

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie



Artem Tsalyy

Příprava C-8 arylovaných derivátů luteolinu
Preparation of C-8 arylated luteolin congeners

Bakalářská práce

Vedoucí práce:

Ing. Aleš Machara, Ph.D.

Praha, 2024

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, *Datum*

Podpis:

Abstrakt

Flavonoidy jsou polyfenolické látky hojně zastoupené v přírodě a vykazují řadu biologických účinků. Součástí této práce je stručné shrnutí vlastností flavonoidů, popis jejich klasických syntéz a také diskuze různých úskalí, která provází vědce při studiu těchto látek.

Luteolin, který patří mezi flavonoidy, vykazuje inhibiční aktivitu vůči endonukleasám některých virových onemocnění. Tato práce se zabývá přípravou knihovny C-8 arylovaných derivátů luteolinu pomocí palladiem katalyzovaných kaplingových reakcí. V rámci práce jsou také diskutovány vlivy různých chránících skupin na průběh kaplingových reakcí.

Klíčová slova: flavonoidy, arylace, kaplingové reakce, Pd katalýza

Abstract

Flavonoids are polyphenolic compounds, which are abundant in nature and demonstrate a range of biological effects. Included in this thesis is a brief summary of the effects of flavonoids a description of their typical syntheses and a discussion of challenges faced by scientists studying these substances.

Luteolin, also a flavonoid, displays inhibitory activity of some disease endonucleases. This thesis focuses on the preparation of a library of C-8 arylated derivatives of luteolin using palladium-catalyzed coupling reactions. Effects of different protecting groups on said coupling reactions are discussed as well.

Key words: flavonoids, arylation, coupling reactions, Pd catalysis

Obsah

Použité zkratky	5
1. Úvod.....	7
2. Cíle práce.....	8
3. Přehled problematiky	9
3.1 Funkce flavonoidů v přírodě	9
3.2 Účinky flavonoidů na lidské zdraví.....	9
3.2.1 Antioxidační účinky	10
3.2.2 Protizánětlivé účinky	10
3.2.3 Protinádorové účinky.....	11
3.3 Biodostupnost.....	11
3.4 PAINS	12
3.5 Syntéza flavonoidů.....	13
3.5.1 Biosyntéza v rostlinách.....	13
3.5.2 Laboratorní syntéza	14
3.6 Syntéza substituovaných flavonoidů	15
3.6.1 Halogenace	16
3.6.2 Alkylace a arylace	17
4. Výsledky a diskuse.....	21
4.1 Chránění	21
4.2 Halogenace	22
4.3 Borylace luteolinu a následný kapling	23
4.4 Kapling C-8 halogenovaného luteolinu.....	23
4.5 Odchránění	26
5. Závěr.....	29
6. Experimentální část	30
6.1 Obecné postupy a chemikálie.....	30
6.2 Syntéza prekurzorů.....	30
6.3 Syntéza C-8 arylovaných derivátů luteolinu	33
6.3.1 Obecné postupy	33
6.3.2 Syntéza derivátů luteolinu	34
7. Poděkování	45
8. Literatura	46

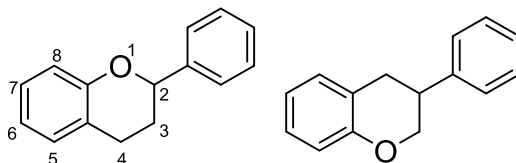
Použité zkratky

Ac ₂ O	acetanhydrid
AcCl	acetyl chlorid
BEH	hybrid s ethylenovými můstky (z angl. <i>Ethylene Bridged Hybrid</i>)
BnBr	benzyl bromid
Boc	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
BrettPhos	dicyklohexyl(2',4',6'-triisopropyl-3,6-dimethoxy-[1,1'-bifenyl]-2-yl)fosfin
cHex	cyklohexan
CoA	koenzym A
COX	cyklooxygenasa
DCM	dichlormethan
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DMSO- <i>d</i> ₆	deuterovaný dimethylsulfoxid
dppf	1,1'-bis(difenylfosfino)ferrocen
EGCG	epigallokatechin-3-gallát
ESI	elektrosprejová ionizace (z angl. <i>Electrospray Ionization</i>)
EtOAc	ethyl-acetát
EtOH	ethanol
HRMS	hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (z angl. <i>High-resolution Mass Spectrometry</i>)
MeCN	acetonitril
MeOH	methanol
MeOD- <i>d</i> ₄	deuterovaný methanol
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -butyllithium

NCS	<i>N</i> -chlorsukcinimid
NIS	<i>N</i> -jodsukcinimid
NMR	nukleární magnetická rezonance
OTBDMS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl ether
P(<i>o</i> -Tol) ₃	tris(<i>o</i> -tolyl)fosfin
PAINS	sloučeniny interferující s bio-esejí (z angl. <i>Pan-assay Interference Compounds</i>)
Pd(OAc) ₂	octan palladnatý
Pd(PPh ₃) ₄	tetrakis(trifenylfosfin)palladium
Pd(PPh ₃) ₂ Cl ₂	bis(trifenylfosfin)palladium dichlorid
ROS	reaktivní formy kyslíku (z angl. <i>Reactive Oxygen Species</i>)
RT	pokožová teplota (z angl. <i>room temperature</i>)
RVO	rotační vakuová odparka
SPhos	dicyklohexyl(2',6'-dimethoxy[1,1'-bifeny]l-2-yl)fosfin
TBAB	tetra- <i>n</i> -butylammonium bromid
TEA	triethylamin
TFA	kyselina trifluoroctová
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie (z angl. <i>Thin Layer Chromatography</i>)
UPLC-MS	vysokoúčinná kapalinová chromatografie – hmotnostní spektrometrie (z angl. <i>Ultra-performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i>)

1. Úvod

Flavonoidy jsou přírodní polyfenolické látky, které mají řadu biologických účinků. Jejich struktura je odvozena od flavanu nebo isoflanu (Obrázek 1). Jsou to běžné sekundární metabolity rostlin, které lze nalézt v květech, listech i plodech rostlin. Jedná se o velice širokou skupinu látek, čítající na 10 000 zástupců (z velké části se jedná o glykosidy). Tento vysoký počet naznačuje, že flavonoidy plní velké množství funkcí v rostlinné říši, ať už se jedná o interakce rostlin s mikroorganismy, živočichy nebo o vývoj rostliny samotné.¹



Obrázek 1. Flavan (vlevo), isoflavan (vpravo)

Vzhledem k jejich rozšíření v přírodě, a tím pádem i v rostlinné stravě, se flavonoidy staly nezanedbatelnou součástí naší diety. Konzumujeme-li tyto látky takřka každý den, je užitečné znát jejich možné účinky na lidský organismus. Nicméně, ambicí medicínálních chemiků není studovat efekty přírodních látek, ale přispívat k vývoji nových léčiv a v tomto výzkumu hrají svojí roli také právě flavonoidy.

2. Cíle práce

- Prostudovat taktiku chránění fenolických skupin luteolinu
- Prostudovat přípravu C-8 halogenovaných derivátů luteolinu s přihlédnutím na použitý způsob chránění fenolických skupin
- Optimalizovat palladiem katalyzované Suzuki-Miyaura reakce v poloze C-8 luteolinu
- Připravit malou knihovnu derivátů luteolinu s různými arylovými zbytky zavedenými do polohy C-8

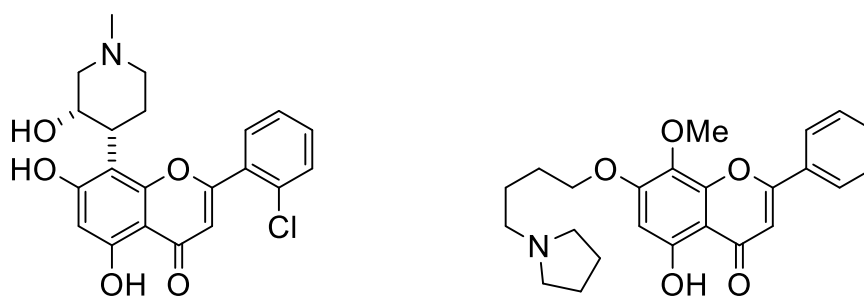
3. Přehled problematiky

3.1 Funkce flavonoidů v přírodě

Nejviditelnější funkcí flavonoidů je pigmentace, která plní důležitou roli v lákání opylovačů a také chránění před škodlivým UV zářením. Další funkcí flavonoidů je například indukce genové exprese u rostlinných symbiontů (zpravidla se jedná o *rhizobium* – bakterie zodpovědná za biologickou fixaci dusíku). Produkce flavonoidů v kořenovém systému u rostlin je tedy klíčová pro dosažení specifity mezi hostitelem a symbiontem.²

3.2 Účinky flavonoidů na lidské zdraví

Mimo důležité funkce v říši rostlin, flavonoidy mají také mnoho účinků na živočichy a člověka, kteří je přijímají v rostlinné potravě. Tato skutečnost ve spojení s jejich hojností v přírodě vedla k tomu, že se flavonoidy objevují ve složitých chemických směsích užívaných v tradiční medicíně a rovněž se dají pořídit komerčně jako doplňky stravy. Při letném pohledu do vědecké literatury lze odhadnout, že každoročně vyjdou vyšší stovky článků popisující biologické účinky flavonoidů. To je však v ostrém kontrastu s téměř minimálním počtem flavonoidů v druhé a třetí fázi klinického testování, přičemž asi nejznámější API v klinickém testování je flavopiridol³ a látka GL-V9 (Obrázek 2).⁴ Prvně jmenovaná látka byla původně vyvinutá jako inhibitor CDK9 kinas a nyní se testuje pro použití při léčbě akutní myeloidní leukemie⁵ („orphan drug“ status udělen v roce 2015). Druhá jmenovaná látka GL-V9 inhibuje proliferaci nádorových buněk a zkoumá se její využití při léčbě maligních hematologických nádorů.^{6,7} Tento nesoulad mezi ohromným množstvím vědeckých prací a velmi omezeným použitím flavonoidů v klinické praxi lze z části vysvětlit špatnou biodostupností flavonoidů a také jejich schopností vykazovat falešnou pozitivitu v *in vitro* biochemických esejích (viz kapitola 3.4).

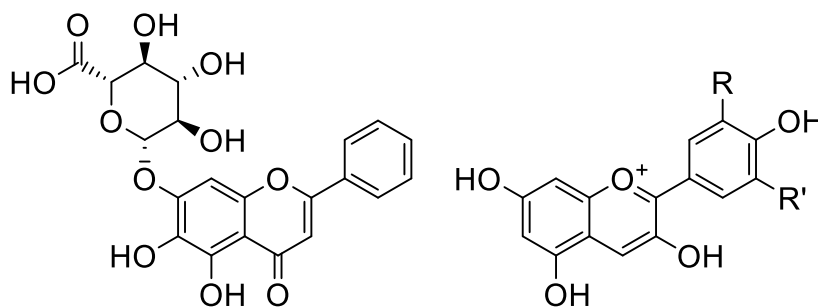


Obrázek 2. Flavodipicol (vlevo), GL-V9 (vpravo)

3.2.1 Antioxidační účinky

Nejlépe popsáním účinkem flavonoidů je jejich schopnost zachytávat volné radikály vznikající přirozenou funkcí aerobních buněk nebo také vlivem vnějších faktorů. Mezi tyto látky patří reaktivní formy kyslíku – hydroxylový radikál, superoxidový anion, singletový kyslík atd. Tyto látky se přirozeně vyskytují v organismu. Při jejich nadbytku dochází k tzv. oxidativnímu stresu, jenž je způsoben právě nerovnováhou mezi ROS a antioxidanty. Tato nerovnováha může vést k různým onemocněním včetně rakoviny.^{8,9}

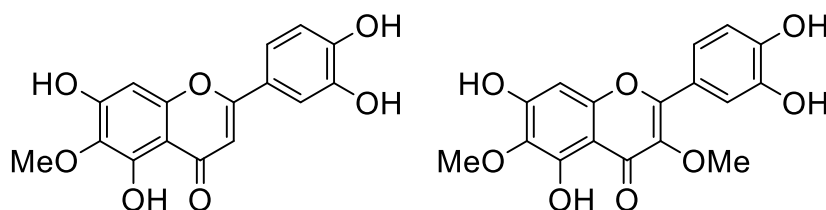
Nejsilnější inhibicí oxidativního stresu údajně vykazuje baikalin (Obrázek 3), lze tedy říci, že antioxidační účinek je pravděpodobně zvýšen přítomností glukuronátového substituentu v poloze C-7. Dalšími flavonoidy s dobrými antioxidačními účinky jsou antokyany (Obrázek 3) a jejich sacharidové deriváty, které se vyskytují například v plodech višně obecné.¹⁰



Obrázek 3. Baikalin (vlevo), obecná struktura antokyanů (vpravo, R,R' = H, OH, OMe)

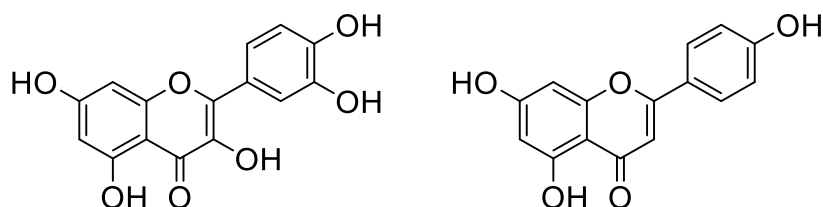
3.2.2 Protizánětlivé účinky

Některé flavonoidy mohou inhibovat metabolismus kyseliny arachidonové.¹¹ Látky nalezené ve vratiči obecném – 6-methoxy- a 6,3-dimethoxy luteolin (Obrázek 4) vykazují inhibici 5-lipoxygenasy a do menší míry i cyklooxygenasy. Antokyany byly také testovány na inhibici těchto enzymů, kyanin vykazoval výrazný inhibiční efekt vůči oběma formám cyklooxygenasy (IC_{50} COX-1 = 90 μ M; COX-2 = 60 μ M). Inhibiční účinek uvedených látek je mnohem silnější než, který vykazuje kyselina acetyl salicylová (1050 μ M) s níž byly zmíněné flavonoidy srovnávány.^{10, 12}



Obrázek 4. 6-Methoxy luteolin (vlevo), 6,3-dimethoxy luteolin (vpravo)

Quercetin a apigenin (Obrázek 5) jsou dalšími flavonoidy schopnými tlumit zánět. Oba inhibují růst fibroblastů (tkáňových buněk zodpovědných za hojení ran) v širokém rozmezí koncentrací. Tento účinek je vítaný, protože při příliš rychlém růstu fibroblastů dochází k pomalejšímu hojení a k chronickému zánětu.¹³ Quercetin v kombinaci s kurkuminem může také pomoci pacientům po transplantaci ledvin. Jejich antioxidační účinky mohou předcházet ireverzibilní peroxidaci lipidů při obnovení krevního oběhu do transplantovaného orgánu.¹⁰



Obrázek 5. Quercetin (vlevo) apigenin (vpravo)

3.2.3 Protinádorové účinky

K velice studovaným účinkům flavonoidů patří jejich role v prevenci a léčbě rakoviny. Preventivní účinek mají flavonoidy právě díky svým již zmíněným antioxidačním a protizánětlivým účinkům.

