

Studium přípravy 4-hydroxykumarinů a jejich derivátů

Bc. Vendula Konečná

Diplomová práce
2021

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Vendula Konečná**
Osobní číslo: **T19391**
Studijní program: **N0721A210005 Chemie potravin a bioaktivních látek**
Studijní obor: **Chemie potravin a bioaktivních látek**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Studium přípravy 4-hydroxykumarinů a jejich derivátů**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

1. Zpracovat literární rešerši zaměřenou na přípravu a biologické účinky analogů k připraveným derivátům v rámci DP.

II. Praktická část

1. Pokusit se nalézt vhodnou metodu pro přípravu sloučenin s 4-hydroxykumarinovým skeletem.
2. Provést pokusy o přeměnu 4-hydroxykumarinů na 3-halogen- případně na 3-aminoderiváty chroman-2,4-dionu.
3. Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
4. Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat diplomovou práci.

Forma zpracování diplomové práce: **Tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

[1] McMURRY, J.: Organická chemie. 2007, VUTIUM Brno.

[2] MUSA, M. A., COOPERWOOD, J. S., KHAN, M. O. F.: A Review of Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Breast Cancer. *Current Medicinal Chemistry* 2008, 15, 2664-2679.

[3] 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 diplomové práce: **Ing. Roman Kimmel, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání diplomové práce: **31. prosince 2020**

Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Michal Rouchal, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 25. března 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji diplomovou 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 – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne 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 diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují 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 diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá problematikou kumarinových sloučenin, jejichž vlastnosti a syntéza jsou popsány v teoretické části. Zmíněny jsou také některé biologické aktivity. V praktické části jsou popsány pokusy o přípravu 3-substituovaných 4-hydroxykumarinů jakožto analogů k derivátům 4-hydroxychinolin-2-onům. Experimenty byly založeny na vysokoteplotní kondenzaci fenolu s diethylestery kyseliny malonové. S připraveným 3-fenyl-4-hydroxykumarinem byly dále provedeny pokusy s halogenačními činidly, jež měly směřovat k 3-halogenchroman-2,4-dionům. Neočekávaně ale byly získány deriváty ethanonu. Blíže bylo prozkoumáno chování 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu v bazickém prostředí.

Klíčová slova: kumarin, syntéza, chromen-2,4-dion, 4-hydroxykumarin, cyklizace, halogenizace, chlorace, bromace

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on coumarin compounds, their properties and synthesis are covered in the theoretical part. Some biological activities are also mentioned. In the practical part, attempts to prepare 3-substituted 4-hydroxycoumarins as analogs to 4-hydroxyquinolin-2-one derivatives have been described. The experiments were based on the high-temperature condensation of phenol with diethyl esters of malonic acid. With the prepared 3-phenyl-4-hydroxycoumarin, experiments targeting to 3-halogenchroman-2,4-diones were further performed. Unexpectedly, ethanone derivatives were obtained. The reactivity of 2-chloro-1-(2-hydroxyphenyl)-2-phenyl-ethanone in a basic environment was further investigated.

Keywords: coumarin, sythesis, chromene-2,4-dione, 4-hydroxycoumarin, cyclization, halogeaion, chlorination, bromination

Nejprve bych ráda poděkovala svému vedoucímu Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D. za jeho odborné rady a připomínky, ale především za jeho vstřícnost, trpělivost, ochotu a pomoc při práci v laboratoři. Jen díky jeho optimismu a povzbuzování byl objeven tisíc a jeden způsob, jak rozbít kumarin. Také děkuji paní laborantce Haně Geržové, která mi na nějakou dobu poskytla azyl v laboratoři 411 a podělila se o své 50ml baňky.

Další díky patří Kamile Čechové, spolužačce, kolegyni a kamarádce, za veškerý společně strávený čas v bakalářském i navazujícím studiu. Promiň, že jsem se smála tvým uplavaným nebo přejetým vrstvám, vyschlým kolonám a vylitým produktům.

Děkuji Ing. Lence Trhlíkové za naměření elementárních analýz, Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D. za provedení ESI-MS experimentů a Ing. Anetě Závodné za pomoc při měření na GC-MS. Dále děkuji doc. Mgr. Robertu Víchovi, Ph.D. nejen za pomoc při izolaci monokrystalů a vyhodnocení jejich diagramů, ale hlavně za odborné podněty. Děkuji doc. Mgr. Marku Nečasovi, Ph.D. z Masarykovy univerzity za změření rentgenových difrakčních analýz. Také děkuji doktorandům z Ústavu chemie za všechny jejich rady.

Děkuji svým rodičům, prarodičům a bratrovi za podporu po celou dobu mého studia. Obří díky patří mamince, která pokaždé trpělivě vyslechla mé naříkání kvůli nevycházejícím experimentům a nikdy nezapomněla otevřít šuplíky, když to bylo třeba.

Poslední poděkování patří partnerovi Járovi.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 KUMARINY	11
1.1 SYNTÉZA KUMARINŮ.....	12
1.1.1 Perkinova reakce.....	13
1.1.2 Pechmannova reakce.....	13
1.1.3 Mechanismus Pechmannovy reakce.....	15
1.1.4 Knoevenagelova reakce.....	17
1.1.5 Wittigova reakce.....	18
1.1.6 Kostaneckiova-Robinsonova metoda.....	19
1.2 METABOLISMUS KUMARINU.....	20
1.3 FARMAKOLOGICKÁ AKTIVITA KUMARINŮ.....	21
1.4 ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA KUMARINŮ.....	21
2 4-HYDROXYKUMARINY	24
2.1 KUMARINOVÁ ANTIKOAGULANCIA.....	25
2.1.1 Mechanismus účinku kumarinových antikoagulantů.....	26
2.1.2 Metabolismus a farmakokinetika kumarinových antikoagulantů.....	27
2.2 SYNTÉZA 4-HYDROXYKUMARINŮ.....	28
2.2.1 Příprava nesubstituovaného 4-hydroxykumarinu.....	28
2.2.2 Příprava 3-substituovaných 4-hydroxykumarinů.....	30
II PRAKTICKÁ ČÁST	33
3 VÝSLEDKY A DISKUZE	34
3.1 ÚVOD DO PROBLEMATIKY.....	34
3.2 DISKUZE VÝSLEDKŮ.....	35
4 POPIS PŘÍSTROJOVÉ VÝBAVY A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD	53
5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN	54
5.1 PŘÍPRAVA 3-FENYL-4-HYDROXYKUMARINU 1A.....	54
5.2 NEÚSPĚŠNÝ POKUS O PŘÍPRAVU 4-HYDROXY-3-METHYLKUMARINU (1B).....	55
5.3 SYNTÉZA 2-FENYLMALONOVÉ KYSELINY (8).....	55
5.4 CHLORACE 2-FENYLMALONOVÉ KYSELINY (8).....	56
5.5 CHLORACE 3-FENYL-4-HYDROXYKUMARINU (1A).....	56
5.5.1 Metoda A: Použití SO_2Cl_2	56
5.5.2 Metoda B: Použití <i>N</i> -chlorsukcinimidu.....	57
5.5.3 Metoda C: Použití plynného Cl_2	57
5.5.4 Metoda D: Použití kyseliny trichloroisokyanurové.....	57

5.6	BROMACE 3-FENYL-4-HYDROXYKUMARINU (1A).....	60
5.6.1	Metoda A: Použití <i>N</i> -bromsukcinimidu	60
5.6.2	Metoda B: Použití 1,3-dibrom-5,5-dimethylhydantoinu.....	60
5.7	REAKCE 2-CHLOR-2-FENYL-1-(2-HYDROXYFENYL)ETHANONU (12) S BÁZEMI.....	61
5.7.1	Metoda A: K_2CO_3	61
5.7.2	Metoda B: TMG	62
5.7.3	Metoda C: Triton B	62
5.7.4	Metoda D: NaH	62
5.7.5	Metoda E: MeO^-Na^+	62
5.8	REAKCE 2-CHLOR-2-FENYL-1-(2-HYDROXYFENYL)ETHANONU (12) S OCTANY.....	63
	ZÁVĚR	64
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	65
	SEZNAM TABULEK.....	67
	SEZNAM SCHÉMÁT	68
	SEZNAM OBRÁZKŮ	69
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	70

ÚVOD

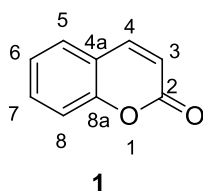
Náplní této diplomové práce bylo syntetizovat 4-hydroxykumariny v poloze 3 substituované uhlovodíkovým řetězcem. V teoretické části jsou obecně popsány kumariny, jejich struktura, příprava, vlastnosti a je nastíněna biologická aktivita. Další kapitola je věnována 4-hydroxykumarinům a jejich nejvýznamnějším zástupcům, kumarinovým antikoagulantům. Teoreticky je charakterizován mechanismus jejich účinku, metabolismus a farmakokinetika. Dále jsou popsány možnosti, jak připravit samotný 4-hydroxykumarin, který je možné různými metodami převést na 3-substituované analogy.

V praktické části a diskusní části jsou popsány experimenty, jež měly vést k přípravě 4-hydroxykumarinů. Také jsou popsány různé způsoby halogenace připraveného 3-fenyl-hydroxykumarinu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KUMARINY

Kumariny (2*H*-1-benzopyran-2-ony, případně 2*H*-chromen-2-ony dle systému UIPAC) jsou fenolické sloučeniny ze skupiny bezbarvých krystalických kyslíkatých heterocyklů. Sestávají se z kondenzovaného benzenového a α -pyranového kruhu (**Obrázek 1**). Do dnešní doby bylo z živých organismů identifikováno přes 1300 derivátů kumarinu, z nichž převážná většina byla izolována z různých druhů rostlin, kde byly vytvořeny jejich metabolismem. Některé kumariny byly však izolovány i z mikrobiálních zdrojů.



Obrázek 1. Struktura kumarinu (1)

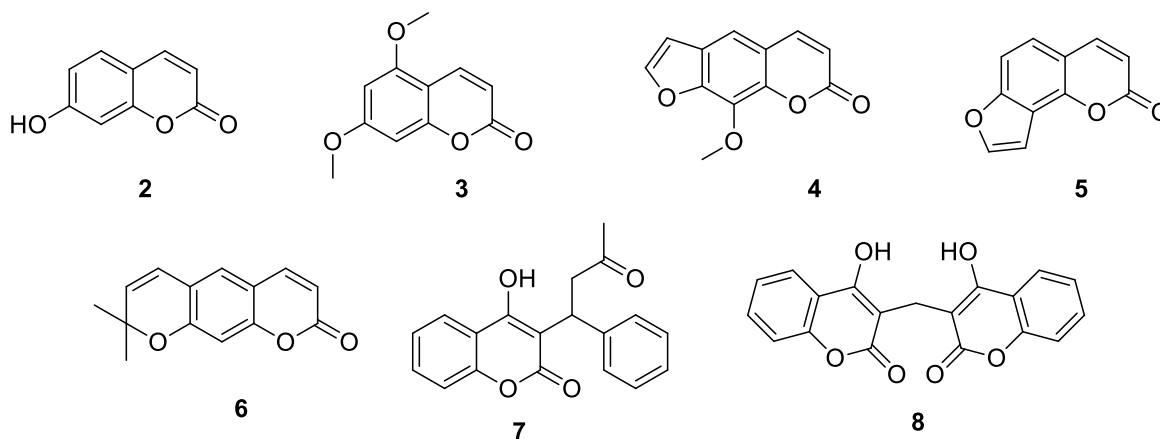
Název kumarin pochází z francouzského výrazu pro fazole tonka, *Coumarou*, což jsou semena stromu silovoně obecného (*Dipteryx odorata*) z čeledi *Fabaceae*, ze kterých byl kumarin poprvé izolován v roce 1820 Vogelem. V rostlinné říši byly nalezeny další deriváty kumarinu přibližně ve 150 rodech rozdělených do 30 různých čeledí, především *Rutaceae*, *Umbelliferae*, *Clusiaceae*, *Apiaceae* a *Oleaceae*. Ačkoli jsou kumariny distribuovány ve všech částech rostlin, v nejvyšších koncentracích se nachází v plodech (*Aegle marmelos*, *Rubus chamaemorus*) a semenech (*Dipteryx odorata*). Významný může být také jejich výskyt v kořenech (*Ferulago campestris*), listech (*Murraya paniculata*) a latexu tropických stromů (*Calophyllum teysmannii*). Středoevropská populace se s kumariny setkává nejčastěji v potravinách jako je například zelený čaj a čekanka. Hojně se také vyskytují v esenciálních olejích (skořicový a levandulový).^{1,2}

Kumarin má sladkou vůni připomínající čerstvě posekanou trávu nebo seno a často se využívá pro výrobu parfémů. V rostlinách pravděpodobně vzniká jako metabolit za účelem chemické obrany před predátory.³ Další funkce nejsou zatím objasněny. Ovšem uvažuje se, že kumariny v rostlinách působí jako regulátory růstu rostlin, antibakteriální a antifungální látky či jako odpadní produkty metabolismu.²

Díky jednoduché struktuře a všestrannému použití je kumarin zajímavým výchozím bodem pro širokou škálu aplikací jako například pro výrobu parfémů, kosmetiky a průmyslových aditiv. Některé z jeho derivátů se používají jako látky pro zvýšení intenzity

aroma v tabácích a některých alkoholických nápojích. Nejdůležitější roli však hrají kumariny v organické a medicíně a dále při popisu přírodních rostlinných produktů. Rychle se rozvíjí oblast vědomostí o jejich syntéze, extrakci a zhodnocení využitelnosti v oblasti výzkumu či vývoje důležitých meziproduktů pro různá vědecká zaměření. Mnoho kumarinových sloučenin se jeví jako vhodní kandidáti pro léčbu různých onemocnění díky tomu, že mnohdy disponují žádoucími vlastnostmi jako je například silná farmakologická aktivita, nízká toxicita a riziko vedlejších účinků, vysoká biologická dostupnost, lepší léčivé účinky či menší rezistence.⁴

Obvykle se kumariny dělí do 4 skupin. První jsou jednoduché kumariny, které mohou být hydroxylované (umbelliferon, **2**) nebo alkoxylované na benzenovém kruhu (limettin, **3**). Druhou skupinou jsou furanokumariny, v jejichž struktuře je na benzenovou část kumarinového skeletu připojen pětičlenný furanový kruh. Tyto lze dále dělit na lineární (xanthotoxin, **4**) či angulární (angelicin, **5**). Třetí skupina obsahuje kondenzovaný druhý šestičlenný pyranový cyklus k benzenovému jádru kumarinu (seselin, **6**). Poslední čtvrtá skupina se vyznačuje různorodými substituenty na pyranovém kruhu samotného kumarinu (warfarin, **7**; dicoumarol, **8**).⁵



Obrázek 2. Příklady kumarinových sloučenin.

1.1 Syntéza kumarinů

Díky svým zajímavým biologickým vlastnostem jsou kumariny pro organickou syntézu velmi atraktivní sloučeniny. Historie syntézy kumarinu sahá do začátku 2. poloviny devatenáctého století, do doby, kdy byla objevena Perkinova syntéza kumarinu. Od počátku až do současnosti bylo vyvinuto několik dalších syntetických strategií pro získání

jednoduchých kumarinů. Mezi klasické metody přípravy, pomineme-li již zmíněnou Perkinovu syntézu, patří Pechmannova nebo Knoevenagelova reakce. V posledních letech se prosadily také Wittigova, Kostaneckiova-Robinsonova a Reformatského reakce. Tyto syntetické varianty vychází ze dvou hlavních skupin sloučenin, buďto salicylaldehydů, nebo fenolů. Je však nutné podotknout, že všechny uváděné metody mají určité nevýhody, často postrádají možnost reakce zobecňovat a také mohou být problematické s ohledem na výtěžnost očekávaného produktu. Proto je vývoj nových a spolehlivých metod poskytujících kumariny ve vysokých výtěžcích důležitou záležitostí.⁶ V posledních desetiletích se konvenční syntetické metody upravují nebo dokonce nahrazují „zelenými metodami“, mezi které je možné zařadit reakce prováděné bez přídavku rozpouštědel nebo v prostředí různých pro člověka a přírodu „nezávadných“ iontových kapalin nebo eutektických směsí. Cílem těchto „zelených metod“ je omezit nebo eliminovat použití toxických nebo těkavých chemikálií a katalyzátorů a také provádět reakce za mírnějších podmínek s vyššími výtěžky a vyšší čistotou konečných produktů.⁷

1.1.1 Perkinova reakce

Neodmyslitelnou metodou přípravy kumarinů je Perkinova syntéza spočívající v alkalicky katalyzované aldolové kondenzaci aromatických aldehydů s anhydridy karboxylových kyselin. Majoritní využití této metody je příprava derivátů kyseliny skořicové. Kumarin je možno připravit zahříváním sodné soli salicylaldehydu (**9**) s anhydridem kyseliny octové (**10**) (**Schéma 1**). Tato konkrétní reakce je však v ohledu praktických výtěžků a také možnosti přípravy rozmanité variace produktů limitovaná. Její využití je tedy oproti jiným, dále zmíněným metodám dosti omezené a význam je spíše historický.¹

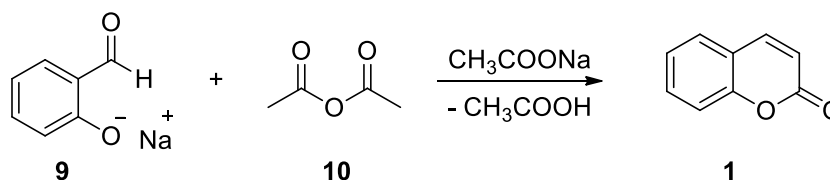


Schéma 1. Perkinova syntéza kumarinu.

1.1.2 Pechmannova reakce

Koncem 19. století se pánům Pechmannovi a Duisbergovi podařilo připravit 4-substituované deriváty kumarinu reakcí fenolu (**11**) a β -ketoesterů (**12**) v přítomnosti

AlCl_3 jako kyselého katalyzátoru. Tuto metodu v roce 1883 publikovali a postupem času, jak rostla, díky snadno dostupným a poměrně levným reagentům, její popularita, byla později do podvědomí zapsána pod jmenným označením jejich představitelů. Postupnou modifikací metody bylo zjištěno, že jako katalyzátory reakce mohou být použity rozmanité látky kyselého charakteru. Mohou to být například kyselina sírová, chlorovodíková, fosforečná a trifluoroctová, oxid fosforečný, chloridy železité, zinečnaté, hlinité, titaničité a indité, trichlorid fosforu, Wells–Dawson heteropolykyselina nebo pentahydrát dusičnanu bismutitého a mnohé další.^{3,6,8}

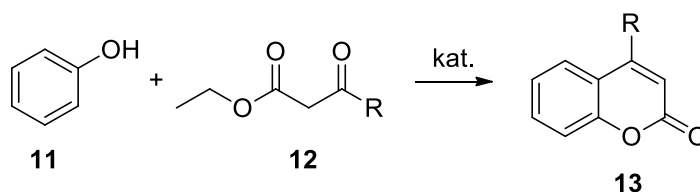


Schéma 2. Obecná Pechmanova reakce.

Některé z těchto katalyzátorů však musí být použity v mnohonásobném přebytku, pro představu například kyselina sírová 10–12 ekvivalentů, oxid fosforečný 5 ekvivalentů, a mnohé další. Kromě toho některé reakční podmínky mohou ovlivňovat vznik nežádoucích vedlejších produktů, izomerních chromen-4-onů, taktéž vystupujících pod sumárním zjednodušeným názvem chromony. Jejich vznik byl převážně pozorován v případech, kdy byla reakční směs zahřívána nad 150 °C, anebo u reakcí prováděných po delší dobu (přes noc, případně i po několik dnů). Tato oblast reaktivity zmíněných derivátů je dodnes těší zájmu chemiků, kteří stále hledají nové a nové analogické přístupy. Slibných výsledků bylo dosaženo při použití komplexu fluoridu boritého s diethyletherem $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, jehož účinky, poskytující 4-substituované deriváty kumarinu ve výtěžcích v intervalu 70–97 %, byly popsány v časopise *Advanced Materials Research* (Schéma 3).⁸

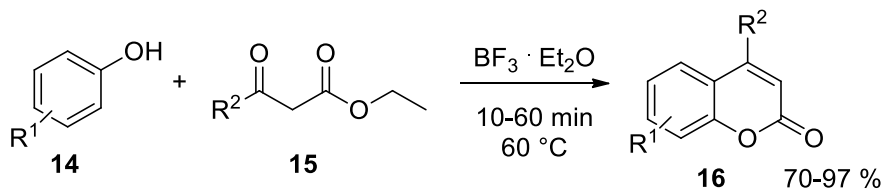


Schéma 3. Pechmannova reakce při použití $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.

Jako zajímavý příklad úspěšně modifikované syntézy z posledních let lze uvést reakci za použití činidla Amberlist-15, silného a selektivního katalyzátoru esterifikačních reakcí (**Schéma 4**). Jednou z hlavních výhod tohoto kyselého katalyzátoru, je možnost jeho regenerace a recyklace. Reakci Hussein a kol. provedli bez použití rozpouštědel a současně za asistence mikrovln.⁹

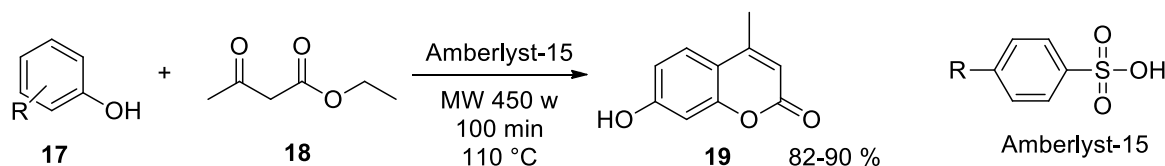


Schéma 4. Pechmannova reakce podle Husseina.

