

Organometalna sinteza i spektroskopska svojstva novih derivata 2H-kromen-2-ona

Barić, Sanja

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:149:437931>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Sanja Barić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Sanja Barić

ORGANOMETALNA SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA
SVOJSTVA NOVIH DERIVATA 2*H*-KROMEN-2-ONA

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitne komisije: Doc. dr. sc. Tatjana Gazivoda Kraljević
Izv. prof. dr. sc. Danijela Ašperger
Dr. sc. Andrijana Meščić, poslijedoktorandica

Zagreb, srpanj 2016.

SAŽETAK

U ovom radu prikazana je sinteza, strukturna karakterizacija i *in silico* analiza derivata 2*H*-kromen-2-ona (**1-4**) supstituiranih u položaju 6 bromom, u položaju 3 nitro skupinom ili u položaju 4 arilpropinilnim supstituentima u svrhu ispitivanja njihovog antitumorskog djelovanja. Sonogashira-inom reakcijom 4-klormetil-7-metilkumarina s odgovarajućim arilnim terminalnim alkinima uz Pd-katalizator i CuI kao kokatalizator te uz bazu Et₃N sintetizirani su derivati kumarina supstituirani u položaju 4 (**3** i **4**) arilpropinilnim supstituentima. Strukturna i spektroskopska karakterizacija spojeva provedena je ¹H NMR, UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom. Farmakološka aktivnost i moguće biološke mete novopripremljenih spojeva predviđene su *in silico* analizom (PASS).

Ključne riječi: 2*H*-kromen-2-on, 4-hidroksikumarin, 7-metilkumarin, Sonogashira-ina reakcija, ¹H-NMR, UV/Vis i fluorimetrijska spektroskopija, *in silico* analiza

SUMMARY

This work describes the synthesis, structural characterization and *in silico* analysis of 2*H*-chromen-2-one derivatives (**1-4**) substituted in position C-6 with bromine, in position C-3 with nitro group or in position C-4 with arylpropynyl substituents in order to determine their antitumor activity. Sonogashira cross-coupling reaction of 4-chloromethyl-7-methylcoumarin with appropriate arylterminal alkynes in the presence of Pd as catalyst, CuI as a cocatalyst and Et₃N as a base gave coumarin derivatives substituted in position 4 (**3** and **4**) with arylpropynyl substituents. The structural and spectroscopic characterization of the compounds was carried out by ¹H NMR, UV/Vis and fluorimetric spectroscopy. The pharmacological activity and possible biological targets of novel compounds were predicted by *in silico* analysis (PASS).

Key words: 2*H*-chromen-2-one, 4-hydroxycoumarin, 7-methylcoumarin, Sonogashira cross-coupling reaction, ¹H-NMR, UV / Vis and fluorimetric spectroscopy, *in silico* analysis

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. 2H-KROMEN-2-ON	3
2.1.1. KLASIFIKACIJA KUMARINA	4
2.1.1.1. JEDNOSTAVNI KUMARINI	4
2.1.1.2. PIRANOKUMARINI	7
2.1.1.3. FURANOKUMARINI	8
2.1.1.4. DIHIDROFURANOKUMARINI	8
2.1.1.5. FENILKUMARINI	9
2.1.1.6. BIKUMARINI	9
2.1.2. SINTEZA KUMARINA	10
2.1.2.1. PECHMANNOVA KONDENZACIJA	11
2.1.2.2. PERKINOVA REAKCIJA	13
2.1.2.3. KNOEVENAGELOVA KONDENZACIJA	14
2.2. BIOLOŠKO DJELOVANJE DERIVATA 2H-KROMEN-2-ONA	16
2.2.1. PROTUUPALNO DJELOVANJE	17
2.2.2. ANTIKOAGULACIJSKA AKTIVNOST	18
2.2.3. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST	19
2.2.4. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST (ANTIFUNGALNA)	20
2.2.5. ANTITUMORSKA AKTIVNOST	21
2.2.6. OSTALE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI	22
2.3. 4-HIDROKSIKUMARINI I NJEGOVI DERIVATI	23
2.3.1. SINTEZA 4-HIDROKSIKUMARINA	25
2.3.1.1. BIOSINTETSKI PUT	25
2.3.1.2. KEMIJSKI SINTETSKI PUT	26
2.3.2. SINTEZA DERIVATA 4-HIDROKSIKUMARINA	29
2.3.3. BIOLOŠKA AKTIVNOST 4-HIDROKSIKUMARINA I NJEGOVIH DERIVATA ...	34
2.4. ORGANOMETALNE REAKCIJE U SINTEZI DERIVATA KUMARINA	35
2.4.1. SUZUKI-JEVA I SUZUKI-MIYAURA-INA REAKCIJA	37
2.4.2. HECK-OVA REAKCIJA	38
2.4.3. SONOGASHIRA-INA REAKCIJA	39
2.5. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA I FLUORESCENCIJA	39
2.5.1. UV/VIS SPEKTROSKOPIJA	40
2.5.2. FLUORESCENCIJA	41
3. EKSPERIMENTALNI DIO	42

3.1.	OPĆE NAPOMENE	42
3.2.	PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA	43
3.3.	PRIPRAVA SPOJEVA	44
3.3.1.	6-BROM-4-HIDROSIKUMARIN (1)	44
3.3.2.	4-HIDROKSI-3-NITROKUMARIN (2)	44
3.3.3.	4-(3-(3,5-BIS(TRIFLUORMETIL)FENIL)PROP-2-IN-1-IL)-7-METIL-2H-KROMEN-2-ON (3)	44
3.3.4.	4-(3-(4-FLUORFENIL)PROP-2-IN-1-IL)-7-METIL-2H-KROMEN-2-ON (4)	45
4.	REZULTATI I RASPRAVA	45
4.1.	SINTEZA SPOJEVA	45
4.2.	STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA ¹H NMR SPEKTROSKOPIJOM	47
4.3.	KARAKTERIZACIJA SPOJEVA UV/Vis i FLUORIMETRIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM	51
4.4.	IN SILICO ANALIZA (PASS)	52
5.	ZAKLJUČCI	56
6.	LITERATURA	57
7.	ŽIVOTOPIS	59

1. UVOD

Kumarini su jedna od najvažnijih klasa heterocikličkih spojeva koja je važna u sintetskoj i farmaceutskoj kemiji upravo zbog svoje raznolike primjene. Zbog svoje biološke aktivnosti privukli su pažnju brojnih kemičara zbog čega i istraživanja kumarina traju već preko 200 godina. Kumarini spadaju u skupinu heterocikla zvanih benzopironi. Benzopirone dijelimo na benzo- α -pirone, odnosno kumarine, te benzo- γ -pirone ili kromone.¹

Laboratorijska sinteza kumarina počela je još 1820. godine, te se narednih godina počinje koristiti u proizvodnji aroma i parfema. Danas je identificirano više od 1300 kumarina i to uglavnom kao sekundarnih metabolita u ekoproizvodnji gljiva i bakterija.²

Kumarin je kristaliničan bijeli prah, ugodnog mirisa na vaniliju ili svježe pokošenu travu, a zajedno sa svojim derivatima smatra se najaktivnijom klasom heterocikličkih spojeva. Kumarini i njegovi derivati pokazali su se kao izvrsna antibakterijska, antifungalna, antioksidativna, protuupalna, antidepresivna, antikoagulacijska, antiHIV i antitumorska sredstva, kao aditivi u hrani, parfemima i kozmetici. Koriste se i u kozmetičkim proizvodima kao što su sapuni, paste za zube, parfemi i alkoholna pića, a također se koriste i za neutralizaciju u gumenim i plastičnim materijalima, te za razrjeđivanje neugodnih mirisa u bojama i sprejevima.¹ Pokazuju dobra optička svojstva, uključujući izraženi spektralni odziv, 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.³

Kumarini i njegovi spojevi su široko rasprostranjeni u prirodi i nalazimo ih u mnoštvu biljaka, voća i povrća, a usprkos svojoj izrazitoj biološkoj aktivnosti, upotreba im je ograničena, a dopuštena granica u namirnicama određena zakonom. U znatnim količinama ga nalazimo u tonka sjemenkama, lazarkiniji, bizonskoj travi, jagodama, višnji, marelicama, cimetu i slatkoj djetelini. U većim količinama nalazi se i u nekim eteričnim uljima, osobito cimetnom i lavandinom ulju.

Kumarin je prvi puta izoliran iz biljke *Coumarounaodorata Aube* (*Dipteryx odorata*) 1820. g., po kojoj je i dobio ime (kumarú je naziv za drvo na jeziku južnoameričkih indijanaca iz Francuske Gvajane).⁴

Kumarin (2*H*-1-benzopiran-2-on) je pripravljen kondenzacijom benzenskog i α -pironskog prstena. Prirodni kumarini se prema kemijskoj strukturi klasificiraju u šest klasa: jednostavni kumarini, furanokumarini, dihidrofuranokumarini, piranokumarini, fenilkumarini i biokumarini.⁵

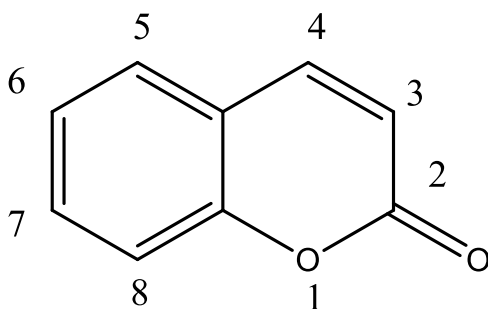
Zbog već navedenih izvanrednih svojstava, posebice farmakoloških i biokemijskih, kumarini se posljednjih godina intenzivno istražuju. Najispitivanije područje su njihovi citotoksični učinci, odnosno djelovanja na tumore pri kojima je dokazano da su citotoksični kumarini dragocjeni izvori novih sredstava u liječenju protiv raka. Zato su ovi prirodni spojevi uvelike vrijedni kada govorimo o strukturnim analogima i sintezama kumarinskih aktivnih derivata. Kumarini biljnog porijekla i njihovi sintetski analozi ispituju se na temelju porijekla, odnosa strukturne aktivnosti i antikancerogenog djelovanja. Budući da su uočeni različiti učinci u različitim *in vitro* studijama, jer je djelovanje različitih kumarina na razne tipove tumora ponekad kontradiktorno⁶, (npr. kod miševa i štakora veće doze kumarina mogu uzrokovati trovanje i karcinogenezu, dok kod ljudi toksičnost nije dokazana)⁴, mehanizam njihovog djelovanja još uvijek nije u potpunosti razjašnjen, kao ni odnos djelovanja i kemijske strukture. Iz tog je razloga određivanje adekvatnog citotoksičnog sredstva za liječenje tumora kod ljudi dugotrajan proces.⁶

Farmakološka i biokemijska svojstva kao i terapijske primjene jednostavnih kumarina ovise o načinu supstitucije.⁶ Supstituiran može biti bilo koji od šest C-atoma kumarina, a zbog velikog broja mogućih permutacija koje osiguravaju supstituciju i konjugaciju, može se objasniti činjenica da se kumarin i njegovi derivati pojavljuju u prirodi u tolikim količinama.² Ovisno o supstituciji, različiti su i neizmjerni antitumorski potencijali kumarina, a također imaju i sposobnost reguliranja raznovrsnih staničnih puteva koji se mogu istraživati za selektivno antikancerogeno djelovanje.⁷

2. OPĆI DIO

2.1. 2H-KROMEN-2-ON

Kumarin ili 2H-kromen-2-on (slika 1) je prirodni derivat benzopirona koji je izgrađen od benzena i α -pironskog prstena. Prototipni spoj kumarina poznat je kao 1,2-benzopiron, ili kako se još rjeđe naziva, o-hidroksicinaminska kiselina-8-lakton. Kumarini, njih više od 1300, identificirani su kao sekundarni metaboliti biljaka, bakterija i gljiva, pa su vrlo rasprostranjeni u prirodi.⁵ Predstavljaju vrlo važnu skupinu prirodnih i/ili sintetskih heterocikličkih spojeva. Posjeduju konjugirani sustav bogat elektronima te vrlo dobra svojstva prijenosa naboja.⁸ Pojavljuju se ponajviše u listovima i korijenju biljaka, osobito u lazarkiniji, bizonskoj travi, gospinoj travi, cikoriji, jagodama, marelicama, višnjama, cimetu i slatkoj djetelini. Velike se količine nalaze i u nekim eteričnim uljima, npr. ulju cimeta, kasije i lavande. Kumarine u prirodi 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*.⁴



Slika 1. Kumarin

Kumarin je prvi put izoliran iz tonka sjemenki *Coumarounaodorata Aube* (*Dipteryx odorata*), biljke po kojoj je i dobio ime kumarin.¹ Jednostavnost kumarinskog skeleta i mogućnost šest različitih mjesta supstitucije, vrlo su zanimljive polazne točke za širok raspon primjena, zbog čega je od davnina privlačio pažnju brojnih kemičara. Primjenjuju se kao parfemi, u kozmetici i industrijskim aditivima, dok su neki od njegovih derivata korišteni kao pojačivači aroma u duhanima i alkoholnim pićima.⁸ Ipak je od najvećeg značaja njegova biološka i farmakološka primjena. I prirodni i sintetski kumarin djeluje kao protuupalno sredstvo, sredstvo

protiv raka, kao antikoagulans i antioksidans, antimikrobno, antineurodegenerativno, analgetsko, anti-HIV i antibakterijsko sredstvo.⁹ Također su važne aktivnosti uključujući estrogenu, dermalno fotosintetizirajuću, vazodilatacijsku, moluskicidnu, djeluju kao antihelminthici u živim organizmima, kao sedativi i hipnotici te imaju hipotermičko djelovanje. Ostale biološke aktivnosti uključuju inhibiciju agregacije krvnih pločica, citokroma P450 i steroidne 5 α -reduktaze i spazmolitičku aktivnost. Zbog svega navedenog, posebice zbog manje štetnog djelovanja na zdrave stanice, kumarini su vrlo interesantni brojnim istraživačima.⁴ Posebno je od velikog značaja visoko konjugirani sustav kumarinskog prstena, koji zbog puno elektrona i dobrog prijenosa naboja omogućava interakcije skeleta kumarina s drugim molekulama i ionima. Kumarin-ionski receptori, fluorescentna istraživanja i biološke boje široko se primjenjuju za praćenje pravovremene aktivnosti enzima, kao i za praćenje točnih farmakoloških i farmakokinetičkih svojstava u živim stanicama.⁸

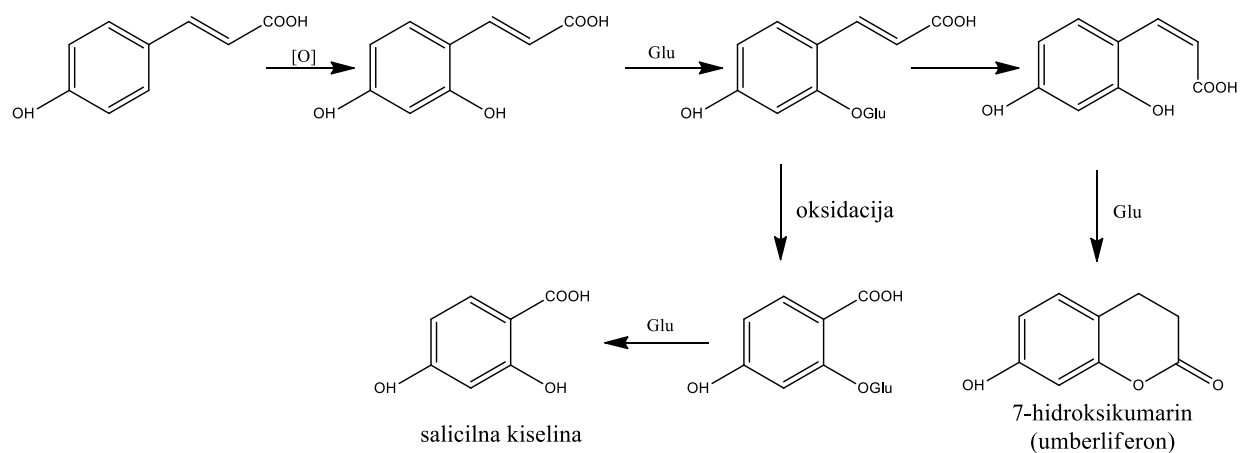
Kumarin je poznat po mirisu vanilije, kojeg neki autori karakteriziraju i kao miris svježih pokošene trave.⁴

2.1.1. KLASIFIKACIJA KUMARINA

Budući da je supstitucija na kumarinskom prstenu moguća na šest položaja, poznato je mnoštvo različitih derivata kumarina, a takva strukturna raznolikost uzrok je mnoštvu različitih bioloških aktivnosti.⁴ Obzirom na različite supstituente na kumarinskoj jezgri, kumarini se klasificiraju na: jednostavne kumarine, furanokumarine, piranokumarine i ostale.

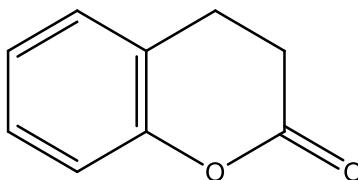
2.1.1.1. JEDNOSTAVNI KUMARINI

Jednostavni kumarini su biogenetski izvedeni iz 3-(4-hidroksifenil)-2-propenske kiseline čijom C-2 hidroksilacijom u prvom stupnju nastaje cimetna kiselina, a njenom reakcijom s glutaminom u konačnici nastaju salicilna kiselina, te intramolekulskom ciklizacijom 7-hidroksikumarin (umberliferon) (shema 1).⁸



Shema 1. Biosinteza jednostavnih kumarina

U ovu skupinu kumarina (slika 2) spadaju kumarin, eskuletin, amorezinol, ostrutin, ostol, novobiocin, kumermicin, kartreusin, fraksin, umberliferon, fraksidin i felodenol A čija je farmakološka aktivnost prikazana u tablici 1.⁵

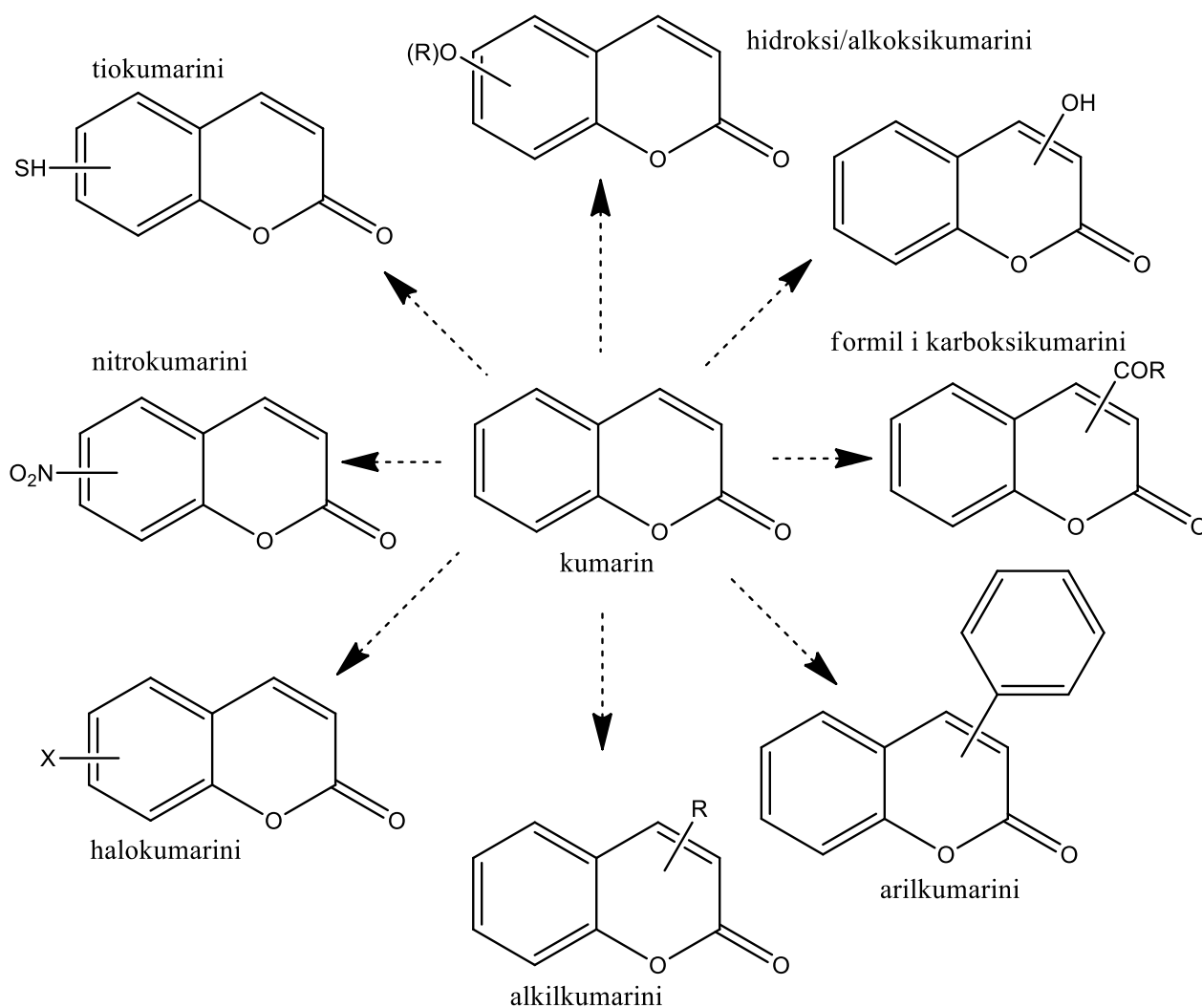


Slika 2. Opća kemijska struktura jednostavnih kumarina

Tablica 1. Jednostavni kumarini i njihova farmakološka aktivnost⁵

VRSTA JEDNOSTAVNOG KUMARINA	FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST
kumarin	protuupalna
eskuletin	protuupalna, antioksidativna, neurozaštitna, antikancerogena
amorezinol	antibakterijska
ostrutin	antibakterijska, antifungalna
ostol	antikancerogena, antioksidativna, antiepileptična, antibakterijska, antifungalna

novobiocin	antibakterijska
kumermicin	antibakterijska
kartreusin	antibakterijska, antitumorska
fraksin	antikancerogena, antioksidativna
umberliferon	antituberkularna
fraksidin	antihiperглиkemična
felodenol A	antituberkularna



