

Priprava novih derivata kumarina Pd-kataliziranim reakcijama i njihova strukturna karakterizacija

Milinković, Andrea

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:378098>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Andrea Milinković

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Andrea Milinković

Priprava novih derivata kumarina Pd-kataliziranim reakcijama i
njihova strukturna karakterizacija

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević

Članovi povjerenstva:

1. Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
2. Dr. sc. Lidija Furač, viši predavač
3. Dr. sc. Andrijana Meščić, poslijedoktorand

Zagreb, rujan 2016.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu u sklopu projekta 5596 Hrvatske zaklade za znanost.

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Tatjani Gazivoda Kraljević na pruženoj pomoći pri odabiru teme i prilici za izradu ovog rada. Zahvaljujem se i ostalim djelatnicima i kolegama sa Zavoda za organsku kemiju na stručnim savjetima i na ugodnoj radnoj atmosferi.

Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji, dečku i prijateljima na pruženoj podršci tijekom dosadašnjeg studiranja.

SAŽETAK

U ovom radu opisana je sinteza derivata 7-hidroksikumarina pripremljenih reakcijom bromiranja, nitriranja, te paladijem kataliziranim reakcijama. Bromiranjem 7-hidroksikumarina s *N*-bromosukcinimidom uz cerijev amonijev nitrat pripremljeni su 8-brom-7-hidroksikumarin (**1**) i 3,8-dibrom-7-hidroksikumarin (**2**). Reakcijom nitriranja 7-hidroksikumarina sintetizirani su derivati kumarina supstituirani nitro skupinom u položajima 3 i/ili 6 i 8 kumarinskog prstena (**3-5**). 7-hidroksi-4-(3-(*p*-tolil)prop-2-in-1-il)kumarin (**6**) supstituiran u položaju C-4 pripremljen je Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 7-hidroksi-4-klormetilkumarina s 4-metilfenilacetenom uz Pd-katalizator. Suzuki-jevom reakcijom 7-hidroksi-4-klormetilkumarina s (4-hidroksifenil)bornom kiselinom uz Pd-katalizator sintetiziran je 7-hidroksi-4-(4-hidroksibenzil)kumarin (**7**). Strukture sintetiziranih spojeva **1-7** potvrđene su ¹H NMR spektroskopijom. Derivati kumarina **1-3** spektroskopski su okarakterizirani UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom, te su im određeni maksimumi apsorpcije i valne duljine emisije.

Ključne riječi: 7-hidroksikumarin, Sonogashira-ina reakcija, Suzuki-jeva reakcija, ¹H-NMR, UV/Vis i fluorimetrijska spektroskopija

SUMMARY

This work describes the synthesis of 7-hydroxycoumarin derivatives prepared by the bromination, nitration and palladium-catalyzed reactions. 8-bromo-7-hydroxycoumarin (**1**) and 3,8-dibromo-7-hydroxycoumarin (**2**) were prepared by the bromination of 7-hydroxycoumarin with *N*-bromosuccinimide and ceric ammonium nitrate. Coumarin derivatives with nitro group substituted at the positions 3 and/ or 6 and 8 of coumarin ring (**3-5**) were synthesized by the nitration of 7-hydroxycoumarin. 7-hydroxy-4-(3-(*p*-tolyl)-2-yn-1-yl)-2*H*-chromen-2-one (**6**) substituted at C-4 was prepared by Sonogashira cross-coupling reaction of 4-(chloromethyl)-7-hydroxycoumarin and 2-(*p*-tolyl)ethyn-1-yl with Pd-catalyst. 7-hydroxy-4-(4-hydroxybenzyl)-2*H*-chromen-2-one (**7**) was synthesized by Suzuki reaction of 4-(chloromethyl)-7-hydroxycoumarin and (4-hydroxyphenyl)boronic acid using Pd-catalyst. The structures of the synthesized compounds **1-7** were confirmed by ¹H NMR spectroscopy. Coumarin derivatives **1-3** were spectroscopically characterized by UV/ Vis and fluorimetric spectroscopy and their maxima of absorbance and emission wavelengths were determined.

Key words: 7-hydroxycoumarin, Sonogashira cross-coupling reaction, Suzuki cross-coupling reaction, ¹H- NMR, UV / Vis and fluorimetric spectroscopy

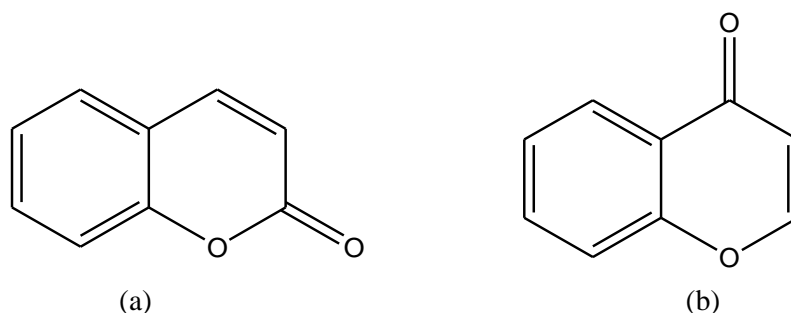
SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. KUMARIN (benzo- α -piron)	2
2.1.1. KLASIFIKACIJA KUMARINA.....	3
2.1.2. SINTEZA KUMARINA.....	5
2.1.2.1. PERKINOVA REAKCIJA	5
2.1.2.2. PECHMANNOVA REAKCIJA.....	5
2.1.2.3. KNOEVENAGELOVA REAKCIJA	6
2.1.3. BIOLOŠKO DJELOVANJE DERIVATA KUMARINA	7
2.1.3.1. ANTIOKSIDATIVNA SVOJSTVA.....	8
2.1.3.2. ANTIKANCEROGENO DJELOVANJE	9
2.1.3.3. PROTUUPALNA SVOJSTVA I LIJEČENJE EDEMA	10
2.1.3.4. ANTIKOAGULACIJSKA AKTIVNOST	10
2.1.3.5. OSTALA BIOLOŠKA DJELOVANJA.....	11
2.1.3.6. UPOTREBA U MEDICINI	13
2.2. 7-HIDROKSIKUMARIN I NJEGOVI DERIVATI.....	13
2.2.1. UV FLUORESCENCIJA 7-HIDROKSIKUMARINA	14
2.2.2. UPOTREBA 7-HIDROKSIKUMARINA	14
2.2.3. SINTEZA 7-HIDROKSIKUMARINA	14
2.2.3.1. BIOSINTETSKI PUT	14
2.2.3.2. KEMIJSKI SINTETSKI PUT.....	15
2.2.4. DERIVATI 7-HIDROKSIKUMARINA.....	15
2.2.4.1. BIOLOŠKA DJELOVANJA DERIVATA 7-HIDROKSIKUMARINA	16
2.3. Pd- KATALIZIRANE REAKCIJE	17
2.3.1. SUZUKIJEVA I SUZUKI-MIYAURAIN A REAKCIJA	19
2.3.2. HECKOVA REAKCIJA.....	21
2.3.3. SONOGASHIRINA REAKCIJA.....	21
2.4. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA I FLUORESCENCIJA	23
2.4.1. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA	23
2.4.2. FLUORESCENCIJA	24
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	26
3.1. OPĆE NAPOMENE.....	26
3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA	27
3.3. PRIPRAVA SPOJEVA	28

3.3.1.	8-BROM-7-HIDROSIKUMARIN (1) I 3,8-DIBROM-7-HIDROSIKUMARIN (2)	28
3.3.2.	7-HIDROSI-8-NITROKUMARIN (3), 7-HIDROSI-3,8-DINITROKUMARIN (4) I 7-HIDROSI-3,6-DINITROKUMARIN (5)	28
3.3.3.	7-HIDROSI-4-(3-(<i>p</i> -TOLIL)PROP-2-IN-1-IL)-2 <i>H</i> -KROMEN-2-ON (6)	28
3.3.4.	7-HIDROSI-4-(4-HIDROSIKUMARIN-2-IL)-2 <i>H</i> -KROMEN-2-ON (7)	29
4.	REZULTATI I RASPRAVA	29
4.1.	SINTEZA SPOJEVA	29
4.2.	STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA ¹ H I ¹³ C NMR SPEKTROSKOPIJOM	31
4.3.	SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA UV/VIS I FLUORIMETRIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM	37
5.	ZAKLJUČCI	41
6.	LITERATURA	42
7.	ŽIVOTOPIS	44

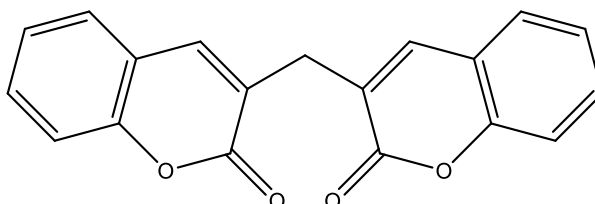
1. UVOD

Kumarini svoje ime duguju „Coumarou“, narodnom imenu tonka sjemenke (*Dipteryx odorata Willd*, Fabaceae), iz koje je sam kumarin izoliran 1820. god. Klasificiraju se kao benzopironi, a svi se sastoje od benzenskog prstena kondenziranog s pironskim prstenom. Benzopironi se dijele na benzo- α -pirone (slika 1.a), kojima pripadaju kumarini, te benzo- γ -pirone (slika 1.b) ili kromone.¹



Slika 1. Strukture: a) benzo- α -pirona i b) benzo- γ -pirona

Kumarin je prvi puta sintetiziran 1868. godine i korišten je u farmaceutskoj industriji kao prekursor u sintezi sintetskih antikoagulacijskih farmaceutika, prvenstveno dikumarola (slika 2.).²



Slika 2. Dikumarol

Kumarin je kemijski spoj koji se nalazi u mnogim biljkama, osobito u tonka sjemenkama, lazarkinji i bizonskoj travi, kao i u gospinoj travi, jagodama, marelicama, višnji, cimetu i slatkoj djetelini. Kumarine nalazimo u većoj količini u nekim eteričnim uljima, osobito ulju cimeta i lavandinom ulju, a također i u biljkama poput primjerice cikoriје. U prirodi se kumarini nalaze i slobodni ili u obliku heterozida.³

Kumarin se koristi kao sredstvo za fiksiranje i pojačavanje u parfemima i dodaje se sapunima i detergentima, pasti za zube, duhanskim proizvodima i nekim alkoholnim pićima, koristi se kao zaslađivač, pojačivač prirodnih ulja kao kod primjerice lavande, kao dodatak

hrani u kombinaciji s vanilijom. Velike se količine koriste kao dodatci gumi i plastičnim materijalima, te u bojama i sprejevima za neutralizaciju neugodnih mirisa.³

Kumarini pokazuju mnoštvo bioloških aktivnosti, uključujući antikoagulacijsku, estrogenu, dermalno fotosenzitirajuću, antimikrobnu, djeluju kao sedativi i hipnotici, a pokazuju i analgetsko i hipotermičko djelovanje. Ostale biološke aktivnosti uključuju inhibiciju agregacije krvnih pločica, antibakterijsku, antikancerogenu i anti- HIV aktivnost.³

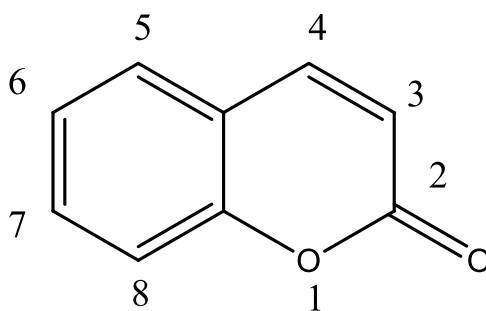
Biljni ekstrakti koji sadrže kumarinske heterocikle, koji su se koristili kao prirodni lijekovi još u ranim danima, danas se intenzivno proučavaju zbog svojih bioloških aktivnosti.¹

2. OPĆI DIO

2.1. KUMARIN (benzo- α -piron)

Kumarin ili 2*H*-kromen-2-on (slika 3.) je prirodni derivat benzopirona koji je građen od benzena i α -pironskog prstena. Strukturno se smatra derivatom *o*-hidroksicinaminske kiseline. Kumarini su široko rasprostranjeni u prirodi te predstavljaju važnu klasu prirodnih i/ili sintetskih heterocikličkih spojeva koji sadrže kisik. Posjeduju konjugirani sustav bogat elektronima te vrlo dobra svojstva prijenosa naboja.²

Kumarin je kristaliničan bijeli prah poznat po ugodnom mirisu na vaniliju, koji neki autori karakteriziraju i kao miris na svježe pokošeno sijeno.³



Slika 3. Kumarin

Kumarin i njegovi derivati mogu se sintetizirati brojnim metodama koje uključuju Pechmannovu reakciju, Perkin reakciju, Reformatsky reakciju te Knoevenagelovu reakciju.¹

U prirodi ih nalazimo kao slobodne ili u obliku heterozida u mnogim dikotiledonskim obiteljima, uključujući *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Fabiaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae* i *Solanaceae*, a ponajviše u biljkama porodice *Rutaceae* i *Umbelliferae*.³

Proučavanje kumarina započelo je prije 200 godina, a prvi puta kumarin je izoliran iz biljke *Coumarouna odorata Aube (Dipteryx odorata)* 1820. g., po kojoj je i dobio ime (kumarú je naziv za drvo na jeziku južnoameričkih Indijanaca iz Francuske Gvajane).³

S obzirom da na kumarinskom prstenu postoji 6 položaja koji se mogu supstituirati, poznato je mnoštvo različitih derivata kumarina, bilo sintetskih ili prirodnih, a takva strukturna raznolikost uzrok je mnoštvu različitih bioloških aktivnosti. Prisutnost kumarinskih derivata u biljkama je vrlo česta, a mnoge od tih biljaka se upotrebljavaju u tradicionalnoj medicini od davnina.³

Jednostavnost i rasprostranjenost kumarina čini ih interesantnima za široki spektar primjena. Nalaze se u parfemima, kozmetici i industrijskim aditivima. Neki od derivata koriste se kao pojačivači aroma u duhanima i određenim alkoholnim pićima. Međutim, od najvećeg značaja je njegova biološka i farmakološka primjena.²

Kumarini pokazuju mnoštvo bioloških aktivnosti, uključujući antikoagulacijsku, estrogenu, dermalno fotosenzitirajuću, antimikrobnu, vazodilacijsku, moluskicidnu, djeluju kao antihelmintici, sedativi i hipnotici, a pokazuju i analgetsko i hipotermičko djelovanje. Ostale biološke aktivnosti uključuju inhibiciju agregacije krvnih pločica, spazmolitičku, antibakterijsku, antikancerogenu i anti-HIV aktivnost. Značajna je i prevencija od bolesti, modulacija rasta i antioksidativna svojstva, kao i antitumorski učinci, dok neki kumarini mogu uzrokovati značajne promjene u regulaciji imunološkog odgovora, rastu stanica i diferencijaciji.³

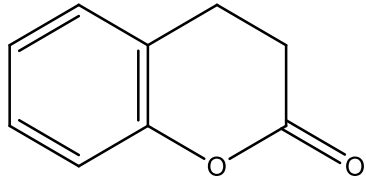
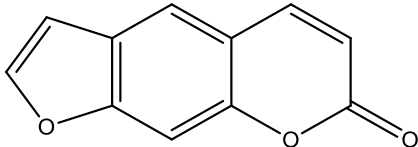
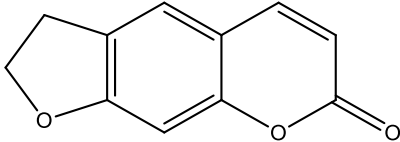
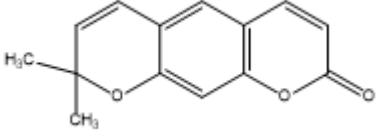
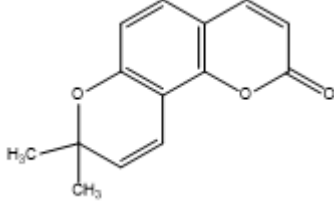
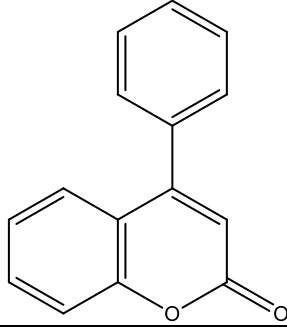
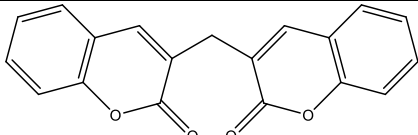
Kumarini pokazuju dobra optička svojstva, visoka kvantna iskorištenja i superiornu fotostabilnost. Zbog dobrih optičkih svojstava koriste se u laserskim bojama, nelinearnim optičkim kromoforima, fluorescentnim izbjeljivačima, kao fluorescentne probe, u polimerima, za optičko snimanje i solarne kolektore.⁴

2.1.1. KLASIFIKACIJA KUMARINA

S obzirom na relativno veliki broj mjesta supstitucije na kumarinu, poznato je mnoštvo derivata kumarina te je to razlog velikom broju podjela, odnosno klasifikacije kumarina. Općenito, kumarini se mogu podijeliti na jednostavne, kompleksne i različite kumarine. Detaljnijom klasifikacijom, s obzirom na supstituente na kumarinskoj jezgri koji mogu biti različiti heterocikli, dijele se na: jednostavne kumarine, furanokumarine,

dihidrofuranokumarine, piranokumarine (linearni i kutni), fenilkumarine i bikumarine (tablica 1.)⁵

