

Termičke transformacije novih stiril-derivata tiofena u kiselom mediju

Čolig, Valerija

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:149:190952>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-21**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Valerija Čolig

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2024.

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

Kandidatkinja Valerija Čolig

Predala je izrađen završni rad dana: 8. srpnja 2024.

Povjerenstvo u sastavu:

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

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

prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Marijana Kraljić Roković, 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: 11. srpnja 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Valerija Čolig

**TERMIČKE TRANSFORMACJE NOVIH STIRIL-DERIVATA
TIOFENA U KISELOM MEDIJU**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Dragana Vuk

Članovi ispitnog povjerenstva: doc. dr. sc. Dragana Vuk

prof. dr. sc. Irena Škorić

prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Zagreb, srpanj 2024.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem se doc. dr. sc. Dragani Vuk na mentorstvu, savjetima, prenesenom znanju, povjerenju i prijateljskom odnosu tokom izrade ovog rada. Također, zahvaljujem se mag. appl. chem. Vilmi Lovrinčević na savjetima, vodstvu i pozitivnoj atmosferi prilikom provođenja eksperimentalnog dijela u laboratoriju.

Zahvaljujem se i članovima svoje obitelji koji su mi cijelim putem bili neizmjerena podrška.

SAŽETAK:

Cilj ovog rada je sintetizirati nove heterocikličke stirilne sustave koji će se podvrgnuti termičkim ispitivanjima kako bi se eksperimentalno potvrdile kvantno-kemijske pretpostavke o reaktivnosti određenih spojeva. U prvom dijelu istraživanja sintetiziran je derivat tiofena s nitro-skupinom kao supstituentom, dok je u drugom dijelu sintetiziran derivat tiofena s dvije metilne skupine kao supstituentima. Sinteze novih produkata provedene su Wittigovom reakcijom i Vilsmeierovim formiliranjem za pripravu aldehida u drugoj sintezi. Dobiveni produkti su analizirani spektroskopskim metodama.

Ključne riječi: heterociklički stirilni sustavi, termička ispitivanja, Wittigova reakcija, Vilsmeierovo formiliranje, derivati tiofena

SUMMARY:

The aim of this work is to conduct the synthesis and thermal transformation of new heterocyclic styryl systems in order to confirm quantum-chemical assumptions about the reaction outcome. In the first part of the research, a thiophene derivative with a nitro group as a substituent was synthesized, while in the second part, a thiophene derivative with two methyl groups as substituents was synthesized. Syntheses of new products were carried out by Wittig reaction and Vilsmeier formylation for the preparation of aldehydes in the second synthesis. The obtained products were analyzed by spectroscopic methods.

Keywords: heterocyclic styryl systems, thermal testing, Wittig reaction, Vilsmeier formylation, thiophene derivatives

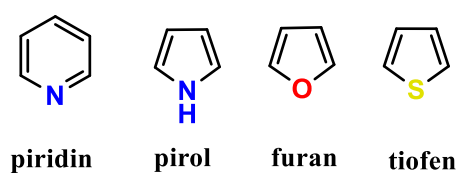
SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Važnost heterocikličkih spojeva.....	2
2.1.1. Antifugalno djelovanje.....	3
2.1.2. Protuupalno djelovanje.....	4
2.1.3. Antibakterijsko djelovanje.....	4
2.1.4. Antivirusno djelovanje.....	5
2.1.5. Djelovanje antioksidansa.....	5
2.1.6. Antihipertenzivno djelovanje.....	6
2.1.7. Antikancerogeno djelovanje.....	7
2.1.8. Antialergijsko djelovanje.....	7
2.2. Važnost računalne kemije.....	8
2.3. Metode sinteze heterocikličkih spojeva.....	9
2.4. Termičke transformacije distirilbenzena u kiselom mediju.....	10
2.5. Termičke transformacije derivata heterocikličkih spojeva.....	10
2.5.1. Termičke transformacije derivata tiofena.....	10
2.5.1.1. Mehanizam nastajanja produkata tiofenskih derivata.....	13
2.5.2. Termičke transformacije derivata furana.....	11
2.5.2.1. Mehanizam nastajanja produkata 20	14
2.5.2.2. Mehanizam nastajanja produkata 22 i 23	16
2.5.2.3. Mehanizam nastajanja produkata 24 i 25	17
3. REZULTATI I RASPRAVA.....	21
3.1. Uvod.....	21
3.2. Sinteza i termička ispitivanja 3-supstituiranog derivata tiofena.....	22
3.3. Termička transformacija spoja 3.....	27
3.4. Sinteza derivata tiofena supstituiranog nitro-skupinom.....	29
3.5. Antimikrobno djelovanje.....	31

4. EKSPERIMENTALNI DIO.....	35
4.1. Opće napomene.....	35
4.2. Sinteza 2,5-dimetil-3-tiofenkarbaldehida.....	35
4.3. Sinteza 1,2-bis(2-(2,5-dimetiltiofen)-3-il(vinil)benzena i 1,2-bis(2-(5-nitrotiofen-2- ol(vinil)benzena Wittigovom reakcijom.....	36
4.4. Termička reakcija pripravljenog spoja 2 i 7.....	38
5. ZAKLJUČAK.....	39
6. LITERATURA.....	40

1. UVOD

Heterociklički spojevi su ciklički organski spojevi s barem jednim heteroatomom. Najčešći heteroatomi su dušik, kisik i sumpor, ali mogu biti prisutni i drugi atomi poput fosfora, željeza, magnezija i svena. Heterociklički prsten ima važan doprinos u formiranju mnogih prirodnih molekula poput DNK, RNK, klorofila, hemoglobina, vitamina i drugih. Pokazali su antibakterijska, antifungalna, antivirusna, antialergijska, antikancerogena i druga svojstva. Neki od najzastupljenijih heterocikličkih spojeva čine aminokiseline poput histidina, triptofana, prolina, kao i vitamini poput riboflavina, tiamina, biotina i folne kiseline. Od sintetskih heterocikličkih spojeva značajnu primjenu imaju fungicidi, kemikalije za zaštitu od korozije, fotostabilizatori, agrokemikalije, bojila, kopolimeri i slično. Velik broj prirodnih i sintetskih heterocikličkih spojeva pokazuju značajna ljekovita svojstva jer imaju veliku kemijsku prilagodljivost pa su sposobni odgovoriti na različite zahtjeve bioloških sustava.^[1,2]



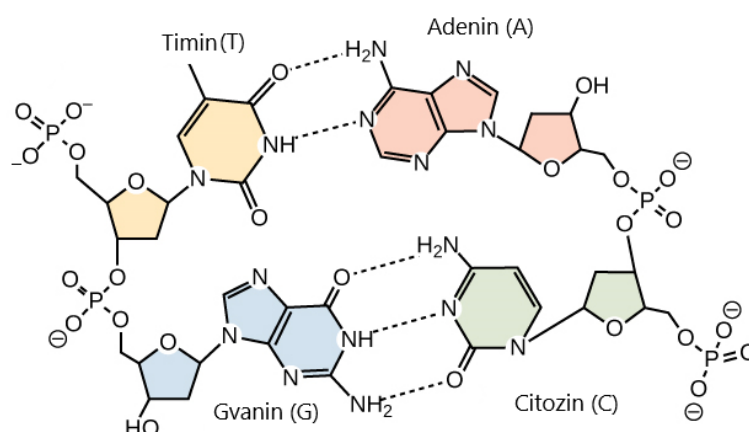
Slika 1. Strukture najpoznatijih heterocikličkih spojeva

Heterociklički spojevi poput tiofena, furana, piridina i pirola (slika 1.) igraju ključnu ulogu u kemiji i industriji zbog svojih jedinstvenih struktura i svojstava. Tiofen i furan koriste se u proizvodnji farmaceutskih proizvoda i elektronike, piridin služi kao osnova za mnoge lijekove i poljoprivredne kemikalije, dok je pirol bitan u sintezi bioloških molekula. Njihova raznolikost i primjena čine ih nezamjenjivima u razvoju novih materijala i kemikalija.^[3]

2. OPĆI DIO

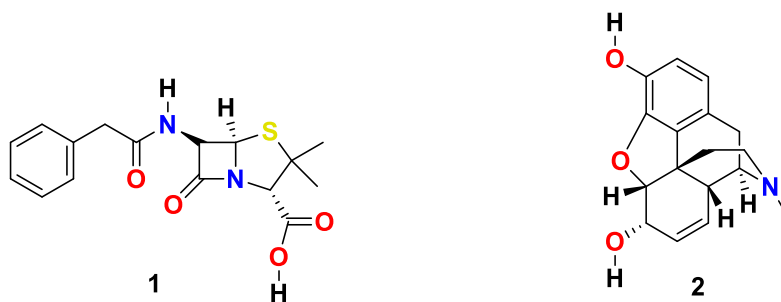
2.1. Važnost heterocikličkih spojeva

Heterociklički spojevi predstavljaju temeljni dio tradicionalne organske kemije. Ovi spojevi, igraju ključnu ulogu u mnogim biološkim i industrijskim procesima. Zbog njihovih brojnih primjena, istraživački interes za heterocikličke spojeve neprestano raste, posebice zbog njihove medicinske, antimikrobne i industrijske primjene. Heterociklički prstenovi značajno doprinose formiranju mnogih prirodnih molekula, uključujući DNK (slika 1.), RNK, klorofil, hemoglobin, vitamine i druge biološki važne spojeve. Na primjer, esencijalna aminokiselina, prolin, koja je sastavni dio mnogih proteina, kao i fotosintetski pigment klorofil, sadrže heterocikličke strukture.^[1]



Slika 1. Kemijska struktura deoksiribonukleinske kiseline (DNK)

Različiti heterociklički spojevi također imaju značajnu ulogu u farmaciji. Triazinski derivati, primjerice, koriste se kao lijekovita sredstva, uključujući urinarne antiseptike i protuupalne lijekove za liječenje raznih bolesti. Benzimidazolni derivati dokazano posjeduju antibakterijska, antifungalna i antivirusna svojstva, što ih čini vrijednim komponentama u razvoju novih lijekova. Više od 80% lijekova sadrži barem jedan heterociklički spoj u svojim strukturama. Prednost takvih spojeva je sposobnost modificiranja svojstava kao što su lipofilnost, polaritet, topljivost u vodi i selektivnost. Neki od komercijalno poznatih lijekova koji se temelje na heterocikličkim spojevima uključuju penicilin (1) i morfin (2) (slika 2).^[1,4]

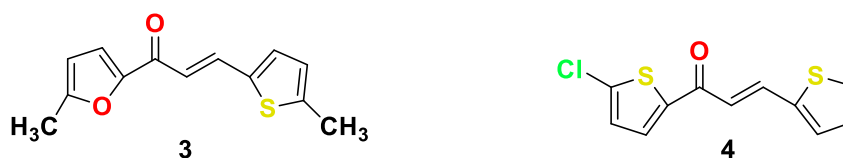


Slika 2. Kemijska struktura penicilina (1) i morfina (2)

Pored bioloških i medicinskih funkcija, heterociklički spojevi igraju važnu ulogu u industriji. Sintetski heterociklički spojevi koriste se kao fungicidi, kemikalije za zaštitu od korozije, fotostabilizatori, agrokemikalije, bojila, kopolimeri te kao sastojci u proizvodnji aroma i fluorescentnih tvari, na primjer kod razvoja kemikalija za zaštitu od korozije, heterocikli doprinose povećanju otpornosti materijala na degradaciju.^[1]

2.1.1. Antifungalno djelovanje

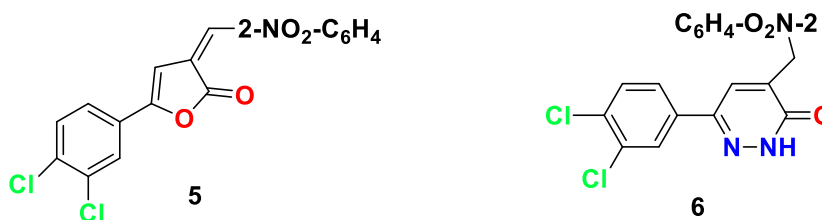
Antifungalno liječenje temelji se na pokušaju uništavanja stanica gljivica promjenom stanične membrane, što rezultira odumiranjem staničnog sadržaja. U tom kontekstu, L.S. Ming i suradnici sintetizirali su heterocikličke kalkone **3** i **4** na bazi tiofena (slika 3.) koji su pokazali antifungalno djelovanje. Koristeći flukonazol kao pozitivnu kontrolu, istraživanje je pokazalo da ovi kalkoni mogu biti učinkoviti u različitim dozama, što ih čini potencijalnim kandidatima za daljnji razvoj antifungalnih lijekova. Ova istraživanja ističu važnost razvoja novih antifungalnih spojeva koji ciljaju specifične mehanizme u stanicama gljivica, što je ključno za borbu protiv gljivičnih infekcija koje postaju sve otpornije na postojeće tretmane.^[1,5]



Slika 3. Strukture heterocikličkih kalkona **3** i **4** na bazi tiofena za antifungalno liječenje

2.1.2. Protuupalno djelovanje

Protuupalna sredstva imaju ključnu ulogu u medicini zbog svoje sposobnosti da smanjuju upale, a time i bol, čineći ih osnovnim komponentama u liječenju različitih upalnih stanja. Najčešće su poznati pod nazivom nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID). Među najčešćim i najučinkovitijim NSAID-ima su aspirin, ibuprofen, ketoprofen, diklofenak i naproksen. Međutim, dugotrajna upotreba NSAID-a može uzrokovati nuspojave, uključujući gastrointestinalnu eroziju (GIT) koja može dovesti do peptičkog ulkusa. U nastojanju da razviju nove protuupalne lijekove s manje nuspojava, E.I. Hameedi i suradnici sintetizirali su različite tipove novih heterocikličkih derivata od kojih su najznačajniji derivati furana (**5**) i piridazinona (**6**) (slika 4).^[1]