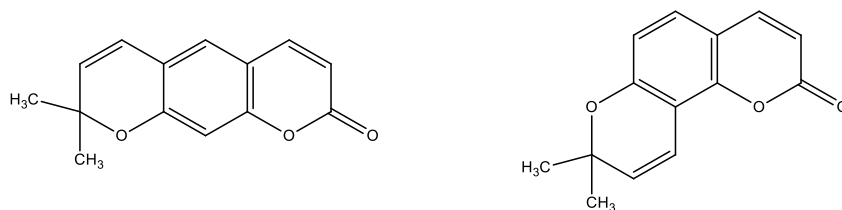
Slika 3. Kumarin- centralna jezgra jednostavnih kumarina⁴

U jednostavne kumarine ubrajaju se i njegovi derivati poput tiokumarina, halokumarina, hidroksi/alkoksikumarina, nitrokumarina, alkilkumarina, arilkumarina, formil i karboksikumarina (slika 3).¹⁰

2.1.1.2. PIRANOKUMARINI

Piranokumarine dijelimo na linearne i kutne (slika 4). Linearni tipovi su: grandivitin, agasilin, agelinol-benzoat, ksantiletin, a kutni tipovi: inofilum A, B, C, E, P, G₁ i G₂, kalanolid A, B i F, (+)-dihidrokalanolid A i B, pseudokordatolid C.² Piranokumarini su također biogenetski izvedeni iz 3-(4-hidroksifenil)-2-propenske kiseline. Linearna, odnosno kutna struktura ovisi o položaju kondenzacije izopentenil pirofosfata na drugom prstenu. Biosinteza ovih složenih kumarina može biti rezultat i ciklizacije jednostavnih kumarina.⁸

Farmakološka aktivnost nekih piranokumarina prikazana je u tablici 2.



Slika 4. Opća struktura linearnog i kutnog piranokumarina

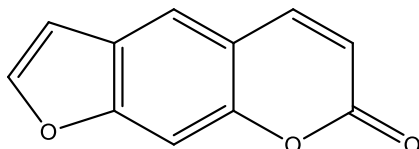
Tablica 2. Piranokumarini i njihova farmakološka aktivnost⁵

LINEARNI PIRANOKUMARINI		KUTNI PIRANOKUMARINI	
VRSTA	FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST	VRSTA	FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST
grandivitin	antibakterijska	inofilum A, B, C, E, P, G ₁ i G ₂	antivirusna
agasilin		kalanolid A, B i F	
agelinol-benzoat		(+)-dihidrokalanolid A i B	
ksantiletin		pseudokordatolid C	
	anti-TB		

2.1.1.3. FURANOKUMARINI

Furanokumarini su derivati kumarina koji na benzenskom dijelu kumarina imaju kondenzirani furanski prsten (slika 5).

Neki od predstavnika furanokumarina su: imperatorin, psoralen, bergapten, metoksalen, marmald i marmelosin.⁵



Slika 5. Opća kemijska struktura furanokumarina

Farmakološka aktivnost nekih predstavnika furanokumarina prikazana je u tablici 3.

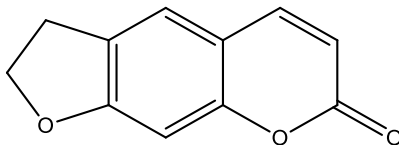
Tablica 3. Furanokumarini i njihova farmakološka aktivnost⁵

VRSTA FURANOKUMARINA	FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST
imperatorin	protuupalna, antibakterijska, antifungalna, antikancerogena, antivirusna, antiepileptična
psoralen	antifungalna, anti - TB
bergapten	anti - TB
metoksalen	inhibitor citokroma P450

2.1.1.4. DIHIDROFURANOKUMARINI

Dihidrofuranokumarini su derivati kumarina koji na benzenskom dijelu imaju kondenzirani tetrahidrofuranski prsten (slika 6).

Predstavnici dihidrofuranokumarina su antogenol, felamidin, marmesin i rutaretin, a njihova farmakološka aktivnost prikazana je u tablici 4.⁵



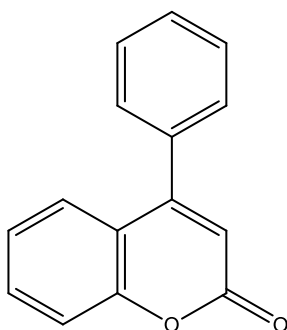
Slika 7. Opća kemijska struktura dihidrofurankumarina

Tablica 4. Dihidrofurankumarini i njihova farmakološka aktivnost⁵

VRSTA DIHIDROFURANOKUMARINA	FARMAKOLOŠKA AKTIVNOST
antogenol	antibakterijska
felamidin	
marmesin	anti - TB
rutaretin	

2.1.1.5. FENILKUMARINI

Fenilkumarini su derivati kumarina supstituirani fenilnim prstenom (slika 7), a predstavnici su: isodispar B, dispardiol B, disparinol D, disparpropilinol B.⁵

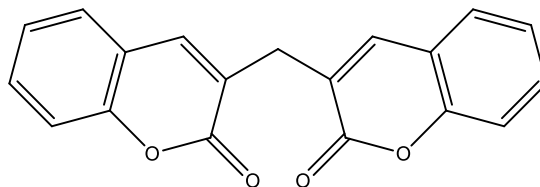


Slika 7. Opća kemijska struktura fenilkumarina

2.1.1.6. BIKUMARINI

Bikumarini su spojevi u kojima su dvije kumarinske jezgre premoštene metilenskim mostom (slika 8).

Ovoj skupini kumarina pripada dikumarol koji ima antikoagulacijska svojstva.² Dikumarol nastaje bakterijskom fermentacijom žute slatke djeteline i prvi je put izoliran iz raspadnutog lišća *Melilotus albus* (Fabaceae/Leguminosae).⁸



Slika 8. Opća kemijska struktura bikumarina

2.1.2. SINTEZA KUMARINA

Kako je već spomenuto, pažnja organskih kemičara je zbog različitih bioloških aktivnosti bila usmjerena ka sintezi novih kumarinskih analoga.¹ Povijest sinteze kumarina započela je sredinom 19. stoljeća, s otkrićem Perkinove sinteze kumarina, reakcije koja i danas nosi njegovo ime. Do danas su razvijeni mnogi postupci za sintezu kumarina poput Pechmannove kondenzacije, Perkinove reakcije, Knoevenagelove kondenzacije, Wittigove reakcije, Kostanecki-Robinson reakcije i mnogih drugih.¹⁰

Tijekom posljednjih godina veliki se naglasak stavlja na ekološki prihvatljive i učinkovite sintetske pristupe. Stoga su kemičari sve veću pozornost pridavali tehnologijama koje omogućuju visoka iskorištenja reakcija, ispunjavanje ekoloških kriterija uštede energije i smanjenje korištenja opasnih reagenasa. U tom pogledu, u sintezi kumarina nastoje se primjenjivati mikrovalovi i/ili ultrazvuk.¹¹

Rastuća tendencija "zelene" i održive kemije dobro je ilustrirana domino reakcijama koje omogućuju direktnu sintezu kompleksnih molekula na vrlo učinkovit način. Kako se tradicionalne organske reakcije smatraju linearnim i stupnjevitim procesima u kojima izolacija i pročišćavanje ključnih komponenti dovodi do niskog iskorištenja, suprotno tome, domino reakcije omogućuju sintezu složenih molekula na učinkovit i ekonomičan način.¹²

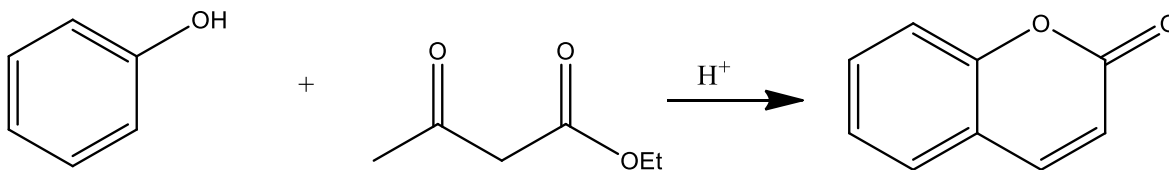
2.1.2.1. PECHMANNOVA KONDENZACIJA

Reakciju Pechmannove kondenzacije prvi su objavili Pechmann i Duisbergov 1883. Ova je metoda za sintezu kumarina široko rasprostranjena zbog preparativne jednostavnosti i jeftinih početnih supstanci. Postupak obuhvaća reakciju fenola i β -keto estera u prisustvu kiselog katalizatora (shema 2).¹ Kiseli katalizatori su sumporna kiselina, trifluoroctena kiselina, P_2O_5 ili Lewisove kiseline kao što su $ZnCl_3$, $AlCl_3$, GaI , $AgOTf$ i $SnCl_2 \cdot H_2O$. Uslijed različitih modifikacija metode, koriste se kruti kiselinski katalizatori ili izmjenjivačke smole, no oni vrlo često zahtijevaju visoke temperature, dugo vrijeme reakcije, te nisko iskorištenje u nekim slučajevima.¹¹

Brojna istraživanja sinteze kumarina i heterocikala općenito su usmjerena na ekološki prihvatljive uvjete, uvjete bez otapala, jer se na taj način značajno smanjuje produkcija otpada i isključuje uporaba organskih otapala.¹¹

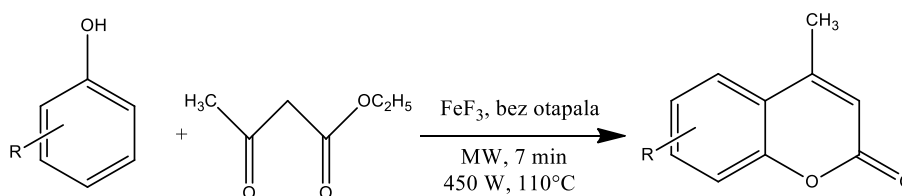
Ovaj sintetski put se koristi za dobivanje prirodnih kumarina i drugih benzopirona koji su od biološke i industrijske važnosti. Nositelji fluorescencije koji sadrže derivate kumarina, a kovalentno su imobilizirani na senzorske membrane, također su sintetizirani ovom metodom. U slučaju kada se koriste aceto-esteri i derivati, ova se reakcija često naziva Pechmann-Duisbergova reakcija.¹⁰

Pechmannovom reakcijom poboljšana su iskorištenja uz mikrovalovima ili ultrazvukom potpomognute sinteze na sobnoj temperaturi. Novija teorijska istraživanja ukazuju na tri moguća H^+ mehanizma Pechmannove reakcije: 1. trans-esterifikacija, elektrofilni napad i eliminacija vode; 2. elektrofilni napad, eliminacija vode i trans-esterifikacija; 3. istovremeno odvijanje elektrofilnog napada, trans-esterifikacije i eliminacije vode.¹¹



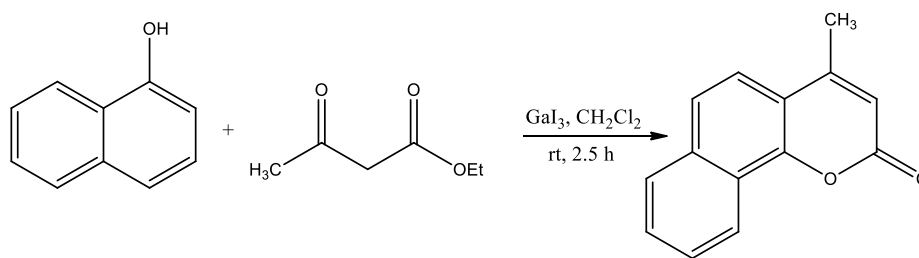
Shema 2. Pechamnnova kondenzacija

Iako klasičan, ovom sintetskom putu posvećuje se još mnogo pažnje kako bi se iskorištenja poboljšala.¹⁰ Tako su Vahid i suradnici objavili "one-pot" sintezu kumarina bez otapala iz supstituiranih fenola i etil-acetoacetata. Reakcija je katalizirana s FeF_3 u skladu sa zaštitom okoliša u mikrovalnim uvjetima, pri čemu je dobiveno visoko iskorištenje uz kratko vrijeme reakcije i jednostavnu izolaciju (shema 3).¹



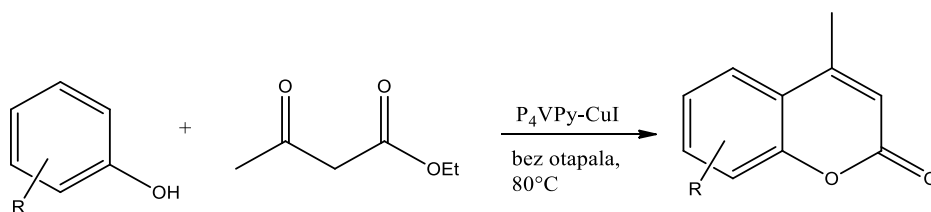
Shema 3. Sinteza kumarina uz FeF_3 kao katalizator

Sun i suradnici razvili su alternativni postupak Pechmannove kondenzacije koristeći galijev trijodid kao katalizator. Prednosti ove metode su blagi uvjeti, kratko vrijeme reakcije, visoko iskorištenje i jednostavan rad (shema 4).¹



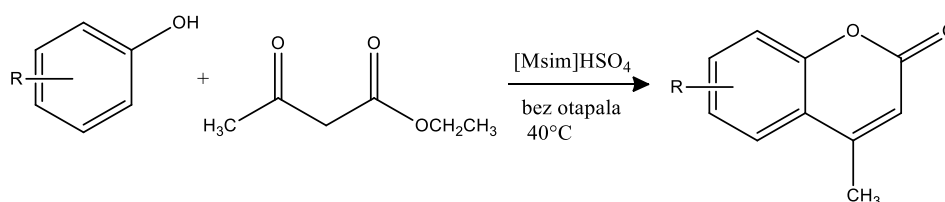
Shema 4. Modificirana Pechmannova kondenzacija uz GaI_3 kao katalizator

Albadi i suradnici objavili su sintezu kumarinskih derivata iz fenola i etil-acetoacetata u prisutnosti katalizatora poli(4-vinilpiridin)- CuI u uvjetima bez otapala pri 80°C . Katalizator je pripremljen refluksiranjem poli(4-vinilpiridina) i CuI u atmosferi N_2 u etanolu. Prednost metode je što se katalizator može regenerirati jednostavnim filtriranjem i reciklirati i do osam puta bez gubitka djelotvornosti (shema 5).¹



Shema 5. Sinteza kumarina uz katalizator poli(4-vinilpiridin)-CuI

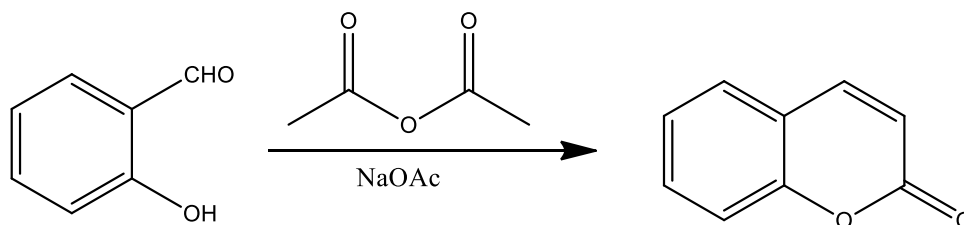
Khaligh i suradnici su objavili sintezu kumarina iz smjese fenola i β -keto estera pri 40°C u uvjetima bez otapala, u prisustvu [Msim]HSO₄ kao katalizatora. Katalizator se učinkovito regenerira dekantiranjem i ponovno se može koristiti i do pet puta s vrlo blagim smanjenjem katalitičke učinkovitosti (shema 6).¹



Shema 6. Sinteza kumarina u prisustvu [Msim]HSO₄ kao katalizatora

2.1.2.2. PERKINOVA REAKCIJA

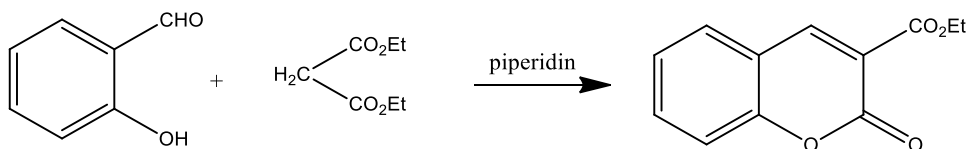
Perkinovom reakcijom kumarin nastaje aldolnom kondenzacijom aromatskog o-hidroksi-benzaldehida i kiselinskog anhidrida u prisustvu alkalne soli. Klasična sinteza kumarina iz salicilaldehida i acetanhidrida je poboljšana korištenjem bezvodnog natrijeva fluorida kao katalizatora ili dibenzo-18-kruna-6 (shema 7).¹⁰



Shema 7. Perkinova reakcija sinteze kumarina

2.1.2.3. KNOEVENAGELOVA KONDENZACIJA

Sinteza kumarina Knoevenagelovom reakcijom uključuje kondenzaciju aromatskih aldehida i aktiviranih metilenskih spojeva u prisustvu amina ili amonijaka.¹ Reakcija je obično katalizirana slabom bazom ili prikladnom kombinacijom amina i karboksilne kiseline, odnosno Lewisove kiseline u homogenim uvjetima (shema 8).¹⁰



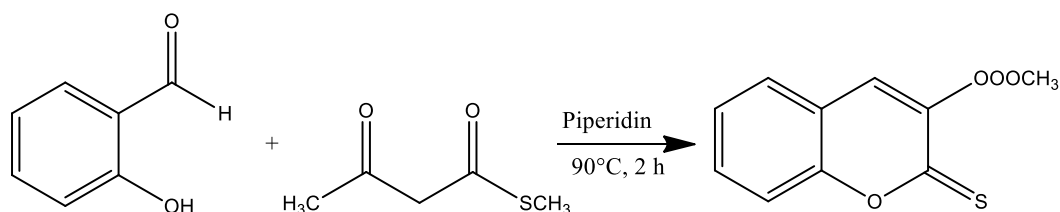
Shema 8. Primjer Knoevenagelove sinteze

Posljednih godina Knoevenagelova kondenzacija potaknuta domino reakcijama je postala neizostavna metoda za djelotvornu sintezu složenih heterocikličkih spojeva (uključujući i prirodne produkte) počevši od jednostavnih supstrata, a također omogućuje i dobivanje vrlo različitih molekula.¹²

Postoji nekoliko vrsta Knoevenagelovih reakcija: Knoevenagelova reakcija potpomognuta mikrovalnim zračenjem, reakcija s glinom kao katalizatorom, Knoevenagelova reakcija u kojoj se primjenjuju ionske tekućine, katalizirana reakcija koristeći biotehnologiju, Knoevenagelova reakcija u vodi, ultrazvučno katalizirana Knoevenagelova reakcija, reakcija bez otapala i Knoevenagelova reakcija u kojoj se za organsku sintezu koristi čvrsta faza.¹³

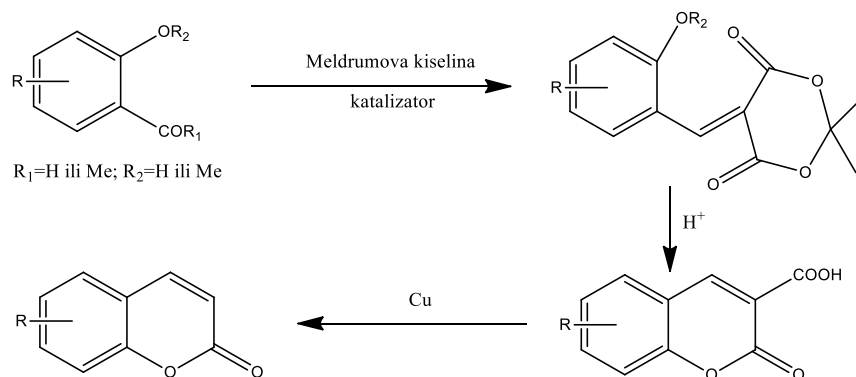
Pomoću ove je metode sintetiziran veliki broj kumarina, npr. kumarin-3-karboksilne kiseline, amino- i alkil-aminokumarini, 3-acetil Kumarini, 3-benzoil Kumarini krunastih etera i heterocikala povezanih s kumarinima preko mosta.¹⁰

Singh i suradnici su objavili sintezu 3-alkanoil-2*H*-2-tiona kondenzacijom β -oksoditioetera i salicilaldehida u prisustvu piperidina u vjetima bez otapala, što je prikazano na shemi 9.¹



Shema 9. Sinteza 3-alkanoil-2H-2-tiona Knoevenagelovom reakcijom

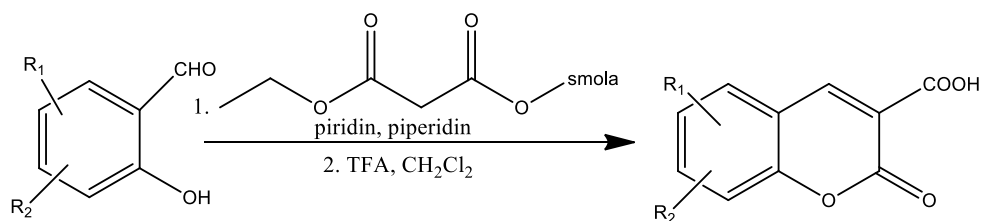
Modifikacija metode od iznimne je važnosti, te je primjerice derivat kumarina izofraksidin (7-hidroksi-6,8-dimetoksikumarin), dobiven ubrzanim postupkom uz siringaldehid derivat i Meldrumovu kiselinu u prisustvu ZnO, dok je 3-karboksilna kiselina kumarina dobivena dekarboksilacijom s bakrom (shema 10).¹⁰



Shema 10. Knoevenagelova reakcija dobivanja izofraksidina

3-karboksikumarini mogu se dobiti sličnim postupkom, korištenjem čvrste faze. Ti se intermedijeri nakon termičke dekarboksilacije prevode u druge intermedijere. 3-karboksikumarini mogu se prirediti i "one-pot" reakcijom u uvjetima bez otapala pomoću Meldrumove kiseline i uz mikrovalno zračenje. Sintaza se odvija u prisutnosti ekološki prihvatljivih katalizatora (kaolin glina).

