

**Синтез і вивчення антиоксидантної
та антимікробної активності
похідних 4-(4-ацетилфеніл)-3-
гідроксикумарину**

ЗМІСТ

ВСТУП	3
I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	4
1.1. Методи синтезу 4-арилкумаринів	4
1.2. Методи дослідження антиоксидантної активності	7
1.3. Антиоксидантна активність гідроксикумаринів	9
1.4. Антибактеріальна активність гідроксикумаринів	12
II. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕМИ	16
III. СИНТЕЗ І ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 4-(4-АЦЕТИЛФЕНІЛ)-3-ГІДРОКСИКУМАРИНУ	17
3.1. Методики синтезу	17
3.2. Обговорення одержаних результатів	22
ВИСНОВКИ	29
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	30

ВСТУП

Кумарини – це речовини рослинного походження, що містяться у лавандовій та коричній олії, ягодах (чорниці, полуниці, морощі), зеленій квасолі, лаванді, абрикосі, алое, а також у деяких видах бактерій та грибів [1]. Кумарини застосовуються у гальванічному виробництві як блискоутворювачі, як компоненти сонячних батарей, біологічні маркери тощо [2]. Крім того похідні кумарину знайшли широке застосування у медицині. Сам кумарин володіє слабкою біологічною активністю, однак його похідні виявляють протизапальну, антимікробну, антивірусну, протипухлинну, антикоагулянтну, антиоксидантну, фотосенсибілізуючу активність [3].

Людський організм – це складна біологічна система, утворена великою кількістю клітин, тканин та органів, що взаємопов'язані між собою. В ньому проходить велика кількість процесів, як корисних, так і шкідливих. Одним зі шкідливих процесів є утворення надлишкової кількості вільних радикалів, що є причиною багатьох хвороб. У нормі вони утворюються при клітинному диханні. Без реакцій окиснення та відновлення існування організму було б неможливим. За участю вільних радикалів організм здатний боротися із різними шкідливими бактеріями та вірусами. Проте збільшення їх концентрації має негативні наслідки [4]. Вільні радикали – нестабільні хімічні частинки, що мають неспарені електрони. Вони легко вступають у хімічні реакції та забирають електрони в інших молекул, змінюючи їх будову. Розвивається ланцюгова реакція, яка руйнує багато клітин, що є причиною розвитку багатьох небезпечних захворювань, а також прискорює процеси старіння організму [5]. Актуальним стає питання пошуку антиоксидантів, які віддавали б вільним радикалам свої електрони та залишалися стабільними сполуками й таким чином припиняли б процес безперервного руйнування молекул, клітин та тканин.

Не менш важливим є значення антибактеріальних препаратів, які пригнічують життєдіяльність шкідливих мікроорганізмів.

I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Методи синтезу 4-арилкумаринів

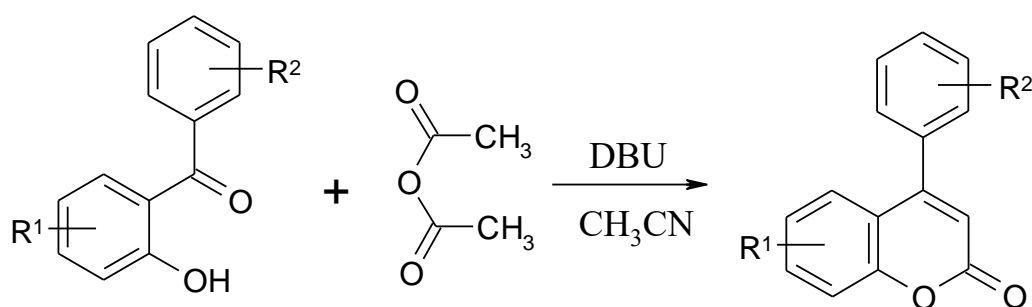
Розрізняють такі методи одержання 4-арилкумаринів:

А) синтез за рахунок циклізації вихідних сполук з одержанням відповідних арилкумаринів (утворення бензопіранового кільця);

Б) синтез за рахунок реакції арилювання кумаринового ядра.

А) До методів одержання 4-арилкумаринів першого типу належить реакція Костанецького, Пехмана, циклізація фенілпропіонатів за наявності паладієвого каталізатора, конденсація цинамових кислот з фенолами.

1) За реакцією Костанецького відбувається формування кумаринів з легко доступних 2-гідроксиарилкетонів і аліфатичного ангідриду у присутності відповідної натрієвої солі через О-ацилювання й альдольну конденсацію. Ця реакція має певні обмеження: використання великого надлишку реагентів, жорсткі умови реакції, що призводить до низьких виходів [6]. За рахунок взаємодії між 2-гідроксибензофеноном та оцтовим ангідридом за наявності DBU (1,8-діазабіцикло[5.4.0]ундец-7-ен) отримують 4-арилпохідні кумарину 1.1.

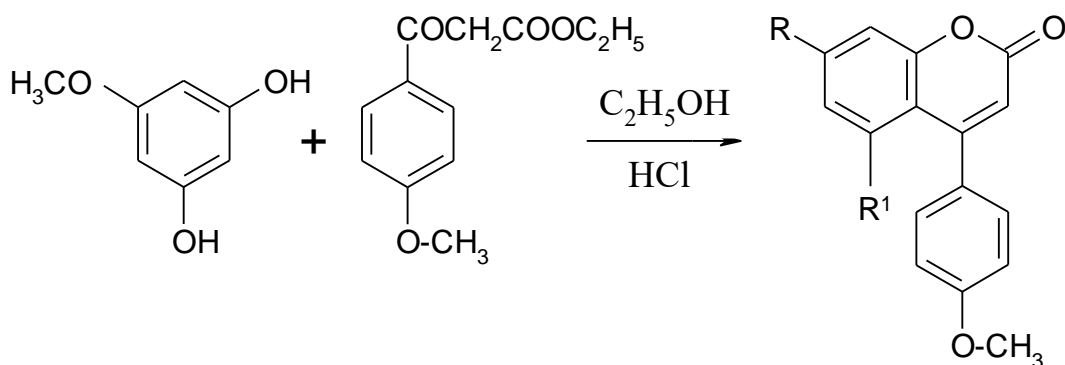


R¹=H, 5-CH₃, 5-F, 4,6-(CH₃)₂; R²=H, 4-Cl, 4-CH₃

1.1

2) Одним з найбільш широко використовуваних методів синтезу 4-заміщених похідних кумарину є реакція Пехмана. Вона передбачає конденсацію фенолів з β-кетоестерами за наявності кислотних каталізаторів.

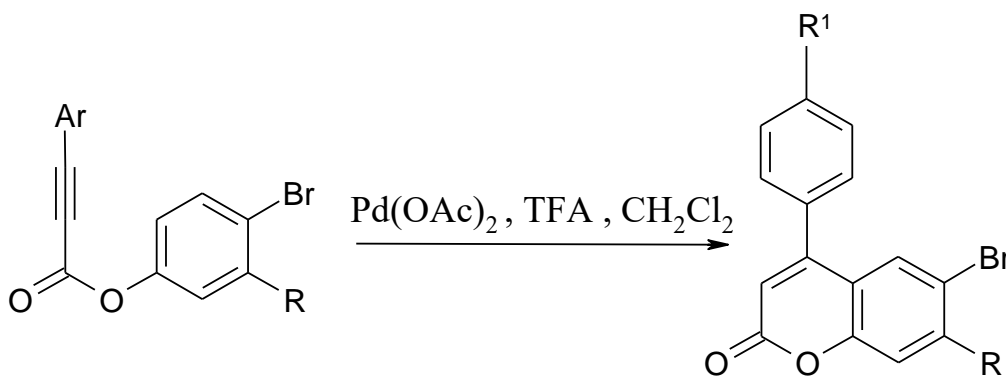
Реакція між монометилглюцином та етером *n*-метоксибензоїлоцтової кислоти в присутності спирту та хлоридної кислоти дає суміш з майже рівних кількостей ізомерних 4-фенілзаміщених кумаринів **1.2**; цю суміш розділяють за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі [7].



1. R = OCH₃, R¹ = OH
2. R = OH, R¹ = OCH₃

1.2

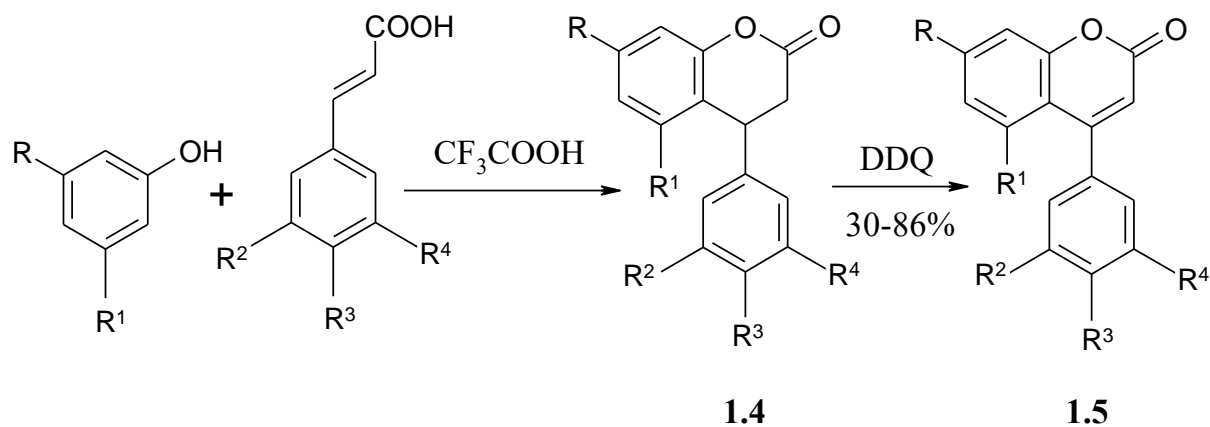
3) У результаті циклізації фенілпропіонатів за наявності каталізатора паладій ацетату, в середовищі трифтороцтової кислоти (TFA) та дихлорометану отримують похідні 4-арилкумарину **1.3** [8].



1.3

R = H, R¹ = NO₂; R = CH₃, R¹ = OCH₃, TFA = CF₃COOH

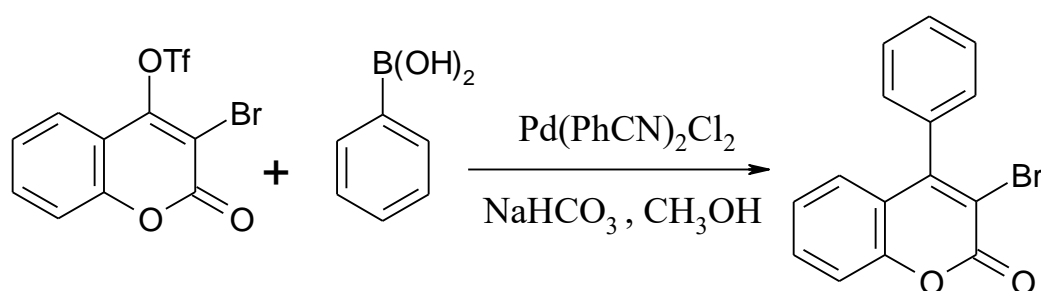
4) Конденсація цинамових кислот з фенолами приводить до одержання 3,4-дигідро-4-арилкумаринів **1.4** і наступна їх дегідрогенізація за наявності каталізатора 2,3-дихлоро-5,6-диціано-*n*-бензохінону (DDQ) супроводжується утворенням похідних 4-арилкумаринів **1.5** [9].