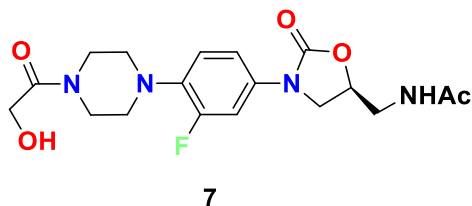


Slika 4. Strukture heterocikličkih derivata furana **5** i piridazinona **6** s protuupalnim djelovanjem

2.1.3. Antibakterijsko djelovanje

Tijekom proteklih desetljeća, broj ljudi pogođenih životno opasnim zaraznim bolestima uzrokovanim višestruko otpornim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim patogenim bakterijama dosegao je alarmantnu razinu. Zbog toga je ključno razviti nove klase antibakterijskih sredstava s novim mehanizmima djelovanja za borbu protiv ovih višestruko otpornih infekcija. U posljednjih nekoliko godina razvijeni su neki azolni derivati kao nova antimikrobna sredstva, na primjer, Linezolid i Eperezolid (**7**), koji se trenutno koriste za liječenje višestruko otpornih Gram-pozitivnih infekcija. Heterociklički spojevi mogu djelovati na različite dijelove bakterijske stanice, uključujući inhibiciju sinteze stanične stijenke, sinteze proteina, replikacije DNK ili metabolizma. Neki spojevi ciljaju specifične enzime ili

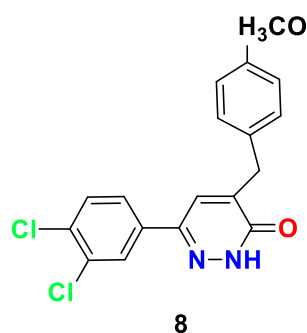
proteine unutar bakterijske stanice, inhibirajući njihov rad i tako sprječavajući rast ili uzrokujući smrt bakterija.^[1,6]



Slika 5. Struktura antibakterijskog lijeka Eperezolida (7)

2.1.4. Antivirusno djelovanje

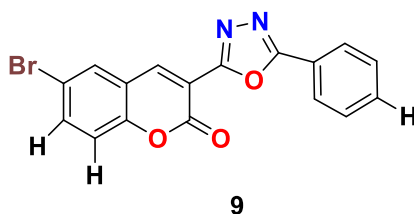
Virusi su mikroorganizmi s najjednostavnijom biološkom strukturom, koja se sastoji od različitih nizova RNK ili DNK unutar vanjskog proteinskog sloja, koji može biti obavijen lipidnom ovojnicom. Iako virusi sami po sebi nisu živi, sposobni su inficirati žive stanice, uzrokujući imunološki odgovor domaćina. Antivirusni lijekovi igraju ključnu ulogu u liječenju virusnih infekcija. Oni djeluju na različite načine kako bi spriječili replikaciju virusa i ublažili simptome infekcije. Razvoj ovih lijekova je kompleksan proces koji uključuje sintezu novih spojeva i testiranje njihove učinkovitosti protiv specifičnih virusa. Na primjer, A.E. Hameedi i suradnici sintetizirali su piridazinone, **8** (slika 6.), i testirali njihovo antivirusno djelovanje protiv rotavirusa i adenovirusa.^[1]



Slika 6. Struktura piridazinona (8) s antivirusnim djelovanjem

2.1.5. Djelovanje antioksidansa

Antioksidansi predstavljaju ključne hranjive tvari koje imaju ulogu u zaustavljanju ili smanjenju oštećenja stanica. Ovi spojevi su esencijalni jer neutraliziraju slobodne radikale. Oni su poznati i kao "hvatači slobodnih radikala", čuvajući integritet stanica te omogućujući njihovo normalno funkcioniranje. Heteroatomi poput dušika, kisika i sumpora unutar heterocikličkih prstenova često imaju slobodne elektronske parove koji mogu donirati elektrone ili vodikove atome slobodnim radikalima, neutralizirajući ih. Ta sposobnost donacije elektrona omogućava heterocikličkim spojevima da prekinu lančane reakcije oksidativnog stresa. Važno je istaknuti istraživanje V.C. Basappe i suradnika, koji su sintetizirali spojeve poput spoja **9**, koji pokazuju izrazito učinkovito djelovanje u hvatanju slobodnih radikala.^[1]

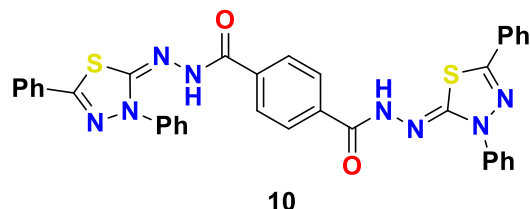


Slika 7. Struktura spoja **9** kao učinkovitog antioksidansa

2.1.6. Antihipertenzivno djelovanje

Hipertenzija, ili povišeni krvni tlak, postala je sveprisutan problem u današnjem društvu, često posljedica promjena u načinu života i povećanog stresa. Ovaj poremećaj karakterizira visoki tlak u arterijama, što može značajno povećati rizik od kardiovaskularnih komplikacija. U borbi protiv ovog problema, razvijeni su brojni antihipertenzivni lijekovi čiji je cilj stabilizacija krvnog tlaka. Antihipertenzivi djeluju na različite načine kako bi smanjili krvni tlak. Neke vrste lijekova opuštaju i šire kapilare, dok druge smanjuju otkucaje srca ili potiču izlučivanje viška tekućine i soli iz tijela. Waleed i suradnici istraživali su derivate bis-tiadiazola, spoj **10** (slika 8), kao potencijalne antihipertenzivne agense. Metode poput mjerenja kontraktilne sile prije i nakon primjene lijeka omogućile su detaljnu analizu antihipertenzivnih svojstava ovih spojeva. Rezultati istraživanja pokazuju da sve testirane

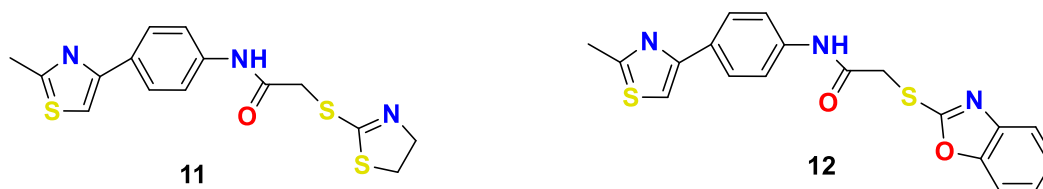
tvari posjeduju sposobnost blokiranja α -adrenergičkih receptora, ključnih za regulaciju krvnog tlaka.^[1]



Slika 8. Struktura derivata bistiadiazola (**10**) s antihipertenzivnim djelovanjem

2.1.7. Antikancerogeno djelovanje

Rak predstavlja jednu od najtežih bolesti modernog doba, a učinkovite terapije su od vitalnog značaja za liječenje malignih bolesti. Na tržištu je dostupno nekoliko lijekova protiv raka, ali im nedostaje specifičnost ili imaju lošu sigurnost, nuspojave i otpornost. Heterociklički spojevi imaju ključnu ulogu u razvoju antikancerogenih lijekova zbog svoje strukturne raznolikosti i biološke aktivnosti. Imaju sposobnost ciljati različite molekularne putove uključene u rast i širenje raka. L. Yurttas i suradnici sintetizirali su nove analoge tiazol-(benz)azola te istražili njihovu antikancerogenu učinkovitost. Spojevi **11** i **12** (slika 9), pokazali su obećavajuće rezultate u borbi protiv raka, s izraženim citotoksičnim učincima. Ovi napreci u razvoju novih antikancerogenih spojeva ističu važnost kontinuiranog istraživanja i inovacija u borbi protiv raka.^[1,9]



Slika 9. Strukture spojeva **11** i **12** s učinkovitim antikancerogenim djelovanjem

2.1.8. Antialergijsko djelovanje

Alergijske reakcije predstavljaju značajan zdravstveni problem koji pogađa sve veći broj ljudi širom svijeta. Probiotici, poznati po svojim brojnim zdravstvenim koristima, također posjeduju antialergijska svojstva. Oni djeluju tako što uništavaju ili strukturno mijenjaju enteralne antigene, stabilizirajući nenormalnu mikrobiotu. U području istraživanja antialergijskih lijekova, heterociklički spojevi su se pokazali posebno važnima. R.R. Putta i suradnici sintetizirali su bis-heteroaril hidrazine **13** i **14** (slika 10). i istraživali njihove antialergijske učinke. Rezultati su pokazali da svi ispitani spojevi posjeduju različite razine antialergijske učinkovitosti na stanicama koje su bile stimulirane imunoglobulinom E. Uočeno je da spojevi s nedostatkom elektrona i oni supstituirani s klorom pokazuju veću snagu antialergijskog djelovanja u usporedbi s metil-supstituiranim spojevima.^[1]



Slika 10. Strukture spojeva **13** i **14** s učinkovitim antialergijskim djelovanjem

2.2. Važnost računalne kemije

Računalne metode imaju ključnu ulogu u modernoj kemiji, omogućujući detaljnu analizu i razumijevanje kemijskih reakcija na molekularnoj razini. Teorijska kemija, koja pruža matematički opis kemijskih fenomena, služi kao temelj za računalnu kemiju. Ova grana kemije koristi računalne tehnike i algoritme za istraživanje raznih kemijskih problema, omogućujući dublje razumijevanje molekularnih procesa i interakcija. Računalna kemija ima širok spektar primjena. Jedna od ključnih uloga računalnih metoda je modeliranje molekularnih sustava prije njihove sinteze u laboratoriju. Prvi korak u ovom procesu uključuje optimizaciju molekula, gdje se analizira utjecaj supstituenata na njihovu strukturu i stabilnost. Nakon optimizacije, ispituje se mehanizam reakcije. Računalnim modeliranjem, na temelju pretpostavljenog mehanizma, izračunavaju se energije aktivacije prijelaznih stanja i međuprodukata. Energije aktivacije prijelaznih stanja igraju ključnu ulogu u određivanju valjanosti predloženog mehanizma. Ako su ove energije ispod određene dozvoljene granice,

tada se predloženi mehanizam smatra dobrim. S druge strane, ako su energije aktivacije previsoke, to ukazuje da predloženi mehanizam nije točan i potrebno je pronaći novo objašnjenje. Kroz ovaj pristup, računalne metode pružaju dubok uvid u kemijske reakcije, omogućujući precizno predviđanje i kontrolu reaktivnosti molekula. Ovo je posebno korisno u dizajnu novih spojeva s ciljanom kemijskom reaktivnošću, što ima široku primjenu u različitim granama kemijske industrije, uključujući farmaceutiku, materijale i kemijsku sintezu.^[10,11,12]

2.3. Metode sinteze heterocikličkih spojeva

Sinteza heterocikličkih spojeva je ključna mjera istraživanja u medicinskoj kemiji i razvoju lijekova. Znanstvenici koriste različite sintetske metode za stvaranje ovih složenih molekula, od klasičnih pristupa, poput reakcija ciklizacije, do suvremenih metoda koje uključuju katalizu prijelaznim metalima i tehnike asistiranje mikrovalovima. Dodatno, zelene i održive metode sinteze dobivaju na značaju, s ciljem smanjenja utjecaja na okoliš i poboljšanja učinkovitosti. Uspješna sinteza novih heterocikličkih sustava otvara nove mogućnosti za dizajniranje snažnih i selektivnih antibakterijskih agensa, odgovarajući na hitnu potrebu za učinkovitim antibioticima.

Tradicionalne metode sinteze heterocikličkih spojeva imale su ključnu ulogu u otkrivanju i razvoju raznovrsnih heterocikličkih prekursora sa značajnim biološkim aktivnostima. Uobičajeni pristupi uključuju kondenzacijske reakcije, gdje dva ili više prekursora reagiraju kako bi formirali heterociklički prsten.^[6]

Suvremeni sintetski pristupi u sintezi heterocikličkih spojeva revolucionirali su područje medicinske kemije i otkrivanja lijekova. Ovi pristupi koriste najnovije tehnike, kao što su reakcije katalizirane prijelaznim metalima, klik-kemija, sinteza asistirana mikrovalovima i višekomponentne reakcije (MCRs), kako bi se učinkovito konstruirali složeni heterociklički sustavi. Reakcije katalizirane prijelaznim metalima, uključujući reakcije umrežavanja katalizirane paladijem, postale su moćni alati za formiranje veza ugljik-heteroatom, omogućujući brzo sastavljanje raznovrsnih heterocikličkih struktura. Klik-kemija, posebno bakrom katalizirana azid-alkin cikloadicija (CuAAC), stekla je popularnost zbog svoje pouzdanosti, učinkovitosti i kompatibilnosti s biološkim sustavima. Sinteza asistirana mikrovalovima omogućila je brže reakcije i povećane prinose, dok MCRs omogućuju istodobno sastavljanje više komponenti u jednoj reakciji, pojednostavljajući sintetski proces.^[6]

U nastavku ovog rada prikazan je pregled termičkih reakcija koje su korištene za sintezu cikliziranih organskih heterocikličkih spojeva.