Upotreba heterogenih katalizatora, zeolita i gline, za sintezu kumarin-3-karboksilne kiseline je tema koja se još uvijek istražuje. Novi derivati kumarin-3-karboksilne kiseline dobiveni su sintezom u čvrstoj fazi, pri čemu se kao početni materijal koristi etil-malonat (shema 11).¹⁰

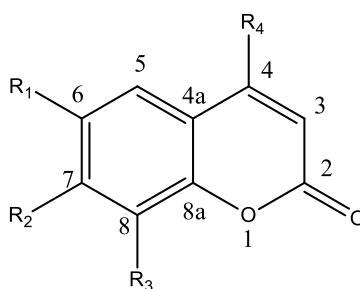


Shema 11. Dobivanje kumarin-3-karboksilne kiseline sintezom na čvrstoj fazi

Knoevenagelovom reakcijom dobiveni su i derivati 3,3'-fenilenbiskumarina. Reakcija se odvija u dvofaznom sustavu kruto/tekuće uporabom jako bazične makroporozne smole, a neki se postupci temelje na direktnoj ciklizaciji odgovarajuće supstituiranih cimetnih kiselina, pri čemu su reagensi lako dostupni.¹⁰

2.2. BIOLOŠKO DJELOVANJE DERIVATA 2H-KROMEN-2-ONA

Velika strukturna raznolikost kumarinskih spojeva omogućuje mnoštvo različitih domena njihove primjene. Najznačajnija su farmakološka, biokemijska i terapijska primjena, koje ovise o načinu supstitucije, odnosno vrsti supstituenta na kumarinu (slika 9).¹⁴



Slika 9. Herniarin: $R_1, R_3, R_4=H$; $R_2=OCH_3$;

eskuletin: $R_1, R_2=OH$; $R_3, R_4=H$;

eskulin: $R_1=6$ -glukozid; $R_2=OH$; $R_3, R_4=H$;

skopoletin: $R_1=OCH_3$; $R_2=OH$; $R_3, R_4=H$;

izoskopoletin: $R_1=OH$; $R_2=OCH_3$; $R_3, R_4=H$;

umbeliferon: $R_1, R_3, R_4=H$; $R_2=OH$;

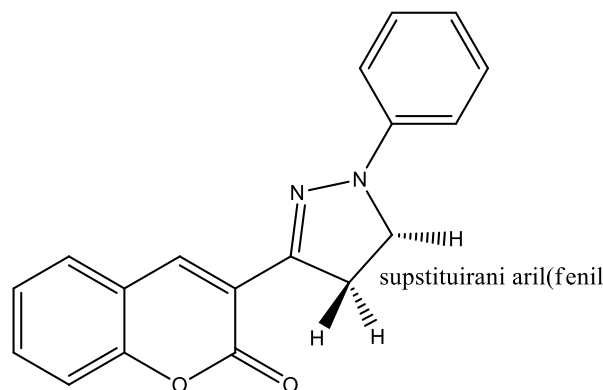
dihidroksumarin: $R_1, R_2, R_3, R_4=H$

Kumarini i njegovi derivati predstavljaju jednu od najaktivnijih klasa spojeva jer posjeduju široki spektar bioloških aktivnosti. Dokazano je da djeluju antibakterijski, antifungalno, antikoagulacijski, protuupalno i antitumorski. Stoga se 4-hidroksikumarini i njegovi derivati učinkovito koriste kao antikoagulansi prilikom tromboflebitisa, plućne embolije i određenih srčanih stanja s vrlo niskom razinom nuspojava i niskom toksičnosti.¹⁵ Pokazuju estrogenu, dermalno fotosenzitirajuću, vazodilatacijsku, moluskicidnu aktivnost, djeluju kao sedativi i hipnotici, inhibiraju agregaciju krvnih pločica.⁴ Njihovo fiziološko, bakteriostatično, antioksidativno, antitumorsko djelovanje kao i sva ostala farmaceutska svojstva svrstavaju kumarine u novu klasu terapijske primjene.¹

2.2.1. PROTUUPALNO DJELOVANJE

2*H*-kromen-2-oni pokazuju protuupalno djelovanje te se koriste u liječenju edema. Djeluju na način da uklanjaju protein i edemsku tekućinu iz ozljeđenog tkiva stimulacijom fagocitoze, enzimskom produkcijom, a time i proteolizom.⁵ Kumarin aktivira makrofag i tako smanjuje otekline nastale uslijed trauma i bolesti i kod ljudi i kod životinja. Kombinacija kumarina i trokserutina ima povoljan učinak u liječenju upale žlijezde slinovnice i upale sluznice usne šupljine.⁴

Za ispitivanje protuupalnog i analgetskog djelovanja provedena su mnoga istraživanja. Khode i suradnici su sintetizirali nove serije 5-(supstituirani)aril-3-(3-kumarinil)-1-fenil-2-pirazolina (slika 10). Svim sintetiziranim spojevima *in vivo* je ispitana protuupalna i analgetska aktivnost u dozama od 200 mg/kg. Od dvanaest pripremljenih spojeva, spojevi koji imaju 4-Cl-C₆H₄, 2,4-(Cl)₂-C₆H₃, 3-OMe-C₆H₄ i 4-F-C₆H₄, pokazali su značajnu protuupalnu aktivnost kod akutne upale, dok spojevi koji imaju 4-Cl-C₆H₄ i 2,4-(Cl)₂-C₆H₃ pokazuju značajnu aktivnost i kod kronične upale. Osim protuupalnog, pronađeno je i analgetsko i antipiretsko djelovanje ovih spojeva.¹⁴



Slika 10. Opća struktura 5-(supstituiranih)aril-3-(3-kumarinil)-1-fenil-2-pirazolina

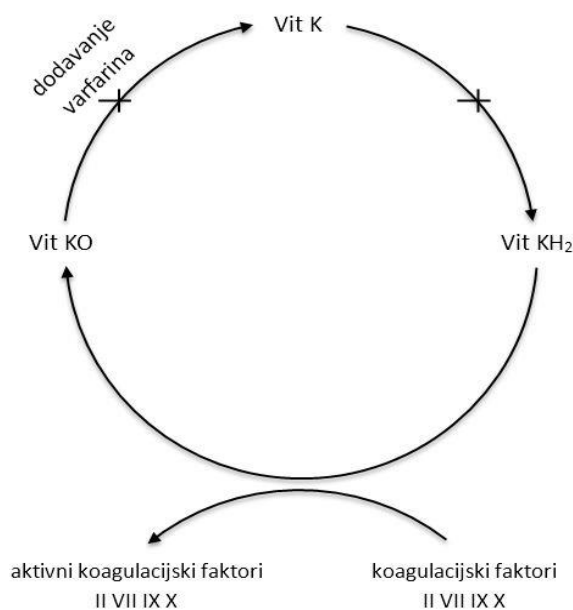
2.2.2. ANTIKOAGULACIJSKA AKTIVNOST

Lijekovi s antikoagulacijskim svojstvima mijenjaju ravnotežu između prokoagulacijskog i antikoagulacijskog djelovanja te su toksičnost i učinkovitost nužno isprepleteni. Npr. prekomjerna stimulacija fibrinoze može dovesti do sustavnog uništavanja fibrinogena i koagulacijskih faktora.¹⁶

Vitamin K igra važnu ulogu u zgrušavanju krvi. Struktura varfarina vrlo je slična strukturi vitamina K te ima antikoagulacijsku aktivnost kao i antagonisti vitamina K. Na početku se varfarin koristio kao otrov za istrebljenje štakora, no kasnije postaje antikoagulans i kao takav se koristi već gotovo 60 godina. Varfarin djeluje antikoagulacijski tako da inhibira stvaranje vitamina K ovisnog o faktorima koagulacije (II, VII, IX, X) u jetri.⁹

Kumarini pokazuju antikoagulacijske učinke inhibirajući ciklus pretvorbe vitamina K, pri čemu se u jetri sintetiziraju djelomično karboksilirani i dekarboksilirani proteini s reduciranim prokoagulacijskim učinkom. U prisutnosti kalcijevih iona, karboksilacija uzrokuje konformacijsku promjenu u koagulaciji proteina što potiče vezanje na kofaktore na fosfolipidnim površinama. Karboksilacija zahtijeva reducirani oblik vitamina K (vitamin KH_2), molekularni kisik i ugljikov dioksid. Epoksid vitamina K se reciklira u vitamin KH_2 u dva koraka. Prvi korak, koji je osjetljiv na antagonist vitamina K, reducira epoksid vitamina K u vitamin K_1 , a drugi, relativno neosjetljiv na antagoniste vitamina K, reducira vitamin K_1 u vitamin KH_2 . Liječenje s antagonistima vitamina K dovodi do trošenja vitamina KH_2 , čime se ograničava γ -karboksilacija vitamina K ovisnog o koagulacijskim proteinima (shema 12).

Dikumarol također pokazuje značajna antikoagulacijska svojstva. Kumarini su antagonisti vitamina K koji proizvode njihove antikoagulacijske učinke interferencijom s cikličkom interkonverzijom vitamina K i njegovog 2,3 epoksida. Vitamin K je kofaktor za posttranslacijsku karboksilaciju ostataka glutamata u γ -karboksilglutamate na *N*-terminalnom mjestu vitamina K ovisnog o proteinima.⁵



Shema 12. Ciklus varfarina i vitamina K

2.2.3. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

Kumarini s fenolnim hidroksilnim skupinama pokazuju sposobnost hvatanja slobodnih radikala osobito reaktivnih kisikovih vrsta i često se koriste kao inhibitori ciklooksigenaze i lipooksigenaze u upalnom ciklusu.

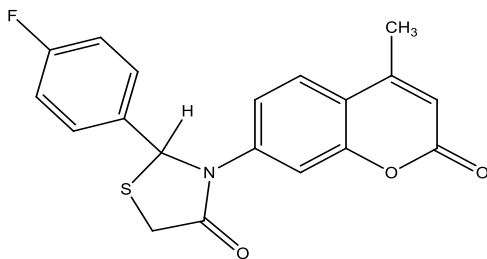
Mnogobrojni kumarini utječu na stvaranje i "hvatanje" reaktivnih kisikovih (ROS) i dušikovih (RNS) vrsta i na taj način djeluju kao antioksidansi. To uključuje niz različitih molekularnih mehanizama djelovanja što je vjerojatno povezano s njihovom strukturnom sličnošću s flavonoidima i benzofenonima.

7-hidroksikumarin je prirodni benzopiron, ljudski metabolit koji ima važnu ulogu kao antioksidans u ljudskoj prehrani (voće i povrće),⁴ dok fraksin pokazuje sposobnost hvatanja slobodnih radikala pri visokim koncentracijama (0,5 mM).⁵

Brza, jednostavna i jeftina metoda za mjerenje antioksidativne djelotvornosti spojeva je DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metoda.¹⁷ Ovom je metodom određena antioksidativna aktivnost 2-fenil-3-(4-metilkumarinil-7-oksiacetamido)-5-karboksimetil-4-tiazolidiona, a utvrđeno je da spoj s nesupstituiranim fenilom pokazuje antioksidativno djelovanje (> 95%) u usporedbi sa standardnom askorbinskom kiselinom.¹

2.2.4. ANTIMIKROBNA AKTIVNOST (ANTIFUNGALNA)

Kumar i suradnici objavili su sintezu i antimikrobno djelovanje 7-(2-supstituiranih feniltiazolidinil)-benzopiran-2-ona. Pronađeno je da sintetizirani spojevi imaju antibakterijsko i antifungalno djelovanje, djelovanje protiv bakterijskih i gljivičnih vrsta. Među sintetiziranim spojevima, spoj koji ima benzenski prsten supstituiran fluorom, pokazao je dobru antimikrobnu aktivnost (slika 11).¹

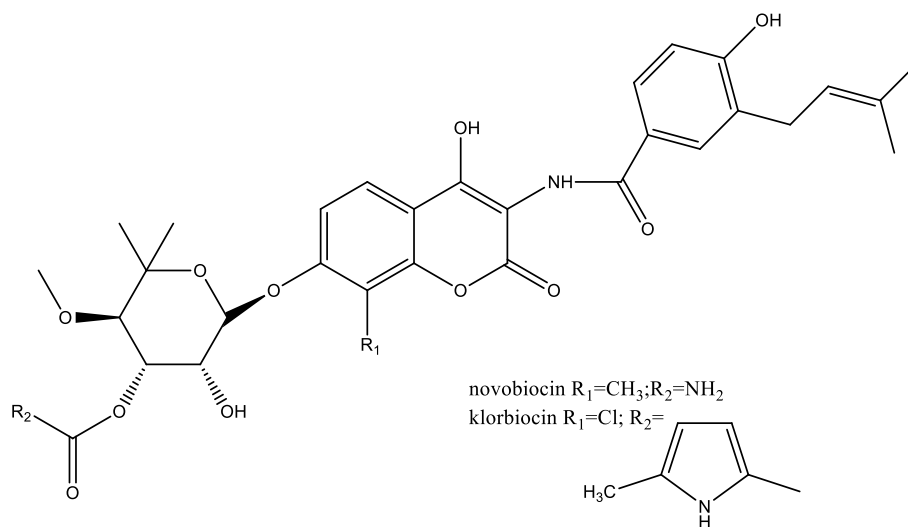


Slika 11. 7-(2-supstituirani feniltiazolidinil)-benzopiran-2-on

Ostol, bioaktivni derivat kumarina, pokazuje širok spektar antifungalnog djelovanja protiv biljnih patogena poput *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* i *Fusarium graminearum*.⁵

Novobiocin i klorbiocin (slika 12), kumarinski su antibiotici prirodnog porijekla koji su inhibitori DNA-giraze. Obzirom na određena ograničenja ovih spojeva, kao što su topljivost, toksičnost, rezistentnost, sintetizirani su kumarinski analozi ovih spojeva. Veliki su naponi usmjereni ka povećanju djelotvornosti spojeva, a studije su pokazale da molekule srodne kumarinima sadrže kumarinski dio i izoesterski dio (karboksilne ili bazične amino skupine) koji uvelike poboljšavaju antibakterijsko djelovanje. Tako je sintetiziran analog novobiocina koji je supstituiran raznim amino skupinama, a pokazuje izvrsna inhibitorska djelovanja na DNA-girazu.¹⁰

Dobra antifungalna svojstva pokazuju kumarini s dugim ugljikovodičnim lancem, kao npr. amorezinol i ostrutin koji pokazuju aktivnost protiv gram-pozitivnih bakterija *Bacillus megaterium*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus lysodeikticus* i *Staphylococcus aureus*. Kumarinski derivat antogenol pokazuje aktivnost protiv bakterija *Enterococcus*, a furanokumarinski derivat imperatorin protiv *Shigella dysenteriae*. Agelinol i agasilin pokazuju značajnu antibakterijsku aktivnost protiv klinički izoliranih gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterijskih sojeva kao što su *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*.⁵



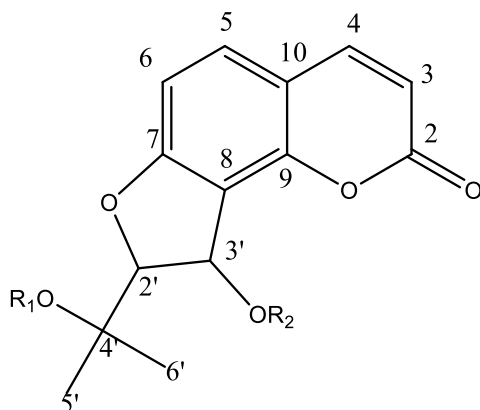
Slika 12. Struktura novobiocina i klorbiocina

2.2.5. ANTITUMORSKA AKTIVNOST

Kako su maligne bolesti postale najveća prijetnja za ljudsko zdravlje, antitumorska, odnosno antikancerogena aktivnost kumarina jedno je od njegovih najvažnijih svojstava.⁹ Razna istraživanja su potvrdila da velika većina biljnih ekstrakata koji su se u povijesti koristili u medicinske svrhe sadrži visoke koncentracije kumarina. Kumarin i njegovi metaboliti koji pokazuju antitumorsku aktivnost na nekoliko linija stanica tumora kod ljudi, pokazali su se kao inhibitori stanične proliferacije kod stanica želučanog karcinoma, a već je dokazana aktivnost kumarina protiv raka prostate, malignog melanoma i metastatskog renalnog staničnog karcinoma. Osim što se mogu koristiti u liječenju raka, koriste se 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.⁴ Najatraktivniji antikancerogeni spojevi su oni koji suzbijaju napredovanje metastaza bez znatne toksičnosti.⁶

Antitumorska aktivnost, kao i ostala biološka svojstva, ovise o kemijskoj modifikaciji kumarinskog prstena. Nuklearni faktor aktiviranih T stanica (NFAT) (slika 13) otkriven je kao faktor koji aktivira transkripciju interleukina-2 (IL2), a kasnije je važan za aktivaciju T stanica. Inhibicija NFAT je vrlo korisna za liječenje ili prevenciju od bolesti koje uzrokuju citokini (rak, leukemija, hepatitis i druge). Kada se NFAT inhibitor koristi u medicini, doza aktivnog sastojka je od 0,01mg do 1g po danu za odrasle osobe.²



Slika 13. Nuklearni faktor aktiviranih stanica (NFAT)

2.2.6. OSTALE BIOLOŠKE AKTIVNOSTI

Alzheimerova bolest (AD) je degenerativna bolest središnjeg živčanog sustava karakterizirana smanjenom sposobnošću pamćenja, kognitivnom disfunkcijom, promjenom osobnosti i jezičnom barijerom. Novija istraživanja su pokazala da kumarinski derivati mogu inhibirati AD. Tako je grupa M. J. Matos³ sintetizirala niz 3-supstituiranih derivata kumarina kod kojih su biološka ispitivanja pokazala inhibiciju monoamin-oksidge A i monoamin-oksidge B izoformi kao i acetilkolina u mikromolarnom području. Grupa X. B. Wang sintetizirala je kumarinske hibride koji također pokazuju inhibiciju AD inhibirajući kolinesterazu i izazivaju združivanje β -amiloida.⁹

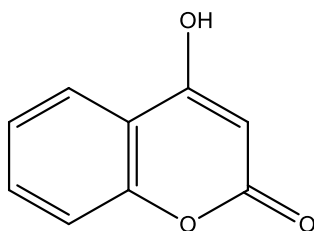
Određeni dimeri kumarina, posebice oni s hidrofobnim skupinama, pokazali su se kao značajni inhibitori HIV-1-integaze.

