

# Příprava „magic“ malonátů a studium jejich reaktivity s fenolem

Aneta Šteiglová

---

Bakalářská práce  
2023



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav chemie

Akademický rok: 2022/2023

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Aneta Šteiglová**  
Osobní číslo: **T20326**  
Studijní program: **B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin**  
Specializace: **Chemie a analýza potravin**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Příprava „magic“ malonátů a studium jejich reaktivity s fenolem**

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

1. Zpracovat literární rešerši zaměřenou na přípravu a hydrolyzu diesterů karboxylových kyselin.
2. Z dostupných zdrojů vyhledat a do textu zapracovat cyklokondenzační reakce malonátů s deriváty fenolu, případně jeho dusíkatých analogů.
3. Dále je pak možné se zmínit o případné biologické aktivitě, či jiném možném využití analogů k připraveným derivátům v rámci BP.

### II. Praktická část

1. Na základě literární rešerše provést hydrolyzu vybraných diethyl-malonátů.
2. Po přípravě 2-substituovaných malonových kyselin v dostatečném množství pokusit se o jejich esterifikaci 2,4,6-trichlor-fenolem.
3. V případě úspěšně splněného bodu 2, vystavit směsi trichlorfenyl-malonátů s fenolem vysokým teplotám.
4. Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
5. Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat bakalářskou práci.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

**Seznam doporučené literatury:**

1. McMurry, J. Organická chemie 2007, VUTIUM Brno.
2. Stadlbauer, W.; Badawey, E-S.; Hojas, G.; Roschger, P.; Kappe, T. Malonates in Cyclocondensation Reactions. *Molecules* 2001, 6, 338-352.
3. Musa, M. A.; Cooperwood, J. S.; Khan, M. O. F. A Review of Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Breast Cancer. *Curr. Med. Chem.* 2008, 15, 2664-2679.
4. Stefanachi, A.; Leonetti, F.; Pisani, L.; Catto, M.; Carotti, A. Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules* 2018, 23, 250.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**  
Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **31. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. května 2023**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 28. února 2023

## PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mně požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Hlavní téma teoretické části je věnováno cyklokondenzačním reakcím, které jsou klíčové pro přípravu dusíkatých a kyslíkatých heterocyklů. Dále se práce zaměřuje na popis jednotlivých derivátů kyseliny malonové a na jednotlivé kroky syntézy „magic“ malonátů. Praktická část je věnovaná právě syntéze těchto reaktivních derivátů a studiu reaktivity s fenolem a cyklohexanonem. Všechny připravené produkty byly charakterizovány dle vybraných instrumentálních metod.

Klíčová slova: „magic“ malonáty, deriváty kyseliny malonové, cyklokondenzační reakce, heterocykly, 4-hydroxykumariny,

## **ABSTRACT**

The main topic of the theoretical part is devoted to cyclocondensation reactions, which are crucial for the preparation of nitrogen and oxygen heterocycles. Furthermore, the thesis focuses on the description of individual malonic acid derivatives and on the individual steps of the synthesis of "magic" malonates. The practical part is devoted to the synthesis of these reactive derivatives and the study of reactivity with phenol and cyclohexanone. All prepared products were characterized according to selected instrumental methods.

Keywords: "magic" malonates, malonic acid derivatives, cyclocondensation reactions, heterocycles, 4-hydroxycoumarins

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D. za trpělivost, ochotu a odborné rady. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za motivaci a podporu během celého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

## OBSAH

ÚVOD.....	8
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>9</b>
<b>1 DERIVÁTY KYSELINY MALONOVÉ.....</b>	<b>10</b>
<b>2 PŘÍPRAVA „MAGIC“ MALONÁTŮ .....</b>	<b>17</b>
2.1 HYDROLÝZA.....	17
2.2 ESTERIFIKACE .....	19
<b>3 CYKLOKONDENZAČNÍ REAKCE.....</b>	<b>20</b>
3.3 REAKCE S KYSELINOU MALONOVOU .....	30
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST.....</b>	<b>32</b>
<b>4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....</b>	<b>33</b>
4.1 PŘÍPRAVA MALONOVÉ KYSELINY .....	34
4.2 PŘÍPRAVA BIS(2,4,6-TRICHLORFENYL) MALONÁTU .....	36
4.3 CYKLOKONDENZAČNÍ REAKCE .....	40
<b>5 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD .....</b>	<b>43</b>
<b>6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>44</b>
6.1 PŘÍPRAVA MALONOVÉ KYSELINY II.....	44
6.2 PŘÍPRAVA BIS(2,4,6-TRICHLORFENYL)-MALONÁTU.....	46
6.3 NEÚSPĚŠNÁ PŘÍPRAVA 3-ETHYL-4-HYDROXYKUMARINU .....	48
6.4 NEÚSPĚŠNÁ PŘÍPRAVA 3-ETHYL-4-HYDROXY-5,6,7,8- TETRAHYDROKUMARINU .....	49
<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>50</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>52</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>53</b>

## ÚVOD

První syntézy aromatických diesterů kyseliny malonové, které si díky své reaktivitě vysloužily přídomek magické, byly prvně popsány v roce 1967 rakouským chemikem Thomasem Kappem a jeho výzkumným týmem. Za více než 30 let, konkrétně v roce 2001, vyšla jedna z jeho mnoha publikací, ve které shrnuje variabilitu využití těchto „magic“ malonátů. Převážně jsou tyto deriváty malonové kyseliny hojně využívány k přípravě pěti, šesti a sedmičlenných dusíkatých nebo kyslíkatých heterocyklů.

Jedny z nejznámějších bicyklických sloučenin, jejichž hlavní řetězec je tvořen ze vzájemně propojených devíti atomů uhlíku a jednoho atomu kyslíku, se nazývají kumariny. Jejich glykosylované deriváty je možné nalézt v přírodě jako přirozenou součást rostlin<sup>1</sup>, zvláště pak jsou ve vysoké koncentraci obsaženy v semenech slivoně obecného (coumarou = francouzky slivoň obecný) nebo v podobě 6,7-dihydroxykumarinu, eskuletinu, v kůře kaštanu. Dále je možné se také s jejich motivem setkat v medikamentech využívaných k léčbě lymfedému<sup>2</sup>. Příprava jejich dusíkatých analogů, chinolonů, jež jsou neméně významné heterocykly, se již pro členy útlého výzkumného týmu prof. Kláska a doc. Kafky stalo běžnou rutinou. Během doby jejich neuhasínajícího zájmu o syntézu těchto látek a studium jejich reaktivity postupy vylepšily natolik, že výtěžky čistých produktů obvykle převyšují 70 %. Vzhledem k těmto faktům vyvstala otázka, zda-li by bylo možné identické podmínky využít i k syntéze kumarinů. Z provedených a dosud žádným způsobem nepublikovaných výsledků mé kolegyně se ukázalo, že ano, ovšem za cenu výtěžku výjimečně přesahujícího 45 %. Z toho důvodu se zrodila touha vyzkoušet mnohdy až bájně opěvovanou magickou reaktivitu bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátů. Za tímto účelem bylo několik vybraných komerčně dostupných diethyl-malonátů hydrolyzováno na odpovídající dikarboxylové kyseliny, které byly následně esterifikovány 2,4,6-trichlorfenolem. Na závěr byly získané diaryl-malonáty za různých podmínek vystaveny fenolu. A jak to vše dopadlo? Jsou opravdu bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonáty tak zázračné, jak se o nich povídá?



## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 DERIVÁTY KYSELINY MALONOVÉ

První zmínka o propan-1,3-diové kyselině se datuje do 19. století, kdy francouzský chemik Victor Dessaignes ji připravil vlivem oxidačního účinku kyseliny chromové na jablečnou kyselinu. Jelikož se jablko řecky řekne malon, vysloužila si tato sloučenina triviální název kyselina malonová.<sup>3</sup> Samotnou kyselinu malonovou je možné v malém množství nalézt v cukrové řepě a v zelené pšenici.

Kyselina malonová patří do skupiny organických dikarboxylových kyselin při zahřívání nad 138 °C spontánně dekarboxyluje za vzniku octové kyseliny. Její užitečnou vlastností je vysoká reaktivita na centrálním methylenovém můstku, která je způsobena přítomností karboxylových funkčních skupin a možnou rezonanční stabilizací vzniklého karbaniontu. Za bazické katalýzy lze tento můstek alkylovat nebo může podléhat aldolové kondenzaci. Jelikož má tato kyselina dvě funkční skupiny, má dvě disociační konstanty, jejichž hodnota pKa jedné karboxylové skupiny je 2,85 a druhé je pKa rovna 5,70.<sup>4</sup>

Obecně je možné o kyselině malonové či jejích derivátech říci, že je hojně využívána v průmyslu při syntéze jistých meziproductů hrajících důležitou, mnohdy i hlavní roli při výrobě léčiv, agrochemikálií, vitamínů, barviv, lepidel a dokonce i vonných látek.<sup>5</sup> Při bližším pohledu na využití derivátů kyseliny malonové je možné zjistit, že nalézají uplatnění v syntéze barbiturátů, kaprofeny a naftidrofurylu, vitamínu B2 a různých herbicidů. Základní přehled rozmanitosti využití malonátů je zobrazeno na **Schématu 1**. Barbituráty **1** (X = O) jsou deriváty kyseliny barbiturové, které působí na komplex GABA<sub>A</sub>.<sup>6</sup> Ovlivňují funkci chloridového kanálu i bez přítomnosti GABA a způsobují poruchy REM spánku.<sup>7</sup> Mezi barbituráty tohoto typu můžeme zařadit například fenobarbital, thiopental a hexobarbital. Další sloučeninou zobrazenou na **Schématu 1** je derivát isoindolinu.<sup>8</sup> Jedná se o žlutý pigment 139 (**2**), který se používá na povrchové úpravy v autolakýrnictví.<sup>9</sup> Díky své jasmínové vůni nachází dihydrojasmonát **3** uplatnění v kosmetickém průmyslu jako sloučenina přidávaná do parfémů.<sup>10</sup> Kyselina nalidixová **4** byla poprvé syntetizována v roce 1962 Leshnerem a jeho spolupracovníky ze společnosti Sterling-Withrop při hledání nových cest k syntéze antimalarika chlorochinu.<sup>11</sup> Jejím objevem započala éra syntetických chinolonových antibiotik.<sup>12</sup>

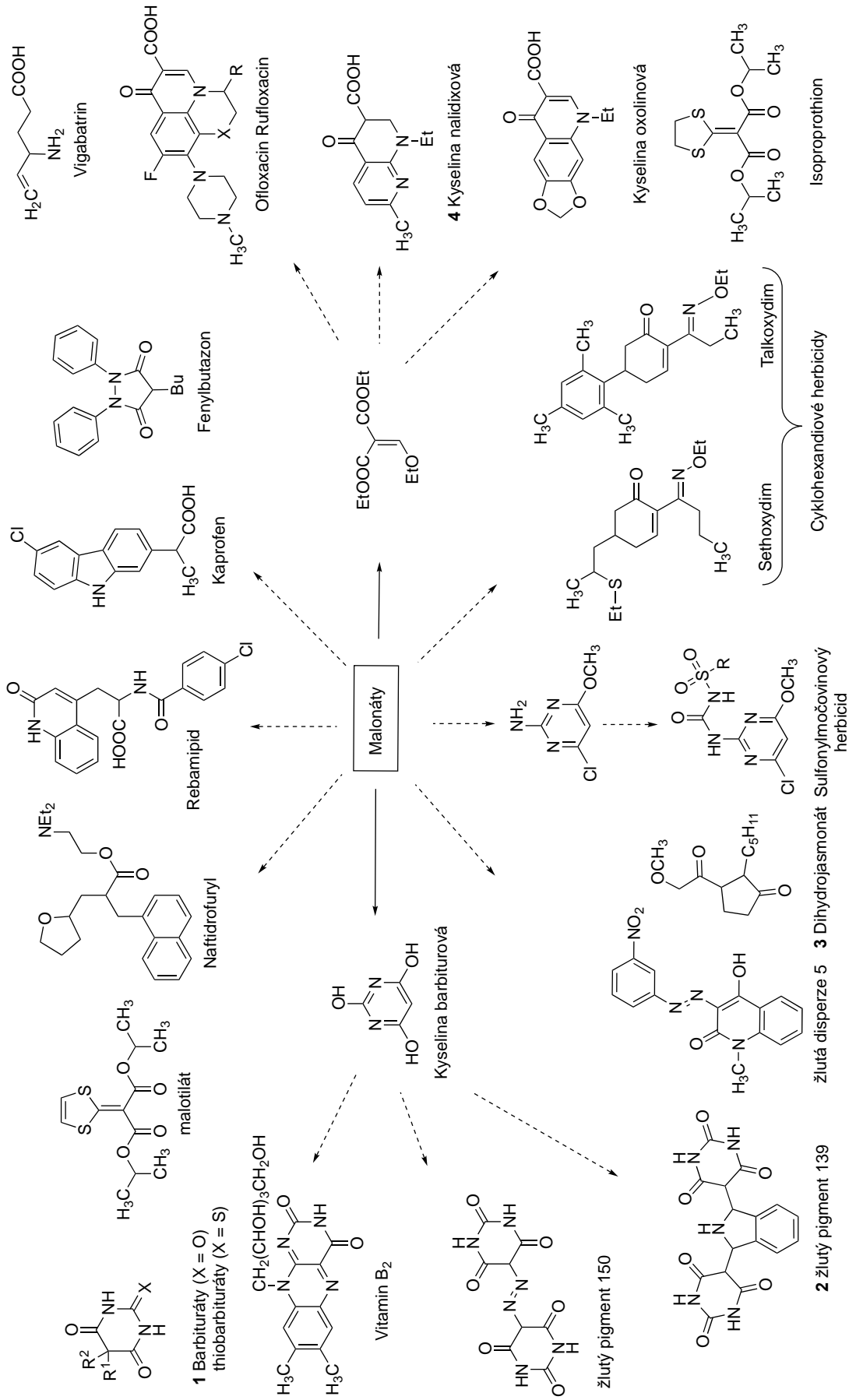


Schéma 1. Využití malonátů.

## 1.1 Acyklické deriváty

Deriváty kyseliny malonové nacházejí uplatnění v mnoha průmyslových odvětvích, jako farmacie, výroba polymerů, barviv a kosmetiky. Tyto deriváty mohou být použity k syntéze mnoha různých organických sloučenin, jako jsou například aminokyseliny, heterocyklické sloučeniny a alkoholy. Deprotonace malonátů umožňuje použití těchto sloučenin jako nukleofilů v organické syntéze.

### 1.1.1 Dialkyl-malonáty

Nejběžnějšími acyklickými estery kyseliny malonové jsou dialkyl-estery, které podléhají řadě reakcí (acylace, alkylace, kondenzace). Tyto estery se používají v organické syntéze jako prekurzory různých sloučenin, jako jsou barviva a pesticidy. Tyto deriváty lze připravit několika způsoby. Jedním z mnoha příkladů je syntéza diethyl-malonátu **7**, která spočívá v reakci kyseliny malonové **6** s chlorethanem **5** v prostředí ethanolu.<sup>13</sup>

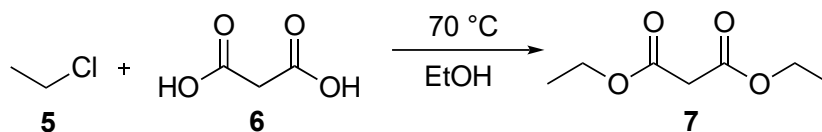


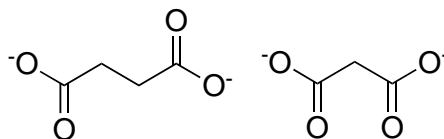
Schéma 2. Příprava diethyl-malonátu.

### 1.1.2 Soli kyseliny malonové

Mnohé soli kyseliny malonové jsou kompetentní inhibitory enzymu sukcinátdehydrogenázy, což znamená, že soutěží se sukcinátem, který je obvyklým substrátem enzymu a váže se na jeho aktivní místo. Kromě toho, že jsou malonáty inhibitory sukcinátu, snižují účinek i jiných inhibitorů.<sup>14</sup> Jedním z takových inhibitorů je kyanid, který inhibuje komplex IV (cytochrom oxidáza) dýchacího řetězce. Kyanid se váže na železo v centru cytochromu oxidázy a blokuje tak jeho schopnost přijímat elektrony z ubichinonu a redukovat kyslík na vodu. Tím se zastaví přenos elektronů v dýchacím řetězci a snižuje se produkce ATP.<sup>15</sup> Inhibicí sukcinátdehydrogenázy malonátem vede ke zvýšené produkci sukcinátu, který může reagovat s kyanidem, čímž dochází k vytvoření produktu komplexu II, kyanidem neovlivněného, a tím se snižuje účinek kyanidu jako inhibičního činidla. Díky provedeným

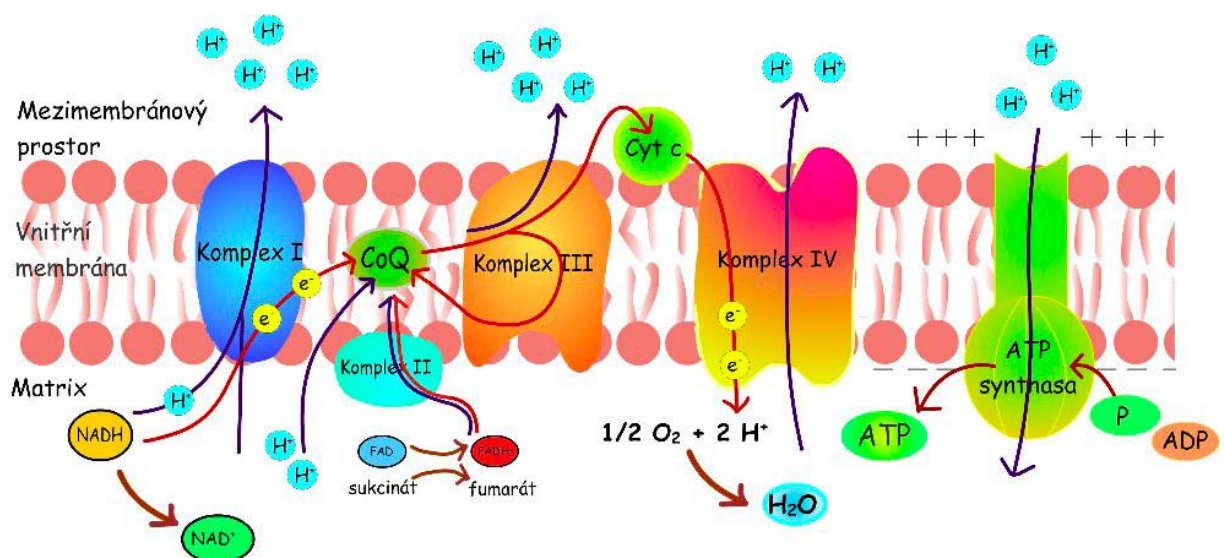
experimentům s těmito inhibitory bylo možné blíže poznat strukturu sukcinátového aktivního centra dehydrogenázy.<sup>14</sup>

Sukcinátdehydrogenáza je mitochondriální komplex II, který v dýchacím řetězci hraje roli přenašeče elektronů. Sukcinát **8** se oxiduje pomocí sukcinátdehydrogenázy na fumarát, přičemž současně redukuje FAD na FADH<sub>2</sub> a ten přenáší elektrony na ubichinon. Když se v dýchacím řetězci namísto sukcinátu naváže malonát **9**, enzym sukcinátdehydrogenáza ho neumí oxidovat. Malonát se stane kompetitivním inhibítorem enzymu, protože zaujímá jeho vazebné místo, ale není oxidován na fumarát. To vede k blokaci tohoto kroku v dýchacím řetězci, což může mít za následek sníženou produkci ATP v buňkách. Malonát je využíván jako inhibitor dýchacího řetězce v experimentech, kde je potřeba dočasně blokovat tuto část metabolismu.<sup>14</sup>



**Obrázek 1.** Sukcinát **8** a malonát **9**.

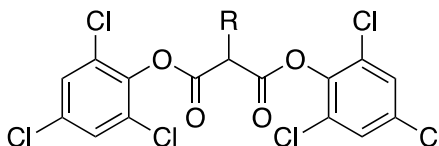
Ve schématu dýchacího řetězce (**Obrázek 2**) je znázorněná vnitřní membrána mitochondrie a jednotlivé přenašeče. Komplex II, který se nachází na vnitřní straně membrány, hraje významnou roli ve výše zmíněné inhibici.



