

# Studium reaktivity diethyl-malonátů s fenolem

Michaela Bagáři

---

Bakalářská práce  
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav chemie

Akademický rok: 2024/2025

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Michaela Bagáři  
Osobní číslo: T21176  
Studijní program: B0721A210002 Technologie a hodnocení potravin  
Specializace: Chemie a analýza potravin  
Forma studia: Prezenční  
Téma práce: Studium reaktivity diethyl-malonátů s fenolem

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

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

### II. Praktická část

- Pokusit se nalézt vhodné podmínky cyklokondenzační reakce diethyl-malonátů s fenolem.
- V případě úspěšné optimalizace reakce definované v bodě 1, připravit několik zástupců 3-alkyl-4-hydroxykumarinů.
- Prozkoumat možnosti substituce heterocyklické části vybraných 4-hydroxykumarinů.
- Izolované produkty charakterizovat dostupnými metodami instrumentální analýzy.
- Vyhodnotit výsledky experimentů a sepsat bakalářskou práci.

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

**Seznam doporučené literatury:**

1. McMurry, J. *Organická chemie* 2007, VUTIUM Brno.
2. Stadlbauer, W.; Badawey, E.-S.; Hojas, G.; Roschger, P.; Kappe, T. *Molecules* 2001, 6, 338–352.
3. Fučík, K.; Kořístek, S.; Jančík, F.; Kakáč, B. *Collection Czechoslov. Chem. Commun.* 1953, 18, 694–709.
4. Musa, M. A.; Cooperwood, J. S.; Khan, M. O. F. A Review of Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Breast Cancer. *Curr. Med. Chem.* 2008, 15, 2664–2679.
5. Stefanachi, A.; Leonetti, F.; Pisani, L.; Catto, M.; Carotti, A. Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules* 2018, 23, 250.

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

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2025**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

---

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

---

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

Ve Zlíně dne 20. února 2025

# PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

## Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci – nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode 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 bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, 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 bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne .....

.....  
podpis autora



## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se věnuje přípravě 4-hydroxykumarinů z fenolu a diethylesterů kyseliny malonové. V teoretické části je popsána biologická aktivita kumarinů a přehled tradičních metod jejich syntézy. Praktická část se zaměřuje na syntézu derivátů 4-hydroxykumarinů substituovaných v poloze 3 a následně na studium jejich reaktivity, směřující k získání jejich reaktivnější formy halogenací.

Klíčová slova: kumarin, 4-hydroxykumarin, diethyl-malonát, syntéza, chlorace, bromace

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis focuses on the synthesis of 4-hydroxycoumarins from phenol and diethyl malonate. The theoretical part provides an overview of the biological activity of coumarins and traditional methods of their synthesis. The experimental section describes the preparation of 4-hydroxycoumarin derivatives substituted at position 3, followed by the investigation of their reactivity aimed at obtaining more reactive forms via halogenation.

Keywords: coumarin, 4-hydroxycoumarin, diethyl malonate, synthesis, chlorination, bromination

Ráda bych touto cestou poděkovala mému vedoucímu Ing. Romanu Kimmelovi, Ph.D., za spolupráci, cenná rady a trpělivost. Dále děkuji své rodině, která mě podporovala nejen při psaní této práce, ale po celou dobu mého studia.

# OBSAH

|                                                                                                               |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>ÚVOD.....</b>                                                                                              | <b>11</b> |
| <b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>                                                                                | <b>12</b> |
| <b>1 BIOLOGICKÉ ÚČINKY KUMARINŮ .....</b>                                                                     | <b>13</b> |
| 1.1 PROTINÁDOROVÁ AKTIVITA KUMARINŮ .....                                                                     | 13        |
| 1.1.1 Role kumarinů v léčbě rakoviny .....                                                                    | 14        |
| 1.1.2 Kumariny a rakovina prsu .....                                                                          | 15        |
| 1.1.3 Kumariny a leukémie .....                                                                               | 17        |
| 1.1.4 Kumariny a maligní melanom.....                                                                         | 18        |
| <b>2 SYNTÉZA KUMARINŮ .....</b>                                                                               | <b>20</b> |
| 2.1 PECHMANNOVA REAKCE .....                                                                                  | 20        |
| 2.2 PERKINOVA REAKCE.....                                                                                     | 21        |
| 2.3 KNOEVENAGELOVA REAKCE .....                                                                               | 22        |
| 2.4 KOSTANECKÉHO REAKCE .....                                                                                 | 23        |
| <b>II PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>                                                                                | <b>25</b> |
| <b>3 VÝSLEDKY A DISKUSE .....</b>                                                                             | <b>26</b> |
| 3.1 ÚVOD DO PROBLEMATIKY .....                                                                                | 26        |
| 3.2 DISKUSE VÝSLEDKŮ .....                                                                                    | 26        |
| <b>4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A<br/>    INSTRUMENTÁLNÍCH METOD.....</b>                         | <b>33</b> |
| <b>5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ<br/>    CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN.....</b> | <b>34</b> |
| 5.1 SYNTÉZA 4-HYDROXYKUMARINŮ Z ETHYL-MALONÁTŮ .....                                                          | 34        |
| 5.2 SYNTÉZA 3-METHOXY-4-HYDROXYKUMARINU 1J .....                                                              | 37        |
| 5.3 MIKROVLNAMI ASISTOVANÁ SYNTÉZA.....                                                                       | 37        |
| 5.4 NEÚSPĚŠNÝ POKUS O CHLORACI ZA POUŽITÍ SO <sub>2</sub> CL <sub>2</sub> .....                               | 38        |
| 5.5 NEÚSPĚŠNÝ POKUS O CHLORACI PLYNNÝM CL <sub>2</sub> .....                                                  | 39        |
| 5.6 BROMACE ZA POUŽITÍ BR <sub>2</sub> .....                                                                  | 39        |
| <b>ZÁVĚR .....</b>                                                                                            | <b>40</b> |
| <b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>                                                                         | <b>41</b> |
| <b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>                                                                                   | <b>51</b> |
| <b>SEZNAM SCHÉMAT .....</b>                                                                                   | <b>52</b> |
| <b>SEZNAM TABULEK.....</b>                                                                                    | <b>53</b> |
| <b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>                                                                | <b>54</b> |



## ÚVOD

Kumariny jsou skupina derivátů 1-benzopyranu. Tyto sloučeniny se dnes získávají z celé řady rostlin, například z rodů *Artemisia*,<sup>1</sup> *Achillea*<sup>2</sup> či *Fraxinus*,<sup>3</sup> ale je možné je také syntetizovat v laboratoři. Kumariny jsou ceněné pro své mnohostranné biologické účinky, jako působení proti HIV, nádorovým onemocněním, hypertenzi, arytmií, osteoporóze, též pro své protizánětlivé účinky, antikoagulační účinky a jako prevence astmatu a sepse.<sup>4</sup>

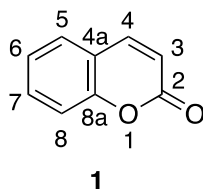
Tato bakalářská práce se věnuje přípravě 4-hydroxykumarinů substituovaných v poloze 3, získaných reakcí fenolu s diethylesterem kyseliny malonové substituované v poloze 3. Následně byla zkoumána reaktivita takto připravených látek. Za tímto účelem byla využita různá halogenační činidla, ve snaze o syntézu 3-halogenovaných chroman-2,4-dionů.

## **I    TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 BIOLOGICKÉ ÚČINKY KUMARINŮ

Kumarin **1** byl poprvé izolován německým chemikem Heinrichem Augustem von Vogel v roce 1820 z tonka fazolí.<sup>5</sup> Fazole tonka jsou semena ze stromu *Dipteryx odorata*, jehož dřívější botanický název byl *Coumarouna*, vycházející z lidového názvu *kumarů*.<sup>6</sup>

Od té doby byla popsána izolace, strukturní charakterizace, syntéza a biologická aktivita tisíců přírodních kumarinů z rostlin, bakterií a hub. Kumarin **1**, jehož struktura a schéma číslování jsou znázorněny na **Obrázku 1**, je charakterizován jako 1-benzopyran-2-on a byl široce studován, protože jeho základní skelet je přítomen v mnoha biologicky aktivních látkách.



**Obrázek 1** Struktura a číslování kumarinu **1**

Dlouhodobý farmakologický výzkum odhalil, že kumariny vykazují řadu vlastností, včetně antibakteriálních, antioxidačních, protirakovinných, protizánětlivých a hypoglykemických. Díky své rozmanité struktuře a farmakologickým účinkům jsou kumariny široce využívány ve farmaceutickém, kosmetickém a agrochemickém průmyslu i v kuchyni.<sup>7</sup>

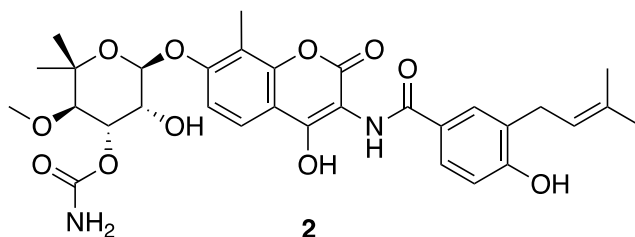
### 1.1 Protinádorová aktivita kumarinů

Rakovina je celosvětově jednou z nejčastějších příčin úmrtí na nemoci. Přestože bylo objeveno mnoho chemoterapeutik, která potlačují nekontrolované procesy dělení buněk a slouží k léčbě různých druhů rakoviny, zásadní nevýhodou jsou závažné vedlejší účinky těchto léků.<sup>8</sup> Kvůli přetrvávajícím problémům, jako je cytotoxicita a léková rezistence u současně používaných chemoterapeutik, se intenzivně hledají nová účinná protinádorová léčiva. Výzkumy naznačují, že mnoho sloučenin získaných z přírodních zdrojů lze využít jako preventivní a terapeutické látky při léčbě rakoviny. Bylo prokázáno, že tyto sloučeniny zvyšují účinnost a toleranci chemoterapeutik při použití v kombinaci s chemoterapií nebo samostatně u různých typů rakoviny.<sup>9</sup>

### 1.1.1 Role kumarinů v léčbě rakoviny

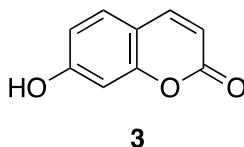
Přírodní i syntetické deriváty kumarinu si získávají pozornost díky svému potenciálu ve fotochemoterapii a dalších terapeutických přístupech v léčbě rakoviny.<sup>10</sup> Bylo prokázáno, že způsob substituce na kumarinovém jádře může příznivě ovlivnit jejich terapeutické, farmakologické i biochemické vlastnosti kumarinů.<sup>11 12 13</sup> U některých kumarinů byl pozorován cytostatický účinek, zatímco jiné vykazují cytotoxickou aktivitu.<sup>14 15</sup>

Studie zaměřené na protinádorovou aktivitu kumarinu a jeho derivátů ukázaly, že jedním z hlavních mechanismů jejich působení je indukce programované buněčné smrti prostřednictvím kaspáz-dependentní apoptotické dráhy.<sup>16</sup> Inhibice proteinu Hsp90 představuje další mechanismus v léčbě nádorových onemocnění. Novobiocin **2** a jeho analogy, které obsahují kumarinové jádro, interagují s ATP-dependentním molekulárním chaperonem, jenž ovlivňuje správné skládání celé řady proteinů, včetně kináz a transkripčních faktorů úzce spojených s nádorovým růstem. Inhibice Hsp90 těmito látkami je zprostředkována jeho degradací prostřednictvím ubiquitin-proteazomové dráhy.



**Obrázek 2** Struktura novobiocinu **2**

Kumarin **1** a jeho aktivní metabolit 7-hydroxykumarin **3** vykazují cytostatickou aktivitu vůči několika lidským nádorovým buněčným liniím, včetně HL-60 (leukémie), MCF-7 (karcinom prsu), A549<sup>16</sup> a H727 (karcinom plic) a ACHN<sup>14</sup> (karcinom ledviny).<sup>17</sup> Cytostatický účinek těchto sloučenin byl navíc zaznamenán i v klinických studiích u karcinomu prostaty<sup>10 18</sup> a maligního melanomu<sup>19</sup>.



**Obrázek 3** Struktura 7-hydroxykumarinu (umbeliferonu) **3**

Výsledky výzkumů reaktivity kumarinových derivátů naznačují, že orto- nebo meta-dihydroxykumariny vykazují vyšší cytotoxický účinek na lidské nádorové buněčné linie než jejich monosubstituované analogy.<sup>20 21</sup>

### 1.1.2 Kumariny a rakovina prsu

Rakovina prsu je systémové onemocnění, které vzniká abnormálním množení buněk vystylajících mléčné žlázy a mlékovody, přičemž tyto buňky se dále šíří do různých tkání a orgánů a nadále v nich rostou.<sup>22</sup> Celosvětově se jedná o nejčastější typ rakoviny u žen a zároveň o druhou nejčastější příčinu úmrtí na rakovinu po rakovině plic.<sup>23</sup>

Protože se prsní tkáň skládá ze dvou hlavních struktur, rozlišujeme dva základní typy rakoviny prsu: lobulární karcinom, který vzniká v mléko produkujících lalůčkách, a duktální karcinom, který se vyvíjí z mlékovodů. Nejčastějším typem rakoviny prsu je duktální karcinom, který tvoří přibližně 75 % všech případů. Z histologického hlediska se karcinomy prsu dělí na dvě hlavní skupiny: karcinomy *in situ* a invazivní karcinomy. U karcinomu *in situ* jsou maligní epiteliální buňky omezeny na vývody (ductus) a lalůčky (acinus), obklopené bazální membránou. Naproti tomu u invazivního (infiltrativního) karcinomu nádorové buňky překračují bazální membránu a prorůstají do stromatu.<sup>24 25 26</sup>

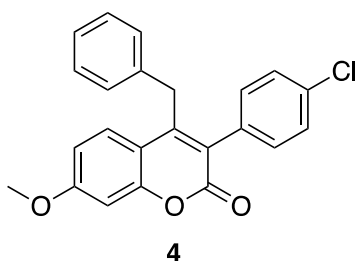
Hormonálně podmíněné nádory, včetně těch stimulovaných estrogenním receptorem (ER), byly zaznamenány přibližně u jedné třetiny pacientek s postmenopauzální rakovinou prsu.<sup>27</sup> V nedávných preklinických i klinických studiích nabývá na významu vývoj agonistů/antagonistů ER pro prevenci a léčbu rakoviny prsu.<sup>28</sup> Antagonisté ER se běžně používají v léčbě postmenopauzálních žen a hormonálně podmíněných nádorů prsu.