Kromě preventivní funkce byla v rámci preklinických studií prokázána také schopnost redukce metastatického šíření karcinomu.¹⁴ V chemoterapii mohou flavonoidy sehrát roli pomocné látky, která zvyšuje biodostupnost léčiv používaných na rakovinu.^{9, 15}

3.3 Biodostupnost

Flavonoidy mají obecně relativně špatnou biodostupnost, nicméně ta se může napříč různými flavonoidy poměrně výrazně lišit. Metabolismus je první překážkou flavonoidů ve vstupu do krevního řečiště. V rámci něj jsou flavonoidy buď *O*-methylovány nebo jsou biotransformovány na estery kyseliny glukuronové nebo kyseliny sírové. V krevní plazmě lze nalézt takřka jenom glukuronáty nebo sulfáty flavonoidů. To je dáno jejich vyšší rozpustností ve vodě, což je základní způsob, jakým se organismus zbavuje cizorodých látek. Na druhou stranu tyto konjugáty nemají účinky jako mají volné flavonoidy. Například glukuronovaný epikatechin nevykazoval stejnou schopnost ochrany proti oxidativnímu stresu jako 3'-*O*-methyl epikatechin, což naznačuje jakousi spojitost s polaritou molekuly, tuto úvahu je ale třeba brát s velkou mírou kritičnosti.^{16, 17}

Pro vstup látky do krevního řečiště z gastrointestinálního traktu je klíčové tenké střevo, kterým však většina flavonoidů projde bez vstřebání a skončí ve střevě tlustém, kde jsou

flavonoidy metabolizovány střevní mikroflórou.¹⁸ Glykosidy flavonoidů mají rozpustnost ve vodě vyšší a lépe se tím pádem vstřebávají v tenkém střevě. Proto například glykosidy quercetinu přítomné v cibuli mají výrazně lepší biodostupnost než samotný quercetin.¹⁹

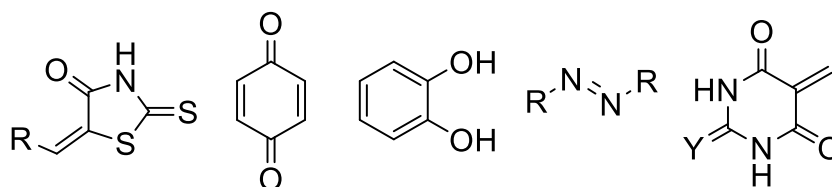
Nezanedbatelný vliv na biodostupnost má matrice, tou mohou být rostlinné tkáně nebo potrava živočišného původu. Flavonoidy jsou z největší části přijímány v potravě, kde je přítomna celá řada dalších látek, jež mohou s flavonoidy interagovat. Příkladem takovéto matrice je kravské mléko obsahující řadu proteinů (kasein, hovězí sérový albumin, β -laktoglobulin atd.), na které se mohou flavonoidy vázat.²⁰

Dalšími proteiny, na něž se flavonoidy vážou jsou trávicí enzymy (např. α -amylasa, α -glukosidasa). Některé flavonoidy mají na tyto enzymy inhibiční efekt. Inhibice těchto enzymů je jedním z principů na němž fungují některé léky proti diabetu.²¹

Existují samozřejmě snahy o vylepšení biodostupnosti flavonoidů, jako nadějně se v tomto ohledu zdají být nosiče na bázi nanočástic. Studovány byly nanočástice zlata, kopolymerů kyseliny mléčné a glykolové a také polyethylenglykoly.^{22,23}

3.4 PAINS

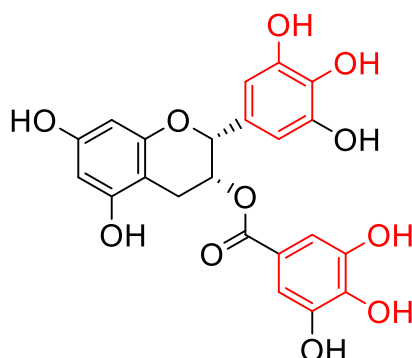
Mezi nechvalně známé látky v medicíně-chemickém výzkumu patří tak zvané „PAINS“ (z anglického: Pan-assay interference compounds) neboli látky nespecificky interferující s biochemickými esejí a které celkově vykazují falešnou pozitivitu. Způsoby interference PAINS jsou různé, studované látky se v rámci esejí mohou shlukovat do micel, působit redoxně nebo se ireverzibilně vázat na proteiny.^{24,25} Jako PAINS byly po rozsáhlém testování označeny stovky malých sloučenin o molární hmotnosti v rozsahu 150 – 400 Da, a mnoho z nich obsahuje stejné strukturní motivy. Mezi běžné struktury, které byly označeny jako PAINS patří například: rhodaniny, chinony, katecholy, diazo-sloučeniny, barbituráty a mnoho dalších látek (Obrázek 6).²⁶



Obrázek 6. Příklady strukturních motivů patřící mezi PAINS (zleva: alkenyl- rhodanin, chinon, katechol, diazo-sloučenina, alkylden barbiturát; R = alkyl, aryl; Y = O, S)

Mnoho flavonoidů má ve své struktuře katechol, který byl rovněž zařazen do PAINS. Katechol má sklon k redoxní aktivitě a také může fungovat jako chelátor kationtů. Známým

příkladem flavonoidu s katecholovým strukturním motivem, který patří do PAINS je kromě quercetinu také epigallokatechin-3-gallát (Obrázek 7), přírodní flavonoid jenž je hojně obsažen v zeleném čaji.



Obrázek 7. Epigallokatechin-3-gallát (EGCG) (katecholový motiv je zvýrazněn červeně)

EGCG byl předmětem řady publikací, které však nezohlednily její promiskuitní charakter v řadě bio-esejí (tj. PAINS-efekt).²⁷ EGCG může tvořit reaktivní orthochinony, interferovat s iontovými kanály a porušovat membrány.²⁸ Je nepochybně důležité mít povědomí o PAINS a přistupovat kriticky ke sloučeninám, které byly takto označeny. To je důvodem, proč krátký úvod do problematiky PAINS byl uveden i v této práci, protože přesně takové sloučeniny si předložená bakalářská práce klade za cíl připravit. V našem případě tedy panuje dobré povědomí o promiskuitním charakteru flavonoidů a přesto tyto látky považujeme za nadějně. To je dáno skutečností, že se nám podařilo připravit několik komplexů „cílový protein-flavonoid“ a díky tomu víme, že naše biochemické eseje nevykazují falešnou pozitivitu.

3.5 Syntéza flavonoidů

3.5.1 Biosyntéza v rostlinách

V současnosti je známo obrovské množství flavonoidů, protože jejich syntéza vychází z poměrně rozsáhlé sítě biosyntetických drah. Výchozí látkou pro biosyntézu flavonoidů je fenylyalanin, přičemž v prvním kroku biosyntézy flavonoidů je eliminován amoniak za vzniku kyseliny skořicové.²⁹ Následuje hydroxylace cinnamátu na kumarát (*p*-hydroxycinnamát), který je poté aktivován na kumaroyl-CoA.³⁰ Klíčovým rychlost určujícím krokem biosyntézy flavonoidů je vznik chalkonu (Schéma 1). Ten vzniká reakcí kumaroyl-CoA se třemi molekulami malonyl-CoA. Následně vstupuje chalkon do některé z drah pro syntézu flavonů nebo isoflavonů.³¹

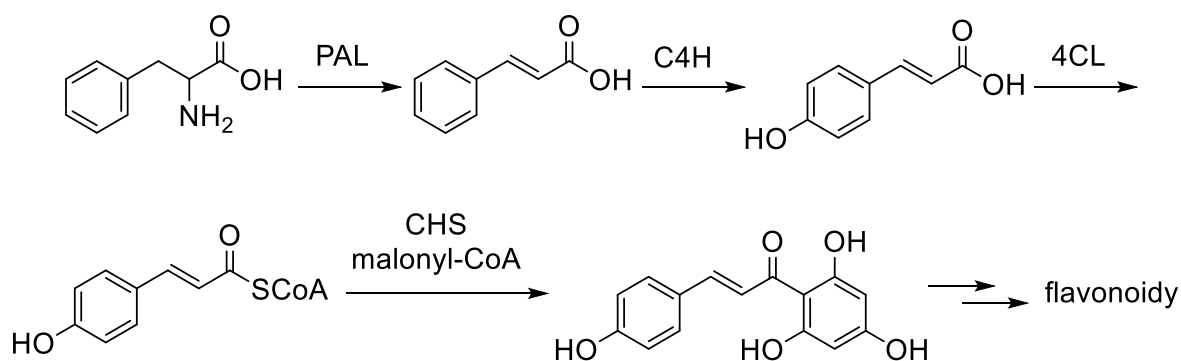


Schéma 1. První kroky biosyntézy flavonoidů (PAL – fenylalanin ammonium lyasa, C4H – trans-cinnamát 4-hydroxylasa, 4CL – 4-kumarát: CoA ligasa, CHS – chalcon syntasa)

3.5.2 Laboratorní syntéza

Díky tomu, že jsou flavonoidy běžně komerčně dostupné, často není nutné provádět jejich laboratorní syntézu. Nicméně v některých případech je to však žádoucí. Jedním z nejdéle používaných způsobů přípravy flavonoidů je Baker-Venkataramanova syntéza. Prvním a zároveň klíčovým krokem této syntézy je Baker-Venkataramanův přesmyk – bazicky katalyzovaný přesmyk *O*-acyloxyketonu na β -diketon. Následně dochází ke kyselé katalyzované cyklodehydrataci za vzniku flavonu (Schéma 2).^{32,33}

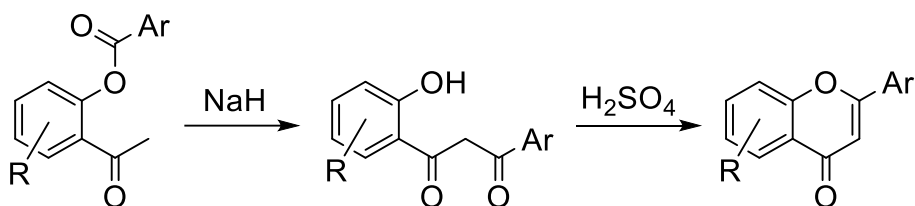


Schéma 2. Baker-Venkataramanova syntéza derivátů flavonu (R= alkyl, OH, OMe)

Další klasická syntéza, tentokrát využívající Claisen-Schmidtovu kondenzaci začíná Friedel-Craftsovou acylací vhodně substituovaného fenolu do *ortho*- polohy. Poté je vzniklý *o*-hydroxyacetofenon kondenzován s arylaldehydem za vzniku chalconu. Nakonec je provedena oxidativní cyklizace, v daném případě pomocí elementárního jodu v dimethylsulfoxidu (Schéma 3). Cyklizaci lze provést katalytickým množstvím jodu, v takovém případě je produktem flavonoid. Pokud je však použito 0,5 molárního ekvivalentu jodu vůči chalconu pak vzniká monojodovaný flavonoid, což je výhodné pro některé další postupy.^{34, 35} Alternativně je pro finální cyklizaci možné použít například jodid měďný³⁶ nebo oxid seleničitý vázaný na silikagelu.³⁷

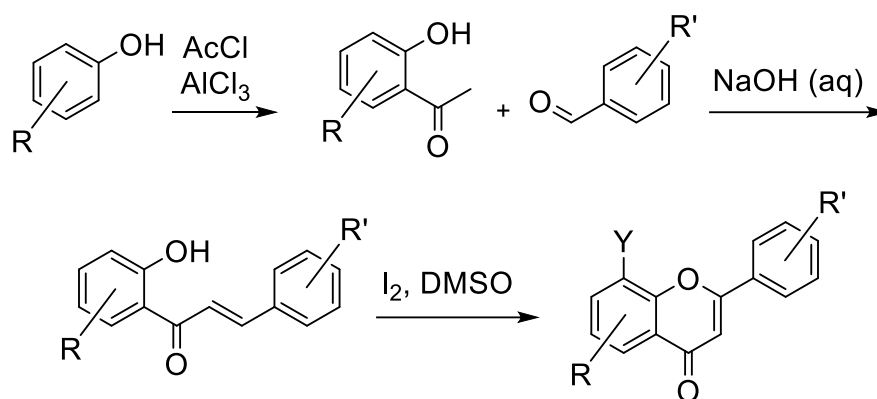
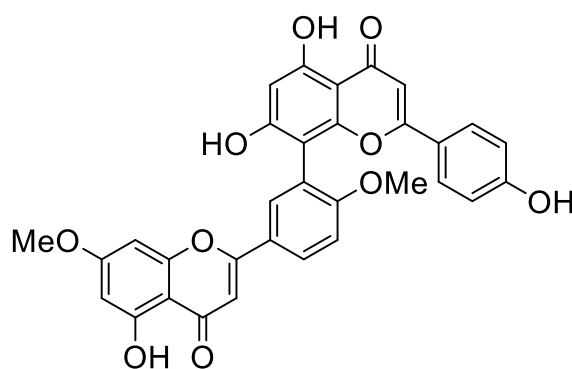


Schéma 3. Obecná laboratorní syntéza flavonoidů ($R, R' = \text{OMe}, Y = \text{H}, \text{I}$)

3.6 Syntéza substituovaných flavonoidů

Jak již bylo zmíněno, flavonoidy jsou v přírodě velice hojně zastoupeny. Obvykle se jedná o polyfenoly, které bývají *O*-substituovány, ať už se jedná o *O*-methylované sloučeniny nebo o *O*-glykosidy. Existují však i vzácnější flavonoidy s C-C vazbou mimo základní (iso)flavanový motiv.

Příkladem těchto látek jsou C-8 prenylované flavonoidy, které mají oproti ostatním flavonoidům vyšší lipofilitu a tedy vyšší afinitu k biologickým membránám.³⁸ K těmto látkám rovněž patří biflavonoidy, neboli dimery dvou stejných nebo různých flavonoidů spojené C-C vazbou v kterékoli pozici. Biflavonoidy jsou v přírodě mnohem vzácnější než prenylované flavonoidy, patří mezi ně například ginkgetin (Obrázek 8) nalezený v listech *ginkgo biloby*.³⁹



Obrázek 8. Ginkgetin

Vzhledem k omezenému množství těchto neklasických flavonoidů v přírodě, nejsou jejich biologické účinky popsány tak podrobně jako u běžných flavonoidů a proto je důležité tyto sloučeniny připravovat v laboratoři a dále je studovat.

3.6.1 Halogenace

Klíčovou transformací předcházející samotné tvorbě C-C vazeb je halogenace. Mezi běžně používaná halogenační činidla patří samozřejmě elementární brom, chlor či jod případně jejich binární sloučeniny jako například chlorid jodný. Tyto látky jsou velice korozivní a reaktivní, nemanipuluje se s nimi úplně snadno a také mohou některé substráty rozkládat kvůli své vysoké reaktivitě. Nicméně je možné připravit mono-, di-, tetra- nebo penta- bromovaný quercetin vhodnou regulací teploty a pomalým přikapáváním roztoku bromu v dioxanu do reakční směsi. Substituce bromem probíhá přednostně do poloh C-6 a C-8, následně poté do C-2', C-5' a C-6' (Schéma 4).⁴⁰

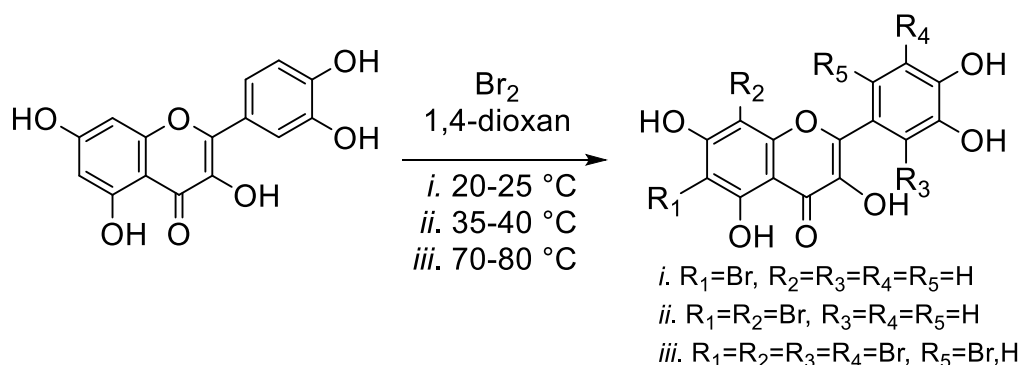


Schéma 4. Bromace quercetinu pomocí elementárního bromu⁴⁰

Dalšími velice běžně používanými halogenačními činidly jsou *N*-bromsukcinimid (NBS), *N*-jodsukcinimid (NIS) a *N*-chlorsukcinimid (NCS). Na rozdíl od například elementárního bromu se jedná o pevné látky, takže je mnohem jednodušší s nimi pracovat. Produktem bromace quercetinu *N*-bromsukcinimidem je směs C-6 bromovaného a C-6,8 dibromovaného substrátu, přičemž při snížené teplotě vzniká směs monobromovaných substrátů do poloh C-6 a C-8. Velice podobnou regioselektivitu vykazuje také NIS. Problémem je, že produkty monohalogenací je velice obtížné od sebe oddělit, proto je žádoucí postupovat tak, aby vznikal pouze jeden produkt. Toho je možné docílit vhodným chráněním fenolických skupin přítomných ve struktuře flavonoidů. Pokud jsou chráněny fenolické skupiny v polohách C-5 a C-7, pak halogenace probíhá výhradně do polohy C-8, naopak volná C-5 fenolická skupina poskytuje směs, kde převládá C-6 halogenovaný substrát (Schéma 5).^{41, 42}

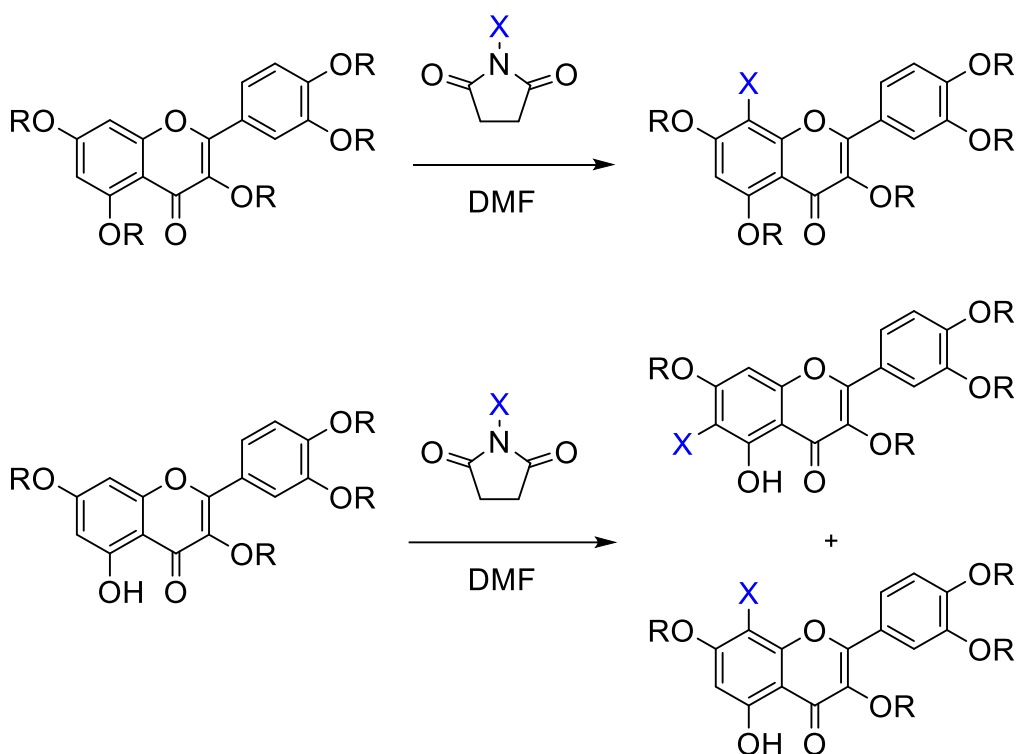


Schéma 5. Regioselektivní halogenace derivátů quercetinu do polohy C-8, respektive C-6
(R = Me, Et, *i*Pr; X = Br, I)