Tablica 1. Različiti tipovi kumarina i njihova farmakološka aktivnost

Tip kumarina	Opća struktura	Primjer	Farmakološka aktivnost
jednostavni kumarini		kumarin amorezinol ostrutin novobiocin umbeliferon kumermicin	protuupalna antibakterijska antibakterijska/fungalna antibakterijska antituberkulozna antibakterijska
furanokumarini		psoralen bergapten metoksalen	antifungalna, anti – TB anti – TB inhibitor citokroma P450
dihidrofurano kumarini		antogenol felamidin marmesin rutaretin	antibakterijska antibakterijska anti – TB anti – TB
piranokumarini			
a) linearni		grandivitin ksantiletin	antibakterijska anti- TB
b) kutni		inofilum A, B, C, E, P, G1 i G2	antivirusna
fenilkumarini		izodispar B dispariol B disparinol D	antitumorska
bikumarini		dikumarol	antikoagulacijska

2.1.2. SINTEZA KUMARINA

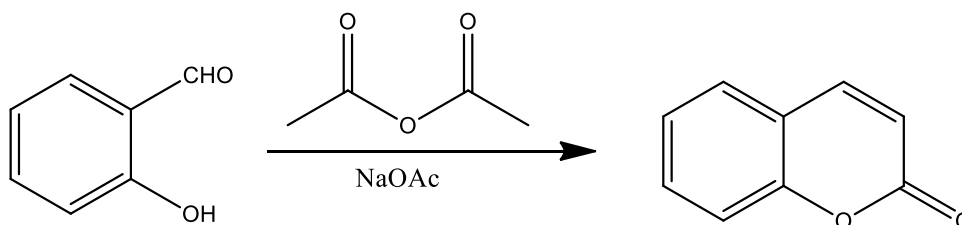
Interesantna biološka svojstva učinila su kumarin vrlo atraktivnim za organsku sintezu. Povijest sinteze kumarina započinje sredinom 19. stoljeća Perkinovim otkrićem poznate sinteze kumarina koja danas nosi njegovo ime. Sve do danas je za sintetsko dobivanje kumarina razvijeno nekoliko metoda.⁶

Kumarini se klasično mogu sintetizirati Perkinovom, Pechmannovom ili Knoevenagelovom reakcijom. Nedavno, za sintezu ovog tipa heterocikla primijenjene su i Wittigova, Kostanecki-Robinsonova te Reformatsky reakcija.⁶

Međutim, važno je istaknuti da sve navedene metode imaju neke nedostatke. Budući da nisu dovoljno općenite i učinkovite, razvitak nove, pouzdanije metode sinteze kumarina visokog iskorištenja postale su važne.⁶

2.1.2.1. Perkinova reakcija

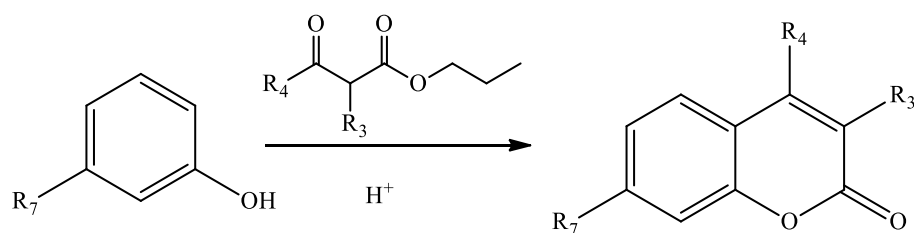
Perkinova reakcija sastoji se od nastajanja kumarina aldolnom kondenzacijom aromatskog *o*-hidroksibenzaldehida i kiselinskog anhidrida u prisustvu alkalne soli. Klasična sinteza kumarina iz salicilaldehida i kiselinskog anhidrida poboljšana je upotrebom bezvodnog natrijevog fluorida ili dibenzo-18-kruna-6 kao katalizatora (shema 1.).⁶



Shema 1. Perkinova reakcija

2.1.2.2. Pechmannova reakcija

Vrlo važna metoda sinteze kumarina je Pechmannova reakcija. Općenito, kumarini se dobivaju kondenzacijom fenola s β -ketoesterima uz prisutnost kiselog katalizatora (shema 2.). Reakcija se često naziva Pechmann-Duisbergova reakcija kada se koriste acetatni esteri i derivati. Ova reakcija se često koristi za sintezu prirodnih kumarina i drugih benzopirona od biološke i industrijske važnosti.⁶

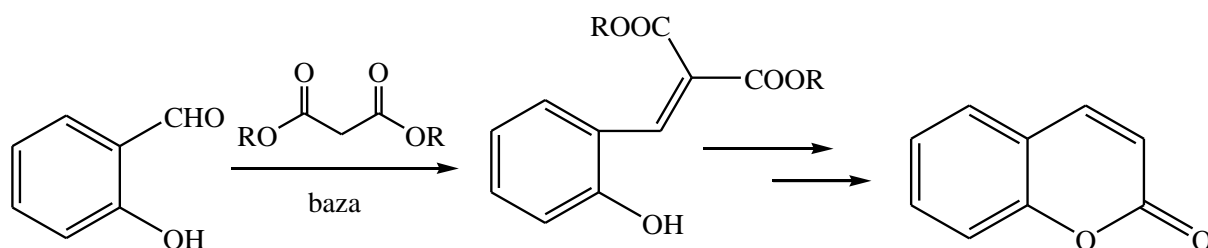


Shema 2. Pechmannova reakcija

Iako je Pechmannova kondenzacija klasični sintetski put, njezino iskorištenje i dalje se pokušava poboljšati kontroliranjem određenih parametara.

2.1.2.3. Knoevenagelova reakcija

Kondenzacija aldehida s aktivnim metilenskim spojevima u prisutnosti amonijaka ili amina poznata je kao Knoevenagelova reakcija (shema 3.). Obično je reakcija katalizirana slabom bazom ili odgovarajućim kombinacijama amina i karboksilnih ili Lewisovih kiselina u homogenim uvjetima.⁶



Shema 3. Knoevenagelova reakcija

Upotrebom malonske kiseline i piridina, sa ili bez tragova piperidina u reakciji, reakcija se naziva Doebnerovom modifikacijom.

Veliki broj kumarina sintetiziran je ovom metodom, primjerice kumarin-3-karboksilna kiselina, amino- i alkilaminokumarin, 3-acetil Kumarin, krunasti eter 3-benzoil Kumarin i novi premošteni heterocikli povezani s kumarinima.⁶

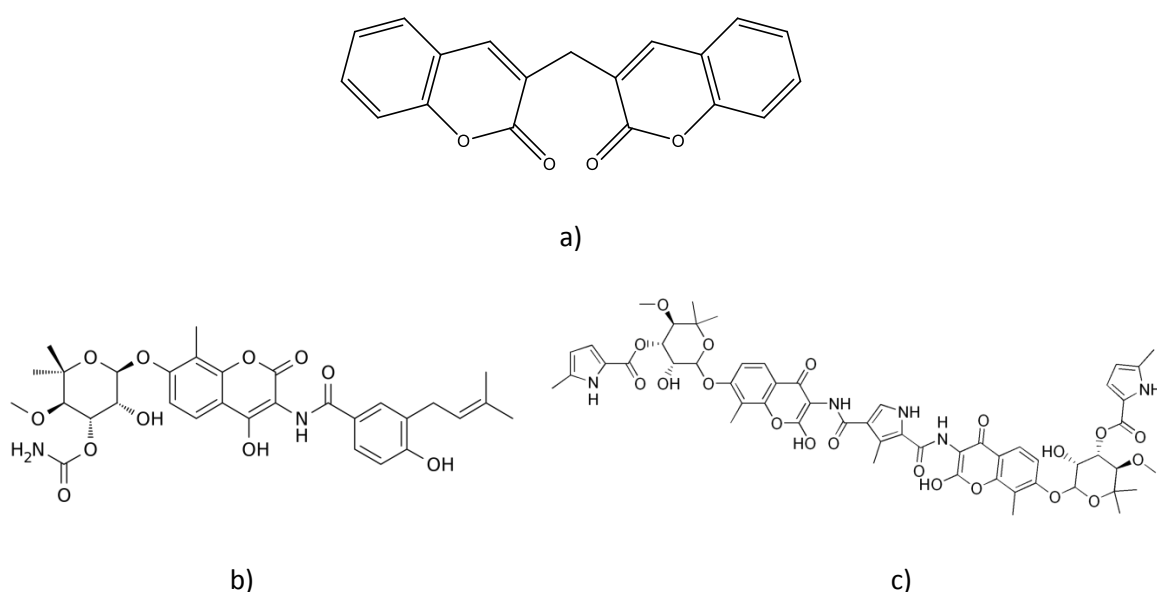
Posljednjih godina klasična sinteza jednostavnih kumarina znatno je modificirana zbog njihove primjene u području medicinske kemije, u istraživanju strukture i aktivnosti ili u analitičkoj kemiji.⁶ Novi derivati kumarina su sintetizirani korištenjem konvencionalnih i mikrovalovima potpomognutih reakcija. Prednosti u korištenju mikrovalova su kraće vrijeme reakcije, veća iskorištenja i jednostavniji postupci za pročišćavanje pripremljenog spoja. U reakcijama bez otapala uz mikrovalno zračenje znatno se smanjuje vrijeme reakcije, poboljšava konverzija i ponekad povećava selektivnost. Mikrovalno zračenje se koristi za

izvođenje kemijskih reakcija bez zagađivanja okoliša i zato se smatra "zelenom" tehnologijom.⁷

2.1.3. BIOLOŠKO DJELOVANJE DERIVATA KUMARINA

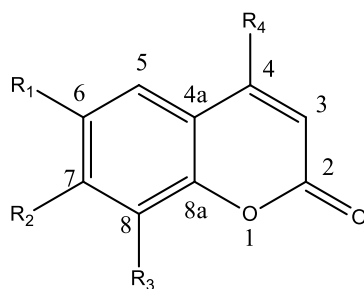
Kumarin i njegovi derivati privukli su mnogo pažnje zahvaljujući širokom spektru farmakoloških djelovanja. Neki od tih djelovanja su antitumorsko, antikoagulacijsko, protuupalno, antibakterijsko te anti-HIV djelovanje. U klinici se kumarinski derivati koriste kao antikoagulansi te u terapiji reumatoidnog artritisa. Važna su tema istraživanja zbog različitih učinaka na bolesti i manje štetnosti za normalne stanice. Njihovo fiziološko, bakteriostatsko, antioksidativno, antitumorsko djelovanje kao i sva ostala farmaceutska svojstva svrstavaju kumarine u novu klasu spojeva terapijske primjene.⁸

Od derivata kumarina najviše se ističu određeni alfatoksini koji pokazuju značajnu hepatotoksičnost i karcinogenost, dikumarol (slika 4.a) s antikoagulacijskim djelovanjem i novobiocin (slika 4.b) i kumermicin A (slika 4.c) s antibiotskom aktivnošću.³



Slika 4. Strukture a) dikumarol; b) novobiocin; c) kumermicin A

Velika strukturna raznolikost kumarinskih spojeva omogućuje mnoštvo različitih domena njihove primjene koje ovise o načinu supstitucije, odnosno vrsti supstituenta na kumarinu (slika 5.).⁹



Slika 5. Herniarin: R₁, R₃, R₄=H; R₂=OCH₃;

eskuletin: R₁, R₂=OH; R₃, R₄=H;

eskulin: R₁=6-glukozid; R₂=OH; R₃, R₄=H;

skopoletin: R₁=OCH₃; R₂=OH; R₃, R₄=H;

izoskopoletin: R₁=OH; R₂=OCH₃; R₃, R₄=H;

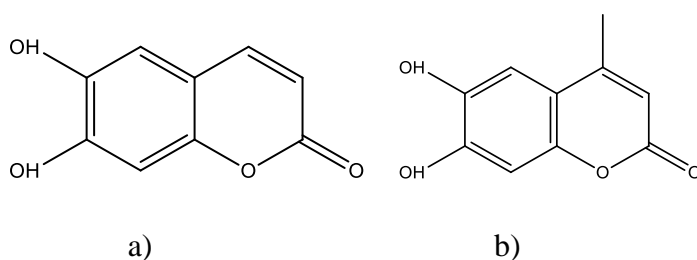
umbeliferon: R₁, R₃, R₄=H; R₂=OH;

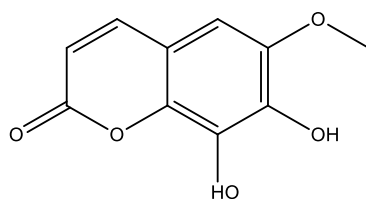
dihidroksumarin: R₁, R₂, R₃, R₄=H

2.1.3.1. Antioksidativna svojstva

Biljni ekstrakti koji sadrže derivate kumarina su se u povijesti često koristili kao biljni lijekovi, te se i danas istražuju zbog svojih bioloških svojstava. Istraživanja su pokazala da su kumarini vrlo aktivni pa tako kumarini s fenolnim hidroksilnim skupinama pokazuju sposobnost hvatanja slobodnih radikala, osobito reaktivnih kisikovih vrsta i često se koriste kao inhibitori ciklooksigenaze i lipoksigenaze u upalnom ciklusu. Mnoštvo kumarina utječe na srvaranje i hvatanje reaktivnih kisikovih (ROS) i dušikovih vrsta (RNS) i na taj način djeluju kao antioksidansi, što uključuje niz različitih molekularnih mehanizama djelovanja i vjerojatno je povezano s njihovom strukturnom sličnošću s flavonoidima i benzofenonima.³

Eskuletin, 4-metileskuletin i fraksetin (slika 6.) pokazuju aktivnost hvatanja slobodnih DPPH radikala. Antioksidans aurapten, koji je izoliran iz kore citrusa dokazano posjeduje kemopreventivni učinak na kemijski induciranu karcinogenezu. 7-hidroksikumarin je prirodni benzopiron, ljudski metabolit i ima važnu ulogu kao antioksidans u ljudskoj prehrani (voće i povrće).³





c)

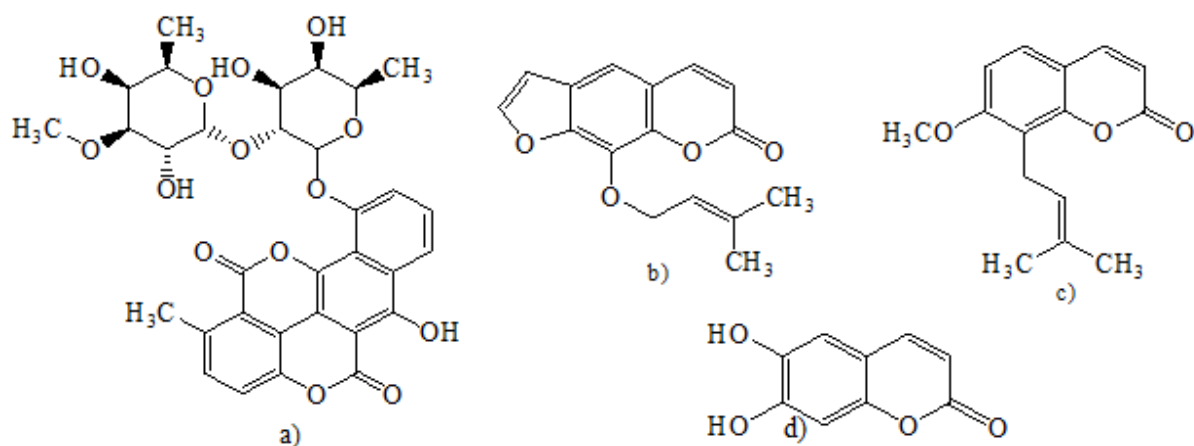
Slika 6. Strukture: a) eskuletin; b) 4-metileskuletin; c) fraksetin

2.1.3.2. Antikancerogeno djelovanje

Razna istraživanja su potvrdila da velika većina biljnih ekstrakata koji su se u povijesti koristili u medicinske svrhe sadrži visoke koncentracije kumarina. Kumarin i 7-hidroksikumarin inhibiraju proliferaciju mnoštva humanih staničnih linija *in vitro*, a pokazuju i aktivnost protiv nekoliko životinjskih tumora. Prema istraživanju, konzumacija namirnica koje sadrže kumarin pruža određenu zaštitu od inicijacije hepatokarcinogeneze uzrokovane aflatoksinom B1 u štakora. Studije o utjecaju kemijske strukture na biološku aktivnost kumarina su pokazale da dodatak kateholne skupine na osnovnu strukturu uzrokuje povećanu citotoksičnu aktivnost na stanice tumora.³

Kartreusin (slika 7.a) pokazuje antitumorsko svojstvo protiv mišje L1210, P388 leukemije i B16 melanoma. Kumarin i njegovi metaboliti pokazuju antitumorsku aktivnost na nekoliko linija stanica tumora kod ljudi. Pokazali su se kao inhibitori stanične proliferacije stanica želučanog karcinoma, a već je dokazana aktivnost kumarina protiv raka prostate, malignog melanoma i metastatskog renalnog staničnog karcinoma.³ Imperatorin (slika 7.b) pokazuje antikancerogeno djelovanje, ostol (slika 7.c) je učinkovit u inhibiranju migracije i invaziji stanica tumora dojke, eskuletin (slika 7.d) pokazuje antitumorsku aktivnost i smanjuje kultivirane primarne neurone od N-metil-D-aspartat toksičnosti.⁵ Osim što se mogu koristiti u liječenju raka, kumarini se mogu koristiti i u tretmanima ublažavanja nuspojava izazvanih radioterapijom. Kumarini bi također mogli naći primjenu u liječenju karcinoma bubrežnih stanica i kao dodatna kemijska terapija za melanom.³

Istraživanja su pokazala da 7-hidroksikumarin pokazuje antitumorsku i inhibicijsku aktivnost na aldoza-reduktazu i ksantin-oksidadazu.³



Slika 7. Neki od kumarina s antikarcenogenim djelovanjem:

