

Struktura i biološka aktivnost kumarinskih spojeva

Novaković, Jovana

Undergraduate thesis / Završni rad

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:109:744361>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-26**



image not found or type unknown

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
PREHRAMBENO – TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

PREDDIPLOMSKI STUDIJ PREHRAMBENE TEHNOLOGIJE

Jovana Novaković

Struktura i biološka aktivnost kumarinskih spojeva

završni rad

Osijek, 2014.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek

Preddiplomski studij prehrambene tehnologije

Struktura i biološka aktivnost kumarinskih spojeva

Studentica: **Jovana Novaković**

3326/10

Mentor: dr. sc. Milan Čačić, docent

Predano:

Pregledano:

Ocjena:

Potpis mentora:

SADRŽAJ

1. OPĆI DIO.....	3
1.1 Struktura i primjena kumarina.....	3
2. Kemijska svojstva kumarina i hidroksumarina	6
2.1. Kemijska svojstva kumarina.....	6
2.2. Podijela kumarina i derivati kumarina.....	8
2.3. Kemijska svojstva hidroksumarina	9
2.4. Biološko djelovanje kumarina.....	9
2.5. Antioksidacijska svojstva kumarina i derivata kumarina.....	10
2.6. Antikancerogeno djelovanje.....	10
3. Upotreba u medicini i protuupalna svojstva.....	13
4. Metabolizam kumarina	13
5. ZAKLJUČAK:	15
6. Literatura:	16

SAŽETAK:

Kumarin je kemijski spoj koji se može izolirati iz velikog broja biljaka i široko je rasprostranjen u prirodi. Kumarin i njegovi derivati pokazuju niz bioloških aktivnosti, međutim njegova upotreba je ograničena. Kao model proučavanja toksičnosti kumarina vrlo često su se koristili štakori, ali novija istraživanja pokazuju da je metabolizam, a samim time i štetnost kumarina, kod ljudi i štakora različita.

Ključne riječi: kumarin, metabolizam, toksičnost, biološka aktivnost.

Summary

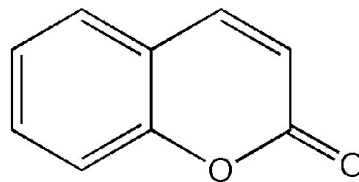
Coumarin is a chemical compound that can be isolated from a number of plants and is widely spread in nature. Coumarin and its derivatives show a lot of biological activities, however its use is limited. As models in the studies of toxicity of coumarin rats were often used, but newest research show that the metabolism, and with that the harmfulness of coumarin, is different in people and rats.

Key words: coumarin, metabolism, toxicity, biological activity.

1. OPĆI DIO

1.1 Struktura i primjena kumarina

Kumarini su široko rasprostranjeni sastojci u biljnom svijetu, osim što daju miris mnogim biljkama, pronađeni su i u produktima metabolizma mikroorganizama i životinja. Kumarin je bezbojan kristalni organski spoj, opće formule $C_9H_6O_2$.



SLIKA 1. Struktura kumarina

Prisutnost kumarinskih derivata u biljkama je vrlo česta, a mnoge od tih biljaka se upotrebljavaju u tradicionalnoj medicini od davnina (Ćavar i sur., 2009; Mata i sur. 1987;1988). Prvi je put kumarin izoliran iz plodova tropskog drveta *Dipteryx odorata* L. iz porodice mahunarki (*Fabaceae*).



SLIKA 2. Stablo i plodovi biljke *Dipteryx odorata* L

Kumarin je prvi put identificiran 1820. godine. Prirodni je sastojak biljaka kao što su: djetelina, trava, lavanda, cimet, te raznog voća kao što su: jagode, kajsije i višnje, ali se u današnje vrijeme može proizvesti i sintetskim putem. Kumarine nalazimo u većoj količini u nekim eteričnim uljima, osobito ulju cimeta (7,000 ppm), ulju lista kineskog cimeta (kasije) (do 83,300 ppm) (Lacy i ÓKennedy, 2004) i lavandinom (*Lavandula latifolia*, *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*) (Guyot-Declerck i sur., 2002; Shimizu i sur., 1990) ulju. Kumarine u prirodi najviše nalazimo u biljkama porodice *Rutaceae* i *Umbelliferae* (Lacy i ÓKennedy, 2004).

