sensing research.

The (5-bromo-1*H*-indole-3-yl)acetic acid's synthesis conditions were optimized by Fischer indole synthesis. The previously prepared indole acid has been used for Suzuki-Miyaura cross coupling reaction with various boronic acids to give biologically active 5-substituted 3-indolyl acetic acid. These derivatives were sent to Palacký University for biological testing.

The optical properties of new heterocyclic compounds were investigated by UV-Vis and fluorescence spectroscopy. All structures of these compounds were confirmed by NMR, MS, HRMS, IR and elemental analysis.

Santrumpos

ACN	acetonitrilas
Ac ₂ O	acto rūgšties anhidridas
AcOH	acto rūgštis
Ar	aromatinė grupė
BMR	branduolių magnetinis rezonansas
CDCl ₃	deuteriuotas chloroformas
d	dubletas
DCC	<i>N,N'</i> -dicikloheksilkarbodiimidaz
DCM	dichlormetanas
dd	dubleto dubletas
DIBAL	diizobutilaliuminio hidridas
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropiletilaminas
DMAP	4-dimetilaminopiridinas
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamidas
DMSO	dimetilsulfoksidas
DMSO- <i>d</i> ₆	deuteriuotas dimetilsulfoksidas
ESI	elektropurkštuvinė jonizacija
EDCI	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimidaz
Et-	etilgrupė
EtOAc	etilo acetatas
Et ₂ O	dietileteris
EtOH	etanolis
Heks	heksanas
HOAt	1-hidroksi-7-azabenztriazolas
HOBT	hidroksibenztriazolas
HRMS	aukštos rezoliucijos masių spektroskopija
hν	sužadinimas ultravioletine spinduliuote
IAR	3-indolilacto rūgštis
IR	infraraudonoji spektroskopija
<i>J</i>	protonų tarpsukininės sąveikos konstanta
kv	kvadrupletas

m	multipletas
MB	mikrobangos
m.d.	milijoninės dalys
Me-	metilgrupė
MeOH	metanolis
MHz	megahercas
MS	masių spektroskopija
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butillitis
Pd/C	paladis ant aktyvintos anglies
Ph	fenilo grupė
R_f	sulaikymo koeficientas
s	singletas
TEA	trietilaminas
TFA	trifluoroacto rūgštis
THF	tetrahidrofuranas
$t_{\text{kamb.}}$	kambario temperatūra
$t_{\text{lyd.}}$	lydymosi temperatūra
UDP-gliukozė	uridino difosfato gliukozė
UV	ultravioletinė spektroskopija
v/v	tūrinis santykis
ϵ	ekstinkcijos koeficientas, $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$; dielektrinė konstanta
δ	cheminis poslinkis
λ_{abs}	absorbcijos maksimumas
λ_{em}	emisijos maksimumas
^{13}C BMR	anglies ^{13}C izotopo branduolių magnetinis rezonansas
^1H BMR	protonų magnetinis rezonansas

Ižanga

Iš heterociklinių sistemų labiausiai gamtoje paplitę indolo fragmentą turintys junginiai [1]. Tačiau sintetinių analogų pritaikymas biologijoje iki šiol yra minimalus. Šios struktūros dariniai yra kaip tarpiniai junginiai tolimesnėje sintezėje [2] siekiant gauti biologiškai aktyvias molekules.

Tradicinis infekcijų, kurias sukelia bakterijos, gydymas remiasi sukėlėjų naikinimu ar jų augimo – dauginimosi inhibavimu [3]. Vienas iš paprasčiausių naikinimo būdų, tai sudaryti tokias sąlygas, kad mikroorganizmai negalėtų tarpusavyje kontaktuoti, pvz: sustabdyti, dažniausiai gramneigiamose bakterijose vykstantį, kvorumo jutimą [4]. Norint optimaliai pašalinti mikroorganizmus, stengiamasi juos pažymėti naudojant fluorescencinius žymeklius. Fluorescencinio ženklavimo pavyzdys – kvorumo jutimo signalinių junginių žymėjimas, sudarant peptidinį ryšį [5]. Žinoma, kad kuo ilgesnė konjuguota dvigubų jungčių sistema organinio junginio molekulėje, tuo gaunama geresnė fluorescencija. Vienas iš paprasčiausių konjuguotosios sistemos pailginimo būdų – paladžio katalizuojamos Suzuki-Miyaura kryžminio jungimo reakcijos. Tai itin nauja ir mažai nagrinėta tyrimų sritis, kurioje būtų išbandyti indolo fragmentą turintys dariniai fluorescencinių žymeklių sintezei.

Augalų hormonas 3-indolilacto rūgštis (IAR) yra plačiausiai paplitęs natūralus auksinas, randamas visuose indinius audinius turinčiuose augaluose [6]. Jis dalyvauja beveik visuose augalų augimo bei vystymosi procesuose, nuo pat gemalo susiformavimo iki augalo brandos [7]. Šiuo metu, biomokslų atstovams aktualu ištirti sintetinius IAR analogus [8]. Siekiama susintetinti didesniu aktyvumu pasižyminčius junginius, juos lyginant su randamais natūraliai gamtoje.

Darbo tikslas – *susintetinti indolo karboksirūgščių darinius, kurie pasižymėtų biologinėmis savybėmis bei gautų naujų heterociklinių junginių charakterizavimas.*

Darbo uždaviniai:

1. Išanalizuoti literatūroje aprašytus kvorumo jutimo inhibitorius bei indolilacto rūgšties gavimo metodus;
2. Susintetinti 5-arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onus, atlikti piperidinonų redukcinių žiedo atidarymą bei gautų produktų redukciją ir hidrolizę;
3. Atlikti naujų junginių UV bei fluorescencinius tyrimus ir pasiūlyti tinkamiausią biologiniams tyrimams;
4. Optimizuoti (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties sintezę;
5. Atlikti (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties Suzuki-Miyaura kryžminio jungimo reakcijas su įvairiomis boro rūgštimis bei atlikti jų UV bei fluorescencinius tyrimus.

1. Literatūros apžvalga

Siekiant praplėsti indolo fragmentą turinčių junginių grupę, buvo ieškoma mažai tirtų biologijos sričių. Pirmiausia pasirinktas, tam tikriems mikroorganizmams būdingas bendravimo būdas – kvorumo jutimas. Kita sritis augalų hormonas 3-indolilacto rūgštis. Apie kvorumo jutimą, šio proceso inhibitorius bei heteroauksinų sintezės būdus pateikiama literatūros apžvalgoje.

1.1. Kvorumo jutimas

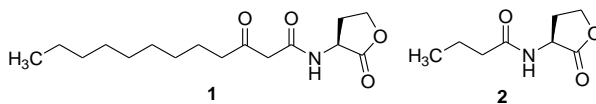
Gamtoje aptinkamos dviejų formų bakterijos: planktoninės ir bioplėvėse [9]. Mikroorganizmai augantys bioplėvėse sukelia įvairias lėtines ir pasikartojančias ligas: šlapimo takų, dantų, dantenų, viršutinių kvėpavimo takų, ausų ir kitas. Ligų kontrolės ir profilaktikos centras JAV nustatė, kad 65% žmogaus bakterinių ligų yra susiję su bioplėvėmis bakterijomis [10]. Šie mikroorganizmai įprastiniais būdais nenustatomi, dėl juos supančios gleivingos matricos. Juos bioplėvėje galima nustatyti tik elektroniniu ar atominiu mikroskopais, ar lazerine nuskaitančia technika.

Mikroorganizmai bioplėvėje sąveikauja tarpusavyje cheminiais signalais [11]. Šis procesas vadinamas – kvorumo jutimu [11]. Jo tyrimai pradėti, pastebėjus švytėjimą, kai padidėja mikroorganizmų bioplėvėje tankis [10]. Kvorumo jutimas pastebėtas gramneigiamose bakterijos *Vibrio fischeri* ir *Vibrio harveyi* [4] bei gramteigiamose *Streptococcus pneumoniae* ir *Staphylococcus aureus* [12]. Sąveikaudamos bakterijos bioplėvėje gamina mažas tirpias signalines molekules – acilintą homoserino laktoną (acil-homoserino laktoną) [13]. Kiekviena bakterija prie paviršiaus turi receptorius tokioms signalinėms molekulėms prisijungti [14]. Mokslininkai Engerbecht ir Silvermanas ištyrė, bakterijų liuciferazės fermentų kompleksus ir koduojamus genus nustatė, kad švytėjimo atsiradimą mikroorganizmuose kontroliuoja du reguliavimo baltymai LuxI ir LuxR, kurie aktyvuojasi prisijungus homoserino laktonams [15]. Taip bakterijos „supranta“ viena kitą ir visą savo veiklą nukreipia kolonijos gerovei. Bakterijos bioplėvėje tarpusavyje pasikeičia savo genetinė informacija, todėl kinta jų fenotipas, jos tampa atsparesnės aplinkos poveikiui [10].

1.1.1. *Pseudomonas aeruginosa* kvorumo jutimo inhibavimas

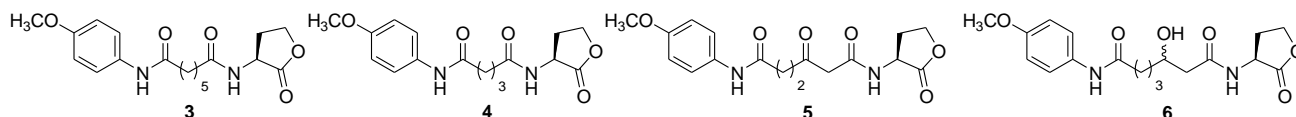
Tradicinis infekcijų, kurias sukelia bakterijos, gydymas remiasi sukėlėjų naikinimu ar jų augimo – dauginimosi inhibavimu. Gramneigiamos bakterijos *Pseudomonas aeruginosa* tarpusavyje bendrauja kvorumo jutimu [3]. Šis mikroorganizmas pirmiausia paveikia asmenis, kurių imuninė sistema yra nusilpusi, t.y. sergant AIDS, onkologinėmis ligomis, ilgą laiką vartojant antibiotikus [16]. Dažniausiai ši bakterija sukelia cistinę fibriozę. Buvo išskirti du *Pseudomonas aeruginosa* acil-homoserino laktonai: *N*-3-oksododecanoil-L-homoserino laktonas (**1**) ir *N*-butirilo homoserino

laktonas (**2**) (1.1 pav.) [13]. *N*-3-oksododecanoil-*L*-homoserino laktonas (**1**) skatina apoptozę eukariotinėse ląstelėse, tai yra reguliuoja ląstelių skaičių gyvuose organizmuose bei yra vienas iš priešvėžinių, priešvirusinių gynybos būdų [17]. Taip pat nustatyta, kad *Pseudomonas aeruginosa* acil-homoserino laktono analogai pasižymi priešvėžinėmis savybėmis [18].



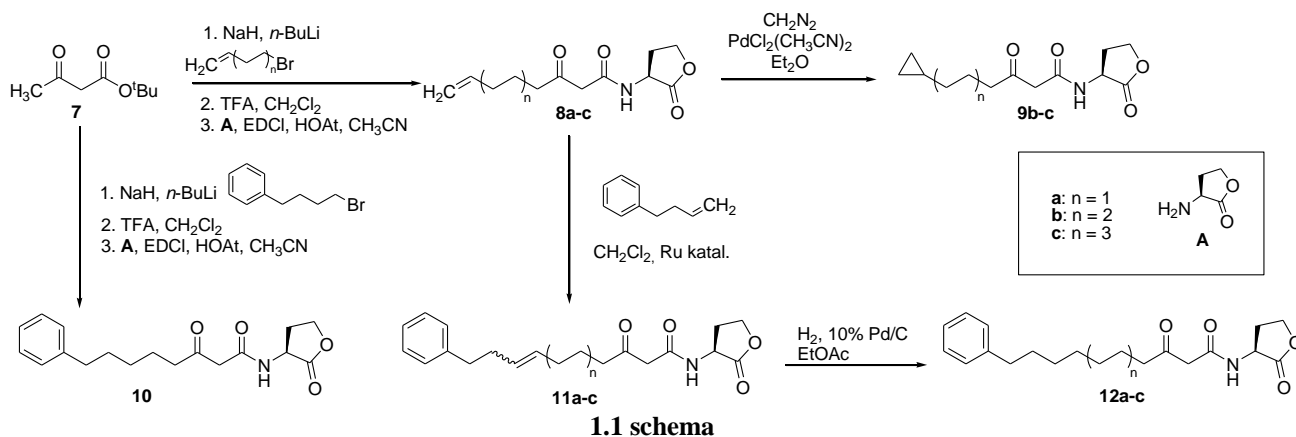
1.1 pav. *Pseudomonas aeruginosa* acil-homoserino laktonai

Buvo atrasta, kad sintetiniai junginiai **3** – **6** (1.2 pav.) iš natūralaus feromono yra potencialūs kvorumo jutimo antagonistai, blokuojantys mikroorganizmų tarpusavio sąveiką [13]. Šie antagonistai savo struktūroje išlaiko homoserino laktono fragmentą, o karbonilinė grupė molekulei palengvina prisijungimą prie baltymų. Visi šie junginiai pasižymi puikiu panašumu su receptoriais A ir B, atsakingais už signalinių molekulių gamybą ir išskyrimą [19].



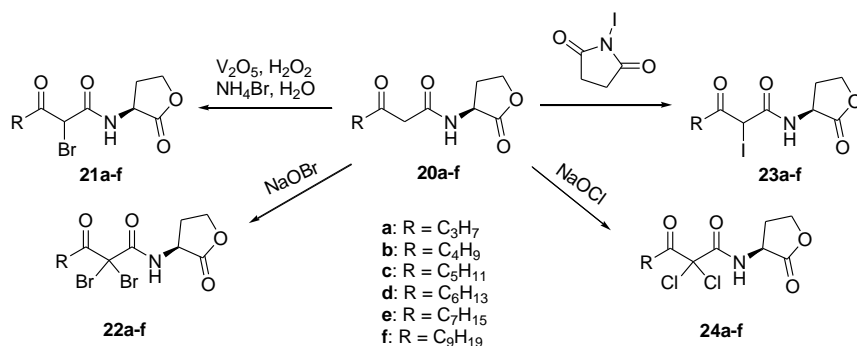
1.2 pav. 4-Metoksifenilo amidai – acil-homoserino laktono analogai [13]

Buvo susintetinta grupė acil-homoserino laktonų analogų, turinčių skirtingas šonines grandines, nuo kurių priklauso apoptozės indukavimas (1.1 schema) [20]. Atlikus bromo pakeitimą ličiu, gautas **10** junginys, kuris praranda poveikį apoptozei dėl trumpos alifatinės grandinės. Jungiant *tert*-butil acetoacetatą (**7**) su bromintais alkenais, gaunama ilgesnė alifatinė grandinė, turinti reaktinę dvigubą jungtį. Dviguba jungtis transformuojama į ciklopropaną esant Pd katalizatoriui, gaunami **9b-c** junginiai, kurie taip pat neveikia apoptozės. Taip pat atlikus alkenų kryžminio jungimo reakciją katalizuojamą Ru [21], susidarė **11a-c** dariniai. Siekiant išvengti šių junginių Z ir E izomerų, atlikta dvigubos jungties redukcija Pd/C, gauti **12a-c** analogai, kurie indukuoja apoptozės aktyvumą.



1.1 schema

homoserino laktonus **20a-f** paveikus šviežiu natrio hipobromidu. Jodo pakaitą turintys dariniai **23a-f** gauti, pradinius junginius **20a-f** atitinkamai paveikus *N*-jodsukcinimidu. Taipogi junginius **20a-f** paveikus vandeniniu natrio hipochloritu, išskirti dichlorinti laktonai **24a-f**.



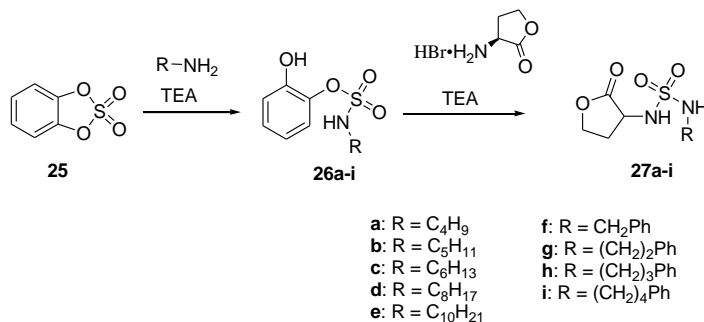
1.4 schema

Atlikus biologinius tyrimus su *Chromobacterium violaceum*, gauti tokie rezultatai: mono- ir dibrominti junginiai pasižymi didesniu biologiniu aktyvumu, nei jodo pakaitą turintys junginiai **23a-f**, o chlorinti **24a-f** – neaktyvūs [25].

1.1.3. *N*-sulfonilhomoserino laktonai

Nemažai laktonų analogų inhibuoja 3-okso-heksanoil-L-homoserino laktono biosintezę – natūralų biofluorescencijos induktorių aptinkamą gramneigiamoje bakterijoje *Vibrio fischeri* [11]. Siekiant kontroliuoti mikroorganizmų sukeltas infekcijas bei bioplėvių formavimą, atkreiptas dėmesys į sieros atomą turinčius darinius.

Prancūzų mokslininkai atliko sulfonitų junginių **27a-i** sintezę iš ciklinio katecholio sulfato **25** bazinėje aplinkoje, susidarant tarpiniams junginiams **26a-i**, kurie toliau jungiami su homoserino laktonu (*1.5 schema*) [11]. Gautų junginių išeigos svyruoja nuo 12% iki 74%.

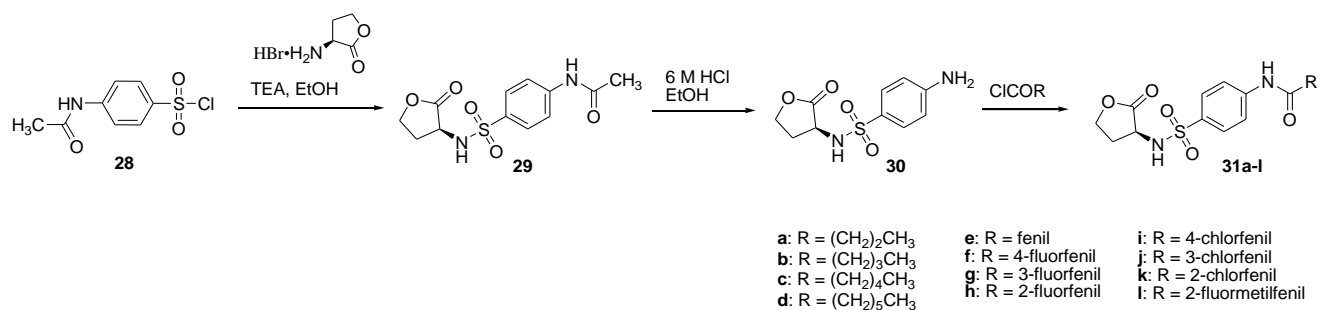


1.5 schema

Atlikus biologinius tyrimus su *Escherichia coli*, pastebėta, kad išskirti sulfonilhomoserino laktonai **27a-i** pasižymi antagonistinėmis savybėmis. Geriausius rezultatus parodė junginys **27b** [11].

Chromobacterium violaceum gramneigiama bakterija aptinkama dirvožemyje, kuri gamina violetinį pigmentą violacena [26]. Tai kvorumo jutimo rezultatas, po kontakto su acilintu homoserino laktonu. Ilgas alkilines grandinėles turintys junginiai (n=10) [27] bei chlorinti laktonai – efektyviausi junginiai, slopinantys violaceno sintezę [28]. Šie antagonistai lengvai praeina ląstelių membranas, nes turi hidrofilinį homoserino laktono žiedą ir hidrofobinę alkilinę ar arilinę grandinę [29]. Nustatyta, kad tarp geriausių kvorumo jutimo inhibitorių yra junginiai, turintys amido grupę [30]. Amido grupė buvo pakeista triazolais ar tetrazolais, tai neklasikiniai bioesteriai, turintys panašumą į amidinius ryšius [31].

4-Acetamidbenzensulfonilo chloridas (**28**) bazinėmis sąlygomis jungiamas su laktono hidrobromidu, išskiriamas produktas **29** (1.6 schema) [13]. Šis junginys hidrolizinamas HCl iki amino **30**, kuris toliau reaguoja su chloranhidridais, susidarant produktams **31a-l**.



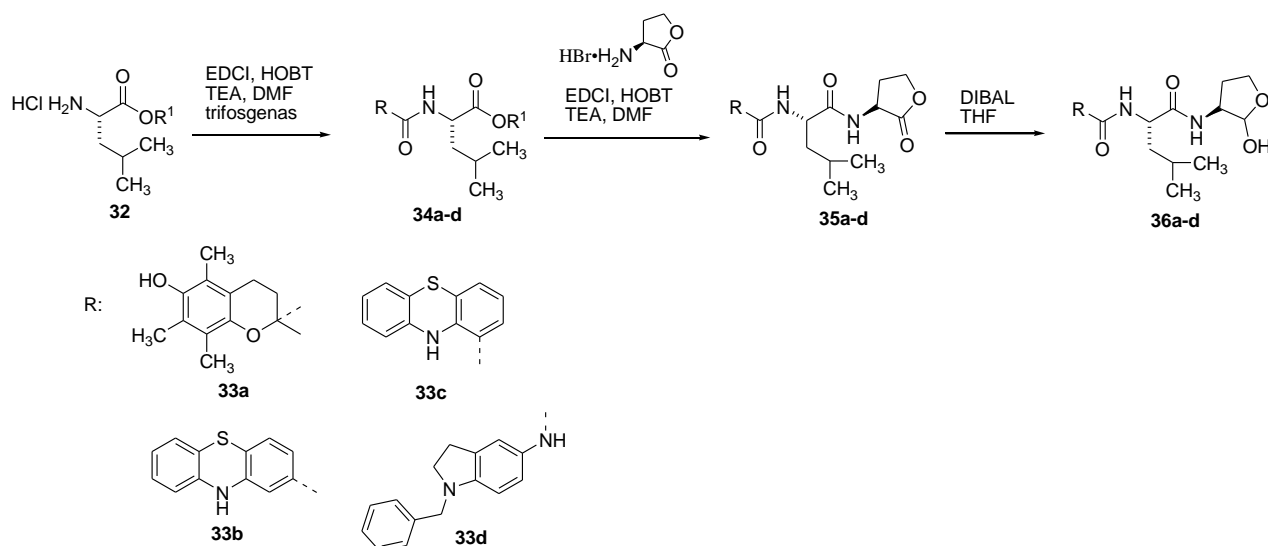
1.6 schema

Ištyrus gautų tikslinių laktonų **31a-l** violaceno biosintezės inhibavimą, buvo nustatyta – iš aromatiųjų junginių, didesniu aktyvumu pasižymi tie, kurių benzeno žiedo *orto*- padėtyje yra halogenas **31f** ir **31i** [13]. Tačiau aktyviausias buvo, alifatinę grandinę turintis butiro laktono darinys **31c**.

1.1.4. Kalpaino aktyviojo centro inhibitoriai

Kalpainas, tai fermentas priklausantis tiolių proteazių šeimai [32]. Jis svarbus centrinei nervų sistemai, esant insulto patologijai, sergant Parkinsono ar Alzheimerio ligomis, esant raumenų distrofijai, širdies išemijai, artritui [33]. Šios patologijos susijusios su uždegiminiais procesais, kurie atsiranda organizme pasigaminus laisviesiems reaktyviesiems radikalams. Buvo nustatyta, kad hidroksialkilo aldehidai selektyviai jungiasi prie kalpaino aktyviųjų centrų (kalpaino farmakoforo) [34], blokuoja fermentą ir laisvųjų radikalų susidarymą.

Mokslininkai atliko (*S*)-leucino metilo esterio hidrochlorido **32** jungimą su **33a-d**, išskirti produktai **34a-d** (1.7 schema) [32]. Pastarieji toliau jungiami su laktono hidrobromidu, naudojant EDC ir HOBT, susidarė dariniai **35a-d**, kurie redukuojami iki hibridinių molekulių **36a-d**.