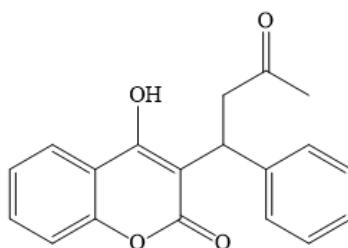
a) karteusin; b) imperatorin; c) ostol; d) eskuletin

2.1.3.3. Protuupalna svojstva i liječenje edema

Kumarin, također pokazuje sposobnost aktivacije makrofaga, pa postoji mogućnost upotrebe u tretmanima edema, osobito jer se kumarin pokazao dobrim u smanjenju oteklina nakon različitih trauma i bolesti, kod ljudi i životinja. Rezultati su pokazali da kombinacija kumarina i trokserutina ima povoljan učinak u liječenju upale žlijezde slinovnice i mukozitisa (upala sluznice usne šupljine).³

2.1.3.4. Antikoagulacijska aktivnost

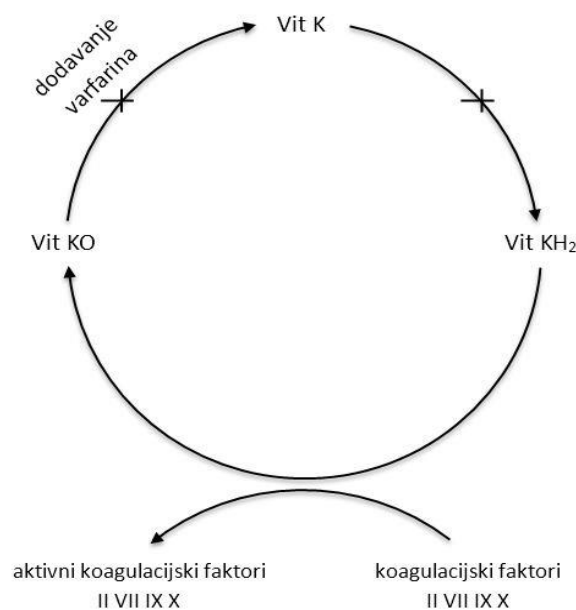
Vitamin K igra važnu ulogu u koagulaciji, odnosno zgrušavanju krvi. Struktura varfarina (slika 8.) slična je strukturi vitamina K te ima antikoagulacijska svojstva kao antagonist vitamina K. U prvotnoj upotrebi varfarin je služio kao otrov za suzbijanje štakora, od tada se koristi kao antikoagulans već 60 godina. Varfarin djeluje antikoagulacijski tako da u jetri inhibira stvaranje faktora koagulacije (II, VII, IX, X) koji su ovisni o vitaminu K.⁸



Slika 8. Varfarin

Da bi derivati kumarina bili djelotvorni antikoagulacijski agensi moraju γ -karboksilirati. Kumarini stvaraju svoj antikoagulacijski učinak inhibirajući ciklus pretvorbe

vitamina K čime stvaraju jetrene produkte djelomično karboksilnih i dekarboksilnih proteina sa smanjenom prokoagulacijskom aktivnosti. Reakcija karboksilacije zahtijeva reducirani oblik vitamina K (vitamin KH₂), molekularni kisik i ugljikov dioksid, i povezana je s oksidacijom vitamina KH₂ u epoksid vitamina K koji se prevodi u vitamin K1 u dva koraka reduktazom. Prvi, koji je osjetljiv na varfarin, reducira epoksid vitamina K u vitamin K1, dok drugi, relativno neosjetljiv na varfarin, reducira vitamin K1 u vitamin KH₂. Liječenje s kumarinima (varfarinom) dovodi do iscrpljivanja vitamina KH₂, čime se ograničava γ -karboksilacija vitamina K-ovisnih koagulacijskih proteina (shema 4.).⁵

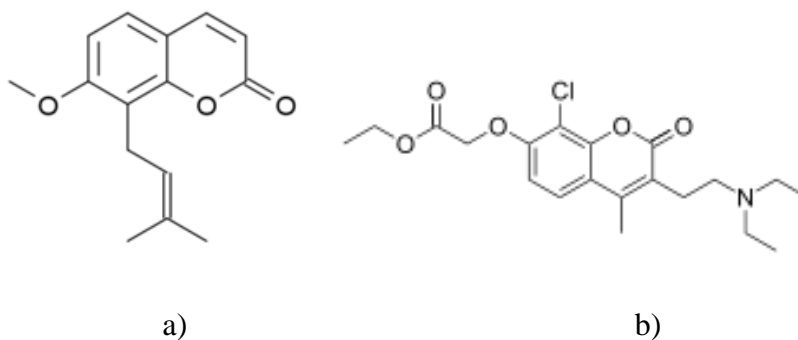


Shema 4. Mehanizam djelovanja varfarina kao antikoagulansa

2.1.3.5. Ostala biološka djelovanja

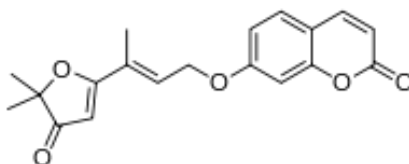
Prema istraživanjima kumarin smanjuje razinu glukoze u krvi. Istraživanja su pokazala da kumarin ne samo da inducira izoenzim aldo-ketoreduktaze koji sudjeluje u metabolizmu alfatoksina, nego i GSTA5 (glutatio S-transferaza alfa 5) i druge enzime koji metaboliziraju lijekove. Zbog imunomodulacijskih svojstava postoji mogućnost primjene u tretmanu bruceloze.³

Ostol (slika 9.a) inhibira agregaciju krvnih pločica, dok klorikromen (sintetički kumarin) (slika 9.b) inhibira agregaciju *in vivo* i *in vitro*, i izaziva vazodilataciju. Ostol sprječava progresiju hepatitisa C u hepatokarcinomu kod ljudi, a derivati ostola koji pokazuju topljivost u vodi veću nego sam ostol su nedavno predloženi za upotrebu kao hepatoprotektivni lijekovi.³



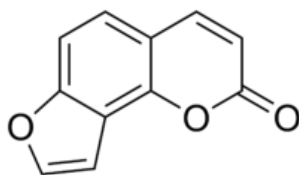
Slika 9. a) ostol; b) klorikromen

Određeni dimeri kumarina, osobito oni koji sadrže hidrofobne skupine, pokazali su se kao mogući inhibitori HIV-1-integaze, dok je 5,7,4'-trihidroksi-4-stirilumarin pokazao značajnu antivirusnu aktivnost protiv *Herpes simplex* virusa. Geiparvarin (slika 10.) pokazuje značajnu *in vitro* citostatsku aktivnost, a neki prirodni i sintetski kumarini su inhibitori kolinesteraze, što bi se moglo primijeniti u liječenju Alzheimerove, kao i Parkinsonove bolesti.³



Slika 10. Geiparvarin

Furanokumarini se koriste u fotokemoterapeutskim tretmanima za neke kožne bolesti, limfome i autoimune poremećaje. Biljke koje sadrže psoralen se stoljećima koriste za tretiranje vitiliga, kožne bolesti koju odlikuje nedostatak pigmentacije. Neki imaju farmakološka svojstva i bez zračenja te su se pokazali djelotvornim u liječenju depresije, a čini se i kao korisni lijekovi u tretmanima multiple skleroze, jer blokiraju kalijeve kanale. Angelicin (slika 11.) pokazuje antiupalna, antipiretička (za smanjenje tjelesne temperature) i citotoksična svojstva na humane KB stanične linije, kao i neki drugi kumarini, i antifungalno djelovanje (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* i *Cladosporium cucumerium*).³

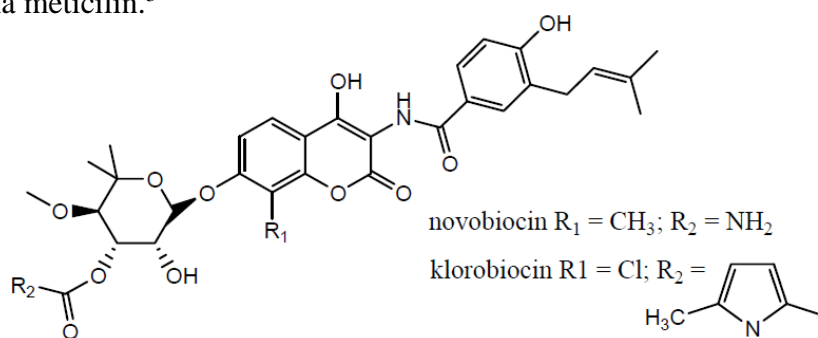


Slika 11. Angelicin

2.1.3.6. Upotreba u medicini

Zasad su neki kumarini, kao varfarin, acenokumarol, armilarizin A, himekromon i karbokromen odobreni za kliničku upotrebu. Eskulin je derivat kumarina koji se koristi u medicini, kao komponenta lijeka Proctosedyla, za tretiranje hemeroida i rektalnih lezija.³

Novobiocin i klorobiocin (slika 12.) su antibiotici prirodnog porijekla na bazi kumarina koji se ubrajaju u hidroksilirane kumarine, a inhibiraju DNA-girazu i pokazuju široki spektar aktivnosti prema Gram-pozitivnim bakterijama, uključujući i *Staphylococcus* vrste otporne na meticilin.³

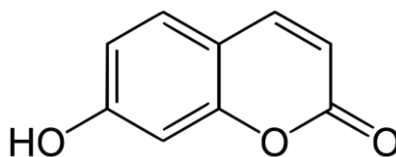


Slika 12. Struktura novobiocina i klorobiocina

Kumarin trenutno prolazi rana klinička ispitivanja vezana za liječenje limfoedema, raka dojke, karcinoma pluća i bubrega.³

2.2. 7-HIDROSIKUMARIN I NJEGOVI DERIVATI

7-hidroksikumarin (slika 13.), poznat još i kao umbeliferon, je široko rasprostranjen prirodni spoj iz kumarinske obitelji. To je žućkasto-bijela kristalinična krutina slabo topljiva u vodi, a dobro topljiva u etanolu. Nedostaje mu karakterističan miris kumarina ili bilo koji jaki miris.¹⁰



Slika 13. 7-hidroksikumarin

Snažno apsorbira ultraljubičasto svjetlo na nekoliko valnih duljina. Unatoč nekoliko indikacija da je fotomutagen, koristi se u kremama za sunčanje. Mnoga su istraživanja pokazala kako 7-hidroksikumarin ima jaka antioksidativna svojstva.¹⁰

Ime umbeliferon potječe iz Umbelliferae obitelji biljaka, a biljke su dobile naziv po svojim cvatovima koji izgledaju kao kišobrani.¹¹

Umbeliferon se pojavljuje u mnogim poznatim biljkama iz Apiaceae (Umbelliferae) obitelji, kao što su mrkva, korijander i vrtna angelika, kao i kod biljaka iz drugih obitelji poput velikolisne hortenzije (*Hydrangea macrophylla*, Hydrangeaceae). Također je pronađen i u *Justicia pectoralis* (Acanthaceae).¹¹

2.2.1. UV FLUORESCENCIJA 7-HIDROKSIKUMARINA

7-hidroksikumarin jako apsorbira pri 300, 305 i 325 nm, s logaritmom ϵ vrijednosti od 3,9, 3,95 i 4,15 te fluorescira plavo i u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra. Snažna apsorpcija na tri različite valne duljine, zajedno s činjenicom da se energija odvodi sigurno kao vidljiva svjetlost, čine ga korisnim u kremama za sunčanje. Apsorpcija se mijenja u alkalnoj otopini, budući da je fenolna hidroksilna skupina deprotonirana ($pK_a=7,7$).¹⁰

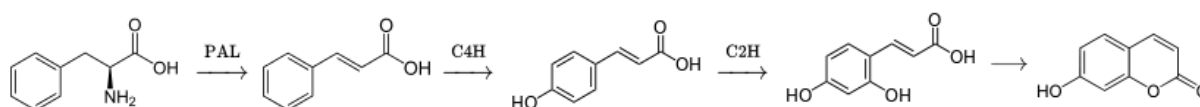
2.2.2. UPOTREBA 7-HIDROKSIKUMARINA

Ultraljubičasta aktivnost umbeliferona dovela je do njegove upotrebe kao sredstvo za zaštitu od sunca te kao optički pojačivač boje za tekstil. Može se koristiti kao indikator fluorescencije za metalne ione kao što su bakar i kalcij. Djeluje kao pH indikator u rasponu od 6,4-8,9.¹⁰

2.2.3. SINTEZA 7-HIDROKSIKUMARINA

2.2.3.1. Biosintetski put

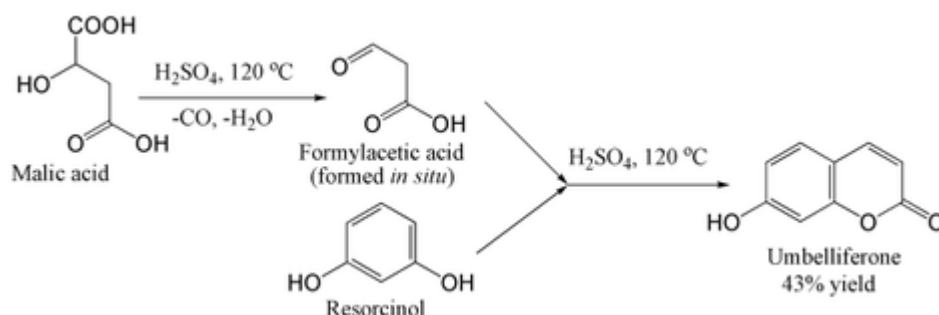
7-hidroksikumarin je fenilpropanoid i kao takav se sintetizira iz L-fenilalanina.. Fenilalanin lizira u cimetnu kiselinu nakon čega slijedi hidroksilacija do cinamat4-hidroksilaze kako bi se dobila 4-kumarinska kiselina. 4-kumarinska kiselina se ponovo hidroksilira pomoću cinamat/kumarat2-hidroksilaze kako bi se dobila 2,4-dihidroksicimetna kiselina uz što slijedi rotacija nezasićene veze u susjedstvu karboksilne skupine. Konačno, intramolekularnim napadom C2' hidroksilne skupine na karboksilnu kiselinu zatvara se prsten tvoreći laktonski umbeliferon (shema 5).¹²



Shema 5. Biosinteza 7-hidroksikumarina

2.2.3.2. Kemijski sintetski put

Umbeliferon se tradicionalno sintetizira Pechmannovom kondenzacijom iz rezorcinola i formilactene kiseline (dobivene iz jabučne kiseline *in situ*) (shema 6.). Novije sinteze uključuju metil-propionat te paladijev katalizator.¹³

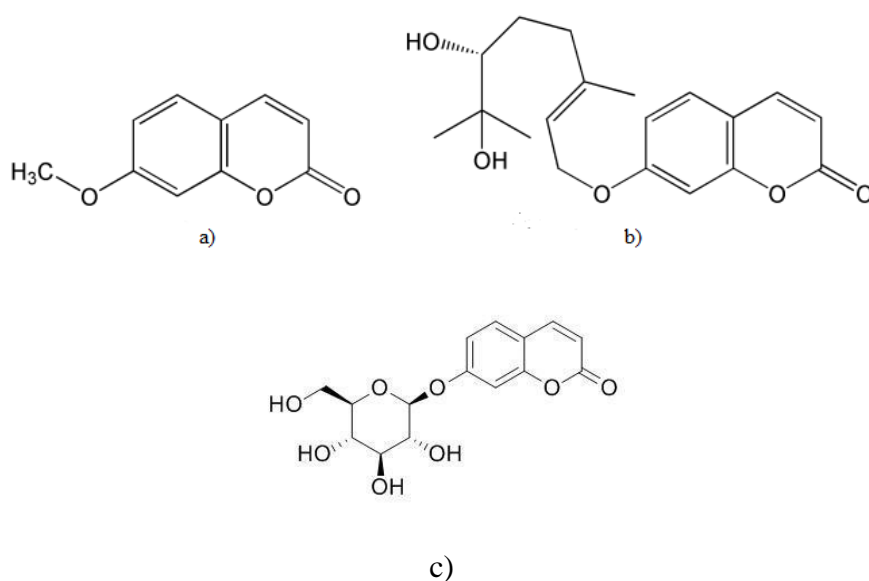


Shema 6. Pechmannova kondenzacija umbeliferona

2.2.4. DERIVATI 7-HIDROKSIKUMARINA

7-hidroksikumarin prisutan je u velikom broju prirodnih proizvoda. Herniarin (7-metoksikumarin) (slika 14.a) nalazi se u lišću vodene konoplje (*Eupatorium ayapana*) i sitnici (*Herniaria*). *O*-glikozidni derivati kao što je skimin (slika 14.c) javljaju se u prirodi, a koriste se za fluorimetrijsko određivanje enzima glikozid-hidrolaze. Izoprenilirani derivati također su široko rasprostranjeni, poput marmina (nalazi se u koži grejpa i kori Bael stabla) (slika 14.b) i furanokumarina poput marmesina, angelicina i psoralena.¹¹

7-apiozilglukozid umbeliferon može se izolirati iz korijena *Gmelina arborea*.¹⁴



Slika 14. a) herniarin; b) marmin; c) skimin

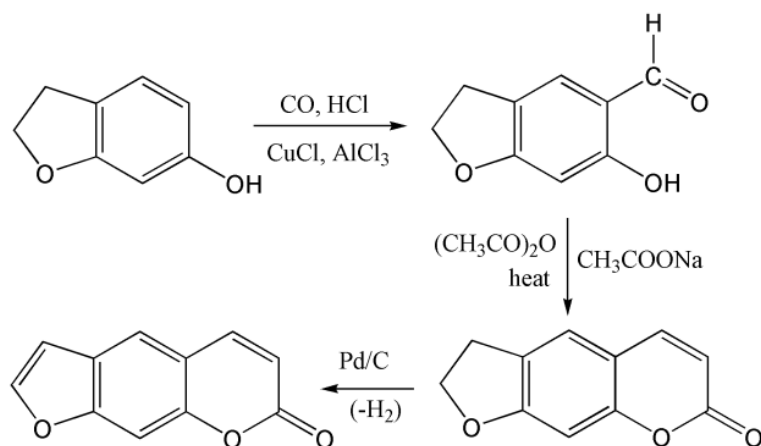
2.2.4.1. Biološka djelovanja derivata 7-hidroksikumarina

