

Sinteza gvanidinskih derivata kinoksalina

Baćan Peškir, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2022

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:095498>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-23**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Matea Bačan Peškir

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Matea Bačan Peškir

SINTEZA GVANIDINSKIH DERIVATA KINOKSALINA

DIPLOMSKI RAD

Voditelji rada: prof. dr. sc. Irena Škorić
dr. sc. Davor Margetić

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Irena Škorić
doc. dr. sc. Dragana Vuk
dr. sc. Davor Margetić

Zagreb, rujan 2022.

Hvala dr. sc. Davoru Margetiću na prilici da u njegovom laboratoriju radim diplomski rad.

Hvala puno na prijateljskom odnosu, toplini, stručnom vodstvu i prenesenom znanju.

Hvala dr.sc. Anamariji Briš na pomoći tokom snimanja spektara i prenesenom znanju o instrumentima .

Hvala cijelom timu na pruženoj pomoći i savjetima te što ste mi pokazali da izrada jednog rada može biti zabavna.

Hvala Moniki i Leoni što smo dijelile studentske dane u laboratoriju.

Hvala prof. dr. sc. Ireni Škorić što je pristala biti moja mentorica, na prijateljskom odnosu, prenesenom znanju i pristupačnosti.

Hvala Grgi, Andreju, Jeleni, Kristini, Hanji, Heleni i Valentinu. Bez vas ovih 6 godina ne bi bilo isto. Hvala Amanades i Moniki na svakome ohrabrenju i toliko puta ponovljenom možeš ti to.

Hvala mojoj mami na vječnoj podršci i ljubavi tijekom mog školovanja.

Sažetak:

Cilj ovoga rada bio je dobiti spojeve **17**, **18**, **19**, **20** i **21** te ih spektroskopski karakterizirati. Također, na primjeru jednog niza reakcija uspoređena su iskorištenja reakcija provedenih klasičnim putem u otopini i onih provedenih mehanokemijski. Navedeni spojevi dobiveni su reakcijama kondenzacije, redukcije, gvaniliranja te deprotekcije. Kao početni spojevi koristili su se alkilirani nitroizatin odnosno izatin i odgovarajući diamin. Naknadno će u drugom laboratoriju biti ispitana njihova svojstva vezanja na DNA i RNA.

Ključne riječi: gvanidin, kinoksalin, indol, gvaniliranje, reakcije u otopini, mehanokemija

Summary:

Synthesis of guanidine derivatives of quinoxalines

The aim of this work was to obtain compounds **17**, **18**, **19**, **20** and **21** and characterize them spectroscopically. Also, on the example of a series of reactions, the efficiency of reactions carried out by the classical method in solution and those carried out mechanochemically were compared. Those compounds were obtained by condensation, reduction, guanylation and deprotection reactions. Alkylated nitroisatin or isatin and the corresponding diamine were used as starting compounds. At some point in the future their binding properties to DNA and RNA will be tested in another laboratory.

Key words: guanidine, quinoxaline, indole, guanylation, reactions in solution, mechanochemistry

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
2. LITERATURNI PREGLED	2
2.1. Gvanidini	2
2.1.1. Svojstva	2
2.1.2. Sinteza	4
2.1.2.1. Klasična sinteza	4
2.1.2.2. Katalitičke metode	4
2.1.3. Upotreba u medicini	5
2.2. Kinoksalini	6
2.2.1. Svojstva	6
2.2.2. Sinteza	6
2.2.3. Upotreba u medicini	7
2.3 Indoli	8
2.4. 6H-indolo[2,3-b]kinoksalini.....	8
2.5. Mehanokemija.....	10
3. EKSPERIMENTALNI DIO	12
3.1. Materijali i metode	12
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva.....	13
3.3. Polazni spojevi	14
3.3.1. 1-heksil-5-nitroizatin	14
3.3.2. 1-heksilizatin	15
3.4. Reakcije kondenzacije.....	15
3.4.1. 6-heksil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	15
3.4.2. 6-heksil-3-metil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	16
3.3.3. 6-heksil-3,9-dinitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	17
3.4.4. 6-heksil-3-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	18
3.5. Reakcije redukcije	19
3.5.1. 9-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	19
3.5.2. 9-amino-6-heksil-3-metil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	20

3.5.3. 3,9-diamino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	21
3.5.4. 3-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin i 2-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	22
3.6. Reakcije gvaniliranja.....	23
3.6.1. 9-(<i>N,N'</i> -di-Boc-gvanidil)-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	23
3.6.2. 9-(<i>N,N'</i> -di-Boc-gvanidil)-6-heksil-3-metil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	24
3.6.3. 3,9-di(<i>N,N'</i> -di-Boc-gvanidil)-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	25
3.6.4. 3-(<i>N,N'</i> -di-Boc-gvanidil)-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin.....	26
3.6.5. 2-(<i>N,N'</i> -di-Boc-gvanidil)-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin-	27
3.7. Reakcije deprotekcije	28
3.7.1. 9-gvanidil-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	28
3.7.2. 9-gvanidil-6-heksil-3-metil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	29
3.7.3. 3,9-bisgvanidil-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	29
3.7.4. 3-gvanidil-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	30
3.7.5. 2-gvanidil-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin	31
3.8. Mehanokemijske reakcije.....	32
3.8.1. Reakcije kondenzacije	32
3.8.1.1. Uz dodatak <i>p</i> -toluensulfonske kiseline	32
3.8.2.2. Bez dodatka kiseline	32
3.8.2. Reakcija redukcije	33
3.8.3. Reakcija gvaniliranja	33
3.8.4. Reakcija deprotekcije	34
4. REZULTATI I RASPRAVA	35
4.1. SINTEZA SPOJEVA	35
4.1.1. Općenita shema sinteze	35
4.1.2. Usporedba reakcija u otopini i reakcija u mlinu.....	38
4.2. SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA	40
4.2.1. NMR spektri	40
4.2.2. IR spektri	42
4.2.2.1. IR Spektri nitro spojeva	42
4.2.2.2. IR Spektri amino spojeva.....	43

4.2.2.3. IR Spektri zaštićenih gvanidina	44
4.2.2.4. IR Spektri gvanidina	45
4.3. Apsorpcijski spektri	46
4.3.1. Apsorpcijski spektri nitro spojeva	46
4.3.2. Apsorpcijski Spektri amino spojeva	48
4.3.3. Apsorpcijski spektri zaštićenih gvanidina	49
4.3.4. Apsorpcijski spektri gvanidina	51
4.4. Fluorescencijska spektrofotometrija	52
4.4.1. Emisijski spektri nitro spojeva	53
4.4.2. Emisijski spektri amino spojeva	54
4.4.3. Emisijski spektri zaštićenih gvanidina	56
4.4.4. Emisijski spektri gvanidina	57
5. ZAKLJUČAK	60
6. LITERATURNI IZVORI	61
7. PRILOZI	65
8. ŽIVOTOPIS	115

1. UVOD

Gvanidini su jedni od najzanimljivijih, najatraktivnijih i najsvestranijih molekula koje se koriste u organskoj kemiji. Upotreba varira od organskih reakcija gdje kao superbaze kataliziraju reakcije pa sve do medicinske kemije.⁽¹⁾ Još jedna vrsta spojeva koja se koristi u medicinskoj kemiji su kinoksalini. To su heterociklički spojevi koji su važni prilikom sinteze raznih biološki aktivnih spojeva.⁽²⁾

6H-indolo[2,3-b]kinoksalin objedinjuje kinoksaline i indole spomenute u radu. To je vrsta spojeva koja je važna za interkalaciju DNA. Oni se „umeću“ u spiralne zavoje molekule DNA. Takve molekule imaju mnoge bitne farmakološke aktivnosti.⁽³⁾

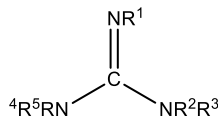
U zadnjih nekoliko desetljeća došlo je do sve većeg razvijanja zelene kemije čiji je cilj pretvaranje kemijskih reakcija u učinkovitiji i održiviji proces s visokim iskorištenjima i bez stvaranja nusprodukata. Reakcije se provode mehanokemijski, u čvrstom stanju i bez otapala.⁽⁴⁾

2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Gvanidini

Gvanidini su jake organske baze čija se fizikalno-kemijska svojstva opsežno proučavaju.⁽⁵⁾ Općenita struktura glasi $R^1N=C(NR^2R^3)(NR^4R^5)$ (slika 1) pri čemu R^1 - R^5 predstavljaju alkilne ili arilne supstituente te vodikove atome. U zadnje vrijeme posvećuje im se sve više pažnje zbog njihovih steričkih i elektroničkih svojstava koja se mogu lako prilagođavati.⁽⁶⁾

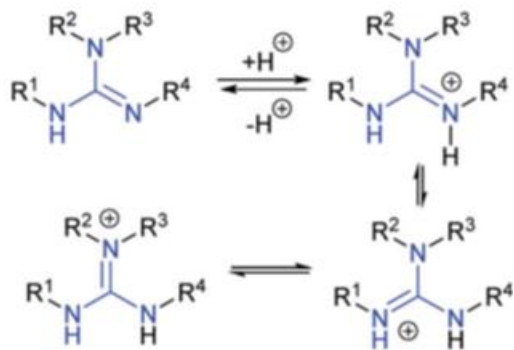
Gvanidin je prvi sintetizirao Strecker 1861. godine, a njegova kristalna struktura utvrđena je 2009. pomoću XRD-a.⁽⁷⁾ U posljednjih nekoliko desetljeća gvanidini kao i njihovi derivati javljaju se u mnogim područjima istraživačke kemije. Neka od njih su: znanost o materijalima, farmaceutska kemija te organokataliza, a koriste se i kao reagensi i pomoćna sredstva.⁽⁸⁾



SLIKA 1: Općenita struktura gvanidina ⁽⁶⁾

2.1.1. Svojstva

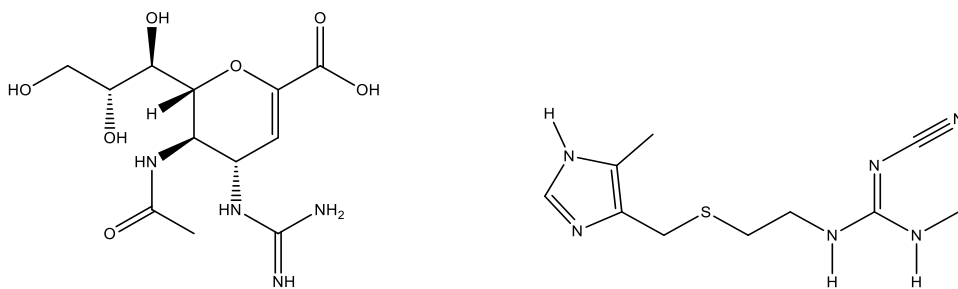
Najznačajnije svojstvo gvanidina je jaka bazičnost. Ona je rezultat formiranja konjugiranog planarnog sustava nakon protoniranja (slika 2) u kojem se pozitivni naboj delokalizira preko tri atoma dušika. Zbog svega navedenog gvanidinska funkcijska skupina se u širokom rasponu pH nalazi u svom kationskom obliku.



SLIKA 2: Rezonatne strukture gvanidina ⁽⁸⁾

Anionske vrste gvanidina su dobri ligandi za metalne komplekse. Jaka bazičnost gvanidina u kombinaciji s dobrim elektrostatskim interakcijama kao i mogućnosti stvaranja vodikovih veza njihovih konjugiranih kiselina s oksoionima i drugim vrstama dovela je do razvoja i korištenja kiralnih gvanidina kao enantioselektivnih organokatalizatora.⁽⁸⁾ Također, treba reći da su gvanidini općenito jače baze od ostalih dušikovitih spojeva kao što su piridini, amini, diamini i amidini.

Gvanidinska funkcijska skupina je bitan dio strukture mnogih molekula od biološke važnosti kao što su arginin, kreatin, razni fosfati i purini. Osim toga dio su mnogih prirodnih spojeva izoliranih iz kopnenih, morskih i slatkovodnih mikroorganizama kao i brojnih spojeva s izraženim farmakološkim i biološkim djelovanjem. Neki od derivata gvanidina su lijekovi koji se izrazito puno koriste. To su na primjer Zanamivir (antivirotik) te Cimetidin (gastrointestinalni lijek). Strukture lijekova prikazane su na slikama 3a i 3b.⁽¹⁾



SLIKA 3: Strukture Zanamivira (lijevo) ⁽¹⁾ i Cimetidina (desno) ⁽¹⁾

2.1.2. Sinteza

Postoji više načina za sintezu gvanidina. Jedan od njih je klasičan način gdje se koriste razni agensi za gvaniliranje. Ova metodologija najčešće se temelji na stehiometrijskim reakcijama. Novije pripreve koriste katalitičke metode.

2.1.2.1. Klasična sinteza

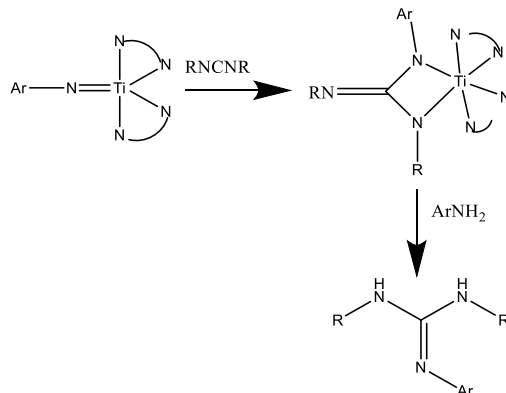
Gvanidinska jezgra može se dobiti kemijskom transformacijom tiouree, izotiouree, amidin sulfonske kiseline, cijanamida, karbodiimida te derivata karboksiamidina kao najznačajnijih reagensa. Najviše se koriste derivati pirazol-1-karboksiamidina, S-alkilizotiouree i derivati zaštićene tiouree. Svi oni zahtijevaju uvođenje zaštitne skupine na dušikovim atomima, najčešće Boc zaštitne skupine. Na taj način se izbjegavaju poteškoće prilikom sinteze te ne dolazi do problema s reaktivnošću i pročišćavanjem konačnog produkta.

Prednosti uporabe tiouronijevih soli (izvedenih iz tiouree) kao agensa za gvaniliranje su bolja iskorištenja, bolje oksidacijske reakcije te mogućnost provedbe reakcije u jednoj posudi. Iako se ova vrsta sinteze gvanidina često koristi, sinteza nije izravna. Potrebno je zasebno pripremiti svaki prekursor te to uključuje korištenje nepoželjnih toksičnih reagensa kao što su živine soli.

Pirazol karboksiamidini su razvijeni kao reagensi kako bi se izbjeglo korištenje toksičnih metala. Međutim, problem kod ove metode su mala iskorištenja te potreba da se provede više sintetskih koraka sa skupim reagensima.⁽¹⁾

2.1.2.2. Katalitičke metode

Više katalitičkih procesa je opisano u literaturi, a prva katalitička sinteza gvanidina iz aromatskih amina provedena je 2003. godine te su je opisali Richeson i sur. U ovoj reakciji koriste se imido-titan(IV) kompleksi koji nose gvanidirane ligande. Oni su prekursori katalitičkog intermedijera nakon [2+2]-adicije karbodiimida. Dolazi do prijenosa protona s aromatskih amina na dianionski gvanidirani ligand. On daje gvanidin te transformira kompleks kako bi se završio katalitički ciklus (shema 1). Prilikom ispitivanja dobivena su dobra iskorištenja za različite supstituirane aniline.⁽⁹⁾



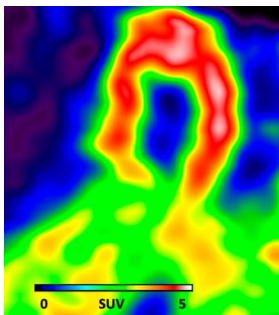
HEMA 1: Katalitički način sinteze gvanidina ⁽⁹⁾

2.1.3. Upotreba u medicini

Mnogi spojevi koji sadrže gvanidinsku skupinu imaju praktičnu primjenu u različitim područjima kemije (koordinacijska kemija, organokataliza). Međutim, gvanidinska skupina nalazi se i u mnogim prirodnim proizvodima, lijekovima te sastojcima kozmetičkih proizvoda. Iz tog razloga, vrlo je važno znanje o njihovoj biološkoj aktivnosti i terapijskoj upotrebi te mogućnosti korištenja u raznim procesima, na primjer procesima dizajniranja lijekova.⁽¹⁰⁾ Također, složena struktura prirodnih gvanidina nadahnula je razvoj mnogih novih metoda sinteze.⁽¹¹⁾

U zadnje vrijeme dogodio se veliki porast novootkrivenih struktura s gvanidinskom jezgrom, a te strukture pogodne su za razvoj potencijalnih lijekova koji imaju protuupalna sredstva, lijekova koji djeluju na središnji živčani sustav, antidiijabetika te kemoterapeutika kao i kozmetike.⁽¹⁰⁾

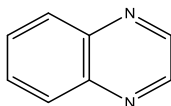
Uz sve navedeno, koriste se i u nuklearnoj medicini, za dijagnostiku (PET scan) te u radioterapeuticima. Primjer je PET scan srca koji je prikazan na slici 4.⁽¹¹⁾



SLIKA 4: PET scan srca ⁽¹¹⁾

2.2. Kinoksalini

Kinoksalini su heterociklički spojevi koji sadrže dva atoma dušika. Strukturu predstavljaju fuzionirani benzenski i pirazinski prsten (slika 5), a formula spoja glasi $C_8H_6N_2$.⁽¹²⁾ Koriste se u proizvodnji herbicida, insekticida i pesticida kao i u materijalima za proizvodnju visoko učinkovitih dioda i solarnih ćelija.⁽¹²⁾



SLIKA 5: Struktura kinoksalina ⁽¹²⁾

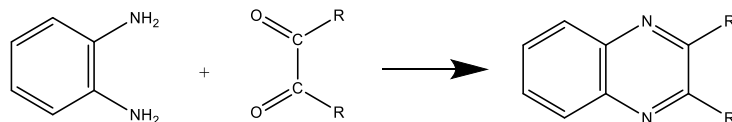
2.2.1. Svojstva

Kinoksalini su krutine niskog tališta. Slabe su baze te mogu stvarati soli s kiselinama. Isto tako, mogu se miješati s vodom.⁽¹²⁾

Ovi farmakološki važni spojevi imaju razne biološke aktivnosti. Na primjer, antifungalne, antibakterijske, antikancerogene, protuupalne. Zbog toga je kinoksalinska jezgra vrlo zanimljiva u istraživanjima u području medicinske kemije.⁽¹²⁾

2.2.2. Sinteza

Sinteza kinoksalina prilično je opsežno proučavana u posljednja dva desetljeća. Jedna od osnovnih, ali vrlo učinkovitih metoda je reakcija kondenzacije *ortho*-fenilendiamina i 1,2-dikarbonilnih spojeva (shema 2). Za ovaj postupak potrebne su visoke temperature, jake kiseline kao katalizatori te dugo zagrijavanje.⁽¹²⁾



SHEMA 2: Reakcija kondenzacije *ortho*-fenilendiamina i dikarbonila ⁽¹²⁾

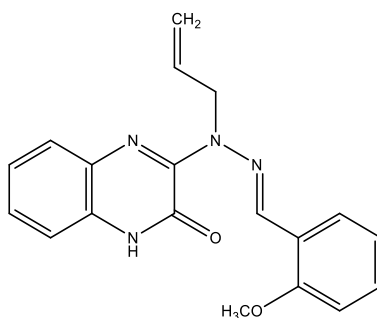
Također su kao metode sinteze moguće i ciklizacijska oksidacija fenacil-bromida, oksidativno spajanje epoksida s en-1,2-diaminima.⁽¹³⁾

Međutim, u zadnje vrijeme je došlo do razvijanja zelenih metoda za sintezu kinoksalina. Koriste se katalizatori koji se mogu reciklirati, sinteza u jednoj posudi, sinteza potpomognuta mikrovalovima te reakcije u vodenom mediju.⁽¹²⁾

2.2.3. Upotreba u medicini

Kao što je već navedeno postoji više upotreba kinoksalina u medicini. Ukratko će u nastavku biti opisana antitumorska aktivnost kinoksalina.

Antiproliferativni citotoksini selektivno ubijaju stanice koje se brzo dijele te se stoga koriste u medicini kao lijekovi protiv raka. Razni spojevi na bazi kinoksalina pokazali su potencijalno djelovanje protiv raka inhibicijom različitih bioloških meta. Jedan od njih je i spoj prikazan na slici 6, N-alkilirani derivat kinoksalin, koji pokazuje kemopreventivna svojstva.

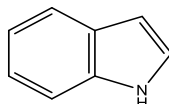


SLIKA 6: N-alkilirani derivat kinoksalina ⁽¹²⁾

Isto tako, za liječenje raka koristi se i ciljane terapija. Ona omogućava korištenje relativno visoke doze lijeka bez djelovanja na ostala tkiva. Ciljane terapije osmišljene su da utječu na stanične proteine ili procese koje provode stanice raka. I u ovoj vrsti terapije moguća je upotreba kinoksalina te se raspravlja o ciljevima djelovanja kinoksalinskih molekula.⁽¹²⁾

2.3 Indoli

Indol (slika 7) i njegovi derivati vjerojatno su najprisutniji heterocikli u prirodi. Zbog svoje velike strukturne raznolikosti biološki aktivni indoli postali su važna strukturna komponenta u mnogim farmaceutskim sredstvima.⁽¹⁴⁾ Također je značajno korištenje za agrokemikalije, pigmente te u znanosti o materijalima.⁽¹⁵⁾



SLIKA 7: Struktura indola ⁽¹⁴⁾

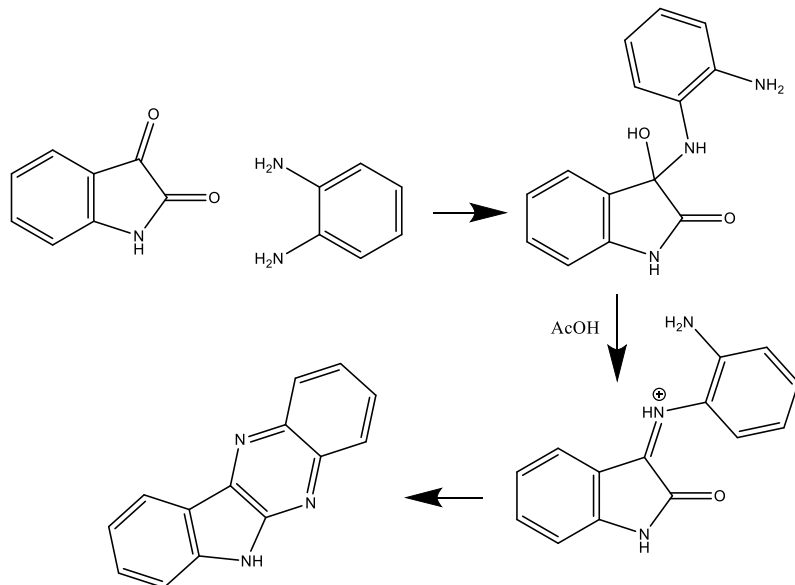
Kod indola je položaj 3 nukleofilan te se može uključiti u elektrofilne aromatske supstitucije. One podrazumijevaju bromiranje, nitriranje, alkiliranje, aciliranje te Michaelovu adiciju. Indoli su, također, podložni velikom broju oksidacija. Međutim, njih može biti teško kontrolirati.⁽¹⁶⁾

Zanimanje za kemiju indola posebno je došlo do izražaja 1950-ih godina kada je alkaloid rezerpin uveden kao jedan od prvih lijekova za bolesti središnjeg živčanog sustava (anksioznost, mentalni poremećaji). Nakon toga je značaj alkaloida proširen i na antitumorsko djelovanje (vinkristin), koji ima protuupalno, umirujuće te antihipertenzivno djelovanje. Iako se sva navedena područja još uvijek istražuju, najvažnija primjena indolnih farmakofora je u lijekovima koji liječe bolesti središnjeg živčanog sustava te u onima koji djeluju protuupalno.⁽¹⁴⁾

2.4. 6H-indolo[2,3-b]kinoksalini

6H-indolo[2,3-b]kinoksalini su planarni heterociklički spojevi nastali kondenzacijskom reakcijom. Pokazuju široku paletu farmakoloških aktivnosti. Mehanizam farmakološkog djelovanja najčešće podrazumijeva interkalaciju kinoksalina u DNA. Toplinska stabilnost kompleksa koji nastaje interkaliranjem važan je parametar za objašnjavanje antikancerogenih, antivirusnih i sličnih svojstava, a ovisi o vrsti supstituenata vezanih na kinoksalinsku jezgru. Što je veća masa supstituenata, to je bolja toplinska stabilnost.

Prvi derivat ove vrste bio je pripremljen 1895. godine kondenzacijom *ortho*-fenilendiamina s izatinom u ledenoj octenoj kiselini pri temperaturi refluksa (shema 3).



SHEMA 3: Sinteza 6H-indolo[2,3-b]kinoksalina ⁽³⁾

6H-indolo[2,3-b]kinoksalin je spoj prstenaste strukture, a sastoji se od dva heterociklička prstena (indol i kinoksalin). Planarna struktura ovog spoja pomaže kod interkalacije DNA, a DNA je odgovorna za razne biološke aktivnosti.

Amini nastali iz ovakve vrste spojeva pokazuju fluorescentno svojstvo, a kao kromofor dominira 6H-indolo[2,3-b]kinoksalinski kromofor.

Derivati ove vrste spojeva dokazano štite DNA u početnoj fazi karcinogeneze, a također i sprječavaju oksidacijski stres kod mnogih bolesti povezanih sa slobodnim radikalima. Tako su Bergman i sur. izvijestili o više alkil-supstituiranih indolokinoksalina koji se mogu koristiti za prevenciju i/ili liječenje autoimunih bolesti kao što su reumatoidni artritis i multipla skleroza. ⁽³⁾

6H-indolo[2,3-b]kinoksalini i njihovi derivati izazivaju citotoksičan učinak djelovanjem na DNA. Kao što je već spomenuto priroda supstituenata i/ili bočnih lanaca određuje stabilnost kompleksa lijek-DNA. Navedeno zatim utječe na stupanj farmakološkog odgovora. Istraživanja su pokazala da su najbolji supstituenti alkilne ili heteroaromske amino-skupine, dok halogeni supstituenti smanjuju citotoksičnost. ⁽³⁾

Uz navedenu citotoksičnost, ova vrsta spojeva ima i antivirusnu aktivnost ⁽¹⁷⁾, a neki od spojeva pokazuju i dobar učinak protiv autoimunih upalnih bolesti (npr. reumatoidni artritis). ⁽³⁾

2.5. Mehanokemija

Mehanokemija je grana kemije koju karakterizira primjena mehaničke energije, što zatim dovodi do raznih kemijskih transformacija.⁽¹⁸⁾ S druge strane, mehanokemijske reakcije mogu se definirati kao one koje su pokrenute izravnom apsorpcijom mehaničke energije, koja nastaje procesima brušenja ili mljevenja.

Mehanokemija ima posebno značenje u kontekstu zelene kemije zato što omogućava provođenje reakcije u uvjetima bez otapala.⁽¹⁹⁾ Zelena kemija ima za cilj kemijske reakcije pretvoriti u učinkovitiji i održiviji proces s visokim iskorištenjima i bez stvaranja nusprodukata.⁽⁴⁾

Organska otapala čine glavninu otpada u sintetičkoj kemiji, kako u laboratorijima tako i u industriji. Kod ovakvog načina provođenja reakcije fenomen solvatacije nije relevantan. Također, zbog odsutnosti otapala koncentracije reaktanata su vrlo visoke. Sve navedeno vodi do većih iskorištenja i veće brzine reakcije.⁽¹⁹⁾

Mnogi primjeri pokazuju da mehanokemijski pristup sintezi poboljšava poznate obrasce reaktivnosti te omogućava razvoj postojećih i otkrića novih reakcija u uvjetima mljevenja. Eliminirana je potreba za viškom reagensa, a pojednostavljena je i procedura izolacije produkta.⁽⁴⁾

Povijesno gledano, može se reći da su prve mehanokemijske reakcije bile one provođene u tarioniku, u kojemu su se reaktanti mljeli u tarioniku. Ovakve reakcije ne zahtijevaju posebnu opremu i moguće ih je provesti u bilo kojem laboratoriju. Međutim, to nije praktično u slučaju duljih vremena reakcije, a reakcija ovisi i o fizičkoj snazi osobe koja ju provodi.

Nedavno su se za sintezu na laboratorijskoj razini počeli koristiti automatizirani mlinovi s kuglicama (slika 8). Ovakvi instrumenti omogućavaju kontrolu unosa energije podešavanjem frekvencije mljevenja, a uz to su i reakcije sigurnije. Naime, one se provode u zatvorenim posudama te osoba koja ih provodi nije izložena mogućem štetnom djelovanju reaktanata, katalizatora ili produkta.⁽¹⁹⁾



SLIKA 8: Automatizirani uređaj za mljevenje ⁽¹⁹⁾

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali i metode

Otapala i kemikalije:

Korištene su kemikalije dostupne u laboratoriju. Diklormetan i petroleter su destilirani prije korištenja.

Tankoslojna kromatografija:

Tankoslojna kromatografija rađena je na pločicama silikagela, a za razvijanje je korišten odgovarajući sustav otapala. Za detekciju je korištena UV lampa pri odgovarajućim valnim duljinama.

Čišćenje uzoraka:

Čišćenje uzoraka provedeno je pomoću radijalne kromatografije (kromatotrona) te kolonske kromatografije. Kolonska kromatografija rađena je na stupcu silikagela. Kao eluensi su korišteni odgovarajući sustavi otapala. Nuklearna magnetska rezonancija (NMR):

NMR spektri snimljeni su na spektrometrima Bruker Avance 600 MHz i 300 MHz. Spektri su snimljeni u deuteriranim otapalima, dimetilsulfoksidu (DMSO) ili kloroformu (CDCl_3).

IR spektri:

IR spektri snimani su na PerkinElmer UATR Spectrum Two spektrometru.

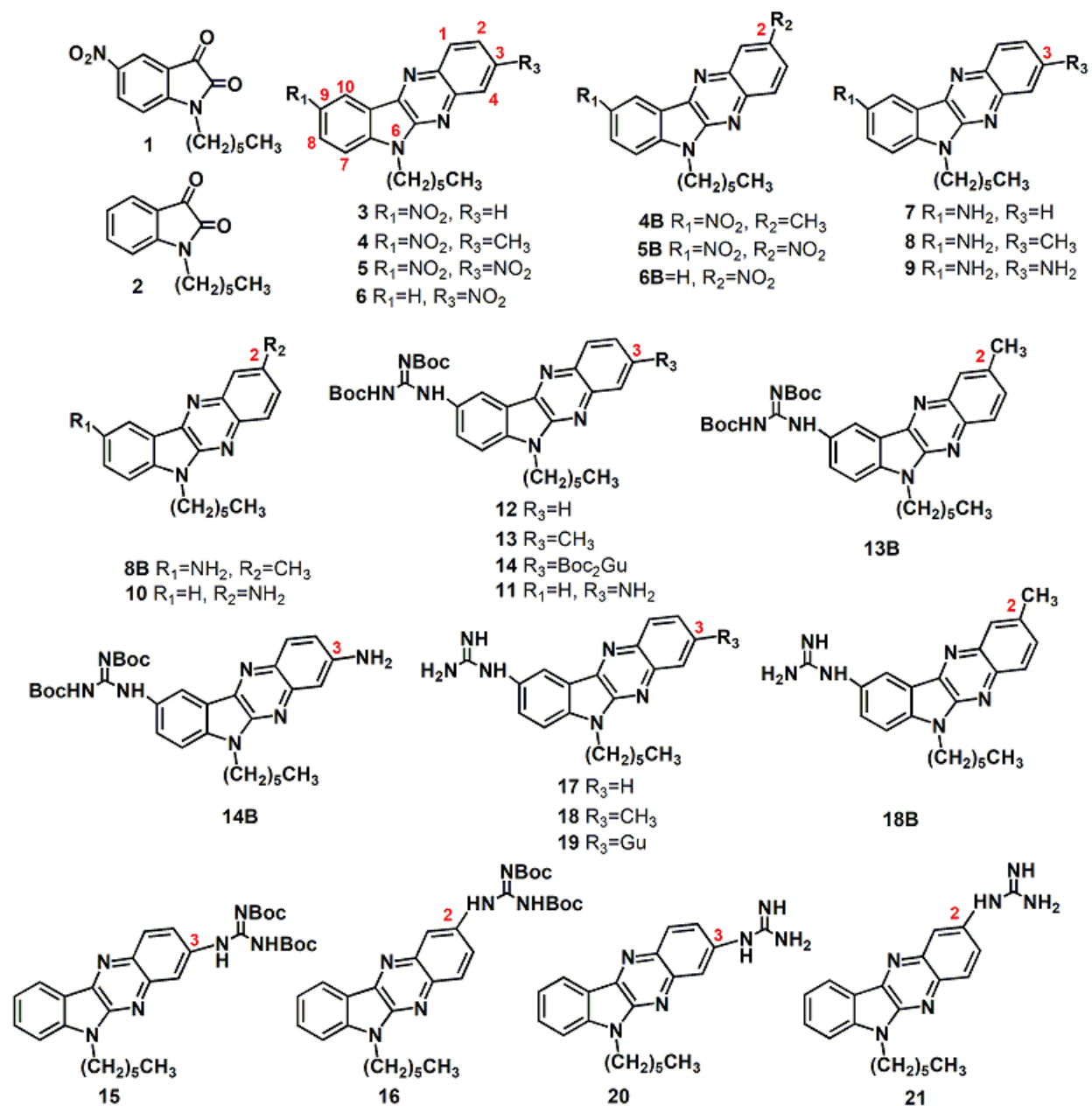
UV spektri:

Apsorpcijski spektri snimani su na spektrofotometru Varian Cary 100 Bio. Koncentracije uzoraka bile su 10^{-5} M u acetonitrilu.

Emisijski spektri:

Emisijski spektri su snimani na spektrofotometru Fluorimetar Agilent Eclipse. Koncentracije uzoraka bile su 10^{-5} M u acetonitrilu.

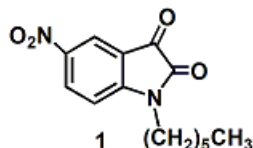
3.2. Pregled sintetiziranih spojeva



3.3. Polazni spojevi

U provedenim reakcijama kao polazni spojevi su korišteni komercijalno dostupni 3,4-diaminotoluen, *ortho*-fenilendiamin, 4-nitro-*ortho*-fenilendiamin, izatin i 5-nitroizatin.

3.3.1. 1-heksil-5-nitroizatin



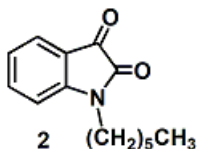
U tikvicu je stavljen 5-nitroizatin (390 mg, 2 mmol) i suhi DMF (10 mL). Reakcija je miješana na 0 °C u ledenoj kupelji te je dodan NaH (96 mg, 2 mmol). Nakon nekoliko minuta ledena kupelj je uklonjena te je reakcijska smjesa miješana 1 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga je tikvica ponovno stavljena u ledenu kupelj i dodan je heksil jodid (300 µL, 2 mmol). Nakon nekoliko minuta ledena kupelj je uklonjena te je reakcija miješana 24 h na sobnoj temperaturi.

Nakon 24 h reakcija je zaustavljena dodatkom hladne vode (10 mL) i ekstrahirana s etil acetatom (15 mL). Organski sloj je odvojen i ispiran s vodom (2x5 mL) i koncentriranom otopinom natrijeva klorida (5 mL). Nakon toga je organski sloj uparen na rotacijskom uparivaču. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela, a kao eluens je korišten diklormetan. Produkt je dobiven kao žuta krutina (387 mg, iskorištenje 68,98%).

^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 8.54 (dd, $J=9.1, 2.5$ Hz, 1H, Ar), 8.45 (d, $J=2.5$ Hz, 1H, Ar), 7.09 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, Ar), 3.82 (t, $J=7.9$ Hz, 2H, NCH₂), 1.75-1.67 (m, 2H, CH₂), 1.43-1.29 (m, 6H, CH₂), 0.89 (t, $J=6.6$ Hz, 3H, CH₃).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2928 (C-H), 1747 (C=C), 1610 (C=O), 1325 (C-N)

3.3.2. 1-heksilizatin



U tikvicu je stavljen izatin (390 mg, 2 mmol) i suhi DMF (10 mL). Tikvica je stavljena u ledenu kupelj i dodan je NaH (96 mg, 2 mmol). Nakon nekoliko minuta ledena kupelj je uklonjena, a reakcijska smjesa je miješana 1 h na sobnoj temperaturi. Zatim je tikvica ponovno stavljena u ledenu kupelj te je dodan heksil-jodid (300 μ L, 2 mmol). Ledena kupelj je nakon toga uklonjena, a reakcijska smjesa je miješana 24 h na sobnoj temperaturi.

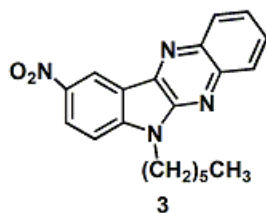
Nakon 24 h reakcija je zaustavljena dodatkom hladne vode (10 mL) i ekstrahirana s etil acetatom (15 mL). Organski sloj je odvojen i ispran vodom (2x5 mL) i koncentriranom otopinom natrijeva klorida (5 mL). Organski sloj je uparen na rotacijskom uparivaču. Dobiveni produkt je pročišćen kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela, a kao eluens je korišten diklormetan. Produkt je dobiven kao narančasta krutina (350 mg, iskorištenje 75,66%).

¹H NMR (CDCl₃), δ /ppm: 7.64-7.55 (m, 2H, Ar), 7.11 (t, $J=7.6$ Hz, 1H, Ar), 6.91 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, Ar), 3.72 (t, $J=7.5$ Hz, 2H, NCH₂), 1.75-1.65 (m, 2H, CH₂), 1.41-1.29 (m, 6H, CH₂), 0.89 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, CH₃).

FTIR-ATR ν_{\max} /cm⁻¹: 2925 (C-H), 1728 (C=C), 1469 (N=O)

3.4. Reakcije kondenzacije

3.4.1. 6-heksil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu su stavljeni 1-heksil-5-nitroizatin (100 mg, 0,3619 mmol) i *ortho*-fenilendiamin (40 mg, 0,3619 mmol). Dodana je ledena octena kiselina (5 mL) te je reakcija miješana na temperaturi

refluksa 2.5 h. Nakon toga reakcijska smjesa je izlivena na led te je potom produkt ekstrahiran diklormetanom. Produkt je zatim uparen na rotacijskom uparivaču i pročišćen kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela. Kao eluens je korištena 4%-tna otopina acetona u diklormetanu. Produkt **3** je dobiven kao svjetlo žuta krutina (92 mg, iskorištenje 73,02%).

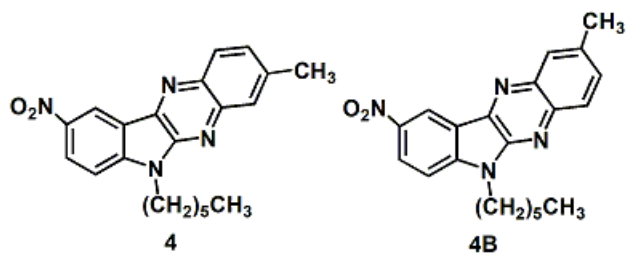
$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 9.12 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar), 8.63 (dd, $J=9.1, 2.4$ Hz, 1H, Ar), 8.33 (dd, $J=8.4, 1.3$ Hz, 1H, Ar), 8.18 (dd, $J=8.4, 1.3$ Hz, 1H, Ar), 8.04 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, Ar), 7.92 (ddd, $J=8.2, 6.7, 1.2$ Hz, 1H, Ar), 7.83 (ddd, $J=8.2, 6.7, 1.2$ Hz, 1H, Ar), 4.58 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, NCH_2), 1.93-1.88 (m, 2H, CH_2), 1.38-1.29 (m, 4H, CH_2), 1.27-1.21 (m, 2H, CH_2), 0.81 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, CH_3).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3), δ/ppm : 9.34 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, Ar), 8.56 (dd, $J=8.8, 2.3$ Hz, 1H, Ar), 8.30 (dd, $J=8.6, 1.3$ Hz, 1H, Ar), 8.15 (dd, $J=8.6, 1.1$ Hz, 1H, Ar), 7.82 (ddd, $J=7.8, 6.6, 1.5$ Hz, 1H, Ar), 7.74 (ddd, $J=7.8, 6.6, 1.5$ Hz, 1H, Ar), 7.50 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, Ar), 4.52 (t, $J=6.0$ Hz, 2H, NCH_2), 2.02-1.92 (m, 2H, CH_2), 1.44-1.26 (m, 6H, CH_2), 0.87 (t, $J=6.8$ Hz, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$), δ/ppm : 152.8, 151.4, 146.5, 145.6, 144.4, 144.0, 135.3, 134.6, 133.1, 132.5, 131.6, 123.8, 123.1, 116.3, 46.8 (NCH_2), 36.0 (CH_2), 33.1 (CH_2), 31.1 (CH_2), 27.2 (CH_2), 19.1 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2935 (C-H), 1464 (N=O), 1325 (C-N)

3.4.2. 6-heksil-3-metil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu su stavljeni 1-heksil-5-nitroizatin (300 mg, 1,0858 mmol) i 3,4-diaminotoluen (133 mg, 1,0858 mmol). Dodana je ledena octena kiselina (10 mL) te je reakcija miješana 2.5 h na temperaturi refluksa. Reakcijska smjesa je nakon toga izlivena na led, a produkt je ekstrahiran diklormetanom i uparen na rotacijskom uparivaču. Na kraju je produkt pročišćen kolonskom

kromatografijom, a kao eluens je korištena 4%-tna otopina acetona u diklormetanu. Produkt **4** je dobiven kao žuto-narančasta krutina kao smjesa dva izomera **4** i **4B** u 1:1 omjeru (153 mg, iskorištenje 38,83%).

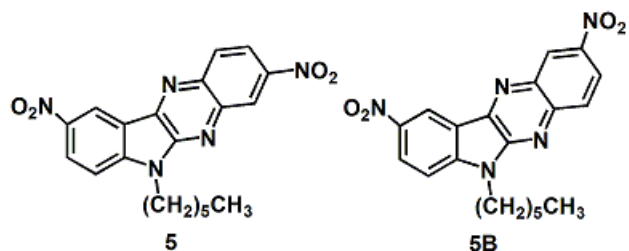
Signali drugog izomera su označeni crveno

^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 9.32 (dd, $J=3.8, 2.6$ Hz, 1H, Ar), 8.54 (td, $J=8.9, 1.9$ Hz, 1H, Ar), 8.11 (dd, $J=41.1, 8.7$ Hz, 1H, Ar), 7.98 (d, $J=41.7$ Hz, 1H, Ar), 8.18 (d, $J=8.7$ Hz, **0.5H**, Ar), 8.06 (s, **0.5H**, Ar), 8.04 (d, $J=8.7$ Hz, **0.5H**, Ar), 7.92 (s, **0.5H**, Ar), 7.64 (dd, $J=8.7, 1.7$ Hz, 1H, Ar), 7.57 (dd, $J=8.7, 1.7$ Hz, 1H, Ar), 4.51 (t, $J=7.1$ Hz, 2H, NCH_2), 2.64 (s, 3H, CH_3), 2.01-1.91 (m, 2H, CH_2), 1.45-1.26 (m, 6H, CH_2), 0.87 (t, $J=6.6$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 147.9, 146.9, 146.4, 146.0, 141.8, 141.7, 141.1, 140.6, 139.9, 139.3, 138.6, 138.4, 137.9, 137.4, 132.2, 129.5, 129.1, 127.6, 127.1, 125.9, 125.7, 119.5, 119.4, 119.0, 118.8, 109.2, 109.1, 41.9 (NCH_2), 31.40 **31.39** (CH_2), 28.49 **28.48** (CH_2), 26.7 (CH_2), 22.5 (CH_3), 21.9, **21.7** (CH_2), 13.9 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2933 (C-H), 1464 (N=O), 1327 (C-N)

3.3.3. 6-heksil-3,9-dinitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu su stavljani 1-heksil-5-nitroizatin (273 mg, 0,9880 mmol) i 4-nitro-*ortho*-fenilendiamin (151 mg, 0,9880 mmol). Dodana je octena kiselina (7 mL) te je reakcija miješana na temperaturi refluksa 2.5 h. Reakcijska smjesa je zatim izlivena na led, a organski dio ekstrahiran diklormetanom. Organski sloj je uparen na rotacijskom uparivaču te je produkt pročišćen pomoću kolonske kromatografije. Kao eluens je korišten čisti diklormetan. Smjesa regioizomernih produkata **5** i **5B** (u omjeru 1:0.8) je dobivena kao žuto-smeđa krutina (167 mg, iskorištenje 43,04%).

