

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA ANORGANICKÉ A ORGANICKÉ CHEMIE**



**SYNTÉZA DERIVÁTŮ XANTHONU METODAMI  
VYUŽÍVAJÍCÍMI MIKROVLNY**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2008**

**Petr Vrbata**

**CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE**  
**FACULTY OF PHARMACY IN HRADEC KRÁLOVÉ**  
DEPARTMENT OF INORGANIC AND ORGANIC CHEMISTRY



**UNIVERSIDADE DO PORTO**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGANICA



**SYNTHESIS OF XANTHONE DERIVATIVES BY MICROWAVE-  
ASSISTED METHODS**

**DIPLOMA THESIS**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 2008**

**Petr Vrbata**



Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracoval samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

.....

Za všestrannou a obětavou pomoc, cenné rady a připomínky při vypracování diplomové práce děkuji prof. M. M. M. Pinto, R. A. P. Castanheiro, A. M. S. Cravo a doc. PharmDr. Miloši Macháčkovi, CSc.

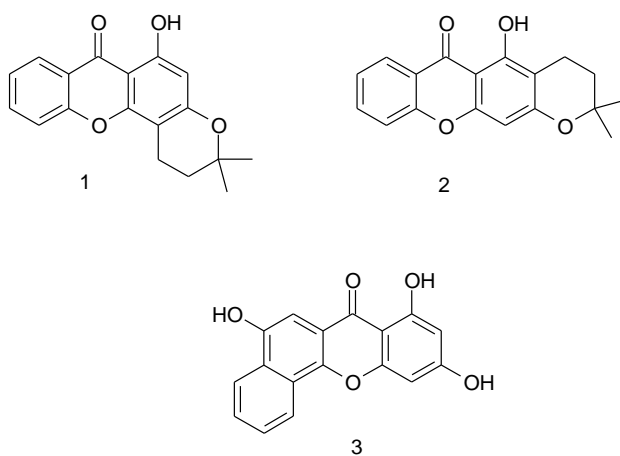
## Abstrakt

### Syntéza derivátů xanthonu metodami využívajícími mikrovlny

Petr Vrbata

Tato diplomová práce se zabývá přípravou derivátů xanthonu jako inhibitorů růstu lidských rakovinných buněčných linií.

Byla optimalizována nová metodika syntézy dihydropyranoxanthonů **1** a **2** založená na využití heterogenní katalýzy v kombinaci s mikrovlnným zahříváním. Tím bylo dosaženo podstatného zkrácení reakčního času a zvýšení výtěžků těchto sloučenin. Dále byla zlepšena metodika syntézy derivátů xanthonu podle Grovera, Shaha a Shaha (*J. Chem. Soc.* **1955**, 3982) využitím mikrovlnného zahřívání. Tímto postupem byl připraven nový derivát 5,8,10-trihydroxy-7*H*-benzo[*c*]xanthen-7-on (**3**), jehož struktura byla potvrzena IČ, <sup>1</sup>H NMR a <sup>13</sup>C NMR spektry.



## Abstract

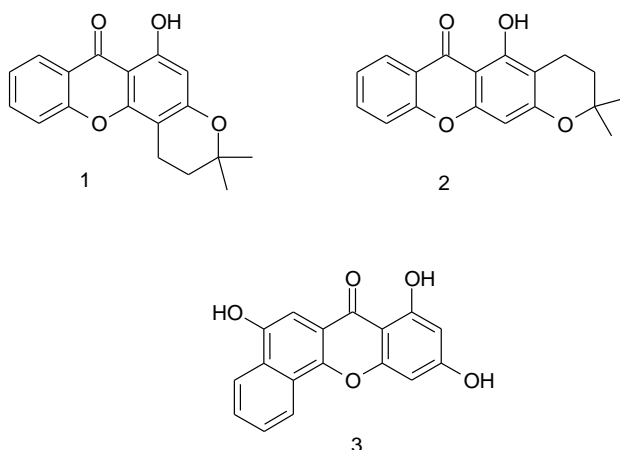
# Synthesis of Xanthone Derivatives by Microwave-assisted Methods

Petr Vrbata

This diploma thesis deals with preparation of xanthone derivatives as inhibitors of growth of human cancer cell lines.

A new methodology for synthesis of dihydropyranoxanthenes **1** and **2**, based on the usage of heterogeneous catalysis combined with microwave irradiation, was optimized. This allowed decreasing significantly the reaction time and improving yields.

Along with this the Grover, Shah and Shah method (*J. Chem. Soc.* **1955**, 3982) for synthesis of xanthone derivatives was improved due to usage of microwave heating. Using this method a new xanthone derivate 5,8,10-trihydroxy-7*H*-benzo[*c*]xanthen-7-on (**3**) was prepared. Its structure was verified by IR, <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR spectra.



**OBSAH**

## Seznam použitých zkratk

1. ÚVOD.....	1
2. OBECNÁ ČÁST .....	3
2.1 Xanthy.....	3
2.2.1 Mikrovlny v organické syntéze .....	6
2.2.2 Heterogenní katalýza .....	8
3. CÍL PRÁCE .....	10
4. METODICKÁ ČÁST .....	11
4.1 Syntéza xanthonových derivátů .....	11
4.2 Syntéza dihydropyranoxanthonů.....	15
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	17
6. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM .....	26
7. ZÁVĚR.....	30
8. POUŽITÁ LITERATURA .....	31

Seznam použitých zkratek:

TLC ..... tenkovrstvá chromatografie

MAOS..... organická syntéza využívající mikrovlny

GSS..... reakce podle Grovera, Shaha a Shaha

$M_r$  ..... molekulová hmotnost [g/mol]

$\text{CHCl}_3$  ..... chloroform

$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ..... dichlormethan

Hex..... hexan

EtOAc..... ethyl/acetát

HCl ..... kyselina chlorovodíková

DMSO.....dimethylsulfoxid

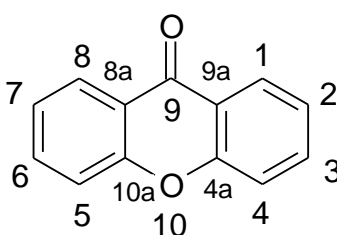
$(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ .....aceton

IČ.....infračervená spektroskopie

## 1. ÚVOD

Xanthonový skelet tvoří základní strukturu důležité skupiny kyslíkatých heterocyklů. [1]

Na základě biosyntetické úmluvy se xanthonové (neboli *9H*-xanthen-9-onové) jádro čísluje tak, že uhlíky 1-4 přísluší kruhu A odvozenému od acetátu a uhlíky 5-8 kruhu B odvozenému od šikimátu. Ostatní uhlíky jsou označeny jako 4a, 8a, 9, 9a a 10a. [2]



**Xanthon**

Z přírody známe téměř tisíc zástupců xanthonových derivátů, které obsahují ve své molekule různé typy substituentů v různých polohách, což vede k široké škále jejich farmakologických vlastností. Přírodní xanthyony můžeme podle druhu substituentů rozdělit na:

- xanthyony substituované jednoduchou skupinou obsahující kyslík
- glykosylované xanthyony
- prenylované xanthyony a jejich deriváty
- xanthonové dimery
- xantholignoidy
- ostatní [3, 4]

Jejich strukturální rozmanitost je však predeterminována geneticky podmíněnými biosyntetickými drahami vedoucími k jejich vzniku a tím i často limitována. [2]

Naopak xanthyony syntetického původu mohou být modifikovány v mnoha směrech a obsahovat ve svém skeletu nejen jednoduché substituenty jako hydroxylové, methoxylové, karboxylové skupiny, ale také složitější modifikace jako epoxid, azol, methylden-butyrolakton, aminoalkohol, sulfamoyl,

methylthiokarboxylovou skupinu nebo dihydropyridin. [5] Volbou vhodných modifikací lze již snadněji dosáhnout racionální souvislosti mezi chemickou strukturou a biologickým účinkem.

Jak plyne z výše uvedeného, je biologická aktivita této skupiny látek spojena s jejich tricyklickým skeletem, avšak specifické účinky jednotlivých sloučenin závisejí na druhu a poloze těchto substituentů. [5]

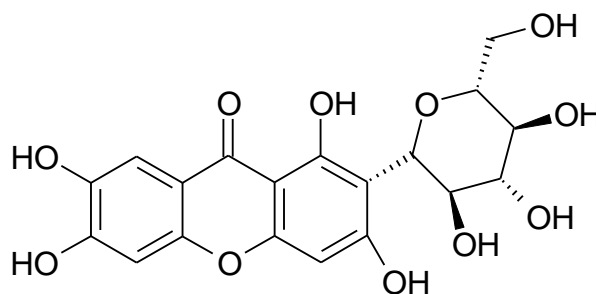
Díky zajímavým farmakologickým vlastnostem prokázaným v obou skupinách, přírodních i syntetických derivátů, je zájem řady vědeckých skupin, včetně skupiny prof. M. M. M. Pinto, ve které vznikla tato práce, zaměřen na tuto skupinu sloučenin.