Eskulin (slika 15.a) je kumarinski glikozid koji se nalazi u divljem kestenu i kavi maslačka. Kao lijek ponekad se koristi kao vazoprotektivno sredstvo. Također se koristi u mikrobiološkim laboratorijima za pomoć u identifikaciji bakterijskih vrsta (naročito *Enterococci* i *Listeria*). Zapravo, svi sojevi skupina D *Streptococci* hidroliziraju eskuletin u 40% žuči.¹⁵

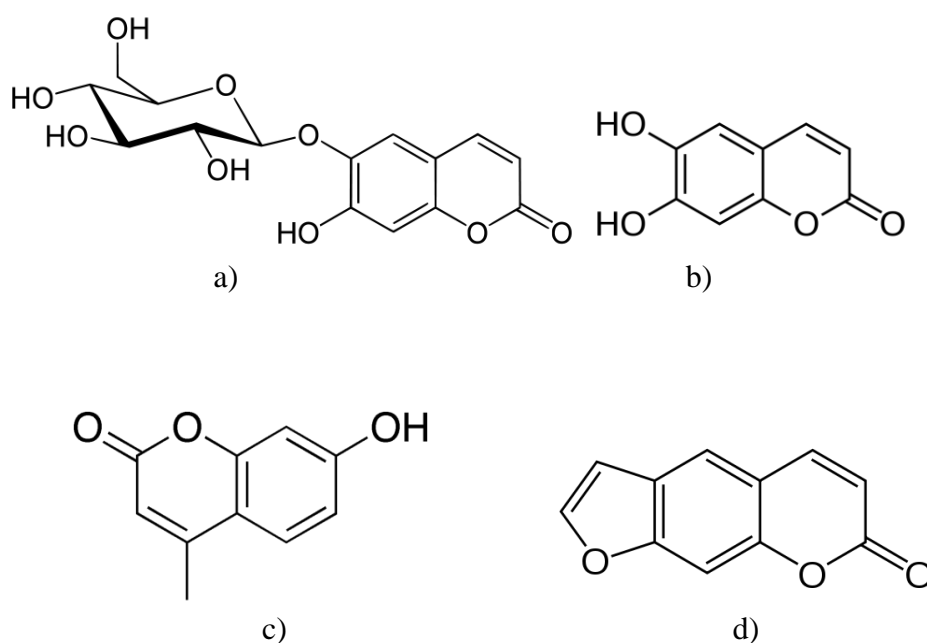
Eskuletin (6,7-dihidroksikumarin) (slika 15.b) je kumarinski derivat, prirodni lakton koji nastaje intramolekulskom ciklizacijom derivata cimetine kiseline. Prisutan je u cikoriji te u mnogim otrovnim i ljekovitim biljkama, u obliku glikozida i konjugata kafeinske kiseline.¹⁶ Pripravci koji sadrže eskuletin mogu imati antikoagulacijsko djelovanje i mogu međudjelovati s antikoagulacijskim lijekovima kao što je varfarin. Ovaj spoj se koristi u nekim kremama za sunčanje, ali postoje dokazi da djeluje kao fotosenzibilizator za oštećenje DNA. Natrijeva sol njegovog metilnog derivata koristi se u dermatologiji za liječenje proširenih vena.¹⁷

Himekromon (4-metilumbeliferon) (slika 15.c) je lijek koji se koristi u terapiji žuči. Koristi se kao antispazmolitički lijek te kao standard za fluorimetrijsko određivanje enzimske aktivnosti.

Psoralen (slika 15.d) spada u skupinu furanokumarina te se može smatrati derivatom umbeliferona. U prirodi se nalazi u sjemenkama *Psoralea corylifolia*, kao i u smokvi, celeru, peršinu te svim agrumima. Naširoko se koristi u PUVA (psoralen + UVA) terapijama za liječenje psorijaze, ekcema, vitiliga i kožnog limfoma T-stanica. Psoralen plus UVA terapija pokazala je značajnu kliničku djelotvornost, no nuspojava tog liječenja je veći rizik od raka kože.¹⁸ Psoralen je također preporučan za liječenje alopecije. Unatoč fotokarcinogenim svojstvima korišten je kao aktivator tamnjenja u kremama za sunčanje sve do 1996. godine.¹⁹ Dodatna upotreba psoralena je za inaktivaciju patogena u krvi.²⁰ Psoralen je teško sintetizirati zbog činjenice da umbeliferon podliježe supstituciji na položaju 8, a ne na željenom položaju 6. Benzofuran preferencijalno reagira na furanskom prstenu, a ne benzenskom. Međutim, 7-hidroksilni derivat 2,3-dihydrobenzofurana (također nazvan kumaran) podložan je supstituciji na željenoj položaju 6 te omogućava sintezu kumarinskog skeleta putem Gattermann-Koch reakcije uz Perkinovu kondenzaciju upotrebom anhidrida octene kiseline. Sinteza se završava dehidrogenacijom peteročlanog prstena uz dobivanje furanskog prstena (shema 7.).¹²



Shema 7. Sinteza psoralena



Slika 15. a) eskulin; b) eskuletin; c) himekromon; d) psoralen

2.3. Pd- KATALIZIRANE REAKCIJE

Paladijevi spojevi koriste se kao katalizatori, obično kao homogeni katalizatori u mnogim reakcijama unakrsnog povezivanja. U neoptimiranim reakcijama obično se koristi 10-15 mol% paladija, dok u optimiranim od 0,1 mol%. Paladij lako veže vodik na sobnoj temperaturi formirajući paladijev hidrid- PdH_x , sa 'X' manjim od jedan. Iako je ovo svojstvo često kod mnogih prijelaznih metala, paladij je jedinstven zbog visoke moći apsorpcije, a da pri tom ne gubi duktilnost sve do enormno visokih vrijednosti. Također se smatra jeftinim materijalom za pohranu vodika.²¹

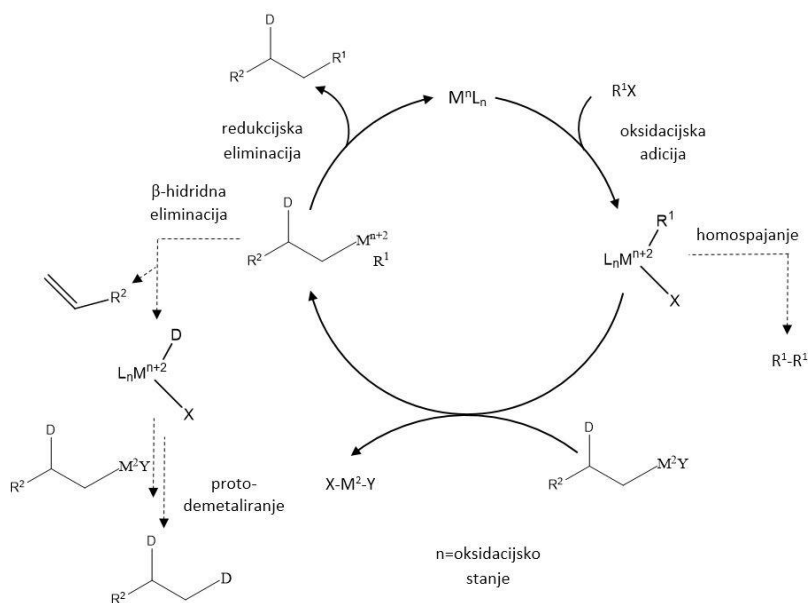
Paladij se koristi kao katalizator u kemijskim reakcijama zbog svoje elektronegativnosti što dovodi do relativno jake Pd-H i Pd-C veze. Također, omogućuje polariziranu Pd-X vezu. Osim toga, paladij omogućuje jednostavan pristup Pd(II) i Pd(0) oksidacijskim stanjima bitnima za procese kao što su oksidativna adicija, transmetaliranje i reduktivna eliminacija. Mnogi su znanstvenici razvijali paladijem katalizirane reakcije unakrsnog povezivanja pa tako reakcije nose njihova imena: Heckova reakcija, Suzukijeva reakcija, Fukuyama povezivanje, Sonogashira povezivanje, Negishi povezivanje, Hiyama povezivanje, Stilleova reakcija te Buchwald- Hartwig aminacija (slika 16.).²¹



Slika 16. Vrste Pd- kataliziranih reakcija

Reakcije unakrsnog povezivanja uz metalni katalizator se odvijaju u tri organometalna stupnja: oksidativna adicija na elektrofilnoj ugljik-heteroatom vezi u nižu valenciju prijelaznog metala (Pd(II) prelazi u Pd(0)), transmetaliranje ili zamjena heteroatom odlazeće skupine nukleofilom i reduktivna eliminacija uz stvaranje nove C-C veze (shema 8.). Reakcija uz C(sp³) elektrofil rezultira sporijom oksidativnom adicijom, što se smatra jednakim nukleofilnoj supstituciji (SN2) s Pd-kompleksom ili prirodnim radikalom s Ni^{20,21} ili Fe^{22,23}.²²

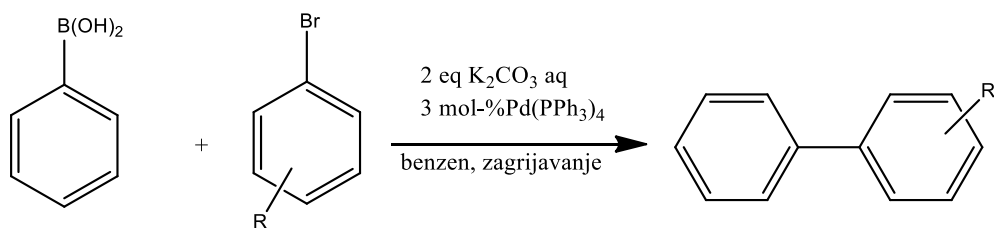
Dokazano je da se ovakvim reakcijama, inter- i intramolekulskim hidroariliranjem C-C trostruke veze s jednostavnim arenima u prisustvu Pd ili Pt katalizatora, mogu sintetizirati kumarini.²³



Shema 8. Mehanizam organometalnih reakcija

2.3.1. SUZUKIJEVA I SUZUKI-MIYAURAININA REAKCIJA

Od otkrića Ulmannove reakcije, reakcije unakrsnog povezivanja katalizirane metalima igraju važnu ulogu u stvaranju C-C veza. 1981. god. Suzuki je pronašao novu Pd- kataliziranu reakciju unakrsnog povezivanja aril-borne kiseline i aril-halida (shema 9.) za koju je dobio i Nobelovu nagradu. Reakcija je postala nezaobilazan postupak sinteze biarila, koji imaju raznolik spektar primjene, od razvoja novih lijekova do znanstvenih materijala.²¹

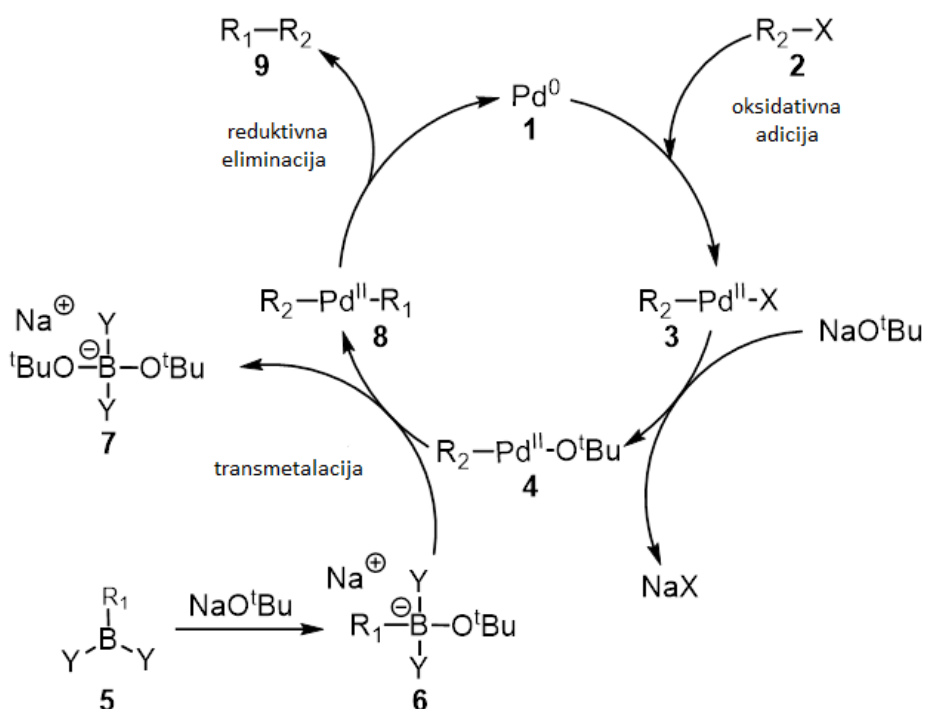


Shema 9. Prva objavljena Suzukijeva reakcija organoborne kiseline i halida

Noviji katalizatori i metode uvelike su proširile mogućnosti primjene tako da reakcija nije više ograničena samo na arile, već obuhvaća i alkilne, alkenilne i alikilne spojeve. Kalij-trifluorborat i organoborani ili boratni esteri mogu se koristiti umjesto borne kiseline, a kao sredstvo za vezanje mogu se koristiti i neki pseudohalidi.²¹

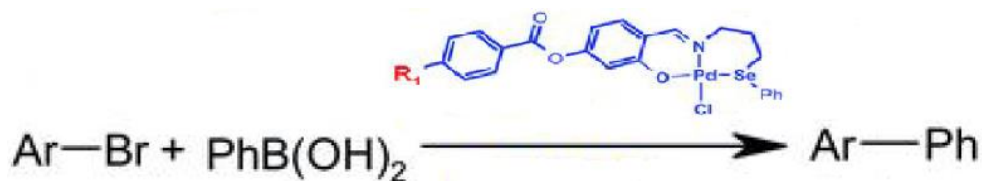
Mehanizam Suzukijeve reakcije najbolje je sagledati iz perspektive katalizatora. Prvi korak je oksidativna adicija paladija na halid (2) kako bi se formirala organopaladijeva specija (3). Reakcija s bazom daje intermedijer (4) koji transmetaliranjem s kompleksom borata (6)

(dobiven reakcijom borne kiseline (5) s bazom) formira organopaladijevu speciju (8). Reduktivnom eliminacijom željenog produkta (9) obnavlja se izvorni paladijev katalizator (shema 10.). Reakcija se odvija u prisutnosti baze.²⁴



Shema 10. Mehanizam Suzukijeve reakcije

Suzuki-Miyauraino unakrsno povezivanje arilnih halida s organobornim kiselinama važno je za sintetsku organsku kemiju. Široki spektar paladijevih kompleksa s različitim ligandima može se koristiti kao katalizator ove reakcije. Rezultati ukazuju na povezanost duljine alkilnog lanca liganda i katalitičke učinkovitosti (shema 11.).²¹

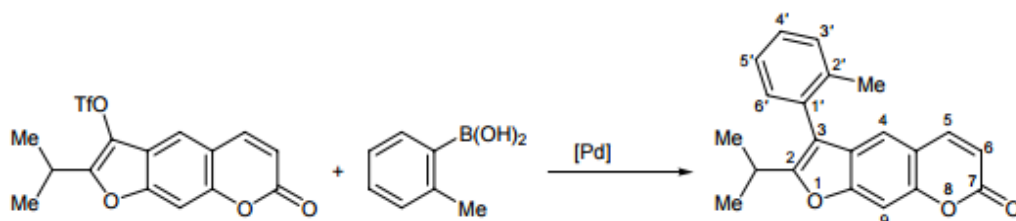


Shema 11. Pd-katalizator korišten u Suzuki-Miyaurainoj reakciji

R₁ = OMe; iskorištenje: 29%

R₁ = OC₁₈H₃₇; iskorištenje: 95%

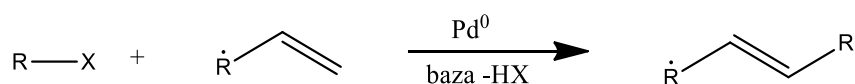
Kao primjer Suzukijeve reakcije pri sintezi derivata kumarina može se navesti unakrsno povezivanje oreoselon trifluormetansulfonata s *o*-toliboronskom kiselinom. Reakcija se provodi u acetonitrilu u prisutnosti PdCl₂ i K₃PO₄ kao katalizatora. Iskorištenje reakcije iznosi 35% (shema 12.).²⁵



Shema 12. Primjer sinteze derivata kumarina Suzukijevom reakcijom

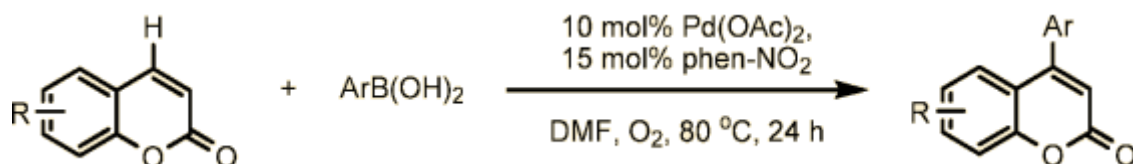
2.3.2. HECKOVA REAKCIJA

Heckova reakcija (shema 13.) je kemijska reakcija nezasićenog halida (ili triflata) s alkenom u prisutnosti baze i Pd- katalizatora kako bi se formirao supstituirani alken. Reakcija se izvodi u prisutnosti organopaladijevih katalizatora. Halid (Br, Cl) ili triflat je arilni, benzilni ili vinilni dok alken sadrži najmanje jedan vodik, često s manjkom elektrona, poput akrilatnog estera ili akrilonitrila. Katalizator može biti tetrakis(trifenilfosfin) Pd(0), paladijev klorid ili paladijev(II) acetat. Ligand je trifenilfosfin ili BINAP. Baze mogu biti trietilamin, kalijev karbonat ili natrijev acetat.²⁶



