

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra organické chemie

**SYNTÉZA DERIVÁTŮ KUMARINU
S ANELOVANÝM KRUHEM V POLOZE 3,4
OBSAHUJÍCÍM ATOM DUSÍKU**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vypracovala:	Marie Boháčová
Vedoucí diplomové práce:	prof. Ing. Pavel Hradil, CSc.
Konzultant:	Mgr. Ludmila Hradilová
Studijní obor:	Chemie
Studijní program:	Chemie

Olomouc 2012

Děkuji svému vedoucímu práce prof. Ing. Pavlu Hradilovi CSc. za odborné vedení a cenné rady, které mi poskytl při zpracování bakalářské práce.

Děkuji Mgr. Ludmile Hradilové za neobyčejnou ochotu, se kterou se mi věnovala a celému kolektivu laboratoří výzkumného oddělení Farmak a.s. za pomoc při řešení experimentální části bakalářské práce.

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracovala samostatně. Použité prameny jsou uvedeny v seznamu literatury.

V Olomouci dne

.....

Podpis

Obsah

1. Úvod	1
2. Teoretická část	2
2.1 Úvodní část	2
2.2 Deriváty kumarinu s anelovaným pětičlenným kruhem v poloze 3, 4	5
2.2.1 Látky obsahující jeden heteroatom dusíku	5
2.2.2 Látky obsahující dva heteroatomy dusíku	13
2.3 Deriváty kumarinu s anelovaným šestičlenným kruhem v poloze 3, 4	18
2.3.1 Látky obsahující heteroatom dusíku	18
2.3.2 Látky obsahující dva heteroatomy dusíku	36
3. Výsledky a diskuse	42
4. Experimentální část	46
4.1 Příprava 4-chloro-3-formylkumarinu	47
4.2 Příprava 4-amino-3-formylkumarinu	47
4.3 Syntéza 4-Amino-3-oxazolidin-2-yl-chromen-2-onu	48
4.4 Reakce 4-chloro-3-formylkumarinu s ^o diaminomalenonitrilem	49
4.5 4-Chloro-3-(hydroxyimino)methylkumarin	50
4.6 4-Hydroxy-3-(hydroxyimino)methylkumarin	51
4.7 Příprava 13-(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-2,10-dioxapentacyklo [12.8.0.0 ^{3,12} .0 ^{4,9} .0 ^{17,22}]docosa-1(14),3(12),4,6,8,17,19,21-octaen-11,15-dionu	52
5. Závěr	53
6. Literatura	55
7. Seznam použitých symbolů a zkratk	60
8. Přílohy	61

1. Úvod

Kumarin a deriváty od něj odvozené patří k sloučeninám s širokým praktickým uplatněním. Řada podobných přírodních biologicky aktivních látek se používá rovněž jako léčiva či pesticidy. Další významné uplatnění nacházejí tyto sloučeniny v kosmetice. Derivátů kumarinu bylo popsáno nesčetné množství, přesto se v chemii těchto sloučenin vyskytují málo prostudované oblasti.

Cílem mé práce bylo studium nových derivátů kumarinu, které obsahují anelovaný heterocyklický kruh v poloze 3, 4.

Prvním úkolem bylo provést rešerši, zahrnující popsané sloučeniny s heterocyklickým kruhem v poloze 3, 4 obsahujícím dusík a přípravu potenciálních výchozích látek.

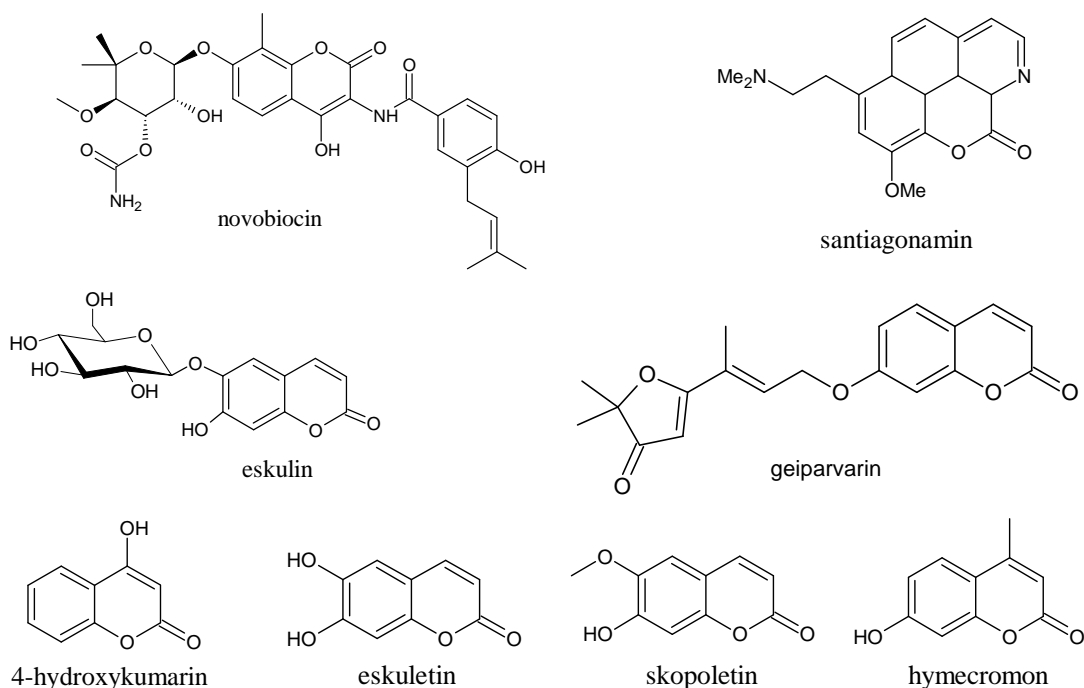
Druhým úkolem bylo syntetizovat výchozí látky a nové látky z této skupiny.

2. Teoretická část

2.1 Úvodní část

Kumariny nebo také β -ketoestery jsou laktony kyseliny kumarinové, která je obsažena v některých rostlinách ve formě glykosidu. Při sušení se rozpadá glykosidická vazba za vzniku laktonu a kyseliny.

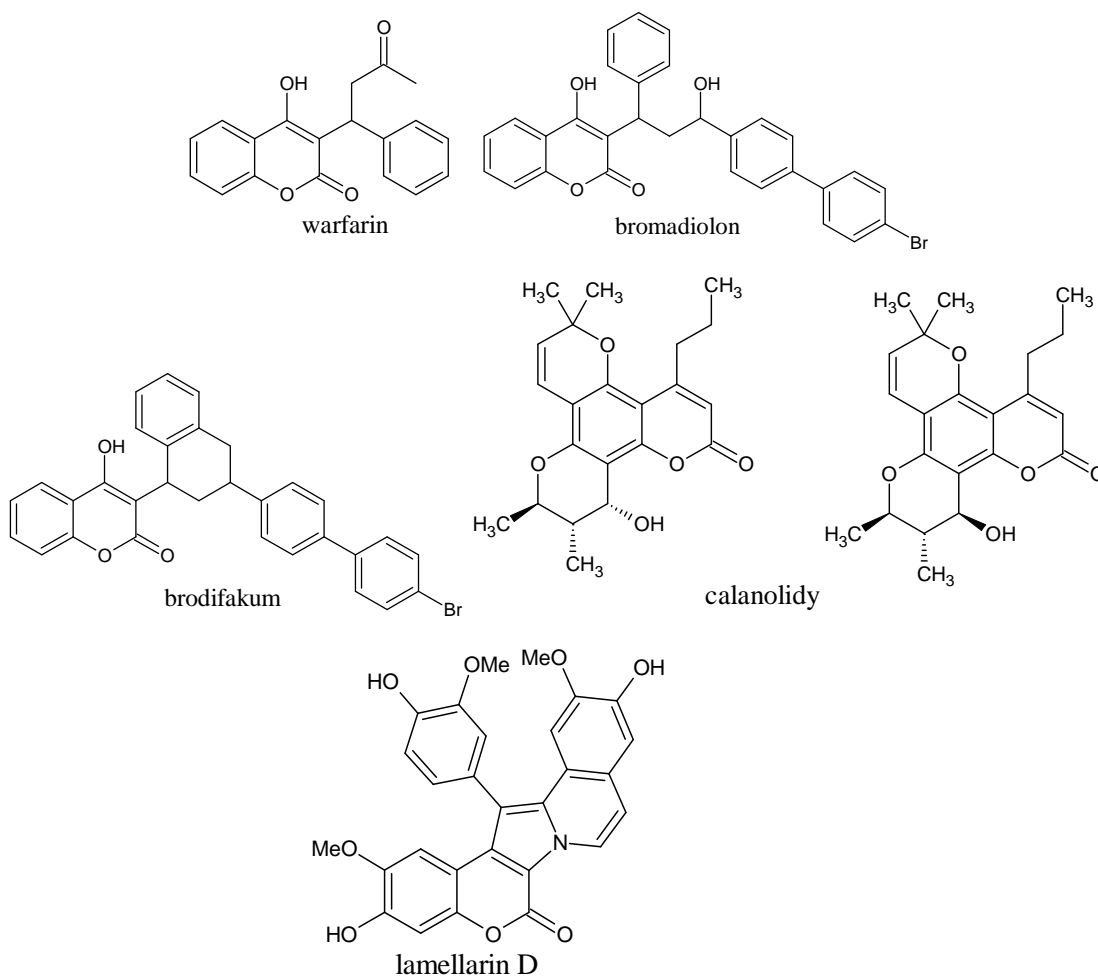
Kumariny tvoří základní jednotky v různých přírodních i syntetických látkách. Mnoho z nich má farmakologické účinky: antibakteriální, antivirové, antibiotika (novobiocin), antialergické (chromeno[4,3-b]chinoliny), fungicidní. Tyto sloučeniny také napomáhají léčení ran (santiagonamin) a rozšiřování průdušek, působí proti vysokému tlaku a osteoporóze, zvyšují resistenci kapilár a snižují jejich permeabilitu (eskulin). Deriváty kumarinu jsou součástí látek proti artritidě, horečce a působí proti nádorům (geiparvarin, 4-hydroxykumarin) a rakovině. Kumariny jsou obsaženy v protizánětlivých látkách, spasmolitikách (eskuletin, skopoletin, hymecromon), látkách proti malárii a nesteroidním antagonistům progesteronových receptorů (1-chromeno[3,4-f]chinoliny). Vzorce některých sloučenin jsou uvedeny na obr. 1 a obr. 2.



Obrázek 1

Kumarinové jádro je obsaženo v analgetických látkách a léčivech používaných jako inhibitory fosfodiesterázy VII pro léčení imunologických onemocnění.

Využití kumarinů spočívá především v antikoagulačních účincích (antagonisté vitamínu K) především u onemocnění jako je plicní embolie, zánět žil a specifické srdeční problémy (warfarin) nebo k hubení hlodavců (bromadiolon, brodifakum, dříve také dikumarol, fenprokumon, acenokumarol, kumachlor) nebo jako výchozí látka pro jejich syntézu (4-hydroxykumarin). Dále se používají jako HIV inhibitory (trikumarol, calanolidy, některé 3-substituované-4-hydroxykumariny, lamellarin D) a jako výchozí látka některých insekticidů (7-hydroxy-4-methylkumarin)¹.



Obrázek 2

Dikumaroly vznikají působením některých mikroorganismů a k jejich tvorbě dochází především v kumarinových drogách, které se získávají z miříkovitých, hvězdnicovitých a lipnicovitých rostlin. Na člověka mají spasmolytické a hypnotické účinky a tlumí centrální nervovou soustavu. Nať komonice lékařské se používá na obklady a koupele, někdy jako diuretikum².

Kumariny jsou jedním z nejpoužívanějších fluorescenčních barviv. Využívají se v průmyslu (tekuté krystaly), zemědělství, medicíně, genetice atd. Nesubstituovaný kumarin

je za pokojové teploty bezbarvý. Pokud ale obsahuje elektronově donorovou skupinu v poloze 7 a akceptorovou skupinu v poloze 3 nebo 4, je vytvořen donor-akceptorový systém. Tyto deriváty kumarinu jsou v takovém případě žluté nebo červené a vyznačují se silnou fluorescencí. Sloučeniny kumarinu jsou používány jako laserová barviva (hymecromon) a v solárních panelech³. Benzokumariny mají fluorescenční a fotosenzitivní vlastnosti a používají se jako nelineární optické zdroje záření a bělicí prostředky. Fluorescenční emise brommethylderivátu benzokumarinu je používána pro stanovení mořských organismů pomocí HPLC fluorescenční analýzy^{4,5}.

Vzhledem ke svým rozmanitým biologickým účinkům jsou kumariny často studovanou skupinou sloučenin. Byly připraveny deriváty kumarinu se čtyř až sedmičlenným anelovaným kruhem v poloze 3, 4 jak s heteroatomem dusíku, kyslíku nebo síry tak bez heteroatomu.

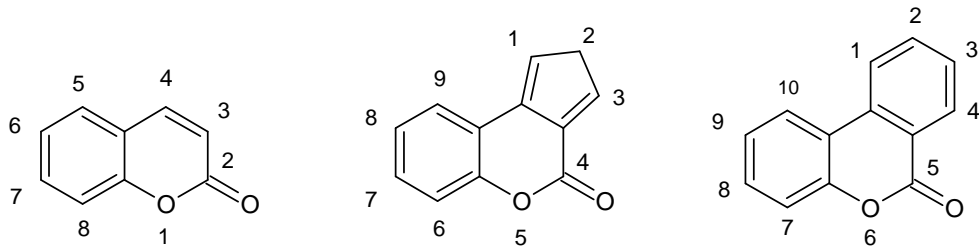
Příprava derivátů kumarinu se čtyřčlenným anelovaným kruhem byla v literatuře popsána, ale pouze u sloučenin bez heteroatomu. Proto jsem se této oblasti dále nevěnovala.

U derivátů kumarinu s anelovaným sedmičlenným kruhem byly popsány převážně bicyklické sloučeniny s heteroatomem kyslíku. Pouze malá část pramenů zmiňuje přípravu sedmičlenných derivátů, která vychází z jednoduchých kumarinů. Heteroatomy dusíku, kyslíku a síry jsou vázány pouze do některých poloh v anelovaném kruhu. V poloze 1 byl přítomen heteroatom dusíku nebo kyslíku, v poloze 2 dusík, v poloze 3 kyslík a v poloze 5 dusík nebo síra. Sedmičlenný anelovaný kruh s heteroatomem v poloze 4 v literatuře popsán nebyl.

Pro přípravu sloučenin s pětičlenným kruhem s heteroatomem kyslíku literatura uvádí nejvíce pramenů pro polohu 1. Kyslík v poloze 2 je popisován jen výjimečně. Heteroatom síry se v pětičlenných cyklech vyskytoval jen vzácně. Dva heteroatomy kyslíku nebo síry byly uvedeny pouze v poloze 1, 3.

Heteroatom kyslíku u šestičlenných kruhů derivátů kumarinu se vyskytuje nejvíce v poloze 1, ale i ostatní polohy jsou zastoupeny hojně. Dva a více heteroatomů kyslíku v šestičlenném cyklu se v literatuře nevyskytuje. Heteroatom síry byl popsán v poloze 1 nebo 3 vzácně. Dva heteroatomy síry se objevují pouze v poloze 1, 4. Ostatní polohy popsány nebyly. Tři heteroatomy síry se u šestičlenných cyklů neobjevují vůbec.

V této práci jsem se zaměřila na deriváty kumarinu s pěti a šesti člennými anelovanými kruhy s heteroatomem dusíku. Kumariny s anelovaným kruhem mají odlišné číslování (obr. 3).

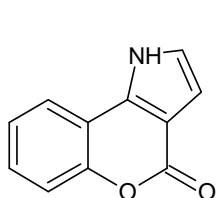


Obrázek 3

2.2 Deriváty kumarinu s anelovaným pětičlenným kruhem v poloze 3, 4

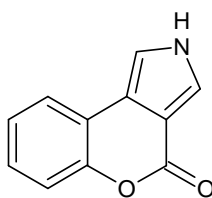
2.2.1 Látky obsahující jeden heteroatom dusíku

V literatuře byly popsány syntézy těchto derivátů kumarinu s anelovaným pyrrolovým kruhem.



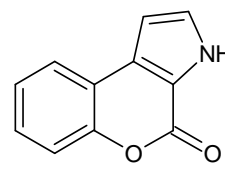
1H-pyrrolo[4,3-b]kumarin

1



2H-pyrrolo[3,4-c]kumarin

2



3H-pyrrolo[3,4-b]kumarin

3

Jako výchozí látka při přípravě derivátů kumarinu **1** byl použit vhodně substituovaný derivát kumarinu s hydroxy- nebo chloro- skupinou v poloze 4. Substitucí této skupiny primárním nebo sekundárním aminem, popř. azidem, byly připraveny vhodné prekurzory, které dále cyklizovaly na požadovaný produkt. Sloučeniny kumarinu **2** byly připraveny reakcemi různých derivátů kumarinu se sekundárními nebo terciárními aminy. Reakce vedoucí k derivátům kumarinu **3** vycházely z kumarinů, které již měli v poloze 3 navázán dusík jako amino nebo nitro skupinu. Tvorba kruhu probíhala za účasti vhodného alkyne nebo ketonu navázaného v poloze 4 kumarinového kruhu, případně na dusík v poloze 3.

Pyrrolokumarin **7** byl připraven reakcí terciárního aminu **6** s 3-chloroperoxybenzoovou kyselinou v chloroformu s výtěžkem 70-75 %. Terciární amin **6** vznikl reakcí 4-hydroxykumarinu (**4**) s *p*-toluensulfonylchloridem v pyridinu a následným zahříváním vzniklého tosylátu s aminem **5** v ethanolu⁶ (Schéma 1).

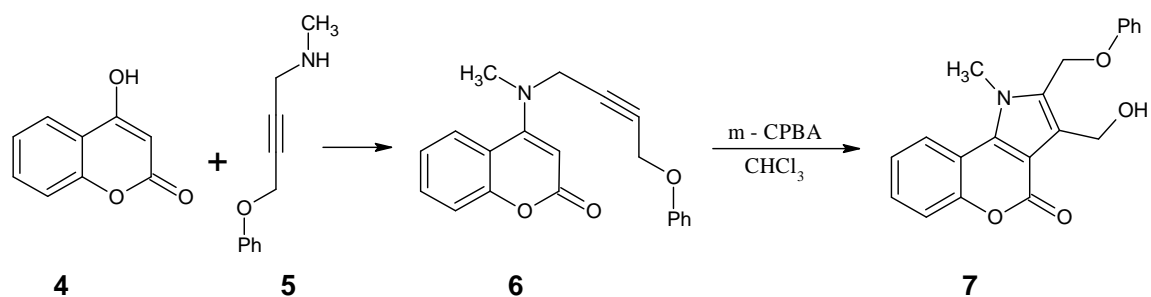


Schéma 1

Deriváty pyrrolokumarinu **11** byly dále připraveny přímou reakcí 3-acyl-4-methoxykumarinu **9** s α -amino derivátem **10** v alkalickém prostředí ve výtěžku 80 %. Tyto sloučeniny mohou být použity jako benzodiazepinové receptorové ligandy. Methoxyderivát **9** byl připraven reakcí 3-acyl-4-hydroxykumarinu **8** reakcí s diazomethanem⁷ (Schéma 2).

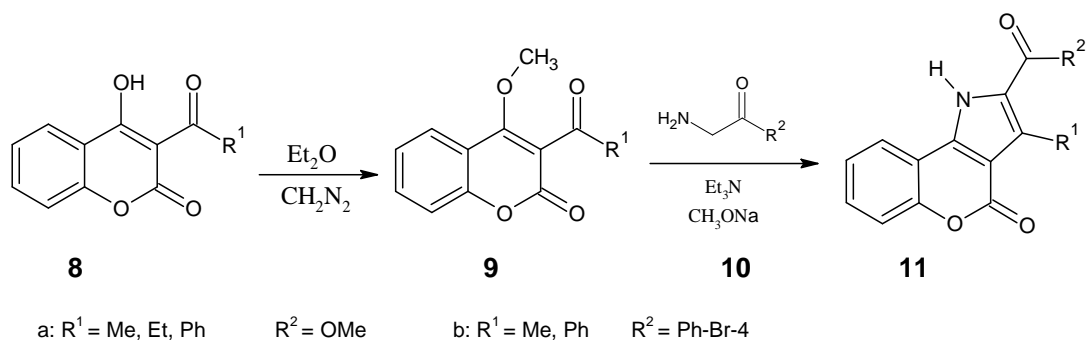


Schéma 2

2,3-Dimethyl ester **13** byl připraven reakcí sloučeniny **12a** s methyl 2-aminoacetátem v DMF nebo dichlormethanu za přítomnosti triethylaminu ve výtěžku 24 %. V případě, že jako výchozí látka sloužil fluorovaný derivát **12b**, vznikl za stejných podmínek produkt **14** ve výtěžku 50 %⁸ (Schéma 3).

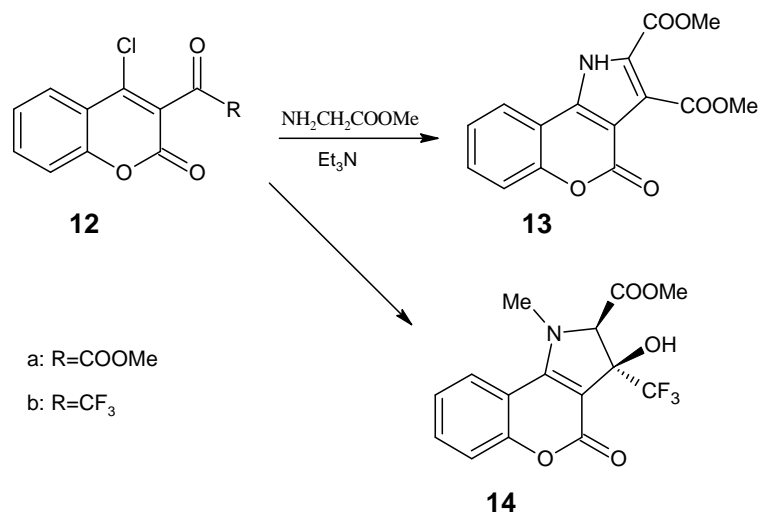


Schéma 3

4-Chlorokumarin (**15**) byl převeden reakcí s β -aminoacetofenonem **16** v přítomnosti triethylaminu a ethanolu na aminokumarinový derivát **17**. Jeho následná cyklizace v ethanolu s ethoxidem sodným poskytovala pyrrolokumarinový derivát **18** ve výtěžcích 75 a 80 % (Schéma 4). V tomto případě často používaná alternativní syntéza derivátu **17**, kdy se využívá přímá reakce 4-hydroxykumarinu (**4**) s aminem, neprobíhala⁹.

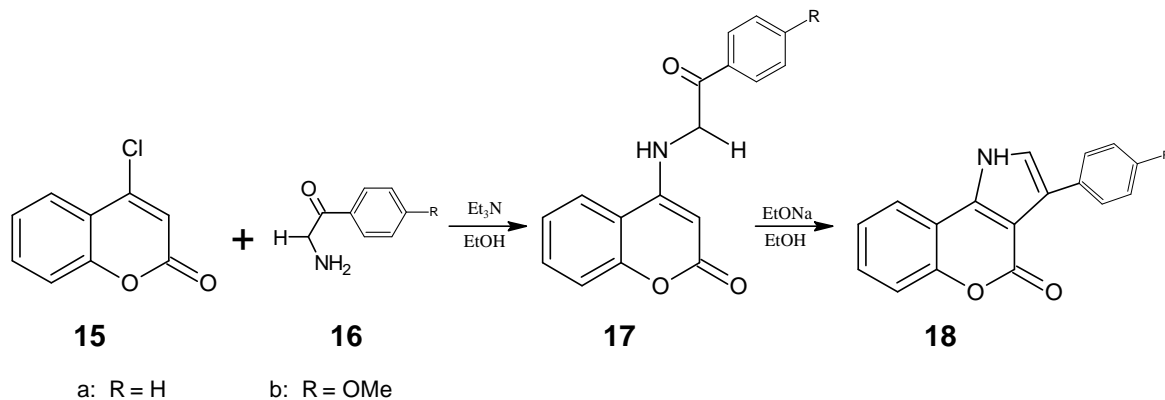


Schéma 4

4-Chloro-3-formylkumarin (**19**) reagoval s amino hydrochloridem **20** v rozpouštědlech jako je ethanol, THF, chloroform nebo toluen na 4-aminoderiváty **23**, které jsou v zásaditém prostředí snadno cyklizovatelné na pyrrolové deriváty **21** (Schéma 5).

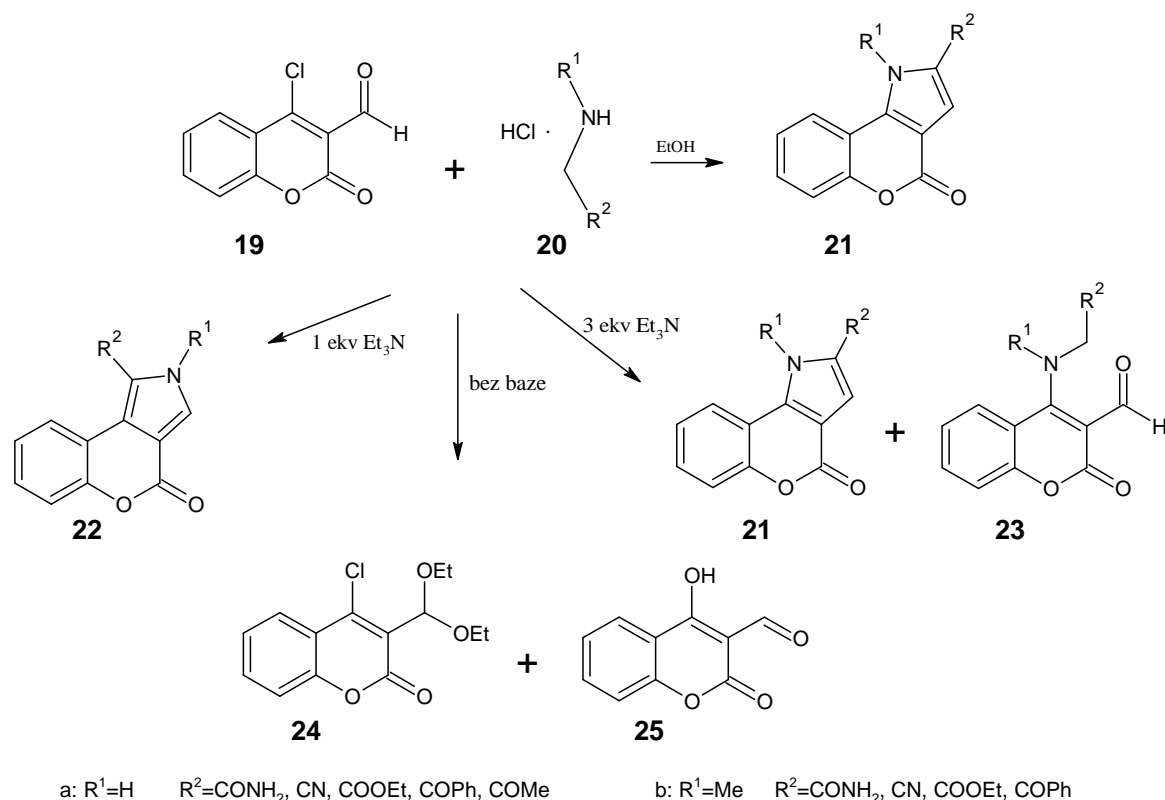


Schéma 5

Pokud reakce uvedená ve schématu 5 probíhala v ethanolu, hlavním produktem byl pyrrol **21**. Bylo zjištěno, že množství použité báze a substituenty na sloučenině **20** mají přímý vliv na vznikající produkt. Při použití ekvivalentu báze (např. triethylamin) vznikl isomer pyrrolu **22**, v trojnásobném přebytku triethylaminu přednostně vznikl produkt **21** nebo **23**. Bez přítomnosti báze vznikl acetal **24** nebo došlo k hydrolyze na 4-hydroxy-3-formylkumarin **25** a 4-hydroxykumarin **4**¹⁰.

Indol **28** lze získat reakcí 3-arylkumarinu **26** s azidem sodným při laboratorní teplotě a následným rozkladem azido derivátu **27** zahřátím v DMF ve výtěžku 92 % (Schéma 6). Jednostupňová syntéza prováděná při teplotě 150 °C poskytovala přímo indol **28** ve výtěžku vzhledem k výše uvedenému způsobu pouze 88 %¹¹.

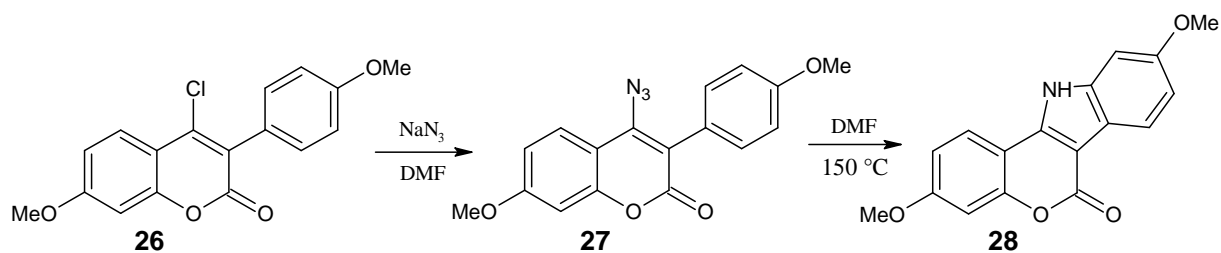
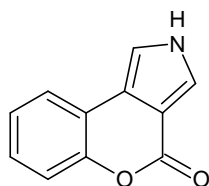


Schéma 6

Sloučeniny kumarinu **2** byly připraveny reakcemi různých derivátů kumarinu se sekundárními nebo terciárními aminy.



2H-pyrrolo[3,4-c]kumarin
2

4-Chlorokumarin (**15**) reakcí s thiofenolem a následnou oxidací 3-chloroperoxybenzoovou kyselinou dával kumarin **29**. Ten spolu s azomethin ylidem v DMF poskytoval cykloadukt **30**, který eliminací fenylsulfenové kyseliny a aromatizací tvořil pyrrolo[3,4-c]kumarin **31** ve výtěžku 51 %¹² (Schéma 7).

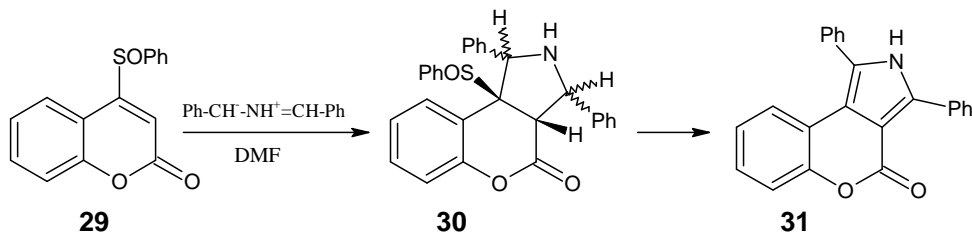


Schéma 7

Další syntéza vycházela z nesubstituovaného kumarinu. *N*-karboxymethylpyridinium chlorid (**33**) je schopen se adovat na kumarin (**32**) za přítomnosti báze a oxidu manganičitého jako oxidačního činidla v toluenu při teplotě 80 °C (Schéma 8). Jako báze byl použit triethylamin, pyridin, morfolin a uhličitán draselný. Výsledný produkt **34** byl po odfiltrování nerozpustného podílu a zahuštění izolován ve výtěžku 63 %¹³.

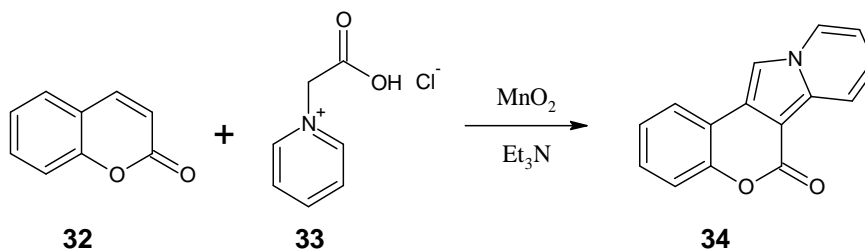


Schéma 8

V literatuře je popsán i vznik komplikovaných derivátů kumarinu. Příkladem je látka **38**, která byla získána záhřevem substituovaného derivátu 3-acetylkumarinu **35** s *N*-methylglycinem (**37**) a substituovaným isatinem **36** v toluenu ve výtěžku 68-75 %¹⁴ (Schéma 9).

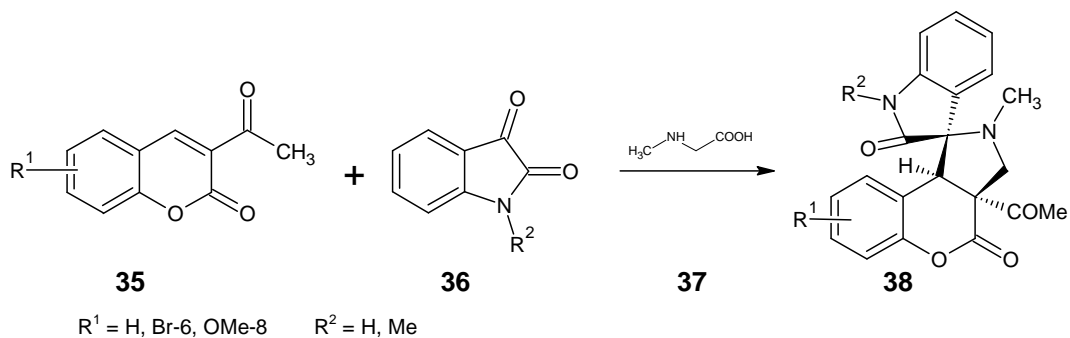
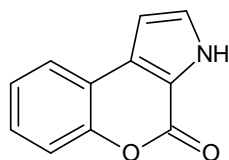


Schéma 9

Další stať se bude zabývat syntézou derivátů **3**.



3H-pyrrolo[3,4-b]kumarin

3

3-Aminokumarin (**39**) reagoval s halogenketony v suchém ethanolu na meziprodukt **40**, který byl následně cyklizován v prostředí kyseliny trifluoroctové na pyrrolo[3,4-b]kumarin **41**¹⁵ (Schéma 10).

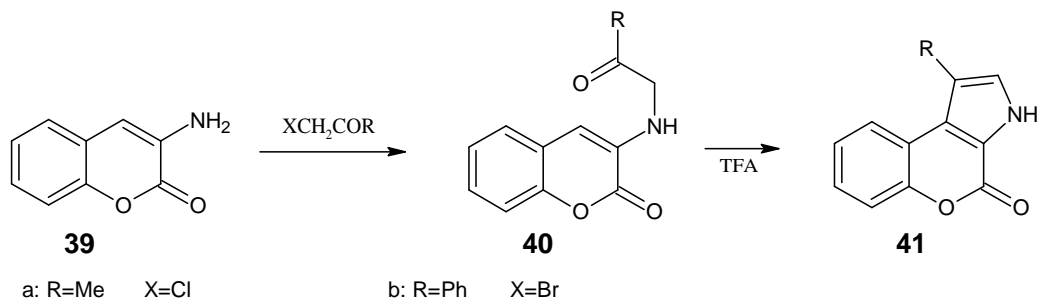


Schéma 10

Reakcí *N*-acylderivátu **42** s propargylbromidem v přítomnosti uhličitanu draselného v roztoku acetonu došlo k alkylaci na dusíku a vzniku intermediátu **43**. Jeho záhřevem na teplotu 160 °C ve vakuu byl získán 2-methyl-pyrrolo[3,4-b] kumarin **44** ve výtěžku 45 %¹⁶ (Schéma 11).