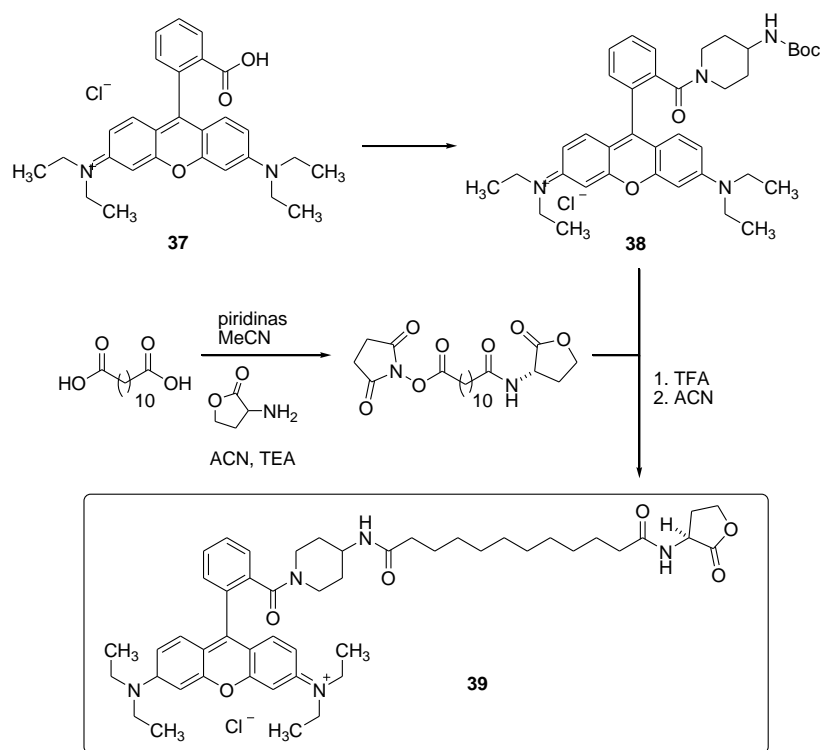


Atlikus biologinius tyrimus su žmogaus kalpaino fermentu, naudojant Leu-Tyr-AMC baltymų substratą, buvo nustatyta, kad visi gauti produktai **36a-d** selektyviai jungiasi prie kalpaino aktyviojo centro ir pasižymi inhibuojančiomis savybėmis [32]. Nors **36d** kalpaino testo metu pasižymėjo blogiausiomis antioksidacinėmis savybėmis, jis buvo efektyviausias inhibitorius.

1.1.5. Fluorescenciniai žymekliai kvorumo jutime

Gyvų ląstelių fluorescencinis žymėjimas, bakterijoms komunikuojant vienai su kita, ligi šiol kelia problemų. Sunkiausia rasti junginius, kurie būtų receptoriaus agonistai ir konkurencingi su natūraliais agonistais [35]. Sintetinis žymeklis imituoja natūralaus agonisto veiklą plačiame koncentracijų intervale ir tai suteikia puikią galimybę pažymėti kvorumo jutimo receptorių [5]. Fluorescencinis ženklavimas taikomas *Burkholderia cenocepacia* bakterijose, jungiant žymeklius prie kvorumo jutimo receptoriaus CepR [36], o tai leidžia vizualiai stebėti bakterijų kultūras.

Straipsnių susijusių su fluoroforais – biosensoriais, kurie būtų žymekliais ir leistų stebėti ląstelių veiklą, yra nedaug. Paminėtinas J. Gomes mokslinės grupės atliktas tyrimas [5]. Šio tyrimo metu buvo susintetintas rodamino B analogas **39** (1.8 schema) [5]. Šis junginys pasižymi raudonos spektro juostos fluorescencija ir didele kvantine išeiga $\Phi_f = 71\%$. Raudona spalva leidžia lengvai atskirti nuo žalio fluorescencijos biosensoriaus.

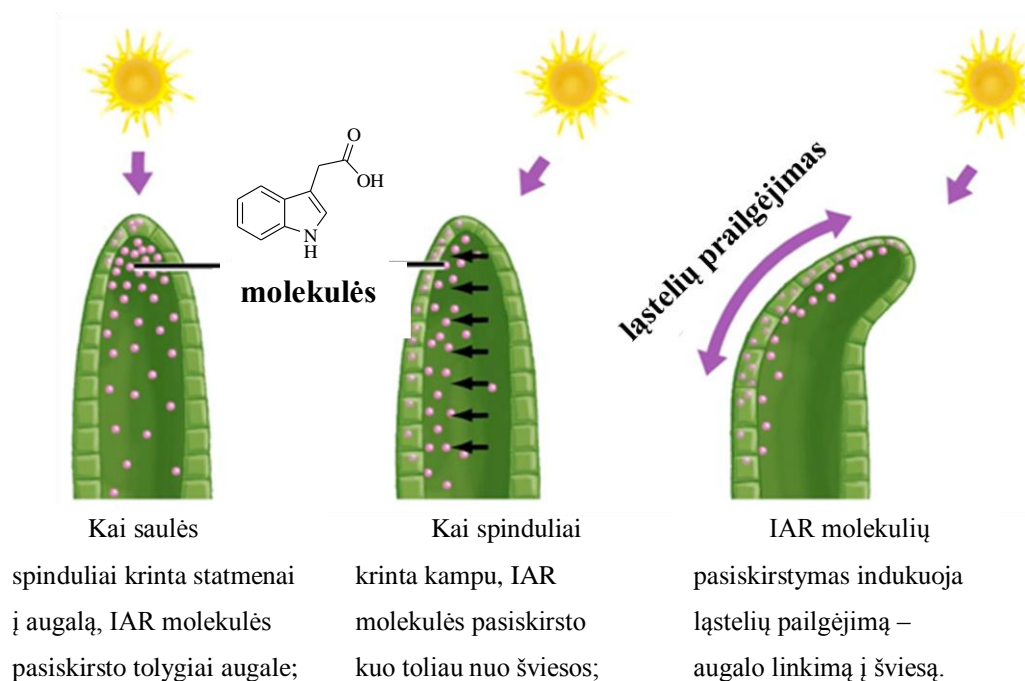


Tikslinio produkto **39** išskyrimas buvo problemiškas dėl produkto skilimo, todėl grynas junginys buvo gautas tik atvirksčių fazių chromatografija (HPLC). Šis junginys selektyviai jungiasi prie kvorumo jutimo H111 receptoriaus, esančio *Burkholderia cenocepacia* bakterijose, $\lambda_{em} = 600$ nm, $\lambda_{abs} = 560$ nm [5].

1.2. Augalų hormonas 3-indolilacto rūgštis

Toliau bus apžvelgiama antroji grupė apie heteroauksiną. Augalų hormonas auksinas buvo atrastas, kaip indolo junginys, skatinantis varpinių augalų diegamakščių išlinkimą kartu augimą [6]. Vėliau struktūrinės bei funkcinės auksino charakteristikos gerokai išsiplėtė. Dabar auksinai vadinama grupė struktūriškai skirtingų junginių, sukeliančių būdingą atsaką biologinėse testavimo sistemose, pavyzdžiui, ląstelių dalijimosi audinių kultūroje ar šaknų formavimosi [37].

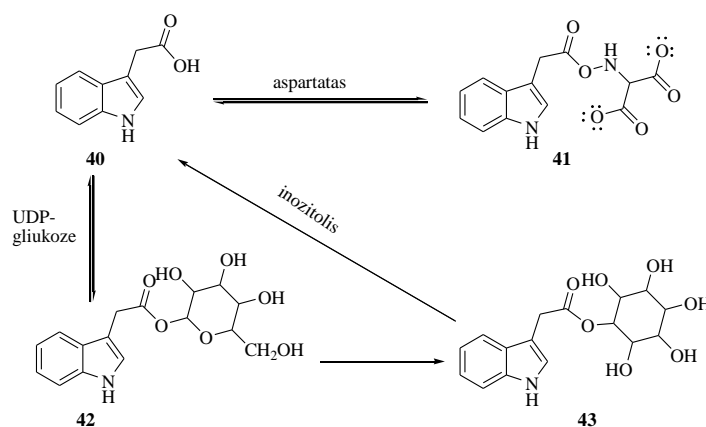
3-Indolilacto rūgštis yra plačiausiai paplitęs natūralus auksinas, aptinkamas visuose indinius audinius turinčiuose augaluose: dviskilčiuose, vienaskilčiuose, plikasėkliuose ir sporiniuose induočiuose. Taip pat IAR nustatyta ir samanose bei kerpsamanėse, netgi kai kuriuose žaliuosiuose dumbliuose [6]. Ji dalyvauja beveik visuose augalų augimo bei vystymosi procesuose, nuo pat gemalo susiformavimo iki augalo brandos [7]. Taigi auksinas reguliuoja gemalo vystymąsi, skatina ląstelių dalijimąsi, stiebų bei diegamakščių ilgėjimą, viršūninį dominavimą, rizogenezę, indinio audinio diferenciaciją, vaisių vystymąsi bei tropinį (kryptingą) judėjimą, pavyzdžiui, ūglių linkimą į šviesą arba šaknų linkimą pagal sunkio jėgos kryptį (1.3 pav.) [37]. Mažos auksinų koncentracijos stimuliuoja šaknų pailgėjimą [38], o didesnės – sumažina ilgėjimą. [39].



1.3 pav. Ūglių linkimas į šviesą [37]

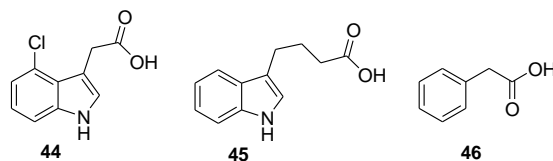
Endogeniniai IAR kiekiai didžiausi būna jaunuose audiniuose, ūglių viršūnėlėse, pumpuruose bei lapuose, jaunuose vaisiuose ir nesubrendusiose sėklose. Senesniuose, subrendusiuose audiniuose šio hormono aptinkama daug mažiau. Aktyvaus auksino kiekis augalų audiniuose reguliuojamas

įvairiais mechanizmais. IAR gali būti grįžtamai verčiama į indolilsviesto rūgštį (kitą auksiną), taip pat gali būti sujungiami su kitomis molekulėmis ar kataboliškai skaidoma. Didžioji dalis hormono aukštaūgiuose augaluose aptinkama junginiuose su kitomis organinėmis molekulėmis, o laisvi jos kiekiai esti maži. 3-Indolilacto rūgštis (**40**) gali būti sujungiami su cukraus ar cukraus alkoholių molekulėmis per esterinę jungtį, susidaro junginiai **41** ir **42**, arba su aminorūgštimis, peptidais ar netgi baltymais per amidinę jungtį, susidarant **43** analogui (*1.9 schema*). Tokie sudėtiniai junginiai yra pagrindinė forma, kurioje IAR saugoma vegetatyvinėse augalo dalyse, taip pat besivystančiose nesubrendusiose sėklose [6].



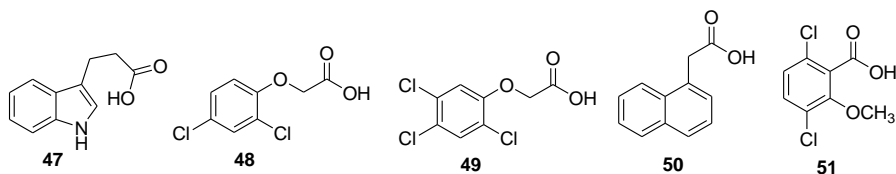
1.9 schema [6]

Mažiausiai du, kiti augaluose randami cheminiai junginiai, turintys savo struktūroje indolo žiedą, pasižymi auksinams būdingu poveikiu (*1.4 pav.*). Ankštiniuose augaluose (ypač besivystančiose sėklose) bei pušies sėklose randamas chlorintas indolo darinys **44**, kuris biologinėse auksino testavimo sistemose pasižymi netgi 10 kartų didesniu aktyvumu nei IAR (**40**) [40]. O 3-indolilsviesto rūgštis (**45**) ilgą laiką buvo žinoma kaip sintetinis auksinas, ypač efektyviai indukuojantis pridėtinių šaknų susidarymą ant stiebo ar lapo išpjovų. Neseniai, 3-indolilsviesto rūgštis (**45**), taip pat identifiukuota, kaip natūralus augalų auksinas (randamas kukurūzuose, žirniuose, vairyneje). Prie natūraliųjų auksinų priskiriamas ir neindolinis junginys fenilacto rūgštis **46**, kuris randamas įvairiuose kultūrinuose augaluose. Fenilacto rūgšties koncentracija augalo audiniuose gali būti didesnė nei IAR, tačiau jos biologinis aktyvumas mažesnis.



1.4 pav. Auksinai

Auksinų poveikio nustatymui, skirtų biologinių testų efektyvumas skatino naujų cheminių junginių su panašiu biologiniu aktyvumu paiešką. Pirmieji, pripažinti sintetiniai auksinai, buvo indolo junginiai, tačiau su šonine propiono ar sviesto rūgšties grandinėle, pavyzdžiui, indolilpropiono rūgštis **47** ir 3-indolilsviesto rūgštis (**45**) [6]. Žinomi ir kiti junginiai, pasižymintys auksinams būdingu biologiniu efektyvumu, tai chlorfenoksiacto rūgštys, pavyzdžiui, 2,4-dichlorfenoksiacto rūgštis (**48**), 2,4,5-trichlorfenoksiacto rūgštis (**49**), naftalenacto rūgštis (**50**) ir kai kurie benzoinės rūgšties dariniai, pavyzdžiui, dikamba **51** (1.5 pav.).



1.5 pav. Sintetiniai auksinai

Sintetinių auksinų poveikis atskiriems augalo vystymosi aspektams gali būti gana įvairus. 2,4-Dichlorfenoksiacto rūgštis (**48**) ypač efektyviai indukuoja ląstelių dalijimąsi audinių arba ląstelių kultūrose, šiuo požiūriu smarkiai lenkdama natūralų auksiną IAR [6]. O naftalenacto rūgštis **50** dažniausiai pakeičia 3-indolilacto rūgštį, kai reikia indukuoti pridėtinių šaknų susidarymą ant stiebo išpjovų. Sintetiniai auksinai augalų audiniuose pasižymi dideliu stabilumu ir yra sunkiai metabolizuojami.

1.2.1. 3-Indolilacto rūgšties biosintezė augaluose

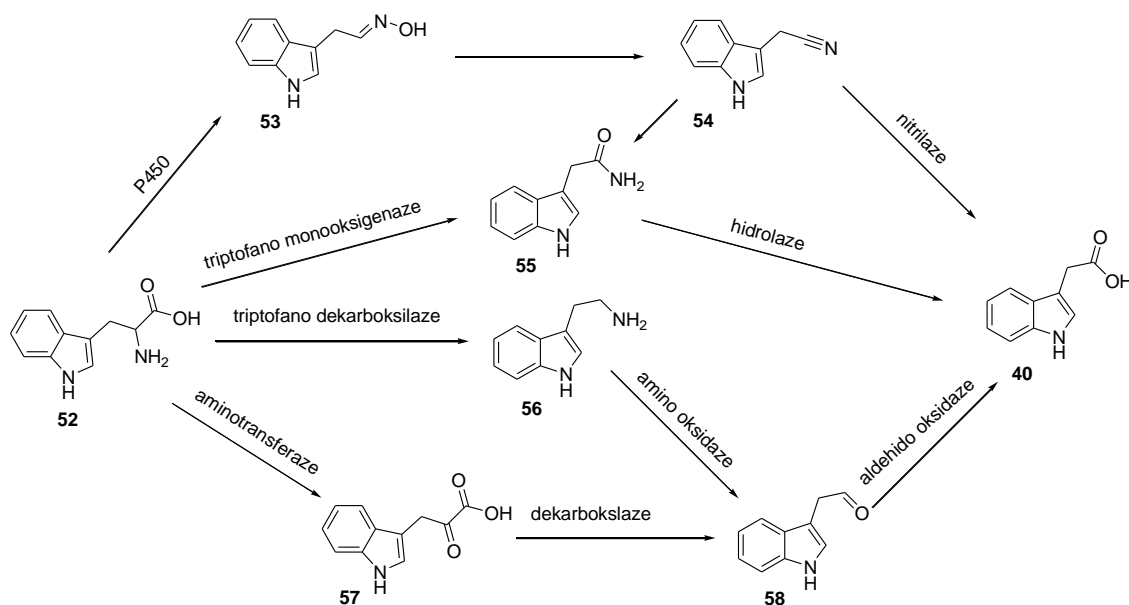
Išsiaiškinus auksino biosintezės molekulinis mechanizmus, tai padėtų geriau suprasti auksino įtaką vystantis augalams, dėl ko būtų lengviau modeliuoti ir kontroliuoti augalus [41]. Augaluose yra keturi IAR biosintezės būdai iš pradinio junginio triptofano **52** (1.10 schema) [42], tačiau nei vienas nėra visiškai išanalizuotas:

a) indol-3-acetaldoksimo. Visiškai nėra aiškus indol-3-acetaldoksimo sintezės kelias. Manoma, kad triptofanas **52** konvertuojamas į indol-3-acetaldoksimą (**53**) dėl fermento P450 [43]. Buvo pasiūlyta junginius **53** ir **54** laikyti, kaip tarpinius darinius [44]. Pastebėta, kad tik defektus turintys augalai gali sintetinti IAR per tarpinį junginį **53**. Manoma, kad būtent jis ir sukelia pakitimus [43].

b) indol-3-piruvato rūgšties. TAA šeimos baltymai katalizuoja triptofano transformaciją iki piruvato **57** [43]. Tačiau ligi šiol nėra visiškai aiškus sintezės mechanizmas. Manoma, kad piruvatas **57**, toliau verčiamas dekarboksilaze iki indol-3-aldehido (**58**), kurį paveikus aldehido oksidaze gaunama IAR [41].

c) indol-3-acetamido. Manoma, kad augalai nenaudoja monooksigenazės transformuojant triptofaną iki indol-3-acetamido (**55**), kuris toliau hidrolizuojamas hidrolaze iki IAR (**40**) [42]. Tačiau atlikus baltažiedžio vairo *Arabidopsis thaliana* ekstrakto tyrimus nustatyta, kad būtent amidas **55** yra tarpinis junginys paveiktas monooksigenaze. Gauti rezultatai patvirtino, kad šis biosintezės kelias taip pat vyksta ir augaluose [41]. Tai vienas iš labiausiai išanalizuotų IAR biosintezės mechanizmų [41].

d) triptamino. Mokslininkai neseniai nustatė, kad YUC baltymai, randami fermentuose: AtYUC1 (randamas baltažiedžiame vairyje), FZY (randamas pomidoruose) ir ZmYUC (randamas kukurūzuose) katalizuoja triptofano **52** transformaciją į triptaminą **56** [42]. Toliau dėl amino oksidazės, junginys **56** paverčiamas į indol-3-acetaldehidą (**58**) ir galiausiai transformuojamas iki IAR [42].



1.10 schema [45]

Siekiant įvertinti mikroorganizmus pastebėta, kad keletas su augalais susijusių bakterijų, viena iš jų gumbelinė bakterija, gamina augalų hormoną IAR [46]. Iki šiol žinomi trys bakterijose vykstantys biosintezės būdai:

- indol-3-acetamido;
- triptamino;
- indolo-3-piruvo rūgšties.

Visi bakterijose vykstantys IAR biosintezės procesai atliekami analogiškai, kaip ir augaluose [46].

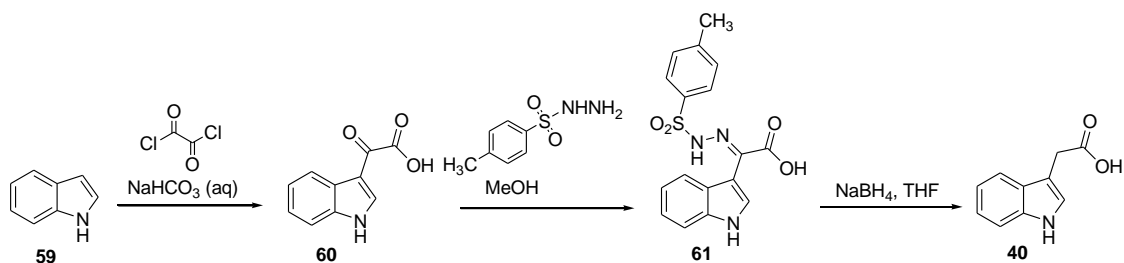
1.2.2. 3-Indolilacto rūgšties darinių sintezė laboratorijoje

Plačiai ištirta augalų augsino IAR oksidacija krienų peroksidaze, kurios metu gauti produktai inhibuoja bakterijų augimą [47]. Heteroauksinas pasižymi mažu toksiškumu ir sunkiai oksiduojamas žinduolių endogeninių peroksidazių, todėl tai yra junginys priešvėžiniams provaistams.

Literatūroje yra nedaug 3-indolilacto rūgšties sintezės būdų, kuriuos galima suskirstyti į tris grupes [48]:

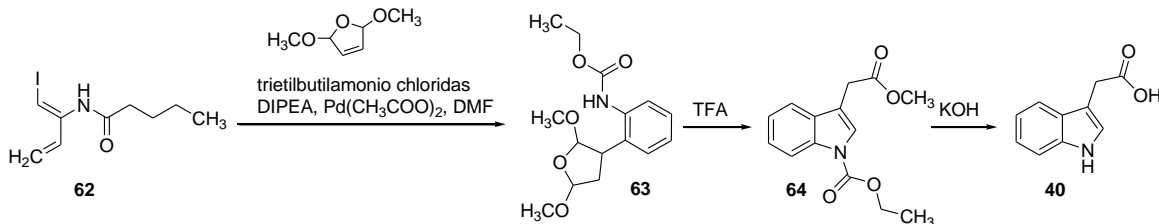
- Fischer'io indolo žiedo sintezė rūgštinėje aplinkoje;
- Indolo žiedo alikilinimas 3-oje padėtyje;
- Cheminė ar fermentinė indolil-3-acetonitrilo hidrolizė.

Vienas iš seniausių ir pirmųjų būdų, tai 3 pakopų sintezė atliekama švelniomis sąlygomis (1.11 schema) [49]. Pradžioje sintetinamas indol-3-glioksolio rūgštis (**60**) iš indolo **59** ir oksalilchlorido eteryje. Toliau okso- grupė panaudojama hidrazonui **61** gauti, indol-3-glioksolio rūgštį (**60**) veikiant *p*-toluen-sulfonhidrazidu metanolio virimo temperatūroje. Gautą hidrazoną redukuojant NaBH₄ tetrahidrofurano virimo temperatūroje, išskiriamas tikslinis produktas IAR **40**. Nors nereikia aukštos temperatūros, labai pavojingų reagentų ar išskirtinės įrangos, šis metodas nėra patrauklus, nes gaunama maža produkto **40** išeiga (≈15%).



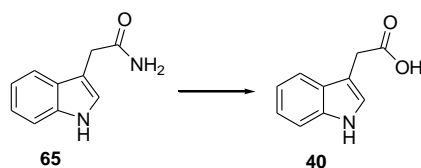
1.11 schema

Kitas 3-indolilacto rūgšties sintezės būdas, tai Heck'o reakcija junginį **62** jungiant su 2,5-dihidro-2,5-dimetoksi furanu, katalizuojant paladžio acetatui (1.12 schema) [50]. Atlikus tarpinio junginio **63** ciklizaciją trifluoroacto rūgštimi, gaunamas IAR darinys **64**. Toliau atlikus esterio **64** hidrolizę kalio šarmu, gaunamas tikslinis produktas **40**.



1.12 schema

Ieškant žalesnių – saugesnių bei efektyvesnių sintezės būdų, buvo pasiūlyta fermentinė amidų **65** hidrolizė (*1.13 schema*) [51]. Hidrolizė atlikta fermentu 6-aminheksanoato cikline dimerų hidrolaze per 2 val.

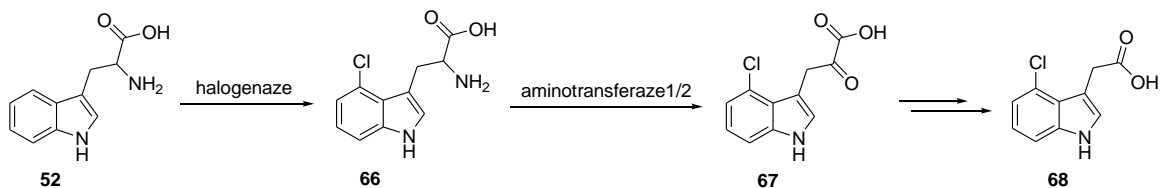


1.13 schema

Buvo atlikti aktyvumo tyrimai ir su kitais fermentais: glutaminaze, malonamidaze ir indolacetamido hidrolaze [51]. Rezultatai parodė, kad geriausiomis hidrolitinį aktyvumą turi malonamidazė ir indolacetamido hidrolazė.