Shema 13. Heckova reakcija

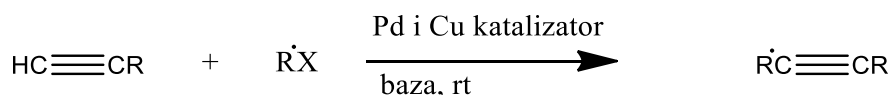
Reakcija se koristi u sintezi rhazinala koji je obećavajuće polazište za razvoj antikarcenogenih spojeva.²⁶



Shema 14. Primjer sinteze derivata kumarina Heckovom reakcijom

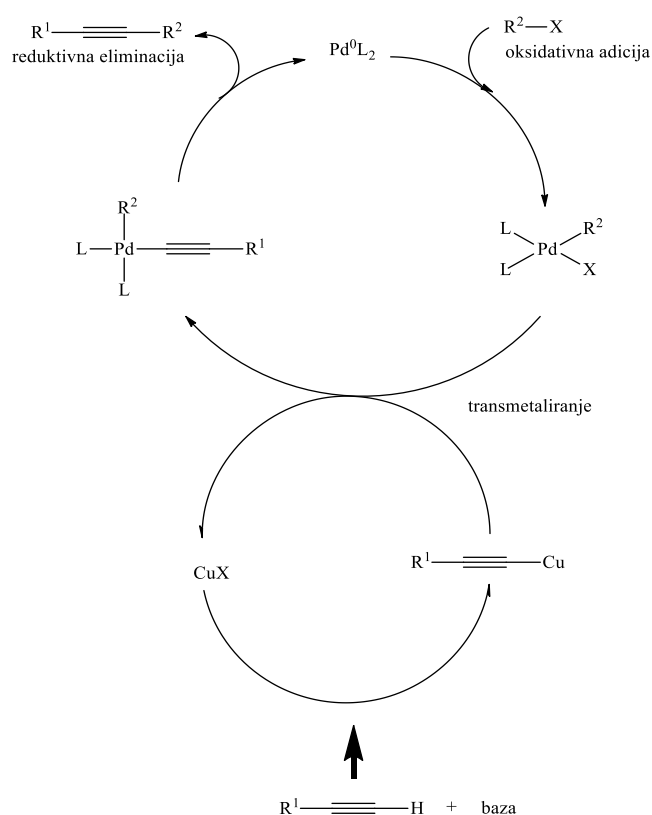
2.3.3. SONOGASHIRINA REAKCIJA

Sonogashirina reakcija je reakcija unakrsnog vezanja koja se koristi u organskoj sintezi za formiranje veze ugljik- ugljik. Reakcija koristi paladij kao katalizator, čime se formira C-C veza između terminalnog alkina i arilnog, odnosno vinilnog halida (shema 15.).²¹



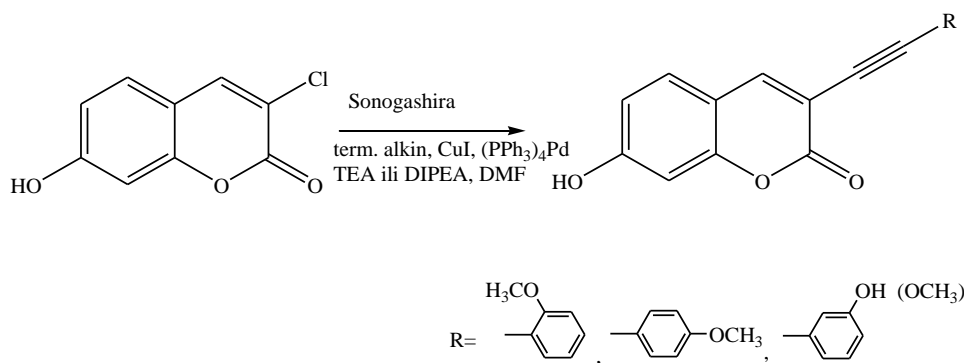
Shema 15. Sonogashirina reakcija

Mehanizam Sonogashirine reakcije (shema 16.) temelji se na tri osnovna stupnja: oksidativna adicija, transmetaliranje i reduktivna eliminacija, s time da nije u potpunosti razjašnjen. U prvom se stupnju na $\text{Pd}(0)\text{L}_2$ kompleks ($\text{L} =$ ligand) adira nezasićeni arilni ili vinilni halogenid, pri čemu nastaje planarni $\text{Pd}(\text{II})$ kompleks. Adicija je olakšana ako je smanjena elektronska gustoća na vezi $\text{C}-\text{X}$ organohalogenida R^2-X zbog prisutnih elektronodvlačećih supstituenata. U drugom stupnju dolazi do transmetaliranja nastalog paladijevog intermedijara. Dodatkom CuI dolazi do aktiviranja alkina, pri čemu nastaje bakrov acetilid koji reagira s paladijevim intermedijarom pri čemu nastaje kompleks paladija i alkina. Nakon reduktivne eliminacije regenerira se $\text{Pd}(0)\text{L}_2$ kompleks i izolira supstituirani alkin.²⁷



Shema 16. Mehanizam Sonogashirine reakcije

Reakcija se zbog svojih mogućnosti u formiranju $\text{C}-\text{C}$ veze koristi u raznim područjima. Reakciju se može provesti u blagim uvjetima, primjerice na sobnoj temperaturi, u vodenom mediju i uz blagu bazu što omogućuje njezinu uporabu u sintezama kompleksnih molekula. Primjene Sonogashirine reakcije uključuju sintezu lijekova, prirodnih spojeva, organskih materijala i nanomaterijala Također se primjenjuje pri sintezi tazarotena koji se koristi za liječenje psorijaze i akni te u pripremi altiniclina koji je potencijalni lijek za Parkinsonovu i Alzheimerovu bolest, Touretteov sindrom, shizofreniju i poremećaja nedostatka pažnje s hiperaktivnošću (ADHD).²⁸



Shema 17. Primjer sinteze derivata kumarina Sonogashirinom reakcijom

2.4. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA I FLUORESCENCIJA

Izraz spektroskopija s povijesnog se gledišta odnosi na granu znanosti koja se bavila vidljivim zračenjem razlučenom u komponente, valne duljine, koje tvore spektar. Tijekom vremena se značenje spektroskopije proširilo, pa uz proučavanje svjetlosti uključuje i druge vrste elektromagnetskog zračenja kao što su X-zrake, ultraljubičasto, infracrveno, mikrovalno i radiofrekvencijsko zračenje.²⁹

2.4.1. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA

Apsorpcija ultraljubičastog i vidljivog zračenja općenito se pokazuje u obliku jedne elektronske apsorpcijske vrpce ili više njih, od kojih je svaka građena od velikog broja blizu smještenih, ali odvojenih linija. Svaka linija rezultat je prijelaza elektrona iz osnovnog u jedno od mnogih vibracijskih i rotacijskih energijskih stanja povezanih sa svakim pobuđenim elektronskim energijskim stanjem. Zbog mnogo postojećih vibracijskih i rotacijskih energijskih stanja te neznatnih međusobnih razlika njihovih energija, broj linija koje obuhvaća tipična vrpca vrlo je velik, a njihov međusobni razmak minimalan. Za apsorpciju UV i VIS zračenja u organskim molekulama odgovorne su dvije vrste elektrona: zajednički (podijeljeni) elektroni koji izravno sudjeluju u stvaranju veze, te su stoga pridijeljeni više nego jednom atomu i nepodijeljeni vanjski elektroni koji su uglavnom smješteni oko atoma (kisik, halogeni elementi, sumpor i dušik).²⁹

Valne duljine pri kojima organska molekula apsorbira ovise o jakosti kojom su vezani njezini različiti elektroni. Tako u jednostrukim vezama pobuđivanje elektrona zahtijeva energije koje odgovaraju valnim duljinama ispod 180 nm (budući da se radi o vakuumskom ultraljubičastom području spektri jednostrukih veza nisu široko korišteni zbog eksperimentalnih poteškoća pri radu). U dvostrukim ili trostrukim vezama organski spojevi imaju upotrebljive apsorpcijske maksimume u dostupnom ultraljubičastom području

(elektroni u nezasićenim vezama relativno su slabo vezani te se lako pobuđuju). Nezasićene organske funkcionalne skupine koje apsorbiraju u ultraljubičastom i vidljivom području nazivaju se kromoforima.³⁰

Intenzitet elektromagnetskog zračenja I_0 smanjuje se prolaskom kroz otopinu ili bilo koje drugo sredstvo koje može apsorbirati zračenje. Smanjenje intenziteta ovisi o koncentraciji tvari (c) koja apsorbira zračenje, o debljini sloja, svjetlosnom putu kroz uzorak (b) i molarnom apsorpcijskom koeficijentu (specifičnom za svaku tvar, promjenjiv s valnom duljinom). Odnos intenziteta zračenja prije i poslije prolaska kroz uzorak definirali su Lambert, Beer i Bourguer zakonom apsorpcije elektromagnetskog zračenja. Izraz $\log \frac{I_0}{I}$ znan je kao apsorbancija, (u nekoj literaturi i kao optička gustoća), a prikazuje se s A .²⁹

$$\log \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot b = A$$

I_0 = intenzitet zračenja ulazne zrake

I = intenzitet zračenja izlazne zrake

ε = molarni apsorpcijski koeficijent

c = molarna koncentracija otopine

b = debljina uzorka (cm)

A = apsorbancija

2.4.2. FLUORESCENCIJA

Fluorescencija je emisijski proces u kojemu se atomi ili molekule pobuđuju apsorpcijom snopa elektromagnetskog zračenja, nakon čega se pobuđene vrste potom relaksiraju u osnovno stanje otpuštanjem suviška svoje energije u obliku fotona. Vrijeme života pobuđene vrste je kratko, zbog postojanja nekoliko načina koji omogućuju ekscitiranom atomu ili molekuli otpuštanje suviška energije te relaksaciju u osnovno stanje. Dva najvažnija načina su relaksacija bez pojave zračenja te fluorescencijska relaksacija. Kako zapravo sve molekule koje apsorbiraju posjeduju mogućnost fluoresciranja, većina ih ipak ne fluorescira jer njihova struktura omogućuje relaksaciju bez pojave zračenja, a koja je brža od fluorescencijske emisije.²⁹

Spojevi koji sadrže aromatske prstenove daju najintenzivnije i najupotrebljivije molekulske fluorescencijske emisije. Većina nesupstituiranih aromatskih ugljikovodika fluorescira u otopini, uz povećanje kvantnog iskorištenja s povećanjem broja prstenova i

stupnjem njihove kondenzacije. Supstitucija na aromatskom prstenu uzročnik je pomaka u valnim duljinama apsorpcijskih maksimuma i odgovarajućih promjena fluorescencijskih maksimuma. Supstitucija često utječe na fluorescencijsku djelotvornost kao i krutost strukture, utjecaj otapala i temperatura. Krutost molekula pogoduje fluorescenciji jer smanjuje brzinu relaksacije bez pojave zračenja do stupnja u kojem ima dovoljno vremena za relaksaciju fluorescencije. Djelotvornost fluorescencije smanjuje se s povišenjem temperature jer povećana frekvencija sudara s povišenim temperaturama pogoduje vjerojatnosti kolizijske relaksacije. Djelotvornost fluorescencije također se smanjuje i smanjenjem viskoznosti otapala.²⁹

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. OPĆE NAPOMENE

Sva korištena otapala sušena su i pročišćavana prema preporučenom postupku sušenja agensima i/ili destiliranjem preko molekulskih sita veličine 3Å.

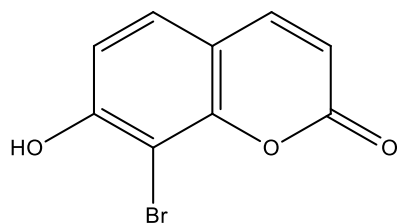
Tijek svake od reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silikagela *Merck* u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenti korištena je UV-svjetlost valne duljine 254 nm i 365 nm.

Kromatografija na koloni provedena je na silikagelu Fluka (0,063-0,2 nm). Staklene kolone punjene su pod utjecajem gravitacije, a kao eluens je korišten čisti diklormetan, odnosno smjesa diklormetan : metanol u odgovarajućem omjeru.

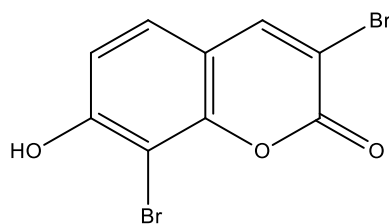
Spektri ^1H i ^{13}C -NMR su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO- d_6 i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u ^1H -NMR spektru izraženi su u jedinicama ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS, $\delta=0,0$ ppm), a konstanta sprege (J) u Hercima (Hz). Pojedinačne rezonancije asignirane su temeljem njihovih kemijskih pomaka, intenziteta i multipliciteta signala, te konstanti sprege H-H.

UV/VIS spektri snimljeni su na Varian Cary 50 spektrofotometru. Fluorescencijski emisijski spektri snimljeni su na Cary Eclipse spektrofotometru. U oba slučaja korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm i volumena 3 cm³.

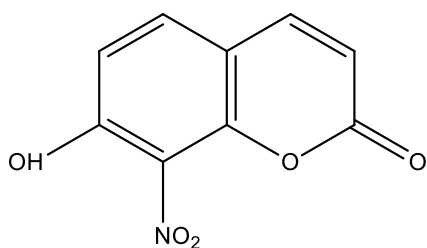
3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA



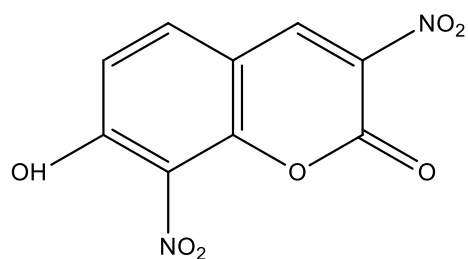
1



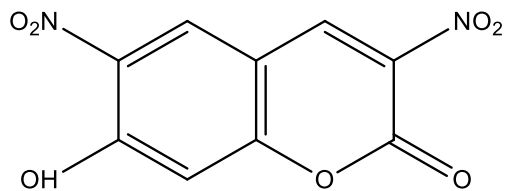
2



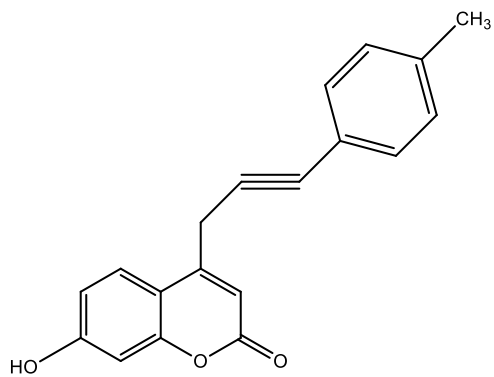
3



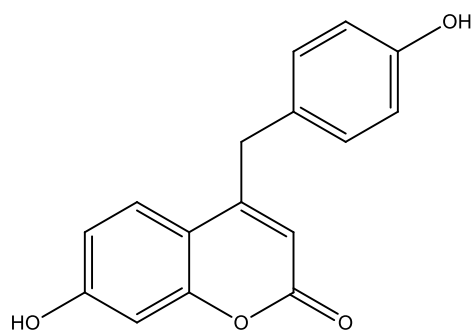
4



5



6



7

3.3. PRIPRAVA SPOJEVA

3.3.1. 8-BROM-7-HIDROSIKUMARIN (1) I 3,8-DIBROM-7-HIDROSIKUMARIN (2)

U otopinu kumarina (1,0 g, 0,006 mol) u etanolu (15 mL) dokapavana je otopina cerij-amonij nitrata (CAN, 4,932 g, 0,009 mol) i KBr-a (2,5982 g, 0,022 mol) u 15 mL vode. Reakcijska je smjesa miješana na sobnoj temperaturi dva sata, nakon čega je tankoslojnom kromatografijom praćen tijek napredovanja reakcije. Nakon završetka reakcije, otapalo je upareno pod sniženim tlakom, a dobiveni produkt pročišćavan kromatografijom na koloni ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{OH} = 50:1 ; 30:1 ; 20:1$) pri čemu su izolirani spojevi **1** i **2**.

3.3.2. 7-HIDROKSI-8-NITROKUMARIN (3), 7-HIDROKSI-3,8-DINITROKUMARIN (4) I 7-HIDROKSI-3,6-DINITROKUMARIN (5)

7-hidroksikumarin (3,0 g, 0,0185 mol) otopljen je u koncentriranoj sumpornoj kiselini (5,6 mL). U tu je otopinu, pri temperaturi do 5°C , dokapavana smjesa sumporne i nitratne kiseline ($\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{HNO}_3 = 5 : 4$). Reakcijska smjesa je miješana oko sat vremena na temperaturi nižoj od 5°C , a tijekom reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom. Nakon završetka reakcije smjesa je izlivena u hladnu vodu, a nastali talog odfiltriran i ispiran vodom, pri čemu su dobiveni spojevi **3**, **4** i **5**.