5,7,4'-trihidroksi-4-stirilumarin pokazuje izraženu antivirusnu aktivnost, dok klorikromen izaziva vazodilataciju. Furanokumarini se koriste u fotokemoterapeutskim tretmanima za liječenje kožnih bolesti, limfoma i autoimunih bolesti.⁴ Imperatorin i ostol pokazuju antikonvulzivno djelovanje u miševa, dok ostol može biti i terapeutsko sredstvo za liječenje multiple skleroze. Inofilums i kalanolid predstavljaju nove derivate kumarina koji su inhibitori HIV-a.⁵

2.3. 4-HIDROSIKUMARINI I NJEGOVI DERIVATI

4-hidroksikumarini (slika 14) su vrlo važni heterocikli u području organske sinteze. Značajni su ne samo kao sintetski krajnji spojevi, već i kao strukturna jezgra mnogih drugih spojeva. Pokazuju široki spektar farmakoloških i fizioloških djelovanja sa izuzetnim antikoagulacijskim djelovanjima, antibakterijskim i antifungalnim aktivnostima. Pokazuju i antivirusno, antitumorsko i antiepileptično djelovanje, koriste se kao protuupalna sredstva, antioksidansi, insekticidi i fungicidi.¹⁸ Osim svojih bioloških aktivnosti, od velikog su interesa i zbog svoje karakteristične konjugirane molekulske strukture.¹⁹

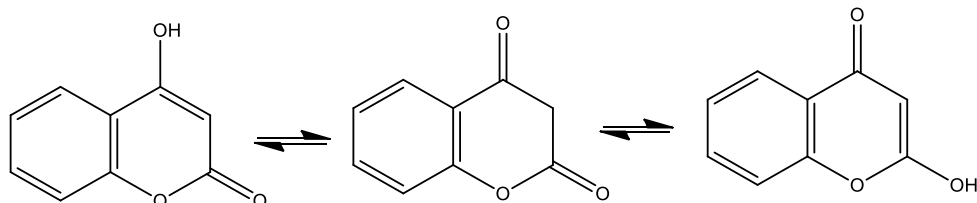
Zbog raznolike primjene, provedene su brojne sinteze njihovih analoga. Prisutnost reaktivnih centara u ovom spoju omogućava sintezu velikog broja novih spojeva uz relativno blage uvjete koristeći jednostavnu laboratorijsku opremu.²⁰



Slika 14. 4-hidroksi kumarin

Ova vrsta kumarina može postojati u tri keto-enolna tautomerna oblika (shema 12) kao 4-hidroksi-2-kromenon, 2,4-kromandion i 2-hidroksi-4-kromenon, a podliježe i elektrofilnim i nukleofilnim reakcijama. Značajnija je ipak nukleofilna reakcija ugljikovog atoma na položaju 3.¹⁸ Reakcije koje uključuju 4-hidroksikumarini su jako regioselektivne, a tijekom reakcije se lako

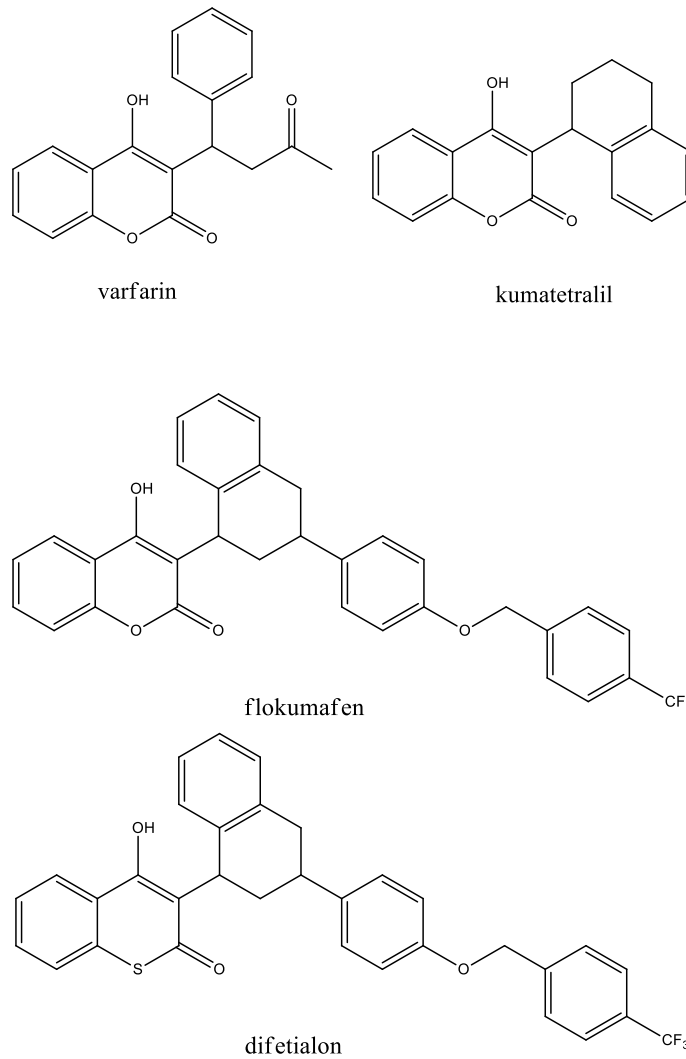
kontrolira promjenom reakcijskih uvjeta i različitim supstituentima u molekulama početnog spoja.²⁰



Shema 13. Moguće tautomerne strukture 4-hidroksikumarina

Struktura 4-hidroksikumarina istraživana je UV, IR, LRMS i NMR spektroskopijom. UV spektar prikazuje karakterističan apsorpcijski maksimum na 308 nm, dok analiza IR spektroskopijom pokazuje karakteristične vrpce na 3380 cm^{-1} (OH), 1650 cm^{-1} (C,O) i 1530 cm^{-1} (C,C, arom.). Karbonilna istežanja 4-hidroksikumarina u kloroformu i dioksanu uzrokuju batokromni pomak na 1660 cm^{-1} , a do pomaka ne dolazi ukoliko je IR snimljen u kalijbromidu.¹⁷ U ^1H NMR spektru otkriven je jedan signal kao singlet (H-3) na 5.61 ppm, što je tipičan kemijski pomak za vodike na nearomatskim dvostrukim vezama te signali aromatskih vodika (H-5, H-6, H-7, H-8), kao dva multiplleta jednakih intenziteta na 7.66 i 7.84 ppm za C-5 i C-6 protone, odnosno na 7.36 i 7.39 ppm za C-7 i C-8 protone. Konstante sprege za C-5, C-6 protone te za C-7, C-8 protone su jednake i iznose $J=7.8\text{ Hz}$. Vodik iz hidroksilne skupine nije vidljiv zbog brze vodik/deuterij izmjene. ^{13}C NMR 4-hidroksikumarina pokazuje da C-2, C-4 i C-9 ugljici rezoniraju u nižem polju u usporedbi s ostalim ugljicima.¹⁸

Postoji niz derivata 4-hidroksikumarina (slika 15) koji su sintetizirani zbog raznolike primjene i izvanrednih bioloških svojstava 4-hidroksikumarina. Potencijal 4-hidroksikumarinskih derivata kao protuupalnih i antioksidativnih sredstava potaknuo je istraživače da dizajniraju i sintetiziraju seriju novih kumarinskih analoga. Detsi i suradnici su sintetizirali neke nove kinolinske-3-aminoamide s metilnom ili fenilnom skupinom na dušikovom heteroatomu kondenzirane s α -lipoičnom kiselinom (LA) te su dobili spojeve s kombiniranim antioksidativnim i protuupalnim svojstvima. Kondenzacijom α -lipoične kiseline na kumarinski prsten pokazano je da se neki od novih hibridnih spojeva mogu koristiti u prevenciji ljudskih bolesti što se pripisuje slobodnim radikalima.²¹

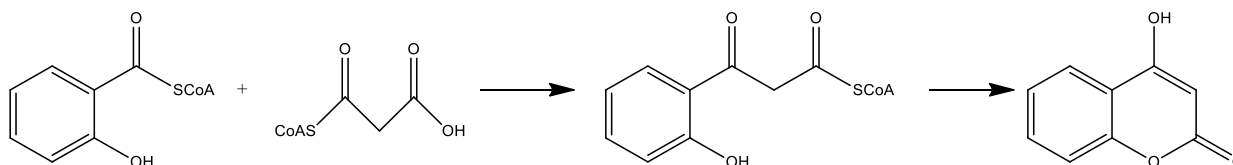


Slika 15. Strukture nekih derivata 4-hidroksikumarina

2.3.1. SINTEZA 4-HIDROKSIKUMARINA

2.3.1.1. BIOSINTETSKI PUT

Biosinteza 4-hidroksikumarina uključuje bis-kataliziranu reakciju salicil-CoA s malonil-CoA, čime nastaje diketonski intermedijer koji se podvrgava intramolekularnoj ciklizaciji nukleofilnim napadom hidroksilne skupine na CoA ili cisteinom povezan C-1 tioester dajući 4-hidroksikumarin (shema 14).¹⁸

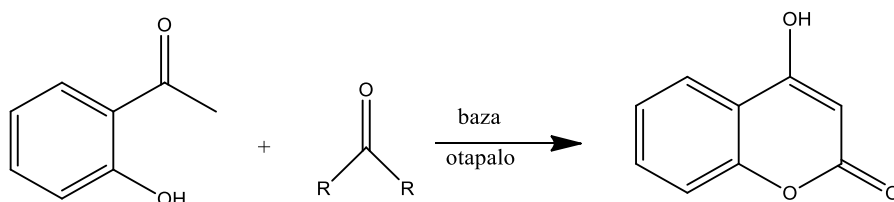


Shema 14. Biosinteza 4-hidroksikumarina

2.3.1.2. KEMIJSKI SINTETSKI PUT

Kao polazni spoj prilikom kemijske sinteze 4–hidroksikumarina najčešće se koriste hidroksiacetofenon ili fenol.

Reakcija 2-hidroksiacetofenona s acilirajućim agensima poput fosgena, dimetilkarbonata ili dietilkarbonata u prisutnosti baze, bezvodnog toluena ili ksilena, daje 4-hidroksikumarin u promjenjivom iskorištenju (shema 15). Dokazano je da je natrij-hidrid, u usporedbi s natrijevim etoksidom, metalnim natrijem, natrij-3-aminopropilamidom (NaAPA) i kalij-3-aminopropilamidom (KAPA) najučinkovitija baza.¹⁸



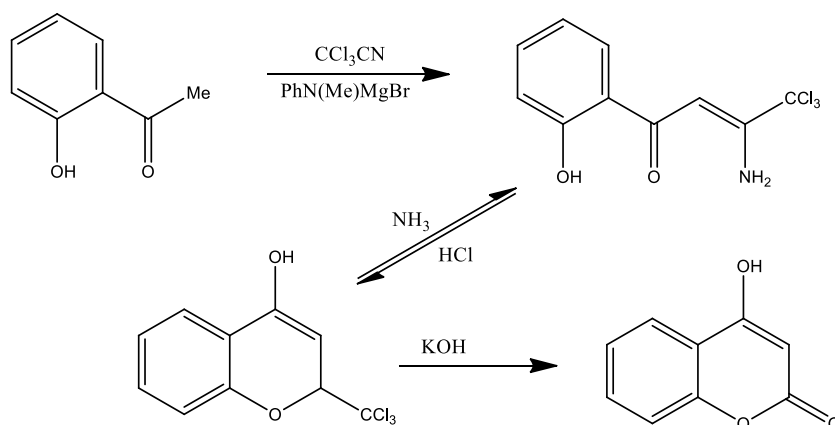
R=OEt, OMe ili Cl;

Baza=NaOEt, NaH, NAPA, KAPA, Na;

Otapalo: ksilen ili toluen

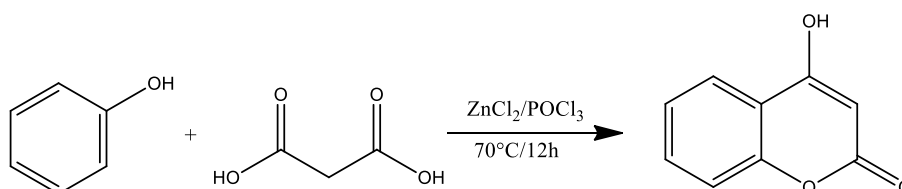
Shema 15. Sinteza 4-hidroksikumarina

Kondenzacija 2-hidroksiacetofenona s 3-kloracetonitrilom u prisustvu *N*-metilanilinomagnezij-bromida daje (*Z*)-3-amino-4,4,4-triklor-1-(2-hidroksifenil)but-2-en-1-on, koji je preveden u 2-(triklormetil)kromon nakon obrade s koncentriranom klorovodičnom kiselinom. Iz 2-(triklormetil)kromona reakcijom s KOH nastaje 4-hidroksikumarin (shema 16).¹⁸

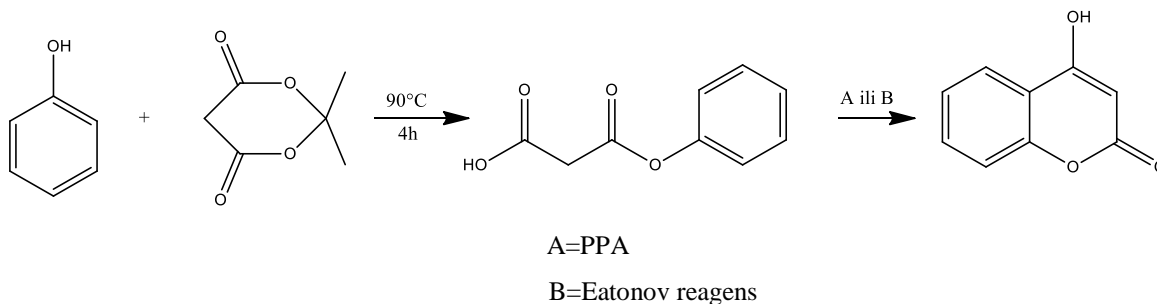


Shema 16. Sinteza 4-hidroksikumarina

Zagrijavanjem fenola s malonskom kiselinom (shema 17) u POCl_3 koji sadrži dvostruku količinu bezvodnog ZnCl_2 , može se sintetizirati 4-hidroksikumarin kao i iz reakcije fenola i meldrumske kiseline u uvjetima bez otapala iz koje najprije nastaje 3-okso-3-fenoksipropanska kiselina koja se nakon tretmana PPA (polifosforne kiseline) ili Eatonovog reagensa transformira u 4-hidroksikumarin (shema 18).¹⁸

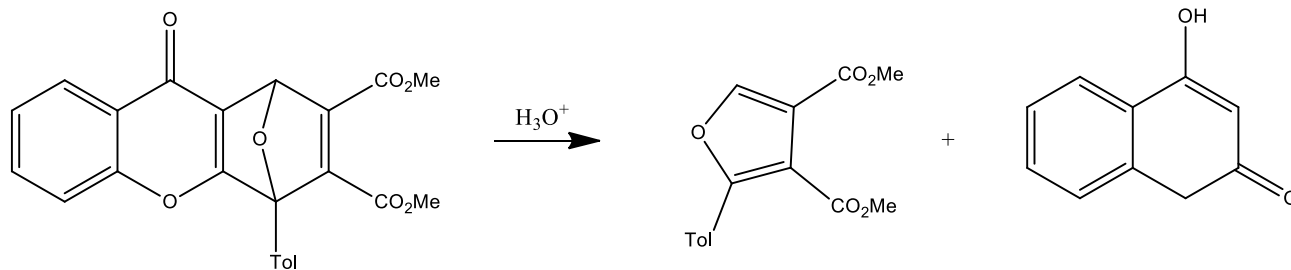


Shema 17. Sinteza 4-hidroksikumarina



Shema 18. Sinteza 4-hidroksikumarina

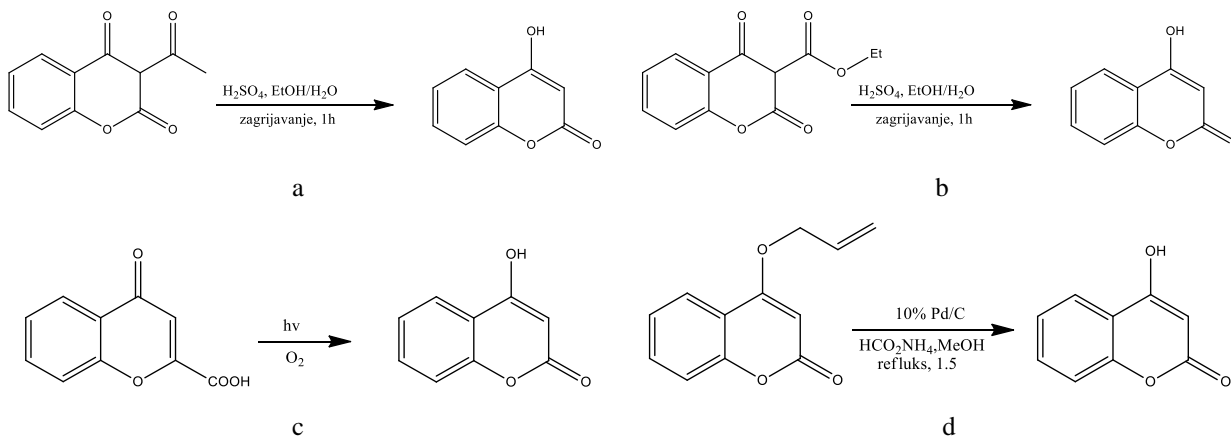
Hidrolitička retro Diels-Alderova reakcija (RDA), novi je sintetski put za stvaranje 4-hidroksimurina i furanskih derivata kiselo kataliziranom hidrolitičkom reakcijom 7-oksabicyklo[2.2.1]heptadiena (shema 19).¹⁸



Shema 19. Diels-Alderova reakcija sinteze 4-hidroksikumarina i furanskog derivata

4-hidroksikumarin može nastati i kiselo kataliziranim deacetiliranjem 3-acetil-4-hidroksikumarina, gdje 4-hidroksikumarin nastaje u 90% iskorištenju (shema 20a), kiselo kataliziranom hidrolizom i dekarboksilacijom 3-karbetoksi-4-hidroksikumarina, (shema 20b) kao i fotooksigencijom kromen-2-karboksilne kiseline (shema 20c).