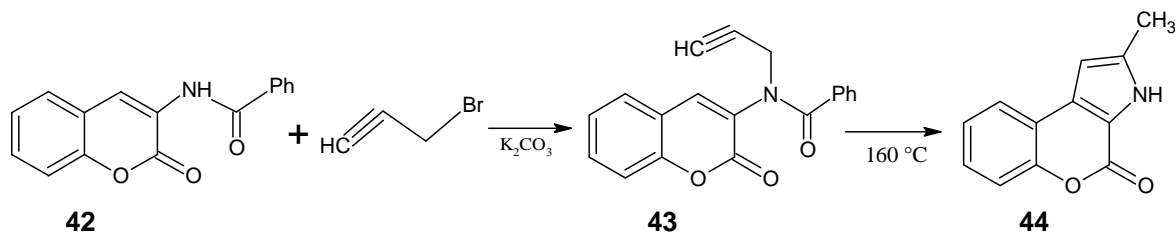


Schéma 11

Obdobná alkylace 3-aminokumarinu (**39**) s chlorderivátem **45** v bezvodém ethylmethyleketonu za přítomnosti bezvodého uhličitanu draselného a jodidu sodného jako katalyzátoru poskytuje kumarinový derivát **46** ve výtěžku 60 %. Jeho následným záhřevem v *N,N*-dimethylanilinu byl získán produkt **3** ve výtěžku 90 %¹⁷ (Schéma 12). Touto reakcí s 3-substituovanými chlorderiváty **45** byly připraveny i sloučeniny kumarinu **3** substituované v poloze 1.

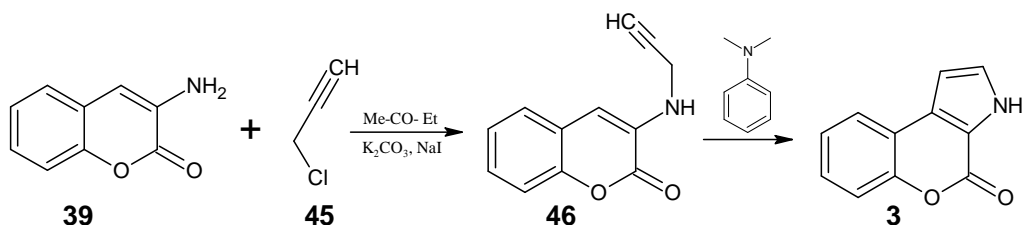


Schéma 12

Alkyn je možné zavést i do polohy 4 kumarinového kruhu substitucí atomu chloru. V porovnání s již zmíněnými reakcemi pak cyklizace probíhala opačným způsobem.

Takováto substituce atomu chloru v derivátu **47** byla provedena reakcí s odpovídajícím alkynem **48** v alkalickém prostředí v roztoku THF s katalyzátorem Pd(PPh₃)₂Cl₂ a CuI ve výtěžku 79-90 %. Následnou redukcí práškovým železem ve zředěné kyselině octové byl získán 3-aminokumarin **49**, který v roztoku DMF a za přítomnosti Pd(PPh₃)₂Cl₂ cyklizoval na produkt **50** s výtěžkem 56-83 %¹⁸ (Schéma 13).

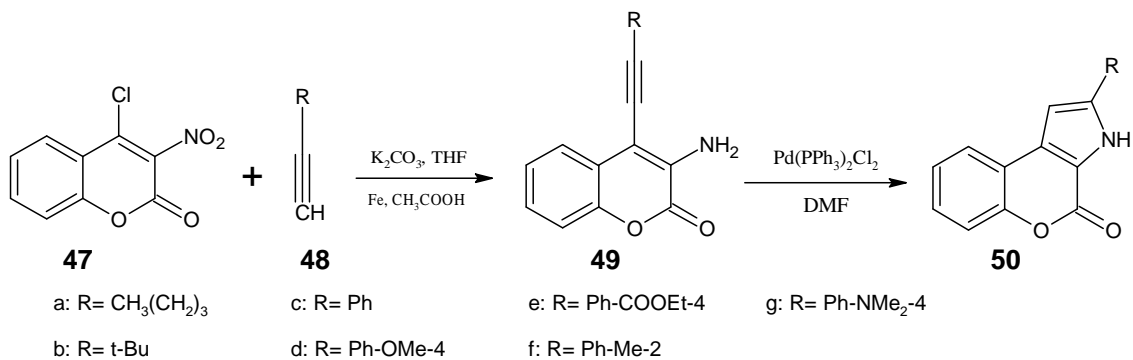


Schéma 13

Příprava 2-fenylpyrrolo[3,4-b]kumarinu (**50c**) byla popsána za obdobných podmínek, ale jako katalyzátor byl použit i PdCl₂ a FeCl₃ v dichlorethanu. Výtěžek reakce byl vysoký, dosahoval 95 %¹⁹ (Schéma 14).

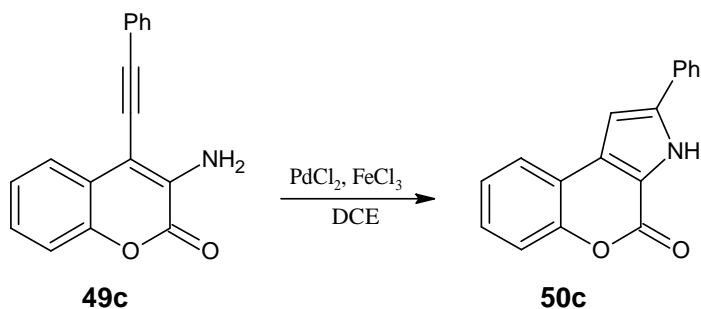


Schéma 14

Další možností přípravy derivátů kumarinu **3** představuje substituce atomu chloru v 4-chloro-3-nitrokumarinu (**47**) C-kyselinou (např. acetylaceton **51b**) v DMF za přítomnosti uhličitanu draselného jako báze. Intermediát **52** byl získán ve výtěžku 85 %. Po redukcí nitroskupiny vodíkem na Pd/C dochází ke spontánní cyklizaci a vzniku pyrrolo[3,4-b]kumarinu **53** ve výtěžku 67 %. Ostatní dikarboxylové sloučeniny poskytovaly menší výtěžky 42-66 %²⁰ (Schéma 15).

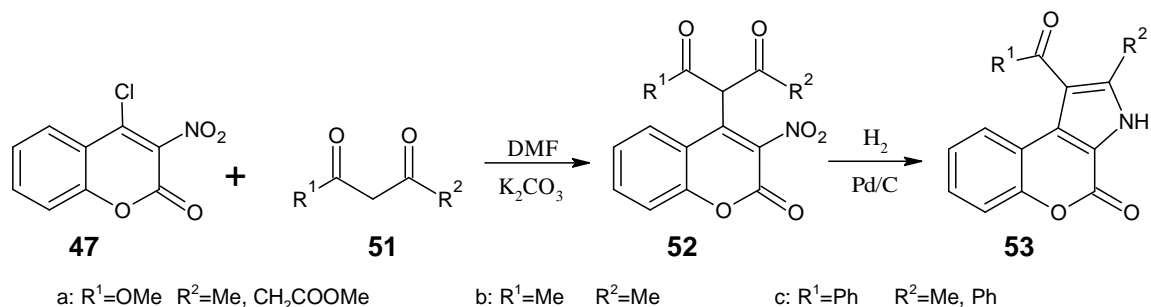


Schéma 15

Zcela odlišná reakce je popsána ve schématu 16. 3-Aminokumarin (**39**) byl diazotován při teplotě -30 °C a vzniklá diazoniová sůl **40** byla redukována chloridem cínatým na hydrazino derivát **41**, který při záhřevu s karbonylovou sloučeninou (např. butanon, cyklohexanon, propanal, fenylethylketon, benzylmethylketon) v kyselině octové poskytl neizolovatelný hydrazon, který Fischerovým přesmykem tvořil přímo indolový derivát **41**. Pokud byla jako keton použita sůl kyseliny pyrohroznové, vzniklý hydrazon byl izolován a na odpovídající cyklizaci a přesmyk bylo nutné provést reakci v polyfosforečné kyselině²¹.

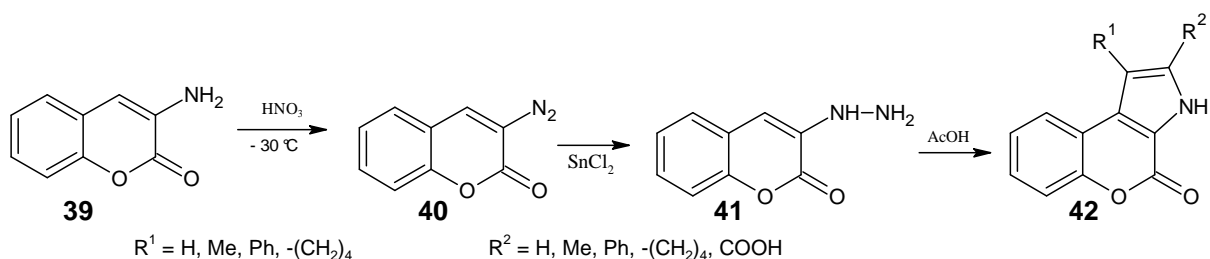
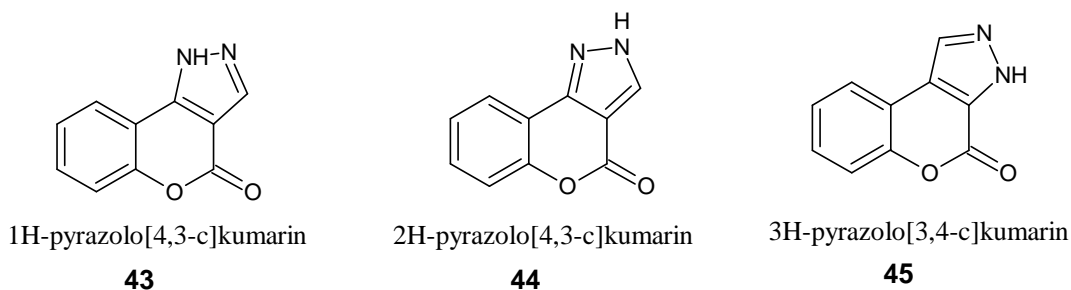


Schéma 16

2.2.2 Látky obsahující dva heteroatomy dusíku

Sloučeniny pyrazolů a imidazolů tvoří izomery, které se liší polohou vodíku. Některé přípravy poskytují pouze jeden izomer, u jiných reakcí však vzniká jako produkt směs obou izomerů. V některých případech lze vznikající produkt ovlivnit reakčními podmínkami.



Je popsáno několik reakcí pro přípravu pyrazolokumarinu. Jeden způsob syntézy vychází z derivátů 3-[(2-arylhydrazin-1-yliden)ethyl]kumarinu, které vznikají reakcí arylhydrazinu

s karbonylovými sloučeninami. Další možností syntézy je přímá reakce odpovídajícího hydrazinu s deriváty kumarinu, které mají v poloze 3 navázanu vhodnou acylovou skupinu. Výsledný produkt pak závisí na volbě derivátů kumarinu. Podle nich se volí reakční podmínky. Mezi méně běžné způsoby přípravy patří např. reakce s DPNI nebo diazoalkany.

Pyrazolokumarin **46** vznikl záhřevem 4-chloro-3-formylkumarinu (**19**) s alkyl nebo aryl hydrazinem a triethylaminem v ethanolu ve výtěžku 67-89 %^{22, 23} (Schéma 17).

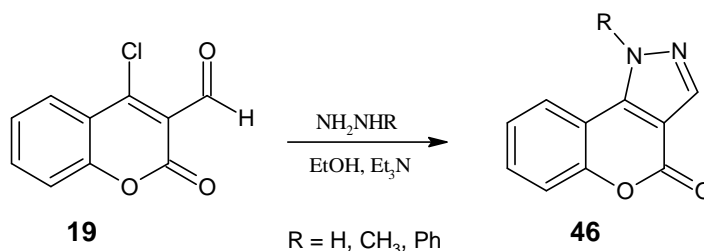


Schéma 17

Při reakci výchozí látky **19** se substituovanými fenylhydrazon hydrochloridy vznikla směs substituovaných derivátů kumarinů **43** a **44**²⁴. Je tedy patrné, že pokud byl použit derivát hydrazinu, vznikl pouze jeden izomer, zatímco při použití jeho soli vznikla směs obou izomerů.

Další možností jak získat pouze jeden izomer je volba reakčních podmínek pro cyklizaci hydrazonu. Fenylhydrazon **47** byl získán reakcí 3-acetyl-4-hydroxykumarinu **12** s fenylhydrazin hydrochloridem v EtOH, BuOH nebo DMF. Cyklizace za kyselého katalýzy vedla k derivátu **48**. Jako kyselý katalyzátor byla použita *p*-toluensulfonová kyselina v xylenu, ethanolická kyselina chlorovodíková nebo kyselina octová za přítomnosti konc. H₂SO₄. V případě záhřevu fenylhydrazonu **47** s fenylhydrazin hydrochloridem v kyselině octové došlo k nukleofilní substituci hydroxylové skupiny, rozkladu fenylhydrazonu a uzavěru kruhu. Tím byl získán derivát **49** s fenylovou skupinou na druhém dusíku²⁵⁻²⁸ (Schéma 18). Výchozí derivát **47** byl připraven z 3-benzoyl-4-chlorokumarinu²⁹⁻³⁰.

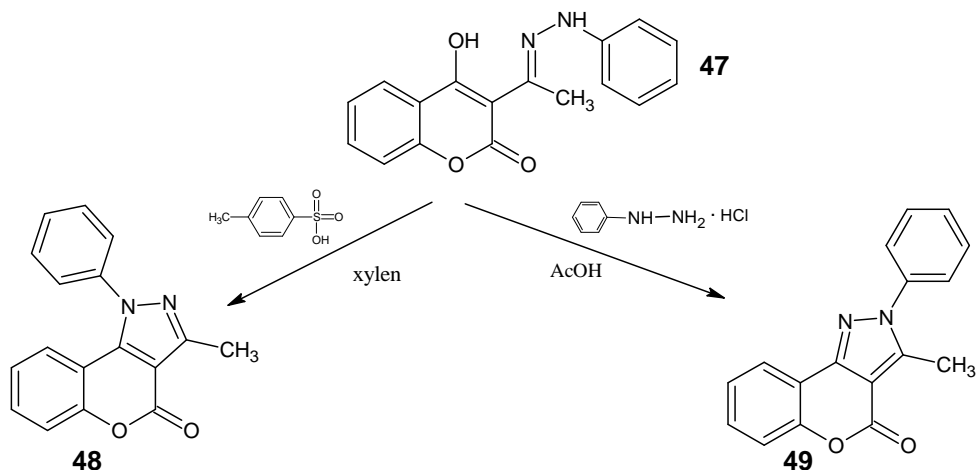


Schéma 18

Dikumarol s odpovídajícími funkčními skupinami (např. 6,6'-4-hydroxy-3-methoxydikumarin) reagoval podle schématu 18³¹.

Méně běžné přípravy pyrazolokumarinů využívají katalytickou cyklizaci nebo dipolární adici. Látka **48** byla připravena také adiční cyklizací sloučeniny **50** a oxidací vzduchem za katalýzy mědi ve výtěžku 76 %³² (Schéma 19).

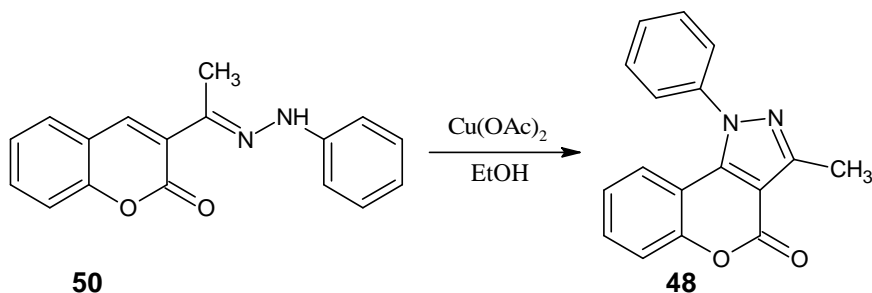


Schéma 19

N-fenylbenzohydrazonoyl chlorid (**51**) byl v benzenu a přítomnosti triethylaminu přeměněn na DPNI, který tvořil cykloadukt **52** 1,3-dipolární adicí na kumarin (**32**). Látka **52** byla také připravena reakcí 3-[fenyl(2-fenylhydrazin-1-yliden)methyl]kumarinu v kyselině octové. Dehydrogenace na derivát **53** byla provedena octanem olovičitým nebo chloranilem v horkém xylenu (Schéma 20). Poloha dusíků při cykloadici může být řízena esterovou skupinou vázanou na kumarin v poloze 3, což je uvedeno ve schématu 21^{29, 30}.

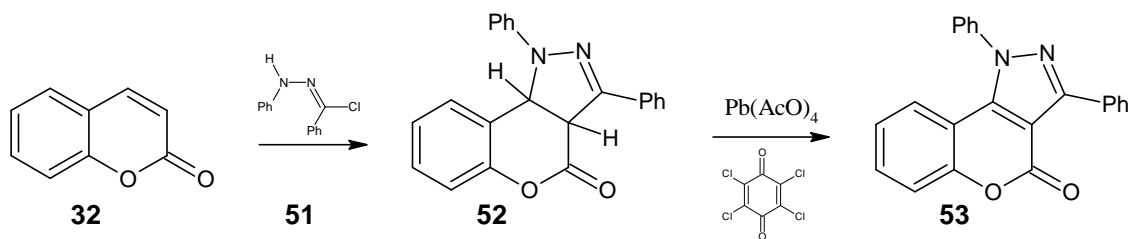
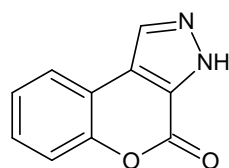


Schéma 20

Pyrazolo[3,4-*c*]kumariny byly připraveny reakcí 3-substituovaného kumarinu s DPNI nebo diazoalkany, případně cyklizací kumarinu s diazomethanovou skupinou v poloze 4.



3H-pyrazolo[3,4-*c*]kumarin

63

Na rozdíl od reakce nesubstituovaného kumarinu (32) s DPNI, kdy vznikl produkt s dusíky v poloze 1 a 2 (Schéma 20), reakcí ethylesteru 54 byl získán kumarin 55 s dusíky v poloze 2 a 3 ve výtěžku 65 %. Následnou dekarboxylací a dehydrogenací pomocí roztoku hydroxidu draselného vznikl produkt 56 (Schéma 21). Stejná reakce probíhala s kumarin-2-methylketonem v toluenu³⁰.

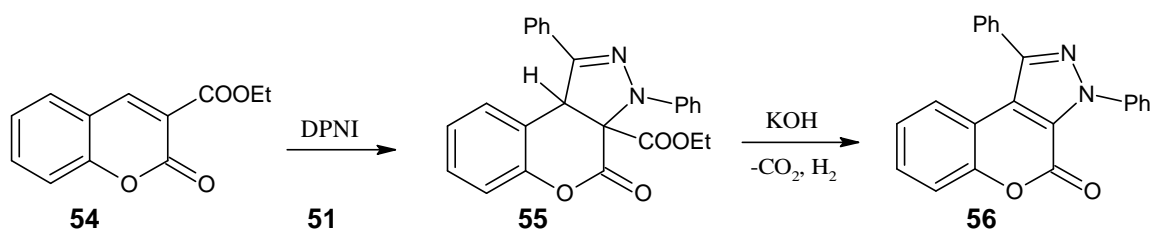


Schéma 21

Cykloadiční reakce byla pozorována u sloučeniny 57 s navázanou diazomethanovou skupinou v poloze 4, která poskytovala po zahřátí v toluenu nad 90 °C pyrazolo[3,4-*c*]kumarin 58 ve výtěžku 80-86 %³³ (Schéma 22).

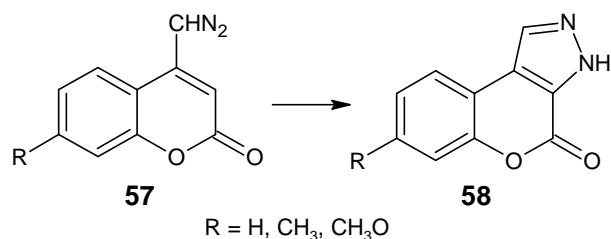
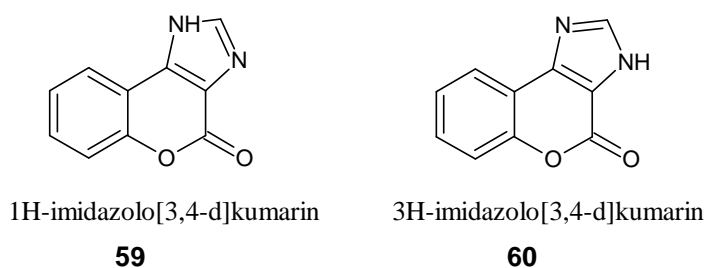


Schéma 22

Imidazolokumariny byly získány reakcí dusíkatých derivátů kumarinu s karbonylovými sloučeninami nebo aminy.



Směs imidazo[3,4-d]kumarinů **64** a **65** byla připravena dvěma způsoby. Pokud 3,4-diaminokumarin **61** reagoval s anhydridem kyseliny benzoové nebo aroylchloridem, následným povařením byla získána směs látek **64** a **65** ve společném výtěžku 60 %. Ostatní deriváty imidazolokumarinu poskytovaly touto cestou nízké výtěžky, proto byl u druhého způsobu přípravy použit aldehyd. Následovala oxidace octanem olovičitým³⁴ (Schéma 23).

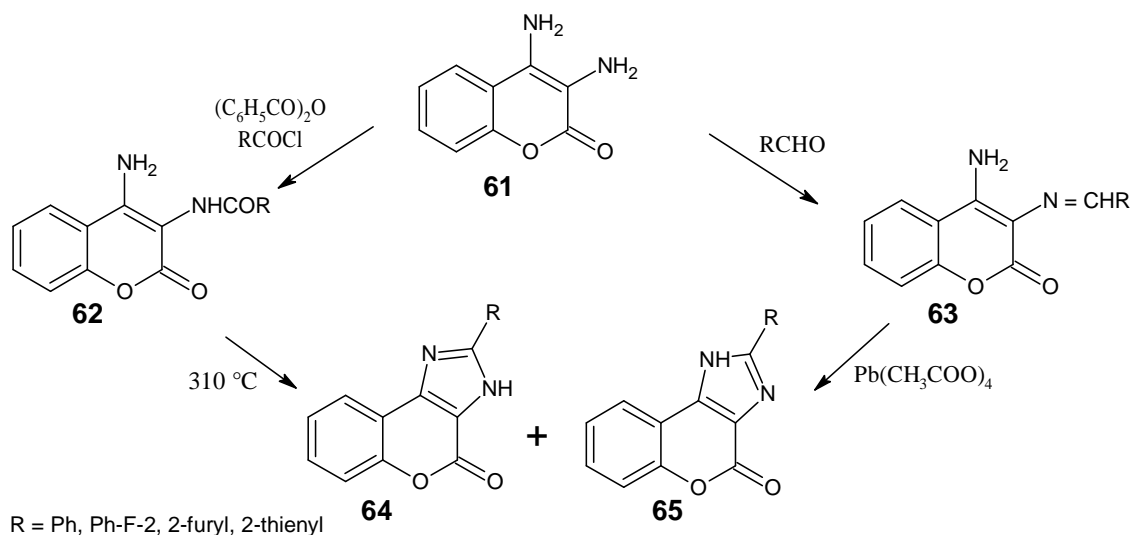


Schéma 23

Pouze jeden isomer při reakci 4-azido-3-nitrokumarinu (**66**) s aminem v dichlormethanu při teplotě $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ vznikl amidin **67** ve výtěžku 67-89 %. Po redukci nitroskupiny

tetrahydroboritanem sodným v přítomnosti palladia na aktivním uhlí v prostředí vodného methanolu docházelo za současné substituce morfolinu k cyklizaci a vzniku imidazolokumarinu **68**. Jako vedlejší produkt vznikl i 3,4-diaminokumarin (**61**) ve výtěžku 15-20 %³⁵ (Schéma 24).

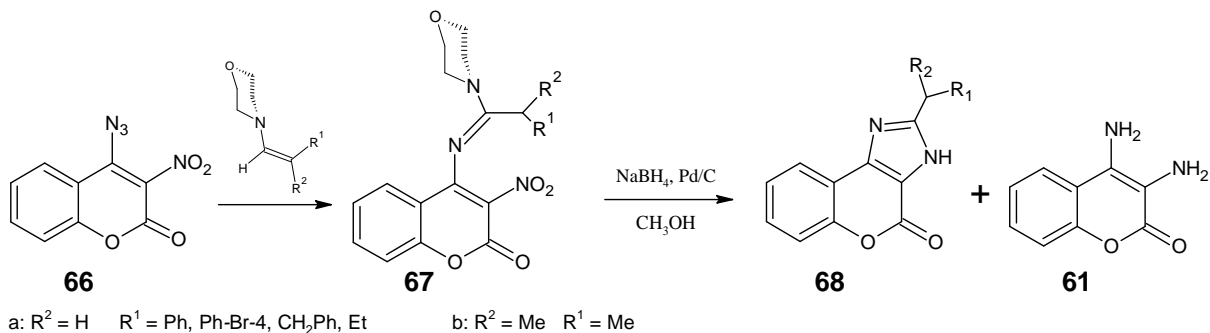
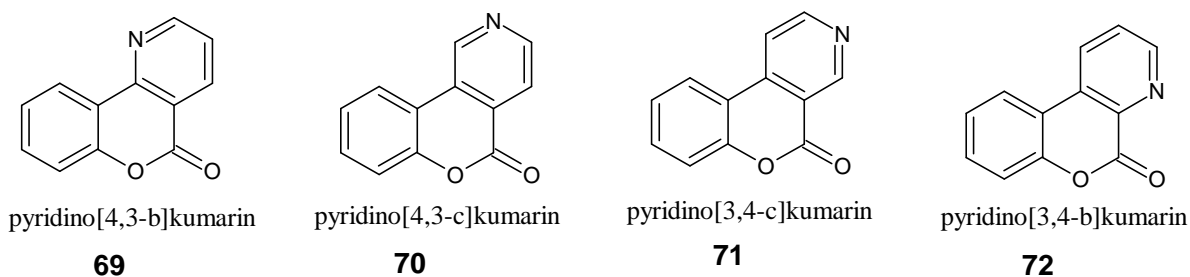


Schéma 24

2.3 Deriváty kumarinu s anelovaným šestičtým kruhem v poloze 3, 4

2.3.1 Látky obsahující heteroatom dusíku

Kumariny s anelovaným pyridinovým kruhem jsou základem některých přírodních alkaloidů, které se využívají v lékařství zejména při léčení otevřených poranění.



Příprava pyridinokumarinu je zmiňována v řadě prací. Některé z nich používají jako výchozí látku salicylaldehyd^{36, 37}, 3-acylchromon³⁸ nebo deriváty kumarinu. Ve většině případů vzniká jako meziprodukt aminokumarin, který dále cyklizuje za různých podmínek.

Základní metodou syntézy pyridinokumarinu **75** je syntéza 4-amino derivátů a jejich následná cyklizace s vhodným řetězcem v poloze 3. Základní výchozí látkou je 4-chloro-3-formylkumarin (**19**). Zde je možné nejprve vybudovat řetězec v poloze 3 za využití Wittigovy reakce. 4-Chloro-3-formylkumarin (**19**) reagoval s trifenyfosfinem v DMF za teploty 0 °C na kumarin **73**, poté substitucí atomu chloru primárními aminy v ethanolu vznikl derivát **74**.

Následuje neobvyklé uzavření pyridinového kruhu pomocí Vilsmeierova činidla za vzniku produktu **75**³⁹ (Schéma 25).

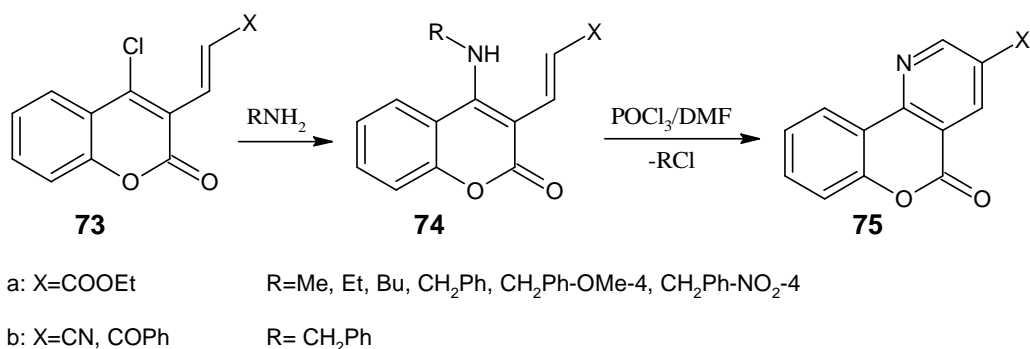


Schéma 25

Další možností, jak vybudovat pyridinový kruh je Michaelova adice kumarinů na α,β -nenasycené ketony. Např. adice 4-aminokumarinů **76** na methylvinylketony **77** v ledové kyselině octové běžela přes intermediát, který vnitřně kondenzoval za vzniku neizolovatelného dihydropyridinu. Ten disproportionoval na tetrahydropyridin **78** a pyridin **79** (Schéma 26). Derivát **79** je možné redukovat kyanoborohydridem sodným v ledové kyselině octové za vzniku tetrahydropyridinu **78**⁴⁰. Také pyridin **79** lze získat z derivátu **78** aromatizací pomocí DDQ⁴¹.

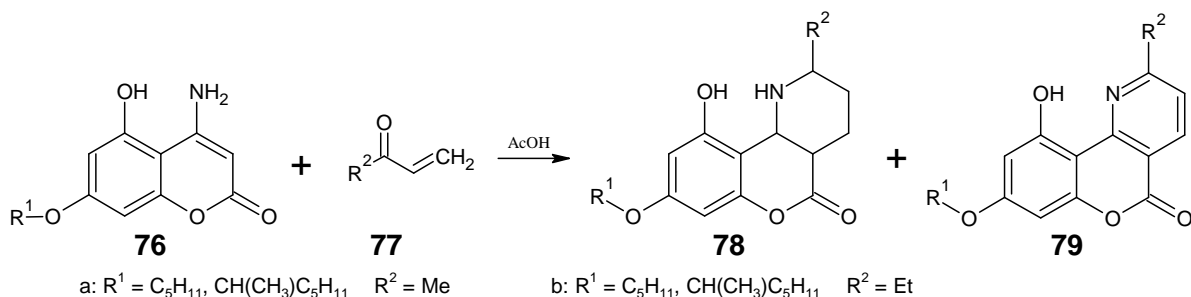


Schéma 26

Podobně adice 4-aminokumarinu (**80**) na benzylidenacetofenon **81** za pravděpodobného vzniku neizolovaného meziproductu **82** a následné cyklizace v přítomnosti bezvodé kyseliny octové poskytovala 2,4-diarylpyridino[4,3-b]kumarin **83**⁴² (Schéma 27). Obdobná reakce byla popsána i pro 4-hydroxy-7-methylkumarin, kdy cyklizace proběhla v přítomnosti octanu amonného a polyethylen glykolu. Odpovídající produkt byl získán ve výtěžcích 80-90 %⁴³.

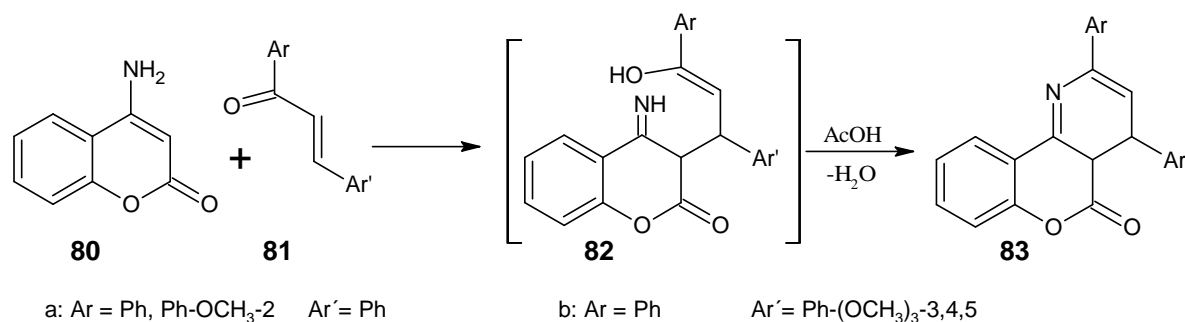


Schéma 27

Také 7-aryl-5,6-dihydro-14-azakumarin[4,3-b]phenanthren-8-on (**85**) byl připraven adicí 4-hydroxykumarinu (**4**) na α,β -nenasycený keton **84** ve výtěžku 47-60 %⁴⁴ (Schéma 28).

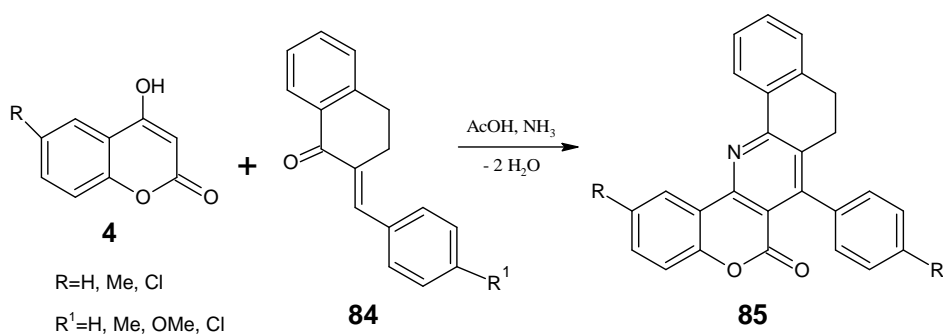


Schéma 28

Kondenzační reakce představují další možný způsob přípravy pyridino[4,3-b]kumarinů. Kondenzací 4-chloro-3-formylkumarinu (**19**) s ethylkyanoacetátem (**86**) a piperidinem vznikl meziprodukt **87** s výtěžkem 54-73 %. Uzavření kruhu proběhlo při zahřívání meziproduktu **87** v ledové kyselině octové. Tetracyklický pyridino[4,3-b]kumarin **88** byl získán ve výtěžku 40-81 %⁴⁵ (Schéma 29).

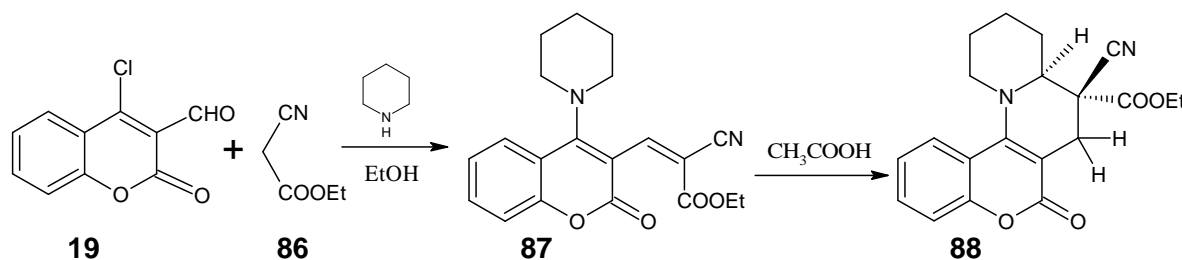


Schéma 29

V jiném článku byla cyklizace kumarinu **89a** provedena v roztoku dichlormethanu za katalýzy diethyletherátu fluoridu boritého a poskytla směs látek **90a** a **91** v poměru 24:1 v souhrnném výtěžku 98 % (Schéma 30). Podobně vznikl produkt **90b** z kumarinu **89b** v přítomnosti ZnCl₂ a benzyloctové kyseliny ve výtěžku 98 %⁴⁶.