1.2.3. (4-Chlor-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties biosintezė

Žirniai vieni iš svarbiausių ankštinių augalų žemės ūkyje. Juose randamas halogenintas augalų hormonas (4-chlor-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis. Chlorintos 3-indolilacto rūgšties **68** biosintezė žirniuose prasideda nuo tarpinio junginio 4-chlor-1*H*-indol-3-piruvato rūgšties (**67**) (*1.14 schema*) [52]. Piruvato rūgštis gaunama iš 4-chlortriptofano **66** aminotransferazėmis 1 ir aminotransferazėmis 2. Buvo pastebėta, kad bręstančiose sėklose halogenintos IAR kiekis sumažėja [53].



1.14 schema

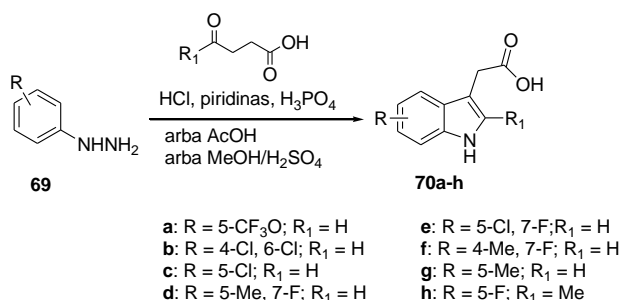
Chloro pakaitą turintys auksinai, kaip junginys **68**, pasižymi didesniu biologiniu aktyvumu augalo augimo bei vystymosi procesuose, nei 3-indolilacto rūgštis [53]. Daugiausia chlorintų IAR randama ankštiniuose augaluose [52].

1.2.4. Halogenintų 3-indolilacto rūgšties darinių sintezė laboratorijoje

Halogeno atomą turintys 3-indolilacto rūgšties dariniai, oksidaciniu būdu aktyvuoja prekursorius, todėl gali būti potencialūs junginiai onkologinėms ligoms gydyti [54]. Atlikus tyrimus su amerikietiško žiurkėno plaučių fibroplastais, buvo pastebėta, kad 5-chlorindolilacto rūgštis pasižymi didžiausiu toksiškumu, tinkančiu onkologinių ligų prevencijai [55]. Atlikus išsamesnius biologinius tyrimus, nustatyta, kad (4-chlor-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis pasižymi nuo 1,3 iki 50 kartų didesniu aktyvumu nei IAR. Stebimas inhibuojantis (4-chlor-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties poveikis kviečių ir agurkų šaknų augimui bei netolygiam pomidorų viršutinės dalies vystymuisi. Sąlyginis

halogenintų IAR aktyvumas gali būti išdėstytas pagal aktyvumo mažėjimą taip: 6-Cl-IAR > 4-Cl-IAR > 5-F-IAR > IAR > 5-Cl-IAR > 7-Cl-IAR [56].

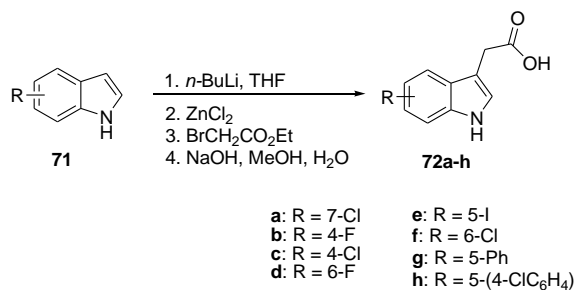
Daugelis indolo žiedą turinčių junginių sintetinami Fischer'io indolo sintezės metodu (*1.15 schema*) [47]. Pradinis junginys, halogenintas hidrazinas **69**, kondensuojamas su aldoesteriu rūgštinėje aplinkoje, naudojant HCl [47] arba AcOH [8] rūgštis. Pastebėjus, kad fluorinti hidrazinai prastai tirpsta AcOH, pastaroji buvo pakeista į MeOH/H₂SO₄ mišinį [8]. Reakcijų eigą pagreitinus mikrobangomis, reakcijos vyksmo laikas sutrumpėja iki 50 kartų (nuo 3–6 val. iki 5–10 min), o kartu padidėja ir produktų išeigos [8]. Šiai reakcijai galima naudoti ir didesniu stabilumu pasižymintį fenilhidrazino hidrochloridą [57]. Fischer'io indolo sintezės metodas parankus, kai naudojami nehalogeninti aldehidai, bet nepakankamai geras norint gauti halo pakeistus IAR darinius [47].



1.15 schema

Buvo atliktas preliminarus junginių **70a-h** priešvėžinio aktyvumo tyrimas su Kinijos žiurkėno plaučių fibroplastais [47]. Nors visi junginiai rodė teigiamus rezultatus, geriausias iš šios serijos mėginių buvo produktas **70b**.

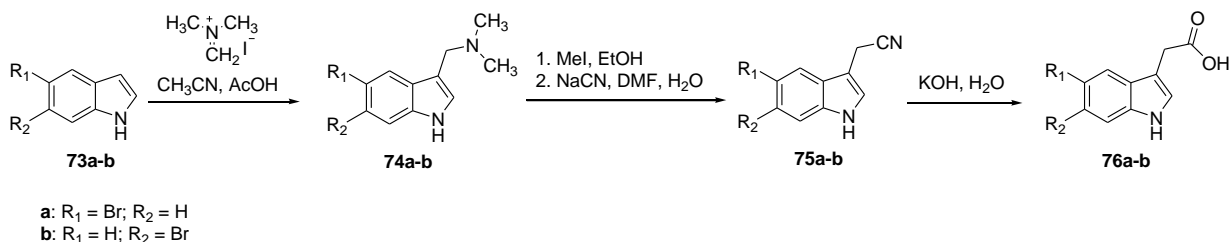
Literatūroje yra keli pavyzdžiai, kai IAR darinių sintezei buvo pasirinkta pakaito prijungimo į indolo žiedo 3-ią padėtį strategija. Pavyzdžiui, acto rūgšties šoninės grandinės įvedimas į heterociklinį junginį **71**, atliekant alkilimą ZnCl₂ (*1.16 schema*) [47]. Toliau atlikus muilnimo reakciją, gauti halogeninti IAR dariniai **72a-h**.



1.16 schema

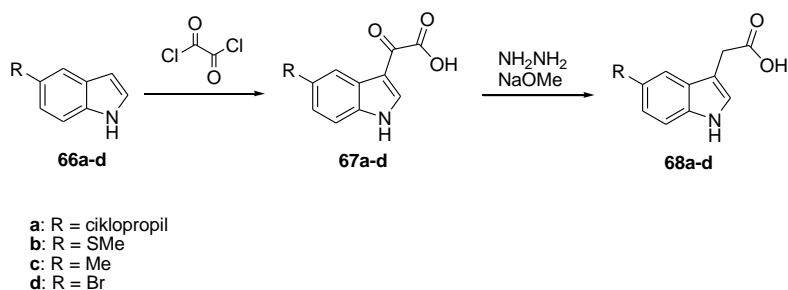
Literatūroje minima, kad (5-fluor-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis pasižymi aukštu citotoksinium aktyvumu [58]. Siekiant įvertinti kitus junginius, buvo atlikta 3-indolilacto rūgšties analogų **72a-h** biologiniai tyrimai su krienų peroksidaze. Pastebėta, kad junginys **72f** pasižymi didžiausiomis toksinėmis savybėmis ir yra vienas iš tinkamiausių provaistų onkologinėms ligoms gydyti.

Kitas halogenintų indolo darinių alkilavimo būdas yra alkilinimas Eshenmoser'io druska (1.17 *schema*) [59]. Pradiniai junginiai **73a-b** veikiama dimetilmetilidenamonio jodidu. C-3 Alkilinti dariniai **74a-b** toliau metilinami metiljodidu etanolyje, o gauta ketvirtinės amonio druskos grupė pakeičiama ciano grupe. Atlikus šios grupės hidrolizę KOH, išskirti halogeninti aminos junginiai **76a-b**.



1.17 schema

3-Indolilacto rūgšties darinius galima gauti ir indolą **77a-d** jungiant su oksalilchloridu (1.18 *schema*) [60]. Susidariusi indol-3-glioksalo rūgštis **78a-d** redukuojama hidrazino hidratu – Wolf-Kishner redukcija iki analogų **79a-d**.



1.18 schema

Taigi šiuo metu biomedicinos ekspertai stengiasi užkirsti kelią mikroorganizmų sukeltoms ligoms plisti. Mikroorganizmų veikla inhibuojama acil-homoserino laktono analogais, t.y. junginiais, turinčiais ciklinį žiedą su skirtingo ilgio alifatinėmis grandinėmis, halogenintomis alifatinėmis grandinėmis, sieros atomą turinčiais junginiais, heterocikliniais junginiais. Taip pat įvertinama galimybė vizualizuoti bakterijas fluorescenciniais žymekliais, kurie taip pat būtų inhibitoriai. Tačiau ši sritis mažai ištyrinėta mokslininkų, todėl potencialių fluorescencinių molekulių paieškos tęsiamos.

Įvertinus augalų hormono 3-indolilacto rūgšties svarbą augimui bei vystymuisi, buvo atlikta analizė, kokių procesų metu susidaro šis auksinas. Pastebėta, kad yra keli gavimo būdai, bet nei vienas nėra visiškai ištyrinėtas. Taip pat siekiant kuo daugiau kontroliuoti gyvąją gamtą, išanalizuoti literatūros šaltiniai, kaip gauti heteroauksiną – IAR. Atlikus literatūros analizę nustatyta, kad yra keletas sintezės būdų. Vienas iš dažniausiai naudojamų – Fischer'io indolo sintezė. Buvo nuspręsta įvertinti 3-indolilacto rūgšties įtaką biologiniams procesams augaluose, šiek tiek pakeičiant auksino struktūrą – įvedant pakaitus. Šiam tikslui įgyvendinti nutarta gauti šiuos junginius iš halogeno atomą turinčio heteroauksino.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Analizės atlikimo metodika

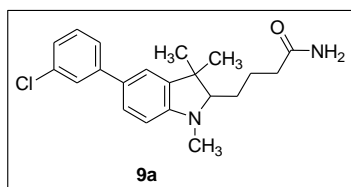
Kristalinių medžiagų lydymosi taškai nustatyti atviruose kapiliaruose su Melt-Temp aparatu ir yra nekoreguoti. BMR spektrai užrašyti *Varian Unity Inova* (300 MHz – ^1H BMR, 75 MHz – ^{13}C), *Bruker Avance III* spektrometru (400 MHz – ^1H BMR, 100 MHz – ^{13}C) ir *Bruker Avance III* spektrometru (700 MHz – ^1H BMR, 175 MHz – ^{13}C) 25 °C temperatūroje. Cheminis poslinkis išreikštas milijoninėmis dalimis (m.d.), standartu laikant tirpiklio signalą δ : CDCl_3 – 7,26 m.d. (^1H BMR) ir 77,16 m.d. (^{13}C BMR), $\text{DMSO-}d_6$ – 2,50 m.d. (^1H BMR) ir 39,52 m.d. (^{13}C BMR). Infraraudonieji spektrai užrašyti su Bruker TENSOR 27, mėginiai supresuoti į tabletes su KBr, banginė skalė ν sugraduota cm^{-1} . Masių spektrai gauti naudojant *Shimadzu LCMS 2020 SQ LC* masių spektrometrą (EI, 70 eV), kolonėlė YMC-Pack Ph (100 × 4 mm, 1 × D). HRMS tyrimai atlikti *Bruker maXis* spektrometru. UV spektrai buvo registruojami Perkin Elmer Lambda 35 UV/Vis spektrometru. Fluorescencijos spektrai atlikti Kauno technologijos universiteto dokt. Aurimo Bieliausko, naudojant *Edinburgh instruments FT 920* fluorescencijos spektrometrą. Fluorescencijos ir UV matavimams buvo paruošti atitinkamų koncentracijų tirpalai THF tirpiklyje. Mikrobangų reakcijos atliktos CEM Discover Synthesis Unit (CEM Corp., Matthews, NC) mikrobangų reaktoriuje. Reaktorius susideda iš nuolat energiją tiekiančios sistemos, galia 0 – 300 W. Reakcijos eiga buvo stebima plonasluoksnės chromatografijos būdu, naudojant Merck įmonės plokšteles padengtas silikageliu 60 F₂₅₄. Plokštelės analizuojamos po 253 nm ir 366 nm lempomis arba ryškinamos ruošiniais: KMnO_4 tirpalu (KMnO_4 (3 g), K_2CO_3 (20 g), 3 M NaOH (5 ml), H_2O (300 ml)); vanilino tirpalu (vanilinas (3,2 g), EtOH (200 ml), AcOH (1 ml), H_2SO_4 (2 ml)); jodu (jodo ir silikagelio 60Å Merck, 9385, 230 – 400 mišinys). Medžiagas gryninant kolonėlinės chromatografijos būdu, sorbentu buvo naudojamas silikagelis 60Å Merck, 9385, 230 – 400.

2.2. Naujų junginių sintezės aprašymai ir charakterizavimas

Bendra procedūra 4-(1,3,3-trimetil-5-aryl-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanamidams 9a-c gauti

Atitinkamas 5-pakeistas spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onas **8a-c** (1 mmol) ištirpinamas acto rūgšties (4 ml) ir metanolio (1 ml) mišinyje, per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos, suberiamas katalizatorius Pd/C (20 % nuo pradinės medžiagos masės). Reakcija vykdoma autoklave, esant H₂ (20 bar.) dujoms, kambario temperatūroje. Reakcijos vykdomos iki visiško pradinės medžiagos sureagavimo, jų eigą stebint plonasluoksnės chromatografijos metodu. Mišinys filtruojamas per celitą, celito sluoksnis papildomai perplaunamas metanoliumi, filtratas nudistilijuojamas. Gauta derva ištirpinama etilacetate (50 ml), išpilama į H₂O (20 ml), neutralinama sočiu NaHCO₃ vandeniniu tirpalu iki šarminės terpės (pH ≈ 8), ekstrahuojama etilacetatu (3 × 50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄, filtruojamas ir nudistilijuojamas. Junginys gryninamas kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant DCM ir MeOH mišinį, tūriniu santykiu 100/2.

4-[5-(3-Chlorfenil)-1,3,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-indol-2-il]butanamidams (9a)



Reakcija su 5-(3-chlorfenil)-1,3,3-trimetil-1,3-dihidro-6'*H*-spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onu (**8a**) (355 mg) katalizuojant Pd/C (71 mg), vykdyta 2,5 val. Gautas produktas **9a** yra rusvos spalvos derva, kurios išeiga 289 mg (81%). $R_f = 0,27$ (DCM/MeOH = 100/5

v/v).

¹H BMR (700 MHz, CDCl₃): δ 1,15 (s, 3H, 3-CH₃); 1,42 (s, 3H, 3-CH₃); 1,69–1,92 (m, 4H, CHCH₂CH₂); 2,32 (m, 2H, COCH₂); 2,79 (s, 3H, 1-CH₃); 2,93 (s, 1H, 2-H); 5,52 (s, 1H, N(H)H); 5,63 (s, 1H, N(H)H); 6,56 (s, 1H, 7-H); 7,18–7,23 (m, 2H, 2 × CH_{Ar}); 7,29–7,33 (m, 2H, 2 × CH_{Ar}); 7,41 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, 6-H); 7,51 (s, 1H, CH_{Ar}).

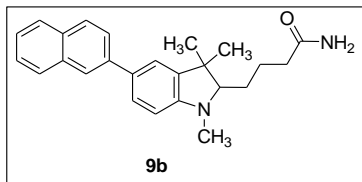
¹³C BMR (175 MHz, CDCl₃): δ 23,1 ir 23,5 (CH₂ ir 3-CH₃); 27,5 (3-CH₃); 28,3 (CH₂); 35,0 (1-CH₃); 36,3 (COCH₂); 43,3 (C-3); 76,9 (C-2); 108,2 (C-7); 120,5; 124,7 (2 × C); 126,1; 126,7; 130,0 (2 × C); 134,6 (2 × C); 140,4 (C-3a); 143,7 (C-7a); 175,0 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3185, 3377, ν_{C=O} = 1688.

MS (ESI, teigiama jonizacija) m/z (%): 357/359 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI, teigiama jonizacija): apskaičiuota C₂₁H₂₆ClN₂O: 357,1728. Rasta 357,1733 (M+H⁺, 100).

4-[1,3,3-Trimetil-5-(naftalen-2-il)-2,3-dihidro-1*H*-indol-2-il]butanamidas (9b)



Reakcija su 1,3,3-trimetil-5-(naftalen-2-il)-1,3-dihidro-6'*H*-spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onu (**8b**) (370 mg) katalizuojuant Pd/C (74 mg), vykdyta 4 val. Gautas produktas **9b** yra pilkos spalvos derva, kurios išeiga 152 mg (41%). $R_f = 0,31$ (DCM/MeOH = 100/5

v/v).

^1H BMR (300 MHz, CDCl_3): δ 1,19 (s, 3H, 3- CH_3); 1,46 (s, 3H, 3- CH_3); 1,73–1,95 (m, 4H, CHCH_2CH_2); 2,30–2,34 (m, 2H, COCH_2); 2,80 (s, 3H, 1- CH_3); 2,93–2,97 (m, 1H, 2-H); 5,52 (s, 1H, N(*H*))H); 5,67 (s, 1H, N(*H*))H); 6,61 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, 7-H); 7,38 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H, 4-H); 7,41–7,50 (m, 3H, $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 7,73 (dd, $J = 8,3$ Hz, $J = 1,8$ Hz, 1H, 6-H); 7,82–7,88 (m, 3H, $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 7,96–7,98 (m, 1H, CH_{Ar}).

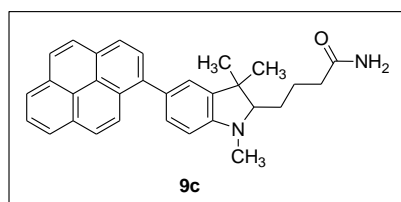
^{13}C BMR (75 MHz, CDCl_3): δ 23,2 ir 23,6 (CH_2 ir 3- CH_3); 27,6 (3- CH_3); 28,4 (CH_2); 35,0 (1- CH_3); 36,4 (COCH_2); 43,3 (C-3); 76,9 (C-2); 108,2 (C-7); 120,8; 124,5; 125,4; 125,7; 126,2; 126,9; 127,7; 128,0; 128,3; 131,7; 132,2; 134,0; 139,3; 140,3 (C-3a); 151,2 (C-7a); 175,0 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3187, 3368$, $\nu_{\text{C=O}} = 1672$.

MS (ESI, teigiamas jonizacija) m/z (%): 445 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

Elementinė analizė: apskaičiuota $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}$ (%): C 80,61; H 7,58; N 7,52. Nustatyta (%): C 80,74; H 7,38; N 7,63.

4-[1,3,3-Trimetil-5-(piren-1-il)-2,3-dihidro-1*H*-indol-2-il]butanamidas (9c)



Reakcija su 1,3,3-trimetil-5-(pirenil-1-il)-1,3-dihidro-6'*H*-spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onu (**8c**) (444 mg) katalizuojuant Pd/C (89 mg), vykdyta 4,5 val. Gautas produktas **9c**, yra salotiniai kristalai, kurių išeiga 266 mg (60%), $t_{\text{lyd.}} = 117,0\text{--}118,1$ °C. $R_f =$

0,32 (DCM/MeOH = 100/5 v/v).

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,23 (s, 3H, 3- CH_3); 1,46 (s, 3H, 3- CH_3); 1,75–1,98 (m, 4H, CHCH_2CH_2); 2,30–2,34 (m, 2H, COCH_2); 2,86 (s, 3H, 1- CH_3); 2,99–3,02 (m, 1H, 2-H); 5,53 (s, 1H, N(*H*))H); 5,82 (s, 1H, N(*H*))H); 6,69 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, 7-H); 7,30 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, 4-H); 7,39 (dd, $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H, 6-H); 7,96–8,11 (m, 5H, $5 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 8,11–8,23 (m, 3H, $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 8,30 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C BMR (100 MHz, CDCl_3): δ 23,2 ir 23,6 (CH_2 ir 3- CH_3); 27,6 (3- CH_3); 28,5 (CH_2); 35,0 (1- CH_3); 36,4 (COCH_2); 43,3 (C-3); 76,9 (C-2); 107,6 (C-7); 124,1; 124,6; 124,8; 124,9; 125,1; 125,

2; 125,8; 126,0; 127,0; 127,1; 127,6; 127,9; 128,6; 130,0; 131,1; 131,2; 131,4; 131,6; 138,8; 139,7 (C-3a); 151,0 (C-7a); 175,2 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3421$, $\nu_{\text{C=O}} = 1653$.

HRMS (ESI, teigiama jonizacija): apskaičiuota $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}$: 447, 2431. Rasta 447,2441 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100).

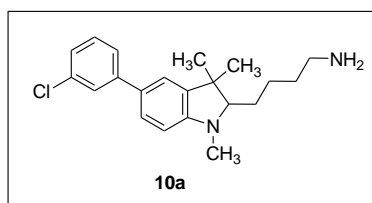
Bendra procedūra 4-(1,3,3-trimetil-5-aryl-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butan-1-aminams 10a-c gauti

Atitinkamas amidas **9a-c** (0,5 mmol) ištirpinamas sausame THF (3 ml), užleidžiamos inertinės argono dujos, šaldant ledų ir vandens vonelėje porcijomis suberiamas LiAlH_4 (57 mg, 1,5 mmol). Reakcija vykdoma 70 °C temperatūroje, inertinėje aplinkoje, 3 val. Į iki kambario temperatūros atvėsintą reakcijos mišinį atsargiai supilamas 3 M NaOH (5 ml) ir maišoma kambario temperatūroje 1 val. Mišinys filtruojamas per celitą, celito sluoksnis papildomai perplaunamas EtOAc/THF = 5/1 mišiniu, filtratas nudistilijuojamas. Gauta derva ištirpinama etilacetate (30 ml), išpilama į H_2O (20 ml), ekstrahuojama EtOAc/THF = 5/1 mišiniu (3 × 20 ml). Surinktas organinis sluoksnis perplaunamas sočiu NaCl vandeniniu tirpalu (3 × 15 ml). Organinis sluoksnis atskiriamas, džiovinamas bevandeniu Na_2SO_4 , filtruojamas ir nudistilijuojamas. Produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentu naudojant DCM ir MeOH mišinį, tūriniu santykiu 10/1.

Rekomendacijos:

1. LiAlH_4 suberiamas porcijomis ir elgiamasi itin atsargiai, nes gali užsiliepsnoti sąveikoje su H_2O ;
2. NaOH supilamas atsargiai į atvėsintą reakcijos mišinį, nes procesas egzoterminis.

4-[5-(3-Chlorfenil)-1,3,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-indol-2-il]butan-1-aminas (10a)



Reakcijai naudotas amidas **9a** (178 mg). Gautas produktas **10a** yra rudos spalvos derva, kurios išeiga 97 mg (57%). $R_f = 0,2$ (DCM/MeOH = 9/1 v/v).

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,13 (s, 3H, 3- CH_3); 1,40 (s, 3H, 3- CH_3); 1,48–1,79 (m, 6H, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2,75 (s, 3H, 1- CH_3); 2,85–2,94 (m, 3H, 2-H ir NH_2CH_2); 4,85 (s, 2H, NH_2); 6,54 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, 7-H); 7,21–7,24 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,30–7,35 (m, 1H, 4-H); 7,37–7,40 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 7,50–7,57 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$),

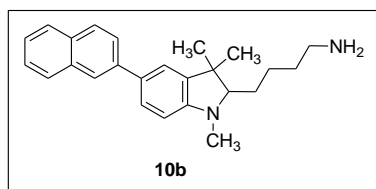
^{13}C BMR (100 MHz, CDCl_3): δ 23,6 (3- CH_3); 24,6 (CH_2); 27,5 (3- CH_3); 27,6 (CH_2); 28,6 (CH_2); 35,0 (1- CH_3); 40,9 (NH_2CH_2); 43,2 (C-3); 77,0 (C-2); 108,0 (C-7); 120,5; 124,7; 126,1; 126,6; 128,7; 129,9; 131,8; 134,5; 140,1 (C-3a); 142,0; 151,3 (C-7a).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3395$.

MS (ESI, teigiama jonizacija) m/z (%): 343/345 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

HRMS (ESI, teigiama jonizacija): apskaičiuota $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2$: 343,1936. Rasta 343,1937 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100).

4-[1,3,3-Trimetil-5-(naftalen-2-il)-2,3-dihidro-1H-indol-2-il]butan-1-aminas (10b)



Reakcijai naudotas amidas **9b** (186 mg). Gautas produktas **10b** yra geltonos spalvos derva, kurios išeiga 100 mg (56%). $R_f = 0,25$ (DCM/MeOH = 9/1 v/v).