$R = \text{OH}, \text{OCH}_3$; $R^1 = R^2 = \text{H}, \text{OCH}_3$; $R^3 = \text{H}, \text{OH}, \text{OCH}_3$; $R^4 = \text{H}, \text{OH}, \text{OCH}_3, \text{CH}_3\text{CO}$

Б) Серед методів синтезу 4-арилкумаринів другого типу розглянемо реакцію Судзукі та реакцію Негіші.

1) Реакція Судзукі передбачає взаємодію арилборних кислот з арилгалогенідами за наявності паладієвого каталізатора. Замість борних кислот можна використовувати похідні 9-борабіцикло[3.3.1]нонану (BBN), органотрифлуороборатні солі або борні естери. Реакція також може проходити з псевдогалогенідами, такими як трифлати (CF_3SO_3^-) або нонафлати ($\text{CF}_3\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_2\text{SO}_3^-$). 4-Арилкумарин **1.6** утворюється при взаємодії 3-бром-4-трифлаткумарину з арилборними кислотами за наявності каталізатора біс(бензонітрил)паладій хлориду в присутності натрій гідрокарбонату та метилового спирту. Реакція малочутлива до замісників в арильному фрагменті борної кислоти [10].

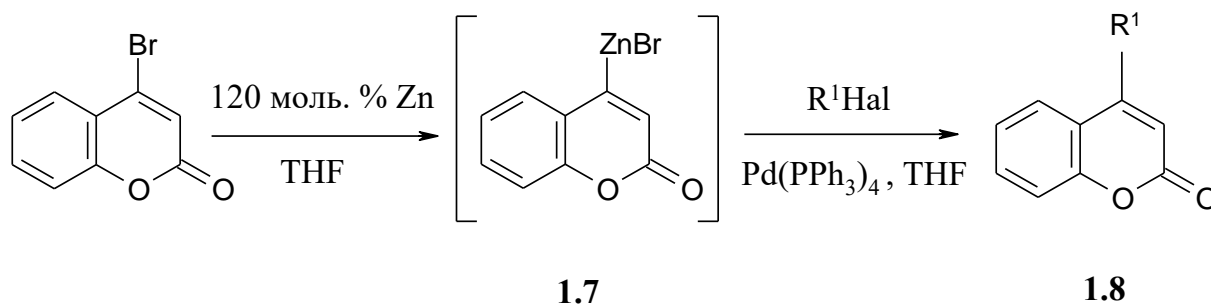


$\text{Ph} = \text{C}_6\text{H}_5$; $\text{Tf} = \text{CF}_3\text{-SO}_2\text{O}$

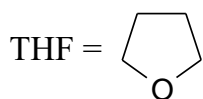
1.6

2) 4-Бромкумарин ефективно вступає в реакцію з металічним цинком за наявності тетрагідрофурану. Утворена цинкорганічна сполука **1.7** здатна вступати в реакцію Негіші з арил- та хлорангідами ароматичних карбонових

кислот за наявності паладієвого каталізатора та тетрагідрофурану з утворенням 4-арилкумарину **1.8** [10].



Hal = Cl, Br, I ; R¹ = CH₃ , C₆H₅ , CH₃O , *p*-H₂NC₆H₄ , *p*-FC₆H₄ , *p*-CH₃OC₆H₄



1.2. Методи дослідження антиоксидантної активності

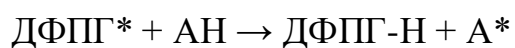
На даний час існує багато методів дослідження антиоксидантної активності. Їх класифікують за різними чинниками (наприклад, за типом джерела окиснення, типом сполук, що окиснюються, та способом вимірювання окисненої сполуки). За способом реєстрації антиоксидантної активності методи можна поділити на волюмометричні (грунтуються на вимірювання об'єму поглинутого кисню), фотометричні, хемілюмінесцентні, флуоресцентні, електрохімічні [11].

Фотометричні методи найбільш доступні та зручні. До них належить колориметричне визначення загальної антиоксидантної активності за окисненням кроцину, що базується на вимірюванні оптичної густини при 450 нм. Специфічне поглинання обчислюють за формулою:

$$\% = ((D_0 - D_{\text{аоа}})/D_0) * 100\%$$

D₀ – поглинання без антиоксидантів; D_{аоа} – поглинання в присутності антиоксидантів.

Одним із найбільш розповсюджених фотометричних методів вимірювання антиоксидантної активності є колориметрія вільних радикалів заснована на реакції ДФПГ (2,2-дифеніл-1-пікрілгідрозилу), розчиненого в метанолі, зі зразком антиоксиданту (АН) за схемою [11]:



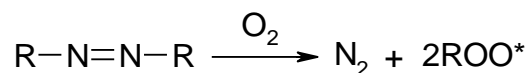
Реакція контролюється за зміною оптичної густини при довжині хвилі від 500 до 550 нм [12].

Метод визначення антиоксидантної активності з використанням Тролокса як еквівалента (Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay) заснований на здатності антиоксидантів поглинати стабільний катіон-радикал АБТС^{•+}, який отримують із АБТС (2,2'-азино-біс-[3-етилбензотіазолін-6-сульфоїкислоти]) у присутності сильних окисників. Розчин цього радикалу має блакитно-зелений колір з максимумом поглинання при 734 нм. Під час додавання антиоксиданту змінюється забарвлення розчину та зменшується оптична густина. Це пов'язано з тим, що антиоксидант віддає радикалу один електрон або атом Гідрогену. Отримані результати представляють у вигляді еквівалента Тролокса [12].

Хемілюмінесцентні методи базуються на здатності люмінола світитися при взаємодії із вільними радикалами [11]. Найпоширенішою є методика, заснована на взаємодії люмінола з 2,2'-азо-біс(2-амідинпропаном) (АБАП), що при нагріванні розкладається на два вільних радикали. Інтенсивність хемілюмінесценції визначається кількістю радикалів. Чим менше вільних радикалів, тим нижча інтенсивність хемілюмінесценції.

Флуоресцентні методи базуються на вимірюванні флуоресценції певної сполуки до та після додавання антиоксиданту. Найпоширенішим є метод, заснований на здатності антиоксидантів зв'язувати пероксидні радикали та вимірюванні зменшення флуоресценції β-фікоеритрину [13]. Флуоресцентна молекула руйнується під впливом вільних радикалів і внаслідок цього зменшується флуоресценція. Джерелом пероксидних радикалів в цьому методі слугує 2,2'-азо-біс-(2-амідинопропан) дигідрохлорид ААПГ [11].

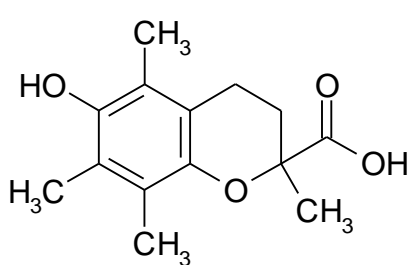
ААПГ розкладається при нагріванні за наявності кисню з утворенням пероксидних радикалів за схемою: [12].



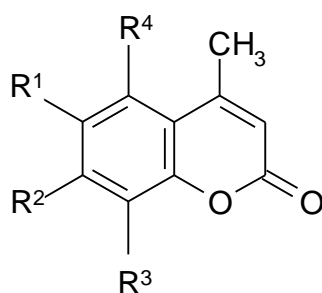
Деякі з цих методів є досить складними та потребують великих коштів, проте більшість із них широко використовуються.

1.3. Антиоксидантна активність гідроксикумаринів

Антиоксидантну активність похідних кумарину досліджували на здатності зменшувати концентрацію вільного радикала 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразилу (ДФПГ). Зменшення оптичної густини розчину вимірювали на спектрофотометрі при 517 нм, що містить ДФПГ (фіолетовий), який перетворюється у відновлену форму (жовтий). Значення порівнювали з Тролоксом (6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоною кислотою) (**1.9**). Дослідження показали, що активність зменшується в ряду: Тролокс (**1.9**) > 7,8-дигідрокси-4-метилкумарин (**1.10 а**) > 4,7-диметил-6-гідроксокумарин (**1.10 б**) > 6-гідрокси-4-метилкумарин (**1.10 в**) > 4,8-диметил-7-гідроксикумарин (**1.10 г**) > 4,5-диметил-7-гідроксикумарин (**1.10 д**) > 7-гідрокси-4-метилкумарин (**1.10 е**).



1.9



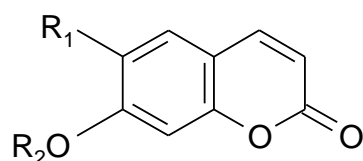
1.10

1.10 а	$R^1 = \text{H},$	$R^2 = \text{OH},$	$R^3 = \text{OH},$	$R^4 = \text{H}$
б	$R^1 = \text{OH},$	$R^2 = \text{CH}_3,$	$R^3 = \text{H},$	$R^4 = \text{H}$
в	$R^1 = \text{OH},$	$R^2 = \text{H},$	$R^3 = \text{H},$	$R^4 = \text{H}$
г	$R^1 = \text{H},$	$R^2 = \text{OH},$	$R^3 = \text{CH}_3,$	$R^4 = \text{H}$
д	$R^1 = \text{H},$	$R^2 = \text{OH},$	$R^3 = \text{H},$	$R^4 = \text{CH}_3,$
е	$R^1 = \text{H},$	$R^2 = \text{OH},$	$R^3 = \text{H},$	$R^4 = \text{H}$

З цих досліджень можна зробити висновок, що наявність двох гідроксильних груп підвищує антиоксидантну активність. Результати показують, що положення і тип замісника, приєднаного до ароматичної частини молекули кумарину також впливають на здатність поглинання радикалів. Тобто

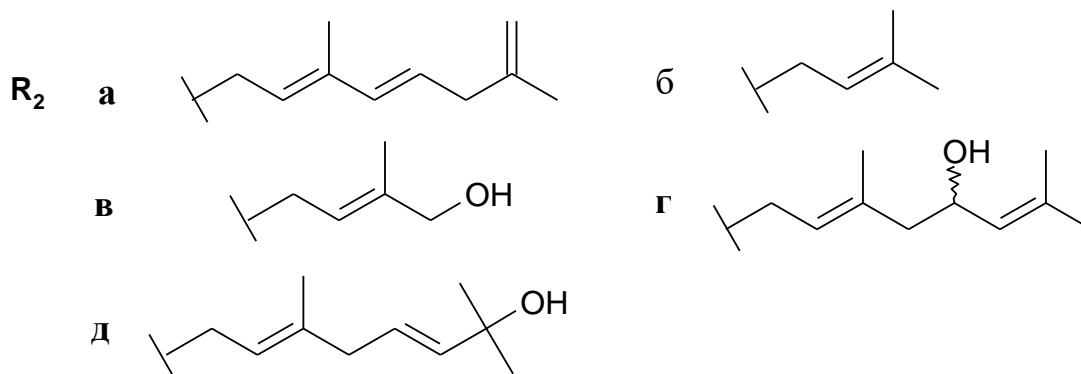
сполуки, заміщені в шостому положенні активніші, ніж ті, що заміщені в сьомому положенні. Також результати вказують на те, що ОН-група має найбільший вплив, в той час як СН₃-група має найменший, а саме кумаринове ядро має незначний вплив на антиоксидантну активність [14].