1.1.3 Mechanismus Pechmannovy reakce

I přes to, že se Pechmannova syntéza využívá již několik desítek let, není zcela její mechanismus objasněn. V minulosti byly předloženy dvě různé pravděpodobné alternativy, ve kterých postupem času došlo k menším úpravám. Návrh Robertsona a jeho kolektivu (**Schéma 5**) vychází z nukleofilního ataku π -elektronů aromatického kruhu fenolů na β -karbonylovou skupinu ethyl-acetoacetátů. Svůj návrh podpořili izolací derivátu kyseliny skořicové (**24**) jako meziproductu, ze kterého následně může vznikat „pouhou dehydratací“ kumarin. Dále pak byl z reakce izolován intermediát, ethyl- β -hydroxy- β -methylcinnamát (**22**), který vzniká při přípravě kumarinů.¹⁰

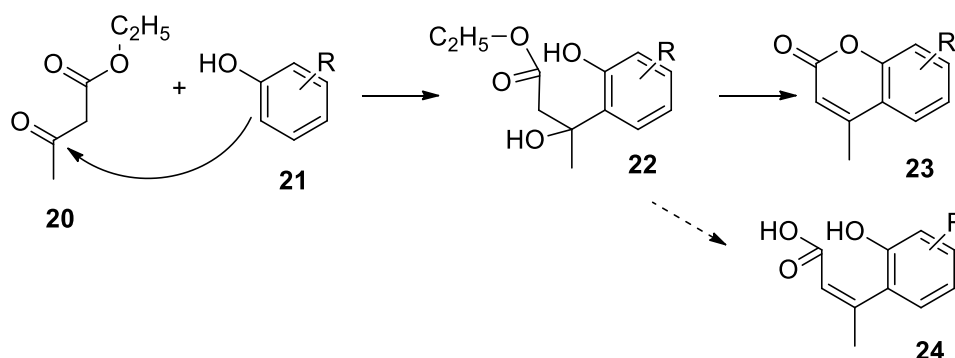


Schéma 5. Návrh mechanismu Robertsonem a jeho kolektivem.

Podle Ahmeda a Deasie (**Schéma 6**) je však prvním krokem této reakce reesterifikace ethylové skupiny skupinami fenylovými, která je následovaná již výše zmiňovaným a znázorněným nukleofilním atakem π -elektronů aromatického kruhu na β -oxoskupinu,

čímž dojde k uzavření kruhu. Jejich představa podporuje možné vysvětlení vzniku nežádoucích vedlejších produktů, chromonů (**27**).¹¹

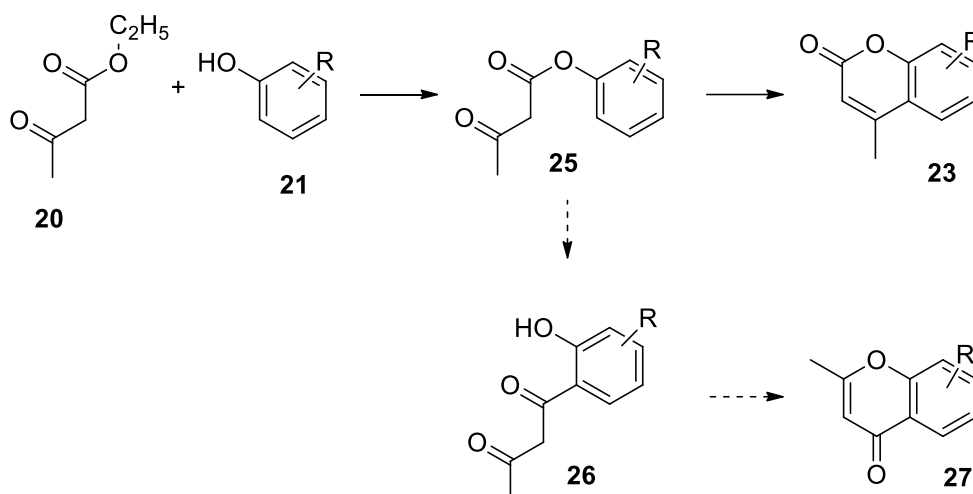


Schéma 6. Mechanismus Pechmannovy reakce dle návrhu Ahmeda a Deasiea.

V literatuře se pro vysvětlení mechanismu používá obou alternativ. Není tedy naprosto jednoznačné, jaké je pořadí tří kroků (transesterifikace, dehydratace a nukleofilní adice na oxoskupinu) podílejících se na úspěšném vzniku kumarinového skeletu. Další komplikací, která může vést k neshodám, je otázka, zda se daný atak děje skrze oxo nebo enol formu β -ketoesteru.¹¹ Tato problematika nebyla do dnešní doby vyřešena i přes to, že bylo provedeno několik studií využívajících různé analýzy, například teoretické výpočty elektronových hustot¹¹, plynovou chromatografií¹⁰, Ramanovu spektroskopii¹². V jednom z posledních výzkumů publikovaných v odborné literatuře byla pro objasnění mechanismu využita i nukleární magnetická rezonance. Výsledkem pozorování amerických vědců Tyndalla a kol. je tvrzení, že vznik 7-hydroxy-4-(trifluormethyl)kumarinu (**32**), jehož syntézu pozorovali, je podmíněn prvotní transesterifikací β -ketoesteru, následovanou vytvořením kyslíkatého heterocyklu **31**, ze kterého se v posledním kroku eliminuje molekula vody. Nutné je však podotknout, že sami autoři zmiňují, že není možné jejich teorii zevšeobecnit pro všechny reakce tohoto typu, neboť největší rozdíl spočívá v použitém reakčním katalyzátoru, což je dále předmětem jejich bádání.¹³

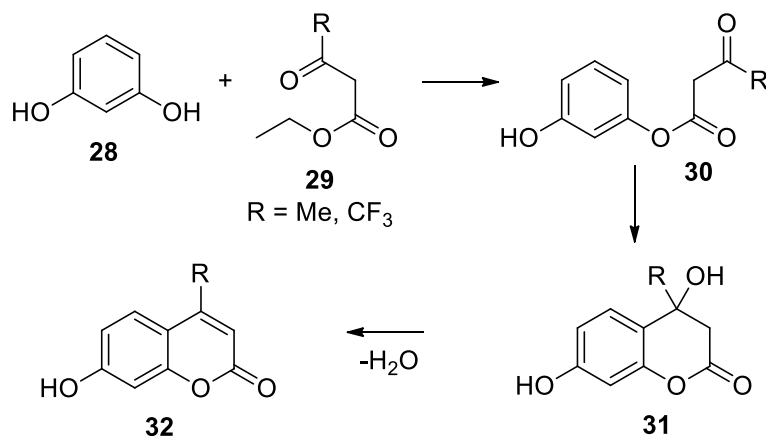


Schéma 7. Potenciální mechanismus Pechmannovy syntézy podle Tyndala a kol.

1.1.4 Knoevenagelova reakce

Jistou modifikací předchozí metody představuje Knoevenagelův způsob, který pro přípravu kumarinů využívá kondenzace 2-hydroxybenzaldehydů (**33**) s ethyl-acetoacetátem či dialkyl-malonátem následovanou intramolekulární cyklizací vzniklého meziproductu. Obvykle je tato reakce katalyzovaná bázemi nebo vhodnými kombinacemi aminů s karboxylovými a Lewisovými kyselinami. Touto metodou se nejčastěji připravují 3-karboxylové kyseliny kumarinu, 3-acetylkumariny, 3-benzoylkumarin a 3-amino případně 3-alkylaminokumariny.⁷

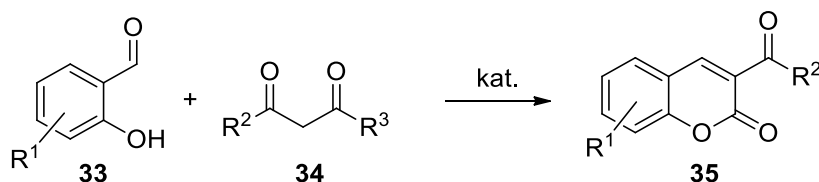


Schéma 8. One-pot syntéza kumarinu Knoevenagelovou reakcí.

Často se v reakcích tohoto typu používají bazické katalyzátory, jako je například piperidin. Podle článku z časopisu *Molecules* je možné zahříváním 3-ethoxysalicylaldehydu (**36**) s ethyl-acetoacetátem (**18**) v ethanolu s pár kapkami piperidinu připravit 3-acetyl-8-ethoxykumarin (**37**) dokonce s výtěžkem až 88 % (Schéma 9).¹⁴

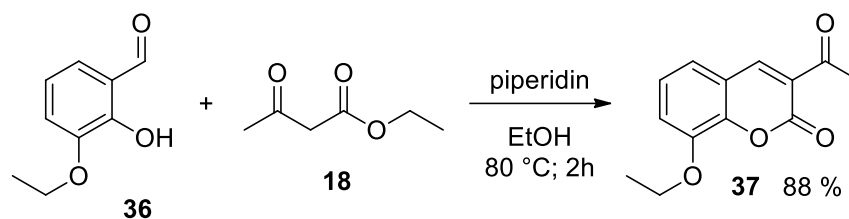


Schéma 9. Příprava 3-acetyl-8-ethoxykumarinu.

Samozřejmě existuje celá řada možností, jak reakci modifikovat. Jedním z nich je například použití Meldrumovy kyseliny (39), což zaujalo skupinu vědců v Mexiku, kteří srovnávali různé podmínky při přípravě kumarin-3-karboxylových kyselin (40) reakcí salicylaldehydů 38 se zmíněnou kyselinou bez přidavku katalyzátoru.¹⁵

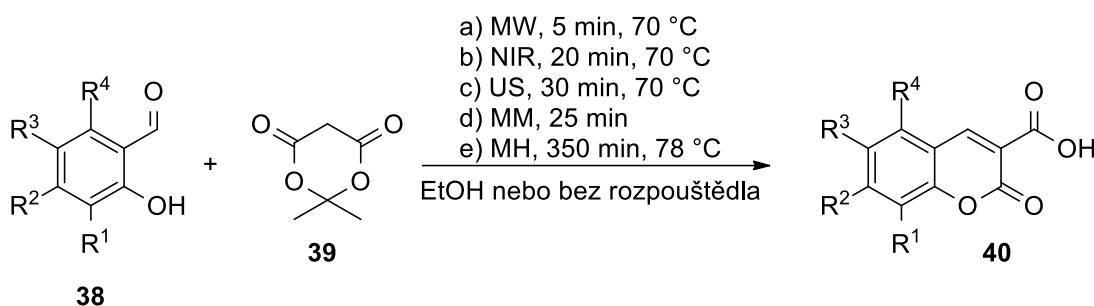


Schéma 10. Různé metody reakce salicylaldehydů a Meldrumovy kyseliny.

Z jejich výsledků vyvodili v podstatě tři závěry, a to, že z hlediska zvyšování výtěžku kumarin-3-karboxylových kyselin je efektivní reakční směs ozařovat blízkým infračerveným zářením (NIR) a že ve smyslu rychlosti spotřebování výchozí látky bylo nejvíce účinné mikrovlnné ozáření. Naopak v případech, kde v reakčních směsích nebylo přítomno rozpouštědlo, byly výtěžnosti požadovaných látek nižší.¹⁵

1.1.5 Wittigova reakce

Syntéza kumarinů Wittigovou reakcí vychází z derivátů salicylaldehydů, methyl- nebo ethyl-chloroacetátu a trifenylfosfinu v přítomnosti pestré variability katalyzátorů. Je vhodná pro syntézu 3,4-nesubstiovaných kumarinů, které jsou obtížně dostupné jinými reakcemi (Pechmannova a Knoevenagelova).^{7,16}

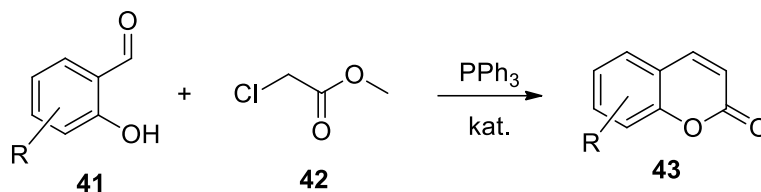


Schéma 11. Wittigova syntéza 3,4-nesubstituovaných kumarinů.

V jedné z jejích možných modifikací byla jako reakční prostředí použita iontová kapalina. Konkrétně lze v literatuře nalézt využití prostředí hexafluorofosforečnanu imidazoliové soli (BMIM-PF₆), ve kterém bylo připraveno několik derivátů 3,4-nesubstituovaných kumarinů (**Schéma 12**). Autoři zjistili, že důležitou roli při syntéze kumarinů hraje reakční teplota. Při laboratorní teplotě si jsou výchozí látky prakticky netečné. Při středních teplotách (přibližně kolem 100 °C) byla hlavním produktem sloučenina **46** a při teplotách převyšujících 200 °C výrazně v reakční směsi narůstal podíl produktu cyklizace **45**.⁷

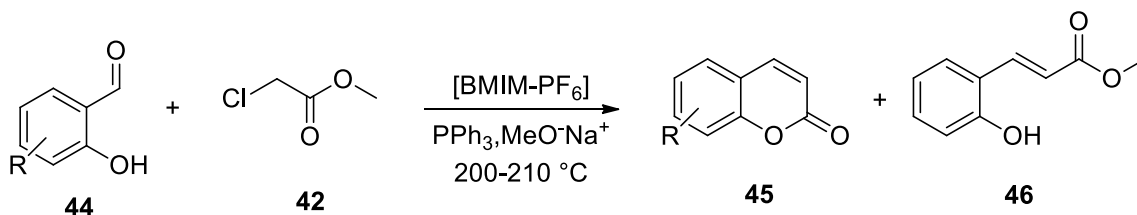


Schéma 12. Wittigova one-pot syntéza v BMIM-PF₆.

1.1.6 Kostaneckiova-Robinsonova metoda

K tvorbě kumarinů, obvykle 3- a 4-substituovaných, se také často využívá acylace *o*-hydroxyarylketonů účinkem anhydridů alifatických karboxylových kyselin následovanou cyklizací vzniklého meziprojektu. Při těchto reakcích však také vznikají chromen-4-ony tvořící se pravděpodobně z výchozí látky **47**, jejíž oxoskupina vystupuje ve formě enolu. Aby se zabránilo vzniku těchto nežádoucích produktů, je možné pro reakci použít estery kyseliny salicylové v přítomnosti sodíku nebo jiných bází.¹⁷

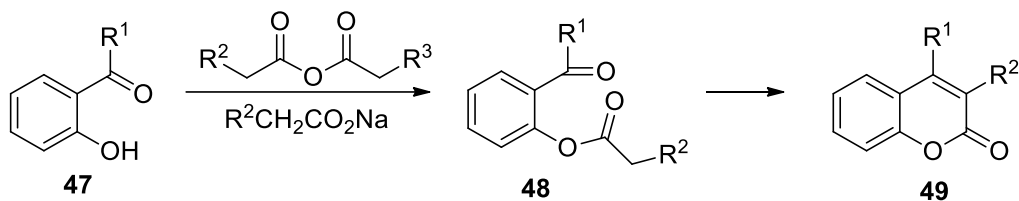
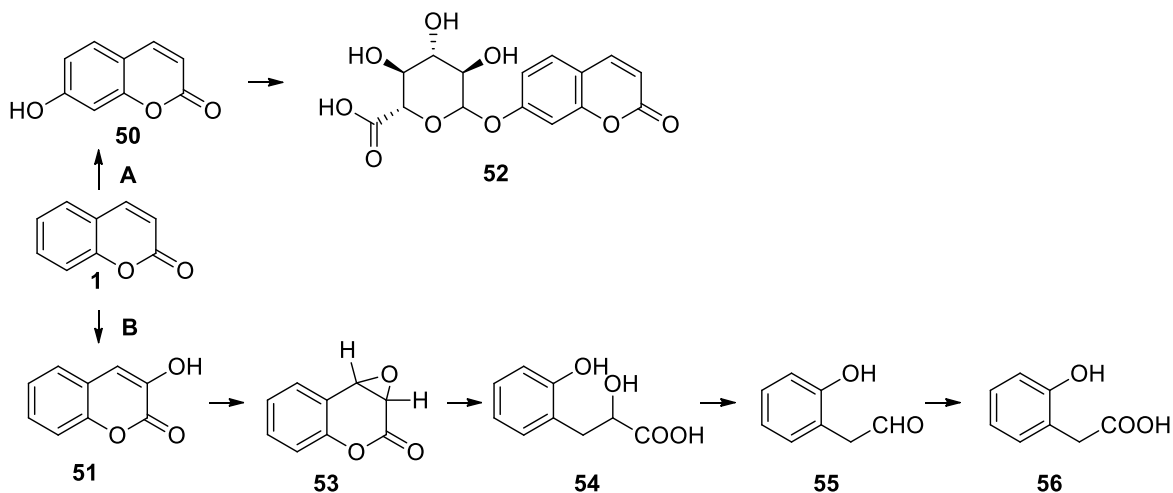


Schéma 13. Konstaneckiova-Robinsonova reakce.

1.2 Metabolismus kumarinu

Kumarin je v lidském těle metabolizován systémem cytochromu P540 vázaného na monoxygenázu (CYP2A6) v jaterních mikrozomech. Tím dochází k hydroxylaci kumarinu. Ačkoli by mohl být kumarin hydroxylován ve všech možných polohách (myšleno na atomech uhlíku 3, 4, 5, 6, 7 a 8), převládajícími metabolity jsou 7-hydroxykumarin (50) a 3-hydroxykumarin (51). První z nich čelí konjugační reakci fáze II (A na Obrázek 3), jejímž výsledkem je derivát glukuronidu (52), zatímco 3-hydroxykumarin se dále štěpí za vzniku dvou produktů (B na Obrázek 3). Metabolismus kumarinu v lidském těle, kyselin *o*-hydroxyfenylmléčné (54) a *o*-hydroxyfenyloctové (56). Vzhledem k tomu, že se ale u jednotlivců genetické a environmentální faktory liší, je samozřejmě možná i individuální variace tohoto metabolismu.¹⁸



Obrázek 3. Metabolismus kumarinu v lidském těle.

1.3 Farmakologická aktivita kumarinů

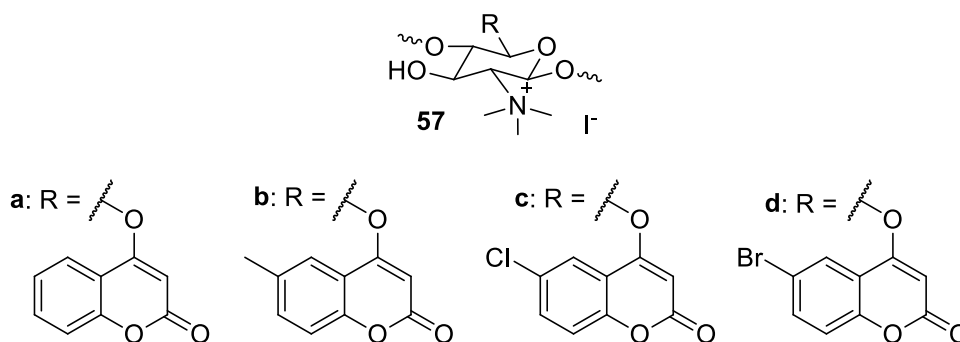
Mnoho farmakologických účinků kumarinů závisí na základní struktuře a pak samozřejmě také na její konkrétní substituci. Nejhojněji jsou studovány jejich antimikrobiální a antifungální, antivirové, antimutagenní, protizánětlivé, protirakovinné, antikoagulační a cytotoxické účinky.²

Četné biofarmakologické aktivity jistě závisí na chemické struktuře a fyzikálně chemických vlastnostech kyslíkatého heterocyklu, který umožňuje snadnou vazbu na mnoho proteinových cílů. Benzenový kruh 2*H*-chromen-2-onu je planární, aromatický a lipofilní, a je tedy schopen interagovat s biologickými protějšky, zejména s lipofilními vazebnými místy díky vytvoření hydrofobních interakcí či π - π stacking interakcí s aromatickými aminokyselinami. Kladně nabitě aminokyseliny mohou vázat kumariny prostřednictvím silných interakcí kation- π . Kromě toho také laktonová skupina kumarinu propůjčuje molekule schopnost se vázat pomocí vodíkových vazeb a dipól-dipólových interakcí. Může také docházet k acylaci proteinů, která je důsledkem inhibice některých enzymů. Enzymy esterasy mohou způsobit otevření laktonového kruhu a sloučeniny, které jsou výsledkem této hydrolýzy, mohou být odpovědné za pozorovanou biologickou aktivitu. V těchto případech kumariny působí jako proléčiva a jsou bioaktivovány, aby mohlo dojít k uvolnění skutečně aktivních metabolitů. Ať už je mechanismus účinku projevené aktivity kumarinu jakýkoliv, síla vazby na cíl se zvyšuje o další interakce navázaných substituentů.¹⁹

1.4 Antioxidační aktivita kumarinů

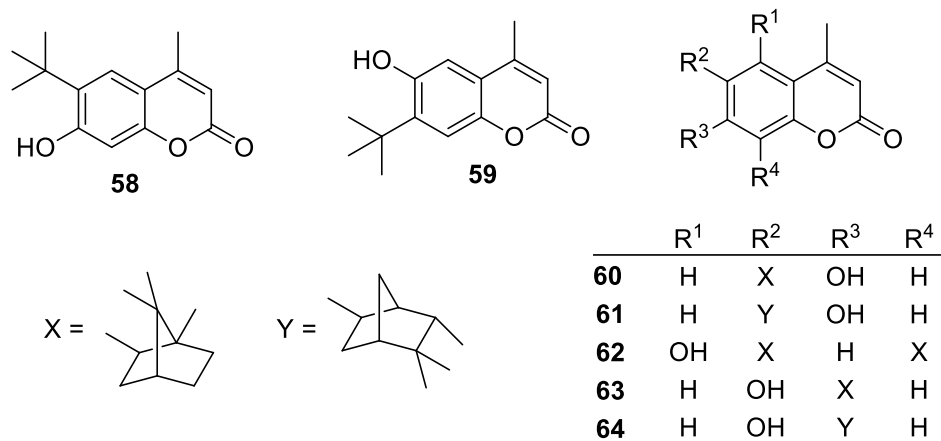
Při metabolických procesech ve zdravém lidském těle dochází ke vzniku volných radikálů a dalších vysoce reaktivních individuů jako jsou ionty, molekuly s nepárovými elektrony, reaktivní druhy kyslíku, uhlíku, dusíku nebo síry (ROS, RCS, RNS, RSS). Pokud dojde k nadprodukcí těchto látek, oxidační procesy mohou poškodit buňky, ovlivnit buněčné organely a způsobit nerovnováhu iontů a mitochondriální dysfunkci. Poškození oxidačním stresem je dnes už dobře známé, dochází ke vzniku zánětů, kardiovaskulárních onemocnění, rakoviny, cukrovky či neurodegenerativních poruch. Proto mohou být exogenní antioxidanty užitečné k udržování optimální koncentrace radikálů nebo snížení jejich množství a zabránění oxidačního stresu.