2.4. Termičke transformacije distirilbenzena u kiselom mediju

Distirilbenzeni pripadaju skupini spojeva sličnih stilbenu. Posebno su zanimljivi u kontekstu mehanističke i preparativne kemije jer, zahvaljujući svojoj sposobnosti delokalizacije π elektrona u pobuđenom stanju, omogućuju stvaranje složenih struktura. Najpoznatiji su po fotokemijskim transformacijama, međutim proteklih godina uočena je reaktivnost i u termičkim transformacijama. Proučavane su termičke transformacije u kiselim i neutralnim uvjetima. Neutralni uvjeti ne pokazuju značajnu reaktivnost, dok kiseli uvjeti mogu izazvati protoniranje dvostruke veze i stvaranje novih intermolekularnih spojeva.^[13]

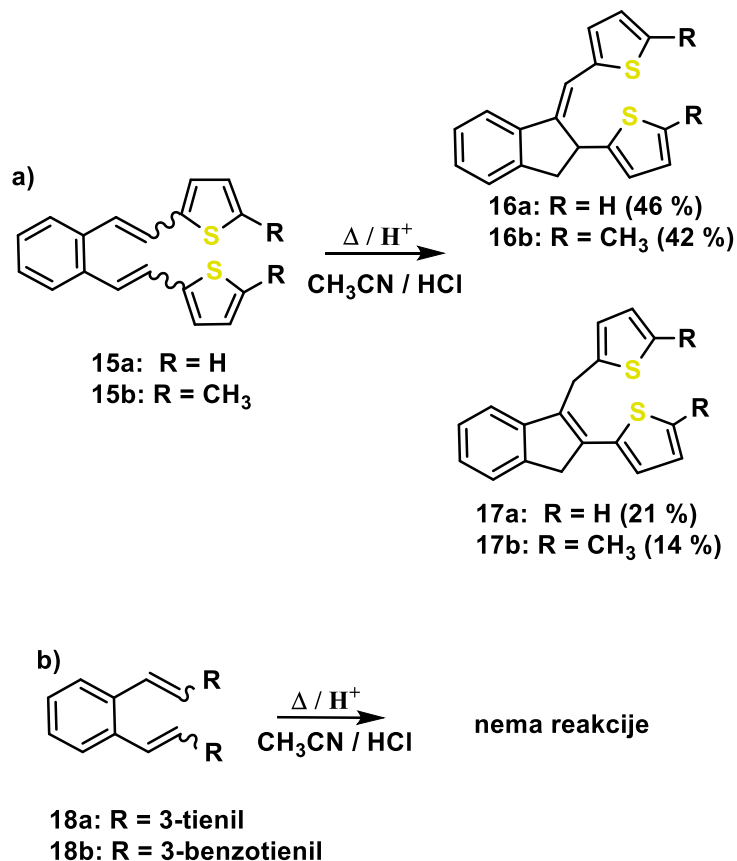
2.5. Termičke transformacije derivata heterocikličkih spojeva

U nastavku ovog rada bit će prezentiran detaljan pregled prethodno istraživanih termičkih transformacija, uključujući njihove mehanizme i specifične karakteristike. Poseban naglasak bit će stavljen na utjecaj položaja različitih supstituenata na reaktivnost u termičkim transformacijama. Kako bi se dobio detaljan uvid u mehanizam reakcije korišteni su kvantno-kemijski izračuni pomoću metode teorije funkcionala gustoće (DFT). Pomoću navedene metode izračunao se profil slobodne energije za najpovoljnije reakcijske putove razmatranih reakcija. Dobivenim računima mogla su se objasniti eksperimentalna zapažanja. Tijekom provođenja eksperimenta glavni problem je bio otkriti zašto određeni početni prekursori ne pokazuju reaktivnost. Primjenom DFT metode taj problem se uspio riješiti otkrivanjem preferencija protoniranja sustava koji se razmatraju, davanjem uvida u energetske zahtjeve i formirani produkt koji se tiče početnog [4+2] koraka cikloadicije.^[14]

2.5.1. Termičke transformacije derivata tiofena

Do sada su proučavane termičke transformacije različitih supstituiranih derivata tiofena u kiselim medijima. Reaktivnost takvih derivata značajno je ovisila o strukturi polaznih spojeva i položaju sumpora u heteroatomskom dijelu (shema 1). Značajnu reaktivnost su pokazali 2-supstituirani tiofenski derivati, koji su dali nove derivate indana (**16a** i **16b**) i indena (**17a** i

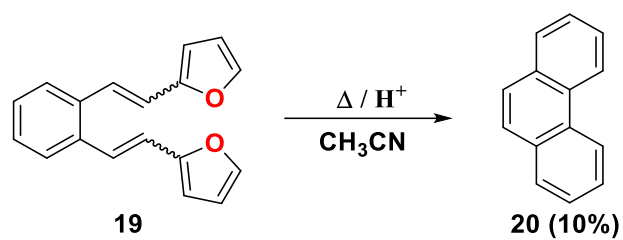
17b) (shema 1.a). S druge strane, termička reakcija 3-supstituiranih derivata tiofena (**18a** i **18b**) nije pokazala značajnu reaktivnost te su uočeni samo početni prekursori (shema 1.b).^[13,14]



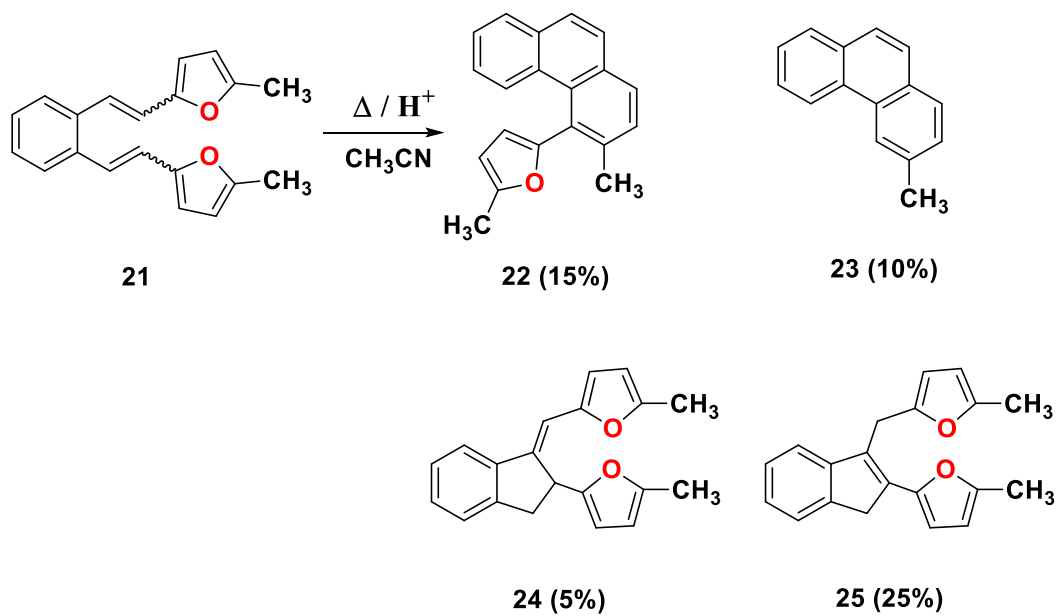
Shema 1. Termičke transformacije 2-supstituiranih i 3-supstituiranih derivata tiofena^[13]

2.5.2. Termičke transformacije derivata furana

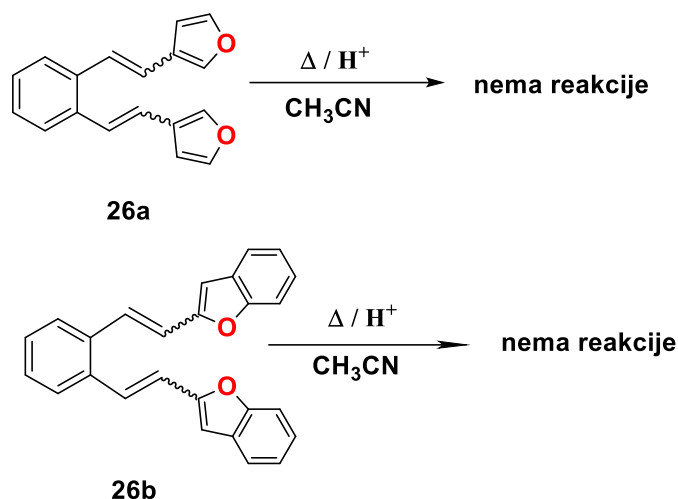
Osim termičkih transformacija derivata tiofena, značajna istraživanja su provedena i na transformacijama derivata furana. U ovim istraživanjima također je bio cilj ispitati reaktivnost molekula. Eksperimenti su provedeni zagrijavanjem početnih prekursora **19**, **21** i **26** do temperature refleksa acetonitrila uz dodatak 3,5 eq klorovodične kiseline. U slučaju ne supstituiranog derivata **19**, dobiven je fenantren **20** u malim količinama (Shema 2)., dok su u slučaju metil-supstituiranog spoja **21**, izolirana četiri produkta **22**, **23**, **24** i **25** (Shema 3). Derivati **26a** i **26b** pokazali su se nereaktivni (Shema 4).^[14]



Shema 2. Termičke transformacije spoja **19**^[14]



Shema 3. Termičke transformacije spoja **21**^[14]

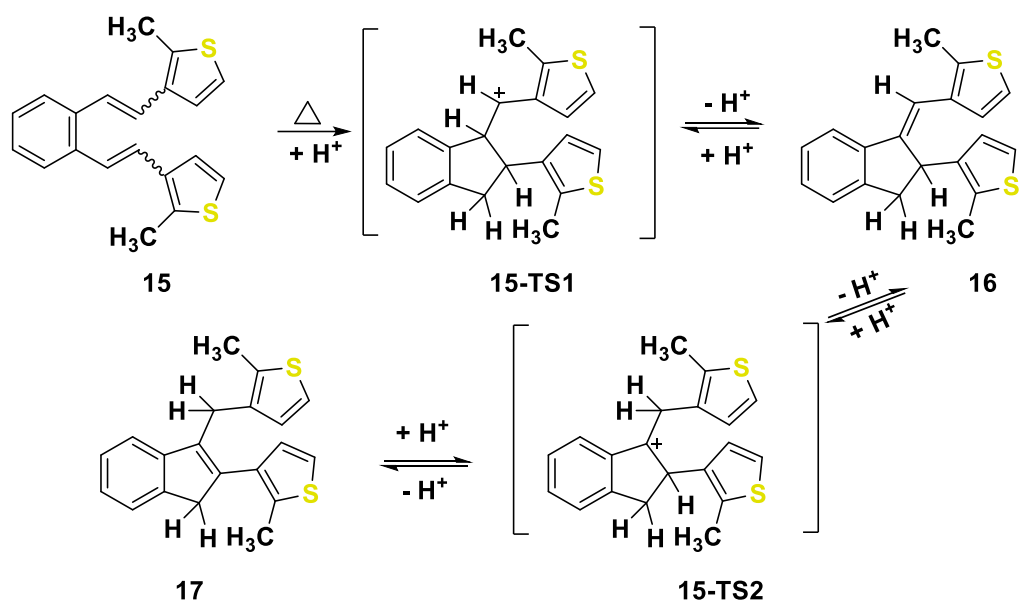


Shema 4. Termičke transformacije spoja **26a** i **26b**^[14]

Nakon provedbe niza reakcija, pojavilo se pitanje zašto neki derivati reagiraju, dok drugi ostaju ne reaktivni. Ovaj problem potaknuo je istraživače da se okrenu računalnoj kemiji kako bi dublje istražili mehanizme reakcija.

2.5.1.1. Mehanizam nastajanja produkata tiofenskih derivata

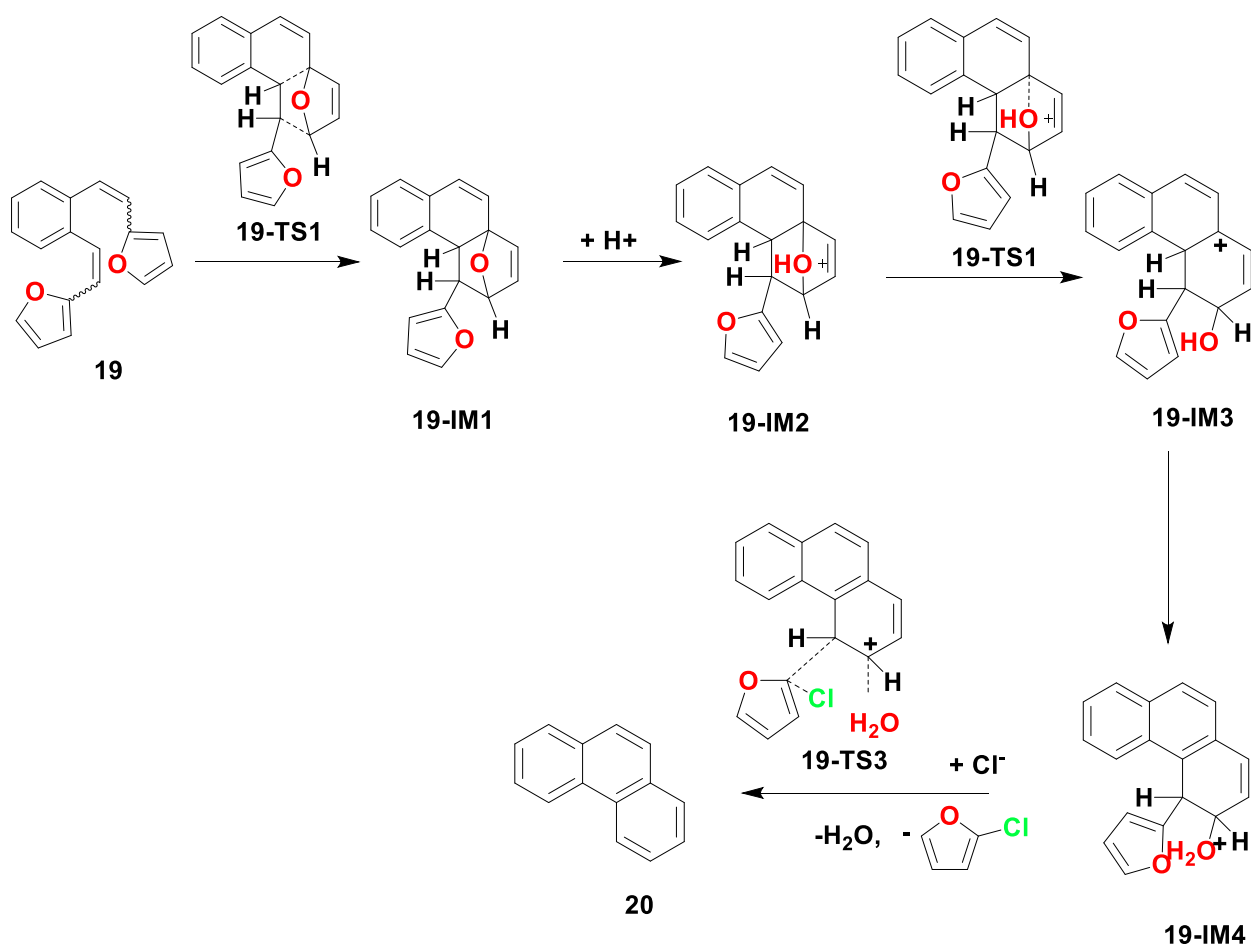
Mehanizam nastajanja derivata indana i indena 2-supstituiranog tiofenskog derivata prikazan je na shemi 5. Prvi korak odnosi se na protoniranje etenske veze početnog spoja **15** pri čemu protonirani oblik prelazi u karbokationski intermedijer **15-TS1**. Pri tome svladava se energetska barijera od 23,47 kJmol⁻¹. Daljnjom reakcijom deprotonira se međuprodukt **15-TS1** i nastaje indanski produkt **16**. To formiranje indanskog derivata **16** dovodi do stabilizacije cijelog sustava pri čemu se Gibbsova energija smanjuje za 33,81 kJmol⁻¹. Daljnjim protoniranjem spoja **16** nastaje karbokationski intermedijer **15-TS2** uz destabilizaciju sustava. Nakon toga slijedi deprotoniranje što dovodi do formiranja indenskog derivata **17** (Shema 5).^[15,19]