Антиоксидантна активність похідних кумарину **1.11 (а-д)**, які були виділені із рослини роду Гаплопапус (*Haplorappus multifolius*) родини Айстрових, також була досліджена за методом поглинання ДФПГ радикалу.



1.11

R₁ = ОН

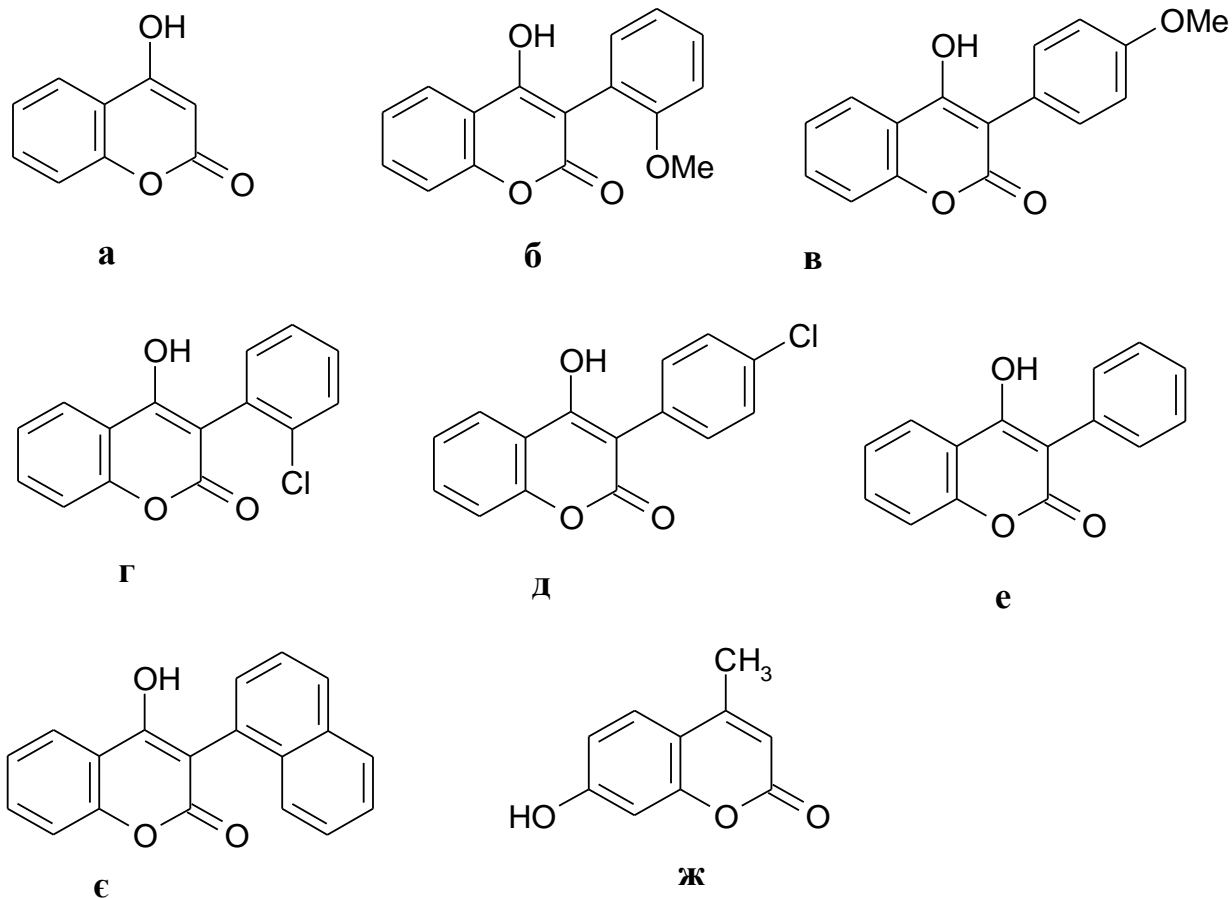


Було встановлено, що дані сполуки виявляють помірну антиоксидантну активність [15].

Вимірювання антиоксидантної активності похідних гідроксикумарину **1.12(а – ж)** було здійснене за допомогою поглинання двох активних форм ДФПГ та АБТС (2,2'-азино-біс-[3-етилбензотіазолін-6-сульфокислоти]).

Сполуки, що мають ОСН₃-групу в *орто*- та *пара*-положенні в арильному заміснику мають найвищу активність. Сполуки **1.12 (г – є)** мають нижчу активність через наявність електроноакцепторних груп. Низька антиоксидантна активність сполуки **1.12 г** пояснюється ще й просторовими перешкодами,

внаслідок наявності об'ємного замісника. Отже, можна сказати, що поведінка даних сполук залежить від замісника у С3 положенні.



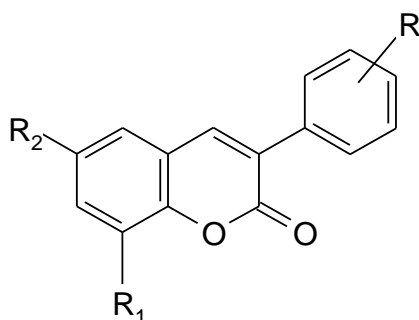
1.12

Визначальними є два основні чинники, на які потрібно звернути увагу: по-перше, електронні характеристики (електронодонорні або електроноакцепторні замісники); по-друге, стеричні перешкоди, так як доступність до ДФПГ є визначальним фактором реакції. Було з'ясовано, що невеликі молекули мають більший доступ до вільного радикалу і як наслідок мають вищу антиоксидантну активність.

Також був використаний метод вимірювання антиоксидантної активності шляхом зв'язування вільного радикалу АБТС у водному розчині для порівняння із ДФПГ. Було з'ясовано, що сполуки, які мають ОСН₃-групу в *орто*- та *пара*-положенні в арильному заміснику також мають найвищу активність. Із цих результатів видно, що сполуки **1.12 б** та **1.12 в** виявляють найвищу активність по відношенню до ДФПГ та АБТС. Нижча активність сполук **1.12 (г-є)** по відношенню до АБТС пояснюється поганою розчинністю у

воді, що використовувалася як розчинник у цьому методі (розчинником у методі із ДФПГ був метанол) [16].

Антиоксидантну активність деяких похідних кумарину (**1.13**) виявляли здатністю поглинати вільні радикали кисню методом флуоресцентної проби (ORAC-FL method). Вільні радикали пошкоджують молекулу флуоресцеїну, що призводить до втрати флуоресценції. Антиоксиданти захищають молекулу від руйнування. Ступінь захисту визначають флуорометром. Результати порівнюють із еталонною сполукою Тролоксом.

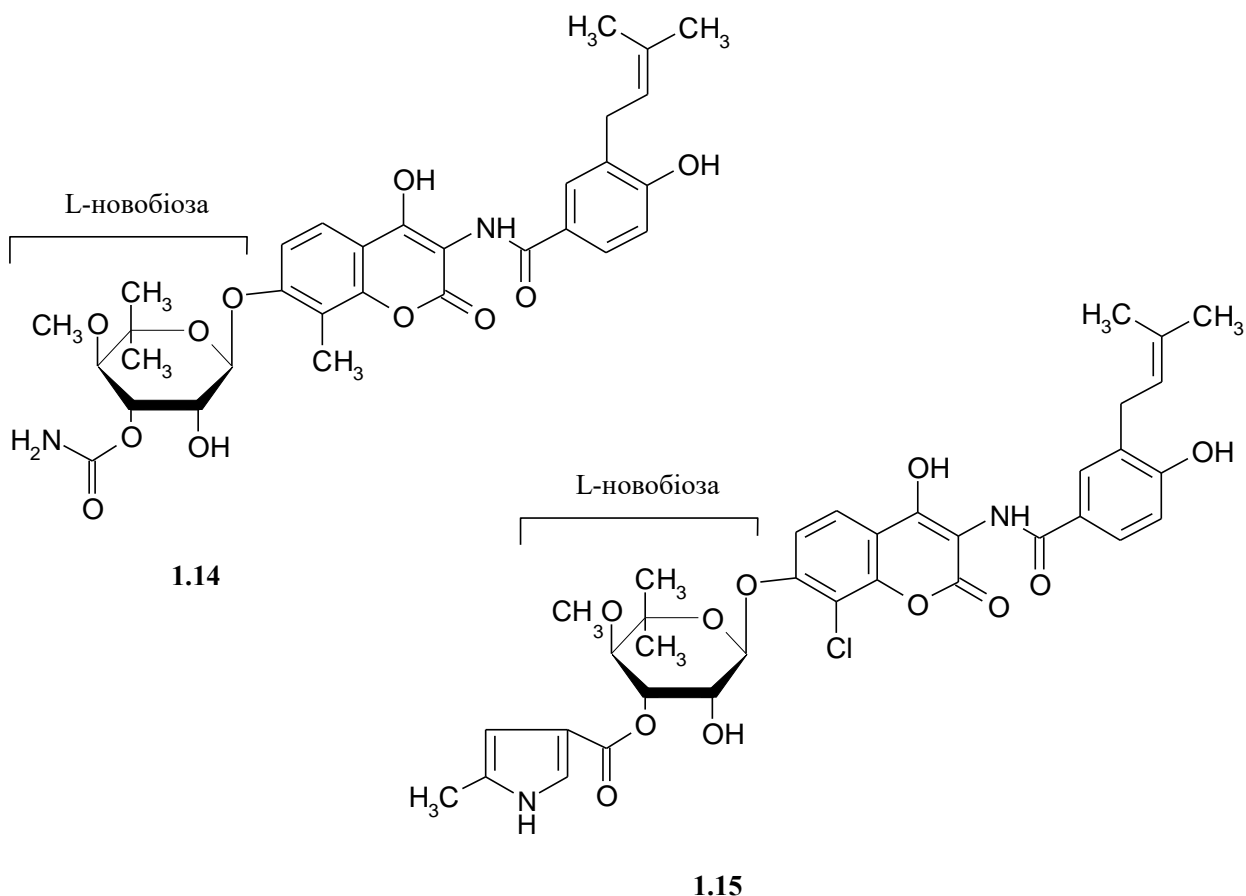


1.13	а	R = H;	R ₁ = OH;	R ₂ = H
	б	R = <i>p</i> -OH;	R ₁ = OH;	R ₂ = H
	в	R = <i>o</i> -OH;	R ₁ = H;	R ₂ = CH ₃
	г	R = <i>m</i> -OH;	R ₁ = H;	R ₂ = CH ₃
	д	R = <i>p</i> -OH;	R ₁ = H;	R ₂ = CH ₃

Було виявлено, що всі похідні виявляють антиоксидантну активність, крім сполуки **1.13 а**, а сполука **1.13 б** показала найкращий результат [17].