Zvýšená aktivita enzymů aromatázy a sulfatázy v nádorových buňkách prsu, které podporují syntézu estrogenu, byla spojena s horší prognózou u pacientek s hormonálně pozitivními nádory.<sup>29</sup> U postmenopauzálních žen se estrogen tvoří především v periferních tkáních konverzí androstendionu. Tyto poznatky vedly k vývoji nových terapeutických přístupů, které zahrnují inhibitory těchto enzymů. Kumariny se ukázaly jako účinné inhibitory estron-sulfatázy a aromatázy<sup>30</sup>, což je činí slibnou možností v léčbě rakoviny prsu.

Dráhy aromatázy (AR) a sulfatázy (STS) se podílejí na syntéze estrogenu, který u postmenopauzálních žen vzniká výhradně v periferních tkáních. Aromatázová dráha zajišťuje přeměnu androstendionu, vylučovaného převážně kůrou nadledvin, na estrogen prostřednictvím enzymového komplexu AR, zatímco dráha estron-sulfatázy (E1-STS) převádí estron vzniklý působením aromatázy na estron sulfát (E1S) pomocí enzymů

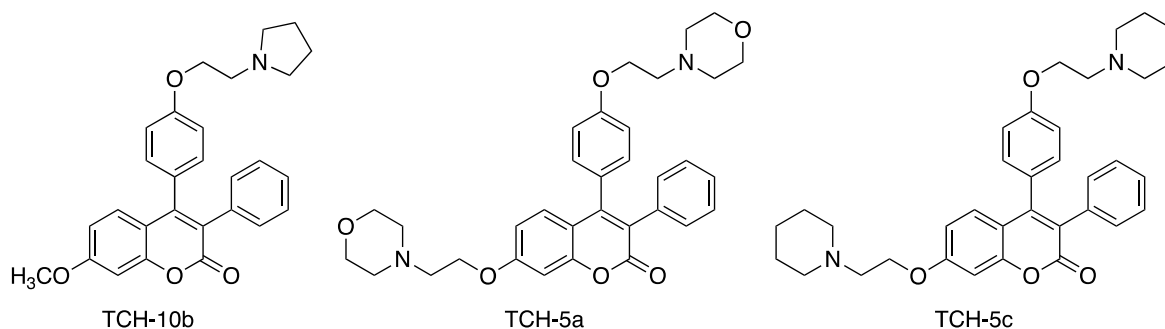
sulfotransferáz.<sup>31</sup> U nádorů prsu je aktivita sulfatázy zvýšená, což souvisí s horší prognózou.<sup>32</sup> Dráha E1-STS je považována za hlavní zdroj estrogenu u patientek s ER pozitivními nádory, kde vyvolává silnou odpověď.<sup>31</sup> Tyto poznatky vedly k objevu nových kumarinových sloučenin jako inhibitorů STS<sup>31</sup> i AR<sup>32</sup>.

Inhibitory aromatázy (AI) snižují hladinu estrogenu, což zpomaluje proliferaci nádorových buněk, včetně inhibice tvorby genotoxických metabolitů estrogenu. AI jsou standardní možností léčby rakoviny prsu u postmenopauzálních žen.<sup>33</sup> Kumariny příbuzné sloučenině **4**, vykazují silnější kompetitivní inhibici aromatázy než aminoglutetimid. Interakce této sloučeniny s aromatázou vede k většímu snížení vazby na její aktivní místo a potlačení proliferace AR- a ER-pozitivních MCF-7 nádorových buněk prsu.<sup>30 34</sup>



**Obrázek 4** Struktura 4-benzyl-3-(4'-chlorfenyl)-7-methoxy-kumarinu **4**

Biokonjugáty obsahující 3-substituované kumariny a estradiol prokázaly silnou antiproliferační aktivitu vůči neinvazivním i invazivním buněčným liniím rakoviny prsu (MDA-MB-231 a MDA-MB-435).<sup>35</sup> Cui a kol.<sup>36</sup> dále popsali protinádorové účinky tří nově syntetizovaných kumarinů odvozených od trifenyletylenu (TCH) – viz **Obrázek 5**, z nichž sloučenina TCH-5c potlačovala proliferaci nádorových buněk, vyvolávala apoptózu a způsobovala zástavu buněčného cyklu ve fázi G0/G1. Současně inhibovala angiogenezi – proces tvorby nových cév, nezbytný pro zásobování nádoru živinami – prostřednictvím snížení exprese vaskulárního endoteliálního růstového faktoru a migrace endoteliálních buněk. Tím omezila nádorotvorný potenciál buněčné linie SK-BR-3 *in vivo*.



**Obrázek 5** Nově syntetizované kumariny odvozené od TCH s protinádorovými účinky

### 1.1.3 Kumariny a leukémie

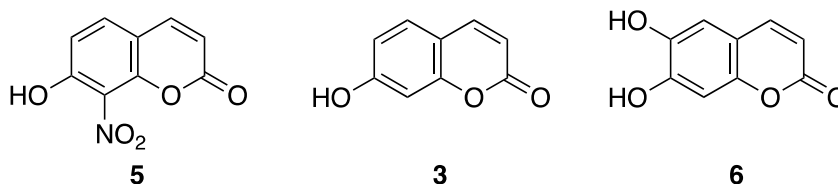
Leukémie je heterogenní skupina hematologických malignit, které vznikají v důsledku poruchy v proliferaci vyvíjejících se leukocytů. Dochází tak ke snížení počtu destiček podílejících se na srážení krve a počtu leukocytů zajišťujících obranu organismu. U pacientů s leukémií to způsobuje závažná poranění a krvácení, stejně jako zvýšenou náchylnost k infekcím. Navíc se oslabuje obranný mechanismus organismu, což může v pokročilých stádiích vést k anémii a dušnosti. Mezi příznaky leukémie patří slabost a únava, horečka, některé neurologické příznaky, nadýmání a krvácení z dásní.<sup>37</sup>

Klasifikuje se jako akutní nebo chronická podle rychlosti proliferace a jako myelocytární nebo lymfocytární podle buněčného původu. Obecně platí, že akutní leukémie se častěji vyskytuje u dětí, zatímco chronická bývá častější u dospělých. Leukémie představovala přibližně 2,5 % všech nově diagnostikovaných případů rakoviny a 3,1 % úmrtí souvisejících s rakovinou.<sup>38</sup> U dětí je častější než jiné typy nádorů – tvoří přibližně jednu třetinu všech dětských onkologických onemocnění. V západních zemích se její výskyt pohybuje kolem 3-4 případů na 100 000 dětí mladších 15 let.<sup>39</sup>

Ačkoli přesné příčiny leukemie nejsou dosud plně objasněny, předpokládá se, že důležitou roli hrají jak genetické, tak i environmentální faktory. Mutace DNA v somatických buňkách vedou k aktivaci onkogenů nebo inaktivaci tumor supresorových genů. Tím dochází k narušení regulace buněčné smrti a dělení. Kromě genetických příčin se předpokládá, že k tomuto poškození přispívají petrochemické látky, záření, karcinogeny a některé viry (např. HIV).

Cílem léčby leukemie je snížit počet bílých krvinek. Vzhledem k tomu, že chirurgický zákrok není v tomto případě vhodný, základem terapie je podávání protinádorových léčiv, kombinace chemoterapie a radioterapie a v případech, kdy chemoterapie selhává, transplantace kostní dřeně.

Egan a kol.<sup>40</sup> uvedli, že 8-nitro-7-hydroxykumarin **5** vykazuje cytotoxické vlastnosti a indukuje apoptózu u testovaných lidských leukemických buněčných linií HL-60 a K562. Výzkumy zaměřené na účinky různých derivátů kumarinů – konkrétně 6-hydroxykumarinu, 7-hydroxykumarinu **3** a eskuletinu (6,7-dihydroxykumarin) **6** – na růst, metabolismus a buněčnou signalizaci lidských nádorových buněčných linií, bylo zjištěno, že eskuletin **6** má nejsilnější antiproliferativní účinek.<sup>41 42</sup> Cooke a O’Kennedy<sup>41</sup> dále prokázali, že 7-hydroxykumarin **3** a eskuletin **6** inhibují tyrosinovou fosforylaci u EGF-stimulovaných nádorových buněk v závislosti na čase a dávce. Tento účinek je zprostředkován snížením tyrosinkinázové aktivity receptoru pro epidermální růstový faktor (EGF), což může narušit signalizační dráhy důležité pro proliferaci a přežití leukemických buněk a naznačuje potenciální využití těchto látek v cílené terapii leukemie.



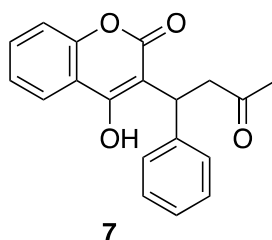
**Obrázek 6** Deriváty kumarinu s potenciálem v léčbě leukémie

#### 1.1.4 Kumariny a maligní melanom

Přestože je maligní melanom (MM) třetím nejčastějším typem rakoviny kůže, jedná se o kožní nádor s nejrychleji rostoucí incidencí a nejvyšší mortalitou na světě. Odhaduje se, že u jednoho z každých 75 lidí narozených v roce 2000 se v průběhu života rozvine maligní melanom, přičemž 20 % z nich zemře v důsledku tohoto onemocnění do pěti let od stanovení diagnózy.<sup>43 44</sup> MM představuje přibližně 1,5 % všech nádorových onemocnění a zhruba 1 % úmrtí na rakovinu. Ve 40 % případů vzniká z již existujícího névu. Nejvýznamnějším environmentálním rizikovým faktorem je opakované a intenzivní vystavení slunečnímu záření, zejména pokud je kombinováno s endogenními faktory, jako jsou fototypy kůže Fitzpatrick 1 a 2, syndromy imunodeficiency či genetická predispozice.<sup>45 46</sup> Riziko vzniku maligního melanomu se zvyšuje až tisícinásobně u pacientů s genetickými poruchami, jako je xeroderma pigmentosum.<sup>47</sup>

Cílem léčby pacientů s maligním melanomem je lokální kontrola onemocnění a pokud možno zamezení jeho šíření do lymfatických uzlin a vzdálených orgánů. Základem terapie maligního melanomu je včasná diagnostika a adekvátní primární chirurgická resekce.<sup>48</sup>

Warfarin (4-hydroxy-3-(3-oxo-1-fenylbutyl)kumarin) **7**, může sehrávat důležitou roli v léčbě maligního melanomu díky svým účinkům, jako je inhibice šíření nádoru a stimulace granulocytů, lymfocytů a makrofágů.<sup>49</sup> Ve studiích Thornese a kol.<sup>19 50</sup> bylo prokázáno, že kumarin **1** a warfarin **7** snižují riziko recidivy maligního melanomu závisle na dávce a aktivaci makrofágů. Velasco-Velazquez a kol.<sup>51</sup> dále zjistili, že 4-hydroxykumarin narušuje aktinový cytoskelet v myši melanomové buněčné linii B16-F10, avšak nemá vliv na benigní fibroblastovou linii B82. To naznačuje jeho možné využití jako adjuvantní terapie, jelikož brání adhezi (přilnutí) nádorových buněk na extracelulární matrix během procesu metastazování.



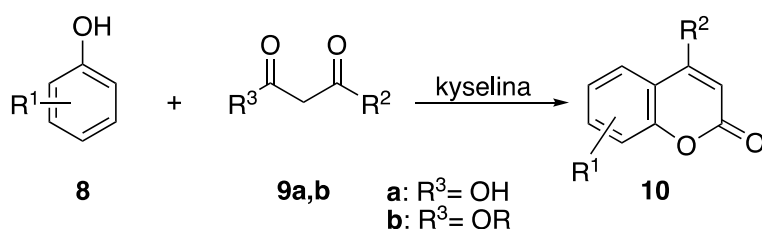
**Obrázek 7** Struktura 4-hydroxy-3-(3-oxo-1-fenylbutyl)kumarinu (warfarinu) **7**

## 2 SYNTÉZA KUMARINŮ

K syntéze kumarinu a jeho derivátů lze využít celou řadu metod. Mezi tradiční postupy přípravy patří Wittigova reakce, Pechmannova syntéza, Knoevenagelova reakce, Perkinova reakce a Kostaneckého cesta. Moderní přístupy pak často spoléhají na využití kovových katalyzátorů a aktivaci C–H vazeb k vytvoření kumarinového jádra. Mezi všemi známými syntetickými metodami patří k nejčastěji využívaným ty, které jsou katalyzované přechodnými kovy, zejména reakce typu Suzuki, Heck a Buchwald–Hartwig.<sup>52</sup>

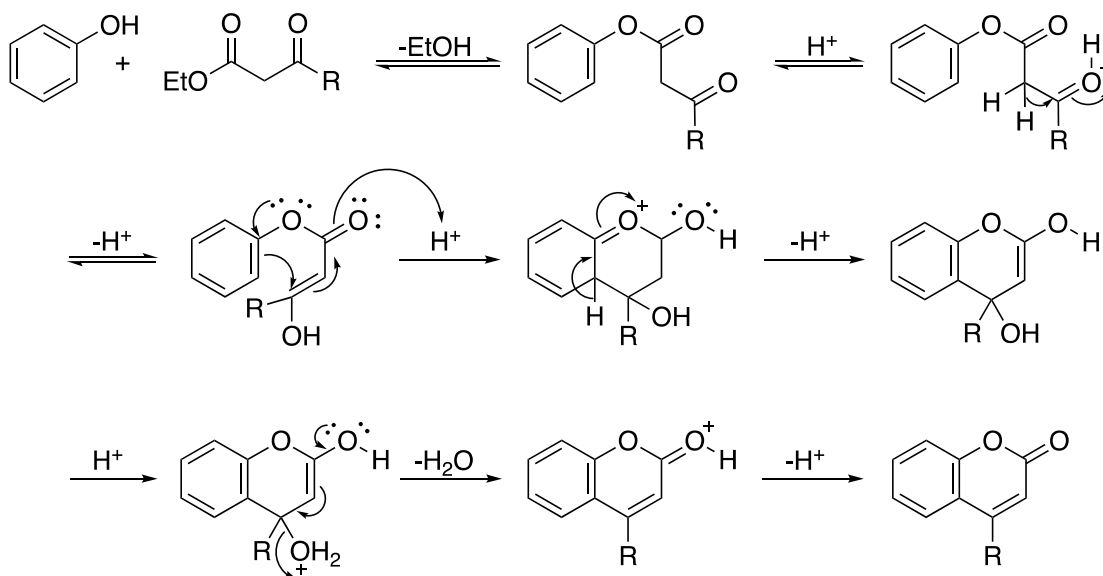
### 2.1 Pechmannova reakce

Kondenzaci vedoucí ke vzniku kumarinů popsal jako první v roce 1883 německý chemik Hans von Pechmann ve své publikaci v časopise *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*.<sup>53</sup>



**Schéma 1** Obecné schéma Pechmannovy reakce

Tato syntéza kumarinů **10** je reakcí fenolů **8** s karboxylovou kyselinou **9a** nebo esterem **9b** obsahujícím β-karboxylovou skupinu – viz **Schéma 1**.