V poslední době je důkladně zkoumán antioxidační potenciál přírodních i syntetických kumarinů a vyšlo najevo, že polyhydroxylové či fenolické kumariny mohou být v biologických systémech účinnými antioxidanty. Zajímavá je studie zabývající se hybridními sloučeninami chitosanu a kumarinových derivátů. Jak chitosan, tak kumarin vykazují antioxidační aktivitu, bylo tedy očekáváno, že spojením těchto dvou sloučenin dojde k jejímu navýšení. Pomocí kyseliny linoleové jako standardu byla vyhodnocena inhibice lipidové peroxidázy. Nejlepší výsledek se projevil u sloučeniny **57d** (aktivita asi 3,5krát lepší než u samotného chitosanu; provádí se kvantifikace inhibice TABRS). Dále byla u látek **57a–d** hodnocena jejich schopnost zachycovat volné radikály ($\bullet\text{OH}$, DPPH, $\bullet\text{O}_2^-$), kdy všechny sloučeniny testovaných kumarinů vykazovaly lepší výsledky než chitosan. Závěrem z jejich studie vyplynulo, že připojením chitosanu ke kumarinovému skeletu se antioxidační aktivita výrazně zvyšuje.²⁰



Obrázek 4. Sloučeniny chitosanu a kumarinu.

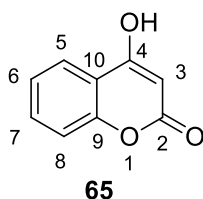
Podobným tématem se zabývali Popova se svou skupinou, kteří syntetizovali sérii 4-methylkumarinů **58–64** substituovaných *tert*-butylem, isobornylem a isocamphylem (**Obrázek 5**). Všechny testované sloučeniny inhibovaly vznik produktů lipidové peroxidace. Posuzována byla také ochrana buněčné stěny. Při této metodě se měří inhibiční aktivita proti hemolýze červených krvinek vyvolané přítomností H_2O_2 . Nejslibnějších účinků se dosáhlo u sloučenin **11–13**, které významně inhibují oxidaci hemoglobinu v červených krvinkách.²¹



Obrázek 5. Struktury antioxidantních *tert*-butylkumarinů a terpenylkumarinů.

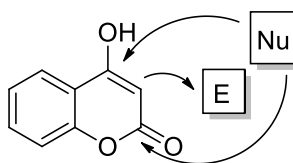
2 4-HYDROXYKUMARINY

4-Hydroxykumariny, deriváty kumarinu s hydroxylovou skupinou v poloze 4, jsou jednou z nejzajímavějších a nejvýznamnějších skupin látek odvozených od kumarinu, a to především díky svým biologickým vlastnostem a charakteristické struktuře. Mnoho z nich vykazuje významné farmakologické účinky, do kterých můžeme zahrnout analgetické, antipyretické, protizánětlivé, antibakteriální a antivirové, protirakovinné a další. Nejčastěji se však využívají jako antikoagulanty při léčbě poruch, u nichž dochází k nadměrnému či nežádoucímu srážení krve (plicní embolie, některá srdeční onemocnění). Hlavní výhodou je jejich nízká toxicita a malé množství doprovázejících vedlejších účinků.²² Antikoagulační účinky byly objeveny, když se u hospodářských zvířat krmených potravou s plesnivou komonicí lékařskou vyvinulo onemocnění charakterizované vnitřním krvácením. Tato pícnina totiž přirozeně obsahuje kyselinu kumarinovou, kterou mohou běžné plísně (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*) fermentovat na 4-hydroxykumarin (**65**) a jeho derivát dikumarol (**8**).^{23,24}



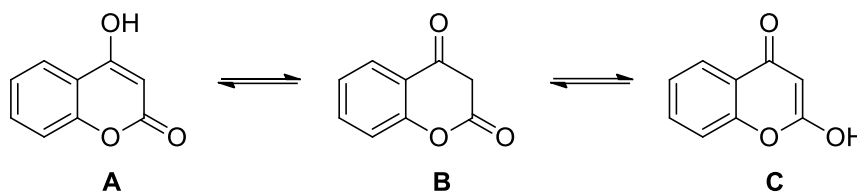
Obrázek 6. Struktura 4-hydroxykumarinu

Při pohledu na strukturu (**Obrázek 7**) 4-hydroxykumarinu je zřejmé, že obsahuje jeden elektrofilní a dva nukleofilní atomy uhlíku. Je více než 100 let známo, že u těchto sloučenin je nejvýznamnější reaktivita atomu uhlíku v poloze 3, kde jsou známé například Mannichova, halogenační nebo různé couplingové reakce. Atom kyslíku hydroxylové skupiny je převážně, a to většinou za účelem její protekce, modifikace elektronových poměrů uvnitř molekuly nebo změny její polaroty, acylován nebo alkylován.²⁵



Obrázek 7. Reaktivita atomů uhlíku v různých polohách heterocyklu.

Také je patrné, že 4-hydroxykumariny mohou existovat ve třech tautomerních formách, jejichž podoby, 4-hydroxychromen-2-onu (**A**), chroman-2,4-dionu (**B**) a 2-hydroxychromen-4-onu (**C**), jsou zobrazeny na **Obrázku 8**.



Obrázek 8. Tautomerní formy 4-hydroxykumarinu.

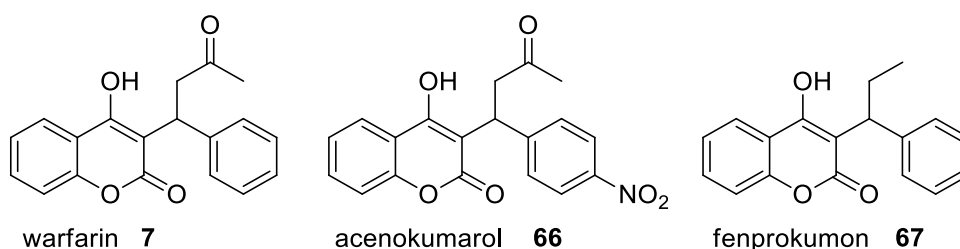
Sloučenin odvozených od 4-hydroxykumarinu je známo nepřeberné množství. Jak již bylo zmíněno, nejdůležitější zástupci patří do skupiny antikoagulantů a antagonistů vitamínu K.²⁵

2.1 Kumarinová antikoagulancia

Kumarinová antikoagulancia, nejtypičtějším příkladem je warfarin, dále pak acenokumarol a fenprokumon, jsou již více než půl století používána na léčbu tromboembolických nemocí. Warfarin byl poprvé syntetizován v roce 1948 v laboratoři Karla Linka ve Wisconsinu v USA jako jedna z nových látek v projektu, který se zabýval vývojem silnějších rodenticidů (látky určené k hubení hlodavců) založených na struktuře dikumarolu. V 50. letech 20. století, kdy bylo terapeutikum zavedeno do klinické praxe, četnost jeho užívání začala rychle narůstat a v novém tisíciletí byl warfarin ve Spojených státech jedním z 20 nejvíce předepisovaných léků. Dnes je warfarin celosvětově nejběžněji užívaným perorálním antikoagulantem. Používá se především k léčbě a prevenci tromboembolických stavů, jako je hluboká žilní trombóza, akutní infarkt myokardu a cévní mozková příhoda. Orální antikoagulanty jsou považovány za vysoce účinná léčiva. Snižují riziko úmrtí na infarkt myokardu až o 24 %, samotný warfarin snižuje mozkovou příhodu u pacientů s fibrilací síní až o 60 %. Je však nutné zvážit tyto výhody i proti dobře známým rizikům perorální antikoagulační léčby. Nejběžnějším nežádoucím účinkem je krvácení (nejobávanější je mozkové a retroperitoneální), pro jehož zmírnění či úplného zastavení je nezbytný zásah lékařů. Určení optimálního příjmu léčiva, které si bude udržovat efektivní antikoagulační účinek a zároveň bude minimalizovat riziko krvácení, je však obtížné. Při léčbě je nutné brát v potaz případné interakce s jinými léčivy a potravinami, také faktory

chronických a akutních chorob. V poslední době se také začíná pozorovat dědičná rezistence na kumarinové antikoagulanty, která souvisí s polymorfismem enzymů CYP29C a VKORC1, jimiž jsou kumarinové antikoagulanty metabolizovány. Problémy zde mohou představovat i řada dalších vrozených dispozic, a proto v úvodu antikoagulační léčby je vhodné provést genetické testování, díky čemuž by se dalo vyhnout předávkování pacienta.^{26,27,28}

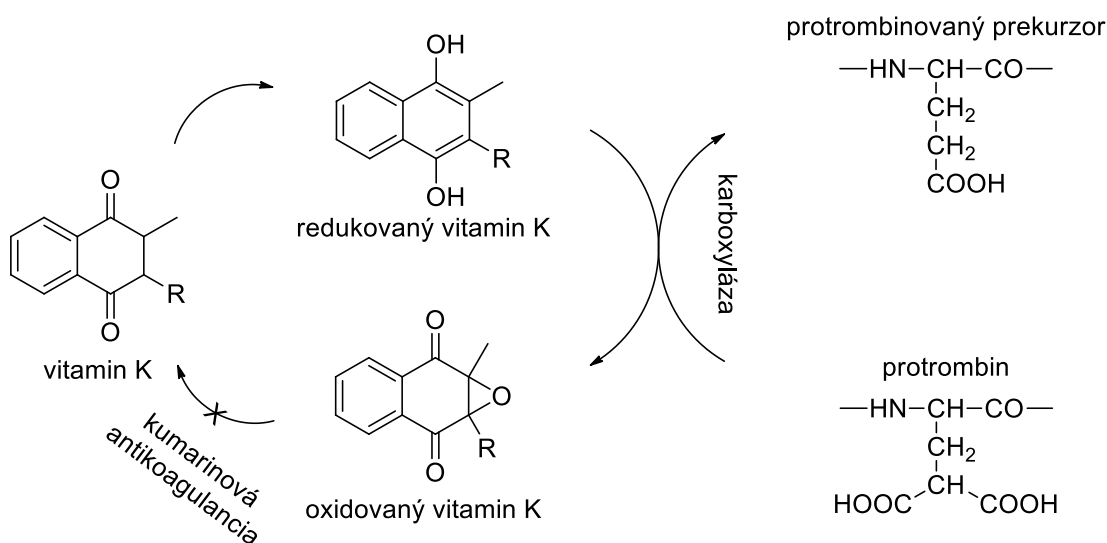
Z chemického hlediska mají všechna kumarinová antikoagulantia ve své struktuře skelet 4-hydroxykumarinů, který je esenciální pro farmakologický účinek, tedy pro antagonismus vitamínu K. Na **Obrázku 9** jsou z této terapeutické oblasti uvedena tři nejdůležitější léčiva, warfarin (**7**), acenokumarol (**66**) a fenprokumon (**67**).



Obrázek 9. Nejdůležitější kumarinové antikoagulanty.

2.1.1 Mechanismus účinku kumarinových antikoagulantů

Antikoagulační vlastnosti warfarinu a dalších kumarinových léčiv jsou založené na účasti při tvorbě koagulačních faktorů protrombinového komplexu II, VII, IX a X závislých na vitamínu K. Tyto faktory se tvoří v játrech a podílí se na srážlivosti krve. Při tvorbě těchto faktorů jsou jejich nekompletní molekuly s dekarboxylovanými zbytky kyseliny glutamové převáděny na kompletní molekuly schopné aktivace – dochází k jejich karboxylaci, která je katalyzována enzymem karboxylázou. Aby karboxyláza správně fungovala, vyžaduje redukovanou formu vitamínu K. Redukci vitamínu K zajišťuje enzym vitamin K-epoxid reduktáza. Kumarinové antikoagulanty blokují reduktázu vitamínu K a tím i karboxylaci neaktivních molekul faktorů a nastává porucha koagulace (**Obrázek 10**).²⁹

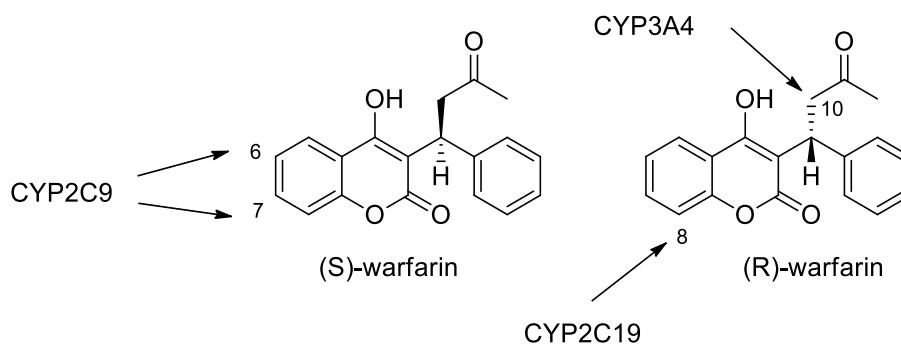


Obrázek 10. Mechanismus účinku kumarinových antikoagulantů.

2.1.2 Metabolismus a farmakokinetika kumarinových antikoagulantů

Warfarin, acenokumarol a fenprokumon jsou slabé organické kyseliny s pH kolem 5. Všechny jsou po orálním podání ze zažívacího traktu velmi dobře absorbovány do krve a váží se na plazmové proteiny. Tyto tři léčiva sdílí společnou metabolickou cestu. Nejprve dochází k hydroxylaci na atomu uhlíku 7 kumarinového skeletu, která je ve větší či menší míře závislá na enzymu CYP2C9. Kvantitativní význam metabolismu pomocí CYP2C9 se ale značně liší a závisí na stereochemii léčiv. Všechny tři zmiňované deriváty mají k heterocyklu k poloze 3 vázaný asymetrický atom uhlíku. Jelikož se pacientům podávají v podobě racemátů, je nezbytné pro určení dávky brát v potaz metabolismus *R* i *S* izomeru.

Warfarin je metabolizován v lidském těle téměř úplně, jen malé množství nevyužitého léčiva je vyloučeno močí. *S*-warfarin je metabolizován převážně na 7-hydroxylové a 6-hydroxylové metabolity pomocí CYP2C9. Naproti tomu jeho enantiomer je oxidativně převeden na 10-hydroxylové a 8-hydroxylové metabolity (pomocí CYP3A4 a CYP2C19), které následně redukcí karbonylového postranního řetězce tvoří warfarinové alkoholy. Tyto alkoholy si zachovávají asi 10 % aktivity původního léčiva, zatímco metabolity *S*-warfarinu nejsou farmakologicky aktivní vůbec. V inhibici vitamin K reductázy je však *S* forma až 3× účinnější než enantiomer *R* a je jí proto přisuzován větší význam pro antikoagulační funkci.³⁰



Obrázek 11. Enzymy podílející se na metabolismu warfarinu u člověka.

Acenokumarol je nitrovaný analog warfarinu a předpokládalo se, že metabolismus bude probíhat přes redukci následovanou *N*-acetylací léčiva, což je obvyklý způsob metabolismu aromatických sloučenin obsahujících nitroskupinu. Tyto cesty však pozorovány nebyly.

Bylo zjištěno, že metabolismus acenokumarolu i fenprokumonu je kvalitativně stejný jako u warfarinu, to znamená, že pomocí CYP2C9 vznikají inaktivní hydroxylované metabolity. Z kvantitativního hlediska je ale *R*- i *S*-acenokumarol metabolizován až 66× účinněji než warfarin.²⁷

2.2 Syntéza 4-hydroxykumarinů

2.2.1 Příprava nesubstituovaného 4-hydroxykumarinu

V literatuře lze nalézt mnoho různých způsobů, jak připravit nesubstituovaný 4-hydroxykumarin. Jeden z nejjednodušších a nejstarších postupů využívá reaktivity zahřáté směsi fenolu, kyseliny malonové, trichloridu fosforu a bezvodého chloridu zinečnatého (**Schéma 14**). Principiálně ve směsi nejprve účinkem fosforylchloridu dochází k tvorbě dichloridu kyseliny malonové, který až poté reaguje s přítomným fenolem. Hlavní výhodou této metody je nízká cena reagentů a jejich dostupnost, nicméně výtěžek je poměrně nízký (průměrně 50 %) a reakční čas dlouhý (12 h).³¹

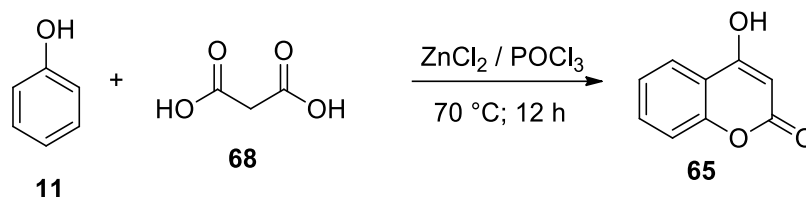


Schéma 14. Syntéza 4-hydroxykumarinu vycházející z fenolu a kyseliny malonové.

Záměnou kyseliny malonové za kyselinou Meldrumovou a upravením reakčních podmínek lze výtěžek výrazně zvýšit. Jejich interakcí při teplotě 90 °C téměř kvantitativně vzniká fenyl-malonát (**69**), který se následně působením Eatonova činidla, což je přibližně 8% roztok oxidu fosforečného v methansulfonové kyselině, přeměněn na 4-hydroxykumarin. Obdobný účinek byl pozorován u kyseliny polyfosforečné (PPA), ovšem pro požadovanou cyklizaci je potřeba výrazně delšího času a ani tak výtěžek není zcela uspokojivý (**Schéma 15** **Schéma 15.** Syntéza 4-hydroxykumarinu reakcí fenolu s Meldrumovou kyselinou.).²⁵

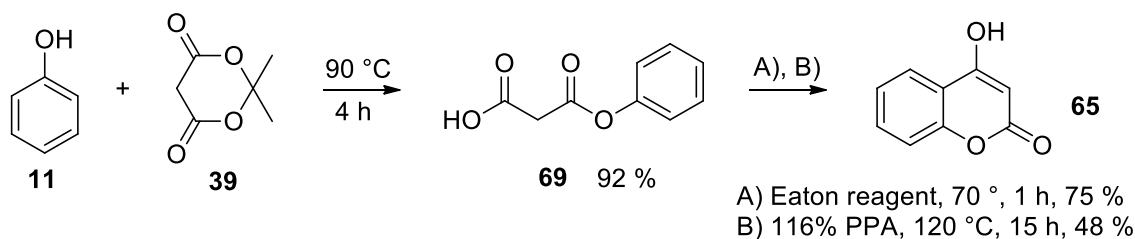


Schéma 15. Syntéza 4-hydroxykumarinu reakcí fenolu s Meldrumovou kyselinou.

Druhé postupy využívají jako výchozí látku 2-hydroxyacetofenon (**70**), který při reakcích s acylačními činidly (např. fosgen, dimethylkarbonát, diethylkarbonát) za účinku stechiometrického množství báze poskytuje 4-hydroxykumarin s různými výtěžky (**Schéma 16**). Za tímto účelem byla vyzkoušena celá řada různých bází, z nichž se v těchto experimentech jako nejvhodnější ukázali hydrid sodný, dále ethoxid sodný, sodík a čerstvě připravený 3-aminopropylamid sodný (NAPA).²⁵

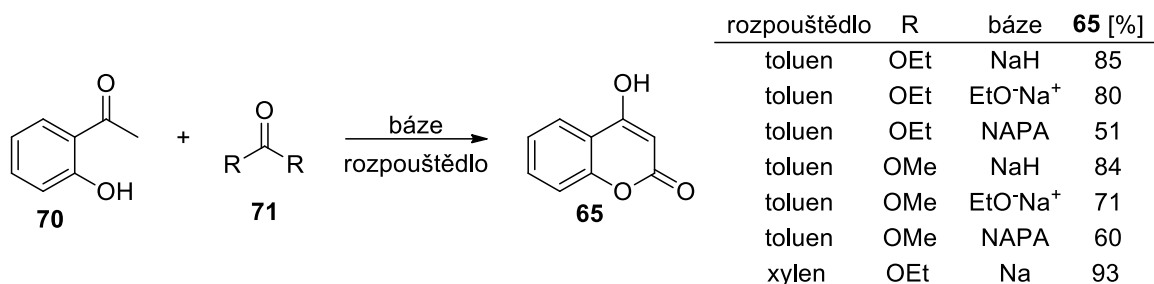


Schéma 16. Reakce 2-hydroxyacetofenonu a acylačních činidel.

Zajímavá je práce Travena a jeho spolupracovníků, kteří syntetizovali 4-hydroxykumarin reakcí 2-hydroxyacetofenonu s trichloracetonitrilem a *N*-methyl-*N*-anilinylmagnesium bromidem (Schéma 17). Získaný meziprodukt 72 byl v kyselém prostředí kyseliny chlorovodíkové nejprve zacyklen a dále byla alkalickou hydrolýzou odstraněna trichlormethylová skupina.²⁵

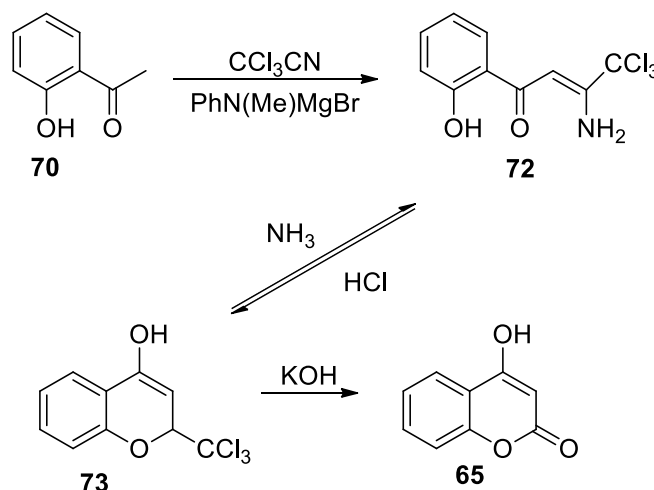


Schéma 17. Syntéza 4-hydroxykumarinu vycházející z 2-hydroxyacetofenonu.