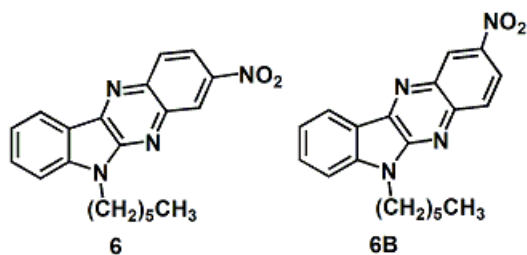
Crveno su označeni signali od manjinskog izomera

^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 9.38 (d, $J=2.2$ Hz, 1H, Ar), 9.35 (d, $J=2.2$ Hz, 0.8H, Ar), 9.20 (d, $J=2.6$ Hz, 0.8H, Ar), 9.08 (d, $J=2.6$ Hz, 1H, Ar), 8.68 (dd, $J=3.9, 2.2$ Hz, 0.8H, Ar), 8.65 (dd, $J=3.9, 2.2$ Hz, 1H, Ar), 8.60-8.42 (m, 6H, Ar), 7.62 (s, 1H, Ar), 7.59 (s, 1H, Ar), 4.57 (t, $J=7.5$ Hz, 4H, NCH_2), 2.06-1.95 (m, 4H, CH_2), 1.49-1.28 (m, 12H, CH_2), 0.88 (t, $J=6.7$ Hz, 6H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 148.3, 147.9, 147.6, 147.5, 145.6, 143.9, 142.6, 142.4, 142.1, 141.7, 141.3, 139.8, 138.1, 131.1, 129.4, 127.6, 127.3, 126.2, 124.6, 123.1, 120.4, 119.9, 119.7, 119.0, 118.9, 110.0, 109.9, 42.4 42.3 (NCH_2), 31.4 31.3 (CH_2), 28.5 28.4 (CH_2), 26.7 26.6 (CH_2), 22.5 (CH_2), 13.9 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2928 (C-H), 1615 (C=C), 1499 (N=O), 1331 (C-N)

3.4.4. 6-heksil-3-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu su stavljeni 1-heksilizatin (688 mg, 2,9745 mmol) i 4-nitro-*ortho*-fenilendiamin (456 mg, 2,9745 mmol). Dodana je ledena octena kiselina (23 mL) te je reakcijska smjesa miješana 2.5 h na temperaturi refluksa. Zatim je reakcijska smjesa izlivena na led, a produkt ekstrahiran diklormetanom. Organski sloj je uparen na rotacijskom uparivaču, a zatim je pročišćen kolonskom kromatografijom. Kao eluens je korištena 2%-tna otopina acetona u diklormetanu. Smjesa dva izomerna produkta **6B** i **6** (u omjeru 0.6:1) je dobivena kao žuto-narančasta krutina (800 mg, iskorištenje 79,76%).

Crveno su označeni signali od manjinskog izomera **6B**

^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 9.03 (d, $J=2.6$ Hz, 0.6H, Ar), 8.86 (d, $J=2.6$ Hz, 1H, Ar), 8.38 (dd, $J=9.5, 2.8$ Hz, 0.6H, Ar), 8.36 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, Ar), 8.35 (d, $J=7.7$ Hz, 0.6H, Ar), 7.71 (dd, $J=9.3, 2.6$ Hz, 1H, Ar), 8.24 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, Ar), 8.06 (d, $J=9.3$ Hz, 0.6H, Ar), 7.73 (d, $J=8.1$ Hz, 0.6H,

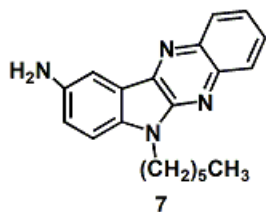
Ar), 7.69 (d, $J=8.1$ Hz, 0.6H, Ar), 7.44 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, Ar), 7.39 (d, $J=7.1$ Hz, 1H, Ar), 7.36 (d, $J=7.1$ Hz, 1H, Ar), 4.40 (t, $J=7.4$ Hz, 2H+1.2H, NCH₂), 1.95-1.91 (m, 2H+1.2H, CH₂), 1.44-1.34 (m, 4H+2.4H, CH₂), 1.33-1.27 (m, 2H+1.2H, CH₂), 0.87 (t, $J=6.8$ Hz, 3H+1.8H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ /ppm: 146.6, 146.3, 146.1, 145.3, 144.8, 144.5, 143.7, 142.4, 142.1, 141.5, 139.2, 137.1, 132.5, 132.1, 130.3, 128.6, 125.8, 124.1, 123.4, 123.2, 121.9, 121.8, 121.5, 119.0, 118.8, 118.7, 109.9, 109.8, 41.7 (NCH₂), 31.4 (CH₂ 2 signals), 28.3 (CH₂ 2 signals), 26.7 (CH₂ 2 signals), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃).

FTIR-ATR ν_{\max} /cm⁻¹: 2926 (C-H), 1505 (N=O), 1339 (C-N)

3.5. Reakcije redukcije

3.5.1. 9-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



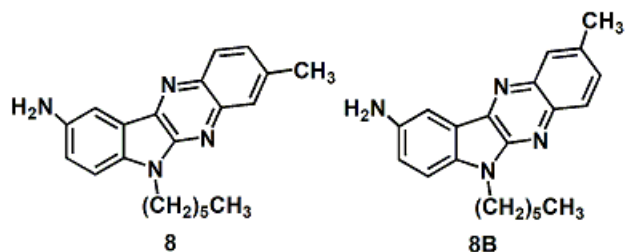
U tikvicu je stavljen prethodno sintetiziran 6-heksil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin (65 mg, 0,1866 mmol). Dodan je 10% paladij na aktivnom ugljenu (26 mg) i etanol (7 mL). Sustav je grijan pomoću uljne kupelji te je na početku refluksa dodan hidrazin monohidrat (8 kapi, 0.40 mL). Sustav je miješan 2 h na temperaturi refluksa. Nakon toga je vruća smjesa filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Filtrat je ostavljen preko noći u digestoru. Drugi dan je smjesa ponovno filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Ostaci aktivnog ugljena uklonjeni su filtracijom kroz Celite 545. Produkt je dobiven kao narančasta krutina (25 mg, iskorištenje 41,67%).

¹H NMR (CDCl₃), δ /ppm: 8.26 (dd, $J=8.4$, 1.1 Hz, 1H, Ar), 8.11 (dd, $J=8.4$, 1.1 Hz, 1H, Ar), 7.81 (d, $J=2.2$ Hz, 1H, Ar), 7.72 (ddd, $J=8.4$, 6.9, 1.4 Hz, 1H, Ar), 7.63 (ddd, $J=8.8$, 7.7, 1.4 Hz, 1H, Ar), 7.29 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 7.11 (dd, $J=8.8$, 2.4 Hz, 1H, Ar), 4.42 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, NCH₂), 3.76 (brs, 2H, NH₂), 1.97-1.87 (m, 2H, CH₂), 1.43-1.26 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 145.9, 140.7, 140.6, 139.9, 138.9, 138.3, 129.3, 128.5, 127.7, 125.5, 120.2, 119.8, 110.2, 108.2, 41.5 (NCH_2), 31.5 (CH_2), 28.5 (CH_2), 26.7 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.0 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3318 (N-H), 2920 (C-H), 1494 (C-N)

3.5.2. 9-amino-6-heksil-3-metil-6Hindolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirana smjesa 2-metil- i 6-heksil-3-metil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalina **4B** i **4** (65 mg, 0,1793 mmol). Dodan je 10% paladij na aktivnom ugljenu (26 mg) i etanol (7 mL). Sustav je grijan pomoću uljne kupelji te je na početku refluksa dodan hidrazin monohidrat (8 kapi, 0.40 mL). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na temperaturi refluksa. Nakon toga je vruća smjesa filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Filtrat je ostavljen preko noći u digestoru. Drugi dan je smjesa ponovno filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Ostaci aktivnog ugljena uklonjeni su filtracijom kroz Celite 545. Produkt je pročišćen radijalnom kromatografijom. Kao eluens je korišten čisti aceton. Smjesa regioizomernih produkata **8** i **8B** (u omjeru 1:1) sje dobivena kao rozo-crvena krutina (44 mg, iskorištenje 74,58%).

Crveno su označeni signali od drugog izomera

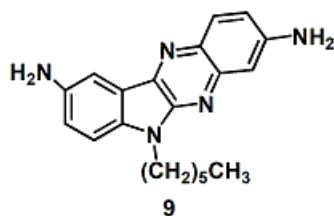
^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 8.12 (d, $J=9.0$ Hz, **0.5H**, Ar), 8.02 (s, **0.5H**, Ar), 7.98 (d, $J=837$ Hz, **0.5H**, Ar), 7.87 (s, **0.5H**, Ar), 7.77 (t, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar), 7.55 (dd, $J=8.5, 1.7$ Hz, **0.5H**, Ar), 7.45 (dd, $J=8.5, 1.7$ Hz, **0.5H**, Ar), 7.25 (d, $J=7.4$ Hz, 1H, Ar), 7.07 (t, $J=2.4$ Hz, **0.5H**, Ar), 7.05 (t, $J=2.4$ Hz, **0.5H**, Ar), 4.38 (t, $J=7.6$ Hz, 2H, NCH_2), 3.65 (brs, 2H, NH_2), 2.60 (s, 3H, CH_3), 1.94-1.85 (m, 2H, CH_2), 1.40-1.23 (m, 6H, CH_2), 0.84 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 145.9, 145.7, 140.8, 140.6, 140.5, 139.7, 139.2, 139.0, 138.95, 138.9, 138.2, 138.0, 137.3, 135.4, 130.8, 128.8, 128.2, 127.7, 127.2, 126.7, 120.3, 120.2, 119.7, 119.4,

110.1, 108.1, 108.0, 41.4 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.51 **28.50** (CH₂), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₃), 21.9, **21.6** (CH₂), 14.0 (CH₃).

FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3321 (N-H), 2924 (C-H), 1492 (C-N)

3.5.3. 3,9-diamino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



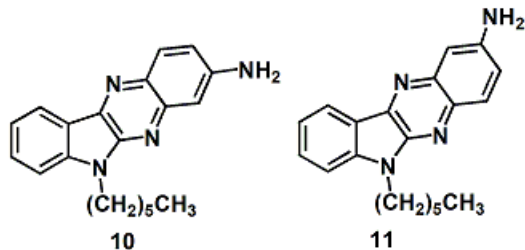
U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirana smjesa 2,9-dinitro- i 6-heksil-3,9-dinitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalina **5B** i **5** (65 mg, 0,1652 mmol). Dodan je 10% paladij na aktivnom ugljenu (26 mg) i etanol (7 mL). Sustav je grijan pomoću uljne kupelji te je na početku refluksa dodan hidrazin monohidrat (8 kapi, 0.40 mL). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na temperaturi refluksa. Nakon toga je vruća smjesa filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Filtrat je ostavljen preko noći u digestoru. Drugi dan je smjesa ponovno filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Ostaci aktivnog ugljena uklonjeni su filtracijom kroz Celite 545. Produkt je pročišćen dvjema kolonskim kromatografijama na stupcu silikagela. Kao eluens u prvoj kromatografiji je na početku korištena 5%-tna otopina acetona u diklormetanu, a u nastavku je to bila 4%-tna otopina metanola u diklormetanu. Kod druge kromatografije kao eluens je korištena 5%-tna otopina etanola u diklormetanu. Kao produkt je dobivena žuta krutina (21 mg, iskorištenje 38,18%).

¹H NMR (CDCl₃), δ/ppm : 8.03 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, Ar), 7.72 (d, $J=2.7$ Hz, 1H, Ar), 7.24 (d, $J=8.6$ Hz, 1H, Ar), 7.19 (d, $J=2.6$ Hz, 1H, Ar), 7.06 (dd, $J=8.6, 2.7$ Hz, 1H, Ar), 7.03 (dd, $J=8.6, 2.7$ Hz, 1H, Ar), 4.37 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, NCH₂), 4.04 (brs, 2H, NH₂), 2.05 (brs, 2H, NH₂), 1.95-1.83 (m, 2H, CH₂), 1.42-1.26 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ/ppm : 147.2, 146.5, 142.7, 140.5, 137.3, 136.7, 133.9, 130.3, 120.8, 118.4, 117.6, 109.9, 107.7, 41.3 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.5 (CH₂), 26.7 (CH₂), 22.6 (CH₂), 14.0 (CH₃).

FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3311 (N-H), 2926 (C-H), 1579 (C=C), 1490 (C-N)

3.5.4. 3-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin i 2-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirana smjesa 6-heksil-2-nitro- i 6-heksil-3-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalina **6B** i **6** (400 mg, 1,1480 mmol). Dodan je 10% paladij na aktivnom ugljenu (160 mg) i etanol (40 mL). Sustav je grijan pomoću uljne kupelji te je na početku refluksa dodan hidrazin monohidrat (3.1 mL). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na temperaturi refluksa. Nakon toga je vruća smjesa filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Filtrat je ostavljen preko noći u digestoru. Drugi dan je smjesa ponovno filtrirana pomoću Büchnerova lijevka. Ostaci aktivnog ugljena uklonjeni su filtracijom kroz Celite 545. Uočena su dva produkta reakcije te su oni odvojeni kolonskom kromatografijom na stupcu silikagela. Kao eluens je na početku kromatografije korišten čisti diklormetan, a kasnije 1%-tna otopina acetona u diklormetanu. Kao produkt koji putuje brže (**10**) je dobivena žuta krutina (107 mg, iskorištenje 29,32%). Kao produkt koji putuje sporije (**11**) je dobivena narančasta krutina (73 mg, iskorištenje 20%).

Produkt **10**

^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 8.39 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar), 8.07 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar), 7.61 (ddd, $J=8.4, 7.8, 0.9$ Hz, 1H, Ar), 7.43 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar), 7.33 (dd, $J=8.4, 7.5$ Hz, 1H, Ar), 7.23 (d, $J=2.6$ Hz, 1H, Ar), 7.10 (dd, $J=8.4, 2.6$ Hz, 1H, Ar), 4.44 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, NCH_2), 4.14 (brs, 2H, NH_2) 3.76 (brs, 2H, NH_2), 1.97-1.87 (m, 2H, CH_2), 1.43-1.25 (m, 6H, CH_2), 0.87 (t, $J=6.9$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 147.3, 146.2, 143.4, 142.7, 136.8, 134.3, 130.4, 129.6, 121.6, 120.5, 120.0, 117.9, 109.3, 107.8, 41.3 (NCH_2), 31.5 (CH_2), 28.5 (CH_2), 26.7 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.0 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3313 (N-H), 2927 (C-H), 1589 (C-N)

Produkt 11

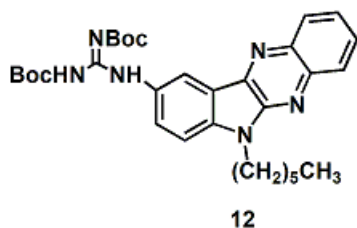
^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 8.44 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, Ar), 7.95 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, Ar), 7.64 (ddd, $J=8.9, 7.5, 1.1$ Hz, 1H, Ar), 7.44 (d, $J=8.4$ Hz, 1H, Ar), 7.34 (d, $J=3.3$ Hz, 1H, Ar), 7.32 (dd, $J=8.1, 7.4$ Hz, 1H, Ar), 7.23 (dd, $J=8.9, 2.6$ Hz, 1H, Ar), 4.45 (t, $J=6.8$ Hz, 2H, NCH_2), 4.02 (brs, 2H, NH_2) 3.76 (brs, 2H, NH_2), 1.98-1.88 (m, 2H, CH_2), 1.44-1.25 (m, 6H, CH_2), 0.86 (t, $J=7.3$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 144.7, 144.4, 144.1, 140.8, 139.6, 135.4, 130.4, 128.6, 122.6, 120.9, 120.2, 119.4, 109.6, 109.3, 41.4 (NCH_2), 31.5 (CH_2), 28.5 (CH_2), 26.7 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.0 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3441 (N-H), 2910 (C-H), 1613 (C=C), 1471 (C-N)

3.6. Reakcije gvaniliranja

3.6.1. 9-(N,N' -di-Boc-gvanidil)-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetiziran 9-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin (13 mg, 0,0408 mmol). Zatim je dodan pirazolni reagens za gvaniliranje (40 mg, 0,1289 mmol) i kloroform (3 mL). Reakcijska smjesa miješana je preko vikenda na sobnoj temperaturi. Produkt je uparen na rotacijskom uparivaču, a višak reagensa je uklonjen radijalnom kromatografijom. Pri tome je kao eluens korištena smjesa petroletera i diklormetana u omjeru 7:3. Kao produkt je dobivena uljasta tvar žute boje (20 mg, iskorištenje 86,96%).

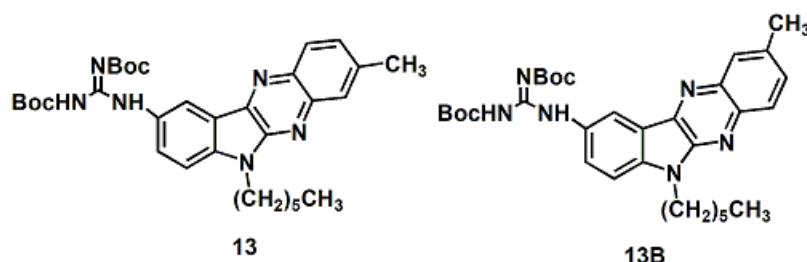
^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 11.72 (s, 1H, NH), 10.53 (s, 1H, NH), 8.52 (d, $J=1.8$ Hz, 1H, Ar), 8.28 (dd, $J=8.1, 0.9$ Hz, 1H, Ar), 8.12 (dd, $J=8.1, 0.9$ Hz, 1H, Ar), 8.06 (dd, $J=8.9, 1.8$ Hz, 1H, Ar), 7.74 (ddd, $J=8.4, 6.9, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 7.66 (ddd, $J=8.8, 7.7, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 7.43 (d, $J=8.8$ Hz,

¹H, Ar), 4.42 (t, *J*=7.2 Hz, 2H, NCH₂), 1.97-1.87 (m, 2H, CH₂), 1.57 (s, 9H, *t*-Bu), 1.52 (s, 9H, *t*-Bu), 1.39-1.26 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, *J*=7.6 Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ/ppm: 163.7 (C=N), 154.0 (C=O), 153.4 (C=O), 145.9, 141.7, 140.7, 139.7, 139.1, 130.3, 129.4, 128.8, 127.8, 126.6, 125.8, 119.5, 116.9, 109.7, 83.8, 79.7, 41.5 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.4 (CH₂), 28.2 (*t*-Bu), 28.1 (*t*-Bu), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃).

FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 3275 (N-H), 2933 (C-H), 1615 (C=O), 1147

3.6.2. 9-(*N,N'*-di-Boc-gvanidil)-6-heksil-3-metil-6H-indolo[2,3-*b*]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirana smjesa 2-metil- i 9-amino-6-heksil-3-metil-6H-indolo[2,3-*b*]kinoksalina **8B** i **8** (23 mg, 0,0692 mmol). Zatim je dodan pirazolni reagens za gvaniliranje (60 mg, 0,1933 mmol) i kloroform (3 mL). Reakcijska smjesa je miješana 3 dana na sobnoj temperaturi. Nakon toga je produkt uparen na rotacijskom uparivaču te je pročišćen radijalnom kromatografijom. Kao eluens korištena je smjesa petroletera i diklormetana u omjeru 7:3. Kao produkt je dobivena smjesa regioizomernih produkata **13** i **13B** (u omjeru 1:1) kao žuta uljasta tvar (27 mg, iskorištenje 67,5%).

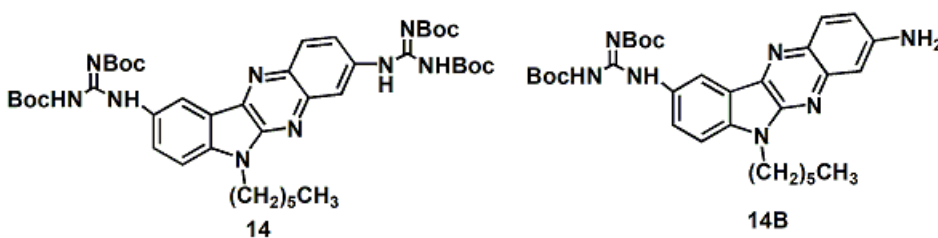
Crveno su označeni signali drugog izomera

¹H NMR (CDCl₃), δ/ppm: 11.72 (s, 2H, NH), 10.52 (s, 2H, NH), 8.51 (d, *J*=2.0 Hz, 1H, Ar), 8.49 (d, *J*=2.0 Hz, 1H, Ar), 8.15 (d, *J*=8.7 Hz, 1H, Ar), 8.07-7.99 (m, 4H, Ar), 7.89 (s, 1H, Ar), 7.57 (dd, *J*=8.8, 1.8 Hz, 1H, Ar), 7.49 (dd, *J*=8.8, 1.8 Hz, 1H, Ar), 7.42 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, Ar), 4.44 (t, *J*=7.4 Hz, 4H, NCH₂), 2.62 (s, 6H, CH₃), 1.94-1.89 (m, 4H, CH₂), 1.57 (s, 18H, *t*-Bu), 1.52 (s, 18H, *t*-Bu), 1.39-1.33 (m, 8H, CH₂), 1.29-1.26 (m, 4H, CH₂), 0.86 (dt, *J*=7.2, 1.5 Hz, 6H, CH₃).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 163.7 (C=N), 154.0 (C=O), 153.5 (C=O), 146.1, 145.7, 141.5, 140.8, 139.5, 139.3, 139.2, 139.0, 137.6, 135.9, 131.1, 130.2, 130.1, 128.9, 128.2, 128.1, 127.3, 126.6, 126.4, 126.2, 109.6, 83.7, 79.7, 41.5 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.5 (CH₂), 28.2 (*t*-Bu), 28.1 (*t*-Bu), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₃), 21.9, 21.6 (CH₂), 14.0 (CH₃).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3278 (N-H), 2930 (C-H), 1718 (C=O), 1616 (C=C)

3.6.3. 3,9-di(*N,N'*-di-Boc-gvanidil)--6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetiziran 3,9-diamino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin (19 mg, 0,0570 mmol). Zatim je dodan pirazolni reagens za gvaniliranje (50 mg, 0,1511 mmol) i kloroform (3 mL). Reakcijska smjesa je miješana 2 dana na sobnoj temperaturi. Zatim je produkt uparen na rotacijskom uparivaču i čišćen radijalnom kromatografijom. Kao eluens korištena je smjesa petroletera i diklormetana u omjeru 7:3. Kao produkt koji se brže eluira bisgvanidin (**14**) je dobivena žuta uljasta tvar (28 mg, iskorištenje 60,87%), te kao produkt koji se sporije eluira monogvanidin (**14B**) je dobivena svjetlo zelena uljasta tvar (11 mg, iskorištenje 23,91%).

Produkt **14**

^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 11.71 (brs, 2H, NH), 10.73 (brs, 1H, NH), 10.5 (brs, 1H, NH), 8.49 (d, $J=2.2$ Hz, 1H, Ar), 8.39 (d, $J=2.2$ Hz, 1H, Ar), 8.22 (d, $J=9.1$ Hz, 1H, Ar), 8.06 (dd, $J=8.9, 1.9$ Hz, 1H, Ar), 7.99 (dd, $J=9.1, 2.2$ Hz, 1H, Ar), 7.43 (d, $J=9.0$ Hz, 1H, Ar), 4.44 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, NCH₂), 1.95-1.89 (m, 2H, CH₂), 1.57 (s, 18H, *t*-Bu), 1.56 (s, 9H, *t*-Bu), 1.52 (s, 9H, *t*-Bu), 1.42-1.25 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, $J=7.0$ Hz, 3H, CH₃).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 163.7 (C=N), 163.5 (C=N), 153.9 (C=O), 153.5 (C=O), 153.4 (C=O), 153.3 (C=O), 146.3, 141.5, 141.2, 138.9, 137.3, 136.7, 130.4, 129.8, 126.2, 121.7, 119.7, 118.5,

116.7, 109.7, 83.9, 83.7, 79.9, 79.7, 41.6 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.4 (CH₂), 28.2 (*t*-Bu), 28.1 (*t*-Bu), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃).

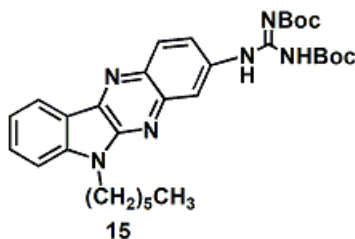
FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2932 (C-H), 1718 (C=O), 1638 (C=C), 1148 (C-N)

Produkt **14B**:

¹H NMR (CDCl₃), δ/ppm : 11.71 (brs, 2H, NH), 10.48 (brs, 1H, NH), 8.42 (d, $J=2.1$ Hz, 1H, Ar), 8.02 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 7.95 (dd, $J=8.8, 2.2$ Hz, 1H, Ar), 7.38 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 7.15 (d, $J=2.2$ Hz, 1H, Ar), 7.08 (dd, $J=8.8, 2.2$ Hz, 1H, Ar), 4.41 (t, $J=7.2$ Hz, 2H, NCH₂), 4.15 (brs, 1H, NH₂), 1.94-1.89 (m, 2H, CH₂), 1.57 (s, 9H, *t*-Bu), 1.51 (s, 9H, *t*-Bu), 1.40-1.33 (m, 4H, CH₂), 1.31-1.25 (m, 2H, CH₂), 0.86 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ/ppm : 163.7 (C=N), 154.1 (C=O), 153.5 (C=O), 147.5, 146.5, 142.8, 140.7, 136.3, 134.2, 130.4, 130.0, 125.2, 120.2, 118.1, 116.4, 109.4, 107.5, 83.7, 79.6, 41.6 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.5 (CH₂), 28.2 (*t*-Bu), 28.1 (*t*-Bu), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃).

3.6.4. 3-(*N,N'*-di-Boc-gvanidil)--6-heksil-6-H-indolo[2,3-*b*]kinoksalin



3-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-*b*]kinoksalin je stavljen u tikvicu (94 mg, 0,2952 mmol). Dodani su pirazolni reagens za gvaniliranje (140 mg, 0,4511 mmol) i kloroform (7 mL). Reakcijska smjesa je miješana 5 dana na sobnoj temperaturi. Nakon toga je produkt uparen na rotacijskom uparivaču i pročišćen radijalnom kromatografijom. Kao eluens korištena je smjesa petroletera i diklormetana u omjeru 7:3. Kao produkt je dobivena uljasta tvar žute boje (57 mg, iskorištenje 35,55%).

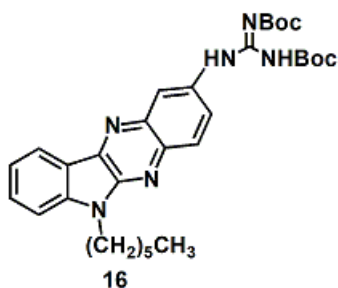
¹H NMR (CDCl₃), δ/ppm : 11.72 (s, 1H, NH), 10.75 (s, 1H, NH), 8.45 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, Ar), 8.40 (d, $J=2.4$ Hz, 1H, Ar), 8.23 (dd, $J=8.9$ Hz, 1H, Ar), 7.98 (dd, $J=8.9, 2.2$ Hz, 1H, Ar), 7.66 (ddd, $J=8.7, 8.1, 0.9$ Hz, 1H, Ar), 7.46 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, Ar), 7.36 (dd, $J=8.5, 7.5$ Hz, 1H, Ar), 4.45 (t,

$J=7.4$ Hz, 2H, NCH₂), 1.98-1.88 (m, 2H, CH₂), 1.56 (s, 18H, *t*-Bu), 1.45-1.25 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ /ppm: 163.5 (C=N), 153.5 (C=O), 153.4 (C=O), 145.9, 144.2, 141.1, 139.3, 137.2, 136.8, 130.6, 129.7, 122.5, 121.6, 120.7, 119.6, 116.6, 109.5, 83.9, 79.9, 41.5 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.4 (CH₂), 28.2 (*t*-Bu), 28.1 (*t*-Bu), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₂), 14.0 (CH₃).

FTIR-ATR ν_{\max} /cm⁻¹: 2964 (C-H), 1643 (C=C), 1148

3.6.5. 2-(*N,N'*-di-Boc-gvanidil)--6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin-



2-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin je stavljen u tikvicu (60 mg, 0,1884 mmol). Dodani su pirazolni reagens za gvaniliranje (90 mg, 0,2900 mmol) i kloroform (5 mL). Reakcijska smjesa je miješana 4 dana na sobnoj temperaturi. Nakon toga je produkt uparen na rotacijskom uparivaču i pročišćen radijalnom kromatografijom. Kao eluens korištena je smjesa petroletera i diklormetana u omjeru 7:3. Kao produkt je dobivena žuta uljasta tvar (33 mg, iskorištenje 31,43%).

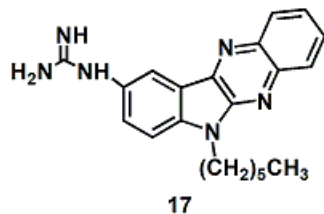
Spektroskopski podaci uzorka koji ima malu količinu produkta **15**

¹H NMR (CDCl₃), δ /ppm: 11.72 (s, 1H, NH), 10.66 (s, 1H, NH), 8.57 (d, $J=1.9$ Hz, 1H, Ar), 8.47 (d, $J=7.7$ Hz, 1H, Ar), 8.07 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, Ar), 7.97 (dd, $J=8.9, 2.4$ Hz, 1H, Ar), 7.66 (dd, $J=8.9, 7.8$ Hz, 1H, Ar), 7.44 (d, $J=8.2$ Hz, 1H, Ar), 7.35 (dd, $J=8.2, 7.7$ Hz, 1H, Ar), 4.44 (t, $J=7.3$ Hz, 2H, NCH₂), 1.98-1.88 (m, 2H, CH₂), 1.57 (s, 18H, *t*-Bu), 1.45-1.25 (m, 6H, CH₂), 0.86 (t, $J=7.1$ Hz, 3H, CH₃).

FTIR-ATR ν_{\max} /cm⁻¹: 2932 (C-H), 1724 (C=O), 1643 (C=C), 1150

3.7. Reakcije deprotekcije

3.7.1. 9-gvanidil-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



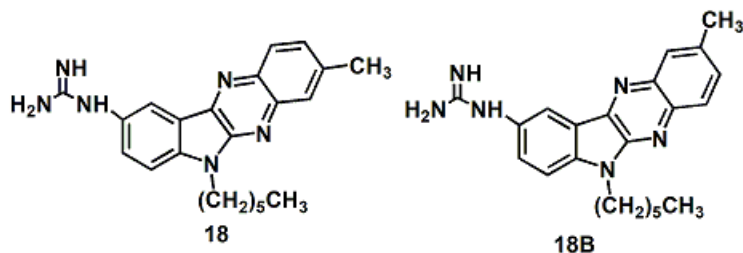
U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirani protektirani gvanidin (26 mg, 0,0464 mmol). Dodani su diklormetan (2.6 mL) i trifluoroctena kiselina (130 μ L, 1,6988 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga je ona uparena na rotacijskom uparivaču. Dobivenom sustavu dodana je koncentrirana otopina natrijeva hidrogenkarbonata te je konačan produkt ekstrahiran etil acetatom. Kao produkt je dobivena žuta krutina (16 mg, iskorištenje 94,12%).

^1H NMR (CDCl_3), δ /ppm: 8.27 (brs, 1H, Ar), 8.25 (dd, $J=8.4, 0.9$ Hz, 1H, Ar), 8.14 (dd, $J=8.1, 0.9$ Hz, 1H, Ar), 7.79 (dd, $J=6.9, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 7.78 (dd, $J=6.8, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 7.70 (dd, $J=8.8, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 7.69 (dd, $J=8.8, 1.4$ Hz, 1H, Ar), 4.41 (t, $J=7.5$ Hz, 2H, NCH_2), 1.92-1.87 (m, 2H, CH_2), 1.83 (brs, 4H, NH_2), 1.57 (s, 9H, *t*-Bu), 1.42-1.32 (m, 4H, CH_2), 1.30-1.24 (m, 2H, CH_2), 0.87 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ /ppm: 145.7 (C=N), 142.5, 142.4, 140.8, 139.3, 138.9, 139.4, 129.2, 128.9, 127.9, 126.2, 120.2, 119.8, 110.5, 41.6 (NCH_2), 31.4 (CH_2), 28.4 (CH_2), 26.7 (CH_2), 22.5 (CH_2), 14.0 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 2938 (C-H), 1690 (C=C), 1484 (C-N)

3.7.2. 9-gvanidil-6-heksil-3-metil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin

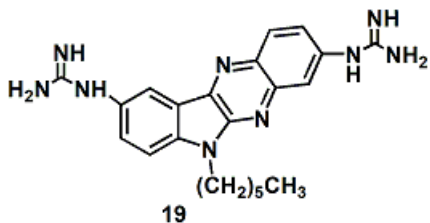


U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirani protektirani gvanidin (21 mg, 0,0365 mmol). Dodani su diklormetan (2.1 mL) i trifluoroctena kiselina (105 μ L, 1,3721 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga je ona uparena na rotacijskom uparivaču. Dobivenom sustavu dodana je koncentrirana otopina natrijeva hidrogenkarbonata te je produkt ekstrahiran etil acetatom. Zatim je produkt pročišćen radijalnom kromatografijom. Kao eluens je korištena smjesa diklormetana i metanola u omjeru 20:3. Kao produkt je dobivena smjesa dva regioizomera (omjer 1:1) kao krutina žute boje (7 mg, iskorištenje 50%).

^1H NMR (CDCl_3), δ /ppm: 8.29-8.28 (m, 2H, Ar), 8.15 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 8.04 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 8.03 (brs, 1H, Ar), 7.92 (brs, 1H, Ar), 7.63 (dd, $J=8.7, 1.9$ Hz, 1H, Ar), 7.54 (dd, $J=8.5, 1.9$ Hz, 1H, Ar), 7.49-7.39 (m, 4H, Ar), 4.45 (t, $J=7.6$ Hz, 2H, NCH_2), 2.64 (s, 3H, CH_3), 1.92-1.88 (m, 2H, CH_2), 1.42-1.22 (m, 6H, CH_2), 0.86 (t, $J=7.6$ Hz, 3H, CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3330 (N-H), 2925 (C-H), 1645 (C-N), 1156

3.7.3. 3,9-bisgvanidil-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirani protektirani gvanidin (18 mg, 0,0220 mmol). Dodani su diklormetan (1.8 mL) i trifluoroctena kiselina (90 μ L, 1,1761 mmol). Reakcijska smjesa je

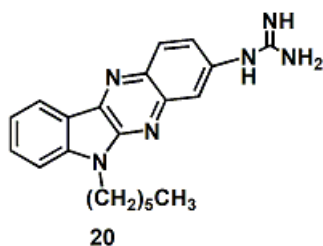
miješana 2 h na sobnoj temperaturi, a nakon toga je uparena na rotacijskom uparivaču. Dobivenom sustavu dodana je koncentrirana otopina natrijeva hidrogenkarbonata te je konačan produkt ekstrahiran etil acetatom. Kao produkt je dobivena svjetlo žuta krutina (8 mg, iskorištenje 88,89%).

^1H NMR (DMSO- d_6), δ /ppm: 8.52 (s, 1H, Ar), 7.97 (d, $J=8.5$ Hz, 1H, Ar), 7.69 (brs, 1H, NH), 7.56 (dd, $J=9.3$ Hz, 1H, Ar), 7.30 (brs, 1H, Ar), 7.23-7.16 (m, 2H, Ar), 5.51 (brs, 4H, NH_2), 4.40 (t, $J=7.7$ Hz, 2H, NCH_2), 1.88-1.80 (m, 2H, CH_2), 1.35-1.22 (m, 6H, CH_2), 0.82 (t, $J=6.6$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO- d_6), δ /ppm: 155.3 (C=N), 150.7, 150.5, 146.9, 145.2, 142.8, 141.4, 139.7, 138.6, 138.3, 132.4, 130.3, 123.9, 121.4, 110.9, 45.3 (NCH_2), 36.1 (CH_2), 33.4 (CH_2), 31.2 (CH_2), 27.2 (CH_2), 19.1 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3333 (N-H), 2930 (C-H), 1680 (C-N)

3.7.4. 3-gvanidil-6-heksil-6-H-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirani protektirani gvanidin (45 mg, 0,0803 mmol). Dodani su diklormetan (4.5 mL) i trifluoroctena kiselina (225 μL , 2,9403 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi. Nakon čega je uparena na rotacijskom uparivaču. Dobivenom sustavu dodana je koncentrirana otopina natrijeva hidrogenkarbonata te je produkt ekstrahiran etil acetatom. Zatim je produkt pročišćen radijalnom kromatografijom, a kao eluens je korištena smjesa diklormetana i metanola u omjeru 20:3. Kao produkt **20** je dobivena krutina svjetlo žute boje (7 mg, iskorištenje 25%). Drugi produkt koji se sporije eluira (protonirani gvanidin **20H⁺**) je dobiven kao krutina svjetlo žute boje (15 mg, iskorištenje 53,57%).

^1H NMR (CDCl_3), δ /ppm: 8.46 (d, $J=7.5$ Hz, 1H, Ar), 8.27 (d, $J=8.9$ Hz, 1H, Ar), 7.81 (brs, 1H, Ar), 7.69 (dd, $J=8.8, 7.8$ Hz, 1H, Ar), 7.48 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 7.44-7.35 (m, 2H, Ar), 4.47 (t,

$J=7.5$ Hz, 2H, NCH₂), 1.96-1.87 (m, 2H, CH₂), 1.44-1.27 (m, 6H, CH₂), 0.87 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ /ppm: 152.7 (C=N), 144.3, 140.5, 140.4, 139.9, 131.5, 131.2, 130.9, 130.0, 123.4, 123.3, 122.6, 120.9, 119.5, 109.6, 41.5 (NCH₂), 31.5 (CH₂), 28.4 (CH₂), 26.7 (CH₂), 22.6 (CH₂), 14.0 (CH₃).

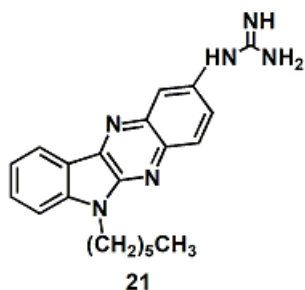
FTIR-ATR $\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$: 2926 (C-H), 1577 (C-N), 1155

Protonirani gvanidin **20H**⁺

¹H NMR (CDCl₃), δ /ppm: 10.45 (brs, 1H, NH), 8.15 (d, $J=8.1$ Hz, 1H, Ar), 7.93 (d, $J=8.3$ Hz, 1H, Ar), 7.68 (brs, 1H, Ar), 7.55 (dd, $J=8.9, 7.8$ Hz, 1H, Ar), 7.32 (d, $J=7.9$ Hz, 1H, Ar), 7.24-7.18 (m, 2H, Ar), 4.47 (t, $J=7.5$ Hz, 2H, NCH₂), 1.96-1.87 (m, 2H, CH₂), 1.44-1.27 (m, 6H, CH₂), 0.87 (t, $J=7.4$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C NMR (CDCl₃), δ /ppm: 156.7 (C=N), 145.2, 144.3, 140.2, 140.1, 137.0, 134.4, 131.2, 130.9, 122.7, 122.3, 121.7, 121.0, 118.8, 109.5, 40.4 (NCH₂), 31.4 (CH₂), 28.3 (CH₂), 26.7 (CH₂), 22.5 (CH₂), 13.9 CH₃).

3.7.5. 2-gvanidil-6-heksil-6h-indolo[2,3-b]kinoksalin



U tikvicu je stavljen prethodno sintetizirani protektirani gvanidin (21 mg, 0,0375 mmol). Dodani su diklormetan (2.1 mL) i trifluoroctena kiselina (105 μ L, 1,3721 mmol). Reakcijska smjesa je miješana 2 h na sobnoj temperaturi. Nakon čega je uparena na rotacijskom uparivaču. Dobivenom sustavu dodana je koncentrirana otopina natrijeva hidrogenkarbonata te je konačan produkt

ekstrahiran etil acetatom. Kao produkt je dobivena krutina svjetlo žute boje (9 mg, iskorištenje 69,23%).

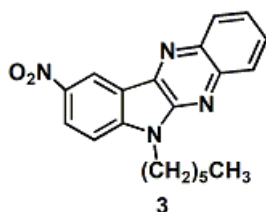
^1H NMR (CDCl_3), δ/ppm : 8.46 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, Ar), 8.09 (d, $J=8.8$ Hz, 1H, Ar), 8.00 (brs, 1H, Ar), 7.71 (dd, $J=8.0, 7.6$ Hz, 1H, Ar), 7.49 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, Ar), 7.36 (dd, $J=8.4, 8.0$ Hz, 1H, Ar), 6.45 (brs, 4H, NH_2), 4.48 (t, $J=7.4$ Hz, 2H, NCH_2), 1.98-1.90 (m, 2H, CH_2), 1.44-1.25 (m, 6H, CH_2), 0.87 (t, $J=7.7$ Hz, 3H, CH_3).

^{13}C NMR (CDCl_3), δ/ppm : 144.6 (C=N), 140.4, 138.6, 131.2, 131.1, 129.3, 126.6, 126.5, 122.9, 122.6, 120.9, 120.8, 119.2, 109.6, 41.5 (NCH_2), 31.5 (CH_2), 28.3 (CH_2), 26.7 (CH_2), 22.6 (CH_2), 14.0 (CH_3).

FTIR-ATR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$: 3304 (N-H), 1655 (C-N), 1364 (C-N)

3.8. Mehanokemijske reakcije

3.8.1. Reakcije kondenzacije



3.8.1.1. Uz dodatak *p*-toluensulfonske kiseline

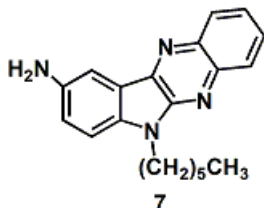
U reakcijsku posudu za mlin stavljen je 1-heksil-5-nitroizatin **1** (75 mg, 0,2715 mmol). Dodani su *ortho*-fenilendiamin (30 mg, 0,2715 mmol) i monohidrat *p*-toluensulfonske kiseline (104 mg, 0,5430 mmol). Reakcija smjesa je mljevena u mlinu 2 h, a zatim je profiltrirana kroz silikagel. Analiza TLC je pokazala veliku količinu nusprodukta. Dobivena je krutina smeđe boje (iznimno mala količina produkta **3**, iskorištenje loše).

3.8.2.2. Bez dodatka kiseline

U reakcijsku posudu za mlin stavljen je 1-heksil-5-nitroizatin **1** (15 mg, 0,0531 mmol). Dodan je *ortho*-fenilendiamin (5 mg, 0,0431 mmol). Reakcija smjesa je mljevena u mlinu 2 h, a zatim je

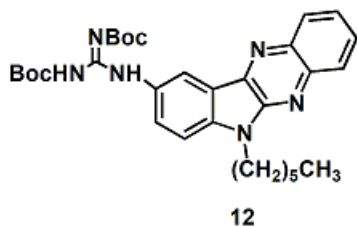
profiltrirana kroz silikagel. TLC analiza je pokazala veliku količinu nusprodukta. Dobivena je krutina smeđe boje (iznimno mala količina produkta **3**, iskorištenje loše).

3.8.2. Reakcija redukcije



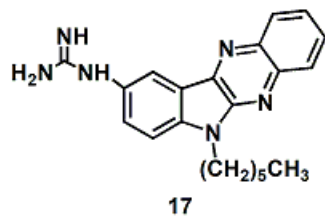
U reakcijsku posudu za mlin stavljen je 6-heksil-9-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin **3** (59 mg, 0,1693 mmol). Dodani su amonijev formijat (142 mg, 2,2522 mmol), 10% paladij na aktivnom ugljenu (12 mg, 0,1127 mmol), silikagel (31 mg) te suhi metanol (17 μ L). Reakcija smjesa je mljevena u mlinu 90 min. Posudica s reakcijskom smjesom ostavljena je preko noći u digestoru te je drugi dan suspendirana metanolom i profiltrirana u koloni kroz silikagel. Kao produkt je dobivena krutina narančaste boje (46 mg, iskorištenje 86,79%).

3.8.3. Reakcija gvaniliranja



U posudu za mlin stavljen je 9-amino-6-heksil-6H-indolo[2,3-b]kinoksalin (46 mg, 0,1445 mmol). Dodani su pirazolni reagens za gvaniliranje (103 mg, 0,3323 mmol) i suhi kloroform (100 μ L). Reakcija je mljevena u mlinu 2 h, a zatim je filtrirana na koloni kroz stupac silikagela. Produkt je pročišćen radijalnom kromatografijom, a kao eluens je korištena smjesa petroletera i diklormetana u omjeru 7:3. Produkt je dobiven kao žuta uljasta tvar (27 mg, 33,33%).

3.8.4. Reakcija deprotekcije



U posudu za mlin stavljen je prethodno sintetizirani zaštićeni gvanidin (10 mg, 0,0178 mmol). Dodan je monohidrat *p*-toluensulfonske kiseline (7 mg, 0,0357 mmol). Reakcija smjesa je mljevena u mlinu 10 min. Nakon toga je filtrirana u koloni kroz silikagel. Produkt je dobiven kao žuta krutina (4 mg, iskorištenje 66,67%).

4. REZULTATI I RASPRAVA

U nastavku rada bit će opisana sinteza novih spojeva, te će zatim biti diskutirani spektri svih spojeva dobivenih prilikom sinteze.

4.1. SINTEZA SPOJEVA

4.1.1. Općenita shema sinteze

Općenita reakcijska shema pripreme derivata 6H-indolo[2,3-b]kinoksalina, pri čemu R označava supstituente -CH₃, -NO₂ ili -H je prikazana na shemi 3. Preliminarni eksperimenti kondenzacije 5-nitroizatina i 1,2-diarilamina nisu bili uspješni, zbog vrlo slabe topljivosti produkata u uobičajenim organskim otapalima, posljedično teškoća u pročišćavanju i manipulaciji sa spojevima. Zbog toga su u nastavku rada korišteni N-alkilirani derivati izatina, koji su odlično topljivi u standardnim organskim otapalima.

U prvom reakcijskom stupnju, 5-nitroizatin je alkiliran korištenjem natrijevog hidrida i heksil-jodida u suhom dimetilformamidu prema proceduri objavljenoj u literaturi.⁽²⁰⁾ Spektroskopski podaci za 1-heksil-5-nitroizatin **1** odgovaraju literaturnim vrijednostima.

Drugi stupanj sinteze je reakcija kondenzacije između odgovarajućeg 1,2-arildiamina i alkiliranog nitroizatina **1** zagrijavanjem u ledenoj octenoj kiselini (postupak prema referenci 21). Prilikom kondenzacije iz intermedijernog produkta izlaze dvije molekule vode i dolazi do aromatizacije kinoksalinskog prstena.