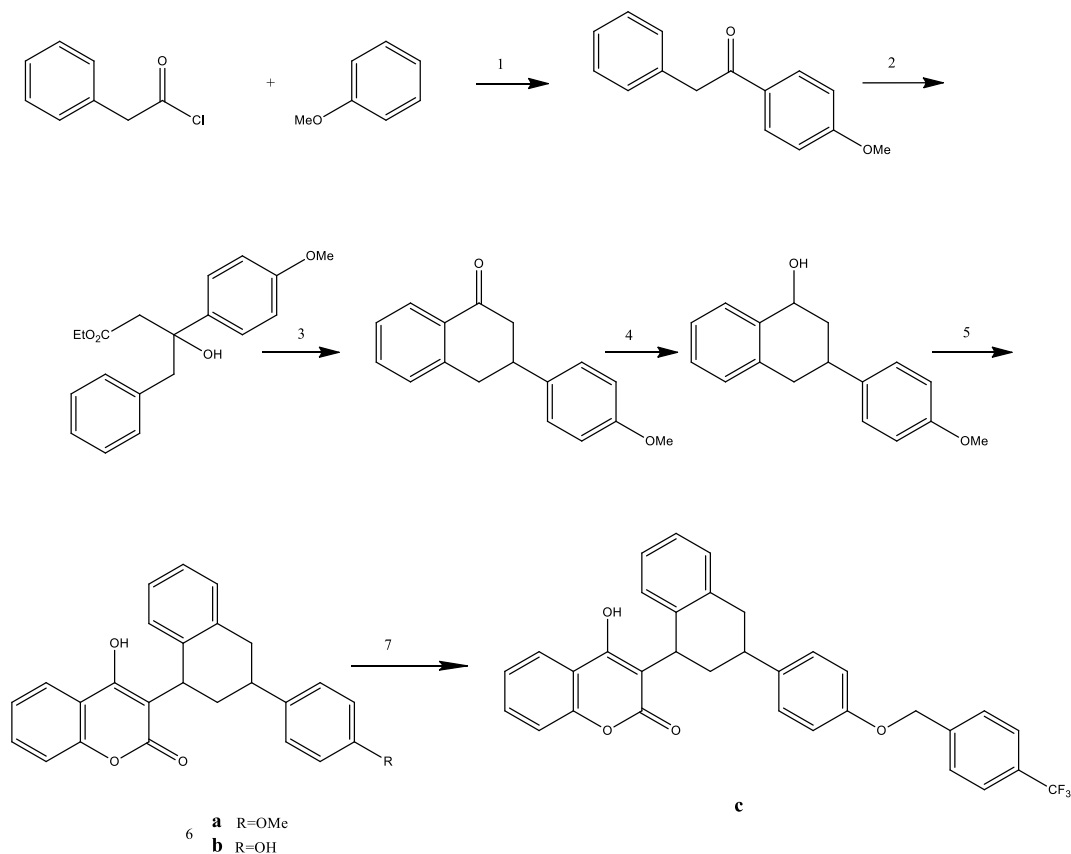
Dobivanje odcjepljenjem 4-alil-kumarinil-etera je reakcija u kojoj se kao katalizator koristi paladij na aktivnom ugljenu u metanolu, a 4-hidroksikumarin nastaje u reakciji s amonijevim metanoatomom (shema 20d).¹⁸



Shema 20. Različite sinteze 4-hidroksikumarina

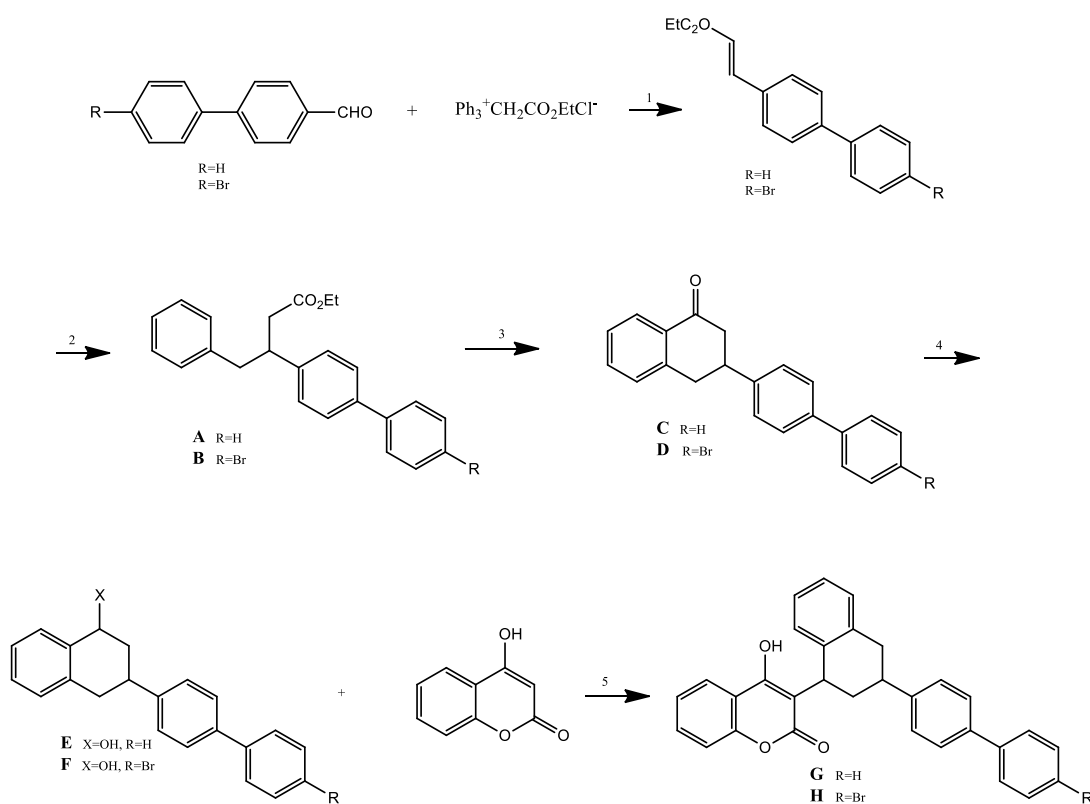
2.3.2. SINTEZA DERIVATA 4-HIDROSIKUMARINA

Sinteza flokumafena prikazana je na shemi 21, a glavne reakcije su Friedel-Craftsovo aciliranje, Reformatsky reakcija i reakcija dehidratacije. Fenilacetil-klorid se kondenzira s anisolom u prisutnosti AlCl_3 , čime nastaje keton, koji se potom tretira s etil-bromacetatom kako bi se dobio hidroksietilni ester. Dehidrosiliranjem s trietilsilanom i bortrifluoridom nastaje odgovarajući ester koji se lako hidrolizira u baznim uvjetima i ciklizira uz polifosforu kiselinu i stvara tetralon. Redukcijom tetralona natrijevim borhidridom nastaje sekundarni alkohol koji se potom spaja s 4-hidroksikumarinom u prisutnosti p-toluensulfonske kiseline i nastaje spoj **a**. Demetiliranjem tog spoja bromovodičnom i octenom kiselinom nastaje fenol **b** koji se O-alkilira s 3-(trifluorometil)benzil-bromidom u natrijevom hidridu/THF i tako nastaje flokumafen **c** u dobrom iskorištenju (shema 21).¹⁹



Shema 21. Sinteza derivata flokumafena

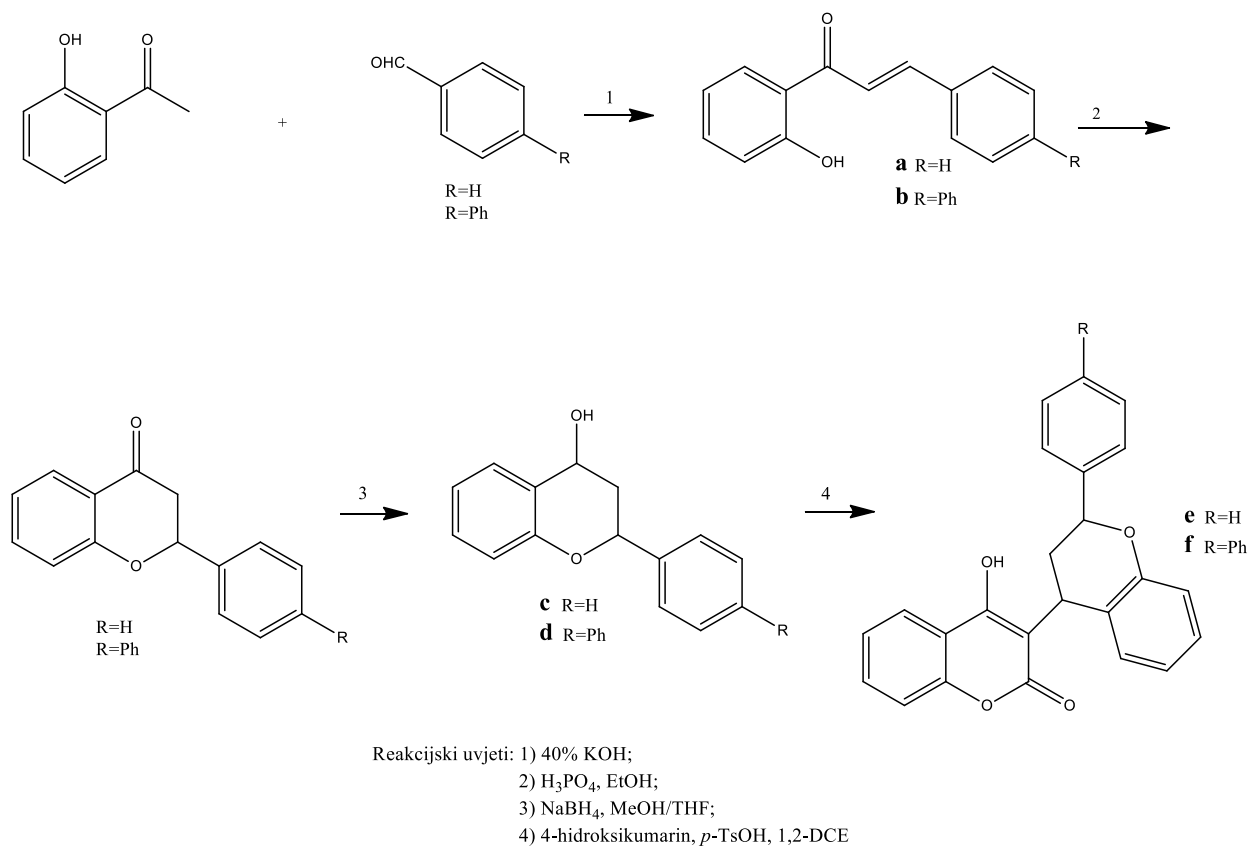
Ferreira i suradnici su sintetizirali difenakum i brodifakum u kojem je ključni korak stereospecifično nastajanje jedne od ključnih veza u molekularnoj strukturi koristeći asimetričnu organobakrenu 1,4-adiciju na kiralni imid (shema 22). Wittigova kondenzacija svježe pripremljenih aldehida i karbetoksitriphenilfosfonijevog klorida u prisustvu natrijeva metoksida u DMF-u daje bifenične estere u 92%-tnom, odnosno 87%-tnom iskorištenju. Zbog dobrog iskorištenja, metodologija sinteze je primijenjena i na sintezu butanoata. 1,4-Michaelovom adicijom bifeničnih estera i BnCu-TMEDA kompleksa u prisustvu TMS-Cl nastaju spojevi **A** i **B** u iskorištenju od 84% i 81%, nakon čega slijedi ciklizacija prstena uz AlCl₃ u toluenu pri čemu nastaju tetraloni **C** i **D** u iskorištenju od 88% i 86%. Reakcija spajanja između 4-hidroksikumarina i sekundarnog alkohola **E** ili bromiranog spoja **F** u HCl-u pri 160°C i 30 min daje približno jednake količine *cis* i *trans* izomera 4-hidroksikumarinskih derivata **G** i **H** (shema 22).



Reakcijski uvjeti: 1) NaOMe, DMF;
 2) BnCu-TMEDA, TMSCl, THF, -78°C do 30°C;
 3) AlCl₃, toluen, 90°C;
 4) NaBH₄, EtOH/THF, rt, PBr₃, diklormetan, 0°C;
 5) HCl(g), 160°C

Shema 22. Sinteza difenakuma i brodifakuma

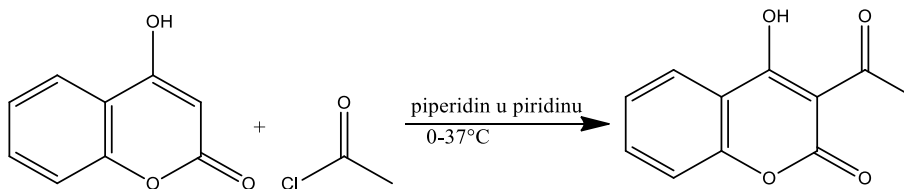
Yang i suradnici su sintetizirali difenakumenske analoge koristeći bazno kataliziranu aldolnu kondenzaciju, intramolekulsku ciklizaciju i reakcije povezivanja. 2-hidroksiacetofenon je tretiran aromatskim aldehydima u uvjetima bazno katalizirane aldolne reakcije kako bi nastali kondenzirani spojevi **a** i **b**. Spojevi **a** i **b** se lako cikliziraju pomoću fosforne kiseline u etanolu, pri čemu je dobiven 2-bifenilkroman-4-on, koji redukcijom s natrijevim borhidridom u metanolu daje alkohole **c** i **d**, koji se potom u prisustvu *p*-toluensulfonske kiseline kondenziraju s 4-hidroksikumarinom u 1,2-dikloretanu u ciljane spojeve **e** i **f** (shema 23).¹⁹



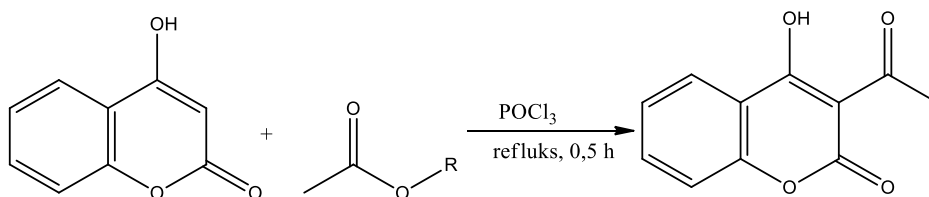
Shema 23. Sinteza difenakumenskih analoga

Sinteza 3-acetil-4-hidroksikumarina može se provesti na nekoliko načina. Jedan od načina je izravnim acetiliranjem 4-hidroksikumarina pomoću piridina ili piperidina kao katalizatora (shema 24), zatim preko 4-hidroksikumarina s octenom kiselinom ili anhidridom octene kiseline u prisustvu fosfornog oksiklorida kao katalizatora (shema 25), kiselo kataliziranim deaciliranjem 4-acetoksi-3-acetilkumarina (shema 26), kao i zagrijavanjem fenola s

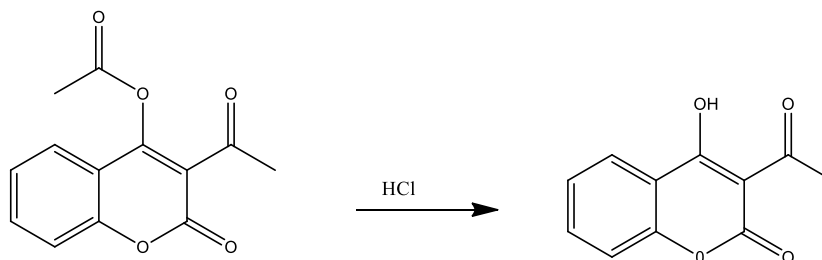
2-acetilmalonskom kiselinom u fosfor-oksikloridu koji sadrži dvostruku količinu bezvodnog $ZnCl_2$ (shema 27).²²



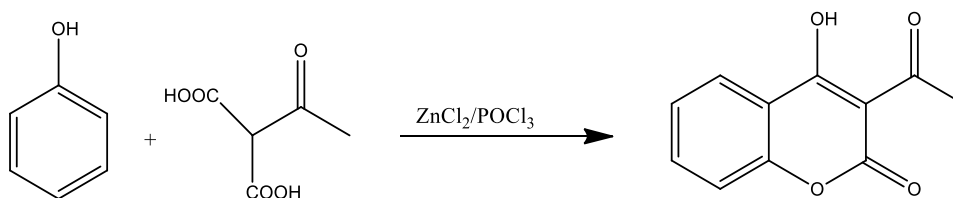
Shema 24. Sinteza 3-acetil-4-hidroksikumarina izravnim acetiliranjem



Shema 25. Sinteza 3-acetil-4-hidroksikumarina preko octene kiseline ili anhidrida octene kiseline

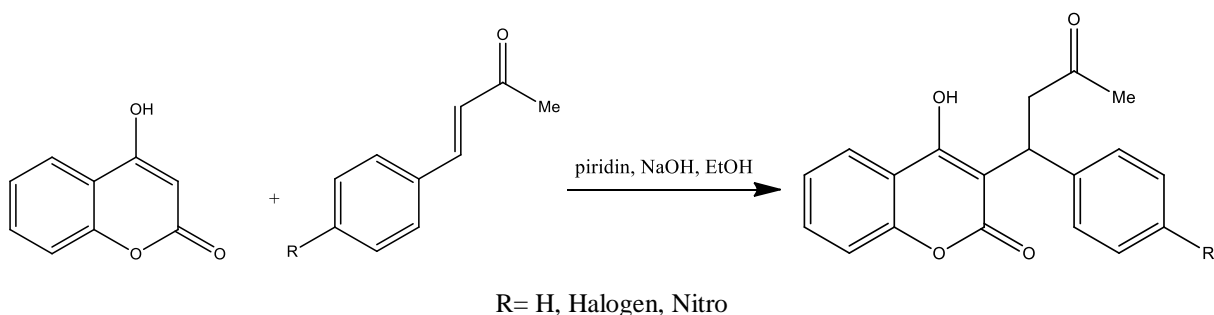


Shema 26. Sinteza 3-acetil-4-hidroksikumarina kiselo kataliziranim deaciliranjem 4-acetoksi-3-acetilkumarina



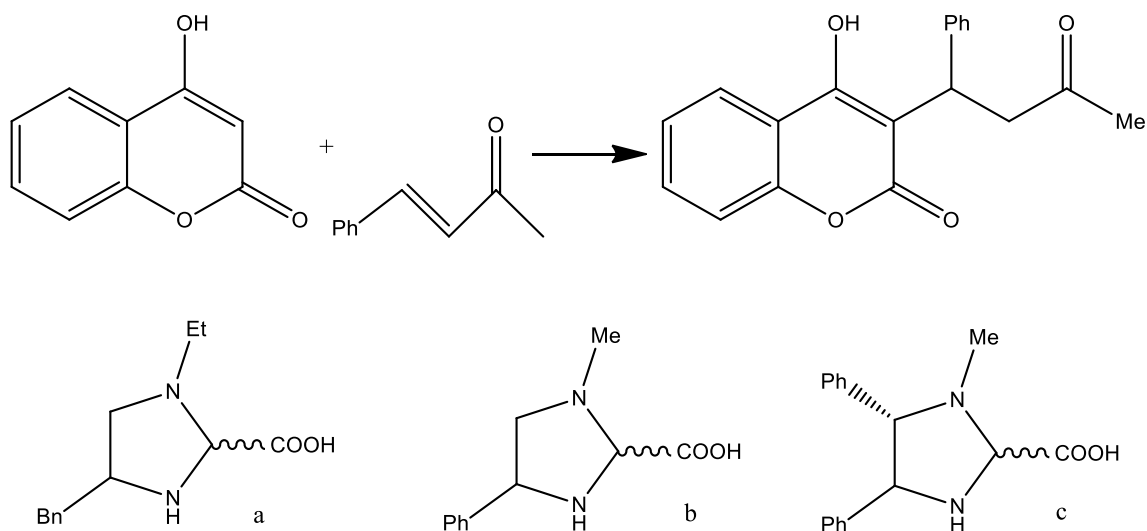
Shema 27. Sinteza 3-acetil-4-hidroksikumarina zagrijavanjem fenola s 2-acetilmalonskom kiselinom

Danchev i suradnici sintetizirali su derivate 4-hidroksikumarina s antikoagulacijskim svojstvima. Reakcija se temelji na kondenzaciji nezasićenog ketona i 4-hidroksikumarina ili supstituiranih aromatskih aldehida (shema 28).¹⁹



Sinteza 28. Sinteza antikoagulacijskih derivata

Jorgensen i suradnici¹⁹ su organokatalitičkom asimetričnom 1,4-Michaelovom adicijom 4-hidroksikumarina i α,β -nezasićenih ketona sintetizirali kumadin i neke njemu slične spojeve (shema 29). U ovoj su sintezi koristili 'one-step' metodu što se pokazalo izvanrednim za sintezu niza biološki aktivnih spojeva. Na tragu toga, Tagliapietra i suradnici su razvili asimetričnu 'two-step' sintezu i tako dobili antikoagulanse kao što su varfarin, kumaklor, acenokumarol i sl.¹⁹



Reakcijski uvjeti: 10 mol % katalizatora a, b i c, diklormetan, rt

Shema 29. Organokatalitička 1,4-Michaelova adicija 4-hidroksikumarina i α,β -nezasićenih ketona

2.3.3. BIOLOŠKA AKTIVNOST 4-HIDROKSIKUMARINA I NJEGOVIH DERIVATA

Veliki broj 4-hidroksikumarina i njihovih derivata su sintetizirani u svrhu prevencije bolesti kod ljudi i životinja. Većina derivata 4-hidroksikumarina pokazala je dobra antikoagulacijska svojstva, dok mnogi spojevi pokazuju i druge aktivnosti kao što su protuupalne, antikancerogene, teratogene, antibakterijske, fotoafinitetne aktivnosti i mnoge druge.¹⁹ Učinkoviti su i kod liječenja tromboflebitisa, plućne embolije i određenih srčanih stanja. Izvršni su antikoagulansi s malom toksičnošću i niskim nuspojavama. Štite stanične organele od štetnog djelovanja slobodnih radikala koji nastaju iz egzogenih kemikalija, napreznjima ili u probavnom sustavu, a koji imaju sposobnost oksidiranja biomolekula, što za posljedicu ima stvaranje karcinoma, koronarne bolesti srca i hipertenziju.¹⁵

