

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih tienobenzo-triazola i njihovih soli

Gregić, Sara

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:516321>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-21**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ**

Sara Gregić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidatkinja Sara Gregić

Predala je izrađen završni rad dana: 11. rujna 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Irena Škorić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

doc. dr. sc. Dragana Vuk, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije

dr. sc. Lidija Furač, viša predavačica, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Sandra Babić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet
kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada
pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: 16. rujna 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

**FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ**

Sara Gregić

**SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA NOVIH TIENOBENZO-TRIAZOLA I
NJIHOVIH SOLI**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Irena Škorić

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Irena Škorić
2. doc. dr. sc. Dragana Vuk
3. dr. sc. Lidija Furač, v. pred.

Zagreb, rujan 2024.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Irene Škorić.

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ireni Škorić na prihvaćenom mentorstvu te za svesrdnu podršku, strpljenje i vodstvo tijekom cijelog procesa izrade rada. Njena stručnost, savjeti i motivacija bili su od neprocjenjive važnosti za uspješan završetak ovog rada. Hvala Vam što ste uvijek bili dostupni za sva pitanja i nedoumice, kao i za konstruktivne prijedloge koji su značajno doprinijeli kvaliteti rada.

Zahvaljujem se asistenticama mag.appl.chem. Marina Galić i mag.appl.chem. Vilma Lovrinčević te svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnoj radnoj atmosferi te susretljivosti i pomoći u laboratoriju.

Zahvaljujem se kolegicama Tei Horvat i Sari Milić uz čije je društvo bilo iznimno ugodno raditi. Zajednički trenuci ispunjeni podrškom, međusobnoj pomoći i razumijevanju također su doprinijeli uspješnom završetku ovog rada.

Veliko hvala i mojim roditeljima koji su mi omogućili ovaj studij, bratu te ostalim članovima obitelji i prijateljima na podršci tijekom studija.

SAŽETAK

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih tienbenzo-triazola i njihovih soli

Cilj ovog rada bio je sintetizirati nove tienbenzo-triazole, odnosno njihove soli, s potencijalnim inhibicijskim djelovanjem prema enzimima kolinesterazama. Kao metoda sinteze za tieno-triazolne stilbene korištena je Wittigova reakcija, koja se obično koristi za dobivanje alkena reakcijom aldehida ili ketona s fosforovim ilidom. U ovom slučaju, različiti 1-supstituirani 4-formil-1,2,3-triazoli reagirali su s odgovarajućim fosforovim ilidom kako bi nastali 1,2,3-triazolni stilbeni. Zbog prisutnosti konjugiranog sustava u ovim produktima, oni su uspješno bili podvrgnuti fotokemijskim reakcijama. Prilikom osvjetljavanja stilbenskih derivata došlo je do ciklizacije, odnosno formiranja prstena. Dobiveni produkti, tj. njihova struktura potvrđena je NMR spektroskopijom i masenom spektrometrijom. Biološka ispitivanja pokazala su da spoj **9** pokazuje inhibiciju enzima butirilkolinesteraze s IC_{50} vrijednosti od 34,6 μ M dok njegova sol **13** ima IC_{50} od 0,6 μ M, što je čak deset puta bolja inhibicijska aktivnost od one koju pokazuje standardni reverzibilni inhibitor galantamin.

Ključne riječi: alkeni, fotokemijske reakcije, inhibicija kolinesteraza, NMR spektroskopija, triazol, triazolna sol, Wittigova reakcija

ABSTRACT

Synthesis and spectroscopic characterization of new thienobenzo-triazoles and their salts

The aim of this study was to synthesize new thienobenzo-triazoles, specifically their salts, with potential cholinesterase inhibition activity. The synthesis of thieno-triazole stilbenes was achieved using the Wittig reaction, a method commonly employed for the preparation of alkenes, where aldehydes or ketones react with phosphorus ylide. In this case, various 1-substituted 4-formyl-1,2,3-triazoles reacted with the corresponding phosphorus ylide to yield 1,2,3-triazole stilbenes. Due to the presence of a conjugated system in these products, they were successfully subjected to photochemical reactions. Upon irradiation of stilbene derivatives, cyclization occurred, leading to ring closure. The structure of the obtained products was confirmed by NMR spectroscopy and mass spectrometry. Biological tests showed that compound **9** shows inhibition of the butyrylcholinesterase enzyme with an IC_{50} value of 34.6 μ M, while its salt **13** has an IC_{50} of 0.6 μ M, which is even ten times better inhibitory activity than that shown by the standard reversible inhibitor galantamine.

Keywords: alkenes, cholinesterase inhibition, NMR spectroscopy, photochemical reactions, triazole, triazolium salt, Wittig reaction

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
1.1. Važnost organske kemije.....	2
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Triazoli – općenito.....	4
2.2. Biološka aktivnost triazola.....	5
2.2.1. Antibakterijska svojstva.....	6
2.2.2. Antifungalna svojstva.....	12
2.2.3. Antikancerogeno djelovanje.....	13
2.2.4. Antilišmenijska djelovanja.....	15
2.3. Sinteza triazola.....	17
3. REZULTATI I RASPRAVA.....	20
3.1. Pregled sintetiziranih spojeva.....	21
3.1.1. Sinteza triazolnih aldehida 1-4.....	24
3.1.2. Sinteza tieno-triazolnih stilbena 5-8 Wittigovom reakcijom.....	25
3.1.3. Fotokemijska sinteza tienobenzotriazola 9-12.....	27
3.1.4. Metiliranje tienobenzotriazola 9.....	29
3.2. Spektroskopska karakterizacija sintetiziranih derivata.....	30
3.2.1. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih aldehida 1-4.....	32
3.2.2. NMR spektroskopija sintetiziranih tieno-triazolnih stilbena 5-8.....	33
3.2.3. NMR spektroskopija sintetiziranih tienobenzotriazola 9-12 i triazolne soli 13.....	34
3.3. Biološka aktivnost sintetizirane tienobenzotriazolne soli 13.....	37
4. EKSPERIMENTALNI DIO.....	39
4.1. Opće napomene.....	40
4.2. Sinteza triazolnih aldehida.....	41
4.3. Sinteza tieno-triazolnih stilbena Wittigovom reakcijom.....	44
4.4. Fotokemijska sinteza tienobenzotriazola.....	47
4.5. Metiliranje tienobenzotriazola 9.....	50
5. ZAKLJUČAK.....	51
6. LITERATURA.....	54
7. ŽIVOTOPIS.....	57

1. UVOD

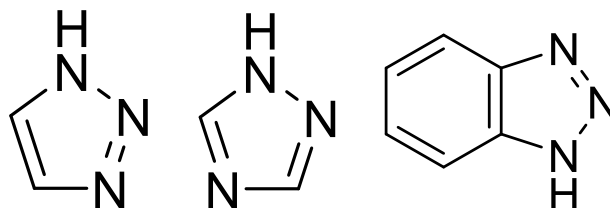
1.1. Važnost organske kemije

Organska kemija je grana kemije koja se bavi proučavanjem strukture, svojstava, sastava, reakcija i sinteze organskih spojeva, koji se temelje na ugljiku. Ugljik je jedinstveni element zbog svoje sposobnosti da stvara stabilne veze s drugim ugljikovim atomima i raznim drugim elementima, kao što su vodik, kisik, dušik, sumpor i halogeni.¹ Zbog te sposobnosti, ugljik može formirati ogroman broj različitih spojeva, uključujući jednostavne molekule poput metana do složenih biomolekula kao što su proteini, nukleinske kiseline, lipidi i ugljikohidrati, koji su ključni za život. Važnost organske kemije i organskih spojeva za život ljudi je neizmjerena i proteže se na mnoge aspekte svakodnevnog života, zdravlja, tehnologije, industrije i okoliša. Organski spojevi igraju ključnu ulogu u zdravlju i medicini. Lijekovi, uključujući antibiotike, analgetike, protuupalne lijekove, antidepresive i mnoge druge terapijske tvari, temelje se na organskim spojevima. Razvoj novih lijekova zahtijeva duboko razumijevanje organske kemije kako bi se mogli sintetizirati spojevi koji su učinkoviti u liječenju bolesti, ali i sigurni za ljudsku upotrebu. Organska kemija također igra ključnu ulogu u razumijevanju biologije ljudskog tijela, jer svi biološki procesi uključuju organske molekule poput enzima, hormona i neurotransmitera. Heterociklički spojevi su organski spojevi koji sadrže prstenastu strukturu u kojoj se, uz atome ugljika, nalaze i drugi heteroatomi poput dušika, kisika ili sumpora.² Ovi spojevi su izuzetno važni u kemiji, biologiji i farmaciji zbog svojih jedinstvenih kemijskih svojstava i široke primjene. Heterociklički spojevi su vrlo rasprostranjeni u prirodi, a mnogi od njih imaju ključne uloge u biološkim sustavima, uključujući nukleinske kiseline, vitamine, alkaloidne i hormone. Triazoli su posebna skupina heterocikličkih spojeva koji sadrže petočlani prsten s tri dušikova atoma i dva ugljikova atoma.¹ Ovi spojevi su izuzetno značajni u medicinskoj kemiji zbog širokog spektra biološke aktivnosti. Triazoli se često koriste kao osnovne strukture u dizajnu i razvoju novih lijekova. Triazoli postoje kao dva izomera: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol. Svaki od njih pokazuje određena svojstva i ima raznoliku primjenu. Stilbeni su organski spojevi klasificirani kao diariletileni jer sadrže dvostruku vezu ugljik-ugljik i na svakom tom ugljiku po jednu arilnu skupinu. S obzirom da sadrže konjugirani sustav u strukturi, stilbeni podliježu fotokemijskim reakcijama kao i konjugirani alkeni. Ovi spojevi pokazuju potencijalno inhibiranje enzima kolinesteraze, enzima koji katalizira hidrolizu neurotransmitera acetilkolina na kolin i octenu kiselinu.

2.TEORIJSKI DIO

2.1. Triazoli - općenito

Triazoli su heterociklički spojevi s peteročlanim prstenom koji uključuje dva ugljikova i tri dušikova atoma, stvarajući aromatski prsten.² Formula triazolnog prstena je $C_2H_3N_3$, a razlikujemo dva izomera: 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol (Slika 1). 1,2,3-triazol se pojavljuje u obliku bezbojnih, higroskopskih kristala koji se tale na 24 °C, a na 209 °C im je temperatura vrenja, te su topljivi u vodi. Nasuprot tome, 1,2,4-triazol tvori bezbojne kristale s točkom taljenja od 121 °C i točkom vrenja od 260 °C, također topljive u vodi. Glavna razlika između ova dva izomera je položaj dušikovih atoma u prstenu. Zbog svojih strukturnih karakteristika, i 1,2,3- i 1,2,4-triazoli mogu primiti širok spektar supstituenata (elektrofila i nukleofila) oko osnovnih struktura i otvoriti put za izgradnju raznolikih novih bioaktivnih molekula. Kada je benzenski prsten spojen na 4,5-pozicije 1,2,3-triazola, nazivamo ga benzotriazolom (Slika 1). Triazoli su poznati po svojoj otpornosti na metaboličku razgradnju i sposobnosti stvaranja vodikovih veza te samim time i dobru topljivost u vodi.¹



Slika 1. Strukture 1,2,3-triazola, 1,2,4-triazola i benzotriazola.

Jezgra triazolnog prstena s visokom energijom aromatske stabilizacije modificira se radi poboljšanja topljivosti i selektivnosti s interaktivnim veznim mjestom enzima te djeluje kao poveznica među različitim farmakoforima. Tako se pokazalo da igra ključnu ulogu u širokom spektru bioloških aktivnosti, uključujući dizajn lijekova temeljen na fragmentima, biomolekularne mimetike i bioortogonalne metodologije. Uz postojeće triazolne lijekove, istraživači rade na istraživanju i razvoju novih struktura temeljenih na triazolnim jezgrama s velikim primjenama u biomedicinskim i biotehničkim područjima.

2.2. Biološka aktivnost triazola

Soli 1,2,3-triazola mogu se izravno sintetizirati u tri koraka, uključujući CuAAC, *N*-alkiliranje i metatezu soli.³ Kroz ove metode može se postići širok raspon derivata 1,2,3-triazola s različitim supstituentima i obrascima supstitucije. Osim svojih impresivnih primjena kao ionske tekućine, katalizatori i metalni ligandi, soli 1,2,3-triazola pokazuju širok raspon bioloških aktivnosti, poput antibakterijskih, antifungalnih, antikancerogenih i antilišmenijskih svojstava.

One su vrijedne u razvoju pesticida i farmaceutskih proizvoda. Uključivanje 1,2,3-triazolnih skupina u polimerne materijale putem jednostavnih sintetskih metoda može generirati antibakterijska svojstva. Korištenje takvih materijala može riješiti problem mikrobne kontaminacije u medicinskim uređajima ili specijaliziranim antibakterijskim okruženjima. Osim toga, 1,2,3-triazol se može uključiti u nanomaterijale, dajući snažnu hidrofilnost za poboljšanje duktilnosti nanomaterijala i antibakterijskih svojstava.³ Uključivanje soli 1,2,3-triazola u nosače antikancerogenih lijekova može donijeti dodatne mogućnosti. Modifikacija halloysite* nanocjevčica s triazolnim solima može rezultirati pozitivno nabijenim nosačima antikancerogenih lijekova s poboljšanom učinkovitošću inkapsulacije, kontroliranom sposobnošću oslobađanja, povećanom topljivošću u vodi i tako poboljšanom antikancerogenom aktivnošću. Ovi polimerni derivati mogu se koristiti ne samo za stvaranje antibakterijskih filmova putem polimerizacije, već i kao aditivi ili komponente u vlaknima i nanomaterijalima.³

Na temelju odnosa strukture i aktivnosti derivata soli 1,2,3-triazola, vjeruje se da supstituenti na pozicijama N-1 i N-3 igraju ključne uloge u biološkim aktivnostima. Ravnoteža lipofilnost/hidrofilnost soli 1,2,3-triazola ključna je za njihovu visoku biološku aktivnost i selektivnost. Osim toga, derivati 1,2,3-triazola mogu imati više načina djelovanja, a elektrostatske interakcije s anionskim komponentama na staničnoj membrani su među najvažnijima. U usporedbi s neutralnim triazolom, soli 1,2,3-triazola imaju superiorne biološke aktivnosti i topljivost u vodi te su obećavajuće u razvoju novih lijekova za patogene otporne na lijekove.

* Halloysite je prirodni oblik vrlo bijelog kaolinita, aluminosilikat, no za razliku od strukture kaolinita, halloysite ima tubularnu kristalnu strukturu.²¹

Trenutno, biološke aktivnosti soli 1,2,3-triazola privlače sve veću pažnju istraživača. Potrebni su precizniji i pouzdaniji podaci za razjašnjavanje mogućeg mehanizma djelovanja triazolnih soli, pružajući teoretsku osnovu za njihov dizajn i sintezu. Soli 1,2,3-triazola imaju obećavajuće razvojne perspektive u područjima poljoprivrede, medicine i industrijske proizvodnje.

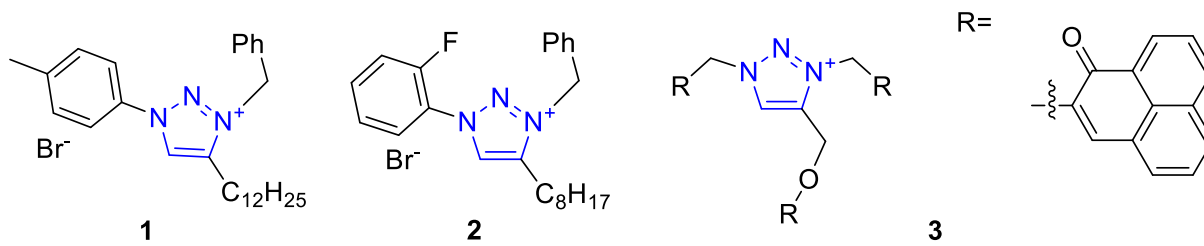
1,2,3-triazolne soli posjeduju jedinstvena kemijska svojstva, kao što su visoka stabilnost, podesiva reaktivnost i različita elektronska svojstva.⁴ Vrijedna su gradivna jedinica u organskoj sintezi, a također su korišteni u razvoju novih katalizatora, antimikrobnih sredstava, fluorescentnih boje i bioaktivnih molekula.⁵

Ove soli imaju tri aktivna mjesta, uključujući N-1, N-3 i C-4 položaje, koji se mogu povezati s različitim funkcijskim skupinama i tako regulirati njihove biološke aktivnosti i citotoksičnosti.⁴ Stoga je potrebno sažeti strukturu triazolnih soli s različitim biološkim aktivnostima i odnos struktura-bioaktivnost.

2.2.1. Antibakterijska svojstva

Spojevi analogni 1,3,4-trisupstituiranim-1,2,3-triazolnim bromidnim solima pokazuju izvrsna antibiotska svojstva. Godine 2018. sintetizirana je serija ovih soli kroz azid-alkin cikloadiciju i benzilnu supstituciju.³ Spojevi su pokazali dobre antibakterijske aktivnosti protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih sojeva. Spoj 1 (Slika 2) pokazao je najbolju aktivnost.

Kasnije su sintetizirane dodatne 1,3,4-trisupstituirane-1,2,3-triazol-bromidne soli putem klik-reakcija. Spojevi s naftilnom, antracenilnom ili pirenilnom skupinom na N-1 poziciji pokazali su dobra emisijska svojstva i antibakterijsku aktivnost. Nadalje su razvijeni derivati 1,2,3-triazol-fenolnih ketona s dobrom topljivošću u vodi. Spoj 3 (Slika 2) pokazao je otpornost na bakterije bez svjetla, a njegova antibakterijska aktivnost povećala se pod svjetlosnim zračenjem.