## 2. OBECNÁ ČÁST

### 2.1 Xanthyony

Farmakologický výzkum xanthonů se datuje od roku 1986, kdy Bhattacharya *et al.* popsali diuretické a kardiotonické aktivity přírodního glykosidu mangiferinu. [6] Později Da Re *et al.* popsali centrálně stimulační a analeptické účinky syntetických aminoalkylxanthonových derivátů. [7, 8]

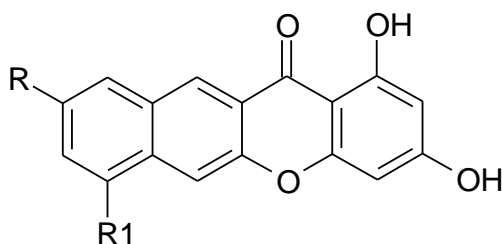
Dalším testováním aktivity mangiferinu byl zjištěn silný stimulační účinek na centrální nervový systém také u této látky. [9] Testy *in vitro* pak ukázaly, že tento efekt byl způsoben inhibicí monoaminoxidázy (MAO). [10] V pokračujících studiích s aminoalkylxanthyony byly popsány nové aminopropoxyderiváty jako  $\beta$ -adrenergní blokátory. [11, 12] Ve stejném roce byla u xanthonových derivátů odvozených izosterní záměnou od akridinového alkaloidu acronycinu zkoumána *in vitro* protinádorová aktivita [13] a u xanthon-2-karboxylových kyselin byla prokázána schopnost potlačovat alergickou reakci. [14] Na konci sedmdesátých let přesahoval počet publikovaných farmakologických studií 20 prací a můžeme říci, že tak byly položeny základy k poznání biologické aktivity xanthonových derivátů. [5]



**Mangiferin**

Vztahy mezi chemickou strukturou a biologickou aktivitou byly do této doby popsány pro následující biologické aktivity: tuberkulostatickou, antimykotickou, antimalarickou, protidestičkovou, antitrombogenní, protizánětlivou, antialergickou, protinádorovou, antimutagenní a antioxidační. V této skupině byly také nalezeny látky působící jako adrenergní blokátory, antagonisté kalciových kanálů, modulátory P-glykoproteinu, blokátory leukotrienových B4 receptorů. Deriváty xanthonu působí i na řadu enzymů jako jsou

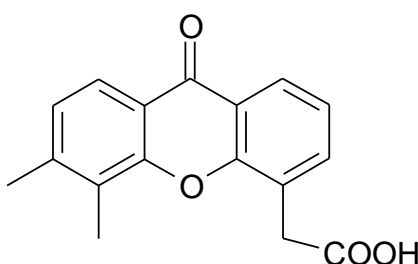
acetylcholinesteráza, aldosa-reduktáza, aromatáza, cyklická AMP-fosfodiesteráza, 20-lyáza, MAO,  $\alpha$ -glukosidáza, protein kinázy a další. [5]



R=H, R1=H  
 R=H, R1=OH  
 R=OH, R1=H

Velmi účinné blokátory  $\alpha$ -glukosidázy [26]

V současné době se na tuto skupinu sloučenin zaměřuje řada výzkumných skupin a každým rokem jsou publikovány další články popisující aktivity nově získaných, většinou syntetických, xanthonových sloučenin. Pro některé xanthonové deriváty je již dostatečně zdokumentováno jejich působení na lidská onemocnění. Nejvýraznějším příkladem je dimethylxanthenon-4-octová kyselina, která je nyní ve stadiu klinického testování jako protinádorově účinná látka. Dalšími příklady mohou být vodné extrakty rostlin *Mangifera indica* a *Garcinia mangostana*. Jsou to komerčně dostupné antioxidanty, ve kterých byly objeveny xanthony jako obsahové látky. [5]



**Dimethylxanthenon-4-octová kyselina**

Výzkumná skupina prof. M. M. M. Pinto se převážně zabývá xanthonovými deriváty, které působí jako inhibitory růstů lidských nádorově pozměněných buněčných linií. Byla nasyntetizována řada hydroxy- a methoxyderivátů

xanthonu, u kterých byla testována tato aktivita. Z 27 testovaných xanthonů byla nejvyšší inhibiční aktivita proti 3 testovaným buněčným liniím prokázána u 1,3-dihydroxy-2-methylxanthonu. Konkrétně se jednalo o MCF-7 (karcinom prsu), TK-10 (karcinom ledvin) a UACC-62 (melanom). [16]

V řadě xanthonových derivátů izolovaných z rostlin používaných v lidovém léčitelství byly identifikovány navázané prenylové skupiny, případně jejich cyklizací vytvořený další kruh přikondenzovaný k základnímu xanthonovému skeletu. Tyto xanthonové deriváty v biologických testech vykazovaly zvýšenou inhibiční aktivitu na proliferaci některých typů buněk karcinomu. Podle přírodní předlohy byla syntetizována a otestována na tuto aktivitu řada derivátů obsahujících tyto skupiny. U některých z nich se skutečně prokázala zvýšená inhibiční aktivita proti růstu lidských rakovinných buněk. [16]

### 2.2.1 Mikrovlny v organické syntéze

Mikrovlenné zahřívání přitahuje v poslední době zvýšenou pozornost organických chemiků. Mezi hlavní důvody tohoto zájmu patří především fakt, že přímým mikrovlenným zahříváním lze zkrátit reakční čas z hodin na pouhé minuty, že je možné snížit počet vedlejších reakcí, jakož i zvýšit výtěžky těchto pokusů. [17]

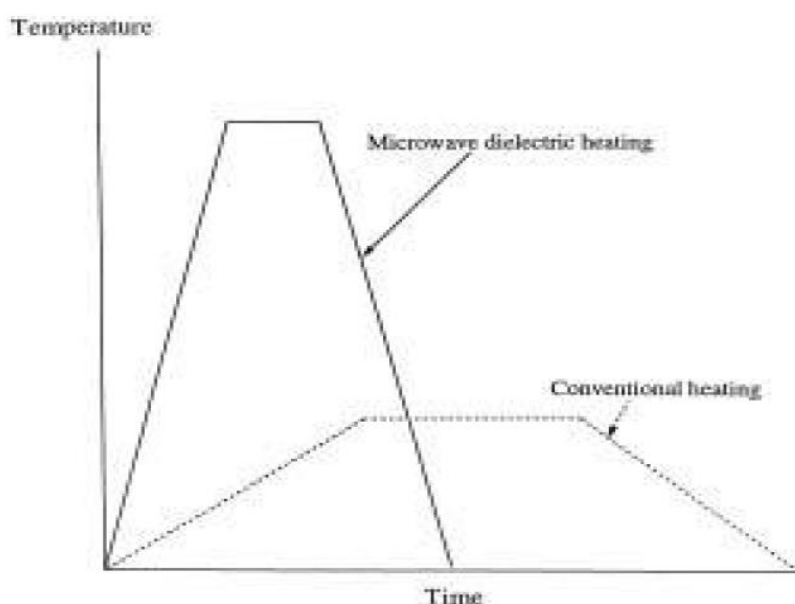
Průkopnické experimenty v oblasti organické syntézy využívající mikrovln se datují do osmdesátých let dvacátého století. Byly prováděny v běžných domácích nebo jen částečně upravených mikrovlenných troubách. Od této doby se vybavení vylepšovalo souběžně s rostoucím zájmem a vědomostmi v této oblasti chemické syntézy. Současným trendem je využívat vybavení speciálně určené pro chemické syntézy. Moderní mikrovlenné reaktory využívané pro syntézu mají zabudována magnetická míchadla, přímou kontrolu teploty reakční směsi pomocí optických vláken nebo infračervených senzorů a software umožňující okamžitou regulaci mikrovlenného příkonu na základě údajů o teplotě a tlaku. [17]

Mikrovlenná oblast elektromagnetického spektra odpovídá vlnovým délkám od 1 cm do 1 m (30 GHz až 300MHz), ale podle mezinárodní dohody je možné pracovat pouze ve frekvencích 2,45 GHz (12,24 cm) a 900 MHz (33,3 cm). Mikrovlenné přístroje pro domácnost a průmyslové uplatnění většinou pracují s frekvencí 2,45 GHz (12,24 cm) a drtivá většina literatury zabývající se aplikací mikrovlenného dielektrického zahřívání v chemické syntéze je taktéž založena na experimentech prováděných při této frekvenci. [18]

Energie fotonu mikrovlenného záření při této frekvenci je příliš nízká na to, aby porušila chemické vazby. Přímá absorpce elektromagnetické energie mikrovlennou látkou proto ani nemůže indukovat chemické reakce. [17, 18].

Využití mikrovlenných vln v chemii je založeno na účinném ohřevu materiálu pomocí efektů mikrovlenného dielektrického zahřívání. Tento jev je závislý na schopnosti konkrétního materiálu (rozpuštědla nebo reaktantu) absorbovat mikrovlennou energii a přeměnit ji na teplo. Elektrická složka elektromagnetického pole způsobuje zahřívání dvěma hlavními mechanismy: dipolární polarizací a iontovou kondukcí [17].