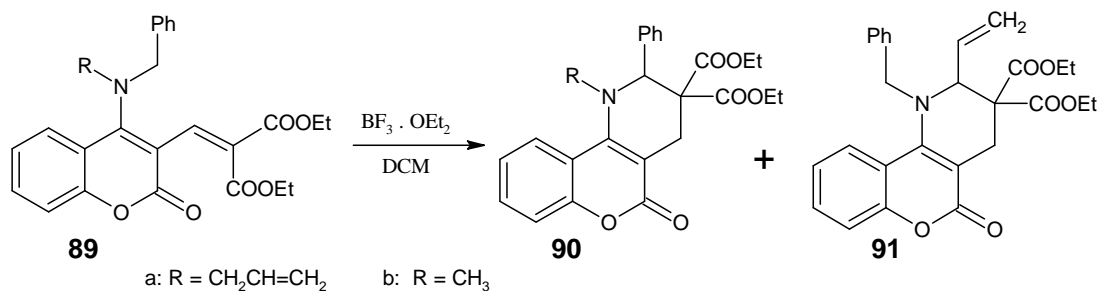


Schéma 30

Pyridinokumarin **94a** vznikl kondenzací aminoskupiny na kumarinu **92** 1,1-dimethoxy-ethyl-1-dimethylaminem (**93**) (Schéma 31).

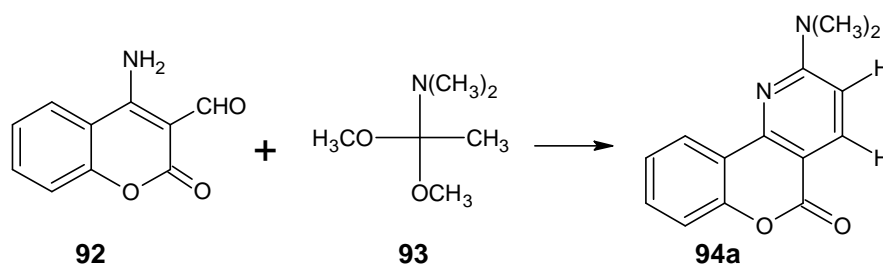


Schéma 31

Butadienderivát **95** se chová stejně jako amin **93**. To bylo potvrzeno přípravou produktu **94b** z kumarinu **92**⁴⁷ (Schéma 32).

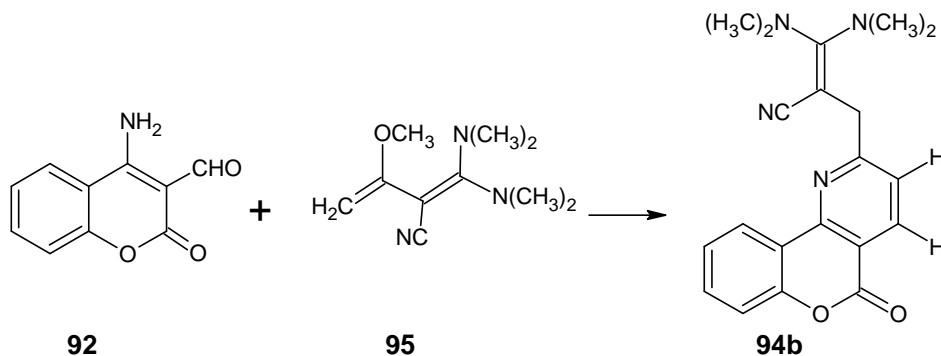


Schéma 32

Méně běžnou přípravou derivátu kumarinu **69** je redukce azido skupiny trifenylofosfinem. Sloučenina **98** vznikla ve výtěžku 21 %. Meziprodukt **97** byl získán couplingem organoolovnatého derivátu **96** s 4-hydroxykumarinem (**4**) za současného odštěpení kyseliny octové v přítomnosti pyridinu ve výtěžku 45-68 %⁴⁸ (Schéma 33).

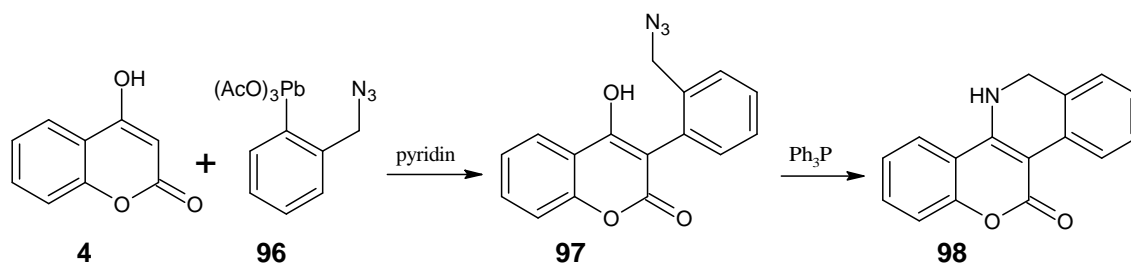


Schéma 33

Další možnost přípravy pyridinokumarinu představuje opačná cyklizace, kdy je odpovídající skupina umístěna v poloze 4.

Aminokumarin **100** byl připraven reakcí 4-chlorokumarinu (**15**) s aminem **99** v ethanolu ve výtěžku 68-77 %. Jeho následným zahřátím v *o*-dichlorbenzenu vznikl produkt **101** ve výtěžku 72 %⁴⁹ (Schéma 34).

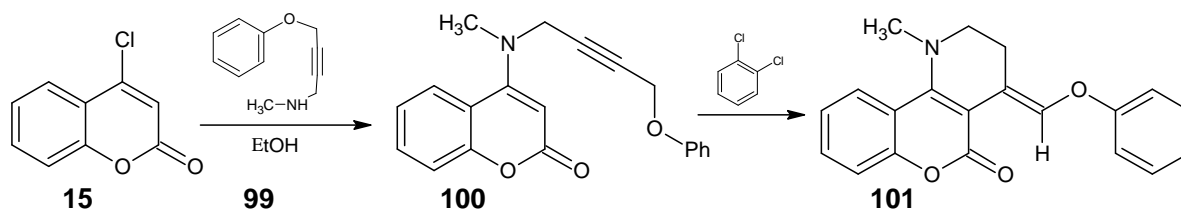


Schéma 34

Podobně 4-tosyloxykumarin (**102**) reakcí s 2-brombenzylmethylaminem (**103**) v ethanolu poskytl meziprodukt **104** ve výtěžku 70-75 %. Redukcí tributylchlorostanem a kyanoborohydridem sodným v suchém benzenu a atmosféře dusíku v přítomnosti azobisisobutyronitrilu (AIBN) vznikl cyklický produkt **105** ve výtěžku 65-68 %⁵⁰ (Schéma 35).

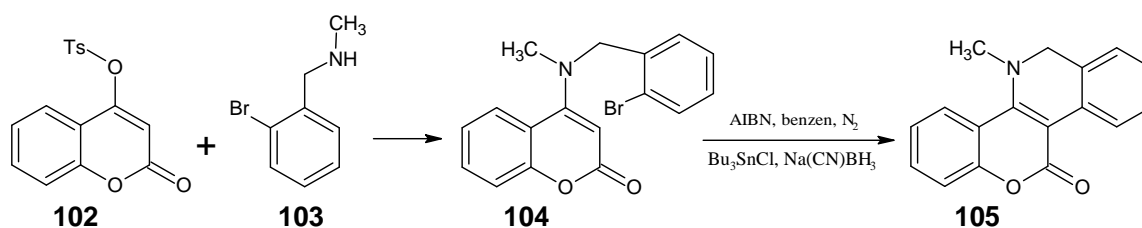


Schéma 35

K přípravě derivátů kumarinu **108** byla použita reakce 4-amino-3-formylkumarinu **92** s esterem kyseliny acetylendikarboxylové **106** za katalýzy trifenyfosfinem. Reakce probíhala v prostředí DMF při teplotě 50 °C s výtěžkem 71 %. Rostoucí sterické bránění *N*-substituentů (R^1) u použitých aminů prodlužovalo reakční dobu této reakce⁵¹ (Schéma 36).

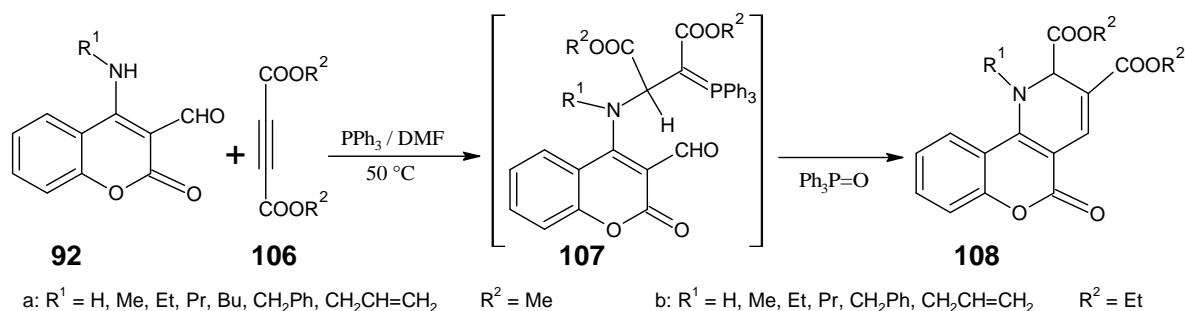


Schéma 36

Zahřátím karbodiimidu **110** s aminy (např. morfolinem) v toluenu nebo za chladu v tetrachloroethylenu vznikl pyridinokumarin **111** ve výtěžku 17-57 %. Karbodiimid **110** byl připraven reakcí kumarinu **109** s isokyanátem v toluenu nebo tetrachloroethylen⁵² (Schéma 37).

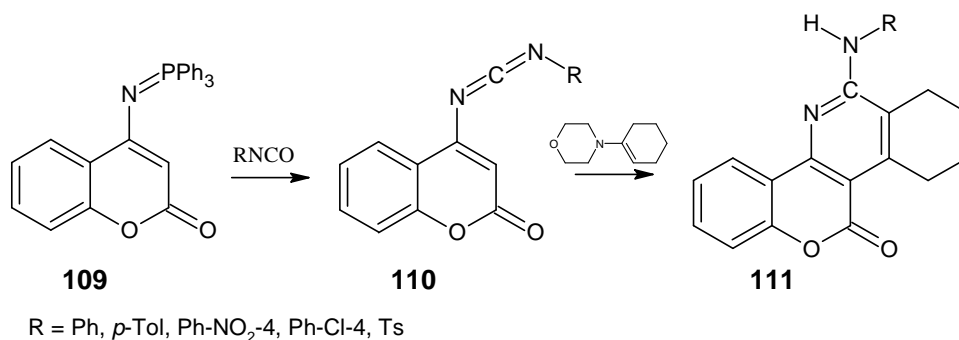


Schéma 37

Velkou skupinu derivátů kumarinu **69** tvoří chinoliny, které mají na pyridino[4,3-b]kumarinu anelovaný kruh v poloze 2,3. Např. deriváty 4-aminokumarinu **112** byly připraveny kondenzací 4-hydroxykumarinu (**4**) s aminy ve výtěžku 44-93 %. Následnou reakcí s fosforylchloridem v DMF a zahřátím na 70-90 °C vznikl produkt **113** ve výtěžku 69-98 % (Schéma 38). Pokud byl použit alkylaminokumarin nebo byla obsazena ortho poloha, jako produkt byl získán necyklický derivát **92**^{53, 38}.

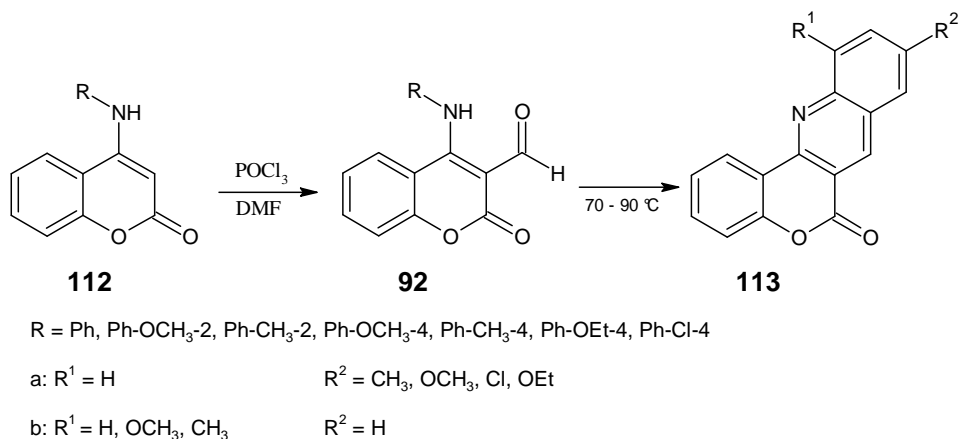


Schéma 38

Pokud byl jako amin použit *o*-aminobenzaldehyd (**114**), z ethanolického roztoku se vylučoval meziprodukt **115**, jehož dehydratací za varu byla získána látka **116**⁵⁴ (Schéma 39).

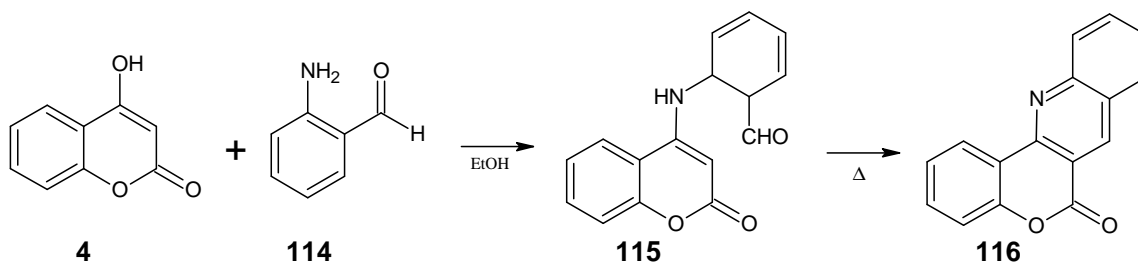


Schéma 39

Stejný produkt byl získán reakcí dikumarolu **117** s anilinem v difenyletheru ve výtěžku 43 %. Jako vedlejší produkt v tomto případě vznikl 3-(*N*-fenylamino)kumarin (**112**)⁵⁵ (Schéma 40).

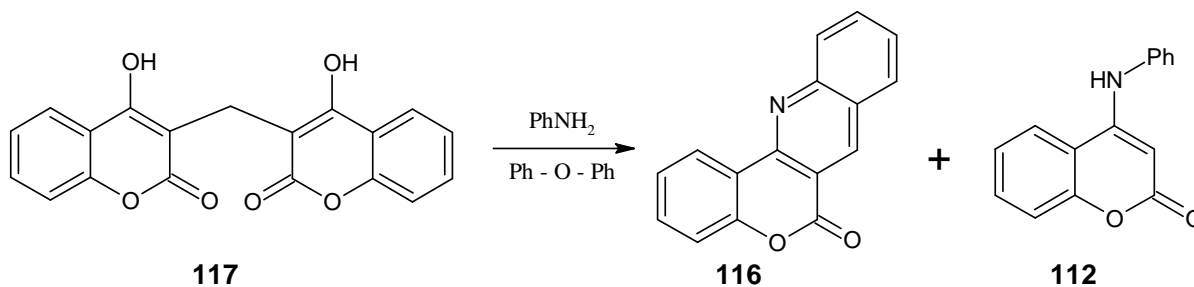


Schéma 40

Jako výchozí látka byl použit také 4-chloro-3-formylkumarin (**19**). Jeho reakce s para substituovanými aminy **118** a chloridem hlinitým v THF vedla přes neizolovatelný meziprodukt na fluoreskující chinolin **119**³⁸ (Schéma 41). Iaroshenko⁵⁶ vycházel z 4-chloro-3-(trifluoroacetyl)kumarinu a intramolekulární cyklizace byla v tomto případě provedena v koncentrované kyselině sírové.

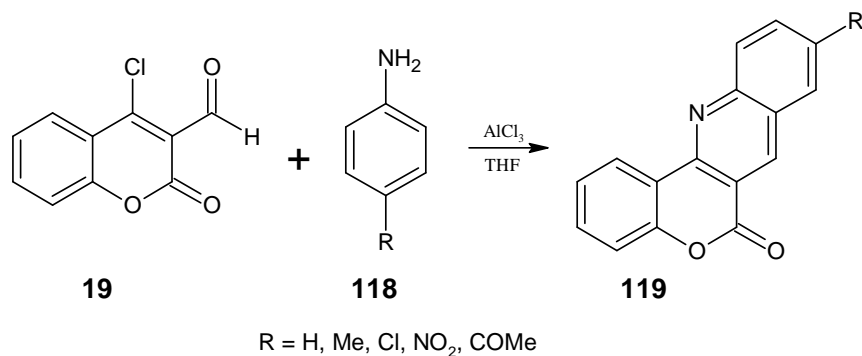


Schéma 41

Při použití isokyano-4-methoxybenzenu (**120**) jako para substituovaného aminu v prostředí methanolu byl získán produkt **119** ve výtěžku 87 %. Reakce v jiných rozpouštědlech jako benzen nebo DMF nedosahovala požadovaných výsledků⁵⁷ (Schéma 42).

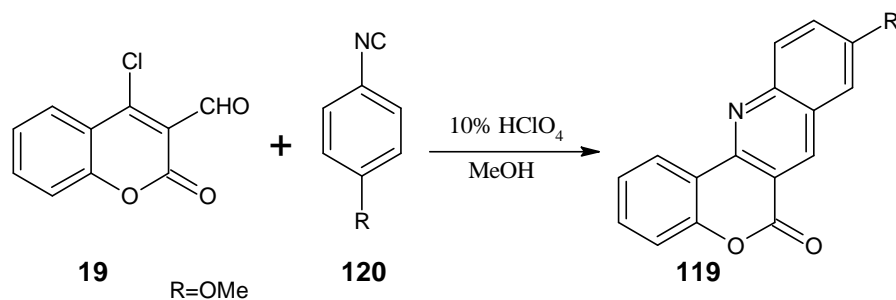


Schéma 42

Kromě výše uvedených způsobů lze chinoliny **119** získat zahřátím enamínu **121** s POCl₃ za vzniku derivátu **122** při 60-70 °C a dále cyklizací při 100 °C⁵⁸ (Schéma 43).

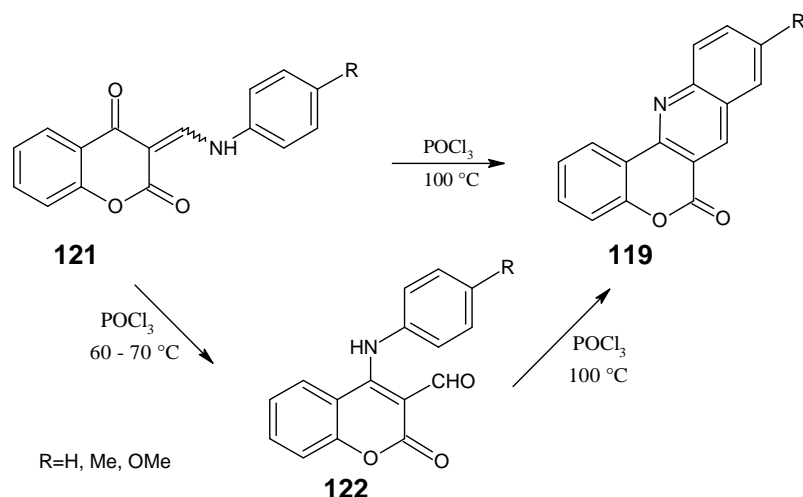


Schéma 43

Substituovaný chinolinový derivát **124** byl získán reakcí 4-hydroxykumarinu (**4**) s 6-aminochinolinem (**123**) a 4-chlorobenzaldehydem ve vodě při ohřevu mikrovlnným

zářením ve výtěžku 93-95 %⁵⁹ (Schéma 44). Martínez publikoval podobné reakce derivátů benzaldehydu s naftylaminem a 4-hydroxykumarinem (**4**) v ethanolu za vzniku benzochinolinových derivátů. Reakce probíhala jen s některými deriváty, nízké výtěžky (26-49 %) byly dosaženy až po dlouhé reakční době. Následná aromatizace oxidem chromitým proběhla v přítomnosti kyseliny octové ve výtěžku 73 %⁶⁰.

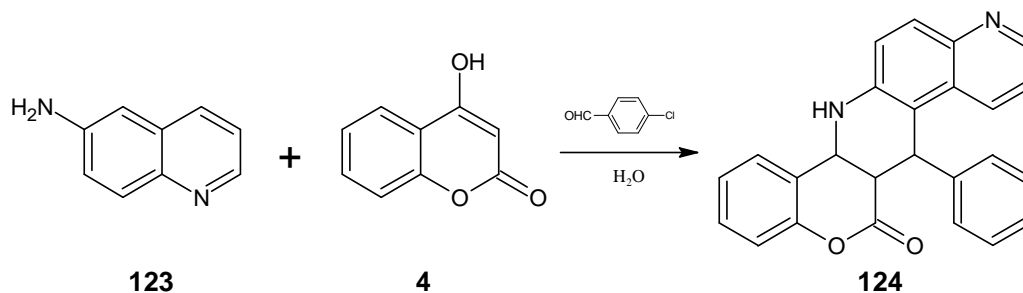


Schéma 44

Další práce využívá amidin **127**, který byl připraven reakcí 4-azido-3-formylkumarinu (**125**) a enaminu **126** v prostředí dichlormethanu při teplotě -30 °C ve vysokých výtěžcích. Reakce probíhala s aryl i alkyl deriváty sloučeniny **126**. Produkt **128** byl získán zahříváním amidinu **127** v methanolátu sodném (Schéma 45). V případě některých substituentů hydrolytická reakce amidinu iniciovala vznik vedlejšího produktu 4-amino-3-formylkumarinu (**92**). Pokud byla tato reakce prováděna za katalýzy *p*-toluensulfonovou kyselinou došlo k růstu výtěžků. Jestliže byl místo 3-formyl derivátu **127** použit 3-kyano derivát, zahříváním v zásaditém prostředí methanolátu sodného vznikly deriváty pyridinokumarinu **128** substituované amino skupinou v pozici 4⁶¹.

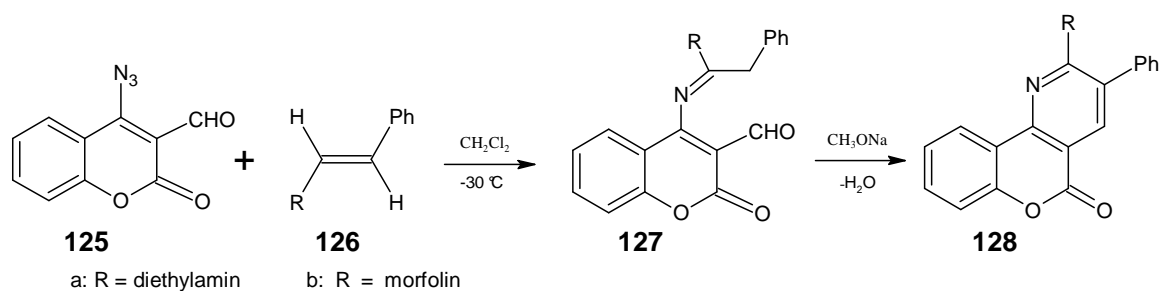


Schéma 45

Zcela odlišný způsob přípravy je popsán ve schématech 46 a 47. Kumarin **129** s 2-(methylamino)ethylacetátem tvořil produkt **130** ve výtěžku 76 %⁶².

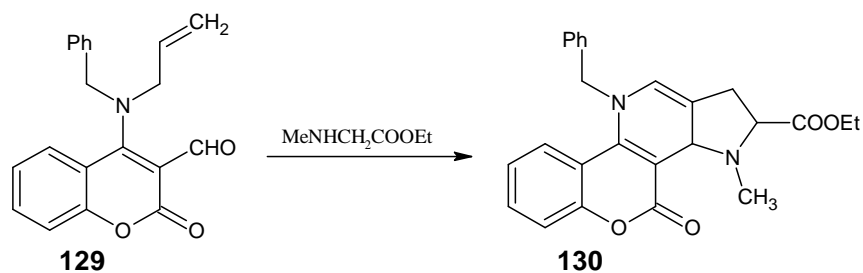


Schéma 46

Derivát **132** byl získán reakcí oximu **131** s vodným chlornanem sodným v přítomnosti triethylaminu a dichlormethanu⁶³ (Schéma 47).

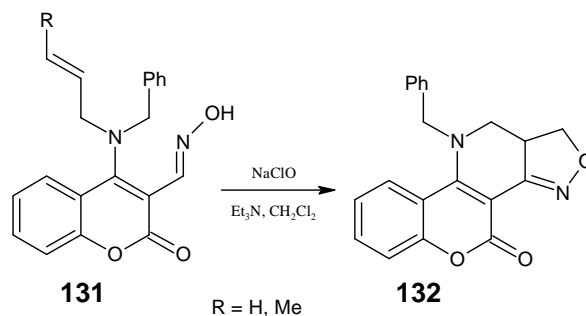
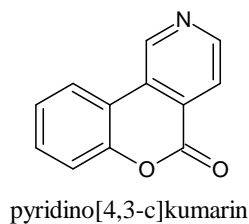


Schéma 47

Deriváty kumarinu **70** vznikají Diels-Alderovou reakcí iminů. Po vytvoření cyklu byl samovolně eliminován methanol, čímž vznikl nestabilní meziprodukt, který byl oxidací vzduchem aromatizován na stabilní derivát.



70

Pyridinokumariny **135** vznikají zahřátím sloučeniny **133** v xylenu s *N*-methyl- nebo *N*-fenylmaleimidem **134** s výtěžkem 46 nebo 38 % (Schéma 48). Imin **133** reagoval také s ethylakrylátem na odpovídající derivát pyridino[4,3-c]kumarinu ve výtěžku 35 %, avšak až po 6 dnech zahřívání.

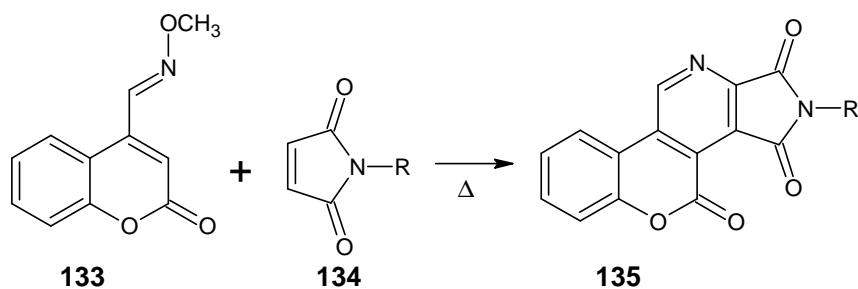


Schéma 48

Nesubstituovaný pyridino[4,3-c]kumarin (**70**) vznikl reakcí iminu **133** s butylvinyletherem (**136**) ve výtěžku 36 % (Schéma 49). I po 8 dnech zahřívání zůstalo 59 % výchozí látky nezreagováno⁶⁴.

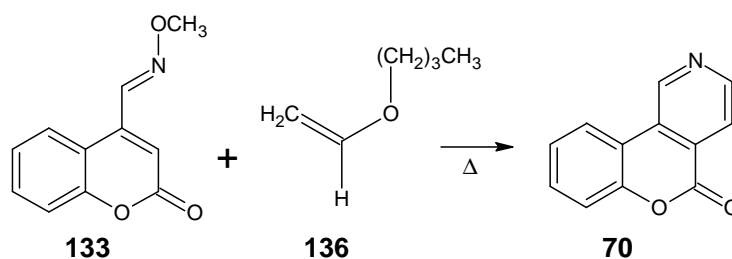
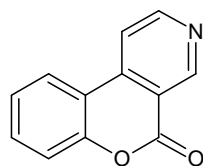


Schéma 49

Deriváty kumarinu **71** byly připraveny reakcemi primárních aminů s kumariny, které obsahovali karbonylovou nebo nitrilovou skupinu v poloze 3. Druhou možností je cyklizace sloučenin, které mají navázaný alkynový řetězec s dusíkem na kumarinu v poloze 4.



pyridino[3,4-c]kumarin

71

Pyridino[3,4-c]kumarin **139** vznikl adicí enamínu **138** na derivát **137** v ledové kyselině octové (výtěžek 23 %) pouze v případě, že látka **137** má v poloze 3 navázan keton (Schéma 50).

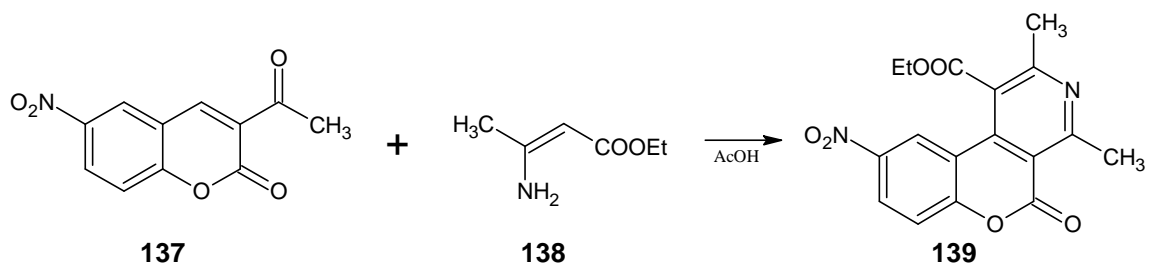


Schéma 50

V ostatních případech vznikl jen částečně nasycený produkt. Například při adici amidinu **141** na derivát **140** vznikl zahřátím v bezvodé kyselině octové nebo v xylynu pyridinokumarin **142**⁶⁵ (Schéma 51).

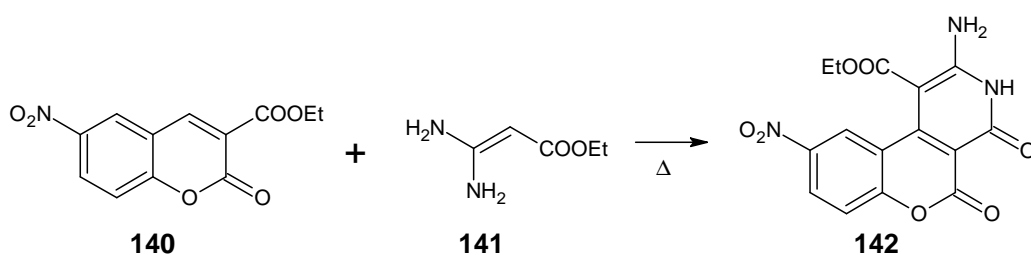


Schéma 51

Podobnou reakcí kumarinu **12** s cyklickými aminy (např. 4-amino-1-methyl-3-fenylimidazol-2-thion **143**) v DMF za přítomnosti TMSCl vznikaly deriváty pyridino[3,4-c]kumarinu **144** ve výtěžku 54-85 % (Schéma 52).

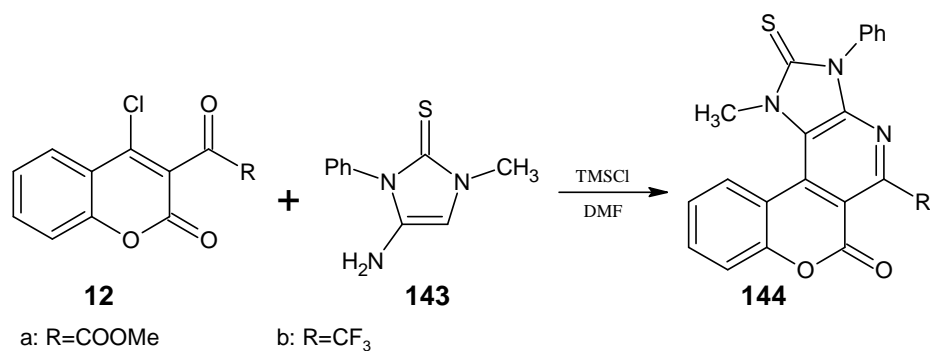


Schéma 52

Pouze 5-amino-3-methyl-1-fenylpyrazol (**145**) reagoval jako aromatický amin na pyridino[4,3-b]kumarin **146** ve výtěžku 51 %⁶⁶ (Schéma 53).

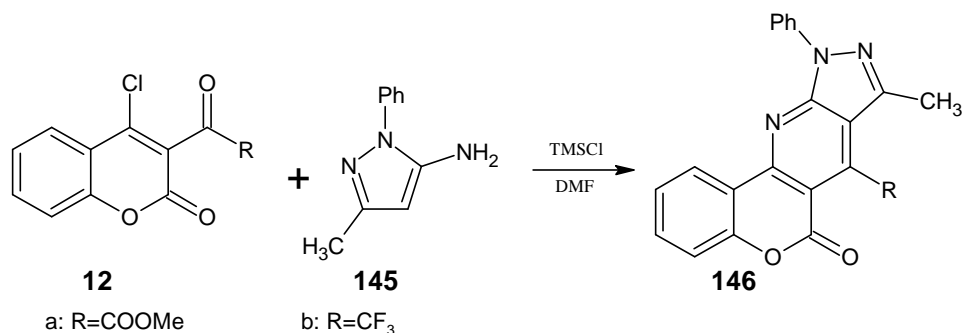


Schéma 53

Michaelovou adicí ethylkyanoacetátu na derivát kumarinu **147** v prostředí octanu amonného a horkého ethanolu vznikly dva reakční produkty. Nerozpustný kumarin **148** a rozpustný derivát **149**, který vznikl následnou dehydratací a intramolekulární cyklizací ve výtěžku 84 %⁶⁷ (Schéma 54).

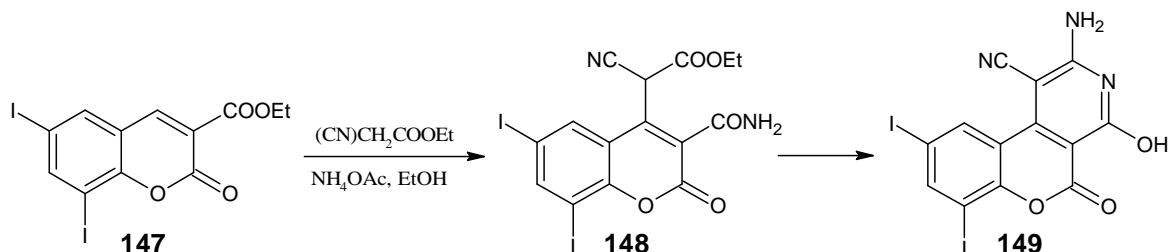


Schéma 54

Deriváty pyridinokumarinu **152** byly získány kondenzací 3-kyano-4-methyl-kumarinu (**150**) s aldehydem **151** (např. 4-*N,N*-dimethylaminobenzaldehyd) v bazickém prostředí piperidinu v acetonitrilu ve výtěžku 42 %⁶⁸ (Schéma 55).

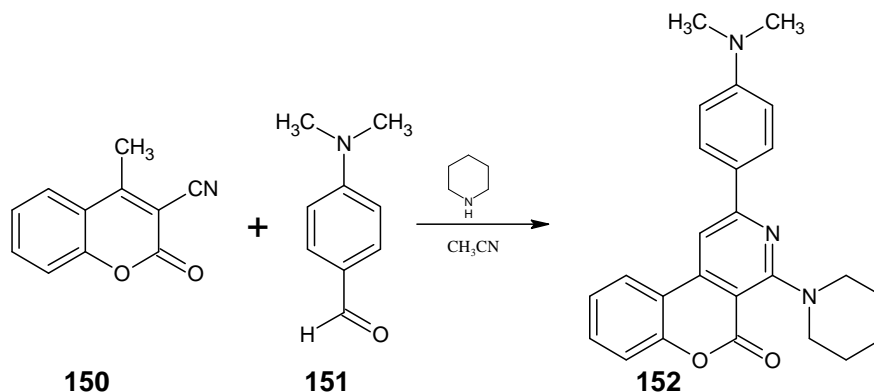


Schéma 55

Sloučenina **155** vznikla odštěpením dimethylaminu z meziprojektu **154**, který byl připraven reakcí kumarinu **153** s koncentrovanou kyselinou sírovou v prostředí kyseliny fosforečné nebo vody⁶⁹ (Schéma 56).