Produkt **3** je dobiven u visokom iskorištenju i njegovi ¹H NMR kemijski podaci su u skladu s literaturnim podacima.⁽²²⁾

U slučaju supstituiranih *ortho*-diamina (3,4-diaminotoluena i 4-nitro-1,2-fenilendiamina) nastaju dva regioizomerna produkta (supstituenti na položajima 3 i 4) koje nije bilo moguće separirati kromatografijom. Na osnovu ¹H NMR analize se može zaključiti da je dobiven produkt s metilnim supstituentom smjesa dva regioizomera **4 i 4B** u 1:1 omjeru, dok je omjer dva regioizomera **5 i 5B** sa nitro supstituentom 1:0.6.

Nastajanje regioizomera kod ovakvih kondenzacijskih reakcija je poznato od ranije u literaturi. Reakcija izatina s 4-NO₂-*ortho*-fenilendiaminom u octenoj kiselini daje dva izomera 2-NO₂ i 3-

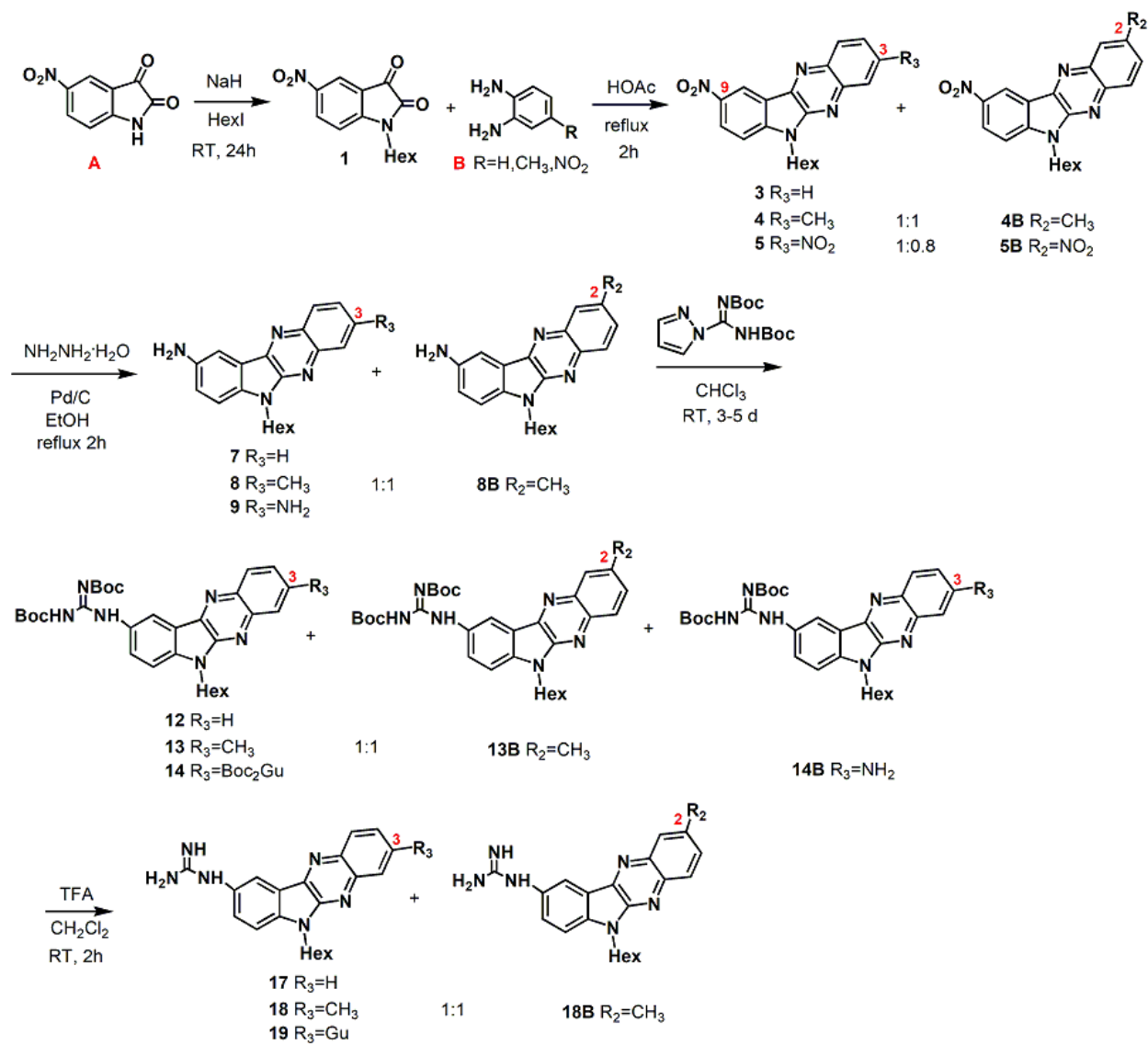
NO₂ u 1:2 omjeru ⁽²³⁾ što je slično ovdje dobivenim rezultatima. Oni navode da ranija literatura daje samo jedan izomerni produkt 2-NO₂ (a talište je isto kao kod njihove smjese) ⁽²⁴⁾, što je evidentno pogrešno. Nadalje, za reakciju za NO₂-izatin/toluen-*ortho*-diamin autori opisuju nastanak samo jednog izomera u položaju 3-CH₃. ⁽²⁵⁾ Slično, u analognom slučaju kondenzacije ninhidrina s 4-NO₂-*ortho*-fenilendiaminom u AcOH dobivena su dva izomera 2-NO₂ i 3-NO₂ ali omjeri nisu navedeni. Ne mogu se separirati i korištena je smjesa za dalje reakcije. ⁽²⁶⁾

U drugom sintetskom stupnju nitro spojevi su reducirani u amino derivate s hidrazin hidratom i paladijem na aktivnom ugljenu kao katalizatorom prema postupku opisanom u literaturi. ⁽²⁷⁾ Također je isprobana Fe/HCl redukcija 6-heksil-3-nitro-6H-indolo[2,3-b]kinoksalina ⁽²⁸⁾, pri čemu se metoda nije pokazala prikladna i dobivena je vrlo kompleksna smjesa.

¹H NMR analiza produkata redukcije **6** i **6B** je pomognuta s DFT računima kemijskih pomaka (dr. sc. Zoran Glasovac) i pokazala je dobro slaganje s regioizomernim strukturama determiniranih na osnovu literaturnih kemijskih pomaka. ⁽²⁹⁾

U trećem stupnju prethodno dobiveni amino derivati su gvanilirani korištenjem *N,N'*-Di-Boc-1H-pyrazole-1-carboxamidine reagensa. ⁽³⁰⁾ Reakcija se provodi u kloroformu na sobnoj temperaturi, kroz 3-5 dana. Pri tome nastaju Boc-zaštićeni gvanidini, koji su topljivi u standardnim organskim otapalima i mogu se jednostavno pročistiti. U slučaju diamina **9**, gvanilacija je dala dva produkta: bisgvanidin **14** i monogvanidin **14B**. (što je analogno gvanilaciji diaminotetrazina gdje su također nastala dva produkta). ⁽³¹⁾

Zadnji stupanj, odnosno uklanjanje Boc zaštitne skupine provodi se u kiselim uvjetima. Standardnim postupkom korištenjem trifluoroctene kiseline ⁽³²⁾ kao konačan produkt nastaje traženi neutralni gvanidin.

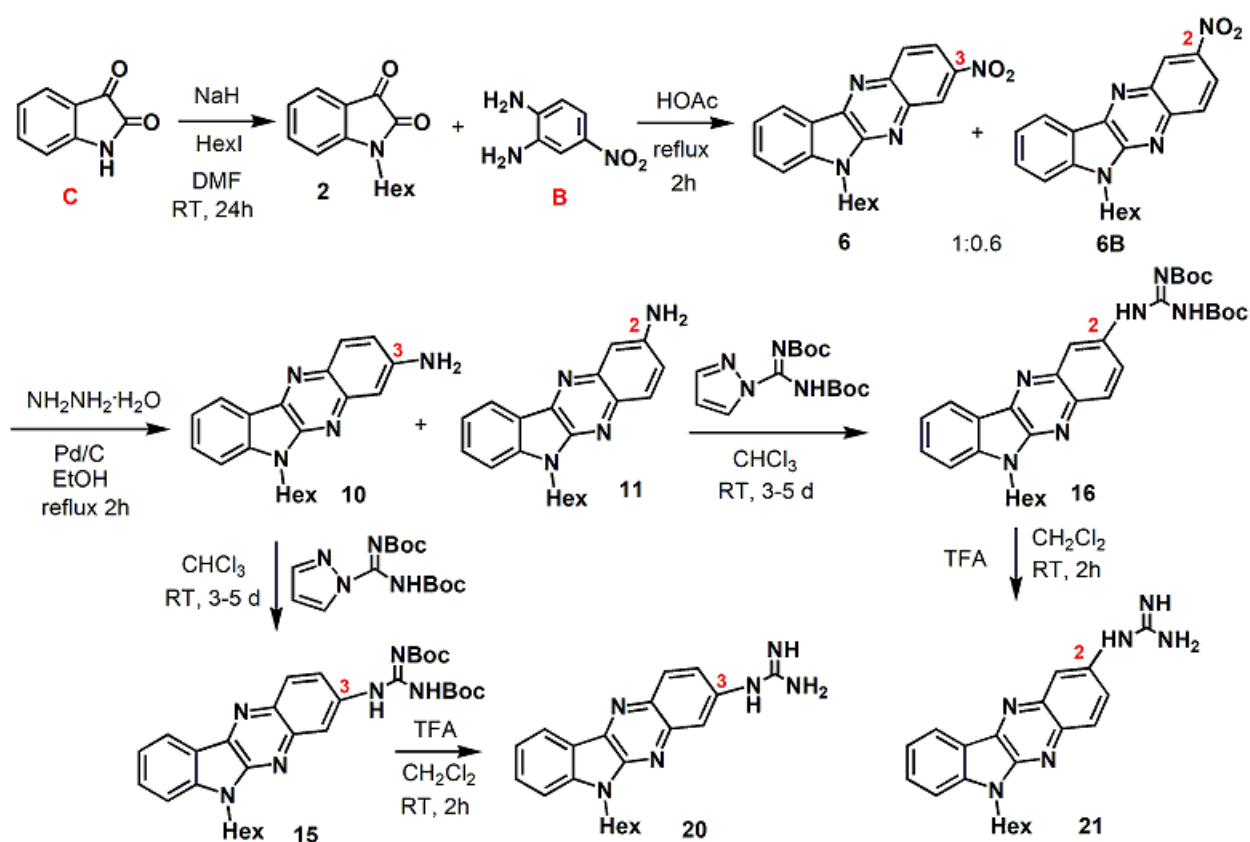


SHEMA 4: Sintetska shema priprave derivata s nitroizatinom

Sinteza derivata 6H-indolo[2,3-b]kinoksalina počevši sa izatinom je provedena prema shemi 4 koja je analogna onoj opisanoj za pripravu iz 5-nitroizatina (shema 4).

U prvom reakcijskom stupnju, izatin je alkiliran korištenjem natrijevog hidrida i heksil jodida u suhom dimetilformamidu prema istom literaturnom postupku⁽³³⁾. Spektroskopski podaci za 1-heksil-izatin **2** odgovaraju literaturnim vrijednostima. ⁽³⁴⁾

Drugi sintetski stupanj je kondenzacijska reakcija između 4-nitro-o-fenilendiamina i alkiliranog izatina **2**. Pri tome nastaju dva regioizomerna produkta **6B** i **6** sa nitro skupinom u položajima 2- i 3- u omjeru 0.6:1. Izomeri se nisu mogli razdvojiti nego je njihova smjesa podvrgnuta katalitičkom hidrogeniranju sa hidrazin monohidratom. Dobiveni amini **10** i **11** su razdvojeni korištenjem radialne kromatografije i u slijedećem stupnju sinteze su korišteni u čistom stanju. Gvanilacijom su pripremljeni Boc zaštićeni gvanidini **15** i **16**, te je zatim Boc zaštitna skupina uklonjena dodatkom trifluorooctene kiseline, do konačnih produkata **20** i **21**.

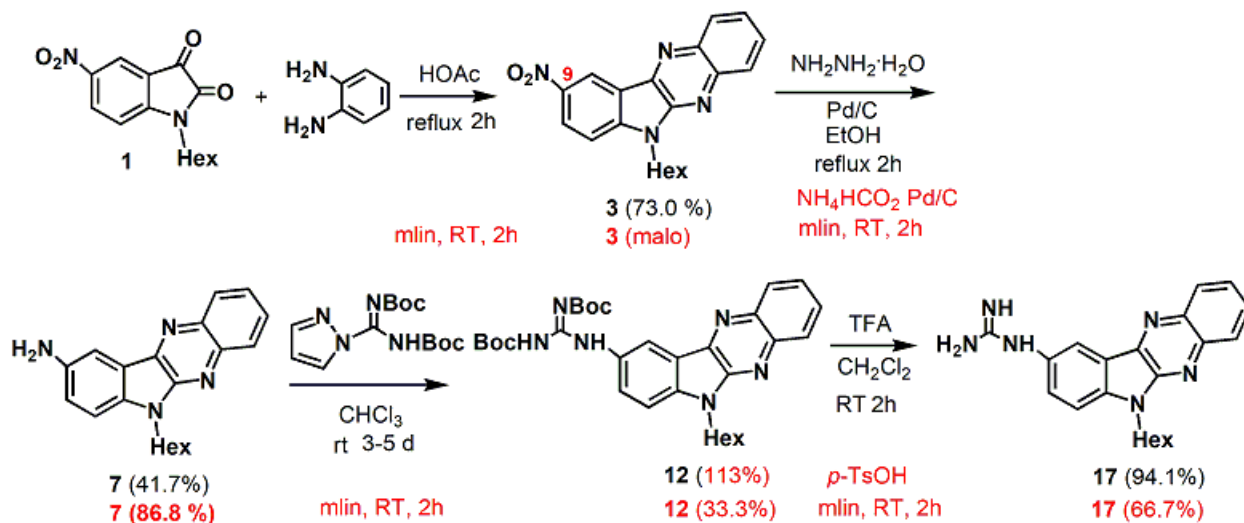


SHEMA 5: Sintetska shema pripreme derivata sa izatinom

4.1.2. Usporedba reakcija u otopini i reakcija u mlinu

U nastavku istraživanja, mehanokemijske reakcije u mlinu provedene su kako bi se usporedila efikasnost reakcija u otopini (klasična kemija) te reakcija u mlinu (zelena kemija) i mogućnost

razvoja ekološki prihvatljivijeg sintetskog postupka. Za usporedbu ova dva načina provođenja reakcija kao polazni spojevi korišteni su 1-heksil-5-nitroizatin **1** te *ortho*-fenilendiamin (Shema 6). Reakcije nisu optimirane, nego su korišteni ranije optimirani uvjeti iz literature. Kondenzacija nitroizatina **1** i *ortho*-fenilendiamina⁽³⁵⁾ nakon dva sata mljevenja daje malo 6H-indolo[2,3-b]kinoksalina **3**, koji je u smjesi sa dosta nusprodukata, a slična je smjesa dobivena i kada je reakcija provedena uz dodatak octene ili *p*-toluensulfonske kiseline kao katalizatora. Mljevenje u kojem je dodana katalitička količina octene kiseline nije dovelo do nastanka produkta. Za usporedbu, klasična reakcija u otopini daje produkt **3** u iskorištenju od 73.0 %. Nadalje, mehanokemijska redukcija spoja **3** je provedena sa amonijevim formijatom⁽³⁶⁾ uz visoko iskorištenje od 86.8% produkta **7**, dok je klasičnim postupkom u otopini dobiveno 41.7 % amina **7**. Gvanilacija amina **7** u mlinu⁽³⁷⁾ daje Boc₂ supstituirani gvanidin **12** u 33.3% iskorištenju, a iskorištenje postupka u otopini je 86,96%. Konačno, deprotekcija spoja **12** u mlinu uz dodatak *p*-toluensulfonske kiseline⁽³⁸⁾ daje gvanidin **17** u 66.7 % iskorištenju, dok se klasično u otopini dobiva 94.1 % produkta.



SHEMA 6: Usporedba sinteze spoja **17** u otopini i mehanokemijskom metodom

Dobiveni rezultati (Tablica 1) pokazuju da se svi sintetski stupnjevi mogu provesti u ekološki prihvatljivijim mehanokemijskim uvjetima bez korištenja otapala, na sobnoj temperaturi (svi reakcijski stupnjevi) i u kraćem vremenu (gvanilacija). Pri tome je ustanovljeno da reakcija kondenzacije u mlinu nije zadovoljavajuća, jer daje dosta nusprodukata, uz malo željenog produkta. Reakcije gvanilacije i deprotekcije su manje efikasne od otopinskih uvjeta, dok se daleko

boljim reakcijskim uvjetima pokazala redukcija nitro u amino produkt u mlinu, gdje je iskorištenje dvostruko veće od redukcije u otopini. Uz uštedu na energiji provođenjem reakcije na sobnoj temperaturi bez korištenja otapala, ovaj je postupak dodatno bolji za okoliš iz razloga što se ne koristi vrlo toksični hidrazin hidrat.

TABLICA 1: Usporedba iskorištenja reakcija provedenih klasičnim putem te mehanokemijski

Reakcijski uvjeti	Iskorištenje / %			
	Kondenzacija	Redukcija	Gvaniliranje	Derotekcija
U otapalu	73,02	41,67	86,96	94,12
Mehanokemijski	/	86,79	33,33	66,67

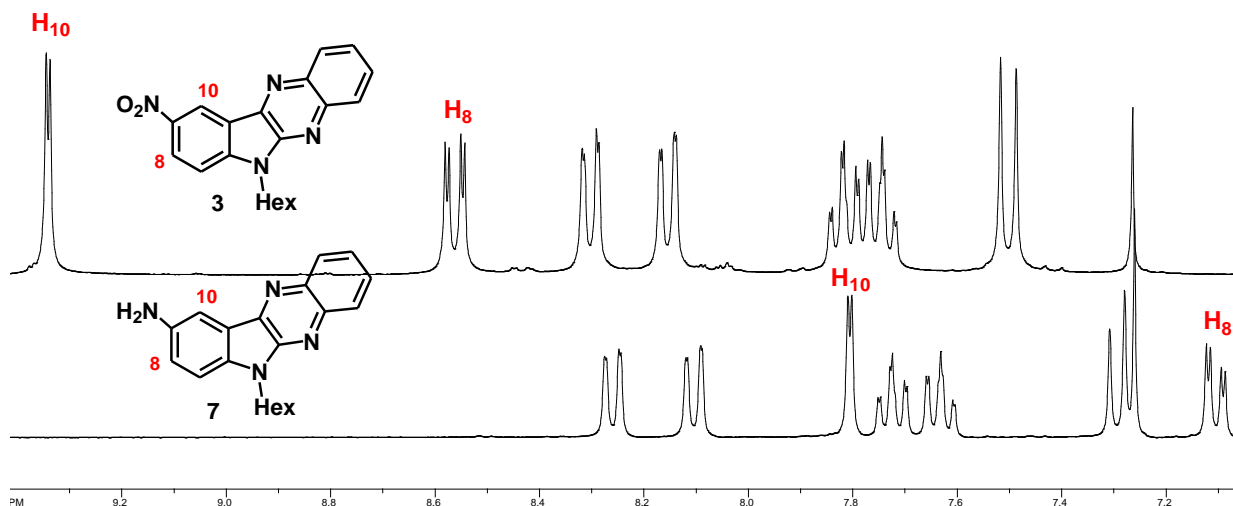
Iako se u većini primjera boljim načinom pokazalo provođenje reakcija u otopini, potrebno je nastaviti razvijati i optimirati mehanokemijske reakcije kako bi se došlo do boljih i ekološki prihvatljivijih sintetskih postupaka.

4.2. SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA SPOJEVA

Spektroskopska karakterizacija spojeva je provedena korištenjem kombinacije ^1H i ^{13}C NMR, IR spektroskopije, UV-vidljive apsorpcijske i fluorescencijske spektrofotometrije.

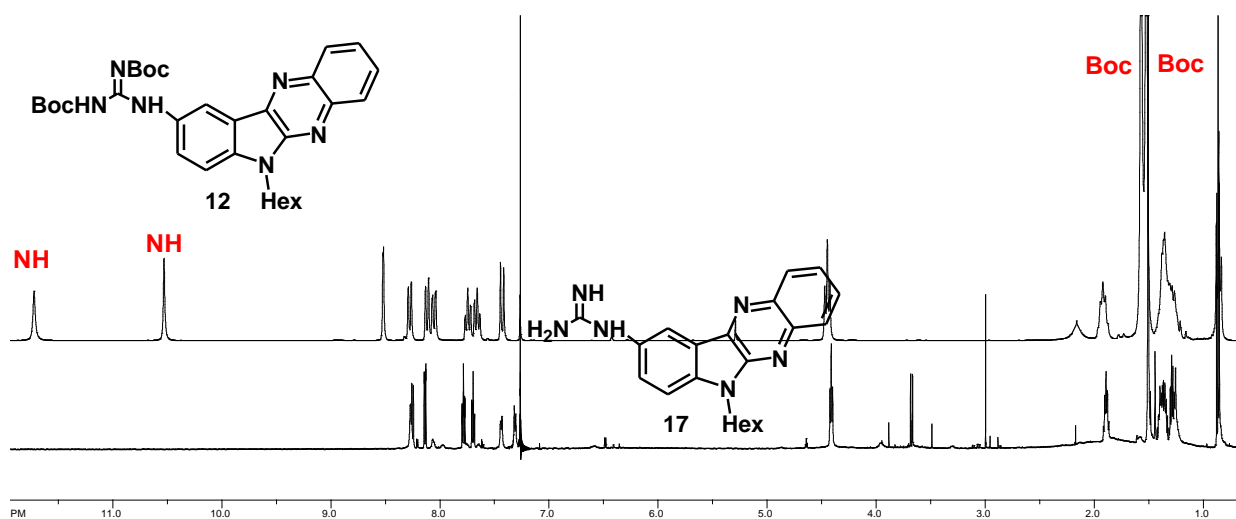
4.2.1. NMR spektri

NMR spektri daju najviše informacija o kemijskoj strukturi produkata. Za sve produkte snimljeni su ^1H and ^{13}C NMR spektri. Karakteristični ^1H NMR signali nitro-spojeva su aromatski protoni koji se nalaze u *ortho*-položaju prema NO_2 skupini (H_8 i H_{10}). Oni se nalaze na vrlo niskom magnetskom polju (δ 9.36-9.32 ppm), kao što je prikazano za spoj **3** (δ 9.34 ppm) (Slika 9A, gore). Nakon redukcije nitro skupine u amino, dolazi do značajnog pomaka signala H_8 i H_{10} prema jačem magnetskom polju na 7.81 i 7.11 ppm (Slika 9A, gore). Drugi važni indikator nastanka amino skupine je pojavljivanje novog signala za NH_2 na 3.76 ppm.



SLIKA 9A: Aromatski dio ^1H NMR spektra (CDCl_3) produkta **3** (gore) i **7** (dolje)

Reakcija gvanilacije se također može pratiti u NMR spektrima. U prvom redu, dolazi do nestanka signala za NH_2 grupu, a istovremeno se pojavljuju novi signali za gvanidinske protone na niskom polju (11.72 i 10.53 ppm), te dva singleta za Boc skupinu na 1.57 i 1.52 ppm (Slika 9B, gore). Deprotekcija gvanidina je evidentna iz nestanka signala Boc skupina i dva NH signala na niskom magnetskom polju. Prisutnost gvanidinske funkcionalnosti je također vidljiva u ^{13}C NMR spektrima, gdje se signal za imino-ugljik gvanidina nalazi na 163 ppm i karbonilni signali za Boc skupine na 154 i 153 ppm. Deprotekcijom nestaju signali za karbonilne skupine, dok se gvanidinski $\text{C}=\text{N}$ ugljik nalazi na 145 ppm.

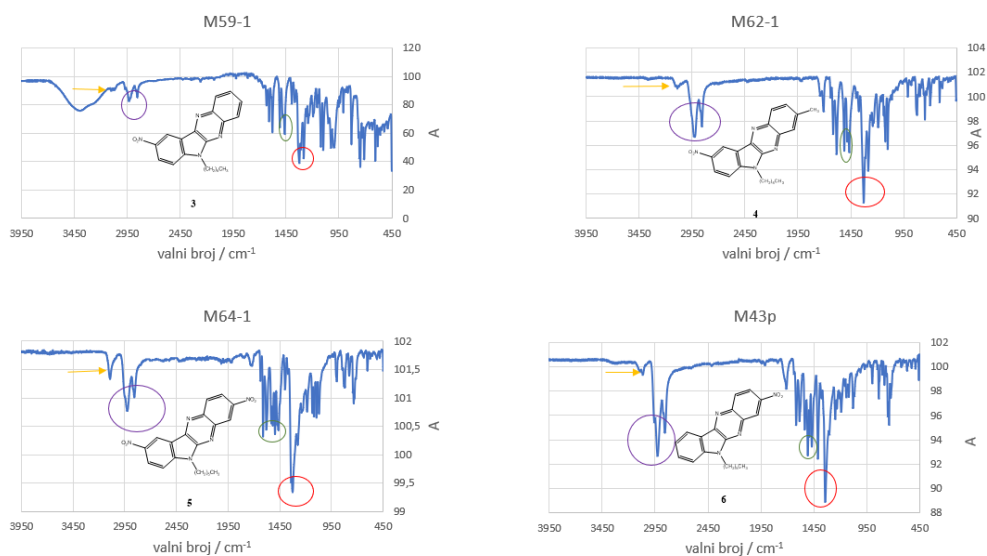


SLIKA 9B: ^1H NMR spektri (CDCl_3) gvanidina **12** (gore) i **17** (dolje)

4.2.2. IR spektri

IR spektri dobiveni su snimanjem minimalne količine uzorka na uređaju navedenom u poglavlju 3.1. Uzorci se prilikom snimanja nalaze u krutom stanju.

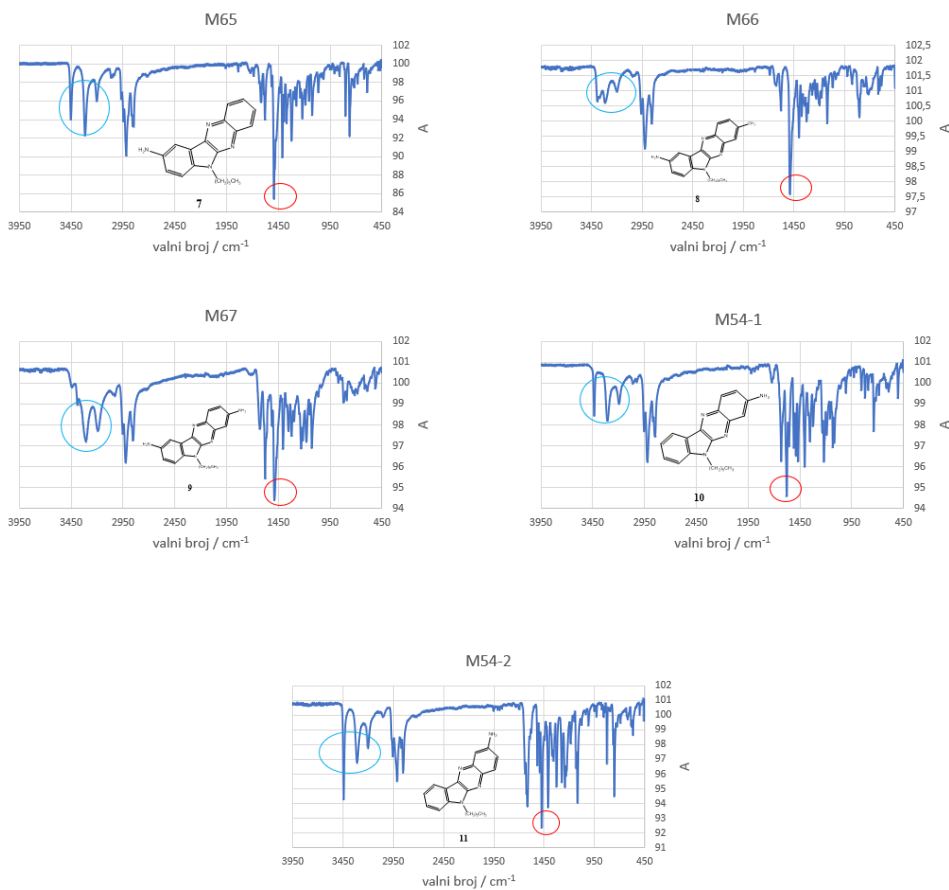
4.2.2.1. IR spektri nitro-spojeva



SLIKA 10: IR spektri nitro spojeva

Na slici 10 prikazani su IR spektri nitro spojeva dobivenih u eksperimentu. Kod spektara nitro-spojeva prisutni su signali alkilnih C-H istežanja na 2950-2850 cm⁻¹ (ljubičasta oznaka) te signali C-H alkenilnih istežanja na 3100-3010 cm⁻¹ (narančasta oznaka). Također su jasni signali istežanja -N=O veze na 1490-1510 cm⁻¹ (zelena oznaka) kao i izražena vrpca C-N istežanja na 1342-1266 cm⁻¹ (crvena oznaka).

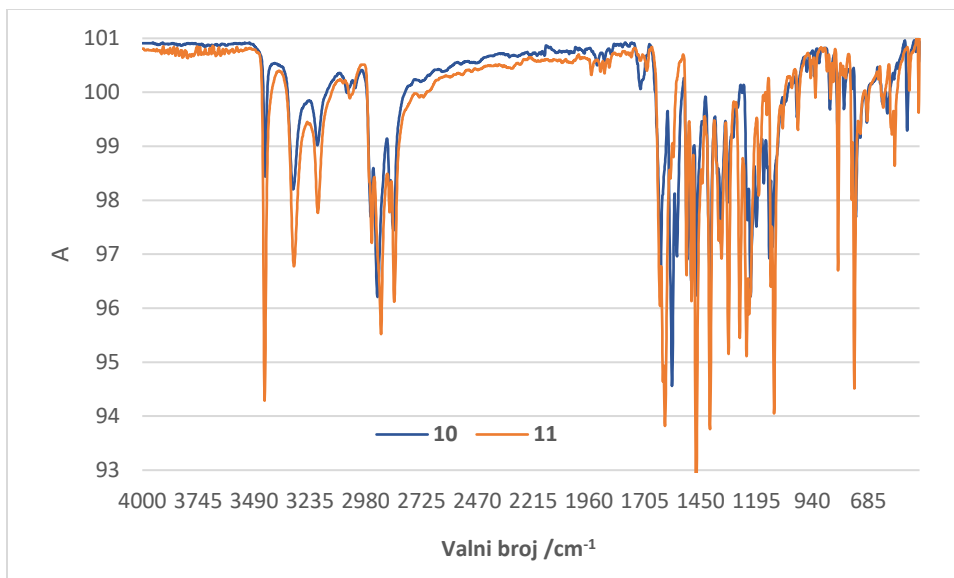
4.2.2.2. IR spektri amino-spojeva



SLIKA 11: IR spektri amino spojeva

Na slici 11 prikazani su IR spektri dobivenih amino spojeva. Kod spektara ovih spojeva dolazi do pojave signala N-H istežanja amina na $3500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ (plava oznaka). Tih signala nema kod nitro spojeva. Uz to su kao i u prethodnim spektrima prisutni signali C-N istežanja na $1342\text{-}1266\text{ cm}^{-1}$ (crvena oznaka), a vide se i signali C-H alkilnih i alkenilnih istežanja.

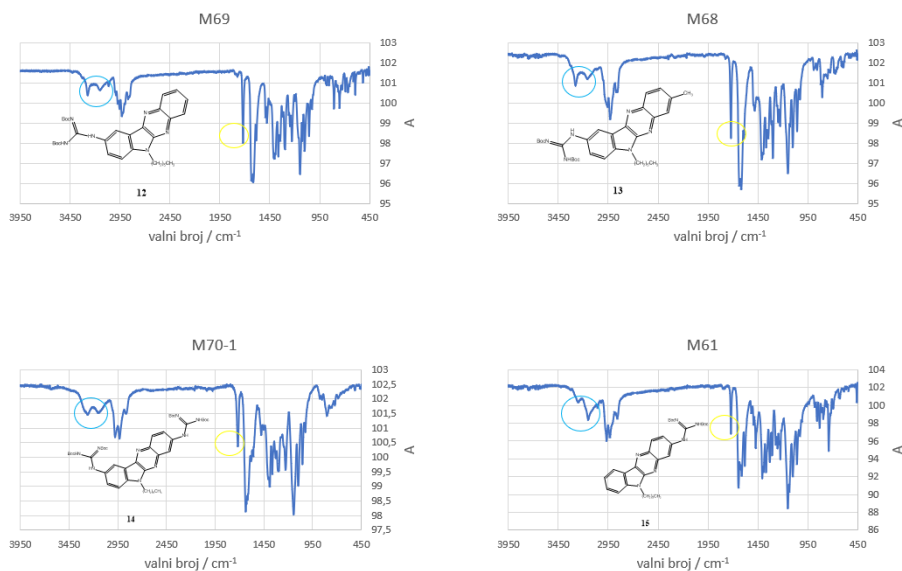
Na idućoj slici prikazana jer usporedba IR spektara izomera **10** i **11** dobivenih redukcijom spoja **6**.

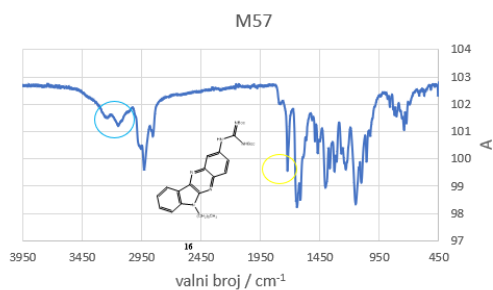


SLIKA 12: Usporedba IR spektra dva amino-izomera **10** i **11**

4.2.2.3. IR spektri zaštićenih gvanidina

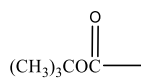
Na slici 13 prikazani su IR spektri zaštićenih gvanidina. Kod spektara ove vrste spojeva jasno je vidljivo smanjenje intenziteta signala amidnog N-H istezanja (plava oznaka). Naime, vezanjem Boc zaštitne skupine spojevi postaju sekundarni amini.





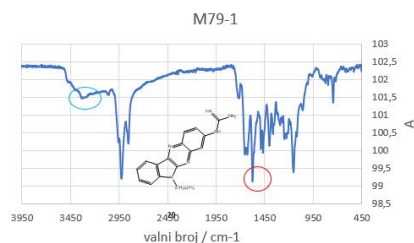
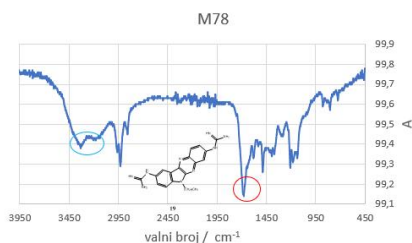
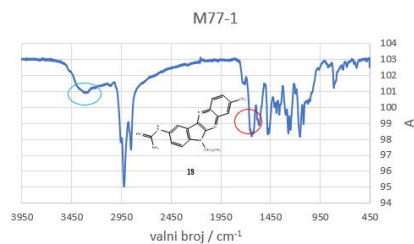
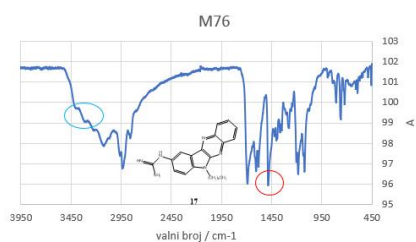
SLIKA 13: IR spektri zaštićenih gvanidina

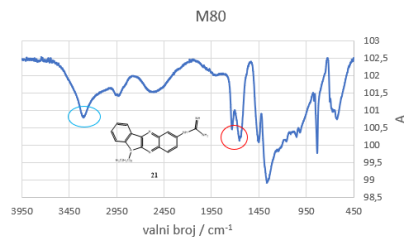
Nadalje, pojavljuje se i signal karbonilnog C=O istezanja na $1720 - 1715 \text{ cm}^{-1}$ (žuta oznaka). Ovaj signal javlja se zbog Boc zaštitne skupine koja u svojoj strukturi ima karbonilnu skupinu (slika 14).



SLIKA 14: Struktura Boc zaštitne skupine

4.2.2.4. IR spektri gvanidina





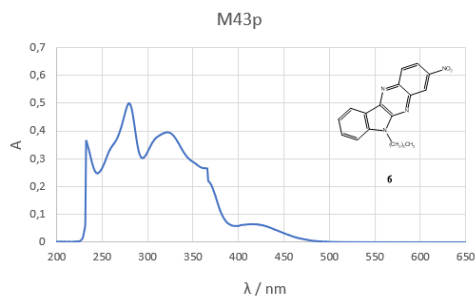
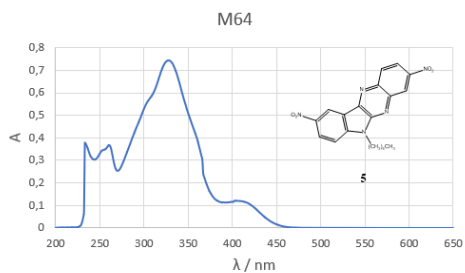
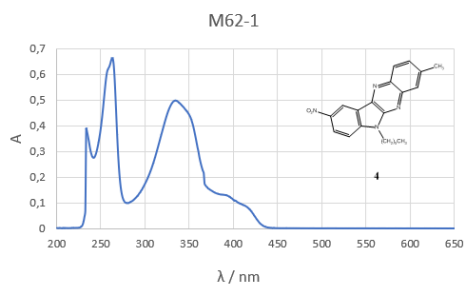
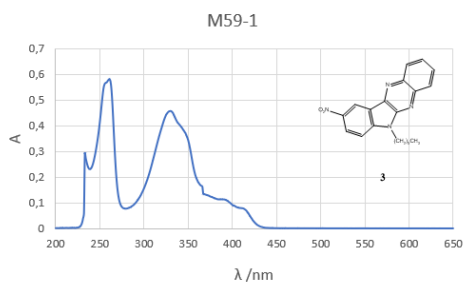
SLIKA 15 : IR spektri gvanidina

Na slici 15 prikazani su IR spektri gvanidina. U njima nema više signala C=O istezanja koji je bio prisutan zbog Boc zaštitne skupine. I dalje je jasan signal N-H amidnih istezanja (plava oznaka) te C-N istezanja (crvena oznaka). Uz to, vide se i signali alkilnih i alkenilnih C-H istezanja koji nisu označeni, a navedeni su u poglavlju 4.2.1.

4.3. Apsorpcijski spektri

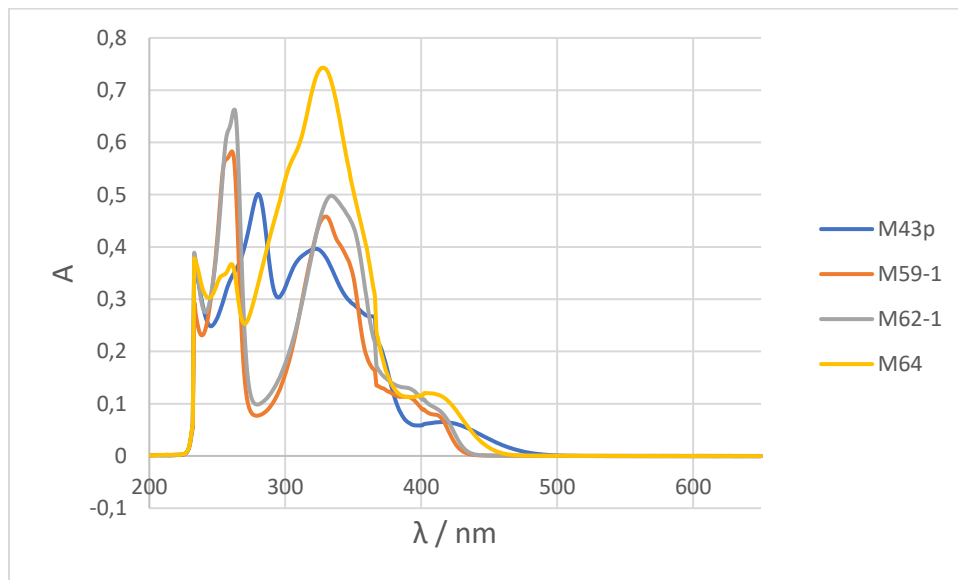
Prilikom snimanja apsorpcijskih UV-Vis spektara kao otapalo je korišten acetonitril. Pripravljene su otopine koncentracija 10^{-3} M koje su zatim prilikom prebacivanja u kivetu zatim razrijeđene još 100 puta, odnosno koncentracija je bila 10^{-5} M.

4.3.1. Apsorpcijski spektri nitro-spojeva



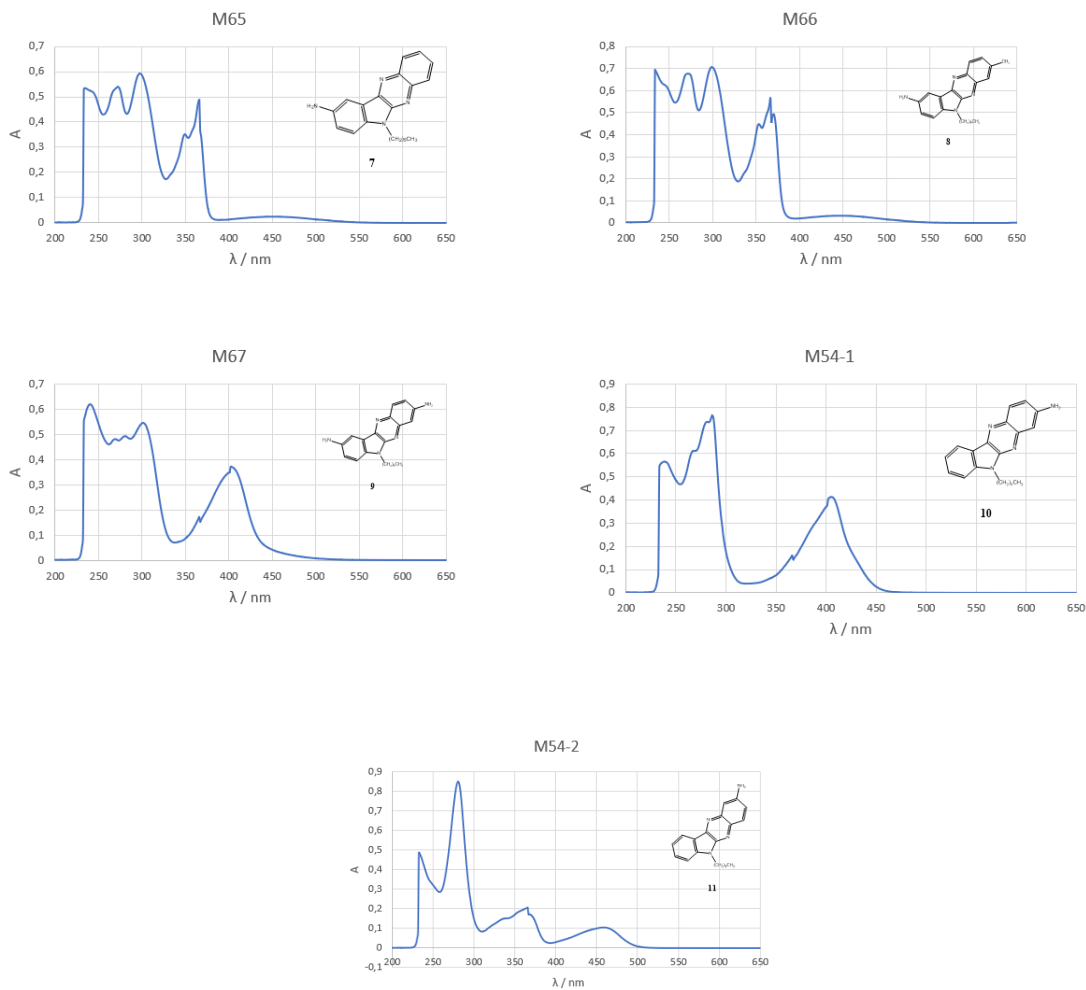
SLIKA 16: Apsorpcijski spektri nitro spojeva

Na slici 16 prikazani su apsorpcijski spektri dobivenih nitro spojeva. Maksimum apsorpcije pri najvećoj valnoj duljini (327 nm) ima spoj **5** (dvije -NO₂ skupine vezane na kromofor). S druge strane, maksimum apsorpcije na najmanjoj valnoj duljini (261 nm) ima spoj **3** (-NO₂ skupinu vezana aoksokromom na lijevoj strani spoja). Najveći maksimum apsorpcije ima spoj **5**, a najmanji spoj **6**.



SLIKA 17: Usporedba apsorpcijskih spektara nitro-spojeva

4.3.2. Apsorpcijski spektri amino-spojeva

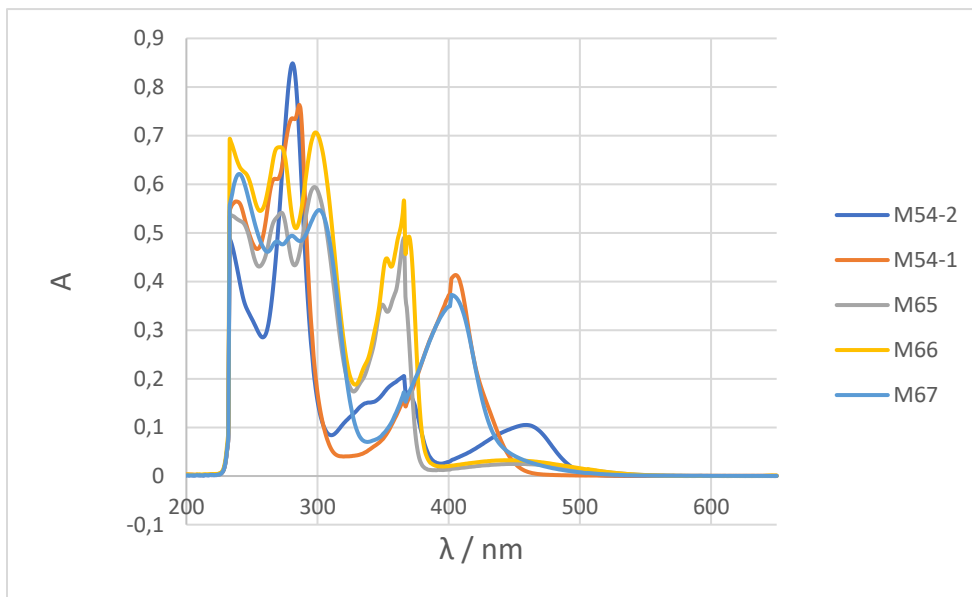


SLIKA 18: Apsorpcijski spektri amino-spojeva

Na slici 18 prikazani su apsorpcijski spektri dobivenih amino-spojeva. Maksimum apsorpcije kod najveće valne duljine (298 nm) ima spoj **8**. Maksimum apsorpcije kod najmanje valne duljine (240 nm) pokazuje amin **9**. Najveću apsorpciju ima spoj **11**. Najmanju apsorpciju, s druge strane, ima spoj **7**.