Organická syntéza je klasicky uskutečňována díky vedení tepla z externího tepelného zdroje (např. olejové lázně). To je však v porovnání s mikrovlnami pomalý a neefektivní způsob přenosu energie do systému, neboť je značně závislý na tepelné vodivosti materiálů, které musí být překonány při přenosu tepla do reakční směsi. Výsledná teplota reakční nádoby je pak mnohem vyšší, než je teplota reakční směsi. Oproti tomu mikrovlnné záření poskytuje účinné vnitřní zahřívání reakční směsi přímým pohlcováním mikrovlnné energie molekulami rozpouštědla, reaktantů nebo katalyzátorů.



Obrázek č. 1. Srovnání mezi klasickým a mikrovlnným zahříváním

Reakce mohou být prováděny za mikrovlnného zahřívání bez přítomnosti rozpouštědel (tzv. „solvent-free“ podmínky), kde jsou reaktanty naadsorbovány na anorganický podklad. Ten může být pro mikrovlny více či méně propustný (jíl, silikagel) nebo silně absorbující (grafit). Další možností je provedení reakce v přítomnosti klasických organických rozpouštědel, buď za normálního tlaku (v otevřené nádobě), nebo sníženého tlaku (v uzavřené nádobě). Avšak v tomto případě je bod varu rozpouštědla faktorem limitujícím teplotu, které může být dosaženo. Z tohoto důvodu je technologie využívající zahřívání pomocí mikrovln v uzavřené nádobě za sníženého tlaku metodou volby pro chemickou syntézu používající mikrovlnné zahřívání. [17,19]

### 2.2.2 Jíly

Jíly jsou pevné kyselé katalyzátory, které mohou fungovat jako Brønstedovy i Lewisovy kyseliny v jejich přirozené a iontově výměnné formě. Modifikované jíly mohou sloužit jako velmi specifické katalyzátory pro širokou škálu organických přeměn. [20]

Jíly jsou skupinou zemin s průměrnou velikostí částic menší než 2 mm. Povrch jednoho gramu těchto částic dosahuje velikosti zhruba  $2,3 \text{ m}^2$ . Strukturálně se jedná o krystalické hydratované hlinitokřemičitany obsahující řadu různých kationtů. Jeden z nejvýznamnějších nejen v organické syntéze je montmorillonit, který je součástí bentonitu a Fullerových zemin. [20]

Důležitá a užitečná vlastnost montmorillonitu pramení z vysokého stupně efektivní kationtové  $M^+$  výměny.

Organické reakce, které jsou kysele katalyzovány mohou být velmi efektivně provedeny také s jíly jako katalyzátory. Ty mohou fungovat jako Brønstedovy nebo Lewisovy kyseliny nebo obojí. Lewisova kyselost pramení z  $\text{Al}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$  iontů na hranách krystalů a může být ještě navýšena výměnou kationtů  $\text{Na}^+$  a  $\text{Ca}^{2+}$  z mezivrstev jílu za ionty  $\text{Al}^{3+}$  promýváním jílu roztokem chloridu hlinitého. [20]

Kyselost jílu podle Brønsteda vzniká hlavně díky disociaci vmezeřených molekul vody navázaných na kationty. Vyšší acidity lze dosáhnout výměnou vysoce polarizovaných iontů jako jsou  $\text{Cr}^{3+}$  za ionty  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  a další přítomné v přirozených jílech a obsah vody je v nich nízký. Celková kyselost může být ještě navýšena výměnou iontů promýváním jílu zředěnou kyselinou, nebo odstraněním  $\text{NH}_4^+$  iontů jako amoniaku zahříváním upraveného jílu. Vedle celkové acidity, je katalytická aktivita jílu závislá také na velikosti povrchu a objemu pórů. Z výše uvedeného jasně vyplývá, že silně korozivní kyselé medium může být zcela nahrazeno, pokud použijeme jíl místo minerální kyseliny k dosažení stejného cíle. [20]

Široká škála organických reakcí katalyzovaných Brønstedovými kyselinami ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , atd.) nebo Lewisovými kyselinami (např.  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{FeCl}_3$ ) byla provedena na jílech, zejména montmorillonitu, s lepší účinností: za méně

drastických podmínek, s vyšší selektivitou, vyšší výtěžností reakce a kratší reakční dobou. [20, 21]

Okruh reakcí, které byly úspěšně provedeny s jíly jako katalyzátory zahrnuje adice, eliminace, adice-eliminace, substituce, přesmyky, Dielsovy-Alderovy reakce, oxidačně-redukční reakce a mnoho dalších. [20, 21]

### **3. CÍL PRÁCE**

Cílem této diplomové práce bylo:

1. Optimalizovat metody syntézy vybraných xanthonových derivátů s použitím mikrovlnného ozáření a heterogenní katalýzy.
2. Syntetizovat nové xanthonové deriváty pomocí klasických metod syntézy těchto derivátů provedených v mikrovlnném reaktoru.

Syntetizované sloučeniny budou zahrnuty do programů testování biologické aktivity (inhibice růstu lidských rakovinných buněk).

## 4. METODICKÁ ČÁST

### 4.1 Možné syntetické přístupy vedoucí ke xanthonovým derivátům

Jedna z prvních, a tudíž i nejjednodušších, metod syntézy xanthonů byla provedena a popsána Michaelem a Kostaneckim. [22,23] Jejím principem byla destilace směsi fenolu, kyseliny 2-hydroxybenzoové a anhydridu kyseliny octové. Od té doby byla objevena řada nových způsobů jak připravit xanthonové deriváty s vyššími výtěžky, za méně drastických reakčních podmínek, a také s vyšší selektivitou. [24]

Dnes se nejčastěji používají k syntéze jednoduchých xanthonů následující 3 metody: reakce podle Grovera, Shaha a Shaha, syntézy využívající benzofenonové meziproducty a syntézy využívající difenyletherové meziproducty. [24]

Nejužívanější metodou syntézy hydroxyxanthonů představuje reakce podle Grovera, Shaha a Shaha.

Při této metodě jsou xanthyony získávány kondenzací 2-hydroxybenzoové kyseliny a aktivovaného fenolu v prostředí chloridu fosforylu a chloridu zinečnatého. (Schéma č. 1) Jedná se o velmi oblíbenou a nenáročnou metodu přípravy hydroxyxanthonů z běžných a snadno dostupných chemických látek. [24]

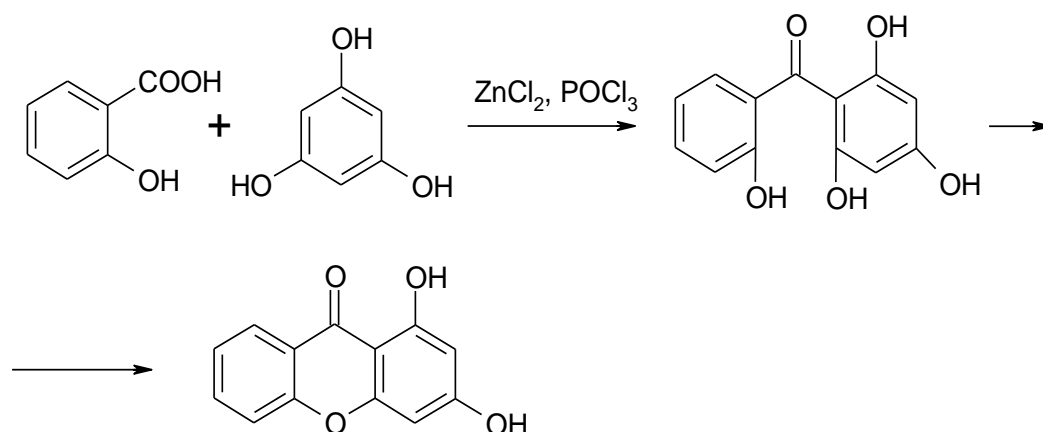


Schéma č.1. Reakce podle Grovera, Shaha a Shaha

Benzofenonové deriváty (I) (viz Schéma č. 2) jsou běžně dostupné pomocí kondenzace Friedelovou–Craftsovou acylací (a) vhodně substituovaného

benzoylchloridu s derivátem fenolu. Následuje cyklizační krok **(b)**, který představuje nukleofilní substituci nebo nukleofilní adici-eliminaci 2,2'-dihydroxy(alkoxy)benzofenonů, nebo oxidační proces ( $X=H$ ).

Syntéza diaryletherů (II)- Ullmannovou kondenzací **(d)**, představuje reakci natrium-fenolátu s kyselinou benzoovou, nesoucí halogen v poloze 2. Uzavření aromatického kruhu je dosaženo elektrofilní cykloacylací 2-aryloxybenzoových kyselin **(e)**.