2.2.2 Příprava 3-substituovaných 4-hydroxykumarinů

Syntézu derivátů 4-hydroxykumarinu v poloze 3 substituovaných alkylovým nebo arylovým uhlovodíkovým zbytkem, jejichž příprava a reaktivita byly hlavním předmětem studia této práce, je možné provádět několika způsoby, z nichž bude pojednáno pouze o některých vybraných. Jedny z metod vycházejí z 3-nesubstituovaných 4-hydroxykumarinů, na které jsou zavedeny alkylové nebo arylové skupiny. První z příkladů, který je možné představit, je dvoukroková Suzukiho reakce (Schéma 18). Jejím počátečním krokem je syntéza fenylijodonium kumarinátu (74), což je elektrofilní molekula

s kladným nábojem na atomu jodu. Ten je kompenzován vnitřním záporným nábojem, který se nachází buď na α -uhlíku, případně delokalizovaný na sousedním kyslíku. Poté je ze vzniklého zwitterionu reakcí s fenyloborovou kyselinou katalyzovanou palladnatou solí získán 3-fenyl-4-hydroxykumarin (**75**) s výtěžkem 72 %.^{32,33}

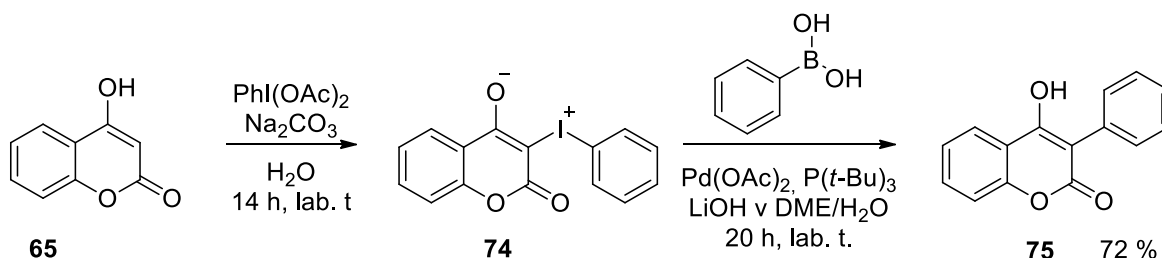


Schéma 18. Syntéza 3-fenyl-4-hydroxykumarinu Suzukiho reakcí.

Identický derivát **75** je také možné syntetizovat fotoiniciovanou nukleofilní substitucí 4-hydroxykumarinu jodbenzenem v dimethylsulfoxidu za přídavku *tert*-butanolátu draselného jako velmi silné báze sloužící k odštěpení protonu z polohy 3 (**Schéma 19**). Po několika hodinovém ozařování reakční směsi v reaktoru vybaveném dvěma 400 W lampami emitujícími maximálně při 350 nm byl izolován 3-fenyl-4-hydroxykumarin (**75**) s výtěžkem 75 %.³⁴

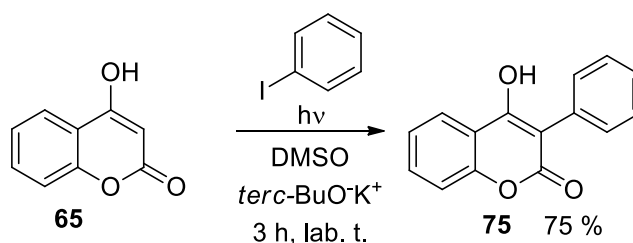


Schéma 19. Syntéza 3-fenyl-4-hydroxykumarinu s jodbenzenem iniciovanou světlem.

Jedna ze starších, ale i dodnes používaných konvenčních metod, byla popsána v roce 1957, kdy C. Mentzer a P. Vercier zahřívali diethyl-fenylmalonát (**76**) s fenolem (**Schéma 20**).³⁵ Ve znázorněné reakci, obvykle prováděné za vyloučení přítomnosti rozpouštědla či dodatečné báze, byly výchozí suroviny zpočátku zahřívány na nižší teplotu, při které došlo k interakci hydroxylové skupiny fenolu s jednou funkční skupinou diesteru za odštěpení molekuly ethanolu. Zvýšením teploty přibližně na 350 °C a jejím udržováním po dobu přibližně 2 hodin byla kondenzace dokončena a požadovaný derivát **75** byl získán s výtěžkem více než dobrým.

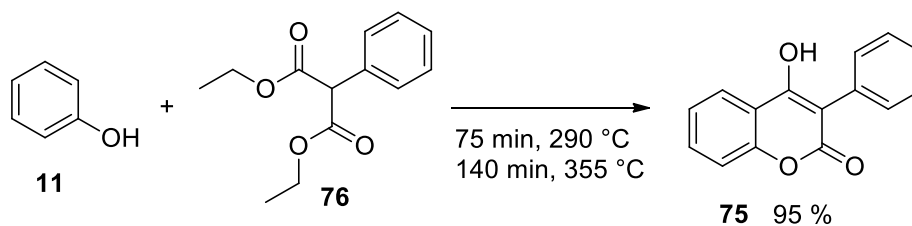


Schéma 20. Příprava 3-fenyl-4-hydroxykumarinu podle Mentzera a Verciera.

Autoři předchozího popsaného postupu v podstatě navázali na výsledky práce Zieglera a Junka, kteří připravili sérii 3-alkyl a 3-arylderivátů 4-hydroxykumarinů vysokoteplotním záhřevem příslušných difenyl-malonátů **78a-f** v přítomnosti AlCl_3 . Výtěžky reakce lze nalézt v tabulce ve **Schématu 21**.³⁶

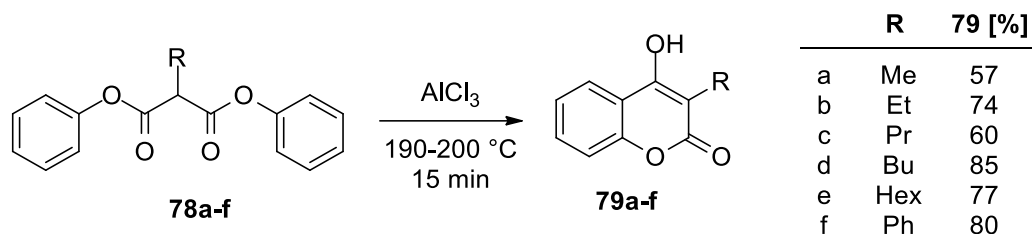


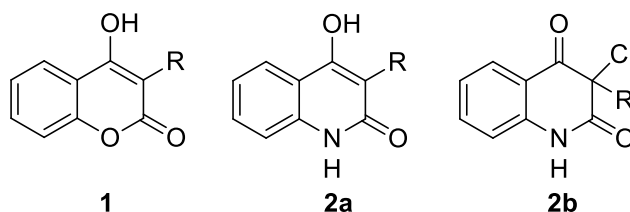
Schéma 21. Příprava 4-hydroxykumarinů podle Zieglera a Junka.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Úvod do problematiky

Vědecká skupina doc. Kafky a prof. Kláska působící na Ústavu chemie FT UTB se zabývá již několik desítek let problematikou derivátů 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů **2a**. Za tuto dlouhou dobu byla v chemii těchto dusíkatých heterocyklů značně prozkoumána oblast jejich reaktivity, čímž bylo připraveno velké množství zajímavých sloučenin rozmanitých struktur, které byly publikovány ve více než čtyřiceti odborných člancích.



Obrázek 12. Struktura 4-hydroxykumarinů **1**, 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onů **2a** a 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **2b**.

Postupem času vyvstala otázka, do jaké míry jsou si svou reaktivitou 4-hydroxykumariny podobné strukturně analogickým 4-hydroxychinolin-2(1*H*)-onům? Nezbylo nic jiného, než se pokusit připravit alespoň pár zástupců 4-hydroxykumarinu **1** a ty vystavit běžným reagentům používaným k základním modifikacím heterocyklické části 4-hydroxychinolin-2-onů **2a**. Drtivá většina různých přeměn dusíkatého heterocyklu chinolonových derivátů vychází z daleko reaktivnější formy, 3-chlorchinolin-2,4(1*H*,3*H*)-dionů **2b**.

Při rychlém pohledu na základní struktury zmiňovaných derivátů je zcela zřejmé, že se liší „pouze“ heteroatomem včleněným do kruhu. Detailnějším rozbořením, si jistě každý všimne, že je v jejich sousedství přítomna oxoskupina, díky které můžeme jednu sloučeninu, 4-hydroxykumarin **1**, zařadit do skupiny cyklických esterů a druhou, 4-hydroxychinolin-2-on **2a**, do skupiny cyklických amidů, což činí z látek absolutně rozdílně reaktivní sloučeniny. Nicméně v literatuře jistá podoba analogické reaktivity zaznamenána byla a na základě ní byl navržen syntetický plán (**Schéma 22**) směřující k 3-halogenovaným chroman-2,4-dionům **5**.

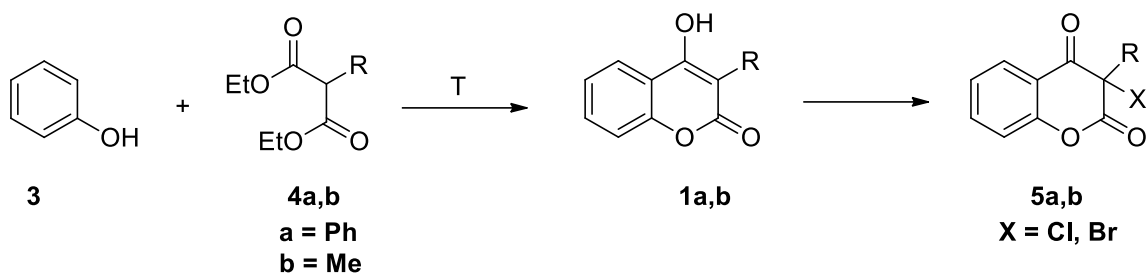
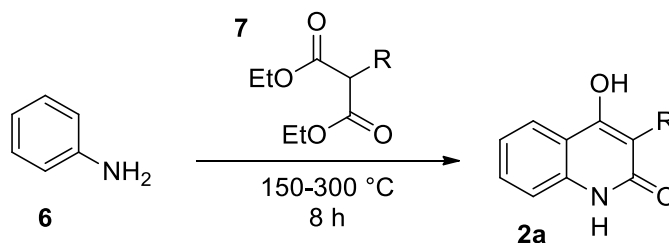


Schéma 22. Původní plán práce

Jak tomu ale bývá, ne vždy je očekávání naplněno. Po provedení několika experimentů se ukázalo, že některé zamýšlené sloučeniny se pravděpodobně i přes veškerou snahu nepodaří získat. Namísto očekávaných produktů byly z reakcí izolovány látky jiného charakteru, které jsou sice v literatuře částečně popsány, avšak byly připraveny již před desetiletími jiným způsobem, z jiných výchozích látek nebo konverzí stejných surovin, ale s využitím jiných reagentů.

3.2 Diskuze výsledků

Před započítím práce byla představa připravit dva základní deriváty 4-hydroxykumarinu **1a,b**, které budou v poloze 3 obsahovat jednoduchý alkylový a arylový substituent, konkrétně pak methylovou a fenylovou skupinu. Jak již bylo výše řečeno, syntéza těchto látek měla být obdobná jako příprava jejich dusíkatých analogů. Tato reakce byla na Ústavu chemie provedena nesčetněkrát a optimalizována natolik, že poskytuje 4-hydroxychinolin-2-ony **2a** s rozmanitou substitucí v poloze 3 ve vynikajících výtěžcích obvykle převyšujících magickou hranici 90 % (Schéma 23).

Schéma 23. Příprava 4-hydroxychinolin-2-onů (**2a**).

Zachováním stejného principu, reakčních podmínek a pracovního postupu jako v syntéze 4-hydroxychinolin-2-onů **7**, byla pro přípravu 4-hydroxykumarinů **1** několik hodin zahřívána směs fenolu a odpovídajícího diethyl-malonátu na poměrně vysokou teplotu. První kroky byly směřovány k přípravě 3-fenylového derivátu 4-hydroxykumarinu **1a**, a to z toho důvodu, že z dřívějších zkušeností při práci s chinolony se vždy fenylový derivát, oproti jiným, a to jak při izolaci, tak i při následné purifikaci, chová nejlépe. Taktéž vysoká teplota varu fenylového malonátu (kolem 300 °C³⁷) je při samotném progresu reakce výhodou. Nevýhodou je však obtížnější vyhodnocování NMR spekter, neboť signály protonů fenylového substituentu se často překrývají se signály atomů vodíků benzenového kruhu heterocyklu.

Termální kondenzace fenolu (**3**) s diethyl-fenylmalonátem (**4a**) probíhala zcela podle očekávání a v souladu s literaturou³⁵ (Schéma 24). Reaktanty byly smíchány v baňce umístěné v aparatuře, která umožňuje oddestilování těkavých látek. Při reakci totiž jako vedlejší produkt vzniká stechiometrický dvojnásobek ethanolu, který je možné z reakční směsi průběžně oddestilovávat a na základě jeho množství monitorovat průběh reakce. Surový produkt byl, po opakovaném digerování reakční směsi ve vroucím toluenu, přečištěn jeho vysrážením z alkalického 0,5 M roztoku hydroxidu sodného 5% kyselinou chlorovodíkovou. Takto přečištěný 3-fenyl-4-hydroxykumarin (**1a**) byl po krystalizaci z ethanolového roztoku získán s dobrým výtěžkem 47 %.

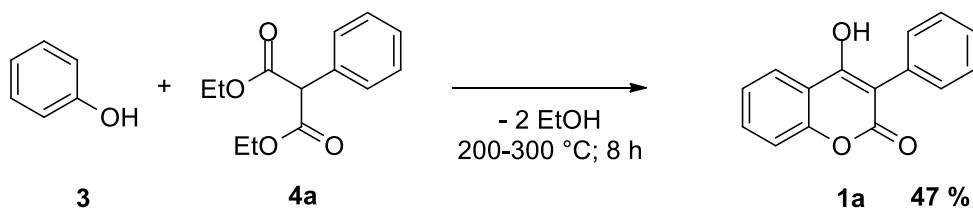
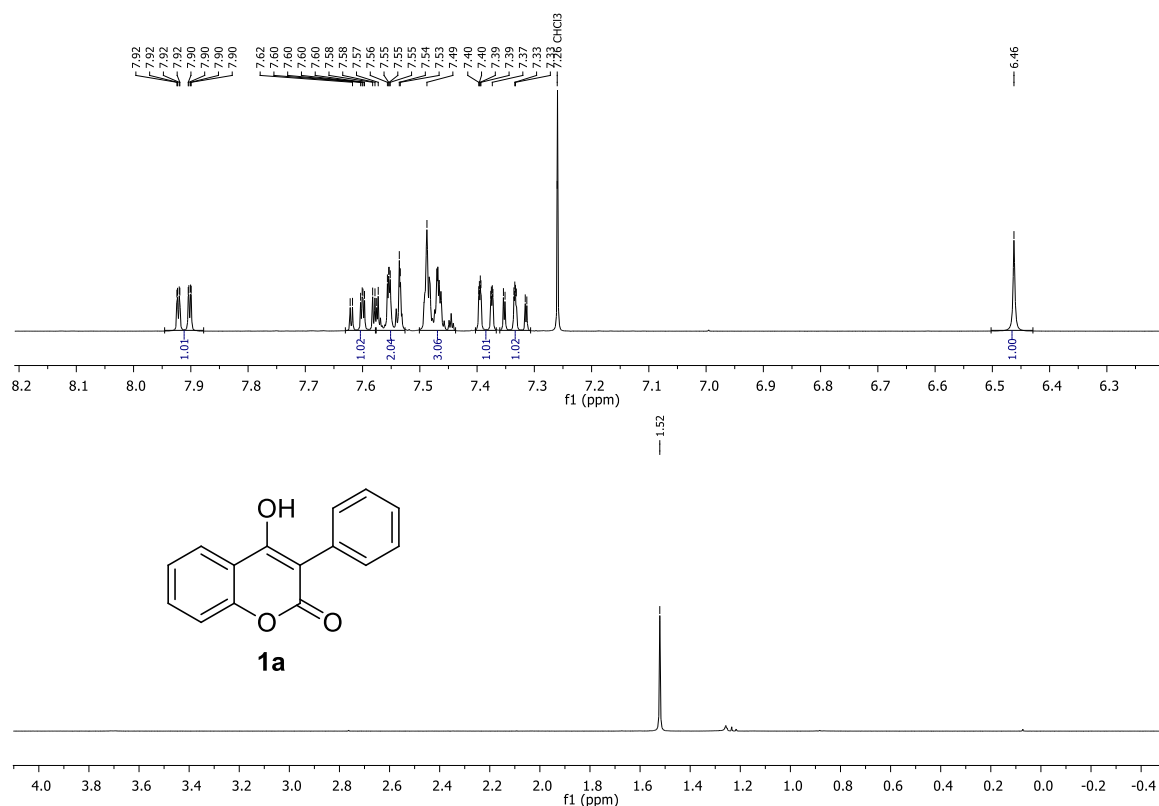


Schéma 24. Příprava 3-fenyl- 4-hydroxykumarinu **1a**.

Předpokládanou strukturu 4-hydroxykumarinu **1a** potvrdila změřená NMR a GC-MS spektra. Dle očekávání se v alifatické oblasti ¹H NMR spektra, pomineme-li singlet při 1,52 ppm představující signál vody, nevyskytovaly žádné signály (Obrázek 13). Z přítomných signálů vyskytujících se při vyšších hodnotách ppm stojí převážně za zmínku singlet při 6,46 ppm. Při rozboru 2D NMR spekter vyplynulo, že proton, který charakterizuje tento signál, není vázaný k atomu uhlíku a současně nemá ve své blízkosti jiný atom vodíku. Jelikož v HMBC NMR spektrech jsou patrné korelace s atomy uhlíku C-4 a C-4a, je zcela

zřejmé, že se jedná o proton hydroxylové skupiny vázané k atomu uhlíku C-4, čímž je současně potvrzena i konkrétní tautomerní forma.



Obrázek 13. Výřez z ^1H spektra 3-fenyl-4-hydroxykumarinu **1a**.

Na základě předchozího úspěchu s 3-fenylkumarinem **1a** byl proveden analogický pokus o přípravu methylového derivátu, pouze s tím rozdílem, že byl použit jiný diester kyseliny malonové, diethyl-methylmalonát. Tento ester má výrazně nižší teplotu varu než jeho fenylový derivát, proto bylo zvyšování teploty lázně ohřívající reakční směs velmi pozvolné. Ze zkušeností s chemií chinolonů víme, že pokud je ohřev příliš prudký, často dochází k jeho částečnému vyvaření a tím je značně ovlivněn výtěžek produktů. Po pozvolné osmi hodinové destilaci při teplotách do $200\text{ }^\circ\text{C}$ byla reakce zpracována stejným způsobem jako u fenylového derivátu, nalitím horké směsi do toluenu, ovšem v tomto případě nedošlo k vyloučení žádného pevného podílu. Analýzou TLC bylo prokázáno, že v daném roztoku je obsažen pouze fenol, ester malonové kyseliny a několik dalších nečistot. Reakce byla následně opakována, ale s tím rozdílem, že výchozí látky byly nejprve 8 h zahřívány při $300\text{ }^\circ\text{C}$ pod zpětným chladičem a až posléze byla použita destilační aparatura (teplota $180\text{ }^\circ\text{C}$ postupně zvyšována až na $300\text{ }^\circ\text{C}$) pro oddestilování potenciálně kondenzací uvolněného ethanolu (**Schéma 25**). Směs začala od teploty přibližně $180\text{ }^\circ\text{C}$ destilovat.

Postupně během destilace byly brány po malých množstvích frakce, ze kterých, i z destilačního zbytku ve varné baňce, byly změřeny jejich 1D NMR spektra. Prakticky ve všech frakcích se objevovaly signály příslušející fenolu a malonátu v různých poměrech. Signály, které by mohly představovat produkt reakce, nebyly v žádném změřeném vzorku zaznamenány.

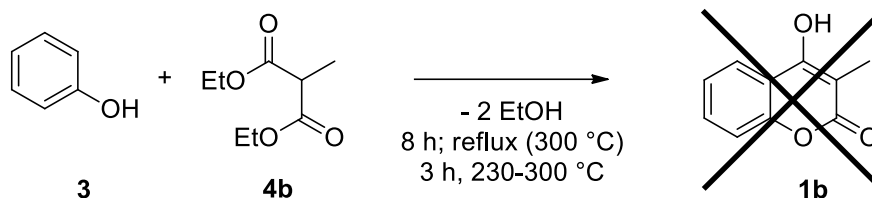


Schéma 25. Neúspěšný pokus o přípravu 4-hydroxy-3-methylkumarinu **1b**.

Jelikož se tato metoda syntézy methylového derivátu neosvědčila, byla navržena alternativní cesta vedoucí k požadovaným kumarinům. Chloridy organických kyselin jsou pro svou vysokou reaktivitu považovány za užitečná činidla při organické syntéze a této jejich vlastnosti jsme chtěli využít při reakci fenolu a dichloridu substituované malonové kyseliny. Jelikož se tyto látky běžně komerčně neprodávají, bylo nutné vycházet z dostupných diethyl-malonátů **4**.

Žádoucí malonyldichlorid **9** byl připraven dvoustupňovým procesem (**Schéma 26**), kde v prvním kroku byla provedena alkalická hydrolyza diethyl-malonátu **4a** ve vřucím roztoku hydroxidu sodného. Po zpracování reakční směsi a izolaci hlavního produktu, byla získána kyselina 2-fenylmalonová (**8**) ve výborné kvalitě s uspokojivým výtěžkem. Následně byla látka **8** společně s thionylchloridem vařena bez monitoringu průběhu reakce 5 hodin. Pouhým důkladným odpařením přebytečných těkavých látek a změřením ^1H a ^{13}C NMR spekter surové směsi, bylo zjištěno, že při reakci sice vznikal žádoucí dichlorid **9**, ale i je produkt jeho dehydrohalogenace, keten **10**, které dle ^1H NMR byly ve vzájemném poměru 1:1. Po tomto nezdaru, bylo po pátrání v literatuře zjištěno, že se do stejné situace dostali i autoři článku z roku 1998³⁸, kteří mimo jiné zmínili, že sloučeniny **9** a **10** nebyli schopni od sebe oddělit. Proto byla tato varianta prozatím opuštěna.