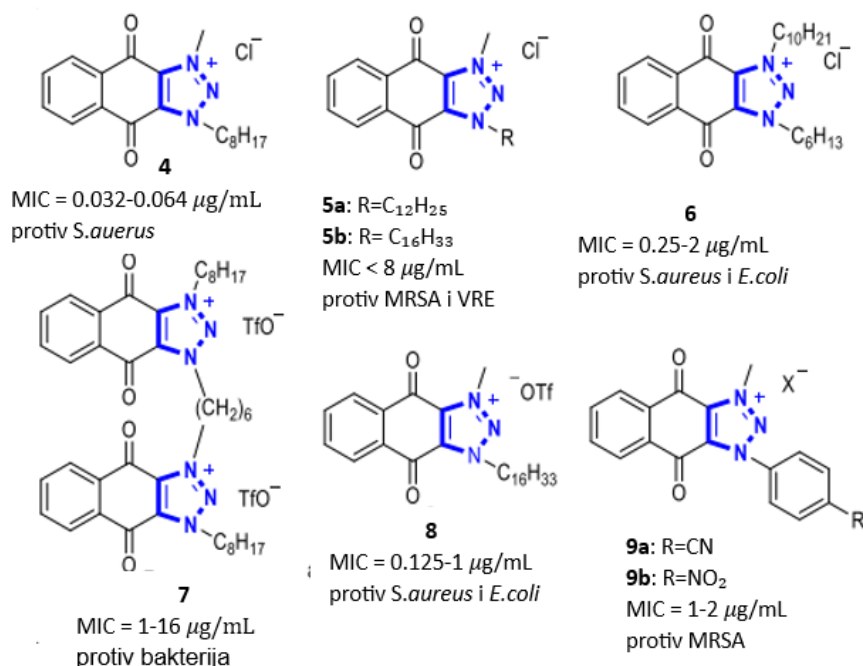
Slika 2. Strukture 1,3,4-trisupstituiranih 1,2,3-triazolnih soli s antibakterijskim djelovanjem.

Kao još jedan od primjera može se navesti antrakinon koji je osnovna struktura antraciklina i ima širok raspon bioloških aktivnosti, te je važan za otkriće novih bioloških i farmaceutskih lijekova (Slika 3).³ Analози antrakinona, spojeni s 1,2,3-triazolnim jedinicama, nazivaju se kationski antrakinonski analози (CAA) i posjeduju dobra antibakterijska svojstva.³ Ovi spojevi sadrže nekoliko popularnih antibakterijskih struktura, uključujući antrakinon, triazol i kvarterne amonijeve katione (QACs). Otkriveno je da derivati antrakinona s kationskim triazolnim jedinicama imaju dobra antibakterijska svojstva. Na primjer, spoj 4 (Slika 3) je pokazao dobru aktivnost protiv Zlatnog stafilokoka (*Staphylococcus aureus*), s MIC* vrijednostima od 0,032 do 0,064 µg/mL.

Kako bi pojasnili učinke duljine alkilnog lanca na antibakterijske aktivnosti, sintetizirani su linearni alkilni lanci antrakinon-triazolne soli različitih duljina na N-3 poziciji i testirali njihove aktivnosti protiv bakterija otpornih na lijekove. Rezultati su pokazali da su spojevi 5a i 5b imali široku aktivnost protiv meticilin-rezistentnog *S. aureus* (MRSA) i vankomicin-rezistentnog *Enterococcus faecalis* (VRE), s MIC vrijednostima manjim od 8 µg/mL.³

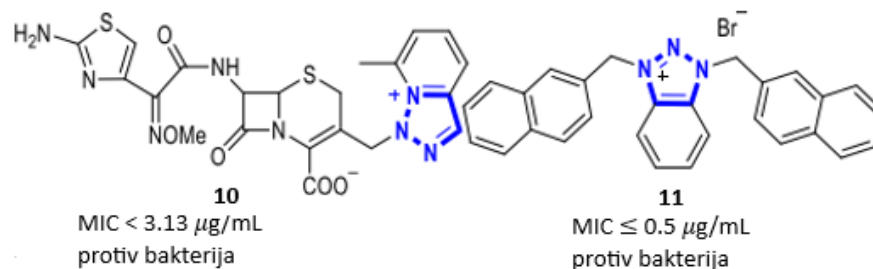
Kasnije se koristila ista metoda za dobivanje serije antrakinon-triazolnih soli s različitim alkilnim lancima povezanima na N-1 i N-3 pozicijama. Otkriveno je da je spoj 6 (Slika 3) imao najbolje inhibicijske aktivnosti protiv *S. aureus* i *Escherichia coli* (*E. coli*), s MIC vrijednostima od 0,25 do 2 µg/mL.

* Minimalna inhibicijska koncentracija



Slika 3. Strukture antrakinonskih triazolnih spojeva s antibakterijskim djelovanjem³

Godine 1992. Yoshimura je sintetizirao niz antibakterijskih spojeva transformacijom cefalosporina u heterocikle spojene s triazolijem.³ Spoj 10 (Slika 4), koji sadrži 1,2,3-triazolne kationske skupine, pokazao je učinkovito antibakterijsko djelovanje protiv raznih bakterija, s MIC vrijednostima manjim od 3,13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Slika 4). Nedavno je sintetiziran niz *N,N'*-disupstituiranih triazolnih soli, i testirane su njihove antibakterijske aktivnosti protiv nekoliko bakterija, uključujući *Enterococcus faecium* (*E. faecium*), *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) i *E. faecium*, koji su česti uzročnici bolničkih bolesti, tj. infekcija.³ Ti su spojevi pokazali snažno antibakterijsko djelovanje protiv svih sojeva bakterija. Specifično, spoj 11 (Slika 4) je pokazao MIC vrijednost od $\leq 0,5 \mu\text{g}/\text{mL}$.



Slika 4. Strukture kondenziranih heterocikličkih 1,2,3-triazolijevih soli s antibakterijskim djelovanjem.³

Polimeri koji sadrže kvarterne amonijeve podjedinice (QACs) intenzivno se proučavaju kao antibakterijska i dezinfekcijska sredstva.⁶ Njihova proizvodnja na velikoj skali može biti ekonomičnija u usporedbi s antimikrobnim peptidima i antibioticima. Antibakterijska aktivnost i toksičnost kopolimera u krvi značajno ovise o njihovoj molekularnoj masi, kationskim svojstvima, gustoći i kemijskom sastavu.⁶ 2015. godine pripremljeni su polimeri poli(metil-metakrilati) koristeći alkilne alkohole i derivate tiazol-azida kao sirovine. *N*-alkiliranje azolnog prstena omogućilo je pripremu unipolarnih i polarnih polielektrolita s različitim amfilnim svojstvima, što je rezultiralo njihovom antibakterijskom aktivnošću protiv raznih mikroorganizama.

Iste godine, pripremljena je serija spojeva s amfilnim kvarternim amonijevim solima kroz kontroliranu kvarternizaciju triazolnih bočnih lanaca pomoću polimetakrilata. Jedan od spojeva je pokazao da s 50% kvarternizacije može ubiti 100% bakterija unutar 5 minuta. Zanimljivo je da su ovi polimeri s niskim stupnjem kvarternizacije i dalje pokazivali snažno i brzo baktericidno djelovanje, vjerojatno zbog sinergijskog učinka između nekvarterniziranih i kvarterniziranih heterocikličkih jedinica.

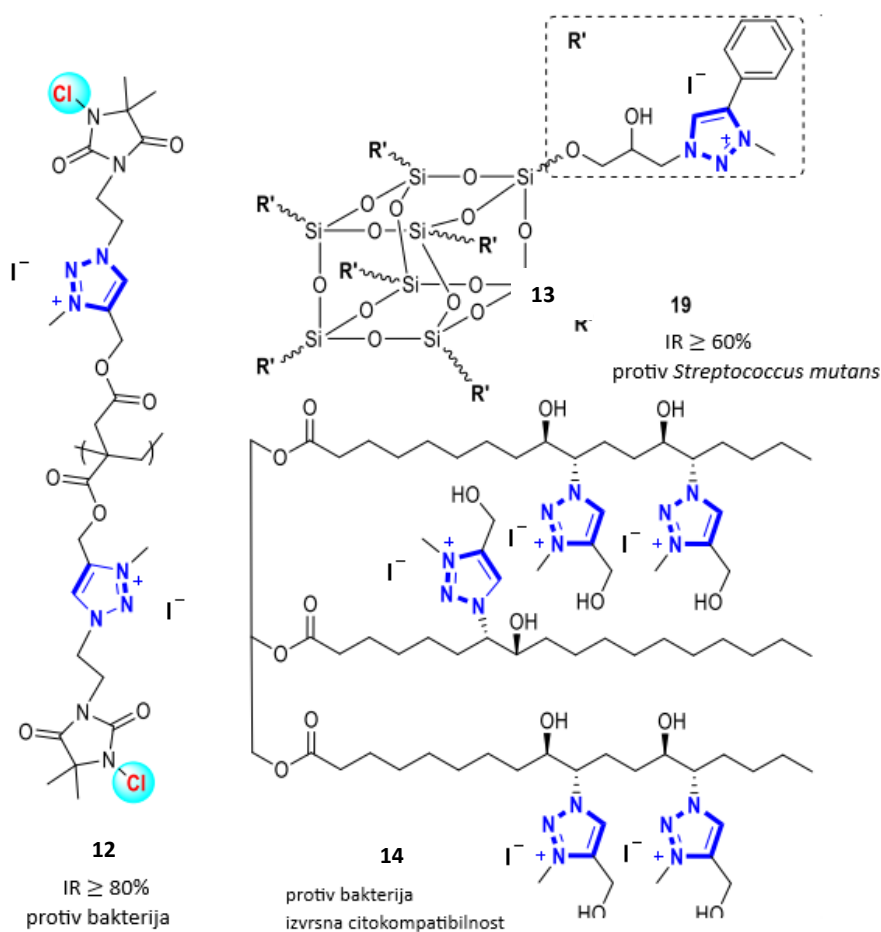
2017. godine priređen je kationski kopolimer koji sadrži tiazolne i triazolne skupine. Pomiješan je s komercijalnim polistirenom jednostavnom metodom spin-premaza kako bi dobili seriju kontaktnih antibakterijskih filmova. Ovi filmski spojevi pokazali su značajnu mikrobicidnu aktivnost protiv gram-pozitivnih (G+) i gram-negativnih (G-) bakterija, kao i gljivica. Kod sadržaja od 30% i 50% PS/kopolimera, učinkovitost ubijanja filma prelazila je 99,99%. Čak i sa

znatno manjim sadržajem PS/kopolimera (3-9%) film je bio u stanju ubiti preko 90% stanica obje bakterije putem kontakta s površinom.⁶

Godinu kasnije sintetizirane je serija kopolimera s kvarternim amonijevim solima koje su pokazale kontaktne antibakterijske osobine. Ovi kopolimeri napravljeni su korištenjem kvarternih amonijevih soli i poliakrilonitrila kao sirovina.⁶ Ti spojevi pokazali su izuzetno jaku antibaktericidnu aktivnost protiv *S. aureus* i *P. aeruginosa*, s stopama ubijanja stanica većim od 99,99%.

Spoj 12 sintetiziran je putem polimerizacije slobodnim radikalima i klik-reakcijom s hidantoinom (Slika 5).³ Spoj je prošao daljnja *N*-alkiliranja i kloriranja kako bi se formirala triazolna sol na polilaktidna vlakna s antibakterijskom aktivnošću. Polilaktidna vlakna koja sadrže kationske triazole i *N*-haloamino-skupine pokazala su dobru antibakterijsku aktivnost protiv gram-pozitivnih (G+) i gram-negativnih (G-) bakterija.⁶

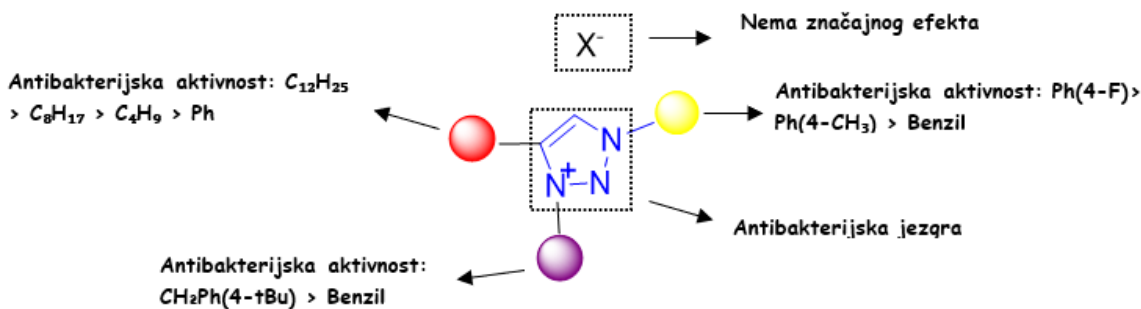
Kako bi se smanjio negativan učinak ionskih baktericidnih spojeva na mehaničku čvrstoću dentalnih kompozita, baktericidni dentalni nanokompoziti koji sadrže 1,2,3-triazolne funkcionalizirane poliedralne silseskvioksanske (POSS) dodatke pripremljeni su putem tiolne klik-polimerizacije.⁷ Dodavanjem triazolijevog kationa povećana je baktericidna aktivnost kompleksa 13 (Slika 6) u usporedbi sa sličnim sustavima koji sadrže dimetil-aminoetil-metakrilatni monomer (DMAEMA-BC). Stopa inhibicije (IR) kompleksa 13 protiv *Streptococcus pyogenes* (*S. pyogenes*) bila je iznad 60%. Spoj 14, antimikrobni poliuretanski film za obloge rana, pripremljen je putem *N*-alkilalkiliranja između 1,2,3-triazolom funkcionaliziranog sojinog ulja (TSBO) i metil-jodida. Uvođenjem 1,2,3-triazolnih kationskih skupina u skelet obloge povećana je njihova antibakterijska aktivnost protiv niza bakterija.⁶



Slika 5. Strukture kompleksa baziranih na 1,2,3-triazolu s antibakterijskim djelovanjem.⁶

Kationska svojstva triazolnih soli nužna su za njihovu antibakterijsku učinkovitost. Spojevi 1 i 2 pokazuju dobru antibakterijsku aktivnost, dok njihovi neutralni 1,2,3-triazolni analozi nemaju značajnu antibakterijsku aktivnost s MIC vrijednošću $\geq 250 \mu\text{M}$.⁸ Fenol-ketonska skupina u spoju 3 je nepolarna komponenta koja može smanjiti hidrofilnost triazolne skupine. Postoji ravnoteža između lipofilnosti i hidrofilnosti spoja 3, što podržava dobru inhibicijsku aktivnost protiv G+ bakterija. Međutim, spoj 3 ima slabu aktivnost protiv G-bakterija. To je uzrokovano prisutnošću vanjskog sloja lipopolisaharida koji ometa prodiranje hidrofobnih spojeva. Povezivanje hidrofobne skupine na N-3 i C-4 pozicijama 1,2,3-triazolnih soli povoljno je za otpornost prema G+ bakterijama. Međutim, pretjerano povećanje hidrofobnosti (lipofilnosti) otežat će prolazak spojeva kroz bakterijske stanične membrane, što rezultira smanjenom antibakterijskom aktivnošću.⁶

Stoga, maksimalna učinkovitost 1,2,3-triazolnih soli protiv gram-negativnih bakterija zahtijeva vezu s adekvatnom, ali ne pretjerano hidrofobnom skupinom. Nadalje, smanjenje hidrofobnosti na jednoj poziciji supstituenta može se kompenzirati povećanjem hidrofobnosti na drugim pozicijama supstituenata. Na primjer, povezivanje alkilnih lanaca različitih duljina ugljikovog lanca na različitim mjestima u spojevima 5 i 6 održava njihovu antibakterijsku učinkovitost održavanjem ravnoteže u ukupnoj hidrofobnosti spojeva.³



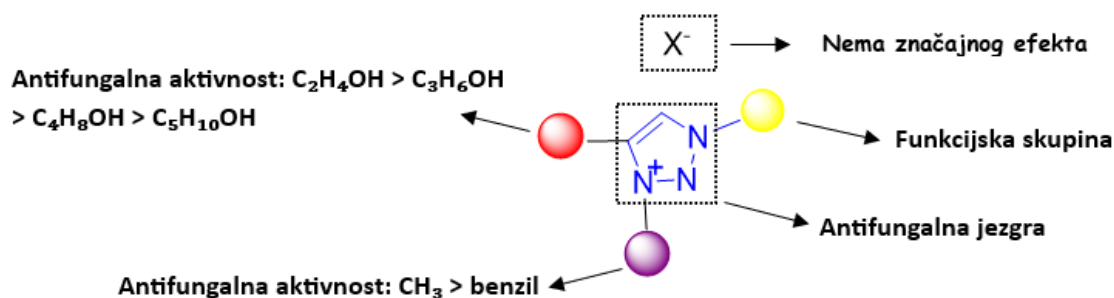
Slika 6. Sažetak odnosa strukture i aktivnosti antibakterijskih 1,2,3-triazola.

2.2.2. Antifungalna svojstva

Neka istraživanja su otkrila da uključivanje triazolnih skupina u škrobne spojeve može poboljšati njihova antifungalna svojstva. Osim toga, škrobni derivati koji sadrže 1,2,3-triazol mogu biti pretvoreni u škrobne derivate koji sadrže 1,2,3-triazol kroz proces *N*-alkiliranja.⁹ Istovremeno, pripremljena je serija novih 1,2,3-triazolnih škrobnih derivata putem bakrom katalizirane azid-alkin cikloadicije (CuAAC) (Slika 7). Škrobni derivati koji sadrže nabijenu 1,2,3-triazolnu skupinu pokazali su veću inhibicijsku aktivnost protiv fitopatogenih gljiva od onih škrobnih derivata koji sadrže nenabijenu 1,2,3-triazolnu skupinu.