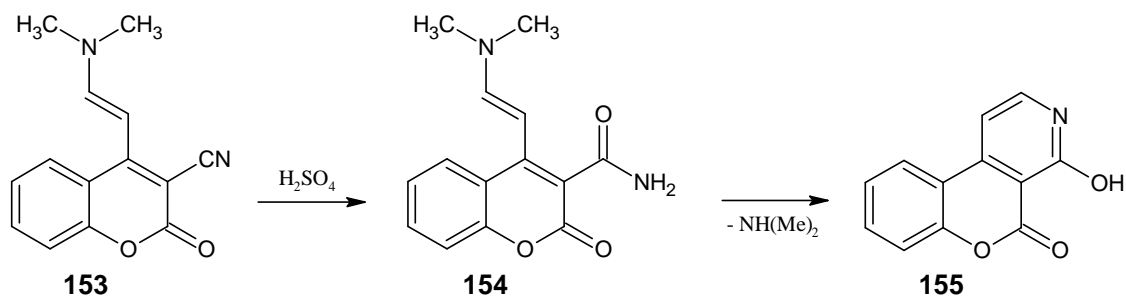


Schéma 56

Reakcí oximu **156** s methansulfinyl chloridem v přítomnosti triethylaminu vznikl meziprodukt, který následně poskytl s 1,1-dimethoxypropenem (**157**) v přítomnosti benzenu cykloadukt **158** ve výtěžku 75 %. Aromatizací s terc-butoxidem draselným a DDQ v prostředí dichlormethanu byl získán produkt **159** ve výtěžku 60 %⁷⁰ (Schéma 57).

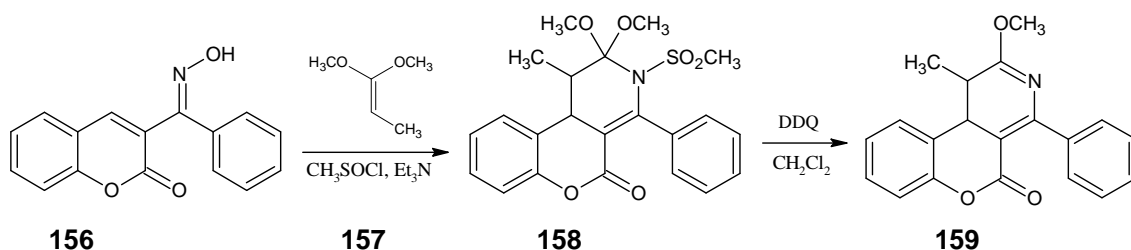


Schéma 57

Zahřátím ethylkanoacetátu a salicylaldehydu (**160**) v prostředí octanu amonného a ethanolu byl získán meziprodukt **161**. Po přidání ketonu **162** vznikl pyridinokumarin **163** ve výtěžku 7-33 % (Schéma 58). Stejně probíhala reakce s cyklickými ketony (výtěžek 18-30 %)⁷¹.

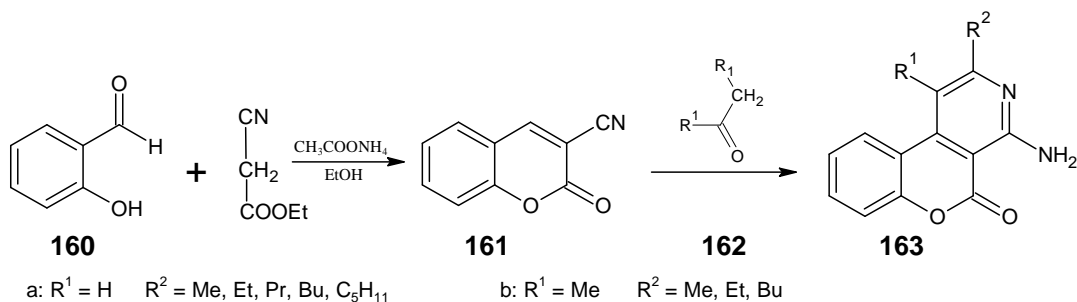


Schéma 58

Reakcí derivátů kumarinu **164** s organozinečnatou sloučeninou v THF vznikl meziprodukt, jehož spontánní cyklizace a následná hydrolyza vedla ke sloučenině **165** ve výtěžku 60-94 %⁷²⁻⁷⁶ (Schéma 59).

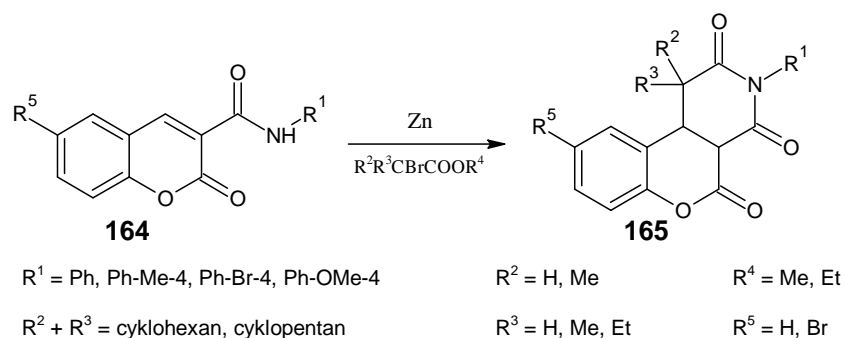


Schéma 59

Fotocyklizace kumarinu **166** poskytla meziprodukt **167** ve výtěžku 65 %. Následnou dehydrogenací s DDQ vznikl vysoce fluorescenční částečně nenasycený systém **168**⁷⁷ (Schéma 60).

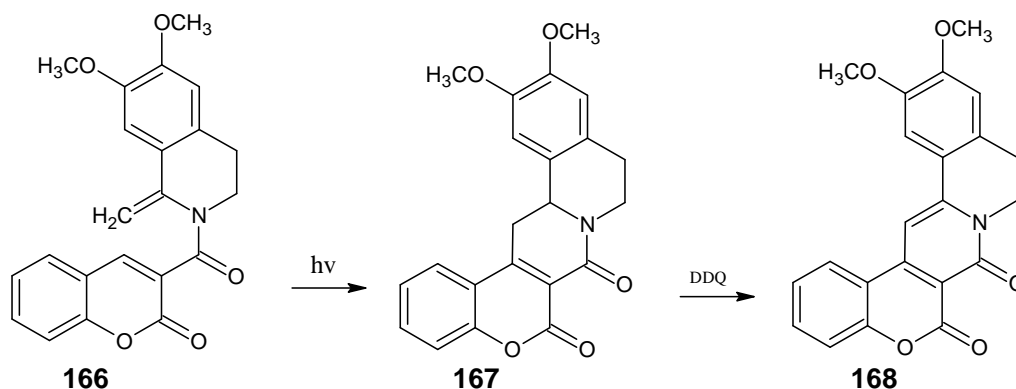


Schéma 60

Esterifikací látky **169** v ethanolu v přítomnosti kyseliny sírové a následnou reakcí s 2-fenylethanaminem v toluenu vznikla sloučenina **170** ve výtěžku 75-83 %. Reakci je také možné provádět s ohřevem mikrovlnným zářením bez rozpouštědla. Dehydratace látky **170** oxidem fosforečným v suchém xylenu poskytla dihydroisochinolin **171** (50-75 %), který byl pomocí kyseliny chlorovodíkové převeden na hydrochlorid. Následná redukční cyklizace tetrahydroboritanem sodným a formaldehydem v prostředí kyseliny octové poskytla produkt **172** ve výtěžku 70-77 %⁷⁸ (Schéma 61).

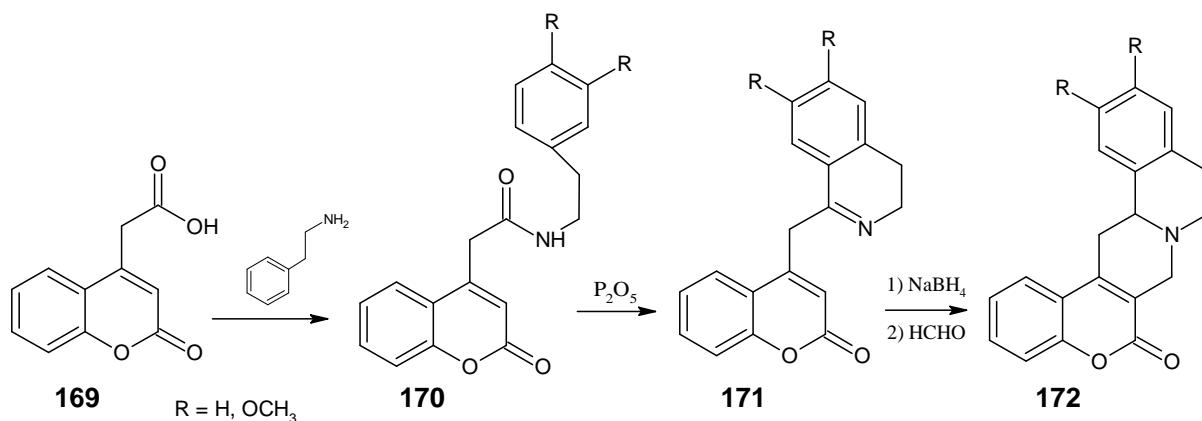
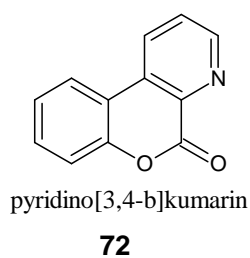


Schéma 61

Pro přípravu derivátů kumarinu **72** byl většinou jako výchozí látka zvolen 3-aminokumarin (**39**). Ten reagoval s alkyne nebo karbonylovou sloučeninou na meziprodukt, který byl dále cyklizován. Druhou možností byla substituce 3-hydroxykumarinu (**173**) primárním aminem.



Reakcí 3-hydroxykumarinu (**173**) s aminem **174** v toluenu s kafrsulfonovou kyselinou (CSA) jako katalyzátorem a následnou cyklizací s etherátem fluoridu boritého vznikl dihydropyridin, který ihned disproportionoval na směs pyridino[3,4-b]kumarinu **175** a tetrahydropyridino[3,4-b]kumarinu **176** v poměru 56:44 (Schéma 62). Pokud byla směs rozpuštěna v dichlormethanu a oxidována DDQ, vznikl pouze pyridino[3,4-b]kumarin **175** ve výtěžku 52-66 %. Izomer pyridino[4,3-b]kumarinu byl získán reakcí s 4-hydroxykumarinem (**4**) ve výtěžku 58-62 %. Stejným způsobem byl připraven i tetrahydropyridino[3,4-b]kumarin **175**. Po disproportionaci byl ke směsi přidán kyanoborohydrid sodný v kyselině octové. Produkt **175** byl získán ve výtěžku 57-63 %⁷⁹.

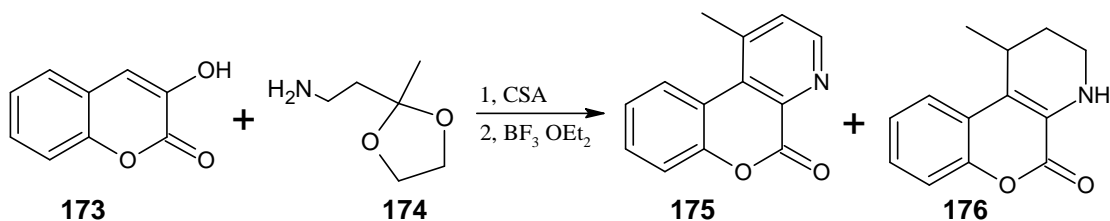


Schéma 62

Friedel-Kraftsova reakce 3-aminokumarinu (**39**) s suboxidem uhlíku v bezvodém acetonu v přítomnosti bezvodého chloridu hlinitého poskytovala pyridinokumarin **177** ve výtěžku 38 %⁸⁰ (Schéma 63).

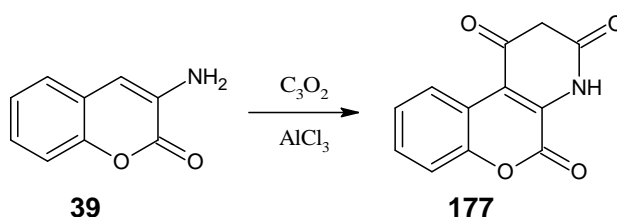


Schéma 63

Pyridinokumarin **179** vznikl kondenzací 3-aminokumarinu (**39**) s aldehydem v přítomnosti alkenu a Lewisovy kyseliny jako katalyzátoru (Schéma 64).

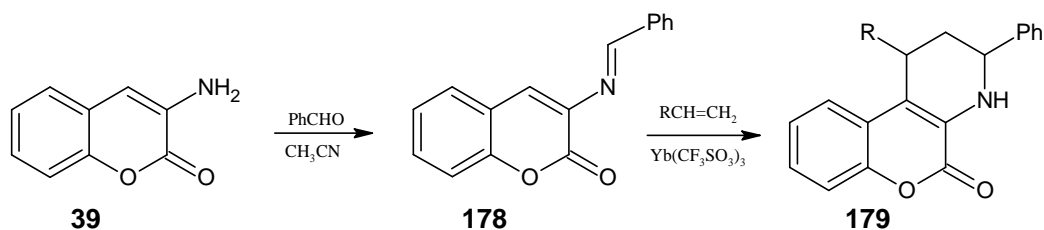


Schéma 64

Podobně byla získána směs diastereomerických produktů **181** reakcí 3,4-dihydro-(2H)-pyranu s Schiffovou bází **180** v přítomnosti acetonitrilu a $\text{Yb}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3$ jako katalyzátoru. Molární poměr vznikajících diastereomerů a jejich výtěžek (61-90 %) závisel na použitém dienofilu (Schéma 65). Kumarin **180** byl získán reakcí 3-aminokumarinu (**39**) s 4-nitrobenzaldehydem. Jednostupňová syntéza poskytovala výtěžek pouze 40 %⁸¹.

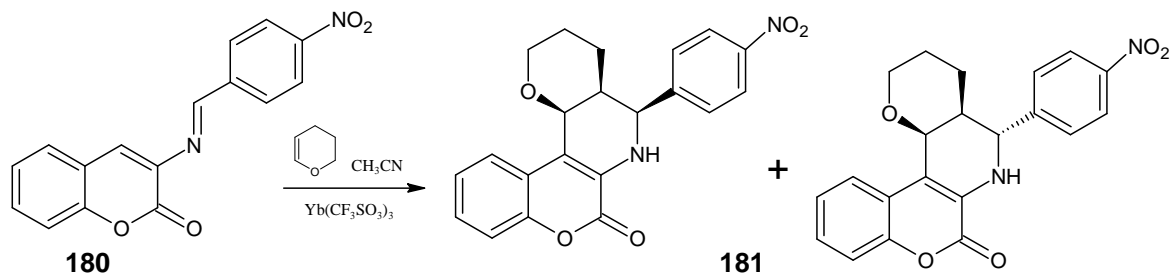


Schéma 65

Meziprodukt **183** byl připraven z 3-aminokumarinu (**39**) reakcí s 2-brombenzylbromidem (**182**) v bezvodém methylethyl ketonu v přítomnosti bezvodého uhličitanu draselného a jodidu sodného. Cyklizace proběhla radikálově za přítomnosti tributylstananu, azobis(isobutyronitrilu) jako iniciátoru v toluenu v atmosféře dusíku s výtěžkem 27 %. Pokud meziprodukt **183** reagoval s tetrabutylamonium bromidem v DMF a za přítomnosti acetátu palladnatého jako katalyzátoru a acetátu draselného jako báze, produkt **184** vznikl ve výtěžku 88 % (Schéma 66). Při použití triethylaminu jako báze byl výtěžek 76 %.

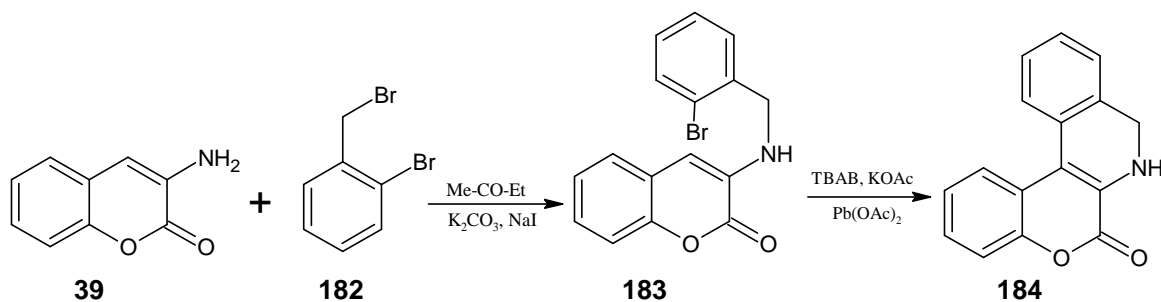


Schéma 66

Tetrahydropyridinokumarin **184** byl dehydrogenován na palladiu vázaném na uhlí v přítomnosti dichlormethanu na aromatický pyridinokumarin **185** ve výtěžku 97 %⁸² (Schéma 67).

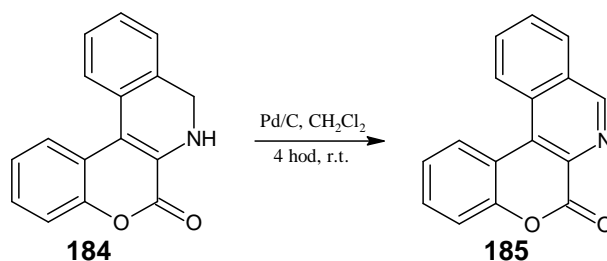


Schéma 67

Reakce aminokumarinu s karbonylovou sloučeninou a následná cyklodehydrohalogenace byla popsána ve schématech 68 a 69. 3-Aminokumarin (**39**) a 2-chloronikotinoylchlorid (**186**)

reagoval v suchém benzenu v přítomnosti triethylaminu na amid **187**. Cyklodehydrochlorací v suchém pyridinu, nebo v přítomnosti triethylaminu a chloridu palladnatého vznikl pyridinokumarin **188** (Schéma 68). Také 2-chloronikotinová kyselina v přítomnosti polyfosforečné kyseliny poskytla sloučeninu **187**. Pokud byl do reakční směsi přidán chlorid měďnatý v pyridinu, vznikly současně látky **187** a **188** v nízkých výtěžcích⁸³.

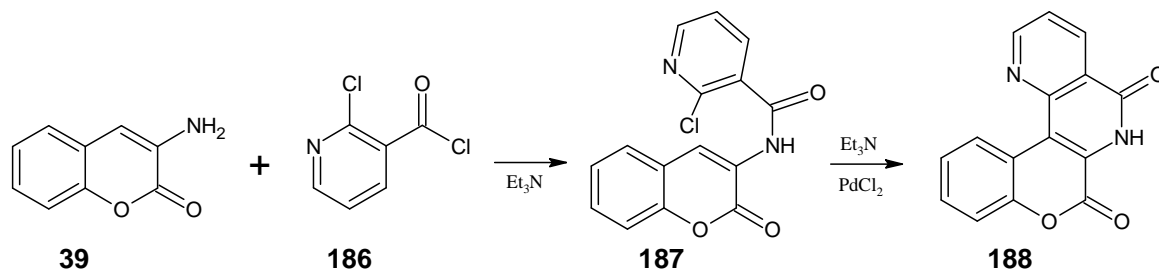


Schéma 68

Zahříváním 3-aminokumarinu (**39**) s chinolinem **189** v přítomnosti ledové kyseliny octové vznikl meziprodukt **190**, který byl cyklizován dehydrohalogenací v pyridinu na produkt **191** ve výtěžku 66 % (Schéma 69). Cyklizace pomocí triethylaminu a chloridu palladnatého poskytla produkt ve výtěžku 30 %⁸⁴.

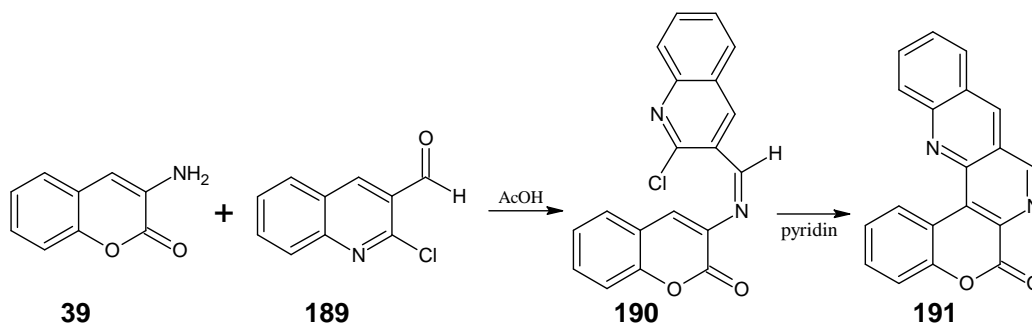
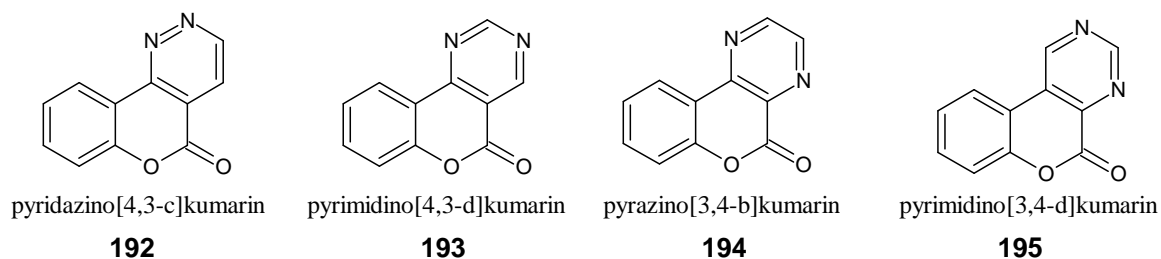


Schéma 69

2.3.2 Látky obsahující dva heteroatomy dusíku

Velká pozornost je v literatuře věnována také heterocyklům se dvěma atomy dusíku s kumarinovou strukturou.



Nejběžnějším z této skupiny látek je pyrimidino[4,3-d]kumarin (**193**), který byl získán reakcí derivátů kumarinu s amidinem nebo močovinou. Ostatní sloučeniny byly připraveny reakcí derivátů kumarinu převážně s diaminy popř. primárními aminy.

Diels-Alderova adice diethylazodikarboxylu (**197**) na kumarin **196** poskytla cykloadukt **198** ve výtěžku 42 %⁸⁵ (Schéma 70).

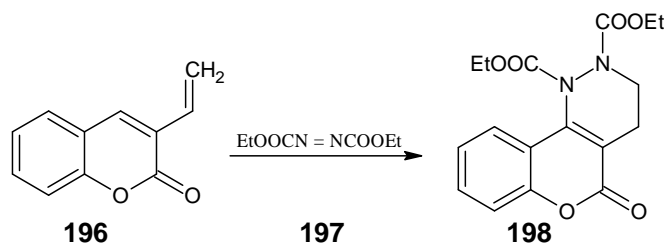


Schéma 70

Pyrimidino[4,3-d]kumariny (**193**) byly připraveny reakcí derivátů kumarinu s amidinem nebo thiomčovinou. Reakcí kumarinu **19** s amidiniovou solí **199** v DMF s pětinasobným přebytkem aminu (např. piperidinu či triethylaminu) byl získán odpovídající pyridino[4,3-c]kumarin **200** ve výtěžku 36-71 %⁸⁶ (Schéma 71).

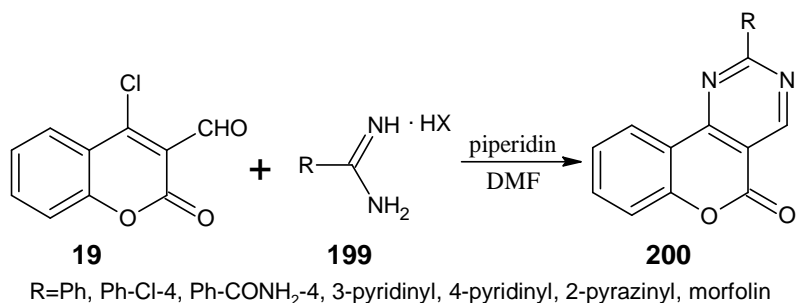


Schéma 71

Podobná reakce 4-chloro-3-kyanokumarinu (**201**) s guanidinem nebo deriváty amidinu **202** v ethanolu poskytla 2-substituovaný 4-aminopyrimidinokumarin **203**⁸⁷ (Schéma 72).

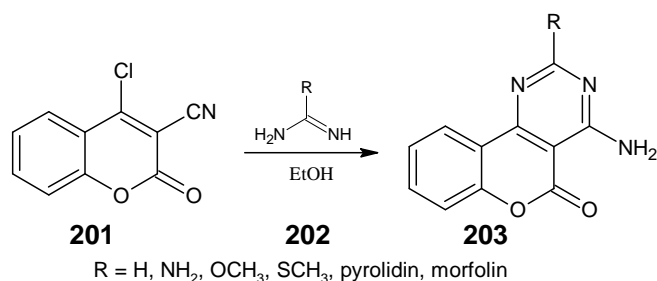


Schéma 72

Pokud byl při reakci s 4-chloro-3-formylkumarinem (**19**) použit místo guanidinu 2-aminobenzimidazol (**204**), v roztoku THF za přítomnost triethylaminu vznikl cyklický

derivát pyrimidinokumarinu **205** ve výtěžku 36 %⁸⁶ (Schéma 73). V případě, že jako výchozí látka byl použit 4-chloro-3-(trifluoroacetyl)kumarin, vznikl touto reakcí odpovídající fluorovaný derivát látky **205** ve výtěžku 60 %⁶⁶.

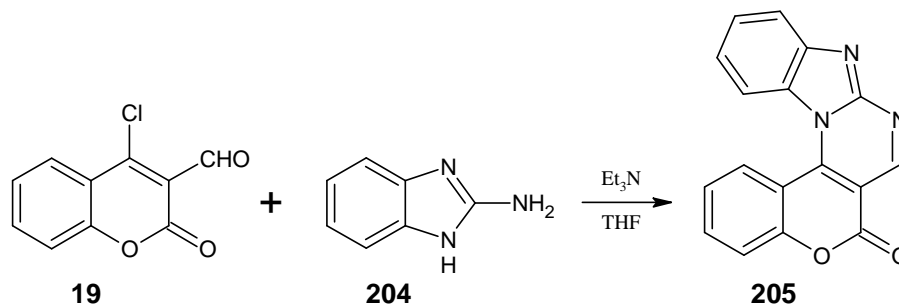
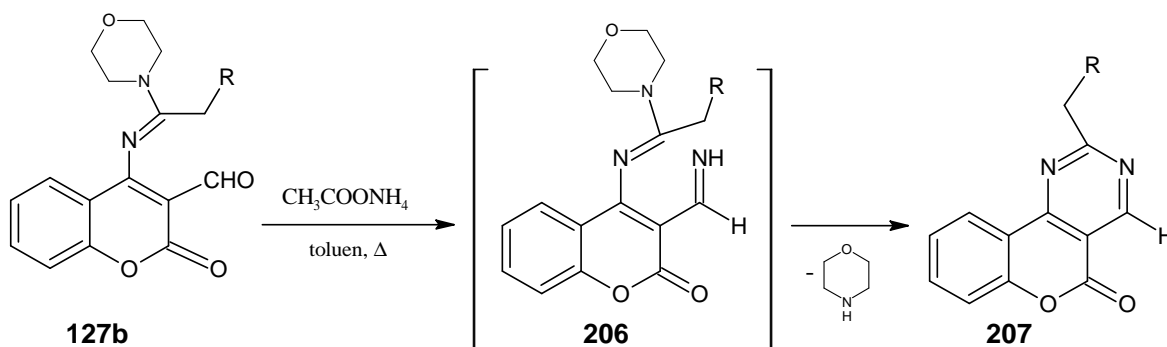


Schéma 73

Zahříváním amidinu **127b** s přebytkem octanu amonného v toluenu vznikl meziprodukt **206**, který termickou cyklizací poskytoval pyrimidino[4,3-d]kumarin **207** ve vysokém výtěžku 63-94 %⁸⁸ (Schéma 74).



R = Ph, Ph-Br-*p*, Ph-OCH₃-*p*, *i*Pr, CH₂Ph

Schéma 74

Reakcí sloučeniny **208** s thiomocovinou v přítomnosti bezvodého uhlíčitanu draselného v methanolu byla získána krystalická látka. Po následném rozpuštění ve vodě a okyselení HCl vznikl produkt **209**⁸⁹ (Schéma 75).

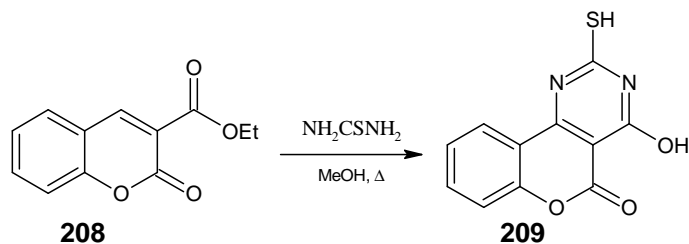


Schéma 75

Tautomerní forma 4-hydroxykumarinu (**4**) jako cyklický β -keto ester kondenzuje s aldehydy v přítomnosti močoviny nebo thiomčoviny na pyrimidinokumarin **210**. Reakce byla provedena pod mikrovlnným zářením v kyselém prostředí. Nejlepší výtěžky 89-95 % poskytoval katalyzátor montmorilonit K10 clay^{90, 91} (Schéma 76).

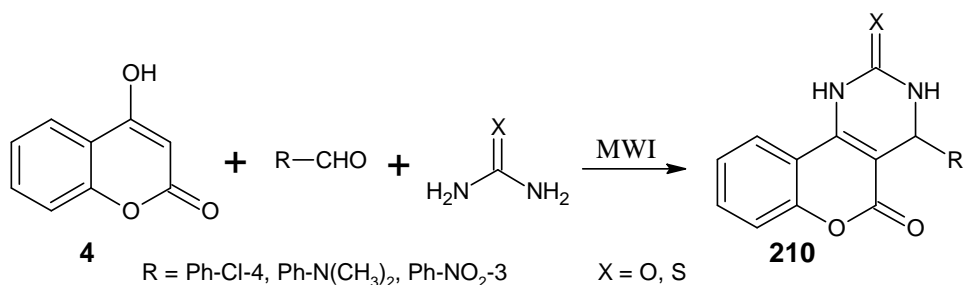
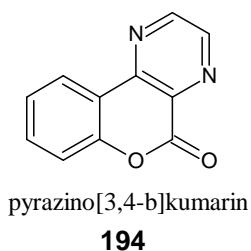


Schéma 76

Deriváty kumarinu **194** byly získány reakcí 4-hydroxykumarinů (**4**) s diaminy nebo byl jako výchozí látka použit kumarin, který již dvě skupiny s atomem dusíku obsahoval.



Antimikrobiální účinky byly prokázány u derivátů produktu **213**, které vznikly zahřátím substituovaných 4-hydroxykumarinů **211** s deriváty o-fenylendiaminu **212** v ethanolu ve výtěžku 71-80 % (Schéma 77). Nejvyšší účinek na všechny zkoumané bakterie a houby prokázal 2-methoxy-9,10-dimethyl-derivát tetrafenu **213** připravený s výtěžkem 78 %⁹².

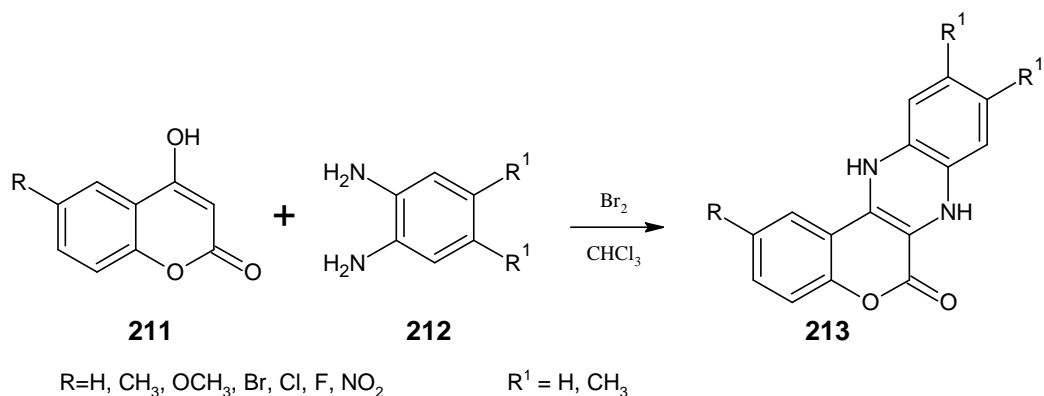


Schéma 77

Trichlorokumarin **214** reagoval s *o*-fenylendiaminem (**215**) na meziprodukt **216**, který byl následně cyklizován v pyridinu za přítomnosti oxidu manganitého při teplotě 110 °C na aromatický derivát **217** ve výtěžku 70 %⁹³ (Schéma 78).

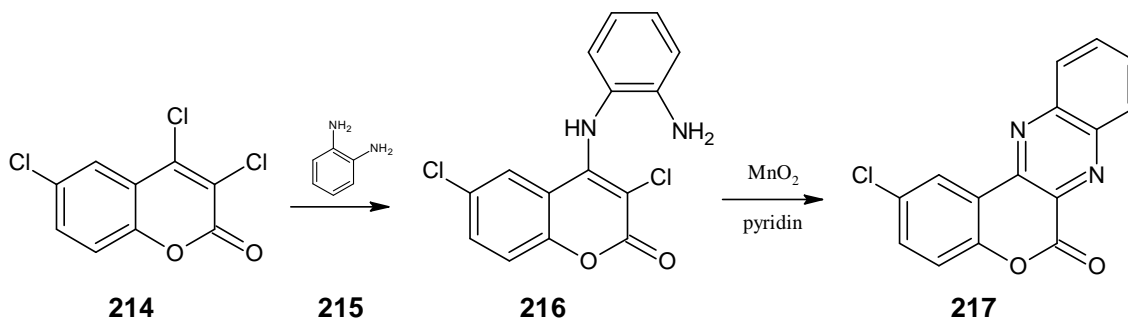


Schéma 78

Produkt **219** byl získán elektrochemickou redukcí nitroskupiny sloučeniny **218** a následnou cyklizací v prostředí ethanolu a kyseliny sírové ve výtěžku 55 %⁹⁴ (Schéma 79).