3.6.2 Alkylace a arylace

Tvorba nových C-C vazeb je v současnosti z velké části doménou kaplingových reakcí, kterých existuje celá řada. Příkladem kaplingové reakce, jejímž produktem je formálně alken je Heckova reakce. Jedná se o palladiem katalyzovanou reakci alkenu s aryl/alkenyl (pseudo)halogenidem v přítomnosti báze.⁴³ Pomocí Heckovy reakce lze například připravit C-8 *E*-styryl flavonoidy reakcí jodovaného flavonoidu s vhodně substituovaným styrenem (Schéma 6).⁴⁴

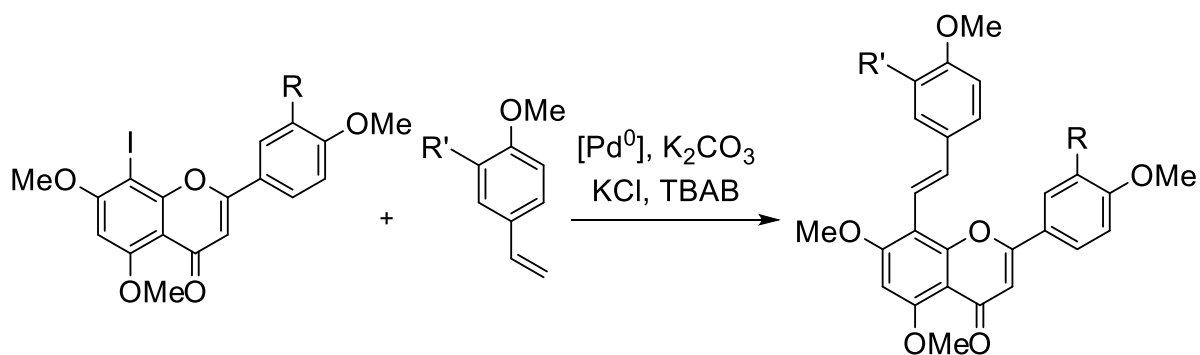


Schéma 6. Syntéza C-8 styryl flavonoidů pomocí Heckovy reakce (R, R' = H, OMe)⁴⁴

Pro přípravu vinylovaných, allylovaných i arylovaných flavonoidů může sloužit Stilleho kapling. Jedná se o reakci (pseudo)halogenidu s organostananem (tj. organokovové sloučeniny cínu) za katalýzy palladiem v přítomnosti fosfinových ligandů. Výhodou Stilleho kaplingu je jeho robustnost. Vhodnými reagenty pro Stilleho reakci jsou kromě alkyl a aryl halogenidů také vinyl, allyl nebo acyl halogenidy. Sloučenin cínu vhodných pro Stilleho kapling je také mnoho, některé tyto látky jsou komerčně dostupné, avšak běžně se připravují v laboratoři z trialkylcín chloridů. Jeden velmi elegantní příklad takové přípravy je uveden ve Schématu 7, kde za pozornost stojí využití karbaldehydu jako řídicí skupiny po její reakci s trimethylethylendiamidem lithným.⁴⁵ Karbaldehyd se tedy nechrání, naopak je jeho reaktivita využita k tvorbě dočasné řídicí skupiny a po deprotonaci derivátu pyridinu v poloze C-4 a následné reakci s trimethylcín chloridem je provedena hydrolyza nestabilního aminoalkoholátu, která vede k obnovení karbaldehydu.

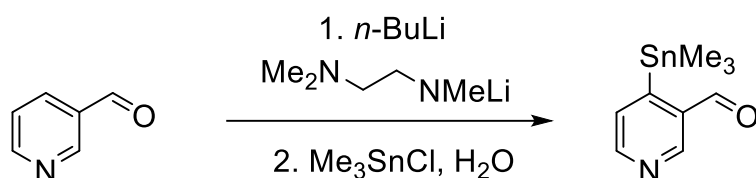


Schéma 7. Příprava organostananů pro Stilleho reakci⁴⁶

Další praktickou výhodou Stilleho reakce je stabilita organostananů. Tyto látky jsou stabilní na vzduchu i při styku se vzdušnou vlhkostí a také je lze destilovat (při teplotách do 200 °C), aniž by se rozkládaly.⁴⁷ Proto je s nimi snadné provádět další transformace. Samotný kapling je proveden za podmínek Pd katalýzy, například dichloridem bis(trifenylfosfin)palladnatým (Schéma 8).

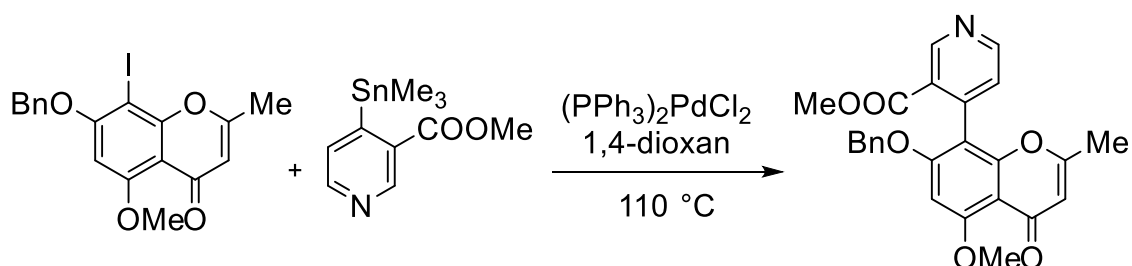
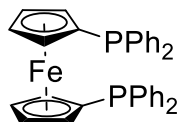


Schéma 8. Příprava derivátu chromenu pomocí Stilleho reakce⁴⁶

Velkou nevýhodou Stilleho reakce je toxicita organokovových sloučenin cínu. Z tohoto pohledu je vhodnou alternativou Suzuki-Miyaura kapling. Analogicky ke Stilleho reakci využívá tento kapling alkyl/aryl (pseudo)halogenidy a organokovové sloučeniny boru. Sloučeniny boru, jež se používají v Suzuki-Miyaurově, reakci jsou boronové kyseliny, boronátové estery a další podobné sloučeniny. Suzuki-Miyauraova reakce je rovněž

katalyzována palladiem v přítomnosti stericky náročných, elektronově bohatých ligandů (obvykle se jedná o fosfinové ligandy). Tyto katalyzátory jsou komerčně dostupné ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, $(\text{PPh}_3)_2\text{PdCl}_2$), anebo je lze generovat *in situ* použitím palladnaté soli (např. octanu nebo chloridu) a fosfinového ligandu (např. *t*Bu₂PMe či dppf – Obrázek 9).⁴³



Obrázek 9. Ligand 1,1'-bis(difenylofosfino)ferrocen (dppf)

Na rozdíl od Stilleho reakce musí být Suzuki-Miyaura kapling prováděn v přítomnosti báze kvůli aktivaci boronové kyseliny. Běžné báze používané v této reakci jsou uhličitán draselný nebo cesný, případně alkoxid, hydroxid sodný či draselný anebo fosforečnan draselný. V praxi lze provádět Suzuki-Miyaura kapling s komerčně dostupnými sloučeninami boru, obzvláště pokud jde o zavádění jednoduchých či jinak běžných strukturních motivů (Schéma 9).

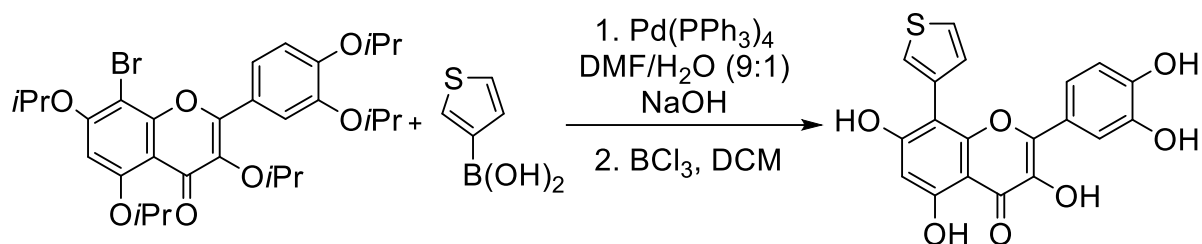


Schéma 9. Příprava C-8 arylovaného quercetinu pomocí Suzuki-Miyaura kaplingu, druhým krokem je ochránění fenolických skupin chloridem boritým⁴⁸

Pokud je cílem příprava složitějších sloučenin, jako například biflavonoidů (Schéma 10), lze volit postup přípravy vlastní boronové kyseliny či boronátu. K této transformaci může sloužit Myiaurova borylace – reakce alkyl/alkenyl/aryl (pseudo)halogenidů s B₂pin₂ katalyzovaná sloučeninami palladia (Schéma 10).⁴⁹

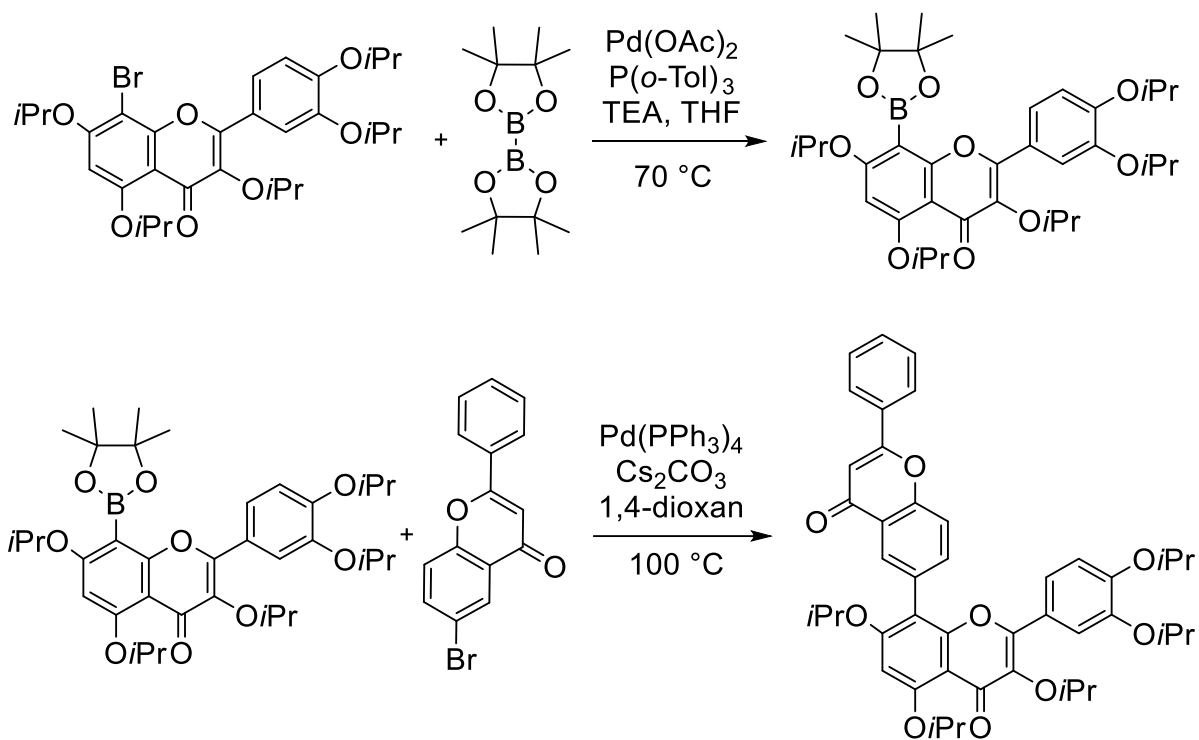


Schéma 10. Myiaurova borylace chráněného 8-bromquercetinu (nahore), příprava biflavonoidu z boronátu quercetinu a 6-bromflavonu (dole)⁴⁸

4. Výsledky a diskuse

4.1 Chránění

Prvním krokem tohoto bakalářského projektu bylo chránění luteolinu, respektive volba vhodné chránicí skupiny. Smyslem chránění je zamezení nežádoucích reakcí tím, že zamezíme reaktivitě volných fenolických funkčních skupin. V daném případě má toto chránění ještě jeden žádoucí účinek, jak již bylo popsáno v kapitole 3.6.1. a to konkrétně ochráněním všech fenolických skupin luteolinu zajistíme, že následná halogenace bude probíhat regioselektivně do polohy C-8.

Jako první chránicí skupina byl zvolen benzyl. Chránění benzylem bylo provedeno ve dvou krocích. V prvním kroku byla pro deprotonaci volných fenolických skupin použita DIPEA a v druhém kroku hydrid sodný (Schéma 11). Důvodem k tomuto postupu je skutečnost, že flavonoidy mají tendenci se rozkládat v silně bazickém prostředí.⁵⁰ Nicméně pokud je tento flavonoid chráněn alespoň částečně, k degradaci nedochází. Silná báze je však potřeba pro úplnou deprotonaci luteolinu, jelikož $pK_{a,4}$ je u flavonoidů obvykle vyšší než 11.⁵¹ Benzylačním činidlem byl v daném případě benzyl bromid. Celkový výtěžek tohoto dvoukrokového postupu činil 55 %.

Další chránicí skupinou, která byla zvolena, byl acetyl. Tato chránicí skupina je podstatně labilnější než výše zmíněný benzyl, nicméně její výhodou je relativně snadná příprava tetraacetátu luteolinu, která poskytla produkt **2** ve výtěžku 78 %, ve směsi nebyly přítomné žádné mono-, di- či triacetylované vedlejší produkty. Postup je založený na acetylaci substrátu acetanhydridem při teplotě 145 °C, jako báze byl použit pyridin (Schéma 11).

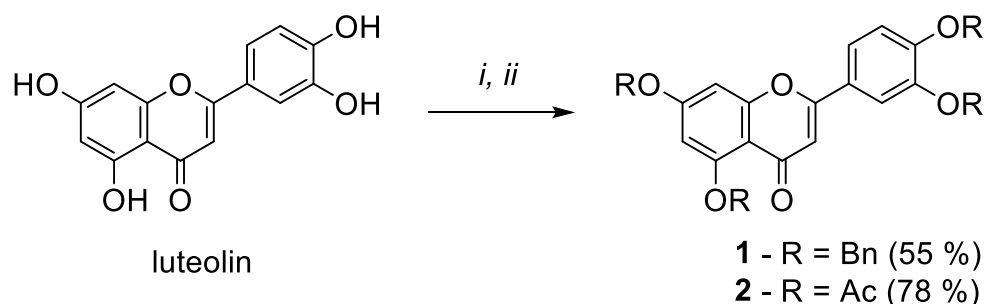


Schéma 11. Chránění luteolinu na všech volných hydroxylech (*i* – 1. BnBr; DIPEA; DMF; 0 °C – RT 3h 2. BnBr; NaH; DMF; RT; 1 h; *ii* – Ac₂O; pyridin; 145 °C; 3 h)

4.2 Halogenace

Jak bylo v kapitole 3.6.1 popsáno, flavonoidy s chráněnou C-5 fenolickou skupinou jsou běžnými halogenačními činidly substituovány do polohy C-8. V případě tetrabenzyletheru **1** byla halogenace provedena pomocí *N*-jodsukcinimidu luteolinu. Naopak *N*-bromsukcinimid byl použit pro bromaci tetraacetyl luteolinu **2** (Schéma 12). Obě halogenace byly provedeny v DMF při 70 °C. Jak se ukázalo, sterická objemnost chránící skupiny neměla vliv na reaktivitu a halogenace v obou případech proběhly do plné konverze. Jodace tetrabenzyl derivátu **1** poskytla produkt **3** ve výtěžku 72 %. Bromace tetraacetátu **2** poskytla odpovídající bromderivát **4** ve výtěžku 80 %.

