

Amino- i nitro-supstituirani benzo[b]tieno[2,3-c]kinoloni kao potencijalni antioksidansi

Kapitanović, Angela

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

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:149:636105>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Angela Kapitanović

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Angela Kapitanović

AMINO- I NITRO- SUPSTITUIRANI BENZO[*b*]TIENO[2,3-*c*]KINOLONI KAO POTENCIJALNI ANTIOKSIDANSI

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada:

izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT

Članovi ispitnog povjerenstva:

izv. prof. dr. sc. Marijana Hranjec, FKIT

dr. sc. Maja Cindrić, poslijedoktorand, FKIT

dr. sc. Lidija Furač, viši predavač, FKIT

Zagreb, rujan, 2017.

SAŽETAK

Amino- i nitro-supstituirani benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinoloni kao potencijalni antioksidansi

U okviru ovog rada priređeni su amino i nitro supstituirani derivati benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona. Za pripravu ciljanih molekula korištene su klasične metode organske sinteze. Počevši od sinteze cimetnih kiselina **3a-b** koje se prevode u odgovarajuće kloride **4a-b** te njihovom kondenzacijom s anilinima dobivaju se nitro supstituirani amidi **6-8**. Redukcijom nitro skupine spojeva **6-8** dobivaju se amino supstituirani amidi **12-14**. Sintaza cikličkih derivata **9-11** i **15-17** provedena je fotokemijskom ciklizacijom acikličkih spojeva **6-8** te **12-14**. Struktura priređenih spojeva potvrđena je korištenjem ^1H i ^{13}C NMR spektroskopije. Spojevi su dodatno spektroskopski okarakterizirani UV/Vid i fluorimetrijskom spektroskopijom, a provedene su i UV/Vid i fluorimetrijske titracije otopina spojeva s različitim otopinama metalnih soli ili u puferima različitog pH kako bi se utvrdila njihova mogućnost primjene kao senzora za određivanje kationa u otopinama ili za detekciju pH. Nekim priređenim derivatima ispitana je i antioksidativna aktivnost.

Ključne riječi: amidi, benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinoloni, UV/Vid, fluorimetrijska i NMR spektroskopija, kemijski senzori, pH senzori, antioksidativna aktivnost

SUMMARY

Amino- and nitro-substituted benzo[*b*]thieno[2,3-*c*]quinolones as potential antioxidants

In this work, we describe the synthesis of novel amino and nitro substituted derivatives of benzo[*b*]thieno[2,3-*c*]quinolones. For the preparation of target molecules classical methods of organic synthesis were used started from cimetidine acids **3a-b** which are converted to corresponding acyl-chlorides **4a-b** which gave in the condensation with anilines targeted nitro substituted amides **6-8**. Within the reduction of nitro derivatives **6-8**, amino substituted amides **12-14** obtained. Cyclic derivatives **9-11** and **15-17** were prepared by using photochemical cyclization of acyclic molecules **6-8** and **12-14**. The structure of synthesized molecules were confirmed by means of ^1H i ^{13}C NMR spectroscopy. Also, the synthesized molecules were additionally studied by UV/Vis and fluorimetric spectroscopy. Also, UV/Vis and fluorimetric titrations of aqueous compounds solutions with aqueous solutions of metal salts or with buffers with different pH were performed to explore their possible application as chemosensors or pH sensors. Some of prepared derivatives were tested for their antioxidative activity.

Key words: amides, benzo[*b*]thieno[2,3-*c*]quinolones, UV/Vis, fluorimetric and NMR spectroscopy, chemosensors, pH sensors, antioxidative activity

Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Marijani Hranjec, mentorici, na odabranoj temi, njenom vodstvu, pomoći i savjetima koje mi je pružila tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se poslijedoktorandici dr. sc. Maji Cindrić na njenom strpljenju i potpori. Zahvaljujem joj na korisnim savjetima i objašnjenjima bez kojih bi izvođenje i pisanje eksperimentalnog dijela rada bilo nezamislivo.

Također, zahvaljujem se i svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije koji su mi pružili ugodnu atmosferu za vrijeme izrade rada.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Marijane Hranjec i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Maje Cindrić u sklopu projekata Hrvatske nacionalne zaklade 3386 (*Design and Synthesis of Novel Nitrogen-Containing Heterocyclic Fluorophores and Fluorescent Nanomaterials for pH and Metal- Ion Sensing*).



Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Općenito o benzo[b]tiofenu i njegovim biološki aktivnim derivatima	4
2.2. Kemijski senzori	19
3. REZULTATI I RASPRAVA	23
3.1. Cilj rada	24
3.2. Sinteza priređenih spojeva	25
3.3. Spektroskopska karakterizacija UV/Vid spektroskopijom	35
3.3.1. Kvantitativni UV/Vid spektri	35
3.3.2. UV/Vid spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa	35
3.4. Fluorimetrijska spektroskopija	37
3.4.1. Emisijski spektri	37
3.4.2. Fluorimetrijske spektroskopske titracije s otopinama metalnih soli	38
3.5. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva spojeva	39
3.6. Antioksidativna aktivnost	42
4. EKSPERIMENTALNI DIO	43
4.2. Priprava amino i nitro supstituiranih benzo[b]tieno[2,3-c]kinolona	45
5. ZAKLJUČAK	51
6. LITERATURA	53
7. PRILOZI	55
8. ŽIVOTOPIS	62

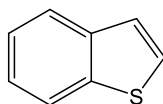
1. UVOD

Heterociklički spojevi su najveća skupina organskih spojeva koji u svojoj strukturi osim atoma ugljika sadrže i druge atome od kojih su najčešći atomi dušika, kisika i sumpora.¹ Kinoloni su heterociklički spojevi koji u svojoj strukturi sadrže karakterističnu amidnu funkcionalnu skupinu koja je poznata građevna jedinica mnogih biološki važnih prirodnih makromolekula poput proteina ili sintetskih lijekova koji se primjenjuju u medicini za liječenje različitih bolesti. Sintetski i prirodni derivati kinolona pokazuju različite biološke aktivnosti od kojih su najvažnije antitumorska ili antimikrobna i zauzimaju važnu ulogu u medicinskoj i organskoj kemije.² Posebno su važni ciklički derivati kinolona koji sadrže benzo[*b*]tiofensku jezgru i koji su poznati po svojoj antitumorskoj aktivnosti i interakciji s DNK. Općenito, različiti derivati tiofena pokazuju također široki spektar aktivnosti poput analgetske, antiepileptičke, antipiretske, antibakterijske.

2. OPĆI DIO

2.1. Općenito o benzo[*b*]tiofenu i njegovim biološki aktivnim derivatima

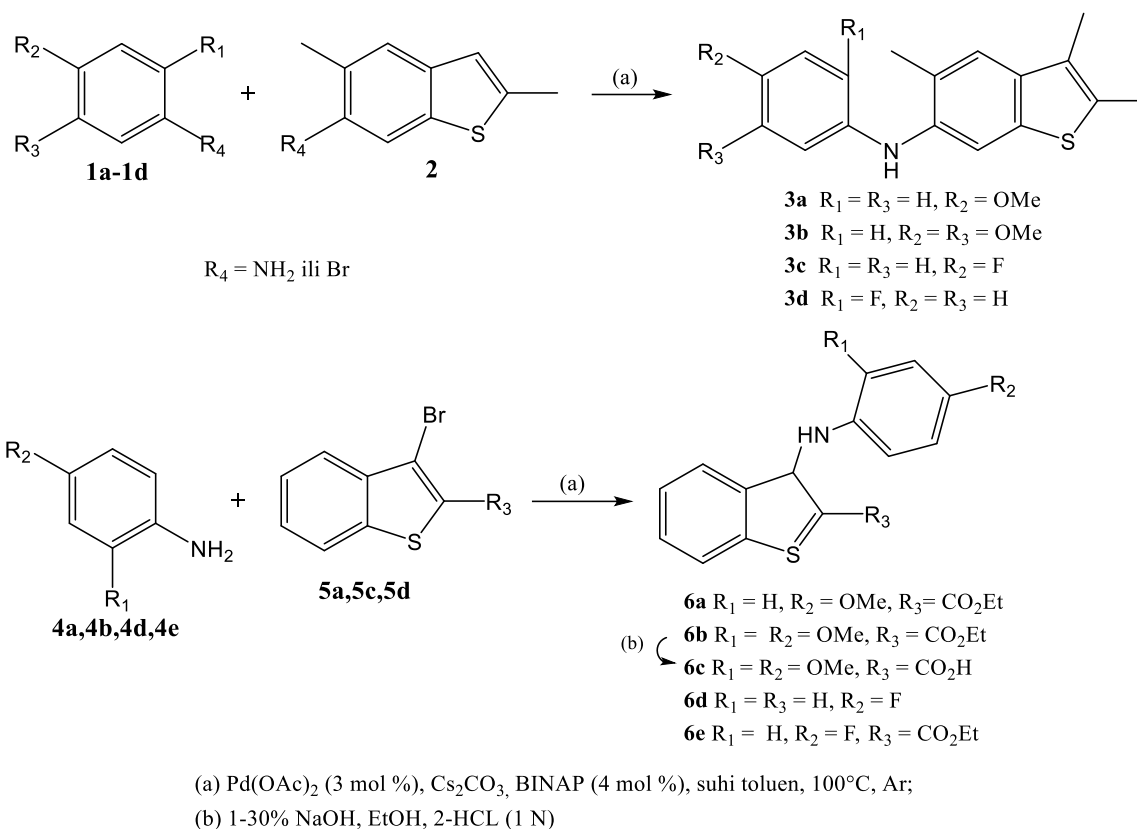
Benzo[*b*]tiofen je heterociklički spoj u čijoj je strukturi benzenski prsten kondenziran s tiofenskim. Provedena su brojna istraživanja prilikom kojih su razvijane nove metode sinteze i proučavana biološka aktivnost različitih derivata benzo[*b*]tiofena.



Slika 1. Opća struktura benzo[*b*]tiofena

Benzo[*b*]tiofen je aromatski heterociklički spoj molekulske formule C₈H₆S, sličnog mirisa kao naftalen. U prirodi se pojavljuje u ležištima nafte. Prvenstveno se koristi u industriji i brojnim istraživanjima te se ne primjenjuje u kućanstvu. Koristi se kao polazna molekula u procesima sinteze većih makromolekula, biološki aktivnih spojeva. Također se koristi za proizvodnju boja u tekstilnoj industriji.

Isabel C. F. R. Ferreira² i suradnici su ispitivali antioksidativna svojstva supstituiranih diarilamina iz serije derivata benzo[*b*]tiofena. Istraživanje novih molekula s antioksidativnim svojstvima obuhvaća veoma široko područje s obzirom na to da antioksidansi mogu zaštititi ljudski organizam od nepovoljnog djelovanja slobodnih radikala i usporiti razvoj mnogih kroničnih bolesti, regulirati antioksidativni stres koji može biti odgovoran za oštećenja biomakromolekula poput DNK ili proteina ili oštećenja membrane. Prilikom ispitivanja antioksidativne aktivnosti korištene su Oyaizu metoda redukcije Fe(III) kod koje se kao standardni antioksidans koristi askorbinska kiselina te Hatano metoda kod koje se kao standardi koriste BHA (engl. *butylated hydroxyanisole*) i BHT (engl. *butylated hydroxytoluene*). Na temelju dobivenih rezultata ispitivanja antioksidativne aktivnosti, studiran je odnos strukture i aktivnosti (SAR, engl. *structure-activity relationship*) i obrazložen je utjecaj različitih supstituenata na benzenskom (F, 1 ili 2-OMe skupina) i tiofenskom prstenu (H, CO₂Et, CO₂H) na antioksidativnu aktivnost. Različito supstituirani diarilamini, derivati 2,3,5-trimetilbenzo[*b*]tiofena **3a-d** su priređeni korištenjem C-N paladijem kataliziranog unakrsnog spajanja koristeći ili 6-brombenzo[*b*]tiofen ili njegov 6-amino derivat uz visoko iskorištenje reakcije. Isti reakcijski uvjeti također su korišteni za dobivanje diarilamina **6a,b,d,e** u slabijem iskorištenju, reakcijom etil-3-brombenzo[*b*]tiofen-2-karboksilata ili 3-brombenzo[*b*]tiofena sa supstituiranim anilinima. Karboksilni spoj **6c** je dobiven u gotovo jednakoj količini hidrolizom esterske grupe **6b**.



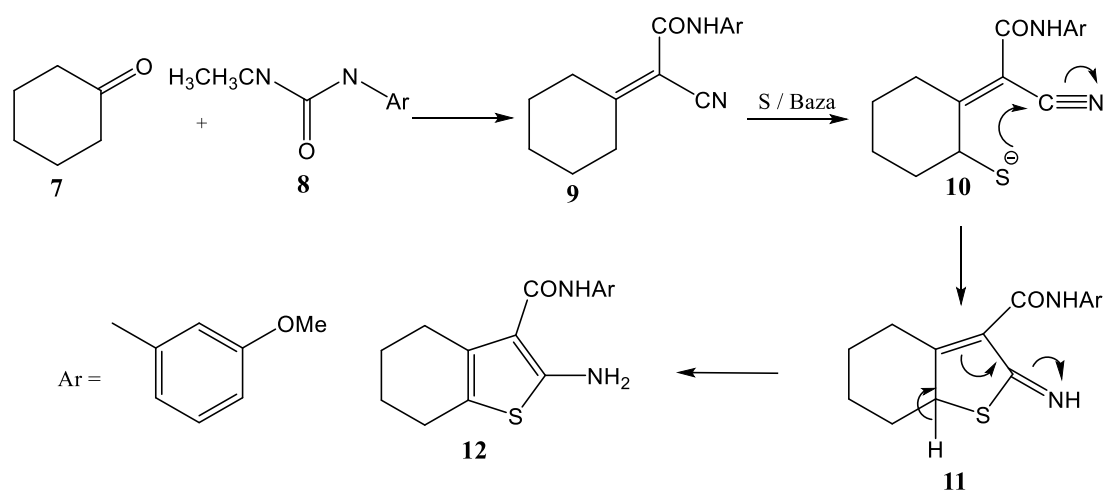
Shema 1. Sinteza derivata benzo[*b*]tiofena

Utvrđili su da antioksidativna svojstva niza supstituiranih diarilamina u seriji benzo[*b*]tiofena koji imaju aaminski supstituent na benzenskom dijelu prstena (**1**) ili na tiofenskom dijelu prstena (**2**) ovise o vrsti supstituenta i njihovoj poziciji. Neki spojevi su pokazali dobru antioksidativnu aktivnost koja je bolja od aktivnosti standarda askorbinske kiseline, BHA ili BHT. Derivati **3** su pokazali bolju aktivnost od derivata **6**, izuzev spoja **3d**. U konačnici za diarilamine **3** i **6** prisutnost elektron-donorske metoksidne grupe (1- ili 2-OMe) povećava reducirajuću snagu tj. antioksidativnu aktivnost. Atom F koji je u *para* položaju u odnosu na N-H vezu (**3c** i **6d**) također je pokazao dobre rezultate tijekom svog elektron-donorskog mezomernog efekta (+M). S druge strane spoj **3d** s F supstituentom u *orto* položaju ne pokazuje antioksidativnu aktivnost. Intramolekularna H-veza uključuje atom F te osim toga i N-H skupina može biti također moguće objašnjenje za odsutnost reducirajuće snage derivata **3d**.

Abd E-Galil E. Amr³ i suradnici su sintetizirali novu seriju derivata tiofena **15-29** polazeći od reakcija 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-3-karboksamida **13** i 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[*b*]tiofen-3-karbonitrila **19** s različitim organskim reagensima.

Svim priređenim spojevima ispitana je antiaritmična i antianksiozna aktivnost, a ispitivani su i kao potencijalni antagonisti serotonina. Pokazali su značajnu aktivnost u usporedbi sa standardnim lijekovima prokainamidom, lidokainom, diazepamom i buspironomom.

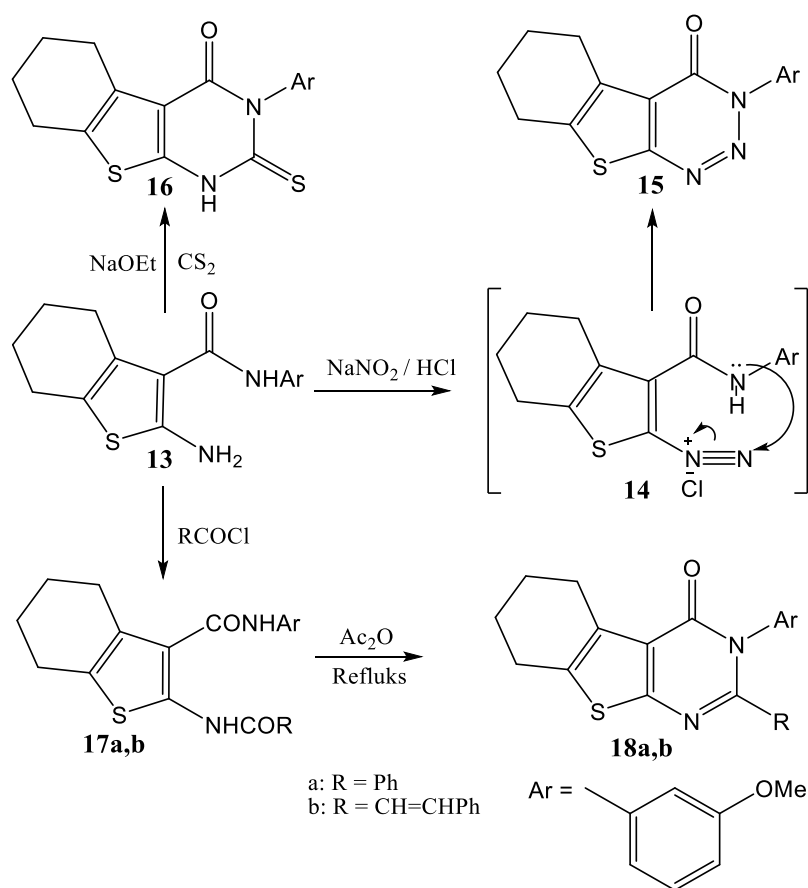
Serijski kondenzirani derivati tiofena dobiveni su heterociklizacijom funkcionaliziranih tiofena koristeći nekoliko različitih reagensa. 2-amino-4,5,6,7-tetrahidro-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-3-karboksamid **13** i 2-amino-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[*b*]tiofen-3-karbonitril **19** su sintetizirani kao polazni reaktanti prema Gewaldovoj reakciji prikazanoj na shemi 2. Gewaldova reakcija je organska reakcija kondenzacije ketona ili aldehida s α -cijanoesterom u prisutnosti elementarnog sumpora i baze kod koje se kao produkt dobiva polisupstituirani 2-amino-tiofen.



Shema 2. Sinteza spoja **12**

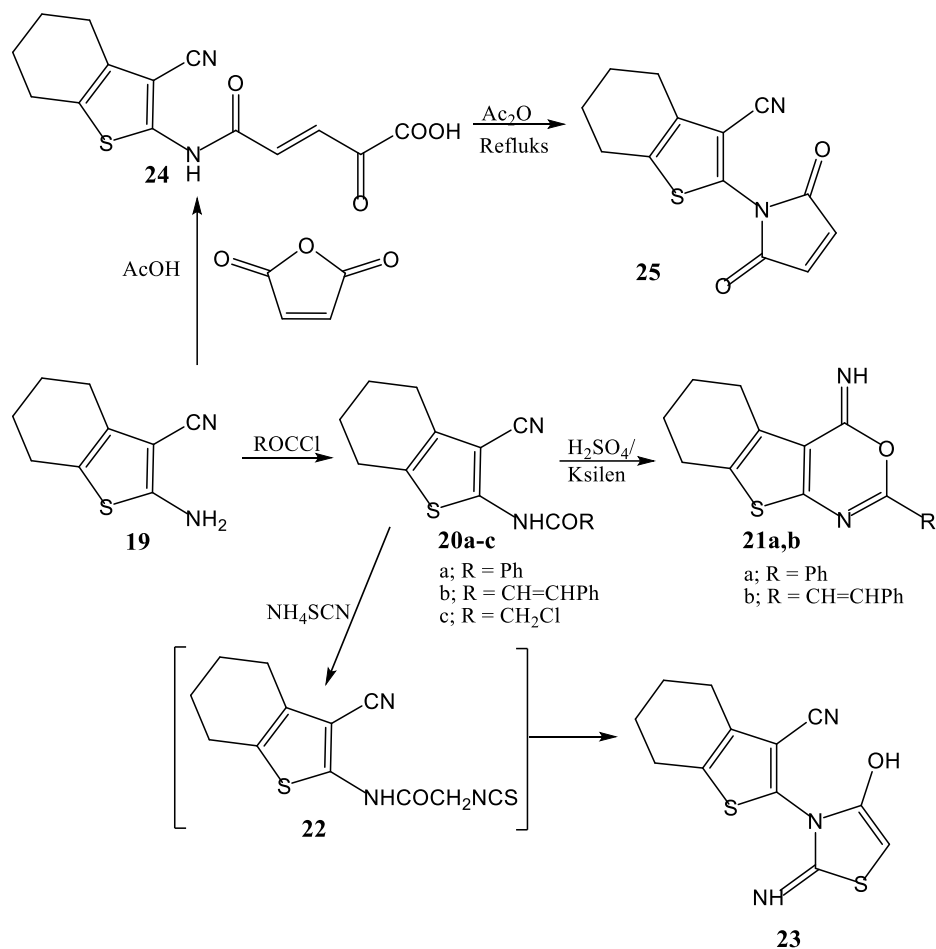
Nitriranje derivata tiofena **13** korištenjem NaNO_2 u prisutnosti HCl omogućilo je dobivanje tienotriazinskog derivata **15**. Derivat **15** koji je priređen nitriranjem derivata **13** može se sintetizirati i iz diazonijeve soli **14** uz nukleofilni napad dušika karboksamidne skupine na elektrofilni dušik diazonijeve soli. Derivat **13** podliježe heterociklizaciji putem adicije amino skupine na tiofenu na ugljični disulfid u prisutnosti natrijevog etoksida mehanizmom cikličke adicije kako bi se dobio derivat tiofena, tienopirimidin **16**.

Također, derivat tiofena **13** reagira s kiselinskim kloridom na sobnoj temperaturi i kao produkti nastaju acilirani derivati **17a,b** koji na temperaturi refluksa uz anhidrid octene kiseline kao produkte daju ciklizirane tienopirimidine **18a,b**.



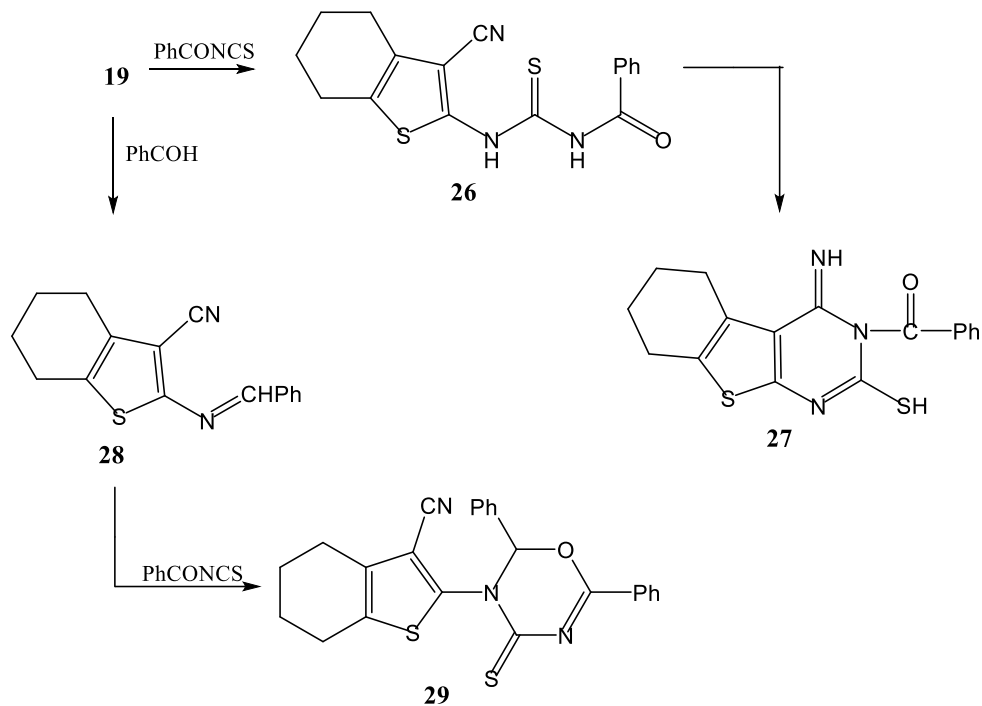
Shema 3. Sinteza spojeva **13-18**

Tiofenski derivat **19** u reakciji s kiselinskim kloridima daje derivate **20a-c** koji na temperaturi refluksa sa sulfatnom kiselinom i ksilenom daje cikličke oksazinske derivate **21a,b**. Derivat **20c** reagira s amonijevim tiocijanatom i kao produkt nastaje *N*-tieniltiazolilni derivat **23** vjerojatno dobiven preko tiocijanatnog derivata **22** koji se ne izolira. Reakcija aminocijanotiofenskog derivata **19** s anhidridom maleinske kiseline omogućava dobivanje acikličkog produkta **24** koji se ciklizira s anhidridom octene kiseline da bi se kao produkt dobio *N*-tienilmalimidni derivat **25**.



