

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO TECHNOLOGICKÁ
Ústav organickej chémie a technológie

Farmakologicky a biochemicky významné kumaríny
BAKALÁRSKA PRÁCA

AUTOR PRÁCE: Mirjeta Kafexholli
VEDÚCI PRÁCE: doc. Ing. Petr Šimůnek, Ph.D.

2018

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
Institute of Organic Chemistry and Technology

Pharmacologically and biochemically important coumarins

BACHELOR THESIS

AUTHOR: Mirjeta Kafexholli

SUPERVISOR: doc. Ing. Petr Šimůnek, Ph.D.

2018

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Mirjeta Kafexholli**
Osobní číslo: **C15121**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Farmakologicky a biochemicky významné kumariny**
Zadávací katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Provedte literární rešerši shrnující farmakologicky a biochemicky významné přírodní i syntetické kumariny. Pozornost věnujte i jejich využití jakožto fluorofory pro biochemický výzkum.
2. Připravte alespoň tři oxazaboriny na bázi 7-amino-3-acetoacetylkumarinu.
3. Připravené sloučeniny charakterizujte dostupnými metodami.
4. Provedte předběžný průzkum jejich luminiscenčních vlastností.
5. Získané výsledky vyhodnoťte a sepište závěrečnou zprávu.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Veškerá dostupná odborná literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Petr Šimůnek, Ph.D.

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prehlasujem:

Túto prácu som vypracovala samostatne. Všetky literárne pramene a informácie, ktoré som v práci využila, sú uvedené v zozname použitej literatúry.

Bola som oboznámená tým, že sa na moju prácu vzťahujú práva a povinnosti vyplývajúce zo zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, hlavne so skutočnosťou, že Univerzita Pardubice má právo na uzatvorenie licenčnej zmluvy o využití tejto práce ako školného diela podľa § 60 odst.1 autorského zákona, a tým že pokiaľ dôjde k použitiu tejto práce mnou alebo bude poskytnutá licencia o použití inému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávnená odomňa požadovať primeraný príspevok na úhradu nákladov, ktoré na vytvorenie diela vynaložila, a to podľa okolností až do ich skutočnej výšky.

Súhlasím s prezenčným sprístupnením svojej práce v Univerzitnej knižnici.

V Pardubiciach dňa 25.6.2018

Podakovanie:

Rada by som sa poďakovala doc. Ing. Petrovi Šimůnkovi, Ph.D. za odborné vedenie mojej práce v laboratóriu a za pomoc pri spracovaní bakalárskej práce, cenné rady, dôležité informácie a hlavne za čas, ochotu a trpezlivosť. Ďakujem celému kolektívu na katedre za vytvorenie príjemného prostredia pri práci a štúdiu a za užitočné rady. V neposlednej rade ďakujem mojej rodine a priateľom za poskytnutie veľkej podpory a lásky počas štúdia.

ANOTÁCIA

Bolo pripravených päť enamínov na báze 7-aminokumarínov. Ich štruktúra bola volená tak aby vykazovali zaujímavé optické vlastnosti napr. trifenylamínový a tetrafenylethylénový fragment. Následne bolo z príslušných enamínov reakciou s trojmocným bórom pripravené oxazaboríny. Predstavujú kombináciu dvoch luminoforov: 7-aminokumarínu a boron ketiminátu. Pripravené zlúčeniny boli charakterizované pomocou multinukleárnej magnetickej rezonancie a boli vykonané predbežné štúdia ich fluorescenčných vlastností.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Kumarínové deriváty, enamínony, fluorescencia, oxazaboríny.

NÁZOV

Farmakologicky a biochemicky významné kumaríny

ANNOTATION

Five 7-aminocoumarin-based enaminoxones were prepared. Their structure has been chosen to exhibit the interesting optical properties, such as triphenylamine and tetraphenylethylene fragment. The prepared enaminoxones were subjected to the reaction with the compounds of trivalent boron to give the corresponding oxazaborines having both BF_2 and BPh_2 fragment. These compounds are the combination of two luminophores: 7-aminocoumarin and boron ketiminate. The oxazaborines were characterized by means of multinuclear magnetic resonance and the preliminary survey of their luminescence properties has been performed.

KEYWORDS

Coumarin derivatives, enaminoxones, fluorescence, oxazaborines.

TITLE

Pharmacologically and biochemically important coumarins

ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK

ACQ	agregation caused quenching
AIE	agregation induced emission
$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	etherát fluoridu boritého
BPh_3	trifenylboran
D	deutérium
DCM	dichlormethan
EtOAc	ethylester kyseliny octovej
EtOH	ethanol
HRMS	High-Resolution Mass Spectrometry
ICT	intramolekulárny prenos náboja
NMR	nukleárna magnetická rezonancia
T	teplota
TEA	triethylamin
TEBAC	benzyltriethylamónium chlorid
TFA	kyselina trifluór octová
THF	tetrahydrofuran
TICT	skrútený prenos intramolekulárneho náboja
TPE	tetrafenylethylen

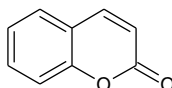
Obsah

1	ÚVOD	10
2	TEORETICKÁ ČASŤ	11
2.1	Chemická štruktúra.....	11
2.2	Luminiscenčné vlastnoti.....	11
2.3	Charakteristika a rozdelenie (Jednoduché kumaríny)	14
2.3.1	Warfarin.....	14
2.3.2	Umbeliferon.....	15
2.3.3	Eskuletin.....	16
2.3.4	Eskulin.....	16
2.3.5	Herniarin.....	17
2.4	Furanokumaríny (Lineárne).....	17
2.4.1	Psoralen	17
2.4.2	Imperatorin	18
2.4.3	Methoxalen (Xantotoxin)	18
2.5	Furanokumaríny (Angulárne).....	19
2.5.1	Angelicin	19
2.6	Pyranokumaríny (Lineárne).....	19
2.6.1	Visnadin.....	19
2.6.2	Xanthyletin	20
2.7	Pyranokumaríny (Angulárne).....	21
2.7.1	Seselin	21
3	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	23
3.1	Prístrojové vybavenie	23
3.2	Rozpúšťadla a činidla	23
3.3	Príprava obecných látok	24
3.3.1	1-[7-(Diethylamino)-2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl]butan-1,3-dion (1)	24
3.3.2	4-Nitro- <i>N,N</i> -difenylanilin	24
3.3.3	4-Amino- <i>N,N</i> -difenylanilin	25
3.3.4	3-[(<i>ZZ</i>)-3-aminobut-2-enoyl]-7-(diethylamino)-2 <i>H</i> -chromen-2-on (2a)	25
3.3.5	7-Diethylamino-3-(3-fenylaminobut-2-enoyl)-2 <i>H</i> -chromen-2-onu (2b).....	26
3.3.6	Obecný postup prípravy enamionů 2c–e	27
	7-Diethylamino-3-(3-(2,4-dimethoxyfenylamino)but-2-enoyl)-2 <i>H</i> -chromen-2-on (2c):.....	27
3.4	Obecná príprava oxazaborinových derivátov 4a–e a 5.....	29
3.4.1	Metoda A: Príprava BF ₂ derivátů 4a–e.....	29

3.4.2	Metoda B: Príprava 6-(7-Diethylamino-2-oxo-2 <i>H</i> -chromen-3-yl)-2,2-difenyl-4-methyl-1,3,2λ ⁴ -oxazaborinu (5).....	32
4	Výsledky a diskusia.....	33
4.1	Syntéza a štruktúra predvolenej dikarbonylovej zlúčeniny	33
4.2	Syntéza a charakterizácia enaminonov.....	34
4.3	Syntéza oxazaborinov a ich štruktúra.....	41
5	Záver.....	52

1 ÚVOD

Kumarín (2*H*-chromen-2-on) patrí medzi benzopyrony a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 1. Prvý krát bol izolovaný z fazuľky tonka v roku 1820^{Lit. 1} a je známy svojou charakteristickou vanilkovou vôňou.²



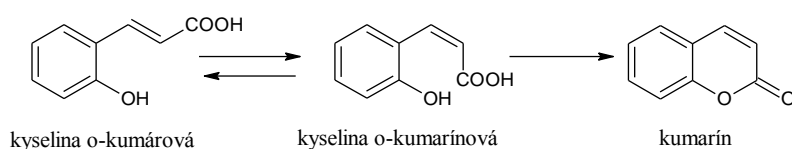
Obrázok 1 Štruktúra kumarínu

Kumarín patrí medzi najdôležitejšie aromatické chemikálie a bol identifikovaný vo veľmi veľkom počte rastlín, ale väčšina z nich sa vyrába synteticky pre komerčné použitie. Našiel uplatnenie v kozmetike ako čistiace prostriedky, mydlá, pleťové vody, v parfumériách kvôli svojej vysokej kvalite ako fixačnej látky na parfumsy a podobných odvetiach. Predtým sa používal v potravinárskom priemysle, ale v roku 1954 bolo jeho používanie pozastavené, keďže bolo vyhlásené že, potraviny obsahujúce kumarín boli považované za falošné. Tak isto sa kumarín používa ako aróma v tabaku, pre zvýšenie prirodzenej vône. V iných oblastiach sa používa v laserových farbách a ako senzibilizátor fotovoltaiických technológiach. Kumarín a niektoré jeho deriváty boli testované vo farmakológii na liečbu angiopatických vredov, schizofrénii a preukázala sa aktivita pre prepigmentovanie a spomaľovanie vypadávaniu vlasov.³ Tak isto v závislosti od typu kumarínového jadra pôsobia ako stimulátory CNS, protizápalovo, antibakteriálne a vykazujú tak isto aj protirakovinovú aktivitu.⁴ Sú to látky rastlinného pôvodu a svojou štruktúrou sú veľmi blízke vitamínu K. Narúšajú tvorbu protrombínu v pečeni, pôsobia ako falošné vitamíny K. Podávajú sa per orálne a ich antikoagulačný účinok môže ovplyvniť aj iné súčasne podané liečiva.⁵ Kumaríny sa rozdeľujú podľa chemickej štruktúry na jednoduché a kondenzované. Kondenzované sa rozdeľujú na pyranokumaríny a furanokumaríny, ktoré môžu byť lineárne alebo angulárne.^{6,7}

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Chemická štruktúra

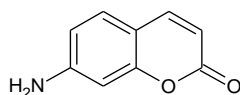
Kumaríny sú štruktúrou deriváty alfa-chromonu. Vznikajú laktonizáciou z cis formy *o*-hydroxyškoricovej kyseliny. Táto kyselina sa nachádza v rastlinách ako glykozidické prekurzory. Prekurzory kumarínu sú glykosidy kumarínovej kyseliny (cis-forma) a *o*-kumarovej kyseliny (trans-forma). Navzájom sú udržiavané v enzymatickej rovnováhe. Glykosidy sa pri sušení štiepia a vytvára sa kumarín, lakton kumarínovej kyseliny. Kvôli presunu rovnováhy sa kumarínová kyselina vytvára stále z kyseliny *o*-kumarovej (Obrázok 2).⁸



Obrázok 2 Vznik kumarínu

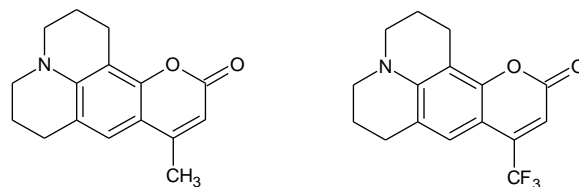
2.2 Luminiscenčné vlastnosti

Jedna z najvýznamnejších fyzikálnych vlastností kumarínu a jeho derivátov je ich výborná fluorescencia. Kvôli ich účinnej fluorescenčnej povahe, boli vo veľkej miere využívané ako zjasňujúce činidlá v papieroch, detergentoch, textíliach a pre procesy s fotobiologickým prenosom energie.⁹ Kumarín a jeho deriváty sa uplatňujú aj ako úzkopásmové farbivé lasery a konjugované protilátkové farbivo na väzbu cieľovej štruktúry angiogenézy.¹⁰ Vynikajúca luminiscencia v modrozelennej časti spektra je charakteristická pre väčšinu kumarínových derivátov a na základe tejto vlastnosti, kumaríny majú rozsiahle využitie ako optické bielacie činidlá a luminiscenčné štítky. Deriváty kumarínu sú tak isto, veľmi dôležité pre vytvorenie fotochromických materiálov.¹¹ Kumaríny ktoré sú substituované v polohe 7- elektrodonórnou skupinou vykazujú silnú fluorescenciu. Do tejto skupiny sa radia 7-aminokumaríny, ktoré sú vysoko fluoreskujúce a boli používané ako fluorescenčné sondy, zjasňovacie činidlá a farbiva. Štruktúra 7-aminokumarínu je zobrazená na Obrázku 3.^{Lit. 12}



Obrázok 3 Štruktúra 7-aminokumarínu

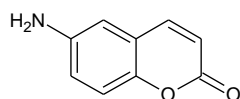
Substituované 7-aminokumaríny tvoria dôležitú triedu laserových farbív pre oblasť modro-zelená ako napríklad kumaríny znázornené na Obrázku 4.^{12,13}



Obrázok 4

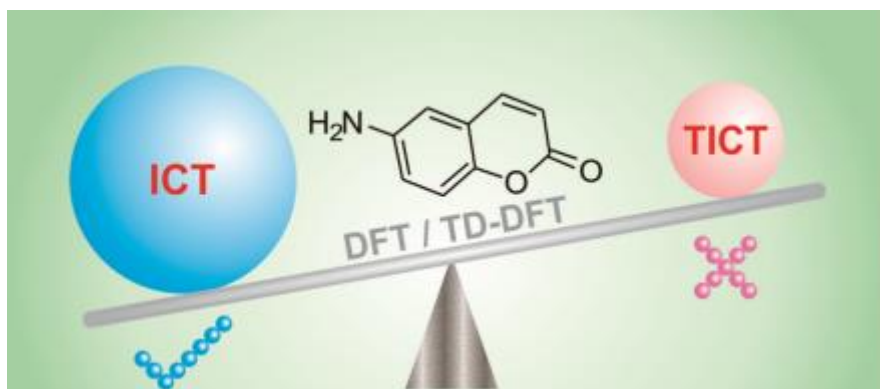
Deriváty 7-aminokumarínov ako sú succinimidylester karboxylovej kyseliny a Alexa Fluor 350 sa používajú na prípravu jasno modrých fluorescenčných konjugátov, proteínov a nukleových kyselín.¹⁴

Poslednú dobu je zvýšená pozornosť zameraná na 6-aminokumaríny, v dôsledku ich posunutých červených emisných vlnových dĺžok, veľké Stoekove posuny a pre ich významný solvatochronizmus. Štruktúra 6-aminokumarínu je zobrazená na Obrázku 5.



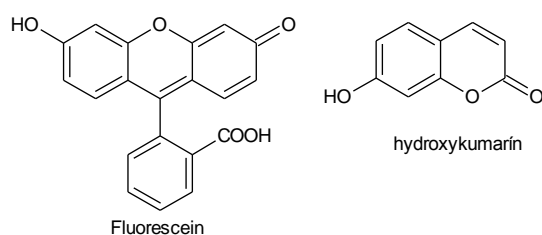
Obrázok 5 Štruktúra 6-aminokumarínu

Tieto charakteristiky poskytujú veľký potenciál pri viacfarebnom zobrazovaní. Tak isto, tieto spektrálne vlastnosti spolu so slabou emisnou intenzitou umožnili tvorbu skrúteného prenosu intramolekulárneho náboja (TICT) v 6-aminokumarínoch. Za výborné fluorescenčné vlastnosti je zodpovedný intramolekulárny prenos nábojov (ICT). Fluorescenčný mechanizmus je zobrazený na Obrázku 6.¹⁵



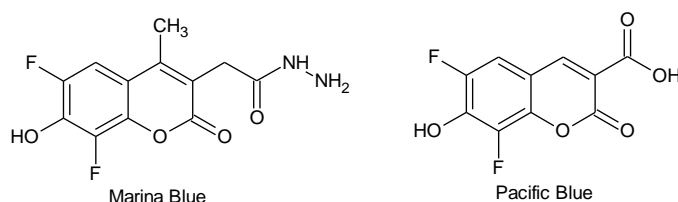
Obrázok 6 Fluorescenčný mechanizmus (prevzaté z lit.¹⁵)

Fluorofory ktoré majú silné pH závislé na absorpcii a fluorescenčné vlastnosti sa používajú ako fyziologické indikátory pH. Medzi takéto typy fluoroforu patrí fluoresceín a 7-hydroxykumarín (umbeliferón), ich štruktúra je zobrazená na Obrázku 7.¹⁴



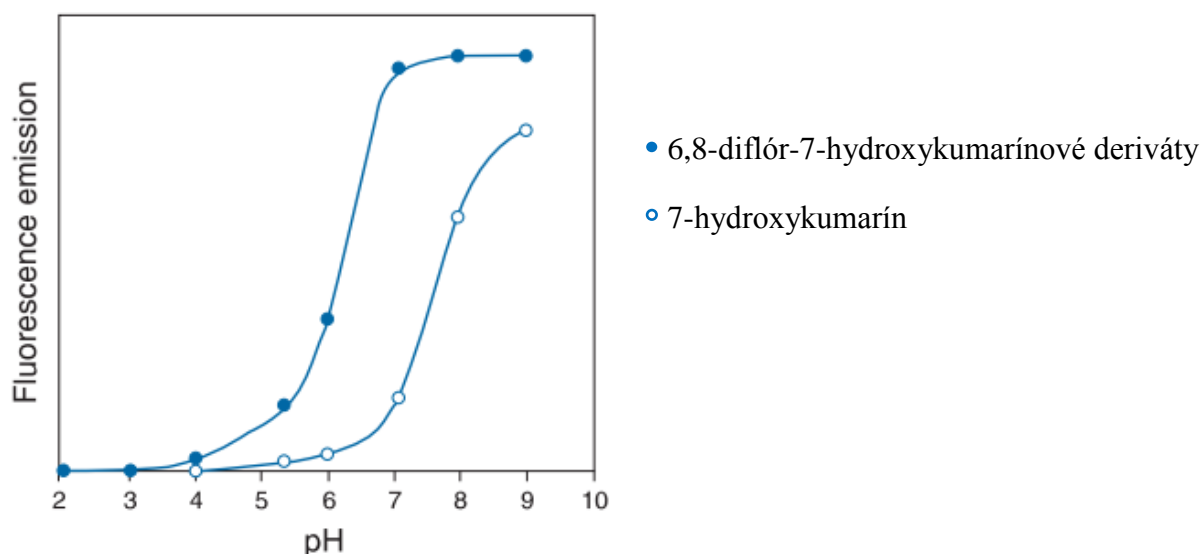
Obrázok 7 Štruktúra fluoresceínu a hydroxykumarínu

Citlivosť je spôsobená rekonfiguráciou systému π -elektrónov fluoroforu po protonácii. Hydroxykumaríny sa používajú pre syntézu rádiojódovaných materiálov. Ich spektrálne vlastnosti umožňujú kvantifikáciu pred rádiodiónom.¹⁴



Obrázok 8 Štruktúra Marina Blue a Pacific Blue

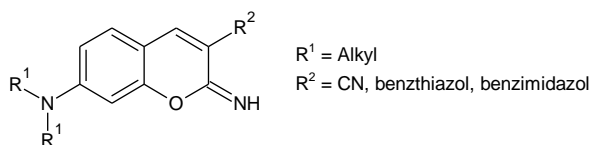
Patentované farby Marina Blue a Pacific Blue sú založené na 6,8-difluór-7-hydroxykumarínfluoroforu a vykazujú jasno modré fluorescenčné emisie blízke 460 nm. Ich chemická štruktúra je zobrazená na Obrázku 8.¹⁴



Obrázok 9 Porovnanie zmien pH fluorescencie (prevzaté z lit.¹⁴)

Významné sú pKa hodnoty 6,8-diflór-7-hydroxykumarínových derivátov, ktoré sú o 2–3 logaritmické jednotky nižšie ako hodnoty 7-hydroxykumarínov. Grafické znázornenie je na Obrázku 9, ktorý vysvetľuje porovnanie zmien pH fluorescence ktoré nastane pripojením atómov fluóru, ktoré odoberajú elektróny k hydroxykumarínu.¹⁴

Marina Blue a Pacific Blue sú farbivá ktoré poskytujú silné fluorescenčné konjugáty, aj pri neutrálnom pH.¹⁴



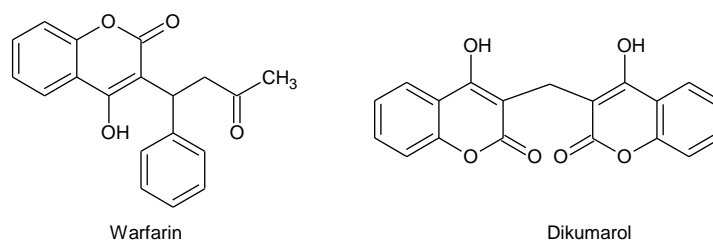
Obrázok 10 Štruktúra derivátov iminokumarínu

Do podtriedy kumarínov patria iminokumaríny. Deriváty iminokumarínov majú v polohe 7 skupinu ktorá uvoľňuje elektróny a v polohe 3 je pozícia akceptora elektrónov. Táto skutočnosť, vedie k zvýšeniu absorpcii a fluorescencii. Donormi elektrónov u iminokumarínov v polohe 7 sú najčastejšie *N,N*-dialkyl skupiny a akceptory elektrónov v polohe 3 sú benzotiazol, benzimidazolová alebo kyanoskupina (Obrázok 10). Iminokumaríny sú známe svojou vysokou fluorescenciou a kvantovým výťažkom, preto sa používajú ako kovové snímače, pH senzory a lasery.¹⁶

2.3 Charakteristika a rozdelenie (Jednoduché kumaríny)

2.3.1 Warfarin

Warfarin (4-hydroxy-3-(3-oxo-1-fenylbutyl) kumarín) je derivátom dikumarolu, alkaloid z červenej ďateliny a komonice lekárskej a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 11.