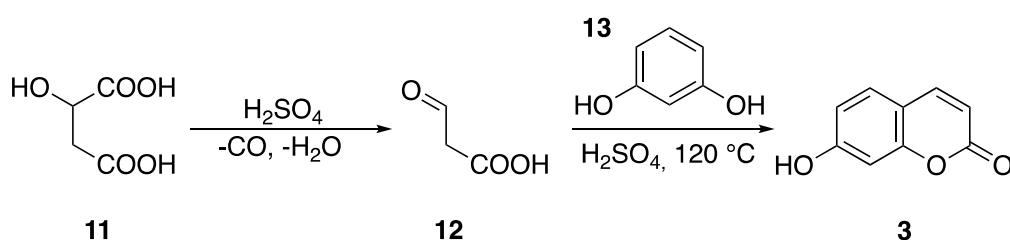


**Schéma 2** Mechanismus Pechmannovy reakce

Pechmannova reakce se běžně provádí za kyselých podmínek. Mechanismus zahrnuje esterifikaci/transesterifikaci následovanou nukleofilním atakem  $\pi$ -elektronů aromatického kruhu na  $\beta$ -oxoskupinu, za vzniku nového kruhu. Posledním krokem je dehydratace, po které následuje aldolová kondenzace.<sup>54</sup> Mechanismus této reakce je znázorněn na **Schématu 2**.

Syntéza kumarinu s jednoduchými fenoly za Pechmannových podmínek je problematická a pro posun reakce vpřed jsou vyžadovány tvrdé reakční podmínky, i když výtěžky mohou být stále rozumné.<sup>55 56</sup>

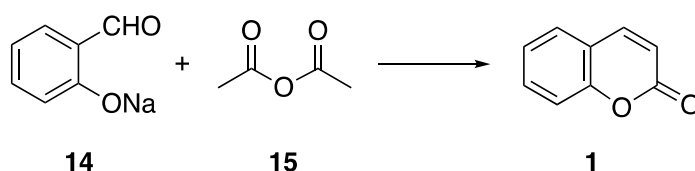
Naopak, reakce s vysoce aktivovanými fenoly, jako je resorcinol **13**, může být prováděna za mnohem mírnějších podmínek. To poskytuje užitečnou cestu k 7-hydroxykumarinu (umbeliferonu) **3** z reakce in situ kyseliny formyloctové **12**, generované z kyseliny jablečné **11**, s resorcinolem **13** – viz **Schéma 3**.<sup>57</sup>



**Schéma 3** Schéma syntézy umbeliferonu **3**

## 2.2 Perkinova reakce

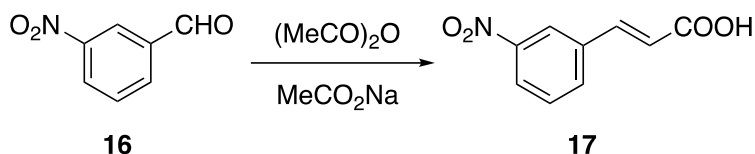
Perkinova reakce zahrnuje kondenzaci anhydridu karboxylové kyseliny a aldehydu v přítomnosti slabé báze.<sup>58</sup> První příklad této syntézy popsal anglický chemik William Henry Perkin v roce 1868. Tato kodenzace spočívala v přípravě kumarinu zahříváním sodné soli salicylaldehydu **14** s acetanhydridem **15** – viz **Schéma 4**.<sup>59</sup>



**Schéma 4** Reakce W. H. Perkina z roku 1868

Perkinova reakce se využívá k syntéze kumarinových derivátů, zejména těch s arylovými nebo heteroarylovými skupinami v poloze 3. Zahrnuje bázi katalyzovanou kondenzační reakci aromatických aldehydů s kyselinou octovou. V průběhu reakce se nejprve tvoří meziprodukt ve formě kyseliny skořicové, která následně podstupuje dekarboxylaci a cyklizaci, což vede k vytvoření požadovaného derivátu kumarinu.<sup>52</sup>

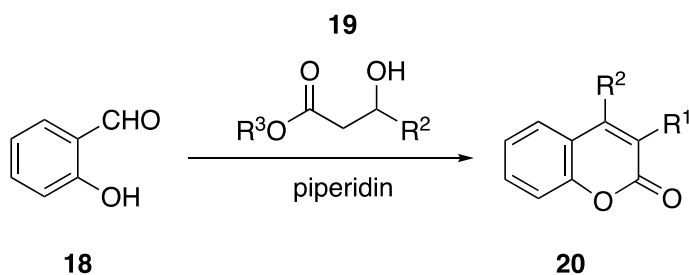
Reakce je obecně použitelná pouze pro aromatické aldehydy a je zvláště užitečná pro přípravu substituovaných skořicových kyselin **17**, jak ukazuje **Schéma 5**.<sup>59</sup>



**Schéma 5** Příprava substituované kyseliny skořicové Perkinovou reakcí

### 2.3 Knoevenagelova reakce

V roce 1896 popsal německý chemik Heinrich Emil Albert Knoevenagel reakci vedoucí ke vzniku "benzylidenacetocetového esteru".<sup>60</sup> Tato metoda, později pojmenovaná jako Knoevenagelova kondenzace, je významnou strategií využívanou k syntéze derivátů kumarinu s arylovými nebo alkylovými substituenty v poloze 3. Spočívá v kondenzaci aromatického aldehydu s ketonem v přítomnosti báze – viz **Schéma 6**.<sup>61</sup>



**Schéma 6** Obecné schéma Knoevenagelovy reakce

Jako výchozí látky lze použít o-hydroxybenzaldehyd **18** s kyselinou malonovou v přítomnosti piperidinu jako báze. Báze pak deprotonuje kyselinu malonovou a vytvoří stabilizovaný enolátový ion. Meziproduct β-ketoester vzniká, když enolát atakuje elektrofilní uhlík aldehydu (nebo ketonu). Po intramolekulárním nukleofilním útoku fenylové skupiny na β-ketoester dochází k cyklizaci kruhu a vzniku kumarinového produktu.<sup>52</sup>

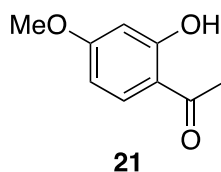
Tradiční metody syntézy kumarinů často využívají toxické a korozivní katalyzátory, mají dlouhou reakční dobu a nízkou výtěžnost, což vede k vedlejším produktům a znečištění životního prostředí. V reakci na tyto problémy se výzkum zaměřil na vývoj efektivních a ekologicky přívětivých protokolů.<sup>61</sup>

Knoevenagelova kondenzace se ukázala jako klíčová reakce pro syntézu kumarinových derivátů za mírných podmínek. Nedávné studie se zaměřily na použití různých katalyzátorů,

včetně heterogenních a nano-katalyzátorů, které umožňují reakce bez rozpouštědel, s kratšími reakčními časy a vyššími výtěžnostmi.<sup>51</sup>

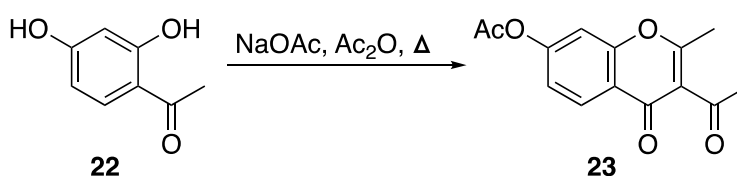
## 2.4 Kostaneckého reakce

V roce 1892 W.N. Nagai<sup>62</sup> a Y. Tahara<sup>63</sup> paralelně zveřejnili články, ve kterých popisovali provedenou reakci paeonolu **21** (2'-Hydroxy-4'-methoxyacetofenonu) s acetanhydridem v přítomnosti octanu sodného, pod refluxem, za vzniku neidentifikované heterocyklické sloučeniny.

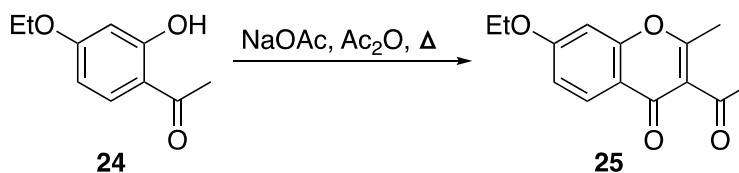


**Obrázek 8** Strukturní vzorec paeonolu **21**

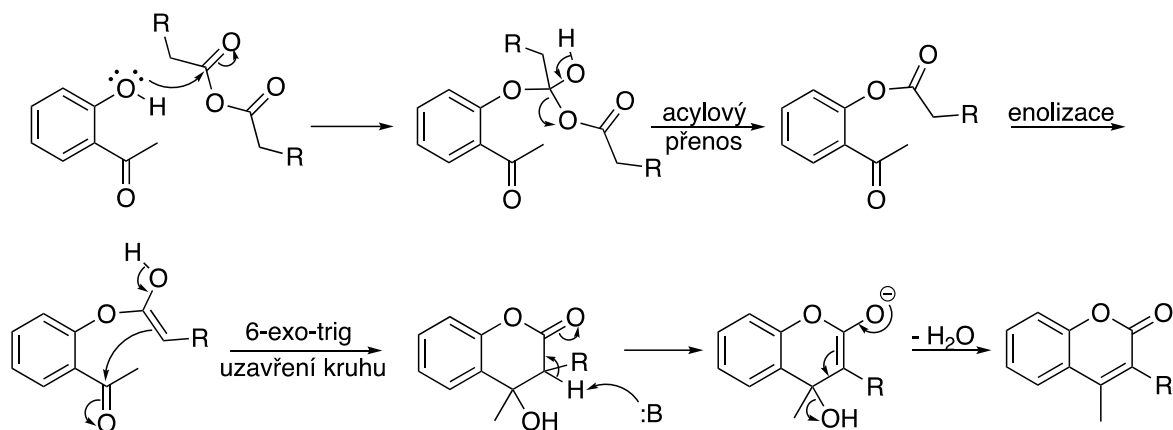
Téměř o deset let později, v roce 1901, polský (tehdy pruský) chemik Stanisław Kostanecki a kol.<sup>64</sup> charakterizovali tuto neidentifikovanou sloučeninu jako chromon, když tuto metodiku úspěšně použili při konverzi resacetofenonu **22** a 4-ethoxy-2-hydroxyacetofenonu **24** na odpovídající chromony v acetanhydridu v přítomnosti octanu sodného pod refluxem – viz **Schéma 7 a 8**.<sup>65</sup>



**Schéma 7** Reakce resacetofenonu **22** s acetanhydridem v přítomnosti octanu sodného



**Schéma 8** Reakce 4-ethoxy-2-hydroxyacetofenonu **24** s acetanhydridem v přítomnosti octanu sodného



**Schéma 9** Mechanismus Kostaneckého reakce

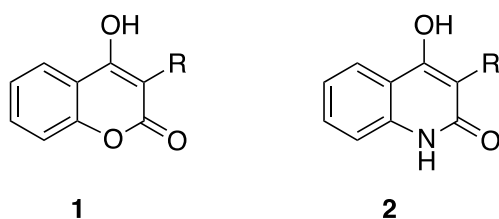
Mechanismus reakce lze popsat na následném příkladu: *o*-hydroxyacetofenon je nejprve acylován za vzniku esteru. Následuje enolizace a poté uzavření kruhu 6-exo-trig cyklizací. Po odštěpení vody pak vzniká kumarin, jako konečný produkt – viz **Schéma 9**.<sup>66</sup>

## II PRAKTICKÁ ČÁST

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSE

#### 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(1H)-onů **2**. Během tohoto dlouhého období byla důkladně zkoumána reaktivita těchto dusíkatých heterocyklů, což vedlo k syntéze řady zajímavých sloučenin s různorodou strukturou, které byly publikovány ve více než čtyřiceti odborných člancích.