Shema 4. Sinteza spojeva 20-25

Znanstvenici su također istraživali ponašanje aminocijanotiofenskog derivata u odnosu na arilizocijanatni derivat. Tako je adicija amino skupine tiofena na elektrofilni ugljik izotiocijanata omogućila dobivanje tioureidnog derivata **26**. Adicijom nukleofilnog dušika tiourejske skupine derivata **26** na cijano skupinu priređen je tienopirimidin **27**. Kondenzacija derivata **19** s benzaldehidom omogućila je dobivanje Schiffove baze **28** koja reagira s benzoilzotiocijanatom dajući odgovarajući oksadiazin **29**.



Shema 5. Sinteza spojeva **26-29**

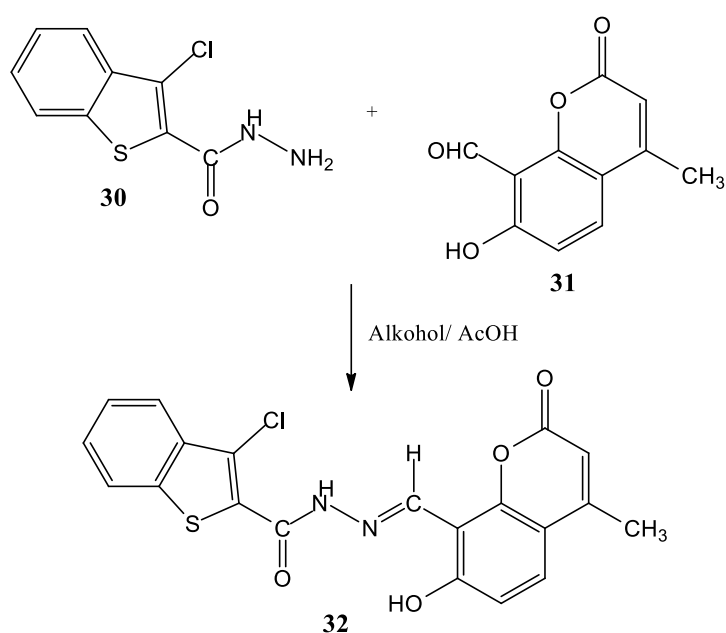
Proučavanjem dobivenih rezultata uočeno je da je tiofenska jezgra neophodna za biološku aktivnost. Povećanjem broja atoma sumpora i dušika značajno se povećava aktivnost. Derivati s bočnim lancima koji sadrže olefinske veze su aktivniji pa su tako primjerice spojevi **17b**, **18b**, **20b** i **21b** aktivniji od **17a**, **18a**, **20a** i **21a**.

K. Mahendra Raj⁴ i suradnici istraživali su biološku aktivnost metalnih kompleksa Schiffovih baza baziranih na benzo[*b*]tiofenskoj jezgri. Sintetizirali su Schiffovu bazu, tj. ligand 3-klor-*N'*-((7-hidroksi-4-metil-2-okso-2*H*-kromen-8-il)metilen)benzo[*b*]tiofen-2-karbohidrazin i priredili njegove Cu(II), Co(II), Ni(II) te Zn(II) komplekse. Spektralna analiza je pokazala oktaedralnu geometriju svih kompleksa. Cu(II) kompleks ima 1:1 stehiometriju tipa [M(L)(Cl)(H₂O)₂] za razliku od Co(II), Ni(II) i Zn(II) kompleksa koji imaju 1:2 stehiometrijski odnos tipa [M(L)₂].

Vežna mjesta su kisikov atom amidnog karbonila, dušik azometinske skupine i fenolni kisik u strukturi Schiffove baze kao liganda, a vezanje se odvija preko reakcije deprotoniranja. Termogravimetrija, odnosno različite termalne analize su ukazale na prisutnost koordiniranih molekula vode u sastavu Cu(II) kompleksa što je potvrđeno i pomoću IR spektroskopije. Proučavana je elektrokemijska aktivnost svih kompleksa, ali je jedino Cu(II) kompleks pokazao svojstva redoksiranja.

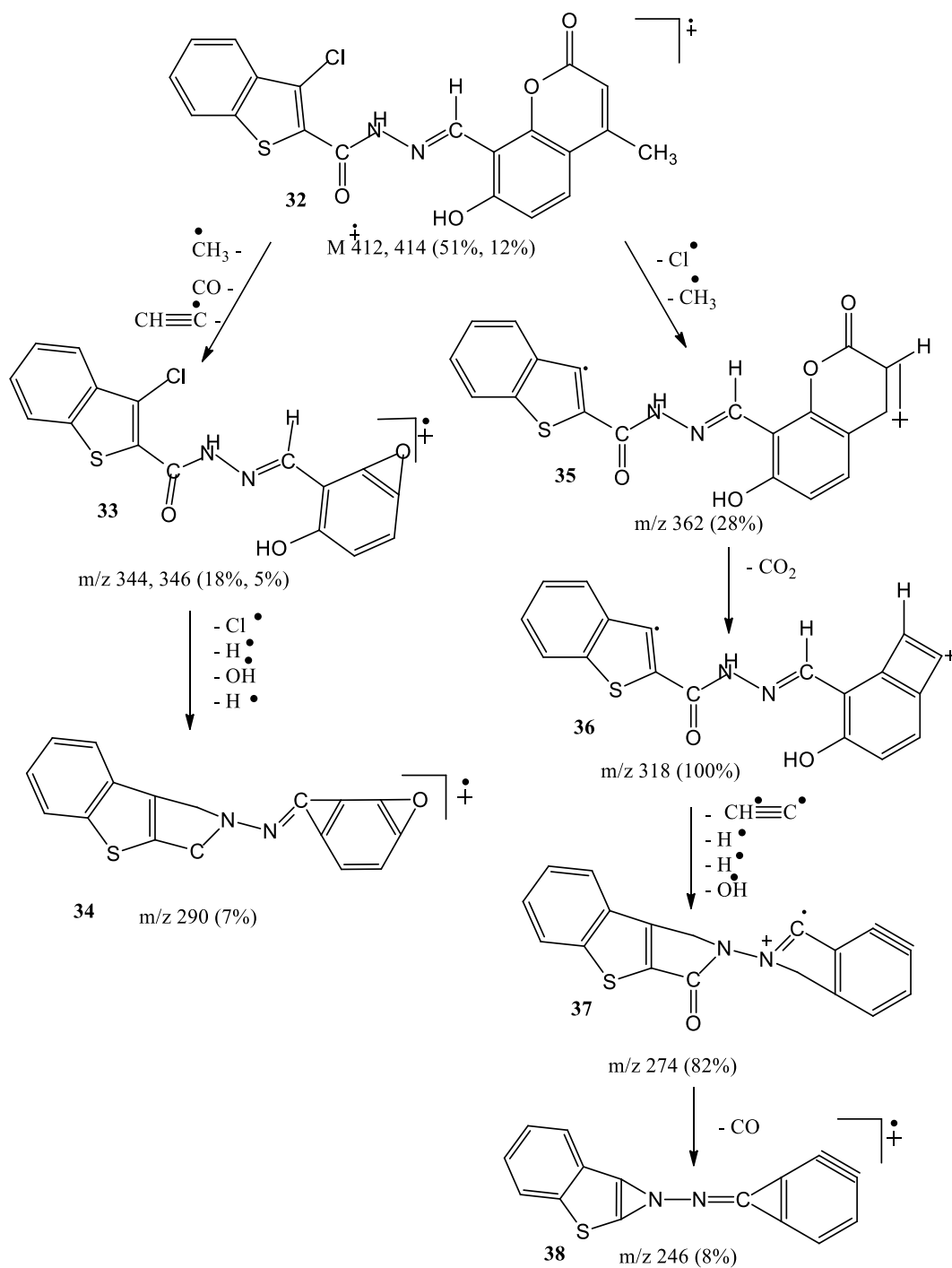
Kako bi se procijenio učinak antimikrobne aktivnosti metalnih iona prilikom kelatiranja, ligandima i njegovim metalnim kompleksima zajedno sa svojim odgovarajućim metalnim kloridima, ispitana je antimikrobna i antifungalna aktivnost MIC (engl. *minimum inhibitory concentration*) metodom. Rezultati ispitivanja su pokazali da su metalni kompleksi puno aktivniji u odnosu na slobodne ligande. Ligandu i njegovim kompleksima ispitana je i antioksidativna aktivnost pomoću DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) metode i efekt cijepanja DNK korištenjem ct-DNK.

Ligand je sintetiziran reakcijom 3-klor-benzo[b]tiofen-2-karbohidrazina i ekvivalentne količine 8-formil-7-hidroksi-4-metilkumarina uz dodatak 1-2 kapi ledene octene kiseline kao katalizatora u metanolu (20 ml).



Shema 6. Sinteza liganda **32**

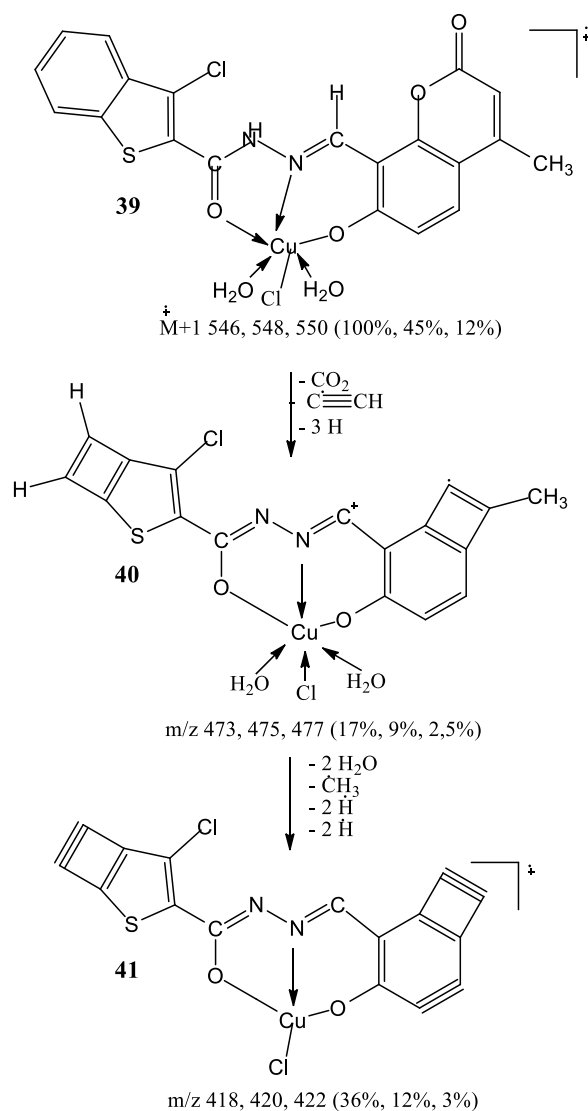
Struktura liganda i njegovih kompleksa potvrđena je korištenjem masene spektrometrije na temelju pikova koji odgovaraju njihovim molekularnim masama (shema 7). ESI maseni spektri spojeva pokazali su molekulski ionski pik ekvivalentan njihovim molekularnim masama zajedno s pikovima ostalih fragmenata.



Shema 7. Masena fragmentacija liganda **32**

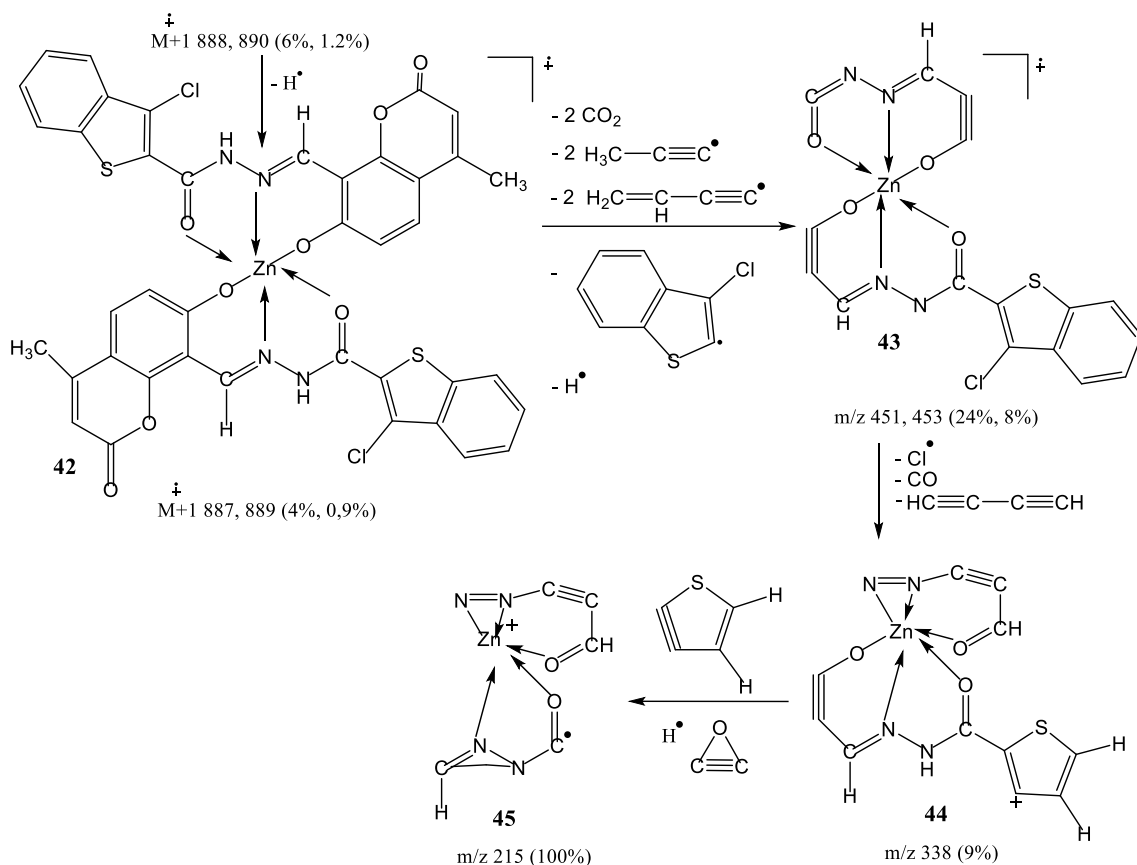
Maseni spektar Cu(II) kompleksa **39** pokazuje molekularni ionski pik M^{+1} pri m/z 546, 548, 550 (100%, 45%, 12%) koji je ekvivalentan njegovoj molekularnoj masi te predstavlja osnovni molekularni pik (shema 8). Molekularni ion gubitkom molekule ugljičnog dioksida, molekule acetilena i tri vodikova radikala daje fragment s molekulskim pikom m/z 473, 475, 477 (17%, 9%, 2,5%).

Daljne fragmentiranje provodi se uklonjanjem dvije molekule vode, metilnog radikala i četiri vodikova radikala te se u konačnici dobiva molekulski pik m/z 418, 420, 422 (36%, 12%, 3%).



Shema 8. Masena fragmentacija Cu(II) kompleksa

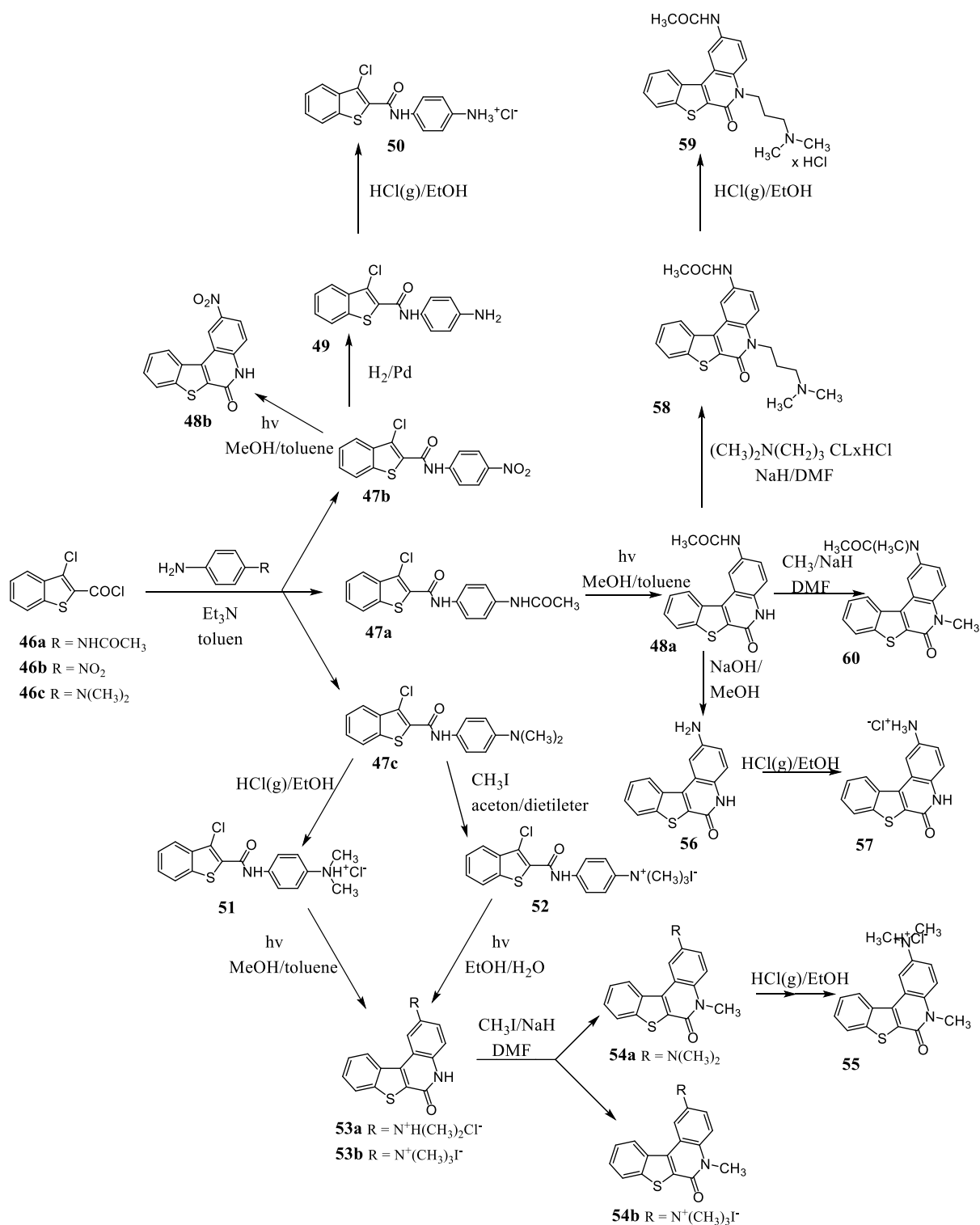
Maseni spektar Zn(II) kompleksa pokazuje molekulski ionski pik $M^+ + 1$ pri m/z 888, 890 (6%, 1,2%) prema shemi 9. Otpuštanjem vodikova radikala dobiven je fragment s molekulskim pikom m/z 887,889 (4%, 0,9%) koji je ekvivalentan njegovoj molekularnoj masi. Daljnim gubitkom dviju molekula ugljičnog dioksida, dva C_3H_4 radikala, dva C_4H_3 radikala, C_8H_4SCl radikala i hidroksidnog radikala dobiven je molekulski pik m/z 451, 453 (24%, 8%). Nadalje, istodobnim gubitkom kloridnog radikala, molekule ugljičnog monoksida i C_4H_2 radikala dobiven je molekulski pik m/z 338 (9%).



Shema 9. Masena fragmentacija Zn(II) kompleksa

Na temelju spektroskopskih saznanja koordinacijska sposobnost liganda je pokazana na primjeru reakcije kompleksiranja s Cu(II), Co(II), Ni(II) i Zn(II) kationima. Novosintetizirani ligandi se ponašaju kao ONO donori tridentatnog kelata okolo metalnog iona. Elektroforezom je utvrđeno da Cu(II) i Co(II) kompleksi imaju dobru učinkovitost cijepanja DNA.

Maja Aleksić⁵ i suradnici su priredili novu seriju nitro i amino supstituiranih anilida **47a-c**, **49-51** i kinolona **48a-b**, **53a-b**, **54a-b**, **55-60** polazeći od benzo[*b*]tiofena i tieno[2,3-*c*]tiofena. Anilidi i kinoloni su sintetizirani zbog ispitivanja antiproliferativne aktivnosti na stanične linije humanih karcinoma debelog crijeva, pluća te karcinoma dojke. Priređeni ciklički derivati, kinoloni **53a**, **54b** i **55-57** pokazali su izraženiju antiproliferativnu aktivnost nego karboksianilidi iz kojih su pripremljeni. Hidrokloridna sol *N,N*-dimetilaminopropil-supstituiranog kinolona **59** je najaktivniji derivat kao što je i predviđeno QSAR analizom. Provedenom QSAR analizom pokazano je kako različita svojstva molekula utječu na antitumorsko djelovanje. Utvrđeno je da povećanje topljivosti, metaboličke stabilnosti i sposobnost molekule da bude ionizirana pri pH 4-8 povećava antitumorsku aktivnost molekule.



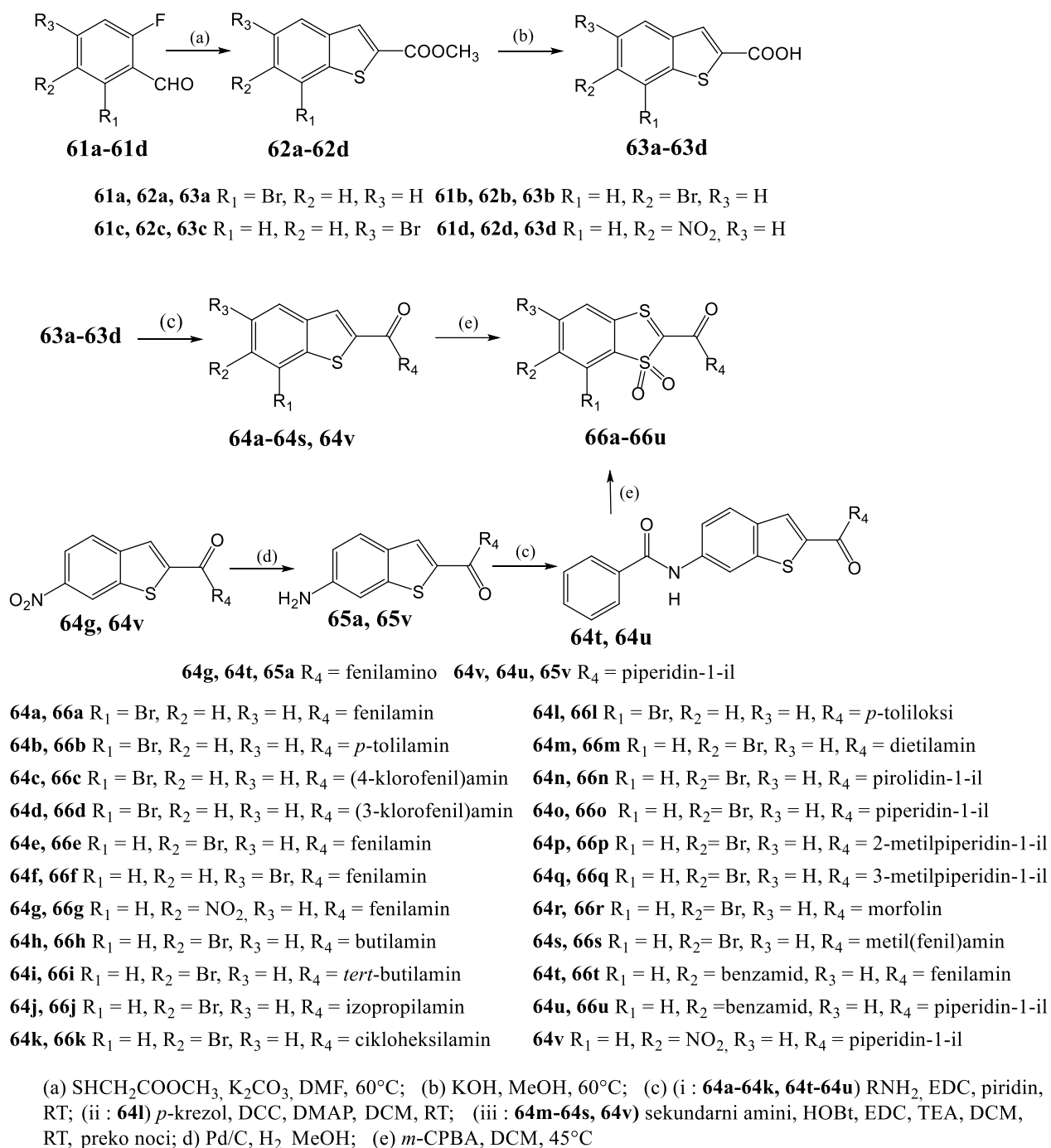
Shema 10. Sinteza supstituiranih 3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksiamida **47a-c**, **49-52** i benzo[*b*]tieno[2,3-*c*] kinolona **53a-b**, **54a-b**, **55-60**

Osim toga, do povećanja antitumorske aktivnosti dolazi smanjenjem fleksibilnosti molekula, polarizabilnosti i zbroja hidrofobnih površina.