Protože intramolekulární acylace dávají všeobecně větší výtěžky než Ullmannova syntéza etherů, je významnější strategií pro syntézu xanthonů acylace následovaná cyklizací vedoucí k vytvoření heterocyklického kruhu. [24]

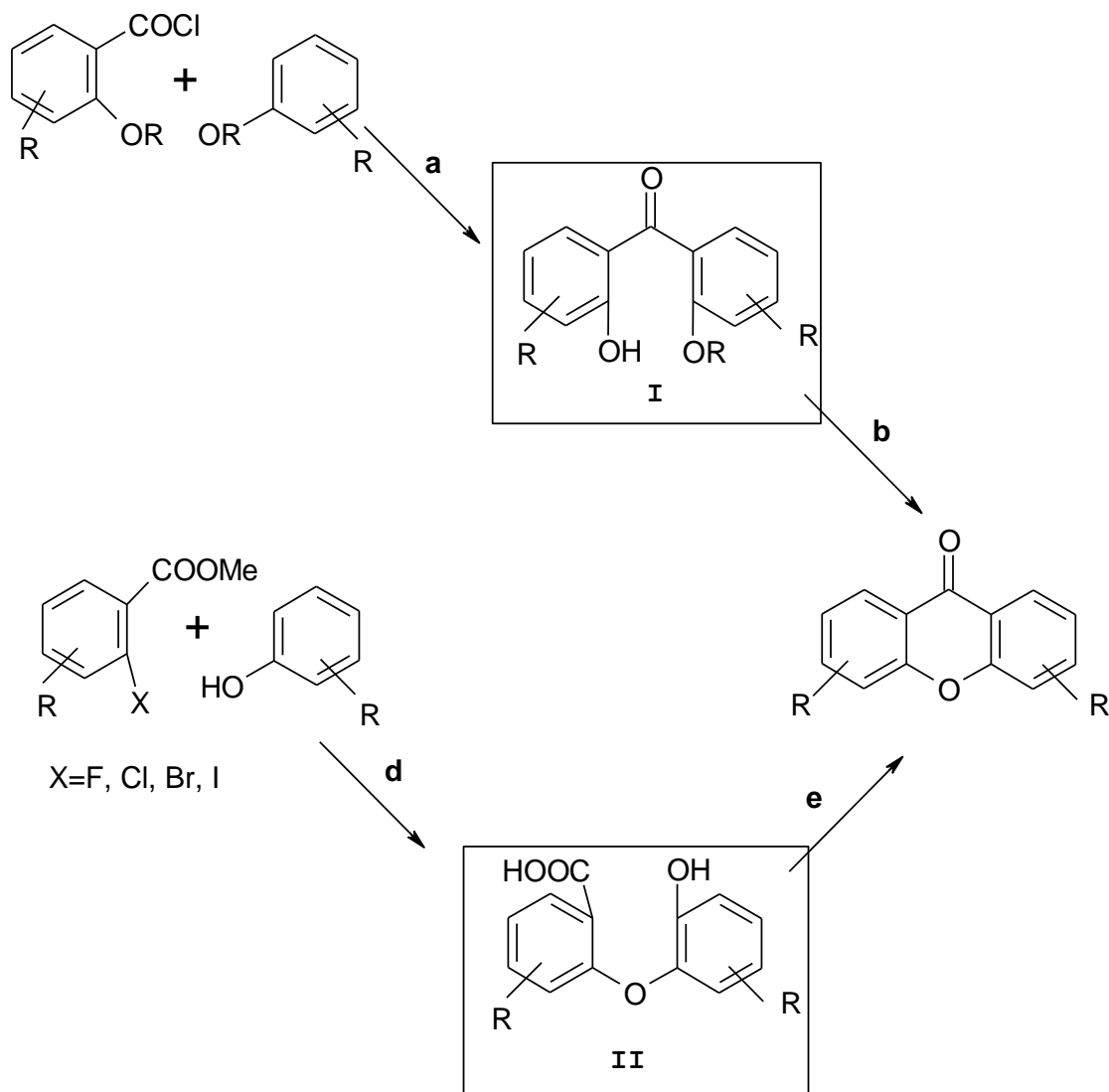


Schéma č.2. Syntéza xanthonových derivátů

Můžeme také najít jiné, méně běžné, metody syntézy xanthonů. Mnoho z nich již bylo úspěšně provedeno a popsáno v literatuře. Patří k nim např. adice arylového aniontu k salicylaldehydu, následovaná redukcí na xanthen a případnou oxidací na xanthon (Tanaseho metoda (**E**)). Dále se jedná o syntézu benzofenonů zahrnující ketiminové meziproducty (Robinsonova a Nishikawova syntéza (**A**)), syntézu z 10, 10-dioxo-9*H*- $\lambda^6$ -thioxanthen-9-onového jádra (**B**), z rozšířených poly- $\beta$ -ketidů (**C**) a nukleofilní adice fenolů na alkoxykarbonyl-p-benzochinon (postup podle Müllera *et al.* (**D**)) následovaná redukcí. [24]

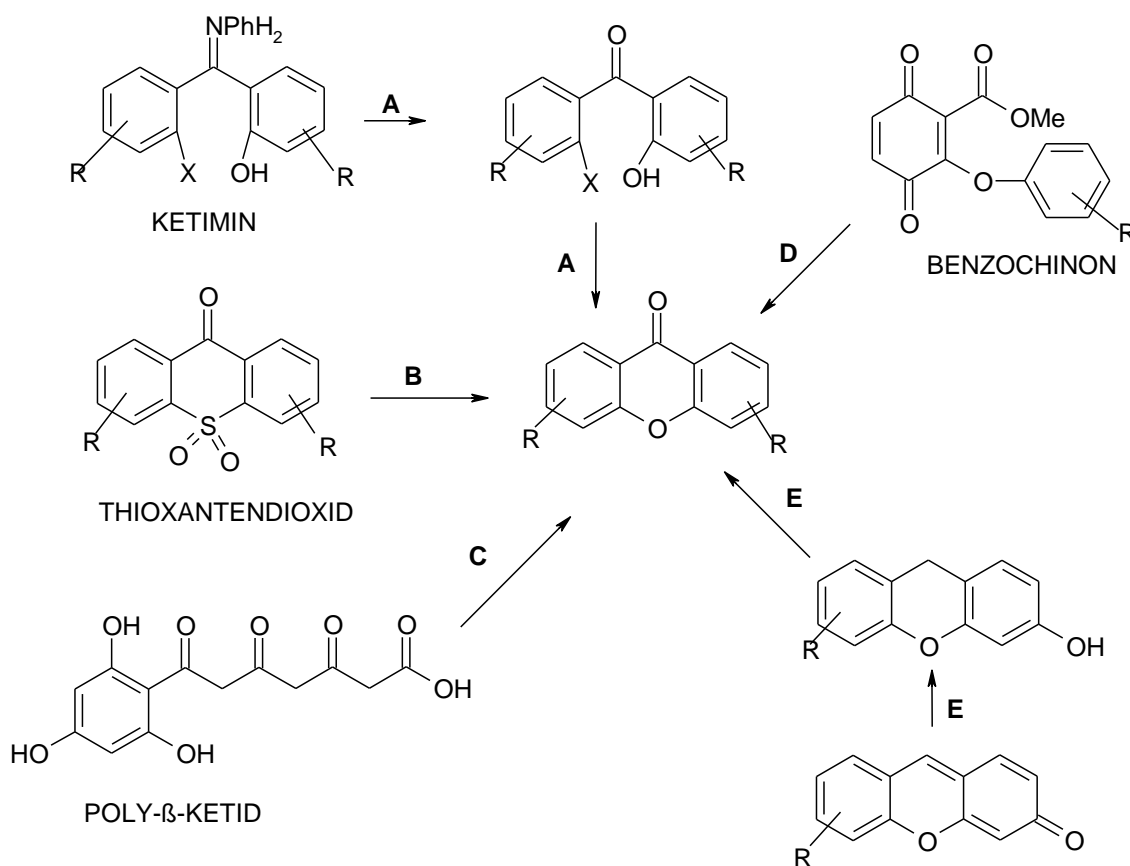


Schéma č. 3. Další strategie syntézy xanthonových derivátů

V současné době se některé z těchto reakcí provádějí i v řadě modifikací. Při reakci podle Grovera, Shaha a Shaha byly získány lepší výtěžky použitím směsi oxidu fosforečného s kyselinou methansulfonovou jako katalyzátoru místo chloridu zinečnatého s chloridem fosforu. Modifikace Friedelovy-Craftsovy reakce zahrnuje acylaci v přítomnosti anhydridu trifluoroctové kyseliny, demethylaci a následnou cyklizaci benzofenonu zahříváním ve

vodném prostředí pod tlakem. Při kondenzaci diaryletherů v Ullmannově reakci bylo zas úspěšně nahrazeno klasické zahřívání mikrovlnným. [24]

Popsána je ještě řada dalších modifikací těchto základních metod syntézy xanthonů a bezpočet zcela nových přístupů jak syntetizovat složitější deriváty xanthonu.