Ovo ukazuje na to da je nabijena triazolna skupina ključna aktivna skupina. Kationski triazoli mogu stvarati elektrostatičke interakcije s anionskim komponentama na staničnim stijenkama gljiva.³ U usporedbi s derivatima škroba koji sadrže 1,2,3-triazol, elektrostatička interakcija nabijenih 1,2,3-triazolnih derivata ima veći utjecaj na mikroorganizme od vodikove veze između nenabijenih 1,2,3-triazolnih analoga i ciljanih molekula. Duljina alkilnih lanaca je važan čimbenik određivanja antifungalne aktivnosti nabijenih 1,2,3-triazolnih funkcionaliziranih škrobnih

derivata, pri čemu antifungalna svojstva opadaju s povećanjem duljine bočnog lanca. Mogući razlog za to je što duži alkilni lanci obično pružaju više elektrona nabijenom 1,2,3-triazolnom dijelu, rezultirajući smanjenjem gustoće pozitivnog naboja i dovodeći do smanjenja antifungalne učinkovitosti. Nadalje, uvođenje piridinskih i alkilnih skupina može pojačati antifungalnu aktivnost.³

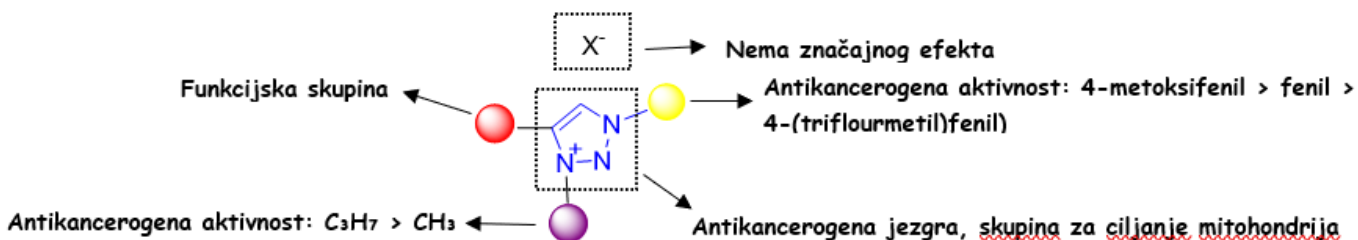


Slika 7. Sažeti odnos strukture i aktivnosti antifungalnih 1,2,3-triazola.

2.2.3. Antikancerogeno djelovanje

Kombiniranjem triazolnih kationskih jedinica s masnim lancima može se dobiti niz spojeva s antikancerogenim aktivnostima. Mnoge studije su pokazale da su 1,3,4-trisupstituirani kationski 1,2,3-triazoli obećavajući okviri za razvoj novih lijekova za liječenje oboljelih od raka (Slika 8).³ Aromatski supstituenti mogu regulirati citotoksičnost 1,2,3-triazolnih soli na tumorske stanice.¹⁰ Spojevi s elektron-donorskom skupinom (npr. 4-metoksifenil) imaju bolju antikancerogenu aktivnost u usporedbi sa spojevima koji imaju elektroneutralne skupine (npr. fenil) ili elektronski privlačne skupine (npr. 4-(trifluormetil)fenil). Spojevi s decilnim supstituentima na N-1 položajima pokazuju snažnu citotoksičnost protiv stanica raka. Zanimljivo je da nema značajne razlike u učinku različitih anionskih oblika istih triazolnih soli na antikancerogene aktivnosti.

Također, kationska 1,2,3-triazolna skupina učinkovita je za ciljanje mitohondrija.³ Istraživanja sugeriraju da 1,2,3-triazolne soli induciraju apoptozu stanica raka putem mitohondrijske apoptoze i puteva zaustavljanja staničnog ciklusa. To može biti zbog jačeg mitohondrijskog elektronskog efekta u stanicama raka nego u normalnim stanicama. U složenim sustavima živih stanica, odnos struktura-aktivnost 1,2,3-triazolnih soli rezultat je kombinacije stereo- i elektronskih efekata.¹⁰

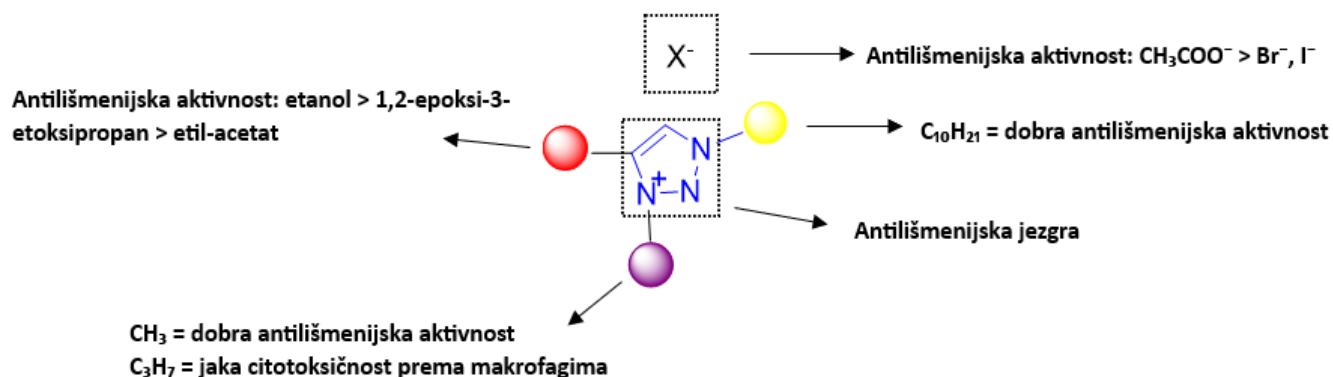


Slika 8. Sažeti odnos između strukture i aktivnosti antikancerogenih 1,2,3-triazola.

2.2.4. Antilišmenijska* djelovanja

Spojevi s bočnim lancima od 10 ugljikovih atoma na poziciji N-1 i metilnom grupom na poziciji N-3 pokazuju dobra antilišmenijska djelovanja.¹¹ Dugi ugljikov lanac na poziciji N-1 ovih spojeva povoljan je za njihovu antilišmenijsku aktivnost. Spojevi koji sadrže 12, 14 ili 16 ugljikovih atoma u alkilnom bočnom lancu pokazuju bolju antilišmenijsku aktivnost, no dugi ugljikov lanac također dovodi do jake toksičnosti prema makrofagima (Slika 9).¹¹ Uz to, soli 1,2,3-triazola s propilnom grupom na poziciji N-3 pokazuju snažan toksični učinak na makrofage, bez obzira na dužinu bočnog lanca. Važno je napomenuti da je kationska 1,2,3-triazolna skupina ključna za poboljšanje antilišmenijske aktivnosti spojeva, budući da spojevi s triazolijevom skupinom pokazuju veću antilišmenijsku aktivnost od svojih analognih triazolnih spojeva. Različite vrste aniona spojeva imaju određene učinke na antilišmenijske aktivnosti i selektivnost.¹¹ Na primjer, spoj koji sadrži anione octene kiseline bio je 5,5 puta aktivniji protiv promastigota *L. amazonensis* nego analog koji sadrži jodidne anione te pokazuje visoko selektivnu biološku aktivnost (slika 9).¹¹

* Visceralna lišmenijaza ili kala-azar sustavna je infektivna bolest uzrokovana protozoama *Leishmania donovani* i *Leishmania infantum* koje prenose zaraženi insekti poznati kao nevidi ili papatači.

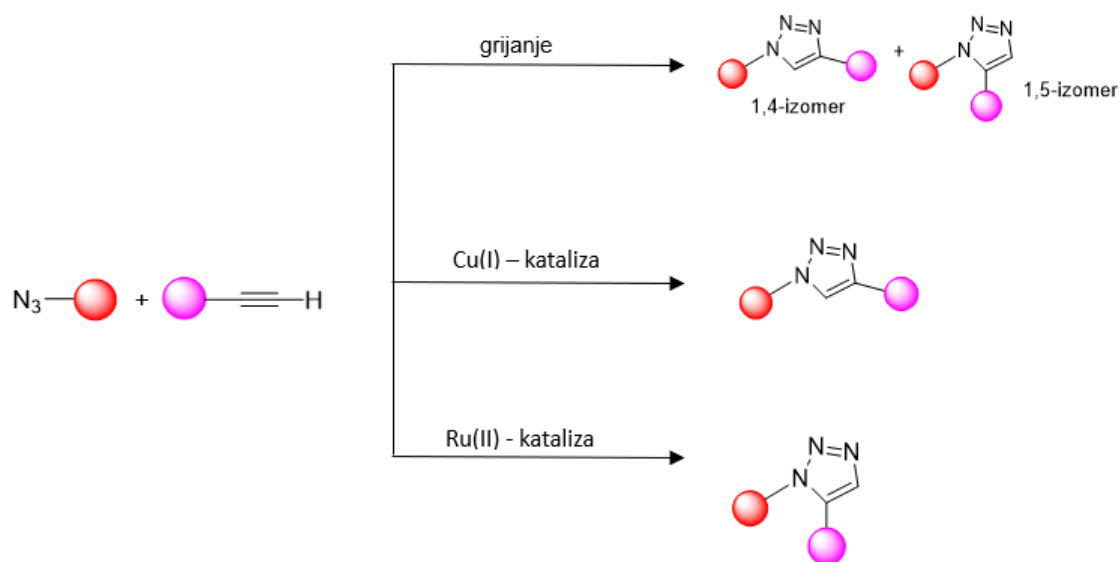


Slika 9. Sažeti odnos između strukture i aktivnosti antilišmenijskih 1,2,3-triazola.

2.3. Sinteza triazola

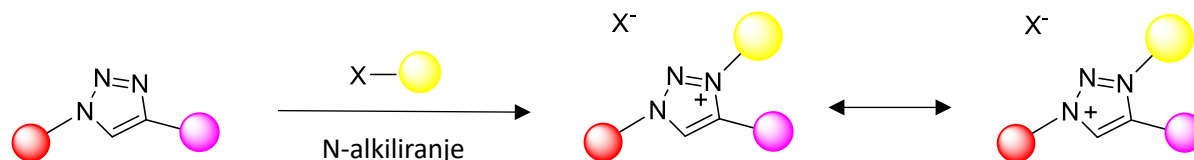
U ranom 21. stoljeću došlo je do proboja u kemiji triazola kada je Sharplessova grupa prvi put predložila novi koncept poznat kao klik-kemija. Klik-kemija je moćna sintetska strategija koja ima za cilj učinkovito i selektivno stvaranje kemijskih veza pod blagim reakcijskim uvjetima.¹² Jedna od najraznovrsnijih klik-reakcija je sinteza soli 1,2,3-triazola. Klik-kemija za sintezu soli 1,2,3-triazola obično uključuje tri koraka koristeći azid i alkin kao početne materijale: cikloadicijsku reakciju 1,2,3-triazola, *N*-alkiliranje i metatezu soli. Korištenje i sinteza 1,2,3-triazola značajno su porasli posljednjih desetljeća. Postojanje triazola prepoznato je od 1960-ih kada je Huisgen otkrio termalnu cikloadicijsku reakciju koja uključuje azide i alkine (Shema 1). Pri visokim temperaturama, Huisgenova 1,3-dipolarna cikloadicija između azida i terminalnih ili unutarnjih alkina dovodi do stvaranja triazola.¹³ Međutim, ova metoda je ograničena zbog potrebe za produženim zagrijavanjem i pročišćavanjem smjese 1,4- i 1,5-regioizomera. Godine 1974., Huisgen i suradnici otkrili su da Cu(I) kationi mogu katalizirati ciklizaciju reakcije između azida i alkina, što dovodi do stvaranja 1,2,3-triazola.⁴ Demonstrirali su da se pod katalitičkim uvjetima CuAAC reakcijom može selektivno generirati 1,4-disupstituirani izomer kao glavni produkt. Ključni korak u Huisgenovoj sintezi je stvaranje bakrovog(I) acetilidnog intermedijera iz alkina i bakrovog katalizatora.¹⁴ Taj intermedijer zatim reagira s azidom kako bi se generirao vrlo stabilan

1,2,3-triazolni produkt. Reakcija pokazuje visoku regioselektivnost pod blagim reakcijskim uvjetima, dajući 1,4-disupstituirani triazolni produkt kao glavni izomer. 2008. godine, Fokinova grupa odabrala je rutenij(II) kao katalizator za promicanje reakcije između serije organskih azida i terminalnih alkina koji sadrže razne funkcijske skupine.³ 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazolni produkti selektivno su generirani na visokoj temperaturi.



Shema 1. Toplinska i katalitička [3+2] cikloadicija azida i alkina reakcijom s 1,2,3-triazolom.

Strukturno složene 1,2,3-triazolne soli mogu se lako pripremiti iz odgovarajućih 1,2,3-triazola koristeći alkil-halide, tosilate, trifluorometansulfonate ili trialkiloksonije (Shema 2).¹⁵ Proces alkiliranja obično uključuje upotrebu baze za deprotoniranje 1,2,3-triazola, nakon čega slijedi reakcija s alkilirajućim sredstvom. Ova transformacija općenito tolerira širok raspon funkcijskih skupina na N-1 i C-4 pozicijama triazolnog prstena i često se događa s općom N-3 regioselektivnošću.

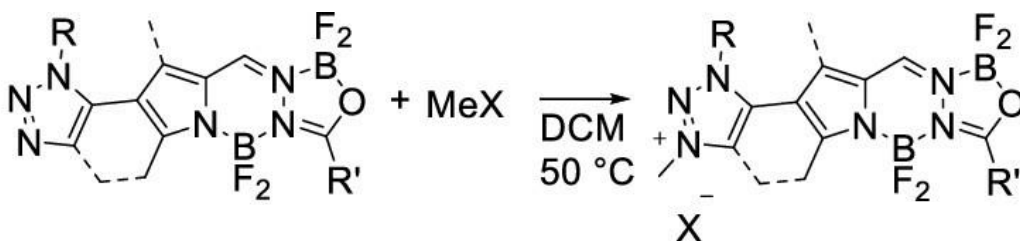


Shema 2. N-alkiliranje 1,2,3-triazola.

Mi u ovom radu provodimo novu sintezu koje još nema u literaturi te na taj način istražujemo nova potencijalna svojstva ovih soli, kao i mogućnost inhibiranja enzima kolinesteraza. Kolinesteraza je enzim koji katalizira hidrolizu neurotransmitera acetilkolina na kolin i octenu kiselinu.¹⁶ Ovaj proces je ključan za regulaciju acetilkolina, koji je neurotransmiter koji prenosi signale između neurona u živčanom sustavu.¹⁷ Postoji jedno područje gdje se ciljano koristi ova strategija: u liječenju određenih neuroloških bolesti poput Alzheimerove bolesti. U Alzheimerovoj bolesti dolazi do progresivnog propadanja živčanih stanica i gubitka kognitivnih funkcija. Jedna od karakteristika Alzheimerove bolesti je smanjenje razine acetilkolinergične neurotransmisije, što doprinosi simptomima poput gubitka pamćenja i kognitivnog propadanja. Zato se u terapiji Alzheimerove bolesti koriste lijekovi nazvani inhibitorima acetilkolinesteraze. Ovi lijekovi djeluju inhibirajući na enzim kolinesterazu, što povećava razinu acetilkolina u mozgu i pomaže u poboljšanju kognitivnih funkcija kod nekih bolesnika s Alzheimerovom bolešću.¹⁷

Još jedan primjer gdje se triazolne soli mogu pronaći te koristiti je za sintezu vodotopivih BOPAHY fluorofora. Nedavno je otkriven bis(difluorbor)pirol-acilhidrazon (BOPAHY) (Shema 3) čije su preteče fluorescentni kromofori koji se koriste u raznim primjenama kao što su *bioimaging* tehnike, optoelektronički uređaji i senzori. Fluorescentni kromofori s borovim središtem trenutno privlače veliku pažnju.¹⁹ Među njima, BODIPY (bor-dipirometan) boje su najuspješnije zbog svojih prilagodljivih fotofizičkih svojstava. Uspjeh BODIPY boja doveo je do sve većeg istraživanja novih fluorofora s borovim središtem. Tako je istražen potencijal 1,2,3-triazolnih soli za formiranje vodotopivih BOPAHY kromofora. 1,2,3-triazol-substituirani pirol sintetizirani su bez korištenja metala i alkilirani kako bi se dobile vodotopive 1,2,3-triazolne BOPAHY boje. Visoki kvantni prinosi fluorescencije primijećeni su za BOPAHY boje povezane triazolom u diklormetanu, dok su umjereni kvantni prinosi fluorescencije zabilježeni za BOPAHY kromofore povezane s 1,2,3-triazolnom jedinicom u diklormetanu i vodi, dok je fluorescencija slobodno rotirajućih 1,2,3-triazola djelomično ugašena u vodi.¹⁸