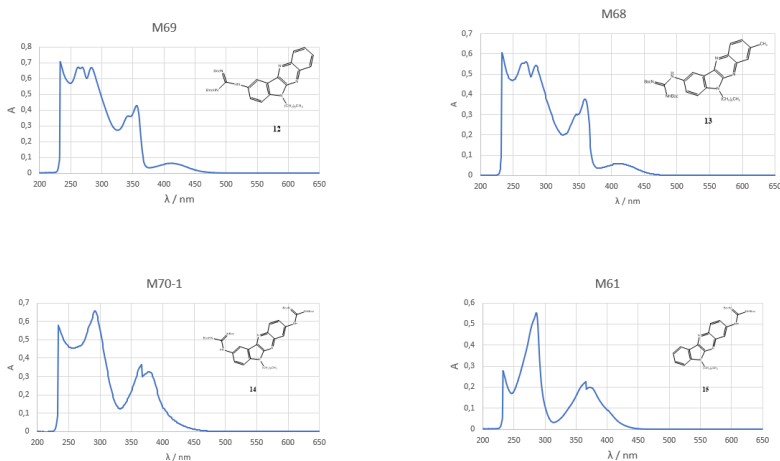
Kod amino-spojeva u svim slučajevima aoksokromi su elektron donorske skupine. U tri slučaja gdje su sada vezane amino skupine (jedna ili dvije) dolazi do batokromnog (pomaka maksimuma apsorpcije prema većim valnim duljinama) i hiperkromnog pomaka (povećanje maksimuma apsorpcije). U slučaju gdje su na kromofor vezane $-NH_2$ i $-CH_3$ skupine dolazi do hipsokromnog

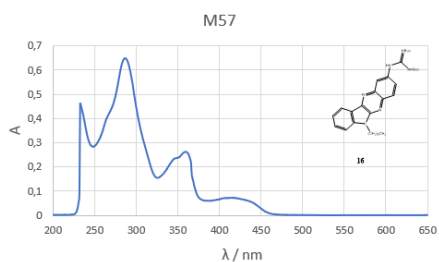
pomaka (pomak maksimuma absorpcije prema manjim valnim duljinama) i hipokromni pomak (smanjenje maksimuma absorpcije).



SLIKA 19: Usporedba apsorpcijskih spektara amino-spojewa

4.3.3. Apсорpcijski spektri zaštićenih gvanidina

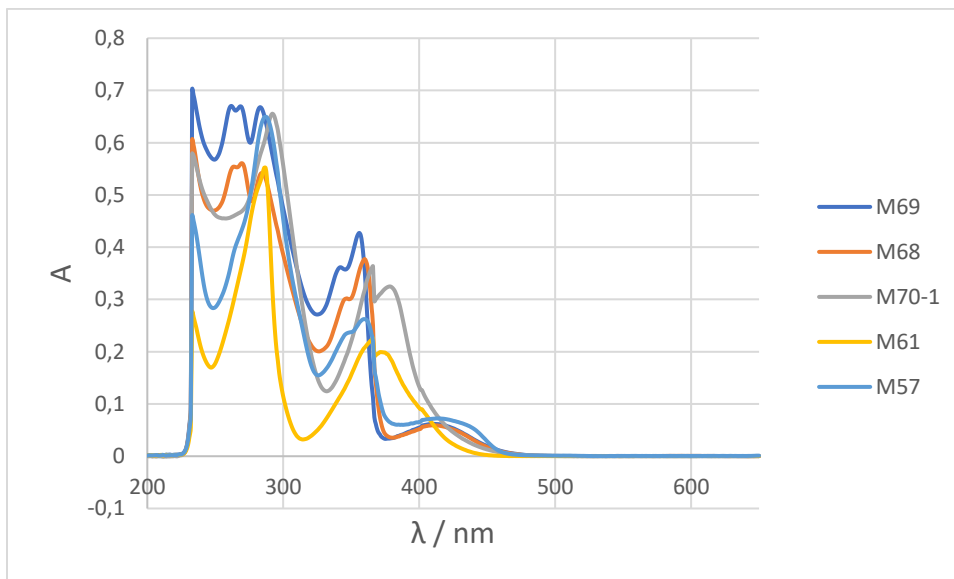




SLIKA 20: Apsorpcijski spektri zaštićenih gvanidina

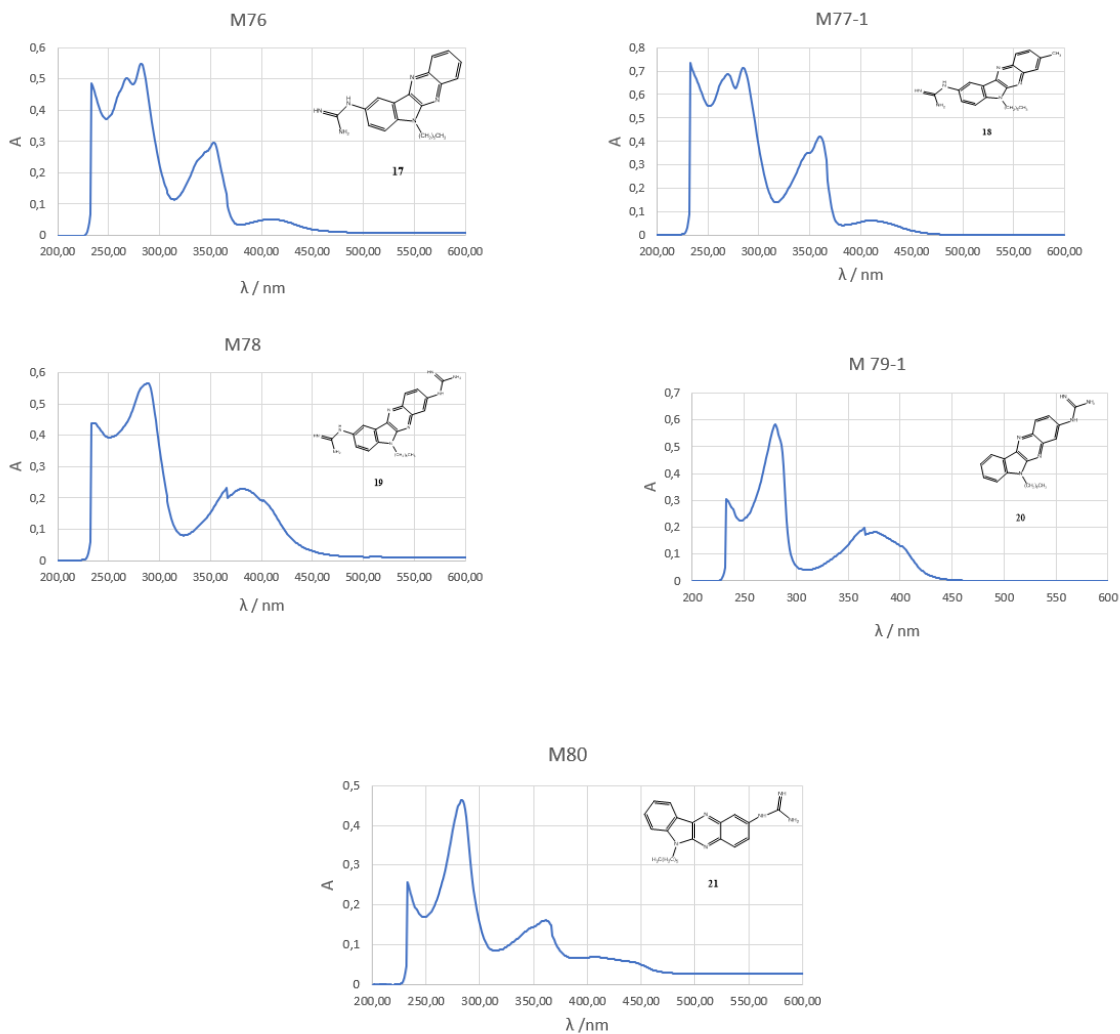
Na slici 20 prikazani su apsorpcijski spektri zaštićenih gvanidina. Kod ove vrste spojeva maksimum apsorpcije na najvećoj valnoj duljini (292 nm) ima spoj **14**. Spojevi koji imaju maksimum apsorpcije na najmanjoj valnoj duljini (233 nm) su spojevi **12** i **13**.

Kod dva zaštićena gvanidina u usporedbi s amino-spojevima prisutan je batokroman pomak (**14** i **16**), kod dva spoja hipsokromni pomak (**12** i **13**) dok je valna duljina maksimuma apsorpcije jednog spoja (**15**) ostala ista. Također, kod tri spoja (**13**, **15** i **16**) javlja se hipokromni pomak, a kod dva spoja (**12** i **14**) hiperkromni.



SLIKA 21: Usporedba apsorpcijskih spektara zaštićenih gvanidina

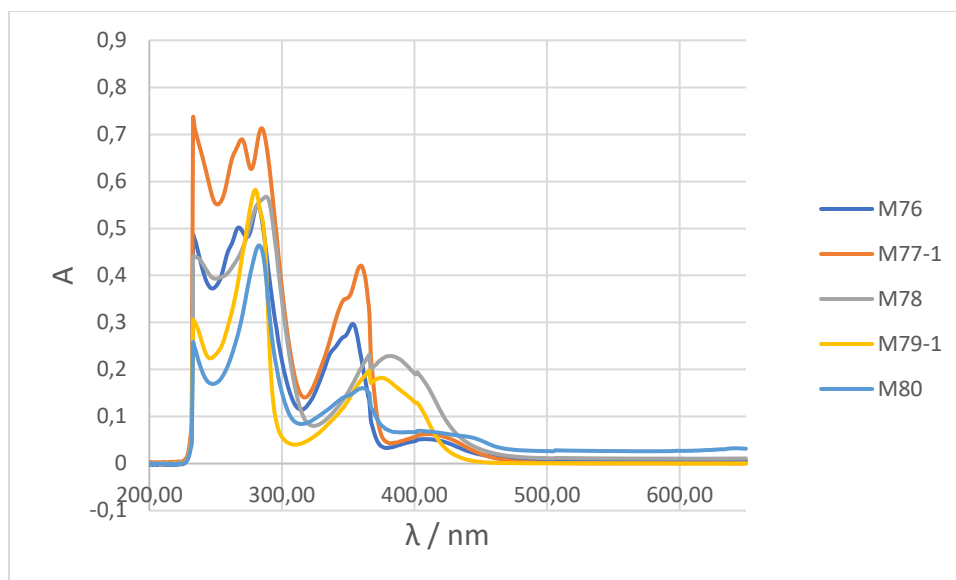
4.3.4. Apsorpcijski spektri gvanidina



SLIKA 22: Apsorpcijski spektri gvanidina

Kod konačnih produkata, gvanidina maksimum apsorpcije kod najveće valne duljine (288 nm) ima spoj **19**. Maksimum apsorpcije kod najmanje valne duljine (233 nm) ima spoj **18**.

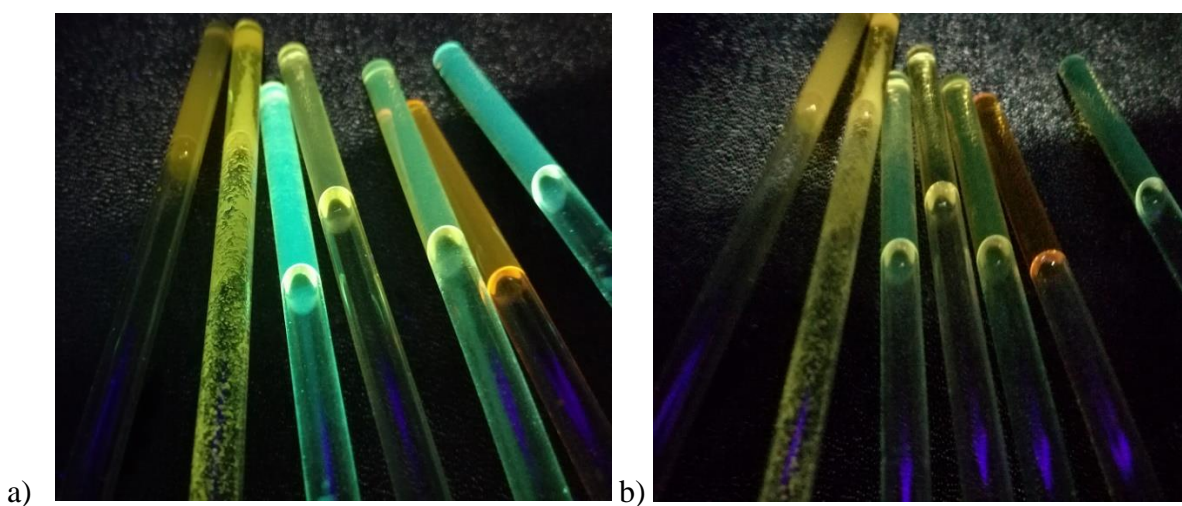
Također, u odnosu na prethodni reakcijski stupanj kod spojeva **19**, **20** i **21** dolazi do pomaka maksimuma apsorpcije prema manjim valnim duljinama (hipsokromni pomak). Spoj **18** ima maksimum apsorpcije kod iste valne duljine kao i u prethodnom stupnju, dok spoj **17** pokazuje pomak maksimuma apsorpcije prema većim valnim duljinama (batokromni pomak). Kod spojeva **17** i **21** dolazi do smanjenja maksimuma apsorpcije (hipokromni pomak). S druge strane, kod spojeva **18**, **19** i **20** jasno je povećanje maksimuma apsorpcije (hiperkromni pomak).



SLIKA 23: Usporedba apsorpcijskih spektara gvanidina

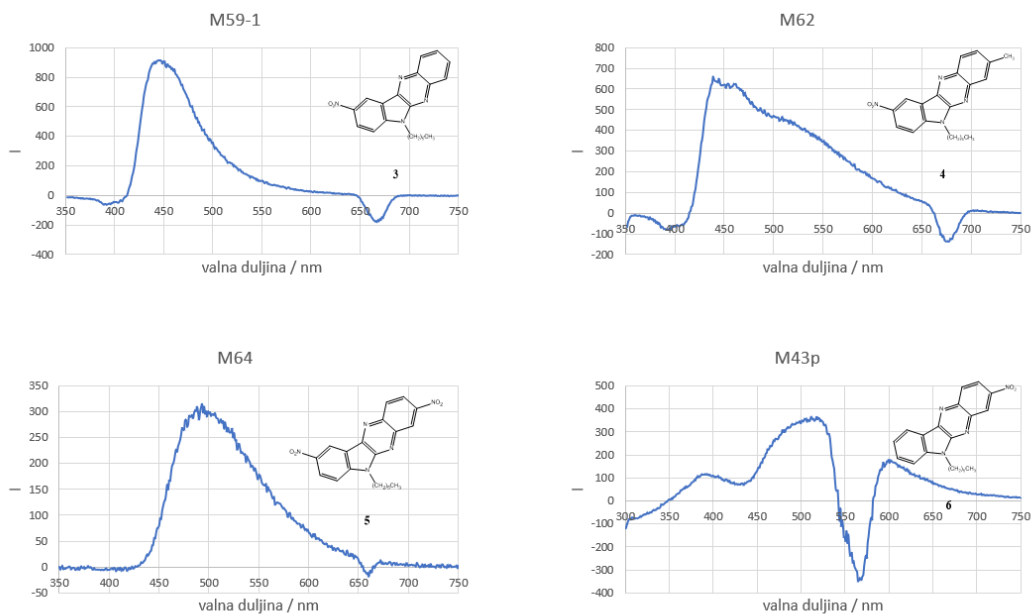
4.4. Fluorescencijska spektrofotometrija

Emisijski spektri snimljeni su na fluorimetru u acetonitrilu kao otapalu. Također su koncentracije uzoraka prilikom prebacivanja u kivetu bile 10^{-5} M. Mnogi sintetizirani spojevi pokazuju fluorescenciju pri osvjetljavanju UV zračenjem (Slika 19A).



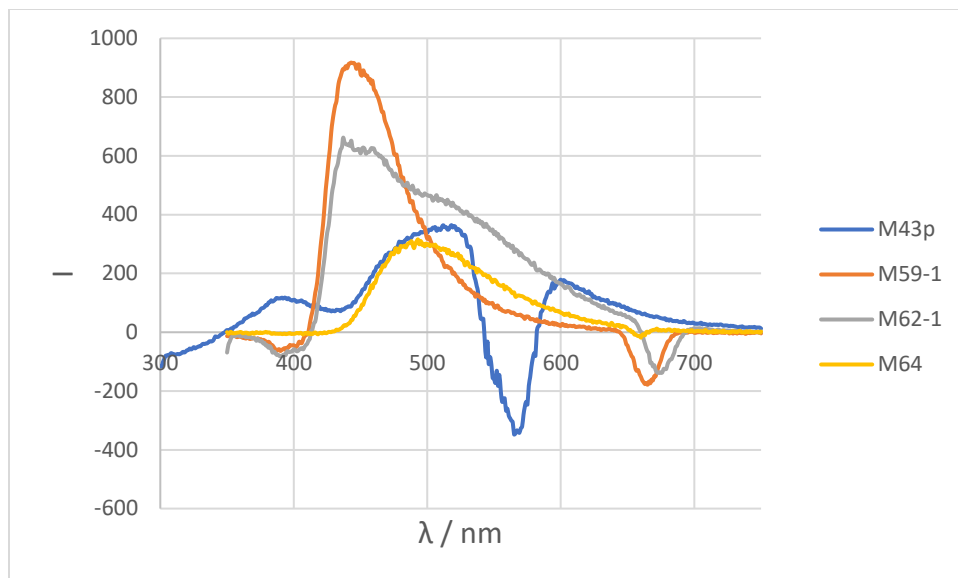
Slika 24A. Spojevi **18z**, **17**, **21**, **18/18B**, **20H⁺**, **19** i **20** pri UV osvjetljenju na (a) $\lambda_{\text{ex}}=365$ nm (a) i (b) $\lambda_{\text{ex}}=254$ nm (CDCl_3)

4.4.1. Emisijski spektri nitro-spojeva



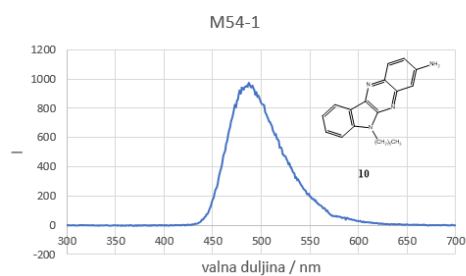
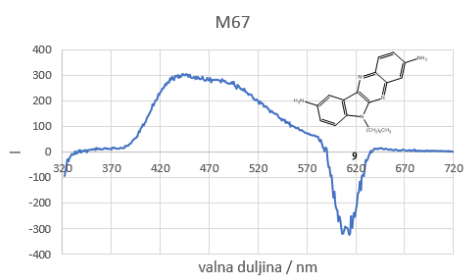
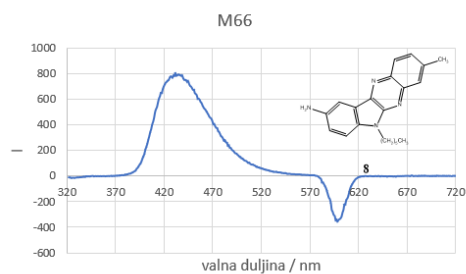
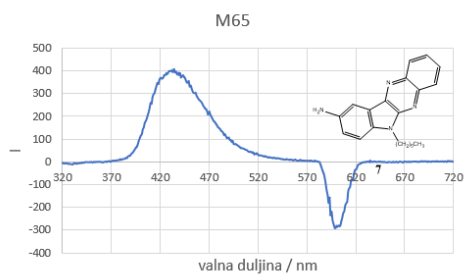
SLIKA 25: Emisijski spektri nitro-spojeva

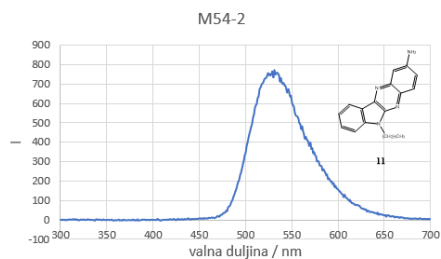
Na slici 25 prikazani su emisijski spektri nitro-spojeva. Maksimum intenziteta kod najveće valne duljine pobude (518 nm) postiže spoj **6** (na kromofor je s desne strane vezana $-\text{NO}_2$ skupina). S druge strane, maksimum intenziteta kod najmanje valne duljine pobude (437 nm) postiže spoj **4** (na kromofor su vezane $-\text{NO}_2$ i $-\text{CH}_3$ skupine). Najviši intenzitet pokazuje spoj **3** (917,6252), a najmanji spoj **5** (315,7025).



SLIKA 26: Usporedba emisijskih spektara nitro-spojewa

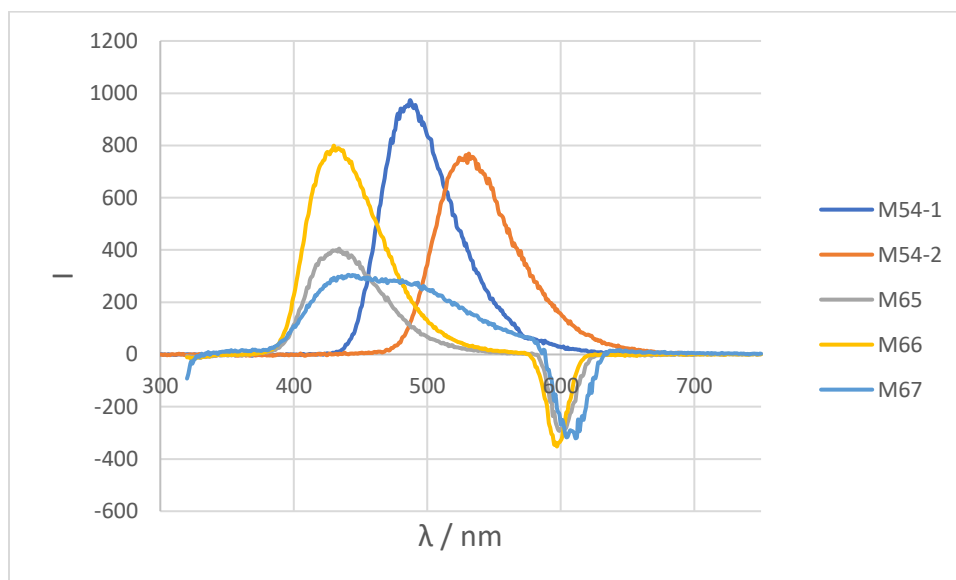
4.4.2. Emisijski spektri amino-spojewa





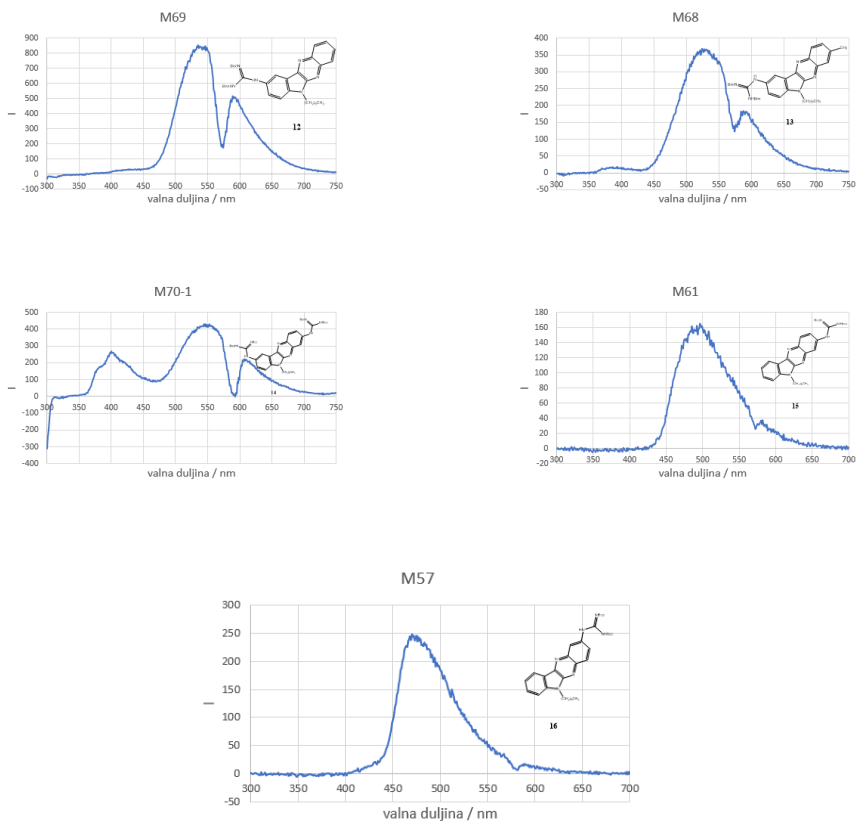
SLIKA 27: Emisijski spektri amino-spojeva

Na slici 27 prikazani su emisijski spektri amino-spojeva. Maksimum intenziteta kod najveće valne duljine (531 nm) ima spoj **11**. Maksimum intenziteta kod najmanje valne duljine ima spoj **8**. Oba spoja nastala su iz spoja prethodne grupe koji ima isto obilježje. Najveći maksimum intenziteta ima spoj **10** (972,988), a najmanji spoj **9** (305,1179).



SLIKA 28: Usporedba emisijskih spektara amino-spojeva

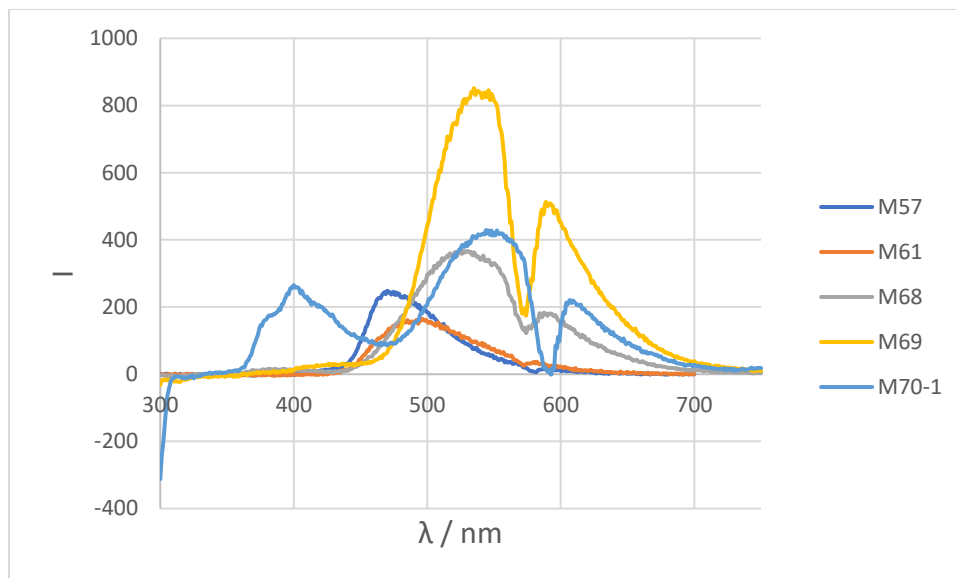
4.4.3. Emisijski spektri zaštićenih gvanidina



SLIKA 29: Emisijski spektri zaštićenih gvanidina

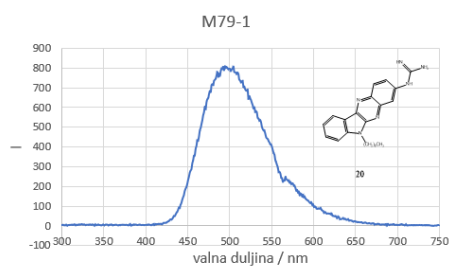
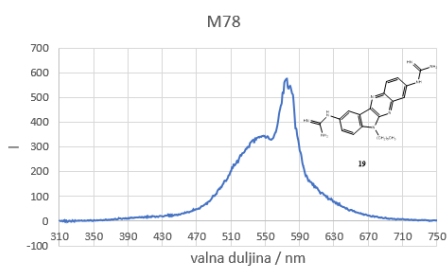
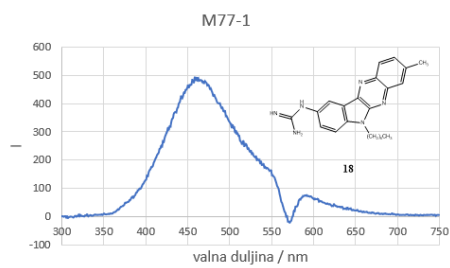
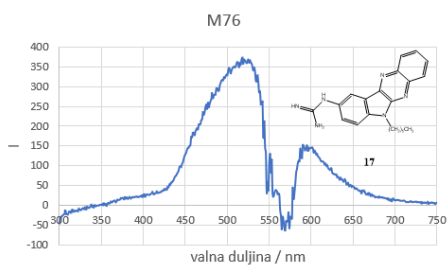
Na slici 29 prikazani su emisijski spektri zaštićenih gvanidina. Maksimum intenziteta kod najveće valne duljine pobude (544 nm) ima spoj **14**. Kod najmanje valne duljine pobude (470 nm) maksimum intenziteta ima spoj **16**. Najveći intenzitet ima spoj **12** (851,4585), a najmanji spoj **15** (164,6738).

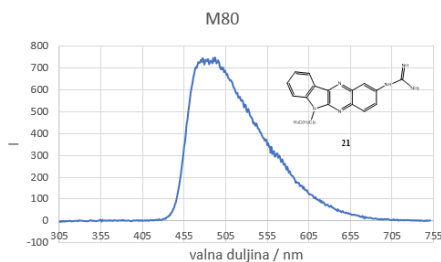
U usporedbi s prethodno promatranom grupom spojeva, spojevi **12** i **14** pokazuju trend rasta oba promatrana fotofizikalna svojstva. U slučaju spojeva **15** i **16** događa se pad vrijednosti obje promatrane komponente. S druge strane, u slučaju spoja **12**, vrijednost maksimuma intenziteta pada, a vrijednost valne duljine kod koje je maksimum intenziteta raste.



SLIKA 30: Usporedba emisijskih spektara zaštićenih gvanidina

4.4.4. Emisijski spektri gvanidina



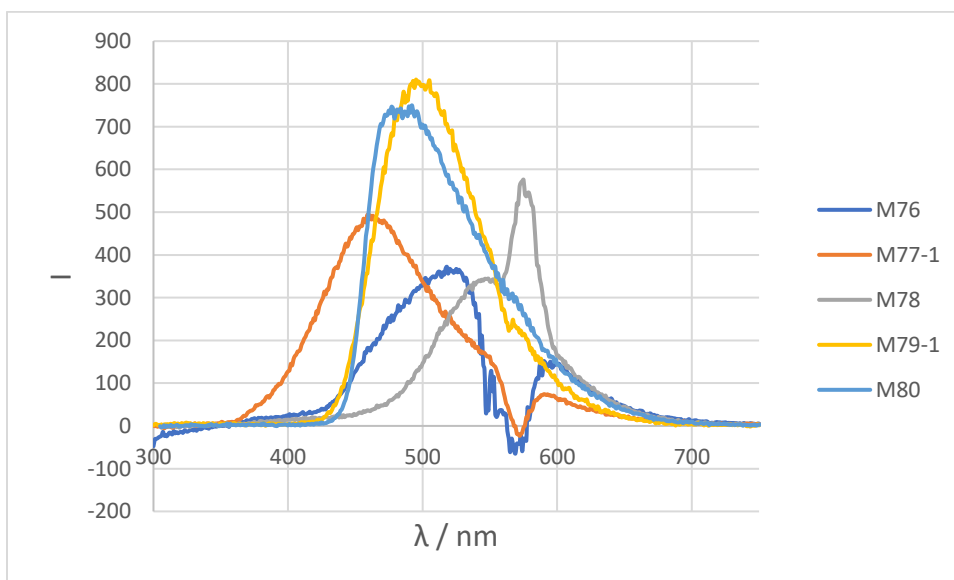


SLIKA 31: Emisijski spektri fluorescencije gvanidina

Na slici 31 prikazani su emisijski spektri gvanidina pripremljenih u ovom radu. Maksimum intenziteta kod najveće valne duljine (575 nm) ima spoj **19**, a kod najmanje valne duljine (459 nm) ima spoj **18**. Najveći maksimum intenziteta (810 nm) ima spoj **20**, dok je najmanji maksimum intenziteta (372,0429) izmjeren za spoj **17**.

U odnosu na zaštićene gvanidine valna duljina maksimuma intenziteta te maksimum intenziteta padaju kod spoja **17**. Obje navedena parametra rastu kod spojeva **19** i **20**. Kod spojeva **18** i **21** dolazi do pada valne duljine maksimuma te rasta maksimuma intenziteta.

Izražena fluorescencija sintetiziranih spojeva čini ih vrlo zanimljivim molekulama za studij i primjenu kao organske boje za biološko označivanje.⁽³⁹⁾



SLIKA 32: Usporedba emisijskih spektara gvanidina

Fotofizička svojstva pripremljenih spojeva su sumarno prikazana u Tablici 2.

TABLICA 2. Fotofizička svojstva pripremljenih spojeva^a

Spoj	λ_{abs} (nm)	ε (*10 ⁴ M ⁻¹ cm ⁻¹)	λ_{em} (nm)
3	234, 261 , 333, 393	5.48, 11.65 , 8.97, 2.23	443
4/4B	233, 263 , 337, 395	7.75, 13.24 , 9.86, 2.48	437
5/5B	235, 263, 327 , 410	7.30, 6.92, 14.86 , 2.37	493
6/6B	234, 280 , 324	7.12, 10.03 , 7.91	518
7	237, 275, 298 , 352, 366	10.64, 10.52, 11.88 , 6.82, 9.78	434
8/8B	235, 274, 298 , 355, 366	13.60, 13.39, 14.12 , 8.70, 11.28	430
9	240 , 272, 284, 305, 406	12.42 , 9.55, 9.74, 10.65, 7.32	441
10	239, 286 , 408	11.28, 15.27 , 8.09	487
11	234, 281 , 367, 461	9.63, 16.97 , 3.45, 2.09	531
12	233 , 271, 287, 362, 414	14.05 , 13.07, 12.82, 5.15, 1.23	535
13/13B	233 , 265, 271, 287, 357	12.12 , 11.07, 11.12, 10.63, 7.27	542
14	234, 292 , 366, 383	11.50, 13.11 , 7.27, 6.21	544
15	234, 286 , 366, 372	5.34, 11.04 , 4.52, 3.98	
16	234, 287 , 362, 420	9.02, 13.00 , 5.16, 1.41	470
17	234, 270, 282 , 355, 413	9.57, 9.89, 10.98 , 5.83, 1.03	518
18/18B	233 , 272, 287, 362, 415	14.72 , 13.53, 13.95, 8.13, 1.23	459
19	236, 288 , 385	8.76, 11.35 , 4.54	575
20	236, 280 , 377	5.81, 11.64 , 3.64	495
21	235, 283 , 366, 427	4.8, 9.28 , 2.98, 1.24	492

^a u acetonitrilu; ε =ekstincijski koeficijent ; u boldu su označeni signali s maksimumom apsorpcije

5. ZAKLJUČAK

U provedenim reakcijama kao konačni produkti dobiveni su željeni gvanidinski derivati. Spoj **17** dobiven je s iskorištenjem 94,12%, spoj **18** s iskorištenjem 50%, a spoj **19** s iskorištenjem 88,89%. Iskorištenje spoja **20** je 25%, a spoja **21** 69,23%. Navedeni spojevi dobiveni su kao krutine koje u otopini fluoresciraju. Strukture pripremljenih spojeva su potvrđene spektroskopskom karakterizacijom korištenjem NMR i IR spektroskopije, a njihova fotofizikalna svojstva su okarakterizirana pomoću UV-vidljive apsorpcijske i fluorescencijske spektrofotometrije.

Prilikom usporedbe klasičnog načina provođenja reakcija u otapalu i mehanokemijskog načina, boljim se pokazao klasičan način. Međutim, potrebno je provoditi daljnja istraživanja kako bi iskorištenja kod mehanokemije postala bolja. Time bi se i mehanokemijske reakcije mogle provoditi češće što je bolje za okoliš i zdravlje osobe koja provodi reakcije.

6. LITERATURNI IZVORI

- (1)- C.Alonso-Moreno, A. Antiñolo, F. Carrillo-Hermosilla, A. Otero, Guanidines: from classical approaches to efficient catalytic syntheses, *Chem. Soc. Rev.*, 2014, **43**, 3406-3425
- (2)- Kaushal, T., Srivastava, G., Sharma, A., Negi, A.S., An Insight into Medicinal Chemistry of Anticancer Quinoxalines, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **27** (1), 2009 , 16-35
- (3)- N. S. Hari Narayana Moorthy, M .Elangovan, C. Karthikeyan and Piyush Trivedi, 6H-Indolo[2,3-b]Quinoxalines: DNA and Proteins Interacting Scaffold for Pharmacological Activities, *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, **13** (10), 2013, 1415-1420
- (4)- V. Štrukil, Mechanochemical synthesis of thioureas, ureas and guanidines, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, **13**, 1828–1849, 2017
- (5)- I. Antol, L. Barešić, Z. Glasovac, D. Margetić, Computational Study of Electronic Influence of Guanidine Substitution on Diels-Alder Reactions of Heterocyclic Dienes, *Croat. Chem. Acta* 2019, **92**(2), 279–286
- (6)- A. Mesías-Salazar, J. Martínez, R. S. Rojas, F. CarrilloHermosilla, A. Ramos, R. Fernández-Galán and A. Antiñolo, Aromatic guanidines as highly active binary catalytic systems for the fixation of CO₂ into cyclic carbonates under mild conditions, *Catal. Sci. Technol.*, 2019, **9**, 3879–3886.
- (7)- P. K. Sawinski, M. Meven, U. Englert and R. Dronskowski, Single-Crystal Neutron Diffraction Study on Guanidine, CN₃H₅, *Cryst. Growth Des.*, 2013, **13**, 1730-1735.
- (8)- S. Dong, X. Feng and X. Liu, Chiral guanidines and their derivatives in asymmetric synthesis, *Chem. Soc. Rev.*, 2018, **47**, 8525-
- (9)- T. G. Ong, G. P. A. Yap and D. S. Richeson, Catalytic Construction and Reconstruction of Guanidines: Ti-Mediated Guanylation of Amines and Transamination of Guanidines, *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**, 8100-8101.
- (10)- Ma Y, De S, Chen C., Syntheses of Cyclic Guanidine-Containing Natural Products, *Tetrahedron*, 2015 Feb 25; **71**(8), 1145-1173.

- (11)- Austin Y. Zhao, Allen F. Brooks, David M. Raffel, Jenelle Stauff, Janna Arteaga, Peter J. H. Scott, and Xia Shao, Fully Automated Radiosynthesis of [¹¹C]Guanidines for Cardiac PET Imaging, *ACS Medicinal Chemistry Letters* 2020 , **11** (11), 2325-2330.
- (12)- Khatoon, H.; Abdulmalek, E. Novel Synthetic Routes to Prepare Biologically Active Quinoxalines and Their Derivatives: A Synthetic Review or the Last Two Decades. *Molecules* 2021, **26**, 1055.
- (13)- S. Tariq, K. Somakala, M. Amir, Quinoxaline: An insight into the recent pharmacological advances, *European Journal of Medicinal Chemistry*, **143**, 2017, 542-557
- (14)- M. Bandini, A. Eichholzer, Catalytic Functionalization of Indoles in a New Dimension, *Angewandte Chemie*, **48** (51), 9608-9644, 2009.
- (15)- Guy R. Humphrey and Jeffrey T. Kuethe, Practical Methodologies for the Synthesis of Indoles, *Chemical Reviews* 2006, **106** (7), 2875-2911.
- (16)- N. Kumar Kaushik, N. Kaushik , P. Attri , N. Kumar , C. Hyeok Kim, A. Kumar Verma, and E. H. Choi, Biomedical Importance of Indoles, *Molecules* 2013, **18**, 6620-6662.
- (17)- Marina O. Shibinskaya, Sergey A. Lyakhov, Alexander V. Mazepa, Sergey A. Andronati, Alexander V. Turov, Nadezhda M. Zholobak, Nikolay Ya. Spivak, Synthesis, cytotoxicity, antiviral activity and interferon inducing ability of 6-(2-aminoethyl)-6H-indolo[2,3-b]quinoxalines. *Eur. J. Med. Chemistry* 2010, **45**, 1237-1243.
- (18)- *Mechanochemical Organic Synthesis*, Margetić, D.; Štrukil, V., Elsevier, Amsterdam, 2016.
- (19)- M. Leonardi, M. Villacampa and J. C. Menéndez, Multicomponent mechanochemical synthesis, *Chemical Science*, **9**, 2018, 2024-2064.
- (20)-Romeo Romagnoli, Pier Giovanni Baraldi, Olga Cruz-Lopez, Delia Preti, Jaime Bermejo, Francisco Estévez, α -Bromoacrylamido N-Substituted Isatin Derivatives as Potent Inducers of Apoptosis in Human Myeloid Leukemia Cells. *ChemMedChem* 2009, **4**, 1668-1676.
- (21)-S. I. Shulga, N. V. Simurova, O. S. Shulga, N. I. Misa, Synthesis and Study of 3-methyl-6H-indolo[2,3-b]quinoxalines. *Russ. J. Org. Chem.* 2014, **50**, 1175-1179.
- (22)-Russ JOC 2014 1175, Russ JOC 2015 2413, Deepali Jaiswal, Jyoti Tiwari, Shailesh Singh, Amit Kumar Sharma, Jaya Singh, Jagdamba Singh, Rose Bengal Catalyzed Coupling of 1 2-

Dicarbonyls and Phenylene 1,2-Diamines: Visible-Light Mediated Synthesis of Quinoxalines. *Chem. Select* 2019, 4, 8713-8718, Km Neha Shivhare, I. R. Siddiqui, β -cyclodextrin mediated synthesis of indole derivatives: reactions of isatins with 2-amino (or 2-thiole)anilines by supramolecular catalysis in water. *Supramol. Chem.* 2018, 1, R. Dowlatabadi, A. Khalaj, S. Rahimian, M. Montazeri, M. Amini, A. Shahverdi, E. Mahjub, *Synth. Commun.* 2011, 41, 1650-1658.

(23)-Aur lie Jaouen, Philippe Helissey, St phanie Desb ne-Finck, Sylviane Giorgi-Renault, Regioselective Syntheses of 1-, 2-, 3- and 4-Aminoindolo-[2,3-b]quinoxalines. *Heterocycles* 2008, 75, 2745-2759.

(24)-N. P. Buu-Ho i, G. Saint-Ruf, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1960, 11, 1920. A. G. Drushlyak, A. V. Ivashchenko, V. V. Titov, *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1984, 11, 1544 [*Chem. Heterocycl. Comp.*, 1984, 20, 1276].

(25)-*Russ J Chem* 2015 2413

(26)-Neelam Pery, Fatima Ijaz, Nayab Batool Rizvi, Munawar Ali Munawar, Muhammad Imtiaz Shafiq, Dual Targeting of Janus Kinase and Bruton's Tyrosine Kinase: A New Approach to Control the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Pakistan J. Zool.* 2021, 53, 281-293.

(27)-Neelam Pery, Fatima Ijaz, Nayab Batool Rizvi, Munawar Ali Munawar, Muhammad Imtiaz Shafiq, Dual Targeting of Janus Kinase and Bruton's Tyrosine Kinase: A New Approach to Control the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Pakistan J. Zool.* 2021, 53, 281-293.

(28)-Anne Beauchard, Yoan Ferandin, St phane Fr re, Olivier Lozach, M lina Blairvacq, Laurent Meijer, Val rie Thi ry, Thierry Besson, Synthesis of novel 5-substituted indirubins as protein kinases inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* 2006, 14, 6434-6443.