3.3.3. 7-HIDROKSI-4-(3-(*p*-TOLIL)PROP-2-IN-1-IL)-2*H*-KROMEN-2-ON (6)

Reakcijska smjesa 7-hidroksi-4-klormetil-2*H*-kromen-2-ona (300 mg, 1,44 mmol), 4-etiniltoluena (2,16 mmol, 0,27 mL), bakrovog (I) jodida (54,8 mg, 0,288 mmol), tetrakistrifenilfosfin paladija ($(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$) (166,3 mg, 0,144 mmol), trietilamina (0,40 mL, 2,88 mmol) u dimetilformamidu (10 mL) miješana je na sobnoj temperaturi 24 sata. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku. Sirovi produkt pročišćavan je kromatografijom na koloni (CH_2Cl_2 , zatim $\text{CH}_2\text{Cl}_2 : \text{CH}_3\text{OH} = 60:1$) pri čemu je izoliran spoj **6**.

3.3.4. 7-HIDROKSI-4-(4-HIDROKSIBENZIL)-2H-KROMEN-2-ON (7)

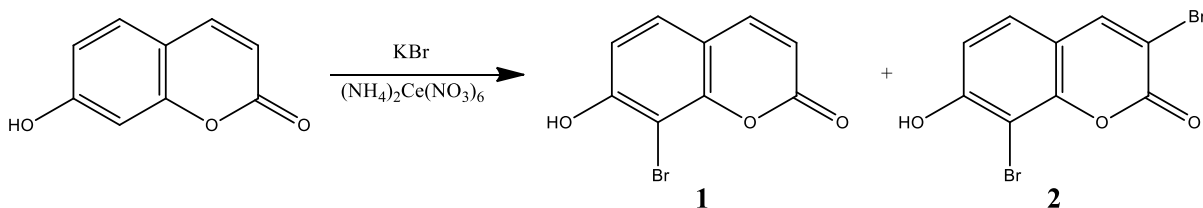
Reakcijska smjesa 7-hidroksi-4-klormetil-2H-kromen-2-ona (300 mg, 1,44 mmol), (4-hidroksifenil)borne kiseline (396,9 mg, 2,88 mmol), natrijevog karbonata (457 mg, 4,32 mmol), tetrakistrifenilfosfin paladija ((PPh₃)₄Pd) (166,3 mg, 0,144 mmol), u dimetilformamidu (5mL) i vodi (1mL) miješana je na sobnoj temperaturi 24 sata. Tijek reakcije je praćen tankoslojnom kromatografijom. Nakon završetka reakcije otapalo je upareno pri sniženom tlaku. Sirovi produkt pročišćavan je kromatografijom na koloni (CH₂Cl₂, zatim CH₂Cl₂ : CH₃OH= 60:1) pri čemu je izoliran spoj **7**.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. SINTEZA SPOJEVA

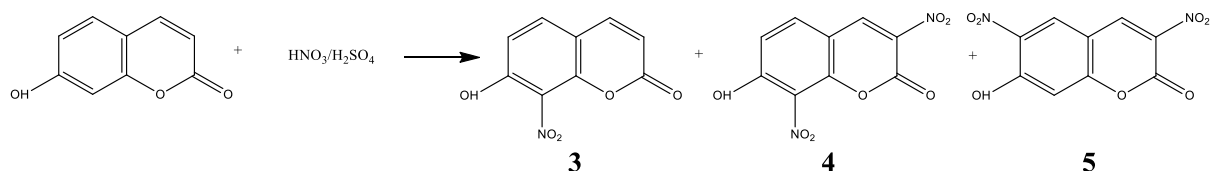
U ovom radu sintetizirani su derivati kumarina paladijem kataliziranim reakcijama.

Reakcijom bromiranja 7-hidroksikumarina u prisustvu KBr-a i cerijevog amonijevog nitrata (CAN, (NH₄)₂Ce(NO₃)₆) u vodi, pripremljeni su spojevi **1** i **2** (shema 1.) pri čemu je brom u spoju **1** uveden na benzenski dio kumarinskog prstena u položaj 8, a u spoju **2** u položaje 3 i 8. Mehanizam reakcije je radikalni, pri čemu CAN prelazi iz (NH₄)₂Ce^{IV}(NO₃)₆ u (NH₄)₂Ce^{III}(NO₃)₅ te stvara radikal broma koji se veže na kumarinski prsten.



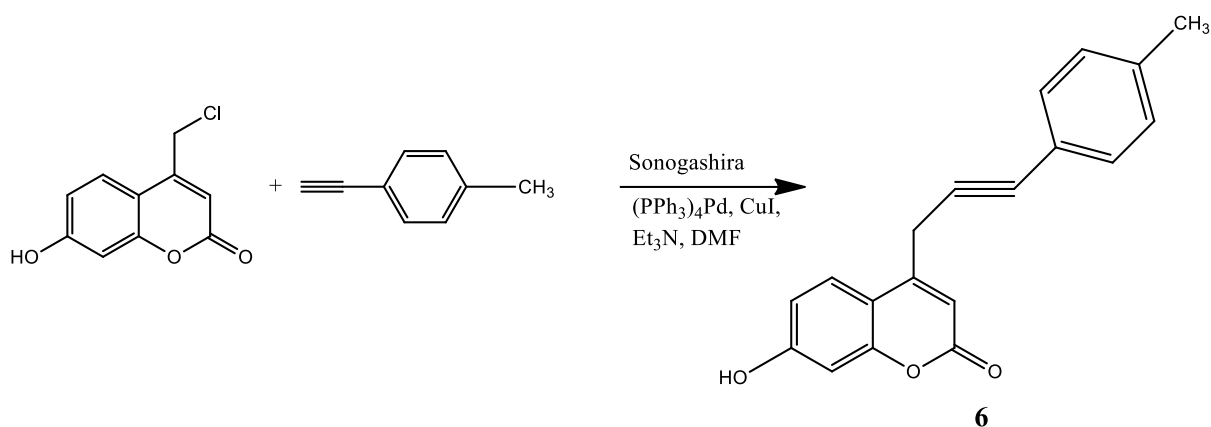
Shema 1. Sinteza spojeva **1** i **2** reakcijom bromiranja

Reakcijom nitriranja 7-hidroksikumarina pomoću smjese nitratne i sumporne kiseline (H₂SO₄ : HNO₃ =5:4) pripremljeni su spojevi **3**, **4** i **5** (shema 2.), s nitro skupinom na položajima 3, 6 i 8 kumarinskog prstena. Reakcija je elektrofilna aromatska supstitucija pri čemu je –NO₂⁺ elektrofil.



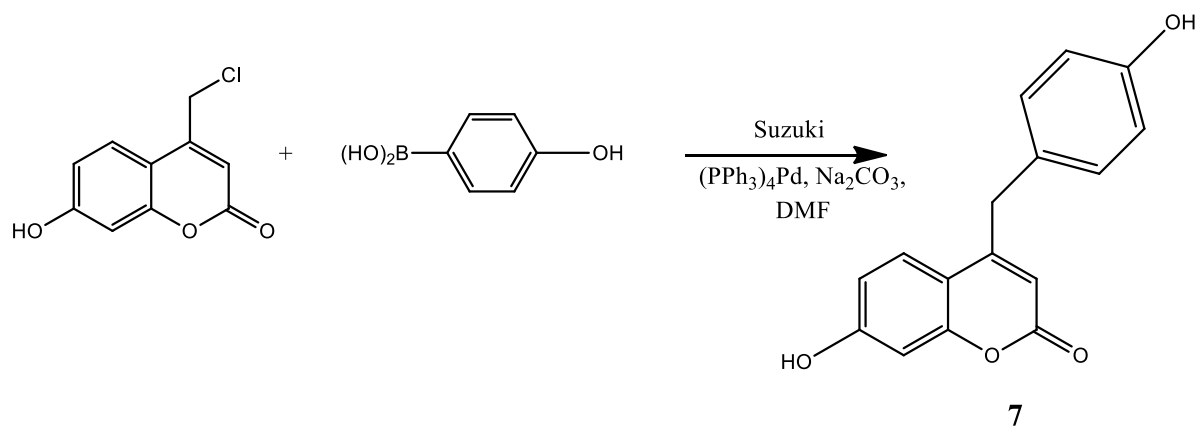
Shema 2. Sinteza spojeva **3**, **4** i **5** reakcijom bromiranja

Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 7-hidroksi-4-klormetil-2*H*-kromen-2-ona i 4-etiniltoluena uz tetrakistrifenilfosfinpaladij $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$ kao katalizator, bakrov(I)jodid CuI kao kokatalizator, Et_3N kao bazu u DMF-u pripravljen je spoj **6** (shema 3.) supstituiran u položaju 4 kumarinskog prstena (4-metilfenil)etinilmetilenskim supstituentom.



Shema 3. Sonogashira-ina reakcija sinteze spoja **6**

Suzuki-jevom reakcijom 7-hidroksi-4-klormetil-2*H*-kromen-2-ona i (4-hidroksifenil)borne kiseline uz tetrakistrifenilfosfinpaladij $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$ kao katalizator i natrijev karbonat u vodi kao bazu, u DMF-u pripravljen je spoj **7** (shema 4.).



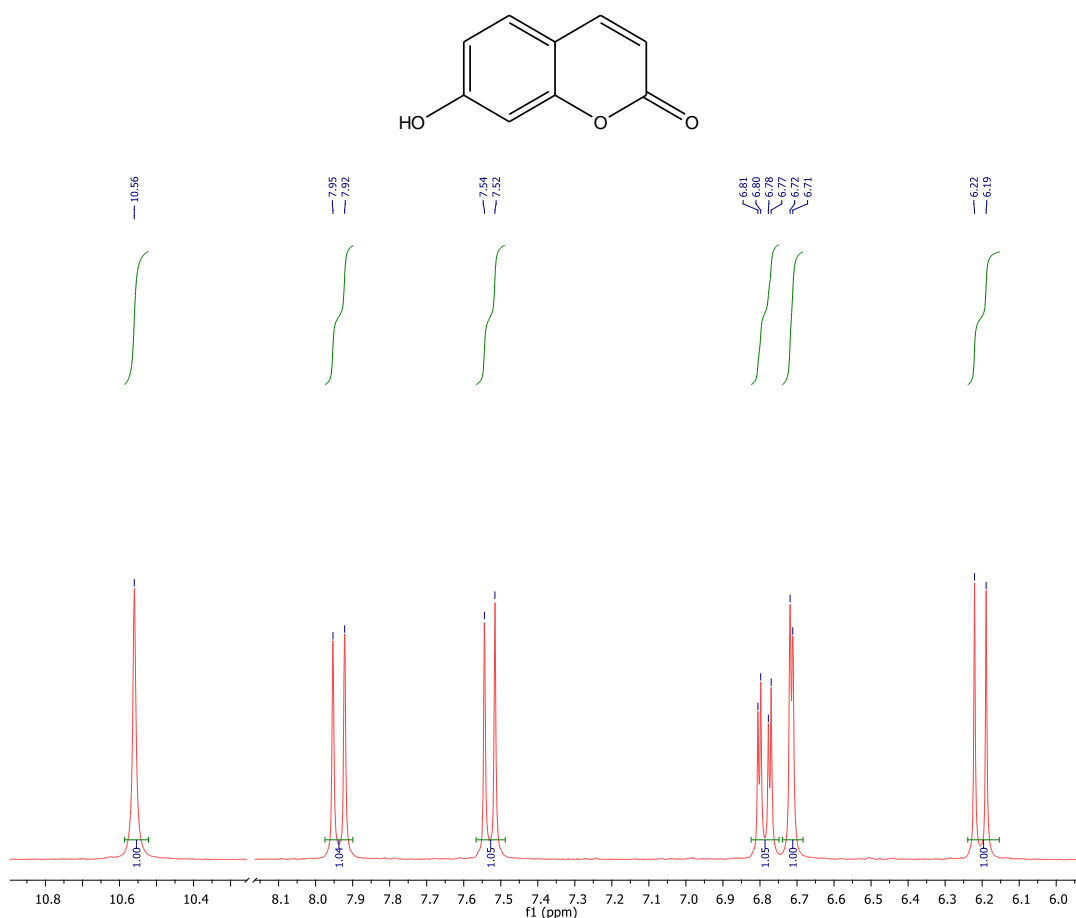
Shema 4. Suzuki-jeva reakcija sinteze spoja **7**

4.2. STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA ^1H I ^{13}C NMR SPEKTROSKOPIJOM

Asigniranje ^1H NMR spektara provedeno je na osnovu kemijskih pomaka, intenziteta signala, multipliciteta rezonancija te H-H konstanti sprega.

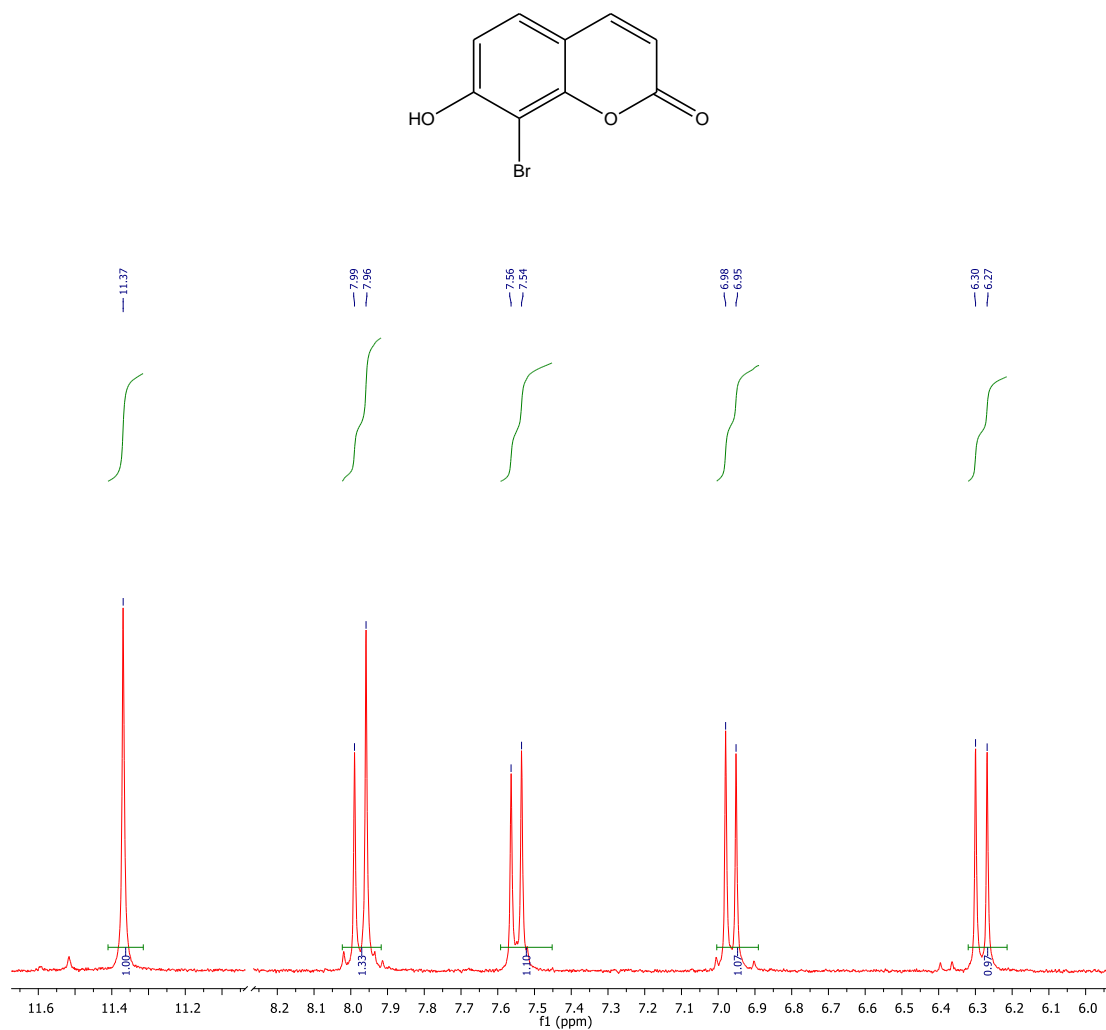
Spektri ^1H NMR spojeva **1-7** pokazuju signale protona kumarinskog prstena u aromatskom dijelu spektra, hidroksilne skupine u položaju C-7, te dodatnih signala u aromatskom području kod spojeva **6** i **7**.

U ^1H NMR spektru početnog spoja 7-hidroksikumarina (slika 1.) prisutni su signali: singlet za hidroksilni proton na 10,56 ppm intenziteta 1H, dublet ($J = 9,5$ Hz) intenziteta 1H na 7,94 ppm za H-4, dublet ($J = 8,5$ Hz) intenziteta 1H na 7,53 ppm za H-5, dublet dubleta ($J = 8,5, 2,3$ Hz) na 6,79 ppm za H-6, dublet ($J = 2,2$ Hz) za H-8 na 6,72 ppm intenziteta 1H i dublet ($J = 9,5$ Hz) intenziteta 1H na 6,21 ppm za H-3.