Kod anilida **47a-b**, **51-52** i kinolona **48a-b**, **53a-b**, **54b** i **55-59** je utvrđena i interakcija s DNK te inhibicija topoisomerase I i/ili II kao mogući mehanizmi njihovog biološkog djelovanja. Među sintetiziranim anilidima, jedino spoj **52** posjeduje sposobnost vezanja na DNK. Kinoloni **53b**, **54b** i **55-59** interkaliraju između parova baza DNK te su upravo ti spojevi i najučinkovitiji među ispitanim spojevima. Spomenuti spojevi priređeni su konvencionalnim metodama organske sinteze korištenim za dobivanje sličnih heterocikličkih spojeva prema shemi 10.

Počevši od 3-klorbenzo[*b*]tiofena-2-karbonil-klorida **46**, reakcijom kondenzacije sa supstituiranim anilinima dobiveni su različiti karboksianilidi. Iz karboksianilida **47a-b** fotokemijskom ciklizacijom priređeni su odgovarajući kinoloni **48a-b**. Nitro supstituirani spoj **47b** je korištenjem paladija na ugljiku preveden u amino derivat **49**. Karboksianilid **47c** je metiliran s metil-jodidom kako bi se priredila kvaternarna amonijeva sol **52**. Acetamidno supstituirani kinolon **48a** je hidrolizom u bazičnom mediju preveden u amino supstituirani derivat **56**. *N*-alkilacijom derivata **48a** s *N,N*-dimetilaminopropil-kloridom u prisutnosti NaH nastaje kinolon **58**. Karboksianilidi **51** i **52** su fotokemijskom ciklizacijom prevedeni u kinolone **53a** i **53b**. Kinoloni **48a** i **53a-b** su metilirani u prisutnosti NaH i DMF na laktamskom dušiku u *N*-metilne derivate **60** i **54a-b**. Spoj **54a** je preveden u amonijevu sol **55** korištenjem HCl_g u svrhu poboljšavanja topljivosti. Također su iz istog razloga karboksianilidi **47c** i **49** te kinoloni **56** i **58** prevedeni u hidrokloridne soli.

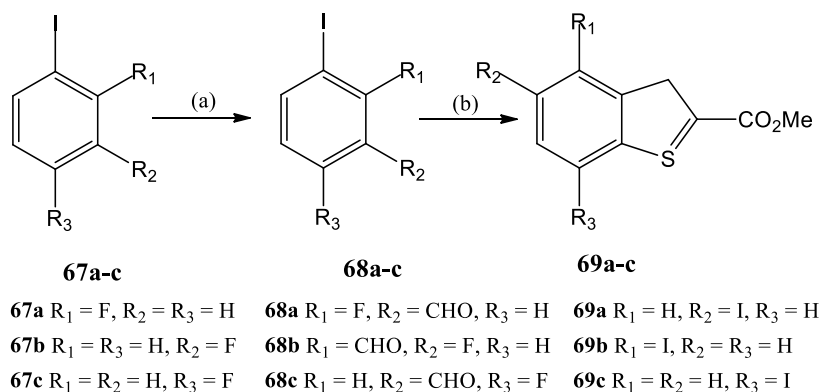
Peng Ji⁶ i suradnici su sintetizirali seriju 2-karbonilbenzo[*b*]tiofen-1,1-dioksidnih derivata ugrađivanjem različitih strukturnih grupa u osnovnu benzo[*b*]tiofen-1,1-dioksidnu jezgru (BTP), čija je sinteza prikazana na shemi 11. Spojevi su priređeni kao potencijalni inhibitori mjesta fosforilacije faktora STAT3 (engl. *signal transducer and activator of transcription 3*). Senzor signala i aktivator transkripcije 3, STAT3, je transkripcijski faktor preko kojeg se djelovanjem kemoterapeutika može ostvariti izraženi učinak inhibicije rasta tumorskih stanica. Prikazano je kako povezivanjem osnovnih grupa preko amidne veze te daljnim vezanjem u benzo[*b*]tiofen-1,1-dioksid nastaju molekule koje pokazuju izraženiju antiproliferativnu aktivnost u odnosu na sam BTP. Najaktivniji spoj **660** inhibira put faktora STAT3 smanjenjem razine fosforilacije STAT3, dok razina fosforilacije tirozin-kinaza u ovom putu nije bila značajno inhibirana. Također, za spoj **660** je dokazano da je inicijator ROS (engl. *reactive oxygen species*) čestica te da djelomično utječe na apoptozu ili smrtnost stanica.



Shema 11. Sinteza 2-karbonilbenzo[b]tiofen 1,1-dioksida derivata

Wooyoung Hur⁷ i suradnici su sintetizirali amino karboksilatne derivate benzo[b]tiofena kao potencijalne agoniste 4 S1P (engl. *sphingosine-1-phosphate*) receptora koji imaju važnu ulogu u regulaciji imunološkog sustava. S1P receptor je imunomodulator koji se koristi u liječenju multiple skleroze. Istraživani su podtipovi agonista selektivni za različite izotope S1P receptora od kojih su neki korišteni kao farmaceutski alati u različitim funkcionalnim studijama pri utvrđivanju bioloških funkcija S1PR. Autori su istraživali

svojstva amino karboksilata benzo[*b*]tiofena **71c** koji se pokazao kao jako snažan agonist za S1PR4. S1PR4 se uočava u limfoidnim tkivima, timusu i slezeni gdje suprimira proliferaciju T-stanica modulirajući oslobađanje citokina. Na shemi 12 prikazana je sinteza jodidnog derivata benzo[*b*]tiofena. Metil-karboksilat je preveden u odgovarajući aldehid koji je korišten za umetanje različitih amino-karboksilata putem reduktivne aminacije.

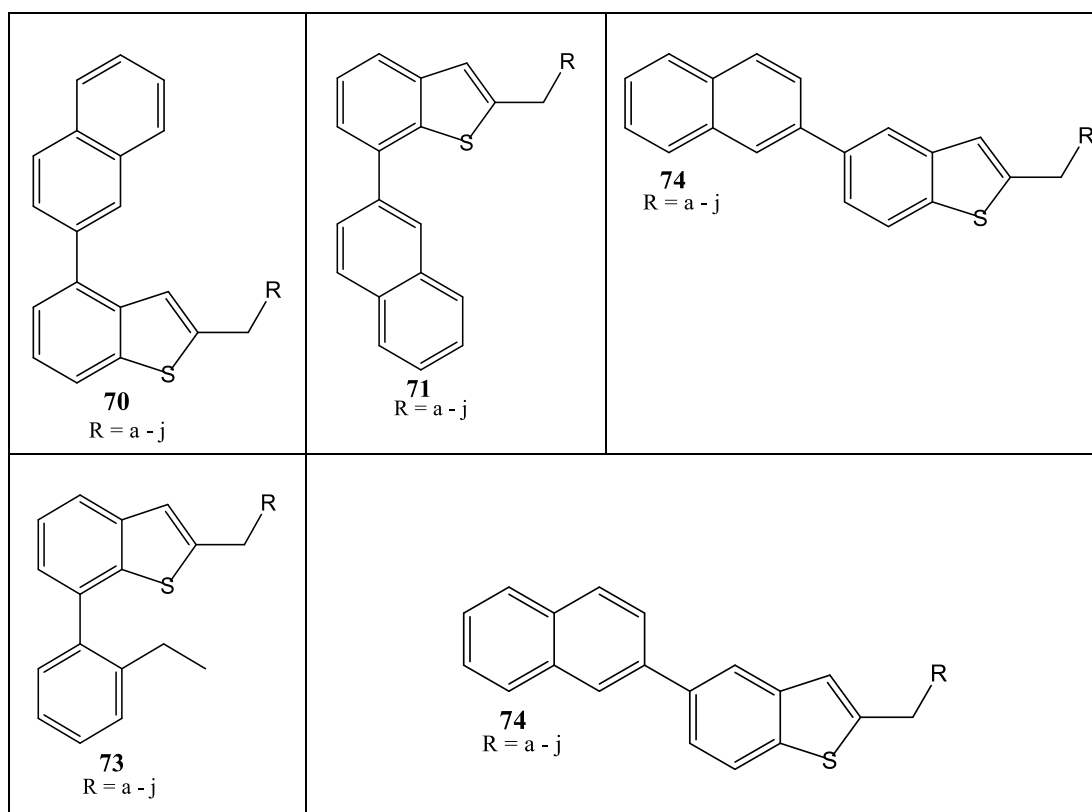


(a) LDA, DMG, -78°C; (b) metil-tioglikolat, TEA, DMSO, 70°C

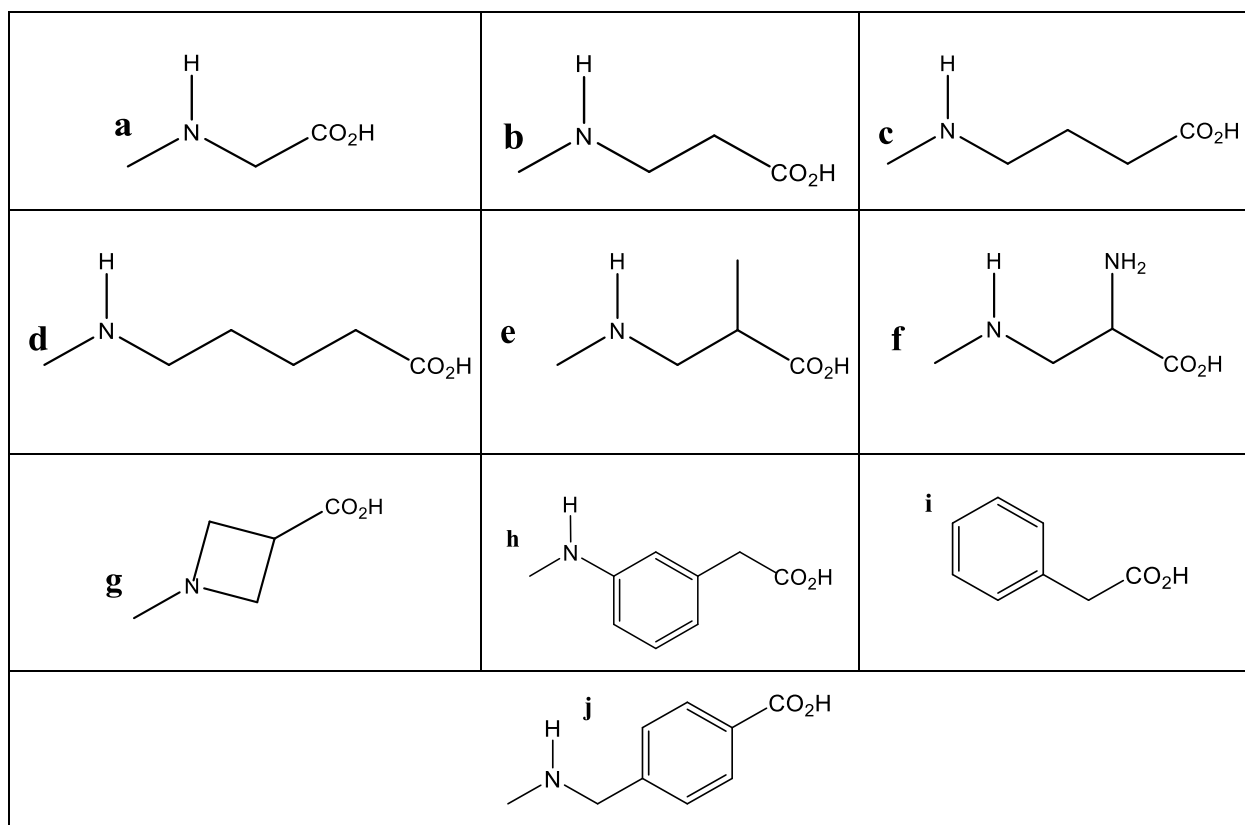
*Shema 12. Sinteza jod benzo[*b*]tiofena regio izomeraze*

U ovom istraživanju također su priređeni dervati supstituirani naftalenskim i etilfenilnim supstituentima na različitim položajima benzo[*b*]tiofena (tablica 1), na koji su smještene različite amino-karboksilatne grupe prikazane u tablici 2.

Tablica 1. Naftalenski i etilfenilni derivati benzo[*b*]tiofena



Tablica 2. Različite amino-karboksilatne grupe smještene na benzo[*b*]tiofenu



Provedena SAR analiza jasno je pokazala kako derivat supstituiran etilfenilnim supstituentom pokazuje manju aktivnost u usporedbi s naftalenskim derivatom. Izvijeni oblik molekule stvoren steričkom interakcijom između *orto* etilne grupe i benzo[*b*]tiofena na koji je adirana može biti nepovoljan za interakciju s S1PR. Utvrđeno je kako je aminokiselina također važni strukturni dio za biološku aktivnosti.

2.2. Kemijski senzori

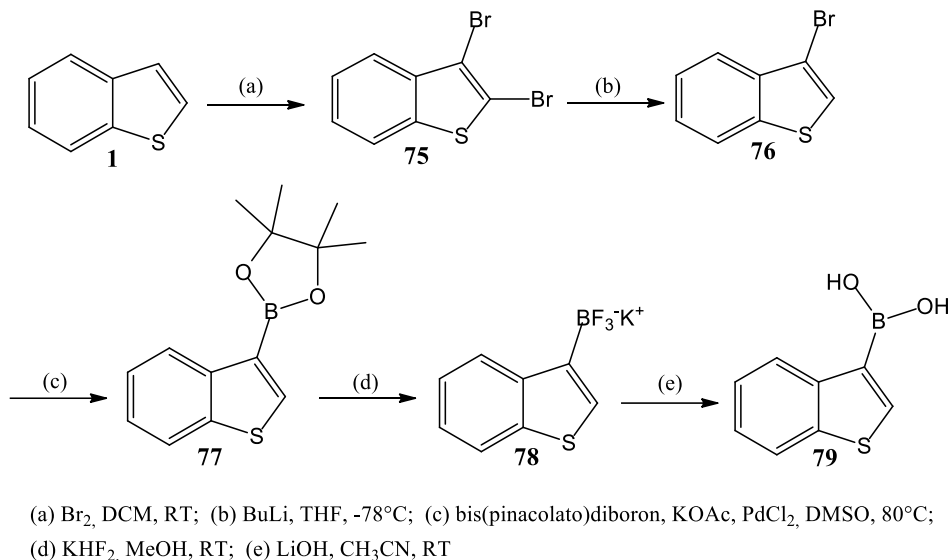
Kemijski senzor je uređaj za pretvorbu kemijske, tj. biološke veličine u električni signal. Konkretna veličina koja je pretvorena u električni signal i/ili princip konverzije često puta oblikuju konačno ime senzora koje se koristi u praksi, npr. kemijski senzori za detekciju plinova (vodika) u zraku se obično nazivaju plinski senzori, kemijski senzor za detekciju vlage skraćeno se naziva samo senzor vlage. U skladu s tim ako je senzor osjetljiv na biološku veličinu, npr. šećer, proteine u tekućinama, govorimo o biosenzorima.⁸ Biosenzor je analitički uređaj koja se koristi za detekciju analita. Kombinira biološku komponentu s fizikalno-kemijskim senzorom.

Osjetljivi biološki elementi kao što su tkivo, mikroorganizmi, organeli, enzimi ili nukleinske kiseline su biološki izvedeni materijali koji se povezuju s analitom te se vrši istraživanje. Takav biološki element također može biti stvoren laboratorijskim putem. Sonda ili element detektora pretvara signal interakcije analita i biološkog elementa u odgovarajući mjerljivi signal.⁹ Različitim spektroskopskim metodama pratimo utjecaj i promjene tvari koje se detektiraju senzorima.

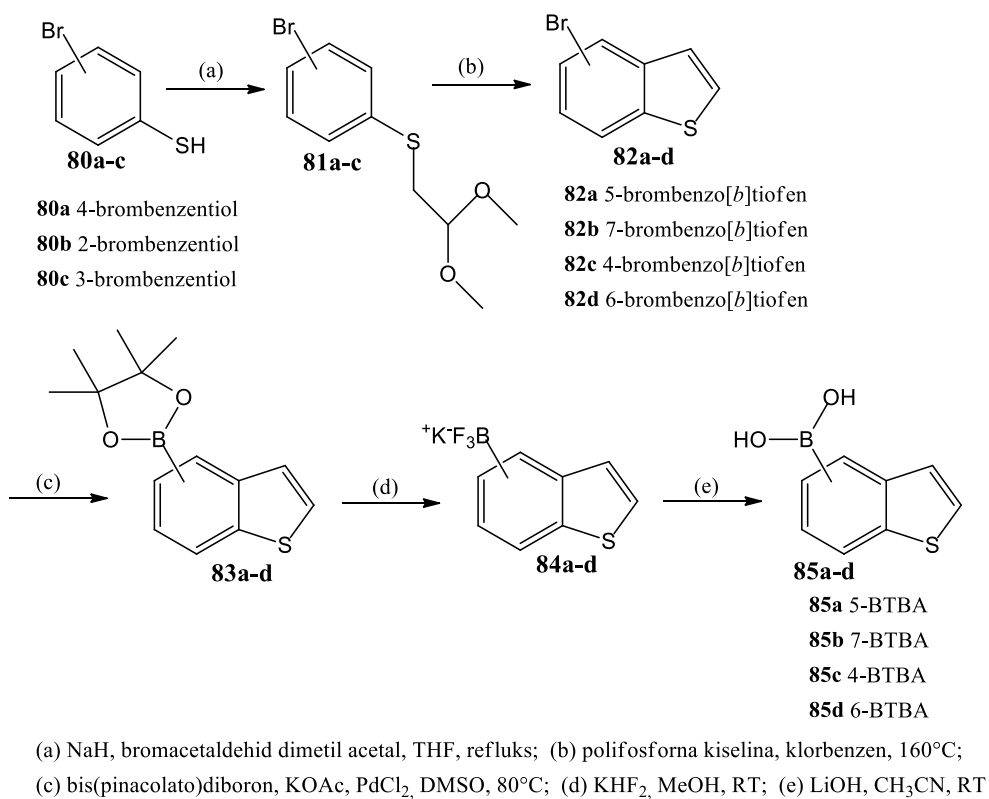
2.2.1. Derivati benzo[*b*]tiofena kao senzori

Senol Akay¹⁰ i suradnici su proučavali sintezu i razvoj fluorescentne boronske kiseline benzo[*b*]tiofena topive u vodi u svrhu prepoznavanja i detekcije ugljikohidrata. Boronska kiselina ima široku primjenu detektiranja u otopinama ugljikohidrata, pri vezanju stanica na površinu biomarkera ugljikohidrata, aglutinaciji eritrocita te transportu i separaciji ugljikohidrata. Sintetizirana serija derivata benzo[*b*]tiofena boronske kiseline 2-BTBA (engl. *benzo[*b*]thiophene boronic acid*), 3-BTBA, 5-BTBA, 7-BTBA, 4-BTBA, 6-BTBA prikazana je na shemama 13 i 14. Derivati se mogu primjeniti za sintezu malih molekula mimetika lektina važnih za prepoznavanje biomarkera ugljikohidrata.

Utvrđeno je da su derivati benzo[*b*]tiofena nova vrsta fluorescentnih spojeva sposobnih za dvostruku fluorescentnu emisiju pod uvjetima fiziološkog pH koji se koriste za dobivanje biosenzora glikoproteina za biološke promjene. Glikoproteini stanične površine imaju važnu ulogu u različitim fiziološkim i patološkim procesima.

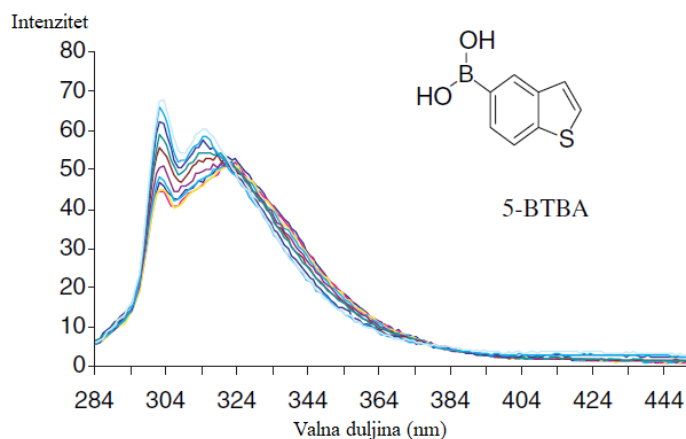


Shema 13. Sintetski put 3-BTBA 79



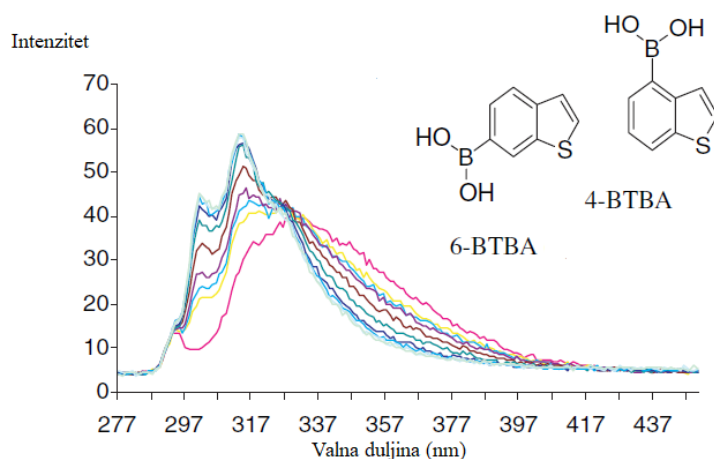
Shema 14. Sinteza derivata benzo[*b*]tiofena boronske kiseline

Ovakvi se derivati vežu za različite vrste šećera ovisno o svojoj strukturi i vrsti veza pri čemu dolazi do promjene u emisiji odnosno mijenjaju se fluorescentna svojstva. Ne postoji dobar način na koji bi se mogla točno predvidjeti konstanta vezanja. Fluorescencija koja se mijenja uslijed vezanja derivata **85a** sa šećerom prikazana je na slici 2. Intenzitet emisije se povećava pri određenoj valnoj duljini. Sličan trend pokazuju derivati **85a** te **85b**.