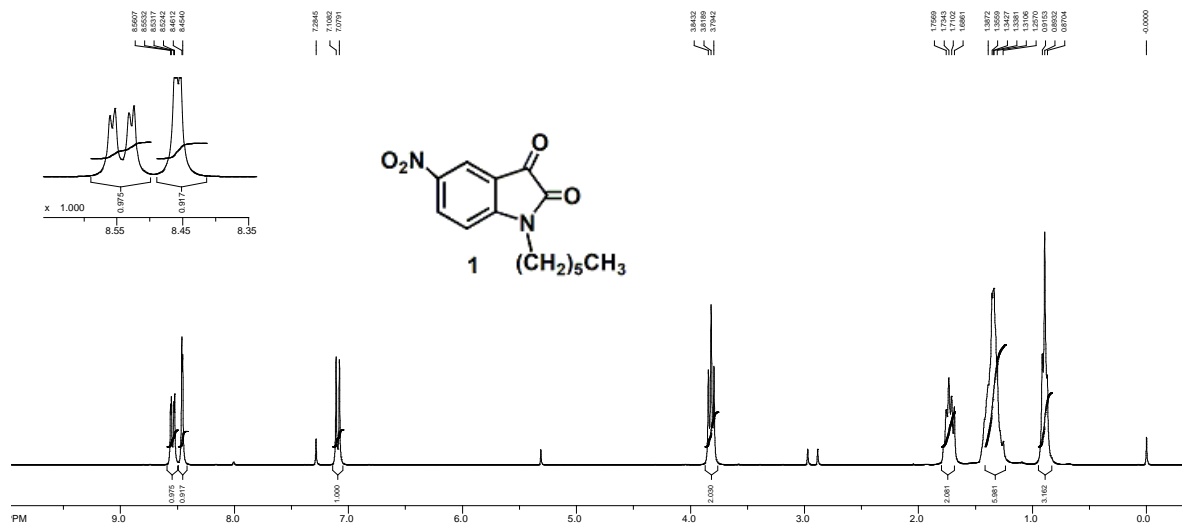
(29)-*Heterocycles* 2008

(30)-Bernatowicz, M. S.; Wu, Y. L.; Matsueda, G. R. Urethane protected derivatives of 1-guanylpyrazole for the mild and efficient preparation of guanidines. *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 3389-3392.

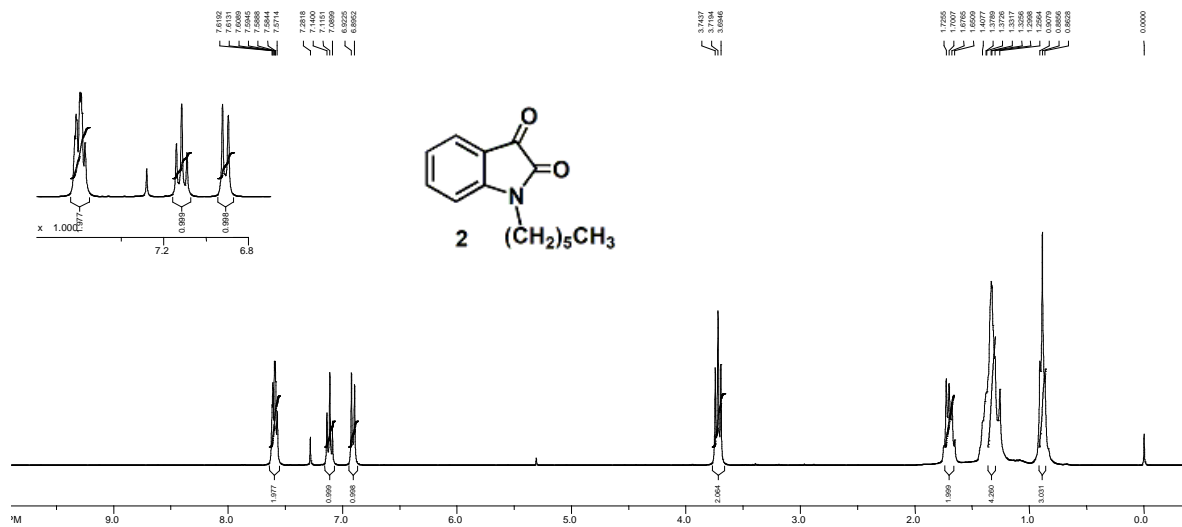
(31)-Anamarija Briš, Yasujiro Murata, Yoshifumi Hashikawa, Davor Margeti , Utilization of *sym*-tetrazines as guanidine delivery cycloaddition reagents. An experimental and computational study. *J. Mol. Struct.* 2022, u postupku objave.

- (32)-Katarzyna Sidoryk, Marta Świtalska, Piotr Różga, Joanna Wietrzyk, Iwona Bujak, Bartłomiej Żerek, Łukasz Kaczmarek, Marcin Cybulski, An efficient synthesis of indolo[2,3-b]quinoline guanidine derivatives with their in vitro and in vivo study. *Med. Chem. Res.* 2017, 26, 3354-3366.
- (33)-Romeo Romagnoli, Pier Giovanni Baraldi, Olga Cruz-Lopez, Delia Preti, Jaime Bermejo, Francisco Estévez, α -Bromoacrylamido N-Substituted Isatin Derivatives as Potent Inducers of Apoptosis in Human Myeloid Leukemia Cells. *ChemMedChem* 2009, 4, 1668-1676.
- (34)-Guido Bojack, Rachel Baltz, Jan Dittgen, Christian Fischer, Jörg Freigang, Rahel Getachew, Erwin Grill, Hendrik Helmke, Sabine Hohmann, Gudrun Lange, Stefan Lehr, Fabien Porée, Jana Schmidt, Dirk Schmutzler, Zhenyu Yang, Jens Frackenhohl, Synthesis and Exploration of Abscisic Acid Receptor Agonists Against Drought Stress by Adding Constraint to a Tetrahydroquinoline-Based Lead Structure. *Eur. J. Org. Chem.* 2021, 3442–3457.
- (35)-Margetić, D., Mechanochemical organic reactions without the use of solvent, *Kem. Ind.* 2005, 54, 351-358.
- (36)-Portada, T.; Margetić, D.; Štrukil, V., Mechanochemical catalytic transfer hydrogenation of aromatic nitro derivatives. *Molecules* 2018, 23, 3163-3180.
- (37)-M. Đud, Z. Glasovac, D. Margetić, The utilization of ball milling in synthesis of aryl guanidines through guanidinylation and N-Boc-deprotection sequence, *Tetrahedron* 2019, 75, 109-115.
- (38)-Đud, M.; Margetić, D., Solvent-free Mechanochemical Deprotection of N-Boc Group, *Internat. J. Org.Chem.* 2017, 7, 140-144.
- (39)-Tang J., Robichaux M .A., Wu K. L., Pei J., Nguyen N. T., Zhou Y., Wensel T. G., Han Xiao, Single-Atom Fluorescence Switch: A General Approach toward Visible-Light-Activated Dyes for Biological Imaging. *J. Am. Chem. Soc.* 2019, 141, 14699-14706.

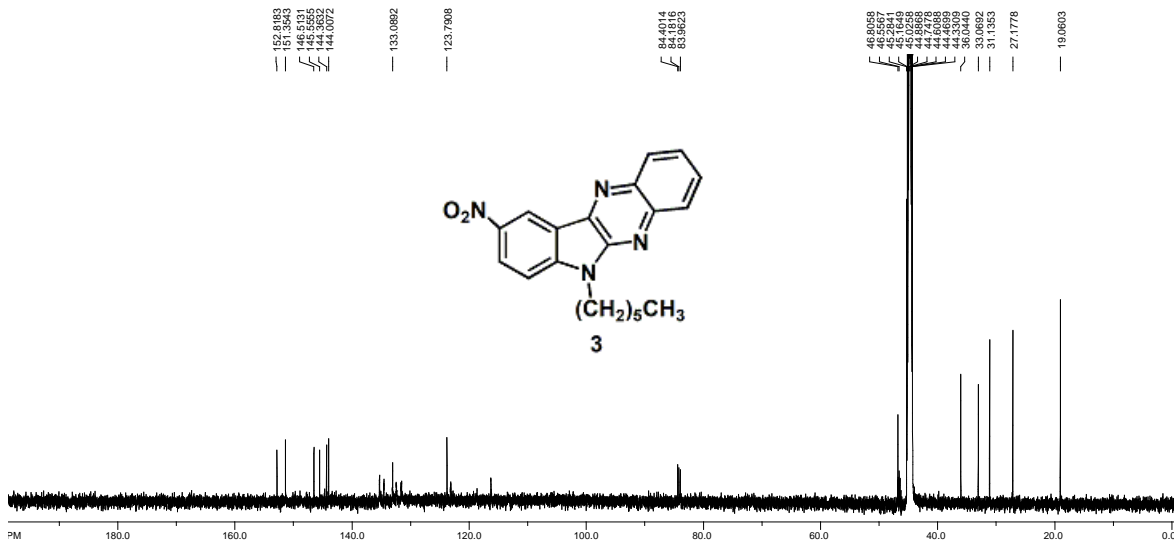
7. PRILOZI



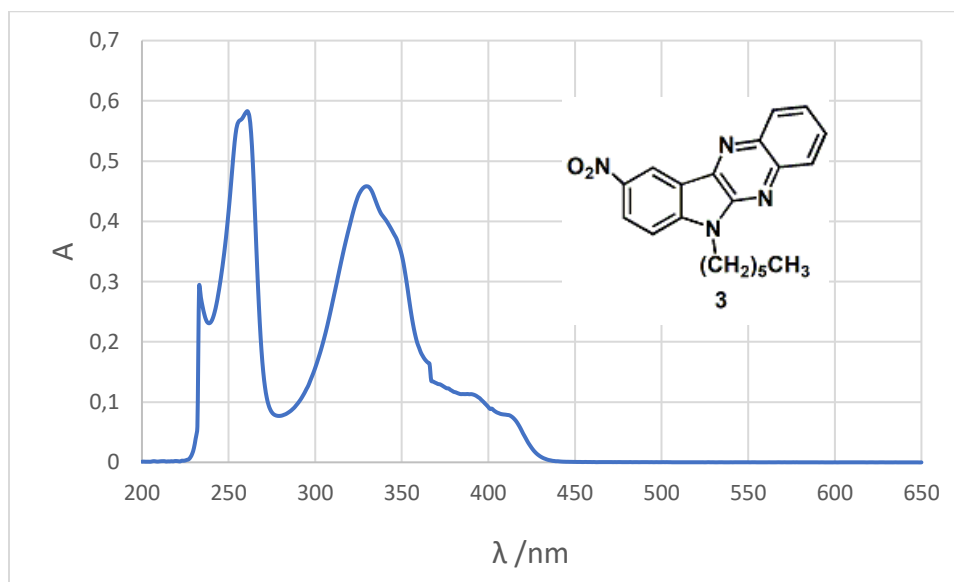
Slika 1. $^1\text{H NMR}$ spektar (CDCl₃) spoja **1** (1-heksil-5-nitroizatin)



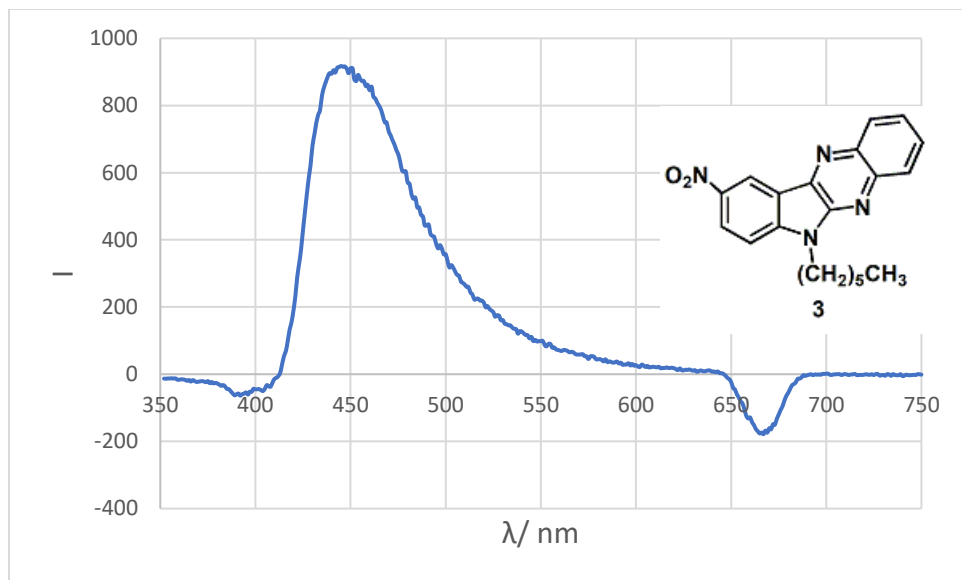
Slika 2. $^1\text{H NMR}$ spektar (CDCl₃) spoja **2** (1-heksilizatin)



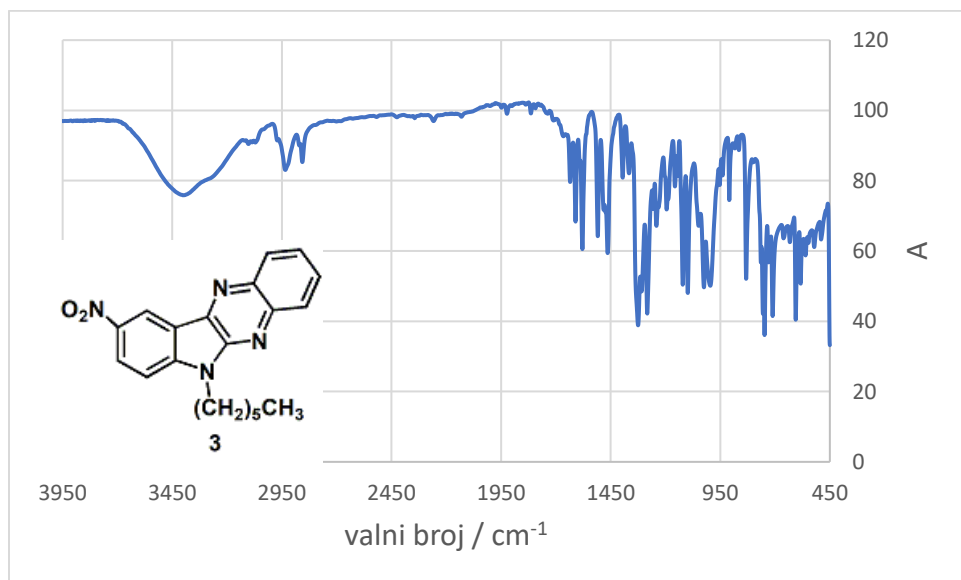
Slika 5. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) spoja 3



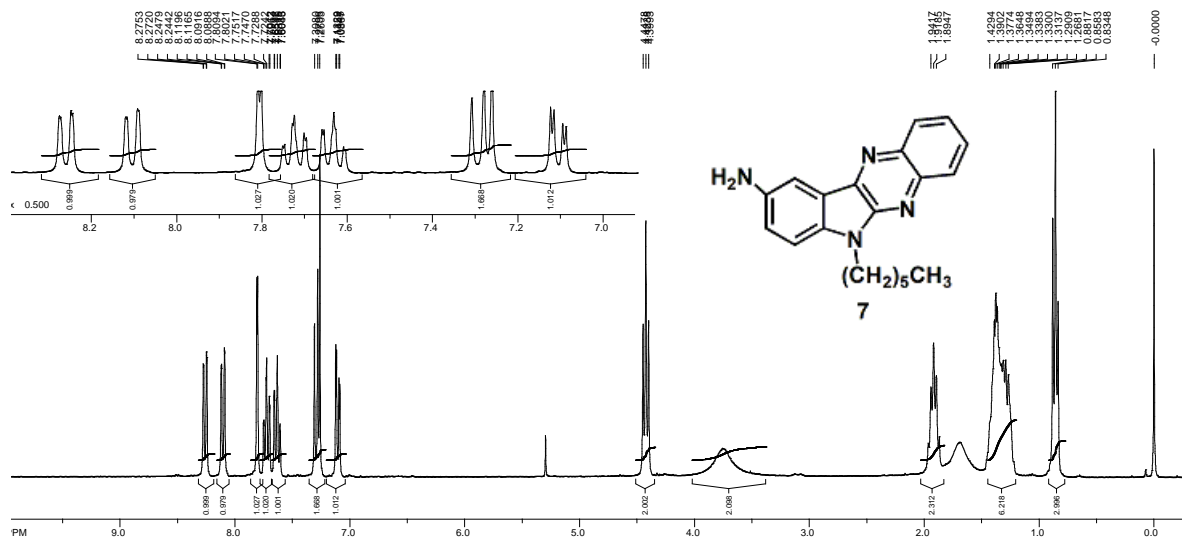
Slika 6. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja 3



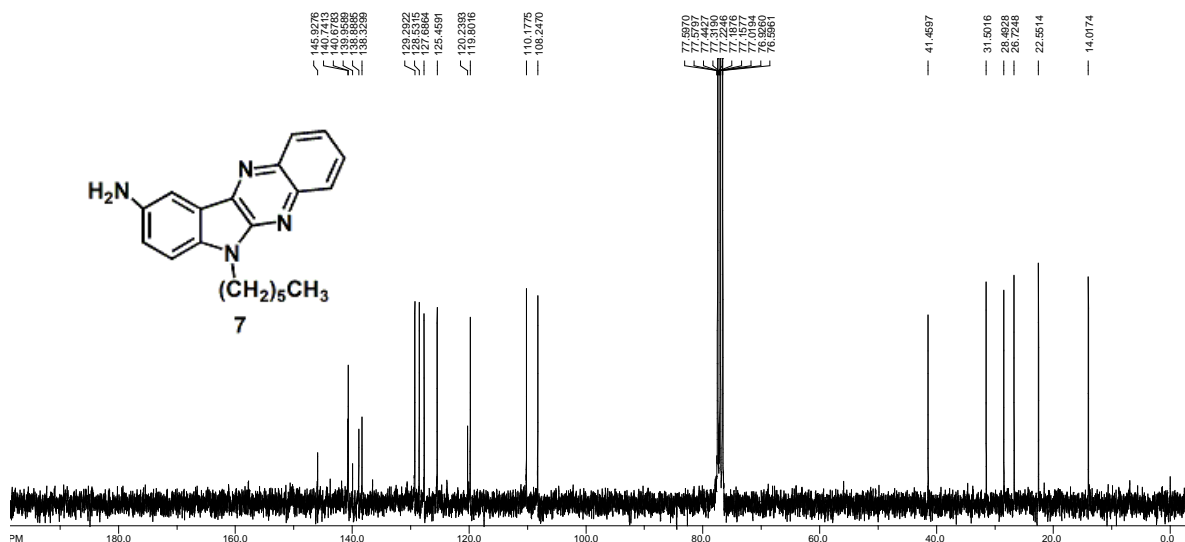
Slika 7. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **3**



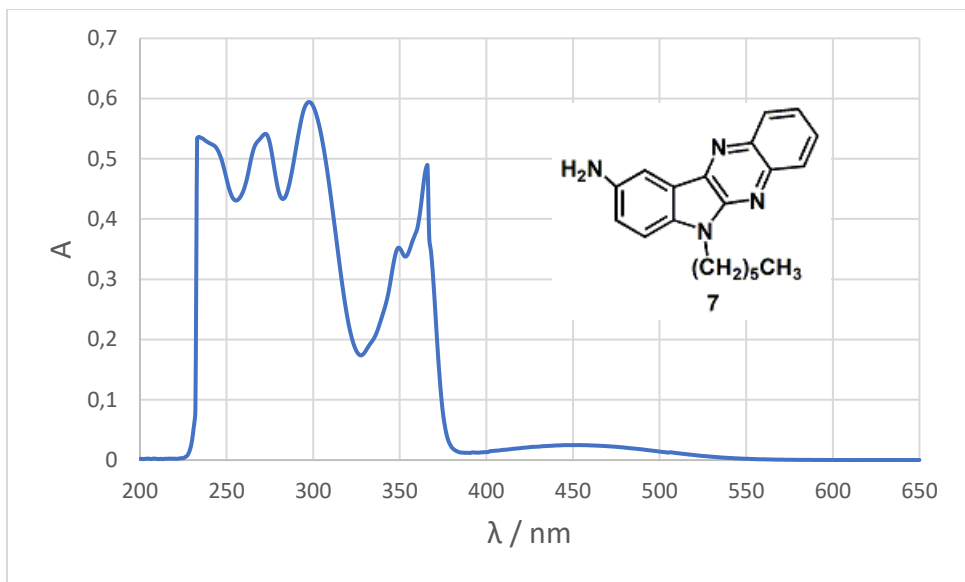
Slika 8. FTIR-ATR spektar spoja **3**



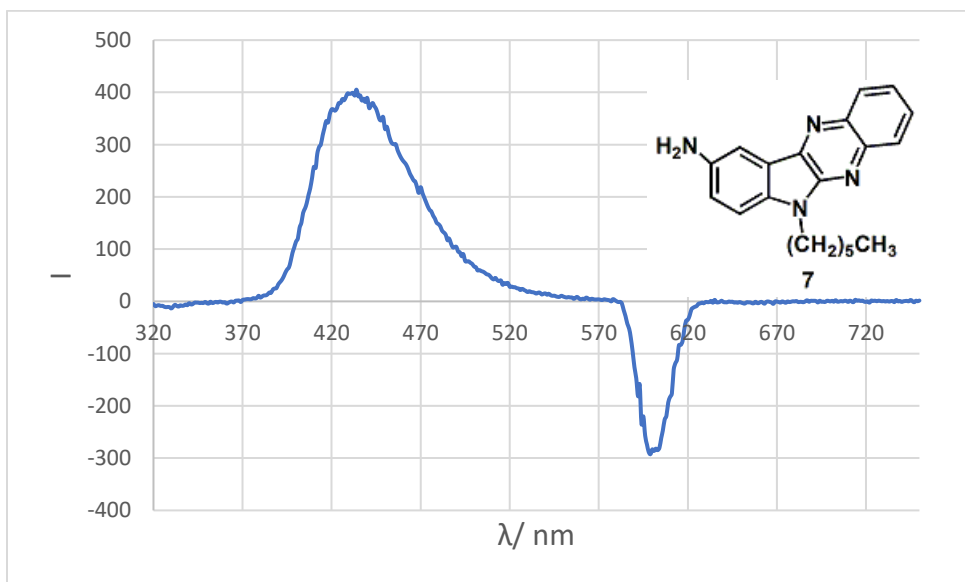
Slika 9. $^1\text{H NMR}$ spektar (CDCl₃) spoja 7



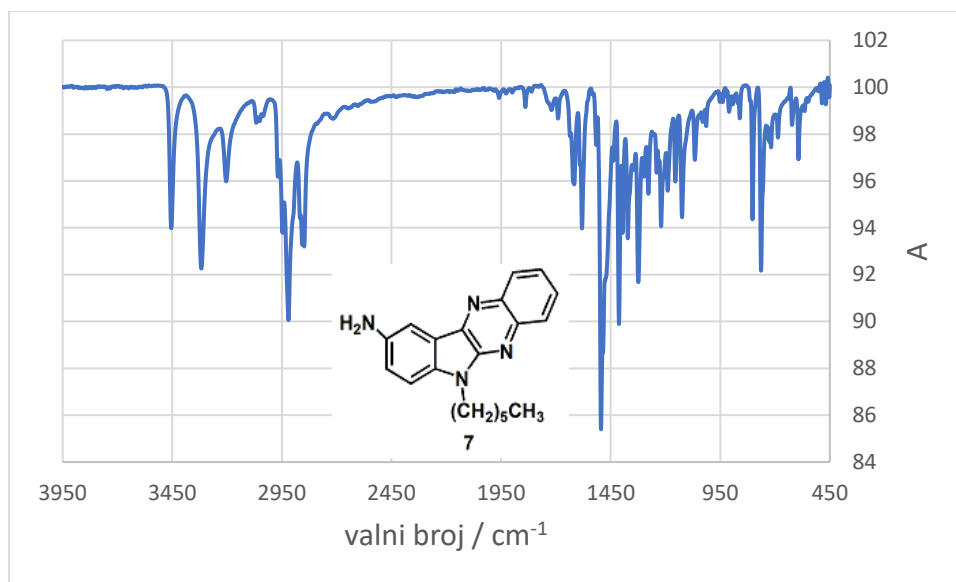
Slika 10. $^{13}\text{C NMR}$ spektar (CDCl₃) spoja 7



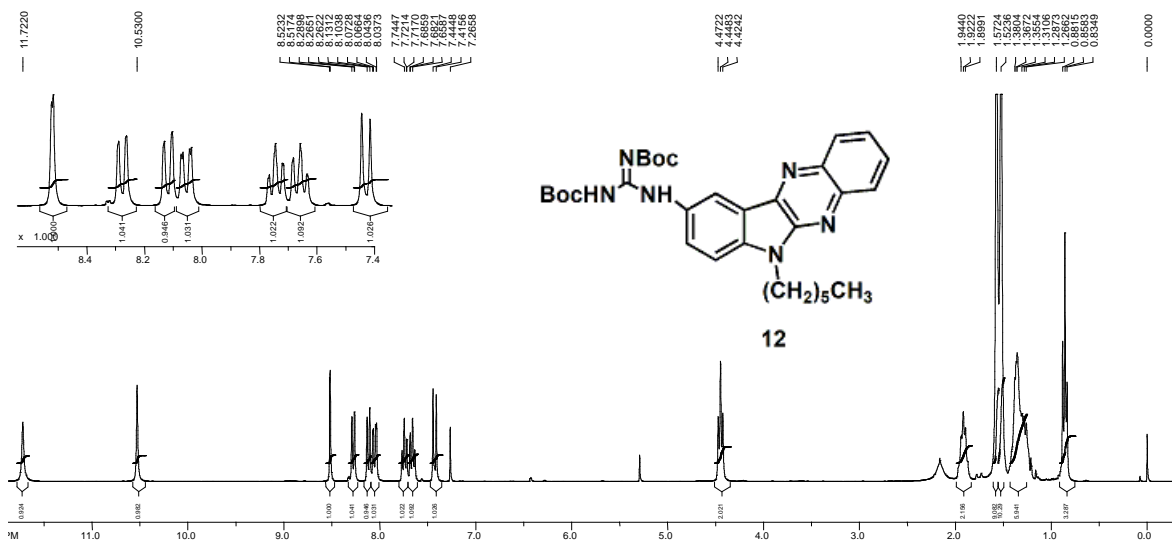
Slika 11. Apsopcijski spektar (CH_3CN) spoja 7



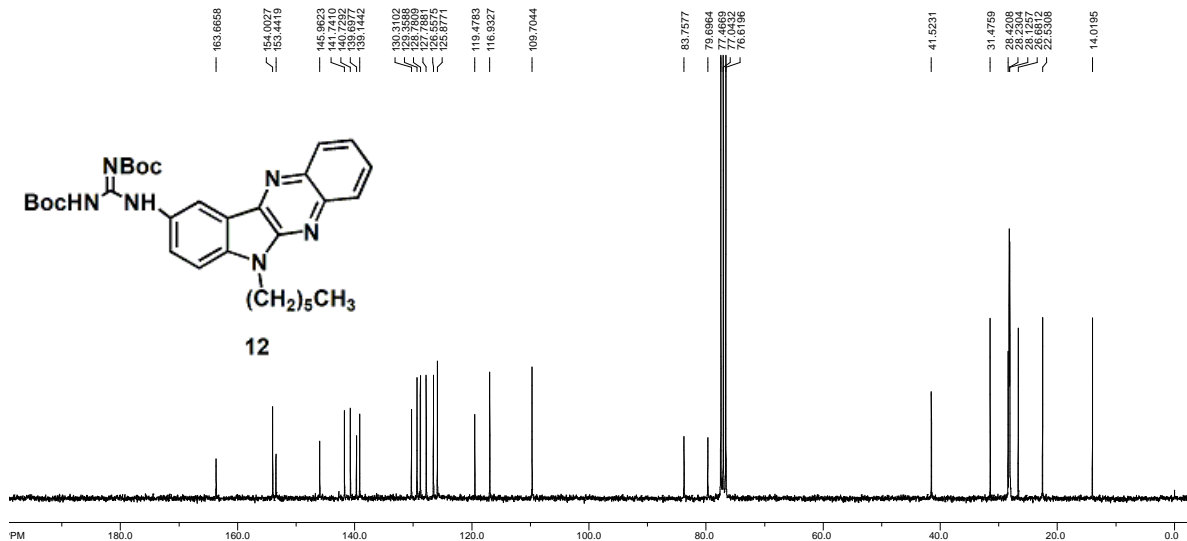
Slika 12. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja 7



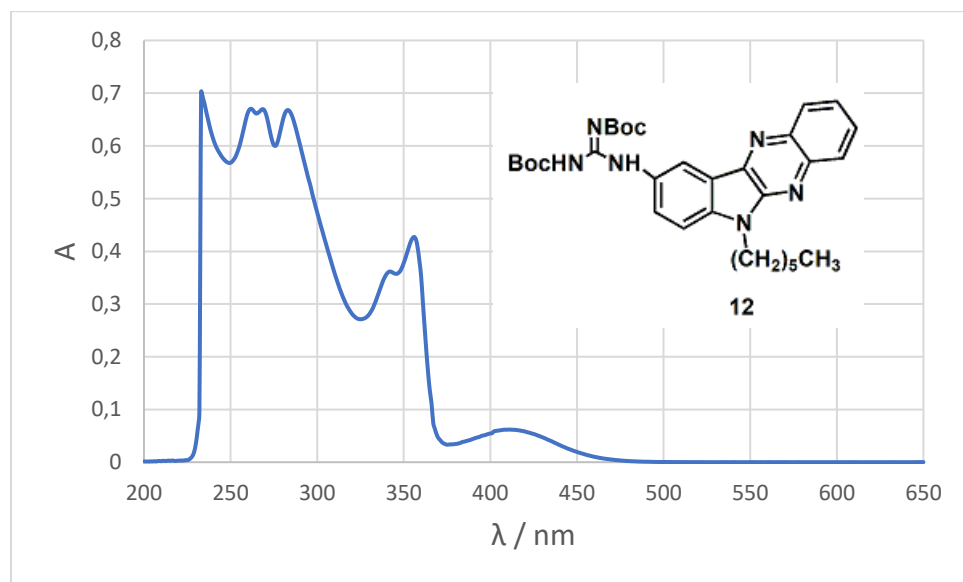
Slika 13. FTIR-ATR spektar spoja **7**



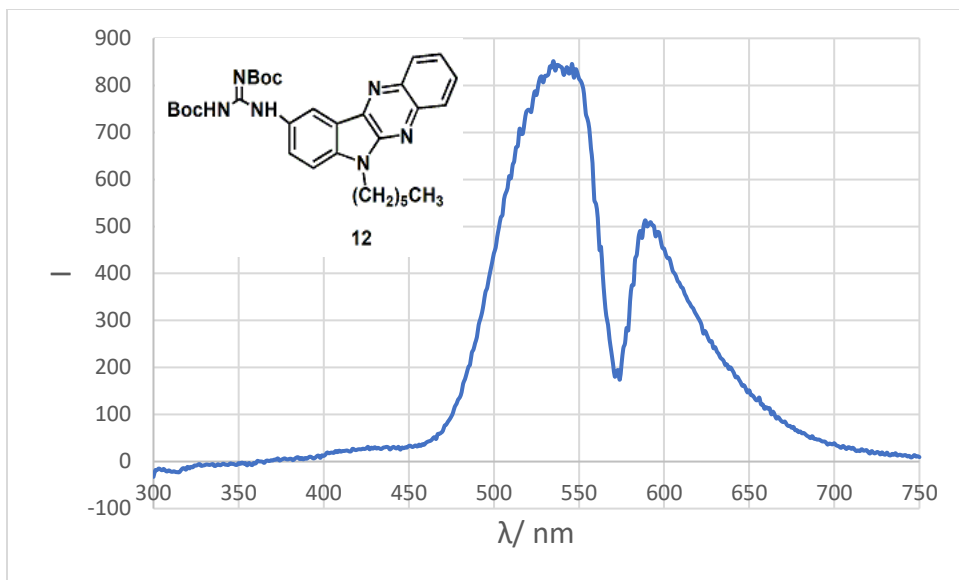
Slika 14. ^1H NMR spektar (CDCl_3) spoja **12**



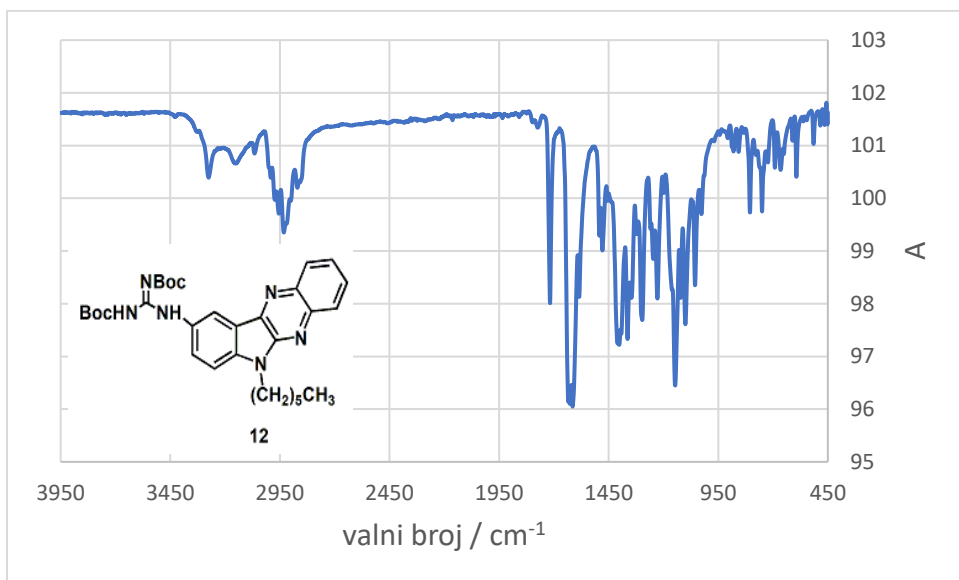
Slika 15. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) spoja **12**



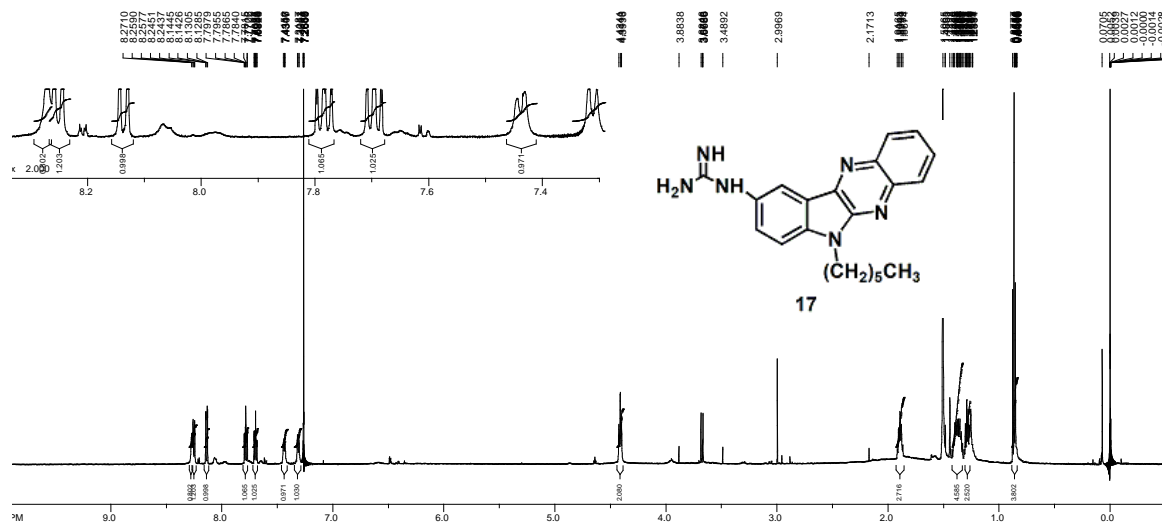
Slika 16. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **12**



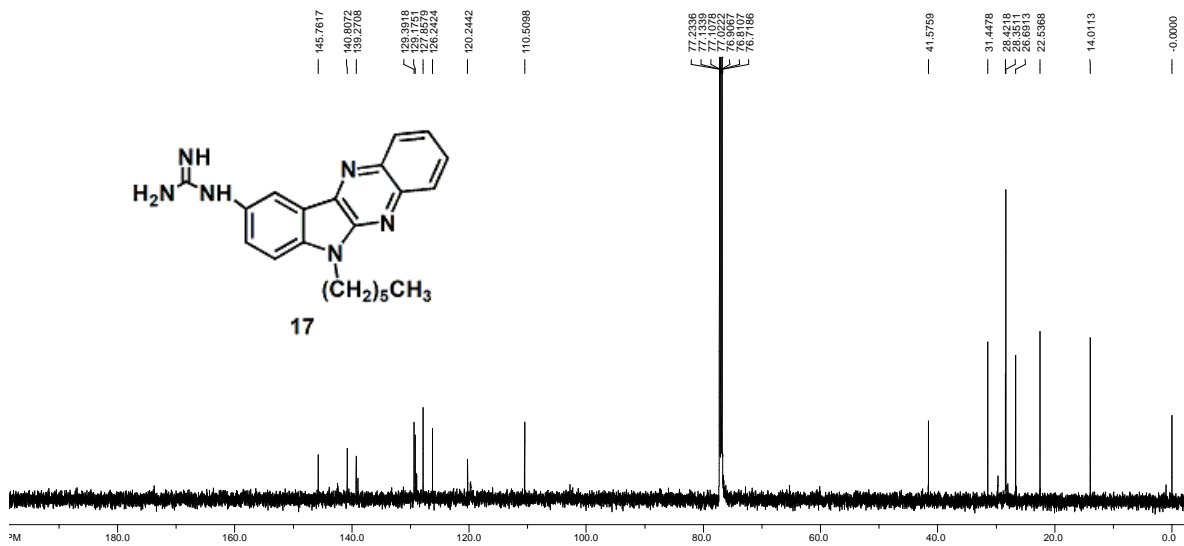
Slika 17. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **12**



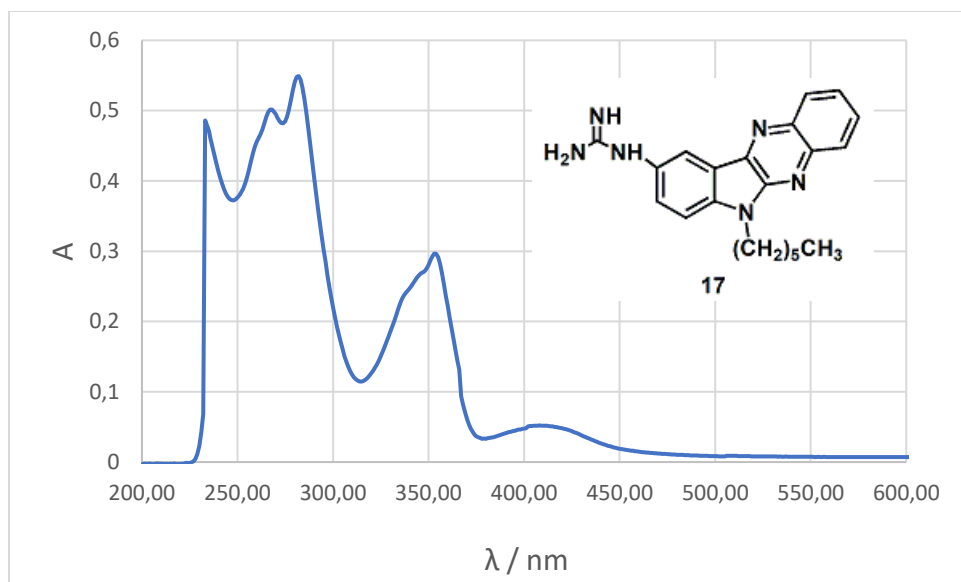
Slika 18. FTIR-ATR spektar spoja **12**



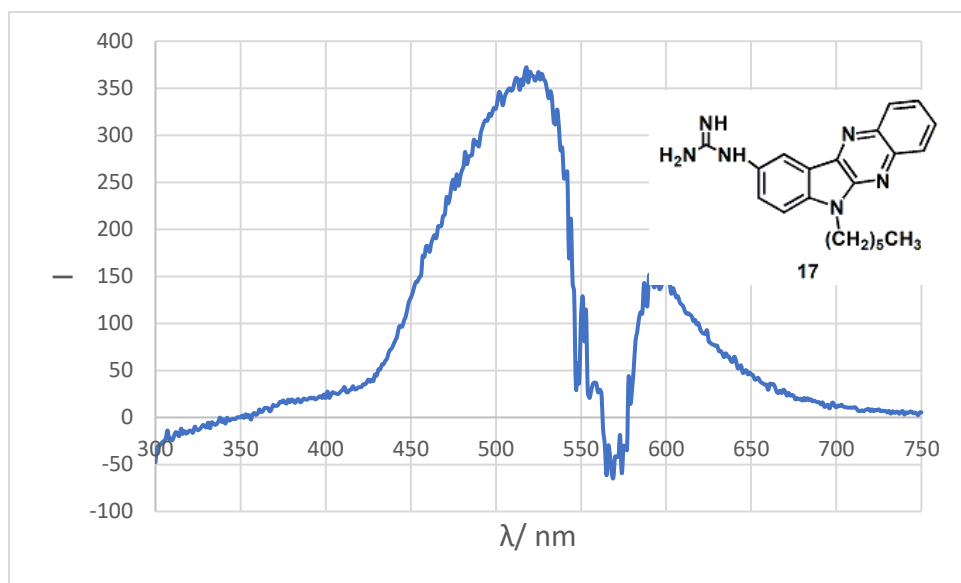
Slika 19. $^1\text{H NMR}$ spektar (CDCl₃) spoja 17



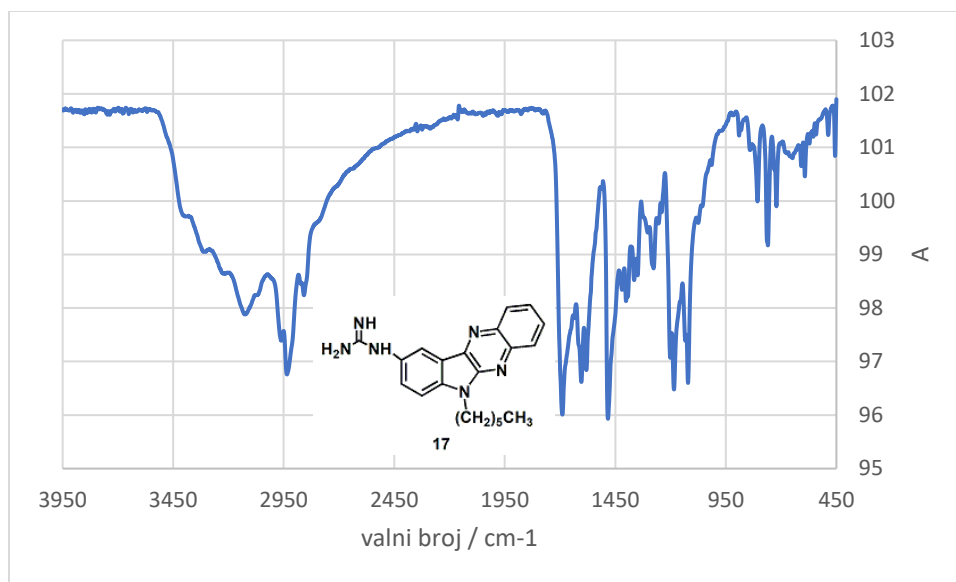
Slika 20. $^{13}\text{C NMR}$ spektar (CDCl₃) spoja 17



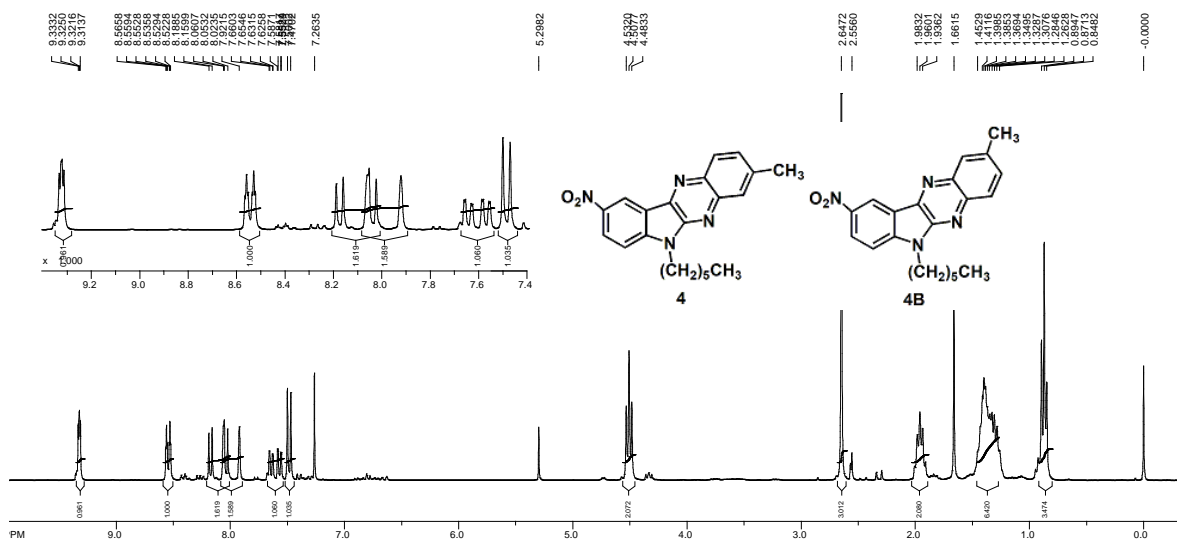
Slika 21. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **17**



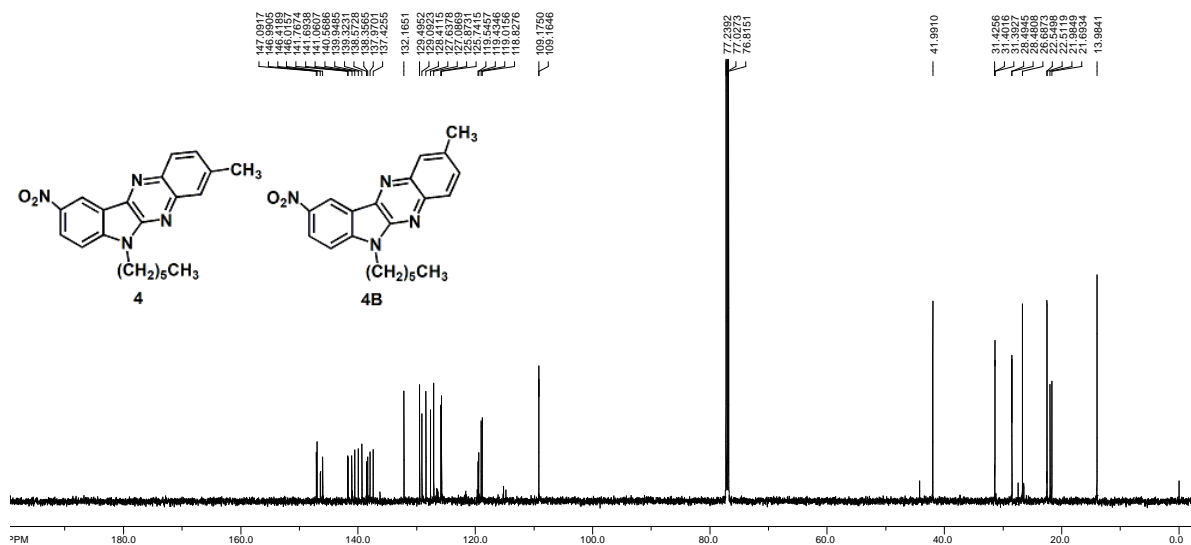
Slika 22. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **17**