1.4. Антибактеріальна активність гідроксикумаринів

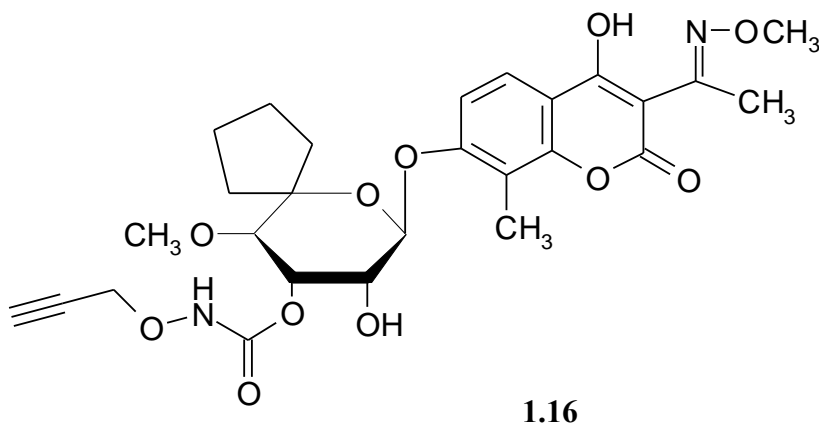
Антибактеріальну активність кумаринових антибіотиків новобіоцину **1.14**, хлоробіоцину **1.15** та 28 синтезованих похідних хлоробіоцину досліджували на штаммах грам-позитивних (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecium*, *S. pneumoniae*) та грам-негативних (*E. coli*, *P. aeruginosa*) бактерій [18]. Новобіоцин та хлоробіоцин складаються з 3-аміно-4,7-дигідроксикумарину, що з одного боку з'єднаний з моносахаридом L-новобіозою, а з другого боку з 3-диметилаліл-4-гідроксибензоїлом.



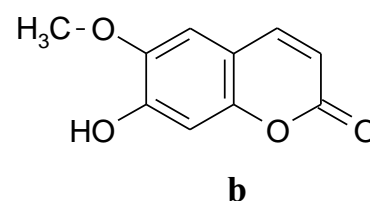
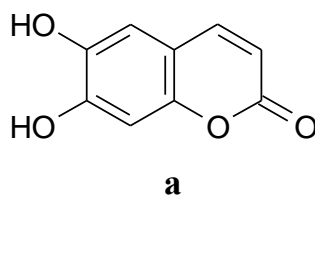
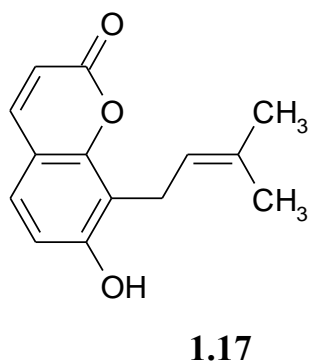
Найвищу активність виявили сполуки, що містять гідрофобний алкільний замісник у 3-му положенні 4-гідроксибензоїльного фрагменту. Заміна алкільного замісника на метоксильний або на галоген значно знижує активність сполуки. Речовини, в яких відсутня метоксильна група в 3-му положенні L-новобіози, виявились неактивними. Новобіоцин був активним проти грам-позитивних бактерій та майже неактивним проти грам-негативних. Хлоробіоцин виявив найбільшу активність проти кишкової палички (*Escherichia coli*) [18].

Дослідники виявили, що існує два класи антибіотиків, спрямованих на придушення дії ДНК-гідрази: це амінокумарини (в тому числі і новобіоцин) та хінолони. ДНК-гідраза – це фермент бактерії *E. Coli* та інших прокариот, що відноситься до групи топоізомераз і необхідний для реплікації ДНК [19]. Її функція – розрізання спіралі ДНК для «зчитування» інформації на РНК та синтезу білка. Антибактеріальний ефект полягає в пригніченні активності ДНК-гідрази [20]. Дослідження було спрямоване на синтез нових похідних

кумаринових антибіотиків, зокрема новобіоцину, та дослідження їх антибактеріальної активності. Дослідження проводили із грам-позитивними бактеріями (*S.aureus*, *S. epidermidis*, *S. pyogenes*, *E. faecium*). Результати показали, що синтезовані кумаринові антибіотики виявили кращу антибактеріальну активність у порівнянні із природними. Серед них найвищу активність виявила сполука **1.16** [21].



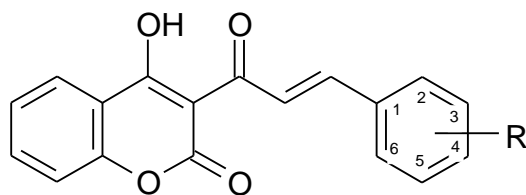
Антибактеріальну активність кумарину та його похідних досліджували за допомогою двох грам-позитивних (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) та двох грам-негативних (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) бактерій. Бактеріальну вразливість до досліджуваних сполук оцінювали шляхом визначення мінімальної інгібуючої концентрації (MIC) і мінімальної бактерицидної концентрації (MBC). Дослідження показали, що найбільшу активність проти грам-позитивних бактерій виявив остенол (**1.17**). Ескулетин (**1.18 a**) виявився активнішим проти грам-позитивних бактерій, а скополетин (**1.18 b**) проти грам-негативних [22].



Дослідження впливу замісників похідних 4-гідроксикумарину на антибактеріальну активність проводили методом дифузії та методом

розведення на різних штаммах бактерій (*Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bordatella bronchiseptica*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*) [23].

Всі досліджувані сполуки виявили деяку антибактеріальну активність по відношенню до грам-позитивних бактерій, але виявились неактивними до грам-негативних. В ході досліджень було виявлено, що сполуки **1.19 (a,b,c)** виявляють найбільшу активність, але **1.19 a** та **1.19 b** – найактивніші.



- 1.19 a** R = 4-Cl
b R = 4-Br
c R = 2-OH; 5-Br

II. ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ТЕМИ

Під дією різних шкідливих чинників, таких як радіація, стрес, шкідливі звички, неякісне харчування тощо, активність природної антиоксидантної системи знижується і при цьому збільшується концентрація вільних радикалів в організмі. Зменшити їх кількість можна шляхом введення в організм антиоксидантів [24].

Відомо, що похідні кумарину володіють антиоксидантною та антибактеріальною активністю [25]. Актуальним питанням є пошук антиоксидантів, які сповільнювали б процеси вільно радикального окиснення.

Дослідження антибактеріальної активності похідних кумарину є актуальним завданням тому, що в останні роки все більше штамів мікроорганізмів стають резистентними до дії антибіотиків і вчені синтезують та вивчають нові сполуки, що виявляють більшу стійкість та антибактеріальну активність [26].

Похідні тіазолу також володіють біологічною активністю, зокрема відомі протигістамінні препарати (фамотидин), засоби, що діють на центральну нервову систему (гемінейрин) та бактерицидні препарати (норсульфазол).

Останнім часом увагу дослідників привертають бігетероциклічні системи кумаринового та тіазольного циклів, які виявляють виражену біологічну активність. З іншого боку, похідні 4-арилкумарину досліджені мало. Тому синтез нових 4-арилкумариновмісних похідних тіазолу є актуальним завданням.

Метою роботи є синтез нових похідних 4-(4-ацетилфеніл)-3-гідроксикумарину і вивчення їх антиоксидантної та антимікробної активності.

III. СИНТЕЗ І ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ ТА АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 4-(4-АЦЕТИЛФЕНІЛ)-3-ГІДРОКСИКУМАРИНУ

ІЧ спектри сполук записані на спектрометрі Specord IR-75 в таблетках KBr. Спектри ЯМР ^1H записані на спектрометрі Varian Mercury (400 МГц) та Bruker DR-500 (500 МГц) в ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт – ТМС. Температури плавлення визначали на приладі Voetius.

3.1. Методики синтезу

4-(4-Ацетилфеніл)-3-гідроксикумарин (3.3). Суміш 3,8 г (0,028 моль) 4-аміноацетофенону, 18 мл (0,41 моль) концентрованої хлоридної кислоти та 10 мл води нагрівали до кипіння. Одержаний розчин охолоджували до температури 0-5 °С і витримували за цієї температури 5 хв. Утворювався осад гідрохлориду 4-аміноацетофенону. До одержаної суспензії під час інтенсивного перемішування і ефективного охолодження додавали краплями розчин 3 г (0,043 моль) натрій нітриту в 10 мл води. Після закінчення докrapування NaNO_2 реакційну суміш залишали на 15 хв у льодяній ванні. Отриманий розчин 4-ацетилфенілдіазоній хлориду (3.2) відфільтрували і докrapували (зі швидкістю одна-дві краплі за 1 с) у тришийкову колбу з мішалкою та лічильником бульбашок, яка містить 4,5 г (0,028 моль) 3-гідроксикумарину (3.1), 0,36 г (0,01 моль) $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ і 35 мл ацетону. У процесі реакції випадає осад. Після закінчення виділення азоту (~2 год) продукт відфільтровували, промивали водою і перекристалізували з етанолу [27].

Вихід 4 г (37%). Т.пл. 262°C (оцтова кислота). ІЧ спектр, ν , cm^{-1} : 1700 (C=O), 3330 (OH). Спектр ЯМР ^1H , δ , м.ч.: 2.65 с (3H, CH_3), 7.04 д (1H, J 7.9 Гц, 2H-хромен-2-он), 7.23-7.26 м (1H, 2H-хромен-2-он), 7.43-7.48 м (2H, 2H-хромен-2-он), 7.56 д (2H, J 7.0 Гц, C_6H_4), 8.11 д (2H, J 7.0 Гц, C_6H_4), 10.20 с (1H, OH). Знайдено, %: С 72,80; Н 4,37. $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Обчислено, %: С 72,85; Н 4,31.

4-[4-(2-Бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарин (3.4). До розчину 1,40 г (0,005 моль) 4-(4-ацетилфеніл)-3-гідроксикумарину (3.3) в 120 мл оцтової кислоти при температурі 90-95 °С додавали по краплинах 0,25 мл (0,005 моль)

бромиду. Потім розчин охолоджували, утворений осад відфільтрували, промили водою, висушили [27].

Вихід 0.76 г (42%). Т.пл. 222-224°C (толуен). ІЧ спектр, ν , cm^{-1} : 735 (C-Br). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. ч.: 5.01 с (2H, CH_2), 7.04 д (1H, J 7.8 Гц, 2*H*-хромен-2-он), 7.24-7.26 м (1H, 2*H*-хромен-2-он), 7.43-7.48 м (2H, 2*H*-хромен-2-он), 7.59 д (2H, J 7.1 Гц, C_6H_4), 8.16 д (2H, J 7.2 Гц, C_6H_4), 10.26 с (1H, OH). Знайдено, %: С 56,76; Н 3,16; Br 22,18. $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{BrO}_4$. Обчислено, %: С 56,85; Н 3,08; Br 22,24.