Ipak, antioksidativno djelovanje je najistaknutije od svih ostalih farmakoloških učinaka. Počevši od varfarina, koji predstavlja prvu generaciju antikoagulansa, a također i brojni drugi spojevi poput brodifakuma, bromadiolona, klorofacinona, difenakuma, kumatetralila, flokumafena i difetialona su djelotvorni antikoagulansi rodenticida.¹⁹ Uloga antioksidansa je uklanjanje slobodnih radikala. Jedan od mehanizama kojim se to postiže je doniranje vodika na slobodne radikale i njihovo svođenje na nereaktivne metabolite. Dodatak vodika uklanja neparno elektronsko obilježje koje je odgovorno za radikalnu reaktivnost. Dokazano je da slobodni radikali igraju važnu ulogu u patogenezi nekih bolesti i starenja.¹⁵

Derivat 3-acetil-4-hidroksikumarin inhibira sojeve bakterija *Staphylococcus aureus*, *S. Aureus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* i jednu vrstu gljivica *Candida Albicans*.²²

3,3'-(4-klorfenilmetilen)-bis-(4-hidroksi-2*H*-1-benzopiran-2-on), uz nisku toksičnost pokazuje odlična antikoagulacijska svojstva.¹⁹

7-brom-4-hidroksikumarin, kumatetralil, difetialon, kao i kumadin i njegovi derivati, također imaju izvanredna antikoagulacijska svojstva, a flokumafen uz antikoagulacijska posjeduje i teratogena svojstva.¹⁹

Varfarin pokazuje biološke aktivnosti poput protuupalne, antikancerogene, antikoagulacijske i antitrombozne. Benzopiranodikumarini su antibakterijski agensi, dok derivat 3-(*p*-azido; amino ili nitrobenzil)-4-hidroksikumarin pokazuje fotoafinitetna svojstva.¹⁹

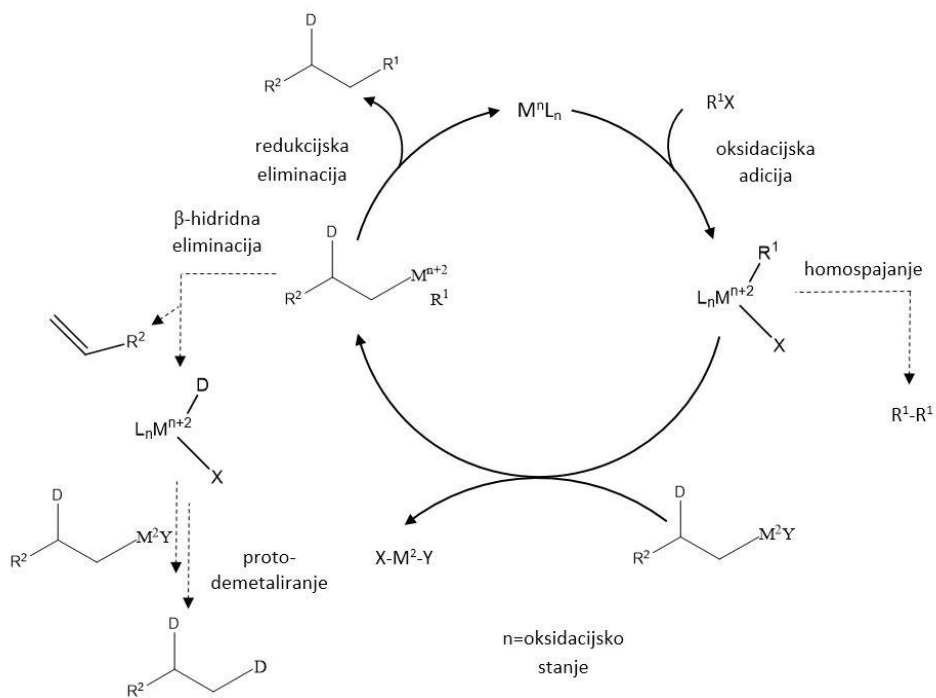
2.4. ORGANOMETALNE REAKCIJE U SINTEZI DERIVATA KUMARINA

Metalima katalizirane reakcije unakrsnog povezivanja organskih elektrofila i organometalnih reagenasa postali su široko primijenjivane sofisticirane metode koje omogućavaju sintezu širokog raspona spojeva koji se povezuju na učinkoviti način. Posljednja tri desetljeća metode za stvaranje C-C veze omogućile su kemičarima sastavljanje složenih molekulskih skeleta u različitim područjima koji obuhvaćaju sintezu prirodnih proizvoda, medicinsku kemiju, industrijski procesni razvoj, kao i kemijsku biologiju, materijale i nanotehnologiju. Unakrsno povezivanje proizlazi iz različitosti organometalnih reagenasa i širokog područja funkcionalnih skupina koje se mogu ugraditi u te reagense.²³

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 za stvaranje nove C-C veze (shema 30). Reakcija uz C(sp³) elektrofil rezultira sporijom oksidativnom adicijom, što se smatra jednakim nukleofilnoj supstituciji (S_N2) s Pd-kompleksom ili prirodnim radikalom s Ni^{20,21} ili Fe^{22,23}.²³

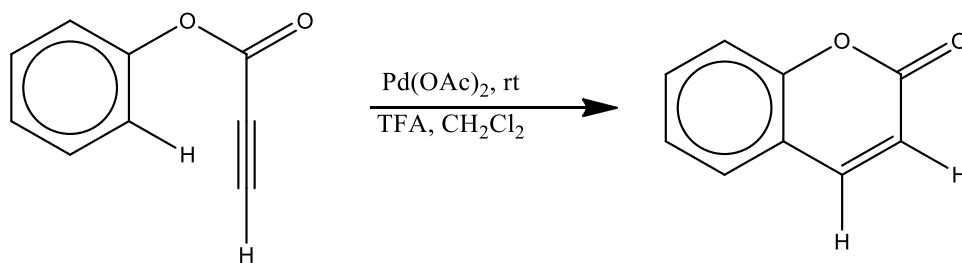
Paladij je pogodan kao katalizator iz razloga što lako apsorbira vodik na sobnoj temperaturi tvoreći paladijev hidrid -PdH_x. Iako je ovo svojstvo često kod mnogih prijelaznih metala, paladij je jedinstven zbog visoke moći apsorpcije, a da pri tom ne gubi duktilnost sve do enormno visokih vrijednosti. Također se smatra jeftinim materijalom za pohranu vodika.²⁴

Neke od organometalnih reakcija su: Heck-ova, Suzuki-jeva, Buchwald-Hartwigova, Stille-ova, Hiyama-ina, Fukuyam-ina, Negishi-eva i Sonogashira-ina reakcija.



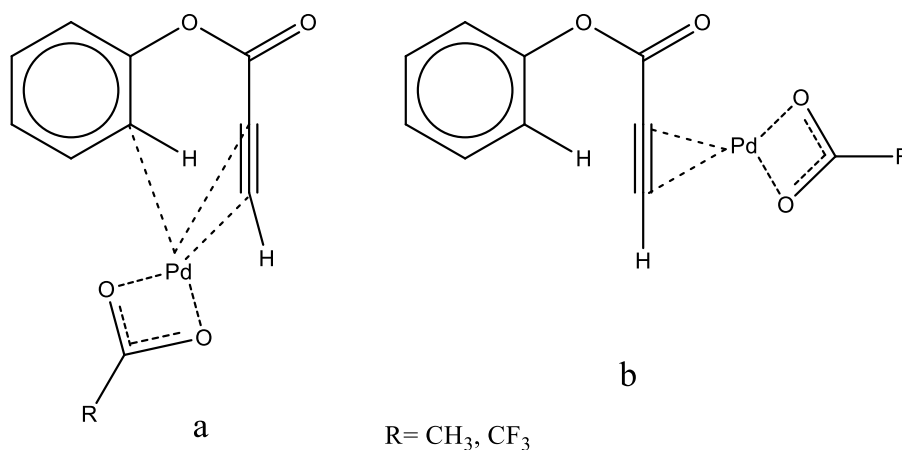
Shema 30. Mehanističke značajke organometalnih reakcija

Dokazano je da se ovakvim reakcijama, inter i intramolekulskim hidroariliranjem C-C trostruke veze sa jednostavnim arenima u prisustvu Pd ili Pt katalizatora, mogu sintetizirati kumarini. Prikaz stvaranja kumarina iz vanilin prekursora je prikazano na shemi 31. U kataliziranoj reakciji ciklizacije 4'-tert-butilfenil-fenilpropiolata u kumarinski analog 4-fenil-6-tert-butilkumarin, paladij(II)acetat je katalizator koji daje 90% iskorištenje. U toj reakciji iskorištenje je veće u odnosu na intermolekularne mehanizme zbog unutarmolekulske koordinacije aril ugljika i etinilne skupine uzrokovanog iskorištenjem paladijeva katalizatora.²⁵



Shema 31. Sinteza kumarina iz vanilin prekursora

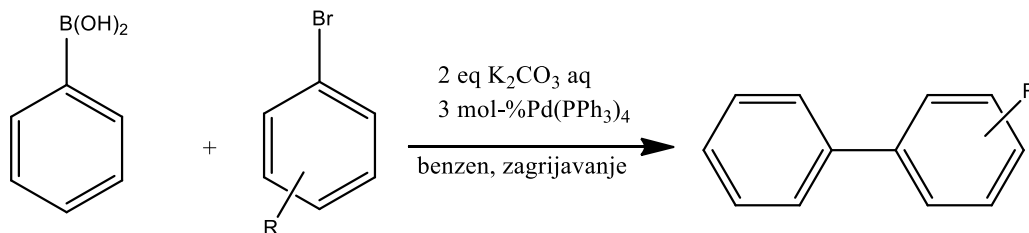
Eksperimentalno je dokazano i da iskorištenje reakcije raste s dodatkom elektron-odvlačeće skupine, pa se preferira elektrofilna aromatska suptitucija (EAS). Pd(II) katalizator može postojati u *cis* i *trans* obliku. *Cis*-adicija uzrokuje Pd(II) koordinaciju na trostruku C-C vezu i arilnu C-H vezu, (slika 16a), dok je *trans*-adicija Pd(II) koordinacija na trostruku C-C vezu u *trans* položaju u odnosu na arilnu C-H vezu, slika 16b.²⁵



Slika 16. a) *cis* i b) *trans* oblik Pd(II) katalizatora

2.4.1. SUZUKI-JEVA I SUZUKI-MIYAUURA-INA REAKCIJA

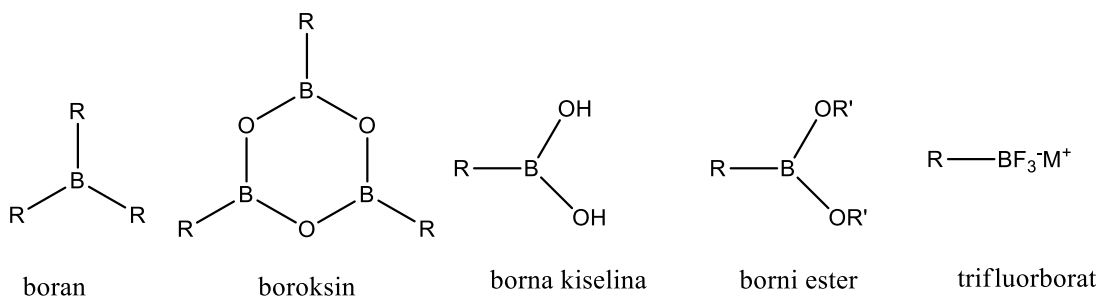
Od otkrića Ulmannove reakcije, reakcije unakrsnog povezivanja katalitičkim metalima igraju važnu ulogu u stvaranju C-C veza. Suzuki je pronašao novu Pd-kataliziranu reakciju unakrsnog povezivanja aril-borne kiseline i aril-halida i od tada je postala jedna od važnijih sinteza biarila (shema 32).²⁴



Shema 32. Mehanizam prve objavljene Suzuki-jeve sinteze između organoborne kiseline i halida

Ova se kataliza i metoda razvila i unaprijedila tako da je proširena i na alkinne, alkenilne i alikinilne 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.²⁴

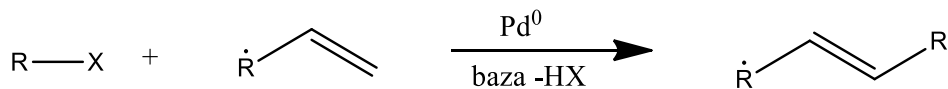
Suzuki-Miyaura-ina reakcija koristi jednostavne organoborne spojeve, ekološki benigne prirode i termički stabilne. Iako su organoborni spojevi jako elektrofilni, organske skupine na boru su slabo nukleofilne. Osim toga koordinacija negativno nabijene baze na atomu bora može povećati nukleofilnost organskog dijela na boru. Unakrsno povezivanje između alkilborova reagensa i arila i alkenil halogenida²³ kataliziraju paladijevi kompleksi s različitim ligandima, a dokazano je da postoji povezanost između duljine alkinog lanca i katalitičke učinkovitosti (slika 17).²⁴



Slika 17. Različiti organoborni reagensi

2.4.2. HECK-OVA REAKCIJA

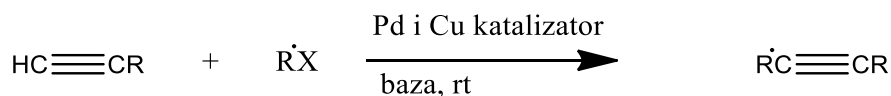
Heckova reakcija je kemijska reakcija nezasićenih halida ili triflata s alkenom i bazom u prisustvu paladijevog katalizatora pri čemu nastaje supstituirani alken (shema 33). Zajedno s ostalim reakcijama unakrsnog povezivanja, ova je reakcija od velike važnosti jer omogućuje supstituciju na planarnom centru. Halid (Br, Cl) ili triflat (arilni, benzilni ili vinilni spoj) i alken sadrže najmanje jedan proton koji je često elektrodeficitaran. Katalizator može biti tetrakis(trifenilfosin)paladij(0), paladij-klorid ili paladij(II)-acetat. Ligand je trifenilfosfin ili BINAP, a baza je trietilamin, kalijev karbonat ili natrijev acetat.²⁴ U industrijskom kontekstu važna je kontrola troškova kao i korištenje liganda u što manjoj količini. Tako se posljednjih desetak godina intenzivno usavršavala i razvijala cijela metoda, pri čemu je naglasak stavljen na razvoj Pd katalizatora, što manje korištenje liganda i primjena ligandnih sustava.²⁶



Shema 33. Opći mehanizam Heck-ove reakcije

2.4.3. SONOGASHIRA-INA REAKCIJA

Sonogashira-ina reakcija je također reakcija unakrsnog povezivanja koja se koristi za stvaranje C-C veze uz paladijev katalizator. C-C veza nastaje između terminalnog alkina i arilnog, odnosno vinilnog halida (shema 34).²⁴ Iako je povezivanje arilhalogenida i alkina ranije otkriveno, uvjete koje je uvodi Sonogashira su uvelike poboljšali reaktivnost ove reakcije. Ova se reakcija često koristi za pretvaranje heteroaril-klorida u fuzijske heterocikličke prstene. U ovoj se organometalnoj reakciji na Pd katalizator vežu CuI i aminska baza, pri čemu Cu kao katalizator stvara acetilide, nakon čega se skupina prenosi na Pd transmetaliranjem. Za razliku od drugih, gore navedenih reakcija, pronađeno je da određena fleksibilnost u uvjetima nema opću metodu za sve supstrate te reakcije.²⁶



Shema 34. Sonogashira-ina reakcija

2.5. 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 svjetosti uključuje i druge vrste elektromagnetskog zračenja kao što su X-zrake, ultraljubičasto, infracrveno, mikrovalno i radiofrekvencijsko zračenje. Današnja primjena pojma proširena je i na tehnike koje ne uključuju elektromagnetsko zračenje, primjerice akustička, masena i elektronska spektroskopija.²⁷

2.5.1. 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.²⁷ Mnoge organske molekule i funkcionalne skupine su transparentne u UV i Vis elektromagnetskom spektru koji obuhvaća raspon valnih duljina od 190 nm do 800 nm.²⁸ 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).²⁷

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.²⁷

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), 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 apsorbcancija, (u nekoj literaturi i kao optička gustoća), a prikazuje se s A.²⁸

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

A = apsorbancija

I₀ = intenzitet zračenja koji ostaje na uzorku

I = intenzitet zračenja koji ne ostaje na uzorku

c = molarna koncentracija otopine

b = veličina uzorka (cm)

ε = molarni apsorpcijski koeficijent

2.5.2. 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.

Spojevi koji sadrže aromatske prstenove daju najintenzivnije i najupotrebljivije molekulske fluorescencijske emisije. Većina nesupstituiranih aromatskih ugljikovodika fluorescira u otopini, uz povećanje kvantne djelotvornosti s povećanjem broja prstenova i stupnjem njihove kondenzacije. Supstitucija na aromatskom prstenu uzrokuje 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.²⁷

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.

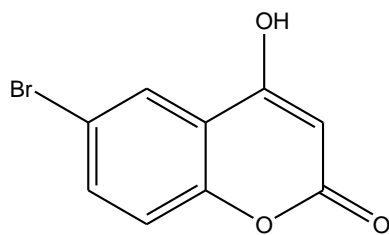
Tijek svake od reakcija praćen je tankoslojnom kromatografijom (TLC), koja je provedena na pločama 60F-254 presvučenim slojem silikagela *Merck* u odgovarajućem sustavu otapala. Za detekciju izoliranih komponenti korištena je UV-svjetlost valne duljine 254 nm i 365 nm.

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.

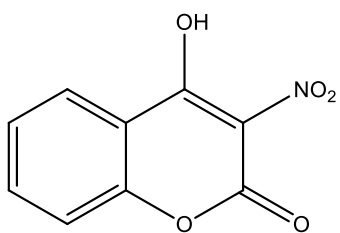
Spektri $^1\text{H-NMR}$ su snimljeni na spektrometru Bruker Avance 300 i 600 MHz. Svi su uzorci otopljeni u DMSO- d_6 i mjereni pri 298 K u NMR cjevčici promjera 5 mm. Kemijski pomaci (δ) u $^1\text{H-NMR}$ spektru izraženi su u jedinicimama ppm u odnosu na tetrametilsilan (TMS, $\delta=0,0$ ppm), a 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. Za oba slučaja korištene su kvarcne kivete promjera 0,5 cm i volumena 3 cm².

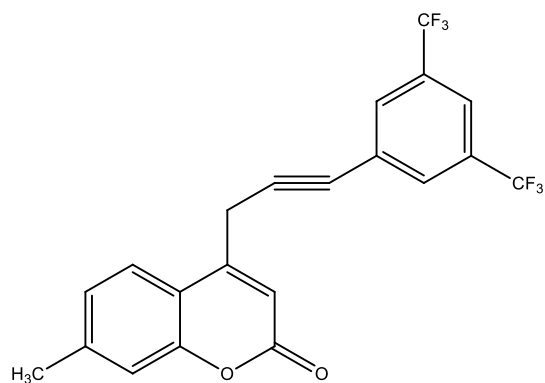
3.2. PREGLED SINTETIZIRANIH SPOJEVA



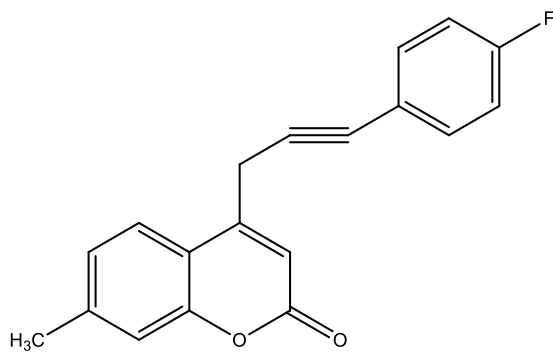
1



2



3



4

3.3. PRIPRAVA SPOJEVA

3.3.1. 6-BROM-4-HIDROSIKUMARIN (1)

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 je izoliran spoj **1** (180 mg, 12,45%).

3.3.2. 4-HIDROKSI-3-NITROKUMARIN (2)

4-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 je dobiven spoj **2** (430 mg, 12.04%).

3.3.3. 4-(3-(3,5-BIS(TRIFLUORMETIL)FENIL)PROP-2-IN-1-IL)-7-METIL-2H-KROMEN-2-ON (3)

Reakcijska smjesa 4-klormetil-7-metil-2H-kromen-2-ona (300 mg, 1,53 mmol), 1-etinil-3,5-bis(trifluormetil)benzena (2,29 mmol, 0,41 mL), bakrovog (I) jodida (58,3 mg, 0,306 mmol), tetrakistrifenilfosfin paladija ($(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$) (176,8 mg, 0,153 mmol), trietilamina (0,43 mL, 3,06 mmol) u dimetilformamidu (5mL) 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 **3**.

