

**UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI**

**PŘÍRODOVĚDĚCKÁ FAKULTA**

**KATEDRA ORGANICKÉ CHEMIE**

**SYNTÉZA A BIOLOGICKÉ VLASTNOSTI DERIVÁTŮ  
KURKUMINU**



**Bakalářská práce**

Autor:

Marek Šebrle

Studijní program:

Chemie

Studijní obor:

Bioorganická chemie

Typ studia:

Prezenční

Vedoucí práce:

RNDr. Radek Mělnický

Rád bych poděkoval vedoucímu své bakalářské práce RNDr. Radku Mělnickému za ochotu, se kterou se mi věnoval, Prof. Pavlu Hradilovi, CSc. za možnost vypracovat bakalářskou práci ve výzkumném oddělení Farmak a.s., Ing. Martinovi Greplovi PhD. a jeho kolegům za analytický servis a dále pak celému oddělení za pomoc při řešení experimentální části bakalářské práce.

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod odborným dohledem RNDr. Radka Mělnického. Veškerou použitou literaturu jsem uvedl v seznamu použité literatury na konci práce.

Souhlasím s tím, aby má práce byla prezenčně zpřístupněna v knihovně Katedry organické chemie, Přírodovědecké Fakulty, Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne .....

.....

Marek Šebrle

## **Bibliografická identifikace**

Jméno a příjmení: Marek Šebrle  
Název práce: Syntéza a biologické vlastnosti derivátů kurkuminu.  
Typ práce: Bakalářská  
Pracoviště: Farmak a. s.  
Vedoucí práce: RNDr. Radek Mělnický  
Rok obhajoby práce: 2014

Abstrakt v českém jazyce: Tato bakalářská práce je členěna do 2 částí. V teoretické části se zabývá studiem syntézy kurkuminů, jejich derivátů a biologickou aktivitou těchto látek. V praktické části se zaměřuje na syntézu diesterových derivátů kurkuminů substituovaných v poloze 4 na nenasyceném alkylovém řetězci a jejich heterocyklických analogů. Dále pak na parciální kyselé či bazické hydrolýzy a aminolýzy těchto derivátů. Všechny reakce prováděné na těchto derivátech byly neúspěšné.

Klíčová slova: kurkumin, kondenzace, syntéza, deriváty, heterocykly, biologická aktivita

Počet stran: 54  
Jazyk: Čeština

**Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Marek Šebrle  
Title: Synthesis and biological activity of curcumin derivatives.  
Type of thesis: Bachelor  
Department: Farmak a. s.  
Supervisor: RNDr. Radek Mělnický  
The year of presentation: 2014

Abstrakt v anglickém jazyce: This Bachelor thesis is divided into two parts. The theoretical part deals with the study of synthesis curcumins, their derivatives and biological activity of these compounds.  
The practical part is focused on the synthesis of diester derivatives of curcumins which are substituted in position 4 of the unsaturated parts of the alkyl chain and their heterocyclic analogues. Furthermore, the partial acid or basic hydrolysis and aminolysis of these derivatives. All reactions carried out on these derivatives were unsuccessful.

Keywords: curcumin, condensation, synthesis, derivatives, heterocycles, biological activities

Number of pages: 54  
Language: Czech

# Obsah

<b>1.</b>	<b>Seznam zkratk.....</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>5</b>
<b>3.</b>	<b>Teoretická část.....</b>	<b>6</b>
3.1.	Kurkumin a jeho základní deriváty .....	6
3.1.1.	Fyzikální vlastnosti .....	6
3.1.2.	Biologické vlastnosti.....	8
3.1.3.	Příprava kurkuminů.....	10
3.2.	Deriváty kurkuminu .....	12
3.2.1.	Deriváty kurkuminu substituované na aromatickém kruhu .....	12
3.2.2.	Deriváty kurkuminu substituované na $\alpha$ -uhlíku halogenem .....	15
3.2.3.	Deriváty kurkuminu substituované na $\alpha$ -uhlíku alkylem .....	16
3.2.4.	Deriváty kurkuminu substituované na $\alpha$ -uhlíku cyklem .....	17
3.2.5.	Heterocyklické deriváty kurkuminu.....	19
3.2.6.	Další deriváty kurkuminu.....	21
<b>4.</b>	<b>Výsledky a diskuse.....</b>	<b>29</b>
<b>5.</b>	<b>Experimentální část.....</b>	<b>38</b>
5.1.	Příprava diesterů kurkuminu .....	39
5.1.1.	Příprava (2E)-3-fenylprop-2-enoyl chloridu (II).....	39
5.1.2.	Příprava diesteru kyseliny malonové (IV) .....	39
5.1.3.	Příprava 4-acetyloxy-2-methoxyfenyl acetátu (X).....	40
5.1.4.	Příprava kyseliny (2E)-3-[4-(acetyloxy)-3-methoxyfenyl]prop-2-enové (IX).....	40
5.1.5.	Příprava (2E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)prop-2-enové (VI) .....	42
5.1.6.	Příprava 4-[(1E)-3-chloro-3-oxoprop-1-en-1-yl]-2-methoxyfenyl acetátu (XIII).....	44
5.2.	Reaktivita diesteru kurkuminu (IV) .....	45
5.2.1.	Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s amoniakem .....	45
5.2.2.	Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s benzylaminem .....	45
5.2.3.	Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s hydroxidem draselným.....	46
5.2.4.	Kyselé hydrolyzy diesteru kyseliny malonové (IV).....	46
5.2.5.	Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s močovinou.....	47
5.2.6.	Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s hydrazinem.....	47
<b>6.</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>49</b>

**7. Seznam literatury ..... 50**

# 1. Seznam zkratek

ACN	acetonitril
AcOH	kyselina octová
APCI	chemická ionizace za atmosferického tlaku (Atmospheric Pressure Chemical Ionization)
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
COX-1	enzym cyklooxygenázy konstitutivní
COX-2	enzym cyklooxygenázy inducibilní
DMAP	4-dimethylaminopyridin
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DNA	deoxyribonukleová kyselina
Ekv.	ekvivalent
ESI	ionizace elektrosprejem (Electrospray Ionization)
EtOH	ethanol
GCMS	plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
HKMTs	proteinů histon lysin methyltransferáz
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
HRMS	vysokorozlišující hmotnostní spektrometrie (High Resolution Mass Spectrometry)
LCMS	kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
MeOH	methanol
min	minut
MS	hmotnostní spektroskopie



N <sub>3</sub> Et	triethylamin
NaOEt	ethanolát sodný
Např.	například
NMR	nukleární magnetická resonance
PCC	pyridinium-chlorochromát
PRMTs	proteiny arginin methyltransferáz
Resp.	respektive
R <sub>f</sub>	retenční faktor
R <sub>f<sub>a</sub></sub>	retenční faktor prvního produktu
R <sub>f<sub>b</sub></sub>	retenční faktor druhého produktu
t.t.	teplota tání (°C)
TFA	trifluoroctová kyselina
TGF-β	„transforming growthfactor“ – protein kontrolující proliferaci
THF	tetrahydrofuran
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
Tzn.	to znamená
Tzv.	takzvaný
δ	chemický posun

## 2. Úvod

Kurkuminoidy<sup>1</sup> jsou sloučeniny odvozené od kurkuminu (**1**). Tyto sloučeniny přitahují značnou pozornost díky svým rozsáhlým biologickým účinkům. Již od 2. tisíciletí před naším letopočtem byly tyto látky hojně využívány v asijské medicíně. Dnes nacházejí široké uplatnění v lékařství<sup>2</sup>, kosmetice<sup>3</sup> nebo potravinářství<sup>4</sup>. Kurkuminoidy jsou hlavní složkou curry koření, propůjčují mu typickou barvu, vůni a jemně nahořklou chuť. V Evropské Unii jsou potravinářská aditiva označována pod písmenem E a číslem, kde má toto žlutooranžové barvivo, nazývané Kurkumová žluť, označení E100. Mezi další základní kurkuminoidy patří bisdesmethoxykurkumin (**2**), desmethoxykurkumin (**3**) a cyklokurkumin (**4**). Dosud bylo popsáno velké množství derivátů kurkuminu, přesto v této problematice zůstává mnoho oblastí, které nebyly doposud prozkoumány.

V teoretické části jsem se věnoval biologickým vlastnostem, možnostem přípravy kurkuminu a jeho derivátů substituovaných na aromatickém kruhu a dále jeho kondenzačním reakcím vedoucím k heterocyklickým sloučeninám.

Provedl jsem literární rešerši se zaměřením na přípravu kurkuminu a jeho derivátů, jejich vlastností, využití a na syntézu některých výchozích sloučenin pro přípravu látek vedoucích ke kurkuminům.

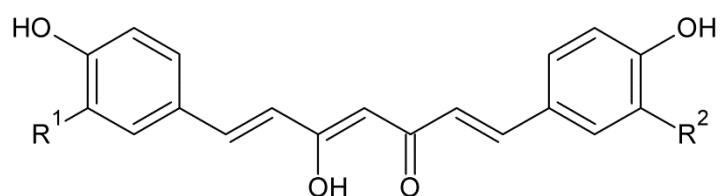
V rámci experimentální části jsem se věnoval syntéze výchozích látek používaných pro přípravu kurkuminů, samotných kurkuminů a jeho derivátů.

## 3. Teoretická část

### 3.1. Kurkumin a jeho základní deriváty

#### 3.1.1. Fyzikální vlastnosti

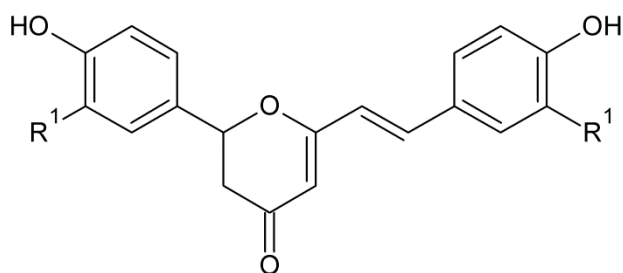
Mezi základní čtyři kurkuminoidy patří kurkumin (**1**), chemicky (*E,E*)-1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion), bisdesmethoxykurkumin (**2**), (*1E,4Z,6E*)-5-hydroxy-1,7-bis(4-hydroxyfenyl)hepta-1,4,6-trien-3-on a desmethoxykurkumin (**3**), (*1E,4Z,6E*)-5-hydroxy-7-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-1-(4-hydroxyfenyl)hepta-1,4,6-trien-3-on, látky nenasycených  $\beta$ -diketonů odvozených od kyseliny vanilinové, chemicky (kyseliny 4-hydroxy-3-methoxybenzoové). Další, méně známý kurkuminoid vyskytující se především v oddencích kurkumy (*Curcuma longa*) je cyclocurcumin<sup>5</sup> (**4**) viz Schéma 1. Tento derivát nevykazuje žádnou výraznější biologickou aktivitu. Komerčně dostupný extrakt z kurkumi obsahuje pouze první tři deriváty v následujícím zastoupení: 77% kurkumin, 17% desmethoxykurkumin a 3% bisdesmethoxykurkumin.<sup>6</sup>



Curcumin (1);  $R^1 = \text{OMe}$ ,  $R^2 = \text{OMe}$

Bismethoxycurcumin (2);  $R^1 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{H}$

Desmethoxycurcumin (3);  $R^1 = \text{OMe}$ ,  $R^2 = \text{H}$



Cyclocurcumin (4);  $R^1 = \text{OMe}$

Schéma 1

Kurkuminoidy se vyskytují v enol-keto tautomerii, jak je vidět ve schématu 2.<sup>7</sup>

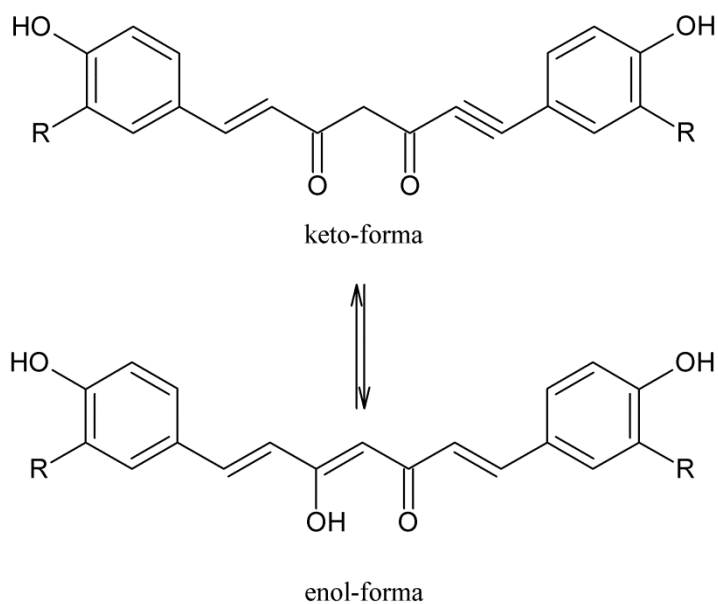


Schéma 2

Kurkumin  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$  je zářivý, žlutý až oranžový prášek s bodem tání  $183\text{ }^\circ\text{C}$  a molární hmotností  $368,38\text{ g mol}^{-1}$ .

Kurkuminy jsou téměř nerozpustné ve vodném prostředí, v organických rozpouštědlech se rozpouští dobře. Kurkuminoidy jsou relativně stabilní v kyselém prostředí, zatímco v neutrálním a zásaditém prostředí dochází ke štěpení molekuly na kyselinu ferulovou (**6**) a (3*E*)-4-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)but-3-en-2-on (**5**), který se dále může rozpadat až na vanilin (**7**) a aceton (**8**) viz schéma 3.<sup>8</sup>

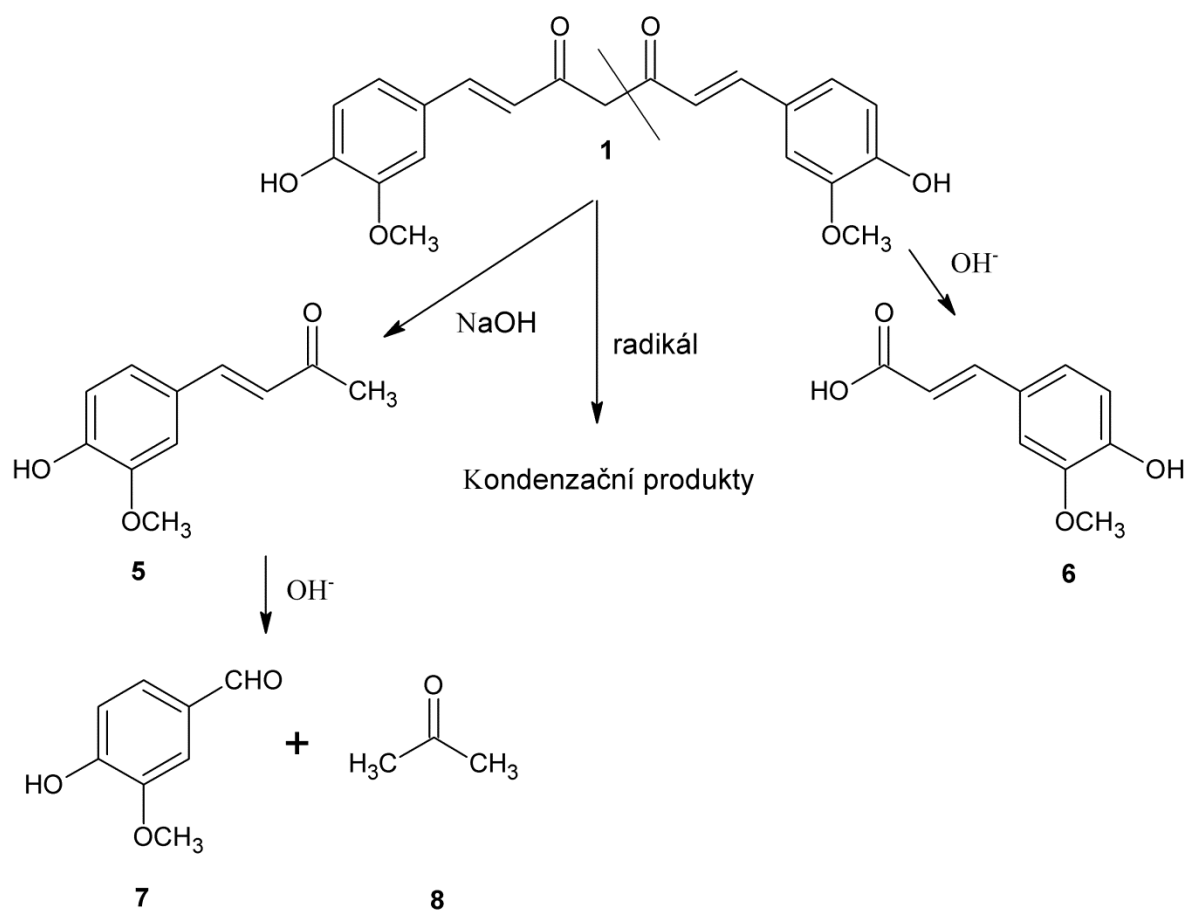


Schéma 3

### 3.1.2. Biologické vlastnosti

V přírodě se tyto základní kurkuminy nacházejí spolu s ostatními kurkuminoidy v mnoha rostlinách rodu kurkuma, především v oddencích rostliny *Curcuma longa*, která obsahuje 3-5% kurkuminoidů. Tato rostlina má několik českých ekvivalentů, například

Indický Šafrán, Žlutý kořen nebo Žlutý zázvor. Oddenky těchto rostlin se používají k výrobě po celém světě oblíbeného koření - Curry koření.

V asijské medicíně začalo toto indické koření nacházet široké uplatnění již před 4 000 lety. Postupem času se začalo používat například ke snižování krevního tlaku, proti bolesti břicha a zubů, proti kašli, rýmě nebo alergii, také k léčbě nemocí spojených se žlučovými cestami a játry. Neméně používané bylo k léčbě zánětů, hojení ran, ke zmenšování jizev a k léčbě mnoha dalších zdravotních potíží<sup>9,10</sup>. Toto četné využití vedlo k současnému velkému zájmu o studium těchto látek.

Dnes je již známé, že kurkuminoidy vykazují bohatou biologickou aktivitu, např. antioxidační<sup>11,12,13</sup>, antimikrobiální<sup>14</sup>, antidiabetickou<sup>15</sup> protizánětlivou<sup>16</sup>, neuroprotektivní<sup>17,18</sup>, antimutagení<sup>19</sup>, antikarcinogenní<sup>20,21</sup>, antiretrovirální<sup>22</sup>, chemopreventivní<sup>23</sup>, antiproliferační<sup>24</sup> a antiangiogenní aktivitu<sup>25</sup>, aniž by se projevovala jakákoliv jejich toxicita<sup>26</sup>.

Mimo jiné jsou kurkuminoidy také inhibitory fibrinogeneze<sup>27</sup> a silnými blokátory TGF- $\beta$  signálních drah, což vysvětluje jejich pozitivní účinky při léčbě některých nemocí, např. fibrózy ledvin a plic, Crohnově nemoci či cirhózy jater.

Tato inhibice může mít pozitivní účinky na organismus. Kurkumin se v těle váže hydrofobními vazbami na albumin, díky kterému může být transportován do vhodných cílových buněk, a vyvolávat terapeutické účinky, například potlačovat nádorové bujení<sup>28</sup>. Tyto sloučeniny také napomáhají biodostupnosti vitaminů, jako je například vitamin E nebo snižují hladinu cholesterolu. Hlavní překážkou v klinických studiích je nízká biologická dostupnost kurkuminu a jeho derivátů, vzhledem k jejich nestabilitě v biologickém prostředí a nedostatečné absorpci. K vyvolání terapeutických účinků je nutné podávání vysokých dávek<sup>29</sup>. Kurkuminoidy se v těle metabolizují redukcí dvojných vazeb do různých stupňů nasycenosti a to od dihydrokurkuminu (**9**) až po hexahydrokurkumin (**10**) viz Schéma 4<sup>30</sup>.