Shema 5. Mehanizam nastajanja derivata indana i indena

2.5.2.1. Mehanizam nastajanja produkta 20

Mogući mehanizam nastajanja produkta **20** prikazan je na shemi 6. ^[14]



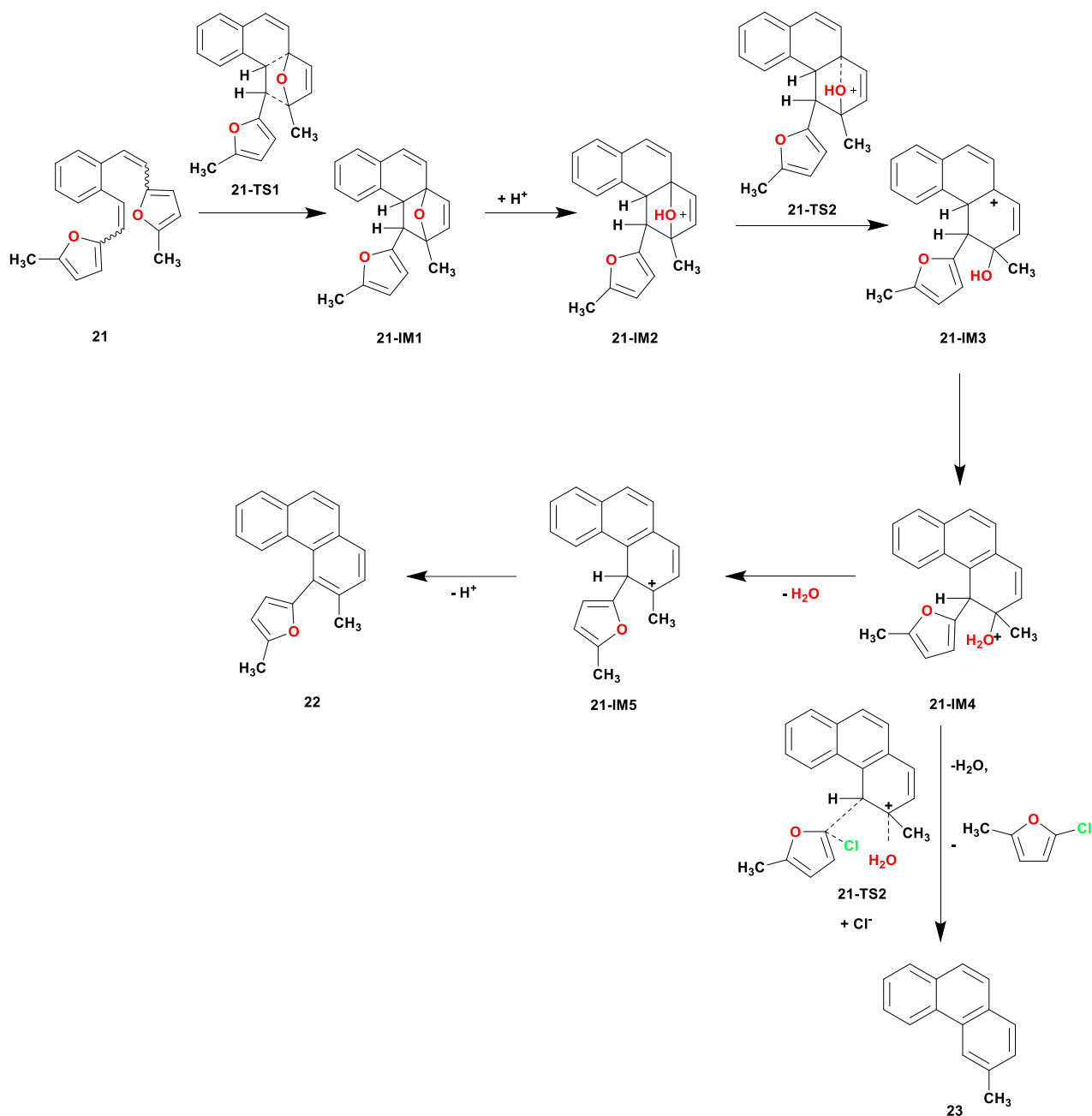
Shema 6. Mogući mehanizam nastajanja spoja **20**^[14]

Prvi korak mehanizma je [4+2] cikloadicija koja daje međuprodukt **19-IM1**. Na temelju izračuna pokazalo se da je prijelazno stanje **19-TS1** za 34,32 kcalmol⁻¹ iznad početnog prekursora s jednom negativnom frekvencijom od 559,9i cm⁻¹ što je jednako intramolekularnim interakcijama između etilen atoma ugljika na jednoj strani i furanskih atoma ugljika na drugoj strani spoja **19**. Ono što je važno za primijetiti je da nastaju dva diastereomera, *endo*- i *egzo*-, koja nastaju kada spoj **19** prolazi kroz Diels-Alderovo zatvaranje. Kinetička barijera je gotovo identična i za *egzo*- i za *endo*- zatvaranje ($\Delta G^\ddagger_{\text{exo}} = 34,32$ kcalmol⁻¹ i $\Delta G^\ddagger_{\text{endo}} = 34,45$ kcalmol⁻¹), te su izračuni otkrili da je *egzo*-produkt stabilniji od *endo*-produkta za 5,06 kcalmol⁻¹, stoga se u daljnjem tijeku reakcije razmatra samo *egzo*-produkt. Daljnjim odvijanjem reakcije odvija se protonacija **19-IM1** kako bi se dobio **19-IM2**. U protoniranom **19-IM2** dvije udaljenosti HO-C veze su značajno različite duljine, pri čemu je dulja sklonija cijepanju i time je određen daljnji tijek reakcije. Nadalje,

odvija se heterocikličko cijepanje O-C veze čime se intermedijer **19-IM2** pretvara u stabilniji tercijarni karbokation **19-IM3** preko niske kinetičke barijere. U sljedećem koraku dolazi do procesa protoniranja/deprotoniranja **19-IM3** u **19-IM4**. U završnom koraku **19-IM4** se pregrađuje kako bi se kroz prijelazni intermedijer, formiran nukleofilnim napadom iona klora uz oslobađanje protonirane hidroksi skupine, dobio fenantren **20**. Mehanizam nastajanja spoja **20** je egzergoničan s reakcijskom slobodnom energijom od $\Delta_rG = -58,31 \text{ kcalmol}^{-1}$.^[14]

2.5.2.2. Mehanizam nastajanja produkata **22** i **23**

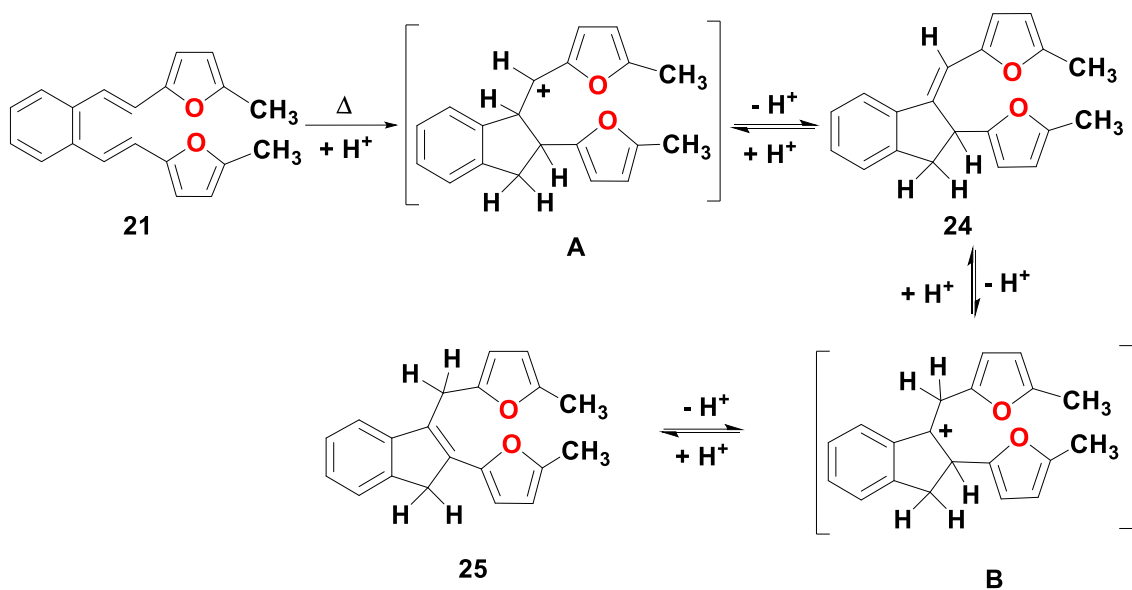
Mehanizam nastajanja produkata **22** i **23** (Shema 7). sličan je mehanizmu nastajanja produkta **20** s malom razlikom u relativnim energijama međuprodukata i prijelaznih stanja. Početni koraci su analogni prethodno opisanom mehanizmu. Do razlike dolazi nakon formiranja **21-IM4** nakon čega se produkt **22** formira u dva uzastopna koraka. U prvom koraku dolazi do otpuštanja vode kroz egzergoničnu reakciju bez barijera kako bi se dobio međuprodukt **21-IM5** čija relativna slobodna energija iznosi $-33,58 \text{ kcalmol}^{-1}$. Nakon toga, dolazi do otpuštanja protona čime nastaje produkt **22** s relativnom slobodnom energijom od $-53,83 \text{ kcalmol}^{-1}$. U ovom koraku oslobađa se slobodna energija od $20,25 \text{ kcalmol}^{-1}$. Formiranje produkta **23** iz međuprodukta **21-IM4** odvija se kroz istovremeno otpuštanje molekule vode i furilne skupine, pri čemu u tom procesu sudjeluje i kloridni ion. Energija barijere u ovom koraku iznosi $35,89 \text{ kcalmol}^{-1}$ u odnosu na prethodni **21-IM4**. Prijelazno stanje **21-TS3** ima strukturu u kojoj je C-C (furil) veza djelomično prekinuta, a Cl-C (furil) veza djelomično formirana s dosta udaljenom molekulom vode. Takva struktura dovodi do zaključka da je otpuštanje vode brže. Proces je promatran kao dvostupanjski, pri čemu se prvo otpušta molekula vode i formira karbokation, a zatim se otpušta furilna skupina uz pomoć kloridnog iona. Iako se otpuštanje vode odvija bez energetske barijere, otkriveno je da za izlazak furilne skupine energetska barijera iznosi $48,08 \text{ kcalmol}^{-1}$. Iz toga je zaključeno da je proces u dva stupnja previše energetski zahtjeva i manje povoljan u usporedbi s procesom u jednom stupnju. Oba produkta, **22** i **23** su termodinamički povoljna, pri čemu je produkt **23** malo povoljniji od produkta **22**. Međutim, kinetička barijera u procesu formiranja produkta **23** utječe na relativni prinos produkata **22** i **23**, pa u ovom slučaju produkt **22** ima prednost.^[14]



Shema 7. Mogući mehanizam nastajanja produkata **22** i **23**^[14]

2.5.2.3. Mehanizam nastajanja produkata **24** i **25**

Na Shemi 8. prikazan je predloženi mehanizam formiranja produkata **24** i **25** preko karbokationskog intermedijera. Prvi korak uključuje protoniranje dvostruke veze početnog spoja **21** nakon čega slijedi 1,5-zatvaranje prstena kako bi se dobio karbokationski intermedijer **A**. Daljnjim deprotoniranjem formira se indanski produkt **24**, koji se može protonirati preko intermedijera **B** i do formiranja indena **25**.^[14]



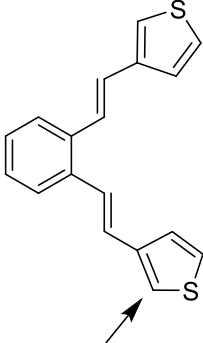
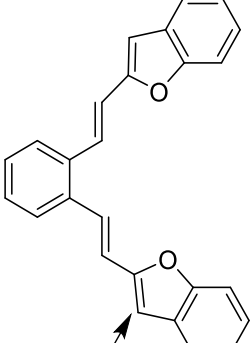
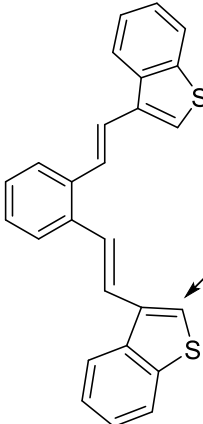
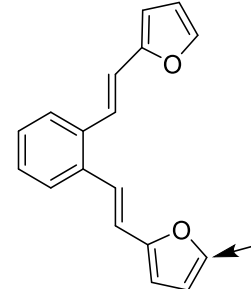
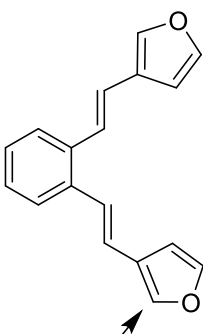
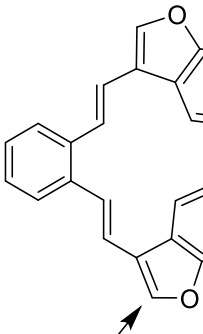
Shema 8. Mogući mehanizam nastajanja produkata **24** i **25**^[14]

Predviđanje ishoda reakcije

Kombinacija eksperimentalnih i teoretskih pristupa omogućuje detaljan uvid u molekularne procese, pružajući ključne informacije za daljnji razvoj učinkovitih kemijskih metoda. Stoga se u nastavku istraživanja pokušalo doći do razvoja metode predviđanja ishoda reakcija, tj. pokušalo se pružiti tumačenje zašto slični sustavi pod istim eksperimentalnim uvjetima različito reagiraju.