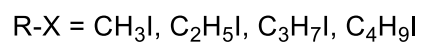
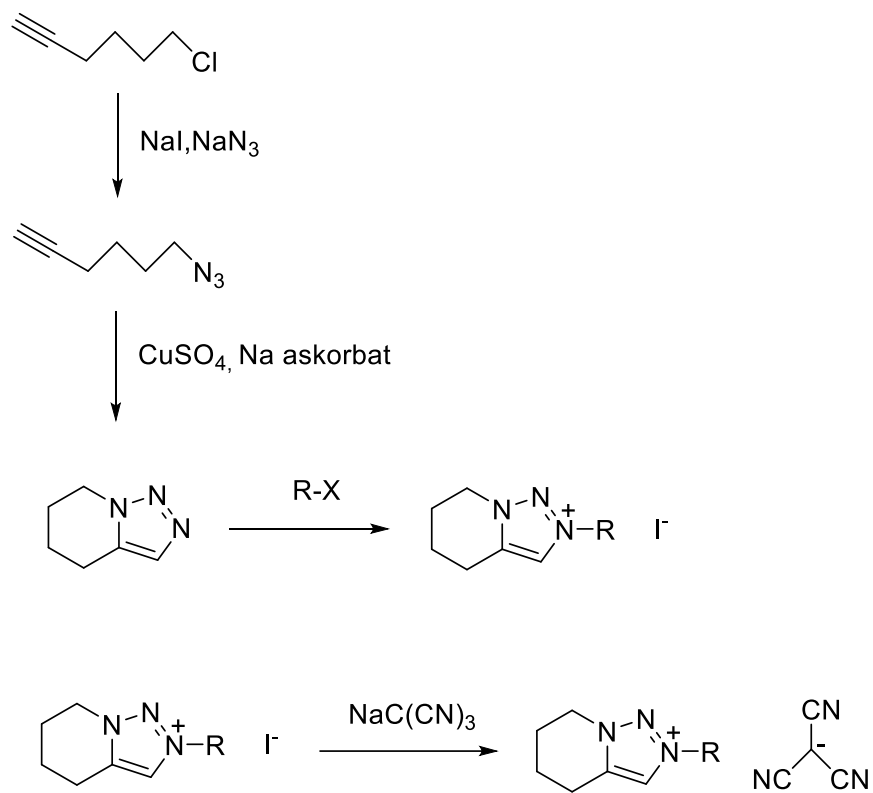
Kako bi se dobili u vodi topljivi BOPAHY spojevi, provedene su reakcije metiliranja na početnim BOPAHY-ima s jodometanom (MeI) ili metil-triflatom (MeOTf) kako bi se dobile triazolne soli (Shema 3).¹⁸



Shema 3. Sinteza triazolnih BOPAHY spojeva.¹⁸

Uz to, triazolne soli svoje mjesto pronalaze i kod sinteze novih niskoviskoznih bicikličkih 1,2,3-triazolnih ionskih tekućina. Visoka viskoznost ionskih tekućina usporava proces regeneracije boje u solarnim ćelijama osjetljivim na boje, što dovodi do manje učinkovitih uređaja.²¹ Stoga je osmišljena i pripremljena serija bicikličkih triazolnih soli (Shema 4) putem bakrom katalizirane azido-alkinske klik-reakcije. Predviđeno je da će biciklička struktura kationa poremetiti pakiranje iona, smanjujući tako elektrostatske interakcije i na kraju dovodeći do ionskih tekućina s niskom viskoznošću.²⁰ Štoviše, tricijanometanidni anion, s tri elektronski privlačne nitrilne skupine, može raspršiti negativni naboj i osigurati niskoviskozne ionske tekućine.

Pomnim odabirom kationa i aniona dobivene su niskoviskozne ionske tekućine na sobnoj temperaturi, koje su uspješno primijenjene u visokoučinkovitim solarnim ćelijama osjetljivim na boje.²⁰ Pokazalo se da su uređaji vrlo stabilni, zadržavajući do oko 90% svoje početne izvedbe nakon 1000 sati ubrzanog testa starenja.²⁰ Ove bicikličke ionske tekućine na bazi nabijenih 1,2,3-triazola predstavljaju alternative imidazolijskim solima koje su bile nenadmašne posljednjih desetak godina. Stoga se očekuje da će ovi rezultati, koji su važni za industrijsku primjenu solarnih ćelija osjetljivih na boje, potaknuti veći interes za relativno neistražene ionske tekućine, što će dovesti do više praktičnih primjena u budućnosti.²⁰

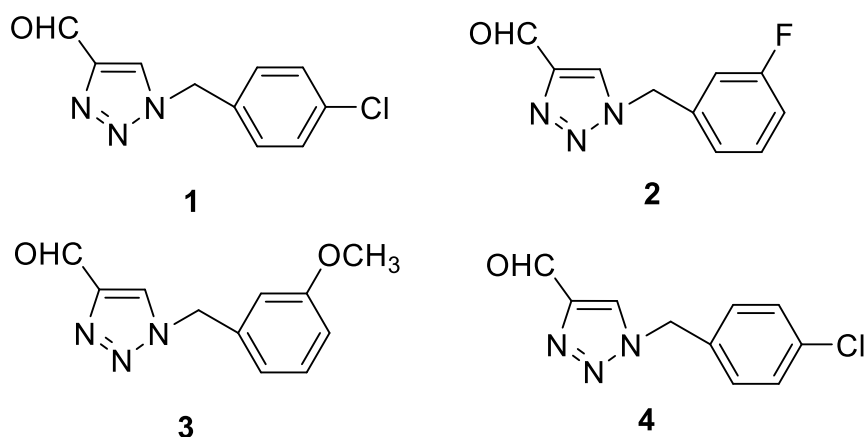


Shema 4. Priprema bicikličkih 1,2,3-triazolnih ionskih tekućina.

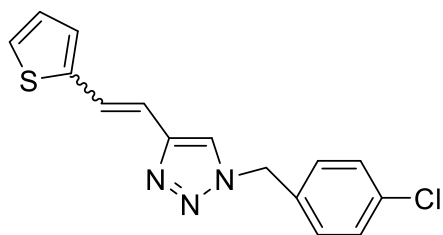
3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Pregled sintetiziranih spojeva

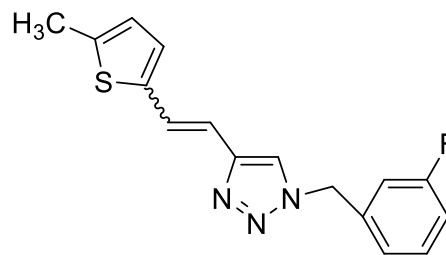
Ciljani produkti dobiveni u ovom radu su po strukturi tienobenzo-triazoli. Sintetizirani su prethodno tieno-triazolni stilbeni kao smjese izomera Wittigovom reakcijom 2-tienilne, tj. 5-metil-2-tienilne soli s različitim 1-supstituiranim 1,2,3-triazol-4-karbaldehidima **1-4** (Slika 10). Općenito se ova vrsta reakcije koristi za pripravu alkena pri čemu aldehidi ili ketoni reagiraju s fosforovim ilidima. No, da bi se uopće mogli sintetizirati tieno-triazolni stilbeni **5-8** (Slika 11), najprije je bilo potrebno pripremiti odgovarajuće triazolne aldehide. Potrebni aldehidi dobiveni su reakcijom 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida i odgovarajućeg amina. S obzirom na dvostruku vezu koju sadrže i koja je doprinjela stvaranju konjugiranog sustava, sintetizirani tieno-triazolni stilbeni **5-8** podvrgnuti su fotokemijskim reakcijama. Prilikom osvjetljavanja smjesa izomera ovih spojeva došlo je do fotokemijske 6π -ciklizacije. Spojevi koji su dobiveni fotokemijskim zatvaranjem prstena su tienobenzo-triazoli **9-12** (Slika 12). Iz spoja **9** je metiliranjem dobivena tienobenzo-triazolna sol **13** (Slika 13) i ona je ta koja je pokazala potencijalno inhibicijsko djelovanje.



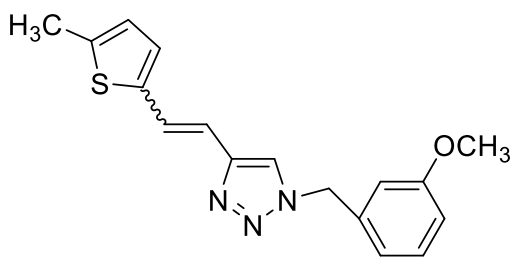
Slika 10. Strukture triazolnih aldehida **1-4** sintetiziranih u ovom radu.



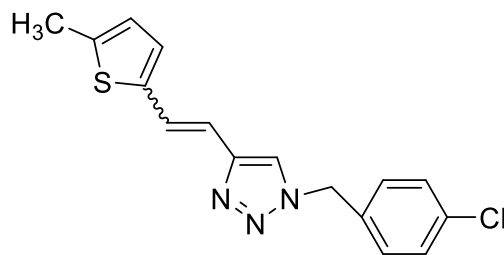
5



6

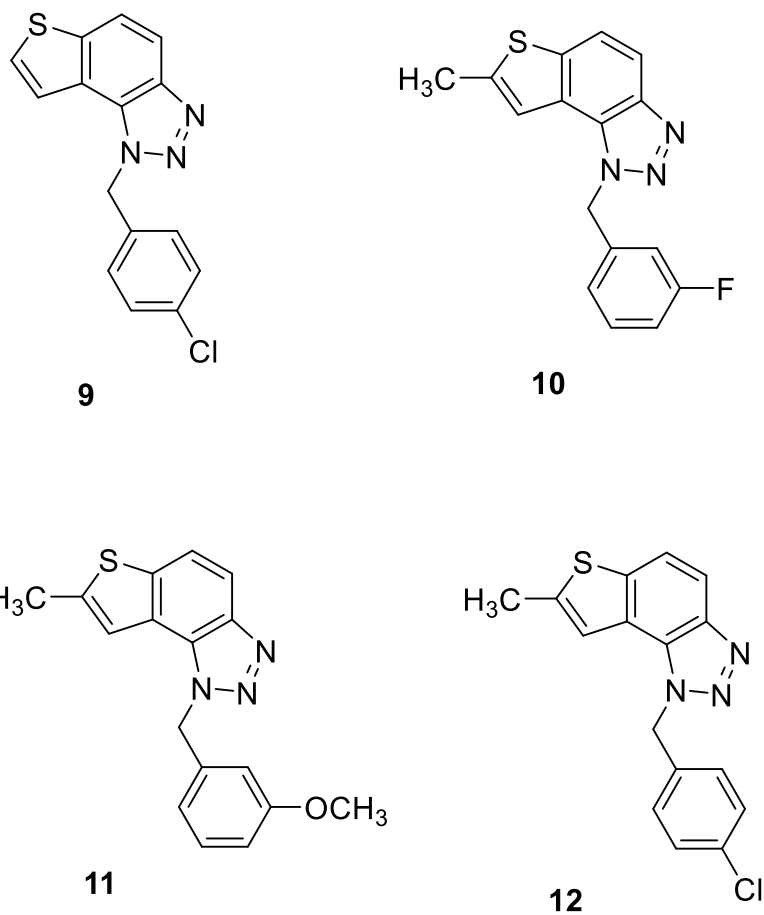


7

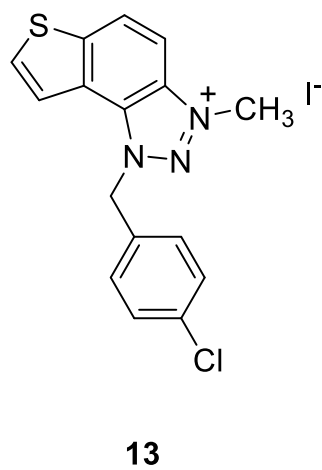


8

Slika 11. Strukture tieno-triazolnih stilbena **5-8** sintetiziranih u ovom radu.



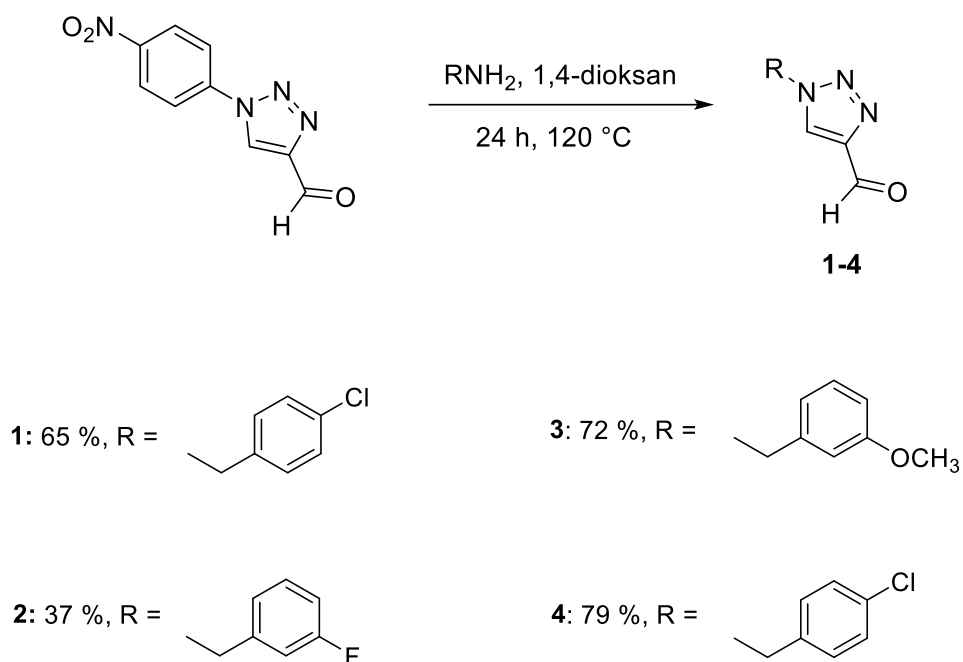
Slika 12. Strukture tienobenzo-triazola **9-12** sintetiziranih u ovom radu.



Slika 13. Struktura tienobenzo-triazolne soli **13** sintetizirane u ovom radu.

3.1.1. Sinteza triazolnih aldehida 1-4

Triazolni aldehidi **1-4** sintetizirani su reakcijom 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (prethodno sintetiziranog u našem laboratoriju) i odgovarajućeg amina (Shema 5). Tako pripremljeni spojevi kao osnovu strukture sadrže 1,2,3-triazolnu jezgru s formilnom skupinom na položaju 4. Dio strukture koji se mijenjao jesu supstituenti na položaju 1. Ovisno o supstituentu koji sadrže, svaki aldehyd ima različite spektroskopske karakteristike. Dobiveni produkti pročišćeni su kolonskom kromatografijom s određenim sustavom otapala. Kao nepokretna faza korišten je silika-gel. Reakcijom nastaje i sporedni produkt *para*-nitroanilin koji prvi eluira.



Shema 5. Sinteza triazolnih aldehida **1-4**.

Za sintezu triazolnog aldehida **1** korišteni su 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehyd otopljen u 1,4-dioksanu i 4-klorbenzilaminu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom

kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM (50%) i DCM/EtOAc (10%). Dobiveno izolirano iskorištenje iznosi 65%. Prema protonskom NMR spektru u izoliranom uzorku nalazi se čisti ciljani aldehid **1**.

Za sintezu triazolnog aldehida **2** korišteni su 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid otopljen u 1,4-dioksanu i 3-flourbenzilaminu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM(50%) i DCM/EtOAc(2%). Dobiveno iskorištenje iznosi 37%. U izoliranom uzorku ima malo *para*-nitroanilina, ciljanog aldehida i amina.

Za sintezu triazolnog aldehida **3** korišteni su 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid otopljen u 1,4-dioksanu i 3-metoksibenzilaminu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM(50%) i DCM/EtOAc(20%). Dobiveno iskorištenje iznosi 72%. U izoliranom uzorku većinski je prisutan ciljani aldehid s malo *para*-nitroanilina.

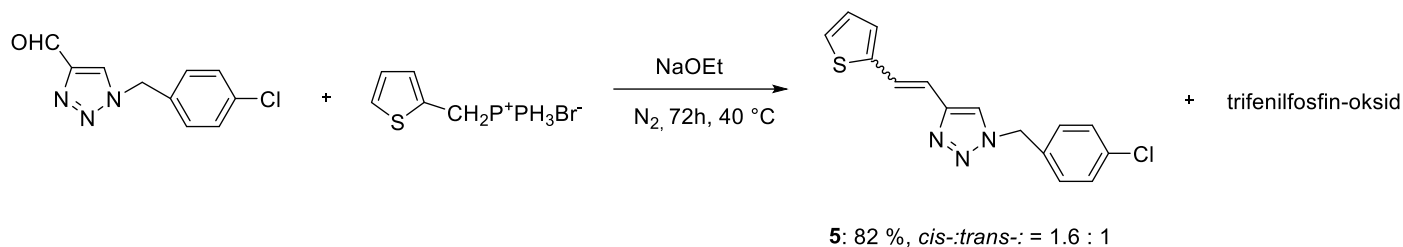
Za sintezu triazolnog aldehida **4** korišteni su 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid otopljen u 1,4-dioksanu i 4-klorbenzilaminu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM(50%) i DCM/EtOAc(10%). Dobiveno iskorištenje iznosi 79%. Izolirani uzorak osim ciljanog aldehida sadrži i malo etanola te tragove *para*-nitroanilina.

Izolirani uzorci koji sadrže ciljane triazolne aldehide **1-4** korišteni su za sljedeće stupnjeve sinteze.