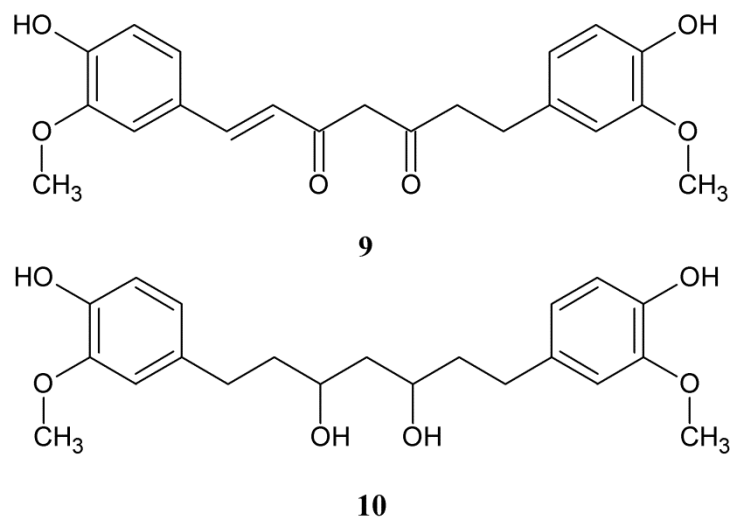


Schéma 4

### 3.1.3. Příprava kurkuminů

Kurkuminy se nejčastěji připravují kondenzačními reakcemi dvou molekul vanilinu (3-methoxy-4-hydroxybenzaldehydu) s acetylacetonem především za katalýzy různých sloučenin boru.

### 2.1.3.1 Kondenzační reakce za přítomnosti oxidu boritého

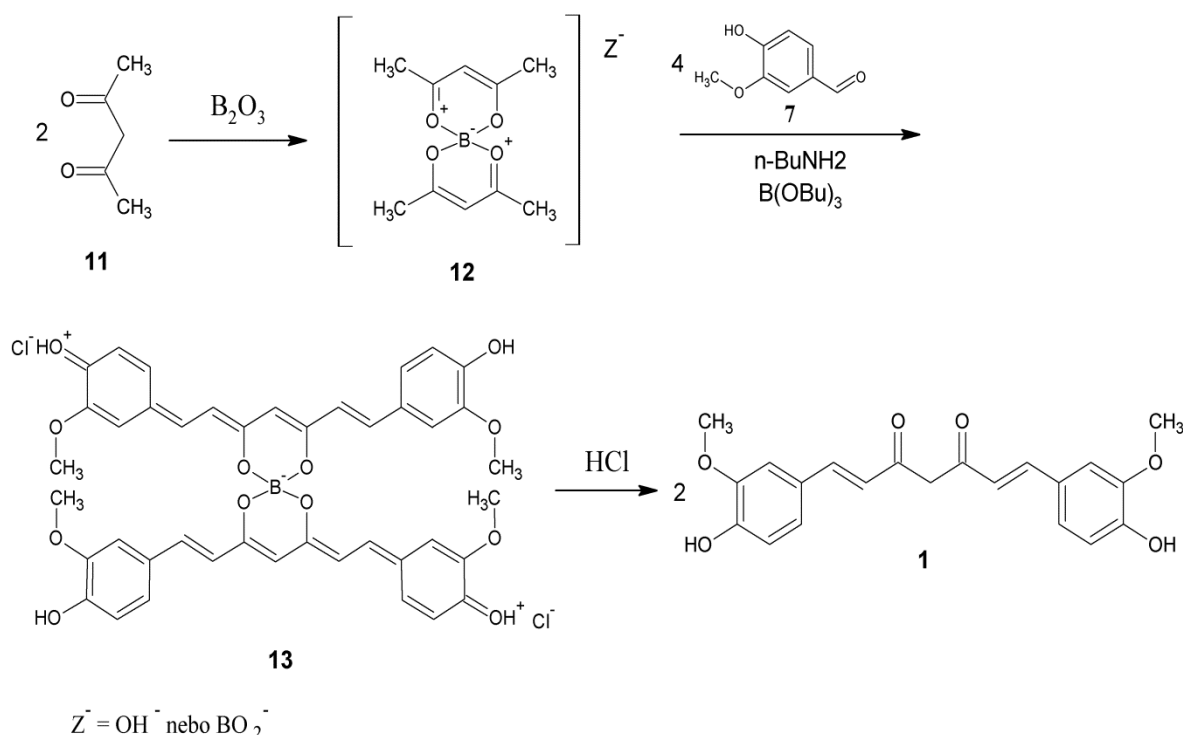


Schéma 5

Jednou z nejvyužívanějších možností přípravy derivátů kurkuminu je tzv. Pabonova metoda<sup>16</sup> (Schéma 5), kde acetylaceton (11) vytváří s oxidem boritým komplex (12), který dvojitou aldolovou kondenzací s dvěma molekulami vanilinu (7) poskytuje kurkumin (1). Reakce probíhá v ethylacetátu za katalýzy tributylborátu, který zvyšuje reakční rychlost zesílením parciálního kladného náboje na karbonylovém kyslíku vanilinu a současně působí jako dehydratační činidlo. Komplex (13) se poté rozkládá zředěnými kyselinami, např. s kyselinou chlorovodíkovou. Potlačením vedlejší reakce, tzv. Knoevenagelovy kondenzace na C-3 methylenové skupině acetylacetonu, poskytuje tato metoda vysoké výtěžky, okolo 80 %.

Pokud reakce neprobíhá Pabonovou metodou – tzn., pokud se výchozí látky smíchají v jiném pořadí a nedojde na počátku reakce k tvorbě komplexu (12), výtěžky se výrazně sníží, mnohdy i pod 60 %<sup>31</sup>. Tato situace nastane, když se acetylaceton



rozpuštěný v ethylacetátu přidá ke směsi vanilinu, butylaminu, oxidu boritého a tributyl borátu.

Další sloučenina boru, která nachází využití při syntézách kurkuminu je kyselina boritá. Reakce provedená v mikrovlnném reaktoru v *N,N*-dimethylformamidu podle Schématu 6 je rychlá, výtěžky se pohybují okolo 70 %<sup>32</sup>.

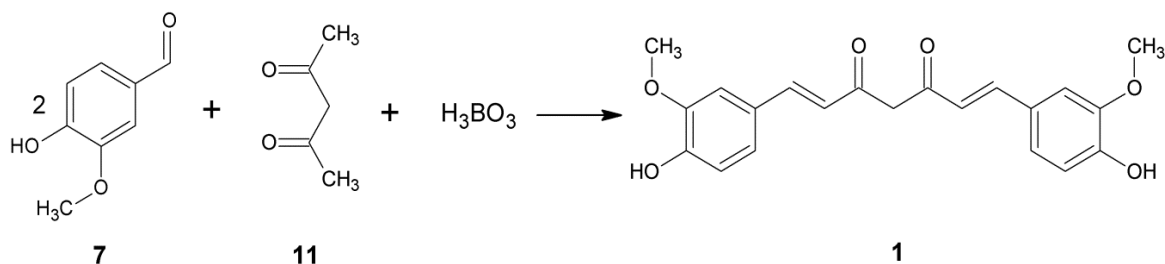


Schéma 6

V případě oddestilování reakční vody ve směsi *m*-xylynu a 2-methoxyethylaminu při teplotě 59 až 62 °C nebo ve směsi *m*-xylynu s *N,N*-dimethylaminem při teplotě 79 až 82 °C bylo dosahováno nejvyšších výtěžků (68 až 71 %) a to při molárním poměru vanilinu a kyseliny borité 1 : 1<sup>33</sup>.

## 3.2. Deriváty kurkuminu

Deriváty kurkuminu můžeme rozdělit podle různých kritérií, ale nejčastěji se dělí podle vazebného místa, na kterém jsou substituovány.

### 3.2.1. Deriváty kurkuminu substituované na aromatickém kruhu

Použití přirozeně se vyskytujících kurkuminů v lékařství je limitované. Tyto látky jsou málo stabilní a vykazují nízkou biologickou dostupnost. Z tohoto důvodu je nutné tyto nežádoucí vlastnosti kurkuminů eliminovat tvorbou tzv. proléčiv. Proléčiva jsou sloučeniny, které se v organismu odbourávají a účinnými látkami jsou až jejich metabolity.

Takové sloučeniny je možné připravit např. substitucí fenolové skupiny s endogenními molekulami (aminokyselinami, kyselinou octovou, kyselinou jantarovou, glukózou nebo nukleovými kyselinami). Např. sukcinylace pomocí ethyl-4-chlor-4-oxobutyrátu (**14**) v dichlormethanu za vzniku esteru (**15**) je popsána ve Schématu 7 <sup>29</sup>.

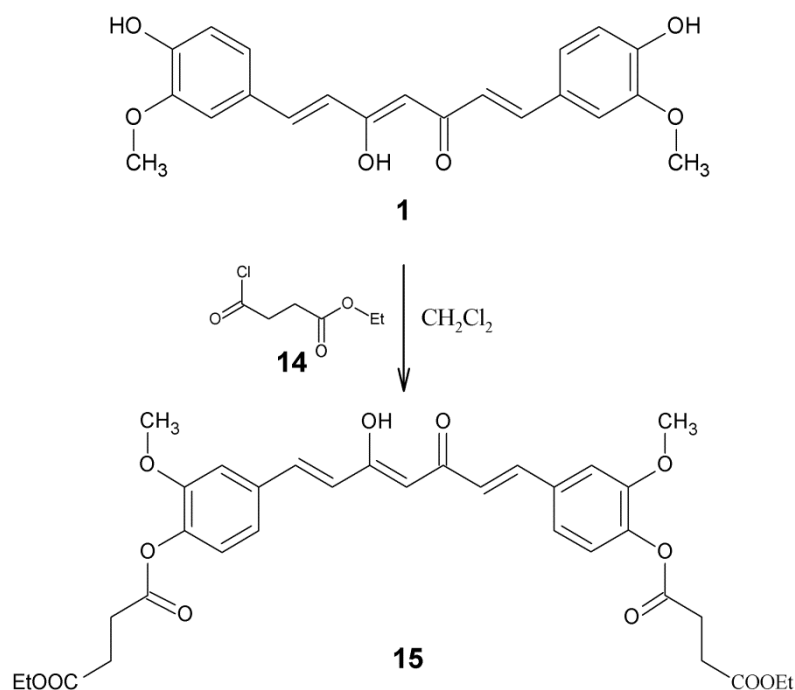
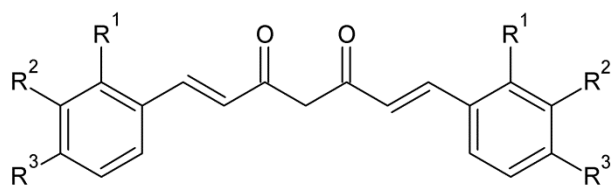


Schéma 7

Pabonovou metodou připravené deriváty kurkuminu (**16-20**), patří do skupiny inhibitorů enzymu cyklooxygenázy (COX-1). Tento enzym řídí metabolismus prostaglandinů, které hrají důležitou roli při zánětu a karcinogenezi<sup>34</sup>. Tuto biologickou aktivitu vykazovaly nejvíce látky (1*E*,6*E*)-1,7-di-(2,3,4-trimethoxyfenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion (**19**) a (1*E*,6*E*)-methyl-4-[7-(4-methoxy-karbonyl)fenyl]-3,5-dioxo-1,6-heptadienyl]benzoát (**20**) (Schéma 8).



Sloučenina	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	Sloučenina	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
16	-H	-F	-F	21	-H	-H	-OH
17	-H	-H	-SCH <sub>3</sub>	22	-Cl	-H	-H
18	-H	-H	-SO <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	23	-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	-H	-H
19	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	-OCH <sub>3</sub>	24	-CH <sub>3</sub>	-H	-H
20	-H	-H	-COOCH <sub>3</sub>	25	-H	-OH	-H
				26	-OH	-H	-H

Schéma 8

Antidiabetické účinky vyšší než kurkumin (**1**) a srovnatelné s glibenklamidem ((5-chlor-*N*-(4-[*N*-(cyclohexylcarbonyl)sulfamoyl]fenethyl)-2-methoxybenzamidem – Schéma 9)) (**27**), lékem používaným při onemocnění diabetes mellitus, byly prokázány u derivátů **21–26** viz Schéma 8. Tyto deriváty byly připraveny Pabonovou metodou, případně v mikrovlnném reaktoru<sup>15</sup>.

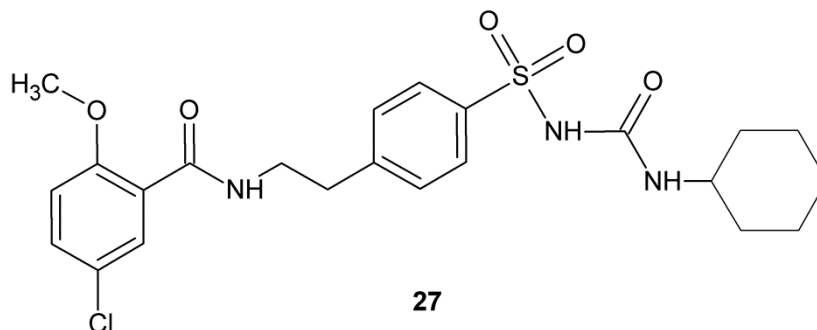


Schéma 9

Syntézou derivátů kurkuminu (**28-31**), ve kterých byla fenolová skupina obklopena alkylovými substituenty rozvětvenými na  $\alpha$ - nebo  $\beta$ -uhlíku, byly připraveny látky, které našly uplatnění v léčbě cystické fibrózy<sup>35</sup>. Tyto sloučeniny se ukázaly být velmi aktivními při opravách chyb CFTR transportu.

Dále bylo zjištěno, že ze studovaných sloučenin jsou nejúčinnější ty, které obsahují identické alkyly v polohách R<sup>2</sup> a R<sup>4</sup> (isopropyl **28**, isooktyl **29**, 2-methylpropyl **30** a 2-ethylhexyl **31**), jak je patrné ze Schématu 10.

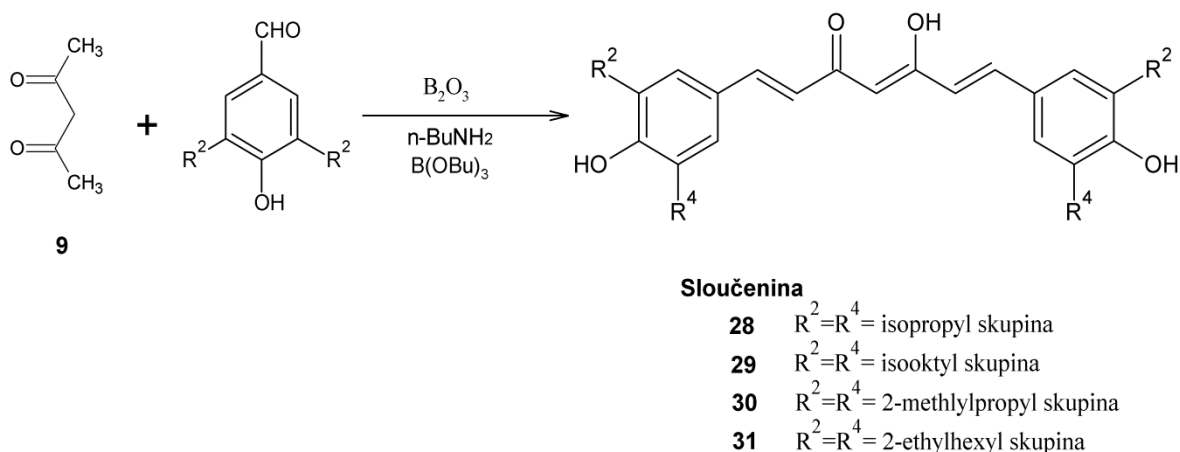


Schéma 10

Další práce<sup>16</sup> popisuje, že zásadní pro protizánětlivé účinky těchto sloučenin není pouze přítomnost para orientovaných hydroxylových skupin na aromatických kruzích a přítomnost alkylových skupin v obou polohách meta, ale také fakt, že čím jsou alkylové řetězce v polohách -3,5 delší a objemnější, tím nižší inhibiční aktivitu COX-1 kurkuminoidy mají.

### 3.2.2. Deriváty kurkuminu substituované na $\alpha$ -uhlíku halogenem

Centrální  $\beta$ -dikarbonylová část skeletu molekuly kurkuminu je zodpovědná za keto-enol tautomerii. Předpokládá se, že stabilita a biologická dostupnost kurkuminů závisí právě na tom, jestli je C-4 uhlík mono- nebo di- substituovaný<sup>36,37</sup>.

Fluorací dimethoxykurkuminu (**32**) pomocí SelectFluoru, chemicky 1-chloromethyl-4-fluoro-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan bis(tetrafluoroborátu) v DMF byl připraven monofluorderivát (**33**) s nízkým výtěžkem 7 %. V přítomnosti hydridu sodného

bylo dosaženo vyššího výtěžku (31 %), ale jako hlavní produkt vznikl difluoroderivát (**34**) viz Schéma 11 <sup>38</sup>.

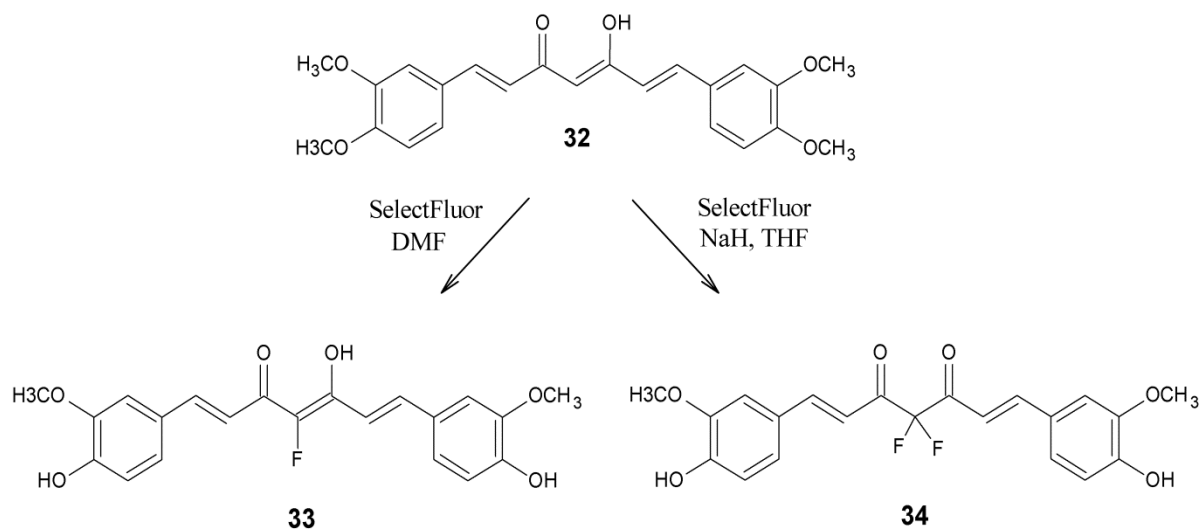


Schéma 11

### 3.2.3. Deriváty kurkuminu substituované na $\alpha$ -uhlíku alkylem

Další zajímavé deriváty, které snižují karcinogenní potenciál nádorových buněk<sup>36</sup>, jsou 4-arylidenkurkuminy (4-aryliden-1,7-bisarylhepta-1,6-dien-3,5-diony) (**37,38**), které byly syntetizovány Pabonovou kondenzací různých aromatických a heterocyklických aldehydů (**35**) v přítomnosti piperidinu jako katalyzátoru. Reakce probíhala při teplotě 140 °C a výtěžky se pohybovaly v širokém rozmezí 35- 85 % (Schéma 12).