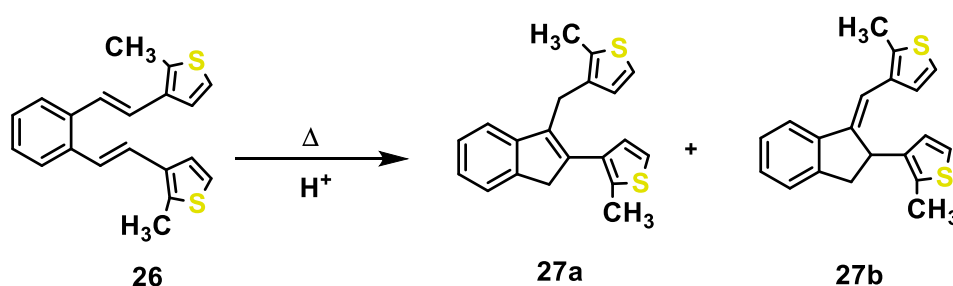
Detaljnim računalnim istraživanjima došlo se do ideje kojom određivanje položaja protoniranja pruža ključne odgovore. Naime, kako bi se uspješno provela reakcija, proton mora ući na točno određeni položaj u cilju formiranja karbokationa i njegove ciklizacije do produkata. Ukoliko proton ulazi na drugo mjesto u molekuli, željeni produkt se ne dobiva. Stoga je utvrđeno da u slučaju ne reaktivnih derivata proton ne ulazi na favorizirani položaj. Ovaj uvid potaknuo je novo pitanje: kako osigurati da proton ulazi na željeno mjesto u molekuli. Ideja je blokirati točno određeni položaj u molekuli drugim supstituentom, kako bi se spriječilo neželjeno protoniranje i osiguralo željeno odvijanje reakcije. Blokiranjem određenih mjesta u molekuli, mogao se kontrolirati položaj protoniranja, čime su postigli željene kemijske transformacije.

Tablica 1. Različiti položaji protoniranja („i“, željeni položaj; „j“, najpovoljniji položaj)^[15]

	$\Delta G^* = 23,22 \text{ kJ mol}^{-1}$ $p_i/p_j = 0,000085$		$\Delta G^* = 17,57 \text{ kJ mol}^{-1}$ $p_i/p_j = 0,000833$
	$\Delta G^* = 7,91 \text{ kJ mol}^{-1}$ $p_i/p_j = 0,042$		$\Delta G^* = 25,15 \text{ kJ mol}^{-1}$ $p_i/p_j = 0,0000394$
	$\Delta G^* = 39,87 \text{ kJ mol}^{-1}$ $p_i/p_j = 1,04 \times 10^{-7}$		
	$\Delta G^* = 4,23 \text{ kJ mol}^{-1}$ $p_i/p_j = 0,18$		

U tablici 1. prikazan je najpovoljniji položaj protoniranja (označen strelicom), te ukoliko se na tom položaju nalazi supstituent tada se protonira dvostruka veza odnosno željeni položaj. U tablici su dani podatak o razlici u Gibbsovoj energiji željene i najpovoljnije protonirane strukture te omjer vjerojatnosti pojavljivanja željene i najpovoljnije protonirane strukture (pi/pj).^[15]

Daljnji cilj je bio eksperimentalno dokazati prethodno ispitane računske pretpostavke. U tu svrhu, priređen je metil-supstituirani derivat **27**, pri čemu bi se zauzeo izračunati položaj protoniranja te bi ulazak protona usmjerio na željeni položaj i omogućio 1,5-zatvaranje do produkta (Shema 9).^[15]



Shema 9. Termička reakcija 2- supstituiranog derivata tiofena^[15]

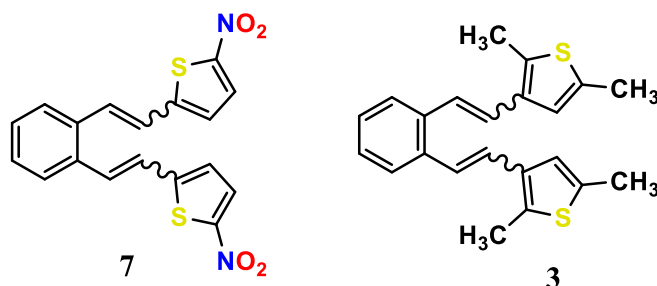
U skladu s računalnim predviđanjima, priređeni derivat pokazao je termičku reaktivnost u kiselom mediju te su izolirani indanski i indenski produkti.

Kao zaključak, ustanovljeno je da supstituent sa svojim položajem može usmjeriti protoniranje na dvostruku vezu i na taj način omogućiti reaktivnost derivata koji inače nisu reaktivni.^[15]

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Uvod

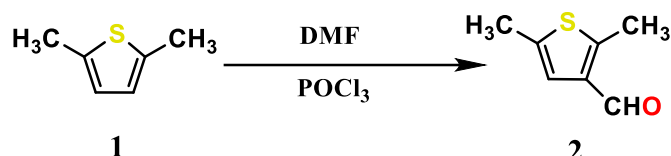
Kao nastavak prethodnog istraživanja, ideja ovog rada je pripraviti dva stilna heterociklička sustava koja će se podvrgnuti termičkim reakcijama u kiselim uvjetima. Prva sinteza je usmjerena na istraživanje utjecaja 3-supstituiranih derivata, s namjerom da se istraži kako ta supstitucija utječe na termičku stabilnost i reaktivnost dobivenih spojeva. Drugi dio istraživanja fokusira se na utjecaj nitro-skupine na sam tijekom termičke reakcije (slika 1). Budući da nitro-skupina djeluje kao elektron-odvlačeća skupina, očekuje se da će imati značajan utjecaj na reaktivnost i mehanizme termičkih transformacija. Ideja je prirediti spojeve koji će imati određene supstituente u izračunatom položaju protoniranja kako bi se protoniranje usmjerilo na željeni položaj i postiglo formiranje željenog produkta.



Slika 1. Struktura početnih perkursora nakon provedbe Wittigove reakcije

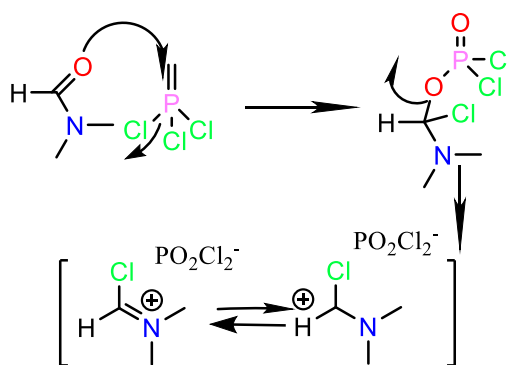
3.2. Sinteza 3-supstituiranog tiofenskog derivata 3

Prvi korak pripreve prekursora za termičku reakciju odnosi se na sintezu 2,5-dimetiltiofen-3-karbaldehida **2**, koji je dobiven Vilsmeierovim formiliranjem iz 2,5-dimetiltiofena (Shema 1).

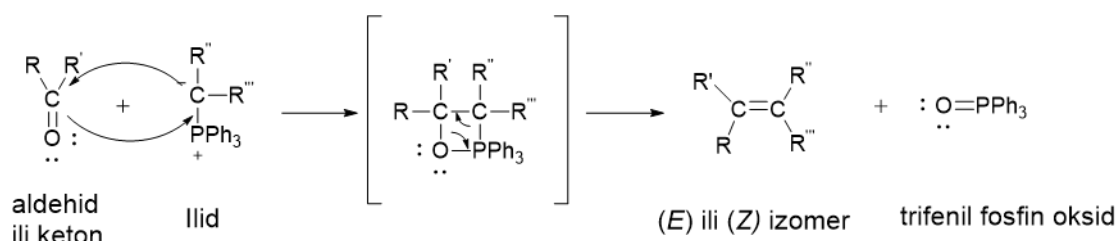


Shema 1. Sinteza aldehida **2** Vilsmeierovim formiliranjem

Mehanizam Vilsmeierovog formiliranja prikazan je na shemama 2 i 3. Prvi korak odnosi se na formiranje Vilsmeierovog kompleksa (Shema 2.), pri čemu dolazi do interakcije *N,N*-dimetilformamida (DMF) s aktivirajućim reagensom fosforil-kloridom (POCl₃). Fosforil klorid djeluje kao elektrofil i reagira s DMF-om, formirajući intermedijarni kompleks, koji sadrži elektrofilni centar sposoban za daljnju reakciju s heterocikličkim spojevima. Zatim slijedi nukleofilni napad na heterociklički prsten (Shema 3.). Elektronima bogati heterociklički spoj djeluje kao nukleofil i napada elektrofilni centar Vilsmeierovog kompleksa. Taj napad rezultira formiranjem intermedijarnog karbokationa, nakon čega dolazi do eliminacije molekule HCl iz intermedijara. Ta eliminacija stabilizira formiranu molekulu i dovodi do konačnog produkta **2**. U sljedeći korak sinteze krenulo se bez daljnjeg pročišćavanja spoja.