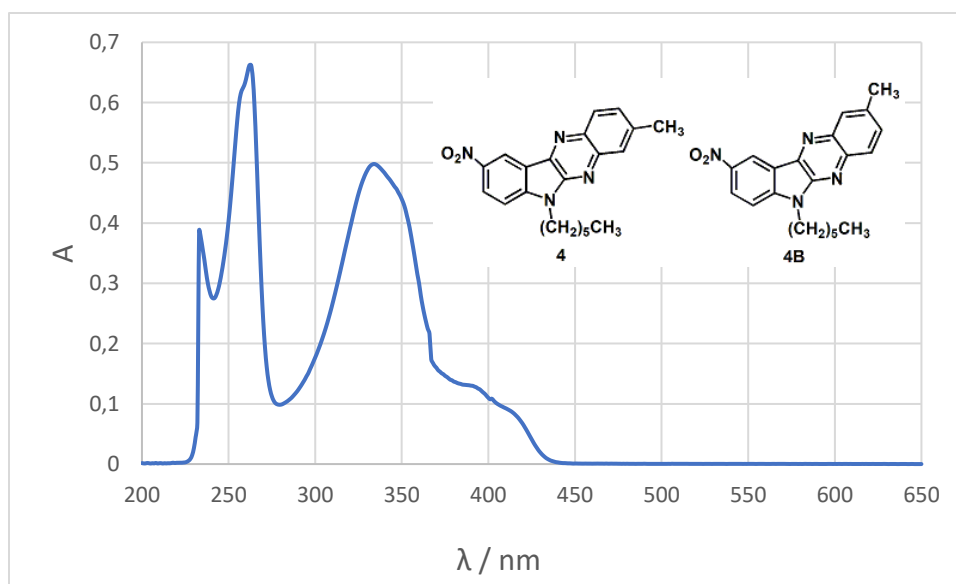
Slika 23. FTIR-ATR spektar spoja **17**



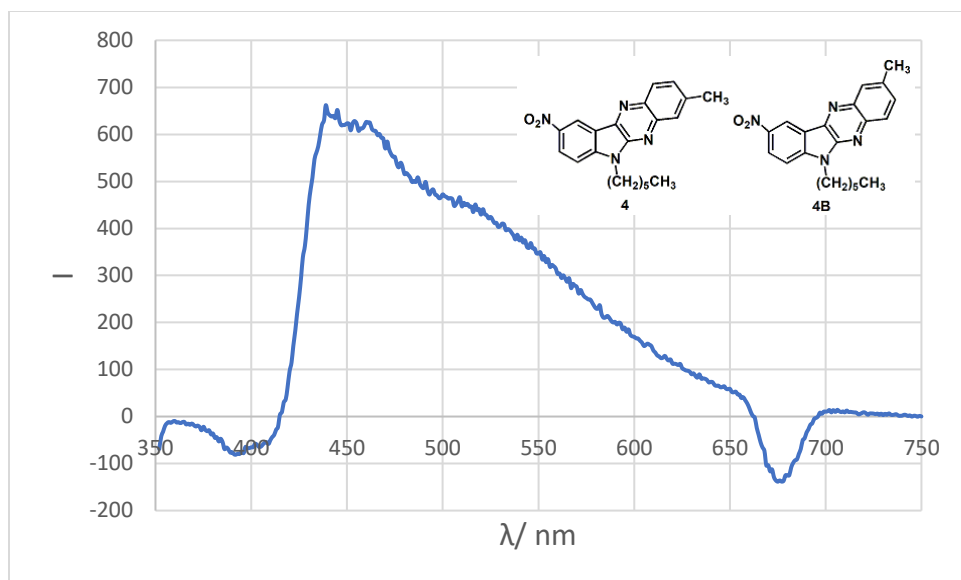
Slika 24. ^1H NMR spektar (CDCl_3) smjese **4** i **4B**



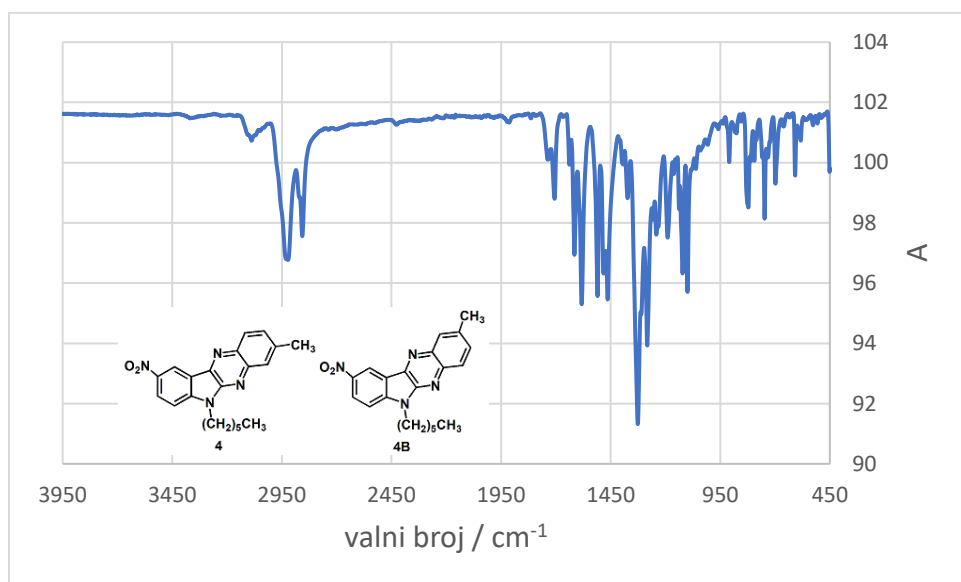
Slika 25. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) smjese **4** i **4B**



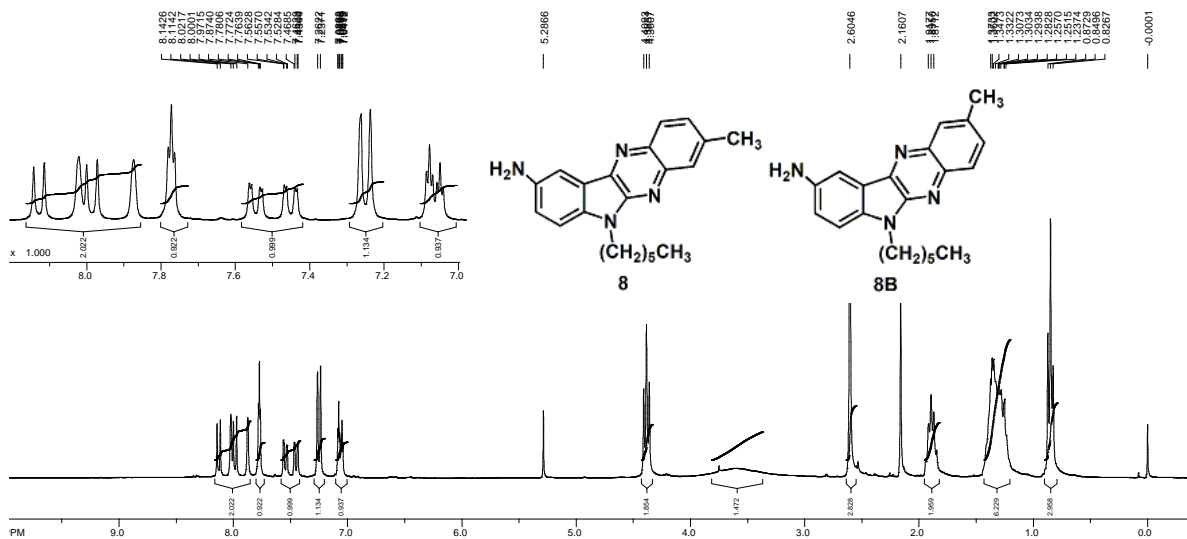
Slika 26. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) smjese **4** i **4B**



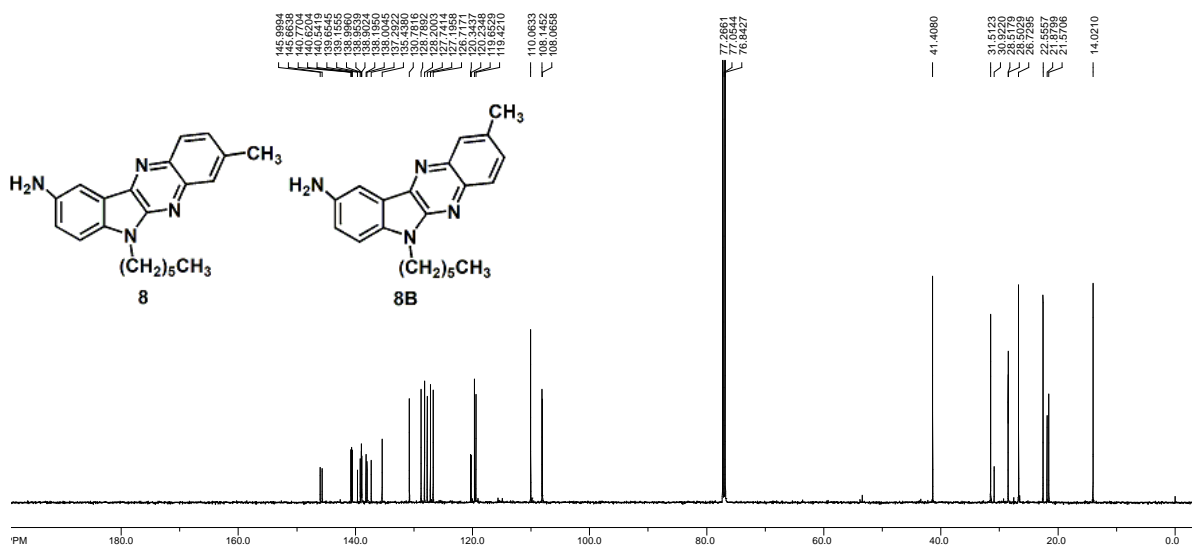
Slika 27. Emisijski spektar (CH_3CN) smjese **4** i **4B**



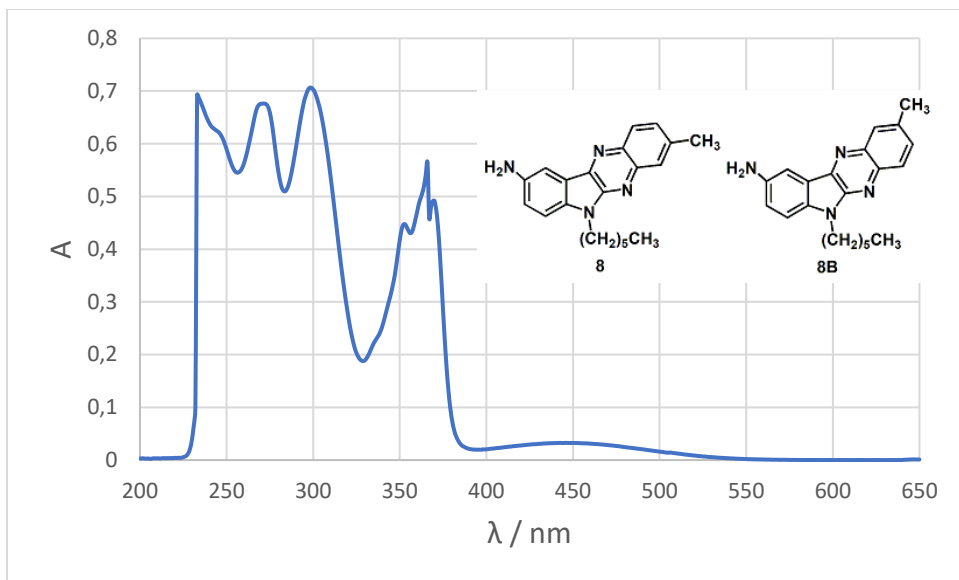
Slika 28. FTIR-ATR spektar smjese **4** i **4B**



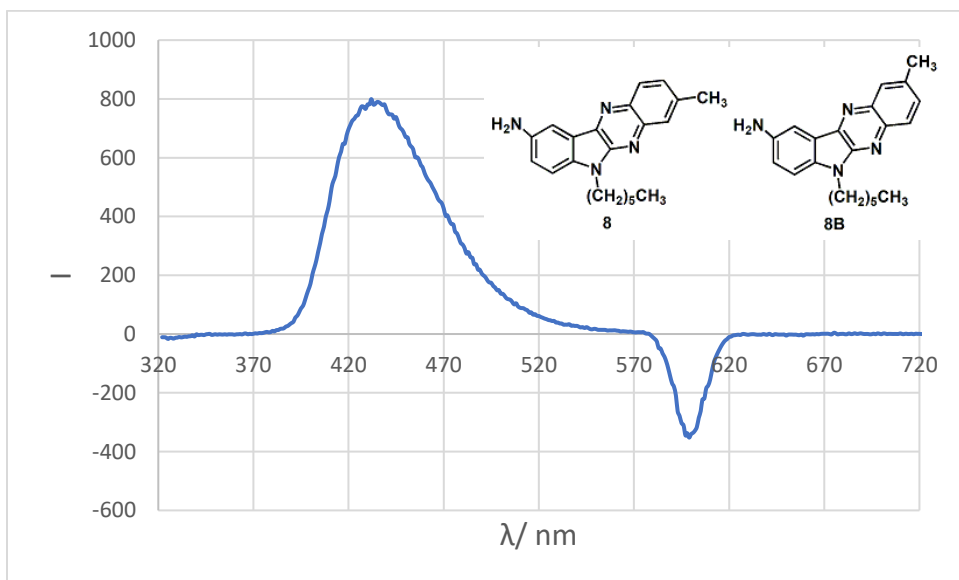
Slika 29. ^1H NMR spektar (CDCl_3) smjese **8** i **8B**



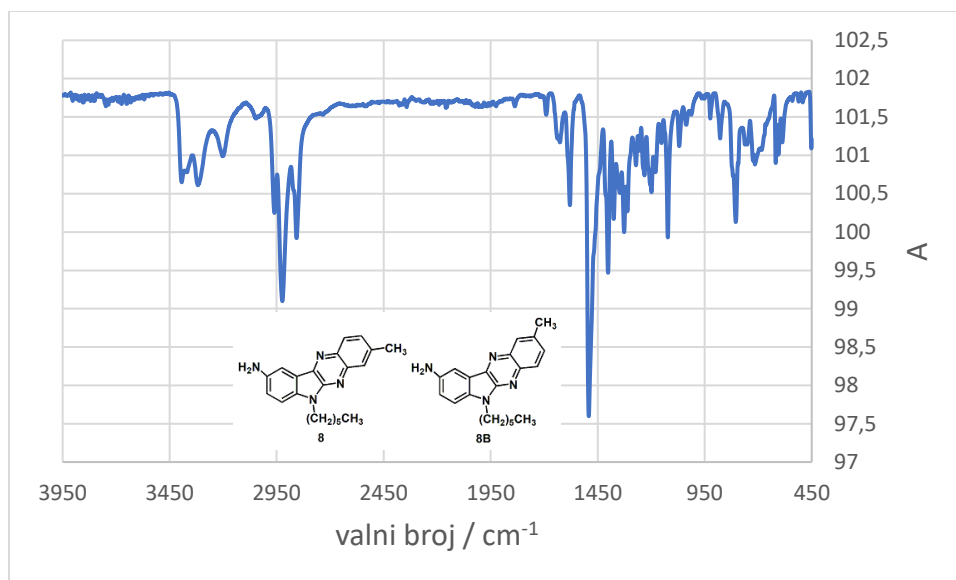
Slika 30. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) smjese **8** i **8B**



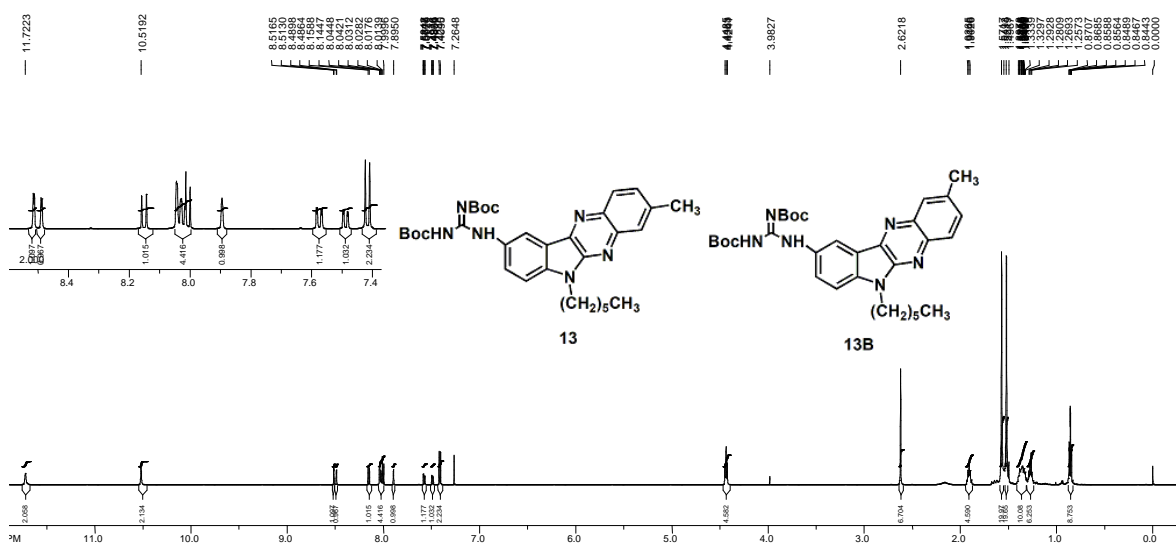
Slika 31. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) smjese **8** i **8B**



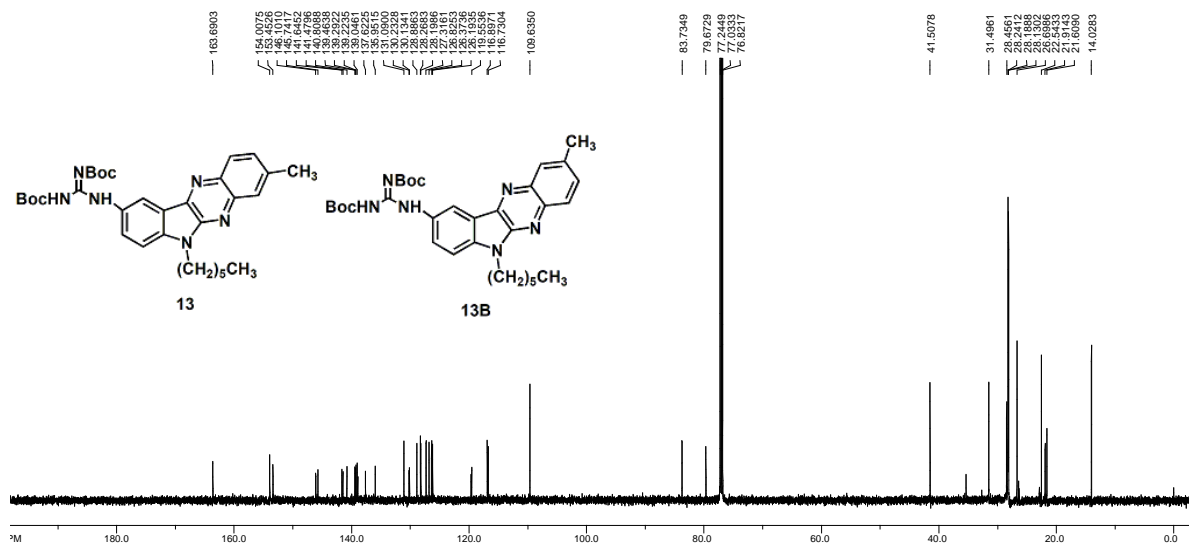
Slika 32. Emisijski spektar (CH_3CN) smjese **8** i **8B**



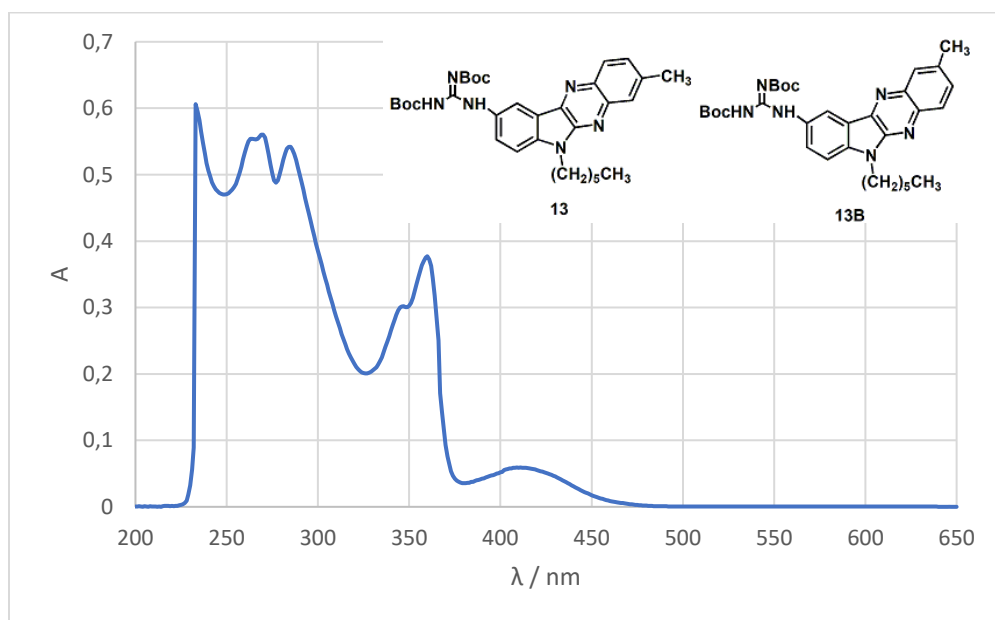
Slika 33. FTIR-ATR spektar smjese **8** i **8B**



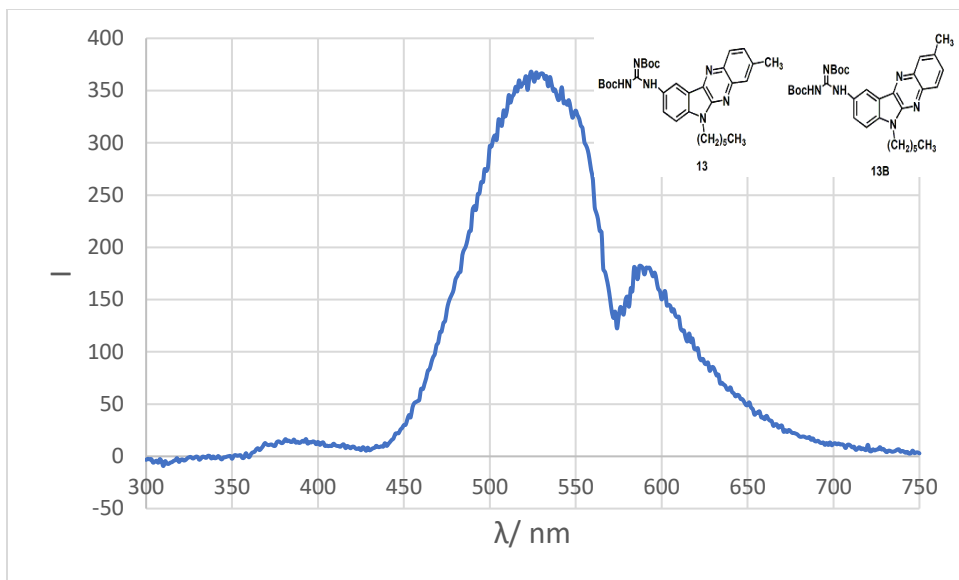
Slika 34. ^1H NMR spektar (CDCl_3) smjese **13** i **13B**



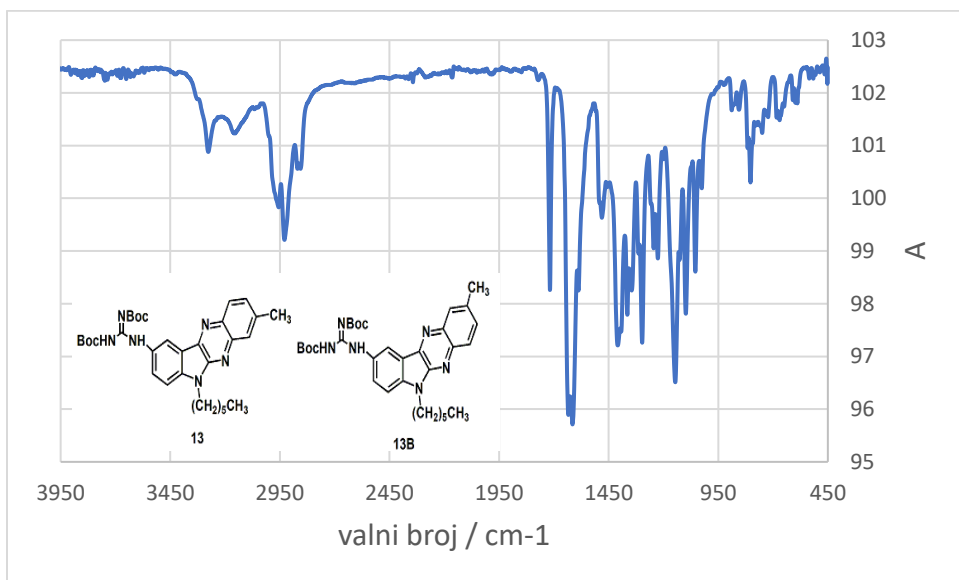
Slika 35. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) smjese **13** i **13B**



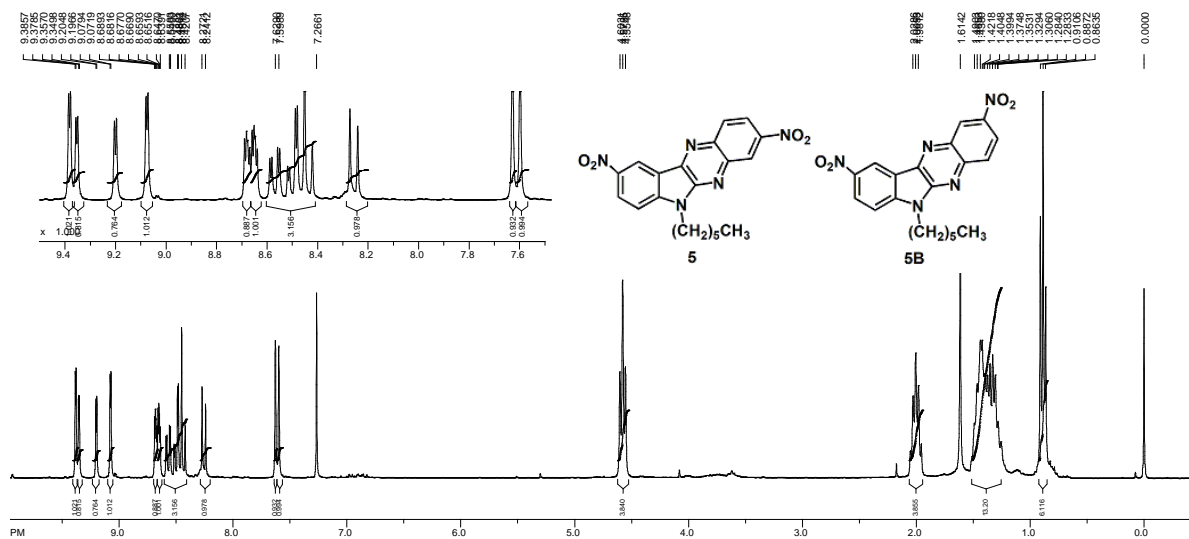
Slika 36. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) smjese **13** i **13B**



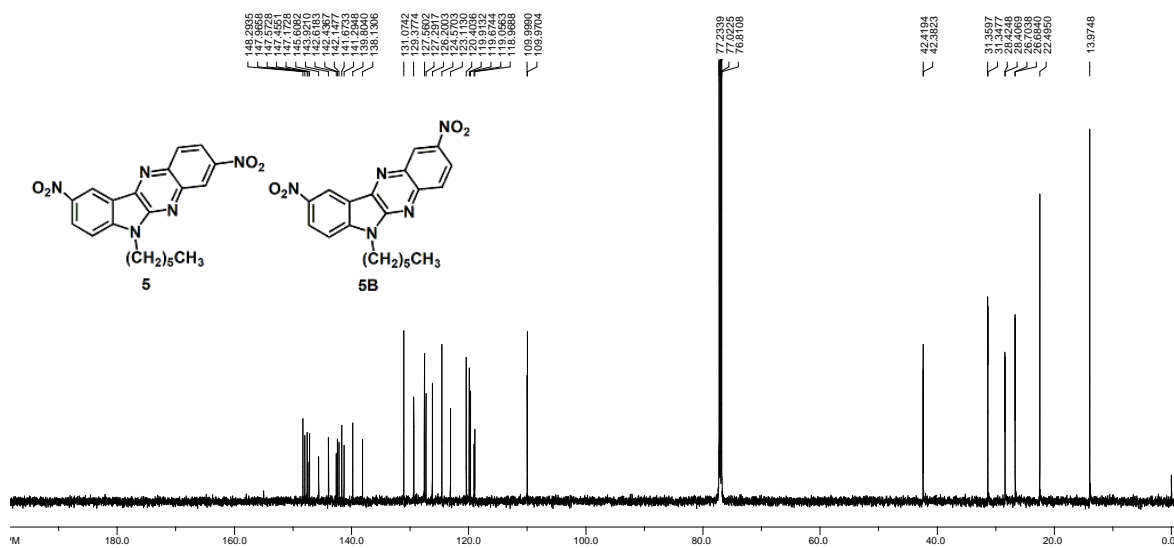
Slika 37. Emisijski spektar (CH_3CN) smjese **13** i **13B**



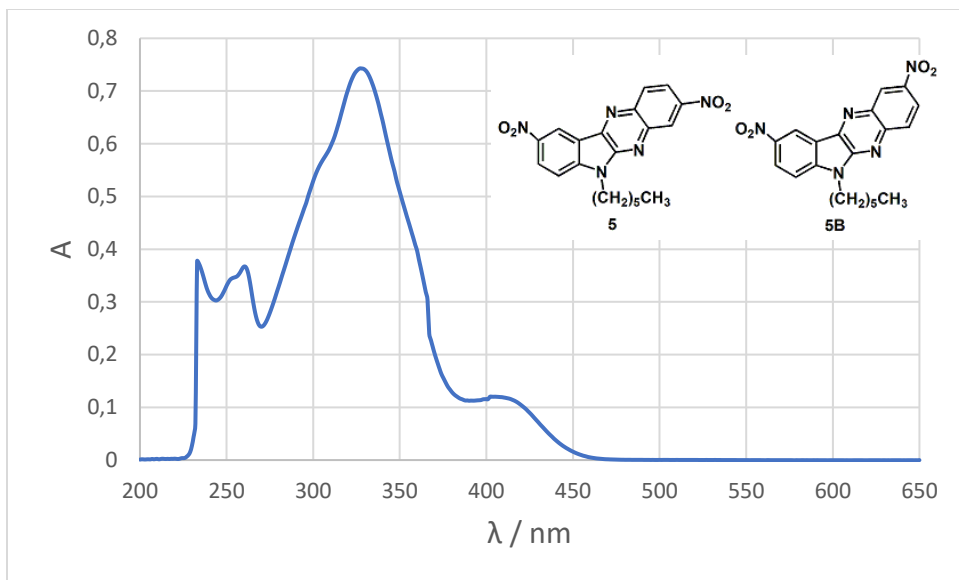
Slika 38. FTIR-ATR spektar smjese **13** i **13B**



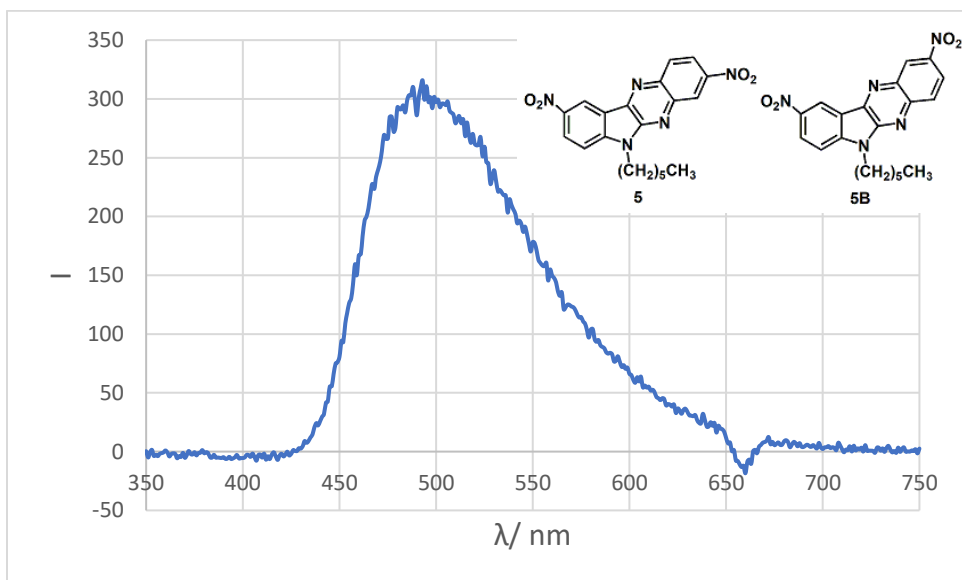
Slika 39. ¹H NMR spektar (CDCl₃) smjese **5** i **5B**



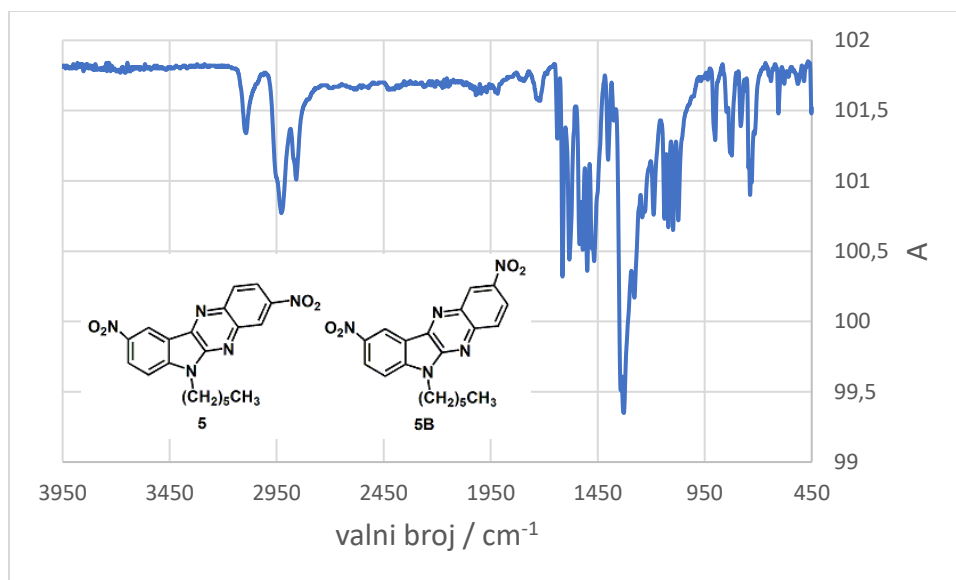
Slika 40. ¹³C NMR spektar (CDCl₃) smjese **5** i **5B**



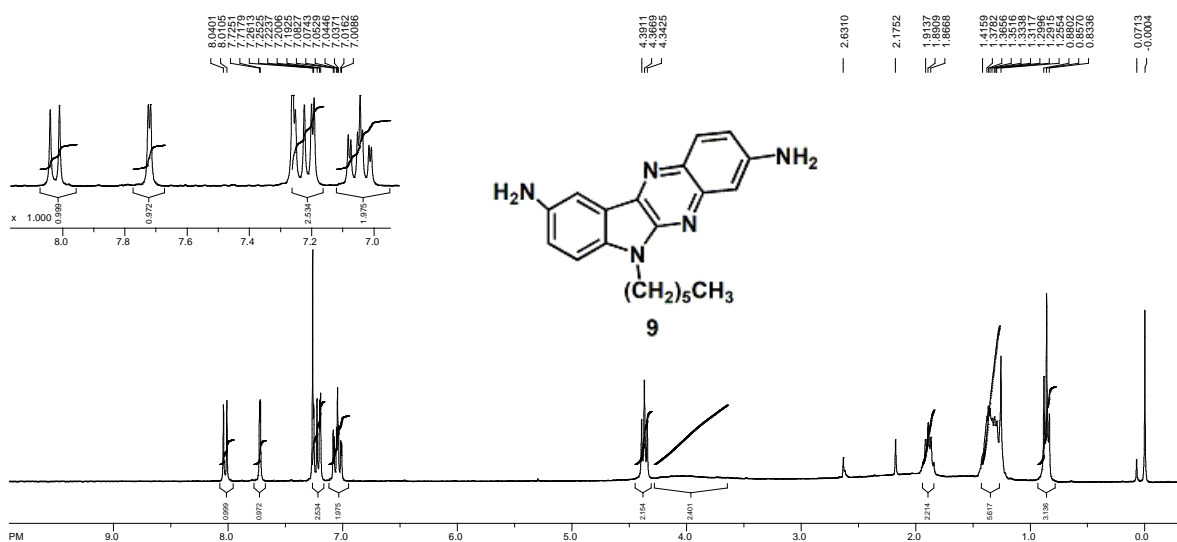
Slika 41. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) smjese **5** i **5B**



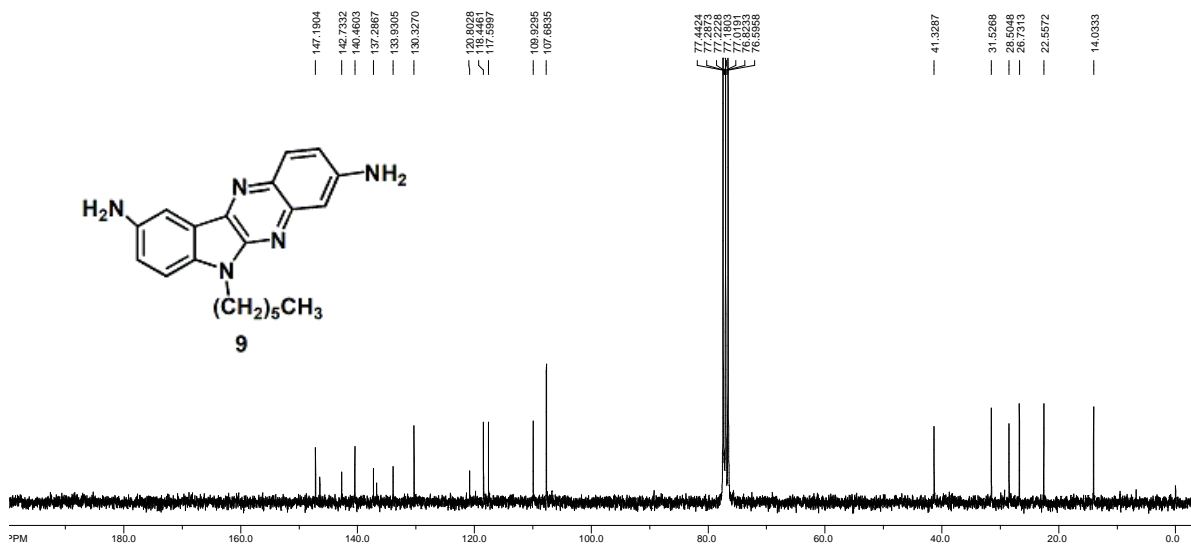
Slika 42. Emisijski spektar (CH_3CN) smjese **5** i **5B**



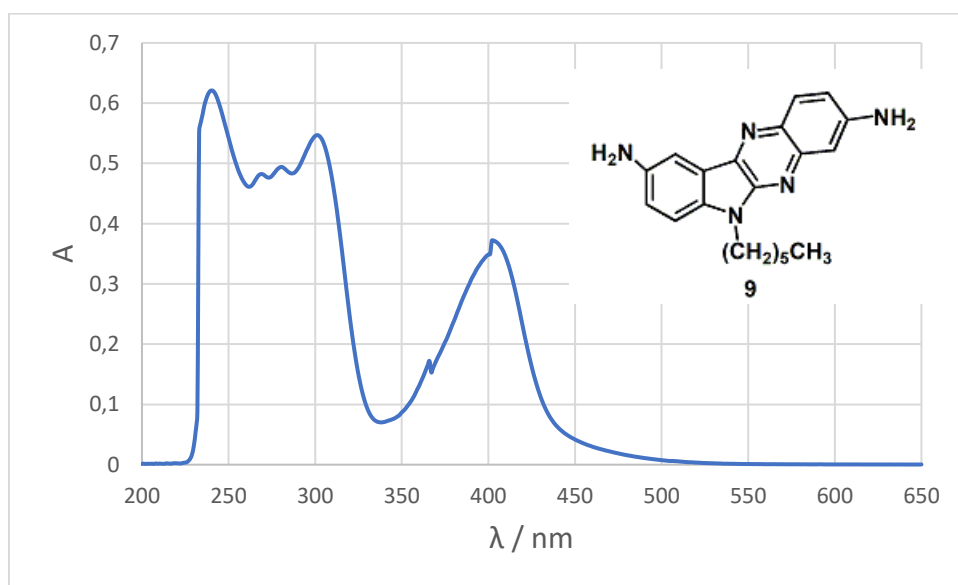
Slika 43. FTIR-ATR spektar smjese **5** i **5B**



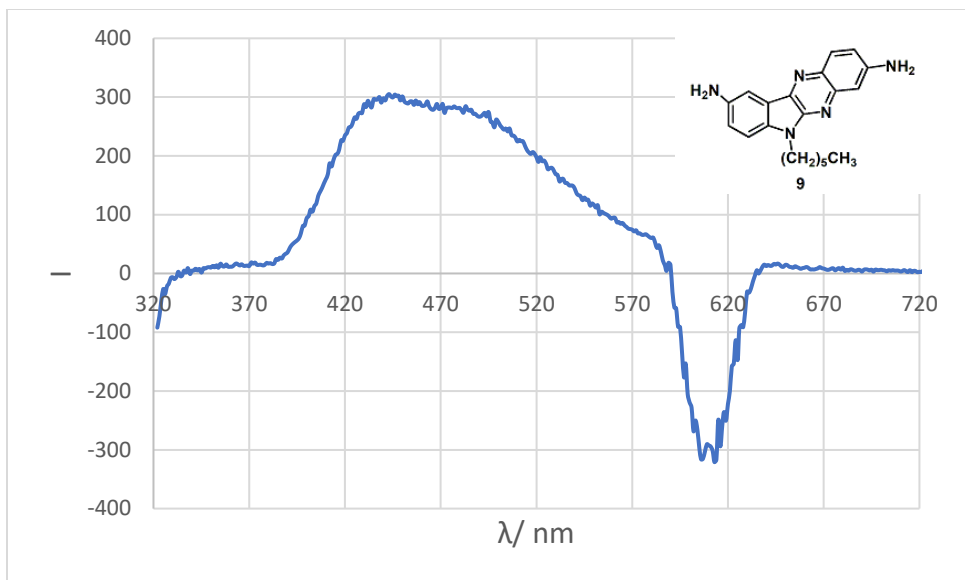
Slika 44. ¹H NMR spektar (CDCl₃) spoja **9**



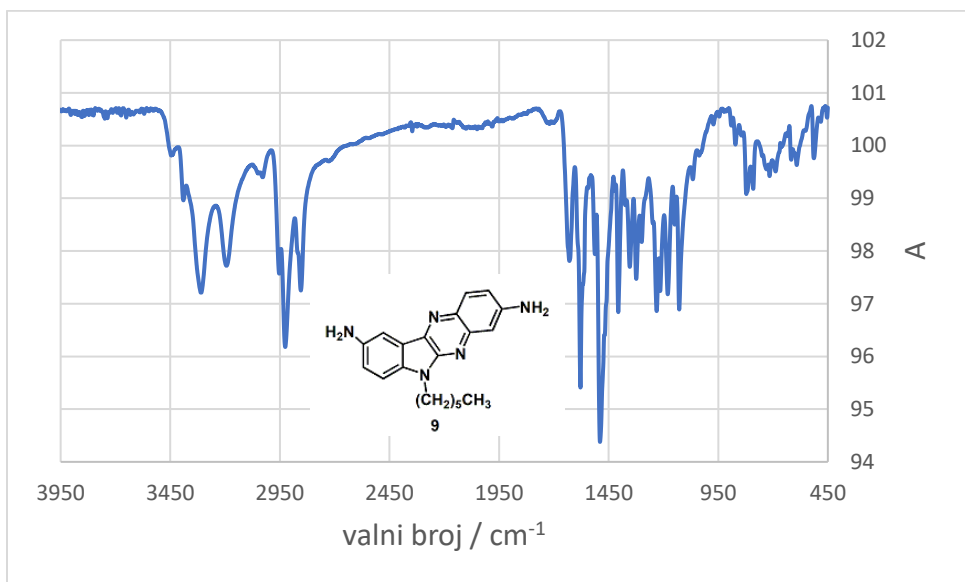
Slika 45. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) spoja 9