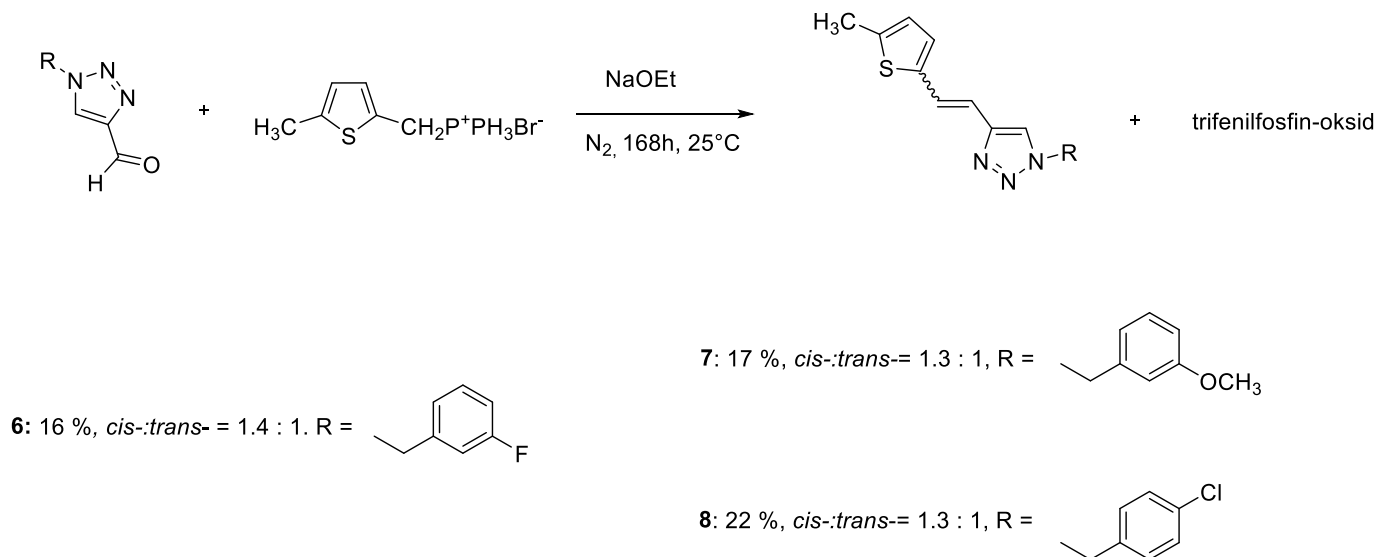
3.1.2. Sinteza tieno-triazolnih stilbena 5-8 Wittigovom reakcijom

Tieno-triazolni stilbeni **5-8** sintetizirani su Wittigovom reakcijom iz 2-tienilne (Shema 6), tj. 5-metil-2-tienilne soli i odgovarajućeg triazolnog aldehida **1-4** (Shema 7). To su spojevi koji u svojoj strukturi sadrže 1-supstituirani 1,2,3-triazolni prsten povezan dvostrukom vezom ugljik-ugljik na položaju 4 s benzilnim supstituentom. S obzirom da se u strukturi ovih spojeva nalazi dvostruka veza, reakcijom nastaju dva izomera s različitim spektroskopskim karakteristikama. Izomeri se jako teško razdvajaju zbog vrlo sličnih R_f vrijednosti, no u ovom slučaju to nije ni bilo potrebno jer se dalje u fotokemijske reakcije moglo ići sa smjesom izomera.

Dobiveni produkti Wittigove reakcije **5-8** pročišćeni su kolonskom kromatografijom s određenim sustavom otapala. Kao nepokretna faza korišten je silika-gel. Reakcijom nastaje smjesa izomera pri čemu *cis*-izomer i *trans*-izomer eluiraju sličnim brzinama, dok neizreagirani aldehid eluira prvi. Nakon oba izomera eluira i trifenilfosfin-oksid.



Shema 6. Sinteza tieno-triazolnog stilbena **5** Wittigovom reakcijom s tienilom soli.



Shema 7. Sinteza tieno-triazolnih stilbena **6-8** Wittigovom reakcijom s 5-metil-2-tienilom soli.

Za sintezu tieno-triazolnog stilbena **5** korištena je 2-tienilna sol i 1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**1**) uz dodatak natrijevog etoksida koji je dobiven reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno izolirano iskorištenje iznosi 82 %. *Cis*-izomer prisutan je u nešto većem udjelu od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1.6 : 1) prema protonskom NMR spektru.

Za sintezu tieno-triazolnog stilbena **6** korištena je 5-metil-2-tienilna sol i 1-(3-flourbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**2**) uz dodatak natrijevog etoksida koji je dobiven reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno iskorištenje iznosi 16 %. *Cis*-izomer prisutan je u nešto većem udjelu od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1.4 : 1) prema protonskom NMR spektru.

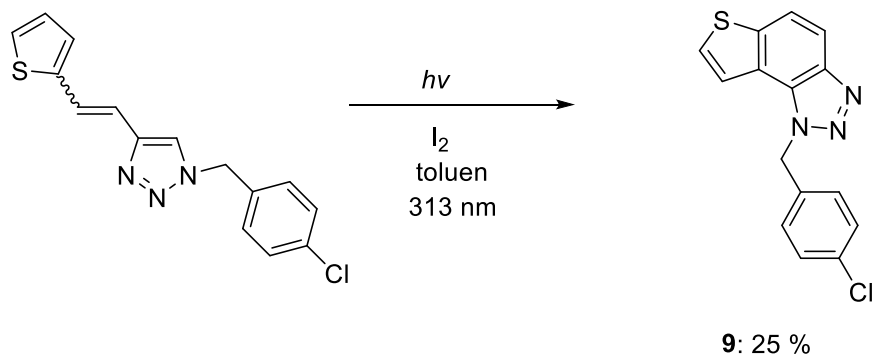
Za sintezu tieno-triazolnog stilbena **7** korištena je 5-metil-2-tienilna sol i 1-(3-metoksibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**3**) uz dodatak natrijevog etoksida koji je dobiven reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno iskorištenje iznosi 17 %. *Cis*-izomer prisutan je u nešto većem udjelu od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1.3 : 1) prema protonskom NMR spektru.

Za sintezu tieno-triazolnog stilbena **8** korištena je 5-metil-2-tienilna sol i 1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**4**) uz dodatak natrijevog etoksida koji je dobiven reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno iskorištenje iznosi 22 %. *Cis*-izomer prisutan je u nešto većem udjelu od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1.3 : 1) prema protonskom NMR spektru.

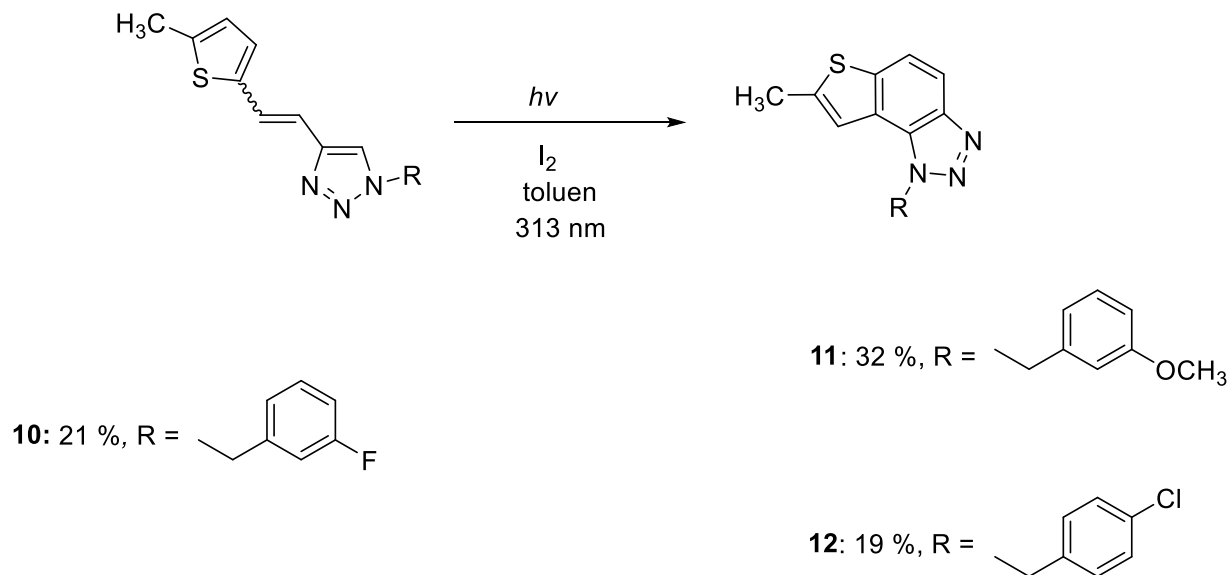
3.1.3. Fotokemijska sinteza tienobenzo-triazola 9-12

Tienobenzo-triazoli **9-12** sintetizirani su fotokemijskim reakcijama tieno-triazolnih stilbena **5-8** (Shema 8/9). Odgovarajući tieno-triazolni stilbeni **5-8** otopljeni su u toluenu te preneseni u kivetu od kvarca koja propušta svjetlost. Smjesi je dodan jod u katalitičkoj količini koji služi kao

oksidacijsko sredstvo. Reakcije su se zatim osvijetljavale svjetlošću valne duljine od 313 nm. Tijek reakcije pratio se pomoću tankoslojne kromatografije.



Shema 8. Fotokemijska sinteza tienobenzo-triazola **9**.



Shema 9. Fotokemijska sinteza tienobenzo-triazola **10-12**.

Za sintezu tienobenzotriazola **9** korišten je 1-(4-klorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**5**) otopljen u toluenu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno izolirano iskorištenje iznosi 25 %. Prema protonskom NMR spektru u izoliranom uzorku prisutan je čisti produkt, koji je eluirao u prvim frakcijama, dok je u zadnjim frakcijama eluirao neproreagirani početni spoj **5**.

Za sintezu tienobenzotriazola **10** korišten je 1-(3-flourbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**6**) otopljen u benzenu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno izolirano iskorištenje iznosi 21 %. Prema protonskom NMR spektru u izoliranom uzorku prisutan je čisti produkt, koji je eluirao u prvim frakcijama, dok je u zadnjim frakcijama eluirao neproreagirani početni spoj **6**.

Za sintezu tienobenzotriazola **11** korišten je 1-(3-metoksibenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**7**) otopljen u benzenu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno izolirano iskorištenje iznosi 32 %. Prema protonskom NMR spektru u izoliranom uzorku prisutan je čisti produkt, koji je eluirao u prvim frakcijama, dok je u zadnjim frakcijama eluirao neproreagirani početni spoj **7**.

Za sintezu tienobenzotriazola **12** korišten je 1-(4-klorbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**8**) otopljen u benzenu. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Dobiveno izolirano iskorištenje iznosi 19 %. Prema protonskom NMR spektru u izoliranom uzorku prisutan je čisti produkt, koji je eluirao u prvim frakcijama, dok je u zadnjim frakcijama eluirao neproreagirani početni spoj **8**.

3.1.4. Metiliranje tienobenzotriazola **9**

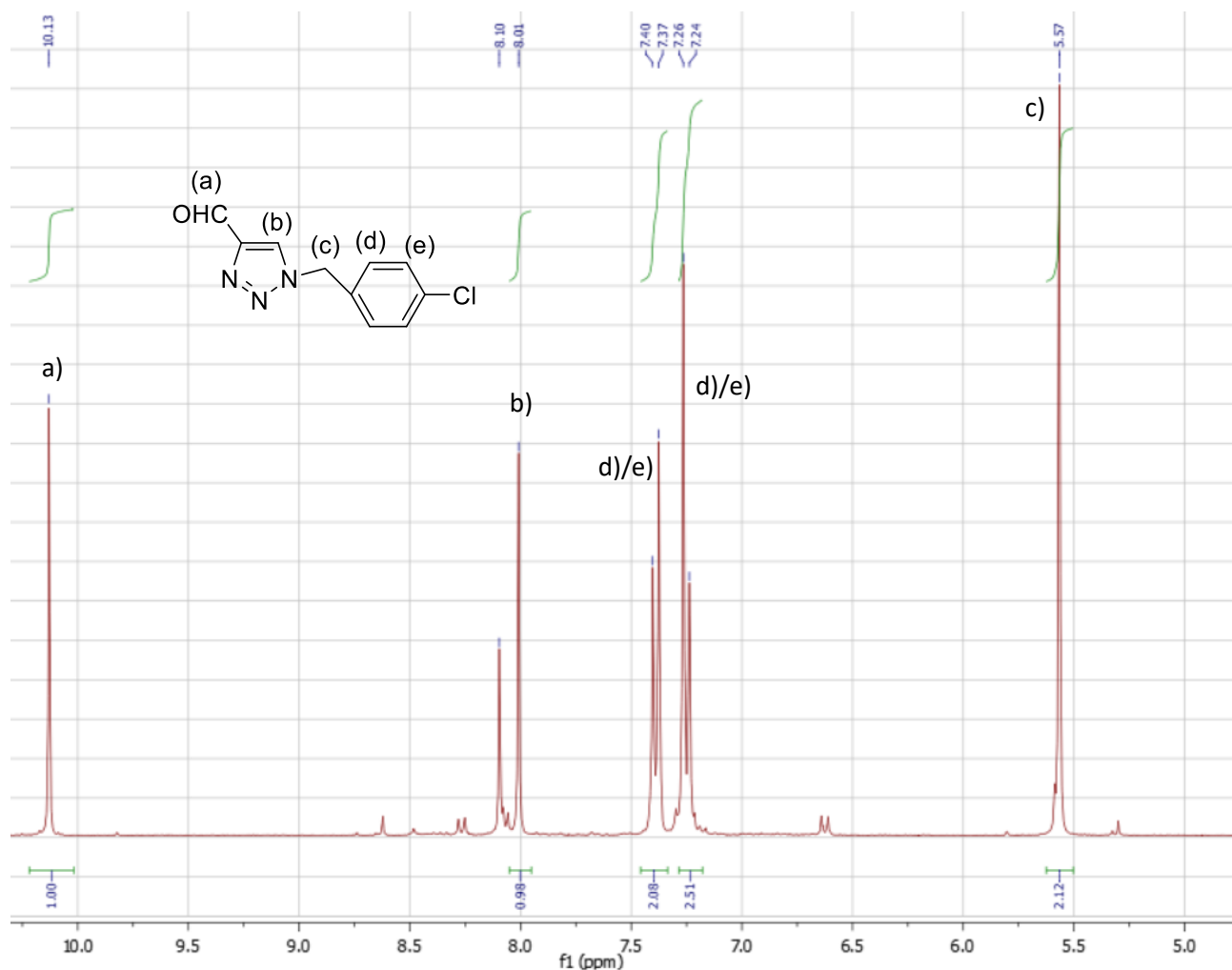
Tienobenzotriazolna sol (**13**) sintetizirana je tako što je otopljen 1-(4-klorbenzil)tienobenzotriazol (**9**) kao reprezentativna molekula u DCM-u te dodan metil-jodid u suvišku od 10 ekvivalenata, nakon čega je reakcijska aparatura propuhana argonom. Nakon miješanja tijekom određenog vremena uzorak se ohladi na 0 °C te se doda etera, pri čemu se slabije topljivija sol istaloži, a u otopini ostaje neproreagirana neutralna molekula **9**. Zatim se reakcijska smjesa prebaci u kivetu pomoću etera te se centrifugira pa se eter dekantira. Postupak se ponovi osam puta prema iskustvu iz laboratorija. Dobiveno izolirano iskorištenje na soli **13** iznosi 25 %.

3.2. Spektroskopska karakterizacija sintetiziranih derivata

Sintetizirani derivati dobiveni su u dovoljnim količinama za analizu spektroskopskim metodama te za biološka ispitivanja. Za potvrdu strukture pripremljenih spojeva koristile su se ^1H i ^{13}C NMR spektroskopija, te HRMS analiza. ^1H NMR spektroskopija daje informacije o broju protona u strukturi pri čemu je integral površine signala proporcionalan broju protona. Iznimno je važna za određivanje omjera izomera čemu doprinosi karakteristična etenska konstanta sprege. U ^{13}C NMR spektrima jedan pik vidi se za svaki ugljikov atom koji se od ostalih razlikuje prema kemijskoj okolini.