3.3.4. 4-(3-(4-FLUORFENIL)PROP-2-IN-1-IL)-7-METIL-2H-KROMEN-2-ON (4)

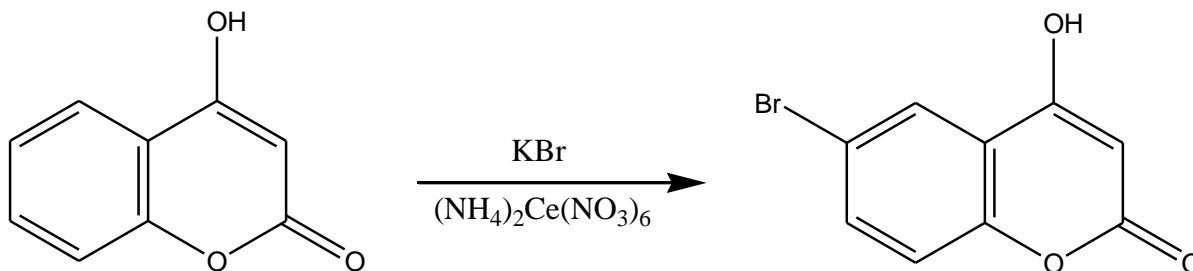
Reakcijska smjesa 4-klormetil-7-metil-2H-kromen-2-ona (300 mg, 1,53 mmol), 1-etinil-4-fluorbenzena (2,29 mmol, 0,26 mL), bakrovog (I) jodida (58,3 mg, 0,306 mmol), tetrakistrifenilfosfin paladija ((PPh₃)₄Pd) (176,8 mg, 0,153 mmol), trietilamina (0,43 mL, 3,06 mmol) u dimetilformamidu (5mL) miješana je 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 **4**.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. SINTEZA SPOJEVA

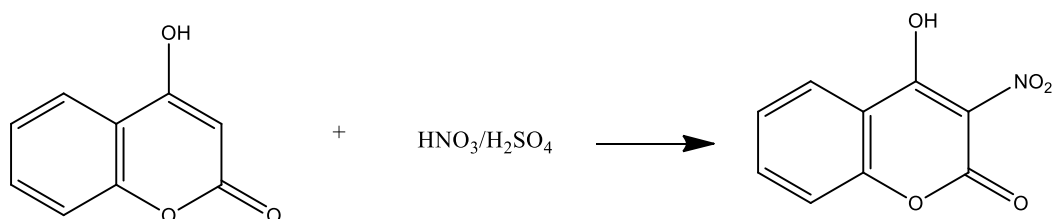
U ovom radu sintetizirani su derivati kumarina paladijem kataliziranim reakcijama. U C-4 položaj 4-hidroksikumarina Sonogashira-inom reakcijom uvedeni su alkinilni supstituenti.

Reakcijom bromiranja 4-hidroksikumarina u prisustvu KBr-a i cerijevo amonijevog nitrata (CAN, (NH₄)₂Ce(NO₃)₆) u vodi, pripremljen je spoj **1** (shema 1) pri čemu je brom uveden na benzenski dio kumarinskog prstena. Mehanizam reakcije je radikalski, pri čemu CAN, prelazi iz (NH₄)₂Ce^{IV}(NO₃)₆ u (NH₄)₂Ce^{III}(NO₃)₅, stvara radikal broma, koji se veže na benzenski dio kumarinskog prstena.



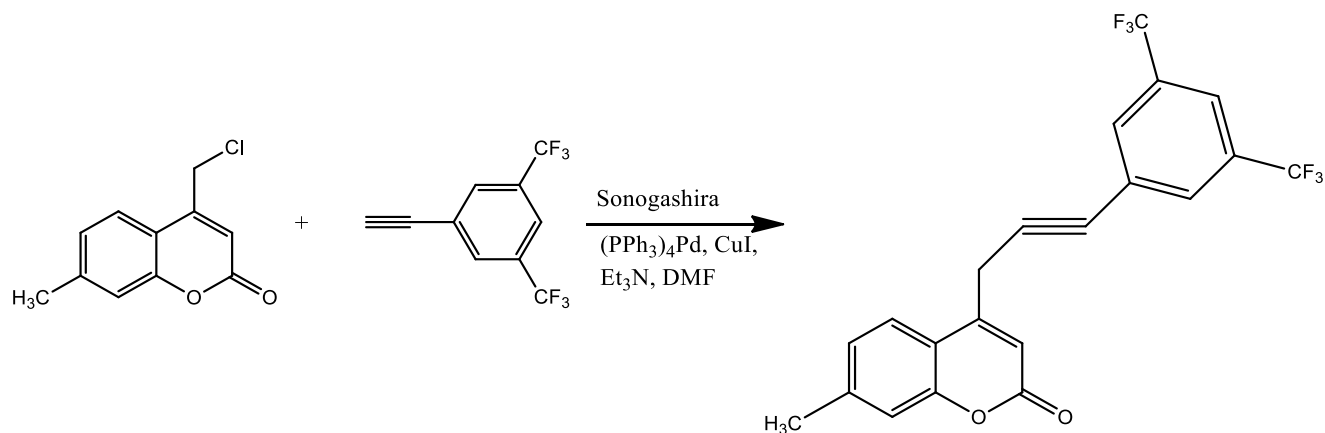
Shema 1. Sintaza spoja **1** reakcijom bromiranja

Reakcijom nitriranja 4-hidroksikumarina pomoću smjese nitratne i sumporne kiseline ($\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{HNO}_3 = 5:4$) pripremljen je spoj **2** (shema 2), s nitro skupinom na položaju 3 kumarinskog prstena. Reakcija je elektrofilna aromatska supstitucija pri čemu je $-\text{NO}_2^+$ elektrofil.



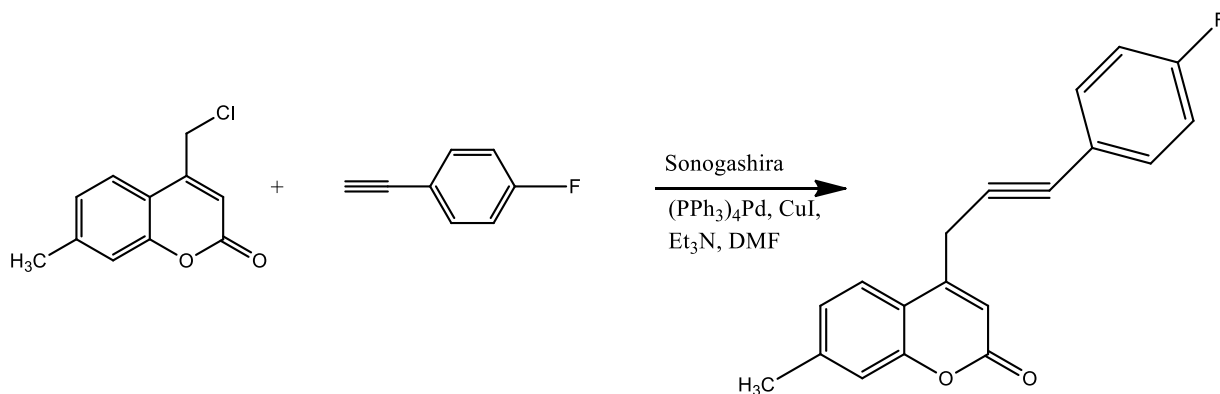
Shema 2. Sinteza spoja **2** reakcijom nitriranja

Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 4-klormetil-7-metil-2*H*-kromen-2-ona i 1-etinil-3,5-bis(trifluormetil)benzena uz tetrakistrifenilfosfinpaladij $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$ kao katalizator, bakrov(I)jodid CuI kao kokatalizator, Et_3N kao bazu u DMF-u pripremljen je spoj **3** (shema 3).



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

Sonogashira-inom reakcijom unakrsnog povezivanja 4-klormetil-7-metil-2*H*-kromen-2-ona i 1-etinil-4-fluorbenzena uz tetrakistrifenilfosfinpaladij $(\text{PPh}_3)_4\text{Pd}$ kao katalizator, bakrov(I)jodid CuI kao kokatalizator, Et_3N kao bazu u DMF-u pripremljen je spoj **4** (shema 4).



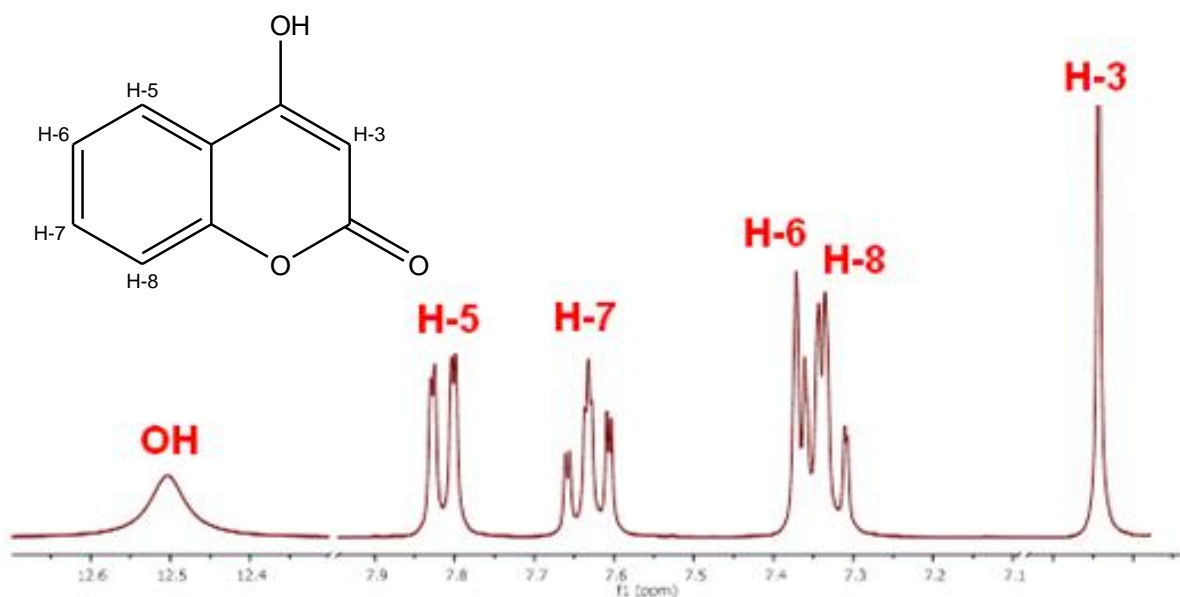
Shema 4. Sonogashira-ina reakcija sinteze spoja **4**

4.2. STRUKTURNA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA ^1H NMR SPEKTROSKOPIJOM

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

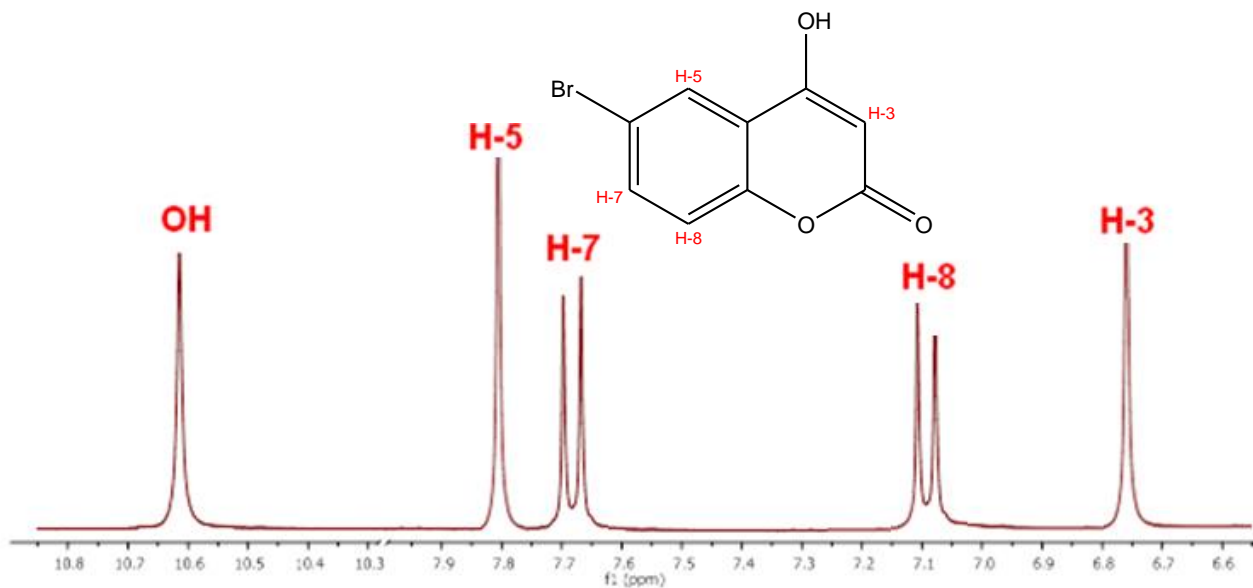
Spektri ^1H NMR spojeva **1-4** pokazuju signale protona kumarinskog prstena u aromatskom dijelu spektra, hidroksilne skupine u položaju C-4 kod spoja **1** ili metilnih protona u položaju C-7 kod **2**, te dodatnih signala u aromatskom području kod spojeva **3** i **4**.

U ^1H NMR spektru početnog spoja, 4-hidroksikumarina (slika 1) prisutni su signali: singlet za hidroksilni proton na 12.50 ppm intenziteta 1H, dublet dubleta intenziteta 1H za proton H-5 na 7.81 ppm ($J = 7.8, 1.4 \text{ Hz}$), triplet za proton H-7 na 7.63 ppm intenziteta 1H, multiplet intenziteta 2H za protone H-8 i H-6 na 7.39 – 7.28 ppm i signal za proton H-3 na 6,89 ppm.



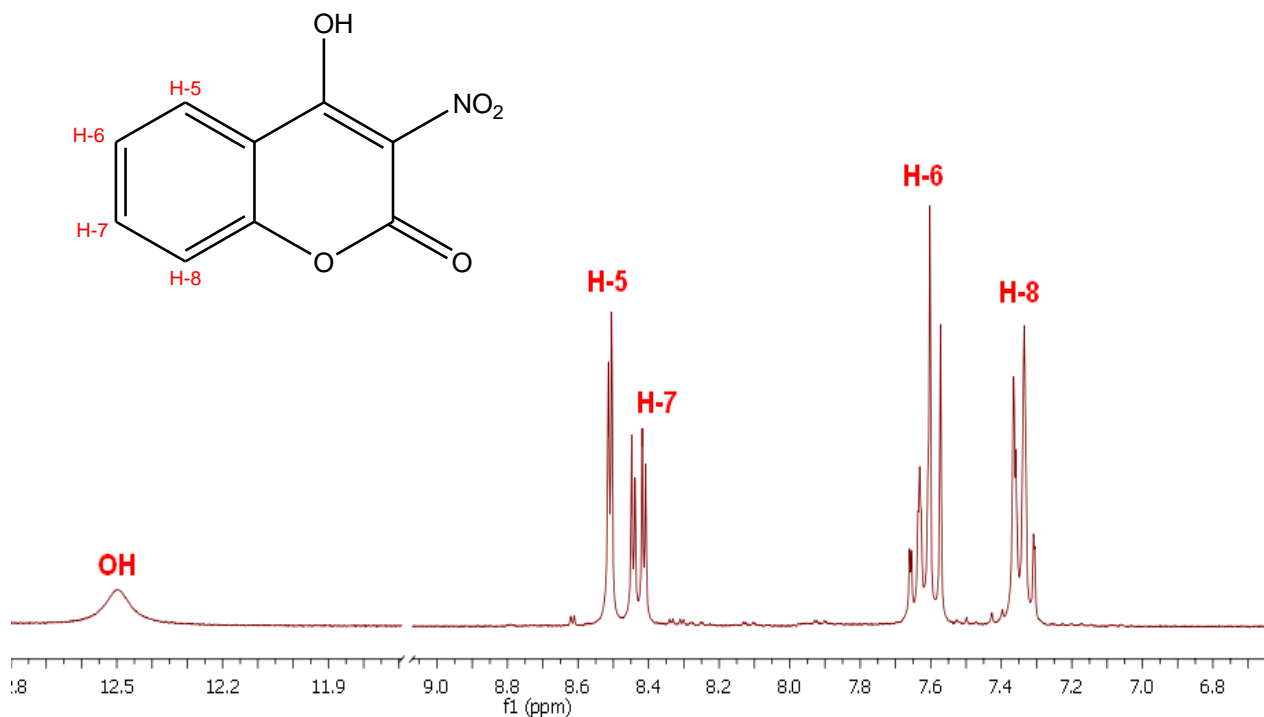
Slika 1. ^1H NMR spektar 4-hidroksikumarina

Usporedbom ^1H NMR spektra početnog spoja (4-hidroksikumarina) i spektra spoja **1** (slika 2), može se uočiti da od signala za protone kumarinskog prstena izostaje signal za proton H-6, čime je potvrđeno bromiranje položaja 6 kumarinskog prstena.



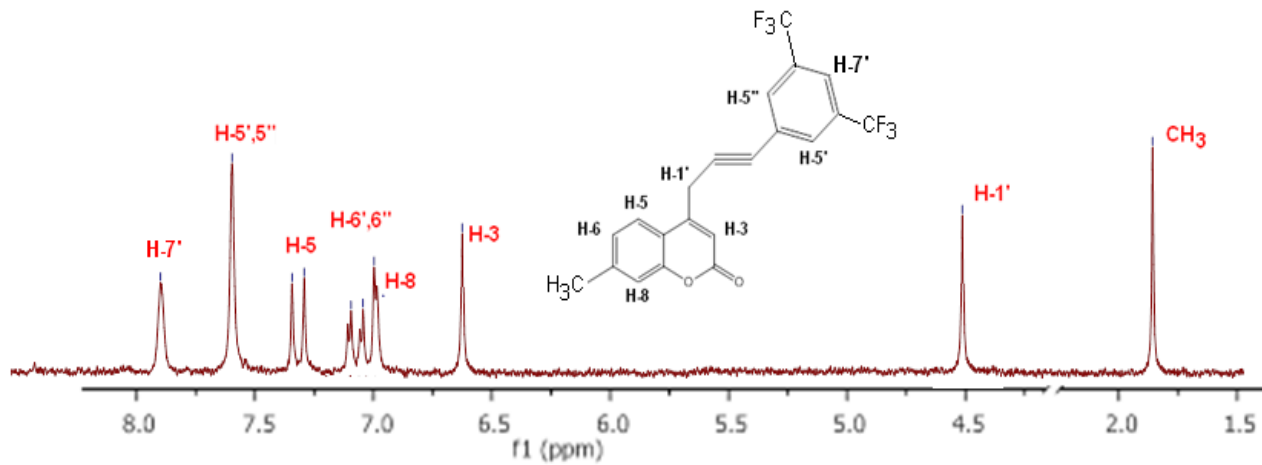
Slika 2. ^1H NMR spektar 6-brom-4-hidroksikumarina (**1**)

^1H NMR spektar spoja **2** (slika 3) u usporedbi sa spektrom početnog spoja pokazuje izostanak signala za proton H-3 kumarinske jezgre, čime je potvrđeno nitriranje položaja C-3 4-hidroksikumarina.