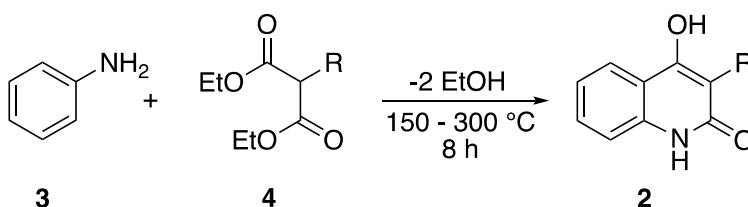


**Obrázek 9** Struktura 4-hydroxykumarin **1**, 4-hydroxychinolin-2-on **2**

Na první pohled struktura těchto 4-hydroxychinolin-2(1H)-onů **2** může připomínat strukturu 4-hydroxykumarinů **1**, které se liší "pouze" jedním heteroatomem. Proto se nabízí otázka, do jaké míry se podobá také jejich reaktivita. O zodpovězení této otázky se již pokoušeli někteří členové této vědecké skupiny. Jejich plán však ztroskotal na samém začátku, a to při přípravě derivátů 4-hydroxykumarinů **1** substituovaných v poloze 3.

#### 3.2 Diskuse výsledků

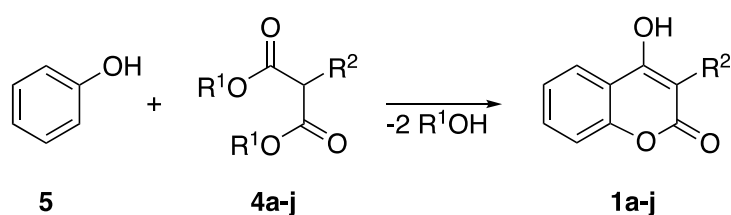
Prvním krokem bylo tedy připravit deriváty 4-hydroxykumarinů **1** substituovaných v poloze 3 obdobným postupem, jako u jejich dusíkatých analogů, přípravě látky **2** byla již na Ústavu chemie prováděna nesčetněkrát a optimalizována natolik, že její výtěžky přesahují 90 % – viz **Schéma 10**.



**Schéma 10** Příprava 4-hydroxychinolin-2-onů **2**

Obdobným způsobem byly připravovány 4-hydroxykumariny **1** s různými substituenty v poloze 3. Protože se však v předchozích pokusech kolegů tento postup podařilo aplikovat

pouze na fenylový derivát a na methylový už ne, bylo potřeba strategii poněkud upravit. Tento postup byl aplikován nejprve na fenylový derivát, se kterým nebyl problém ani prvně. Směs fenolu **5** a diethyl-fenylmalonátu **4a** se zahřívala v kovové lázni při postupně zvyšované teplotě. Reaktanty byly smíchány v baňce umístěné v aparatuře, která umožňuje oddestilování těkavých látek. Teplota lázně a její postupná gradace se vyvíjela dle rychlosti destilace ethanolu, který vznikal jako vedlejší produkt reakce, a to v množství stechiometrického dvojnásobku – viz **Schéma 11**.



**Schéma 11** Příprava 3-substituovaných 4-hydroxykumarinů **1a-j**

**Tabulka 1** Přehled experimentů přípravy 4-hydroxykumarinů **1a-j**

| Kumarin   | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | Čas reakce<br>[h] | Teplota lázně<br>[°C] | Výtěžek<br>[%] |
|-----------|----------------|----------------|-------------------|-----------------------|----------------|
| <b>1a</b> | Et             | fenyl          | 5                 | 230–305               | 43             |
| <b>1b</b> | Et             | butyl          | 12                | 230–330               | 33             |
| <b>1c</b> | Et             | benzyl         | 12                | 250–300               | 13             |
| <b>1d</b> | Et             | ethyl          | 14                | 235–320               | 31             |
| <b>1e</b> | Et             | propyl         | 23                | 220–295               | 31             |
| <b>1f</b> | Et             | isopropyl      | 11                | 290–310               | 17             |
| <b>1g</b> | Et             | methyl         | 25                | 245–290               | 50             |
| <b>1h</b> | Et             | allyl          | 19                | 250–295               | -              |
| <b>1i</b> | Et             | acetamido      | 4,5               | 235–270               | -              |
| <b>1j</b> | Me             | methoxy        | 13,5              | 255–280               | 16             |

Reakční směs byla za horka nalita do toluenu, čímž došlo k vyloučení pevného podílu, který byl odfiltrován přes fritu a následně opakovaně macerován ve vroucím toluenu. Surový produkt byl pak rozpuštěn v 0,5 M roztoku hydroxidu sodného, přečištěn malým množstvím aktivního uhlí a vysrážen 5 % kyselinou chlorovodíkovou. Takto přečištěný

3-fenyl-4-hydroxykumarin (**1a**) byl získán v dobrém výtěžku 43 %, což byl podobný výsledek, jako v předchozích pokusech kolegů, při stálých vysokých teplotách.

Předpokládanou strukturu 3-fenylového derivátu **1a** potvrdila změřená NMR spektra.

Na základě předchozích obtíží kolegů s methylovým derivátem, byl prvně vyzkoušen derivát butylový. Experiment probíhal obdobně, jako předchozí. Surový produkt byl následně rekrytalizován v ethanolu. Celkový výtěžek z této reakce činil 33 %.

Po úspěšné přípravě prvního derivátu s alkylovým substituentem bylo přistoupeno k syntéze benzylového derivátu **1c**. Ten však nepřinesl již tak pozitivní výsledky, proto byl experiment zopakován. Při druhém pokusu se podařilo výtěžek zvýšit ze 3 % na 13 %. Osvědčený postup byl tedy aplikován i při přípravě ethylového **1d** (31 %), propylového **1e** (31 %), isopropylového **1f** (17 %) a v neposlední řadě i u obávaného methylového derivátu **1g**, který se při prvním pokusu podařilo získat s 12 % výtěžkem a při druhém pokusu dokonce s výtěžkem 50 %, což byl nejvyšší výtěžek ze všech připravovaných derivátů. Alkylový **1h** a acetamidový derivát **1i** se však i přes veškeré snahy nepodařilo připravit.

K dispozici byl také dimethyl-methoxymalonát **6**. Jeho reakce s fenolem **5** probíhala obdobně, jako s jeho ethylovými analogy. Průběh reakce byl monitorován pomocí množství oddestilovaného methanolu, který vznikal jako vedlejší produkt kondenzace v množství stechiometrického dvojnásobku, stejně jako u diethyl-malonátů ethanolu.

Po nalití reakční směsi do toluenu nedošlo k vysrážení pevného podílu, protože 3-methoxy-4-hydroxykumarin **1j** je v toluenu velmi dobře rozpustný. Po samovolném zahuštění směsi **1j** vykrystalizoval a nebyl už dále přečišťován. Takto připravený **1j** byl získán s výtěžkem 16 %.

Přehled reakčních podmínek a výtěžků těchto experimentů je uveden v **Tabulce 1**. Všechny připravené deriváty byly charakterizovány za pomoci NMR a IR spekter. NMR analýza potvrdila strukturu a čistotu připravených látek.

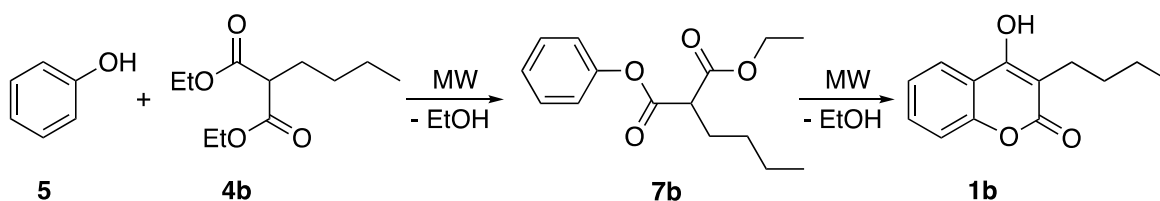
Po úspěšné přípravě osmi derivátů kumarinu termální kondenzací v kovové lázni byl obdobný postup uplatněn za využití mikrovlnného reaktoru. Pro tuto reakci byl vybrán diethyl-butyldmalonát **4b**. Průběh reakce byl monitorován za pomoci TLC. Reakce byla realizována celkem třikrát. Experimenty probíhaly po jednotlivých cyklech za konstantních teplot – viz **Tabulka 2**.

Tabulka 2 Průběh reakcí v mikrovlnném reaktoru

| Exp. 1           |                 | Exp. 2           |                 | Exp. 3           |                 |
|------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| R. doba<br>[min] | Teplota<br>[°C] | R. doba<br>[min] | Teplota<br>[°C] | R. doba<br>[min] | Teplota<br>[°C] |
| 15               | 150             | 30               | 250             | 30               | 280             |
| 15               | 170             | 30               | 250             | 30               | 300             |
| 15               | 170             | 30               | 280             | 30               | 300             |
| 15               | 180             | 30               | 280             | 30               | 300             |
| 15               | 250             | 30               | 300             |                  |                 |
| 15               | 250             | 30               | 300             |                  |                 |
| 15               | 300             | 30               | 300             |                  |                 |
|                  |                 | 30               | 300             |                  |                 |

Při prvním pokusu začala reakce podle TLC probíhat až během pátého cyklu, tedy při teplotě 250 °C. Dle TLC začala vznikat látka, která nebyla výchozí látkou, ani kýženým produktem **1b**. Po posledním cyklu reakční směs již neobsahovala výchozí látky, jen směs dvou látek z čehož jedna byla **1b**.

Reakční směs byla rozpuštěna v toluenu a dělena sloupcovou chromatografií. Majoritní složkou byla ona neznámá látka, která byla charakterizována za pomoci NMR spekter jako meziprodukt cyklokondenzační reakce **7b** – viz **Schéma 12**. Meziprodukt **7b** byl získán ve výtěžku 27 %.

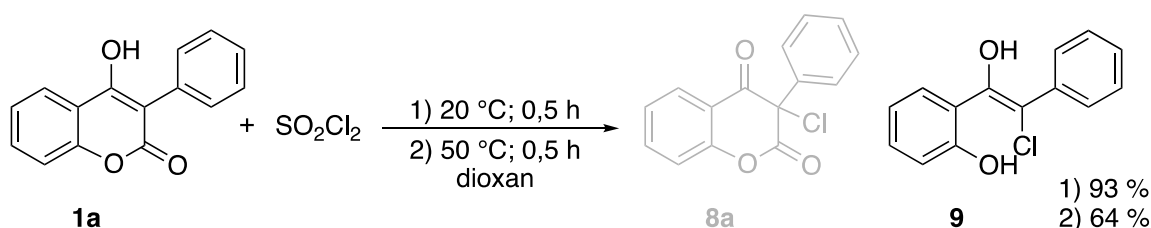
Schéma 12 Reakce fenolu **5** a diethyl-butylmalonátu **4b** v mikrovlnném reaktoru

Při druhém pokusu byly aplikovány vyšší teploty a delší reakční doba jednotlivých cyklů – viz **Tabulka 2**. Po čtyřech hodinách, podle TLC, reakce již zcela proběhla. Reakční směs byla vypláchnuta na fritu toluenem a přefiltrována. Tuhý podíl byl macerován v toluenu. Výsledný produkt **1b** byl získán s výtěžkem 13 %.

Poslední pokus byl prováděn taktéž v třicetiminutových cyklech. Od druhého cyklu byly aplikovány nejvyšší v reaktoru dosažitelné teploty. Podle TLC reakční směs po dvou hodinách neobsahovala již výchozí látky, ani meziprodukt. Reakční směs byla promyta cyklohexanem. Produkt **1b** byl získán ve výtěžku 19 %.

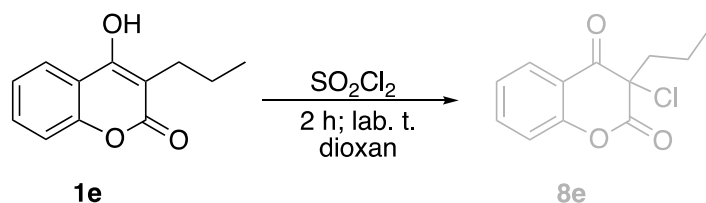
Další pokusy o přípravu kumarinů v mikrovlnném reaktoru byly znemožněny nehodou, která poškodila přístroj. Proto bylo přistoupeno k reakcím s připravenými deriváty kumarinu.

Dále bylo snahou převést připravené kumariny na více reaktivní formu. Jednu tuto formu mohou představovat chroman-2,4-diony halogenované v poloze 3. Tato snaha byla již dříve realizována kolegy, přičemž k dispozici byl pouze jeden kumarinový derivát, a to 3-fenyl-4-hydroxykumarin **1a**. Tato reakce se však nezdařila a namísto 3-chlor-3-fenylchroman-2,4-dionu **8a** vznikl 2-chlor-2-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)ethanon **9**. Reakce byla prováděna dvakrát s podobným výsledkem – viz **Schéma 13**.<sup>67</sup>



**Schéma 13** Účinek  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  na 3-fenyl-4-hydroxykumarin **1a**

Při pokusech kolegů o tuto reakci byl použit 3-fenyl-4-hydroxykumarin **1a**, jež má aromatický substituent, proto byl pro srovnání vybrán derivát s alkylovým substituentem a to 3-propyl-4-hydroxykumarin **1e** – viz **Schéma 14**. Reakce probíhala dvě hodiny za laboratorní teploty. Poté byla reakční směs nalita na led, po jehož roztání byly látky extrahovány chloroformem. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO.

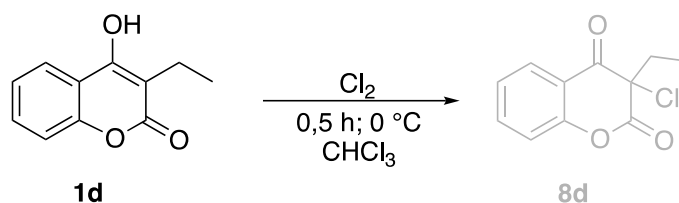


**Schéma 14** Reakce 3-propyl-4-hydroxykumarinu **1e** s  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$

Vzhledem ke skutečnosti, že i přes snahu oddělit produkty sloupcovou chromatografií, se je nepodařilo separovat, tudíž je nebylo možné identifikovat, bylo od této metody zcela upuštěno.