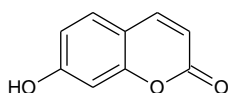
Obrázok 11 Štruktúra warfarinu a dikumarolu

Jeho objav spočíval zo zlúčeniny ktorá bola vyextrahovaná z komonice, ktorá spôsobovala krvácanie a bola identifikovaná ako dikumarol a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 11. Následne boli pripravené skupiny látok s väčšou účinnosťou a bezpečnosťou a najlepší z nich bol nazývaný Warfarin. Zo začiatku bol používaný ako pesticíd a následne bol najpredávanejším a najúčinnnejším jedom na krysy. Do lekárskej praxe bol zavedený v roku

1959 ako perorálne antikoagulancium.¹⁷ Jeho mechanizmus účinku spočíva v účasti ako kofaktor a je nevyhnutný pri tvorbe koagulačných faktorov ktoré sú závislé na vitamíne K.¹⁹ Je veľmi používaný rodenticíd a vysoko účinné perorálne antikoagulancium. Vykazuje vysokú stabilitu, rozpustnosť a je vhodný aj pre intravenózne použitie.¹⁸ Liečivo sa nachádza v dvoch eantiomerných formách, pričom (S) izomer je účinnejší ako (R) izomer.²⁰ Navzájom sa líšia rýchlosťou metabolizmu a účinkom, S izomer je 3x účinnejší. Táto stereošpecifická účinnosť je daná rozdielnou afinitou receptora k reductáze vitamínu K.²¹ Warfarin sa začal nedávno používať ako sonda na štúdium množstva ionenzým cytochrómu P-450 a tak isto vykazuje silnú fluorescenciu. Fluorescencia warfarinu bola skúmaná vo vodnom prostredí v prítomnosti α - β -7-cyklodextrínov a ich metylových derivátov, ktoré vytvárajú inklúzne komplexy. Tvorba týchto komplexoch vedie k zvýšeniu fluorescence warfarinu.²²⁻²⁴

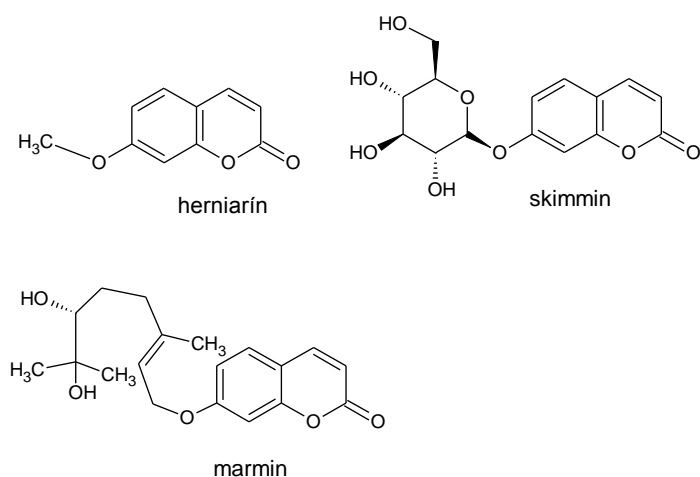
2.3.2 Umbeliferon

Umbeliferon (7-hydroxy kumarín) je hlavným metabolitom kumarínov a prírodným produktom ich zlúčenín a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 12.^{Lit. 25}



Obrázok 12 Štruktúra umbeliferonu

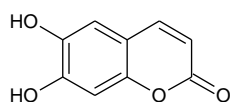
7-hydroxy kumarín je žltá-biela kryštalická látka ktorá sa vyskytuje v mnohých rastlinách. Používa sa v opaľovacích prípravkoch, pretože absorbuje ultrafialové svetlo pri viacnásobných vlnových dĺžkach. Vykazuje protizápalové, bronchodilatačné, protinádorové a imunomodulačné účinky.²⁶ Umbeliferon vykazuje silnú fluorescenciu ako rada iných 7-substituovaných kumarínov.¹² Deriváty umbeliferonu sa nachádzajú ako zložky znečistenia ovzdušia a uplatňujú sa pri fotobiologických procesov prenosu energie. Intenzita fluorescenčných vlnových dĺžok závisí na pH a ich fluorescencia je tak silná, že často sa používajú ako fluorescenčné výrobky.²⁷ Deriváty umbeliferonu sa nazývajú herniarín (7-metoxykumarín), ktorý sa vyskytuje v konopných listoch,²⁸ skimmín, ktorý sa vyskytuje prirodzene a používa sa na preventívny účinok na progresiu diabetickej nefropatie²⁹ a marmin, ktorý bol izolovaný z plodu Aurantii a používa sa pri liečbe tráviaceho traktu a vykazuje protialergické účinky. Ich štruktúra je zobrazená na Obrázku 13.^{Lit. 30}



Obrázok 13 Štruktúra herniarín, skimmin a marmin

2.3.3 Eskuletín

Eskuletín (6,7-dihydroxykumarín) patrí medzi kumarínové deriváty, je to prírodný laktón ktorý vzniká z intramolekulárnej cyklizácie derivátu kyseliny škoricovej a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 14.

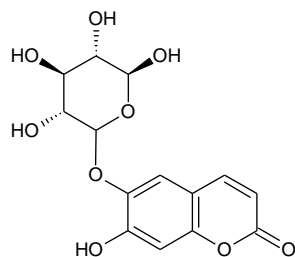


Obrázok 14 Štruktúra eskuletinu

Nachádza sa v rôznych prírodných rastlinných produktoch, citrusových plodoch a má biologické a farmaceutické vlastnosti. Eskuletín má protizápalové, protiedémové a protinádorové účinky.³¹

2.3.4 Eskulin

Eskulin (7-hydroxy-6-[(3R, 4S, 5S, 6S)-3,4,5,6-tetrahydroxytetrahydro-2H-pyrán-2-yl]oxy-2H-chromen-2-on) je derivát kumarínu a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 15.

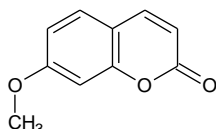


Obrázok 15 Štruktúra eskulinu

Vyskytuje sa v rôznych rastlinách ktoré majú prospešné biochemické a farmakologické vlastnosti. Vykazuje antioxidačné a protizápalové vlastnosti a tak isto aj antiproliferatívny účinok na niekoľko druhov rakovinových buniek.^{32, 33}

2.3.5 Herniarin

Herniarin (7-methoxykumarín) patrí medzi jednoduché kumaríny a nachádza sa v extraktoch známej liečivej rastliny, harmančeka a levandule. Jeho chemická štruktúra je zobrazená na obrázku 16.²⁸

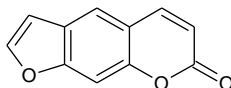


Obrázok 16 štruktúra herniarinu

2.4 Furanokumaríny (Lineárne)

2.4.1 Psoralen

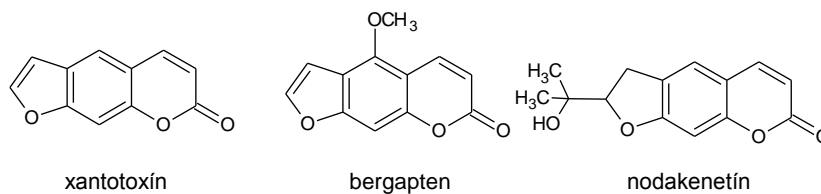
Psoralen patrí do skupiny zlúčenín ktoré boli považované za deriváty kumarínu, furokumaríny a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 17.^{Lit. 34}



Obrázok 17 Štruktúra psoralenu

Najväčším zdrojom je *Ficus carica*–figa, tak isto sa vyskytuje v zelenine a takmer vo všetkých citrusových plodoch. Psoralen je mutagén ktorý preniká do DNA a vystavením ultrafialového žiarenia tvorí adukty a kovalentné väzby s tymínom, pre tento účel sa používa vo výskume molekulárnej biológie.³⁵ Psoraleny môžu reverzibilne zosieťovať nukleové kyseliny a preto boli tiež použité na analýzu štruktúr a interakcií pre DNA aj RNA.³⁶ Dôležité využitie má v medicíne, používa sa pri liečbe kožných ochorení, ako je psoriáza, ekzém, vitiligo a niektoré druhy rakoviny kože. Najskôr sa aplikuje psoralen na senzibilizáciu kože a následne UV svetlo pre vyčistenie pokožky. V roku 1974 bola zavedená skratka PUVA a táto liečba je založená na vysokej UV absorbančie psoralenu. Tak isto sa preukázalo, že vysoká samostatná dávka terapie PUVA má výrazne zvýšené riziko k vzniku rakoviny kože, keďže PUVA zároveň pôsobí aj ako aktivátor rakovinových buniek.^{37, 38} Napriek jeho karcinogenným vlastnostiam sa až do roku 1996 používal v opaľovacích prípravkoch. Psoralen urýchľuje opaľovanie, pretože má schopnosť zvyšovať citlivosť pokožky na svetlo.³⁹

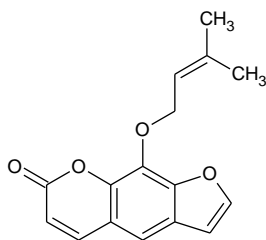
Psoraleny sú schopné podstupovať reakcií s kyslíkom, produkujú reaktívne kyslík, vrátane tvorby singletového kyslíka (O_2), superoxidového aniónu (O_2^-) a hydroxylového radikálu ($\cdot OH$).⁴⁰ Medzi významné deriváty psoralenu patria xantotoxín, bergapten, nodakenetín a ich štruktúra je zobrazená na Obrázku 18.^{Lit. 41}



Obrázok 18 Štruktúra derivátov psoralenu

2.4.2 Imperatorin

Imperatorin patrí k biologicky aktívnym furokumarínom a je izolovaný z koreňov *Angelica dahurica*, ktoré vykazujú antikonvulzívne a protinádorové účinky. Jeho chemická štruktúra je zobrazená na Obrázku 19.

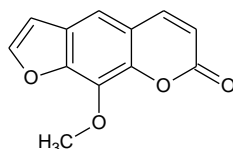


Obrázok 19 Štruktúra imperatorinu

Vyskytuje sa v citrusových plodoch, limetkových a citrónových olejoch, bylínkach a v niektorých liečivých rastlinách.⁴²⁻⁴⁴

2.4.3 Methoxalen (Xantotoxin)

Methoxsalen je lineárny furanokumarín, extrahovaný z rôznych liečivých rastlín a jeho chemická štruktúra je zobrazená na Obrázku 20.



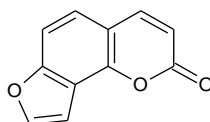
Obrázok 20 Štruktúra xantotoxínu

Patrí k prirodzene vyskytujúcim fotoaktívnym látkam. Používa sa ako liečivo v kombinácii s ultrafialovým svetlom v procese známom ako fotochemoterapia, ktorá sa využíva pri liečbe vitiliga. Vykazuje antineoplastické účinky a pri liečbe niektorých kožných chorôb a inhibuje enzým CYP2A6, ktorý zodpovedá za metabolizmus nikotínu. Methoxsalen má účinok na antikonvulzívnu aktivitu základných antiepileptických liekov ako sú karbamazepín, fenobarbital, fenytoin a valproát. Methoxsalen má protinádorovú aktivitu, vykazujú antiproliferačné účinky na ľudský melanóm.⁴⁵

2.5 Furanokumaríny (Angulárne)

2.5.1 Angelicin

Angelicin (2*H*-furo[2,3-*h*]chromen-2-on) patrí medzi angulárne furanokumaríny, ktorý je izolovaný z plodov *Psoralea corylifolia* a jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 21.



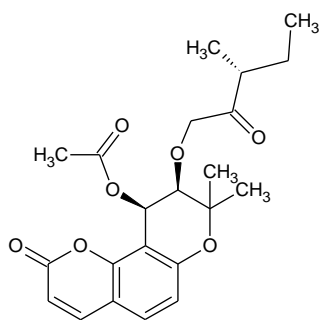
Obrázok 21 Štruktúra angelicinu

Je tradičná čínska bylinná látka, ktorá sa používa v lekárstve. Vykazuje antimikrobiálne účinky a centrálnu inhibičnú aktivitu v proliferácii buniek.⁴⁶ Patrí do skupiny chemických fotosenzitizátorov, ktoré majú protirakovinové vlastnosti. Inhibujú rast karcinómu, metastáz a tak isto inhibujú aj bunkovú apoptózu.⁴⁷ Tak isto boli preukázané fotofyzikálne a fotochemické vlastnosti, majú schopnosť vytvárať fotoreakcie s proteínmi, nukleovými kyselinami, nenasýtenými kyselinami a vytvárať aktívne formy kyslíka.⁴⁸ Pri kontakte s kožou sa prejavujú fototoxické a fotomutagénne účinky. Zvyšuje citlivosť pokožky na UV žiarenie, ktoré vedie k vzniku pľuzgierov.⁴⁹ Pri dlhom ožarovaní pri vyšších vlnových dĺžkach vytvára monoaddukty DNA, ktoré môžu spôsobovať vznik rakoviny kože. Fototoxické vlastnosti viedli k použitiu angelicinu ako dezinfekčné činidlo a prírodný pesticíd.⁵⁰

2.6 Pyranokumaríny (Lineárne)

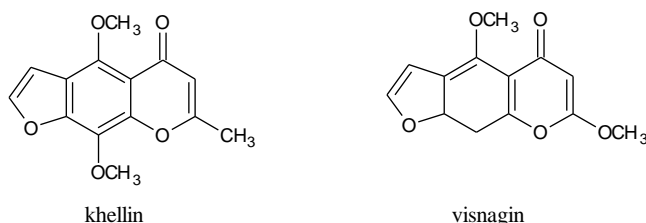
2.6.1 Visnadin

Visnadin patrí medzi lineárne pyranokumaríny, bol vyextrahovaný z plodu *Ammi visnaga* a jeho chemická štruktúra je zobrazená na Obrázku 22.



Obrázok 22 Štruktúra visnadinu

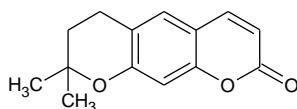
Visnadin vykazuje koronárne a vazodilatačné účinky a bol využívaný pri liečbe angina pectoris.⁵¹ Pri pokusoch *in vitro* bol zistený ako najúčinnější látka, blokuje aktivitu kalciových receptorov. Spôsobuje nešpecifickú inhibíciu hladkého svalstva, pôsobí na dilatáciu koronárnych a periférnych ciev a zvyšuje funkciu koronárneho obehu. Visnaga látka z ktorej bol vyextrahovaný visnadin sa považuje za antiastmatické diuretikum, má antimikrobiálne účinky, tak isto sa využíva pri liečbe bronchiálnej astmy a má fotosenzibilizujúcu schopnosť pri liečbe svrabu. Medzi jej významné látky okrem visnadinu patria khellin a visnagin. Chemická štruktúra je zobrazená na Obrázku 23.^{Lit. 52}



Obrázok 23 Štruktúra khellinu a visnaginu

2.6.2 Xanthyletin

Xanthyletin patrí medzi pyranokumaríny, je izolovaný z citrusových plodov a vykazuje niektoré biologické aktivity ako sú antibakteriálne a protinádorové účinky. Jeho štruktúra je zobrazená na Obrázku 24.^{Lit. 53}

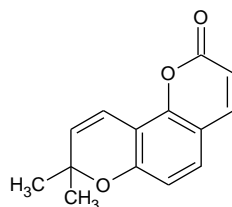


Obrázok 24 Štruktúra xanthyletinu

2.7 Pyranokumaríny (Angulárne)

2.7.1 Seselin

Seselin patrí medzi prirodzene vyskytujúce sa pyranokumaríny. Bol izolovaný z rastlinných zdrojov ako sú rod Rutaceae, grepfruitu a je špecifický pre korene, v iných časti rastlín nebol zistený. Jeho chemická štruktúra je zobrazená na Obrázku 25.

