

Universita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv

CHALKONY A JEJICH ANALOGY JAKO POTENCIÁLNÍ LÉČIVA

disertační práce

studijní program: farmacie
studijní obor: farmaceutická chemie

školitel: doc. RNDr. Jiří Hartl, CSc.
školitel specialista: RNDr. Veronika Opletalová, Ph.D.

Hradec Králové 2006

Mgr. Marta Chlupáčová

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Hartlovi, CSc. za jeho odborné vedení, rovněž tak své školitelce RNDr. Veronice Opletalové, Ph.D. za neutuchající všestrannou pomoc, trpělivost a cenné připomínky při vypracovávání této práce. Děkuji také všem diplomantům a rigorosantům, kteří v období mého studia pracovali v laboratoři RNDr. Veroniky Opletalové, Ph.D. Můj dík patří všem pracovníkům Katedry farmaceutické chemie a kontroly léčiv za podporu a vytvoření příjemného pracovního prostředí.

Děkuji také pracovníkům Laboratoře struktury a interakcí biologicky aktivních molekul za změření a interpretaci NMR spekter, paní Drahomíře Karlíčkové a paní Věnceslavě Hronové za změření elementárních analýz, paní Jitce Žížkové a paní Ivě Vencovské za změření IČ spekter a PharmDr. Viktorovi Voříškovi za změření MS spekter.

Dále bych chtěla poděkovat pracovníkům mikrobiologické laboratoře Katedry biologických a lékařských věd vedené doc. RNDr. Vladimírem Buchtou, CSc. za zhodnocení mikrobiologické aktivity připravených látek, RNDr. Kataríně Kráľové, CSc. za stanovení a vyhodnocení inhibice fotosyntézy. Děkuji také doc. RNDr. Lubomíru Opletalovi, CSc. a PharmDr. Danielu Junovi, Ph.D. za změření antiagregační aktivity chalkonů.

Moje poděkování patří rovněž prof. Dr. Michaelu Gütschowovi za přijetí a odborné vedení během studijního pobytu na Pharmazeutisches Institut, Friedrich-Wilhelms Universität in Bonn (SRN) v roce 2003 v rámci programu ERASMUS a během krátkodobého pracovního programu v roce 2005 tamtéž a jeho skupině doktorandů za vytvoření motivujícího pracovního prostředí.

Tato práce vznikla za finanční podpory Výzkumného záměru MSM 111600001, MSM 111600002 a MSM 0021620822 a grantu FRVŠ 2970/2003.

Obsah

Seznam zkratk	7
1 Úvod	9
2 Cíl práce	10
3 Teoretická část	11
3.1 Chalkony jako rostlinné metabolity a předlokové sloučeniny pro vývoj nových léčiv	11
3.1.1 Antimikrobní účinky chalkonů	13
3.1.2 Antifungální účinky chalkonů	18
3.1.3 Antivirové účinky chalkonů	21
3.1.4 Antiprotozoální účinky chalkonů	26
3.1.4.1 Antimalarické působení chalkonů	26
3.1.4.2 Antileishmaniosní a trypanocidní působení chalkonů	28
3.1.4.3 Další antiparazitární účinky chalkonů	33
3.1.4.4 Působení chalkonů na cysteinové proteasy parazitů	34
3.1.5 Anthelmintické účinky chalkonů	37
3.1.6 Antineoplastické působení chalkonů	38
3.1.7 Chalkony jako chemosenzitizéry	48
3.1.8 Působení chalkonů na tyrosinkinasy	49
3.1.9 Působení chalkonů na enzymy	50
3.1.9.1 Působení chalkonů na aldoseduktasu	50
3.1.9.2 Působení chalkonů na monoaminoxidasu a katechol- <i>O</i> -methyltransferasu	50
3.1.9.3 Působení chalkonů na xathinoxidasu	52
3.1.9.4 Působení chalkonů na enzymy zasahující do metabolismu glutathionu	54
3.1.9.5 Působení chalkonů na epoxidhydrolasy	56
3.1.9.6 Působení chalkonů na fosfodiesterasy	59
3.1.9.7 Působení chalkonů na COX a další enzymy v souvislosti s jejich protizánětlivým a antiulcerosním působením	60
3.1.10 Ostatní účinky chalkonů	65
3.1.11 Syntetický význam chalkonů	65
3.2 2-Benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2 <i>H</i>)-on	66
4 Metodická část	69
4.1 Deriváty chalkonu	69
4.1.1 Syntéza chalkonů	69
4.1.1.1 Claisen-Schmidtova kondensace	69
4.1.1.2 Friedel-Craftsova acylace	70
4.1.1.3 Další syntézy chalkonů	70
4.1.2 Michaelova adice thiolů na chalkony	71
4.2 2-Benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2 <i>H</i>)-on	71
4.2.1 Syntéza auronu (2-benzylidenkumaranonu)	71
4.2.1.1 Oxidativní cyklisace 2'-hydroxychalkonů	71
4.2.1.2 Benzofuranová cesta	73
4.2.1.3 Palladiový coupling a následná cyklisace diarylpropynonů	73
4.2.2 Syntéza epoxidu auronu	74
4.2.3 Syntéza 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2 <i>H</i>)-onu	75
5 Experimentální část	77
5.1 Syntézy a fyzikálně-chemické vlastnosti látek	77
5.1.1 Deriváty chalkonu a jejich syntetické meziprodukty	77
5.1.1.1 Příprava 5-alkylpyrazin-2-karbonitrilů (S1 – S11) radikálovou alkyací	77

5.1.1.2	Příprava 1-pyrazin-2-ylethanonu a 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)ethanonů (S12 – S22) Grignardovou reakcí	81
5.1.1.3	Příprava 1-pyrazin-2-yl-3-arylprop-2-en-1-onů a 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)-3-arylprop-2-en-1-onů (S23 – S66) Claisen-Schmidtovou kondensací.....	85
5.1.1.4	Příprava 1-fenyl-3- <i>subst.</i> fenylprop-2-en-1-onů (S67 – S72) Claisen-Schmidtovou kondensací	108
5.1.1.5	Příprava 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1,3-difenylpropan-1-onů (S73 – S79) Michaelovou adicí.....	111
5.1.1.6	Příprava 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1-pyrazin-2-yl-3-aryl-propan-1-onů (S81 – S85) Michaelovou adicí.....	115
5.1.2	Syntéza 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2 <i>H</i>)-onu (S88)	118
5.1.2.1	Syntéza auronu (S86)	118
5.1.2.2	Syntéza <i>trans</i> -auronepoxidu (S87).....	119
5.1.2.3	Štěpení epoxidového kruhu <i>trans</i> -auronepoxidu	119
5.1.3	Spektra vybraných chalkonů v ultrafialové a viditelné oblasti	121
5.2	Biologické hodnocení	122
5.2.1	Antimykobakteriální testování	122
5.2.2	Antifungální testování.....	125
5.2.3	Testování inhibice fotosyntézy	131
5.2.4	Antiagregační hodnocení chalkonů.....	132
5.2.5	Testování chalkonů na inhibici papainu.....	134
5.3	Studium reakční kinetiky chalkonů s látkami obsahujícími thiolovou skupinu.....	137
6	Diskuse	140
6.1	Syntézy a fyzikálně-chemické vlastnosti látek.....	140
6.1.1	Deriváty chalkonu a jejich syntetické meziprodukty	140
6.1.1.1	Příprava 5-alkylpyrazin-2-karbonitrilů (S1 – S11) radikálovou alkylací.....	140
6.1.1.2	Příprava 1-pyrazin-2-ylethanonu a 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)ethanonů (S12 – S22) Grignardovou reakcí	140
6.1.1.3	Příprava 1-pyrazin-2-yl-3-arylprop-2-en-1-onů, 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)-3-arylprop-2-en-1-onů a 1-fenyl-3- <i>subst.</i> fenylprop-2-en-1-onů (S23 – S72) Claisen-Schmidtovou kondensací	140
6.1.1.4	Příprava 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1,3-difenylpropan-1-onů (S73 – S79) a 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1-pyrazin-2-yl-3- <i>subst.</i> fenylpropan-1-onů (S81 – S85) Michaelovou adicí.....	143
6.1.2	Syntéza 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2 <i>H</i>)-onu (S88)	145
6.2	Biologické hodnocení	146
6.2.1	Antimykobakteriální testování	146
6.2.2	Antifungální testování.....	148
6.2.3	Testování inhibice fotosyntézy	149
6.2.4	Antiagregační hodnocení chalkonů.....	149
6.2.5	Testování chalkonů na inhibici papainu.....	150
6.3	Studium reakční kinetiky chalkonů s látkami obsahujícími thiolovou skupinu.....	151
7	Souhrn	152
8	Summary	153
9	Seznam publikovaných prací.....	154
10	Literatura	157

Seznam zkratk

3D-QSAR	trojrozměrná studie kvantitativního vztahu struktury a účinku
5-HETE	kyselina 5-hydroxyikosatetraenová
15-HPDG	15-hydroxyprostaglandindehydrogenasa
ABC transporter	ATP vázající jednotka (ATP binding cassette)
ACE	angiotensinkonvertasa
AChE	acetylcholinesterasa
AFO reakce	Algar-Flynn-Oyamadova reakce
AK	aminokyselina
BCRP	protein resistance nádoru prsu (breast cancer resistance protein)
BuChE	butyrylcholinesterasa
CD	koncentrace potřebná ke zdvojnásobení specifické aktivity enzymu (concentration required to double the specific activity)
CNS	centrální nervový systém
COMT	katechol- <i>O</i> -methyltransferasa
COX	cyklooxygenasa
CYP	cytochrom P
DCC	<i>N,N'</i> -dikarbohexylkarbodiimid
DCM	dichlormethan
DHETs	kyseliny dihydroxyikosatrienové
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimethylamino)pyridin
DMSO	dimethylsulfoxid
DOPA	dihydroxyfenylalanin
dppe	difenylfosfinoethylen
dppf	difenylfosfinoferrocen
DPPH	1,1-difenyl-2-pikrylhydrazyl
DTT	1,4-dithio-D,L-threitol
EBV	Epstein-Barrové virus
EC ₅₀	koncentrace látky potřebná k vyvolání 50% maximálního účinku
EDRF	oxid dusnatý (endothelium-derived relaxing factor)
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
EETs	kyseliny epoxyikosatrienové
EGFR	receptor epidermálního růstového faktoru
EH	epoxidhydrolasa
EROD	7-ethoxyresorufin- <i>O</i> -deethylasa
FAD	flavinadenindinukleotid
Fe-SOD	superoxiddismutasa obsahující železo
FRD	fumarátreduktasa
GAPDH	glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasa
GIT	gastrointestinální trakt
GSH	redukována forma glutathionu
GSH-RD	glutathionreduktasa
GSSG	oxidovaná forma glutathionu
GSTs	glutathiontransferasy
Hb	hemoglobin
HeLa buňky	buňky rakoviny děložního čípku
HGF	hepatocytární růstový faktor (hepatocyte growth factor)
HO-1	hemoxygenasa-1
HRV	humánní rhinoviry
IBMX	3-isobutyl-1-methylxanthin
IC ₅₀	koncentrace látky vyvolávající 50% inhibici
ICAM-1	intracelulární adhesní molekula 1 (intercellular adhesion molecule-1)
ICE	enzym konvertující IL-1β (IL-1β converting enzym)
IL	interleukin
iNOS	inducibilní syntasa oxidu dusnatého

K _i '	zdánlivá inhibiční konstanta
logP	logaritmus rozdělovacího koeficientu
LOX	lipoxygenasa
LT	leukotrien
KVS	kardiovaskulární systém
MABA	mikrodiluční Alamar Blue test (Microplate Alamar Blue Assay)
MAO	monoaminoxidasa
MDR	mnohonásobná léková resistance (multiple drug resistance)
mEH	mikrosomální epoxidhydrolasa
MES	sulfanyloctová kyselina
MIC	minimální inhibiční koncentrace
MK	mastné kyseliny
MLC	minimální letální koncentrace
MRP	proteiny asociované s MDR
MRP1	protein-1 asociovaný s MDR
MS	hmotnostní spektrometrie
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
N	neurčováno
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NF-κB	jaderný faktor κB (nuclear factor κB)
NOS	synthasa oxidu dusnatého (nitric oxide synthase)
NSAID	nesteroidní antiflogistika (non-steroidal antiinflammatory drugs)
NÚ	nežádoucí účinky
ODC	ornithindekarboxylasa
OER	rychlost vývoje kyslíku (oxygen evolution rate)
p53	lidský nádorově supresorový protein
PAL	fenylalaninammonialyasa
PDE	fosfodiesterasa
PG	prostaglandiny
P-gp	glykoprotein P
PPP	plasma chudá na krevní destičky (platelet poor plasma)
PRP	plasma bohatá na krevní destičky (platelet rich plasma)
QR	NAD(P)H:chinonreduktasa
ROS	reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species)
SAR	vztah struktury a účinku (structure-activity relationships)
SDA	Sabouraudova půda (Sabouraud dextrose agar)
S.E.	směrodatná odchylka (standard error)
sEH	rozpustná epoxidhydrolasa
TAACF	Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility
TEA	triethylamin
THF	tetrahydrofuran
TNF-α	tumor-nekrotizující faktor α
TPA	12- <i>O</i> -tetradekanoylforbol-13-acetát (promotor vzniku kožních nádorů)
TPST	tyrosylproteinsulfotransferasa
TryR	trypanothionreduktasa
UDP	uridindifosfát
v ₀	počáteční rychlost reakce (chemické, enzymové)
VCAM-1	adhesní molekula vaskulárních buněk 1 (vascular cell adhesion molecule-1)
VEGF	růstový faktor vaskulárního endotelu (vascular endothelial growth factor)
XO	xanthinoxidasa
Z-Phe-Arg-pNA	benzyloxykarbonylfenylarginin- <i>para</i> -nitroanilid

1 ÚVOD

Obměňování struktury přírodních látek je jedním ze zdrojů nových chemických léčiv. Tato práce řeší problematiku syntézy přírodních látek a jejich analogů jako potenciálních léčiv. Největší část práce představuje syntéza derivátů chalkonu, příp. jejich prekurzorů, a studium jejich biologických účinků. Tato problematika zapadá svým charakterem do dlouhodobého výzkumného záměru pracovní skupiny farmaceutické chemie Katedry farmaceutické chemie a kontroly léčiv Farmaceutické fakulty University Karlovy. Na zmíněném pracovišti je mimo jiné studována závislost mezi chemickou strukturou a účinkem nově připravených potenciálních antimykobakteriálních a antifungálních látek.

Chalkony představují látky s enonovým seskupením a jsou hojně zkoumány jako potenciální léčiva. Význam mají ale i pro jiné obory, např. jako optické materiály [1], dále v kosmetologii [2,3,4] a tabákovém průmyslu [5].

Část experimentů (příprava jednoho derivátu chalkonu a syntéza přírodního auronolu) byla provedena v roce 2003 během čtyřměsíčního pobytu v rámci programu ERASMUS na Pharmazeutisches Institut, Friedrich-Wilhelms Universität in Bonn (SRN) pod vedením prof. Dr. Michaela Gütschowa. Během krátkodobého pracovního programu v roce 2005 tamtéž byly dříve připravené chalkony hodnoceny na biologickou aktivitu a zkoumána kinetika jejich reakcí s různými thioley.

2 CÍL PRÁCE

Úkolem této práce bylo navázat na předchozí disertační práci z této oblasti [6], připravit účinnější deriváty chalkonů tak, aby byly získány účinné léčivé látky, příp. aby bylo možno na větší sérii sloučenin vyvodit vztahy mezi strukturou a antifungálním a antimykobakteriálním účinkem. K tomu měla přispět i modifikace enonového seskupení chalkonů adiční reakcí s thioley. Tato část navazuje hledáním účinných derivátů 1,3-diaryl-3-alkyl(aryl)sulfanylpropanonů na diplomovou práci [7] a hledání nových antimykotik a antituberkulotik zapadá do celkového zaměření výzkumu na Katedře farmaceutické chemie a kontroly léčiv Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Dále měla být na Pharmazeutisches Institut, Friedrich-Wilhelms Universität in Bonn (SRN) dořešena syntéza přírodního auronolu [8].

3 TEORETICKÁ ČÁST

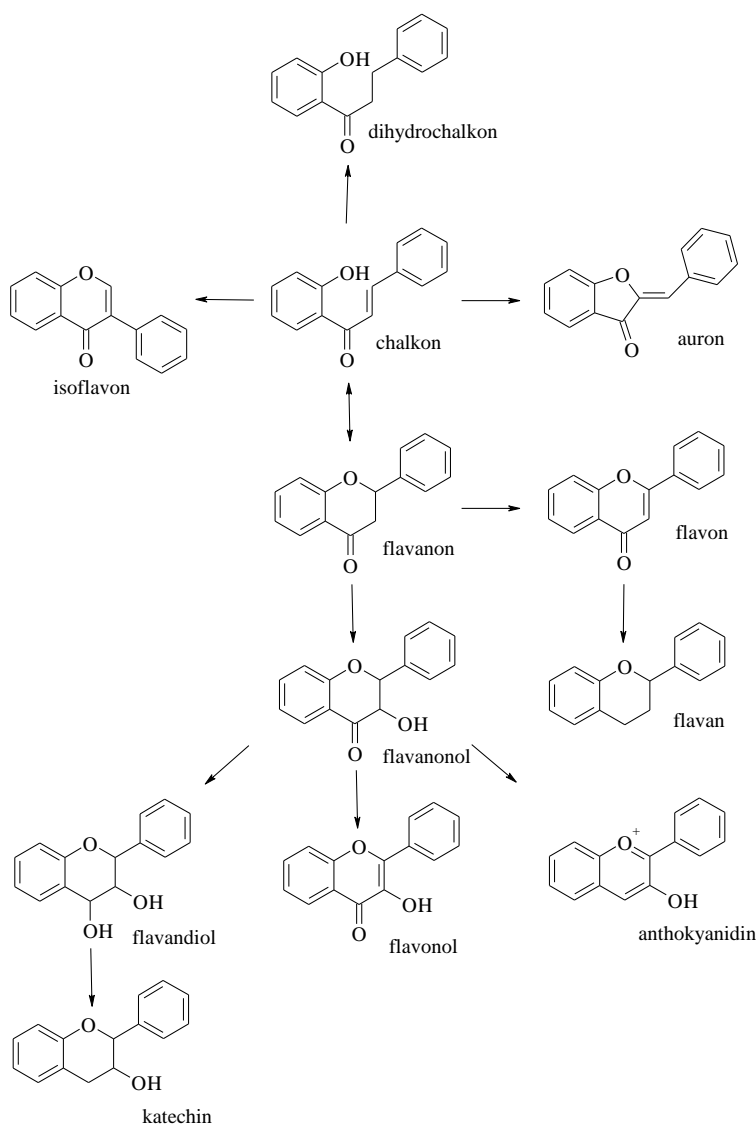
3.1 Chalkony jako rostlinné metabolity a předlokové sloučeniny pro vývoj nových léčiv

Chalkony patří do skupiny flavonoidů. Flavonoidy jsou sekundární metabolity rozšířené kromě hub v celé rostlinné říši. Protože v přírodě se vyskytující flavonoidy mají na základním skeletu vždy hydroxylové skupiny, bývají řazeny mezi rostlinné polyfenoly. Flavonoidům jsou připisovány prvořadě účinky antioxidační, i když jednotlivé skupiny vykazují řadu dalších specifických účinků [9,10,11].

Rostliny tvoří flavonoidy dvěma způsoby, jednak cyklisací chalkonů (vznikají kondensací fenylové a fenylypropanové jednotky) na flavanony, a dále redukcí chalkonů a cyklisací na 3-flaveny. U přírodních flavonoidů převažuje v substituci hydroxylace, methoxylace skeletu, příp. je na skelet navázaná cukerná složka.

Flavonoidy se dělí do několika skupin: chalkony, flavony, flavonoly, flavanony, flavanonoly, anthokyanidiny, dihydrochalkony, aurony, flavanoly, flavandioly (leukoanthokyanidiny), isoflavonoidy, biflavonoidy a proanthokyanidiny (kondensované taniny) a další (viz schema 1).

Schema 1. Metabolické cesty v biosyntéze flavonoidů, převzato z publikace [12]

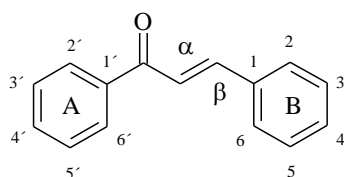


Dihydrochalkony (např. floretin) vznikající redukcí chalkonů jsou zajímavé svou sladkou chutí [13,14].

Chalkony, které vznikají kondensací 4-kumaroylkoenzymu A a 3 molekul malonylkoenzymu A [15], mohou přecházet na aurony, isomerisací na isoflavony nebo cyklisací na isomerní flavanony a dále pak poskytují další typy flavonoidů. Substituce jednotlivých typů flavonoidů se vždy odvíjí od substituce výchozí látky, resp. chalkonu; ale může být v buňkách i sekundárně pozměněna [12].

Chalkony a aurony významně přispívají ke žlutému zbarvení květů u rostlin. V rostlinách plní dále funkci UV protektorů a hmyzích repelentů [16].

Chalkon je triviální název pro 1,3-difenyprop-2-en-1-on (**1**). Kruh sousedící s karbonylem se označuje jako kruh A a čísluje se čárkovaně. Kruh B konjugovaný s vinylenovým seskupením se čísluje bez čárek.



1 nesubstituovaný chalkon

Nejstálejším isomerem a konformerem chalkonu je (*E*)-*s-cis*-1,3-difenyprop-2-en-1-on. Na (*Z*)-isomer může přecházet fotoisomerisací, ten ovšem nemá ze sterických důvodů planární strukturu [17]. Drtivá většina derivátů se nachází ve formě (*E*)-isomerů a tyto chalkony mají téměř planární strukturu, záleží ovšem na charakteru substituce. Obzvláště objemné substituenty v *ortho*-poloze mohou způsobit vytočení kruhů [18]. Úhel, který svírá kruh B se zbytkem molekuly, se u různě halogenovaných, hydroxylovaných a methoxylovaných chalkonů pohyboval v rozmezí od 13,7 až 20,1° [19].

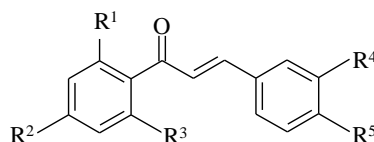
Chalkony s hydroxylem v polohách 2' a 4' v methanolicském roztoku byly resistantní k fotoisomerisaci denním světlem [20]. Shibatova skupina [21] zkoumala i závislost biologické aktivity na typu isomeru chalkonu (viz kap. 3.1.6).

Energetická bariéra mezi *s-cis* a *s-trans* konformerem je přirozeně menší než u geometrických isomerů, ale v pevném stavu se většina látky nachází jako *s-cis* konformer, situace se může měnit rozpouštěním v různých rozpouštědlech [22].

O biologických účincích chalkonů bylo pojednáno v několika přehledových člancích [23,24,25,26,27].

Několik chalkonů našlo uplatnění v klinické praxi. Při léčbě chronické venosní insuficience dolních končetin, která je příčinou morbiditu a varikozních žil u 20 až 60 % dospělých západního světa, se uplatnil hesperidinmethylchalkon (**2**). Léčba tohoto onemocnění má za cíl snížit jak klinické příznaky, tak rozvoj chronického žilního onemocnění. Přípravek používaný v této indikaci Cyclo3 Fort, obsahující kořenový extrakt *Ruscus aculeatus*, hesperidinmethylchalkon a kyselinu askorbovou, je venotonickým přípravkem a tato medikamentosní léčba představuje pouze část všech režimových opatření a terapie. Venotonika zvyšují žilní tonus, podporují kontrolu kapilární permeability, stimulují lymfatické odvodnění a korigují hemorheologické poruchy. Hesperidinmethylchalkon brání poklesu hladiny ATP navozenému hypoxií [28].

Isolikvirigenin (**3**) se používá jako inhibitor fosfodiesterasy III (PDE III) při léčbě onemocnění KVS [29] a 1-(2,4-dimethoxyfenyl)-3-(4-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (metochalkon, **4**) jako choleretikum a diuretikum [16].



2 hesperidinmethylchalkon $R^1, R^4 = \text{OH}$,

$R^2 = 6\text{-}O\text{-}(6\text{-desoxy-}\alpha\text{-L-mannopyranosyl)-}\beta\text{-D-glukopyranosyl}$, $R^3, R^5 = \text{OCH}_3$

3 isolikviritigenin $R^1, R^2, R^5 = \text{OH}$, $R^3, R^4 = \text{H}$

4 metochalkon $R^1, R^2, R^5 = \text{OCH}_3$, $R^3, R^4 = \text{H}$

Pod názvem Vesidryl byl metochalkon v Belgii a Francii registrován pro perorální podání v následujících terapeutických indikacích: dyspepsie, zácpa a dyskineze žlučníku [30].

V praxi se v nejrůznějších indikacích používá včelí produkt propolis, bohatá směs látek obsahující zhruba 1,7 % chalkonů, které se mohou podílet na daném spektru využívaných účinků [31].

Některé chalkony jsou patentovány jako potenciální léčiva [32,33,34,35].

Mechanismus biologického působení chalkonů není znám. Existují pouze různé domněnky a hypotézy.

Chalkony mají částečný kladný náboj na β -uhlíku a mohou tak vytvářet Michaelovy adukty s nukleofily, např. thiolovými skupinami a aminoskupinami biomolekul.

Chalkony mohou ochuzovat buňku o glutathion (GSH) [29] a inhibovat glutathionreduktasu, enzym udržující GSH v redukováném stavu [36].

Je známa například také souvislost s nadměrnou tvorbou transmembránového glykoproteinu P (P-gp) u nádorových buněk, které získaly mnohačetnou lékovou resistenci. Deriváty flavonu mají schopnost vázat se na glykoprotein P, jak na vazebné místo pro ATP, tak na oblast interagující se steroidy. Flavonoidy tak představují novou skupinu modulátorů. Chalkony v této studii bohužel zkoumány nebyly [37], ale jsou známy jiné práce na toto téma (viz kap. 3.1.7).

V předcházející a další práci byla postulována myšlenka, že terapeutické působení chalkonů a flavonoidů obecně je založeno na strukturní podobnosti benzopyranové jednotky s adeninem, resp. molekulou ATP, která je nezbytná pro funkci enzymů a receptorů. To odpovídá jejich schopnosti inhibovat enzymy vázající ATP: ATPasu, myosin, Na^+/K^+ - a Ca^{2+} -membránovou ATPasu, proteinkinasu, proteinkinasu C, Ser/Thr-proteinkinasu, Tyr-proteinkinasu a topoisomerasu [38].

Podobně jako jiné flavonoidy, mohou i chalkony ovlivňovat funkci biologických membrán [39]. Bylo také zjištěno, že chalkony zhoršují přenos energie v mitochondriích [29,40].

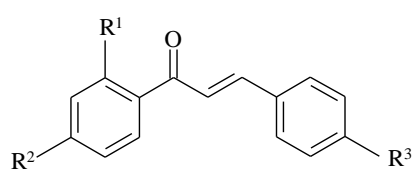
3.1.1 Antimikrobní účinky chalkonů

Bakteriální infekce se stávají vážnou hrozbou z hlediska rychlého získávání resistance klinicky významných gram pozitivních bakterií na klasická antibiotika, např. *S. aureus* na methicilin, oxacilin a nafcilin a enterokoků na vankomycin [41].

Mezi zavedením kyseliny nalidixové v roce 1962 a linezolidem v roce 2000 nebyla ve spektru léčiv představena žádná nová třída antibakteriálních chemoterapeutik. Veškeré látky z tohoto období jsou pouze strukturními modifikacemi existujících molekul [42].

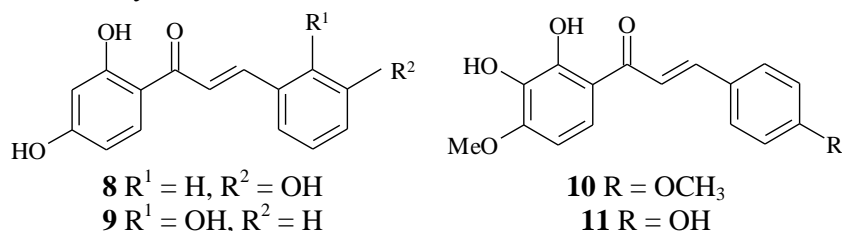
Přehledový článek pojednávající o použití chalkonů jako možných terapeutik bakteriálních onemocnění byl publikován v roce 2000 [26].

Výsledky z testování různých druhů přírodních i syntetických flavonoidů na methicilin-resistentních kmenech *Staphylococcus aureus* (tab. 1) byly podobné závěrům uvedeným ve výše zmíněném referátu. Při testech bylo zjištěno, že pro antimikrobní účinek je u chalkonů výhodná hydroxysubstituce v *ortho*-poloze na kruhu A. Nesubstituovaný chalkon byl účinnější než flavon a flavanon. Chalkony (**5** – **7**) byly dokonce prohlášeny za slibná terapeutika léčby stafylokokových infekcí, které stále ještě mohou vyvolávat život ohrožující stavy [19].

Tab. 1. Působení hydroxychalkonů na methicilin-resistentní kmeny *S. aureus*


Chalkon	R ¹	R ²	R ³	MIC (μg × ml ⁻¹)
5	OH	H	H	16,3
6	OH	OH	H	31,6
7	OH	H	OH	36,6

Již v přehledovém článku bylo konstatováno, že chalkony působí spíše na gram pozitivní než gram negativní organismy. Alvarez *et al.* zkoumali účinek trihydroxylovaných chalkonů na *Escherichia coli*. V této sérii se ukázala hydroxysubstituce v poloze 4 kruhu A esenciální pro bakteriostatický účinek. Nejaktivnějším byl chalkon **8** (MIC 46 μg × ml⁻¹), chalkon **9** a isolikvirigenin (**3**) byly méně aktivní. Autoři zakončili diskusi závěrem, že gram pozitivní a gram negativní bakterie se liší strukturou buněčné stěny a z toho zřejmě pramení různé nároky na substituci bakteriostatických chalkonů [43].

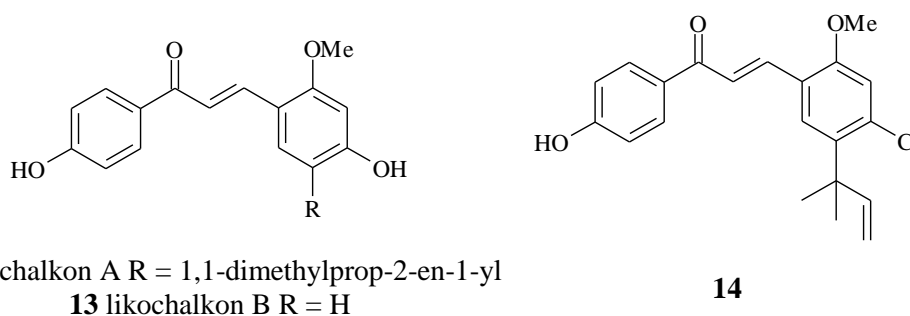


V indické práci je podtržen význam *ortho*-hydroxyskupiny na kruhu A [44].

Vděčným a bohatým zdrojem biologicky aktivních látek je propolis. U propolisu je známa řada biologických účinků: antimikrobní, fungicidní, antivirový, imunostimulační, cytostatický a schopnost zhašet volné radikály. Chemické složení je ale vždy ovlivněno flórou v místě sběru, geografickým umístěním lokality a dobou sběru. Z propolisu sebraného v lednu 2000 v El Salvador ve střední Americe byly získány dva nové chalkony **10** a **11** a tyto látky projevily v porovnání s extraktem vyšší antibakteriální aktivitu na *Staphylococcus aureus*, tzn. že mohou být odpovědné za tento účinek. Navíc u první látky byl nalezen také cytotoxický účinek [45].

Přírodní látky – likochalkony A (**12**), B (**13**), C, D a echinatin z kořene *Glycyrrhiza inflata* (Fabaceae) se označují jako retrochalkony z důvodu absence hydroxylové skupiny v poloze 2 kruhu A. O likochalkonu A, izolovaném z různých druhů kořene lékořice je známo, že vykazuje řadu účinků, které jsou využívány ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu.

Likochalkon A (**12**) byl testován na inhibici *Bacillus subtilis* kontaminujícího potraviny. V koncentraci 2 – 3 μg × ml⁻¹ může tento retrochalkon zabránit vegetativnímu buněčnému růstu *B. subtilis* a neztrácí tuto schopnost ani v přítomnosti roztoku chloridu sodného nebo proteasy. Z toho vyplývá, že je použitelný jako přírodní potravinářské konzervans. Mechanismus tohoto působení je zkoumán. V této práci bylo opět potvrzeno, že chalkony, konkrétně likochalkon A jsou málo aktivní na gram negativní bakterie: *E. coli* a *P. aeruginosa* [46].



Likochalkon A (**12**) také nejlépe ze všech chalkonů izolovaných z lékořice působil na methicilin-resistentní i -sensitivní *Staphylococcus aureus* (MIC 16 μg × ml⁻¹) [47].

Z dalších prací vyplynuly SAR u likochalkonu A (**12**):

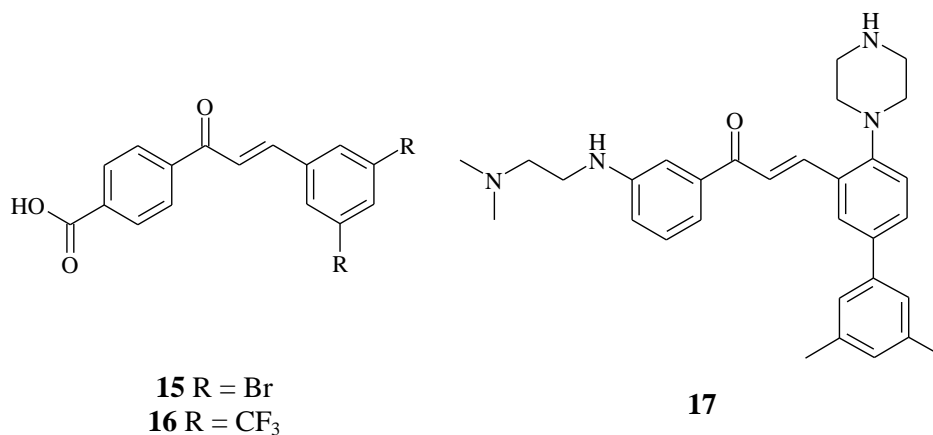
- volná hydroxyskupina na kruhu A je nepostradatelná pro účinek
- vliv na aktivitu má také prenylová skupina na kruhu B, její odstranění má za následek úplnou ztrátu aktivity; může být ale nahrazena jinou lipofilní alifatickou skupinou, záměna za hexyl vede k aktivnější struktuře
- hydroxyskupina na kruhu B nemá na antibakteriální účinek žádný vliv, může být např. etherifikována, nahrazena chlorem.

Příkladem aktivní látky je chlorovaný derivát **14** s MIC 10 μM na *S. aureus* (ciprofloxacin 2 μM) [48].

Lékořice je nejpoužívanější léčivou rostlinou v Kampo medicíně, tradiční čínské medicíně modifikované v Japonsku, a je léčivem, které překonalo tisíciletí [49]. Lékořicový extrakt je používán např. k léčbě peptických vředů. Mezi chemickými komponentami byly nalezeny nejen likochalkon A (**12**) a B (**13**), ale v *G. glabrata* glabridin a glabren, v *G. uralensis* likoricidin a likoisoflavon B. Všechny tyto sloučeniny inhibovaly *in vitro* růst *Helicobacter pylori*, včetně klarithromycin- a amoxicilin-resistentních kmenů. U likochalkonu A z *G. uralensis* byla zaznamenána slabá aktivita na *H. pylori* (12,5 – 25 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) [50].

Hojení žaludeční sliznice po eradikaci *H. pylori* [51] a *Campylobacter pylori* [52] zlepšuje sofalkon (více viz kap. 3.1.9.7).

Z důvodu některých omezujících vlastností likochalkonu A (**12**) jako např. špatná rozpustnost ve vodě, střední antibakteriální účinek, byla *p*-hydroxyskupina kruhu A isosterně nahrazena a získány kyselější deriváty. To bylo docíleno substitucí fluorem na kruhu A, čímž se zvýšila kyselost fenolické skupiny anebo isosterní náhradou hydroxyskupiny karboxylovou skupinou či zbytkem tetrazolu. První způsob zvýšení rozpustnosti selhal z hlediska aktivity. Karboxyanalog původní sloučeniny byl téměř stejně aktivní jako původní látka (20 – 40 μM). Na základě tohoto výsledku byla provedena také SAR studie substituce na kruhu B. Vhodným prediktorem biologického účinku byl parametr lipofility logP. Substituce v poloze 2 kruhu B, ať už elektrony přitahující skupinou nebo elektrony odpuzující skupinou, nepřinesla zvýšení aktivity. Lipofilní substituenty v poloze 4 zvyšovaly MIC v porovnání s parentní molekulou. Bakteriostatické aktivity ciprofloxacinu a linezolidu dosáhly *in vitro* sloučeniny substituované bromem nebo trifluormethylovou skupinou v polohách 3 a 5 (**15**, **16**; obě MIC = 2 μM). Sledováním kinetiky antibakteriálního profilu byl zjištěn markantní rozdíl mezi 1-(4-hydroxyfenyl)-3-(2,4-dichlorfenyl)-prop-2-en-1-onem (baktericidní účinek) a chalkonem **15** (bakteriostatické působení). Bakteriostatický derivát by nemusel být v terapii tolik toxický vůči savčím buňkám jako baktericidní léčivo [42].



Podle Nielsen *et al.* [41] jsou antibakteriální účinky likochalkonu A (**12**) dány interakcí s biologickými membránami. Likochalkon A (**12**) působí neselektivně na buněčné membrány prokaryotických a eukaryotických organismů a jako poměrně lipofilní sloučenina pravděpodobně interaguje s centrální lipofilní částí membrány. Eukaryotické buněčné membrány obsahují hlavně

neutrální fosfolipidy ve formě obojetných iontů. Naproti tomu buněčné membrány bakterií obsahují velké množství negativně nabitých fosfolipidů. Zavedením pozitivně nabitých skupin do molekul chalkonů by bylo možné zvýšit jejich elektrostatické interakce s povrchem membrány mikrobů, zamezit jejich interakci s vnitřními lipidovými strukturami a tím snížit jejich vliv na eukaryotické buňky. Na základě tohoto předpokladu připravili autoři obsáhlou sérii látek s různým umístěním aminoskupiny v molekule a s různou vzdáleností od chalkonového základu a došli k těmto závěrům:

- deriváty s aminoskupinou na kruhu A působí na gram pozitivní bakterie; poloha aminoskupiny ani její vzdálenost od aromatického kruhu nejsou pro účinek rozhodující
- důležité bylo pouze zachovat lipofilní charakter kruhu B
- sloučeniny s obrácenou substitucí, tj. aminoskupinou na kruhu B a lipofilním substituentem na kruhu A měly podobný účinek; u derivátů s aminoskupinou na kruhu B měla vzdálenost aminoskupiny vliv na účinek
- zatímco deriváty s aminomethylovou skupinou byly málo účinné, sloučeniny s delším řetězcem mezi aminoskupinou a kruhem B měly dostatečnou aktivitu; u derivátů tohoto typu se dále ukázala výhodná substituce objemným lipofilním substituentem v poloze 5 kruhu B
- sloučeniny nesoucí aminoskupinu na kruhu A i B byly většinou účinné nejen vůči gram pozitivním mikroorganismům, ale i vůči *E. coli*. Kromě toho sloučeniny substituované aminoskupinou na obou kruzích mají při dobrém antibakteriálním účinku zanedbatelnou schopnost hemolyzovat erytrocyty.

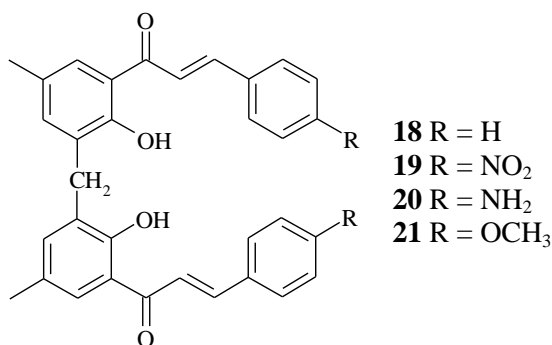
Nejúčinnější látkou této série byl derivát **17**. Jeho aktivita (MIC na methicilin-resistentním *S. aureus* 2 μM) byla srovnatelná s linezolidem, hemolytická aktivita byla i v koncentraci 150 μM zanedbatelná.

Na závěr celé studie byly připraveny kvarternizované analogy studovaných sloučenin. Jejich aktivita byla srovnatelná s deriváty nesoucími terciární aminoskupiny. U kvarterních derivátů je vysoce nepravděpodobné, že by pronikaly buněčnou membránou a jejich aktivita tedy musí být založena na interakci s povrchovými strukturami mikroba. Předpokládá se, že basicky substituované chalkony budou při fyziologickém pH protonisované a budou reagovat s buněčnou membránou podobně jako povrchově aktivní kationtová peptidová antibiotika. Podobně jako u peptidových antibiotik se u nich předpokládá nízká pravděpodobnost vzniku resistance, rychlý baktericidní účinek a široké spektrum antibakteriální aktivity. Na rozdíl od peptidových antibiotik by měly být snáze aplikovatelné, stabilnější v léčivých přípravcích a méně toxické.

Z *Piper aduncum* L. (Piperaceae) provenience Papua Nová Guinea získala Orjalova skupina řadu monoterpenicky substituovaných dihydrochalkonů s účinkem na *Micrococcus luteus* [53] a *B. subtilis* [54].

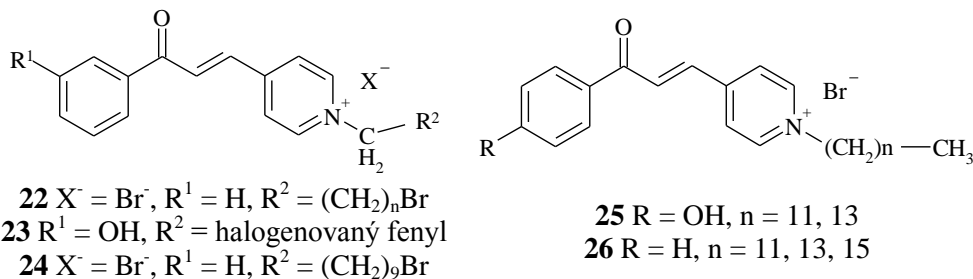
Z *Uvaria scheffleri* Diels (Annonaceae) byly v Tanzánii izolovány směsi látek včetně hydroxylovaných a methoxylovaných chalkonů, ale jejich antibakteriální i antifungální aktivita byla slabá [55].

Zdvojené molekuly chalkonů [56] spojené přes methylenový můstek na kruhu A byly účinné na *E. coli* (**18 – 20**) a dimer **21** na *E. aerogenes*.



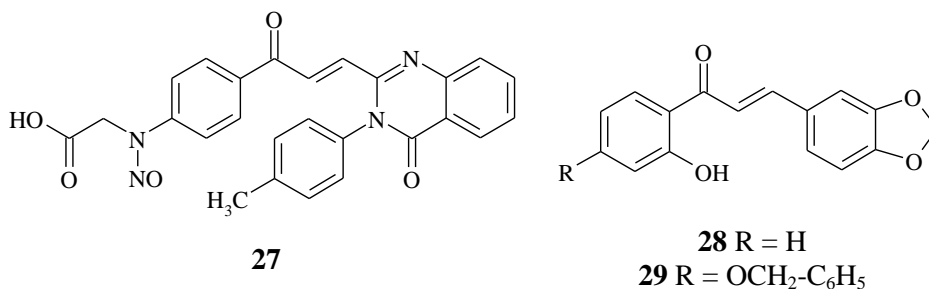
U amoniových analogů dusíkatých derivátů chalkonu (**22**, **23**) byl zkoumán vliv na gram pozitivní koky (*S. aureus*, *Enterococcus faecalis*), aerobní bacily (*B. subtilis*), gram negativní tyčinky (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*). Opět byly chalkony účinnější na gram pozitivní koky a aerobní tyčinky [57].

Aktivita výraznější než u chloramfenikolu se projevila u zmíněných citlivých mikroorganismů u derivátu **24**. Desetiuhlíkatý řetězec v těchto molekulách a substituce bromem (i pro benzylové sloučeniny) byl pro testovaný účinek označen za optimální.



V navazující práci měly látky **25** a **26** dobrý účinek na *S. aureus*, *E. faecalis* a *B. subtilis*. Sloučeniny bez atomu bromu na konci řetězce byly dokoce účinnější než odpovídající látky v předcházející studii a délka alkylového řetězce byla optimalisována na 14 – 16 uhlíků [58].

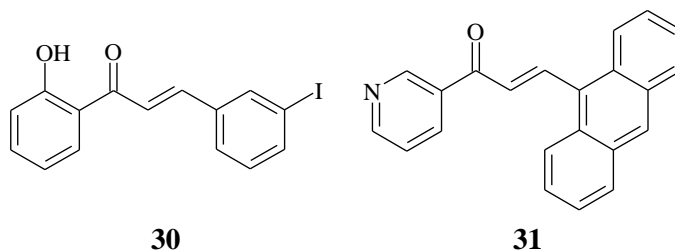
Egyptská skupina farmaceutických chemiků připravila chinazolinonové analogy chalkonů se zajímavou substitucí [59]. Jeden z derivátů (**27**) dosáhl účinnosti ampicilinu na *E. coli* (25 μg × ml⁻¹) a klotrimazolu při působení na *C. albicans* (12,5 μg × ml⁻¹).



Chalkony, které byly použity jako prekursor pro syntetické flavony, byly testovány na lidské patogenní gram pozitivní bakterie *Sarcina lutea*, *B. subtilis* a gram negativní bakterie *Shigella dysenteriae* a *P. aeruginosa*. U těchto bakterií nebyla nalezena žádná citlivost na uvedené chalkony **28** a **29** [60].

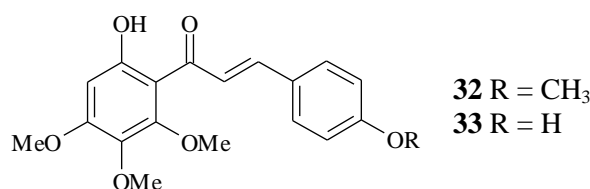
Lin *et al.* testovali rozsáhlou sérii chalkonů a jejich heterocyklických analogů. Inhibice Mtb přes 90 % při koncentraci 12,5 μg × ml⁻¹ byla pozorována u chalkonů s 2-hydroxyskupinou na kruhu A a 3-jod- a 3-chlorsubstitucí na kruhu B (např. **30**). Testována byla i inhibice heterocyklických analogů a analogů s jinými aromatickými systémy (**31**). Obecně měly nejvyšší inhibici (≥ 96 %) z celé série látky s heterocyklem nebo fenylem s hydrofilní substitucí na jedné straně molekuly a s fenylem nebo fenantrenylem s/bez lipofilní substituce na druhé straně molekuly

(např. **31**). Zcela obecně řečeno – zdá se, že je nutná hydrofilní substituce na jedné straně a hydrofobní na druhé straně propenonu. V drtivé většině případů byl na kruhu A substituent schopný vodíkové vazby. Odpovídající testované flavonoly a flavanony nedosáhly účinnosti chalkonů, což autoři připisují větší rigiditě molekuly těchto flavonoidů.



Podobně jako Nielsen *et al.* [41,42] dospěla i Linova skupina k závěru, že dostatečnou antibakteriální aktivitu vykazují pouze chalkony, v nichž je na základní propenon vázán na jedné straně hydrofilní a na druhé straně lipofilní substituent [61,62].

Z jihoamerického keře *Chromolaena odorata* (Asteraceae) byla izolována řada flavonoidních derivátů včetně dvou chalkonů (**32**, **33**) a testována na Mtb. Chalkony byly neaktivní a proto bylo postulováno, že pro antituberkulotický účinek by byla nutná přítomnost nasyceného nebo nenasyčeného kruhu C jako je tomu ve flavanonech nebo flavonech [63].

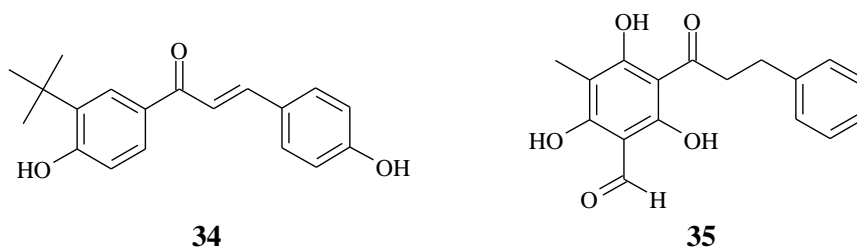


Lékořice je dalším rostlinným zdrojem antituberkuloticky účinné přírodní látky [64], likochalkonu A (**12**). Stejně jako působí na jiné bakterie, byla u něj pozorována inhibice i u *M. tuberculosis* (7,1 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$), *M. bovis* (15,7 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$), *M. kansasii*, *M. xenophii* a *M. marinum* v koncentraci $\leq 20 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ [65].

3.1.2 Antifungální účinky chalkonů

Přehled chalkonů a jejich derivátů s antifungálními účinky byl publikován v roce 1999 [23].

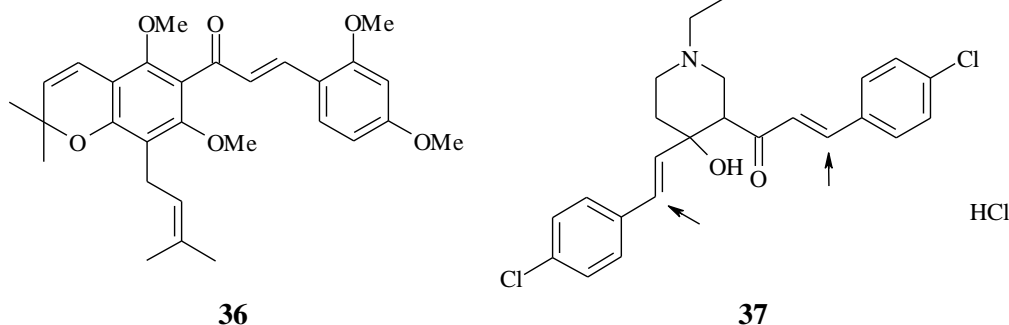
Antifungální účinky jsou u chalkonů hledány po právu, neboť jsou strukturálně příbuzné fytoalexinům. Fytoalexiny jsou látky, které jsou rostlinami produkovány a hromaděny jako odpověď na infekce, obzvláště houbového původu. Chalkon **34** byl syntetizován v souvislosti se zkoumáním mechanismu účinku fytoalexinů a jako jediný vykázal antifungální aktivitu na vybrané houbové patogeny rostlin [66].



Pro hledání nových bioaktivních látek a předlohových struktur jsou rostliny velmi častým zdrojem. Přírodní antifungálně působící látkou, účinkem srovnatelnou se standardem, je 1-(3-formyl-2,4,6-trihydroxy-5-methylfenyl)-3-fenylpropan-1-on (**35**), který byl izolován z rostliny amazonské proveniencí *Psidium acutangulum* DC (Myrtaceae) [67].

Při izolaci jednotlivých komponent extraktu čínské rostliny *Eriosema tuberosum* (Leguminosae), jejíž kořenový extrakt projevil antifungální účinky, byl očekáván antifungální

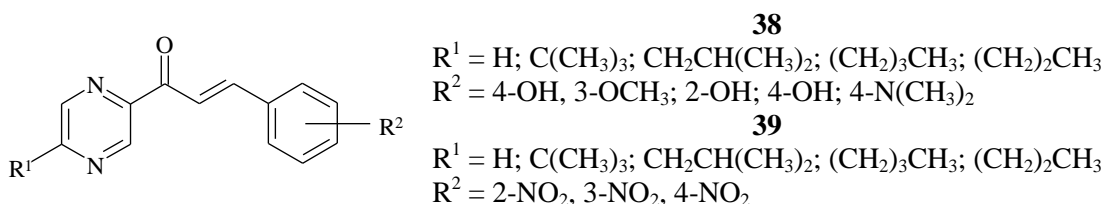
účinek i u získaného chalkonu **36**. Za tento účinek ale zřejmě odpovídaly strukturálně příbuzné flavanony a flavony [68].



Jak bylo řečeno v předchozí kapitole, je propolis bohatým zdrojem biologicky aktivních látek a je známa řada jeho biologických účinků. Z propolisu sebraného v lednu 2000 v El Salvadoru ve střední Americe byly získány dva nové chalkony (**10**, **11**) a tyto látky projevily výraznou antifungální aktivitu [45].

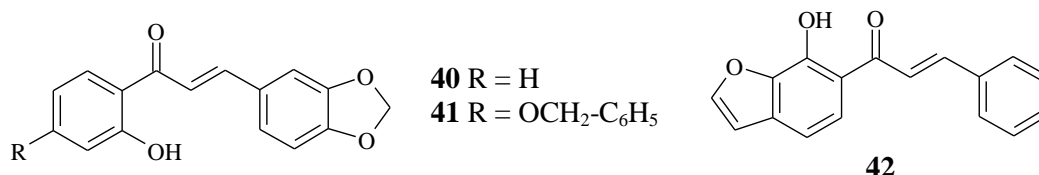
V Kanadě byl *in vitro* testován heterocyklický, částečně nasycený analog chalkonu (**37**) na klinických izolátech kvasinky *Cryptococcus neoformans*. Jedná se o enkapsulovanou, neurotropní patogenní kvasinku, která způsobuje fatální infekce především u imunokomprimovaných pacientů. Léky volby v této indikaci jsou flukonazol a amfotericin B. Bohužel již byla zaznamenána léková rezistence a účinnost léčby je také ovlivněna vedlejšími účinky vysokých dávek amfotericinu B. U zkoušené nové látky byla zjištěna MIC₅₀ 1 μg × ml⁻¹ a její fungicidní účinek je zřejmě založen na inhibici membránově lokalizované H⁺-ATPasy, která za normálních okolností odpovídá za acidifikaci okolí [69]. Tento chalkonu byl již dříve zkoušen na různé druhy rodu *Candida* a *Aspergillus*, kdy se MIC pohybovaly mezi 0,83 – 2 μg × ml⁻¹ a byl účinný i na organismy resistantní na polyeny a azoly. Jeho struktura byla designována jako thiolový alkylátor s dvěma centry pro atak buněčných thiolů (naznačena u vzorce **37** šipkami) a byl postulován již zmíněný mechanismus působení – tvorba Michaelových aduktů [70].

Ze 4 syntetických sérií pyrazinových analogů chalkonů (**38**) jeví nejvyšší antifungální účinek 3-(2-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ony, a obzvláště látky s nerozvětveným alkylem v poloze 5 kruhu A. Tato práce potvrdila význam *ortho*-hydroxysubstituce na kruhu B pro antifungální účinek [71].



Později byla připravena série pyrazinových analogů chalkonů s nitroskupinou na kruhu B (**39**), testována na stejné druhy hub a opět byly účinnější látky s nerozvětveným alkylem, příp. bez alkylu. Takže se ukázalo, že pro antifungální účinek může být významná i substituce nitroskupinou, jako jednoho ze substituentů odtahujících elektrony [72].

Chalkony **40** a **41**, které byly použity jako prekursor pro syntetické flavony, byly testovány proti rostlinnému patogenu *Collototrichum gloeosporioides* Penz., lidskému patogenu *Candida albicans* a plísním: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* a *Penicillium* spp. Chalkon **41** s benzyloxyskupinou na kruhu A byl na *Collototrichum gloeosporioides* Penz. a *Penicillium* spp. dokonce účinnější než flukonazol [60].

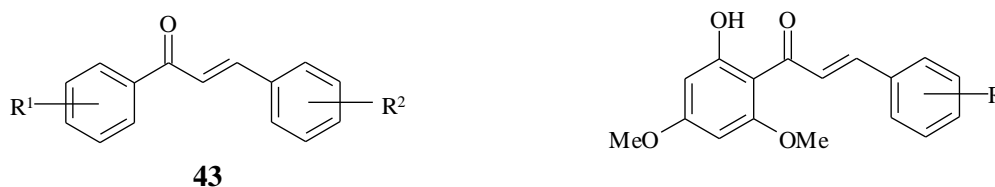


Pro syntézu obsahové látky indické léčivé rostliny *Pongamia pinnata* (Leguminosae), flavonu lanceolatinu B, byl použit chalcon **42**, jenž působil středním účinkem na 2 gram pozitivní bakterie (*S. aureus*, *S. β-haemolyticus*) a 2 gram negativní bakterie (*S. dysenteriae* a *S. typhi*) [73].

V předcházejících sděleních byl pouze naznačen uvažovaný mechanismus působení chalconů na houby. Inhibice syntézy buněčné stěny vzhledem k její absenci v savčích buňkách by byla ideálním cílem zásahu antifungálních látek. Lópezová *et al.* syntetizovali rozsáhlou sérii derivátů chalconu zahrnující 1,3-difenylpropeny, 1-naftyl-, 1-furyl- a 1-chinolinyl-3-fenylpropeny. Žádná z látek neúčinkovala na kvasinky: *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, ani na vláknité houby *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*. Naproti tomu látky (**43**) projevily výrazný účinek na dermatofyty srovnatelný s amfotericinem B a ketokonazolem. Z této studie byly vyvozeny i některé závislosti účinku na struktuře:

- substituenty s +I efektem měly tendenci snížit účinek
- substituenty na kruhu B s –I efektem v *para*-poloze zvyšovaly účinek, zatímco v *ortho*-poloze došlo ke snížení účinku zřejmě vlivem sterických změn
- záměna fenylu jinými aromatickými systémy vedla téměř ke ztrátě aktivity, výjimkou byl 3-furyl-1-(2,4-dichlorfenyl)prop-2-en-1-on, který inhiboval růst dermatofytů
- sterické faktory vyvolané vlivem objemných substituentů v *ortho*-polohách ať už kruhu A či B hrají klíčovou roli
- dihydroanalogy některých testovaných látek nevykázaly žádný účinek.

V práci je zahrnuta také konformační a elektronová studie, která označila β-uhlík a karbonylový uhlík jako nejpravděpodobnější centra interakce látek s enzymem nebo receptorem (nukleofilní atak), což vede k vyvolání účinku. Závěrem bylo konstatováno, že enonové seskupení je pro účinek důležité, nikoli ovšem samotné, ale roli hraje i substituce kruhů [18].



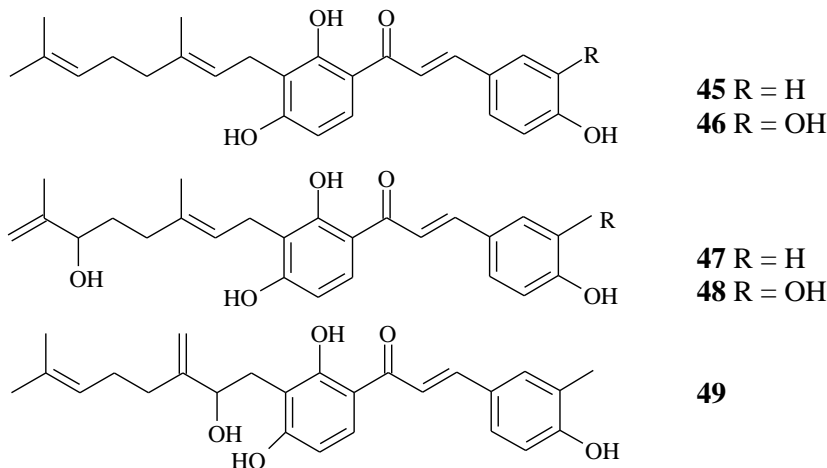
R¹ = H, R² = H, 4-NO₂, 2-NO₂, 3-OCH₃,
4-OCH₃, 3,4-(OCH₃)₂,
2,4-(OCH₃)₂, 2,3-(OCH₃)₂;
R¹ = 4-Br, R² = 3-OCH₃

R = H; 4-OCH₃; 4-CH₃; 3,4-OCH₂O; 4-Br; 4-F; 4-Cl;
4-NO₂; 2-Cl; 3,4-Cl₂; 3-NO₂; 2-COOH

Zcela nedávno byla zkoušena citlivost 5 různých dermatofytů vůči skupině chalconů **44** odvozených od xanthoxylinu (2'-hydroxy-4',6'-dimethoxyacetofenonu). Jednalo se o *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum* a *Trichophyton rubrum*, houby odpovědné za 80 – 93 % chronických a rekurentních infekcí u člověka. Struktura chalconů byla obměňována substitucí bromem v poloze 3 kruhu A, různými substitucemi kruhu B a záměnou fenylu (kruhu B) 2-naftylem a 2-furylem. Z této práce vyšlo najevo, že ani xanthoxylinový fragment molekuly původně izolovaný z listů a kmene jihoafrického stromu *Sebastiania schottiana* (Euphorbiaceae), ani hydroxyskupina v *ortho*-poloze kruhu A nejsou dostačující pro antifungální aktivitu. Co se týká substituce, látky se substituentem s –I efektem v poloze 4 kruhu B byly aktivnější než nesubstituované. Sloučeniny se +I substituentem ve zmíněné poloze byly všechny inaktivní. Nejúčinnější látkou, která inhibovala 10 klinických isolátů *Trichophyton rubrum* byl 2-chlorderivát. Žádná z těchto látek nebyla účinná na lidské patogenní

kvasinky: *Candida albicans*, *C. neoformans*, *Saccharomyces cerevisiae* a vláknité houby *Aspergillus albicans*, *A. fumigatus*, *A. flavus*. Autoři této práce se zamýšleli i nad mechanismem účinku a označili chalkony jako induktory hyfové malformace, tzn. že chalkon by mohl interferovat se syntézou polymerů houbové buněčné stěny [74].

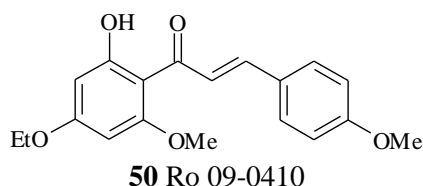
Z kůry stromu *Artocarpus nobilis* (Moraceae) původem ze Srí Lanky bylo izolováno 5 derivátů geranylchalkonu (**45** – **49**). Isolací a sledováním antifungální aktivity na *Cladosporium cladosporoides* byly nalezeny fungicidní chalkony [75].



3.1.3 Antivirové účinky chalkonů

Zmínka o antivirovém působení flavonoidů a chalkonů je poměrně stará [76] a někteří autoři přikládají antivirové působení chalkonů schopnosti chelátovat kovové ionty, např. Zn, Fe, Al [77].

Zkoumáním antivirových účinků přírodních flavonů se dospělo k 1-(4-ethoxy-2-hydroxy-6-methoxyfenyl)-3-(4-methoxyfenyl)prop-2-en-1-onu (Ro 09-0410, **50**). Tato látka byla označena za nové antivirotikum s účinkem exklusivně proti rhinovirům, ale neaktivní vůči jiným pikornavirům. 46 typů rhinovirů bylo citlivých při koncentraci menší než $3 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$, asi 5 rhinovirů pod $0,003 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$; MIC_{50} u citlivých typů se pohybovaly mezi $0,03 - 0,4 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$. Neaktivní zůstal chalkon při působení na polioviry, coxsackie viry, echoviry, mengoviry, influenza viry, herpes simplex viry a další [78].

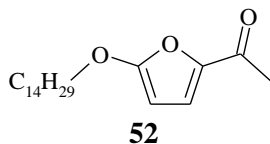
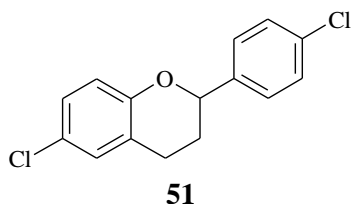


Způsob účinku a mechanismus resistance vůči antiviroviku Ro 09-0410 zkoumala stejná skupina vědců. Inaktivace viru byla spojena s vazbou látky na virové části, konkrétně proteiny virové kapsidy. Tento chalkon je schopen přímo inaktivovat humánní rhinoviry (HRV). HRV se dělí na více než 100 serotypů a jednotlivé serotypy se odlišují kapsidovými proteiny. Stabilizací kapsidy ale chrání chalkon vir před nestabilitou v kyselém pH a teplotě $56 \text{ }^\circ\text{C}$. Za normálních okolností vedou tyto podmínky ke změně velikosti, konformace a antigenicity viru. HRV navázaný na chalkon je resistantní vůči těmto změnám [79,80].

Ro 09-0410 (**50**) blokuje nebo brzdí odpláštění virionové RNA u pikornavirů v hostitelské buňce, působí pravděpodobně stabilizací virové konformace [81].

Porovnáním účinku a studií zkřížené resistance několika antivirovicky účinných látek na rhinoviry (tab. 2) bylo zjištěno, že chalkon Ro 09-0410 má stejný mechanismus účinku jako zobrazené sloučeniny (**51**, **52**), tzn. interaguje se stejným specifickým místem na proteinu virové kapsidy, vazebné místo je buď totožné nebo velmi blízké [82].

Tab. 2. Antirhinovirová aktivita chalkonu Ro 09-0410



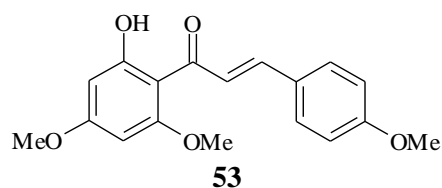
HRV serotyp	IC ₅₀ ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)
1B	0,44
2	0,0055
3	0,89
4	>4
9	0,049
16	0,015
21	<0,002
29	0,049
30	0,016
31	1,3
35	0,049
49	0,002
MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	0,023
cytotoxická konc.	18

Typ vazby a konformační změny po navázání na různé typy rhinovirů [83,84] byly popsány pro vybraná potenciální antivirotika včetně Ro 09-0410.

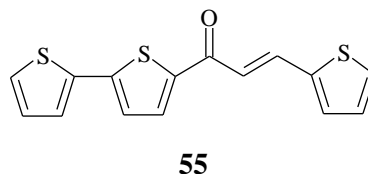
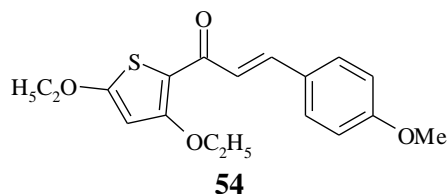
U chalkonu Ro 09-0410 byl studován synergický účinek s intranasálně podávanými humánními interferony [85] a dále byla zkoumána zkřížená resistance [86] a resistance humánních rhinovirů na dobrovolnících [87]. Resistance viru na Ro 09-0410 může být způsobena substitucí aminokyseliny v kapsidovém proteinu [88].

Jako profylaktikum proti rhinovirové infekci byl chalkon Ro 09-0410 podáván intranasálně dobrovolníkům v dvojité zaslepené kontrolované studii [89].

V poloze 2 fosforylované proléčivo Ro 09-0410, označené jako Ro 09-0415, bylo testováno na dobrovolnících v dvojité slepé, kontrolované studii na protektivní účinky před experimentální rhinovirovou infekcí. Toto proléčivo je dobře absorbováno po p. o. podání a v tkáních je rozštěpeno fosfatasami, zatímco parentní látka se neabsorbuje dobře. Pro lokální podání v dostatečné dávce jsou obě látky příliš dráždivé, proto jedinou nadějí pro její praktické použití je méně dráždivá léková forma [90]. Velmi podobná látka (**53**) a její příprava byla již patentována. IC₅₀ proti rhinoviru 2 byla $0,01 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ [91].

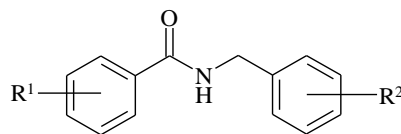


Thiofenové analogy chalkonu Ro 09-0410 (**50**) byly připraveny Friedel-Craftsovou acylací jako potenciální antivirotika proti pikornavirům (rhino, polio, coxsackie, echo). Jejich aktivita byla ovšem nulová nebo slabá. Aktivní byl pouze jeden derivát s MIC = $1 - 3 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ (**54**). Náhrada benzenového jádra thiofenem v molekule chalkonu vedla ke snížení biologického účinku a zvýšení toxicity [92].



Thiofenový derivát **55** pocházející z jiné pracovní skupiny byl aktivní na echo 6 virus a parainfluenza virus [93].

Amidové analogy **56** Ro 09-0410 bez dvojné vazby mezi uhlíky inhibovaly HRV ještě účinněji než výchozí chalkon a to v koncentracích $< 2 - 3 \text{ ng} \times \text{ml}^{-1}$ [94].

**56**

Ze surového extraktu listů novozélandské rostliny *Ozothamnus leptophyllus* G. Forst. (Asteraceae) izolovaný 3-fenyl-1-(2,4,6-trihydroxyfenyl)prop-2-en-1-on byl aktivní na poliovirus, herpes simplex virus a také na dermatofyty [95].

Herpes simplex virus HSV-1 a HSV-2 inhibovaly také dihydrochalkony **57** a **58** (tab. 3), z nichž jeden byl zcela nově izolován z kůry stromu *Millettia leucantha* Kurz. (Leguminosae). Další nové chalkony vykazaly také střední cytotoxickou aktivitu [96].

Tab. 3. Inhibiční účinek dihydrochalkonů na herpes simplex viry

Dihydro-chalkon	R	IC ₅₀ (μg × ml ⁻¹)	
		HSV-1	HSV-2
57	R ¹ = H, R ² = OCH ₃	15,5 ± 3	17,0 ± 1
58	R ¹ = OCH ₃ , R ² = H	17,0 ± 2	36,3 ± 4
acyklovir		0,06 ± 0,01	0,5 ± 0,08

Potřebnou a intenzivně studovanou skupinou antivirotik jsou látky s anti-HIV aktivitou. Hledá se v přírodních i syntetických zdrojích. Z jihoamerické léčivé rostliny *Bidens leucantha* Willd. (Asteraceae), používané v ekvádorském lidovém léčitelství, byly izolovány kromě glykosidů kvercetinů i glykosidy chalkonů: 3-(4-hydroxyfenyl)-1-(2,3,4-trihydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu a okaninu (**59** – **61**). Na buňky C8166 infikované virem HIV byly testovány přímo glykosidy, ovšem aktivita byla pouze střední (tab. 4) [97].

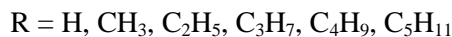
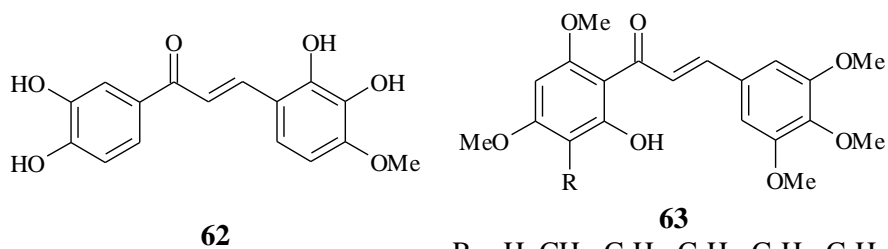
Z řady různých strukturálních typů flavonoidů byly nejvíce účinné flavony a flavanoly [98].

Tab. 4. Účinek glykosylovaných chalkonů z *Bidens leucantha* na buňky C8166 infikované virem HIV

Látka	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	EC ₅₀ (μg × ml ⁻¹)
59	H	<i>p</i> -kumaroyl	H	H	50
60	OH	<i>p</i> -kumaroyl	H	Ac	10
61	OH	Ac	Ac	Ac	20

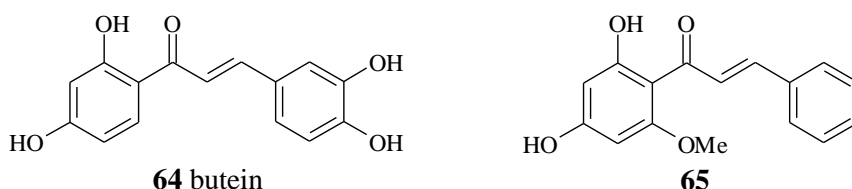
Na HIV virech byly testovány samozřejmě také obsahové látky z lékořice. Z chalkonů byly aktivní likochalkon A a B (**12**, **13**), neúčinný se ukázal isolikviritigenin (**3**) [99]. Likochalkon A byl ve směsi s dalšími obsahovými látkami patentován na inhibiční účinek na HIV viry v buněčných kulturách, přičemž každá ze složek vykazovala anti-HIV aktivitu [100].

Chalkony a další přírodní polyfenoly potlačovaly transkripci HIV promotorů. Tato skutečnost je dobrým aspektem pro chalkony jako HIV-antivirotika. Na promotory cytomegalovirů chalkony nepůsobily. Zkoušeny byly: 1-(3,4-dihydroxyfenyl)-3-(2,3-dihydroxy-4-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (**62**), likochalkon A a B (**12**, **13**). Některé přírodní, strukturálně velmi podobné látky účinek chalkonů postrádaly [101].



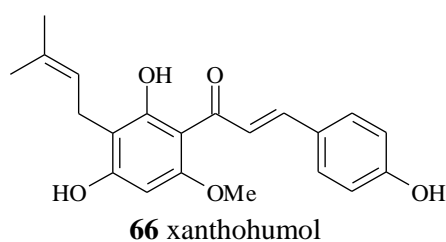
Současná terapie proti HIV-1 je zaměřena na inhibici 2 enzymů, které jsou nepostradatelné pro virovou replikaci: HIV-1 reverzní transkriptasy a HIV-1 proteasy. Tato účinná terapie má ale značné NÚ. Slibným cílem pro blokování životního cyklu viru je HIV-1 integrasa, která je odpovědná za integraci virové DNA do DNA hostitele a nemá obdobu v hostitelské buňce. Připravené chalkony **63** mají předpoklad inhibovat tento enzym díky vzájemnému *s-cis* uspořádání C=O a C=C vazeb a charakteru substituce hydroxyskupinami [102].

HIV-1 proteasu inhiboval butein (**64**) *in vitro* se střední aktivitou (46,9 – 57,9 % inhibice). Tento enzym hraje klíčovou roli při proteolytických procesech u polyproteinů při replikaci HIV a jeho inhibice vede ke vzniku nezralých a neinfekčních virionů. Ovšem časté přepisování genomu HIV vede k mnoha chybám a časté resistenci viru na terapii proteasovými inhibitory. V testu pomocí fluorescenční a HPLC metody byly nejvýraznějšími inhibitory flavonoly [103].

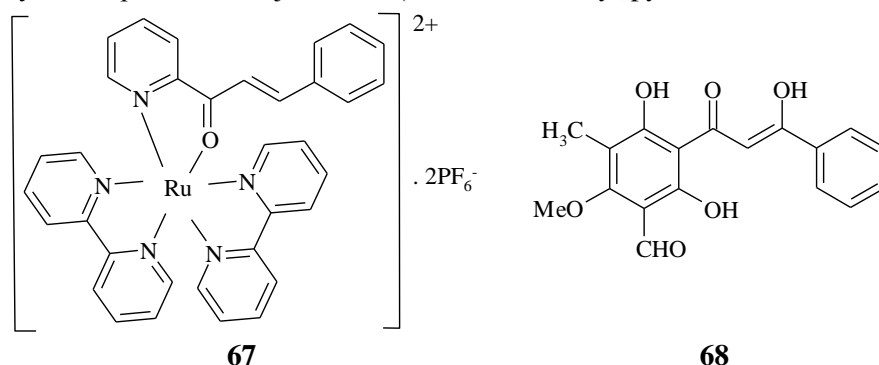


Z hnědé řasy *Pelatonia fasciata* (Mueller) Kuentze byl izolován chalcon (**65**), který inhiboval HIV-1 reverzní transkriptasu s IC₅₀ 70 μg × ml⁻¹ [104].

Chmelový prenylovaný chalcon, xanthohumol (**66**), inhiboval cytopatické účinky HIV-1, produkci virového antigenu a reverzní transkriptasu v lymfocytech (EC₅₀ 0,50 μg × ml⁻¹). EC₅₀ pro inhibici replikace HIV-1 xanthohumolem byla 20,74 μg × ml⁻¹ [105].



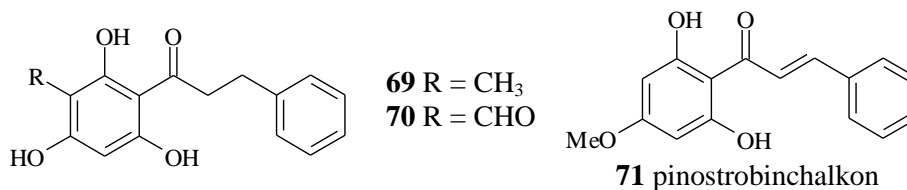
Při hledání komplexů kovových iontů, které by byly podobné jako antineoplasticky účinné komplexy platiny, bylo zjištěno, že rutheniové komplexy mohou interagovat s DNA. Cytotoxický účinek a inhibice replikace DNA viru HIV v lymfocytech byly měřeny u ruthenatých a ruthenitých polypyridylových komplexů obsahujících 2,6-(2'-benzimidazolyl)pyridin nebo chalcon jako



koligand. Žádná z látek nebyla silným cytotoxickým agens ($IC_{50} < 4,0 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$). Komplex **67** inhiboval růst ovariaálního nádoru a ileocekálního karcinomu. Na HIV tyto látky nepůsobily [106].

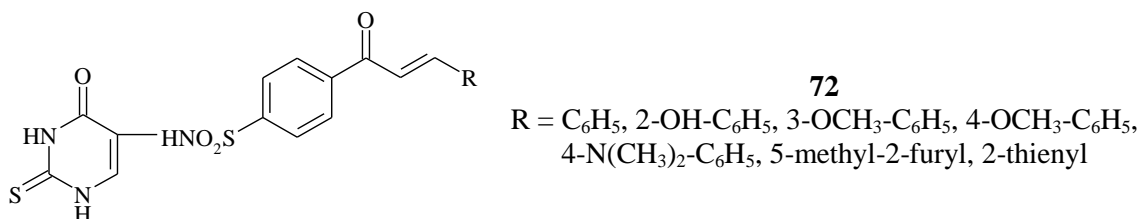
Nadějnou látkou v terapii AIDS je β -hydroxychalkon s aldehydickou skupinou (**68**), který byl objeven při izolaci flavonoidních derivátů z rodu *Desmos* (Annonaceae), jehož zástupci jsou používány v tradiční čínské medicíně. Látky byly hodnoceny na inhibici replikace HIV v H9 lymfocytech a zmíněný chalkon byl nejučinnější látkou vůbec ($EC_{50} 0,022 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$, terapeutický index 489) [107].

Při studiu bioaktivních sloučenin z listů *Leptospermum recurvum* (Myrtaceae), které mají antivirové účinky, byl izolován hydroxylovaný methyldihydrochalkon (**69**). Tato látka vykázala antimikrobní aktivitu na *B. subtilis* a *T. mentagrophytes* v koncentraci 60 $\mu\text{g}/\text{disk}$. Silnější účinek na mikroby, viry a cytotoxický byl zjištěn u syntetického prekursoru, který má místo methylu na kruhu A formyl (**70**) [108].



Propolis, jak již bylo zmíněno, je proměnlivým zdrojem mnoha přírodních látek. V egyptském propolisu z oblastí východní delty Nilu, území Sharkia, byl nalezen pinostrobinchalkon (**71**). Vzorky ze 3 různých oblastí byly zkoušeny na antivirové a antimikrobní účinky, ovšem za biologickou aktivitu může být zodpovědná jakákoli látka z těchto bohatých směsí [109].

Chalkony s 2-thiouracilem navázaným přes sulfonamidovou skupinu na kruh A (**72**) byly připraveny klasickou kondensací, ale na biologické testy byly předány pouze dva z nich: 4-methoxyfenyl-, thienylderivát. Antibakteriálně byly tyto látky neúčinné, středně účinné v antivirovém testu a neměly žádný efekt při hodnocení na protinádorový účinek [110].



Hydroxylované chalkony (**6**, **73** – **75**) inhibovaly i rostlinný virus ze skupiny nepovirů – ringspot virus napadající rajčata. Pro účinek je výhodná hydroxylace na kruhu A v polohách 2, 3, 4 a na kruhu B v poloze 4. Další hydroxylace v poloze 5 na kruhu A vede ke ztrátě účinku. Methoxylace kruhu B obecně snižuje účinek na tento virus. V tab. 5 jsou uvedena procenta inhibice nejučinnějších sloučenin při koncentraci 5 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$. Chalkony nevyvolávaly resistenci proti tomuto viru a antivirová aktivita byla založena na jiném mechanismu než u Ro 09-0410, a to ve stadiu před uvolněním RNA z virionu. Je možné, že chalkony interferují s rozpoznávacím signálem zahrnujícím plášťový protein. K účinku přispívá α,β -nenasycený systém a nejučinnější byly látky odvozené od apigeninu a chrysinu [111].

Tab. 5. Působení chalkonů na ringspot virus v koncentraci 5 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$

Chalkon	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	% inh.
6	OH	H	OH	H	H	H	52
73	OH	OH	OH	H	OH	H	69
74	H	H	OH	OH	OH	H	49
75	OH	H	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	37

3.1.4 Antiprotozoální účinky chalkonů

Chalkony působí na více rodů a druhů protozoí: *Plasmodium* spp., *Leishmania*, *Trypanosoma*, *Trichomonas*, *Entamoeba* a *Legionella*.

Heteroaromatické analogy chalkonů byly patentovány na léčbu schistomiasy, malárie, dalších infekčních onemocnění a parazitárních chorob, jejichž léčba je spojena s inhibicí parazitárních proteas [112].

Vzhledem k masivnímu používání antiprotozoik hlavně v zemích třetího světa je kladen důraz na jednoduchost molekuly, na její snadnou přípravu a široké spektrum antiprotozoální aktivity [113].

V dubnu 2000 vznikla v Dánsku firma LICA Pharmaceuticals A/S zabývající se biofarmaceutickým výzkumem a vývojem a následně komercializací nových a specifických sloučenin pro léčbu bakteriálních a parazitárních infekcí. Tyto sloučeniny mají chalkonový skelet, předlohové struktury jsou optimalisovány a vhodné látky jsou vybírány pro preklinické a klinické testování [114].

3.1.4.1 Antimalarické působení chalkonů

Z epidemiologického hlediska je malárie nejčastějším parazitárním onemocněním, napadá ročně 200 – 500 milionů lidí a za rok způsobí 0,7 – 2,7 milionů úmrtí. Nejzávažnější problém představuje tato infekční choroba v Africe, tropické části Asie, jižní Americe a Oceánii [115].

V rozvojových zemích je malárie smrtící chorobou. Hrozbou je také vzrůstající resistance parazitů vůči stávajícím antimalarikům. Nejvirulentnějším lidským původcem tohoto onemocnění je *Plasmodium falciparum*. Plasmodia prodělávají životní cyklus: merozoiti napadají červené krvinky a hostují v nich. Stadium organismů v podobě malých kroužků se rychle rozvíjí na metabolicky aktivní trofozoity, kteří využívají hemoglobin jako hlavní zdroj AK. Degradace hemoglobinu (Hb) probíhá v kyselé potravní vakuole a na jeho rozkladu se podílí trofozoitní cysteinová proteasa, falcipain. V okamžiku dozrání schizonta praská erytrocyt a do krevního oběhu hostitele se uvolňuje další merozoiti [116].

Důvodem hledání stále nových antimalarik je také zkřížená resistance na známá léčiva. Výhodiskem z této situace je buď objev nového cíle, který je nepostradatelný pro rozvoj onemocnění nebo přežití parazita, a nebo syntéza nové předlohové struktury s minimálními NÚ [117].

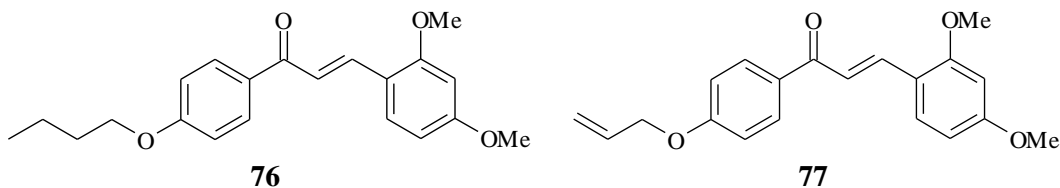
Novou strukturou mezi antimalariky by mohl být likochalkon A (**12**), který byl poprvé popsán v roce 1975 a tři roky poté byla publikována jeho totální syntéza. V čínském lékopise jsou oficiální tři zdroje lékořicových kořenů: *Glycyrrhiza glabra*, *G. uralensis*, *G. inflata*. Likochalkon A (**12**) z kořenů čínské lékořice inhiboval *in vitro* růst chlorochin-citlivého i-resistantního *Plasmodium falciparum*. Dále byly provedeny experimenty s více stadii parazita a *in vivo* na myších infikovaných *P. yoelii*. Likochalkon A (**12**) byl prohlášen za látku se silnou antimalarickou aktivitou [118,119,120].

Metabolity likochalkonu A (**12**) jako potenciálního antimalarika se zabývala německo-dánská skupina. Na králíciích a prasečích jaterních mikrosomech zjistili vznik 3 konjugátů likochalkonu A s kyselinou glukuronovou. Tyto metabolity byly izolovány, identifikovány, syntetizovány a byla vypracována metodika HPLC pro jejich separaci a stanovení v moči a plasmě [121,122].

Mechanismus působení likochalkonu A (**12**) při malárii byl prvně vysvětlen dvěma účinky, jednak jde o látku membránově aktivní, která přeměňuje normální erytrocyty na echinocyty a jednak paralelně působí inhibicí růstu *P. falciparum* [123].

Analogem likochalkonu A (**12**), u kterého byl zjištěn antiparazitický účinek, je 1-(4-butoxyfenyl)-3-(2,4-dimethoxyfenyl)prop-2-en-1-on (**76**). Byl testován *in vitro* na inhibiční účinek vůči *Plasmodium falciparum*, *in vivo* na *P. berghei* a *P. yoelii*. Tento chalkon je slibnou látkou,

neboť vykázal silný účinek proti resistantním parazitům, dostatečnou selektivitu, nízkou toxicitu a může být podáván perorálně [124].

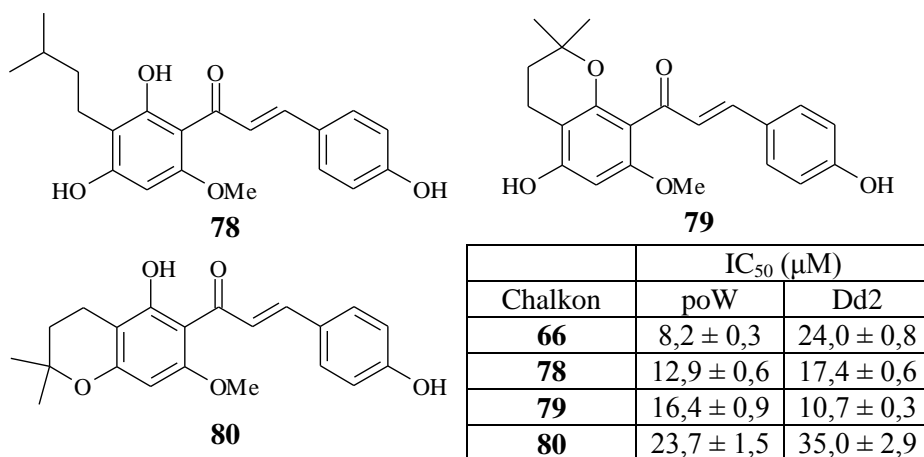


Tato pracovní skupina již dříve patentovala jako antiparazitární a antibakteriální profylaktikum analogický chalkon (**77**) [125] a další deriváty [126].

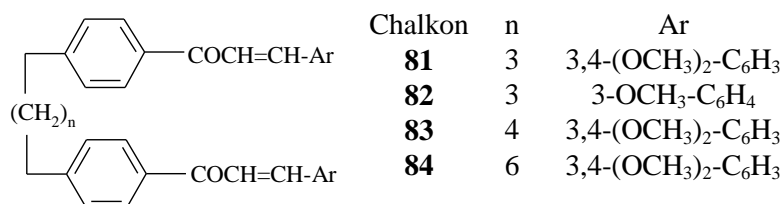
Co se týká dalších přírodních chalkonů testovaných na *P. falciparum*, byl zkoušen xanthohumol (**66**) získaný z chmele a jeho polosyntetické deriváty, z nichž byl antiplasmodiálně účinný derivát s nasycenou prenylovou jednotkou (**78**) a chalkony s cyklisovanou prenylovou skupinou (**79**, **80**; tab. 6). Když se dostane krevní stadium parazita do erytrocytů hostitele, živí se enzymatickým rozkladem Hb, který musí nejprve pozřít do své potravní vakuoly. Vedlejším produktem tohoto trávení je hemin nebo ferriprotoporfyrin IX, který je detoxifikován vznikem nerozpustného polymeru. Byla popsána také alternativní cesta detoxifikace pomocí GSH v cytosolu parazita. Chinolinová antimalarika interferují s oběma detoxifikačními procesy, což vede k usmrcení plasmodia.

Proces degradace heminu byl studován po interakci s chalkony **66**, **78** – **80**. Xanthohumol (**66**), chalkon **78** a **80** inhibovaly při koncentraci 11 μM degradaci heminu > 60 % (chlorochin 82% inhibice při stejné koncentraci). Vzhledem k tomu, že xanthohumol vykazuje také antiproliferativní účinky, bylo by nutné nejprve disociovat od sebe tyto dva účinky, před tím, než by se xanthohumol použil jako antimalarikum [127].