Podezření, že jsou tyto cílové látky náchylné k rozpadu v prostředí s vodou, bylo po nahlédnutí do literatury potvrzeno. Řada studií ukazuje, že  $\alpha$ -halogenované karbonylové sloučeniny, kam patří i 3-halogenované chroman-2,4-diony, jsou obecně náchylné k hydrolýze ve vodném prostředí, zejména za zásaditých podmínek a při zvýšené teplotě. Tato reaktivita může vést k degradaci nebo přeměně těchto sloučenin, což je důležité zohlednit při jejich syntéze, manipulaci a skladování. [55]

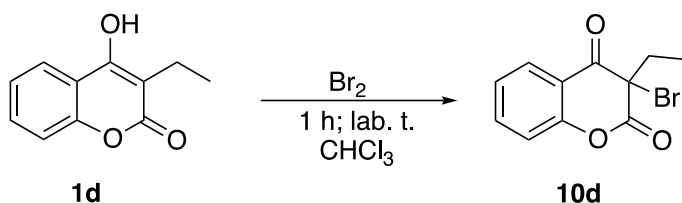
Další zvolenou metodou byla, reakce s plynným chlorem, která byla již dříve vyzkoušena kolegy na fenylovém derivátu **1a**. V článku [56], dle kterého byla tato reakce realizována byl použit 4-hydroxy-3-methylkumarin **1g**. Opět byl pro srovnání vybrán derivát s alkylovým substituentem, konkrétně 4-hydroxy-3-ethylkumarin **1d** – viz **Schéma 15**.



**Schéma 15** Reakce 3-ethyl-4-hydroxykumarinu **1d** s  $\text{Cl}_2$

Pro tyto účely byl použit pod tlakem zkapalněný  $\text{Cl}_2$  ve Schlenkově baňce, který byl následně řízenou regulací jeho teploty zaváděn k reaktantu. Jelikož hrozilo, že by tento zkapalněný chlor mohl obsahovat chlorovodík případně vodu, což by mohlo působit rozpad cílového produktu, bylo potřeba udělat maximum pro jejich vyloučení. Jelikož je teplota varu chloru  $-34\text{ }^\circ\text{C}$ , byla baňka s jeho obsahem podchlazena v ethanolové lázni tekutým dusíkem pod teplotu  $-40\text{ }^\circ\text{C}$  a otevřena s účelem odstranění případných nežádoucích těkavějších sloučenin, mezi které je možné zařadit chlorovodík, jehož teplota varu je  $-85\text{ }^\circ\text{C}$ . Při samovolném ohřívání chladicí lázně v Dewarově nádobě docházelo k uvolňování plynného  $\text{Cl}_2$ . Ten byl následně probublávám koncentrovanou kyselinou sírovou za účelem odstranění případné vlhkosti. Chlor byl pak zaveden do reakční směsi, která byla chlazená na teplotu  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . Roztok 3-ethyl-4-hydroxykumarinu **1d** v suchém THF s triethylaminem byl kontinuálně probubláván chlorem po dobu cca 30 minut. V reakční směsi vznikla bílá sraženina, která se po ohřátí baňky na laboratorní teplotu rozpustila. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové rotační odparce. Baňka s bílými krystalky byla umístěna do exikátoru, kde byla ponechána přes víkend. Z neznámých důvodů však za tuto dobu produkt zčernal a na hrdle vně baňky se objevily bílé krystalky. Protože bylo zřejmé, že černý obsah baňky není kýžený produkt, nebyl analyzován a od metody bylo upuštěno.

Posledním pokusem o přípravu 3-halogenovaných chroman-2,4-dionů byla reakce s  $\text{Br}_2$ , dle článku<sup>68</sup> věnujícímu se reaktivitě 4-hydroxykumarinům **1**. K této reakci byl opět zvolen 3-ethyl-4-hydroxykumarin **1d**, jež byl suspendován v bezvodém  $\text{CHCl}_3$ . Po přidání ekvivalentního množství  $\text{Br}_2$ , se suspendovaný kumarin rozpustil a reakční směs se zabarvila do červena. Průběh reakce byl sledován za pomoci TLC. Reakce probíhala pod inertní atmosférou a byla ukončena po hodině, přičemž podle TLC výchozí látka (**1d**) již plně zreagovala po půl hodině. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Vzniklé bílé krystaly byly uloženy do mrazáku pod argonem.



**Schéma 16** Syntéza 3-brom-3-ethylchroman-2,4-dionu **10d**

Dle NMR spekter lze určit, že byl skutečně připraven produkt **10d**. Spektra však obsahovala dvě sady signálů z čehož jedna patřila produktu **10d**. Tento produkt, jak bylo již dříve zmíněno, podléhá hydrolyze. Lze tedy usoudit, že druhá sada signálů patřila degradačnímu produktu. Tomu také nasvědčoval fakt, že intenzita píků sady signálů produktu **10d** v čase ustupovala, zatímco intenzita píků druhého signálu narůstala.

## 4 CHARAKTERISTIKA PŘÍSTROJOVÉHO VYBAVENÍ A INSTRUMENTÁLNÍCH METOD

Reagenty a rozpouštědla byly zakoupeny z komerčních zdrojů (Merc, VWR, Fisher Scientific a Siot Trade). 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 nm. Na sloupcovou chromatografii byl použit silikagel 60, 220–240 mesh s velikostí částic 35–75  $\mu\text{m}$ , velikost pórů 60 Å. Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nebyly korigovány.

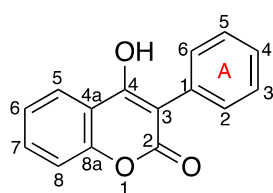
Infračervená spektra byla měřena metodou KBr tablet na FT-IR spektrometru Alpha (Brucker Optik GmbH Ettlingen). NMR spektra byla měřena na spektrometru JEOL ECZ 400 při frekvenci 400 MHz ( $^1\text{H}$ ) a 101 MHz ( $^{13}\text{C}$ ) při teplotě 300 K. Jako interní standard v  $^1\text{H}$  NMR spektrech byl použit tetramethylsilan a signály residua DMSO- $d_5$  s chemickým posunem  $\delta$  2,50 ppm a  $\text{CDCl}_3$  s posunem 7,25 ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR spektra byla korigována na  $^{13}\text{C}$  signál DMSO- $d_6$  s chemickým posunem 39,52 ppm a  $^{13}\text{C}$  signál  $\text{CDCl}_3$  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 doublet), ddd (doublet doublet doublet), t (triplet), td (triplet doublet), tt (triplet triplet), tq (triplet kvartetu), q (kvartet), dq (doublet kvartetu), m (multiplet).

## 5 DETAILNÍ POPIS SYNTETICKÝCH POSTUPŮ A STRUKTURNÍ CHARAKTERISTIKY PŘIPRAVENÝCH SLOUČENIN

### 5.1 Syntéza 4-hydroxykumarinů z ethyl-malonátů

Suspenze fenolu (50 mmol, 1 ekviv.) a diethyl-malonátu (55 mmol; 1,1 ekviv.) byla zahřívána na kovové lázni, jejíž teplota byla postupně zvyšována dle rychlosti destilace ethanolu. Vznikající kondenzát byl sbírán do baňky a průběžně vážen, čímž byl monitorován průběh reakce. Bezprostředně po ukončení reakce byl reakční roztok 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 (150 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 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. Přehled reakčních teplot a výtěžků je uveden v **Tabulce 1**.

#### 3-Fenyl-4-hydroxykumarin 1a



Bílá krystalická látka,  $t_f = 231\text{--}240\text{ }^\circ\text{C}$ ,

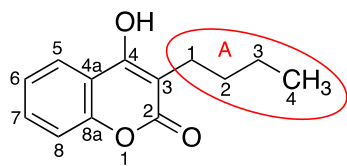
výtěžek 43 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3058, 1673, 1620, 1610, 1567, 1495, 1260, 1192, 1128, 1102, 992, 757, 692, 506  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  8,01 (dd, 1H, H-5,  $J = 7,9; 1,3$  Hz); 7,69–7,61 (m, 1H, H-7); 7,48–7,30 (m, 7H, H-8, H-6); 2,56–2,46 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>), 1,46–1,37 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>), 1,46–1,37 (m, 2H, H-3<sup>A</sup>), 0,88 (t, 3H, H-4<sup>A</sup>,  $J = 7,2$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  106,07 (C-3); 116,15 (C-8); 116,46 (C-4a); 123,69 (C-5); 123,87 (C-6); 127,40 (C-4<sup>A</sup>); 127,93 (C-3<sup>A</sup>); 127,93 (C-5<sup>A</sup>); 130,96 (C-2<sup>A</sup>); 130,96 (C-6<sup>A</sup>); 132,06 (C-1<sup>A</sup>); 132,21 (C-7); 152,28 (C-8a); 160,26 (C-4); 161,86 (C-2) ppm.

#### 3-Butyl-4-hydroxykumarin 1b



Bílá krystalická látka,  $t_f = 157\text{--}170\text{ }^\circ\text{C}$ ,

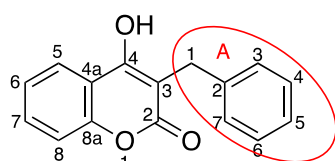
výtěžek 33 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3191, 2950, 2924, 2867, 1674, 1613, 1569, 1498, 1237, 1207, 1176, 1099, 1042, 913, 753  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,16 (s, 1H, –OH); 7,91 (dd, 1H, H-5,  $J = 8,2$ ; 1,6 Hz); 7,61–7,50 (m, 1H, H-7); 7,39–7,24 (m, 2H, H-8, H-6); 2,56–2,46 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>), 1,46–1,37 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>), 1,46–1,37 (m, 2H, H-3<sup>A</sup>), 0,88 (t, 3H, H-4<sup>A</sup>,  $J = 7,2$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  13,83 (C-4<sup>A</sup>); 21,98 (C-3<sup>A</sup>); 23,23 (C-1<sup>A</sup>); 30,03 (C-2<sup>A</sup>); 105,22 (C-3); 115,98 (C-8); 116,30 (C-4a); 123,05 (C-5); 123,69 (C-6); 131,38 (C-7); 151,76 (C-8a); 159,53 (C-4); 162,77 (C-2) ppm.

### 3-Benzyl-4-hydroxykumarin 1c



Bílá krystalická látka,  $t_f = 204\text{--}209\text{ }^\circ\text{C}$ ,

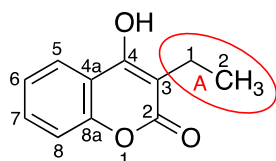
výtěžek 13 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3084, 3062, 2933, 2924, 1654, 1632, 1595, 1396, 1263, 1180, 1083, 905, 750, 697, 506  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,62 (s, 1H, –OH); 8,05–7,91 (m, 1H, H-5); 7,65–7,56 (m, 1H, H-7); 7,40–7,32 (m, 2H, H-8, H-6); 7,29–7,21 (m, 4H, H-3<sup>A</sup>, H-4<sup>A</sup>, H-6<sup>A</sup>, H-3<sup>A</sup>); 7,19–7,11 (m, 4H, H-5<sup>A</sup>); 3,90 (s, 1H, H-1<sup>A</sup>) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  29,08 (C-1<sup>A</sup>); 104,21 (C-3); 116,15 (C-8); 116,19 (C-4a); 123,29 (C-5); 123,84 (C-6); 125,82 (C-5<sup>A</sup>); 128,06 (C-3<sup>A</sup>); 128,06 (C-7<sup>A</sup>); 128,14 (C-4<sup>A</sup>); 128,14 (C-6<sup>A</sup>); 131,80 (C-7); 139,74 (C-2<sup>A</sup>); 151,97 (C-8a); 160,42 (C-4); 162,77 (C-2) ppm.

### 3-Ethyl-4-hydroxykumarin 1d



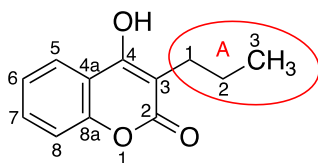
Bílá krystalická látka,  $t_f = 152\text{--}159\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek 31 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3178, 2971, 2932, 1672, 1615, 1570, 1498, 1447, 1230, 1209, 1099, 1036, 754  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,21 (s, 1H, –OH); 7,91 (dd, 1H, H-5,  $J = 8,2$ ; 1,5 Hz); 7,61–7,53 (m, 1H, H-7); 7,37–7,28 (m, 2H, H-8, H-6); 2,53 (q, 2H, H-1<sup>A</sup>,  $J = 7,3$  Hz), 1,03 (t, 3H, H-2<sup>A</sup>,  $J = 7,4$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  12,79 (C-2<sup>A</sup>); 16,95 (C-1<sup>A</sup>); 106,49 (C-3); 115,98 (C-8); 116,34 (C-4a); 123,07 (C-5); 123,71 (C-6); 131,41 (C-7); 151,75 (C-8a); 159,26 (C-4); 162,64 (C-2) ppm.

**3-Propyl-4-hydroxykumarin 1e**

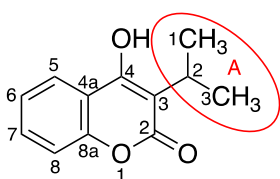
Bílá lesklá krystalická látka,  $t_f = 135\text{--}144\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek 31 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 2959, 2875, 1663, 1610, 1569, 1498, 1245, 1227, 1180, 1098, 1045, 923, 754, 645, 550, 461  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,16 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ); 7,90 (dd, 1H, H-5,  $J = 8,2$ ; 1,6 Hz); 7,59–7,52 (m, 1H, H-7); 7,35–7,28 (m, 2H, H-8, H-6); 2,52–2,44 (m, 2H, H-1<sup>A</sup>), 1,52–1,39 (m, 2H, H-2<sup>A</sup>), 0,89 (t, 3H, H-4<sup>A</sup>,  $J = 7,4$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  13,65 (C-3<sup>A</sup>); 21,07 (C-1<sup>A</sup>); 25,38 (C-2<sup>A</sup>); 104,93 (C-3); 115,98 (C-8); 116,28 (C-4a); 123,09 (C-5); 123,70 (C-6); 131,42 (C-7); 151,78 (C-8a); 159,65 (C-4); 162,81 (C-2) ppm.