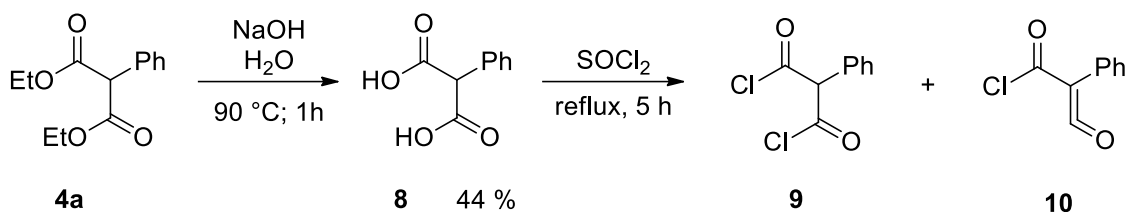


Schéma 26. Pokus o přípravu dichloridu kyseliny 2-fenylmalonové **9**.

Samozřejmě se nabízí pokusit se připravit analogický dichlorid kyseliny 2-methylmalonové, obzvláště, když literatura nabízí³⁹ metodu pro přípravu tohoto derivátu s výtěžkem okolo 80 %. Nicméně, z důvodu časové tísně už jsme bohužel nebyli schopni v tomto směru vyvinout žádnou aktivitu. Bude-li jeho příprava taktéž činit potíže, je možné ho komerčně koupit.

Jelikož jsme v jistém okamžiku neměli 4-hydroxy-3-methylkumarin k dispozici, experimentovali jsme dále pouze s fenylovým derivátem.

Původním plánem bylo připravit více reaktivní formu kumarinových sloučenin. Jednu tuto formu mohou představovat 3-halogenované chroman-2,4-diony. Za tímto účelem byla provedena chlorace připraveného 4-hydroxykumarinu **1a** (**Schéma 1****Schéma 27**). Záměrně, ve spojitosti s chlorací 4-hydroxychinolonů, byl vyzkoušen vliv sulfurylchloridu v dioxanu při mírně zvýšené teplotě.

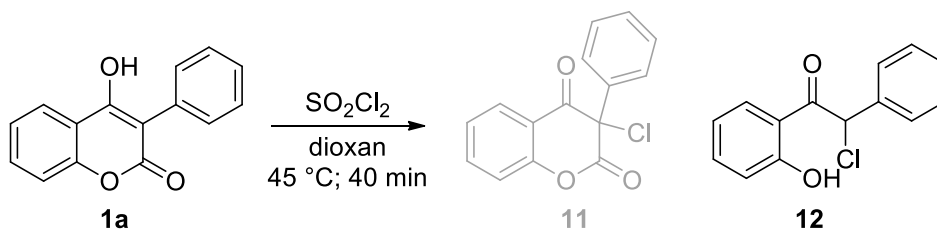
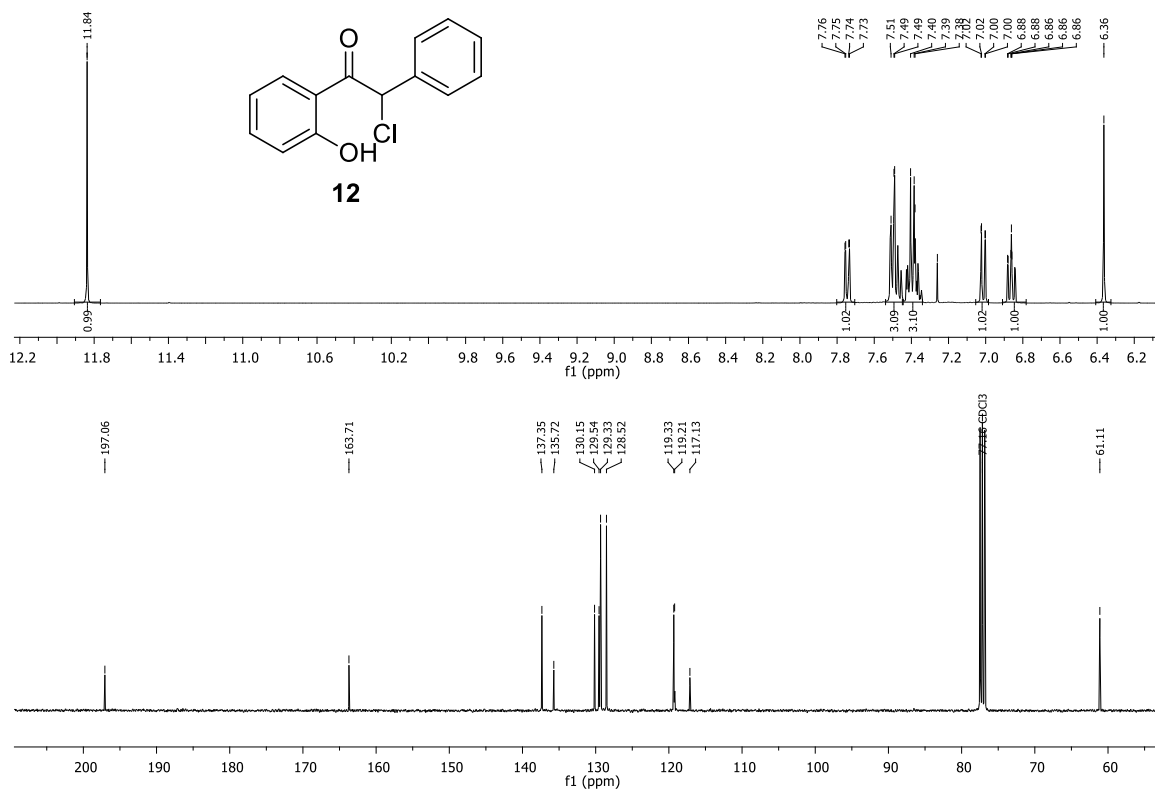


Schéma 27. Účinek SO₂Cl₂ na 3-fenyl-4-hydroxykumarin (**1a**).

Izolovaný a purifikovaný prakticky jediný produkt reakce, byl podroben NMR analýze. Při prvním pohledu na 1D NMR spektra (**Obrázek 14**) bylo patrné, že integrální počet ¹H a poloha jejich signálů neodpovídá struktuře očekávaného produktu **11**. Taktéž ¹³C NMR spektrum nebylo v souladu s očekáváním.

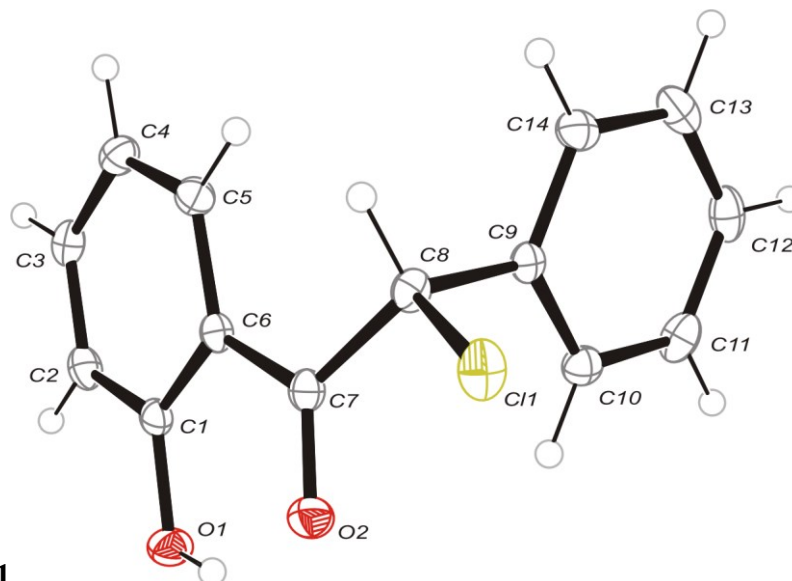
V ¹H spektru se nacházelo 7 signálů, jejichž součet integrálních ploch prezentoval 11 protonů, z nichž jeden, singlet při 11,84 ppm, představuje značně odstíněné jádro atomu vodíku nemající na sousedním atomu vázaný proton. Po detailnějším rozboru dalších NMR spekter se ukázalo, že produktem chlorace není očekávaný 3-chlor-3-fenylchroman-2,4-dion (**11**), ale 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon (**12**). Při důkladném průzkumu

chemických databází, byl s touto souvislostí nalezen pouze jediný článek,⁴⁰ ve kterém pozorovali hydrolyzu 3-chlor-3-fenylchroman-2,4-dionu **11** na námi taktéž připravený a identifikovaný produkt **12**.



Obrázek 14. Výřez z ¹H a ¹³C spekter produktu chlorace sloučeniny **1a**.

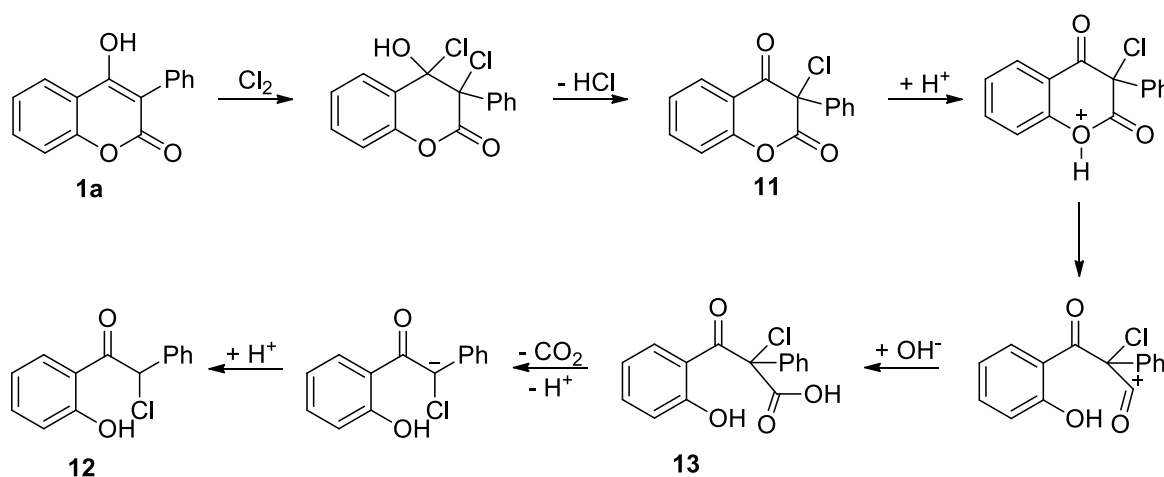
Do řešení se mimo jiné promítla i pandemická situace, která neumožnila pokračovat v práci v laboratoři na více než půl roku. Po tuto dobu shodou okolností byla baňka s matečným louhem produktu skladována v lednici, díky čemuž mohla krystalizace probíhat velmi pomalu. Po mém návratu zpátky do prostor fakulty, konkrétně do laboratoře 410, byly v baňce objeveny monokrystaly v tom čase už známé sloučeniny. Ty byly izolovány a analyzovány pomocí rentgenové difrakční analýzy, která poskytla nezvratný důkaz vzniku navržené sloučeniny **12**. Bylo také zjištěno, že látka krystalizuje v jednoklonné soustavě a že se mezi vodíkem hydroxylové skupiny a kyslíkem oxoskupiny tvoří intramolekulární vodíkové vazby, díky kterým je, jak je možné vidět na **Obrázku 15**, hydroxylová skupina natočena do jedné roviny s benzenovým kruhem.



Obrázek 1

Obrázek 15. ORTEP diagram 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (**12**).

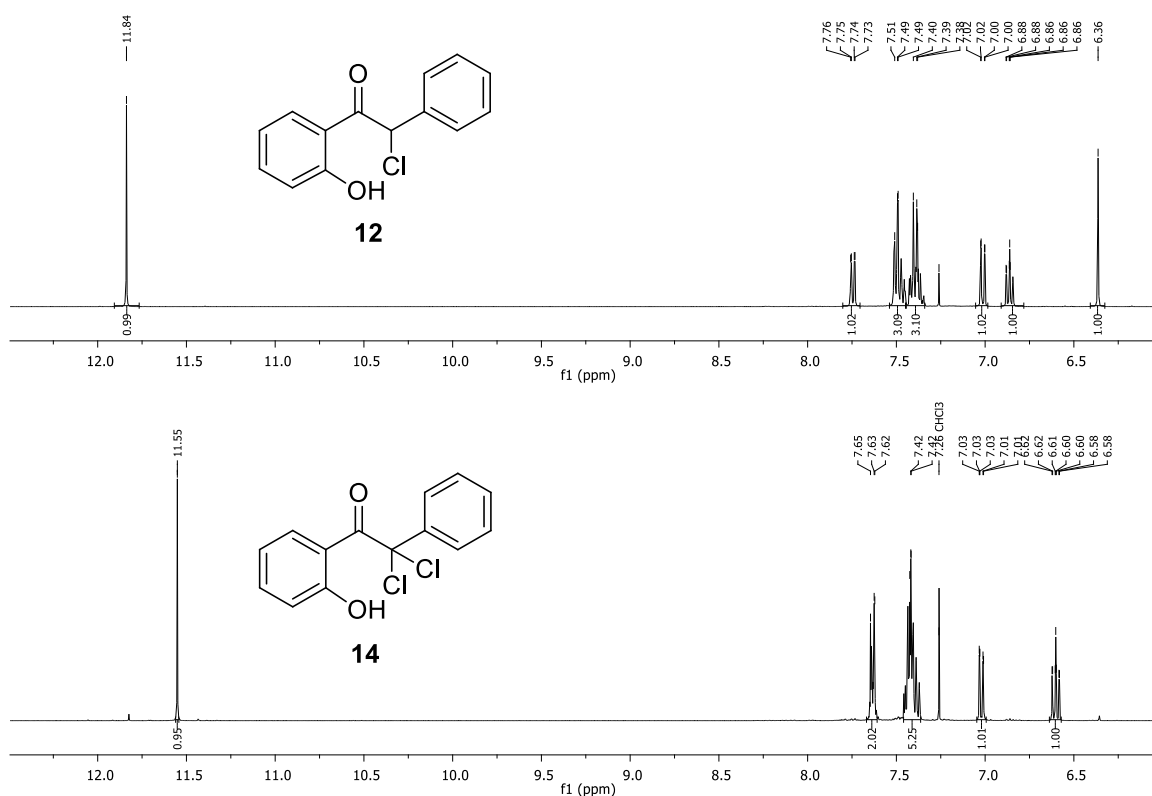
Přeměnu 4-hydroxykumarinu **1a** na α -chlorketon **12** je možné vysvětlit navrženým mechanismem znázorněným na **Schématu 28**. Doposud panuje předpoklad, že v první fázi dochází k chloraci 4-hydroxykumarinu **1a** a přechodně vzniklý 3-chlor-3-fenylchroman-2,4-dion (**11**) podléhá hydrolyze, obzvláště je-li tato hydrolyza kyselá, a vzniklá β -ketokyselina je nestabilní a podléhá dekarboxylaci za tvorby produktu **12**.

Schéma 28. Navržený mechanismus přeměny 4-hydroxykumarinu **1a** na derivát **12**.

V tomto případě je dosti možné, že proton zahajující hydrolyzu pocházel z nějak předem nečištěného sulfurylchloridu, který bezpochyby postupem stáří obsahuje kyselinu chlorovodíkovou a sírovou. Proto byla reakce opakována s vakuově sušenou výchozí látkou **1a** nad P_2O_5 a s čerstvě předestilovaným sulfurylchloridem, který byl pod argonem do reakční nádoby přikapán přímo z destilační aparatury. Překvapivě byl výsledek reakce stejný, pouze s tím rozdílem, že se výtěžek α -chlorethanonu **12** zvýšil (výtěžky chlorací jsou uvedeny v **Tabulce 2**).

Protože experimenty se sulfurylchloridem, jakožto zástupcem chloračních činidel reagujících iontovým mechanismem, neposkytly žádaný produkt, byly hledány druhé alternativy. Jelikož jsou v molekule výchozí látky atomy uhlíku schopné substituce, vyjma jedné polohy (C-3), součástí aromatických systémů, nabízela se možnost vyzkoušet *N*-chlorsukcinimid (NCSI) coby reprezentanta z řad reagentů reagujících radikálovým mechanismem. Protože tohle činidlo vyvolávalo značnou naději, byla vyzkoušena celá řada reakcí za různých podmínek. Byl sledován vliv použitých rozpouštědel, reakční teploty, poměru reagentů, přídavku externí báze, případně doby reakce, jejichž výsledky jsou uvedeny v **Tabulce 2**.

Při všech reakcích dle TLC vznikaly převážně dvě hlavní látky s dosti podobnými retenčními faktory, které se ve většině případů podařilo s využitím vhodné mobilní fáze a silikagelu úspěšně separovat. Z nichž jednou byl už dobře známý 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon (**12**), jehož 1H NMR spektrum je zobrazeno v horní polovině **Obrázku 16**. Zajímavou informaci o struktuře druhého produktu poskytla nukleární magnetická rezonance, jejíž 1H spektrum je zobrazeno v dolní polovině **Obrázku 16**. Mezi těmito spektry je prakticky jediný výrazný rozdíl, a to takový, že ve spektru vedlejšího produktu reakce chybí ostrý singlet při 6,36 ppm, který v molekule látky **12** prezentuje atom vodíku vázaný k atomu uhlíku C-2 základního 2-chlorethanonu.



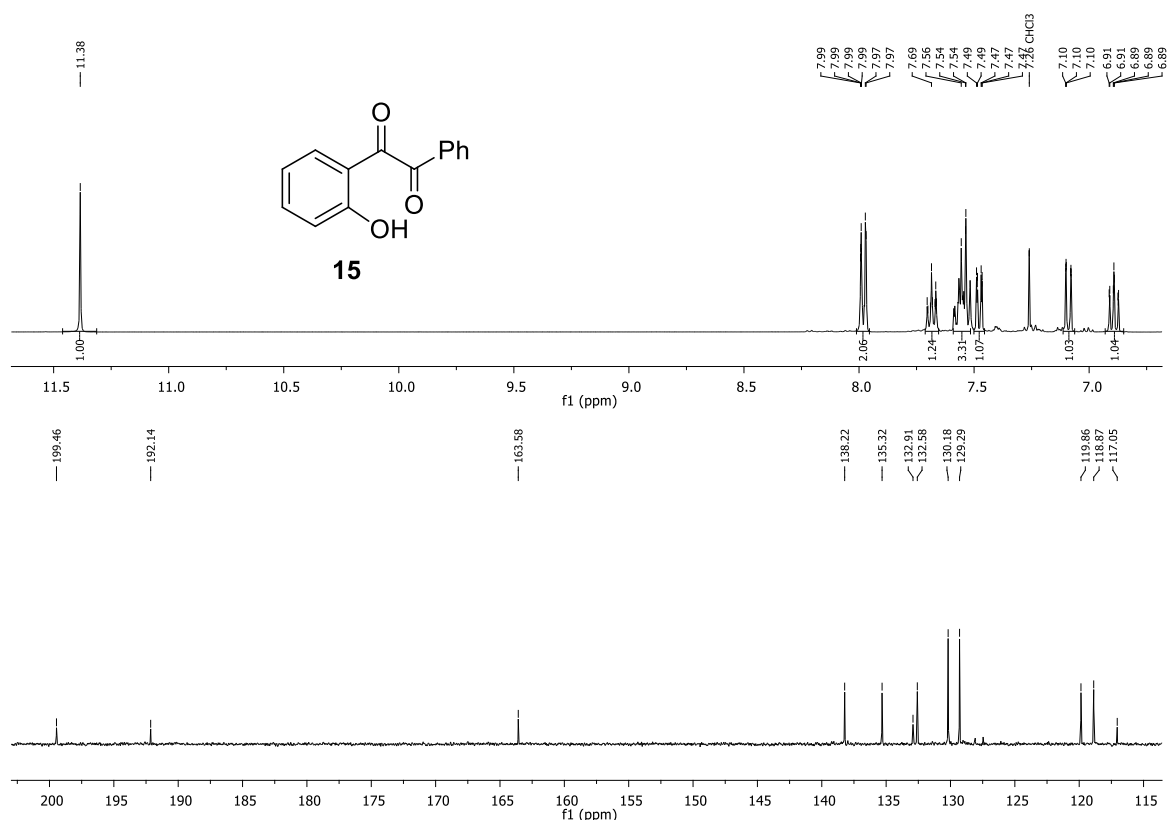
Obrázek 16. Výřez z ¹H spekter látek připravených chlorací **1a** *N*-chlorosukcinimidem. Horní polovina: Sloučenina **12**. Dolní polovina: Sloučenina **14**

Otazník nad druhem substituce v poloze 2 chlorethanonové části vyřešila analýza jeho ethyl-acetátového roztoku na plynovém chromatografu s hmotnostním detektorem a elektronovou ionizací. Z jejího výsledku (**Tabulka 1**) bylo možné zaznamenat, že se v hmotnostním spektru vyskytuje nejvyšší hodnota *m/z* 280, 282 a 284 ve vzájemném poměru 1 : 0,65 : 0,1. Jelikož se současně hodnoty nalezených molekulových ionů známého monochlorderivátu **12** a diskutovaného vedlejšího produktu reakce liší o hodnotu 34 *m/z*, je zcela nepochybné, že se jedná o 2,2-dichlorderivát ethanonu **14**.

Tabulka 1. Molekulové ionty sloučenin **12** a **14**.

slouč.	Izotop	molekulový ion [<i>m/z</i>]	relativní intenzita [%]	zastoupení [1]
12	³⁵ Cl	246	0,66	1,00
	³⁷ Cl	248	0,22	0,33
14	³⁵ Cl ₂	280	0,32	1,00
	³⁵ Cl + ³⁷ Cl	282	0,20	0,63
	³⁷ Cl ₂	284	0,03	0,10

V některých případech (viz **Tabulka 2**; sloučenina **15**) se podařilo izolovat ještě další produkt chlorace 4-hydroxykumarinu **1a**. Jeho retenční faktor byl ze všech získaných látek nejnižší, čímž se dalo očekávat, že byl získán nějaký dosti polární systém, což bylo záhy potvrzeno pohledem na NMR spektra (**Obrázek 17**). V uhlíkovém spektru se nacházely dva signály kvarterních atomů uhlíku s polohou přesahující hranici 190 ppm. Takto velmi odstíněné atomy uhlíku téměř vždy představují součást oxoskupiny v ketonech. Taktéž jistou indicií poskytuje signál při 163,58 ppm, který byl prakticky se stejnou hodnotou pozorován v ^{13}C spektru látky **12**, kde byl určen jako C-2 fenolové části. V ^1H spektru byl opět zaznamenán ostrý singlet s velmi vysokým chemickým posunem 11,38 ppm, který v molekule také signalizuje přítomnost fenolylového substituentu. Navrženou sloučeninou, na základě interpretace výsledků NMR analýzy, byl 2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethan-1,2-dion **15**.