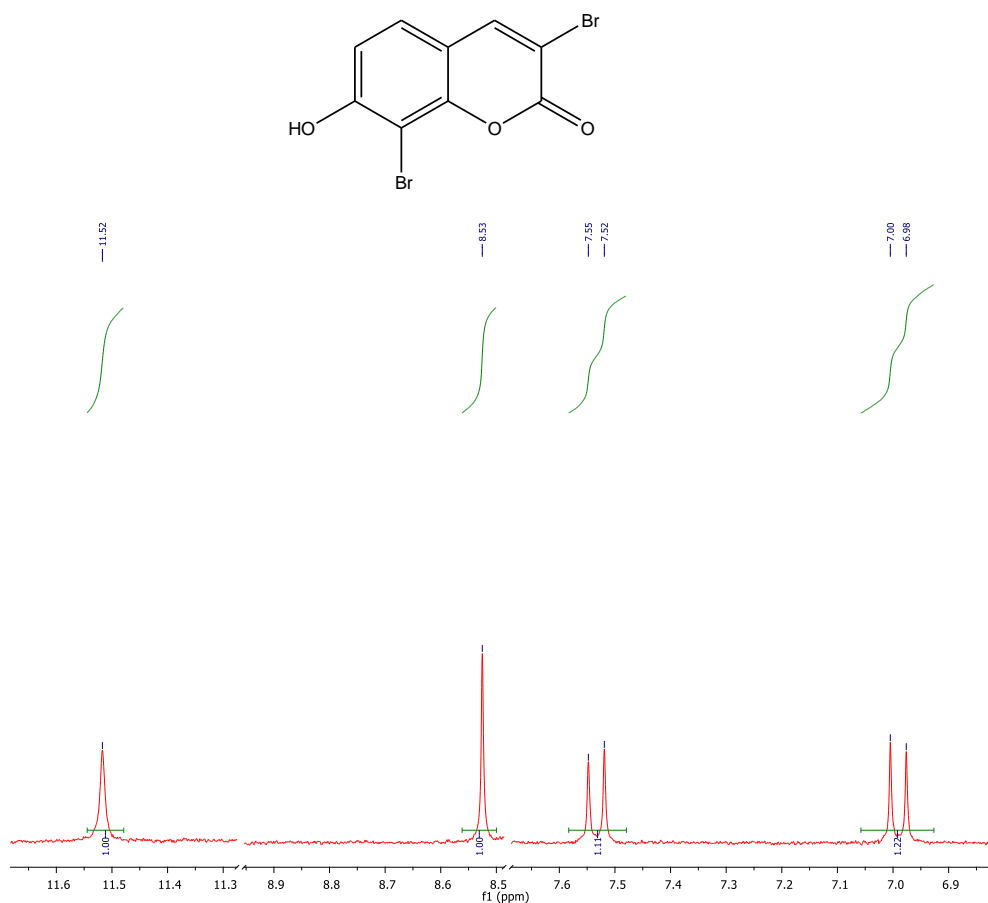


Slika 1. ^1H NMR spektar 7-hidroksikumarina

Usporedbom ^1H NMR spektra početnog spoja (7-hidroksikumarina) i spektra 8-brom-7-hidroksikumarina **1** (slika 2.), može se uočiti da od signala za protone kumarinskog prstena prisutnih u spektru početnog spoja izostaje signal za proton H-8, čime je potvrđeno bromiranje položaja 8 kumarinskog prstena. U ^1H NMR spektru spoja **2** (slika 3.) izostaju signali za protone H-3 i H-8, dok je signal za H-4 singlet odsjenjen u niža polja, čime je potvrđeno bromiranje položaja **3** i **8** kumarinskog prstena.

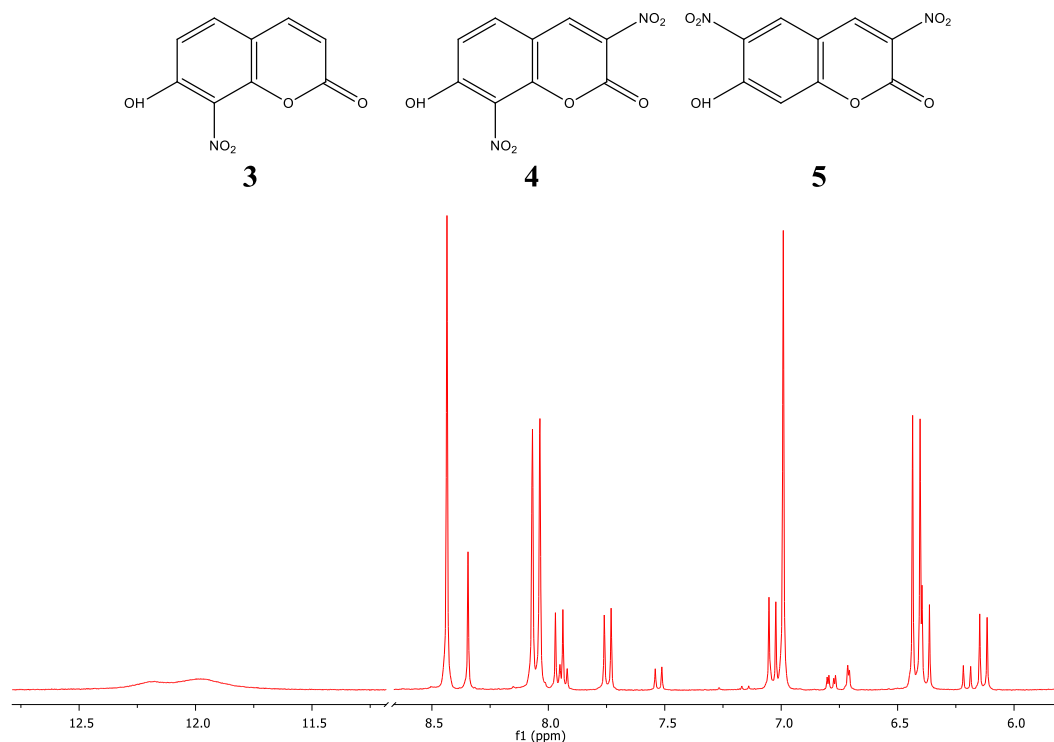


Slika 2. ^1H NMR spektar 8-brom-7-hidroksikumarina



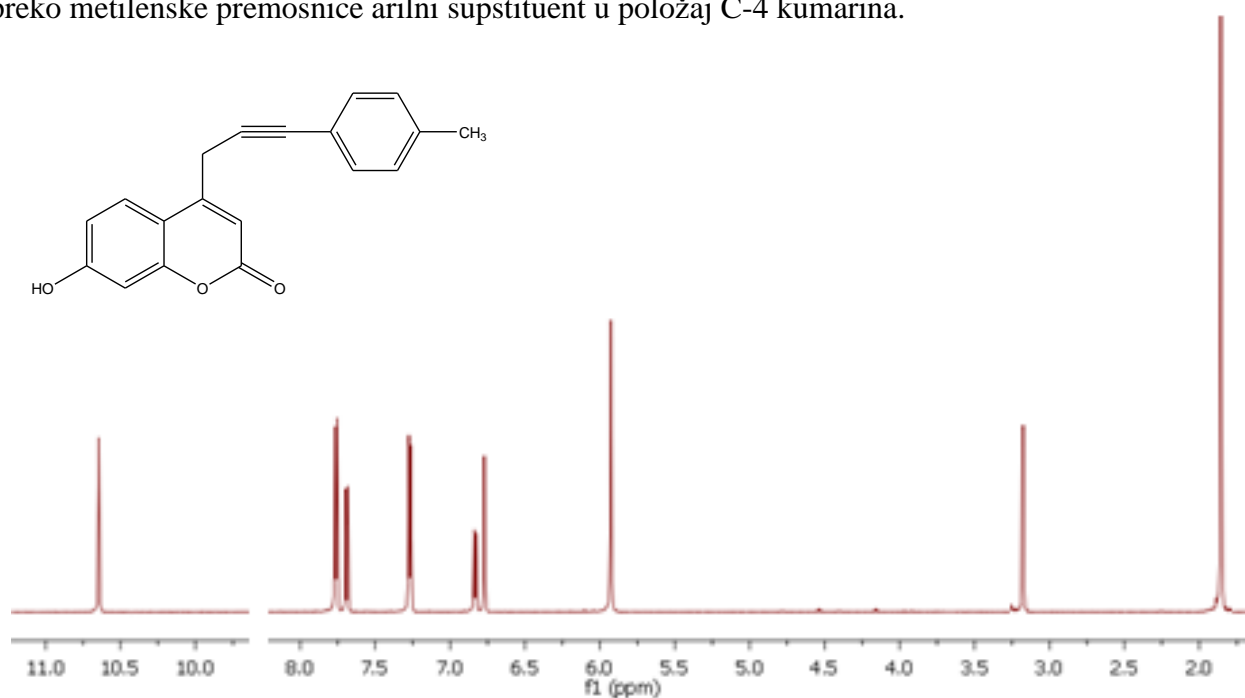
Slika 3. ¹H NMR spektar 3,8-dibrom-7-hidroksikumarina

U ¹H NMR spektru spojeva **3-5** (slika 4.) u usporedbi sa spektrom 7-hidroksikumarina izostaju signali za protone H-3 i/ili H-6 i H-8 kumarinskog prstena čime je potvrđeno nitiranje položaja 3 i/ili 6 i 8 kumarinskog prstena. Iz odnosa intenziteta signala u ¹H NMR spektru potvrđeno je nastajanje 7-hidroksi-8-nitrokumarina, 7-hidroksi-3,8-dinitrokumarina i 7-hidroksi-3,6-dinitrokumarina.



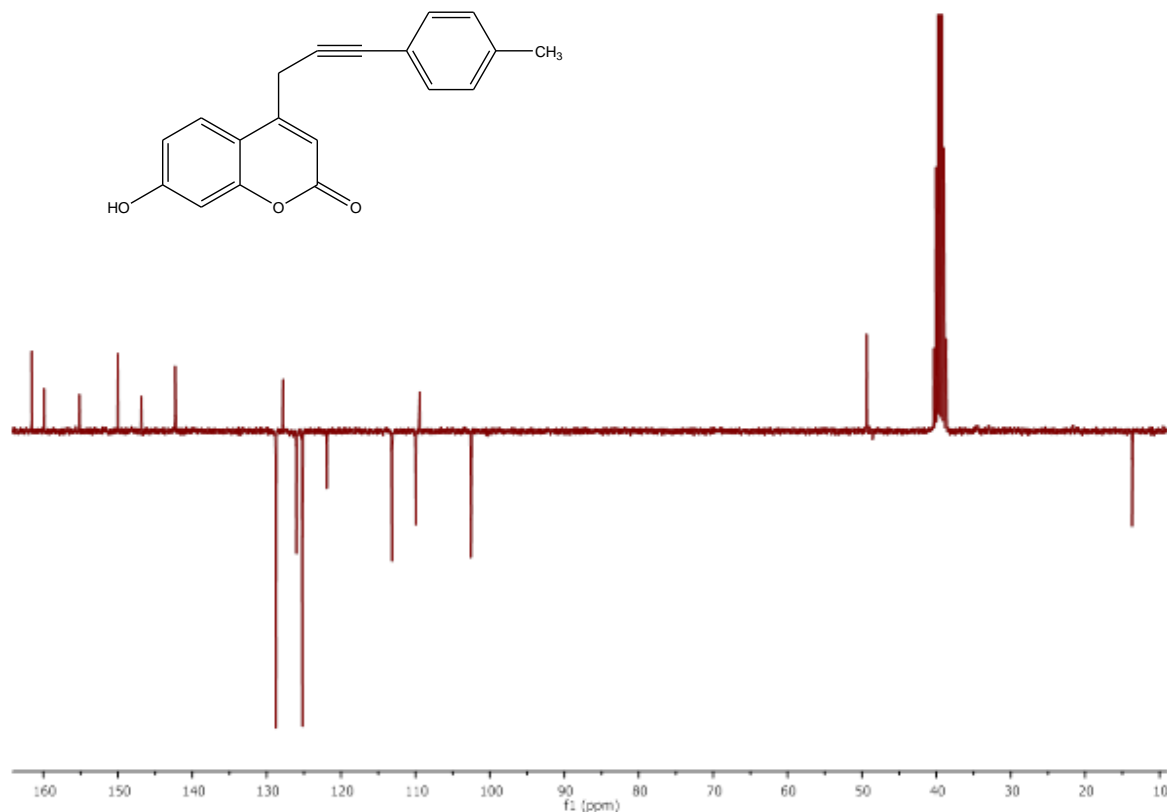
Slika 4. ^1H NMR spektar spojeva **3-5**

^1H NMR spektar spoja **6** (slika 5.) pored signala za protone kumarinskog prstena pokazuje i signal u alifatskom dijelu spektra za metilenske protone u položaju C-4 intenziteta 2H i singlet intenziteta 3H za metilne protone vezane za fenilni supstituent, te dodatne signale u aromatskom dijelu spektra, čime je potvrđeno da je Sonogashira-inom reakcijom uveden preko metilenske prenosnice arilni supstituent u položaj C-4 kumarina.



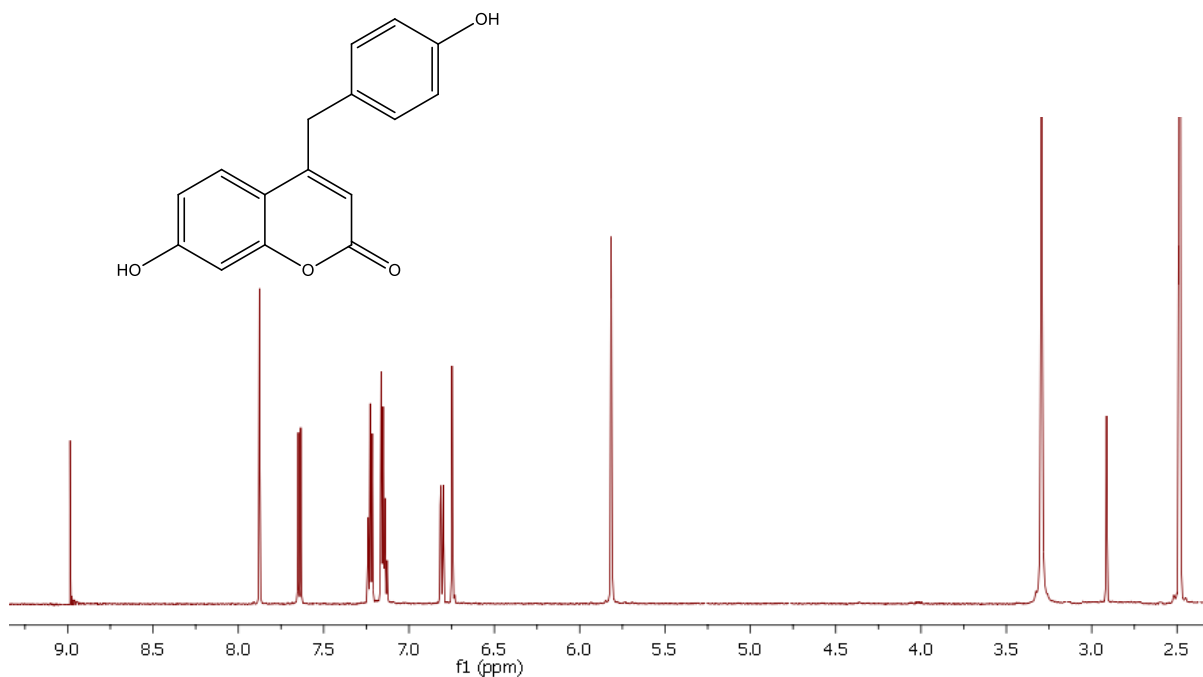
Slika 5. ^1H NMR spektar spoja **6**

^{13}C NMR spektar spoja **6** (slika 6.) pored signala za protone kumarinskog prstena pokazuje i signale u alifatskom dijelu spektra za metilenski ugljik u položaju C-4, signal za metilni ugljik vezan za benzenski prsten, te dodatne signale za ugljike u aromatskom dijelu spektra, čime je dodatno potvrđeno uvođenje arilnog supstituenta u položaj C-4 kumarina.



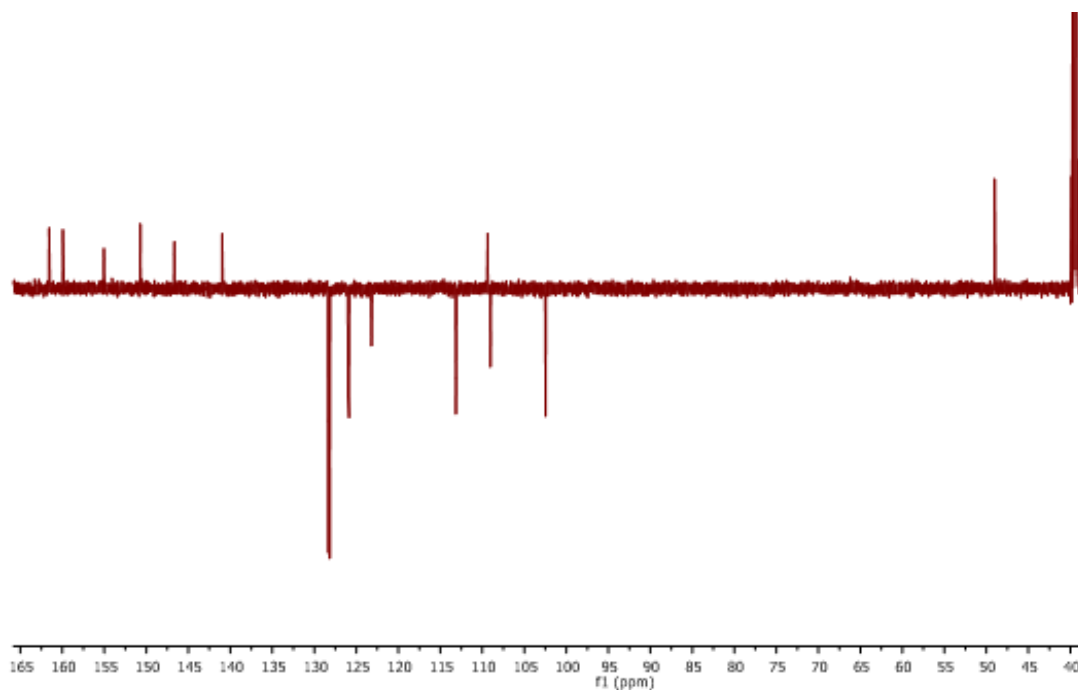
Slika 6. ^{13}C NMR spektar spoja **6**

U ^1H NMR spektru spoja **7** (slika 7.) prisutni su pored signala za protone kumarinskog prstena i signali u aromatskom dijelu spektra čime je potvrđeno da je Suzuki-jevom reakcijom uveden u položaj C-4 kumarinske jezgre fenilni supstituent.