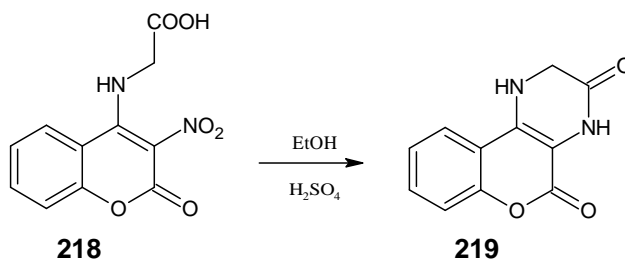
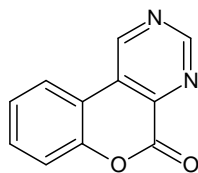


Schéma 79

Sloučeniny kumarinu **195** byly připraveny z kumarinových derivátů, kde byla do polohy 3 zavedena skupina obsahující dva atomy dusíku. Následovala termická cyklizace.



pyrimidino[3,4-d]kumarin

195

Deriváty kumarinu **220** byly připraveny reakcí benzochinonu s dimethyl nebo diethyl-2-aminofumarátem. Reakcí kumarinu **220a** v horkém toluenu ve směsi dimethylformamid-dimethylacetal vznikl formamidin, který následně reakcí s hydroxylamino hydrochloridem v ethanolu poskytl formamid oxim **221**. Cyklizace na produkt **222** proběhla zahřátím ve vakuu (výtěžek 82 %) nebo s chlorovodíkem (prakticky kvantitativně)⁹⁵ (Schéma 80).

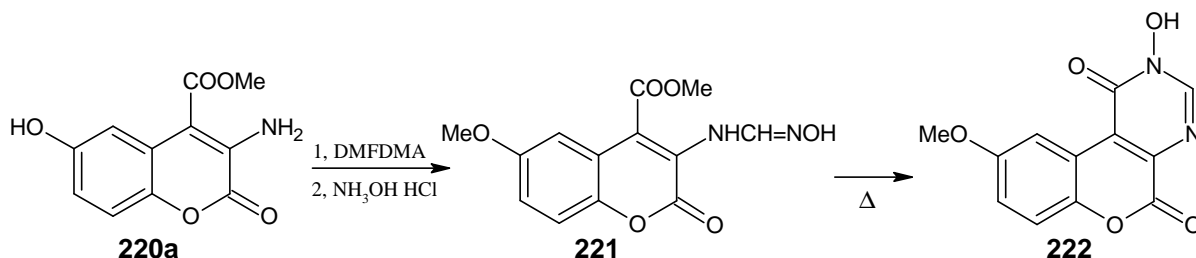


Schéma 80

Reakce kumarinu **220b** s benzoylchloridem a následně karbethoxyisothiokyanátem poskytla acylthiomočovinu **223** ve výtěžku 71 %. Cyklizace na produkt **224** proběhla zahřátím v ethanolu v přítomnosti triethylaminu prakticky kvantitativně⁹⁵ (Schéma 81).

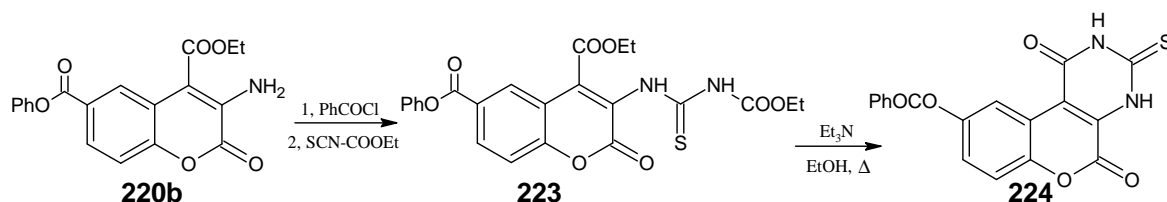


Schéma 81

3. Výsledky a diskuse

Na základě rešerše byl zvolen jako výchozí látka snadno dostupný a vysoce reaktivní 4-chloro-3-formylkumarin **II**. Jeho syntéza je nejsnadnější Vilsmeierovou reakcí 4-hydroxykumarinu **I** s POCl_3 a DMF^{24} (Schéma 95).

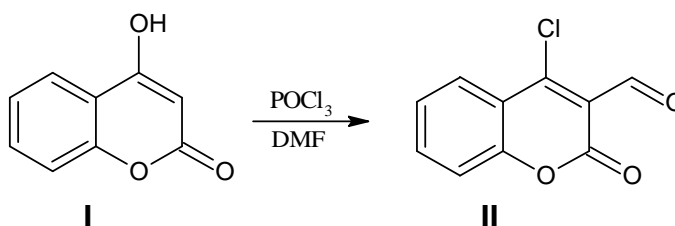


Schéma 82

Tato reakce je obecně známá a byla popsána mnoha autory, avšak pouze málo z nich^{24, 96, 39} používalo k promývání roztok hydrogenuhličitanu sodného. Ukázalo se, že nalití reakční směsi do vody a promytí odfiltrovaného krystalu právě hydrogenuhličitanem poskytuje výborné výsledky při odstraňování nečistot. Ostatní postupy jsou zavádějící a izolují produkt přímo filtrací reakční směsi, nebo promývají krystal chloridem fosforlylu. Čistota produktu **II** dále závisela na teplotě, při které byl přidáván chlorid fosforlylu. Bylo ověřeno, že pokud teplota stoupla nad $-5\text{ }^\circ\text{C}$, produkt byl značně znečištěn. Odfiltrovaný krystal obsahoval přibližně 50 % vody, která byla odstraněna volným sušením. Jiné způsoby sušení zatím vyzkoušeny nebyly. Vzhledem k tomu, že látka **II** reagovala s DMSO, byl při identifikaci na NMR jako rozpouštědlo použit aceton.

V některých případech byl jako výchozí látka kromě 4-chloro-3-formylkumarinu **II** využit i 4-amino-3-formylkumarinu **III**. V literatuře je známo několik metod přípravy této látky. Jednak je to reakce 4-chloro-3-formylkumarinu **II** s azidem sodným a následně trifenyfosfinem⁹⁷. Druhou reakcí, při které vznikla látka **III** je reakce 4-aminokumarinu s DMF a POCl_3 ⁹⁸. Překvapivě nebyla popsána reakce chlorderivátu **II** s amoniakem, navzdory tomu, že je známá příprava N-substituovaných derivátů reakcí chlorderivátu **II** s aminy v benzenu nebo v ethanolu.

Další část práce byla zaměřena na syntézu derivátů kumarinu s anelovaným kruhem v poloze 1, 3.

Jako výchozí sloučenina byl zvolen snadno připravitelný derivát **IV**. Při pokusu o uzavření dalšího kruhu s cílem připravit sloučeninu **V** došlo k rozkladu molekuly a vzniku sloučeniny **III**.

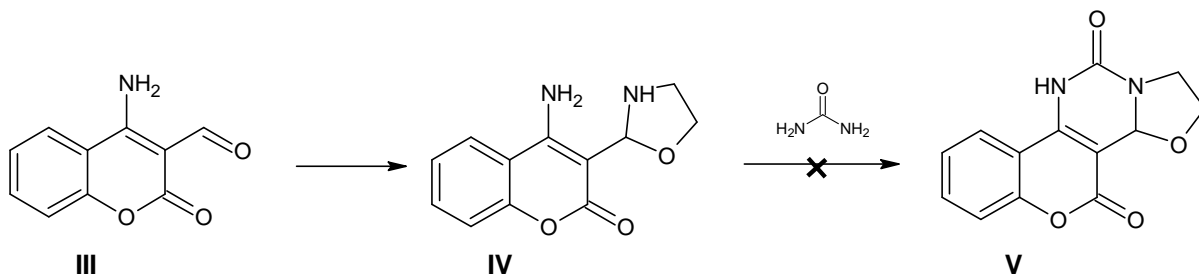


Schéma I

Reakce aminokumarinu **III** s ethanolaminem za studena probíhala pomalu, ale po záhřevu byla výrazně rychlejší a probíhala bez větších problémů. Vzniklý oxazolidin **IV** byl špatně rozpustný v běžných rozpouštědlech. Pokusy o cyklizaci záhřevem s močovinou v kyselině octové vedly k rozkladu látky a opětovnému vzniku sloučeniny **III** (Schéma I). Rovněž reakce látky **IV** s karbonyldiimidazolem nevedla k cíli. V tomto případě ani po dvou dnech záhřevu s přebytkem karbonyldiimidazolu nedošlo k reakci a reakční směs obsahovala výchozí látku **IV** a sloučeninu **III**.

Další typ reakce, kterému byla věnována pozornost, byla reakce formylderivátu **II** s diaminomalenonitrilem. Cílem bylo připravit sloučeninu **VII**, která by mohla být velmi zajímavou výchozí sloučeninou pro syntézu derivátů 1,4-diazepinu.

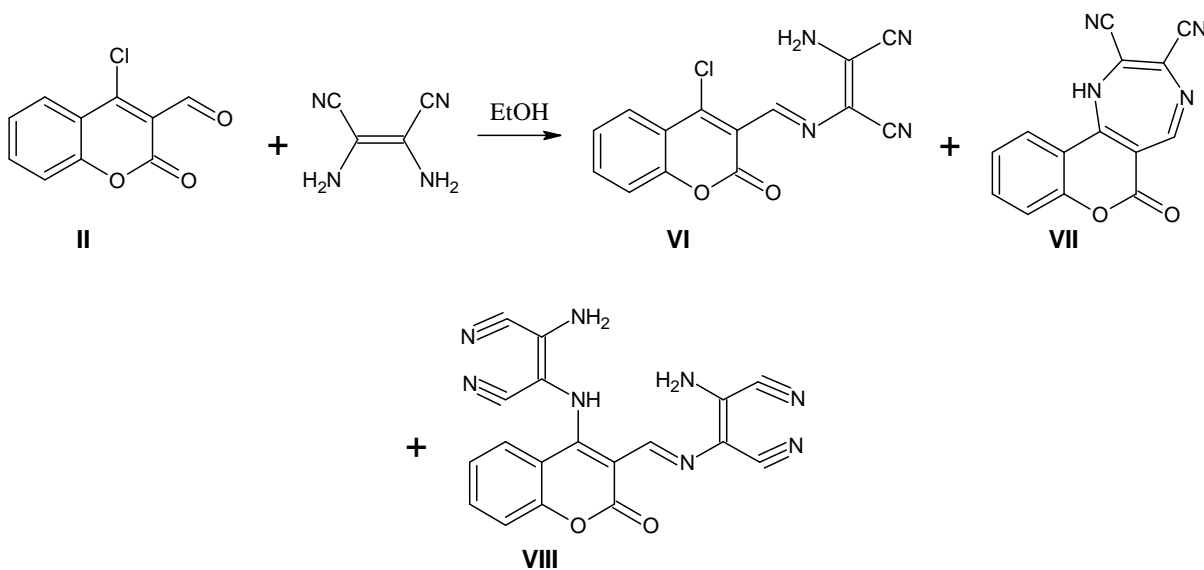


Schéma II

Reakce diaminomalenonitrilu s kumarinem **II** byla provedena jak v ethanolu, tak v butanolu. Rozpouštědlo neovlivnilo průběh reakce. Vždy vznikla směs látek (Schéma II), včetně výchozí sloučeniny **II**, v různém zastoupení. Rovněž přídavek báze jako je K_2CO_3 nebo triethylamin neovlivnil průběh reakce. Krystalický produkt byl špatně rozpustný v běžných rozpouštědlech, v acetonu byl rozpustný částečně. Rekrystalizace z acetonu za tepla se však nepodařila.

Na MS byla prokázána přítomnost cyklické struktury **VII**, necyklického derivátu **VI**, dimerní struktury **VIII** a výchozí látky **II**. V menší míře byla prokázána přítomnost i dalších látek.

Protože se tyto přípravy nedařily, byla dále věnována pozornost přípravě oximu **IX**. Derivát **II** je velmi reaktivní, proto byl použit k reakci hydroxylamin hydrochlorid.

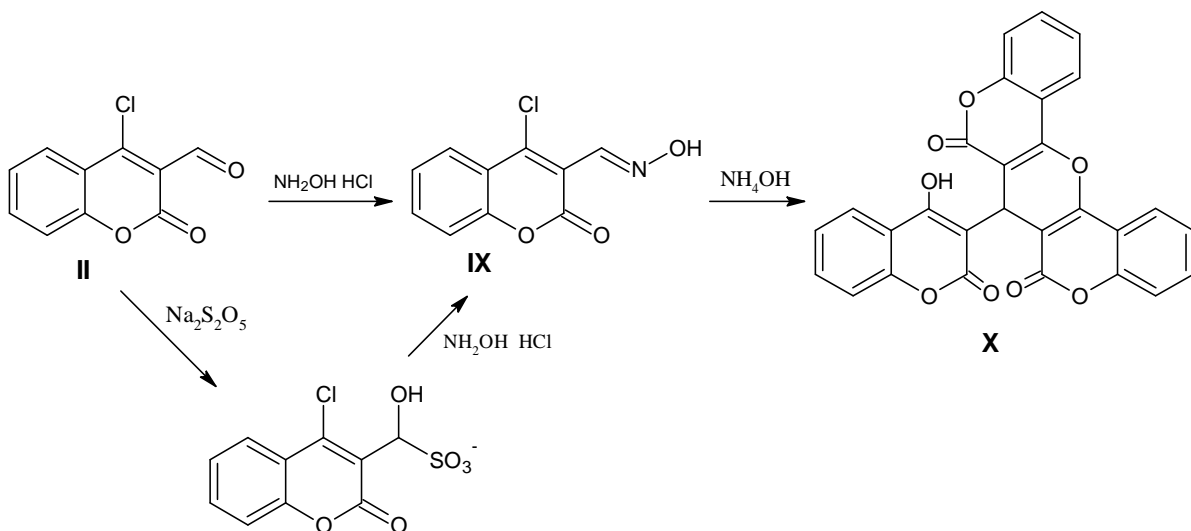


Schéma III

Reakce kumarinu **II** s hydroxylamino hydrochloridem poskytovala oxim **IX** s výtěžkem 74 %. Matečné louhy byly extrahovány směsí ethylacetátu a vody. Získaná směs obsahovala 32 % oximu **IX** a 60 % nečistoty, která byla identifikována jako 4-hydroxy-3-(hydroxyimino)methylkumarin. Tato reakce poskytovala stejné výsledky i v zásaditém prostředí uhličitanu draselného.

Jako další způsob přípravy oximu **IX**, byla zvolena reakce s hydrogensířičitanem sodným. Tato cesta sice poskytovala celkový vyšší výtěžek, ale požadovaný oxim **IX** vykazoval nižší čistotu. Proto tento postup nebyl dále využíván.

Oxim **IX** pomalu cyklizoval za laboratorní teploty po přidání amoniaku. Složení výsledného produktu záviselo na množství přidaného amoniaku. Zatímco s jedním ekvivalentem amoniaku výchozí látka zůstala až z 85 % nezreagovaná a cyklický derivát **X** byl na MS identifikován pouze jako fragment s molekulovou hmotností 316, při reakci s dvěma ekvivalenty amoniaku výchozí látka prakticky zcela odreagovala a na MS se kromě fragmentu objevil i zřetelný pík odpovídající molekulové hmotnosti 477. Podmínky, za kterých tento produkt **X** vzniká nejochotněji, budou dále zkoumány. Sloučenina **X** byla v literatuře připravena reakcí sloučeniny **XI** se 70 % kyselinou sírovou⁵⁸.

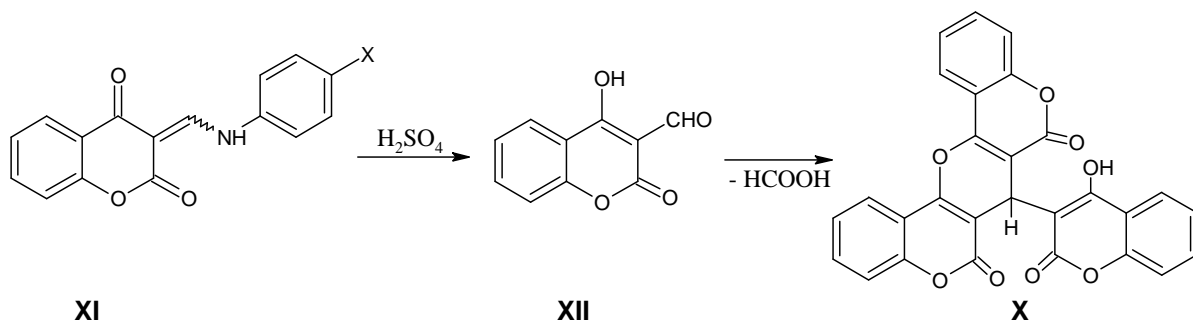


Schéma IV

Také kumarin **II** s hydroxylamino hydrochloridem poskytoval oxim **XIII**, což může být další vhodná výchozí látka pro syntézu cyklických derivátů kumarinu.

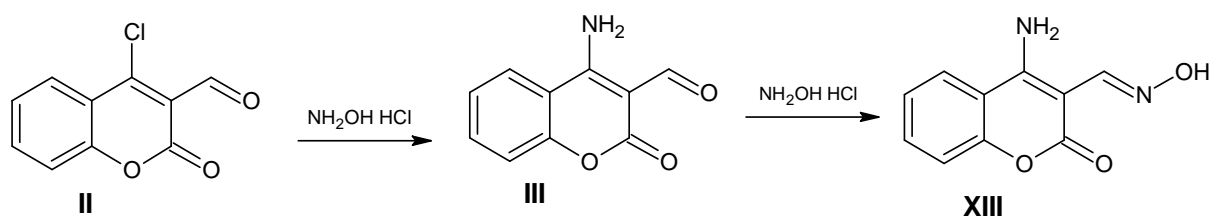


Schéma V

Některé postupy při syntéze výchozích látek byly převzaty z literatury beze změny, jiné bylo nutné modifikovat, aby bylo dosaženo požadovaných výsledků.

4. Experimentální část

Teploty tání byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. MS charakterizace byla prováděna na přístroji GCMS Polaris Q v konfiguraci s přímou sondou, chemickou ionizací a kvadrupólovou iontovou pastí, nebo na přístroji LCMS Exactive v konfiguraci s APCI nebo ESI ionizací a orbitální pastí. Při chemické ionizaci byl jako reakční plyn použit methan. NMR spektra byla měřena na přístroji Varian 400 spektrometr pracujícím při 399,90 MHz (^1H) a 100,56 MHz (^{13}C). Látky byly rozpuštěny v DMSO- d_6 nebo acetonu a měřeny při 294 K. ^1H a ^{13}C chemické posuny byly vztaženy ke střednímu signálu rozpouštědla pro DMSO- d_6 , ($\delta = 2,5$ (1H), $\delta = 39,43$ (13C)) nebo aceton ($\delta = 2,05$ (1H), $\delta = 30,83$ (13C))

HPLC byla provedena za těchto podmínek: kolona- LiChrospher RP60, sel B, 5 μm , 4 x 4 + 4 x 250 mm; mobilní fáze: ACN : H₂O (1:1) + 0,58 % H₃PO₄, průtok 1 ml/min teplota kolony 303,15 K; detekce: UV 210 nm.

TLC byla sledována na silikagelových deskách Polygram Sil G/UV254 s detekcí UV zářením.

Používané chromatografické soustavy na TLC

S1	ethylacetát	
S2	n-hexan : ethylacetát	7 : 3
S3	n-hexan : ethylacetát : kyselina mravenčí	7 : 3 : 0,1
S4	toluen : ethylacetát	1 : 1
S5	toluen : ethylacetát : kyselina mravenčí	25 : 25 : 0,5
S6	toluen : isopropanol : vodný amoniak	6 : 6 : 1

4.1 Příprava 4-chloro-3-formylkumarinu (II)^{24, 96, 39}

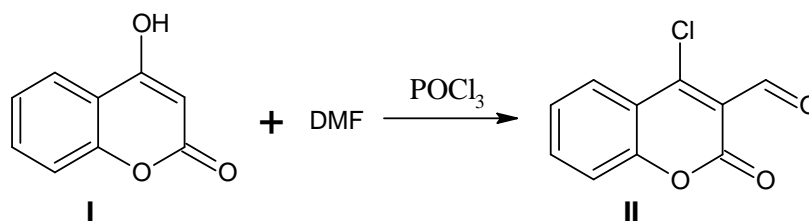


Schéma 83

4-Hydroxycoumarin **I** (29,44 g, 0,18 mol) byl rozpuštěn v DMF (120 ml) a roztok byl ochlazen solankou na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Za stálého míchání byl pozvolna přidáván chlorid fosforylu (45 ml, 0,5 mol) a teplota reakční směsi byla udržována pod $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, poté byla směs ještě 2 hodiny zahřívána na teplotu $80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následně byla nalita do 600 g drceného ledu. Vyloučená žlutá krystalická látka byla odfiltrována, promyta vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vodou. Látka byla usušena volným stáním na hodinovém skle. Produkt **II** byl získán ve výtěžku 33,4 g (88 %), t.t. $123\text{-}125\text{ }^{\circ}\text{C}$, lit²⁴ t.t. $120\text{-}122\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Analýza TLC byla provedena v mobilní soustavě S5. Látka byla identifikována pomocí NMR (záznam viz příloha 1, 2).

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ : 7.48 (dd, 1H, J=0.7 Hz, J=8.3 Hz) 7.55 (m, 1H) 7.87 (ddd, 1H, J=1.5 Hz, J=7.4 Hz, J=8.4 Hz) 8.20 (dd, 1H, J=1.4 Hz, J=8.2 Hz) 10.28 (s, 1H) ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂CO) δ : 186.7, 158.2, 153.3, 151.5, 135.6, 127.4, 125.5, 119.0, 118.4, 116.9 ppm

4.2 Příprava 4-amino-3-formylkumarinu (III)

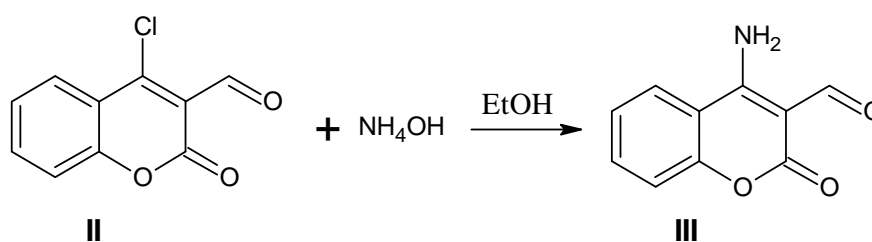


Schéma 84

4-Chloro-3-formylcoumarin **II** (5 g, 0,024 mol) byl rozpuštěn v ethanolu (250 ml). Poté byl přidán 25% vodný roztok amoniaku (100 ml). Reakční směs byla 3 hodiny zahřívána na $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, poté byla ponechána stát bez chlazení do druhého dne. Vyloučená krystalická látka

byla odfiltrována a usušena volným stáním v digestoři. Produkt **III** byl získán ve výtěžku 3,98 g (87,8 %), t.t. 272-276 °C. MS, m/z : 190 (MH⁺), 188 (MH⁻).

Analýza TLC byla provedena v mobilní soustavě S5. Látka byla identifikována pomocí MS a NMR (záznam viz příloha 3 a 4, 5).

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.40 (d, 1H, J=8.3 Hz) 7.44 (t, 1H, J=7.6 Hz) 7.78 (t, 1H, J=7.8 Hz) 8.36 (d, 1H, J=7.9 Hz) 9.36 (s, 1H)^{*}, 10.05 (s, 1H) 10.38 (s, 1H)^{*} ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 190.5, 161.9, 157.9, 153.8, 134.9, 124.7, 124.2, 117.4, 113.4, 94.9 ppm

* píky odpovídají NH₂ skupině

4.3 Syntéza 4-Amino-3-oxazolidin-2-yl-chromen-2-onu (IV)

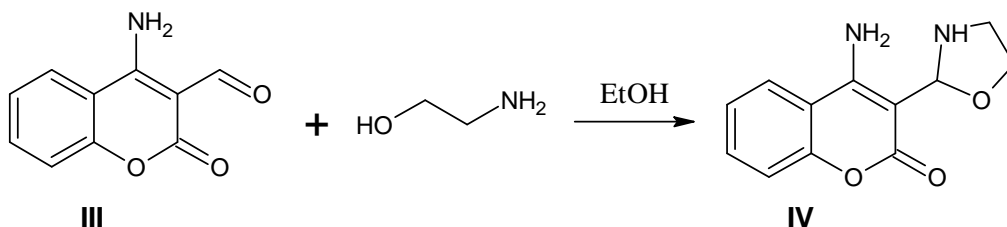


Schéma 85

4-Amino-3-formylkumarin **III** (1 g, 0,005 mol) byl rozpuštěn v ethanolu (60 ml). Poté byl přidán ethanolamin (0,32 ml, 0,005 mol) a reakční směs byla zahřívána 3 hodiny k varu. Po vychlazení na laboratorní teplotu se vyloučil krystalický produkt, který byl odfiltrován, promyt ethanolem a usušen volným stáním v digestoři. Výtěžek bílé látky byl 0,84 g (69 %), t.t. 222-224 °C. MS, m/z : 233 (MH⁺).

Analýza TLC byla provedena v mobilní soustavě S5. Látka byla identifikována pomocí MS a NMR (záznam viz příloha 6 a 7, 8).

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 3.57 (d, 1H, J=4.6Hz) 3.60 (m, 1H) 4.65 (t, 1H, J=5.2Hz) 7.31 (d, 1H, J=8.3Hz) 7.36 (t, 1H, J=7.6Hz) 7.63 (t, 1H, J=7.8Hz) 8.16 (d, 1H, J=7.5Hz) 8.57 (s, 1H) 8.72 (s, 1H) 11.23 (s, 1H) ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 161.6, 161.3, 155.0, 152.8, 133.1, 123.8, 123.7, 117.0, 114.2, 90.7, 63.4, 61.3 ppm

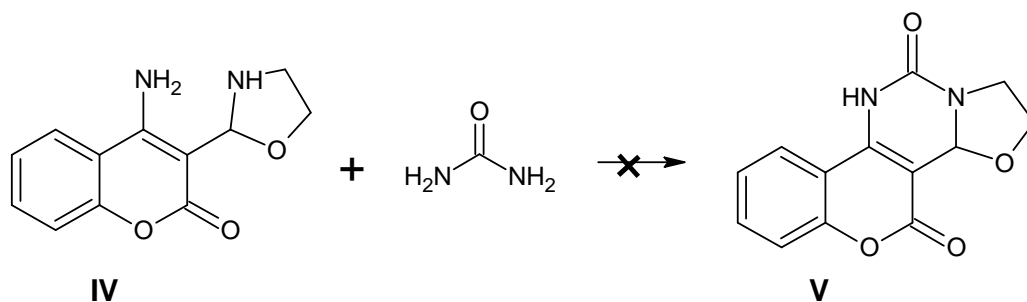


Schéma 86

Takto připravený produkt **IV** (1 g, 0,004 mol) byl rozpuštěn v kyselině octové (20 ml). Následně byla přidána močovina (0,13 g, 0,002 mol). Směs byla zahřívána na teplotu 80 °C. Místo očekávané cyklizace proběhla vratná reakce a v reakční směsi byl nalezen pouze 4-amino-3-formylkumarin **III**. MS, m/z : 190 (MH^+) (záznam viz příloha 9).

4.4 Reakce 4-chloro-3-formylkumarinu (**II**) s°diaminomalenonitrilem

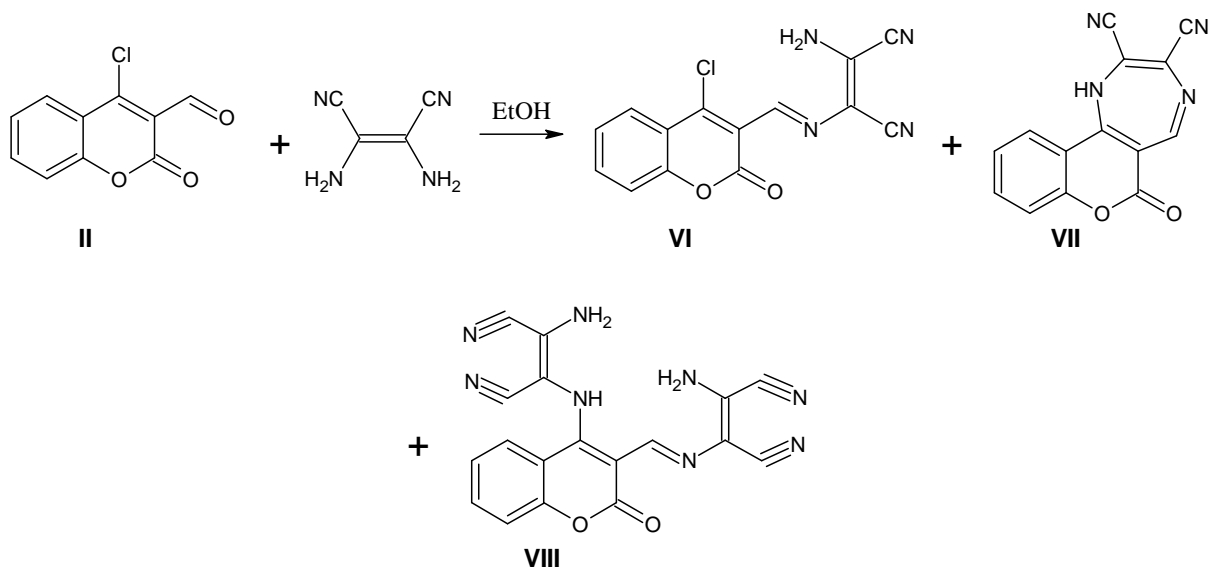


Schéma 87

Diaminomalenonitril (1,2 g, 0,01 mol) byl rozpuštěn v ethanolu (30 ml). Poté byl přidán 4-chloro-3-formylkumarin **II** (2 g, 0,01 mol). Směs byla zahřívána 4 hodiny při teplotě varu. Vyloučené hnědé krystaly byly odfiltrovány a rekrystalizovány z acetonu (100 ml). Jako produkt vznikla směs látek. Kromě cyklického derivátu **VII** produkt obsahoval rovněž látku **VI**, výchozí látku **II** a derivát **VIII**.

Analýza TLC byla provedena v mobilní soustavě S1. Analýza HPLC byla provedena při $\lambda=230$ nm, jako mobilní fáze byla použita směs ACN a 0,1 M octan amonný 1:1.

4.5 4-Chloro-3-(hydroxyimino)methylkumarin (IX)¹⁰⁰

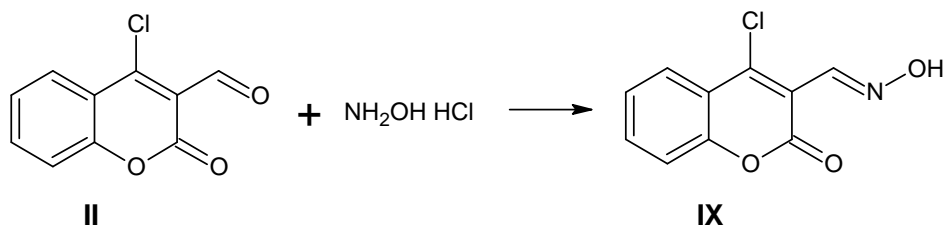


Schéma 88

Postup A

4-Chloro-3-formylkumarin **II** (2 g, 0,01 mol) byl rozpuštěn v kyselině octové (80 ml). Poté byl přidán hydroxylamin hydrochlorid (0,8 g, 0,01 mol) a octan sodný (2 g, 0,02 mol). Reakční směs byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě, poté hodinu chlazena v ledu a míchána ve směsi vody (500 ml) a ethylacetátu (50 ml). Vyloučená krystalická látka byla odfiltrována a usušena volným stáním na hodinovém skle. Produkt **IX** byl získán ve výtěžku 1,59 g (74 %), t.t. 162-166 °C. MS, *m/z*: 224 (MH⁺).

Analýza TLC byla provedena v mobilní soustavě S1. Látka byla identifikována pomocí MS a NMR (záznam viz příloha 10 a 11, 12).

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.53 (dd, 1H, J=1.1Hz, J=3.6Hz) 7.55 (dd, 1H, J=3.1Hz, J=4.2Hz) 7.80 (ddd, 1H, J=1.5Hz, J=7.4Hz, J=8.9Hz) 8.04 (dd, 1H, J=1.4Hz, J=8.2Hz) 8.22 (s, 1H), 12.12 (s, 1H)* ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 157.1, 151.1, 144.5, 142.4, 133.5, 125.9, 125.2, 118.2, 118.0, 116.5 ppm

* pík odpovídá N-OH skupině

Po extrakci byl jako vedlejší produkt získán 4-hydroxy-3-(hydroxyimino)methylkumarin.

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.32 (d, 1H, J=7.8Hz) 7.35 (s, 1H) 7.65 (t, 1H, J=7.3Hz) 7.90 (s, 1H) 8.33 (s, 1H) ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 173.6, 161.9, 154.0, 151.4, 134.4, 125.2, 124.6, 118.9, 117.2, 93.9 ppm

Postup B

Disiřičitan sodný (1 g, 0,005 mol) byl rozpuštěn ve vodě (10 ml) a po přidání 4-chloro-3-formylkumarinu (1 g, 0,005 mol) byla reakční směs 2 hodiny míchána za laboratorní teploty. Vyloučený krystalický produkt byl odfiltrován a rozpuštěn v minimálním množství vody. Po přidání hydroxylamin hydrochloridu (1 g, 0,01 mol) byla reakční směs míchána 24 hodin za

laboratorní teploty. Vyloučená krystalická látka byla odfiltrována, promyta vodou a usušena volným stáním v digestoři. Produkt **IX** byl získán ve výtěžku 0,93 g (87 %).

4.6 4-Hydroxy-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**XIII**)

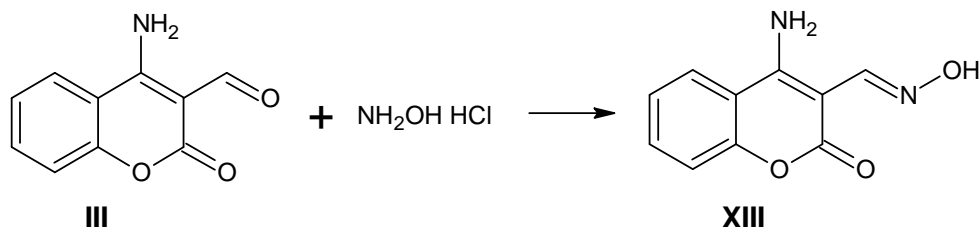


Schéma 89

4-Amino-3-formylkumarin **III** (0,25 g, 1,4 mmol) byl rozpuštěn v kyselině octové (10 ml). Poté byl přidán hydroxylamin hydrochlorid (0,1 g, 1,4 mmol) a octan sodný (0,25 g, 3 mmol) a reakční směs byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě. Následně byla reakční směs ochlazená na teplotu asi 5 °C a poté byla nalita do směsi vody (500 ml) a ethylacetátu (50 ml) a míchána za stálého chlazení ledem. Vyloučená krystalická látka byla odfiltrována a usušena volným stáním v digestoři. Produkt **XIII** byl získán ve výtěžku 0,16 g (59 %), t.t. 239-241 °C. MS, *m/z*: 205 (MH⁺).

Látka byla identifikována pomocí MS a NMR (záznam viz příloha 13 a 14, 15).