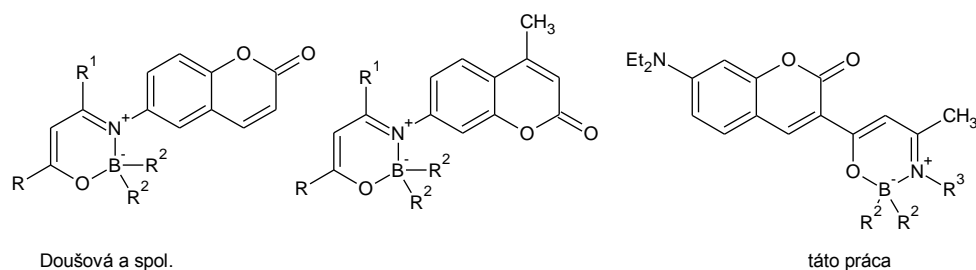


Obrázok 25 Štruktúra seselinu

Seselin a jeho syntetické a prírodné deriváty vykazujú protinádorovú a cytotoxickú aktivitu. Tak isto má schopnosť inhibovať zápalovú hyperalgiu, čo znamená že tento prírodný produkt má antinociceptívne a protizápalové účinky.⁵⁴⁻⁵⁶

CIEĽ PRÁCE:

Zlúčeniny s luminiscenčnými vlastnosťami dnes tvoria významnú časť nových materiálov a sú predmetom rozsiahlych výskumných aktivít. Jednou zo stratégií ako vytvoriť nový luminofor je kombinácia už známych luminoforov. Predmetom tejto práce je kombinovať dva známe luminofory: 7-aminokumaríny a boron ketimimináty. Táto stratégia sa prvý krát objavila v prácach.^{12, 57} Tu bol kumarínový fragment viazaný na dusíkovom atóme oxazaborínu, ktorý je kladne nabitý a tak je konjugácia medzi boron ketiminátom a kumarínom prerušená a vzniknutá zlúčenina vykazuje vlastnosti izolovaných fragmentov a nie ich kombináciu. Novou stratégiou, ktorá je rozpracovaná v tejto práci, je rozmiestnenie kumarínu tak, ako je znázornené nižšie uvedeným vzorcom, čím by sa dalo doceliť prekonjugovanie s ketimiminátom (Obrázok 26).



Obrázok 26

3 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1 Prístrojové vybavenie

NMR spektra boli merané na prístrojoch Bruker AVANCE III s frekvenciou 400,13 MHz (^1H) a 100,61 MHz (^{13}C), 376,5 MHz (^{19}F), 128,4 MHz (^{11}B) a Bruker Ascend™ s frekvenciou 500,13 MHz (^1H) a 125,78 MHz (^{13}C). NMR spektra boli merané v deuterochloroformu (CDCl_3). ^1H NMR spektra boli kalibrované v CDCl_3 na interný tetramethylsilan ($\delta = 0,00$). Uhlíkové chemické posuny boli kalibrované ku stredovému signálu multipletu rozpúšťadla $\delta = 77,23$ (CDCl_3). Uhlíkové NMR spektra boli merané štandardným spôsobom so širokopásmovým dekaplinkom protónov. Fluorované NMR spektra boli merané so širokopásmovým dekaplinkom protónov a kalibrované na α,α,α -trifluortoluen ako sekundárny štandard ($\delta = -63,9$). Bórové spektra boli kalibrované na trimethoxyboran ($\delta = 18,1$). Vzhľad signálov je vyjadrený nasledovne: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), kv (kvintet), m (multiplet). Pokiaľ sa jedná o rozšírený signál, je doplnený písmenami br.

Body topenia boli stanovené na Koflerovom bloku a neboli korigované.

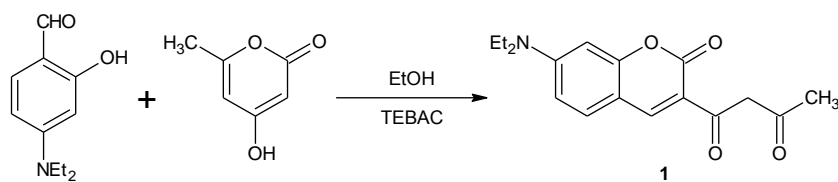
Hmotnostné spektra boli merané s použitím ionizačnej techniky MALDI na hmotnostnom spektrometre s vysokým rozlíšením LTQ Orbitrap XL (Thermo Fisher Scientific, Bremen, Nemecko), vybaveným dusíkovým UV laserem (337 nm, 60 Hz). Detektor LTQ Orbitrap pracoval v módu v normálnom hmotnostnom rozmedzí (m/z 50 — 2000). Ako matrica bola použitá 2,5-dihydroxybenzoová kyselina (DHB).

3.2 Rozpúšťadla a činidla

Rozpúšťadla a činidlá použité v tejto práci boli komerčné a neboli ďalej upravované. Výnimkou bol síran horečnatý, ktorý bol pred syntézou aktivovaný zahrievaním v sušiarňi na 100 °C cez noc.

3.3 Príprava obecných látok

3.3.1 1-[7-(Diethylamino)-2-oxo-2H-chromen-3-yl]butan-1,3-dion (1)

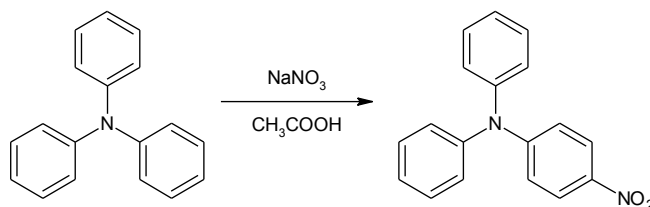


Syntéza bola vykonaná podľa lit.⁵⁸

Do 100 ml banky bolo predložené 2,52 g (13 mmol) 4-(diethylamino)-2-hydroxybenzaldehydu, 3,86 g (30,6 mmol) 4-hydroxy-6-methyl-2H-pyron-2-onu, 1 g (4,4 mmol) triethylbenzylamonium chloridu (TEBAC) a 40 ml ethanolu. Reakčná zmes bola za miešania zahrievaná na 70 °C pod spätným chladičom po dobu 18 h (zmes sa sfarbila do červena). Po ochladení na laboratórnu teplotu bola zmes sfiltrovaná na frite a produkt bol sušený na vzduchu. Bolo získané 2,8 g (71 %) oranžových kryštálov **1** s bodom topenia 155,4–156,8 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 16,25 (s, 1H, OH), 8,50 (s, 1H), 7,38 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,62 (dd, J = 8,9 Hz; 2,3 Hz, 1H), 6,46 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 3,45 (q, J = 7,1 Hz, 4H), 2,21 (s, 3H), 1,24 (t, J = 7,1 Hz, 6H) ppm.

3.3.2 4-Nitro-*N,N*-difenylanilin



Syntéza bola vykonaná podľa lit.⁵⁹

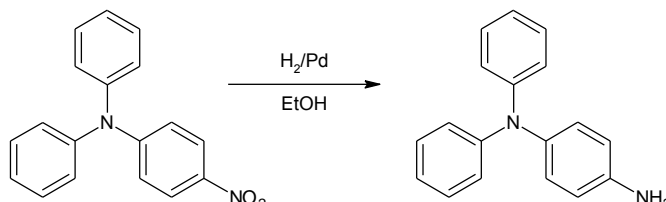
Do 250 ml banky bolo predložené 5,05 g (20,6 mmol) trifenylaminu, 1,72 g (20,2 mmol) dusičnanu sódného a 180 ml kyseliny octovej. Zmes bola zahrievaná pod spätným chladičom pri 90 °C po dobu 2 h. Po ochladení na laboratórnu teplotu bola zmes vyliatá do 500 ml vody. Zmes bola extrahovaná 500 ml dichlormethanu. Organická vrstva bola oddelená a premytá nasýteným roztokom hydrogen uhličitanu sódného (3 x 100 ml) a solankou (1 x 250 ml).

Následne bola organická fáza vysušená síranom sódnym a odparená na vakuovej odparke. Surový produkt bol rozpustený za varu v cyklohexane (pod spätným chladičom pri 120 °C). Po ochladení na laboratórnu teplotu bola zmes sfiltrovaná na frite a premytá pentanom. Boli

získané 2,94 g (49 %) hnedých kryštálov zlúčeniny 4-nitro-*N,N*-difenyylanilínu s bodom topenia 144–147 °C. Bod topenia je zhodný s literatúrou⁶⁰

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,05–8,03 (m, 2H); 7,39–7,35 (m, 4H); 7,23–7,17 (m, 6H); 6,95–6,90 (m, 2H) ppm.

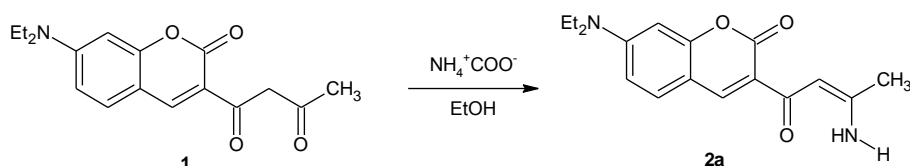
3.3.3 4-Amino-*N,N*-difenyylanilín



Do 250 ml banky bolo predložené 2,94 g (10,1 mmol) 4-nitro-*N,N*-difenylianilínu, 107 mg (1 mmol) palládia a 70 ml ethanolu. Na banku bol upevnený balónik naplnený vodíkom a zmes bola miešaná za laboratórnej teploty do nasledujúceho dňa. Následne bola zmes sfiltrovaná a filtrát bol odparený na vakuovej odparke do sucha. Bolo získané 0,73 g (28%) bielo šedej látky, ktorá bola podľa NMR dostatočne čistá pre použitie v ďalšom reakčnom kroku.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7,20–7,17 (m, 4H); 7,03–7,02 (m, 4H); 6,96–6,94 (m, 2H); 6,92–6,89 (m, 2H); 6,64–6,62 (m, 2H), 3,56 (br s, 2H) ppm.

3.3.4 3-[(*ZZ*)-3-aminobut-2-enoyl]-7-(diethylamino)-2*H*-chromen-2-on (2a)



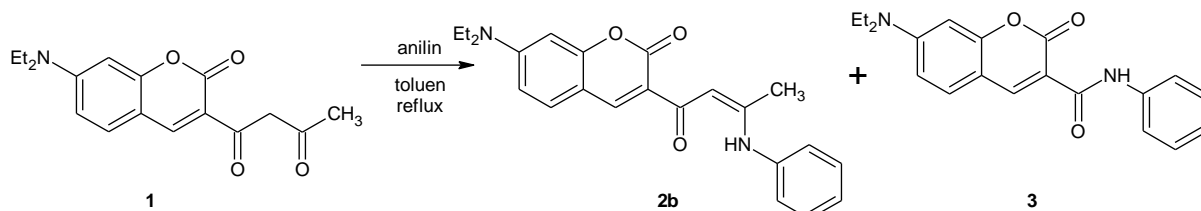
Do 100 ml banky boli predložené 3 g (10 mmol) diketonu 3, 7,7 g (100 mmol) octanu amonného a 50 ml ethanolu. Zmes bola zahrievaná na 70 °C pod spätným chladičom po dobu 1 h (zmes zmenila farbu na žltú). Následne bol pridaný 130 ml ethylacetát a 100 ml vody. Organická fáza bola oddelená a vysušená síranom sodným, po odparení na vakuovej odparke bol surový produkt čistený chromatograficky (DCM:EtOAc; 4:1). Bolo získané 1,77 g (59 %) žltej pevnej látky s bodom topenia 195,8–197,3 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 10,29 (brs, 1H), 8,49 (s, 1H), 7,38 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 6,59 (dd, *J* = 8,9 Hz; 2,5 Hz, 1H), 6,48 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 6,43 (s, 1H), 5,23 (brs, 1H), 3,43 (q, *J* = 7,1 Hz, 4H), 2,08 (s, 3H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 184,0; 164,0; 161,0; 157,9; 151,1; 146,3; 131,0; 118,6; 109,5; 108,9; 96,7; 95,6; 45,1; 23,2; 12,6 ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ vyžaduje $[\text{M}+\text{H}]^+$ 301,15467; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 323,13661; $[\text{M}+\text{K}]^+$ 339,11055; zistené $[\text{M}+\text{H}]^+$ 301,15441; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 323,13646; $[\text{M}+\text{K}]^+$ 339,11034.

3.3.5 7-Diethylamino-3-(3-fenylaminobut-2-enoyl)-2H-chromen-2-onu (2b)



Do banky bolo predložené 1,4 g (4,6 mmol) diketonu **1**, 0,43 g (4,6 mmol) anilínu, 7 mg (0,04 mmol) kyseliny p-toluensulfonovej a 25 ml toluenu. Zmes bola za refluxu a za miešania zahrievaná 20 h a vznikajúca voda bola azeotropicky oddestilovaná. Reakčná zmes bola následne odparená na vakuovej odparke. Produkty boli čistené chromatograficky (DCM:EtOAc; 10:1). Bolo získané 0,27 g (15 %) enaminonu **2b**.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 13,26 (brs, 1H); 8,53 (s, 1H); 7,41–7,35 (m, 3H); 7,23–7,17 (m, 3H); 6,63 (s, 1H); 6,60 (dd, J = 9,0 Hz; 2,3 Hz, 1H); 6,49 (d, J = 2,0 Hz, 1H); 3,44 (q, J = 7,1 Hz, 4H); 2,17 (s, 3H); 1,23 (t, J = 7,1 Hz, 6H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 183,1; 163,1; 160,9; 157,9; 152,2; 146,2; 138,9; 131,0; 129,3; 125,9; 124,9; 118,3; 109,5; 109,0; 97,8; 96,8; 45,2; 20,7; 12,6 ppm.

HRMS: zlúčenina $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5$ vyžaduje $[\text{M}+\text{H}]^+$ 377,18597; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 399,16791; $[\text{M}+\text{K}]^+$ 415,14185; zistené $[\text{M}+\text{H}]^+$ 377,18657; $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 399,16876; $[\text{M}+\text{K}]^+$ 415,14276.

Ako vedľajší produkt bol vo výťažku 20 mg (1,3 %) izolovaný amid **3** ako tmavo žltá pevná látka s bodom topenia 195,2–198,6 °C.

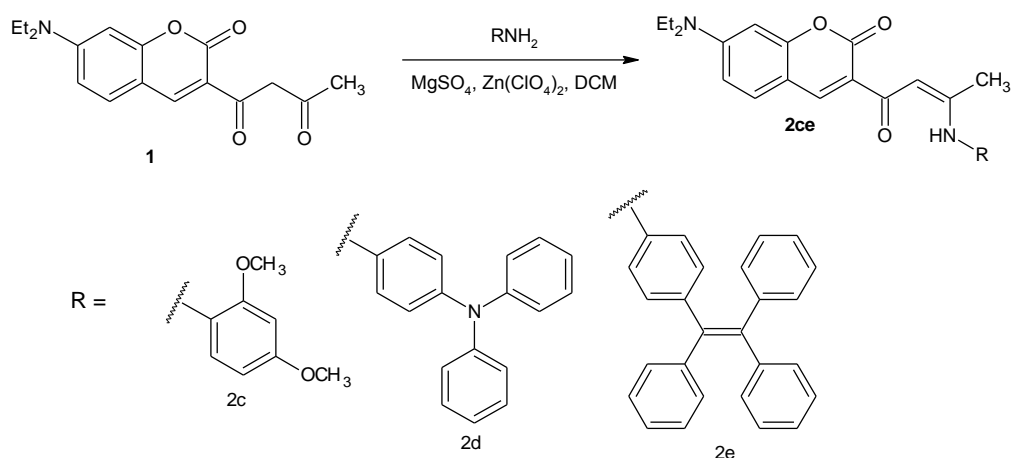
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 10,87 (brs, 1H); 8,79 (s, 1H); 7,75–7,73 (m, 2H); 7,46 (d, J = 8,7 Hz, 1H); 7,37–7,33 (m, 2H); 7,13–7,10 (m, 1H); 6,67 (dd, J = 9,1 Hz; 2,4 Hz, 1H); 6,53 (d, J = 2,2 Hz, 1H); 3,46 (q, J = 7,2 Hz, 4H); 1,25 (t, J = 7,1 Hz, 6H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 163,3; 131,3; 158,0; 153,0; 148,7; 138,5; 131,5; 129,1; 124,3; 120,6; 110,45; 110,35; 108,8; 96,8; 45,3; 12,6 ppm.

Protónové a uhlíkové NMR data sú v súlade s lit.⁶¹

HRMS zlúčenina $C_{20}H_{20}N_2O_3$ vyžaduje $[M+H]^+$ 337,15467; $[M+Na]^+$ 359,13661; $[M+K]^+$ 375,11055; zistené $[M+H]^+$ 337,15517; $[M+Na]^+$ 359,13707; $[M+K]^+$ 375,11104.

3.3.6 Obecný postup prípravy enaminonů 2c–e



Syntéza bola vykonaná podľa lit.⁶²

Do banky bolo predložené ekvimolárne množstvo diketonu **1** a príslušného aminu. Potom bol pridaný dichlormethan (10 ml na 5 mmol východných látok), bezvodý síran horečnatý (180 mg/5 mmol východných látok) a hexahydrát chloristanu zinočnatého (94 mg/5 mmol východných látok). Zmes bola miešaná za laboratórnej teploty 72 h. Potom bola zmes sfiltrovaná, rozpúšťadlo odparené za vakua a zvyšok po odparení bol podrobený stĺpcovej chromatografii (viď detaily u jednotlivých zlúčenín). Takto boli pripravené nasledujúce zlúčeniny:

7-Diethylamino-3-(3-(2,4-dimethoxyfenylamino)but-2-enoyl)-2H-chromen-2-on (**2c**):

reakciou **1** s 2,4-dimethoxyanilinom, chromatografia: silikagel/DCM-EtOAc 20:1, výťažok 63 %, s bodom topenia 177,8–181,0°C.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 12,83 (brs, 1H); 8,56 (s, 1H); 7,38 (d, J = 8,9 Hz, 1H); 7,07 (d, J = 8,9 Hz, 1H); 6,60–6,58 (m, 2H); 6,52 (s, J = 2,5 Hz, 1H); 6,49 (d, J = 2,2 Hz, 1H); 6,46 (dd, J = 8,6 Hz; 2,5 Hz, 1H); 3,85 (s, 3H); 3,82 (s, 3H); 3,43 (q, J = 7,3 Hz, 4H); 2,06 (s, 3H); 1,23 (s, 3H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ = 182,5; 164,6; 161,0; 159,2; 157,8; 154,7; 152,0; 146,1; 130,9; 126,9; 121,2; 118,7; 109,4; 109,1; 104,0; 99,5; 97,2; 96,8; 56,0; 55,7; 45,2; 20,5; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina $C_{25}H_{28}N_2O_5$ vyžaduje $[M+H]^+$ 437,20710; $[M+Na]^+$ 459,18904; $[M+K]^+$ 475,16298; zistené $[M+H]^+$ 437,20782; $[M+Na]^+$ 459,18988; $[M+K]^+$ 475,16391.

7-Diethylamino-3-(3-(4-difenylfenylamino)but-2-enoyl)-2H-chromen-2-on (2d):

reakciou **1** s 4-difenylaminoanilinom, chromatografia: silikagel/DCM, postupne zmena na DCM-EtOAc 20:1, výťažok 28 %, s bodom topenia 171,7–174,3 °C.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 13,22 (brs, 1H); 8,53 (s, 1H); 7,39 (d, J = 8,7 Hz, 1H); 7,29–7,25 (m, 4H); 7,11–7,02 (m, 10H); 6,61–6,59 (m, 2H); 6,49 (d, J = 1,9 Hz, 1H); 3,44 (q, J = 7,2 Hz, 4H); 2,18 (s, 3H); 1,23 (t, J = 7,1 Hz, 6H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ = 182,8; 163,4; 161,0; 157,9; 152,1; 147,7; 146,1; 145,8; 133,2; 131,0; 129,5; 125,7; 124,6; 124,2; 123,3; 118,5; 109,5; 109,1; 97,6; 96,8; 45,2; 20,8; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina $C_{35}H_{33}N_3O_3$ vyžaduje $[M+H]^+$ 544,25947; $[M+Na]^+$ 566,24141; zistené $[M+H]^+$ 544,26013; $[M+Na]^+$ 566,24231.