4-[4-[1-[[4-(4-Хлорофеніл)-2-тіазоліл]гідразон]етил]феніл]-3-гідроксикумарин (3.5). Суміш 0.28 г (0,001 моль) сполуки (3.2), 0.09 г (0,001 моль) тіосемікарбазиду, 0.23 г (0,001 моль) 4-хлорофенацилброміду в 20 мл ацетонітрилу кип'ятили 3 год. Після охолодження осад, який утворився відфільтрували, промивали водою.

Вихід 0.47 г (98%). Т.пл. >300 °С (ДМФА). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. ч.: 11.37 с (1H, NH), 10.05 с (1H, OH), 7.94 д (J 8.5 Гц, 2H), 7.90 д (J 9.0 Гц, 2H), 7.50 – 7.43 м (6H), 7.41 с (1H, тіазол), 7.28 – 7.22 м (1H, 2*H*-хромен-2-он),), 7.19 д (J 7.8 Гц, 1H, 2*H*-хромен-2-он), 2.39 с (3H). Знайдено, %: С 64,15; Н 3,62; N 8,77. $\text{C}_{26}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$. Обчислено, %: С 64,00; Н 3,72; N 8,61.

3-Гідрокси-4-[4-[1-[[4-(2-оксо-2*H*-хромен-3-іл)-2-тіазоліл]гідразон]етил]феніл]кумарин (3.6). Суміш 0.28 г (0,001 моль) сполуки (3.2), 0.09 г (0,001 моль) тіосемікарбазиду, 0.27 г (0,001 моль) 3-(бромацетил)-кумарину в суміші 15 мл етанолу і 0,5 мл оцтової кислоти кип'ятили 2,5 год. Утворений осад відфільтрували.

Вихід 0.44 г (84%). Т.пл. >300°C (осадження водою із ДМФА). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. ч.: 2.41 с (3H, CH_3), 7.14 д (J 7.9 Гц, 1H), 7.22 – 7.29 м (1H), 7.40 т (J 7.5 Гц, 1H), 7.42-7.48 м (5H), 7.64 т (J 8.6 Гц, 1H), 7.80 с (1H), 7.84 д (J 7.8 Гц, 1H), 7.95 д (J 8.4 Гц, 2H), 8.59 с (1H), 10.05 с (1H, OH), 11.42 с (1H, NH). Знайдено, %: С 66,54; Н 3,46; N 7,87. $\text{C}_{29}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$. Обчислено, %: С 66,78; Н 3,67; N 8,05.

Загальна методика синтезу четвертинних солей (3.7-3.9). Суміш 0,001 моль сполуки (3.4) та 0,001 моль відповідної гетероциклічної основи

(4-метилпіридину, хіноліну) або трифенілфосфіну в 15-20 мл безводного толуену кип'ятили впродовж 1-1,5 год. Утворені осади солей відфільтрували, промивали діетиловим ефіром.

1-{2-[4-(3-Гідроксикумарин-4-іл)феніл]-2-оксоетил}-4-метилпіридиній бромід (3.7). Вихід 0.36 г (80%). Т.пл. 192-194°C (CH₃COOH). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 2.70 с (3H, CH₃), 6.51 с (2H, CH₂), 7.03 д (1H, J 7.7 Гц, 2H-хромен-2-он), 7.27-7.29 м (1H, 2H-хромен-2-он), 7.46-7.50 м (2H, 2H-хромен-2-он), 7.70 д (2H, J 7.1 Гц, C₆H₄), 8.12 д (2H, J 5.5 Гц, піридин), 8.22 д (2H, J 7.7 Гц, C₆H₄), 8.88 д (2H, J 5.7 Гц, піридин), 10.32 с (1H, OH). Знайдено, %: С 61,13; Н 4,15; N 3,16. C₂₃H₁₈BrNO₄. Обчислено, %: С 61,07; Н 4,01; N 3,09.

1-{2-[4-(3-Гідроксикумарин-4-іл)феніл]-2-оксоетил}хіноліній бромід (3.8). Вихід 0.24 г (49%). Т.пл. 250-252°C (висадження ефіром із етанолу). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.ч.: 6.70 с (2H, CH₂), 7.03-7.10 м (2H), 7.28-7.31 м (1H, 2H-хромен-2-он), 7.47-7.52 м (2H, 2H-хромен-2-он), 7.73 д (2H, J 7.0 Гц, C₆H₄), 8.02-8.40 м (5H), 8.48 – 8.63 м (1H), 8.74 д (1H, J 8.7 Гц), 9.41 – 9.59 м (1H), 10.04-10.06 м (1H), 10.34 с (1H, OH). Знайдено, %: С 63,88; Н 3,79; N 2,93. C₂₆H₁₈BrNO₄. Обчислено, %: С 63,95; Н 3,71; N 2,87.

1-{2-[4-(3-Гідроксикумарин-4-іл)феніл]-2-оксоетил}трифенілфосфоній бромід (3.9). Вихід 0.53 г (85%). Т.пл. >250°C (висадження водою із етанолу). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 5.20 д (2H, J_{PH} 12.8 Гц), 7.35 т (1H, 2H-хромен-2-он, J 7.36 Гц), 7.38 д (1H, 2H-хромен-2-он, J 8.23 Гц), 7.69 т (1H, 2H-хромен-2-он, J 6.95 Гц), 7.90–8.00 м (17H_{аром.}), 8.16 д (2H, C₆H₄, J 8.18 Гц), 10.25 с (1H, OH). Знайдено, %: С 67,58; Н 4,29; Р 4,84. C₃₅H₂₆BrO₄P. Обчислено, %: С 67,64; Н 4,22; Р 4,98.

4-{4-[2-(2-(4-Нітробензиліден)гідразиніл)-1,3-тіазол-4-іл]-феніл}-3-гідроксикумарин (3.10). Суміш 0,36 г (0,001 моль) 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарину (3.4), 0,10 г (0,001 моль) тіосемікарбазиду в 20 мл безводного етанолу кип'ятили 10 хв. До реакційної суміші додали 0,15 г (0,001 моль) 4-нітробензальдегіду і кип'ятили ще 20 хв. Утворений осад відфільтрували, промивали ефіром.

Вихід 0.39 г (81%). Т.пл. >250°C (висадження ефіром із ДМФА). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. ч.: 7.02 д (1H, 2H-хромен-2-он, J 7.7 Гц), 7.20-7.26 м (1H, 2H-хромен-2-он), 7.44-7.50 м (2H, 2H-хромен-2-он), 7.59 д (2H, C₆H₄, J 7.1 Гц), 8.15 д (2H, C₆H₄, J 7.15 Гц), 8.30 с (1H, тiazол), 11.61 с (1H, NH), 10.28 с (1H, OH), 7.50-7.64 м (4H, C₆H₄-CH=). Знайдено, %: С 61,87; Н 3,42; N 11,52. C₂₅H₁₆N₄O₅S. Обчислено, %: С 61,97; Н 3,33; N 11,56.

4-(4-{2-[2-(4-Диметиламінобензиліден)гідразиніл]-1,3-тіазол-4-іл}-феніл)-3-гідроксикумарин (3.11). Суміш 0,36 г (0,001 моль) 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарину (3.4), 0,10 г (0,001 моль) тіосемікарбазиду в 20 мл безводного етанолу кип'ятили 10 хв. До реакційної суміші додали 0,15 г (0,001 моль) 4-диметиламінобензальдегіду і кип'ятили ще 20 хв. Утворений осад відфільтровували, промивали ефіром.

Вихід 0.43 г (89%). Т.пл. 238-240°C (висадження ефіром із суміші етанол-ДМФА). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. ч.: 2.94 с (6H, CH₃), 7.04 д (1H, 2H-хромен-2-он, J 7.8 Гц), 7.22-7.25 м (1H, 2H-хромен-2-он), 7.43-7.49 м (2H, 2H-хромен-2-он), 7.60 д (2H, C₆H₄, J 7.0 Гц), 8.16 д (2H, C₆H₄, J 7.2 Гц), 8.29 с (1H, тiazол), 11.63 с (1H, NH), 10.06 с (1H, OH), 7.52-7.65 м (4H, C₆H₄-CH=). Знайдено, %: С 67,25; Н 4,52; N 11,52. C₂₇H₂₂N₄O₃S. Обчислено, %: С 67,20; Н 4,59; N 11,61.

4-[4-[3-(4-Хлорофеніл)-2-[(4-хлорофеніл)іміно]-2,3-дигідро-4-тіазоліл]феніл]-3-гідроксикумарин (3.12). Суміш 0,36 г (0,001 моль) 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарину (3.4), розчиненого в 5 мл гарячого етанолу, 0,17 г (0,001 моль) 4-хлорофенілізоціанату, розчиненого в 5 мл гарячого етанолу та 0,137 г (0,001 моль) 4-хлораніліну, розчиненого в 10 мл гарячого етанолу злили у колбу та кип'ятили при температурі 78 °С протягом 3 год. Утворений осад відфільтрували, промили водою, висушили.

Вихід 0.38 г (68%). Т.пл. 268-270°C (водний ДМФА). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. ч.: 6.65 с (1H), 6.90 д (J 7.9 Гц, 1H, 2H-хромен-2-он), 6.96 д (J 8.7 Гц, 2H), 7.20-7.25 м (1H, 2H-хромен-2-он), 7.28 – 7.34 м (4H), 7.35 д (J 8.7 Гц, 2H), 7.39 д (J 8.8 Гц, 2H), 7.40-7.44 м (2H, 2H-хромен-2-он), 7.47 д (J 8.8 Гц, 2H), 10.04 с

(1H, OH). Знайдено, %: С 64,45; Н 3,02; N 4,87; Cl 12,61. C₃₀H₁₈Cl₂N₂O₃S. Обчислено, %: С 64,64; Н 3,25; N 5,03; Cl 12,72.

4-[4-[2-[(4-Хлорофеніл)іміно]-2,3-дигідро-3-(фенілметил)-4-тіазоліл]феніл]-3-гідроксикумарин (3.13). Суміш 0,36 г (0,001 моль) 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарину (3.4), розчиненого в 5 мл гарячого етанолу, 0,17 г (0,001 моль) 4-хлорофенілізоціанату, розчиненого в 5 мл гарячого етанолу та 0,25 г (0,001 моль) бензиламіну, розчиненого в 10 мл гарячого етанолу злили у колбу та кип'ятили при температурі 78 °С протягом 4 год. Утворений осад відфільтрували, промили водою, висушили.

Вихід 0,12 г (22%). Т.пл. 222-224 °С (водний ДМФА). Знайдено, % S 5,83; N 5,31; Cl 13,31. C₃₁H₂₁ClN₂O₃S. Обчислено, %: S 5,97; N 5,22; Cl 13,2.