## 4.2 Syntéza dihydropyranoxanthonů

Pyranoxanthy jsou převážně připravovány dvěma metodami. První zahrnuje kondenzaci vhodného chromanu s příhodně substituovanou hydroxybenzoovou kyselinou následovanou dehydratací. Druhá metoda je založena na prenylaci xanthonového skeletu následované uzavřením pyranového kruhu. [24]

Původní metoda přípravy dihydropyranoxanthonových sloučenin byla prováděna jako dvoukroková reakce. Prvním krokem je prenylace xanthonu (a). Jako další krok následuje cyklizace (b) za vzniku izomerních dihydropyranoxanthonů. [16]

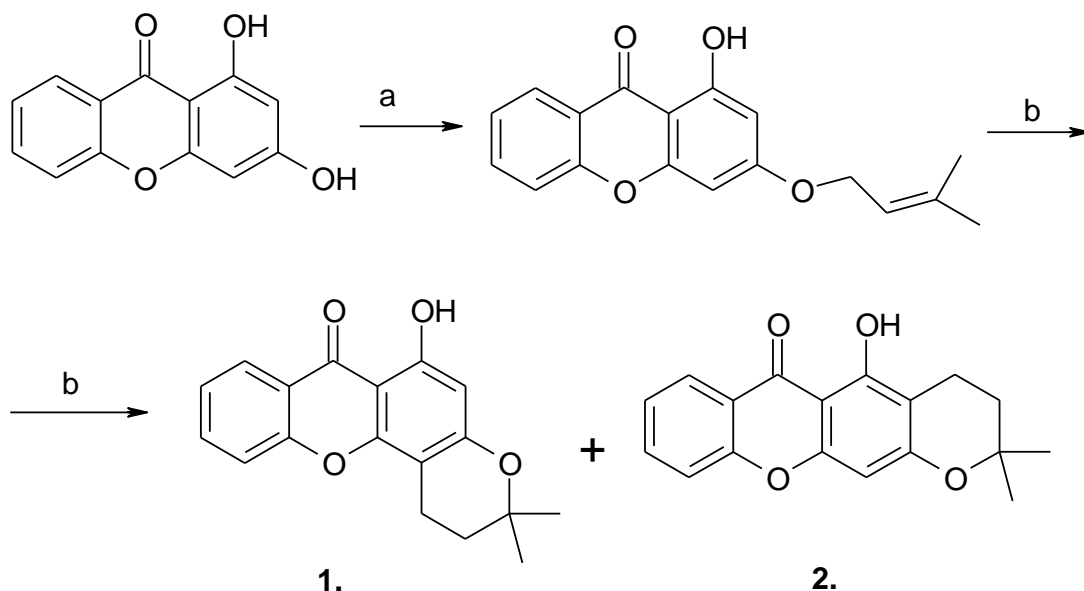


Schéma č. 4. Dvoukroková syntéza dihydropyranoxanthonů

Díky heterogenní katalýze využívající montmorillonit K10 jíl je možné získat konečné produkty pouze jednokrokovou reakcí.

Pokud jsou totiž allyl(aryl)ethery zahřívány v přítomnosti tohoto katalyzátoru, dochází k izomerizaci za migrace allylové skupiny do polohy *ortho* k fenolické skupině. Prodloužením reakčního času se získají benzopyranové deriváty adicí  $H^+$  k vazbě  $C=C$ . [20]

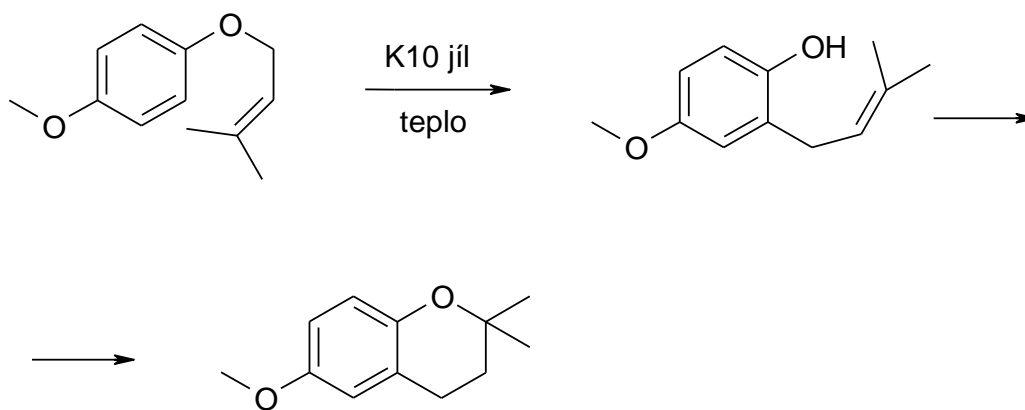


Schéma č.5. Cyklizace katalyzovaná jílem

## 5. Experimentální část

Reakce byly provedeny v mikrovlnném reaktoru Ethos MicroSYNTH 1600 Microwave Labstation od firmy Milestone za použití speciálních nádob pro práci v mikrovlnném reaktoru.

Jako katalyzátor byl použit montmorillonite K-10 (Fluka).

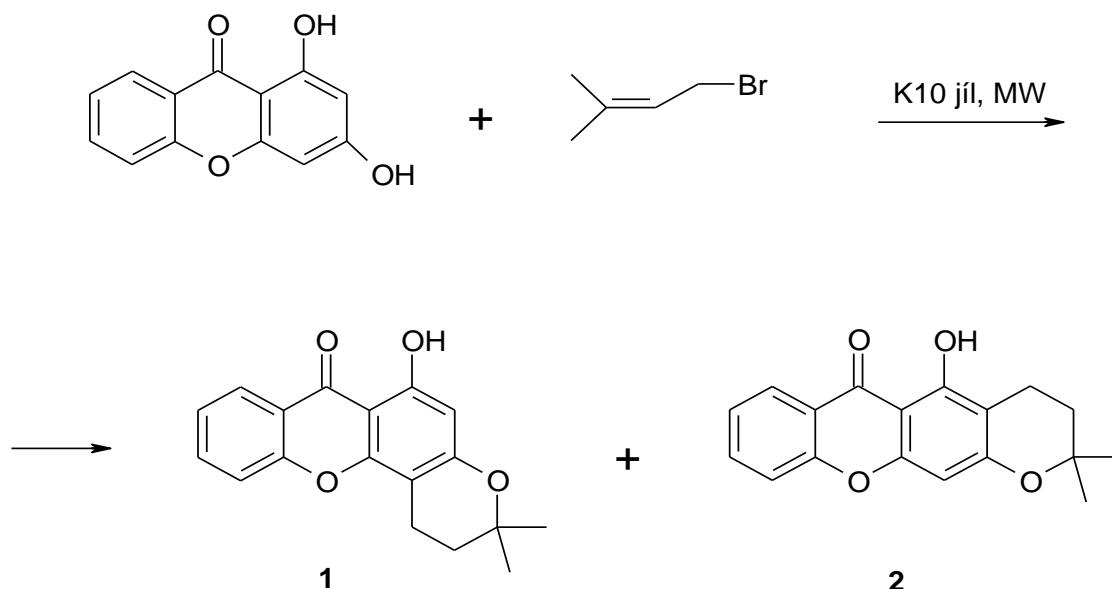
Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány.

IČ spektra byla měřena na ATI Mattson Genesis series FTIR spektrofotometru (software: Win First v 2.10) v tabletách KBr a vlnočty jsou uvedeny v  $\text{cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR spektra byla měřena v roztoku  $\text{CDCl}_3$  nebo  $\text{DMSO-d}_6$  za laboratorní teploty na přístroji Bruker Avance 300. Data jsou prezentována v následujícím pořadí: chemický posun  $\delta$  v *parts per million* (ppm), interakční konstanty (Hz), multiplicita (s: singlet, d: dublet, t: triplet, m: multiplet), integrální intenzita.

Průběh reakce a čistota výsledných produktů byla kontrolována pomocí tenkovrstvé chromatografie na Silufolu UV 254 s detekcí pod UV lampou.

Látky byly přečištěny pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu jako stacionární fázi (Silicagel 60 0,2-0,5 mm, Macherey-Nagel) a preparativní tenkovrstvé chromatografie s použitím (Silicagel 60 GF<sub>254</sub>, Merck).

### 5.1 Syntéza dihydropyranoxanthonů kombinovanou metodou heterogenní katalýzy využívající montmorillonit a mikrovlny



#### Pracovní postup:

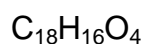
Do baňky pro snížený tlak bylo vloženo weflonové míchadlo a 1 g montmorillonitu. Poté bylo přidáno 5 ml chloroformu a směs důkladně promíchávána, dokud se nevytvořila suspenze. Poté byl přidán 1,3-dihydroxyxanthon (0,099 g; 0,44 mmol) částečně rozpuštěný v 6 ml chloroformu a směs byla opět důkladně promíchána. Následně byl přidán prenylbromid (0,1 ml; 0,87 mmol) a baňka byla uzavřena. Nádobka byla zafixována v mikrovlnném reaktoru, byl připevněn tepelný senzor a po dobu 20 minut probíhalo zahřívání v mikrovlnném reaktoru na teplotu 110 °C.

Po zchlazení byla provedena kontrola průběhu reakce pomocí TLC (Hex/EtOAc 95:5). Reakční směs již neobsahovala výchozí látky, proto byl jííl odfiltrován na fritě a promyt dichlormethanem, pak acetonem a nakonec methanolem. (Takto promytý jííl je možné opětovně využít.) Pomocí TLC (Hex/EtOAc 95:5) bylo zjištěno, že produkty se nacházejí pouze v dichlormethanové frakci, ze které byly izolovány sloupcovou chromatografií (Hex/EtOAc 99:1) a následně preparativní chromatografií (Hex/EtOAc 95:5).

Výsledky:

Bylo získáno 26,11 mg (20,2%) 6-hydroxy-3,3-dimethyl-2,3-dihydro-1*H*,7*H*-pyrano[2,3-*c*]xanthen-7-onu (**1**) jako žluto-bílé krystalické látky a 12,8 mg (10%) 5-hydroxy-2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2*H*,6*H*-pyrano[3,2-*c*]xanthen-7-onu (**2**) jako žluté krystalické látky.