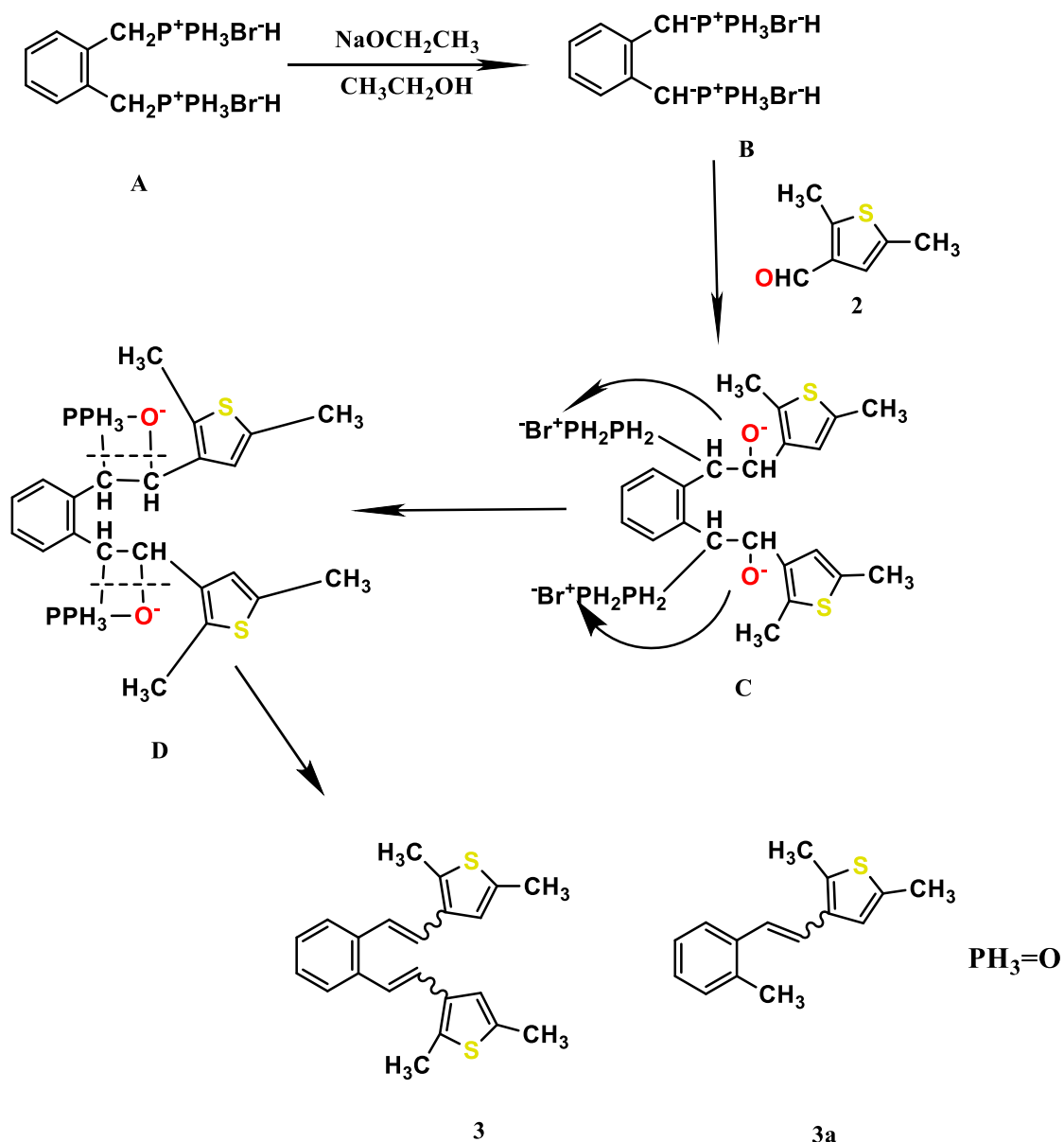


Shema 2. Mehanizam formiranja Vilsmeierovog kompleksa



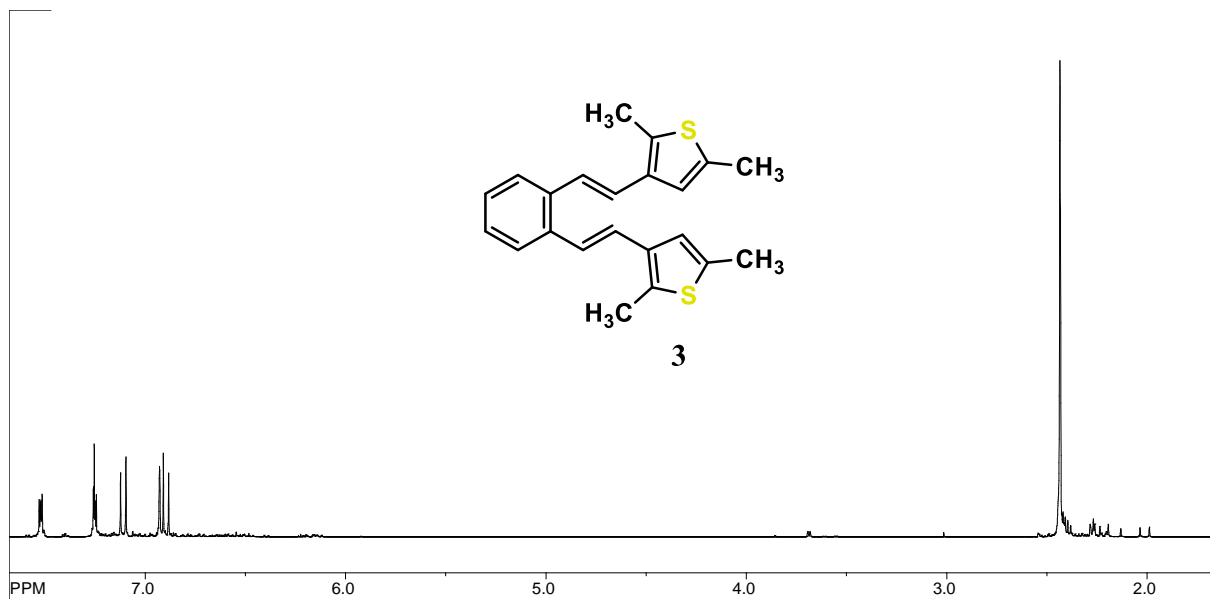
Shema 5. Općeniti mehanizam Wittigove reakcije^[16]

Općeniti mehanizam Wittigove reakcije prikazan je na shemi 5., dok je mehanizam pripreve spoja **3** prikazan na shemi 6. Difosfonijeva sol, α,α' -ksilendibromid, reagira s bazom, natrijev etoksid. U prvom koraku baza deprotonira ugljikov atom vezan uz fosfor, uklanjajući proton i stvarajući ilid **B**. Ilid djeluje kao nukleofil i napada elektrofilni ugljikov atom karbonilne skupine aldehida, tvoreći betainski intermedijer **C**. U sljedećem koraku negativno nabijen atom kisika i pozitivno nabijen atom fosfora formiraju vezu, stvarajući ciklički oksofosfetanski intermedijer **D**. Nastali prsten je jako napet, što vodi do pucanja veze. Pucanje veza unutar prstena, rezultira formiranjem alenskog produkta **3** i trifenil fosfin oksida.



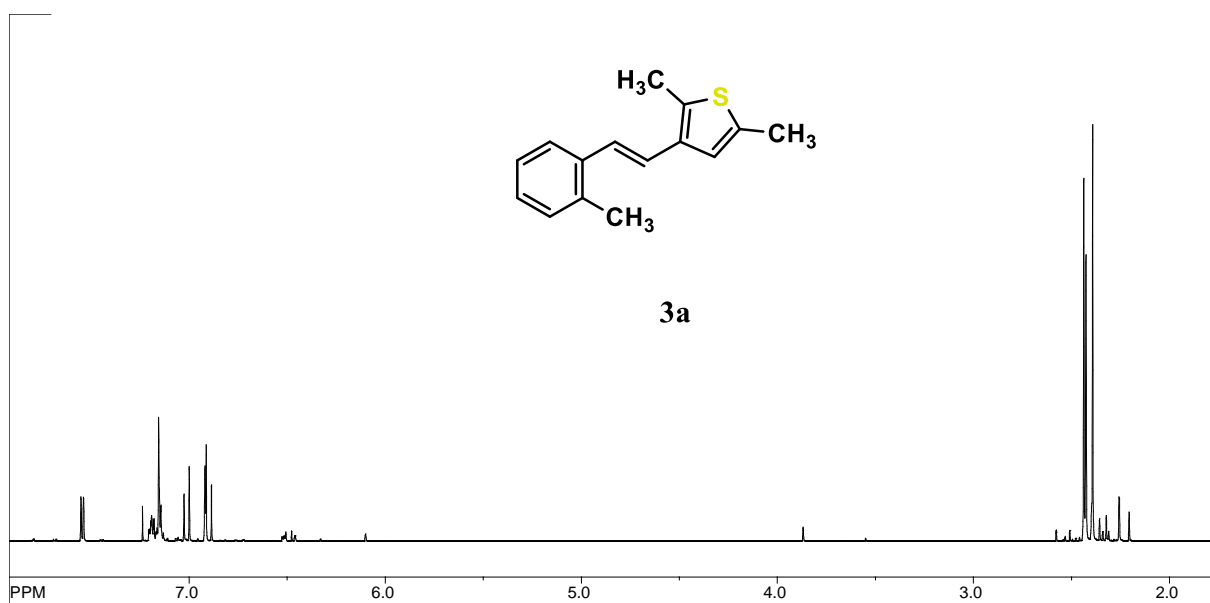
Shema 5. Mehanizam formiranja spoja **3**

Slika 1. prikazuje ^1H NMR spektar *trans,trans*-izomera spoja **3**. U području 7,24-7,53 ppm-a jasno se mogu uočiti signali aromatskih protona, dok se protoni metilne skupine nalaze na 2,44 ppm-a. Signali protona dvostruke veze nalaze se u području 6,90-7,11 ppm-a s karakterističnom konstantom sprege od 16,5 Hz. Radi simetrične strukture spektar prikazuje manji broj signala.



Slika 1. ^1H NMR spektar spoja **3**

Slika 2. prikazuje ^1H NMR spektar nusprodukta Wittigove reakcije u slučaju 3-supstituiranog derivata tiofena. U području 6,91-7,55 ppm-a jasno su uočljivi signali aromatskih protona, dok se protoni metilne skupine nalaze u području 2,39-2,44 ppm-a. Signali protona dvostruke veze nalaze se u području 6,90-7,01 ppm-a s karakterističnom konstantom sprege od 16,0 Hz za *trans*-izomer.

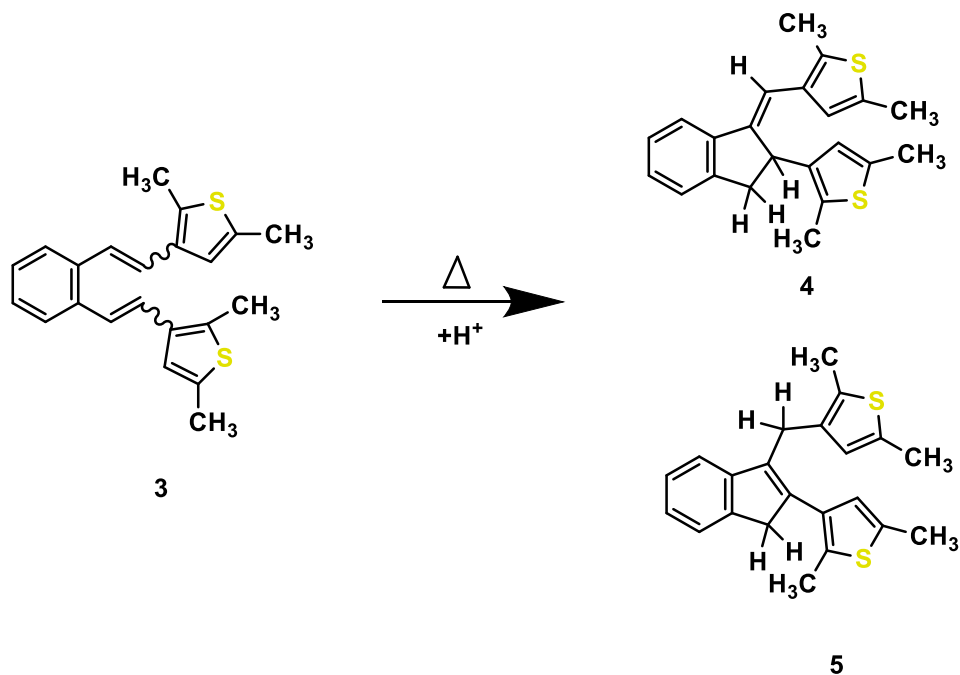


Slika 2. ^1H NMR spektar spoja **3a**

3.3. Termička transformacija spoja 3

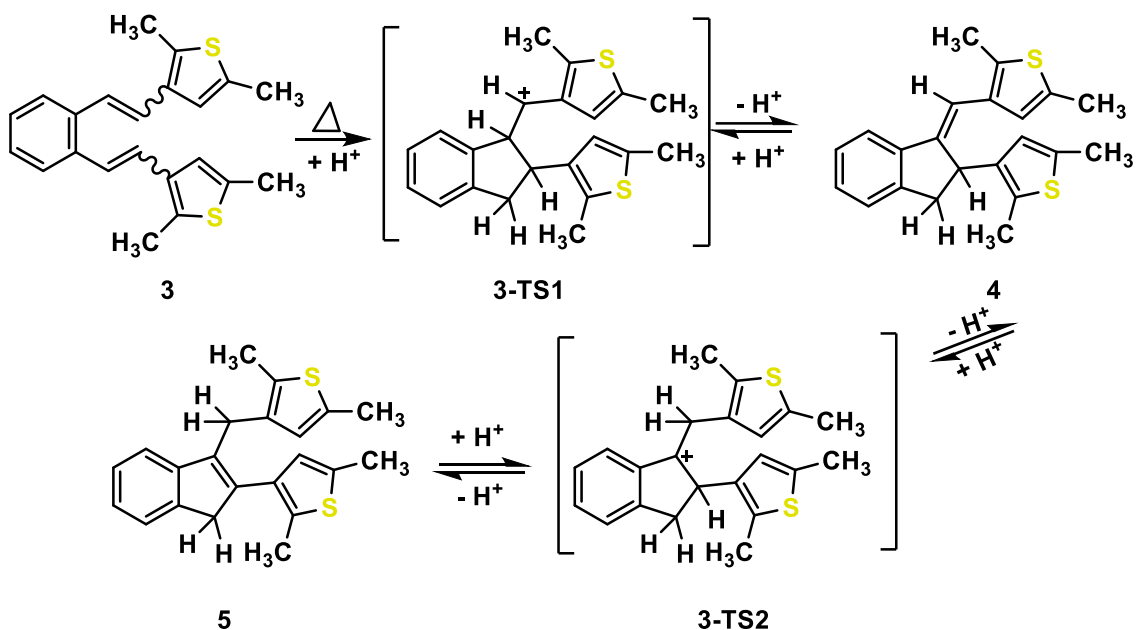
Nakon Wittigove reakcije, dobivena smjesa podvrgnuta je termičkoj reakciji u acetonitrilu uz dodatak klorovodične kiseline tijekom 2 dana (Shema 6).

Kao rezultat termičke reakcije nastala su dva produkta **4** i **5**.



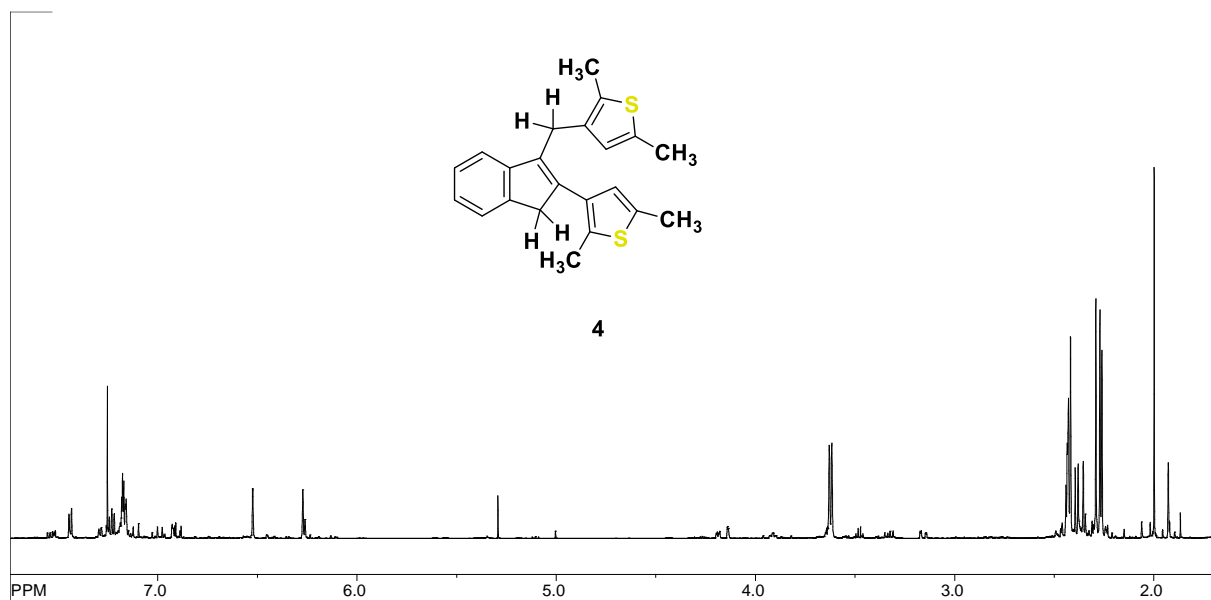
Shema 6. Termička transformacija pripremljenog spoja **3**

Mehanizam termičke reakcije prikazan je na shemi **7**. Prvi korak je protoniranje etenske veze početnog spoja **3**, nakon čega dolazi do 1,5-zatvaranja prstena pri čemu nastaje karbokationski intermedijar **3-TS1**. Drugi korak mehanizma se odvija preko nekoliko prijelaznih stanja kao što je prikazano na shemi **7**. Nakon protoniranja početnog spoja **3**, dolazi do deprotoniranja međuprodukta **3-TS1**. Deprotoniranjem međuprodukta **3-TS1** nastaje produkt **4**. Formiranje produkta **4** dovodi do stabilizacije sustava. Njegovim daljnjim protoniranjem nastaje karbokationski intermedijer **3-TS2** pri čemu dolazi do destabilizacije sustava, nakon čega slijedi deprotoniranje i formiranje produkta **5**.