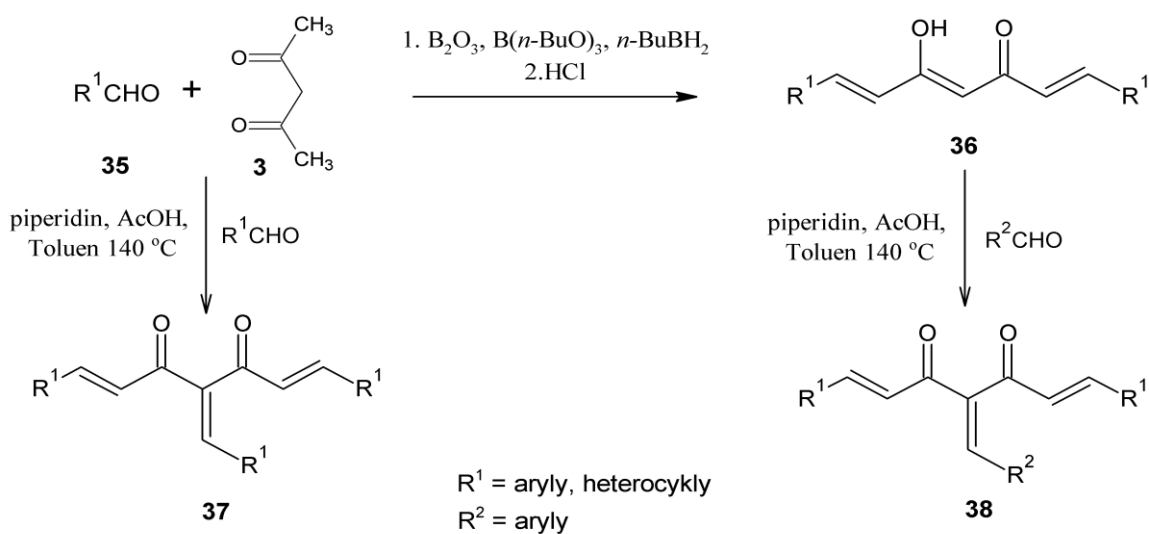


Schéma 12

Jiné deriváty (**40**), jsou běžně připravované Pabonovou metodou reakcí 3-substituovaného 2,4-pentandionu (**39**) a aromatického aldehydu, jak je zřejmé ze Schématu 13<sup>38</sup>. Výtěžky se pohybují v rozmezí 28-48 %.

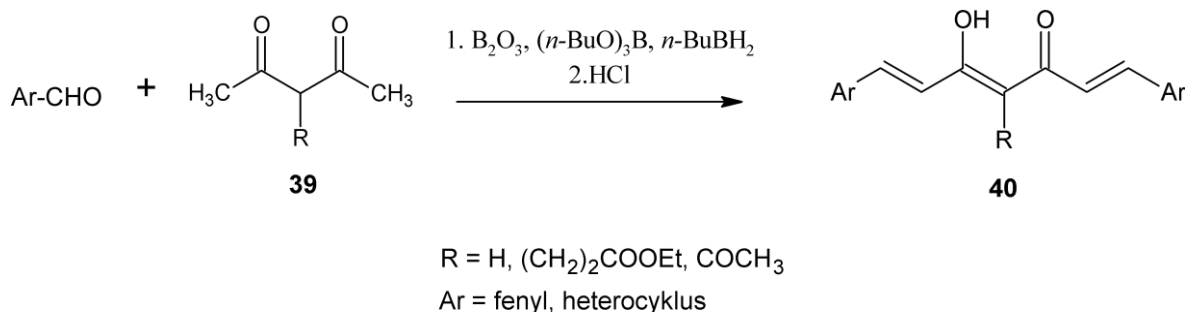


Schéma 13

#### 3.2.4. Deriváty kurkuminu substituované na $\alpha$ -uhlíku cyklem

Dalším typem sloučenin odvozených od kurkuminu jsou jeho cyklické deriváty substituované na C-3 methylenovém uhlíku.

Reakcí dihalogenalkanů (1,4-dibromobutanu nebo 1,5-dibrompentanu) s deriváty kurkuminů (**41**) v alkoholech se připravují látky odvozené od 1,1-bis(cinnamoyl)cyklopentanů (**42**) a 1,1-bis(cinnamoyl)cyklohexanů (**43**). Reakce probíhá za bazické katalýzy alkoholátem sodným, jak je vidět ve Schématu 14<sup>39</sup>.

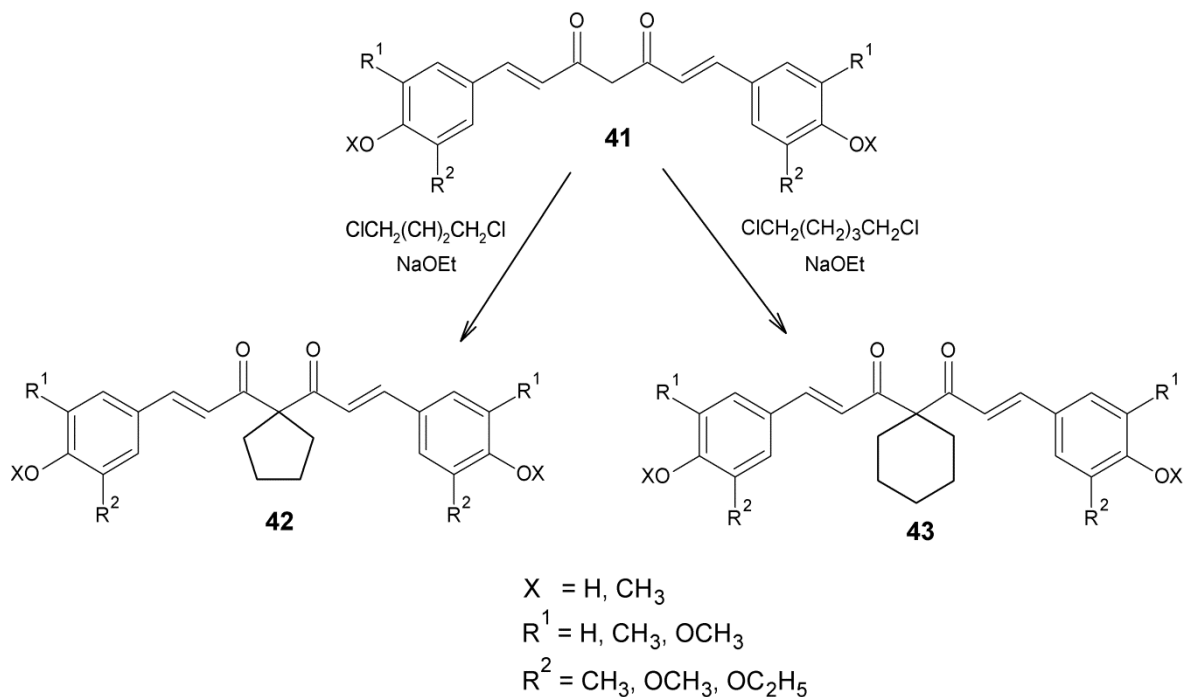


Schéma 14

Jiné kurkuminy (**46**) byly izolovány po kondenzaci aromatických aldehydů (**45**) s cyklickými  $\beta$ -diketony (**44**) v přítomnosti jedno molárního ekvivalentu oxidu boritého a katalytického množství morfolinu a kyseliny octové (Schéma 15). Výtěžky se pohybovaly v rozmezí 40-65 %, v případně použití mikrovlnného reaktoru byly výtěžky až 92 %<sup>40</sup>. Výhodou zde popsaných sloučenin je jejich vyšší nukleofilita a biologická dostupnost. Nevýhodou těchto sloučenin je poměrně malá stabilita ve vodném prostředí, která je dána náchylností ke štěpení cyklického skeletu molekuly.

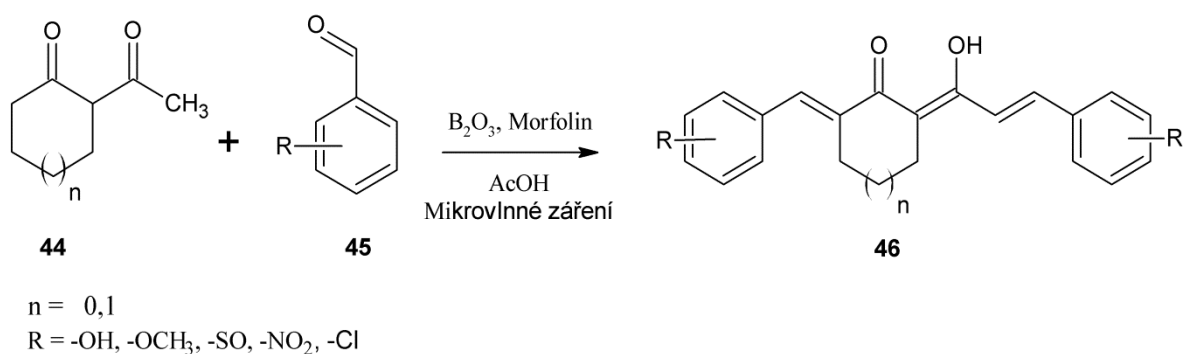
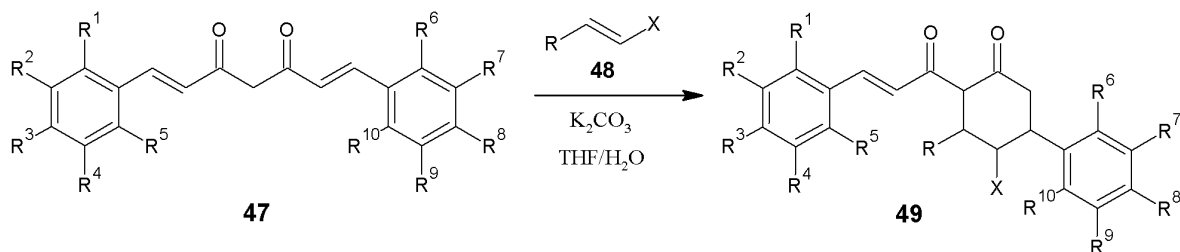


Schéma 15

Ve Schématu 16 je znázorněna dvojitá Michaelova adice sloučenin (**48**) na kurkumin (**47**). Při reakci byl jako báze použit uhličitán draselný. Touto metodou byly připraveny deriváty (**49**), které se testují jako inhibitory COX-2<sup>41</sup>.



X = -COR, -COOR, -CN, -NO<sub>2</sub>, -SOOR  
R = aryl, alken, heterocyklyl nebo heteroaryl  
R<sup>1</sup>-R<sup>10</sup> = H, -OR, nebo OH

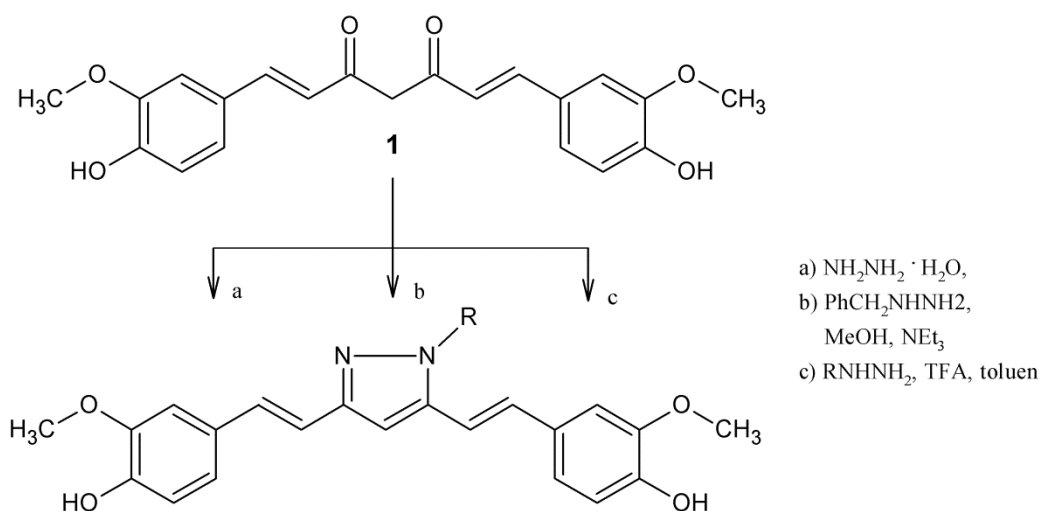
Schéma 16

### 3.2.5. Heterocyklické deriváty kurkuminu

Pyrazolové (**50 - 58**) a isoxazolové (**59 - 61**) analogy kurkuminu byly připraveny z důvodu studia jejich biologických vlastností. Předpoklad, že jsou léčebné účinky těchto derivátů založeny na akceptorních vlastnostech  $\alpha,\beta$ -nenasyceného 1,3-diketonového skeletu molekuly, který je typický pro strukturu kurkuminu, byl chybný. Připravené pyrazolové a isoxazolové deriváty, které jsou elektronově velmi bohaté, neměly zvýšenou biologickou aktivitu ve srovnání s nesubstituovanými kurkuminoidy<sup>39</sup>.

Pyrazolové deriváty (**50 - 58**) byly získány kondenzačními reakcemi karbonylových skupin kurkuminu (**1**) s hydrazinem a jeho deriváty. Sloučenina (**50**) vznikala metodou (**a**) v prostředí kyseliny octové při teplotě 25 °C s výtěžkem 65 %. *N*-benzyl pyrazolový derivát (**51**) byl syntetizován metodou (**b**) v methanolu z benzyl-hydrazinu dihydrochloridu v přítomnosti triethylaminu jako báze taktéž při 25 °C s výtěžkem 75 %. Kurkumin (**1**) byl dále převeden na deriváty (**52 - 58**) reakcemi s odpovídajícími hydraziny metodou (**c**) prováděnou za katalýzy kyseliny trifluoroctové v toluenu, kdy bylo dosaženo různých výtěžků, pohybujících se od 35 do 68 % viz Schéma 17<sup>42</sup>.





Sloučenina	R	Sloučenina	R
<b>50</b>	H	<b>55</b>	toluyl
<b>51</b>	benzyl	<b>56</b>	4-isopropylfenyl
<b>52</b>	fenyl	<b>57</b>	4-fluorofenyl
<b>53</b>	4-nitrofenyl	<b>58</b>	4-fluoromethylfenyl
<b>54</b>	4-chloropyrimidinyl		

Schéma 17

Isoxazolové deriváty (**59** - **61**) byly získány obdobným způsobem, reakcí kurkuminu (**1**) s hydroxylaminem hydrochloridem za bazické katalýzy pyridinem v ethanolu. Následnou alkylací hydroxy skupiny isoxazolu (**59**) 2-chloro-terc-butyl-acetátem v přítomnosti uhličitanu draselného byly připraveny di-alkylované sloučeniny (**60**), které po kyselé hydrolyze zředěnou kyselinou trifluoroctovou poskytly kyselinu (**61**) viz Schéma 18.

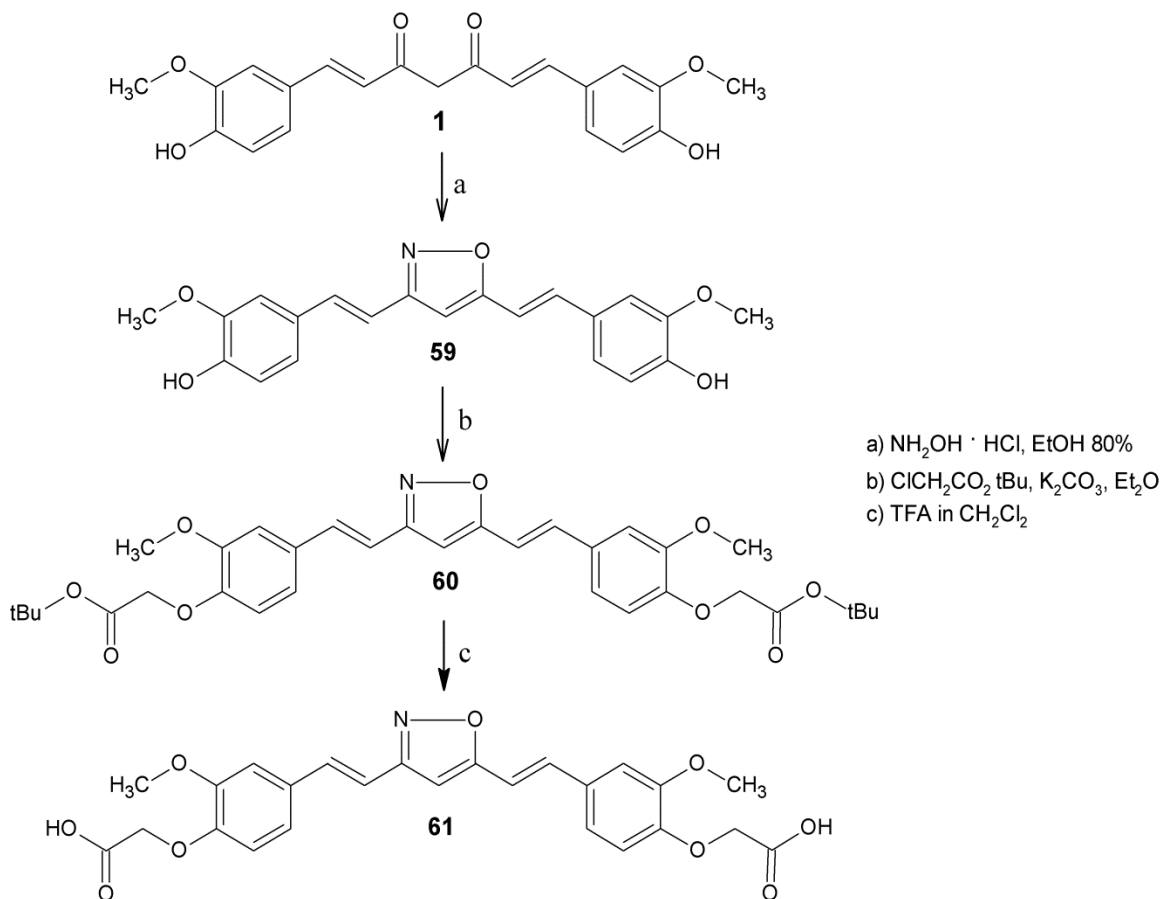
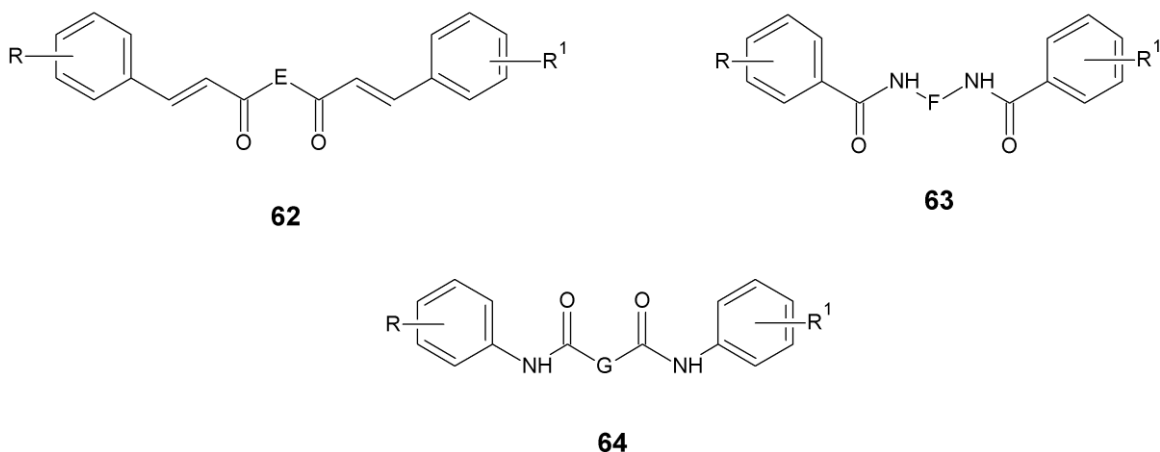


Schéma 18

Pyrazolové i isoxazolové deriváty kurkuminu se testují jako potenciální léčiva proti Alzheimerově chorobě<sup>42</sup>.