**Obrázek 2.** Dýchací řetězec.<sup>16</sup>

### 1.1.3 „Magic“ malonáty

Mezi deriváty kyseliny malonové patří také tzv. „magic“ malonáty. Tyto sloučeniny byly označeny jako magické z důvodu, že poskytly nové a snadné způsoby, jak dosáhnout složitých organických molekul pomocí relativně jednoduchých prekurzorů. Tyto sloučeniny chovající se jako 1,3-dielektrofilily jsou především využívány pro syntézu pěti-, šesti- a sedmičlenných heterocyklů velmi často obsahujících *meta* orientovanou oxoskupinu a hydroxylovou skupinu. Další alternativní název, jenž používá ve svých publikacích Kappe, je aktivní malonát (v anglické literatuře AME – active malonate ester a v německé literatuře „wunder“ estery).<sup>17</sup> Z důvodu vysokého množství atomu chlóru v molekule nemohou být aktivní malonáty zařazeny do Green Chemistry.<sup>18</sup>



Obrázek 3. obecná struktura „magic“ malonátů.

### 1.1.4 Trimethylsilyl-malonáty

Novou generací aktivních malonátů jsou trimethylsilylestery **10**, které se připravují reakcí kyseliny malonové **6** s trimethylsilylchloridem **10** v prostředí bezvodého pyridinu.<sup>18</sup> Vystavením těchto malonátů účinku aromatických aminů, i těm, které mají pouze slabě bazické atomy dusíku, dochází i při nízkých teplotách poměrně snadno k tvorbě malondianilidů **11** nebo produktů cyklizace, 4-hydroxychinolonů. Záleží pouze na poměrech vstupujících výchozích látek.<sup>18</sup>

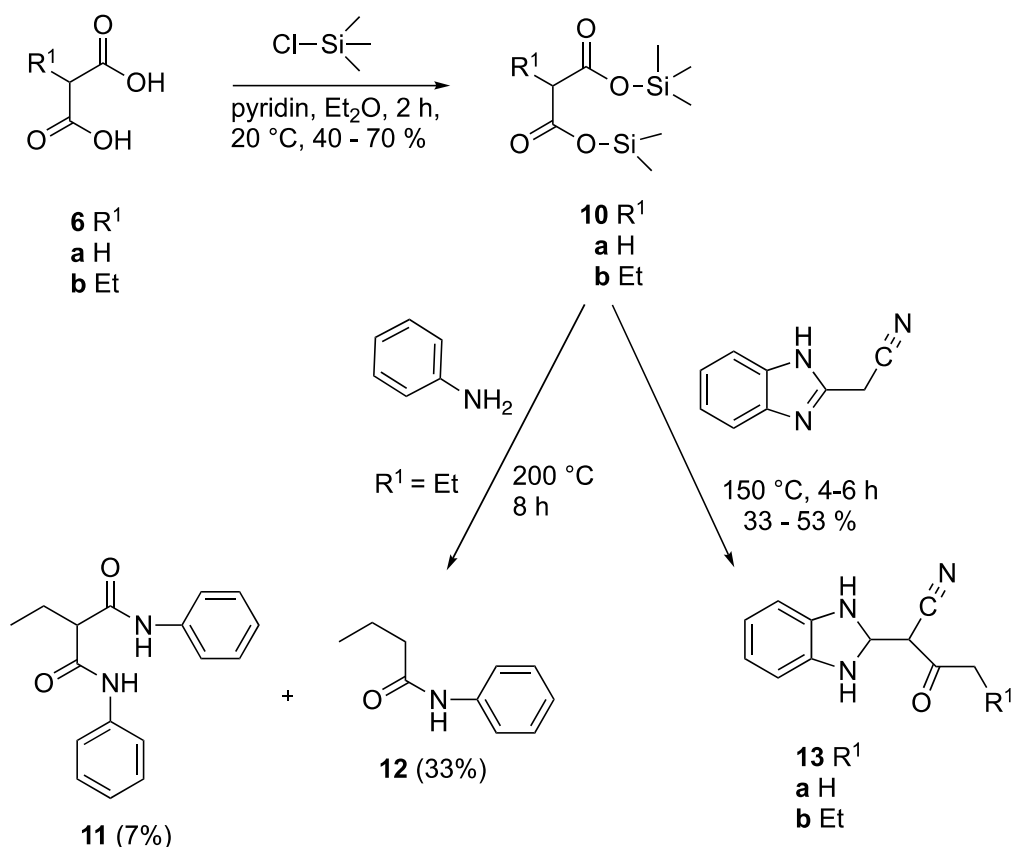


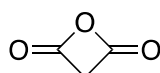
Schéma 3. Příprava a reakce trimethylsilyl-malonátu.

## 1.2 Cyklické deriváty

Existuje celá řada cyklických derivátů kyseliny malonové, v této kapitole jsou vybrány ty nejzajímavější a nejvíce využívané. Disociační konstanty u cyklických derivátů jsou řádově nižší než v případě lineárních derivátů, což může být způsobeno vlivem cyklické struktury, která může ovlivňovat stabilitu a kyselost molekuly.

### 1.2.1 anhydrid kyseliny malonové

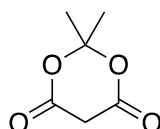
Další sloučeninou patřící do nové generace aktivních malonátů jsou směsné anhydridy **14**, též oxetan-2,4-dion. Tyto sloučeniny byly poprvé syntetizovány v roce 1988 ozonolýzou diketenu.<sup>19,20</sup>

Obrázek 4. Směsný anhydrid kyseliny malonové **14**.

### 1.2.2 Kyselina meldrumová

Dalším cyklickým derivátem je kyselina meldrumová **15**, která byla poprvé připravena v roce 1908 A. N. Meldrumem kyselé katalyzovanou kondenzací kyseliny malonové s acetonem.<sup>21,22</sup>

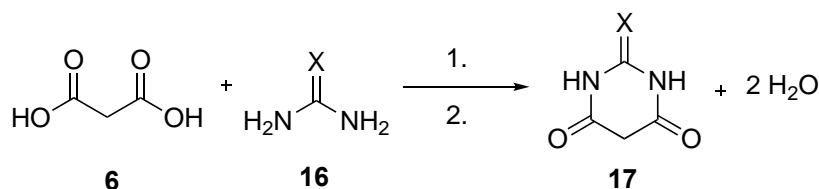
Kyselina Meldrumova má pKa 4,97, které je srovnatelné s kyselinou octovou. Tato hodnota je nižší než pKa acyklických malonátů, která je okolo 14. Tento výrazný rozdíl vysvětlil Tomohiko Ohwada tak, že struktura v rámci minimalizace konformační energie umísťuje orbitály C–H vazeb (H v alfa karbonylových skupin) tak, aby se vyrovnaly s anti-vazebným orbitalem, což má za následek to, že i v molekula v základním stavu má výjimečně silně destabilizované C–H vazby.<sup>23</sup>



Obrázek 5. Kyselina meldrumová **15**.

### 1.2.3 Kyselina barbiturová a 2-thiobarbiturová

Mezi další cyklické deriváty kyseliny malonové patří kyselina barbiturová **17** (X = O) a kyselina 2-thiobarbiturová **17** (X = S), které se v závislosti na prostředí vyskytují ve své ketoformě, enolformě nebo v podobě jejich rovnovážné směsi. Kyselina barbiturová, jež se připravuje kondenzací močoviny a kyseliny malonové, byla v roce 1864 objevena německým chemikem Adolfem von Baeyerem a patří mezi hypnotika I. generace.<sup>24</sup> Záměnou močoviny za thiomčovinu je možné získat kyselinu 2-thiobarbiturovou,<sup>25</sup> která je často využívána v analytické chemii pro stanovení kyseliny sorbové v potravinách.



X = O , S

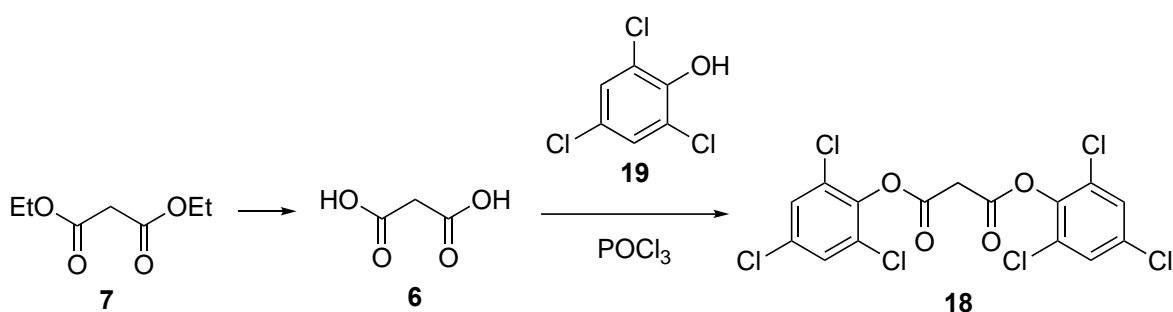
1. CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>COOH, 60 - 70 °C, 1h
2. anhydrid kys. octové, 90 °C, 6h

Schéma 4. Příprava kyseliny barbiturové a 2-thiobarbiturové.



## 2 PŘÍPRAVA „MAGIC“ MALONÁTŮ

Substituované „magic“ malonáty **18** nejsou komerčně dostupné sloučeniny, a proto, je-li s nimi zamýšlena nějaká syntéza, je nutné tyto sloučeniny předem připravit. Pro prvotní představu o složitosti postupu jejich přípravy je uveden na **Schématu 5**. Blíže budou jednotlivé kroky, včetně mechanismů podporovaných komentované přeměny, rozebrány níže.



**Schéma 5.** Syntéza „magic“ malonátů **18**.

### 2.1 Hydrolýza

Jelikož jsou estery 2-substituovaných malonových kyselin v komerční sféře mnohem snáze dostupné a za výrazně nižší cenu než jejich kyseliny samotné, většina příprav „magic“ malonátů je zahájena hydrolýzou zmiňovaných esterů, které se poměrně ochotně vodnými roztoky bází nebo kyselin štěpí na danou dikarboxylovou kyselinu a alkohol.

#### 2.1.1. Kyselá hydrolýza

Kysele katalyzovaná hydrolýza esterů může v závislosti na struktuře esteru probíhat několika různými mechanismy. Obvyklý mechanismus přesně odpovídá opačnému průběhu Fischerovy esterifikace. Nejprve je karbonylová skupina protonací jejího atomu kyslíku aktivována, následuje nukleofilní adice molekuly vody a eliminací alkoholu z přechodně vzniklého tetraedrického intermediátu dochází ke vzniku karboxylové kyseliny.<sup>26</sup>

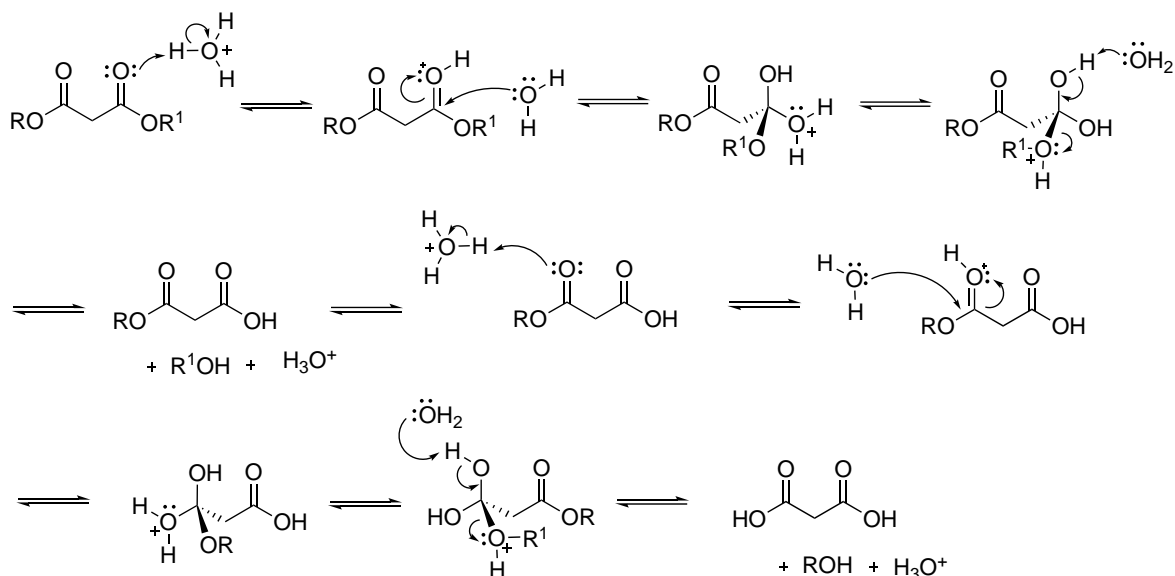


Schéma 6. Kyselá hydrolýza dialkyl-malonátu.

### 2.1.2. Alkalická hydrolýza

Hydrolýza esterů působením bází, někdy také nazývaná jako zmýdelnění, probíhá jako nukleofilní adice hydroxidového aniontu na atom uhlíku esterové skupiny. Ze vzniklého tetraedrického meziprojektu dochází k samovolnému odštěpení alkoxydového iontu, čímž vzniká příslušná sůl karboxylové kyseliny a alkohol.<sup>26</sup>

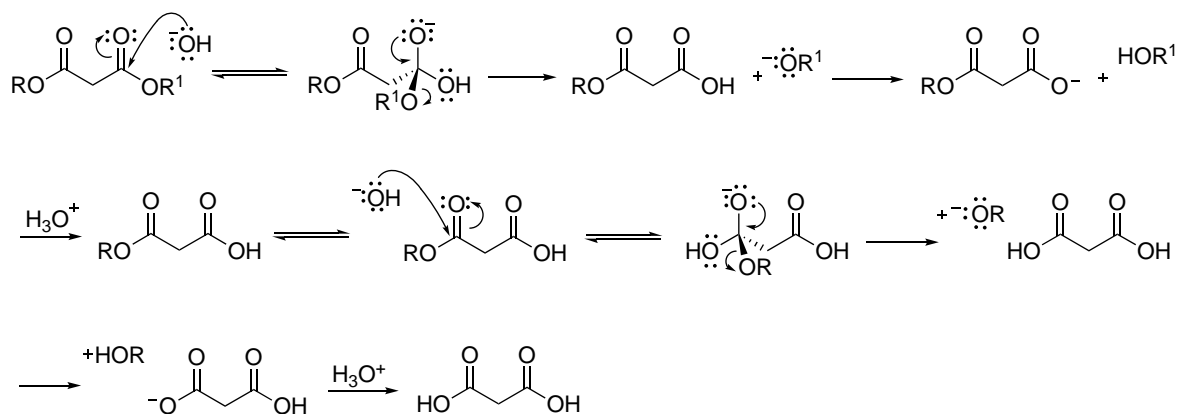
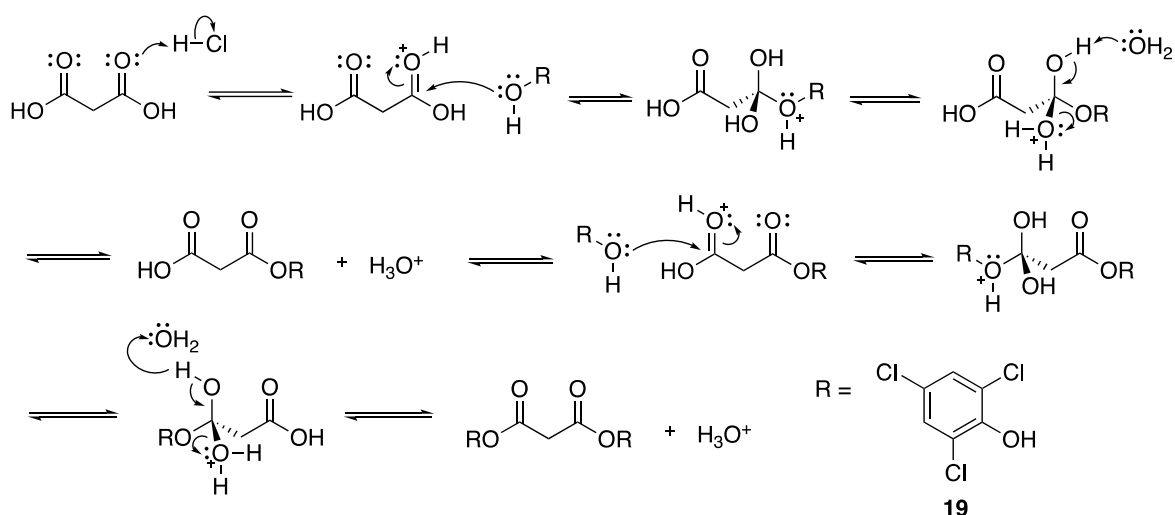


Schéma 7. Alkalická hydrolýza dialkyl-malonátu.