Tab. 6. Působení chalkonů na různé druhy *P. falciparum* poW a Dd2

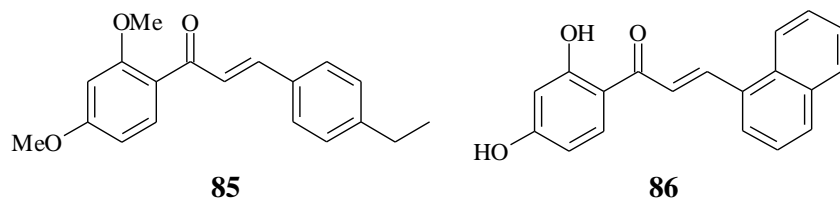


Na myších infikovaných chlorochin-citlivým i -resistentním *P. berghei* byla hodnocena antimalarická aktivita alkoxylovaných bischalkonů (**81** – **84**) a byla zjištěna významná aktivita. K ní přispívá u nejvýznamnějších látek ze série: tříuhlíkatý spojovací řetězec mezi chalkony a substituce methoxyskupinou v polohách 3, 4 kruhu B [117].



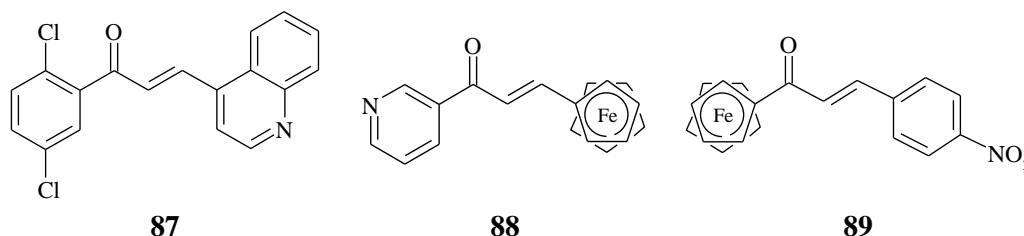
Při zkoumání syntetických chalkonů jako potenciálních antimalarik, byla provedena QSAR studie s více než 90 látkami. Rozhodující byly vlastnosti kruhu B a celková velikost a hydrofobicita

molekuly. Aktivita znázorněných chalkonů **85** a **86** vůči *P. falciparum* *in vitro* byla 2,4 μM a 20 μM . *In vivo* měly tyto látky účinnost na *P. berghei* srovnatelnou s chlorochinem [128].



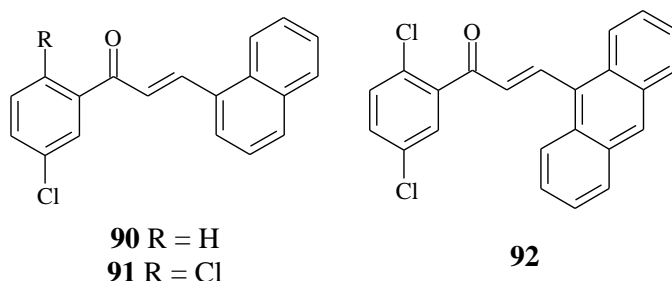
V rámci modifikací α,β -nenasyceného ketoseskupení v molekule chalkonu byly zkoumány antiprotozoální účinky vůči *Plasmodium* a *Leishmania*. V této studii byly zkoumány jednak 1,3-difenylpropenony, 1,3-difenylpropanony, 1,3-difenylpropenony alkylované v poloze α nebo β a 1,3-difenylpropynony. Hydrogenace dvojné vazby zde způsobila jen nepatrný pokles aktivity a další modifikace nepotvrdily enon jako farmakofor. Významnější je údajně přítomnost dvou aromatických jader v molekule [129].

Na chlorochin-citlivé i -resistentní *Plasmodium falciparum* byla testována řada syntetických chinolinových analogů chalkonu, nejperspektivnější látkou byl chalkon **87** s IC_{50} 200 nM (další viz Li *et al.* v kap. 3.1.4.4) [130].



Neobvyklým typem chalkonů známým z poslední doby jsou deriváty ferrocenu, které byly hodnoceny na chlorochin-resistentním *P. falciparum*. Rozdílné biologické aktivity nemohly být vysvětleny odlišnou velikostí molekul ani lipofilitními charakteristikami. Pro ilustraci jsou zde uvedeny neaktivnější struktury (**88**, **89**, IC_{50} 4,6 a 5,1 μM) [131].

Zcela jiný přístup k problematice působení chalkonů na *P. falciparum* přinesla francouzská skupina s myšlenkou inhibice superoxidismutasy (Fe-SOD) obsahující železo. Tento enzym by byl vysoce selektivní cílem antimalarik. Fe-SOD jsou primární skupinou obranných enzymů proti poškození aniontovým superoxidovým radikálem u prokaryont, řas, vyšších rostlin a mnohých protozoí. Mnoho látek muselo být při testování vyloučeno, neboť interferovaly se složkami testu, ale zobrazené chalkony (**90** – **92**) by mohly podle předběžných výsledků být inhibitory Fe-SOD [132].



3.1.4.2 Antileishmaniosní a trypanocidní působení chalkonů

Významné je také působení chalkonů na *Leishmania* spp. a *Trypanosoma* spp. Zástupci rodu *Leishmania* jsou obligátní intracelulární parazité v systému monocytů a makrofágů [133].

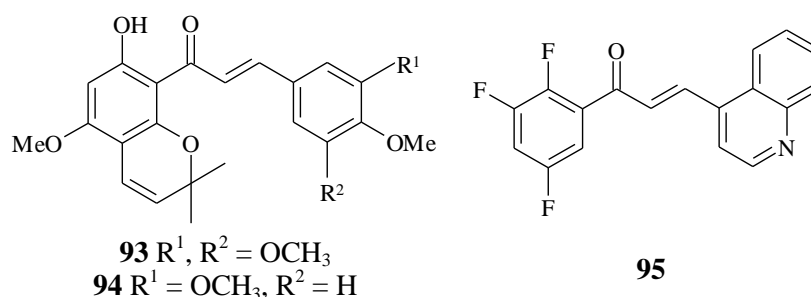
Protozoálním onemocněním převážně africké provenience způsobeným *Trypanosoma brucei gambiense* a *T. b. rhodesiense* a přenášeným mouchou tse-tse je spavá nemoc [134].

Leishmaniosu a Chagasovu chorobu označila WHO jako hlavní a narůstající problém veřejného zdravotnictví především v oblasti latinské Ameriky. Současná terapie leishmaniosy a spavé nemoci existuje již dlouho, má různou účinnost a NÚ, je finančně náročná, vyžaduje dlouhou dobu léčby a objevuje se vůči ní resistance, je neúčinná u imunokomprimovaných pacientů [135].

Navíc používaná léčiva (stiboglukonát sodný, *N*-methylglukamin antimonát, pentamidin, amfotericin B) nelze podávat p. o. [136].

Trypanosoma cruzi způsobuje Chagasovu chorobou, kterou je nakaženo 16 – 18 miliónů lidí střední a jižní Afriky. Terapeutika používaná v této indikaci – nifurtimox a benznidazol vyvolávají silné NÚ. Tento rod prvoků je velmi závislý na glykolýze jako zdroji energie, proto jsou glykolytické enzymy vhodným cílem zásahu pro nová trypanocidní léčiva. Glykosomální glycerinaldehyd-3-fosfátdehydrogenasa (GAPDH), u níž je známa trojrozměrná struktura, katalysuje oxidativní fosforylaci glycerinaldehyd-3-fosfátu na 1,3-bisfosfoglycerát.

Květy brazilské rostliny *Neoraputia magnifica* var. *magnifica* (Engler) Emmerich (Rutaceae) poskytly po extrakci a izolaci 3 pyranochalkony. Dva z nich (**93**, **94**) byly ve směsi zkoušeny na inhibici GAPDH, ale v koncentraci $105 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ inhibovaly pouze ze 45 %. Za účinek byly zodpovědné izolované flavony, které vykázaly mnohem vyšší inhibici [137].



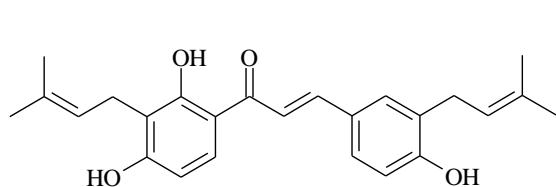
Původcem trypanosomiasy u hovězího dobytka je *Trypanosoma brucei brucei* a způsobuje velké hospodářské škody. Troebergová *et al.* zkoumali souvislost mezi trypanocidní aktivitou a inhibicí cysteinové proteasy trypanopainu. Chalkony, acylhydrazidy a odpovídající amidy inhibovaly enzym *Trypanosoma brucei brucei* v nanomolárním množství a byly označeny jako širokospektré antiparazitární látky, ale jednoznačná cílová struktura v parazitovi označena nebyla. Na trypanopain se váží reversibilně a jsou schopné inhibovat i jiné enzymy (např. glutathionreduktasu, trypanothionreduktasu). Přímý vztah mezi trypanocidní aktivitou a inhibicí trypanopainu pozorován nebyl. U látek byla pozorována nízká toxicita, což je výhodou oproti jiným antiparazitickým látkám. Za všechny je zde uveden neúčinnější chalkon **95** s IC_{50} 240 nM na *T. b. brucei*, ale bez účinku na trypanopain v koncentraci $100 \mu\text{M}$ [134].

Mezi prvními chalkony testovanými na lidském patogenním prvoku *Leishmania* byl likochalkon A (**12**). Tato látka inhibovala růst extracelulárních promastigotních stadií a intracelulárních amastigotních stadií *Leishmania major* a *L. donovani*. Autoři této práce se domnívají, že specifickým cílem působení likochalkonu A ve zmíněných parazitech jsou mitochondrie [138].

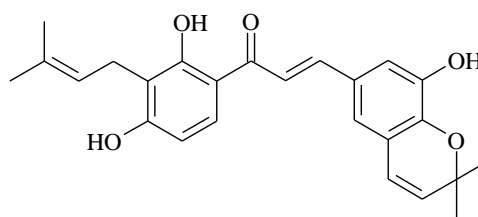
Později byl tento chalkon (**12**) podáván myším infikovaným *L. major* a křečkům s *L. donovani*. Intraperitoneální aplikace likochalkonu A podstatně snižovala množství parazita v jaterní a slezinné tkáni (65 – 85% redukce parazita při dávce $5 - 150 \text{ mg} \times \text{kg} \times \text{den}$). Likochalkon A, příp. jeho deriváty se staly nadějnými pro terapii leishmaniosy [139].

Následující studie s elektronovým mikroskopem potvrdila, že likochalkon A mění ultrastrukturu mitochondrií promastigotů a amastigotů *L. major*, aniž by poškozoval makrofágy nebo makrofágové funkce hostitele. Konkrétním místem zásahu byla mitochondriální dehydrogenasa a inhibice dýchání [140].

Tito autoři izolovali z čínské lékořice další 2 chalkony **96** a **97**, první z nich se blíží antileishmaniosní aktivitou likochalkonu A [141].

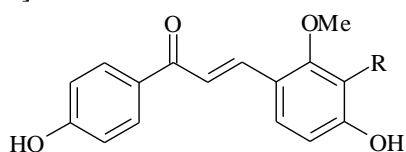


96



97

Nežádoucím účinkem, který by mohl komplikovat praktické použití likochalkonu A (**12**), je inhibice proliferace lymfocytů indukovaná fytohemaglutininem [142]. Systematická studie Christensenovy pracovní skupiny pokračovala syntézou derivátů chalkonu. Synteticky byly připraveny likochalkon A (**12**), likochalkon C (**98**) a echinatin (**99**). Likochalkon A a echinatin ovlivňovaly velmi nepatrně hemaglutininem A vyvolanou proliferaci lymfocytů hostitele v koncentraci, která působila inhibicí růstu *Leishmania*, mohly by proto být dobře použitelnými látkami v praxi [143].



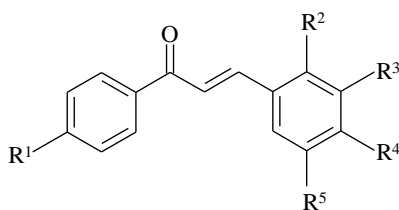
98 R = CH₂CH=C(CH₃)₂

99 R = H

Další intenzivní práci byla získána rozsáhlá skupina substituovaných chalkonů, která byla podrobena 3D-QSAR analýze. Závěrem bylo predikováno, že objemné substituenty v poloze 4 kruhu A a polohách 2, 3 a 4 kruhu B by měly snížit antilymfocytární aktivitu bez vlivu na antileishmaniosní aktivitu. Objemné substituenty v polohách 2 a 3 kruhu A by měly požadovanou aktivitu zvyšovat [142].

Ze skupiny alkoxylovaných chalkonů, které inhibovaly *in vitro* růst promastigotů *L. major* a amastigotů *L. donovani* v lidských makrofázích, byly vybrány látky **100** – **104**, jež byly dále zkoušeny na snížení množství parazita v játrech a slezině pokusných zvířat, inhibici dýchání parazita a mitochondriální dehydrogenasy (tab. 7). Bylo konstatováno, že v případě antileishmaniosního účinku těchto silně účinných látek se nejedná o inhibici cysteinových proteas jako v případě antimalarického působení [144].

Tab. 7. Účinek alkoxylovaných chalkonů na *in vitro* růst promastigotů *L. major* a amastigotů *L. donovani* v lidských makrofázích



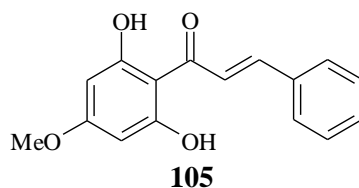
Chalkon	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	<i>L. major</i> IC ₅₀ (μM) ± S.E.	<i>L. donovani</i> IC ₅₀ (μM) ± S.E.
100	OH	OCH ₃	H	OCH ₃	H	5,68 ± 1,6	1,4 ± 0,3
101	OCH ₂ CH=CH ₂	OCH ₃	H	OCH ₃	H	5,80 ± 1,8	0,65 ± 0,35
102	OCH ₂ CH=CH ₂	H	OCH ₃	H	OCH ₃	6,0 ± 1,9	0,81 ± 0,3
103	OCH ₂ CH=CH ₂	OCH ₃	OCH ₃	H	H	7,1 ± 2,3	0,42 ± 0,2
104	H	OCH ₃	H	OCH ₃	H	5,36 ± 1,7	N

Další zkoumání dýchacího řetězce parazita naznačilo, že cílovou strukturou působení v případě chalkonů by mohla být fumarátreduktasa (FRD), klíčový enzym anaerobního energetického metabolismu redukující fumarát na sukcinát. Sukcinát je totiž primárním akceptorem elektronu v dýchacím řetězci *Leishmania*. Chalkony působily na FRD v mnohem menších koncentracích (30×) než na ostatní potenciální enzymatické cíle v dýchacím řetězci parazita. FRD v savčích

buňkách neexistuje, takže je ideálním cílem pro design nových léčiv a navíc inhibiční koncentrace u obdobných enzymů dýchacího řetězce v savčích buňkách byly podstatně vyšší (60×) [145].

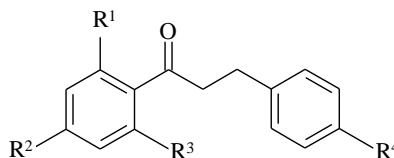
Místem zásahu látek účinných proti *Leishmania* a *Trypanosoma* by mohla být i trypanothionreduktasa (TryR), ale tento enzym chalkony neinhubují [113].

Z *Piper aduncum* (Piperaceae) isolovala brazilská skupina 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyfenyl)-3-fenylprop-2-en-1-on (**105**), účinný selektivně na promastigoty a amastigoty *L. amazoniensis* (ED_{50} 24 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) bez ovlivnění savčích buněk. Pro mechanismus působení této látky bylo navrženo několik možností, ale jedná se pouze o hypotézy. Nicméně je tento chalkon také potenciálním léčivem pro terapii kožní formy leishmaniosy [146]. Jeho účinnost byla zvýšena enkapsulací do polymerních nanočástic. Nanopartikelky připravené jako biodegradabilní polylaktid představují pasivní systém cílené distribuce léčiva do makrofágů, v nichž je lokalizován parazit [147].



Z jiného druhu *Piper elongatum* (Piperaceae) isolovali Španělé 2 dihydrochalkony **106** a **107** s antileishmaniosním *in vitro* účinkem na promastigoty *L. brasiliensis* (tab. 8). Listy této drogy jsou v Peru používány k léčbě vředů. Ke zjištění SAR připravili autoři ještě řadu syntetických derivátů dihydrochalkonů. Charakter substituce kruhů B nebyl pro účinek podstatný, naproti tomu náhrada hydroxyly za acetátovou skupinu (**108**) zvýšila inhibiční účinnost a snížila cytotoxicitu látek na makrofázích. Velmi důležitá pro účinek je poloha 4 kruhu A. Látky byly testovány ještě na méně citlivé kmeny *L. infantum* a *L. tropica*. Tato práce [148] potvrdila závěry Nielsena a Kaysera [133,142].

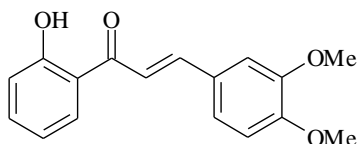
Tab. 8. Působení dihydrochalkonů na *L. brasiliensis* a jejich cytotoxicita



Dihydrochalkon	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	<i>L. brasiliensis</i> IC ₅₀ ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	cytotox. IC ₅₀ ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)
106	OH	OCH ₃	OH	H	27,04	20,0
107	OH	OCH ₃	OH	OH	28,47	20,0
108	OAc	(<i>O</i> -Ac) ₄ - <i>O</i> - β -D-Glu	OAc	H	3,65	3,6
ketokonazol					34,89	

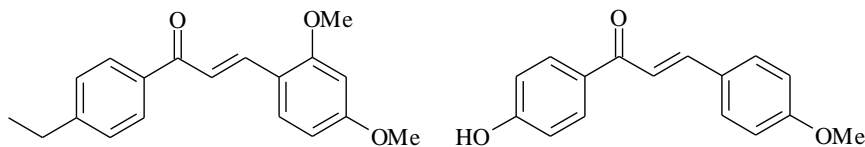
Asi 20 chalkonů z rostlinných zdrojů, které jsou používány v ethnomedicíně, bylo zkoumáno v primárním *in vitro* screeningu. Testování probíhalo na extracelulárních promastigotech *L. donovani*, *L. infantum*, *L. enrietti*, *L. major* a intracelulárních amastigotech *L. donovani*. Z řady různě substituovaných chalkonů byl **109** s EC_{50} 0,39 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ nejúčinnější, v porovnání s amfotericinem B byla EC_{50} zhruba o řád vyšší. Bohužel látky s výraznější aktivitou byly zároveň dost toxické. Ze srovnání SAR [133] vyplynulo, že aktivní látky nesly:

- 1 – 2 alkoxykupiny v polohách 2 a 4'
- methoxykupinu pro zachování celkového lipofilního charakteru molekuly
- nevhodné je objemné a sterické bránění volné rotaci kruhů vzhledem k nenasycenému ketonovému můstku .

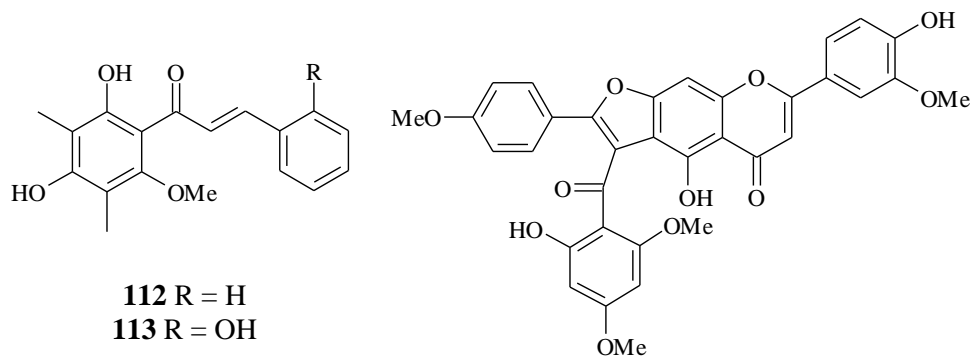
**109**

V řadě syntetických chalconů testovaných na promastigotech *L. brasiliensis* a epimastigotech *T. cruzi* prokázal nejvyšší inhibici nesubstituovaný chalcon (1, IC₅₀ 24,8 μM na *T. cruzi* a 13,7 μM na *L. brasiliensis*). Porovnávacími látkami byly benzimidazol (IC₅₀ 54,7 μM na *T. cruzi*) a amfotericin B (IC₅₀ 0,21 μM na *L. brasiliensis*). Účinek ostatních látek byl závislý na poloze substituentu, aktivní byly látky s halogeny v poloze 4 kruhu A nebo B [135].

Z porovnávací studie provedené na sérii dříve připravených alkoxylovaných chalconů ve vztahu k inhibici *P. falciparum* a *L. donovani* vyplynulo, že pro tyto dva účinky jsou nezbytné různé strukturální požadavky. Antileishmaniosní aktivita je spojena s menší lipofilitou chalconů (4-hydroxysubstituce na kruhu B a hetero/polyaromatický kruh A), zatímco antimalaricky účinné látky měly alkoxylovaný kruh B a elektronově deficitní kruh A. Zobecněno pro antileishmaniosní účinek je důležitý kruh A, pro antimalarickou aktivitu hrají roli oba kruhy. Pod strukturami **110** a **111** jsou uvedeny duálně účinné látky, které zahrnují oba účinky [149].

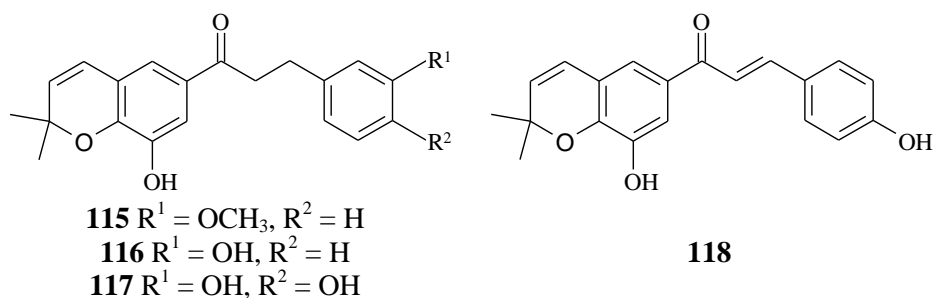
**110****111**

Z druhu *Psorothamnus polydenius* (S. Watson) Rydb. (Fabaceae) byly první chalkony izolovány teprve nedávno. Tuto rostlinu používaly všechny domorodé kmeny v pouštích severní Ameriky. *In vitro* antiprotozoální testování odhalilo aktivní chalkony **112** a **113** se selektivním účinkem a IC₅₀ 5,0 – 7,5 μg × ml⁻¹ na *L. donovani* a také s inhibičním účinkem na *T. brucei* [150].

**112** R = H**113** R = OH**114** cissampeloflavon

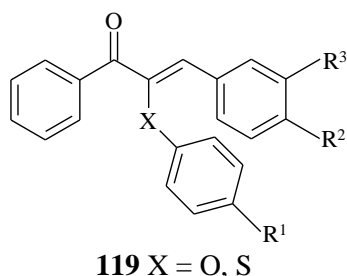
Látkou z přirozených zdrojů je cissampeloflavon (**114**), dimer chalconu a flavonu izolovaný z *Cissampelos pareira* L. (Menispermaceae) z venezuelské džungle. Test na *T. cruzi* a *T. brucei rhodesiense* ukázal dobrou aktivitu této sloučeniny, málo toxické na lidské buňky. *P. falciparum* a *L. donovani* tato sloučenina neinhibovala [151,152].

Vzácným typem dihydrochalconů v přírodě jsou chromenodihydrochalkony (**115** – **117**). Zobrazené látky byly jednak izolovány z rostliny *Crotolaria ramosissima* (Leguminosae), a také připraveny synteticky. Testování inhibice promastigotů i amastigotů *L. donovani* ukázalo, že nejvýraznější sloučeninou je nenasycený syntetický derivát **118** (84% inhibice promastigotů, 74% inhibice amastigotů). Derivát methoxylovaný v poloze 4 kruhu B vykázal podobný účinek na promastigoty, avšak inhibiční aktivita na amastigoty methoxylací výrazně klesla. Látky obsahující citlivý dimethylbenzopyranový systém byly silnějšími inhibitory než jednoduché chalkony [153].



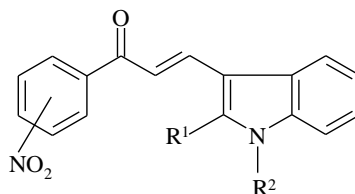
3.1.4.3 Další antiparazitární účinky chalkonů

Neperspektivními látkami byly deriváty α -fenoxy- a α -fenylsulfanylchalkonů (**119**) při působení na *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis* a vybrané houby [154].



Antiparazitická aktivita byla hledána ve skupině indolových analogů chalkonů. První série látek však nepůsobila na uvedená protozoa, nematoda a cestoda: *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis*, *Hymenolepis nana*, ani na *Nippostrongylus braziliensis* [155]. V druhé sérii (**120 – 123**) již byly nalezeny produkty s inhibiční aktivitou na uvedené parazity (tab. 9) [156].

Tab. 9. Působení indolových analogů chalkonu na parazity



Chalkon		R^1	R^2	<i>E. histolytica</i> MIC ($\text{mg} \times \text{ml}^{-1}$)	<i>T. vaginalis</i> MIC ($\text{mg} \times \text{ml}^{-1}$)
120	<i>m</i> -NO ₂	H	C ₂ H ₅	8 – 10	8 – 10
121	<i>m</i> -NO ₂	H	CH ₂ -CH=CH ₂	4 – 6	8 – 10
122	<i>m</i> -NO ₂	H	CH ₂ -(<i>p</i> -Cl-C ₆ H ₄)	4 – 6	8 – 10
123	<i>o</i> -NO ₂	C ₆ H ₅	C ₂ H ₅	8 – 10	6 – 8
metronidazol				1,25 – 2,5	1,25 – 2,5

Chalkony byly navrženy i pro terapii ve veterinární medicíně. Na *Trichomonas gallinae* získanou z primárních hostitelů – domácích holubů (*Columba livia*) působily 1-(2-hydroxy-4-methoxyfenyl)-3-(2-methoxyfenyl)propenon (MLC 0,78 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) a 1-fenyl-3-(4-hydroxyfenyl)propenon (MLC 3,13 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) blíží se standardu metronidazolu (MLC 0,78 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$). Thiofenový a furylový analog chalkonu byly neaktivní [157].

Likochalkon A působil inhibičně na *Legionella pneumophila*, *L. longbeacheae*, *L. wadsworthii*, *L. bozemanii*, *L. dumoffii* a *L. feelei*, nepůsobil na druhy *L. micdadei*, *L. gormanii* [65].

Mezi další antiinvasivní působení chalkonů lze zařadit účinek herbicidní [158], insekticidní [159,160,161] a larvicidní na moskyty [162].

3.1.4.4 Působení chalkonů na cysteinové proteasy parazitů

Cysteinové proteasy patří do skupiny proteolytických enzymů. Proteolytické enzymy jsou přítomné ve všech živých buňkách a jsou vylučovány i do vnějšího prostředí, např. GIT vyšších organismů. Tyto enzymy hrají důležitou roli v intermediárním metabolismu, účastní se srážení krve, aktivují trávicí enzymy, zasahují do obranných mechanismů atd. Hojně jsou proteolytické enzymy využívány v průmyslu a potravinářství jako biodetergenty, při produkci sýrů, zpracování kůže a jako stabilizátory piva. V medicíně a farmacii se používají jako preparáty zlepšující trávení, agens pro čištění kontaktních čoček, dále v kosmetice jako keratolytické změkčující přípravky a pleťové peelingové masky a také ve vědecko-výzkumné experimentální činnosti [163].

Proteolytické enzymy – peptidasy – proteasy (EC 3.4) katalysují specificky hydrolyzu peptidických vazeb v proteinech. Kromě specifity štěpení (karboxy- a aminopeptidasy, dipeptidyl- a tripeptidylpeptidasy) může být dalším klasifikačním kritériem původ peptidas (rostlinné, živočišné, mikrobiální), lokalisace (intracelulární, extracelulární), optimální pH (kyselé, neutrální, alkalické) atd.

Podle reaktivní skupiny v aktivním katalytickém místě se peptidasy rozdělují na cysteinové, serinové, aspartátové proteasy a metaloproteasy [163,164,165].

Cysteinové peptidasy

virové:	pikornain (virus hepatitidy A)
bakteriální:	stafylokoková cysteinová proteasa, streptopain (<i>Streptococcus</i> spp.), clostripain (<i>Clostridium histolyticum</i>), Arg-gingipain a Lys-gingipain (<i>Porphyromonas gingivalis</i>), cysteinové aminopeptidasy ze <i>Streptococcus thermophilus</i> a <i>Lactococcus lactis</i>
houbové:	katepsin B (<i>Aspergillus flavus</i>) cysteinové proteasy plísní (<i>Trichosporus</i> spp., <i>Oidiodendron kalrai</i> , <i>Nannizzia fulva</i> , <i>Microsporum</i> spp., <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Sporotrichum pulverulentum</i> , <i>Bacteriodes gingivalis</i>)
protozoální:	kruzipain (<i>Trypanosoma cruzi</i>), amoebapain (<i>Entamoeba histolytica</i>), cysteinové proteasy <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Plasmodium</i> spp.
rostlinné:	bromelain (Bromelainaceae), ficin (<i>Ficus</i> spp.), papain a chymopapain (<i>Carica papaya</i>)
savčí a lidské:	lysozomální katepsiny (B, C, H, I, J, K, L, M, N, O, P, S, T), cytoplasmatické kalpains (vápník-dependentní cysteinové proteasy), ICE (IL-1 β konvertující enzym), kaspasy

Cysteinové peptidasy představují v současnosti perspektivní skupinu enzymů ve spojitosti s léčbou mnoha onemocnění (nádorová, artritická, infekční a zánětlivá). Své uplatnění našly rostlinné cysteinové proteasy rovněž v potravinářském průmyslu (bromelain, ficin, papain) [163].

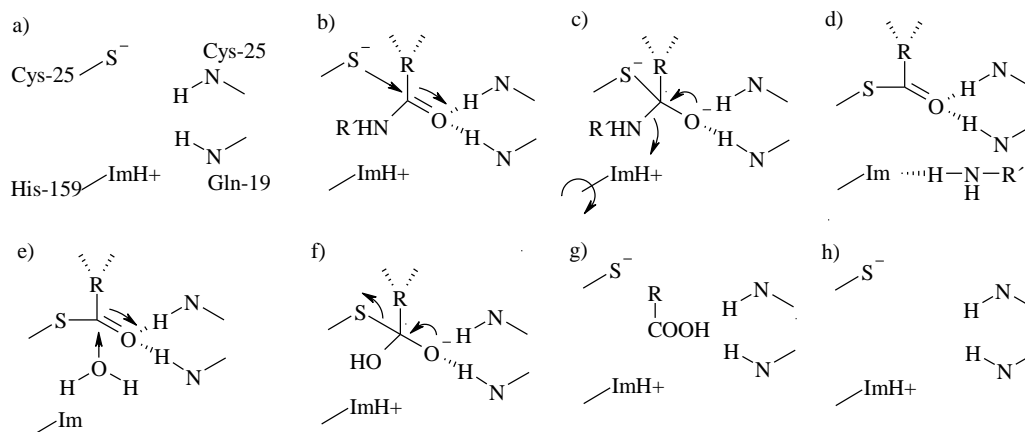
Cysteinové proteasy specifické pro některé parazity jsou atraktivním cílem pro vývoj nových antiparazitických chemoterapeutik, obzvláště po zjištění, že inhibitory těchto enzymů nenapadají hostitele, ale pouze patogen, např. *Plasmodium falciparum*, *Leishmania major*, *Trypanosoma cruzi* [166].

Mezi další cysteinové proteasy, které představují potenciální cíle pro designovaná léčiva, patří papain family (cysteinylkatepsin, kalpains, parazitické cysteinové proteasy), kaspasy (viz kap. 3.1.6) a picornaviridae family [167].

Lysozomální papain-like cysteinové proteasy včetně některých katepsinů jsou zřejmě zodpovědné za zvrát v syntéze proteinů u některých onemocnění jako je muskulární dystrofie, chronická zánětlivá onemocnění, rozvoj nádorů, osteoporosa a astma [168]. Klíčovou roli hrají také u mikrobiálních infekcí [169].

Při hydrolyze peptidu cysteinovými proteasami (schema 2 a) dochází v katalytickém místě nejprve k nukleofilnímu ataku cysteinové síry na acylový zbytek substrátu (b). Postranní řetězec histidinu funguje jako akceptor vodíkového atomu (c). Jako první produkt se uvolňuje amin (d). V další fázi následuje tvorba dvou vodíkových vazeb mezi kyslíkem karbonylové skupiny substrátu a dvou -NH- skupin v katalytickém místě enzymu (e). Mechanismus účinku proteas je založený na vzniku kovalentních meziproduktů: Michaelisův komplex (b), tetraedrický komplex (c, f) a acylenzymový produkt (d) [164].

Schema 2. Mechanismus proteolýzy papainem



Cysteinové peptidasy jsou citlivé na činidla s thiolovými skupinami a na těžké kovy. Mohou být naopak aktivovány redukčními činidly jako kyanidem draselný, cysteinem nebo EDTA. Optimální pH těchto enzymů leží zpravidla mezi 5 – 8 [165].

Základním kritériem klasifikace inhibitorů cysteinových peptidas jakož i většiny enzymů je místo interakce – isosterické či allosterické. Inhibitory, které napadají přímo aktivní místo – isosterické, je možné rozdělit na kovalentní/nekovalentní a dále ireversibilní/reversibilní. Příkladem reversibilních inhibitorů jsou peptidylaldehydy, -nitrily, -semikarbazony atd. [164].

Kromě těchto inhibitorů jsou známy také inhibitory nepeptidového charakteru. Ireversibilní inhibice na papain-like cysteinové proteasy byla zaznamenána např. u 3-chlor-4-karboxamido-6-arylpiazinů, disulfiramu, esterů kyseliny skořicové, homoftalimidů, organoteluričitých sloučenin [170], donorů oxidu dusnatého [168], fluormethylketonů, heterocyklických peptidomimetik obsahujících kyslík a vinylsulfonů [166].

Cystatiny jsou proteinové reversibilní inhibitory papain-like cysteinových proteas a jsou produkovány organismy za účelem ochrany před vlastními proteasami, příp. před těmi, kteří proteasy vylučují (infekční bakterie, viry a parazité) [165].

Reversibilní inhibici na tyto enzymy vykazaly např. cyklické ketoamidy – isatiny, kyanoamidy, kyseliny α -merkptoakrylové, kyselina 1-karboxymethylnikotinová, fenothiaziny, indometacin, acylhydrazony, arylmočoviny, arolythiomočoviny, α,β -nenasycené amidy a chalkony [168].

Z parazitárních proteas je studován enzym *P. falciparum*, falcipain, jako potenciální cíl antimalarik. Inhibitory falcipainu jsou schopné zastavit degradaci Hb a tím rozvoj parazita. Při zkoumání možností byly v genomu plasmodia rozpoznány tři geny pro falcipain 1, 2 a 3. Zdá se, že největší podíl na degradaci Hb mají falcipain 2 a 3. Jsou známy inhibitory falcipainu 2, jedná se látky s vinylsulfonovou skupinou, na níž je navázaný dipeptidický zbytek [116].

Plasmodium se dostává v podobě merozoitů do erytrocytů, kde se přeměňuje na trofozoity, jež působí rozkladem Hb manifestaci klinických příznaků malárie. V polovině 90. let byla identifikována série syntetických chalkonů jako nových potenciálních antimalarik. Tyto látky byly navrženy pomocí molekulového modelování na základě podobnosti se známým inhibitorem cysteinové proteasy (E-64) a jejich účinek byl ověřen *in vitro* na intaktním parazitovi. Látky

vykázaly účinek na kmeny *P. falciparum* sensitivní i resistantní vůči chlorochinu. V této studii byly vyvozeny následující SAR:

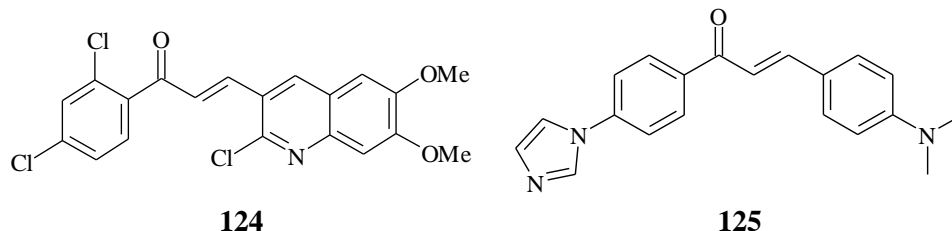
- dichlor- a difluorsubstituce na kruhu A v polohách 2,3 a 2,4 je výhodná, monosubstituce chlorem v *p*-poloze také zvyšuje účinek
- chinolinové analogy chalkonů, substituované i nesubstituované chlorem představovaly sloučeniny s dobrou aktivitou, nehledě na substituci kruhu B
- di- nebo trisubstituce methoxyskupinami na kruhu B zvyšovala aktivitu bez ohledu na polohu substituce
- α,β -nenasyčený systém chalkonů se v této studii ukázal nezbytným pro účinek, nasycené deriváty vykazovaly několikanásobný pokles antimalarické aktivity.

Modelovací program ukázal, že chalkony jsou rigidnější než dihydrochalkony, konjugovaný linker způsobuje, že jejich molekula je téměř planární a lépe zapadají do dlouhé štěrbině aktivního místa malarické cysteinové proteasy.

Obecně shrnuto: elektrony přitahující skupiny na kruhu A podporují Michaelovu adici chalkonů na přístupné nukleofilní postranní řetězce enzymu. Na kruzainu, parazitické cysteinové protease *Trypanosoma cruzi*, bylo prokázáno, že testované chalkony jsou reversibilními inhibitory. Situace u savčí cysteinové proteasy – katepsinu B, byla ovšem odlišná, byla pozorována pouze nízká inhibice [171].

Liova skupina dále pracovala na homologním modelování porovnáváním falcipainu s rostlinnými cysteinovými proteasami: papainem a aktinidinem a na syntetických obměnách předlohy vymodelované struktury. Kromě látek typu acylhydrazidu, byly připraveny a testovány substituované chalkony a dále jejich naftalenové, chinolinové a isochinolinové analogy [172].

Při dalším zkoumání chinolinových analogů chalkonu byl ale mechanismus působení na falcipain zpochybněn. Látky byly testovány nejprve na falcipainu, pak na *P. falciparum* a na myším modelu s *P. berghei*. Nejnadějnější látkou byl chalkon **124** s IC_{50} 19,0 μ M na *P. falciparum*. Inhibice falcipainu nekorelovala s výsledky *in vivo* testu na snižování parazitemie infikovaných myši [173].

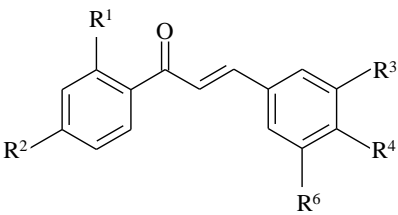


4-Dimethylamino-4'-(imidazol-1-yl)chalkon (**125**) je dalším potenciálním antimalarikem, které inhibuje cysteinovou proteasu *P. falciparum* ve stadiu trofozoita. Při zkoumání jeho biotrasformace v lidských jaterních mikrosomech byly identifikovány demetylované a hydrogenované metabolity [174].

Racionální přístup k designu nových léčiv přispěl k hledání nových chemoterapeutik, v jejichž struktuře se skrývá více aktivních entit. Po penetraci tohoto proléčiva do potravní vakuoly parazita bohaté na železnaté ionty, následuje odmaskování látek fragmentací pomocí Fe^{II} a uvolnění více účinných látek. Takto byla odhaleno proléčivo typu endoperoxidu, které by mělo inhibovat falcipain, hemoglobinasu obsaženou v potravní vakuole *P. falciparum*. Prototypová sloučenina uvoňovala chalkon a další antiparazitické jednotky (schema 3) uvnitř parazita [175].

určitá hydrofilně-lipofilní rovnováha, daná v tomto případě např. množstvím etherifikovaných a volných hydroxykupin na benzenových jádrech [178].

Tab. 10. Chalkony inhibující 100% *Biomphalaria glabrata* při 100 ppm



Chalkon	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
129	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	H
130	ONa	ONa	OCH ₃	OCH ₃	H
131	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H
132	OH	OH	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃
133	OCH ₃	OCH ₃	H	N ⁺ (CH ₃) ₂ Cl ⁻	H

Konvenční metodou kontroly nad ztrátami v kulturách plodin jsou neurotoxické látky s nízkou specifitou, jako např. karbamáty, halogenované a fosforylované organické sloučeniny. Tyto látky mají ale negativní dopad na životní prostředí a proto by jejich použití mělo být omezeno. Nesubstituovaný chalkon se ukázal být dosti toxickým na fytoparazitická nematoda (*Globodera pallida*, *G. rostochiensis*) a také jako inhibitor líhnutí dospělců z cyst. V testu se jednalo o nematoda napadající kultury brambor, obilnin, sójových bobů, cukrové řepy a zeleniny. Tato fyto toxická nematoda jsou schopna přežít v půdě mnoho let bez vhodného hostitele a v případě výskytu hostitelské rostliny se začnou líhnout infektivní dospělá stadia. Nematocidní aktivita chalkonu je důsledkem přítomnosti konjugovaného karbonylového systému v molekule. Mechanismus zatím objasněn nebyl, ale hypoteticky by mohlo jít o zásah do oxidativních fosforylačních procesů v mitochondriích. Fytotoxicita na pěstovaných rostlinách pozována nebyla. Chalkon je slibnou alternativou pro kontrolu zemědělců nad cystujícími hlísticemi [179].

3.1.6 Antineoplastické působení chalkonů

Množství informací o antineoplastickém působení chalkonů je obrovské. Údaje publikované do roku 1999 byly shrnuty [24], proto jsou v této kapitole vybrány jen ty protinádorové a chemoprotektivní účinky chalkonů, které mají souvislost s ovlivňováním aktivity nějakého enzymu nebo je nějakým způsobem naznačen mechanismus působení.

Rakovina je závažné onemocnění rozšířené po celém světě, které usmrcuje více než 7 miliónů lidí ročně a nejčastější příčinou vzniku onemocnění je nevhodná strava (35 %), kouření (30 %) a infekce (10 %) [180].

Pokroky v chápání nádorového bujení na buněčné a molekulární úrovni vedly k rozvoji nového slibného přístupu v protinádorové prevenci nazvaného chemoprevence. Jejím cílem je zastavit nebo zvrátit rozvoj a progresi prekancerózních buněk pomocí netoxických nutraceutik a/nebo farmak během období iniciace zhoubného bujení [181].

Chemoprevence má relativně nízkou metabolickou specifitu. Chemopreventivní látky působí nejefektivněji, pokud jsou podány dříve nebo současně s karcinogeny [182].

Některá chemopreventiva ze skupiny flavonoidů přijímáme v potravě a jejich zvýšená konzumace snižuje incidenci rakoviny [183], ovšem tyto látky mohou mít i nežádoucí účinky [180].

Chemoprotektivní aktivita je obecně zprostředkována následujícími mechanismy [184]:

- inhibicí enzymů bioaktivujících promutageny a prokarcinogeny, především cytochromu P isoenzymu 1A (CYP1A)
- indukci glutathion-S-transferas (GSTs, viz kap. 3.1.9.4)
- antioxidační aktivitou
- dalšími účinky jako např. inhibicí vzniku aduktu DNA s karcinogenním metabolitem a inhibicí redoxních enzymů (5-lipoxygenasy).

Studie určené k rozpoznávání nových chemoprotektivních látek jsou založené na testování modulace metabolismu karcinogenů enzymy fáze I a II [182], testování prevence oxidativního

poškození způsobeného reaktivními formami kyslíku (ROS) a na inhibici produkce NO. Dále se zkouší inhibice syntézy DNA a progresu buněčného cyklu, indukce apoptozy a diferenciaci terminálních buněk.

Antioxidační vlastnosti látek ve vztahu k rakovině jsou důležité z toho důvodu, že oxidativní stres může způsobit poškození DNA, které přispívá k iniciaci karcinogeneze. Stejně tak může oxidativní stres iniciovat nadměrná produkce NO během infekce, imunitního onemocnění nebo chronického zánětlivého procesu (viz kap. 3.1.9.7). Vznik NO katalysuje indukovatelná forma NO synthasy (iNOS).

V nádorových tkáních byla také detekována nadměrná produkce prostaglandinů (PG). Tyto vnitřní působky stimulují buněčnou proliferaci a iniciují angiogenesi důležitou pro růst nádoru [185,186].

Vhodnou vlastností chemopreventiv je schopnost zvyšovat hladinu GSH v buňkách. GSH je přirozený antioxidační nukleofil a má řadu biologických funkcí. V iniciačních a promotorových fázích má protektivní schopnosti a chrání DNA před poškozením volnými radikály. *Trans*-chalkon indukoval zvýšení hladiny GSH o 47 % v netoxické koncentraci (0,1 mM) a byly tak poprvé zaznamenány jeho chemoprotektivní vlastnosti [187].

Enzymy fáze I xenobiotické transformace zahrnují CYP (metabolicky aktivují karcinogen), enzymy fáze II NAD(P)H:chinonreduktasu (QR), GSTs, UDP-glukuronyltransferasu a *N*-acetyltransferasu. V prevenci nádorového bujení hraje důležitou úlohu i střevní mikroflora – detoxifikuje karcinogeny pomocí konjugačních reakcí [15].

Mezi chemopreventivní induktory enzymů se řadí asi 9 základních skupin látek: kyselina skořicová a její estery, fenylbutenony, chalkony, kurkuminoidy, kumariny, fenylbutenony, bis(benzyliden)acetyony, bis(benzyliden)cycloalkanony (-pentanony, -hexanony). Spekuluje se o schopnosti těchto látek exprimovat NAD(P)H:chinonreduktasu [188].

Existuje více takových látek, většinou jsou Michaelovými akceptory, tedy olefiny konjugovanými se skupinami přitahujícími elektrony a jejich účinnost obecně koreluje s jejich akceptorovou silou v Michaelově adici [182].

Chalkony jsou pravděpodobně schopné vázat se na receptory, které indukují aktivitu enzymů fáze II [189].

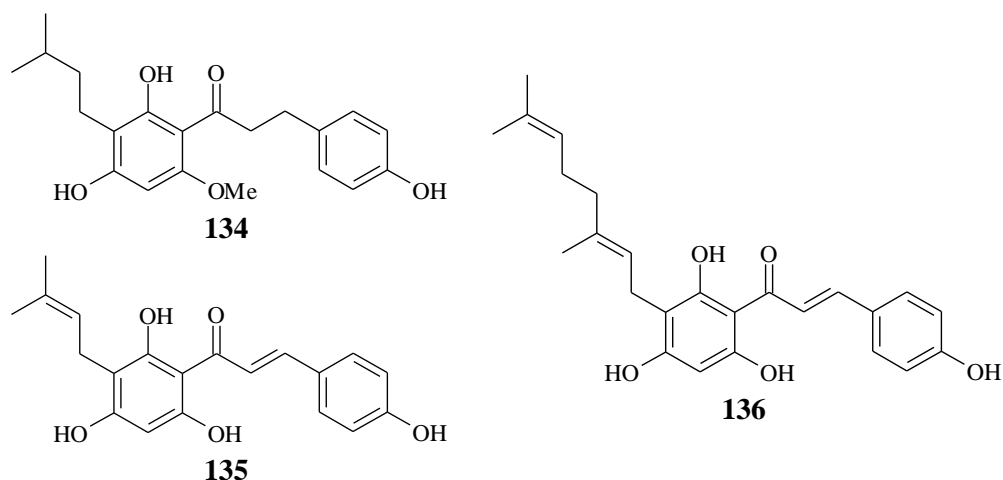
Enzymy ze skupiny cytochromu P450 jsou inducibilní oxidasy se smíšenou funkcí obsahující hem, které hrají klíčovou roli v metabolismu hydrofobních endogenních substrátů (steroly, PG, MK) a xenobiotik. U člověka se vyskytuje 17 rodin a za fázi I metabolisme léků jsou ze 70 – 80 % zodpovědné CYP1 – 3 [190].

Flavonoidní látky mohou indukovat biosyntézu CYP, modulovat jeho enzymatickou aktivitu anebo flavonoidy mohou být cytochromy metabolisovány. Modulací CYP flavonoidy může být rovněž měněn metabolismus současně podávaných léčiv v organismu a může tak dojít k předávkování nebo ztrátě terapeutického účinku. Flavonoidy mohou modulací CYP zasahovat jak do aktivace, tak deaktivace karcinogenů [15].

Z chmele *Humulus lupulus* L. (Cannabinaeae) byly izolovány unikátní prenylované nebo geranylované flavonoidy včetně chalkonů s protinádorově chemopreventivními účinky způsobenými částečně inhibicí cytochromu P450. Xanthohumol (**66**) je nejčastěji se vyskytujícím flavonoidem chmele (0,1 – 1 % sušiny šišťice chmele) [191].

Téměř kompletně inhiboval *in vitro* isoenzymy CYP1A1, CYP1B1 (do 2 % kontroly), nejčastější CYP 450 v mimojaterních tkáních aktivující polycyklické aromatické uhlovodíky. Z chalkonů byly dále velmi účinné tetrahydroxanthohumol (**134**) na CYP1A1 a tetrahydroxyprenylchalkon (**135**) a tetrahydroxygeranylchalkon (**136**) na CYP1B1 (> 90% inhibice). Prenylované chalkony byly aktivnější než chalkony bez prenylových jednotek [192]. Prenylová jednotka zřejmě zvyšuje cytotoxicitu molekul flavonoidů [193]. Tyto flavonoidy ale působí zřejmě

více mechanismy (indukce QR a GSTs, inhibice nádoru v raném stadiu). Během této studie byly provedeny pouze předběžné *in vivo* testy [192].



V jiné práci byly chalkony s isoprenylovými jednotkami i bez z nich přibližně stejně aktivní [194]. A při korelaci vztahu struktury a účinku antioxidantního, estrogenního a antiproliferativního byla vyzdvihnuta důležitost α,β -nenasyčené vazby a hydroxylové substituce [195].

Význam konzumace umírněného množství piva není doposud tolik prozkoumán jako pravidelné pití vína. V Německu isolovali z nestabilizovaného piva a z polyvinylpyrrolidonu, který se používá na odstranění kalů z piva způsobených interakcí polyfenolů a proteinů, řadu fenolických látek a zkoumali jejich protinádorově chemopreventivní schopnosti. Jediným nalezeným chalkonem byl xanthohumol (**66**), z něhož vzniká během procesu vaření piva jeho flavanonový analog isoxanthohumol. Hodnocení xanthohumolu ve vztahu k modulaci fáze I a II metabolismu karcinogenů je uvedeno v tab. 11. Protizánětlivá aktivita byla zkoušena, protože 10 % případů rakoviny má údajně vztah k chronickým zánětlivým procesům. Xanthohumol je rozhodně slibnou předlohovou strukturou protirakovinné chemoprevence [196].

Tab. 11. Aktivita xanthohumolu (**66**) ve vztahu k metabolismu karcinogenů

inhibice CYP1A IC ₅₀ (μM)	indukce QR IC ₅₀ (μM)	inhibice indukce iNOS IC ₅₀ (μM)	inhibice COX-1 IC ₅₀ (μM)	inhib. COX-2 [185] IC ₅₀ (μM)
0,02	7,4	12,9	16,6	41,5

Vysoká účinnost xanthohumolu je kombinací více inhibičních mechanismů, které se podílejí na aditivním nebo synergickém zesílení chemoprotektivní aktivity. Xanthohumol aktivuje silně enzymy metabolismu a detoxifikace karcinogenů, zháší reaktivní formy kyslíku: hydroxylové, peroxylové radikály, inhibuje superoxidový aniontový radikál a produkci NO. Dále inhibuje cyklooxygenasy COX-1 a COX-2 a má antiestrogenní aktivitu, ačkoli u chmele byly zaznamenány estrogenní účinky [185].

Z hlediska struktury a inhibice CYP jsou důležité chalkonový skelet a prenylový substituent. Xanthohumol je schopen také indukovat QR. Xanthohumol působil *in vitro* antiproliferativně na nádor prsu a vaječníků a střevní nádor [197].

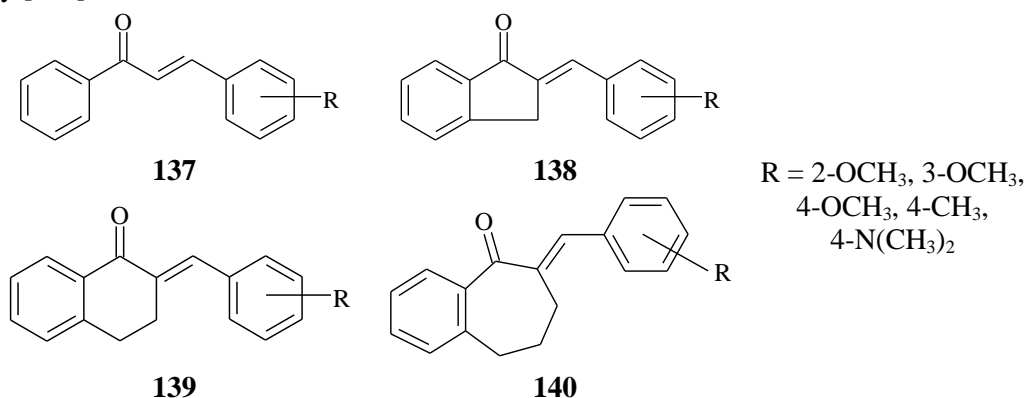
Na CYP1A1 a CYP1B1 působily inhibičně také 1-fenyl-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on a 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**5**) [190].

Do metabolické aktivace promutagenů a nádorově-promotorové aktivity různých xenobiotik jsou zahrnuty kromě aktivity CYP4501A, také oxidativní stres a mezibuněčná komunikace ve spojovacích šterbinách. Narušení této komunikace vede k deregulaci buněčné proliferace, diferenciaci a/nebo k apoptose. Série chalkonů a dihydrochalkonů substituovaných hydroxyly či methoxyly byla testována na inhibici lipidové peroxidace závislé na Fe^{II}/NADPH a na aktivitu 7-ethoxyresorufin-*O*-deethylasy (EROD) závislou na CYP4501A. Navzdory předcházejícím

výsledkům bylo zjištěno, že např. 4'-hydroxylovaný chalkon a některé další inhibují mezibuněčnou komunikaci a mohly by být klasifikovány jako potenciální nádorové promotory. Většina látek byly silné inhibitory CYP1A a mohly by být použity jako potenciální chemoprotektiva [198].

Kromě chmele je zdrojem chalkonů inhibujících CYP1A také pryskyřice tropického stromu *Dracaena cinnabari* Balf. (Agavaceae), např. 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu (**5**) a 1-(4,6-dihydroxyfenyl)-3-fenylprop-2-en-1-onu. Z hlediska struktury je vyzvižena rigidní planární struktura a tvar molekuly chalkonů. Antioxidační aktivita uvedených chalkonů testovaná inhibicí peroxidace mikrosomálních lipidů za přítomnosti Fe^{II} byla slabá [184].

V jaterních mikrosomech krys byla stanovena inhibiční CYP1A-aktivita chalkonů (**137**) a jejich cyklických analogů: *E*-benzyliden-1-indanonů (**138**), -tetralonů (**139**) a -suberonů (**140**). Jejich inhibičně kompetitivní aktivita přesáhla účinek známého inhibitoru CYP1A 7,8-benzoflavonu. V sérii 4-methoxylovaných sloučenin vykázal nejvýraznější inhibiči analog s šestičlenným kruhem, v sérii s 4-dimethylaminoskupinou to byl sedmičetný analog. Přesun methoxyskupiny do jiné polohy kruhu neměnil aktivitu u chalkonu, zatímco u suberonu znamenal významné zvýšení aktivity [199].



Chalkony mohou blokovat také CYP19 (aromasu), klíčový enzym biosyntézy estrogenů, který katalysuje aromatizaci kruhu A mužských pohlavních hormonů. Aromatasa se vyskytuje v membránách endoplasmatického retikula vaječníků, prsu, varlat, prostaty a placenty a v menším množství také v mozku, kostech, kůži a adiposních buňkách. Blokáda aromatasy představuje selektivní inhibiči biosyntézy estrogenů. Chalkony inhibují také 11 β -hydroxysteroiddehydrogenasu. Tento účinek znamená zásah do hormonální rovnováhy. Strategie založená na snížení produkce estrogenů mechanismem inhibice aromatasy a dalších enzymů je jedním z přístupů ke kontrole rakoviny hormonálně závislých tkáních, tzn. prsu nebo prostaty [15].

Chalkony mohou kromě aromatasy [200,201,202] působit antiproliferativně také inhibiči dalších enzymů biosyntézy pohlavních hormonů: 17 β -hydroxysteroiddehydrogenasy [203], 5 α -reduktasy [204], sulfotransferas [205] nebo estron-3-sulfatas [206].

Chinonreduktasa (QR) je cytosolický flavoprotein, který katalysuje redukci mnoha různých chinonů a chinoniminů. QR chrání buňky před toxicitou xenobiotik zahájením nutné dvouelektronové redukce chinonů na hydrochinony, které mohou být pak dále glukuronidovány a vyloučeny. Příkladem přírodních induktorů z lidské stravy jsou sulforafan z brokolice a resveratrol z vinné révy [207].

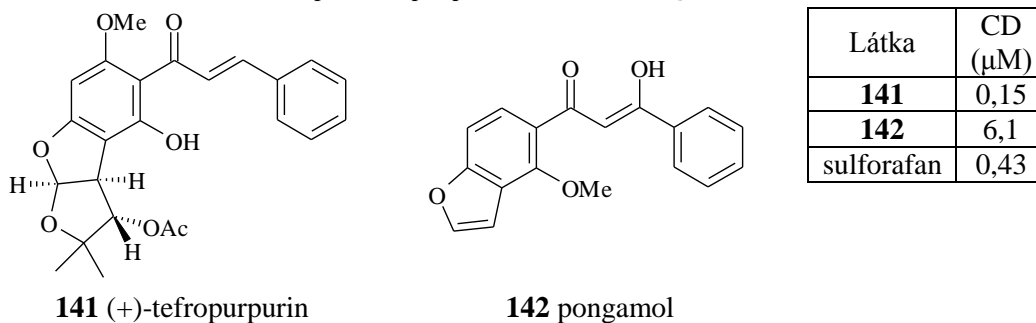
Indukci QR je vhodné podpořit jako kompenzaci např. u nádorových buněk rakoviny prostaty, neboť tyto nádorové buňky se obecně vyznačují ztrátou exprese GSTs [208].

Již zmiňované prenylované chalkony z chmele a piva indukovaly QR v myší hepatomové buněčné linii. Některé syntetické chalkony bez prenylové jednotky tuto schopnost postrádaly. Pro účinek je nepostradatelná 2,3-nenasycená dvojná vazba a u chalkonů byla vhodnou substitucí jedna prenylová nebo geranylová jednotka. Prenylované chalkony byly účinnější než prenylované

flavanony. Mechanismus indukce QR aktivity není dosud znám, ale mohl by být vysvětlen zvýšením genové transkripce QR, stabilizací mRNA nebo zvýšením degradace proteinů [207].

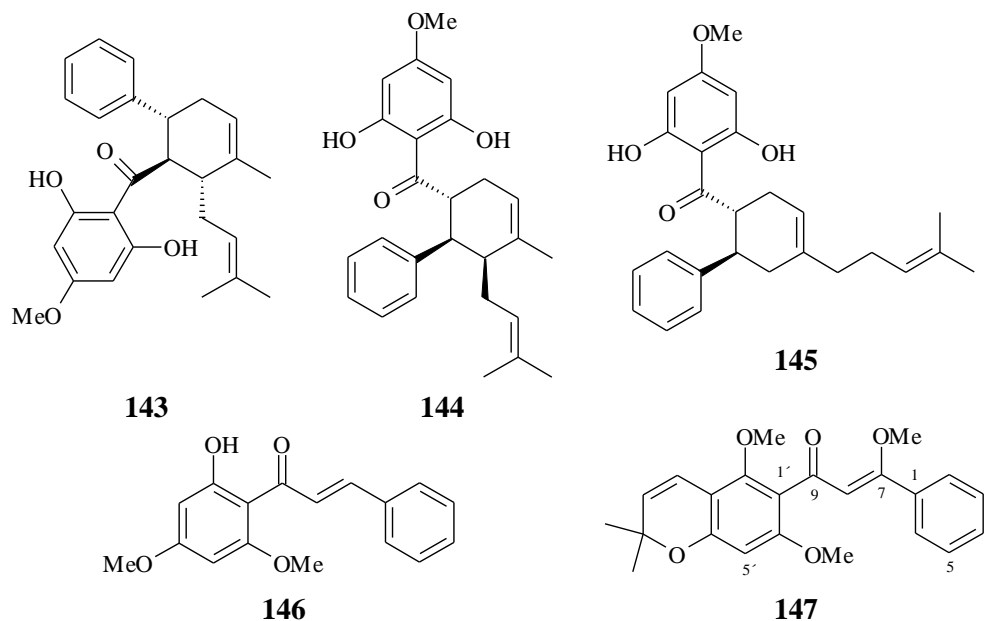
Nové induktory QR ze skupiny chalkonů byly získány při izolaci aktivních látek – **141** a **142** z *Tephrosia purpurea* Pers. (Leguminosae) doprovázené biotestováním (tab. 12). (+)-Tefropurpurin (**141**) byl lepším induktorem než porovnávací chemoprotektivní látka [209].

Tab. 12. Působení chalkonů z *Tephrosia purpurea* na indukci QR



U chalkonů korelují chemoprotektivní vlastnosti testované na indukci QR s akceptorovou silou pro Michaelovu reakci, kterou zvyšuje substituce hydroxylem v poloze 2 kruhu a v poloze 4 kruhu A. Induktorová aktivita také odpovídala antioxidačním vlastnostem látek [210].

Obsahové látky kořene *Renalmia nicolaioides* Loes. (Zingiberaceae) zahrnovaly 3 nové prenylované dihydrochalkony (**143** – **145**) s indukční aktivitou na QR z myších hepatomových buněk. Z derivátů chalkonu byla aktivní pouze známá sloučenina **146** s CD $1,7 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ na QR a buněčnou cytotoxicitou s $\text{IC}_{50} 7,2 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ [211].



Novým chalkonem je sloučenina **147** izolovaná z kůry stromu *Pongamia pinnata* (L.) Pierre (Leguminosae), jejíž extrakt byl zkoušen na indukci QR. Chalkon methoxylovaný v poloze β-7-methoxypraekansone B indukoval QR s $\text{IC}_{50} 9,6 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ [212].

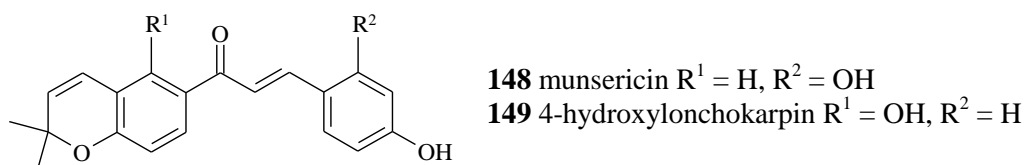
Jako enzym fáze II může být nahlížena také hemoxygenasa 1 (HO-1). HO-1 je indukibilním antioxidačním proteinem, který využívá hem jako substrát k produkci bilirubinu/biliverdinu a CO. Indukci tohoto enzymu se snaží buňka překonat stresové situace. Tento enzym může být indukován rostlinnými metabolity, které působí antioxidačně, protizánětlivě a protinádorově. 3-Fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**5**), 1-(2-hydroxyfenyl)-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on a 1-(2-hydroxyfenyl)-3-(2,4-dihydroxyfenyl)prop-2-en-1-on a indukovaly významně HO-1 v endotelových buňkách aorty [213].

Do nádorové propagace a buněčné transformace je také zahrnuta ornithindekarboxylasa (ODC), která katalysuje dekarboxylaci ornithinu na putrescin, jenž je dále přeměňován na vyšší polyaminy nutné pro duplikaci DNA. Tato metabolická cesta je v savčích buňkách jediným zdrojem putrescinu a ODC je klíčovým enzymem v syntéze polyaminů. V nádorových buňkách bývá obvykle zvýšené množství tohoto enzymu [181].

Butein (**64**) inhiboval 12-LOX myší epidermis (IC_{50} 0,2 μ M) a indukci ODC navozenou 12-*O*-tetradekanoylforbol-13-acetátem (TPA, promotor vzniku kožních nádorů). Tento chalkon nepůsobil na COX ani epidermální proteinkinasu C. Produkty 12-LOX jsou zřejmě nějak zapojeny do propagace kožního nádoru navozeného TPA [214].

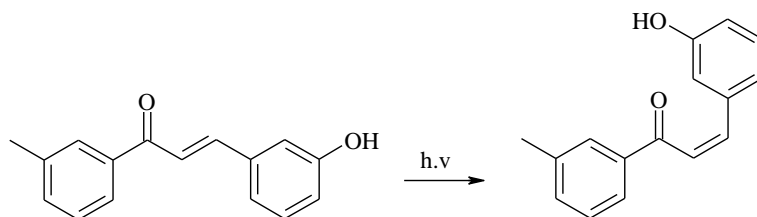
Lékořicový chalkon isolikviritigenin (**3**) prokázal silný antitumorosní účinek. Jeho topická aplikace inhibovala indukci epidermální ODC, vznik edémů vyvolaný TPA a vznik papilomat způsobený 7,12-benz[*a*]antracemem (iniciátor vzniku kožních nádorů). Isolikviritigenin také brzdil produkci PGE_2 způsobenou TPA a neměl účinek na COX ani 12-LOX subcelulárních epidermálních frakcí, ani na fosfolipasu C. Inhibice 5-LOX a 12-LOX isolikviritigeninem v polymorfonukleárních leukocytech souvisí s protinádorovým působením této látky [215].

Z keře *Mundulea sericea* (Willd.) A Chev. (Leguminosae) rostoucího v tropické Africe a Indii a používaného v tradičním léčitelství, byl izolován nový chalkon munsericin (**148**) a známý 4-hydroxyonchokarpin (**149**) s chemoprotektivními účinky proti rakovině prokázány inhibicí ODC indukované forbolesterem ($IC_{50} = 1,0$ a $0,7 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) [216].

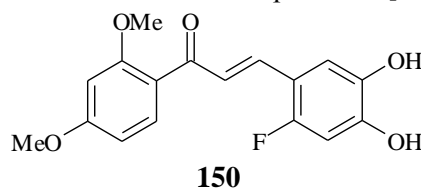


Závislost biologické aktivity na typu isomeru chalkonu zkoumala Shibatova skupina. U (*E*)-chalkonů a jejich (*Z*)-fotoisomerů (schema 4) studovali protinádorovou a protizánětlivou aktivitu. V některých typech testů byly isomery stejně aktivní, ale např. při inhibici proliferace lidských žaludečních nádorových buněk a při inhibici ODC indukované forbolesterem byl o něco účinnější (*Z*)-isomer. K fototransformaci byly resistantní chalkony s hydroxylem v poloze 2' a 4 [21,217].

Schema 4. Fotoisomerisace chalkonů

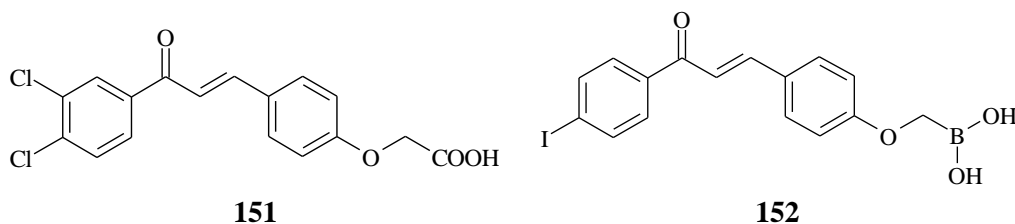


Fluorované syntetické dihydroxychalkony byly studovány jako inhibitory 5-LOX na krysích leukemických buňkách (**150**, $IC_{50} = 8,7 \times 10^{-8}$ M). Tento enzym je zodpovědný za přeměnu kyseliny arachidonové na leukotrien LTA_2 a jeho inhibitory mají schopnost spouštět masivní apoptosu v lidských nádorových buňkách prostaty. Uvedená látka **150** působila dobře na buněčné linie nádoru prsu a CNS a prokázala také antioxidační působení [218].



V mnoha lidských nádorech bývá mutací inaktivován gen pro lidský nádorově supresorový protein p53 s apoptotickou indukční schopností, navíc tento protein inhibuje onkoprotein MDM2

vazbou na transaktivační doménu p53. Narušení jejich interakce vede ke zvýšení hladiny p53 a obnovení jeho aktivity, což zaručuje obnovení kontroly nad integritou genomu. Chalkony, např. **151**, mají schopnost antagonisovat interakci MDM2/p53 a vázat se do tryptofanového vazebného místa na p53 pro MDM2 [219].



V návaznosti na předchozí práci připravil Kumar *et al.* účinnější chalkonové analogy boronové kyseliny, např. **152** [220].

V porovnání s ostatními druhy flavonoidů měly flavony a flavonoly vyšší antiproliferativní účinnost než chalkony a flavanony. Při testování na lidských střevních buňkách bylo zjištěno, že část jejich antiproliferativní aktivity lze připisovat apoptotické odpovědi reflektující aktivaci kaspas [221].

Likochalkon A (**12**) je znám svými estrogenními účinky a Rafiho práce [222] ukázala, že cytotoxický účinek některých estrogenů je spojen se sníženou expresí mitochondriálního anti-apoptotického proteinu bcl-2. Nesubstituovaný chalkon byl neaktivní, což dokázalo strukturní specifitu likochalkonu A pro tento účinek.

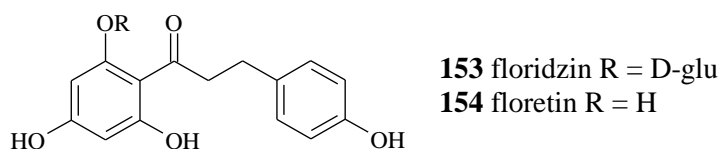
Při zkoumání vlivu flavonoidů na buněčný cyklus bylo zjištěno, že různé druhy flavonoidů (chalkony, flavanony, anthokyanidiny) působí na různé fáze. Chalkony blokovaly přechod z S do G₂ a M fáze [223].

Isolikviritigenin (**3**), lékořičový chalkon nalezený také v šalotce a fazolových výhoncích, inhiboval proliferaci plicních nádorových buněk a zastavoval buňky ve fázi G₂/M. Také působil na kožní, střevní karcinogenesi, brzdil angiogenesi a indukoval apoptosu [224].

Butein (**64**), isolikviritigenin (**3**) [225,226] a likochalkon A (**12**) inhibovaly růst buněk a indukovaly jejich apoptosu [227]. Isolikviritigenin byl schopen také zvyšovat expresi proteinů p53 a p21 v plicních nádorových buňkách a blokovat progresi fáze G₀/G₁ [226]. Likochalkon A ovlivňoval apoptosu u nádoru prsu, leukemie a karcinomu prostaty a jeho působení také souviselo s p53 [227].

Ze skupiny různých typů flavonoidů inhiboval butein (**64**) mitochondriální NADH oxidasu z hovězích srdcí. V sérii látek byl pro účinek důležitý karbonyl a 2,3-dvojná vazba. Je možné, že flavonoidy inhibují také respirační řetězec mezi koenzymem Q a cytochromoxidase. Inhibiční účinek kvercetinu na mitochondriální elektronový transport byl rušen cysteinem, takže je eventuelně možné, že tady hraje také roli interakce s thiolovými skupinami [228].

Chalkon floridzin (**153**) a jeho aglykon floretin (**154**), identifikované jako inhibitory transmembránového transportu glukosy, výrazně snižovaly růst karcinomů [183].



Některé hydroxychalkony jsou cytotoxické vůči leukemickým a melanomovým buňkám a také ke krysím hepatocytům. Zmíněné chalkony ochuzovaly hepatocyty o GSH, jeho oxidací na GSSG způsobovaly kolaps potenciálu buněčné membrány a zvyšovaly příjem kyslíku. Chalkon s nejvyšším pK_a (s hydroxyskupinami na obou kruzích) měl nejvýraznější účinek na membránový potenciál mitochondrií, takže je pravděpodobné, že cytotoxický účinek těchto látek je způsoben rozpojováním mitochondrií, tj. kolapsem potenciálu na mitochondriální membráně [29].

Metodou fluorescenční polarizace byly sledovány změny na vnější mitochondriální membráně po expozici syntetickým cyklickým analogům chalkonu. Lipofilní deriváty interagovaly s mitochondriální membránou, což může přispívat k cytotoxicitě těchto látek [229].

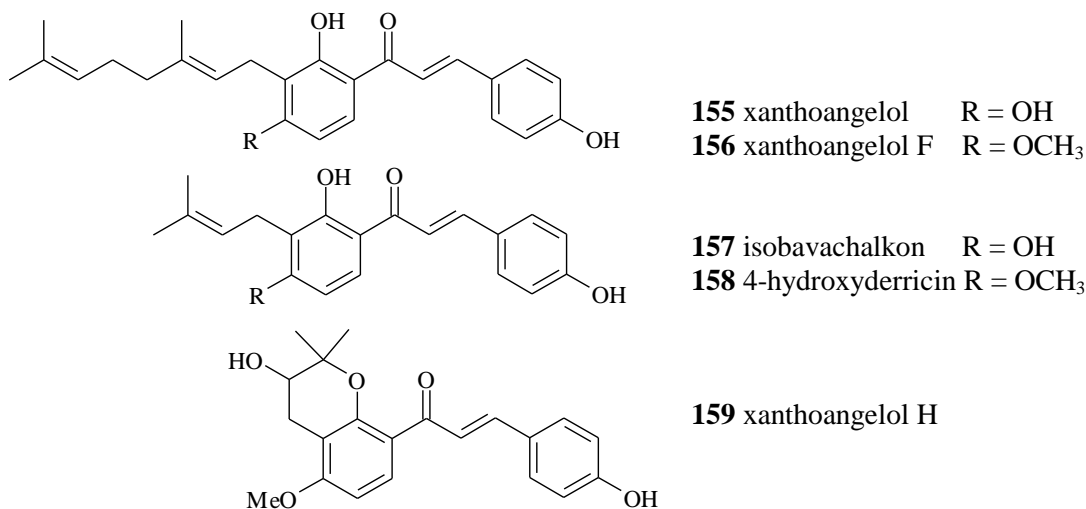
Deriváty chalkonu hydroxylovaného v poloze 2 kruhu B inhibovaly růst nádoru HeLa buněk. V celé skupině flavonoidů byla pro účinek důležitá dvojná vazba a neaktivnějšími deriváty byly právě chalkony, tzn. deriváty s otevřeným C-kruhem. Přítomnost cukerné složky neovlivňovala významně antiproliferativní účinek flavonoidů, pouze pokud byla navázána na hydroxyl v poloze 3 snižovala účinek. Methylace molekuly nebyla vhodná. Odstranění hydroxyskupiny z polohy 3 u chalkonů vedlo ke zvýšení účinku. Cytotoxický účinek 1-fenyl-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu může být nespecifického charakteru, chalkony zvyšují hladinu cAMP a ovlivňují DNA a RNA polymerasovou aktivitu. Je obtížné zjistit u nich přesný mechanismus, neboť ovlivňují množství biologických systémů [230]. V jiné práci byl u těchto látek podpořen již zmíněný mechanismus indukce aktivit QR a GSTs [231].

Chalkon (**1**) byl schopen stimulovat enzymovou aktivitu GST v roztoci *Rhizoglyphus robini* 2 – 4× [232].

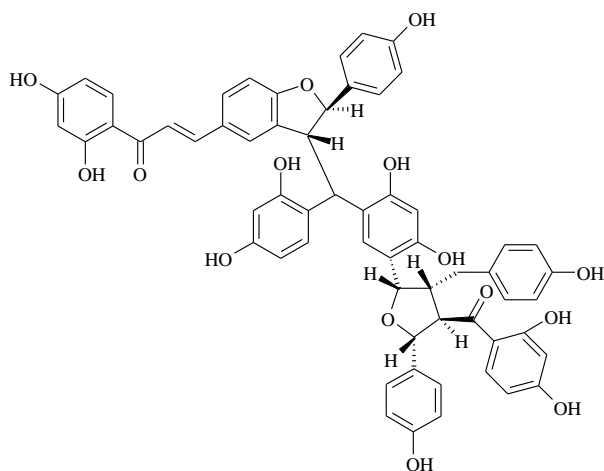
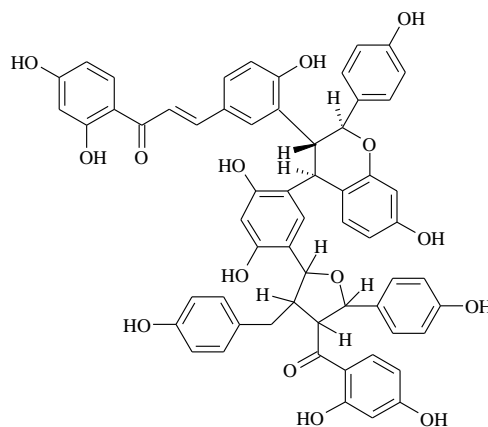
Aziridinové deriváty chalkonů fungovaly jako alkylační činidla [233].

Retinoidy a také retinoidní sloučeniny chalkonů byly zkoumány také jako chemopreventivní látky [234,235].

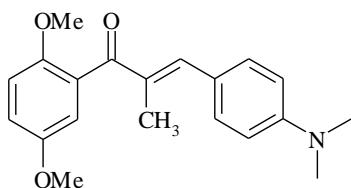
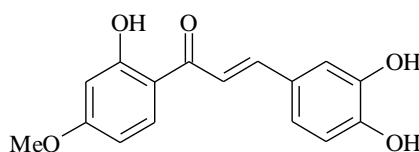
Z *Angelica keiskei* Koidzumi (Umbelliferae) bylo izolováno 5 chalkonů (**155** – **159**) s chemoprotektivními účinky, které byly prověřeny v primárním screeningu na antitumorové promotory (inhibice časného antigenu EBV v buňkách indukovaného TPA) a protinádorové iniciátory (inhibiční účinek na aktivaci donoru NO) [236].



Jako antitumorové inhibitory byly izolovány též 2 chalkonové tetramery **160** a **161** z *Lophira alata* (Ochnaceae) [237].

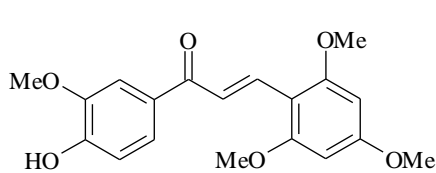
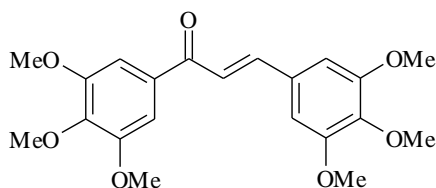
**160** lophirachalkon**161** alatachalkon

Kolchicin, vinca alkaloidy a podofylin váží specificky tubulin a brání jeho seskupení a navázání do mikrotubulů. Kolchicin váže tubulin tak, že nejprve indukuje GTPasu v tubulinu a pak vznik tubulinových struktur jiných než jsou mikrotubuly. α -Methylchalkon MDL 27048 (**162**) vázal tubulin s IC_{50} 1 μ M. 2,5-Dimethoxyfenylová část této molekuly se zřejmě váže na vazebné místo pro kruh A kolchicinu a podofylotoxinu na tubulinu a zbytek molekuly na jiný vazebný region tubulinu. Chalkon se tak váže rychle a reversibilně na buněčné mikrotubuly a inhibuje mitosu [238,239,240].

**162** MDL 27048**163** calythrospin

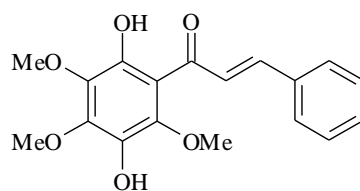
Cytotoxicky působily také calythrospin (**163**) a jeho dihydroderivát izolované z australské rostliny *Calythropsis aurea* C. A. Gardner (Myrtaceae), ale inhibice tubulinové polymerace nebyla dokázána [241].

Z knihovny chalkonů čítající několik set derivátů bylo vybráno asi 7 sloučenin působících na nádorovou linii leukemických buněk K562 s $IC_{50} < 1 \mu$ M, neaktivnějším byl chalkon **164** (IC_{50} 30 nM). Zobrazená sloučenina se váže na tubulin ve vazebném místě kolchicinu a zastavuje buněčný cyklus ve fázi G_2/M [242].

**164****165**

Dle zkušeností bylo pro tubulinové inhibitory nutno několik polyalkoxylovaných aromatických kruhů. U hexaalkoxylovaných chalkonů (**165**, IC_{50} 5,1 μ M) se rovněž předpokládal antileukemický účinek mechanismem inhibice tubulinu, ale při bližším zkoumání se nepotvrdil [243].

Předcházejícímu požadavku by také odpovídal chalkon pedicin (**166**) z *Fissistigma lanuginosum* (Hook. F. & Th.) Merr. (Annonaceae), který inhiboval uspořádání tubulinu do mikrotubulů v lidských nasofaryngeálních karcinomatických buňkách ale také v poměrně vysoké koncentraci (IC_{50} 300 μ M; vinblastin IC_{50} 4 μ M) [244].

**166** pedicin

V práci, která zkoumala pouze cytotoxický účinek, nikoli mechanismus účinku, byla zdůrazněna přítomnost methoxyskupiny na kruhu B a chalkony byly v porovnání s flavanony účinnější v působení na zkoušené linie nádorových a leukemických buněk [245].

Je také faktem, že chalkony s 1 – 2 hydroxyskupinami působily na buňky nádoru prsu MCF-7 velmi slabě [246].

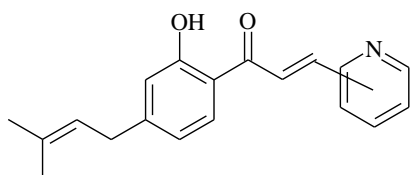
Ze série jednoduchých derivátů chalkonu se projevil nejlépe 3-(3-hydroxyfenyl)-1-(3-methylfenyl)prop-2-en-1-on, který zastavoval buněčné dělení ve fázi G_0/G_1 a zpomaloval S fázi buněčného dělení, také inhiboval vazbu značeného estradiolu na estrogení receptory, měnil fosforylaci proteinů a potlačoval promotorovou aktivitu TPA u kožní karcinogeneze [247].

Přírodní chalon butein (**64**) z čeledí Fabaceae, Anacardiaceae a Asteraceae inhiboval v porovnání s 5-fluoruracilem inkorporaci nejen značeného uridinu, ale i thymidinu a leucinu do střevních nádorových buněk v koncentraci 2 μM a s IC_{50} 1,75 μM na jejich růst. Jeho mechanismus účinku tedy není totožný s mechanismem 5-fluoruracilu, ale mohl by podle autorů být blízký kolchicinu [248].

Také xanthohumol (**66**) inhiboval inkorporaci značeného thymidinu do buněk rakoviny prsu MCF-7 (IC_{50} 13,3 μM , po 4 dnech IC_{50} 3,47 μM). Inhiboval rovněž růst ovariálního karcinomu A-2780 (IC_{50} 0,52 μM , po 2 dnech IC_{50} 5,2 μM). Buňky střevního nádoru byly vůči této látce relativně necitlivé [249].

Ve velké sérii byl nejúčinnějším chalkonem 3-(3-hydroxyfenyl)-1-(3-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on a v koncentraci 5 $\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ vykazoval 76 – 100 % inhibici fosforylaci proteinů v HeLa buňkách. Dále ovlivňoval buněčný cyklus zastavením G_0/G_1 fáze, zpožďoval průběh S fáze a moduloval syntézu proteinů [250].

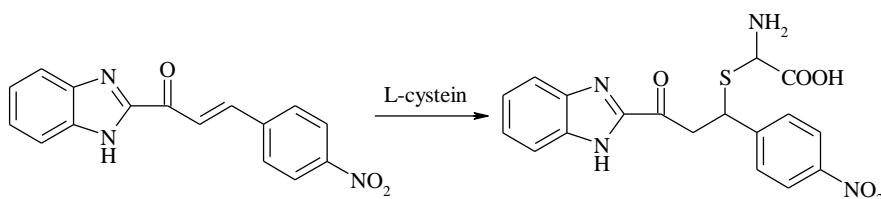
Pyridylové analogy chalkonů **167** a **168** působily zastavení cyklu buněk nádoru prsu MCF-7 ADRr ve fázi G_2/M a fragmentaci DNA, což způsobilo navození apoptosy. Tyto dvě látky neovlivňovaly funkce glykoproteinu P (P-gp), ani produkci ROS [251].

**167** pyrid-3-yl**168** pyrid-4-yl

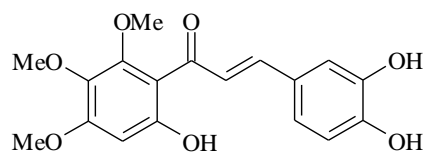
Chalkony substituované na kruhu A *N*-methylpiperidylovým zbytkem zastavovaly dělení nádorových buněk ve fázi G_1 a G_2/M [252].

Alkylační aktivita benzimidazolových analogů chalkonu byla zkoušena modelovou reakcí s L-cysteinem za fyziologických podmínek a monitorována pomocí HPLC. Elektronové poměry vyplývající z různé substituce v *p*-poloze kruhu B ovlivňovaly rychlost alkylace. Skupiny odpuzující elektrony reakci zpomalují a skupiny elektrony přitahující ji urychlují a zvyšují tak alkylační kapacitu. Metodou molekulového modelování bylo zjištěno, že při Michaelově adici bude preferován (*R*)-isomer, který je energeticky výhodnější a jeho molekula vykazuje méně pnutí. Výchozí látka ve schématu 5 působila selektivně cytotoxicky na buněčné linie leukemie, ledvinového karcinomu a nádoru prsu u 9 vybraných typů rakoviny. Testování na HIV nezaznamenalo žádný výrazný účinek těchto látek [253].

Schema 5. Michaelova adice L-cysteinu na analog chalkonu



Chalkon hamilkon (**169**) byl prvně izolován z extraktu *Uvaria hamiltonii* Hook. f et Th. (Annonaceae) a měl jen slabou aktivitu v cytotoxickém testu na 9KB buňkách (IC_{50} $10,0 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$) sledovanou podle schopnosti štěpit vlákna DNA (47 % rozvolnění dvojšroubovice DNA). Současně izolovaný auron byl 10× účinnější [254].

**169** hamilkon

Chalkony vykazaly také antimutagenní aktivitu [255]. Ale vzhledem ke schopnosti chalkonů reagovat s nukleovými kyselinami a enzymy mohou mít i mutagenní účinky [24].

Informace z některých zdrojů jsou nedostupné z důvodu nesrozumitelnosti jazyka [256].

3.1.7 Chalkony jako chemosenzitizéry

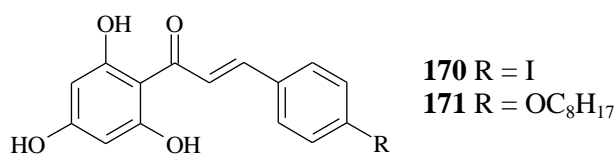
Problémem úspěšné protinádorové léčby zůstává rezistence některých rakovinných buněk na antineoplastika. Mnohonásobná léková rezistence (MDR) se objevuje vždy po dlouhodobém podávání léčiv. Látky, které mohou překonat MDR se označují jako chemosenzitizéry (MDR revers, MDR modulators). Patří sem různé strukturální typy, např. blokátory kalciových kanálů, antagonisté kalmolidinu, steroidy, cyklické peptidy a další léčiva. Jejich praktické použití omezuje imunosupresivní a kardiotoxická aktivita. Léková rezistence bývá ve většině případů zapříčiněna přeexprimováním glykoproteinu P (P-gp), jenž rejektuje léčivo z buňky ven. Chemosenzitizéry buď inhibují P-gp nebo modulují expresi kódujícího genu [257].

Méně prozkoumané jsou proteiny asociované s MDR (MRP) [258].

Na P-gp se váže řada látek a všechna jejich vazebná místa nejsou dosud úplně prozkoumána. Společná je pro tyto látky intramolekulární vodíková vazba [259].

Flavonoidy včetně chalkonů mají schopnost modulovat transmembránový P-gp, který je hlavním mechanismem MDR u nádorových buněk. P-gp je u lidí kódován genem *MDR1* a patří do nadrodiny transportérových proteinů – ABC transportérů (ATP binding cassette). Je to pumpa závislá na ATP odčerpávající různá léčiva z buňky až na intracelulární koncentraci, která je nižší než cytotoxická koncentrace. P-gp je složen ze 2 homologních polovin, z nichž každá obsahuje transmembránovou doménu účastnící se na odčerpávání léčiva a dále cytosolickou doménu vázající ATP a podílející se na hydrolyze.

Chalkony možná působí na P-gp z důvodu jejich vlastnosti napodobovat adeninovou jednotku ATP. Vhodnou substitucí v poloze 4 kruhu B u 1-(2,4,6-trihydroxyfenyl)-3-fenylprop-2-en-1-onů byly halogeny dle klesajících lipofilních konstant π , př. vhodné látky je **170** [260].