**3-Isopropyl-4-hydroxykumarin 1f**

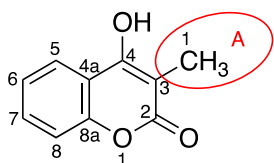
Hnědá krystalická látka,  $t_f = 110\text{--}132\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek 17 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3247, 2961, 1668, 1623, 1394, 1216, 1164, 1000, 750  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,11 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ); 7,94 (dd, 1H, H-5,  $J = 8,3$ ; 1,5 Hz); 7,60–7,52 (m, 1H, H-7); 7,36–7,28 (m, 2H, H-8, H-6); 3,42–3,30 (m, 1H, H-2<sup>A</sup>); 1,24 (d, 6H, H-1<sup>A</sup>, H-3<sup>A</sup>,  $J = 6,9$  Hz); ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  19,72 (C-1<sup>A</sup>); 19,72 (C-3<sup>A</sup>); 110,20 (C-3); 115,88 (C-8); 116,35 (C-4a); 123,20 (C-5); 123,60 (C-6); 131,39 (C-7); 151,86 (C-8a); 158,99 (C-4); 161,27 (C-2) ppm.

**3-Methyl-4-hydroxykumarin 1g**

Bílá lesklá krystalická látka,  $t_f = 129\text{--}136\text{ }^\circ\text{C}$ ,

výtěžek 50 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3172, 1669, 1614, 1569, 1499, 1376, 1237, 1210, 1089, 911, 750, 661, 545, 473  $\text{cm}^{-1}$ .

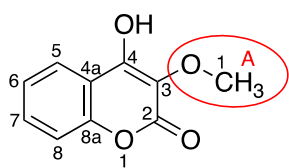
$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,24 (s, 1H,  $-\text{OH}$ ); 7,90 (dd, 1H, H-5,  $J = 8,3$ ; 1,5 Hz); 7,62–7,53 (m, 1H, H-7); 7,39–7,31 (m, 2H, H-8, H-6); 2,00 (s, 3H, H-1<sup>A</sup>) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  9,69 (C-1<sup>A</sup>); 100,26 (C-3); 115,99 (C-8); 116,28 (C-4a); 122,92 (C-5); 123,75 (C-6); 131,36 (C-7); 151,62 (C-8a); 159,72 (C-4); 163,09 (C-2) ppm.

## 5.2 Syntéza 3-methoxy-4-hydroxykumarinu 1j

Suspenze fenolu (4,7696 g; 50 mmol, 1 ekviv.) a dimethyl-methoxymalonátu (8,6392 g, 55 mmol; 1,1 ekviv.) byla zahřívána na kovové lázni, jejíž teplota byla postupně zvyšována od 250 °C do 280 °C dle rychlosti destilace methanolu. Vznikající kondenzát byl sbírán do baňky a průběžně vážen, čímž byl monitorován průběh reakce. Bezprostředně po ukončení reakce byl reakční roztok nalit do 200 ml toluenu. Nedošlo však k vyloučení žádného pevného podílu. Ovšem dlouhým stáním toluenového roztoku v zapnuté digestoři došlo téměř k odpaření veškerého rozpouštědla. V takto zakonzentrovaném roztoku docházelo k samovolné krystalizaci. Krystaly byly odsáty, rozpuštěny v horkém toluenu, roztok pozvolna ochlazen a nechán samovolně krystalizovat.

### 3-Methoxy-4-hydroxykumarin 1j



Hnědá leská krystalická látka,  $t_f = 147\text{--}164\text{ °C}$ ,

výtěžek 16 %.

IČ spektrum (tableta KBr): 3035, 2831, 1680, 1612, 1567, 1458, 1427, 1256, 1191, 1106, 903, 762, 466  $\text{cm}^{-1}$ .

$^1\text{H}$  NMR spektrum (DMSO, 400 MHz):  $\delta$  11,90 (s, 1H, –OH); 7,85–7,53 (m, 1H, H-5); 7,61–7,53 (m, 1H, H-7); 7,40–7,33 (m, 2H, H-8, H-6); 3,74 (s, 3H, H-1<sup>A</sup>) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum (DMSO, 101 MHz):  $\delta$  59,64 (C-1<sup>A</sup>); 115,99 (C-8); 116,61 (C-4a); 123,11 (C-5); 124,13 (C-6); 125,33 (C-3); 130,98 (C-7); 150,30 (C-8a); 153,29 (C-4); 159,16 (C-2) ppm.

## 5.3 Mikrovlnami asistovaná syntéza

Suspenze fenolu (0,188 g, 2 mmol, 1 ekviv.) a dimethyl-butylmalonátu (0,541 g, 2,5 mmol; 1,25 ekviv.) byla v kyvetě umístěna do mikrovlnného reaktoru a zahřívána – viz **Tabulka 2**. Průběh reakce byl sledován za pomoci TLC po dokončení jednotlivých cyklů.

Exp. 1:

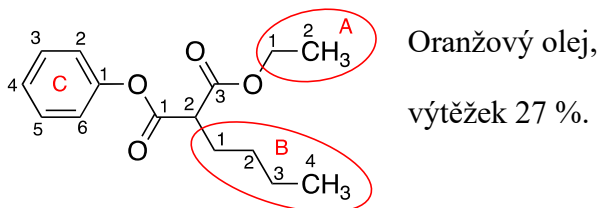
Reakce byla ukončena, když se ve směsi, podle TLC, nevyskytovala výchozí látka. K reakční směsi bylo přiloto 5 ml toluenu. Tato směs byla dělena sloupcovou chromatografií. Meziprodukt **7b** byl získán ve výtěžku 27 %.

Exp. 2:

Po čtyřech hodinách, podle TLC, reakce již zcela proběhla. Reakční směs byla vypláchnuta na fritu 5 ml toluenu a přefiltrována. Tuhý podíl byl macerován v toluenu. Výsledný produkt **1b** byl získán s výtěžkem 13 %.

Exp. 3:

Podle TLC reakční směs po dvou hodinách neobsahovala již výchozí látky, ani meziprodukt. Reakční směs byla promyta 3 ml cyklohexanu. Produkt **1b** byl získán ve výtěžku 19 %.

**1-Ethyl-3-fenyl-2-butylmalonát 7b**

$^1\text{H}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta$  7,43–7,35 (m, 2H,  $\text{H-3}^{\text{C}}$ ;  $\text{H-5}^{\text{C}}$ ); 7,27–7,21 (m, 1H,  $\text{H-4}^{\text{C}}$ ); 7,10 (dd; 2H;  $\text{H-2}^{\text{C}}$ ;  $\text{H-6}^{\text{C}}$ ;  $J = 8,5; 0,9$  Hz); 4,35–4,19 (m; 2H;  $\text{H-1}^{\text{A}}$ ); 3,57 (t; 1H;  $\text{H-2}$ ;  $J = 7,5$  Hz); 2,12–1,95 (m, 2H,  $\text{H-1}^{\text{B}}$ ); 1,42 (dd; 4H;  $\text{H-2}^{\text{B}}$ ;  $\text{H-3}^{\text{B}}$ ;  $J = 7,4; 3,7$  Hz); 1,32 (t; 3H;  $\text{H-2}^{\text{A}}$ ;  $J = 7,1$  Hz); 0,95 (t; 3H;  $\text{H-4}^{\text{B}}$ ;  $J = 7,1$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C}$  NMR spektrum ( $\text{CDCl}_3$ , 101 MHz):  $\delta$  13,94 ( $\text{C-4}^{\text{B}}$ ); 14,29 ( $\text{C-2}^{\text{A}}$ ); 22,48 ( $\text{C-3}^{\text{B}}$ ); 28,59 ( $\text{C-2}^{\text{B}}$ ); 29,62 ( $\text{C-1}^{\text{B}}$ ); 52,23 ( $\text{C-2}$ ); 61,71 ( $\text{C-1}^{\text{A}}$ ); 121,45 ( $\text{C-2}^{\text{C}}$ ); 121,45 ( $\text{C-6}^{\text{C}}$ ); 126,18 ( $\text{C-4}^{\text{C}}$ ); 129,59 ( $\text{C-3}^{\text{C}}$ ); 129,59 ( $\text{C-5}^{\text{C}}$ ); 150,74 ( $\text{C-1}^{\text{C}}$ ); 168,32 ( $\text{C-3}$ ); 169,34 ( $\text{C-1}$ ) ppm.

**5.4 Neúspěšný pokus o chloraci za použití  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$** 

K míchané suspenzi 3-fenyl-4-hydroxykumarinu (0,204 g; 1 mmol) v 3,3 ml dioxanu (99,5 %;  $\rho = 1,034 \text{ g/cm}^3$ ;  $t_{\text{t}} = 11\text{--}12^\circ\text{C}$ ;  $t_{\text{v}} = 100\text{--}102^\circ\text{C}$ ), bylo během 10 min při laboratorní teplotě přikapáno 0,202 ml  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$ . Během přikapávání  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  se původní suspenze rozpustila a vzniklý žlutý reakční roztok byl dále 2 h míchán při stejné teplotě. Poté byl reakční roztok nalit do 50 ml ledu, kde se vyloučilo značné množství pevné žluté látky

lepivého charakteru. Pevný podíl byl na fritě odfiltrován, vysušen, filtrát byl převeden do děličky a extrahován  $5 \times 15$  ml 1 %  $\text{CHCl}_3$ . Veškeré organické podíly byly spojeny, vysušeny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , přefiltrovány a odpařeny na RVO. Surové produkty (nažloutlá olejovitá látka) byly chromatograficky děleny na silikagelu směsí 1 %  $\text{EtOAc}$  v PE. Neúspěšně.

### 5.5 Neúspěšný pokus o chloraci plynným $\text{Cl}_2$

K míchanému, vytemperovanému roztoku 3-ethyl-4-hydroxykumarinu **1d** (0,409 g; 2 mmol) a 0,3 ml  $\text{Et}_3\text{N}$  v 10 ml suchého THF. Podchlazený  $\text{Cl}_2$  v ethanolové lázni tekutým dusíkem pod teplotu  $-40^\circ\text{C}$ , který se během samovolného navyšování teploty lázně začal uvolňovat a byl zaveden do reakčního roztoku pod dobu 30 min. V reakční směsi vznikla bílá sraženina, která se po ohřátí baňky na laboratorní teplotu rozpustila. Následně bylo rozpouštědlo odpařeno na RVO. Baňka s bílými krystalky byla umístěna do exikátoru, kde byla ponechána přes víkend. Z neznámých důvodů však produkt podlehl degradaci.

### 5.6 Bromace za použití $\text{Br}_2$

K suspenzi 3-ethyl-4-hydroxykumarinu **1d** (0,383 g; 2 mmol; 1 ekv.) v bezvodém  $\text{CHCl}_3$  byl přidán  $\text{Br}_2$  (0,104 ml; 2 mmol; 1 ekv.). Suspendovaný kumarin se rozpustil a reakční směs se zabarvila do červena. Průběh reakce byl sledován za pomoci TLC. Reakce probíhala pod inertní atmosférou a byla ukončena po hodině, přičemž podle TLC výchozí látka **1d** již plně zreagovala po půl hodině. Rozpouštědlo bylo odpařeno na RVO. Vzniklé bílé krystaly byly uloženy do mrazáku pod argonem. 3-Brom-3-ethylchroman-2,4-dion **10d** byl získán ve výtěžku 31 %.

## ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se věnovala přípravě 4-hydroxykumarinů substituovaných v poloze 3, získaných reakcí fenolu s diethylesterem kyseliny malonové substituované v poloze 3. V první kapitole teoretické části byl stručně shrnut přehled biologických účinků kumarinů. Podrobněji se věnovala účinkům kumarinů využívaných při léčbě některých typů rakoviny. V druhé pak přehled tradičních syntéz kumarinů.