Slika 7. ^1H NMR spektar spoja **7**

^{13}C NMR spektar spoja **7** (slika 8.) pored signala za protone kumarinskog prstena pokazuje i signal u alifatskom dijelu spektra za metilenski ugljik u položaju C-4, te dodatne signale za ugljike u aromatskom dijelu spektra, čime je dodatno potvrđeno uvođenje arilnog supstituenta u položaj C-4 kumarina.

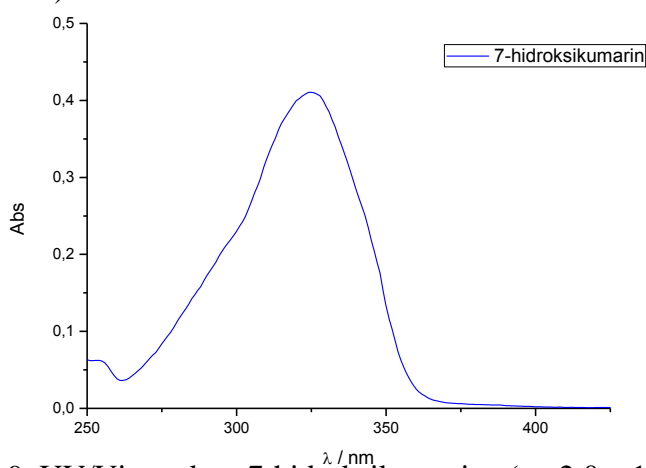


Slika 8. ^{13}C NMR spektar spoja **7**

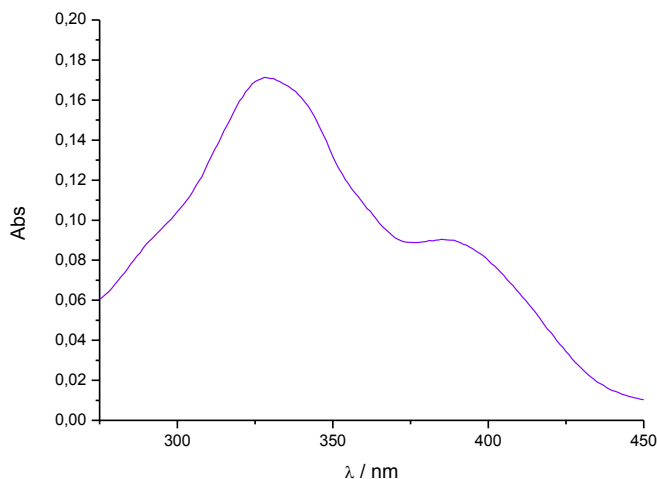
4.3. SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA UV/VIS I FLUORIMETRIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM

UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom analizirani su derivati 7-hidroksikumarina supstituirani u položaju 8 bromom ili nitro skupinom i u položaju 3 bromom i 7-hidroksikumarin, te su im određeni maksimumi apsorbcije, valne duljine emisije i Stokes-ovi pomaci.

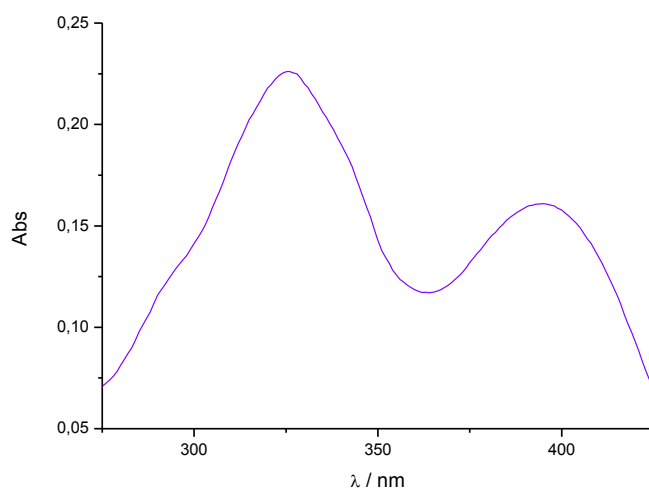
UV/Vis spektri ispitivanih spojeva snimljeni su kod koncentracije $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ u metanolu. 7-hidroksi kumarin (slika 9.) pokazuje apsorpcijski maksimum na 325 nm, dok spojevi **1** i **2** pokazuju apsorpcijske maksimume na 330 i 390 nm (slike 10. i 11.), odnosno pokazuju batokromni pomak u usporedbi s UV spektrom 7-hidroksikumarina. Spojevi **1** i **2** imaju i znatno niže vrijednosti apsorbcije, odnosno pokazuju hipokromni pomak u usporedbi sa 7-hidroksikumarinom. 7-hidroksi-8-nitrokumarin (**3**) pokazuje apsorpcijski maksimum na 325 nm ali u usporedbi sa 7-hidroksikumarinom također ima nižu vrijednost apsorbcije (slika 12.).



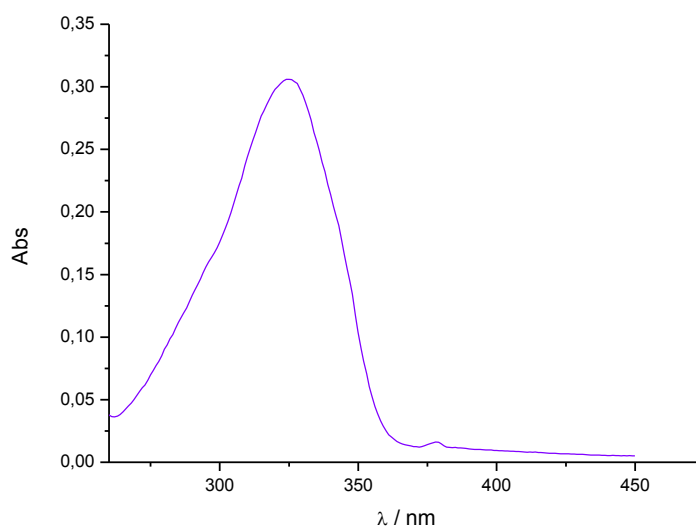
Slika 9. UV/Vis spektar 7-hidroksikumarina ($c = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)



Slika 10. UV/Vis spektar 8-brom-7-hidroksikumarina (**1**) ($c = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

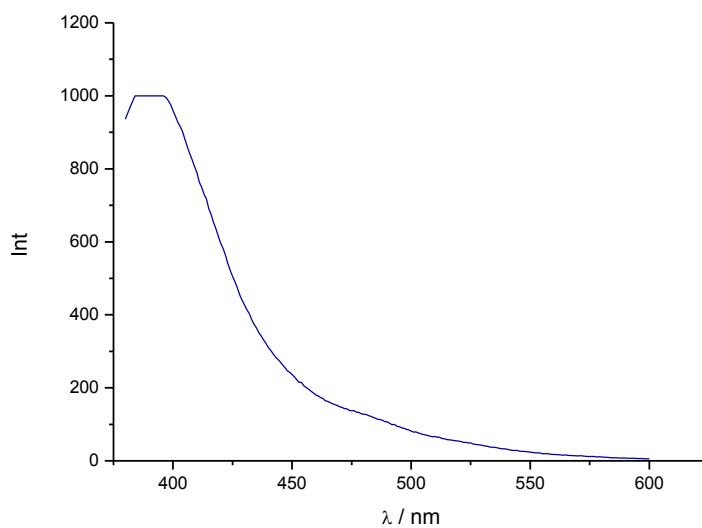


Slika 11. UV/Vis spektar 3,8-dibrom-7-hidroksikumarina (**2**) ($c = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

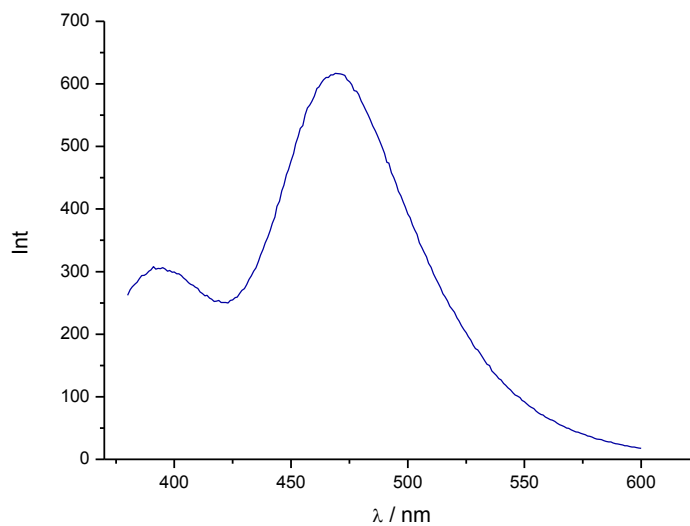


Slika 12. UV/Vis spektar 7-hidroksi-8-nitrokumarina (**3**) ($c = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

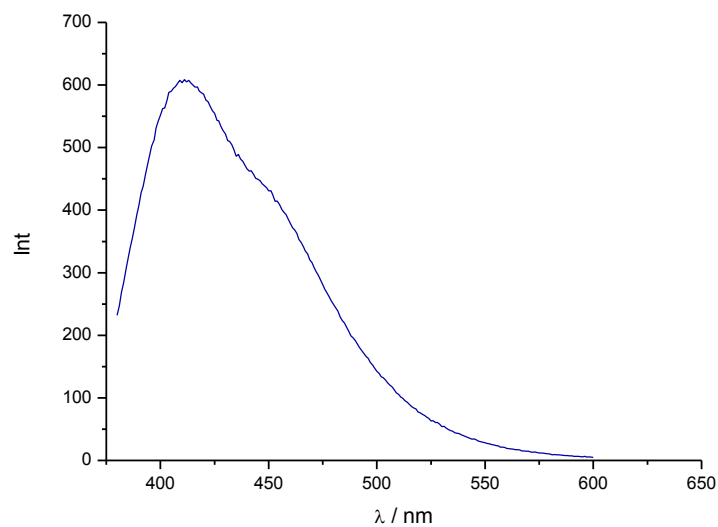
Fluorimetrijska spektroskopska ispitivanja provedena su zbog visoke osjetljivosti metode pri koncentraciji $1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$ u metanolu. Otopine pripremljenih spojeva su pobuđene svjetlošću valne duljine ekscitacije (λ_{ex}) koja odgovara valnoj duljini maksimuma apsorpcije (λ_{max}). Na slikama su prikazani emisijski fluorimetrijski spektri spojeva snimani pri danoj koncentraciji u metanolu. 7-hidroksikumarin pokazuje značajnu fluorescenciju na 390 nm (slika 13.), dok spoj **1** pokazuje najveći intenzitet emisije pri valnoj duljini 475 nm (Slika 14., Tablica 1.). Spoj **3** pokazuje najveći intenzitet emisije pri valnoj duljini 415 nm (Slika 15., Tablica 1.). Iz UV/Vis i emisijskih spektara spojeva **1** i **3** vidljivo je da Stokes-ov pomak maksimuma apsorpcije kod spoja **1** iznosi 145 nm, dok spoj **3** pokazuje Stokes-ov pomak od 90 nm.



Slika 13. Emisijski spektar 7-hidroksikumarina ($c = 1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$)



Slika 14. Emisijski spektar 8-brom-7-hidroksikumarina (**1**) ($c = 1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$)



Slika 15. Emisijski spektar 7-hidroksi-8-nitrokumarina (**3**) ($c = 1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$)

Tablica 1. UV/Vis i fluorimetrijski podatci za 7-hidroksikumarin (7-HK) i spojeve **1** i **3**

Spoj	λ_{\max} (nm)	Abs	λ_{ex} (nm)	λ_{em} (nm)	Stokes-ov pomak (nm)
7-HK	325	0,413862	325	390	65
1	330	0,172574	330	475	145
	390	0,087352			
3	325	0,307821	325	415	90

5. ZAKLJUČCI

- Bromiranjem 7-hidroksikumarina s *N*-bromsukcinimidom uz cerijev amonijev nitrat pripremljeni su 8-brom-7-hidroksikumarin (**1**) i 3,8-dibrom-7-hidroksikumarin (**2**).
- 7-hidroksi-8-nitrokumarin (**3**), 7-hidroksi-3,8-dinitrokumarin (**4**) i 7-hidroksi-3,6-dinitrokumarin (**5**) sintetizirani su nitriranjem 7-hidroksikumarina s HNO₃ i H₂SO₄.
- Sonogashira-inom reakcijom 7-hidroksi-4-klormetilkumarina s 4-metilfenilacetenom uz Pd-katalizator sintetiziran je derivat kumarina 7-hidroksi-4-(3-(*p*-tolil)prop-2-in-1-il)kumarin (**6**) supstituiran u položaju C-4.
- Suzuki-jevom reakcijom 7-hidroksi-4-klormetilkumarina s (4-hidroksifenil)bornom kiselinom uz Pd-katalizator sintetiziran je derivat kumarina 7-hidroksi-4-(4-hidroksibenzil)kumarin (**7**) supstituiran u položaju C-4.
- Strukture sintetiziranih spojeva **1-7** potvrđene su ¹H NMR spektroskopijom.
- Derivati kumarina **1-3** spektroskopski su okarakterizirani UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom, te su im određeni maksimumi apsorbancije i valne duljine emisije.

6. LITERATURA

- [1] N. S. Dighe, S. R. Pattan, S. S. Dengale, D. S. Musmade, M. Shelar, V. Tambe, M. B. Hole, *Archives of Applied Science Research*, 2010, **2**, 65-71
- [2] M. João Matos, L. Santana, E. Uriarte, O. A. Abreu, E. Molina, E. Guardado Yordi, *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, 2015, **1**, 113-140
- [3] M. Molnar, M. Čačić, *Croat. J. Food Sci. Technol.*, 2011, **3**, 55-64
- [4] F. G. Medina, J. G. Marrero, M. Macías-Alons, M. C. Gonzalez, I. Córdova-Guerrero, A. G. Teissier García, S. Osegueda-Robles, *Natural Product Reports*, 2015, **32**, 1472–1507
- [5] K. N. Venugopala, V. Rashmi, B. Odhav, *BioMed Research International*, 2013, **2013**, 1-14
- [6] F. Borges, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte, *Current Medicinal Chemistry*, 2005, **12**, 887-916
- [7] Monga P.K., Sharma D., Dubey A., *E-International Scientific Research Journal*, 2012, **4**, 2094-1749
- [8] L. Xu, X.-Y. Zhao, Y.-L. Wu, W. Zhang, *Atlantis Press*, 2015, **9**, 135-138
- [9] B. Nikhil, B. Shikha, P. Anil, N. B. Prakash, *International Research Journal Of Pharmacy*, 2012, **3**, 24-29
- [10] <http://www.chemicalland21.com>, 18.08.2016.
- [11] L. K. A. M. Leal, A. A. G. Ferreira, G. A. Bezerra, F. J. A. Matos, G. S. B. Viana, *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, **70**, 151–159
- [12] F. M. Dean, *Naturally Occurring Oxygen Ring Compounds*, 1963, ISBN 978-0-408-26750-2
- [13] V. K. Ahluwalia, *Intermediates for Organic Synthesis*, ISBN 81-88237-33-7
- [14] P. Satyanarayana, P. Subrahmanyam, R. Kasai, O. Tanaka, *Phytochemistry*, 1985, **24**, 1862–1863
- [15] <http://www.drugs.com/international/esculin.html>, 18.08.2016.
- [16] P. M. Dey, J. B. Harborne, *Plant Biochemistry*, 1997, ISBN 9780122146749

- [17] B. M. Hausen, M. Schmieder, *Contact Dermatitis*, 1986, **15**, 157–163
- [18] K. Momtaz, T. B. Fitzpatrick, *Dermatol Clin.*, 1998, **16**, 227–234
- [19] P. Autier, J. F. Dore, J. P. Cesarini, *Annals of Oncology*, 1997, **8**, 435–437
- [20] V. Ciaravino, T. McCullough, A. D. Dayan, *Human Exp. Toxicol.*, 2001, **20**, 533–550
- [21] M. Sahu, P. Sapkale, *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 2013, **2**, 1159-1170
- [22] R. Jana, T. P. Pathak, M. S. Sigman, *Chem. Rev.*, 2011, **111**, 1417-1492
- [23] S. Nedd, A. N. Alexandrova, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 1347-1353
- [24] C. Amatore, A. Jutand, G. Le Duc, *Chemistry: A European Journal*, 2011, **17**, 2492-2503
- [25] A. V. Lipeeva, E. E. Shul'ts, M. M. Shakirov, G. A. Tolstikov, *Russian Journal of Organic Chemistry*, 2011, **47**, 1404-1409
- [26] R. F. Heck, J. P. Nolley Jr., *J. Org. Chem.*, 1972, **37**, 2320–2322
- [27] R. Chinchilla, C. Najera, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 5084-5121
- [28] A. O. King, N. Yasuda, *Top. Organomet. Chem.*, 2004, **6**, 205–245
- [29] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, 1999, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb
- [30] Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz, 1979, *Introduction to spektroskopy*, Thomson Brooks Cole, Washington

7. ŽIVOTOPIS

Zovem se Andrea Milinković i rođena sam u Vinkovcima 21. veljače 1995. U Vinkovcima sam 2009. godine završila Osnovnu školu, a potom opći smjer Gimnazije M. A. Reljković 2013. godine. Iste godine upisala sam Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Primijenjena kemija. Na Institutu Ruđer Bošković, Zavod za organsku kemiju i biokemiju odradila sam stručnu praksu u razdoblju od 15.05. do 29.06. 2016. godine.