Вивчення антиоксидантної активності сполук (3.5 – 3.9)

Антиоксидантну активність досліджували *in vitro* методом поглинання ДФПГ радикалу. Початкова концентрація ДФПГ у розчині складала 1,5·10⁻⁴ моль/л. Розчини досліджуваних речовин готували в концентрації 1·10⁻³ моль/л. Всі речовини розчиняли в етанолі. Для проведення досліджень змішували 2,7 мл розчину ДФПГ вихідної концентрації та 0,3 мл розчину досліджуваної сполуки. Реакцію проводили за кімнатної температури протягом 30 хв, після чого вимірювали оптичну густину при 517 нм на фотоколориметрі КФК-3. Для контролю змішували 2,7 мл розчину ДФПГ та 0,3 мл етанолу. Як стандарт використовували інол в концентрації 1·10⁻³ моль/л. Радикал-поглинальну активність обчислювали за формулою:

$$РПА = \frac{A_{ДФПГ} - A_S}{A_{ДФПГ}} \times 100\%$$

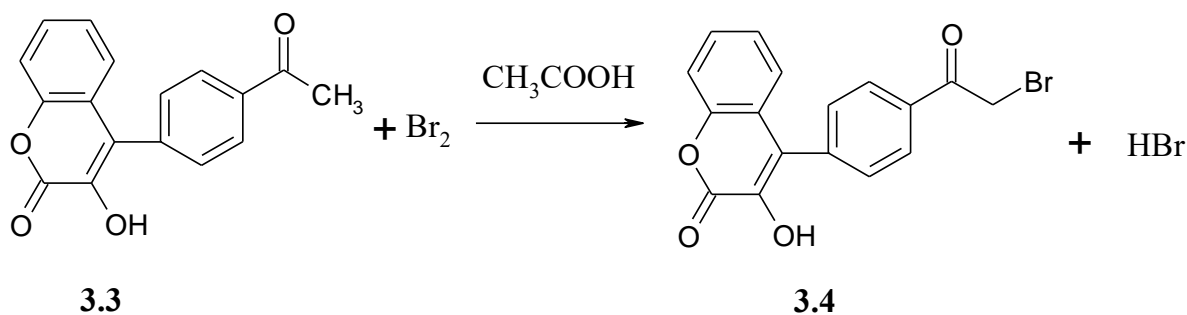
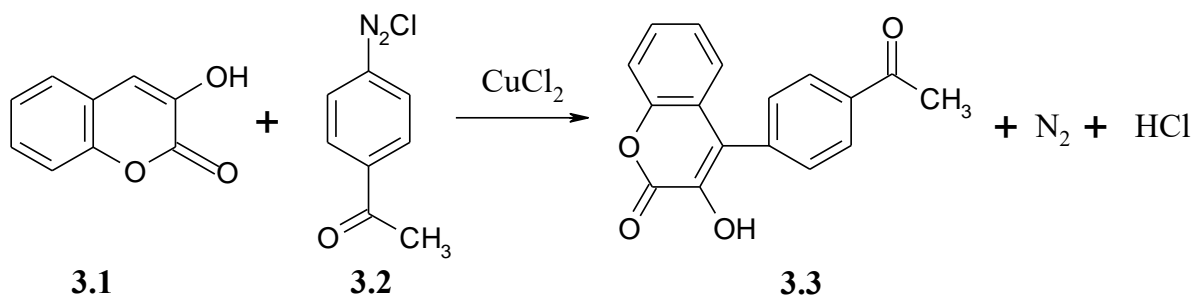
де A_{ДФПГ} – оптична густина розчину вільного радикалу ДФПГ,

A_S – оптична густина розчину ДФПГ із досліджуваною речовиною.

3.2. Обговорення одержаних результатів

Похідні 4-арилкумаринів все ширше використовуються у синтетичній органічній хімії завдяки тому, що володіють широким спектром біологічної активності. Проте, синтезована лише невелика кількість сполук, що мають гетероциклічний замісник у четвертому положенні кумаринового ядра. Тому для досліджень представляють інтерес сполуки з 3-гідрокси-4-фенілкумариновим замісником.

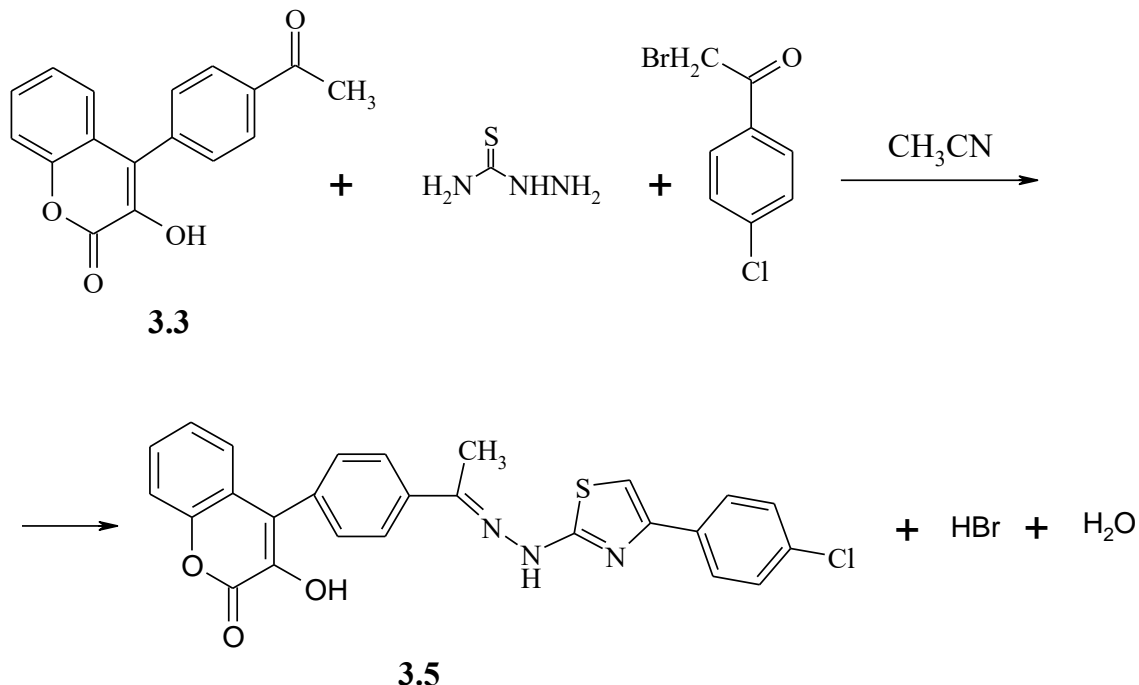
Зручним реагентом для конструювання таких гетероциклів є 4-(4-ацетилфеніл)-3-гідроксикумарин (**3.3**). Він отриманий реакцією арилювання 3-гідроксикумарину (**3.1**) 4-ацетилфенілдіазоній хлоридом (**3.2**) у водно-ацетоновому середовищі за наявності каталітичної кількості купрум(II) хлориду. Бромовання сполуки (**3.3**) в середовищі оцтової кислоти приводить до утворення 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарину (**3.4**).



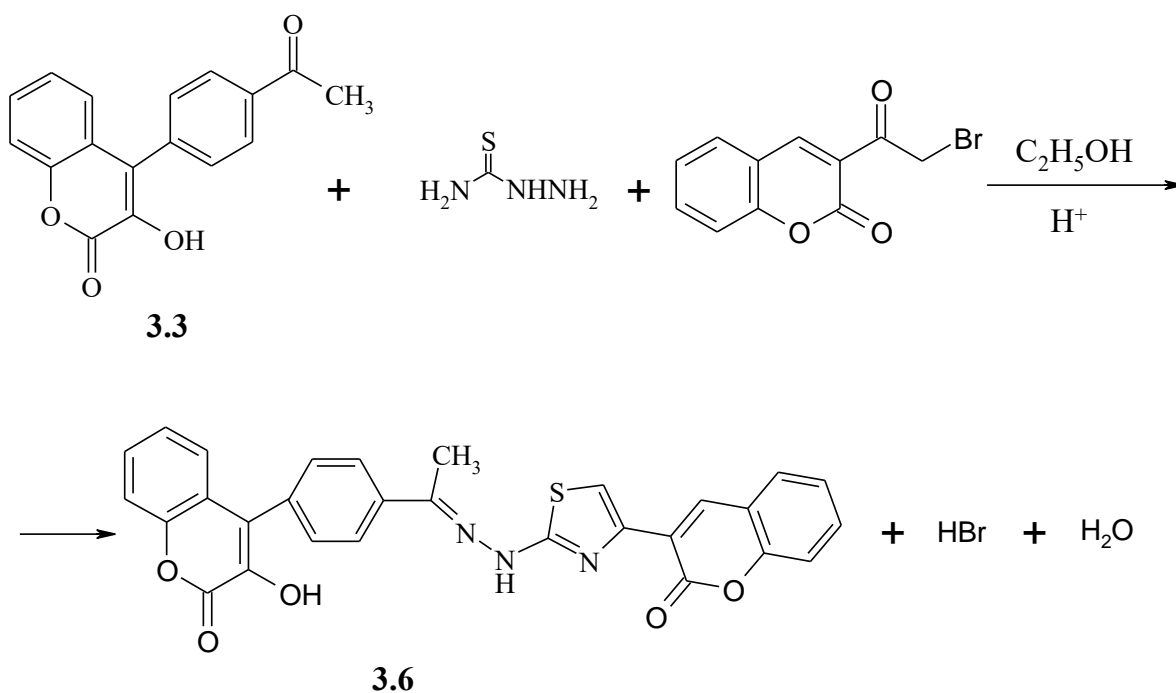
Сполуки, що містять тiazольний цикл також володіють біологічною активністю [28]. Поєднання двох і більше гетероциклічних фрагментів в одній молекулі може привести до одержання речовин з цікавими властивостями.

Користуючись реакцією Ганча ми вивчили реакцію α -бромкетону (**3.3**) з тиосемікарбазидом. Формування тiazольного циклу може здійснюватись на основі трикомпонентних реакцій, які мають ряд переваг, зокрема простота

проведення та економічність. Взаємодія 4-(4-ацетилфеніл)-3-гідроксикумарину (3.3) з тиосемікарбазидом і *p*-хлорфенацетилбромідом в ацетонітрилі приводить до утворення похідного тiazолу з 3-гідрокси-4-фенілкумариновим фрагментом (3.5).