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 7.31 (d, 1H, J=8.3Hz) 7.35 (t, 1H, J=7.8Hz) 7.60 (t, 1H, J=7.5Hz) 8.11 (d, 1H, J=7.8Hz) 8.33 (s, 1H) 8.77 (d, 1H, J=72.7Hz) 11.03 (s, 1H) ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 160.9, 152.3, 152.1, 147.5, 132.7, 123.9, 123.4, 116.9, 114.0, 88.5 ppm

4.7 Příprava 13-(4-hydroxy-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-2,10-dioxapentacyklo [12.8.0.0^{3,12}.0^{4,9}.0^{17,22}]docosa-1(14),3(12),4,6,8,17,19,21-octaen-11,15-dionu (X)

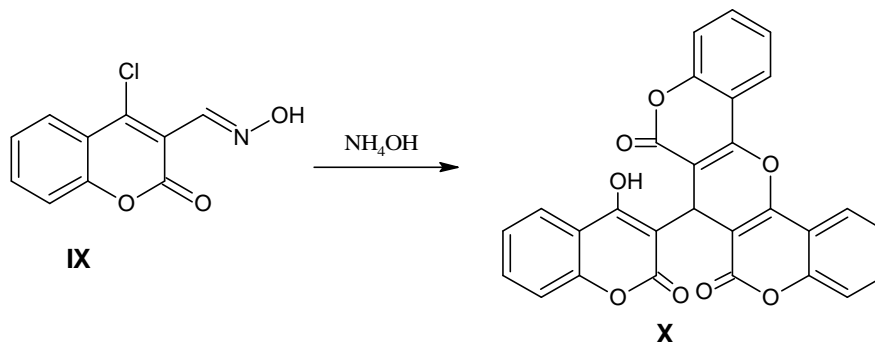


Schéma 90

4-Chloro-3-(hydroxyimino)methylkumarin **IX** (0,5 g, 0,002 mol) byl rozpuštěn v ethanolu (5 ml) a poté byl přidán 25% vodný roztok amoniaku (0,06 ml, 0,001 mol). Po 3 dnech míchání za laboratorní teploty byla vyloučená krystalická látka odfiltrována, promyta ethanollem a usušena volným stáním na hodinovém skle. Produkt **X** byl získán ve výtěžku 0,01 g (5,8 %), t.t. > 300 °C, lit.⁵⁸ t.t. > 300 °C. MS, m/z : 477 (MH⁻).

Látka byla identifikována pomocí MS a NMR (záznam viz příloha 16 a 17, 18).

¹H NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 6.96 (d, 1H, J=8.2Hz) 7.01 (d, 1H, J=7.2Hz) 7.20 (s, 1H) 7.28 (ddd, 1H, J=1.7Hz, J=7.3Hz, J=8.2Hz) 7.41 (d, 1H, J=8.3Hz) 7.48 (t, 1H, J=7.2Hz) 7.65 (m, 1H) 7.68 (d, 1H, J=1.5Hz) 8.31 (dd, 1H, J=1.3Hz, J=7.9Hz) ppm

¹³C NMR (400 MHz, (CD₃)₂SO) δ: 171.9, 163.0, 159.7, 153.6, 153.2, 151.5, 131.9, 129.6, 124.5, 124.4, 123.3, 122.7, 121.3, 116.1, 115.2, 113.5, 104.0, 97.2, 24.6 ppm

5. Závěr

První část mé práce byla věnována rešerši týkající se derivátů kumarinu s anelovaným kruhem v poloze 3, 4. Pro velké množství sloučenin jsem se zaměřila pouze na deriváty kumarinu s pěti nebo šesti četným anelovaným kruhem, který obsahuje jeden nebo dva heteroatomy dusíku. Vybrány byly především jednodušší sloučeniny a jejich základní reakce.

Deriváty kumarinu s anelovaným pětičetným kruhem obsahovaly atom dusíku především v poloze 1 nebo 3. Nenasycené sloučeniny s dusíkem v poloze 2 nejsou tak běžné, ale překvapivě hodně reakcí vedlo k nasyceným derivátům. Pokud anelovaný kruh obsahoval dva atomy dusíku, sloučenina se vyskytovala ve dvou mezomerních formách. Deriváty kumarinu se dvěma atomy dusíku v poloze 1, 2 jsou nejčastější. Méně pramenů popisuje sloučeniny s dusíkem v poloze 1, 3 nebo 2, 3.

U šestičetných kruhů byla popsána řada příprav nasycených i nenasycených derivátů kumarinu s heteroatomy dusíku v poloze 1, 2, 3 nebo 4. Nejčastěji se vyskytovaly sloučeniny s dusíkem v poloze 1 nebo 3. Pokud byl heteroatom dusíku navázán v poloze 1, převažoval nenasycený systém nad nasyceným, zatímco v poloze 2 bylo zastoupení obou isomerních forem přibližně stejné. U sloučenin s dusíkem v polohách 3 nebo 4 dokonce převažoval nasycený anelovaný kruh.

Systémů s dvěma heteroatomy dusíku bylo popsáno mnohem méně a přednostně vznikaly nasycené sloučeniny. Výjimkou byl nenasycený systém se dvěma heteroatomy dusíky v poloze 1, 3, který byl v této skupině sloučenin zastoupen nejvíce.

Další část práce se zabývá vlastními syntézami. Byly připraveny dvě základní výchozí látky 4-chloro-3-formylkumarin **II** a 4-amino-3-formylkumarin **III**, přičemž postup jejich přípravy byl optimalizován. Řada reakcí, kterými jsem se zabývala, nevedla k cíli, nebo poskytovala špatně dělitelnou směs. Velké úsilí jsem věnovala reakci aldehydu **II** s diaminomaleodinitriem. Pomocí LC-MS byly určeny vznikající produkty. Při reakci došlo ke vzniku jak otevřené struktury **VI**, tak uzavřeného derivátu **VII**. Vzhledem ke špatné rozpustnosti se látky nepodařilo vyčistit. Protože by se mohlo jednat o velmi zajímavý intermediát, budu se snažit v další práci hledat vhodné podmínky pro přípravu této látky. Dále bylo zjištěno, že aldehydy **II** a **III** reagují velice ochotně s hydroxylaminem na oximy, což by mohly být vhodné výchozí látky pro syntézu různých cyklických derivátů kumarinu.

Při reakci chlorderivátu **IX** s amoniakem došlo k zajímavé reakci, při které vznikal polykondenzovaný derivát **X**.

V průběhu práce byly ověřeny postupy na přípravu dvou látek (**II** a **VII**). Novou syntetickou cestou byly připraveny dvě již popsané látky (**III**, **IX**). Dále byly připraveny dvě nové látky (**IV**, **VIII**) a směs látek **X**, **XI** a **XII**, které se nepodařilo izolovat.

6. Literatura

1. Gutiérrez-Sánchez C., et al.: *Catal. Lett.*, **2009**, *128*, 318.
2. info.edu.cz/cs/system/files/Fenylpropanoidy-A.ppt. [Online]
3. Luo X., Song J., Cheng L., Huang D.: *Sci. China Ser. B-Chem.*, **2001**, *44*.
4. Karapire C., et al.: *J. Photochem. Photobiol. A-Chem.*, **2002**, *153*, 173.
5. Jae-Chul J., Oee-Sook P.: *Molecules*, **2009**, *14*, 4790.
6. Majumdar K. C., Samanta S. K.: *Tetrahedron Lett.*, **2002**, *43*, 2119.
7. Liao Y. X., Kuo P. Y., Yang D. Y.: *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 1599.
8. Iaroshenko V. O.: *Tetrahedron.*, **2011**, *67*, 7946.
9. Alberola A., Álvaro R., Andrés J. M., Calvo B., González A.: *Synthesis.*, **1994**, 279.
10. Alberola A.: *Synthesis.*, **2001**, 1941.
11. Stadlbauer W., et al.: *Mon. Chem.*, **1991**, *122*, 853.
12. Grigg R., Vipond D.: *Tetrahedron.*, **1989**, *45*, 7587.
13. Zhang L., et al.: *Synthesis.*, **2000**, 1733.
14. Ghandi M., Taheri A., Abbasi A.: *Tetrahedron.*, **2010**, *66*, 6744.
15. Soman S. S., Thaker T. H., Rajput R. A.: *Chem. Heterocycl. Comp.*, **2011**, *46*, 1514.
16. Raghu Ram S., Krupadanam G. L. D., Srimannarayana G.: *Synth. Commun.*, **1998**, *28*, 2421.
17. Majumdar K. C., Chattopadhyay B.: *Synthesis.*, **2008**, 921.
18. Chen L., Xu M.-H.: *Adv. Synth. Catal.*, **2009**, *351*, 2005.
19. Majumdar K. C., et al.: *Synthesis.*, **2010**, 4207.
20. Zeeshan M., et al.: *Tetrahedron Lett.*, **2010**, *51*, 3897.
21. Khan M. A., de Brito Morley M. L.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1978**, *15*, 1399.
22. Al-Ayed A. S.: *Molecules.*, **2011**, *16*, 10292.

23. Mustafa A., Hishmat O. H., Nawar A. A., Khalil M. A.: *Liebigs Ann. Chem.*, **1965**, 684, 194.
24. Strakova I., Petrova M., Belyakov S., Strakovs A.: *Chem. Heterocycl. Compds.*, **2003**, 39, 1608.
25. Stadlbauer W., Hojas G.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2004**, 41, 681.
26. Colotta V., et al.: *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, 1.
27. Colotta V., Cecchi L., Celani F., Filacchioni G., Martini C., Gelli S., Lucacchini A. J.: *Pharm. Sci.*, **1991**, 80, 276.
28. Chantegrel B., Nadi A.-I., Gelin S.: *Tetrahedron Lett.*, **1983**, 24, 381.
29. Shawali A. S., Elanadouli B. E., Albar H. A.: *Tetrahedron.*, **1985**, 41, 1877.
30. Fathi T., Dinh An N., Schmitt G., Cerutti E., Laude B.: *Tetrahedron.*, **1988**, 44, 4527.
31. Nagaraj A., Reddy C. S.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2001**, 44, 1357.
32. Padilla-Martinez I. I., Flores-Larios I. Y., Garcia-Baez E. V., Gonzalez J., Cruz A., Martinez-Martinez F. J.: *Molecules.*, **2011**, 16, 915.
33. Ito K., Maruyama J.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1988**, 25, 1681.
34. Colotta V., Catarzi D., Varano F., Cecchi L., Filacchioni G., Martini C., Giusti L., Lucacchini A.: *Il Farmaco.*, **1998**, 53, 375.
35. Beccalli E. M., Contini A., Trimarco P.: *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, 3976.
36. Darbarwar M., Sundaramurthy V.: *Synthesis.*, **1982**, 337.
37. O'Callaghan C. N.: *Synthesis.*, **1987**, 499.
38. Heber D.: *Arch. Pharm. (Weinheim).*, **1987**, 320, 595.
39. Heber D., Ivanov I. C., Karagiosov S. K.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1995**, 32, 505.
40. Heber D., Berghaus T.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1994**, 31, 1353.
41. Eiden F., Baumann E., Lotter H.: *Liebigs Ann. Chem.*, **1983**, 2, 165.
42. Pandya S. U., Pandya U. R., Hirani B. R., Brahmabhatt D. I.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2006**, 43, 795.
43. Dawane B. S., Konda S. G., Bodade R. G., Bhosale R. B.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2010**, 47, 237.
44. Brahmabhatt D. I., et al.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2011**, 48, 840.

45. Ivanov I. C., Glasnov T. N., Belaj F.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2008**, *45*, 177.
46. Noguchi M., Yamada H., Sunagawa T.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.*, **1998**, 3327.
47. Kantlehner W., et al.: *J. Prakt. Chem.*, **1998**, *340*, 408.
48. Naumov M. I., et al.: *Synthesis.*, **2009**, 1673.
49. Majumdar K. C., Bhattacharyya T.: *Tetrahedron Lett.*, **2001**, *42*, 4231.
50. Majumdar K. C., Sarkar S.: *Synth. Commun.*, **2004**, *34*, 2873.
51. Glasnov T. N., Ivanov I. C.: *Synth. Commun.*, **2008**, *38*, 1579.
52. Saito T., Ohkubo T., Kuboki H., Maeda M., Tsuda K., Karakasa T., Satsumabayashi S.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.*, **1998**, 3065.
53. Tabaković K., Tabaković I., Ajdini N., Leci O.: *Synth. Commun.*, **1987**, 308.
54. Tabaković K., Tabaković I., Trković M., Jurić A., Trinajstić N.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1980**, *17*, 801.
55. Asherson J. L., Bilgic O., Young D. W.: <http://pubs.rsc.org> | doi:10.1039/P19800000522. [Online] 1980.
56. Iaroshenko V. O., et al.: *Tetrahedron Lett.*, **2011**, *52*, 373.
57. Wu J., Wang X.: *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, *4*, 1348.
58. Bandyopadhyay Ch., Sur K. R., Patra R., Sen A.: *Tetrahedron.*, **2000**, *56*, 3583.
59. Zhuang Q., Zhou D., Tu S., Li C., Cao L., Shao Q.: *J. Heterocycl. Chem.*, **2008**, *45*, 831.
60. Martínez R., Cortés E., Toscano R. A., Alfaro L. J.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1990**, *27*, 1273.
61. Beccalli E. M., et al.: *Tetrahedron.*, **2005**, *61*, 4957.
62. Kuroki Y., et al.: *Tetrahedron.*, **1994**, *50*, 1063.
63. Gotoh M., Mizui T., Sun B., Hirayama K., Noguchi M.: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1.*, **1995**, 1857.
64. Gautam D. R., et al.: *Tetrahedron Lett.*, **2009**, *50*, 448.
65. Ivanov I. C., Raev L. D.: *Arch. Pharm. (Weinheim).*, **1995**, *328*, 53.
66. Iaroshenko V. O., et al.: *Tetrahedron.*, **2011**, *67*, 7946.
67. Mohamed H. M., Abd EL-Wahab A. H. F., EL-Agrody A. M., Bedair A. H., Eid F. A., Khafagy M. M., Abd-EL-Rehem K. A.: *Beilstein J. Org. Chem.*, **2011**, *7*, 1688.

68. Boutome H., Hartmann H.: *Mon. Chem.*, **1997**, 128, 71.
69. Ried W., Nyiondi-Bonguen E.: *Liebigs. Ann. Chem.*, **1973**, 1, 1.
70. Boger D. L., Nakahara S.: *J. Org. Chem.*, **1991**, 56, 880.
71. Sakurai A., Midorikawa H.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1970**, 43, 2925.
72. Shchepin V. V., Fotin D. V.: *Chem. Heterocycl. Comp.*, **2002**, 38, 1430.
73. Shchepin V. V., Fotin D. V., Fotin V. V., Vakhrin M. I.: *Russ. J. Org. Chem.*, **2004**, 40, 892.
74. Shchepin V. V., Fotin D. V., Vakhrin M. I., Shurov S. N.: *Russ. J. Gen. Chem.*, **2004**, 74, 1406.
75. Shchepin V. V., Kirillov N. F., Vakhrin M. I., Bayanova O. B., Shurov S. N., Silaichev P. S.: *Russ. J. Gen. Chem.*, **2006**, 76, 1146.
76. Shchepin V. V., Kirillov N. F., Vakhrin M. I., Bayanova O. B., Shurov S. N.: *Russ. J. Org. Chem.*, **2007**, 43, 1545.
77. Lenz G. R.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1979**, 16, 433.
78. Jadhav V. B., Nayak S. K., Row T. N. G., Kulkarni M. V.: *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, 45, 3575.
79. Pavé G., et al.: *Synlett.*, **2003**, 987.
80. Bonsignore L., Loy G.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1998**, 35, 117.
81. Kudale A. A., Kendall J., Miller D. O., Collins J. L., Bodwell G. J.: *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 8437.
82. Majumdar K. C., et al.: *Synthesis.*, **2007**, 3647.
83. Prasad K. R., Darbarwar M.: *Synth. Commun.*, **1992**, 22, 2479.
84. Prasad K. R., Darbarwar M.: *Org. Prep. Proced. Int.*, **1995**, 27, 547.
85. Minami T., et al.: *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, 167.
86. Strakova I., Petrova M., Belyakov S., Strakovs A.: *Chem. Heterocycl. Compods.*, **2007**, 43, 793.
87. Bruno O., et al.: *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 121.
88. Beccalli E. M., et al.: *Tetrahedron.*, **2005**, 61, 4957.
89. El-Deen I. M., Ibrahim H. K.: *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.*, **2000**, 160, 241.

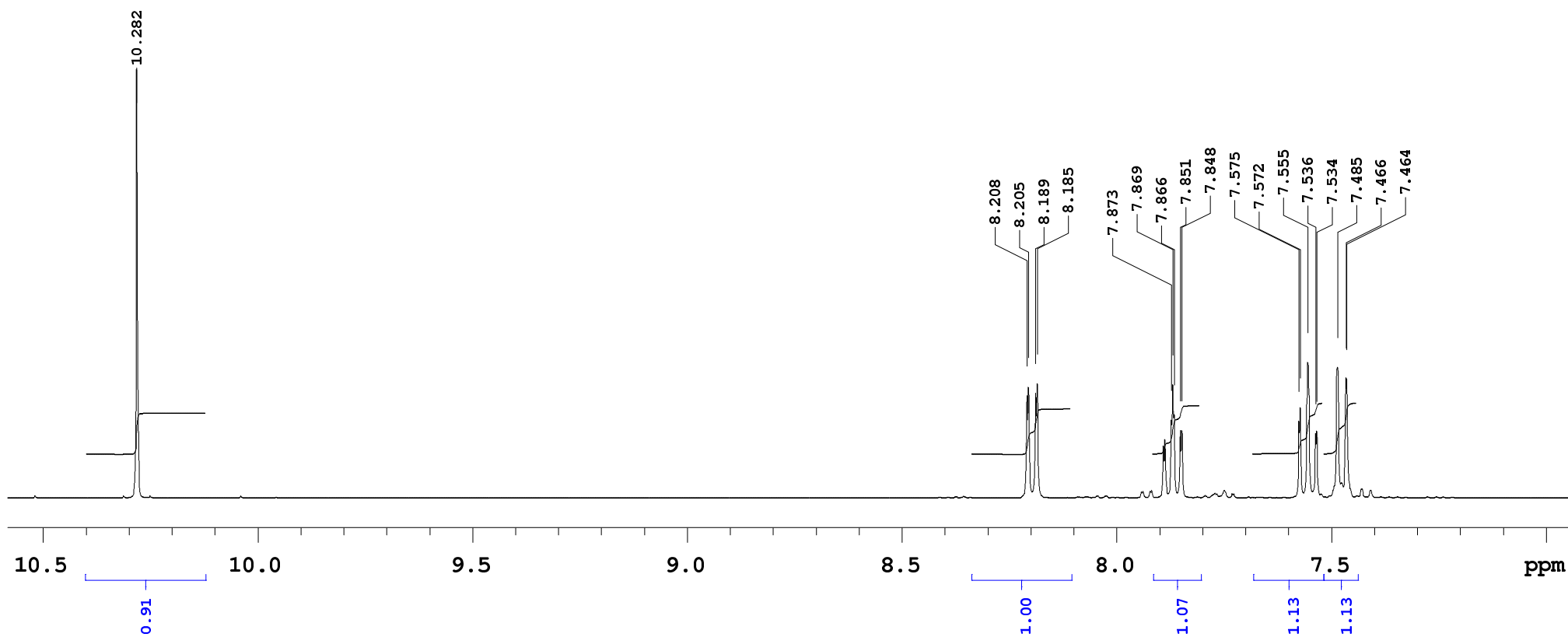
90. Kidwai M., Sapra P.: *Synth. Commun.*, **2002**, 32, 1639.
91. Kidwai M., Saxena S., Mohan R.: *Russ. J. Organ. Chem.*, **2006**, 42, 52.
92. Kotharkar S. A., Shinde D. B.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, 6181.
93. Newman M. S., Perry C. Y.: *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 116.
94. Stunić Z., Trkovnik M., Laćan M., Janković R.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1981**, 18, 511.
95. Fajgelj S., Stanovnik B., Tišler M.: *J. Heterocycl. Chem.*, **1990**, 27, 1447.
96. Xu B., Zhu Q., Cho H.J., Fathi R., Yang Z., Sandrasagra A., Liu Y.: *US2006/223783 A1* 2006.
97. Ivanov I. C., Karagiozov S. K., Simeonov M. F.: *Liebigs Ann. Chem.*, **1992**, 203.
98. Steinfuehrer T., Hantschmann A., Pietsch M., Weissenfels M.: *Liebigs Ann. Chem.*, **1992**, 1, 23.
99. Beccalli E. M., Contini A. C., Trimarco P.: *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 3447.
100. Mulwad V. V., Hegde A. S.: *Indian J. Chem. Sect B-Org. Chem. Incl. Med. Chem.*, **2009**, 48, 1558.

7. Seznam použitých symbolů a zkratek

ACN	acetonitril
AIBN	azobisisobutyronitril
APCI	chemická ionizace za atmosferického tlaku (atmospheric pressure chemical ionization)
CSA	kyselina kafrsulfonová
DCE	dichlorethan
DCM	dichlormethan
DCM	dichlormethan
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzochinon
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
DPNI	difenylnitrimin
ESI	ionizace elektrosprejem (electrospray ionization)
GCMS	plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high performance liquid chromatography)
LCMS	kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií
m-CPBA	3-chloroperoxybenzoovou kyselinou (meta-chloroperoxybenzoic acid)
MS	hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická rezonance
TBAB	tetrabutylamonium bromid
TFA	trifluoroctová kyselina
TFAA	anhydrid kyseliny trifluoroctové
THF	tetrahydrofuran
TLC	tenkovrstvá chromatografie (Thin layer chromatography)
TMSCl	trimethylsilyl chlorid

8. Přílohy

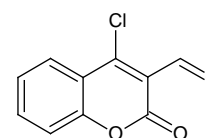
- Příloha 1: 4-chloro-3-formylkumarin (**II**) ^1H NMR
- Příloha 2: 4-chloro-3-formylkumarin (**II**) ^{13}C NMR
- Příloha 3: 4-amino-3-formylkumarin (**III**) MS
- Příloha 4: 4-amino-3-formylkumarin (**III**) ^1H NMR
- Příloha 5: 4-amino-3-formylkumarin (**III**) ^{13}C NMR
- Příloha 6: 4-amino-3-oxazolidin-2-yl-chromen-2-on (**IV**) MS
- Příloha 7: 4-amino-3-oxazolidin-2-yl-chromen-2-onu (**IV**) ^1H NMR
- Příloha 8: 4-amino-3-oxazolidin-2-yl-chromen-2-onu (**IV**) ^{13}C NMR
- Příloha 9: 4-amino-3-formylkumarin (**III**) MS
- Příloha 10: 4-chloro-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**IX**) MS
- Příloha 11: 4-chloro-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**IX**) ^1H NMR
- Příloha 12: 4-chloro-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**IX**) ^{13}C NMR
- Příloha 13: 4-amino-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**VII**) MS
- Příloha 14: 4-amino-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**VII**) ^1H NMR
- Příloha 15: 4-amino-3-(hydroxyimino)methylkumarin (**VII**) ^{13}C NMR
- Příloha 16: Polykondenzovaný derivát (**X**) MS
- Příloha 17: Polykondenzovaný derivát (**X**) ^1H NMR
- Příloha 18: Polykondenzovaný derivát (**X**) ^{13}C NMR



PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
256 repetitions

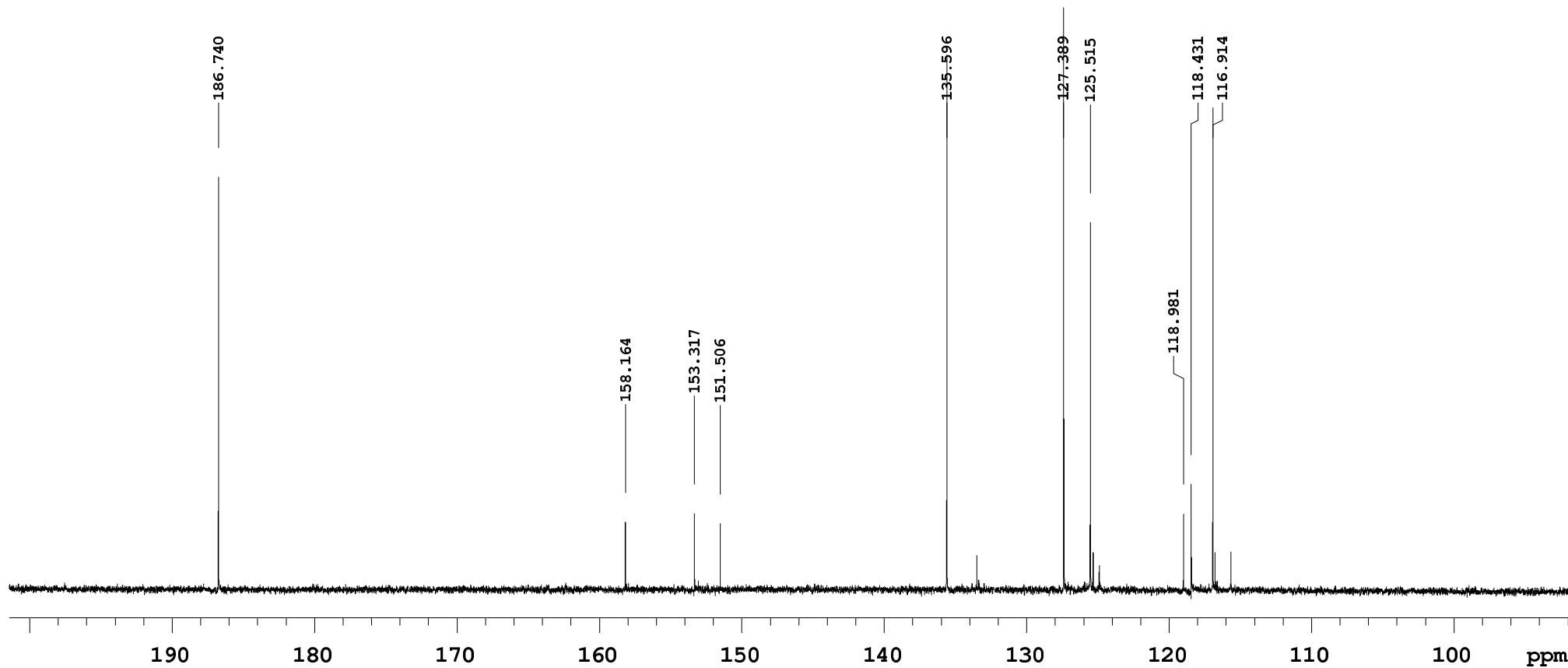
OBSERVE H1, 399.8999422

DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 15 minutes



MB2K, chlorokumarin
Analyst: Hradilova

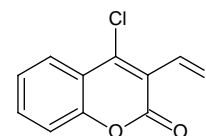
Solvent: acetone
Ambient temperature
Sample #8, Operator: vnmr1
File: MB2K_aceton_PROTON_01
VNMRS-400 "nmr400"



PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.285 sec
Width 25510.2 Hz
5000 repetitions

OBSERVE C13, 100.5549204
DECOUPLE H1, 399.9019417
Power 37 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 3.2 hours



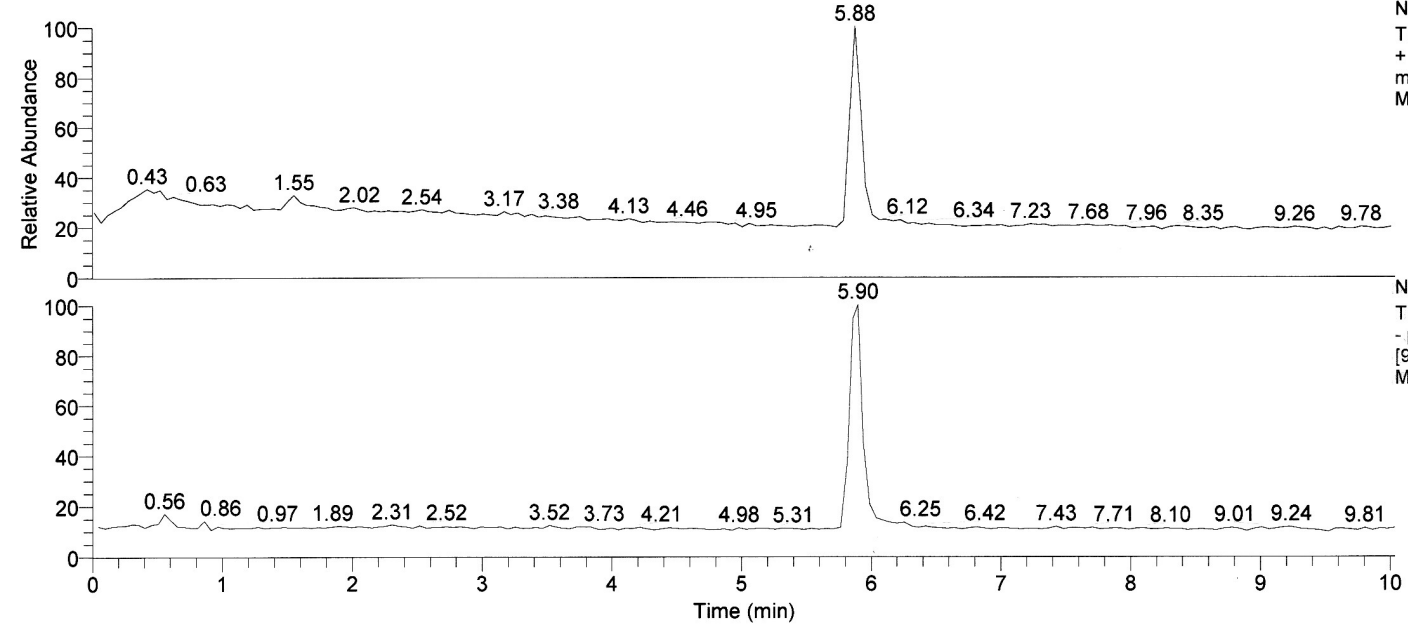
MB2K, chlorkumarin
Analyst: Hradilova

Solvent: acetone
Ambient temperature
Sample #8, Operator: vnmr1
File: MB2K_aceton_CARBON_01
VNMRS-400 "nmr400"

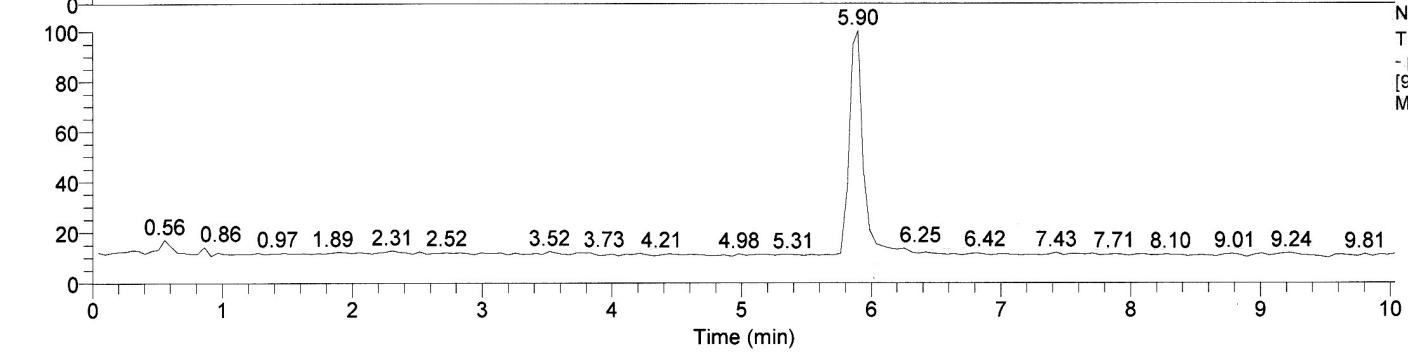
C:\Xcalibur\data\L.Hradilova\NL-164 PK
C:\Xcalibur\methods\LCMS_HESI_LUNAGR1090.meth
21022012.der.