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,15 (s, 3H, 3- CH_3); 1,43 (s, 3H, 3- CH_3); 1,50–1,92 (m, 8H, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2,76 (s, 3H, NCH_3); 2,88–2,91 (m, 1H, 2-H); 3,01–3,08 (m, 2H, NH_2CH_2); 6,56 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, 7-H); 7,34–7,47 (m, 4H, 4-H ir $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 7,69–7,94 (m, 5H, 6-H ir $4 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$).

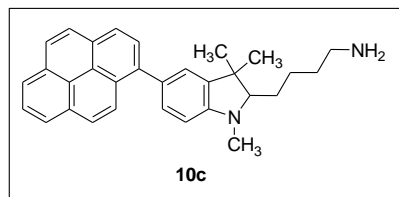
^{13}C BMR (100 MHz, CDCl_3): δ 23,5 (3- CH_3); 24,4 (CH_2); 27,5 (3- CH_3); 28,4 (CH_2); 29,3 (CH_2); 34,9 (1- CH_3); 40,1 (NH_2CH_2); 43,1 (C-3); 76,8 (C-2); 108,0 (C-7); 120,6; 124,4; 125,2; 125,6; 126,1; 126,8; 127,6; 127,9; 128,2; 131,5; 132,0; 133,8; 139,1; 140,0 (C-3a); 151,2 (C-7a).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3205, 3352$.

MS (ESI, teigiama jonizacija) m/z (%): 359 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

Elementinė analizė: apskaičiuota $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{N}_2$ (%): C 83,75; H 8,43; N 7,81. Nustatyta (%): C 83,79; H 8,26; N 8,04.

4-[1,3,3-Trimetil-5-(piren-1-il)-2,3-dihidro-1H-indol-2-il]butan-1-amino (10c)



Reakcijai naudotas amidas **9c** (223 mg). Gautas produktas **10c** yra rudi kristalai, kurių išeiga 93 mg (43%), $t_{\text{lyd.}} = 174,1\text{--}176,2$ $^{\circ}\text{C}$. $R_f = 0,18$ (DCM/MeOH = 9/1 v/v).

^1H BMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,23 (s, 3H, 3- CH_3); 1,45 (s, 3H, 3- CH_3); 1,52–2,06 (m, 8H, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 2,81–2,85 (m, 1H, 2-H); 2,86 (s, 3H, 1- CH_3); 2,92–3,02 (m, 2H, NH_2CH_2); 6,68 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, 7-H); 7,29 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,37 (dd, $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H, 6-H); 7,93–8,08 (m, 7H, $5 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 8,10–8,19 (m, 3H, $3 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 8,28 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C BMR (100 MHz, CDCl_3): δ 23,7 (3- CH_3); 24,8 (CH_2); 27,6 (3- CH_3); 27,7 (CH_2); 28,5 (CH_2); 28,7 (CH_2); 35,1 (1- CH_3); 43,3 (C-3); 52,3 (NH_2CH_2); 77,0 (C-2); 107,7 (C-7); 124,0; 124,6; 124,8; 124,9; 125,1; 125,2; 125,8; 126,0; 127,0; 127,1; 127,6; 127,9; 128,6; 130,1; 131,1; 131,4; 131,6; 138,8; 139,7 (C-3a); 151,0 (C-7a).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3404$.

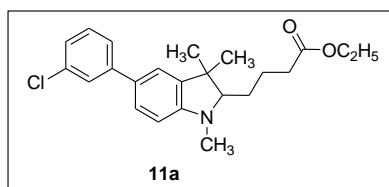
MS (ESI, teigiama jonizacija) m/z (%): 433 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

HRMS (ESI, teigiama jonizacija): apskaičiuota $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_2$: 433,2639. Rasta 433,2638 ($\text{M}+\text{H}^+$, 100).

Bendra procedūra etil 4-(1,3,3-trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanoatams 11a-c gauti

Atitinkamas amidas **9a-c** (0,5 mmol) ištirpinamas etanolyje (2 ml), įpilamas vandeninis 6 M HCl tripalas (4 ml). Reakcija vykdoma 80 °C temperatūroje, iki visiško pradinės medžiagos sureagavimo, jų eigą stebint plonasluoksnės chromatografijos metodu. Jai pasibaigus reakcijos mišinys nudistilijuojamas. Gauta derva ištirpinama etilacetate (30 ml), išpilama į H_2O (20 ml), neutralinama sočiu NaHCO_3 vandeniniu tirpalu iki šarminės terpės ($\text{pH} \approx 8$), ekstrahuojama etilacetatu (3×50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, džiovinamas bevandeniu Na_2SO_4 , filtruojamas ir nudistilijuojamas. Produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant heksano ir etilacetato mišinį, tūriniu santykiu 5/1.

5-(3-Chlorfenil)-etil 4-(1,3,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanoatas (11a)



Reakcija su butanamidu **9a** (178 mg) vykdyta 2 val. Gautas produktas **11a** yra geltonos spalvos derva, kurios išeiga 85 mg (44%). $R_f = 0,6$ (Heks/EtOAc = 4/1 v/v).

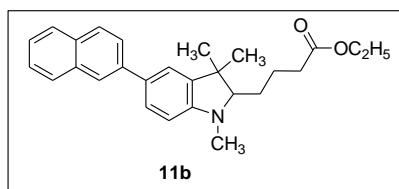
^1H BMR (400 MHz, CDCl_3): δ 1,11 (s, 3H, 3- CH_3); 1,24 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH_2CH_3); 1,38 (s, 3H, 3- CH_3); 1,67–1,86 (m, 4H, CHCH_2CH_2); 2,34–2,38 (m, 2H, CH_2CO); 2,73 (s, 3H, 1- CH_3); 2,84–2,89 (m, 1H, 2-H); 4,13 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2CH_3); 6,51 (t, $J = 8,6$ Hz, 1H, 7-H); 7,15–7,23 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 7,28–7,30 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,31–7,39 (m, 2H, $2 \times \text{CH}_{\text{Ar}}$); 7,47–7,52 (m, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C BMR (100 MHz, CDCl_3): δ 14,4 (CH_2CH_3); 22,7 (3- CH_3); 23,5 (CH_2); 27,5 (3- CH_3); 28,3 (CH_2); 34,7 ir 34,9 (CH_2CO ir 1- CH_3); 43,2 (C-1); 60,5 (CH_2CH_3); 76,7 (C-2); 107,9 (C-7); 120,4; 124,7; 126,0; 126,6; 128,7; 129,9; 134,5; 140,3 (C-3a); 142,0; 143,8; 151,7 (C-7a); 173,5 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{\text{C=O}} = 1732$.

HRMS (ESI, teigiama jonizacija): apskaičiuota $C_{23}H_{29}ClNO_2$: 387,1960. Rasta 387,1964 ($M+H^+$, 100).

Etil 4-(1,3,3-trimetil-5-(naftalen-2-il)-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanoatas (11b)



Reakcija su butanamidu **9b** (186 mg) vykdyta 4 val. Gautas produktas **11b** yra rudos spalvos derva, kurios išeiga 144 mg (72%). $R_f = 0,55$ (Heks/EtOAc = 5/1 v/v).

1H BMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,17 (s, 3H, 3- CH_3); 1,27 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH_2CH_3); 1,44 (s, 3H, 3- CH_3); 1,68-1,87 (m, 4H, $CHCH_2CH_2$); 2,37-2,42 (m, 2H, CH_2CO); 2,77 (s, 3H, 1- CH_3); 2,90-2,92 (m, 1H, 2-H); 4,15 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2CH_3); 6,58 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, 7-H); 7,36-7,47 (m, 4H, 4-H and $3 \times CH_{Ar}$), 7,70-7,96 (m, 5H, 6-H ir $4 \times CH_{Ar}$).

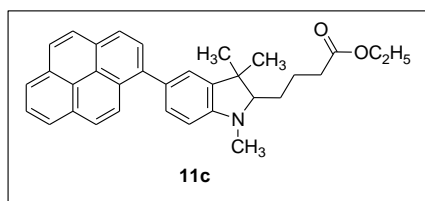
^{13}C BMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 14,4 (CH_2CH_3); 22,7 (3- CH_3); 23,5 (CH_2); 27,5 (3- CH_3); 28,3 (CH_2); 34,8 ir 34,9 (CH_2CO ir 1- CH_3); 43,2 (C-1); 60,5 (CH_2CH_3); 76,8 (C-2); 108,0 (C-7); 120,7; 124,5; 125,3; 125,7; 126,2; 126,9; 127,7; 128,0; 128,3; 131,5; 132,1; 134,0; 139,3; 140,2 (C-3a); 151,4 (C-7a); 173,5 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{C=O} = 1733$.

MS (ESI, teigiama jonizacija) m/z (%): 402 ($[M+H]^+$, 100).

Elementinė analizė: apskaičiuota $C_{27}H_{31}NO_2$ (%): C 80,76; H 7,78; N 3,49. Nustatyta (%): C 80,95; H 7,61; N 3,28.

Etil 4-(1,3,3-trimetil-5-(piren-1-il)-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanoatas (11c)



Reakcija su butanamidu **9c** (223 mg) vykdyta 6,5 val. Gautas produktas **11c** yra salotinės spalvos derva, kurios išeiga 33 mg (14%). $R_f = 0,38$ (Heks/EtOAc = 5/1 v/v).

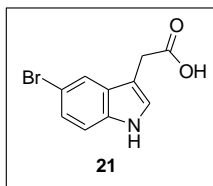
1H BMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 1,23 (s, 3H, 3- CH_3); 1,31 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH_2CH_3); 1,46 (s, 3H, 3- CH_3); 1,75-1,96 (m, 4H, $CHCH_2CH_2$); 2,43-2,46 (m, 2H, CH_2CO); 2,86 (s, 3H, 1- CH_3); 2,99-3,02 (m, 1H, 2-H); 4,19 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H, CH_2CH_3); 6,69 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, 7-H); 7,29 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, 4-H); 7,38 (dd, $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H, 6-H); 7,96-8,10 (m, 5H, $5 \times CH_{Ar}$); 8,14-8,21 (m, 3H, $3 \times CH_{Ar}$); 8,29 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H, CH_{Ar}).

^{13}C BMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 14,3 (CH_2CH_3); 22,7 (3- CH_3); 23,5 (CH_2); 27,5 (3- CH_3); 28,3 (CH_2); 34,9 ir 35,0 (CH_2CO ir 1- CH_3); 43,2 (C-1); 60,5 (CH_2CH_3); 76,9 (C-2); 107,5 (C-7); 124,0; 124,6; 124,8; 124,9; 125,2; 125,3; 125,9; 126,0; 127,1; 127,2; 127,5; 127,8; 128,5; 130,0; 130,1; 131,1; 131,4; 131,6; 138,8; 139,7 (C-3a); 151,1 (C-7a); 173,5 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{C=O} = 1734$.

HRMS (ESI, teigiama jonizacija): apskaičiuota $C_{33}H_{33}NO_2$: 476,2584. Rasta 476,2596 ($M+H^+$, 100).

(5-Brom-1H-indol-1-il)acto rūgštis (21)



4-Bromhidrazinas **3** (476 mg, 3 mmol) ir aldoesteris **14** (383 mg, 3,3 mmol) ištirpinami etanolyje (3 ml), per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Į reakcijos mišinį sulašinamas etanolio ir H_2SO_4 mišinys, tūriniu santykiu 1/0,4, pakartotinai per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Mišinys kaitinamas 100 °C temperatūroje mikrobangų reaktoriuje, 45 min, esant 50 W galingumui. Reakcijos vykdomos iki visiško pradinės medžiagos sureagavimo, jų eigą stebint plonasluoksnės chromatografijos metodu. Mišinys praskiedžiamas etilacetatu (30 ml), išpilamas į H_2O (20 ml), neutralinamas sočiu $NaHCO_3$ vandeniniu tirpalu iki šarminės terpės ($pH \approx 8$), ekstrahuojama etilacetatu (3×50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas $NaCl$ sočiu vandeniniu tirpalu (2×25 ml), džiovinamas bevandeniu Na_2SO_4 , filtruojamas ir nudistilijuojamas. Reakcijos mišinys gryninamas kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant heksano ir etilacetato mišinį, tūriniu santykiu 4/1, surenkant frakciją, kurios $R_f = 0,4-0,71$ (Heks/EtOAc = 2/1 v/v).

Gauta derva ištirpinama dioksano ir vandens mišinyje (4,5 ml, 2/1 v/v), suberiamas $LiOH$ (74 mg, 3,1 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje 2 val. Pasibaigus reakcijai, mišinys praskiedžiamas etilacetatu (30 ml), išpilama į H_2O (20 ml), neutralinama 1 M $KHSO_4$ vandeniniu tirpalu iki rūgštinės terpės ($pH \approx 4$), ekstrahuojama etilacetatu (3×50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas $NaCl$ sočiu vandeniniu tirpalu (2×25 ml), džiovinamas bevandeniu Na_2SO_4 , filtruojamas ir nudistilijuojamas. Medžiaga išgryninama kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant DCM ir MeOH mišinį, tūriniu santykiu 100/5. Gautas produktas 16 yra smėlio spalvos kristalai, kurių išeiga 108 mg (56%), $t_{lyd.} = 144,3-146,0$ °C (lit. $t_{lyd.} = 144,0-146$ °C [59]).

1H BMR (700 MHz, $DMSO-d_6$): δ 3,64 (s, 2H, CH_2); 7,18 (dd, $J = 8,6, 1,7$ Hz, 1H, 6-H); 7,29-7,30 (m, 1H, 2-H); 7,33 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H, 7-H); 7,67 (d, $J = 1,7$ Hz, 1H, 4-H); 11,12 (s, 1H, NH); 12,11 (s, 1H, COOH).

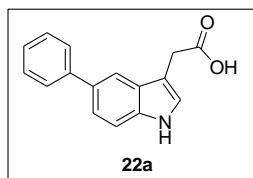
^{13}C BMR (175 MHz, $DMSO-d_6$): δ 30,8 (CH_2); 107,7 (C-3); 111,1 (C-5); 113,4 (C-7); 121,1 (C-4); 123,5 (C-6); 125,7 (C-2); 129,1 (C-3a); 134,8 (C-7a); 173,0 (C=O).

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 253/255 ($[M-H]^-$, 100).

Bendra procedūra 5-pakeistų indolo-3-acto rūgšties dariniams 22a-j gauti

5-Bromindolilacto rūgštis **21** (127 mg, 0,5 mmol) ir boro rūgštis (0,75 mmol) ištirpinami etanolyje (3 ml), suberiamas Cs₂CO₃ (326 mg, 1 mmol) ir įpilamas H₂O (1 ml), per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Į reakcijos mišinį suberiamas Pd katalizatorius (0,07 mmol) ir pakartotinai per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Reakcijos mišinys kaitinamas 100 °C temperatūroje mikrobangų reaktoriuje, esant 50 W galingumui. Reakcijos vykdomos iki visiško pradinės medžiagos sureagavimo, jų eigą stebint plonasluoksnės chromatografijos metodu. Mišinys filtruojamas per celitą, celito sluoksnis papildomai perplaunamas etanolio ir etilacetato mišiniu, filtratas nudistiliuojamas. Gauta derva ištirpinama etilacetate (50 ml), išpilama į H₂O (20 ml), neutralinama 1 M KHSO₄ vandeniniu tirpalu iki rūgštinės terpės (pH ≈ 4), ekstrahuojama etilacetatu (3 × 50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas NaCl sočiu vandeniniu tirpalu (2 × 25 ml), džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄, filtruojamas ir nudistiliuojamas. Medžiaga išgryninama kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant DCM ir MeOH mišinį, tūriniu santykiu 100/3.

(5-Fenil-1H-indol-3-il)acto rūgštis (22a)



Reakcija su fenilboro rūgštimi (92 mg) vykdyta 30 min. Gautas produktas **22a** yra rudos spalvos derva, kurios išeiga 104 mg (83%). $R_f = 0,19$ (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 100% (HPLC-MS).

¹H BMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,73 (s, 2H, CH₂); 7,29–7,30 (m, 2H, 2 × CH_{Ar}); 7,40 (dd, $J = 8,4, 1,5$ Hz, 1H, 6-H); 7,42–7,47 (m, 3H, 3 × CH_{Ar}); 7,66 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H, 2 × CH_{Ar}); 7,80 (s, 1H, 4-H); 11,01 (s, 1H, NH); 12,23 (s, 1H, COOH).

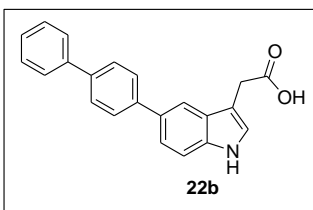
¹³C BMR (175 MHz, DMSO-*d*₆): δ 31,1 (CH₂); 108,3 (C-3); 111,9 (C-5); 116,9; 120,5; 124,9; 126,2; 126,7 (2 × C); 127,9; 128,9 (2 × C); 131,1 (C-3a); 135,8 (C-7a); 142,1; 173,3 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): $\nu_{N-H} = 3344$, $\nu_{C=O} = 1675, 1693$.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 250 ([M-H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₁₆H₁₄NO₂: 252,1019. Rasta 252,1021 ([M+H]⁺, 100).

[5-([1,1'-Bifenil]-4-il)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22b)



Reakcija su 4-bifenilboro rūgštimi (149 mg) vykdyta 30 min. Gautas produktas **22b** yra rusvi kristalai, kurių išeiga 114 mg (70%), $t_{lyd.} = 210,8-212,4$ °C. $R_f = 0,32$ (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 100% (HPLC-MS).

^1H BMR (700 MHz, DMSO- d_6): δ 3,74 (s, 2H, CH₂); 7,31 (s, 1H, 2-H); 7,36-7,38 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,47-7,49 (m, 4H, 4 \times CH_{Ar}); 7,72-7,73 (m, 2H, 2 \times CH_{Ar}); 7,74-7,77 (m, 4H, 4 \times CH_{Ar}); 7,87 (s, 1H, 4-H); 11,04 (s, 1H, NH); 12,23 (s, 1H, COOH).

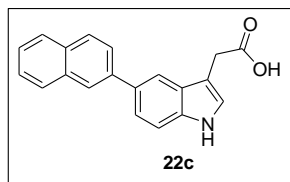
^{13}C BMR (175 MHz, DMSO- d_6): δ 31,1 (CH₂); 108,4 (C-3); 111,9 (C-5); 116,8; 120,3; 124,9; 126,5 (2 \times C); 127,1 (2 \times C); 127,2 (2 \times C); 127,4; 128,0; 129,0 (2 \times C); 130,4; 135,9; 137,9; 139,9; 141,0; 173,3 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): $\nu_{\text{N-H}}$ = 3358, $\nu_{\text{C=O}}$ = 1675, 1693.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 326 ([M-H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₂₂H₁₈NO₂: 328,1332. Rasta 328,1331 ([M+H]⁺, 100).

[5-(Naftalen-2-il)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22c)



Reakcija su 2-naftilboro rūgštimi (129 mg) vykdyta 30 min. Gautas produktas **22c** yra smėlio spalvos kristalai, kurių išeiga 116 mg (77%), $t_{\text{lyd.}}$ = 98,2-99,6 °C. R_f = 0,22 (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 100% (HPLC-MS).

^1H BMR (700 MHz, DMSO- d_6): δ 3,76 (s, 2H, CH₂); 7,31 (s, 1H, 2-H); 7,47-7,54 (m, 3H, 3 \times CH_{Ar}); 7,57 (dd, J = 8,4, 1,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,88 (dd, J = 8,5, 1,6 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,95 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,99 (d, J = 8,3 Hz, 2H, 2 \times CH_{Ar}); 8,18 (s, 1H, CH_{Ar}); 11,03 (s, 1H, NH); 12,17 (s, 1H, COOH).

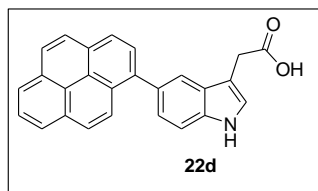
^{13}C BMR (175 MHz, DMSO- d_6): δ 31,0 (CH₂); 108,4 (C-3); 111,9 (C-5); 117,2; 120,7; 124,5; 124,9; 125,5; 125,7 (C-2); 126,2; 127,5; 127,9; 128,0; 128,2; 130,7; 131,7; 133,6; 135,8; 139,4; 173,2 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): $\nu_{\text{N-H}}$ = 3414, $\nu_{\text{C=O}}$ = 1705.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 300 ([M-H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₂₀H₁₆NO₂: 302,1176. Rasta 302,1175 ([M+H]⁺, 100).

[5-(Piren-1-il)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22d)



Reakcija su pirenboro rūgštimi (185 mg) vykdyta 45 min. Gautas produktas **22d** yra gelsvi kristalai, kurių išeiga 143 mg (76%), $t_{\text{lyd.}}$ = 199,1-200,1 °C. R_f = 2,8 (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 98,8% (HPLC-MS).

^1H NMR (700 MHz, DMSO- d_6): δ 3,72 (s, 2H, CH₂); 7,36 (m, 2H, 2 \times CH_{Ar}); 7,58 (d, J = 8,1 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,76 (s, 1H, 4-H); 8,05-8,10 (m, 2H, 2 \times CH_{Ar}); 8,12 (d, J = 9,3 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,21

(m, 3H, 3 × CH_{Ar}); 8,26 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,31 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, CH_{Ar}); 8,35 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, CH_{Ar}); 11,13 (s, 1H, NH); 12,19 (s, 1H, COOH).

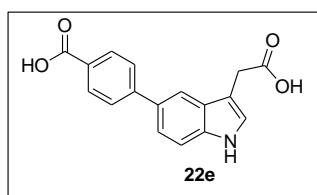
¹³C BMR (175 MHz, DMSO-*d*₆): δ 31,1 (CH₂); 108,2 (C-3); 111,4 (C-5); 120,5; 123,8 (C-6); 124,2; 124,3; 124,7; 124,8; 125,0; 125,1; 125,3 (C-2); 126,3; 127,0; 127,2; 127,4; 127,5; 127,9; 128,2; 129,6 (C-3a); 130,5; 130,6; 131,1; 135,6; 139,0; 173,2 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3380, ν_{C=O} = 1673, 1697.

MS (ESI, neigiama jonizacija) *m/z* (%): 374 ([M-2H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₂₆H₁₈NO₂: 376,1332. Rasta 376,1331 ([M+H]⁺, 100).

4-[3-(Karboksimetil)-1H-indol-5-il]benzoinė rūgštis (22e)



Reakcija su 4-karboksifenilboro rūgštimi (125 mg) vykdyta 1 val. Gautas produktas **22e** yra baltos spalvos kristalai, kurių išeiga 83 mg (56%), *t*_{lyd.} = 200,7–201,5 °C. *R*_f = 0,24 (DCM/MeOH = 9/1 v/v). Grynumas 97,6% (HPLC-MS).

¹H BMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,72 (s, 2H, CH₂); 7,30 (s, 1H, 2-H); 7,47 (s, 2H, CH_{Ar}); 7,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, 2 × CH_{Ar}); 7,88 (s, 1H, 4-H); 8,00 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, 2 × CH_{Ar}); 11,05 (s, 1H, NH); 12,54 (s, 2H, 2 × COOH).

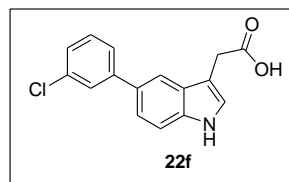
¹³C BMR (175 MHz, DMSO-*d*₆): δ 30,9 (CH₂); 108,5 (C-3); 112,0 (C-5); 117,6; 120,4; 125,1; 126,5 (2 × C); 127,9; 129,7; 129,9 (2 × C); 134,1; 136,2; 146,2; 167,4 (C=O); 173,1 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3420, ν_{C=O} = 1686.

MS (ESI, neigiama jonizacija) *m/z* (%): 294 ([M-H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₁₇H₁₄NO₄: 296,0917. Rasta 296,0915 ([M+H]⁺, 100).

[5-(3-Chlorfenil)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22f)



Reakcija su 3-chlorfenilboro rūgštimi (117 mg) vykdyta 45 min. Gautas produktas **22f** yra rusvi kristalai, kurių išeiga 101 mg (71%), *t*_{lyd.} = 130,0–130,9 °C. *R*_f = 0,18 (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 97,0% (HPLC-MS).