V praktické části byla uvedena úspěšná syntéza osmi derivátů 4-hydroxykumarinů. Následovaly pokusy o přípravu jejich halogenovaných derivátů. Úspěšnou se ukázala bromace za pomoci  $\text{Br}_2$ . Byl zaznamenán průběh experimentů a charakteristika připravených látek.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MAGGIO, Antonella; ROSSELLI, Sergio; BRANCAZIO, Celeste Laura; SPADARO, Vivienne; RAIMONDO, Francesco Maria et al., 2013. Metabolites from the Aerial Parts of the Sicilian Population of *Artemisia alba*. Online. *Natural Product Communications*. Roč. 8, č. 3. ISSN 1934-578X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1934578X1300800301>. [cit. 2025-05-16].
- [2] SHAM'YANOV, I. D.; MALLABAEV, A. a SIDYAKIN, G. P., 1974. Components of *Achillea filipendulina*. Online. *Chemistry of Natural Compounds*. Roč. 10, č. 6, s. 804-804. ISSN 0009-3130. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF00564006>. [cit. 2025-05-16].
- [3] KOSTOVA, I. a IOSSIFOVA, T., 2007. Chemical components of *Fraxinus* species. Online. *Fitoterapia*. Roč. 78, č. 2, s. 85-106. ISSN 0367326X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.08.002>. [cit. 2025-05-16].
- [4] LIU, Willow J. H. (ed.), 2011. *Traditional Herbal Medicine Research Methods*. Online. Wiley. ISBN 9780470149362. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9780470921340>. [cit. 2024-04-05].
- [5] VOGEL, A., 1820. Darstellung von Benzoesaure aus der Tonka-Boline und aus den Meliloten-oder Steinklee-Blumen. *Annalen der physik*. Roč. 1820, č. 64, s. 161–166.
- [6] *Dipteryx odorata*, 2021. Online. ROYAL BOTANIC GARDENS KEW. Plants of the World Online. Dostupné z: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:492769-1>. [cit. 2024-04-16].
- [7] NAN, Ze-Dong; SHANG, Ying; ZHU, Yi-Dong; ZHANG, Hui; SUN, Ru-Ru et al., 2025. Systematic review of natural coumarins in plants (2019–2024): Chemical structures and pharmacological activities. Online. *Phytochemistry*. Roč. 235. ISSN 00319422. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2025.114480>. [cit. 2025-05-02].
- [8] KÜPELI AKKOL, Esra; GENÇ, Yasin; KARPUZ, Büşra; SOBARZO-SÁNCHEZ, Eduardo a CAPASSO, Raffaele, 2020. Coumarins and Coumarin-Related Compounds in Pharmacotherapy of Cancer. Online. *Cancers*. Roč. 12, č. 7. ISSN

- 2072-6694. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cancers12071959>. [cit. 2025-05-16].
- [9] MANN, John, 2002. Natural products in cancer chemotherapy: past, present and future. Online. *Nature Reviews Cancer*. Roč. 2, č. 2, s. 143-148. ISSN 1474-175X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/nrc723>. [cit. 2025-05-16].
- [10] MYERS, R. B.; PARKER, M. a GRIZZLE, W. E., 1994. The effects of coumarin and suramin on the growth of malignant renal and prostatic cell lines. Online. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Roč. 120, č. S1, s. S11-S13. ISSN 0171-5216. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01377115>. [cit. 2025-05-07].
- [11] HOULT, J.R.S. a PAYÁ, Miguel, 1996. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: Natural products with therapeutic potential. Online. *General Pharmacology: The Vascular System*. Roč. 27, č. 4, s. 713-722. ISSN 03063623. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(95\)02112-4](https://doi.org/10.1016/0306-3623(95)02112-4). [cit. 2025-05-16].
- [12] MURRAY, Robert D. H. a MURRAY, R. D. H., 2002. The Naturally Occurring Coumarins. Online. In: HERZ, W.; FALK, H.; KIRBY, G. W. a MOORE, R. E. (ed.). *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe / Progress in the Chemistry of Organic Natural Products. Vienna: Springer Vienna, s. 1-619. ISBN 978-3-7091-3226-5. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6172-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6172-2_1). [cit. 2025-05-07].
- [13] CAROTTI, Angelo; CARRIERI, Antonio; CHIMICHI, Stefano; BOCCALINI, Marco; COSIMELLI, Barbara et al., 2002. Natural and synthetic geiparvarins are strong and selective MAO-B inhibitors. synthesis and SAR studies. Online. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. Roč. 12, č. 24, s. 3551-3555. ISSN 0960894X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0960-894X\(02\)00798-9](https://doi.org/10.1016/S0960-894X(02)00798-9). [cit. 2025-05-16].
- [14] MARSHALL, E. M., et al. Treatment of advanced renal cell carcinoma (RCC) with coumarin and cimetidine: longterm follow-up of patients treated on a phase I trial. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1994, 120: 535-538.

- [15] STANCHEV, Stanchov; MOMEKOV, Georgi; JENSEN, Frank a MANOLOV, Ilia, 2008. Synthesis, computational study and cytotoxic activity of new 4-hydroxycoumarin derivatives. Online. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Roč. 43, č. 4, s. 694-706. ISSN 02235234. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.05.005>. [cit. 2025-05-07].
- [16] SOTO-NUÑEZ, MARIBEL; DÍAZ-MORALES, KAREN AZUCENA; CUAUTLE-RODRÍGUEZ, PATRICIA; TORRES-FLORES, VÍCTOR; LÓPEZ-GONZÁLEZ, JOSÉ SULLIVAN et al., 2015. Single-cell microinjection assay indicates that 7-hydroxycoumarin induces rapid activation of caspase-3 in A549 cancer cells. Online. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2015-11-23, roč. 10, č. 5, s. 1789-1795. ISSN 1792-0981. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/etm.2015.2765>. [cit. 2025-05-16].
- [17] MARSHALL, M. E.; KERVIN, K.; BENEFIELD, C.; UMERANI, A.; ALBAINY-JENEI, S. et al., 1994. Growth-inhibitory effects of coumarin (1,2-benzopyrone) and 7-hydroxycoumarin on human malignant cell lines in vitro. Online. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Roč. 120, č. S1, s. S3-S10. ISSN 0171-5216. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01377114>. [cit. 2025-05-08].
- [18] MOHLER, James L.; GOMELLA, Leonard G.; CRAWFORD, E. David; GLODE, L. Michael; ZIPPE, Craig D. et al., 1992. Phase II evaluation of coumarin (1,2-benzopyrone) in metastatic prostatic carcinoma. Online. *The Prostate*. Roč. 20, č. 2, s. 123-131. ISSN 0270-4137. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pros.2990200208>. [cit. 2025-05-07].
- [19] THORNES, R. D.; DALY, L.; LYNCH, G.; BRESLIN, B.; BROWNE, H. et al., 1994. Treatment with coumarin to prevent or delay recurrence of malignant melanoma. Online. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. Roč. 120, č. S1, s. S32-S34. ISSN 0171-5216. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF01377122>. [cit. 2025-05-07].
- [20] WANG, YUE; LI, CHANG-FENG; PAN, LI-MING a GAO, ZHONG-LI, 2013. 7,8-Dihydroxycoumarin inhibits A549 human lung adenocarcinoma cell proliferation by inducing apoptosis via suppression of Akt/NF- $\kappa$ B signaling. Online. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2013-06-09, roč. 5, č. 6, s. 1770-

1774. ISSN 1792-0981. Dostupné z: <https://doi.org/10.3892/etm.2013.1054>. [cit. 2025-05-16].
- [21] GHOLAMI, Omid, 2018. Cytotoxicity and Apoptosis Induction by Coumarins in CLL. Online. In: ÇELİK, Tülay Aşkin (ed.). *Cytotoxicity*. InTech. ISBN 978-1-78923-430-5. Dostupné z: <https://doi.org/10.5772/intechopen.72446>. [cit. 2025-05-16].
- [22] STACEY, Dawn; DEGRASSE, Cathy a JOHNSTON, Lisa, 2002. Addressing the Support Needs of Women at High Risk for Breast Cancer: Evidence-Based Care by Advanced Practice Nurses. Online. *Oncology Nursing Forum*. 2002-1-1, roč. 29, č. 6, s. E77-E84. ISSN 0190-535X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1188/02.ONF.E77-E84>. [cit. 2025-05-16].
- [23] JEMAL, Ahmedin; BRAY, Freddie; CENTER, Melissa M.; FERLAY, Jacques; WARD, Elizabeth et al., 2011. Global cancer statistics. Online. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. Roč. 61, č. 2, s. 69-90. ISSN 00079235. Dostupné z: <https://doi.org/10.3322/caac.20107>. [cit. 2025-05-16].
- [24] YERSAL, Ozlem, 2014. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. Online. *World Journal of Clinical Oncology*. Roč. 5, č. 3. ISSN 2218-4333. Dostupné z: <https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.412>. [cit. 2025-05-16].
- [25] DE RONDE, Jorma J.; HANNEMANN, Juliane; HALFWERK, Hans; MULDER, Lennart; STRAVER, Marieke E. et al., 2010. Concordance of clinical and molecular breast cancer subtyping in the context of preoperative chemotherapy response. Online. *Breast Cancer Research and Treatment*. Roč. 119, č. 1, s. 119-126. ISSN 0167-6806. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0499-6>. [cit. 2025-05-16].
- [26] Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50 302 women with breast cancer and 96 973 women without the disease, 2002. Online. *The Lancet*. Roč. 360, č. 9328, s. 187-195. ISSN 01406736. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09454-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09454-0). [cit. 2025-05-16].
- [27] HENDERSON, I. Craig a CANELLOS, George P., 1980. Cancer of the Breast. Online. *New England Journal of Medicine*. 1980-01-03, roč. 302, č. 1, s. 17-

30. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJM198001033020104>. [cit. 2025-05-16].
- [28] HAMELERS, Irene HL; VAN SCHAIK, Richard FMA; SUSSENBACH, John S a STEENBERGH, Paul H, 2003.  $17\beta$ -Estradiol responsiveness of MCF-7 laboratory strains is dependent on an autocrine signal activating the IGF type I receptor. Online. *Cancer Cell International*. Roč. 3, č. 1. ISSN 1475-2867. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/1475-2867-3-10>. [cit. 2025-05-16].
- [29] MIYOSHI, Yasuo; ANDO, Akiko; HASEGAWA, Seiichi; ISHITOBI, Makoto; TAGUCHI, Tetsuya et al., 2003. High expression of steroid sulfatase mRNA predicts poor prognosis in patients with estrogen receptor-positive breast cancer. Online. *Clin Cancer Res*. Roč. 9, č. 6, s. 2288-2293. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12796397/>. [cit. 2025-05-16].
- [30] CHEN, Shiuan; CHO, Michael; KARLSBERG, Kimberly; ZHOU, Dujin a YUAN, Yate-Ching, 2004. Biochemical and Biological Characterization of a Novel Anti-aromatase Coumarin Derivative. Online. *Journal of Biological Chemistry*. Roč. 279, č. 46, s. 48071-48078. ISSN 00219258. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.M406847200>. [cit. 2025-05-16].
- [31] STROTT, Charles A., 2002. Sulfonation and Molecular Action. Online. *Endocrine Reviews*. 2002-10-01, roč. 23, č. 5, s. 703-732. ISSN 0163-769X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/er.2001-0040>. [cit. 2025-05-16].
- [32] SANTNER, S. J.; FEIL, P. D. a SANTEN, R. J., 1984. In Situ Estrogen Production via the Estrone Sulfatase Pathway in Breast Tumors: Relative Importance versus the Aromatase Pathway\*. Online. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Roč. 59, č. 1, s. 29-33. ISSN 0021-972X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1210/jcem-59-1-29>. [cit. 2025-05-16].
- [33] CUZICK, Jack; SESTAK, Ivana; FORBES, John F; DOWSETT, Mitch; KNOX, Jill et al., 2014. Anastrozole for prevention of breast cancer in high-risk postmenopausal women (IBIS-II): an international, double-blind, randomised placebo-controlled trial. Online. *The Lancet*. Roč. 383, č. 9922, s. 1041-1048. ISSN 01406736. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62292-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62292-8). [cit. 2025-05-16].

- [34] LEONETTI, Francesco; FAVIA, Angelo; RAO, Angela; ALIANO, Rosaria; PALUSZCAK, Anja et al., 2004. Design, Synthesis, and 3D QSAR of Novel Potent and Selective Aromatase Inhibitors. Online. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004-12-01, roč. 47, č. 27, s. 6792-6803. ISSN 0022-2623. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/jm049535j>. [cit. 2025-05-16].
- [35] MUSA, Musiliyu; COOPERWOOD, John a KHAN, M. Omar, 2008. A Review of Coumarin Derivatives in Pharmacotherapy of Breast Cancer. Online. *Current Medicinal Chemistry*. 2008-11-01, roč. 15, č. 26, s. 2664-2679. ISSN 09298673. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/092986708786242877>. [cit. 2025-05-16].
- [36] CUI, Naipeng; LIN, Dan-Dan; SHEN, Yang; SHI, Jian-Guo; WANG, Bing et al., 2019. Triphenylethylene-Coumarin Hybrid TCH-5c Suppresses Tumorigenic Progression in Breast Cancer Mainly Through the Inhibition of Angiogenesis. Online. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2019-10-24, roč. 19, č. 10, s. 1253-1261. ISSN 18715206. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1871520619666190404155230>. [cit. 2025-05-16].
- [37] BIEHLER-GOMEZ, Lucie; SARDANELLI, Francesco a CATTANEO, Cristina, 2021. Neoplastic Diseases. Online. In: *Interpreting Bone Lesions and Pathology for Forensic Practice*. Elsevier, s. 129-162. ISBN 9780323851626. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85162-6.00006-4>. [cit. 2025-05-16].
- [38] HUANG, Junjie; CHAN, Sze Chai; NGAI, Chun Ho; LOK, Veeleah; ZHANG, Lin et al., 2022. Disease Burden, Risk Factors, and Trends of Leukaemia: A Global Analysis. Online. *Frontiers in Oncology*. 2022-7-22, roč. 12. ISSN 2234-943X. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.904292>. [cit. 2025-05-16].
- [39] WHITEHEAD, Todd P.; METAYER, Catherine; WIEMELS, Joseph L.; SINGER, Amanda W. a MILLER, Mark D., 2016. Childhood Leukemia and Primary Prevention. Online. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*. Roč. 46, č. 10, s. 317-352. ISSN 15385442. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2016.08.004>. [cit. 2025-05-16].
- [40] EGAN, Denise; JAMES, Paraic; COOKE, Deirdre a O'KENNEDY, Richard, 1997. Studies on the cytostatic and cytotoxic effects and mode of action of 8-nitro-

- 7-hydroxycoumarin. Online. *Cancer Letters*. Roč. 118, č. 2, s. 201-211. ISSN 03043835. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(97\)00331-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(97)00331-5). [cit. 2025-05-16].
- [41] COOKE, Deirdre a O'KENNEDY, Richard, 1999. Comparison of the Tetrazolium Salt Assay for Succinate Dehydrogenase with the Cytosensor Microphysiometer in the Assessment of Compound Toxicities. Online. *Analytical Biochemistry*. Roč. 274, č. 2, s. 188-194. ISSN 00032697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4274>. [cit. 2025-05-16].
- [42] COOKE, David. *Studies on the Mode of Action of Coumarins (Coumarin, 6-Hydroxycoumarin, 7-Hydroxycoumarin and Esculetin) at a Cellular Level*. Disertační práce. Dublin: Dublin City University, 1999.
- [43] RIGEL, Darrell S.; FRIEDMAN, Robert J. a KOPF, Alfred W., 1996. The incidence of malignant melanoma in the United States: Issues as we approach the 21st century. Online. *Journal of the American Academy of Dermatology*. Roč. 34, č. 5, s. 839-847. ISSN 01909622. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(96\)90041-9](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(96)90041-9). [cit. 2025-05-16].
- [44] GODAR, Dianne E., 2011. Worldwide Increasing Incidences of Cutaneous Malignant Melanoma. Online. *Journal of Skin Cancer*. Roč. 2011, s. 1-6. ISSN 2090-2905. Dostupné z: <https://doi.org/10.1155/2011/858425>. [cit. 2025-05-16].
- [45] ARMSTRONG, B. K. a KRICKER, A., 1993. How much melanoma is caused by sun exposure? Online. *Melanoma Research*. Roč. 3, č. 6, s. 395-402. ISSN 0960-8931. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/00008390-199311000-00002>. [cit. 2025-05-16].
- [46] WCISŁO, Gabriel a SZCZYLIK, Cezary, 2003. Leczenie adiuwantowe interferonem chorych na czerniaka złośliwego skóry [Interferon: therapy in patients with cutaneous malignant melanoma in adjuvant setting]. *Pol Merkur Lekarski*. Roč. 15, č. 85, s. 5-8.
- [47] ADAMI, Hans-Olov; HUNTER, David J.; LAGIOU, Pagona a MUCCI, Lorelei A. (ed.), [2018]. *Textbook of cancer epidemiology*. Third edition published. New York, NY: Oxford University Press. ISBN 978-0-19-067682-7.