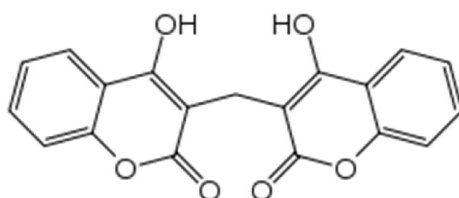
Imaju specifičan miris na pokošenu travu ili sijeno u čistoj kristalnoj formi imaju blagi okus vanilije (Liu i sur., 2010). S obzirom da na kumarinskom prstenu postoji 6 položaja na kojima se može vršiti supstitucija, poznato je mnoštvo različitih derivata kumarina, bilo sintetskih ili prirodnih, a takva strukturna raznolikost uzrok je mnoštvu različitih bioloških aktivnosti.

Kumarin se koristi kao sredstvo za fiksiranje i pojačavanje mirisa u parfemima i dodaje se sapunu i detergentima, pasti za zube, duhanskim proizvodima i nekim alkoholnim pićima (Lake, 1999), koriste se kao zaslađivač, dodatak hrani u kombinaciji s vanilom (Tyagi i sur., 2005)

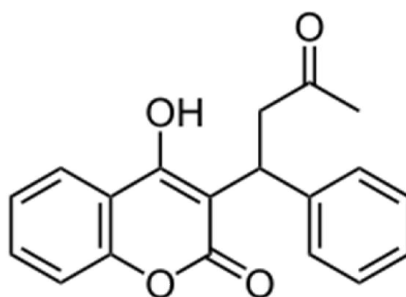
Sadržaj kumarina u kozmetičkim proizvodima reguliran je zakonom EU (European Commission, 1976), koji zahtjeva označavanje na proizvodima ukoliko je kumarin prisutan u količini većoj od 10 ppm u proizvodima koji se zadržavaju na koži i 100 ppm u proizvodima koji se ispiru sa kože. Kumarin se koristi kao aditiv u parfemima i mirisnim proizvodima u koncentracijama od 0,5 % do 6,4 % i manje od 0,01 % u detergentima (European Commission, 2006). Kumarin u mnogim zemljama od 20-og stoljeća zabranjen kao dodatak hrani jer je umjereno toksičan za jetru i bubrege. Iako je zabranjen kao dodatak hrani, dozvoljena je upotreba aditiva koji ga sadrže, ali samo alkoholnim pićima (Maiwein-vino s lazarkinjom; Zubrowka (votka sa dodatkom bizonske trave)) (Raters i Matissek, 2008). Maksimalno dopuštena količina kumarina u hrani i nealkoholnim pićima u Hrvatskoj propisana je Pravilnikom o aromama (Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi RH, 2010), koji je usklađen sa novom uredbom Europskog vijeća 1334/2008 (European Commission, 2008), i iznosi 5 mg/kg za deserte, 15 mg/kg za fine pekarske proizvode (osim tradicionalnih pekarskih proizvoda s cimetom, koji je naveden na deklaraciji), 20 mg/kg za žitarice za doručak i 50

mg/kg za tradicionalne pekarske proizvode s cimetom, koji je naveden na deklaraciji. Do usklađivanja s novom uredbom Europskog vijeća 1334/2008, u Hrvatskoj su propisi dopuštali razinu kumarina u hrani do 2 mg/kg s izuzetkom alkoholnih pića i karamela (do 10 mg/kg) te guma za žvakanje (50 mg/kg). Novom Uredbom ove su vrijednosti višestruko povećane, pa se za većinu namirnica kreću između 5 i 20 mg/kg do čak 50 mg/kg za novouvedenu kategoriju tradicionalnih pekarskih proizvoda s cimetom, koji je naveden na deklaraciji. Većina proizvoda koji nisu odgovarali u pogledu udjela kumarina odredbama Pravilnika o aromama, udovoljava novim zahtjevima (Papić, 2009).