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 3,74 (s, 2H, CH₂); 7,30 (s, 1H, 2-H); 7,33-7,36 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,39–7,49 (m, 3H, 3 × CH₂); 7,63 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,70–7,01 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,84 (s, 1H, 4-H); 11,04 (s, 1H, NH); 12,20 (s, 1H, COOH).

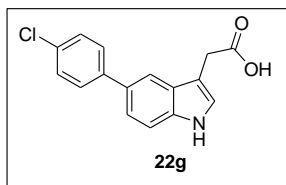
¹³C BMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 30,9 (CH₂); 108,5 (C-3); 112,0 (C-5); 117,2; 120,3; 125,0; 125,3; 125,9; 126,2; 127,9; 129,3; 130,6; 133,6; 136,0; 144,2; 173,2 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3400, ν_{C=O} = 1710.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 284/286 ($[M-H]^-$, 100).

HRMS: apskaičiuota $C_{16}H_{13}ClNO_2$: 286,0629. Rasta 286,0628 ($[M+H]^+$, 100).

[5-(4-Chlorfenil)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22g)



Reakcija su 4-chlorfenilboro rūgštimi (117 mg) vykdyta 45 min. Gautas produktas **22g** yra rausvi kristalai, kurių išeiga 94 mg (66%), $t_{lyd.} = 172,5-173,3$ °C. $R_f = 0,21$ (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 98,9% (HPLC-MS).

1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 3,71 (s, 2H, CH_2); 7,29 (s, 1H, 2-H); 7,39-7,41 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,44 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,49 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, $2 \times CH_{Ar}$); 7,68 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, $2 \times CH_{Ar}$); 7,79 (s, 1H, 4-H); 11,03 (s, 1H, NH); 12,21 (s, 1H, COOH).

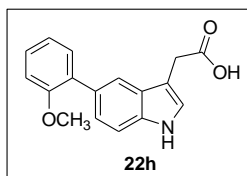
^{13}C BMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 30,9 (CH_2); 108,4 (C-3); 112,0 (C-5); 117,0; 120,3; 125,1; 127,9; 128,3 ($2 \times C$); 128,8 ($2 \times C$); 129,6; 131,0; 135,9; 140,8; 173,3 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{N-H} = 3395$, $\nu_{C=O} = 1705$.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 284/286 ($[M-H]^-$, 100).

HRMS: apskaičiuota $C_{16}H_{13}ClNO_2$: 286,0629. Rasta 286,0626 ($[M+H]^+$, 100).

[5-(2-Metoksifenil)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22h)



Reakcija su 2-metoksifenilboro rūgštimi (114 mg) vykdyta 45 min. Gautas produktas **22h** yra rudos spalvos derva, kurios išeiga 105 mg (75%). $R_f = 0,19$ (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 98,6% (HPLC-MS).

1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 3,66 (s, 2H, CH_2); 3,74 (s, 3H, OCH_3); 7,02 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,08 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,21-7,30 (m, 4H, $4 \times CH_{Ar}$); 7,37 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,57 (s, 1H, 4-H); 10,95 (s, 1H, NH); 12,16 (s, 1H, COOH).

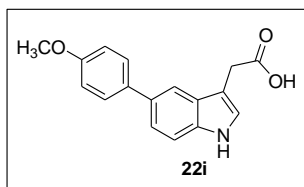
^{13}C BMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 31,2 (CH_2); 55,5 (OCH_3); 108,0 (C-3); 110,7; 111,7; 119,3; 120,7; 123,1; 124,4; 127,2; 127,9; 128,7; 130,8; 131,6; 135,3; 156,31 (C-O); 173,3 (C=O).

IR (KBr, cm^{-1}): $\nu_{N-H} = 3400$, $\nu_{C=O} = 1714$.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 280 ($[M-H]^-$, 100).

HRMS: apskaičiuota $C_{17}H_{16}NO_3$: 282,1098. Rasta 282,1127 ($[M+H]^+$, 100).

[5-(4-Metoksifenil)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22i)



Reakcija su 4-metoksifenilboro rūgštimi (114 mg) vykdyta 35 min. Gautas produktas **22i** yra rudos spalvos derva, kurios išeiga 103 mg (73%). $R_f = 0,18$ (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 93,7% (HPLC-MS).

^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 3,71 (s, 2H, CH₂); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 7,01 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, 2 \times CH_{Ar}); 7,27 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,34 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,42 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,58 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, 2 \times CH_{Ar}); 7,72 (s, 1H, 4-H); 10,96 (s, 1H, NH), 12,21 (s, 1H, COOH).

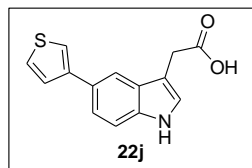
^{13}C BMR (100 MHz, DMSO- d_6): δ 31,0 (CH₂); 55,2 (OCH₃); 108,1 (C-3); 111,8 (C-5); 113,0; 114,3; 116,3; 120,3; 124,7; 127,7; 127,9; 130,9; 134,5; 135,4; 135,9; 158,1 (C-O); 173,3 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): $\nu_{\text{N-H}} = 3390$, $\nu_{\text{C=O}} = 1698$.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 280 ([M-H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₁₇H₁₆NO₃: 282,1125. Rasta 282,1121 ([M+H]⁺, 100).

[5-(Tiofen-3-il)-1H-indol-3-il]acto rūgštis (22j)



Reakcija su 3-tiofenboro rūgštimi (96 mg) vykdyta 45 min. Gautas produktas **22j** perkristalinamas iš heksano ir dichlormetano mišinio. Gauti auksiniai kristalai, kurių išeiga 111 mg (86%), $t_{\text{lyd.}} = 153,6\text{--}155,4$ °C. $R_f = 0,2$ (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 97,3% (HPLC-MS).

^1H BMR (700 MHz, DMSO- d_6): δ 3,68 (s, 2H, CH₂); 7,24 (s, 1H, 2-H); 7,37 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, CH_{Ar}); 7,44–7,45 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,53–7,53 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,59–7,61 (m, 1H, CH_{Ar}); 7,67 (s, 1H, CH_{Ar}); 7,81 (s, 1H, 4-H); 10,94 (s, 1H, NH); 12,17 (s, 1H, COOH).

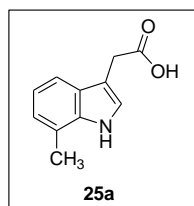
^{13}C BMR (175 MHz, DMSO- d_6): δ 30,9 (CH₂); 108,2 (C-3); 111,7 (C-5); 116,1; 118,5; 120,1; 124,7; 126,2; 126,4; 126,5; 127,7; 135,4; 143,2; 173,2 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): $\nu_{\text{N-H}} = 3376$, $\nu_{\text{C=O}} = 1683$.

MS (ESI, neigiama jonizacija) m/z (%): 256 ([M-H]⁻, 100).

HRMS: apskaičiuota C₁₄H₁₁NNaO₂S: 280,0403. Rasta 280,0406 ([M+Na]⁺, 100).

(7-Metil-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis (25a)



2-Tolilhidrazino hidrokloridas **23a** (476 mg, 3 mmol) ir aldoesteris **14** (383 mg, 3,3 mmol) ištirpinami etanolyje (3 ml), per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Į reakcijos mišinį sulašinamas etanolio ir H₂SO₄ mišinys, tūriniu santykiu 1/0,4, pakartotinai per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Mišinys kaitinamas 100 °C temperatūroje mikrobangų reaktoriuje, 20 min, esant 50 W galingumui. Reakcijos vykdomos iki visiško pradinės medžiagos sureagavimo, jų eigą stebint plonasluoksnės chromatografijos metodu. Mišinys praskiedžiamas etilacetatu (30 ml), išpilamas į H₂O (20 ml), neutralinamas sočiu NaHCO₃ vandeniniu tirpalu iki šarminės terpės (pH ≈ 8), ekstrahuojamas etilacetatu (3 × 50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas NaCl sočiu vandeniniu tirpalu (2 × 25 ml), džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄, filtruojamas ir nudistiliuojamas. Reakcijos mišinys gryninamas kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant heksano ir etilacetato mišinį, tūriniu santykiu 4/1, surenkant frakciją, kurios R_f = 0,51–0,68 (Heks/EtOAc = 2/1 v/v).

Gauta derva **24a** ištirpinama dioksano ir vandens mišinyje (4,5 ml, 2/1 v/v), suberiamas LiOH (63 mg, 2,6 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje 2 val. Pasibaigus reakcijai mišinys praskiedžiamas etilacetatu (30 ml), išpilamas į H₂O (20 ml), neutralinamas 1 M KHSO₄ vandeniniu tirpalu iki rūgštinės terpės (pH ≈ 4), ekstrahuojamas etilacetatu (3 × 50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas NaCl sočiu vandeniniu tirpalu (2 × 25 ml), džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄, filtruojamas ir nudistiliuojamas. Medžiaga išgryninama kolonėlinės chromatografijos būdu, eluentu naudojant DCM ir MeOH mišinį, tūriniu santykiu 100/5. Gautas produktas **25a** yra smėlio spalvos kristalai, kurių išeiga 79 mg (48%), t_{lyd.} = 180,8–182,0 °C (lit. t_{lyd.} = 178,0–186,0 °C [62]). R_f = 0,20 (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 97,7% (HPLC-MS).

¹H BMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,44 (s, 3H, CH₃); 3,62 (s, 2H, CH₂); 6,85–6,91 (m, 2H, 2 × CH_{Ar}); 7,21 (s, 1H, 2-H); 7,32 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, CH_{Ar}); 10,86 (s, 1H, NH); 12,12 (s, 1H, COOH).

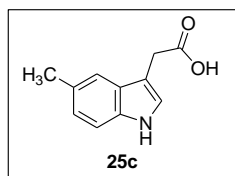
¹³C BMR (175 MHz, DMSO-*d*₆): δ 16,7 (CH₃); 31,1 (CH₂); 108,1 (C-3); 116,2; 118,6; 120,4; 121,5; 123,6; 126,9; 135,6; 173,2 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3398, ν_{C=O} = 1703.

MS (ESI, teigiamas jonizacija) *m/z* (%): 190 ([M+H]⁺, 100).

HRMS: apskaičiuota C₁₁H₁₂NO₂: 190,0863. Rasta 190,0863 ([M+H]⁺, 100).

(5-Metil-1H-indol-3-il)acto rūgštis (25c)



4-Tolilhidrazino hidrokloridas **23c** (476 mg, 3 mmol) ir aldoesteris **14** (383 mg, 3,3 mmol) ištirpinami etanolyje (3 ml), per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Į reakcijos mišinį sulašinamas etanolio ir H₂SO₄ mišinys, tūriniu santykiu 1/0,4, pakartotinai per tirpalą praleidžiamos inertinės argono dujos. Mišinys kaitinamas 100 °C temperatūroje mikrobangų reaktoriuje, 45 min, esant 50 W galingumui. Reakcijos vykdomos iki visiško pradinės medžiagos sureagavimo, jų eigą stebint plonasluoksnės chromatografijos metodu. Mišinys praskiedžiamas etilacetatu (30 ml), išpilamas į H₂O (20 ml), neutralinamas sočiu NaHCO₃ vandeniniu tirpalu iki šarminės terpės (pH ≈ 8), ekstrahuojamas etilacetatu (3 × 50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas NaCl sočiu vandeniniu tirpalu (2 × 25 ml), džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄, filtruojamas ir nudistiliuojamas. Reakcijos mišinys gryninamas kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentu naudojant heksano ir etilacetato mišinį, tūriniu santykiu 4/1, surenkant frakciją, kurios R_f = 0,51–0,74 (Heks/EtOAc = 2/1 v/v).

Gauta derva **24c** ištirpinama dioksano ir vandens mišinyje (4,5 ml, 2/1 v/v), suberiamas LiOH (74 mg, 3,1 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje 2 val. Pasibaigus reakcijai, mišinys praskiedžiamas etilacetatu (30 ml), išpilamas į H₂O (20 ml), neutralinamas 1 M KHSO₄ vandeniniu tirpalu iki rūgštinės terpės (pH ≈ 4), ekstrahuojamas etilacetatu (3 × 50 ml). Organinis sluoksnis surenkamas, perplaunamas NaCl sočiu vandeniniu tirpalu (2 × 25 ml), džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄, filtruojamas ir nudistiliuojamas. Medžiaga išgryninama kolonėlinės chromatografijos būdu, eliuentu naudojant DCM ir MeOH mišinį, tūriniu santykiu 100/5. Gautas produktas **25c** yra rusvi kristalai, kurių išeiga 108 mg (56%), t_{lyd.} = 151,0–151,9 °C (lit. t_{lyd.} = 151,0–152,5 °C [63]). R_f = 0,21 (DCM/MeOH = 100/5 v/v). Grynumas 97,8% (HPLC-MS).

¹H BMR (700 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,36 (s, 3H, CH₃); 3,59 (s, 2H, CH₂); 6,90 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, 6-H); 7,16 (s, 1H, 2-H); 7,23 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, 7-H); 7,26 (s, 1H, 4-H); 10,75 (s, 1H, NH); 12,07 (s, 1H, COOH).

¹³C BMR (175 MHz, DMSO-*d*₆): δ 21,3 (CH₃); 31,0 (CH₂); 107 (C-3),1; 111,1 (C-5); 118,1; 122,6; 124,0; 126,8; 127,4; 134,5; 173,2 (C=O).

IR (KBr, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3386, ν_{C=O} = 1699.

MS (ESI, teigiamas jonizacija) *m/z* (%): 190 ([M+H]⁺, 100).

HRMS: apskaičiuota C₁₁H₁₂NO₂: 190,0863. Rasta 190,0864 ([M+H]⁺, 100).

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

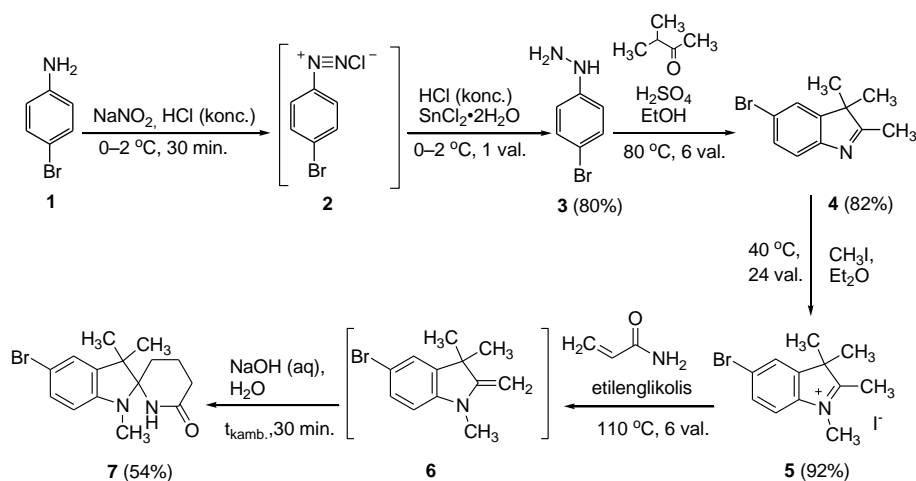
3.1. Potencialių fluorescencinių žymeklių sintezė

Ligi šiol kyla problemų vizualiai matyti bakterijas. Vienas iš stebėjimo būdų, tai fluorescencinis ženklinimas, kuriuo metu žymėtam ligandui susijungus su atitinkamu receptoriumi, matomos fluorescencinės žymės [5]. Fluorescencinio ženklinimo pavyzdys – kvorumo jutimo signalinių junginių žymėjimas. Atsižvelgiant į tai ir žinant, kad kvorumo jutimo metu susidaro signalinės molekulės – acilinti homoserino laktonai, buvo nuspręsta gauti eilę fluorescencinių junginių potencialiai galinčių jungtis su šiomis molekulėmis. Viena iš tinkamiausių junginių grupių yra karboksirūgštys ir jų dariniai.

3.1.1. 5-Arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų sintezė

Tęsiant bakalaurinio darbo temą – gauti potencialius fluorescencinius žymeklius, struktūroje turinčius indolo fragmentą, pradžioje buvo susintetinta keletas pradinių junginių.

Pirmiausia buvo atlikta 5-brom-1,3,3-trimetil-1,3-dihidro-6'*H*-spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-ono (**7**) sintezė (3.1 schema). Pagal literatūroje aprašytą metodiką, 4-bromaniliną (**1**) koncentruotos HCl tirpale paveikus NaNO₂, gauta diazonio druska **2** [63].

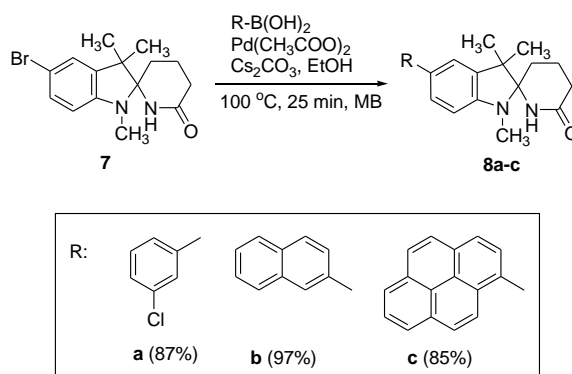


3.1 schema

Toliau druska buvo redukuota SnCl₂ vandeniniu tirpalu, palaikant 0–2 °C temperatūrą ir gautas 4-bromhidrazinas (**3**). Atlikus junginio **3** kondensaciją su 3-metilbutan-2-onu rūgštinėje terpėje, išskirtas 5-brom-2,3,3-trimetil-3*H*-indolas (**4**). 5-Bromindolas **4** alkilinimas metiljodidu, eterio virimo temperatūroje. Yra žinoma, kad tokias indolio druskas veikiant vandeniniais šarmų tirpalais vyksta jų neutralizacija ir gaunamos metileninės bazės, kurios dar vadinamos Fisher'io bazėmis. Išskirtas jodidas **5** buvo neutralinamas 3M NaOH vandeniniu tirpalu, susidarant Fisher'io bazei **6**. Ši metileninė bazė nebuvo išskirta, nes yra nestabili ir greitai oksiduojasi, todėl svarbu susidariusį

junginį iškart naudoti kitai stadijai. Yra žinoma, kad veikiant nehalegenintą Fisher'io bazę akrilamidu gali būti gaunami spirojunginiai [37]. Analogiškai junginys **6** buvo veikiamas akrilamido pertekliumi ir išskirtas 5-bromspiroindolas **7**.

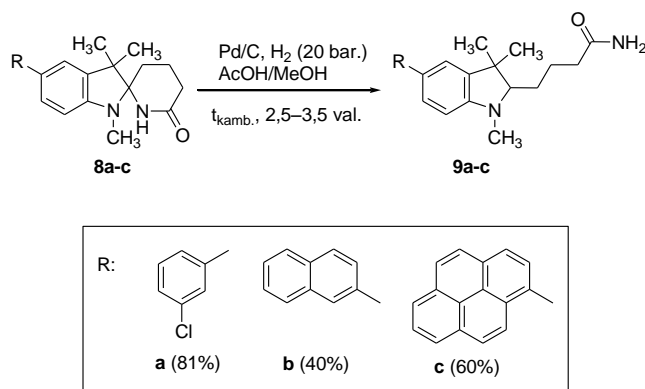
Toliau pagal bakalauro metu optimizuotą metodiką, buvo atlikta Suzuki-Miyaura kryžminio jungimosi reakcijos, jungiant įvairias arilboro rūgštis su 5-bromspiroindolu **7** (3.2 schema) [64]. Jungimas atliktas reakciją kaitinant mikrobangomis etanolyje su 1 M Cs₂CO₃ vandeniniu tirpalu ir Pd(CH₃COO)₂, inertinėje aplinkoje. Dažniausiai naudojamas Pd(PPh₃)₄ katalizatorius, o šiame darbe pakeistas į stabilesnį, nejautrų orui ir drėgmei Pd(CH₃COO)₂ [65]. Susidarę tiksliniai produktai **8a-c** buvo gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu.



3.1.2. 5-Arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų redukcinis žiedo atidarymas

Redukcinis piperidinono žiedo atidarymas, tai naujas ir efektyvus 4-(indol-2-il)butanamidų sintezės būdas iš spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-ono. Žinoma, kad rūgštis skatina piperidinono žiedo atidarymą susidarant indolio druskai, kuri, katalizuojant Pd/C, lengvai hidrinasi H₂ aplinkoje [66].

5-Arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų **8a-c** redukcinis žiedo atidarymas vykdytas katalizuojant Pd/C, acto rūgšties ir metanolio mišinyje (3.3 schema). Reakcija vykdoma autoklave, esant H₂ (20 bar.) dujoms, kambario temperatūroje, iki visiško pradinių junginių **8a-c** sureagavimo, jų eigą sekant plonasluoksnės chromatografijos metodu. Susidarę amidai **9a-c** buvo gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu.

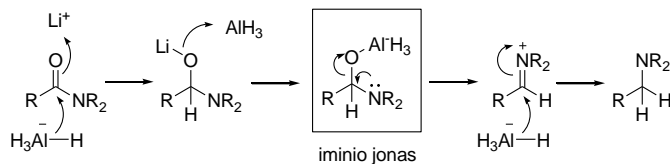


Gautų junginių struktūros patvirtintos išsamiais BMR ir IR spektroskopijos metodais, MS ir HRMS spektroskopijos metodais. ^1H BMR spektre stebimas protono atsiradimas alifatinėje srityje nuo 2,93 m.d. iki 2,97 m.d. Taip pat stebimi $-\text{NH}_2$ grupės protonai ties 5,52 m.d. ir 5,67 m.d. Šių junginių IR spektre charakteringi signalai: 3368 cm^{-1} (NH), 3187 cm^{-1} (NH) ir 1672 cm^{-1} (C=O).

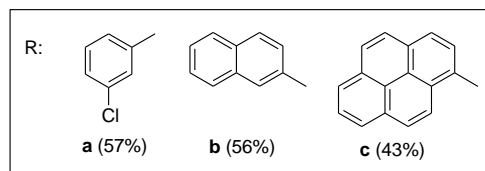
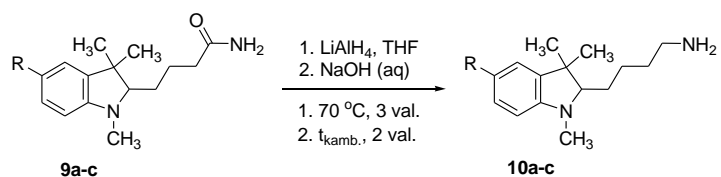
Sėkmingai susintetinus amidus, toliau šie junginiai buvo panaudoti esterių ir amidų sintezėms.

3.1.3. 4-(1,3,3-Trimetil-5-aryl-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanamidų redukcija

Ličio aluminio hidridas (LiAlH_4) vienas iš stipriausių redukuojančių agentų [67], kuris selektyviai atakuoja amido karbonilo grupę (3.4 schema) [68]. Reakcijos metu susidaro tarpinis iminio jonas, kuris yra reaktingesnis nei pradinis junginys. Iminio jonas atakuojamas AlH_4^- jonu ir amidas redukuojamas iki amino.



Amidai **9a-c** redukuojami LiAlH_4 absoliučiaje THF, inertinėje aplinkoje (3.5 schema). Reakcijos vykdytos $70\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje iki visiško pradinių junginių **9a-c** sureagavimo, jų eigą sekant plonasluoksnės chromatografijos metodu. Susidaręs AlH_3^{2-} neutralinamas 3 M NaOH vandeniniu tirpalu.



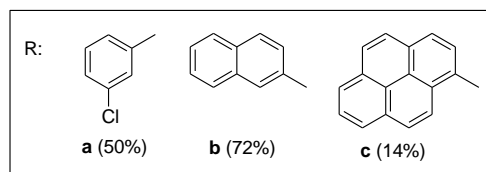
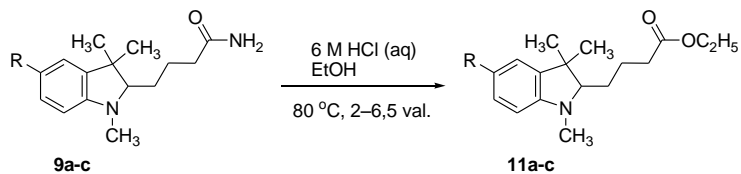
3.5 schema

Visų junginių struktūros patvirtintos išsamiais BMR ir IR spektroskopijos metodais, MS ir HRMS spektroskopijos metodais. ^1H BMR spektre atsiranda du protonai alifatinėje srityje nuo 2,85 m.d. iki 3,08 m.d. ^{13}C BMR spektre nebelieka charakteringų karbonilinės grupės signalų ties 175,0 m.d., o IR septe nebelieka karbonilinės grupės ($\text{C}=\text{O}$) sugerties juostos nuo 1653 cm^{-1} iki 1688 cm^{-1} .