6-Hydroxy-3,3-dimethyl-2,3-dihydro-1*H*,7*H*-pyrano[2,3-*c*]xanthen-7-on (**1**)



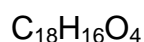
$M_r$ : 296,33

T. tání 147°C ; literatura [16] uvádí 147–148 °C

IČ (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3471, 2972, 2924, 2856, 1647, 1606, 1570, 1450, 1300, 1263, 1219, 1134, 1080, 823, 754.

Viz. Literatura [16]

5-Hydroxy-2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2*H*,6*H*-pyrano[3,2-*c*]xanthen-7-on (**2**)



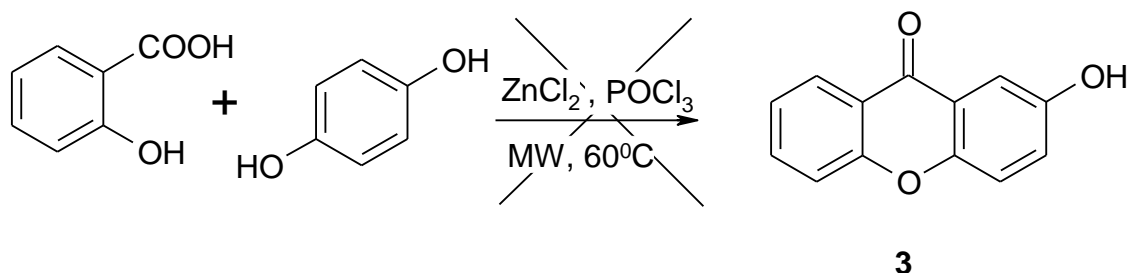
$M_r$ : 296,33

T. tání 189–190 °C; literatura [16] uvádí 187-190 °C

IČ (KBr)  $\nu_{\text{max}}$ : 3427, 2968, 2924, 2854, 1662, 1606, 1571, 1471, 1429, 1329, 1290, 1232, 1157, 1116, 1078, 817, 752.

Viz. Literatura [16]

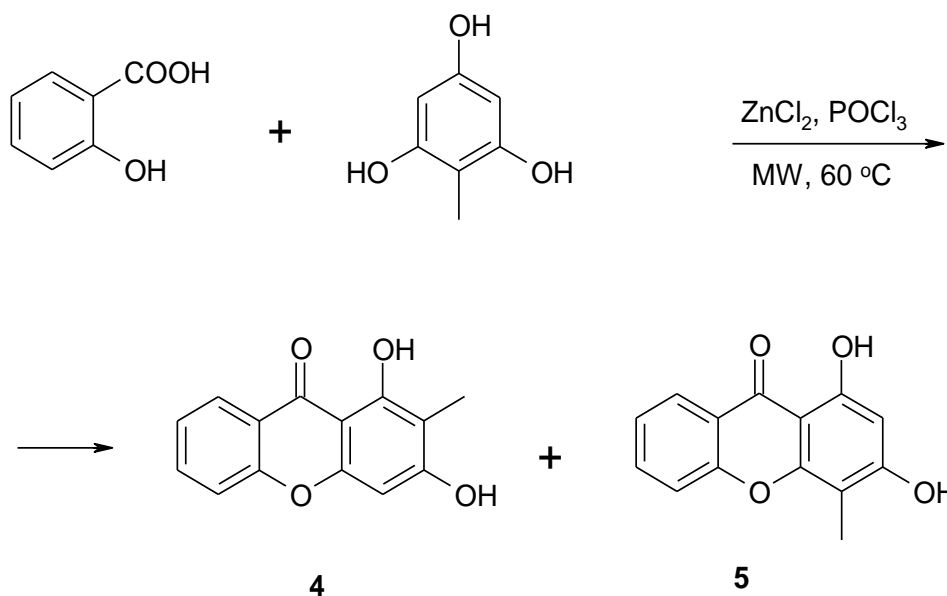
## 5.2 Pokus o syntézu 2-hydroxyxanthonu

*Pracovní postup:*

Do 500ml baňky bylo naváženo 6,14g chloridu zinečnatého, přilito 20 ml trichloridu fosforylu a baňka byla uzavřena. Poté bylo do baňky vloženo weflonové míchadlo a baňka umístěna pod chladič do mikrovlnného reaktoru. Po umístění tepelného senzoru byl katalyzátor aktivován zahříváním po dobu 5 minut při 60 °C. Po ochlazení byla přidána kyselina salicylová (2,15 g; 15,56 mmol) a směs opět zahřívána po dobu 5 min při 60 °C. Po opětovném ochlazení byl přidán hydrochinon (2,14 g; 21,89 mmol) a reakční směs zahřívána po 30 min při 60 °C. Poté byl odebrán vzorek a provedena TLC (Hex/EtOAc 8:2), ale očekávaný produkt se neobjevil. Se zahříváním reakční směsi se pokračovalo ještě 3krát po dobu 30 minut, avšak hledaný produkt vůbec nebyl získán.

Po ochlazení byla reakční směs přelita do připravené nádoby s ledem, překryta alobalem a ponechána v ledničce přes noc. Krystaly byly odfiltrovány a usušeny. TLC analýzou bylo zjištěno, že se jedná o směs 2 látek, ale žádná z nich nebyla 2-hydroxyxanthon. Od pokusů o identifikaci těchto látek bylo z časových důvodů upuštěno.

### 5.3 Syntéza 1,3-dihydroxy-2-methylxanthonu a 1,3-dihydroxy-4-methylxanthonu



#### Pracovní postup:

Do 500ml baňky bylo naváženo 6,14g chloridu zinečnatého, přilito 20 ml trichloridu fosforu a baňka byla uzavřena. Do baňky bylo vloženo weflonové míchadlo a baňka umístěna pod chladič do mikrovlnného reaktoru. Po připevnění tepelného senzoru bylo zahájeno zahřívání po dobu 5 min na  $60\text{ }^\circ\text{C}$ . Po ochlazení byla přidána kyselina salicylová (2,15 g; 15,556 mmol) a opět zahříváno po dobu 5 min na  $60\text{ }^\circ\text{C}$ . Po opětovném ochlazení byl přidán 2,4,6-trihydroxytoluen (3,07 g; 21,89 mmol) a reakční směs zahřívána v mikrovlnném reaktoru po dobu 60 min při teplotě  $60\text{ }^\circ\text{C}$ . Poté byl odebrán vzorek a provedena TLC ( $\text{CHCl}_3/(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  95:5). Směs již neobsahovala výchozí látky, a proto byla po ochlazení přelita do připravené nádoby s ledem, překryta alobalem a umístěna do ledničky na noc.

Vzniklá oranžovo-červená sraženina byla odfiltrována, promyta několikrát vodou a usušena. Další podíl produktu byl extrahován z filtrátu pomocí dichlormethanu, který byl poté odpařen. Produkt byl přečištěn sloupcovou

chromatografií ( $\text{CHCl}_3$ ) a překrystalizován z methanolu. Matečný roztok byl následně přečištěn preparativní TLC ( $\text{CHCl}_3/(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  95:5).

Výsledky:

Bylo získáno 0,89 g (27%) 1,3-dihydroxy-2-methylxanthonu (**4**) jako sytě žluté krystaly a 0,035 g (1%) 1,3-dihydroxy-4-methylxanthonu (**5**) jako bílo-žluté pevné látky.

1,3-Dihydroxy-2-methylxanthon (**4**)

$\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_4$

$M_r$ : 242,21

T. tání= 249-250 °C literatura [25] uvádí 250-251 °C

IR(KBr): 3100, 1640 1610, 1560, 1485, 1465, 1370, 1330, 1290, 1230, 1210, 1180, 1150, 1140, 1100, 940, 875, 830, 820, 760, 680.

Viz. Literatura [25]

1,3-Dihydroxy-4-methylxanthon (**5**)

Sumární vzorec:  $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_4$

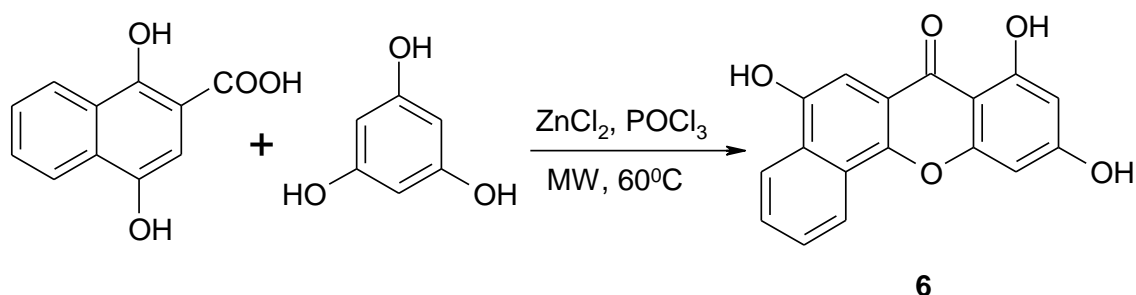
$M_r$ : 242,21

T. tání 241 °C literatura [25] uvádí 241-242 °C

IR(KBr): 3175,1650, 1610, 1590, 1570, 1520, 1490, 1475, 1415, 1380, 1345, 1310, 1280, 1230, 1190, 1150, 1100, 1015, 940, 900, 845, 805, 755, 720, 690, 620.