Najpoznatiji derivati kumarina su dikumarol i varfarin. Dikumarol se dobiva djelovanjem formaldehoda na 4-hidroksikumarin. Inhibitor je vitamin K i kao takav koristi se kao lijek kod pojave krvnih ugrušaka i u oftamologiji, kod liječenja povišenog očnog tlaka, jer svojim antikoagulativnim svojstvima poboljšava cirkulaciju u kapilarnim mrežama (Horpurgo, 1951).



Dikumarol



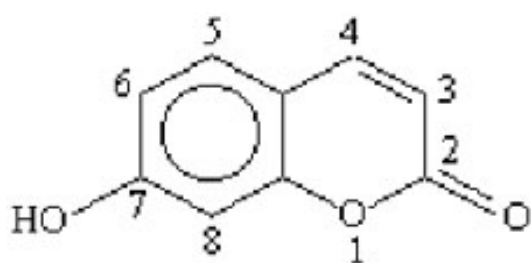
Varfarin

2. Kemijska svojstva kumarina i hidroksikumarina

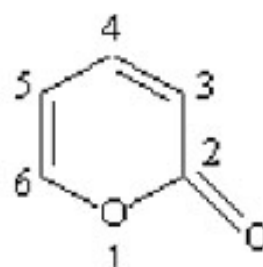
2.1. Kemijska svojstva kumarina

Kumarin se sastoji od kondenzirane benzenske jezgre s heterocikličkim α -pironskim prstenom. Karbonilna skupina i 3,4-dvostruke veze zaslužni za svojstva i reaktivnost piroanskog prstena. S obzirom da kumarini imaju benzenski prsten za njih je karakteristična reakcija supstitucije. Derivati kumarina su znatno manje aromatični od benzena dok kumarin posjeduje 40%-tnu aromatičnost benzena. Proširenje sustava konjugiranih dvostrukih veza na bočni lanac dovest će do aromatizacije kumarinskog sustava i potpune stabilizacije. Taj slučaj imamo kod varfarina.

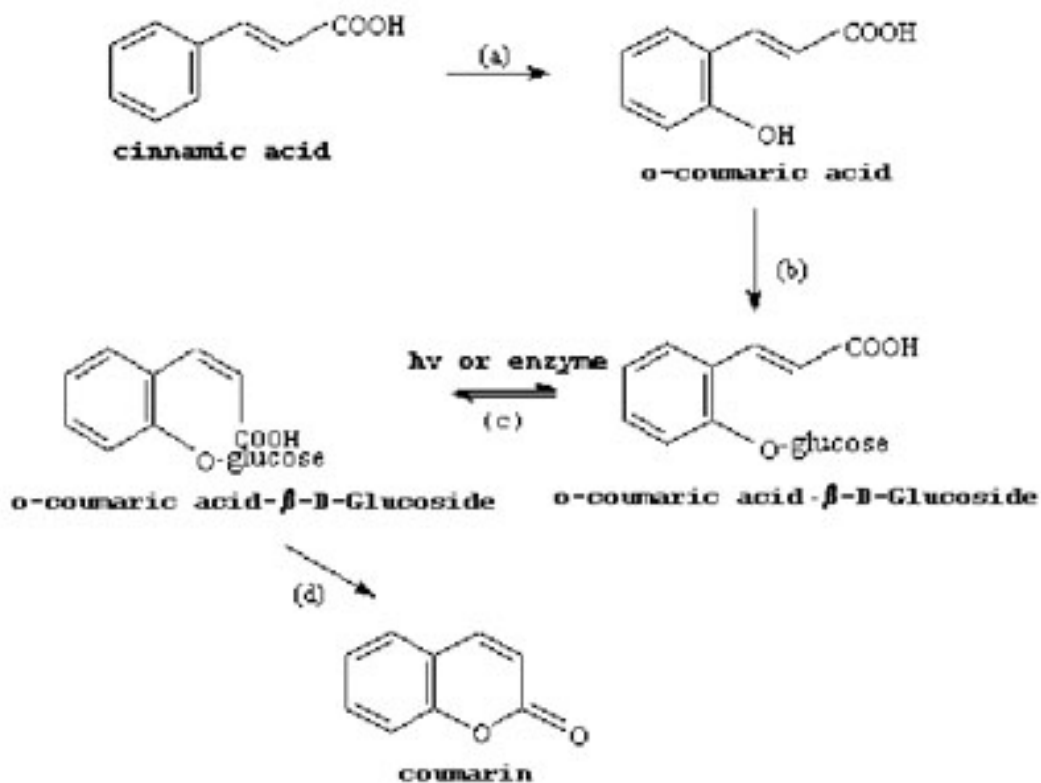
Kemijska struktura:



2H - 1 - benzopyran - 2 - one
"coumarin"



2 - pyrone



U tablici 1.prikazane su fizikalno-kemijske karakteristike kumarina

Tablica 1. Fizikalno-kemijske karakteristike kumarina

Kumarin	
Kemijsko ime (IUPAC)	2 <i>H</i> -chromen-2-one
Kemijska formula	C ₉ H ₆ O ₂
Molarna masa	146.14 g mol ⁻¹
Točka tališta	71 °C
Točka vrelišta	301 °C
Gustoća	0.935 g / cm ³ (20 °C)

2.2. Podijela kumarina i derivati kumarina

Prirodni kumarini se dijele na:

1. Kumarini, hidrokumarini, i glikozidi (metilozoid)

2. Hidroksi-metoksi-(alkoksi)-i metilenhidroksikumarini
 - a) s hidroksilnim ili alkoksilnim grupama na benzenskom prstenu
 - b) s hidroksilnim ili alkoksilnim grupama na α -pironskom prstenu
 - c) hidroksi ili metoksikumarini alkilirani u benzenskom ili pironskom prstenu

3. Furokumarini ili kumaron- α -pironi, koji sadrže supstituente u benzenskom, furanskom ili pironskom prstenu
 - a) derivati psoralena, tj. furokumarini kod kojih je furanska jezgra kondenzirana s kumarinom u položaj 6,7

 - b) derivati angelicina tj. furokumarini kod kojih je furanska jezgra kondenzirana sa kumarinom u položaju 7,8

4. Piranokumarini ili kromeno - α - pironi, koji sadrže prsten 2',2' – dimetilpirana, kondenziran sa kumarinom u 5,6 – položaju ili 7,8 – položaju, a sami mogu biti supstituirani u benzenskom prstenu ili nekoj od heterocikličkih jezgara.

5. 3,4 – Benzokumarini

6. Kumarini sa benzofuranskim prstenom kondenziranim sa kumarinom u 3,4 – položaju (kumestrol)

7. Složeniji spojevi u kojima dolazi kumarinski sistem (novobiocin, aflatoksini).

2.3.Kemijska svojstva hidroksikumarina

Kumarini koji u svojoj strukturi sadrže hidroksilnu skupinu nazivamo hidroksikumarinima. Hidroksilna skupina može biti smještena na pironskom i benzenskom prstenu. Kod hidroksikumarina α -pironski prsten ulazi u reakcije supstitucije pod blagim uvjetima, stvarajući 3-supstituirane hidroksikumarine, jer je benzenski prsten s hidroksikumarinima manje reaktivan od benzenskog prstena derivata benzena. U nepolarnim i neutralnim otopinama ravnoteža je pomaknuta u stranu laktorskog oblika, a to je vidljivo iz manje energije rezonancije hidroksikumarina u keto-obliku u odnosu na laktoski oblik. Također se može uočiti da je razlika u energiji kod 4-hidroksikumarina minimalna, pa je kod njega tautomerija najvjerojatnija. Kiselost hidroksikumarina ovisi o gustoći elektrona na atomima ugljika i kisika. Što je manja gustoća elektrona na atomu kisika, lakše se odcjepljuje proton i spoj ima veću kiselost. Najkiselija svojstva ima 4-hidroksikumarin.

2.4.Biološko djelovanje kumarina.

Kumarini su poput drugih flavonoida i polifenolnih spojeva, snažni antioksidansi kako u hidrofilnom tako i u lipofilnom okolišu (Alves i sur, 1993). Karakterizira ih raznolika biološka aktivnost koja uključuje dokazano antikoagulacijsko, estrogenu, dermalno fotosenzitirajuće, antimikrobno, vazodilacijsko, moluskicidno (ubijanje mekušaca) djelovanje, djeluju kao antihelmintici (paraziti, crvi (helminti) u živim organizmima, najčešće probavnom sustavu), sedativi i hipnotici, a pokazuju i analgetsko i hipotermičko djelovanje. Neki od kumarina mogu uzrokovati značajne promjene u regulaciji imunološkog odgovora, rastu stanica i diferencijaciji (Lacy i O'Kennedy, 2004). Kumarini se nalaze u širokoj primjeni kao snažni terapijski agensi u liječenju koagulacijskih bolesti tako da sudjeluju u kontroli nekih serinskih proteaza, no mehanizam protuplanog djelovanja kumarina još uvijek nije u potpunosti razjašnjen (Alves i sur, 19).