2/21/2012 5:08:50 PM
M.Grepl

RT: 0.00 - 10.03

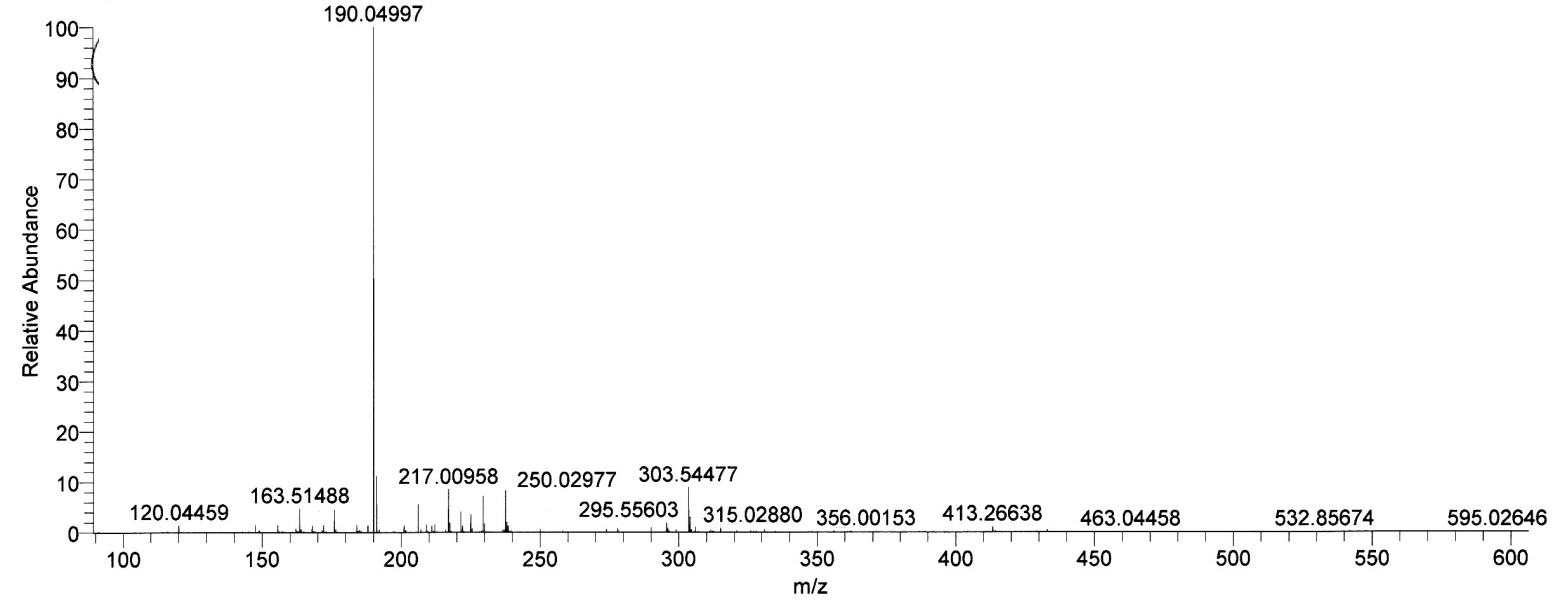


NL: 3.02E7
TIC F: FTMS {1,1}
+ p ESI Full lock
ms [90.00-600.00]
MS NL-164

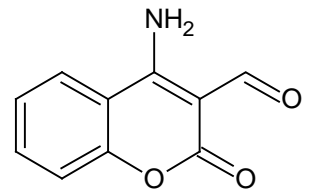
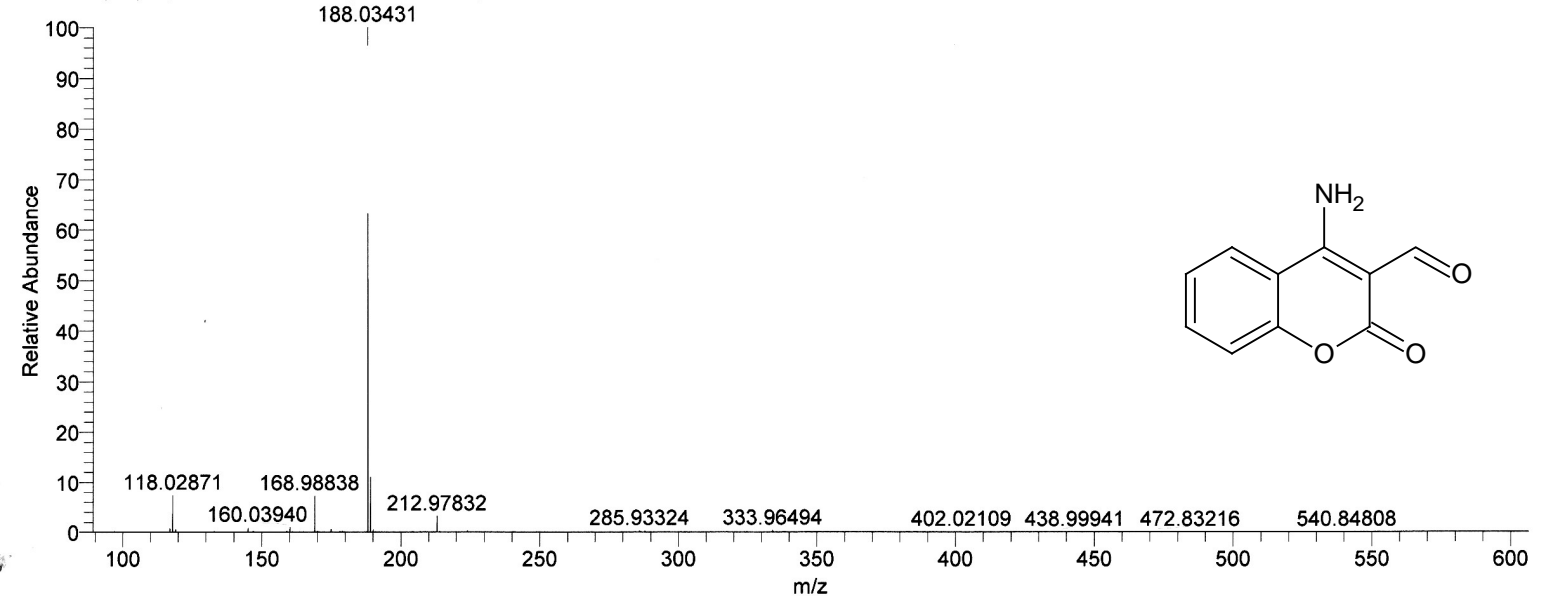


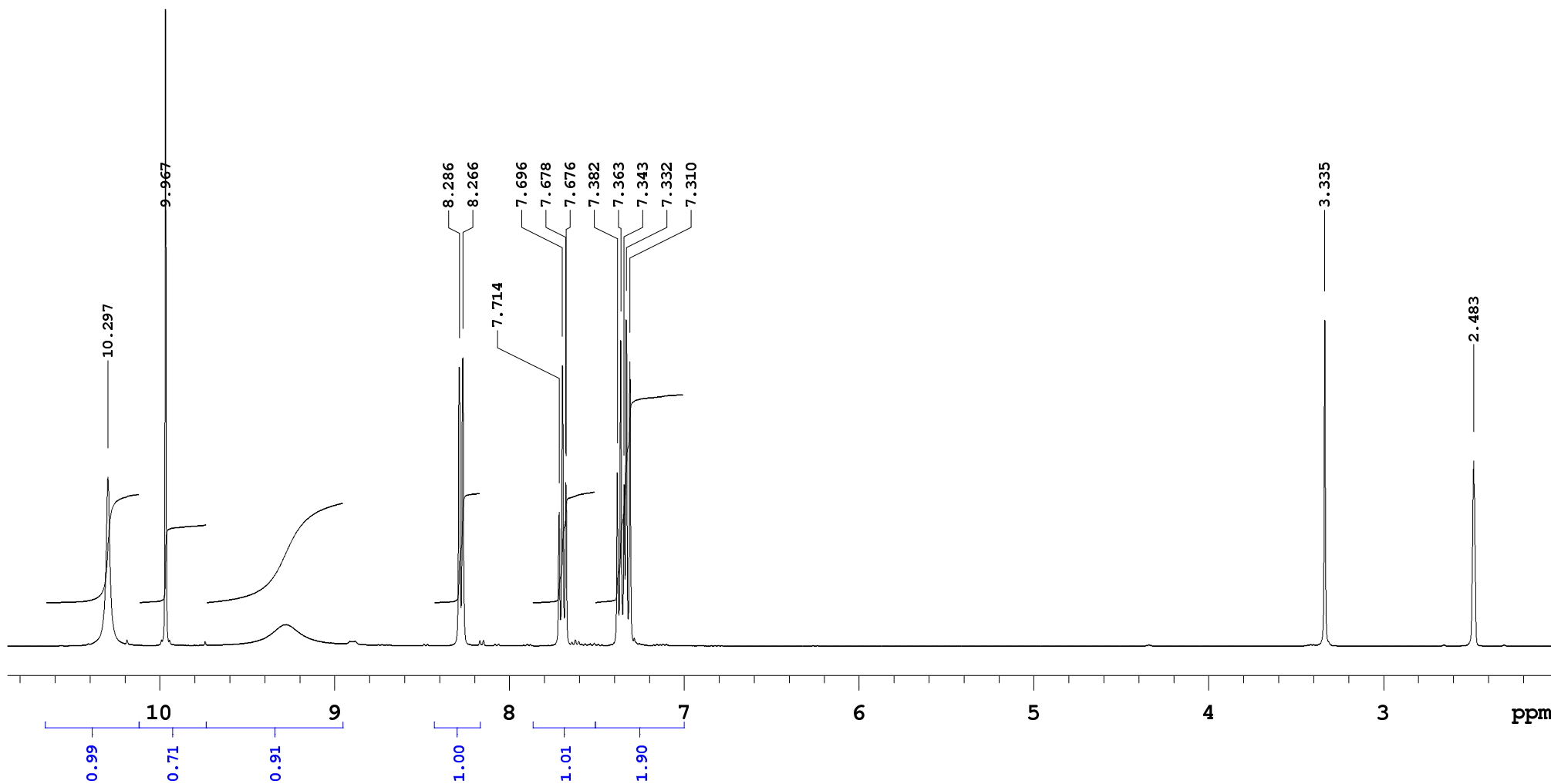
NL: 1.89E7
TIC F: FTMS {1,2}
- p ESI Full lock
[90.00-600.00]
MS NL-164

NL-164 #221-224 RT: 5.84-5.88 AV: 2 SB: 4 5.59-5.68, 6.04-6.15 NL: 6.99E6
T: FTMS {1,1} + p ESI Full lock ms [90.00-600.00]

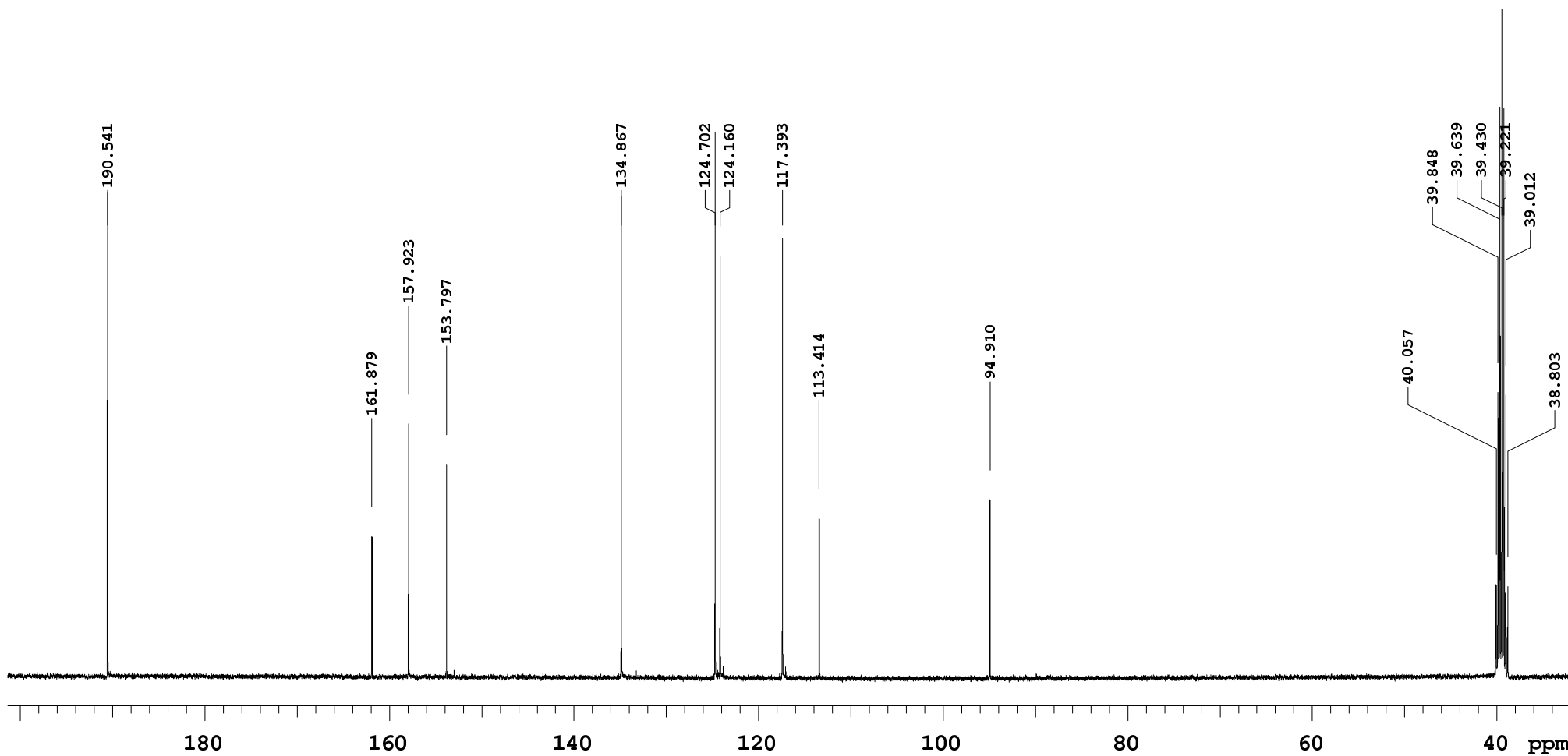


NL-164 #221-226 RT: 5.86-5.94 AV: 3 SB: 5 5.62-5.73, 6.06-6.20 NL: 5.33E6
T: FTMS {1,2} - p ESI Full lock ms [90.00-600.00]





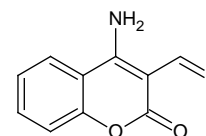
<p>PULSE SEQUENCE Relax. delay 1.000 sec Pulse 45.0 degrees Acq. time 2.556 sec Width 6410.3 Hz 64 repetitions</p>	<p>OBSERVE H1, 399.8997662</p>	<p>DATA PROCESSING FT size 32768 Total time 3 minutes</p>		<p>MB8 amino kumarin Analyst: Hradilova</p> <hr/> <p>Solvent: dms0 Ambient temperature Sample #10, Operator: vnmr1 File: MB8_PROTON_01 VNMRS-400 "nmr400"</p>
--	---------------------------------------	--	--	---



PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.285 sec
 Width 25510.2 Hz
 2000 repetitions

OBSERVE C13, 100.5549276
 DECOUPLE H1, 399.9017657
 Power 37 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING
 Line broadening 0.5 Hz
 FT size 65536
 Total time 76 minutes



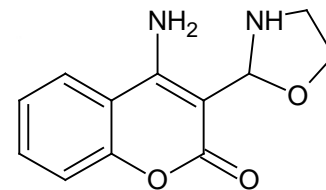
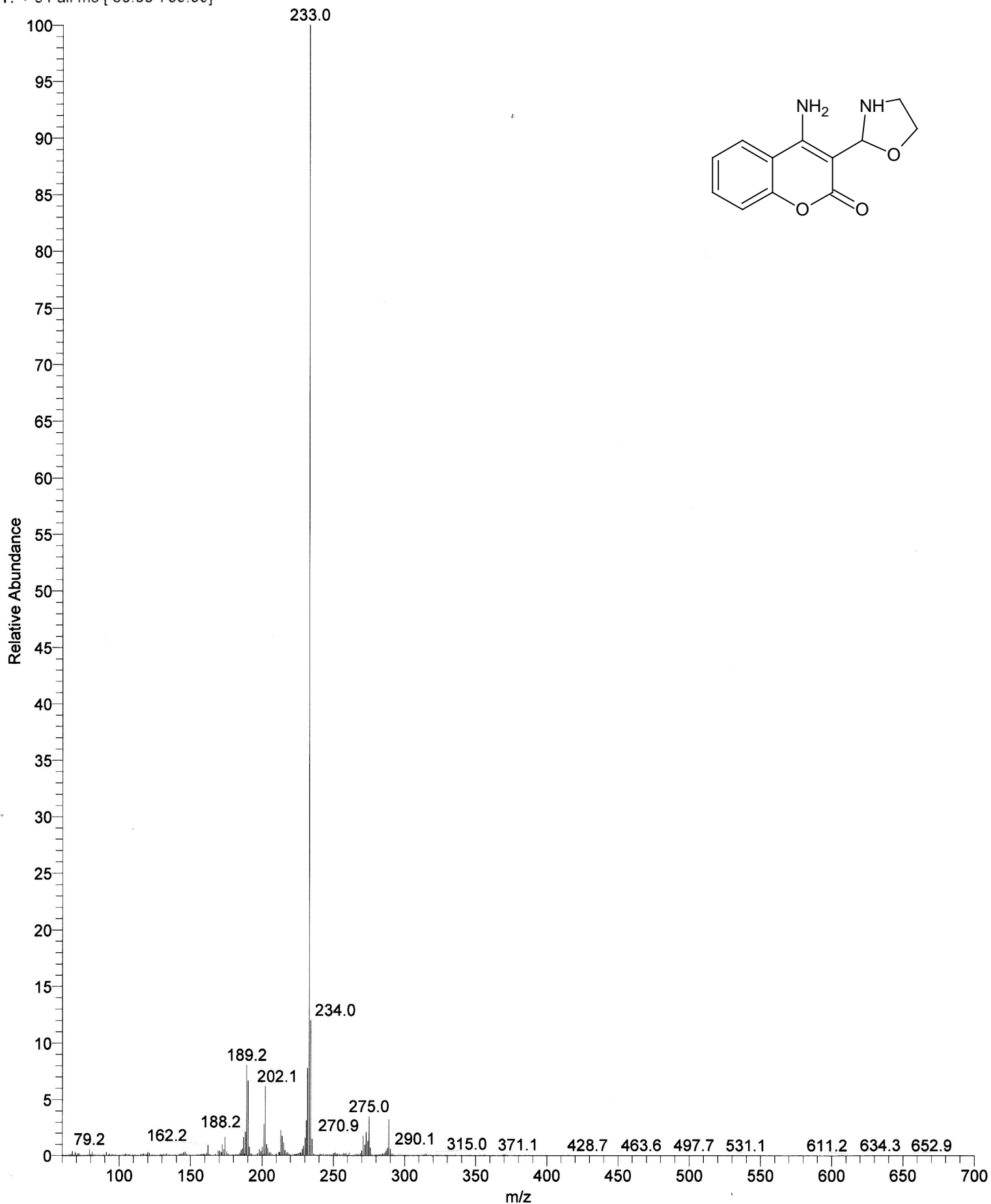
MB8 amino kumarin
 Analyst: Hradilova

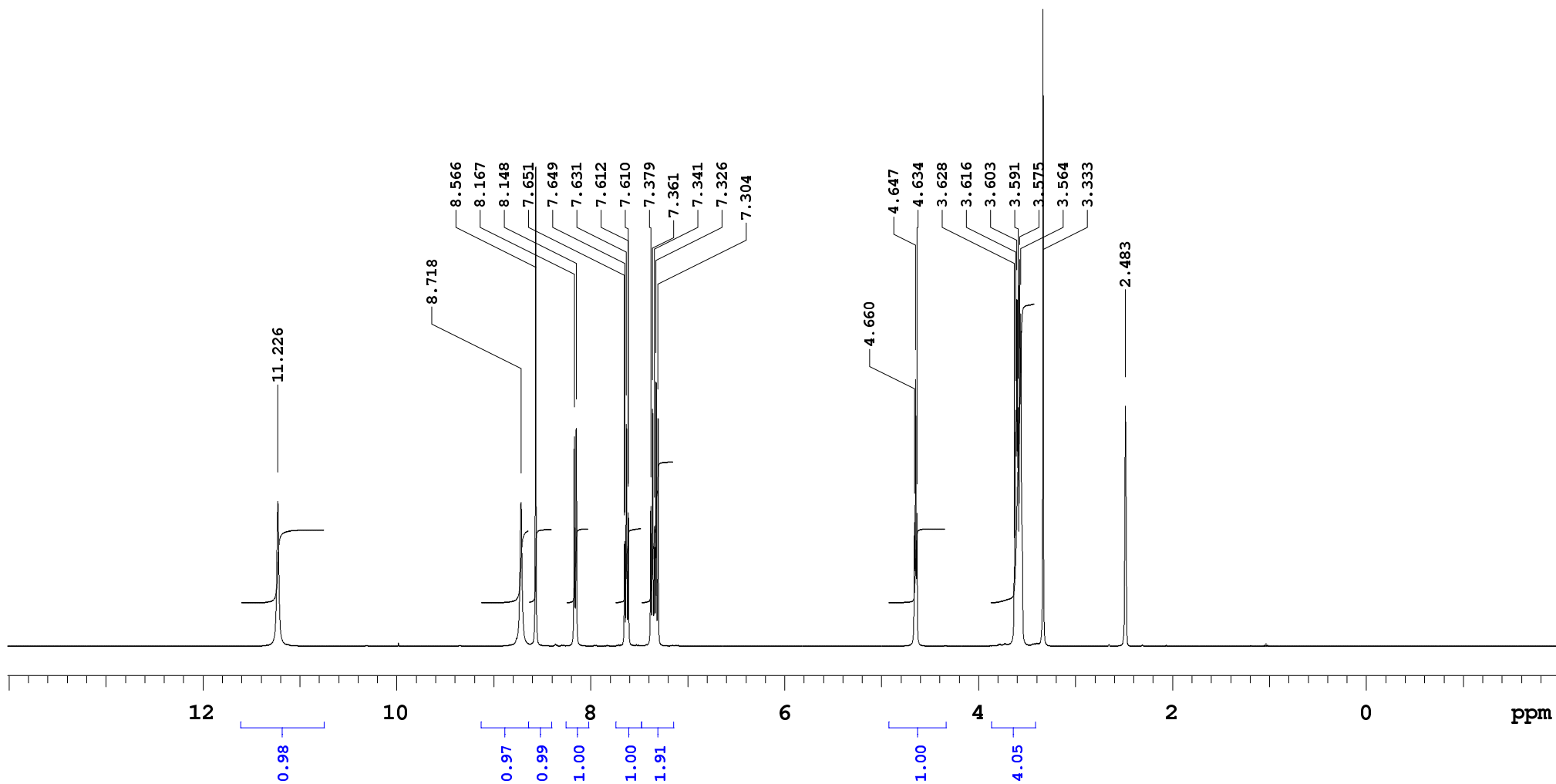
Solvent: dms0
 Ambient temperature
 Sample #10, Operator: vnmr1
 File: MB8_CARBON_01
 VNMRS-400 "nmr400"

Sample comment: 9K
File name: C:\Xcalibur...\DEP\UNIVERZITA\MAR-IB-01
Instrument method: C:\Xcalibur\methods\DEP-CIMS100_IB.meth
Operator: M.Grepl
Acq. time: 11/07/2011 08:19:43 PM

GCMS PolarisQ

MAR-IB-01 #95-111 RT: 0.89-1.04 AV: 17 NL: 5.65E5
T: + c Full ms [60.00-700.00]

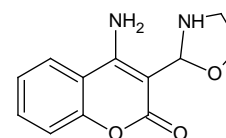




PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.556 sec
 Width 6410.3 Hz
 256 repetitions

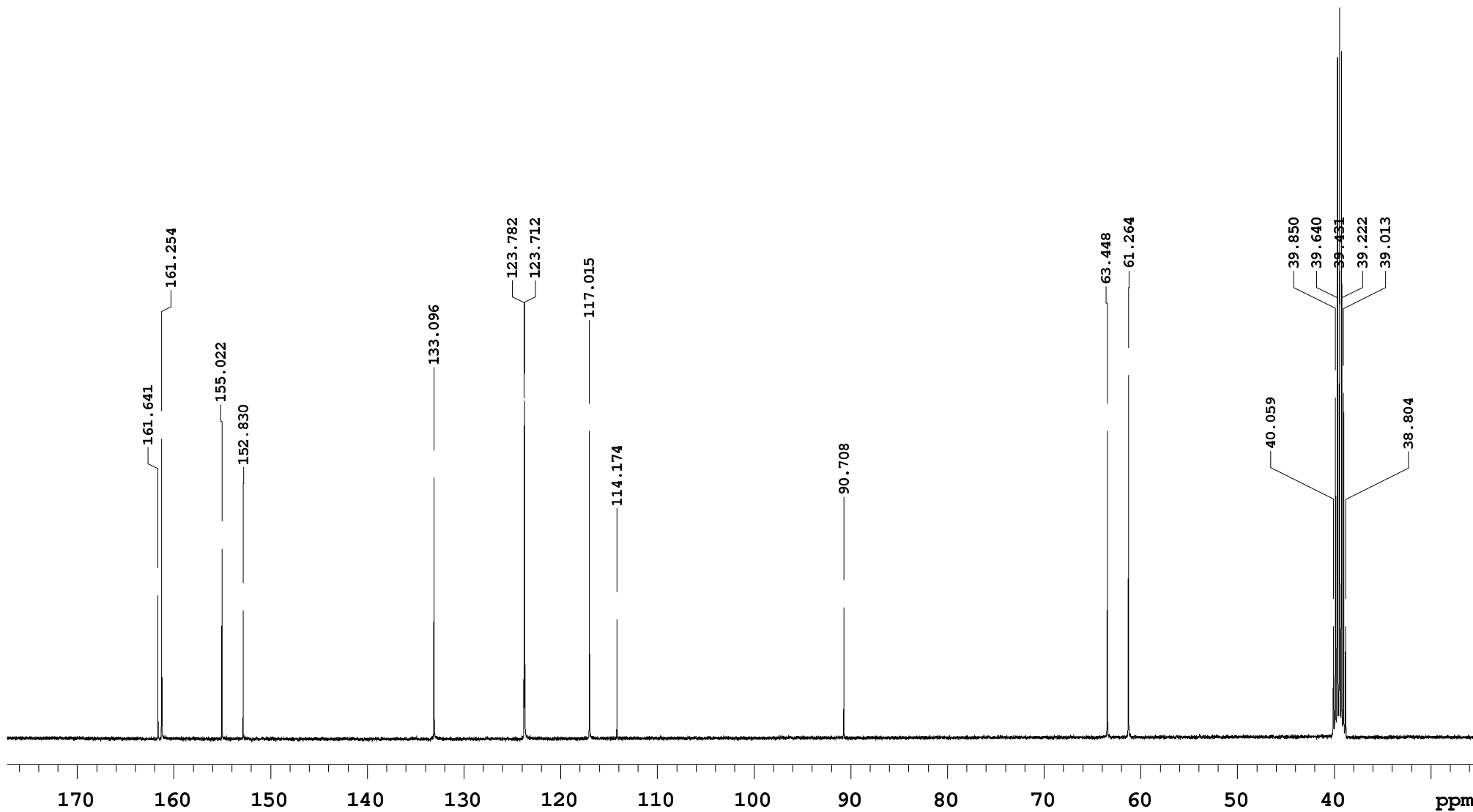
OBSERVE H1, 399.8997662

DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 15 minutes



MB_9bK
 Analyst: Hradilova

Solvent: dmsd
 Ambient temperature
 Sample #1, Operator: vnmr1
 File: MB_9bK_PROTON_01
 VNMRS-400 "nmr400"



PULSE SEQUENCE

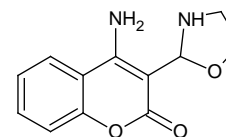
Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.285 sec
 Width 25510.2 Hz
 5000 repetitions

OBSERVE C13, 100.5549282

DECOUPLE H1, 399.9017657
 Power 37 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz
 FT size 65536
 Total time 3.2 hours



MB_9bK

Analyst: Hradilova

Solvent: dmsc

Ambient temperature

Sample #1, Operator: vnmr1

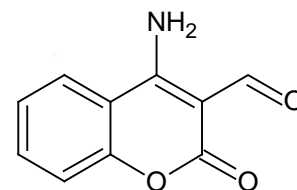
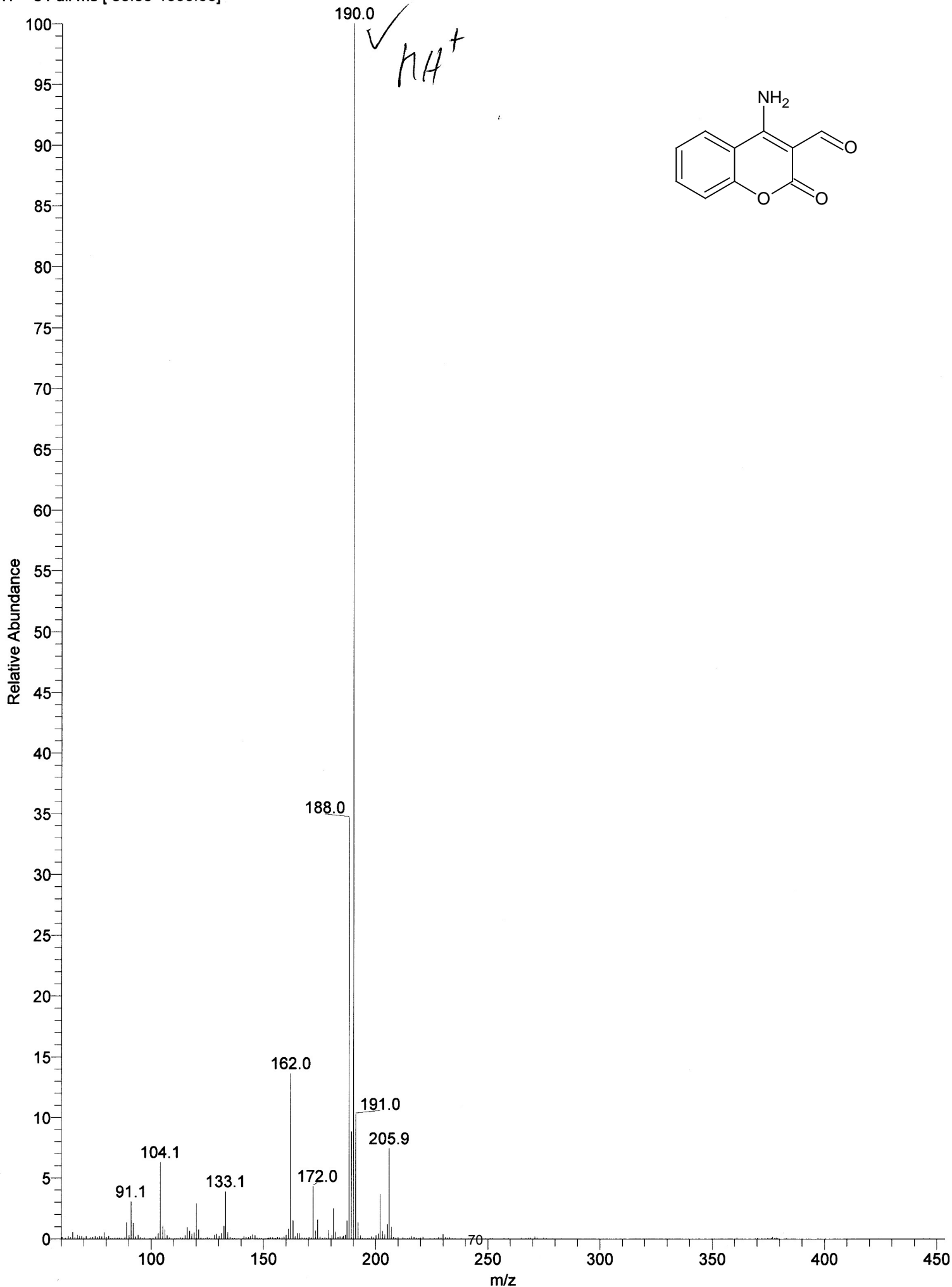
File: MB_9bK_CARBON_01

VNMR5-400 "nmr400"

Sample comment: Maruska, s. 10K
File name: C:\Xcalibur\data\DEP\UNIVERZITA\IB-NL-76
Instrument method: C:\Xcalibur\methods\DEP-CIMS_IB.meth
Operator: B.Dvorakova
Acq. time: 04/18/2012 10:35:59 AM

IB-NL-76 #49-59 RT: 0.61-0.73 AV: 11 NL: 8.38E5

T: + c Full ms [60.00-1000.00]

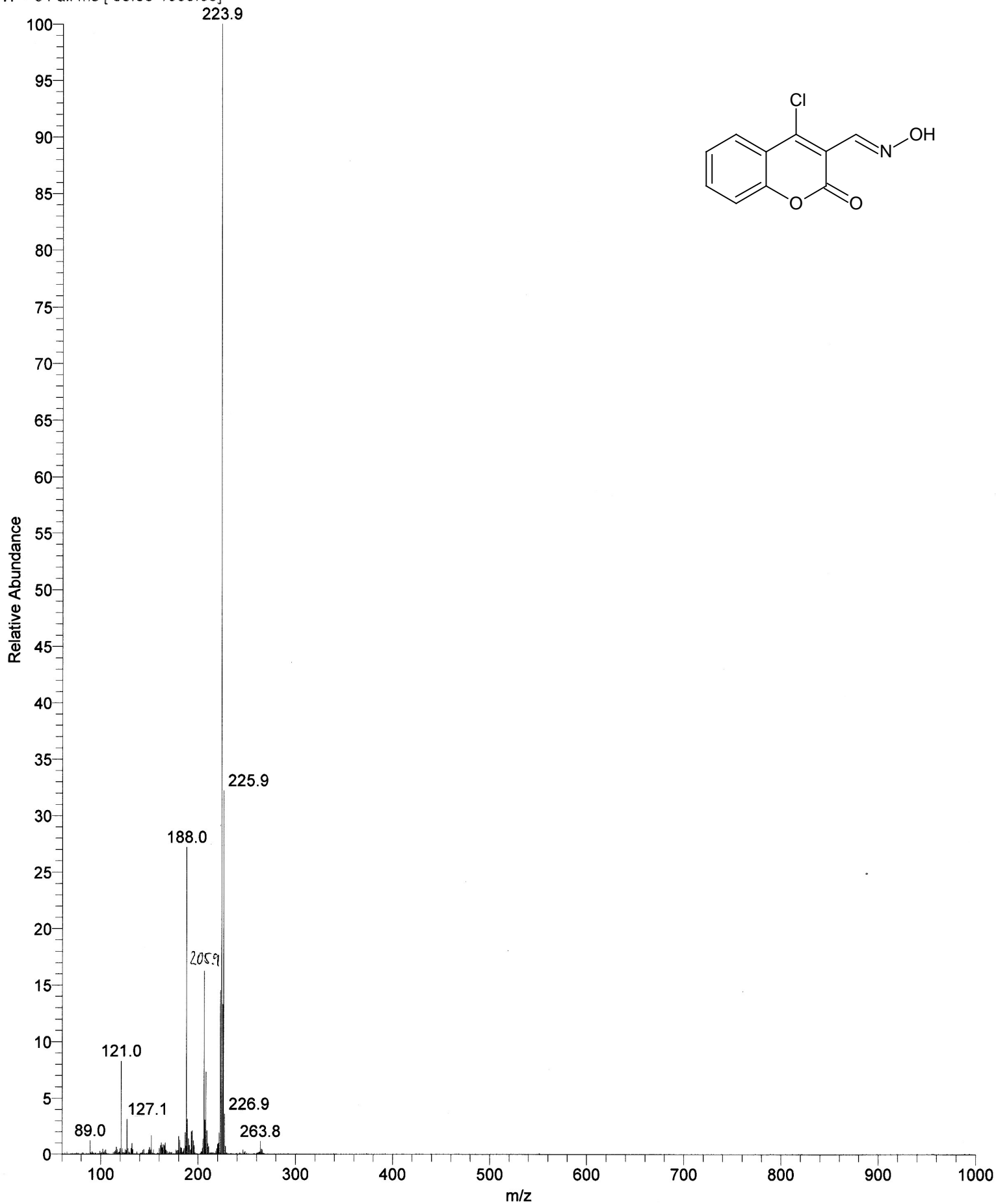


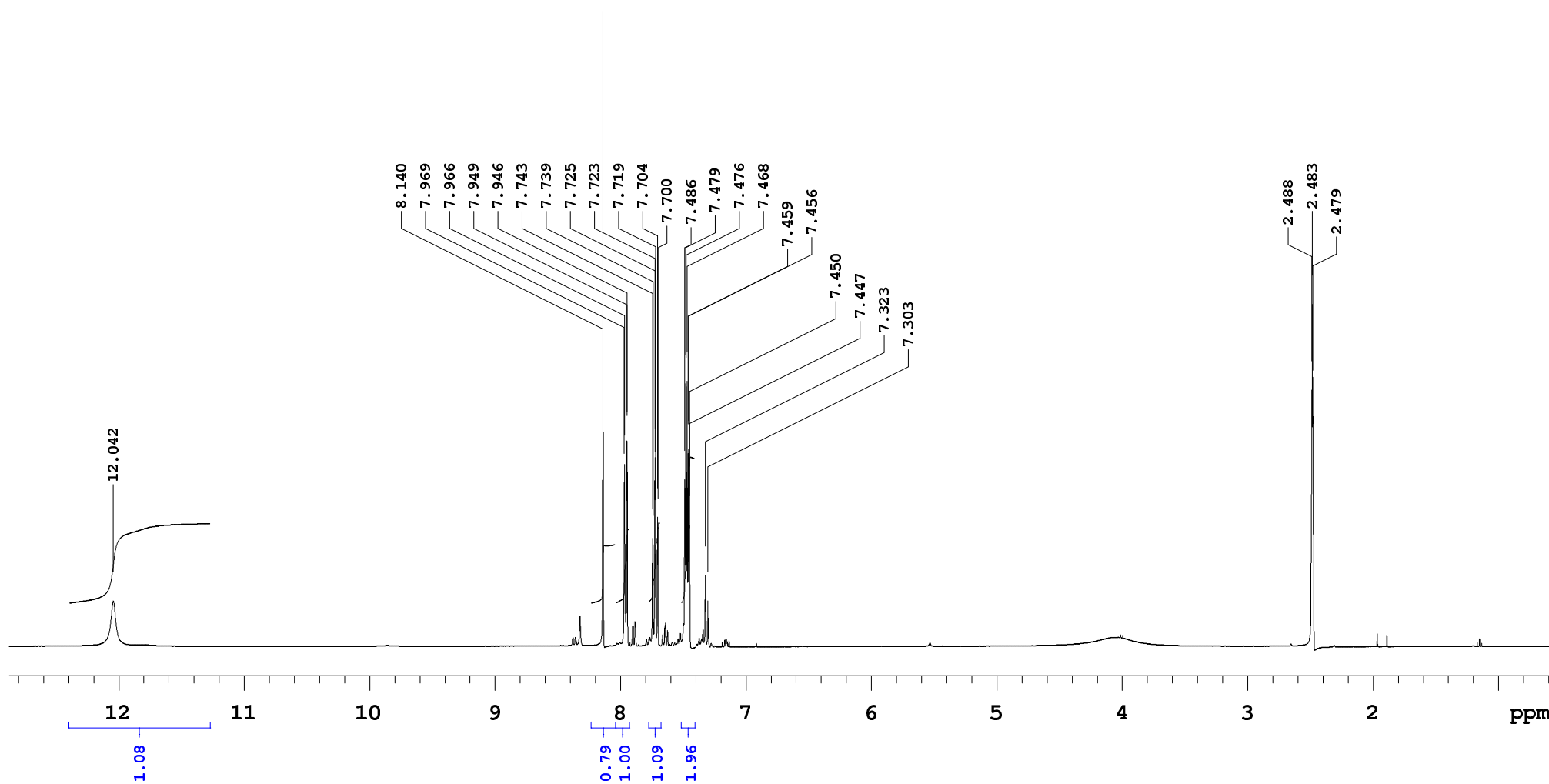
Sample comment: MB 13b1K
File name: C:\Xcalibur\data\DEP\L.Hradilova\Mar-02
Instrument method: C:\Xcalibur\methods\DEP-CIMS_IB.meth
Operator: M.Grepl
Acq. time: 03/01/2012 09:10:08 AM