Obrázek 17. Výřez z NMR spekter sloučeniny **15**.

Jelikož se stále nepovedlo získat žádoucí halogenovaný derivát chroman-2,4-dionu, byly opět prohledávány dostupné chemické databáze, kde byl získán ještě jeden článek⁴¹, v němž autoři publikovali chloraci 4-hydroxy-3-methylkumarinu pomocí plynného Cl₂ při teplotě 0 °C. Po tom, co bylo rozhodnuto tuto metodu aplikovat na studovaný 3-fenyl-4-hydroxykumarin **1a**, byla na Ústavu chemie objevena Schlenkova baňka s tlakem zkapalněným chlorem, který byl následně řízenou regulací jeho teploty zaváděn k reaktantu.

Práce s čistým chlorem s sebou však nese jistá rizika. Za normálního tlaku a laboratorní teplotě je to značně agresivní a toxický plyn a při manipulaci s ním je nutné pracovat s vysokou opatrností. Naopak výhodou je jeho relativně nízká teplota varu (-34 °C). Jelikož je dosti možné, že nalezený chlor v Schlenkově baňce obsahuje jisté množství chlorovodíku případně vody, a současně když z přechozích pokusů víme, že velmi pravděpodobně takhle prostředí rozkládají očekávaný produkt na derivát **12**, bylo nutné udělat maximum pro jejich vyloučení. Za tímto účelem byla ampule v ethanolové lázni tekutým dusíkem podchlazena na teplotu pod -40 °C a přibližně po dobu 30 min otevřena s okolím, čímž byly potenciálně odstraněny nežádoucí těžavější sloučeniny, mezi které je možné zařadit chlorovodík (tep. varu -85 °C). Samovolným ohříváním chladicí lázně v Dewarově nádobě docházelo k uvolňování plynného chloru, kterým byl, po jeho promytí v koncentrované kyselině sírové, pro odstranění případné vlhkosti, krátce probubláván roztok 3-fenyl-4-hydroxykumarinu **1a** v suchém THF. Je nutné podotknout, že reakční baňka byla po celou dobu reakce podchlazena pod -40 °C, čímž bylo zajištěno, že přiváděný plynný chlor v reakční baňce z kondenzuje, bude tak přímo rozpuštěný v roztoku výchozí látky a nebude tak nutné reakční roztok probublávat chlorem kontinuálně. Jednotlivé části aparatury byly nejprve propojeny pomocí kanyl procházejících pryžovými septy (**Obrázek 18** vlevo). Ty ale neposkytovaly dostatečné utěsnění, navíc je chlor rozežíral, a proto byla později aparatura upravena, jak je možné vidět na **Obrázku 18** vpravo. Převažujícím produktem reakce byl jako v předešlých případech monochlorderivát ethanonu **12** a v malém množství byly izolovány i sloučeniny **14** a **15** (**Tabulka 2**).



Obrázek 18. Vlevo: Původní aparatura s kanylami. Vpravo: Upravená aparatura.

Posledním chloračním činidlem, u kterého byl sledován účinek na skelet 4-hydroxykumarinu, byla kyselina trichlorisokyanurová (TCCA), která je ze všech *N*-chlorimidů nejvíc tepelně stabilní. Při práci s touto kyselinou je nutné mít na paměti, že z jedné molekuly TCCA je možné pro substituci využít všech 3 atomů chloru. Ovšem i použití tohoto činidla poskytlo srovnatelné výsledky s předchozími vyzkoušenými metodami (**Tabulka 2**).

Na tomto místě je vhodné vyhodnotit všechny 4 metody chlorace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu, které jsou shrnuty v obecném **Schématu 29**. V **Tabulce 2** jsou uvedeny reakční podmínky (použité chlorační činidlo a rozpouštědlo, teplota a čas reakce) a také výtěžky čistých produktů izolovaných po sloupcové chromatografii. Z hlediska nejlepšího výtěžku monochlorderivátu ethanonu **12** se ukázala jako nejúčinnější metoda použití čerstvě nadestilovaného sulfuryl chloridu. Vaření výchozího kumarinu s *N*-chlorsukcinimidem také poskytuje vysoké výtěžky látky **12**, ale nespornou výhodou použití tohoto činidla je fakt, že při všech provedených experimentech vznikl 2,2-dichlorderivát ethanonu, který se podařilo izolovat. Pozoruhodné bylo využití zkapalněného chloru, neboť se jedná o postup, se kterým se v laboratoři chemik běžně nesetkává.

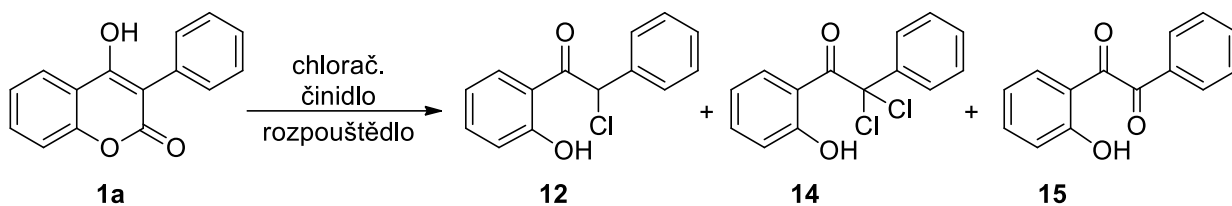


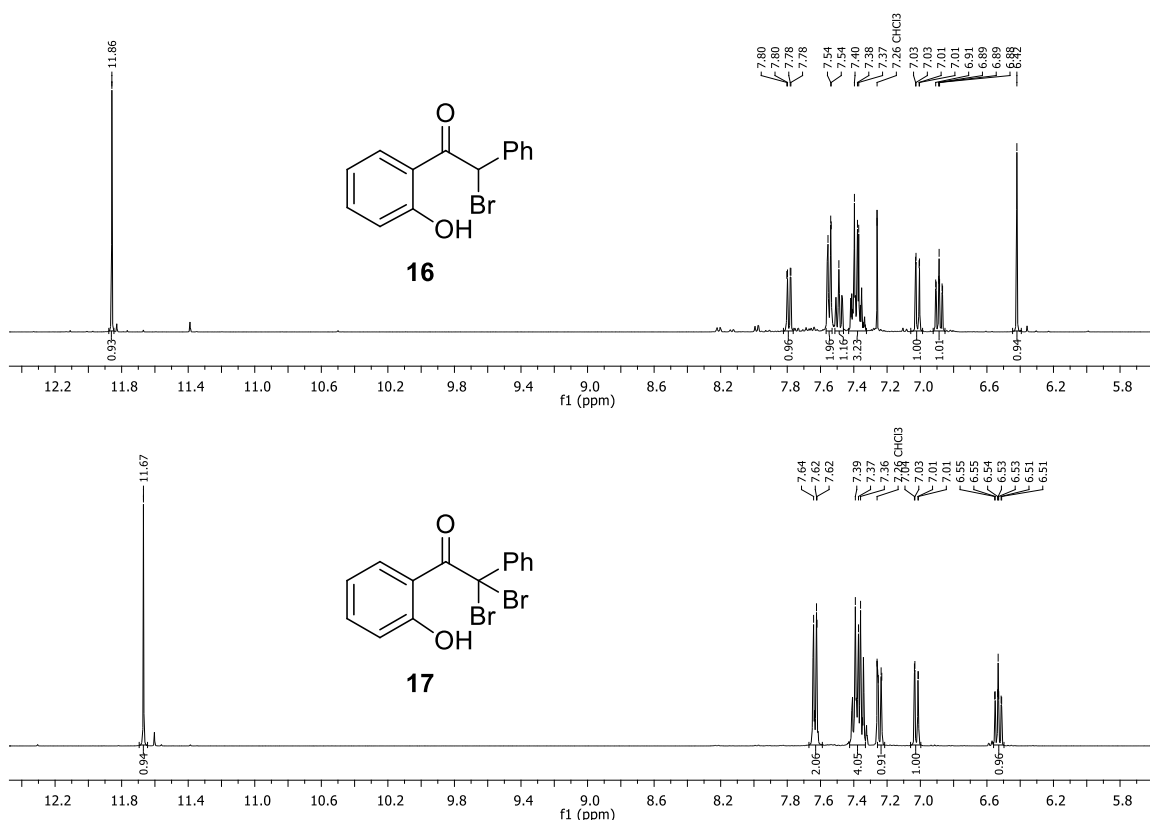
Schéma 29. Chlorace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a.

Tabulka 2. Chlorace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a a výtěžky produktů.

metoda	rozp.	činidlo [ekv.]	báze [ekv.]	teplota [°C]	čas [h]	výtěžek			
						1a [%]	12 [%]	14 [%]	15 [%]
A	–	SO ₂ Cl ₂	–	20	0,5	–	93	–	–
	dioxan	SO ₂ Cl ₂	–	50	0,5	–	64	–	–
B	CHCl ₃	NCSI 2,0	–	var 61	0,75	–	79	13	–
	CHCl ₃	NCSI 1,1	–	var 61	0,75	45	36	2	4
	CCl ₄	NCSI 1,1	–	var 77	1,25	–	89	4	–
	CCl ₄	NCSI 1,1	–	20	30	–	21	11	–
	CCl ₄	NCSI 1,1	K ₂ CO ₃ 1,1	20	1,5	–	82	5	7
C	THF	Cl ₂	TEA 1,2	-45	3	22	11	–	–
	THF	Cl ₂	TEA 1,2	-45	1	–	78	–	9
	THF	Cl ₂	TEA 1,2	-45	1	30	11	–	–
	THF	Cl ₂	TEA 1,2	0	0,5	–	53	–	4
D	EtOAc	TCCA 0,5	–	var 77	0,5	–	79	4	4
	CCl ₄	TCCA 0,5	–	var 76	0,5	–	83	–	4
	EtOAc	TCCA 0,5	TEA 1,2	0	5	–	40	–	–

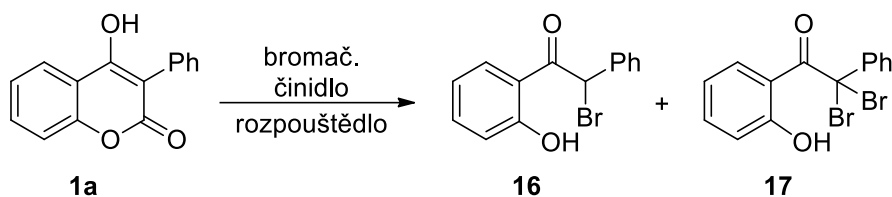
Mimo zmíněné chlorace byly realizovány dva pokusy o syntézu 3-bromovaných sloučenin kumarinu s použitím *N*-bromosukcinimidu (NBSI) a 1,3-dibrom-5,5-dimethylhydantoinu (DBH). Jelikož jsou bromační činidla obvykle v porovnání s chloračními agresivnější a často při jejich použití dochází ke vzniku složitějších směsí produktů, které jsou, je-li nalezena vhodná mobilní fáze, dělitelné mnohdy pouze

opakovanými sloupcovými chromatografiemi, nebyla v ně vkládána velká naděje, která, ale jak se říká, umírá poslední. Ovšem dle předpokladů, bohužel ani při bromacích se nepodařilo připravit požadovaný 3-bromchroman-2,4-dion. Ze zkušeností získaných při řešení produktů chlorace, bylo ihned při pohledu na ^1H spektra (**Obrázek 19**) izolovaných produktů jasné, že i zde dochází ke štěpení kumarinového derivátu a vznikají látky analogické k sloučeninám **12** a **14**, tedy monobrom a dibromderivát ethanonu **16** a **17**.



Obrázek 19. Výřez z ^1H spekter látek připravených bromací **1a**. Horní polovina: Sloučenina **16**. Dolní polovina: Sloučenina **17**

Obě provedené metody bromace jsou shrnuty v obecném **Schématu 30** a jejich výtěžky v **Tabulce 3**. Je patrné, že výtěžky jsou nižší než u chlorací, což je pravděpodobně způsobené nutností čistit surovou směs produktů nejméně dvakrát pro získání uspokojivé čistoty izolovaných látek.

Schéma 30. Bromace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu **1a**.Tabulka 3. Bromace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu **1a**

metoda	rozp.	činidlo	teplota	čas	výtěžek	
					16	17
		[ekv.]	[°C]	[h]	[%]	[%]
A	CHCl ₃	NBSI 2	61	0,75	12	26
B	CCl ₄	DBH 1	20	6,5	37	20

V tomto okamžiku již bylo jasné, že se 3-halogenovaný chroman-2,4-dion přese všechnu snahu a s využitím všech dostupných činidel ze zásob Ústavu chemie v blízké době nepodaří připravit. Nicméně spoustou provedených „neúspěšných“ pokusů, bylo nashromážděno nemalé množství sloučeniny **12**, kterou jsme ve snaze ji synteticky využít vystavovali účinkům různých bází s očekáváním, že budou podléhat dehydrohalogenační cyklizaci na fenylem substituovaný benzofuranon **18**.

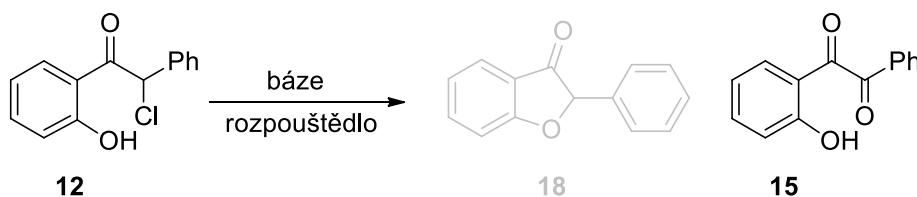


Schéma 31. Reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu s bázemi.

Jako první byla provedena reakce v DMF s běžně dostupnou a levnou bází, uhličitánem draselným ve dvou ekvivalentním přebytku. Bylo pro nás poněkud překvapivé, že produktem byla látka nám již známá, derivát ethan-1,2-dionu **15**. Domnívali jsme se, že k jeho vzniku došlo při zpracování reakční suspenze, která byla při izolaci pro odstranění zbylých anorganických látek nalita do vody a poté extrahována. Z toho důvodu byly otestovány další dvě, tentokrát organické báze, tetramethylguanidin (TMG)

a benzyl(trimethyl)amonium hydroxid (Triton B), se zachováním stejných reakčních podmínek, ale v prostředí ethanolu. Přesto, produkt i jeho výtěžek byl téměř identický jako v předchozím případě (**Tabulka 4**).

Vyvstala otázka, zda není důvodem, proč dochází prakticky pouze k oxidaci chlorderivátu **12**, vlhkost reagentů a rozpouštědel, případně atmosférický kyslík. Proto byla rozpouštědla použitá v následujících experimentech pečlivě vhodným způsobem vysušena a reakce byly prováděny pod inertní atmosférou argonu. Za těchto podmínek byly provedeny pokusy s methanolátem sodným v tetrahydrofuranu (THF) a hydridem sodným v DMF. Poměrně brzy, jak je možné vidět v **Tabulce 4**, již při monitoringu obou reakcí pomocí TLC bylo zjištěno, že převažujícím produktem v reakčních směsích je, obdobně jako v předešlých případech, dion **15**. Ani po chromatografii surového produktu se žádné jiné látky se na koloně oddělit nepovedlo.

Tabulka 4. Výtěžek sloučeniny **15** po reakci s bázemi.

metoda	rozp.	báze [ekv.]	teplota [°C]	doba [h]	výtěžek 15 [%]
A	DMF	K ₂ CO ₃ 2,0	20	2	57
A	EtOH	Triton B 1,45	20	0,75	58
C	EtOH	TMG 1,2	20	0,75	58
D	DMF	NaH 1,5	20	2	41
E	THF	MeO ⁻ Na ⁺ 1,5	20	0,5	42

Jelikož ani jedna z bází nepodporovala vznik 2-fenylbenzofuranonu (**18**), byla jako poslední, jen několik málo dnů před odevzdáním diplomové práce, provedena série reakcí podle publikace z roku 2019⁴², kdy byl vyzkoušen efekt octanů sodného a amonného v ethanolu nebo v dimethylformamidu (**Schéma 32**). Chromatografií surových produktů byl v největší míře, jak taky jinak, izolován opět derivát ethan-1,2-dionu **15**. Mimo něj se však podařilo oddělit ve stopových množstvích ještě jednu látku (**Tabulka 5**), jejíž retenční faktor byl nepatrně vyšší. Dle NMR spekter se zdálo, že by se jejíž retenční faktor byl nepatrně vyšší než u derivátu **15**.

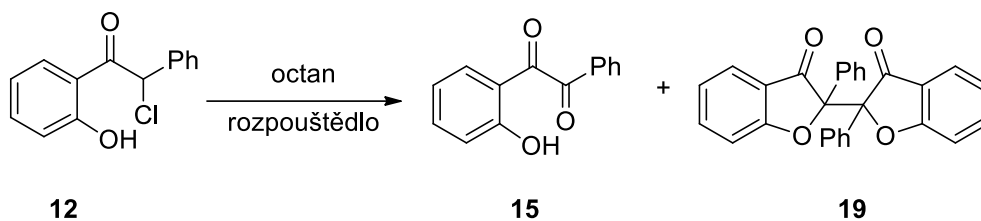
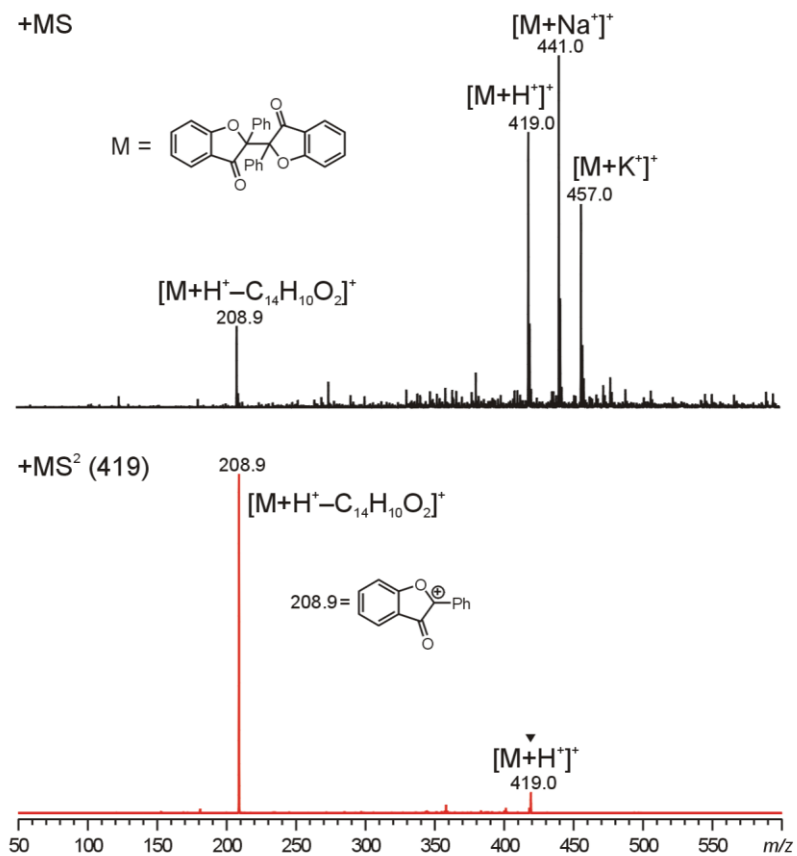


Schéma 32. Reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (**12**) s octany.

Tabulka 5. Výtěžky reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (**12**) s octany.

rozpouštědlo	octan [ekv.]	teplota [°C]	doba [h]	výtěžek	
				2 [%]	3 [%]
EtOH	Na	var	1	53	3
	1,5	78			
DMF	Na	20	1	30	4
	1,5				
EtOH	Na	20	72	15	8
	1,5				
DMF	NH ₄	20	1	51	7
	1,5				

Dle NMR spekter se zdálo, že by se mohlo jednat o 2-fenylbenzofuranon **18**, avšak nebylo jasné, jaký nese substituent na atomu uhlíku C-2. Z NMR spekter bylo jasné, že tento atom uhlíku neobsahuje proton. Představa tedy byla, že je v této inkriminované poloze hydroxylová skupina, eventuálně atom chloru. Proto byla u vzorku provedena ESI-MS analýza, která poskytla informaci, že hodnota m/z $[M+H]^+$ tohoto chemického individua je 419 (**Obrázek 20**). Je tedy pravděpodobné, že vzniknuvší izolovanou látkou je dimer benzofuranonu. Tato myšlenka je podložena i tandemovou hmotnostní spektroskopií, kdy molekula o 419 m/z byla separována v iontové pasti a dále ionizována vyšší energií. V MS^2 byl pozorován fragment 209 m/z odpovídající monomerní jednotce dimeru **19**. Jeho vznik nám zatím není zcela jasný.



Obrázek 20. ESI-MS spektrum dimeru 19.