Shema 7. Mehanizam termičke reakcije spoja **3**

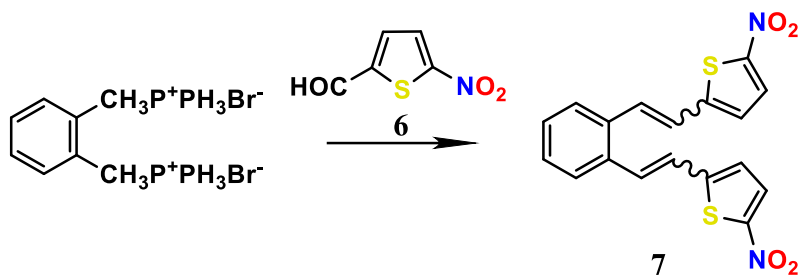
Slika 3. prikazuje ¹H NMR spektar sintetiziranog spoja **4**. U području 7,15-7,44 ppm-a jasno se vide signali aromatskih protona s karakterističnom konstantom sprege od 7,4 Hz, dok se signali metilne skupine nalaze u području 2,26-2,42 ppm-a. Tiofenski protoni kao dubleti se nalaze na 6,52 ppm-a, dok je jedan tiofenski proton uočljiv na 6,27 ppm-a.



Slika 3. ¹H NMR spektar spoja **4**

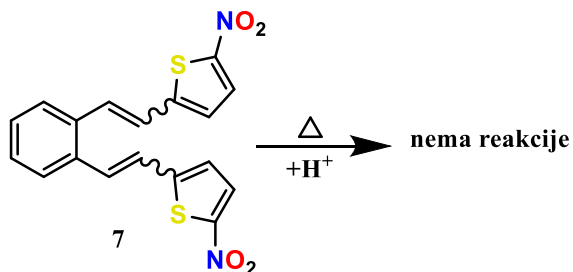
3.4. Sinteza nitro-derivata tiofena 7

Wittigova reakcija je provedena iz jednog ekvivalenta difosfonijeve soli, α - α' -ksilendibromida i 2 ekvivalenta 2-nitrotiofen-5-karbaldehida uz natrijev etoksid kao bazu (Shema 8). Spoj 7 je dobiven kao smjesa tri izomera, od kojih je izoliran *-trans,trans* izomer.



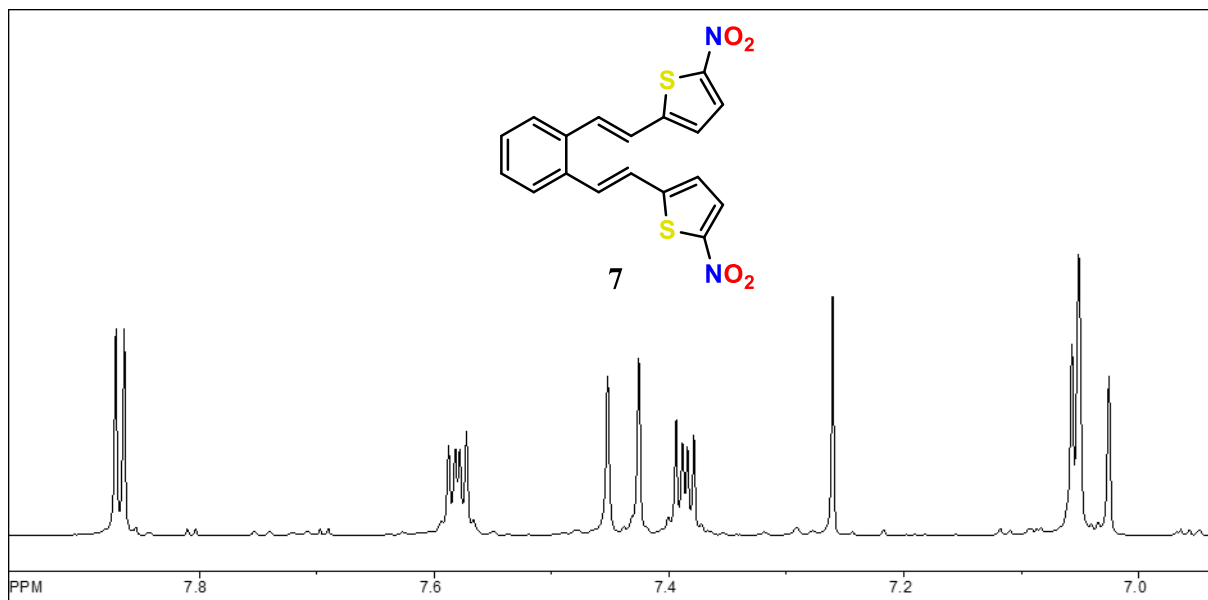
Shema 8. Sinteza spoja 7 Wittigovom reakcijom

Nakon priprave spoja 7 Wittigovom reakcijom, dobiveni spoj je podvrgnut termičkoj reakciji kako bi se istražio utjecaj temperature na njegovu strukturu i svojstva. Termičke reakcije su važne jer omogućuju različite kemijske transformacije koje se ne mogu postići drugim metodama. One mogu rezultirati razgradnjom, izomerizacijom ili drugim promjenama u molekularnoj strukturi, što može dovesti do formiranja novih spojeva ili poboljšanja željenih svojstava. Termička reakcija je provedena u acetonitrilu uz dodatak klorovodične kiseline tijekom 2 dana (Shema 9), nakon čega je primijećena prisutnost samo početnog spoja.



Shema 9. Termička reakcija pripravljenog spoja 7

Slika 4. prikazuje ^1H NMR spektar sintetiziranog spoja **7**. U području 7,37-7,60 ppm-a jasno se vide signali aromatskih protona, dok se protoni dvostruke veze vide u području 7,04-7,44 ppm-a s karakterističnom konstantom sprege od 16,2 Hz. Signali tiofenskih protona se vide u području 7,06-7,87 ppm-a s karakterističnom konstantom sprege od 3,5 Hz.



Slika 4. ^1H NMR spektar spoja **7**

3.5. Antimikrobno djelovanje

Sve veća prisutnost bakterija otpornih na antibiotike postala je značajan globalni zdravstveni problem, što zahtijeva istraživanje novih i učinkovitih antimikrobnih sredstava. Tijekom proteklih nekoliko desetljeća, zloupotreba i prekomjerna upotreba antibiotika ubrzali su razvoj rezistencije među bakterijskim patogenima, čineći nekad učinkovite tretmane neučinkovitim. Ova alarmantna pojava dovela je do ponovnog pojavljivanja prethodno kontroliranih zaraznih bolesti i porasta neizlječivih infekcija, što rezultira produljenim bolestima, povećanim zdravstvenim troškovima i povećanom smrtnošću širom svijeta.^[8]

Heterociklički spojevi igraju ključnu ulogu kao potencijalni antibakterijski agensi u potrazi za novim antibioticima. Ovi spojevi karakterizirani su različitim kemijskim strukturama. Njihova jedinstvena strukturalna svojstva nude širok spektar farmakoloških aktivnosti, uključujući antibakterijske.^[7] Mogućnost modificiranja heterocikličkog prstena omogućuje sintezu širokog spektra derivata s različitim funkcionalnim skupinama, što omogućuje istraživačima da precizno podešavaju njihove kemijske i biološke aktivnosti. Štoviše, heterociklički spojevi pokazali su selektivno ciljanje bakterijskih stanica, što potencijalno može smanjiti rizik od štetnih učinaka na ljudske stanice, čineći ih obećavajućim kandidatima u borbi protiv bakterijskih infekcija, posebno onih uzrokovanih spojevima otpornim na antibiotike. Kao rezultat toga, istraživanje heterocikličkih spojeva kao antimikrobnih sredstava privuklo je značajan interes.^[20]

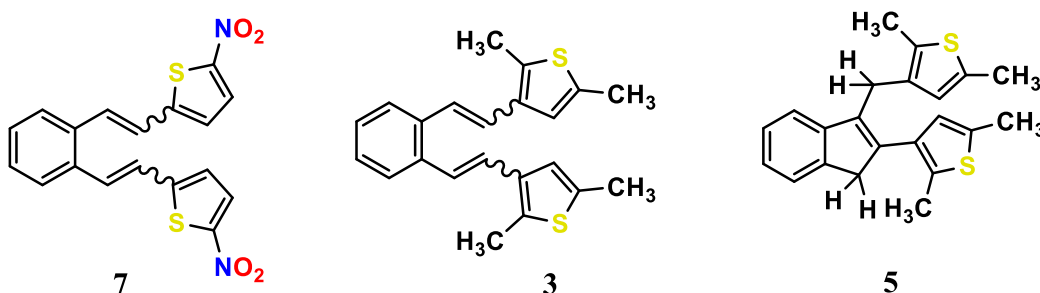
Heterociklički spojevi su se pokazali kao obećavajući kandidati u borbi protiv bakterijskih infekcija zbog svoje raznolike kemijske strukture i jedinstvenih farmakoloških svojstava. Prethodnih godina, istraženi su brojni heterociklički spojevi s učinkovitim djelovanjima.^[21]

Sintetizirani spojevi **7**, **3** i **5** testirani su *in vitro* na antibakterijsku aktivnost protiv mikrobnih vrsta *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* i *Aspergillus niger*, koristeći metodu difuzije na pločici. Rezultati aktivnosti izraženi su kao promjer zona inhibicije, kako je prikazano u Tablici 1. Ispitivanje difuzijom diska na agaru službena je metoda koja se koristi u mnogim kliničkim mikrobiološkim laboratorijima za rutinsko testiranje osjetljivosti na antimikrobne tvari. Agar ploče se inokuliraju standardiziranim inokulumom ispitivanog mikroorganizma. Zatim se diskovi filter papira (promjera 9 mm), koji sadrže ispitivani spoj u željenoj koncentraciji, stave na površinu agara. Petrijeve zdjelice

se inkubiraju pod odgovarajućim uvjetima. Općenito, antimikrobno sredstvo difundira u agar i inhibira klijanje i rast ispitivanog mikroorganizma, a zatim se mjere promjeri zona inhibicije rasta. Antibiogram daje kvalitativne rezultate kategorizirajući bakterije kao osjetljive, srednje ili rezistentne. Disk-difuzijski test nudi mnoge prednosti u odnosu na druge metode: jednostavnost, nisku cijenu, mogućnost testiranja ogromnog broja mikroorganizama i antimikrobnih sredstava i lakoću tumačenja dobivenih rezultata.^[22]

Tablica 1. Rezultati aktivnosti sintetiziranih spojeva na antibakterijsku aktivnost na pojedinim mikroorganizmima.

MIKROORGANIZAM	1 (Spoj 7)	2 (Spoj 3)	3 (Spoj 5)
<i>Bacillus subtilis</i>	17	-	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	13
<i>Aspergillus niger</i>	22	-	-



Iz vrijednosti zone inhibicije možemo zaključiti o osjetljivosti bakterija na određene antimikrobne tvari. Ako je bakterija osjetljiva na dotični antimikrobni agens, oko diska će se stvoriti zona inhibicije, područje gdje nije prisutan rast bakterija. Veća zona inhibicije upućuje na veću osjetljivost bakterija na antimikrobno sredstvo, dok manja zona ili njen izostanak ukazuje na otpornost. Veća zona inhibicije može ukazivati na to da je antimikrobno sredstvo potencijalno učinkovito protiv određenih bakterija.



Bacillus subtilis



Candida albicans



Pseudomonas aeruginosa



Aspergillus niger

Slika 4. Prikaz izgleda diska nakon antimikrobnog ispitivanja spojeva 7, 3 i 5 za pojedine mikrobnne vrste

Antimikrobna aktivnost spoja 7 ispitana je na različitim mikroorganizmima. Zaključeno je da je ovaj spoj potencijalno učinkovit protiv Gram-pozitivne bakterije *Bacillus subtilis* i mikrobnne specije *Aspergillus niger*, s inhibicijskim zonama promjera 17 mm odnosno 22 mm. Međutim, testiranja na Gram-negativnoj bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* i mikrobnjoj speciji *Candida albicans* nisu pokazala antimikrobnu učinkovitost spoja 7. Spoj 3, s druge strane, nije pokazao značajnu antimikrobnu aktivnost protiv niti jednog ispitivanog mikroorganizma. Istraživanje spoja 5 otkrilo je antimikrobnu aktivnost protiv specija *Bacillus subtilis* i *Candida albicans*, gdje su vrijednosti inhibicijskih zona gotovo identične, s razlikom od samo 1 mm.. Zanimljivo je primijetiti da niti jedan od ispitivanih spojeva nije pokazao

aktivnost protiv Gram-negativne bakterije *Pseudomonas aeruginosa*. Ovi rezultati naglašavaju selektivnu učinkovitost određenih spojeva prema specifičnim vrstama mikroorganizama i ukazuju na potrebu za daljnjim istraživanjima kako bi se identificirale potencijalne primjene u liječenju infekcija izazvanih različitim patogenima.