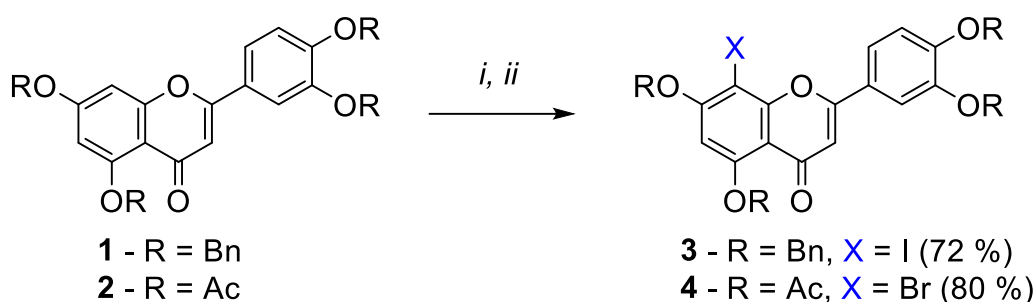


Schéma 12. Halogenace chráněného luteolinu do polohy C-8 (*i* – NIS; DMF; 70 °C; 16 h; *ii* – NBS DMF; 70 °C; 16 h;)

Po provedení několika pokusných Suzukiho reakcí s tetraacetátem **4** jsme pozorovali, že voda spolu s anorganickou bází, což jsou typické podmínky pro tyto kaplingy, způsobuje hydrolyzu některých acetátových skupin. Tato vedlejší reakce zjevně neměla vliv na průběh kaplingu, ale významně komplikovala monitorování průběhu reakce pomocí UPLC-MS a také izolaci produktů, protože vznikala řada různých sloučenin (isomerní di- a triacetáty substituované arylem v poloze C-8). Proto jsme usoudili, že vhodným postupem bude acetylovaný bromluteolin **4** zcela odchránit. Odchránění acetátu **4** bylo provedeno vodným roztokem hydroxidu lithného v tetrahydrofuranu (Schéma 13). Tato hydrolyza poskytla bromluteolin **5** ve výtěžku 80 %.

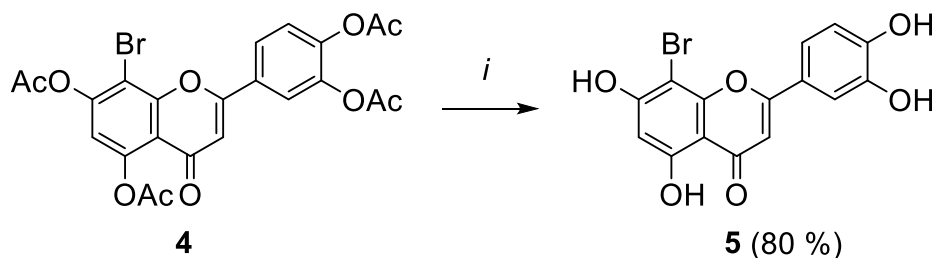


Schéma 13. Odchránění 8-bromtetraacetyl luteolinu **4** (*i* – LiOH (aq); THF; 45 °C; 1 h)

4.3 Borylace luteolinu a následný kapling

Jedním z postupů použitých v rámci této práce byla také Myiaurova borylace jodderivátu **3**, pro přípravu pinakolboronátu luteolinu **6** (Schéma 14). Tato reakce probíhala za standardních podmínek (katalyzátor – Pd(dppf)Cl₂; báze – KOAc) a poskytla produkt **6** v uspokojivém výtěžku 55 %.

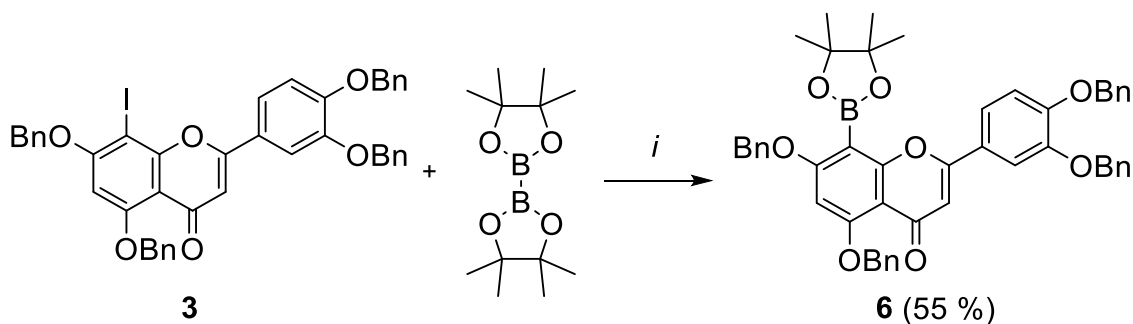


Schéma 14. Borylace beznylovaného jodluteolinu **3** (Pd(dppf)Cl₂; KOAc; 1,4-dioxan; 100 °C; 16 h)

Vzniklý boronát luteolinu **6** byl následně nasazen do Suzuki-Myiaurova kaplingu s *ortho*- substituovanými deriváty brombenzenu (Schéma 15). Konkrétně se jednalo o *ortho*-brombenzonitril a *ortho*-brombenzoát. Ani jedna z těchto reakcí však neposkytla produkt a proto bylo rozhodnuto o změně strategie. Nová syntetická strategie spočívala v provádění Suzuki-Myiaurových kaplingů s halogenidy odvozených od luteolinu a jako boronové kyseliny byly použity komerční sloučeniny.

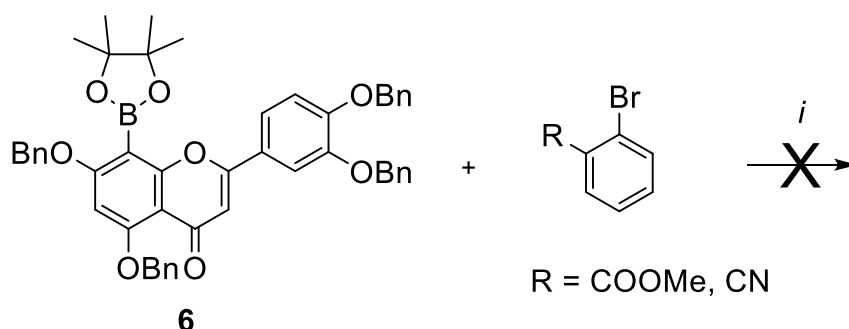


Schéma 15. Suzukiho kapling s boronátem luteolinu **6** (*i* – SPhos Pd G2; K₂CO₃; THF/H₂O 25:1; 100 °C; 2 h)

4.4 Kapling C-8 halogenovaného luteolinu

Po výše uvedené změně strategie byla provedena série experimentů s cílem provést kapling látky **3** s řadou různých komerčně dostupných fenyloboronových kyselin (Schéma 16).

Látky **7** a **9-11** byly připraveny v uspokojivém výtěžku. Jen reakce vedoucí k *ortho*-methoxyfenylu **8**, vykazala nízký výtěžek (18 %).

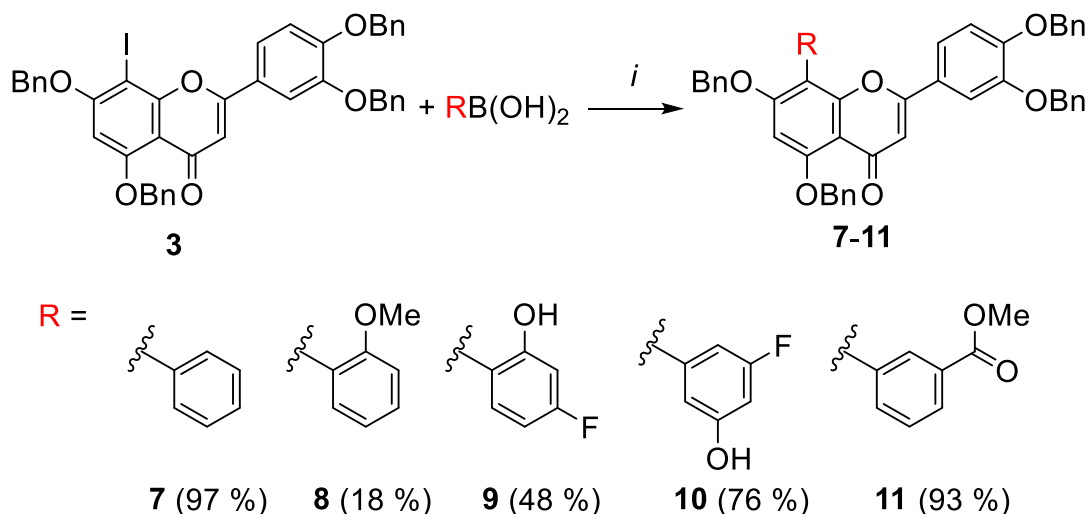


Schéma 16. Kapling látky **3** s fenylboronovými kyselinami (*i* – SPhos Pd G2; K_2CO_3 ; THF/ H_2O 25:1; 100 °C; 2 h)

Některé boronové kyseliny s látkou **3** za uvedených podmínek neposkytly žádaný produkt. Konkrétně se jednalo o 2-kyanofenylboronovou kyselinu a 2-methoxykarbonylfenylboronovou kyselinu. Proto byly vyzkoušeny obdobné postupy s různými katalyzátory, bázemi i rozpouštědly (Schéma 17). Ani v jednom z těchto případů reakce neprobíhala, což vedlo k úvaze, že benzyloxy skupina v poloze C-7 je příliš stericky objemná a brání tak přístupu fenylboronových kyselin s většími substituenty v *ortho*- poloze. Z těchto důvodů byl zvolen takový postup, aby fenolická skupina v poloze C-7 byla nechráněná (viz kapitola 4.2).

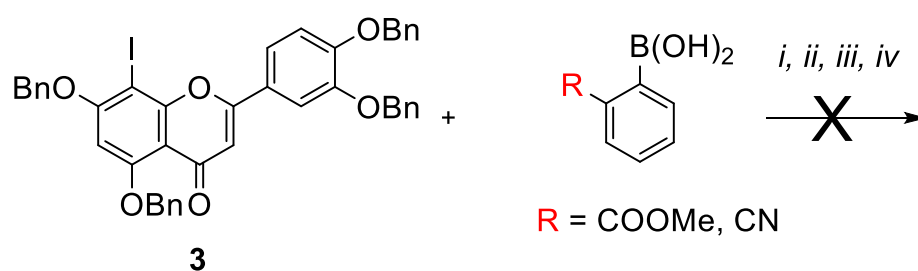


Schéma 17. Různé postupy kaplingu látky **3** s fenylboronovými kyselinami s objemnějšími substituenty v *ortho*- poloze (*i* – SPhos Pd G2; K_2CO_3 ; THF/ H_2O 25:1; 100 °C; *ii* – Pd(OAc)_2 ; K_2CO_3 ; toluen; 90 °C; *iii* – $\text{Pd(PPh}_3)_4$; Cs_2CO_3 ; THF/ H_2O 25:1; 90 °C; *iv* – BrettPhos Pd G3; K_2CO_3 ; THF/ H_2O 25:1; 100 °C)

U kaplingů látky **5** s boronovými kyselinami byl postup analogický ke kaplingům látky **3** (Schéma 18). Opět byl vždy použit vysoce účinný Buchwaldův prekatalyzátor SPhos Pd G2

v kombinaci s uhličitanem draselným jako bázi. Reakční směs byla míchána při 100 °C po dobu 2 hodin. Kaplingy tímto postupem proběhly do plné konverze, včetně těch s fenylboronovými kyselinami s objemnými *ortho*- substituenty (viz příprava **15** a **20**). Ve Schématu 18 jsou uvedeny výtěžky pouze u látek **16**; **17**; **18*** a **24**, protože všechny ostatní látky v daném schématu byly nasazeny do následné reakce bez předchozí izolace.

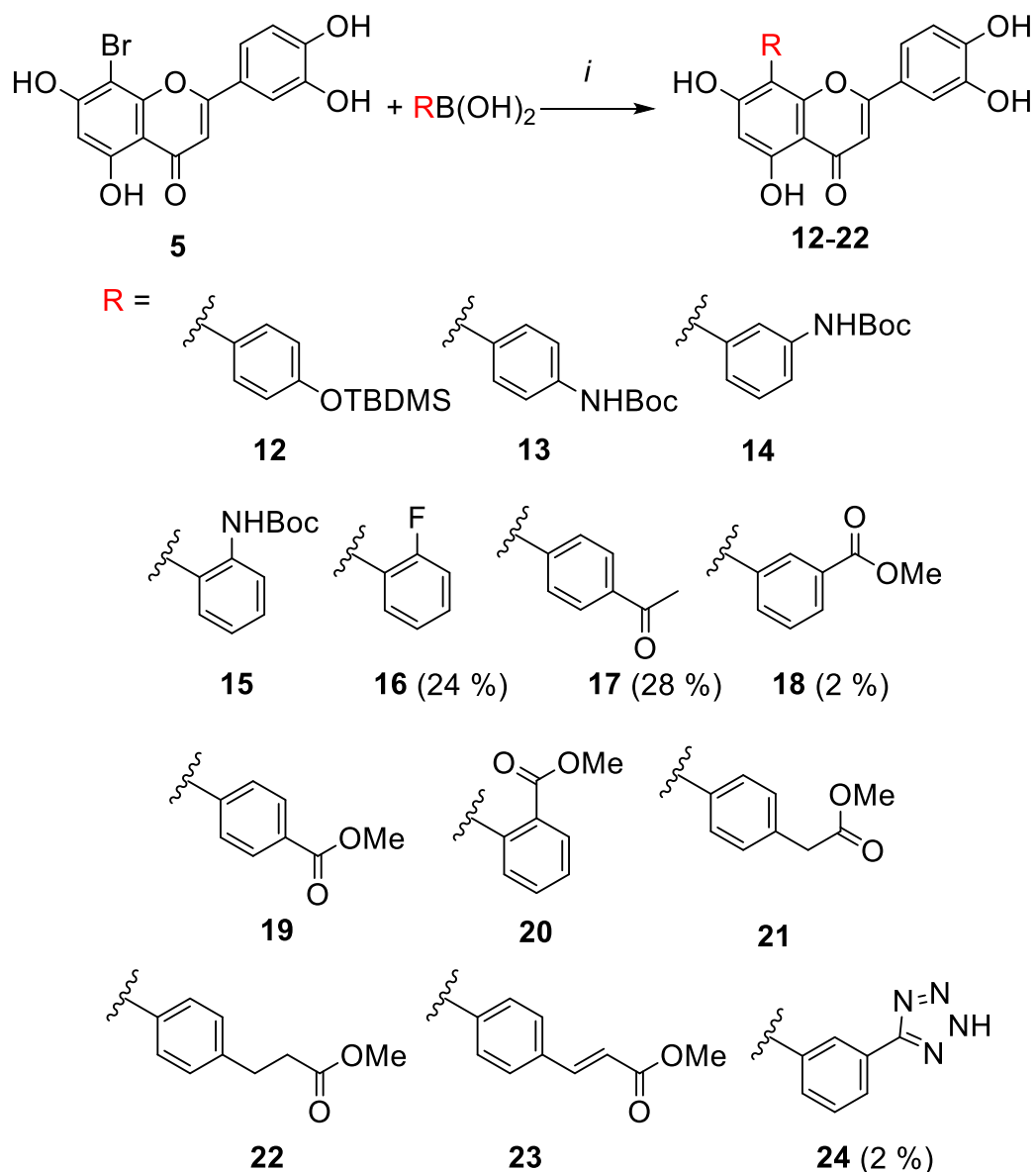


Schéma 18. Kapling látky **5** s fenylboronovými kyselinami (*i* – SPhos Pd G2; K₂CO₃; THF/H₂O 12:1; 100 °C)

* Látka **18** byla připravena na základě velmi nadějných inhibičních účinků látky **29**

4.5 Odchránění

Produkty připravené z tetrabenzyletheru **3** bylo nutno následně odchránit. Jako první postup byl zvolen odchránění pomocí vodíku a palladia na uhlí. Tento postup však neposkytl kýžený produkt (Schéma 19).

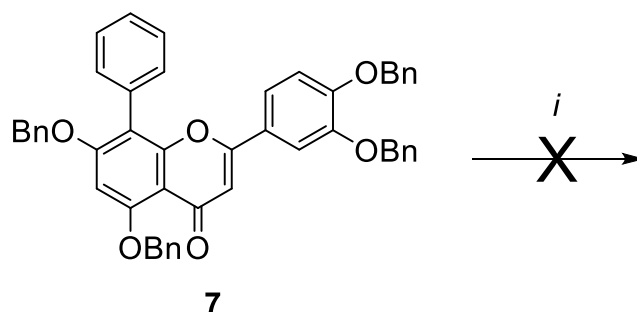


Schéma 19. Podmínky odchránění benzylových skupin hydrogenolytickou debenzylací (i – H_2 ; Pd/C; AcOH/THF/EtOAc)

Pro odchránění benzyků byl zvolen tedy jiný postup a sice odchránění bromidem boritým v dichlormethanu (Schéma 20). Tento postup se ukázal jako funkční a poskytoval produkty v uspokojivém výtěžku.