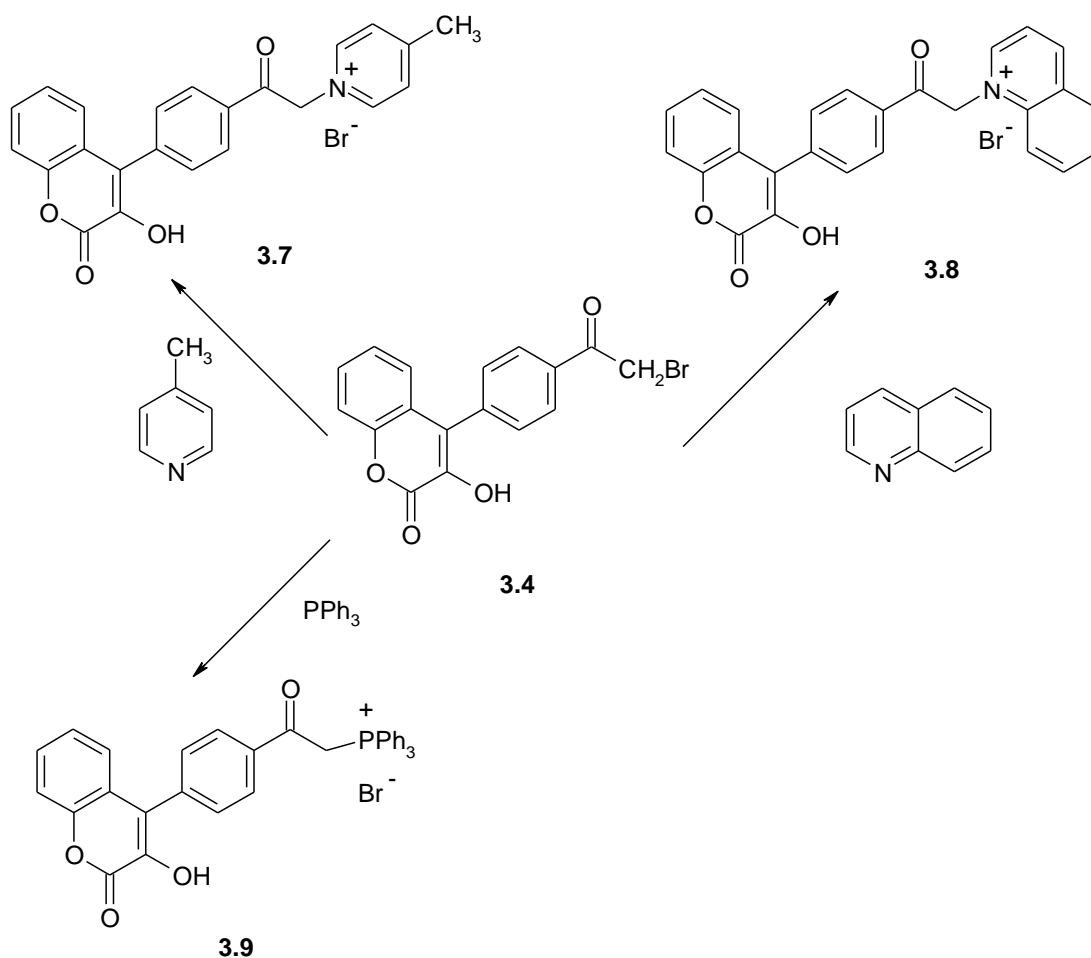
Конденсацією сполуки (3.3) з тиосемікарбазидом та 3-бром-ацетилкумарином, яка проходить в етанолі і за наявності каталітичної кількості оцтової кислоти, отримано продукт, що містить два кумаринові фрагменти (3.6).



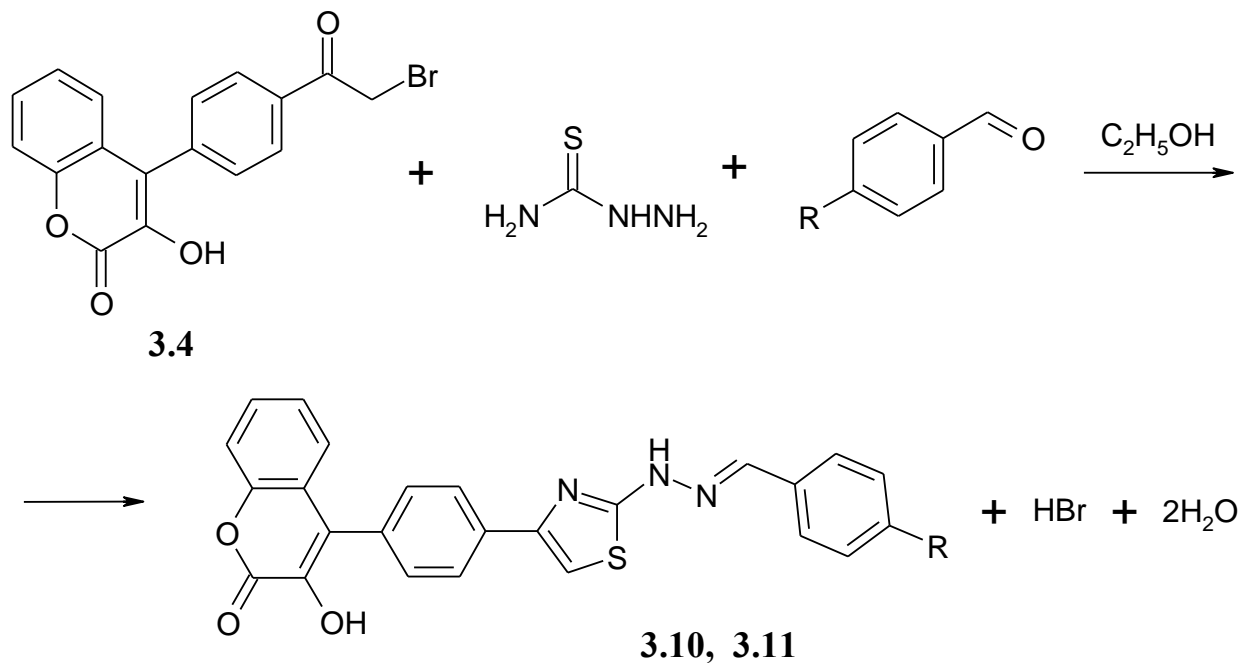
В сполуках **3.5** та **3.6** смуги поглинання C=N зв'язків в області 1630 і 1635 cm^{-1} , а NH зв'язку виявляється при 3245 та 3250 cm^{-1} . Наявність тiazольного кільця підтверджується смугою поглинання при 1548 cm^{-1} .

4-[4-(2-Бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарин (**3.4**) використаний в синтезі четвертинних солей. Реакція сполуки (**3.4**) з 4-метилпіридином, хіноліном та трифенілфосфіном проходить за кип'ятіння в толуені з утворенням відповідних онієвих солей (**3.7**), (**3.8**) та (**3.9**).

В ІЧ спектрах солей (**3.7**), (**3.8**) смуга поглинання карбонільної групи фрагмента COCH₂ спостерігається в області 1670-1685 cm^{-1} , коливання зв'язку CH₂-N характеризується поглинанням при 3410 cm^{-1} . Смуга поглинання карбонільної групи кумаринового циклу знаходиться в області 1710-1720 cm^{-1} , а гідроксильної групи – в області 3345-3360 cm^{-1} . В ІЧ спектрі фосфонієвої солі **3.9** смуга поглинання C=O групи виявляється при 1675 cm^{-1} .



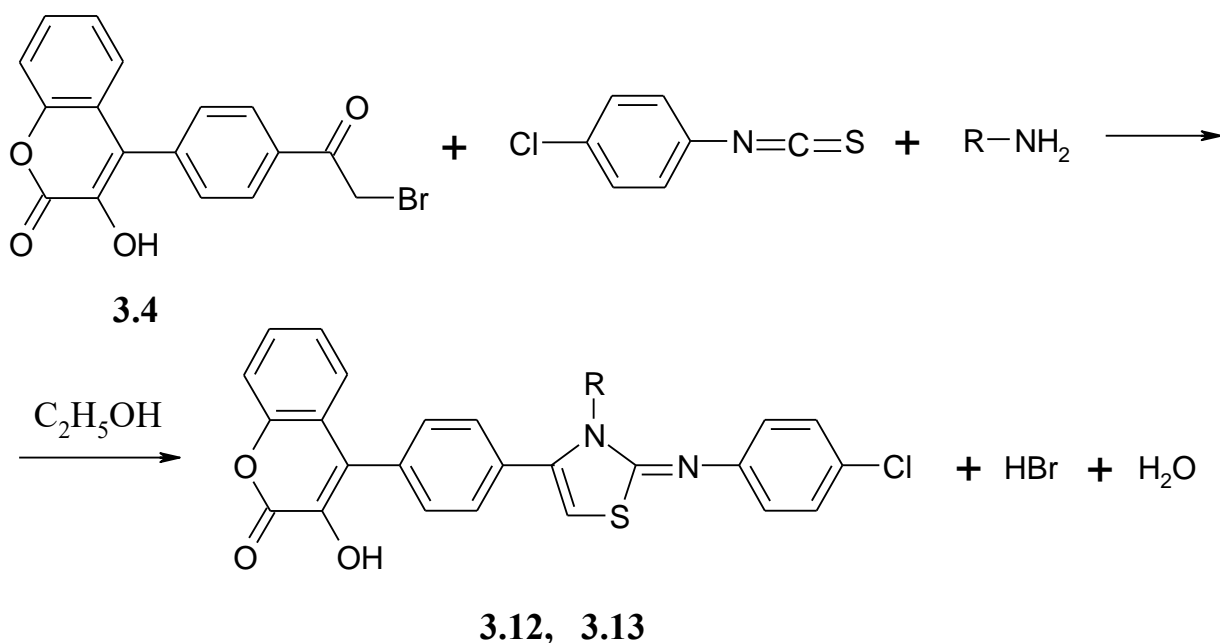
Під час взаємодії сполуки (3.4) за реакцією Ганча з тіосемікарбазидом за нагрівання в етанолі та наступному додаванні до реакційної суміші 4-нітробензальдегіду або 4-диметиламінобензальдегіду отримано похідні тіазолу з 4-фенілкумариновим фрагментом 3.10, 3.11.



R = NO₂ (3.10), R = N(CH₃)₂ (3.11)

Наявність у сполуках 3.10, 3.11 тіазольного циклу підтверджується смугами поглинання в області 1540-1550 см⁻¹. Поглинання зв'язку C=N в нітрогеновмісних гетероциклах спостерігається при 1608-1635 см⁻¹.

Було з'ясовано, що 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарин (3.4) взаємодіє з 4-хлорофенілізоціанатом та 4-хлораніліном або бензиламіном в абсолютному етанолі з формуванням 2,3-дигідротіазольного циклу й утворенням сполук (3.12), (3.13).



Брутто-формули сполук були підтверджені даними елементного аналізу. Будова речовин підтверджена даними ІЧ та ЯМР-спектроскопії.

Синтезовані сполуки були протестовані на антиоксидантну та антибактеріальну активність.

Таблиця 1

Результати визначення антиоксидантної активності сполук (3.5-3.9).

Номер речовини	Радикал-поглинальна активність, %
3.5	66,9
3.6	32,4
3.7	34,7
3.8	32,8
3.9	31,2
Іюнол	66,7

Із табл. 1 видно, що речовина (3.5) виявила найбільшу радикал-поглинальну активність. Активність речовин (3.6 – 3.9) знаходиться в межах 31,2 – 34,7%.