GCMS PolarisQ

Mar-02 #54-61 RT: 0.67-0.76 AV: 8 SB: 27 0.25-0.41, 0.97-1.10 NL: 8.64E5

T: + c Full ms [60.00-1000.00]

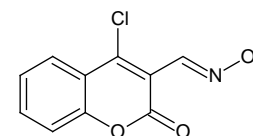




PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 2.556 sec
Width 6410.3 Hz
128 repetitions

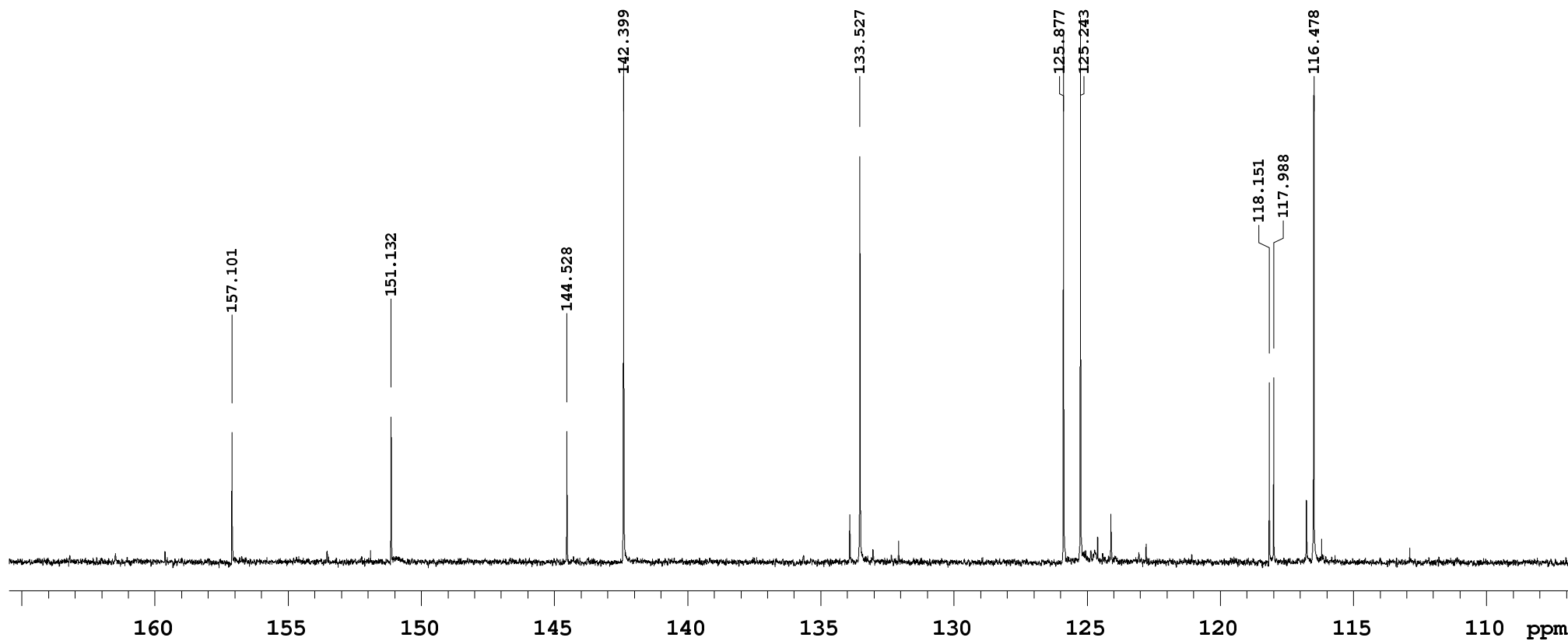
OBSERVE H1, 399.8997662

DATA PROCESSING
FT size 32768
Total time 7 minutes



MB13b 1K
Analyst: Hradilova

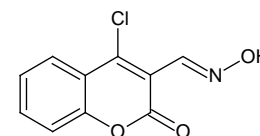
Solvent: dms0
Ambient temperature
Sample #4, Operator: vnmr1
File: MB13b1K_PROTON_01
VNMR5-400 "nmr400"



PULSE SEQUENCE
Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 1.285 sec
Width 25510.2 Hz
5000 repetitions

OBSERVE C13, 100.5549277
DECOUPLE H1, 399.9017657
Power 37 dB
continuously on
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING
Line broadening 0.5 Hz
FT size 65536
Total time 3.2 hours

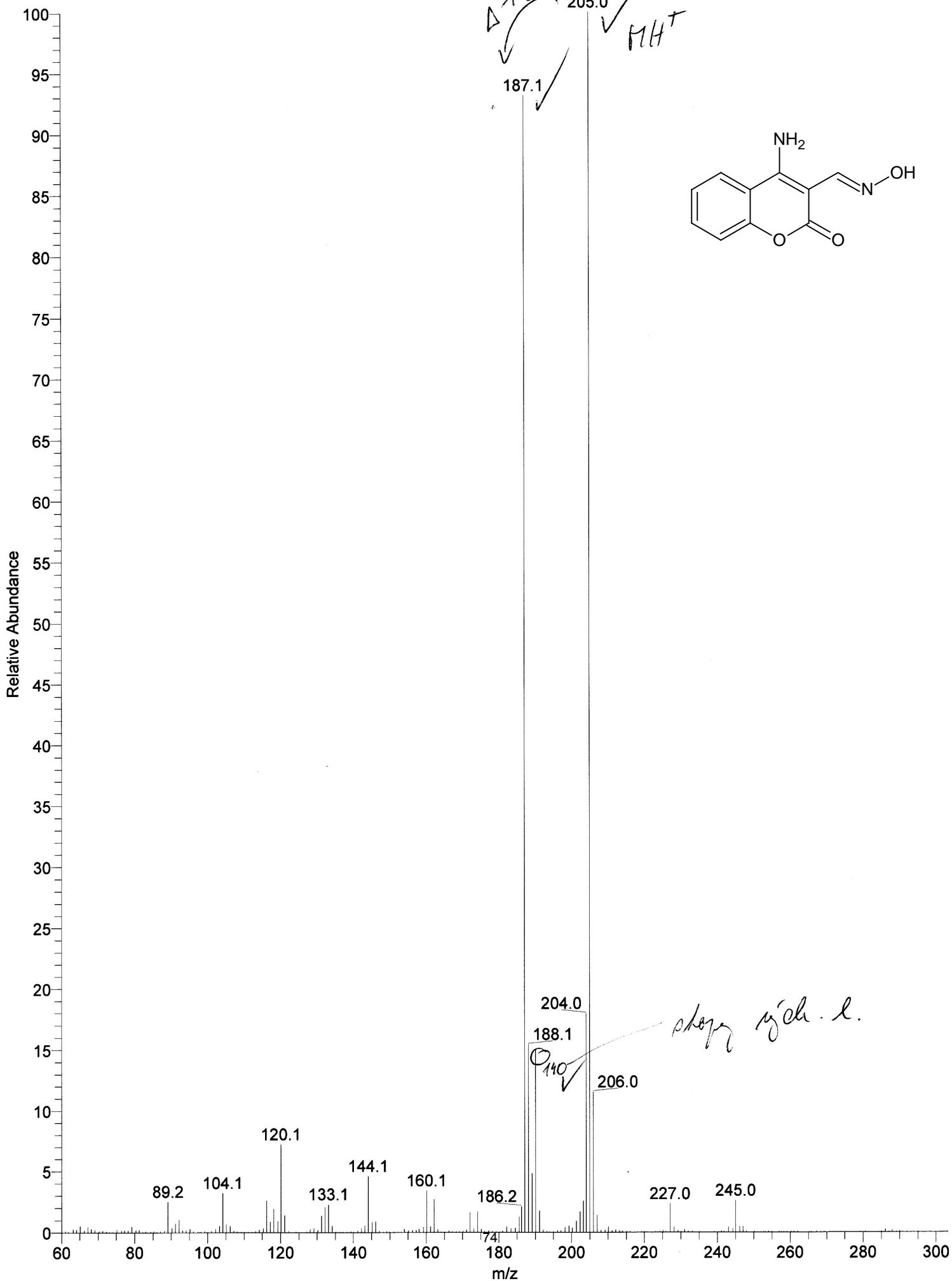


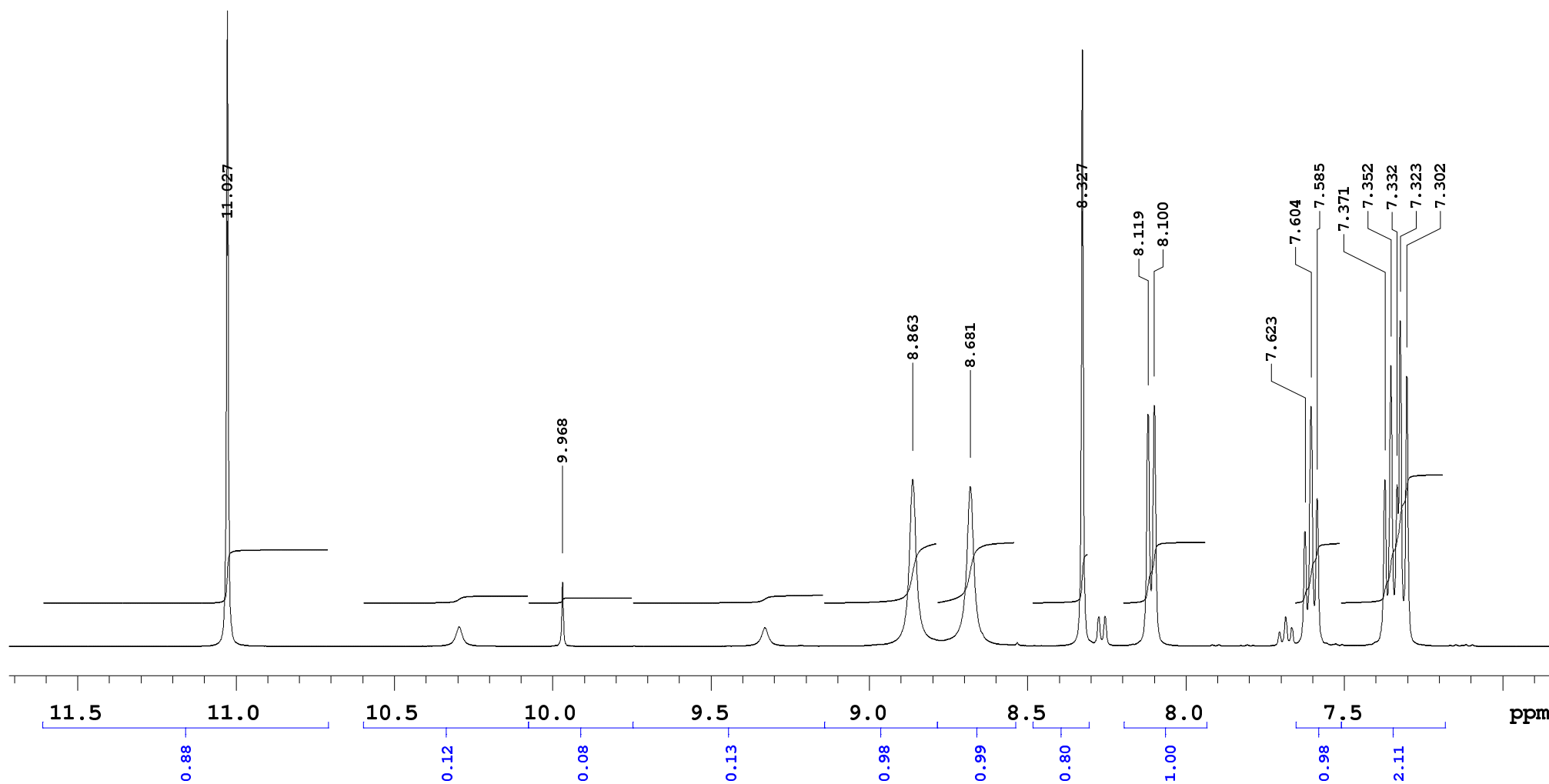
MB13b 1K
Analyst: Hradilova

Solvent: dmsc
Ambient temperature
Sample #4, Operator: vnmr1
File: MB13b1K_CARBON_01
VNMR5-400 "nmr400"

IB-NL-68 #61-74 RT: 0.76-0.91 AV: 14 NL: 5.60E5

T: + c Full ms [60.00-1000.00]

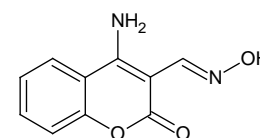




PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.556 sec
 Width 6410.3 Hz
 32 repetitions

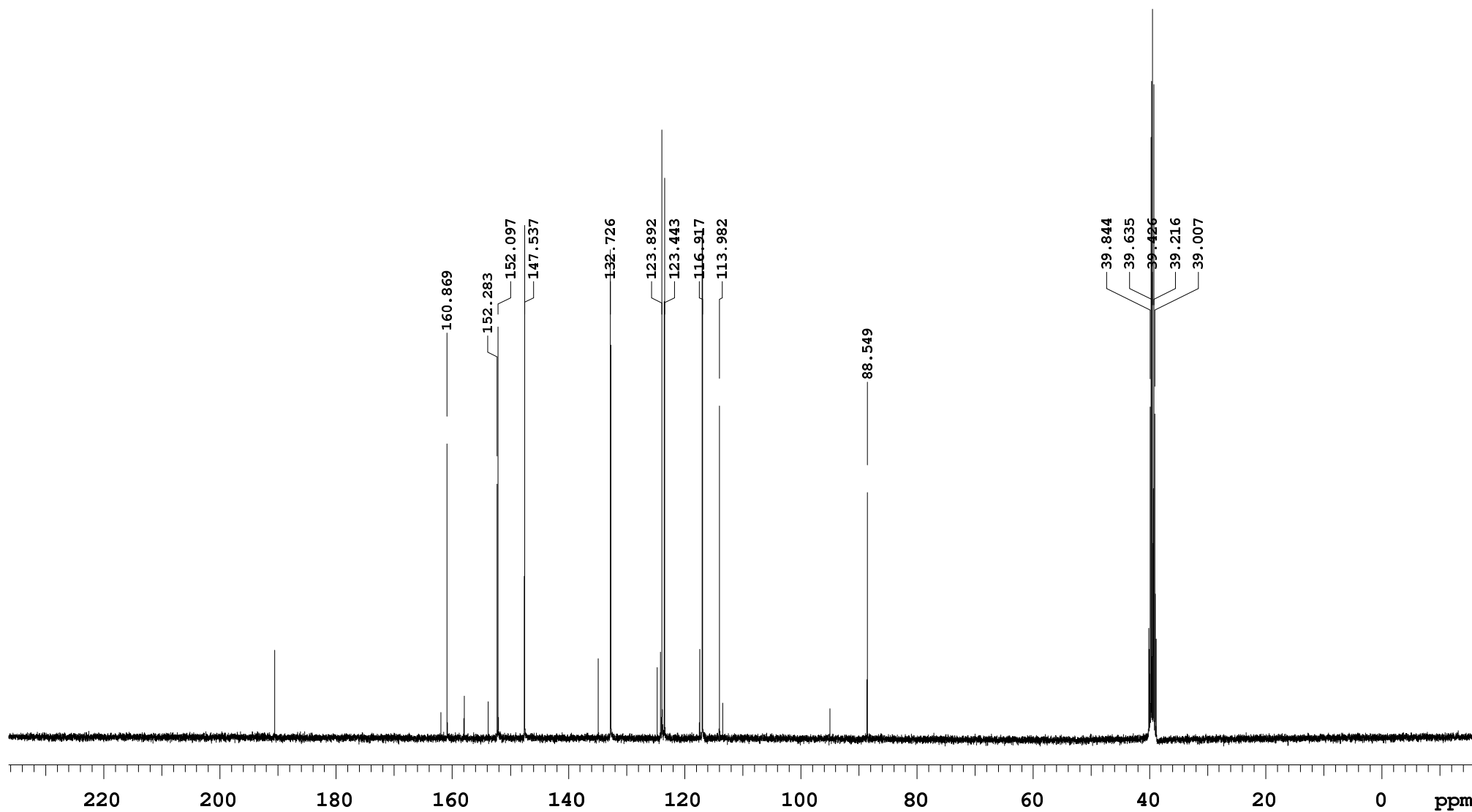
OBSERVE H1, 399.8997662

DATA PROCESSING
 FT size 32768
 Total time 1 minutes



MB13/2
 Analyst: Hradilova

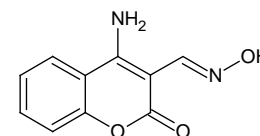
Solvent: dms0
 Ambient temperature
 Sample #5, Operator: vnmr1
 File: MB13_2_PROTON_01
 VNMR5-400 "nmr400"



PULSE SEQUENCE
 Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.285 sec
 Width 25510.2 Hz
 1000 repetitions

OBSERVE C13, 100.5549257
 DECOUPLE H1, 399.9017657
 Power 37 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING
 Line broadening 0.5 Hz
 FT size 65536
 Total time 38 minutes



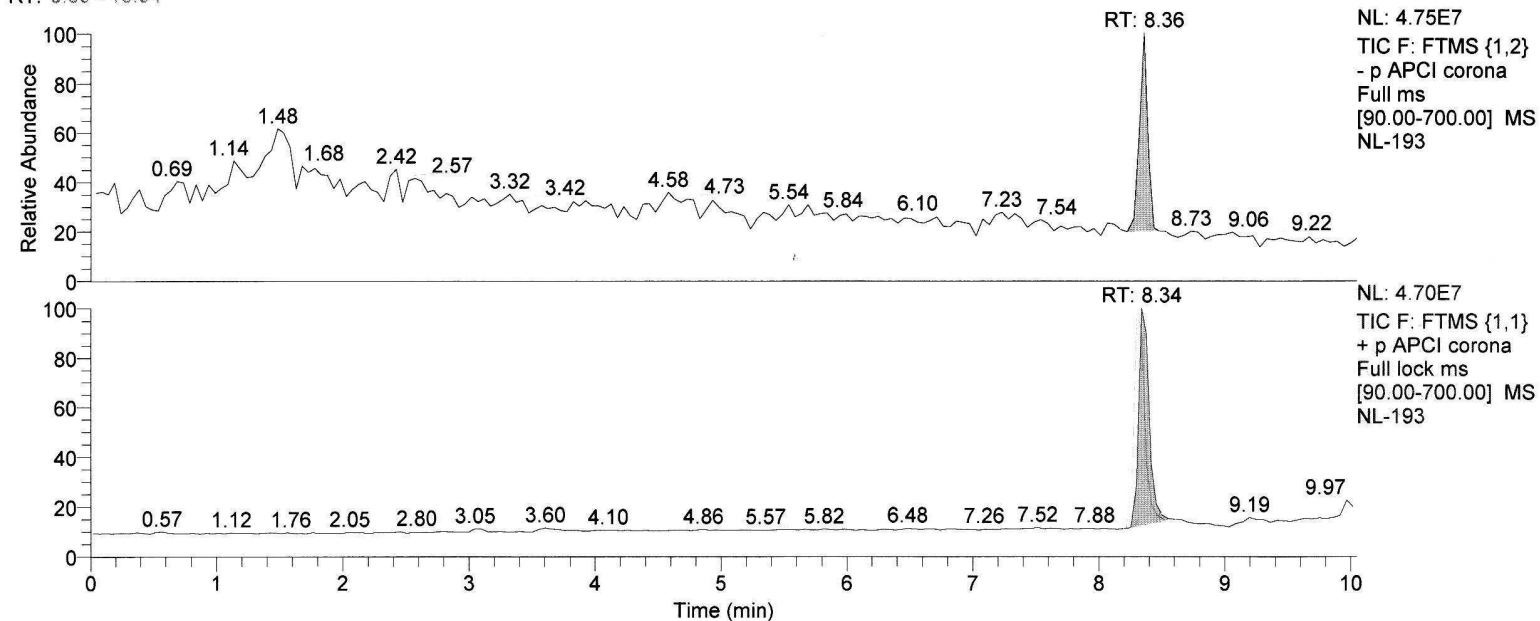
MB13/2
 Analyst: Hradilova

Solvent: dmsc
 Ambient temperature
 Sample #5, Operator: vnmr1
 File: MB13_2_CARBON_01
 VNMR5-400 "nmr400"

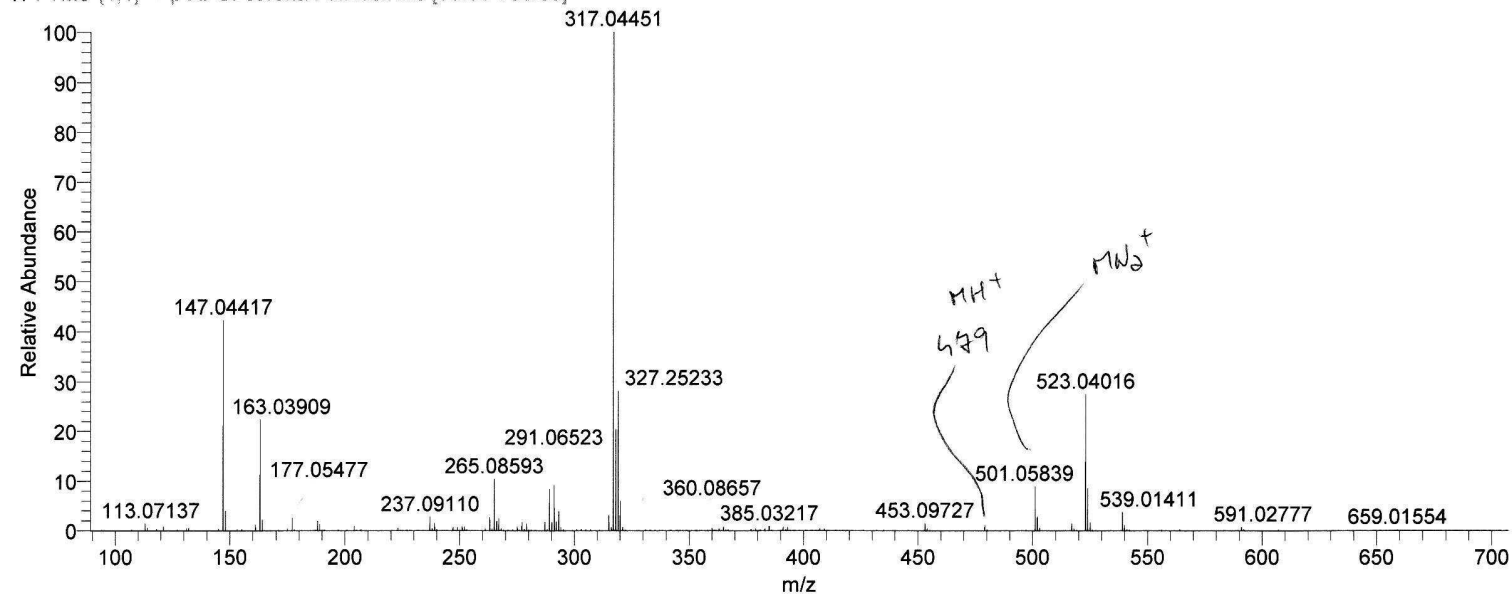
C:\Xcalibur\data\L.Hradilova\NL-193
 C:\Xcalibur\methods\LCMS_APCI_LUNAGR1090.meth
 Maruska M478, 29032012, APCI

3/29/2012 3:25:23 PM
 M.Grepl

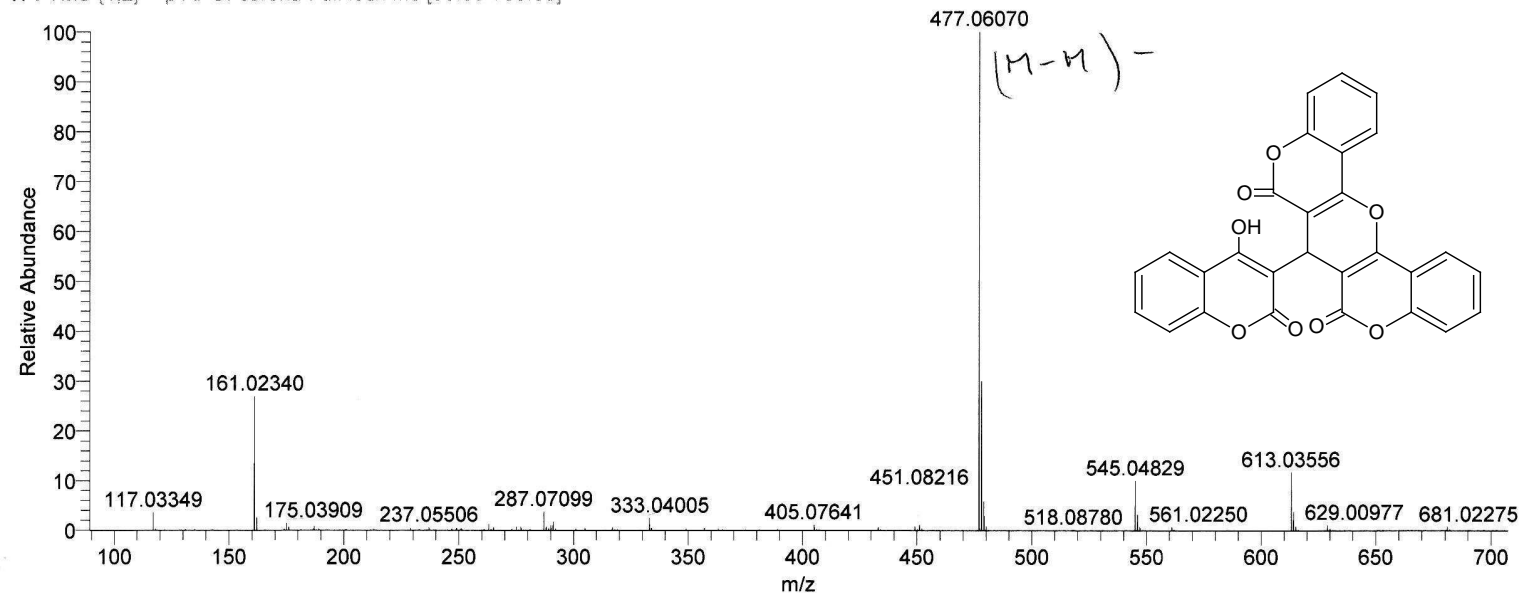
RT: 0.00 - 10.04

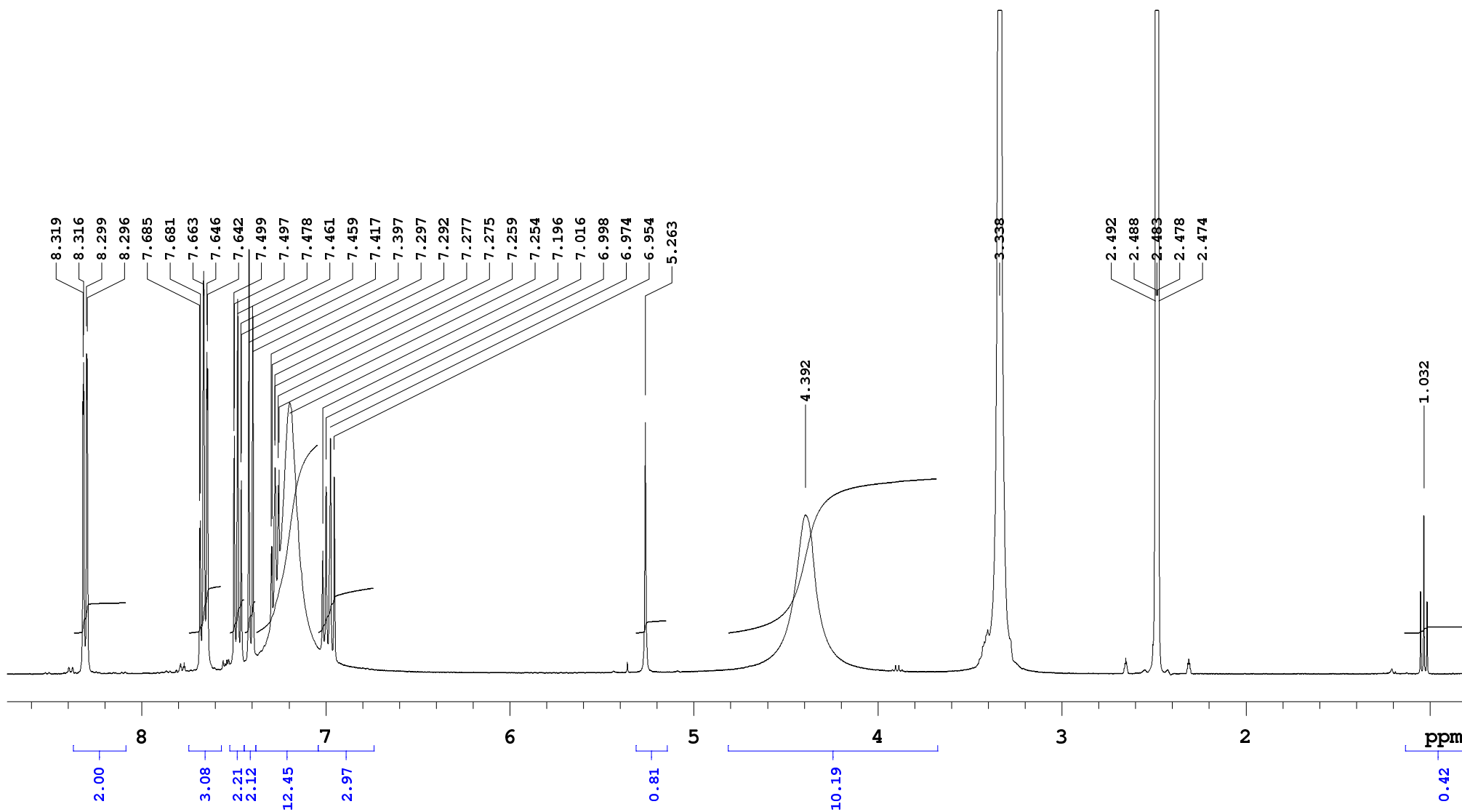


NL-193 #329-335 RT: 8.30-8.41 AV: 4 SB: 7 8.04-8.17, 8.62-8.84 NL: 5.09E6
 T: FTMS {1,1} + p APCI corona Full lock ms [90.00-700.00]



NL-193 #332 RT: 8.36 AV: 1 SB: 8 8.04-8.17, 8.62-8.84 NL: 1.34E7
 T: FTMS {1,2} - p APCI corona Full lock ms [90.00-700.00]





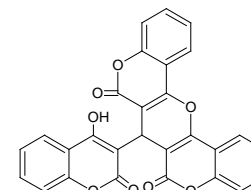
PULSE SEQUENCE

Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 2.556 sec
 Width 6410.3 Hz
 256 repetitions

OBSERVE H1, 399.8997662

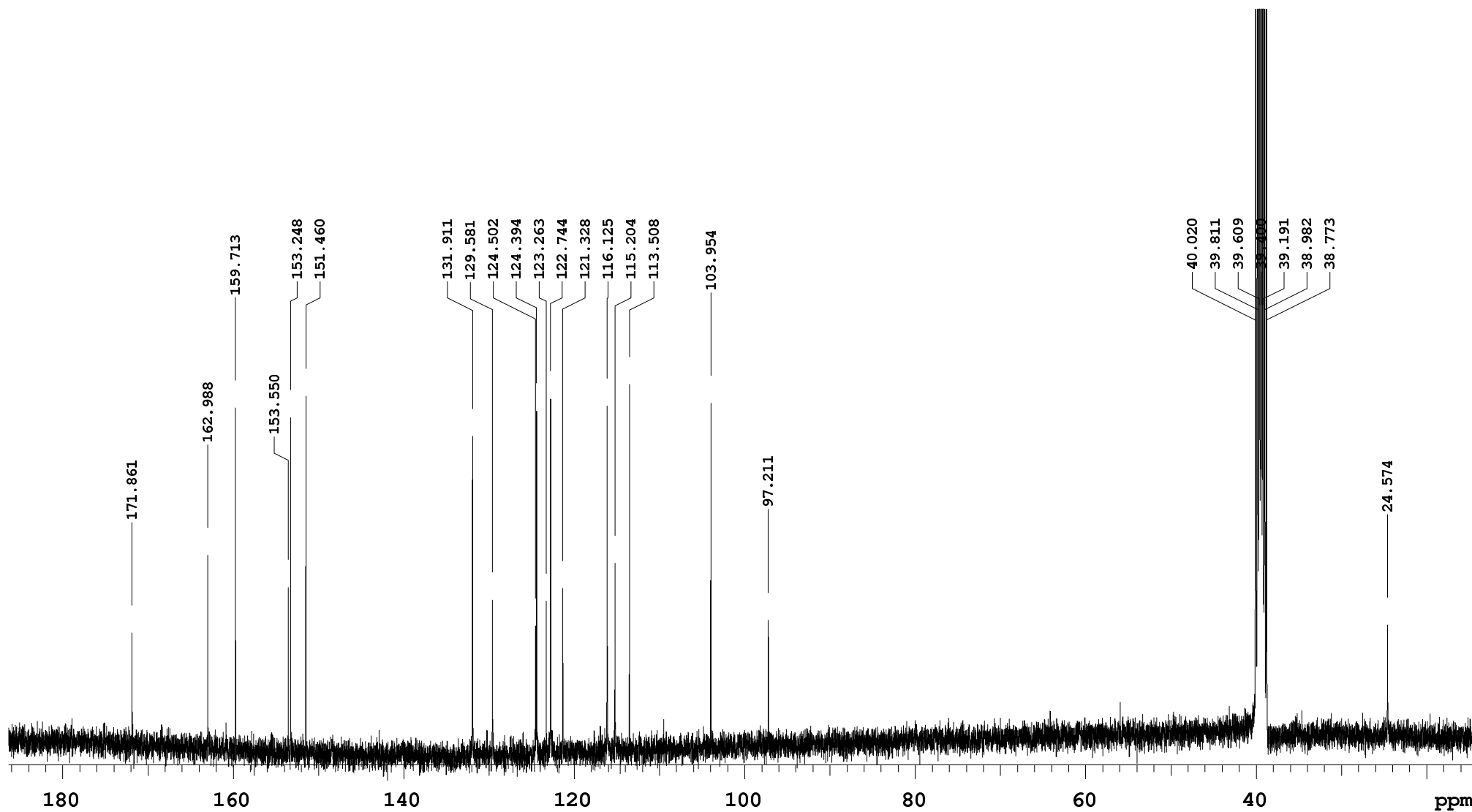
DATA PROCESSING

FT size 32768
 Total time 15 minutes



MB14a/2K (8 mg)
 Analyst: Hradilova

Solvent: dmsc
 Ambient temperature
 Sample #3, Operator: vnmr1
 File: MB14a_2K_PROTON_01
 VNMR5-400 "nmr400"



PULSE SEQUENCE

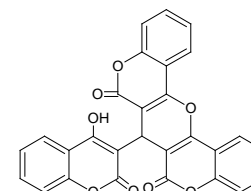
Relax. delay 1.000 sec
 Pulse 45.0 degrees
 Acq. time 1.285 sec
 Width 25510.2 Hz
 10000 repetitions

OBSERVE C13, 100.5549306

DECOUPLE H1, 399.9017657
 Power 37 dB
 continuously on
 WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 0.5 Hz
 FT size 65536
 Total time 6.3 hours



MB14a/2K (8 mg)

Analyst: Hradilova

Solvent: dmsc

Ambient temperature

Sample #3, Operator: vnmr1

File: MB14a_2K_CARBON_01

VNMRS-400 "nmr400"