### 3.2.6. Další deriváty kurkuminu

Francouzští autoři<sup>43</sup> popsali novou řadu bromovaných kurkuminoidů (**62**, **63**, **64**) viz Schéma 19, kde jsou fenylové zbytky spojené pomocí různých lineárních řetězců E až G. Všechny tyto látky vykazovaly vysokou účinnost na inhibici proteinů histon lysin methyltransferáz (HKMTs) katalyzujících metylaci lysinových zbytků a proteinů arginin methyltransferáz (PRMTs) katalyzující metylaci argininových zbytků DNA. Methylace hrají významnou roli v nekontrolovatelném dělení buněk a v konečném důsledku vedou k tvorbě nádorů.



- |           |  |   |
|-----------|--|---|
| <b>62</b> | $R, R^1 = 3\text{-Br-4-OH}, 3,5\text{-Br}$ | $E = \text{CH}_2, \text{C}(\text{CH}_3)_2, 1,3\text{-Ph}, 1,4\text{-Ph},$             |
| <b>63</b> | $R, R^1 = 3,5\text{-Br-4-OH}$              | $F = (\text{CH}_2)_2, (\text{CH}_2)_3, (\text{CH}_2)_4, 1,3\text{-Ph}, 1,4\text{-Ph}$ |
| <b>64</b> | $R, R^1 = 3,5\text{-Br-4-OH}$              | $G = \text{CH}_2, (\text{CH}_2)_2, (\text{CH}_2)_3, 1,3\text{-Ph}, 1,4\text{-Ph}$     |

Schéma 19

Deriváty (**62**) byly připraveny kondenzací diketonů (**66**) s příslušnými benzaldehydy (**65**), jejichž hydroxylová skupina byla ochráněna pomocí methoxymethylchloridu.

Reakce probíhala v přítomnosti hydroxidu barnatého. Po hydrolýze chránící skupiny u látky (**67**) kyselinou chlorovodíkovou byla izolována sloučenina (**62**) viz Schéma 20.

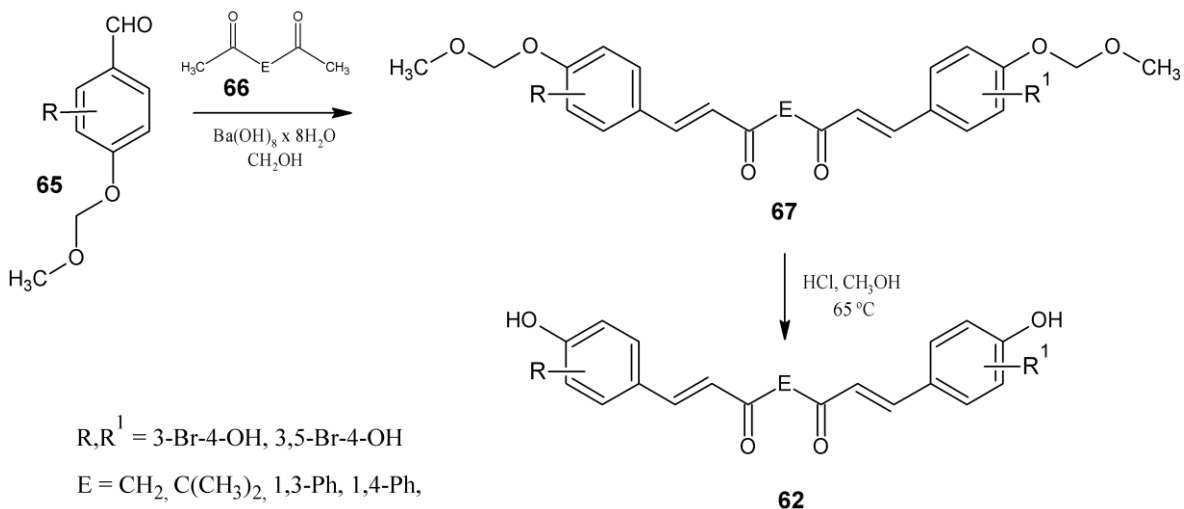
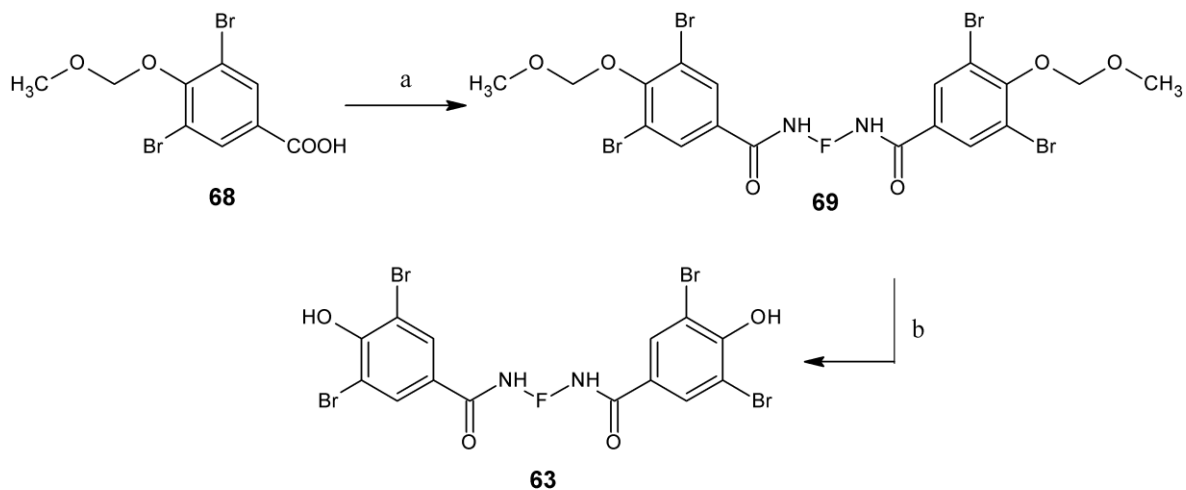


Schéma 20

Benzamidy (**63**) byly připraveny reakcí 3,5-dibrom-4-hydroxybenzoové kyseliny (**68**), jejíž hydroxyskupiny byly ochráněny methoxymethyletherovou skupinou s chlormravenčanem ethylnatým v přítomnosti triethylaminu jako báze. Reakce poskytla směsné anhydridy, které po přidání alkylendiaminu v tetrahydrofuranu odreagovaly na příslušné benzamidy (**69**). Po odstranění chránicí skupiny kyselou hydrolyzou byly připraveny sloučeniny (**63**). (Schéma 21)



F = (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>, 1,3-Ph, 1,4-Ph

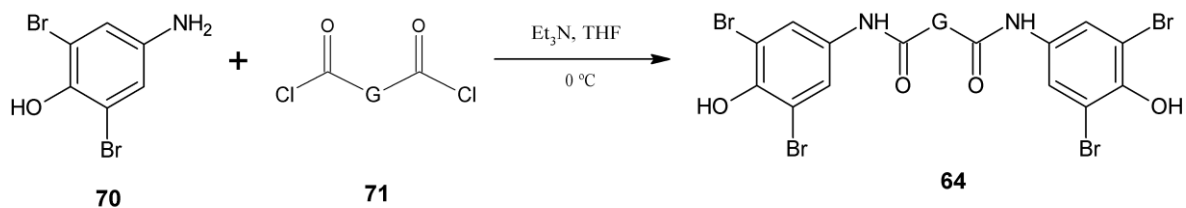
a = 1) Et<sub>3</sub>N, ClCOOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, THF, 0 °C

2) alkylendiamin, THF, 0 °C

b = HCl, CH<sub>3</sub>OH, 65 °C

Schéma 21

Bis anilidy (**64**) byly připraveny reakcí diacyldichloridů (**71**) s 4-amino-2,6-dibromfenolem (**70**) v přítomnosti triethylaminu jako báze. (Schéma 22)



G = CH<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>, 1,3-Ph, 1,4-Ph

Schéma 22

4-Arylazoderiváty (**72-76**) jsou významnými prekurzory při syntézách pokročilejších derivátů kurkuminu. Příprava vycházela z příslušných anilinů, které po převedení na diazoniovou sůl poskytla reakcí s kurkuminem (**1**) žádané intermediáty (**72 - 76**) viz Schéma 23. Tento typ sloučenin obsahuje několik reakčních center, na kterých může docházet k četným reakcím.

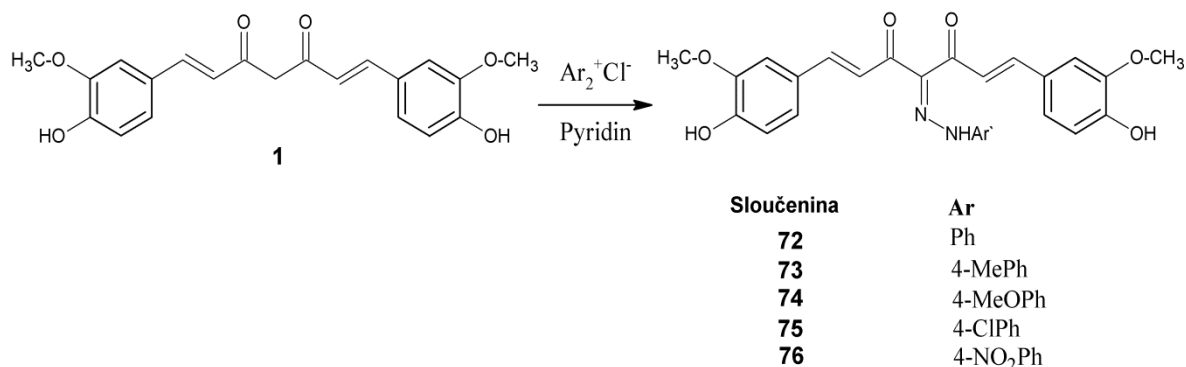


Schéma 23

Bromací v ledové kyselině octové vzniká dibromderivát (**77**), chemicky 6,7-dibrom-1,7-bis-[3-(4-nitrofenylazo)-4-hydroxy-5-methoxy]hepta-1-en-3,5-dion.

Kondenzací s thioamocovinou za katalýzy ethanolátem sodným vzniká při poměru reaktantů 1 : 2 pyrimidinový derivát (**79**), chemicky (1*Z*,3*E*)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-fenyl)-1-[6-(4-hydroxy-3-methoxy-fenyl)-2-thioxo-2,3,4,5-tetrahydro-pyrimidin-4-yl]-1-[2-(4-nitrofenyl)hydrazono]-but-3-en-2-on nebo v případě poměru 1 : 1 derivát (**78**), chemicky (*Z*)-4-(4-hydroxy-3-methoxy-fenyl)-6-[[6-(4-hydroxy-3-methoxy-fenyl)-2-thioxo-1,2,5,6-tetrahydro-pyrimidin-4-yl](2-(4-nitrofenyl)hydrazono)methyl]-5,6-dihydropyrimidin-2(1*H*)-thion. S hydroxylaminem hydrochloridem pak tvoří isoxazoly (**80**) a s hydraziny pyrazoly (**81**). Popsané výtěžky se pohybují v rozmezí 35 – 65 % viz Schéma 24 <sup>44</sup>.

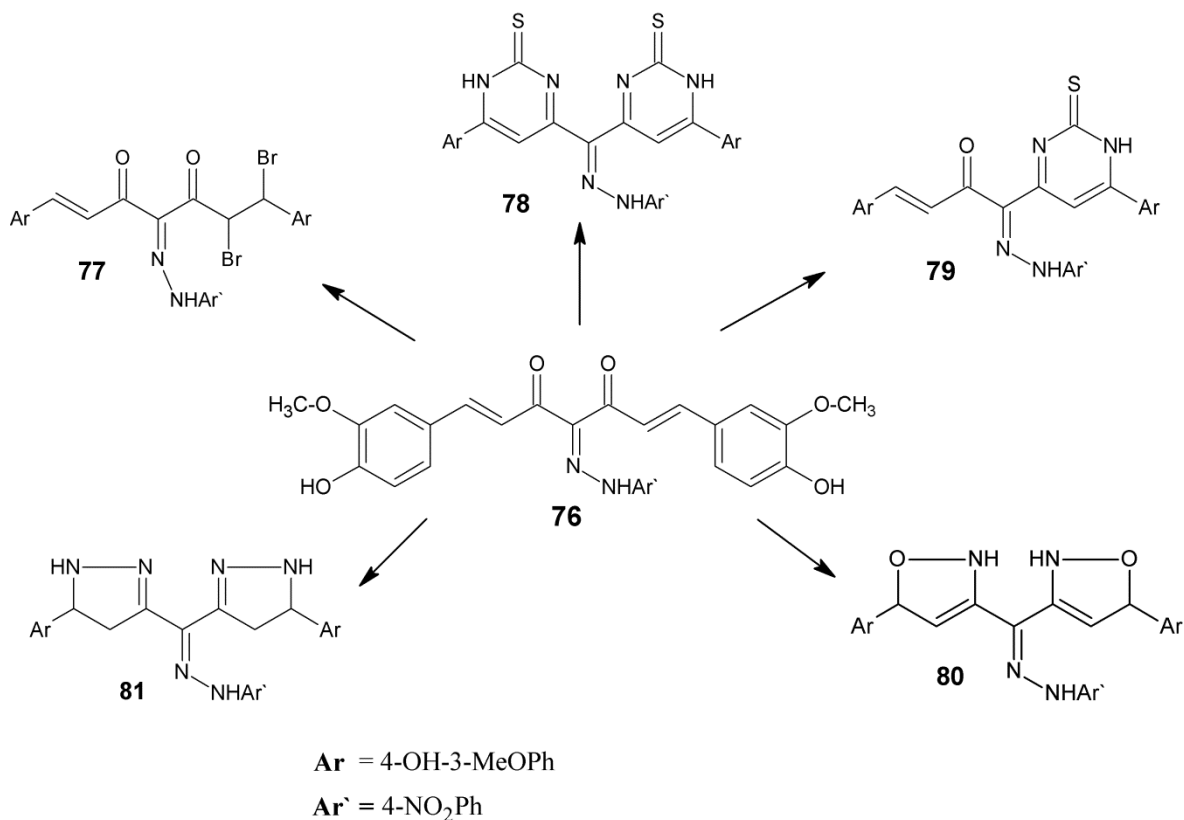


Schéma 24

Podobný typ reakce, dvojitá Michaelova adice, byl využit u syntéz 2-imino-1,3-thiazinových (**85**) a pyrimidin-2-thionových (**84**) derivátů kurkumou (**36**). Kurkumin podléhá v kyselém prostředí nukleofilnímu ataku síry thiomocoviny (**82**) a pomocí dehydratace cyklizuje na nenasycený 5,6-dihydro-2-imino-1,3-thiazin (**83**), který je hlavním produktem reakce a 4,6-divinylpyrimidin-2-thion (**84**), který vzniká jako vedlejší produkt. 5,6-Dihydro-2 -imino-1,3-thiazin (**83**) se dále může oxidovat na (**85**). Přesmyku na 4,6-divinylpyrimidin-2-thion (**84**) podléhá připravený 5,6-dihydro-2-imino-1,3-thiazin (**83**) v přítomnosti uhličitanu sodného viz Schéma 25.

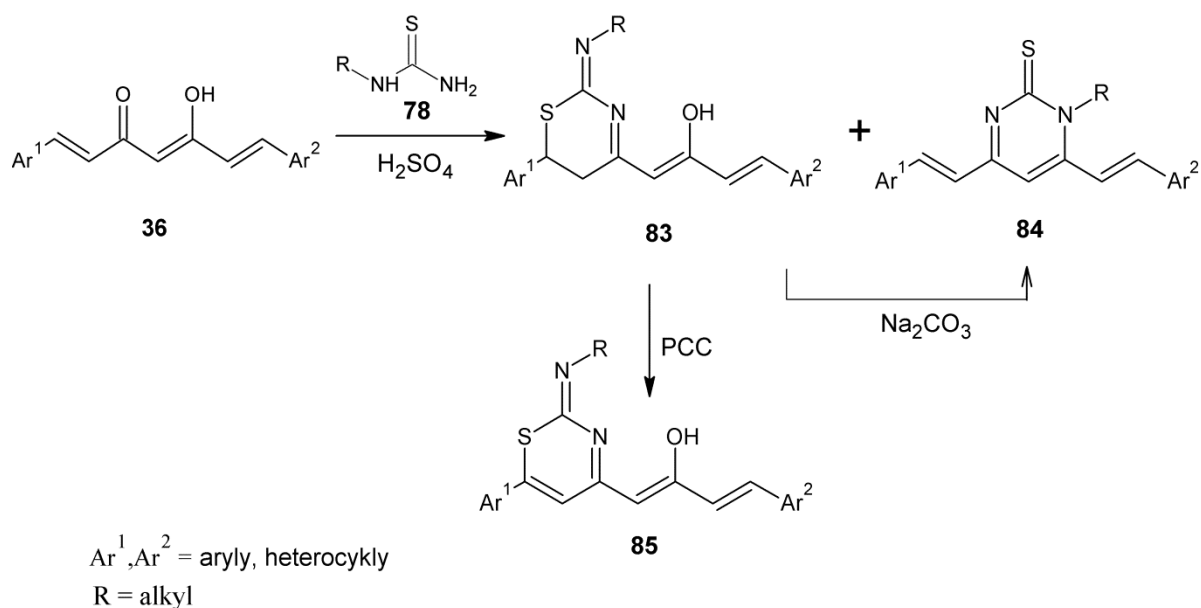


Schéma 25

Kurkumin (**36**) v alkalickém prostředí reaguje s isothiokyanáty (**86**) na příslušné 2,3-dihydro-4*H*-thiopyran-4-ony (**87**), které dvojitou Michaelovou adicí cyklizují na 2,3,6,7-tetrahydro-thiopyrano[2,3-*b*]pyridin-4,5-diony (**88**). Tyto sloučeniny je možné oxidovat pomocí PCC (pyridinium-chlorochromát), a to buď parciálně na 6,7-dihydro-thiopyrano[2,3-*b*]pyridin-4,5-diony (**89**) nebo zcela až na thiopyrano[2,3-*b*]pyridin-4,5-diony (**90**), a to v závislosti na množství použitého oxidačního činidla (Schéma 26)<sup>45</sup>.