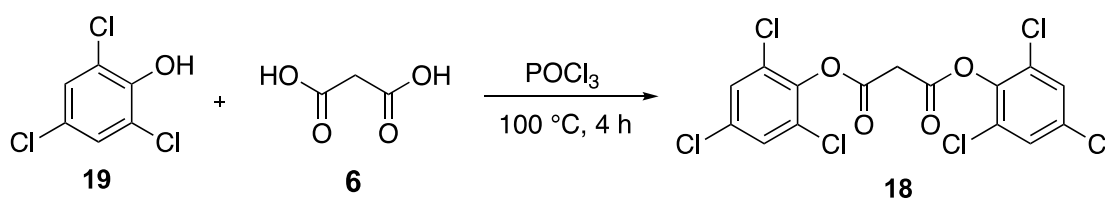
## 2.2 Esterifikace

Dalším krokem v syntéze „magic“ malonátů je esterifikace malonových kyselin. Obecně se estery převážně syntetizují nukleofilní acylovou substitucí karboxylových kyselin nebo jejich halogenidů s alkoholy. Emil Fischer již v roce 1895 objevil, že estery se tvoří pouhým zahříváním karboxylových kyselin v alkoholu jako rozpouštědle v přítomnosti malého množství silné kyseliny jako katalyzátoru. Výsledkem Fischerovy esterifikace je substituce hydroxylové skupiny skupinou alkoxydovou. Každopádně je třeba si uvědomit, že všechny kroky reakce probíhají oběma směry, které je možné ovlivňovat volbou reakčních podmínek.<sup>26</sup>



**Schéma 8.** Mechanismus Fischerovy esterifikace.

První, kdo popsal syntézu samotných bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátů **18**, byl Thomas Kappe, který v publikaci z roku 1967 uvedl postup jeho přípravy<sup>27</sup> spočívající v několika hodinové reakci kyseliny malonové **6** s nestechiometrickým množstvím 2,4,6-trichlorfenolu **19** ve vroucím POCl<sub>3</sub>. Tento postup byl aplikován v různých publikacích, kde si autoři pouze upravovali reakční dobu.



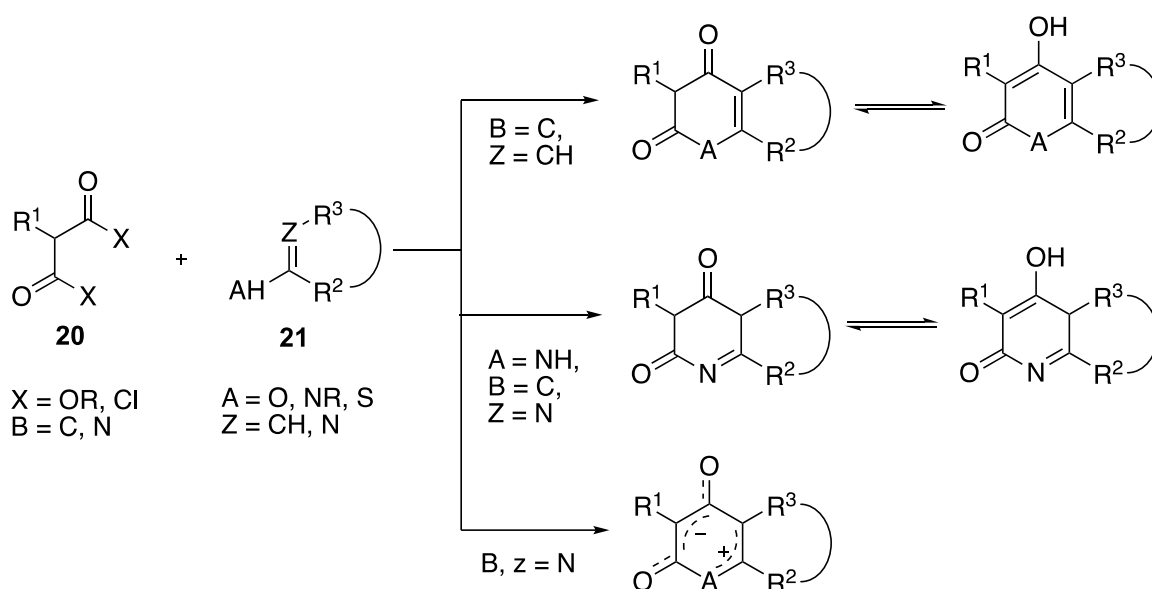
**Schéma 9.** Příprava „magic“ malonátů.

### 3 CYKLOKONDENZAČNÍ REAKCE

Pro velmi stručnou charakterizaci cyklokondenzačních reakcí je možné uvést, že vzájemnou interakcí dvou necyklických částí výchozích organických sloučenin(y) dochází vlivem jejich reakce k odštěpení nízkomolekulární látky (voda, chlorovodík, alkohol, ...) a k vytvoření nového cyklu.

#### 3.1 Reakce s dialkyl-malonáty

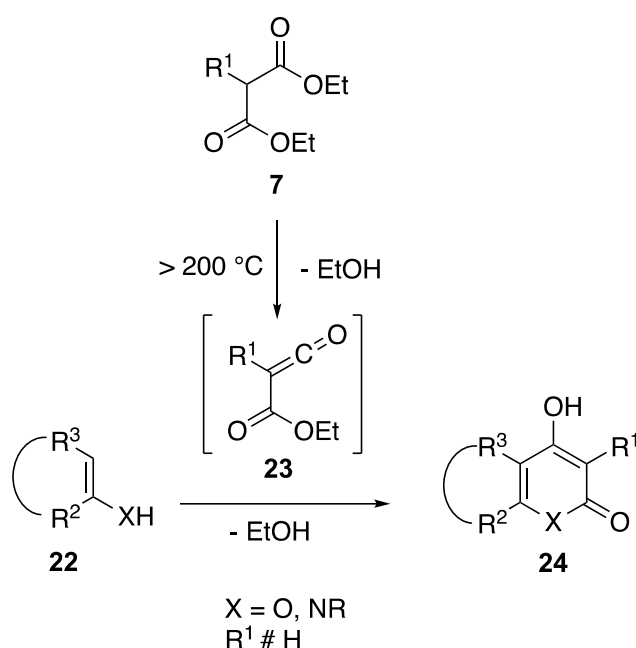
Deriváty kyseliny malonové **20** jsou v různých organických syntézách ceněnými činidly, jejichž hlavní význam tkví v cyklokondenzačních reakcích s dinukleofily **21** poskytujícími pěti, šesti a sedmičlenné cyklické sloučeniny, které jsou často označovány jako „malonylové heterocykly“. Pro představu o možné variabilitě syntézy šestičlenných heterocyklů je ve **Schématu 10** obecně znázorněná reaktivita malonátů s nukleofily.<sup>18</sup>



**Schéma 10.** Obecně znázorněná reaktivita malonátů s nukleofily.

Substituované dialkyl-malonáty se dají vesměs považovat za nepříliš reaktivní malonové deriváty, které s 1,3-dinukleofily, často obsahující funkční skupiny, jejichž součástí je atom dusíku (aminy, amidy, imidy) nebo atom kyslíku (hydroxylová a oxoskupina), reagují až při zvýšené teplotě nebo v přítomnosti bazického katalyzátoru.

V následujícím textu bude na konkrétních vybraných příkladech představena reaktivita malonátů s různými substráty. Protože je tato práce věnována studiu možností využití derivátů malonových kyselin k tvorbě kumarinových sloučenin, je prvotní pozornost směřována na přípravu jedno či bicyklických sloučenin s jedním heteroatomem. Pyranony a kumariny **11** ( $X = O$ ) je možné získat z enolů nebo fenolů **22** ( $X = O$ ) a jejich dusíkatá analoga, pyridinony a chinoliny, zase z azomethinů nebo anilinů **22** ( $X = NR$ ). Tyto reakce bývají v drtivé většině aktivovány vysokou teplotou reakční směsi ( $\pm 200\text{ }^\circ\text{C}$ ), při níž se z diesteru **7** eliminací molekuly ethanolu stává reaktivnější meziprodukt, 3-oxoakrylát **23**, který je následně atakován nukleofilním substrátem **22**. Z důvodů vysoké reakční teploty je tento postup nevhodný na citlivé substráty a substituenty.<sup>18</sup>



**Schéma 11.** Obecné schéma přípravy heterocyklů.

Konkrétním příkladem využití tohoto postupu je například syntéza 4-hydroxykumarinu **27**, který byl s výborným výtěžkem připraven několikahodinovou reakcí dimethyl-2-(4-methoxyfenyl)malonátu s 3-methoxyfenolem **25** ve vroucím difenyletheru. S vysokou teplotou varu tohoto rozpouštědla je však úzce spjato jeho problematické odstranění z reakční směsi.<sup>18,28</sup>

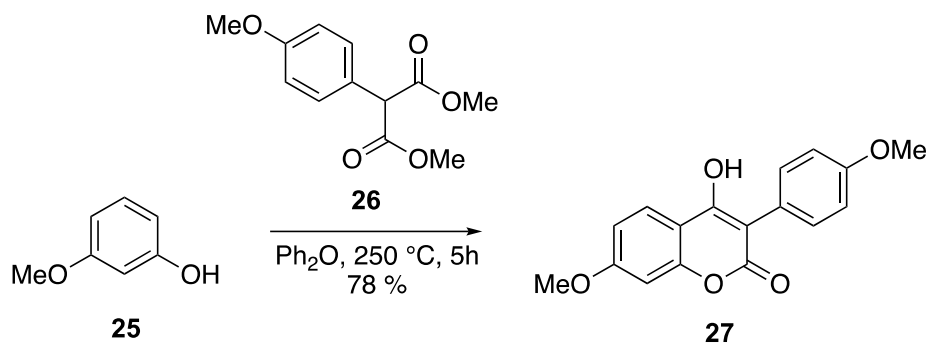


Schéma 12. Syntéza 4-hydroxykumarinů 27.

Další možností přípravy kumarinu 30 je pomocí mikrovlnné syntézy, díky které se hodně zkrátí reakční doba. Ozářením směsi tvořené 2-hydroxybenzaldehydy 28 s nadbytkem diethylmalonátu 7 a piperidinu byly v mikrovlnném monomodovém reaktoru Synthwave 402 během 10 minut připraveny kumariny 30 se středním až vysokým výtěžkem.<sup>29</sup>

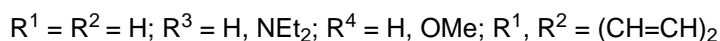
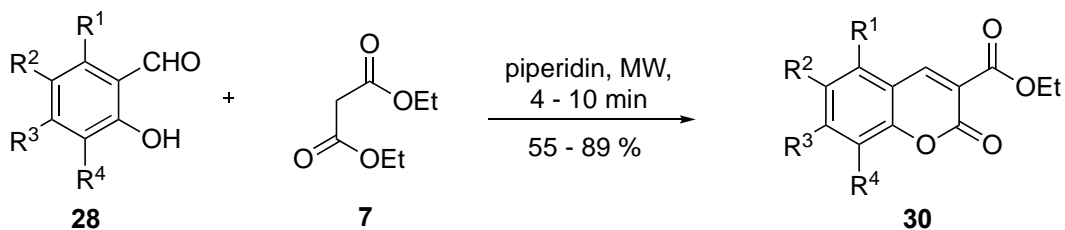
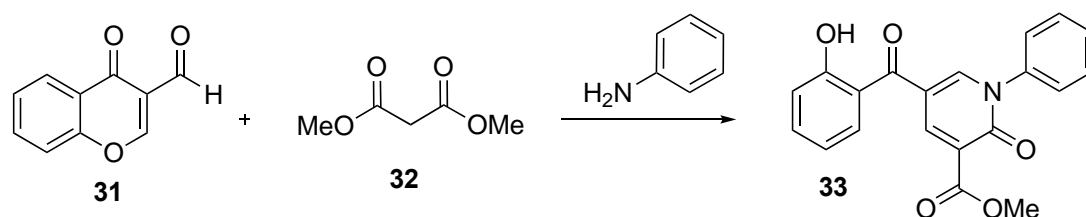


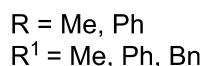
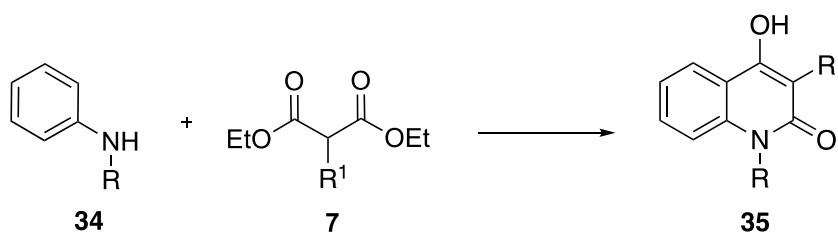
Schéma 13. Syntéza 4-hydroxykumarinů v mikrovlnném reaktoru.

Konkrétním příkladem využití malonátů v přípravě dusíkatého heterocyklu, pyridonu 33, je reakce dimethyl-malonátu 32, anilinu a 4-oxochromen-3-karbaldehydu 31. Jelikož uvedená směs dle autorů citované práce<sup>30</sup> během 24 hodin při laboratorní teplotě nereagovala, sledovali vliv vyšších reakčních teplot a zjistili, že již při 40 °C se začíná reakce ubírat správným směrem (15% výtěžek 33). Postupnou optimalizací se ukázala vhodná teplota 100 °C, díky které se podařilo získat produkt s výborným 78 % výtěžkem.



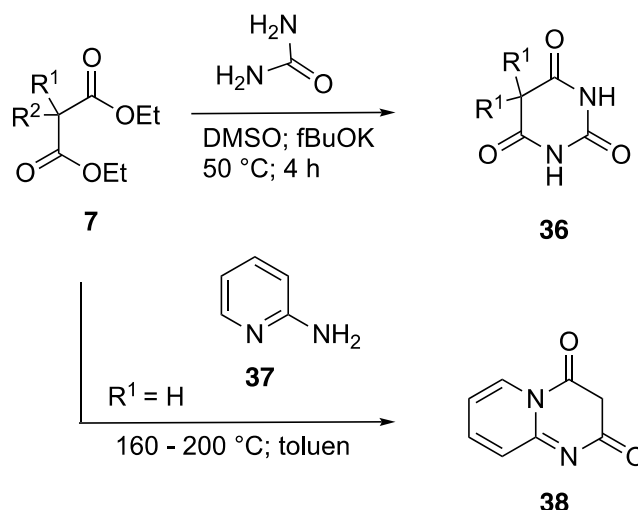
**Schéma 14.** Příprava pyridonu **33** z chromanonu.

V rámci spolupráce mezi Univerzitou v Ljublaně a Univerzitou Tomáše Bati byla vyvinuta metoda pro přípravu benzodiazepindionů vycházející z 4-hydroxychinolonů. Tyto základní heterocyklické sloučeniny lze hravě získat tepelně iniciovanou kondenzací anilinů **34** s diethyl-malonáty **7**.<sup>31</sup>



**Schéma 15.** Syntéza chinolonu **35**

Pro názornost možností syntézy cyklických sloučenin s dvěma heteroatomy byla vybrána příprava kyseliny barbiturové, která je základní jednotkou pro přípravu široké škály barbiturátů využívaných v klinické praxi pro jejich tlumící účinky na CNS. Pyrimidinovou kostru této kyseliny lze vystavět z diethyl-malonátu **7** a močoviny. Tuto reakci, jenž prezentuje kondenzaci malonátu s amidem, je možné provést zahříváním na mírnou teplotu po dobu několika hodin.<sup>32</sup> Dalším zástupcem dusíkatých heterocyklů uvedených ve **Schématu 16** jsou pyrido[1,2-a]pyrimidin-2,4-diony **38** (možné také nalézt pod názvem malonyl- $\alpha$ -aminopyridiny), které jsou obvykle připravovány takzvanou Chichibabinovou syntézou vycházející z 2-aminopyridinů **37**.<sup>18,33</sup>

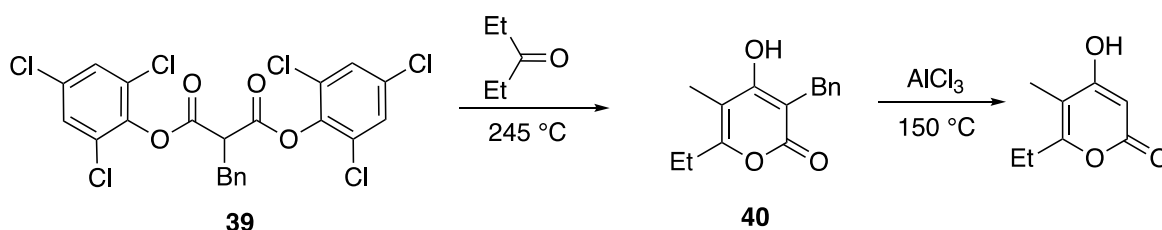


**Schéma 16.** Příprava kyseliny barbiturové **36** a pyridopyrimidindionu **38**.

### 3.2 Reakce s „magic“ malonáty

„Magic“ malonáty jsou z důvodu vyšší reaktivity oproti jiným esterům kyseliny malonové ideální výchozí látkou pro cyklokondenzační reakce. Reakce esterů kyseliny malonové s různými substráty (ketony, fenoly, amidy, aj.) poskytují převážně šestičlenné heterocyklické sloučeniny. Většina těchto kondenzací je prováděna při zvýšených teplotách pohybujících se v rozmezí 150–300 °C v závislosti na reaktivitě substrátu nebo přechodně vznikajícího meziprojektu v reakční směsi.<sup>17</sup>

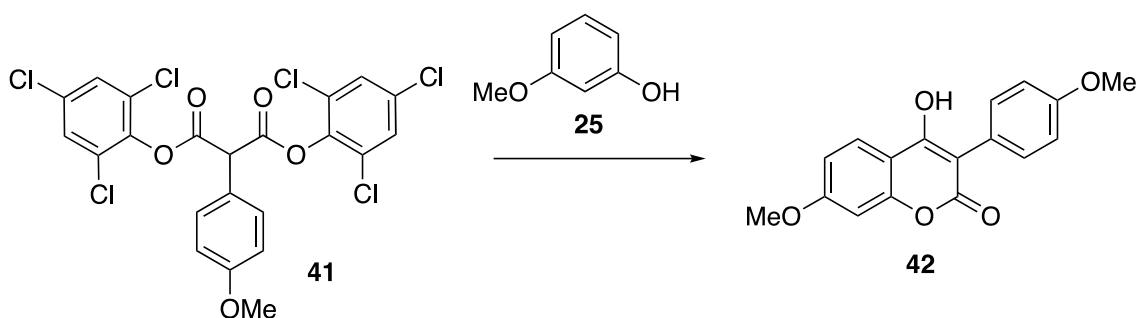
Kappe a jeho spolupracovníci během své kariéry publikovali spoustu odborných prací zabývajících se syntézou sloučenin obsahujících pyridonový a pyronový kruh. Během práce směřované k syntéze přírodních produktů zjistili, že je vhodnou výchozí látkou 4-hydroxypyran-2-on **40**, který připravili tepelnou kondenzací diethylketonu s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-benzylmalonátem **39**.<sup>17</sup>



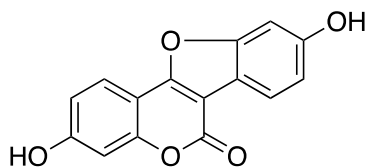
**Schéma 17.** Syntéza pyranonu **40**.