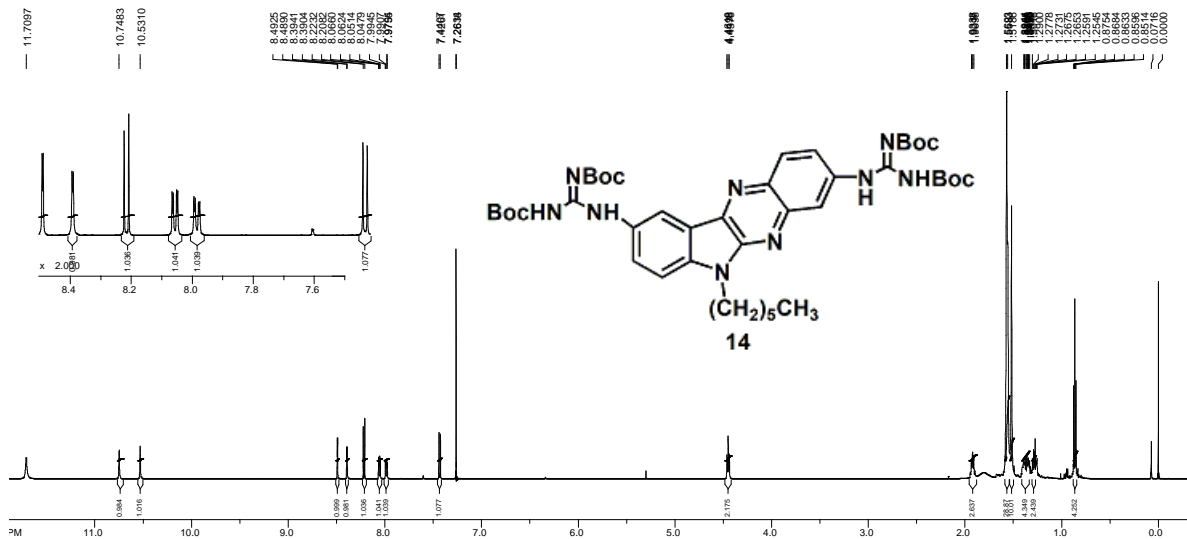
Slika 46. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja 9



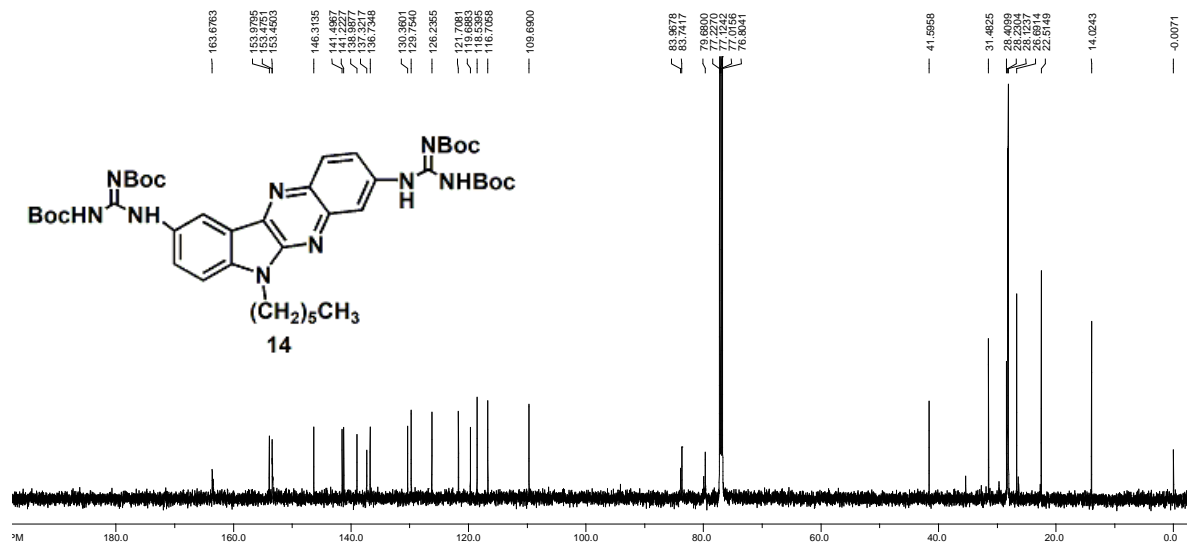
Slika 47. Emisijski spektar (CH₃CN) spoja 9



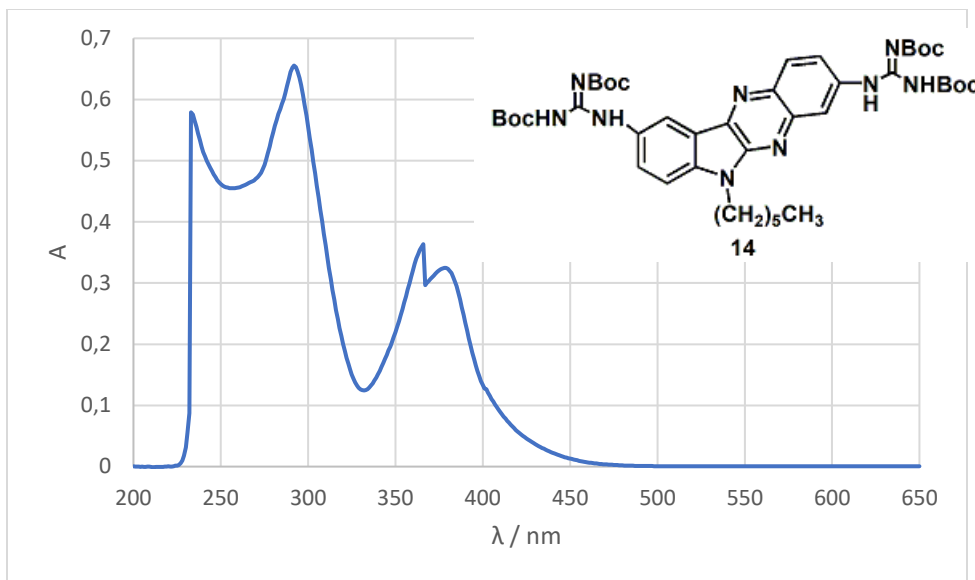
Slika 48. FTIR-ATR spektar spoja 9



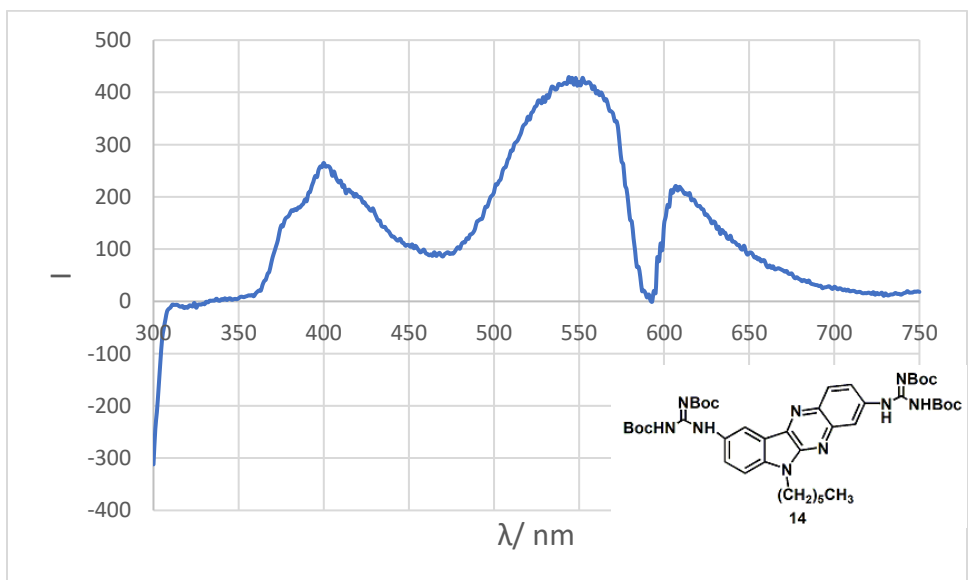
Slika 49. ¹H NMR spektar (CDCl₃) spoja **14**



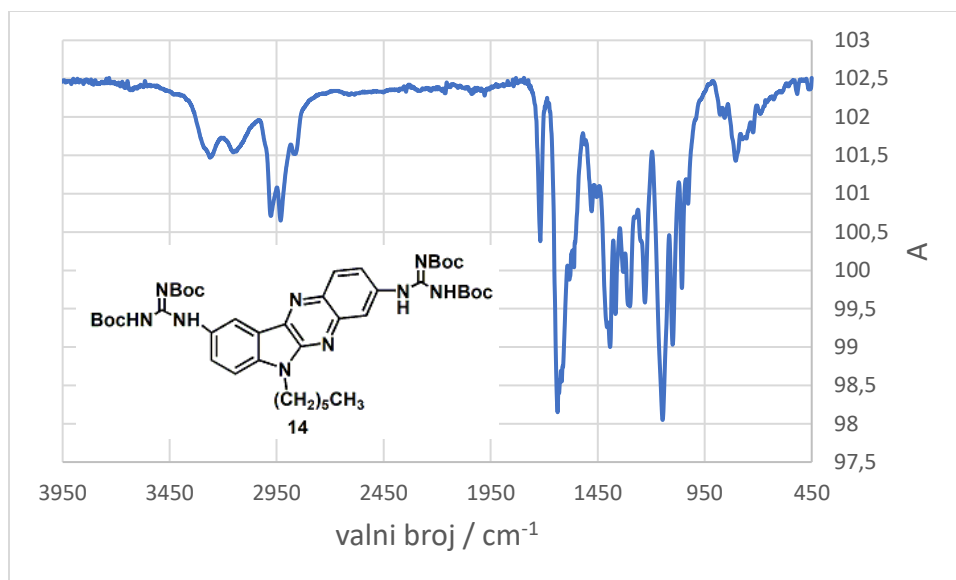
Slika 50. ¹³C NMR spektar (CDCl₃) spoja **14**



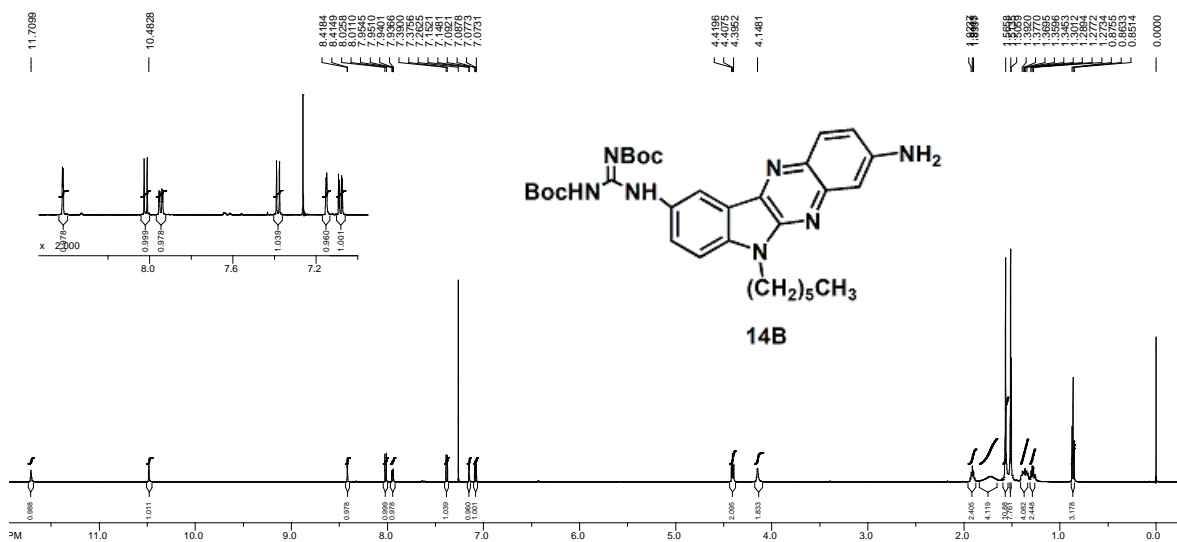
Slika 51. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **14**



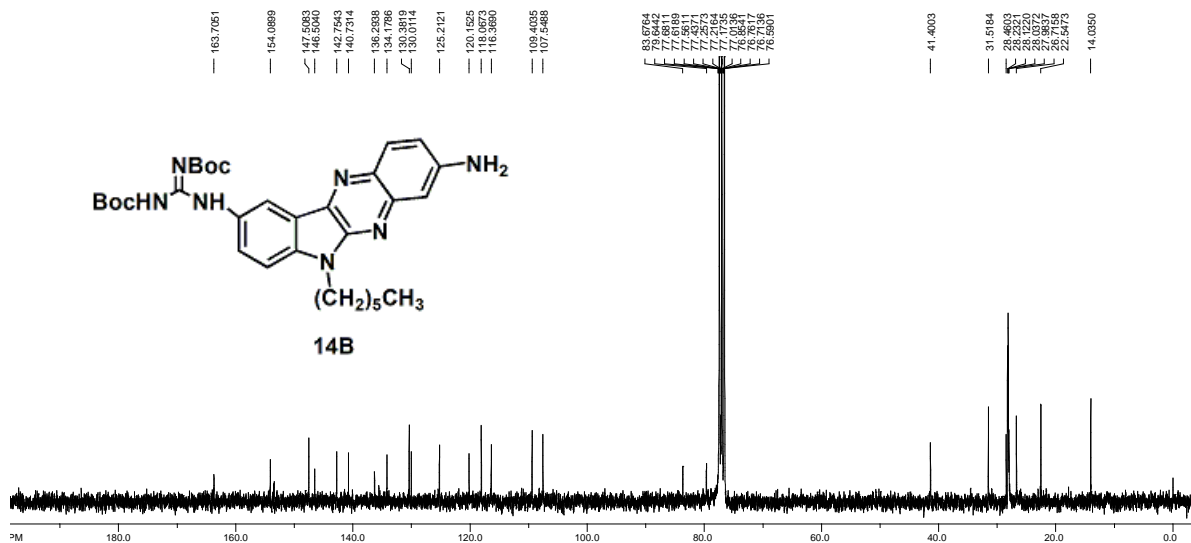
Slika 52. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **14**



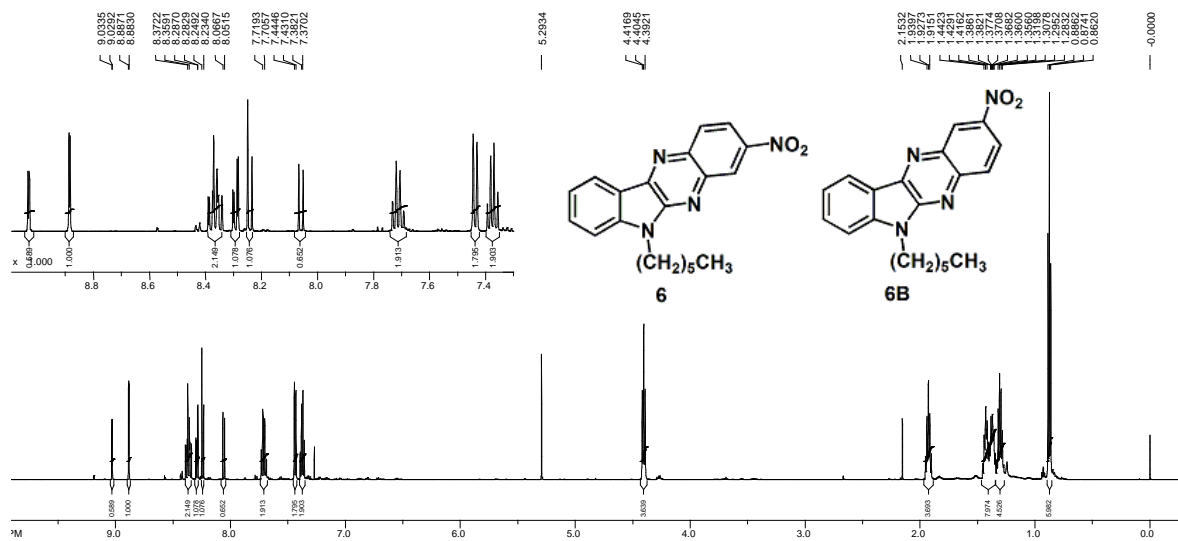
Slika 53. FTIR-ATR spektar spoja **14**



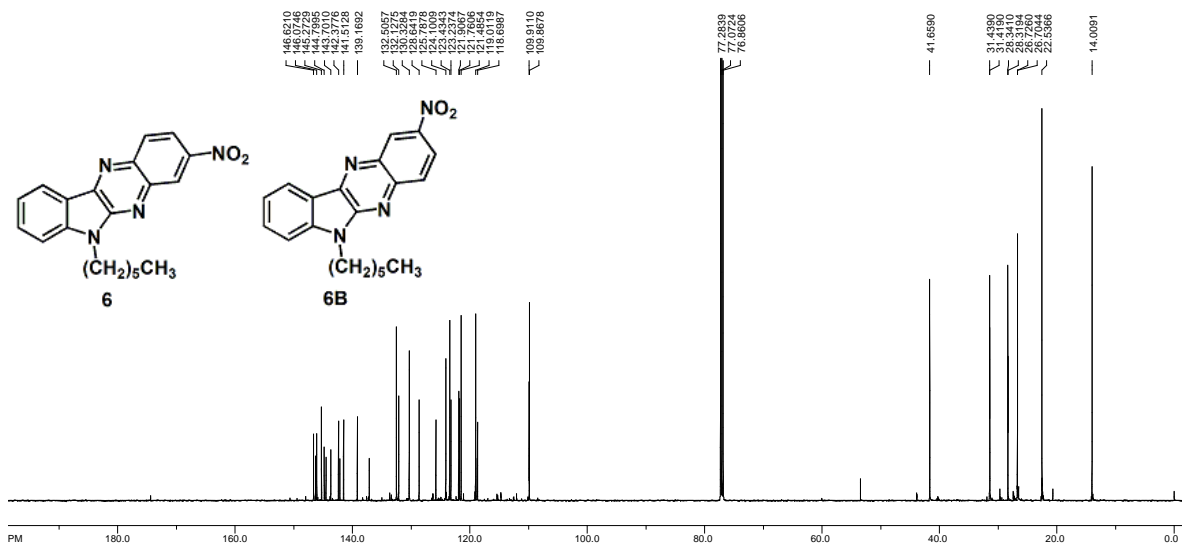
Slika 54. ^1H NMR spektar (CDCl_3) spoja **14B**



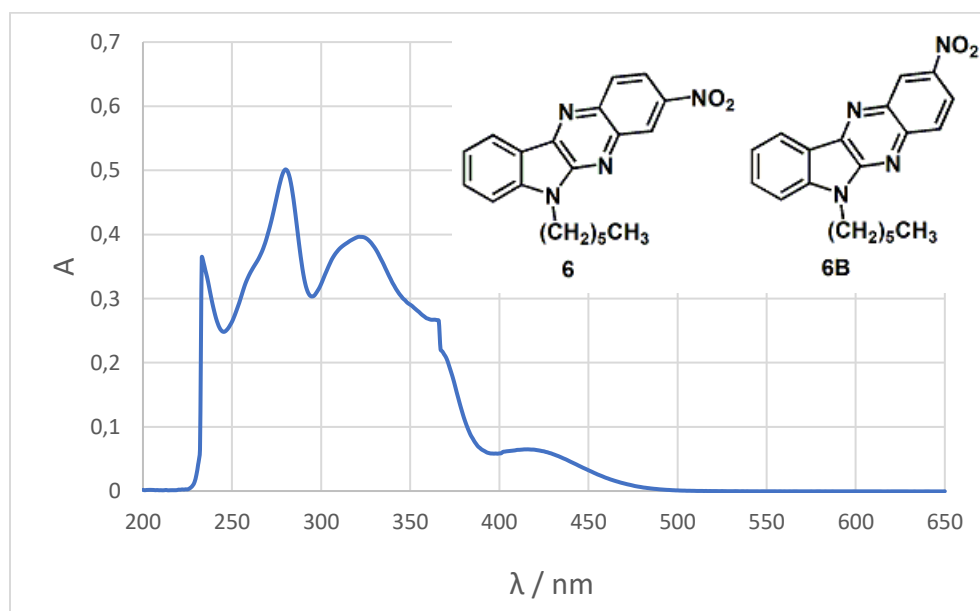
Slika 55. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) spoja **14B**



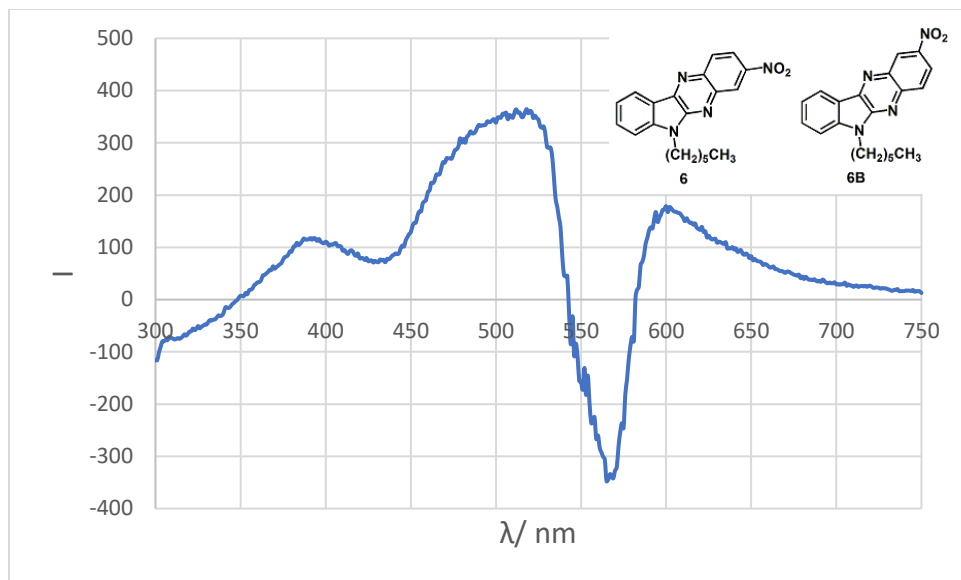
Slika 56. ^1H NMR spektar (CDCl_3) smjese **6** i **6B**



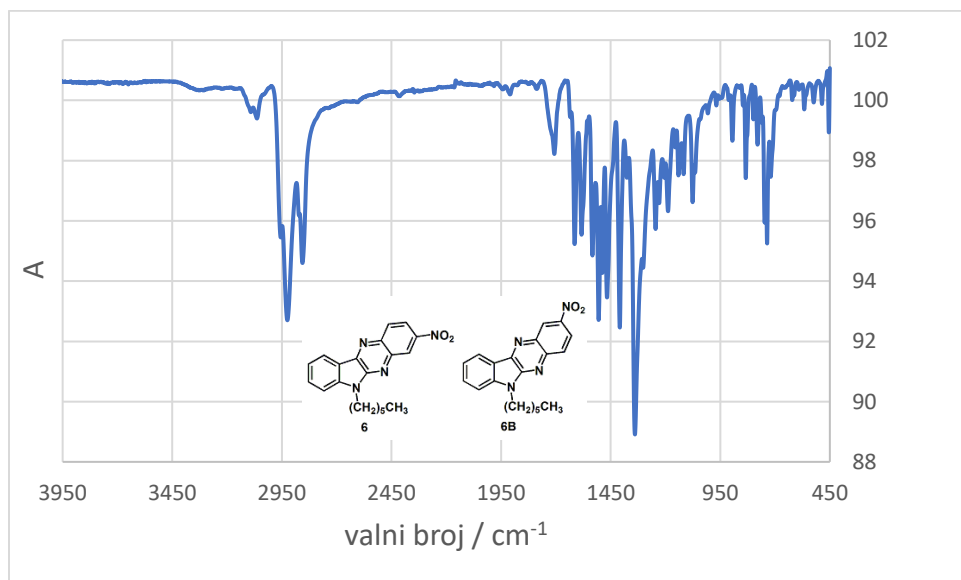
Slika 57. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) smjese **6** i **6B**



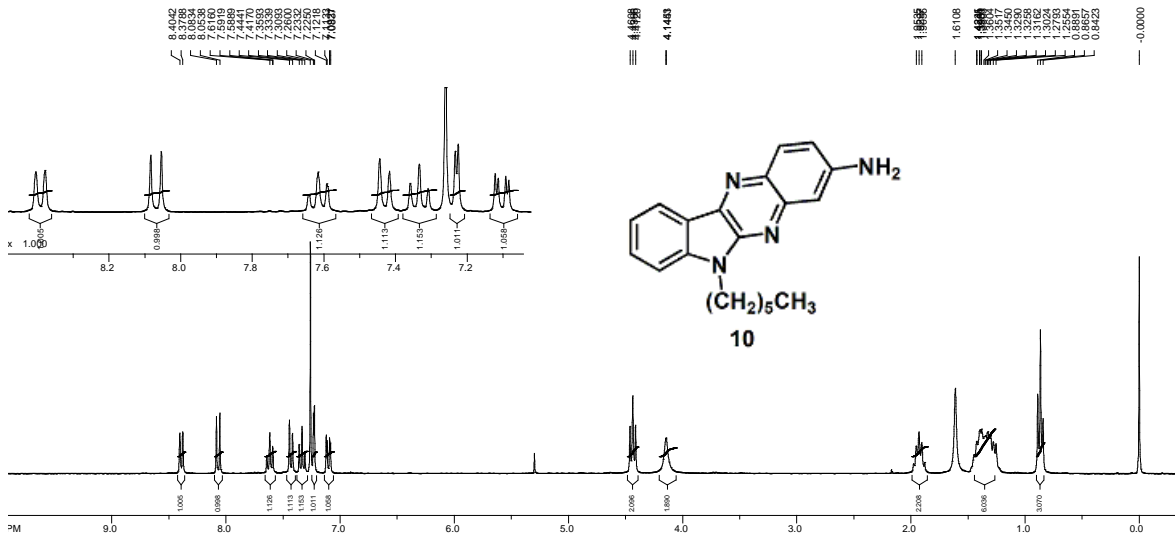
Slika 58. Apsopcijski spektar (CH_3CN) smjese **6** i **6B**



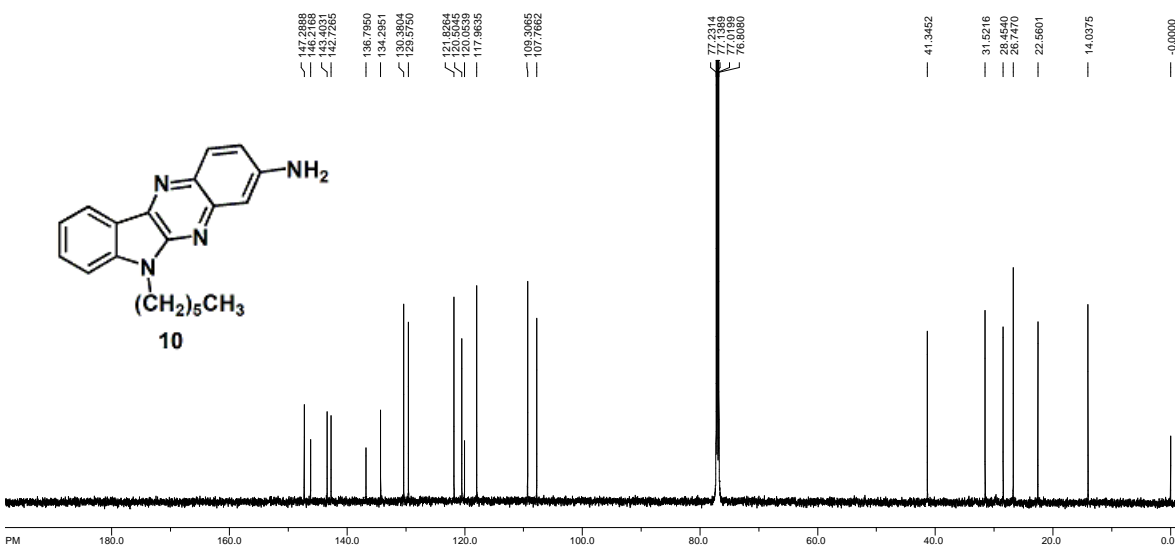
Slika 59. Emisijski spektar (CH_3CN) smjese **6** i **6B**



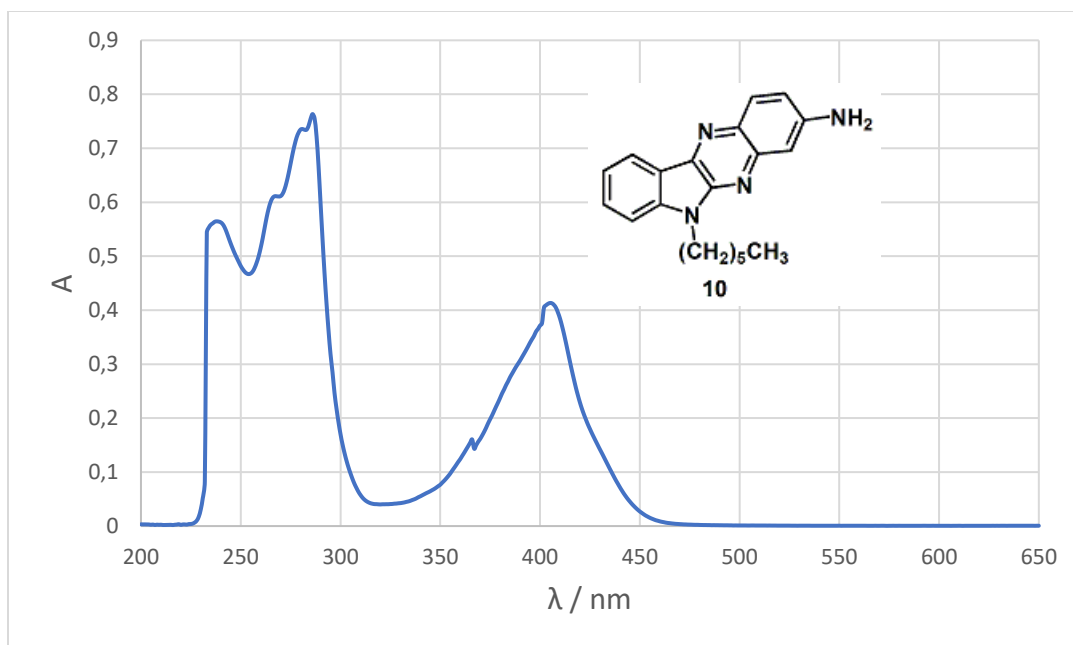
Slika 60. FTIR-ATR spektar smjese **6** i **6B**



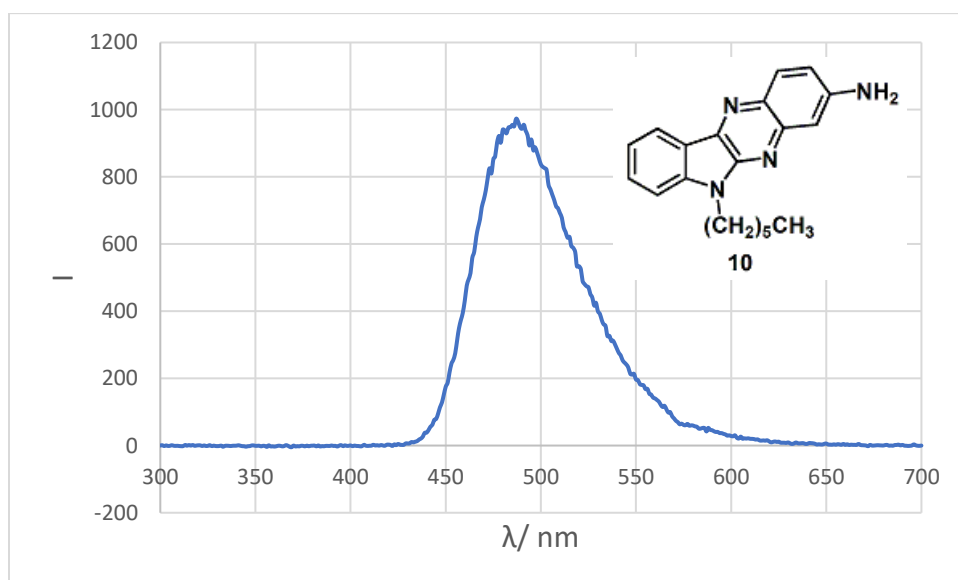
Slika 61. ¹H NMR spektar (CDCl₃) spoja **10**



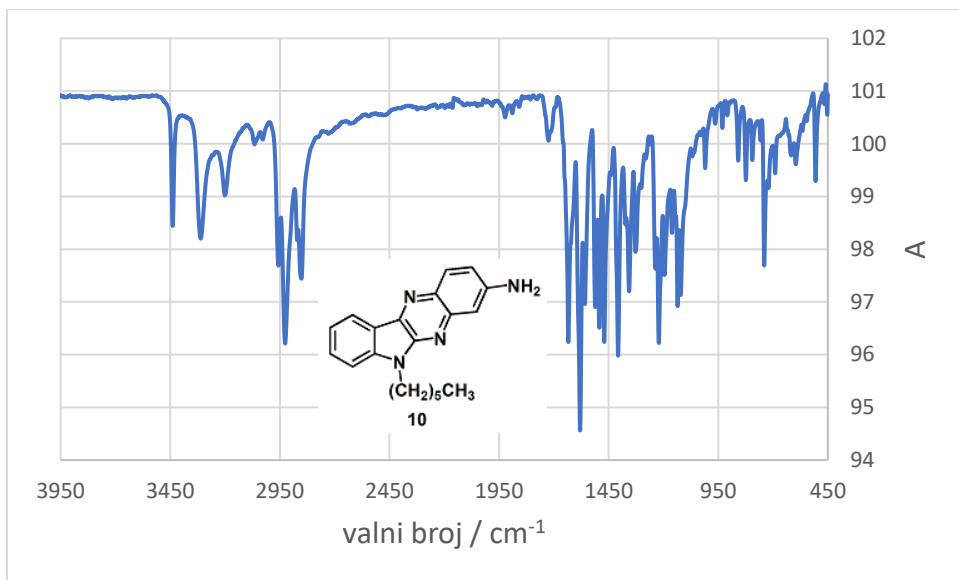
Slika 62. ¹³C NMR spektar (CDCl₃) spoja **10**



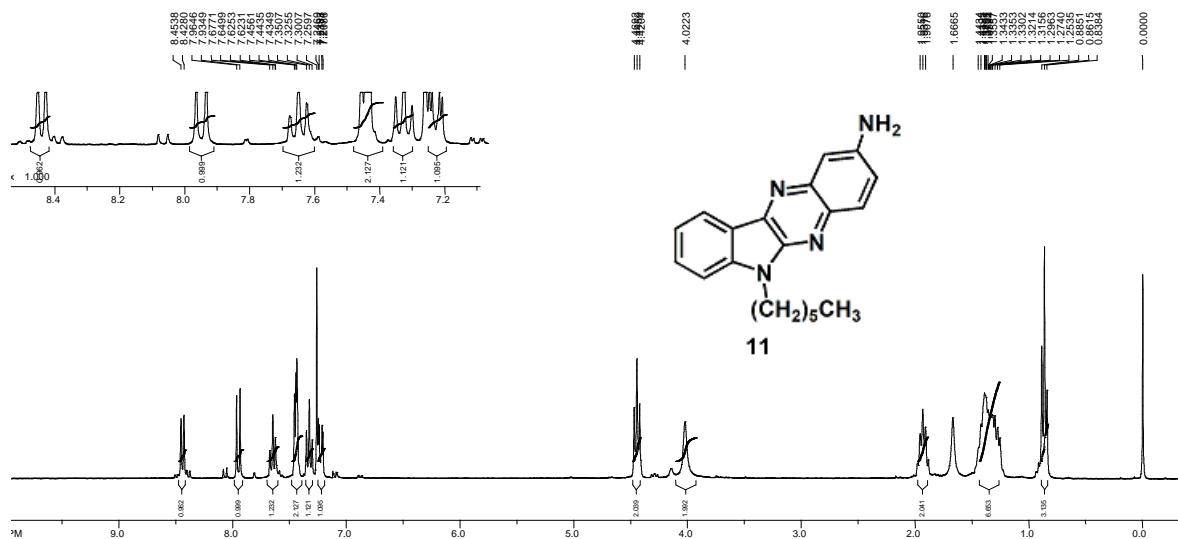
Slika 63. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **10**



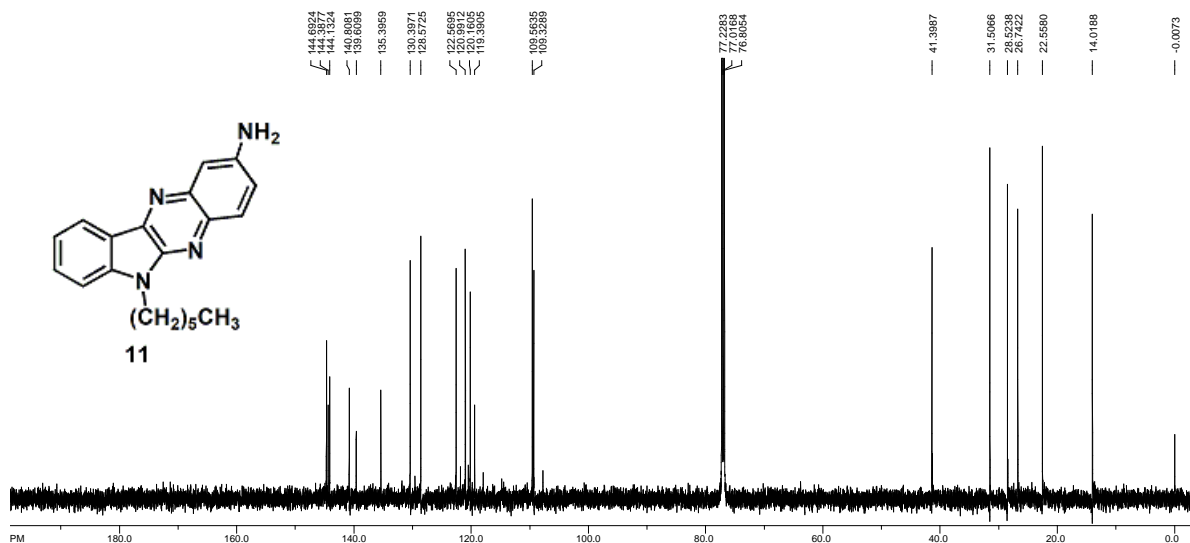
Slika 64. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **10**



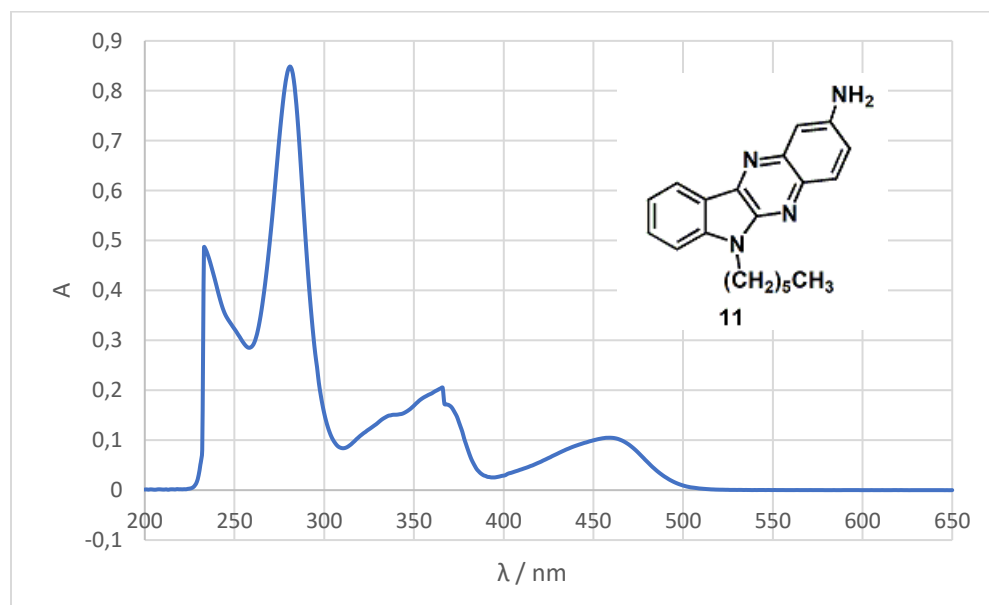
Slika 65. FTIR-ATR spektar spoja **10**



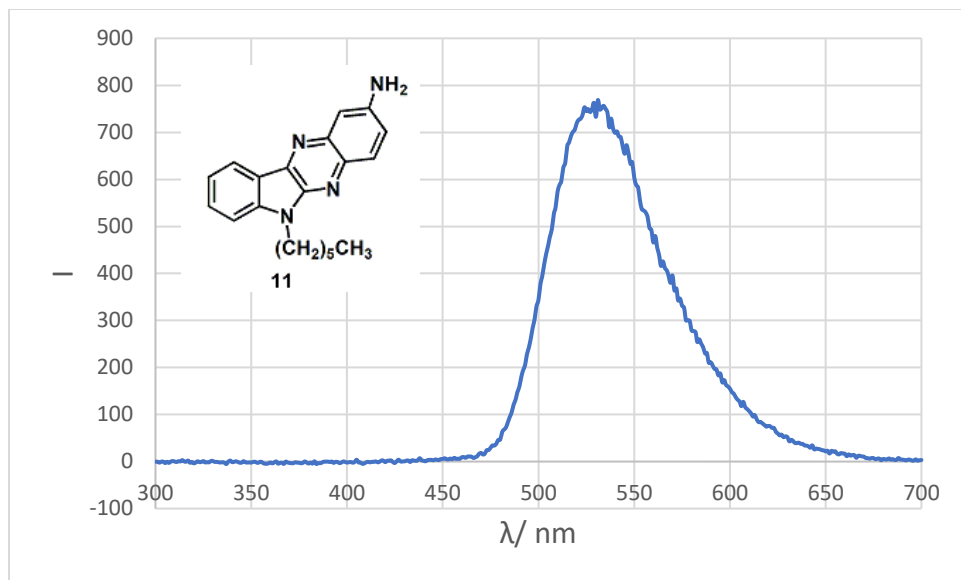
Slika 66. ^1H NMR spektar (CDCl_3) spoja **11**



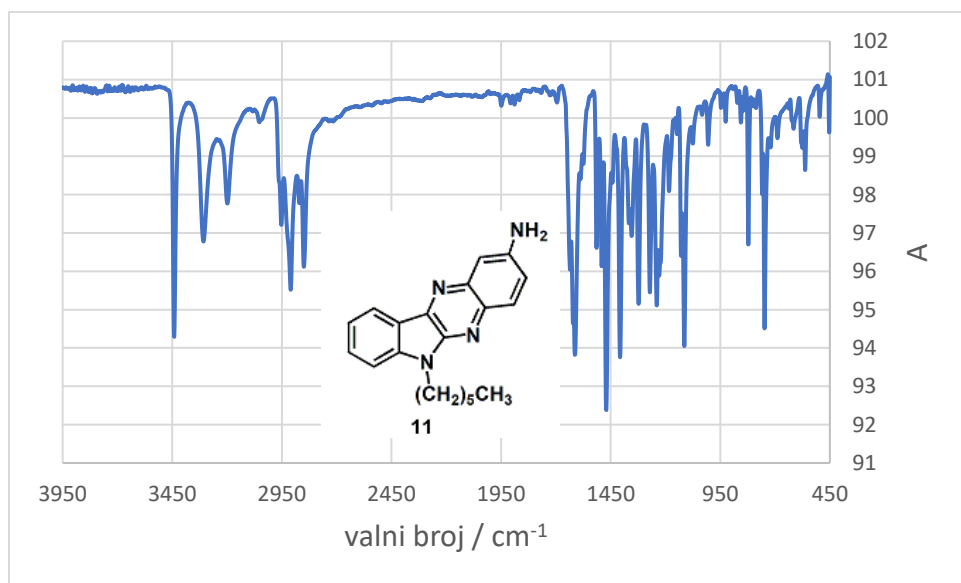
Slika 67. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) spoja **11**



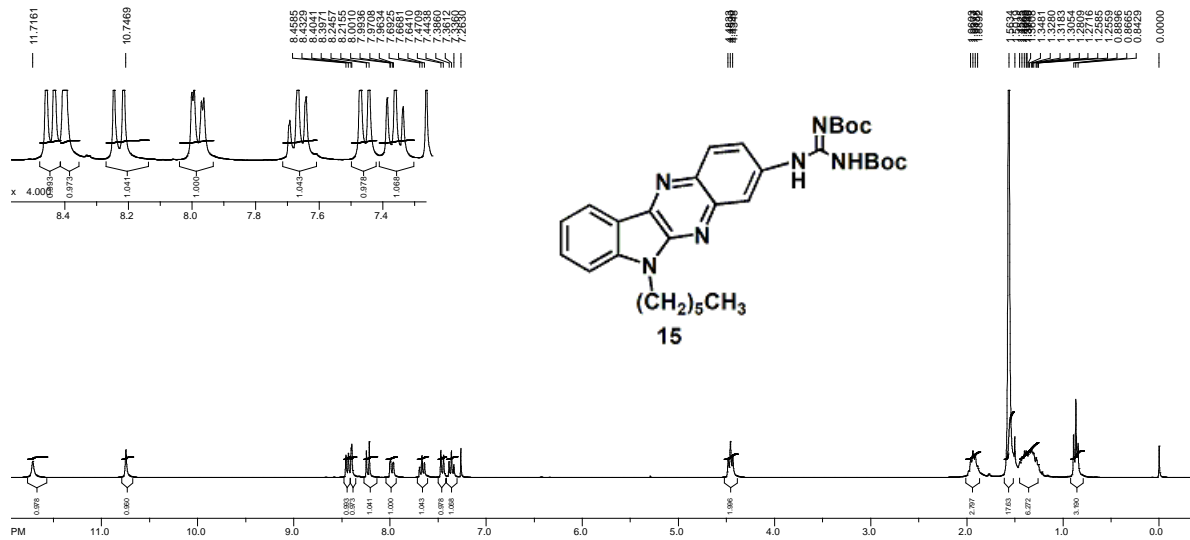
Slika 68. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **11**