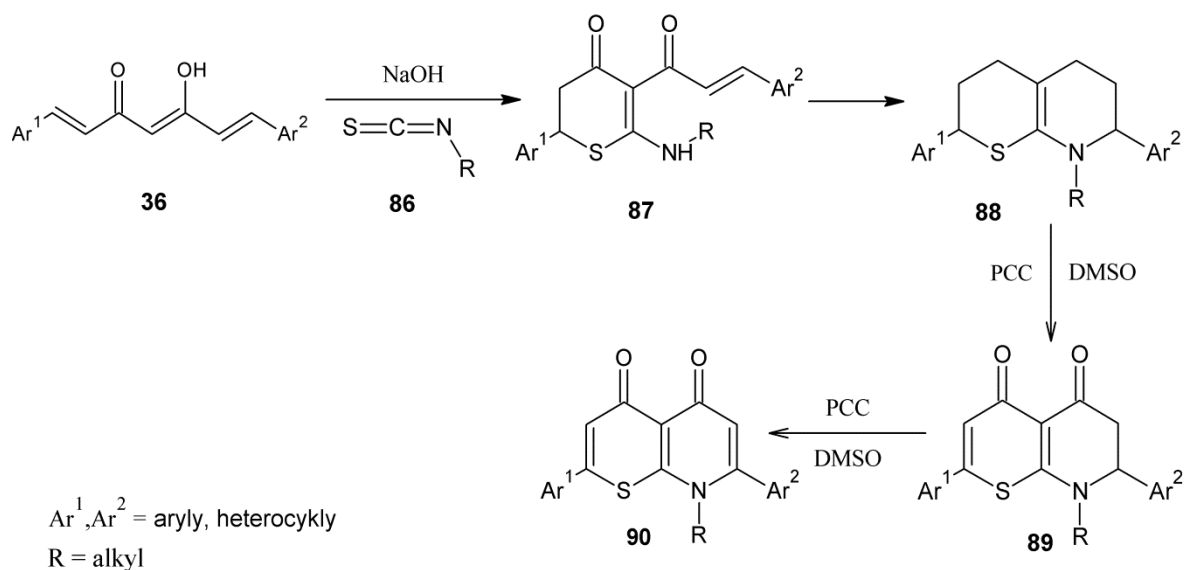
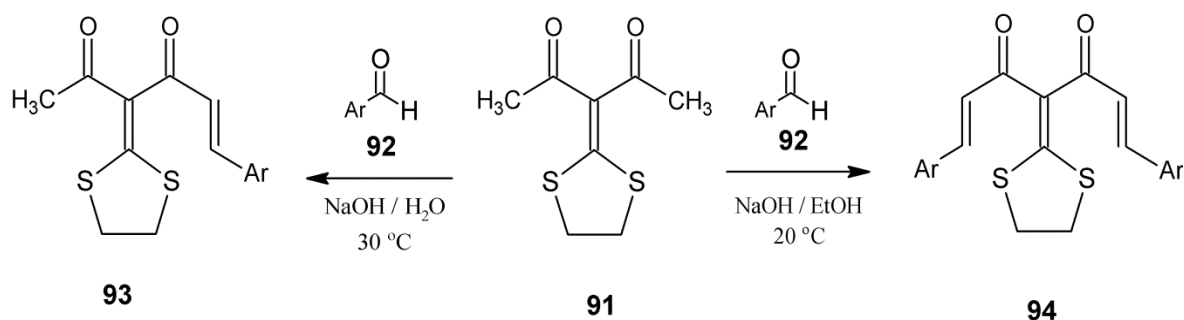


Schéma 26

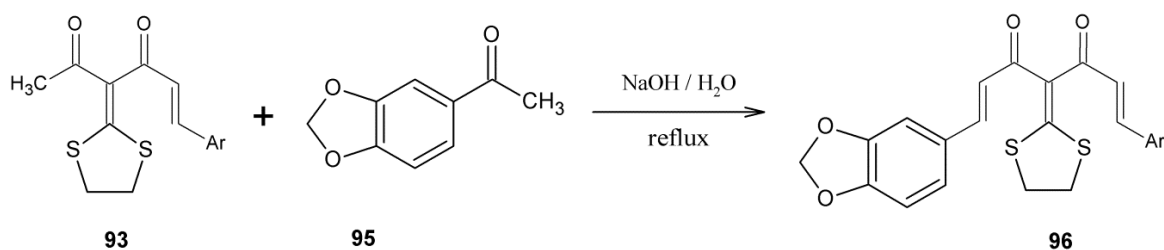
Aldolová kondenzace 4-methoxybenzaldehydu (**92**) s 3-(1,3-dithiolan-2-yliden)pentan-2,4-dionem (**91**) v alkalickém prostředí poskytuje v závislosti na reakční teplotě a molárnímu poměru (báze : 4-methoxybenzaldehyd) dva typy produktů. Vysoká teplota s molárním poměrem (2 : 1) preferuje vznik (*E*)-3-(1,3-dithiolan-2-ylidene)-6-(4-methoxyfenyl)hex-5-en-2,4-dionu (**94**) ve výtěžku až 78 %. Při nižších teplotách vzniká ve vysokém výtěžku, a to až 91 % výhradně (1*E*,6*E*)-4-(1,3-dithiolan-2-yliden)-1,7-bis(4-methoxy-fenyl)-hepta-1,6-diene-3,5-dion (**93**), a to bez ohledu na to, v jakém molárním poměru jsou reaktanty, zda 1 : 1 nebo 2 : 1. Jako báze byl použit vodný roztok hydroxidu sodného v různých molárních poměrech (NaOH : H<sub>2</sub>O). Tyto poměry však nehrály významnou roli při dosahování vysokých výtěžků, jako nejvýhodnější byl molární poměr (3 : 1) viz Schéma 27.



Ar = 4-MeOPh

Schéma 27

Reakcí 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)ethanonu (**95**) s (*E*)-3-(1,3-dithiolan-2-yliden)-6-(4-methoxyfenyl)hex-5-en-2,4-dionem (**93**) dochází k aldolové kondenzaci za vzniku nesymetrického (1*E*,6*E*)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-4-(1,3-dithiolan-2-yliden)-7-fenylhepta-1,6-dien-3,5-dionu (**96**) s výtěžkem 87 % viz Schéma 28 <sup>46</sup>.



R = 4-MeOPh

Schéma 28



Zajímavé deriváty (**98**) byly získány kondenzací kurkuminu (**1**), aromatických aldehydů (**45**) a močoviny, resp. thiomčoviny (**97**). Reakce probíhá v přítomnosti lineárního polysacharidu (chitosanu) v kyselém prostředí 2 % kyseliny octové. Získané 3,4-kurkumin-dihydropyrimidinony (**98**) byly izolovány ve vysokém výtěžku 97 % (Schéma 29)<sup>47</sup>. Jiná práce<sup>48</sup> uvádí odlišné kyselé či bazické katalyzátory, ovšem v nižších výtěžcích, 60-80 %. Studium těchto derivátů (**98**) bylo zjištěno, že vykazují antioxidantní, antituberkulózní a antibakteriální aktivitu a mají také protizánětlivé účinky<sup>49,50</sup>.

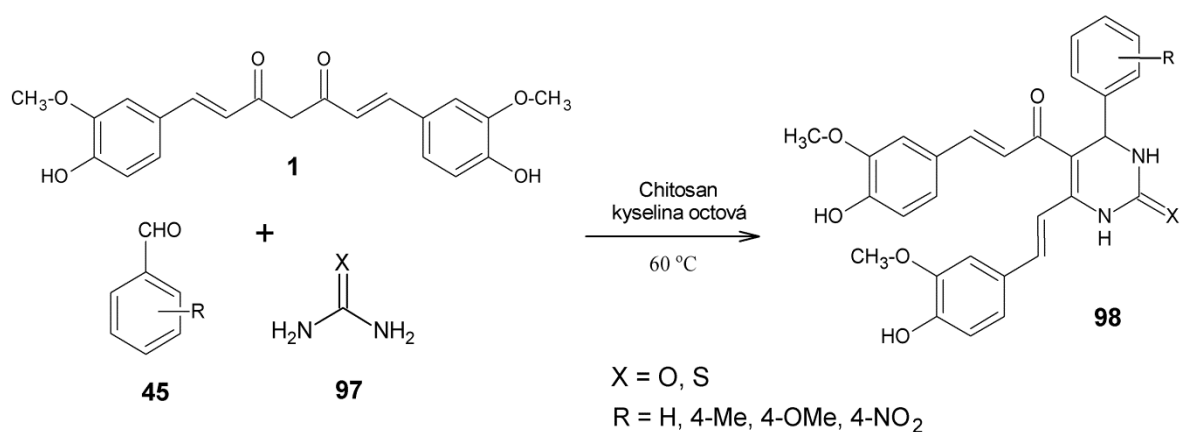


Schéma 29

Pyridinem katalyzovanou reakcí kurkuminu (**1**) s 2-aminobenzothiazolem (**99**) a substituovaným aromatickým aldehydem (**45**) vznikají deriváty 4*H*-pyrimido[2,1-*b*]benzothiazolu (**100**) s výtěžkem 66-76 % (Schéma 30). Bez katalýzy pyridinem reakce neběží<sup>51</sup>.

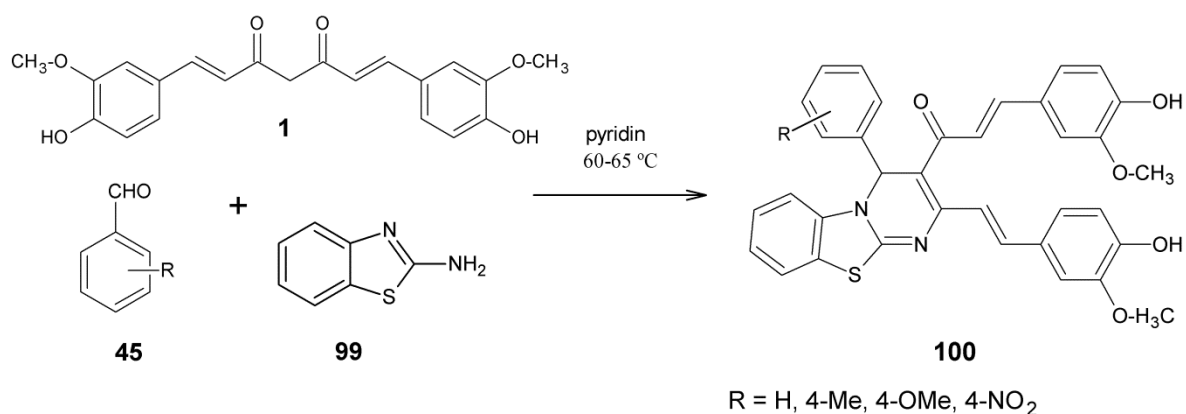


Schéma 30

## 4. Výsledky a diskuse

Z provedené rešerše je patrné, že se základní kurkuminoidy připravují kondenzačními reakcemi různě substituovaných aromatických aldehydů. Syntéza kurkuminu vychází z dobře dostupného vanilinu. Kurkuminy se připravují dvěma základními metodami, v obou případech za přítomnosti různých sloučenin boru. První, tzv. Pabonova metoda, tvoří v prvním stádiu reakce komplex acetylacetonu s oxidem boritým, který následně reaguje s vanilinem. Druhá metoda probíhá bez vytvoření tohoto komplexu. Reakce probíhá v přítomnosti kyseliny borité.

Při přípravě kurkuminů jsem nevycházel ani z jedné z výše uvedených metod. Pokusil jsem se syntetizovat deriváty kurkuminu novou cestou, která nicméně vycházela taktéž z vanilinu, chemicky 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehydu (**IV**). Nejprve jsem tuto metodu vyzkoušel s nesubstituovaným derivátem, kyselinou skořicovou, chemicky kyselinou(*E*)-3-fenylprop-2-enovovou (**I**).

Kyselina skořicová byla v prvním kroku převedena na chlorid kyseliny (**II**) pomocí thionylchloridu a ten následnou reakcí s malonanem ethylnatým (**III**) v přítomnosti silné báze vytvořil  $\alpha$ -disubstituovaný diester (**IV**) s výtěžkem 47 % (Schéma I). Nejprve došlo k vytvoření sodné soli malonanu ethylnatého, která byla připravena pomocí hydridu sodného. Ten se musel přidávat k malonanu ethylnatému (**III**) velmi opatrně, protože docházelo k bouřlivé reakci.

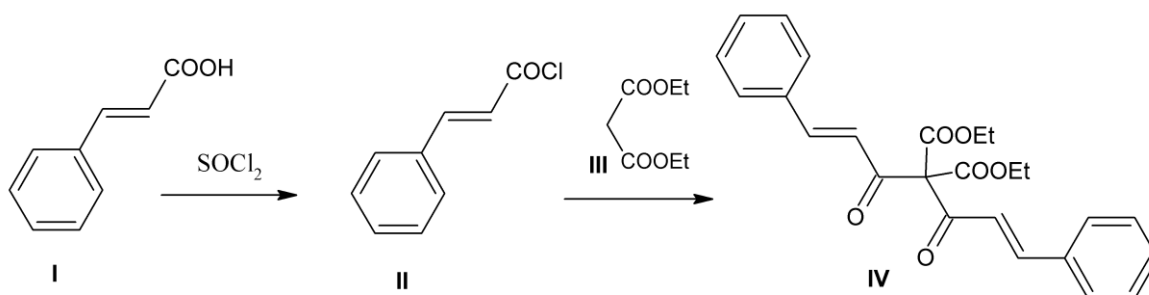


Schéma I

V případě vanilinu (**V**) byla tato syntéza komplikovanější. Nejprve se musel vanilin (**V**) převést pomocí Perkinovy syntézy<sup>52</sup> na kyselinu ferulovou, chemicky kyselinu (2*Z*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)prop-2-enovou (**VI**). Jelikož vanilin obsahoval volnou

hydroxyskupinu, docházelo u Perkinovy reakce také k vedlejší reakci, k částečné acetylaci hydroxyskupiny vanilinu za vzniku kyseliny acetylferulové (**IX**). Byly připraveny směsi těchto kyselin s výtěžky pohybujícími se jen okolo 20 % viz Schéma II.

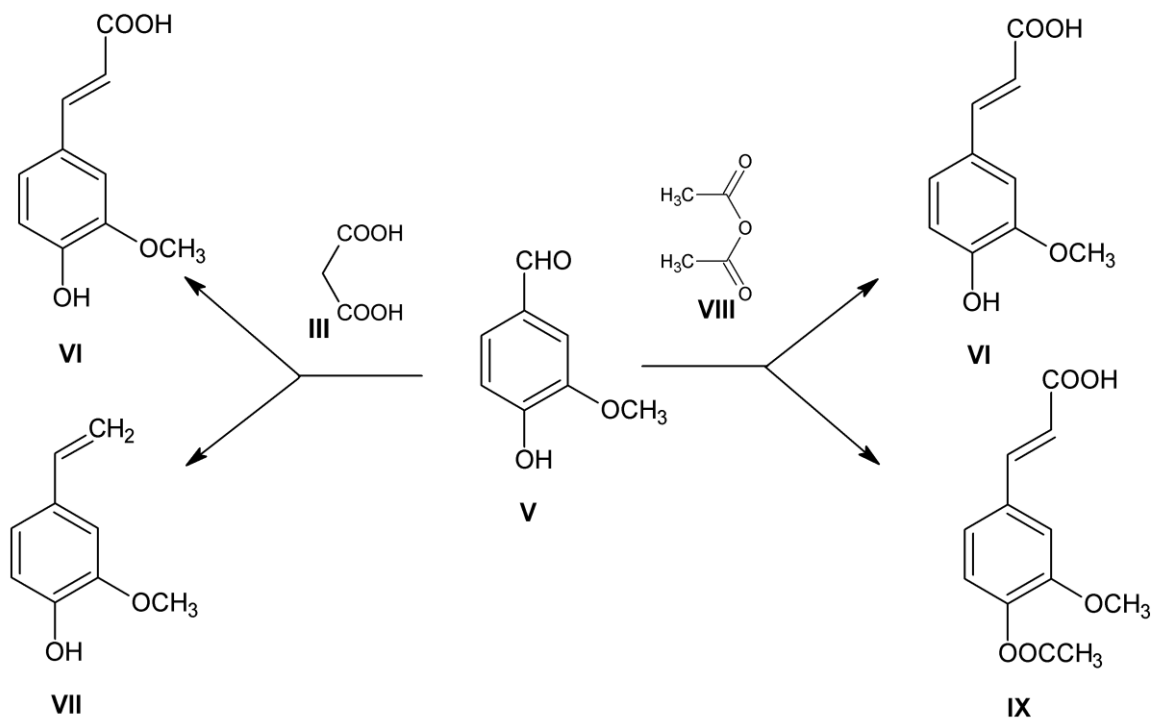


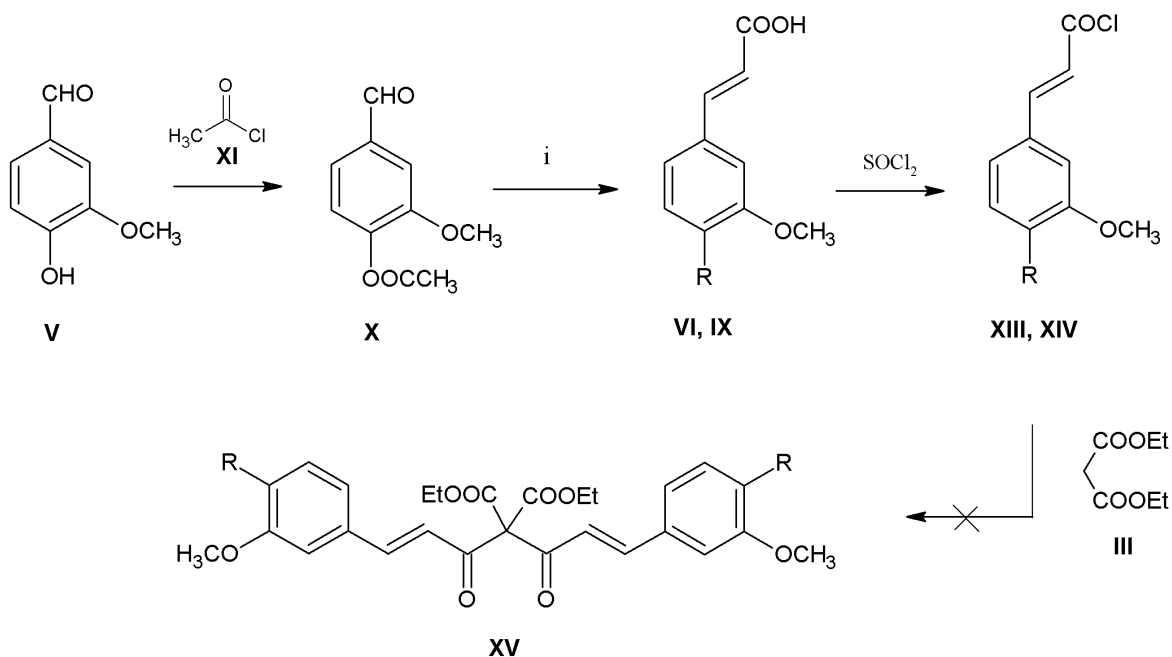
Schéma II

Z tohoto důvodu bylo nezbytné postup optimalizovat. Vzhledem k acetylaci hydroxylové skupiny acetanhydridem a nízkým výtěžkům jsem upravil molární poměry reaktantů. Jako nejvýhodnější se ukázal být molární poměr vanilin : acetanhydrid : octan sodný (1 : 3 : 2). Ani potom se však výtěžky příliš nezvýšily, pohybovaly se pouze okolo 30%. Další pokus vedoucí ke kyselině ferulové (**VI**) ve vyšších výtěžcích, byla reakce vanilinu (**V**) s kyselinou malonovou (**III**) v pyridinu za katalýzy piperidinem. Při této reakci se ukázala být rozhodujícím faktorem reakční teplota. Když byla reakce provedena při teplotě refluxu (110-130 °C), navzdory literaturou uváděných výtěžků pohybujících se kolem 70-90 %<sup>53,54</sup> byly praktické výtěžky rapidně nižší. Pohybovaly se opět pouze okolo 30 %. Jako hlavní nečistota byla po izolaci na sloupcové chromatografii identifikována látka (**VII**) 4-ethenyl-2-methoxy fenol, která dle analýzy NMR byla ve formě racemátu. Když byla reakce provedena při teplotě 68 °C, bylo dosaženo vyšších výtěžků, až 75 %<sup>55</sup>. Kyselina acetylferulová (**IX**) byla připravena také z

acetylovaného vanilinu<sup>56</sup>(**X**), který byl připraven reakcí vanilinu (**V**) s acetylchloridem (**XI**) ve výtěžku 73 %. Při reakci na kyselinu acetylferulovou (**IX**) však docházelo k částečné deacetylaci na výchozí látku, vanilin (**V**). Z tohoto důvodu bylo nutné připravit nejprve kyselinu ferulovou (**VI**) a teprve tu následně ochránit acetylací, aby se při přípravě chloridu kyseliny ferulové (**XIII**) zabránilo vedlejším reakcím.