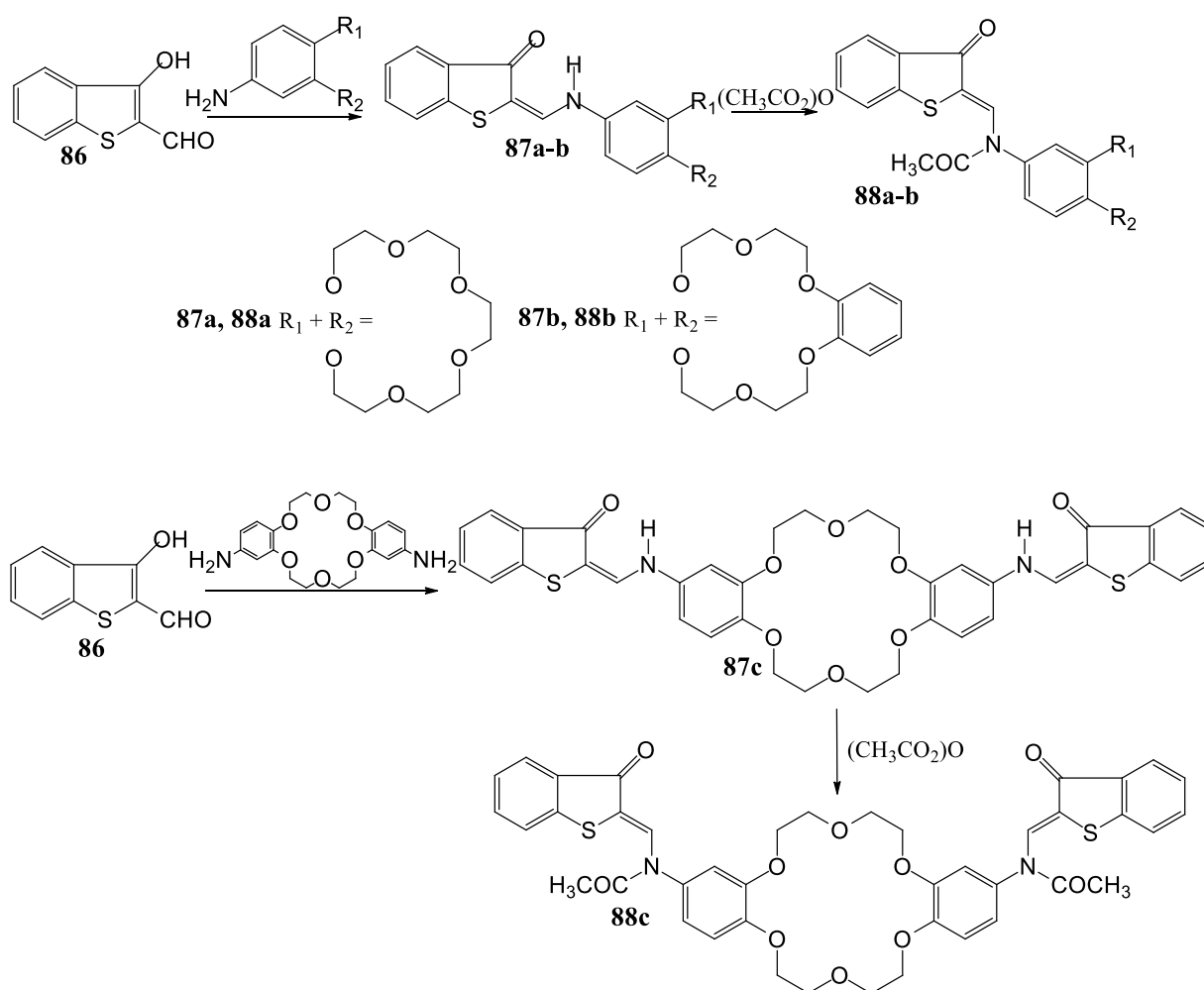
Slika 2. Promjene u fluorescenciji 5-BTBA s različitim koncentracijama D-fruktoze u 0,1M vodenoj otopini posfatnog pufera pH 7,4

Molekule **85c** i **85d** su proučavane kao smjesa zbog otežanog razdvajanja pri čemu je uočena dvostruka valna fluorescencija, prikazana na slici 3 na kojoj je teško definirati koju emisiju uzrokuje koji izomer.



Slika 3. Promjene u fluorescenciji smjese 4-BTBA i 6-BTBA s različitim koncentracijama D-fruktoze u 0,1M vodenoj otopini posfatnog pufera pH 7,4

Vladimir A. Bren¹¹ i suradnici su proučavali fotokromizam krunastog etera 2-(*N*-acetil-*N*-arilaminometilen)benzo[*b*]tiofena-3(2*H*). Fotokromizam je povratna fotoinducirana transformacija kemijske vrste između dvije forme koje daju različiti apsorpcijski spektar. Takvom transformacijom dobivaju se željena svojstva koja se povezuju s afinitetom vezanja i strukture značajne za fotodinamičke i fluorogenske kemosenzore metalnih iona. Fotokromizam 2-(*N*-acetil-*N*-arilaminometilen)benzo[*b*]tiofena-3(2*H*), prikazan na shemi 15, temeljen je na mehanizmu koji uključuje fotoinduciranu *Z/E*-izomerizaciju oko egzocikličke C=C veze praćenu brзом N→O acetil pretvorbom i *sin*→*anti* izomerizacijom te se u konačnici dobiva kinetički stabilniji produkt O-acetil izomer. Za razliku od otopine *N*-acilnog izomera kod koje se dodatkom zemnoalkalijskih metala neznatno mijenja UV/Vis spektar, promjene se značajno povećavaju nakon konverzije u O-acil izomer. Tako dobivene molekule mogu se koristiti kao osjetljivi fotodinamički kemosenzori s 'off-on' mehanizmom uz ione zemnoalkalijskih metala (Ca²⁺, Ba²⁺).

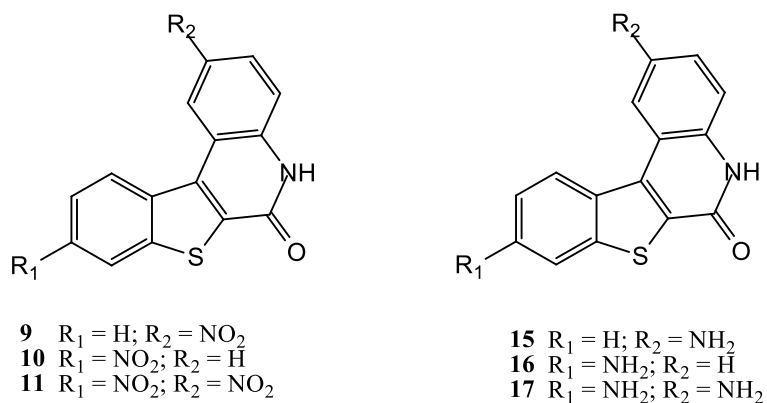


Shema 15. Sinteza krunastog etera 2-(*N*-acetil-*N*-arilaminometilen)benzo[*b*]tiofen-3(2*H*)

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Cilj rada

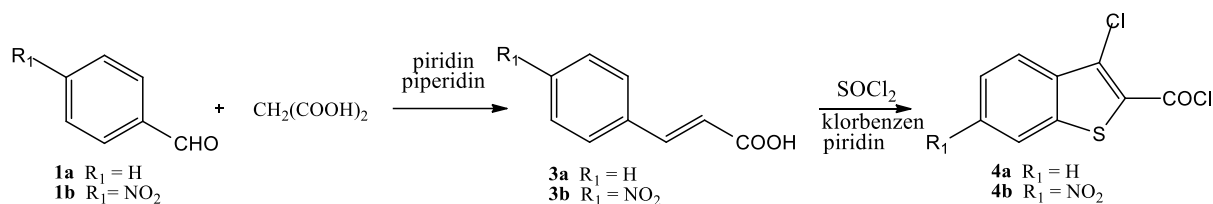
Cilj ovog rada bila je priprava amino- i nitro-supstituiranih benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona kao potencijalnih antioksidansa. Priređeni spojevi **9-11** i **15-17** prikazani su na slici 6. Njihova struktura potvrđena je ¹H NMR spektroskopijom. Dodatno su ispitivana spektroskopska svojstva priređenih spojeva UV/Vid i fluorimetrijskim titracijama otopina spojeva s otopinama metalnih soli ili puferima različitih pH vrijednosti.



Slika 4. Struktura priređenih spojeva **9-11** i **15-17**

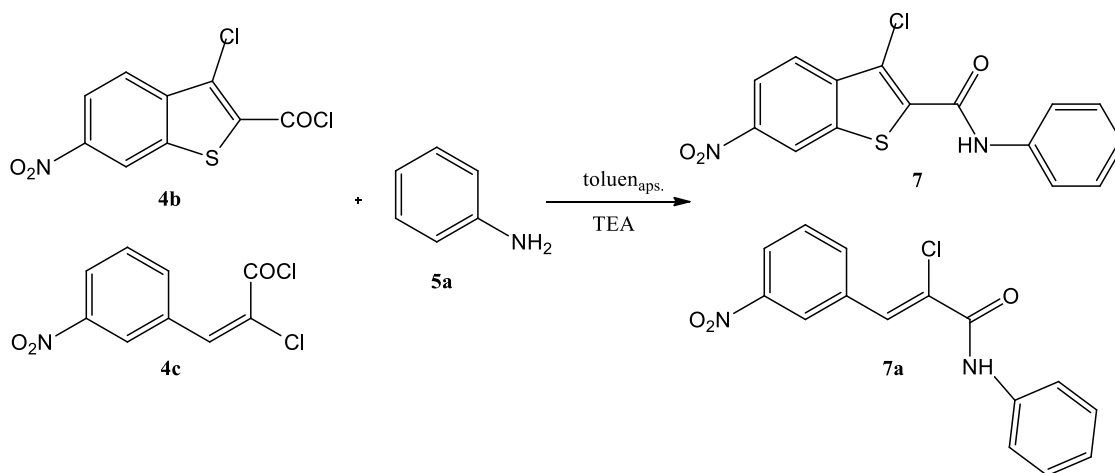
3.2. Sinteza priređenih spojeva

Za sintezu ciljanih derivata amino- i nitro supstituiranih benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona prvotno je bilo potrebno prirediti odgovarajuće cimetne kiseline **3a** i **3b** reakcijom benzaldehida **1a** i **1b** i malonske kiseline **2** u piridinu uz dodatak piperidina kao katalizatora.¹² Iskorištenja provedenih reakcija iznosila su 73,6% i 63,1%. Daljnom reakcijom odgovarajuće cimetne kiseline **3a** i **3b** s tionil-kloridom u apsolutnom toluenu priređeni su odgovarajući 3-klor-benzo[*b*]tiefen-2-karbonil kloridi **4a** i **4b**.¹³

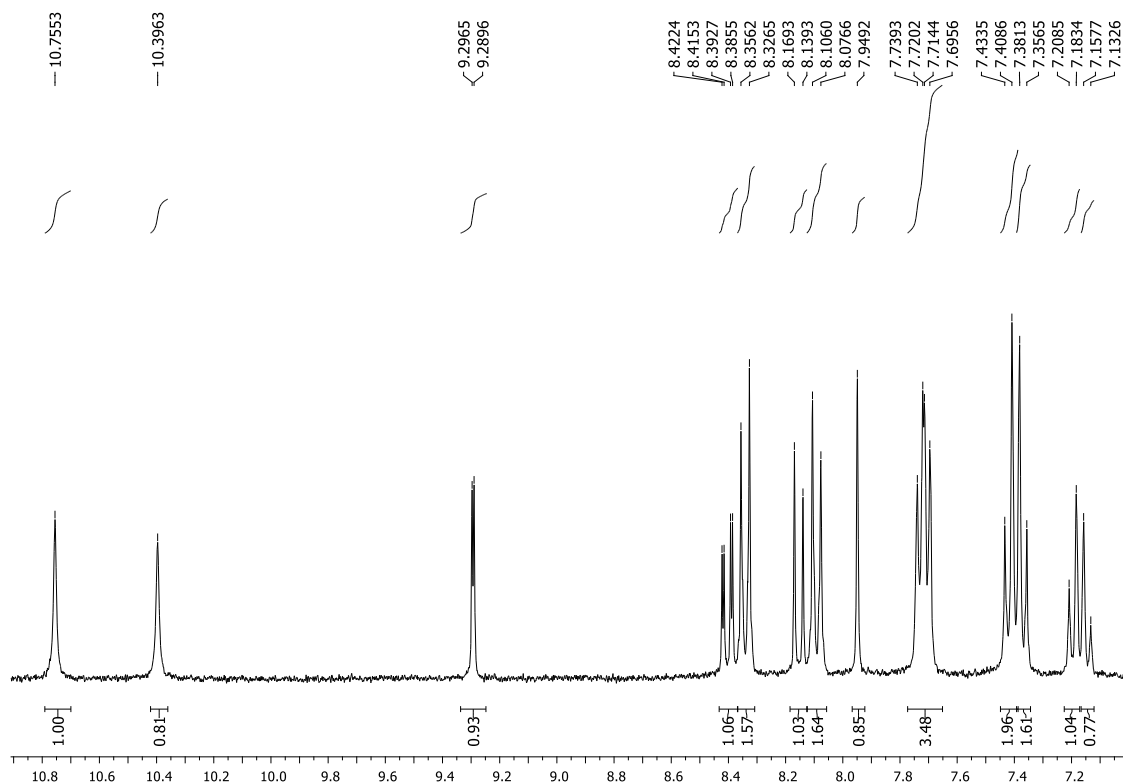


Shema 16. Sinteza cimetnih kiselina **3a** i **3b** i 3-klor-benzo[*b*]tiefen-2-karbonil klorida **4a** i **4b**

U reakciji 4-nitrocimetne kiseline **3b** s SOCl_2 dobivena je smjesa klorida **4b** i **4c** prikazanih na shemi 17, koja u reakciji s anilinom uz trietilamin u apsolutnom toluenu daje smjesu amida **7** i **7a** čije su strukture okarakterizirane ^1H NMR spektroskopijom i prikazane na slici 5.

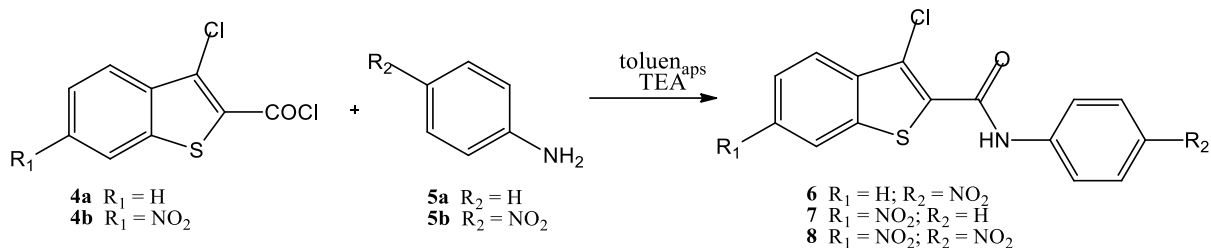


Shema 17. Smjesa **7** i **7a**



Slika 5. ^1H NMR spektar smjese spojeva **7** i **7a**

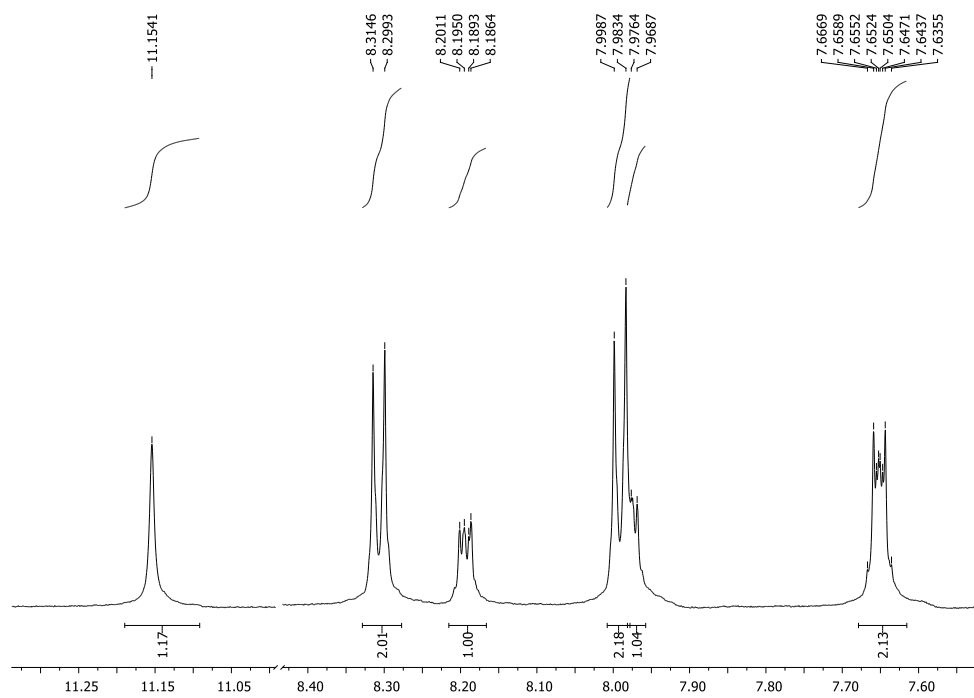
Supstituirani 3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamidi **6-8** priređeni su reakcijom kondenzacije 3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karbonil klorida **4a** i **4b** i odgovarajućih anilina **5a** i **5b** u apsolutnom toluenu uz dodatak trietilamina, prikazani na shemi 18.^{14, 15}



Shema 18. Sinteza spojeva **6-8**

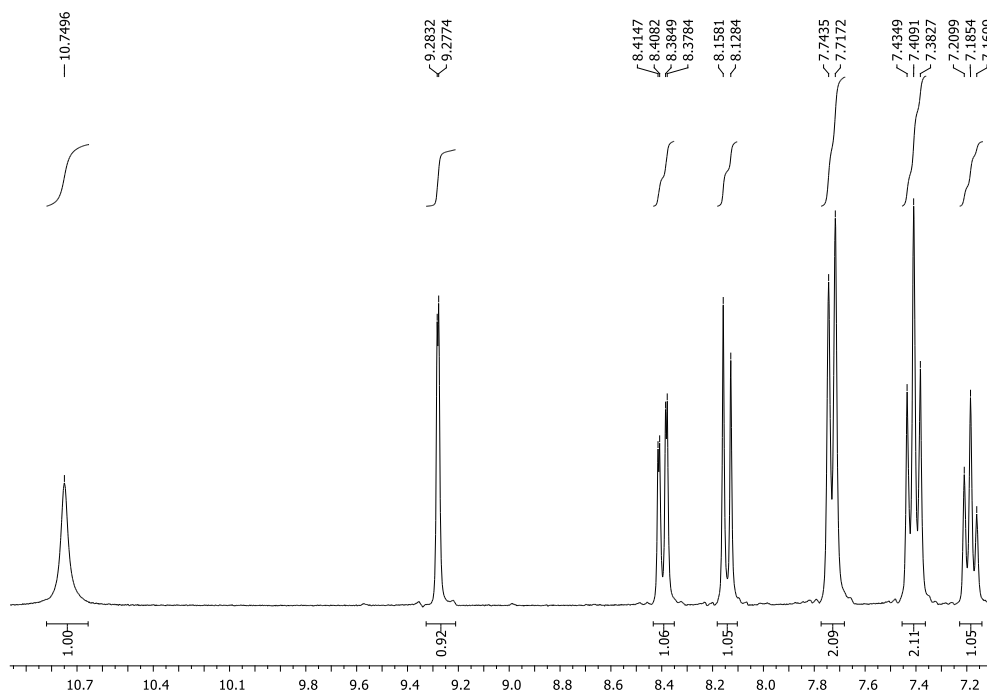
Produkti **6-8** su dobiveni zagrijavanjem reakcijske smjese na temperaturi refluksa 24 sata uz iskorištenje reakcija redom 67,0%, 60,1% i 46,0%.

Strukture priređenih spojeva **6-8** potvrđene su ^1H NMR spektroskopijom. Na slici 6 prikazan je ^1H NMR spektar spoja **6**. Singlet na 11,15 ppm odgovara protonu CONH skupine, a ostali signali u području od 8,31 do 7,64 ppm odgovaraju aromatskim protonima.



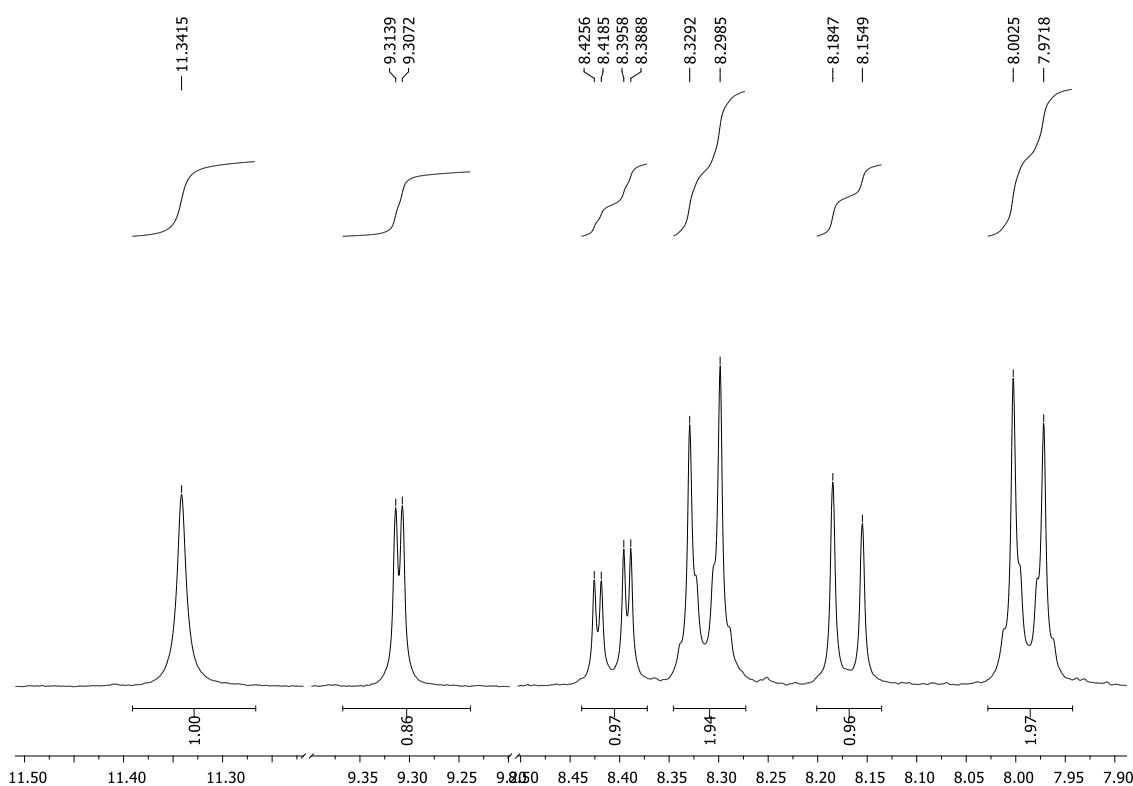
Slika 6. ^1H NMR spektar spoja 6

Na slici 7 prikazan je ^1H NMR spektar spoja 7. U spektru je prisutan odgovarajući broj signala aromatskih protona u području od 9,28 do 7,19 ppm, kao i široki singlet na 10,75 ppm koji odgovara protonu amidne skupine.



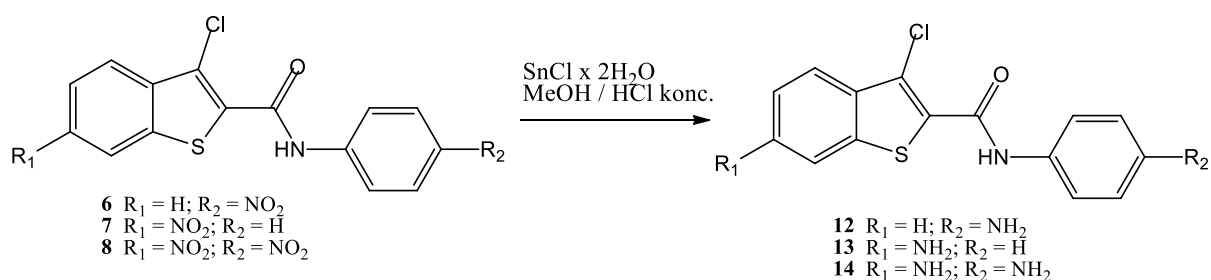
Slika 7. ^1H NMR spektar spoja 7

U ^1H NMR spektru spoja **8** na slici 8 možemo uočiti široki singlet protona amidne skupine na 11,34 ppm te signale u području od 9,31 do 7,99 ppm koji odgovaraju aromatskim protonima.