3.2.1. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih aldehida 1-4

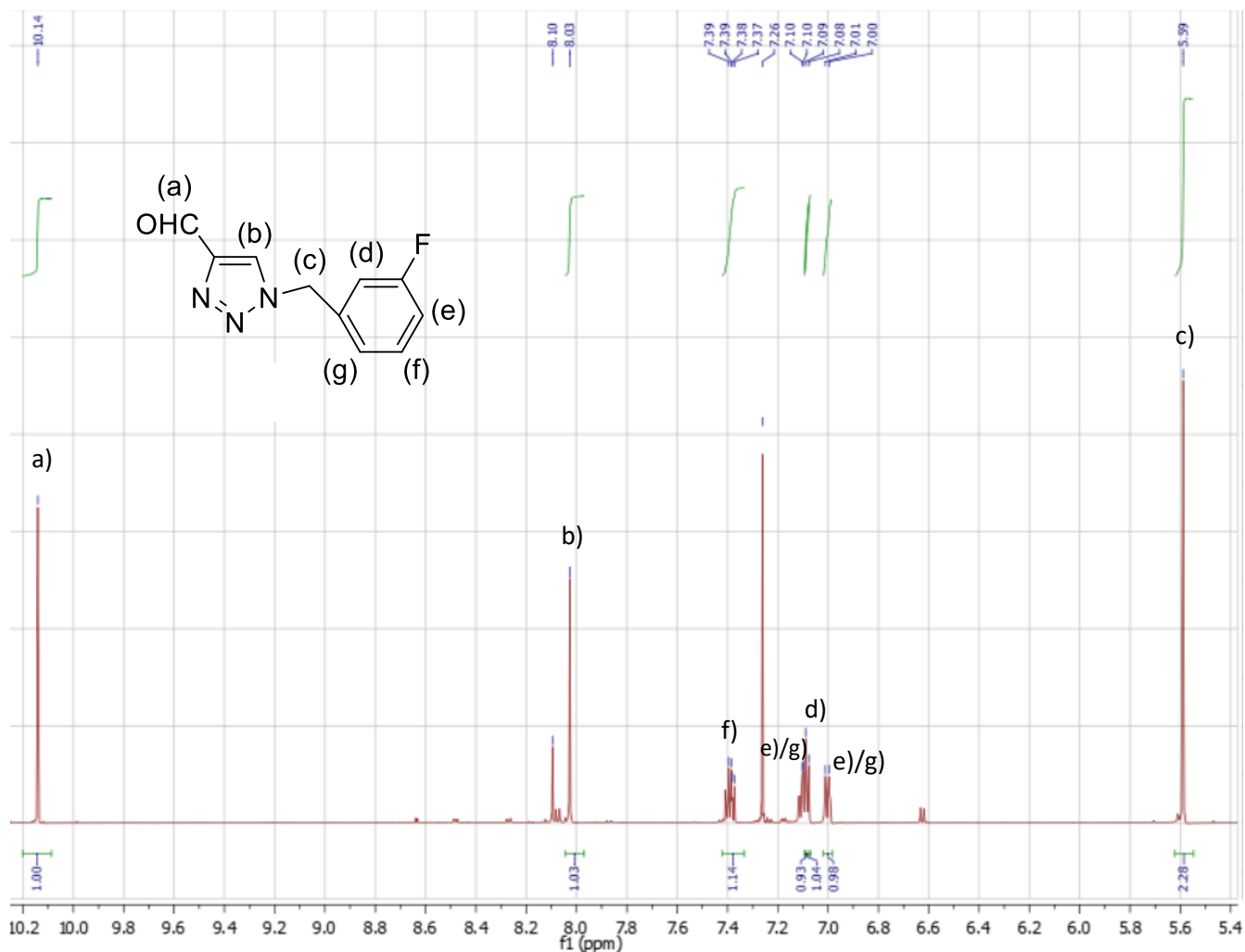
Za triazolni aldehyd **1** snimljen je ^1H NMR spektar (Slika 14) u kojemu je vidljivo pet signala za pet različita protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10.13 ppm je signal za formilni proton koji se inače očekuje u području između 9.5 – 12 ppm. Upravo taj signal potvrđuje da je dobiveni produkt aldehyd. Proton dvostruke veze ugljik-ugljik u triazolnom prstenu potvrđuje singlet na 8.01 ppm. Općenito se signali za dvostruku vezu ugljik-ugljik nalaze u području između 4 – 7 ppm, no ovaj signal je pomaknut zbog utjecaja elektronegativnosti atoma dušika (induktivni efekt). Što je veći broj elektronegativnijih atoma u susjedstvu, pomak u niže polje se povećava (pojačava). Tako je singlet u alifatskom dijelu spektra na 5.57 ppm pomaknut zbog veze ugljik-dušik. Preostala dva signala u spektru odgovaraju aromatskim protonima. To su multiplieti u području 7.37 – 7.40 ppm i 7.24 – 7.26 ppm od kojih se i očekuju pomaci u području 7 – 9 ppm.



Slika 14. ¹H NMR spektar 1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**1**).

Za triazolni aldehyd **2** snimljen je ¹H NMR spektar (Slika 15) u kojemu je vidljivo sedam signala za sedam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10.14 ppm signal je za formilni proton što je dokaz da je dobiveni spoj aldehyd. Signal za proton dvostruke veze ugljik-ugljik u triazolnom prstenu nalazi se na 8.03 ppm u obliku singleta. U aromatskom dijelu spektra vidljiva su četiri signala karakteristična za *meta*-supstituirani aromatski prsten. To su dublet-dubleta s konstantama sprege od 13.8 i 7.9 Hz na 7.39 ppm, singlet na 7.09 ppm, dublet s konstantom sprege od 8.1 Hz na 7.08 ppm i dublet s konstantom sprege od 9.0 Hz na 7.01 ppm.

Preostao je još jedan signal za metilenske protone okružene triazolnom i aromatskom jezgrom na 5.59 ppm u obliku singleta.



Slika 15. ^1H NMR spektar 1-(3-flourbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (2).

Za triazolni aldehid 3 snimljen je ^1H NMR spektar u kojemu je vidljivo osam signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10.13 ppm odgovara formilnom protonu koji je potvrda za aldehid, a singlet na 8.00 ppm odnosi se na proton dvostruke veze ugljik-ugljik u triazolnom prstenu. U aromatskom dijelu spektra nalaze se četiri signala

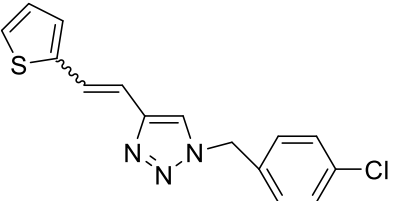
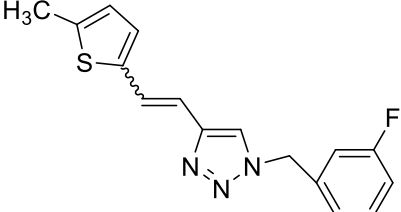
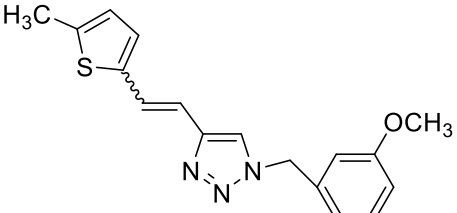
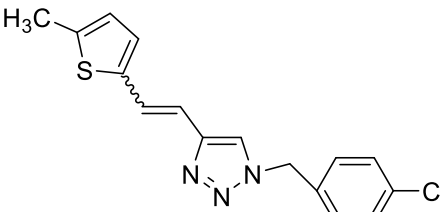
karakteristična za već spomenutu *meta*-supstituciju: dublet-dubleta s konstantama sprege od 15.9 i 7.9 Hz na 7.33 ppm, dublet s konstantom sprege od 8.3 Hz na 6.92 ppm, dublet s konstantom sprege od 7.6 Hz na 6.88 ppm i singlet na 6.82 ppm. Preostala su dva singleta u alifatskom dijelu spektra od kojih je jedan signal za metilenske protone okružene triazolnom i aromatskom jezgrom na 5.55 ppm i drugi na 3.80 ppm koji se odnosi na protone metoksi-skupine. U ovom slučaju protoni metilne skupine nalaze se u blizini elektronegativnog atoma (kisika), pa se iz tog razloga signal nalazi u području 3 – 4 ppm.

Za triazolni aldehid **4** snimljen je ^1H NMR spektar u kojemu je vidljivo pet signala za pet različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10.13 ppm odgovara formilnom protonu koji je potvrda za prisutnost aldehida, a singlet na 8.00 ppm odnosi se na proton dvostruke veze ugljik-ugljik u triazolnom prstenu. U aromatskom dijelu spektra (7 – 9 ppm) vidljiva su dva signala vezana uz aromatske protone. To su multiplet u području 7.38 – 7.40 ppm i multiplet u području 7.24 – 7.26 ppm. Spektar sadrži i jedan signal u manje zasjenjenom dijelu odnosno singlet na 5.57 ppm za metilenske protone okružene triazolnom i aromatskom jezgrom.

3.2.2. NMR spektroskopija sintetiziranih tieno-triazolnih stilbena 5-8

Kod tieno-triazolnih stilbena **5-8** sintetiziranih Wittigovom reakcijom ^1H NMR spektroskopija poslužila je za potvrdu nastanka dvostruke veze te za određivanje omjera *cis*- i *trans*-izomera u dobivenoj smjesi produkata. S obzirom da su u pitanju smjese, signale nije bilo potrebno detaljno analizirati zbog njihove složenosti odnosno djelomičnog preklapanja. Bitno je bilo utvrditi jesu li zaista prisutne smjese izomera koje su potrebne za daljnje fotokemijske reakcije. Dobiveni omjeri *cis*- i *trans*-izomera za svaki od sintetiziranih tieno-triazolnih stilbena prikazani su u tablici 1. U fotokemijske reakcije polazilo se upravo s dobivenom smjesom produkata jer prilikom osvjetljavanja dolazi do izomerizacije i uspostavljanja fotostacionarnog stanja u kojemu je prisutna ravnoteža između *cis*- i *trans*-izomera. To znači da će bez obzira na sastav polazne smjese, ishod biti uvijek isti pri istoj valnoj duljini.

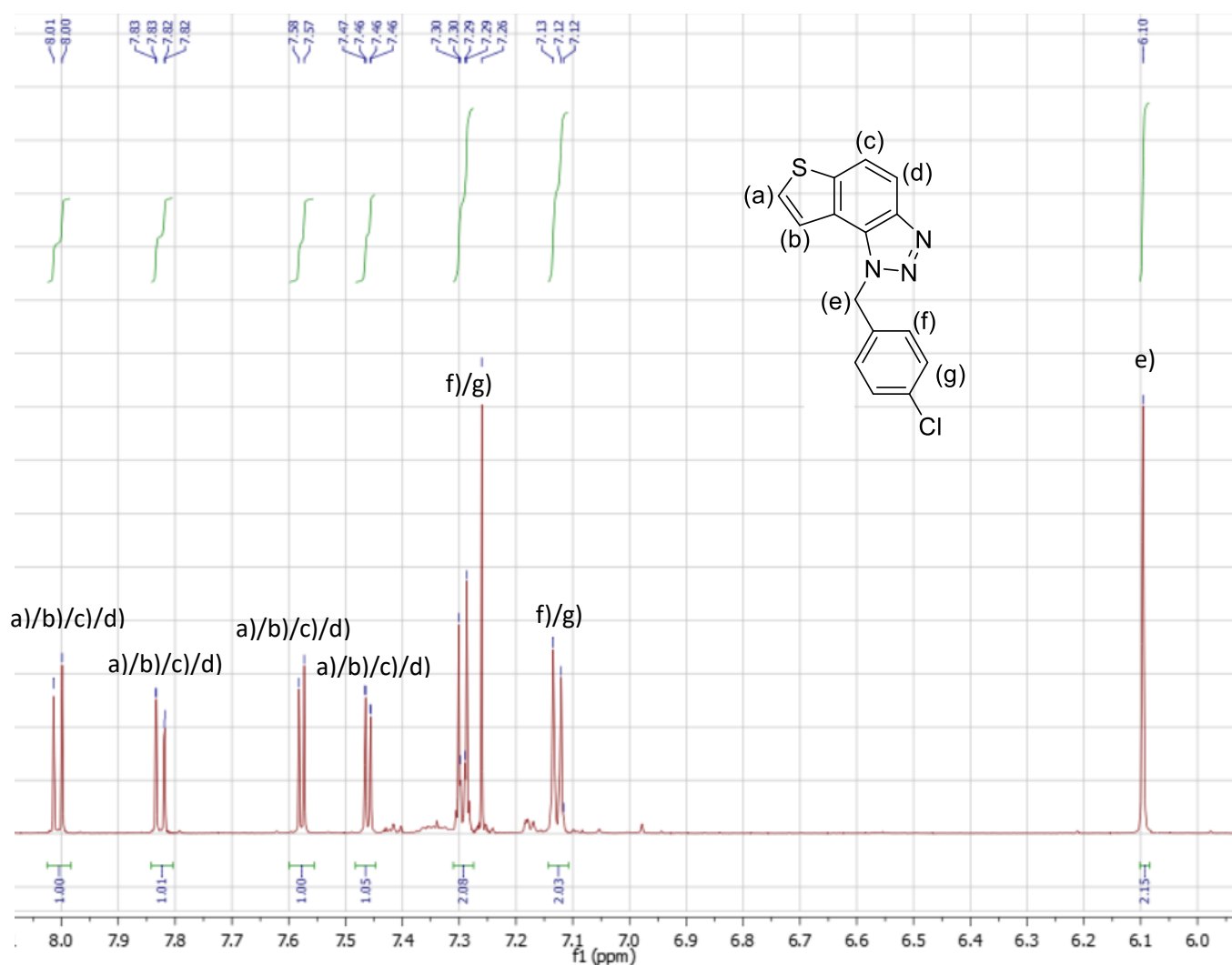
Tablica 1. Dobiveni omjeri *cis*- i *trans*-izomera sintetiziranih tieno-triazolostilbena prema protonskim NMR spektrima.

OZNAKA TIENO-TRIAZOLOSTILBENA	STRUKTURA TIENO-TRIAZOLOSTILBENA	OMJER <i>cis</i> -: <i>trans</i> -IZOMERA
5		1.6 : 1
6		1.4 : 1
7		1.3 : 1
8		1.3 : 1

3.2.3. NMR spektroskopija sintetiziranih tienobenzo-triazola 9-12 i triazolne soli 13

Struktura tienobenzo-triazola **9** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. U ^1H NMR spektru vidljivo je sedam signala za sedam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Aromatski dio spektra ovdje sadrži nešto više signala zbog prisutnosti *para*-supstituiranog benzena. Signali u tom području jesu: dva dubleta s konstantom sprege od 5.5 Hz na pomacima

od 7.58 i 7.46 ppm, dublet s konstantom sprege od 9.2 Hz na 7.83 ppm, dublet s konstantom sprege od 8.9 Hz na 8.00 ppm te dva dubleta koja se odnose na navedenu *para*-supstituciju na 7.12 ppm i 7.29 ppm s konstantom sprege 8.5 Hz (Slika 16). Prisutan je i signal u zasjenjenijem području, a to je singlet na 6.1 ppm koji se odnosi na protone metilenske skupine okružene triazolnom i benzenskom jezgrom. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je trinaest signala za ugljikove atome koji imaju različitu kemijsku okolinu od kojih je šest kvaternih ugljika. Većina signala nalazi se u nezasjenjenom dijelu spektra na većim kemijskim pomacima, tj. u području 100 – 160 ppm.



Slika 16. ^1H NMR spektar 1-(4-klorbenzil)-1H-tienobenzo-[1,2,3]triazola (**9**).

Struktura tienobenzotriazola **10** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. U ^1H NMR spektru vidljivo je devet signala za devet različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Ovaj spektar sadrži još više signala u aromatskom dijelu u odnosu na prethodni zbog prisutnosti *meta*-supstituiranog benzena. Signali koji se ovdje nalaze jesu: dva dubleta s konstantom sprege od 8.9 Hz na pomacima od 7.63 i 7.85 ppm, dublet s konstantom sprege od 7.8 Hz na 6.9 ppm, dublet-dubleta s konstantama sprege od 15.9 i 8.0 Hz na 7.3 ppm, dublet s konstantama sprege od 9.4 Hz na 6.8 ppm te dva singleta na 7.19 ppm i 7.05 ppm. Od preostala dva singleta jedan se nalazi na 6.05 ppm (metilenski protoni koji su okruženi triazolnom i benzenskom jezgrom), a drugi pak na 2.54 ppm (protoni metilne skupine). U ^{13}C NMR spektru vidljivo je šesnaest signala za ugljikove atome koji imaju različitu kemijsku okolinu od kojih je sedam kvaternih ugljika. Najveći dio signala nalazi se u području 100 – 170 ppm i par drugih signala.

Struktura tienobenzotriazola **11** također je potvrđena ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. U ^1H NMR spektru vidljivo je deset signala za deset različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Kod ovog spoja također je prisutna *meta*-supstitucija benzena, pa se većina signala nalazi upravo u aromatskom dijelu spektra. To su sljedeći signali: dva dubleta s konstantom sprege od 8.9 Hz na pomacima od 7.68 i 7.90 ppm, dublet s konstantom sprege od 10.9 Hz na 6.84 ppm, dublet s konstantom sprege od 8.2 Hz na 6.78 ppm, dublet-dubleta s konstantama sprege od 13.4 i 5.8 Hz na 7.22 ppm, singlet na 7.26 ppm i singlet na 6.70 ppm (Slika 22). Singlet za metilenske protone nalazi se na 6.05 ppm, a preostala dva singleta na 2.60 ppm odnosi se na metilnu skupinu i na 3.71 ppm odnosi se na protone metoksi-skupine. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je sedamnaest signala za ugljikove atome koji imaju različitu kemijsku okolinu od kojih je sedam kvaternih ugljika.

U ^1H NMR spektru tienobenzotriazola **12** vidljivo je sedam signala za sedam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Aromatski dio spektra ovdje također sadrži nešto više signala zbog prisutnosti *para*-supstituiranog benzena. Signali u tom području su: dva dubleta s konstantom sprege od 8.9 Hz na pomacima od 7.90 i 7.70 ppm, singlet na 7.26 ppm te dva dubleta koja se odnose na *para*-supstituciju na 7.30 ppm s konstantom sprege 8.4 Hz i 7.12 ppm s konstantom sprege 8.2 Hz (Slika 21). Prisutna su dva signala u zasjenjenijem području, a to su singlet na 6.1 ppm koji se odnosi na protone metilenske skupine okružene triazolnom i

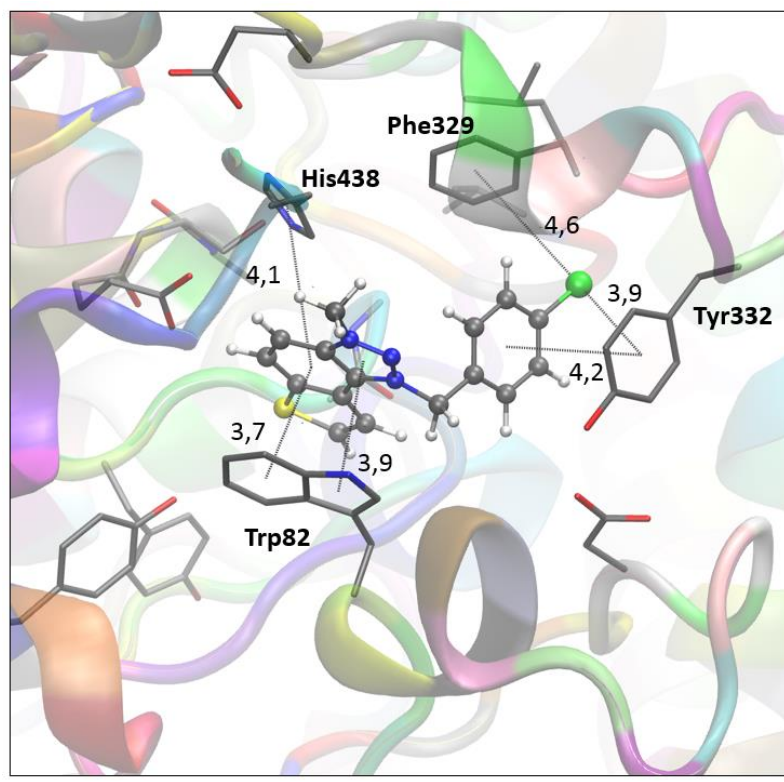
benzenskom jezgrom te singlet na 2.61 ppm za protone metilne skupine. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je trinaest signala za ugljikove atome koji imaju različitu kemijsku okolinu od kojih je sedam kvaternih ugljika. Većina signala nalazi se u nezasjenjenom dijelu spektra na većim kemijskim pomacima točnije u području 100 – 160 ppm, osim dva signala na manjim pomacima.