7-Diethylamino-3-(3-(4-(1,2,2-trifenylethenyl)fenyl)but-2-enoyl)-2H-chromen-2-on (2e):

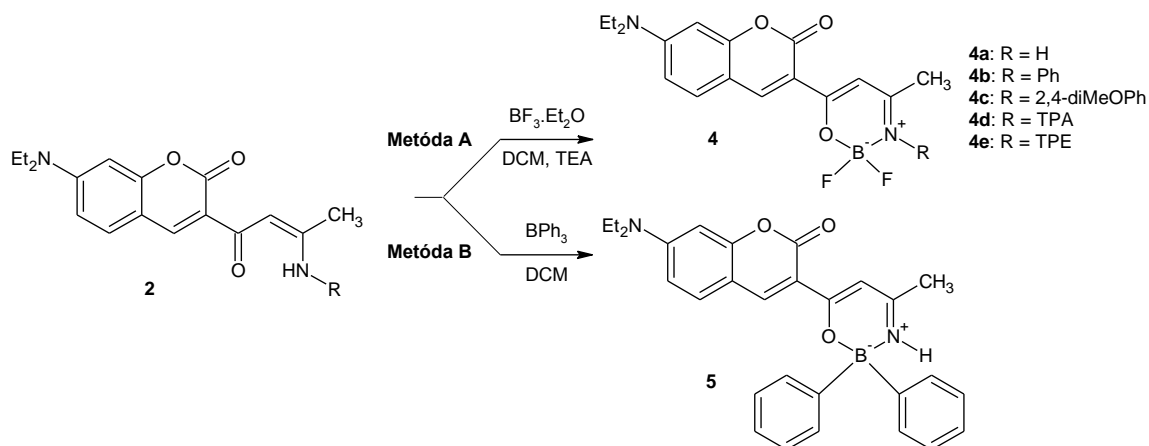
reakciou **1** s tetrafenylethylenom, chromatografia: silikagel/DCM:EtOAc 20:1, výťažok 12 %, s bodom topenia 220,7–224,8 °C.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ = 13,24 (brs, 1H); 8,51 (s, 1H); 7,38 (d, J = 8,9 Hz, 1H); 7,12–6,99 (m, 17H); 6,90–6,88 (m, 2H); 6,60–6,58 (m, 2H); 6,48 (d, J = 1,7 Hz, 1H); 3,43 (q, J = 7,1 Hz, 4H); 2,12 (s, 3H); 1,22 (t, J = 7,0 Hz, 6H) ppm.

^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ = 182,9; 162,7; 160,9; 157,9; 152,2; 146,2; 143,74; 143,69; 143,5; 141,5; 141,2; 140,2; 137,1; 132,2; 131,49; 131,46; 131,0; 127,9; 127,8; 126,8; 126,75; 126,66; 123,6; 118,3; 109,5; 109,0; 98,0; 96,8; 45,2; 20,8; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina $C_{43}H_{38}N_2O_3$ vyžaduje $[M+H]^+$ 631,29552; $[M+Na]^+$ 653,27746; $[M+K]^+$ 669,25140; zistené $[M+H]^+$ 631,29632; $[M+Na]^+$ 653,27824; $[M+K]^+$ 669,25226.

3.4 Obecná príprava oxazaborinových derivátov 4a–e a 5



3.4.1 Metóda A: Príprava BF₂ derivátů 4a–e

Do vopred vysušenej banky bol predložený enaminon **2** a dichlormetan (9 ml/1 mmol **2**). Banka bola uzatvretá septom, prefuknutá argónom a striekačkou bol pridaný triethylamin (2 ekvivalenty). Potom bol striekačkou pridaný po kvapkách etherát fluoridu boritého (3 ekvivalenty). Zmes bola miešaná za laboratórnej teploty celú noc. Následovne bola zmes odparená, surový odparok bol rozpustený v dichlormethane a premytý vodou. Organická vrstva bola vysušená bezvodým síranom sodným a odparená. Odparek bol podrobený stĺpcovej chromatografii (vid'. details u jednotlivých zlúčenín). Týmto spôsobom boli pripravené nasledujúce zlúčeniny:

6-(7-Diethylamino-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-2,2-difluor-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborin (4a)
chromatografia DCM-EtOAc 20:1, výťažok 14 %, s bodom topenia 253,4–258,3 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,69 (s, 1H), 7,42 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,05 (brs, 1H), 6,65 (dd, *J* = 8,9 Hz, 2,4 Hz, 1H), 6,48 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 3,47 (q, *J* = 7,3 Hz, 4H), 2,33 (s, 3H), 1,25 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H) ppm.

¹⁹F NMR (376,5 MHz, CDCl₃) δ = -132,2 (q, *J* = 15,1 Hz) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 0,14 (t, *J* = 15,1 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 173,8; 166,8; 159,9; 158,0; 153,2; 147,0; 131,8; 110,7; 110,3; 108,9; 97,1; 96,7; 45,4; 24,6; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina C₁₇H₁₉BF₂N₂O₃ vyžaduje [M+H]⁺ 349,15296; [M+Na]⁺ 371,13490; [M+K]⁺ 387,10884; zistené [M+H]⁺ 349,15287; [M+Na]⁺ 371,13484; [M+K]⁺ 387,10878.

6-(7-Diethylamino-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-3-fenyl-2,2-difluor-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborin (4b)

chromatografia silikagel/DCM, výťažok 56 %, s bodom topenia 266,1–267,9 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,71 (s, 1H); 7,47–7,36 (m, 4H); 7,26–7,25 (m, 2H); 7,17 (s, 1H); 6,65 (dd, *J* = 8,7 Hz; 2,3 Hz, 1H); 6,49 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H); 3,47 (q, *J* = 7,3 Hz, 4H); 2,08 (s, 3H); 1,25 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H) ppm.

¹⁹F NMR (376,5 MHz, CDCl₃) δ = –136,6 (m, *J* = 15,2 Hz) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 0,56 (t, *J* = 15,6 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 172,3; 165,0; 159,9; 158,0; 153,2; 146,7; 140,3; 131,7; 129,5; 128,3; 126,4; 110,9; 110,2; 108,9; 99,1; 96,7; 45,4; 22,3; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina C₂₃H₂₃BF₂N₂O₃ vyžaduje [M+H]⁺ 425,18426; [M+Na]⁺ 447,16620; [M+K]⁺ 463,14014; zistené [M+H]⁺ 425,18477; [M+Na]⁺ 447,16684; [M+K]⁺ 463,14085.

6-(7-Diethylamino-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-2,2-difluor-3-(2,4-dimethoxyfenyl)-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborin (4c)

chromatografia: silikagel/DCM-EtOAc 40:1, výťažok 61 %, s bodom topenia 262,8–265,6 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,70 (s, 1H); 7,41 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H); 7,26–7,25 (m, 1H); 7,15 (s, 1H); 6,64 (dd, *J* = 9,0 Hz; 2,1 Hz, 1H); 6,56–6,53 (m, 2H); 6,49 (d, *J* = 2,1 Hz, 1H); 3,83 (s, 3H); 3,81 (s, 3H); 3,46 (q, *J* = 7,3 Hz, 4H); 2,06 (s, 3H); 1,25 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H) ppm.

¹⁹F NMR (376,5 MHz, CDCl₃) δ = –133,1 (m, *J* = 19,5 Hz; 95,0 Hz); –142,6 (m, *J* = 11,0 Hz; 95,0 Hz) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 0,47 (dd, *J* = 10,9 Hz; 19,5 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 174,1; 164,5; 160,7; 159,9; 157,9; 154,8; 153,0; 146,5; 131,6; 127,9; 122,2; 111,2; 110,2; 109,0; 104,9; 100,0; 99,0; 96,8; 56,2; 55,8; 45,4; 21,7; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina C₂₅H₂₇BF₂N₂O₅ vyžaduje [M+H]⁺ 485,20539; [M+Na]⁺ 507,18733; [M+K]⁺ 523,16127; zistené [M+H]⁺ 485,20538; [M+Na]⁺ 507,18742; [M+K]⁺ 523,16142.

6-(7-Diethylamino-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-3-(4-difenylaminofenyl)-2,2-difluor-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborin (4d)

chromatografia: silikagel/DCM, výt'azok 51 %, s bodom topenia 253,0–255,5 °C

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,71 (s, 1H); 7,42 (d, *J* = 9,0 Hz; 1H); 7,30–7,26 (m, 4H); 7,16–7,12 (m, 5H); 7,09–7,04 (m, 6H); 6,65 (dd, *J* = 9,0 Hz; 2,4 Hz, 1H); 6,49 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H); 3,47 (q, *J* = 7,2 Hz, 4H); 2,15 (s, 3H); 1,25 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H) ppm.

¹⁹F NMR (376,5 MHz, CDCl₃) δ = –133,1 (m, *J* = 14,3 Hz) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 0,56 (t, *J* = 15,1 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 172,5; 164,7; 159,9; 158,0; 153,1; 147,8; 147,6; 146,6; 133,9; 131,7; 129,6; 127,0; 125,1; 123,6; 123,2; 110,9; 110,2; 109,0; 99,1; 96,8; 45,4; 22,4; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina C₃₅H₃₂BF₂N₃O₃ vyžaduje [M+H]⁺ 592,25776; [M+Na]⁺ 614,23970; [M+K]⁺ 630,21364; zistené [M+H]⁺ 592,25781; [M+Na]⁺ 614,23994; [M+K]⁺ 630,21388.

6-(7-Diethylamino-2-oxo-2H-chromen-3-yl)-3-(4-(1,2,2-trifenylolethyl)fenyl)-2,2-difluor-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborin (4e):

chromatografia silikagel/DCM výt'azok 30 %, s bodom topenia 279,6–281,3 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,69 (s, 1H); 7,41 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H); 7,13–6,96 (m, 20H); 6,64 (dd, *J* = 9,0 Hz; 2,2 Hz, 1H); 3,46 (q, *J* = 7,1 Hz, 4H); 2,00 (s, 3H); 1,25 (t, *J* = 7,0 Hz, 6H) ppm.

¹⁹F NMR (376,5 MHz, CDCl₃) δ = –136,8 (m, *J* = 14,2 Hz) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 0,50 (t, *J* = 14,8 Hz) ppm.

¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 172,3; 164,9; 159,9; 158,0; 153,1; 146,7; 143,9; 143,7; 143,5; 143,1; 142,0; 140,3; 138,4; 132,3; 131,7; 131,6; 131,5; 128,0; 127,9; 127,8; 126,9; 126,8; 125,6; 110,9; 110,2; 109,0; 99,1; 96,8; 45,4; 22,1; 12,7 ppm.

HRMS: zlúčenina C₄₃H₃₇BF₂N₂O₃ vyžaduje [M+H]⁺ 679,29381; [M+Na]⁺ 701,27575; [M+K]⁺ 717,24969; zistené [M+H]⁺ 679,29461; [M+Na]⁺ 701,27629; [M+K]⁺ 717,25086.

3.4.2 Metoda B: Príprava 6-(7-Diethylamino-2-oxo-2*H*-chromen-3-yl)-2,2-difenyl-4-methyl-1,3,2λ⁴-oxazaborinu (5)

Do trojhrdlej banky bolo predložené 0,4 g (1,33 mmol) enaminonu **2a** a 0,4 g (1,65 mmol) trifenylboranu. Banka bola prefuknutá argónom a bol pridávaný suchý dichlormethan (20 ml). Zmes bola miešaná za laboratórnej teploty sedem dní. Následne bola zmes sfiltrovaná a odparená na vakuovej odparke. Destilačný zbytok bol podrobený stĺpcovej chromatografii: silikagel/DCM:EtOAc. Bolo získané 0,31 g (50%) žltej kryštalickej látky s bodom topenia 250,8–256,4 °C.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 8,67 (s, 1H); 7,45–7,43 (m, 4H); 7,38 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H); 7,29–7,25 (m, 4H); 7,23–7,18 (m, 2H); 7,00 (brs, 1H); 6,80 (s, 1H); 6,58 (dd, *J* = 9,0 Hz; 2,2 Hz, 1H); 6,44 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H); 3,42 (q, *J* = 7,5 Hz, 4H); 2,21 (s, 3H); 1,21 (t, *J* = 7,1 Hz, 6H) ppm.

¹¹B NMR (128 MHz, CDCl₃) δ = 2,60 ppm.

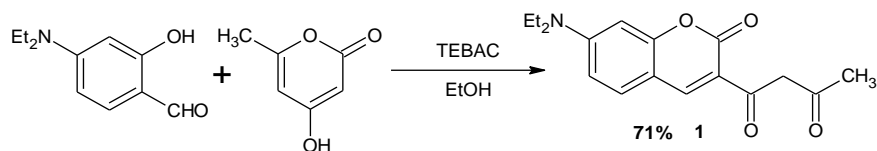
¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ = 170,5; 166,9; 160,0; 157,7; 152,6; 150,9 (br); 145,9; 132,0; 131,4; 127,4; 126,3; 112,7; 109,8; 109,0; 97,4; 96,7; 45,2; 24,7; 12,6 ppm.

HRMS: zlúčenina C₂₉H₂₉BN₂O₃ vyžaduje [M+H]⁺ 465,23440; [M+Na]⁺ 487,21634; zistené [M+H]⁺ 465,23486; [M+Na]⁺ 487,21703.

4 Výsledky a diskusia

4.1 Syntéza a štruktúra predvolenej dikarbonylovej zlúčeniny

Predvolený β -diketon **1** bol pripravený podľa literatúry⁵⁸ a syntéza je vyjádrená rovnicou 1.



Rovnica 1 Syntéza predvoleného β -diketonu **1**

Z protonového NMR spektra (Obrázok 27) vyplýva, že v CDCl_3 existuje ako zmes enol a ketoformy v pomere cca 4:1 (Schéma 1).

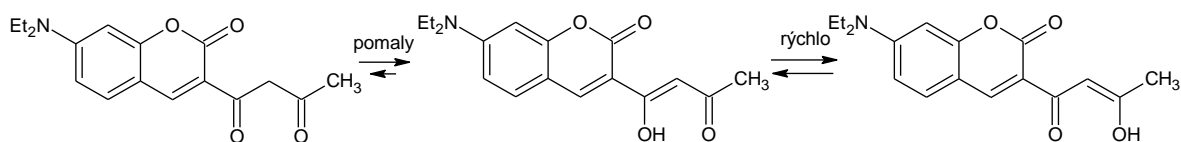
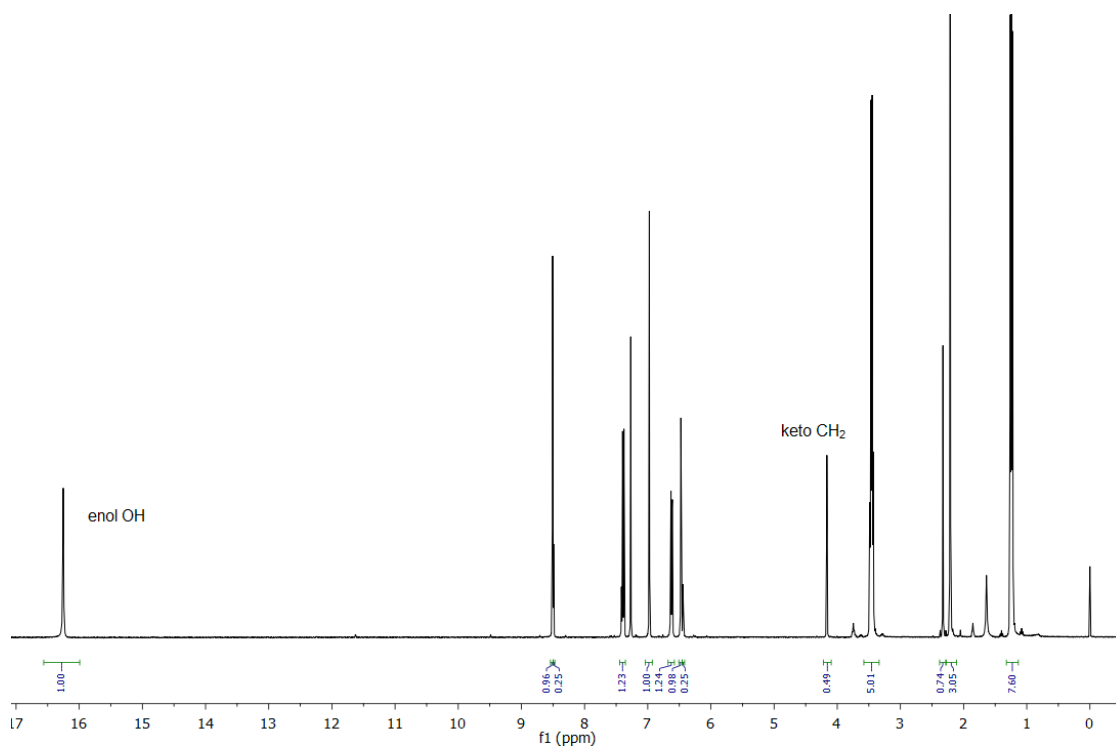


Schéma 1 Štruktúra predvoleného β -diketonu **1**.

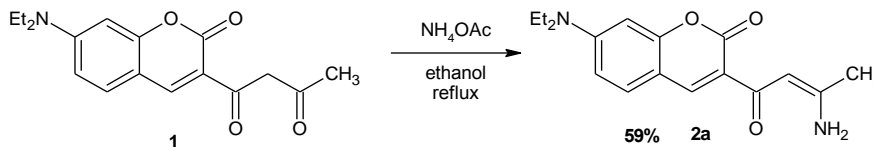


Obrázok 27 400 MHz ^1H NMR spektrum zlúčeniny **1** meranej v CDCl_3 s vyznačenými charakteristickými signálmi jednotlivých foriem

Pripravená zlúčenina vykazuje intenzívnu žltozelenú fluorescenciu v roztoku a oranžovú v pevnej fáze (obrázok 39).