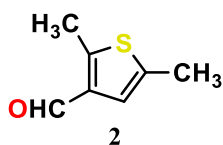
4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama punjenim silika-gelom i na pločama presvučenim tankim slojem silika-gela. Za identifikaciju sintetiziranih spojeva koristila se nuklearna magnetska rezonancija (^1H NMR i ^{13}C NMR). ^1H i ^{13}C NMR spektri snimljeni su na instrumentu Bruker AV-600 te AV-300 spektrometru, koji rade na frekvenciji od 600 MHz i 300 MHz za ^1H jezgre i frekvenciji od 150 MHz te 75 MHz za ^{13}C jezgre. Svi NMR spektri snimani su u CDCl_3 kao otapalu, koristeći tetrametilsilan kao referencu.

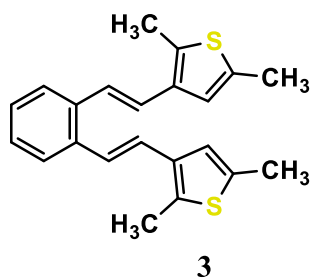
4.2. Sinteza 2,5-dimetiltiofen-3-karbaldehida

Aldehid je sintetiziran primjenom Vilsmeierovog formiliranja koristeći fosforil oksiklorid (POCl_3) i *N,N*-dimetilformamid (DMF) kao reagense. Reakcija započinje dodavanjem 16,00 mL DMF-a i 2,00 mL 2,5-dimetiltiofena u okruglu tikvicu. Tikvica se zatim uranja u ledenu kupelj kako bi se snizila temperatura reakcijske smjese. Ovo hlađenje je ključno jer dodavanje POCl_3 generira otrovne plinove. Nakon što je smjesa ohlađena, dodaje se 2,00 mL POCl_3 kap po kap. Dodavanje POCl_3 uzrokuje promjenu boje u crveno-smeđu, što ukazuje na formiranje Vilsmeierovog reagensa. Ledena kupelj se zatim uklanja, a reakcijska smjesa se miješa na magnetskoj miješalici 3 sata na temperaturi od 80 °C. Nakon 3 sata, reakcijskoj smjesi se dodaje 10%-tna otopina natrijevog hidroksida (NaOH) kako bi se reakcijska smjesa zalužila. Ovo se radi pažljivo, kap po kap, prateći pH i promatrajući razvoj para. Neutralizirana smjesa se zatim otapa u diklormetanu i prebacuje u lijevak za odjeljivanje. Reakcijska smjesa se ekstrahira dietileterom tri puta. Organski sloj, koji je gornji sloj u lijevku za odjeljivanje, sadrži željeni aldehid, dok je vodeni sloj donji. Organski slojevi se nakon ekstrakcije dietileterom ponovno prebacuju u lijevak za odjeljivanje te ispiru dva puta vodom kako bi se uklonio zaostali DMF. Pročišćeni organski sloj se zatim prebacuje u Erlenmeyerovu tikvicu i suši iznad bezvodnog magnezijevog sulfata (MgSO_4). Nakon sušenja, smjesa se filtrira kroz filter papir u okruglu tikvicu. Otopina se zatim uparava pomoću rotacionog isparivača. Nastali produkt se zatim izolira kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens.

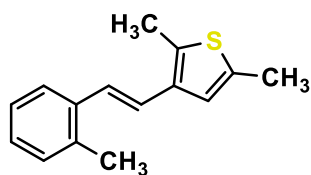


4.3. Sinteza 1,2-bis(2-(2,5-dimetiltiofen-3-il(vinil)benzena i 1,2-bis(2-(5-nitrotiofen-2-il)vinil)benzena Wittigovom reakcijom

2,2 g difosfonijeve soli α,α' -o-ksilendibromida otopljeno je u 50 ml apsolutnog etanola u okrugloj tikvici. Tikvica se miješa na magnetskoj miješalici te nakon što se otope svi prethodno dodani sastojci, u nastalu suspenziju se doda 2,2 eq pripremljenog aldehyda, u slučaju 3-supstituiranog tiofenskog derivata aldehyda **2**, a u slučaju nitro-supstituiranog derivata 5-nitrotiofen-2-karbaldehyda. Zatim se u lijevku za dokapavanje pripremi otopina natrijevog etoksida na način da se 2,2 eq natrija otopi u 7,5 mL suhog etanola. Pripremljena otopina se zatim dodaje u reakcijsku smjesu, kap po kap, uz stalno miješanje. Reakcijska smjesa ostavljena je preko noći na miješalici na sobnoj temperaturi kako bi se reakcija potpuno dovršila. Nakon 24 sata, smjesa je ekstrahirana. Tijekom ekstrakcije, vodeni sloj, koji je prisutan na dnu lijevka za odjeljivanje, odvojen je od organskog sloja koji se nalazi gore. Organski sloj je zatim sušen iznad bezvodnog magnezijevog sulfata (MgSO_4). Nakon sušenja, smjesa je filtrirana kroz filter papir u okruglu tikvicu i otapalo je uklonjeno pomoću rotacionog isparivača. Dobiveni produkti su pročišćeni kromatografijom na koloni punjenoj silika-gelom, koristeći petroleter kao eluens. U slučaju dimetil-supstituiranog derivata tiofena, nakon kolonske kromatografije izolirani su *trans,trans*- izomeri **3** i **3a**, dok je u slučaju nitro-supstituiranog tiofenskog derivata izoliran *trans,trans*- izomer **7**.

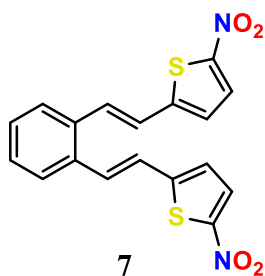


1,2-bis(2-(2,5-dimetiltiofen-3-yl)vinyl)benzen (-*tt*-3): ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) δ /ppm: 7,51-7,53 (m,2H), 7,24-7,27 (m,2H), 7,11 (d, 1H, $J=16,5$ Hz), 6,93 (s, 2H), 6,90 (d, 2H, $J=16,5$ Hz), 2,44 (s, 12H)



3a

2,5-dimetil-3-(2-metilstiril)tiofen (-*tt*-3a): ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) δ /ppm: 7,55 (d, 1H, $J=7,6$ Hz), 7,17-7,21 (m, 1H), 7,13-7,17 (m, 2H), 7,01 (d, 1H, $J=16,0$ Hz), 6,91 (s, 1H), 6,90 (d, 1H, $J=16,0$ Hz), 2,44 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,39 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 150 Hz) δ /ppm: 137,0, 136,1, 135,5, 135,3, 133,9, 130,4, 127,1, 126,2, 125,5, 125,1, 123,1, 122,7, 19,9, 15,2, 13,0

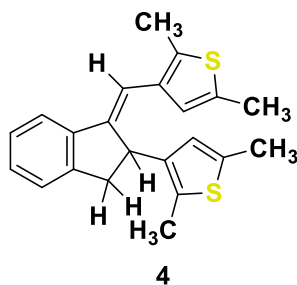


7

1,2-bis(2-(5-nitrotiofen-2-yl)vinyl)benzen: ^1H NMR (CDCl_3 ; 600 MHz) δ /ppm: 7,87 (d, 2H, $J=3,5$ Hz), 7,56-7,60 (m,2H), 7,44 (d, 2H, $J=16,2$ Hz), 7,37-7,41 (d, 2H, $J=3,5$ Hz), 7,04 (d, 2H, $J=16,2$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 150 Hz) δ /ppm: 149,8, 149,6, 134,6, 130,6, 129,5, 129,3, 127,3, 125,3, 125,2, 123,6

4.4. Termičke reakcije sintetiziranih spojeva 3 i 7

Smjese *trans,trans*-izomera spojeva **3** i **7** zagrijevane su u 25 mL acetonitrila uz dodatak 0,250 mL klorovodične kiseline na temperaturi refluksa otapala. Reakcijska smjesa je zagrijevana 2 dana. Nakon toga, reakcijska smjesa je neutralizirana s 10%-tnom otopinom natrijeva hidroksida (NaOH). Zatim je smjesa ekstrahirana s dietileterom, nakon čega je organski sloj sušen iznad bezvodnog MgSO₄. U slučaju nitro-supstituiranog tiofenskog derivata **7**, termička reakcija nije pokazala značajnu reaktivnost, dok su kod dimetil-supstituiranog izolirani produkt **4** kao većinski i produkt **5** u tragovima.



(E)-3-((2-(2,5-dimetiltiofen-3-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-ilden)metil)-2,5-dimetiltiofen (**-tt-4**): ¹H NMR (CDCl₃; 600 MHz) δ/ppm: 7,44 (d, 1H, J= 7,4 Hz), 7,23 (d, 1H, J= 7,4 Hz), 7,15-7,20 (m, 2H), 6,52 (d, 1H, J= 0,9 Hz), 6,27 (s, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,27 (s, 3H), 2,26 (s, 3H)

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bio je pripremiti nove stirilne heterocikličke derivate tiofena kako bi se eksperimentalno dokazale kvantno-kemijske pretpostavke o reaktivnosti, odnosno mogućnosti manipuliranja željenim mjestom protoniranja. U ovom radu sintetizirana su dva derivata tiofena: jedan supstituiran s nitro-skupinom i jedan supstituiran s dvije metilne skupine. Derivat tiofena supstituiran s nitro-skupinom nije pokazao značajnu reaktivnost u termičkim reakcijama. S druge strane, dimetil-supstituirani derivat **3** pokazao se reaktivnim, pri čemu nastaju dva produkta. Također, ispitana je antimikrobna aktivnost sintetiziranih spojeva **7**, **3** i **5** te se spoj **7** pokazao najreaktivnijim prema mikrobnim specijama *Bacillus subtilis* i *Aspergillus niger*, a spoj **5** prema mikrobnim specijama *Bacillus subtilis* i *Candida albicans*, dok spoj **3** nije pokazao značajnu antimikrobnu aktivnost.

6. LITERATURA

1. Kabir, E. and Uzzaman, M. (2022). A review on biological and medicinal impact of heterocyclic compounds, Vol.4: 1-10
2. Arora, P., Arora, V., Lamba, H.S. and Wadhwa, D. (2012). IMPORTANCE OF HETEROCYCLIC CHEMISTRY: A REVIEW, Vol. 3(9): 2947-2954
3. Raj K. Bansal, Ph.D. (1999). Heterocyclic Chemistry, 141-215
4. A. Gomtsyan (2012)., Heterocycles in drugs and drug discovery, Vol.48.: 7-10
5. Kaplancikli Z., Altintop M., Turan-Zitoun G., Ozdemir A., Demirel R., Mohsen U., Hussein W., (2013) Synthesis and Antifungal Activity of New Heterocyclic Compounds, 38(1):103-107
6. Bhawal Ganesh Shivaji and Dr. Amit Jalinder Kasabe (2021). A review of Heterocyclic compound Synthesis And Antibacterial Activity, Vol.12: 98-102
7. Bayrak H., Demirbas A., Demirbas N., Karaoglu S.A. (2009). Synthesis of some new 1,2,4-triazoles starting from isonicotinic acid hydrazide and evaluation of their antimicrobial activities, European Journal of Medicinal chemistry 44, 4362-4366
8. Jia B., May M., Liu B., Chen P., Hu Y., Zhang R., (2019). Synthesis, antimicrobial Activity, Structure-Activity Relationship, and Molecular Docking Studies of Indole Diketopiperazine Alkaloids
9. Kumar A., Singh A., Singh H., Vijayan V., Kumar D., Naik J., Thareja S., Yadav J., Pathak P., Grishina M., Verma A., Khalilullah H., Jaremko M., Emwas A., Kumar P., (2023) Nitrogen Containing Heterocycles as Anticancer Agents: A Medicinal Chemistry Perspective, 16(2):299
10. Panoff, R. (2011). Computational Chemistry, 1-5
11. Errol G. Lewars (2011). Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics, 1-7
12. David C. Young (2001). Computational chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems, 1-20
13. D. Vuk, Ž. Marinić, K. Molčanov, B. Kojić-Prodić, M. Šindler-Kulyk, Photochemical and Thermal Transformations of Thiophene o-Distyrylbenzene Analogues in Acidic Media, Croat. Chem. Acta 85 (4) (2012) 425-434

14. V. Lovrinčević, D. Vuk, I. Škorić, I. Despotović, Mechanistic insights into the thermal transformations of heterocyclic o-distyrylbenzenes: An experimental and computational study, Royal Society of Chemistry (2023) 1-25
15. Znika, M. (2023). Sinteza, karakterizacija i termička transformacija novih stiril-heterocikla te kvantno kemijska studija mehanizma reakcije (Diplomski rad). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
16. Wang Zerong (2010). Vilsmeier formylation (Vilsmeier-Haack Reaction, Vilsmeier Reaction, Vilsmeier-Haack Formylation), 2872-2879
17. Rut Ideses and Arnon Shani (1989). THE WITTIG REACTION: COMMENTS ON THE MECHANISM AND APPLICATION AS A TOOL IN THE SYNTHESIS OF CONJUGATED DIENES, Vol.45: 3523-3534
18. Edmonds, Michael, Abell, Andrew, The Wittig Reaction, (2003). Modern Carbonyl Olefination, 1-17
19. Kolar J. (2022). Termičke transformacije novih tiofenskih o-distirilbenzena (Završni rad). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
20. Rusu A., Moga I., Uncu L., Hancu G., (2023). The Role of Five-Membered Heterocycles in the Molecular Structure o Antibacterial Drugs Used in Therapy, 15(11): 2554
21. Sulaiman M., Hassan Y., Taskin-Tok T., Noundu X., Synthesis, (2020). Antibacterial Activity and Docking Studies of Benzyl Alcohol Derivates, 7(2):481-488
22. Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S.K., (2015). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review, 6(2): 71-79