2.5. Antioksidacijska svojstva kumarina i derivata kumarina

Biljni ekstrakti koji sadrže derivate kumarina su se u povijesti često koristili kao biljni lijekovi. Kumarini su vrlo aktivni spojevi pa tako kumarini s fenolnim hidroksilnim skupinama pokazuju sposobnost hvatanja slobodnih radikala (Čačić i Molnar, 2010a; Čačić i sur., 2010b; Čačić i sur., 2011), osobito reaktivnih kisikovih vrsta (Dighe i sur., 2010; Kalkambar, 2011) i često se koriste kao inhibitori ciklooksigenaze i lipoksigenaze u upalnom ciklusu (Kalkhambkar, 2011). Mnoštvo kumarina utječe na formaciju i hvatanje reaktivnih kisikovih (ROS) i dušikovih vrsta (RNS) i na taj način djeluju kao antioksidansi, što uključuje niz različitih molekularnih djelovanja i vjerojatno je povezano s njihovom strukturnom sličnošću s flavonoidima i benzofenonima (Ćavar i sur., 2009). 7-Hidroksikumarin je prirodni benzopiron, ljudski metabolit i ima važnu ulogu kao antioksidans u ljudskoj prehrani (voće i povrće) (Farshori i sur., 2011). Za 7-hidroksikumarin i njegove derivate nađeno je da im je mehanizam djelovanja povezan s aktivacijom mitogenom aktiviranih proteinskih kinaza ERK1 i ERK2. 7-Hidroksikumarin inhibira relaksaciju DNA koju katalizira topoizomeraza.

2.6. Antikancerogeno djelovanje

Dosadašnjim studijama u kojima su ispitivani protutumorski učinci 7-hidroksikumarina i njegovih derivata, kao i 4-tiazolidinona i njegovih derivata nađeno je da su oni snažni i selektivni antiproliferativni agensi za brojne karcinome čovjeka. Djeluju tako da aktiviraju signalne puteve u stanici koji su povezani sa staničnom diferencijacijom i apoptozom (Lyons i Clarke, 1997). Kumarin i 7-hidroksikumarin inhibiraju proliferaciju mnoštva humanih staničnih linija in vitro, a pokazuju i aktivnost protiv nekoliko životinjskih tumora. Prema istraživanjima, konzumacija namirnica koje sadrže kumarin pruža određenu zaštitu od inicijacije hepatokarcinogeneze uzrokovane aflatoksinom B1 u štakora (Kostova, 2005). Kumarin i njegovi metaboliti pokazuju antitumorsku aktivnost na nekoliko linija stanica tumora kod ljudi, pokazali su se kao inhibitori stanične proliferacije kod stanica želučanog karcinoma, a već je dokazana aktivnost kumarina protiv raka prostate, malignog melanoma i metastatskog renalnog staničnog karcinoma (Kostova, 2005). Osim što se mogu koristiti u liječenju raka, kumarini se mogu koristiti i u tretmanima ublažavanja nuspojava izazvanih

radioterapijom (Ramesh i Pugalendi, 2005). Kumarini bi također mogli naći primjenu u liječenju karcinoma bubrežnih stanica i kao dodatna kemijska terapija za melanom (Lacy i O'Kennedy, 2004).