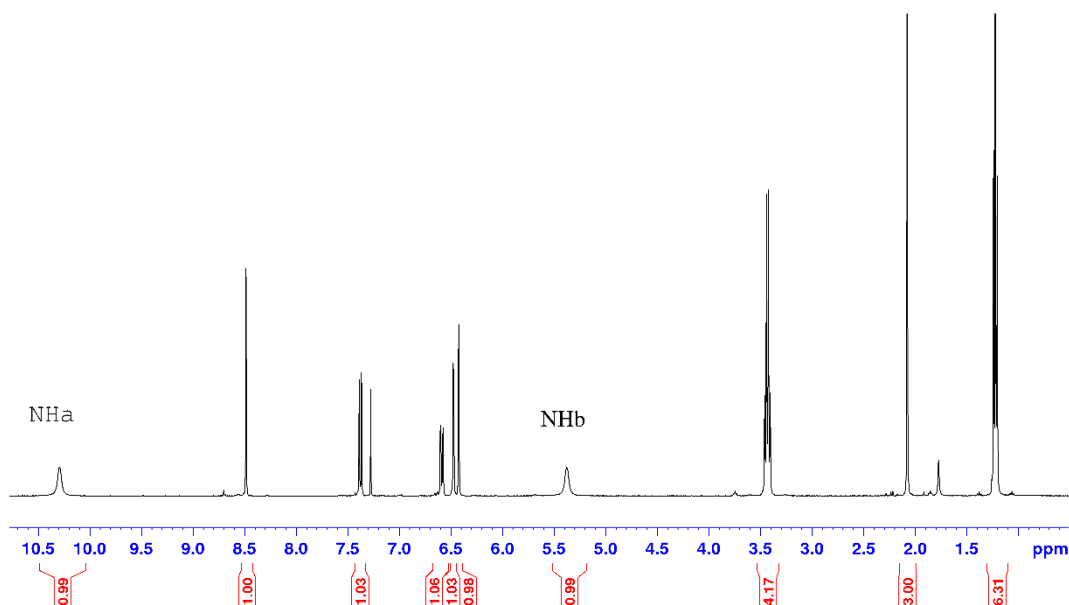
4.2 Syntéza a charakterizácia enamínov

Ako prvý bol pripravený enamín **2a**, ktorý v molekule obsahuje primárnu aminoskupinu. Bol získaný reakciou dikarbonylovej zlúčeniny **1** s octanom amonným v refluxujúcom ethanole s výtťažkom 59 % (Rovnica 2)



Rovnica 2 Syntéza enamínu 2a

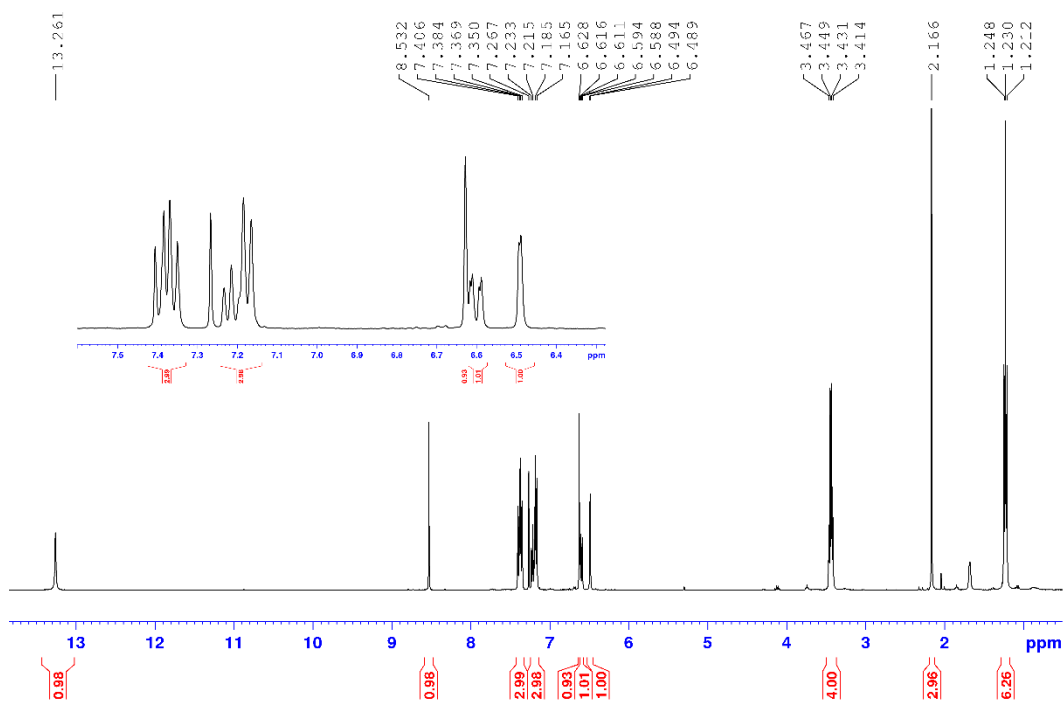
Protonové spektrum pripravenej zlúčeniny **2** je na Obrázku 28.



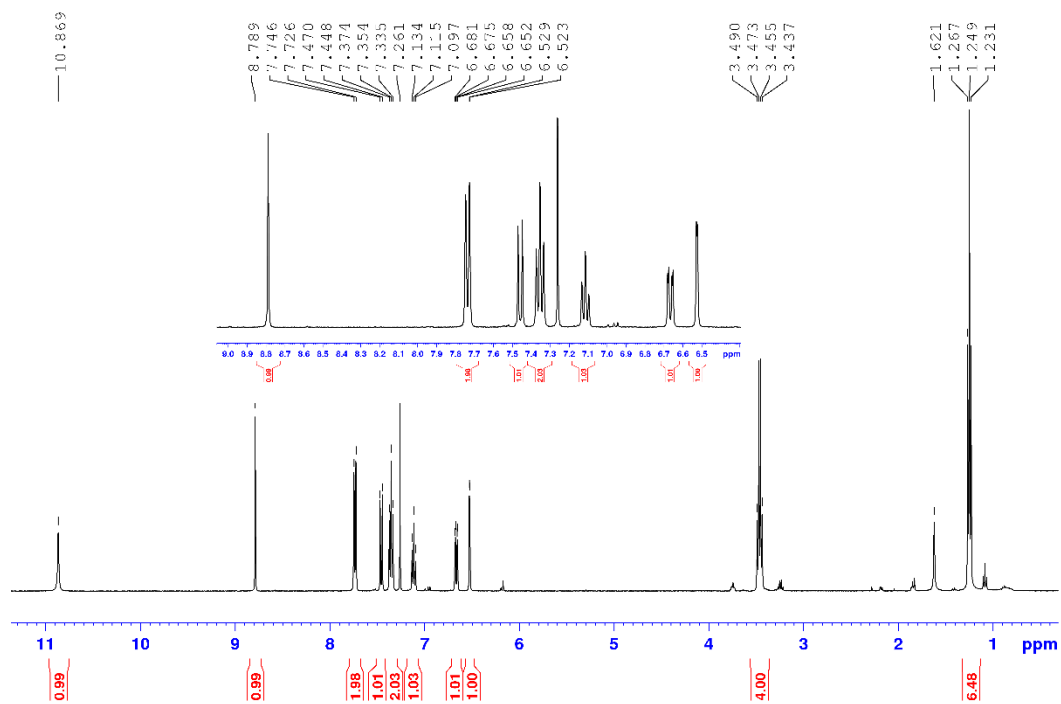
Obrázok 28 400 MHz ^1H NMR spektrum enamínu 2a merané v CDCl_3 .

Obrázok 28 ukazuje pre tento typ zlúčeniny charakteristické neekvivalentné protony aminoskupiny. Neekvivalencia je spôsobená brzdenou rotáciou okolo väzby C–N a prítomnosťou intramolekulárnej vodíkovej väzby N–H...O=C.

Ďalším derivátom bol *N*-fenylenamín **2b**. Vzhľadom k podstatne nižšej reaktivite anilínu v porovnaní s alifatickými amínmi alebo amoniakom tu bola reakcia podporená oddestilovaním vznikajúcej reakčnej vody vo forme azeotropu s toluénom. Aj tak vznikala rada vedľajších produktov a výtťažok enamínu predstavoval len 15 %. Protonové spektrum je na Obrázku 29.



Obrázok 29 400 MHz ^1H NMR spektrum enaminonu **2b** v CDCl_3 .



Obrázok 30 400 MHz Protónové NMR spektrum amidu **3** merané v CDCl_3 .

Jeden z vedľajších produktov bol izolovaný. Jeho protonové NMR spektrum (Obrázok 30) preukázalo prítomnosť fenyľskupiny aj kumarínového fragmentu. Kľúčovou informáciou bola neprítomnosť metylskupiny. Nie je prítomný ani olefinický protón $=\text{CH}$, ktorý je typický

ako pre enolformu diketonu tak aj pre enamín. Spolu s prítomnosťou len jednej karbonylovej skupiny (informácie z uhlíkového NMR spektra) to znamená, že došlo k odštiepeniu celého acetonového fragmentu z molekuly diketonu 1. Štruktúra bola určená ako *N*-fenylamid 3. To bolo potvrdené aj na základe HRMS.

Amid 3 vznikol pravdepodobne sledom reakcií kedy najprv retro-Claisenovou reakciou došlo k rozpadu β-diketonu 1 na kyselinu 3a, ktorá následne kondenzáciou s anilínom poskytla amid 3. Celá reakčná sekvencia vzniku enamínu 2b a amidu 3 je vyjadrená schémou 1.

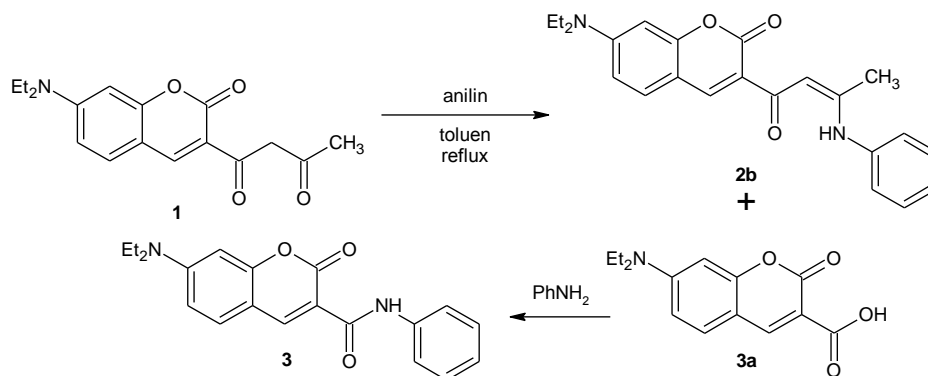
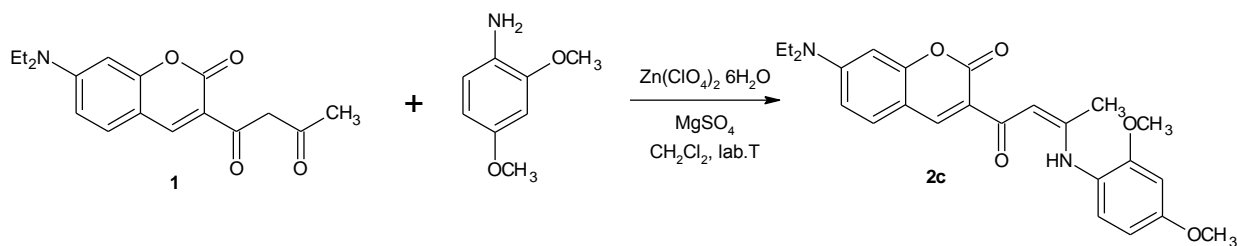


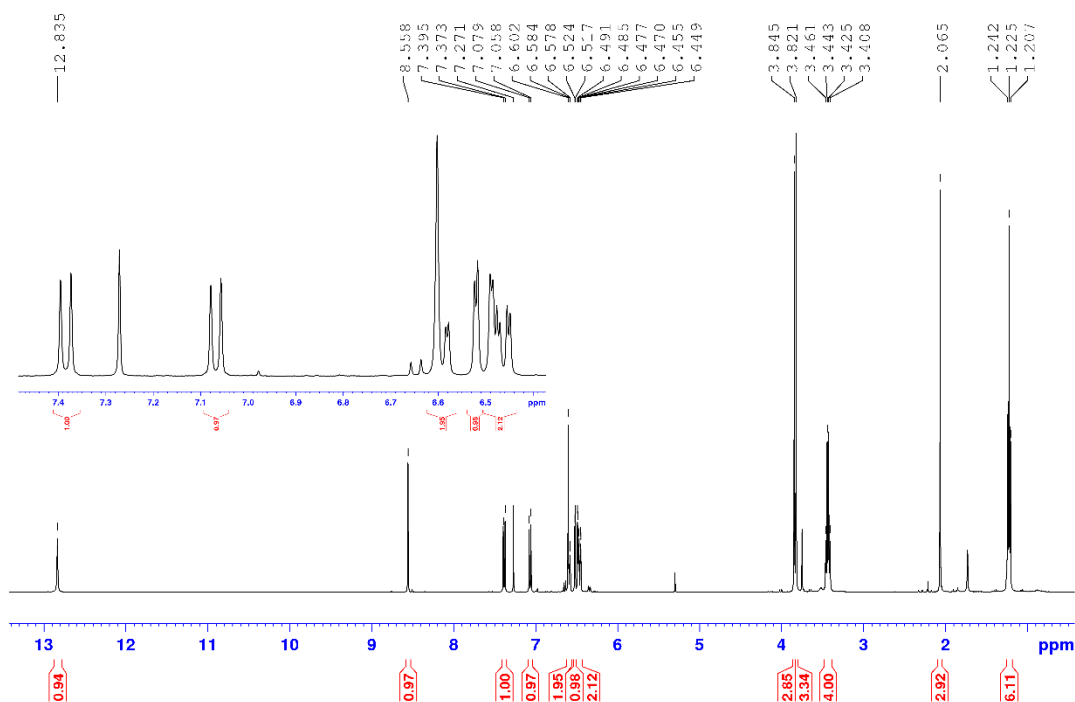
Schéma 1 Reakce diketonu 1 s anilínom

Pripravený vedľajší produkt je intenzívnym luminoforem v tuhej fáze aj v roztoku ako je zrejmé z Obrázku 49 (str.50).

Ďalším cieľom bolo reakciou diketonu 1 s 2,4-dimethoxyanilínom pripraviť enamín **2c**. V tomto prípade však metodika využívajúca azeotropickú destiláciu zlyhala a výsledkom bola pestrá zmes produktov. Pravdepodobne je to spôsobené vyššou nukleofilitou použitého anilínu (vplyv donorných vlastností methoxyskupín, ktoré sú v alternujúcej polohe k nukleofilnému centru). Vzhľadom k tomu, že diketon 1 je povahou polydentálny elektrofil (prítomnosť celkovo troch rôznych karbonylových skupín) a 2,4-dimethoxyanilín je reaktívnejší ako anilín a je možný nechemoselektívny a neregioselektívny priebeh celej syntézy. Preto bola zvolená šetrnejšia alternatíva⁶² kedy je reakcia vykonávaná za laboratórnej teploty a katalýzy chloristanom zinočnatým. Vznikajúca reakčná voda je zachytávaná bezvodným síranom horečnatým. Tento syntetický design viedol k úspechu a enamín **2c** bol pripravený vo výťažku 63 % (rovnica 3). Jeho štruktúra bola potvrdená magnetickou rezonanciou (Obrázok 31) a HRMS.

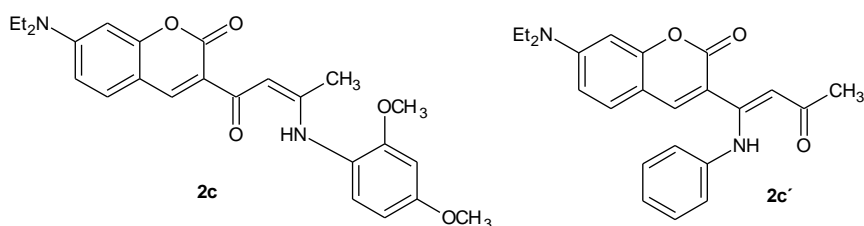


Rovnica 3 Syntéza enaminonu **2c**



Obrázok 31 400 MHz 1H NMR spektrum enaminonu **2c** merané v $CDCl_3$.

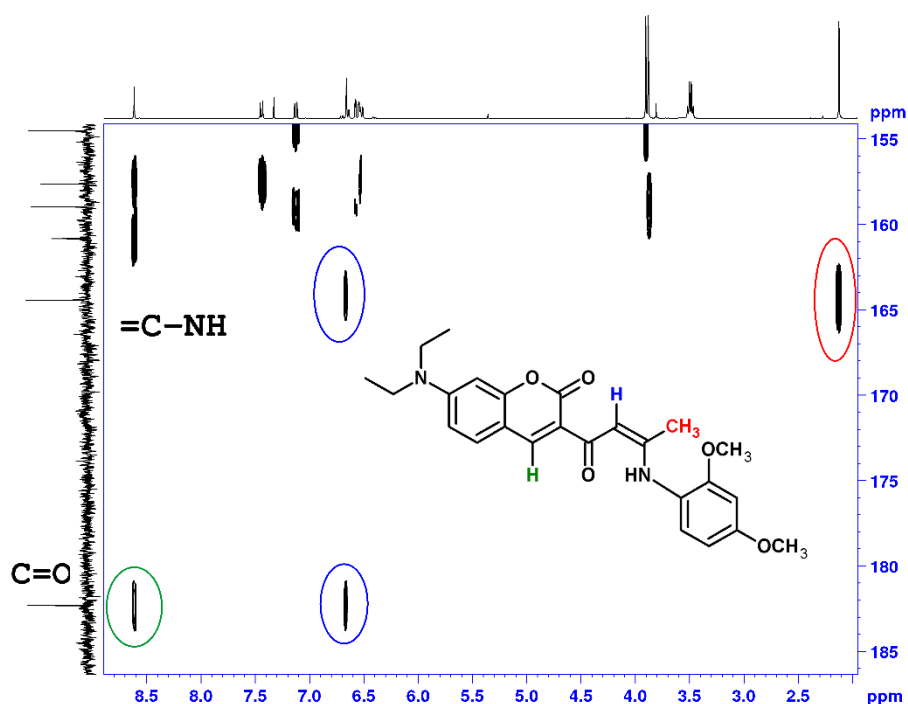
Vyššie spomenutá úvaha o tom, že diketon **1** má viac elektrofilných centier nastolila aj otázku regioselektivity. V princípe môžu vzniknúť dva izomerné enaminony, pre prípad reakcie s 2,4-dimethoxyanilínom označené ako **2c** a **2c'** (Obrázok 32).



Obrázok 32 Regioizomery enaminonu **2c**

Karbonylová skupina C3 je určite reaktívnejšia ako skupina C1, kvôli jej zapojeniu do konjugácie so susedným kumarínovým skeletom. Možno sa preto oprávnene domnievať, že štruktúra enaminonu **2c** a tým aj predchádzajúcich enaminonov **2a** a **2b** je správna. Avšak v prípade relatívne reaktívnych nukleofilov nemožno vylúčiť aj vznik izomerných

produktov. Preto bola regioselektivita reakcie diketonu 1 s amínmi použitými v tejto práci preverená pomocou 2D NMR spektroskopie. Na Obrázku 32 je detail karbonylovej oblasti 2D HMBC spektra zlúčeniny **2c**. Táto technika umožňuje mapovať interakcie protónov s okolitými uhlíkmi cez dve a tri väzby. K rozlíšeniu regioizomérov **2c/2c'** možno využiť nasledujúce úvahy: obe zlúčeniny sa líšia typom karbonylového uhlíka. U zlúčeniny **2c** je konjugovaný se susedným kumarínom kým u **2c'** je acetylového typu, tj. susedí s methylskupinou. Karbonylový uhlík je ľahko identifikovateľný v uhlíkovom spektre. Ak nájdeme jeho interakciu s protónmi methylskupiny, bude sa jednať o zlúčeninu **2c'**. Naopak, ak bude v spektre HMBC nájsť interakcia s protónmi kumarínového skeletu, bude sa jednať o zlúčeninu **2c**.



Obrázok 33 Detail ^1H - ^{13}C HMBC (400 MHz, CDCl_3) spektra zlúčeniny **2c** s interpretáciou

Z Obrázku č. 33 vyplýva nasledovné: karbonylový uhlík interaguje s olefinickým protónom kumarínového jadra (zelený). To znamená, že k reakcii s amínom došlo na karbonylu č. 3 a predpokladaná štruktúra enaminonu je správne. Je to potvrdené aj ďalšími interakciami: protóny methylskupiny (červené) interagujú s uhlíkom skupiny $=\text{C}-\text{NH}$. Olefinický protón enaminonu (modrý) leží uprostred čo je potvrdené jeho interakciou ako s karbonylom tak aj s uhlíkom $=\text{C}-\text{NH}$.