Viz. Literatura [25]

#### 5.4 Syntéza 5,8,10-trihydroxy-7H-benzo[c]xanthen-7-onu metodou podle Grovera, Shaha a Shaha s využitím mikrovln



##### Pracovní postup:

Do 500ml baňky bylo naváženo 6,14g chloridu zinečnatého, přilito 20 ml trichloridu fosforu a baňka uzavřena. Poté bylo do baňky přidáno weflonové míchadlo a baňka umístěna pod chladič do mikrovlnného reaktoru. Po připevnění tepelného senzoru bylo zahájeno zahřívání po dobu 5 min při 60 °C. Po ochlazení byla přidána 1,4-dihydroxy-2-naftoová kyselina (3,18 g; 15,556 mmol) a opět zahříváno po dobu 5 min při 60 °C. Po opětovném ochlazení byl přidán 1,3,5-trihydroxybenzen (2,76 g; 21,89 mmol) a reakce zahřívána v mikrovlnném reaktoru po dobu 60 min při teplotě 60 °C. Poté byl odebrán vzorek a provedena TLC (CHCl<sub>3</sub>/(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO 95:5). Směs již neobsahovala výchozí látky, proto byla po ochlazení přelita do připravené nádoby s ledem, překryta alobalem a umístěna do ledničky na noc.

Vzniklá fialová sraženina byla odfiltrována, promyta několikrát vodou a usušena. Další podíl produktu byl extrahován z filtrátu pomocí dichlormethanu, který byl poté odpařen. Produkt byl přečištěn sloupcovou chromatografií (CHCl<sub>3</sub>/(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO 99:1) a překrystalizován z methanolu. Matečný roztok byl následně přečištěn pomocí preparativní TLC (CHCl<sub>3</sub>/(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO 8:2).

##### Výsledky:

Bylo získáno 0,135g (3%) jasně žlutých krystalů látky **6**.

5,8,10-Trihydroxy-7H-benzo[c]xanthen-7-on (**6**)

$C_{17}H_{10}O_5$

$M_r$ : 294, 26

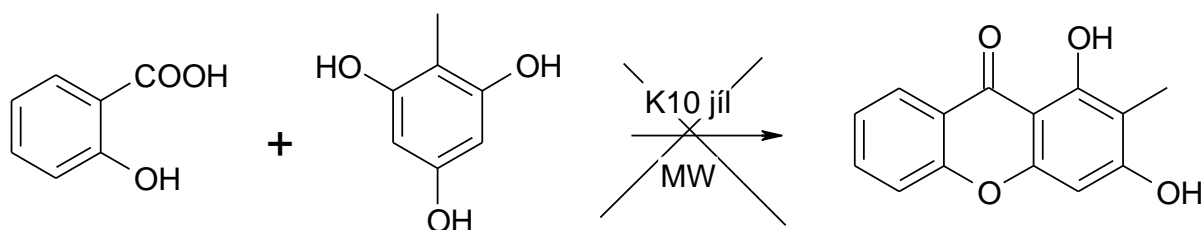
T. tání  $>325$  °C

IR(KBr): 3525, 3425, 3305, 1645, 1595, 1550, 1505, 1450, 1425, 1370, 1350, 1300, 1270, 1250, 1190, 1160, 1090, 790, 760, 700

$^1H$  NMR (300 MHz, DMSO):  $\delta$  = 6.26 (d,  $J$  = 2.1Hz, 1 H, H-9), 6.63(d,  $J$  = 2.1Hz, 1 H, H-11), 7.35 (s, 1 H, H-6), 7.80-7.84 (m, 2 H, H-2, H-3), 8.27-8.30 (m, 1 H, H-4), 8.58-8.62 (m, 1 H, H-1)

$^{13}C$  NMR (300 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 94.4, 98.3, 98.5, 102.6, 115.0, 122.5, 122.7, 124.1, 127.8, 128.6, 129.3, 146.8, 149.8, 157.1, 162,3, 165.1, 179.5

*5.5 Pokus o syntézu 1, 3-dihydroxy-2-methylxantonu kombinovanou metodou heterogenní katalýzy využívající montmorillonit a mikrovlnny*



*Pracovní postup:*

Do baňky pro snížený tlak bylo vloženo weflonové míchadlo a 1 g montmorillonitu. Poté bylo přidáno 10 ml chloroformu a směs důkladně promíchána, dokud se nevytvořila suspenze. Poté byly přidány reaktanty kyselina salicylová (1 g, 7,2 mmol) a 2,4,6- trihydroxytoluen (1,4 g; 9,99 mmol), důkladně promíseny s jílem a chloroformem a nádoba uzavřena. Po fixaci teplotního senzoru a upevnění v mikrovlnném reaktoru byla zahájena reakce mikrovlnným zářením po dobu 30 minut a teplotě 60 °C. Po zchlazení byl odebrán vzorek, provedena TLC ( $\text{CHCl}_3/(\text{CH}_3)_2\text{CO}$  95:5), avšak reakční směs obsahovala pouze reaktanty. Po přidání dalších 10 ml chloroformu se pokračovalo s reakcí ještě 60 minut při 60 °C, avšak reaktanty vůbec nezreagovaly.

## 6. VÝSLEDKY S KOMENTÁŘEM

### 6.1 Syntéza dihydropyranoxanthonů

Dosavadní způsob přípravy spočíval ve dvoustupňové kondenzaci 1,3-dihydropyranoxanthonu a prenylbromidu. [16]

Použití montmorillonitu jako heterogenního katalyzátoru umožňuje provést reakci v jednom kroku, bez izolace intermediátu. Tato reakce při provedení za laboratorní teploty vyžaduje k úplnému zreagování okolo 5 dní. Spojením heterogenní katalýzy s přímým mikrovlnným zahříváním se dosáhlo zkrácení reakční doby na 20 minut. Výtěžky takto provedené reakce byly mimoto vyšší ve srovnání jak s původní dvoukrokovou syntézou tak i s reakcí s využitím montmorillonitu za laboratorní teploty (Tab. č. 1).

Reakce	Výtěžek [%]			Literatura
	Sloučenina 1	Sloučenina 2	Celkem	
Původní	0,75	1	1,75	[16]
katalýza <sup>a</sup>	3	8	11	interní sdělení
katalýza <sup>a</sup> + MW	10	20	30	tato práce

<sup>a</sup> heterogenní katalýza využívající montmorillonit

Tabulka č. 1. Výtěžky dihydropyranoxanthonů 1 a 2

Naším cílem bylo ještě dále optimalizovat reakční podmínky, abychom určili ty nejvýhodnější pro průběh syntézy těchto sloučenin. Obměnami reakčních podmínek s použitím, buď nového neupraveného jílu, nebo nového jílu zbaveného vody, případně opětovným použitím regenerovaného jílu jsme zjistili podmínky s nejvyšší výtěžností této reakce.

Reakce	Množství substrátu[mg]	Montmorillonit	Výtěžek [%]		
			Sloučenina 1	Sloučenina 2	Celkem
1.	52	vlhký	9	3	12
2.	100	vlhký	12	5	17
3.	50	zbavený vody	11	5	16
4.	100	regenerovaný	20	10	30

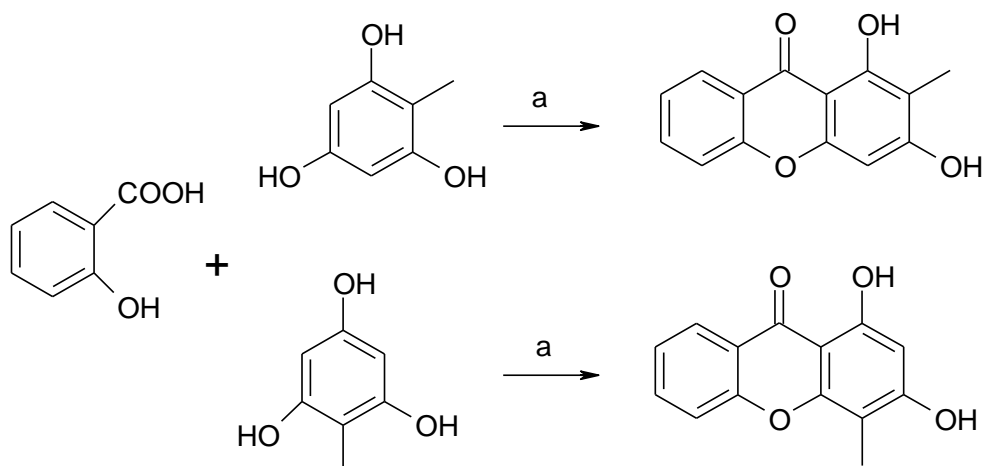
Tabulka č. 2. Výtěžky dihydropyranoxanthonů 1 a 2 za různých experimentálních podmínek

Z výsledků v Tabulce č. 2 je zřejmé, že nejvýhodnější podmínky pro tuto reakci byly dosaženy při použití jílu zbaveného navázané vody. Použití regenerovaného jílu přineslo výsledky bez jakéhokoliv snížení jeho katalytické aktivity, výtěžky byly dokonce ještě lepší než s jílem novým. Jsou potřeba další pokusy, abychom zjistili, zda byl lepší výtěžek získán pouze náhodně, nebo zde byl důvod, který způsobil tyto výtěžky (např. užití menšího množství rozpouštědla umožnilo jílu lépe katalyticky působit). S jistotou však můžeme říci, že jíl vykazuje lepší katalytickou aktivitu pro tuto reakci, když je před užitím zbaven navázané vlhkosti.