- [48] BALCH, Charles M.; ATKINS, Michael B.; GARBE, Claus; GERSHENWALD, Jeffrey E.; HALPERN, Allan C. et al., 2020. *Cutaneous Melanoma*. Sixth Edition. Springer International Publishing. ISBN 9783030050689.
- [49] THORNES, R. D.; EDLOW, D. W. a WOOD, S., 1968. Inhibition of locomotion of cancer cells in vivo by anticoagulant therapy. I. Effects of sodium warfarin on V2 cancer cells, granulocytes, lymphocytes and macrophages in rabbits. *The Johns Hopkins medical journal*. Roč. 123, č. 6, s. 305-316. ISSN 00217263.
- [50] THORNES, Robert Dóuglas, 1997. Clinical and Biological Observations Associated with Coumarins. In: O'KENNEDY, Richard a THORNES, Robert Dóuglas (ed.). *Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action*. John Wiley, s. 255–265. ISBN 978-0-471-96997-6.
- [51] VELASCOVELAZQUEZ, M, 2003. 4-Hydroxycoumarin disorganizes the actin cytoskeleton in B16?F10 melanoma cells but not in B82 fibroblasts, decreasing their adhesion to extracellular matrix proteins and motility. Online. *Cancer Letters*. Roč. 198, č. 2, s. 179-186. ISSN 03043835. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(03\)00333-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(03)00333-1). [cit. 2025-05-16].
- [52] GUPTA, Deepshikha; GULIANI, Eksha a BAJAJ, Kiran, 2024. Coumarin—Synthetic Methodologies, Pharmacology, and Application as Natural Fluorophore. Online. *Topics in Current Chemistry*. Roč. 382, č. 2. ISSN 2364-8961. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s41061-024-00462-z>. [cit. 2025-05-16].
- [53] VON PECHMANN, H a DUISBERG, C, 1883. Ueber die verbindungen der phenole mit acetessigäther. Online. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. Roč. 1883, č. 16, article 395, s. 2119-2128. Dostupné z: [https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cber.188301602117?casa\\_token=S5xsx8v2PvAAAAAA:Sos8uM-2cLLarCA1HtF6X7TUQ1vOZIIKP79jyB4Lp5kfZWLutzIr3vbZlOXmEZQzFXv89\\_ipa2xdcIg](https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cber.188301602117?casa_token=S5xsx8v2PvAAAAAA:Sos8uM-2cLLarCA1HtF6X7TUQ1vOZIIKP79jyB4Lp5kfZWLutzIr3vbZlOXmEZQzFXv89_ipa2xdcIg). [cit. 2024-04-17].
- [54] HERAVI, Majid M.; KHAGHANINEJAD, Soheila a MOSTOFI, Manizhe, 2014. Pechmann Reaction in the Synthesis of Coumarin Derivatives. Online. In: . *Advances in Heterocyclic Chemistry*. Elsevier, s. 1-50. ISBN 9780128001714.

- Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800171-4.00001-9>. [cit. 2025-05-16].
- [55] 4-METHYLCOUMARIN, 1944. Online. *Organic Syntheses*. Roč. 24. ISSN 00786209. Dostupné z: <https://doi.org/10.15227/orgsyn.024.0069>. [cit. 2025-05-16].
- [56] JOSHI, Rikesh a CHUDASAMA, Uma, 2008. Synthesis of coumarins via Pechmann condensation using inorganic ion exchangers as solid acid catalysts. Online. *Journal of Scientific & Industrial Research*. Roč. 2008, č. Vol. 67, s. 1092-1097. Dostupné z: <https://typeset.io/pdf/synthesis-of-coumarins-via-pechmann-condensation-using-51bax47dm8.pdf>. [cit. 2024-04-18].
- [57] HERAVI, Majid M.; KHAGHANINEJAD, Soheila a MOSTOFI, Manizhe, 2014. Pechmann Reaction in the Synthesis of Coumarin Derivatives. In: *Advances in Heterocyclic Chemistry Volume 112*. Academic Press, pp. 1-50. ISBN 9780128001714.
- [58] DENMARK, Scott E. (ed.), 2004. *Organic Reactions*. Online. Wiley. ISBN 9780471264187. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/0471264180>. [cit. 2025-03-30].
- [59] PERKIN, W. H., 1868. XXIII.—On the hydride of aceto-salicyl. Online. *J. Chem. Soc.* Roč. 21, s. 181-186. ISSN 0368-1769. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/JS8682100181>. [cit. 2025-05-16].
- [60] KNOEVENAGEL, E., 1896. Ueber eine Darstellungsweise des Benzylidenacetessigesters. Online. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. Roč. 29, č. 1, s. 172-174. ISSN 0365-9496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cber.18960290133>. [cit. 2025-05-16].
- [61] VEKARIYA, Rajesh H. a PATEL, Hitesh D., 2014. Recent Advances in the Synthesis of Coumarin Derivatives via Knoevenagel Condensation: A Review. Online. *Synthetic Communications*. 2014-10-02, roč. 44, č. 19, s. 2756-2788. ISSN 0039-7911. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/00397911.2014.926374>. [cit. 2025-05-16].
- [62] NAGAI, W. N., 1892. Ueber das Dehydrodiacetylpeonol. Online. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. Roč. 25, č. 1, s. 1284-1291. ISSN 0365-9496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cber.189202501197>. [cit. 2025-05-16].

- [63] TAHARA, Y., 1892. Ueber die Constitutionsfrage des Dehydrodiacetylpeonols und des Dehydrodiacetylresacetophenons. Online. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. Roč. 25, č. 1, s. 1292-1305. ISSN 0365-9496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cber.189202501198>. [cit. 2025-05-16].
- [64] V. KOSTANECKI, St. a RÓŻYCKI, A., 1901. Ueber eine Bildungsweise von Chromonderivaten. Online. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. Roč. 34, č. 1, s. 102-109. ISSN 0365-9496. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cber.19010340119>. [cit. 2025-05-16].
- [65] LI, Jie-Jack a COREY, E. J. (ed.), 2004. *Name Reactions in Heterocyclic Chemistry*. Online. Wiley. ISBN 9780471302155. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/0471704156>. [cit. 2025-05-16].
- [66] LI, Jie Jack a LI, Jie Jack, 2014. Kostanecki reaction. Online. In: *Name Reactions*. Cham: Springer International Publishing, s. 353-353. ISBN 978-3-319-03978-7. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-03979-4\\_151](https://doi.org/10.1007/978-3-319-03979-4_151). [cit. 2025-05-16].
- [67] KONEČNÁ, Vendula, 2021. *Studium přípravy 4-hydroxykumarinů a jejich derivátů*. Diplomová práce. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [68] ZIEGLER, E. a MAIER, H., 1958. Zur Chemie des 4-Hydroxy-cumarins. Online. *Monatshefte für Chemie und verwandte Teile anderer Wissenschaften*. Roč. 89, č. 1, s. 143-153. ISSN 0343-7329. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF00900635>. [cit. 2025-05-16].

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Obrázek 1</b> Struktura a číslování kumarinu <b>1</b> .....                                 | 13 |
| <b>Obrázek 2</b> Struktura novobiocinu <b>2</b> .....                                          | 14 |
| <b>Obrázek 3</b> Struktura 7-hydroxykumarinu (umbeliferonu) <b>3</b> .....                     | 14 |
| <b>Obrázek 4</b> Struktura 4-benzyl-3-(4'-chlorfenyl)-7-methoxy-kumarinu <b>4</b> .....        | 16 |
| <b>Obrázek 5</b> Nově syntetizované kumariny odvozené od TCH s protinádorovými účinky ..       | 17 |
| <b>Obrázek 6</b> Deriváty kumarinu s potenciálem v léčbě leukémie .....                        | 18 |
| <b>Obrázek 7</b> Struktura 4-hydroxy-3-(3-oxo-1-fenylbutyl)kumarinu (warfarinu) <b>7</b> ..... | 19 |
| <b>Obrázek 8</b> Strukturní vzorec paeonolu <b>21</b> .....                                    | 23 |
| <b>Obrázek 9</b> Struktura 4-hydroxykumarin <b>1</b> , 4-hydroxychinolin-2-on <b>2</b> .....   | 26 |

## SEZNAM SCHÉMÁT

|                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Schéma 1</b> Obecné schéma Pechmannovy reakce .....                                                            | 20 |
| <b>Schéma 2</b> Mechanismus Pechmannovy reakce .....                                                              | 20 |
| <b>Schéma 3</b> Schéma syntézy umbeliferonu <b>3</b> .....                                                        | 21 |
| <b>Schéma 4</b> Reakce W. H. Perkina z roku 1868.....                                                             | 21 |
| <b>Schéma 5</b> Příprava substituované kyseliny skořicové Perkinovou reakcí .....                                 | 22 |
| <b>Schéma 6</b> Obecné schéma Knoevenagelovy reakce.....                                                          | 22 |
| <b>Schéma 7</b> Reakce resacetofenonu <b>22</b> s acetanhydridem v přítomnosti octanu sodného.....                | 23 |
| <b>Schéma 8</b> Reakce 4-ethoxy-2-hydroxyacetofenonu <b>24</b> s acetanhydridem v přítomnosti octanu sodného..... | 23 |
| <b>Schéma 9</b> Mechanismus Kostaneckého reakce .....                                                             | 24 |
| <b>Schéma 10</b> Příprava 4-hydroxychinolin-2-onů <b>2</b> .....                                                  | 26 |
| <b>Schéma 11</b> Příprava 3-substituovaných 4-hydroxykumarinů <b>1a-j</b> .....                                   | 27 |
| <b>Schéma 12</b> Reakce fenolu <b>5</b> a diethyl-butylmalonátu <b>4b</b> v mikrovlnném reaktoru .....            | 29 |
| <b>Schéma 13</b> Účinek SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> na 3-fenyl-4-hydroxykumarin <b>1a</b> .....               | 30 |
| <b>Schéma 14</b> Reakce 3-propyl-4-hydroxykumarinu <b>1e</b> s SO <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....              | 30 |
| <b>Schéma 15</b> Reakce 3-ethyl-4-hydroxykumarinu <b>1d</b> s Cl <sub>2</sub> .....                               | 31 |
| <b>Schéma 16</b> Syntéza 3-brom-3-ethylchroman-2,4-dionu <b>10d</b> .....                                         | 32 |

**SEZNAM TABULEK**

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabulka 1</b> Přehled experimentů přípravy 4-hydroxykumarinů <b>1a-j</b> ..... | 27 |
| <b>Tabulka 2</b> Průběh reakcí v mikrovlnném reaktoru .....                       | 29 |

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

|         |                                                           |
|---------|-----------------------------------------------------------|
| A549    | imortalizovaná buněčná linie lidského adenokarcinomu plic |
| Ac      | acetyl                                                    |
| ACHN    | buněčná linie adenokarcinomu ledviny                      |
| AI      | inhibitor aromatázy                                       |
| AR      | aromatáza                                                 |
| ATP     | adenosintrifosfát                                         |
| B16-F10 | podlinie myši melanomové buněčné linie                    |
| B82     | myši benigní fibroblastová linie                          |
| DMSO    | dimethylsulfoxyd                                          |
| DNA     | deoxyribonukleová kyselina                                |
| E1-STS  | dráha estron-sulfatázy                                    |
| E1S     | estron sulfát                                             |
| EGF     | epidermální růstový faktor                                |
| ekviv.  | ekvivalent                                                |
| ER      | estrogenní receptor                                       |
| Et      | ethyl                                                     |
| Exp.    | experiment                                                |
| G0/G1   | fáze buněčného cyklu                                      |
| H727    | imortalizovaná buněčná linie                              |
| HIV     | virus lidské imunitní nedostatečnosti                     |
| HL-60   | buněčná linie lidské leukemie                             |
| K562    | imortalizovaná buněčná linie myeloidní leukémie           |
| kol.    | kolektiv                                                  |
| lab. t. | laboratorní teplota                                       |
| MCF-7   | buněčná linie odvozená od karcinomu prsu                  |

---

|            |                                                  |
|------------|--------------------------------------------------|
| MDA-MB-231 | buněčná linie odvozená z adenokarcinomu prsu     |
| MDA-MB-435 | buněčná linie odvozená z metastázy rakoviny prsu |
| Me         | methyly                                          |
| MM         | maligní melanom                                  |
| MW         | mikrovlnné záření                                |
| NMR        | nukleární magnetická rezonance                   |
| PE         | petrolether                                      |
| RVO        | rotační vakuová odparka                          |
| SK-BR-3    | buněčná linie karcinomu prsu                     |
| STS        | sulfatáza                                        |
| TCH        | trifenyletylenu                                  |
| TLC        | chromatografie na tenké vrstvě                   |
| $t_t$      | teplota tání                                     |
| $t_v$      | teplota varu                                     |