4-Hydroxykumariny, jak je naznačeno ve **Schématu 18**, můžeme připravit například z fenolu a aktivního malonátu. Jako konkrétní příklad je uvedena reakce 3-methoxyfenolu s 4-methoxyfenyl-malonátem **41**, při níž vzniká kumarin **42**, který je ideální výchozí látkou pro následnou cyklokondenzační reakci vedoucí přímo k dimethyletheru kumestrolu.<sup>17</sup> Fytoestrogeny, mezi které patří i kumestrol (**Obrázek 5**), mají podobné účinky jako pohlavní steroidní hormony estrogenu. Jejich účinek spočívá v tom, že po navázání na receptor vytvoří komplex a vazbou na jadernou DNA mohou ovlivnit její transkripci.<sup>34,35</sup>



**Schéma 18.** Syntéza 4-hydroxykumarinu **42**



**Obrázek 6.** Kumestrol

Obdobným způsobem byl připraven 7-(diethylamino)-4-hydroxykumarin **43** reakcí 3-(diethylamino) fenolu **42** s bis(2,4,6-trichlorfenol)-malonátem **18** v prostředí toluenu. Tato sloučenina byla připravena čínskou vědeckou skupinou v publikaci s názvem „Nová fluorescenční barviva na bázi kumarinu“.<sup>36</sup>

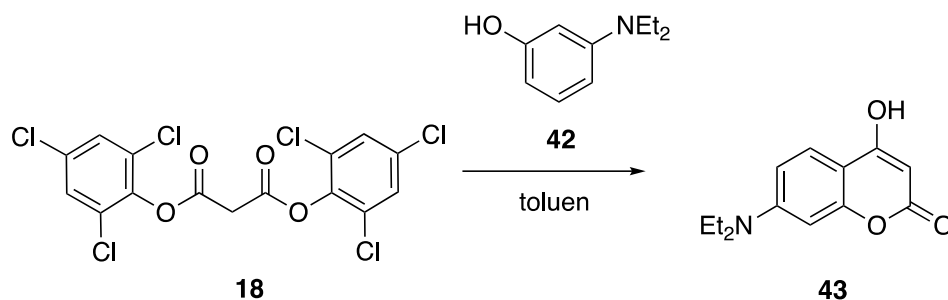


Schéma 19. Syntéza 4-hydroxykumarinu 43.

Průzkumem odborné literatury bylo zjištěno, že reaktivita „magic“ malonátů s dusíkatými nukleofily je mnohem více prozkoumána než u jejich kyslíkatých analogů, a tudíž i nachází využití převážně v oblastech syntézy dusíkatých heterocyklů. Mezi jejich zástupce s nepřiliš složitou strukturou můžeme zařadit například pyridony 45, které je možné připravit poměrně ochotnou kondenzací enaminů s aktivními malonáty při teplotě pohybující se v závislosti na substituci v rozsahu 150–250 °C. Zatímco 3-iminoestery 44 ( $R^1 = \text{COOEt}$ ) reagují již ve vroucím brombenzenu (t.v. = 156 °C), acetofenon anil 44 ( $R^1 = R^3 = \text{Ph}$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ ) vyžaduje teplotu blížíci se 250 °C. Záměnou alifatických iminů za iminy cyklické ( $R^1$  a  $R^2$  jsou vzájemně propojené do kruhu) je možné analogickým způsobem získat dusíkaté, bicyklické sloučeniny podobající se 4-hydroxychinolonům.<sup>17</sup>

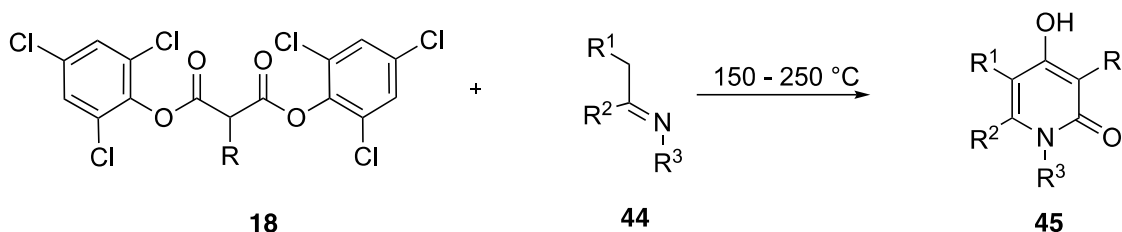


Schéma 20. Syntéza pyridonu 45.

Obdobná reaktivita „magic“ malonátů byla pozorována i s tautomerními 3-amino-2-enoáty. Příkladem, jež je prezentován ve Schématu 21, je alkalická hydrolyza následovaná dekarboxylací meziprojektu 48, který vzniká kondenzací bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-fenylmalonátu 46 a ethyl-3-amino-5-methylhex-2-enoátu 47. Získaný pyridon 49 je nový atraktivním kandidátem pro léčbu tuberkulózy způsobenou bakterií *M. tuberculosis*.<sup>37</sup>

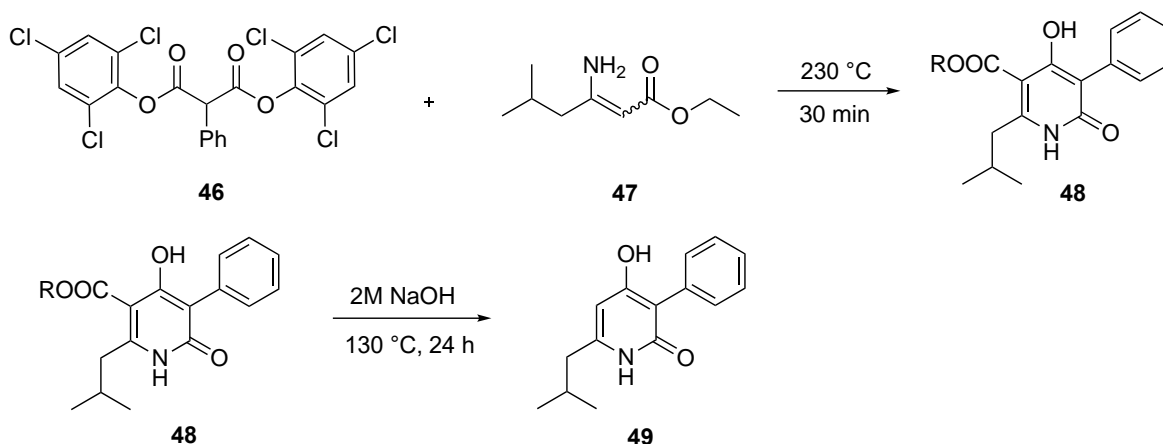


Schéma 21. Syntéza pyridonu 49.

Analogickým způsobem je možné reakcí pětičlenných cyklických enaminů, například 3,4-dihydropyrrolu **50**, s malonátem získat rozmanitě substituované indoliziny **51**.<sup>17</sup>

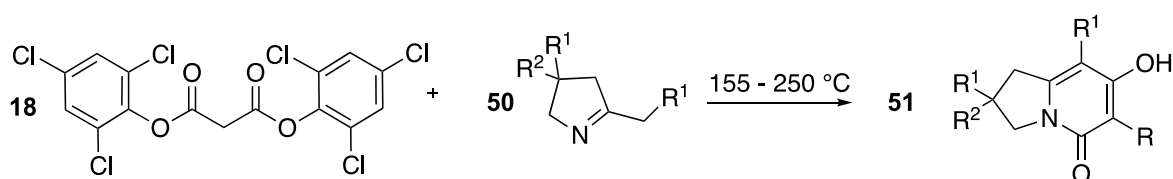


Schéma 22. syntéza indolizinu 51.

Celou řadu ze strukturně podobných chinolizinů **53** můžeme zařadit mezi přírodní látky, alkaloidy, které se nacházejí převážně v rostlinách čeledi merlíkových, mákovitých a bobovitých.<sup>38</sup> Tyto dusíkaté analogy lze synteticky připravit reakcí 2-alkylpyridinu **52** s aktivním malonátem **18**. Substituce malonátů v poloze 2 elektrondonorními skupinami ( $\text{R} = \text{COOEt}$ ,  $\text{CN}$ ,  $\text{COR}$ ) je pro hladší průběh reakce výhodná, nikoliv však nezbytná. Reakce zobrazená na **Schéma 23** není omezená pouze na šestičlenné heteroaromatické sloučeniny. Dobře funguje i u alkylovaných pyrrolů.<sup>17</sup>

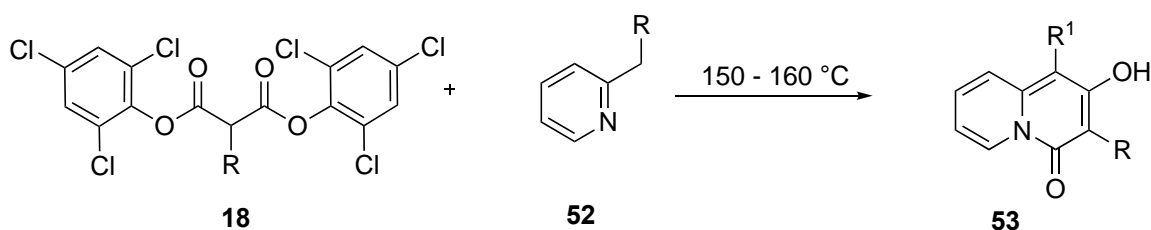
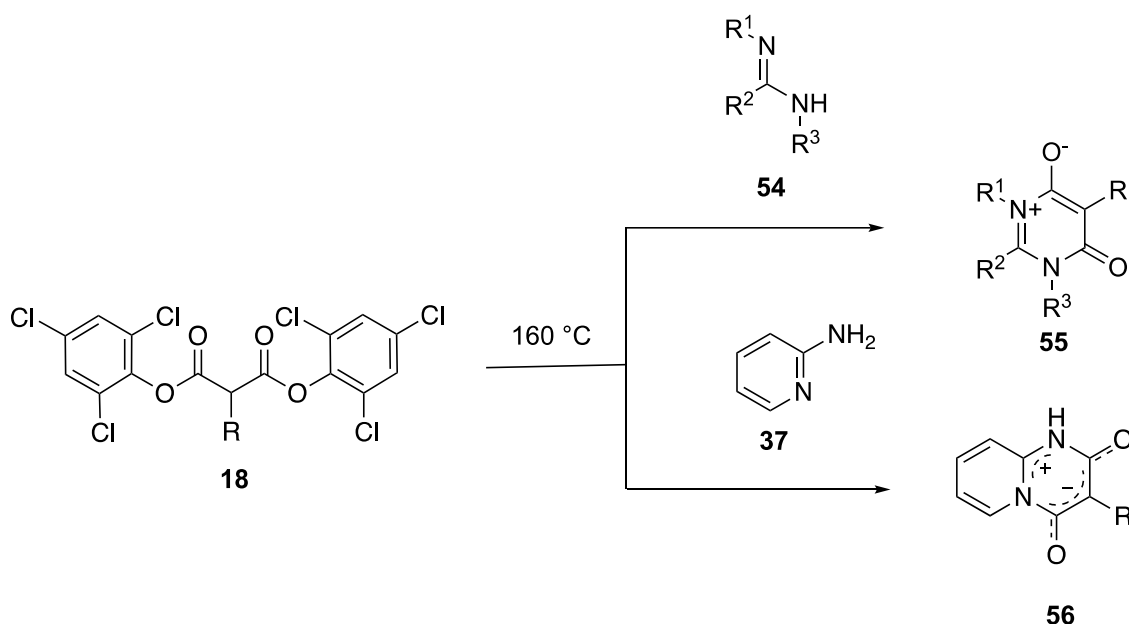


Schéma 23. Syntéza chinolizinu 53.

Jelikož je možné k přípravě 4-oxopyrimidiniových solí **55**, které bychom dle jejich struktury mohli označit jako dusíkem obohacené 4-hydroxypyridin-2-ony, využít reaktivitu AME s *N,N'*-disubstituovanými amidiny **54**, není se čemu divit, že 2-(alkylamino)pyridiny s estery malonových kyselin poskytují stejný heterocyklický systém s přikondenzovaným benzenovým kruhem (**Schéma 24**).<sup>18</sup> V této souvislosti Chichibabin se svými spolupracovníky zjistili, že chtějí-li připravit zmiňovanou bicyklickou sloučeninu **56**, je nezbytně nutné 2-aminopyridin **37** s alkyl-malonátem tavit několik hodin při teplotě 160–200 °C, ovšem nahradí-li běžný ester kyseliny malonové za AMEs, zkrátí se reakční doba na 10 minut.<sup>39</sup>



**Schéma 24.** Příprava pyrimidinových solí.

Oproti tomu Kappe a jeho kolektiv spoluautorů publikovali práci,<sup>40</sup> ve které uvedli, že připravit pyrido[1,2-*a*]pyrimidin-4-on **56** z 2-aminopyridinu **37** bylo možné pouze reakcí s bis(2,4,6-trichlorofenyl)-malonátem, ale pouze v extrémně neuspokojitelném výtěžku (4 %). S ostatními sledovanými deriváty kyseliny malonové nedospěli za daných podmínek k požadovanému cíli. Jak je možné vypořádat ze **Schématu 26**, samotná kyselina 2-methylmalonová v přítomnosti HATU a Hünigovy báze (DIPEA) nereaguje ani při 150 °C. Celonočním zahříváním jejího dimethylesteru **58** a výchozího pyridinu **57** v prostředí suspenze hydridu v dimethylformamidu (DMF) zahřáté na 130 °C byl zajištěn jistý progres reakce, ovšem produkt finální cyklizace izolován nebyl. Výslednou směs tvořil

produkt prvního stupně více násobné kondenzace **59** a jeho odpovídající dekarboxylovaný derivát **60**.<sup>41</sup>

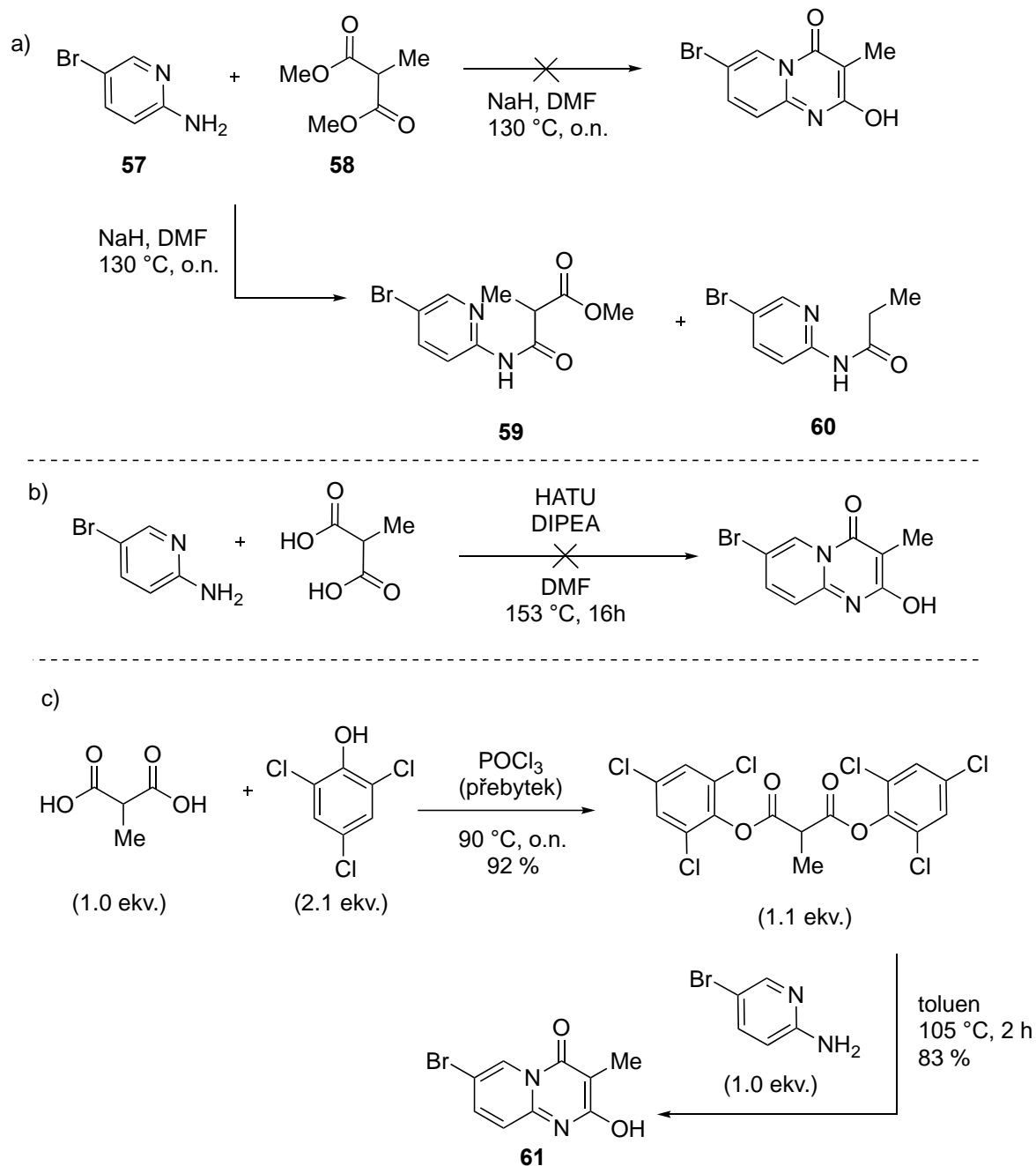
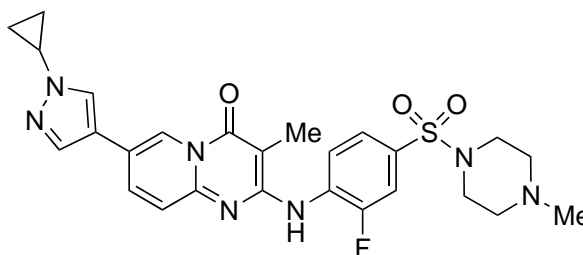


Schéma 25. Klíčový krok syntézy NVS-BPTF-1

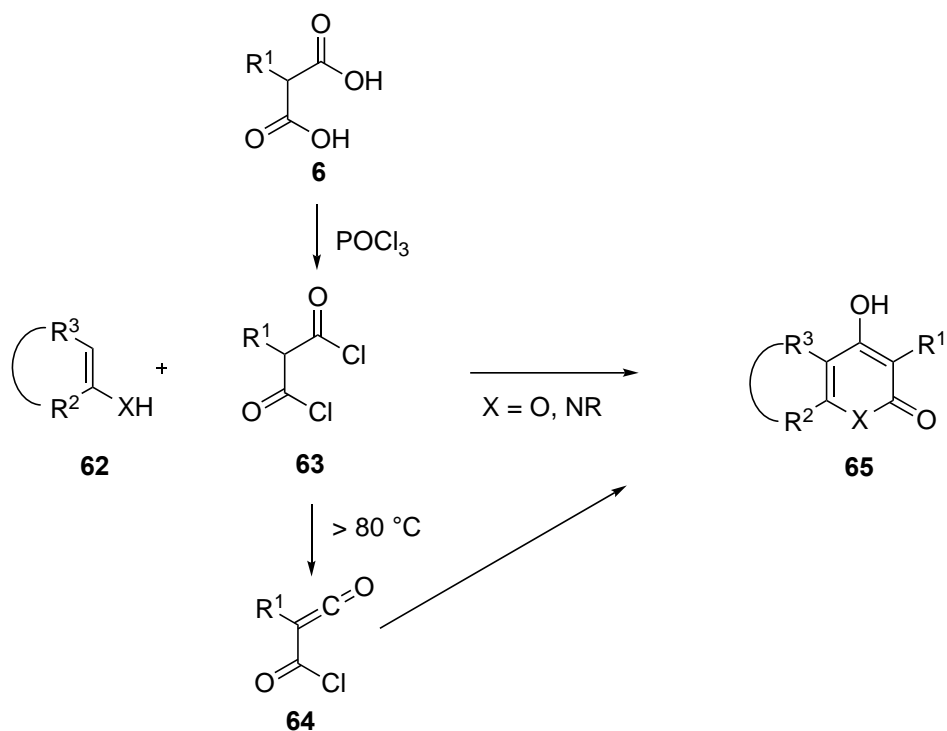
Takto připravený pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-on **61** byl využit jako klíčový meziprodukt v syntéze sloučeniny označené jako NVS-BPTF-1 (**Obrázek 7**).<sup>41</sup> Tato biologicky aktivní látka má potencionální využití jako inhibitor BPTF (Bromodomain PHD-finer Transcription Factor, také známý jako FALZ). BPTF je nezbytný pro normální embryogenezi<sup>42</sup> se studii naznačujícími klíčové role při kontrole diferenciaci embryonálních kmenových buněk.<sup>43</sup> Inhibice BPTF malými molekulami proto může být životaschopným přístupem pro léčbu melanomu a jiných malignit.<sup>44</sup>