Struktura tienobenzo-triazolne soli **13** također potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. U ^1H NMR spektru vidljivo je osam signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signali u aromatskom području su: dublet s konstantom sprege od 5.6 Hz na 7.85 ppm, dublet s konstantom sprege od 5.2 Hz na 7.98 ppm, dublet s konstantom sprege od 9.04 Hz na 8.10 ppm, dublet s konstantom sprege 8.0 na 8.34 ppm te dva dubleta koja se odnose na *para*-supstituciju na 7.26 ppm s konstantom sprege 8.1 Hz i 7.42 ppm s konstantom sprege 8.4 Hz (Slika 21). Prisutna su još dva signala izvan ovog područja, a to je singlet na 6.45 ppm koji se odnosi na protone metilenske skupine okružene triazolnom i benzenskom jezgrom te singlet na 4.86 ppm koji se odnosi na protone metilne skupine, metilirane triazolne jezgre. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je četrnaest signala za ugljikove atome koji imaju različitu kemijsku okolinu od kojih je šest kvaternih ugljika.

Svi izolirani čisti spojevi dati su i na snimanje masenih spektara te HRMS analizu, kako bi se potvrdile strukture te njihova čistoća.

3.3. Biološka aktivnost sintetizirane tienobenzo-triazolne soli **13**

Biološka ispitivanja na Sveučilištu u Mostaru, Fakultetu za prirodoslovno-matematičke i odgojne znanosti, pokazala su da spoj **9** pokazuje inhibiciju enzima butirilkolinesteraze s IC_{50} vrijednosti od 34,6 μM dok njegova sol **13** ima IC_{50} od 0,6 μM , što je čak deset puta bolja inhibicijska aktivnost od one koju pokazuje standardni reverzibilni inhibitor galantamin. Tako je upravo spoj **13** odabran za molekulske pristajanje (Slika 17). Time se vizualizirala struktura kompleksa liganda (molekula spoja **13**) i aktivnog mjesta enzima BChE, te su identificirane nekovalentne interakcije odgovorne za stabilnost kompleksa, koje utječu na potencijal inhibicije.



Slika 17. Struktura aktivnog mjesta BChE u kompleksu s molekulom 1-(4-klorbenzil)-3-metil-1H-tienobenzo-[1,2,3]triazola (**13**), dobivena metodom molekuskog dockinga. Atomi vodika prikazanih aminokiselina nisu prikazani radi preglednosti. Udaljenosti su izražene u angströmima, Å ($1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$, odnosno 100 pm)

Molekularno pristajanje spoja **13** u aktivno mjesto BChE rezultiralo je strukturom prikazanom na slici 17. Detektirane su π - π interakcije između Trp i triazolnog te fenilnog dijela molekule, His438 i središnjeg fenilnog prstena i između Phe329 i benzilnog ostatka. Dodatno, Phe329 kao i Tyr332 pokazuju halogen- π s klorom na benzilnoj podjedinici.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Za ovaj rad korištena su otapala koja su pročišćena destilacijom i lako su dostupna na tržištu. Nakon svake ekstrakcije, vodeni i organski slojevi su razdvojeni, a organski sloj se sušio iznad bezvodnog magnezijevog sulfata. Tankoslojna kromatografija provedena je na pločicama presvučenim silika-gelom (0,2 mm, 60/Kieselguhr F254) koje su bile uronjene u 10 mL sustava otapala. Staklene kolone različitih promjera, napunjene silika-gelom (60 Å, tehnička čistoća), korištene su za kolonsku kromatografiju.

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su koristeći spektrometar Bruker Avance od 600 i 300 MHz. Svi spojevi analizirani NMR tehnikom otopljeni su u deuteriranom kloroformu (CDCl_3). Kao standard korišten je TMS (tetrametilsilan), koji nije toksičan, jeftin je, inertan, i daje samo jedan signal, što ga čini izuzetno pogodnim za ^1H i ^{13}C NMR. Kemijski pomaci izraženi su u ppm jedinicama (*engl.* parts per million). U ^1H NMR spektrima vidljivi su specifični signali kao što su signal za vodu u kloroformu na 1.6 ppm, signal za kloroform na 7.24 ppm, signal za diklormetan u kloroformu na 5.26 ppm i signal za aceton u kloroformu na 2.17 ppm. U ^{13}C NMR spektrima specifičan je signal grupa od tri linije na 77 ppm, što potječe od deuteriranog kloroforma kao otapala.

Fotokemijske reakcije provedene su u kvarcnim kivetama koje propuštaju svjetlost, s otopinama volumena 30 ili 50 mL. Reakcije su provođene u fotokemijskom reaktoru (Rayonet) opremljenom UV lampama (10 komada) valne duljine od 313 nm, jačine po 8 W.

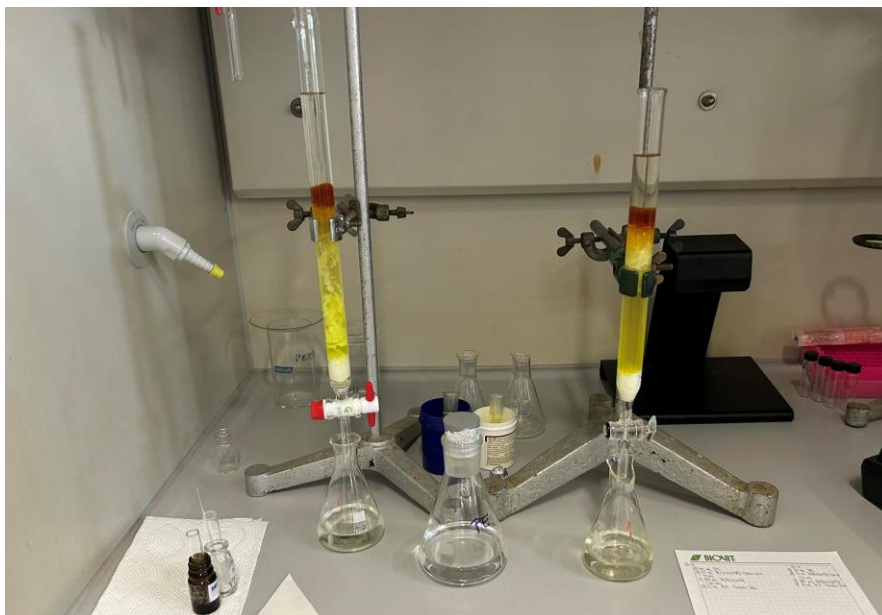
Kratice korištene u eksperimentalnom dijelu su: DCM – diklormetan, E – dietileter, NMR – nuklearna magnetska rezonancija, PE – petroleter, EtOAc – etil-acetat, NaOEt – natrijev etoksid, s – singlet, d – dublet, t – triplet, m – multiplet, dd – dublet-dubleta.

4.2. Sinteza triazolnih aldehida

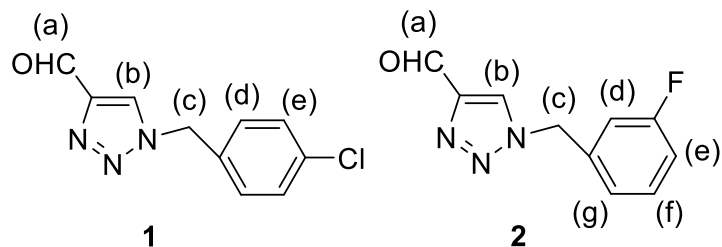
Svi triazolni aldehidi sintetizirani su u malim staklenim bočicama s čepom i parafilmom (Slika 17). 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (prethodno sintetiziran u našem laboratoriju) otopio se u suhom 1,4-dioksanu, pa se reakcijskoj smjesi dodao odgovarajući amin. Smjesa se kratko propuhala argonom (inertni plin). Reakcija se odvijala određeno vrijeme ovisno o primijenjenom aminu, za spoj 1 reakcija se provodila 24 h, dok se za spojeve 2-4 reakcija provodila 65 h, sve u uljnoj kupelji pri 120°C. Na vrijeme reakcije trebalo je paziti kako ne bi došlo do polimerizacije amina. Tijek reakcije pratio se tankoslojnom kromatografijom. Po završetku reakcije otapalo se uklonilo uparavanjem na rotacijskom vakuumskom uparivaču. Kruti produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom uz odgovarajući sustav otapala (Slika 18).



Slika 17. Prikaz sinteze triazolnih aldehida **1** i **2**.



Slika 18. Prikaz izvođenja kolonske kromatografije aldehida **3** i **4**.



1-(4-klorbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (1)

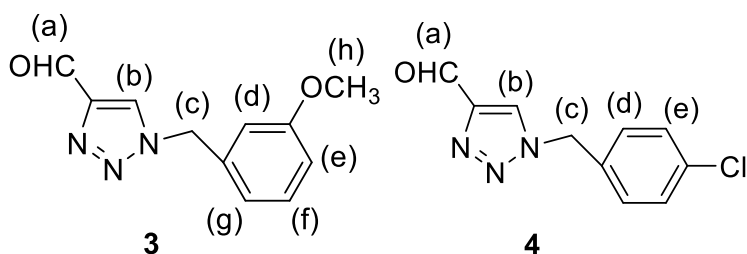
Spoj **1** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 4-klorbenzilamina (155.9 mg odnosno 134.4 μL , 1.1 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (200 mg, 0.92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1.5$ cm; $h = 15$ cm; sustav PE/DCM/EtOAc (10%)).

131.1 mg, 65 % izoliranog spoja; R_f (DCM (100 %)) = 0.65; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 10.13 (s, 1H) (a), 8.01 (s, 1H) (b), 7.37 – 7.40 (m, 2H) (d)/(e), 7.24 – 7.26 (m, 2H) (d)/(e), 5.57 (s, 2H) (c),

1-(3-flourbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (2)

Spoj 2 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 3-flourbenzilamina (137.8 mg odnosno 125.2 μL , 1.1 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (200 mg, 0.92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom (ϕ = 1 cm; h = 15 cm; sustav PE/DCM/EtOAc (2%)).

70 mg, 37 % izoliranog spoja; R_f (DCM (100 %)) = 0.65; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 10.14 (s, 1H) (a), 8.03 (s, 1H) (b), 7.09 (s, 1H) (d), 7.39 (dd, J = 13.8, 7.9 Hz, 1H) (f), 7.08 (d, J = 8.1 Hz, 1H) (e)/(g), 7.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H) (e)/(g), 5.59 (s, 2H) (c).



1-(3-metoksibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (3)

Spoj 3 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 3-metoksibenzilamin (151 mg odnosno 140.88 μL , 1.1 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (200 mg, 0.92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom (ϕ = 2 cm; h = 10 cm; sustav PE/DCM/EtOAc (20%)).

144 mg, 72 % izoliranog; R_f (DCM (100 %)) = 0.70; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.13 (s, 1H) (a), 8.00 (s, 1H) (b), 7.32 (dd, $J = 15.9, 7.9$ Hz, 1H) (f), 6.92 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H) (e)/(g), 6.82 (s, 1H) (d), 6.88 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H) (e)/(g), 5.55 (s, 2H) (c), 3.80 (s, 3H) (h).

1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (4)

Spoj 4 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 4-klorbenzilamina (155.9 mg odnosno 134.4 μL , 1.1 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (200 mg, 0.92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1.5$ cm; $h = 13$ cm; sustav PE/DCM/EtOAc (10 %)).

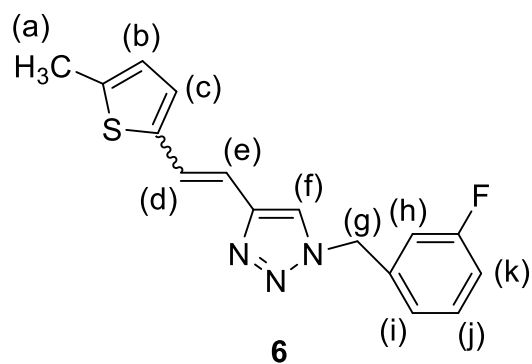
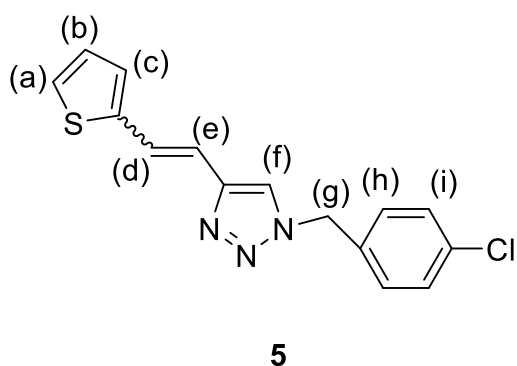
158 mg, 79 % izoliranog spoja; R_f (DCM (100 %)) = 0.90; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.13 (s, 1H) (a), 8.00 (s, 1H) (b), 7.38 – 7.40 (m, 2H) (d)/(e), 7.24 – 7.26 (m, 2H) (d)/(e), 5.57 (s, 2H) (c).

4.3. Sinteza tieno-triazolnih stilbena Wittigovom reakcijom

Aparatura, koja se sastoji od dvogrle/trogrle tikvice, lijevka za dokapavanje i balona s dušikom/argonom, propuhala se 15 minuta dušikom (inertni plin). U tikvicu se zatim stavio magnet i klor-kalcijska cijev. Lijevak za dokapavanje se zatvorio, pa se ulilo oko 30 mL (ovisno o količini polaznih reaktanata) apsolutnog etanola. Sljedeće je bilo potrebno ispustiti apsolutni etanol do 10 mL i staviti 2-tienilnu sol (samo za sintezu spoja 5), tj. 5-metil-2-tienilnu sol u tikvicu (za spojeve 6-8). U preostalih 10 mL apsolutnog etanola dodan je natrij koji je prethodno vagan u petroleteru. Nakon što je natrij izreagirao u etanolu uz razvijanje vodika, dokapalo se malo nastalog NaOEt u reakcijsku tikvicu. Aldehid se otopio u etanolu, prenio u tikvicu i kap po kap dodavao ostatak NaOEt iz lijevka za dokapavanje. Kada je sva količina NaOEt dodana u tikvicu, lijevak za dokapavanje zamijenio se čepom te se reakcija provodila određeno vrijeme na sobnoj temperaturi uz miješanje na magnetskoj miješalici (Slika 19). Reakcija se za spoj 5 provodila 72 h, a za spojeve 6-8 se provodila 168 h.



Slika 19. Prikaz početka Wittigove reakcije (lijevo) te završetka Wittigove reakcije (desno) za spojeve 6 i 7.



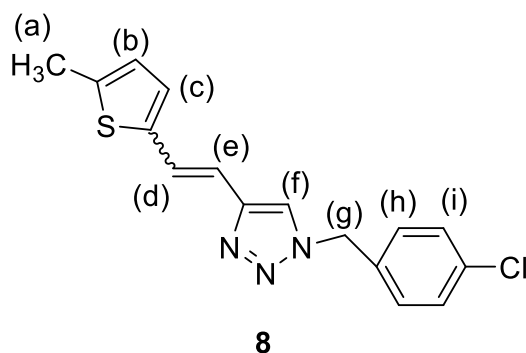
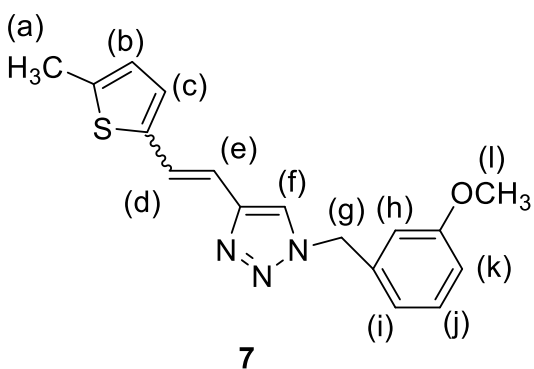
1-(4-klorbenzil)-4-(2-(tiefen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**5**)

Spoj **5** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**1**) (131.1 mg, 0.59 mmol) i tienilne soli (260 mg, 0.59 mmol) uz natrij u 10 %-tnom

suvišku (19 mg) u 40 mL etanola. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 2.5$ cm; $h = 10$ cm; sustav PE/E (60 %)). 145 mg, 82 % izolirane smjese izomera (*cis*- : *trans*- = 1.6 : 1). ; žuto ulje; R_f (PE/E (50 %)) = 0.51.

1-(3-flourbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (6)

Spoj 6 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-flourbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (2) (70 mg, 0.34 mmol) i tienilne soli (155 mg, 0.34 mmol) uz natrij u 10 %-tnom suvišku (9 mg) u 40 mL etanolne otopine. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1.5$ cm; $h = 10$ cm; sustav PE/E (40 %)). 16 mg, 16 % izolirane smjese izomera (*cis*- : *trans*- = 1.4 : 1); žuto-narančasto ulje; R_f (PE/E (50 %)) = 0.53.