4 POPIS PŘÍSTROJOVÉ VÝBAVY A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Reagenty a rozpouštědla byly zakoupeny z komerčních zdrojů (Fluka, Sigma Aldrich). Průběh reakcí byl sledován pomocí chromatografie na tenké vrstvě (TLC), pro kterou byly použity komerční hliníkové destičky s nanesenou vrstvou silikagelu (Alugram® SIL G/UV 254; 220–240 mesh; Macherey-Nagel) s fluorescenčním indikátorem pro UV 254. Pro sloupcovou chromatografii byl použit silikagel Fluka Silica gel 60, 220–240 mesh. Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigované. Infračervená (IČ) spektra byla měřena na FT-IR spektrometru Alpha (Bruker Optik GmbH Ettlingen), technikou KBr tablet. NMR spektra byla měřena na spektrometru JEOL ECZ 400 při frekvenci 400 MHz (^1H) a 101 MHz (^{13}C) a 41 MHz (^{15}N) při teplotě 300 K. Jako interní standard v ^1H NMR spektrech byl použit tetramethylsilan a signály residua DMSO- d_5 s chemickým posunem δ 2,50 ppm a CDCl_3 s posunem 7,25 ppm. ^{13}C NMR spektra byla korigována na ^{13}C signál DMSO- d_6 s chemickým posunem 39,50 ppm a ^{13}C signál CDCl_3 s chemickým posunem 77,16 ppm. Chemické posuny jsou uvedeny v jednotkách ppm. Interakční konstanta J je uvedena v jednotkách Hz. Multiplicita signálů je značena zkratkami s (singlet), d (doublet), dd (doublet dubletu), ddd (doublet dubletů dubletu), t (triplet), m (multiplet). Elementární analýzy byly provedeny na přístroji Flash EA 1112 Automatic Elementar Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc.). ESI-MS experimenty byly provedeny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí amaZon X, Bruker Daltonics, iontovým zdrojem byl elektrosprej. GC-MS experimenty byly provedeny na plynovém chromatografu spojený s hmotnostním spektrometrem vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem Shimadzu GC-MS QP2010. Plynový chromatograf byl vybavený kolonou EQUITY 1 (30 m \times 0,32 mm \times 1,0 μm). Pro všechny analýzy byl zvolen následující teplotní program: 100 $^\circ\text{C}/7$ min; 30 $^\circ\text{C}/\text{min}$ a teplotou nástřiku 250 $^\circ\text{C}$. Nosný plyn byl He a iontový zdroj měl 200 $^\circ\text{C}$, 70 eV. Všechny tyto analýzy byly prováděny za lineární konstantní rychlosti 52 cm/s. Ve výpisy signálů z hmotnostních spekter jsou uvedeny hodnoty iontů s relativním zastoupením nejméně 5 %, vyjma molekulových iontů. Hodnoty intenzit vybraných fragmentů jsou uvedeny v závorce za hodnotou m/z.

5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN

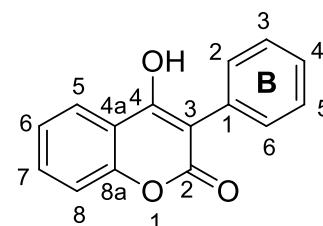
5.1 Příprava 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a

Suspenze fenolu (100 mmol; 9,41 g) a diethyl-fenylmalonátu (110 mmol, 26,5309 g) byla zahřívána na kovové lázni 8 h. Teplota lázně byla postupně zvyšována z 200 °C na 300 °C. Současně bylo sledováno množství vznikajícího kondenzátu, který byl sbírán do baňky. Reakční roztok byl zahorka nalit do 200 ml toluenu, vyloučený pevný podíl byl opakovaně macerován ve vroucím toluenu a poté odfiltrován na fritě. Následně byl rozpuštěn v 0,5M NaOH (160 ml), k roztoku bylo přidáno malé množství aktivního uhlí a byla provedena filtrace. Srážení bylo provedeno 10% HCl a 0,5M HCl do neutrálního pH, vzniklý žlutý pevný podíl byl odfiltrován přes fritu, promyt vodou do neutrálu. Surový produkt byl rozpuštěn ve vroucím EtOH, za horka přefiltrován a ponechán k samovolné krystalizaci.

3-fenyl-4-hydroxykumarin 1a

Žlutá lesklá krystalická látka, $t_f = 228\text{--}240^\circ\text{C}$ (EtOH), výtěžek 49 %, $R_f = 0,08$ (18 % EtOAc v PE); 0,76 (30 % EtOAc v CHCl_3).

IČ spektrum (tableta KBr): 3056, 1673, 1609, 1566, 1314, 1258, 1191, 1101, 991 896, 858, 757, 692, 506 cm^{-1} .



^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,46 (s, 1H, $-\text{OH}$); 7,33 (ddd, 1H, H-6, $J = 8,4; 7,3; 1,6$ Hz); 7,40–7,37 (m, 1H, H-8); 7,49–7,46 (m, 3H, H-2^B, H-6^B, H-4^B); 5,58–7,53 (m, 2H, H-3^B, H-5^B), 7,60 (ddd, 1H, H-7, $J = 8,4; 7,3; 1,6$ Hz), 7,91 (ddd, 1H, H-5, $J = 7,9; 1,6; 0,4$ Hz) ppm.

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 106,53 (C-3); 115,11 (C-4a); 116,82 (C-8); 123,83 (C-5); 134,231 (C-6); 129,45 (C-4^B); 129,64 (C-1^B); 130,04 (C-3^B a C-5^B); 130,46 (C-2^B a C-6^B); 132,68 (C-7); 153,21 (C-8a); 159,32 (C-4); 162,07 (C-2) ppm.

Pro $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_3$:	vypočítané:	75,62 % C	4,23 % H
	stanovené:	75,13 % C	4,23 % H

GC-EI-MS ($t_R = 18,475$ min): 63(13), 76(9), 77(10), 89(11), 90(13), 93(16), 118(100), 119(13), 121(80), 122(6), 238(M^+ , 51), 239(8) m/z (%).

5.2 Neúspěšný pokus o přípravu 4-hydroxy-3-methylkumarinu (1b)

Čirý bezbarvý roztok fenolu (50 mmol; 4,7890 g) a diethyl-methylmalonátu (55 mmol, 9,7946 g) byl zahříván na kovové lázni při 300 °C pod zpětným chladičem. Po 8 h byl ohřev ukončen a baňka s reaktanty byla umístěna do destilační aparatury a její obsah byl zahříván 3 h, teplota kovové lázně byla postupně zvyšována z 230 °C až na 300 °C, zkondenzovaná kapalina byla odebírána po frakcích.

5.3 Syntéza 2-fenylmalonové kyseliny (8)

Suspenze vodného roztoku NaOH (0,225 mol; 4,5 g; 10 ml vody) a diethyl-fenylmalonátu (25 mmol; 6,4993 g) byla zahřívána na vytemperované olejové lázni na 90 °C 1 h. Pevný podíl z reakční suspenze byl na fritě odfiltrován a promyt diethyl etherem. Filtrát byl extrahován ethylacetátem. Pevný podíl byl rozpuštěn ve vodě (20 ml), roztok byl okyselen HCl do slabě kyselého pH a extrahován diethyletherem a ethyl-acetátem. Organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄ a odpařeny na RVO dosucha. Surový produkt byl krystalizován směsí benzen/acetón (1:1).

2-fenylmalonová kyselina (8)

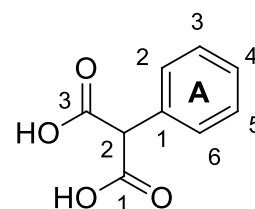
Bezbarvá třpytivá krystalická látka, $t_f = 154\text{--}162\text{ °C}$ (benzen/acetón), výtěžek 45 %, $R_f = 0,19$ (37,5 % EtOAc v PE).

IČ spektrum (tableta KBr): 3268, 3038, 2888, 2659, 2534, 1740, 1703, 1424, 1395, 1292, 1193, 1156, 935, 868, 756, 716, 699, 664, 452 cm⁻¹.

¹H NMR spektrum (DMSO-*d*₆, 400 MHz): δ 4,64 (s, 1H, H-2); 7,39–7,24 (m, 5H, H-2^A, H-3^A, H-4^A, H-5^A, H-6^A) ppm.

¹³C NMR spektrum (DMSO-*d*₆, 101 MHz): δ 57, 54 (C-2); 127,46 (C-4^a); 128,09 (C-3^B a C-5^B); 129,27 (C-2^B a C-6^B); 134,19 (C-1^A); 169,65 (C-1 a C-3) ppm.

Pro C ₉ H ₈ O ₄ :	vypočítané:	60,00 % C	4,48 % H
	stanovené:	60,02 % C	4,49 % H



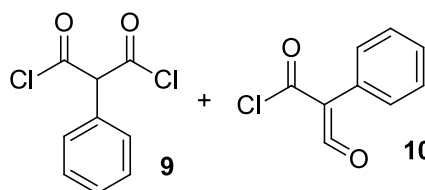
5.4 Chlorace 2-fenylmalonové kyseliny (8)

Nažloutlá suspenze kyseliny 2-fenylmalonové (3 mmol; 540 mg) a thionyl chloridu SOCl_2 (67 mmol; 5 ml) byla zahřívána na olejové lázni 5 h, po krátké době došlo k rozpuštění výchozí látky a ztmavnutí roztoku ze žluté do hnědé. Po ukončení ohřevu byla reakční suspenze odpařena na RVO pro odstranění zbytku SOCl_2 a hnědý olej byl uchován pod argonem.

Směs dichloridu 2-fenylmalonové kyseliny (9) a (chlorkarbonyl)fenyl ketenu (10)

Hnědý olej, $R_f = 0,01$ (10 % CHCl_3 v EtOH)

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 5,40 (s, 1H); 7,26–7,49 (m, 10H) ppm.



^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 63,37; 124,46; 128,04; 128,67; 128,73; 129,69; 129,75; 129,85; 130,44; 166,63 ppm.

5.5 Chlorace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (1a)

5.5.1 Metoda A: Použití SO_2Cl_2

K míchané, vytemperované žluté suspenzi 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (7,1420 g; 30 mmol) v 100 ml dioxanu (99,5 %; $\rho = 1,034 \text{ g/cm}^3$; $t_i = 11\text{--}12 \text{ }^\circ\text{C}$; $t_v = 100\text{--}102 \text{ }^\circ\text{C}$), bylo během 10 min při 45°C přikapáno 6,2 ml SO_2Cl_2 . Během přikapávání SO_2Cl_2 se původní suspenze rozpustila a vzniklý žlutý reakční roztok byl dále 30 min míchán při stejné teplotě. Poté byl reakční roztok ochlazen na lab. teplotu a nalit do 750 ml ledové vody, kde se vyloučilo značné množství pevné žluté látky lepivého charakteru. Pevný podíl byl na fritě odfiltrován, vysušen, filtrát byl převeden do děličky a extrahován $10 \times 25 \text{ ml CHCl}_3$. ($10 \times 25 \text{ ml}$). Veškeré organické podíly byly spojeny, vysušeny Na_2SO_4 , přefiltrovány, odpařeny na RVO. Surové produkty byly chromatograficky přečištěny na silikagelu směsí Be/PE (1:1) a krystalizovány ze směsi cyklohexan/hexan.

Tento pokus byl poté proveden i s použitím čerstvě predestilovaného SO_2Cl_2 , který byl k výchozímu 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (0,5 mmol; 119 mg) přikapán přímo z destilační aparatury v množství asi 1 ml. Reakční roztok byl míchán 15 min v inertní atmosféře argonu. Obsah baňky byl odpařen na RVO a zbytky SO_2Cl_2 byly odstraněny opakovanou destilací

s chloroformem na RVO. Odparek byl nanesen na kolonu naplněnou silikagelem a chromatografován směsí EtOAc/PE (5%, 7%, 18% EtOAc v PE). Spojené frakce byly krystalizovány ze směsi cyklohexan/hexan.

5.5.2 Metoda B: Použití *N*-chlorsukcinimidu

Ke směsi 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (0,5 mmol, 119 mg) a *N*-chlorsukcinimidu (76,1 mg; 0,55 mmol; 1,1 ekv.) byly přility 3 ml suchého rozpouštědla. Získaná suspenze byla míchána pod inertní atmosférou Ar při teplotě a po dobu uvedenou v **Tabulce 2**. Následně byla směs přefiltrována přes fritu (nerozpustný podíl byl identifikován jako sukcinimid), filtrát byl odpařen na RVO, rozpuštěn v malém množství vroucího Be a chromatografován na koloně naplněné silikagelem za použití mobilní fáze EtOAc/PE (5 a 18 % EtOAc v PE). Odpovídající frakce byly spojeny a krystalizovány (neplatí pro sloučeninu **14**) ze směsi cyklohexan/hexan.

5.5.3 Metoda C: Použití plynného Cl₂

K míchanému, vytemperovanému nažloutlému roztoku 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (119 mg; 0,5 mmol; **1a**) a Et₃N (0,6 mmol, 60 mg; 1,2 ekv.) ve 4,5 ml suchého THF, bylo při -35 °C nebo 0 °C přivedeno malé množství plynného Cl₂ z ampule. Reakční roztok byl dále míchán při teplotě a po dobu uvedenou v **Tabulce 2**.

Poté bylo chlazení ukončeno a reakční roztok byl samovolně ohříván na laboratorní teplotu. Následně byla reakční směs odpařena na RVO. Odparek byl rozpuštěn v malém množství Be a chromatografován na sloupci silikagelu mobilní fází EtOAc/PE (5%, 7%, 18% EtOAc v PE). Odpovídající frakce byly spojeny a krystalizovány (neplatí pro sloučeninu **14**) ze směsi cyklohexan/hexan.

5.5.4 Metoda D: Použití kyseliny trichloroisokyanurové

Ke směsi 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (0,5 mmol; 119,7 mg) a kyseliny trichlorisokyanurové (0,25 mmol; 58,1 mg; 0,5 ekv.) byly přility 3 ml suchého EtOAc nebo CCl₄. Získaná suspenze byla pod inertní atmosférou Ar refluxována 30 min. Po ochlazení na laboratorní teplotu byl odflitrován nerozpustný podíl (identifikován jako kyselina isokyanurová) a filtrát byl odpařen na RVO dosucha. Odparek byl rozpuštěn v malém množství Be a chromatografován na sloupci silikagelu mobilní fází 5 a 18 % EtOAc v PE. Odpovídající frakce byly spojeny a krystalizovány (neplatí pro sloučeninu **14**) ze směsi cyklohexan/hexan.

2-Chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)-2-ethanon (12)

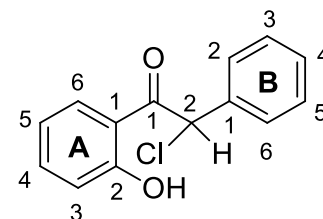
Žlutá krystalická látka, $t_f = 57\text{--}61^\circ\text{C}$ (Cyklohex/Hex), výtěžek dle **Tabulky 2**. $R_f = 0,19$ (5 % EtOAc v PE); 0,45 (50 % Be v PE); 0,58 (CHCl_3).

IČ spektrum (tableta KBr): 2992, 1648, 1613, 1579, 1487, 1449, 1260, 1197, 1155, 998, 845, 749, 724, 696, 650, 520 cm^{-1} .

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,36 (s, 1H, H-2); 6,86 (ddd, 1H, H-5, $J = 8,3; 7,2; 1,1$ Hz); 7,01 (dd, 1H, H-3, $J = 8,5; 1,0$ Hz); 7,36–7,43 (m, 3H, H-3^B, H-4^B, H-5^B); 7,44–7,53 (m, 3H, H-4^A, H-2^B, H-6^B), 7,75 (dd, 1H, H-6^A $J = 8,3; 1,6$ Hz), 11,84 (s, 1H, –OH) ppm.

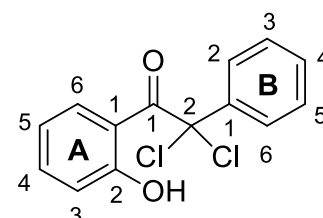
^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 61,11 (C-2); 117,13 (C-1^A); 119,21 (C-3^A); 119,33 (C-5^A); 128,52 (C-2^B a C-6^B); 129,33 (C-3^B a C-5^B); 129,54 (C-4^B); 130,15 (C-6^A); 135,72 (C-5^B); 137,35 (C-4^A); 163,71 (C-2^A); 197,06 (C-1) ppm.

GC-EI-MS ($t_R = 13,267$ min): 65(19), 93(11), 121(100), 181(10), 210(6), 246(^{35}Cl) M^+ , 0,66), 248(^{37}Cl) M^+ , 0,22) m/z (%).

**2,2-Dichlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon (14)**

Žlutý olej, výtěžek viz **Tabulka 2**, $R_f = 0,36$ (5 % EtOAc v PE); 0,45 (50 % Be v PE); 0,58 (CHCl_3).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,60 (ddd, 1H, H-5^A, $J = 8,4; 7,2; 1,2$ Hz); 7,02 (dd, 1H, H-3^A, $J = 8,5; 1,1$ Hz); 7,36–7,47 (m, 5H, H-4^A, H-6^A, H-3^B, H-4^B, H-5^B); 7,60–7,66 (m, 2H, H-2^B, H-6^B); 11,56 (s, 1H, –OH) ppm.



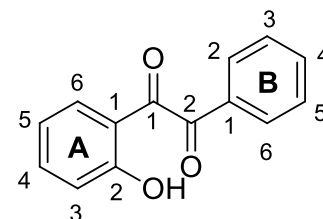
^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 89,74 (C-2); 114,01 (C-1^A); 118,37 (C-5^A); 119,28 (C-3^A); 125,93 (C-2^B a C-6^B); 129,20 (C-3^B a C-5^B); 130,11 (C-4^B); 132,84 (C-6^A); 137,05 (C-4^A); 140,14 (C-1^B); 164,71 (C-2^A); 191,77 (C-1) ppm.

GC-EI-MS ($t_R = 13,583$ min): 63(10), 65(17), 76(11), 77(10), 89(10), 93(11), 121(100), 181(20), 210(13), 280($^{35}\text{Cl}_2$) M^+ , 0,32), 282($^{35}\text{Cl}+^{37}\text{Cl}$) M^+ , 0,20), 284($^{37}\text{Cl}_2$) M^+ , 0,03) m/z (%).

2-Fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethan-1,2-dion (15)

Žlutá krystalická látka, $t_f = 65\text{--}75^\circ\text{C}$ (Cyklohex/Hex), výtěžek viz **Tabulka 2**, $R_f = 0,35$ (18 % EtOAc v PE); 0,67 (CHCl_3).

IČ spektrum (tableta KBr): 1675, 1624, 1593, 1572, 1483, 1451, 1322, 1262, 1199, 1155, 1030, 997, 889, 782, 762, 722, 689, 647, 526, 473 cm^{-1} .



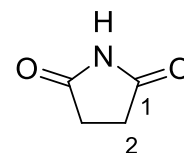
^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,89 (ddd, 1H, H-5^{A} , $J = 8,2; 7,2; 1,1$ Hz); 7,08–7,10 (m, 1H, H-3^{A}); 7,45–7,50 (m, 1H, H-6^{A}); 7,50–7,60 (m, 3H, H-4^{A} , H-3^{B} , H-5^{B}); 7,66–7,71 (m, 1H, H-4^{B}); 7,97–8,00 (m, 2H, H-2^{B} , H-5^{B}); 11,38 (s, 1H, $-\text{OH}$) ppm.

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 117,05 (C-1^{A}); 118,88 (C-3^{A}); 119,87 (C-5^{A}); 129,30 (C-3^{B} a C-5^{B}); 130,19 (C-2^{B} a C-6^{B}); 132,58 (C-6^{A}); 132,92 (C-1^{B}); 135,32 (C-4^{B}); 138,23 (C-4^{A}); 163,59 (C-2^{A}); 192,14 (C-2); 199,46 (C-1) ppm.

GC-EI-MS ($t_{\text{R}} = 12,938$ min): 51(18), 65(24), 77(39), 93(13), 105(44), 121(100), 226(M^+ , 5) m/z (%).

Sukcinimid

Bezbarvá krystalická látka, $t_f = 116\text{--}123^\circ\text{C}$ (CCl_4), $R_f = 0,00$ (18 % EtOAc v PE).



IČ spektrum (tableta KBr): 3160, 3080, 2956, 2795, 2546, 1773, 1695, 1374, 1294, 1193, 1003, 935, 850, 822, 641, 556, 426 cm^{-1} .

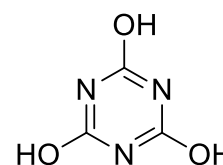
^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 2,75 (s, 4H, H-2); 8,79 (s, 1H, $-\text{NH}-$) ppm.

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 27,70 (C-2); 177,98 (C-1) ppm.

Kyselina isokyanurová

Nažloutlá krystalická látka, $t_f = 338\text{--}245^\circ\text{C}$ (CCl_4).

IČ spektrum (tableta KBr), cm^{-1} : 3027, 1777, 1752, 1723, 1653, 1474, 1389, 773, 555, 537.



5.6 Bromace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (1a)

5.6.1 Metoda A: Použití *N*-bromosukcinimidu

Ke směsi 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (118,4 mg; 0,5 mmol) a *N*-bromosukcinimidu (178,8 mg; 1 mmol) byly přility 2 ml CHCl₃. Získaný bezbarvý roztok byl refluxován 45 min a po celou dobu bylo na reakční směs svíceno wolframovou žárovkou s příkonem 60 W. Následně byl reakční roztok odpařen na RVO a získaný viskosní, žlutý, prokrytalizovaný olej byl rozpouštěn ve vroucím Be. Jelikož byla rozpuštěna pouze část odparku, byla suspenze přefiltrována přes fritu (pevný podíl byl identifikován jako sukcinimid), filtrát byl na RVO zahuštěn a nanesen na kolonu připravenou ve směsi 5 % EtOAc v PE a touto směsí chromatografován. Získané spojené frakce však nebyly dostatečně čisté, a proto byly opětovně naneseny na kolonu a chromatografovány směsí 1 % EtOAc v PE a následně 2 % a 3 % EtOAc v PE.

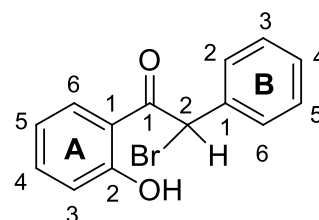
5.6.2 Metoda B: Použití 1,3-dibrom-5,5-dimethylhydantoinu

Ke směsi kumarinu (119,7 mg; 0,5 mmol) a 1,3-dibrom-5,5-dimethylhydantoinu (71,5 mg; 0,25 mmol; 0,5 ekv.) byly přikapány 3 ml suchého CCl₄. Získaná světle žlutá suspenze byla pod inertní atmosférou Ar míchána 6 h při laboratorní teplotě. Protože dle TLC byla v reakční směsi v malém množství stále přítomna výchozí látka, bylo přidáno další bromoční činidlo dibromhydantoin (0,1 mmol; 38 mg; 0,5 ekv.). Po 30 min po přidavku byla výchozí látka zreagována. Reakční suspenze byla odpařena na RVO, odparek byl rozpouštěn v 4 ml CHCl₃ a chromatografován na sloupci silikagelu mobilní fází 5, 18 a 35 % EtOAc v PE.

2-Brom-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon (16)

Žlutý tuhý olej, výtěžek viz **Tabulka 3**. $R_f = 0,45$ (18 % EtOAc v PE).