Enaminon **2d** obsahujúci trifenyylamínový motív bol pripravený sekvenciou uvedenou v Schéme 2.

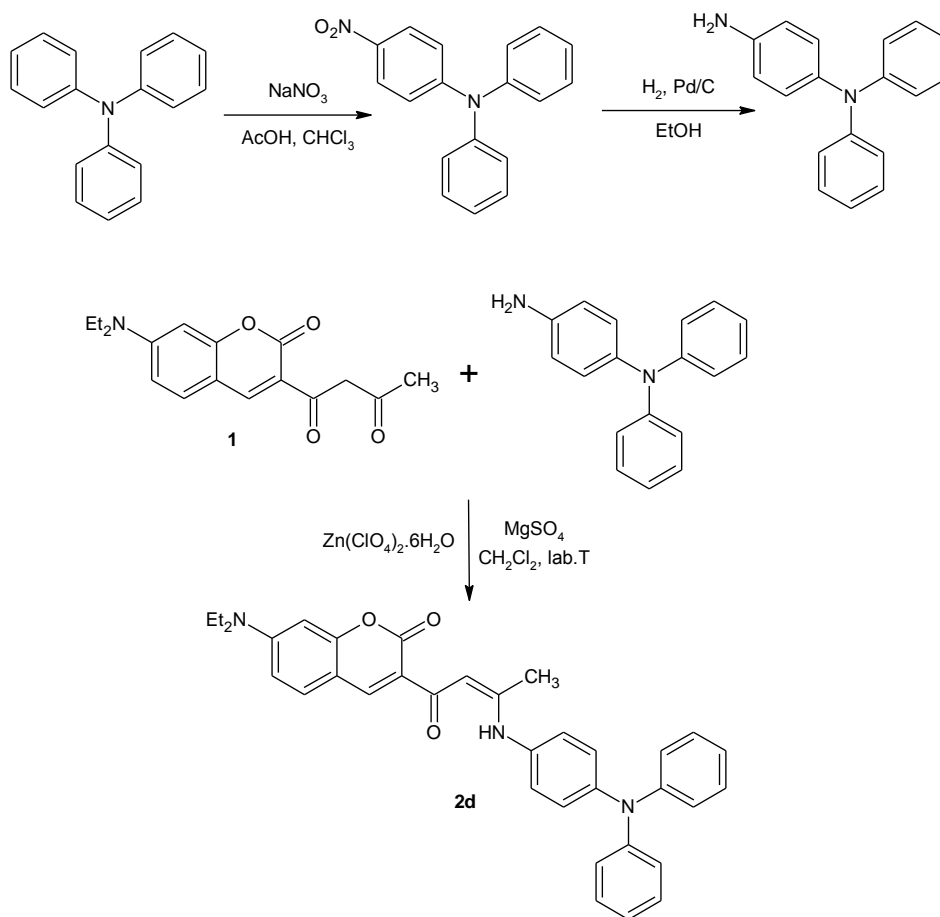
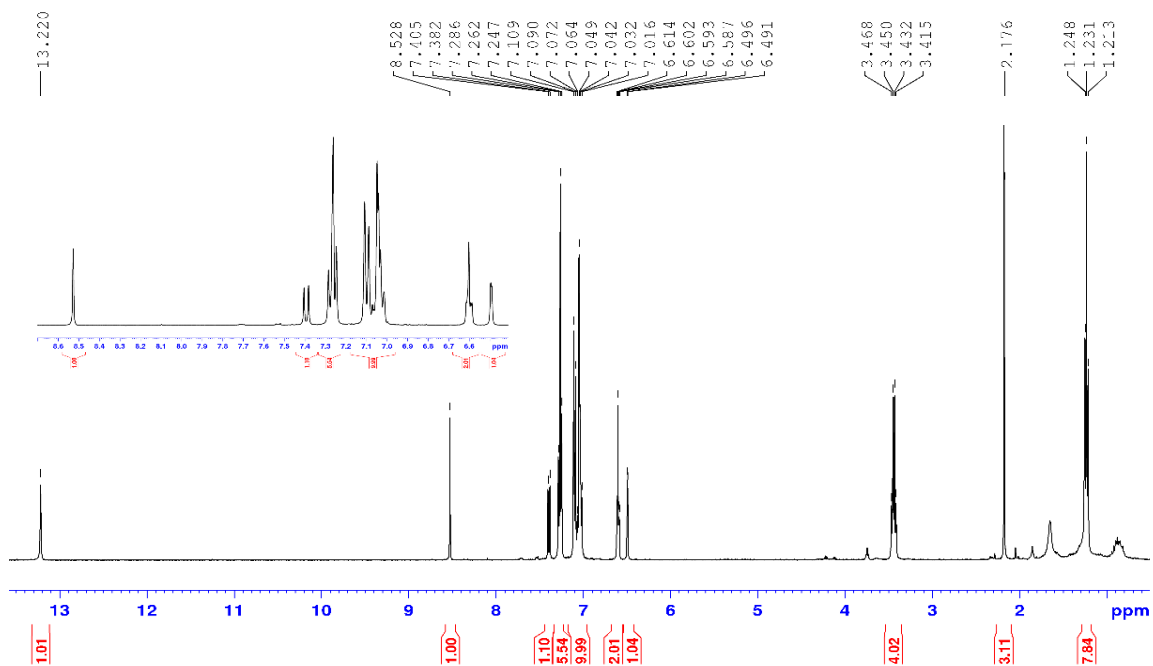


Schéma 2 Syntéza enaminonu **2d**

Na základe skúseností so syntézou enaminonu **2c** bola zvolená stratégia využívajúca katalýzu chloristanom zinočnatým v prítomnosti dehydratačného činidla. Týmto spôsobom bol získaný enaminon **2d** s 28% výťažkom po opakovanej stĺpcovej chromatografii. Jeho protónové spektrum je na Obrázku 34.



Obrázok 34 400 MHz ^1H NMR spektrum enaminonu **2d** v CDCl_3

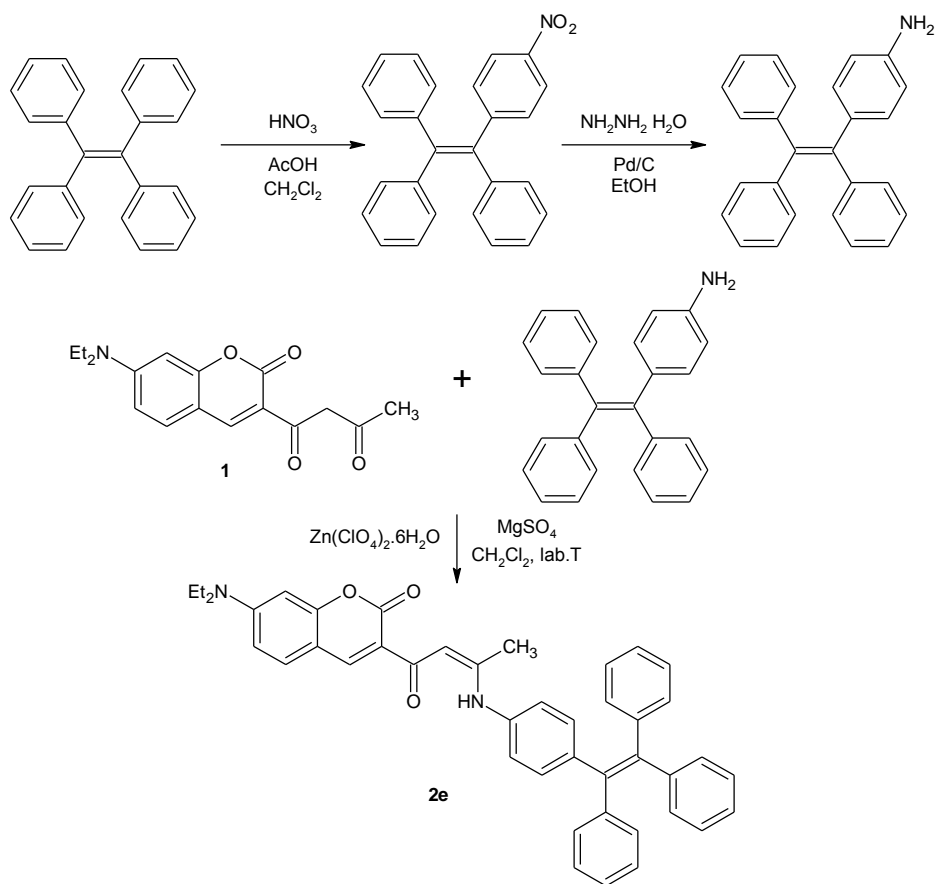


Schéma 3 Syntéza enaminonu **2e**

Ako posledný štruktúrny fragment bol do molekuly enamínou zakomponovaný tetrafenylethylen. Príslušný enamín **2e** bol pripravený syntetickou sekvenciou vyjadrenou Schémou 3.

Opäť bola zvolená osvedčená syntetická stratégia a príslušný enamín bol pripravený o výťažku 12 %.

4.3 Syntéza oxazaborínov a ich štruktúra

Príslušné oxazaboríny boli z enamínov pripravené všeobecnou metodikou ktorá spočíva v ich reakciách s príslušnou zlúčeninou trivalentného bóru (Schéma 4). 2,2-Difluorderiváty boli tak pripravené reakciou enamínou s etherátom fluoridu boritého. Reakcia prebiehala v inetrnej atmosfére za laboratórnej teploty v prítomnosti triethylamínu, ktorý viazal vznikajúci fluorovodík. V jednom prípade bol pripravený aj 2,2-difenyl derivát a to reakciou enamínou s trifenylboranom.

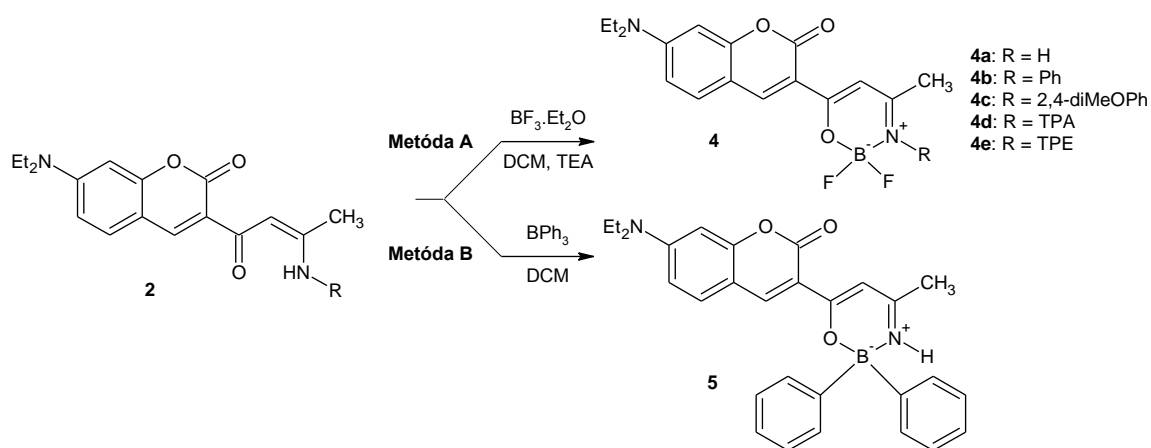
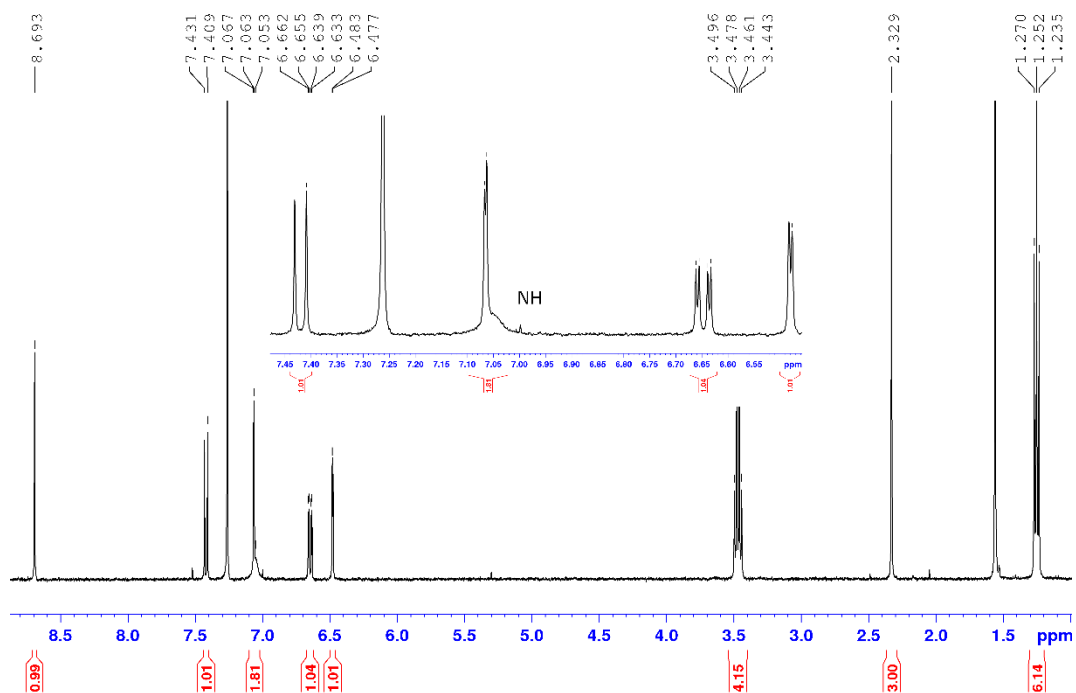


Schéma 4 Syntéza oxazaborínov 4 a 5

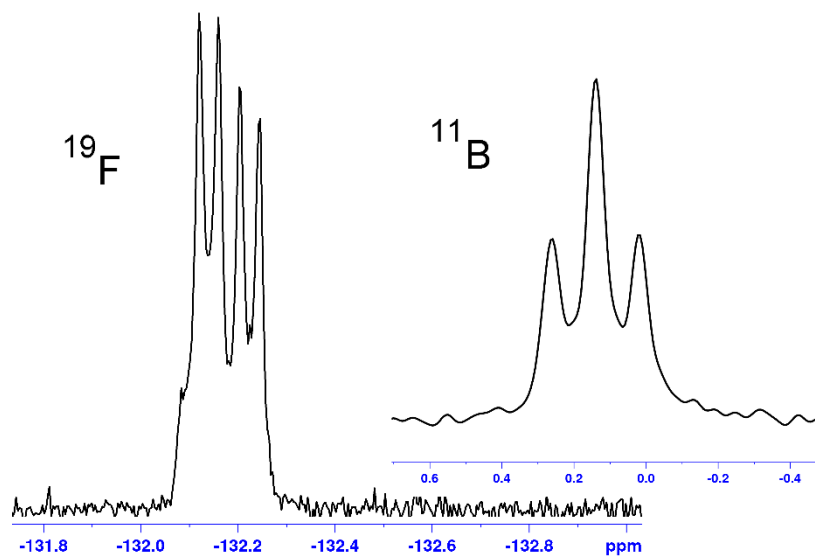
Všetky pripravené oxazaboríny boli charakterizované multinukleárnou magnetickou rezonanciou (^1H , ^{13}C , ^{11}B a ^{19}F).

Protónové spektrum oxazaborínu **4a** je na Obrázku 35. V súlade s očakávanou štruktúrou došlo k vymiznutiu jedného zo signálov aminoskupiny.



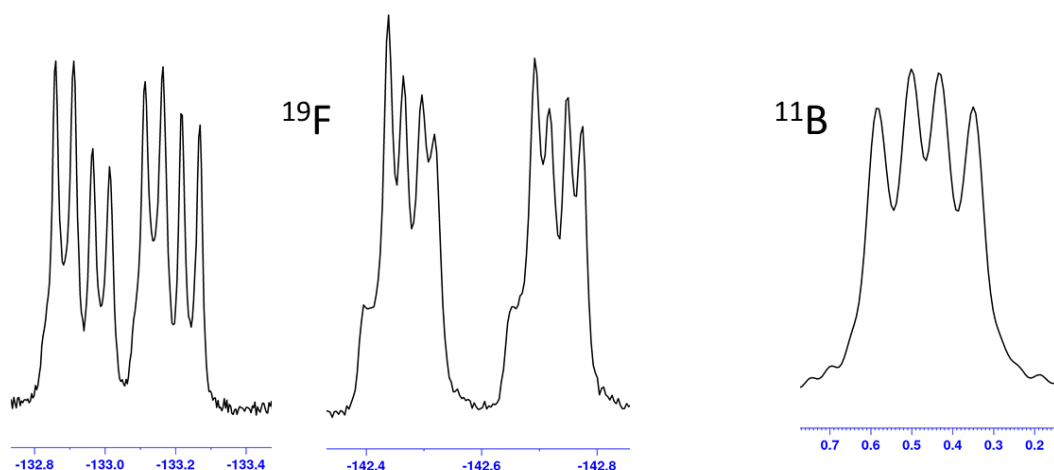
Obrázok 35 400 MHz Protónové NMR spektrum enaminonu **4a** v CDCl_3

Prítomnosť fragmentu BF_2 je potvrdená ^{11}B a ^{19}F NMR spektrami, ktoré sú na obrázku 36.



Obrázok 36 ^{19}F a ^{11}B NMR spektra oxazaborínu **4a** v CDCl_3

Podobný tvar spektier možno nájsť aj u zlúčenín **4b,d,e**. Úplne iné spektrum však poskytuje zlúčenina **4c** (Obrázok 37).