Další výhodou této reakce bylo, že montmorillonit stačilo oddělit filtrací, promýt několikrát methanolem, usušit při 120 °C po dobu 72 hodin a mohl být opětovně použit v další reakci bez úbytku katalytické schopnosti.

## 6.2 Syntéza 1, 3-dihydroxy-2-methylxanthonu a 1, 3-dihydroxy-4-methylxanthonu

Tato reakce již byla provedena a detailně popsána v průběhu sedmdesátých let minulého století. Jedná se o jednoduchou kondenzaci kyseliny salicylové a 2,4,6-trihydroxytoluenu v přítomnosti oxidu zinečnatého a trichloridu fosforu. [25]



a:aktivovaný ZnCl<sub>2</sub> a POCl<sub>3</sub>, 3h, 70°C

### Původní syntéza 1, 3-dihydroxy-2-methylxanthonu

Tato původní metoda syntézy byla provedena s klasickým zdrojem tepla a poskytla dvě isomerní sloučeniny ve velmi odlišných výtěžcích v poměru 100:2 (28% sloučeniny **4** a 0,5% sloučeniny **5**). Velmi nízký výtěžek sloučeniny **5** je zde pravděpodobně způsoben sterickým bráněním. Při těchto experimentálních podmínkách byl získán ještě jeden vedlejší produkt s xanthonovým skeletem. Ten pravděpodobně vznikl kondenzací sloučeniny **4** s další molekulou kyseliny salicylové. Jeho výtěžek byl velmi nízký, proto jeho struktura byla pouze navržena, ale nebyla dosud potvrzena. [25]

Metoda	Reakční čas	Výtěžek [%]	
		sloučenina <b>4</b>	sloučenina <b>5</b>
Klasická	180 minut	28	0,55
Mikrovlnami podpořená	<b>60</b> minut	<b>27</b>	<b>1</b>

Tabulka č. 3. Porovnání syntézy (produktů **4** a **5**)s klasickým a mikrovlnným zahříváním

Z výsledků uvedených v tabulce č. 3 vyplývá, že využitím mikrovlnného zahřívání bylo umožněno zkrátit reakční čas této reakce z 3 hodin na hodinu jednu. Výtěžky reakce však zůstaly oproti našim předpokladům téměř nezměněny.

Zajímavé je, že výtěžek xanthonu **5** je dvakrát vyšší než u reakce provedené s klasickým tepelným zdrojem, zatímco výtěžek sloučeniny **4** zůstal téměř nezměněn. Třetí derivát xanthonu, jehož výskyt byl popsán u této reakce, se za našich experimentálních podmínek nevyskytl.

### 6.3 5,8,10-trihydroxy-7H-benzo[c]xanthen-7-on

Tento xanthonový derivát s rozšířeným  $\pi$ -systémem se nám podařilo připravit reakcí podle Grovera, Shaha a Shaha uskutečněné v mikrovlnném reaktoru. Podle všech dostupných údajů ještě nebyl tento xanthon připraven. Jeho výtěžek touto syntézou byl však značně nízký. Bylo to způsobeno velkým množstvím vedlejších produktů a částečně i ztrátami při purifikaci na silikagelu.

K syntéze tohoto xanthonového derivátu se může příště využít GSS reakce s klasickým tepelným zdrojem nebo zvolit jiný z možných postupů pro syntézu xanthonů např. cestou z benzofenonu, která se spíše používá pro syntézu složitějších sloučenin, kde dává vyšší výtěžky.

Na základě aktivity sloučenin s podobnou strukturou se tato sloučenina bude testovat na schopnost inhibovat růst lidských buněk karcinomu a inhibiční aktivitu vůči enzymu  $\alpha$ -glukosidáze.

Do budoucna se s touto látkou počítá jako se základní strukturou pro další modifikace s cílem najít látky s výhodnějšími biologickými vlastnostmi.

## 7. ZÁVĚR

V rámci této diplomové práce byla použita nová metodika syntézy dihydropyranoxanthonů. Využívá se heterogenní katalýza kombinovaná s mikrovlnným zahříváním, čímž došlo k podstatnému zkrácení reakčního času a zvýšení výtěžků těchto sloučenin.

Dále byla optimalizována metodika syntézy xanthonů podle Grovera, Shaha a Shaha využitím mikrovlnného zahřívání reakce. Reakční čas byl zkrácen na jednu třetinu původní doby potřebné pro tuto syntézu, avšak výtěžky reakce se oproti očekávání téměř nezměnily. Tímto postupem byl připraven nový xanthonový derivát 5,8,10-trihydroxy-7H-benzo[c]xanthen-7-on, který byl charakterizován IČ,  $^1\text{H}$  NMR a  $^{13}\text{C}$  NMR spektry. Biologická aktivita této látky bude dále testována. Pokus o přípravu 2-hydroxyxanthonu za stejných reakčních podmínek nebyl úspěšný.

## 8. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Sultanbawa, M.U.S. *Tetrahedron*, **1980**, 36, 1465.
- [2] M. Pedro, F. Cerqueira, E. Sousa, M.Nascimento, M. Pinto, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 3725.
- [3] Bennett, G.J.; Lee, H.H. *Phytochemistry* **1989**, 28, 967.
- [4] Peres, V.; Nagem, T.J. *Phytochemistry*, **1997**, 44, 191
- [5] Pinto, M.M.M.; Sousa, M.E. and Nascimento, M.S.J.; *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12 (21), 2517.
- [6] Finnegan, R.A.; Stephani R.M.; Ganguli G.; Ganguli S.N.,Bhattacharya A.K. *J. Pharm. Sci.* **1968**, 57, 1039.
- [7] Da Re, P.; Mancini, V.; Toth, E.; Cima, L. *Arzneim.-Forsch.* **1968**, 18, 718.
- [8] Da Re, P.; Sagramora, L.; Mancini, V.; Valenti, P.; Cima, L. *J. Med. Chem.*, **1970**, 13, 527.
- [9] Bhattacharya, S.K.; Ghosal, S.; Chaudhuri, R.K.; Sanyal, A.K. *J. Pharm. Sci.*, **1972**, 61, 1838.
- [10] Bhattacharya, S.K.; Sanyal, A.K.; Ghosal, S. *Naturwissenschaften*, **1972**, 59(12), 651.
- [11] Da Re, P.; Valenti, P.; Borraccini, A.; Primofiore, G.P. *J. Med. Chem.*, **1972**, 15, 198.
- [12] Da Re, P.; Primofiore, G.P.; Bertelli, A. *J. Med. Chem.*, **1972**, 15, 868.
- [13] Schneider, J.; Evans, E.L.; Grunberg, E.; Fryer, R.I. *J. Med. Chem.*, **1972**, 266.
- [14] Pfister, J.R.; Ferraresi, R.W.; Harrison, I.T.; Rooks, W.H.; Roszkowski, A.P.; Van Horn, A.; Fried, J.H. *J. Med. Chem.*, **1972**, 15, 1032.
- [15] Pedro, M.M.; Cerqueira, F.; Sousa, M.E.; Nascimento, M.S.J.; Pinto, M.M.M.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, 3725.
- [16] Castanheiro, R.A.P.; Pinto, M.M.M.; Silva, A.M.S.; Cravo, S.M.M.; Gales, L.; Damas, A.M.; Nazareth, N.; Nascimento, M.S.J.; Eaton, G.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 6080.
- [17] Kappe, O. C.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, 43, 6250.

- [18] *Microwave Assisted Organic Synthesis*; Tierney, J.P. Lindström, P. Eds.; CRC Press: Boca-Raton, FL, **2005**.
- [19] Evangenlista, E.A.; Couri, M.R.C.; Alves, R.B.; Raslan, D. S.; Gil, R.P.F.; *Synth. Commun.*, **2006**, 36, 2275.
- [20] Nagendrappa, G.; *Resonance*, **2002**, 64.
- [21] Cantenvari, S.; Vuppalapati, S.V.N.; Nagarapu, L.; *Catal. Commun.*, **2007**, 8(11), 1857.
- [22] Michael, A. *Ann. Chem. J.*, **1883**, 5, 81.
- [23] Kostanecki. S.; *Ber.*, **1891**, 24, 1898.
- [24] Pinto, M.M.M. and Sousa, M.E.; *Curr. Med. Chem.*, **2005**, 12 (21), 2447.
- [25] Pinto, M.M.M.; Polonia, J.; *Helv. Chim. Acta*, **1974**, 57, 2613.
- [26] Liu, Y.; Ma, L.; Chen, W-H; Wang, B.; Xu, Z-L.; *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, 2