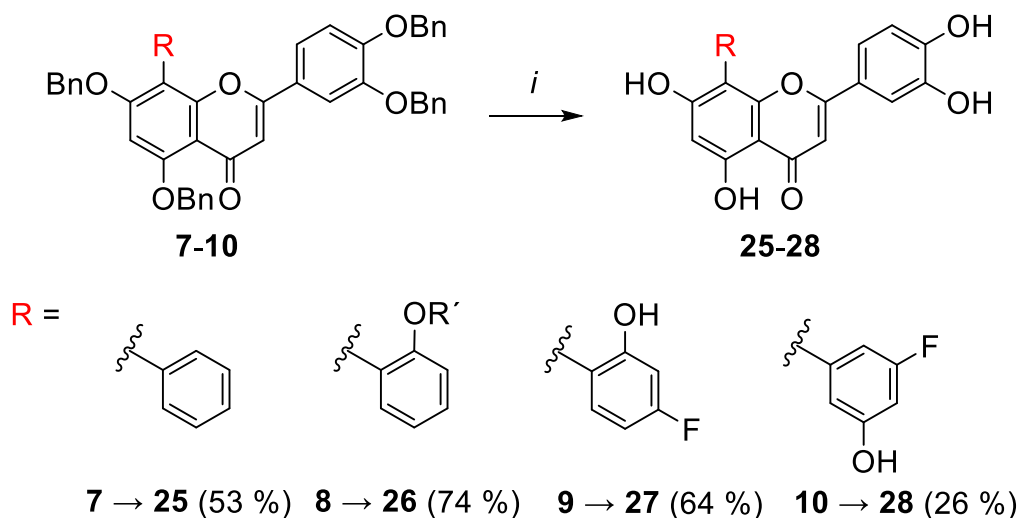


Schéma 20. Odchránění C-8 substituovaných tetrabenzyl luteolinů (i – BBr_3 ; DCM; $-78\text{ }^\circ\text{C}$ – RT; 16 h) R' : **8** = Me; **26** = H

U některých látek připravených dle Schémat 16 a 18 bylo potřeba odchránit funkční skupiny na arylových substituentech v poloze C-8. Látka **11** byla hydrolyzována hydroxidem sodným a následně debenzylována postupem uvedeném ve Schématu 20. Látka **12** byla desilylována pomocí KHF_2 (Schéma 21).

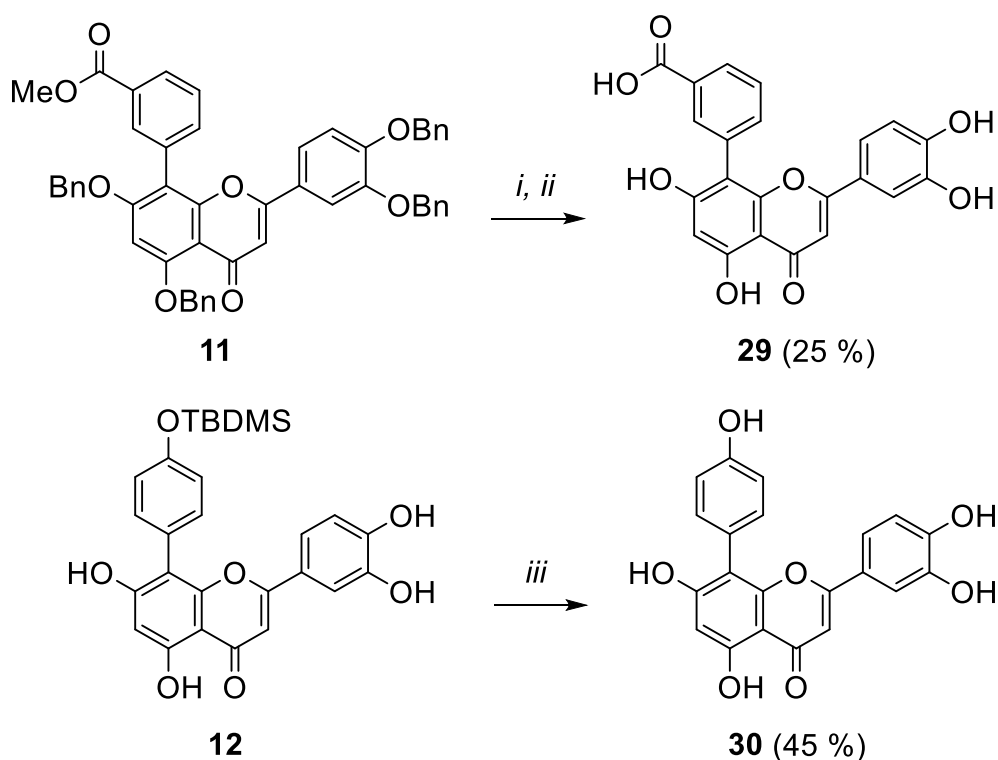


Schéma 21. Odchránění látek **11** a **12** (*i* – NaOH; THF/MeOH/H₂O 1:1:1; 60 °C; *ii* – BBr₃; DCM; -78 °C – RT; 16 h *iii* – KHF₂; MeOH; RT; 30 min)

Látky **13-15** s Boc chránicí skupinou byly odchráněny kyselinou trifluoroctovou v dichlormethanu (Schéma 22). Nízké výtěžky nebyly způsobeny samotnou reakcí, nýbrž v důsledku problematické izolace pomocí reverzní flash chromatografie.

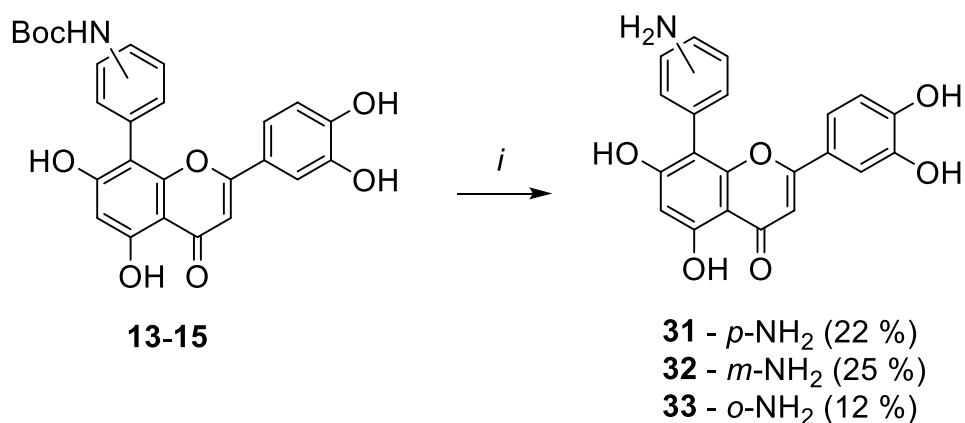


Schéma 22. Odchránění Boc-aminů (*i* – TFA; DCM; RT; 30 min)

Látky **18-22** byly podrobeny kyselé hydrolyze a poskytly odpovídající produkty ve velmi nízkých výtěžcích, což je opět nejspíše důsledkem zvolení nevhodně separační metody, případně jejího nedokonalého provedení (Schéma 23). Nicméně i přes takto nízké

výtěžky bylo připraveno dostatečné množství látek **34-38** pro jejich charakterizaci a i pro měření jejich inhibiční potence na partnerském pracovišti.

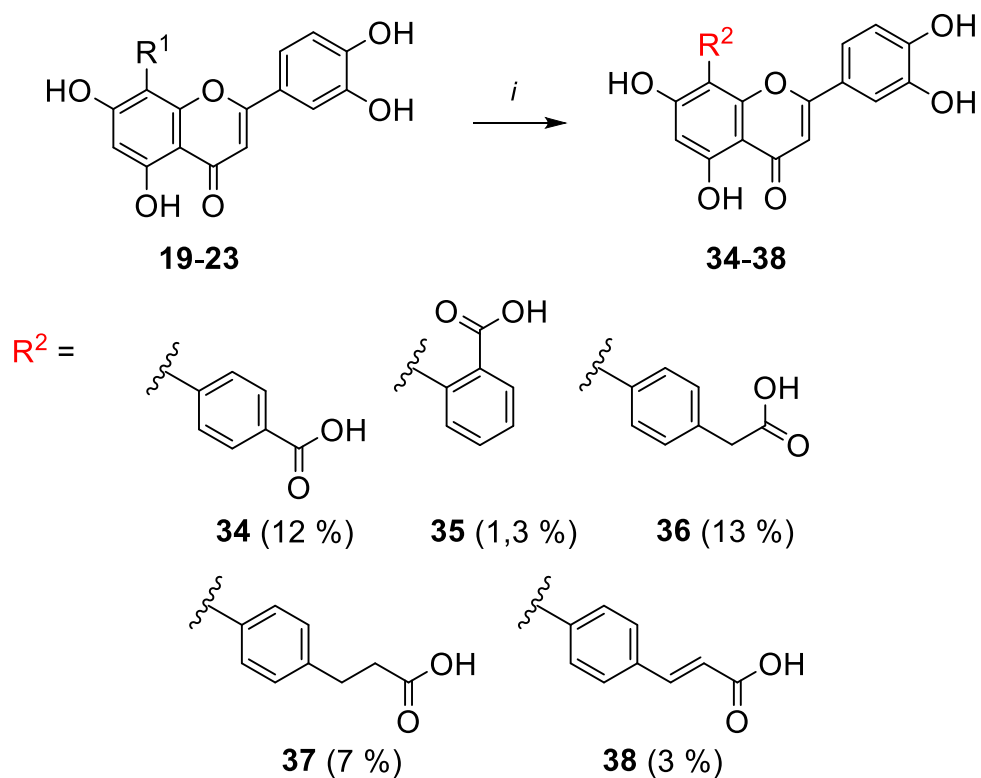


Schéma 23. Odchránění karboxylových skupin (i – HCl; H₂O; 100 °C; 24 h), R¹ představuje methyl estery odvozené od R²

5. Závěr

V rámci této bakalářské práce byla připravena série osmnácti derivátů luteolinu s různě substituovanými fenylovými zbytky v poloze C-8. Kaplingy prováděné s benzylovaným jodluteolinem probíhaly s dobrými výtěžky v případě fenyloboronových kyselin se substituenty v polohách *para*- a *meta*-. Naopak kaplingy *ortho*- substituovaných fenyloboronových kyselin měly výtěžky výrazně horší a v některých případech reakce neprobíhaly vůbec.

V reakci na tento neúspěch byla zvolena odlišná strategie, kdy byl pro palladiem katalyzovaný kapling použit halogenovaný luteolin bez ochráněných fenolických skupin. Tento postup se ukázal být funkčním a byl použit i pro přípravu všech zbylých navržených látek.

Palladiem katalyzované kaplingy byly provedeny jak na tetraacetylovaných a tertabenzylovaných C-8 haloluteolinech, tak i na nechráněném C-8 bromluteolinu. Kaplingy nebylo třeba nikterak systematicky optimalizovat. Po několika experimentech se ukázalo, že použití Buchwaldova pre-katalyzátoru SPhos Pd G2 v kombinaci s uhličitanem draselným ve směsi voda-THF vede k úplné konverzi výchozího halogenidu bez většího množství vedlejších produktu (sledováno metodou UPLC-MS). Nižší izolované výtěžky kaplingových reakcí byly nejspíše způsobeny kombinací malého látkového množství výchozího halogenidu (derivát luteolinu) a zvolené preparativní metody.

Na závěr lze konstatovat, že všechny cíle bakalářské práce byly splněny.

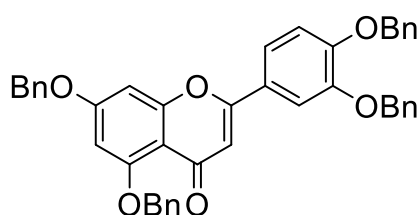
6. Experimentální část

6.1 Obecné postupy a chemikálie

Komerčně dostupné chemikálie byly zakoupeny u běžných dodavatelů (Sigma Aldrich, Combi-Blocks, TCI, Fluorochem). Pokud není uvedeno jinak, všechny reakce byly prováděny v argonové atmosféře v aparatuře vysušené v sušárně. Pokud je v postupech zmiňována voda, jedná se o vodu destilovanou. Sloupcová chromatografie byla provedena za použití silikagelu (velikost částic = 0,040 – 0,063 mm). Flash chromatografie byla prováděna pomocí zařízení Teledyne ISCO CombiFlash NextGen 300+ za použití kolon: RediSep Rf Gold Silica (SiO₂) nebo RediSep Rf Gold Reversed-phase C18 (SiO₂-C₁₈).

Čistota látek, stupně konverze výchozích látek a složení reakčních směsí byla stanovována pomocí na přístroji Waters UPLC-MS Acquity s hmotnostním detektorem QDa (rychlost průtoku 0,5 mL/min, gradient 0-100 % H₂O (0,1% kyselina mravenčí)/MeCN 7 min) s kolonou ACQUITY UPLC BEH C18; 130Å; 1,7 μm; 2,1 mm × 100 mm a předkolonou 2.1 mm × 5 mm. ¹H-NMR spektra byla měřena na přístrojích Bruker Avance IIITM HD 400 MHz při 400, 500 nebo 600 MHz; ¹³C-NMR spektra při 101, 126 nebo 151 MHz. Chemické posuny jsou uvedeny v ppm, *J* – konstanty jsou uvedeny v Hz. Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením (HRMS) byla zaznamenávána na přístroji Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL (Termo Fisher Scientific) ovládaném pomocí softwaru MassLynx.

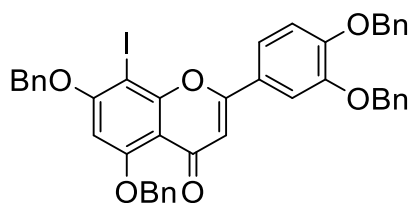
6.2 Syntéza prekurzorů



7-(Benzyloxy)-2-(3,4-bis(benzyloxy)fenyl)-5-hydroxy-4*H*-chromen-4-on (1):

Luteolin (3,0 g; 10,5 mmol; 1 ekv.) byl navážen do baňky s kulatým dnem, rozpuštěn v bezvodém DMF (50 ml) a baňka byla ponořena do ledové lázně. Poté byla přidána DIPEA (8,67 g; 67,1 mmol; 6,4 ekv.) a směs byla míchána 15 min při 0 °C. Následně byl přidán benzyloxy bromid (11,5 g; 67,1 mmol; 6,4 ekv.). Reakční směs byla vyndána z ledové lázně a míchána při laboratorní teplotě 3 h. Reakční směs byla rozložena přidáním vody (150 ml) a směs byla extrahována EtOAc (3 × 100 ml). Spojené organické fáze byly promyty vodou (3 × 100 ml) a solankou (50 ml) a poté sušeny bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo bylo

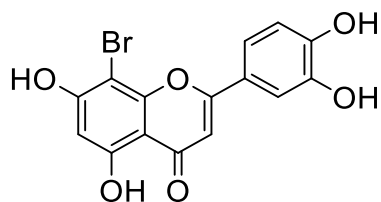
odpařeno na RVO. Výsledná směs mono-, di- a tribenzyl luteolinu byla, bez dalšího čištění, rozpuštěna v bezvodém DMF (50 ml) a do směsi byl postupně přidán hydrid sodný (4,2 g; 105 mmol; 10 ekv.). Poté, co se z reakční směsi přestal uvolňovat vodík, byl do ní postupně přidán benzyloxy bromid (11,5 g; 67,1 mmol; 6,4 ekv.) a reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě 1 h (sledováno pomocí TLC, UPLC-MS). Reakční směs byla rozložena přidávkem nasyceného roztoku NH₄Cl dokud nebylo pH směsi neutrální. Směs byla extrahována EtOAc (1 × 60 ml), organická fáze byla promyta vodou (3 × 150 ml), solankou (50 ml) a poté sušena bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, eluent: cHex/EtOAc = 10:1 → 0:100). Frakce obsahující látku **1** byly spojeny, odpařeny a dosušeny na vakuové pumpě. Reakce poskytla 3,76 g (55 %) produktu **1**. ¹H NMR (401 MHz; CDCl₃) δ 7,64 (dt; *J* = 6,5; 1,2 Hz; 2H); 7,55 – 7,30 (m; 20H); 7,03 (d; *J* = 8,4 Hz; 1H); 6,62 (d; *J* = 2,3 Hz; 1H); 6,54 (s; 1H); 6,51 (d; *J* = 2,3 Hz; 1H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz; CDCl₃) δ 177,3; 162,8; 160,5; 159,7; 151,6; 148,9; 136,8; 136,6; 136,5; 135,7; 128,8; 128,6; 128,6; 128,5; 128,1; 127,7; 127,4; 127,2; 126,6; 124,5; 120,1; 114,2; 112,7; 109,9; 108,1; 98,3; 94,3; 71,6; 71,0; 70,8; 70,5 ppm.