3.1.4. 4-(1,3,3-Trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanamidų hidrolizė

Amidai yra puikūs pradiniai junginiai norint gauti esterius atliekant jų hidrolizę bazinėmis ar rūgštinėmis sąlygomis [69]. Tad buvo ištirta galimybė gauti indolo žiedą turinčius esterius iš amidų rūgštinėje aplinkoje.

Pasirinkus amidus **9a-c** kaip pradinius junginius buvo atlikta jų hidrolizė (3.6 schema). 4-(1,3,3-Trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1H-indol-2-il)butanamidai **9a-c** hidrolizinami etanolio ir druskos rūgšties mišinyje, $80\text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje. Susidarę esteriai **11a-c** buvo gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu. Pažymėtina, kad junginio **11c** išeiga mažesnė, nei kitų produktų. Nors reakcija buvo kartota kelis kartus, pagerinti išeigos nepavyko. Buvo padaryta prielaida, kad reakcijos metu atsikyla pirenilo žiedas, nors pakankamai gauti įrodymų nepavyko.



3.6 schema

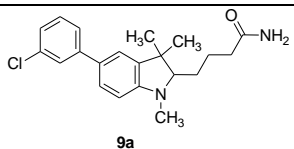
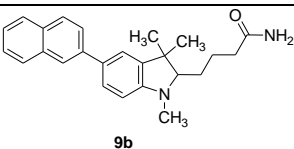
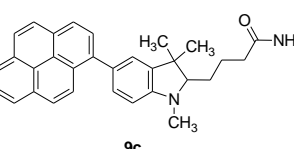
^1H BMR spektre stebimas esterinės grupės trijų protonų atsiradimas tripleto (CH_2CH_3) alifatinėje srityje nuo 1,24 m.d. iki 1,31 m.d. ir dviejų protonų (CH_2CH_3) kvadrupletas nuo 4,13 m.d. iki 4,19 m.d. ^{13}C spektre stebimi papildomų esterinės grupės etilo signalų atsiradimas ties 14,3–14,4 m.d. (CH_2CH_3) ir ties 34,7–34,9 m.d. (CH_2CO) ir karbonilinės grupės ($\text{C}=\text{O}$) signalo poslinkis į stipresnius laukus (nuo 175,0 m.d. iki 173,5 m.d.). IR spektre stebimas karbonilinės grupės ($\text{C}=\text{O}$) sugerties juostos poslinkis iš amidams būdingos sryties ($1650\text{--}1690\text{ cm}^{-1}$) į charakteringą esteriams sritį ($1710\text{--}1740\text{ cm}^{-1}$) [70].

3.1.5. 1,3,3-Trimetil-5-aril-2,3-dihidro-1H-indolo darinių optinių savybių tyrimas

Didžiausią dėmesį fluorescenciniam žymėjimui susilaukia junginiai, kurių emisijos maksimumas yra netoli infraraudonosios srities nuo 650 nm iki 900 nm [35]. Šie junginiai biologiškai pranašesni optiniu skaidrumu, giliai įsiskverbia į audinius ir stebima minimali audinių auto fluorescencija.

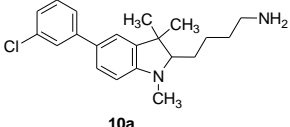
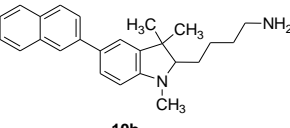
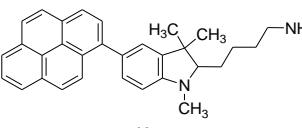
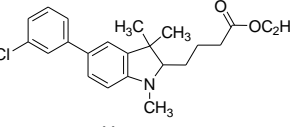
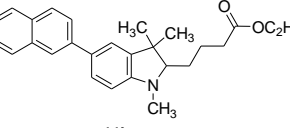
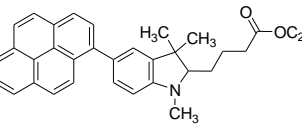
Buvo atlikti gautų junginių **9-11** fizikinių savybių matavimai: UV sugertis, fluorescencijos maksimumai, kvantinės išėigos bei apskaičiuoti ekstinkcijos koeficientai ir Stokso poslinkiai (3.1 lentelė).

3.1 lentelė. Junginių 9, 10, 11a-c THF tirpalų absorbcija ir fluorescencija

Produktas	Sugertis, λ_{abs} (nm)	Ekstinkcijos koeficientas, $\epsilon \times 10^3$ ($\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	Emisija, λ_{em} (nm)	Stokso poslinkis, (nm)	Kvantinė išėiga Φ_f , (%)
 9a	206 309	79,10 28,82	390	81	20,28
 9b	250 282 318	63,97 24,10 26,27	440	122	56,83
 9c	205 243 267 357	70,14 63,98 35,74 21,64	506	149	59,31

3.1 lentelės tęsinys kitame puslapyje

3.1 lentelės tęsinys

Produktas	Sugertis, λ_{abs} (nm)	Ekstinkcijos koeficientas, $\varepsilon \times 10^3$ ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Emisija, λ_{em} (nm)	Stokso poslinkis, (nm)	Kvantinė išeiga Φ_f , (%)
 10a	206	73,07	382	83	20,39
	299	25,01			
 10b	228	44,65	441	130	35,44
	276	23,57			
	311	20,91			
 10c	205	55,81	505	154	42,49
	243	55,65			
	278	30,96			
	351	25,34			
 11a	206	52,57	384	78	21,57
	306	20,73			
 11b	206	65,25	438	126	44,78
	277	23,39			
	312	20,30			
 11c	206	62,06	503	147	56,30
	243	51,95			
	267	32,68			
	356	20,34			

Junginių **9**, **10**, **11a-c** fluorescencijos maksimumai stebimi nuo 382 nm iki 506 nm. Yra žinoma, kad junginiui būdinga sugertis ir emisija priklauso nuo molekulos struktūros, t.y. bathochrominis poslinkis į ilgesnių bangų sritį pasireiškia ilgėjant konjuguotai dvigubų jungčių sistemai. Šiai taisyklei nenusižengia ir geriausius fluorescencijos rezultatus rodo: iš amidų junginys **9c**, fluorescencijos maksimumas yra $\lambda_{\text{em}} = 506$ nm; iš aminių junginys **10c**, $\lambda_{\text{em}} = 505$ nm; iš esterių **11c**, $\lambda_{\text{em}} = 503$ nm. Visi šie junginiai turi ilgiausią konjuguotą dvigubų jungčių sistemą.

Stokso poslinkis – labai svarbus dydis junginius taikant biologijoje žymėjimui. Norint junginius naudoti, kaip fluorescencinius žymeklius biologijoje reikia, kad kuo mažiau ar visiškai

nesidengtų UV sugerties ir fluorescencijos pikai, tai yra, kad būtų kuo didesnis Stokso poslinkis. Geriausiai rezultatus iš aminų turi junginys **10c**, o iš esterių **11c**. Kitas svarbus rodiklis yra kvantinė išeiga – santykis tarp emituotų ir absorbuotų fotonų. Juo didesnė kvantinė išeiga, juo didesnė dalis absorbuotų fotonų gali sukelti fluorescenciją, matomas švytėjimas [71]. Didžiausią kvantinę išeigą turi junginys **11c**. Apibendrinus matavimų rezultatus tinkamiausias darinys fluorescenciniam žymėjimui ir tolimesniems tyrimams yra **11c**.

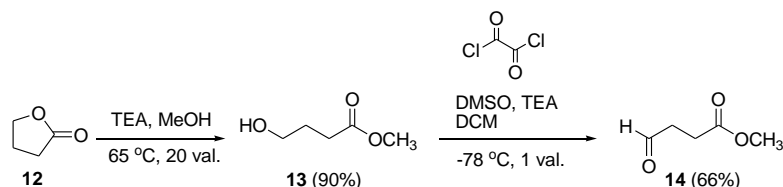
3.2. Augalų hormono – auksino analogų sintezė

Augalų hormonas 3-indolilacto rūgštis alieka nemažą vaidmenį augalų augimo bei vystymosi procesuose [6]. Jis reguliuoja gemalo vystymąsi, skatina ląstelių dalijimąsi, stiebų bei diegamakščių ilgėjimą, viršūninį dominavimą, rizogenezę, indų audinio diferenciaciją, vaisių vystymąsi, bei tropinį (kryptingą) judėjimą, pavyzdžiui, ūglių linkimą į šviesą arba šaknų linkimą pagal sunkio jėgos kryptį [37]. Vis labiau plečiantis ir tobulėjant agrokultūrinei veiklai bei žmogaus norui pavergti ir valdyti bioprocus vysktančius gamtoje, buvo nuspręsta susintetinti indolilacto rūgšties analogus.

3.2.1. (5-Brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties sintezė

Literatūroje mažai randama halogenintų indolilacto rūgšties darinių sintezės būdų. Daugelis indolo žiedą turinčių junginių sintetinami Fischer'io indolo sintezės metodu [47]. Šiuo metodu pradinis junginys fenilhidrazinas kondensuojamas su aldehidu ar ketonu rūgštineje terpėje [72]. Jei arilhidrazinas yra nestabilus junginys šiai reakcijai galima naudoti ir didesniu stabilumu pasižymintį arilhidrazino hidrochloridą [73].

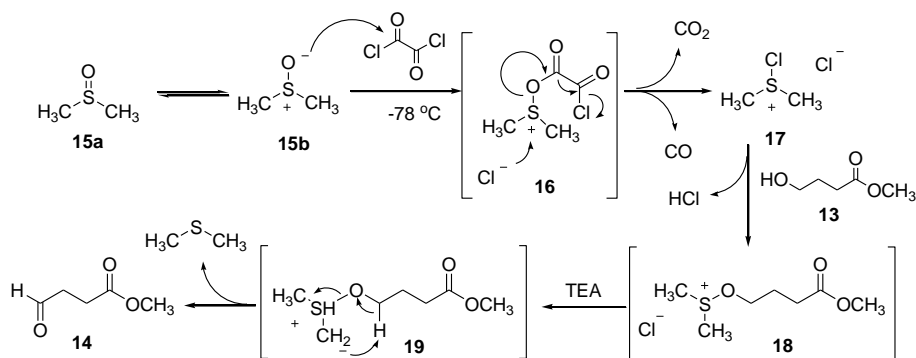
Pagal literatūroje aprašytą metodiką, buvo atliktas γ -butirillaktono **9** žiedo atidarymas, naudojant MeOH ir trietilaminą (3.7 *schema*) [74]. Susidaręs alkoholis **13** toliau naudojamas oksidacijos reakcijoje aldoesterio **14** gavimui.



3.7 *schema*

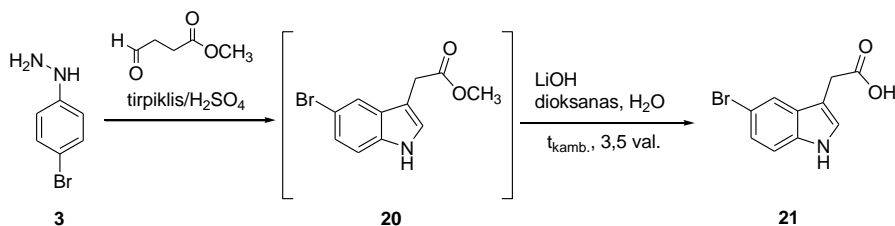
Vienas iš alkoholio oksidacijos būdų, tai Swern'o oksidacija, kurios metu pirminiai ar antriniai alkoholiai transformuojami į aldehidus ar ketonus, naudojant oksalilchloridą ir sausą DMSO (3.8 *schema*) [75]. Atšaldžius oksalilchlorido tirpalą dichlormetane iki -78 °C temperatūros, inertinėje aplinkoje, pamažu sulašinamas sausas DMSO. Tokia reakcijos eiga ir žema temperatūra palaikoma

tam, kad susidarytų chlor(dimetil)sulfonio chloridas (**17**) [76], kuris toliau jungiamas su alkoholiu **13**, palaikant $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrą. Sulašinama bazė – TEA, kuri deprotonizuoja alkoksisulfonio joną **18** [76] iki dimetilsulfido ir tikslinio produkto aldoestrio **14**. Šis junginys turi būti iškart naudojamas kitai reakcijai [74], nes labai greitai oksiduoja iki karboksirūgšties, kuri nebėra tinkamas agentas Fisher'io kondensacijai. Pažymėtina, kad išsiskyrusios dimetilsulfido dujos yra nemalonaus kvapo. Patartina reakcijos metu naudotus indus plauti su buitine chemija, kurioje būtų natrio hipochlorito (NaOCl) [77], pvz: baliklis ACE.



3.8 schema

Yra žinoma, kad 4-fluorfenilhidrazino hidrochloridą veikiant aldoesteriu **14**, galima gauti (5-fluor-1*H*-indol-3-il)acto rūgštį [8]. Buvo nuspręsta šias sąlygas pritaikyti ir (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties (**21**) sintezei (3.9 schema).



3.9 schema

Pradžioje reakcijos atliktos hidraziną **3** kondensuojant su aldoesteriu **14**, naudojant MeOH ir H_2SO_4 mišinį, kaitinant įprastiniu būdu (alyvos vonelėje) metanolio virimo temperatūroje. Išskyrus tarpinį junginį **20** maža išeiga (3.2 lentelė, 1 eilutė), buvo nuspręsta prailginti reakcijos laiką, bet rezultatai pablogėjo (3.2 lentelė, 2 eilutė). Žinant, kad EtOH gali būti naudojamas indolo darinių sintezėje [63], nutarta išmėginti šį tirpiklį, kuris pasižymi aukštesne virimo temperatūra, nei MeOH. Tikėtasi, kad būtent aukštesnėje temperatūroje greičiau vyks indolo žiedo ciklizacija, bet spėjimai nepasitvirtino (3.2 lentelė, 3 eilutė). Gavus neigiamą rezultatą, nutarta išmėginti 5-bromindolo **4** sintezės metodiką [63], t.y EtOH ir H_2SO_4 supilti paeiliui (3.2 lentelė, 4 eilutė). Buvo padaryta prielaida, kad supylus tirpiklį ir rūgštį kartu, fenilhidrazinas sudaro druską, kuri galbūt prasčiau

reaguoja su aldoesteriu. Siekiant gauti tarpinio junginio **20** didesnę išeigą, sieros rūgštis supilta po 3 val., bet išeiga sumažėjo 3% (3.2 lentelė, 5 eilutė). Atliekant produkto **20** gryninimą kolonėlinės chromatografijos būdu pastebėta, kad neina jo pakankamai švariai išvalyti nuo šalutinių darinių, kurių R_f poslinkis labai artimas esteriu (esterio **20** $R_f = 0,51$, šalutinio darinio $R_f = 0,73$). Kadangi kitame žingsnyje, atlikus hidrolizę, produkto R_f žymiai sumažėja ($R_f = 0,10$), priemaiša reakcijai netrukdo, nuspręsta tik dalinai išgryninti tarpinį junginį 3-indolilacto rūgšties esterį **20** ir jį su priemaiša hidrolizinti LiOH, dioksano ir vandens mišinyje, kambario temperatūroje.

3.2 lentelė. (5-Brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties (**21**) sintezė naudojant įprastinį šildymą

Eil. Nr.	Reakcijos sąlygos	Produkto išeigos
1.	MeOH/H ₂ SO ₄ = 4/0,4, 65 °C, 5 val.	24% (20)
2.	MeOH/H ₂ SO ₄ = 4/0,4, 65 °C, 18 val.	9% (20)
3.	EtOH/H ₂ SO ₄ = 4/0,4, 80 °C, 19 val.	8% (21)
4.	1. EtOH, 80 °C, 1 val. 2. H ₂ SO ₄ , 80 °C, 2 val.	25% (21)
5.	1. EtOH, 80 °C, 3 val. 2. H ₂ SO ₄ , 80 °C, 3 val.	22% (21)

Literatūroje minima, kad (5-fluor-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties sintezė gali būti atliekama mikrobangų reaktoriuje [8]. Mikrobangomis skatinamos reakcijos įvyksta greičiau, t.y. reakcijos trukmė sutrumpėja iki 50 kartų [8].

Siekiant pagerinti rezultatus, gautus reakciją atliekant įprastiniu šildymu, nutarta išmėginti mikrobangų reaktorių (3.3 lentelė). Pirmiausia kaitinimas atliktas pagal literatūroje minimą metodiką, MeOH ir H₂SO₄ mišinyje ir po hidrolizės gauto produkto **21** išeiga buvo palyginus maža, t.y. 15% (3.3 lentelė, 1 eilutė). Siekiant pagerinti rezultatą, pasirinkta literatūroje rekomenduotina kita rūgštis (AcOH) [8]. Atlikus reakcijas AcOH, nesusidarė tarpinis junginys **20** (3.3 lentelė, 2 ir 3 eilutės). Galiausiai junginio **20** sintezė išbandyta EtOH ir H₂SO₄ mišinyje. Optimaliausias reakcijos laikas 20 min, nes po 30 min susidaro daugiau šalutinių produktų, kurie matomi chromatografiškai.

3.3 lentelė (5-Brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties (21) sintezė naudojant šildymą mikrobangomis

Eil. Nr.	Reakcijos sąlygos	Produkto 21 išeigos
1.	1. MeOH, 70 °C, 50 W, 15 min. 2. H ₂ SO ₄ , 70 °C, 50 W, 45 min.	9%
2.	AcOH, 80 °C, 50 W, 30 min.	×
3.	AcOH, 120 °C, 150 W, 25 min.	×
4.	EtOH/H ₂ SO ₄ = 10/1, 100 °C, 50 W, 20 min.	30%

3.2.2. 5-Pakeistų 3-indolilacto rūgšties darinių sintezė

Organinėje sintezėje yra plačiai paplitusios Suzuki-Miyaura reakcijos su arilboro rūgštimis [78]. Itin švelniomis sąlygomis suformuojamas stabilus C-C ryšys, kuris suteikia galimybę plačiai taikyti šią reakciją sudėtingos struktūros junginių sintezei farmacijos, funkcinių medžiagų ir žemės ūkiui reikalingų chemikalų pramonėje [79].


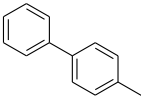
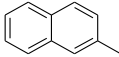
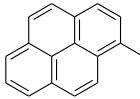
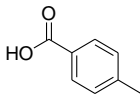
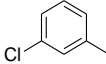
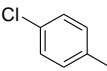

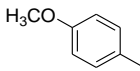




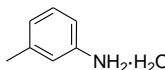

Pasinaudojus bakalaurinio darbo rezultatais – Suzuki-Miyaura reakcijų sąlygų optimizavimu, buvo atliktas (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties (21) jungimas su įvairiomis boro rūgštimis (3.10 schema). Reakcijos atliktos kaitinant mikrobangomis etanolyje su 1 M Cs₂CO₃ vandeniniu tirpalu, ir Pd(CH₃COO)₂, inertinėje aplinkoje.



3.10 schema

Reakcijų laikas, pakaitai bei susidariusių junginių išeigos pateiktos (3.4 lentelėje).

3.4 lentelė. Suzuki-Miyaura reakcijų su arilboro rūgštimis rezultatai*

Produktas	22a	22b	22c	22d	22e
R:					
Reakcijos trukmė	30 min.	30 min.	30 min.	45 min.	1 val.
Produkto išeiga	83% ^a	70% ^a	77% ^a	76% ^a	56% ^a
Produktas	22f	22g	22h	22i	22j
R:					
Reakcijos trukmė	45 min.	45 min.	45 min.	35 min.	1 val.
Produkto išeiga	71% ^a	66% ^a	75% ^a	73% ^a	25% ^a
Produktas	22j	22k	22l	22m	22n
R:					
Reakcijos trukmė	45 min.	45 min.	30 min.	35 min.	1 val.
Produkto išeiga	86% ^b	× ^b	× ^a	× ^a	× ^{a, b}

* ^a Gautas junginių išeigos, reakciją katalizuojant Pd(CH₃COO)₂;^b Gautas junginių išeigos, reakciją katalizuojant Pd(PPh₃)₄.

Pradžioje buvo gauti pirmi trys junginiai **22a-c** ir Palacký universiteto mokslininkų ištirti jų biologiniai aktyvumai. Gavus teigiamus rezultatus, t.y. junginiai pasižymėjo agonistinėmis sąvybėmis – teigiamai veikė augalų šaknų augimą, buvo nuspręsta susintetinti dar daugiau junginių su skirtingais pakaitais ir plačiau ištirti pakaito tipo įtaką jų aktyvumui.

Atliekant jungimą su 3-tiofenboro rūgštimi, pastebėta, kad subėrus į reakcijos mišinį paladžio acetatą, mišinys iškart pajuodavo. Tai požymis, kad katalizatorius skilo, kurį patvirtino ir maža junginio **22j** išeiga = 25% (3.4 lentelė, 4–6 eilutė, 5 stulpelis). Literatūroje yra duomenų, kad Pd/C apnuodija sieros junginiai [80]. Manoma, kad paladžio acetatas skyla dėl sieros esančios boro

rūgštyje. Tikėtina, kad $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ligandai – acilo grupės sudaro lengvesnį priėjimą sieros atomams prie Pd dėl savo dydžio. Buvo nuspręsta išbandyti reakciją su žymiai didesnius fosfino ligandus turinčiu $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ katalizatoriumi. Šios reakcijos metu junginio **22j** išeiga pakilo iki 86%.

Atliekus jungimą su 2-tiofenboro rūgštimi, katalizuojant $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, nesusidarė tikslinis produktas **22k**, išskirtas debrominimo produktas IAR (3.4 lentelė, 7–9 eilutė, 2 stulpelis). Literatūroje yra duomenų, kad 4-jod-1*H*-pirazolą jungiant su šia boro rūgštimi, tikslinio produkto gauta 45% išeiga po 22 val. [81]. Tai gan prastas rezultatas, lyginant to pačio pirazolo jungimą su 3-tiofenboro rūgštimi, išeiga 82% po 2 val. Taip pat literatūroje minima, kad Suzuki-Miyaura reakcijos nevyko su heteroaril chloridais ir 2-tiofenboro rūgštimi [79]. Manoma ši boro rūgštis pasižymi mažesniu aktyvumu, nei 3-tiofenboro rūgštis dėl sieros atomo ir boro rūgšties padėties. 2-Tiofenboro rūgštyje sieros atomas yra arčiau šios grupės ir galbūt tai turi neigiamą poveikį reakcijos vyksmui. Reakcijos su 2-tiofenboro rūgštimi nebebuvo plačiai nagrinėjamos.

Atlikus jungimą su 3-furanboro rūgštimi nesusidarė tikslinis produktas **22l** (3.4 lentelė, 7–9 eilutė, 3 stulpelis). Panašūs rezultatai randami literatūroje, jungiant halogenintą pirazolą su šia boro rūgštimi. Kadangi literatūroje yra duomenų, kad 3-furanboro rūgštis yra riboto aktyvumo atliekant jungimus su aromatiniais bromidais ar jodidais [82], reakcijos su šia boro rūgštimi nebebuvo kartojamos.

Siekiant gauti junginius, turinčius ne tik aromatino žiedo pakaitus, buvo nuspręsta atlikti jungimą su alifatine boro rūgštimi. Atlikta reakcija su izopropilboro rūgštimi, tačiau junginys **22n** nesusidarė, nors buvo išmėginti abu katalizatoriai: $\text{Pd}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ir $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (3.4 lentelė, 7–9 eilutė, 5 stulpelis). Literatūroje teigiama, kad bazės poveikyje $\text{Ar}^+\text{B}(\text{OH})_2$ lengvai pereina į aktyvesnę $[\text{Ar}^+\text{B}(\text{OH})_3]^-$ formą [83], tačiau alkil boro rūgštys itin sunkiai pereina į aktyvią formą, todėl apsunkinamas transmetalizacijos procesas, toliau seka apsunkinta eliminacija [83], to pasekoje nesusidaro norimas junginys.

Stebimas labai mažas R_f skirtumas tarp pradinės medžiagos **21** ($R_f = 0,18$) ir susidariusio produkto (pvz.: **22a** $R_f = 0,21$). Junginiai **22a-j** gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu. Biologiniams tyrimams junginių grynumas nustatytas HPLC-MS, jis turi būti ribose nuo 97% iki 100%. Junginių **22g-i** HPLC-MS spektruose matomas 3-indolilacto rūgšties likutis nuo 0,1% iki 0,5%. Šie junginiai biologiniams tyrimams netinkami, nes išsikreipia duomenys dėl pačios IAR aktyvumo, bet likusieji buvo išsiųsti Palacký universitetą biologiniams tyrimams.