1-(3-metoksibenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (7)

Spoj 7 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metoksibenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (3) (144 mg, 0.66 mmol) i tienilne soli (301 mg, 0.66 mmol) uz natrij u 10 %-tnom suvišku (17 mg) u 40 mL etanolne otopine. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1$ cm; $h = 12$ cm; sustav PE/E (30 %)). 35 mg, 17 % izolirane smjese izomera (*cis*- : *trans*- = 1.3 : 1); žuto ulje; R_f (PE/E (50 %)) = 0.55.

1-(4-klorbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (8)

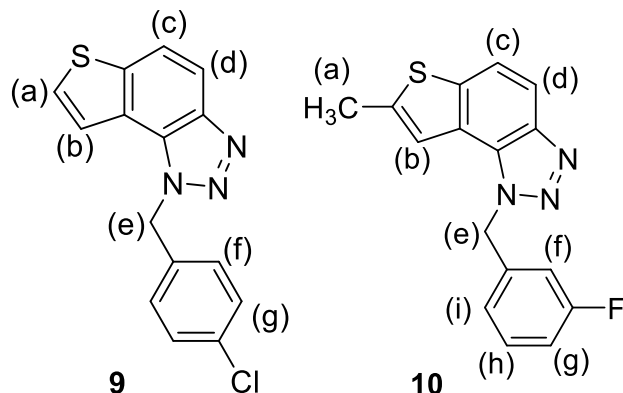
Spoj **8** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**4**) (158 mg, 0.71 mmol) i tienilne soli (326 mg, 0.71 mmol) uz natrij u 10 %-tnom suvišku (19 mg) u 40 mL etanola. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1$ cm; $h = 10$ cm; sustav PE/E (30 %)). 50 mg, 22 % izolirane smjese izomera (*cis*- : *trans*- = 1.3 : 1); svijetlo-crveno ulje; R_f (PE/E (50 %)) = 0.70.

4.4. Fotokemijska sinteza tienobenzo-triazola

Određena količina odgovarajućih 1,4-disupstituiranih 1,2,3-triazolnih diheterostilbena **5-8** otopila se u ekvivalentnom volumenu toluena. Smjese su se zatim prenijele u kvarcnu kivetu (koja propušta svjetlost) te se dodalo malo joda na vrhu špatule (oksidacijsko sredstvo). Reakcije su se osvijetljavale 2-4 h pomoću 10 lampi od 313 nm (8 W) (Slika 20).



Slika 20. Prikaz odvijanja fotokemijske reakcije.



1-(4-klorbenzil)-1*H*-tienobenzotriazol (9)

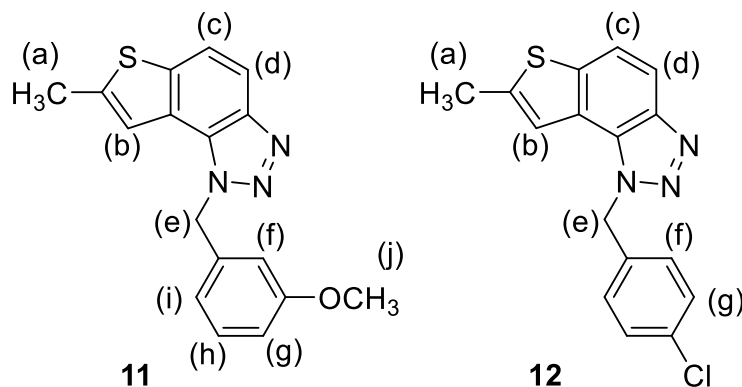
Spoj **9** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-klorbenzil)-4-(tienil)-1*H*-1,2,3-triazola (**5**) (145 mg, 0.48 mmol) otopljenog u 150 mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1.5$ cm; $h = 16$ cm; sustav PE/E (0-40 %)).

36 mg, 25 % izolirano iskorištenje; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.58 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 7.83 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 8.00 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 7.46 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 6.1 (s, 2H) (e), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H) (f)/(g), 7.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H) (f)/(g); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.7, 140.2, 134.4, 133.6, 129.8, 128.6, 128.0, 128.0, 122.5, 119.9, 119.4, 116.1, 52.4.

1-(3-fluorbenzil)-7-metil-1*H*-tienobenzotriazol (10)

Spoj **10** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-flourbenzil)-4-(2-metiltienil)-1*H*-1,2,3-triazola (**6**) (16 mg, 0.06 mmol) otopljenog u 16 mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1.5$ cm; $h = 14$ cm; sustav PE/E (0-50 %)).

14 mg, 21 % izolirano iskorištenje; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 2.54 (s, 3H) (a), 7.19 (s, 1H) (b), 7.63 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (c)/(d), 7.85 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (c)/(d), 6.05 (s, 2H) (e), 7.05 (s, 1H) (f), 7.3 (dd, $J = 15.9, 8.0$ Hz, 1H) (h), 6.9 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H) (i)/(g), 6.8 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H) (i)/(g). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.6, 141.9, 138.5, 129.8, 129.7, 121.8, 121.1, 118.1, 116.6, 114.6, 114.2, 114.1, 112.7, 112.53, 51.3, 15.2.



1-(3-metoksibenzil)-7-metil-1*H*-tienobenzotriazol (**11**)

Spoj **11** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metoksibenzil)-4-(2-metiltienil)-1*H*-1,2,3-triazola (**7**) (35 mg, 0.11 mmol) otopljenog u 35 mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 2.0$ cm; $h = 9$ cm; sustav PE/E (0-40 %)).

33 mg, 32 % izoliranog spoja; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 2.60 (s, 3H) (a), 7.26 (s, 1H) (b), 7.68 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (c)/(d), 7.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (c)/(d), 6.05 (s, 2H) (e), 6.70 (s, 1H) (f), 7.22 (dd, $J = 13.4, 5.8$ Hz, 1H) (h), 6.84 (d, $J = 10.9$ Hz, 1H) (i)/(g), 6.78 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H) (i)/(g), 3.71 (s, 3H) (j). ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 160.2, 142.7, 139.3, 136.9, 130.2, 123.0, 118.9, 118.8, 118.1, 115.0, 113.6, 112.3, 55.2, 52.8, 29.7, 16.2.

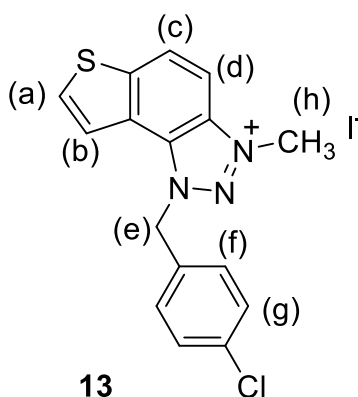
1-(4-klorbenzil)-7-metil-1*H*-tienobenzotriazol (**12**)

Spoj **12** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-klorbenzil)-4-(2-metiltienil)-1*H*-1,2,3-triazola (**8**) (50 mg, 0.15 mmol) otopljenog u - mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\phi = 1.5$ cm; $h = 12$ cm; sustav PE/E (0-50 %)).

11 mg, 19 % izoliranog spoja; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 2.61 (s, 3H) (a), 7.90 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (c)/(d), 7.70 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H) (c)/(d), 7.26 (s, 1H) (b), 6.1 (s, 2H) (e), 7.30 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H) (f)/(g), 7.12 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H) (f)/(g); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.7, 143.1, 139.3, 134.2, 133.8, 129.3, 127.9, 122.8, 119.1, 117.7, 115.1, 55.3, 16.2.

4.5. Metiliranje tienobenzotriazola **9**

Otopili smo 1-(4-klorbenzil)-tienobenzotriazol (**9**) (36 mg, 0.12 mmol) u DCM-u (600 μ L) te dodali metil-jodida (170.5 mg, 1.2 mmol) i propuhivali argonom oko 1 minutu. Ostavili smo da se miješa na magnetskoj miješalici 24h na 60°C. Nakon 24h bočicu s uzorkom ohladili smo na 0°C i dodali nekoliko mL etera. Prebacili smo uzorak u kivetu pomoću etera te centrifugirali na 3000 okretaja, 10 minuta 6 puta. Nakon svakog puta dekantirali smo eter te dodali novu količinu etera na talog soli.



1-(4-klorbenzil)-3-metil-1*H*-tienobenzotriazol (**13**)

Masa dobivenog spoja **13** iznosi 15 mg, 25 % izoliranog spoja; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.85 (d, J = 5.6 Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 7.98 (d, J = 5.2 Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 8.10 (d, J = 9.04 Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d), 8.34 (d, J = 8.0 Hz, 1H) (a)/(b)/(c)/(d),), 6.45 (s, 2H) (e), 7.26 (d, J = 8.1 Hz, 2H) (f)/(g), 7.42 (d, J = 8.4 Hz, 2H) (f)/(g), 4.86 (s, 3H) (h); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 190.9, 130.9, 129.5, 128.9, 122.16, 121.3, 105.9, 34.6 (ne vide se kvaterni ugljici zbog slabije topljivosti soli u deuteriranom kloroformu).

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bila je sinteza i spektroskopska karakterizacija novih tienobenzotriazolnih soli s potencijalnom inhibicijskom aktivnosti prema enzimima kolinesterazama. Triazololi su peteročlani heterociklički spojevi koji u svojoj strukturi osim atoma ugljika sadrže i tri atoma dušika kao dio aromatskog prstena. Ova vrsta spojeva često je proučavana jer pokazuje antibakterijsku, antifungalnu, antikancerogenu, antitumorsku i druge aktivnosti zbog čega ima široku primjenu. Od dva moguća izomera koja postoje, u sklopu ovog rada proučavan je 1,2,3-triazol (dušikovi atomi nalaze se na položajima 1, 2 i 3). Stilbeni su organski spojevi klasificirani kao diariletileni jer sadrže dvostruku vezu ugljik-ugljik i na svakom tom ugljiku po jednu arilnu skupinu. S obzirom da sadrže konjugirani sustav u strukturi, stilbeni podliježu fotokemijskim reakcijama kao i konjugirani alkeni.

Da bi se uopće mogli sintetizirati ciljani tienotriazolni stilbeni **5-8**, najprije je bilo potrebno pripremiti odgovarajuće triazolne aldehide **1-4**. Za to su korišteni 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid i različiti amini. Dobiveni triazolni aldehidi **1-4** kao osnovu strukture sadrže 1,2,3-triazol s formilnom skupinom na položaju 4. Dio strukture koji se mijenjao jesu supstituenti na položaju 1, a koji će se supstituent tu nalaziti ovisilo je o primijenjenom aminu. S obzirom na supstituent koji sadrže, svaki aldehyd ima različite spektroskopske karakteristike. Tienotriazolni stilbeni **5-8** u ovom su radu sintetizirani Wittigovom reakcijom 2-tienilne, tj. 5-metil-2-tienilne soli i odgovarajućeg triazolnog aldehida **1-4**. Općenito se Wittigova reakcija koristi za pripremu alkena pri čemu aldehidi ili ketoni reagiraju s fosforovim ilidima. Dobiveni tienotriazolni stilbeni **5-8** u svojoj strukturi sadrže 1-supstituirani 1,2,3-triazol koji je s arilnim supstituentom povezan dvostrukom vezom ugljik-ugljik na položaju 4. Reakcijom nastaje smjesa *cis*- i *trans* izomera. Zbog slične brzine eluiranja izomeri se jako teško razdvajaju, no to u ovom slučaju nije bilo niti potrebno jer se u fotokemijske reakcije moglo ići sa smjesom izomera. Smjese tienotriazolnih stilbena **5-8** podvrgnute su fotokemijskim reakcijama elektrociklizacije. Prilikom osvjetljavanja došlo je do izomerizacije i uspostavljanja fotostacionarnog stanja u kojemu vlada ravnoteža između *cis*- i *trans*-izomera. Točno u toj ravnoteži dolazi i do prelaska *cis*-izomera u fotoprodukt te se uz pomoć joda on zatvara/aromatizira u fotoprodukt odnosno tienobenzotriazole **9-12**. Metiliranjem tienobenzotriazola **9** dobiva se triazolna sol **13**. Fotoprodukt **9** i njegova triazolna sol **13** ispitani su kao potencijalni inhibitori enzima kolinesteraza. Biološka ispitivanja su pokazala da spoj **9** pokazuje inhibiciju enzima butirilkolinesteraze s IC_{50} vrijednosti od 34,6 μ M dok njegova

sol **13** ima IC_{50} od $0,6 \mu M$, što je čak deset puta bolja inhibicijska aktivnost od one koju pokazuje standardni reverzibilni inhibitor galantamin.

6. LITERATURA

1. Dalvie, D.K., Kalgutkar, A.S., Khojasteh-Bakht, S.C., Obach, R.S., O'Donnell, J.P., Biotransformation reactions of five-membered aromatic heterocyclic rings, *Chem. Res. Toxicol.*, 15 (2002) 269
2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9081720/> (pristup 25.lipnja 2024.)
3. Jia Song, Jie Lv, Jiamiao Jin, Zhichao Jin, Tingting Li, Jian Wu, *Research Advances on the Bioactivity of 1,2,3-Triazolium Salts*, 2023.
4. Yacob, Z.; Liebscher, J. 1,2,3-Triazolium salts as a versatile new class of ionic liquids. In *Ionic Liquids*; Handy, S.T., Ed.; IntechOpen: Rijeka, Germany, 2011; 3–23
5. Yacob, Z.; Liebscher, J. Chemistry of 1,2,3-triazolium salts. In *Chemistry of 1,2,3-Triazoles*; Dehaen, W., Bakulev, V.A., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Germany, 2015; 167–210
6. Tejero, R.; López, D.; López-Fabal, F.; Gómez-Garcés, J.L.; Fernández-García, M. Antimicrobial polymethacrylates based on quaternized 1,3-thiazole and 1,2,3-triazole side-chain groups. *Polym. Chem.* 2015, 6, 3449–3459
7. Burujeny, S.B.; Yeganeh, H.; Atai, M.; Gholami, H.; Sorayya, M. Bactericidal dental nanocomposites containing 1,2,3-triazoliumfunctionalized POSS additive prepared through thiol-ene click polymerization. *Dent. Mater.* 2017, 33, 119–131
8. Fletcher, J.T.; Sobczyk, J.M.; Gwazdacz, S.C.; Blanck, A.J. Antimicrobial 1,3,4-trisubstituted-1,2,3-triazolium salts. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018, 28, 3320–3323
9. Li, Q.; Qiu, L.; Tan, W.; Gu, G.; Guo, Z. Novel 1,2,3-triazolium-functionalized inulin derivatives: Synthesis, free radical-scavenging activity, and antifungal activity. *RSC Adv.* 2017, 7, 42225–42232
10. Steiner, I.; Stojanovic, N.; Bolje, A.; Brozovic, A.; Polancec, D.; Ambriovic-Ristov, A.; Stojkovic, M.R.; Piantanida, I.; Eljuga, D.; Kosmrlj, J.; et al. Discovery of 'click' 1,2,3-triazolium salts as potential anticancer drugs. *Radiol. Oncol.* 2016, 50, 280–288
11. Almeida, A.C.; Meinel, R.S.; Leal, Y.L.; Silva, T.P.; Glanzmann, N.; Mendonca, D.V.C.; Perin, L.; Cunha-Júnior, E.F.; Coelho, E.A.F.; Melo, R.C.N.; et al. Functionalized 1,2,3-triazolium salts as potential agents against visceral leishmaniasis. *Parasitol. Res.* 2022, 121, 1389–1406.
12. Kolb, H.C.; Finn, M.G.; Sharpless, K.B. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 2004–2021.

13. Huisgen, R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1963, 2, 565–598.
14. Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B. A stepwise Huisgen cycloaddition process: Copper(I)-catalyzed regioselective “ligation” of azides and terminal alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, 41, 14.
15. Mishra, R.; Mishra, J.S.; Chaubey, S.A. Recent advances on triazolium ionic liquids: Synthesis and applications. *Curr. Org. Chem.* 2019, 23, 1239–1255
16. <https://medicinski.lzmk.hr/clanak/kolinesteraza> (pristup 12.lipnja 2024.)
17. https://www.researchgate.net/publication/228472884_Kolinesteraze_struktura_uloga_inhi_bicija (pristup 12.lipnja 2024.)
18. Tomas Horsten, Flip de Jong, Dries Theunissen, Mark Van der Auweraer, and Wim Dehaen, Synthesis and Spectroscopic Properties of 1,2,3-Triazole BOPAHY Dyes and Their Water-Soluble Triazolium Salts, *J. Org. Chem.* 2021, 86, 13774–13782
19. Wang, Y.; Opsomer, T.; Dehaen, W. Bicyclic 1,3a,6a-Triazapentalene Chromophores: Synthesis, Spectroscopy and Their Use as Fluorescent Sensors and Probes. *Chemosensors* 2021, 9 (1), 16
20. Genevieve P. S. Lau, Hoi Nok Tsao, Shaik M. Zakeeruddin, Michael Gratzel, and Paul J. Dyson, Highly Stable Dye-Sensitized Solar Cells Based on Novel 1,2,3-Triazolium Ionic Liquids, 2014.
21. Matsumoto, H.; Matsuda, T.; Tsuda, T.; Hagiwara, R.; Ito, Y.; Miyazaki, Y. The Application of Room Temperature Molten Salt with Low Viscosity to the Electrolyte for Dye-Sensitized Solar Cell. *Chem. Lett.* 2001, 30, 26–27.
22. <https://www.imerys.com/minerals/halloysite> (pristup 1.srpnja 2024.)

7. ŽIVOTOPIS

Sara Gregić [REDACTED] Pohađala je Osnovnu školu Ljudevit Gaj Osijek nakon čega je 2017. godine upisala 2. gimnaziju Osijek. Godine 2021. upisuje prijediplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu tijekom prijediplomskog studija odradila je na Institutu Ruđer Bošković na Zavodu za organsku kemiju i biokemiju u Laboratoriju za biomolekularne interakcije i spektroskopiju.