7-(Benzyloxy)-2-(3,4-bis(benzyloxy)fenyl)-5-hydroxy-8-jod-4*H*-chromen-4-on (**3**)

Látka **1** (1,02 g; 1,6 mmol; 1,0 ekv.) byla rozpuštěna v bezvodém DMF (9 ml) a poté byl do směsi přidán *N*-jodosukcinimid (532 mg; 2,4 mmol; 1,5 ekv.). Reakční směs byla míchána při 70 °C po dobu 16 h (průběh reakce sledován pomocí TLC, UPLC-MS). Reakční směs byla rozložena přidávkem nasyceného roztoku NH₄Cl a extrahována EtOAc (1 × 40 ml), promyta vodou (3 × 100 ml), solankou (20 ml) a poté sušena bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, eluent: cHex/EtOAc = 1:1). Frakce obsahující látku **2** byly spojeny, odpařeny a dosušeny na vakuové pumpě. Reakce poskytla 0,87 g (72 %) produktu **2**. ¹H NMR (401 MHz; CDCl₃) δ 7,70 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 7,63 – 7,54 (m; 3H); 7,53 – 7,22 (m; 19H); 7,02 (d; *J* = 8,6 Hz; 1H); 6,57 (s; 1H); 6,44 (s; 1H); 5,32 (s; 2H); 5,24 (d; *J* = 16,9 Hz; 4*H*); 5,16 (s; 2H); 1,35 – 1,24 (m; 1H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz; CDCl₃) δ 177,1; 161,3; 160,8; 160,4; 157,5; 151,6; 149,0; 136,8; 136,6; 136,2; 135,5; 128,8; 128,7; 128,7; 128,4; 128,3; 128,2; 128,1; 128,0; 127,9;

127,3; 127,3; 127,2; 127,1; 127,0; 126,7; 124,1; 120,4; 114,2; 112,5; 110,6; 107,2; 95,9; 71,2; 71,1; 70,9; 66,4 ppm.



8-Brom-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (5)

Luteolin (1,64 g; 5,7 mmol; 1 ekv.) byl navážen do baňky s kulatým dnem a rozpuštěn v acetanhydridu (15 ml) a poté byl přidán pyridin (1,5 ml). Reakční směs byla míchána při 145 °C po dobu 3 h. Následně byla reakční směs ponechána vychladnout a poté byla nalita do ledové vody a intenzivně míchána 30 min. Výsledná suspenze byla zfiltrována, filtrační koláč byl přečištěn pomocí krystalizace z MeOH/CHCl₃ (9:1). Reakce poskytla 2,02 g (78 %) produktu **2**. Výsledný tetraacetyl luteolin **2** byl rozpuštěn v bezvodém DMF (20 ml) a poté byl přidán *N*-bromosukcinimid (1,19 g; 6,7 mmol, 1,5 ekv.). Reakční směs byla míchána 16 h při teplotě 70 °C. Reakční směs byla rozložena přidávkem nasyceného roztoku NH₄Cl a extrahována EtOAc (1 × 40 ml), promyta vodou (3 × 100 ml), solankou (1 × 20 ml) a poté sušena bezvodým MgSO₄. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a směs byla čištěna pomocí sloupcové chromatografie (SiO₂, eluent: cHex/EtOAc = 1:0 → 1:1). Frakce obsahující látku **4** byly spojeny, odpařeny a dosušeny na vakuové pumpě. Reakce poskytla 1,89 g (80 %) produktu **4**. C-8 Bromovaný tetraacetyl luteolin **4** byl rozpuštěn v bezvodém THF (15 ml), poté byl přidán 2M vodný roztok hydroxidu lithného (35,6 ml; 71,1 mmol; 20 ekv.). Reakční směs byla míchána 45 min při teplotě 45 °C. Následně byla směs ponechána vychladnout a poté byl do ní postupně přidáván iontoměnič Amberlite IR-120 dokud pH směsi nebylo slabě kyselé. Iontoměnič byl odfiltrován a opláchnut methanolem. Filtrát byl odpařen na RVO a výsledná pevná látka suspendována ve vodě, zmrazena a lyofilizována. Reakce poskytla 1,04 g (80 %) produktu **5**. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ 12,42 (s; 1H); 7,31 (d; *J* = 2,3 Hz; 1H); 7,24 (dd; *J* = 8,3; 2,2 Hz; 1H); 6,90 (d; *J* = 8,3 Hz; 1H); 6,41 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 6,27 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz; DMSO-*d*₆) δ 175,3; 173,2; 161,3; 157,2; 149,9; 145,4; 128,5; 124,8; 122,0; 121,6; 116,4; 115,3; 103,8; 100,5 ppm.

6.3 Syntéza C-8 arylovaných derivátů luteolinu

6.3.1 Obecné postupy

Obecný postup A

Palladiem katalyzovaný kapling

Látka **2**, boronová kyselina (1,5 ekv.), Pd pre-katalyzátor SPhos Pd G2 (10 mol%) a K_2CO_3 (4 ekv.) byly naváženy do uzavíratelné ampule a uzavřeny krimpovacími klašťemi. Do ampule byl přidána směs suchého THF/vody (25:1) a následně byla směs probublána proudem argonu po dobu 15 min. Poté byla reakční směs míchána při 100 °C 2 h. Směs byla ponechána vychladnout a poté byla přefiltrována přes celit. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí flash chromatografie (SiO_2), eluent: cHex/EtOAc. Frakce obsahující příslušný derivát byly odpařeny a dosušeny na vakuové pumpě.

Odchránění

Arylovaný tetrabenzyl luteolin byl rozpuštěn v bezvodém DCM (5 ml), roztok byl vychlazen v lázni suchý led/EtOH na -78 °C. Poté byl do reakční směsi postupně přidán 1M roztok BBr_3 v DCM (10 ekv.). Následně byla reakční baňka vyjmuta z lázně a reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 16 h. Reakce byla naředěna přídatkem DCM (10 ml) a rozložena ledovou vodou (10 ml). Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí flash chromatografie ($SiO_2 - C18$) eluent: H_2O (0,1 % TFA)/MeCN. Frakce obsahující produkt byly spojeny, zmrazeny a lyofilizovány.

Obecný postup B

Látka **3**, boronová kyselina (1,5 ekv.), Pd pre-katalyzátor SPhos Pd G2 (10 mol%) a K_2CO_3 (4 ekv.) byly naváženy do uzavíratelné ampule a uzavřeny krimpovacími klešťemi. Do ampule byla přidána směs suchého THF/vody (12:1) a následně byla reakční směs probublána proudem argonu po dobu 15 min. Poté byla reakční směs míchána 2 h při teplotě 100 °C. Směs byla pak ponechána vychladnout a poté byla přefiltrována přes křemelinu. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí flash chromatografie ($SiO_2 - C18$) eluent: H_2O (0,1 % TFA)/MeCN Frakce obsahující produkt byly spojeny, zmrazeny a lyofilizovány.

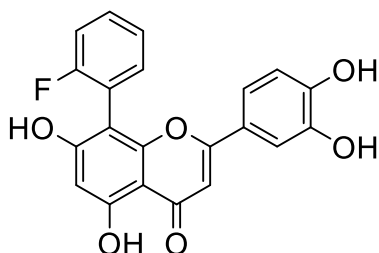
Obecný postup ochrání Boc-aminů

Nepřečištěná surová směs C-8 arylluteolinu obsahující amin chráněný Boc skupinou byla suspendována v DCM (10 ml) a poté byla přidána TFA (1 ml). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě 30 min. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí flash chromatografie (SiO₂ – C18) eluent: H₂O (0,1 % TFA)/MeCN. Frakce obsahující produkt byly spojeny, zmrazeny a lyofilizovány.

Obecný postup ochrání methyl esterů

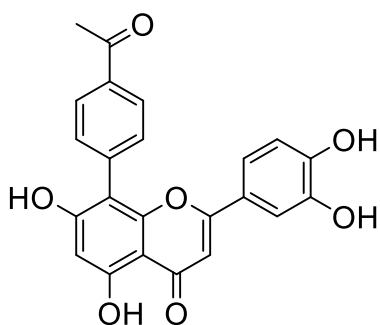
Nepřečištěná surová směs C-8 arylluteolinu obsahující methoxykarbonylovou funkční skupinu byla suspendována v 5% vodném roztoku kyseliny chlorovodíkové (20 ml). Směs byla míchána při 100 °C po dobu 24 h (průběh reakce byl sledován pomocí UPLC-MS). Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a odparek byl čištěn pomocí flash chromatografie (SiO₂ – C18) eluent: H₂O (0,1 % TFA)/MeCN. Frakce obsahující produkt byly spojeny, zmrazeny a lyofilizovány.

6.3.2 Syntéza derivátů luteolinu



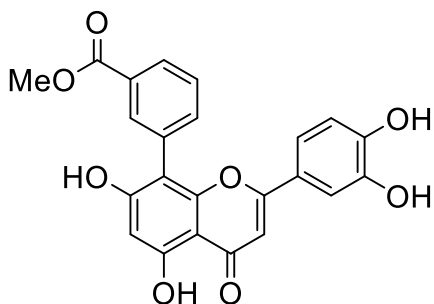
8-(2-Fluorfenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (16)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 2-fluorfenylboronové (46 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 20 mg (24 %) produktu **16**. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ 12,81 (s; 1H); 10,94 (s; 1H); 9,66 (s; 1H); 9,20 (s; 1H); 7,41 (dddd; *J* = 7,5; 6,6; 5,4; 2,3 Hz; 1H); 7,26 – 7,13 (m; 3H); 6,86 (d; *J* = 2,0 Hz; 1H); 6,72 – 6,60 (m; 2H); 6,45 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 6,25 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz; DMSO-*d*₆) δ 181,5; 164,7; 162,2; 162,1; 157,6; 157,1; 148,2; 145,2; 132,6; 127,5; 123,8; 123,0; 122,2; 119,5; 117,1; 116,0; 115,5; 115,5; 103,8; 99,1; 93,9 ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz; DMSO-*d*₆) δ -113,49 (dt; *J* = 11,2; 7,8 Hz) ppm. HRMS (ESI) *m/z* výpočet pro C₂₁H₁₂O₆F [M – H]⁺: 379,0623; nalezeno: 373,0621.



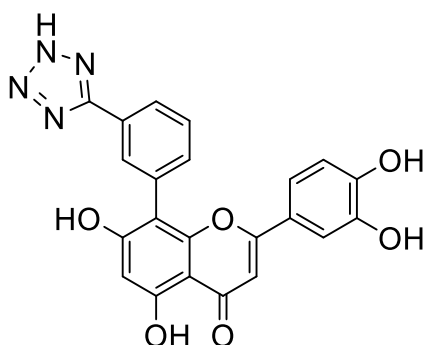
8-(4-Acetylfenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-4-on (17)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-acetylfenylboronové (58 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 25 mg (28 %) produktu **17**. ^1H NMR (401 MHz; DMSO- d_6) δ 12,89 (s; 1H); 10,91 (s; 1H); 9,63 (s; 1H); 9,18 (s; 1H); 7,90 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H); 7,33 (d; $J = 8,3$ Hz; 2H); 6,82 (d; $J = 1,4$ Hz; 1H); 6,62 (d; $J = 1,3$ Hz; 2H); 6,42 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,22 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 2,57 (s; 3H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; DMSO- d_6) δ 198,1; 180,7; 164,9; 162,8; 162,2; 157,7; 148,6; 145,4; 138,3; 136,0; 132,0; 128,4; 123,2; 122,4; 118,8; 117,2; 115,7; 103,7; 99,4; 94,2; 27,2 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{O}_7$ $[\text{M} - \text{H}^+]$: 403,0823; nalezeno: 403,0821.



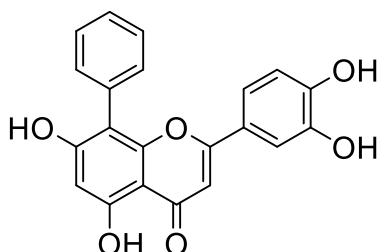
Methyl 3-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4-oxo-4*H*-chromen-8-yl)benzoát (18):

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (155 mg; 0,42 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 3-methoxykarbonylfenylboronové (115 mg; 0,64 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 4 mg (2 %) produktu **18**. ^1H NMR (400 MHz, methanol- d_4) δ 7,96 (dt; $J = 7,1$; 1,8 Hz; 1H); 7,91 (d; $J = 1,8$ Hz; 1H); 7,48 – 7,38 (m; 2H); 6,83 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,69 (dd; $J = 8,2$; 1,9 Hz; 1H); 6,62 (d; $J = 8,3$ Hz; 1H); 6,42 (s; 1H); 6,24 (d; $J = 1,6$ Hz; 1H); 3,88 (s; 3H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz, methanol- d_4) δ 182,4; 168,4; 166,2; 164,5; 163,5; 159,2; 149,3; 146,2; 137,3; 134,7; 133,6; 131,4; 129,7; 129,6; 124,8; 123,6; 120,0; 117,7; 115,9; 105,0; 100,1; 94,8; 52,7 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{17}\text{O}_8$ $[\text{M} + \text{H}^+]^+$: 421,0918; nalezeno: 421,0917.



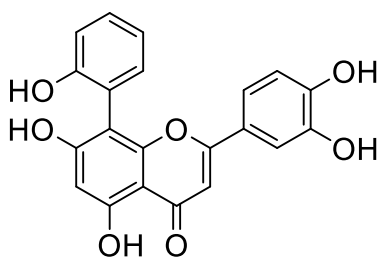
8-(3-(Tetrazol-5-yl)fenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (24):

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (200 mg; 0,55 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 3-(tetrazol-5-yl)fenylboronové (157 mg; 0,82 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 5 mg (2 %) produktu **24**. ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,90 (d; $J = 2,6$ Hz; 1H); 10,98 (s; 1H); 9,65 (s; 1H); 9,20 (s; 1H); 7,98 (dd; $J = 8,7; 5,0$ Hz; 3H); 7,55 (td; $J = 7,7; 2,8$ Hz; 1H); 7,34 (d; $J = 7,7$ Hz; 2H); 6,87 (d; $J = 2,4$ Hz; 2H); 6,76 – 6,55 (m; 3H); 6,46 (d; $J = 2,2$ Hz; 2H); 6,26 (t; $J = 2,0$ Hz; 1H); 5,76 (d; $J = 2,6$ Hz; 1H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; DMSO- d_6) δ 180,4; 170,4; 162,4; 161,7; 157,3; 148,1; 144,9; 133,9; 129,7; 129,3; 126,0; 122,7; 122,0; 118,2; 116,8; 115,2; 103,3; 99,0; 93,7; 66,4; 59,8; 54,9 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{22}\text{H}_{15}\text{O}_6\text{N}_4$ $[\text{M} + \text{H}^+]^+$: 431,0986; nalezeno: 431,0985.



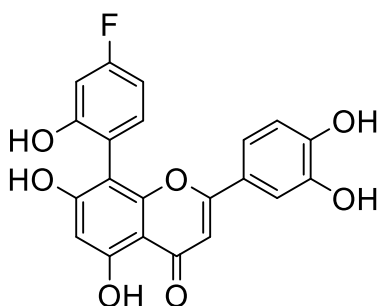
8-Fenyl-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (25)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu a z látky **2** (123 mg; 0,16 mmol; 1,0 ekv.) a kyseliny fenylboronové (29 mg; 0,24 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 16 mg (53 %) produktu **25**. ^1H NMR (401 MHz; DMSO- d_6) δ 13,19 (s; 1H); 7,48 (d; $J = 7,0$ Hz; 4H); 7,45 (s; 3H); 7,40 (td; $J = 6,2; 2,5$ Hz; 1H); 7,12 – 7,03 (m; 2H); 6,75 (d; $J = 8,3$ Hz; 1H); 6,67 (s; 1H); 6,41 (s; 1H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; DMSO- d_6) δ 164,5; 161,8; 160,7; 150,2; 146,1; 132,4; 131,5; 128,3; 127,6; 122,1; 119,2; 116,1; 114,2; 104,1; 103,0; 99,1 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{O}_6$ $[\text{M} - \text{H}^+]$: 361,0718; nalezeno: 361,0716.



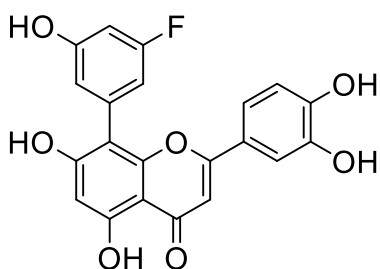
8-(2-Hydroxyfenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-4-on (26)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu a z látky **2** (269 mg; 0,35 mmol; 1,0 ekv.) a kyseliny 2-methoxyfenylboronové (79 mg; 0,52 mmol; 1,5 ekv.). k odchránění bylo použito 12 ekvivalentů BBr₃. Reakce poskytla 17 mg produktu **26** (výtěžek přes oba kroky činil 8 %). ¹H NMR (400 MHz; MeOD-*d*₄) δ 7,19 (td; *J* = 7,8; 1,8 Hz; 1H); 7,00 – 6,90 (m; 2H); 6,89 – 6,73 (m; 3H); 6,59 (d; *J* = 8,4 Hz; 1H); 6,42 (d; *J* = 2,1 Hz; 1H); 6,23 (d; *J* = 2,0 Hz; 1H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz; MeOD-*d*₄) δ 183,1; 165,9; 164,4; 163,4; 159,4; 157,0; 149,1; 145,9; 133,3; 130,6; 125,6; 122,9; 121,3; 120,9; 118,0; 117,1; 116,9; 115,6; 105,1; 99,9; 94,6 ppm. HRMS (ESI) *m/z* výpočet pro C₂₁H₁₃O₆ [M – H⁺]: 377,0667, nalezeno: 377,0665.