**170** R = I**171** R = OC_8H_{17}

Pro jejich chemosenzitivní aktivitu je také důležité α,β -nenasycené seskupení a hydroxyskupina v poloze 6 kruhu A [258] nebo alkoxyskupina (**171**). Tyto modulátory MDR fungují jako

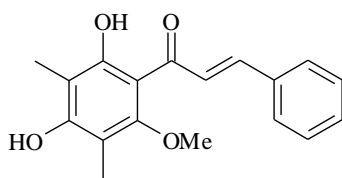
resensitizátory nádorových buněk s MDR na chemoterapeutika. Chalkony interagují s vazebným místem pro ATP a regionem pro modulátory [261]. Vazbu na P-gp zvyšuje také prenylová substituce [262].

Také brousochalkon A (uvedený v kap. 3.1.9.7) inhibuje P-gp [259].

Klinický význam by mohl mít chalkon **172** získaný z pupenů *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr. et Perry (Myrtaceae). *In vitro* i *in vivo* byl zkoušen v kombinaci s doxorubicinem a snížil IC_{50} doxorubicinu téměř 4× (tab. 13). Chalkon snižoval expresi genu *MDR1* kódujícího P-gp [257].

Tab. 13. Citlivost orálních epidermoidních nádorových buněk vůči **172**

	IC_{50} μ M		
	chalkon	doxorubicin	kombinace
KB-3-1	24,3 \pm 0,6	0,8 \pm 0,1	0,74 \pm 0,02
KB-A1	29,6 \pm 0,6	13,9 \pm 0,7	3,6 \pm 0,7



172

Minoritním mechanismem pro rozvoj MDR, a to především pro buňky nádoru prsu, je protein resistance nádoru prsu (BCRP), také ze skupiny ABC transporterů. Tento protein má 6 transmembránových domén a 1 vazebné místo pro ATP. Jeho substrátem jsou např. antracykliny, inhibitory topoisomerasy I, mitoxantron, methotrexát atd. Z flavonoidů zvyšovaly akumulaci mitoxantronu v buňkách MCF-7 MX100 především látky s planární strukturou, ale požadavky na polohy substitucí byly trochu odlišné od výše zmíněných chalkonů [263].

Existují ještě další mechanismy, jak ovlivnit transport cytostatik do buňky, např. lidské pankreatické adenokarcinomatické buňky exprimují protein-1 asociovaný s MDR (MRP1), který zprostředkovává eflux léčiva z buňky. Chalkon působí změnu exprese toho proteinu a zvyšuje intracelulární akumulaci daunomycinu a vinblastinu [264].

3.1.8 Působení chalkonů na tyrosinkinasy

Proteinové tyrosinkinasy hrají důležitou roli v regulaci buněčné proliferace a diferenciaci. Některé proteinové tyrosinkinasy asociované s membránou mají svůj význam také v přenosu signálu. Přeexprimování určitých růstových faktorů s tyrosinkinasovou aktivitou bylo nalezeno v lidských nádorech. Pro určité typy rakoviny (prsu a jater) by inhibitory této aktivity mohly představovat novou terapeutickou skupinu. A právě chalkony jsou jednou z několika tříd strukturních typů [265].

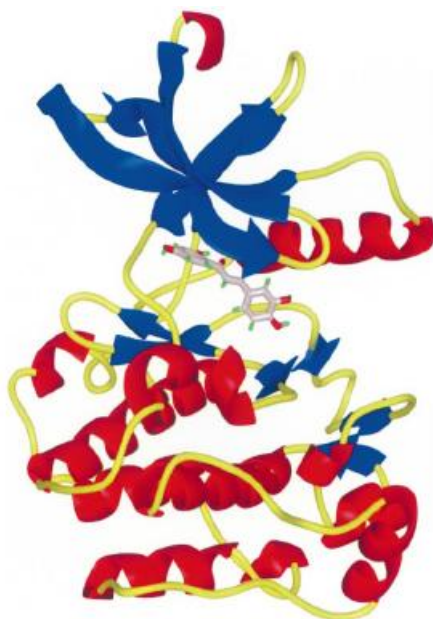
Butein (**64**) inhiboval specificky tyrosinkinasovou aktivitu receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) [266].

Studii inhibice dalších derivátů (buteinu **64**, floretinu **154** a mareinu **189** – uvedený v kap. 3.1.9.4) bylo zjištěno, že pro tuto aktivitu je nutná hydroxylace v poloze 4 obou kruhů (tab. 14). Molekulové modelování s těmito deriváty odhalilo, že při vazbě na vazebnou kapsu pro ATP na receptoru se uplatňují vodíkové vazby a hydrofobní interakce (obr. 1). Monohydroxylované chalkony tento účinek nevykázaly [267].

Tab. 14. Působení chalkonů na tyrosinkinasy

Chalkon	% inh. při 100 μ M
64	88 \pm 2
154	65 \pm 3
189	84 \pm 3

Obr. 1. Trojrozměrná struktura ATP-vazebné kapsy EGFR tyrosinkinasy s orientací buteinu uvnitř kapsy (vytvořeno metodou homologního modelování) [267]



Vaskulární receptor endotelového růstového faktoru blokoval chalkon z *Cleistocalix operculatus* (Myrtaceae), čínské přírodní medicíny [268].

V regulaci proliferace buněk hrají roli také kalmodulin-dependentní kinasy [269].

3.1.9 Působení chalkonů na enzymy

Jak již bylo naznačeno v předcházející části o antineoplastickém a chemosensitivním působení chalkonů, hraje inhibice různých enzymů chalkony důležitou roli v mechanismu biologických účinků těchto sloučenin. Kromě enzymů již zmíněných účinkují chalkony na širokou škálu dalších enzymů. Racionální využití poznatků o působení na savčí enzymy, které hrají roli v patogenezi různých onemocnění by mohlo přispět k výběru nových předlohových struktur a vývoji nových léčiv.

3.1.9.1 Působení chalkonů na aldosareduktasu

Inhibiční působení chalkonů na aldosareduktasu již bylo detailně popsáno [270].

O využitelnosti chalkonů jako inhibitorů aldosareduktasy svědčí několik patentů [271,272].

3.1.9.2 Působení chalkonů na monoaminoxidasu a katechol-*O*-methyltransferasu

Monoaminoxidasa (amin:oxygenoxidoreduktasa, EC 1.4.3.4, MAO) je enzym účastnící se oxidačních procesů v nervové soustavě, katalysuje odbourávání biogenních aminů oxidativní deaminací a je lokalizován na membráně mitochondrií. Rozlišuje se monoaminoxidasa A (MAO A) odbourávající noradrenalin a serotonin a monoaminoxidasa B (MAO B) odbourávající dopamin, jejíž inhibice se využívá při léčbě Parkinsonovy choroby. Inhibice MAO A se používá v psychiatrické praxi k léčbě deprese a úzkosti. Mezi syntetické inhibitory MAO využívané v terapii deprese patří deriváty hydrazidové (nialamid, isokarboxazid), aralkylhydrazinové (fenelzin) a aminy (tranylcypromin). Vzhledem k výskytu častých vedlejších účinků těchto syntetik (hepatotoxicita, interakce s potravou bohatou na tyramin vedoucí k hypertenzím), byly hledány méně škodlivé látky z přírodních zdrojů, které by byly použitelné jako neuroprotektiva v léčbě nebo prevenci deprese.

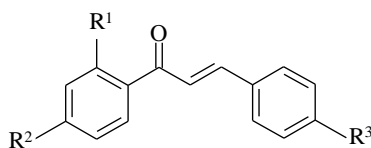
Z chalkonů izolovaných z ethylacetátového extraktu *Glycyrrhiza spp.* inhiboval MAO pouze isolikviritigenin (**3**, $IC_{50} = 9,0 \times 10^{-4}$ M). Další chalkony, např. likochalkon A (**12**) a likochalkon B

(13) nevykázaly žádnou významnější aktivitu v porovnání se standardními látkami hydrochloridem harmanu ($IC_{50} = 5,7 \times 10^{-5} \text{ M}$) a sulfátem chininu ($IC_{50} = 6,4 \times 10^{-5} \text{ M}$) [273].

V jiné, obšírnější studii byl z methanolického extraktu *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. et DC izolován rovněž isolikviritigenin (3) a řada účinných látek včetně jiných typů flavonoidů. *In vitro* byla na mitochondriální MAO z krysích jater zjištěna substrátově kompetitivní inhibice s $K_i = 2,11 \times 10^{-6} \text{ M}$ pro isolikviritigenin, standardní látkou byl hydrochlorid harmanu. Do studie byly zahrnuty další extrakty z 81 čínských drog rostlinného původu. Nejvyšší inhibici prokázal dihydroxylovaný derivát 6. Velmi účinnými byly shledány 4 chalkony (7, 173 – 175) v tab. 15.

Tab. 15. Působení chalkonů z *Glycyrrhiza uralensis* na mitochondriální MAO z krysích jater

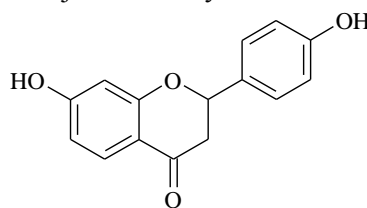
Chalkon	R ¹	R ²	R ³	IC ₅₀	K _i
3	OH	OH	OH	$17,3 \times 10^{-6} \text{ M}$	$2,11 \times 10^{-6} \text{ M}$
6	OH	OH	H	$1,65 \times 10^{-6} \text{ M}$	$0,279 \times 10^{-6} \text{ M}$
7	OH	H	OH	$5,97 \times 10^{-6} \text{ M}$	N
173	H	OH	H	$7,36 \times 10^{-6} \text{ M}$	N
174	H	H	OH	$13,6 \times 10^{-6} \text{ M}$	N
175	H	OH	OH	$18,5 \times 10^{-6} \text{ M}$	N
hydrochlorid harmanu				$7,42 \times 10^{-4} \text{ M}$	N



Studii vztahu struktury a účinku byly v molekule určeny důležité aspekty:

- dvojná vazba konjugovaná s karbonylem zvyšuje účinek, nasycený derivát isolikviritigeninu i odpovídající flavanon byly méně účinné
- hydroxylaci na kruhu A se zvyšuje účinnost v pořadí navázání substituentů v poloze 4, 3, 2, na kruhu B jsou to polohy 2, 3, 4; substituce hydroxylem je tedy nejvýhodnější v poloze 4 na kruhu A, ovšem hydroxylace v polohách 4 na obou kruzích zároveň vede k poklesu účinku
- hydroxyl v poloze 2 kruhu A tvoří vodíkovou vazbu s kyslíkem karbonylové skupiny a zajišťuje tak koplanaritu mezi kruhem A a konjugovanou ketonickou skupinou, která vede ke zvýšení účinku [274].

Isolikviritigenin (3) s likviritigeninem (176) byly izolovány v Číně z methanolického extraktu *Sinofranchetia chinensis* (Franch) Hemsl (Lardizabalaceae) a zkušeny na inhibici MAO A a B z krysích mozků. V kinetické studii bylo zjištěno, že se jedná o nekompetitivní inhibici a naměřené hodnoty, včetně standardů jsou uvedeny v tabulce 16 [275].



176 likviritigenin

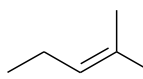
Tab. 16. Působení chalkonů z *Sinofranchetia chinensis* na MAO A a B

Látka	MAO A		MAO B	
	IC ₅₀ (M)	K _i (M)	IC ₅₀ (M)	K _i (M)
3	$13,9 \times 10^{-6}$	$14,3 \times 10^{-6}$	$47,2 \times 10^{-6}$	$15,2 \times 10^{-6}$
176	32×10^{-6}	$31,5 \times 10^{-6}$	$104,6 \times 10^{-6}$	$164,7 \times 10^{-6}$
chlorogylin	$0,198 \times 10^{-6}$	N	N	N
deprenyl	N	N	$0,251 \times 10^{-6}$	N

Na mozkové monoaminoxidasy A i B byly testovány látky izolované ze sušené kůry *Gentiana lutea* (Gentianaceae). Z chalkonů se jednalo o zajímavou strukturu spojující chalkonový skelet

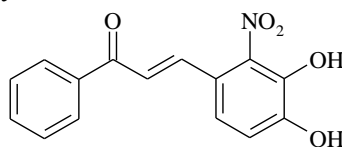
s molekulou dihydrochalkonu přímou vazbou přes benzenová jádra (**177**, **178**). Kyselou hydrolýzou byly odstraněny isoprenylové jednotky na kruzích B a byla připravena látka s dvěma fenolickými hydroxyly. Parentní dimerní chalkon i jeho derivát byly testovány a vyšší inhibiči projevíly na MAO B (tab. 17), potenciálně využitelné v léčbě Parkinsonovy a Alzheimerovy choroby [276].

Tab. 17. Působení derivátů chalkonu z *Gentiana lutea* na MAO A a B

Látka	R	IC ₅₀ (M)	
		MAO A	MAO B
177		$>1 \times 10^{-4}$	$48,7 \times 10^{-6}$
178	H	$12,5 \times 10^{-6}$	$6,2 \times 10^{-6}$

Dalším enzymem, jenž katalysuje odbourávání biogenních aminů je katechol-*O*-methyltransferasa (EC 2.1.1.6, COMT). Tento enzym má ve vazebném místě thiolovou skupinu. Na enzymu izolovaném z prasečích jater byla testována inhibice 3-(3,4-dihydroxy-2-nitrofenyl)-1-fenylprop-2-en-1-onem (**179**). Byla zjištěna reversibilní vazba látky na enzym s IC₅₀ $0,32 \times 10^{-6}$ M. Porovnávací látkou byl nitekapon, popsáný v literatuře jako silný inhibitor COMT (IC₅₀ $0,8 \times 10^{-6}$ M). Disociace komplexu enzym-inhibitor ale probíhá relativně pomalu.

Inhibitory COMT by byly vhodným doplňkem léčby Parkinsonovy choroby k levodopě a inhibitorům periferní DOPA-dekarboxylasy, příp. k selektivním inhibitorům MAO B. Již dříve byly zaznamenány účinné inhibitory COMT nesoucí nitrokatecholové seskupení [277].



179

Hesperidinmethylchalkon (**2**) testovaný již dříve takové aktivity nedosáhl, ale význam *o*-dihydroxylové substituce na kruhu byl už odhalen [278].

3.1.9.3 Působení chalkonů na xathinoxidasu

Xanthinoxidasa (xanthin:kyslík-oxidoreduktasa, EC 1.2.3.22, XO) je důležitým enzymem purinového metabolismu. *In vivo* většinou existuje jako NAD⁺-dependentní oxidasa a katalysuje oxidaci hypoxanthinu na xanthin a další přeměnu xanthinu na kyselinu močovou. Zvýšená produkce kyseliny močové vede k vysokým koncentracím natrium-urátu v extracelulárních tekutinách a následnému rozvoji dny. V ischemizovaných tkáních může přecházet na kyslík-dependentní formu, která při reperfusi reaguje se substrátem za tvorby volných kyslíkových radikálů. Různé ROS přispívají k oxidativnímu stresu v organismu a mají podíl na stárnutí a patologických procesech, např. zánětu, aterosklerose, rakovině [279]. Kyselina močová se také může hromadit v kloubech a ledvinách a způsobovat akutní arthritida a nefrolithiasu [280].

XO se skládá ze 2 ekvivalentních nezávislých podjednotek, z nichž každá obsahuje atom molybdenu, jednu molekulu flavinadenindinukleotidu (FAD) a dvě centra, která obsahují síru a železo. Xanthin a hypoxanthin jsou oxidovány na molybdenovém centru, přechodem molybdenu z oxidačního stupně VI na IV [281]. Enzym tedy obsahuje 2 prostorově oddělená vazebná místa, která spolu komunikují vnitřním transportním řetězcem elektronů.

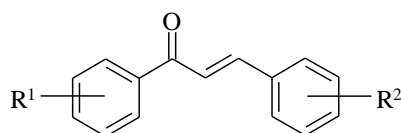
Z hlediska projektování nových inhibitorů připadají v úvahu 2 strategie: inhibitory vážící purinové vazebné místo nebo ovlivňující řetězec transportu elektronů [282].

Nejznámějším terapeuticky využívaným inhibitorem a zároveň substrátem XO je allopurinol. Jeho používání je však spojeno se závažnými vedlejšími účinky a hledání výhodnějších inhibitorů proto zůstává stále aktuální. V rámci tohoto výzkumu je velká pozornost věnována flavonoidům, především flavonům [279,283].

Flavonoidy byly rozděleny na inhibitory XO s odpovídajícím radikálově zhášecím účinkem (identické IC_{50}), inhibitory XO s vysokou radikálově zhášecí aktivitou a inhibitory XO bez antioxidačních účinků. Účinné byly látky s koplánární strukturou kruhů podmíněnou nenasycenou vazbou mezi C-2 a C-3 a dále s hydroxylací na C-5 a C-7 flavonoidového skeletu [284].

K podobným závěrům dospěl také Ponceův kolektiv. Pro popis vztahů struktury ve skupině flavonoidů a inhibice XO použili metodu molekulární topologie. Nesubstituované flavonoidy nebo flavonoidy bez hydroxyskupiny byly neúčinné. Malou inhibici projevily látky s jednou hydroxyskupinou – u chalkonů v poloze 2 na kruhu A (**5**, **182** – **185**, 16 – 22 % inhibice). Všechny flavonoidy s významnou inhibicí (**6**, **173**, 40 – 70 %) měly nenasycené α,β -nenasycené seskupení a jednu či více hydroxyskupin – u chalkonů v poloze 4 kruhu A (tab. 18) [285].

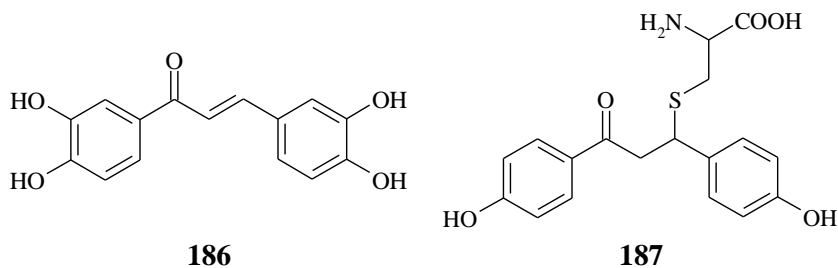
Tab. 18. Inhibice XO chalkony



Chalkon	R ¹	R ²	% inh.
1	H	H	0,0
5	2-OH	H	21,5
6	2,4-(OH) ₂	H	39,8
173	4-OH	H	45,5
180	H	4-F	0,0
181	H	4-OCH ₃	4,8
182	2,4-(OH) ₂ , 3-OCH ₃	H	17,1
183	2-OH-4-OCH ₃	H	17,2
184	2-OH	4-OCH ₃	16,2
185	2-OH	4-F	30,3

K významu polyhydroxylace chalkonů pro inhibici XO dospěli vědci již v 50. letech [286].

Příprava a terapeutické využití inhibice XO při dnové arthritidě bylo patentováno u 1-(3,4-dihydroxyfenyl)-3-(3,4-dihydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu (**186**) [287].



Po izolaci likochalkonů A (**12**) a B (**13**) z lékořice byly tyto látky testovány na komerčně dostupné XO (tab. 19). Inhibiční účinek by podle autorů mohl být způsoben nespecifickou vazbou těchto látek na enzym [288].

Tab. 19. Inhibice XO chalkony

chalkon	IC_{50}
12	$3,0 \times 10^{-5}$ M
13	$5,6 \times 10^{-5}$ M
allopurinol	$1,6 \times 10^{-7}$ M

Podobný typ vazby popisuje Sato při působení chalkonů na rostlinný a houbový enzym, fenylalaninammonialyazu (EC 4.3.1.5, PAL), katalysující přeměnu kyseliny *trans*-skořicové z fenylalaninu eliminací amoniaku. Tento enzym má pravděpodobně 2 vazebná místa a enzymy ze 3 různých zdrojů byly inhibovány chalkony; dihydrochalkony a glykosidy chalkonů PAL neinhibovaly. Pokus provedený inkubací isolikvirigeninu (**3**) s enzymem a reakcí 1-(4-hydroxyfenyl)-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu s různými aminokyselinami, včetně cysteinu

(adiční produkt **187**), podpořil, že PAL je inhibována chalkony reakcí s thiolovými skupinami PAL, a že chalkony se váží na enzym irreversibilně [289].

Výtažek *Sinofranchetia chinensis* (Lardizabalaceae) je v tradiční čínské medicíně používán k léčbě dysurie a bolestivosti končetinových kloubů. Z methanolického extraktu lodyhy této rostliny byly jako účinné látky izolovány likviritigenin (**176**) a isolikviritigenin (**3**). Z výsledků enzymatické studie (tab. 20) usuzují autoři na smíšený typ inhibice u obou látek stejně jako u allopurinolu, tzn. látky jsou schopné vázat se na enzym i na komplex enzym-substrát. Podle inhibičních konstant se jedná o kompetitivně-nonkompetitivní inhibici. Dalšími zdroji těchto látek jsou lékořice a sójové boby.

Tab. 20. Inhibice XO chalkony z *Sinofranchetia chinensis*

Látka	IC ₅₀
3	55,8 × 10 ⁻⁶ M
176	49,3 × 10 ⁻⁶ M
allopurinol	24,4 × 10 ⁻⁶ M

Inhibitory XO by mohly nalézt uplatnění při orgánových transplantacích jako složka uchovávacího média pro orgány, která je schopná zabránit tvorbě superoxidových aniontových radikálů, které mohou způsobit poškození při reperfusi ischemizovaných tkání.

Zvýšené hladiny XO byly v poslední době také identifikovány při hepatitidě a mozkových nádorech [280].

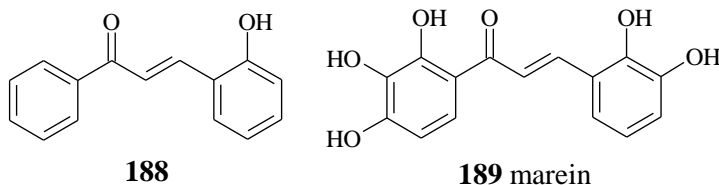
3.1.9.4 Působení chalkonů na enzymy zasahující do metabolismu glutathionu

Glutathion (GSH) a na něm závislé enzymy se podílejí na detoxikaci endobiotik a xenobiotik včetně alkylancí. Glutathionreduktasa byla ve zvýšeném množství nalezena v nádorových tkáních. Vysoké hladiny GSH a glutathiontransferas byly zaznamenány při chemoresistenci nádorových buněk vůči alkylačním činidlům [36].

Glutathionreduktasa (EC 1.6.4.2, GSH-RD) je enzym, který redukuje oxidovaný glutathion na redukovanou formu a udržuje v buňce vysoké hladiny GSH. Na inhibici GSH-RD byly testovány různé typy flavonoidů s identickou hydroxylovou substitucí. Jediným chalkonem ve studii byl butein (**64**), u něhož byla určena IC₅₀ 210 μM. Nejvíce inhibovaly GSH-RD anthokyanidiny, na stejné úrovni s chalkony byly dihydroflavonoly a horší inhibici projevily flavonoly a katechiny. Flavonoidy mohou působit na GSH-RD mechanismem na kyslíku závislým i nezávislým [290].

V práci Zhanga *et. al.*, která zahrnovala více látek – zástupců rostlinných polyfenolů, byla inhibice GSH-RD hodnocena stejnou metodou (tab. 21). Přitom byly chalkony vyhodnoceny jako nejúčinnější, následovány kyselinou taninovou, pak teprve flavonoidy, kumariny a naposledy katechiny. Chalkony s hydroxysubstitucí v poloze 4 na kruhu B byly účinnější než látky s hydroxysubstitucí v poloze 2.

Tab. 21. Inhibice GSH-RD chalkony



Chalkon	IC ₅₀ (μM)
5	82,0
64	70,8
153	68,1
154	71,5
173	47,3
188	123,2
189	176,1

Inhibice GSH-RD rostlinnými polyfenoly by mohla způsobit pokles hladiny redukovaného GSH a tím snížit detoxifikaci antineoplastik pomocí GSH konjugace a sensibilizovat nádorové buňky resistantní k protinádorovým chemoterapeutikům. Navíc některé z těchto polyfenolů mají

antineoplastické vlastnosti vyplývající ze schopnosti ovlivňovat jiné mechanismy v organismu: zvýšení hladiny celulárního cAMP, inhibice proteinkinasy a inhibice syntézy DNA, RNA a proteinů [36].

Glutathion-*S*-transferasy (EC 2.5.1.18, GSTs) představují skupinu multifunkčních enzymů, které hrají také důležité role v detoxikačních procesech. Katalysují konjugaci elektrofilních xenobiotik s thiolovou skupinou GSH a tak vznikají méně toxické a ve vodě lépe rozpustné deriváty. Zvýšená exprese těchto enzymů v nádorových buňkách přispívá konjugačními reakcemi k resistenci proti některým chemoterapeutikům.

Ze stejného pracoviště, kde studovali inhibici GSH-RD, pochází práce, kde byly zkoumány účinky rostlinných polyfenolů na necharakterizované isoformy glutathion-*S*-transferas (EC 2.5.1.8) z krysích jater. Flavonoidy by mohly být vhodnými inhibitory z důvodu jejich nízké toxicity.

GSTs nejúčinněji inhibovala kyselina taninová (IC_{50} 1,044 μ M), také 1-fenyl-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**188**) a butein (**64**, tab. 22). Charakteristická byla pro tyto reversibilní inhibitory polyhydroxylová susbtituce a absence cukerné složky [291].

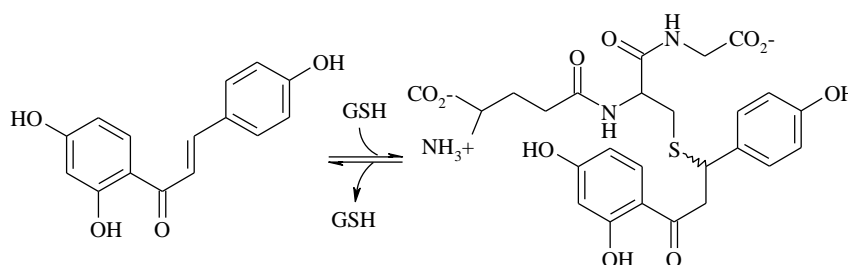
Tab. 22. Inhibice GSTs chalkony

Chalkon	IC_{50} (μ M)
64	9,033
154	68,624
155	204,601
188	6,758

Rostlinné GSTs se podílejí rovněž na detoxikaci herbicidů v rostlinách. Dělí se na 4 třídy a od některých GSTs byly připraveny rekombinantní enzymy. Na jejich inhibici byly zkoušeny některé přírodní látky (flavony, flavanony, isoflavony, anthokyanidiny) a opět dopadly nejlépe chalkony, resp. isolikviritigenin (**3**, IC_{50} 4,1 – 7,2 μ M).

Zajímavostí je, že zatímco u naringenu, kvercetin, luteolinu, biochaninu A a kyanidinglukosidu zůstal během inkubace s GSH, příp. s GSTs UV-profil látky nezměněn, reagoval isolikviritigenin s GSH na Michaelův adukt (schema 6), který se podařilo izolovat a identifikovat. Během TLC, kdy došlo k expozici vzduchem, ale *S*-glutathionylovaný isolikviritigenin přecházel opět na isolikviritigenin, čímž se prokázala reversibilita této reakce [292].

Schema 6. Adice GSH na isolikviritigenin



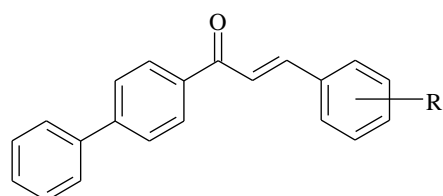
Inhibice GSTs konjugáty chalkonů s GSH byla popsána již dříve [293,294]. Ovšem v jiné pracovní skupině nebyl tento adukt při inkubačním testu pozorován [295].

Rychlost inhibice GSTs tedy závisí na rychlosti konjugace chalkonu s GSH, což ovlivňuje substituce výchozího chalkonu [294].

Chalkony inhibovaly GSTs z myších a krysích jater a výsledky odpovídaly hypotéze, že inhibice je způsobena převážně konjugáty chalkonů s GSH. Oproti nesubstituovanému chalkonu (**1**) s IC_{50} $1,8 \times 10^{-2}$ μ M se inhibice zvýšila zavedením methoxyskupiny do polohy 4 na kruhu B (**181**, IC_{50} $8,7 \times 10^{-3}$ μ M). Charakter substituce v této poloze ovlivňuje elektrofilitu β -uhlíku konjugovaného enonu.

V této sérii byly připraveny rovněž chalkony s fenylem v poloze 4 kruhu A a vykazovaly silnou inhibici GSTs (tab. 23) a ta byla dále ještě zvýšena substitucí na kruhu B v poloze 3 nebo elektronegativním substituentem v poloze 2, což je typické pro sloučeniny působící jako Michaelovy akceptory [296].

Tab. 23. Inhibice GSTs chalkony



Chalkon	R	IC ₅₀ (μM)
190	H	3,0 × 10 ⁻³
191	2-F	6,5 × 10 ⁻⁴
192	2-Cl	5,0 × 10 ⁻⁴
193	2-Br	2,5 × 10 ⁻⁴
194	2-OCH ₃	1,0 × 10 ⁻¹
195	2-CH ₃	1,0 × 10 ⁻¹
196	2-CF ₃	9,5 × 10 ⁻⁴
197	3-F	1,0 × 10 ⁻³
198	3-Br	6,1 × 10 ⁻⁴
199	3-OCH ₃	7,6 × 10 ⁻⁴
200	3-CH ₃	1,9 × 10 ⁻³
201	3-OH	1,9 × 10 ⁻³

Polyfenoly byly také zkoušeny na inhibici odtoku glutathion-S-konjugátů z lidských adenokarcinomatických buněk tračnicku. V tračnickových nádorových buňkách byla dokázána existence GS-X pumpy, která transportuje GSH-konjugáty. Nejlépe inhiboval butein (**64**) s IC₅₀ 15 μM. Z chalkonů byly dále testovány také 1-fenyl-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**188**, IC₅₀ 139 μM) a 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**5**, IC₅₀ 132 μM) a jejich hodnoty IC₅₀ se pohybovaly v mikromolárním množství, přičemž žádný z polyfenolů neměl vliv na množství ATP nebo GSH v buňce [297].

3.1.9.5 Působení chalkonů na epoxidhydrolasy

Epoxidy vznikají v organismu z endogenních sloučenin nebo xenobiotik cestou chemických nebo enzymatických oxidativních procesů. Jsou to sloučeniny nestabilní ve vodném prostředí a z chemického hlediska velmi reaktivní. Epoxidové intermediáty xenobiotik a některých endogenních látek byly označeny jako iniciátory mutagenese a karcinogenese.

Epoxidhydrolasy (EC 3.3.2.3, EH) jsou hydrolytické enzymy, které katalysují hydrataci chemicky reaktivních epoxidů na odpovídající dihydrodiolové produkty. Vznikají tak stabilnější a méně reaktivní sloučeniny [298].

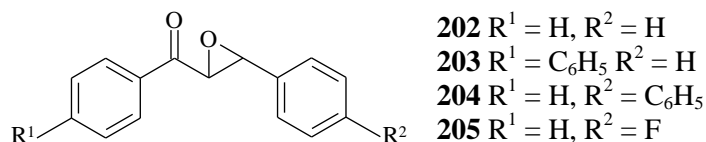
V savčích buňkách existuje nejméně 5 forem epoxidhydrolas. Oxidy chalkonů jsou známy svou schopností inhibovat rozpustnou epoxidhydrolasu (sEH), která je primárně lokalizována v cytosolu, sekundárně na peroxisomech ve všech tkáních. sEH je všudypřítomným savčím enzymem, nejvyšší aktivity dosahuje v játrech a ledvinách. Jejimi endogenními substráty jsou *trans*-substituované epoxidy, různé alifatické epoxidy odvozené z metabolismu MK. Známým inhibitorem je leukotoxin, kyseliny epoxykosenonové (EETs), z xenobiotik oxid *trans*-stilbenu [299].

Na tomto mechanismu detoxikace se podílejí kromě EH také GSTs (viz předchozí kapitola) [298]. Chalkony jsou lepšími inhibitory GSTs než sEH, zatímco u chalkonoxidů to platí obráceně [300,301].

Chalkonperoxid inhiboval i mikrosomální EH (mEH), jejímiž endogenními substráty jsou např. epoxidy steroidů [302]. Protikladné je, že zhruba přes 28 lety byl chalkon a chalkonoxid označen jako stimulant mEH (EC 4.2.1.63) při použití styrenoxidu jako substrátu [303]. V roce 1986 popsal Guenther výraznou inhibici 4-fenylchalkonoxidem a jeho isomerem 4'-fenylchalkonoxidem na mEH, jejímž substrátem byl *trans*-stilbenoxid [304].

U chalkonu **1** a 3-(4-bromfenyl)-1-fenylprop-2-en-1-onu žádná indukce sEH ani mEH pozorována nebyla, ale je samozřejmé, že vždy záleží na zdroji enzymu a podmínkách testování [298].

S cílem poznat mechanismus působení oxidů chalkonů (1,3-difenyl-2,3-epoxypropan-1-onů, **202**) na sEH, byla připravena rekombinantní myší a lidská sEH. Testované chalkony nesly substituce v poloze 4 na kruhu A nebo v poloze 4 na kruhu B nebo v obou polohách (**202** – **205**). Jako substituenty s ideálním objemem se osvědčil n-pentyl (nebo fenyl) či n-propyl. Autoři se pokusili popsat mechanismus vazby na aktivní katalytické místo s dvěma zbytky kyseliny asparagové a histidinem při inhibici enzymu [305].



Dále byl vyobrazený chalkonoxid **203** substituován různými halogeny, methoxyskupinou a trifluormethylovou skupinou na kruhu B a to v různých polohách, ale nebylo nalezeno žádné podstatné zvýšení aktivity při inhibici cytosolické EH získané z myších a krysích jater [296].

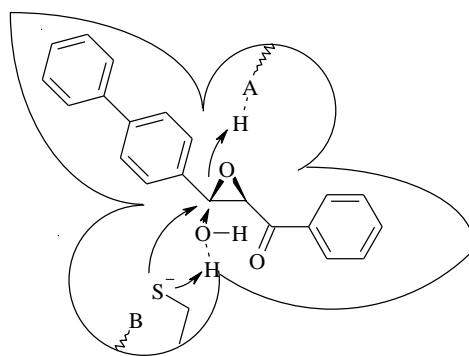
Ke zvýšení aktivity nevedla ani záměna fenylu naftylem u chalkonoxidu, záměna alifatickým řetězcem vedla k mírnému poklesu aktivity. Změna *trans*-geometrie na *cis* na oxiranovém kruhu nebo záměna kyslíku za methylen v kruhu rapidně snížila aktivitu [293].

Výše zmíněné EETs, vznikající na CYP 450, jsou často inkorporovány a uvolňovány z endotelových fosfolipidů a tento proces vede k zesílení endothel-dependentní relaxace. EETs mají řadu biologických vlastností a jsou schopné relaxovat cévy také aktivací draselných kanálů aktivovaných vápenatými kationty (K_{Ca}-kanály). EETs mohou být rychle přeměňovány epoxidhydrolasami na kyseliny dihydroxykiosatrienové (DHETs), které jsou do fosfolipidů inkorporovány v menší míře. Na prasečích endotelových buňkách z koronárních arterií bylo zjištěno, že epoxidhydrolasy tak regulují inkorporaci EETs do endotelových fosfolipidů. Epoxidhydrolasy by mohly hrát roli v ovlivňování endotelových funkcí v koronárních cévách. Jako inhibitor EH byl použit 4-fenylchalkonoxid (**204**) [306].

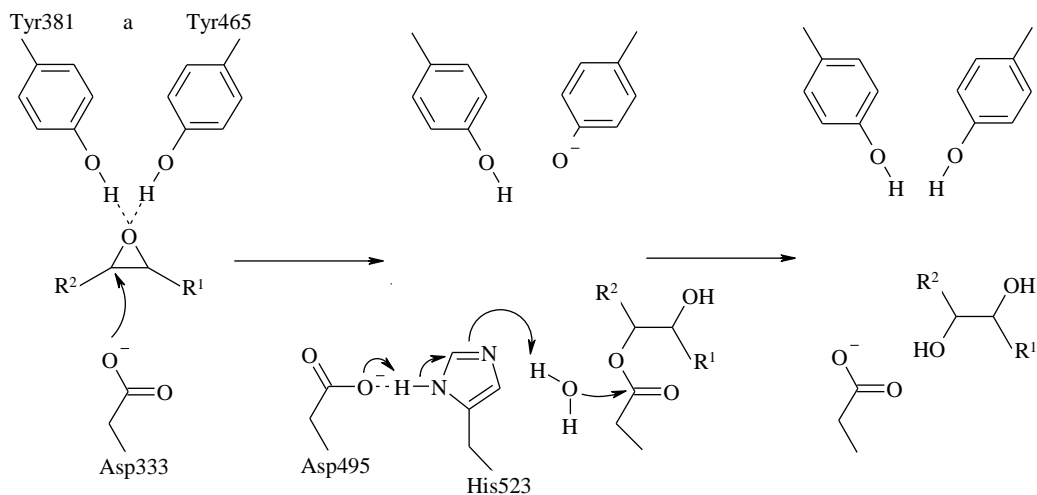
Při systematickém screeningu 150 látek na inhibici sEH byl vybrán posledně zmíněný chalkon jako selektivní a nejúčinnější inhibitor (**204**, IC₅₀ 6,4 × 10⁻² μM). Pro účinek molekuly je důležité elektrofilní centrum s olefinem, dvě hydrofobní oblasti v pozici *trans*. Účinnost zvýšila epoxidace olefinu a současná hydroxylace kruhů, ale takové látky je komplikované připravit kvůli samovolné polymerisaci. Americký kolektiv Hammocka, který se inhibicí EH zabývá již delší dobu [295] a vyvinul i radiometrickou metodu na měření modulace aktivit EH a GSTs [300], navrhl model navázání epoxidu na enzym (schema 7): molekula vody se aduje na oxiranový kruh „zezadu“, tak aby vznikl *trans*-diol, adici katalysuje cystein jako účinný basický katalysátor při neutrálním pH. Cytosolická EH má dále 2 hydrofobní vazebná místa a tento inhibitor má optimální šíři molekuly [295].

Na myší sEH naznačili ale američtí autoři později katalytický mechanismus spojený s 2 tyrosinovými zbytky (schema 8), testovaným inhibitorem byl 4-fluorchalkonoxid (**205**) [307].

Schema 7. Předpokládaná topografie aktivního místa sEH při inhibici chalkonoxidy



Schema 8. Dva kroky katalytického mechanismu myší sEH



V testu s cytosolickou EH z myších jater inhiboval 4-fenylchalkonoxid (**201**) s IC_{50} 0,3 μM , zatímco chalkon i chalkonoxid s IC_{50} 5 μM [308].

Hammockova skupina dále zkoumala rozdíly krysí jaterní sEH, sEH v myších zánětlivých buňkách (neutrofilech a makrofázích) a rekombinantní krysí sEH. Byly použity 3 druhy inhibitorů: slabý – chalkonoxid (**202**), střední – 4-fluorchalkonoxid (**205**) a silný: 4-fenylchalkonoxid (**204**). Všechny 3 enzymy byly inhibitory blokovány stejnou měrou a bylo zjištěno, že sEH z krysích zánětlivých buněk není nijak odlišná od cytosolické sEH [309].

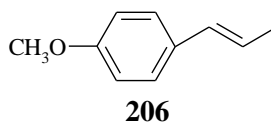
4-Fluorchalkonoxid (**205**) a *trans*-chalkonoxid (**202**) inhibovaly také EH z roztoče *Rhizoglyphus robini* [310].

4-Fenylchalkonoxid (**204**) inhiboval silně i epoxidhydrólasy asociované s jadernou membránou (IC_{50} 0,17 μM), které se vedle cytosolické a mikrosomální EH podílí také na metabolisaci xenobiotik. IC_{50} 4-fenylchalkonoxidu na cytosolické EH hydrolyzující *trans*-disubstituované oxirany (EH2) byla velmi nízká (0,167 μM). Mikrosomální EH, která metabolisuje karcinogen benzo[*a*]pyren-4,5-oxid, tento chalkon neinhiboval [311]. mEH se liší od cytosolické přítomností histidinu v aktivním místě a omezenější hydrofobní interakcí [295].

Leukotoxindiol je hydratační produkt leukotoxinu (9,10-epoxyoktadec-12-enoát), spojovaného klinicky se syndromem akutního respiračního selhání a produkovaný taktéž CYP 450 z linolenové kyseliny. Za hydrolyzu leukotoxinu na leukotoxindiol je zodpovědná sEH, která je koncentrovaná v hladkých svalech cévní svaloviny a v malých a středně velkých plicních cévách. Leukotoxindiol je *in vivo* toxicitější. 4-Fenylchalkonoxid (**204**) jako inhibitor sEH snižoval u myší mortalitu způsobenou leukotoxinem, nikoli však leukotoxindiolem [312].

Vliv modulátorů epoxidového metabolismu na cytotoxicitu *trans*-anetholu (**206**) v krysích hepatocytech zkoumali vědci v Londýně. Zkoušeli modulovat epoxidový metabolismus inhibicí

mikrosomální a cytosolické EH a deplecí GSH. *Trans*-anethol je oblíbeným anýzovým aromatem, obsahovou látkou fenyklu, anýzu, kopru, bazalky a estragonu. Tato látka vykázala na myších relativně nízkou LD₅₀ a ve vysokých dávkách slabou hepatokarcinogenitu. *Trans*-anethol je metabolisován v organismu 3 cestami: *O*-demethylací, ω -hydroxylací následovanou oxidací postranního řetězce a epoxidací dvojně vazby a inhibitor sEH 4-fluorchalkonoxid podstatně zvyšoval toxicitu *trans*-anetholu [313].



3.1.9.6 Působení chalkonů na fosfodiesterasy

Intracelulární koncentrace cAMP a cGMP má vztah k relaxaci hladké svaloviny. Ve většině tkání je intracelulární koncentrace těchto látek určována poměrem rychlostí jejich vzniku (katalysovaným adenylát- nebo guanylátcyklasou) a rychlostí jejich hydrolýzy fosfodiesterasami. Existuje 5 isoform fosfodiesteras: I, II, III (spotřebovává cAMP nebo cGMP), IV (specifická na cAMP) a V (specifická na cGMP). Selektivní inhibitory specifických fosfodiesterasových isoenzymů způsobují relaxaci hladkého svalstva, ale mají i další účinky [314].

Na inhibici nebo stimulaci cAMP-fosfodiesterasy (PDE, EC 3.1.4.17) byl testován soubor 31 flavonoidů. V tomto testu se jednalo o cAMP-PDE z krysích adipocytů a byl testován jednak přímý účinek na lipolýzu *in vitro* a také lipolytický účinek přes zmíněný enzym (použité standardy: 3-isobutyl-1-methylxanthin = IBMX a theofylin). V testu figurovaly dva chalkony, dva dihydrochalkony a naměřené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 24. Glykosidy flavonoidů byly neúčinné, ale butein (**64**) a floretin (**154**) inhibovaly cAMP-PDE srovnatelně s inhibitorem cAMP-PDE – IBMX. Floretin ovlivňoval lipolýzu jen slabě a butein ji dokonce inhiboval.

Tyto látky by mohly teoreticky mít terapeutický význam při tukové mobilisaci v léčbě obezity, ale účinek nebyl u žádné sloučeniny dostatečný pro praktické použití [315].

Tab. 24. Vliv chalkonů na inhibici cAMP-PDE a lipolýzu

Testovaná látka	PDE inhibice: EC ₅₀ (μM)	lipolýza	
		glycerol (nmol)	% zvýšení v porovnání s kontr.
1	>250 (0%)	129 ± 14	0
64	68	95 ± 10	- 30
154	38	194 ± 19	56
155	> 250 (30%)	135 ± 14	0
IBMX	42	375±12	203
theofylin	114	329±15	166

V práci Yu *et al.* byly zkoumány fosfodiesterasy z endotelu krysí hrudní aorty. Byly izolovány 4 typy: PDE I, III, IV a V. Bylo zjištěno, že butein izolovaný z *Dalbergia odorifera* T. Chen (Fabaceae) měl na aortu s neporušeným endotelem relaxační účinek zprostředkovaný relaxačním faktorem EDRF a zvyšoval koncentraci cAMP a cGMP. Při bližším prozkoumání autoři zjistili, že butein inhibuje pouze cAMP-specifickou fosfodiesterasu s IC₅₀ 10,4 ± 0,4 μM (standardní inhibitor: rolipram, IC₅₀ 3,2 ± 0,2 μM). Tato specifická PDE se dále vyskytuje v CNS, pohlavních orgánech, ledvinách, lymfocytech, průdušnici a endotelových buňkách [314].

Prenylchalkony spolu s dalšími látkami izolovanými z moruše *Morus alba* L. (Moraceae) byly studovány na cAMP-fosfodiesterase z hovězího srdce. Výrazný hypotenzivní účinek byl pozorován u jiných fenolických látek než chalkonů [316].

3.1.9.7 Působení chalkonů na COX a další enzymy v souvislosti s jejich protizánětlivým a antiulcerosním působením

Množství informací o protizánětlivém působení chalkonů je obrovské a již bylo částečně popsáno [317], proto jsou v této kapitole vybrány jen ty protizánětlivé účinky chalkonů, které mají souvislost s ovlivňováním aktivity nějakého enzymu.

V akutních i chronických zánětlivých procesech zaujímá důležité postavení metabolismus arachidonové kyseliny. Cyklooxygenasami (COX) může být přeměňována přes nestálé endocyklické peroxidy PGG₂ a PGH₂ na stálé PG (prostaglandiny): PGE₂, PGD₂, PGH₂ a PGF_{2α}; prostacyklin PGI₂ a tromboxan B₂. Prostřednictvím lipoxygenasy 5 (5-LOX) vzniká 5-hydroxyikosatetraenová kyselina (5-HETE), leukotrien LTA₄ a LTB₄ a sulfopeptidové leukotrieny LTC₄, LTD₄ a LTE₄ [318].

Za probíhajícího zánětu produkují makrofágy NO, prostanoidy a proinflamační cytokiny jako IL-1β a TNF-α [319].

Inhibice 5-LOX přinesla nový terapeutický přístup k léčbě astmatu, alergické rhinitis, rheumatoidní arthritidy, psoriasis a ulcerosní kolitidy [320].

Leukotrieny (LT) jsou mediátory kontrakce hladkých svalů, zvýšené cévní permeability a chemotaxe leukocytů. Mechanismy jejich inhibice jsou 4: antioxidační působení nebo radikálově zhášecí aktivita, chelatace železa, inhibice 5-LOX translokace, napodobení substrátu [321].

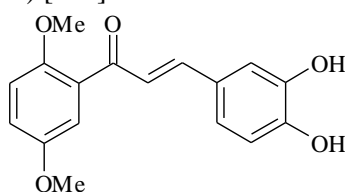
Endotelové adhezivní molekuly leukocytů E-selektin, adhezivní molekula vaskulárních buněk 1 (VCAM-1), intracelulární adhezivní molekula 1 (ICAM-1) jsou zapojeny do procesu rolování, adheze a přechodu periferních krevních leukocytů. Tato prvotní interakce cirkulujících leukocytů a endotelu je klíčovou pro imunitní a zánětlivé procesy [322] a rejekci transplantátů [323].

Přístupem ke kontrole zánětlivých onemocnění může být inhibice exprese těchto molekul. Buněčné adhezivní proteiny jsou indukovány různými zánětlivými cytokiny jako např. TNF-α, IL-1, bakteriálním lipopolysacharidem. Tento indukční proces se primárně odehrává na transkripční rovině, kde hraje hlavní roli NF-κB [324].

VCAM-1 je transmembránový protein podobný imunoglobulinům, exprimovaný různými typy buněk, např. buňkami cévního endotelu a folikulárními dendritickými buňkami. ICAM-1 bývá exprimována na leukocytech a také na buňkách cévního endotelu, kde podporuje migraci aktivovaných leukocytů do místa zánětu. Dále hraje ICAM-1 roli v obraně organismu zprostředkované T-buňkami [323].

Zánětlivý proces zahrnuje obecně exudaci tekutiny, migraci a infiltraci zánětlivých buněk, angiogenesi a tvorbu granulomatosní tkáně. Pro kvantitativní hodnocení angiogenese byla v Japonsku vyvinuta metoda [325].

Cyklooxygenasa je prostaglandinendoperoxidsynthasa, která katalysuje syntézu prostaglandinů (PG), mediátorů zánětlivé reakce. Isoforma COX-1 je konstitutivní enzym všech buněk, COX-2 je indukibilní forma vyskytující se jako odpověď na různé extracelulární stimuly v zánětlivých buňkách a tkáních [326]. Chalkony s 3,4-dihydroxycinamoylseskupením inhibovaly myši epidermální COX a ještě výrazněji 12-LOX, ale látky s 4-hydroxycinamoylseskupením měly tendenci COX spíše stimulovat [327]. Stejný závěr potvrdila Sogawova série chalkonů dihydroxylovaných v polohách 3 a 4 kruhu B s neúčinnějším duálním derivátem (**207**; IC₅₀ na COX 9,2 μM, IC₅₀ na 5-LOX 7,8 μM) [321].



207

Tato substituce kruhu B se vyskytla i u patentovaných derivátů chalkonu [328,329].

COX a 5-LOX inhibovaly pyridinové analogy chalkonů s hydroxyskupinou v poloze 4 kruhu A [330].

Chalkony hydroxylované v polohách 2 a 5 kruhu A inhibovaly COX [331], působily dobře na inhibici degranulace žírných buněk (uvolnění histaminu), inhibici degranulace neutrofilů (uvolnění lysozymu) a měly také ztlumující účinek na superoxidové anionty [332]. Tyto deriváty působí také přes inhibici exprese indukibilní formy NO synthasy [333].

Chlorochinolinové analogy chalkonů působily více mechanismy: inhibici degranulace, inhibici 5-LOX v neutrofilech, ztlumením superoxidu a inhibici COX-2 [334].

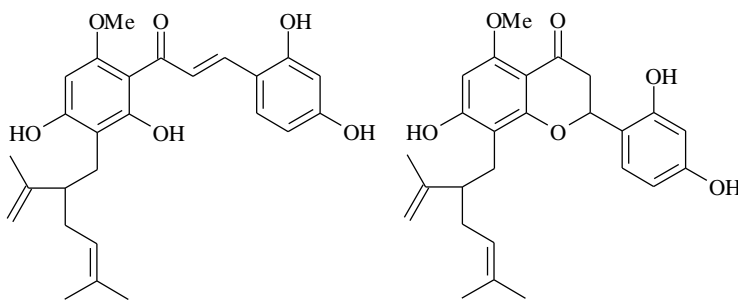
Řada 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onů působila inhibičně na produkci PGE₂, výhodná byla methoxysubstituce v poloze 4 nebo 6 kruhu A, ale žádná z látek neprokázala výrazný účinek na COX-2, na COX-1 jen slabý [326]. Jejich protizánětlivý účinek tkví zřejmě v inhibici exprese iNOS a produkce TNF- α [319].

3-Fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-ony a 1-(2,5-dihydroxyfenyl)-3-fenylprop-2-en-1-ony inhibovaly uvolňování β -glukuronidasy a lysozymu z krysích neutrofilů a účinkovaly cytotoxicky na MCF-7 [335].

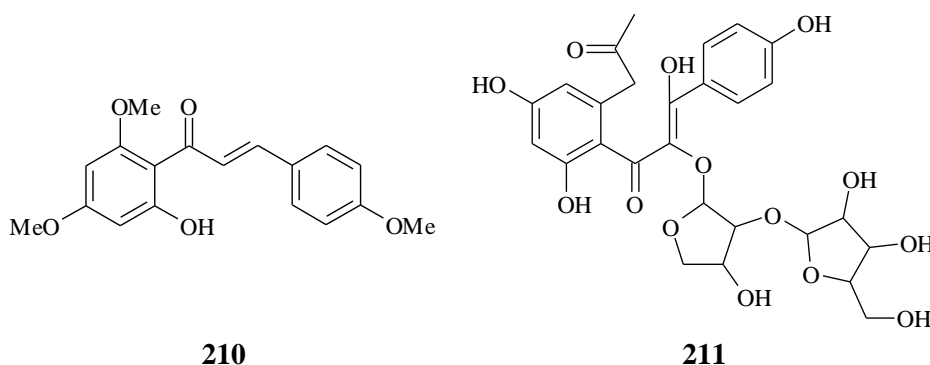
Mnoho prenylovaných látek je používáno v tradiční lidové medicíně a u některých byla zjištěna inhibiční aktivita na COX-1, COX-2, 5-LOX a 12-LOX. Kuraridin (**208**) a jeho flavanon kurarinon (**209**) s lavandulylovým zbytkem získané z kořene *Sophora flavescens* Ait. (Fabaceae) inhibovali silně COX-1 a 5-LOX, ale byly bez účinku na COX-2 a 12-LOX (tab. 25) [336].

Tab. 25. Inhibice COX-1 a LOX-5 kuraridinem a kurarinonem

Látka	IC ₅₀ μ M	
	COX-1	5-LOX
208	0,6 – 1	5,4 – 5,9
209	0,6 – 1	22
indome-tacin	0,4 – 1,3	N
NDGA	N	0,6 – 0,9



Mezi biologicky aktivními komponentami extraktu z kořene *Piper methysticum* Forst (kava kava, Piperaceae) byl nalezen chalkon flavokawain (**210**), který působil inhibičně lépe na COX-1 a hůře na COX-2 v porovnání s použitými standardními NSAID [337].



Výrazný účinek nebyl nalezen ani u chalkonu **211** z *Lilium longiflorum* (Liliaceae) (inhibice COX-1 32,4 % v koncentraci 80 ppm, inhibice COX-2 ještě slabší, inhibice lipidové peroxidace 20 % v koncentraci 10 ppm) [338].

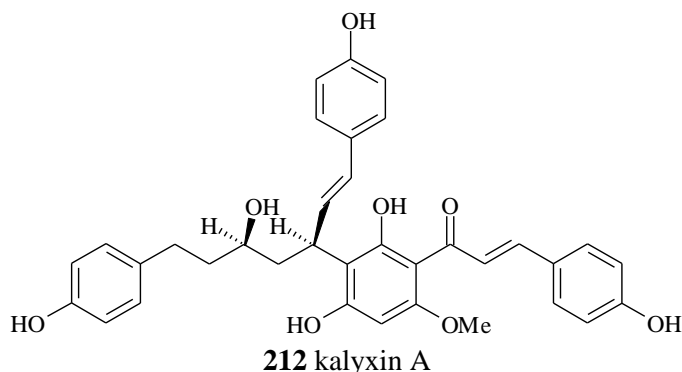
Patentované chalkony s karboxylovou funkcí na kruhu A inhibovaly z lipoxygenas selektivně 5-LOX [339].

Redukci PGE₂ a NO v myších makrofázích způsobuje také isolikviritigenin z *Glycyrrhiza uralensis* Fisher. Je schopen také aktivovat kaspasy [340].

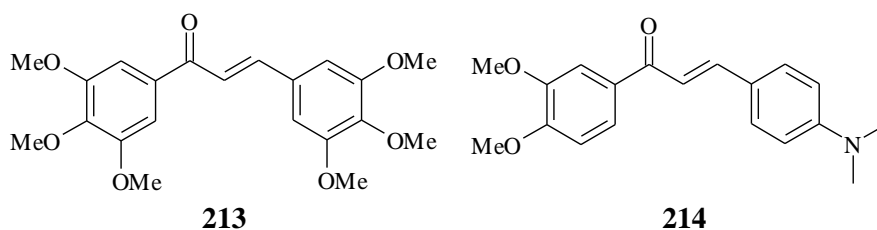
Oxid dusnatý (NO) hraje důležitou roli v mnoha fyziologických procesech, je mediátorem extra- i intracelulárním. NO je produkován NO synthasami (NOS). Jsou známy 2 třídy NOS. Konstitutivní NOS je exprimována v neuronech (nNOS) a vaskulárním endotelu (eNOS) [319] a aktivována vápníkem a kalmodulinem. Inducibilní isoforma NOS (iNOS) je exprimována v aktivovaných makrofázích, které se aktivují lipopolysacharidy nebo TNF- α . NO hraje zřejmě také svou roli v mnoha úmrtích následkem septického šoku u pacientů na jednotkách intenzivní péče. Pro stav septického šoku je charakteristická výrazná vasodilatace a nízká vaskulární odpověď na vasokonstriktory. Inhibice NOS by mohla být pomoci v takovýchto případech [341]. Inhibice NO hraje svou roli i v nádorově-chemopreventivních procesech [335] (viz kap. 3.1.6).

NO může reagovat se superoxidem na peroxynitrit, který se rozkládá na reaktivní formy, např. hydroxylový radikál. Kyslíkové radikály mohou zahájit proces lipidové peroxidace a poškodit tak membrány a DNA. Zvýšené hladiny NO jsou patrné u arthritidy, Alzheimerovy choroby, amyotrofní laterální sklerosy, atherosklerosy, ischemicko-reperfusionních poškozeních atd. [342].

Inhibice produkce NO v myších makrofázích byla měřena u diarylpropenoidů nesoucích mimo jiné chalconovou jednotku. Látky s navázanou flavanonovou skupinou byly méně aktivní. Konjugovaná dvojná vazba chalconů potencionovala účinek. Ze semen *Alpinia blepharocalyx* K. Schum (Zingiberaceae) byl nejučinnějším chalkonem kalyxin A (**212**, IC₅₀ 49 μ M), chalkon bez substituentu v poloze 3 kruhu A byl podstatně méně aktivní (IC₅₀ 159 μ M) [343,344].



Herenciova navazující práce zkoumala u chinolinových analogů schopnost redukovat produkci NO a PGE₂, která byla výraznější. U chalkonu **213** byla ale protizánětlivým mechanismem právě inhibice produkce NO [345].



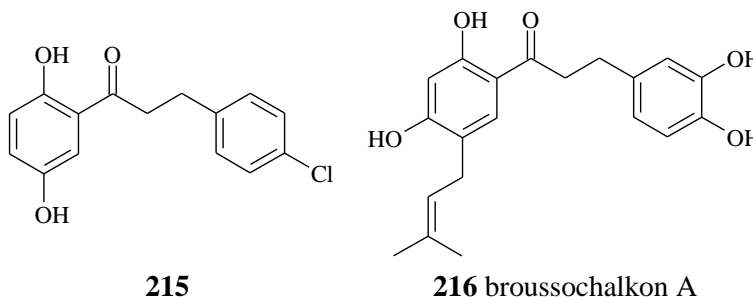
Později byl mechanismus tohoto chalkonu zkoumán podrobněji na úrovni indukce hemoxygenasy, inhibice NF- κ B a dalších faktorů [346].

Nový superoxidový zhašeč (**214**) inhiboval výborně iNOS, dále PGE₂, LTB₄ a TNF- α . [342].

V návaznosti na tento dimethylaminochalkon byla syntetizována řada jeho derivátů a nalezen dimethoxyderivát jako vhodný duální inhibitor ovlivňující produkci NO a PGE₂ v submikromolárních koncentracích [347].

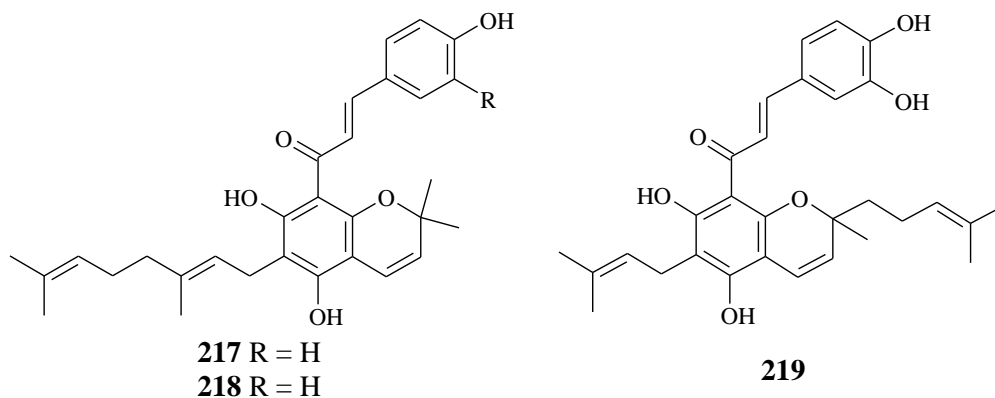
1-(2,5-Dihydroxyfenyl)-3-(4-chlorfenyl)prop-2-en-1-on (**215**) inhiboval spíše expresi iNOS v myších makrofázích (IC₅₀ 1,4 \pm 0,3 μ M; aspirin IC₅₀ 12,3 \pm 1,1 μ M) než její enzymovou aktivitu.

Tento chalkon také zhášel volné radikály v DPPH testu a inhiboval COX-2 (IC₅₀ 3,0 μM). Protizánětlivý účinek je tedy spíše dán smíšeným působením [341].



Přírodním účinným supresorem iNOS je brousochalcon A (**216**) z kůry stromu *Broussonetia papyrifera* Vent. (Moraceae), má antiagregační účinek na destičky a dosahuje antioxidační aktivity běžně používaných antioxidantů [348].

Multifunkčně působily také nové chalkony (**217** – **219**) z *Mallotus philippinensis* Muel. Arg. (Euphorbiaceae): inhibicí exprese genů pro COX, iNOS a IL-β. Hlavní inhibiční mechanismus těchto látek zřejmě spočívá v inaktivaci NF-κB [349].



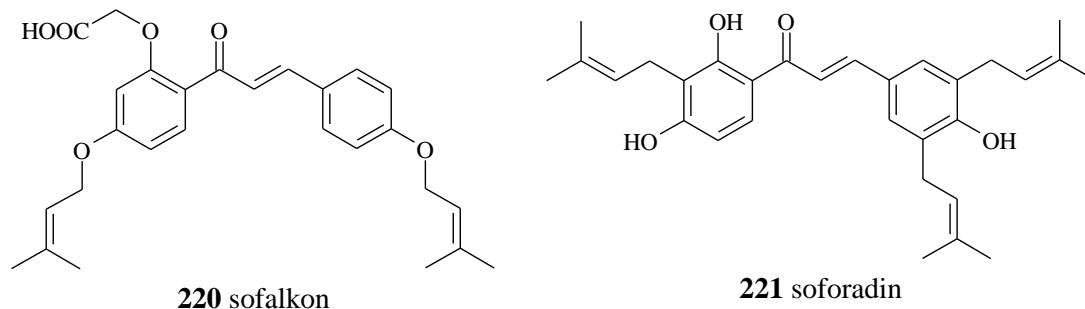
Chalkony mohou působit protizánětlivě také dalšími mechanismy:

- inhibicí biosyntézy interleukinu IL-1β v monocytech (strukturální požadavky: enon, *o*-substituent na kruhu A, elektrony přitahující skupina na kruhu B, určitý tvar molekuly) [350,351,352]
- inhibicí uvolňování LTB₄ z neutrofilů [320,353,354]
- inhibicí fosfolipasy A₂ (sekreční enzym, produkuje kyselinu arachidonovou) [353]
- antagonizací receptorů LTD₄ (antagonisté používány jako antiastmatika, chalkony substituované na kruhu A chinolinem a kyselou funkcí na kruhu B) [355]
- inhibicí indukce exprese ICAM-1, VCAM-1 [323,356] a E-selektinu na úrovni inhibice nukleárního faktoru-κB a IL-1β a inhibice TNF-α [324]
- inhibicí uvolňování cytokinů (TNF-α a interleukinů) a proliferace lymfocytů [357,358]
- inhibicí fosfolipasy D [359]
- a inhibicí angiogeneze [325].

U chalkonů byly pozorovány účinky antiulcerosní a gastroprotektivní. Mechanismus účinku může být různý, u mnoha látek není dosud znám. Chalkony ovlivňují některé enzymy GIT: 15-hydroxyprostaglandindehydrogenasu (15-HPGD), sulfotransferasu a H⁺/K⁺-ATPasu.

15-HPGD je enzym z cytoplasmatické frakce žaludeční mukosy degradující PGE₂. Určité PG (PGE₂ a PGI₂) představují pro GIT důležitý fyziologický ochranný faktor žaludeční sliznice, regulují krevní průtok, předcházejí vzniku vředů a urychlují jejich hojení, navíc potlačují kyselou sekreci. Mají tedy antiulcerosní a cytoprotektivní účinky.

Specifický inhibiční účinek na 15-HPGD byl zjištěn *in vivo* u sofalkonu (SU-88, **220**, IC_{50} $18 \pm 3 \mu M$; standard: karbenoxolon IC_{50} $39 \pm 5 \mu M$), což je syntetický isoprenylový chalcon, odvozený od chalconu soforadinu (**221**) izolovaného z kořene čínské léčivé rostliny *Sophora subprostrata* (Fabaceae). Sofalkon dilatuje žaludeční cévy a podporuje lepší prokrvení žaludeční mukosy, stimuluje produkci žaludečního hlenu a zvyšuje inkorporaci síry do žaludečních mukosních sulfatovaných mukosubstancí. Sofalkon neovlivňoval syntézu PG přes prostaglandinsyntethasu [360,361,362,363].



Sofalkon snižoval významně aktivitu 15-HPGD při experimentálně navozené gastritidě u kryš [364].

Některé látky, které inhibovaly 15-HPGD, vykazaly také chemopreventivní účinek [365].

Dalším zkoumaným enzymem byla tyrosylproteinsulfotransferasa (TPST) z Golgiho membrány. Žaludeční hlenové glykoproteiny (mucin) pomáhající udržet soudržnost mukosy jsou sulfatovány na tyrosinu, což je běžná postranlační modifikace sekrečních proteinů. Sofalkon zvyšoval *in vivo* aktivitu TPST [366,367,368].

Sofalkon měl příznivý vliv také na zvýšení acyltransferasové aktivity MK. Tyto esterově vázané MK chrání mucin před peptickou degradací a přispívají k jeho viskozitě, hydrofobicitě a resistenci vůči kyselině [369].

Sofalkon (**220**) a soforadin (**221**) působí ještě dalším mechanismem – inhibicí H^+/K^+ -APTasy (IC_{50} $15 \mu M$; $0,74 \mu M$) [370].

Sofalkon není jediným chalconem s antiulcerosními účinky, zaznamenány byly i u isolikvirigeninu (**3**) a di- až pentahydroxylovaných chalconů [371].

Žaludeční H^+/K^+ -APTasu inhibovaly také xanthoangelol (**155**) a 4-hydroxyderricin (**158**) (IC_{50} $1,8 \mu M$; IC_{50} $3,3 \mu M$) z *Angelica keiskei* Koidzumi [372].

K antiulcerosnímu a gastroprotektivnímu účinku sofalkonu (**220**) přispívá také jeho baktericidní účinek na *Campylobacter pylori* [52] a *H. pylori* [373] a jeho chemotaktickou motilitu [374]. Jeho eradikace v kombinální terapii klaritromycinem a sofalkonem byla zkoušena na dobrovolnících [375].

Byly zjištěny také antiadhesivní účinky sofalkonu na *H. pylori* [376].

Sofalkon projevil své antioxidační vlastnosti při ischemicko-reperfusionním poškození žaludku [377], stimuloval nervovou regeneraci po poškození žaludku [378], expresi hepatocytárního růstového faktoru (HGF) ovlivňujícího proliferaci a migraci žaludečních epitelových buněk [379] a uvolňování růstového faktoru vaskulárního endotelu (VEGF) důležitého pro angiogenesi [380].

Analogy sofalkonu byly patentovány jako antiulcerosní látky [381].

Cytoprotektivní mechanismus jednoduchých látek s α,β -nenasyceným karbonylovým systémem se vysvětluje reakcí elektrofilně akceptorového systému s thiolovými skupinami mukosy [382].

S protizánětlivou aktivitou chalconů by mohl souviset i zjištěný antialergický účinek [24,383,384].

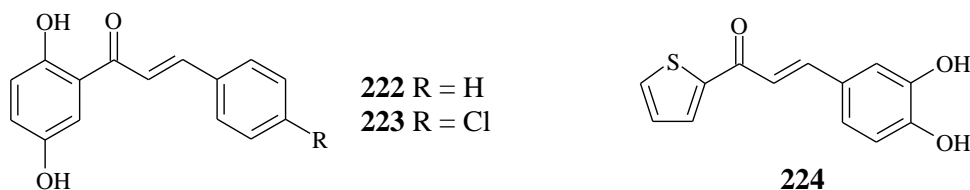
3.1.10 Ostatní účinky chalkonů

Chalkony mají řadu dalších účinků, které přesahují rozsah této práce. Pro příklad uvádím aktivitu spasmolytickou [385,386], estrogení [10], laxativní [387], kalcifikující [388], antifibrotickou [389] a mohou také ovlivňovat produkci hormonů kůry nadledvin [390,391,392,393].

Antioxidační účinek byl částečně popsán v souvislosti s působením chalkonů na KVS [27] a v přehledovém článku [317]. Za zmínku stojí, že likochalkon A i B mají antioxidační aktivitu odpovídající vitaminu E [10], xanthohumol (**66**) dokonce vyšší. Xanthohumol zhášel hydroxylové, peroxylové a superoxidaniontové radikály, jejichž reakce s biomolekulami se pojí s ranými stádii atherosklerosy, karcinogenese a neurodegenerativními onemocněními [191] a inhiboval oxidaci LDL [394].

Antioxidačně působí lépe chalkony než dihydrochalkony a pro zesílení účinku byla vhodná hydroxysubstituce v poloze 4 kruhu B [395], ale i u některých přírodních dihydrochalkonů byla antioxidační aktivita zaznamenána [396,397].

Antiagregačním účinkům chalkonů je stále věnována pozornost [398]. Hydroxylované a methoxylované chalkony a dále jejich thiofenové analogy inhibovaly dobře agregaci krevních destiček způsobenou kyselinou arachidonovou, kolagenem, adrenalinem. Protideštičkový účinek je zřejmě založen na potlačení cyklooxygenasové aktivity, omezené tvorbě tromboxanu nebo inhibici tromboxansynthasy. Mezi nejúčinnější struktury patří chalkony **222** – **224** [398,399].



Protideštičková aktivita může být způsobena u chalkonů rovněž antagonizací GPIIb/IIIa receptorů [400] nebo inhibicí vápníkové pumpy [401].

Chalkony mohou inhibovat také angiotensinkonvertasu (ACE) [402,403] a byl u nich zjištěn antifibrinogenní efekt [404].

Deriváty chalkonů mohou zasahovat do lidského metabolismu inhibicí diacylglycerolacyltransferasy [405,406,407], jodothyronindejodiny [408,409] nebo insulinmimetickým [410] či antihyperglykemickým účinkem [411].

Deriváty chalkonů mohou dále inhibovat DOPA-dekarboxylasu [412,413,414,415] a další dekarboxylasy aromatických kyselin [416], fenylalaninammonialy [289], fosfolipasu C [417], α -glukosidasu [418], β -glukosidasu [419], hyaluronidasu [420,421,422,423,424], cholinesterasy (AChE, BuChE) [418,425,426,427], kalciovou pumpu v jaterních buňkách [428], další kinasy [429,430], mitochondriální enzymy [24], sialidasu (neuraminidasu) [431], tyrosinasu [432,433,434] a ureasy [418], jsou schopné blokovat různé kaliové kanály [435,436] a inhibovat uvolňování myeloperoxidasy [437].

3.1.11 Syntetický význam chalkonů

Chalkony našly uplatnění i jako syntetické meziproducty pro získávání dalších typů flavonoidů, např. pro přípravu syntetických flavonů [60], flavonolů [61,438] a flavanonů [61,249,439,440]. Z chalkonů mohou být získány flavanonoly a následně flavandioly [494].

Častým meziproductem předcházejících syntéz jsou epoxidy. Pro epoxidaci chalkonů lze použít různá činidla [441,442]. Epoxychalkon se cyklosoval na flavanon [443] anebo na flavanonol [444].

Fotolýza epoxychalkonu byla zkoumána již v 70. letech 20. století. Fotochemickou konverzí byl získán diketon, jenž se odštěpením molekuly vody zacyklil na flavon [445].

Wheelerovou syntézou vznikají auronony [446]. Auronony mohou být také připraveny oxidací 1-(2-hydroxyfenyl)-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu [439].

Redukcí vodíkem za katalýzy rhodiovým katalysátorem mohou vznikat dihydrochalkony např. jako meziproducty pro syntézu potenciálních antagonistů leukotrienových receptorů [447].

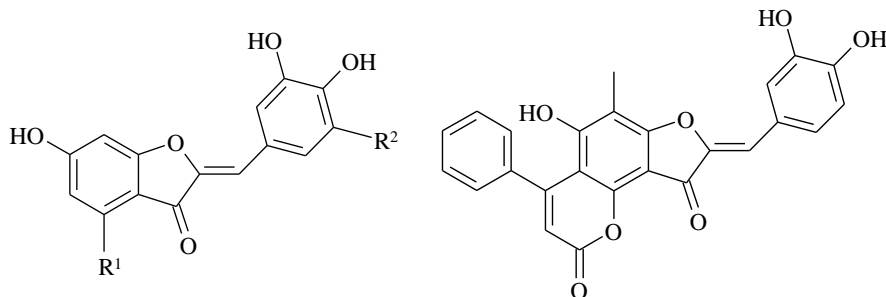
Chalkony slouží také jako meziproducty pro přípravu dalších různých cyklovaných biologicky aktivních produktů:

- cyklopropanonů [501]
- nenasyčených pětičlenných laktonů [448]
- 3,5-disubstituovaných isoxazolinů [449,450,451,452,453]
- trisubstituovaných 2-pyrazolinů [450,454,455,456,457]
- thiazolylpyrazolinů [458]
- tetrahydrothiazinonů [459] a thiazolidinonů [460]
- ethyl-2,6-diarylcyklohexen-2-onkarboxylátů [450,461]
- 3-kyano-1,4-dihydropyridin-2(3*H*)thionů [462]
- 2-amino-3-kyano-4,6-di-(3-pyridyl)pyridinů a následně derivátů nikotinamidu [463]
- 1,4-oxazinů [464]
- 4,6-diaryl-3,4-dihydropyrimidinů, příp. jejich thioanalogů [450]
- 4,6-diarylsubstituovaných pyrimidinů [465,466]
- dihydrofurofuranů [467]
- indolů a chinolinů [468]
- dihydropyridino[2,3-*d*]pyrimidinů, příp. jejich thioanalogů [469]
- pyridonů, tj. meziproductů syntézy 3-aryl- β -karbolin-1-onů [470]
- pyrrolochinolinů [471]
- substituovaných tetrahydrothiofenů [472,473] a dihydrothienokumarinů [474]
- pyrrolo[1,2-*a*]chinoxalinů [475]
- a dihydrobenzothiazepinů [418,476,477,478].

3.2 2-Benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-on

2-Benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-on je derivátem flavonoidů ze skupiny auronů. O aurolech (benzylkumaranech, 2-benzylidenbenzofuran-3(2*H*)-onech) se nevyskytuje zdaleka tolik záznamů jako o chalkonech [479]. Pro ilustraci je uvedeno jen několik referencí.

Příkladem přírodních auronů je sulfuretin (**225**), obsahová látka dřeva čeledi Anacardiaceae (např. *Cosmos sulfureus*) a areusidin (**226**) z *Oxalis cernua* (Oxalidaceae), *Antirrhinum majus* (Scrophulariaceae) [12] a *Pterocarpus marsupium* (Fabaceae) [480]. U areusidinu je popsána jeho syntéza [481].



225 sulfuretin $R^1, R^2 = H$
226 areusidin $R^1 = OH, R^2 = H$
227 brakteatin $R^1, R^2 = OH$

228 interruptin D

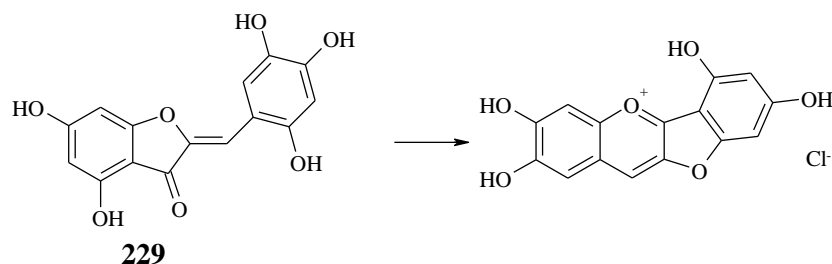
Je znám enzym, glykoprotein obsahující měď, který katalysuje hydroxylaci a/nebo oxidativní cyklisaci prekursorových chalconů na auronu. Jde o aureusidinsynthasu a katalysuje nejen syntézu aureusidinu, ale také brakteatinu (**227**) [479,482].

Z listů kapradiny *Cyclosorus interruptus* Willd. (Thelypteridaceae) používané v tradiční medicíně na Papua Nová Guinea byly izolovány bioaktivní deriváty kumarinu, včetně interruptinu D (**228**) a testovány na antibakteriální a cytotoxické účinky [483].

U dalších auronů byly nalezeny analgetické účinky a schopnost inhibovat jodothyronindepodinasu [484].

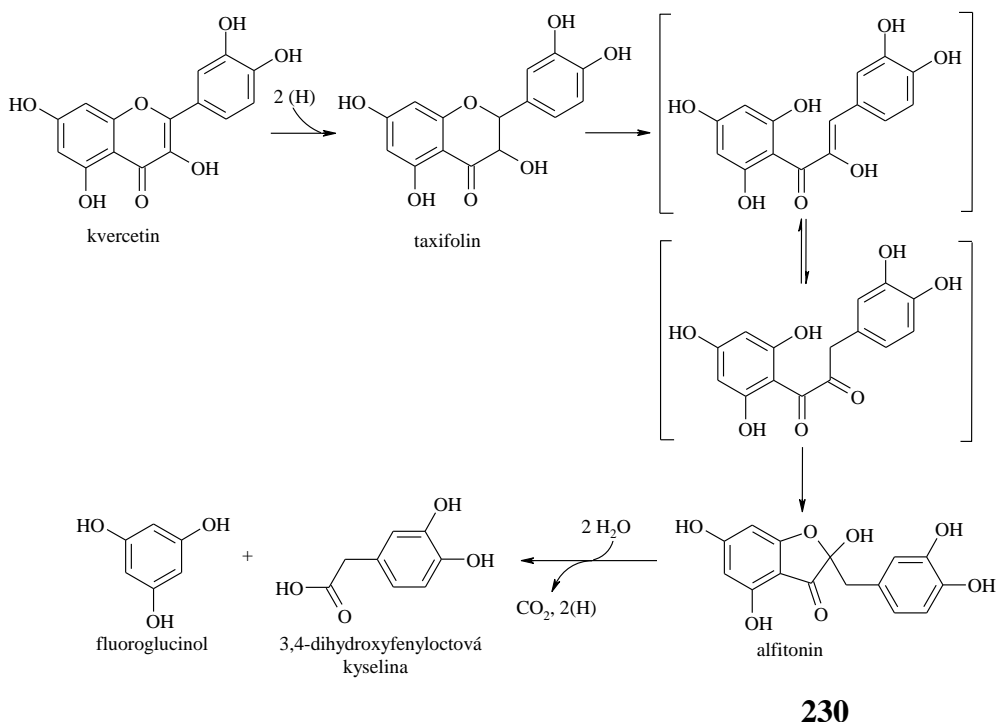
Syntetický auron (**229**) posloužil jako intermediát při syntéze riccionidinu A (schema 9) izolovaného z různých rodů jätrovek. Jedná se o látku strukturně příbuznou anthokyanidinům a auronům [485].

Schema 9. Syntéza riccionidinu A

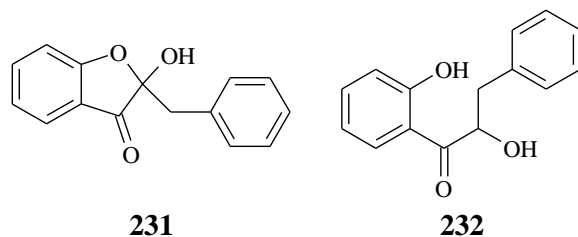


Alfitonin (**230**) byl izolován ze dřeva australského stromu *Alphitonia excelsa*. Alfitonin pentamethylether vzniká methylací (\pm)-taxifolinu za drastičtějších podmínek [486]. Alfitonin byl také popsán jako meziprodukt odbourávání flavonolu kvercetin (schema 10) mikroben *Eubacterium ramulus*, striktním anaerobem lidského GIT. Metabolická cesta kvercetin začíná redukcí dvojnás vazby v poloze 2,3 kvercetin a vzniká taxifolin ((+)-*trans*-dihydrokvercetin). Předpokladem pro štěpení uhlíkové vazby je přítomnost hydroxyskupiny v poloze 3. Z diaryl-2-hydroxyprop-2-en-1-onu, který je isomerní s diketonem, vzniká alfitonin. Bakteriální metabolity jsou zkoumány z důvodu možných biologických aktivit odlišných od parentních sloučenin v tomto případě flavonoidů [487].

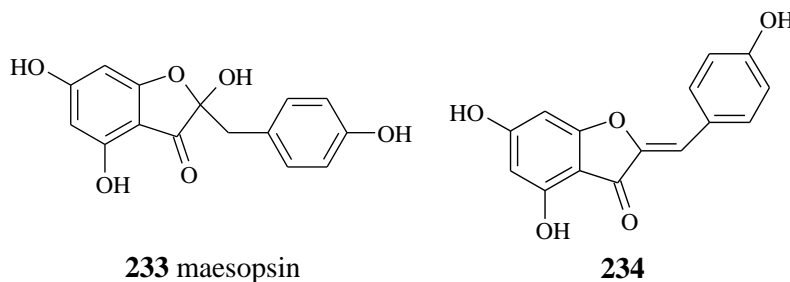
Schema 10. Odbourávání kvercetin



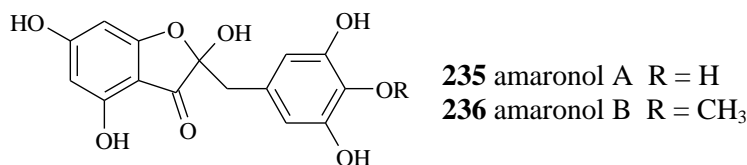
Hydratovaný auron, 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-on (**231**) byl izolován v Austrálii v roce 1990 ze dřeva stromu *Flindersia brassii* (Rutaceae) rostoucího v deštných pralesích. Tato látka byla získána spolu s řadou biosynteticky příbuzných látek, oxidovaných difenylpropanonů. Za zmínku stojí, že byl izolován také 2-hydroxy-1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1-on (**232**) [488].



Hydratovaný auron izolovaný z jádrového dřeva *Maesopsis eminii* (Rhamnaceae) byl označen jako maesopsin (**233**). Identifikován byl také parentní auron (**234**) [489].



Z rostliny tradiční čínské medicíny *Pseudolarix amabilis* L. (Pinaceae) izolovali vědci auronoly amaronol A (**235**) a B (**236**), tyto látky však neprokázaly antibakteriální ani antifungální účinky [490].



Některé auronoly působí na *P. falciparum*, *Leishmania* spp., *Cryptosporidium parvum* [120].

Auronoly se také zdají být nadějnými chemosenzitizéry, inhibitory cyklin-dependentních kinas a telomerasy, ale i látkami s antiparazitárními, antimikrobními, antihormonálními a antidiabetickými účinky [479].

4 METODICKÁ ČÁST

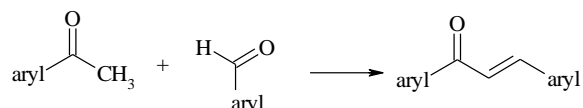
4.1 Deriváty chalkonu

4.1.1 Syntéza chalkonů

4.1.1.1 Claisen-Schmidtova kondensace

Nejpoužívanější reakcí přípravy chalkonů je Claisen-Schmidtova kondensační reakce arylmethylketonu s aromatickým aldehydem (schema 11).

Schema 11. Syntéza chalkonů Claisen-Schmidtova kondensací



V drtivé většině případů reagují obě komponenty v methanolickém roztoku hydroxidu sodného (3%) [128]. Několik pracovních skupin používalo pevný hydroxid draselný ve formě peciček [130,134,347].

Při přípravě polyhydroxylovaných chalkonů je nutné chránit hydroxyskupiny tetrahydropyranylovou skupinou [128,321,331,332,491]. Použití nechráněných výchozích látek významně snižuje výtěžek reakce. Někde stačila k ochraně hydroxyskupin pouze atmosféra dusíku [492]. Pro přípravu chalkonů s aminoskupinou na kruhu A se vychází z chráněných ketonů, např. acetyltrifluoracetamidů [38].

Kondensace probíhá za dobrých výtěžků i v ethanolickém roztoku hydroxidu sodného [60,493].

Hydroxid draselný byl použit pro syntézu chalkonů za laboratorní teploty [494]. Zajímavým způsobem přípravy polyhydroxylovaných chalkonů je uchovávání reakční směsi v ethanolu s hydroxidem draselným v lednici po dobu několika dní [495], i když u některých heterocyklických analogů byla příprava v alkoholickém roztoku hydroxidu draselného problematická [496].

U nesubstituovaného acetofenonu je možné použít jako kondensační činidlo 10% roztok methoxidu sodného v absolutním ethanolu. Při přípravě chalkonů substituovaných na kruhu A, je nutné použít koncentrovanější roztok – 60% roztok hydroxidu sodného [497]. Hydroxid barnatý byl použit pro kondensaci řady chalkonů s volnou nebo cyklovanou prenylovou jednotkou, ale i pro deriváty jednodušeji substituované [498]. Jako base byl aplikován také basický oxid hlinitý [335].

Kyselé prostředí (HCl) bylo použito pouze v případě kondensace s di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzaldehydem z důvodu jeho nízké reaktivity v basickém prostředí [66].

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková byla použita též pro přípravu 8-chinolinolových typů chalkonů. U derivátů s různou substitucí na kruhu B byly produkty získány s větším výtěžkem buď touto anebo klasickou basickou kondensací [499]. Kondensace v ethanolu syceném plynným chlorovodíkem byla použita také pro přípravu chalkonových derivátů substituovaných nitroskupinou [142].

Pouhé smísení obou prekursorů a jejich tření těrku proces reakce urychlilo a vedlo k vysokým výtěžkům. Pro takové reakce je vhodné, aby alespoň jedna z výchozích látek byla kapalného skupenství. U reakcí prováděných Pallerosem *et al.* byla ovšem v reakční směsi pozorována příměs nežádoucích látek, ketolu a/nebo produktu Michaelovy adice, která se v případě klasických Claisen-Schmidtových kondensací v organickém rozpouštědle nevyskytovala [500]. Při zkoumání různých aldolových kondensací bylo zjištěno, že pokud není přítomno organické rozpouštědlo, probíhá účinněji dehydratace aldolu, který následně poskytuje chalkon [501].

Pyridinové prostředí a diethylamin jako ideální base se používají pro Claisen-Schmidtovu kondensaci aromatických aldehydů s pyridin-2-ylmethylketony za laboratorní teploty. Na přípravu

těchto azachalkonů byly zkoušeny i jiné metody, avšak vznikaly sloučeniny komplikovaných struktur, látky charakteru Michaelových aduktů, tudíž tato metoda má obecnou platnost pro přípravu analogických látek [502,503]. Modifikovaná metoda byla později také patentována [504]. Metoda byla aplikována na kondensaci aromatických aldehydů s pyrazin-2-ylmethylketony za varu [71].

Z dalších postupů se využívá var výchozích látek v ethanolu s přídavkem piperidinu jako další organické base použitelné pro syntézu chalkonů [505]. Piperidin ve směsi s kyselinou octovou byl použit jako katalysátor pro získání chalkonových analogů dikyanpyrazinu [506].

Pro výchozí látky s prenylovými skupinami a hydroxyly ochráněnými *tert*-butyldifenylsilylovou nebo *tert*-butyldimethylsilylovou skupinou je vhodná kondensace pomocí lithium bis(trimethylsilyl)amidu v THF [262].

Výtěžnost aldolových kondensací za katalýzy pomocí komplexů přechodných kovů, jejichž produkty byly také chalkony, zkoumal Irie *et al.* [507].

Za kyselé katalýzy kyselinou *p*-toluensulfonovou bez organického rozpouštědla [508] anebo za basické katalýzy basickým oxidem hlinitým [509] byly chalkony připraveny působením mikrovlnného záření.

Pro syntézu chalkonů byl rovněž vyzkoušen přístup kombinatorní chemie [242]. Na destičkovém mikrotitrátoru byly připraveny v 96 jamkách různé chalkony a následně biologicky hodnoceny.

Metodu tzv. zelené chemie představuje sonokatalýza na uhlíku aditivovaném alkálií, sodíkem nebo césiem [510].

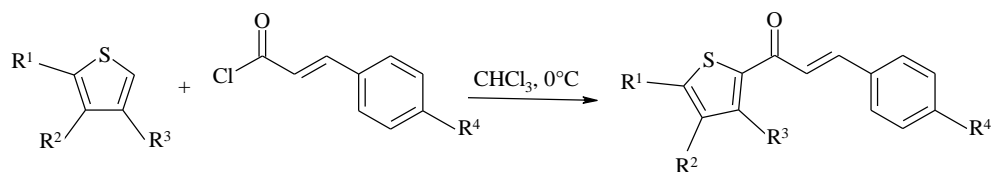
Zajímavým a také ekologicky ohleduplným příkladem je provedení Claisen-Schmidtovy kondensace ve vodném médiu, v tzv. hydrotropním prostředí, které je vytvářeno butylmonoglykolsulfátem sodným. Hydrotropní látky jsou organické soli, které mají schopnost pouze ve vysokých koncentracích zvyšovat rozpustnost ve vodě nerozpustných látek. Tyto hydrotropity mohou být regenerovány [511].