K acetylaci kyseliny ferulové (**VI**) byla vyzkoušena řada postupů. Ve všech případech docházelo ke vzniku nečistot. Nejvýhodnější metodou byla reakce kyseliny ferulové (**VI**) s acetanhydridem (**VIII**) za katalýzy DMAP v pyridinu při 0 °C<sup>57</sup>. Během syntézy docházelo ke vzniku jediné majoritní nečistoty (8,5 %), jejíž identifikace nebyla dokončena (navržený sumární vzorec C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>O<sub>11</sub>). Další metodou byla reakce kyseliny ferulové (**VI**) s acetylchloridem (**XI**) a hydroxidem sodným v dioxanu. V případě, že byl acetylchlorid přikapáván do reakční směsi během 30 min a při nadbytku hydroxidu sodného (2,5ekv.)<sup>58</sup>, docházelo ke vzniku směsi acetylované (**IX**) a neacetylované (**VI**) kyseliny ferulové. Směs byla rozdělena a sloučeniny izolovány na sloupcové chromatografii, mobilní soustava toluen : ethylacetát 7 : 3. V případě ekvivalentního množství hydroxidu sodného a jednorázového přídavku metylchloridu docházelo překvapivě ke vzniku majoritní látky - ((2*E*)-3-(4-{{(2*E*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)prop-2-enoyl}oxy}-3methoxyfenyl)prop-2-enové kyseliny (**XII**) a dále pak opět směsi kyselin (**IX**) a (**VI**) viz Schéma III. Vzniklé sloučeniny byly rozděleny a izolovány na sloupcové chromatografii, mobilní soustava *n*-hexan : ethylacetát 5 : 6. Posledním pokusem o syntézu tohoto derivátu (**IX**) byla reakce kyseliny ferulové (**VI**) s acetanhydridem v prostředí vodného roztoku hydroxidu sodného, ochlazeného pod 10 °C<sup>59</sup>. Tato reakce neproběhla.





R = -OH, -OOCCH<sub>3</sub>

i = acetanhydrid nebo acetylchlorid

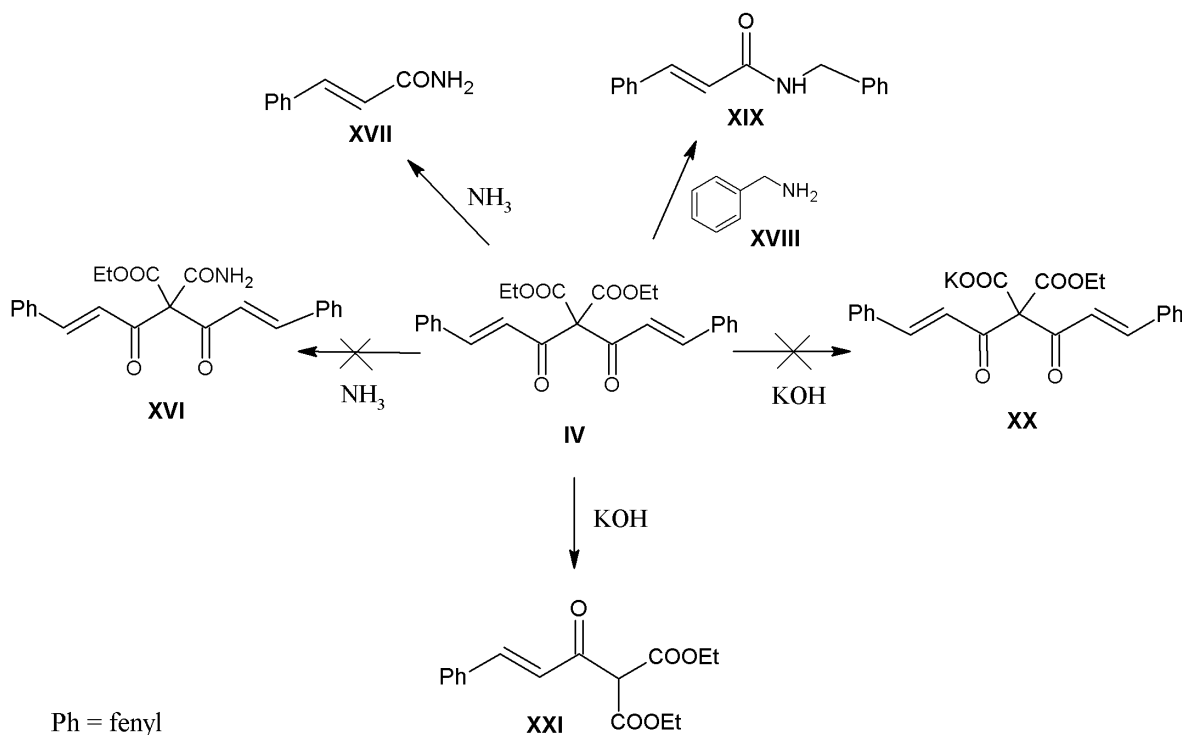
Schéma IV

Jelikož postup přípravy kurkuminu (**XV**) nebyl dostatečně optimalizován a jeho příprava byla neúspěšná, soustředil jsem se nadále na studium reaktivity připraveného diesterového derivátu kurkuminu (**IV**).

V první sérii reakcí jsem se soustředil na parciální aminolýzy esterových skupin kurkuminu (**IV**) s cílem přípravy příslušných amidů. Reakcí s vodným amoniakem však došlo překvapivě k rozpadu molekuly a vzniku amidu kyseliny skořicové (**XVII**). Reakce probíhala velmi rychle jak při zvýšené teplotě, tak i za chladu, s poměrně vysokým výtěžkem okolo 80 % teorie. Podobně proběhla reakce s benzylaminem (**XVIII**) na (2*E*)-*N*-benzyl-3-fenylprop-2-en amid (**XIX**) s výtěžkem 74 %, jak je uvedeno ve Schématu V. Potvrdila se tím nestabilita kurkuminů v alkalickém prostředí a jejich typické štěpení, jak je znázorněno ve Schématu 3 v teoretické části této práce. Rozklad molekuly (**IV**) na kyselinu skořicovou (**I**) a následná tvorba amidů (**XVII** a **XIX**) s příslušnými aminy toto štěpení dokládají.

V průběhu studia vlastností diesteru kyseliny skořicové (**IV**) byla věnována pozornost také kyselým a bazickým hydrolyzám.

V případě hydrolýzy vodným roztokem hydroxidu draselného nedocházelo k hydrolýze esteru na sůl (**XX**), ale docházelo ke štěpení molekuly kurkuminu (**IV**) za vzniku derivátu (**XXI**), viz Schéma V. Tento derivát byl poměrně stabilní, hydrolýza esterových skupin látky (**XXI**) neprobíhala ani v přítomnosti nadbytku báze, ani při vyšší teplotě.



Ph = fenyl

Schéma V

Přesto, že by měly být kurkuminoidy podle provedené rešerše relativně stabilní v kyselém prostředí, v případě diesteru (**IV**) tomu tak nebylo. Docházelo ke štěpení molekul totožným způsobem, který byl pozorován v bazickém prostředí. Tento fakt byl pravděpodobně zapříčiněn přítomností diesterové skupiny na nenasyceném lineárním alkylovém řetězci.

I za mírných podmínek (nízká teplota, ekvimolární množství kyseliny chlorovodíkové) docházelo ke vzniku diethyl[(2*E*)-3-fenylprop-2-enoyl]propanodioátu (**XXI**) s výtěžkem 37%. Stejný derivát byl získán i při mírnější hydrolýze pomocí p-toluensulfonové kyseliny při 0 °C<sup>60</sup>.

V další sérii reakcí experimentální části bakalářské práce byla věnována pozornost kondenzačním reakcím kurkuminu (**IV**) s močovinou (**XXII**), kdy byla snaha o přípravu několika typů produktů.

Reakce vedoucí k barbiturátu byla kondenzace kurkuminu (**IV**) s močovinou (**XXII**) za bazické katalýzy ethanolátem sodným<sup>61</sup>. Z důvodu značné stability esterové části a citlivosti molekuly (**IV**) k alkalickému prostředí, nedošlo ke vzniku sloučeniny (**XXIII**), ale po vzoru předchozích reakcí v alkalickém prostředí, vznikl amid kyseliny skořicové (**XVII**) s výtěžkem 60% viz Schéma VI.

Při obdobné snaze o kondenzaci kurkuminu s močovinou (**XXII**) v ethanolu při 25 °C, bez použití katalyzátoru nedošlo k reakci vůbec a to ani při vyšší teplotě, kdy byl očekáván produkt (**XXIV**). Při použití pyridinu jako rozpouštědla za katalýzy kyselinou octovou došlo opět k rozštěpení molekuly na kyselinu skořicovou (**I**) a diethyl [(2*E*)-3-fenylprop-2-enoyl]propandioát (**XXI**) jak je patrné ze Schématu VI.

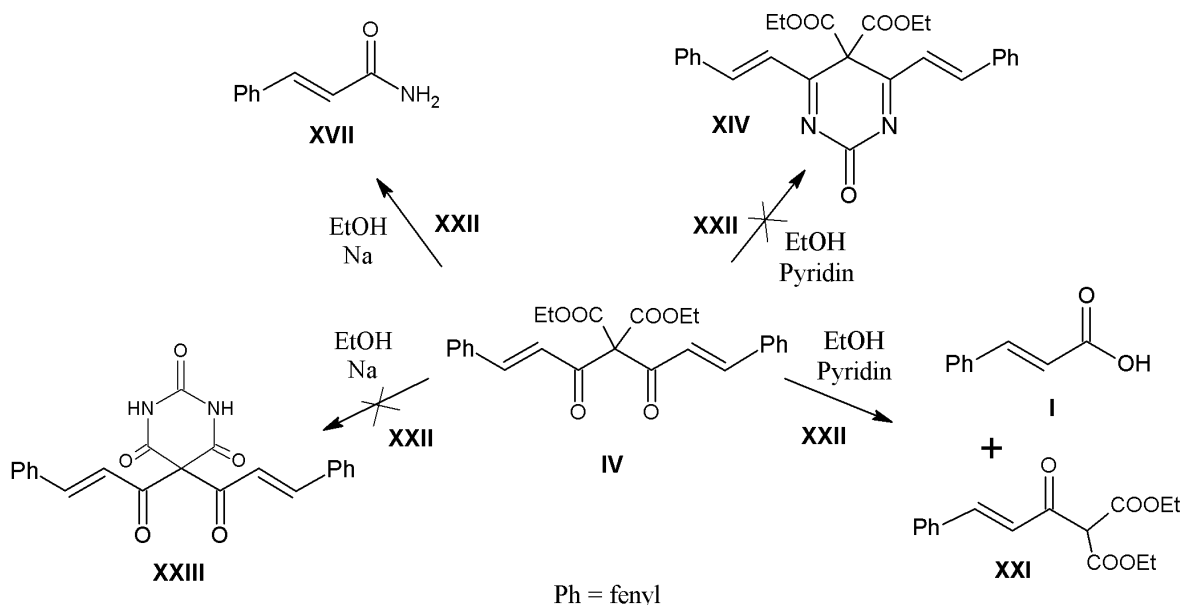


Schéma VI

V poslední sérii reakcí byla snaha o přípravu heterocyklických pyrazolových derivátů kurkuminu (**IV**).

Kondenzace diesteru (**IV**) s hydrazinhydrátem v ethanolu bez katalýzy neposkytla očekávaný pyrazolový derivát (**XXV**), ale vedla ke štěpení molekuly (**IV**) na směs



hydrazidu kyseliny skořicové (**XXVI**) a (2*E*)-3-fenyl-*N*-[(2*E*)-3-fenylprop-2-enoyl]prop-2-en hydrazidu (**XXVII**) s 50 % výtěžkem. V kyselině octové<sup>62</sup> nebo v pyridinu za katalýzy kyselinou octovou docházelo ke štěpení molekuly kurkuminu (**IV**) na kyselinu skořicovou (**I**) viz Schéma VII.

Pokud byl ke kondenzaci s diesterem (**IV**) použit hydrazin sulfát<sup>63</sup> v ethanolu, reakce neproběhla, pokud byl v reakční směsi přítomen triethylamin nebo kyselina octová<sup>64</sup>, vznikla bohatá směs reakčních produktů, které dále nebyly izolovány a identifikovány.

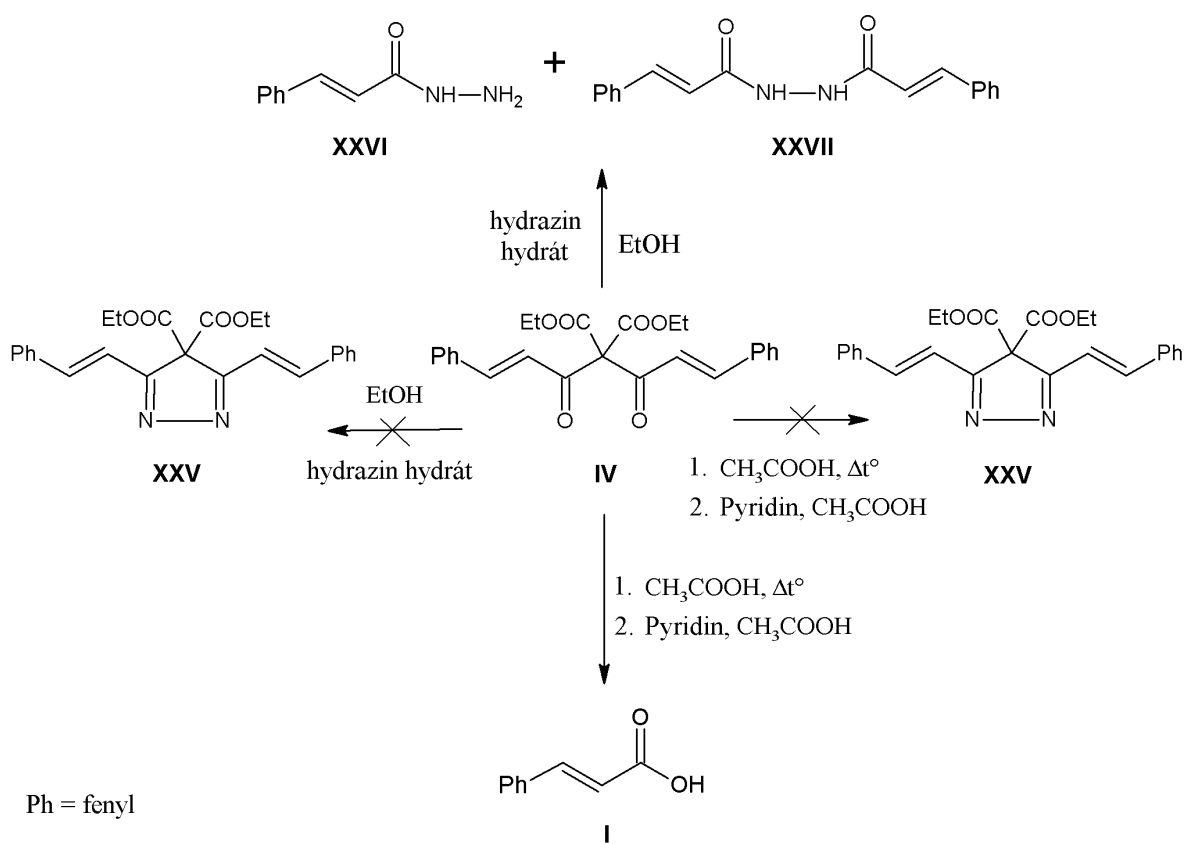
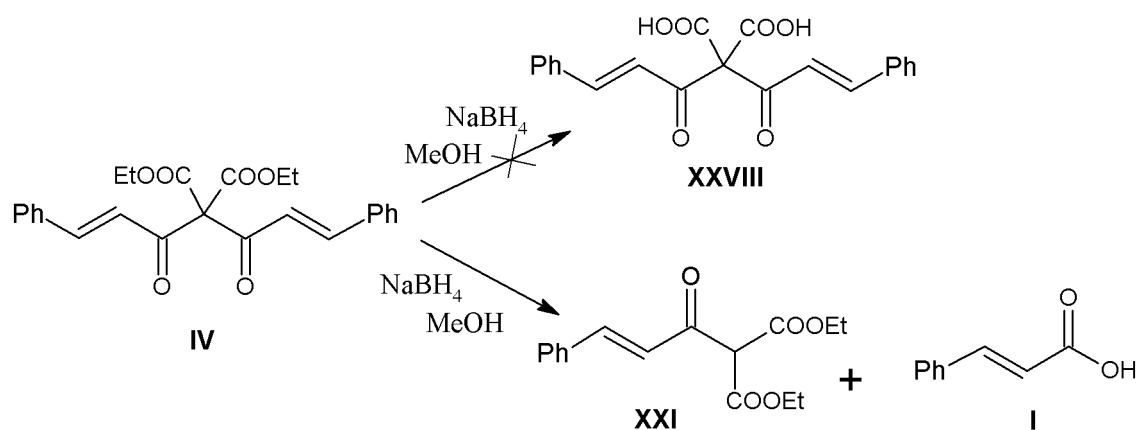


Schéma VII

Při pokusu o redukci kurkuminu (**IV**) pomocí komplexního hydridu NaBH<sub>4</sub> neproběhla redukce esterových skupin na kyselinu (**XXVIII**), jak bylo očekáváno, ale došlo k již výše popsanému štěpení na látky (**I**) a (**XXI**) - viz schéma VIII.



Ph = fenyl

Schéma VIII

Některé postupy byly převzaty z literatury zcela beze změn, jiné bylo nezbytné upravit tak, aby bylo dosaženo požadovaných výsledků.

## 5. Experimentální část

Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. TLC byla sledována na silikagelových deskách Polygram Sil G/UV<sub>254</sub> s detekcí UV zářením. MS charakterizace byla prováděna na přístroji GCMS Polaris Q v konfiguraci s přímou sondou, chemickou ionizací a kvadrupólovou iontovou pastí. Při chemické ionizaci byl jako reakční plyn použit methan. HRMS bylo prováděno na přístroji LCMS Exactive v konfiguraci s APCI/ESI ionizací a orbitální pastí. NMR spektra byla měřena na přístroji Varian 400 spektrometr pracujícím při 399,90 MHz (<sup>1</sup>H) a 100,56 MHz (<sup>13</sup>C). Látky byly rozpuštěny v DMSO-*d*<sub>6</sub> <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C, chemické posuny byly vztaženy k střednímu signálu rozpouštědla pro DMSO-*d*<sub>6</sub>, ( $\delta = 2,55$  (<sup>1</sup>H),  $\delta = 39,6$  (<sup>13</sup>C)). HPLC byla provedena za těchto podmínek: kolona- Luna C18, 3  $\mu$ m, 4,6 x 100 mm; mobilní fáze: ACN : H<sub>2</sub>O 1 : 1+ 0,58 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> nebo ACN : H<sub>2</sub>O 1 : 1+ 0,1 % HCOOH průtok 1ml/min, teplota kolony 30°C; detekce: UV 210 nm.