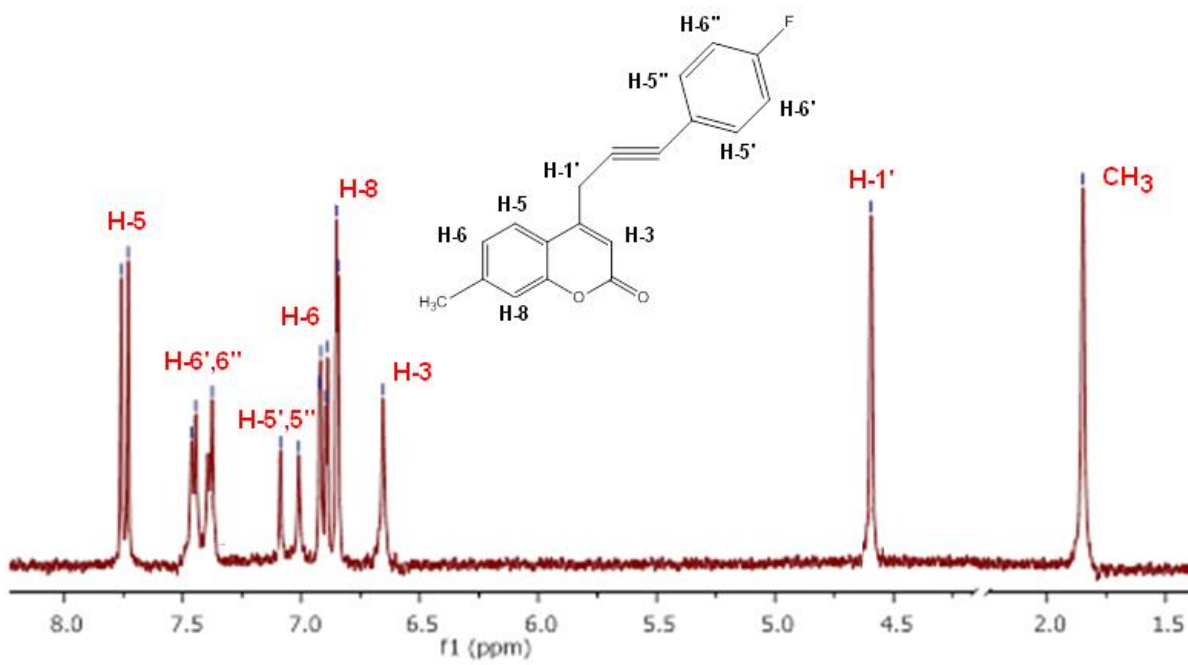


Slika 3. ^1H NMR spektar 4-hidroksi-3-nitrokumarina (**2**)

^1H NMR spektri spojeva **3** i **4** (slike 4 i 5) pored signala za protone kumarinskog prstena pokazuju i signale u alifatskom dijelu spektra za metilenske protone u položaju C-4 na ~4,5 ppm intenziteta 2H i singlet intenziteta 3H za metilne protone u položaju C-7 na ~1,8 ppm, te dodatne signale u aromatskom dijelu spektra, čime je potvrđeno da je Sonogashira-inom reakcijom uveden preko metilenske prenosnice ariletinilni supstituent u položaj C-4 kumarina.



Slika 4. ¹H NMR spektar spoja 3

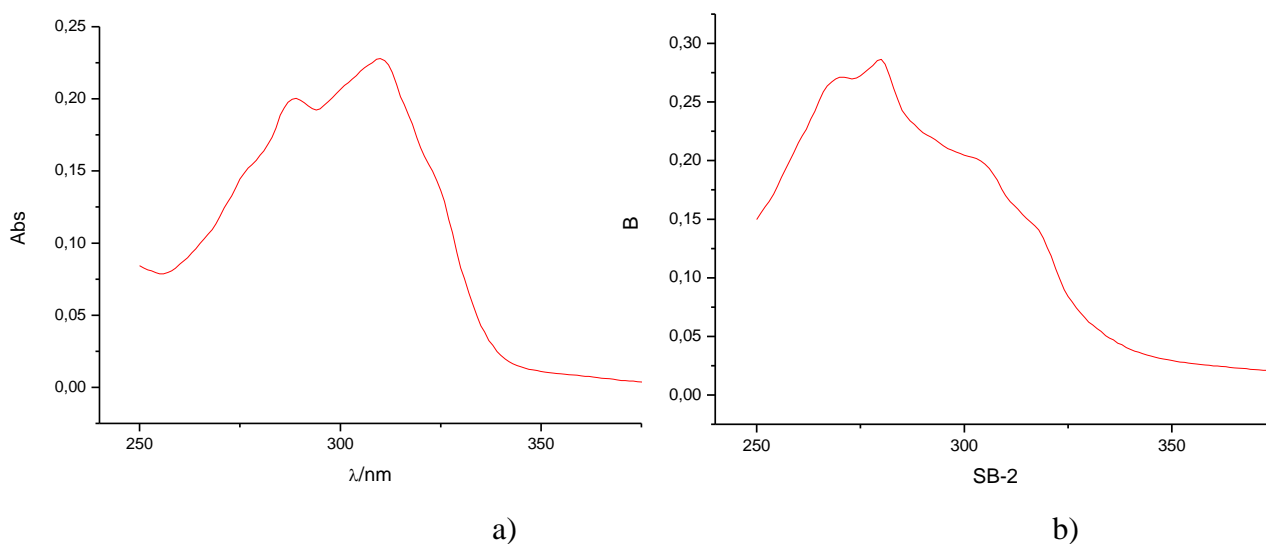


Slika 5. ¹H NMR spektar spoja 4

4.3. KARAKTERIZACIJA SPOJEVA UV/Vis i FLUORIMETRIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM

Derivati kumarina **1** i **2** spektroskopski su okarakterizirani UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom te su im određeni maksimumi apsorpcije i valne duljine emisije. Matične otopine ispitivanih spojeva priređene su u metanolu. UV/Vis spektri svih ispitivanih spojeva snimljeni su kod koncentracije $2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ u metanolu.

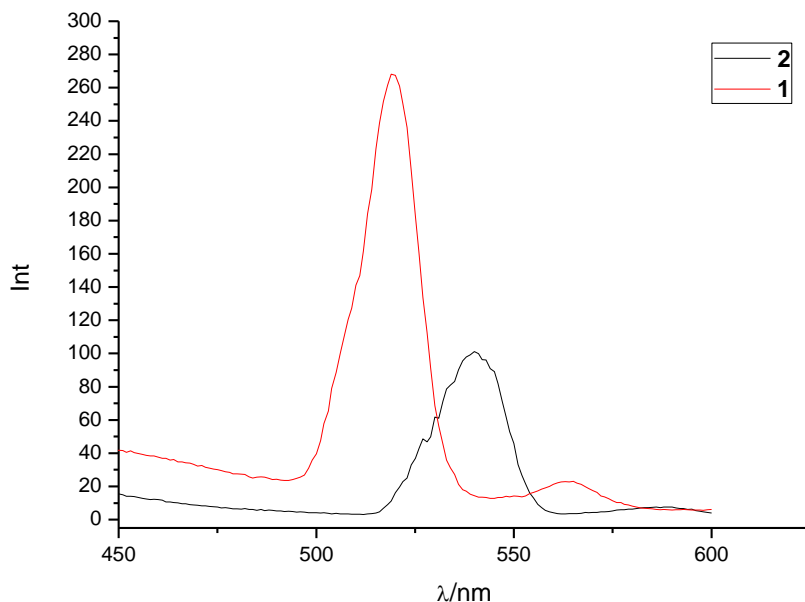
Spoj **1** pokazuje apsorpcijski maksimum na 320 nm, dok spoj **2** pokazuje maksimum apsorpcije na 280 nm (slika 6). Prisutnost broma u položaju 6 kumarinske jezgre kod spoja **1** uzrokuje pomake apsorpcijskih maksimuma prema većoj valnoj duljini (batokromni pomak) u usporedbi sa spektrom 3-nitro-4-hidroksikumarina **2** koji pokazuje maksimum apsorpcije pri 280 nm.



Slika 6. UV/Vis spektar spojeva a) **1** i b) **2** ($c = 2,0 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$)

Fluorimetrijska spektroskopska ispitivanja provedena su zbog visoke osjetljivosti metode pri koncentraciji $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ za spojeve **1** i **2** u metanolu. Otopine pripremljenih spojeva pobuđene su svjetlošću valne duljine ekscitacije (λ_{ex}) koja odgovara valnoj duljini maksimuma apsorpcije (λ_{max}). Na slici 7 prikazani su emisijski fluorimetrijski spektri spojeva **1** i **2** snimani pri danoj koncentraciji u metanolu. 6-brom-4-hidroksikumarin **1** pokazuje veći intenzitet emisije

pri valnoj duljini 520 nm, dok spoj **2** pokazuje emisijski maksimum pri valnoj duljini 545 nm. Pri tome su u odnosu na valne duljine ekscitacije vidljivi pomaci u valnim duljinama emisije, tzv. Stokes-ov pomak za oba ispitana spoja ~ 200 nm.



Slika 7. Emisijski spektri spojeva **1** i **2** ($c = 1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$)

4.4. *IN SILICO* ANALIZA (PASS)

Kako je uvođenje novih lijekova i terapijskih rješenja općenito, dug i skup proces, farmakolozi su nastojali ubrzati i optimizirati taj proces razvojem novih *in vivo* i *in vitro* istraživačkih strategija. Posljednjih desetljeća, razvojem tehnologije, razvile su se i alternativne istraživačke metode, *in silico* metode, čiji se rezultati temelje na računalnim simulacijama.²⁹

In silico (PASS) analiza je računalni sustav koji omogućuje simultano predviđanje nekoliko stotina različitih bioloških aktivnosti spojeva koji se nalaze u određenim lijekovima. Tu spadaju farmakološke aktivnosti, mehanizmi djelovanja, mutagenost, karcinogenost, teratogenost i embriotoksičnost. Predviđanje se temelji na analizi strukturne formule tvari, aktivnih odnosa "trening set-a" uključujući više od 30000 poznatih biološki aktivnih spojeva.³⁰ To osiguravaju baze podataka koje sadrže poznate biološke aktivnosti. Baza podataka se kontinuirano proširuje i

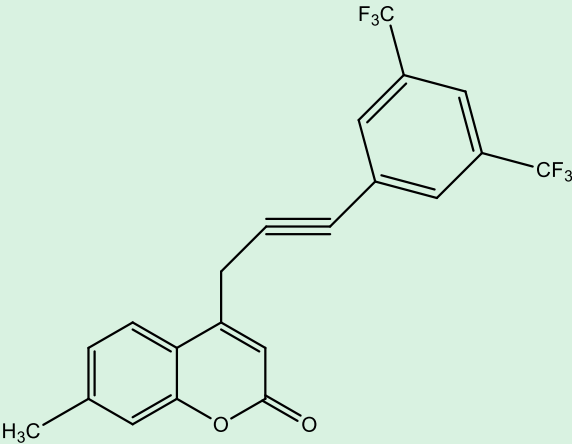
ažurira, a prosječna toksičnost iznosi 95%.³¹ Osnovni elementi PASS analize uključuju predstavljanje biološke aktivnosti, opis kemijske strukture, "training set" spoj, proces osposobljavanja i proces predviđanja.³⁰

Zbog jednostavnosti korištenja i brzog dobivanja željenih rezultata PASS analiza je vrlo dobro prihvaćena u društvu i aktivno se koristi u polju medicinske kemije, računalne kemije, istraživanju i razvoju lijekova, kemijskoj toksičnosti, sigurnosnoj procjeni, farmakogenomici i kemogenomici, učincima prirodnih spojeva i drugdje.³¹

Spektar bioloških djelovanja sintetiziranih spojeva **3** i **4** predviđen PASS-om prikazan je kao aktivnost s vjerojatnošću "da su aktivni" (Pa) i "da su neaktivni" (Pi). Najvjerojatnija predviđena aktivnost treba imati što veću vrijednost Pa i što manju vrijednost Pi.

Spektar predviđenih bioloških djelovanja predviđen PASS-om sintetiziranih spojeva **1** i **2** (Tablice 1 i 2) ukazuje da spojevi **3** i **4** pokazuju veliku vjerojatnost aktivnosti kao supstrati CYP2C12 i da djeluju kao antiokcematici.

Tablica 1. Najvjerojatnije ljudske i virusne biološke mete i učinci predviđeni PASS-om za spoj 4-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)prop-2-in-1-il)-7-metil-2H-kromen-2-on (**3**)



Pa	Pi	aktivnost	Pa	Pi	aktivnost
0,839	0,027	CYP2C12 supstrat	0,550	0,022	dermatološki agens
0,765	0,027	antiokcematik	0,532	0,006	CYP2A6 inhibitor
0,730	0,005	CYP2A11 supstrat	0,546	0,021	CYP2B supstrat
0,686	0,010	CYP2B5 supstrat	0,553	0,029	CYP2C9 supstrat
0,667	0,012	CYP2A6 supstrat	0,607	0,088	testosteron 17beta-dehidrogenaza (NADP+) inhibitor
0,661	0,018	CYP2B6 supstrat	0,540	0,027	neurotransmitter

					antagonist
0,675	0,033	glutamil endopeptidaza II inhibitor	0,553	0,043	protuupalni agens
0,650	0,014	CYP2C8 supstrat	0,587	0,078	agonist integriteta membrane
0,626	0,016	CYP2A supstrat	0,551	0,042	gastrin inhibitor
0,616	0,009	antipsoriatik	0,570	0,063	fosfataza inhibitor
0,676	0,072	aspulvinon dimetilaliltransferaza inhibitor	0,518	0,017	CYP2E1 induktor
0,612	0,023	spazmolitik	0,588	0,092	CYP2J supstrat
0,581	0,016	CYP2A4 supstrat	0,509	0,017	CYP2C18 supstrat
0,582	0,029	inhibitor protonske pumpe	0,541	0,056	inhibitor dopune faktora D
0,570	0,018	CYP2F1 supstrat	0,505	0,026	CYP1A2 supstrat
0,577	0,031	nitrat reduktaza inhibitor	0,481	0,004	CYP2A10 supstrat
0,585	0,048	stimulant funkcioniranja bubrega	0,530	0,056	antidiskinetik
0,555	0,026	4-nitrofenol 2-monooksigenaza inhibitor	0,487	0,021	1-acilglicerol-3-fosfat O-aciltransferaza inhibitor

Tablica 2. Najvjerojatnije ljudske i virusne biološke mete i učinci predviđeni PASS-om za spoj 4-(3-(4-(fluorfenil)prop-2-in-1-il)-7-metil-2H-kromen-2-on (4)

Pa	Pi	aktivnost	Pa	Pi	aktivnost
0,663	0,008	CYP2A11 supstrat	0,455	0,035	CYP1A supstrat
0,688	0,050	antiekcematik	0,468	0,058	spazmolitik
0,625	0,017	CYP2C8 supstrat	0,442	0,033	GABA aminotransferaza inhibitor
0,630	0,031	antidiskinetik	0,432	0,024	CYP2E supstrat
0,604	0,017	CYP2B supstrat	0,493	0,105	agonist integriteta membrane
0,603	0,017	CYP2A6 supstrat	0,389	0,005	MAO inhibitor

0,640	0,067	CYP2C12 supstrat	0,447	0,064	neurotransmitter antagonist
0,572	0,013	antipsoriatik	0,495	0,113	fosfataza inhibitor
0,554	0,014	5-hidroksitriptamin stimulans	0,416	0,041	CYP2E1 induktor
0,557	0,029	CYP2B6 supstrat	0,400	0,027	CYP2E1 supstrat
0,542	0,027	CYP2A supstrat	0,506	0,134	aspulvinon dimetilaliltransferaza inhibitor
0,554	0,042	protuupalni agens	0,423	0,065	CYP2C supstrat
0,525	0,029	CYP2B5 supstrat	0,402	0,054	CYP2F1 supstrat
0,499	0,008	CYP2B1 supstrat	0,400	0,053	CYP2C19 supstrat
0,523	0,035	CYP2C9 supstrat	0,415	0,069	4-nitrofenol 2- monooksigenaza inhibitor
0,495	0,008	CYP2A6 inhibitor	0,395	0,052	CYP2C18 supstrat
0,514	0,029	dermatološki agens	0,440	0,123	inhibitor adhezije trombocita
0,547	0,072	glutamil endopeptidaza II inhibitor	0,370	0,057	antifungicid
0,500	0,027	CYP1A2 supstrat	0,381	0,069	adenomatozni polipozni agens
0,503	0,059	inhibitor protonske pumpe	0,389	0,083	antiartritik
0,430	0,005	CYP2A10 supstrat	0,308	0,004	MAO A inhibitor
0,463	0,038	CYP2A4 supstrat	0,343	0,039	CYP1A1 supstrat

5. ZAKLJUČCI

- Bromiranjem 4-hidroksikumarina s *N*-bromsukcinimidom uz cerijev amonijev nitrat pripremljen je 6-brom-4-hidroksikumarin (**1**)
- 3-nitro-4-hidroksikumarin (**2**) sintetiziran je nitriranjem 4-hidroksikumarina s HNO₃ i H₂SO₄
- Sonogashira-inom reakcijom 4-klormetil-7-metilkumarina s arilacetenima uz Pd-katalizator sintetizirani su 7-metilni derivati kumarina **3** i **4** supstituirani u položaju C-4 arilpropinilnim supstuentima.
- Strukture sintetiziranih spojeva **3** i **4** potvrđene su ¹H NMR spektroskopijom.
- Derivati kumarina **1** i **2** su spektroskopski okarakterizirani UV/Vis i fluorimetrijskom spektroskopijom, te su im određeni maksimumi apsorpcije i valne duljine emisije.
- *In silico* analiza (PASS) spojeva **3** i **4** ukazuje da pokazuju vjerojatnost aktivnosti da djeluju kao antiekcematici.

6. LITERATURA

- [1] K. A. Kumar, N. Renuka, G. Pavithra, G. V. Kumar, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2015, **7**, 67-81
- [2] C. Kontogiorgis, A. Detsi, D. Hadjipavlou-Litina, *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 2012, **22**, 437-454
- [3] 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
- [4] M. Molnar, M. Čačić, *Croat. J. Food Sci. Technol.*, 2011, **3**, 55-64
- [5] K. N. Venugopala, V. Rashmi, B. Odhav, *BioMed Research International*, 2013, **2013**, 1-14
- [6] I. Kostova, *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents*, 2005, **5**, 29-46
- [7] A. Thakur, R. Singla, V. Jaitak, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2015, **101**, 476–495
- [8] 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
- [9] L. Xu, Y.-L. Wu, X.-Y. Zhao, W. Zhang, *Atlantis Press*, 2015, **9**, 135-138
- [10] F. Borges, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte, *Current Medicinal Chemistry*, 2005, **12**, 887-916
- [11] K. C. Prousis, N. Avlonitis, G. A. Heropoulos, T. Calogeropoulou, *Ultrasonics Sonochemistry*, 2014, **21**, 937–942
- [12] L.G. Voskressensky, A. A. Festa, A. V. Varlamov, *Tetrahedron*, 2014, **70**, 551–572
- [13] R. Menegatti, *Green Chemistry - Environmentally Benign Approaches*, 2012, **1**, 13-32
- [14] B. Nikhil, B. Shikha, P. Anil, N. B. Prakash, *International Research Journal Of Pharmacy*, 2012, **3**, 24-29
- [15] A. A. H. Kadhum, A. A. Al-Amiery, A. Y. Musa, A. B. Mohamad, *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, **12**, 5747-5761
- [16] P. K. Jain, H. Joshi, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2012, **2**, 236-240
- [17] T. C. Shekhar, G. Anju, *American Journal of Ethnomedicine*, 2014, **1**, 244-249
- [18] M. M. Abdou, R. A. El-Saeed, S. Bondock, *Arabian Journal of Chemistry*, prihvaćen za objavljivanje, [doi:10.1016/j.arabjc.2014.01.012](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.01.012)

- [19] J.-C. Jung, O.-S. Park, *Molecules*, 2009, **14**, 4790-4803
- [20] M. M. Abdou, R. A. El-Saeed, S. Bondock, *Arabian Journal of Chemistry*, prihvaćen za objavljivanje, [doi:10.1016/j.arabjc.2015.06.029](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.029)
- [21] I. Kostova, S. Bhatia, P. Grigorov, S. Balkansky, V.S. Parmar, A.K. Prasad, L. Saso, , *Current Medicinal Chemistry*, 2011, **18**, 3929-3951
- [22] M. M. Abdou, *Arabian Journal of Chemistry*, prihvaćen za objavljivanje, [doi:10.1016/j.arabjc.2014.04.005](https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.04.005)
- [23] R. Jana, T. P. Pathak, M. S. Sigman, *Chem. Rev.* 2011, **111**, 1417–1492
- [24] M. Sahu, P. Sapkale, *International Journal of Chemistry and Pharmaceutical Sciences*, 2013, **2**, 1159-1170
- [25] S. Nedd, A. N. Alexandrova, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2015, **17**, 1347-1353
- [26] C. Barnard, *Platinum Metals Rev.*, 2008, **52**, 38–45
- [27] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, 1999, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb
- [28] Donald L. Pavia, Gary M. Lampman, George S. Kriz, 1979, *Introducion to spektroskopy*, Thomson Brooks Cole, Washington
- [29] Hamid R Noori and Rainer Spanagel, *In silico pharmacology*, 2013, **1**,1
- [30] V. V. Poroikov, D. A. Filimonov, Yu. V. Borodina, A. A. Lagunin, A. Kos, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 2000, **40**, 1349-1355
- [31] www.genexplain.com/pass, 04.07.2016.
- [32] www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php, 04.07.2016.

7. ŽIVOTOPIS

Zovem se Sanja Barić i rođena sam 17. 05. 1990. u Karlovcu. Pohađala sam Gimnaziju Karlovac, koju sam završila 2009. godine, nakon koje sam upisala Stručni studij strojarstva na Veleučilištu u Karlovcu. Titulu bacc. ing. mech. stekla sam 2013. godine te sam iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva, smjer Primijenjena kemija i Specijalistički diplomski stručni studij strojarstva.