Ekologickým katalysátorem pro Claisen-Schmidtovu kondensaci jsou také aktivované hydratality, hydratované hydroxidy hlinito-hořečnaté [16,512,513].

4.1.1.2 Friedel-Craftsova acylace

Friedel-Craftsovou acylací substituované aromatické sloučeniny se substituovaným cinnamoylchloridem byly připraveny např. thiofenové analogy chalkonu (schema 12) [92] nebo chalkony substituované na jádře esterovou skupinou [350].

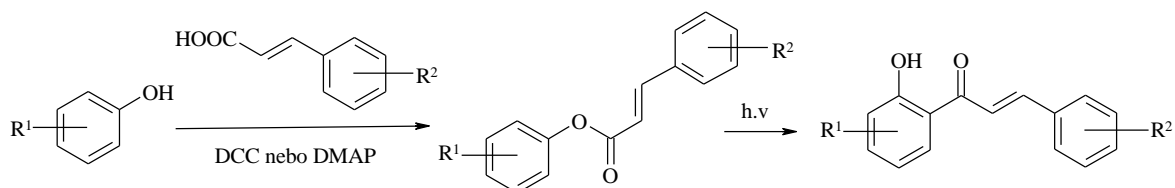
Schema 12. Syntéza thiofenových analogů chalkonu Friedel-Craftsovou acylací



4.1.1.3 Další syntézy chalkonů

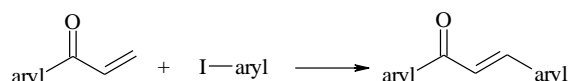
Esterifikací kyseliny skořicové s fenolem byly získány nenasycené estery, které se foto-Friesovým přesmykem přeměnily na chalkony (schema 13) [353].

Schema 13. Syntéza chalkonů esterifikací kyseliny skořicové a následným foto-Friesovým přesmykem



V posledních letech přitahuje pozornost také palladiem katalysovaná Heckova reakce. Coupling arylvinylketonů s arylhalogenidy byl použit také pro syntézu chalkonů s výtěžky vyššími než u kondenzačních reakcí (schema 14) [514].

Schema 14. Syntéza chalkonů Heckovou reakcí



4.1.2 Michaelova adice thiolů na chalkony

Metoda adice látek se sulfanylovou skupinou byla již dříve diskutována [7]. K adici thiolů na chalkony se používají také různé katalysatory. Tématem použití pevných basí (MgO, Zr₂O, Mg-Al hydrotalcity ad.) jako katalysatorů pro Michaelovu reakci se zabývá celá disertační práce [512].

Příkladem anorganických sloučenin jsou soli india. Bromid inditý byl použit pro selektivní katalýzu 1,4-adice aromatických thiolů na chalkony. Selektivní 1,4-adice thiolů je důležitou reakcí pro syntézu biologicky aktivních látek, jako je blokátor kalciového kanálu diltiazem [515]. Ranu *et al.* prováděli adici různých thiolů na chalkony pomocí chloridu inditého. Jako rozpouštědlo se osvědčil suchý methanol [516].

Marocký kolektiv se zabývá hledáním vhodných anorganických katalysatorů pro Michaelovu adici. Pro tuto reakci zatím popsali hydroxyapatit [517], fluorapatit [518], přírodní fosfát [519] a syntetický difosfát sodno-vápenatý [520].

Vysoké výtěžky byly dosaženy použitím regenerovatelné polymerně navázané kyseliny sulfonové, Nafionu®-H [521].

K adici kyseliny thioglykolové na (*E*)-4-aryl-4-oxobutenové kyseliny stačilo pouhé míchání v methanolu po dobu 3 – 4 hodin za laboratorní teploty [522].

Kolektiv Lévaie používal pro adici sulfanylkarboxylových kyselin na chalkony metodu varu výchozích látek v toluenu [523,524].

V oblasti enantioselektivní syntézy byl publikován (+)-cinchonin jako katalysator pro adici benzenthiole na chalkon [525].

4.2 2-Benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-on

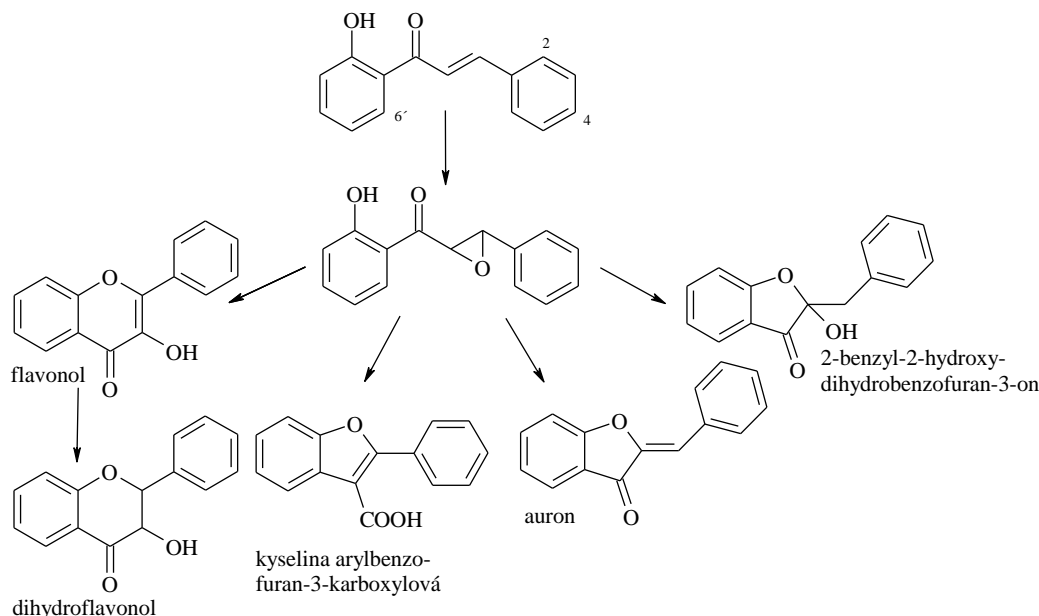
4.2.1 Syntéza auronu (2-benzylidenkumaranonu)

4.2.1.1 Oxidativní cyklisace 2'-hydroxychalkonů

Klasická Algar-Flynn-Oyamadova reakce (AFO) poskytuje působením alkalického peroxidu vodíku z 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylprop-2-en-1-onu flavonoly [526] a jako intermediáty dihydroflavonoly. Kromě flavonolů a auronů vznikají i 2-benzyl-2-hydroxydihydrobenzofuran-3-ony a kyseliny 2-arylbenzofuran-3-karboxylové, a to v závislosti na typu substituce na kruzích (schema 15). U chalkonů s methylem nebo methoxyskupinou v poloze 6' a bez hydroxyskupiny v poloze 2 a 4 vznikaly přednostně produkty typu benzofuranonu a u chalkonů s hydroxylem

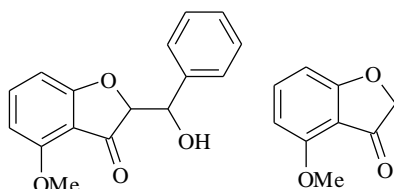
v poloze 2 nebo 4, postrádajících methyl nebo methoxyskupinu v poloze 6' vznikaly převážně sloučeniny typu flavonolu [527].

Schema 15. AFO reakce a výsledné produkty



Adams a Main studovali vliv pH na α - a β -cyklisaci (dále viz 4.2.2) a sledovali vznik dalších produktů při cyklisaci chalkonepoxidu. Kromě flavanonolu, auronu, vznikal i kumaranon a funkční isomer hydratovaného auronu (schema 16). V kyselém prostředí vznikal především hydratovaný auron, minoritně flavanonol, v neutrálním pH byl preferován hydratovaný auron vznikající α -cyklisací před produktem β -cyklisace – flavanonolem. Při basicém pH vznikají hydratovaný auron a kumaranon. Vznik různých cyklisáčnických produktů je ovlivněn polohou substituentů na kruzích a jejich objemností [528].

Schema 16. Další cyklisáčnické produkty chalkonepoxidu



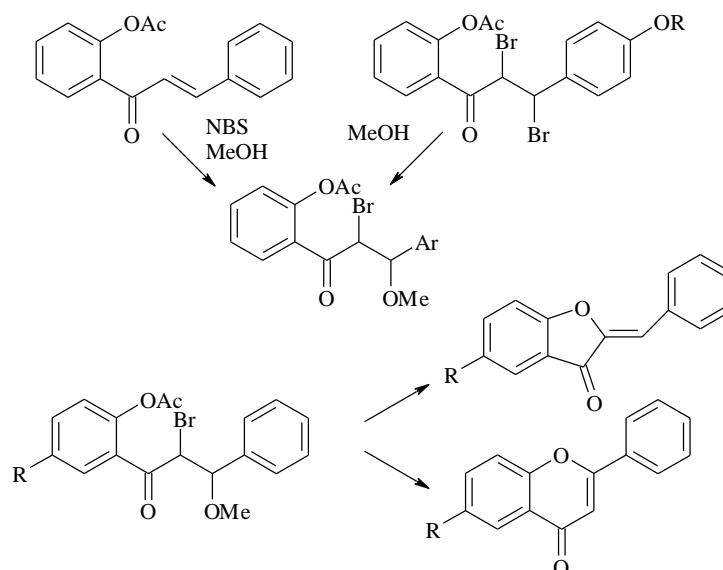
Byl-li spolu s peroxidem vodíku použit jako base diethylamin, vznikal cyklisací 2'-hydroxychalkonů flavanonol [529].

Z kovových kationtů byly pro cyklisaci 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu použity rtuťnaté ionty v kyselině octové. Další možností je katalýza olovičitými nebo manganitými ionty [530].

Naproti tomu oxidace 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-onu oxidem seleničitým, chloridem palladnatolihným, 2,3-dichlor-5,6-dikyan-1,4-benzochinonem (DDQ), dusičnanem thalia nebo kombinací chloridu nikelnatého, zinečného prachu a jodidu draselného poskytovala vždy jen flavony [530].

Wheelerovou syntézou je možné připravit auron z chalkonu substituovaného halogeny v α - i β -poloze. Solvolýzou je výchozí látka převedena na α -halogen- β -alkoxydihydrochalkon a vodným hydroxidem sodným cyklisována na auron (schema 17) [446].

Schema 17. Wheelerova syntéza auronů



Optimální množství base pro syntézu auronu bylo 0,5 – 1,0 molárních procent hydroxidu sodného. Při větším množství base se zvyšovalo kvantum vznikajícího flavonu. Nejvyšší výtěžek byl dosažen u chalconu s $R = H$, poměrně vysoké výtěžky poskytly i látky substituované na kruhu methylem nebo chlorem. Nitroskupina nepodporovala vysoké výtěžky cyklisace ani na auron ani na flavon [531].

4.2.1.2 Benzofuranová cesta

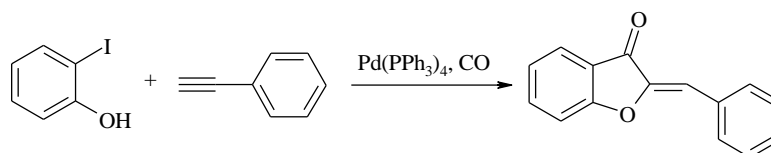
Jednoduchou možností přípravy auronů je kondensace 3-(2*H*)-benzofuranonu s aldehydy v přítomnosti neutrálního oxidu hlinitého [532], ve směsi kyseliny octové a koncentrované kyseliny chlorovodíkové [480,485,439] nebo jen za přítomnosti kyseliny chlorovodíkové. Vznikal pouze (*Z*)-isomer a jeho (*E*)-derivát získávali autoři ozařováním ultrafialovým zářením. Byl učiněn i pokus o kondensaci v ethanolickém roztoku hydroxidu draselného, ovšem výtěžky se nevyrovnaly syntéze v kyselém prostředí [533].

Někteří autoři ovšem kondensovali úspěšně v přítomnosti hydroxidu draselného [38].

4.2.1.3 Palladiový coupling a následná cyklisace diarylpropynů

(*Z*)-auron byl získán i jako vedlejší produkt syntézy 3,4-disubstituovaných kumarinů karbonylativním couplingem katalysovaným palladiem (schema 18) [534].

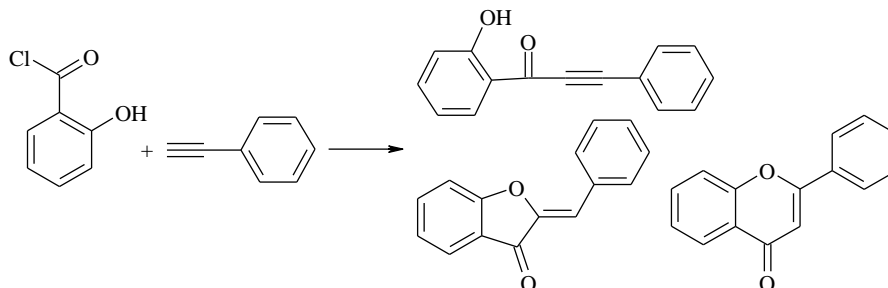
Schema 18. Syntéza auronu karbonylativním palladiovým couplingem



Ortho-substituované fenylacetyleny podporovaly 5-*exo*-dig uzavření kruhu za vzniku auronového skeletu a Ciattini *et al.* dosáhli selektivity reakce se 100% výtěžkem za použití $\text{Pd}(\text{OAc})_2(\text{dppf})_2$ v anisolu, zatímco šestičtený kruh flavonu vznikl za použití stejného katalysátoru v DMF a 1,8-diazabicyklo[5,4,0]undec-7-enu (DBU) jako base [535].

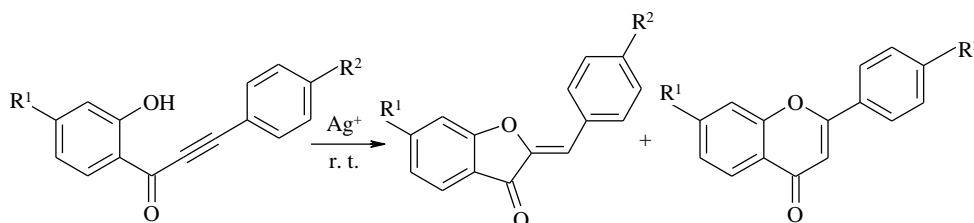
Reakcí fenylacetylenu se salicyloyl-chloridem v anisolu za katalýzy palladiem byl získán jednak příslušný keton a minoritně i auron, pokud byly přidány trifenylofosfinové ligandy, vznikl auron v 80% výtěžku (schema 19) [536].

Schema 19. Syntéza auronu palladiovým couplingem a následnou cyklisací



Také stříbrné kationty jsou známy jako cyklisační činidla. Dusičnan stříbrný posloužil k intramolekulární cyklisaci 3-aryl-1-(2-hydroxyfenyl)prop-2-yn-1-onu na (*Z*)-auron, přičemž flavon vznikal pouze ve stopovém množství (schema 20). Důvodem preference vzniku pětičlenného kruhu je koordinace stříbrných kationtů k trojně vazbě a přilehlému benzenovému jádru, čímž se na α -uhlíku vytvoří částečný kladný náboj a ten vyprovokuje nukleofilní atak hydroxyly na α -uhlík [484]. Poněkud nižší výtěžky auronu byly získány při katalýze uhličitanem draselným a ethoxidem sodným [537].

Schema 20. Syntéza auronu cyklisací propynonu

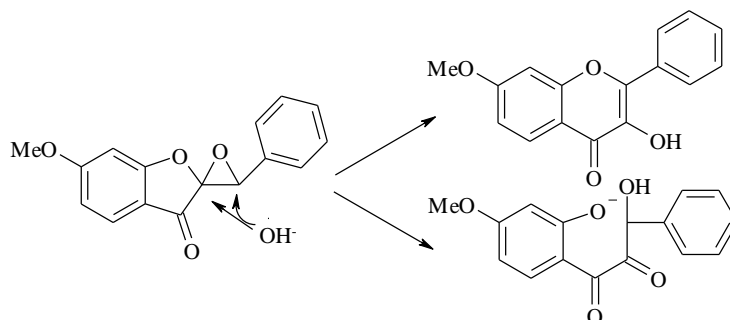


4.2.2 Syntéza epoxidu auronu

Epoxidy auronů je možné připravit alkalickou (NaOH, KOH) epoxidací působením peroxidu vodíku na auronu. α,β -Epoxyketony mohou být ze těchto podmínek atakovány nukleofilem (hydroxylovým aniontem) v α - nebo β -poloze (schema 21). Napadení α -polohy vede k otevření furanonového kruhu a utvoření šestičlenného kruhu, čímž vzniká flavonol. Pokud atakuje hydroxyl β -polohu může vzniknout minoritně i otevřený tautomer – diketon. Použitím Tritonu B jako base a optimalisací reakční doby byl omezen vznik flavonolu. Ze (*Z*)- i (*E*)-auronu vždy vznikal (*E*)-epoxid [538].

Peroxid vodíku lze pro epoxidaci enonů použít i v kombinaci s 1-benzylchininium-chloridem a hydroxidem sodným [441]. Jiným epoxidačním činidlem může být dimethyldioxiran, nové činidlo přenášející kyslík [443].

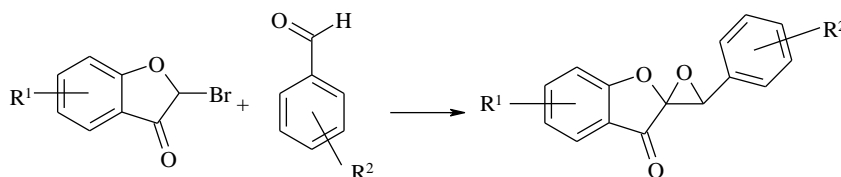
Schema 21. Vznik vedlejších produktů při syntéze peroxidů auronů



Dimethyldioxiran je vhodný pro stereoselektivní epoxidaci exocyklických α,β -enonů. Je to jediné epoxidační činidlo vhodné pro nestabilní chalkony [539].

Další možností přípravy je Darzensova kondensace α -bromoketonu s benzaldehydem (schema 22), *trans*-isomer ovšem vzniká v menším výtěžku než při přímé epoxidaci [538].

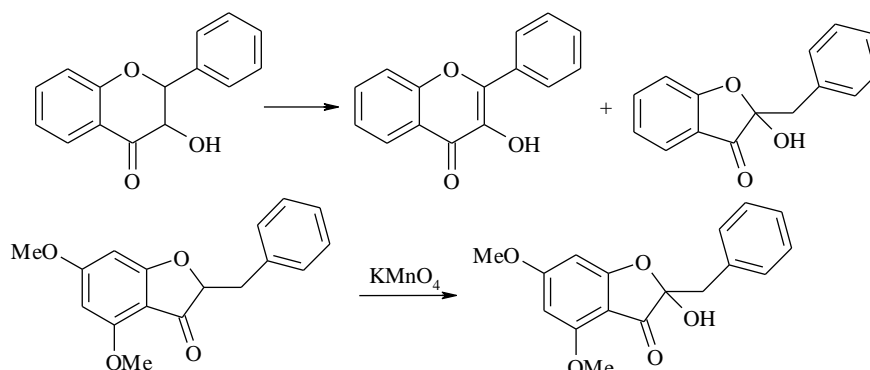
Schema 22. Darzensova kondensace



4.2.3 Syntéza 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2H)-onu

Gripenberg *et al.* získal působením alkoholického roztoku hydroxidu draselného (pod atmosférou dusíku a za varu) na 3-hydroxyflavanon a následným okyslením kromě majoritního 3-hydroxyflavonu i 2-benzyl-2-hydroxy-3-kumaranon. Analogický dimethoxyderivát byl připraven působením manganistanu draselného na 2-benzyl-4,6-dimethoxykumaranon (schema 23) [540].

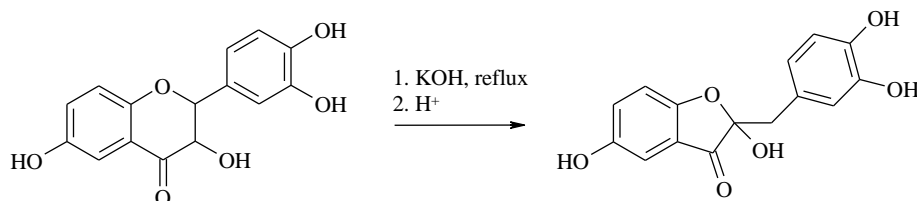
Schema 23. Syntéza hydratovaných auronů I



2-Benzyl-2-hydroxykumaranon-3-ony byly izolovány z taninového extraktu Quebracho. Pro identifikaci byly zároveň připraveny i synteticky podle schematu 24 [541].

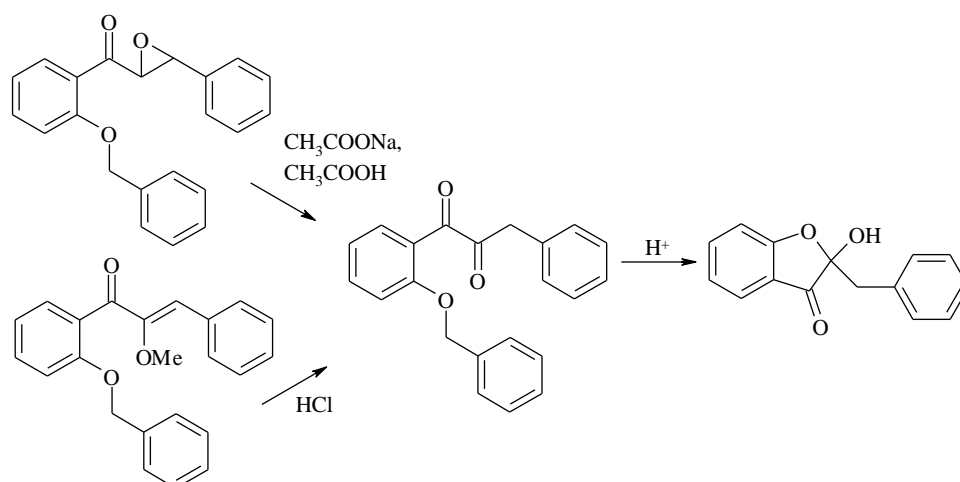
Racemizaci a isomerisaci dihydrokvercetin na alfítonin uskutečnil také Kiehlmann *et al.* za zvýšené teploty. Za zvýšené teploty v inertní atmosféře dochází k pomalé deprotonaci na C-3 a vzniku achirálního α -diketonu a následuje kontrakce kruhu [542].

Schema 24. Syntéza hydratovaného auronu II



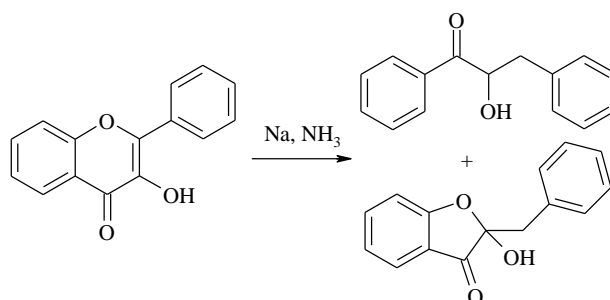
O něco později připravil stejnou sloučeninu Chopin *et al.* Syntéza vycházela buď z epoxidu chalkonu substituovaného alkoxykupinou na kruhu B nebo z α -methoxychalkonu. Diketonový intermediát vznikající v obou případech poskytl v kyselém prostředí požadovaný produkt (schema 25) [543].

Schema 25. Syntéza hydratovaného auronu III



Sweeny *et al.* zkoumali Birchovu redukci flavonolů sodíkem v tekutém amoniaku. Redukce flavonolu sodíkem v amoniaku a tetrahydrofuranu poskytla α -hydroxydihydrochalkon a hydratovaný auron (schema 26) [544].

Schema 26. Birchova redukce flavonolů sodíkem v tekutém amoniaku



5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Syntézy a fyzikálně-chemické vlastnosti látek

Jako výchozí surovina pro syntézy byl používán komerčně dostupný pyrazin-2-karbonitril (Aldrich) a běžně komerčně dostupné aromatické aldehydy a thioly v kvalitě použitelné pro syntézu. Diethylether pro Grignardovu reakci byl sušen 24hodinovým stáním nad hydroxidem draselným, následně 24hodinovým stáním nad sodíkem a poté byl předestilován. Bezvodý ethanol byl získán vysušením na molekulovými síty a předestilováním. Ostatní rozpouštědla byla použita v kvalitě dodané výrobcem.

Sloupcová chromatografie byla prováděna „flash“ technikou za použití vzduchovacího akvarijního motorku jako zdroje přetlaku [545].

Tenkovrstvá chromatografie (TLC) byla prováděna na Silufolu UV 254 (Kavalier Votice), pokud není uvedeno jinak. Charakter stacionární a složení mobilní fáze u sloupcových chromatografií je vždy uvedeny u jednotlivých látek.

Vzorky pevných látek byly pro měření teploty tání, elementární analýzy, IČ a NMR spekter sušeny 24 hodin v exsikátoru nad oxidem fosforečným při tlaku 1,33 kPa.

Teploty tání byly stanoveny na mikrovýhřevném bloku podle Bötia a nejsou korigovány.

Elementární analýzy byly provedeny na analyzátoru EA 1110 CHNS firmy Carlo Erba.

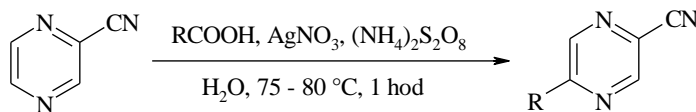
IČ spektra byla měřena na spektrofotometru NICOLET IMPACT 400 a vlnočty jsou uvedeny v cm^{-1} .

$^1\text{H-NMR}$ a $^{13}\text{C-NMR}$ spektra byla u derivátů chalkonu a jejich meziproductů měřena na přístroji VARIAN Mercury-Vx BB 300. Jako vnitřní standard byl použit tetramethylsilan (TMS) a chemické posuny jsou uváděny jako hodnoty δ v ppm.

Hmotnostní spektra byla měřena na přístroji FINNIGAN MAT Magnum technikou plynové chromatografie ve spojení s hmotovou detekcí (GC/MS) na principu iontové pasti s vnitřní elektronovou ionisací. Separace byla provedena na koloně ZB5 (Phenomenex, Inc.), $30\text{m} \times 0,25\text{ mm} \times 0,25\text{ }\mu\text{m}$, jako mobilní fáze bylo použito helium 4,5 plus SIAD.

5.1.1 Deriváty chalkonu a jejich syntetické meziproducty

5.1.1.1 Příprava 5-alkylpyrazin-2-karbonitrilů (S1 – S11) radikálovou alkylací

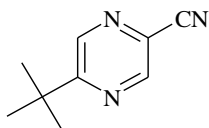


Pyrazin-2-karbonitril (10,50 g; 0,100 mol) byl rozpuštěn ve vodě (300 ml) zahřáté na 80 °C. K tomuto roztoku byl přidán dusičnan stříbrný (1,70 g; 0,010 mol) a příslušná karboxylová kyselina (0,100 mol). Poté byl za míchání přikapán roztok peroxodisíranu amonného (25,10 g; 0,110 mol) ve vodě (70 ml). Reakční směs byla míchána celkem hodinu při teplotě 75 – 80 °C. Po zchladnutí byla reakční směs zalkalizována 10% roztokem hydroxidu sodného na pH 9 – 10 a kontinuálně extrahována etherem. Etherový extrakt byl vysušen bezvodým síranem sodným a podroben sloupcové chromatografii.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silikagel 60 Fluka (0,063 – 0,2 mm)

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v), pouze u 5-oktylpyrazin-2-karbonitrilu (S9) 9 : 1 (v/v).

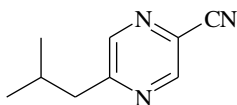
5-*tert*-butylpyrazin-2-karbonitril (S1)

Popis: bílá krystalická látka

Mol. hm.: 161,21 (C₉H₁₁N₃)

Výtěžek: 12,20 g (76 %)

Látka byla identifikována pomocí TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

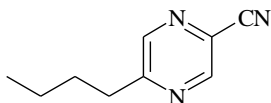
5-isobutylpyrazin-2-karbonitril (S2)

Popis: nažloutlá kapalná látka

Mol. hm.: 161,21 (C₉H₁₁N₃)

Výtěžek: 8,5 g (53 %)

Látka byla identifikována pomocí TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

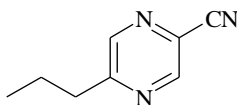
5-butylpyrazin-2-karbonitril (S3)

Popis: nažloutlá kapalná látka

Mol. hm.: 161,21 (C₉H₁₁N₃)

Výtěžek: 6,65 g (41 %)

Látka byla identifikována pomocí TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

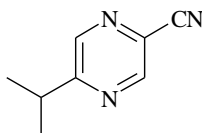
5-propylpyrazin-2-karbonitril (S4)

Popis: nažloutlá kapalná látka

Mol. hm.: 147,18 (C₈H₉N₃)

Výtěžek: 5,00 g (34 %)

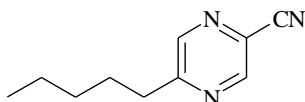
Látka byla identifikována pomocí TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

5-isopropylpyrazin-2-karbonitril (S5)

Popis: polotuhá bílá látka

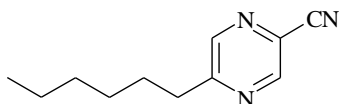
Mol. hm.: 147,18 (C₈H₉N₃)
Výtěžek: 6,93 g (47 %)
T. varu: 100 – 102 °C/1,60 kPa
IČ spektrum: (CHCl₃) 3067, 3024, 3020, 3005 (C-H arom., valenč.); 2973, 2934, 2875 (C-H alif., valenč.); 2239 (CN, valenč.)
¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,81 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H-3); 8,58 (d, 1 H, *J* = 1,7 Hz, H-6); 3,26 – 3,11 (m, 1H, CH); 1,34 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃)
¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 166,0; 147,4; 144,1; 128,0; 115,7; 34,4; 21,7
MS spektrum: EI (*m/z*) 52 (10), 105 (9), 119 (14), 132 (100), 148 (84)

5-pentylpyrazin-2-karbonitril (S6)



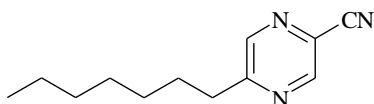
Popis: nažloutlá kapalná látka
Mol. hm.: 175,24 (C₁₀H₁₃N₃)
Výtěžek: 4,52 g (26 %)
T. varu: 118 – 125 °C/1,33 kPa
IČ spektrum: (CHCl₃) 3067, 3025, 3005 (C-H arom., valenč.); 2959, 2931, 2873, 2861 (C-H alif., valenč.); 2240 (CN, valenč.)
¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,81 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-3); 8,55 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-6); 2,89 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 1,84 – 1,70 (m, 2H, CH₂); 1,42 – 1,26 (m, 4H, CH₂); 0,89 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz, CH₃)
¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 161,7; 147,4; 145,2; 127,9; 115,7; 35,8; 31,3; 28,6; 22,3; 13,9
MS spektrum: EI (*m/z*) 119 (100), 132 (19), 146 (7), 176 (72)

5-hexylpyrazin-2-karbonitril (S7)



Popis: nažloutlá kapalná látka
Mol. hm.: 189,26 (C₁₁H₁₅N₃)
Výtěžek: 6,10 g (32 %)
T. varu: 125 – 127 °C/1,33 kPa
IČ spektrum: (CHCl₃) 3067, 3024, 3005 (C-H arom., valenč.); 2958, 2931, 2872, 2859 (C-H alif., valenč.); 2240 (CN, valenč.)
¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,81 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-3); 8,56 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-6); 2,89 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 1,82 – 1,69 (m, 2H, CH₂); 1,43 – 1,21 (m, 6H, CH₂); 0,87 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz, CH₃)
¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 161,7; 147,4; 145,2; 127,9; 115,7; 35,9; 31,4; 28,9; 28,7; 22,4; 14,0
MS spektrum: EI (*m/z*) 119 (100), 132 (17), 146 (6), 160 (5), 190 (52)

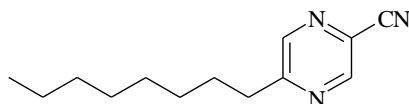
5-heptylpyrazin-2-karbonitril (S8)



K odstranění zbytků výchozí kyseliny, která zůstávala přimísena k produktu, byl etherový extrakt ještě před čištěním vytřepán 10% roztokem uhličitanu sodného.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
<i>Mol. hm.:</i>	203,29 (C ₁₂ H ₁₇ N ₃)
<i>Výtěžek:</i>	5,01 g (25 %)
<i>T. varu:</i>	135 – 140 °C/1,33 kPa
<i>IČ spektrum:</i>	(CHCl ₃) 3019, 3011 (C-H arom., valenč.); 2958, 2930, 2872, 2858 (C-H alif., valenč.); 2240 (CN, valenč.)
<i>¹H NMR spektrum:</i>	(300 MHz, CDCl ₃) δ 8,80 (d, 1H, <i>J</i> = 1,4 Hz, H-3); 8,55 (d, 1H, <i>J</i> = 1,4 Hz, H-6); 2,89 (t, 2H, <i>J</i> = 7,4 Hz, CH ₂); 1,82 – 1,65 (m, 2H, CH ₂); 1,42 – 1,19 (m, 8H, CH ₂); 0,86 (t, 3H, <i>J</i> = 7,4 Hz, CH ₃)
<i>¹³C NMR spektrum:</i>	(75 MHz, CDCl ₃) δ 161,7; 147,4; 145,2; 127,9; 115,7; 35,8; 31,6; 29,1; 28,9; 28,9; 22,5; 14,0
<i>MS spektrum:</i>	EI (<i>m/z</i>) 119 (19), 204 (100)

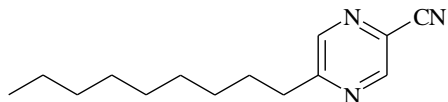
5-oktylpyrazin-2-karbonitril (S9)



K odstranění zbytků výchozí kyseliny, která zůstávala přimísena k produktu, byl etherový extrakt ještě před čištěním vytřepán 10% roztokem uhličitanu sodného.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
<i>Mol. hm.:</i>	217,32 (C ₁₃ H ₁₉ N ₃)
<i>Výtěžek:</i>	3,72 g (17 %)
<i>T. varu:</i>	115 – 126 °C/1,06 kPa
<i>IČ spektrum:</i>	(CHCl ₃) 2957, 2929, 2857 (C-H alif., valenč.); 2240 (CN, valenč.)
<i>¹H NMR spektrum:</i>	(300 MHz, CDCl ₃) δ 8,81 (d, 1H, <i>J</i> = 1,5 Hz, H-3); 8,55 (d, 1H, <i>J</i> = 1,5 Hz, H-6); 2,89 (t, 2H, <i>J</i> = 7,7 Hz, CH ₂); 1,83 – 1,68 (m, 2H, CH ₂); 1,44 – 1,16 (m, 10H, CH ₂); 0,86 (t, 3H, <i>J</i> = 6,7 Hz, CH ₃)
<i>¹³C NMR spektrum:</i>	(75 MHz, CDCl ₃) δ 161,7; 147,4; 145,2; 127,9; 115,7; 35,8; 31,7; 29,2; 19,2; 29,1; 28,9; 22,6; 14,0
<i>MS spektrum:</i>	EI (<i>m/z</i>) 119 (100), 132 (18), 218 (33)

5-nonylpyrazin-2-karbonitril (S10)



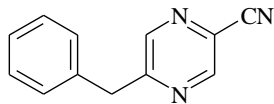
K odstranění zbytků výchozí kyseliny, která zůstávala přimísena k produktu, byl etherový extrakt ještě před čištěním vytřepán 10% roztokem uhličitanu sodného.

<i>Popis:</i>	nažloutlá olejovitá látka
<i>Mol. hm.:</i>	231,34 (C ₁₄ H ₂₁ N ₃)
<i>Výtěžek:</i>	4,0 g (17 %)
<i>T. varu:</i>	127 – 130 °C/1,07 kPa
<i>IČ spektrum:</i>	(CHCl ₃) 2957, 2928, 2857 (C-H alif., valenč.); 2240 (CN, valenč.)
<i>¹H NMR spektrum:</i>	(300 MHz, CDCl ₃) δ 8,81 (d, 1H, <i>J</i> = 1,5 Hz, H-3); 8,55 (d, 1H, <i>J</i> = 1,5 Hz, H-6); 2,89 (t, 2H, <i>J</i> = 7,8 Hz, CH ₂); 1,86 – 1,67 (m, 2H, CH ₂); 1,43 – 1,17 (m, 12H, CH ₂); 0,87 (t, 3H, <i>J</i> = 6,7 Hz, CH ₃)

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 161,7; 147,4; 145,2; 127,9; 115,7; 35,9; 31,8; 39,4; 29,3; 29,2; 29,2; 29,0; 22,6; 14,1

MS spektrum: EI (m/z) 119 (100), 132 (14), 160 (8), 232 (100)

5-benzylpyrazin-2-karbonitril (S11)



Popis: nažloutlá krystalická látka

Mol. hm.: 195,23 ($\text{C}_{12}\text{H}_9\text{N}_3$)

Výtěžek: 10,60 g (54 %)

T. varu: 91 – 93 °C/0,4 kPa

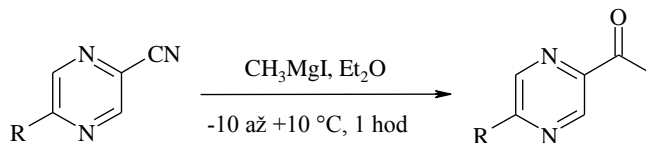
ÍČ spektrum: (CHCl_3) 3088, 3068, 3029, 3010 (C-H arom., valenč.); 2966, 2927 (C-H alif., valenč.); 2240 (CN, valenč.)

^1H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl_3) δ 8,82 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-3); 8,56 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-6), 7,39 – 7,23 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'); 4,26 (s, 2H, CH_2)

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 159,9; 147,4; 145,3; 136,4; 129,1; 129,0; 128,2; 127,3; 115,6; 42,3

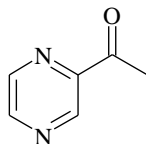
MS spektrum: EI (m/z) 51 (16), 65 (16), 91 (19), 194 (100)

5.1.1.2 Příprava 1-pyrazin-2-ylethanonu a 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)ethanonů (S12 – S22) Grignardovou reakcí



K methylmagnesiumjodidu (49,90 g; 0,300 mol) v absolutním etheru (200 ml) byl za míchání a při teplotě -10 až $+10$ °C přikápan roztok příslušného nitrilu (0,128 mol) v absolutním etheru (50 ml, u 5-*terc*-butyl-2-acetylpyrazinu **S13** 220 ml). Při uvedené teplotě byla směs míchána celkem hodinu a potom byla rozložena opatrným vylitím na led. Vyloučená sraženina byla částečně rozpuštěna přidáním kyseliny chlorovodíkové zředěné objemově 1 : 1 (50 ml) a směs byla kontinuálně extrahována etherem. Etherový extrakt byl vysušen bezvodým síranem sodným a po oddestilování etheru byl produkt přečištěn destilací za sníženého tlaku.

1-pyrazin-2-ylethanon (S12)



Do Grignardovy reakce bylo použito 31,50 g (0,300 mol) pyrazin-2-karbonitrilu.

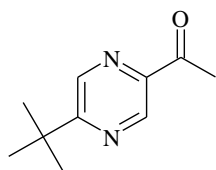
Popis: nažloutlá krystalická látka

Mol. hm.: 122,13 ($\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$)

Výtěžek: 12,10 g (33 %)

T. varu: 79 °C/1,87 kPa (79 °C/1,87 kPa)

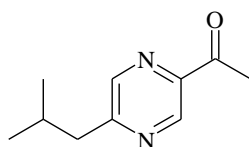
Látka byla identifikována pomocí teploty varu na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)ethanon (S13)

Do Grignardovy reakce bylo použito 13,20 g (0,082 mol) 5-*tert*-butylpyrazin-2-karbonitrilu.

<i>Popis:</i>	žlutá krystalická látka
<i>Mol. hm.:</i>	178,24 (C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O)
<i>Výtěžek:</i>	10,47 g (72 %)
<i>T. varu:</i>	120 – 127 °C/1,20 kPa (108 – 110,5 °C/1,47 kPa)

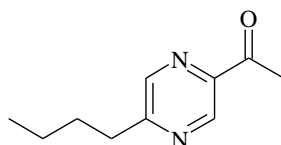
Látka byla identifikována pomocí teploty varu na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)ethanon (S14)

Do Grignardovy reakce bylo použito 16,90 g (0,105 mol) 5-isobutylpyrazin-2-karbonitrilu.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
<i>Mol. hm.:</i>	178,24 (C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O)
<i>Výtěžek:</i>	11,00 g (59 %)
<i>T. varu:</i>	95 °C/0,67 kPa (115 – 120 °C/1,47 kPa)

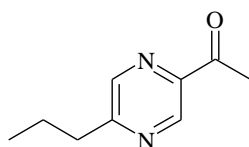
Látka byla identifikována pomocí teploty varu na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

1-(5-butylpyrazin-2-yl)ethanon (S15)

Do Grignardovy reakce bylo použito 15,40 g (0,096 mol) 5-butylpyrazin-2-karbonitrilu.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
<i>Mol. hm.:</i>	178,24 (C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O)
<i>Výtěžek:</i>	8,55 g (50 %)
<i>T. varu:</i>	120 – 125 °C/1,47 kPa (125 – 130 °C/1,99 kPa)

Látka byla identifikována pomocí teploty varu na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

1-(5-propylpyrazin-2-yl)ethanon (S16)

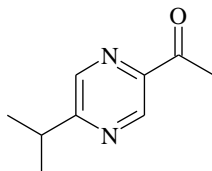
Do Grignardovy reakce bylo použito 3,30 g (0,022 mol) 5-propylpyrazin-2-karbonitrilu.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
---------------	-------------------------

Mol. hm.: 164,21 (C₉H₁₂N₂O)
Výtěžek: 2,58 g (70 %)
T. varu: 102 – 105 °C/1,20 kPa (118 – 122 °C/1,99 kPa)

Látka byla identifikována pomocí teploty varu na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,546].

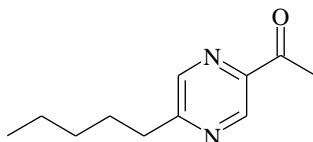
1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)ethanon (S17)



Do Grignardovy reakce bylo použito 13,00 g (0,088 mol) 5-isopropylpyrazin-2-karbonitrilu.

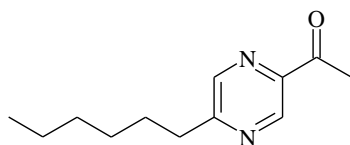
Popis: nažloutlá kapalná látka
Mol. hm.: 164,21 (C₉H₁₂N₂O)
Výtěžek: 10,19 g (70 %)
T. varu: 105 – 107 °C/1,07 kPa
IČ spektrum: (CHCl₃) 3076, 3027 (C-H arom., valenč.); 2972, 2934, 2873 (C-H alif., valenč.); 1697 (C=O, valenč.)
¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,12 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3); 8,50 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6); 3,27 – 3,11 (m, 1H, CH); 2,68 (s, 3H, CH₃); 1,35 (d, 6H, *J* = 7,1 Hz, CH₃)
¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 199,3; 165,9; 145,6; 142,6; 141,7; 34,3; 25,8; 22,0
MS spektrum: EI (*m/z*) 52 (28), 67 (15), 80 (12), 94 (18), 107 (31), 121 (52), 136 (74), 149 (100), 164 (44)

1-(5-pentylpyrazin-2-yl)ethanon (S18)



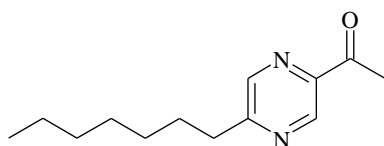
Do Grignardovy reakce bylo použito 4,52 g (0,026 mol) 5-pentylpyrazin-2-karbonitrilu.

Popis: nažloutlá kapalná látka
Mol. hm.: 196,26 (C₁₁H₁₆N₂O)
Výtěžek: 1,72 g (34 %)
T. varu: 120 – 125 °C/1,33 kPa
IČ spektrum: (CHCl₃) 3075, 3019, 3001 (C-H arom., valenč.); 2959, 2931, 2873, 2861 (CH alif., valenč.); 1698 (C=O, valenč.)
¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,11 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3); 8,47 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6); 2,87 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 2,68 (s, 3H, CH₃); 1,83 – 1,69 (m, 2H, CH₂); 1,42 – 1,27 (m, 4H, CH₂); 0,88 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz, CH₃)
¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 199,4; 161,7; 145,4; 143,0; 142,7; 35,7; 31,4; 28,9; 25,8; 22,4; 13,9
MS spektrum: EI (*m/z*) 121 (16), 136 (7), 193 (100)

1-(5-hexylpyrazin-2-yl)ethanon (S19)

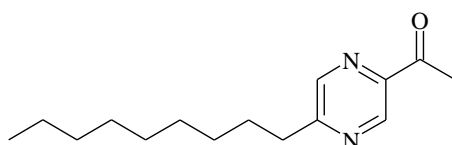
Do Grignardovy reakce bylo použito 10,80 g (0,057 mol) 5-pentylpyrazin-2-karbonitrilu.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
<i>Mol. hm.:</i>	206,29 (C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O)
<i>Výtěžek:</i>	6,70 g (57 %)
<i>T. varu:</i>	127 – 130 °C/1,47 kPa
<i>IČ spektrum:</i>	(CHCl ₃) 3077, 3019, 3000 (C-H arom., valenč.); 2958, 2930, 2872, 2859 (CH alif., valenč.); 1697 (C=O, valenč.)
<i>¹H NMR spektrum:</i>	(300 MHz, CDCl ₃) δ 9,12 (d, 1H, <i>J</i> = 1,4 Hz, H-3); 8,47 (d, 1H, <i>J</i> = 1,4 Hz, H-6); 2,88 (t, 2H, <i>J</i> = 7,4 Hz, CH ₂); 2,69 (s, 3H, CH ₃); 1,83 – 1,68 (m, 2H, CH ₂); 1,43 – 1,21 (m, 6H, CH ₂); 0,87 (t, 3H, <i>J</i> = 7,4 Hz, CH ₃)
<i>¹³C NMR spektrum:</i>	(75 MHz, CDCl ₃) δ 199,4; 161,6; 145,4; 143,0; 142,7; 35,7; 31,5; 29,2; 28,9; 25,8; 22,5; 14,0
<i>MS spektrum:</i>	EI (<i>m/z</i>) 107 (6), 121 (43), 136 (90), 149 (16), 163 (7), 177 (6), 207 (100)

1-(5-heptylpyrazin-2-yl)ethanon (S20)

Do Grignardovy reakce bylo použito 16,20 g (0,079 mol) 5-heptylpyrazin-2-karbonitrilu.

<i>Popis:</i>	nažloutlá kapalná látka
<i>Mol. hm.:</i>	220,32 (C ₁₃ H ₂₀ N ₂ O)
<i>Výtěžek:</i>	4,51 g (26 %)
<i>T. varu:</i>	152 – 162 °C/1,20 kPa
<i>IČ spektrum:</i>	(CHCl ₃) 3074, 3019, 3000 (C-H arom., valenč.); 2957, 2927, 2871, 2857 (C-H alif., valenč.); 1701 (C=O, valenč.)
<i>¹H NMR spektrum:</i>	(300 MHz, CDCl ₃) δ 9,11 (d, 1H, <i>J</i> = 1,4 Hz, H-3); 8,46 (d, 1H, <i>J</i> = 1,4 Hz, H-6); 2,87 (t, 2H, <i>J</i> = 7,2 Hz, CH ₂); 2,68 (s, 3H, CH ₃); 1,82 – 1,67 (m, 2H, CH ₂); 1,40 – 1,17 (m, 8H, CH ₂); 0,85 (t, 3H, <i>J</i> = 7,2 Hz, CH ₃)
<i>¹³C NMR spektrum:</i>	(75 MHz, CDCl ₃) δ 199,3; 161,6; 145,4; 143,0; 142,7; 35,7; 31,6; 29,3; 29,2; 29,1; 25,8; 22,6; 14,0
<i>MS spektrum:</i>	EI (<i>m/z</i>) 53 (7), 121 (30), 136 (100), 149 (20), 221 (26)

1-(nonylpyrazin-2-yl)ethanon (S21)

Do Grignardovy reakce bylo použito 4,58 g (0,020 mol) 5-nonylpyrazin-2-karbonitrilu. Látka byla po destilaci ještě znečištěna. Proto byla podrobena sloupcové chromatografii.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silikagel 60 Merck (0,040 – 0,063 mm)

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: nažloutlá kapalná látka

Mol. hm.: 248,37 (C₁₅H₂₄N₂O)

Výtěžek: 0,13 g (3 %)

T. varu: 77 – 81 °C/0,30 kPa

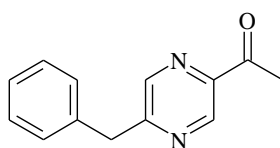
IČ spektrum: (CHCl₃) 2957, 2927, 2856 (C-H alif., valenč.); 1699 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,12 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3); 8,47 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6); 2,88 (t, 2H, *J* = 7,7 Hz, CH₂); 2,69 (s, 3H, CH₃); 1,83 – 1,68 (m, 2H, CH₂); 1,41 – 1,17 (m, 12H, CH₂); 0,86 (t, 3H, *J* = 6,7 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 199,4; 161,7; 145,4; 143,0; 142,8; 35,8; 31,8; 29,4; 29,3; 29,3; 29,3; 29,2; 25,8; 22,7; 14,1

MS spektrum: EI (*m/z*) 121 (25), 107 (5), 136 (100), 149 (16), 163 (5), 177 (5), 248 (5)

1-(5-benzylpyrazin-2-yl)ethanon (S22)



Do Grignardovy reakce bylo použito 6,20 g (0,032 mol) 5-benzylpyrazin-2-karbonitrilu.

Popis: nažloutlá olejovitá látka

Mol. hm.: 212,25 (C₁₃H₁₂N₂O)

Výtěžek: 1,82 g (27 %)

T. varu: 130 – 133 °C/1,20 kPa

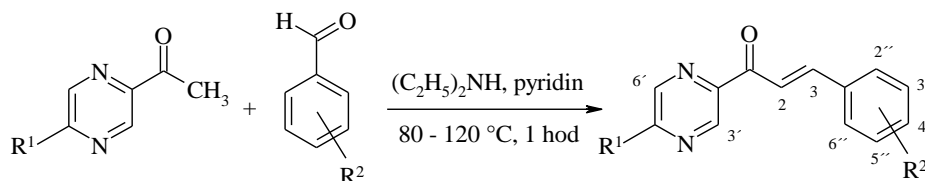
IČ spektrum: (CHCl₃) 3087, 3066, 3031, 3008 (C-H arom., valenč.); 2927, 2855 (C-H alif., valenč.); 1701 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,15 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3); 8,48 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6); 7,38 – 7,21 (m, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'); 4,25 (s, 2H, CH₂); 2,68 (s, 3H, CH₃)

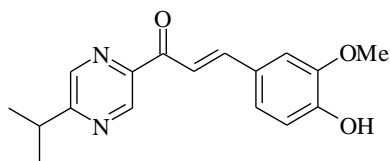
¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 199,2; 159,9; 145,5; 143,2; 142,8; 129,1; 129,0; 128,9; 127,0; 42,2; 25,8

MS spektrum: EI (*m/z*) 51 (7), 65 (8), 91 (8), 115 (22), 142 (5), 169 (20), 211 (100)

5.1.1.3 Příprava 1-pyrazin-2-yl-3-arylprop-2-en-1-onů a 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)-3-arylprop-2-en-1-onů (S23 – S66) Claisen-Schmidtovou kondensací



Příslušný acetylpyrazin (0,015 mol) a příslušný aldehyd (0,015 mol) byly rozpuštěny v pyridinu (6,6 ml). Byl přidán diethylamin (0,015 mol) a směs byla zahřívána 1 hodinu na glycerolové lázni při teplotě 80 – 120 °C. Po zchlazení byla směs nalita do ledové vody (300 ml) okyselená kyselinou octovou na pH 3 a uložena na 24 hodin do lednice. Vyloučené pevné látky byly překrystalisovány z bezvodého ethanolu. V případě vyloučení oleje byla reakční směs po vytřepání do etheru chromatograficky dělena na sloupci. Analyticky čistý produkt byl získán krystalisací z bezvodého ethanolu, pokud není uvedeno jinak.

(E)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S23)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: oranžově žluté lesklé krystaly

Mol. hm.: 298,34 (C₁₇H₁₈N₂O₃)

Výtěžek: 1,70 g (38 %)

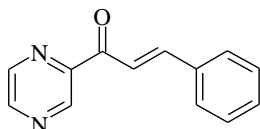
T. tání: 175 – 177 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	68,44	6,08	9,39
nalezeno	68,67	6,29	9,23

IČ spektrum: (KBr) 3075, 3022 (C-H arom., valenč.); 2968, 2943 (C-H alif., valenč.); 1662 (C=O, valenč.); 1586 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,91 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-2); 8,01 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,56 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,22 (d, 1H, *J* = 1,9 Hz, H-2'); 6,96 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H-5'); 6,01 (s, 1H, OH); 3,98 (s, 3H, OCH₃); 3,29 – 3,16 (m, 1H, CH); 1,38 (d, 6H, *J* = 6,8 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 165,5; 148,6; 146,8; 146,6; 145,7; 141,4; 127,5; 124,4; 117,8; 144,9; 110,0; 56,0; 34,3; 22,0

(E)-3-fenyl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S24)

Látka byla připravena z 0,025 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 210,24 (C₁₃H₁₀N₂O)

Výtěžek: 1,56 g (30 %)

T. tání: 104 – 107 °C (106 – 107,5°C/bezv. ethanol [547,548])

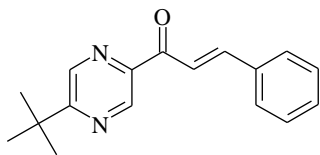
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	74,27	4,79	13,32
nalezeno	74,16	4,90	13,36

IČ spektrum: (KBr) 3071, 3053 (C-H arom., valenč.); 2924 (C-H alif., valenč.); 1672 (C=O, valenč.); 1601 (C=C, valenč.) (1673, 1655, 1601 cm⁻¹ [547,548])

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,98 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,19 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,37 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,69 (dd, 1H, *J* = 2,5; 1,4 Hz, H-5'); 8,77 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 7,77 – 7,68 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,46 – 7,38 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5'') (8,08; 7,85, *J* = 16,0 Hz [547,548])

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 188,6; 148,4; 147,4; 145,7; 144,8; 143,3; 134,7; 131,0; 128,9; 128,9; 120,0

(E)-1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)-3-fenylprop-2-en-1-on (S25)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: světle žluté krystaly

Mol. hm.: 266,35 ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$)

Výtěžek: 0,14 g (4 %)

T. tání: 115 – 116 °C

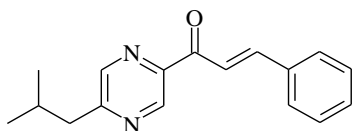
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	76,66	6,81	10,52
nalezeno	76,55	6,96	10,41

IR spektrum: (KBr) 3078, 3060, 3032, 3015, 3000 (C-H arom., valenč.); 2900, 2866 (C-H alif., valenč.); 1667 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

^1H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H-2); 8,18 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,74 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 7,77 – 7,68 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,46 – 7,39 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''); 1,45 (s, 9H, CH_3)

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 188,7; 167,7; 145,7; 145,2; 143,3; 139,8; 134,9; 130,8; 128,9; 128,9; 120,4; 37,1; 29,7

(E)-3-fenyl-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S26)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: žluté krystaly

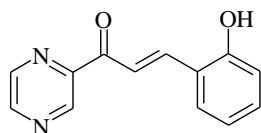
Mol. hm.: 266,35 ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$)

Výtěžek: 0,05 g (1 %)

T. tání: 35 – 60 °C

^1H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,19 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,29 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, H-3'); 8,50 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, H-6'); 7,77 – 7,68 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,46 – 7,39 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''); 2,79 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH_2); 2,27 – 2,06 (m, 1H, CH); 0,97 (d, 6H, $J = 6,9$ Hz, CH_3)

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 188,6; 160,4; 146,1; 145,3; 144,1; 143,3; 142,7; 134,8; 130,8; 128,9; 128,9; 120,3; 44,7; 29,2; 22,4

(E)-3-(2-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S27)

Látka byla připravena z 0,020 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

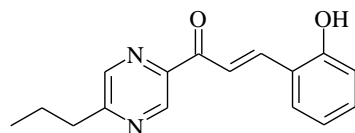
Popis: okrově žluté krystaly

Mol. hm.: 266,24 (C₁₃H₁₀N₂O₂)

Výtěžek: 1,64 g (31 %)

T. tání: 172 – 174 °C (172,5 – 174,5 °C/bezv. ethanol [71], 173 – 175 °C/bezv. ethanol [547,548])

Látka byla identifikována pomocí teploty tání a TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,71].

(E)-3-(2-hydroxyfenyl)-1-(5-propylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S28)

Látka byla připravena z 0,014 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 7 : 3 (v/v)

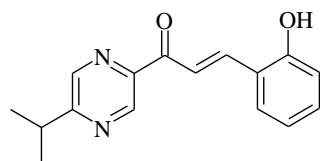
Popis: drobné jehličkovité žluté krystaly

Mol. hm.: 268,32 (C₁₆H₁₆N₂O₂)

Výtěžek: 0,22 g (6 %)

T. tání: 150 – 152 °C (148 – 150,5 °C/bezv. ethanol [71])

Látka byla identifikována pomocí teploty tání a TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,71].

(E)-3-(2-hydroxyfenyl)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S29)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 268,32 (C₁₆H₁₆N₂O₂)

Výtěžek: 1,20 g (30 %)

T. tání: 175 – 178 °C

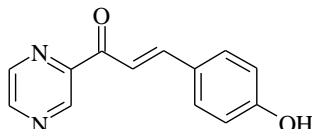
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	71,62	6,01	10,44
nalezeno	71,53	6,15	10,37

IR spektrum: (KBr) 3086, 3072, 3039, 3017 (C-H arom., valenč.); 2968, 2935, 2910, 2872 (C-H alif., valenč.); 1652 (C=O, valenč.); 1584 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 8,09 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,20 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,14 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,77 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 6,98 – 6,92 (m, 1H, $J = 1,9$ Hz, H-3''); 7,32 – 7,25 (m, 1H, H-4''); 6,91 – 6,84 (m, 1H, H-5''); 7,69 (dd, 1H, $J = 1,4$; 7,7 Hz, H-6''); 10,41 (s, 1H, OH); 3,30 – 3,15 (m, 1H, CH); 1,29 (d, 6H, $J = 7,1$ Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,5; 165,4; 157,9; 146,4; 143,2; 142,4; 140,7; 132,6; 129,7; 121,4; 120,1; 119,8; 116,6; 33,7; 22,0

(E)-3-(4-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S30)



Látka byla připravena z 0,020 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: okrově žluté krystaly

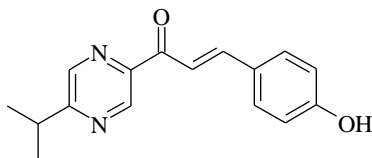
Mol. hm.: 226,24 (C₁₃H₁₀N₂O₂)

Výtěžek: 1,35 g (30 %)

T. tání: 190 – 193 °C (191 – 194 °C/bezv. ethanol [547,548], 188 – 190 °C/bezv. ethanol [71])

Látka byla identifikována pomocí teploty tání a TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,71].

(E)-3-(4-hydroxyfenyl)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S31)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 268,32 (C₁₆H₁₆N₂O₂)

Výtěžek: 1,00 g (25 %)

T. tání: 155 – 157,85 °C

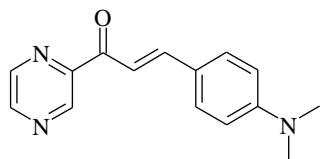
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	71,62	6,01	10,44
nalezeno	71,88	6,01	10,55

IR spektrum: (KBr) 3078, 3045 (C-H arom., valenč.); 2974, 2938, 2874 (C-H alif., valenč.); 1665 (C=O, valenč.); 1592 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,92 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H-2); 8,04 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,57 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 7,66 – 7,60 (m AA', BB', 2H, H-2'', H-6''); 6,96 – 6,86 (m AA', BB', 2H, H-3'', H-5''); 6,11 (s, 1H, OH); 3,31 – 3,16 (m, 1H, CH); 1,39 (d, 6H, $J = 7,1$ Hz, CH₃)

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 188,6; 165,5; 158,5; 146,6; 145,4; 143,9; 141,5; 131,1; 127,7; 117,9; 116,0; 34,4; 22,0

(E)-3-[4-(dimethylamino)fenyl]-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S32)



Látka byla připravena z 0,020 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: cihlově červené krystaly

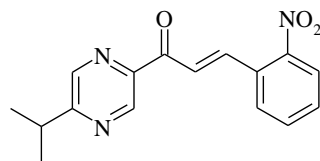
Mol. hm.: 253,31 ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}$)

Výtěžek: 1,67 g (33 %)

T. tání: 160 – 167 °C (162 – 165 °C/bezv. ethanol [71])

Látka byla identifikována pomocí teploty tání a TLC na základě porovnání se standardem, který byl připraven dříve [6,71].

(E)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-(2-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S33)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: světle žluté lesklé krystaly

Mol. hm.: 297,31 ($\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_3$)

Výtěžek: 0,95 g (21 %)

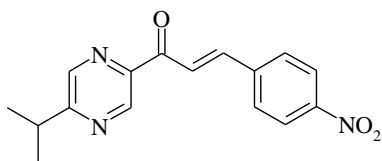
T. tání: 101 – 104 °C

Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	64,64	5,09	14,13
nalezeno	64,71	5,25	14,15

IČ spektrum: (KBr) 2970, 2933, 2873 (C-H alif., valenč.); 1672 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

^1H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl_3) δ 8,05 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H-2); 8,35 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,55 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 8,08 – 8,03 (m, 1H, H-3''); 7,62 – 7,52 (m, 1H, H-4''); 7,88 – 7,82 (m, 1H, H-5''); 7,73 – 7,65 (m, 1H, H-6''); 3,31 – 3,15 (m, 1H, CH); 1,38 (d, 6H, $J = 6,9$ Hz, CH_3)

^{13}C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl_3) δ 188,0; 166,0; 148,9; 145,8; 144,1; 141,5; 140,1; 133,4; 131,1; 130,5; 129,3; 125,2; 124,9; 34,4; 22,0

(E)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-(4-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S34)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: světle žluté lesklé šupinovité krystaly

Mol. hm.: 297,31 (C₁₆H₁₅N₃O₃)

Výtěžek: 1,80 g (40 %)

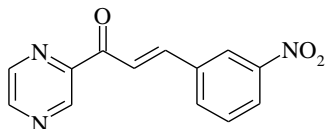
T. tání: 124 – 127 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	64,64	5,09	14,13
nalezeno	64,47	5,10	14,34

IČ spektrum: (KBr) 2980, 2970, 2930 (C-H alif., valenč.); 1668 (C=O, valenč.); 1609 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,93 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz, H-2); 8,29 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,57 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,89 – 7,82 (m, AA', BB', 2H, H-2'', H-6''); 8,30 – 8,25 (m, AA', BB', 2H, H-3'', H-5''); 3,32 – 3,15 (m, 1H, CH); 1,38 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,6; 165,6; 158,5; 146,6; 145,4; 143,9; 141,5; 131,1; 127,7; 117,9; 1116,0; 34,4; 22,0

(E)-3-(3-nitrofenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S35)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: žlutá krystalická látka

Mol. hm.: 255,23 (C₁₃H₉N₃O₃)

Výtěžek: 1,60 g (42 %)

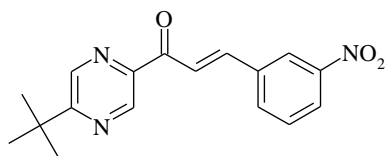
T. tání: 165 – 168 °C (166 – 168 °C/bezv. ethanol [547])

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	61,18	3,55	16,46
nalezeno	61,13	3,65	16,34

IČ spektrum: (KBr) 3065 (C-H arom., valenč.); 1676 (C=O, valenč.); 1609 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,97 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,30 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,38 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-3'); 8,81 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-5'); 8,72 (dd, 1H, *J* = 1,5; 2,5 Hz, H-6'); 8,57 (t, 1H, *J* = 1,9 Hz, H-2''); 8,02 – 7,96 (m, 1H, H-4''); 7,62 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, H-5''); 8,29 – 8,24 (m, 1H, H-6'')

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,1; 148,7; 147,8; 144,9; 143,4; 142,3; 136,1; 134,6; 130,0; 125,0; 122,8; 122,7

(E)-1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)-3-(3-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S36)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

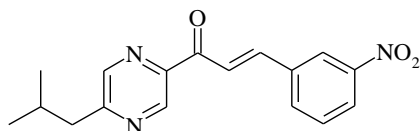
Popis: žlutá krystalická látka
Mol. hm.: 311,34 (C₁₇H₁₇N₃O₃)
Výtěžek: 1,88 g (40 %)
T. tání: 160 – 162 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	65,58	5,50	13,50
nalezeno	65,21	5,56	13,70

IČ spektrum: (KBr) 3075 (C-H arom., valenč.); 2980, 2970, 2930, 2964, 2870 (C-H alif., valenč.); 1676 (C=O, valenč.); 1610 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-2); 8,30 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-3); 9,29 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H-3'); 8,76 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H-6'); 8,57 (t, 1H, *J* = 1,8 Hz, H-2''); 8,02 – 7,96 (m, 1H, H-4''); 7,62 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, H-5''); 8,29 – 8,23 (m, 1H, H-6''); 1,46 (s, 9H, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,2; 158,2; 148,7; 145,2; 143,4; 141,8; 140,0; 136,6; 134,5; 130,0; 123,2; 122,8; 122,8; 37,2; 29,7

(E)-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)-3-(3-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S37)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

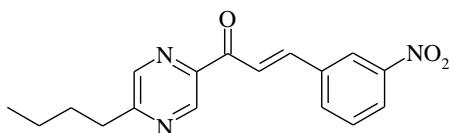
Popis: žluté lesklé krystaly
Mol. hm.: 311,34 (C₁₇H₁₇N₃O₃)
Výtěžek: 1,85 g (40 %)
T. tání: 103 – 104 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	65,58	5,50	13,50
nalezeno	65,23	5,56	13,65

IČ spektrum: (KBr) 3071, 3048, 3033 (C-H arom., valenč.); 2998, 2964, 2925, 2870 (C-H alif., valenč.); 1676 (C=O, valenč.); 1610 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-2); 8,30 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-3); 9,30 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-3'); 8,52 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-6'); 8,58 (t, 1H, *J* = 2,2 Hz, H-2''); 8,02 – 7,96 (m, 1H, H-4''); 7,62 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, H-5''); 8,29 – 8,23 (m, 1H, H-6''); 0,98 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃); 2,27 – 2,11 (m, 1H, CH); 2,80 (d, 2H, *J* = 7,1 Hz, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,2; 161,0; 148,7; 145,6; 144,1; 143,4; 141,9; 136,6; 134,6; 130,0; 124,9; 123,1; 122,8; 44,8; 29,2; 22,3

(E)-1-(5-butylpyrazin-2-yl)-3-(3-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S38)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: žluté lesklé krystaly tvořící chomáče

Mol. hm.: 311,34 (C₁₇H₁₇N₃O₃)

Výtěžek: 1,40 g (30 %)

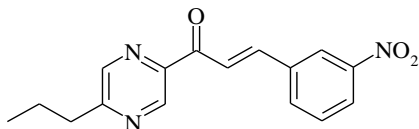
T. tání: 102 – 104 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	65,58	5,50	13,50
nalezeno	65,15	5,56	13,76

ÍČ spektrum: (KBr) 3071 (C-H arom., valenč.); 2959, 2930, 2872, 2861; (C-H alif., valenč.); 1672 (C=O, valenč.); 1609 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,30 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,55 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 8,57 (t, 1H, *J* = 2,0 Hz, H-2''); 8,01 – 7,96 (m, 1H, H-4''); 7,62 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, H-5''); 8,26 (ddd překrytý, 1H, *J* = 1,1; 2,0; 8,24 Hz, H-6''); 0,96 (d, 6H, *J* = 7,6 Hz, CH₃); 1,50 – 1,35 (m, 2H, CH₂); 1,84 – 1,72 (m, 2H, CH₂); 2,93 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,2; 161,9; 148,7; 145,6; 144,1; 143,4; 141,9; 136,6; 134,6; 130,0; 124,8; 123,1; 122,8; 35,6; 31,4; 22,4; 13,8

(E)-3-(3-nitrofenyl)-1-(5-propylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S39)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: žluté lesklé šupinovité krystaly

Mol. hm.: 297,31 (C₁₆H₁₅N₃O₃)

Výtěžek: 1,34 g (18 %)

T. tání: 91 – 92 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	64,64	5,09	14,13
nalezeno	64,70	5,20	14,13

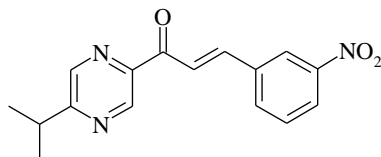
ÍČ spektrum: (KBr) 3070 (C-H arom., valenč.); 2962, 2936, 2875 (C-H alif., valenč.); 1669 (C=O, valenč.); 1609 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,90 (d překrytý, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-2); 8,30 (d překrytý, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, *J* = 1,6 Hz, H-3'); 8,55 (d, 1H, *J* = 1,6 Hz, H-6'); 8,57 (t, 1H, *J* = 2,1 Hz, H-2''); 8,29 – 8,22 (m, 1H, H-4''); 7,62 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, H-5''); 7,95 – 8,00

(m, 1H, H-6''); 1,01 (t, 3H, $J = 7,3$ Hz, CH₃); 1,90 – 1,75 (m, 2H, CH₂); 2,91 (t, 2H, $J = 7,6$ Hz, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 187,8; 161,4; 148,7; 145,5; 144,1; 142,8; 140,0; 133,3; 131,0; 130,4; 129,2; 125,0; 124,8; 37,8; 22,6; 13,8

(E)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-(3-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S40)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: žlutá krystalická látka

Mol. hm.: 297,31 (C₁₆H₁₅N₃O₃)

Výtěžek: 1,90 g (43 %)

T. tání: 177,5 – 179,5 °C

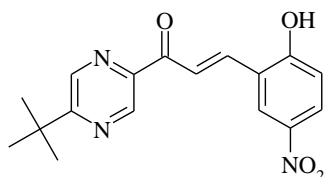
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	64,64	5,09	14,13
nalezeno	64,51	5,26	14,05

IČ spektrum: (KBr) 3089, 3056 (C-H arom., valenč.); 2970, 2937, 2874 (C-H alif., valenč.); 1673 (C=O, valenč.); 1609 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,29 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, $J = 1,5$ Hz, H-3'); 8,58 (d překrytý, 1H, $J = 1,5$ Hz, H-6'); 8,57 (t překrytý, 1H, $J = 2,1$ Hz, H-2'); 8,01 – 7,96 (m, 1H, H-4'); 7,62 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz, H-5'); 8,26 (ddd překrytý, 1H, $J = 1,1; 2,1; 8,1$ Hz, H-6''); 1,39 (d, 6H, $J = 6,9$ Hz, CH₃); 3,32 – 3,16 (m, 1H, CH)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,2; 166,2; 148,7; 145,8; 144,0; 141,8; 141,6; 136,6; 134,6; 130,0; 124,8; 123,1; 122,8; 34,4; 22,0

(E)-1-(5-terc-butylpyrazin-2-yl)-3-(2-hydroxy-5-nitrofenyl)prop-2-en-1-on (S41)



Látka byla připravena z 0,010 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: okrově žluté krystaly

Mol. hm.: 327,34 (C₁₇H₁₇N₃O₄)

Výtěžek: 0,021 g (1 %)

T. tání: 220 – 222 °C

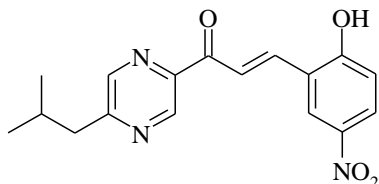
IČ spektrum: (KBr) 3081 (C-H arom., valenč.); 2966, 2934, 2869 (C-H alif., valenč.); 1675 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,34 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,46 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,33 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-3'); 8,80 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-6'); 7,08 (d, 1H, $J =$

9,1 Hz, H-3''); 8,18 (dd, 1H, $J = 2,8$; 9,1 Hz, H-4''); 8,65 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz, H-6''); 1,48 (s, 9H, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 189,8; 168,4; 161,3; 145,4; 143,5; 141,4; 140,1; 138,7; 127,3; 124,6; 122,7; 122,5; 116,8; 37,3; 29,7

(E)-3-(2-hydroxy-5-nitrofenyl)-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S42)



Látka byla připravena z 0,010 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 327,34 (C₁₇H₁₇N₃O₄)

Výtěžek: 1,11 g (34 %)

T. tání: 177 – 180 °C

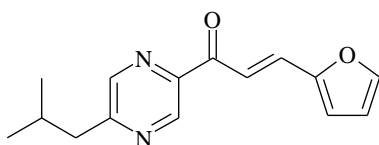
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	62,38	5,23	12,84
nalezeno	61,97	5,29	12,77

IČ spektrum: (KBr) 3077 (C-H arom., valenč.); 2958, 2930, 2870 (C-H alif., valenč.); 1676 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 8,01 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,31 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,15 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,72 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 7,10 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz, H-3''); 8,16 (dd, 1H, $J = 2,8$; 9,1 Hz, H-4''); 8,55 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz, H-6''); 2,76 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, CH₂); 2,20 – 2,03 (m, 1H, CH); 0,90 (d, 6H, $J = 6,9$ Hz, CH₃); 12,03 (bs, 1H, OH)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,4; 163,3; 160,6; 145,8; 144,0; 143,5; 140,1; 138,1; 127,6; 125,5; 122,7; 121,9; 117,0; 44,0; 28,6; 22,3

(E)-3-furyl-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S43)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: jehličkovité žluté krystaly

Mol. hm.: 256,31 (C₁₅H₁₆N₂O₂)

Výtěžek: 0,093 g (2 %)

T. tání: 61 – 66 °C

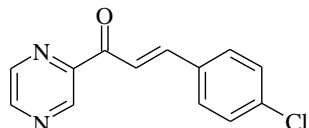
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	70,29	6,29	10,93
nalezeno	70,18	6,79	10,63

IČ spektrum: (KBr) 3098 (C-H arom., valenč.); 2961, 2942, 2919, 2867, 2849 (C-H alif., valenč.); 1667 (C=O, valenč.); 1603 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,71 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-2); 8,01 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-3); 9,26 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,49 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 6,79 (d, 1H, *J* = 3,3 Hz, H-3''); 6,52 (dd, 1H, *J* = 1,7; 3,3 Hz, H-4''); 7,55 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H-5''); 2,77 (d, 2H, *J* = 6,9 Hz, CH₂), 2,25 – 2,08 (m, 1H, CH); 0,96 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 160,3; 151,8; 146,1; 145,4; 143,9; 143,4; 131,0; 118,1; 116,9; 112,8; 44,7; 29,1; 22,3

(E)-3-(4-chlorfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S44)



Látka byla připravena z 0,010 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: drobné jehličkovité, světle žluté krystaly

Mol. hm.: 244,68 (C₁₃H₉ClN₂O)

Výtěžek: 0,40 g (16 %)

T. tání: 142 – 145 °C (137 – 138 °C/bezv. ethanol [547])

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	63,82	3,71	11,45
nalezeno	63,71	3,82	11,44

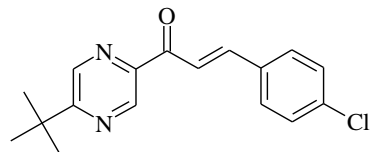
IČ spektrum: (KBr) 3071, 3047 (C-H arom., valenč.); 1669 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.) (1674, 1656, 1597 cm⁻¹ [547])

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,91 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,37 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,69 (dd, 1H, *J* = 1,4; 2,5 Hz, H-5'); 8,78 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 7,68 – 7,61 (m, 2H, AA', BB', H-2'', H-6''), 7,43 – 7,36 (m, 2H, AA', BB', H-3'', H-5'')

(7,89; 7,76; *J* = 15,9 Hz [547])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 148,3; 147,5; 144,9; 144,1; 143,3; 136,9; 133,2; 130,0; 129,3; 120,4

(E)-1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)-3-(4-chlorfenyl)prop-2-en-1-on (S45)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: lesklé jehličkovité světle žluté krystaly

Mol. hm.: 300,79 (C₁₇H₁₇ClN₂O)

Výtěžek: 0,40 g (9 %)

T. tání: 135 – 137 °C

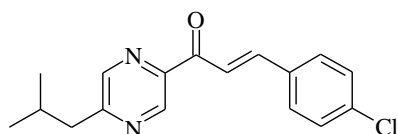
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	67,88	5,70	9,31
nalezeno	67,72	5,90	9,20

IČ spektrum: (KBr) 2960, 2927, 2905, 2867 (C-H alif., valenč.); 1668 (C=O, valenč.); 1606 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,89 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,73 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 7,67 – 7,61 (m, 2H, AA', BB', H-2'', H-6''); 7,42 – 7,36 (m, 2H, AA', BB', H-3'', H-5''); 1,45 (s, 9H, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,5; 167,8; 145,6; 143,6; 143,4; 139,8; 136,7; 133,4; 130,0; 129,2; 120,9; 35,1; 29,7

(E)-3-(4-chlorfenyl)-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S46)



Látka byla připravena z 0,016 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: drobné jehličkovité světle žluté krystaly

Mol. hm.: 300,79 (C₁₇H₁₇ClN₂O)

Výtěžek: 0,10 g (2 %)

T. tání: 113 – 116 °C

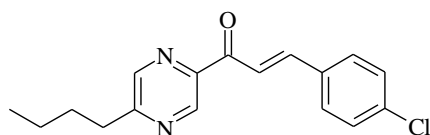
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	67,88	5,70	9,31
nalezeno	66,40	5,70	9,10

IČ spektrum: (KBr) 2958, 2930, 2895, 2868 (C-H alif., valenč.); 1667 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,89 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,28 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,49 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 7,68 – 7,60 (m, 2H, AA', BB', H2'', H6''); 7,43 – 7,35 (m, 2H, AA', BB', H3'', H5''); 2,79 (d, 2H, $J = 7,0$ Hz, CH₂), 2,26 – 2,09 (m, 1H, CH); 0,97 (d, 6H, $J = 7,0$ Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 160,6; 145,9; 144,1; 143,7; 143,3; 136,7; 133,3; 130,0; 129,2; 120,7; 44,7; 29,2; 22,3

(E)-1-(5-butylpyrazin-2-yl)-3-(4-chlorfenyl)prop-2-en-1-on (S47)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: lesklé šupinovité světle žluté krystaly

Mol. hm.: 300,79 (C₁₇H₁₇ClN₂O)

Výtěžek: 0,41 g (9 %)

T. tání: 96 – 99 °C

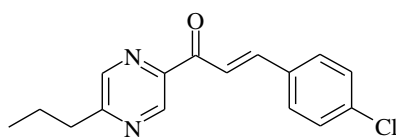
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	67,88	5,70	9,31
nalezeno	67,65	5,77	9,33

IČ spektrum: (KBr) 2956, 2930, 2871, 2858 (C-H alif., valenč.); 1669 (C=O, valenč.); 1606 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,88 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,52 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,70 – 7,60 (m, 2H, AA', BB', H2'', H6''); 7,44 – 7,34 (m, 2H, AA', BB', H3'', H5''); 2,92 (t, 2H, *J* = 7,6 Hz, CH₂); 1,85 – 1,70 (m, 2H, CH₂); 1,50 – 1,33 (m, 2H, CH₂); 0,96 (t, 3H, *J* = 7,6 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 161,5; 145,9; 144,1; 143,6; 142,8; 136,7; 133,3; 130,0; 129,2; 120,8; 35,5; 31,4; 22,4; 13,8

(E)-3-(4-chlorfenyl)-1-(5-propylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S48)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: lesklé šupinovité světle žluté krystaly

Mol. hm.: 286,76 (C₁₆H₁₅ClN₂O)

Výtěžek: 0,25 g (6 %)

T. tání: 99 – 100 °C

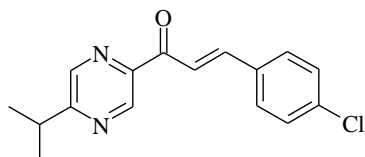
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	67,02	5,27	9,77
nalezeno	67,04	5,38	9,76

IČ spektrum: (KBr) 2958, 2932, 2872 (C-H alif., valenč.); 1669 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,89 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,52 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,68 – 7,60 (m, 2H, AA', BB', H2'', H6''); 7,43 – 7,35 (m, 2H, AA', BB', H3'', H5''); 2,89 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH₂); 1,90 – 1,75 (m, 2H, CH₂); 1,00 (t, 3H, *J* = 7,4 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 161,2; 146,0; 144,1; 143,6; 142,8; 136,7; 133,3; 130,0; 129,2; 120,7; 37,7; 22,6; 13,8

(E)-3-(4-chlorfenyl)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S49)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: jehličkovité světle žluté krystaly
Mol. hm.: 286,76 (C₁₆H₁₅ClN₂O)
Výtěžek: 0,35 g (8 %)
T. tání: 105 – 107,5 °C

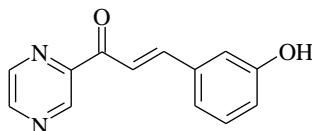
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	67,02	5,27	9,77
nalezeno	66,91	5,36	9,89

IČ spektrum: (KBr) 2965, 2931, 2871 (C-H alif., valenč.); 1666 (C=O, valenč.); 1608 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,88 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,55 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,68 – 7,60 (m, 2H, AA', BB', H2'', H6''); 7,43 – 7,35 (m, 2H, AA', BB', H3'', H5''); 3,30 – 3,14 (m, 1H, CH); 1,38 (d, 6H, *J* = 7,2 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 165,8; 146,1; 144,0; 143,6; 141,5; 136,7; 133,3; 130,0; 129,3; 120,8; 34,4; 22,0

(*E*)-3-(3-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S50)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: okrově žluté krystaly
Mol. hm.: 266,24 (C₁₃H₁₀N₂O₂)
Výtěžek: 1,37 g (41 %)
T. tání: 193 – 194 °C (189 – 191 °C/bezv. ethanol [547,548])

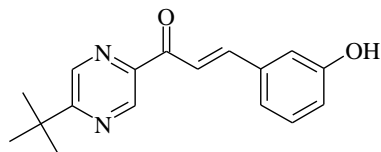
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	69,02	4,46	12,38
nalezeno	68,70	4,69	12,31

IČ spektrum: (KBr) 3078, 3049 (C-H arom., valenč.); 2969, 2850 (C-H alif., valenč.); 1675 (C=O, valenč.); 1603 (C=C, valenč.) (1676, 1606 cm⁻¹ [547,548])

¹H NMR spektrum: (DMSO) δ 7,79 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,04 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,23 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,85 (dd, 1H, *J* = 1,4; 2,5 Hz, H-5'); 8,92 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 7,31 – 7,15 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,93 – 6,84 (m, 1H, H-4'); 9,69 (bs, 1H, OH) (7,93; 7,81; *J* = 16,05 Hz [547,548])

¹³C NMR spektrum: (DMSO) δ 188,0; 157,8; 148,1; 147,8; 145,0; 143,9; 143,9; 135,5; 130,1; 120,1; 120,0; 118,4; 114,6

(*E*)-1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)-3-(3-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (S51)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 282,35 (C₁₇H₁₈N₂O₂)
 Výtěžek: 1,47 g (35 %)
 T. tání: 198 – 202 °C

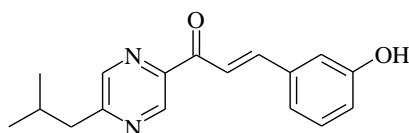
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,32	6,43	9,92
nalezeno	71,85	6,60	9,93

*I*Č spektrum: (KBr) 3078, 3049 (C-H arom., valenč.); 2964, 2869 (C-H alif., valenč.); 1672 (C=O, valenč.); 1607 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,78 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,04 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,16 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,94 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,31 – 7,14 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,92 – 6,85 (m, 1H, H-4''); 1,39 (s, 9H, CH₃); 9,69 (bs, 1H, OH)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,1; 167,5; 158,0; 145,7; 144,9; 142,6; 140,8; 135,8; 130,4; 120,5; 120,4; 118,6; 114,8; 37,1; 29,6

(*E*)-3-(3-hydroxyfenyl)-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S52)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: žluté krystaly
 Mol. hm.: 282,35 (C₁₇H₁₈N₂O₂)
 Výtěžek: 0,70 g (17 %)
 T. tání: 128 – 132 °C

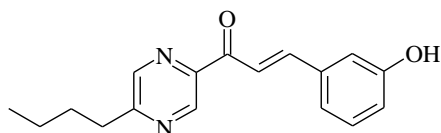
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,32	6,43	9,92
nalezeno	72,51	6,75	9,90

*I*Č spektrum: (KBr) 3092, 3076, 3021 (C-H arom., valenč.); 2961, 2931, 2874, 2830 (C-H alif., valenč.); 1669 (C=O, valenč.); 1605 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,78 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,06 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,15 (d, 1H, *J* = 1,1 Hz, H-3'); 8,71 (d, 1H, *J* = 1,1 Hz, H-6'); 7,31 – 7,15 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,92 – 6,84 (m, 1H, H-4''); 2,46 (d, 2H, *J* = 6,9 Hz, CH₂); 2,19 – 2,03 (m, 1H, CH); 0,90 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃); 9,68 (bs, 1H, OH)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,2; 160,5; 158,0; 145,9; 144,9; 143,9; 143,4; 135,8; 130,4; 120,4; 120,4; 118,6; 114,9; 43,9; 28,6; 22,3

(*E*)-1-(5-butylpyrazin-2-yl)-3-(3-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (S53)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: žluté krystaly
 Mol. hm.: 282,35 (C₁₇H₁₈N₂O₂)
 Výtěžek: 1,20 g (28 %)
 T. tání: 143 – 146 °C

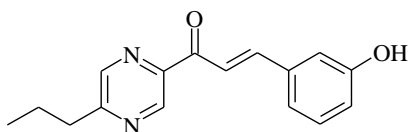
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	72,32	6,43	9,92
nalezeno	72,30	6,53	10,00

IČ spektrum: (KBr) 3074, 3047 (C-H arom., valenč.); 2958, 2932, 2872, 2861 (C-H alif., valenč.); 1670 (C=O, valenč.); 1605 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,77 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H-2); 8,05 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, H-3); 9,13 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-3'); 8,73 (d, 1H, $J = 1,2$ Hz, H-6'); 7,31 – 7,15 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,91 – 6,85 (m, 1H, H-4''); 2,88 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, CH₂); 1,78 – 1,62 (m, 2H, CH₂); 1,41 – 1,24 (m, 2H, CH₂); 0,89 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH₃); 9,68 (bs, 1H, OH)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,1; 161,4; 158,0; 145,9; 144,9; 143,5; 143,4; 135,8; 130,4; 120,4; 120,4; 118,6; 114,8; 34,7; 30,8; 22,0; 13,9

(E)-3-(3-hydroxyfenyl)-1-(5-propylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S54)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 268,32 (C₁₆H₁₆N₂O₂)

Výtěžek: 1,24 g (30 %)

T. tání: 129 – 133 °C

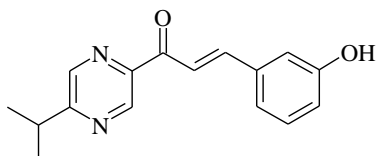
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	71,62	6,01	10,44
nalezeno	72,14	6,12	10,52

IČ spektrum: (KBr) 3075, 3047 (C-H arom., valenč.); 2962, 2932, 2872 (C-H alif., valenč.); 1670 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,77 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H-2); 8,05 (d, 1H, $J = 16,1$ Hz, H-3); 9,14 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,73 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-6'); 7,31 – 7,15 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,91 – 6,84 (m, 1H, H-4''); 2,86 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, CH₂); 1,82 – 1,66 (m, 2H, CH₂); 0,92 (t, 3H, $J = 7,3$ Hz, CH₃); 9,68 (bs, 1H, OH) □

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,1; 161,2; 158,0; 145,9; 144,9; 143,6; 143,4; 135,8; 130,4; 120,4; 120,4; 118,6; 114,8; 37,0; 22,1; 13,8

(E)-3-(3-hydroxyfenyl)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S55)



Látka byla připravena z 0,018 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 6 : 4 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 268,32 (C₁₆H₁₆N₂O₂)
 Výtěžek: 0,90 g (18 %)
 T. tání: 154 – 157 °C

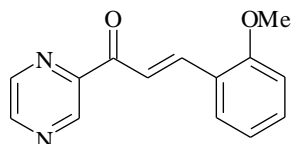
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	71,62	6,01	10,44
nalezeno	71,32	6,03	10,45

*I*Č spektrum: (KBr) 3077, 3045 (C-H arom., valenč.); 2967, 2931, 2873 (C-H alif., valenč.); 1673 (C=O, valenč.); 1608 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,77 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,05 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,15 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,77 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,31 – 7,15 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,91 – 6,85 (m, 1H, H-4''); 3,32 – 3,15 (m, 1H, CH); 1,29 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃); 9,69 (bs, 1H, OH) □ □

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 188,1; 165,6; 158,0; 146,1; 144,9; 143,3; 142,5; 135,8; 130,4; 120,4; 120,4; 118,6; 114,8; 33,7; 22,0

(*E*)-3-(2-methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S56)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek. Surový produkt byl pouze překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: jehličkovité žluté krystaly tvořící chomáče
 Mol. hm.: 240,26 (C₁₄H₁₂N₂O₂)
 Výtěžek: 0,50 g (14 %)
 T. tání: 145 – 149 °C

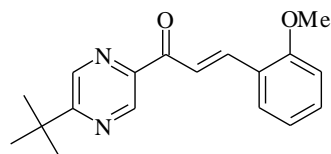
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	69,99	5,03	11,66
nalezeno	69,55	5,32	11,62

*I*Č spektrum: (KBr) 1667 (C=O, valenč.); 1594 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,19 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,36 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,36 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H-3'); 8,68 (dd, 1H, *J* = 1,7; 2,5 Hz, H-5'); 8,75 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 6,96 – 6,92 (m, 1H, H-3''); 7,43 – 7,35 (m, 1H, H-4''); 7,03 – 6,96 (m, 1H, H-5''); 7,75 (dd, 1H, *J* = 1,7; 7,7 Hz, H-6''); 3,92 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,9; 159,1; 148,8; 147,2; 144,8; 143,3; 141,1; 132,3; 129,0; 123,7; 120,7; 120,3; 111,2; 55,5

(*E*)-1-(5-*tert*-butylpyrazin-2-yl)-3-(2-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S57)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: světle žluté krystaly

Mol. hm.: 296,37 (C₁₈H₂₀N₂O₂)
 Výtěžek: 0,13 g (3 %)
 T. tání: 111 – 113 °C

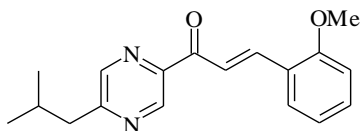
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,95	6,80	9,45
nalezeno	72,77	6,38	9,53

IČ spektrum: (KBr) 3072, 3041, 3028, 3015 (C-H arom., valenč.); 2967, 2941, 2907, 2869, 2840 (C-H alif., valenč.); 1671 (C=O, valenč.); 1595 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,19 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, C-2); 8,34 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, C-3); 9,28 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-3'); 8,73 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-6'); 7,03 – 6,92 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,44 – 7,34 (m, 1H, H-4''); 7,75 (dd, 1H, *J* = 1,7; 7,7 Hz, H-6''); 3,93 (s, 3H, OCH₃); 1,45 (s, 9H, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 189,0; 167,4; 159,0; 146,1; 143,3; 140,5; 139,8; 132,1; 129,0; 123,9; 120,7; 120,7; 111,2; 55,5; 37,0; 29,7

(E)-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)-3-(2-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S58)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 95 : 5 (v/v)

Krystaly získané sloupcovou chromatografií byly promyty vychlazeným acetonem.