Tablica 1. Biološko djelovanje kumarina i derivata kumarina

Biološko djelovanje	Izvor
Antiinflamatorno djelovanje, in vitro i in vivo	Ojala (2001); O'Kennedy i Thornes (1997); Sardari i sur. (2000); Silvan i sur. (1996)
Analgetsko djelovanje	O'Kennedy i Thornes (1997)
Antifungalna aktivnost	Sardari i sur. (1999); Farshori i sur. (2011)
Antiaritmičko djelovanje	Sardari i sur. (2000)
Antihelminthska aktivnost	O'Kennedy i Thornes (1997)
Antihipertenzijska aktivnost	Pandey i sur. (2004)
Antikancerogeno djelovanje	Manojkumar i sur. (2009); Ojala (2001)
Antikoagulacijsko djelovanje	Kostova i sur. (2005); Ojala (2001)
Antileukemijsko djelovanje	Kotali i sur. (2008)
Antimalarijska aktivnost, in vivo i in vitro	Ojala (2001)
Antimikrobna aktivnost	Kwon i sur. (1997); Ojala (2001); Mohareb i sur. (2009); O'Kennedy i Thornes (1997)
Antioksidacijska svojstva	Čačić i Molnar (2010a); Čačić i sur. (2010b);

	Čačić
Antipiretičko djelovanje	O'Keneddy i Thornes (1997)
Antiviralna aktivnost, in vitro	Ojala (2001); Pandey i sur. (2004)
Citostatički efekt, in vivo	Ojala (2001)

Diuretičko djelovanje O'Keneddy i Thornes (1997)	O'Keneddy i Thornes (1997)
Estrogensko djelovanje	O'Keneddy i Thornes (1997)
Hipnotički učinak	O'Keneddy i Thornes (1997)
Hipotermalno djelovanj	O'Keneddy i Thornes (1997)
Hipolipidemičko djelovanje	Huang i sur. (1993)
Imunostimulacijsko djelovanje	Sardari i sur. (2000)
Imunosupresivno djelovanje Sardari i sur. (2000)	Sardari i sur. (2000)
Inhibicija gonadotropina	Sardari i sur. (2000)
Inhibicija aldoza reduktaze u leći	Okada i sur. (1995)
Inhibicija otpuštanja histamina	Sardari i sur. (2000)

Inhibicija LDL oksidacije	Natella i sur. (2010)
Inhibicija lipidne peroksidacije	Roussaki i sur. (2010); Yun i sur. (2001)
Inhibicija DNA-giraze	Sardari i sur. (2000)

3. Upotreba u medicini i protuupalna svojstva

Kumarini također pokazuju sposobnost aktivacije makrofaga, pa postoji mogućnost uporabe u tretmanima edema (Shi i Zhou, 2011), osobito jer se kumarin pokazao dobrim u smanjenju oteklina nakon različitih trauma i bolesti, kod ljudi i životinja (Hoult i Paya, 1996). Rezultati su pokazali da kombinacija kumarina i trokserutina ima povoljan učinak u liječenju upale žlijezde slinovnice i mukozitisa (upala sluznice usne šupljine). Zasad su neki kumarini, kao varfarin, acenokumarol, armilarizin A, himekromon i karbokromen odobreni za kliničku upotrebu (Shi i Zhou, 2011). Eskulin je derivat kumarina koji se koristi u medicini, kao komponenta lijeka Proctosedyla, za tretiranje hemoroida i rektalnih lezija (Stewart, 2010). Novobiocin i klorobiocin su antibiotici prirodnog porijekla na bazi kumarina (Borges i sur., 2005) koji se ubrajaju u hidrosilirane kumarine (Farshori i sur., 2011), a inhibiraju DNA girazu i pokazuju široki spektar aktivnosti prema Gram pozitivnim bakterijama.

4. Metabolizam kumarina

Kumarin se može metabolizirati hidroksilacijom na svih šest dostupnih položaja (3, 4, 5, 6, 7, 8) i pritom dati 3-, 4-, 5-, 6-, 7- i 8-hidroksikumarine. Dva važna puta metabolizma kumarina su 7-hidroksilacija i metabolizam laktonskog prstena, koji uključuje otvaranje prstena i otpuštanje ugljikovog atoma 2, pri čemu nastaje ugljikov dioksid. Kod većine ljudi kumarin se