### *Chromatografické soustavy na TLC*

S1	<i>n</i> -hexan : ethylacetát	7 : 3
S2	toluen : ethylacetát	1 : 1
S3	toluen : ethylacetát	5 : 1

## 5.1. Příprava diesterů kurkuminu

### 5.1.1. Příprava (2E)-3-fenylprop-2-enoyl chloridu (II)

Kyselina skořicová (**I**) (5 g; 0,0338 mol) s thionylchloridem (25 ml) a katalytickým množstvím DMF byla refluxována pod zpětným chladičem opatřeným uzávěrem proti vzdušné vlhkosti po dobu 3 hodin. Po ukončení vývoje plynů ( $\text{SO}_2$  a HCl) byl přebytek thionylchloridu oddestilován na vakuové odparce a jeho zbytky byly odstraněny několikanásobným predestilováním toluenem. Bylo získáno 5,61 g (100 % th.) produktu (**II**) ve formě nažloutlých krystalů. Výsledný produkt (**II**) musel být uchováván za chladu, jinak docházelo k opětovnému rozkladu na kyselinu skořicovou (**I**).

Průběh reakce byl sledován pomocí TLC v mobilní soustavě S3. Vzorek reakční směsi byl vytřepán s ethanolem, čímž došlo ke vzniku ethylesteru kyseliny skořicové, který měl jinou odezvu než výchozí kyselina skořicová,  $R_f = 0,77$ .

### 5.1.2. Příprava diesteru kyseliny malonové (IV)

Malonan ethylnatý (**III**) (2,1 ml; 0,0132 mol) byl rozpuštěn v etheru (190 ml), poté byl ke směsi opatrně (hrozilo vykypění reakční směsi) po malých dávkách přidán hydrid sodný (0,9 g; 0,027 mol). Reakční směs byla 0,5 hodiny míchána při teplotě 25 °C, čímž docházelo ke vzniku sodné soli, ke které byl postupně přisypáván chlorid kyseliny skořicové (**II**) (4,5 g; 0,027 mol). Reakční směs byla refluxována po dobu 4 h pod chlorkalciovým uzávěrem. Postupně docházelo k barevné změně reakční směsi z bílé na žlutou. Průběh reakce byl sledován pomocí TLC, v mobilní soustavě S3. Po skončení reakce byla reakční směs nalita do vody a poté extrahována do ethylacetátu. Extrakt byl vysušen pomocí  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a po filtraci zahuštěn na vakuové odparce do odparku. Krystalizací z ethanolu bylo získáno 2,67 g (47 % th.) žlutých krystalků (**IV**) o čistotě HPLC 96,4 % s t.t. 91-93 °C. Látka byla identifikovaná pomocí MS, NMR a HPLC.

MS: m/z: 421 (10)[M+H]<sup>+</sup>, 291 (15), 245(100), 131 (40).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 7.91 (s, 1H), 7.85 (m, 1H), 7.64 (dd,  $J = 7.50, 2.07$  Hz, 1H), 7.48 (dd,  $J = 7.51, 2.23$  Hz, 1H), 7.42 (dd,  $J = 4.74, 2.12$  Hz, 1H), 7.23 (d,  $J = 15.93$  Hz, 1H), 6.92 (d,  $J = 16.04$  Hz, 1H), 4.32 (q,  $J = 7.13, 7.10, 7.10$  Hz, 1H), 4.14 (q,  $J = 7.11, 7.09, 7.09$  Hz, 1H), 3.33 (s, 1H), 1.29 (t,  $J = 7.10, 7.10$  Hz, 1H), 1.16 (t,  $J = 7.09, 7.09$  Hz, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 163.349, 163.107, 162.560, 156.397, 147.370, 138.730, 134.546, 133.613, 131.075, 130.168, 128.973, 128.945, 128.751, 127.966, 118.914, 116.831, 116.094, 61.607, 61.115, 13.835, 13.764

### 5.1.3. Příprava 4-acetyloxy-2-methoxyfenyl acetátu (X)

Vanilin (**V**) (10 g; 0,0657 mol) byl rozpuštěn v pyridinu (100 ml) za chlazení ledem. Poté byl přidán acetylchlorid (**XI**) (4,7 ml; 1 ekv.). Reakční směs byla míchána 0,5 hodiny. Po skončení reakce byla do reakční směsi přidána koncentrovaná kyselina chlorovodíková (150 ml) a reakční směs byla míchána za chlazení ledem další 0,5 hodiny, během které došlo k vysrážení produktu. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S1. Produkt byl odfiltrován a volně vysušen v digestoři. Bylo získáno 9,3 g (73 % th.) produktu (**X**) ve formě bílých krystalů s t.t. 73-75°C. Látka byla identifikována pomocí MS a NMR.

MS: m/z 195 (17)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 153 (100)  $[\text{M}-\text{CH}_3\text{CO}]$ , 125 (12).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 9.97 (s, 1H), 7.61 (d,  $J = 1.75$  Hz, 1H), 7.58 (dd,  $J = 7.98, 1.79$  Hz, 1H), 3.87 (s, 1H), 3.33 (s, 1H), 2.30 (s, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 192.0, 168.0, 151.5, 144.1, 135.0, 123.7, 123.5, 111.8, 55.0, 20.3

### 5.1.4. Příprava kyseliny (2E)-3-[4-(acetyloxy)-3-methoxyfenyl]prop-2-enové (IX)

a) Ke směsi acetyl vanilinu (**X**) (8 g; 0,0412 mol) a octanu sodného (7,1 g; 2,1 ekv.) byl přidán acetanhydrid (**VIII**) (11,7 ml; 3 ekv.). Reakční směs byla míchána za

refluxu po dobu 13 hodin v olejové lázni, která byla nastavena na 180 °C. Při reakci docházelo ke změně zbarvení reakční směsi až do hněda. Po odreagování byla do reakční směsi nalita voda (40 ml) a vzniklá sraženina byla odfiltrována. Surový produkt byl rozpuštěn ve směsi amoniaku (4,0 ml) a vody (40,0 ml). K tomuto roztoku byla přilita zředěná kyselina sírová (40 ml vody a 3 ml koncentrované kyseliny sírové), čímž došlo k opětovnému vysrážení produktu. Tento postup byl ještě jednou opakován. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S3. Konečná vysrážená hmota byla gumovité mazlavé konzistence, a proto byla provedena extrakce do ethylacetátu. Bylo získáno 2,8 g (28,8 % th.) produktu (**IX**) ve formě jemných krystalů žlutohnědé barvy o čistotě HPLC 90 %, t.t. 197-200 °C.

b) Ke směsi kyseliny ferulové (**VI**) (7,77 g; 40 mmol) a DMAP (0,12 g; 1 mmol) v pyridinu (20 ml) byl přidán acetanhydrid (**VIII**) (4,7 ml; 50 mmol). Reakční směs byla míchána po dobu 2 hodin při 0 °C, poté byla nalita do ledu a okyselena (2 mol/l) kyselinou chlorovodíkovou na pH 2. Následně byla provedena extrakce do ethylacetátu. Bylo získáno 7,2 g (76 % th.) produktu (**IX**) ve formě nažloutlých krystalků, t.t. 198-200 °C.

c) Do dobře míchané směsi kyseliny ferulové (**VI**) (1 g; 5 mmol) s hydroxidem sodným (0,5 g; 2,5 ekv.) v dioxanu (12,5 ml) byla během 30 minut přikapávána směs acetylchloridu (**XI**) (0,4 ml; 6 mmol) v dioxanu (5 ml), a míchána 1 hodinu při 25 °C. Reakční směs byla extrahovaná do ethylacetátu a zahuštěna na vakuové odparce. Jednotlivé produkty byly izolovány na sloupcové chromatografii s mobilní soustavou toluen : ethylacetát 7 : 3. Byly izolovány látky (**IX**) a (**VI**).

d) Kyselina ferulová (**VI**) (0,25 g; 1,06 mmol) byla rozpuštěna v dioxanu (5 ml), byl přidán acetylchlorid (**XI**) (0,37 ml; 5,2 mmol) a hydroxid sodný (0,05 g; 0,25 mmol). Reakční směs byla míchána po dobu 48 hodin při 25 °C, extrahovaná do ethylacetátu a zahuštěna na vakuové odparce. Jednotlivé produkty byly izolovány na sloupcové chromatografii s mobilní soustavou *n*-hexan : ethylacetát 5 : 6. Byla izolována látka ((2*E*)-3-(4-{{[(2*E*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)prop-2-enoyl]oxy}-3-methoxyfenyl)prop-2-enová kyselina (**XII**) a dále pak kyseliny (**IX**) a (**VI**).

Identifikace látky (**IX**)

MS: m/z: 236 (1) [M+H]<sup>+</sup>, 210 (5), 209 (40), 208 (62), 191 (100), 180 (20), 163 (32), 145 (20) 134 (10), 117 (7), 91 (7), 89,1 (3)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$ ppm: 3.84 (s, 4 H) 6.91 (d,  $J=15.79$  Hz, 1 H) 7.19 (d,  $J=7.89$  Hz, 1 H) 7.36 (s, 1 H) 7.41 (dd,  $J=8.11, 1.97$  Hz, 1 H) 7.63 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H) 7.91 (d,  $J=15.79$  Hz, 1 H).

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 168.3, 162.7, 151.2, 148.0, 141.7, 132.5, 123.3, 122.4, 117.0, 112.4, 56.0, 20.3

Identifikace látky (**VI**)

MS, m/z: 195 (44), 177 (100), 145 (14).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$ ppm: 6.38 (s, 1 H) 6.34 (s, 1 H) 6.74 - 6.81 (m, 1 H) 7.04 - 7.10 (m, 1 H) 7.28 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H) 7.51 (s, 1 H) 7.47 (s, 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm 167.9, 149.0, 147.8, 144.5, 125.7, 122.8, 115.5, 115.4, 111.0, 55,6

Identifikace látky (**XII**)

MS: m/z: 371 (4)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 178 (10), 177 (100), 145 (11).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$ ppm: 3.84 (s, 3 H) 3.82 (s, 3 H) 6.60 (d,  $J=16.22$  Hz, 1 H) 6.72 (d,  $J=16.22$  Hz, 1 H) 6.82 (d,  $J=7.89$  Hz, 1 H) 7.18 (d,  $J=8.33$  Hz, 1 H) 7.21 (dd,  $J=8.33, 1.75$  Hz, 1 H) 7.29 (dd,  $J=8.33, 1.75$  Hz, 1 H) 7.43 (d,  $J=2.19$  Hz, 1 H) 7.51 (d,  $J=1.75$  Hz, 1 H) 7.60 (d,  $J=16.22$  Hz, 1 H) 7.74 (d,  $J=15.79$  Hz, 1 H) 9.72 (s, 1 H) 12.38 (br. s., 1 H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 167.6, 165.6, 151.3, 149.8, 147.9, 147.2, 140.3, 133.1, 125.3, 123.7, 121.3, 119.4, 115.5, 112.9, 111.7, 111.4.

### 5.1.5. Příprava (2E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)prop-2-enové (VI)

a) Kyselina malonová (**III**) (13,7 g; 2 ekv.) s vanilinem (**V**) (10 g; 0,0657 mol) byly rozpuštěny v pyridinu (25 ml), byl přidán piperidin (0,9 ml) a reakční směs byla vyhřáta na

85 °C. Při této teplotě byla reakční směs míchána 1 h. Poté byla teplota zvýšena na 115 °C a reakční směs byla míchána pod refluxem další 4 h. Po ochlazení byla reakční směs nalita do ledové vody a okyselena konc. kyselinou chlorovodíkovou až do pH = 1. Produkt byl extrahován do ethylacetátu. Po zahuštění na vakuové odparce byl odparek převeden do toluenu, kde došlo k vysrážení produktu. Aby byl získán čistý produkt, bylo nezbytné jej promýt směsí toluen : ethylacetát (5:1) (20 ml). Byly získány 4,0 g (31,4 % th.) látky (**VI**) ve formě mírně nažloutlého prášku, t.t. 172-173 °C.

Reakční směs byla také podrobena sloupcové chromatografii s mobilní soustavou toluen : ethylacetát (5 : 1), aby byla izolována vznikající nečistota (**VII**) 4-ethenyl-2-methoxy fenol ve formě bílého pudrovitého prášku, který byl identifikován pomocí MS a NMR.

MS, m/z: 207 (6) [M+H]<sup>+</sup>, 151 (100), 136 (70), 135 (24), 91 (20), 79 (4).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δppm: 9,09 (s, 1H), 7,05 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 6,86 (dd, *J* = 8,0; 1,9 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 6,60 (dd, *J* = 17,8; 10,8 Hz, 1H), 5,63 (dd, *J* = 17,5; 1,3 Hz, 1H), 5,06 (d, *J* = 11,09 Hz, 1 H)

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ ppm: 147.6, 146.7, 136.7, 128.8, 119.5, 115.3, 110.9, 109.5, 55.5.

b) Kyselina malonová (**III**) (13,7 g; 2 ekv.) s vanilinem (**V**) (10 g; 0,0657 mol) byly rozpuštěny v pyridinu (33 ml), byl přidán piperidin (0,65 ml) a reakční směs byla vyhřáta na 68 °C a míchána při této teplotě po dobu 24 h. Po ochlazení byla reakční směs nalita do vody a okyselena konc. kyselinou chlorovodíkovou, dokud docházelo k vyvíjení bílých par. Produkt byl extrahován do diethyletheru. Po vysušení byl roztok zahuštěn do sucha. Aby byl získán čistý produkt, bylo nezbytné jej promýt směsí toluen/ethylacetát (5:1) (20 ml). Bylo získáno 9,3 g (73 % th.) látky (**VI**) ve formě mírně nažloutlého prášku, t.t. 172- 173 °C. Produkt byl identifikován pomocí MS a NMR.

MS, m/z: 195 (44), 177 (100), 145 (14).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δppm: 6.38 (s, 1 H) 6.34 (s, 1 H) 6.74 - 6.81 (m, 1 H) 7.04 - 7.10 (m, 1 H) 7.28 (d, *J*=1.75 Hz, 1 H) 7.51 (s, 1 H) 7.47 (s, 1 H)



$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 167.9, 149.0, 147.8, 144.5, 125.7, 122.8, 115.5, 115.4, 111.0, 55,6

#### 5.1.6. Příprava 4-[(1E)-3-chloro-3-oxoprop-1-en-1-yl]-2-methoxyfenyl acetátu (XIII)

Kyselina (2E)-3-[4-(acetyloxy)-3-methoxyfenyl]prop-2-enová (**XIII**) (2,6 g; 0,011 mol) s thionylchloridem (10 ml) a s katalytickým množstvím DMF byla refluxována pod zpětným chladičem opatřeným uzávěrem proti vzdušné vlhkosti po dobu 3 hodin. Odreagování reakční směsi bylo zaznamenáno koncem vývoje plynů a potvrzeno pomocí analýzy TLC. Přebytek thionylchloridu byl oddestilován na vakuové odparce a jeho zbytky byly odstraněny několikanásobným předestilováním toluenem. Bylo získáno 1,9 g (67,8 % th.) produktu (**XIII**) ve formě bělavých krystalů. Výsledný produkt musel být uchováván v chladu, jinak docházelo k opětovnému rozkladu na kyselinu (**IX**). Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S3. Vzorek reakční směsi se vytřepal s ethanolem, vzniklý ethylester kyseliny acetylskořicové měl na TLC jinou odezvu než kyselina acetylskořicová,  $R_f = 0,39$ .

## 5.2. Reaktivita diesteru kurkuminu (IV)

### 5.2.1. Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s amoniakem

Diester kyseliny malonové (**IV**) (0,2 g; 0,46 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (5 ml), byl přidán vodný roztok amoniaku (2 ml) a reakční směs refluxovala jednu hodinu. Odreagování reakční směsi bylo kontrolováno pomocí TLC s mobilní fází S1. Bylo získáno 0,12 g (85 % th.) amidu kyseliny skořicové (**XVII**) ve formě nahnědlých krystalů, t.t. 148-149 °C. Produkt byl identifikován pomocí MS a NMR.

MS, m/z: 148 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 131 (60) [M-NH<sub>3</sub>], 103 (22)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δppm: 7.55 (td, J = 3.87, 2.15, 2.15 Hz, 1H), 7.40 (m, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.62 (d, J = 15.90 Hz, 1H)

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ ppm: 166.6, 139.1, 134.8, 129.4, 128.8, 127.5, 122.2

### 5.2.2. Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s benzylaminem

Diester kyseliny malonové (**IV**) (0,5 g; 1,19 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu, poté byl přidán benzylamin (0,26 ml; 2 ekv.) a reakční směs refluxovala 2 h. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S3. Bylo získáno 0,42 g (37 % th.) (2*E*)-*N*-benzyl-3-fenylprop-2-en amidu (**XIX**) ve formě béžových krystalů, t.t. 147-150 °C. Látka byla identifikovaná pomocí MS a NMR.

MS, m/z: 238 (100) [M+H]<sup>+</sup>, 131 (30), 91 (25).

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δppm: 8.64 (t, J = 5.92, 5.92 Hz, 1H), 7.57 (dd, J = 8.14, 1.41 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 15.84 Hz, 1H), 7.35 (m, 1H), 6.71 (d, J = 15.82 Hz, 1H), 4.41 (d, J = 5.96 Hz, 1H), 4.30 (dd, J = 5.85, 3.49 Hz, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 164.9, 139.3, 138.9, 134.8, 129.4, 128.5, 128.3, 127.4, 127.3, 126.8, 122.0, 42.2

### 5.2.3. Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s hydroxidem draselným

Diester kyseliny malonové (IV) (1,25 g; 2,97 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu a byl přidán hydroxid draselný (0,17 g; 1 ekv.) rozpuštěný v etheru. Reakční směs reagovala 90 min, během kterých vznikla sraženina, která byla odfiltrována. Filtrát byl odpařen do sucha a prodestilován etherem. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S3. Bylo získáno 0,45 g (52% th.) diethyl [(2E)-3-fenylprop-2-enoyl]propandioátu (XXI) ve formě světle hnědých krystalů, t.t. 145-147 °C. Látka byla identifikovaná pomocí MS a NMR.

MS, m/z: 291 (12)  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 245(100)  $[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]$ , 217 (15), 131 (70), 103 (14).