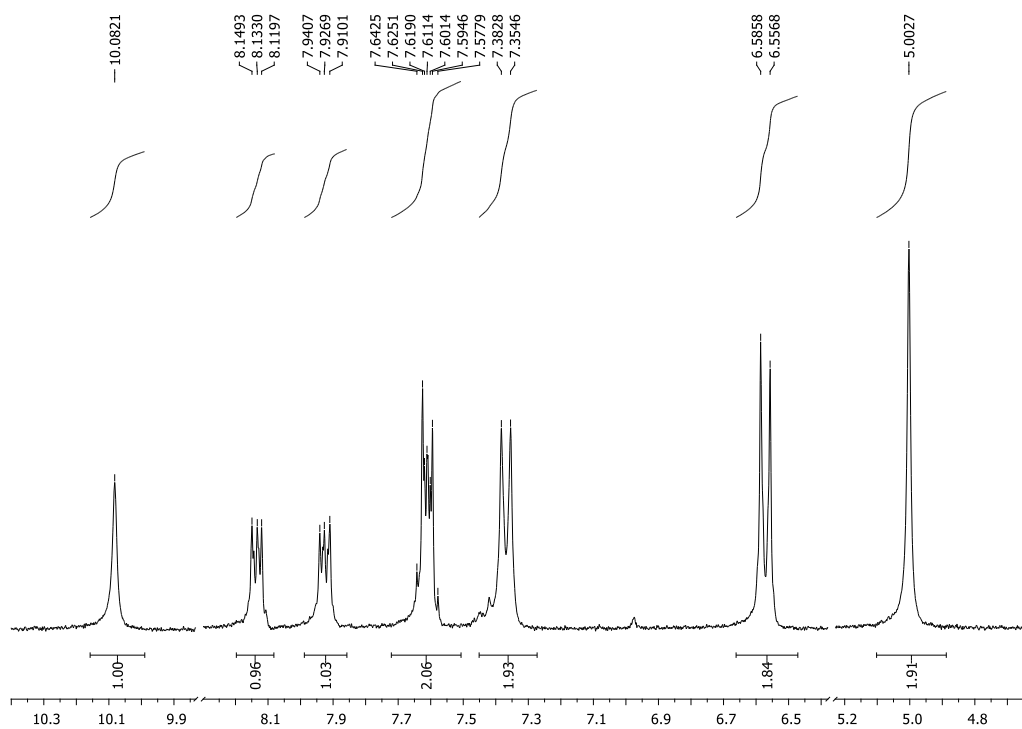
Slika 8. ^1H NMR spektar spoja **8**

Amino supstituirani derivati **12-14** priređeni su redukcijom nitro i dinitro supstituiranih derivata **6-8** s kositar-klorid dihidratom u metanolu i koncentriranoj kloridnoj kiselini u iskorištenju reakcija redom 97,3%, 60,0% i 60,0%.^{5, 16}



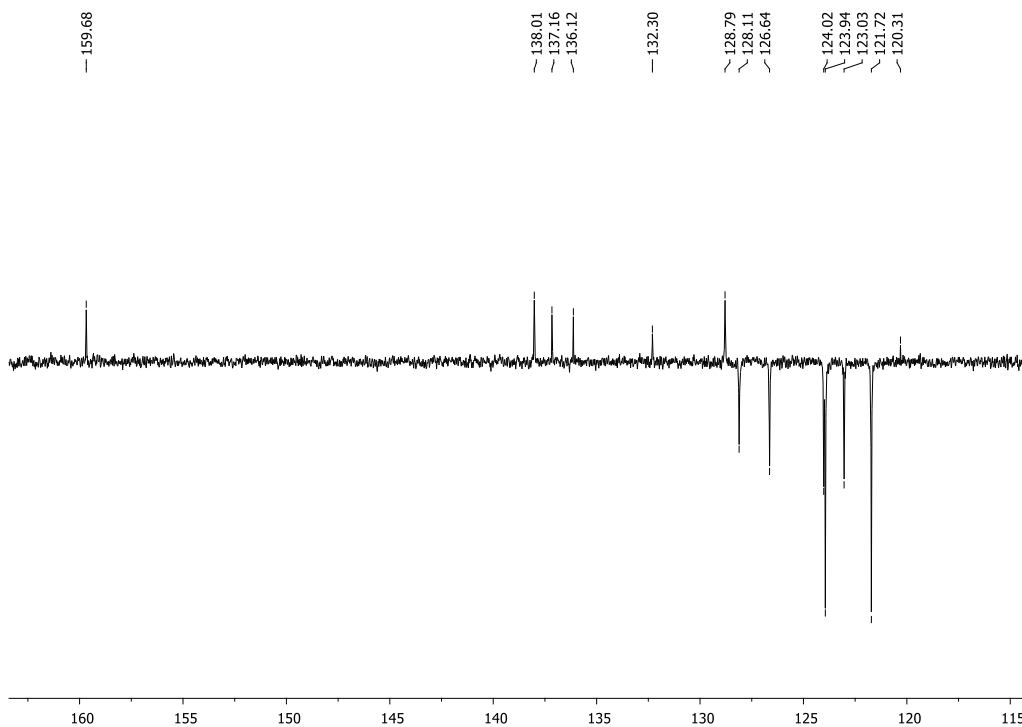
Shema 19. Sinteza spojeva **12-14**

Na slici 9 prikazan je ^1H NMR spektar amino supstituiranog spoja **12** kod kojeg se amino skupina nalazi na anilidnoj strani molekule i čiji je signal vidljiv na 5,00 ppm. Singlet koji odgovara protonu amidne skupine možemo uočiti na 10,08 ppm, a signali u području od 8,20 do 6,57 ppm pripadaju odgovarajućem broju aromatskih protona.



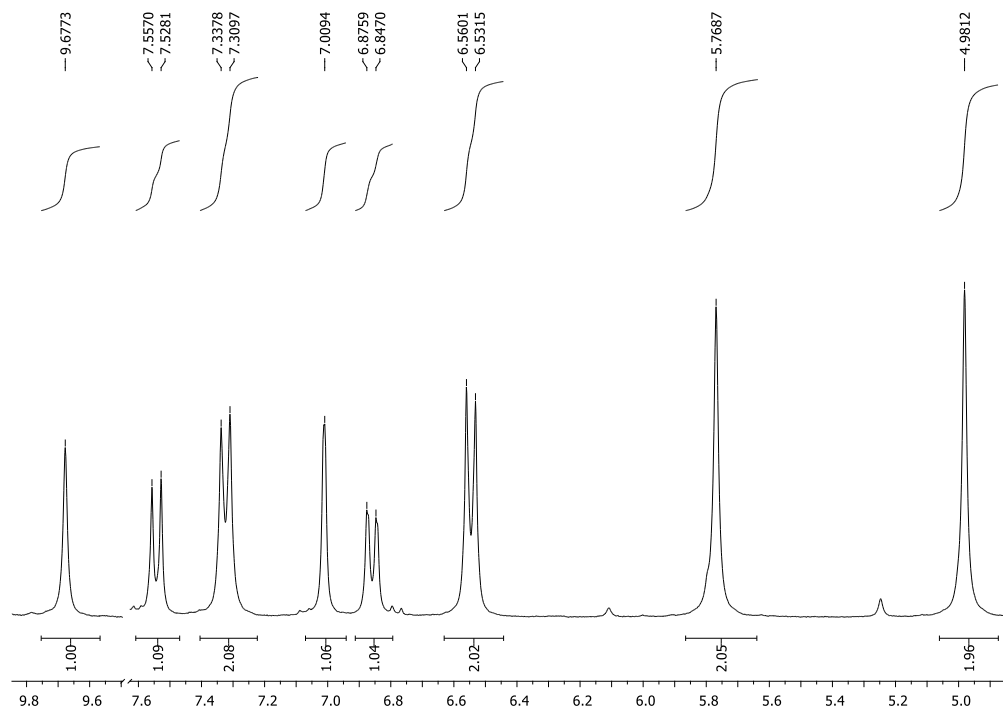
Slika 9. ^1H NMR spektar spoja **12**

Struktura spoja **12** potvrđena je i ^{13}C NMR spektroskopijom. U spektru prikazanom na slici 10 može se uočiti odgovarajući broj signala koji pripadaju kvaternim ugljikovim atomima kao i odgovarajući broj signala koji odgovaraju ugljikovim atomima CH skupina.



Slika 10. ^{13}C NMR spektar spoja **12**

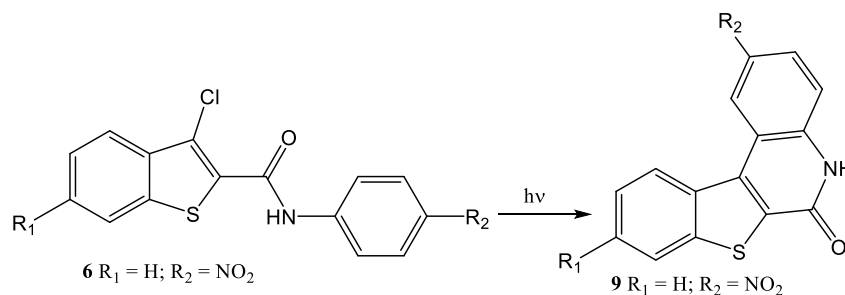
^1H NMR spektar diamino supstituiranog spoja **14** prikazan je na slici 11. Signali dviju NH_2 skupina mogu se uočiti na 5,77 i 4,98 ppm. Singlet koji odgovara protonu amidne skupine možemo uočiti na 9,68 ppm, a signali u području od 7,54 do 6,55 ppm odgovaraju aromatskim protonima.



Slika 11. ^1H NMR spektar spoja **14**

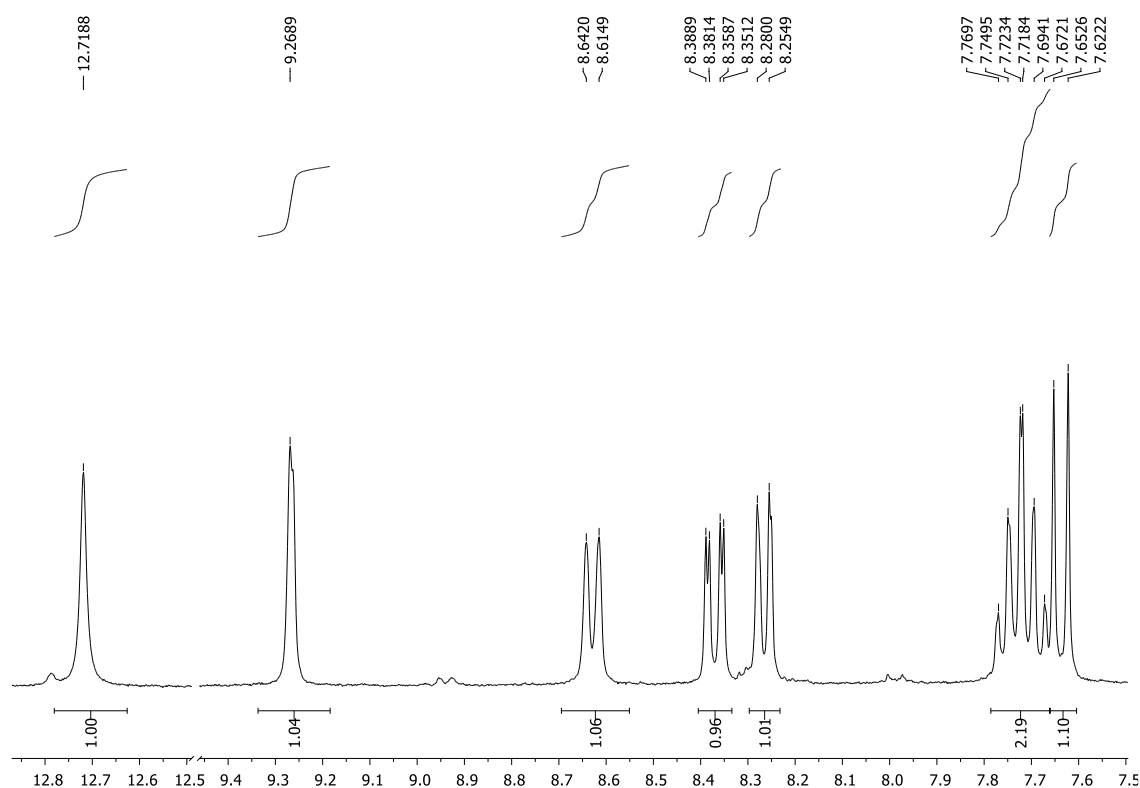
Uočavamo da je signal protona amidne skupine kod amino derivata pomaknut u više magnetsko polje u odnosu na analogne nitro derivate.

Sinteza jednog od konačnih produkata, nitro supstituiranog benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona **9** provedena je fotokemijskom ciklizacijom spoja **6** uz iskorištenje reakcije 51,7 % prema shemi 20.



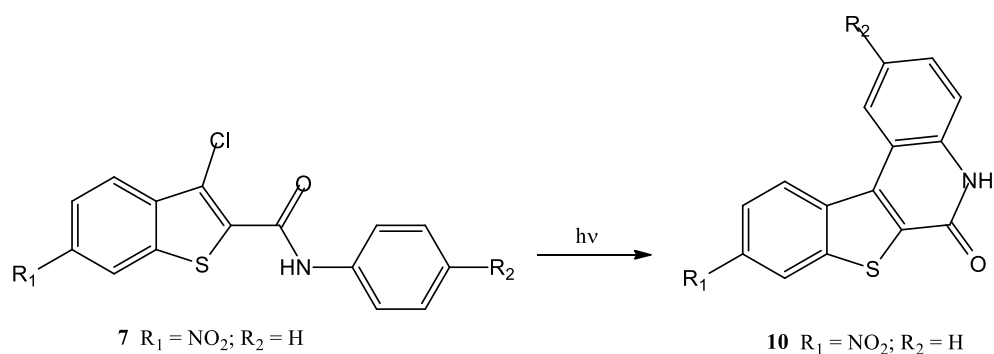
Shema 20. Fotokemijska ciklizacija spoja **6**

Struktura spoja **9** potvrđena ^1H NMR spektroskopijom prikazana je na slici 12. Singlet na 12,72 ppm odgovara protonu kinolonskog dušika, a signali u području od 9,27 do 7,64 ppm odgovaraju aromatskim protonima.



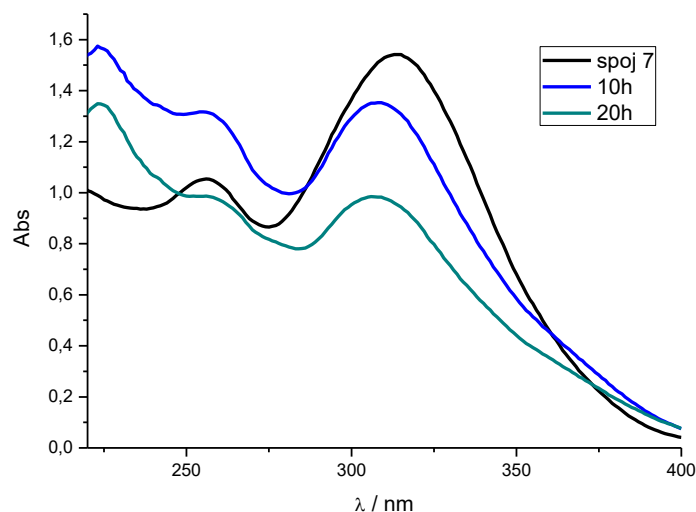
Slika 12. ^1H NMR spektar spoja **9**

Fotokemijskom ciklizacijom nitro supstituiranog derivata **7** proveden je pokušaj sinteze odgovarajućeg cikličkog derivata **10** osvjetljavanjem s visokotlačnom živinom lampom od 400W 20 sati prema shemi 21.



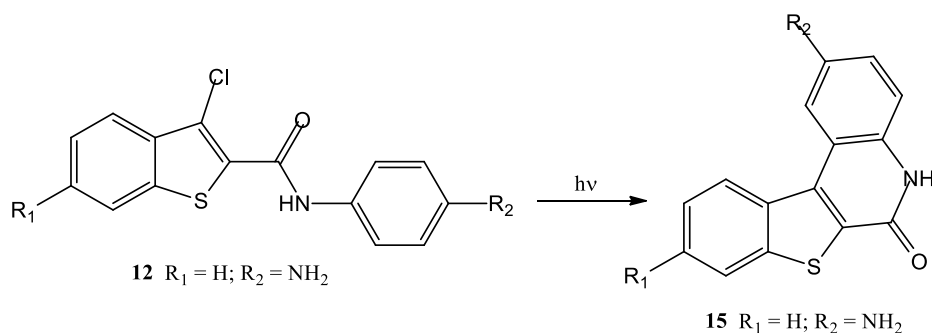
Shema 21. Fotokemijska ciklizacija spoja **7**

Tijek reakcije praćen je UV/Vis spektroskopijom prema slici 13. UV/Vis spektri reakcijske smjese snimani su tijekom 20 sati. Budući da apsorpcijski spektar nije pokazao nikakvu promjenu možemo zaključiti da kroz 20 sati osvjetljavanja spoja **7** nije nastao željeni produkt **10**.



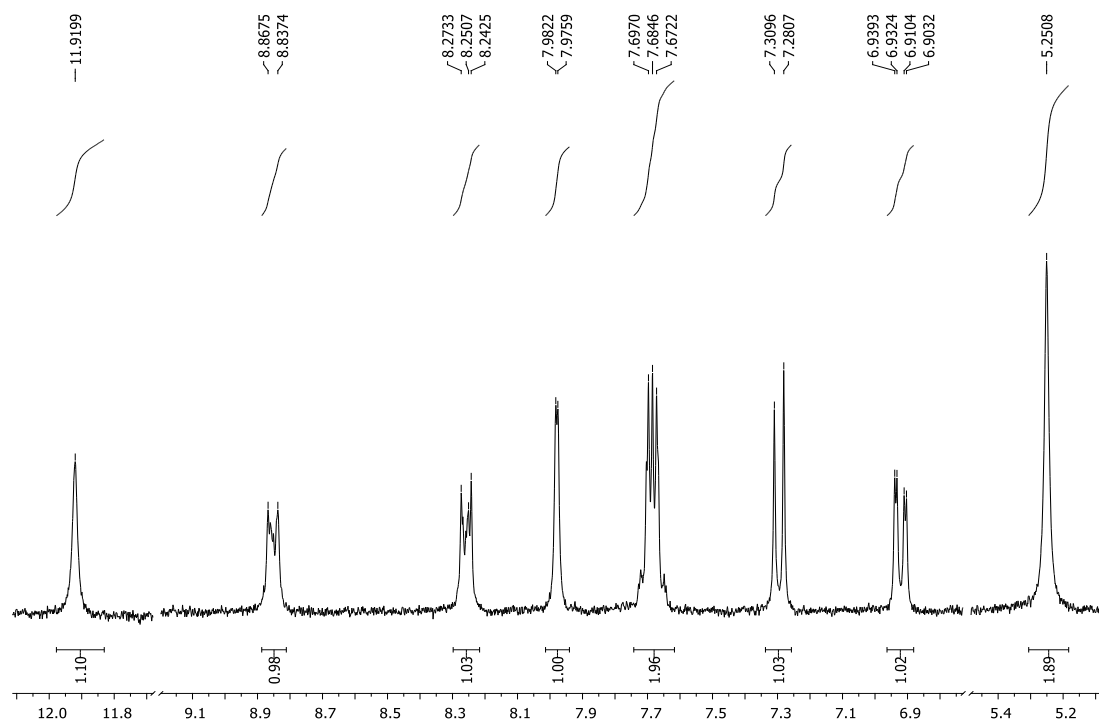
Slika 13. Tijek praćenja fotokemijske ciklizacije spoja **7**

Sinteza ciljanog amino supstituiranog benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona **15** provedena je također fotokemijskom ciklizacijom spoja **12** prema shemi 21.



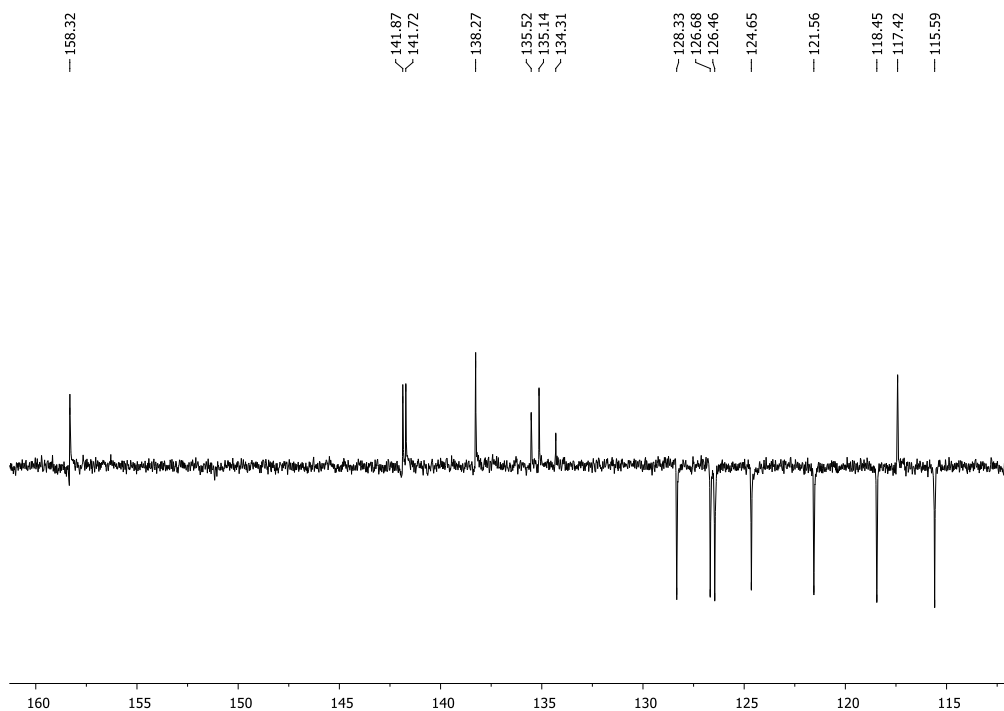
Shema 21. Fotokemijska ciklizacija spoja **12**

Struktura spoja **15** potvrđena je ¹H NMR spektroskopijom, a na slici 14 prikazan je ¹H NMR spektar. Singlet na 11,92 ppm odgovara protonu kinolonskog dušika, a signali u području od 8,85 do 6,92 ppm odgovaraju aromatskim protonima. Singlet na 5,25 ppm odgovara protonima amino skupine.



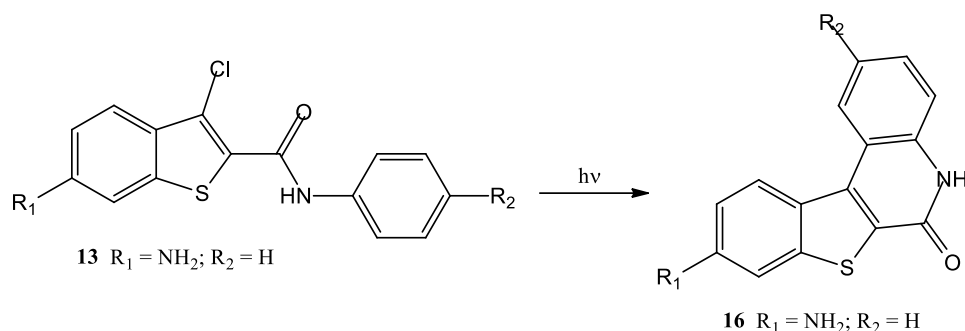
Slika 14. ^1H NMR spektar spoja **15**

Struktura spoja **15** potvrđena je i ^{13}C NMR spektroskopijom. U spektru prikazanom na slici 15 može se uočiti odgovarajući broj signala koji odgovaraju kvaternim ugljikovim atomima kao i odgovarajući broj signala koji odgovaraju ugljikovim atomima CH skupina.



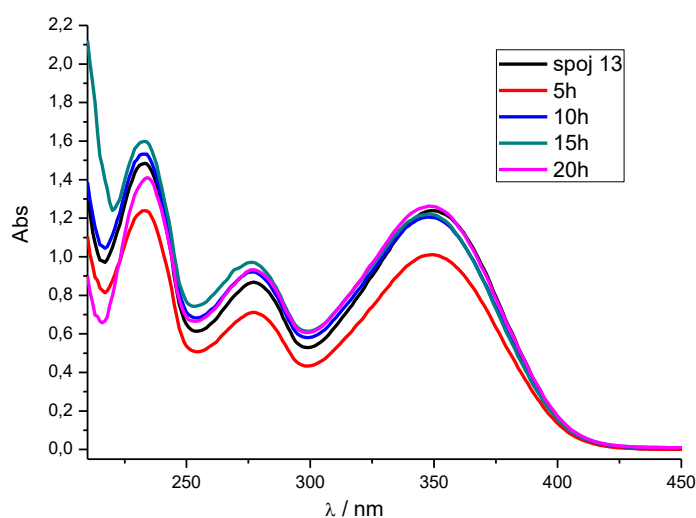
Slika 15. ^{13}C NMR spektar spoja **15**

Pokušaj sinteze cikličkog derivata **16** proveden je fotokemijskom ciklizacijom amino supstituiranog spoja **13** osvjetljavanjem s visokotlačnom živinom lampom od 400 W 20 sati prema shemi 22.



Shema 22. Fotokemijska ciklizacija spoja **13**

Tijekom 20 sati su snimani UV/Vid spektri reakcijske smjese prikazani na slici 16. Budući da apsorpcijski spektar nije pokazao nikakvu promjenu možemo utvrditi da kroz 20 sati osvjetljavanja spoja **13** nije nastao željeni produkt **16**.