brzo apsorbira i metabolizira jetrenim CYP2A6 (citokrom P450 2A6 je enzim koji pokazuje aktivnost 7-hidroksilaze kumarina) do 7-hidroksikumarina, koji se izlučuje u urinu kao glukuronid i sulfatni konjugati. Dostupni podaci potvrđuju da kumarin nije genotoksičan (Lake, 1999). Za razliku od štakora i miševa, kod kojih veće doze kumarina mogu uzrokovati toksičnost i karcinogenezu, toksičnost za ljude nije dokazana. Relativna otpornost jetre i/ili hepatocita ljudi i cynomolgus majmuna na toksičnost kumarina se povezuje sa 7-hidroksilacijom, osnovnim metaboličkim putem kumarina kod ovih vrsta, koji je u biti detoksifikacija. Kod štakora se hepatotoksičnost ove vrste pripisuje izlučivanju metabolita kumarina u žuč, što može rezultirati enterohepatičkom cirkulacijom koja povećava izloženost jetrenih stanica toksičnim metabolitima kumarina. Vrijeme poluraspada (half-life) za eliminaciju kumarina je oko 1-2 sata (Lake, 1999), a biorasploživost kumarina u ljudskom organizmu je samo oko 1-5 % (Hoult i Paya, 1996). Mala izloženost kumarinima iz prehrane i određenih kozmetičkih proizvoda ne bi trebala izazvati hepatotoksičnost, čak niti u pojedinaca sa smanjenom aktivnošću 7-hidroksilaze (Lacy i O'Kennedy, 2004). Kod štakora je, za razliku od ljudi, dominirajuća reakcija 3,4-epoksidacija pri čemu je glavni metabolit jetrenih mikrosoma o-HPA, koji se povezuje s akutnom plućnom toksičnošću i plućnim tumorima kod miševa, dok je glavni urinarni metabolit o-HPAA (EFSA, 2004). Usporedba među vrstama pokazuje da su hepatociti štakora najosjetljiviji na toksičnost kumarina i njegovih derivata, dok su humani hepatociti najotporniji (Kostova, 2005).

5. ZAKLJUČAK:

Kumarini su prirodni heterociklički spojevi s ugodnim i osebujnim mirisom donekle topljivi u alkoholu, netopivi u vodi, t_t 67 °. Odlikuje ih široki spektar bioloških aktivnosti, ovisno o supstituentima na osnovnom prstenu samog kumarina. Moguće ih je naći u mnogim biljkama, uključujući i cimet, po mogućnosti glikozidna veza. Kumarin je zabranjen kao dodatak hrani, a njegova maksimalno dopuštena koncentracija u namirnicama propisana je zakonima. Značajne količine kumarina smatraju se štetnim, posebno za jetru, a vlasti u mnogim zemljama preporučuju ograničava dnevni unos od 0,1 mg po kg tjelesne težine. Umjereno korištenje cimeta smanjuje rizik, ali FSA određuje ograničenja uključujući i malu djecu. U narodnoj medicini kumarin se koristi kao antikoagulans i srčani tonik.

6. Literatura:

Alves AJ, Leite ACL, Santana D ,Beltrao TM, Coelho MRD. 1993.

Synthesis of 2-thiazolinone as potential antiprotozoal activity. *Il Farmaco*

48:1167

Borges, F., Roleira, F., Milhazes, N., Santana, L., Uriarte, E. (2005): Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: Occurrence, synthesis and biological activity. *Curr. Med. Chem.* 12, 887-916.

Čačić, M., Molnar, M. (2010a): Design, synthesis and characterization of some novel 3-coumarinyl-5-arylidene-1,3-thiazolidine-2,4-diones and their antioxidant activity, *Z. Naturforsch.* 66b, 177 – 183.

Čačić, M., Molnar, M., Šarkanj, B., Has-Schön, E., Rajković, V. (2010b): Synthesis and antioxidant activity of some new coumarinyl-1,3-thiazolidine-4-ones, *Molecules* 15, 6795-6809.

Čačić, M., Molnar, M., Strelec, I. (2011): Synthesis and biological evaluation of a novel series of 1,3-dicoumarinyl-5-aryl-2-pyrazolines, *Heterocycles* 83, 7, 1553-1556.

Ćavar, S., Kovač, F., Maksimovic, M. (2009): Synthesis and antioxidant activity of selected 4-methylcoumarins, *Food Chem.* 117, 135–142.