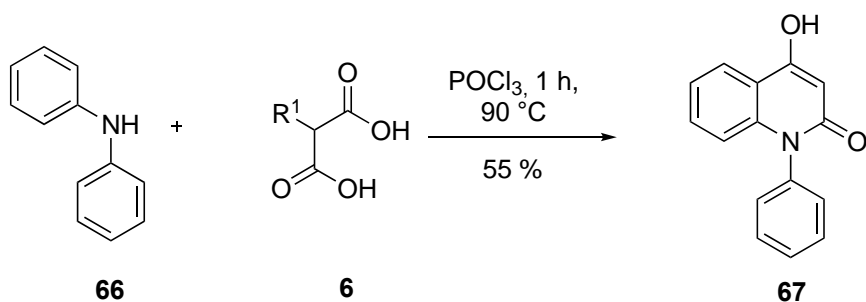
**Obrázek 7.** NVS-BPTF-1

### 3.3 reakce s kyselinou malonovou

Samotné 2-substituované kyseliny malonové **6** nejsou, pro jejich nízkou reaktivitu s 1,3-dinukleofily **62**, k cyklokondenzačním reakcím směřovaným k přípravám heterocyklických sloučenin vhodné. Nicméně jejich poměrně snadnou přeměnou účinkem fosforylchloridu na odpovídající diacylhalogenidy se již při laboratorních teplotách stávají pro řadu enaminů nebo enolů atraktivními reakčními partnery. V opačných případech, tj. když dichlorid kyseliny malonové **63** není ochoten interagovat s méně reaktivním substrátem, je možné využít vlivu vysoké teploty. Při teplotách nad 80 °C dochází u molekuly malonyl-dichloridu **63** k eliminaci chlorovodíku za vzniku chlorkarbonylketenu **64**, který je jedním z nejvíce reaktivních derivátů malonové kyseliny.<sup>18</sup>

Schéma 26. Reaktivita kyseliny malonové **6**.

Výše popsanou interakcí malonyl-dichloridu **63** nebo chlorkarbonylketenu **64** s vhodným dusíkatým nebo kyslíkatým derivátem je možné získat jak pyranony ( $\text{X} = \text{O}$ ) **65** či pyridony ( $\text{X} = \text{NR}$ ) **65**, tak i jejich bicyklické sloučeniny, chromanony ( $\text{X} = \text{O}$ ) **65** a chinolony ( $\text{X} = \text{NR}$ ) **65**. Jako konkrétní příklad je ve **Schématu 27** uvedena jednostupňová syntéza 4-hydroxychinolin-2-onu **67**, který byl získán hodinovým zahříváním difenylaminu **66** a kyseliny malonové v  $\text{POCl}_3$ .<sup>18</sup>

Schéma 27. Syntéza chinolonu **67**

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

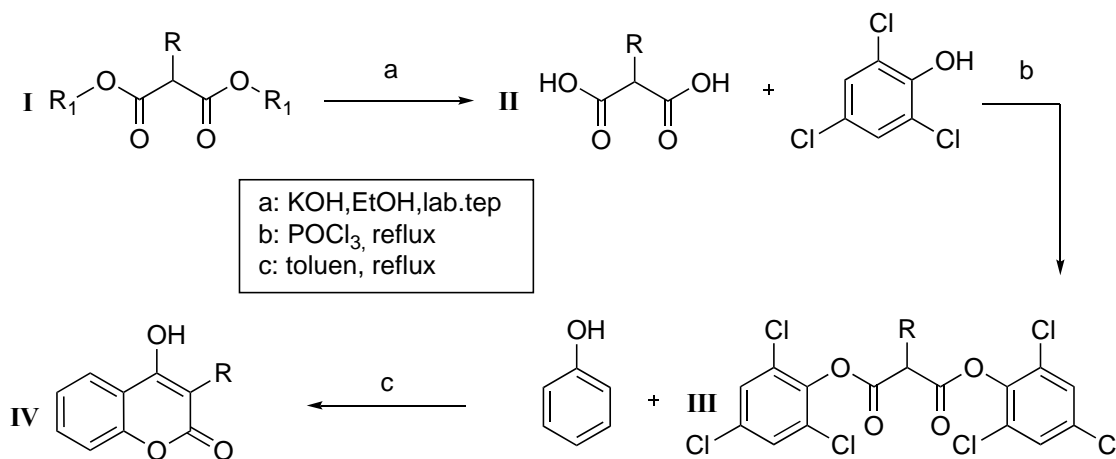


## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

V posledních, a to doslova, pár letech, se studenti výzkumné skupiny doc. Kafky, obzvláště pak má současná kolegyně Michaela Bagáry, toho času studentka 2. ročníku, věnují přípravě 4-hydroxykumarinů reakcí dialkylesterů kyseliny malonové s fenolem při teplotách mnohdy převyšujících i 300 °C. Touto metodou se výtěžky u pěti ze sedmi sledovaných 4-hydroxykumarinů (R = Me, Et, Pr, Bu, Ph) pohybovaly v rozmezí 40–50 %. Benzylového derivátu (R = Bn) bylo získáno pouze 17 % a methoxylového (R = OMe), obrazně řečeno, ani zrnko.

Z dostupné literatury lze vypožorovat, že je v řadě případů kondenzačních reakcí diaryl-malonátů s daným substrátem dosaženo lepších výsledků než při použití analogických dialkyl-malonátů. Důvod je prostý. Diaryl-malonáty, obzvláště pak 2,4,6-trichlorfenyl-malonáty, jsou reaktivnější, a tudíž není nutné reakční směs zahřívat na příliš vysoké teploty, které mohou způsobovat degradaci produktů či podporovat vedlejší nežádoucí reakce vznikajících meziproductů. Jelikož literatura orientovaná k tvorbě kumarinového skeletu, jak je uvedeno na několika případech v rešeršní části, tento trend podporuje, bylo v rámci tohoto díla vynaloženo veškeré úsilí k syntéze různě substituovaných aktivních malonátů a ke studiu jejich interakcí s fenolem.

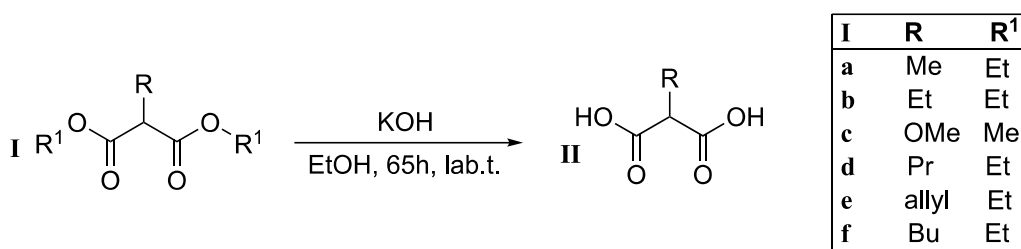
Protože jsou na Ústavu chemie běžně dostupné, rozmanitě substituované diethyl-malonáty, byly pro syntézu 2,4,6-trichlorfenyl-malonátů vybrány jako výchozí látky. V navržené strategii se předpokládala nejprve jejich hydrolyza a následně izolované malonové kyseliny nechat v prostředí fosforylchloridu reagovat s 2,4,6-trichlorfenolem. Pro lepší přehlednost textu bude v praktické části zavedeno číslování sloučenin římskými číslicemi.



**Schéma 28.** Navržený plán syntézy 2,4,6-trichlorfenyl-malonátů (AMEs).

#### 4.1 Příprava malonové kyseliny

Jak již bylo uvedeno výše v syntetickém plánu, prvním krokem směřovaným k přípravě AMEs byla alkalická hydrolýza vybraných dialkyl-malonátů **I**. Protože je obecně známo, že jsou 2-substituované kyseliny malonové náchylné k dekarboxylaci, obzvláště pak za vyšších teplot, byly hydrolýzy di(m)ethyl-malonátů vyvolané účinkem hydroxidu draselného v ethanolu provedeny při laboratorní teplotě. Poněvadž sloučeniny, a to jak výchozí látky, tak i konečné produkty neobsahují ve svých molekulách konjugovaný systém násobných vazeb, a tudíž není jejich detekce, respektive monitoring složení reakční směsi v závislosti na čase pomocí UV záření možná. Jediný způsob, jak tyto sloučeniny detekovat je pomocí jodu, kdy tvoří na TLC tyto sloučeniny reakcí s jodem slabě barevné adukty. Na hydrolýzu byl zvolen jednotný, dostatečně dlouhý čas, 65 hodin, během kterého byly získány kyseliny malonové **II** v dobrých (**Tabulka 1**, R = Me, Pr, Allyl) až výborných (Et) výtěžcích a s dostatečnou čistotou pro další krok syntézy.



**Schéma 29.** Hydrolýza di(m)ethyl-malonátů **I**.

Atypicky se za těchto podmínek choval methoxylový derivát **Ic**, který poskytl složitou směs, která dle NMR spektroskopie obsahovala nějaké, z důvodu nezdařilé separace blíže neidentifikované, aromatické sloučeniny, které pravděpodobně vznikly vzájemnými kondenzacemi v reakční směsi přítomných malonátů či jejich meziproductů. Po několika násobné extrakci okyselené reakční směsi pomocí Et<sub>2</sub>O nebylo získané ani zrnko kyseliny methoxymalonové **Ic**.

Z experimentálních důvodů byla reakční doba u butylového derivátu snížena přibližně na jednu třetinu (23 h). Tato skutečnost měla dosti výrazný dopad na čistotu a výtěžek očekávaného produktu. Výsledná reakční směs byla tvořena nejen z očekávané 2-butylnalové kyseliny **If**, ale i z 32 % výchozího diethyl-butylnalonátu. I když je to z hlediska výrazně rozdílné polaritě těchto dvou látek zarážející, nepodařilo se směs pomocí

sloupcové chromatografie rozdělit a následně byla k esterifikaci (viz níže) s 2,4,6-trichlorfenolem použita v této kvalitě.

**Tabulka 1** - přehled výtěžků

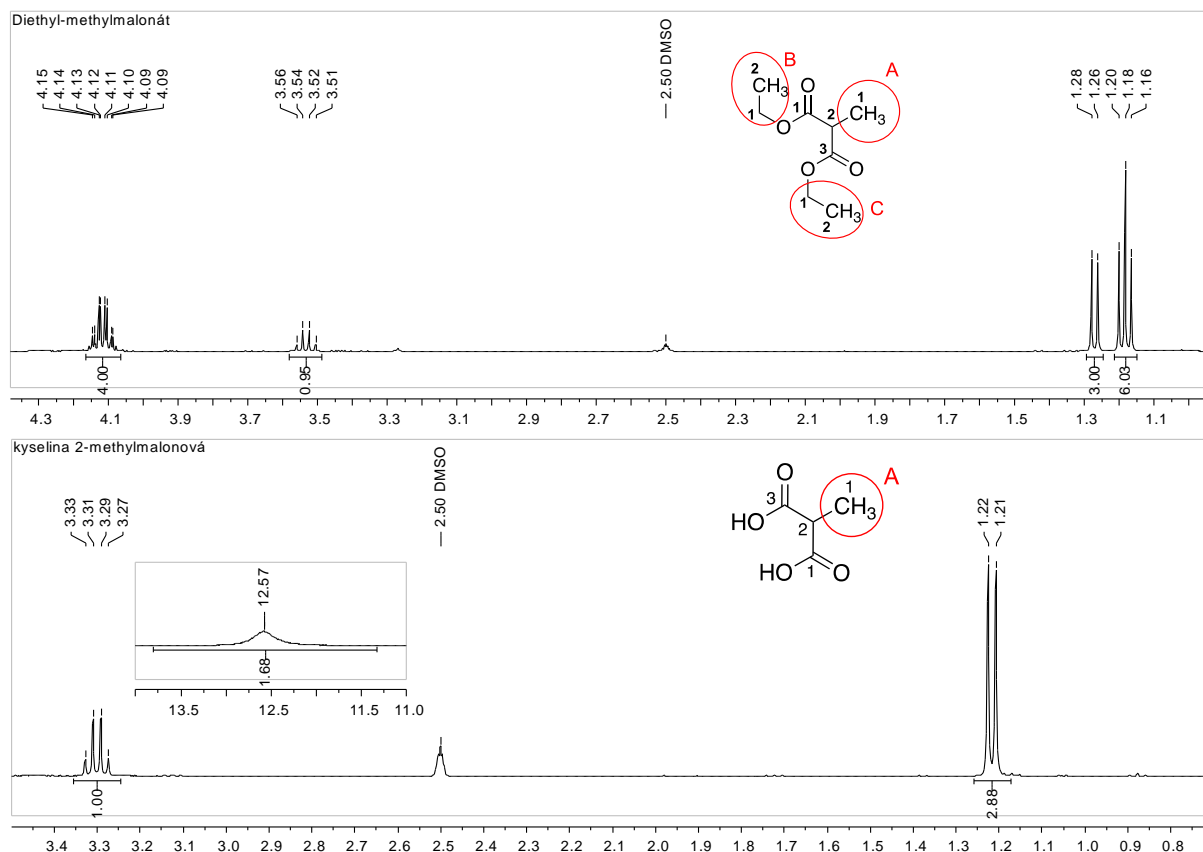
R	R <sup>1</sup>	KOH (ekviv.)	EtOH (ml)	Reakční doba (h)	Izolovaný výtěžek (%)
OMe	Me	2,5	70	65	0
Me	Et				53
Et					79
Pr			135	42	
allyl				57	
Bu	23			68 (neizolováno)	

Po dokončených hydrolyzách byla čistota ověřena pomocí analýzy NMR, která potvrdila, že kyseliny malonové **II** (R = Me, Pr, Allyl, Et) byly získané ve velmi dobré kvalitě, pouze s výjimkou methoxymalonové kyseliny a butylmalonové kyseliny.

Vzhledem k tomu, že je diethyl-methylmalonát symetrická molekula, lze vidět ve spektru pouze čtyři signály. Triplet s chemickým posunem v oblasti 1,18 ppm nepředstavuje pouze tři protony H-2<sup>B</sup>, ale i další tři protony H-2<sup>C</sup>. Tento fakt se týká i multipletu jenž lze vidět na druhé straně spektra s chemickým posunem 4,12 ppm patřící 4 protonům H-1<sup>B</sup> a H-1<sup>C</sup>. Vpravo od něj lze pozorovat kvartet s chemickým posunem 3,54 ppm, který prezentuje jeden proton H-2. Posledním signálem je dublet na chemickém posunu 1,28 patřící třem protonům H-1<sup>A</sup>.

Jelikož je kyselina methylmalonová jednoduchá molekula lze pozorovat pouze dva signály v alifatické oblasti. Dublet s chemickým posunem 1,21 ppm představuje tři protony H-1<sup>A</sup> kvartet s chemickým posunem 3,29 ppm patřící jednomu protonu H-2. Na spektru je také široký singlet, který je charakteristický pro karboxylovou skupinu.

Srovnáme-li spektrum výchozího diethyl-methylmalonátu se spektrem methylmalonové kyseliny lze říci, že reakce proběhla úspěšně, jelikož vymizely signály ethylových řetězců a podařilo se tak úspěšně získat čistá 2-methylmalonová kyselina.



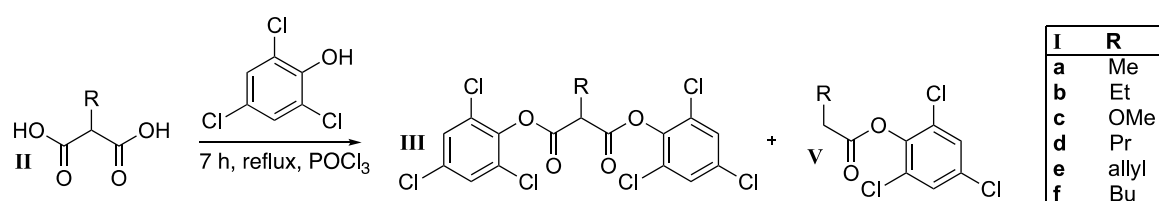
Obrázek 8. Výřez z NMR<sup>1</sup>H spektra produktu **Ia** (dole) a jeho výchozí látky (nahore).