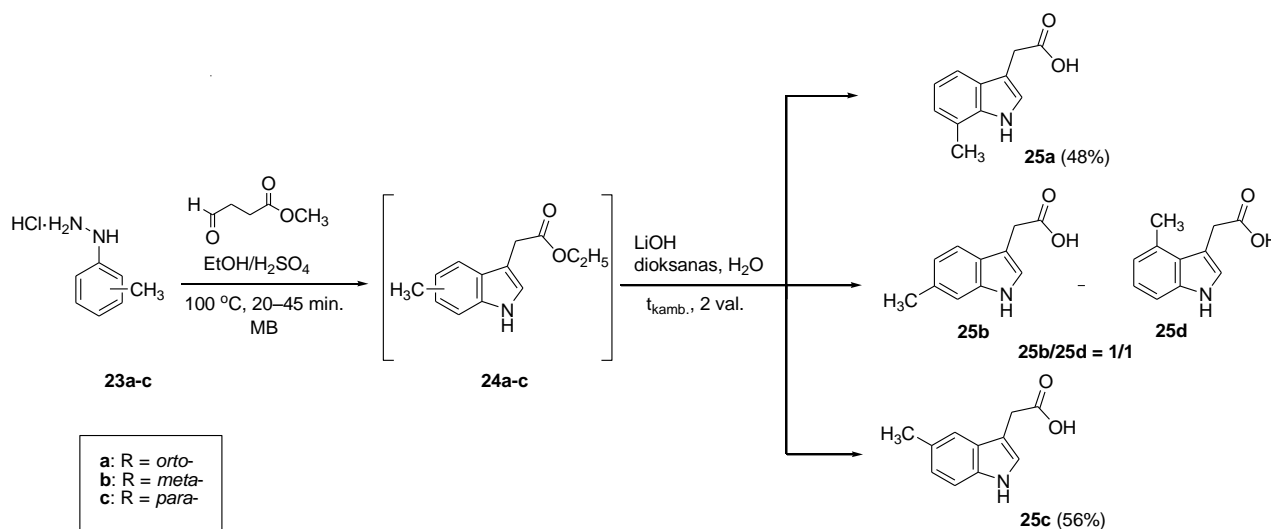
Gautų junginių struktūros patvirtintos išsamiais BMR ir IR spektroskopijos metodais, MS ir HRMS spektroskopijos metodais. Stebimas ^1H BMR spektre protonų atsiradimas aromatinėje srityje

nuo 7,30 m.d. iki 8,35 m.d. Taip pat ^{13}C BMR spektre atsiranda papildomi anglių signalai nuo 113,0 m.d. iki 143,2 m.d. Junginių **22a,b,d**, IR spektruose krabonilinės grupės srityje nuo 1697 cm^{-1} iki 1673 cm^{-1} , stebimos dvi charakteringos absorbcijos smailės, dėl Fermi rezonanso. Tai gan dažnas reiškinys, kai dėl pakankamai stiprių tarpmolekulinių vandenilinių ryšių atsiranda sąveika tarp molekulių [70]. Naujų junginių identifikavimą patvirtina ir MS analizė: pradinio junginio **21** matome dvi smailes atsirandančias dėl dviejų bromo izotopų, tuo tarpu gautų junginių **22a-j** masių spektruose matoma viena smailė, išskyrus junginių **22f** ir **22g** – dvi smailės dėl dviejų chloro izotopų.

3.2.3. Metilintos indolilacto rūgšties sintezė

Nepavykus Suzuki-Miyaura kryžminio prijungimo reakcijos metu gauti auksino analogą su alifatiniu pakaitu, nutarta atlikti Fischer'io indolo sintezę su tolihidrazinų hidrochloridais.

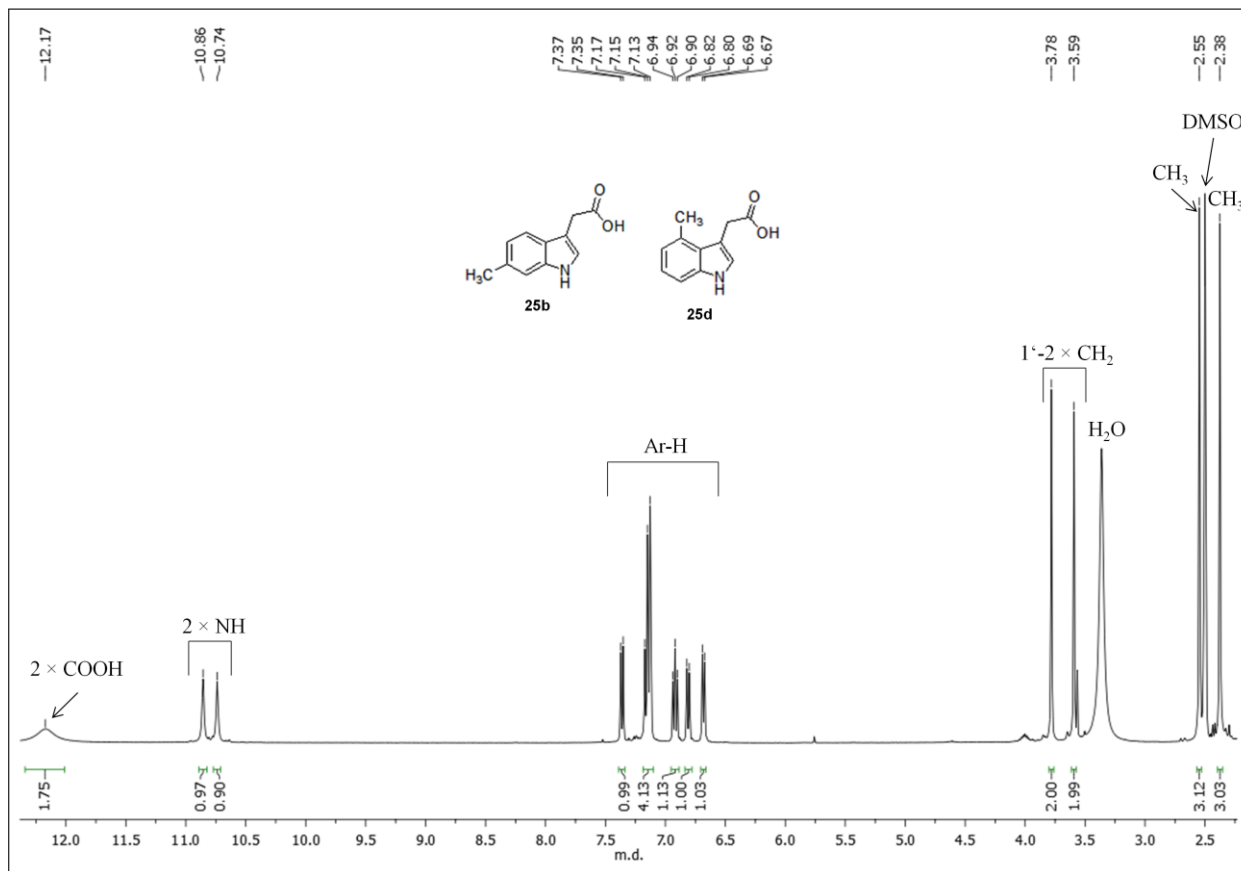
Sintezėms pasirinkti tolihidrazino hidrochloridai, kurie pasižymi didesniu stabilumu [63], kurių pakaitai yra orto-, meta- ir para- padėtyse metilo pakaitus. Tolilhidrazino hidrochloridas **23a-c** kondensuojamas su aldoesteriu **14** EtOH/ H_2SO_4 mišinyje, šildant mikrobangomis (3.11 schema). Tarpiniai junginiai **24a-c** gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu ir toliau hidrolizinami LiOH, dioksano ir vandens mišinyje. Reakcijos vykdomos iki visiško pradinių junginių **24a-c** sureagavimo, jų eigą sekant plonasluoksnės chromatografijos metodu, o indolilacto rūgšties dariniai **25a-c** gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu.



3.11 schema

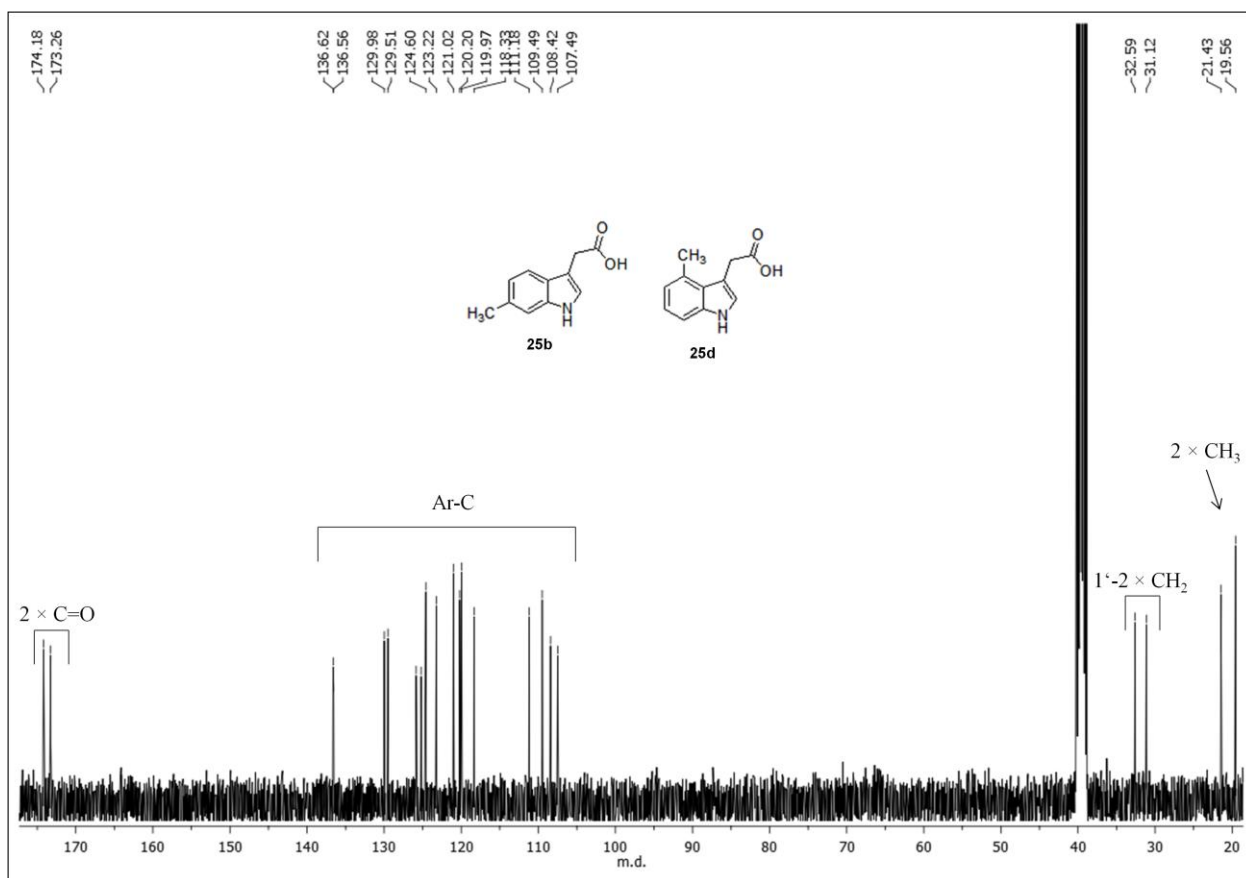
Junginių **25a-c** struktūras patvirtino BMR spektro duomenys. Išanalizavus BMR spektrus pastebėta, kad kondensuojant *m*-tolilhidrazino hidrochloridą gautas junginių **25b** ir **25d** mišinys (3.1 pav.). Spektre matomi $2 \times \text{CH}_3$ singletai ties 2,38 m.d. ir 2,55 m.d. priklausantys metilo pakaitams

atitinkamai 4 ir 6 padėtyse. Taip pat stebimi du singletai ties 3,59 m.d. ir 3,78 m.d. yra $2 \times 1'$ -CH₂ grupių protonų signalai. Kiti du singletai ties 10,74 m.d. ir 10,86 m.d. yra priskiriami $2 \times$ NH grupės protonams. Aromatinėje dalyje nuo 6,67 m.d. iki 7,37 m.d. yra aštuoni protonai, kiekvienam junginiui po keturis. Karbonilinės -OH grupės du protonai stebimi ties 12,17 m.d.



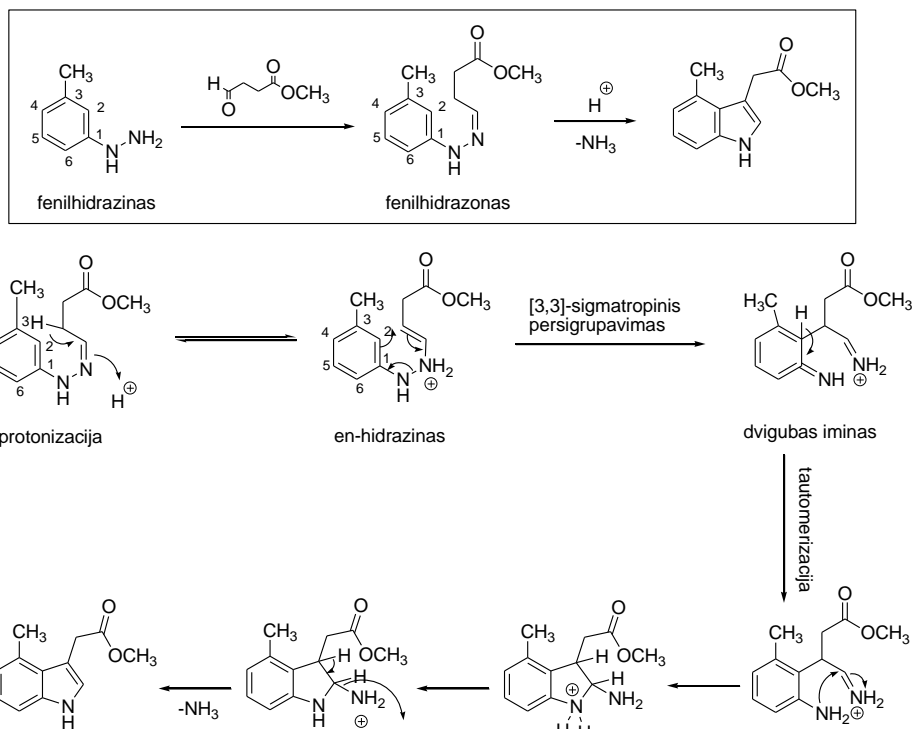
3.1 pav. Mišinio 25b ir 25d ¹H BMR spektras

¹³C BMR spektre (3.2 pav.) stebimi du CH₃ grupės anglies signalai ties 19,56 m.d. ir 21,43 m.d. bei du CH₂ grupės anglies signalai ties 31,12 m.d. ir 32,59 m.d. Taip pat matomi du karbonilinės grupės (C=O) signalai ties 173,26 m.d. ir 174,18 m.d.



3.2 pav. Mišinio 25b ir 25d ^{13}C BMR spektras

Šiam rezultatui galima pasiūlyti paaiškinimą. Atliekant Fischer'io indolo sintezę, reakcija vienu metu vyko dvejomis kryptimis (3.12 schema) [84]. Pirmu atveju kondensacija vyko 1→2 kryptimi ir susidarė (4-metil-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis (**25d**), kitu atveju vyko 1→6 kryptimi ir susidarė (6-metil-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis (**25b**). *m*-Tolilhidrazino hidrochloridas turi du pirmos grupės pakaitus $-\text{NH}_2$ ir $-\text{CH}_3$. Šie pakaitai elektrofilinę substitucijos reakciją kreipia į orto- ir para-padėtis [85]. Dėl susiderinusio $-\text{NH}_2$ ir $-\text{CH}_3$ grupių kreipiamojo veikimo 2-, 4- ir 6- padėtys turi vienodą elektrinį neigiamumą ir gaunamas dviejų junginių mišinys, santykiu 1/1.



3.12 schema [84]

3.2.4. 3-Indolilacto rūgšties darinių optinių savybių tyrimas

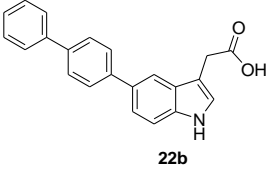
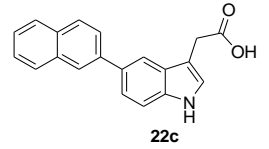
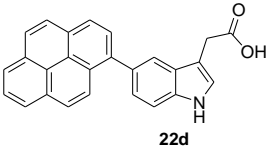
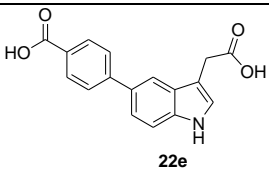
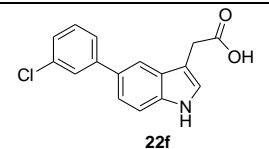
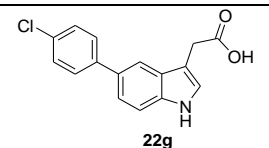
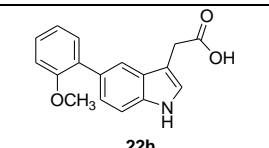
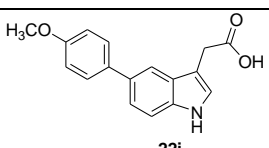
Buvo išmatuoti pradinio junginio (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties (**21**), 5-pakeistų 3-indolilacto rūgšties darinių **22a-j** bei metilo pakaitą turinčių junginių **25a,c** UV sugertis, fluorescencijos maksimumai, kvantinės išėigos bei apskaičiuoti ekstinkcijos koeficientai ir Stokso poslinkiai (3.5 lentelė).

3.5 lentelė. Junginių 21, 22a-j, 25a,c THF tirpalų absorbcija ir fluorescencija

Produktas	Sugertis, λ_{abs} (nm)	Ekstinkcijos koeficientas, $\varepsilon \times 10^3$ (dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Emisija, λ_{em} (nm)	Stokso poslinkis, (nm)	Kvantinė išėiga Φ_f , (%)
	227 291	18,24 2,88	330	39	0,1
	255	13,26	360	105	12,73

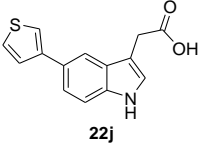
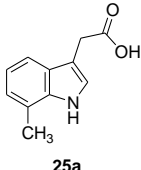
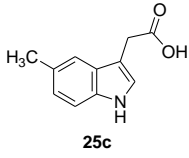
3.5 lentelės tęsinys kitame puslapyje

3.5 lentelės tęsinys

Produktas	Sugertis, λ_{abs} (nm)	Ekstinkcijos koeficientas, $\epsilon \times 10^3$ ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	Emisija, λ_{em} (nm)	Stokso poslinkis, (nm)	Kvantin ė išeiga Φ_f , (%)
 22b	275	24,60	374	99	73,79
 22c	217 259	24,23 31,69	376	117	48,08
 22d	241 279 344	43,67 28,08 22,87	408	64	60,46
 22e	229 275 308	11,75 10,28 6,07	406	98	36,39
 22f	259	12,89	370	111	21,05
 22g	260	24,30	370	110	18,14
 22h	251 283	10,72 5,02	350	67	18,47
 22i	257	16,03	353	96	19,49

3.5 lentelės tęsinys kitame puslapyje

3.5 lentelės tęsinys

Produktas	Sugertis, λ_{abs} (nm)	Ekstinkcijos koeficientas, $\epsilon \times 10^3$ (dm ³ mol ⁻¹ cm ⁻¹)	Emisija, λ_{em} (nm)	Stokso poslinkis, (nm)	Kvantinė išeiga Φ_f , (%)
 22j	232 253	15,59 13,76	344	91	7,08
 25a	221 280	15,37 2,77	315	35	15,54
 25c	225 277	10,91 2,88	321	44	7,63

Junginių **21**, **22a-j**, **25a,c** fluorescencijos maksimumai stebimi nuo 315 nm iki 408 nm. Atlikti palyginamieji pradinio junginio **21** matavimai, siekiant nustatyti kokią įtaką fizikinėms savybėms turi pakaitas ir jo padėtis. Penktoje padėtyje pakaitus turinčių junginių **22a-j** fluorescencijos maksimumai pasislinkę į ilgesnių bangų sritį, nei (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties (**21**). Geriausia fluorescencija pasižymėjo junginys **22d**, $\lambda_{\text{em}} = 408$ nm, lyginant su pradiniu junginiu **21**, $\lambda_{\text{em}} = 330$ nm. Tai stebima, nes pailgėja konjuguota dvigubų jungčių sistema dėl pirenilo žiedo. Gerus rezultatus parodė junginys **22e**, $\lambda_{\text{em}} = 406$ nm, nes į gan ilgą konjuguotą dvigubų jungčių sistemą įeina molekulę poliarizuojančios donorinės (NH) ir akceptorinės (COOH) grupės. Šios grupės poliarizuoja molekulę – akceptorinei grupei pritraukiant elektronus atsiranda dalinis neigiamas krūvis, o donorinei atstumiant – dalinis neigiamas krūvis, tai palengvina elektronų judėjimą konjuguotoje sistemoje [86]. Kai indolo fragmente vietoj aromatinio pakaito yra metilo pakaitai (junginiai **25a,c**) stebimas hipsochrominis fluorescencijos maksimumo pasislinkis.

Stokso poslinkis bei kvantinė išeiga auksinių **22a-j** padidėjo, lyginant su pradiniu junginiu **21**. Didžiausias Stokso poslinkis junginio **22c**, 117 nm, šiek tiek mažesni – junginių **22f** ir **22g**, 110 nm ir 111 nm, tačiau jų kvantinės išeigos vos siekia 20%. Didžiausia kvantinė išeiga – junginių **22b** ir **22d**, tačiau **22d** fluorescencijos ir emisijos maksimumai persidengia, o tai netinka ženkliniui.

Apibendrinant šiuos tyrimus, potencialiausi junginiai fluorescenciniam žymėjimui yra junginiai **22b** ir **22c**, nes jų gan dideli Stokso poslinkiai bei didžiausios kvantinės išeigos. Verta

pabrēžti, kad kaip augimo hormonai gali būti tirami visi IAR analogai, nes bioloģiniam tyrimam fluorescencija nēra aktuālu.

Išvados

1. 5-Arilspiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų piperidinonų žiedas rūgštinėje terpėje, katalizuojant Pd/C gali būti hidrinamas vandeniliu iki amidų, kurie gali būti taikomi fluorescuojančių aminų ir esterių sintezei;
2. Užrašius junginių **9**, **10**, **11 a-c** UV ir fluorescencijos spektrus nustatyta, kad biologiniams tyrimams tinkamiausias junginys **11c**, nes jis turi pakankamą Stokso poslinkį (147 nm) ir gerą kvantinę išeigą (56,3%);
3. Nustatyta, kad optimalios (5-brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgšties sintezės sąlygos yra 4-bromhidrazino kondensacija su metilo 3-formilpropanoatu EtOH ir H₂SO₄ mišinyje, mikrobangų reaktoriuje, reakciją vykdant neilgiau nei 20 min;
4. (5-Brom-1*H*-indol-3-il)acto rūgštis gali būti sėkmingai naudojama Suzuki-Miyaura reakcijose siekiant gauti biologiškai aktyvių 5-pakeistų 3-indolilacto rūgščių „biblioteką“, nes atlikus pirmuosius junginių **22a-c** biologinius tyrimus, gauti teigiami rezultatai;
5. Nors kondensuojant *o*- ir *p*- tolilhidrazino hidrochloridus su metilo 3-formilpropanoatu, galima gauti 3-indolilacto rūgščių darinius geromis išeigomis, šis metodas negali būti taikomas su *m*-tolilhidrazinu;
6. Užrašius junginių **22a-j** bei **25a,c** UV ir fluorescencijos spektrus nustatyta, potencialiausi auksinai fluorescenciniam ženklinimui yra **22b** ir **22c**.