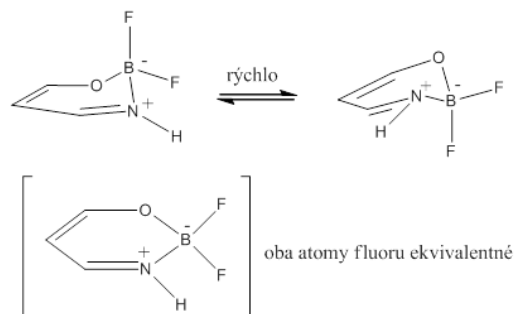


Obrázok 37 ^{19}F a ^{11}B NMR spektra oxazaborinu **4c** v CDCl_3

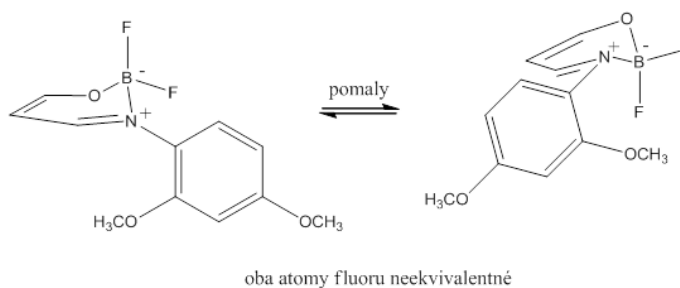
Vysvetlenie spočíva v sterickej náročnosti substituenta na susednom atóme dusíka. Oxazaborínový kruh zaberá obáľkovú konformáciu, kde jeden z atómov fluóru je axiálny a druhý ekvatoriálny. Takáto konformácia je viditeľná v rentgenovom difraktogramu monokryštálov oxazaborínov napr. v publikácii.⁵⁷ Principiálne je možná rovnováha medzi konformáciami, kde každý z atómov fluóru zaberá raz axiálnu a druhýkrát ekvatoriálnu pozíciu. Rýchlosť tejto výmeny pozícií je závislá okrem iného na sterickej náročnosti susedných substituentov. V prípade zlúčenín **4a,b,d,e** substituenti dokážu zaujať také usporiadanie že vzájomnej konformačnej premene zásadne neprekáža (jedná sa o vodík alebo 4-substituovaný fenyl, ktorý sa dokáže natočiť tak aby sterický vplyv bol čo najmenší) a je rýchla natoľko, že NMR spektroskopia ju vníma ako rýchlu chemickú výmenu. Oba atómy fluóru sú potom ekvivalentné a poskytujú jeden signál vo fluórovom spektre. Signál je štiepený na štyri línie v dôsledku spin-spinovej interakcie s izotopom ^{11}B . Vzdialenosť línie je teda rovná interakčnej konštante $^1J(^{19}\text{F}, ^{11}\text{B})$. Atóm bóru teda vníma oba susedné fluóry ako ekvivalentné a v dôsledku toho je štiepený na tri línie. Iná situácia ale nastane v prípade zlúčeniny **4c**, kde je substituentom 2,4-dimethoxyfenyl. Kvôli prítomnosti methoxyskupiny v polohe 2- je sterická náročnosť podstatne väčšia a celý substituent R nedokáže zaujať také usporiadanie, ktoré by neprekážalo vzájomnej konformačnej premene oxazaborínového kruhu. To vedie k tomu, že premena je značne brzdená a NMR spektroskopia ju vníma ako pomalý proces. Oba atómy fluóru sú potom neekvivalentné, jeden z nich je axiálny a druhý ekvatoriálny. Preto sú v ^{19}F NMR spektre prítomné dva signály. Každý zo signálov sa štiepy vplyvom dvoch spin-spinových interakcií: už spomínané s izotopom ^{11}B a ďalej homonukleárne ^{19}F - ^{19}F (lebo oba atómy fluóru sú odlišné). Analýzou oboch signálov teda môžeme dostať hodnoty oboch interakčných konštánt (viď. Obrázok 38). Atóm bóru takisto

vníma susedné fluóry ako neekvivalentné a je v dôsledku toho štiepený na dva dublety. Celý odstavec je graficky vyjadrený Obrázkom 38.

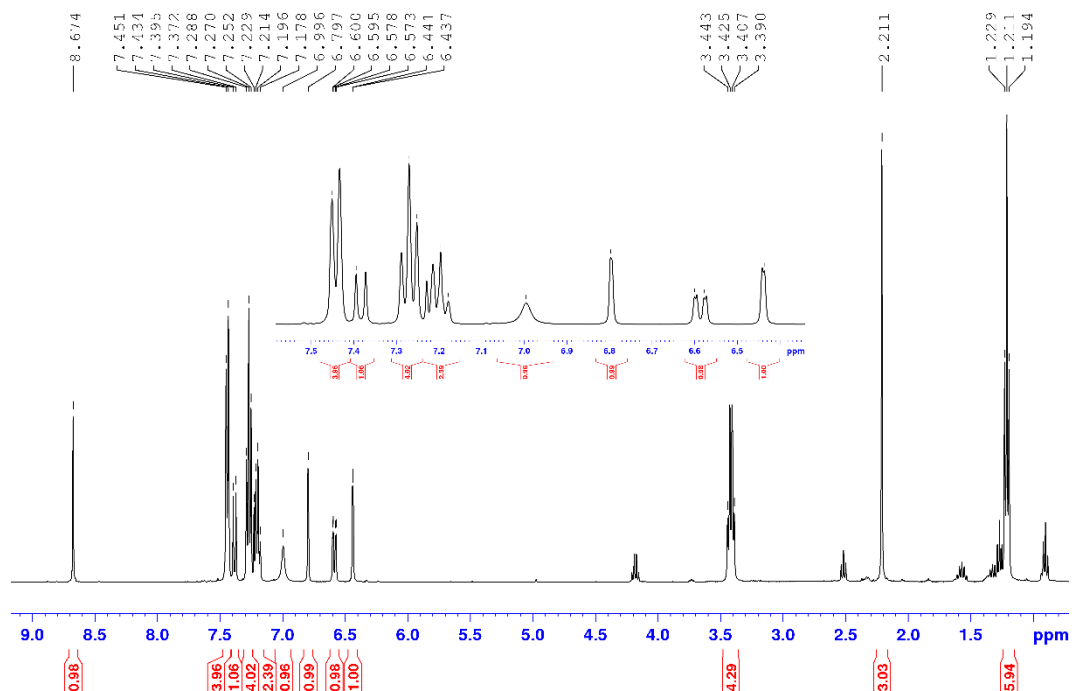
Zlúčenina **4a**:



Zlúčenina **4c**:



Obrázok 38 Vysvetlenie vzhľadu ^{19}F a ^{11}B NMR spektier zlúčenín **4a** a **4c**.



Obrázok 39 Protónové NMR spektrum enaminonu **5** v CDCl_3

Na Obrázku 39 je protónové spektrum BPh₂ derivátov 5. Je z neho zrejmé, že obe fenylyskupiny sú ekvivalentné a vzájomná premena medzi konformáciami je na časovej stupnici NMR rýchla. Bórové NMR spektrum sa skladá z jedného širokého signálu.

Fluórové a bórové NMR parametre pripravených oxazaborínov sú zhrnuté v Tabuľke 1.

Tabuľka 1 Súhrn bórových a fluorových NMR parametrov oxazaborínov 4 a 5 v CDCl ₃		
Zlúčenina	¹¹ B NMR	¹⁹ F NMR
4a	0,14 (t, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 15,1 Hz)	-132,2 (m, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 15,1 Hz)
4b	0,56 (t, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 15,6 Hz)	-136,6 (m, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 15,2 Hz)
4c	0,47 (dd, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 10,9 Hz; 19,5 Hz)	-133,1 (m, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 19,5 Hz; 95,0 Hz); -142,6 (m, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 11,0 Hz; 95,0 Hz)
4d	0,56 (t, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 15,1 Hz)	-133,1 (m, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 14,3 Hz)
4e	0,50 (t, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 14,8 Hz)	-136,8 (m, ¹ J(¹¹ B, ¹⁹ F) = 14,2 Hz)
5	2,60 (br s)	

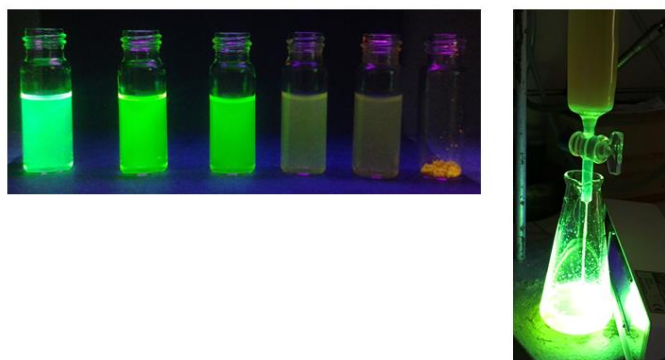
UV-vis a luminescenčné vlastnosti oxazaborínov.

Pripravené zlúčeniny v sebe kombinujú dva známe luminofory: aminokumaríny a oxazaboríny. Luminescenčné vlastnosti má už východzí β-diketon (viď. Obrázok 39).



Obrázok 39 Luminescencia diketonu 1. Vľavo roztok v THF, vpravo pevná fáza

Na Obrázku 40 je fotografická dokumentácia fluorescenčných vlastností oxazaborínu **4a**.

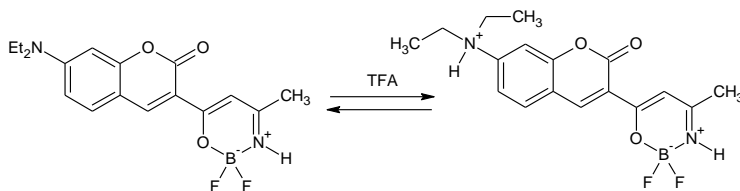


Obrázok 40 Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4a**.

10^{-4} M roztok **4a** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H_2O : 0 %, 70 %, 90 %, 95 %, 98 %. Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze. Pravá časť obrázku je poriadaná pri chromatografickej separácii **4a**.

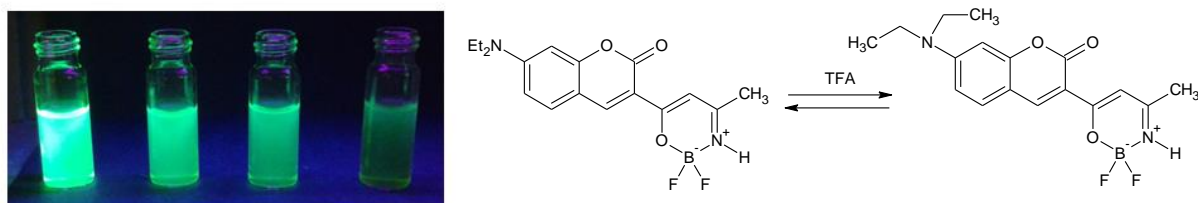
Z Obrázku 40 je zrejmé, že **4a** vyžaruje intenzívnu modrozelenú fluorescenciu v roztoku THF. S rastúcim množstvom vody intenzita luminescencie klesá až od určitého bodu úplne zhasne. Tomuto javu sa hovorí zhášanie spôsobené agregáciou (ACQ, Aggregation Caused Quenching)⁶³ Zlúčenina **4a** sa chová ako konvenčný luminofor, ktorý v pevnom stave vykazuje slabú alebo žiadnu fluorescenciu, ako je zrejmé aj z Obrázku 40.

Pri pohľade na vzorec zlúčeniny **4a** je zrejmé, že je u nej pravdepodobný vnútorný prenos náboja (ICT, Internal Charge Transfer) vzhľadom k tomu, že na opačných koncoch molekuly sú centrá s opačnou elektrónovou polaritou (donorná diethylaminoskupina a akceptorným kladne nabitým atómom dusíka). Ak by sme tento prenos narušili zmenou elektrónových vlastností jednej zo spomínaných skupín, fluorescencia by sa mala zmeniť. Jednou z možností je protonácia bazického centra. Na Obrázku 41 je roztok zlúčeniny **4a** s rastúcou koncentráciou kyseliny trifluóroctovej. Z obrázku je zrejmé, že s rastúcou koncentráciou CF_3COOH luminescencia zhasne. Vzhľadom na to, že k výraznejšiemu poklesu intenzity luminescencie dochádza až pri vyššej koncentrácii TFA, je bazicita diethylaminoskupiny patrne relatívne nízka.



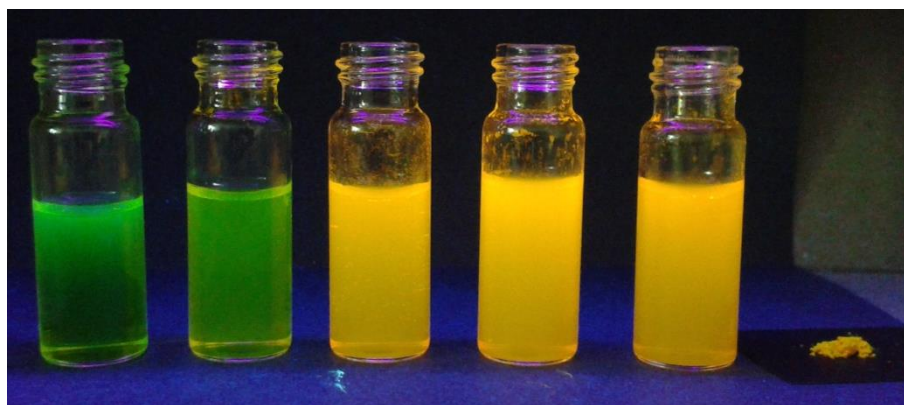
Obrázok 41 Vplyv TFA na luminescenciu **4a**. 10^{-4} M roztok **4a** v THF, koncentrácia TFA rastie doprava: 0M, 1M, 5M

Podobný vplyv má aj prídavok bázy (Obrázok 42). Tentokrát dochádza k zmene ICT v dôsledku deprotonácii kladne nabitého dusíka. Opäť je k znateľnému vplyvu potrebná relatívne vysoká koncentrácia bázy, takže ani acidita NH protónu není príliš vysoká.



Obrázok 42 Vplyv TEA na luminescenciu **4a**. 10^{-4} M roztok **4a** v THF, koncentrácia TEA rastie doprava: 0M, 1M, 2M, 5M

Úplne odlišné správanie má BPh₂ derivát **5**. Z Obrázku 43 je zrejmé, že s rastúcim množstvom vody sa začíná objavovať žltá fluorescencia, podobná ako v pevnej fáze.



Obrázok 43 Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **5**.

10^{-4} M roztok **5** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H₂O: 0 %, 70 %, 90 %, 95 %, 98 %. Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze.

Vysvetlenie spočíva v javu nazývanom agregáciou indukovaná emisia (AIE, Aggregation Induced Emission). Zlúčenina **5** se chová ako nekonvenčný luminofor, AIEgen. Jav AIE je v súčasnej dobe veľmi študovaný a bol predmetom mnohých prehľadných prác, napr. lit.^{63–65}

Je teda zrejmé, že zmena substituentu na bóru z fluóru na fenyl vedie k úplnému prevráteniu luminescenčných vlastností príslušného oxazaborínu. Príčinou je pravdepodobne sterická náročnosť substituenta, ktorá spôsobí, že v pevnej fáze alebo v agregovanej forme dochádza k obmedzeniu intramolekulárneho pohybu a tým aj možnosti nežiarivého výdaja energie molekulou.

Podobné správanie možno pozorovať aj u zlúčeniny **4e** (Obrázok 44).

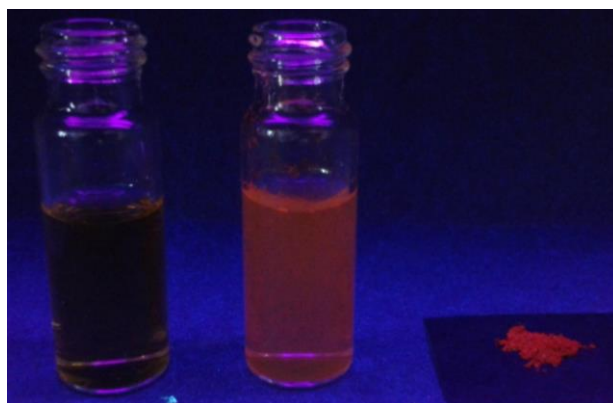


Obrázok 44 Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4e**.

10^{-4} M roztok **4e** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H_2O : 0 %, 70 %, 90 %, 95 %.

Tetrafenylethylen (TPE) a jeho deriváty sú známymi AIEgeny (viď. napr. lit.⁶⁴) a rovnako je to aj v prípade oxazaborinu **4e**. Zlúčenina **4e** vyžaruje v tuhej fáze aj agregovanej forme žltlooranžovú fluorescenciu.

Trifenylaminová štruktúrna jednotka (TPA) je často prítomná v rade luminoforov (viď napr. lit.^{66,67}). Takéto zlúčeniny často vystupujú ako luminofory v blízkej infračervenej oblasti (NIR) (viď napr. lit.^{68,69}). TPA je súčasťou zlúčeniny **4d**. Z obrázku 45 je zrejmé, že nie je nijako výrazným AIEgenom a že pri prechode do pevnej resp. agregovanej formy vykazuje slabú červenú fluorescenciu



Obrázok 45 Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4d**.

10^{-4} M roztok **4d** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H_2O : 0 %, 98 %. Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze.

Zaujímavé správanie vykazuje zlúčenina **4b**. Z Obrázku 21 je zrejmé, že vykazuje luminescenciu ako v roztoku THF tak aj v agregovanej resp. tuhej forme. Tu sa však

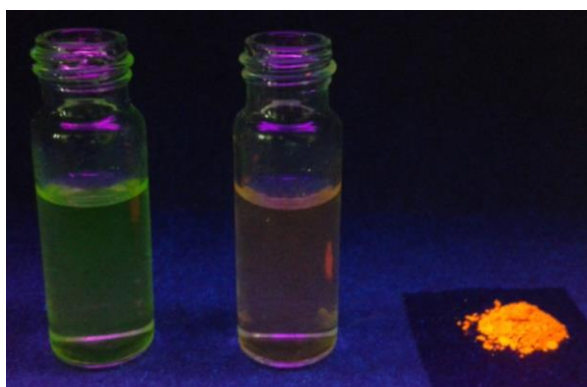
pravdepodobne nedá hovoriť o AIE, pretože to by muselo dôjsť pri prechode do agregovanej formy k výraznému nárastu intenzity luminescencie. Podľa Obrázka 46 to však pravdepodobne nenastáva aj keď presne by to bolo zrejmé až z kvantitatívneho merania fluorimetrom. Možno však povedať, že pri prechode z roztoku do agregovanej resp. tuhej fázy dochádza k bathochromnému posunu.



Obrázok 46 Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4b**.

10⁻⁴M roztok 4b v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H₂O: 0 %, 70 %, 90 %, 95 %. Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze.

Posledná zo študovaných zlúčenín je 2,4-dimethoxyfenyl derivát **4c**. Z Obrázku 47 je zrejmé, že zlúčenina je typický ACQ luminofor, keď v roztoku fluorescenciu nevykazuje, zatiaľ čo je intenzívny luminofor v tuhej fáze. Avšak, AIE vlastnosti tiež nevykazuje.



Obrázok 47 Demonštrácia fluorescenčných vlastností zlúčeniny **4c**.

10⁻⁴M roztok **4c** v zmesi THF/voda, zľava rastúce objemové množstvo H₂O: 0 %, 95 %. Úplne vpravo zlúčenina v pevnej fáze.

Na záver diskusie luminescenčných vlastností ešte fotografia všetkých pripravených oxazaborinov osvietených UV svetlom (Obrázok 48).



Obrázok 48 Fotografia jednotlivých oxazaborinonov v UV-svetle (hore) a v dennom svetle (dole). Zľava zlúčeniny 5, 4b, 4c, 4d, 4a, 4e.

Intenzívnym luminoforom v pevnej fáze aj v roztoku je aj vedľajší produkt 3 (Obrázok 49).



Obrázok 49 Luminescencia amidu 3. Vľavo roztok v THF, vpravo pevná fáza

UV-vis spektra enaminonov a oxazaborinonov

V Tabuľke 2 sú zhrnuté základné UV-vis charakteristiky pripravených zlúčenín.

Tabuľka 2 UV-vis charakteristiky pripravených zlúčenín v THF		
Zlúčenina	λ_{\max}/nm	ϵ_{\max}
1	445	41 000
2a	430	40 000
2c	441	47 000
2d	446	68 000
2e	448	45 000
4a	461	47 000
4b	476	59 000
4c	476	51 000
4d	478	63 000
4e	478	51 000
5	452	32 000

Z Tabuľky 2 je zrejmé, že všetky zlúčeniny sa vyznačujú veľkými hodnotami molárneho absorpčného koeficientu čo naznačuje, že sa jedná o $\pi-\pi^*$ prechody. Rovnako je zrejmé, že prechod od diketonu k enamionu má na vlnovú dĺžku absorpčného maxima aj hodnoty ϵ rôzny vplyv. Najväčšia zmena λ_{\max} nastáva u zlúčeniny 2a, substituovanej NH_2 skupinou. Dochádza k hypsochromnému posunu $\Delta\lambda_{\max}$ 15 nm. U ostatných zlúčenín, substituovaných na dusíku arylskupinami je táto zmena podstatne menej výrazná. Zlúčenina 2d, obsahujúca trifenylaminový fragment, sa od ostatných enamionov odlišuje výrazne vyššou hodnotou molárneho absorpčného koeficientu (68 000).