## 4.2 Příprava bis(2,4,6-trichlorfenyl) malonátu

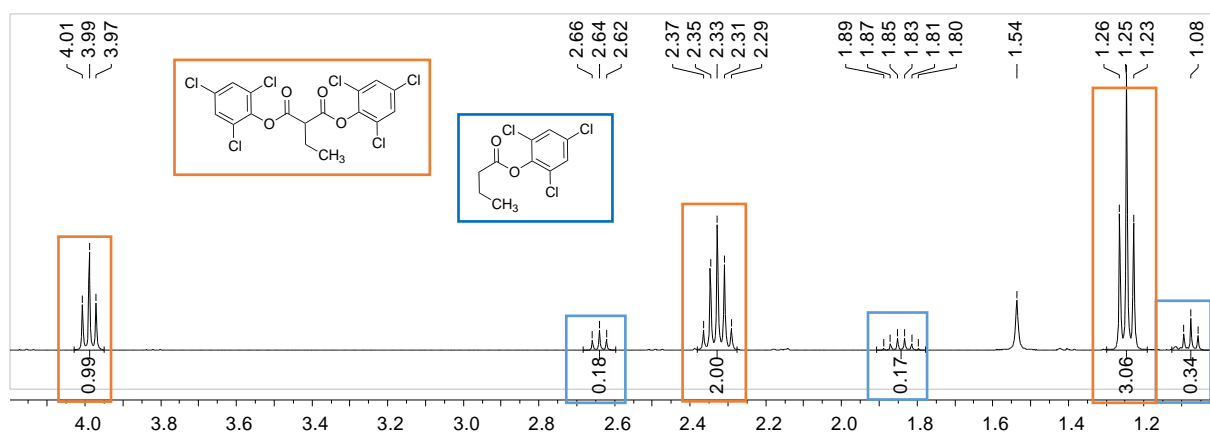
Dalším krokem syntézy byla příprava aromatických diesterů kyseliny malonové. K esterifikaci jsou prakticky běžně využívány dva přístupy, a to reakce kyseliny nebo jejího chloridu s alkoholem za katalytického působení jiné silné kyseliny. Konjugací volných elektronových párů na atomu kyslíku hydroxylové skupiny s delokalizovanými elektrony aromatického kruhu dochází ke snížení jeho nukleofility, což se, obecně vzato, projevuje tím, že se fenoly zapojují do esterifikačních reakcí mnohem méně ochotně než alkoholy. Samotná kyselina malonová má sice do jisté míry povahu karbokationtového činidla, ale ne vždy reaguje s dostatečnou ochotou a rychlostí. Z těchto důvodů bylo rozhodnuto, že k přípravě arylesterů bude využívána reakce 2,4,6-trichlorfenolu s mnohem, mnohem silnějšími elektrofilů, s deriváty malonyldichloridů, které byly generovány *in situ* působením nadbytečného množství fosforylchloridu na příslušný derivát malonové kyseliny. Průběh reakcí sledovaných derivátů byl v podstatě dosti podobný. Po smíchání 2,4,6-trichlorfenolu, 2-substituované kyseliny malonové a POCl<sub>3</sub> při laboratorní teplotě se po několika desítkách minut varu jejich směsi začal tvořit očekávaný produkt společně

s převážně jednou vedlejší látkou. Postupem času začalo narůstat množství produktů, nutno zmínit, že průběh reakce byl sledován pouze s využitím TLC, ovšem od jistého okamžiku, zůstával poměr intenzit skvrn na TLC reprezentující výchozí fenol a očekávaný produkt neměnný, z čehož bylo usuzováno, že po několika hodinách nastává chemická rovnováha. Protože toto tvrzení nebylo podloženo exaktními důkazy, byly reakční směsi vařeny jednotný čas 7 h. Po zpracování reakčních směsí jejich nalitím do vody a následnou extrakcí do organického rozpouštědla byly získány surové produkty, které byly nejprve ne příliš účinně čištěny časově náročnou sloupcovou chromatografií, která byla nápomocná pouze k odstranění doprovodných nečistot.

Analýzou spojených frakcí obsahujících žádoucí produkt pomocí NMR se zjistilo, že při diskutovaných reakcích, jak je možné pozorovat například u výřezu  $^1\text{H}$  NMR spektra ethylového derivátu (**Obrázek 9**), neprobíhá pouze esterifikace, ale i dekarboxylace. V tomto konkrétním případě bylo relativní zastoupení 2,4,6-trichlorfenyl-propanoátu vůči očekávanému bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-ethylmalonátu přibližně 10 %.



**Schéma 30.** Reakce kyseliny malonové s 2,4,6 – trichlofenolem.



**Obrázek 9.** Výřez  $^1\text{H}$  NMR spektra chromatograficky přečištěné směsi z reakce 2-ethylmalonové kyseliny **III** s 2,4,6-trichlorfenolem.

Posléze bylo zjištěno, že dekarboxylovaný produkt je možné, díky jeho větší rozpustnosti, pohodlně odstranit pouhou krystalizací. Protože dekarboxylované produkty **V** nebyly pro nás, ve spojitosti s následnou syntézou 4-hydroxykumarinů, nikterak atraktivní, spokojili jsme se s faktem, že zůstaly společně s malým množstvím malonátů **III** rozpuštěny v matečných loužích a dále nebyly nikterak izolovány ani charakterizovány.

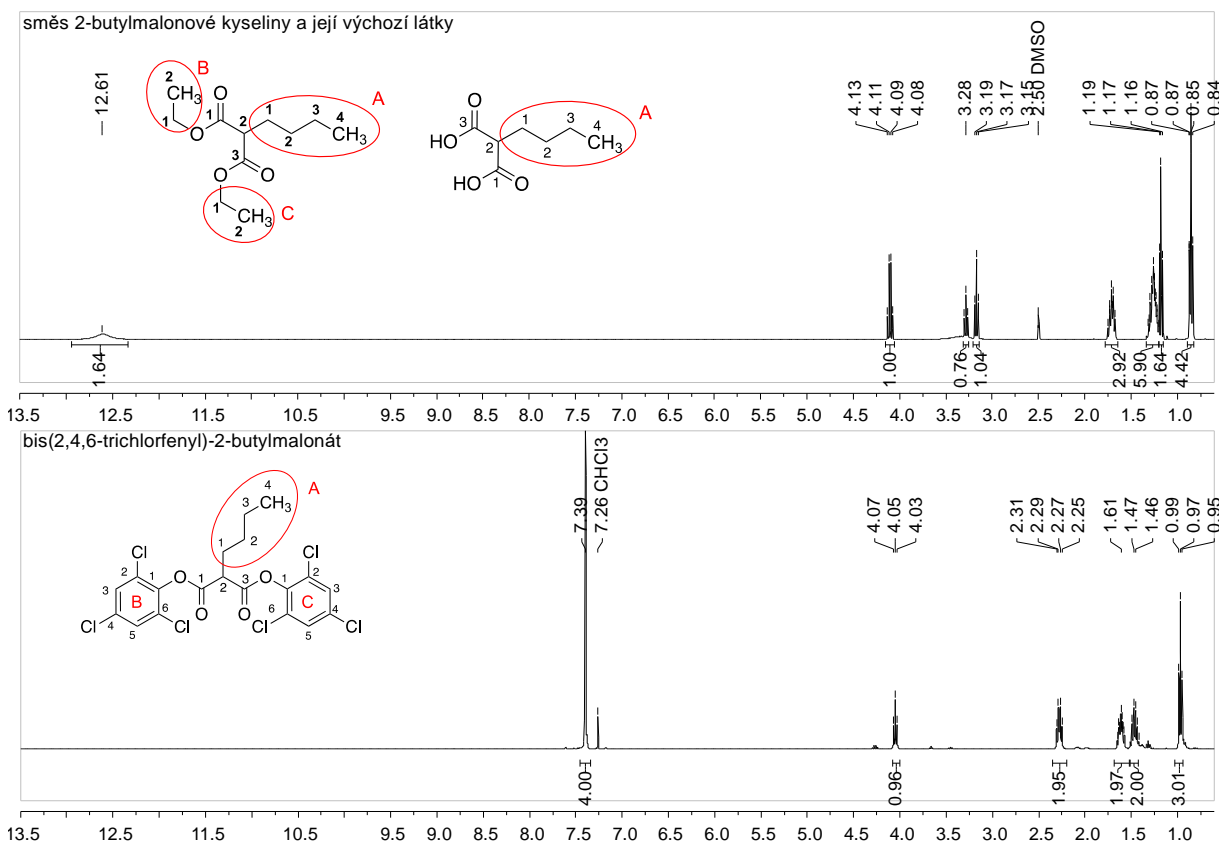
**Tabulka 2.** Přehled výtěžků

R	Trichlorfenol (ekviv.)	POCl <sub>3</sub> (ekviv.)	Reakční doba (h)	Izolovaný výtěžek (%)
Pr	1,5	2,14	7	32
Me	1,2	2		24
allyl	1,8	2,4		0 <sup>a</sup>
Et				60
Bu	1,46	2,5		58

a – produkt vznikl, ale ve směsi neznámých sloučenin.

Problémovým derivátem u esterifikace byl AME s allylovým řetězcem **IIIe**, který se sice podařil připravit, nic méně vzniklo také spoustou dalších neznámých sloučenin. Purifikací na sloupcové chromatografii se nepodařilo tyto nečistoty odstranit a produkt tak nebyl izolován.

Jak již bylo zmíněno výše, z důvodu neúspěchu separace 2-butymlalonové kyseliny **IIf** od výchozího diethyl-butymlalonátu (**If**) a nedostatku času nutného pro opakovanou purifikaci, byla pro přípravu AMEs použita jejich směs získaná v prvním kroku, která byla dle <sup>1</sup>H NMR složena z kyseliny 2-butymlalonové a z jejího diethylesteru přibližně v poměru 3:2 (**Obrázek 10**). Po zpracování reakčního roztoku běžným způsobem, byla získána směs diethyl-butymlalonátu (**If**), očekávaného bis(2,4,6-trichlorfenyl)-butymlalonátu (**IIIIf**) a dekarboxylovaného 2,4,6-trichlorfenyl-hexanoátu (**Vf**). Obdobně, jak tomu bylo i u předchozích experimentů, pro purifikaci požadovaného produktu od nežádoucích příměsí stačila pouhá krystalizace z cyklohexanu (viz **Obrázek 10**).



**Obrázek 10.** <sup>1</sup>H NMR spektrum směsi diethyl-malonátu **If** s malonovou kyselinou **III**f (nahore) a purifikovaného bis(2,4,6-trichlorofenyl)-butylmalonátu **III**f (dole).

Porovnáme-li protonové NMR spektrum výchozí směsi kyseliny 2-butylmalonové a diethyl-butylmalonátu se spektrem butylového derivátu AME po krystalizaci, a současně pomineme-li absenci signálů charakterizující původně přítomný diethyl-butylmalonát, lze ve spektru izolovaného produktu **III**f zaznamenat absenci širokého singletu při 12,61 ppm, který původně charakterizoval atomy vodíku karboxylové skupiny butylmalonové kyseliny, a naopak se objevil intenzivní singlet s chemickým posunem 7,39 ppm představující čtyři chemicky ekvivalentní protony vázané k aromatickému kruhu. Tato fakta, vzhledem k integrálním plochám signálů v oblasti 1–2,3 ppm popisující chování atomů vodíku butylového řetězce v magnetickém poli, jednoznačně prokazují připojení dvou 2,4,6-trichlorofenylových jednotek na jednu molekulu malonové kyseliny.

### 4.3 Cyklokondenzační reakce

Aby byly naplněny všechny vytýčené cíle této práce, bylo nezbytné prozkoumat reaktivitu AMEs s fenolem. Protože v obou krocích vedoucích k syntéze bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátů (**III**) nejlepší výsledky, ve smyslu vysokého výtěžku a čistoty produktů, poskytoval ethylový derivát, byl vybrán jako modelový substrát právě on.

Pro volbu vhodných reakčních podmínek byly čerpány inspirace z několika publikací Kappeho a jeho spolupracovníků, které se zabývaly cyklokondenzačními reakcemi AMEs.

#### 4.3.1 Reakce s fenolem

Pro první experiment byly vybrány podmínky publikované v roce, kde Kappe a jeho kolektiv uvedli,<sup>17</sup> že kondenzací 4-methoxyfenyl-malonátu **41** s 3-methoxyfenolem ve vroucím toluenu získali 4-hydroxy-7-methoxy-3-(4-methoxyfenyl)kumarin **42** (**Schéma 18**). Ovšem v našem případě, vystavení AME **III** s fenolem stejným podmínkám (**metoda A**) nevedlo ke srovnatelnému výsledku ani za mnohonásobně delší dobu. Po 13 hodinách varu byl dle TLC v reakční směsi přítomen pouze nezreagovaný bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonát a fenol, malé množství 2,4,6-trichlorfenolu a dalších neidentifikovaných nečistot a pouze stopové množství 4-hydroxykumarinu **IV**. Z těchto důvodů nebyl produkt izolován a směs byla zlikvidována.

Zvolené podmínky (**metoda B**) dalšího pokusu byly také převzaty z dostupné literatury, kde bylo presentováno,<sup>28</sup> že výtěžek 4-hydroxykumarinu **27** z reakce dimethyl-malonátu s *para*-substituovaným fenolem v prostředí vroucího difenyletheru převyšoval 70 % (**Schéma 12**). Tato metoda, ve srovnání s předchozí, se liší pouze typem použitého rozpouštědla, což má převážný dopad na teplotu, které jsou vystaveny výchozí reaktanty. I když má difenylether více jak dvojnásobnou teplotu varu než dříve použitý toluen, s čímž je úzce spjato i jeho komplikované odstranění z reakční směsi, stejně i tak tady, bylo po dlouhých 13 hodinách varu dosaženo prakticky identického výsledku, a tudíž opět nebylo smyslné se pokoušet produkt izolovat.

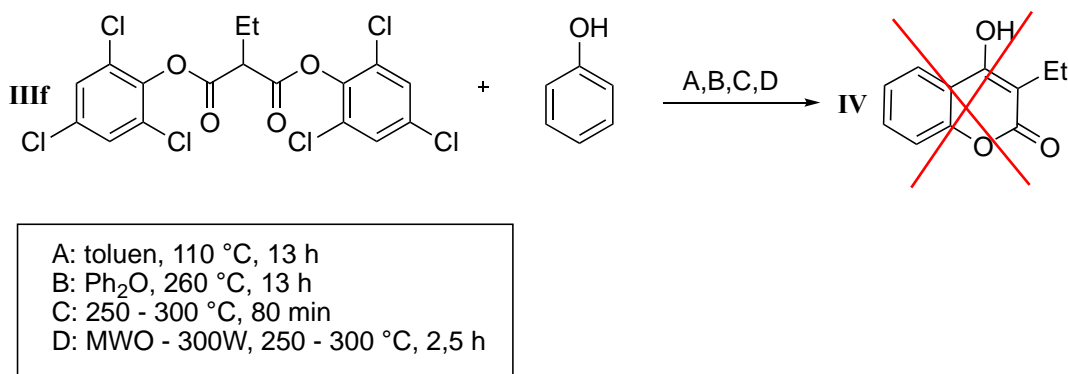
Z neochoty AME interagovat s fenolem byla viněna malá aktivační energie dodávaná ve formě tepla. Aby bylo možné tuto hypotézu potvrdit, či vyvrátit, byly vyzkoušeny i reakce bez použití rozpouštědla (**metoda C**). V tomto kontextu, byl první hodinu fenol taven s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátem při teplotě 250 °C. Po tomto čase, pomineme-li přítomnost malého množství nezreagovaných výchozích látek a vzniklého 4-hydroxykumarinu a ohromný podíl 2,4,6-trichlorfenolu, v reakční směsi byl zaznamenán



jistý meziprodukt, pravděpodobně se jednalo o produkt jednonásobné reesterifikace AME **III** fenolem. Ovšem po krátké radosti libně se vyvíjející reakce, přišlo záhy velké zklamání. Při snaze dokončit dvou stupňovou kondenzaci krátkým, třicetiminutovým ohřevem na 300 °C, došlo k vytvoření černé, dle TLC značně komplikované směsi, ve které množství 4-hydroxykumarinu si nezasluhovalo další pozornost.

Byla také vyzkoušena i více konzervativní metoda. Byl sledován vliv pozvolna se zvyšující teploty kovové lázně z 210 °C do 275 °C během 4 hodin a následného ohřevu na 300 °C, jehož původní doba byla zkrácena na polovinu. Průběh reakce, za jejíž začátek je možné považovat okamžik vzniku jistého meziproduktu, to je okolo 250 °C, a její výsledek byl prakticky shodný s původním teplotním programem. Meziprodukt sice z reakční směsi zmizel, ale 4-hydroxykumarin bychom opět ve směsi hledali asi pouze marně.

Poslední šanci k úspěchu už nabízela snad jen varianta použití mikrovlnného ohřevu (**metoda D**). Jelikož nebyly v dostupné literatuře nalezeny přímé analogie, byly hledány podmínky, za kterých jsou výchozí látky ochotny reagovat, experimentálně. Teplotní program byl zvolen následovně. Nejprve byla směs jednu hodinu tavena při teplotě 250 °C, poté se teplota na hodinu zvýšila na 280 °C a posledních 30 minut na 300 °C. Ani zde nebylo dosaženo výrazně jiných výsledků jako při tavení směsi za atmosférického tlaku na kovové lázni. Výsledky na TLC byly v podstatě totožné s metodou C a prvotně po 2 hodinách reakce byl zaznamenán meziprodukt, který zmizel po 30 minutách zahřívání na 300 °C. Je zcela jasné, že tato metoda by si zasloužila věnovat větší pozornost, avšak v době, kdy bylo možné studovat průběh dané reakce byl mikrovlnný reaktor z důvodu poruchy dlouhodobě mimo provoz.



**Schéma 31.** Syntéza 4-hydroxykumarinu.

### 4.3.2 Reakce s cyklohexanonem

V průběhu prohlížení odborné literatury nalezené v souvislosti s hledáním jiných, potenciálně vhodných podmínek pro výše uvedené, nezdařené kondenzace jsem narazila na reakci pentan-3-onu s benzyl-malonátem **39**, ze které se autorům podařilo získat 4-hydroxypyranon **40** (Schéma 17).<sup>17</sup> V této souvislosti bylo sledováno chování horké směsi AMEs s cyklohexonem. Pro start byla zvolena středně vysoká teplota, 230 °C, která během prvních 30 minut iniciovala vznik černé taveniny, jejíž analýzou na TLC bylo zjištěno, že směs obsahuje nejen stále se vyskytující výchozí sloučeniny, ale i značné množství nově vzniklých látek. Ve snaze tuto směs zjednodušit, ve smyslu doreagování výchozích látek, případně potenciálně možných meziproductů z nedokončené vícenásobné kondenzace, byla teplota kovové lázně na dalších 30 minut zvýšena na 250 °C. Po této době se dle TLC sice výchozí látky pravděpodobně kompletně přeměnily, ovšem reakční směs byla natolik komplikovaná, že nebyla vyvíjena ani snaha pro pokus o separaci jakéhokoli chemického individua.

V posledním experimentu, na který mi ještě po předchozích a dlouhých nezdařech zbývaly síly, motivace, nervy a hlavně čas do odevzdání tohoto díla, bylo vsázeno na trpělivost a na strategii pokusit se za výrazně nižší teploty připravit pouze meziproduct, reesterifikací vzniklý 1-cyklohexyl-3-(2,4,6-trichlorfenyl)-2-ethylmalonát, a následně po odpaření toluenu dokončit intramolekulární cyklizaci. Ovšem ani po čtyř hodinovém varu toluenového roztoku nebyl na TLC zaznamenán žádný progres reakce.