Literatūros sąrašas

1. F. S. Melkonyan, A. V. Karchava, M. A. Yrovskaya. Synthesis of N-Substituted Indole-3-carboxylic Acid Derivatives via Cu(I)-catalyzed Intramolecular Amination of Aryl Bromides. *J. Org. Chem.*, 2008, nr. 73, p. 4275–4278.
2. S. Biswal, U. Sahoo, S. Sethy, H. K. S. Kumar, M. Banerjee. Indole: the molecule of diverse biological activities. *Asian Journal of Pharmacuetical and Clinical research*, 2012, nr. 5, p. 1–6.
3. M. Hentzer, H. Wu, J. B. Andersen, K. Riedel, T. B. Rasmussen, N. Bagge, N. Kumar, M. A. Schembri, Z. Song, P. Kristoffersen, M. Manefield, J. W. Costerton, S. Molin, L. Eberl, P. Steinberg, S. Kjelleberg, N. Hoiby, M. Givskov. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *The EMBO Journal*, 2003, nr. 15, p. 3803–3815.
4. K. B. Xavier, B. L. Bassler. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game // *Current Opinion in Microbiology*, 2003, nr. 6, p. 191–197.
5. J. Gomes, N. Huber, A. Grunau, L. Eberl, K. Gademann. Fluorescent Labeling Agents for Quorum-Sensing Receptors (FLAQS) in Live Cells. *Chem. Eur. J.*, 2013, nr. 19, p. 9766–9770.
6. A. W. Woodward, B. Bartel. Auxin: Regulation, action and interaction. *Annals of Botany*, 2005, nr. 95, p. 707–735.
7. F. Yurekli, H. Geckil, F. Topcoughlu. The synthesis of inole-3-acetic acid by the industrially import white – rot fungus *Lentinus sajor-caju* under different culture conditions. *Mycol. Res.*, 2003, nr. 107, p. 305 – 309.
8. A. J. Liedtke, K. Kim, D. F. Stec, G. A. Sulikowski, L. J. Marnett. Straightforward protocol for the efficient synthesis of varied N-acylated (aza) indole 2-/3-alkanoic acids and esters: optimization and scale-up. *Tetrahedron*, 2012, nr. 68, p. 10049–10058.
9. R. R. Colwell, D. J. Grimes. Nonculturable Microorganisms in Biofilms in the Environment. 2012, p. 113 [žiūrėta 2015 04 22]. Prieiga per internetą:
https://www.google.lt/books?hl=lt&lr=&id=82sECAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA113&dq=mi+croorganisms+in+biofilms&ots=FhpshM9_r_&sig=0dTMWWMKrUzcd6mYTAIHktyPcTE&redir_esc=y#v=onepage&q=microorganisms%20in%20biofilms&f=false
10. R. Martinkienė. Otorinologijos aktualijos: Bakterijų bioplėvių reikšmė otorinologijoje. 2011, nr. 2, [žiūrėta 2015 04 12]. Prieiga per internetą:
http://www.emedicina.lt/lt/zurnalai/otorinologijos_aktualijos/otorinologijos_ak

[tualijos_2011/2/otorinologijos_aktualijos_2011/2-
bakteriju_biopleviu_reiksme_otorinologijoje.html](http://www.zmoniu knygos.lt/lt/catalog/product/23634)

11. M. Frezza, L. Soulere, S. Reverchon, N. Guiliani, C. Jerez, Y. Queneau. Synthetic homoserine lactone-derived sulfonylureas as inhibitors of *Vibrio fischeri* quorum sensing regulator. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2008, nr. 16, p. 3555–3556.
12. M. Kleerebezen, L. E. N. Quadri, O. P. Kuipers, W. M. de Vos. Quorum sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Gram-positive bacteria. *Molecular Microbiology*, 1997, nr. 24, p. 895–904.
13. G. F. Kaufmann, R. Sartorio, S. H. Lee, J. M. Mee, L. J. Atlobell, D. P. Kujawa, E. Jeffries, B. Clapman, M. M. Meijler, K. D. Janda. Antibody interference with *N*-Acyl Homoserine Lactone-Mediated Bacterial Quorum Sensing. *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, nr. 128, p. 2802–2803.
14. A. M. Pomini, A. J. Marsaioli. Absolute Configuration and Antimicrobial Activity of Acylhomoserine Lactones. *Journal of Natural Products*, 2008, nr. 6, p. 1032–1036.
15. B. L. Bassler. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, 1999, nr. 2, p. 582–587.
16. T. R. Kievit, B. H. Iglewski. Bacterial Quorum Sensing in Pathogenic Relationships // *Infection and Immunity*, 2000, nr. 9, p. 4839–4849.
17. E. Stalioraitytė. Pataloginė anatomija. 2001, p. 305, [žiūrėta 2015 04 22]. Prieiga per internetą: <http://www.zmoniu knygos.lt/lt/catalog/product/23634>
18. C. M. Oliver, A. L. Schaefer, E. P. Greenberg, J. R. Sufrin. Microwave Synthesis and Evaluation of Phenacylhomoserine Lactones as Anticancer Compounds that Minimally Activate Quorum Sensing Pathways in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Med. Chem.*, 2009, nr. 52, p. 1569–1575.
19. M. Juhas, L. Elberl, B. Tummeler. Quorum sensing: the power of cooperation in the world of *Pseudomonas*. *Environmental Microbiology*, 2005, nr. 7, p. 459–471.
20. M. Horikawa, K. Tateda, E. Tuzuki, Y. Ishii, C. Ueda, T. Takabatake, S. Miyairi, K. Yamaguchi, M. Ishiguro. Synthesis of *Pseudomonas* quorum-sensing autoinducer analogs and structural entities required for induction of apoptosis in macrophages. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2006, nr. 16, p. 2130–2133.
21. R. G. Grubbs. Olefin metathesis. *Tetrahedron*, 2004, nr. 60, p. 7117–7140.

22. T. Praneenararat, T. M. J. Beary, A. S. Breitbach, H. E. Blackwell. Synthesis and application of an N-acylated L-homoserine lactone derivatized affinity matrix for the isolation of quorum sensing signal receptors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2011, nr. 21, p. 5054–5057.
23. K. H. M. Cardozo, T. Guaratini, M. P. Barros, V. R. Flacao, A. P. Tonon, N. P. Lopes, S. Campos, M. A. Torres, A. O. Souza, P. Colepicolo. Metabolites from algae with economical impact. *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol.*, 2007, nr. 146, p. 60–78.
24. J. W. Blunt, B. R. Copp, W. P. Hu, M. H. Munro, P. T. Northcote, M. R. Prinsep. Marine natural products // *Nat. Prod. Rep.*, 2009, nr. p. 170–244.
25. M. Syrpas, E. Rysbergh, L. Blommaert, B. Vanellander, K. Sabbe, W. Vyverman, N. de Kimpe, S. Mangelinckx. Haloperoxidase Mediated Quorum Quenching by *Nitzschia cf pellucida*: Study of Metabolization of N-Acyl Homoserine Lactones by a Benthic Diatom. *Mar. Drugs*, 2014, nr. 12, p. 352–367.
26. J. H. Choo, Y. Rukayadi, J. K. Hwang. Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2006, nr. 42, p. 637–641.
27. L. R. Swem, D. L. Swem, C. T. O’Loughlin, R. Gatmaitan, B. Zhao, S. M. Urlich, B. L. Bassler. A quorum-sensing antagonist targets both membrane-bound and cytoplasmic receptors and controls bacterial pathogenicity. *Mol. Cell.*, 2009, nr. 35, p. 143–153.
28. G. Chen, L. R. Swem, D. L. Swem, C. T. O’Loughlin, P. D. Jeffrey, B. L. Bassler, F. M. Hugson. A strategy for antagonizing quorum sensing. *Mol. Cell.*, 2011, nr. 42, p. 199–209.
29. C. Fuqua, M. R. Parsek, E. P. Greenberg. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication Acyl-homoserine lactone quorum sensing. *Annu. Rev. Genet.*, 2001, nr. 35, p. 439–468.
30. S. Choudhary, C. Schmidt-Dannert. Application of quorum sensing in biotechnology. *Appl. Microbiol. Biot.*, 2010, nr. 86, p. 1267–1279.
31. M. Sabbah, F. Fanny, L. Grand, M. Boukraa, M. L. Effrit, A. Doutheau, L. Soulere, Y. Queneau. Synthesis and biological evaluation of new N-acyl-homoserine-lactone analogues, base and triazole and tetrazole scaffolds, acting as LuxR-dependent quorum sensing modulators. *Bioorg. Med. Chem.*, 2012, nr. 20, p. 4727–4736.
32. S. Auvin, B. Pignol, E. Navet, D. Pons, J. Marin, D. Bigg, P. E. Chabrier. Novel dual inhibitors of calpain and lipid peroxidation. *Bioorganic and Medicinal Letters*, 2004, nr. 14, p. 3825–3828.

33. S. Samantary, V. H. Knaryan, D. C. Shields, N. L. Banik. Critical role calpain in spinal cord degeneration in Parkinson's disease. *J. Neurochem*, 2013, nr. 127, p. 1–16.
34. M. Nakamura, M. Yamaguchi, O. Sakai, J. Inoue. Exploration of cornea permeable calpain inhibitors as anticataract agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2003, nr. 11, p. 1371–1379.
35. X. D. Liu, Y. Xu, R. Sun, Y. J. Xu, J. M. Lu, J. F. Gu. A coumarin-indole-based near infrared ratiometric pH probe for intracellular fluorescence imaging. *Analyst*, 2013, nr. 138, p. 6542–6550.
36. P. Drevinek, E. Mahenthiralingam. *Burkholderia cenocepacia* in cystic fibrosis: epidemiology and molecular mechanisms of virulence. *Clinical Microbiology and Infection*, 2010, nr. 7, p. 821–830.
37. L. M. Srivastava. Plant growth and development: Hormones and environment. Academic Press, London. 2002, p. 120.
38. M. Madhaiyan, S. Poonguzhali, S. Tongmin. Characterization of 1 aminocyclopropane-1-carboxylase (ACC) deaminase containing *Maethylobacterium oryzae* and interacts with auxins and ACC regulation of ethylene in canola. *Planta*, 2007, nr. 226, p. 867–876.
39. N. Ayyadurai, P. R. Naik, M. S. Rao, R. S. Kumar, S. K. Samrat, M. Manohar, N. Sakthivel. Isolation and characterization of a novel banana rhizosphere bacterium as fungal antagonist and microbial adjuvant in micropropagation of banana. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, nr. 100, p. 926–937.
40. N. D. Tivendale, S. E. Davidson et al. Biosynthesis of the halogenated auxin, 4-chloroindole-3-acetic acid. *Plant physiology*, 2012, nr. 159, p. 1055 – 1063.
41. Y. Zhao. Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annu. Rev. Plant. Biol.*, 2010, p. 1–19.
42. N. D. Tivendale, N. W. Davies, P. P. Molesworth, S. E. Davidson J. A. Smith, E. K. Lowe, J. B. Reid, J. J. Ross. Reassessing the Role of *N*-Hydroxytryptamine in Auxin Biosynthesis. *Plant Physiology*, 2010, nr. 154, p. 1957–1965.
43. C. Won, X. Shen, K. Mashiguchi, Z. Zheng, X. Dai, Y. Cheng, H. Kasahara, Y. Kamiya, J. Chory, Y. Zhao. Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by tryptophan aminotransferases of *Arabidopsis* and YUCCAs in *Arabidopsis*. *PNAS*, 2011, nr. 8, p. 18518–18523.

44. S. Sugawara. Biochemical analyses of indole-3-acetaldoxime-dependent auxin biosynthesis *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad.*, 2009, nr. 106, p. 5430–5435.
45. D. N. Federov, N. V. Doronina, Y. A. Trotsenko. Cloning and characterization of indolepyruvate decarboxylase from *Methylobacterium extorquens* AM1. *Biochemistry (Moscow)*, 2010, nr. 12, p. 1435–1443.
46. M. Theunis, H. Kobayashi, W. J. Broughton, E. Prinsen. Flavanoids, NodD1, NodD2 and Nod-Box NB15 Modulate Expression of the y4wEFG Locus That Is Required for Indole-3-Acetic Acid Synthesis in *Rhizobium* sp. Strain NGR234. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, nr. 10, p. 1153–1161.
47. S. Rossiter, L. K. Folkes, P. Werdman. Halogenated Indole-3-acetic Acids as Oxidatively Activated Prodrugs with Potential for Targeted Cancer Therapy. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2002, nr. 12, p. 2523–2526.
48. X. Guan, R. T. Borchardt. A Convelent Method for the Synthesis of Indole-3-acetic Acids. *Tetrahedron Letters*, 1994, nr. 19, p. 3013–3016.
49. S. Zhu, D. W. C. MacMillan. Enantioselective Copper-Catalyzed Construction of Aryl Pyrroloindolines via an Arylation-Cyclization Cascade. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, nr. 134, p. 10815–10818.
50. T. Takahiko, N. Hiroshi, K. R. Mikie, K. Kohei, T. Miwako, O. Kunio. 2000, nr. 52, p. 67–71.
51. K. Yasuhira, N. Shibata, G. Mongami, Y. Uedo, Y. Atsumi, Y. Kawashima, A. Hibino, Y. Tanaka, Y. Lee, D. Kato, M. Takeo, Y. Higuchi, S. Negoro. X-ray Christallographic Analysis of the 6-Aminohexanoate Cyclic Dimer Hydrolse. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, nr. 2, p. 1239–1248.
52. N. D. Tivendale, S. E. davidson, N. W. Davies, J. A. Smith, M. Dalmais, A. I. Bendahmane, L. J. Quittenden, L. Sutton. Biosynthesis of the Halogenated Auxin, 4-Chloroindole-3-Acetic Acid. *Plant Physiology*, 2012, nr. 159, p. 1055–1063.
53. M. Mazid, B. Ali, S. Hayat, A. Ahmad. The effect of 4-chlorindole-3-acetic acid on some growth parameters in mung bean under cadmium stress. *Turk. J. Biol.*, 2010, nr. 34, p. 9–13.
54. S. Rossiter, L. K. Folkes, P. Wardman. Halogenated indole-3-acetic acids as oxidatively activated prodrugs with potential for targeted cancer therapy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2002, nr. 12, p. 2523–2526.

55. V. Sharma, P. Kumar, D. Pathak. Biological Importance of the Indole Nucleus in Recent Years: A Comprehensive Review. *J. Heterocyclic Chem.*, 2010, nr. 47, p. 491–501.
56. D. M. Reinecke. 4-Chlorindole-3-acetic acid and plant growth. *Plant Growth Regulation*, 1999, nr. 27, p. 3–13.
57. S. Kuster, T. Geiger. Strategies and investigations on bridging squaraine dye units. *Dyes and Pigments*, 2012, nr. 95, p. 657-670.
58. P. Wardman. Indole-3-acetic acids and horseradish peroxidase: a new prodrug/enzyme combination for targeted cancer therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 2002, nr. 8, p. 1363–1374.
59. S. Soto, E. Vaz, C. D. Aversana, R. Alvarez, L. Altucci, A. R. de Lera. New synthetic approach to paullones and characterization of their SIRT1 inhibitory activity. *Org. Biomol. Chem.*, 2012, nr. 10, p. 2101–2112.
60. S. Petit, Y. Duroc, V. Larue, C. Giglione, C. Leon, C. Soulama, A. Denis, F. Dardel, T. Meinel, I. Artaud. Structure-Activity Relationship Analysis of the Peptide Deformylase Inhibitor 5-Bromo-1*H*-indole-3-acetohydroxamic Acid. *ChemMedChem*, 2009, nr. 4, p. 261–275.
61. Chem-Impex International. [Žiūrėta 2015 04 13]. Prieiga per internetą: <http://www.chemimpex.com/7-methylindole-3-acetic-acid>
62. J. F. Stevens. *Journal of Organic Chemistry*, 1962.
63. C. Niu, Y. Song, L. Yang. Synthesis of 5'-Functionalized Indolinospiropyrans with Vinylene Unit as Linker. *Chin. J. Chem.*, 2009, nr. 27, p. 2001–2006.
64. M. Dargytė. Naujų 5-pakeistų spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6'-onų sintezė ir tyrimas. *Bakalauro baigiamasis darbas*, Kaunas, 2013, p. 15–18.
65. M. Bernechea, E. de Jesus, C. L. Mardomingo, P. Terreros. Dendrimer-Encapsulated Pd Nanoparticles versus Palladium Acetate as Catalytic Precursors in the Stille Reaction in Water. *Inorg. Chem.*, 2009, nr. 48, p. 4491–4496.
66. Sackus, A.; Degutis, J. Reaction of 2-methylene-2,3-dihydroindoles with acrylamide. *Khim. Geterotsykl.* 1988, p. 902-904.
67. A. Ambrosi, C. K. Chua, A. Bonnani, M. Pumera. Lithium Aluminum Hydride as Reducing Agent for Chemically Reduced Graphene Oxides. *Chem. Mater.*, 2012, nr. 24, p. 2292–2298.
68. Clayden, J.; Greeves, N.; Warren S.; Wothers, P. *Organic Chemistry*. Oxford University Press. 2000, p. 205.

69. A. Som, S. Matile. Rigid-Rod β -Barrel Ion Channels with Internal „Cascade Blue” Cofactors – Catalysis of Amide, Carbonate, and Ester hydrolysis. *Eur. J. Org. Chem.*, 2002, p. 3874–3883.
70. G. Buika, V. Getautis, V. Martynaitis, K. Rutkauskas. Organinių junginių spektroskopija. *Kauno technologijos universitetas*, 2007, p. 89.
71. D. Matulis. Baltymų fizikinė chemija. 2008 [žiūrėta 2015 04 13]. Prieiga per internetą: <http://www.ibt.lt/uploads/file/bvtl-2/Mokymo/BFCh/index.html#virusus>
72. A. M. Schmidt, P. Eilbracht. Synthesis of Pharmacologically Relevant Indoles with Amine Side Chains via Tandem Hydroformylation/Fischer Indole Synthesis. *J. Org. Chem.*, 2005, nr. 70, p. 5528–5535.
73. S. Kuster, T. Geiger. Strategies and investigations on bridging squaraine dye units. *Dyes and Pigments*, 2012, nr. 95, p. 657–670.
74. S. Tamura, M. Kaneko, A. Shiomi, G. M. Yang, T. Yamaura, N. Murakami. Unprecedented NES non-antagonistic inhibitor for nuclear export of Rev from *Sida cordifolia*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2010, nr. 20, p. 1837–1839.
75. J. M. Jacobus, P. W. Hilberink, C. M. P. Kronenburg, G. J. Kempermen. Investigation of the Moffatt-Swern Oxidation in a Continuous Flow Microreactor System. *Organic Process Research and Development*, 2008, nr. 12, p. 911–920.
76. J. Yin, C. E. Gallis, J. D. Chisholm. Tandem Oxidation/Halogenation of Aryl Allylic Alcohols under Moffatt-Swern Conditions. *J. Org. Chem.*, 2007, nr. 72, p. 7054–7057.
77. Destroying and Disposing of Dangerous Chemicals. [Žiūrėta 2015 05 15]. Prieiga per internetą: http://archives.library.illinois.edu/erec/University%20Archives/1505050/chem337syllabus/online-syllabus/chem337sylldangerous_chem.html
78. O. Metin, F. Durap, M. Aydemir, S. Ozkar. Palladium (0) nanoclusters stabilized by poly(4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid) as an effective catalyst for Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions in water, *Journal of Molecular Catalysis A: Chical.*, 2011, nr. 337, p. 39–44.
79. D. Pandiarajan, R. Ramesh. Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction of aryl bromides catalyzed by palladium (II) pyridoxal hydrazone complexes. *Journal of organometallic chemistry*, 2012, nr. 708-709, p. 18-24.

80. L. J. Hoyos, M. Primet, H. Praliaud. Sulfur poisoning and regeneration of palladium-based catalysts. *J. Chem. Soc.*, 1992, nr. 88, p. 3367–3373.
81. E. Arbačiauskienė. Synthesis of functionalized 1*H*-pyrazole derivatives by Pd-catalyzed cross-coupling reactions. *Daktaro disertacija, KTU*, 2011, p. 66.
82. K. Billingsley, S. L. Buchwald. Highly Efficient Monophosphine-Based Catalyst for the Palladium-Catalyzed Suzuki-Miyaura Reaction of Heteroaryl Halides and Heteroaryl Boronic Acids and Esters. *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, nr. 129, p. 3358–3366.
83. A. Šačkus, V. Martynaitis, S. Krikštolaitytė. Šiuolaikiniai organinės sintezės metodai. Kaunas, 2008, p. 37-39.
84. J. J. Li. Name reactions-A collection of detailed mechanisms and synthetic applications. *Name Reactions*, 2009, p. 98.
85. R. Baltrušis, J. Degutis, G. Dienys, V. Mickevičius, A. Šačkus, P. Vainilavičius. *Organinė Chemija 1*. Vilnius, 1995, p. 113.
86. R. Klimavičiūtė, V. Getautis. *Taikomosios dažų chemijos pagrindai*. Vilnius, 2008, p.49.

Mokslinių publikacijų sąrašas

Publikacijos mokslinės informacijos instituto (ISI) duomenų bazėse referuojamuose leidiniuose:

Darytė M., Buinauskaitė V., Šačkus A. „Synthesis and microwave-promoted Suzuki-Miyaura cross-coupling reactions of 5-bromo-1,3,3-trimethyl-1,3-dihydro-6'H-spiro[indole-2,2'-piperidin]-6'-one“. (2012). // Chemija, nr. 4, p. 322–327;

Publikacijos Lietuvos ir tarptautinių mokslinių konferencijų pranešimų medžiagoje:

1. **Darytė M.**, Žukauskaitė A., Pařízkova B., Vain T., Mičková Z., Spíchal L., Novak o., Buinauskaitė V, Šačkus A., Doležal K., Robert S., Strand M. „Synthesis and elucidation of structure activity relationship in new IAA-like compounds“ (2015) // Konferencijos „Biotechnology of phytohormones and natural substances 2015 BNPS 2015“ santraukų medžiaga, Velké Karlovice, Čekija;
2. **Darytė M.**, Buinauskaitė V., Šačkus A. „4-(Indol-2-il)butanamido darinių sintezė, redukcija ir hidrolizė“ (2014) // Studentų moklinė praktika 2014: konferencijos pranešimų santraukos, II dalis, Vilnius, Lietuva, p. 101;
3. Žukauskaitė A., **Darytė M.**, Laukaitytė V., Buinauskaitė V., Arbačiauskienė E., Šačkus A., Doležal K., Strnad M. „Synthesis of indole-3-acetic acid derivatives. Elaboration at α - and 5-positions“ (2014). // Konferencijos „12th PhD Student Conference of Plant Experimental Biology“ santraukų medžiaga, Olomouc, Čekija, p. 82;
4. **Darytė M.**, Buinauskaitė V., Šačkus A. „Synthesis and reductive ring opening 5-(het)arylspiro[indole-2,2'-piperidin]-6'-ones“ (2014). // Konferencijos „14th Belgian Organic Synthesis Symposium BOSS 2014“ stendinių pranešimų santrauka, Louvain-la-Neuve, Belgija, p. 120;
5. **Darytė M.**, Buinauskaitė V., Žukauskaitė A., Doležal K., Strnad M., Šačkus A. „Synthesis of 5-indole-3-acetic acids“ (2014). // Lietuvos chemikų draugijos tarptautinės konferencijos „Chemistry and Chemical Technology 2014“ stendinių pranešimų santrauka, Kaunas, Lietuva, p. 212;
6. **Darytė M.**, Buinauskaitė V., Žukauskaitė A., Šačkus A. „Synthesis and MW – promoted Suzuki cross-coupling reactions of 5-bromo-1,3,3-trimethyl-1,3-dihydro-6'H-spiro[indole-2,2'-piperidin]-6'-one“ (2013). // Konferencijos „Pokroky v chemické biologii a genetice 2013“ santraukų medžiaga, Olomouc, Čekija, p. 9;

7. Buinauskaitė V., **Dargytė M.**, Šačkus A. „Synthesis of 5-(het)arylspiro[indole-2,2'-piperidin]-6'ones utilizing Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction“ (2013). // Europos organinės chemijos simpoziumo „Esoc 2013“ stendinių spranešimų santrauka, Marselis, Prancūzija, p. 144;
8. **Dargytė M.**, Buinauskaitė V., Šačkus A. „Naujų 5-pakeistų spiro[indolo-2,2'-piperidin]-6-onų sintezė ir savybių tyrimas“ (2013). // Studentų ir jaunųjų mokslininkų konferencijos „Chemija ir cheminė technologija 2013“ programa, Vilnius, Lietuva, p. 70;
9. **Dargytė M.**, Buinauskaitė V., Šačkus A. „Spiroindolo piperidinonų sintezė ir panaudojimo Pd katalizuojamoms kryžminio jungimo reakcijoms tyrimas“ (2012) // Studentų mokslinė konferencija 2012: konferencijos pranešimų santraukos, II dalis, Vilnius, Lietuva, p. 79–80.