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 7.84 (d,  $J = 15.70$  Hz, 1H), 7.45 (d,  $J = 7.32$  Hz, 1H), 7.34 (t,  $J = 7.55, 7.55$  Hz, 1H), 7.25 (t,  $J = 7.27, 7.27$  Hz, 1H), 7.12 (d,  $J = 15.71$  Hz, 1H), 3.92 (q,  $J = 7.09, 7.08, 7.08$  Hz, 1H), 3.34 (s, 1H), 1.13 (t,  $J = 7.09, 7.09$  Hz, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 178.4, 169.4, 137.2, 132.1, 130.3, 128.7, 127.6, 126.8, 95.3, 57.2, 14.6

### 5.2.4. Kyselá hydrolyza diesteru kyseliny malonové (IV)

a) Diester kyseliny malonové (IV) (1,25 g; 2,97 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (5 ml), poté byl přidán roztok kyseliny chlorovodíkové (0,11 ml, 1 ekv.) rozpuštěné v etheru (10 ml). Reakční směs byla míchána po dobu 2 h při 25 °C. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S1 s retenčními faktory  $R_{f(\text{I})} = 0,22$  a  $R_{f(\text{XXI})} = 0,66$ . Produkt byl extrahován do ethylacetátu a po zahuštění na vakuové odparce předestilován etherem. Produkty byly identifikovány jako směs dvou látek a to kyseliny skořicové (I) a diethyl [(2E)-3-fenylprop-2-enoyl]propandioátu (XXI).

b) Diester kyseliny malonové (**IV**) (0,5 g; 1,19 mmol) byl rozpuštěn v dichlorethanu (1 ml) a poté byl nalit do vody s malým množstvím p-toluensulfonové kyseliny. Reakční směs byla míchána za chlazení ledem po dobu 20 min, poté byla nalita do studeného pyridinu (5ml) a míchána po dobu 24 hodin. Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S1. Přebytný pyridin byl zneutralizován 50% kyselinou chlorovodíkovou do pH = 7. Produkt byl extrahován do ethylacetátu. Extrakt byl zahuštěn do sucha a odparek prodestilován ethanolem. Bylo získáno 0,28 g (81 % th.) diethyl [(2E)-3-fenylprop-2-enoyl]propanedioátu (**XXI**) ve formě bělavých krystalů.

### 5.2.5. Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s močovinou

Rozpuštěním sodíku (0,22 g; 8 ekv.) v ethanolu (20ml) byl připraven roztok ethanolátu sodného, ke kterému byl přidán diester kyseliny malonové (**IV**) (0,5 g; 1,19 mmol) a močovina (**XXII**) (0,12 g; 1 ekv.) rozpuštěná v horkém ethanolu. Reakční směs byla refluxována při 110 °C po dobu 7 hodin. Po skončení reakce byla směs nalita do vody (100 ml). Průběh reakce byl kontrolován pomocí TLC v mobilní soustavě S1. Bylo získáno 0,21 g (60 % th.) amidu kyseliny skořicové (**XVII**) ve formě nahnědlých krystalů. Látka byla identifikovaná pomocí MS a NMR.

MS, m/z: 149 (40) [M+H]<sup>+</sup>, 131 (100), 103 (31)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δppm: 6.51 (d, J=16.04 Hz, 1 H) 7.32 - 7.46 (m, 2 H) 7.49 - 7.62 (m, 1 H) 7.65 (dd, J=6.65, 2.74 Hz, 2 H) 12.40 (s, 1 H).

<sup>13</sup>C NMR (400 MHz, (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO) δ ppm: 168.0, 144.4, 134.7, 130.6, 129.3, 128.6, 119.6

### 5.2.6. Reakce diesteru kyseliny malonové (IV) s hydrazinem

a) Látka (**IV**) (0,25 g; 0,59 mmol) byla rozpuštěna v kyselině octové (5 ml), poté byl přidán hydrazin hydrát (0,03 ml, 1 ekv.). Reakční směs byla míchána při 25 °C po dobu 6 hodin. Produkt byl extrahován do ethylacetátu. Extrakt byl zahuštěn do sucha a

odparek prodestilován ethanolem. Látky byly analyzovány na TLC v mobilní soustavě S3,  $R_f(\text{I}) = 0,25$  a  $R_f(\text{XXI}) = 0,76$  a identifikovány jako kyselina skořicová (**I**) a diethyl [(2*E*)-3-fenylprop-2-enoyl]propandioát (**XXI**).

b) Jako rozpouštědlo byl použit pyridin (5 ml), s katalytickým množstvím kyseliny octové. Reakční směs byla refluxována po dobu 7 hodin. Průběh reakce byl kontrolován na TLC v soustavě S3. Produkty byly identické jako u pokusu a),  $R_f(\text{I}) = 0,25$  a  $R_f(\text{XXI}) = 0,76$

c) Jako rozpouštědlo byl použit ethanol (5 ml). Reakční směs reagovala při 25 °C po dobu 24 h. Hlavní produkt byl identifikován na MS a NMR jako (2*E*)-3-fenyl-*N*-[(2*E*)-3-fenylprop-2-enoyl]prop-2-en hydrazid (**XXVII**).

MS,  $m/z$ : 189 (10), 163 (100)  $[M+H]^+$ , 148 (18)

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$ ppm: 9.37 (s, 1H), 7.55 (d,  $J = 6.77$  Hz, 1H), 7.41 (m, 1H), 6.55 (d,  $J = 15.84$  Hz, 1H), 4.71 (s, 1H), 4.11 (q,  $J = 7.10, 7.10, 7.10$  Hz, 1H), 3.47 (s, 1H), 1.18 (t,  $J = 7.12, 7.12$  Hz, 1H)

$^{13}\text{C}$  NMR (400 MHz,  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ )  $\delta$  ppm: 164.377, 138.093, 134.807, 129.314, 128.844, 127.349, 120.142, 60.737, 41.133, 13.857

U některých reakcí jsem neuvedl výtěžky z důvodu, že byly příliš nízké, byly dostačující pouze na analýzu vzorku.

## 6. Závěr

Tato bakalářská práce je zaměřena na přípravu kurkuminoidů a jejich derivátů včetně jejich biologických vlastností.

V teoretické části se práce nejprve zaměřuje na informace týkající se kurkuminu obecně. Následně se věnuje jejím fyzikálním vlastnostem a biologickým aktivitám. Text je dále členěn na syntézu kurkuminoidů a jejich derivátů, které jsou tříděny do oddílů podle center, na kterých dochází k substitučním či kondenzačním reakcím.

Cílem experimentální části bakalářské práce byla syntéza diesterových derivátů kurkuminů na alkylovém řetězci kurkuminu v poloze 4, kdy byla snaha o přípravu látek **(IV)** a **(XV)**, přičemž úsilí o přípravu druhého derivátu nevedlo k cíli. Látka **(IV)** byla podrobena reakcím s různými dusíkatými sloučeninami za účelem syntézy heterocyklických derivátů kurkuminu **(XXIII)**, **(XXIV)** a **(XXV)**. Reakce však vedly ke štěpení molekuly kurkuminu **(IV)** nebo reakce neprobíhala vůbec.

Další reakce, kterým byla věnována pozornost, byly parciální kyselé či bazické hydrolýzy a aminolýzy kurkuminu **(IV)**. Ani tyto reakce nevedly k požadovaným výsledkům. Opět docházelo ke štěpení molekuly.

Jak bylo patrné z provedené rešerše, kurkuminoidy jsou stabilní v kyselém prostředí, zatím co v bazickém a neutrálním jsou nestabilní. V této práci vytvořený kurkumin **(IV)** se částečně vymyká tomuto poznatku. Přidání již katalytického množství kyseliny vyvolává štěpení tohoto diesterového kurkuminu **(IV)** na jeho typické štěpné produkty, které jsou popsány v teoretické části ve Schématu 3.

## 7. Seznam literatury

- 1) Reem, I; Omaima, M; Khairia, M. Y. Synthesis of curcumin and ethylcurcumin bioconjugates as potential antitumor agents. *Chemistry Research* **2012**, 21 (6), 874-890.
- 2) Lu, P; Tong, Q; Jiang, F; Zheng, L; Chen, F; Zeng, F; et al. Preparation of curcumin prodrugs and their in vitro antitumor activities. *Sci Technol Med Sci* **2005**, 25. p. 668–70, 78.
- 3) US2009098226 (A1)
- 4) <http://www.emulgatory.cz/seznam-ecek/E100>
- 5) Kiuchi, F; Goto, Y; Sugimoto, N; Akao, N; Kondo, K; Tsuda, Y. Nematocidal activity of turmeric: synergistic action of curcuminoids. *Chemical & pharmaceutical bulletin* **1993**, 41(9), 1640-3.
- 6) Huang, M. T; Ma, W; Lu, Y. P.; Chang, R. L.; Fisher, C; Manchand, P.S.; Newmark, H. L.; Conney. A.H. Effects of curcumin, demethoxycurcumin, bis-demethoxycurcumin and tetrahydrocurcumin on 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced tumor promotion. *Carcinogenesis*, 16 **1995**, 2493–2497.
- 7) Payton, F.; Sandusky, P.; Alworth, W. NMR study of the solution structure of curcumin. *L. J. Nat. Prod.* **2007**, 70, 143– 146
- 8) Stankovic, I. Curcumin. Chemical and technical assessment **2004**: 8.
- 9) Araujo, A. C.; Leon, L. L. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*; **2001**, 96,723–728.
- 10) Rathaur, P.; Raja, W.; Ramteke, P. W.; John S. A. Turmeric: The Golden Spice of Life. *Int J Pharm Sci Res* **2012**, 3 (7), 1987-1994.
- 11) Dilip, K.; Maity, G. H.; Naik, M.; et al. Mohan Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin. *Free radical biology & medicine* **2003**, 35 (5), 475-84.
- 12) Barclay, L. R.; Vinqvist, M. R.; Mukai, K.; Goto, H.; Hashimoto, Y.; Tokunaga, A.; et al. On the antioxidant mechanism of curcumin: classical methods are needed to determine antioxidant mechanism and activity. *Org Lett* **2000**, 2, 2841–3.
- 13) Chen, W. F.; Deng, S. L.; Zhou, B.; Yang, L.; Liu, Z. L. Curcumin and its analogues as potent inhibitors of low density lipoprotein oxidation: H-atom

- abstraction from the phenolic groups and possible involvement of the 4-hydroxy-3-methoxyphenyl groups. *Free Radic Biol Med* **2006**, 40, 526–35.
- 14) Yoysungnoen, P.; Wirachwong, P.; Bhattarakosol, P.; Niimi, H.; Patumraj, S. Antiangiogenic activity of curcumin in hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* **2005**, 33 (2), 127-135.
  - 15) Konatham; Suresh; et al. Synthesis and screening of antidiabetic activity of some novel curcumin analogues. *International Journal of Pharma and Bio Sciences* **2010** 1 (2).
  - 16) Nurfina, A. N.; Reksohadiprodjo, M. S.; Timmerman, H; Jenie, U. A.; Sugiyanto, D.; van der Goot, H. Synthesis of some symmetrical curcumin derivatives and their antiinflammatory activity. *Eur J Med Chem* **1997**, 32, 321–8.
  - 17) Thiyagarajan, M.; Shyam, S. S. Neuroprotective effect of curcumin in middle cerebral artery occlusion induced focal cerebral ischemia in rats. *Life Sciences* **2004**, 74 (9), 969–985.
  - 18) Bala; Kiran; Tripathy, B. C. Neuroprotective and Anti-ageing Effects of Curcumin in Aged Rat Brain Regions. *Biogerontology* **2006**, 7 (2), 81-89.
  - 19) Syu, Wan-Jr; et al. Cytotoxicity of curcuminoids and some novel compounds from *Curcuma zedoaria* *Journal of Natural Products* **1998**, 61 (12), 1531-1534.
  - 20) Limtrakul, P.; Lipigorngoson, S.; Namwong, O.; Apisariyakul, A.; Dunn, F. W. Inhibitory effect of dietary curcumin on skin carcinogenesis in mice. *Cancer Lett*, **1997**, 116, 197–203.
  - 21) Barthelemy, S.; Vergnes, L.; Moynier, M.; Guyot, D.; Labidalle, S.; Bahraoui, E.. Curcumin and curcumin derivatives inhibit Tat-mediated transactivation of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat. *Research in Virology* 1998, 149 (1), 43-52.
  - 22) Toshihiko, K.; Ronald, L.; Steele, V. E. Chemopreventive effect of curcumin, a naturally occurring anti-inflammatory agent, during the promotion/progression stages of colon cancer. *Cancer Research* **1999**, 59 (3), 597-601.
  - 23) Plummer, S. M.; Holloway, K. A.; Manson, M. M.; Munks, R. J. Inhibition of cyclo-oxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF-kappaB activation via the NIK/IKK signalling complex  
*Oncogene* **1999**, 18 (44), 6013-20.



- 24) Mahmoud, Y.; Mahmoud F. G. Upregulation of extrinsic apoptotic pathway in curcumin-mediated antiproliferative effect on human pancreatic carcinogenesis. *Journal of Cellular Biochemistry* **2013**, 114, (12), 2654-2665.
- 25) Yoosungnoen, P.; Wirachwong, P.; Bhattarakosol, P.; Niimi, H.; Patumraj, S. Y. Antiangiogenic activity of curcumin in hepatocellular carcinoma cells implanted nude mice. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* **2005**, 33 (2), 127-135.
- 26) Anand, P.; Kunnumakkara, A. B.; Newman, R. A.; Aggarwal, B. B. Bioavailability of curcumin: problems and promises *Mol. Pharm.* **2007**, 4, 807– 818
- 27) Shehzad A.; Lee Y. S.; *Drugs of the Future* **2010**, 35, 113–119.
- 28) Tůmová L.; Zatloukalová L. *Prakt. lékáren.* **2010**, 6 (4), 209–211.
- 29) Wisut W.; Ubonthip, N.; Sumrit, W.; Pornchai, R. *Molecules* **2011** , 16 (2), 1888-1900
- 30) Ireson, Ch.; Orr, S.; Jones, J. L.; Verschoyle, R; et al Characterization of metabolites of the chemopreventive agent curcumin in human and rat hepatocytes and in the rat in vivo, and evaluation of their ability to inhibit phorbol ester-induced prostaglandin E2 production. *Cancer Research* **2001**, 61 (3), 1058-1064.
- 31) US 33055 A1, 2008
- 32) Mayadevi, M.; Omkumar, R. V.; Sherin, D. R.; Keerthi, V. S.; Rajasekharan, K. N. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **2012** , 20 (20), 6040 - 6047,8.
- 33) WO 110168 A1, 2007
- 34) Handler, N.; et al. Synthesis of novel curcumin analogs and their evaluation as selective cyclooxygenase-1 (COX-1) inhibitors. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **2007**, 55 (1), 64-71.
- 35) US 7521580 B1
- 36) Han, Young-Min; et al. 2-Hydroxycurcuminoid induces apoptosis of human tumor cells through the reactive oxygen species-mitochondria pathway. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2011**, 21 (2), 747-751.
- 37) Qiu, Xu; et al. Synthesis and identification of new 4-arylidene curcumin analogues as potential anticancer agents targeting nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, 53 (23), 8260-8273.
- 38) Shi, Qian et al. Antitumor agents 290. Design, synthesis, and biological evaluation of new LNCaP and PC-3 cytotoxic curcumin analogs conjugated with anti-androgens. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2012**, 20 (13), 4020-4031.

- 39) Amolins, M. W.; et al. Synthesis and evaluation of electron-rich curcumin analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, 17 (1), 360-367.
- 40) Christie, E.; et al. Microwave-assisted synthesis of curcumin analogs. *Letters in Organic Chemistry* **2012**, 9 (6), 447-450.
- 41) US 160276 (A1) - 2011
- 42) Narlawar, R.; Pickhardt, M.; Leuchtenberger, S.; Baumann, S.; et al. Curcumin-Derived Pyrazoles and Isoxazoles: Swiss Army Knives or Blunt Tools for Alzheimer's Disease? *ChemMedChem* **2008**, 3, 165.
- 43) Mai, A.; Cheng, D.; Bedford, M. T.; Valente, S.; Nebbioso, A.; Perrone, A; et al. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51 (7), 2279-2290.
- 44) Fadda, A. A.; Badria, F. A.; et al. Synthesis and evaluation of curcumin analogues as cytotoxic agents. *Medicinal Chemistry Research* **2010**, 19 (5), 413-430
- 45) WO 145420 (A1)- 2012
- 46) Ouyang, Y.; et al. Facile and clean synthesis of  $\alpha$ -alkenoyl ketene-(S,S)-acetals via the aldol condensation reactions in water. *Tetrahedron* **2006**, 62 (43), 10111-10116.
- 47) Lal, Jaggi et al; Chitosan: An efficient biodegradable and recyclable green catalyst for one-pot synthesis of 3,4-dihydropyrimidinones of curcumin in aqueous media. *Catalysis Communications*, **2012**, 27, 38-43.
- 48) Sushilkumar S. B.; Devanand B. S. Synthesis and anti-inflammatory activity of some [4,6-(4-substituted aryl)-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidin-5-yl]-acetic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2004**, 14, 1733.
- 49) Ashok, M.; Holla, B. S.; Kumari, N. S. Convenient one pot synthesis and antimicrobial evaluation of some new Mannich bases carrying 4-methylthiobenzyl moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2007**, 42 (8), 1095-1101.
- 50) Tamaddon, F.; Razmi, Z.; Jafari, A. A. Synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1*H*)-ones and 1,4-dihydropyridines using ammonium carbonate in water. *Tetrahedron Letters* 2010, 51 (8), 1187.
- 51) Sahu, P. K.; Sahu, Praveen, K.; Gupta, S. K.; Thavaselvam, D.; Agarwal, D. D. Synthesis and evaluation of antimicrobial activity of 4*H*-pyrimido[2,1-*b*]benzothiazole, pyrazole and benzylidene derivatives of curcumin. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2012**, 54, 366-378.
- 52) Thayer, F. K.; Adams, R. M-nitrocinnamic acid. *Organic Syntheses* **1941**, 1, 398.

- 53) Zou H. et al. Synthesis, biological evaluation, and structure–activity relationship study of novel cytotoxic aza-caffeic acid derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 6351-6359.
- 54) Koo J.; Fish M. S.; Walker G. N.; Blake J.; 2,3-dimethoxycinnamic acid. *Organic Syntheses Collection* **1963**, 4, 327–329.
- 55) Robbins, R. J.; Schmidt W. F. Optimized synthesis of four isotopically labeled (<sup>13</sup>C-enriched) phenolic acids via a malonic acid condensation. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* **2004**, 47 (11), 797 – 806.
- 56) Černý, J. V. *Organická Synthesa* **1971**, 422.
- 57) Frank O.; Zehentbauer G.; Hofmann T. Bioresponse-guided decomposition of roast coffee beverage and identification of key bitter taste compounds. Original paper **2005**, 492-508.
- 58) Illi V. O. Phase transfer catalyzed acylation. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 26, 2431–2432.
- 59) Hosoda A.; Nomura E.; Mizuno K. Taniguchi H. Preparation of a (+-)-1,6-Di-O-feruloyl-myo-inositol Derivative: An Efficient Method for Introduction of Ferulic Acid to 1,6-Vicinal Hydroxyl Groups of myo-Inositol. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 7199-7201.
- 60) Deslongchamps, P.; et al. The Hydrolysis of Cyclic Orthoesters. Stereoelectronic Control in the Cleavage of Hemioorthoester Tetrahedral Intermediates. *Canadian Journal of Chemistry* **1975**, 53 (11), 1601-1615.
- 61) Dickey, J. B.; Gray, A. R. Barbituric acid. *Organic syntheses* Vol. 2, 60.
- 62) Selvam, C.; Sanjay, M.; et al. Design, synthesis, biological evaluation and molecular docking of curcumin analogues as antioxidant, cyclooxygenase inhibitory and anti-inflammatory agents *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15, 1793–1797.
- 63) Amolins, M. W.; et al. Synthesis and evaluation of electron-rich curcumin analogues *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, 17, 360–367.
- 64) Shim J. S.; et al. Hydrazinocurcumin, a Novel Synthetic Curcumin Derivative, is a Potent Inhibitor of Endothelial Cell Proliferation. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10, 2987–2992.