Синтезовані сполуки також були протестовані на антибактеріальну та антимікотичну активність. Ці дослідження були проведені у відділі медико-екологічних проблем Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені Л.І. Медведя. Антимікробну активність порівнювали з Ciprofloxacin , а антимікотичну – з Fluconazole. Активність четвертинних солей порівнювали з етонієм.

Таблиця 2

Антибактеріальна та антимікотична активність речовин (3.3, 3.4, 3.7-3.11)
(мінімальні інгібуючі концентрації, мкг/мл)

Сполука	<i>S. typhimurium</i> 4414 №1	<i>P. mirabilis</i> 410 №2	<i>S. aureus</i> ATCC №25923 №3	<i>P. aeruginosa</i> ATCC №27853 №4	<i>B. subtilis</i> ATCC №6633 №5	<i>C. albicans</i> №6	<i>S. cerevisiae</i> 61 №7
3.3	125	500	500	500	н/а	500	≤ 3,9
3.4	125	250	≤ 0,24	500	≤ 0,24	62,5	≤ 3,9
3.7	250	250	0,98	500	31,3	62,5	62,5
3.8	500	250	1,95	500	250	125	125
3.9	500	250	0,98	500	н/а	500	≤ 3,9
3.10	250	250	500	500	н/а	500	500
3.11	500	250	н/а	н/а	н/а	500	250
<i>Ciprofloxacin</i>	1	1	2	4	1	-	-
<i>Fluconazole</i>	-	-	-	-	-	16	8
<i>Етоній</i>	500	500	0,98	500	31,3	500	500

н/а – сполука не проявляла дії в найбільшій досліджуваній концентрації – 500 мкг/мл.

Із наведеної табл. 2 видно, що сполука (3.9) виявилася найбільш активною проти грам-позитивних бактерій *S. aureus* ATCC №25923 (штам 3) та

проти дріжджоподібних грибів *S. cerevisiae* 61 (мінімальні інгібуючі концентрації 0,98 мкг/мл та $\leq 3,9$ мкг/мл відповідно). Досить високу активність проявила сполука (3.4) по відношенню до грам-позитивних (штам 3), споротворних бактерій (штам 5), а також до дріжджоподібних грибів (штам 6 та 7). Сполука (3.3) виявилась активною лише проти дріжджоподібних грибів *S. cerevisiae* 61(штам 7), а сполука (3.8) лише проти грам-позитивних бактерій золотистого стафілококу *S. aureus* ATCC №25923 (штам 3). Сполука (3.7) проявила високу активність проти чотирьох штамів бактерій (золотистого стафілококу *S. aureus* ATCC №25923, споротворних бактерій *B. subtilis* ATCC №6633, дріжджоподібних грибів *C. Albicans* та *S. cerevisiae* 61). Речовини 3.5, 3.6, 3.12, 3.13 взагалі не виявили дії у найвищій застосованій концентрації, тому в таблиці ми їх не наводили.

Отже, можна сказати, що деякі із синтезованих нами речовин є перспективними для їх подальшого вивчення.

ВИСНОВКИ

1) Встановлено, що 4-(4-ацетилфеніл)-3-гідроксикумарин та 4-[4-(2-бромацетил)-феніл]-3-гідроксикумарин є зручними реагентами для формування тіазольного циклу на основі трикомпонентних реакцій.

2) Запропоновано спосіб одержання похідних 2,3-дигідротіазолу з 4-фенілкумариним замісником на основі взаємодії 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарину, 4-хлорофенілізоціанату з 4-хлораніліном та бензиламіном.

3) Показано, що здатність досліджуваних сполук до інгібування вільного радикала знаходиться в межах 31,2 - 66,9 %.

4) Здійснено первинні дослідження антимікробної та антимікотичної активності синтезованих речовин. Виявлено, що сполуки 4-[4-(2-бромацетил)феніл]-3-гідроксикумарин та 4-метилпіридинієва сіль, одержана на його основі, виявляють високу активність проти грам-позитивних та споротворних бактерій, а також дріжджоподібних грибів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Зиновьева М.Л. Биологическая активность кумарина и его метаболита умбеллиферона. Роль метаболитов в реализации его токсического действия (обзор литературных данных) / М.Л. Зиновьева, Е.А. Сластья, П.Г. Жминько // *наук. практ. журнал Інституту екологієни і токсикології ім. Л.І. Медведя*. - К. : Медицина України. – 2009. - № 3/4. – С. 37 – 45.
2. Kang Deuk Seo. Coumarin dyes containing low-band gap chromophores for dye-sensitised solar cells / K. D. Seo, H. M. Song, M. J. Lee, et al. // *Dyes and Pigments*. – 2009. – Vol. 90. – N.3. – P. 304–310.
3. Jens Z. Pedersen. Antioxidant activity of 4-methylcoumarins / Jens Z. Pedersen, Cristina Oliveira, Sandra Incerpi, Vineet Kumar, Anna Maria Fiore et. all. // *Journal of Pharmacy and pharmacology*. – 2007. – N.59. – P. 1721–1728.
4. <http://kayiles.ru/page/vilni-radikali-i-antioksidanti>
5. <http://diagnoz.net.ua/xvorobu/18852-scho-take-vln-radikali-ta-yak-voni-utvoryuyutsya.html>
6. Hwang I.-T. A Facile Synthesis of Highly Functionalized 4-Arylcoumarins via Kostanecki Reactions Mediated by DBU / Hwang I.-T., Lee S.-A., Hwang J.-S. and Lee K.-I. // *Molecules*. – 2011. – Vol. 16. – P. 6313 – 6321.
7. Mukerjee S.K. The structure of exostemin and Synthesis of some related 4-phenyl coumarins / Mukerjee S.K., Saroja T. and Seshadri T.R. // *Tetrahedron*. - 1968. - Vol.24. – P. 6527 – 6534.
8. Kawate T. Synthesis and structure-activity relationships of phenyl-substituted coumarins with anti-tubercular activity that target FadD32 / Kawate T., Iwase N., Shimizu M., et. al. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2013. – Vol. 23. – P. 6052 – 6059.
9. Rizzs E. Short Synthesis of Cytotoxic 4-Arylcoumarins / Rizzs E., Dallavalle S., Merlini L., et al. // *Synth. Commun.* – 2006. – Vol. 36. – P. 1117 – 1122.
10. Федоров, А. Ю. Каталитические методы создания и функционализации кумаринового скелета / Федоров А. Ю., Нючев А. В., Белецкая И. П. // *Химия гетероциклических соединений*. – 2012. – Т. 1. – С. 175 – 186.

- 11.Хасанов В. В. Методы исследования антиоксидантов / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2004. – №3. – С. 63-95.
- 12.Fereidoon Shahidi. Measurement of antioxidant activity / Fereidoon Shahidi, Ying Zhong // Journal of functional foods – 2015. – Vol. 18, Part B. – P. 757 – 781.
- 13.Алексеев А. В. Определение антиоксидантов методом активированной хемилюминесценции с использованием 2,2'-азо-бис(2-амидинопропана) / Алексеев А. В., Проскурнина Е. В., Владимиров Ю. А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия. — 2012. — Т. 53, № 3. — С. 187–193.
- 14.S. Cavar. Synthesis and antioxidant activity of selected 4-methylcoumarins. / S. Cavar , F. Kovač, M. Maksimović // Food Chem. – 2009. – Vol. 117. – P. 135–142.
- 15.Torres R. Antioxidant activity of coumarins and flavonoids from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius* / Torres R., Faini F., Modak B., Urbina F., et. al. // Phytochemistry, 67. – 2006. – P. 984 – 987.
- 16.Rodriguez S.A. Effect of different C3-aryl substituents on the antioxidant activity of 4-hydroxycoumarin derivatives. / Rodriguez S.A., Nazareno M.A., Baumgartner M.T. // Bioorg. Med. Chem. – 2011. – P. 6233 – 6238.
- 17.Matos M. J. Insights into the antioxidant activity of phenolic compounds: Synthesis and electrochemical study of new series of hydroxycoumarins / M. J. Matos, P. Janeiro, L. Santana, A. Gaspar, F. Borges., et. al. // *The 15th Int. Electron. Conf. Synth. Org. Chem.* – 2011.
- 18.Galm U. Antimicrobial and DNA Gyrase-Inhibitory Activities of Novel Clorobiocin Derivatives Produced by Mutasynthesis. / U. Galm, S. Heller, S. Shapiro, M. Page, Shu-Ming Li , L. Heide. // Antimicrob. Agents Chemother. – 2004. – Vol. 48. – No. 4. – P. 1307–1312.
- 19.<https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D0%9A-%D0%B3%D0%B8%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%B0>
- 20.Яковлева О.О. Тактика вибору антибіотиків: навч. посіб. для студ. вищих мед. навч. заклад. / О.О. Яковлева, С. А. Іванова, І. Ф. Семененко [та ін.] ; за ред. проф. О. О. Яковлевої. – Вид. 3-тє. – Вінниця: Нова Книга. – 2012. – С. 73.

21. Musicki B. Improved Antibacterial Activities of Coumarin Antibiotics Bearing 5',5'-Dialkylnoviose: Biological Activity of RU79115. / B. Musicki, A.-M. Periers, P. Laurin, D. Ferroud., et. al. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* – 2000. – P. 1695-1699.
22. De Souza S.M. Antibacterial activity of coumarins. / S.M. de Souza, F.D. Monache, A. Smania // – 2005. – P. 693 – 700.
23. Završnik D. Synthesis, structure and antibacterial activity of 3-substituted derivatives of 4-hydroxycoumarin. / D. Završnik, S. Spirtovic-Halilovic, D. Softic. / *Period. biol.* – 2011. – Vol. 113. – No. 1. – P. 93-97.
24. Бондаренко С. П. Синтез і вивчення антиоксидантної активності 6- та 7-гідрокси-3-арилкумаринів. / С. П. Бондаренко, М. С. Фрасинюк, В. П. Хиля, Т. М. Пантелеймонова, І. С. Безверха // *Ukr. Bioorg. Act.* – 2012. – Т. 1. – С. 42 - 47.
25. http://www.rusnauka.com/9_KPSN_2011/Chimia/6_82947.doc.htm
26. Дронова М. Л. Антибактеріальна активність 1-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)феноксил]-3-(N-бензил-4-метилпіперидиній)-2-пропанолу хлориду. / М. Л. Дронова, С. І. Войчук, Н. О. Вринчану // *Укр. Біофарм. Журн.* - 2015. - №6 - С. 92.
27. Нещадін А. 4-(4-ацетилфеніл)-3-гідроксикумарин – зручний реагент для конструювання гетероциклічних систем. / А. Нещадін, Х. Піткович, О. Єленіч, Р. Литвин, Ю. Горак, О. Мотовильський, П. Ягодинець. // *Вісник Львівського ун-ту.* – 2015. В.56. Ч.2. – С. 248 – 253.
28. Velpula R. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Novel 3,6-Disubstituted Coumarin Derivatives / R. Velpula, R. Gondru, Y. Velivela, R. Bavantula // *Synth. Commun.* – 2015. – Vol.45. – P.578-585.