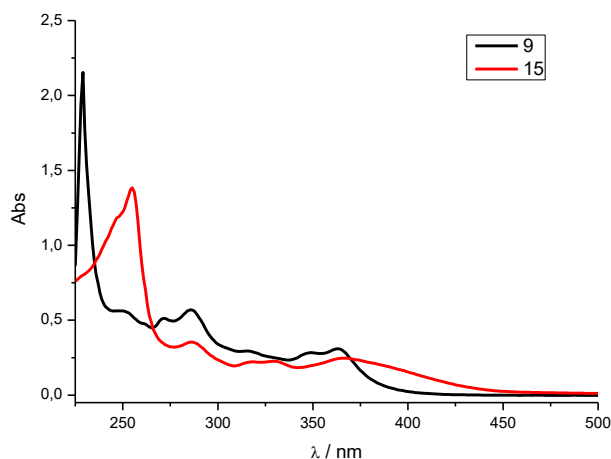
Slika 16. Tijek praćenja fotokemijske ciklizacije spoja **13**

3.3. Spektroskopska karakterizacija UV/Vid spektroskopijom

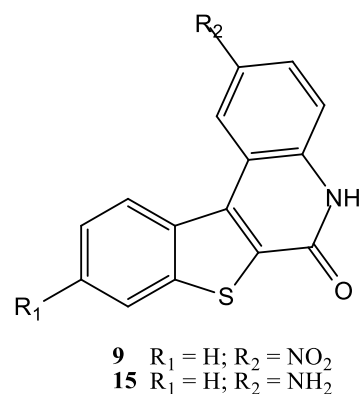
3.3.1. Kvantitativni UV/Vid spektri

UV/Vid apsorpcijski spektri priređenih spojeva snimani su pri istoj koncentraciji od 2×10^{-5} mol/dm³ u metanolu (polarno protično otapalo). Na slici 17 prikazani su usporedni kvantitativni apsorpcijski spektri i strukture spojeva **9** i **15**.

a)



b)



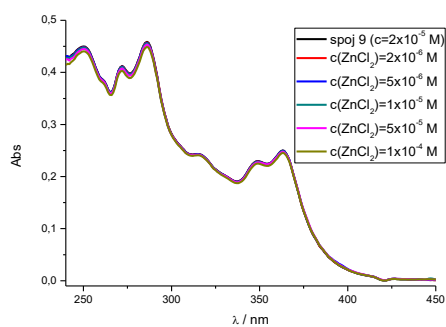
Slika 17. a) Apsorpcijski spektri spojeva **9** i **15** u metanolu i b) strukture spojeva

Iz prikazanog apsorpcijskog spektra može se zaključiti da veći intenzitet apsorpcije pokazuje nitro supstituirani benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolon **9** s maksimumom apsorpcije na 360 nm. Maksimum apsorpcije amino supstituiranog kinolona **15** može se uočiti na 370 nm uz batokromni pomak valne duljine maksimuma apsorpcije.

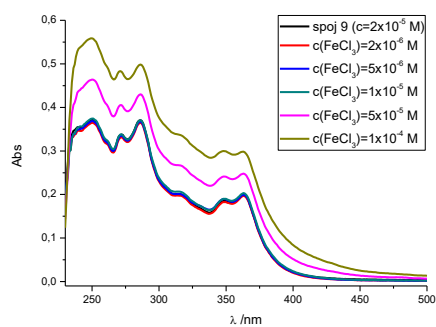
3.3.2. UV/Vid spektroskopske titracije s otopinama metalnih kationa

Preliminarne spektroskopske titracije su provedene kako bi se ispitala mogućnost primjene priređenih spojeva kao senzora za detekciju metalnih kationa u otopinama. Titracije s vodenim otopinama ZnCl₂, FeCl₃ i CoCl₂ su provedene kod koncentracije spojeva od 2×10^{-5} mol/dm³ uz dodatak određenih koncentracija metalnih soli (2×10^{-6} mol/dm³, 5×10^{-6} mol/dm³, 1×10^{-5} mol/dm³, 5×10^{-5} mol/dm³, 1×10^{-4} mol/dm³). Slika 18 prikazuje apsorpcijske krivulje titracije nitro supstituiranog kinolona **9** s metalnim solima.

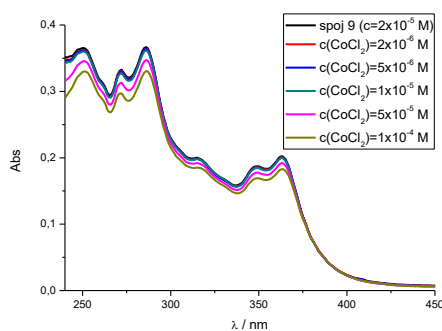
a)



b)



c)



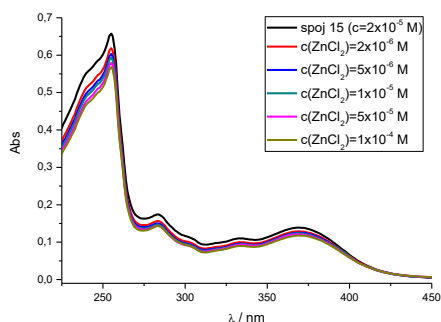
Slika 18. Apsorpcijska krivulja ispitivanja interakcije spoja **9** s metalnim solima

a) ZnCl_2 ; b) FeCl_3 ; c) CoCl_2

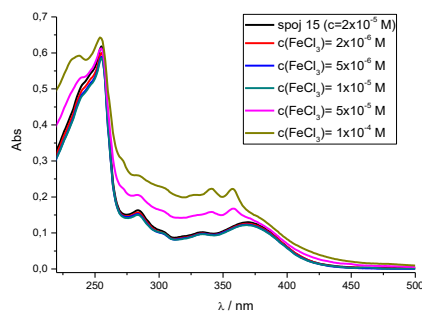
Iz dobivenih krivulja vidi se da spoj **9** pokazuje najveći afinitet vezanja Fe^{3+} pri čemu dolazi do porasta intenziteta apsorpcije spoja s porastom koncentracije kationa. Spoj **9** pokazuje nešto manji afinitet vezanja prema Co^{2+} kationima pri čemu dolazi do opadanja intenziteta apsorpcije spoja s porastom koncentracije kationa. Spoj **9** pokazuje gotovo zanemariv afinitet vezanja Zn^{2+} kationa.

Na slici 19 prikazane su apsorpcijske krivulje titracije amino supstituiranog kinolonskog derivata **15** s metalnim solima u otopinama.

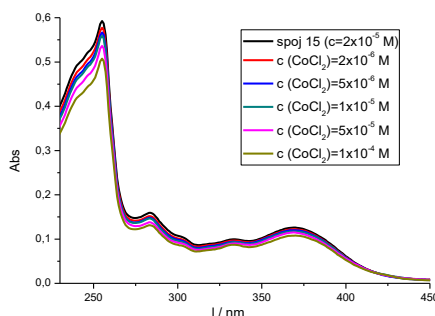
a)



b)



c)



Slika 19. Apsorpcijska krivulja ispitivanja interakcije spoja **15** s metalnim solima
a) ZnCl₂; b) FeCl₃; c) CoCl₂

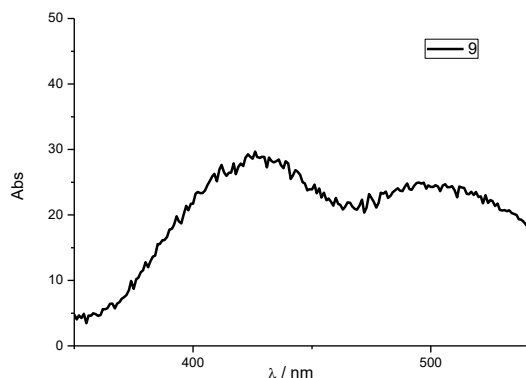
Iz dobivenih krivulja vidi se da spoj **15** pokazuje najveći afinitet prema Fe³⁺ kationima pri čemu dolazi do porasta intenziteta apsorbancije spoja s porastom koncentracije kationa. Spoj **15** pokazuje gotovo podjednako slab afinitet vezanja Co²⁺ i Zn²⁺ kationa pri čemu dolazi do opadanja intenziteta apsorbancije spoja s porastom koncentracije kationa.

3.4. Fluorimetrijska spektroskopija

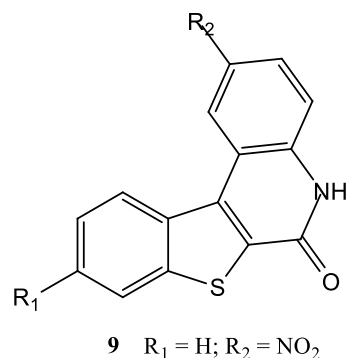
3.4.1. Emisijski spektri

Fluorimetrijska ispitivanja su izrazito osjetljiva metoda pa ih je moguće provesti kod vrlo niskih koncentracija. Fluorimetrijski emisijski spektri spojeva **9** i **15** snimani su pri koncentracijama 1 × 10⁻⁶ mol/dm³ u metanolu. Na slikama 20 i 21 prikazani su kvantitativni emisijski spektri kao i strukture spojeva **9** i **15**.

a)

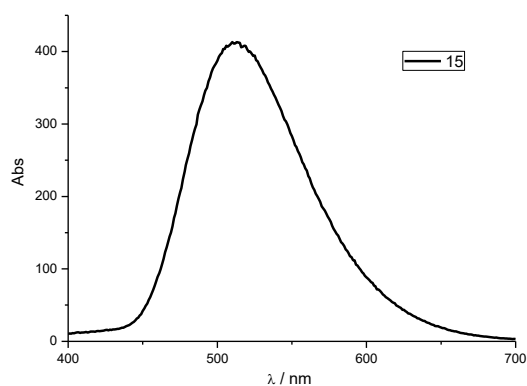


b)

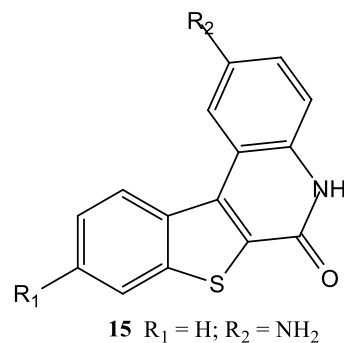


Slika 20. a) Emisijski spektar spoja **9** u metanolu i b) struktura spoja

a)



b)



Slika 21. a) Emisijski spektar spoja **15** u metanolu i b) struktura spoja

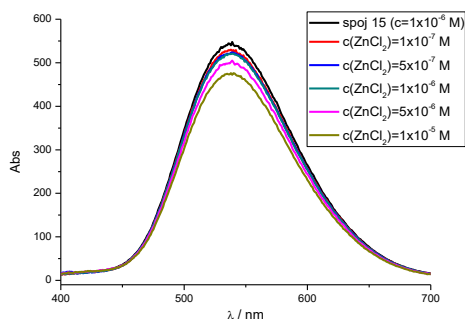
Iz prikazanih emisijskih spektara može se zaključiti da veći intenzitet fluorescencije pokazuje amino supstituirani ciklički derivat **15** s maksimumom emisije na 505 nm. Nitro supstituirani derivat **9** pokazuje slabiji intenzitet fluorescencije.

3.4.2. Fluorimetrijske spektroskopske titracije s otopinama metalnih soli

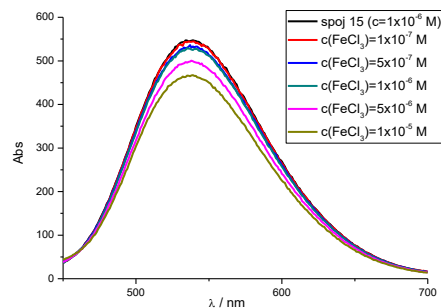
Spektroskopske titracije spoja **15** s vodenim otopinama $ZnCl_2$, $FeCl_3$ i $CoCl_2$ su provedene kod vrlo niskih koncentracija 1×10^{-6} mol/dm³ uz dodatak određenih koncentracija metalnih soli (1×10^{-7} mol/dm³, 5×10^{-7} mol/dm³, 1×10^{-6} mol/dm³, 5×10^{-6} mol/dm³, 1×10^{-5}

mol/dm³). Slika 22 prikazuje emisijske krivulje titracije amino supstituiranog kinolona **15** s metalnim solima.

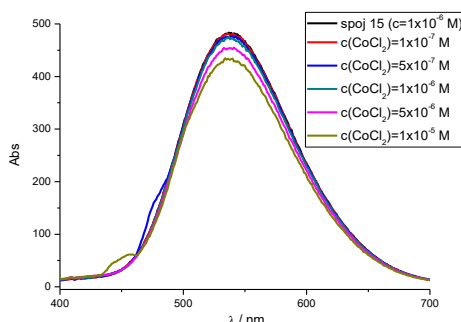
a)



b)



c)



Slika 22. Emisijska krivulja ispitivanja interakcije spoja **15** s metalnim solima

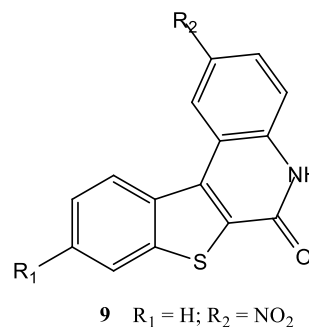
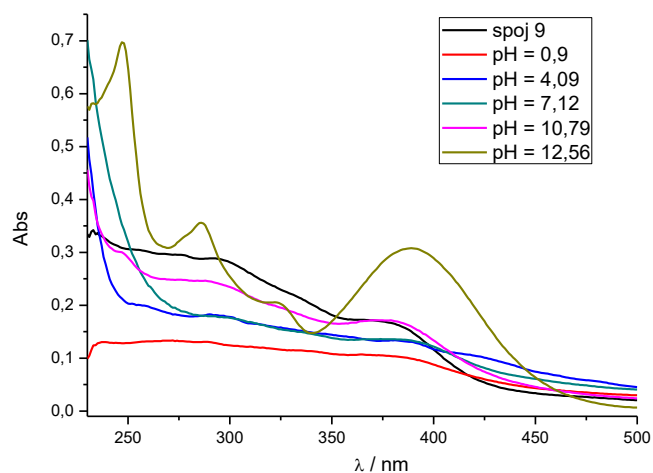
a) ZnCl₂; b) FeCl₃; c) CoCl₂

Iz dobivenih rezultata možemo zaključiti da spoj **15** pokazuje najveću promjenu intenziteta fluorescencije pri vezanju Fe³⁺ pri čemu porastom koncentracije kationa dolazi do smanjenja intenziteta fluorescencije tj. hipokromnog pomaka. Afinitet vezanja spoja **15** prema Co²⁺ i Zn²⁺ kationima približno je jednak pri čemu također porastom koncentracije kationa dolazi do blagog smanjenja intenziteta fluorescencije.

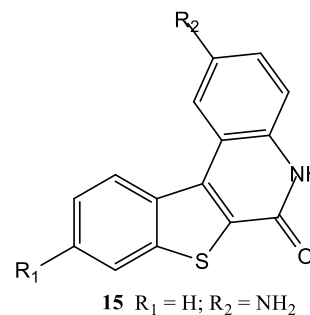
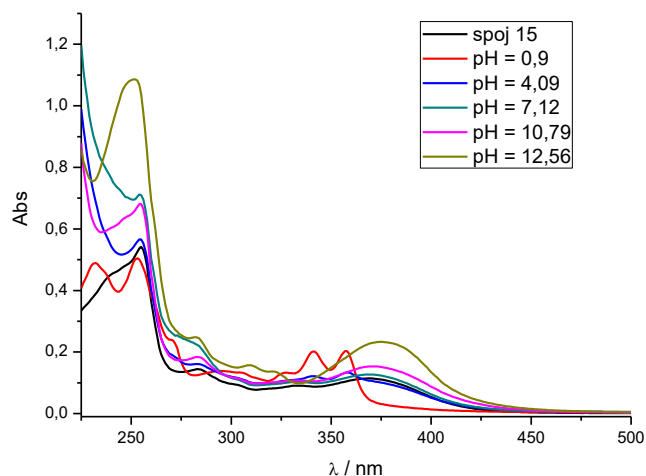
3.5. Utjecaj pH na spektroskopska svojstva spojeva

Korištenjem UV/Vid spektroskopije ispitana je promjena spektroskopskih svojstava spojeva **9** i **15** ovisno o pH vrijednosti otopine kako bi se ispitala njihova mogućnost primjene kao optičkih pH senzora. Snimljeni su apsorpcijski spektri spojeva u vodi i otopinama univerzalnih pufera različitih pH vrijednosti prikazani na slici 23.

a)



b)



Slika 23. Apsorpcijski spektar i struktura spoja a) **9** i b) **15** u otopinama univerzalnih pufera različitih pH vrijednosti

Iz dobivenih rezultata može se uočiti promjena spektroskopskih svojstava spojeva **9** i **15** kod različitih vrijednosti pH. U izrazito kiselom području intenzitet apsorbancije nitro supstituiranog spoja **9** je slab te se povećava povećanjem lužnatosti pufera. Pri pH 12,56 može se uočiti batokromni pomak maksimuma valne duljine te izraženi hiperkromni pomak intenziteta apsorbancije. Pretpostavka je da u izrazito lužnatom mediju dolazi do odcjepljenja protona s dušikovog atoma na kinolonskoj jezgri.

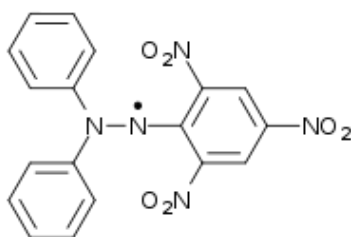
Amino supstituirani derivat **15** pokazuje promjenu spektroskopskih svojstava i pri izrazito kiselom i izrazito lužnatim vrijednostima pH. U jako kiselom mediju dolazi do hipsokromnog pomaka valne duljine maksimuma apsorbanije uz nastajanje dva nova maksimuma apsorbanije na 341 i 357 nm te porasta intenziteta apsorbanije u odnosu na spektar početnog spoja u vodi. Pretpostavka je da u jako kiselom mediju dolazi do protoniranja amino skupine. Nadalje, u jako lužnatom mediju može se opaziti identičan rezultat kao i za nitro supstituirani derivat jer dolazi do batokromnog pomaka maksimuma apsorbanije i izraženog porasta maksimuma apsorbanije u odnosu na početni spektar ispitivanog spoja **15**. Također se može pretpostaviti da u bazičnom mediju dolazi do odcjepljenja protona na kinolonskom atomu dušika.

Preliminarnim ispitivanjima spektroskopskih svojstava priređenih spojeva u prisutnosti različitih metalnih kationa ili pufera različitih pH vrijednosti može se zaključiti da derivati benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona ne pokazuju izraženi afinitet prema odabranim kationima u otopinama dok se u otopinama različitih pH vrijednosti i ovisno o vrsti supstituenta značajno mijenjaju spektroskopska svojstva. Ovakav tip spojeva može imati potencijalnu promjenu kao optički pH senzori.

3.6. Antioksidativna aktivnost

Antioksidativna aktivnost određena je korištenjem DPPH i FRAP metoda na Veterinarskom fakultetu u Zavodu za stočarstvo pod vodstvom dr. sc. Kristine Starčević.

Metoda DPPH (engl. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) je metoda "hvatanja" slobodnih DPPH radikala. Metoda se zasniva na sposobnosti stabilnog slobodnog radikala 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH \cdot) da reagira s vodik donorom. DPPH je dušikov radikal koji na jednom atomu dušikovog mosta sadrži nespareni elektron (Slika 24).



Slika 24. Struktura 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH \cdot)

FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) metoda je određivanje antioksidativne aktivnosti, a izvodi se spektrofotometrijskim mjerenjem apsorbancije Fe(II)-kompleksa [Fe(II)-TPTZ \rightarrow 2, 3, 6 –tripiridil-s-triazin].

U tablici 3 prikazani su rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti spojeva **6**, **9**, **12** i **15**. S obzirom na rezultate DPPH metode, najizraženiju antioksidativnu aktivnost pokazuje amino supstituirani ciklički derivat **15** te amino supstituirani aciklički derivat benzo[*b*]tiofena **12**. Prema rezultatima dobivenim FRAP metodom, najbolju antioksidativnu aktivnost također pokazuje amino supstituirani ciklički derivat **15** te nitro supstituirani aciklički derivat **6**.

Tablica 3. Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti

Spoj	DPPH / % pri koncentraciji spoja 0,0125 M	FRAP / mmolFe ²⁺ /mmol _{spoja}
6	9,6 \pm 0,1	818,4 \pm 27,8
9	6,7 \pm 1,0	14,1 \pm 0,1
12	11,3 \pm 0,2	15,7 \pm 0,4
15	25,2 \pm 2,7	1489,0 \pm 30,5

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Kemijske reakcije provedene su uobičajenim sintetskim metodama.

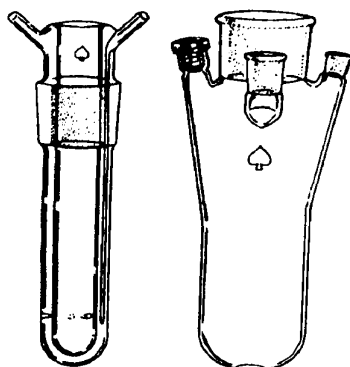
Tališta priređenih spojeva određena su na SMP10 Bibby aparatu i nisu korigirana.

^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker AV600 i Bruker AV300. ^1H NMR spektri snimani su pri 300 i 600 MHz, dok su ^{13}C NMR spektri snimani pri 75 i 150 MHz. Svi NMR spektri snimani su u DMSO- d_6 kao otapalu koristeći tetrametilsilan kao interni standard. Kemijski pomaci (δ) izraženi su u ppm vrijednostima, a konstante sprege (J) u Hz.

Apsorpcijski spektri snimljeni su na spektrofotometru Varian Cary 50, a emisijski spektri snimljeni su na Cary Eclipse spektrofotometru. U oba su slučaja korištene kvarcne kivete promjera 1 cm te volumena 3 cm³.

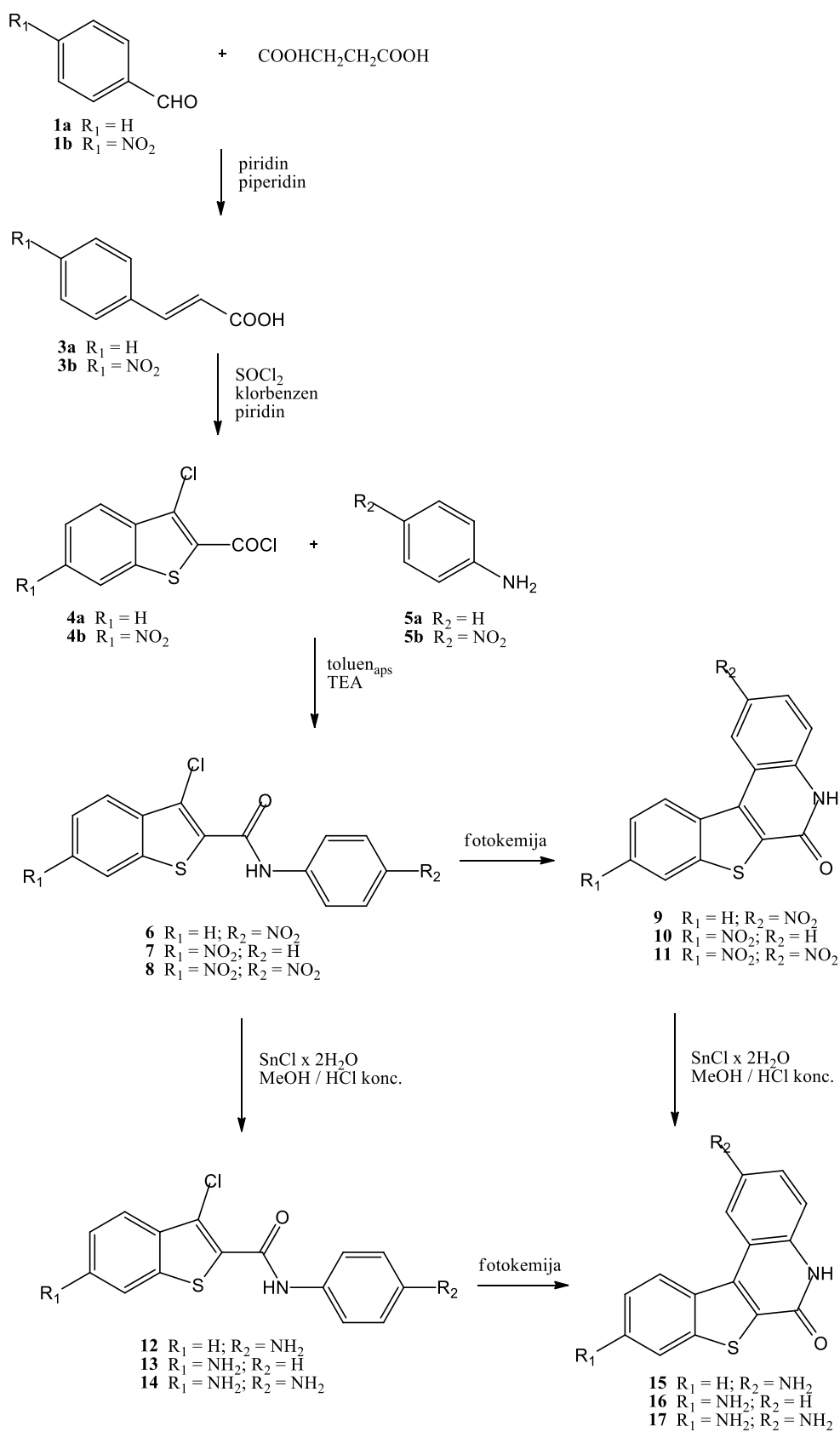
Svi spojevi su rutinski provjeravani tankoslojnom kromatografijom (TLC) koristeći ploče presvučene silikagelom Merck 60F-254 te detektirani pod UV svjetlom (254 nm).