Dighe, N.S., Pattan, S.R., Dengale, S.S., Musmade, D.S., Shelar, M., Tambe, V., Hole, M.B. (2010): Synthetic and pharmacological profiles of coumarins: A review, *Arch. Appl. Sci. Res.* 2, 65-71.

European Commission (1976): *Cosmetics Directive, 76/768/EEC.*

European Commission (2008): Regulation (EC) No 1334/2008 on flavouring and certain food ingredients with flavouring properties amending Council Regulation (EEC) no 1601/91, Regulations (EC) No 2232/96 and (EC) No 110/2008 and Directive 2000/13/EC, EC 1334/2008.

European Food Safety Authority (2004): Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contacts with Food (AFC) on a request from the Commission related to Coumarin Question number EFSA-Q-2003-118, The EFSA Journal 104, 1-36.

Farshori, N.N., Banday, M.R., Ahmad, A., Khan, A.U., Rauf, A. (2011): 7-Hydroxy-coumarin derivatives: synthesis, characterization and preliminary antimicrobial activities, Med. Chem. Res. 20, 535-541.

Guyot-Declerck, C., Renson, S., Bouseta, A., Collin, S. (2002): Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* × *latifolia* honeys, Food Chem. 79, 453–459.

Horpurgo V, 1951. Ann. Oculist: 184, 545

Hoult, J.R.S., Paya, M. (1996): Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutical potential, Gen. Pharmacol. Vasc. Syst. 27, 713-722.

Kalkhambkar, R.G. (2011): Synthesis and biological activities of novel ethers of quinolinone linked with coumarins, Monatsh. Chem. 142, 305–315.

Lacy, A., O’Kennedy, R. (2004): Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer, Curr. Pharm. Des. 10, 3797-3811.

Lake, B.G. (1999): Coumarin metabolism, toxicity and carcinogenicity: Relevance for human risk assessment, Food Chem. Toxicol. 37, 423-453.

Liu, B., Raeth, T., Beuerle, T., Beerhues, L. (2010): A novel 4-hydroxycoumarin biosynthetic pathway, Plant Mol. Biol. 72, 17–25.

Lyons SK, Clarke AR. 1997. Apoptosis and carcinogenesis. Br Med Bull 53: 554-569

Mata, R., Calzada, F., del Rosario Garcia, M. (1988): Chemical studies on mexican plants used in traditional medicine, VI. Additional new 4-phenylcoumarins from *Exostema caribaeum*, J. Nat. Prod. 51, 851-856.

Mata, R., Calzada, F., Garcia, M.R., Reguero, M.T. (1987): Chemical studies on mexican plants used in traditional medicine, III: New 4-phenylcoumarins from *Exostema caribaeum*, J. Nat. Prod. 50, 866-871.

Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi RH (2010): Pravilnik o aromama, NN 086/2010.

Papić, J. (2009): Novi europski propis za arome, <http://www.hah.hr/index.php?id=691>

Ramesh, B., Pugalendi, K.V. (2005): Umbelliferone in STZ-diabetic rats, Yale J. Biol. Med. 78, 131-138.

Raters, M., Matissek, R. (2008): Analysis of coumarin in various foods using liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection, Eur. Food Res. Tech. 227, 637–642.

Shi, Y., Zhou, C.H. (2011): Synthesis and evaluation of a class of new coumarin triazole derivatives as potential antimicrobial agents, Bioorg. Med. Chem. Lett. 21, 956–960.

Shimizu, M., Shogawa, H., Matsuzawa, T., Yonezawa, S., Hayashi, T., Arisawa, M., Suzuki, S., Yoshizaki, M., Morita, N., Ferro, E., Basualdo, I., Berganza L.H. (1990): Anti-inflammatory

constituents of topically applied crude drugs. IV. Constituents and antiinflammatory effect of Paraguayan crude drug "alhucema" (*Lavandula latifolia* Vill.), *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 38, 2283-2284.

Stewart, C. (2010): Use of coumarin derivatives in antifungal therapy, US Patent US2010/0267653A1.

Tyagi, Y.K., Kumar, A., Raj, H.G., Vohra, P., Gupta, G., Kumari, R. (2005): Synthesis of novel amino and acetyl amino-4-methylcoumarins and evaluation of their antioxidant activity, *Eur. J. Med. Chem.* 40, 413–420.