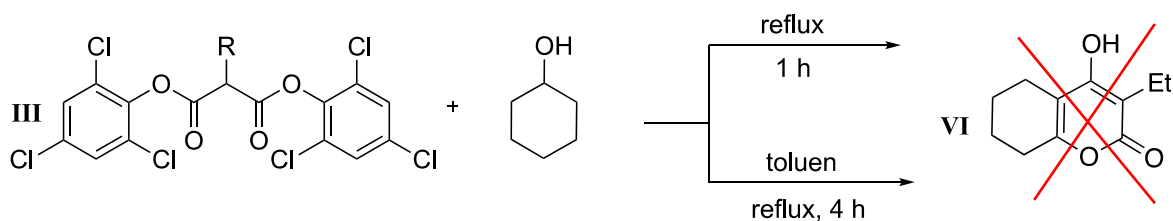


Schéma 32. Syntéza produktu VI

## 5 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Použité reagenty a rozpouštědla byly zakoupeny z komerčních zdrojů Merc, VWR, Fisher Scientific a Siot Trade. Průběh reakcí a čistota produktů byly sledovány pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC), které byly vyrobeny z hliníkového plechu s vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV 254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) s fluorescenčním indikátorem pro UV 254 nm. Na sloupcovou kapalinovou chromatografii byl použit silikagel Fluka Silica gel 60, 220-240 mesh s velikostí póru 60 Å a velikostí částic 35-75 µm. Teploty tání byly měřeny pomocí Koflerova bloku (Helmut Hund GmbH, Wetzlar). Infračervená spektra (IČ) byla měřena spektrometrem FT-IR Alpha (Bruker Optic GmbH Ettlingen, Germany) metodou KBr tablet a ATR nástavce ve střední oblasti (4000 – 400 cm<sup>-1</sup>). NMR spektra byla měřena na spektrometru JEOL ECZ 400 při frekvenci 400 MHz (<sup>1</sup>H), 101 MHz (<sup>13</sup>C) a měření bylo provedeno při teplotě 300 K. <sup>1</sup>H NMR spektra byla kalibrována na residuální DMSO-*d*<sub>5</sub> s chemickým posunem 2,50 ppm nebo CHCl<sub>3</sub> s chemickým posunem 7,26 ppm. <sup>13</sup>C NMR spektra byla kalibrována na signál na <sup>13</sup>C signál CDCl<sub>3</sub> s chemickým posunem 77,16 ppm nebo DMSO-*d*<sub>5</sub> s chemickým posunem 2,50 ppm. Interakční konstanta (J) je uvedena v jednotkách Hz a chemické posuny v jednotkách ppm. Multiplicita signálů je značena zkratkami s (singlet), d (dublet), dd (dublet dubletu), ddt (dublet dubletu tripletu), t (triplet), tt (triplet tripletu), tq (triplet kvartetu), q (kvartet), dq (dublet kvartetu), m (multiplet).

## 6 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 6.1 Příprava malonové kyseliny II

K roztoku malonátu I (50 mmol) v 35 ml EtOH byl během 30 min ve třech porcích při laboratorní teplotě přidán roztok KOH (125 mmol, 2,5 ekv.) ve 35 ml EtOH. Během 30 min vznikla hustá nemíchatelná suspenze, proto byla zředěna cca 60 ml EtOH a vše bylo dále mícháno při stejné teplotě 65 h. Získaná bílá suspenze byla přefiltrována přes fritu. Pevný podíl byl na fritě promyt EtOH. Bílý pevný podíl byl rozpuštěn v 50 ml 1M HCl (pH = 2). Kyselý vodný roztok byl extrahován 9 × 20 ml EtOAc. Organické podíly byly spojeny, vysušeny síranem sodným, přefiltrovány a odpařeny na RVO. Tímto postupem byla připravena kyselina malonová II.

#### 2-Methylmalonová kyselina IIa

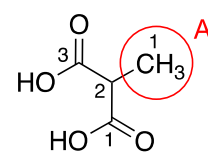
bílá krystalická látka,  $t_f = 120\text{--}132\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek: 53 %

IČ spektrum (ATR): 2886, 2616, 1685, 1410, 1243, 1208, 1092, 895, 668, 440  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  1,21 (d, 3H, H-2,  $J = 7.2$  Hz); 3,30 (q, 1H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 7.2$  Hz); 12,57 (br s, 2H, OH) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  13,65 (C-1<sup>A</sup>); 45,68 (C-2); 171,62 (C-1, C-3) ppm.



#### 2-Ethylmalonová kyselina IIb

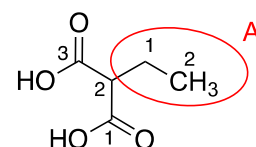
bílá krystalická látka,  $t_f = 105\text{--}110\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek: 79 %

IČ spektrum (ATR): 2883, 2592, 1694, 1414, 1266, 1199, 905, 780, 672, 453  $\text{cm}^{-1}$

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  0,88 (t, 3H, H-2<sup>A</sup>,  $J = 7,4$  Hz); 1,72 (dq 2H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 7,4; 7,4$  Hz); 3,12 (t, 1H, H-2,  $J = 7,4$  Hz), 12,64 (br s, 2H, OH) ppm

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  11,71 (C-2<sup>A</sup>); 21,80 (C-1<sup>A</sup>); 53,08 (C-2); 170,86 (C-1, C-3) ppm.

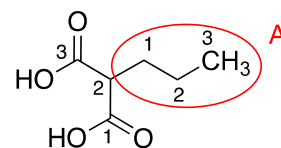


**2-Propylmalonová kyselina II d**

bílá krystalická látka,  $t_f = 87\text{--}94\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek: 42 %

IČ spektrum (ATR): 2964, 2868, 2606, 1698, 1410, 1256, 1197, 909, 672, 456  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  0,87 (t, 3H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 7,4$  Hz); 1,23–1,33 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 1,65–1,71 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 3,19 (t, 1H, H-2,  $J = 7,5$  Hz), 12,58 (br s, 2H, OH) ppm

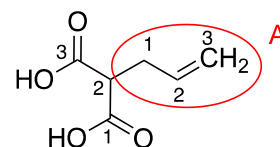
$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  13,64 (C-3<sup>A</sup>); 20,10 (C-2<sup>A</sup>); 30,52 (C-1<sup>A</sup>); 51,39 (C-2); 170,90 (C-1, C-3) ppm.

**2-Allylmalonová kyselina II e**

bílá krystalická látka,  $t_f = 77\text{--}90\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek: 57 %

IČ spektrum (ATR): 2919, 2649, 1698, 1418, 1260, 1226, 1180, 910, 784, 677, 473  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  2,42–2,48 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 3,27 (t, 1H, H-2,  $J = 7,3$  Hz); 5,00 (ddt, 1H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 10,2; 2,1; 1,1$  Hz); 5,07 (ddt, 1H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 17,2; 1,5; 1,5$  Hz); 5,76 (ddt, 1H, H-2<sup>A</sup>,  $J = 17,0; 10,2; 6,7$  Hz); 12,67 (br s, 2H, OH) ppm

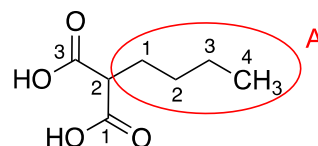
$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  32,55 (C-1<sup>A</sup>); 51,03 (C-2); 116,77 (C-2<sup>A</sup>); 135,13 (C-3<sup>A</sup>); 170,45 (C-1, C-3) ppm.

**2-Butylmalonová kyselina II f**

bílá krystalická látka,  $t_f = 80\text{--}90\text{ }^\circ\text{C}$

výtěžek: 90 %

IČ spektrum (ATR): 2865, 2436, 1698, 1409, 1285, 1255, 1196, 911, 671, 458  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 0,85 (t, 3H, H-4<sup>A</sup>,  $J = 7,1$  Hz); 1,20–1,34 (m, 4H, H-2<sup>A</sup>, H-3<sup>A</sup>); 1,66–1,76 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 3,17 (t, 1H, H-2,  $J = 7,5$  Hz); 12,61 (br s, 2H, OH) ppm

## 6.2 Příprava bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátu

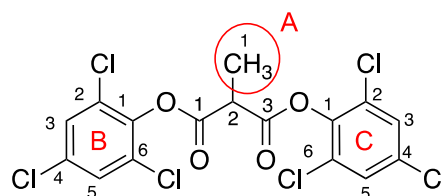
Reakční směs složená z kyseliny malonové **II**, 2,4,6-trichlorfenolu (1,8 ekv.) a fosforylchloridu (2,4 ekv.) byla po 7 hodinovém varu na olejové lázni ochlazena na pokojovou teplotu a nalita do ledové vody (cca 300 ml). Po rozpuštění ledu bylo k vodné směsi s částečně vyloučeným produktem přidáno 100 ml  $\text{CHCl}_3$ , který po krátkém čase pevný podíl absolutně rozpustil. Po separaci vzniklé emulze byla vodná fáze extrahována 2 × 50 ml chloroformu. Organické podíly byly spojeny a pro odstranění případné nezreagované kyseliny vytřepány 3 × 50 ml 5 %  $\text{NaHCO}_3$ . Organická fáze byla vysušena síranem sodným, přefiltrována a odpařena na RVO. Většina surových produktů byla čištěna na sloupcové chromatografii a následně krystalizována, v některých případech stačilo surový produkt pouze krystalizovat z cyklohexanu.

### bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-methylmalonát **IIIa**

bílá krystalická látka,  $t_f = 82,5\text{--}83\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek: 24 %

IČ spektrum (tableta KBr): 3081, 1794, 1566, 1448, 1346, 1236, 1118, 1059, 863, 821, 802  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  1,83 (d, 3H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 7,3$  Hz); 4,16 (q, 1H, H-2,  $J = 7,3$  Hz); 7,40 (s, 4H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>) ppm

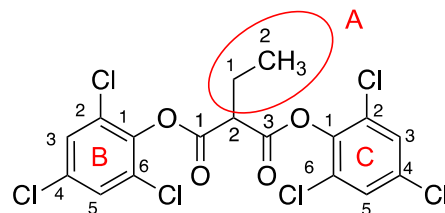
$^{13}\text{C}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  14,40 (C-1<sup>A</sup>); 45,47 (C-2); 128,90 (C-3<sup>B</sup>, C-5<sup>B</sup>, C-3<sup>C</sup>, C-5<sup>C</sup>); 129,73 (C-4<sup>B</sup>, C-4<sup>C</sup>); 132,72 (C-2<sup>B</sup>, C-6<sup>B</sup>, C-2<sup>C</sup>, C-6<sup>C</sup>); 142,59 (C-1<sup>B</sup>, C-1<sup>C</sup>); 165,38 (C-1, C-3) ppm

### bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-ethylmalonát **IIIb**

bílá krystalická látka,  $t_f = 101\text{--}102\text{ }^\circ\text{C}$

výtěžek: 66 %

IČ spektrum (tableta KBr): 3084, 2979, 2939, 2877, 1796, 1449, 1117, 1077, 859, 823  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  1,25 (t, 3H, H-2<sup>A</sup>;  $J = 7,4$  Hz); 2,33 (dq, 2H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 7,4$ ; 7,4 Hz); 3,99 (t, 1H, H-2;  $J = 7,3$  Hz); 7,40 (s, 4H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>) ppm

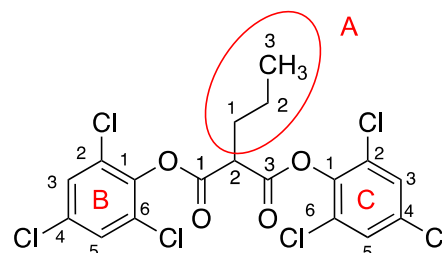
$^{13}\text{C}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  12,21 (C-2<sup>A</sup>); 23,25 (C-1<sup>A</sup>); 52,54 (C-2); 128,92 (C-3<sup>B</sup>, C-5<sup>B</sup>, C-3<sup>C</sup>, C-5<sup>C</sup>); 129,73 (C-4<sup>B</sup>, C-4<sup>C</sup>); 132,70 (C-2<sup>B</sup>, C-6<sup>B</sup>, C-2<sup>C</sup>, C-6<sup>C</sup>); 142,66 (C-1<sup>B</sup>, C-1<sup>C</sup>); 164,74 (C-1, C-3) ppm

### bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-propylmalonát IIIId

bílá krystalická látka,  $t_f = 77\text{--}78\text{ }^\circ\text{C}$

výtěžek: 32 %

IČ spektrum (tableta KBr): 3078, 2963, 2938, 2878, 1759, 1563, 1449, 1368, 1078, 859, 800, 563  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,06 (t, 3H, H-3<sup>A</sup>,  $J = 7,4$  Hz); 1,59–1,72 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,21–2,30 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 4,07 (t, 1H, H-2,  $J = 7,4$  Hz); 3,98 (s, 4H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>) ppm

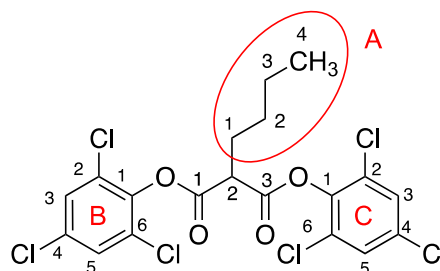
$^{13}\text{C}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  13,75 (C-3<sup>A</sup>); 20,78 (C-2<sup>A</sup>); 31,57 (C-1<sup>A</sup>); 50,78 (C-2); 128,91 (C-3<sup>B</sup>, C-5<sup>B</sup>, C-3<sup>C</sup>, C-5<sup>C</sup>); 129,73 (C-4<sup>B</sup>, C-4<sup>C</sup>); 132,69 (C-2<sup>B</sup>, C-6<sup>B</sup>, C-2<sup>C</sup>, C-6<sup>C</sup>); 142,65 (C-1<sup>B</sup>, C-1<sup>C</sup>); 164,84 (C-1, C-3) ppm

### bis(2,4,6-trichlorfenyl)-2-butylnalonát IIIIf

bílá krystalická látka,  $t_f = 91\text{--}93\text{ }^\circ\text{C}$

výtěžek: 44 %

IČ spektrum (ATR): 3088, 2955, 2859, 1796, 1565, 1448, 1160, 1091, 854, 819, 563  $\text{cm}^{-1}$



$^1\text{H}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  0,97 (t, 3H, H-4<sup>A</sup>,  $J = 7,3$  Hz), 1,42–1,51 (m, 2H, H-3<sup>A</sup>); 1,57–1,65 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>); 2,25–2,31 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>); 4,05 (t, 1H, H-2,  $J = 7,3$  Hz), 7,39 (s, 4H, H-3<sup>B</sup>, H-5<sup>B</sup>, H-3<sup>C</sup>, H-5<sup>C</sup>) ppm

### 6.3 Neúspěšná příprava 3-ethyl-4-hydroxykumarinu

#### 6.3.1 Metoda A

Roztok bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátu (1 mmol, 0,4910g) a fenol (1 mmol, 0,0941g) ve 3 ml toluenu byl v inertní atmosféře argonu 13 hodin vařen na olejové lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení reakčního roztoku a jeho analýze s využitím TLC byla výsledná směs zlikvidována.

#### 6.3.2 Metoda B

Suspenze bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátu (1 mmol, 0,4910g), fenolu (1 mmol, 0,0941g) ve 3 ml difenyletheru byla pod inertní atmosférou argonu 13 hodin zahřívána na kovové lázni, jejíž teplota byla udržována v rozmezí 230 – 260 °C. Během ohřevu byl sledován průběh složení směsi pomocí TLC a z důvodu vytvoření pouze stopového množství požadovaného produktu byla směs zlikvidována.

#### 6.3.3 Metoda C

Směs bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátu (1,13 mmol, 0,5535 g) a fenolu (1,13 mmol, 0,1061 g) byla nejprve 1 hodinu při 250 °C a následně 30 minut při 300 °C zahřívána na kovové lázni. Po ochlazení výsledné, temně černé taveniny a její analýze s využitím TLC byla výsledná komplikovaná směs s minimálním množstvím 4-hydroxykumarinu zlikvidována.

#### 6.3.4 Metoda D

Směs bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátu (1 mmol, 0,5535 g) a fenolu (0,95 mmol, 0,0889 g, 0,95 ekv.) byla zahřívána v mikrovláknovém reaktoru s konstantně nastaveným výkonem 300 W. Teplotní program byl zvolen následovně. První hodina byla směs zahřívána na teplotu 250 °C, další hodinu na 280 °C a posledních 30 minut na 300 °C. Po ochlazení výsledné, temně černé taveniny a její analýze s využitím TLC byla výsledná komplikovaná směs s minimálním množstvím 4-hydroxykumarinu zlikvidována.



## 6.4 Neúspěšná příprava 3-ethyl-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydrokumarinu

### 6.4.1 Metoda A

Směs cyklohexanonu (0,95 mmol; 0,09324 g) s bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátem (1 mmol; 0,4910 g) byla nejprve 30 minut zahřívána na kovové lázni s teplotou 210 °C. Protože se po provedeném monitoringu na TLC zjistilo, že se ve směsi neobjevuje žádný produkt, byla teplota na 30 min zvýšená na 230 °C a následných 30 minut až k 250 °C. Po kompletní přeměně výchozích látek byla výsledná směs natolik komplikovaná, že byla zlikvidována.

### 6.4.2 Metoda B

Roztok cyklohexanonu (0,95 mmol; 0,09324 g) a bis(2,4,6-trichlorfenyl)-ethylmalonátu (1 mmol; 0,4910 g) v 5 ml toluenu byl v inertní atmosféře nepřetržitě 4 hodiny vařen na olejové lázni pod zpětným chladičem. Jelikož za těchto podmínek nebyla pozorována prakticky žádná přeměna výchozích látek, byl roztok nakonec zlikvidován.

## ZÁVĚR

V posledních pár letech byly „magic“ malonáty využívány ve výzkumné skupině doc. Kafky k syntéze pyridonů, kde bylo s nimi dosaženo výrazně lepších výsledků než u jejich ethylových analogů. Současně i z publikovaných výsledků nalezených v odborné literatuře jednoznačně vyplývalo, že reakce bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátů s fenolem či s jeho deriváty jsou značně nadějně. Z těchto důvodů byl jako základní úkol a cíl bakalářské práce zvolen průzkum možností přípravy 4-hydroxykumarinů za použití tzv. „magic“ malonátů.

Dle navržené strategie syntézy bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátů bylo nezbytné v prvním kroku připravit kyseliny malonové. Ty byly ve většině (R = Me, Et, allyl, Pr) sledovaných případů připraveny dlouhou, několikadenní alkalickou hydrolyzou dostupných dialkyl-malonátů ve výborné kvalitě. Výjimkou byla hydrolyza dimethyl-methoxymalonátu, která dle  $^1\text{H}$  NMR poskytla směs záhadných produktů obsahujících převážně atomy vodíku vázané k aromatickému systému. Dalším ne moc zdařilým experimentem byla příprava butylmalonové kyseliny, kde se po 23 hodinách hydrolyzy podařilo přeměnit pouze 68 % diethyl-butylmalonátu.

Po přípravě malonových kyselin následovala jejich esterifikace 2,4,6-trichlorfenolem. Po identifikaci vedlejšího produktu ve směsi vznikající při těchto pokusech se potvrdil všeobecně známý fakt, že deriváty malonových kyselin jsou náchylné k dekarboxylaci. Čisté AMEs se od doprovodných vedlejších látek, jejichž relativní zastoupení se v závislosti na substituci pohybovalo do 10 %, nepodařilo pomocí chromatografie na sloupci silikagelu oddělit. Jako velmi účinná purifikace se osvědčila pouhá krystalizace z cyklohexanu, kterou byly AMEs získány ve skromném (Me) až průměrném (Et, Bu, Pr) výtěžku. Problémy činil pouze allylový derivát, ze kterého vznikla velmi komplikovaná směs, z níž se očekávaný produkt nepodařil izolovat.

Posledním krokem v syntéze 4-hydroxykumarinů nebo 4-hydroxy-tetrahydrokumarinů byly cyklokondenzační reakce AMEs s fenolem nebo cyklohexanonem. Za tímto účelem bylo vyzkoušeno několik různých podmínek lišících se převážně teplotou reakčního roztoku nebo taveniny. Všechny sledované experimenty vedly prakticky ke stejnému výsledku. Teploty mírně převyšující 100 °C byly pro jakoukoli interakci mezi výchozími komponentami nedostačující, oproti tomu teploty nad 250 °C poskytovaly komplikované, asfaltově černé směsi obsahující dle TLC pouze stopové množství 4-hydroxykumarinu.