Popis: žluté krystaly
 Mol. hm.: 296,37 (C₁₈H₂₀N₂O₂)
 Výtěžek: 0,08 g (2 %)
 T. tání: 42 – 47 °C

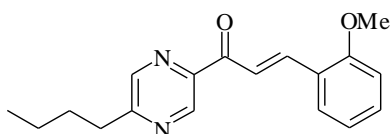
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,95	6,80	9,45
nalezeno	73,34	7,01	9,33

IČ spektrum: (KBr) 3071, 3013 (C-H arom., valenč.); 2954, 2930, 2867, 2839 (C-H alif., valenč.); 1667 (C=C, valenč.); 1595 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,19 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,35 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,29 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,49 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,03 – 6,92 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,44 – 7,36 (m, 1H, H-4''); 7,76 (dd, 1H, *J* = 1,7; 7,7 Hz, H-6''); 3,93 (s, 3H, OCH₃); 2,78 (t, 2H, *J* = 6,9 Hz, CH₂); 2,26 – 2,09 (m, 1H, CH); 0,97 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 189,0; 160,2; 159,0; 146,5; 144,1; 143,3; 140,6; 132,2; 129,0; 123,9; 120,7; 120,6; 111,2; 55,6; 44,7; 29,2; 22,4

(E)-1-(5-butylpyrazin-2-yl)-3-(2-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S59)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 95 : 5 (v/v)

Popis: jehlicovité žluté krystaly tvořící chomáče

Mol. hm.: 296,37 (C₁₈H₂₀N₂O₂)

Výtěžek: 0,06 g (1 %)

T. tání: 70 – 73 °C

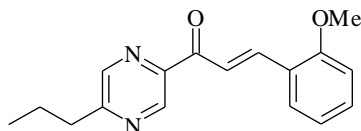
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,95	6,80	9,45
nalezeno	72,80	6,76	9,42

IČ spektrum: (KBr) 3071, 3036, 3002 (C-H arom., valenč.); 2961, 2930, 2896, 2872, 2860, 2838 (C-H alif., valenč.); 1669 (C=O, valenč.); 1593 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,35 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,1 Hz, H-3'); 8,53 (d, 1H, *J* = 1,1 Hz, H-6'); 7,05 – 6,90 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,44 – 7,34 (m, 1H, H-4''); 7,76 (dd, 1H, *J* = 1,4; 7,7 Hz, H-6''); 3,93 (s, 3H, OCH₃); 2,91 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 1,85 – 1,70 (m, 2H, CH₂); 1,51 – 1,33 (m, 2H, CH₂); 0,96 (d, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,9; 161,0; 159,0; 146,5; 144,0; 142,8; 140,5; 132,2; 129,0; 123,9; 120,7; 120,6; 111,2; 55,6; 35,5; 31,4; 22,4; 13,8

(*E*)-3-(2-methoxyfenyl)-1-(5-propylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S60)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Krystaly získané sloupcovou chromatografií byly promyty vychlazeným bezvodým ethanolem.

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 282,35 (C₁₇H₁₈N₂O₂)

Výtěžek: 0,10 g (2 %)

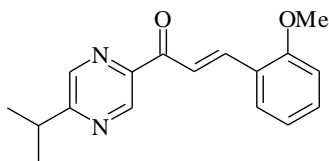
T. tání: 68 – 72 °C

Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,32	6,43	9,92
nalezeno	72,82	6,83	10,06

IČ spektrum: (KBr) 3081, 3035, 3012 (C-H arom., valenč.); 2960, 2931, 2869, 2838 (C-H alif., valenč.); 1667 (C=O, valenč.); 1596 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,10 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,16 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,13 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,72 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,13 (d, 1H, *J* = 7,8 Hz, H-3''); 7,51 – 7,42 (m, 1H, H-4''); 7,03 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz, H-5''); 7,81 (dd, 1H, *J* = 1,4; 7,8 Hz, H-6''); 3,90 (s, 3H, OCH₃); 2,86 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz, CH₂); 1,82 – 1,66 (m, 2H, CH₂); 0,91 (d, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 161,1; 158,8; 146,1; 143,5; 143,4; 139,5; 133,0; 129,1; 122,9; 121,1; 120,7; 112,1; 56,0; 36,9; 22,1; 13,8

(E)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-(2-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S61)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Krystaly získané sloupcovou chromatografií byly byly promyty vychlazeným bezvodým ethanollem.

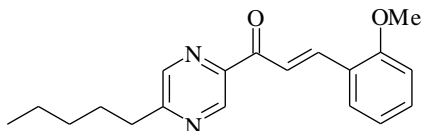
Popis: žluté krystaly
Mol. hm.: 282,35 (C₁₇H₁₈N₂O₂)
Výtěžek: 0,12 g (3 %)
T. tání: 59 – 63 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	72,32	6,43	9,92
nalezeno	72,33	6,64	10,00

IČ spektrum: (KBr) 2841, 2872, 2935 (C-H alif., valenč.); 1668 (C=O, valenč.); 1592 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,34 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,56 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'), 7,03 – 6,92 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,43 – 7,35 (m, 1H, H-4''); 7,76 (dd, 1H, *J* = 1,7; 7,7 Hz, H-6''); 3,92 (s, 3H, OCH₃); 3,30 – 3,14 (m, 1H, CH); 1,38 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,9; 165,3; 159,0; 146,7; 143,9; 141,5; 140,5; 132,1; 129,0; 123,9; 120,7; 111,2; 55,5; 34,3; 22,0

(E)-3-(2-methoxyfenyl)-1-(5-pentylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S62)

Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: lesklé žluté krystaly
Mol. hm.: 310,40 (C₁₉H₂₂N₂O₂)
Výtěžek: 0,19 g (4 %)
T. tání: 70 – 73 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	73,52	7,14	9,02
nalezeno	73,19	7,32	9,20

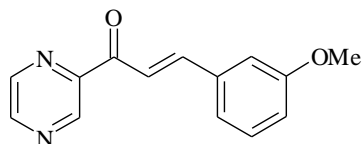
IČ spektrum: (KBr) 3075, 3038 (C-H arom., valenč.); 2998, 2957, 2931, 2892, 2868, 2858, 2841 (C-H alif., valenč.); 1671 (C=O, valenč.); 1594 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,34 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,52 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 6,92 (d, 1H, *J* =

8,0 Hz, H-3''); 7,43 – 7,35 (m, 1H, H-4''); 7,02 – 6,96 (m, 1H, H-5''); 7,76 (dd, 1H, $J = 1,7$; 8,0 Hz, H-6''); 2,90 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz, CH₂); 1,86 – 1,71 (m, 2H, CH₂); 1,44 – 1,29 (m, 4H, CH₂); 0,90 (t, 3H, $J = 7,4$ Hz, CH₃); 3,92 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,9; 161,0; 159,0; 146,5; 144,0; 142,8; 140,5; 132,2; 129,0; 123,9; 120,7; 120,6; 111,2; 55,5; 35,7; 31,4; 29,0; 22,4; 13,9

(E)-3-(3-methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S63)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: lesklé žluté krystaly

Mol. hm.: 240,26 (C₁₄H₁₂N₂O₂)

Výtěžek: 0,69 g (19 %)

T. tání: 98 – 101 °C

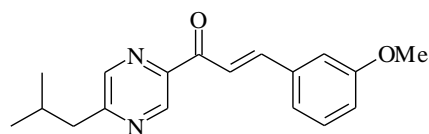
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	69,99	5,03	11,66
nalezeno	70,34	5,56	11,47

IČ spektrum: (KBr) 3072, 3048, 3028 (C-H arom., valenč.); 2938, 2917, 2833 (C-H alif., valenč.); 1672 (C=O, valenč.); 1602 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, $J = 16,2$ Hz, H-3); 9,37 (d, 1H, $J = 1,4$ Hz, H-3'); 8,70 (dd, 1H, $J = 1,4$; 2,5 Hz, H-5'); 8,77 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-6'); 7,39 – 7,29 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,02 – 6,94 (m, 1H, H-4''); 7,24 – 7,21 (m 1H, H-5''); 3,86 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,5; 159,9; 148,4; 147,4; 145,7; 144,8; 143,3; 136,0; 129,9; 121,7; 120,2; 116,9; 113,6; 55,3

(E)-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)-3-(3-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S64)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + diethylether 7 : 3 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 296,37 (C₁₈H₂₀N₂O₂)

Výtěžek: 0,20 g (5 %)

T. tání: 60 – 64 °C

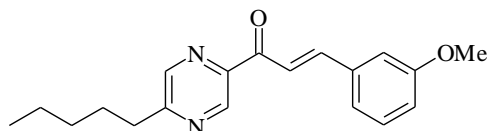
Element. analýza:	% C	% H	% N
vypočteno	72,95	6,80	9,45
nalezeno	72,86	7,00	9,24

IR spektrum: (KBr) 3059, 3046, 3011 (C-H arom., valenč.); 2962, 2954, 2930, 2918, 2866, 2838 (C-H alif., valenč.); 1670 (C=O, valenč.); 1607 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,92 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-2); 8,16 (d, 1H, *J* = 16,1 Hz, H-3); 9,29 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,50 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,24 – 7,20 (m, 1H, H-2'); 7,00 – 6,95 (m, 1H, H-4'); 7,38 – 7,29 (m, 2H, H-5'', H-6''); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 2,79 (t, 2H, *J* = 6,9 Hz, CH₂); 2,26 – 2,09 (m, 1H, CH); 0,97 (d, 6H, *J* = 6,9 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,6; 160,5; 159,9; 146,1; 145,2; 144,1; 143,3; 136,2; 129,9; 121,6; 120,5; 116,8; 113,5; 55,3; 44,7; 29,2; 22,3

(*E*)-3-(3-methoxyfenyl)-1-(5-pentylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (S65)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC (regenerovaný, deaktivovaný 5% vody)

Mobilní fáze: benzín + ethyl-acetát 9 : 1 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 310,40 (C₁₉H₂₂N₂O₂)

Výtěžek: 0,25 g (5 %)

T. tání: 42 – 44 °C

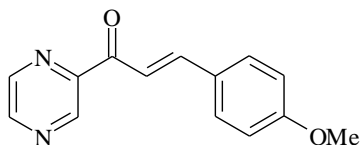
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	73,52	7,14	9,02
nalezeno	73,11	7,48	9,03

IR spektrum: (KBr) 3071, 3043, 3012 (C-H arom., valenč.); 2959, 2931, 2873, 2856, 2839 (C-H alif., valenč.); 1674 (C=O, valenč.); 1611 (C=C, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,92 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-2); 8,15 (d, 1H, *J* = 16,2 Hz, H-3); 9,27 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,53 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-6'); 7,37 – 7,28 (m, 2H, H-2', H-6''); 7,01 – 6,95 (m, 1H, H-4'); 7,25 – 7,20 (m, 1H, H-5''); 2,91 (t, 2H, *J* = 7,3 Hz, CH₂); 1,86 – 1,73 (m, 2H, CH₂); 1,42 – 1,31 (m, 4H, CH₂); 0,90 (t, 3H, *J* = 7,3 Hz, CH₃); 3,86 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,6; 161,3; 159,9; 146,1; 145,2; 144,0; 142,8; 136,2; 129,9; 121,6; 120,5; 116,8; 113,5; 55,3; 35,7; 31,4; 29,0; 22,4; 13,9

(*E*)-3-(4-methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (S66)



Látka byla připravena z 0,015 mol výchozích látek.

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: žluté krystaly

Mol. hm.: 240,26 (C₁₄H₁₂N₂O₂)

Výtěžek: 0,35 g (10 %)

T. tání: 91 – 93 °C (96,5 – 98 °C/ethanol [547])

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N
vypočteno	69,99	5,03	11,66
nalezeno	69,53	5,49	11,58

IČ spektrum: (KBr) 3077, 3044, 3004 (C-H arom., valenč.); 2958, 2850 (C-H alif., valenč.); 1664 (C=O, valenč.); 1598 (C=C, valenč.) (1653, 1595 cm⁻¹ [547])

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,95 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-2); 8,06 (d, 1H, *J* = 15,9 Hz, H-3); 9,36 (d, 1H, *J* = 1,7 Hz, H-3'); 8,68 (dd, 1H, *J* = 1,7; 2,5 Hz, H-5'); 8,75 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 7,72 – 7,64 (m, AA', BB', 2H, H-2'', H-6''); 6,98 – 6,90 (m, AA', BB', 2H, H-3'', H-5''); 3,85 (s, 3H, OCH₃)

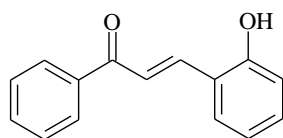
(8,12; 8,06; *J* = 16,2 Hz [547])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 188,4; 162,0; 148,7; 147,2; 145,7; 144,8; 143,3; 130,8; 127,5; 117,6; 114,4; 55,4

5.1.1.4 Příprava 1-fenyl-3-subst.fenylprop-2-en-1-onů (S67 – S72) Claisen-Schmidtovou kondensací

Příslušný aldehyd (0,010 mol) a acetofenon (0,010 mol) byly rozpuštěny v methanolu (30 ml). Ke vzniklému roztoku bylo přidáno 5 peciček hydroxidu sodného a směs byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě. Poté byl methanol oddestilován, ke směsi bylo přilito 50 ml vody a směs byla zneutralizována kyselinou octovou na pH 6 – 7. Po ochlazení v lednici byl vyloučený produkt podle míry znečištění buď pouze odsán a překrystalisován, nebo extrahován do etheru a chromatograficky dělen na sloupci. Po sloupcové chromatografii byly látky překrystalovány z bezvodého ethanolu.

(*E*)-1-fenyl-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (S67)



Tuto sloučeninu nebylo možné získat výše uvedeným postupem a pro její přípravu bylo nutné použít kondensaci v pyridinu uvedenou u pyrazinových analogů chalkonů (viz kap. 5.1.1.3).

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: žlutozelená krystalická látka

Mol. hm.: 224,26 (C₁₅H₁₂O₂)

Výtěžek: 4,56 g (41 %)

T. tání: 152 – 155 °C (152 – 153 °C [507])

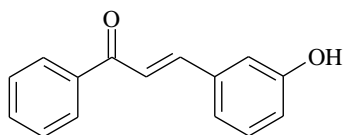
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H
vypočteno	80,34	5,39
nalezeno	79,81	5,70

IČ spektrum: (KBr) 3208 (O-H, valenč.); 3085 (C-H arom., valenč.); 1640 (C=O, valenč.); 1598 (C=C, valenč.); 1231 (C-O, fenoly, valenč.) (1640 cm⁻¹ [507])

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,85 (d překrytý, 1H *J* = 15,8 Hz, H-2); 8,05 (d překrytý, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-3); 8,13 – 8,06 (m, 1H, H-2', H-6'); 7,70 – 7,51 (m, 3H, H-3', H-4', H-5'); 6,94 (dd, 1H, *J* = 0,8; 7,8 Hz, H-3''); 7,31 – 7,23 (m, 1H, H-4''); 6,87 (t, 1H, *J* = 7,8 Hz, H-5''); 7,89 – 7,84 (m, 1H, H-6''); 10,29 (bs, 1H, OH)

(9,80 s [507])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 189,7; 157,5; 139,8; 138,1; 133,1; 132,3; 129,0; 128,9; 128,6; 121,6; 121,1; 119,6; 116,4

(E)-1-fenyl-3-(3-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (S68)

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: světle žlutá krystalická látka

Mol. hm.: 224,26 (C₁₅H₁₂O₂)

Výtěžek: 0,69 g (30 %)

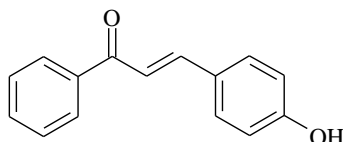
T. tání: 162 – 166 °C (156 – 158 °C/ethanol [549])

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H
vypočteno	80,34	5,39
nalezeno	79,84	5,67

IČ spektrum: (KBr) 3332 (O-H, valenč.); 3084, 3055, 3009 (C-H arom., valenč.); 1653 (C=O, valenč.); 1603 (C=C, valenč.); 1219 (C-O fenoly, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,71 – 7,50 (m, 4H, H-2, H-3', H-4', H-5'); 7,82 (d, 1H, J = 15,7 Hz, H-3); 8,16 – 8,10 (m, 1H, H-2', H-6'); 7,34 – 7,19 (m, 3H, H-2'', H-5'', H-6''); 6,87 (ddd, 1H, J = 1,4; 2,5; 7,7 Hz, H-4'')

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 189,4; 158,1; 144,6; 137,8; 136,1; 133,3; 130,1; 129,0; 128,7; 122,0; 120,0; 118,1; 115,5

(E)-1-fenyl-3-(4-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (S69)

Surový produkt byl překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: žlutá krystalická látka

Mol. hm.: 224,26 (C₁₅H₁₂O₂)

Výtěžek: 1,65 g (73 %)

T. tání: 162 – 166 °C (178 – 180 °C/CHCl₃ [332], 180 – 181 °C [550])

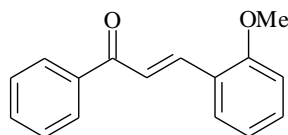
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H
vypočteno	80,34	5,39
nalezeno	80,23	5,50

IČ spektrum: (KBr) 3258 (O-H, valenč.); 3069, 3021 (C-H arom., valenč.); 1650 (C=O, valenč.); 1599 (C=C, valenč.); 1218 (C-O fenoly, valenč.) (3223, 1650 cm⁻¹ [332])

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,77 – 7,50 (m, 7H, H-2, H-3, H-3', H-4', H-5', H-2'', H-6''); 8,14 – 8,08 (m, 1H, H-2', H-6'); 6,87 – 6,80 (m, 2H, AA', BB', H-3'', H-5''); 10,12 (bs, 1H, OH)

(8,02 – 8,07 dd, 7,49 – 7,64 m, 6,85 dd, 7,68 d, 7,76 d [332])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 189,2; 160,4; 144,8; 138,2; 133,0; 131,3; 128,9; 128,6; 126,0; 118,6; 116,0

(E)-1-fenyl-3-(2-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S70)

Surový produkt byl rozpuštěn za laboratorní teploty v bezvodém ethanolu a vzniklý roztok byl zahuštěn za sníženého tlaku ke krystalizaci.

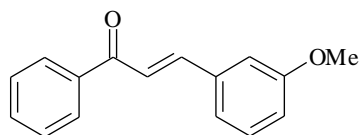
Popis: světle žlutá krystalická látka
Mol. hm.: 238,29 (C₁₆H₁₄O₂)
Výtěžek: 2,10 g (88 %)
T. tání: 58 – 62 °C (60 – 61,5 °C [507])

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H
vypočteno	80,65	5,92
nalezeno	80,33	6,08

IČ spektrum: (KBr) 3061, 3026, 3014 (C-H arom., valenč.); 1661 (C=O, valenč.); 1602 (C=C, valenč.); 1251 (C-O ethery, valenč.) (1660 cm⁻¹ [507])

¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,88 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-2); 8,06 (d, 1H, *J* = 15,8 Hz, H-3); 8,14 – 8,09 (m, 1H, H-2', H-6'); 7,60 – 7,52 (m, 2H, H-3', H-5'); 7,69 – 7,62 (m, 1H, H-4'); 7,11 (d, 1H, *J* = 8,2 Hz, H-3''); 7,49 – 7,41 (m, 1H, H-4''); 7,06 – 6,99 (m, 1H, H-5''); 7,97 (dd, 1H, *J* = 1,6; 7,7 Hz, H-6'') (3,89 s, 3H, OCH₃ [507])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 189,5; 158,5; 138,8; 137,9; 133,3; 132,6; 129,0; 128,7; 128,6; 123,1; 122,0; 120,9; 112,0; 55,9

(E)-1-fenyl-3-(3-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S71)

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silikagel 60 Merck (0,040 – 0,063 mm)

Mobilní fáze: lékařský benzín + ethyl-acetát 8 : 2 (v/v)

Popis: světle žlutá krystalická látka
Mol. hm.: 238,29 (C₁₆H₁₄O₂)
Výtěžek: 0,63 g (26 %)
T. tání: 54 – 59 °C (54 – 56 °C [18])

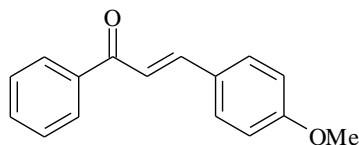
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H
vypočteno	80,65	5,92
nalezeno	80,37	6,08

IČ spektrum: (KBr) 3082, 3074, 3061, 3028, 3011 (C-H arom., valenč.); 1657 (C=O, valenč.); 1604 (C=C, valenč.); 1270 (C-O ethery, valenč.) (1665, 1595 cm⁻¹ [18])

¹H NMR spektrum: 300 MHz, DMSO) δ 7,72 (d, 1H, *J* = 15,7 Hz, H-2); 7,95 (d, 1H, *J* = 15,7 Hz, H-3); 8,20 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,62 – 7,53 (m, 2H, H-3', H-5'); 7,69 – 7,63 (m, 1H, H-4'); 7,52 – 7,47 (m, 1H, H-2''); 7,05 – 6,99 (m, 1H, H-4''); 7,36 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz, H-5''); 7,47 – 7,41 (m, 1H, H-6''); 3,82 (s, 3H, OCH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 189,4; 159,9; 144,3; 137,7; 136,3; 133,4; 130,1; 129,0; 128,8; 122,5; 121,9; 117,0; 113,6; 55,5

(¹H i ¹³C NMR spektra v ref. [18])

(E)-1-fenyl-3-(4-methoxyfenyl)prop-2-en-1-on (S72)

Surový produkt byl překrystalisován z bezvodého ethanolu.

Popis: světle žluté jehlicovité krystaly

Mol. hm.: 238,29 (C₁₆H₁₄O₂)

Výtěžek: 1,23 g (52 %)

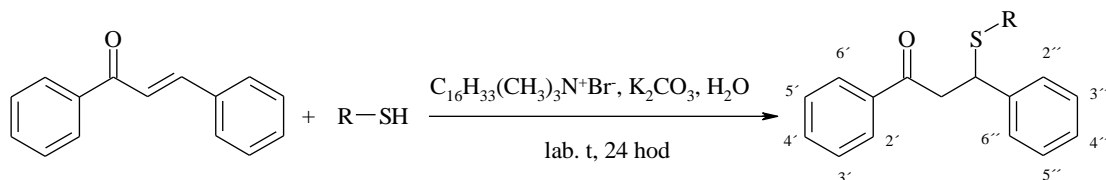
T. tání: 72 – 75 °C (72 – 74 °C [507])

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H
vypočteno	80,65	5,92
nalezeno	80,72	6,25

IČ spektrum: (KBr) 3088, 3073, 3057, 3039, 3028, 3015 (C-H arom., valenč.); 1658 (C=O, valenč.); 1600 (C=C, valenč.); 1264 (C-O ethery, valenč.) (1660 cm⁻¹ [507])

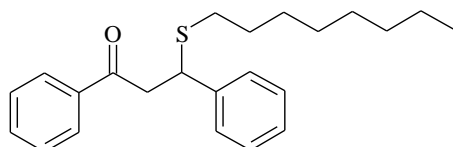
¹H NMR spektrum: (300 MHz, DMSO) δ 7,76 (d, 2H, *J* = 12,9 Hz, H-2, H-3); 8,17 – 8,09 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,60 – 7,52 (m, 2H, H-3', H 5'); 7,70 – 7,62 (m, 1H, H-4'); 7,89 – 7,82 (m, AA', BB', 2H, H-2'', H-6''); 7,05 – 6,79 (m, AA', BB', 2H, H-3'', H-5''); 3,81 (s, 3H, OCH₃) (3,75 s, 3H, CH₃ [507])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, DMSO) δ 189,2; 161,6; 144,3; 138,0; 133,1; 131,1; 129,0; 128,6; 127,5; 119,7; 114,6; 55,6

5.1.1.5 Příprava 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1,3-difenylpropan-1-onů (S73 – S79) Michaelovou adicí

Pozn. ke schématu: pokud R = fenyl, jsou C v ¹³C NMR spektrech značeny 3 čárkami.

Ke směsi práškovaného (E)-1,3-difenylprop-2-en-1-onu (0,0021 mol), hexadecyltrimethylamonium-bromidu (0,00021 mol) a uhličitanu draselného (0,00063 mol) ve vodě (5 ml) byl za míchání přidán příslušný thiol (0,0023 mol). Směs byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě. Vyloučený produkt byl vždy odsán, promyt vodou a podle míry znečištění byl zvolen způsob jeho čištění.

1,3-difenyl-3-oktylsulfanylpropan-1-on (S73)

Látka byla z reakce získána v dostatečné čistotě.

Popis: bílá práškovitá látka

Mol. hm.: 354,56 (C₂₃H₃₀OS)

Výtěžek: 0,650 g (87 %)

T. tání: 44 – 46 °C (47,5 – 48 °C [551])

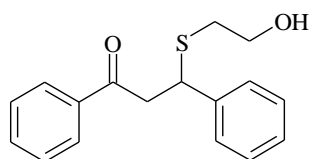
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% S
vypočteno	77,92	8,53	9,04
nalezeno	77,95	8,55	9,57

IČ spektrum: (KBr) 2952, 2924, 2871, 2850 (C-H alif., valenč.); 1681 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,96 – 7,88 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,60 – 7,16 (m, 8H, H-3', H-4', H-5', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''); 4,55 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, CH); 3,56 – 3,51 (m, 2H, CH₂); 2,43 – 2,23 (m, 2H, CH₂); 1,57 – 1,39 (m, 2H, CH₂); 1,36 – 1,14 (m, 10H, CH₂); 0,87 (t, 3H, $J = 6,7$ Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 197,0; 142,3; 136,8; 133,2; 128,6; 128,5; 128,1; 127,8; 127,2; 45,4; 44,3; 31,8; 31,5; 29,1; 29,1; 29,1; 28,8; 22,6; 14,1

1,3-difenyl-3-(2-hydroxyethyl)sulfanylpropan-1-on (S74)



Látka byla překrystalisována z bezvodého ethanolu při 50 °C.

Popis: bílá práškovitá látka
Mol. hm.: 286,40 (C₁₇H₁₈O₂S)
Výtěžek: 0,333 g (55 %)
T. tání: 62 – 67 °C (lit. 65 – 67 °C/ethanol [462])

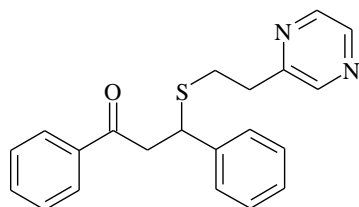
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% S
vypočteno	71,30	6,34	11,20
nalezeno	71,47	6,35	10,87

IČ spektrum: (KBr) 3424 (O-H, valenč.); 3061 (C-H arom., valenč.); 2922, 2891 (C-H alif., valenč.); 1685 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,98 – 7,88 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,62 – 7,18 (m, 8H, H-3', H-4', H-5', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''); 4,60 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz, CH); 3,78 – 3,43 (m, 4H, CH₂); 2,58 (t, 2H, $J = 5,8$ Hz, SCH₂); 2,31 (bs, 1H, OH)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 196,9; 142,1; 136,6; 133,4; 128,7; 128,6; 128,1; 127,7; 127,5; 60,5; 45,4; 43,7; 34,6

1,3-difenyl-3-(2-pyrazin-2-ylethyl)sulfanylpropan-1-on (S75)



Látka byla čistěna krystalisací z bezvodého ethanolu.

Popis: bílé jehličkovité krystaly
Mol. hm.: 348,47 (C₂₁H₂₀N₂OS)
Výtěžek: 0,611 g (84 %)
T. tání: 94 – 97 °C

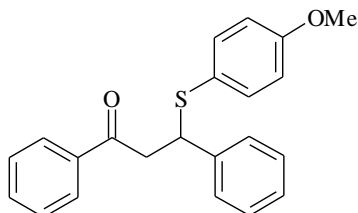
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N	% S
vypočteno	72,38	5,79	8,04	9,20
nalezeno	72,52	5,78	8,15	9,13

IČ spektrum: (KBr) 3082, 3059, 3036, 3026, 3005 (C-H arom., valenč.); 2957, 2941, 2927, 2889, 2857, 2815 (C-H alif., valenč.); 1685 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 8,48 – 8,31 (m, 3H, H-3', H-5', H-6'); 7,93 – 7,87 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,61 – 7,17 (m, 8H, H-3'', H-4'', H-5'', H-2''', H-3''', H-4''', H-5''', H-6'''); 4,59 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, CH); 3,52 (d, 2H, *J* = 7,1 Hz, CH₂); 3,00 – 2,90 (m, 2H, CH₂); 2,86 – 2,69 (m, 2H, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 196,6; 155,5; 144,8; 144,0; 142,5; 141,9; 136,6; 133,3; 128,6; 128,6; 128,1; 127,8; 127,4; 45,2; 44,5; 34,9; 30,6

1,3-difenyl-3-(4-methoxyfenyl)sulfanylpropan-1-on (S76)



Látka byla čištěna krystalisací z bezvodého ethanolu.

Popis: drobné jehličkovité bílé krystaly

Mol. hm.: 348,47 (C₂₂H₂₀O₂S)

Výtěžek: 0,530 g (72 %)

T. tání: 119 – 120 °C (115,5 – 120 °C/ethanol [525])

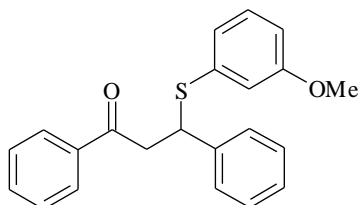
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% S
vypočteno	75,83	5,79	9,20
nalezeno	75,33	5,74	9,03

IČ spektrum: (KBr) 3064, 3027 (C-H arom., valenč.); 2958, 2932, 2894 (C-H alif., valenč.); 1682 (C=O, valenč.); 1249 (C-O ethery, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,92 – 7,86 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,60 – 7,50 (m, 1H, H-4'); 7,48 – 7,38 (m, 2H, H-3', H-5'); 7,30 – 7,15 (m, 7H, H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'', H-2''', H-6'''); 6,80 – 6,72 (m, 2H, AA', BB', H-3''', H-5'''); 4,79 (t, 1H, *J* = 7,1 Hz, CH); 3,77 (s, 3H, OCH₃); 3,61 (d, 1H, *J* = 4,4 Hz, CH₂); 3,59 (d, 1H, *J* = 3,3 Hz, CH₂) (3,58 dd, 2H; 3,76 s, 3H; 4,78 d, 1H, 6,75 d, 2H, 7,17 – 7,25 m, 7H; 7,42 t, 2H; 7,54 d, 1H; 7,87 d, 2H [525])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 197,1; 159,8; 141,3; 136,8; 136,2; 133,2; 128,6; 128,3; 128,0; 127,8; 127,2; 124,2; 114,3; 55,2; 49,3; 44,2

1,3-difenyl-3-(3-methoxyfenyl)sulfanylpropan-1-on (S77)



Látka byla čištěna krystalisací z bezvodého ethanolu.

Popis: drobné jehličkovité bílé krystaly

Mol. hm.: 348,47 (C₂₂H₂₀O₂S)

Výtěžek: 0,530 g (73 %)

T. tání: 88 – 90 °C

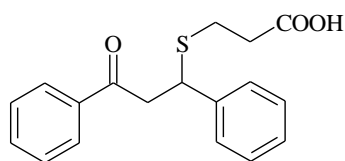
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% S
vypočteno	75,83	5,79	9,20
nalezeno	75,48	5,83	9,03

IČ spektrum: (KBr) 3060, 3037, 3026, 3002 (C-H arom., valenč.); 2961, 2935, 2903, 2831 (C-H alif., valenč.); 1680 (C=O, valenč.); 1237 (C-O ethery, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 7,91 – 7,86 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,60 – 7,10 (m, 9H, H-3', H-4', H-5', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6'', H-5'''); 6,97 – 6,92 (m, 1H, H-4'''); 6,83 – 6,81 (m, 1H, H-2'''); 6,76 (ddd, 1H, *J* = 8,2; 2,5; 0,8 Hz, H-6'''); 4,99 (dd, 1H, *J* = 8,0; 6,1 Hz, CH); 3,69 (s, 3H, OCH₃); 3,65 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz, CH₂); 3,61 (d, 1H, *J* = 6,3 Hz, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 196,9; 159,6; 141,1; 136,7; 135,4; 133,2; 129,6; 128,6; 128,5; 128,0; 127,8; 127,4; 124,6; 117,2; 113,8; 55,2; 47,9; 44,7

1,3-difenyl-3-(2-karboxyethyl)sulfanylpropan-1-on (S78)



Chalkon (2,08 g; 0,00999 mol) a kyselina 3-sulfanylpropionová (1,60 g; 0,0151 mol) byly rozpuštěny v toluenu (50 ml) a refluxovány 6 hodin. Rozpouštědlo bylo za vakua odpařeno a zbytek po krystalizaci z bezvodého ethanolu, poskytl adiční sloučeninu.

Popis: bílé krystaly
Mol. hm.: 314,41 (C₁₈H₁₈O₃S)
Výtěžek: 2,12 g (68 %)
T. tání: 158 – 161 °C (lit. 161 – 162 °C [524])

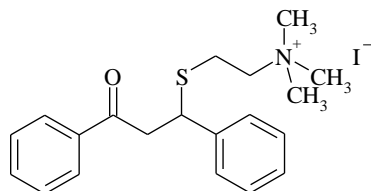
<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% S
vypočteno	68,76	5,77	10,20
nalezeno	69,18	5,80	10,08

IČ spektrum: (KBr) 3058, 3027 (C-H arom., valenč.); 2919, 2902, 2851 (C-H alif., valenč.); 1696 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,52 (bs, 1H, OH); 7,96 – 7,86 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,61 – 7,17 (m, 8H, H-3', H-4', H-5', H-2'', H-3'', H-4'', H-5'', H-6''); 4,59 (t, 1H, *J* = 7,0 Hz, CH); 3,58 – 3,50 (m, 2H, CH₂); 2,66 – 2,56 (m, 2H, CH₂); 2,56 – 2,46 (m, 2H, CH₂) (2,55 dd, 4H; 3,52 d, 2H; 4,58 t, 1H; 7,28 – 7,93 m, 10H [524])

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 196,7; 177,3; 141,6; 136,6; 133,3; 128,7; 128,6; 128,1; 127,8; 127,5; 45,2; 44,4; 34,1; 26,0

2-(1,3-difenyl-3-oxopropyl-1-sulfanyl)ethyltrimethylamonium-jodid (S79)



Roztok chalkonu (208,26 mg; 1,0 mmol), thiocholin-jodidu (370,7 mg; 1,5 mmol) a triethylaminu (TEA, 11,6 mg; 0,1 mmol) v methanolu (32,0 ml) byl míchán pod argonem při laboratorní teplotě po dobu 20 hodin. Vzniklá sraženina byla odsána, vysušena a překrystalisována ze směsi aceton/voda.

Popis: drobné bílé krystaly

Mol. hm.: 455,40 (328,50 + 126,90)
 Výtěžek: 73,1 mg (16 %)
 T. tání: 149 – 152°C

Element. analýza:	% C	% H	% N	% S
vypočteno	52,75	5,75	3,51	7,04
nalezeno	52,90	5,79	3,21	8,51

¹H NMR spektrum: (500 MHz, DMSO) δ 2,54 – 2,60 (m, 1H, CH₂N); 2,80 – 2,86 (m, 1H, CH₂N); 3,01 (s; 9H, CH₃); 3,36 – 3,42 (m, 1H, SCH₂); 3,50 – 3,56 (m, 1H, SCH₂); 3,71 (dd, 1H, J = 6,58; 17,68 Hz, COCH₂); 3,80 (dd, 1H, J = 8,03; 17,68 Hz, COCH₂); 4,58 (t, 1H, J = 7,23 Hz, CHS); 7,23 – 8,03 (m, 10H, Ph)

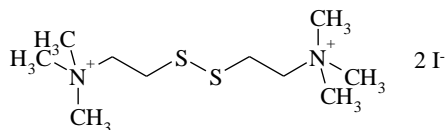
¹³C NMR spektrum: (125 MHz, DMSO) δ 23,09 (SCH₂); 43,40 (CH); 43,83 (COCH₂); 52,26 (t, J = 3,59 Hz, CH₃); 64,22 (CH₂N); 127,47; 128,03; 128,20; 128,58; 128,85; 133,56; 136,54; 141,59 (C_{ar}); 197,0 (C=O)

MS spektrum: EI (m/z); 105,1 (100); 130,9 (11); 148,9 (38); 167,0 (3); 177,2 (6); 205,0 (5); 208,9 (65); 241,1 (6); 269,0 (16); 279,2 (7); 315,2 (4); 328,2 (67); 391,2 (13); 417,3 (4)

Reakční podmínky**Surový výtěžek (%)**

ekvimolární množství, bez Ar	20
1,5 ekv thiocholinu, s Ar	32
1,5 ekv thiocholinu, s Ar a 10 mol % TEA	40

Při rekrystalisaci surového produktu **S79** z acetonitrilu byl získán **disulfid thiocholinu (S80)**



Popis: bílé práškovité krystaly

Mol. hm.: 492,26 (238,46 + 2 × 126,90)

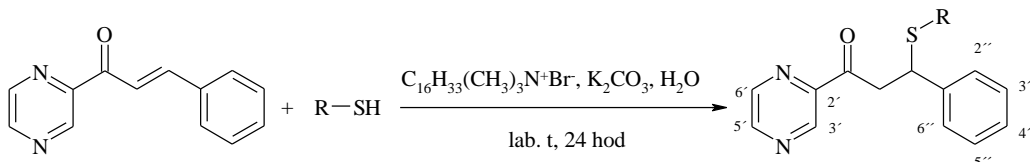
T. tání: 230°C za rozkladu

¹H NMR spektrum: (500 MHz, DMSO) δ 3,13 (s, 9H, CH₃); 3,23 – 3,26 (m, 2H); 3,62 – 3,65 (m, 2H)

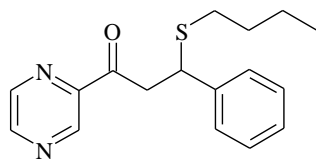
¹³C NMR spektrum: (125 MHz, DMSO) δ 30,19 (SCH₂); 52,68 (t, J = 3,23 Hz, CH₃); 64,39 (CH₂N)

MS spektrum: EI (m/z); 58,2 (75); 104,1 (2); 126,9 (35); 185,9 (4); 253,8 (100)

5.1.1.6 Příprava 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1-pyrazin-2-yl-3-aryl-propan-1-onů (S81 – S85) Michaelovou adicí



Ke směsi práškového (*E*)-1-pyrazin-2-yl-3-arylprop-2-en-1-onu (0,0021 mol), hexadecyltrimethylamonium-bromidu (0,00021 mol) a uhličitanu draselného (0,00063 molu) ve vodě (5 ml) byl za míchání přidán příslušný thiol (0,0023 mol). Směs byla míchána 24 hodin při laboratorní teplotě. Vyloučený produkt byl vždy odsán, promyt vodou a podle míry znečištění byl zvolen způsob jeho čištění.

3-butylsulfanyl-3-fenyl-1-pyrazin-2-ylpropan-1-on (S81)

Látka byla rozpuštěna za laboratorní teploty v bezvodém ethanolu a vzniklý roztok zahuštěn za sníženého tlaku ke krystalisaci.

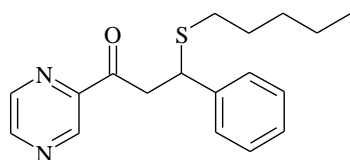
<i>Popis:</i>	bílé lesklé krystaly
<i>Mol. hm.:</i>	300,43 (C ₁₇ H ₂₀ N ₂ OS)
<i>Výtěžek:</i>	0,496 g (78 %)
<i>T. tání:</i>	58 – 60 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N	% S
vypočteno	67,97	6,71	9,32	10,67
nalezeno	67,47	6,63	9,33	10,66

I^C spektrum: (KBr) 3076, 3068, 3057, 3007 (C-H arom., valenč.); 2952, 2926, 2889, 2875, 2856 (C-H alif., valenč.); 1701 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,17 (s, 1H, H-3'); 8,73 (s, 1H, H-6'); 8,64 (s, 1H, H-5'); 7,44 – 7,38 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,33 – 7,25 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,24 – 7,17 (m, 1H, H-4''); 4,53 (t, 1H, *J* = 7,4 Hz, CH); 3,80 – 3,75 (m, 2H, CH₂); 2,43 – 2,23 (m, 2H, CH₂); 1,56 – 1,38 (m, 2H, CH₂); 1,38 – 1,20 (m, 2H, CH₂); 0,82 (t, 3H, *J* = 7,3 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 198,2; 147,7; 147,3; 143,7; 143,5; 142,0; 128,5; 127,8; 127,2; 44,3; 44,1; 31,2; 30,9; 21,9; 13,6

3-fenyl-3-pentylsulfanyl-1-pyrazin-2-ylpropan-1-on (S82)

Látka byla rozpuštěna za laboratorní teploty v bezvodém ethanolu a vzniklý roztok zahuštěn za sníženého tlaku ke krystalisaci.

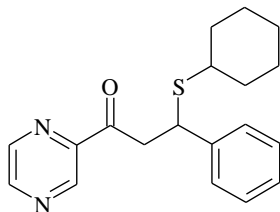
<i>Popis:</i>	bílé krystaly
<i>Mol. hm.:</i>	314,45 (C ₁₈ H ₂₂ N ₂ OS)
<i>Výtěžek:</i>	0,488 g (74 %)
<i>T. tání:</i>	43 – 45 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N	% S
vypočteno	68,75	7,05	8,91	10,20
nalezeno	68,26	6,94	8,93	10,07

I^C spektrum: (KBr) 3076, 3059, 3038, 3027 (C-H arom., valenč.); 2953, 2925, 2870, 2857 (C-H alif., valenč.); 1701 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,16 (d, 1H, *J* = 1,5 Hz, H-3'); 8,74 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 8,64 (dd, 1H, *J* = 2,5; 1,5 Hz, H-5'); 7,44 – 7,37 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,33 – 7,25 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,24 – 7,17 (m, 1H, H-4''); 4,53 (t, 1H, *J* = 7,4 Hz, CH); 3,80 – 3,75 (m, 2H, CH₂); 2,41 – 2,23 (m, 2H, CH₂); 1,57 – 1,38 (m, 2H, CH₂); 1,31 – 1,15 (m, 4H, CH₂); 0,83 (t, 3H, *J* = 7,0 Hz, CH₃)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 198,2; 147,7; 147,3; 143,7; 143,5; 142,0; 128,5; 127,8; 127,2; 44,3; 44,1; 31,3; 31,0; 28,8; 22,2; 13,9

3-cyklohexylsulfanyl-3-fenyl-1-pyrazin-2-ylpropan-1-on (S83)

Látka byla čištěna krystalisací z bezvodého ethanolu.

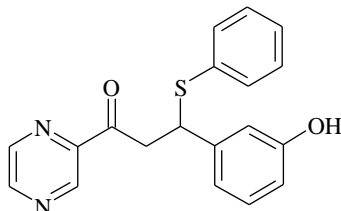
Popis: nažloutlé jehličkovité krystaly
Mol. hm.: 326,46 (C₁₉H₂₂N₂OS)
Výtěžek: 0,579 g (84 %)
T. tání: 87 – 90 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N	% S
vypočteno	69,90	6,79	8,58	9,82
nalezeno	69,80	6,76	8,66	9,59

IC spektrum: (KBr) 3058, 3028 (C-H arom., valenč.); 2931, 2852 (C-H alif., valenč.); 1701 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,15 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,73 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 8,64 – 8,61 (m, 1H, H-5'); 7,46 – 7,38 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,33 – 7,24 (m, 2H, H-3'', H-5''); 7,24 – 7,16 (m, 1H, H-4''); 4,62 (t, 1H, *J* = 7,4 Hz, CH); 3,77 – 3,72 (m, 2H, CH₂); 2,52 – 2,36 (m, 1H, CH); 2,08 – 1,90 (m, 1H, CH₂); 1,79 – 1,45 (m, 4H, CH₂); 1,41 – 1,08 (m, 5H, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 198,2; 147,8; 147,3; 143,8; 143,4; 142,6; 128,4; 127,7; 127,1; 44,8; 43,1; 42,7; 33,5; 33,2; 25,7

3-fenylsulfanyl-3-(3-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylpropan-1-on (S84)

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Silpearl pro TLC

Mobilní fáze: toluen + ethyl-acetát 5 : 5 (v/v)

Popis: nažloutlé krystaly
Mol. hm.: 336,42 (C₁₉H₁₆N₂O₂S)
Výtěžek: 0,250 g (35 %)
T. tání: 137 – 140 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N	% S
vypočteno	67,84	4,79	8,33	9,53
nalezeno	67,62	4,99	8,11	9,48

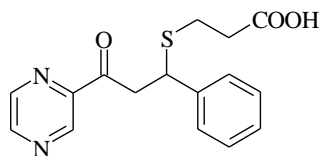
IC spektrum: (KBr) 3432 (O-H, valenč.); 3074, 3054, 3024 (C-H arom., valenč.); 2988, 2928, 2852 (C-H alif., valenč.); 1701 (C=O, valenč.); 1252 (C-O fenoly, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,13 (d, 1H, *J* = 1,4 Hz, H-3'); 8,74 (d, 1H, *J* = 2,5 Hz, H-6'); 8,63 (dd, 1H, *J* = 2,5; 1,4 Hz, H-5'); 7,37 – 7,28 (m, 2H, H-2''', H-6'''); 7,25 – 7,17 (m, 3H, H-3''', H-4''', H-5'''); 7,11 (t, 1H, *J* = 7,9 Hz, H-5''); 6,92 – 6,87 (m, 1H, H-6''); 6,82 (t,

1H, $J = 2,3$ Hz, H-2''); 6,66 (ddd, 1H, $J = 7,9; 2,3; 0,8$ Hz, H-4''); 4,94 – 4,83 (m, 1H, CH); 3,95 – 3,70 (m, 2H, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 198,1; 155,5; 147,9; 147,1; 143,8; 143,5; 142,9; 134,0; 133,0; 129,7; 128,8; 127,7; 120,3; 114,7; 114,5; 48,0; 43,8

3-fenyl-3-(2-karboxyethyl)sulfanyl-1-pyrazin-2-ylpropan-1-on (S85)



(*E*)-3-fenyl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-on (0,220 g; 0,001 mol) a kyselina 3-sulfanylpropionová (0,170 g; 0,0016 mol) byly rozpuštěny v toluenu (5,2 ml) a refluxovány 6 hodin. Rozpouštědlo bylo za vakua odpařeno a zbytek překrystalisovaný za varu z bezvodého ethanolu, poskytl adiční sloučeninu.

Popis: nažloutlé krystaly
Mol. hm.: 316,38 (C₁₆H₁₆N₂O₃S)
Výtěžek: 0,160 g (48 %)
T. tání: 130 – 133 °C

<i>Element. analýza:</i>	% C	% H	% N	% S
vypočteno	60,74	5,10	8,85	10,13
nalezeno	60,45	5,41	8,50	9,74

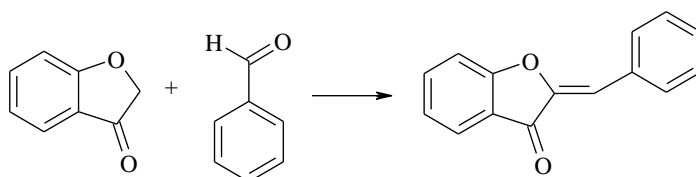
IČ spektrum: (KBr) 3080, 3059, 3027 (C-H arom., valenč.); 2956, 2923, 2891, 2852 (C-H alif., valenč.); 1700 (C=O, valenč.)

¹H NMR spektrum: (300 MHz, CDCl₃) δ 9,52 (bs, 1H, OH); 9,16 (d, 1H, $J = 1,7$ Hz, H-3'); 8,75 (d, 1H, $J = 2,5$ Hz, H-6'); 8,65 (dd, 1H, $J = 2,5; 1,7$ Hz, H-5'); 7,45 – 7,37 (m, 2H, H-2'', H-6''); 7,35 – 7,18 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''); 4,57 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, CH); 3,81 – 3,75 (m, 2H, CH₂); 2,66 – 2,57 (m, 2H, CH₂); 2,54 – 2,46 (m, 2H, CH₂)

¹³C NMR spektrum: (75 MHz, CDCl₃) δ 197,8; 177,2; 147,7; 147,3; 143,6; 143,5; 141,3; 128,6; 127,8; 127,6; 44,3; 44,1; 34,1; 25,8

5.1.2 Syntéza 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-onu (S88)

5.1.2.1 Syntéza auronu (S86)

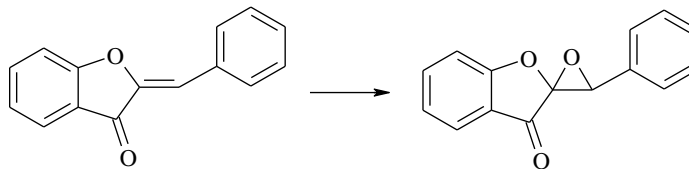


K roztoku benzaldehydu (2,00 g; 18,66 mmol) a 3-kumaranonu (1,34 g; 10,00 mmol; Fluka) v dichlormethanu (DCM, 40 ml) byl přidán oxid hlinitý (32,5 g; 320 mmol; Aluminiumoxid aktiviert, basischer typ 5016A, Brockmann I (Standard); Aldrich). Směs byla za laboratorní teploty 6 hodin intenzivně míchána v baňce za nepřístupu světla (hliníková folie). Průběh reakce byl sledován pomocí TLC (toluen). Suspenze byla zfiltrována a oxid hlinitý byl promyt DCM (cca 350 ml), rozpouštědlo bylo odpařeno a získaná sraženina byla překrystalisována ze směsi DCM/methanol. Látka byla identifikována pomocí teploty tání a na základě porovnání TLC (DC-Alufolien, Kieselgel 60 F₂₄₅, Merck) se standardem, který byl připraven dříve [8].

Popis: žluté krystaly
Mol. hm.: 222,24

Výtěžek: 2,02 g (91 %)
T. tání: 95 – 102 °C (106 – 108 °C/ DCM/methanol [8], 110 – 111 °C/DCM/MeOH [532], 110 – 111 °C/zřed. ethanol [540], 109 – 110 °C [535], 112 – 114 °C/ethanol [552])

5.1.2.2 Syntéza *trans*-auronepoxidu (S87)



K roztoku auronu (1,65 g; 7,4 mmol) v dioxanu (100 ml) byl pomalu současně přidáván 30% peroxid vodík (5,0 ml; 1,50 g; 44,0 mmol) a 40% benzyltrimethylamonium-hydroxid (1,65 ml, Triton B) v methanolu. Směs byla míchána 40 minut při laboratorní teplotě, poté byla přidána směs ledu a vody (330 ml). Po rozpuštění ledu byl vyloučený produkt odsán, promyt důkladně vodou a vysušen nad bezvodým chloridem vápenatým ve vakuu. Surový produkt byl překrystalisován ze směsi chloroform/benzín. Látka byla identifikována pomocí teploty tání a na základě porovnání TLC (DC-Alufolien, Kieselgel 60 F₂₄₅, Merck) se standardem, který byl připraven dříve [8].

Popis: žluté krystaly
Mol. hm.: 238,25
Výtěžek: 0,77 g (43 %)
T. tání: 118 – 122 °C (112 – 113 °C [8], 133 – 134 °C/CHCl₃/ligroin [538])

5.1.2.3 Štěpení epoxidového kruhu *trans*-auronepoxidu

Schlenkova baňka s 10% Pd-C (315,0 mg; 0,294 mmol Pd) byla evakuována, promyta dusíkem a naplněna z balónku vodíkem. Auronepoxid (200 mg; 0,839 mmol) byl rozpuštěn za tepla v bezvodém a odplyněném příslušném rozpouštědle (70 ml). Roztok byl přenesen do baňky a míchán uvedenou dobu při uvedené teplotě. Konec reakce potvrdila TLC (DC-Alufolien, Kieselgel 60 F₂₄₅, Merck; toluen + acetonitril 4 : 1). Suspenze byla přefiltrována přes sterilní filtr, filtr s Pd/C byl promyt rozpouštědlem a z filtrátu bylo vakuově oddestilováno rozpouštědlo. Získaný olej byl přečištěn sloupcovou chromatografií a produkt vysušen (olejová vývěva).

Tab. 26. Reakční podmínky epoxidového štěpení a získané produkty

Rozp.	Reakční čas	Reakční tepl.	Čištění	Výtěžek
ethanol	1 hod.	lab.		směs více látek
ethanol	30 min.	lab.	rekrytal. z ethyl-acetátu	37 mg (18 %) bílých kryst. s t. t. 111 – 117°C další nežád. prod.
ethanol	15 min.	lab.		bílé kryst. a další nežád. prod.
ethanol	1 hod	lab.		bílé kryst. a další nežád. prod.
toluen	1 hod.	lab.	*CC	61,5 mg (30 %) žlutého oleje 34,9 mg (17 %) žlutých kryst.
toluen	2,5 hod.	– 25 °C	*CC rekrytal. z ethyl-acetát/hexan	39,8 mg (20 %) žlutého oleje 132,1 mg (65 %) žlutých. kryst. po krystal. 51,9 mg, t. t. 97 – 99°C
toluen	4,75 hod.	lab.	**CC	směs více látek

Chromatografické podmínky sloupcové chromatografie (CC):

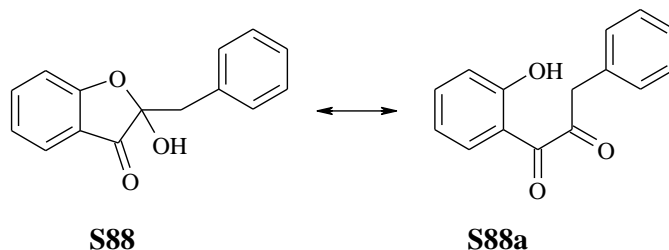
*16 g Silicagel F₂₅₄, 0,063 – 0,020 mm (Merck); DCM + ethyl-acetát 99 : 1

**16 g Silicagel F₂₅₄, 0,063 – 0,020 mm (Merck); DCM + ethyl-acetát 95 : 5

Získané produkty:

Bílé krystaly získané z reakce prováděné v ethanolu se nepodařilo identifikovat.

(±)-2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2H)-on (S88)

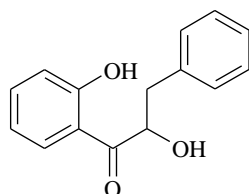


Popis: žluté krystaly
Mol. hm.: 240,26 (C₁₅H₁₂O₃)
Výtěžek: 0,1321 g (65 %)
T. tání: 93 – 95°C/ethyl-acetát/hexan (105°C/petrolether/ether [488], 102,5 – 103,5°C/ethyl-acetát/hexan [544], 104°C [543], 101 – 102°C [527], 105 – 106°C [553])
¹H NMR spektrum: (500 MHz, DMSO) δ 3,08 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H, CH₂); 3,16 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H, CH₂); 6,95 – 7,00 (m, 1H, H-5); 7,04 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, H-7); 7,07 – 7,16 (m, 5H, arom. H); 7,46 (dd, *J* = 0,8; 7,7 Hz, 1H, H-4); 7,58 – 7,62 (m, 1H, H-6); 7,82 (s, OH) (3,19; 3,26 ABq 2H; 3,70 br s 1H; 6,90 – 7,60 m, 9H [488])
¹³C NMR spektrum: (125 MHz, DMSO): δ 41,35 (CH₂); 105,22 (C-2); 113,04 (C-7); 119,59 (C-3a); 121,74 (C-5); 124,22 (C-4); 126,76 (C-4'); 127,87 (C-3', C-5'); 130,52 (C-2', C-6'); 133,82 (C-1'); 139,03 (C-6); 169,98 (C-7a), 199,16 (C=O)
MS spektrum: EI (*m/z*) 91 (30), 121 (100), 240 (10) (64 (18), 90 (31), 92 (19), 94 (10), 121 (100), 149 (7), 240 (8) [488])

Vybraná NMR data auronolu **S88** a isomerního 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenylpropan-1,2-dionu **S88a** v CDCl₃:

T. tání diketonu: (114 – 117 °C/methanol [554])
¹H NMR spektrum: (400 MHz, CDCl₃) δ 3,09 (d, *J* = 13,9 Hz, 1H, CH₂, **S88**); 3,18 (d, 1H, *J* = 13,9 Hz, CH₂, **S88**); 3,53 (s, 1H, OH, **S88**), 4,10 (s, 2H, CH₂, **S88a**); 6,70 – 7,60 (m, arom. H, **S88** a **S88a**); 11,21 (s, 1H, OH, **S88a**)
¹³C NMR spektrum: (100 MHz, DMSO): δ 41,26 (CH₂, **S88**); 45,65 (CH₂, **S88a**); 103,60 (C-2, **S88**); 163,85 (C-OH, **S88a**); 170,44 (C-7a, **S88**); 196,54 (C-2, **S88a**); 197,91 (C-1, **S88a**); 198,45 (C-3, **S88**)

(±)-3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)-2-hydroxypropan-1-on (S89)



Popis: nažloutlá olejovitá látka
Mol. hm.: 242,28 (C₁₅H₁₄O₃)
Výtěžek: 0,0398 g (20 %)
¹H NMR spektrum: (500 MHz, CDCl₃): δ 2,96 (dd, *J* = 7,0; 14,2 Hz; 1H, CH₂); 3,22 (dd, *J* = 4,1; 14,2 Hz, 1H, CH₂); 3,48 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H, CHOH); 5,32 – 5,37 (m, 1H, CH); 6,92 – 6,96 (m, 1H, H-5'); 7,05 (dd, *J* = 1,1; 8,7 Hz, 1H, H-3'); 7,11 – 7,14 (m, 2H, H-2, H-6); 7,20 – 7,28 (m, 3H,

H-3, H-4, H-5); 7,51 – 7,55 (m, 1H, H-4'); 6,69 (dd, $J = 1,6; 8,2$ Hz, H-6'); 11,57 (s, 1H, arom. OH)

(2,92 dd, 1H; 3,23 dd, 1H; 3,50 d, 1H; 5,36 ddd, 1H; 6,90 – 7,80 m, 9H; 11,6 s, 1H [488]; 2,80 – 3,30 m, 2H; 3,50 br d, 1H; 5,30 br q, 1H; 6,80 – 7,80 m, 9H [544])

¹³C NMR spektrum: (125 MHz, CDCl₃): δ 42,80 (CH₂); 72,85 (CHOH); 116,60 (C-1'); 119,02; 119,33 (C-3', C-5'); 127,03 (C-4); 128,47 (C-3, C-5); 129,39 (C-6'); 129,40 (C-2, C-6); 135,95 (C-1); 137,25 (C-4'); 162,77 (C-2'); 205,26 (C=O).

MS spektrum: EI (m/z) 91 (21), 121 (100), 122 (26), 151 (7), 213 (10), 224 (23), 242 (6) (91 (18), 92 (16), 103 (11), 121 (100), 122 (34), 224 (14), 242 (2) [488]; 91 (55), 121 (100), 122 (67), 151 (19), 213 (25), 224 (65), 242 (79), [544])

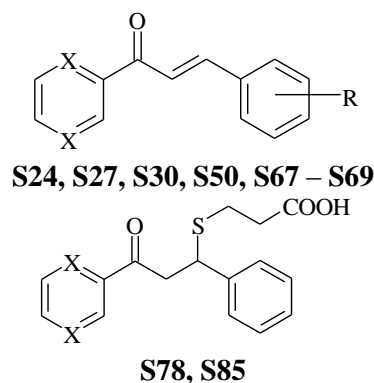
5.1.3 Spektra vybraných chalkonů v ultrafialové a viditelné oblasti

V rámci měření kinetiky adice thiolů na chalkony byla změřena UV spektra některých chalkonů a aduktů a maxima jsou uvedena v tab. 27.

UV-VIS spektra byla měřena v oblasti 240 – 600 nm při teplotě 25 °C ve fosfátovém pufru s 12 % suchého DMSO (testovací medium pro měření inhibice papainu). Koncentrace látek v měřeném vzorku byla 100 μ M.

Tab. 27. UV-VIS spektra vybraných chalkonů a jejich aduktů

Látka	X	R	Absorpční maxima (nm)
chalkon	CH	H	313,0
S67	CH	2-OH	352,0; 303,0
S68	CH	3-OH	308,0
S69	CH	4-OH	347,1
S24	N	H	326,0; 273,1
S27	N	2-OH	366,0; 322,0; 273,1
S50	N	3-OH	325,1; 274,0
S30	N	4-OH	368,0; 273,1
S78	CH	-	248,0
S85	N	-	326,5; 271,5; 238,5



5.2 Biologické hodnocení

Chalkony vykazují, jak již bylo popsáno v teoretické části, řadu biologických účinků. Vzhledem k dostupnosti biologických testů se podařilo otestovat jejich antimykobakteriální a antifungální účinky, inhibici fotosyntézy a papainu a antiagregační účinky.

5.2.1 Antimykobakteriální testování

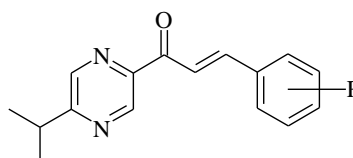
Smlouva podepsaná roku 1996 mezi Farmaceutickou fakultou University Karlovy v Hradci Králové a americkou institucí Division of AIDS, National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID), jež je součástí National Institute of Health (NIH), umožnila zapojení do mezinárodního vyhledávacího programu nových antituberkulotik (Tuberculosis Antimicrobial Acquisition and Coordinating Facility, TAACF).

Primární *in vitro* screening látek je prováděn při koncentraci $6,25 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$ (případně molární ekvivalent sloučeniny s nejvyšší molekulovou hmotností v sérii příbuzných látek) proti *M. tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294) v mediu BACTEC 12B za použití mikrodilučního testu (Microplate Alamar Blue Assay, MABA) [555]. Sloučeniny, které vykazují fluorescenci jsou testovány v radiometrickém systému BACTEC 460 [555]. Látky, u kterých je v primárním screeningu nalezena vyšší než 90% inhibice, jsou zařazeny do další fáze testování při nižších koncentracích proti *M. tuberculosis* H₃₇Rv za účelem určení skutečné MIC za použití MABA. MIC je definována jako nejnižší koncentrace vykazující 90% redukci fluorescence vzhledem ke kontrole.

Sloučeniny, které vykáží slibnou antimykobakteriální aktivitu, jsou pak testovány na cytotoxicitu (IC₅₀) na VERO buňkách v desetinasobné nebo nižší koncentraci odpovídající MIC dané látky. Po expozici buněk dané látky po dobu 72 hodin, je zjištěno přežití buněk na základě buněčné konverze 1-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolia (MTT) na produkt (formazan) za použití Promega CellTiter 96 Non-radioactive Cell Proliferation Assay.

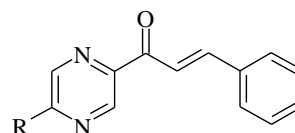
Tab. 28. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-*subst.*fenylprop-2-en-1-onů

Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S23	4-OH-3-OCH ₃	>6,25	28
S29	2-OH	>6,25	76
S31	4-OH	>6,25	59
S33	2-NO ₂	6,25	97
S34	4-NO ₂	6,25	91

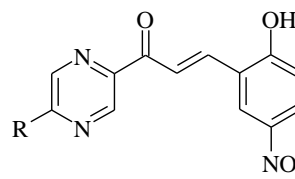


Tab. 29. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-3-fenyl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů

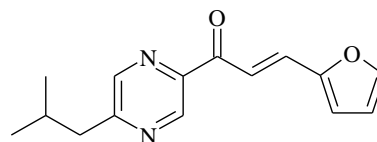
Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S24	H	>6,25	82
S25	C(CH ₃) ₃	>6,25	42
S26	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	N	N
S41	C(CH ₃) ₃	N	N
S42	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	>6,25	0
S43	-	>6,25	88



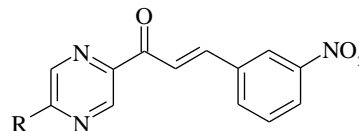
S24 – S26



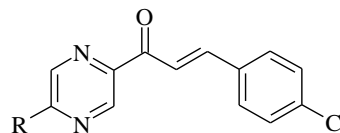
S41, S42

**S43**Tab. 30. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-3-(3-nitrofenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů

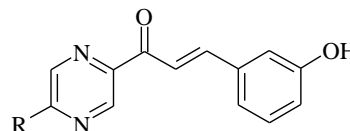
Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S35	H	>6,25	68
S36	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	>6,25	25
S37	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	>6,25	9
S38	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	>6,25	17
S39	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	>6,25	0
S40	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	>6,25	0

Tab. 31. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-3-(4-chlorfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů

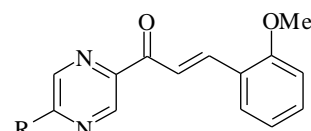
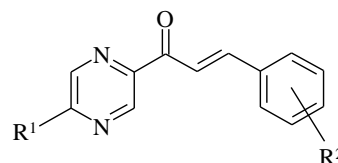
Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S44	H	>6,25	63
S45	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	>6,25	0
S46	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	>6,25	0
S47	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	>6,25	22
S48	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	>6,25	12
S49	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	>6,25	0

Tab. 32. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-3-(3-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů

Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S50	H	>6,25	0
S51	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	>6,25	28
S52	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	>6,25	1
S53	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	>6,25	0
S54	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	>6,25	0
S55	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	>6,25	0

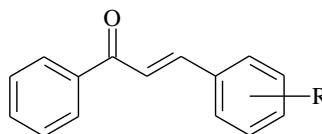
Tab. 33. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-3-(methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů

Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S56	H	>6,25	39
S57	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	>6,25	13
S58	$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	N	N
S59	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	>6,25	67
S60	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	>6,25	71
S61	$\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	N	N
S62	$(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	>6,25	22
S63	$\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = 3\text{-OCH}_3$	>6,25	71
S64	$\text{R}^1 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2,$ $\text{R}^2 = 3\text{-OCH}_3$	>6,25	30
S65	$\text{R}^1 = (\text{CH}_2)_4\text{CH}_3,$ $\text{R}^2 = 3\text{-OCH}_3$	>6,25	22
S66	$\text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = 4\text{-OCH}_3$	>6,25	86

**S56 – S62****S63 – S66**

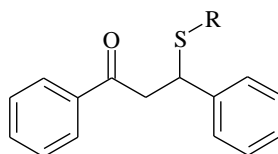
Tab. 34. Antimykobakteriální aktivita (*E*)-1-fenyl-3-*subst.*fenylprop-2-en-1-onů

Chalkon	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
S67	2-OH	N	N
S68	3-OH	>6,25	86
S69	4-OH	N	N
S70	2-OCH ₃	>6,25	83
S71	3-OCH ₃	>6,25	88
S72	4-OCH ₃	N	N



Tab. 35. Antimykobakteriální aktivita 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1,3-difenylpropan-1-onů

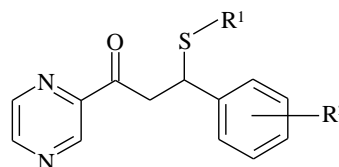
Adukt	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
*DP1	C ₆ H ₅	>6,25	81
*DP2	CH ₂ CH ₃	>6,25	79
*DP3	(CH ₂) ₂ CH ₃	>6,25	79
*DP4	(CH ₂) ₃ CH ₃	>6,25	84
*DP5	C(CH ₃) ₃	>6,25	59
*DP6	(CH ₂) ₄ CH ₃	>6,25	88
*DP7	(CH ₂) ₅ CH ₃	>6,25	73
*DP8	cyklo-C ₆ H ₁₃	>6,25	84
*DP9	(CH ₂) ₆ CH ₃	>6,25	56
S73	(CH ₂) ₇ CH ₃	>6,25	89
S74	CH ₂ CH ₂ OH	>6,25	81
S75	2-(pyrazin-2-yl)ethyl	>6,25	81
S76	4-OCH ₃ -C ₆ H ₄	>6,25	82



*sloučeniny připravené dříve [7], ale nebyla u nich uvedena antimykobakteriální účinnost

Tab. 36. Antimykobakteriální aktivita 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1-pyrazin-2-yl-3-arylpropan-1-onů

Adukt	R	MIC ($\mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$)	% inhibice
*DP10	R ¹ = C ₆ H ₅ , R ² = 4-OH, 3-OCH ₃	>6,25	24
*DP11	R ¹ = C ₆ H ₅ , R ² = H	>6,25	99
S81	R ¹ = (CH ₂) ₃ CH ₃ , R ² = H	>6,25	66
S82	R ¹ = (CH ₂) ₄ CH ₃ , R ² = H	>6,25	45
S83	R ¹ = cyklo-C ₆ H ₁₃ , R ² = H	>6,25	26
S84	R ¹ = C ₆ H ₅ , R ² = 3-OH	>6,25	0



*sloučeniny připravené dříve [7], ale nebyla u nich uvedena antimykobakteriální účinnost

5.2.2 Antifungální testování

Antifungální hodnocení chalkonů a jejich aduktů s thioley bylo prováděno na Katedře biologických a lékařských věd skupinou doc. RNDr. Vladimíra Buchty, CSc.

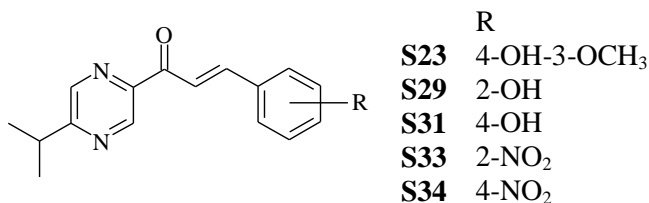
In vitro antifungální aktivita připravených sloučenin byla testována mikrodiluční bujónovou metodou na těchto 8 kmenech: *Candida albicans* ATCC 44859 (CA), *Candida tropicalis* 156 (CT), *Candida krusei* E28 (CK), *Candida glabrata* 20/I (CG), *Trichosporon beigelii* 1188 (TB), *Aspergillus fumigatus* 231 (AF), *Absidia corymbifera* 272 (AC) a *Trichophyton mentagrophytes* 445 (TM). Všechny kmeny byly kultivovány na Sabouraudově půdě (SDA, Difco) a v tomto médiu byly dále udržovány při teplotě 4 °C. Před testováním byl každý kmen naočkován na SDA a houbové inokulum bylo připraveno suspendováním kvasinek, konidií nebo sporangiospór ve sterilním 0,85% roztoku NaCl. Hustota buněk byla určena pomocí Bürkerovy komůrky a byly tak připraveny zásobní suspence o $1,0 \pm 2,0 \times 10^5$ CFU \times ml⁻¹. Použité inokulum bylo získáno zředěním zásobního roztoku testovacím médiem v poměru 1 : 20.

Vzorky látek byly rozpuštěny v DMSO a antifungální aktivita byla určena v médiu RPMI 1640 (Sevapharma, Praha) pufovaném na pH 7,0 pomocí 0,165 M kyseliny 3-(*N*-morfolino)propansulfonové. Se vzorky látek byl připraven zároveň kontrolní vzorek. Konečná koncentrace DMSO nepřesáhla 1 % (v/v) a neovlivňovala přirozený růst hub. Minimální inhibiční koncentrace (MIC) jsou definovány jako 80% inhibice růstu hub v porovnání s kontrolním vzorkem. MIC byly odečítány po 24 a 48 hodinách statické inkubace při 35 °C. V případě *T. mentagrophytes* byly MIC zaznamenány po 72 a 120 hodinách. Ketokonazol (Janssen Pharmaceutica) a flukonazol (Pfizer) byly použity jako porovnávací antimykotika.

Tab. 37. Standardy otestované v popsaném antifungálním testu a jejich MIC ($\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$)

Kmen	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
<i>čas inkubace</i>	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
ketokonazol	0,061 0,122	1,95 3,91	1,95 3,91	0,49 1,95	0,061 0,122	7,81 7,81	15,63 31,25	0,49 1,95
flukonazol	0,82 1,63	1,63 >417,90	52,24 104,47	13,06 52,24	3,26 6,53	>417,90 >417,90	>417,90 >417,90	26,12 52,24

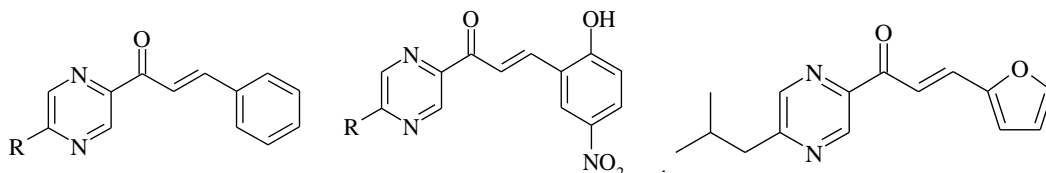
Tab. 38. Antifungální aktivita (*E*)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-subst.fenylprop-2-en-1-onů



MIC/IC₈₀ (μmol × I⁻¹)

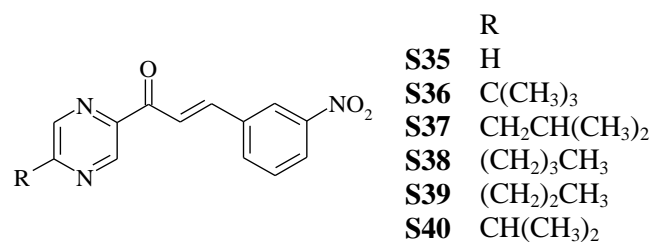
	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
S23	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250
S29	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125
S31	62,5 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	62,5 250	>250 >250	62,5 125
S33	31,25 125	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	125 >250	125 250	7,81 7,81
S34	7,81 62,5	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	125 >250	250 250	3,91 7,81

Tab. 39. Antifungální aktivita (E)-3-fenyl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů

**S24** R = H**S25** R = C(CH₃)₃**S26** R = CH₂CH(CH₃)₂**S41** R = C(CH₃)₃**S42** R = CH₂CH(CH₃)₂**S43**MIC/IC₈₀ (μmol × I⁻¹)

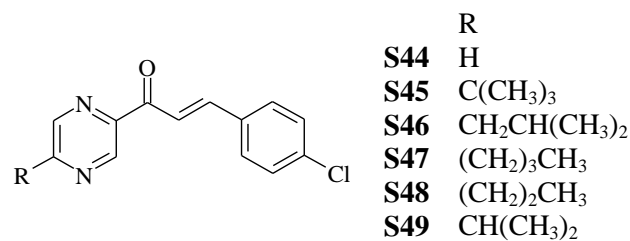
	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
*1	15,63 125	125 250	125 250	125 250	250 500	62,5 250	>500 >500	15,63 31,25
S24	15,63 31,25	31,25 62,5	31,25 62,5	31,25 62,5	250 250	125 125	250 500	7,81 15,63
S25	62,5 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	15,63 31,25
S26	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	≤62,5 ≤62,5
S41	>188 >188	>188 >188	>188 >188	>188 >188	>188 >188	>188 >188	>188 >188	≤94 ≤94
S42	62,5 125	500 500	500 500	500 500	125 500	125 125	125 250	15,63 15,63
S43	125 250	>250 >250	250 250	>250 >250	>250 >250	125 >250	>250 >250	62,5 62,5

*komerčně dostupný

Tab. 40. Antifungální aktivita (*E*)-3-(3-nitrofenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onůMIC/IC₈₀ (μmol × l⁻¹)

	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
S35	7,81 15,63	7,81 7,81	7,81 15,63	7,81 7,81	>125 >125	31,25 >125	>125 >125	7,81 15,63
S36	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125
S37	15,63 31,25	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	15,63 15,63
S38	15,63 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	7,81 15,63
S39	15,63 62,5	62,5 >250	31,25 >250	125 >250	>250 >250	62,5 >250	>250 >250	7,81 15,63
S40	*	*	*	*	*	*	*	*

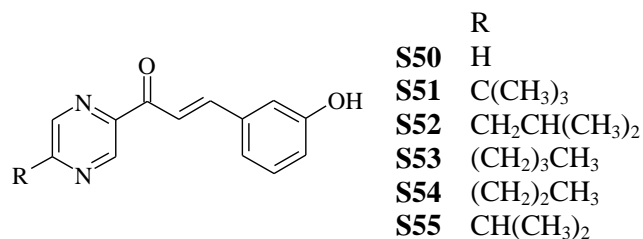
*látka se nerozpustila

Tab. 41. Antifungální aktivita (*E*)-3-(4-chlorfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onůMIC/IC₈₀ (μmol × l⁻¹)

	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
S44	125 125	125 >250	125 125	125 250	>250 >250	125 125	>250 >250	≤125 ≤125
S45	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5
S46	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	≤62,5 ≤62,5
S47	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5
S48	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	>62,5 >62,5	7,81 7,81
S49	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	≤62,5 ≤62,5

Látky psané *kursivou* se nerozpustily dokonale a byly testovány pouze ve 2 koncentracích.

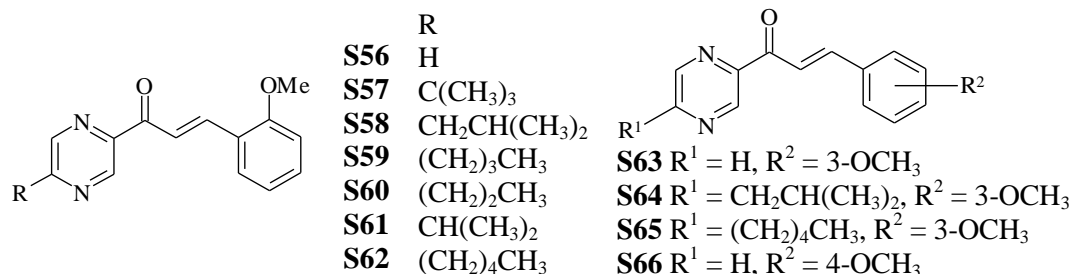
Tab. 42. Antifungální aktivita (*E*)-3-(3-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů



MIC/IC₈₀ (μmol × l⁻¹)

	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
S50	62,5 62,5	125 125	125 125	125 125	125 125	62,5 125	125 250	15,63 31,25
S51	62,5 125	62,5 62,5	31,25 62,5	62,5 62,5	31,25 31,25	31,25 62,5	250 250	31,25 62,5
S52	31,25 62,5	62,5 125	125 125	125 125	125 125	125 >250	125 >250	15,63 31,25
S53	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	15,63 125
S54	62,5 62,5	62,5 125	>125 >125	62,5 62,5	62,5 >125	31,25 >125	>125 >125	15,63 15,63
S55	62,5 125	125 >250	>250 >250	125 >250	125 >250	62,5 >250	125 >250	15,63 31,25

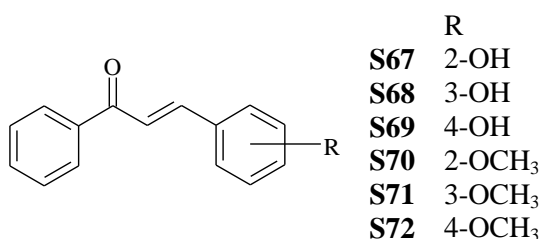
Tab. 43. Antifungální aktivita (*E*)-3-(methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů



MIC/IC₈₀ (μmol × l⁻¹)

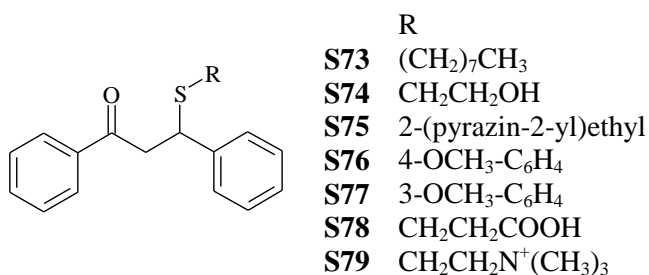
	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
S56	31,25 125	31,25 62,5	>125 >125	31,25 125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	31,25 125
S57	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	500 500
S58	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	125 125
S59	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	500 500
S60	500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	>500 >500	500 >500	>500 >500	500 500

S61	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	31,25
	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	62,5
S62	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
S63	15,63	31,25	62,5	15,63	>500	62,5	>500	15,63
	31,25	31,25	125	31,25	>500	250	>500	15,63
S64	62,5	>125	>125	>125	>125	>125	>125	62,5
	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	62,5
S65	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
S66	62,5	125	125	125	500	62,5	500	31,25
	125	250	250	125	>500	125	>500	62,5

Tab. 44. Antifungální aktivita (*E*)-1,3-difenylprop-2-en-1-onůMIC/IC₈₀ (μmol × l⁻¹)

	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Chalkon	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	24 h	72 h
	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	48 h	120 h
S67	7,81	125	62,5	31,25	62,5	31,25	62,5	1,95
	62,5	125	125	>500	62,5	>500	125	3,91
S68	15,63	62,5	62,5	62,5	62,5	125	125	7,81
	62,5	125	125	125	125	125	250	31,25
S69	62,5	>500	125	>500	500	62,5	500	15,63
	250	>500	>500	>500	>500	125	500	31,25
S70	>125	>125	>125	125	>125	>125	>125	31,25
	>125	>125	>125	>125	>125	>125	>125	31,25
S71	31,25	125	125	125	250	>250	>250	31,25
	125	>250	>250	>250	>250	>250	>250	31,25
S72	62,5	>500	>500	500	>500	125	>500	7,81
	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	15,63

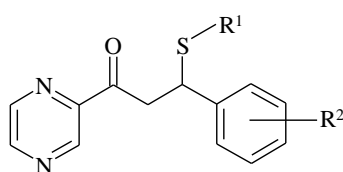
Tab. 45. Antifungální aktivita 1,3-difenyl-3-alkylsulfanylpropanonů



MIC/IC₈₀ (μmol × I⁻¹)

	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Adukt	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
S73	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250
S74	31,25 62,5	125 >250	125 125	250 >250	250 >250	125 125	>250 >250	7,81 15,63
S75	31,25 125	125 >250	125 250	125 >250	>250 >250	125 250	>250 >250	7,81 15,63
S76	125 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	>250 >250	31,25 31,25
S77	15,63 125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	>125 >125	31,25 62,5
S78	15,63 62,5	62,5 >250	125 125	125 >250	125 >250	250 >250	>250 >250	31,25 62,5
S79	62,5 125	125 500	62,5 125	125 500	250 500	125 500	>500 >500	15,63 31,25

Tab. 46. Antifungální aktivita 3-fenyl-1-pyrazin-2-yl-3-alkylsulfanylpropanonů

DP10 R¹ = C₆H₅, R² = 4-OH, 3-OCH₃DP11 R¹ = C₆H₅, R² = HS81 R¹ = (CH₂)₃CH₃, R² = HS82 R¹ = (CH₂)₄CH₃, R² = HS83 R¹ = *cyklo*-C₆H₁₃, R² = HS84 R¹ = C₆H₅, R² = 3-OHS85 R¹ = CH₂CH₂COOH, R² = HMIC/IC₈₀ (μmol × I⁻¹)

	CA	CT	CK	CG	TB	AF	AC	TM
Adukt	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	24 h 48 h	72 h 120 h
*DP10	62,5 125	250 >500	500 >500	250 >500	>500 >500	250 250	500 >500	62,5 125
*DP11	7,81 31,25	31,25 31,25	62,5 62,5	31,25 31,25	125 >125	31,25 62,5	>125 >125	15,63 31,25
S81	7,81 31,25	31,25 62,5	62,5 125	31,25 62,5	250 250	62,5 125	>250 >250	15,63 31,25
S82	15,63 31,25	62,5 62,5	62,5 125	31,25 62,5	>125 >125	62,5 62,5	>125 >125	15,63 31,25
S83	15,63 31,25	31,25 62,5	62,5 125	31,25 62,5	>125 >125	62,5 125	>125 >125	15,63 31,25
S84	15,63 62,5	125 250	125 250	125 250	125 250	62,5 125	500 1000	15,63 31,25
S85	7,82 15,63	15,63 31,25	31,25 62,5	15,63 31,25	62,5 250	125 125	>250 >250	31,25 31,25

*sloučeniny připravené dříve [7], ale nebyla u nich uvedena antifungální účinnost

5.2.3 Testování inhibice fotosyntézy

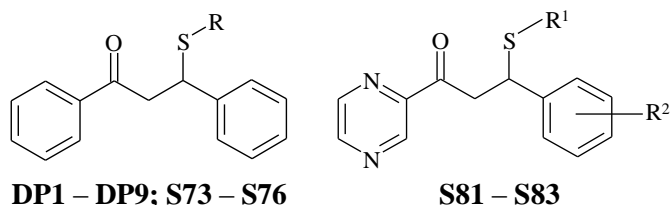
Vliv chalkonů a některých aduktů na fotosyntetické procesy testovala RNDr. Katarína Kráľová, CSc. z Chemického ústavu Přírodovědecké fakulty University Komenského v Bratislavě.

Pro hodnocení inhibiční aktivity na fotosyntézu byly látky rozpuštěny v DMSO kvůli jejich nízké rozpustnosti ve vodě. Bylo zjištěno, že použitá koncentrace DMSO ve vzorku neovlivňuje fotochemickou aktivitu chloroplastů špenátu a suspense řas.

Řasy *Chlorella vulgaris* byly staticky kultivovány (fotoperioda 16 hod světlo/8 hod temno, osvětlení $60 \mu\text{Es}^{-1} \times \text{m}^{-2}$ PAR) při laboratorní teplotě podle popsané metody [556]. Byl zkoušen účinek testovaných sloučenin aplikovaných v 7 stupňovitě rostoucích koncentracích ($0,83; 4,17; 8,33; 25; 50; 75; 100 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$) na obsah chlorofylu v suspensi řas. Výsledná koncentrace rozpouštědla ve vzorku stejně jako v kontrolním vzorku nepřekročila 1 %. Sedm dní po přidání testovaných sloučenin, byl po extrakci do methanolu spektrofotometricky stanoven obsah chlorofylu v suspensi řas [557].