Tvorba OBN chelátu vždy znamená bathochromný posun. Jeho veľkosť je ovplyvnená hlavne substituentom na atóme bóru. U BF_2 chelátov je výraznejší ($\Delta\lambda_{\max}$ cca 30 nm) ako u BPh_2 chelátov ($\Delta\lambda_{\max} = 22$ nm). Zlúčenina 5 se od ostatných chelátov odlišuje aj najmenšou hodnotou molárneho absorpčného koeficientu.

5 Záver

V rámci bakalárskej práce boli pripravené enaminy na báze 7-aminokumarínu. Ich štruktúra bola volená tak, aby v sebe obsahovali štruktúrne jednotky, ktoré by mohli vykazovať zaujímavé optické vlastnosti ako napr. trifenylaminový a tetrafenylethylenový fragment. Reakciou s príslušnými zlúčeninami trojmocného bóru boli z uvedených enaminy pripravené príslušné oxazaboriny. Tie predstavujú kombináciu dvoch významných luminifórov: 7-aminokumarínu a boron ketiminátu. Na rozdiel od kombinácie, ktorá bola doteraz študovaná tu je kumarínový skelet v konjugácii s oxazaborinovým a optické vlastnosti vzniknutého hybridu by preto mali byť taktiež kombináciou zmienených podštruktúr. Štúdiom ich optických vlastností boli zistené nasledovné skutočnosti:

Tvorba OBN chelátu znamená v porovnaní s východiskovými enaminy batochromný posun absorpčného maxima v UV-vis spektrách.

Luminiscenčné vlastnosti sú substitúciou na dusíkovom atóme vznikajúceho chelátu výrazne ovplyvnené. S rastúcou veľkosťou substituenta rastie aj schopnosť oxazaborinu vystupovať ako luminofor v tuhej fáze, čo sa dá vysvetliť obmedzením molekulového pohybu v tuhej fáze a tým aj možnosťou nežiarivého výdaja energie.

U niektorých zlúčenín bol pozorovaný AIE efekt. Išlo predovšetkým o zlúčeninu **4e** nesúca tetrafenylethylenové štruktúrne jednotky. Zaujímavým zistením bolo tiež to, že náhrada atómov fluóru v zlúčenine **4a**, ktorá sa chová ako ACQ luminofor za fenyly vznikla zlúčenina **5**, ktorá vykazuje typické črty AIE genu.

Celkovo možno povedať, že luminogeny na báze kumarínu, pripravené v rámci tejto práce, vykazujú širšie spektrum vlastností než kumarínové oxazaboríny, ktoré boli doteraz študované. K presnému posúdeniu je potrebné výskum rozšíriť na kvantitatívne porovnanie oboch typov luminogenu.

Výsledky tejto práce predstavujú solídny základ pre ďalší, podrobnejší výskum týchto zlúčenín.

LITERATÚRA:

1. Sethna, S. M., Shah, N. M. The Chemistry of Coumarins. *Chemical Reviews*, **1945**, 36(1), 1-62.
2. Poumale, H. M. P., Hamm, R., Zang, Y., Shiono, Y., Kuete, V. Coumarins and related compounds from the medicinal plants of Africa. *Medicinal Plant Research in Africa*, **2013**, 261-300.
3. Boisde, P. M., Meuly, W. C. Coumarin. V knize: *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*; Howe-Grant (Ed.), John Wiley & Sons, New York **2000**, 4th ed., Vol. 7, str. 647-659.
4. Thakur, A., Singla, R., Jaitak, V. Coumarins as anticancer agents: A review on synthetic strategies, mechanism of action and SAR studies. *European journal of medicinal chemistry*, **2015**, 101, 476-495.
5. Křižanová, M.; Berčíková, I.; Radová, K.; Sokolová, Š. V knize: *Farmakológia*; **2005**, str. 135-136.
6. Musa, M. A., Cooperwood, J. S., Khan, M. O. F. A review of coumarin derivatives in pharmacotherapy of breast cancer. *Current medicinal chemistry*, **2008**, 15(26), 2664-2679.
7. Bourgaud, F., Hehn, A., Larbat, R., Doerper, S., Gontier, E., Kellner, S., Matern, U. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, **2006**, 5(2-3), 293-308.
8. Hubík, J. *Obecná Farmakognosie*. 3. přeprac. vyd. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, **1989**
9. Reddy, A. R., Prasad, D. V., Darbarwar, M. Absorption and fluorescence spectra of 7-aminocoumarin derivatives. *Journal of photochemistry*, **1986**, 32 (1), 69-80.
10. Jiao, C. X., Niu, C. G., Chen, L. X., Shen, G. L., Yu, R. Q. 4-Allyloxy-7-aminocoumarin as a fluorescent carrier for optical sensor preparation and indole-3-acetic acid assay. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2003**, 94(2), 176-183.
11. Natal'ya, A. K., Kaliya, O. L. The photochemistry of coumarins. *Russian Chemical Reviews*, **1992**, 61(7), 683.

12. Kitamura, N., Fukagawa, T., Kohtani, S., Kitoh, S. I., Kunimoto, K. K., Nakagaki, R. Synthesis, absorption, and fluorescence properties and crystal structures of 7-aminocoumarin derivatives. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2007**, 188(2–3), 378-386.
13. Doušová, H., Almonasy, N., Mikysek, T., Váňa, J., Nepraš, M., Frumarová, B., Dvořák, M., Růžičková Z., Šimůnek, P., Synthesis, spectral and electrochemical properties of selected boron ketimines with aminocoumarin fragment. *Monatsh. Chem.*, *in press*.
14. R.P. Haugland, V knize: Handbook of Fluorescent Probes and Research Products, 9th ed., Molecular Probes Inc., **2002**, str.68.
15. Liu, X., Cole, J. M., Xu, Z. Substantial Intramolecular Charge Transfer Induces Long Emission Wavelengths and Mega Stokes Shifts in 6-Aminocoumarins. *The Journal of Physical Chemistry C*, **2017**, 121(24), 13274-13279.
16. Chemate, S. B., Sekar, N. Novel iminocoumarin derivatives: synthesis, spectroscopic and computational studies. *Journal of fluorescence*, **2015**, 25(6), 1615-1628.
17. Stone, T.,Darlingtonová, G. V knize: *Léky, drogy, jedy. 1. vyd.* Praha: Academia **2003**, 440 s, str. 192.
18. Martínková, J. V knize: *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů. 1. vyd.* Praha: Grada **2007**, 379 s., str. 191.
19. Pollock, B. E. Clinical experience with warfarin (coumadin) sodium, a new anticoagulant. *Journal of the American Medical Association*, **1955**, 159(11), 1094-1097.
20. Valente, E. J., Trager, W. F., Jensen, L. H. The crystal and molecular structure and absolute configuration of (–)-(S)-warfarin. *Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry*, **1975**, 31(4), 954-960.
21. Wittkowsky, A. K. Warfarin and other coumarin derivatives: pharmacokinetics, pharmacodynamics, and drug interactions. *Seminars in vascular medicine*, **2003**, 3(03), 221-230.

22. Wong, Y. W. J., Davis, P. J. Analysis of warfarin and its metabolites by reversed-phase ion-pair liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1989, 469, 281-291.
23. Ishiwata, S., Kamiya, M. Cyclodextrin inclusion effects on fluorescence and fluorimetric properties of the pesticide warfarin. *Chemosphere*, 1977, 34(4), 783-789.
24. Vasquez, J. M., Vu, A., Schultz, J. S., Vullev, V. I. Fluorescence enhancement of warfarin induced by interaction with β -cyclodextrin. *Biotechnology progress*, 2009, 25(4), 906-914.
25. Baccard, N., Mechiche, H., Nazeyrollas, P., Manot, L., Lamiable, D., Devillier, P., Millart, H. Effects of 7-hydroxycoumarin (umbelliferone) on isolated perfused and ischemic-reperfused rat heart. *Arzneimittelforschung*, 2000, 50(10), 890-896.
26. Yu, S. M., Hu, D. H., Zhang, J. J. Umbelliferone exhibits anticancer activity via the induction of apoptosis and cell cycle arrest in HepG2 hepatocellular carcinoma cells. *Molecular medicine reports*, 2015, 12(3), 3869-3873.
27. Fink, D. W., Koehler, W. R. pH effects on fluorescence of umbelliferone. *Analytical Chemistry*, 1970, 42(9), 990-993.
28. Brown, S. A. Biosynthesis of the coumarins IV. The formation of coumarin and herniarin in lavender. *Phytochemistry*, 1963, 2(2), 137-144.
29. Zhang, S., Yang, J., Li, H., Li, Y., Liu, Y., Zhang, D., Chen, X. Skimmin, a coumarin, suppresses the streptozotocin-induced diabetic nephropathy in wistar rats. *European journal of pharmacology*, 2012, 692(1-3), 78-83.
30. Takase, H., Yamamoto, K., Hirano, H., Saito, Y., Yamashita, A. Pharmacological profile of gastric mucosal protection by marmin and nobiletin from a traditional herbal medicine, *Aurantii fructus immaturus*. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 1994, 66(1), 139-147.
31. Jeon, Y. J., Jang, J. Y., Shim, J. H., Myung, P. K., Chae, J. I. Esculetin, a coumarin derivative, exhibits anti-proliferative and pro-apoptotic activity in G361 human malignant melanoma. *Journal of cancer prevention*, 2015, 20(2), 106.

32. Yang, J., Xiao, Y. L., He, X. R., Qiu, G. F., Hu, X. M. Aesculetin-induced apoptosis through a ROS-mediated mitochondrial dysfunction pathway in human cervical cancer cells. *Journal of Asian natural products research*, **2010**, *12*(3), 185-193.)
33. Kim, K. H., Park, H., Park, H. J., Choi, K. H., Sadikot, R. T., Cha, J., Joo, M. Glycosylation enables aesculin to activate NrF₂. *Scientific reports*, **2016**, *6*, 29956
34. Fowlks, W. L. The chemistry of the psoralens. *J Invest Dermatol*, **1959**, *32*, 249-54.
35. Wu, Q., Christensen, L. A., Legerski, R. J., & Vasquez, K. M. Mismatch repair participates in error-free processing of DNA interstrand crosslinks in human cells. *EMBO reports*, **2005**, *6*(6), 551-557.
36. Cimino, G. D., Gamper, H. B., Isaacs, S. T., Hearst, J. E. Psoralens as photoactive probes of nucleic acid structure and function: organic chemistry, photochemistry, and biochemistry. *Annual review of biochemistry*, **1985**, *54*(1), 1151-1193.
37. Grimes, P. E. Psoralen photochemotherapy for vitiligo. *Clinics in dermatology*, **1997**, *15*(6), 921-926.
38. Stern, R. S., Liebman, E. J., Väkevā, L. Oral psoralen and ultraviolet-A light (PUVA) treatment of psoriasis and persistent risk of nonmelanoma skin cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **1998**, *90*(17), 1278-1284.
39. Zajdela, F., Bisagni, E. 5-Methoxypsoralen, the melanogenic additive in sun-tan preparations, is tumorigenic in mice exposed to 365 nm uv radiation. *Carcinogenesis*, **1981**, *2*(2), 121-127.
40. Hermanson, G. T. V knize: *Bioconjugate techniques*. Academic press **2013**
41. Talapatra, S. K., Mukhopadhyay, S. K., Talapatra, B. Nodakenetin acetate: A new coumarin from Boenninghausenia albiflora. *Phytochemistry*, **1973**, *12*(9), 2312-2314.
42. Luo, K. W., Sun, J. G., Chan, J. Y. W., Yang, L., Wu, S. H., Fung, K. P., Liu, F. Y. Anticancer effects of imperatorin isolated from Angelica dahurica: induction of apoptosis in HepG2 cells through both death-receptor-and mitochondria-mediated pathways. *Chemotherapy*, **2011**, *57*(6), 449-459.
43. Pae, H. O., Oh, H., Yun, Y. G., Oh, G. S., Jang, S. I., Hwang, K. M., Chung, H. T. Imperatorin, a furanocoumarin from Angelica dahurica (Umbelliferae), induces

- cytochrome c-dependent apoptosis in human promyelocytic leukaemia, HL-60 cells. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, **2002**, 91(1), 40-48.
44. Sancho, R., Márquez, N., Gómez-Gonzalo, M., Calzado, M. A., Bettoni, G., Coiras, M. T., Muñoz, E. Imperatorin inhibits HIV-1 replication through an Sp1-dependent pathway. *Journal of Biological Chemistry*, **2004**, 279(36), 37349-37359.
45. Kondrat-Wrobel, M. W., Zagaja, M., Florek-Łuszczki, M., Pyrka, D., Wróbel, J., Skalicka-Woźniak, K., Łuszczki, J. J. Effects of xanthotoxin on the anticonvulsant action of various second-generation antiepileptic drugs in the maximal electroshock-induced seizure test in mice. *Pharmacological Reports*, **2015**, 67, 25-26.
46. Liu, F., Sun, G. Q., Gao, H. Y., Li, R. S., Soromou, L. W., Chen, N., Feng, H. H. Angelicin regulates LPS-induced inflammation via inhibiting MAPK/NF-κB pathways. *Journal of surgical research*, **2013**, 185(1), 300-309.
47. Li, G., He, Y., Yao, J., Huang, C., Song, X., Deng, Y., Liu, H. Angelicin inhibits human lung carcinoma A549 cell growth and migration through regulating JNK and ERK pathways. *Oncology reports*, **2016**, 36(6), 3504-3512.
48. Bordin, F., Dall'acqua, F., Guiotto, A. Angelicins, angular analogs of psoralens: chemistry, photochemical, photobiological and phototherapeutic properties. *Pharmacology & therapeutics*, **1991**, 52(3), 331-363.
49. Gorgus, E., Lohr, C., Raquet, N., Guth, S., Schrenk, D. Limettin and furocoumarins in beverages containing citrus juices or extracts. *Food and chemical toxicology*, **2010**, 48(1), 93-98.
50. Lohr, C., Raquet, N., Schrenk, D. Application of the concept of relative photomutagenic potencies to selected furocoumarins in V79 cells. *Toxicology in Vitro*, **2010**, 24(2), 558-566.
51. Duarte, J., Vallejo, I., Pérez-Vizcaino, F., Jiménez, R., Zarzuelo, A., Tamargo, J. Effects of visnadine on rat isolated vascular smooth muscles. *Planta medica*, **1997**, 63(03), 233-236.
52. Hashim, S., Jan, A. S. A. D., Marwat, K. B., Khan, M. A. Phytochemistry and medicinal properties of Ammi visnaga (Apiaceae). *Pak J Bot*, **2014**, 46(3), 861-7.

53. Cazal, C. M., de Cássia Domingues, V., Batalhão, J. R., Bueno, O. C., Rodrigues Filho, E., da Silva, M. F. G. F., Fernandes, J. B. Isolation of xanthyletin, an inhibitor of ants' symbiotic fungus, by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, **2009**, 1216(19), 4307-4312.
54. Magiatis, P., Melliou, E., Skaltsounis, A. L., Mitaku, S., Léonce, S., Renard, P., Atassi, G. Synthesis and cytotoxic activity of pyranocoumarins of the seselin and xanthyletin series. *Journal of natural products*, **1998**, 61(8), 982-986.
55. Lima, Vilma., Silva, Caio B., Mafezoli, Jair., Bezerra, Mirna M., Moraes, Odorico M., Murao, Guilherme S. M. M., Silva, Nunes J., Oliveira F. Conceicao M., Antinoceptive activity of the pyranocoumarin seselin in mice, *Fioterapi*, **2006**, 574-578
56. Ostrowska, Kinga., Olejarz, Wioletta., Wrzosek, Malgorzata., Gluszko, Alicja., Nowicka, Grazyna., Szcepanski, Mirosław., Materek, Ilona B., Koziol, Anna E., Struga, Marta., Anticancer effects of O-aminoalkyl derivatives of alloxanthoxyletin and seselin, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **2017**, 95, 1412-1424.
57. Doušová, H., Šimůnek, P., Almonasy N., Růžičková Z., Synthesis, NMR, X-ray and UV/Vis characterization and preliminary luminescence study of some boron iminoenolates having 6-aminocoumarin moiety, *Journal of Organometallic Chemistry*, **2016**, 60–71.
58. Xu, W. J., Qi, D. Q., You, J. Z., Hu, F. F., Bian, J. Y., Yang, C. X., Huang, J. Coumarin-based 'turn-off' fluorescent chemosensor with high selectivity for Cu²⁺ in aqueous solution. *Journal of Molecular Structure*, **2015**, 1091, 133-137.
59. Mangione, M. I., Spanevello, R. A., Anzardi, M. B. Efficient and straightforward click synthesis of structurally related dendritic triazoles. *RSC Advances*, **2017**, 7(75), 47681-47688.
60. Chang Y., Jin L., Duan J., Zhang Q., Wang J., Lu Y.: New conjugated poly(pyridinium salt) derivative: AIE characteristics, the interaction with DNA and selective fluorescence enhancement induced by dsDNA. *RSC Adv.*, **2015**, 5, 103-358.
61. Maldonado-Domínguez, M., Arcos-Ramos, R., Romero, M., Flores-Pérez, B., Farfán, N., Santillan, R., Malfant, I. The amide bridge in donor–acceptor systems:

- delocalization depends on push–pull stress. *New Journal of Chemistry*, **2014**, 38(1), 260-268.
62. Bartoli, G., Bosco, M., Locatelli, M., Marcantoni, E., Melchiorre, P., Sambri, L. Zn (ClO₄)₂·6H₂O as a Powerful Catalyst for the Conversion of β-Ketoesters into β-Enamino Esters. *Synlett*, **2004**, 2, 0239-0242.
63. Mei, J., Leung, N. L., Kwok, R. T., Lam, J. W., Tang, B. Z. Aggregation-induced emission: together we shine, united we soar!. *Chem. Rev*, **2015**, 115(21), 11718-11940.
64. Mei J., Hong Y., Lam J. W. Y., Qin A., Tang Y., Tang B. Z.; Aggregation-induced emission: the whole is more brilliant than the parts. *Adv. Mater.* **2014**, 26, 5429-5479.
65. Wang H., Zhao E., Lam J. W. Y., Tang B. Z.: AIE luminogens: emission brightened by aggregation, *Mater. Today* **2015**, 18(7), 365-377.
66. Klikar, M., Solanke, P., Tydlitát, J., Bureš, F., Alphabet-Inspired Design of (Hetero) Aromatic Push-Pull Chromophores, *Chem.Rec.* **2016**, 16, 1886-1905,
67. Zhang Q., Tian X., Zhou H., Wu J., Tian Y.: Lighting the Way to See Inside Two-Photon Absorption Materials, *Structure–Property Relationship and Biological Imaging Materials* **2017**, 10, 223.
68. Lu Q., Cai W., Niu H., Wang W., Bai X., Hou Y.: Novel polyamides with 5*H*-Dibenzo[b,f]azepin-5-yl-substituted triphenylamine, synthesis and visible-NIR electrochromic properties. *Polymers*, **2017**, 9(10), 542.
69. Shen B-X., Qian Y. J. A novel triphenylamine-BODIPY dendron: click synthesis, near-infrared emission and multi-channel chemodosimeter for Hg²⁺ and Fe³⁺. *Mater. Chem. B* **2016**, 4, 7549.