Fotokemijske reakcije provedene su u reaktoru s unutarnjim osvjetljavanjem (imerzijski reaktor) kod kojeg je izvor svjetla uronjen u reakcijsku otopinu. Imerzijski reaktor sastoji se od dva dijela: imerzijskog, koji se uranja u reakcijsku smjesu i reakcijske posude. Imerzijski dio, u kojemu je smještena srednjetačna ili visokotlačna živina lampa, služi istodobno kao filter i kao hladilo. Izrađen je od kvarca ili pyrexa, a između njegovih dvostrukih stjenki cirkulira rashladna voda. U reakcijsku posudu uvodi se zrak preko propuhivača. Kao izvor svjetlosti korištena je visokotlačna živina lampa od 400 W (kućna proizvodnja).



Slika 25. Reaktor s unutarnjim osvjetljavanjem: imerzijski dio (lijevo), reakcijska posuda (desno)

4.2. Priprava amino i nitro supstituiranih benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolona



Shema 23.

4.2.1. Priprava cimetine kiseline 3a

Otopina benzaldehida **1a** (5 ml, 49 mmol), malonske kiseline **2** (6,10 g, 59 mmol), piridina (31 ml) i piperidina (1 ml) se zagrijava na temperaturi vrenja 19 sati. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu reakcijska smjesa se izlije na led (~400 g) i uz snažno miješanje zakiseli koncentriranom HCl. Nastali produkt se profiltrira i dobro ispere vodom. Nakon prekrizalizacije iz 50%-tnog etanola dobiveno je 5,34 g (73,6%) bijelog kristaliničnog produkta. T.t. 132-134 °C. (T.t.lit. 133-135 °C)¹⁷

4.2.2. Priprava 4-nitrocimetine kiseline 3b

Otopina 4-nitrobenzaldehida **1b** (3,25 g, 22 mmol), malonske kiseline **2** (2,69 g, 26 mmol), piridina (24 ml) i piperidina (0,5 ml) se zagrijava na temperaturi vrenja 19 sati. Nakon hlađenja na sobnu temperaturu reakcijska smjesa se izlije na led (~200 g) i uz miješanje se zakiseli koncentriranom HCl. Nastali produkt se profiltrira i dobro ispere vodom. Nakon prekrizalizacije iz 50%-tnog etanola je dobiveno 2,62 g (63,1%) bijelog kristaliničnog produkta. T.t. 274-275 °C.

4.2.3. Priprava 3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-karbonil-klorida 4a

Otopini cimetine kiseline **3a** (10,70 g, 72 mmol) i piridina (1,5 ml) u klorbenzenu (107 ml) postupno se dokapava SOCl₂ (54 ml, 740 mmol) uz miješanje i hlađenje na ledenoj kupelji. Reakcijska smjesa zatim se zagrijava 19 sati na temperaturi vrenja. Suvišak tionil klorida i klorbenzena ukloni se destilacijom pod sniženim tlakom, a ostatak se ekstrahira vrućim cikloheksanom. Nakon prekrizalizacije iz cikloheksana dobiveno je 8,69 g (52,0%) žutog praškastog produkta. T.t. 110-114°C. (T.t.lit. 114-115°C)¹⁸

4.2.4. Priprava 6-nitro-3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-karbonil-klorida 4b

Otopini 4-nitrocimetine kiseline **3b** (5,00 g, 26 mmol) i piridina (0,53 ml) u klorbenzenu (38 ml) postupno se dokapava SOCl₂ (18,8 ml, 260 mmol) uz miješanje i hlađenje na ledenoj kupelji. Reakcijska smjesa zatim se zagrijava 19 sati na temperaturi vrenja. Suvišak tionil klorida i klorbenzena ukloni se destilacijom pod sniženim tlakom, a ostatak se ekstrahira vrućim cikloheksanom. Nakon prekrizalizacije iz cikloheksana dobiveno je 1,410 g (19,7%) žutog praškastog produkta.¹⁹

4.2.5. Opći postupak pripreve nitro supstituiranih 3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-karboksamida 6-8

Otopini odgovarajućeg 3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-karbonil-klorida u apsolutnom toluenu dokapa se otopina odgovarajućeg anilina, doda trietilamin te se reakcijska smjesa zagrijava na temperaturi vrenja 24 sata. Hlađenjem dobiveni produkt se profiltrira, ispere razrijeđenom otopinom HCl i vodom te prekrizalizira iz odgovarajućeg otapala.

3-klor-*N*-(4-nitrofenil)-benzo[*b*]tiofen-2-karboksamid 6

0,50 g (2,17 mmol) **4a** i 0,30 g (2,17 mmol) **5b** u apsolutnom toluenu (20 ml) uz dodatak TEA (0,42 ml, 3,03 mmol) zagrijava se na temperaturi vrenja. Nakon prekrizalizacije iz smjese metanola i acetona dobiveno je 0,487 g (67,0%) svjetložutog praškastog produkta. T.t. 227-230 °C.

¹H NMR (600 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11.15 (s, 1H, CONH), 8.31 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_{arom}), 8,20–8,19 (m, 1H, H_{arom}), 7.99 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_{arom}), 7.98–7,97 (m, 1H, H_{arom}), 7.67–7.64 (m, 2H, H_{arom}).

3-klor-6-nitro-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid 7

0,50 g (1,81 mmol) **4b** i 0,17 g **5a** u apsolutnom toluena (16,7 ml) uz dodatak TEA (0,35 ml, 2,54 mmol) zagrijava se na temperaturi vrenja. Nakon prekrizalizacije iz smjese metanola i acetona dobiveno je 0,411 g (60,1 %) svjetložutog praškastog produkta.

¹H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 10.75 (s, 1H, CONH), 9.28 (d, J = 1.7 Hz, 1H, H_{arom}), 8.40 (dd, J = 8.9, 2.0 Hz, 1H, H_{arom}), 8.14 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H_{arom}), 7.73 (d, J = 7.9 Hz, 2H, H_{arom}), 7.41 (t, J = 7.8 Hz, 2H, H_{arom}), 7.19 (t, J = 7.4 Hz, 1H, H_{arom}).

3-klor-6-nitro-*N*-(4-nitrofenil)benzo[*b*]tiofen-2-karboksamid 8

0,73 g (2,65 mmol) **4b** i 0,37 g **5b** u apsolutnom toluenu (88 ml) uz dodatak TEA (0,52 ml, 3,71 mmol) zagrijava se na temperaturi vrenja. Nakon prekrizalizacije iz smjese metanola i acetona dobiveno je 0,460 g (46,0 %) žutog praškastog produkta.

¹H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 11.34 (s, 1H, CONH), 9.31 (d, J = 2.0 Hz, 1H, H_{arom}), 8.41 (dd, J = 8.9, 2.1 Hz, 1H, H_{arom}), 8.31 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_{arom}), 8.17 (d, J = 9.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.99 (d, J = 9.2 Hz, 2H, H_{arom}).

4.2.6. Opći postupak pripreme cikličkih derivata 9-11, 16, 17

Otopina supstituiranog 3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-karboksamida u odgovarajućem otapalu osvjetljava se visokotlačnom živinom lampom snage 400 W na sobnoj temperaturi. Tijekom osvjetljavanja reakcijske smjese, eventualne promjene su praćene UV/Vid spektroskopijom. Reakcijska se smjesa upari pod sniženim tlakom na mali volumen, a nastali se produkt profiltrira.

2-nitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-on 9

Nakon 2 sata osvjetljavanja 0,10 g (0,30 mmol) **6** u smjesi metanola (25 ml) i toluena (15 ml) dobiveno je 0,046 g (51,7%) svjetlosmeđeg praškastog produkta.

¹H NMR (300 MHz, DMSO) (δ/ppm): 12.72 (s, 1H, NH), 9.27 (s, 1H, H_{arom}), 8.63 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H_{arom}), 8.37 (dd, J = 9.1, 2.3 Hz, 1H, H_{arom}), 8.27 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.77–7.67 (m, 2H, H_{arom}), 7.64 (d, J = 9.1 Hz, 1H, H_{arom}).

Pokušaj pripreme 9-nitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-on 10

Nakon 16 sati osvjetljavanja 0,11 g (0,28 mmol) **7** u smjesi metanola (25 ml) i toluena (15 ml) došlo je do osmoljavanja reakcijske smjese i željeni produkt nije izoliran.

Pokušaj pripreme 2,9-dinitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-on 11

Nakon 20 sati osvjetljavanja 0,20 g (0,53 mmol) **8** u smjesi metanola (250 ml) i toluena (150 ml) došlo je do osmoljavanja reakcijske smjese i željeni produkt nije izoliran.

Pokušaj pripreme 9-aminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-on 16

Nakon 20 sati osvjetljavanja 0,10 g (0,33 mmol) **13** u etanolu (80 ml) došlo je do osmoljavanja reakcijske smjese i željeni produkt nije izoliran. Početni UV/Vid spektar se nakon 20 sati osvjetljavanja nije promjenio.

Pokušaj pripreme 2,9-diaminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-on 17

Nakon 20 sati osvjetljavanja 0,10 g (0,32 mmol) spoja **14** u etanolu (120 ml) došlo je do osmoljavanja reakcijske smjese i željeni produkt nije izoliran. Početni UV/Vid spektar se nakon 20 sati osvjetljavanja nije promjenio.

4.2.7. Opći postupak pripreve amino supstituiranih 3-klor-benzo[*b*]tiofen-2-karboksamida 12-14

Nitro supstituirani karboksamid suspendira se u prethodno pripremljenoj otopini $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ u smjesi metanola i HCl. Reakcijska smjesa se zagrijava na temperaturi vrenja. Nakon hlađenja metanol i HCl se upare pod sniženim tlakom, doda se 300 ml vode i zaluži s 20%-tnom vodenom otopinom NaOH do pH 14. Nastali talog se profiltrira i ispere s malom količinom vode.

***N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid 12**

0,20 g (0,61 mmol) **6** i 1,38 g (6,10 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ uz dodatak metanola (3,5 ml) i koncentrirane HCl (3,5 ml) zagrijava se na temperaturi vrenja 2,5 sata. Dobiveno je 0,180 g (97,3%) žutog praškastog produkta. T.t. 178-180 °C.

^1H NMR (300 MHz, DMSO) (δ /ppm): 10.08 (s, 1H, CONH), 8.20 – 8.08 (m, 1H, H_{arom}), 7.99 – 7.86 (m, 1H, H_{arom}), 7.72 – 7.51 (m, 2H, H_{arom}), 7.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H, H_{arom}), 6.57 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H_{arom}), 5.00 (s, 2H, NH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ /ppm): 159.7, 138.0, 137.2, 136.1, 132.3, 128.8, 128.1, 126.6, 124.0, 123.9 (2C), 123.0, 121.7 (2C), 120.3.

6-amino-3-klor-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid 13

0,20 g (0,53 mmol) **7** i 1,20 g (5,30 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ uz dodatak metanola (3,5 ml) i koncentrirane HCl (3,5 ml) zagrijava se na temperaturi vrenja 4 sata. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH_2Cl_2 kao eluens. Dobiveno je 0,096 g (60,0 %) žutog praškastog produkta.

^1H NMR (300 MHz, DMSO) (δ /ppm): 10.12 (s, 1H, CONH), 7.69 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.57 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.35 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.12 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.03 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.88 (dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 5.83 (s, 2H, NH_2).

6-amino-*N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid 14

0,20 g (0,53 mmol) **8** i 1,79 g (7,95 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ uz dodatak metanola (4 ml) i koncentrirane HCl (4 ml) zagrijava se na temperaturi vrenja 4 sata. Dobiveno je 0,135 g (80,4%) žutog praškastog produkta.

^1H NMR (300 MHz, DMSO) (δ /ppm): 9.68 (s, 1H, CONH), 7.54 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.32 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H, H_{arom}), 7.01 (s, 1H, H_{arom}), 6.86 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.55 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H, H_{arom}), 5.77 (s, 2H, NH_2), 4.98 (s, 2H, NH_2);

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ /ppm): 158.5, 149.3, 145.5, 139.0, 127.4, 126.1, 125.6, 123.1, 121.9, 119.1, 115.3, 113.7 (2C), 104.1 (2C).

4.2.8. Priprava 2-aminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-on 15

0,10 g (0,34 mmol) **9** i 0,76 g (3,40 mmol) $\text{SnCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ uz dodatak metanola (3 ml) i koncentrirane HCl (3 ml) zagrijava se na temperaturi vrenja 2 sata. Nakon hlađenja metanol i HCl se upare pod sniženim tlakom, doda se 10 ml vode i zaluži s 20%-tnom vodenom otopinom NaOH do pH 14. Nastali talog se profiltrira i ispere s malom količinom vode. Nastali produkt se pročisti kolonskom kromatografijom na silikagelu uz CH_2Cl_2 kao eluens. Dobiveno je 0,030 g (33,0%) žutog praškastog produkta. T.t.>300°C.

^1H NMR (300 MHz, DMSO) (δ /ppm): 11.92 (s, 1H, NH), 8.85 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 8.30 – 8.22 (m, 1H, H_{arom}), 7.98 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.74 – 7.62 (m, 2H, H_{arom}), 7.30 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.92 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H, H_{arom}), 5.25 (s, 2H, NH_2); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO) (δ /ppm): 158.3, 141.9, 141.7, 138.3, 135.5, 135.1, 134.3, 128.3, 126.7, 126.5, 124.7, 121.6, 118.5, 117.4, 115.6

5. ZAKLJUČAK

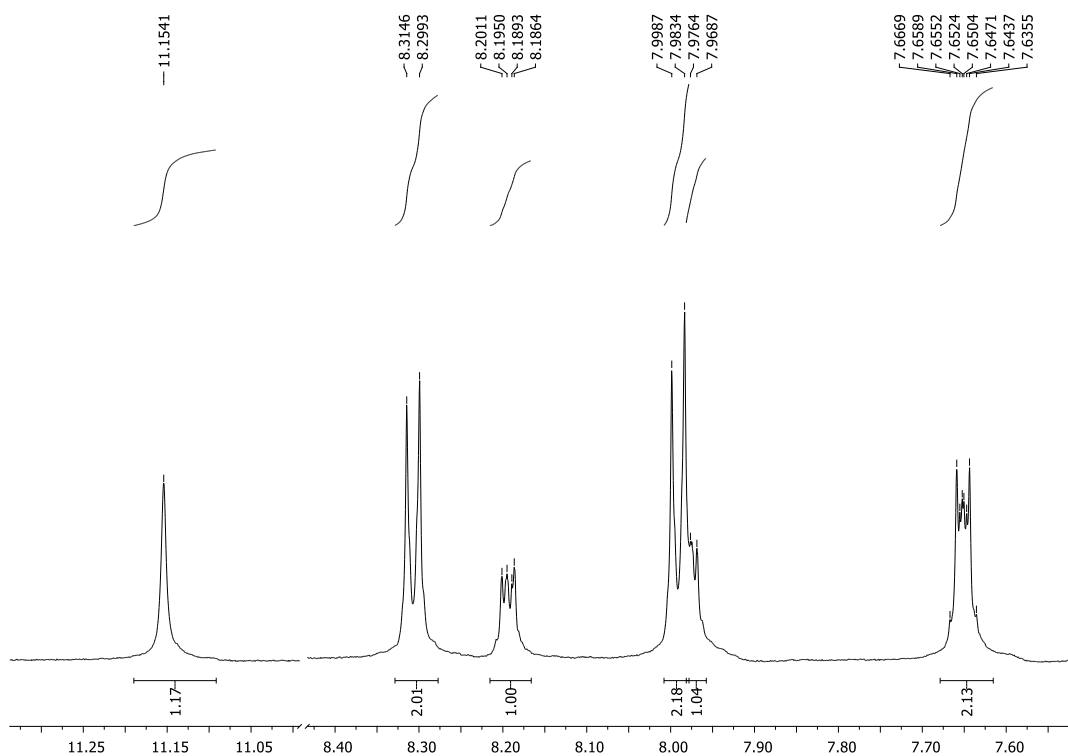
- U ovom radu priređeni su sljedeći spojevi: 3-klor-*N*-(4-nitrofenil)-benzo[*b*]tiofen-2-karboksamid **6**, 3-klor-6-nitro-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid **7**, 3-klor-6-nitro-*N*-(4-nitrofenil)benzo[*b*]tiofen-2-karboksamid **8**, 2-nitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(*5H*)-on **9**, *N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid **12**, 6-amino-3-klor-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid **13**, 6-amino-*N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamid **14**, 2-aminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(*5H*)-on **15**
- Reakcijom benzaldehida **1a-b**, malonske kiseline i piperidina u piridinu sintetizirane su odgovarajuće cimetne kiseline **3a-b** koje su dalje prevedene u acilne kloride **4a-b**.
- Spojevi **6-8** priređeni su reakcijom kondenzacije acilnih klorida **4a-b** s odgovarajućim anilinima **5a-b** u apsolutnom toluenu uz dodatak trietilamina.
- Amino supstituirani derivati **12-14** priređeni su redukcijom nitro supstituiranih spojeva **6-8**.
- Ciklički derivati kinolona **9** i **15** priređeni su fotokemijskom ciklizacijom spojeva **6** i **12**.
- Pokušaj pripreme cikličkih derivata: 9-nitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(*5H*)-on **10** i 2,9-dinitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(*5H*)-on **11** te 9-aminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(*5H*)-on **16** i 2,9-diaminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(*5H*)-on **17** fotokemijskom ciklizacijom nije bio uspješan.
- Strukture svih priređenih spojeva su potvrđene korištenjem ¹H i ¹³C NMR spektroskopije.
- Spektroskopska UV/Vid i fluorimetrijska karakterizacija provedena je za priređene spojeve **9** i **15** u metanolu.
- Provedene su UV/Vid i fluorimetrijske titracije odabranih spojeva s otopinama metalnih kationa te UV/Vid titracije spojeva u puferima različitih pH vrijednosti.
- Iz rezultata UV/Vid i fluorimetrijske spektroskopije može se zaključiti da derivati benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolina **9** i **15** ne pokazuju izraženi afinitet prema Zn²⁺, Fe³⁺ i Co³⁺ kationima.
- Iz rezultata pH titracija može se zaključiti da derivati benzo[*b*]tieno[2,3-*c*]kinolina **9** i **15** u otopinama različitih pH vrijednosti ovisno o vrsti supstituenta mijenjaju spektroskopska svojstva i mogu se potencijalno koristiti kao optički pH senzori.
- Antioksidativna aktivnost spojeva **6**, **9**, **12** i **15** ispitana je korištenjem DPPH i FRAP metode.
- Najizraženiju antioksidativnu aktivnost pokazuje amino supstituirani ciklički derivat **15**.

6. LITERATURA

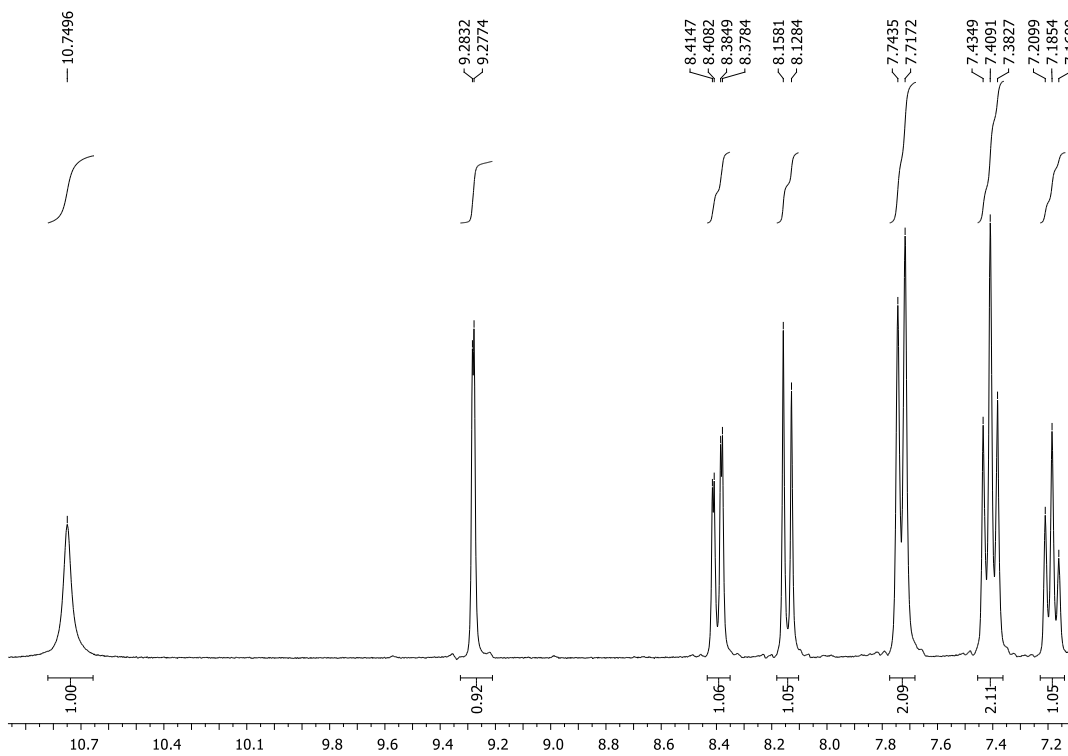
1. Wikel, J.H. Paget, C. J. Delong, D. C., Nelson, J. D., Wu, C. Y., Paschal, J. W., Dinner, A., Templeton, R. J., *J. Med. Chem.* **23** (1980) 368-372
2. Isabel C. F. Ferreira, Maria-João R. P. Queiroz, Miguel Vilas-Boas, Leticia M. Estevinho, Agathe Begouin i Gilbert Kirsch, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **16** (2006) 1384-1387
3. Abd El-Galil E. Amr, Mohamed H. Sherif, Mohamed G. Assy, Mohamed A. Al-Omar, Islam Ragab, *European Journal of Medicinal Chemistry* **45** (2010) 5935-5942
4. K. Mahendra Raj, B. H. M. Mruthyunjayaswamy, *Journal of Molecular Structure* **1074** (2014) 572-582
5. Maja Aleksić, Branimir Bertoša, Raja Nhili, Sabine Depauw, Irena Martin-Kleiner, Marie-Hélène David-Cordonnier, Sanja Tomić, Marijeta Kralj, Grace Karminski-Zamola, *European Journal of Medicinal Chemistry* **71** (2014) 267-281
6. Peng Ji, Xin Xu, Shuhua Ma, Junchao Fan, Qiang Zhou, Xinliang Mao i Chunhua Qiao, *ACS Med. Chem. Lett.*
7. Wooyoung Hur, Hugh Rosen, Nathanael S. Gray, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **27** (2017) 1-5
8. https://www.fer.hr/_download/repository/MP11_BioKemijskiSenzori.pdf
9. <https://en.wikipedia.org/wiki/Biosensor>
10. Senol Akay, Wenqian Yang, Junfeng Wang, Li Lin i Binghe Wang, *Chem Biol Drug Des* **70** (2007) 279-289
11. Vladimir A. Bren, Alexander D. Dubonosov, Vladimir I. Minkin, Alexey V. Tsukanov, Tatyana N. Griбанова, Evgenii N. Shepelenko, Yurii V. Revinsky, Vladimir P. Rybalkin, *J. Phys. Org. Chem.* **20** (2007) 917-928
12. M. Aleksić, *Sinteza, fotokemijska sinteza, qsar analiza i antitumorsko djelovanje novih derivata benzotieno- i tienotieno-kinolina*, Doktorski rad (2013) Zagreb
13. J. Dogan Koružnjak, M. Grdiša, N. Slade, B. Zamola|K. Pavelić, G.Karminski-Zamola, *J. Med. Chem.* **46** (2003) 4516-4524
14. M. Aleksić, B. Bertoša, R. Nhill, Sabine Depauw, I. Martin-Kleiner, M. David-Cordonnier, S. Tomić, M. Kralj, *Eur. J. Med. Chem.* **71** (2014) 267-281
15. K. Starčević, I. Čaleta, D. Cinčić, B. Kaitner, M. Kralj, K. Ester, G. Karminski-Zamola, *Heterocycles* **68** (2006) 2285
16. N. Perin, L. Uzelac, I. Piantanida, G. Karminski-Zamola, M. Kralj, M. Hranjec, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 6329-6339
17. A. R. Battersby et al., *J. Chem. Soc.* (1964) 1595–1609.
18. A. J. Krubsack, T. Higa, *Tetrahedron Lett.* **49** (1968) 5149–5152.