OER v chloroplastech špenátu ($C_{\text{chloroplastů}} = 30 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$) byla stanovena spektrofotometricky (Specord UV VIS, Zeiss Jena, Germany) za použití 2,6-dichlorfenolindofenolu jako akceptoru elektronu podle publikované metody [558].

a) adukty chalkonů s thioley

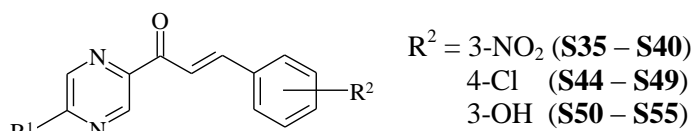


Tab. 47. Účinek aduktů chalkonů na obsah chlorofylu v suspensi řas *Chlorella vulgaris* v koncentračním rozmezí $0,83 - 100 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ a IC_{50} hodnoty vlivu látek na inhibici fotosyntetického transportu elektronů v chloroplastech špenátu

Látka	R	<i>Chlorella vulgaris</i> obsah chlorofylu % kontroly \pm S.E.	Hillova reakce (OER) chloroplasty špenátu $\text{IC}_{50} \text{ mmol} \times \text{l}^{-1}$
*DP1	C_6H_5	$99,7 \pm 2,6$	0,221
*DP2	CH_2CH_3	$84,1 \pm 2,6$	0,143
*DP3	$(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$	$88,2 \pm 2,3$	-
*DP4	$(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	$94,5 \pm 2,1$	0,318
*DP5	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	$103,3 \pm 1,0$	0,206
*DP6	$(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	$92,3 \pm 2,0$	0,187
*DP7	$(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$	$85,2 \pm 1,9$	0,299
*DP8	cyklo- C_6H_{13}	$94,8 \pm 2,7$	0,479
*DP9	$(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$	$93,9 \pm 3,1$	0,249
S73	$(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$	$92,7 \pm 1,6$	-
S75	2-(pyrazin-2-yl)ethyl	$96,8 \pm 3,9$	0,390
S76	4- OCH_3 - C_6H_4	$94,2 \pm 2,8$	-
S81	$\text{R}^1 = (\text{CH}_2)_3\text{CH}_3, \text{R}^2 = \text{H}$	$\text{IC}_{50} = 74,4 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,199
S82	$\text{R}^1 = (\text{CH}_2)_4\text{CH}_3, \text{R}^2 = \text{H}$	$\text{IC}_{50} = 145,8 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	-
S83	$\text{R}^1 = \text{cyklo-}\text{C}_6\text{H}_{13}, \text{R}^2 = \text{H}$	$81,5 \pm 3,1$	-

*sloučeniny připravené dříve [7], ale nebyla u nich uvedena inhibice fotosyntézy

b) chalkony



Tab. 48. Účinek chalkonů na obsah chlorofylu v suspensi řas *Chlorella vulgaris* v koncentračním rozmezí 0,83 – 100 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ a IC_{50} hodnoty vlivu látek na inhibici fotosyntetického transportu elektronů v chloroplastech špenátu

Látka	R^1	<i>Chlorella vulgaris</i> obsah chlorofylu IC_{50} nebo % kontroly \pm S.E.	Hillova reakce (OER) chloroplasty špenátu IC_{50} $\text{mmol} \times \text{l}^{-1}$
S35	H	19,6 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,658
S36	C(CH ₃) ₃	99,2 \pm 1,7	0,461
S37	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	62,8 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,340
S38	(CH ₂) ₃ CH ₃	87,9 \pm 4,2	0,236
S39	(CH ₂)CH ₃	18,6 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	-
S40	CH(CH ₃) ₂	19,6 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,374
S44	H	24,5 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	-
S45	C(CH ₃) ₃	91,0 \pm 2,8	0,181
S46	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	116,8 \pm 6,3	0,246
S47	(CH ₂) ₃ CH ₃	82,6 \pm 1,4	0,374
S48	(CH ₂)CH ₃	77,8 \pm 1,7	0,228
S49	CH(CH ₃) ₂	78,4 \pm 1,3	0,412
S50	H	32,5 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,877
S51	C(CH ₃) ₃	238,3 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,105
S52	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	65,5 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,259
S53	(CH ₂) ₃ CH ₃	95,9 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	-
S54	(CH ₂)CH ₃	69,9 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	-
S55	CH(CH ₃) ₂	65,1 $\mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$	0,156

Použité standardy:

	<i>Chlorella vulgaris</i> obsah chlorofylu	Hillova reakce (OER) chloroplasty špenátu
simazin	$\text{IC}_{50} = 2,20 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ [559]	$\text{IC}_{50} = 3,98 - 0,40 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ [560]
diuron	$\text{IC}_{50} = 7,3 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ [561]	$\text{IC}_{50} = 0,032 - 0,20 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ [560]

5.2.4 Antiagregační hodnocení chalkonů

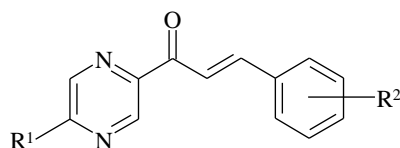
Antiagregační schopnosti chalkonů testoval na Katedře farmaceutické botaniky a ekologie PharmDr. Daniel Jun, Ph.D., v době svého doktorského studia. Jeho školitelem byl doc. RNDr. Lubomír Opletal, CSc.

Krev zdravých nekouřících dobrovolníků, kteří po dobu předcházejících 14 dnů neužívali žádné léky, byla odebrána ze žíly do plastové injekční stříkačky obsahující 3,8% roztok citrátu sodného (1 : 9, v/v; Slovenská Lupca, Slovenská republika). Plasma bohatá na krevní destičky (PRP) byla získána centrifugací 10 min při 1000 otáčkách/min při laboratorní teplotě jako supernatant krve ošetřené citrátem. Plasma chudá na krevní destičky (PPP) byla připravena centrifugací zbývající krve po dobu 10 min při 5000 otáčkách/min. Množství krevních destiček bylo nastaveno na $2,5 \times 10^8$ destiček /ml za použití autologní PPP.

Absorbance PRP byla určena jako 0% agregace a absorbance PPP jako 100%. Agregace krevních destiček byla stanovena turbidimetricky za použití Chrono-log 500-Ca agregometru (Chrono-Log Co.) spojeného s počítačem (Aggro/Link software, Chrono-Log Co.) v souladu s metodou popsanou Bornem [562]. Testované látky byly rozpuštěny v DMSO (Merck, AG, Darmstadt, Germany) a konečná koncentrace rozpouštědla byla nastavena na 0,5 % tak, aby byl odstraněn vliv DMSO na proces agregace krevních destiček.

PRP (500 μ l) byla dána do silikonisované skleněné kyvety a inkubována za míchání po dobu 2 minut při teplotě 37 °C v cele agregometru. Roztok testované látky nebo čistý DMSO (2,5 μ l) byl přidán a inkubace probíhala při stejné teplotě po dobu 3 minut. Po inkubaci byla indukována agregace krevních destiček arachidonovou kyselinou (v množství 5 μ l pro získání finální koncentrace 0,5 mM, Chrono-Log Co., Havertown, PA, USA) a agregační proces byl monitorován softwarem Aggro/Link po dobu 5 minut. Acetylsalicylová kyselina (vyhovující ČsL 3) byla použita jako pozitivní kontrola. Výsledky jsou vyjádřeny jako hodnoty IC_{50} , které znamenají molární koncentraci testované látky inhibující agregaci destiček z 50 %. Na dávce závislá křivka byla získána s PRP od stejného dárce. Hodnoty IC_{50} byly spočítány z křivky závislé na dávce (minimálně 3 stanovení pro každou koncentraci) pomocí lineární regrese za použití softwaru GraphPad Prism Version 3.02 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Na antiagregační aktivitu byly testovány chalkony uvedené v tab. 49.



Tab. 49. Antiagregační aktivita chalkonů

Chalkon	R ¹	R ²	Antiagregační aktivita IC_{50} (μ mol \times l ⁻¹)
*P1	H	3-OCH ₃ , 4-OH	42,9
*P2	C(CH ₃) ₃	3-OCH ₃ , 4-OH	9,7
*P3	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	3-OCH ₃ , 4-OH	4,1
*P4	(CH ₂) ₃ CH ₃	3-OCH ₃ , 4-OH	7,7
*P5	(CH ₂) ₂ CH ₃	3-OCH ₃ , 4-OH	8,6
S23	C(CH ₃) ₂	3-OCH ₃ , 4-OH	8,17
S27	H	2-OH	41,8
*P6	C(CH ₃) ₃	2-OH	40,1
*P7	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	2-OH	51,2
*P8	(CH ₂) ₃ CH ₃	2-OH	182,6
S28	(CH ₂) ₂ CH ₃	2-OH	206,4
S29	C(CH ₃) ₂	2-OH	84,8
S55	C(CH ₃) ₂	3-OH	153,7
S30	H	4-OH	169,1
*P9	C(CH ₃) ₃	4-OH	136,4
*P10	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	4-OH	252,4
*P11	(CH ₂) ₃ CH ₃	4-OH	135,0
*P12	(CH ₂) ₂ CH ₃	4-OH	96,2
S31	C(CH ₃) ₂	4-OH	152,8
acetylsalicylová kyselina			16,1

*sloučeniny připravené dříve [71], ale nebyla u nich uvedena antiagregační aktivita

5.2.5 Testování chalkonů na inhibici papainu

Přístroj: UV Visible Spectrophotometer Varian Cary 50 Bio

Software: Cary WIN UV (Kinetics, Scan, Scanning Kinetics), GraFit5

Enzym: Papain from Papaya latex, EC 3.4.22.2, 85% protein, Biuret; 11 units/mg prot. (Sigma)

Chemikálie:

fosfátový pufr – 0,1 M NaH₂PO₄/Na₂HPO₄ obsahující 2,5 mM EDTA-Na₂, pH 6,5

DTT (1,4-dithio-D,L-threitol, M = 154,25; Fluka) – 300 mM roztok DTT ve fosfátovém pufru, připravený roztok zmražen v malých dávkách a v čas potřeby vždy rozmražen a spotřebován

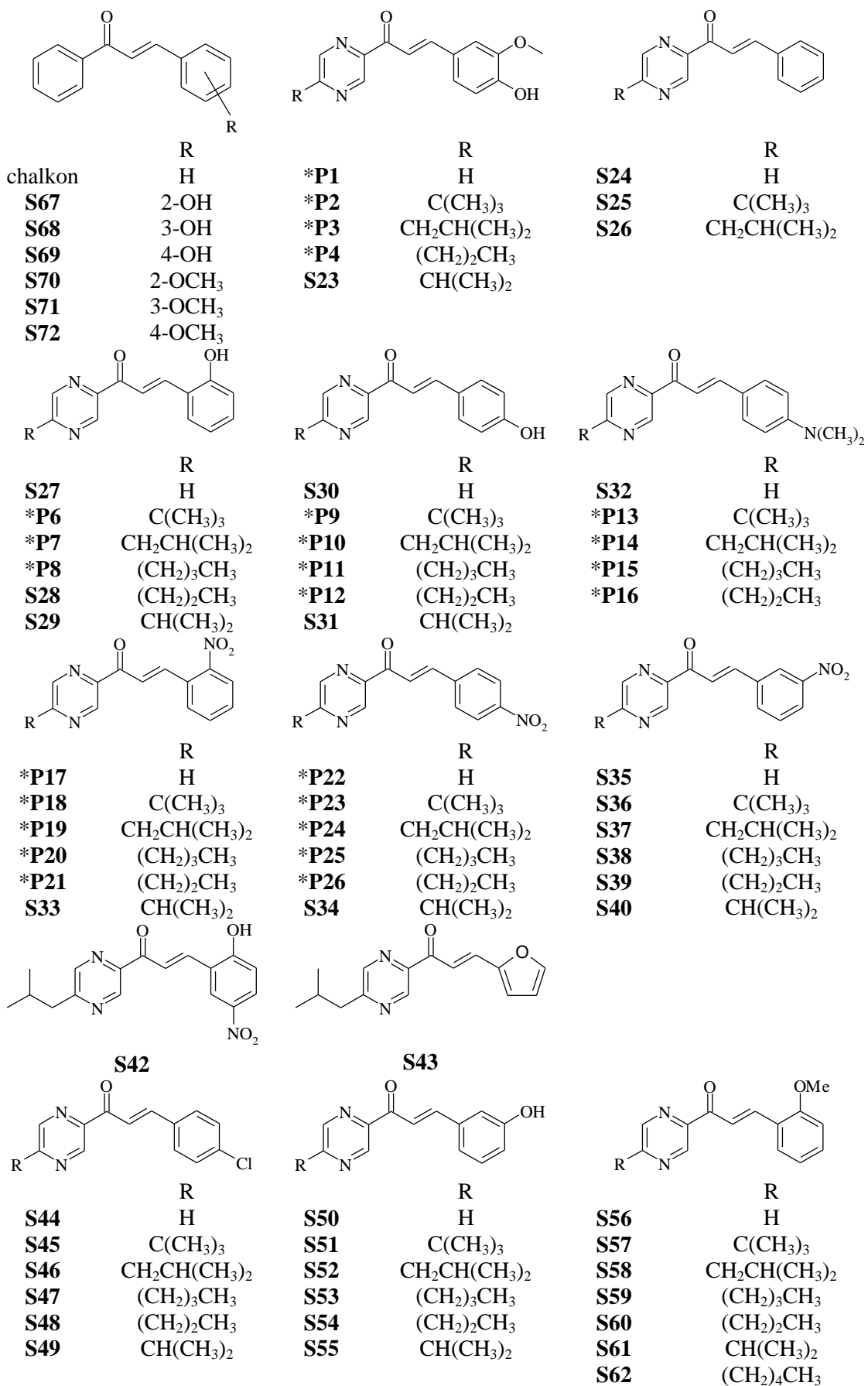
substrát – Z-Phe-Arg-*p*NA (benzyloxykarbonylfenylalanylarginin-*para*-nitroanilid, M = 612,09; Bachem AG, Switzerland) – základní roztok 20 mM v DMSO, ředěn na 4 mM

2 mg papainu byly rozpuštěny v 1 mM kyselině chlorovodíkové (1 ml). Z tohoto roztoku, který byl uchováván v lednici, bylo před měřením pro aktivaci enzymu vždy odpipetováno 10 µl roztoku papainu do 940 µl fosfátového pufru, přidán 300 mM roztok DTT (50 µl) a preinkubováno 1 hodinu při teplotě 25 °C, poté uloženo do ledu. Aktivita čerstvě aktivovaného enzymu byla vždy měřena se substrátem před zahájením měření.

Měření enzymové aktivity bylo prováděno ve fosfátovém pufru s 12 % suchého DMSO za použití Z-Phe-Arg-*p*NA jako substrátu (ve finální koncentraci 200 µM). Papainem katalyzovaná hydrolýza byla monitorována při teplotě 25 °C a vlnové délce absorpčního maxima 405 nm vznikajícího barevného produktu (*p*-nitroanilin). Reakce byla vždy zahájena přidáním 20 µl roztoku aktivovaného enzymu a sledována po dobu 30 minut v přítomnosti derivátů chalkonu jako potenciálních inhibitorů. S každou sérií měření bylo provedeno zároveň měření slepého vzorku (obsahoval pouze substrát).

Primární screening všech níže uvedených chalkonů byl proveden při koncentraci 100 µM. Od uvedených chalkonů byly připraveny 10 mM roztoky v suchém DMSO, u chalkonů **P5**, **P29**, **S33** a **S39** 5 mM roztoky (z důvodu špatné rozpustnosti). Vybrané látky byly testovány při koncentraci 50 a 10 µM. Každý chalkon byl měřen dvakrát za stejných podmínek a u vybraných látek bylo provedeno koncentračně závislé měření. Chalkony **P6** a **P7** byly měřeny i v přítomnosti 10 µM DTT.

Pouze u látek uvedených v tab. 50 byla zjištěna výraznější inhibice papainu, ostatní snižovaly při koncentraci 100 µM aktivitu enzymu méně než na 80 % kontroly.



Tab. 50. Měření inhibice papainu chalkony (koncentrace chalkonů: 50 μM)

Chalkon	Inhibice	Výsledek koncentračně závislého měření
S67	> 80 % kontr.	$K_i' = 161 \mu\text{M}$, $v_0 = 15$
*P1	$K_i' > 50 \mu\text{M}$	atypické
*P2	$K_i' > 50 \mu\text{M}$	$K_i' = 31 \mu\text{M}$, $v_0 = 31$
*P3	$K_i' > 50 \mu\text{M}$	$K_i' = 53 \mu\text{M}$, $v_0 = 16$
S27 *P7 *P8 S28	atypické	neměřeno
S30 *P9 *P10 *P11 *P12 S31	$K_i' = 61 \mu\text{M}$ $K_i' > 50 \mu\text{M}$ $K_i' > 50 \mu\text{M}$ $K_i' > 50 \mu\text{M}$ $K_i' > 50 \mu\text{M}$ $K_i' > 50 \mu\text{M}$	atypické neměřeno neměřeno $K_i' = 75 \mu\text{M}$, $v_0 = 15$ $K_i' = 114 \mu\text{M}$, $v_0 = 16$ neměřeno
S32	atypické	neměřeno
*P17 *P18 *P19 *P20 *P21 S33	pomalá inhibice	neměřeno
*P23 *P24 S37	$K_i' > 50 \mu\text{M}$ $K_i' > 50 \mu\text{M}$ > 80 % kontr.	neměřeno neměřeno neměřeno
S35 S37	$K_i' > 50 \mu\text{M}$ zakalený roztok, pomalá inhib.	neměřeno neměřeno
S42	atypické	neměřeno
S43	$K_i' > 50 \mu\text{M}$	$K_i' = 103 \mu\text{M}$, $v_0 = 14$
S44 S48	> 80 % kontr. > 80 % kontr.	neměřeno neměřeno
S50 S55	> 80 % kontr. $K_i' > 50 \mu\text{M}$	atypické $K_i' = 65 \mu\text{M}$, $v_0 = 16$
S60 S61	> 80 % kontr. > 80 % kontr.	neměřeno neměřeno

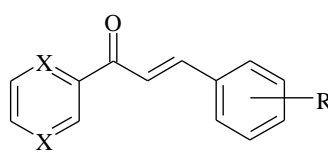
*sloučeniny připravené dříve [71]

5.3 Studium reakční kinetiky chalkonů s látkami obsahujícími thiolovou skupinu

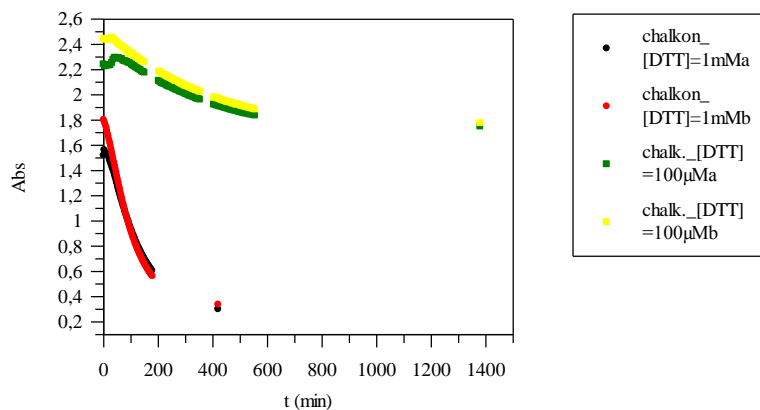
Z toho důvodu, že chalkony jako potenciální inhibitory zřejmě interagovaly s jednou z komponent testu na inhibici papainu (DTT), byla změřena reakční kinetika Michaelovy adice chalkonů s třemi druhy látek obsahujících thiolové skupiny.

Pomocí software Scanning Kinetics byla za stejných podmínek jako v metodice papainu (fosfátový pufr + 12 % DMSO, 25 °C) proměřena UV-VIS spektra skenovací metodou u 8 vybraných chalkonů v koncentraci 100 μM s DTT, cysteinem a kyselinou sulfanyloctovou (MES) v koncentraci 1 mM a 100 μM . Každé měření bylo provedeno 2 \times (a/b v grafech). V grafech uvedených níže je zobrazena závislost absorbance vzorku na čase při vlnové délce absorpčního maxima příslušného chalkonu (zpracováno v programu GraFit). Vzorky chalkonů s vyšší koncentrací látek thiolového charakteru (1 mM) byly měřeny po dobu 3 hod. a po určité době od ukončení skenovacího měření (6 – 15 hod.) bylo UV-VIS spektrum jednorázově proměřeno znovu. Vzorky s ekvimolární koncentrací chalkonu a thiolu byly měřeny kontinuálně po dobu 10 hod. a znovu byly proměřeny po zhruba 17 – 25 hod. další inkubace od ukončení skenovacího měření. Měření byly chalkony uvedené v tab. 51.

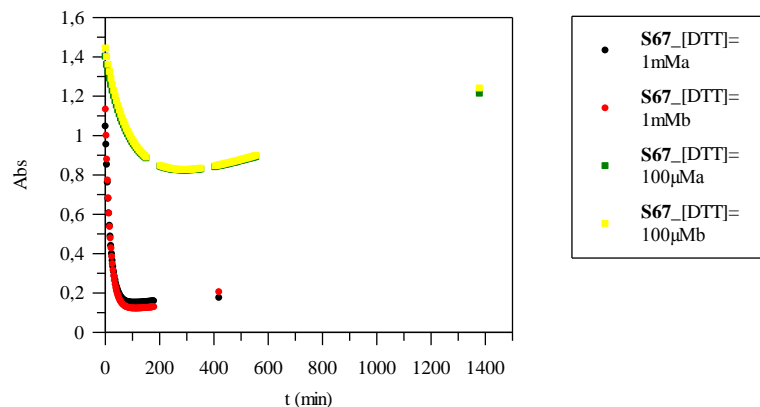
Tab. 51. Chalkony studované při reakční kinetice s thioley

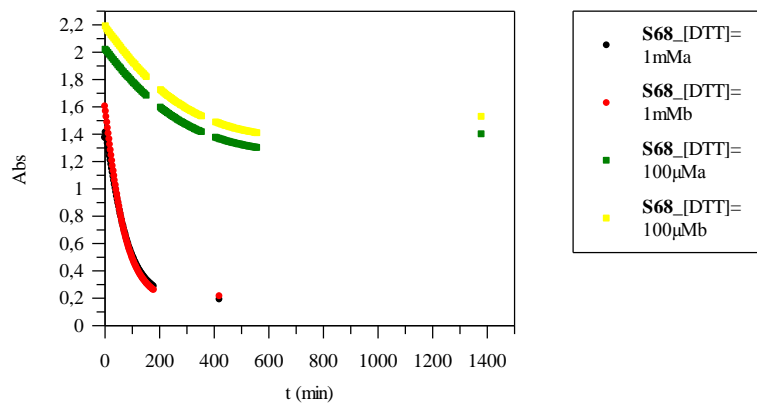
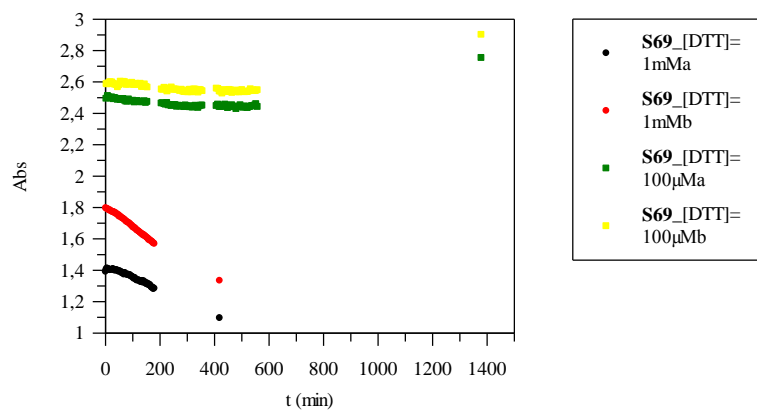
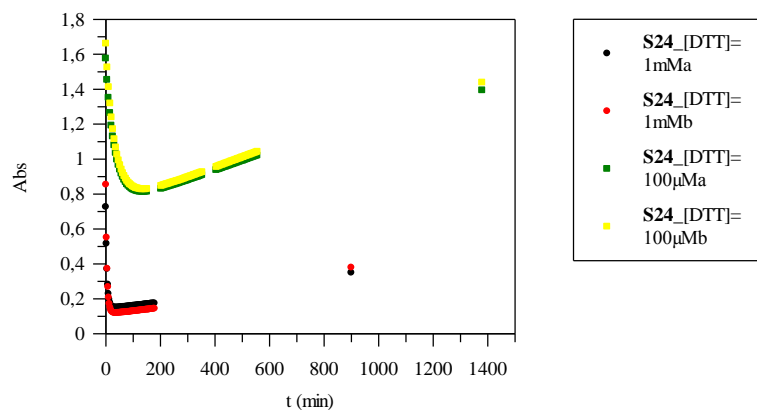
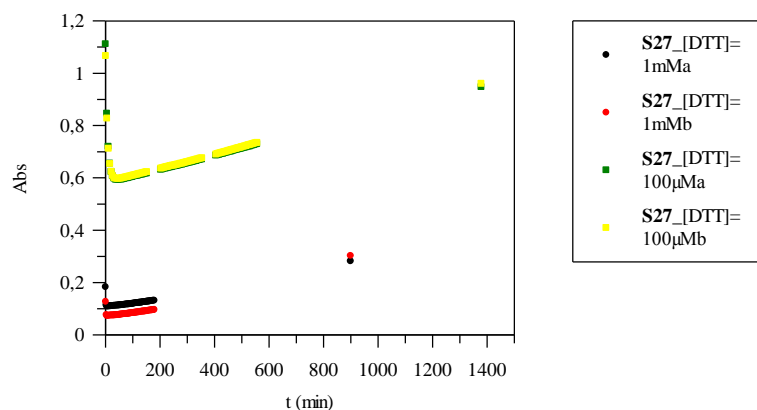
	X ↓ R →	H	2-OH	3-OH	4-OH
	CH	chalkon	S67	S68	S69
	N	S24	S27	S50	S30

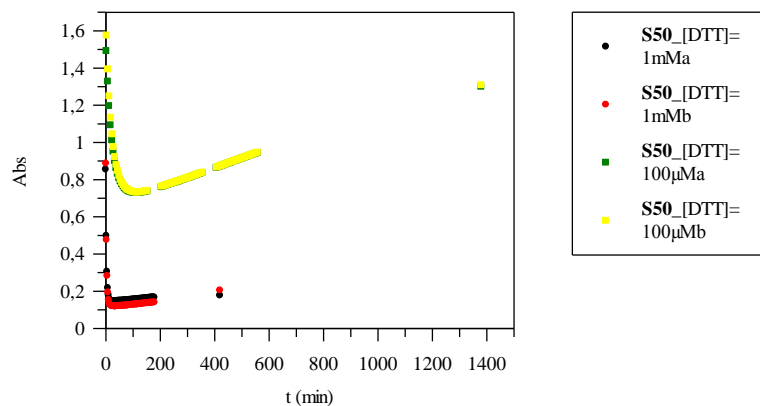
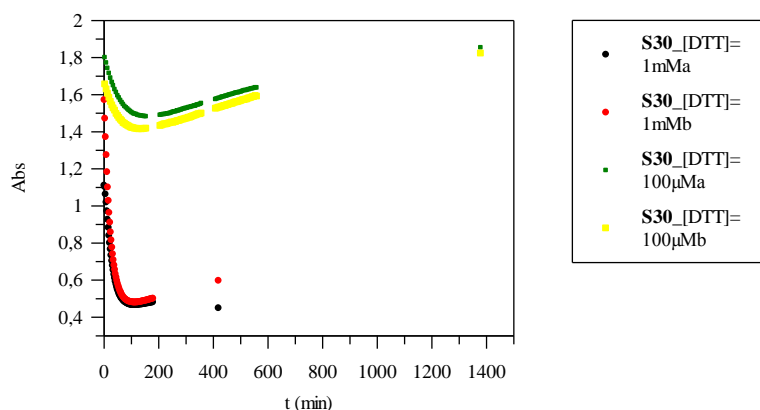
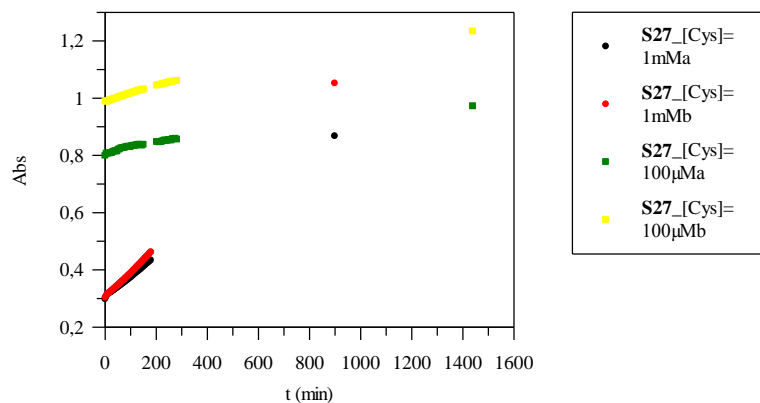
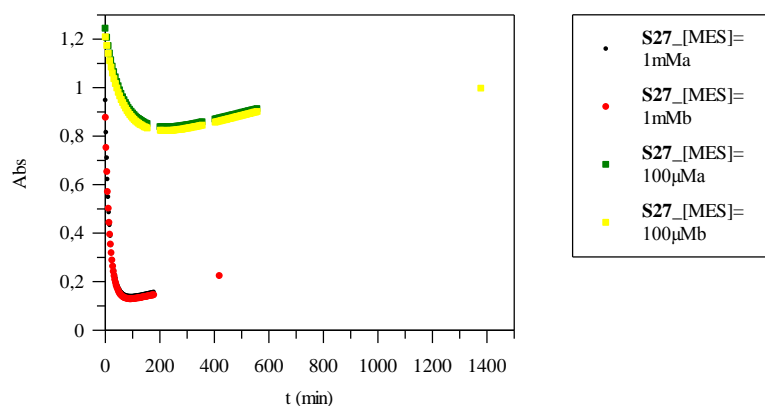
Graf 1. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících chalkon + 1 mM nebo 100 μM DTT



Graf 2. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S67** + 1 mM nebo 100 μM DTT



Graf 3. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S68** + 1 mM nebo 100 μ M DTTGraf 4. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S69** + 1 mM nebo 100 μ M DTTGraf 5. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S24** + 1 mM nebo 100 μ M DTTGraf 6. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S27** + 1 mM nebo 100 μ M DTT

Graf 7. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S50** + 1 mM nebo 100 μ M DTTGraf 8. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S30** + 1 mM nebo 100 μ M DTTGraf 9. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S27** + 1 mM nebo 100 μ M CysGraf 10. Závislost absorbance na čase ve vzorcích obsahujících **S27** + 1 mM nebo 100 μ M MES

6 DISKUSE

6.1 Syntézy a fyzikálně-chemické vlastnosti látek

6.1.1 Deriváty chalkonu a jejich syntetické meziprodukty

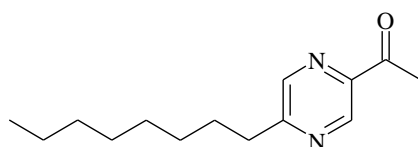
6.1.1.1 Příprava 5-alkylpyrazin-2-karbonitrilů (S1 – S11) radikálovou alkylací

Z komerčně dostupného pyrazin-2-karbonitrilu byly připraveny alkylované pyrazin-2-karbonitrily (podle schématu v kap. 5.1.1.1). Čtyři tyto látky (S1 – S4) již byly popsány [6,546] a výtěžnost reakcí zhruba odpovídala publikovaným výtěžkům (34 – 76 %). Metodika radikálové alkylace byla aplikována i na přípravu 7 nových dosud nepopsaných alkylovaných pyrazin-2-karbonitrilů (S5 – S11) s výtěžky 17 – 47 %.

Při přípravě pyrazin-2-karbonitrilů s vyššími alkyly (S8 – S10) bylo nutné protřepat etherovou vrstvu po extrakci 10% roztokem uhličitanu sodného, neboť nezreagovaná kyselina zůstávala v extraktu jako příměs produktu a neoddělila se ani destilací. Pro zvýšení výtěžnosti alkylace vyššími kyselinami byla jako rozpouštědlo zkoušena směs vody a acetonitrilu 1 : 1 (v/v), ale tento postup nijak neovlivnil průběh reakce.

6.1.1.2 Příprava 1-pyrazin-2-ylethanonu a 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)ethanonů (S12 – S22) Grignardovou reakcí

Grignardovou reakcí byly z komerčně dostupného pyrazin-2-karbonitrilu a alkylovaných pyrazin-2-karbonitrilů (S1 – S11) připraveny odpovídající acetylpyraziny (podle schématu v kap. 5.1.1.2). Z těchto meziproduktů bylo celkem 5 (S12 – S16) již popsáno na našem pracovišti (výtěžky 33 – 72 %), 6 látek (S17 – S22) byly připraveny nově (výtěžky 3 – 70 %) a u některých již popsaných byly doplněny identifikační charakteristiky. Byla používána stejná metodika, ovšem u látek s delším alkylem klesal výtěžek a vyskytovaly se také praktické problémy při čištění těchto látek. Ačkoli acetylpyrazin substituovaný nonylem se podařilo připravit, syntéza derivátu s oktylovým zbytkem (S90) nebyla úspěšná. Destilací byla podle NMR spekter získána vždy pouze směs látek, proto u této sloučeniny nemohla být provedena fyzikálně-chemická charakterisace.



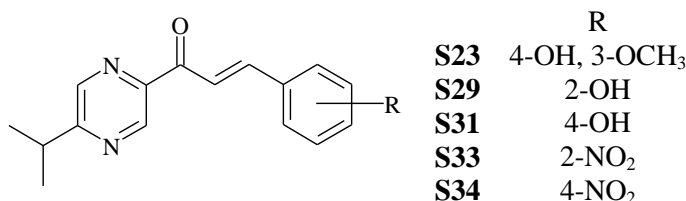
S90

U pyrazin-2-karbonitrilů a 1-pyrazin-2-ylethanonů byla provedena teoretická i experimentální studie hydrofobních vlastností [563].

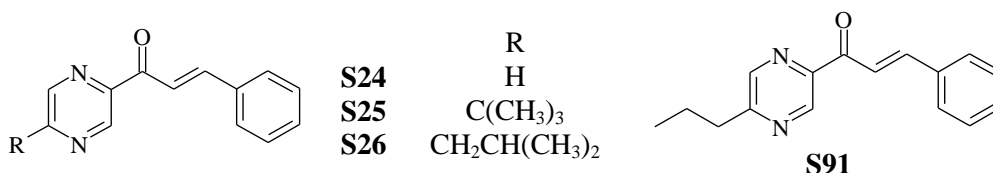
6.1.1.3 Příprava 1-pyrazin-2-yl-3-arylprop-2-en-1-onů, 1-(5-alkylpyrazin-2-yl)-3-arylprop-2-en-1-onů a 1-fenyl-3-subst.fenylprop-2-en-1-onů (S23 – S72) Claisen-Schmidtovou kondensací

Claisen-Schmidtovou kondensací v pyridinu za přídavku diethylaminu jako base bylo připraveno několik serií pyrazinových analogů chalkonů (podle schématu v kap. 5.1.1.3).

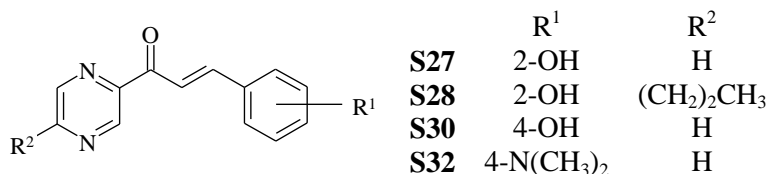
Dříve publikované série [71] byly doplněny o chalkony alkylované v poloze 5 kruhu A isopropylem (S23, S29, S31, S33, S34) s výtěžky 21 – 40 %.



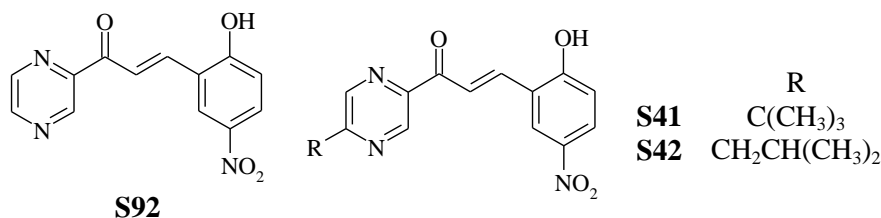
V řadě chalkonů odvozených od benzaldehydu byly připraveny v nízkých výtěžcích (1 – 30 %) pouze tři látky (**S24** – **S26**). U derivátu substituovaného isobutylem (**S26**) nebyl dostatek vzorku pro změření IČ spektra a CHN analýzy. NMR analýza potvrdila částečné znečištění produktu výchozím acetylpyrazinem, přesto by i tento derivát biologicky testován. Byla zkoušena také příprava dalších derivátů (chalkon alkylovaný propylem v poloze 5 pyrazinového jádra, **S91**), ovšem výsledky NMR spekter strukturu produktu nepotvrdily. Je možné, že výchozí benzaldehyd byl znečištěn oxidačním produktem, kyselinou benzoovou a proto byl benzaldehyd před dalším opakováním syntéz predestilován. Nicméně v dokončení této neperspektivní série se z důvodu problematického oddělování produktu od benzaldehydu dále nepokračovalo.



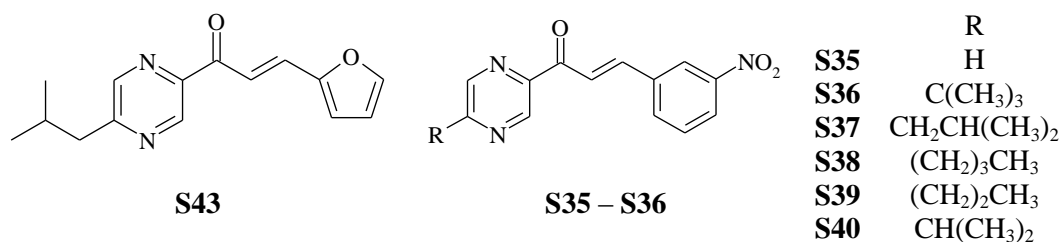
Známé chalkony [71] odvozené od salicylaldehydu (**S27**, **S28**), 4-hydroxybenzaldehydu (**S30**) a 4-dimethylaminobenzaldehydu (**S32**) byly připraveny s výtěžky 6 – 33 % jednak z důvodu nedostatku látek na testování biologické aktivity a jednak jako meziproducty pro Michaelovu adici.



Série chalkonů odvozená od 2-hydroxy-5-nitrobenzaldehydu byla problematická z důvodu nedostatku výchozího aldehydu. Syntéza začínala přípravou (*E*)-3-(2-hydroxy-5-nitrofenyl)-1-pyrazin-2-prop-2-en-1-onu (**S92**). Byly ovšem získány tmavé krystaly ve více jak 100% výtěžku netající do 350 °C. NMR spektrum potvrdilo přítomnost diethylaminu v látce, ale přesná struktura nebyla zjištěna. Domněnka, že diethylamin vytvořil s chalkonem sůl byla vyvrácena pokusem okyselit vodný roztok látky (kyselinou octovou nebo chlorovodíkovou) a vytřepat chalkon do organické fáze (chloroform). Ani rozpouštění ve vodném basickém prostředí (hydrogenuhlíčitanu sodného nebo hydroxidu sodného) a vytřepávání do organické fáze nevedlo k žádnému výsledku. Dodatečná hmotnostní analýza požadovanou strukturu nepotvrdila, ani neidentifikovala jinou látku. V této sérii byly připraveny pouze dvě látky (**S41**, **S42**), a to derivát s *tert*-butylem (**S41**) v tak malém množství (výtěžek 1 %), že nemohla být provedena elementární analýza, ale látka byla biologicky testována.

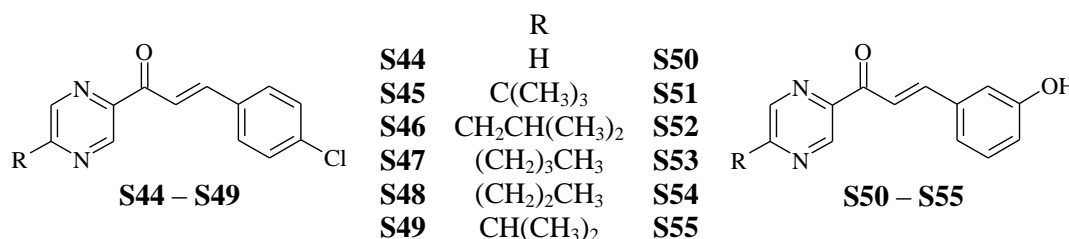


Kondensací 5-isobutylpyrazin-2-ylethan-1-onu s furan-2-karbaldehydem byl připraven (*E*)-3-furyl-1-(5-isobutylpyrazin-2-yl)prop-2-en-1-on (**S43**), ovšem ve velmi nízkém výtěžku (2 %).

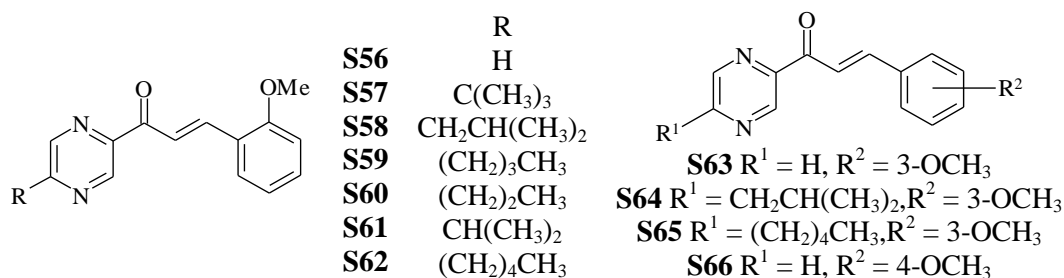


Nově byla připravena série pyrazinových analogů chalkonu odvozená od 3-nitrobenzaldehydu (**S35** – **S40**), výtěžky kondensace kolísaly mezi 18 – 43 % teoretického výtěžku. V literatuře je popsán je pouze derivát **S35** [547].

Řady pyrazinových analogů chalkonů odvozené od 4-chlorbenzaldehydu (**S44** – **S49**) a 3-hydroxybenzaldehydu (**S50** – **S55**) byly připraveny s acetylpyraziny **S12** – **S17** a bylo u nich dosaženo očekávaných reakčních výtěžků (2 – 16 % u chlorované série, 17 – 41 % u hydroxylované série). V literatuře byly dosud popsány jen nealkylované deriváty [547,548].

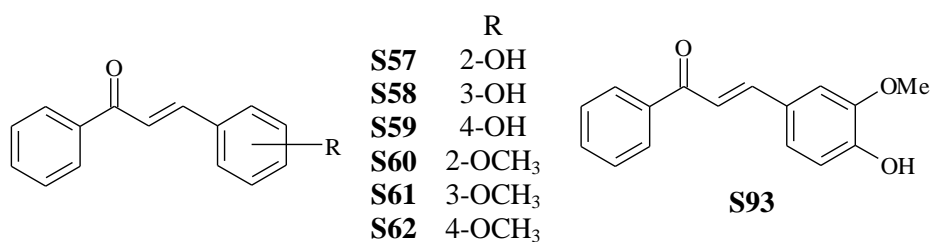


S pyrazinovými analogy chalkonů odvozenými od 2-methoxybenzaldehydu byl problém při chromatografickém oddělování výchozího aldehydu a také výtěžky této reakce byly dost nízké (1 – 14 %). Nicméně se podařilo připravit sérii 7 látek (**S56** – **S62**). Z dalších methoxyderivátů byly připraveny doposud 4 produkty (**S63** – **S66**, s výtěžky 5 – 19 %). Pouze **S66** je v literatuře popsána látka [547].



Pro srovnání biologických aktivit pyrazinových analogů chalkonů s 1,3-difenylprop-2-en-1-ony byly kondensací acetofenonu s aromatickými aldehydy připraveny chalkony **S67** – **S72** (viz kap. 5.1.1.4). K jejich přípravě byla použita metodika popsána Rojasem [347]. Tento postup je založen na rozpuštění výchozích látek v minimálním množství methanolu, přidání pelet hydroxidu sodného a míchání reakční směsi za laboratorní teploty. Vypadlý produkt by se měl oddělit pouze filtrací a čistit krystalisací. Zdánlivě jednoduchá metoda se ale brzy zkomplikovala. Výchozí látky se obtížně rozpouštěly, takže bylo potřeba přidat větší množství rozpouštědla. Isolaci a čištění produktu komplikoval i pevný hydroxid sodného, který zůstával v produktu. Metodika byla proto modifikována. Po uplynutí reakční doby byla reakční směs nalita do vody a následně okyselena kyselinou octovou za účelem neutralisace hydroxidu. Po vychlazení této směsi, byly pevné látky pouze odsáty a čištěny krystalisací. V případě, že z vodného roztoku vypadl olej, byla vodná fáze vytřepána etherem a etherový odparek byl dělen chromatograficky.

Chalkon odvozený od vanilinu (**S93**) se nepodařilo připravit ani touto metodou ani metodou používanou u pyrazinových chalkonů. Vždy byl získán pouze výchozí vanilin.



Všechny připravené 1,3-diarylprop-2-en-1-ony byly (*E*)-deriváty, což potvrdila jednak NMR analýza (interakční konstanta $J = 12,9 - 16,2$ Hz) a také infračervené spektrum, v němž se vyskytoval charakteristický absorpční pás $996 - 978$ cm^{-1} [564].

6.1.1.4 Příprava 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1,3-difenylpropan-1-onů (S73 – S79) a 3-alkylsulfanyl- a 3-arylsulfanyl-1-pyrazin-2-yl-3-subst.fenylpropan-1-onů (S81 – S85) Michaelovou adicí

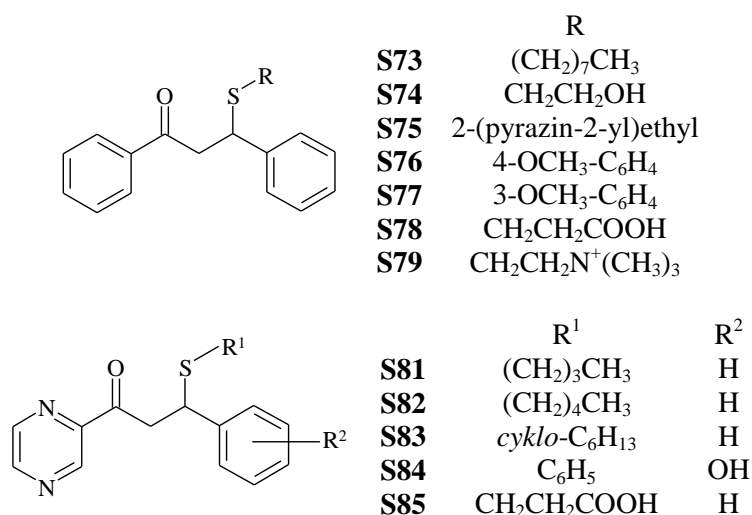
V roce 1998 popsali Toda *et al.* metodu pro Michaelovu adici [565], k jejímž výhodám patří snadná proveditelnost, absence organického rozpouštědla a zahřívání. Na našem pracovišti byla tato metoda použita poprvé v mé diplomové práci [7] a v rámci postgraduálního studia bylo touto metodou připraveno 9 dalších derivátů.

Voda je označována jako „zelené“, bezpečné, netoxické, účinné a hlavně levné rozpouštědlo. Mezi její jedinečné vlastnosti patří malá molekula, schopnost tvořit trojrozměrnou síť na principu vodíkových vazeb a za určitých podmínek je možné dokonce indukovat hydrofobní vlastnosti [566]. Jednou ze zásad „zelené chemie“, ekologicky šetrného přístupu, je minimalizace zbytků z organických syntéz, odstranění používání organických rozpouštědel, snížení nebezpečí vzniku požáru atd. [567].

Použitím katalysátoru fázového přenosu ve výše zmíněné metodice dochází ke vzniku micel, které inkludují molekuly chalkonu, a je tak umožněn průběh reakce s chalkony, které jsou za normálních okolností ve vodě nerozpustné. Přítomnost base podporuje disociaci molekuly thiolu a snadnější napadení nukleofilního místa na β -uhlíku enonového seskupení chalkonu.

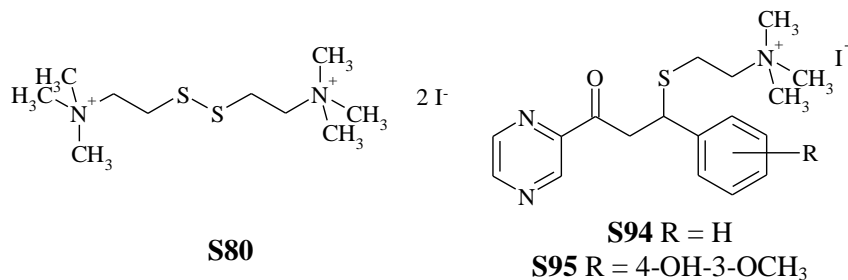
Touto metodou byly ve vysokých výtěžcích (kolem 80 %) získány adukty (S73 – S77) chalkonu s dalšími typy thiolů (podle schematu v kap. 5.1.1.5), které představují rozšíření série. Pyrazinová série aduktů s thiolu (S81 – S84, schema v kap. 5.1.1.6) se odvíjela od neúčinnějších látek nepyrazinové série (DP4, DP6, DP8) [7].

Adice kyseliny sulfanylpropionové (u produktu S78 a S85) musela být provedena jinou metodou [523,524], neboť pro výchozí kyselinu by vodné prostředí a basický katalysátor zjevně nebyly vhodné.

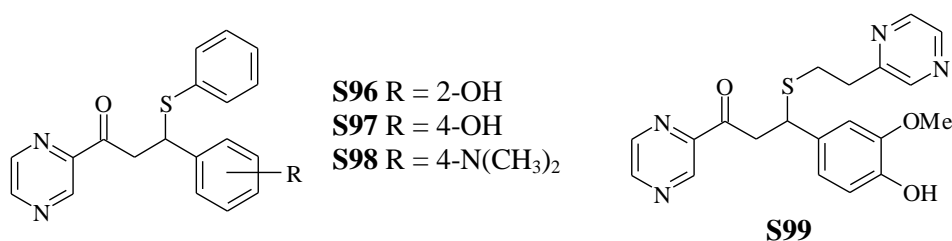


Adice thiocholinu na nesubstituovaný chalkon byla provedena na zahraničním pracovišti a neprobíhala zcela snadno. Nakonec byl zvolen postup podle Dimmocka [568]. Přestože byla metoda modifikována zvýšením molárního množství thiocholinu a zavedením ochranné atmosféry argonu, nepodařilo se získat vysoký výtěžek. Krystalisací z acetonu a vody bylo získáno 16 % čistého aduktu (S79). Pokud byl jako krystalisační rozpouštědlo použit acetonitril, byl vždy izolován disulfid thiocholinu S80.

Bylo provedeno několik pokusů připravit stejnou metodikou také adukty thiocholinu s pyrazinovými chalkony (**S94**, **S95**), ale experiment skončil vždy izolací disulfidu thiocholinu a výchozího chalkonu nepatrně znečištěného produktem.



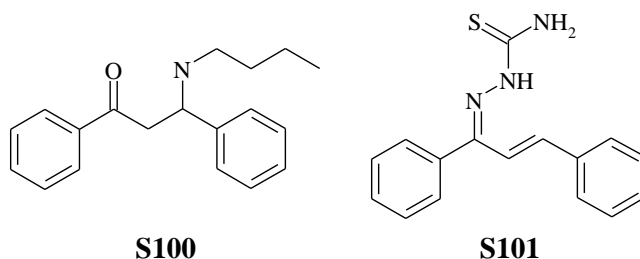
Problém s adicí thiolu byl u (*E*)-3-(2-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onu (**S27**), (*E*)-3-(4-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onu (**S30**), (*E*)-3-[4-(dimethylamino)fenyl]-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onu (**S32**) a (*E*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onu (**P1**, připravený dříve [71]), takže zobrazené sloučeniny (**S96** – **S99**) se nepodařilo metodou podle Tody připravit. NMR spektrum vždy potvrdilo výchozí chalkon.



Podobné sloučeniny vykázaly biologickou aktivitu – byly patentovány jako ACE-inhibitory pro terapii hypertenze [569].

Pro adicí nebyly použity pouze thioly, ale byl vyzkoušen i amin. Adicí *n*-butylaminu na chalkon byla zřejmě získána adiční sloučenina (**S100**), ale díky nestabilitě této látky [565] nebyly získány žádné identifikační údaje.

Obdobné adice jsou popsány v literatuře: adice sekundárního aminu na α -metylenlakton [570], adice pyrrolidinu [571,572], iminů a hydrazonů [573] a karbamátů [574] na enony.



Další modifikací enonového seskupení byla příprava chalkon-thiosemikarbazonu **S101**. Kondensace byla provedena metodou popsanou v diplomové práci Švandové [575]. Výsledkem byly ale krystaly, které s největší pravděpodobností odpovídaly výchozímu thiosemikarbazidu. Thiosemikarbazony jsou známy z farmakoterapie jako antituberkulotika, v současné době spíše obsolentní, ale vykazují řadu dalších biologických účinků [575,576,577], takže stále představují aktuální potenciální účinné látky. Této problematice bude v budoucnu v naší pracovní skupině ještě věnována pozornost.

6.1.2 Syntéza 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2H)-onu (S88)

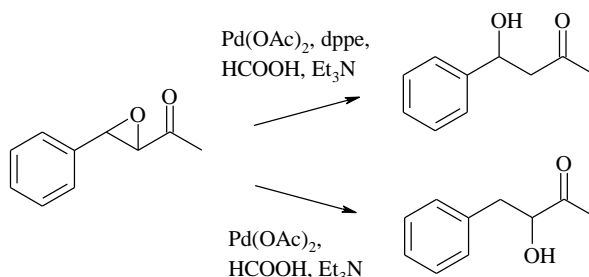
Auron (S86) a jeho epoxid (S87) byly připraveny bezproblémově v odpovídajících výtěžcích dle diplomové práce Marečka [8]. V rámci jeho práce byly zkoušeny i jiné syntetické přístupy za účelem získání 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2H)-onu, např. kontrakce kruhu 3-hydroxyflavanonu, přímá hydratace auronu, ale neúspěšně. Mareček popsal dobře syntézu auronu (S86) a auronepoxidu (S87). Na jeho experimenty bylo navázáno během čtyřměsíční stáže na univerzitě Bonn pod vedením prof. Gütschowa.

Hydrogenace auronepoxidu byla nejprve prováděna neúspěšně v methanolu s 5 % PdO/BaSO₄ po dobu 4 hodin. Dále byl zkoušen 10% Pd/C v ethanolu [578,579] a byl získán požadovaný produkt (S88, viz tab. 26). Pokud bylo NMR spektrum změřeno v DMSO, bylo čisté, při měření v CDCl₃ vykazoval auronol (S88) tautomerii s α -diketonem (S88a) [580], což bylo pozorováno již dříve u podobných derivátů [540,581]. Pozorovaný diketon byl již dříve izolován z *Primula pulverulenta* Duthie (Primulaceae). Během sloupcové chromatografie přecházela tato látka na odpovídající flavon, což v naší práci pozorováno nebylo [554]. Zároveň byl z této reakce v různých výtěžcích v závislosti na reakční teplotě izolován 3-fenyl-1-(2-hydroxyfenyl)-2-hydroxypropan-1-on (S89).

Při hydrogenaci 1,2-epoxyketonů se nejprve redukuje epoxidový kruh za vzniku α -hydroxyketonu. Další redukcí může vzniknout 1,2-diol [582]. Existují přirozeně výjimky, např. za použití platinového katalyzátoru je prioritně redukována ketoskupina na sekundární alkoholickou skupinu. Při použití Raneyova niklu nebo palladia platí výše uvedené [583,584].

Podmínky, za nichž může vznikat z α,β -nenasyceného ketonu β -hydroxyketon, uvedl Torii *et al.* Rozhodující byla přítomnost ligandů (dppe) v systému donoru palladia, TEA a kyselina mravenčí v THF (schema 27) [585].

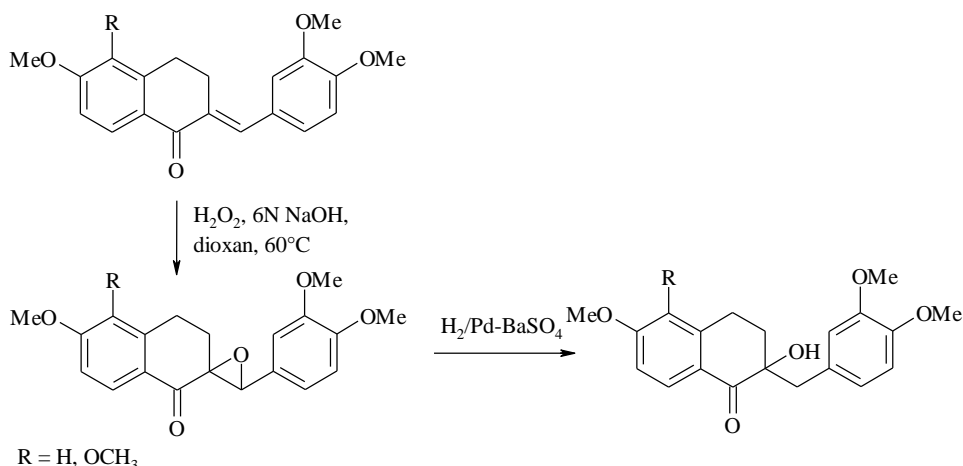
Schema 27. Selektivní hydrogenace 1,2-epoxyketonu



Alternativou je použití bis(cyklopentadienyl)titanium chloridu (Cp₂TiCl) jako katalysátoru. Tento katalysátor je schopen selektivně indukovat deoxygenaci epoxidů přes β -alkoxyradikál [586].

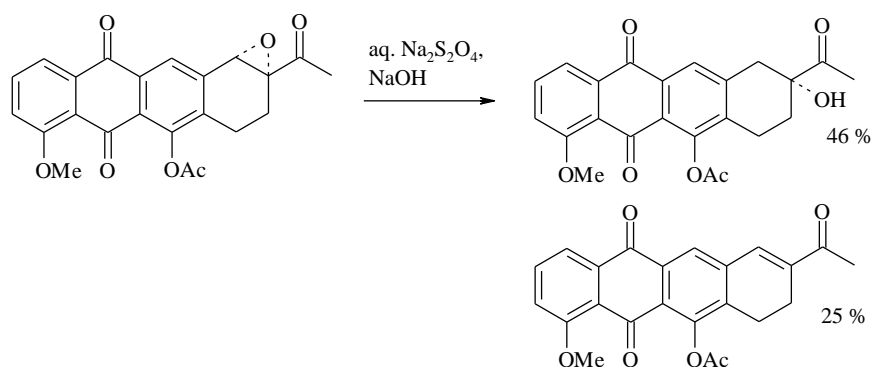
Při syntéze brasilinu byl z α,β -nenasyceného ketonu připraven ketoepoxid, jenž byl rozložen na α -hydroxyketon za katalýzy palladium-síranem barnatým v benzenu (schema 28). Otvírání oxiranového kruhu bylo z důvodu proměnlivé aktivity katalysátoru těžko reprodukovatelné [587].

Schema 28. Otevírání epoxidového kruhu při syntéze brasilinu



V alkalickém prostředí byl štěpen epoxidový kruh prekursoru za cílem získání 7,11-dideoxydaunomycinonu při přípravě biologicky aktivních antracyklinů s redukovánými NÚ. Vedlejším produktem byl ale dehydratační produkt, což může být důsledkem indukčního efektu acetylové skupiny (schema 29) [588,589].

Schema 29. Příprava biologicky aktivních antracyklinů



6.2 Biologické hodnocení

6.2.1 Antimykobakteriální testování

Připravené chalkony a jejich adukty byly podrobeny testování na antituberkulotickou účinnost.

V antimykobakteriálním testu přesáhly 2 sloučeniny z derivátů chalkonu (**S33**, **S34**) a 1 thiolový adukt (**DP11**) 90% inhibici vzhledem ke kontrole v koncentraci $6,25 \mu\text{g} \times \text{ml}^{-1}$, takže postoupily do další fáze hodnocení, odkud ovšem byly později z důvodů vysoké toxicity vyřazeny.

V pyrazinové řadě chalkonů alkylované v poloze 5 isopropylem (**S23**, **S39**, **S31**, **S33**, **S34**) vynikají výrazně v antimykobakteriální účinnosti deriváty nitrované v poloze 2 nebo 4 kruhu B (**S33**, 97% inhib.; **S34**, 91% inhib.). Jejich isomer **S40** neinhiboval Mtb vůbec (0 %), ale deriváty s nitroskupinou v poloze 2 nebo 4 kruhu B, bez alkylace pyrazinového jádra, příp. s *tert.*butylem či propylem inhibovaly růst Mtb 100% [72].

U pyrazinových chalkonů odvozených od benzaldehydu (**S24** – **S26**), 2-hydroxy-5-nitrobenzaldehydu (**S41**, **S42**) a furfuralu (**S43**) byly testovány z důvodu neúplnosti sérií nebo nedostatku vzorku jen 4 látky, vzhledem k tomu nelze vyvodit SAR. Významnější aktivita byla zaznamenána u 3-fenyl-1-pyrazin-2-ylprop-2-enu-1-onu (**S24**, 82% inhib.) a furylového analogu chalkonu (**S43**, 88% inhib.) [591].

Z pyrazinových analogů chalkonu nitrovaných v poloze 3 kruhu B (**S35** – **S40**) byl opět nejaktivnější chalkon bez alkyly (**S35**, 68% inhib.).

V řadách pyrazinových analogů chalkonů odvozených od 4-chlorbenzaldehydu (**S44** – **S49**) a 3-hydroxybenzaldehydu (**S50** – **S55**) byla antimykobakteriální aktivita velmi nízká, nejvýznamnější byly nealkylovaný chlorovaný derivát (**S44**, 63%) a derivát s *terc*-butylem v poloze 5 kruhu A a hydroxyskupinou v poloze 3 kruhu B (**S51**, 28% inhib.) [591]. 1-Fenyl-3-(3-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**S50**, 0% inhib.) byl neaktivní narozdíl od nepyrazinového analogu (**S58**), jenž dosáhl 86 % inhibice.

U methoxylovaných pyrazinových analogů chalkonu (**S56** – **S66**) je série také neúplná (22 – 71% inhib.), každopádně pyrazinový analog s methoxyskupinou v poloze 4 na kruhu B (**S66**) působil na Mtb neúčinněji (86% inhib.).

Chalkony bez pyrazinového kruhu a alkylace na kruhu A (**S67** – **S72**) byly připraveny pro srovnání biologické aktivity a v případě chalkonů odvozených od 2- a 3-methoxybenzaldehydu inhibovaly Mtb více. Bohužel nebyly všechny látky z 1,3-difenylprop-2-en-1-onů do testování přijaty, proto nelze porovnat všechny deriváty.

Přesto mezi neaktivnější chalkony patřily pyrazinové analogy chalkonu s nitroskupinou v poloze 2 nebo 4 kruhu B [72]. Na nitrované nepyrazinové deriváty se zaměří naše pozornost v budoucnu. Nitroskupina zřejmě zvyšuje elektronový deficit na β -uhlíku a přispívá tak k určitému rozložení elektronů v molekule. Ve většině sérií chalkonů byl neaktivnější sloučeninou nealkylovaný derivát. Pyrazinový kruh by mohl představovat polární část molekuly a nitrovaný fenyl lipofilní část [61].

U aduktů nepyrazinových chalkonů s různými thioley (**DP1** – **DP9**, **S73** – **S76**) je situace zajímavá, neboť tyto látky postrádají dvojnou vazbu konjugovanou s ketonem a jejich aktivita se pohybovala mezi 56 – 89 % inhibice. Z řady aduktů pyrazinových analogů s thioley (**DP10**, **11**, **S81** – **S84**) pochází neúčinnější sloučenina **DP11** (99 % inhibice), její nepyrazinový analog (**DP1**) byl o něco méně aktivní (81% inhib.). Je možné, že i takové adukty působí antimykobakteriálně. Domněnka, že by Michaelovy adukty působily jako prekursorů a uvolňovaly chalkon v testovacím médiu, je vyvrácena aktivitou parentního chalkonu (**S24**, 82% inhib.). Svou roli zde tedy hraje pyrazinové jádro, nikoli enonové seskupení. Pro další pyrazinové adukty byly do reakce vybrány thioley, které se osvědčily u nepyrazinových, ale tato obměna žádnou aktivnější sloučeninu nepřinesla.

Závěrem lze konstatovat, že v posledních pěti letech byly do značné míry upřesněny poznatky o vztazích mezi strukturou a protibakteriální aktivitou chalkonů a jejich analogů. Zatímco starší práce většinou zdůrazňovaly význam enonového seskupení fenolických skupin pro antibakteriální účinek [26], je podle některých novějších údajů [41,42,61] důležité, aby byl na základní propenon vázán na jedné straně hydrofilní a na druhé straně lipofilní substituent. U většiny studovaných sloučenin má hydrofilní charakter kruh A a lipofilní charakter kruh B, avšak chalkony s obráceným uspořádáním jsou rovněž antibakteriálně účinné. Tento předpoklad v zásadě odpovídá závěrům odvozeným ze starší QSAR studie [590]. Protože však nezanedbatelná aktivita byla zaznamenána i u některých derivátů, v nichž oba kruhy nesou hydrofilní hydroxylovou skupinu [26] a u 3-fenyl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů, v nichž je kruh A hydrofilní a kruh B substituovaný hydroxylem nebo nitroskupinou [71,72,591], zdá se, že ani lipofilita není ve vztahu k antibakteriální aktivitě rozhodující a že aktivitu výrazně zvyšuje přítomnost elektrony přitahujícího substituentu na kruhu B [72]. Pokud je v molekule chalkonů vázána aminoskupina, musí být od aromatického jádra oddělena minimálně dvoučlankovým řetězcem [41].

Aktivita výše zmíněných dihydrochalkonů [54] a některých derivátů připravených na našem pracovišti [592] naznačuje, že ani přítomnost enonového seskupení není pro účinek nezbytná. Pokud jde o mechanismus antibakteriálního působení je jejich účinek chalkonů a jejich analog dán s největší pravděpodobností poškozením buněčné membrány [41].

6.2.2 Antifungální testování

Antifungální hodnocení chalkonů a jejich aduktů s thioley neodhalilo žádnou antifungálně velmi účinnou látku, která by dosud nebyla popsána.

U mikrodiluční bujónové metody můžeme rozdělit látky dle MIC do 4 kategorií antimycetární účinnosti: velmi účinné ($< 1 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$), účinné ($1 - 10 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$), středně účinné ($10 - 100 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$) a slabě účinné ($> 100 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$).

V porovnání s použitými standardními antimykotiky vynikaly mezi (*E*)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-*subst.*fenylprop-2-en-1-ony (**S23**, **S29**, **S31**, **S33**, **S34**) inhibicí *T. mentagrophytes* deriváty **S33** a **S34**. U těchto sloučenin byla zaznamenána také inhibice výrazná *Mtb* (viz kap. 6.2.1). V porovnání s deriváty, kde byl obměňován charakter alkylu v poloze 5 pyrazinového jádra, jsou sloučeniny **S33** a **S34** aktivnější.

Z řady neúplných sérií (**S24** – **S26**, **S41** – **S43**) působil nejlépe nesubstituovaný pyrazinový analog chalkonu (**S24**), který inhiboval kromě kmenů *Candida* (se středním účinkem), dobře také *T. mentagrophytes* (MIC/IC₈₀ $7,81 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$). V porovnání s odpovídajícím nepyrazinovým chalkonem (komerčně dostupný nesubstituovaný 1,3-difenylprop-2-en-1-on) byl pyrazinový derivát, s výjimkou působení na *Absidia corymbifera*, účinnější. Zavedením alkylu na kruh A klesal účinek i rozpustnost. U chalkonů odvozených od 2-nitro-5-benzaldehydu (**S41**, **S42**) a furfuralu (**S43**) nebyl kromě citlivého *T. mentagrophytes* markantní inhibiční účinek [591].

Zatímco 3-(3-nitrofenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ony (**S35** – **S40**) neinhibovaly *Mtb* nijak výrazně, je v porovnání s isomery [72] markantní jejich účinek na testované houby, především *T. mentagrophytes* a u **S35** a **S39** také *Candida* spp.

Ve skupině 3-(4-chlorfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ony (**S44** – **S49**) byl problém s rozpustností v daném médiu (kromě látky s propylem v poloze 5 kruhu A), a nebylo tak možné stanovit správně jejich MIC/IC₈₀ [591].

Pyrazinové analogy chalkonu s hydroxyskupinou v poloze 3 kruhu B (**S50** – **S55**) byly středně až slabě účinné, výraznější citlivost na tyto látky projevily *T. mentagrophytes* a aktivita ležela zhruba mezi účinnějšími 3-(2-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ony a méně účinnými 3-(4-hydroxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ony [71].

Derivát s *terc*-butylem v poloze 5 kruhu A (**S51**) působil inhibičně téměř na všechny testované kmeny hub, ale nikoli výrazným účinkem [591].

Pyrazinové analogy chalkonu methoxylované v různých polohách na kruhu B (**S56** – **S66**) jsou převážně antifungálně neaktivní, jednou z výjimek je látka s methoxyem v poloze 3 (**S63**) s nejširším spektrem účinku, inhibovala všechny druhy *Candida*, *Aspergillus fumigatus* a *Trichophyton mentagrophytes*. O něco slabší účinek měly deriváty s methoxyem v poloze 2 a 4, působily jen slabě na kmeny *Candida* spp. a posledně zmíněný derivát také na *Aspergillus fumigatus*. Série 2-methoxylovaného pyrazinového chalkonu byla celá doplněna o alkylované deriváty, nicméně zlepšení antifungálního účinku to nepřineslo. V ostatních sériích všechny deriváty vzhledem malé antimykobakterální účinnosti a nízkých reakčních výtěžků zatím syntetizovány nebyly.

U 3-pyrazin-2-yl-1-*subst.*fenylprop-2-en-1-onů odvozených od benzaldehydu, 3-nitrobenzaldehydu a 2-methoxybenzaldehydu jsou účinnější chalkony bez alkylace v poloze 5 pyrazinu, u analogů odvozených od 3-hydroxybenzaldehydu inhiboval testované houby více derivát s *terc*-butylem v poloze 5 pyrazinového jádra. U ostatních sérií není možné z důvodu neúplnosti série nebo nerozpustnosti látek v daném testu konstatovat podobný závěr.

Nepyrazinové chalkony hydroxylované a methoxylované různě na kruhu B (**S67** – **S72**) jsou popsány látky [18,332,507,549]. Z hlediska účinku na testované fungální kmeny inhibovaly více deriváty s hydroxyem než methoxyem. Hodnota MIC methoxylovaných chalkonů (**S70** a **S71**) v našem testu ($31,25 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$) se poněkud odlišovala od literární hodnoty stanovené podobnou

metodou ($0,003 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$) [18]. Látky byly ale testovány na jiném kmenu *T. mentagrophytes* (ATCC 9972) a také se různila definice MIC (nejnižší koncentrace, která nezpůsobuje viditelný fungální růst). Zároveň tato skutečnost dokresluje rozdílnost používaných testů a obtížné porovnání biologické aktivity látek. Téměř na všechny houby působil 1-fenyl-3-(2-hydroxyfenyl)prop-2-en-1-on (**S67**), a to srovnatelně se standardy (ketokonazolem a flukonazolem). V porovnání s pyrazinovými analogy byly nepyrazinové hydroxylované chalkony účinnější než jejich pyrazinové analogy, u methoxylovaných chalkonů byly naopak účinnější pyrazinové analogy.

Při srovnání antifungální účinnosti parentního chalkonu (**1**) a jeho aduktů (**S73 – S79**) nelze najít po nasycení násobné vazby nějaký markantní rozdíl. Neaktivním byl adukt s oktylsulfanylovým zbytkem (**S73**), zřejmě díky vysoké lipofilitě podobně jako heptylderivát [7]. Antifungální účinek stoupl adicí 2-sulfanylethanolu (**S74**) a 2-pyrazin-2-ylethanliolu (**S75**).

U pyrazinových aduktů (**DP10, DP11, S81 – S85**) se antifungální aktivita oproti parentnímu chalkonu zvýšila, a to především u *Candida* spp. adicí kyseliny thioglykolové (**S84**), benzenthliolu (**DP11**) a butanthliolu (**S81**) na pyrazinový analog chalkonu. Dva posledně zmíněné adukty účinkují také na *Aspergillus fumigatus*. Adicí pentanthliolu nebo cyklohexanthliolu na pyrazinový analog chalkonu a benzenthliolu na pyrazinové chalkony substituované na kruhu B se aktivita výrazněji neměnila.

Porovnáním antifungálního účinku aduktů odvozených od nepyrazinových a pyrazinových chalkonů jsou látky s pyrazinovým kruhem jednoznačně účinnější.

Tato práce rozšiřuje tedy studii chalkonů publikovanou Lopézovou a jejími spolupracovníky [18], kteří netestovali pyrazinové analogy a kromě záměny za furyl se jim neosvědčila jiná kruhová analogie u 1,3-difenylpropanonu. Při zachování určité substituce může tedy i pyrazinové jádro zvýšit antifungální účinnost. Ale pro pyrazinové analogy nutně neplatí, že substituenty s +I efektem na kruhu B (**S35** a **S53**) snižují účinek a pro substituenty s -I efektem by byla vhodná pouze *para*-poloha. Také některé látky s nasycenou násobnou vazbou (Michaelovy adukty chalkonů s thiolu) si zachovaly antifungální účinek výchozích chalkonů.

6.2.3 Testování inhibice fotosyntézy

Adukty (**DP1 – DP9** [593], **S73 – S76, S81 – S83**) prakticky redukovaly v koncentračním rozmezí $0,833 – 100 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$ velmi málo množství chlorofylu v suspensi *Chlorella vulgaris*, tzn. že tyto látky málo ovlivňují enzymatické pochody spojené se syntézou chlorofylu. Výjimkou byly 2 látky (**S81, S82**), u nichž se dala stanovit IC_{50} . Také **S83** a **DP2** potlačuje částečně při dané koncentraci produkci chlorofylu (15 – 20 % kontroly).

Obdobná byla situace u chalkonů, v sériích odvozených od 3-nitrobenzaldehydu (**S35 – S40** [72]), 4-chlorbenzaldehydu (**S44 – S49** [591]) a 3-hydroxybenzaldehydu (**S50 – S55** [591]) bylo u všech látek možné určit IC_{50} , ale tyto koncentrace zdaleka nedosahovaly účinnosti uvedených herbicidů.

Lze konstatovat, že látky mají velmi nízkou inhibiční aktivitu související s procesem fotosyntézy.

6.2.4 Antiagregační hodnocení chalkonů

Chalkony byly testovány na antiagregační schopnosti [594,595,596,597]. Inhibovaly agregaci krevních destiček indukovanou arachidonovou kyselinou, inhibice byla závislá na dávce. Acetylsalicylová kyselina byla použita jako pozitivní kontrola (IC_{50} $16,1 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$). Nejvýraznější protideštičkovou aktivitu vykazala série odvozená od vanilinu, IC_{50} těchto látek se krom jedné (**P1**) pohybovaly v rozmezí molárních koncentrací $4,1 – 9,7 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$, látky byly tedy výraznějšími antiagreganty než acetylsalicylová kyselina. Mezi chalkony obsahujícími hydroxylovanou substituci na kruhu B byly neúčinnější deriváty odvozeny od salicylaldehydu (např. **P6**, IC_{50} $40,1 \mu\text{mol} \times \text{l}^{-1}$).

6.2.5 Testování chalkonů na inhibici papainu

Všechny uvedené chalkony byly měřeny podle vypracované metodiky [598].

Screening chalkonů byl proveden při koncentraci 100 μM , vybrané látky byly měřeny při 50 a 10 μM . Při koncentraci 100 μM byly roztoky některých látek zakalené, při 50 μM byly, až na výjimky (viz. tab. 50), všechny látky rozpuštěné, při 10 μM byly všechny bez problémů rozpuštěné.

Problémy s rozpustností chalkonů v testovacím médiu byly zaznamenány již u některých jiných biologických testů, ovšem nikdy v takové míře. Navíc bylo zakalení někdy závislé na čase. Bezprostředně po přípravě testovaného roztoku byla látka rozpuštěna a po chvíli se vysrážela.

Většina chalkonů nevykázala při koncentraci 100 μM výraznou inhibici (inhibice > 80 % kontroly). U některých látek se projevil zvláštní efekt, křivka závislosti absorbance na čase buď klesala, nebo po počáteční klesající fázi začala opět stoupat.

Látky, které projevil inhibici nebo látky s popsánými zvláštními efekty (označeno jako atypické), rozpustné v koncentraci 100 μM , byly testovány při 10 μM . V této koncentraci ovšem nebyla zaznamenána žádná inhibice, a proto byla zvolena koncentrace 50 μM chalkonu. Vybrané látky inhibující při této koncentraci byly proměřeny při 7 různých koncentracích (v rozmezí koncentrací, kdy látka neinhibovala papain vůbec až do koncentrace, kdy se nerozpouštěla) a počítačově u nich byla vypočítána zdánlivá inhibiční konstanta K_i' a rychlost reakce v_0 (koncentračně závislé měření).

Nepyrazinové chalkony v koncentraci 100 μM neinhibovaly papain, kromě 3-(2-hydroxyfenyl)-1-fenylprop-2-en-1-onu (**S67**), u něhož byla určena zdánlivá inhibiční konstanta (161 μM).

Pyrazinové analogy chalkonu odvozené od vanilinu částečně inhibovaly papain (u jedné z nich nebylo možno spočítat inhibiční konstanty) a sloučeniny, které neinhibovaly byly obtížně rozpustné v používaném médiu. Chalkony odvozené od benzaldehydu neinhibovaly a navíc byly obtížně rozpustné. Chalkony odvozené od salicylaldehydu byly problematické, látky neposkytovaly při měření typické křivky (atypické), kromě 2 látek, které se jednak špatně rozpouštěly, a jednak papain neinhibovaly. Chalkony odvozené od 4-hydroxybenzaldehydu byly všechny měřeny při 50 μM , ale inhibice nebyla výrazná, koncentračně závislé měření bylo provedeno jen u 3 látek, jelikož ostatní vykázaly při 100 μM atypické křivky nebo byly nerozpustné. Chalkony s dimethylaminoskupinou na kruhu B neprojevily inhibici kromě jedné látky, která inhibovala při 50 μM atypicky. Sloučeniny odvozené od 2-nitrobenzaldehydu inhibovaly až po delší době jako pomalé inhibitory (slow binding inhibitors). Zatímco u předcházejících derivátů nebyl v daných koncentracích velký problém s rozpustností, žádný chalkon od 4-nitrobenzaldehydu se při 100 μM nerozpustil. U derivátů s 3-nitrosubstitucí byla situace obdobná, prakticky všechny byly při 100 μM obtížně rozpustné, ale 2 z nich byly měřeny při 50 μM , ovšem bez výrazné inhibice. U jediného připraveného chalkonu odvozeného od 2-hydroxy-5-nitrobenzaldehydu byla inhibice také atypická. Nadějným se zdál chalkon od furfuralu, bylo u něj měřeno koncentračně závislé měření, ale inhibice nebyla významná. Všechny methoxylované pyrazinové analogy chalkonu byly špatně rozpustné, přesto byla u 2 látek změřena inhibice při 50 μM , ale nebyla výrazná.

Chalkon **P6** (90 μM) byl měřen i v přítomnosti 10 μM DTT (data nezobrazena), ovšem nevykázaly žádnou inhibici, stejně tak, jako když byl pro aktivaci enzymu použit cystein (300 μM) místo DTT.

S látkou **P6** bylo provedeno také inkubační měření (data nezobrazena), kdy byl chalkon inkubován s DTT a enzymem v 8 kyvetách a v desetiminutových intervalech byl vždy do jedné kyvety přidán substrát a byla měřena inhibice po dobu 8 minut. S přibývajícím časem inhibice klesala inhibice papainu chalkonem.

Testování chalkonů na inhibici papainu není možné objektivně vyhodnotit, neboť v testu docházelo k interakci chalkonů s DTT (finální koncentrace ve vzorku 300 μM), látkou aktivující a stabilizující papain.

V literatuře je popsáno snížení inhibice ureasové aktivity jednoduchými nenasycenými ketony, pokud byl testu přítomen 2-sulfanylethanol nebo DTT. Ureasa patří do skupiny enzymů s thiolovou skupinou v katalytickém aktivním místě a inhibice, kterou vykazaly zmíněné látky byla reversibilní [599].

Reversibilitu této reakce ale není možné zevšeobecnit na jakoukoli adovanou sloučeninu, neboť u obdobné látky, substituovaného 1-fenyl-1-penten-3-onu probíhala reversibilně pouze reakce s nízkomolekulárními thioly, zatímco s thioly proteinového charakteru reagoval enon irreversibilně [600]. Látky se tedy mohou chovat jinak v testu a odlišně v makroorganismu.

6.3 Studium reakční kinetiky chalkonů s látkami obsahujícími thiolovou skupinu

Pro měření UV-VIS spekter při reakci se 3 různými thiolovými látkami (DTT, Cys, MES) byly vybrány 4 nepyrazinové chalkony – bez substituce (chalkon **1**) a s hydroxyskupinou v různých polohách na kruhu B (**S57**, **58**, **59**) a jejich pyrazinové analogy (**S23**, **S26**, **S40**, **S28**). V experimentální části jsou zobrazeny grafy (1 – 8) se vzorky všech chalkonů (100 μM) a DTT ve 2 různých koncentracích (1 mM a 100 μM) a křivky zobrazují pokles, ev. nárůst absorbance v závislosti na čase v maximu absorbance daného chalkonu (spektra viz kap. 5.1.3). Pro ilustraci je uvedena ještě situace u chalkonu a Cys a MES (grafy 9 a 10).

Z grafu 1 lze vyčíst, že nesubstituovaný chalkon reaguje s DTT relativně pomalu (samozřejmě záleží na koncentraci thioly) až do ustavení rovnováhy. Naproti tomu chalkon s hydroxyskupinou v poloze 2 na kruhu B (graf 2) reaguje za daných podmínek velmi rychle, ale reakce se s postupem času reversibilně vrací. Méně překotně reaguje chalkon s 3-hydroxyskupinou (graf 3) až do rovnováhy, zatímco chalkon s hydroxyskupinou v poloze 4 reaguje velmi nepatrně (graf 4). U pyrazinových analogů chalkonů je reaktivita vůči DTT markantně vyšší. Na počáteční fázi křivek je vidět, že jsou zde určité rozdíly v reaktivitě odpovídající nepyrazinovým analogům, ale celkově reagují látky ochotněji a rychleji. Rozdíl je v tom, že u všech pyrazinových analogů probíhá reakce výrazně reversibilně.

S cysteinem (graf 9) probíhala adice tak rychle, že ani není zachycen na začátku křivky pokles absorbance, ale jen její nárůst při zpětné reakci. Mírnější průběh byl zaznamenán u MES (graf 10). Reaktivita vůči MES odpovídala u pyrazinových analogů chalkonů zhruba reaktivitě s DTT.

Toto měření je pouze předběžné měření kinetiky adiční reakce chalkonů s thiolovými látkami, ale vypovídá o tom, že chalkony reagují různě ochotně s různými thioly a odlišně se u nich ustavuje rovnováha této reakce. Z hlediska terapie se nejčastěji používají inhibitory reversibilní, i když někdy je žádoucí i irreversibilní terapie, ale rozhodně nejsou vhodné látky, které reagují příliš ochotně zpětnou reakcí.

7 SOUHRN

Tato disertační práce se zabývá hledáním potenciálních léčiv, konkrétně přípravou a studiem biologické aktivity derivátů přírodních látek – chalkonů. Součástí práce je příprava meziproductů – 5-alkylovaných pyrazin-2-karbonitrilů a 1-pyrazin-2-ylethanonů. Jako finální produkty byly syntetizovány substituované chalkony, několik sérií pyrazinových analogů chalkonů a Michaelovy adukty chalkonů s různými thioley. V této části práce byly použity známé metodiky reakcí. Produkty byly identifikovány teplotou tání, resp. teplotou varu, IČ a NMR spektry, příp. MS spektry. Jejich čistota byla ověřena elementární analýzou.

Celkem bylo připraveno

- 22 meziproductů (z toho 9 dříve popsanych na našem pracovišti)
- 62 finálních látek (z toho 19 dříve popsanych)
- 1 vedlejší produkt

Podářilo se připravit 57 dosud nepopsanych látek. Syntéza 12 sloučenin byla neúspěšná.

Konečné produkty byly testovány na antimykobakteriální, antifungální, antialgální a antiagregační účinky. Chalkony byly zkoušeny také na inhibici jedné z cysteinových proteas – papainu a v návaznosti na tuto část práce byla provedena předběžná studie reakční kinetiky adice chalkonů s látkami obsahujícími thiolovou skupinu.

Minoritní díl této práce tvoří část zabývající se syntézou 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-onu jako přírodního auronolu. V této části byly optimalisovány podmínky hydrogenace auronepoxidu, jenž byl připraven z odpovídajícího auronu. Tato trojstupňová syntéza poskytla nejen požadovaný produkt, byla zjištěna přítomnost i jeho isomeru (diketonu) a byl získán i 1-(2-hydroxyfenyl)-3-fenyl-2-hydroxypropan-1-on.

Při hledání vhodných podmínek pro syntézu přírodního auronolu byly připraveny

- 3 sloučeniny a 1 isomer (dříve popsané)
- 1 vedlejší produkt (dříve popsáný)

a byla popsána dosud nepublikovaná jednoduchá trojstupňová syntéza přírodní látky.

8 SUMMARY

This dissertation thesis deals with searching for potential drugs, particularly with preparation and biological activity study of natural compounds derivatives – chalcones. The work includes preparation of intermediates – 5-alkylated pyrazin-2-carbonitriles and 1-pyrazinyl-2-ethanones. Substituted chalcones, several series of pyrazine analogues of chalcones and Michael adducts of chalcones with different thiols were prepared as final products. In this part of the work, known reaction methodologies were used. Products were identified by melting point, resp. boiling point, IR, NMR spectra. Their purity was checked by elemental analysis. In the case of liquids, elemental analysis could not be performed, and MS spectra were recorded instead.

In total were prepared

- 22 intermediates (9 of them have been described in our department)
- 62 final products (19 of them have been already described)
- 1 by-product

57 Unknown compounds were prepared. Synthesis of 12 compounds was not successful.

The final products were tested for their antimycobacterial, antifungal, antialgal, and antiaggregating effects. The chalcones were examined for the ability to inhibit one of the cysteine protease – papain and this part of the work continued in a preliminary kinetic study of reaction addition of chalcones with thiol-containing compounds.

The minor part of this work deals with synthesis of 2-benzyl 2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-one, as a natural auronol. In this section, reaction conditions for hydrogenation of aurone epoxide, that was prepared from corresponding aurone, were optimized. This three step-synthesis furnished not only the desired product, the presence of its isomer (diketone) was detected as well and 1-(2-hydroxyfenyl) 3-fenyl 2-hydroxypropan-1-one was obtained.

In the frame of searching for appropriate conditions for the natural auronol synthesis were prepared

- 3 compounds and 1 isomer (formerly described)
- 1 by-products (formerly described)

and a simple three step-synthesis of the natural substance was described.

9 SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PRACÍ

Práce publikované v odborných časopisech:

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.: Chalkony jako potenciální inhibitory aldosa reduktasy. *Chem. Listy* **2004**, 98 (6), 320 – 323. ISSN 0009-2770.

LÖSER, R.; CHLUPÁČOVÁ, M.; MAREČEK, A.; OPLETALOVÁ, V.; GÜTSCHOW, M.: Synthetic studies towards the preparation of 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3-(2*H*)-one, the prototype of naturally occurring hydrated auronols. *Helv. Chim. Acta* **2004**, 87 (10), 2597 – 2601. Erratum in *Helv. Chim. Acta* **2004**, 87 (11), 2967. ISSN 0018-019X.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; KUNEŠ, J.; KRÁLOVÁ, K.: Synthesis of 3-alkyl- and 3-arylsulfanyl-1,3-diphenylpropan-1-ones and their effects on two photosynthesizing organisms. *Folia Pharm. Univ. Carol.* **2004**, XXXI – XXXII, 109 – 115. ISSN 1210-9495.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; KUNEŠ, J.; SILVA, L.; BUCHTA, V.; DUŠKOVÁ, L.; KRÁLOVÁ, K.: Synthesis and biological evaluation of some ring-substituted (*E*)-3-aryl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ones. *Folia Pharm. Univ. Carol.* **2005**, XXXIII, 31 – 43. ISSN 1210-9495.

OPLETALOVÁ, V.; POUR, M.; BUCHTA, V.; SILVA, L.; KRÁLOVÁ, K.; CHLUPÁČOVÁ, M.; MELTROVÁ, D.; PETERKA, M.; POSLEDNÍKOVÁ, M.: Synthesis and biological evaluation of (*E*)-3-(nitrophenyl)-1-(pyrazin-2-yl)prop-2-en-1-ones. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **2006**, 71 (1), 44 – 58. ISSN 0010-0765.

Práce publikované v recenzovaných sbornících:

CHLUPÁČOVÁ, M.; KUBANOVÁ, P.; OPLETALOVÁ, V.; BUCHTA, V.: The importance of the enone-moiety for antibacterial and antifungal properties of chalcones. *Book of fulltexts of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**. Borelli, F.; Capasso, F.; Milic, N.; Russo, A. (Eds). Universita degli Studi di Napoli Federico II, Naples – Indena, Milano 2003, pp. 133 – 135.

OPLETALOVÁ, V.; CHLUPÁČOVÁ, M.; BUCHTA, V.; SILVA, L.: Antifungal properties of chalcones and their heterocyclic analogues. *Book of fulltexts of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**. Borelli, F.; Capasso, F.; Milic, N.; Russo, A. (Eds). Universita degli Studi di Napoli Federico II, Naples – Indena, Milano 2003, pp. 259 – 261.

JUN, D.; CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; HRONEK, M.; OPLETAL, L.: Platelet antiaggregating activity of 2',5'-diazachalcones. *Book of fulltexts of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**. Borelli, F.; Capasso, F.; Milic, N.; Russo, A. (Eds). Universita degli Studi di Napoli Federico II, Naples – Indena, Milano 2003, pp. 255 – 257.