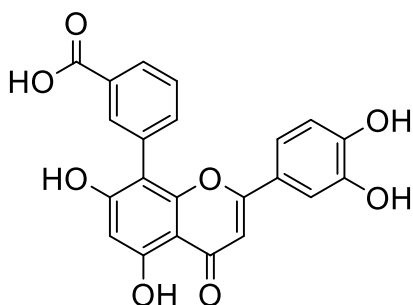
8-(4-Fluor-2-hydroxyfenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-4-on (27)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu a z látky **2** (270 mg; 0,35 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-fluoro-2-hydroxyfenylboronové (82 mg; 0,52 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 37 mg (64 %) produktu **27**. ¹H NMR (400 MHz; DMSO-*d*₆) δ 13,08 (s; 1H); 10,60 (s; 1H); 9,98 (s; 1H); 9,72 (s; 1H); 9,11 (s; 1H); 7,18 (dd; *J* = 8,4; 7,0 Hz; 1H); 7,06 (d; *J* = 6,9 Hz; 2H); 6,80 – 6,72 (m; 2H); 6,72 – 6,63 (m; 2H); 6,36 (s; 1H) ppm. ¹³C NMR (101 MHz; DMSO-*d*₆) δ 182,0; 163,9; 161,8; 161,1; 160,2; 157,0; 156,9; 154,5; 149,6; 145,6; 133,7; 133,6; 121,8; 118,6; 115,6; 113,7; 105,4; 105,2; 104,1; 103,6; 98,5 ppm. ¹⁹F NMR (376 MHz; DMSO-*d*₆) δ -113,49 (dt; *J* = 11,2; 7,9 Hz) ppm. HRMS (ESI) *m/z* výpočet pro C₂₁H₁₂O₇F [M – H⁺]: 395,0573; nalezeno: 395,0570.



8-(3-Fluor-5-hydroxyfenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-4-on (**28**)

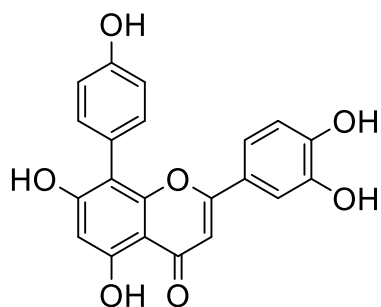
Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu a z látky **2** (245 mg; 0,32 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 3-fluoro-5-hydroxyfenylboronové (75 mg; 0,48 mmol; 1,5 ekv.). Reakce poskytla 22 mg (26 %) produktu **28**. ^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 13,18 (s; 1H); 10,85 (s; 1H); 10,05 (s; 1H); 9,90 (s; 1H); 9,14 (s; 1H); 7,13 – 7,09 (m; 2H); 6,79 – 6,75 (m; 1H); 6,74 – 6,65 (m; 3H); 6,60 (dt; $J = 10,8; 2,3$ Hz; 1H); 6,38 (s; 1H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 182,0; 164,0; 161,6; 161,1; 160,4; 158,4; 158,3; 153,9; 149,7; 145,7; 121,6; 118,7; 115,6; 114,3; 113,8; 107,1; 103,7; 102,6; 101,5; 101,3; 98,6 ppm. ^{19}F NMR (470 MHz; DMSO- d_6) δ -113,81 (t; $J = 10,2$ Hz). HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{12}\text{O}_7\text{F}$ $[\text{M} - \text{H}^+]$: 395,0573; nalezeno: 395,0569.



Kyselina 3-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-8-yl)benzoová (**29**)

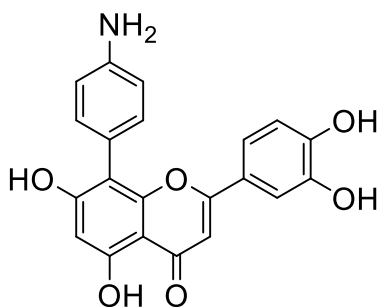
Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu a – palladiového kaplingu z látky **2** (300 mg; 0,31 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 3-methoxykarbonylfenylboronové (84 mg; 0,47 mmol; 1,5 ekv.). Čistý intermediát (**11**) (95 mg; 0,12 mmol; 1 ekv.) byl rozpuštěn ve směsi THF/MeOH/H₂O (1:1:1; 9 ml). Do roztoku byl přidán hydroxid sodný (15 mg; 0,37 mmol; 3 ekv.), reakční směs byla míchána při 60 °C po dobu 3 h. Reakční směs byla rozložena přidávkem 5% vodného roztoku HCl a poté extrahována EtOAc (1 × 20 ml) a následně promyta vodou (2 × 50 ml) a solankou (1 × 20 ml). Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO a surová směs odchráněna pomocí obecného postupu A – odchránění. Reakce poskytla 15 mg (25 %) produktu **29**. ^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 13,20 (s; 1H); 10,92 (s; 1H); 9,98 (s; 1H); 9,12 (s; 1H); 8,03 (t; $J = 1,7$ Hz; 1H); 7,96 (dt; $J = 7,8; 1,5$ Hz; 1H); 7,73 (dt; $J = 7,7; 1,5$ Hz; 1H); 7,60 (t; $J = 7,7$ Hz; 1H); 7,07 – 7,03 (m; 2H); 6,74 – 6,69 (m;

1H); 6,67 (s; 1H); 6,41 (s; 1H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 182,2; 167,5; 164,2; 161,3; 160,7; 154,2; 149,9; 145,8; 135,7; 132,4; 132,2; 130,7; 128,4; 128,3; 121,7; 118,9; 115,7; 113,9; 107,1; 103,9; 102,9; 98,8 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{O}_8$ [$\text{M} - \text{H}^+$]: 405,0616; nalezeno: 405,0612.



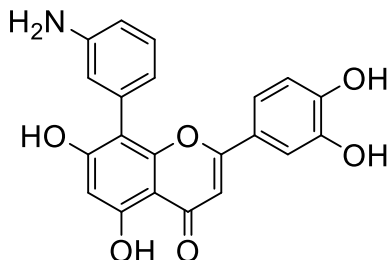
8-(4-Hydroxyfenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (**30**)

Tato látka byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-((*tert*-butyldimethylsilyl)oxy)fenylboronové (**12**) (46 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Po ukončení zahřívání a odpaření rozpouštědla byla surová reakční směs rozpuštěna v MeOH (11 ml) a do byl směsi přidán KHF_2 (43 mg; 0,55 mmol; 2,5 ekv.). Směs byla míchána 30 min za laboratorní teploty. Reakční směs byla odpařena na RVO a poté čištěna pomocí reverzní flash chromatografie ($\text{SiO}_2 - \text{C}18$) eluent: H_2O (0,1 % TFA)/MeCN 90:10 \rightarrow 0:100. Reakce poskytla 37 mg produktu **30** (výtěžek přes oba kroky činil 45 %). ^1H NMR (401 MHz; DMSO- d_6) δ 13,09 (s; 1H); 10,84 (s; 1H); 9,58 (s; 1H); 9,45 (s; 1H); 9,13 (s; 1H); 7,02 – 6,87 (m; 2H); 6,87 – 6,83 (m; 1H); 6,75 – 6,68 (m; 2H); 6,63 (d; $J = 1,7$ Hz; 2H); 6,39 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,21 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; DMSO- d_6) δ 181,5; 164,7; 162,2; 162,1; 157,6; 157,1; 148,2; 145,2; 132,6; 127,5; 123,8; 123,0; 122,2; 119,5; 117,1; 116,0; 115,5; 115,5; 103,8; 99,1; 93,9 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{13}\text{O}_7$ [$\text{M} - \text{H}^+$]: 377,0667; nalezeno: 377,0665.



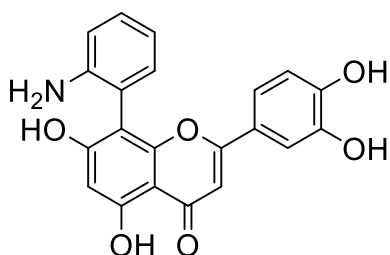
8-(4-Aminofenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (31)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-Boc-aminofenylboronové (78 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně ochráněn postupem pro ochránění Boc-aminů. Reakce poskytla 18 mg produktu **31** (výtěžek přes oba kroky činil 22 %). ^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 13,00 (s; 1H); 10,93 (s; 1H); 9,66 (s; 1H); 7,12 – 7,08 (m; 2H); 6,98 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H); 6,86 (t; $J = 1,2$ Hz; 1H); 6,62 (d; $J = 1,2$ Hz; 2H); 6,40 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,21 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 180,8; 164,4; 162,0; 161,7; 157,2; 147,9; 144,9; 132,2; 123,1; 121,8; 119,2; 118,7; 116,7; 115,1; 103,3; 98,8; 93,6 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 378,0972; nalezeno: 378,0970.



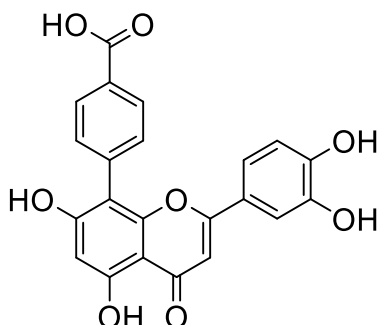
8-(3-Aminofenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (32)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 3-Boc-aminofenylboronové (78 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně ochráněn postupem pro ochránění Boc-aminů. Reakce poskytla 21 mg produktu **32** (výtěžek přes oba kroky činil 25 %). ^1H NMR (600 MHz; DMSO- d_6) δ 7,34 (t; $J = 7,8$ Hz; 1H); 7,12 (t; $J = 7,5$ Hz; 2H); 7,02 (s; 2H); 7,00 (d; $J = 7,6$ Hz; 1H); 6,82 (s; 1H); 6,64 – 6,53 (m; 3H); 6,41 (s; 1H); 6,20 (s; 1H) ppm. ^{13}C NMR (151 MHz; DMSO- d_6) δ 181,8; 165,6; 163,7; 162,7; 158,5; 149,1; 146,0; 135,7; 135,4; 131,1; 130,3; 125,0; 124,2; 123,5; 121,9; 119,7; 117,9; 116,5; 104,6; 100,3; 95,2 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$: 378,0972; nalezeno: 378,0975.



8-(2-Aminofenyl)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-4-on (33)

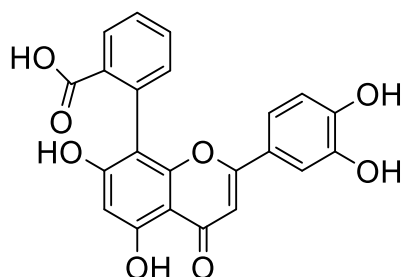
Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 2-Boc-aminofenylboronové (78 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně ochráněn postupem pro ochránění Boc-aminů. Reakce poskytla 12 mg produktu **33** (výtěžek přes oba kroky činil 12 %). ^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 12,99 (s; 1H); 7,27 (s; 1H); 7,16 (d; $J = 2,6$ Hz 1H); 7,14 (d; $J = 2,8$ Hz 1H); 7,06 (s; 1H); 6,97 (d; $J = 2,3$ Hz; 1H); 6,88 – 6,83 (m; 3H); 6,73 (d; $J = 7,5$ Hz; 1H); 6,69 (dd; $J = 8,3$; 2,2 Hz; 1H); 6,58 (d; $J = 8,4$ Hz; 2H); 6,43 (d; $J = 2,1$ Hz; 2H); 6,22 (d; $J = 2,2$ Hz; 2H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 181,0; 164,3; 162,9; 161,7; 158,4; 158,1; 157,5; 148,2; 144,9; 132,0; 128,9; 123,1; 121,5; 117,8; 116,4; 116,2; 115,4; 115,0; 103,6; 98,7; 93,5 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{O}_6\text{N}$ $[\text{M} + \text{H}^+]^+$: 378,0972; nalezeno: 378,0975.



Kyselina 4-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-chromen-8-yl)benzoová (34)

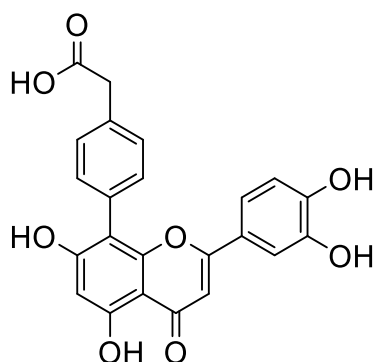
Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-methoxykarbonylfenylboronové (58 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně ochráněn pomocí postupu pro ochránění methyl esterů. Reakce poskytla 13 mg produktu **34** (výtěžek přes oba kroky činil 12 %). ^1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 12,89 (s; 1H); 10,93 (s; 1H); 9,64 (s; 1H); 9,18 (d; $J = 3,7$ Hz; 1H); 7,88 (d; $J = 8,3$ Hz; 2H); 7,33 – 7,28 (m; 2H); 6,82 – 6,79 (m; 1H); 6,61 (d; $J = 1,5$ Hz; 2H); 6,43 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,23 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 180,1; 167,0; 164,3; 162,2; 161,5; 157,0; 148,0; 144,7; 137,3; 131,2; 129,4; 128,8; 122,5; 121,8; 118,2;

116,6; 115,0; 103,1; 98,7; 93,5 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $C_{22}H_{13}O_8$ $[M - H^+]$: 405,0616; nalezeno: 405,0610.



Kyselina 2-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-8-yl)benzoová (35)

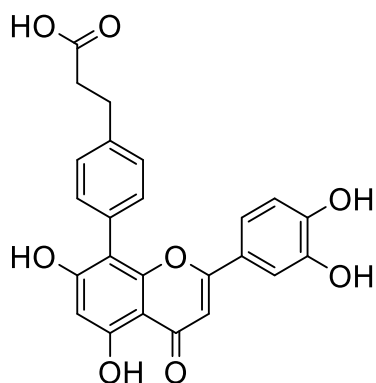
Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (200 mg; 0,55 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 2-methoxykarbonylfenylboronové (148 mg; 0,82 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně odchráněn pomocí postupu pro odchránění methyl esterů. Reakce poskytla 3 mg produktu **35** (výtěžek přes oba kroky činil 1,3 %). 1H NMR (500 MHz; DMSO- d_6) δ 12,91 (s; 1H); 7,97 – 7,90 (m; 1H); 7,46 – 7,39 (m; 2H); 7,03 – 6,96 (m; 1H); 6,84 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,66 (dd; $J = 8,3; 2,1$ Hz; 1H); 6,61 (d; $J = 8,4$ Hz; 1H); 6,43 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,22 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H) ppm. ^{13}C NMR (126 MHz; DMSO- d_6) δ 180,1; 167,9; 164,2; 161,5; 159,8; 157,1; 147,7; 144,7; 133,5; 132,7; 132,0; 131,7; 129,7; 127,7; 123,0; 121,3; 120,4; 116,3; 115,0; 102,8; 98,5; 93,4 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $C_{22}H_{13}O_8$ $[M - H^+]$: 405,0616; nalezeno: 405,0616.



Kyselina 4-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-8-yl)fenyl)octová (36)

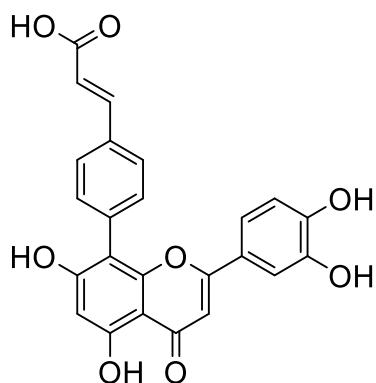
Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (80 mg; 0,22 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-(2-methoxy-2-oxoethyl)fenylboronové (64 mg; 0,33 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně odchráněn pomocí postupu pro odchránění methyl esterů. Reakce poskytla 12 mg produktu **36** (výtěžek přes oba kroky činil 13 %). 1H NMR (400 MHz; MeOD- d_4) δ 7,31 – 7,26 (m; 2H); 7,20 – 7,15 (m; 2H); 6,86 (d; $J = 2,2$ Hz; 1H); 6,73 (dd; $J =$

8,4; 2,2 Hz; 1H); 6,62 (d; $J = 8,4$ Hz; 1H); 6,40 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,22 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 3,63 (s; 2H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; MeOD- d_4) δ 183,2; 176,0; 166,4; 164,5; 163,9; 159,7; 149,6; 146,4; 135,9; 133,0; 132,9; 130,9; 125,6; 124,0; 121,0; 118,1; 116,2; 105,5; 100,4; 95,1; 42,2 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{O}_8$ $[\text{M} - \text{H}^+]$: 419,0772; nalezeno: 419,0771.



Kyselina (4-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-8-yl)fenyl)propanová (37)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (200 mg; 0,55 mmol; 1 ekv.) a kyseliny 4-(2-methoxykarbonylethyl)fenylboronové (171 mg; 0,82 mmol; 1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně odchráněn pomocí postupu pro odchránění methyl esterů. Reakce poskytla 17 mg produktu **37** (výtěžek přes oba kroky činil 7 %). ^1H NMR (400 MHz; MeOD- d_4) δ 7,26 – 7,07 (m; 4H); 6,85 (s; 1H); 6,70 – 6,63 (m; 1H); 6,60 (d; $J = 8,4$ Hz; 1H); 6,39 (s; 1H); 6,21 (s; 1H); 3,02 – 2,82 (m; 2H); 2,68 – 2,53 (m; 2H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; MeOD- d_4) δ 182,8; 166,0; 159,2; 159,2; 149,1; 146,0; 141,8; 132,5; 131,7; 131,0; 129,4; 129,1; 125,2; 123,6; 120,7; 117,6; 115,7; 105,1; 99,9; 94,6; 36,9; 31,9 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{23}\text{H}_{15}\text{O}_8$ $[\text{M} - \text{H}^+]$: 433,0929; nalezeno: 433,0928.