7. PRILOZI

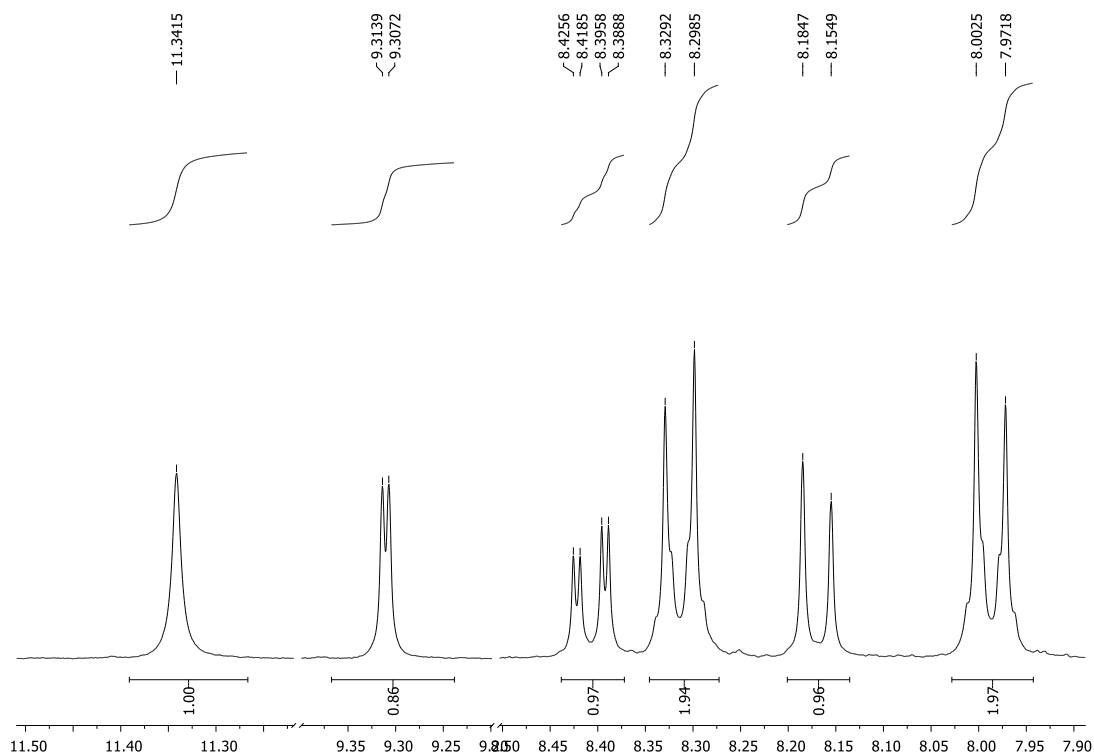
Prilog 1. ^1H NMR spektar 3-klor-*N*-(4-nitrofenil)-benzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **6**



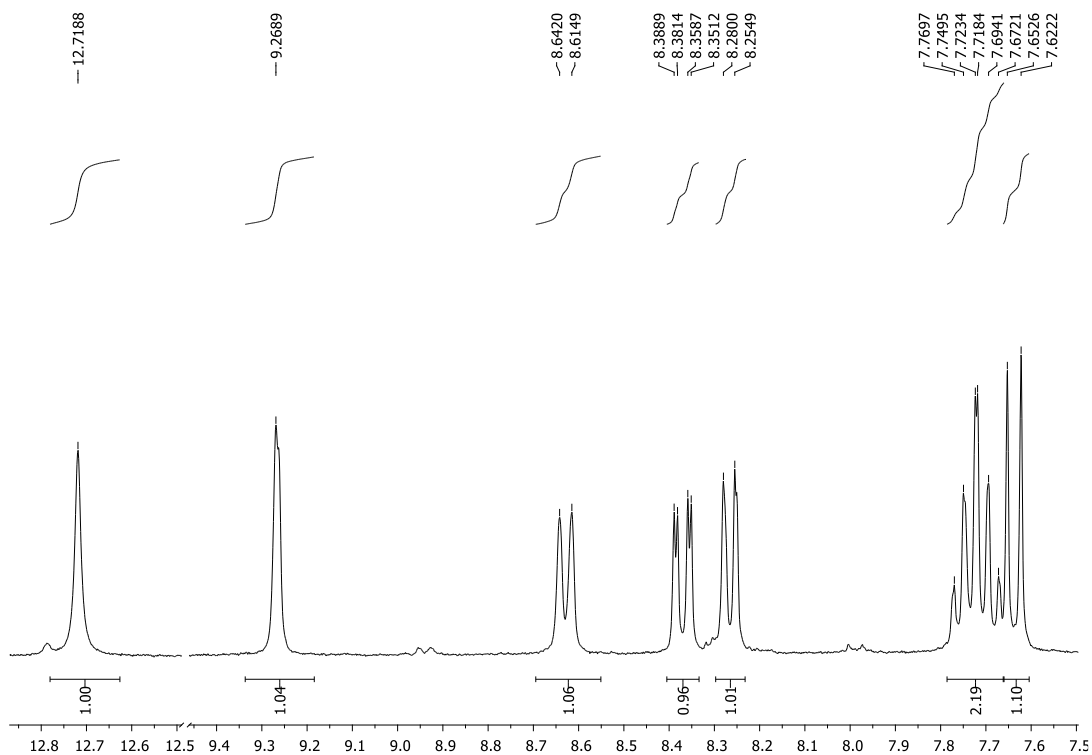
Prilog 2. ^1H NMR spektar 3-klor-6-nitro-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **7**



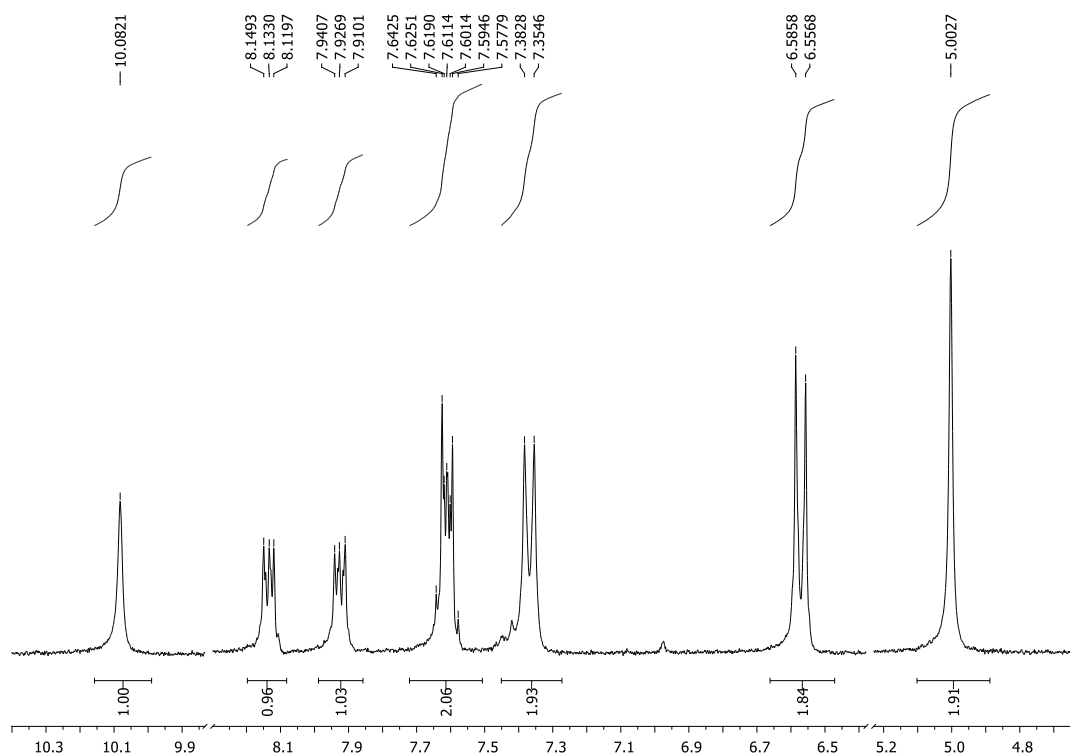
Prilog 3. ^1H NMR spektar 3-klor-6-nitro-*N*-(4-nitrofenil)benzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **8**



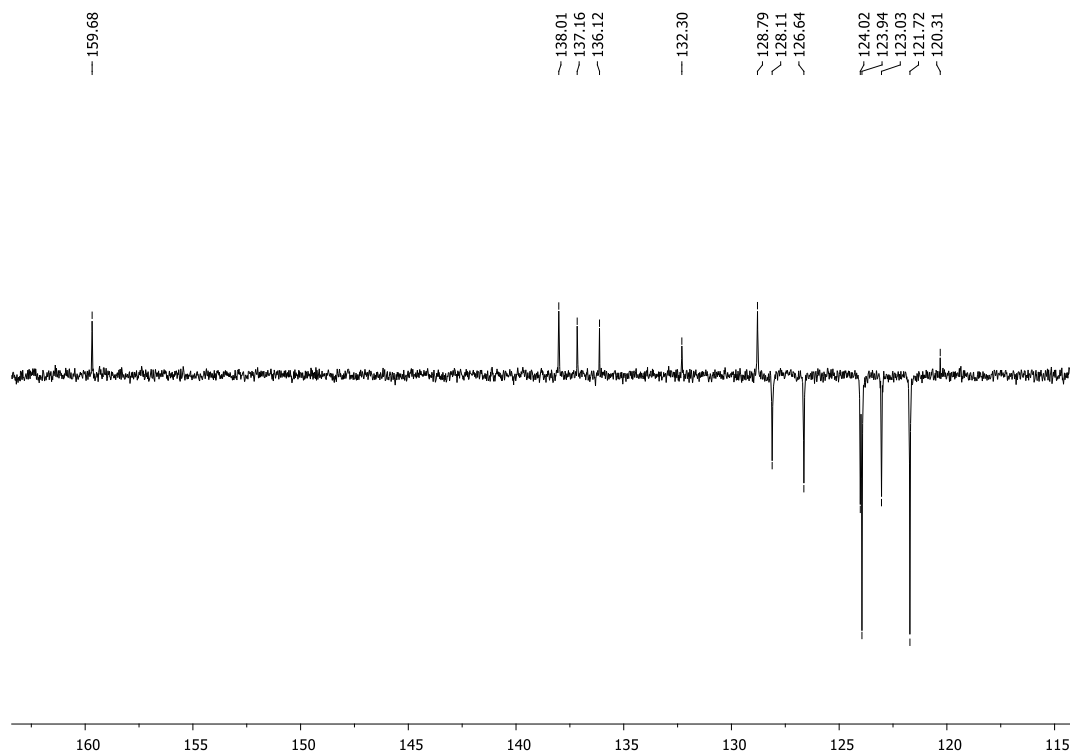
Prilog 4. ^1H NMR spektar 2-nitrobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-ona **9**



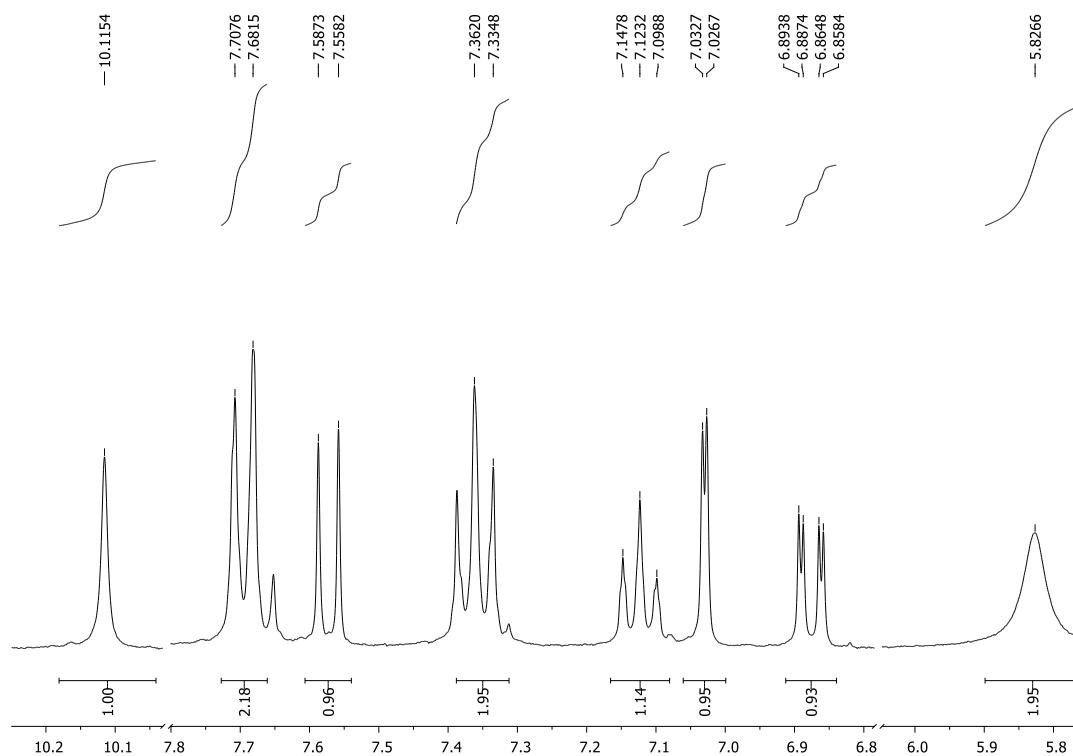
Prilog 5. ^1H NMR spektar *N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **12**



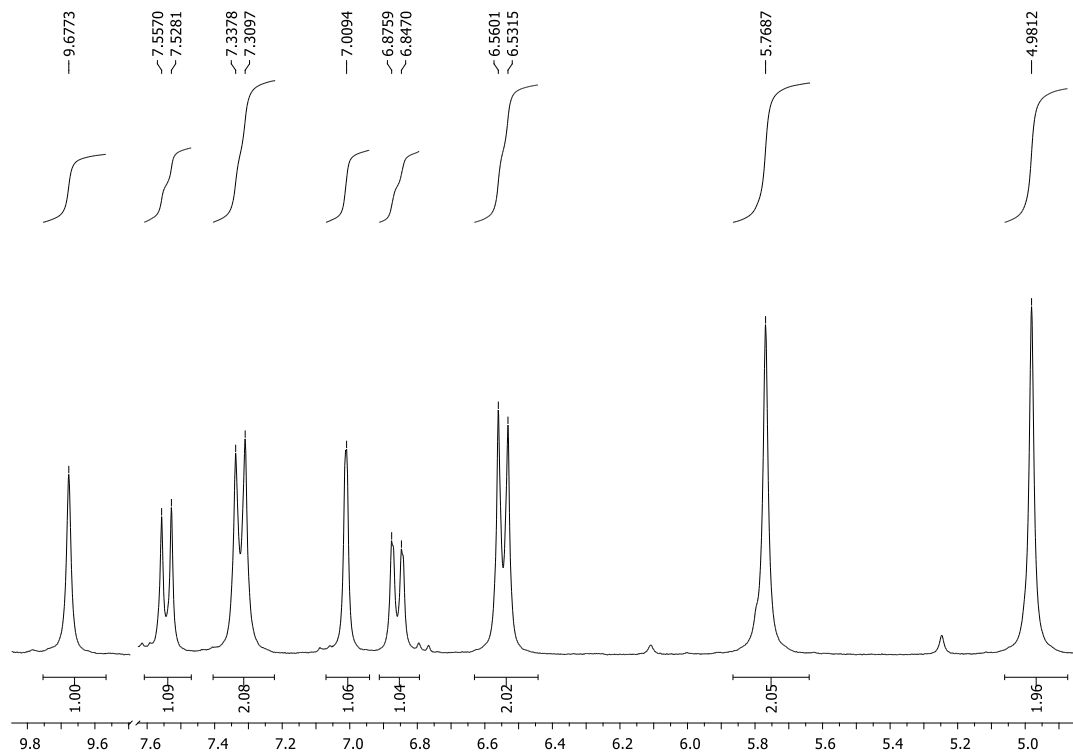
Prilog 6. ^{13}C NMR spektar *N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **12**



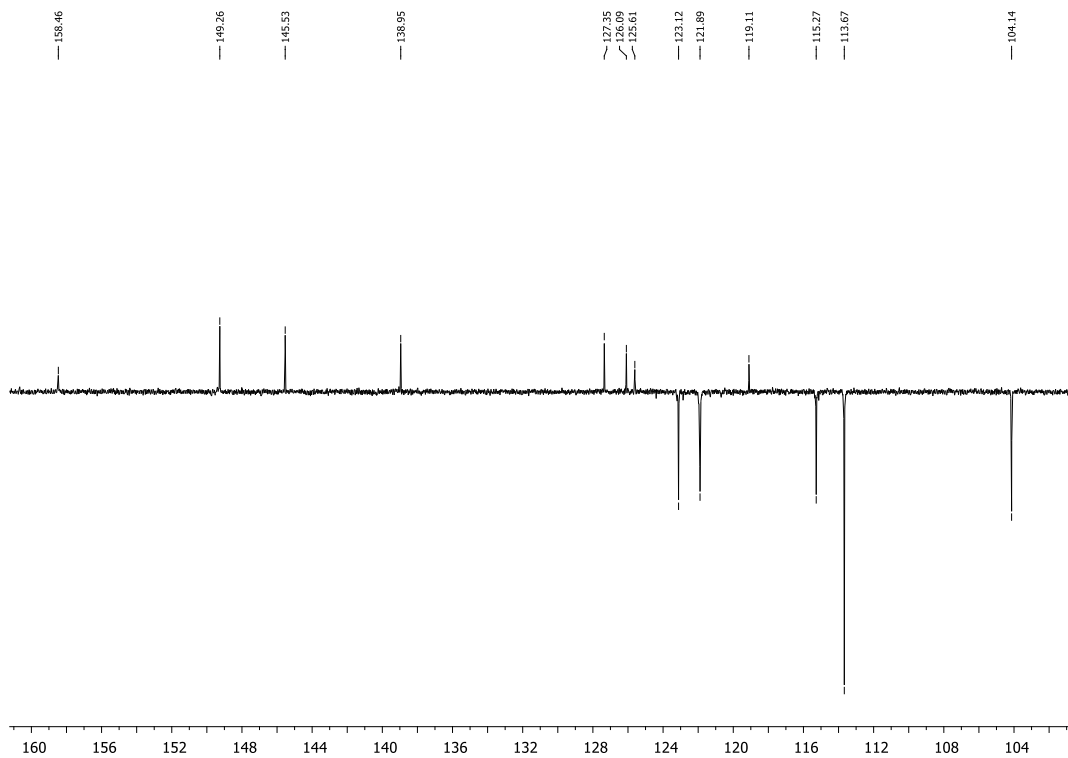
Prilog 7. ^1H NMR spektar 6-amino-3-klor-*N*-fenilbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **13**



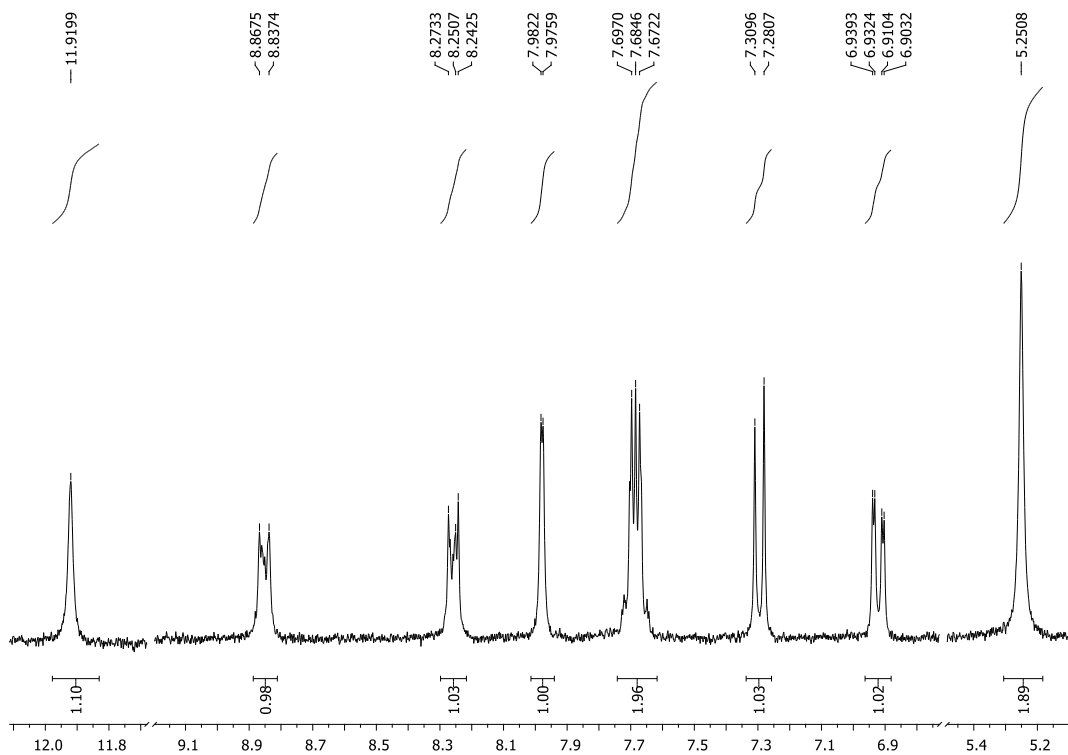
Prilog 8. ^1H NMR spektar 6-amino-*N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiofen-2-karboksamida **14**



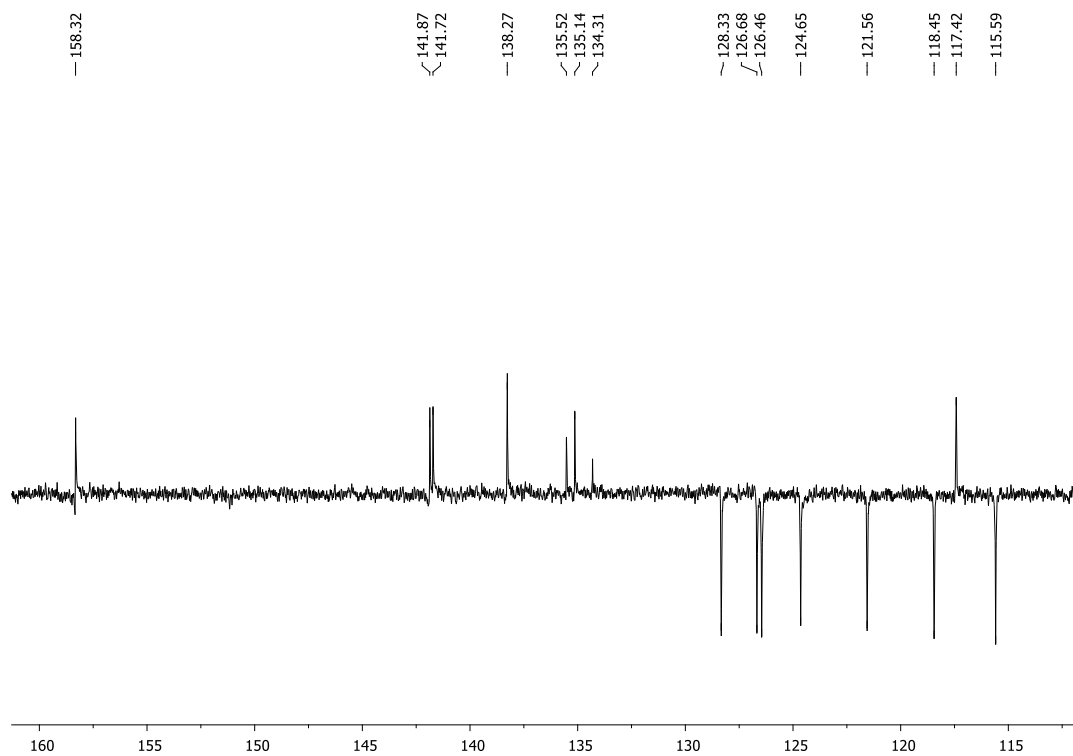
Prilog 9. ^{13}C NMR spektar 6-amino-*N*-(4-aminofenil)-3-klorbenzo[*b*]tiefen-2-karboksamida
14



Prilog 10. ^1H NMR spektar 2-aminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-ona 15



Prilog 11. ^{13}C NMR spektar 2-aminobenzo[4,5]tieno[2,3-*c*]kinolin-6(5*H*)-ona **15**



8. ŽIVOTOPIS

Angela Kapitanović [REDACTED] Osnovnu školu Smiljevac pohađala je u Zadru nakon čega je upisala Gimnaziju Jurja Barakovića, opći smjer. 2014. godine upisala je Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, preddiplomski studij Kemijsko inženjerstvo. Stručnu praksu je odradila u Maraska d.d., Zadar.