OPLETALOVÁ, V.; JAMPÍLEK, J.; CHLUPÁČOVÁ, M.; DOLEŽEL, J.; GRAFNETTEROVÁ, T.; DOHNAL, J.: Chromatographic and computational study of hydrophobic properties of ring substituted pyrazinecarbonitriles and acetylpyrazines. *Proceedings of the 9th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-9)*, November 1 – 30, **2005** [CD-ROM edition]. Seijas J. A., Tato M. P. V. (Eds.). MDPI, Basel, 2005; ISBN 3-906980-16-2; available from <<http://www.usc.es/congresos/ecsoc/9/BOCNP/c004/index.htm>>

Abstrakty ze symposií a sjezdů:

CHLUPÁČOVÁ, M.: Michaelova adice thiolů na chalkon a jeho pyrazinové analogy I. Syntéza a hodnocení antifungální aktivity produktů *in vitro* (přednáška). 9. studentská vědecká konference, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, 25. dubna **2001**.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; BUCHTA, V.; KUBANOVÁ, P.: Adiční produkty chalkonů s thioly jako potenciální léčiva. *Sborník XXXI. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, Bratislava, Slovenská republika, 11. – 15. září **2002**, s 59.

JUN, D.; CHLUPÁČOVÁ M.; OPLETALOVÁ V.; HRONEK, M.; OPLETAL, L.: Syntéza a biologické hodnocení 2',5'-diazachkonů VII. Antiagregační aktivita. *Sborník XXXI. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, Bratislava, Slovenská republika, 11. – 13. září **2002**, s 62.

CHLUPÁČOVÁ, M.; LÖSER, R.; MAREČEK, A.; OPLETALOVÁ, V.; GÜTSCHOW, M.: Synthesis of 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3(2H)-one, a natural substance isolated from *Flindersia brassii*. *Proceedings of the XXXII. Conference „Syntéza a analýza léčiv“*, Velké Karlovice, Czech Republic, September 16 – 19, **2003**, p. 133; for the Czech Pharmaceutical Society of the Czech Medical Association of J. E. Purkyně published SIVANA – Information and Educating Agency and Publishing, Hradec Králové, Czech Republic. ISBN 80-900306-5-3.

CHLUPÁČOVÁ, M.; KUBANOVÁ, P.; OPLETALOVÁ, V.; BUCHTA, V.: The importance of the enone-moiety for antibacterial and antifungal properties of chalcones. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**, p. 153.

OPLETALOVÁ, V.; CHLUPÁČOVÁ, M.; BUCHTA, V.; SILVA, L.: Antifungal properties of chalcones and their heterocyclic analogues. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**, p. 154.

JUN, J.; CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; HRONEK, M.; OPLETAL, L.: Platelet antiaggregating of 2',5'-diazachalcones. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**, p. 152.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; SILVA, L.; BUCHTA, V.; KUNEŠ, J.: Biologická aktivita nové série aduktů chalkonu s thioly. VII. Zjazd slovenskej farmaceutickej spoločnosti, *XXXIII. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, Nitra, Slovenská republika, 9. – 11. září, **2004**. In *Farm. obzor* 2004, LXIII, 242.

OPLETALOVÁ, V.; CHLUPÁČOVÁ, M.; POSLEDNÍKOVÁ, M.; SILVA, L.; BUCHTA, V.; KRÁLOVÁ, K.: Syntéza a biologické hodnocení 2',5'-diazachkonů IX. 3-nitroderiváty. VII. *Zjazd slovenskej farmaceutickej spoločnosti, XXXIII. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, Nitra, Slovenská republika, 9. – 11. září **2004**. In: *Farm. obzor* 2004, LXIII, 250.

OPLETALOVÁ, V.; CHLUPÁČOVÁ, M.; POSLEDNÍKOVÁ, M.; ZOBALOVÁ, D.; KUNEŠ, J.; VOŘÍŠEK, V.: 5-Alkylpyrazin-2-karbonitrily jako meziproducty pro přípravu potenciálních léčiv. 56. *Sjezd chemických společností*, Ostrava, Česká republika, 6. – 9. září **2004**. In *Chem. Listy*, 2004, 98 (8), 669. ISSN 0009-2770.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; SILVA, L.; BUCHTA, V.; KUNEŠ, J.: Biological activity of 3-alkylsulfanyl- and 3-arylsulfanyl-1-pyrazin-2-ylpropan-1-ones. *Proceedings of the Jahrestagung – Joint Meeting 2004 of the Czech Pharmaceutical Society, Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft and Österreichische Pharmazeutische Gesellschaft* presented by the Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Regensburg, Germany, October, 6 – 9, **2004**, p. 121. ISBN 3-00-014723-3.

OPLETALOVÁ, V.; CHLUPÁČOVÁ, M.; POSLEDNÍKOVÁ, M.; KUNEŠ, J.; SILVA, L.; BUCHTA, V.; JUN, D.: Synthesis and biological evaluation of substituted (*E*)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-phenylprop-2-en-1-ones. *Proceedings of the Jahrestagung – Joint Meeting 2004 of the Czech Pharmaceutical Society, Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft and Österreichische Pharmazeutische Gesellschaft* presented by the Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Regensburg, October 6 – 9, **2004**, p. 100. ISBN 3-00-014723-3.

OPLETAL, L.; JUN, D.; OPLETALOVÁ, V.; CHLUPÁČOVÁ, M.; HRONEK, M.; KUČA, K.: Platelet antiaggregating activity of substituted (*E*)-3-(3-hydroxyphenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ones. *Proceedings of the Jahrestagung – Joint Meeting 2004 of the Czech Pharmaceutical Society, Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft and Österreichische Pharmazeutische Gesellschaft* presented by the Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Regensburg, October 6 – 9, **2004**, p. 121. ISBN 3-00-014723-3.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; ŠNAJDR, I.; DOSEDĚL, M.; SILVA, L.; BUCHA V.: Synthesis and comparison of antifungal activities of chalcones and their pyrazine analogues. *Book of Abstracts of the 11th Blue Danube Symposium on Heterocyclic Chemistry*. Department of Organic Chemistry of the Masaryk University in Brno, Czech Republic. August 29 – September 1, **2005**; PO-38. ISBN 80-210-3763-6.

CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.; DOSEDĚL, M.; ŠVÉDOVÁ L.; SILVA, L.; BUCHTA, V.: Syntéza a antifungální hodnocení (*E*)-3-(2-methoxyfenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-onů. *Sborník XXXIV. konference Syntéza a analýza léčiv*, Brno, 12. – 14. září **2005**, s. 66. ISBN 80-7305-533-3.

10 LITERATURA

- [1] ZHAO, B.; LU, W.-Q.; ZHOU, Z.-H.; WU, Y.: The important role of the bromo group in improving the properties of organic nonlinear optical materials. *J. Mater. Chem.* **2000**, 10 (7), 1513 – 1517.
- [2] FUJII, A.; SASHITA, Y.; MIMAKI, Y.; MATSUBARA, K.; HARA, R.; KITADA, Y.; NAKAJIMA, T.; OOSARA, Y.; OOHATA, S.; MYATA, Y.: 2,4,6-Trihydroxychalcone as a UV absorbing agent and cosmetics containing it. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 08113521*, 7. 5. 1996; *Chem. Abstr.* **1996**, 125, 67274.
- [3] KUPRIYANOVA, U. S.; VOITSEKHOVSKAYA, A. L.; SHEVLYAGINA, E. V.; VIZMAN, T. B.; SHARPOVA, R. I.; KAYUKOVA, G. D.; SKVARTSMAN, M. I.; ISTOMINA, N. P.; GUSAROVA, A. S.: Light-shielding component of cosmetics. *Otkrytia, Izobret., Prom. Obraztsy, Tovarnye Zwaki* 1970, 47 (4), 65; *Chem. Abstr.* **1970**, 73, 7091.
- [4] LINTNER, K.: Antiaging cosmetic of dermatopharmaceutical compositions containing hesperidin, dipeptides and oligopeptides. *PTC Int. Appl., WO 2003068141 A2*, 21. 8. 2003; *Chem. Abstr.* **2003**, 139, 185314.
- [5] NINOMYA, M.; KITAMI, H.; YOKAI, M.; MORI, M.: Echinatin for improvement of tobacco smoking. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho, JP 0909947 A2*, 14. 1. 1997; *Chem. Abstr.* **1997**, 126, 169261.
- [6] OPLETALOVÁ, V.: Studium možností přípravy potenciálních antiflogistik na bázi pyrazinu. *Disertační práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta University Karlovy, **1996**, 149 s.
- [7] CHLUPÁČOVÁ, M.: Chalkony a jejich analogy jako potenciální léčiva II. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta University Karlovy, **2001**, 63 s.
- [8] MAREČEK, A.: Syntéza 2-benzyl-2-hydroxy-2H-benzofuran-3-onu. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta University Karlovy, **2002**, 38 s.
- [9] MIDDLETON, E. JR.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C.: The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implication for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol. Rev.* **2000**, 52 (4), 673 – 751.
- [10] HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A.: Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **2000**, 55 (6), 481–504.
- [11] FERGUSON, L. R.: Role of plant polyphenols in genomic stability. Review. *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen* **2001**, 475 (1–2), 89 – 111.
- [12] METZNER, H.: *Biochemie der Pflanzen*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, **1973**, 376 pp.
- [13] METZ, G.: Flavonoide Teil 1. Strukturvielfalt aus Obst und Gemüse. *Pharm. Ztg.* **2000**, 145 (26), 24 – 26.
- [14] SHIN, W.; KIM, S. J.; SHIN, J. M.: Structure-taste correlation in sweet dihydrochalcone, sweet dihydroisocoumarin, and bitter flavone compounds. *J. Med. Chem.* **1995**, 38 (21), 4325 – 4331.
- [15] HODEK, P.; TREFIL, P.; STIBOROVÁ, M.: Flavonoids – potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chem.-Biol. Interact.* **2002**, 139 (1), 1 – 21.
- [16] CLIMENT, M. J.; CORMA, A.; IBORRA, S.; VELTY, A.: Activated hydrotalcites as catalysts for the synthesis of chalcones of pharmaceutical interest. *J. Catal.* **2004**, 221 (2), 474 – 482.
- [17] OUMI, M.; MAURICE, D.; HEAD-GORDON, M.: Ab initio calculations of the absorption spectrum of chalcone. *Spectrochim. Acta A* **1999**, 55 (3), 525 – 537.
- [18] LÓPEZ, S. N.; CASTELLI, N. V.; ZACCHINO, S. A.; DOMÍNGUEZ, J. N.; LOBO, G.; CHARRIS-CHARRIS, J.; CORTÉS, J. C. G.; RIBAS, J. C.; DEVIA, C.; RODRÍGUEZ, A. M.; ENRIZ, D.: *In vitro* antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9 (8), 1999 – 2013.
- [19] ALCARÁZ, L. E.; BLANCO, S. E.; PUIG, O. N.; TOMÁS, F.; FERRETTI, F. H.: Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. Theor. Biol.* **2000**, 205 (2), 231 – 240.
- [20] SHIBATA, S.: Anti-tumorigenic chalcones. *Stem Cells* **1994**, 12 (1), 44 – 52.
- [21] IWATA, S.; NISHINO, T.; INOUE, N.; NAGATA, N.; SATOMI, Y.; NISHINO, H.; SHIBATA, S.: Antitumorigenic activities of chalcone (II). Photo-isomeration of chalcones and the correlation with their biological activities. *Biol. Pharm. Bull.* **1997**, 20 (12), 1266 – 1270.
- [22] YAMIN, L. J.; GASULL, E. I.; BLANCO, S. E.; FERRETTI, F. H.: Synthesis and structure of 4-X-chalcones. *Theochem – J. Mol. Struct.* **1998**, 428 (1 – 3), 167 – 174.
- [23] OPLETALOVÁ, V.; ŠEDIVÝ, D.: Chalkony a jejich heterocyklické analogy jako potenciální antifungální chemoterapeutika. *Česk. slov. farm.* **1999**, XLIII (6), 252 – 255.
- [24] DIMMOCK, J. R.; ELIAS, D. W.; BEAZELY, M.A.; KANDEPU, N. M.: Bioactivities of chalcones. *Curr. Med. Chem.* **1999**, 6 (12), 1125 – 1149.
- [25] OPLETALOVÁ, V., ŘIČIČÁŘOVÁ, P.; ŠEDIVÝ, D.; MELTROVÁ, D.; KRÍVÁKOVÁ, J.: Chalcones and their heterocyclic analogues as potential medicaments. *Folia Pharm. Univ. Carol.* **2000**, XXV, 21 – 33.
- [26] OPLETALOVÁ, V.: Chalkony a jejich heterocyklické analogy jako potenciální terapeutika bakteriálních onemocnění. *Česk. slov. farm.* **2000**, XLIX (6), 278 – 284.

- [27] OPLETALOVÁ, V.; JAHODÁŘ, L.; JUN, D.; OPLETAL, L.: Chalkony (1,3-diarylpropen-1-ony) a jejich analogy jako potenciální terapeutika chorob kardiovaskulárního systému. *Česk. slov. farm.* **2003**, LII (1), 12 – 19.
- [28] BOYLE, P.; DIEHM, C.; ROBERTSON, C.: Meta-analysis of clinical trials of Cyclo 3 Fort in the treatment of chronic venous insufficiency. *Int. Angiol.* **2003**, 22 (3), 250 – 262.
- [29] SABZEVARI, O.; GALATI, G.; MORIDANI, M. Y.; SIRAKI, A.; O'BRIEN, P. J.: Molecular cytotoxic mechanism of anticancer hydroxychalcones. *Chem.-Biol. Interact.* **2004**, 148 (1 – 2), 57 – 67.
- [30] *Metochalcone*, published by BIAM (Banque de Données Automatisée sur les Médicaments) [on-line], rev. January **2000**, [cit. 8. 12. 2005]; available from <<http://www.biam2.org/www/Sub2530.html>>
- [31] MATEESCU, C.: Propolis as therapeutic agent. *Review. Roum. Biotechnol. Lett.* **2000**, 5 (5), 329 – 360.
- [32] NIELSEN, S. F.; BOESEN, T.; LARSEN, M.; NIELSEN, M. B.; KROMANN, H.: Preparation of aminoalkoxy-functional chalcones for pharmaceutically active agents against bacterial and parasitic infections. *WO 2003-DK332*, 19. 5. 2003; *Chem Abstr.* **2004**, 140, 4850.
- [33] NIELSEN, S. F.; KROMANN, H.; LARSEN, M.; HANSEN, M.; BOESEN, T.: Preparation of amino-functional chalcones for pharmaceutically active agents against bacterial and parasitic infections. *WO 2003-DK331*, 19. 5. 2003; *Chem. Abstr.* **2004**, 140, 4851.
- [34] GOLDBERG, M. W.; RACHLIN, A. I.: Basic ketones and salts thereof. *US 2668813*, 9. 2. 1954; *Chem. Abstr.* **1955**, 49, 12282.
- [35] KHARAZMI, A.; CHRISTENSEN, S. B.; NIELSEN, S. F.: Preparation of biologically active chalcones, dihydrochalcones, and analogs thereof. *PCT Int. Appl. WO 9900114 A2*, 7. 1. 1999; *Chem. Abstr.* **1990**, 130, 95384.
- [36] ZHANG, K.; YANG, E.-B.; TANG, W.-Y.; WONG, K. P.; MACK, P.: Inhibition of glutathion reductase by plant polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* **1997**, 54 (9), 1047 – 1053.
- [37] CONSEIL, G.; BAUBICHON-CORTAY, H.; DAYAN, G.; JAULT, J.-M.; BARRON, D.; DI PIETRO, A.: Flavonoids: a class of modulators with bifunctional interactions at vicinal ATP- and steroid-binding sites on mouse P-glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1998**, 95 (17), 9831 – 9836.
- [38] HADJERI, M.; BENEY, C.; BOUMENDJEL, A.: Recent advances in the synthesis of conveniently substituted flavones, quinolones, chalcones and aurones: potential biologically active molecules. *Curr. Org. Chem.* **2003**, 7 (7), 679 – 689.
- [39] HENDRICH, A. B.: Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. *Acta Pharmacol. Sin.* **2006**, 27 (1), 27 – 40.
- [40] INOUE, B.; INABA, K.; MORI, T.; IZUSHI, F.; ETO, K.; SAKAI, R.; OGATA, M.; UTSUMI, K.: The effects of echinatin and its related compounds on the mitochondrial energy transfer reaction. *J. Toxicol. Sci.* **1982**, 7 (4), 245 – 254.
- [41] NIELSEN, S. F.; LARSEN, M.; BOESEN, T.; SCHONNING, K.; KROMANN, H.: Cationic chalcone antibiotics. Design, synthesis, and mechanism of action. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (7), 2667 – 2677.
- [42] NIELSEN, S. F.; BÖSEN, T.; LARSEN, M.; SCHONNING, K.; KROMANN, H.: Antibacterial chalcones – bioisosteric replacement of the 4'-hydroxy group. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12 (11), 3047 – 3054.
- [43] ALVAREZ, M. DE LOS A.; ZARELLI, V. E.; PAPPANO, N. B.; DEBATTISTA, N. B.: Bacteriostatic action of synthetic polyhydroxylated chalcones against *Escherichia coli*. *Biocell* **2004**, 28 (1), 31 – 34.
- [44] VIBHUTE, Y. B.; BASEER, M. A.: Synthesis and activity of a new series of chalcones as antibacterial agents. *Indian J. Chem. Sect. B – Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **2003**, 40 (1), 202 – 205.
- [45] POPOVA, M.; BANKOVA, V.; SPASSOV, S.; TSVETKOVA, I.; NAYDENSKI, C.; SILVA, M. V.; TSARTSAROVA, M.: New bioactive chalcones in propolis from El Salvador. *Z. Naturforsch. (C)* **2001**, 56 (7 – 8), 593 – 596.
- [46] TSUKIYAMA, R. I.; KATSURA, H.; TOKURIKI, N.; KOBAYASHI, M.: Antibacterial activity of licochalcone A against spore-forming bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, 46 (5), 1226 – 1230.
- [47] HATANO, T.; SHINTANI, Y.; AGA, S.; TSUCHIYA, T.; YOSHIDA, T.: Phenolic constituents of licorice VIII. Structure of glicophenone and glicoisoflavone, and effects of licorice phenolics on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, 48 (9), 1286 – 1292.
- [48] KROMANN, H.; LARSEN, M.; BOESEN, T.; SCHONNING, K.; NIELSEN, S. F.: Synthesis of prenylated benzaldehydes and their use in the synthesis of analogues of licochalcone A. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, 39 (11), 993 – 1000.
- [49] SHIBATA, S.: A drug over the millenia: pharmacognosy, chemistry, and pharmacology of licorice. *Yakugaku Zasshi – J. Pharm. Soc. Jpn.* **2000**, 120 (10), 849 – 862. AN 2001: 115796.
- [50] FUKAI, T.; MARUMO, A.; KAITOU, K.; KANDA, T.; TERADA, S.; NOMURA, T.: Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. *Life Sci.* **2002**, 71 (12), 1449 – 1463.
- [51] SUZUKI, M.; KITAHORA, T.; NAGAHASHI, S.; SUZUKI, H.; MORI, M.; HIBI, T.; ISHII, H.: Gastric urease activity is inversely associated with the success of treatment for *Helicobacter pylori*: effect of sofalcone. *J. Clin. Gastroenterol.* **1998**, 27 (Suppl. 1), 183 – 186.

- [52] NAGATE, T.; NUMATA, K.; HANADA, K.; KONDO, I.: The susceptibility of *Campylobacter pylori* to antiulcer agents and antibiotics. *J. Clin. Gastroenterol.* **1990**, 12 (Suppl. A), S135 – S138.
- [53] ORJALA, J.; WRIGHT, A. D.; ERDELMEIER, C. A. J.; STICHER, O.; RALI, T.: New monoterpene-substituted dihydrochalcones from *Piper aduncum*. *Helv. Chim. Acta* **1993**, 76 (4), 1481 – 1488.
- [54] ORJALA, J.; WRIGHT, A. D.; BEHREND, H.; FOLKERS, G.; STICHER, O.; RÜEGGER, H.; RALI, T.: Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum*. *J. Nat. Prod.* **1994**, 57 (1), 18 – 26.
- [55] MOSHI, M. J.; JOSEPH, C. C.; INNOCENT, E.; NKUNYA, M. H. H.: *In vitro* antibacterial and antifungal activities of extracts and compounds from *Uvaria scheffleri*. *Pharm. Biol.* **2004**, 42 (4 – 5), 269 – 273.
- [56] KINHIKAR, R. V.; JAMODE, V. S.: Antimicrobial studies of some 1,1-bis-[2-hydroxy-3-(3-arylprop-2-en-1-one)-5-methylphenyl]methanes and their dibromo derivatives. *Asian J. Chem.* **2001**, 13 (4), 1577 – 1580.
- [57] NOWAKOWSKA, Z.; WYRZYKIEWICZ, E.; KEDZIA, B.: Synthesis and antimicrobial properties of *N*-substituted derivatives of (*E*)-4-azachalcones. *Farmaco* **2001**, 56 (4), 325 – 329.
- [58] NOWAKOWSKA, Z.; WYRZYKIEWICZ, E.; KEDZIA, B.: Antimicrobial activity of some *N*-alkyl substituted of (*E*)-4-azachalconium and (*E*)-3'-hydroxy-4-azachalconium bromides. *Farmaco* **2002**, 57 (8), 657 – 661.
- [59] BEKHIT, A. A.; HABIB, N. S.; BEKHIT, A. E.-D. A.: Synthesis and antimycobacterial evaluation of chalcone and sydnone derivatives of 4(3*H*)-quinazolinone. *Boll. Chim. Farm.* **2001**, 140 (5), 297 – 301.
- [60] ALAM, S.: Synthesis, antibacterial and antifungal activity of some derivatives of 2-phenyl-chromen-4-one. *J. Chem. Sci.* **2004**, 116 (6), 325 – 331.
- [61] LIN, Y. M.; ZHOU, Y.S.; FLAVIN, M. T.; ZHOU, L. M.; NIE, W. G.; CHEN, F. C.: Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10 (8), 2795 – 2802.
- [62] NAVYAR, A.; JAIN, R.: Recent advances in new structural classes of anti-tuberculosis agents. *Curr. Med. Chem.* **2005**, 12 (16), 1873 – 1886.
- [63] SUKSAMRARN, A.; CHOTIPONG, A.; SUAVANSRI, T.; BOONGIRD, S.; TIMSULKSAI, P.; VIMUTTILPONG, S.; CHUAYNUGUL, A.: Antimycobacterial activity and cytotoxicity of flavonoids from the flowers of *Chromolaena odorata*. *Arch. Pharm. Res.* **2004**, 27 (5), 507 – 511.
- [64] OKUNADE, A. L.; ELVIN-LEWIS, M. P. F.; LEWIS W. H.: Natural antimycobacterial metabolites: current status. *Phytochemistry* **2004**, 65 (8), 1017 – 1032.
- [65] FRIIS-MOLLER, A.; CHEN, M.; FUURSTED, K.; CHRISTENSEN, S. B.; KHARAZMI, A.: *In vitro* antimycobacterial and antilegionella activity of licochalcone A from chinese licorice roots. *Planta Med.* **2002**, 68 (5), 416 – 419.
- [66] ARNOLDI, A.; CARUGHI, M.; FARINA, G.; MERLINI, L.; PARRINO, M. G.: Synthetic analogues of phytoalexins. Synthesis and antifungal activity of potential free-radical scavengers. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, 37 (2), 508 – 512.
- [67] MILES, D. H.; DEL MEDEIROS, J. M. R.; CHITTAWONG, V.: 3'-Formyl-2',4',6'-trihydroxy-5'-methyl-dihydrochalcone, a prospective new agrochemical from *Psidium acutangulum*. *J. Nat. Prod.* **1990**, 53 (6), 1548 – 1551.
- [68] MA, W. G.; FUZZATI, N.; LI, Q. S.; YANG, C. R.; STOECKLI-EVANS, H.; HOSTETTMANN, K.: Polyphenols from *Eriosema tuberosum*. *Phytochemistry* **1995**, 39 (5), 1049 – 1061.
- [69] MANAVATHU, E. K.; DIMMOCK, J. R.; VASHISHTHA, S. C.; CHANDRASEKAR, P. H.: Inhibition of H⁺-ATPase-mediated proton pumping in *Cryptococcus neoformans* by a novel conjugated styryl ketone. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, 47 (4), 491 – 494.
- [70] MANAVATHU, E. K.; DIMMOCK, J. R.; VASHISHTHA, S. C.; CHANDRASEKAR, P. H.: Proton-pumping-ATPase-targeted antifungal activity of a novel conjugated styryl ketone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43 (12), 2950 – 2959.
- [71] OPLETALOVÁ, V.; HARTL, J.; ASMITA, P.; PALÁT, K. JR.; BUCHTA, V.: Ring substituted 3-phenyl-1-(2-pyrazinyl)-2-propen-1-ones as potential photosynthesis-inhibiting, antifungal and antimycobacterial agents. *Farmaco* **2002**, 57 (2), 135 – 144.
- [72] OPLETALOVÁ, V.; POUR, M.; BUCHTA, V.; SILVA, L.; KRÁLOVÁ, K.; CHLUPÁČOVÁ, M.; MELTROVÁ, D.; PETERKA, M.; POSLEDNÍKOVÁ, M.: Synthesis and biological evaluation of (*E*)-3-(nitrophenyl)-1-(pyrazin-2-yl)prop-2-en-1-ones. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **2006**, 71 (1), 44 – 58.
- [73] ALAM, S.: Synthesis and studies of antimicrobial activity of lanceolatin B. *Acta Chim. Slov.* **2004**, 51 (3), 447 – 452.
- [74] BOECK, P.; LEAL, P. C.; YUNES, R. A.; FILHO, V. C.; LÓPEZ, S.; SORTINO, M.; ESCALANTE, A.; FURLÁN, R. L.; ZACCHINO, S.: Antifungal activity and studies on mode of action of novel xanthoxyline-derived chalcones. *Arch. Pharm.* **2005**, 338 (2 – 3), 87 – 95.
- [75] JAYASINGHE, L.; BALASOORIYA, B. A. I. S.; PADMINI, W. C.; HARA, N.; FUJIMOTO, Y.: Geranyl chalcone derivatives with antifungal and radical scavenging properties from the leaves of *Artocarpus nobilis*. *Phytochemistry* **2004**, 65 (9), 1287 – 1290.
- [76] CUTTING, W. C.; DREISBACH, R. H.; MATSUSHIMA, F.: Antiviral chemotherapy VI. Parenteral and other effects of flavonoids. *Stanford Med. Bull.* **1953**, 11 (4), 227 – 229.

- [77] HUTCHINSON, D. W.: Metal chelators. Review article. *Antiviral Res.* **1985**, 5 (4), 193 – 205.
- [78] ISHITSUKA, H.; NINOMIYA, Y. T.; OHSAWA, C.; FUJII, M.; SUHARA, Y.: Direct and specific inactivation of rhinovirus by chalcones Ro 09-0410. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1982**, 22 (4), 617 – 621.
- [79] NINOMIYA, Y.; OHSAWA, C.; AOYAMA, M.; UMEDA, I.; SUHARA, Y.; ISHITSUKA, H.: Antivirus agent, Ro 09-0410, binds to rhinovirus specifically and stabilizes the virus conformation. *Virology* **1984**, 134 (2), 269 – 276.
- [80] ISHITSUKA, H.; NINOMIYA, Y.; SUHARA, Y.: Molecular basis of drug resistance to new antirhinovirus agents. *J. Antimicrob. Chemother.* **1986**, 18 (Suppl. B), 11 – 18.
- [81] DIANA, G. D.; OTTO, M. J.; MCKINLAY, M. A.: Inhibitors of picornavirus uncoated as antiviral agents. *Pharmacol. Ther.* **1985**, 29 (3), 287 – 297.
- [82] NINOMIYA, Y.; AOYAMA, M.; UMEDA, I.; SUHARA, Y.; ISHITSUKA, H.: Comparative studies on the modes of action of the antirhinovirus agents Ro 09-0410, Ro 09-0179, RMI-15,731, 4',6-dichloroflavan, and enviroxime. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1985**, 27 (4), 595 – 599.
- [83] DEWINDT, B.; VAN EEMEREN, K.; ANDRIES, K.: Antiviral capsid-binding compounds can inhibit the absorption of minor receptor rhinoviruses. *Antiviral Res.* **1994**, 25 (1), 67 – 72.
- [84] ANDRIES, K.; DEWINDT, B.; SNOEKS, J.; WILLEBRORDS, R.: Lack of quantitative correlation between inhibition of replication of rhinoviruses by an antiviral drug and their stabilization. *Arch. Virol.* **1989**, 106 (1 – 2), 51 – 61.
- [85] AHMAD, A. L. M.; TYRRELL, D. A. J.: Synergism between anti-rhinovirus antivirals: Various human interferons and a number of synthetic compounds. *Antiviral Res.* **1986**, 6 (4), 241 – 252.
- [86] YASIN, S. R.; AL-NAKIB, W.; TYRRELL, D. A. J.: Isolation and preliminary characterisation of chalcone Ro 09-0410-resistant human rhinovirus type 2. *Antiviral Chem. Chemother.* **1990**, 1 (2), 149 – 154.
- [87] YASIN, S. R.; AL-NAKIB, W.; TYRRELL, D. A. J.: Pathogenicity for humans of human rhinovirus type 2 mutants resistant to or dependent on chalcone Ro 09-0410. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1990**, 34 (6), 963 – 966.
- [88] AHMAD, A. L. M.; DOWSETT, A. B.; TYRRELL, D. A. J.: Studies of rhinovirus resistant to an antiviral chalcone. *Antiviral Res.* **1987**, 8 (1), 27 – 39.
- [89] AL-NAKIB, W.; HIGGINS, P. G.; BARROW, I.; TYRRELL, D. A.; LENOX-SMITH, I.; ISHITSUKA, H.: Intranasal chalcone, Ro 09-0410, as prophylaxis against rhinovirus infection in human volunteers. *J. Antimicrob. Chemother.* **1987**, 20 (6), 887 – 892.
- [90] PHILLPOTTS, R. J.; HIGGINS, P. G.; WILLMAN, J. S.; TYRRELL, D. A. J.; LENOX-SMITH, I.: Evaluation of the antirhinovirus chalcone Ro 09-0415 given orally to volunteers. *J. Antimicrob. Chemother.* **1984**, 14 (4), 403 – 409.
- [91] FUJII, M.; SUHARA, Y.; ISHITSUKA, H.: Substituted acetophenones. *Eur. Pat. Appl. EP 13960*, 6. 8. 1980; *Chem. Abstr.* **1981**, 94, 83777.
- [92] BINDER, D.; NOE, C. R.; HOLZER, W.; ROSENWIRTH, B.: Thiophen als Strukturelement physiologisch aktiver Substanzen, 12 Mitt. Thiophenanaloga antiviraler Chalcone. *Arch. Pharm.* **1985**, 318 (1), 48 – 59.
- [93] CHURKIN, Y. D.; PANFILOVA, L. V.; BOREKO, E. I.; TIMOFEEVA, M. M.; VOTYAKOV, V. I.: Biological activity of thiophene derivatives. IV. Synthesis and antiviral activity of unsaturated thiophene ketones. *Khim.-Farm. Zh.* 1982, 16 (2), 167 – 169; *Chem. Abstr.* **1982**, 96, 162472.
- [94] NINOMIYA, Y.; SHIMMA, N.; ISHITSUKA, H.: Comparative studies on the antirhinovirus activity and the mode of action of the rhinovirus capsid binding agents, chalcone amides. *Antiviral Res.* **1990**, 13 (2), 61 – 74.
- [95] WOOD, J. E.; MUNRO, M. H. G.; BLUNT, J. W.; PERRY, N. B.; WALKER, J. R. L.; WARD, J. M.: Biologically active compounds from *Ozothamnus leptophyllus*. *N. Z. J. Bot.* **1999**, 37 (1), 167 – 174.
- [96] PHRUTIVORAPONGKUL, A.; LIPIPUN, V.; RUANGRUNGSI, N.; KIRTIKARA, K.; NISHIKAWA, K.; MARUYAMA, S.; WATANABE, T.; ISHIKAWA, Z.: Studies on the chemical constituents of stem bark of *Millettia leucantha*: isolation of new chalcone with cytotoxic, anti-herpes simplex and anti-inflammatory activities. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, 51 (2), 187 – 190.
- [97] DE TOMMASI, N.; PIZZA, C.; AQIUNO, R.; CUMANDÀ, J.; MAHMOOD, N.: Flavonol and chalcone ester glycosides from *Bidens leucantha*. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60 (3), 270 – 273.
- [98] CRITCHFIELD, J. W.; BUTERA, S. T.; FOLKS, T. M.: Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoid compound. *Aids Res. Hum. Retrovir.* **1996**, 12 (1), 39 – 46.
- [99] HATANO, T.; YASUHARA, T.; MIYAMOTO, K.; OKUDA, T.: Anti-human immunodeficiency virus phenolics from licorice. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, 36 (6), 2286 – 2288.
- [100] MIYAMOTO, K.; OKUDA, T.; HIRABAYASHI, K.: Synergistic virucide containing glycycomarin, licochalcone A, and/or isolicoflavanol and glycyrrhizin for HIV virus. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 02 304024 A2*, 17. 12. 1990; *Chem. Abstr.* **1991**, 115, 41976.
- [101] UCHIUMI, F.; HATANO, T.; ITO, H.; YOSHIDA, T.; TANUMA, S.: Transcriptional suppression of the HIV promoter by natural compounds. *Antiviral Res.* **2003**, 58 (1), 89 – 98.
- [102] MATEEVA, N. N.; KODE, R. N.; REDDA, K. K.: Synthesis of novel flavonoid derivatives as potential HIV-integrase inhibitors. *J. Heterocycl. Chem.* **2002**, 39 (6), 1251 – 1258.

- [103] XU, H.-X.; WAN, M.; DONG, H.; BUT, P. P.-H.; FOO, L. Y.: Inhibitory activity of flavonoids and tannins against HIV-1 protease. *Biol. Pharm. Bull.* **2000**, 23 (9), 1072 – 1076.
- [104] MAHRAN, G. H.; SALEK, M. M.; EL-SHEREI, M. M.; GRACE, M. H.: Inhibitory effects of different extracts and isolated components from *Peltonia fascia* (Mueller) Kuntze on HIV reverse transcriptase. *Bull. Fac. Pharmacy (Cairo University)* 1994, 32 (3), 415 – 417; *Chem. Abstr.* **1996**, 125, 265071.
- [105] WANG, Q.; DING, Z. H.; LIU, J. K.; ZHENG, Y. T.: Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from hops *Humulus lupulus*. *Antiviral Res.* **2004**, 64 (3), 189 – 194.
- [106] MISHRA, L.; SINHA, R.; ITOKAWA, H.; BASTOW, K. F.; TACHIBANA, Y.; NAKANISHI, Y.; KILGORE, N.; LEE, K.-H.: Anti-HIV and cytotoxic activities of Ru(II)/Ru(III) polypyridyl complexes containing 2,6-(2'-benzoimidazolyl)-pyridine/chalcone as co-ligand. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 9 (7), 1667 – 1671.
- [107] WU, J.-H.; WANG, X.-H.; YI, Y.-H.; LEE, K.-H.: Anti-AIDS agents 54. A potent anti-HIV chalcone and flavonoids from genus *Desmos*. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 13 (10), 1813 – 1815.
- [108] MUSFATA, K.; KJAERGAARD, H. G.; PERRY, N. B.; WEAVERS, R. T.: Hydrogen-bonded rotamers of 2',4',6'-trihydroxy-3'-formyldihydrochalcone, an intermediate in the synthesis of a dihydrochalcone from *Leptospermum recurvum*. *Tetrahedron* **2003**, 59 (32), 6113 – 6120.
- [109] EL HADY, F. K. A.; HEGAZI, A. G.: Egyptian propolis: 2. Chemical composition, antiviral, antimicrobial activities of east Nile delta propolis. *Z. Naturforsch. (C)* **2002**, 57 (3 – 4), 386 – 394.
- [110] FATHALLA, O. A.; ZAGHARY, W. A.; RADWAN, H. H.; AWAD, S. M.; MOHAMED, M. S.: Synthesis of new 2-thiouracil-5-sulfonamide derivatives with biological activity. *Arch. Pharm. Res.* **2002**, 25 (3), 258 – 269.
- [111] ONYILAGHA, J. C.; MALHORTA, B.; ELDER, M.; FRENCH, C. J.; TOWERS, G. H. N.: Comparative studies of inhibitory activities of chalcones on tomato ringspot virus (ToRSV). *Can. J. Plant Pathol. – Rev. Can. Phytopathol.* **1997**, 19 (2), 133 – 137.
- [112] COHEN, F. E.; MCKERROW, J. H.; KENYON, G. L.; LI, Z.; CHEN, X.; GONG, B.; LI, R.: Heteroaromatic inhibitors of metazoan parasite proteases for treatment of schistosomiasis, malaria, and other infectious diseases. *PCT Int. Appl. WO 96 30004 A1*, 3. 10. 1996; *Chem. Abstr.* **1997**, 126, 14741.
- [113] CHIBALE, K.; MUSONDA, C. C.: The synthesis of parasitic cysteine protease and trypanothione reductase inhibitors. *Curr. Med. Chem.* **2003**, 10 (18), 1863 – 1889.
- [114] LICA Pharmaceuticals A/S, Copenhagen (Denmark) [on-line], rev. 24. 4. **2006** [cit. 27. 4. 2006]; available from <<http://www.licapharma.com/frame.cfm?sprog=1&grp=1&menu=1>>
- [115] DOMÍNGUEZ, J. N.; LEÓN, C.; RODRIGUEZ, J.; DE DOMÍNGUEZ, N. G.; GUT, J.; ROSENTHAL, P. J.: Synthesis and evaluation of new antimalarial phenylurenyl chalcone derivatives. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (10), 3654 – 3658.
- [116] LEUNG-TOUNG, R.; LI, W.; TAM, T. F.; KARIMIAN, K.: Thiol-dependent enzymes and their inhibitors: a review. *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9 (9), 979 – 1002.
- [117] RAM, V. J.; SAXENA, A. S.; SRIVASTAVA, S.; CHANDRA, S.: Oxygenated chalcones and bischalcones as potential antimalarial agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, 10 (19), 2159 – 2161.
- [118] CHEN, M.; THEANDER, T. G.; CHRISTENSEN, S. B.; HVIID, L.; ZHAI, L.; KHARAZMI, A.: Licochalcone A, a new antimalarial agent, inhibits *in vitro* growth of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* and protects mice from *P. yoelii* infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, 38 (7), 1470 – 1475.
- [119] KHARAZMI, A.; CHEN, M.; THEANDER, T. G.; CHRISTENSEN, S. B.: Discovery of oxygenated chalcones as novel antimalarial agents. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1997**, 91 (Suppl. 1), S91 – S95.
- [120] KAYSER, O.; KIDERLEN, A. F.; CROFT, S. L.: Natural products as antiparasitic drugs. *Parasitol. Res.* **2003**, 90 (Suppl. 2), S55 – S62.
- [121] NADELMANN, L.; TJORNELUND, J.; HANSEN, S. H.; CORNETT, C.; SIDELMANN, U. G.; BRAUMANN, U.; CHRISTENSEN, E.; CHRISTENSEN, S. B.: Synthesis, isolation and identification of glucuronides and mercapturic acids of a novel antiparasitic agent, licochalcone A. *Xenobiotica* **1997**, 27 (20), 667 – 680.
- [122] NADELMANN, L.; TJORNELUND, J.; CHRISTENSEN, E.; HANSEN, S. H.: High-performance liquid chromatographic determination of licochalcone A and its metabolites in biological fluids. *J. Chromatogr. B* **1997**, 695 (2), 389 – 400.
- [123] ZIEGLER, H. L.; HANSEN, H. S.; STAERK, D.; CHRISTENSEN, S. B.; HÄGERSTRAND, H.; JAROSZEWSKI, J. W.: The antiparasitic compound licochalcone A is a potent echinocytogenic agent that modifies the erythrocyte membrane in the concentration range where antiplasmodial activity is observed. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, 48 (10), 4067 – 4071.
- [124] CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; ZHAI, L.; RASMUSSEN, M. H.; THEANDER, T. G.; FROKJAER, S.; STEFFANSEN, B.; DAVIDSEN, J.; KHARAZMI, A.: The novel oxygenated chalcone, 2,4-dimethoxy-4'-butoxychalcone, exhibits potent activity against human malaria parasite *Plasmodium falciparum* *in vitro* and rodent parasites *Plasmodium berghei* and *Plasmodium yoelii* *in vivo*. *J. Infect. Dis.* **1997**, 176 (5), 1327 – 1333.
- [125] KHARAZMI, A.; CHRISTENSEN, S. B.; MING, C.; THEANDER, T. G.: Preparation of chalcone derivatives for treatment and prophylaxis of diseases caused by parasites or bacteria. *PCT Int. Appl. WO 95 06628 A1*, 9. 3. 1995; *Chem. Abstr.* **1995**, 123, 313552.

- [126] KHARAZMI, A.; CHRISTENSEN, S. B.; MING, C.; THEANDER, T. G.: Treatment and prophylaxis of diseases caused by parasites or bacteria with alkylating aromatic compounds. *PCT Int. Appl. WO 93 17671 A1*, 16. 9. 1993; *Chem. Abstr.* **1993**, 119, 262499.
- [127] FRÖLICH, S.; SCHUBERT, C.; BIENZLE, U.; JENETT-SIEMS, K.: *In vitro* antiparasitic activity of prenylated chalcone derivatives of hops (*Humulus lupulus*) and their interaction with haemin. *J. Antimicrob. Chemother.* **2005**, 55 (6), 883 – 887.
- [128] LIU, M.; WILAIRAT, P.; GO, M.-L.: Antimalarial alkoxyated and hydroxylated chalcones: structure-activity relationship analysis. *J. Med. Chem.* **2001**, 44 (25), 4443 – 4452.
- [129] NIELSEN, S. F.; KHARAZMI, A.; CHRISTENSEN, S. B.: Modification of the α,β -double bond in chalcones only marginally affect the antiprotozoal activities. *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, 6 (7), 937 – 945.
- [130] LI, R.; KENYON, G. L.; COHEN, F. E.; CHEN, X.; GONG, B.; DOMINGUEZ, J. N.; DAVIDSON, E.; KURZBAN, G.; MILLER, R. E.; NUZUM, E. O.; ROSENTHAL, P. J.; MCKERROW, J.: *In vitro* antimalarial activity of chalcones and their derivatives. *J. Med. Chem.* **1995**, 38 (26), 5031 – 5037.
- [131] WU, X.; WILAIRAT, P.; GO, M.-L.: Antimalarial activity of ferrocenyl chalcones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12 (17), 2299 – 2302.
- [132] SOULERE, L.; DELPLACE, P.; DAVIOUD-CHARVET, E.; PY, S.; SERGHERAERT, C.; PÉRIÉ, J.; RICARD, I.; HOFFMANN, P.; DIVE, D.: Screening of *Plasmodium falciparum* iron superoxide dismutase inhibitors and accuracy of the SOD-assays. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11 (23), 4941 – 4944.
- [133] KAYSER, O.; KIDERLEN, A. F.: *In vitro* leishmanicidal activity of naturally occurring chalcones. *Phytother. Res.* **2001**, 15 (2), 148 – 152.
- [134] TROEBERG, L.; CHEN, X.; FLAHERTY, T. M.; MORTY, R. E.; CHENG, M.; HUA, H.; SPRINGER, C.; MCKERROW, J. H.; KENYON, G. L.; LONSDALE-ECCLES, J. D.; COETZER, T. H. T.; COHEN, F. E.: Chalcone, acyl hydrazide, and related amides kill cultured *Trypanosoma brucei brucei*. *Mol. Med.* **2000**, 6 (8), 660 – 669.
- [135] LUNARDI, F.; GUZELA, M.; RODRIGUES, A. T.; CORREA, R.; EGER-MANGRICH, I.; STEINDEL, M.; GRISARD, E. C.; ASSREUY, J.; CALIXTO, J. B.; SANTOS, A. R.: Trypanocidal and antileishmanicidal properties of substitution-containing chalcones. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**, 47 (4), 1449 – 1451.
- [136] AKENDENGUE, B.; NGOU-MILAMA, E.; LAURENS, A.; HOCQUEMILLER, R.: Recent advances in the fight against leishmaniasis with natural products. *Parasite – J. Soc. Fr. Parasitol.* **1999**, 6 (1), 3 – 8.
- [137] TOMAZELA, D. M.; PUPO, M. T.; PASSADOR, E. A. P.; DA SILVA, M. F. D. G. F.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; FO, E. R.; OLIVA, G.; PIRANI, J. R.: Pyrano chalcones and a flavone from *Neoraputia magnifica* and their *Trypanosoma cruzi* glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-inhibitory activities. *Phytochemistry* **2000**, 55 (6), 643 – 651.
- [138] CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; BLOM, J.; LEMMICH, E.; NADELMANN, L.; FICH, K.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A.: Licochalcone A, a novel antiparasitic agent with potent activity against human pathogenic protozoan species of *Leishmania*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**, 37 (12), 2550 – 2556.
- [139] CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A.: Antileishmanial activity of licochalcone A in mice infected with *Leishmania major* and in hamsters infected with *Leishmania donovani*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1994**, 38 (6), 1339 – 1344.
- [140] ZHAI, L.; BLOM, J.; CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; KHARAZMI, A.: The antileishmanial agent licochalcone A interferes with the function of parasite mitochondria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1995**, 39 (12), 2742 – 2748.
- [141] CHRISTENSEN, S. B.; MING, C.; ANDERSEN, L.; HJORNE, U.; OLSEN, C. E.; CORNETT, C.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A.: An antileishmanial chalcone from chinese licorice roots. *Planta Med.* **1994**, 60 (2), 121 – 123.
- [142] NIELSEN, S. F.; CHRISTENSEN, S. B.; CRUCIANI, G.; KHARAZMI, A.; LILJEFORTS, T.: Antileishmanial chalcones: statistical design, synthesis, and three-dimensional quantitative structure-activity relationship analysis. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (24), 4819 – 4832.
- [143] NIELSEN, S. F.; CHEN, M.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A.; CHRISTENSEN, S. B.: Synthesis of antiparasitic licorice chalcones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, 5 (5), 449 – 452.
- [144] ZHAI, L.; CHEN, M.; BLOM, J.; THEANDER, T. G.; CHRISTENSEN, S. B.; KHARAZMI, A.: The antileishmanial activity of novel oxygenated chalcones and their mechanism of action. *J. Antimicrob. Chemother.* **1999**, 43 (6), 793 – 803.
- [145] CHEN, M.; ZHAI, L.; CHRISTENSEN, S. B.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A.: Inhibition of fumarate reductase in *Leishmania major* and *L. donovani* by chalcones. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, 45 (7), 2023 – 2029.
- [146] TORRES-SANTOS, E. C.; MOREIRA, D. L.; KAPLAN, M. A. C.; MEIRELLES, M. N.; ROSSI-BERGMANN, B.: Selective effect of 2',6'-dihydroxy-4'-methoxychalcone isolated from *Piper aduncum* on *Leishmania amazoniensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43 (5), 1234 – 1241.
- [147] TORRES-SANTOS, E. C.; RODRIGUEZ, J. M., JR.; MOREIRA, D. L.; KAPLAN, M. A. C.; MEIRELLES, M. N.; ROSSI-BERGMANN, B.: Improvement of *in vitro* and *in vivo* antileishmanial activities of 2',6'-

- dihydroxy-4'-methoxychalcone by entrapment in poly(D,L-lactide) nanoparticles. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1999**, 43 (7), 1776 – 1778.
- [148] HERMOSO, A.; JIMÉNEZ, I. A.; MAMANI, Z. A.; BAZZOCCHI, I. L.; PINERO, J. E.; RAVELO, A. G.; VALLADARES, B.: Antileishmanial activities of dihydrochalcones from *Piper elongatum* and synthetic related compounds. Structural requirements for activity. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11 (18), 3975 – 3980.
- [149] LIU, M.; WILAIRAT, P.; CROFT, S. L.; TAN, A. L.-C.; GO, M.-L.: Structure-activity relationships of antileishmanial and antimalarial chalcones. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11 (13), 2729 – 2738.
- [150] SALEM, M. M.; WERBOVETZ, K. A.: Antiprotozoal compounds from *Psorothamnus polydenius*. *J. Nat. Prod.* **2005**, 68 (1), 108 – 111.
- [151] RAMÍREZ, I.; CARABOT, A.; MELÉNDEZ, P.; CARMONA, J.; JIMENEZ, M.; PATEL, A. V.; CRABB, T. A.; BLUNDEN, G.; CARY, P. D.; CROFT, S. L.; COSTA, M.: Cissampeloflavone, a chalcone-flavone dimer from *Cissampelos pareira*. *Phytochemistry* **2003**, 64 (2), 645 – 647.
- [152] HOET, S.; OPPERDOES, F.; BRUN, R.; QUETIN-LECLERCQ, J.: Natural products active against african trypanosomes: A step towards new drugs. *Nat. Prod. Rep.* **2004**, 21 (3), 353 – 364.
- [153] NARENDER, T.; GUPTA, S. GUPTA, S.: A convenient and biogenetic type synthesis of few naturally occurring chromeno dihydrochalcones and their *in vitro* antileishmanial activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14 (15), 3913 – 3916.
- [154] SIMON, D.; LAFONT, O.; FARNOUX, C. C.; MIOCQUE, M.; DELABOS, C.; GARNIER, J.; GAYRAL, P.: Phénoxy et phénylthiochalcones. Influence de la substitution sur l'activité antifongique et antiprotozoaire. *Ann. Pharm. Fr.* **1984**, 42 (3), 271 – 282.
- [155] ALAOUI, M. A.; GAYRAL, P.; KIRKIACHARIAN, S.: Recherche d'agents antiparasitaires: 1-(nitrophényl)-3-(méthyl-3-indolyl)-prop-2-ène-1-ones (Nitroindolylchalcones). *Ann. Pharm. Fr.* **1993**, 51 (5), 260 – 265.
- [156] KIRKIACHARIAN, S.; ALAOUI, M. A.; OUIDREN, M.; GAYRAL, P.: Synthèse et activité antiparasitaire de nouveaux dérivés *N*-alkylés de 1-(nitrophényl)-3-(méthyl-3-indolyl)-prop-2-ène-1-ones. *Ann. Pharm. Fr.* **1996**, 54 (6), 272 – 275.
- [157] OYEDAPO, A. O.; MAKANJU, V. O.; ADEWUNMI, C. O.; IWALEWA, E. O.; ADENOWO, T. K.: Antitrichomonal activity of 1,3-diaryl-2-propen-1-ones on *Trichomonas gallinae*. *Afr. J. Trad. CAM* **2004**, 1 (1), 55 – 62.
- [158] PARMAR, V. S.; JAIN, S. C.; BISHT, K. S.; SHARMA, N. K.; GUPTA, S.; PRASAD, A. K.; JHA, A.; MALHORTA, P. S.; SHARMA, S. K.; BRACKE, M. E.; ERRINGTON, W.; OLSEN, C. E.; WENGEL, J.: Synthesis and anti-invasive activity of novel 1,3-diarylpropenones. *Indian J. Chem. Sect. B – Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1998**, 37 (7), 628 – 643.
- [159] ARIYAN, Z. S.; SUSCHITZKY, H.: Heterocyclic compounds of chalcone type. *J. Chem. Soc.* **1961**, 2242 – 2244.
- [160] MUDALIAR, V. R.; JOSHI, V.: Synthesis and insecticidal activity of new substituted phenoxychalcones. *Indian J. Chem. Sect. B – Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1995**, 34 (5), 456 – 457.
- [161] MISHRA, S.; TAO, J. T.: Biological activities of chalcones. *J. Inst. Chem. (India)* **1995**, 67 (6), 181 – 182.
- [162] DAS, B. P.; CHOUDHURY, T. R.; DA, G. K.; CHOUDHURY, B.; CHOWDHURY, D. N.: Comparative larvicidal activity of some chalcones on the larvae of *Culex quinquefasciatus*. *Environ. Ecol.* **1995**, 13 (3), 694 – 697.
- [163] HRČKOVÁ, M.; ŠTURDÍK, E.; MALIAR, T.; ZEMANOVIČ, J.: Biochemické vlastnosti proteolytických enzymů. *Chem. Listy* **2004**, 98 (9), 842 – 850.
- [164] OTTO, H.-H.; SCHIRMEISTER, T.: Cysteine proteases and their inhibitors. *Chem. Rev.* **1997**, 97 (1), 133 – 171.
- [165] PAVLOVA, A.: Mechanism of action of mammalian cystatin. Studies of inhibition of cysteine endo- and exopeptidase by cystatin A and C. *Doctoral thesis*. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences **2003** [on-line]. Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Veterinaria 154. [cit. 22. 7. 2005]; available from <<http://diss.epsilon.slu.se/archive/00000300/01/veterinaria154.pdf>>. ISSN 1401-6257>. ISBN 91-576-6379-3.
- [166] MCKERROW, J. H.; ENGEL, J. C.; CAFFREY, C. R.: Cysteine protease inhibitors as chemotherapy for parasitic infections. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7 (4), 639 – 644.
- [167] HERNANDEZ, A. A.; ROUSH, W. R.: Recent advances in the synthesis, design and selection of cysteine protease inhibitors. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6 (4), 459 – 465.
- [168] SCHIRMEISTER, T.; KAEPPLER, U.: Non-peptidic inhibitors of cysteine proteases. *Mini Rev. Med. Chem.* **2003**, 3 (4), 361 – 373.
- [169] SELZER, P. M.; PINGEL, S.; HSIEH, I.; UGELE, B.; CHAN, V. J.; ENGEL, J. C.; BOGYO, M.; RUSSEL, D. G.; SAKANATI, J. A.; MCKERROW, J. H.: Cysteine protease inhibitors as chemotherapy: lessons from a parasite target. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1999**, 96 (20), 11015 – 11022.
- [170] ALBECK, A.; WEITMAN, H.; SREDNI, B.; ALBECK, M.: Tellurium compounds: selective inhibitor of cysteine proteases and model reaction with thiols. *Inorg. Chem.* **1998**, 37 (8), 1704 – 1712.

- [171] LI, R.; KEYNON, G. L.; COHEN, F.; CHEN, X.; GONG, B.; DOMINGUEZ, J. N.; DAVIDSON, E.; KURZBAN, G.; MÜLLER, R. E.; NUZUM, E.; ROSENTHAL, P.; MCKERROW, J.: *In vitro* antimalarial activity of chalcones and their derivatives. *J. Med. Chem.* **1995**, 38 (26), 5031 – 5037.
- [172] LI, R.; CHEN, X.; GONG, B.; SELZER, P. M.; LI, Z.; DAVIDSON, E.; KURZBAN, G.; MÜLLER, R. E.; NUZUM, E.; MCKERROW, J.; FLETTERICK, R. J.; GILLMOR, S. A.; CRAIK, C. S.; KUNTZ, I. D.; COHEN, F. E.; KEYNON, G. L.: Structure-based design of parasitic protease inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, 4 (9), 1421 – 1427.
- [173] DOMÍNGUEZ, J. N.; CHARRIS, J. E.; LOBO, G.; DE DOMÍNGUEZ, N. G.; MORENO, M. M.; RIGGIONE, F.; SANCHEZ, E.; OLSON, J.; ROSENTHAL, P. J.: Synthesis of chinolinyl chalcones and evaluation of their antimalarial activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, 36 (6), 555 – 560.
- [174] ZHANG, Y.; GUO, X.; LIN, E. T.; BENET, L. Z.: *In vitro* biotransformation of a novel antimalarial cysteine protease inhibitor in human liver microsomes. *Pharmacology* **1999**, 58 (3), 147 – 159.
- [175] O'NEILL, P. M.; STOCKS, P. A.; PUGH, M. D.; ARAUJO, N. C.; KORSHIN, E. E.; BICKLEY, J. F.; WARD, S. A.; BRAY, P. G.; PASINI, E.; DAVIES, J.; VERISSIMO, E.; BACHI, M. D.: Design and synthesis of endoperoxide antimalarial prodrug models. *Angew. Chem. – Int. Ed.* **2004**, 43 (32), 4193 – 4197.
- [176] NAWWAR, G. A. H.; HAGGAG, B. M.; SWELLAM, R. H.: Synthesis and molluscicidal activity of new derivatives of 1-(hydroxy substituted phenyl)-3-aryl-propenones. *Arch. Pharm.* **1993**, 326 (10), 831 – 836.
- [177] GONZALES PEREZ, J. A.; ESTEVEZ BROWN, A.; GUTIERREZ RAVELO, A.; ESTEVEZ REYES, R.: Phenyl compounds for the control of phytoparasitic nematodes. *PCT Int. Appl. WO 95 15082 A1*, 8. 1. 1995; *Chem. Abstr.* **1995**, 123, 135918.
- [178] ADEWUNMI, C. O.; OGUNGBAMILA, F. O.; OLUWADIYA, J. O.: Molluscicidal activities of some synthetic chalcones. *Planta Med.* **1987**, 53 (1), 110 – 112.
- [179] GONZÁLEZ, J. A.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.: Effect of (*E*)-chalcone on potato-cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*). *J. Agric. Food Chem.* **1998**, 46 (3), 1163 – 1165.
- [180] LEE, B. M.; PARK, K.-K.: Beneficial and adverse effects of chemopreventive agents. *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **2003**, 523 – 524, 265 – 278.
- [181] GERHAUSER, C.; KLIMO, K.; HEISS, E.; NEUMANN, I.; GAMAL-ELDEEN, A.; KNAUFT, J.; LIU, G.-Y.; SITHIMONCHAI, S.; FRANK, N.: Mechanism-based *in vitro* screening of potential cancer chemoprotective agents. *Mutat. Res. – Fundam. Mol. Mech. Mutagen.* **2003**, 523 – 524, 163 – 172.
- [182] KENSLER, T.W.: Chemoprevention by inducers of carcinogen detoxification enzymes. *Environ. Health Perspect.* **1997**, 105 (Suppl. 4), 965 – 970.
- [183] VARMA, R. S.: Dietary bioflavonoids, chalcones, and related alkenones in prevention and treatment of cancer. *Nutrition* **1996**, 12 (9), 643 – 645.
- [184] MACHALA, M.; KUBÍNOVÁ, R.; HOŘAVOVÁ, P.; SUCHÝ, V.: Chemoprotective potentials of homoisoflavonoids and chalcones of *Dracaena cinnabari*: modulations of drug-metabolizing enzymes and antioxidant activity. *Phytother. Res.* **2001**, 15 (2), 114 – 118.
- [185] GERHAUSER, C.; ALT, A.; HEISS, E.; GAMAL-ELDEEN, A.; KLIMO, K.; KNAUFT, J.; NEUMANN, I.; SCHERF, H.-R.; FRANK, N.; BARTSCH, H.; BECKER, H.: Cancer chemoprotective activity of xanthohumol, a natural product derived from hop. *Mol. Cancer Ther.* **2002**, 1 (11), 959 – 969.
- [186] LEE, S. K.; SONG, L.; MATA-GREENWOOD, E.; KELLOFF, G. J.; STEELE, V. E.; PEZZUTO, J. M.: Modulation of *in vitro* biomarkers of the carcinogenic process by chemopreventive agents. *Anticancer Res.* **1999**, 19 (1A), 35 – 44.
- [187] WHITE, E. L.; ROSS, L. R.; SCHMID, S. M.; KELLOFF, G. J.; STEELE, V. E.; HILL, D. L.: Screening of potential cancer preventing chemicals for induction of glutathion in rat liver cell. *Oncol. Rep.* **1998**, 5 (2), 507 – 512.
- [188] ZOETE, V.; ROUGÉE, M.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T.; TALALAY, P.; BENSASSON, R. V.: Redox ranking of inducers of a cancer-protective enzyme via the energy of their highest occupied molecular orbital. *Free Radic. Biol. Med.* **2004**, 35 (11), 1418 – 1423.
- [189] MAKITA, H.; TANAKA, T.; FUJITSUKA, H.; TATEMATSU, N.; SATOH, K.; HARA, A.; MORI, H.: Chemoprevention of 4-nitroquinoline 1-oxide-induced rat oral carcinogenesis by the dietary flavonoids chalcone, 2-hydroxychalcone, and quercetin. *Cancer Res.* **1996**, 56 (21), 4906 – 4909.
- [190] WANG, H.; WANG, Y.; CHEN, Z.-Y.; CHAN, F. L.; LEUNG, L. K.: Hydrochalcones exhibit differential effects on XRE transactivation. *Toxicology* **2005**, 207 (2), 303 – 313.
- [191] STEVENS, J. F.; PAGE, J. E.: Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer to your good health! *Phytochemistry* **2004**, 65 (10), 1317 – 1330.
- [192] HENDERSON, M. C.; MIRANDA, C. L.; STEVENS, J. F.; DEINZER, M. L.; BUHLER, D. R.: *In vitro* inhibition of human P450 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus*. *Xenobiotica* **2000**, 30 (3), 235 – 251.
- [193] LÓPEZ-LÁZARO, M.; GÁLVEZ, M.; MARTÍN-CORDERO, C.; AYUSO, M. J.: Cytotoxicity of flavonoids on cancer cell lines. Structure-activity relationship. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **2002**, 27 (Part H), 891 – 932.

- [194] FUKAI, T.; SAKAGAMI, H.; TOGUCHI, M.; TAKAYAMA, F.; IWAKURA, I.; ATSUMI, T.; UEHA, T.; NAKASHIMA, H.; NOMURA, T.: Cytotoxic activity of low molecular weight polyphenols against human oral tumor cell lines. *Anticancer Res.* **2000**, 20 (4), 2525 – 2536.
- [195] CALLISTE, C.-A.; LE BAIL, J.-C.; TROUILLAS, P.; POUGET, C.; HABRIOUX, G.; CHULIA, A.-J.; DUROUX, J.-L.: Chalcones: structural requirements for antioxidant, estrogenic and antiproliferative activities. *Anticancer Res.* **2001**, 21 (6A), 3949 – 3956.
- [196] GERHÄUSER, C.; ALT, A. P.; KLIMO, K.; KNAUFT, J.; FRANK, N.; BECKER, H.: Isolation and potential cancer chemopreventive activities of phenolic compounds of beer. *Phytochem. Rev.* **2002**, 1 (3), 369 – 377.
- [197] STEVENS, J. F.; MIRANDA, C. L.; BUHLER, D. R.: Chemistry and biology of hop flavonoids. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* **1998**, 56 (4), 136 – 145.
- [198] FOREJTŇIKOVÁ, H.; LUNEROVÁ, K.; KUBÍNOVÁ, R.; JANKOVSKÁ, D.; MAREK, R.; KAREŠ, R.; SUCHÝ, V.; VONDRÁČEK, J.; MACHALA, M.: Chemoprotective and toxic potential of synthetic and natural chalcones and dihydrochalcones *in vitro*. *Toxicology* **2005**, 208 (1), 81 – 93.
- [199] MONOSTORY, K.; TAMÁSI, V.; VERECZKEY, L.; PERJÉSI, P.: A study on CYP1A inhibitory action of *E*-2-(4'-methoxybenzylidene)-1-benzosuberone and some related chalcones and cyclic chalcone analogues. *Toxicology* **2003**, 184 (2 – 3), 203 – 210.
- [200] LEE, D.; BHAT, K. P. L.; FONG, H. H. S.; FARNSWORTH, N. R.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D.: Aromatase inhibitors from *Broussonetia papyrifera*. *J. Nat. Prod.* **2001**, 64 (10), 1286 – 1293.
- [201] ROMANO, J. J.; CASILLAS, E.: A short synthesis of morachalcone. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46 (13), 2323 – 2326.
- [202] WANG, Y.; CHAN, F. L.; CHEN, S.; LEUNG, L. K.: The plant polyphenol butein inhibits testosterone-induced proliferation in breast cancer cells expressing aromatase. *Life Sci.* **2005**, 77 (1), 39 – 51.
- [203] LE BAIL, J.-C.; POUGET, C.; FAGNERE, C.; BASLY, J.-P.; CHULIA, A.-J.; HABRIOUX, G.: Chalcones are potent inhibitors of aromatase and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase activities. *Life Sci.* **2001**, 68 (7), 751 – 761.
- [204] SHIMIZU, K.; KONDO, R.; SAKAI, K.; BUABARN, S.; DILOKKUNANANT, U.: A geranylated chalcone with 5 α -reductase inhibitory properties from *Artocarpus incisus*. *Phytochemistry* **2000**, 54 (8), 737 – 739.
- [205] MESÍA-VELA, S.; SANCHEZ, R. I.; ESTRADA-MUNIZ, E.; ALAVEZ-SOLANO, D.; TORRES-SOSA, C.; JIMÉNEZ-ESTRADA, M.; REYES-CHILPA, R.; KAUFFMAN, F. C.: Natural products isolated from mexican medicinal plants: novel inhibitors of sulfotransferases, SULT1A1 and SULT2A1. *Phytomedicine* **2001**, 8 (6), 481 – 488.
- [206] ZHU, B. T.; KOSH, J. W.; FU, J.-H.; CAI, M. X.; XU, S.; CONNEY, A. H.: Strong inhibition of estrone-3-sulfatase activity by pregnenolone 16 α -carbonitrile but not by several analogs lacking a 16 α -nitrile group. *Steroids* **2000**, 65 (9), 521 – 527.
- [207] MIRANDA, C. L.; APONSO, G. L. M.; STEVENS, J. F.; DEINZER, M. L.; BUHLER, D. R.: Prenylated chalcones and flavanones as inducers of quinone reductase in mouse Hepa 1c1c7 Cells. *Cancer Lett.* **2000**, 149 (1 – 2), 21 – 29.
- [208] BROOKS, J. D.; GOLBERG, M. F.; NELSON, L. A.; WU, D.; NELSON, W. G.: Identification of potential prostate cancer preventive agents through induction of quinone reductase *in vitro*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* **2002**, 11 (9), 868 – 875.
- [209] CHANG, L. C.; GERHÄUSER, C.; SONG, L.; FARNSWORTH, N. R.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D.: Activity-guided isolation of constituents of *Tephrosia purpurea* with the potential to induce the phase II enzyme, quinone reductase. *J. Nat. Prod.* **1997**, 60 (9), 869 – 873.
- [210] DINKOVA-KOSTOVA, A.; ABEYGUNAWARDANA, C.; TALALAY, P.: Chemoprotective properties of phenylpropenoids, bis(benzylidene)cycloalkanones, and related Michael reaction acceptors: correlation of potencies as phase 2 enzyme inducers and radical scavengers. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (26), 5287 – 5296.
- [211] GU, J.-Q.; PARK, E. J.; VIGO, J. S.; GRAHAM, J. G.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D.: Activity-guided isolation of constituents of *Renalmia nicolaioides* with the potential to induce the phase II enzyme quinone reductase. *J. Nat. Prod.* **2002**, 65 (11), 1616 – 1620.
- [212] CARCACHE-BLANCO, E.; KANG, Y.-H.; PARK, E. J.; SU, B.-N.; KARDONO, L. B. S.; RISWAN, S.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D.: Constituents of the stem bark of *Pongamia pinnata* with the potential to induce quinone reductase. *J. Nat. Prod.* **2003**, 66 (9), 1197 – 1202.
- [213] FORESTI, R.; HOQUE, M.; MONTI, D.; GREEN, C. J.; MOTTERLINI, R.: Differential activation of heme oxygenase-1 by chalcones and rosolic acid in endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, 312 (2), 686 – 693.
- [214] AIZU, E.; NAKADATE, T.; YAMAMOTO, S.; KATO, R.: Inhibition of 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate-mediated epidermal ornithine decarboxylase induction and skin tumor promotion by new lipoxygenase inhibitors lacking protein kinase C inhibitory effects. *Carcinogenesis* **1986**, 7 (11), 1809 – 1812.
- [215] YAMAMOTO, S.; AIZU, E.; JIANG, H.; NAKADATE, T.; KIYOTO, I.; WANG, J. C.; KATO, R.: The potent anti-tumor-promoting agent isoliquiritigenin. *Carcinogenesis* **1991**, 12 (2), 317 – 323.

- [216] LUYENGI, L.; LEE, I.-S.; MAR, W.; FONG, H. H. S.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D.: Rotenoids and chalcones from *Mundulea serica* that inhibit phorbol ester-induced ornithine decarboxylase activity. *Phytochemistry* **1994**, 36 (6), 1523 – 1526.
- [217] SHIBATA, S.; NISHINO, H.; NAGATA, N.; IWATA, S.: Preparation of *cis*-chalcones and their use as anticancer agents. *JP 09309860*, 2. 12. 1997; *Chem. Abstr.* **1998**, 128, 79991.
- [218] NAKAMURA, C.; KAWASAKI, N.; MIYATAKA, H.; JAYACHADRAN, E.; KIM, I. H.; KIRK, K. L.; TAGUCHI, T.; TAKEUCHI, Y.; HORI, H.; SATOH, T.: Synthesis and biological activities of fluorinated chalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, 10 (3), 699 – 706.
- [219] STOLL, R.; RENNER, C.; HANSEN, S.; PALME, S.; KLEIN, C.; BELLING, A.; ZESLAWSKI, W.; KAMIONKA, M.; REHM, T.; MÜHLHAHN, P.; SCHUMACHER, R.; HESSE, F.; KALUZA, B.; VOELTER, W.; ENGH, R. A.; HOLAK, T. A.: Chalcone derivatives antagonize interactions between the human oncoprotein MDM2 and p53. *Biochemistry* **2001**, 40 (2), 336 – 344.
- [220] BUOLAMWINI, J. K.; ADDO, J.; KAMATH, S.; PATIL, S.; MASON, D.; ORES, M.: Small molecule antagonists of the MDM2 oncoprotein as anticancer agents. *Curr. Cancer Drug Targets* **2005**, 5 (1), 57 – 68.
- [221] DASKIEWICZ, J.-B.; DEPEINT, F.; VIORNERY, L.; BAYET, C.; COMTE-SARRAZIN, G.; COMTE, G.; GEE, J. M.; JOHNSON, I. T.; NDJOKO, K.; HOSTETTSMANN, K.; BARRON, D.: Effects of flavonoids on cell proliferation and caspase activation in a human colonic cell line HT29: an SAR study. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (8), 2790 – 2804.
- [222] RAFI, M. M.; ROSEN, R. T.; VASSIL, A.; HO, C.-T.; ZHANG, H.; GHAI, G.; LAMBERT, G.; DIPAOLO, R. S.: Modulation of bcl-2 and cytotoxicity by licochalcone A, a novel estrogenic flavonoid. *Anticancer Res.* **2000**, 20 (4), 2653 – 2658.
- [223] KOIDE, T.; KAMEI, H.; HASHIMOTO, Y.; KOJIMA, T.; TERABE, K.; UMEDA, T.: Influence of flavonoids on cell cycle phase as analyzed by flow cytometry. *Cancer Biother. Radiopharm.* **1997**, 12 (2), 111 – 115.
- [224] II, T.; SATOMI, Y.; KATOH, D.; SHIMADA, J.; BABA, M.; OKUYAMA, T.; NISHINO, H.; KITAMURA, N.: Induction of cell cycle arrest and p21^{CIP1/WAF1} expression in human lung cancer cells by isoliquiritigenin. *Cancer Lett.* **2004**, 207 (1), 27 – 35.
- [225] LUNEROVÁ, K.; VESELÁ, D.; KUBÍNOVÁ, R.; SUCHÝ, V.: Přírodní látky jako chemoprotektiva. *Česk. Slov. Farm.* **2003**, LII (3), 126 – 130.
- [226] HSU, Y.-L.; KUO, P.-L.; CHIANG, L.-C.; LIN, C.-C.: Isoliquiritigenin inhibits the proliferation and induces the apoptosis of human non-small cell lung cancer A549 cells. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **2004**, 31 (7), 414 – 418.
- [227] FU, Y.; HSIEH, T. C.; GUO, J.; KUNICKI, J.; LEE, M. Y.; DARZYNKIERWICZ, Z.; WU, J. M.: Licochalcone A, a novel flavonoid isolated from licorice roots (*Glycyrrhiza glabra*), causes G₂ and late-G₁ arrests in androgen-independent PC-3 prostate cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, 322 (1), 263 – 270.
- [228] HODNICK, W. F.; CAPPS, C.; PARDINI, R. S.: Inhibition of mitochondrial NADH-oxidase (NADH-coenzyme Q oxidoreductase) enzyme system by flavonoids: a structure-activity study. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, 36 (17), 2873 – 2874.
- [229] TOMEČKOVÁ, V.; PERJÉSI, P.; GUZY, J.; KUŠNÍR, J.; CHOVANOVÁ, Z.; CHAVKOVÁ, Z.; MAREKOVÁ, M.: Comparison of effect of selected synthetic chalcone analogues on mitochondrial outer membrane determined by fluorescence spectroscopy. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2004**, 61 (1 – 2), 135 – 141.
- [230] RAMANANTHAN, R.; DAS, N. P.; TAN, C. H.: Inhibitory effects of 2-hydroxy chalcone and other flavonoids on human cancer cell proliferation. *Int. J. Oncol.* **1993**, 3 (1), 115 – 119.
- [231] KOHNO, H.; YAMAGUCHI, K.; TAIMA, M.; TANAKA, T.: Prevention of colonic aberrant crypt foci by dietary feeding of chalcone and 2-hydroxychalcone in male F344 rats. *J. Toxicol. Pathol.* **2002**, 15 (3), 137 – 143.
- [232] CAPUA, S.; COHEN, E.; GERSON, U.: Induction of aldrin epoxidation and glutathione S-transferase in the mite *Rhizoglyphus robini*. *Entomol. Exp. Appl.* **1991**, 59 (1), 43 – 50.
- [233] MADDOX, J.; HOLT, H.: The investigation of the metal catalyzed aziridination of chalcones and pyrrole chalcones. *Book of Abstracts of the 55th Southeast Meeting of the American Chemical Society*, Atlanta, USA, November 16 – 19, **2003**; AN: 2004, 130463.
- [234] RUI, H.: Research and development of cancer chemopreventive agents in China. *J. Cell. Biochem.* **1997**, 67 (Suppl. 27), 7 – 11.
- [235] RUI, H.; GUO, Z.-R.: Chalcones, retinoids, their preparation, and their anticancer activity. *US 5703130 A*, 30. 12. 1997; *Chem. Abstr.* **1998**, 128, 110862.
- [236] AKIHISA, T.; TOKUDA, H.; UKIYA, M.; IIZUKA, M.; SCHNEIDER, A.; OGASAWARA, K.; MIKAINAKA, T.; IWATSUKI, K.; SUZUKI, T.; NISHINO, H.: Chalcones, coumarines, and flavanones from the exudate of *Angelica keiskei* and their chemopreventive effects. *Cancer Lett.* **2003**, 201 (2), 133 – 137.
- [237] MURAKAMI, A.; TANAKA, S.; OHIGASHI, H.; HIROTA, M.; IRIE, R.; TAKEDA, N.; TATEMATSU, A.; KOSHIMIZU, K.: Chalcone tetramers, lophirachalcone and alatachalcone, from *Lophira alata* as possible antitumour promoters. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1992**, 56 (5), 769 – 772.

- [238] PEYROT, V.; LEYNADIER, D.; SARRAZIN, M.; BRIAND, C.: Mechanism of binding of the new antimetabolic drug MDL 27048 to the colchicine site of tubulin: equilibrium studies. *Biochemistry* **1992**, 31 (45), 11125 – 11132.
- [239] PEYROT, V.; LEYNADIER, D.; SARRAZIN, M.; BRIAND, C.; BARASOAIN, J.; DE INES, C.; ANDREU, J. M.; TEMPLE, G. C. JR.; RENER, G. A.: Interaction of new compounds at microtubular level. *Cell. Pharmacol.* **1994**, 1 (3), 143 – 146.
- [240] RAYNAUD, F. I.; JUDSON, I. R.: Synthetic microtubule inhibitors. *Drug Future* **1996**, 21 (1), 65 – 70.
- [241] BEUTLER, J. A.; CARDELINA II, J. H.; GRAY, G. N.; PRATHER, T. R.; SHOEMAKER, R. H.; BOYD, M. R.; LIN, C. M.; HAMEL, E.; CRAGG, G. M.: Two new cytotoxic chalcones from *Calythropsis aurea*. *J. Nat. Prod.* **1993**, 56 (10), 1718 – 1722.
- [242] LAWRENCE, N. J.; RENNINSON, D.; MCGOWN, A. T.; DUCKI, S.; GUL, L. A.; HADFIELD, J. A.; KHAN, N.: Linked parallel synthesis and MTT bioassay screening of substituted chalcones. *J. Comb. Chem.* **2001**, 3 (5), 421 – 426.
- [243] SEGUIN, E.; ELOMRI, A.; MAGIATIS, P.; SKLATSOUNIS, A.-L.; CHAO, L. R.; TILLEQUIN, F.: Synthesis, dimerization, and biological activity of hexaoxygenated chalcones related to calythropsin and combrestatin. *Nat. Prod. Lett.* **2002**, 16 (3), 187 – 193.
- [244] ALIAS, Y.; AWANG, K.; HADI, A. H. A.; THOISON, O.; SÉVENET, T.; PAIS, M.: An antimetabolic and cytotoxic chalcone from *Fissistigma lanuginosum*. *J. Nat. Prod.* **1995**, 58 (8), 1160 – 1166.
- [245] MIN, B.; AHN, B.; BAE, K.: Synthesis and structure-activity relationship of cytotoxic 5,2',5'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavanone analogues. *Arch. Pharm. Res.* **1996**, 19 (6), 543 – 550.
- [246] POUGET, C.; LAUTHIER, F.; SIMON, A.; FAGNERE, C.; BASLY, J.-P.; DELAGE, C.; CHULIA, A.-J.: Flavonoids: structural requirements for antiproliferative activity on breast cancer cells. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 11 (24), 3095 – 3097.
- [247] SATOMI, Y.: Inhibitory effects of 3'-methyl-3-hydroxychalcone on proliferation of human malignant tumour cells and on skin carcinogenesis. *Int. J. Cancer* **1993**, 55 (3), 506 – 514.
- [248] YIT, C. C.; DAS, N. P.: Cytotoxic effect of butein on human colon adenocarcinoma cell proliferation. *Cancer Lett.* **1994**, 82 (1), 65 – 72.
- [249] MIRANDA, C. L.; STEVENS, J. F.; HELMRICH, A.; HENDERSON, M. C.; RODRIGUEZ, R. J.; YANG, Y.-H.; DEINZER, M. L.; BARNES, D. W.; BUHLE, D. R.: Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines. *Food Chem. Toxicol.* **1999**, 37 (4), 271 – 285.
- [250] IWATA, S.; NISHINO, T.; NAGATA, N.; SATOMI, Y.; HISHINO, H.; SHIBATA, S.: Antitumorigenic activities of chalcones. I. Inhibitory effects of chalcone derivatives on 32 Pi-incorporation into phospholipids of HeLa cells promoted by 12-O-tetradecanoyl-phorbol 13-acetate (TPA). *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, 18 (12), 1710 – 1713.
- [251] DE VINCENZO, R.; FERLINI, C.; DISTEFANO, M.; GAGGINI, C.; RIVA, A.; BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P.; VALENTI, P.; BELLUTI, F.; RANELLETTI, F. O.; MANCUSO, S.; SCAMBIA, G.: *In vitro* evaluation of newly developed chalcone analogues in human cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2000**, 46 (4), 305 – 312.
- [252] LIU, X.; GO, M.-L.: Antiproliferative properties of piperidinylchalcones. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, 14 (1), 153 – 163.
- [253] ABOUL-FADL, T.; EL-SHOBAGI, A.-N.; HOZIEN, Z. A.; SARHAN, A.-W. A. O.: Investigation of alkylating, antineoplastic and anti-HIV potentials of the chalcone: 2-(3-arylpropenyl)benzimidazole and their corresponding N¹-methyl derivatives. *Boll. Chim. Farm.* **2000**, 139 (5), 228 – 234.
- [254] HUANG, L.; WALL, M. E.; WANI, M. C.; NAVARRO, H.; SANTISUK, T.; REUTRAKUL, V.; SEO, E.-K.; FARNSWORTH, N. R.; KINGHORN, A. D.: New compounds with DNA strand-scission activity from the combined leaf and stem of *Uvaria hamiltonii*. *J. Nat. Prod.* **1998**, 61 (4), 446 – 450.
- [255] EDENHARDER, R.; TANG, X.: Inhibition of mutagenicity of 2-nitrofluorene, 3-nitrofluoranthene and 1-nitropyrene by flavonoids, coumarines, quinones and other phenolic compounds. *Food Chem. Toxicol.* **1997**, 35 (3 – 4), 357 – 372.
- [256] SHIBATA, S.: Cancer-preventive substances from medicinal plants. *Ther. Res.* **1995**, 16 (10), 3309 – 3312, 3357.
- [257] QIAN, F.; YE, C. L.; WEI, D. Z.; LU, Y. H.; YANG, S. L.: *In vitro* and *in vivo* reversal of cancer cell multidrug resistance by 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone. *J. Chemother.* **2005**, 17 (3), 309 – 314.
- [258] HADJERI, M.; BARBIER, M.; RNOT, X.; MARIOTTE, A.-M.; BOUMENDJEL, A.; BOUTONNAT, J.: Modulation of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance by flavonoid derivatives and analogues. *J. Med. Chem.* **2003**, 46 (11), 2125 – 2131.
- [259] WANG, Y.-H.; LI, Y.; YANG, S.-L.; YANG, L.: Classification of substrates and inhibitors of P-glycoprotein using unsupervised machine learning. *J. Chem. Inf. Model.* **2005**, 45 (3), 750 – 757.

- [260] BOIS, F.; BENEY, C.; BOUMENDJEL, A.; MARIOTTE, A.-M.; CONSEIL, G.; DI PIETRO, A.: Halogenated chalcones with high-affinity to P-glycoprotein: potential modulators of multidrug resistance. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (21), 4161 – 4164.
- [261] BOIS, F.; BOUMENDJEL, A.; MARIOTTE, A.-M.; CONSEIL, G.; DI PIETRO, A.: Synthesis and biological activity of 4-alkoxy chalcones: potential hydrophobic modulators of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7 (12), 2691 – 2695.
- [262] DASKIEWICZ, J. B.; COMTE, G.; BARRON, D.; DI PIETRO, A.; THOMASSON, F.: Organolithium mediated synthesis of prenylchalcones as potential inhibitors of chemoresistance. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40 (39), 7095 – 7098.
- [263] ZHANG, S.; YANG, X.; COBURN, R. A.; MORRIS, M. E.: Structure activity relationships and quantitative structure activity relationships for the flavonoid-mediated inhibition of breast cancer resistance protein. *Biochem. Pharmacol.* **2005**, 70 (4), 627 – 639.
- [264] NGUYEN, H.; ZHANG, S.; MORRIS, M. E.: Effect of flavonoids on MRP1-mediated transport in Panc-1 cells. *J. Pharm. Sci.* **2003**, 92 (2), 250 – 257.
- [265] HOLLÓSY, F.; KÉRI, G.: Plant-derived protein tyrosine kinase inhibitors as anticancer agents. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents* **2004**, 4 (2), 173 – 197.
- [266] YANG, E.-B.; ZHANG, K.; CHENG, L. Y.; MACK, P.: Butein, a specific protein tyrosine kinase inhibitor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, 245 (2), 435 – 438.
- [267] YANG, E.-B.; GUO, Y. J.; ZHANG, K.; CHEN, Y. Z.; MACK, P.: Inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase by chalcone derivatives. *Biochim. Biophys. Acta – Protein Struct. Mol. Enzym.* **2001**, 1550 (2), 144 – 152.
- [268] ZHU, X.-F.; XIE, B.-F.; ZHOU, J.-M.; FENG, G.-K.; LIU, Z.-C.; WEI, X.-Y.; ZHANG, F.-X.; LIU, M.-F.; ZENG, Y.-X.: Blockade of vascular endothelial growth factor receptor signal pathway and antitumor activity of ON-III (2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone), a component from Chinese herbal medicine. *Mol. Pharmacol.* **2005**, 67 (5), 1444 – 1450.
- [269] PARMER, T. G.; WARD, M. D.; HAIT, W. N.: Effects of rottlerin, an inhibitor of calmodulin-dependent protein kinase III, on cellular proliferation, viability and cell cycle distribution in malignant glioma cells. *Cell Growth Differ.* **1997**, 8 (3), 327 – 334.
- [270] CHLUPÁČOVÁ, M.; OPLETALOVÁ, V.: Chalkony jako potenciální inhibitory aldosareduktasy. *Chem. Listy* **2004**, 98 (6), 320 – 323.
- [271] OKUYAMA, T.; OKADA, Y.; SHIBATA, S.; NAGATA, N.; IWATA, S.: Preparation of chalcone derivatives as aldose reductase inhibitors. *Jpn. Kokai Tokyo Koho JP 11349521 A2*, 21. 12. 1999; *Chem. Abstr.* **2000**, 132, 22752.
- [272] OHNOGI, H.; SUGIYAMA, K.; ENOKI, T.; KOBAYASHI, E.; SAGAWA, H.; KATO, I.: Extract of chalcone derivatives as aldose reductase inhibitors. *PCT Int. Appl. WO 2005054170 A1*, 16. 6. 2005; *Chem. Abstr.* **2005**, 143, 59727.
- [273] HATANO, T.; FUKUDA, T.; MIYASE, T.; NORO, T.; OKUDA, T.: Phenolic constituents of licorice. III. Structures of glicoricone and licofuranone, and inhibitory effects of licorice Constituents on monoamine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39 (5), 1238 – 1243.
- [274] TANAKA, S.; KUWAI, Y.; TABATA, M.: Isolation of monoamine oxidase inhibitors from *Glycyrrhiza uralensis* roots and the structure-activity relationship. *Planta Med.* **1987** (1), 5 – 8.
- [275] PAN, X.; KONG, L.-D.; ZHANG, Y.; CHENG, C. H. K.; TAN, R.-X.: *In vitro* inhibition of rat monoamine oxidase by liquiritigenin and isoliquiritigenin isolated from *Sinofranchetia chinensis*. *Acta Pharmacol. Sin.* **2000**, 21 (10), 949 – 953.
- [276] HARAGUCHI, H.; TANAKA, Y.; KABBASH, A.; FUJIOKA, T.; ISHIZU, T.; YAGI, A.: Monoamine oxidase inhibitors from *Gentiana lutea*. *Phytochemistry* **2004**, 65 (15), 2255 – 2260.
- [277] PEREZ, R. A.; FERNANDEZ-ALVAREZ, E.; NIETO, O.; PIEDRAFITA, F. J.: Kinetics of the reversible tight-binding inhibition of pig liver catechol-*O*-methyltransferase by [2-(3,4-dihydroxy-2-nitrofenyl)vinyl]phenyl ketone. *J. Enzyme Inhib.* **1994**, 8 (2), 123 – 131.
- [278] GUGLER, R.; DENGLER, H. J.: Inhibition of human liver catechol-*O*-methyltransferase by flavonoids. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1973**, 276 (2), 223 – 233.
- [279] RASTELLI, G.; CONSTANTINO, L.; ALBASINI, A.: Theoretical and experimental study of flavones as inhibitors of xanthine oxidase. *Eur. J. Med. Chem.* **1995**, 30 (2), 141 – 146.
- [280] KONG, L. D.; ZHANG, Y.; PAN, X.; TAN, R. X.; CHENG, C. H. K.: Inhibition of xanthine oxidase by liquiritigenin and isoliquiritigenin isolated from *Sinofranchetia Chinensis*. *Cell. Mol. Life Sci.* **2000**, 57 (3), 500 – 505.
- [281] RASTELLI, G.; CONSTANTINO, L.; ALBASINI, A.: A Model of the interaction of substrates and inhibitors with xanthine oxidase. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119 (13), 3007 – 3016.
- [282] HERNÁNDEZ, B.; LUQUE, F. J.; OROZCO, M.: Tautomerism of xanthine oxidase substrates hypoxanthine and allopurinol. *J. Org. Chem.* **1996**, 61 (17), 5964 – 5971.