Kyselina (4-(2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-8-yl)fenyl)akrylová (38)

Tato sloučenina byla připravena pomocí obecného postupu B z látky **3** (200 mg; 0,55 mmol; 1 ekv.) a kyseliny (*E*)-4-(3-methoxy-3-oxoprop-1-en-yl)fenylboronové (150 mg; 0,73 mmol; 1 ekv.).

1,5 ekv.). Surový intermediát byl následně odchráněn pomocí postupu pro odchránění methyl esterů. Reakce poskytla 6 mg produktu **38** (výtěžek přes oba kroky činil 3 %). ^1H NMR (400 MHz; MeOD- d_4) δ 7,68 (d; $J = 16,0$ Hz; 1H); 7,61 – 7,53 (m; 2H); 7,30 – 7,22 (m; 2H); 6,87 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,71 (dd; $J = 8,4; 2,2$ Hz; 1H); 6,62 (d; $J = 8,3$ Hz; 1H); 6,49 (d; $J = 16,0$ Hz; 1H); 6,40 (d; $J = 2,1$ Hz; 1H); 6,22 (d; $J = 2,2$ Hz; 1H) ppm. ^{13}C NMR (101 MHz; MeOD- d_4) δ 182,9; 170,8; 166,5; 164,8; 164,0; 159,6; 149,8; 146,6; 146,4; 136,8; 135,5; 133,6; 129,5; 125,4; 124,1; 120,6; 119,9; 118,1; 116,3; 105,5; 100,5; 95,2 ppm. HRMS (ESI) m/z výpočet pro $\text{C}_{24}\text{H}_{17}\text{O}_8$ $[\text{M} + \text{H}^+]^+$: 433,0918; nalezeno: 433,0915.

7. Poděkování

Závěrem bych rád poděkoval svému školiteli Aleši Macharovi za vedení práce a hlavně za jeho trpělivost. Můj dík patří také Róbertu Reibergerovi, který mi mnohé poradil, laskavě vysvětlil a byl mi při práci v laboratoři velkou oporou. Děkuji také Pavlu Majerovi za příležitost být součástí výzkumné skupiny Drug Discovery.

Poděkovat bych také chtěl své přítelkyni Elišce Kamarytové za její psychickou podporu, jak při psaní této práce, tak i v životě.

Tato práce byla podpořena projektem Národní institut virologie a bakteriologie (Program EXCELES, ID LX22NPO5103) – Financováno Evropskou unií - Next Generation EU.

8. Literatura

- (1) Mathesius, U. Flavonoid Functions in Plants and Their Interactions with Other Organisms. *Plants-Basel* **2018**, *7* (2). DOI: 10.3390/plants7020030.
- (2) Liu, C. W.; Murray, J. D. The Role of Flavonoids in Nodulation Host-Range Specificity: An Update. *Plants-Basel* **2016**, *5* (3). DOI: 10.3390/plants5030033.
- (3) Senderowicz, A. M. Flavopiridol: the first cyclin-dependent kinase inhibitor in human clinical trials. *Invest New Drugs* **1999**, *17* (3), 313-320. DOI: 10.1023/a:1006353008903
- (4) Li, L.; Lu, N.; Dai, Q.; Wei, L.; Zhao, Q.; Li, Z.; He, Q.; Dai, Y.; Guo, Q. GL-V9, a newly synthetic flavonoid derivative, induces mitochondrial-mediated apoptosis and G2/M cell cycle arrest in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *Eur J Pharmacol* **2011**, *670* (1), 13-21. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.08.054
- (5) Zeidner, J. F.; Karp, J. E. Clinical activity of alvocidib (flavopiridol) in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* **2015**, *39* (12), 1312-1318. DOI: 10.1016/j.leukres.2015.10.010
- (6) Hu, P.; Li, H.; Yu, X.; Liu, X.; Wang, X.; Qing, Y.; Wang, Z.; Wang, H.; Zhu, M.; Xu, J.; et al. GL-V9 exerts anti-T cell malignancies effects via promoting lysosome-dependent AKT1 degradation and activating AKT1/FOXO3A/BIM axis. *Free Radic Biol Med* **2019**, *145*, 237-249. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.09.028
- (7) Li, H.; Hu, P.; Wang, Z.; Wang, H.; Yu, X.; Wang, X.; Qing, Y.; Zhu, M.; Xu, J.; Li, Z.; et al. Mitotic catastrophe and p53-dependent senescence induction in T-cell malignancies exposed to nonlethal dosage of GL-V9. *Arch Toxicol* **2020**, *94* (1), 305-323. DOI: 10.1007/s00204-019-02623-2
- (8) Park, E.-J.; M. Petuzzo, J. Flavonoids in Cancer Prevention. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2016**, *12* (8), 836-851. DOI: 10.2174/187152012802650075.
- (9) Dhiman, A.; Nanda, A.; Ahmad, S. a quest for staunch effects of flavonoids: Utopian protection against hepatic ailments. *Arabian Journal of Chemistry* **2016**, *9*, S1813-S1823. DOI: 10.1016/j.arabjc.2012.05.001.
- (10) Harborne, J. B.; Williams, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **2000**, *55* (6), 481-504. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)00235-1.
- (11) Alcaraz, M. J.; Ferrandiz, M. L. Modification of Arachidonic Metabolism by Flavonoids. *J Ethnopharmacol* **1987**, *21* (3), 209-229. DOI: Doi 10.1016/0378-8741(87)90101-2.
- (12) Wang, H. B.; Nair, M. G.; Strasburg, G. M.; Chang, Y. C.; Booren, A. M.; Gray, J. I.; DeWitt, D. L. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *Journal of Natural Products* **1999**, *62* (2), 294-296. DOI: 10.1021/np980501m.
- (13) Koganov, M. M.; Dueva, O. V.; Tsorin, B. L. Activities of plant-derived phenols in a fibroblast cell culture model. *Journal of Natural Products* **1999**, *62* (3), 481-483. DOI: 10.1021/np9801559.
- (14) Liskova, A.; Koklesova, L.; Samec, M.; Smejkal, K.; Samuel, S. M.; Varghese, E.; Abotaleb, M.; Biringer, K.; Kudela, E.; Danko, J.; et al. Flavonoids in Cancer Metastasis. *Cancers* **2020**, *12* (6). DOI: 10.3390/cancers12061498.
- (15) Bansal, T.; Jaggi, M.; Khar, R. K.; Talegaonkar, S. Emerging Significance of Flavonoids as P-Glycoprotein Inhibitors in Cancer Chemotherapy. *J Pharm Pharm Sci* **2009**, *12* (1), 46-78. DOI: 10.18433/J3rc77.
- (16) Spencer, J. P. E.; Schroeter, H.; Crossthwaite, A. J.; Kuhnle, G.; Williams, R. J.; Rice-Evans, C. Contrasting influences of glucuronidation and O-methylation of epicatechin on hydrogen peroxide-induced cell death in neurons and fibroblasts. *Free Radical Biology and Medicine* **2001**, *31* (9), 1139-1146. DOI: 10.1016/S0891-5849(01)00704-3.

- (17) Scalbert, A.; Morand, C.; Manach, C.; Rémésy, C. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2002**, *56* (6), 276-282. DOI: 10.1016/S0753-3322(02)00205-6.
- (18) Thilakarathna, S. H.; Rupasinghe, H. P. V. Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. *Nutrients* **2013**, *5* (9), 3367-3387. DOI: 10.3390/nu5093367.
- (19) Hollman, P. C. H.; Devries, J. H. M.; Vanleeuwen, S. D.; Mengelers, M. J. B.; Katan, M. B. Absorption of Dietary Quercetin Glycosides and Quercetin in Healthy Ileostomy Volunteers. *Am J Clin Nutr* **1995**, *62* (6), 1276-1282. DOI: 10.1093/ajcn/62.6.1276.
- (20) Xiao, J. B.; Mao, F. F.; Yang, F.; Zhao, Y. L.; Zhang, C.; Yamamoto, K. Interaction of dietary polyphenols with bovine milk proteins: Molecular structure-affinity relationship and influencing bioactivity aspects. *Molecular Nutrition & Food Research* **2011**, *55* (11), 1637-1645. DOI: 10.1002/mnfr.201100280.
- (21) Cao, H.; Chen, X. Q. Structures Required of Flavonoids for Inhibiting Digestive Enzymes. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **2012**, *12* (8), 929-939. DOI: 10.2174/187152012802650110.
- (22) Wang, S.; Su, R.; Nie, S.; Sun, M.; Zhang, J. e. a. Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of diet-derived phytochemicals. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **2015**, *25* (4), 363-376. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2013.10.002.
- (23) Dobrzynska, M.; Napierala, M.; Florek, E. Flavonoid Nanoparticles: a Promising Approach for Cancer Therapy. *Biomolecules* **2020**, *10* (9). DOI: 10.3390/biom10091268.
- (24) Baell, J.; Walters, M. A. Chemical con artists foil drug discovery. *Nature* **2014**, *513* (7519), 481-483. DOI: 10.1038/513481a.
- (25) Baell, J. B.; Nissink, J. W. M. Seven Year Itch: Pan-Assay Interference Compounds (PAINS) in 2017-Utility and Limitations. *Acs Chemical Biology* **2018**, *13* (1), 36-44. DOI: 10.1021/acscchembio.7b00903.
- (26) Baell, J. B.; Holloway, G. A. New Substructure Filters for Removal of Pan Assay Interference Compounds (PAINS) from Screening Libraries and for Their Exclusion in Bioassays. *Journal of Medicinal Chemistry* **2010**, *53* (7), 2719-2740. DOI: 10.1021/jm901137j.
- (27) Baell, J. B. Feeling Nature's PAINS: Natural Products, Natural Product Drugs, and Pan Assay Interference Compounds (PAINS). *Journal of Natural Products* **2016**, *79* (3), 616-628. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00947.
- (28) Ingólfsson, H. I.; Thakur, P.; Herold, K. F.; Hobart, E. A.; Ramsey, N. B.; Periole, X.; de Jong, D. H.; Zwama, M.; Yilmaz, D.; Hall, K.; et al. Phytochemicals Perturb Membranes and Promiscuously Alter Protein Function. *Acs Chemical Biology* **2014**, *9* (8), 1788-1798. DOI: 10.1021/cb500086e.
- (29) Williams, J. S.; Thomas, M.; Clarke, D. J. The gene stlA encodes a phenylalanine ammonia-lyase that is involved in the production of a stilbene antibiotic in *Photobacterium luminescens* TT01. *Microbiology (Reading)* **2005**, *151* (8), 2543-2550. DOI: 10.1099/mic.0.28136-0
- (30) Wohl, J.; Petersen, M. Functional expression and characterization of cinnamic acid 4-hydroxylase from the hornwort *Anthoceros agrestis* in. *Plant Cell Reports* **2020**, *39* (5), 597-607. DOI: 10.1007/s00299-020-02517-z.
- (31) Liu, W. X.; Feng, Y.; Yu, S. H.; Fan, Z. Q.; Li, X. L.; Li, J. Y.; Yin, H. F. The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, *22* (23). DOI: 10.3390/ijms222312824.
- (32) Wang, Z. *Comprehensive organic name reactions and reagents*; John Wiley, 2009.
- (33) Pereira, A. M.; Cidade, H.; Tiritan, M. E. Stereoselective Synthesis of Flavonoids: a Brief Overview. *Molecules* **2023**, *28* (1). DOI: 10.3390/molecules28010426.

- (34) Maloney, D. J.; Hecht, S. M. Synthesis of a potent and selective inhibitor of p90 Rsk. *Organic Letters* **2005**, 7 (6), 1097-1099. DOI: 10.1021/ol0500463.
- (35) Larsen, L.; Yoon, D. H.; Weavers, R. T. Synthesis of a Range of Polyhydroxy 8-Aryl Flavones. *Synthetic Communications* **2009**, 39 (16), 2935-2948. DOI: 10.1080/00397910802710682.
- (36) Du, Z. Y.; Ng, H. F.; Zhang, K.; Zeng, H. Q.; Wang, J. Ionic liquid mediated Cu-catalyzed cascade oxa-Michael-oxidation: efficient synthesis of flavones under mild reaction conditions. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2011**, 9 (20), 6930-6933. DOI: 10.1039/c1ob06209c.
- (37) Gupta, M.; Paul, S.; Gupta, R.; Loupy, A. a rapid method for the cyclization of 2'-hydroxychalcones into flavones. *Organic Preparations and Procedures International* **2000**, 32 (3), 280-283. DOI: 10.1080/00304940009355926.
- (38) Yang, X. M.; Jiang, Y. M.; Yang, J. L.; He, J. R.; Sun, J.; Chen, F.; Zhang, M. W.; Yang, B. Prenylated flavonoids, promising nutraceuticals with impressive biological activities. *Trends in Food Science & Technology* **2015**, 44 (1), 93-104. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.03.007.
- (39) Adnan, M.; Rasul, A.; Hussain, G.; Shah, M. A.; Zahoor, M. K.; Anwar, H.; Sarfraz, I.; Riaz, A.; Manzoor, M.; Adem, S.; et al. Ginkgetin: a natural biflavone with versatile pharmacological activities. *Food and Chemical Toxicology* **2020**, 145. DOI: 10.1016/j.fct.2020.111642.
- (40) Nagimova, A. D.; Zhusupova, G. E.; Erzhanova, M. S. Synthesis of biologically active bromine derivatives of quercetin. *Chemistry of Natural Compounds* **1996**, 32 (5), 695-697. DOI: 10.1007/BF01375117.
- (41) Pan, G. J.; Yang, K.; Ma, Y. T.; Zhao, X.; Lu, K.; Yu, P. Synthesis of 6-or 8-Bromo Flavonoids by Regioselective Mono-Bromination and Deprotection Protocol from Flavonoid Alkyl Ethers. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **2015**, 36 (5), 1460-1466. DOI: 10.1002/bkcs.10286.
- (42) Lu, K.; Chu, J.; Wang, H. M.; Fu, X. L.; Quan, D. W.; Ding, H. X.; Yao, Q. W.; Yu, P. Regioselective iodination of flavonoids by *N*-iodosuccinimide under neutral conditions. *Tetrahedron Letters* **2013**, 54 (47), 6345-6348. DOI: 10.1016/j.tetlet.2013.09.051.
- (43) Carey, F. A.; Sundberg, R. J. *Advanced organic chemistry*; Springer, 2007.
- (44) De Azevedo, O.; Seixas, R.; Silva, A. New Developments in the Synthesis of (E)-8-Styrylflavones. *Synlett* **2015**, 26 (10), 1379-1384. DOI: 10.1055/s-0034-1380208.
- (45) Stille, J. K. The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organotin Reagents with Organic Electrophiles. *Angew Chem Int Edit* **1986**, 25 (6), 508-523. DOI: 10.1002/anie.198605081.
- (46) Kelly, T. R.; Kim, M. H. Synthesis of Schumanniohytine and Isoschumanniohytine. *Journal of Organic Chemistry* **1992**, 57 (5), 1593-1597. DOI: DOI 10.1021/jo00031a049.
- (47) Graf, G. G. Tin, Tin Alloys, and Tin Compounds. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; **2012**; DOI: 10.1002/14356007.a27_049.
- (48) Hurtova, M.; Biedermann, D.; Osifova, Z.; Cvacka, J.; Valentova, K.; Kren, V. Preparation of Synthetic and Natural Derivatives of Flavonoids Using Suzuki-Miyaura Cross-Coupling Reaction. *Molecules* **2022**, 27 (3). DOI: 10.3390/molecules27030967.
- (49) Takagi, J.; Takahashi, K.; Ishiyama, T.; Miyaura, N. Palladium-catalyzed cross-coupling reaction of bis(pinacolato)diboron with 1-alkenyl halides or triflates: Convenient synthesis of unsymmetrical 1,3-dienes via the borylation-coupling sequence. *Journal of the American Chemical Society* **2002**, 124 (27), 8001-8006. DOI: 10.1021/ja0202255.
- (50) Jurasekova, Z.; Domingo, C.; Garcia-Ramos, J. V.; Sanchez-Cortes, S. Effect of pH on the chemical modification of quercetin and structurally related flavonoids characterized by optical (UV-visible and Raman) spectroscopy. *Phys Chem Chem Phys* **2014**, 16 (25), 12802-12811. DOI: 10.1039/c4cp00864b

(51) Fuguet, E.; Ràfols, C.; Mañe, M.; Ruiz, R.; Bosch, E. Acidity constants of hydroxyl groups placed in several flavonoids: Two flavanones, two flavones and five flavonols. *Talanta* **2023**, 253. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.124096.