Bude-li i v budoucnu nadále trvat stále neuhasínající touha připravovat deriváty 4-hydroxykumarinu **IV** reakcí fenolů a bis(2,4,6-trichlorfenyl)-malonátů, bude nezbytně nutné, pečlivou a vytrvalou prací nalézt minimální teplotu dostačující k tvorbě meziprojektu dvojstupňové kondenzace. Poté vyvstane otázka, zda reakci provádět v tavenině nebo v roztoku?

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

pKa	disociační konstanta kyseliny
GABA	kyselina amino-máselná
REM	Rapid eye movement
ATP	adenosintrifosfát
FAD	oxidovaná forma koenzymu flavinadenindinukleotidu
FADH <sub>2</sub>	redukováná forma koenzymu flavinadenindinukleotidu
AME	active malonate ester
CNS	centrální nervová soustava
DNA	deoxyribonukleová kyselina
HATU	[Bis(dimethylamino)methylene]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]pyridinium 3-oxide hexafluorophosphate
DIPEA	N,N-Diisopropyletylamin
DMF	dimethylformamid
BPTF	Bromodomain PHD Finger Transcription Factor
NMR	nukleární magnetická rezonance
Et <sub>2</sub> O	diethylether
TLC	tenkovrstvá chromatografie
Ph <sub>2</sub> O	difenylether
EtOH	Ethanol
KOH	hydroxid draselný
HCl	kyselina chlorovodíková
EtOAc	ethyl-acetát
RVO	rotační vakuová odparka
t <sub>i</sub>	teplota tání

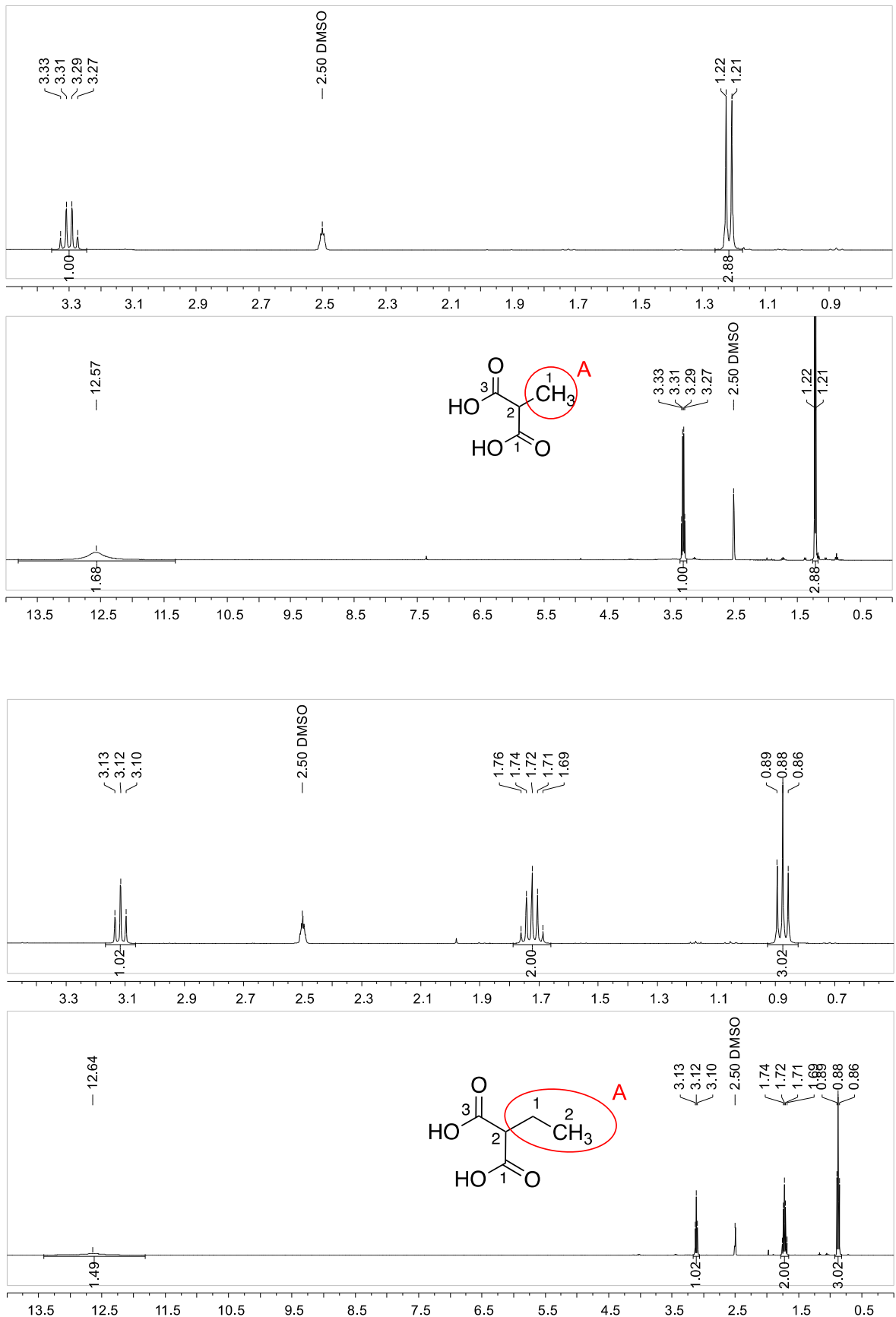
## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Kratochvíl, F. *Coumarin* [online]. epitesty.cz, 2014 [cit. 2023-05-07]
2. Farinola, N., Piller, N., Pharmacogenomics: Its Role in Re-establishing Coumarin as Treatment for Lymphedema. *Lymphatic Research and Biology*. 2005, roč.3, č.2, s. 81–86.
3. Jensen, W.B., The Origin of the Names Malic, Maleic, and Malonic Acid. *Journal of Chemical Education*, 2007, roč. 84, č. 6, s 924.
4. Pollak, P. & Romender, G., Malonic Acid and Derivatives. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*., 2000.
5. Strittmater, H., Hildbrand, S. & Pollak, P., Malonic acid and derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2007, s 157-171.
6. Smith, C. U. M., Elements of Molecular Neurobiology. 3. vyd. Chichester: John Wiley & Sons, 2002. ISBN 0-470-84353-5.
7. Hynie, Sixtus. *Farmakologie v kostce*. 2. vydání. Praha: Triton, 2001. ISBN 80-7254-181-1.
8. K. Hunger. W. Herbst "Pigments, Organic" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, Weinheim, 2012.
9. Faulkner, E. B., Schwartz, R. J., ed. *High Performance Pigments* [online]. Wiley, 2009 [cit. 2023-05-03]. ISBN 978-3-527-31405-8.
10. Yamamoto, H., Carreira, E., Comprehensive chirality, Industrial Application of Asymmetric Reduction of C=C Bonds, 2012, roč. 9, s 73-82, ISBN 978-0-08-095168-3
11. Hampl, F.; Paleček, J., Farmakochemie. [s.l.]: Praha VŠCHT, 2002 tisk. s 415. ISBN 80-7080-495-5.
12. Přiborský, J., Chinolony. [s.l.]: Maxdorf, 2000 tisk. s 82. ISBN 80-85912-16-3.
13. Liu, Y., Mao, G., Zhao, H. et al. DBU-Based Dicationic Ionic Liquids Promoted Esterification Reaction of Carboxylic Acid with Primary Chloroalkane Under Mild Conditions. *Catal Lett*, 2017, roč.147, s. 2764–2771
14. Potter, V. R., Dubois, K. P. Studies on the Mechanism of Hydrogen Transport in Animal Tissues: Vi. Inhibitor Studies with Succinic Dehydrogenase. *The Journal of General Physiology*. 1943, s. 391–404.
15. Škuta, V; Jedy a žiraviny. AKS Ostrava, 1992.
16. Biochemie - vzdělávací portál. dýchání a dýchací řetězec [Online] [cit. 2023-04-29] Dostupné na: <http://www.studiumbiochemie.cz/dr.html>

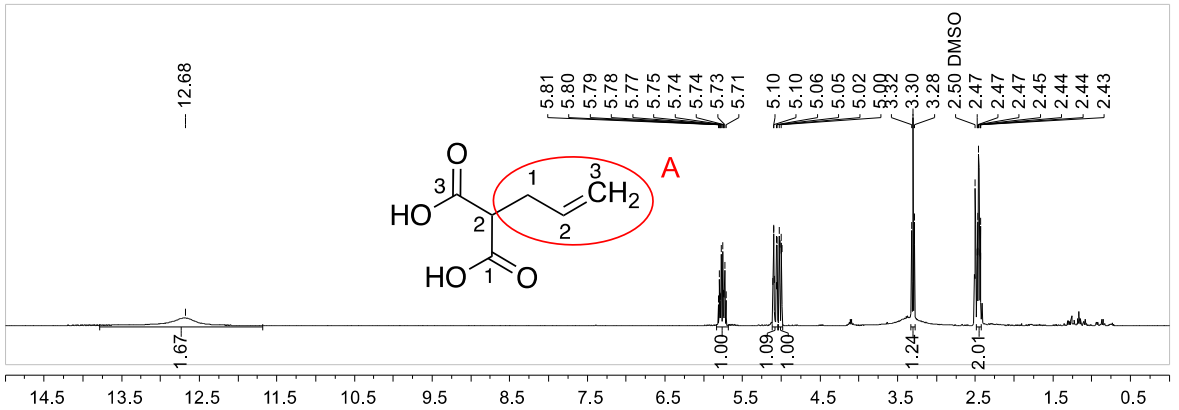
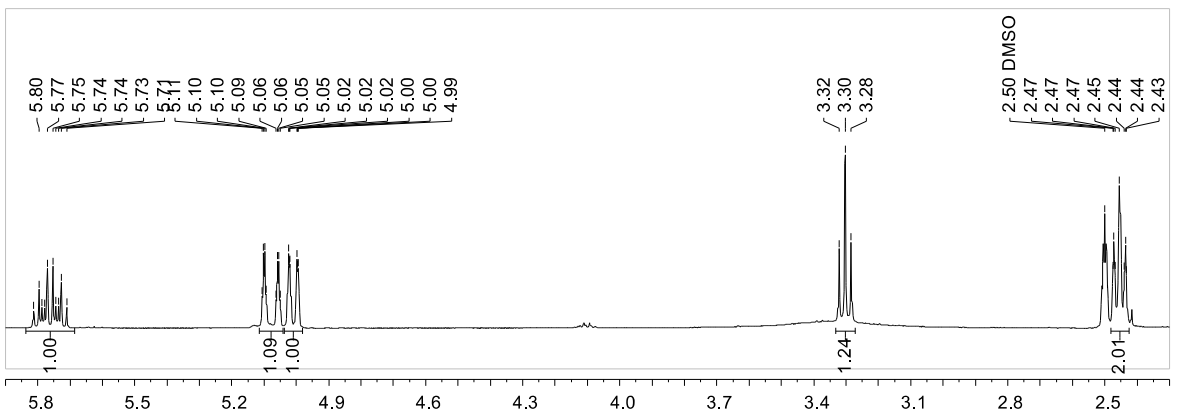
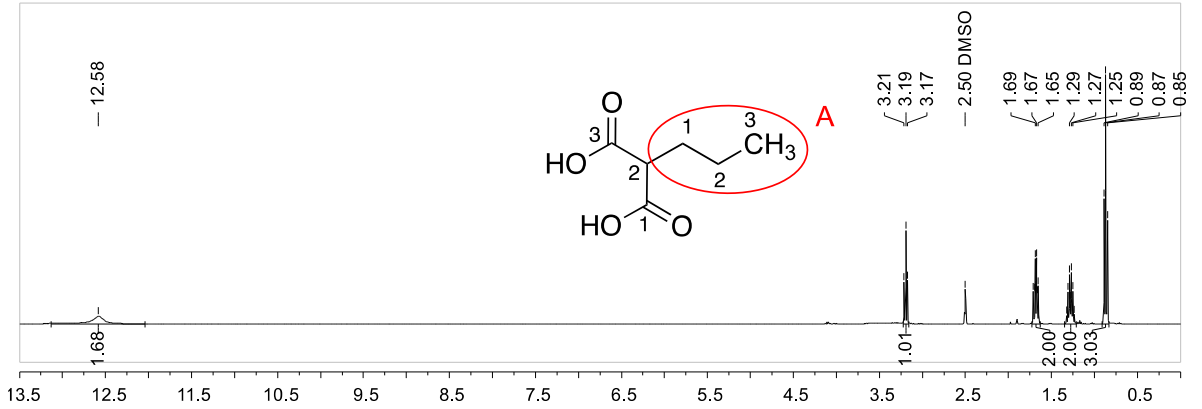
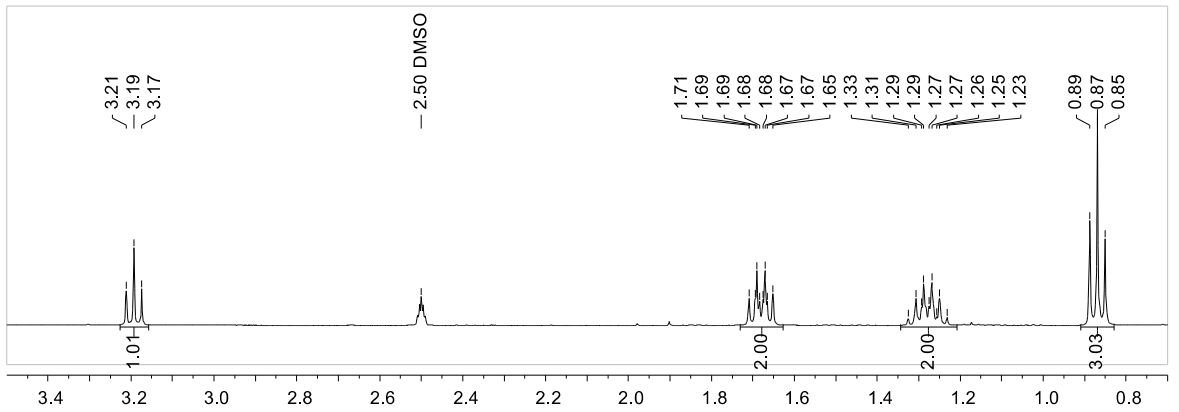
17. Kappe, T., Bis(2,4,6-trichlorphenyl) Malonate. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis (EROS)*, 2001.
18. Stadbauer, W. et al., Malonates in Cyclocondensation Reaction. *Molecules*, 2001, roč. 6, s 338 - 352.
19. Cotton, F. A.; Wilkinson, G., *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th edn. Wiley, 1988, ISBN 978-0471849971
20. Perrin, C.L. et al., Raman spectrum of a Masonic anhydride. *J. Org. Chem.*, 1980, roč. 45, č.9, s 1705 - 1706.
21. McNab, H., Meldrum's Acid. *Chemical Society Reviews*, 1978, roč. 7, s. 345-358.
22. Meldrum, A.N., B-lactonic acid from acetone and malonic acid. *Chemical Society Reviews*, 1908, roč. 93, s. 598-601.
23. Nakamura, S., Hirao, H. & Ohwada, T., Rationale for the Acidity of Meldrum's Acid. Consistent Relation of C–H Acidities to the Properties of Localized Reactive Orbital. *The Journal of Organic Chemistry*, 2004, roč. 69, č. 13, s 4309-4316.
24. Biltz, H. Wittek, H., Über alkylierte und acylierte Barbitursäuren *Chemische Berichte*, 1921, roč. 54, 1035-1058.
25. Dickey, J.B. & Gray, A.R., Barbituric acid. *Organic Syntheses*, 1943, roč. 2, s 60.
26. McMurry, John. *Organická chemie*. V Brně: VUTIUM, 2007, xxv, 1176, 61, 31 s. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-3291-8.
27. Kappe, T., 1967. Synthesen von Heterocyclen, 95. Mitt: Chinolizine und Indolizine I. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, roč. 98, č.3, s 874-886.
28. Olmedo, D. et al., 2012. 3-Phenylcoumarins as Inhibitors of HIV-1 Replication. *Molecules*, roč. 17, č. 8, s. 9245-9257.
29. Thomas, E.J., Product Class 4: Benzopyranones and Benzopyranthiones. In *Category 2, Hetarenes and Related Ring Systems*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2003
30. Poudel, T.N., Lee, Y.R. & Kim, S.H., ChemInform Abstract: Eco-Friendly Synthesis of Diverse and Valuable 2-Pyridones by Catalyst- and Solvent-Free Thermal Multicomponent Domino Reaction. *ChemInform*, 2016, roč.47, č.5.
31. Křemen, F., Gazvoda, M., Kafka, S., et al. Synthesis of 1,4-Benzodiazepine-2,5-diones by Base Promoted Ring Expansion of 3-Aminoquinoline-2,4-diones. *The Journal of Organic Chemistry*, 2017, roč. 82, 715-722
32. Bouhlel, A., Curti, C. & Vanelle, P., New Methodology for the Synthesis of Thiobarbiturates Mediated by Manganese (III) Acetate. *Molecules*, 2012, roč. 17, č.4, s 4313-4325.

33. Gullu, M. et al., Electro-organic reactions part 35. Efficient carbon—oxygen bond formation in the anodic coupling of pyridopyrimidine derivatives. *Tetrahedron*, 1991, roč. 47, č.4-5, s 675-684.
34. Cornwell, T., Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*, 2004, roč. 65, č.8, s 995-1016
35. Panda, N. & Mattan, I., One-pot two-step synthesis of 3-iodo-4-aryloxy coumarins and their Pd/C-catalyzed annulation to coumestans. *RSC Advances*, 2018, roč. 8, č. 14, s 7716-7725.
36. Defeng, Z., Zhuoshu, L. & Jinghai, X., Novel Fluorescent Dyes Based on Coumarin System. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2000, roč. 8, č.4, s 366 - 373.
37. Ng, P.S. et al., Structure activity relationships of 4-hydroxy-2-pyridones: A novel class of antituberculosis agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, roč. 106, s 144-156.
38. Staněk, J., 1957. *Alkaloidy*, Praha: Československá akademie věd.
39. Chichibabin, A. E., *Chemische Berichte*, 1924, roč. 57, s 1168
40. Kappe, T., Lube, W., Zur Synthese mesomerer Pyrimidinbetaine. *Monatshefte für Chemie*, 1971, roč.102, s 781 – 787
41. Mélin, L. et al, Synthesis of NVS-BPTF-1 and evaluation of its biological activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021, roč. 47
42. Landry, J. et al. Essential Role of Chromatin Remodeling Protein Bptf in Early Mouse Embryos and Embryonic Stem Cells. *PLoS Genetics*, 2008, roč. 4, č.10
43. Ngeow, K.C. et al., BRAF/MAPK and GSK3 signaling converges to control MITF nuclear export. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, roč. 115, č.37
44. Dar, A.A. et al., BPTF transduces MITF-driven prosurvival signals in melanoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, roč.113, č.22, s 6254

PŘÍLOHY







2