- [283] COSTANTINO, L.; RASTELLI, G.; ALBASINI, A.: A rational approach to the design of flavones as xanthine oxidase inhibitors. *Eur. J. Chem. Med.* **1996**, 31 (9), 693 – 699.
- [284] COS, P.; YING, L.; CALOMME, M.; HU, J. P.; CIMANGA, K.; VAN POEL, B.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J.; VANDEN BERGHE, D.: Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *J. Nat. Prod.* **1998**, 61 (1), 71 – 76.
- [285] PONCE, A. M.; BLANCO, S. E.; MOLINA, A. S.; GARCÍA-DOMENECH, R.; GÁLVEZ, J.: Study of the action of flavonoids on xanthine-oxidase by molecular topology. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2000**, 40 (4), 1039 – 1045.
- [286] BEILER, J. M.; MARTIN, G. J.: The inhibition of xanthine oxidase by flavonoids and related compounds. *J. Biol. Chem.* **1951**, 192 (2), 831 – 834.
- [287] MARTIN, G. J.; BEILER, J. M.; AVAKIAN, S.: Chalcones. *US 2769817*, 6. 11. 1956; *Chem. Abstr.* **1957**, 51, 81750.
- [288] HATANO, T.; YASUHARA, T.; FUKUDA, T.; NORO, T.; OKUDA, T.: Phenolic constituents of licorice. II: Structures of licochalcone, licochalconin and licochalconin, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, 37 (11), 3005 – 3009.
- [289] SATO, T.; SANKAWA, U.: Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase by flavonoids. *Chem. Pharm. Bull.* **1983**, 31 (1), 149 – 155.
- [290] ELLIOTT, A. J.; SCHEIBER, S. A.; THOMAS, C.; PARDINI, R. S.: Inhibition of glutathione reductase by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, 44 (8), 1603 – 1608.
- [291] ZHANG, K.; DAS, N. P.: Inhibitory effects of plant polyphenols on rat liver glutathione *S*-transferases. *Biochem. Pharmacol.* **1994**, 47 (11), 2063 – 2068.
- [292] CUMMINS, I.; O'HAGAN, D.; JABLONKAI, I.; COLE, D. J.; HEHN, A.; WERCK-REICHHART, D.; EDWARDS, R.: Cloning, characterization and regulation of a family of phi class glutathione transferases from wheat. *Plant Mol. Biol.* **2003**, 52 (3), 591 – 603.
- [293] PRESTWICH, G. D.; KUO, J.-W.; PARK, S.-K.; LOURY, D. N.; HAMMOCK, B. D.: Inhibition of epoxide metabolism by α,β -epoxyketones and isosteric analog. *Arch. Biochem. Biophys.* **1985**, 242 (1), 11 – 15.
- [294] MIYAMOTO, T.; YAMAMOTO, I.: Glutathione conjugates as the activated form of chalcone for glutathione *S* transferase inhibition. *J. Pestic. Sci.* **1994**, 19 (1), 53 – 58.
- [295] MULLIN, C. A.; HAMMOCK, B. D.: Chalcone oxides – potent selective inhibitors of cytosolic epoxide hydrolase. *Arch. Biochem. Biophys.* **1982**, 216 (2), 423 – 439.
- [296] MIYAMOTO, T.; SILVA, M.; HAMMOCK, B. D.: Inhibition of epoxide hydrolase and glutathione *S* transferases by 2-, 3- and 4-substituted derivatives of 4'-phenylchalcone and its oxide. *Arch. Biochem. Biophys.* **1987**, 254 (1), 203 – 213.
- [297] ZHANG, K.; WONG, K. P.: Inhibition of the efflux of glutathione *S*-conjugates by plant polyphenols. *Biochem. Pharmacol.* **1996**, 52 (10), 1631 – 1638.
- [298] HAMMOCK, B. D.; OTA, K.: Differential induction of cytosolic epoxide hydrolase, microsomal epoxide hydrolase, and glutathione *S*-transferase activities. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **1983**, 71 (2), 254 – 265.
- [299] FRETLAND, A. J.; OMIECINSKI, C. J.: Epoxide hydrolase: biochemistry and molecular biology. *Chem.-Biol. Interact.* **2000**, 129 (1 – 2), 41 – 59.
- [300] GILL, S. S.; OTA, K.; HAMMOCK, B. D.: Radiometric assays for mammalian epoxide hydrolases and glutathione *S*-transferase. *Anal. Biochem.* **1983**, 131 (1), 273 – 282.
- [301] KRÄMER, A.; FRANK, H.; SETIABUDI, F.; OESCH, F.; GLATT, H.: Influence of the level of cytosolic epoxide hydrolase on the induction of sister chromatid exchanges by *trans*- β -ethylstyrene 7,8-oxide in human lymphocytes. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42 (11), 2147 – 2152.
- [302] SEIDEGÅRD, J.; DEPIERRE, J. W.; GUENTHER, T. M.; OESCH, F.: The effects of metyrapone, chalcone epoxide, benzil, clotrimazole and related compounds on the activity of microsomal epoxide hydrolase *in situ*, in purified form and in reconstituted system towards different substrates. *Eur. J. Biochem.* **1986**, 159 (2), 415 – 423.
- [303] GANU, V. S.; ALWORTH, W. L.: Epoxide hydrolase: structure-activity relationships of *in vitro* stimulators of the microsomal activity. *Biochemistry* **1978**, 17 (14), 2876 – 2881.
- [304] GUENTHER, T. M.: Selective inhibition and selective induction of multiple microsomal epoxide hydrolases. *Biochem. Pharmacol.* **1986**, 35 (5), 839 – 845.
- [305] MORISSEAU, C.; DU, G.; NEWMAN, J. W.; HAMMOCK, B. D.: Mechanism of mammalian soluble epoxide hydrolase inhibition by chalcone oxide derivative. *Arch. Biochem. Biophys.* **1998**, 356 (2), 214 – 218.
- [306] WEINTRAUB, N. L.; FANG, X.; KADUCE, T. L.; VANROLLINS, M.; CHATTERJEE, P.; SPECTOR, A. A.: Epoxide hydrolases regulate epoxyeicosatrienoic acid incorporation into coronary endothelial phospholipids. *Am. J. Physiol. – Heart Circul. Physiol.* **1999**, 277 (5), H2098 – H2108.
- [307] YAMADA, T.; MORISSEAU, C.; MAXWELL, J. E.; ARGIRIADIS, M. A.; CHRISTIANSON, D. W.; HAMMOCK, B. D.: Biochemical evidence for involvement of tyrosine in epoxide activation during the catalytic cycle of epoxide hydrolase. *J. Biol. Chem.* **2000**, 275 (30), 23082 – 23088.

- [308] MEIJER, J.; DEPIERRE, J. W.: Properties of cytosolic epoxide hydrolase purified from the liver of untreated and clofibrate-treated mice. *Eur. J. Biochem.* **1985**, 150 (1), 7 – 16.
- [309] DRAPER, A. J.; HAMMOCK, B. D.: Soluble epoxide hydrolase in rat inflammatory cells is indistinguishable from soluble epoxide hydrolase in rat liver. *Toxicol. Sci.* **1999**, 50 (1), 30 – 35.
- [310] COHEN, E.; GERSON, U.; MOZES-KOCH, R.: Epoxide hydrolase in the bulb mite *Rhizoglyphus robini*: properties and induction. *Exp. Appl. Acarol.* **1993**, 17 (5), 381 – 392.
- [311] GUENTHNER, T. M.: Characterization of multiple epoxide hydrolase activities in mouse liver nuclear envelope. *Biochem. Pharmacol.* **1986**, 35 (19), 3261 – 3266.
- [312] ZHENG, J.; PLOPPER, C. G.; LAKRITZ, J.; STORMS, D. H.; HAMMOCK, B. D.: Leukotoxin-diol. *Am. J. Respir. Cell Moll. Biol.* **2001**, 25 (4), 434 – 438.
- [313] MARSHALL, A. D.; CALDWELL, J.: Influence of modulators of epoxide metabolism on the cytotoxicity of *trans*-anethole in freshly isolated rat hepatocytes. *Food Chem. Toxicol.* **1992**, 30 (6), 467 – 473.
- [314] YU, S.-M.; CHENG, Z.-J.; KUO, S.-C.: Endothelium-dependent relaxation of rat aorta by butein, a novel cyclic AMP-specific phosphodiesterase inhibitor. *Eur. J. Pharmacol.* **1995**, 280 (1), 69 – 77.
- [315] KUPPUSAMY, U. R.; DAS, N. P.: Effects of flavonoids on cyclic AMP phosphodiesterase and lipid mobilization in rat adipocytes. *Biochem. Pharmacol.* **1992**, 44 (7), 1307 – 1315.
- [316] NIKAIDO, T.; OHMOTO, T.; NOMURA, T.; FUKAI, T.; SANKAWA, U.: Inhibition of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase by phenolic constituents of mulberry Tree. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, 32 (12), 4929 – 4934.
- [317] NI, L.; MENG, C. Q.; SIKORSKI, J. A.: Recent advances in therapeutic chalcones. *Expert Opin. Ther. Patents* **2004**, 14 (12), 1669 – 1691.
- [318] WAGNER, H.: Search for new plant constituents with potential antiphlogistic and antiallergic activity. *Planta Med.* **1989** (5), 235 – 241.
- [319] BAN, H. S.; SUZUKI, K.; LIM, S. S.; JUNG, S. H.; LEE, S.; JI, J.; LEE, H. S.; LEE, Y. S.; SHIN, K. H.; OHUCHI, K.: Inhibition of lipopolysaccharide-induced expression of inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor α by 2'-hydroxychalcone derivatives in RAW 246.7 Cells. *Biochem. Pharmacol.* **2004**, 67 (8), 1549 – 1557.
- [320] DESHPANDE, A. M.; ARGADE, N. P.; NATU, A. A.; ECKMAN, J.: Synthesis and screening of a combinatorial library of naphthalene substituted chalcones: inhibitors of leukotriene B₄. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7 (6), 1237 – 1240.
- [321] SOGAWA, S.; NIHRO, Y.; UEDA, H.; IZUMI, A.; MIKI, T.; MATSUMOTO, H.; SATOH, T.: 3,4-Dihydroxychalcones as potent 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitors. *J. Med. Chem.* **1993**, 36 (24), 3904 – 3909.
- [322] READ, M. A.: Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents. *Am. J. Pathol.* **1995**, 147 (2), 235 – 237.
- [323] TANAKA, S.; SAKATA, Y.; MORIMOTO, K.; TAMBE, Y.; WATANABE, Y.; HONDA, G.; TABATA, M.; OSHIMA, T.; MASUDA, T.; UMEZAWA, T.; SHIMADA, M.; NAGAKURA, N.; KAMISAKO, W.; KASHIWADA, Y.; IKESHIRO, Y.: Influence of natural and synthetic compounds on cell surface expression of cell adhesion molecules, ICAM-1 and VCAM-1. *Planta Med.* **2001**, 67 (2), 108 – 113.
- [324] MADAN, B.; BATRA, S.; GHOSH, B.: 2'-Hydroxychalcone inhibits nuclear factor- κ B and blocks tumor necrosis factor- α and lipopolysaccharide-induced adhesion of neutrophils to human umbilical vein endothelial cells. *Mol. Pharmacol.* **2000**, 58 (3), 526 – 534.
- [325] KOBAYASHI, S.; MIYAMOTO, T.; KIMURA, I.; KIMURA, M.: Inhibitory effect of isoliquitigenin, a compound in licorice root, on angiogenesis *in vivo* and tube formation *in vitro*. *Biol. Pharm. Bull.* **1995**, 18 (10), 1382 – 1386.
- [326] KIM, Y. P.; BAN, H. S.; LIM, S. S.; KIMURA, N.; JUNG, S. H.; JI, J.; LEE, S.; RYU, N.; KEUM, S. R.; SHIN, K. H.; OHUCHI, K.: Inhibition of prostaglandin E₂ production by 2'-hydroxychalcone derivatives and the mechanism of action. *J. Pharm. Pharmacol.* **2001**, 53 (9), 1295 – 1302.
- [327] NAKADATE, T.; AIZU, E.; YAMAMOTO, S.; KATO, R.: Effects of chalcone derivatives on lipoxygenase and cyclooxygenase activities of mouse epidermis. *Prostaglandins* **1985**, 30 (3), 357 – 368.
- [328] COSMAR, D. T.; FLYNN, D. L.: Novel diarylalkanoids having activity as lipoxygenase inhibitors, procedure for their preparation, and pharmaceutical compositions containing them. *Eur. Pat. Appl. EP 241043 A2*, 14. 10. 1987; *Chem. Abstr.* **1988**, 109, 149075.
- [329] SATO, T.; MATSUMOTO, H.; NIRO, Y.: Preparation of 3,4-dihydroxychalcone derivatives as antiphlogistics and inhibitors for cyclooxygenase and lipoxygenase. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 05246932 A2*, 24. 9. 1993; *Chem. Abstr.* **1994**, 120, 163698.
- [330] BELLIOTTI, T. R.; CONNOR, D. T.; KOSTLAN, C. R.; MILLER, J. R.: Preparation of 2-carbonyl substituted-5-hydroxy-1,3-pyrimidines as antiinflammatory agents. *US 5187175 A*, 16. 2. 1993; *Chem. Abstr.* **1993**, 119, 49407.
- [331] LIN, C.-N.; LEE, T.-H.; HSU, M.-F.; WANG, J.-P.; KO, F.-N.; TENG, C.-M.: 2',5'-Dihydroxychalcone as potent chemical mediator and cyclooxygenase inhibitor. *J. Pharm. Pharmacol.* **1997**, 49 (5), 530 – 536.

- [332] HSIEH, H.-K.; LEE, T.-H.; WANG, J.-O.; WANG, J.-J.; LIN, C.-N.: Synthesis and anti-inflammatory effect of chalcones and related compounds. *Pharm. Res.* **1998**, 15 (1), 39 – 46.
- [333] KO, H.-H.; TSAO, L.-T.; YU, K.-L.; LIU, C.-T.; WANG, J.-P.; LIN, C.-M.: Structure-activity relationship studies on chalcone derivatives: the potent inhibition of chemical mediators release. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, 11 (1), 105 – 111.
- [334] HERENCIA, F.; FERRÁNDIZ, M. L.; UBEDA, A.; DOMÍNGUEZ, J. N.; CHARRIS, J. E.; LOBO, G. M.; ALCARAZ, M. J.: Synthesis and anti-inflammatory activity of chalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8 (10), 1169 – 1174.
- [335] WON, J.-S.; LIU, C.-T.; TSAO, L.-T.; WENG, J.-R.; KO, H.-H.; WANG, J.-P.; LIN, C.-N.: Synthetic chalcones as potential anti-inflammatory and cancer chemopreventive agents. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, 40 (1), 103 – 112.
- [336] CHI, Y. S.; JONG, H. G.; SON, K. H.; CHANG, H. W.; KANG, S. S.; KIM, H. P.: Effect of naturally occurring prenylated flavonoids on enzymes metabolizing arachidonic acid: cyclooxygenases and lipoxygenases. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, 62 (9), 1185 – 1191.
- [337] WU, D.; YU, L.; NAIR, M. G.; DEWITT, D. L.; RAMSEWAK, R. S.: Cyclooxygenase enzyme inhibitory compounds with antioxidant activities from *Piper methysticum* (kava kava) roots. *Phytomedicine* **2002**, 9 (1), 41 – 47.
- [338] FRANCIS, J. A.; RUMBEIHA, W.; NAIR, M. G.: Constituents in easter lily flowers with medicinal activity. *Life Sci.* **2004**, 76 (6), 671 – 683.
- [339] HASHIMOTO, K.; YAMADA, A.; HAMANO, K.; MORI, S.: Chalcones (salts) and 5-lipoxygenase inhibitors containing the chalcones. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 06116206 A2*, 26. 4. 1994; *Chem. Abstr.* **1994**, 121, 141667.
- [340] TAKAHASHI, T.; TAKASUKA, N.; IIGO, M.; BABA, M.; NISHINO, H.; TSUDA, H.; OKUYAMA, T.: Isoliquiritigenin, a flavonoid from licorice, reduces prostaglandin E₂ and nitric oxide, causes apoptosis, and suppresses aberrant crypt foci development. *Cancer Sci.* **2004**, 95 (5), 448 – 453.
- [341] HUANG, Y.-C.; GUH, J.-H.; CHENG, Z.-J.; CHANG, Y.-L.; HWANG, T.-L.; LIN, C.-N.; TENG, C.-M.: Inhibitory effect of DCDC on lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthesis in RAW 254.7 cells. *Life Sci.* **2001**, 68 (21), 2435 – 2447.
- [342] HERENCIA, F.; FERRÁNDIZ, M. L.; UBEDA, A.; GUILLÉN, I.; DOMINGUEZ, J. N.; CHARRIS, J. E.; LOBO, G. M.; ALCARAZ, M. J.: 4-Dimethylamino-3',4'-dimethoxychalcone downregulates iNOS expression and exerts anti-inflammatory effects. *Free Radic. Biol. Med.* **2001**, 30 (1), 43 – 50.
- [343] PRASAIN, J. K.; TEZUKA, Y.; LIN, J. X.; TANAKA, K.; BASNET, P.; DONG, H.; NAMBA, T.; KADOTA, S.: Six novel diarylheptanoids bearing chalcone of flavanone moiety from the seeds of *Alpinia blepharocalyx*. *Tetrahedron* **1997**, 53 (23), 7833 – 7842.
- [344] PRASAIN, J. K.; TEZUKA, Y.; HASE, K.; BASNET, P.; DONG, H.; NAMBA, T.; KADOTA, S.: Inhibitory effect of diarylheptanoids on nitric oxide production in activated murine macrophages. *Biol. Pharm. Bull.* **1998**, 21 (4), 371 – 374.
- [345] HERENCIA, F.; FERRÁNDIZ, M. L.; UBEDA, A.; GUILLÉN, I.; DOMINGUEZ, J. N.; CHARRIS, J. E.; LOBO, G. M.; ALCARAZ, M. J.: Novel anti-inflammatory chalcone derivatives inhibit the induction of nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in mouse peritoneal macrophages. *FEBS Lett.* **1999**, 453 (1 – 2), 129 – 134.
- [346] ALCARAZ, M. J.; VICENTE, A. M.; ARAICO, A.; DOMINGUEZ, J. N.; TERCENIO, M. C.; FERRÁNDIZ, M. L.: Role of nuclear factor- κ B and heme oxygenase-1 in the mechanism of action of an anti-inflammatory chalcone derivative in RAW 264.7 cells. *Br. J. Pharmacol.* **2004**, 142 (7), 1191 – 1199.
- [347] ROJAS, J.; DOMÍNGUEZ, J. N.; CHARRIS, J. E.; LOBO, G.; PAYÁ, M.; FERRÁNDIZ, M. L.: Synthesis and inhibitory effect of dimethylamino-chalcone derivatives on the induction of nitric oxide synthase. *Eur. J. Med. Chem.* **2002**, 37 (8), 699 – 705.
- [348] CHENG, Z.-J.; LIN, C.-N.; HWANG, T.-L.; TENG, C.-M.: Brousochalcone A, a potent antioxidant and effective suppressor of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Biochem. Pharmacol.* **2001**, 61 (8), 939 – 946.
- [349] DAIKONYA, A.; KATSUKI, D.; KITANAKA, S.: Antiallergic agents from natural sources 9. Inhibition of nitric oxide production by novel chalcone derivatives from *Mallotus philippinensis* (Euphorbiaceae). *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, 52(11), 1326 – 1329.
- [350] BATT, D. G.; GOODMAN, R.; JONES, D. G.; KERR, J. S.; MANTEGNA, L. R.; MCALLISTER, C.; NEWTON, R. C.; NURNBERG, S.; WELCH P. K.; COVINGTON M. B.: 2'-Substituted chalcone derivatives as inhibitors of interleukin-1 biosynthesis. *J. Med. Chem.* **1993**, 36 (10), 1434 – 1442.
- [351] SUGYAMA, M.; KOYAMA, S.; MYAOKA, A.; SHIMIZU, M.: Preparation of chalcone and its derivatives as interleukin-1 formation inhibitors for therapeutic uses. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 04202126 A2*, 22. 7. 1992; *Chem. Abstr.* **1992**, 117, 145599.
- [352] TANAKA, M.; OKITA, M.; MIYAMOTO, M.; KANEKA, T.; KAWAHARA, T.; AKAMATSU, K.; CHIBA, K.; OBAIASHI, H.; SAKURAI, H.; ABE, S.; KOBAYASHI, S.; YAMANAKA, T.: Preparation of β -heterocyclyl- α,β -unsaturated ketone derivatives as inhibitors of interleukin 1 production. *PCT Int. Appl. WO 9636608 A2*, 21. 11. 1996; *Chem. Abstr.* **1997**, 126, 59875.

- [353] BALLESTEROS, J. F.; SANZ, M. J.; UBEDA, A.; MIRANDA, M. A.; IBORRA, S.; PAYÁ, M.; ALCARAZ, M. J.: Synthesis and pharmacological evaluation of 2'-hydroxychalcones and flavones as inhibitors of inflammatory mediators generation. *J. Med. Chem.* **1995**, 38 (14), 1794 – 2797.
- [354] ARAI, Y.; TODA, M.; MIYAMOTO, T.: Benzoic acid derivatives as pharmaceuticals. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 60142936 A2*, 29. 7. 1985; *Chem. Abstr.* **1986**, 104, 50678.
- [355] ZWAAGSTRA, M. E.; TIMMERMAN, J.; TAMURA, M.; TOHMA, T.; WADA, Y.; ONOGI, K.; ZHANG, M.-Q.: Synthesis and structure-activity relationships of carboxylated chalcones: a novel series of Cys-LT₁ (LTD₄) receptors antagonists. *J. Med. Chem.* **1997**, 40 (7), 1075 – 1089.
- [356] MENG, C. Q.; NI, L.; SIKORSKI, J. A.; HOONG, L. K.: Preparation of 1,3-bis-(substituted-phenyl)-2-propen-1-ones as VCAM-1 inhibitors for treatment of inflammatory disorders. *PCT Int. Appl. WO 2001098291 A2*, 27. 12. 2001; *Chem. Abstr.* **2002**, 136, 69730.
- [357] BARFOD, L.; KEMP, K.; HANSEN, M.; KHARAZMI, A.: Chalcones from chinese liquorice inhibit proliferation of T cells and production of cytokines. *Int. Immunopharmacol.* **2002**, 2 (4), 545 – 555.
- [358] HASEGAWA, H.; MIKAMI, T.; TACHIBANA, K.; YAMAZAKI, K.; KAWAMOTO, M.; SHIOIRI, M.; KUSANO, K.; SATO, S.; MATSUDA, H.; YOKOYAMA, T.: Preparation and formulation of pyridine derivatives as cytokine production inhibitors. *PTC Int. Appl. WO 9733870 A1*, 18. 9. 1997; *Chem. Abstr.* **1997**, 127, 262610.
- [359] WANG, J.-P.; CHANG, L.-C.; HSU, M.-F.; LIN, C.-N.: The blockade of formyl peptide-induced respiratory burst by 2',5'-dihydroxy-2-furfurylchalcone involves phospholipase D signaling in neutrophils. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2003**, 368 (3), 166 – 174.
- [360] MURAMATSU, M.; TANAKA, M.; SUWA, T.; FUJITA, T.; OTOMO, S.; AIHARA, H.: Effect of 2'-carboxymethoxy-4,4'-bis(3-methyl-2-butenyloxy)chalcone (SU-88) on prostaglandin metabolism in hog gastric mucosa. *Biochem. Pharmacol.* **1984**, 33 (16), 2629 – 2633.
- [361] MURAMATSU, M.; TANAKA, M.; MURAKAMI, S.; AIHARA, H.: Inhibition of 15-hydroxy prostaglandin dehydrogenase and increase of prostaglandin E₂: effect of sofalcone on rat gastric mucosa. *Life Sci.* **1987**, 41 (3), 315 – 322.
- [362] KOBAYASHI, K.; HIGUCHI, K.; ARAKAWA, T.; MATSUMOTO, T.; NAGURA, H.: Effect of sofalcone on localization of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase, an enzyme that metabolizes prostaglandin E₂, in rat gastric mucosa: an immunohistochemical study. *J. Clin. Gastroenterol.* **1992**, 14 (Suppl. 1), S39 – S42.
- [363] OTA, S.; TAKAHASHI, M.; YOSHIURA, K.; HATA, Y.; KWABE, T.; TERANO, A.; OMATA, M.: Antiulcer drug and gastric prostaglandin E₂: an *in vitro* study. *J. Clin. Gastroenterol.* **1993**, 17 (Suppl. 1), S15 – S21.
- [364] MURAMATSU, M.; TANAKA, M.; MURAKAMI, S.; AIHARA, H.: Effect of sofalcone on gastric mucosal prostaglandin metabolism in taurocholate induced gastritis in rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **1986**, 53 (5), 289 – 300.
- [365] CHO, H.; TAI, H.-H.: Inhibition of NAD⁺-dependent 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (15-HPGD) by cyclooxygenase inhibitors and chemopreventive agents. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* **2002**, 67 (6), 461 – 465.
- [366] SLOMIANY, B. L.; LISAU, Y. H.; CARTER, S. R.; SAROSIEK, J.; TSUKADA, H.; SLOMIANY, A.: Enzymatic sulfation of mucin in gastric mucosa: effect of sofalcone, sucralfate and aspirin. *Digestion* **1987**, 38 (3), 178 – 186.
- [367] MURAKAMI, S.; MURAMATSU, M.; AIHARA, H.: Enzymatic sulfation of gastric mucous glycoprotein in rat – changes in glycoprotein sulfotransferase activity with stress and anti-ulcer agent, sofalcone. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **1987**, 57 (1), 77 – 98.
- [368] KASINANTHAN, C.; RIZWAN, M.; SLOMIANY, A.; SLOMIANY, B. L.: Effect of sofalcone on tyrosylprotein sulfotransferase. *Gen. Pharmacol.* **1994**, 25 (5), 1017 – 1020.
- [369] SLOMIANY, B. L.; LIAU, Y. H.; MIZUTA, K.; SLOMIANY, A.: Fatty acid acylation of mucin by gastric mucosa: effects of sofalcone and sucralfate. *Biochem. Pharmacol.* **1987**, 36 (19), 3273 – 3276.
- [370] MURAKAMI, S.; MURAMATSU, M.; AIHARA, H.; OTOMO, S.: Inhibition of gastric H⁺,K⁺-ATPase by the antiulcer agent, sofalcone. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 42 (7), 1447 – 1451.
- [371] YAMAMOTO, K.; KAKEGAWA, H.; UEDA, H.; MATSUMOTO, H.; SUDO, T.; MIKI, T.; SATOH, T.: Gastric cytoprotective anti-ulcerogenic actions of hydroxychalcones in rats. *Planta Med.* **1992**, 58 (5), 389 – 393.
- [372] MURAKAMI, S.; KIJIMA, H.; ISOBE, Y.; MURAMATSU, M.; AIHARA, H.; OTOMO, S.; BABA, K.; KOZAWA, M.: Inhibition of gastric H⁺,K⁺-ATPase by chalcone derivatives, xanthoangelol and 4-hydroxyderricin, from *Angelica keiskei* Koidzumi. *J. Pharm. Pharmacol.* **1990**, 42 (7), 723 – 726.
- [373] KABIR, A. M.; SHIMIZU, K.; AIBA, Y.; TAKAGI, A.; KOGA, Y.: The effect of sofalcone on indomethacin-induced gastric ulcers in a *Helicobacter pylori* – infected gnotobiotic murine model. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2000**, 14 (Suppl. 1), 223 – 229.
- [374] YOSHIYAMA, H.; NAKAMURA, H.; OKAMOTO, T.; OKITA, K.; NAKAZAWA, T.: A novel *in vitro* effect of the mucosal protective agent sofalcone – inhibition of chemotactic motility in *Helicobacter pylori*. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2000**, 14 (Suppl. A), 230 – 236.

- [375] KODAMA, R.; FUJIOKA, T.; FUJIYAMA, K.; KAWASAKI, H.; KUBOTA, T.; NASU, M.: Combination therapy with clarithromycin and sofalcone for eradication of *Helicobacter pylori*. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **1994**, 6 (Suppl. 1), S125 – S128.
- [376] SUNAIRI, M.; WATANABE, K.; SUZUKI, T.; TANAKA, N.; KUWAYAMA, H.; NAKAJIMA, M.: Effects of anti-ulcer agents on antibiotic activity against *Helicobacter pylori*. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **1994**, 6 (Suppl. 1), S121 – S124.
- [377] YOSHIKAWA, T.; NAKAMURA, S.; TAKAHASHI, S.; NAITO, Y.; KONDO, M.: Effect of sofalcone on gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion and its antioxidant properties. *J. Clin. Gastroenterol.* **1993**, 17 (Suppl. 1), S111 – S115.
- [378] NAKAMURA, M.; KISHIKAWA, H.; ISHII, H.; KIMAGAI, N.; TSUCHIMOTO, K.: Autonomic nervous regeneration in acetic acid-induced ulcer from the viewpoint of synapse formation – effect of basic fibroblast growth factor and sofalcone in the rat. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2000**, 14 (Suppl. 1), 50 – 57.
- [379] TAKAHASHI, M.; HATA, Y.; TERANO, A.: Effect of sofalcone on the expression of hepatocyte growth factor (HGF) and a brief review of HGF in the stomach. *J. Clin. Gastroenterol.* **1997**, 25 (Suppl. 1), S21–S27.
- [380] TAKAHASHI, M.; MAEDA, S.; OGURA, K.; TERANO, A.; OMATA, M.: The possible role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in gastric ulcer healing: effect of sofalcone on VEGF release *in vitro*. *J. Clin. Gastroenterol.* **1998**, 27 (Suppl. 1), S178 – S182.
- [381] YOKOMORI, S.; SAIJO, K.; MATSUNAGA, T.; NAKASHIMA, Y.; HATAYAMA, K.: Preparation of chalcone derivatives as antiulcer agents. *Eur. Pat. Appl. EP 412803 A1*, 13. 2. 1991; *Chem. Abstr.* **1991**, 115, 8321.
- [382] RODRÍGUEZ, A. M.; ENRIZ, R. D.; SANTAGATA, L. N.; JÁUREGUI, E. A.; PESTCHANKER, M. J.; GIORDANO, O. S.: Structure-cytoprotective activity relationship of simple molecules containing an α,β -unsaturated carbonyl system. *J. Med. Chem.* **1997**, 40 (12), 1827 – 1834.
- [383] OGANESYAN, E. T.; SARAF, A. S.; SIMONYAN, A. V.; SHIRYAEV, I. N.: Examining the structure-activity relationship in the series of flavonoids. 9. Allergic activity of chalcones. *Khim.-Farm. Zh.* 1991, 25 (8), 18 – 22; *Chem. Abstr.* **1991**, 115, 247497.
- [384] OGANESYAN, E. T.; POGREBNYAK, A. V.; SHIRYAEV, I. N.; SARAF, A. S.; IVASHEV, M. N.: Electronic structure-activity relationships for propenone derivatives. II. 2-Cinnamoylbenzimidazoles and 2-(β -benzoylvinyl)-1-methylbenzimidazoles. *Khim.-Farm. Zh.* 1995, 29 (10), 28 – 30; *Chem. Abstr.* **1996**, 124, 164290.
- [385] FORMANEK, K.; HÖLLER, H.; JANISCH, H.; KOWAC, W.: Beitrag zur Struktur-Wirkungs-Beziehung auf dem Gebiete der Flavonoide. *Pharm. Acta Helv.* **1958**, 33, 437 – 446.
- [386] GRASSHOFF, H.: Über die Wasserstoffbrücke bei 2'-Hydroxychalkonen. *Arch. Pharm. Ber. Dtsch. Pharm. Ges.* **1966**, 299, 972 – 975.
- [387] SCHMIDT, L.; SEEGER, E.: Die Pharmakologische Wirkung synthetischer Laxantien in Beziehung zu ihrer chemischen Konstitution. *Arzneimittelforsch.* **1965**, 6, 22 – 26.
- [388] GORDALIZA, M.; DEL CORRAL, J. M. M.; CASTRO, M. A.; GORRITTI, C.; SAN FELICIANO, A.: Composition and biological activities of the genus *Psoralea*. *Curr. Topics Phytochem.* **1999**, 2, 151 – 161.
- [389] WOO, S. W.; LEE, S. H.; KANG, H.-C.; PARK, E.-J.; ZHAO, Y.-Z.; KIM, Y.-C.; SOHN, D. H.: Butein suppresses myofibroblastic differentiation of rat hepatic stellate cells in primary culture. *J. Pharm. Pharmacol.* **2003**, 55 (3), 347 – 352.
- [390] HERTZ, R.; TULLNER, W. L.: Endocrine effects of 4,4'-diaminochalcone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1964, 115, 143 – 144; *Chem. Abstr.* **1964**, 60, 85663.
- [391] ĎURINDA, J.; KOLENA, J.; SZÜCZ, L.; KRASNEC, L.; HEGER, J.: Štúdium v oblasti inhibítorov kory nadobličiek amfenónového typu. I. Azachalkóny. *Českoslov. Farm.* **1967**, XVI (1), 14 – 18.
- [392] ĎURINDA, J.; SZÜCZ, L.; STRUHÁROVÁ, L.; KOLENA, J.; HEGER, J.: Štúdium v oblasti inhibítorov kory nadobličiek amfenónového typu. II. Deriváty a analógy azachalkónov. *Českoslov. Farm.* **1972**, XXI (6), 276 – 282.
- [393] ĎURINDA, J.; KOLENA, J.; BRÁDLEROVÁ, S.; HEGER, J.: Štúdium v oblasti inhibítorov kory nadobličiek amfenónového typu. IV. Azachalkón-N-oxidy. *Českoslov. Farm.* **1983**, XXXII (3–4), 110–115.
- [394] ČEPIČKA, J.; KARABÍN, M.: Polyfenolové látky piva - prirodzené antioxidanty. *Chem. Listy* **2002**, 96 (2), 90 – 95.
- [395] MUSELÍK, J.; FOREJTŇÍKOVÁ, H.; SVOBODOVÁ, B.; LUNEROVÁ, K.; KUBÍNOVÁ, R.; ŽEMLIČKA, M.: Antioxidační a EROD aktivita chalkonů a dihydrochalkonů. XXXIII. konference Syntéza a analýza léčiv - VII. Zjazd Slovenskej farmaceutickej spoločnosti, Nitra, Slovenská republika, 9. – 11. 9. **2004**; in: *Farm. Obzor* 2004, LXXIII (9 – 10), 249.
- [396] CUENDET, M.; POTTERAT, O.; SALVI, A.; TESTA, B.; HOSTETTMANN, K.: A stilbene and dihydrochalcones with radical scavenging activities from *Loiseleuria procumbens*. *Phytochemistry* **2000**, 54 (8), 871 – 874.
- [397] REZK, B. M.; HAENEN, G. R.; VAN DER VIJGH, W. J.; BAST, A.: The antioxidant activity of phloretin: the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2002**, 295 (1), 9 – 13.

- [398] KO, H. H.; HSIEH, H. K.; LIU, C. T.; TENG, C. M.; LIN, C. N.: Structure-activity relationship studies on chalcone derivatives: potent inhibition of platelet aggregation. *J. Pharm. Pharmacol.* **2004**, 56 (10), 1333 – 1337.
- [399] ZHAO, L.-M.; JIN, H.-S.; SUN, L.-P.; PIAO, H.-R.; QUAN, Z.-S.: Synthesis and evaluation of antiplatelet activity of trihydroxychalcone derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, 15 (22), 5027 – 5029.
- [400] CAIN, G. A.; BOSTROM, L. L.; DI MEO, S. V.; MOUSA, S. A.; EYERMANN, C. J.; OLSON, R. E.: Novel chalcones as nonpeptide GPIIb IIIa receptor antagonists. *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* **1996**, 211: 133-Medi Part 2. AN 1996: 220379.
- [401] LIN, C.-N.; HSIEH, H.-K.; KO, H.-H.; HSU, M.-F.; LIN, H.-C.; CHANG, Y.-L.; CHUNG, M.-I.; KANG, J.-J.; WANG, J.-P.; TENG, C.-M.: Chalcones as potent antiplatelet agents and calcium channel blockers. *Drug Dev. Res.* **2001**, 53 (1), 9 – 14.
- [402] CHOO, H.-Y. P.; PEAK, K.-H.; PARK, J.; KIM, D. H.; CHUNG, H. S.: Design and synthesis of α,β -unsaturated carbonyl compounds as potential ACE inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35 (6), 643 – 648.
- [403] KANG, D. G.; KIM, Y. C.; SOHN, E. J.; LEE, Y. M.; LEE, A. S.; YIN, M. H.; LEE, H. S.: Hypotensive effect of butein via the inhibition of angiotensin converting enzyme. *Biol. Pharm. Bull.* **2003**, 26 (9), 1345 – 1347.
- [404] LEE, S. H.; NAN, J. X.; ZHAO, Y. Z.; WOO, S. W.; PARK, E. J.; KANG, T. H.; SEO, G. S.; KIM, Y. C.; SOHN, D. H.: The chalcone butein from *Rhus verniciflua* shows antifibrinogenic activity. *Planta Med.* **2003**, 69 (11), 990 – 994.
- [405] TABATA, N.; ITO, M.; TOMODA, H.; OMURA, S.: Xanthohumol, diacylglycerol acyltransferase inhibitor, from *Humulus lupulus*. *Phytochemistry* **1997**, 46 (4), 683 – 687.
- [406] CASASCHI, A.; MAIYOH, G. K.; RUBIO, B. K.; LI, R. W.; ADELI, K.; THERIAULT, A. G.: The chalcone xanthohumol inhibits triglyceride and apolipoprotein B secretion in HepG2 cells. *J. Nutr.* **2004**, 134 (6), 1340 – 1346.
- [407] CHUNG, M. Y.; RHO, M.-C.; KO, J. S.; RYU, S. Y.; JEUNE, K. H.; KIM, K.; LEE, H. S.; KIM, Y. K.: *In vitro* inhibition of diacylglycerol acyltransferase by prenylflavonoids from *Sophora flavescens*. *Planta Med.* **2004**, 70 (3), 258 – 260.
- [408] AUF'MKOLK, M.; KOEHERLE, J.; HESCH, R.-D.; INGBAR, S. H.; CODY, V.: Crystal structure of phlorizin and the iodothyronine deiodinase inhibitory activity of phloretin analogues. *Biochem. Pharmacol.* **1986**, 35 (13), 2221 – 2227.
- [409] CODY, V.: Crystal structure of phlorizin and its interactions in the deiodinase active-site model. *Progr. Clin. Biol. Res.* 1986, 213 (Plant Flavonoids Biol. Med.), 383 – 386; *Chem. Abstr.* **1986**, 105, 93420.
- [410] JARVILL-TAYLOR, K. J.; ANDERSON, R. A.; GRAVES, D. J.: A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *J. Am. Coll. Nutr.* **2001**, 20 (4), 327 – 336.
- [411] SATYANARAYANA, M.; TIWARI, P.; TRIPATHI, B. K.; SRIVASTVA, A. K.; PRATAP, R.: Synthesis and antihyperglycemic activity of chalcone based aryloxypropanolamines. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, 12 (5), 883 – 889.
- [412] HARTMAN, W. J.; AKAWIE, R. I.; CLARK, W. G.: Competitive inhibition of 3,4-dihydroxyphenylalanine (dopa) decarboxylase *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **1955**, 216 (2), 507 – 529.
- [413] DEUTSCH, D. H.; GARCIA, E. N.: Heterocyclic chalcones. *US 2754299*, 10. 7. 1956; *Chem. Abstr.* **1957**, 51, 21943.
- [414] LESIEUR-DEMARQUILLY, I.; MIZON, J.; OSTEUX, R.: Recherche de l'activité inhibitrice de plusieurs chalcones salicyliques vis-a-cis de la L-aminoacide aromatique décarboxylase. *Ann. Pharm. Franc.* **1973**, 31 (11), 705 – 708.
- [415] LESIEUR-DEMARQUILLY, I.; LESIEUR, D.: Study of the inhibitory activity of resorcylic chalcones on L-dopa decarboxylase. *Fr. Bull. Soc. Pharm. Lille* 1978, 34 (1), 9 – 15; *Chem. Abstr.* **1978**, 89, 208922.
- [416] YUWILER, A.; GELLER, E.; EIDUSON, S.: Studies on 5-hydroxytryptophan decarboxylase. II. Additional inhibition studies and suggestion on the nature of the enzymatic site. *Arch. Biochem. Biophys.* **1960**, 89 (1), 143 – 147.
- [417] LEE, H. S.; KO, H. R.; RYU, S. Y.; OH, W. K.; KIM, B. Y.; AHN, S. C.; MHEEN, T. I.; AHN, J. S.: Inhibition of phospholipase $C_{\gamma 1}$ by the prenylated flavonoids from *Sophora flavescens*. *Planta Med.* **1997**, 63 (3), 266 – 268.
- [418] ANSARI, F. L.; UMBREEN, S.; HUSSAIN, L.; MAKHMOOR, T.; NAWAZ, S. A.; LODHI, M. A.; KHAN, S. N.; SHAHEEN, F.; CHOUDHARY, M. I.; ATTA-UR-RAHMAN: Synthesis and biological activities of chalcone and 1,5-benzothiazepine derivatives: promising new free-radical scavengers, and esterase, urease, and α -glucosidase inhibitors. *Chem. Biodivers.* **2005**, 2 (4), 487 – 496.
- [419] RODNEY, G.; SWANSON, A. L.; WHEELER, L. M.; SMITH, G. N.; WORREL, C. S.: The effect of a series of flavonoids on hyaluronidase and some other related enzymes. *J. Biol. Chem.* **1950**, 183 (2), 739 – 747.
- [420] BEILER, J. M.; MARTIN, G. J.: Inhibitory action of vitamin P compounds on hyaluronidase. *J. Biol. Chem.* **1947**, 171 (2), 507 – 511.
- [421] PRESTON, R. K.; AVAKIAN, S.; BEILER, J. M.; MOSS, J. N.; MARTIN, G. J.: *In vivo* and *in vitro* inhibition of hyaluronidase by organic phosphates. *Exp. Med. Surg.* **1953**, 11, 1 – 8.

- [422] HOSAKA, K.; CHIN, M.; MIHASHI, H.: Preparation of chalcone derivatives as hyaluronidase inhibitors. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 62185037 A2*, 13. 8. 1987; *Chem. Abstr.* **1988**, 108, 74984.
- [423] KUPPUSAMY, U. R.; KHOO, H. E.; DAS, N. P.: Structure-activity of flavonoids as inhibitors of hyaluronidase. *Biochem. Pharmacol.* **1990**, 40 (2), 397 – 401.
- [424] KUPPUSAMY, U. R.; DAS, N. P.: Inhibitory effects of flavonoids on several venom hyaluronidases. *Experientia* **1991**, 47 (11 – 12), 1196 – 1200.
- [425] KAMODA, M.; CHIBA, T.; MORI, K.; ITO, N.: Inhibition of enzymes by antibiotics. II. Inhibition of cholinesterase by unsaturated ketones. *Bochu Kagaku* 1953, 18, 117 – 122; *Chem. Abstr.* **1954**, 48, 4003.
- [426] BRÜHLMANN, C.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K.; CARRUPT, P.-A.; TESTA, B.: Screening of non-alkaloidal natural compounds as acetylcholinesterase inhibitors. *Chem. Biodivers.* **2004**, 1 (6), 819 – 829.
- [427] HASAN, A.; KHAN, K. M.; SHER, M.; NAHARVI, G. M.; NAWAZ, S. A.; CHOUDHARY, M. I.; ATTA-UR-RAHMAN, SUPURAN, C. T.: Synthesis and inhibitory potential towards acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and lipoxygenase of some variably substituted chalcones. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2005**, 20 (1), 41 – 47.
- [428] THIYAGARAJAH, P.; KUTTAN, S. C.; LIM, S. C.; TEO, T. S.; DAS, N. P.: Effect of myricetin and other flavonoids on the liver plasma membrane Ca²⁺ pump – kinetics and structure-function relationships. *Biochem. Pharmacol.* **1991**, 41 (5), 669 – 675.
- [429] JINSART, W.; TERNAI, B.; POLYA, G. M.: Inhibition of wheat embryo calcium-dependent protein-kinase and avian myosin light chain kinase by flavonoids and related compounds. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **1991**, 372 (9), 819 – 827.
- [430] WANG, J.-P.; TSAO, L.-T.; RAUNG, S.-L.; LIN, C.-N.: Investigation of the inhibitory effect of brousochalcone A on respiratory burst in neutrophils. *Eur. J. Pharmacol.* **1997**, 320 (2 – 3), 201 – 208.
- [431] NAGAI, T.; MIYAICHI, Y.; TOMIMORI, T.; YAMADA, H.: Inhibition of mouse liver sialidase by plant flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, 163 (1), 25 – 31.
- [432] NERYA, O.; VAYA, J.; MUSA, R.; IZRAEL, S.; BEN-ARIE, R.; TAMIR, S.: Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, 51 (2), 1201 – 1207.
- [433] NERYA, O.; MUSA, R.; KHATIB, S.; TAMIR, S.; VAYA, J.: Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and number. *Phytochemistry* **2004**, 65 (10), 1389 – 1395.
- [434] KHATIB, S.; NERYA, O.; MUSA, R.; SHMUEL, M.; TAMIR, S.; VAYA, J.: Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the importance of a 2,4-substituted resorcinol moiety. *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13 (2), 433 – 441.
- [435] LI, Y.; STARRETT, J. E.; MEANWELL, N. A.; JOHNSON, G.; HARTE, W. E.; DWORETZKY, S. I.; BOISSARD, C. G.; GRIBKOFF, V.: The discovery of novel openers of Ca²⁺-dependent large-conductance potassium channels: pharmacophore search and physiological evaluation of flavonoids. *Bioorg. Med. Chem.* **1997**, 7 (7), 759 – 762.
- [436] BAELL, J. B.; GABEL, R. W.; HARVEY, A. J.; TOOVEY, N.; HERZOG, T.; HÄNSEL, W.; WULFF, H.: Khellinone derivatives as blockers of the voltage-gated potassium channel Kv1.3: synthesis and immunosuppressive activity. *J. Med. Chem.* **2004**, 47 (9), 2326 – 2336.
- [437] EDWARDS, M. L.; STEMERICK, D. M.; SABOL, J. S.; DIEKEMA, K. A.; DINERSTEIN, R. J.: Inhibition of myeloperoxidase release from rat polymorphonuclear leukocytes by a series of azachalcone derivatives. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, (25), 4357 – 4362.
- [438] PATONAY, T.; TÓTH, G.; ADAM, W.: A convenient and general synthesis of *trans*-3-hydroxyflavanones from chalcones by dimethyldioxirane epoxidation and subsequent base-catalyzed cyclization. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34 (32), 5055 – 5058.
- [439] DEAN, F. M.; PODIMUANG, V.: The course of the Algar-Flynn-Oyamada (A.F.O.) reaction. *J. Chem. Soc.* **1965**, 3978 – 3987.
- [440] WELCOMME, N.; LESIEUR, D.; LESPAGNOL, C.; RABARON, A.; NAVARRO, J.: Chalcones et flavanones dérivées de l'acide-β-résorcylique. Déméthylation de dérivés de l'acide diméthoxy-2,4-benzoïque. *Ann. Pharm.Ff.* **1978**, 36 (3 – 4), 135 – 141.
- [441] TAKAHASHI, H.; KUBOTA, Y.; MIYAZAKI, H.; ONDA, M.: Heterocycles. XV. Enantioselective synthesis of chiral flavanonols and flavan-3,4-diols. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, 32 (12), 4852 – 4857.
- [442] BOYER, B.; HAMBARDZOUMIAN, A.; ROQUE, J. P.; BEYLERIAN, N.: Reaction of biphasic water/organic solvent system in the presence of surfactant: Inverse phase transfer catalysis *versus* interfacial catalysis. *Tetrahedron* **2000**, 56 (2), 303 – 307.
- [443] BURKE, A. J.; O'SULLIVAN, W. I.: Flavonoid epoxides. Part 20. Some unusual reactions of dimethyldioxirane (DMD) with flavonoid compounds. *Tetrahedron* **1997**, 53 (25), 8491 – 8500.
- [444] TAKAHASHI, H.; KUBOTA, Y.; MIYAZAKI, H.; ONDA, M.: Heterocycles. XIV. Efficient stereocontrolled synthesis of racemic flavonoids. *Heterocycles* **1984**, 22 (5), 1147 – 1153.
- [445] RAMAKRISHNAN, V. T.; KAGAN, J.: The photochemical conversion of phenyl epoxy-cinnamate to flavonoids and the synthesis of 2'-hydroxyepoxychalcone. *J. Org. Chem.* **1970**, 35 (9), 2898 – 2900.

- [446] DONNELLY, J. A.; FOX, M. J.; SHARMA, T. C.: α -Halogenoketones-XI. Generalisation of the Wheeler aurone synthesis. *Tetrahedron* **1979**, 35 (7), 875 – 879.
- [447] LARSEN, R. D.; CORLEY, E. G.; KIND, A. O.; CARROLL, J. D.; DAVIS, P.; VERHOEVEN, T. R.; REIDER, P. J.: Practical route to a new class of LTD₄ receptor antagonists. *J. Org. Chem.* **1996**, 61 (10), 3398 – 3405.
- [448] BEZUIDENHOUDT, B. C. B.; SWANEPOEL, A.; BRANDT, A. V.; FERREIRA, D.: Structure and synthesis of the first flavonoid- and stilbene-related but-2-enolides. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1*, **1990** (9), 2599 – 2602.
- [449] DOSHI, R.; KAGTHARA, P.; PAREKH, H.: Synthesis and biological evaluation of some novel isoxazoles and cyanopyridines, a new class of potential anti-tubercular Agents. *Indian. J. Chem. Sect B – Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1999**, 38 (3), 348 – 352.
- [450] KIDWAI, M.; MISRA P.: Ring closure reaction of chalcones using microwave technology. *Synth. Commun.* **1999**, 29 (18), 3237 – 3250.
- [451] NAIK, V. R.; NAIK, H. B.: Synthesis and antibacterial activity of 2'-hydroxy-3'-bromo-5'-ethyl chalcones and 3-(2'-hydroxy-3'-bromo-5'-ethyl phen-1'-yl)-5-substituted phenyl-2-isoxazoles. *Asian J. Chem.* **2000**, 12 (1), 305 – 307.
- [452] DIGHADE, S. R.; PATIL, S. D.; CHINCHOLKAT, M. M.; DIGHADE, N. R.: Antibacterial and antifungal activity of 3-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5,5-dialkyl/5,5-diaryl/5-aryl/4-aryl-5-aryl isoxazolines. *Asian J. Chem.* **2003**, 15 (1), 450 – 454.
- [453] IMRAN, M.; KHAN, S. A.: Synthesis of 3,5-disubstituted isoxazolines as potential antibacterial and antifungal agents. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **2004**, 13 (3), 213 – 216.
- [454] EL-KERDAWY, M. M.; SAMOUR, A. A.; EL-AGAMEY, A. A.: Thienyl acrylamides and thienyl pyrazolines as potential schistosomicidal agents. *Pharmazie* **1975**, 30 (2), 76 – 77.
- [455] KENNY, P. W.; ROBINSON, M. J. T.: A carbon-13 and nitrogen-15 isotopic labelling study of intermediates and by-products in the reaction of chalcone and phenylhydrazine to give 1,3,5-triphenyl-2-pyrazoline. *Tetrahedron Lett.* **1986**, 27 (51), 6277 – 6280.
- [456] SHINDE, S.; JADHAV, W.; RAJENDRA, P. B.; BHUSARE, S.: Synthesis and antibacterial activity of some 3,5-diphenyl- and 1,3,5-triphenyl-2-pyrazolines. *J. Chin. Chem. Soc.* **2004**, 51 (4), 775 – 778.
- [457] MISTRY, R. N.; DESAI, K. R.: Microwave studies of some new heterocyclic chalcone and pyrimidine-2-thione derivatives and their antibacterial activity. *Asian J. Chem.* **2004**, 16 (1), 201 – 206.
- [458] TURAN-ZITOUNI, G.; CHEVALLET, P.; KILIC, F. S.; EROL, K.: Synthesis of some thiazolyl-pyrazoline derivatives and preliminary investigation of their hypotensive activity. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35 (6), 635 – 641.
- [459] KHATOON, F.; PACHAURY, R.; ANSARI, W. S.: Synthesis of bifunctional derivatives of chalcones: tetrahydro-1,3-thiazin-4-one and thioether. Part I. *J. Indian Chem. Soc.* **1997**, 74 (5), 417 – 418.
- [460] MUKHTAR, S.; RAHMAN, M. V. P.; ANSARI, W. H.; LEMIERE, G.; DE GROOT, A.; DOMMISSE, R.: Bifunctional derivative of *p,p'*-dichlorochalcone. Part II. Synthesis of a novel compound 2-[2-carboxymethylthio-2-(4-chlorophenyl)ethyl]-2-(4-chlorophenyl)-4-thiazolidinone. *Molecules* **1999**, 4 (7), 232 – 237.
- [461] ROMAN, G.: Cyclohexenones through addition of ethyl acetoacetate to chalcones derived from 2-acetylthiophene. *Acta Chim. Slov.* **2004**, 51 (3), 537 – 544.
- [462] KRAUZE, A.; DUBURS, G.: A novel way to obtain 3-cyano-1,4-dihydropyridine-2(3*H*)thiones. *Khim. Geterotsikl. Soedin.* 1988 (8), 1142 – 1143; *Chem. Abstr.* **1989**, 110, 173053.
- [463] ATTIA, A.; MICHAEL, M.: Azachalcones. *Pharmazie* **1982**, 37 (8), 551 – 553.
- [464] BHARUCHA, P. B.; NAIK, H. B.: Synthesis and antibacterial activity of some chalcones and 1,4-oxazipines derivatives. *Asian J. Chem.* **2000**, 12 (1), 318 – 320.
- [465] KOTHARI, S.; SINGHAL, M.; VIJAYVERGIA, D.; VYAS, R.; VERMA, B. L.: Synthesis and biocidal activity of some new 2-amino-4,6-diarylsubstituted pyrimidines. *J. Indian Chem. Soc.* **2000**, 77 (7), 329 – 331.
- [466] SOLANKEE, A.; PATEL, J.: Synthesis of chalcones, pyrazolines, amino pyrimidines and pyrimidinethiones as antibacterial agents. *Indian J. Chem. Sect. B – Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **2004**, 43 (7), 1580 – 1584.
- [467] MONTEIRO, N.; BALME, G.: Palladium-catalyzed reaction of propargyl nucleophiles with α,β -unsaturated ketones: a single-step synthesis of furo[3,4-*c*] heterocyclic derivatives. *J. Org. Chem.* **2000**, 65 (10), 3223 – 3226.
- [468] RAGAINI, F.; SPORTIELLO, P.; CENINI, S.: Investigation of the possible role of arylamine formation in the *ortho*-substituted nitroarenes reductive cyclisation reactions to afford heterocycles. *J. Organomet. Chem.* **1999**, 577 (2), 283 – 291.
- [469] CHEBANOV, V. A.; SARAIEV, V. E.; GURA, E. A.; DESENKO, S. M.; MUSATOV, V. I.: Some aspects of reaction of 6-aminouracil and 6-amino-2-thiouracil with α,β -unsaturated ketones. *Coll. Czech. Chem. Commun.* **2005**, 70 (3), 350 – 360.
- [470] WANG, S.; SUN, J.; YU, G.; HU, X.; LIU, J. O.; HU, Y.: CuI catalyzed *N*-arylation of amide as a key step for the preparation of 3-aryl β -carbolin-1-ones. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2 (11), 1573 – 1574.
- [471] BLACK, B. S.; KUMAR, N.; MITCHELL, P. S. R.: Synthesis of pyrroloquinolines as indole analogues of flavonols. *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (8), 2464 – 2473.

- [472] XICLUNA, M. A.; GUINCHARD, C.; ROBERT, J.-F.; PANOUSE, J. J.: Action du thioglycolate d'éthyle sur les cétones insaturées. Étude de la réaction sur la benzylidenacétophénone et les nitrochalcones. *C. R. Acad. Sci. Paris* **1975**, 280C, 287 – 290.
- [473] ROBERT, J.-F.; DANKAR, A.; GUINCHARD, C.; LANDE B.: Stereochemical studies of Michael adducts obtained by reaction of ethyl mercaptoacetate with substituted propenones and of their cyclisation into ethyl 3-hydroxytetrahydrothiophene-2-carboxylates. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1992**, 129 (5), 478 – 485.
- [474] XICLUNA, M. A.; OMBETTA, J.-E.; NAVARRO, J.; ROBERT, J.-F.; PANOUSE, J. J.: Dihydrothiencoumarines douées d'activités analgésiques non antiinflammatoires. *Eur. J. Med. Chem. – Chim. Ther.* **1979**, 14 (6), 523 – 528.
- [475] MATOBA, K.; ITOH, K.; KONDO, K.; YAMAZAKI, T.; NAGATA, M.: Acid-catalyzed cyclisation of chalcones derived from various nitrogenous heteroaromatic compounds. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, 29 (9), 2442 – 2450.
- [476] BAROT, V. M.; PATEL M. R.; NAIK, H. B.: Synthesis of 2,4-diaryl-2,3-dihydro-1,5-benzothiazepines as antibacterial and antifungal agents. *Asian J. Chem.* **2001**, 13 (1), 347 – 349.
- [477] LÉVAI, A.; BOGNÁR, R.: Oxazepines and thiazepines II. Synthesis of 2,3-dihydro-2,4-diphenyl-1,5-benzothiazepines by the reaction of 2-aminothiophenol with chalcones substituted in ring B. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1976**, 88 (3), 293 – 300.
- [478] LÉVAI, A.; BOGNÁR, R.: Oxazepines and thiazepines III. Synthesis of 2,3-dihydro-2,4-diphenyl-1,5-benzothiazepines by the reaction of 2-aminothiophenol with chalcones substituted in ring A. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1977**, 94 (4), 415 – 419.
- [479] BOUMENDJEL, A.: Aurones: a subclass of flavones with promising biological potential. *Curr. Med. Chem.* **2003**, 10 (23), 2621 – 2630.
- [480] MOHAN, P.; JOSHI, T.: Two anthochlor pigments from heartwood of *Pterocarpus marsupium*. *Phytochemistry* **1989**, 28 (9), 2529 – 2530.
- [481] FARKAS, L.; PALLOS, L.; HIDASI, G.: Synthese des Cernuosids und Aureusids. *Chem. Ber.* **1961**, 94, 2221 – 2224.
- [482] NAKAYAMA, T.; YONEKURA-SUKAKIBARA, K.; SATO, T.; KUKUCHI, S.; FUKUI, Y.; FUKUCHI-MIZUTANI, M.; UEDA, T.; NAKAO, M.; TANAKA, Y.; KUSUMI, T.; NISHINO, T.: Aureusidin synthase: a polyphenol oxidase homolog responsible for flower coloration. *Science* **2000**, 290 (5494), 1163 – 1166.
- [483] QUADRI-SPINELLI, T.; HEILMANN, J.; RALI, T.; STICHER, O.: Bioactive coumarin derivatives from the fern *Cyclosorus interruptus*. *Planta Med.* **2000**, 66 (8), 728 – 733.
- [484] JONG, T.-T.; LEU, S.-J.: Intramolecular cyclisation catalysed by silver (I) ion; a convenient synthesis of aurones. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1*, **1990** (2), 423 – 424.
- [485] DYKER, G.; BAUER, M.: Synthesis of 2,3,6,8-tetrahydroxybenzofuro[3,2-b][1]benzopyrylium chloride (riccionidin A). *J. Prakt. Chem. – Chem. Z.* **1998**, 340 (3), 271 – 273.
- [486] BIRCH, A. J.; RITCHIE, E.; SPEAKE R. N.: The structure of alphonin. *J. Chem. Soc.* **1960**, 3593 – 3599.
- [487] BRAUNE, A.; GÜTSCHOW, M.; ENGST, W.; BLAUT, M.: Degradation of quercetin and luteolin by *Eubacterium ramulus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **2001**, 67 (12), 5558 – 5567.
- [488] HAMBLEY, T. W.; RIDEOUT, J. A.; TAYLOR, W. C.: The chemical constituents of australian *Flindersia* species. 24. 1,3-Diphenylpropanes from the wood of *F. brassii*. *Aust. J. Chem.* **1990**, 43 (8), 1327 – 1334.
- [489] JANES, N. F.; KING, F. E.; MORGAN, J. W. W.: The chemistry of extractives from hardwoods. Part XXXV. The constitution of maesopsin (2-benzyl-2,4,6,4'-tetrahydroxycoumaranone) and of its alkali fusion products. *J. Chem. Soc.* **1963**, 1356 – 1363.
- [490] LI, X.-C.; ELSOHLY, H. N.; NIMROD, A. C.; CLARK, A. M.: Two aurones from *Pseudolarix amabilis*. *J. Nat. Prod.* **1999**, 62 (5), 767 – 769.
- [491] GREENE, T. W.; NUTS, P. G. M.: *Protective groups in organic synthesis*. New York: John Wiley&Sons, Inc., **1991**, 473 pp.
- [492] GEISSMAN, T. A.; CLINTON, R. O.: Flavanones and related compounds. I. The preparation of polyhydroxychalcones and -flavanones. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68 (4), 697 – 700.
- [493] DEVITT, P. F.; TIMONEY, A.; VICKARS, M. A.: Synthesis of heterocyclic-substituted chromones and chalcones. *J. Org. Chem.* **1961**, 26 (12), 4941 – 4944.
- [494] TAKAHASHI, H.; KUBOTA, Y.; IGUCHI, M.; ONDA, M.: Heterocycles. XVII. Sodium borohydride reduction of flavanonols and hydrolysis of (±)-fistacacidin acetates. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33 (8), 3134 – 3141.
- [495] DEVIA, C. M.; PAPPANO, N. B.; DEBATTISTA, N. B.: Structure-biological activity of synthetic trihydroxylated chalcones. *Rev. Microbiol.* **1998**, 29 (4), 307 – 310.
- [496] MISRA, S. S.; NATH, B.: Studies in potential germicides part VIII: syntheses of heterocyclic analogue of chalcones. *Indian J. Appl. Chem.* **1972**, 35 (4 – 6), 95 – 96.
- [497] KLINKE, P.; GIBIAN, H.: Über Chalkone. *Chem. Ber.* **1961**, 94, 26 – 38.

- [498] PARMAR, V. S.; BISHT, K. S.; SINGH, S.; SHARMA, S. K.; GUPTA, S.; MALHORTA, S.; TYAGI, O. D.; VARDHAN, A.; PATI, H. N.; VANDEN BERGHE, D.; VLIETINCK, A. J.: Synthesis, antimicrobial and antiviral activities of novel polyphenolic compounds. *Indian J. Chem. Sect. B – Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1996**, 35 (3), 220 – 232.
- [499] MATSUMURA, K.; ITO, M.; LEE, S. T.: Chalcone-type 8-chinolinol compounds. *J. Org. Chem.* **1960**, 25 (5), 854 – 856.
- [500] PALLEROS, D. R.: Solvent-free synthesis of chalcones. *J. Chem. Educ.* **2004**, 81 (9), 1345 – 1347.
- [501] TANAKA, K.; TODA, F.: Solvent-free organic synthesis. *Chem. Rev.* **2000**, 100 (3), 1025–1074.
- [502] KRASNEC, L.; ĎURINDA, J.; SZÜCS, L.: Príspevok k chémii α,β -nenasýtených ketónov odvodených od acetylpyridínov. *Chem. Zvesti* **1961**, 15 (8), 558 – 561.
- [503] SZÜCS, L.; ĎURINDA, J.; KRASNEC, L.; HEGER, J.: Príspevok k chémii α,β -nenasýtených ketónov odvodených od acetylpyridínov (II). *Chem. Zvesti* **1966**, 20 (11), 817 – 825.
- [504] ZÁMOCKÁ, J.; DVOŘÁČKOVÁ, D.; HEGER, J.; ARPÁD, N.; MLYNARČÍK, D.: Substituované 2',5'-diazachalkony a způsob jejich výroby. *Czech CS 195582 B*, 15. 4. 1982; *Chem. Abstr.* **1982**, 97, 182447.
- [505] IKEDA, S.; KIMURA, U.; ASCHIZAWA, T.; GOMI, K.; SAITO, H.: Preparation of chalcone derivatives as antitumor agents. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP 08188546 A2*, 1996; *Chem. Abstr.* **1996**, 125, 221359.
- [506] JAUNG, J.; MATSUOKA, M.; FUKUNISHI, K.: Dicyanopyrazine studies. Part V: syntheses and characteristics of chalcone analogues of dicyanopyrazine. *Dyes Pigment.* **1999**, 40 (1), 11 – 20.
- [507] IRIE, K.; WATANABE, K.: Aldol condensation with metal complex catalysts. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, 53 (5), 1366 – 1371.
- [508] LE GALL, E.; TEXIER-BOULLET, F.; HAMELIN, J.: Simple access to α,β -unsaturated ketones by acid – catalyzed solvent-free reactions. *Synth. Commun.* **1999**, 29 (20), 3651 – 3657.
- [509] JHALA, Y. S.; PRADHUMAN, RANAWAT, S.; DULAWAT, S. S.; VERMA, B. L.: Microwave assisted synthesis of chalcones using Claisen-Schmidt condensation in dry media. *Indian J. Heterocycl. Chem.* **2005**, 14 (4), 357 – 358.
- [510] DURÁN-VALLE, C. J.; FONSECA, I. M.; CALVINO-CASILDA, V.; PICALLO, M.; LÓPEZ-PEINADO, A. J.; MARTÍN-ARANDA, R. M.: Sonocatalysis and alkaline-doped carbons: an efficient method for the synthesis of chalcones in heterogenous media. *Catal. Today* **2005**, 107 – 108, 500 – 506.
- [511] SADVILKAR, V. G.; SAMANT, S. D.; GAIKAR, V. G.: Claisen-Schmidt reaction in a hydrotropic medium. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1995**, 62 (4), 405 – 410.
- [512] LI, Z.: Novel solid base catalysts for Michael additions. Synthesis, characterisation and application. *Dissertation*. Berlin: Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Humboldt-Universität **2005**. [on-line] Dokumenten- und Publikationserver der Humboldt-Universität [cit. 8. 12. 2005]; available from <[http://edoc.hu-berlin.de/browsing/dissertationen/index.php?l\[2\]=Autoren&paging=L&_31f5ec487c74055c52d0abed969adcc](http://edoc.hu-berlin.de/browsing/dissertationen/index.php?l[2]=Autoren&paging=L&_31f5ec487c74055c52d0abed969adcc)>
- [513] ONO, Y.; BABA, T.: Selective reaction over solid base catalysts. *Catal. Today* **1997**, 38, 321 – 337.
- [514] BIANCO, A.; CAVARISCHIA, C.; GIUSO, M.: The Heck coupling reaction using aryl vinyl ketones: Synthesis of flavanoids. *Eur. J. Org. Chem.* **2004** (13), 2894 – 2898.
- [515] BANDINI, M.; COZZI, P. G.; GIACOMINI, M.; MELCHIORRE, P.; SELVA, S.; UMANI-RONCHI, A.: Sequential one-pot InBr_3 -catalyzed 1,4- then 1,2-nucleophilic addition to enones. *J. Org. Chem.* **2002**, 67 (11), 3700 – 3704.
- [516] RANU, B. C.; DEY, S. S.; SAMANTA, S.: Indium (III) chloride-catalyzed Michael addition of thiols to chalcones: a remarkable solvent effect. *Arkivoc* **2005** (P. 3), 44 – 50.
- [517] ZAHOUILY, M.; ABROUKI, Y.; RAYADH, A.; SEBTI, S.: Hydroxyapatite: new efficient catalyst for the Michael addition. *Catal. Commun.* **2003**, 4 (10) 521 – 524.
- [518] ZAHOUILY, M.; ABROUKI, Y.; RAYADH, A.; SEBTI, S.; DHIMANE, H.; DAVID, M.: Fluorapatite: efficient catalyst for the Michael addition. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44 (12), 2463 – 2465.
- [519] ABROUKI, Y.; ZAHOUILY, M.; RAYADH, A.; BAHLAOUAN, B.; SEBTI, S.: A natural phosphate and doped-catalyzed Michael addition of mercaptans to α,β -unsaturated carbonyl compounds. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43 (49), 8951 – 8954.
- [520] ZAHOUILY, M.; ABROUKI, Y.; RAYADH, A.: $\text{Na}_2\text{CaP}_2\text{O}_7$, a new catalyst for Michael addition. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43 (43), 7729 – 7730.
- [521] WABNITZ, T. C.; YU, J.-Q. SPENCER, J. B.: A general, polymer-supported acid catalyzed hetero-Michael addition. *Synlett* **2003** (7), 1070 – 1072.
- [522] DRAKULIĆ, B. J.; JURANIĆ, Z. D.; STANOJKOVIĆ, T. P.; JURANIĆ, I. O.: 2-[(Carboxymethyl)sulfanyl]-4-oxo-4-arylbutanoic acids selectively suppressed proliferation of neoplastic human HeLa cells. A SAR/QSAR study. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (17), 5600 – 5603.
- [523] LÉVAI, A.; PATONAY, T.: Synthesis of leukotriene analogue carboxylic-acid derivatives of dihydrochalcones. *Pharmazie* **1995**, 50 (6), 429 – 430.

- [524] LÉVAI, A.: Synthesis of carboxylic acid derivatives of dihydrochalcones. *Mon. Chem.* **1991**, 122 (1 – 2), 127 – 129.
- [525] SKARZEWSKI, J.; ZIELIŃSKA-BLAJET, M.; TUROWSKA-TYRK, I.: Simple preparation of enantiomeric Michael adducts of thiophenol to chalcones: easily available new chiral building blocks. *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12 (13), 1923 – 1928.
- [526] MAIN, L.; OLD, K. B.: The kinetics and mechanism of the cyclisation of 2'-hydroxychalcone epoxide to 3-hydroxyflavanone in water. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18 (32), 2809 – 2810.
- [527] CUMMINS, B.; DONNELLY, D. M. X.; EADES, J. F.; FLECHTER, H.; O'CINNÉIDE, F.; PHILBIN, E. M.; SWIRSKI, J.; WHEELER, T. S.; WILSON, R. K.: Oxidation of chalcones (AFO Reaction). *Tetrahedron* **1963**, 19 (4), 499 – 512.
- [528] ADAMS, C. J.; MAIN, L.: Cyclisation and subsequent reaction of 2'-hydroxy-6'-methoxychalcone epoxide and related compounds. *Tetrahedron* **1991**, 47 (27), 4979 – 4990.
- [529] SAXENA, S.; MAKRANDI, J. K.; GROVER, S. K.: A facile one-step conversion of chalcones into 2,3-dihydroflavonols. *Synthesis* **1985**, 1985 (1), 110 – 111.
- [530] SEKIZAKI, H.: Synthesis of 2-benzylidene-3(2H)-benzofuran-3-ones (aurones) by oxidation of 2'-hydroxychalcones with mercury(II) acetate. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, 61 (4), 1407 – 1409.
- [531] DONNELLY, J. A.; HIGGINBOTHAM, C. L.: Flavone formation in the Wheeler aurone synthesis. *Tetrahedron* **1990**, 46 (20), 7219 – 7226.
- [532] VARMA, R. J.; VARMA, M.: Alumina-mediated condensation. A simple synthesis of aurones. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33 (40), 5937 – 5940.
- [533] HASTINGS, J. S.; HELLER, H. G.: The stereochemistry of aurones [2-substituted benzylidenebenzofuran-3(2H)ones]. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1* **1972** (17) 2128 – 2132.
- [534] CATELLANI, M.; CHIUSOLI, G. P.; FAGNOLA, M. C.; SOLARI, G.: A new palladium-catalyzed synthesis of 3,4-disubstituted coumarines from 3-alkenoates of *ortho*-iodophenol, phenylacetylene and carbon monoxide. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35 (32), 5923 – 5926.
- [535] CIATTINI, P. G.; MORERA, E.; ORTAR, G.; ROSSI, S. S.: Preparative and regiochemical aspects of the palladium-catalyzed carbonylative coupling of 2-hydroxyaryl iodides with ethynylarenes. *Tetrahedron* **1991**, 47 (32), 6449 – 6456.
- [536] AN, Z.-W.; CATELLANI, M.; CHIUSOLI, G. P.: Palladium-catalyzed synthesis of aurone from salicyloyl chloride and phenylacetylene. *J. Organomet. Chem.* **1990**, 397 (3), 371 – 373.
- [537] GARCIA, H.; IBORRA, S.; PRIMO, J.: 6-Endo-dig vs. 5-exo-dig ring closure in *o*-hydroxyaryl phenylethynyl ketones. A new approach to the synthesis of flavones and aurones. *J. Org. Chem.* **1986**, 51 (23), 4432 – 4436.
- [538] BRADY, B. A.; GEOGHEGAN, M.; MCMURTREY, D.; O'SULLIVAN, W. I.: Flavonoids epoxides. Part 16. Synthesis and base-catalysed rearrangement of aurone epoxides. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1* **1981** (1), 119 – 123.
- [539] LÉVAI, A.; SILVA, A. M. S.; CAVALEIRO, J. A. S.; PANOTAY, T.; SILVA, V. L. M.: Dimethyldioxirane oxidation of (*E,E*)-cinnamylideneacetonephenone. *Eur. J. Org. Chem.* **2001** (17), 3213 – 3219.
- [540] GRIPENBERG, J.: The structure of some alleged 3-hydroxyflavanones. *Acta Chem. Scand.* **1953**, 7 (10), 1323 – 1330.
- [541] KING, H. G. C.; WHITE, T.; HUGHES, R. B.: The occurrence of 2-benzyl-2-hydroxycoumaran-3-ones in *Quebracho* tannin extract. *J. Chem. Soc.* **1961**, 3234 – 3239.
- [542] KIEHLMANN, E.; LI, E. P. M.: Isomerization of dihydroquercetin. *J. Nat. Prod.* **1995**, 58, 450–455.
- [543] CHOPIN, J.; DURUAL, P.; CHADENSON, M.: Sur un nouveau mode de synthèse des hydroxy-2 benzyl-2 coumaranones-3. *C. R. Acad. Sci. Paris* 1964, 259 (9), 1638 – 1641; *Chem. Abstr.* **1964**, 61, 84075.
- [544] SWEENEY, J. G.; RADFORD, T.; IACOBUCCI, G. A.: Sodium-ammonia reduction of flavonols. *J. Org. Chem.* **1979**, 44 (9), 1494 – 1496.
- [545] VESELÝ, I.: Kolonová chromatografie na silikagelu pro TLC in Drašar P. *et al.*: Methodika práce v organické laboratoři. 2. vyd. Praha: Ústav organické chemie a biochemie ČSAV, 1988, s. 233 – 237.
- [546] OPLETALOVÁ, V.; PATEL, A.; BOULTON, M.; DUNDROVÁ, A.; LACINOVÁ, E.: 5-Alkyl-2-pyrazinecarbonitriles and 5-alkyl-2-acetylpyrazines as synthetic intermediates for antiinflammatory agents. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1996**, 61 (7), 1093 – 1101.
- [547] ZÁMOCKÁ, J.; DVOŘÁČKOVÁ, D.; HEGER, J.: Darstellung und Strukturbestimmung einiger Diazachalkone. *Z. Chem.* **1980**, 20 (1), 29 – 30.
- [548] DVOŘÁČKOVÁ, D.; ZÁMOCKÁ, J.; HEGER, J.; NAGY, A.; HARTELOVÁ, V.: 2',5'-Diazachalcones. I. Preparation, structure, and antibacterial effects of some substituted 2',5'-diazachalcones. *Chem. Zvesti* **1980**, 34 (2), 263 – 268.
- [549] MURPHY, W. S.; WATTANASIN, S.: Intramolecular alkylation of phenols. Part 5. A regioselective anionic ring closure of phenols via quinone methides. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1* **1980** (7), 1567 – 1577.

- [550] DIMMOCK, J. R.; KANDEPU, N. M.; HETHERINGTON, M.; QUAIL, J. W.; PUGAZHENTHI, U.; SUDOM, A. M.; CHAMANKHAH, M.; ROSE, P.; PASS, E.; ALLEN, T. M.; HALLERAN, S.; SZYDLOWSKI, J.; MUTUS, B.; TANNOUS, M.; MANAVATHU, E. K.; MYERS, T. G.; DE CLERCQ, E.; BALZARINI, J.: Cytotoxic activities of Mannich bases of chalcones and related compounds. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (7), 1014 – 1026.
- [551] FRANK, S.: The preparation of mercaptans from alcohols. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68 (10), 2103 – 2104.
- [552] WALLEZ, V.; DURIEUX-POISSONNIER, S.; CHAVATTE, P.; BOUTIN, J. A.; AUDINOT, V.; NICOLAS, J.-P.; BENNEJEAN, C.; DELAGRANGE, P.; RENARD, P.; LESIEUR, D.: Synthesis and structure-affinity-activity relationships of novel benzofuran derivatives as MT2 melatonin receptor selective ligands. *J. Med. Chem.* **2002**, 45 (13), 2788 – 2800.
- [553] ENEBACK, C.: Synthetic , spectrophotometric, an potentiometric studies with reference to the tautomeric nature of 2-benzyl-2-hydroxycoumaran-3-ones. *Comment. Phys. Math.* 1963, 28 (10), 95; *Chem. Abstr.* **1964**, 60, 45567.
- [554] WOLLENWEBER, E.; MANN, K.; IINUMA, M.; TANAKA, T.; MIZUNO, M.: 5,2',5'-Trihydroxyflavone and 2', β -dihydroxychalcone from *Primula pulverulenta*. *Phytochemistry*, **1989**, 28 (1), 295 – 296.
- [555] COLLINS L. A., FRANZBLAU S. G.: Microplate alamar blue assay versus BACTEC 460 system for high-throughput screening of compounds against *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium avium*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**, 41 (5), 1004 – 1009.
- [556] KRÁĽOVÁ, K.; ŠERŠEŇ, F.; MELNÍK, M.: Inhibition of photosynthesis in *Chlorella vulgaris* by Cu(II) complexes with biologically active ligands. *J. Trace Microprobe Techn.* **1998**, 16 (4), 491 – 500.
- [557] WELLBURN, A. R.: The spectral determination of chlorophyll-A and chlorophyll-B, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* **1994**, 144 (3), 307 – 313.
- [558] KRÁĽOVÁ, K.; ŠERŠEŇ, F.; MITTERHAUSZEROVÁ, L'; DEVÍNSKÝ, F.; KREMPASKÁ, E.: Effect of surfactants on growth, chlorophyll content and Hill reaction activity. *Photosynthetica* **1992**, 26 (2), 181 – 187.
- [559] CONRAD, R.; BUCHEL, C.; WILHELM, C.; ARSALANE, W.; BERKALOFF, C.; DUVAL, J. C.: Changes in yield of *in-vivo* fluorescence of chlorophyll as a tool for selective herbicide monitoring. *J. Appl. Phycol.* **1993**, 5 (5), 505 – 516.
- [560] FEDTKE, C.: *Biochemistry and physiology of herbicide action*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, **1982**, pp. 26 – 28, 36 – 37.
- [561] KUBICOVÁ, L.; ŠUSTR, M.; KRÁĽOVÁ, K.; CHOBOT, V.; VYTLAČILOVÁ, J.; JAHODÁŘ, L.; VUORELA, P.; MACHÁČEK, M.; KAUSTOVÁ, J.: Synthesis and biological evaluation of quinazoline-4-thiones. *Molecules* **2003**, 8 (11), 756 – 759.
- [562] BORN, G. V. R.: Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate (ADP) and its reversal. *Nature* **1962**, 194, 927 – 929.
- [563] OPLETALOVÁ, V.; JAMPÍLEK, J.; CHLUPÁČOVÁ, M.; DOLEŽEL, J.; GRAFNETTEROVÁ, T.; DOHNAL, J.: Chromatographic and computational study of hydrophobic properties of ring substituted pyrazinecarbonitriles and acetylpyrazines. *Proceedings of the 9th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-9)*, November 1 – 30, **2005** [CD-ROM edition]. Seijas J. A., Tato M. P. V. (Eds.). MDPI, Basel, 2005; ISBN 3-906980-16-2; available from <<http://www.usc.es/congresos/ecsoc/9/BOCNP/c004/index.htm>>
- [564] ZÁMOCKÁ, J.; DVOŘÁČKOVÁ, D.; HEGER, J.: Příprava, štruktúra niektorých substituovaných 2', 3' - a 4'-azachalkónov. *Zborník prednášok X. konferencie Syntéza a analýza liečiv*, Tatranská Lomnice, 28. – 30. 4. **1980**; Československá farmaceutická spoločnosť.
- [565] TODA, F.; TAKUMI, H.; NAGAMI, M.; TANAKA, K.: A novel method for Michael addition and epoxidation of chalcones in a water suspension medium: a completely organic solvent-free synthetic procedure. *Heterocycles* **1998**, 47 (1), 469 – 479.
- [566] ENGBERTS, J. B. F. N.; BLANDAMER, M. J.: Understanding organic reactions in water: from hydrophobic encounters to surfactant aggregates. *Chem. Commun.* **2001** (18), 1701 – 1708.
- [567] *12 Principles of Green Chemistry* [on-line] U.S. Environmental Protection Agency, 21. 3. **2006** [cit. 24. 4. 2006], available from <<http://www.epa.gov/greenchemistry/principles.html>>
- [568] DIMMOCK, J. R.; KUMAR, P.; CHEN, M.; QUAIL, J. W.; YANG, J.; ALLEN, T. M.; KAO, G. Y.: Synthesis and cytotoxic evaluation of mesna adducts of some 1-aryl-4,4-dimethyl-5-(1-piperidino)-1-penten-3-one hydrochlorides. *Pharmazie* **1995**, 50 (7), 449 – 452.
- [569] HAUGWITZ, R. D.: Adducts of mercaptoacyl amino acids. *Brit. UK Pat. Appl. GB 2061931 A*, 20. 5. 1981; *Chem. Abstr.* **1982**, 96, 20460.
- [570] LAWRENCE, N. J.; MCGOWN, A. T.; NDUKA, J.; HADFIELD, J. A.; PRITCHARD, R. G.: Cytotoxic Michael-type amine adducts of α -methylene lactones alantolactone and isoalantolactone. *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 11 (3), 429 – 431.
- [571] MENGER, F. M.; SMITH, J. H.: The kinetics and mechanism of reactions of *cis*- and *trans*-chalcone with amines. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91 (15), 4211 – 4216.

- [572] YANG, J.-M.; JI, S.-J.; GU, D.-G.; SHEN, Z.-L.; WANG, S.-Y.: Ultrasound-irradiated Michael addition of amines to ferrocenylenones under solvent-free and catalyst-free conditions at room temperature. *J. Organomet. Chem.* **2005**, 690 (12), 2989 – 2995.
- [573] GORRICHON-GUIGON, L.; HAMMERER, S.: Additions, regioselectives d'imines et d'hydrazones metallees aux α -enones. *Tetrahedron* **1980**, 36 (5), 631 – 639.
- [574] XU, L.-W.; XIA, C.-G.: Highly efficient phosphine-catalyzed aza-Michael reactions of α,β -unsaturated compounds with carbamates in the presence of TMSCl. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45 (23), 4507 – 4510.
- [575] ŠVANDOVÁ, M.: Thiosemikarbazony acetylpyrazinů jako potenciální antimykotika a antituberkulotika. *Rigorózní práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta University Karlovy, **2002**, 45 s.
- [576] BERALDO, H.; GAMBINO D.: The wide pharmacological versatility of semicarbazones, thiosemicarbazones and their metal complexes. *Mini Rev. Med. Chem.* **2004**, 4 (1), 31 – 39.
- [577] HONCOVÁ, D.: Acetylpyraziny jako meziprodukty pro syntézu biologicky aktivních derivátů pyrazinu III. *Rigorózní práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta University Karlovy, **2005**, 53 s.
- [578] AUGUSTYN, J. A. N.; BEZUIDENHOUDT, B. C. B.; SWANEPOEL, A.; FERREIRA, D.: Enantioselective synthesis of flavonoids. Part 2. Poly-oxygenated α -hydroxydihydrochalcones and circular dichroic assessment of their absolute configuration. *Tetrahedron* **1990**, 46 (12), 4429 – 4442.
- [579] AUGUSTINE, R. L.: *Catalytic hydrogenation*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1965, p. 188.
- [580] LÖSER, R.; CHLUPACOVA, M.; MARECEK, A.; OPLETALOVA, V.; GÜTSCHOW, M.: Synthetic studies towards the preparation of 2-benzyl-2-hydroxybenzofuran-3-(2*H*)-one, the prototype of naturally occurring hydrated auronols. *Helv. Chim. Acta*, **2004**, 87 (10), 2597 – 2601. Erratum in *Helv. Chim. Acta* 2004, 87 (11), 2967.
- [581] BRADY, B. A.; GEOGHEGAN, M.; O'SULLIVAN, W. I.: Flavonoid epoxides. Part 18. Solvolysis products of 2-arylmethylenebenzo[*b*]furan-3(2*H*)-one (aurone) epoxides. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1* **1989** (9), 1557 – 1562.
- [582] HOUBEN-WEYL: *Methoden der Organischen Chemie. Sauerstoffverbindungen I. Teil 3 (Band VI/3)*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1965, p. 832.
- [583] ZYMALKOWSKI, F.: *Katalytische Hydrierung im organischen Laboratorium*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1965, p. 360.
- [584] LUTZ, R. E.; WOOD, J. L.: Reductions of bis(trimethylbenzoyl)ethylene oxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 60 (2), 229 – 235.
- [585] TORII, S.; OKUMOTO, H.; NAKAYASU, S.; KOTANI, T.: Hydrogenolysis of α,β -epoxyketone and ester to aldol in Pd(0)/HCOOH/Et₃N and H₂/Pd/C reduction media. *Chem. Lett.* **1989** (11), 1975 – 1978.
- [586] HARDOUIN, C.; CHEVALIER, F.; ROUSSEAU, B.; DORIS, E.: Cp₂TiCl-Mediated selective reduction of α,β -epoxy ketones. *J. Org. Chem.* **2001**, 66 (3), 1046 – 1048.
- [587] FIES, M.; FRIEDRICH, K.: Kohlenstoff-Analoga von Brasilin und Hämatoxylin. *J. Prakt. Chem. – Chem. Z.* **1995**, 337 (1), 50 – 54.
- [588] NARUTA, Y.; NISHIGAICHI, Y.; MARUYAMA, K.: Highly effective asymmetric synthesis of 11-deoxydaunomycinone and analogues. *J. Chem. Soc. – Perkin Trans. 1*, **1991** (4), 831 – 839.
- [589] TORNARE, J.-M.; VOGEL, P.: The synthesis of (\pm)-deoxydaunomycinone *via* regioselective tandem Diels-Alder reaction. *Helv. Chim. Acta.* **1985**, 68 (4), 1069 – 1077.
- [590] BOWDEN, K.; DALPOZZO, A.; DUAH, C. K.: Structure-activity relations. Part 5. Antibacterial activity of a series of substituted (*E*)-3-(4-phenylbenzoyl)acrylic acid, (*E*)-chalcones, (*E*)-2-hydroxychalcones – addition of cysteine to substituted 3-benzoylacrylic acids and related compounds. *J. Chem. Res. – S* **1990** (12), 377.
- [591] CHLUPÁČOVÁ, M., OPLETALOVÁ, V., KUNEŠ, J., SILVA, L., BUCHTA, V., DUŠKOVÁ, L., KRÁČOVÁ, K.: Synthesis and biological evaluation of some ring-substituted (*E*)-3-aryl-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ones. *Folia Pharm. Univ. Carol.* **2005**, XXXIII, 31 – 43.
- [592] CHLUPÁČOVÁ, M., KUBANOVÁ, P., OPLETALOVÁ, V., BUCHTA, V.: The importance of the enone-moiety for antibacterial and antifungal properties of chalcones. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, October 2 – 4, **2003**. Borelli, F., Capasso, F., Milic, N., Russo, A. (Eds.). Università degli Studi di Napoli Federico II, Naples – Indena, Milano 2003, pp. 133 – 135.
- [593] CHLUPÁČOVÁ, M., OPLETALOVÁ, V., KUNEŠ, J., KRÁČOVÁ, K.: Synthesis of 3-alkyl- and 3-arylsulfanyl-1,3-diphenylpropan-1-ones and their effects on two photosynthesizing organisms. *Folia Pharm. Univ. Carol.* **2004**, XXXI – XXXII, 109 – 115.
- [594] JUN, D., CHLUPÁČOVÁ, M., OPLETALOVÁ, V., HRONEK, M., OPLETAL, L.: Syntéza a biologické hodnocení 2',2'-diazachalkonů VII. Antiagregační aktivita. *Sborník XXXI. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, Bratislava, Slovenská republika, 11. – 13. září **2002**, s. 62.
- [595] JUN, J., CHLUPÁČOVÁ, M., OPLETALOVÁ, V., HRONEK, M., OPLETAL, L.: Platelet antiaggregating of 2',5'-diazachalcones. *Proceedings of the 3rd International Symposium on Natural Drugs*, Naples, Italy, October 2 – 4, **2003**. Borelli, F., Capasso, F., Milic, N., Russo, A. (Eds.). Università degli Studi di Napoli Federico II, Naples – Indena, Milano 2003, p. 152.

- [596] OPLETAL, L., JUN, D., OPLETALOVÁ, V., CHLUPÁČOVÁ, M., HRONEK, M., KUČA, K.: Platelet antiaggregating activity of substituted (*E*)-3-(3-hydroxyphenyl)-1-pyrazin-2-ylprop-2-en-1-ones. *Proceedings of the Jahrestagung – Joint Meeting 2004 of the Czech Pharmaceutical Society, Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft and Österreichische Pharmazeutische Gesellschaft* presented by the Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Regensburg, October 6 – 9, **2004**, p. 121.
- [597] OPLETALOVÁ, V., CHLUPÁČOVÁ, M., POSLEDNÍKOVÁ, M., KUNEŠ, J., SILVA, L., BUCHTA, V., JUN, D.: Synthesis and biological evaluation of substituted (*E*)-1-(5-isopropylpyrazin-2-yl)-3-phenylprop-2-en-1-ones. *Proceedings of the Jahrestagung – Joint Meeting 2004 of the Czech Pharmaceutical Society, Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft and Österreichische Pharmazeutische Gesellschaft* presented by the Faculty of Chemistry and Pharmacy, University of Regensburg, October 6 – 9, **2004**, p. 100. ISBN 3-00-014723-3.
- [598] LÖSER, R.: osobní sdělení
- [599] TANAKA, T.; KAWASE, M.; TANI, S.: Urease inhibitory activity of simple α,β -unsaturated ketones. *Life Sci.* **2003**, 73 (23), 2985 – 2990.
- [600] MUTUS, B.; WAGNER, J. D.; TALPAS, C. J.; DIMMOCK, J. R.; PHILLIPS, O. A.; REID, R. S.: 1-*p*-Chlorophenyl-4,4-dimethyl-5-diethylamino-1-penten-3-one hydrobromide, a sulfhydryl-specific compound which reacts irreversibly with protein thiols but reversibly with small molecular weight thiols. *Anal. Biochem.* **1989**, 177 (2), 237 – 243.