¹H NMR spektrum (CDCl₃, 400 MHz): δ 6,43 (s, 1H, H-2); 6,85–6,92 (m, 1H, H-5, $J = 8,3; 7,2; 1,1$ Hz); 7,02 (dd, 1H, H-3, $J = 8,5; 1,0$ Hz); 7,35–7,43 (m, 3H, H-3^B, H-4^B, H-5^B); 7,46–7,58 (m, 3H, H-4^A, H-2^B, H-6^B), 7,79 (dd, 1H, H-6^A, $J = 8,2; 1,6$ Hz), 11,86 (s, 1H, –OH) ppm.



^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 49,82 (C-2); 116,90 (C-1^A); 119,24 (C-3^A); 119,35 (C-5^A); 129,21 (C-3^B a C-5^B); 129,26 (C-2^B a C-6^B); 129,50 (C-4^B); 130,15 (C-6^A); 135,60 (C-1^B); 137,39 (C-4^A); 163,81 (C-2^A); 196,78 (C-1) ppm.

GC-EI-MS ($t_{\text{R}} = 13,718$ min): 65(24), 91(7), 93(11), 121(100), 122(8), 181(5) m/z(%).

2,2-Dibrom-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon (17)

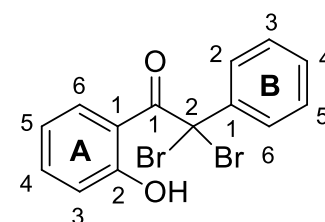
Žlutý olej, výtěžek viz **Tabulka 3**, $R_f = 0,33$ (5 % EtOAc v PE);
0,50 (18 % EtOAc v PE).

^1H NMR spektrum (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,53 (ddd, 1H, H-5^A,
 $J = 8,4; 7,1; 1,2$ Hz); 7,02 (dd, 1H, H-3^A, $J = 8,5; 1,0$ Hz); 7,24

(dd, 1H H-6^A, $J = 8,4; 1,5$ Hz), 7,31–7,42 (m, 4H, H-4^A, H-3^B, H-4^B, H-5^B); 7,61–7,65 (m,
2H, H-2^B, H-6^B); 11,67 (s, 1H, –OH) ppm.

^{13}C NMR spektrum (CDCl_3 , 101 MHz): δ 89,74 (C-2); 114,01 (C-1^A); 118,37
(C-5^A); 119,28 (C-3^A); 125,93 (C-2^B a C-6^B); 129,20 (C-3^B a C-5^B); 130,11 (C-4^B); 132,84
(C-6^A); 137,05 (C-4^A); 140,14 (C-1^B); 164,71 (C-2^A); 191,77 (C-1) ppm.

GC-EI-MS ($t_{\text{R}} = 14,705$ min): 50(11), 51(12), 63(15), 65(16), 76(22), 77(20), 89(15), 90 (6),
93(8), 105(20), 121 (100), 152(14), 181(39), 210(28) m/z(%).



5.7 Reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (12) s bázemi

5.7.1 Metoda A: K_2CO_3

Ke směsi 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (0,5 mmol; 123,3 mg) a K_2CO_3 (1 mmol; 138,3 mg; 2 ekv.) bylo přilito 5 ml DMF. Získaná žlutá suspenze byla za lab. teploty míchána 2 h a poté nalita do 30 ml vody. Vzniklý tmavě žlutý roztok byl převeden do děličky, kde byl extrahován CHCl_3 (4×15 ml). Organické vrstvy byly spojeny, vysušeny Na_2SO_4 , přefiltrovány, odpařeny na RVO a získaný tuhý, žlutohnědý olej byl rozpuštěn v Be, nanesen na kolonu připravenou v Be a Be také chromatografován.

5.7.2 Metoda B: TMG

K bezbarvému roztoku 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (0,5 mmol; 123 mg) ve 3 ml EtOH byl za lab. teploty přikapán roztok TMG (0,6 mmol; 69,1 mg; 1,2 ekv.) ve 2 ml EtOH. Roztok byl dále při lab. teplotě míchán 45 min, následně odpařen na RVO a získaný viskosní žlutý olej byl rozpuštěn v Be, nanesen na kolonu připravenou v Be a Be také chromatografován.

5.7.3 Metoda C: Triton B

K bezbarvému roztoku 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (0,5 mmol; 123 mg) ve 3 ml EtOH byl za lab. teploty přikapán roztok Tritonu B (0,723 mmol; 302,4 mg; 1,45 ekv.) ve 2 ml EtOH. Roztok byl dále při lab. teplotě míchán 45 min, následně odpařen na RVO a získaný viskosní, tm. žlutý olej byl rozpuštěn v Be, nanesen na kolonu připravenou ve směsi 18 % EtOAc v PE a touto směsí chromatografován.

5.7.4 Metoda D: NaH

Ke směsi 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (0,5 mmol; 124,1 mg) a NaH (0,75 mmol; 34 mg; 1,5 ekv.; 60%) bylo přikapáno 3 ml suchého DMF. Získaná kanárkově žlutá suspenze byla míchána pod inertní atmosférou Ar 2 h při lab. teplotě. Žlutá reakční suspenze byla nalita do 50 ml ledové vody, vodný roztok byl převeden do děličky, kde byl extrahován 7 × 20 ml DCM a 7 × 20 ml CHCl₃. Veškeré organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány, odpařeny do sucha a získaný žlutohnědý olej byl rozpuštěn v Be a nanesen na kolonu připravenou v Be a Be také chromatografován.

5.7.5 Metoda E: MeO⁻Na⁺

Ke směsi 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (0,5 mmol; 125 mg) a methoxidu sodného (0,75 mmol; 40,5 mg; 1,5 ekv.) bylo přikapáno 3 ml suchého THF. Vzniklá světle žlutá suspenze byla míchána 4 dny při laboratorní teplotě. Poté byla reakční suspenze nalita na 20 ml vody a extrahována CHCl₃ (5 × 10 ml). Veškeré organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány, odpařeny do sucha. Odparek byl rozpuštěn ve 2 ml Be a nanesen na kolonu připravenou v Be, chromatografováno čistým Be.

5.8 Reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (12) s octany

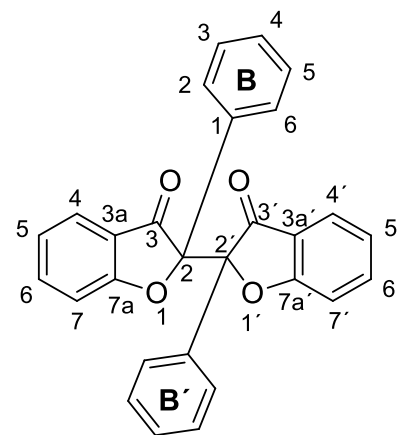
Ke směsi 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (0,5 mmol; 125,8 mg), a octanu sodného či amonného (0,75 mmol; 1,5 ekv.) bylo přikapáno 3 ml suchého rozpouštědla. Vzniklá suspenze byla refluxována pod inertní atmosférou Ar 2 h v olejové lázni či míchána při laboratorní teplotě po dobu uvedenou v **Tabulce 5**. Poté byla reakční suspenze odpařena na RVO. K nažloutlému odparku s bílou pevnou látkou bylo přidáno 20 ml H₂O, vodný roztok byl převeden do děličky, kde byl extrahován CHCl₃ (6 × 10 ml). Veškeré organické podíly byly spojeny, vysušeny Na₂SO₄, přefiltrovány a odpařeny do sucha. Odparek byl rozpuštěn v malém množství Be a chromatografován na sloupci silikagelu čistým Be.

2,2'-Difenyl-[2,2'-bibenzofuran]-3,3'(2*H*,2'*H*)-dion (19)

Bezbarvá pevná amorfnní látka, výtěžek viz **Tabulka 2**, $R_f = 0,48$ (Be); 0,49 (18 % EtOAc v PE); 0,65 (CHCl₃).

¹H NMR spektrum (CDCl₃, 400 MHz): δ 6,98–7,08 (m, 4H, H-5, H-5', H-7, H-7'), 7,21–7,26 (m, 4H, H-3^B a H-5^B, H-3^{B'} a H-5^{B'}), 7,29–7,34 (m, 2H, H-4^B, H-4^{B'}), 7,48–7,51 (m, 4H, H-2^B a H-6^B, H-2^{B'} a H-6^{B'}), 7,26 (ddd, 2H, H-4, H-4', $J = 7,7; 1,4; 0,6$ Hz),

¹³C NMR spektrum (CDCl₃, 101 MHz): δ 90,11 (C-2, C-2'); 112,96 (C-7, C-7'); 121,41 (C-3a, C-3a'); 122,34 (C-5, C-5'); 124,90 (C-4, C-4'); 127,28 (C-3^B a C-5^B, C-3^{B'} a C-5^{B'}); 128,12 (C-2^B a C-6^B, C-2^{B'} a C-6^{B'}); 129,03 (C-4^B, C-4^{B'}); 131,21 (C-1^B, C-1^{B'}); 138,02 (C-6, C-6'); 171,25 (C-7a, C-7a'); 196,62 (C-3, C-3') ppm.



ZÁVĚR

Jak již bylo zmíněno v textu, cílem této diplomové práce bylo pokusit se připravit 4-hydroxykumariny. Tyto sloučeniny jsou strukturně podobné chinolin-2-onům, látkám, které jsou zkoumány již několik desítek let akademiky z vědecké skupiny doc. Kafky a prof. Kláska, pouze je v jejich skeletu pomyslně nahrazen atom dusíku kyslíkem. Proto jsme původně předpokládali, že jejich chování a reaktivita bude v lecčem podobná. Avšak amidová a esterová vazba je natolik rozdílná, že prakticky jediným pokusem, jehož výsledek byl stejný u kyslíkatých i dusíkatých heterocyklů, byla příprava 3-fenyl-4-hydroxykumarinu. Ta nečinila téměř žádné obtíže. Kdežto zisku 4-hydroxykumarinu substituovaného v poloze 3 methylovým zbytkem nebylo možné dosáhnout.

Následujícím provedeným krokem byla halogenace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu. Celkem byly použity 4 chlorační a 2 bromiční činidla. Cílová sloučenina, 3-fenyl-3-halogenchroman-2,4-dion se ale nepovedlo připravit, v jakýchkoli vyzkoušených podmínkách došlo k rozpadu kumarinového cyklu a vznikaly chlor a bromderiváty ethanonu. Protože tyto látky téměř nejsou popsány v odborné literatuře, chtěli jsme v posledním zbývajícím čase před odevzdáním práce prozkoumat chování jedné z nich, konkrétně 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu, v bazickém prostředí. Naše představa byla taková, že dojde k dehydrohalogenační cyklizaci na fenylem substituovaný benzofuranon. Účinkem báze však docházelo především k tvorbě derivátů ethan-1,2-dionu. Pouze při použití octanů, slabých bází které se obvykle používají jako pufrý, došlo ke vzniku dimeru řečeného benzofuranonu.

Kdybychom nebyli limitováni časem, určitě bychom ještě vyzkoušeli syntézu 4-hydroxy-3-methylkumarin pomocí tzv. „Magic malonátů“, jejichž esterová skupina odstupuje velmi snadno v podobě trichlorfenolu, případně dichloridu kyseliny 2-methylmalonové, jak je zmíněno v diskusní části.

Myslím si, že připravit halogenovaný chromen-2,4-dion je nemožné. Snad jako poslední možnost se jeví provést halogenaci ve více krocích, jako první z nich zavést na kyslík hydroxyly chránicí skupinu a až následně působit na sloučeninu halogenačním činidlem.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Be	benzen
Cyklohex	cyklohexan
DBH	1,3-dibrom-5,5-dimethylhydantoin
DCM	dichlormethan
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
ekv.	ekvivalent
Et	ethyl
EtOAc	ethylacetát
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s elektrosprejovou ionizací
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
Hex	hexan
MH	<i>Mantle Heating</i> , topné hnízdo
Me	methyl
MM	<i>Mechanical Milling</i> , mechanické mletí
MW	mikrovlnné záření
NAPA	3-aminopropylamid sodný
NBSI	<i>N</i> -bromsukcinimid
NCSI	<i>N</i> -chlorsukcinimid
NIR	<i>Near-infrared</i> , blízké infračervené záření
NMR	Nukleární magnetická rezonance
kat.	katalyzátor
kol.	kolektiv
PE	petrolether

Ph	fenyl
PPA	kyselina polyfosforečná
RCS	<i>Reactive Carbonyl Species</i> , reaktivní formy uhlíku
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i> , reaktivní formy dusíku
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> , reaktivní formy kyslíku
rozp.	rozpouštědlo
RSS	<i>Reactive Sulfur Species</i> , reaktivní formy dusíku
RVO	rotační vakuová odparka
TABRS	<i>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</i> , látky reagující s kyselinou thiobarbiturovou
<i>terc.</i>	terciární
TCCA	trichlorisokyanurová kyselina
TEA	triethylamin
THF	tetrahydrofuran
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
TMG	1,1,3,3-tetramethylguanidin
t_R	retenční čas
t_t	teplota tání
US	<i>Ultrasound</i> , ultrazvuk

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Molekulové ionty sloučenin 12 a 14 . _____	43
Tabulka 2. Chlorace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a a výtěžky produktů. _____	47
Tabulka 3. Bromace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a _____	49
Tabulka 4. Výtěžek sloučeniny 15 po reakci s bázemi. _____	50
Tabulka 5. Výtěžky reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon (12) s octany. _	51

SEZNAM SCHÉMÁT

Schéma 1. Perkinova syntéza kumarinu.	13
Schéma 2. Obecná Pechmanova reakce.	14
Schéma 3. Pechmannova reakce při použití $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$.	14
Schéma 4. Pechmannova reakce podle Husseina.	15
Schéma 5. Návrh mechanismu Robertsonem a jeho kolektivem.	15
Schéma 6. Mechanismus Pechmannovy reakce dle návrhu Ahmeda a Deasiea.	16
Schéma 7. Potenciální mechanismus Pechmannovy syntézy podle Tyndala a kol.	17
Schéma 8. One-pot syntéza kumarinu Knoevenagelovou reakcí.	17
Schéma 9. Příprava 3-acetyl-8-ethoxykumarinu.	18
Schéma 10. Různé metody reakce salicylaldehydů a Meldrumovy kyseliny.	18
Schéma 11. Wittigova syntéza 3,4-nesubstituovaných kumarinů.	19
Schéma 12. Wittigova one-pot syntéza v BMIM-PF_6 .	19
Schéma 13. Konstaneckiova-Robinsonova reakce.	20
Schéma 14. Syntéza 4-hydroxykumarinu vycházející z fenolu a kyseliny malonové.	29
Schéma 15. Syntéza 4-hydroxykumarinu reakcí fenolu s Meldrumovou kyselinou.	29
Schéma 16. Reakce 2-hydroxyacetofenonu a acylačních činidel.	30
Schéma 17. Syntéza 4-hydroxykumarinu vycházející z 2-hydroxyacetofenonu.	30
Schéma 18. Syntéza 3-fenyl-4-hydroxykumarinu Suzukiho reakcí.	31
Schéma 19. Syntéza 3-fenyl-4-hydroxykumarinu s jodbenzenem iniciovanou světlem.	31
Schéma 20. Příprava 3-fenyl-4-hydroxykumarinu podle Mentzera a Verciera.	32
Schéma 21. Příprava 4-hydroxykumarinů podle Zieglera a Junka.	32
Schéma 22. Původní plán práce	35
Schéma 23. Příprava 4-hydroxychinolin-2-onů (2a).	35
Schéma 24. Příprava 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a .	36
Schéma 25. Neúspěšný pokus o přípravu 4-hydroxy-3-methylkumarinu 1b .	38
Schéma 26. Pokus o přípravu dichloridu kyseliny 2-fenylmalonové 9 .	39
Schéma 27. Účinek SO_2Cl_2 na 3-fenyl-4-hydroxykumarin (1a).	39
Schéma 28. Navržený mechanismus přeměny 4-hydroxykumarinu 1a na derivát 12 .	41
Schéma 29. Chlorace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a .	47
Schéma 30. Bromace 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a .	49
Schéma 31. Reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu s bázemi.	49
Schéma 32. Reakce 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (12) s octany.	51

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. Struktura kumarinu (1)	11
Obrázek 2. Příklady kumarinových sloučenin.	12
Obrázek 3. Metabolismus kumarinu v lidském těle.	20
Obrázek 4. Sloučeniny chitosanu a kumarinu.	22
Obrázek 5. Struktury antioxidačních <i>terc</i> -butylkumarinů a terpenylkumarinů.	23
Obrázek 6. Struktura 4-hydroxykumarinu	24
Obrázek 7. Reaktivita atomů uhlíku v různých polohách heterocyklu.	24
Obrázek 8. Tautomerní formy 4-hydroxykumarinu.	25
Obrázek 9. Nejdůležitější kumarinové antikoagulanty.	26
Obrázek 10. Mechanismus účinku kumarinových antikoagulantů.	27
Obrázek 11. Enzymy podílející se na metabolismu warfarinu u člověka.	28
Obrázek 12. Struktura 4-hydroxykumarinů 1 , 4-hydroxychinolin-2(1 <i>H</i>)-onů 2a a 3-chlorchinolin-2,4(1 <i>H</i> ,3 <i>H</i>)-dionů 2b .	34
Obrázek 13. Výřez z ¹ H spektra 3-fenyl-4-hydroxykumarinu 1a .	37
Obrázek 14. Výřez z ¹ H a ¹³ C spekter produktu chlorace sloučeniny 1a .	40
Obrázek 15. ORTEP diagram 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanonu (12).	41
Obrázek 16. Výřez z ¹ H spekter látek připravených chlorací 1a <i>N</i> -chlorsukcinimidem. Horní polovina: Sloučenina 12 . Dolní polovina: Sloučenina 14	43
Obrázek 17. Výřez z NMR spekter sloučeniny 15 .	44
Obrázek 18. Vlevo: Původní aparatura s kanylami. Vpravo: Upravená aparatura.	46
Obrázek 19. Výřez z ¹ H spekter látek připravených bromací 1a . Horní polovina: Sloučenina 16 . Dolní polovina: Sloučenina 17	48
Obrázek 20. ESI-MS spektrum dimeru 19 .	52

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1 S. M. Sethna, N. M. Shah. *Chem. Rev.* **1945**, 36. ISSN 0009-2665.
- 2 K. N. Venugopala, et al. *BioMed Res. Int.* **2013**, Article ID 963248.
- 3 M. J. Matos, et al. *InTech*, **2015**. ISBN 978-953-51-2170-1.
- 4 M. A. Salem, et al. *Synth. Commun.* **2018**, 48(13), 1534–1550.
- 5 R. H. Vekariya, H. D. Patel. *Synth. Commun.* **2014**, 44(19), 2756–2788.
- 6 F. Borges, et al. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12, 887–916.
- 7 M. Molnar, et al. *Curr. Med. Chem.* **2020**, 14(1), 4–43.
- 8 G. J. Sun, et al. *Advanced Materials Research.* **2012**, 365, 228–232.
- 9 F. A. Hussien, et al. *Int. Lett. Chem.* **2016**, 69, 66–73.
- 10 B. Tyagi, et al. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2007**, 276, 47–56.
- 11 J. Daru, A. Stirling. *J. Org. Chem.* **2011**, 76(21), 8749–8755.
- 12 V. Calvino-Casilda, et al. *Catal. Today* **2010**, 155(3), 279–281.
- 13 S. Tyndall, et al. *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 8951–8953.
- 14 H. M. Mohamed, et al. *Molecules* **2012**, 17(1), 971–988.
- 15 J. Martínez, et al. *Journal of Chemistry*, **2016**, 2016, 4678107, 1–6.
- 16 H. Valizadeh, S. Vaghefi. *Synth. Commun.* **2009**, 39(9), 1666–1678.
- 17 D. C. Dittmer, et al. *J. Org. Chem.* **2005**, 70(12), 4682–4686.
- 18 K. P. Barot, et al. *Med. Chem. Res.* **2015**, 24, 2771–2798.
- 19 A. Stefanachi, et al. *Molecules* **2018**, 23, 250–284.
- 20 Q. Li, et al. *Polym. Chem.* **2019**, 10, 1480–1488.
- 21 S. A. Popova, et al. *Chem. Biodivers.* **2019**, 16, e1800317.
- 22 J. Jung, E. Park. *Molecules* **2009**, 14, 4790–4803.
- 23 Y. Lin Y, et al. *Nat. Commun.* **2013**, 4(1), 2603.
- 24 A. Bye, H. K. King. *Biochem. J.* **1970**, 117, 237–245.

- 25 M. M. Abdou, et al. *Arabian Journal of Chemistry* **2019**, 12, 88–121.
- 26 M. Matýšková, Z. Čech. *Klin. Biochem. Metab.* **2009**, 17(38), 215–219.
- 27 N. Au, A. R. Rettie. *Drug Metab. Rev.* **2008**, 40: 355–375.
- 28 K. Kasperkiewicz, et. al. *Molecules* **2020**, 25, 1465.
- 29 J. Martínková. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů. 2., zcela přepracované a doplněné vydání.* Praha: Grada Publishing, **2018**. ISBN 978-80-247-4157-4.
- 30 A. E. Rettie. *Molecular Interventions.* **2006**, 6(4), 223–227.
- 31 P. Kaur, et al. *J. Heterocyclic Chem.* **2016**, 53, 1519–1527.
- 32 S. Serra et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 5791–5794.
- 33 Q. Zhu, et al. *Org. Lett.* **2002**, 4(19), 3333–3336.
- 34 S. A. Rodríguez, M. T. Baumgartner. *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 5322–5324.
- 35 Mentzer; Vercier. *Monatshefte fur Chemie*, **1957**, 88, 264.
- 36 Ziegler; Junek. *Monatshefte fur Chemie*, **1955**, 87, 29–38.
- 37 Diethyl phenylmalonate. *ChemSpider* [online]. [cit. 2021-5-10]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.59885.html>
- 38 Justin Finnerty et al. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120(8), 1701–1704.
- 39 K. M. E. Ng, T. McMorris. *Can. J. Chem.* **1984**, 62(10), 1945–1953.
- 40 Fucik et al. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*, **1953**, 18, 694–702.
- 41 R. B. Silverman. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 3910–3915.
- 42 R. Doonaboyina, et al. *Int. J. Research in Pharm. Sci.* **2019**, 10(1), 710–720.