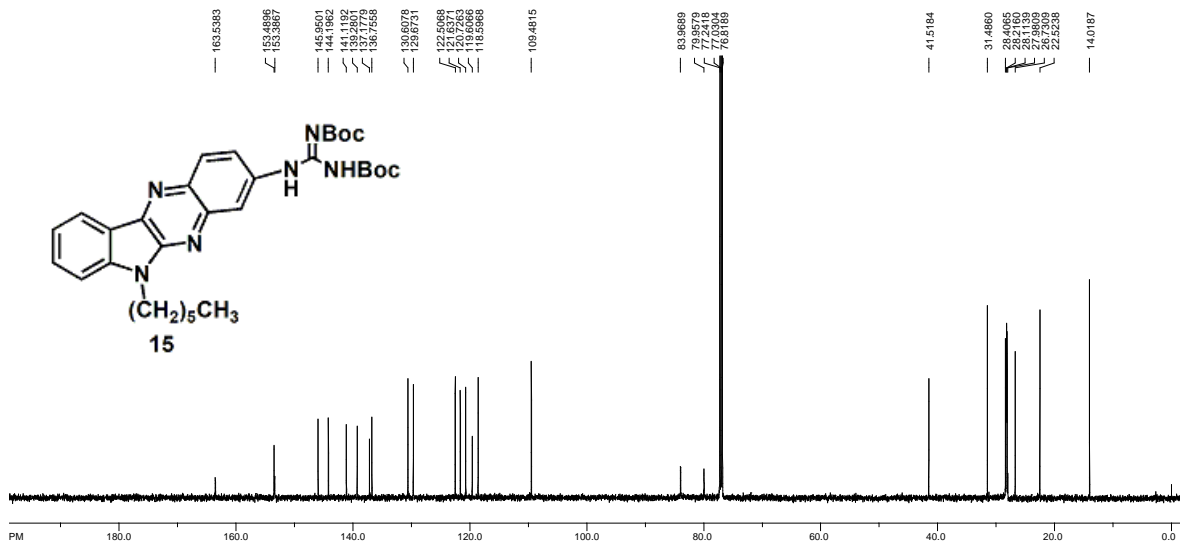
Slika 69. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **11**



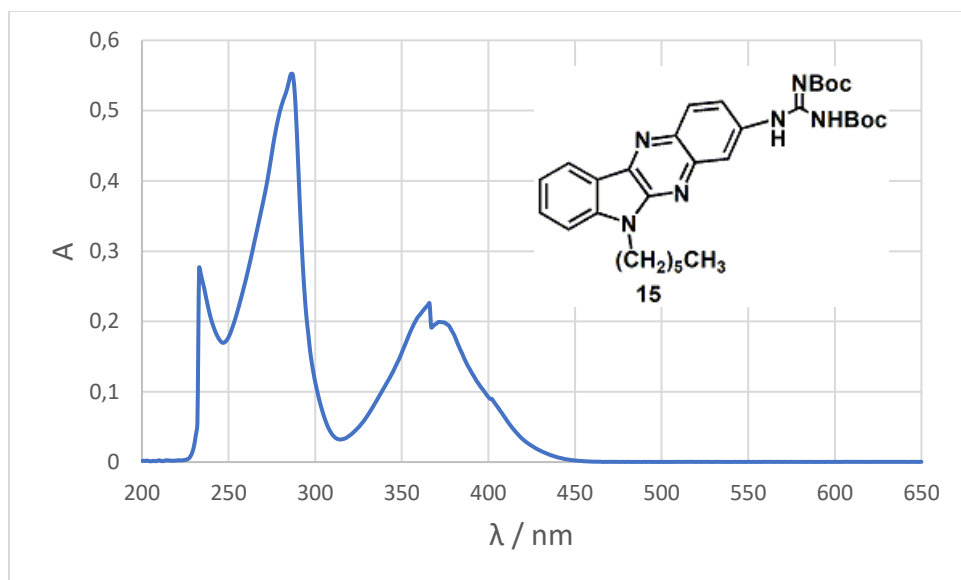
Slika 70. FTIR-ATR spektar spoja **11**



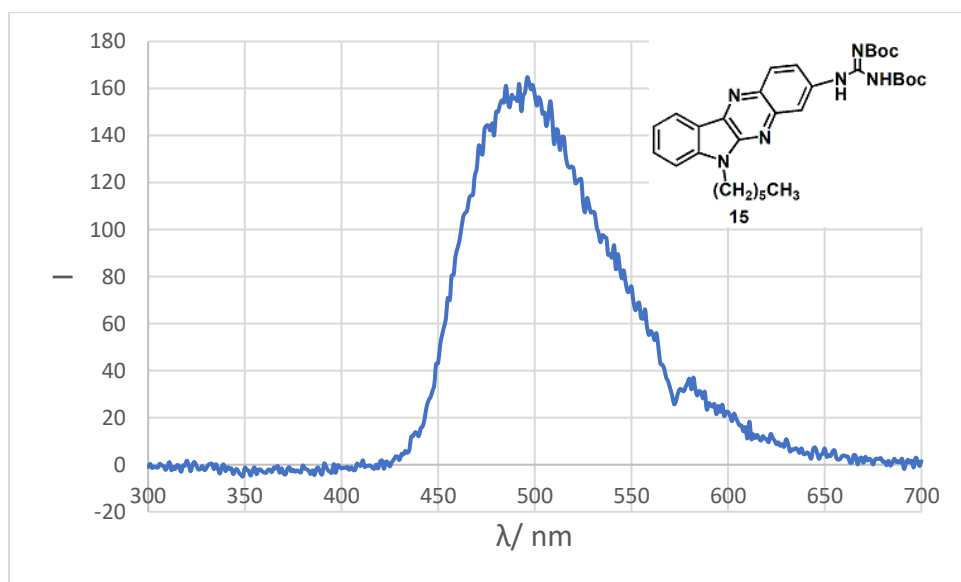
Slika 71. ¹H NMR spektar (CDCl₃) spoja **15**



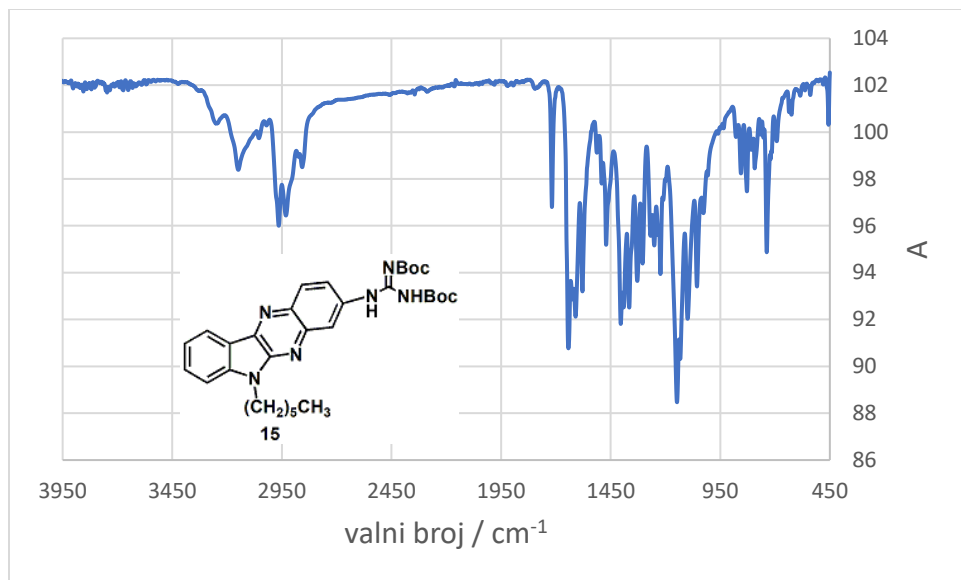
Slika 72. ¹³C NMR spektar (CDCl₃) spoja **15**



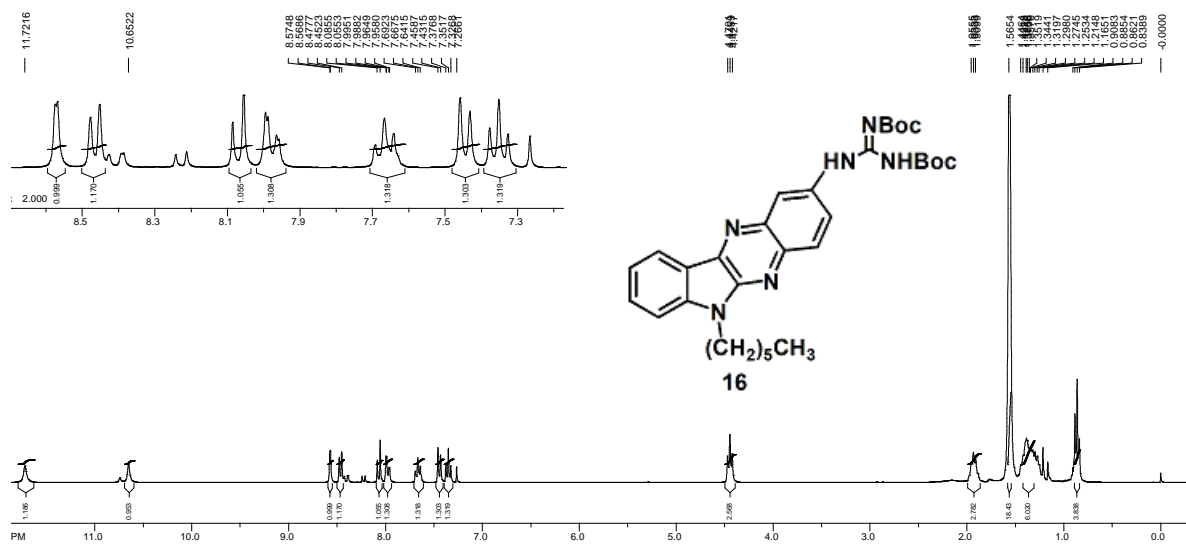
Slika 73. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **15**



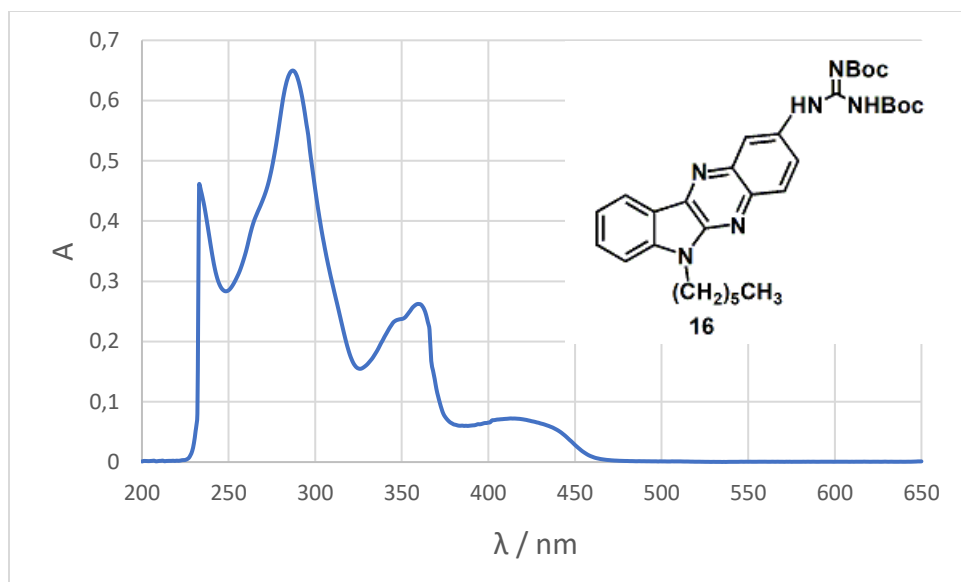
Slika 74. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **15**



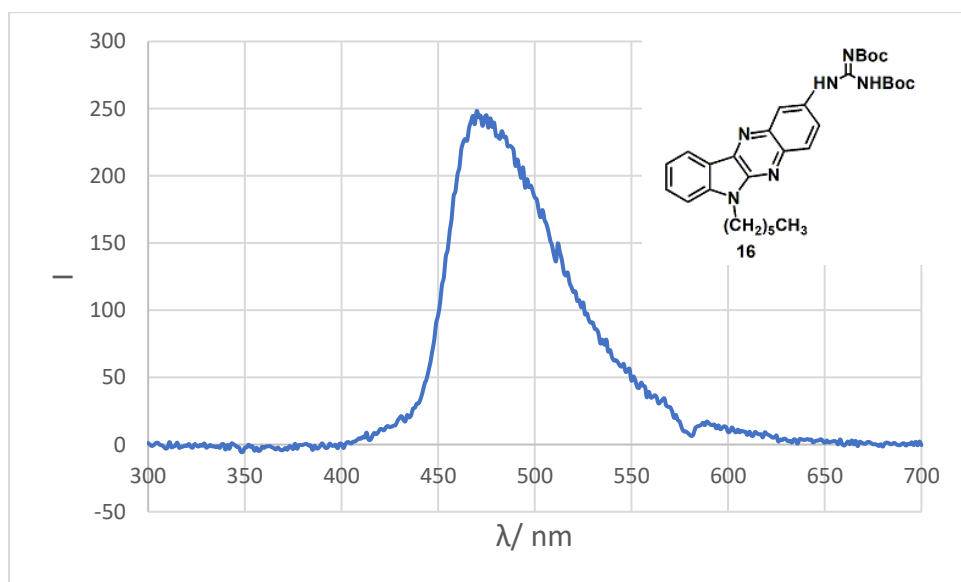
Slika 75. FTIR-ATR spektar spoja **15**



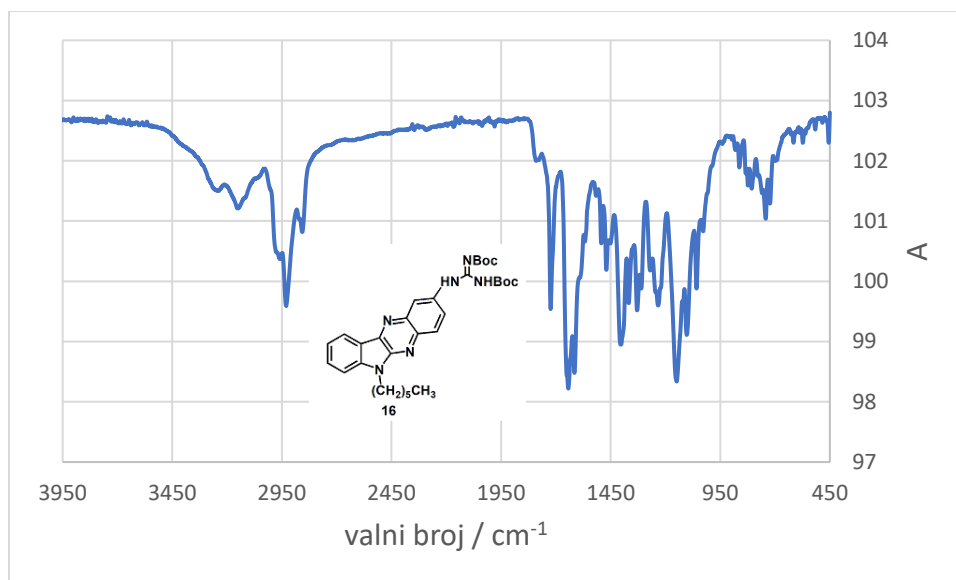
Slika 76. ^1H NMR spektar (CDCl_3) spoja **16**



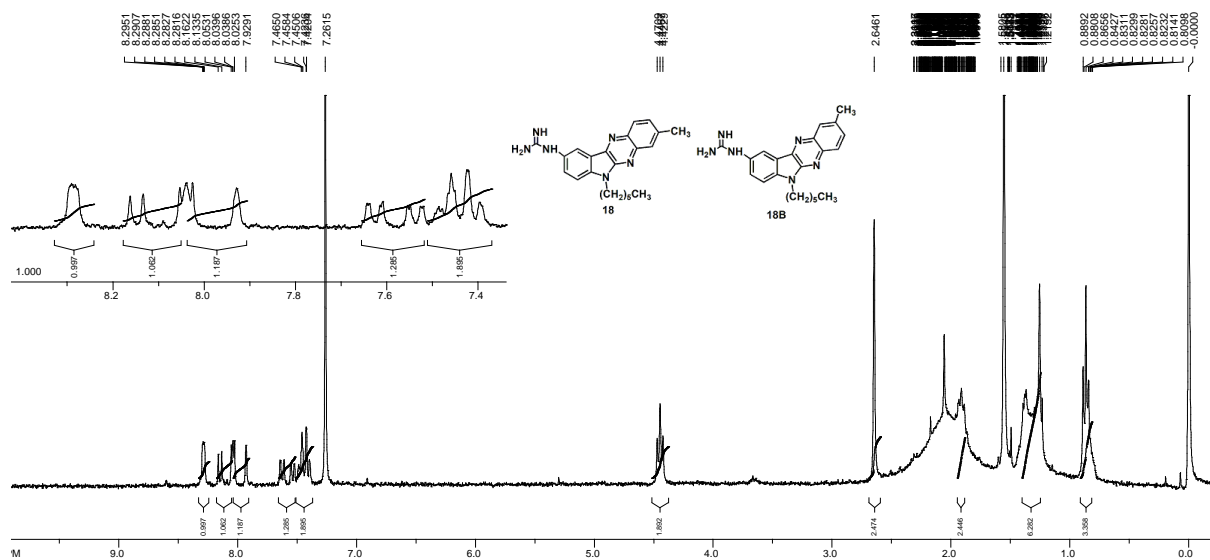
Slika 78. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **16**



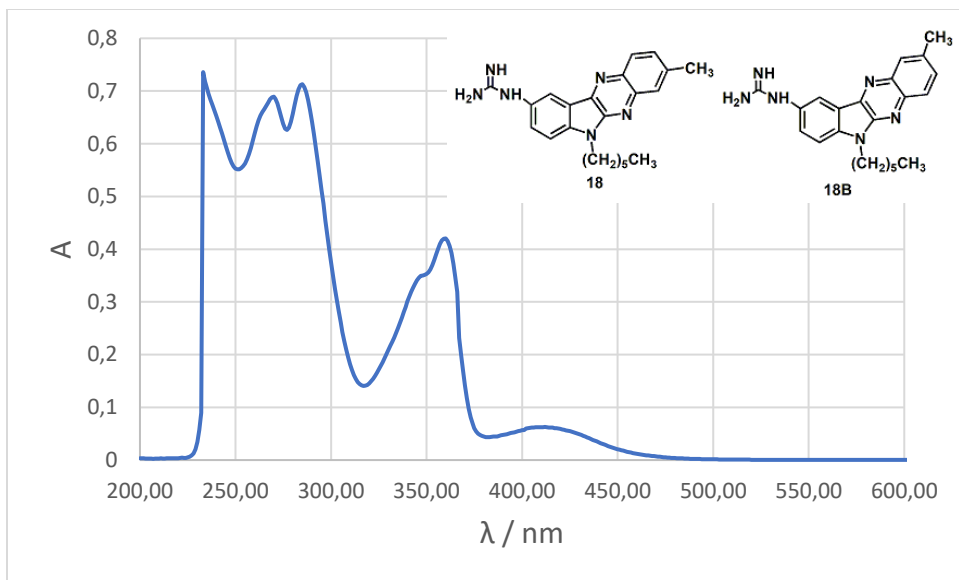
Slika 79. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **16**



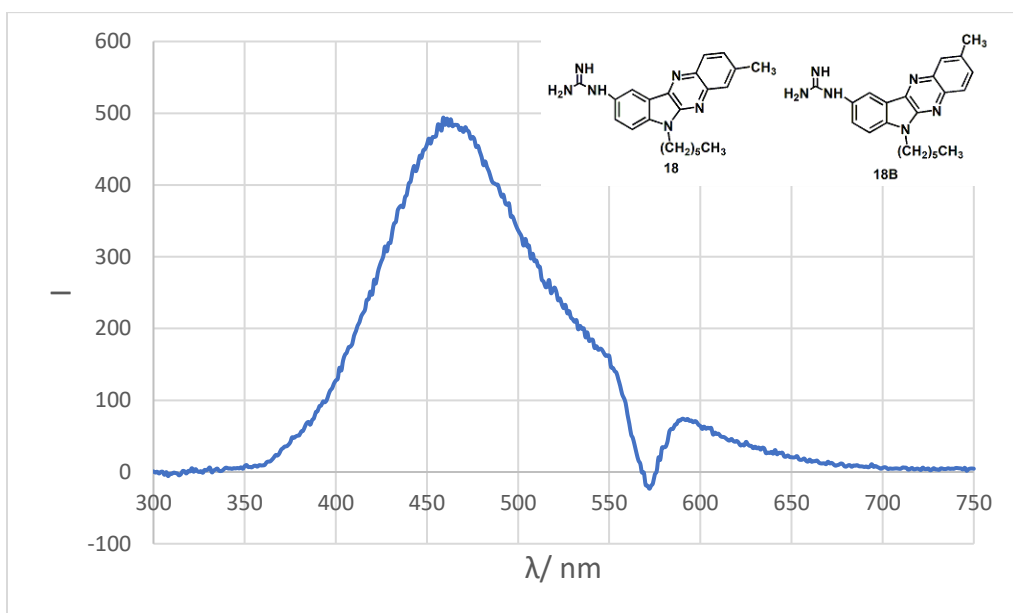
Slika 80. FTIR-ATR spektar spoja **16**



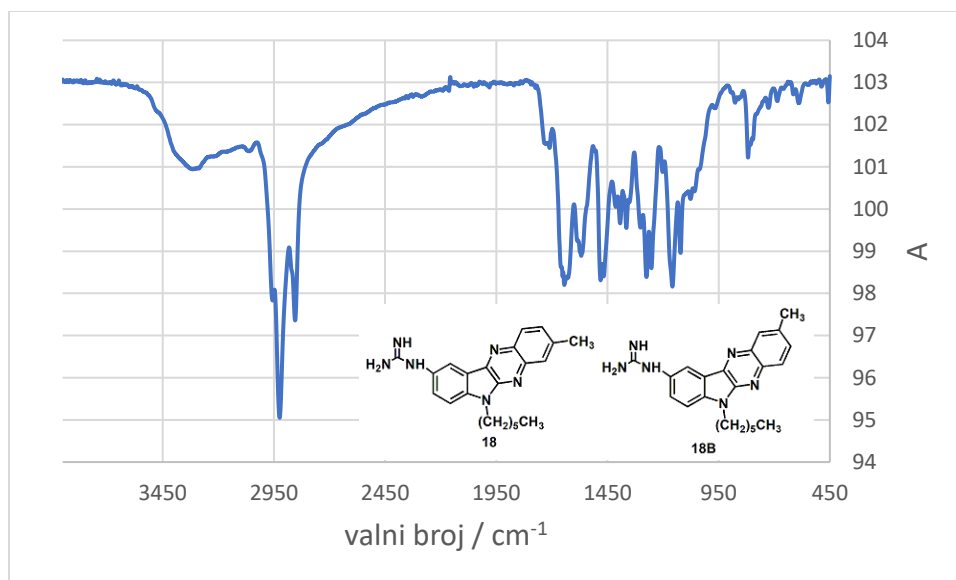
Slika 81. ^1H NMR spektar (CDCl_3) smjese **18** i **18B**



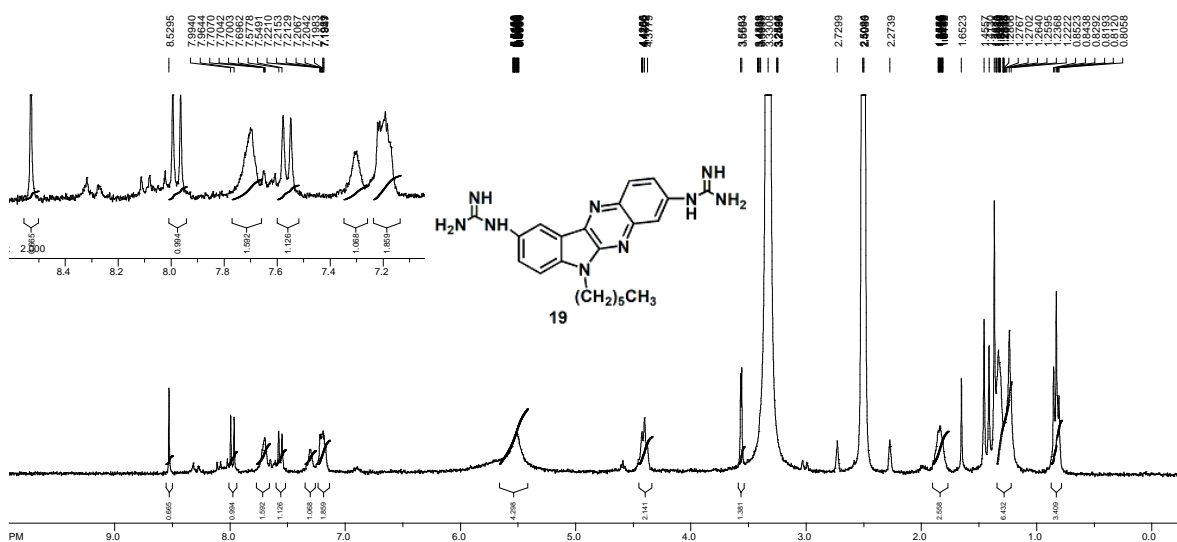
Slika 82. Apsorpcijski spektar (CH₃CN) smjese **18** i **18B**



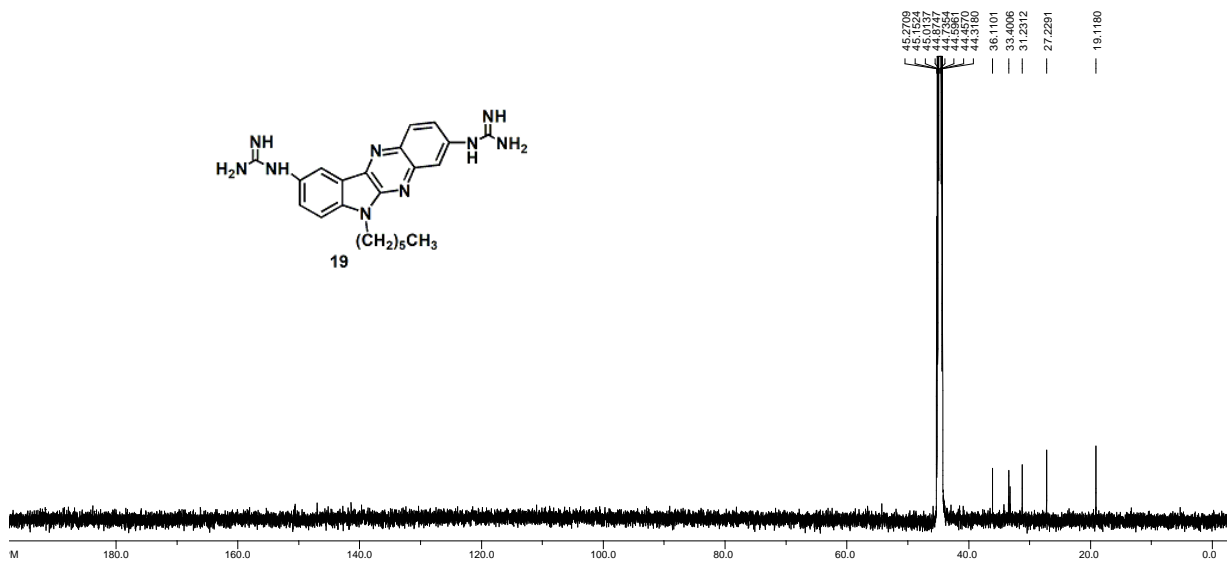
Slika 83. Emisijski spektar (CH₃CN) smjese **18** i **18B**



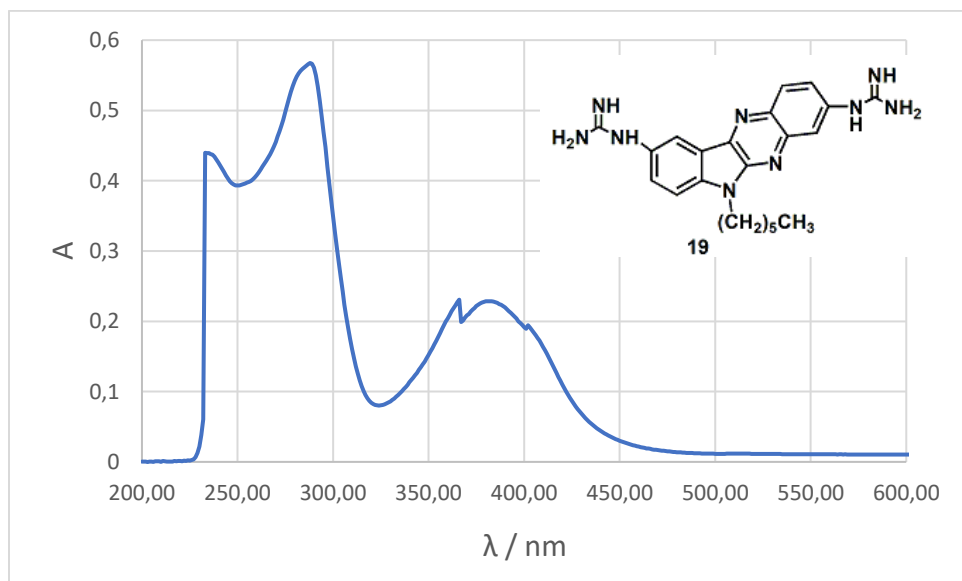
Slika 84. FTIR-ATR spektar smjese **18** i **18B**



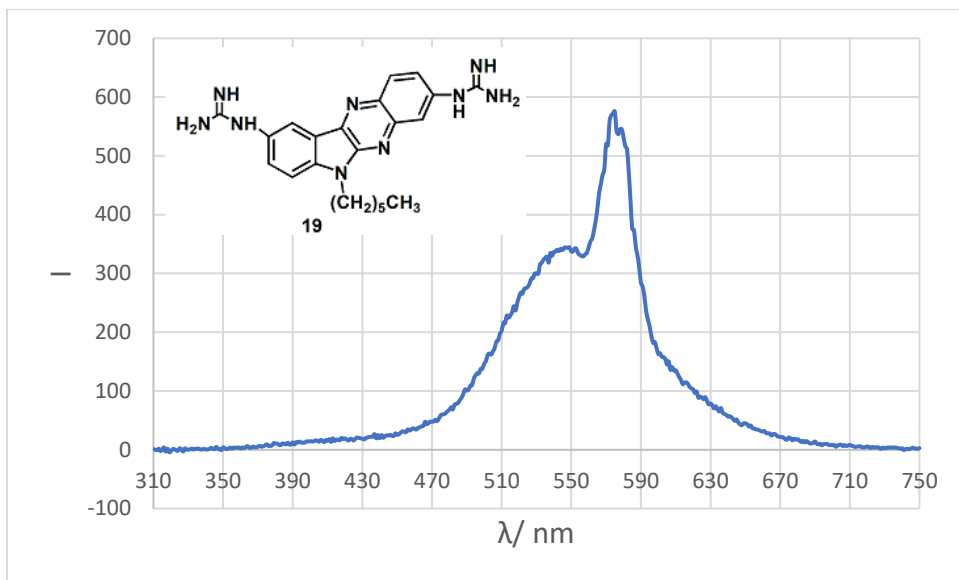
Slika 85. ^1H NMR spektar ((DMSO- d_6) spoja **19**



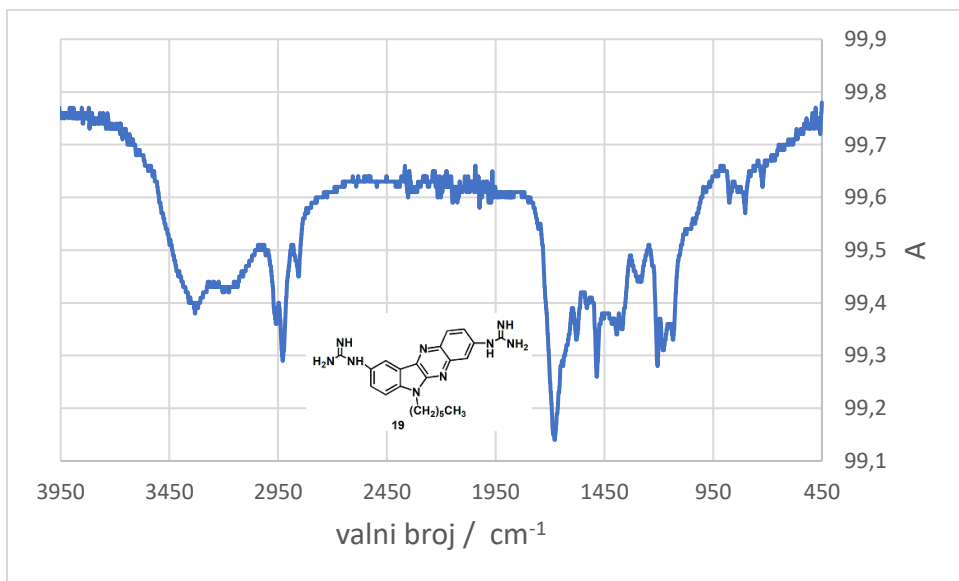
Slika 86. ^{13}C NMR spektar ((DMSO- d_6) spoja **19**



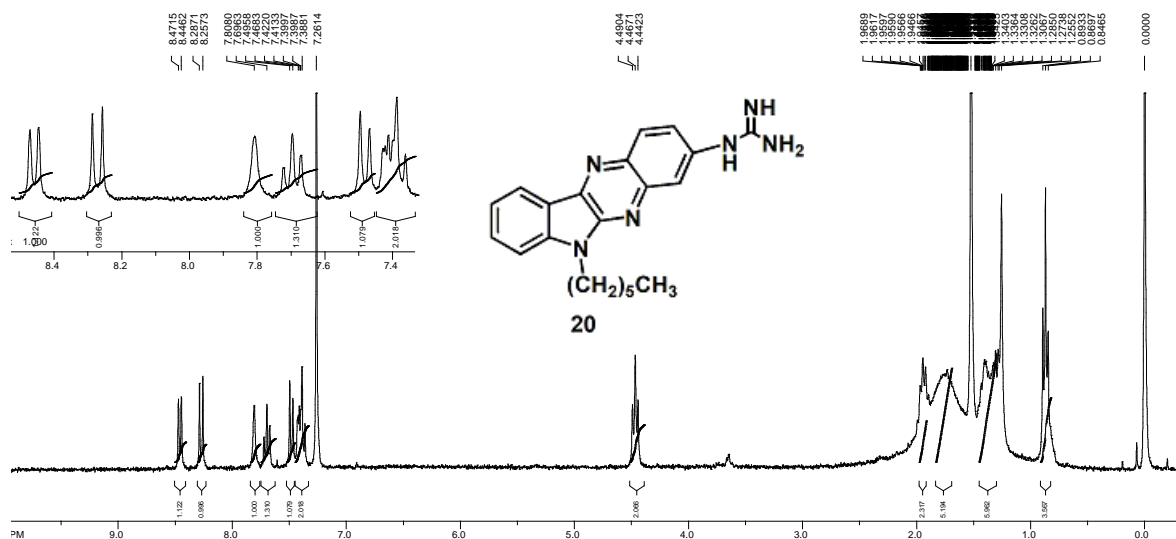
Slika 87. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **19**



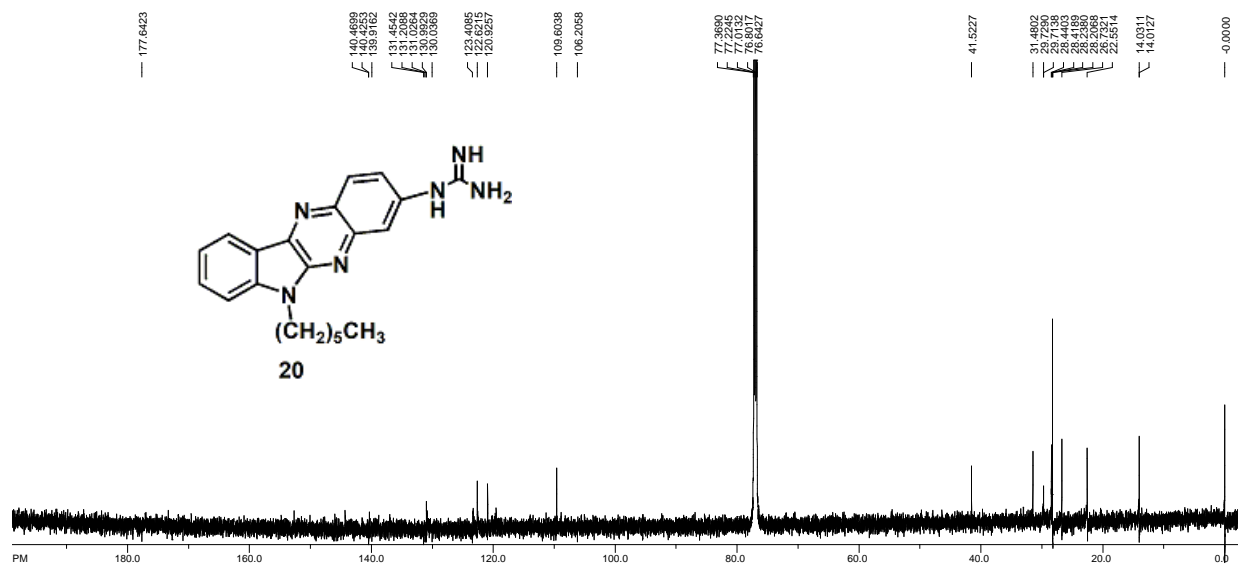
Slika 88. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **19**



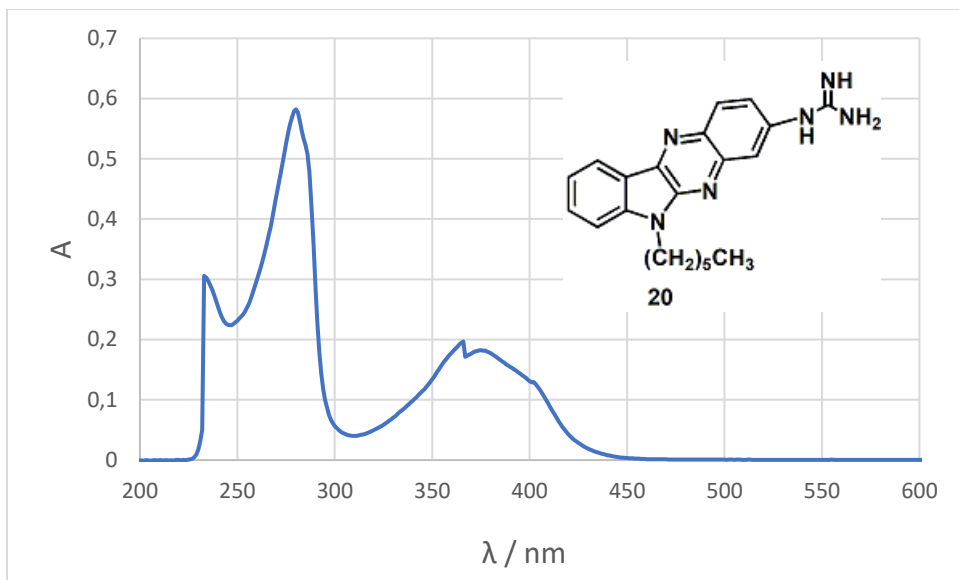
Slika 89. FTIR-ATR spektar spoja **19**



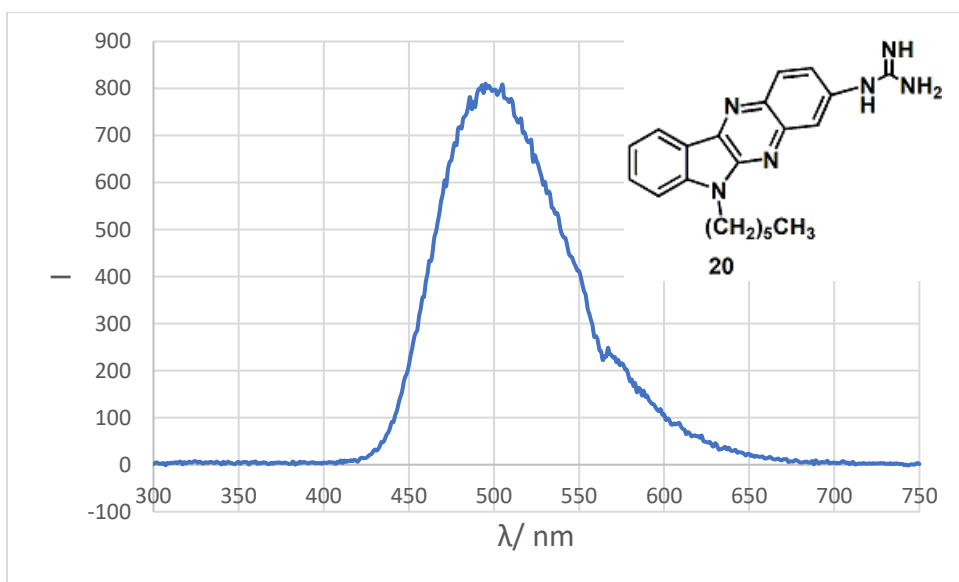
Slika 90. ¹H NMR spektar (CDCl₃) spoja 20



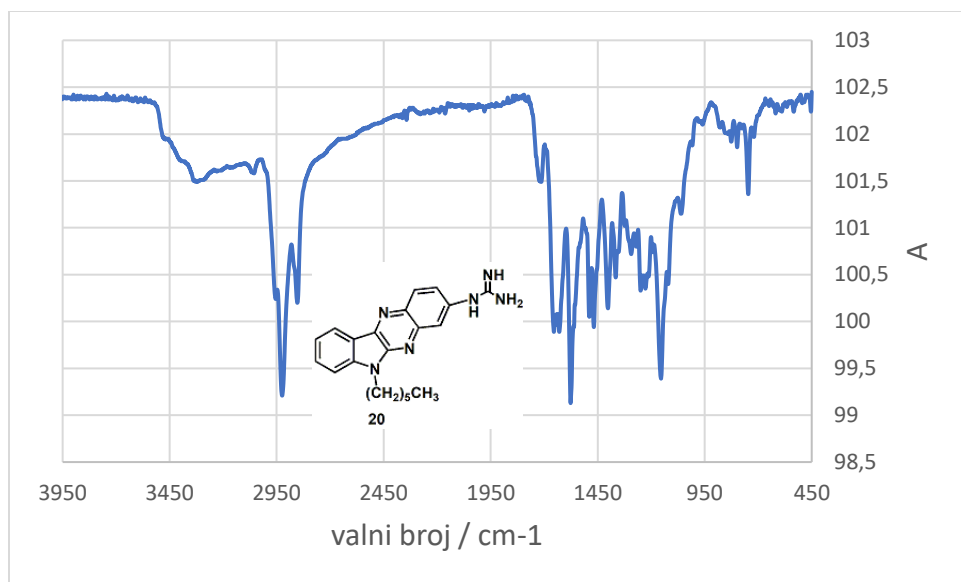
Slika 91. ¹³C NMR spektar (CDCl₃) spoja 20



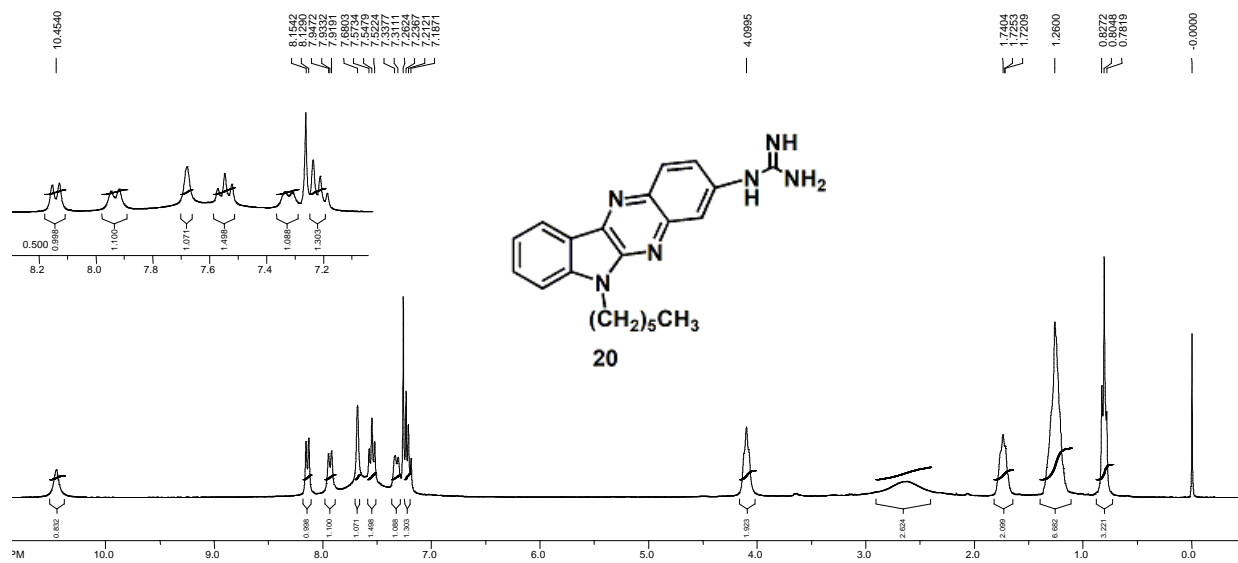
Slika 92. Apsorpcijski spektar (CH_3CN) spoja **20**



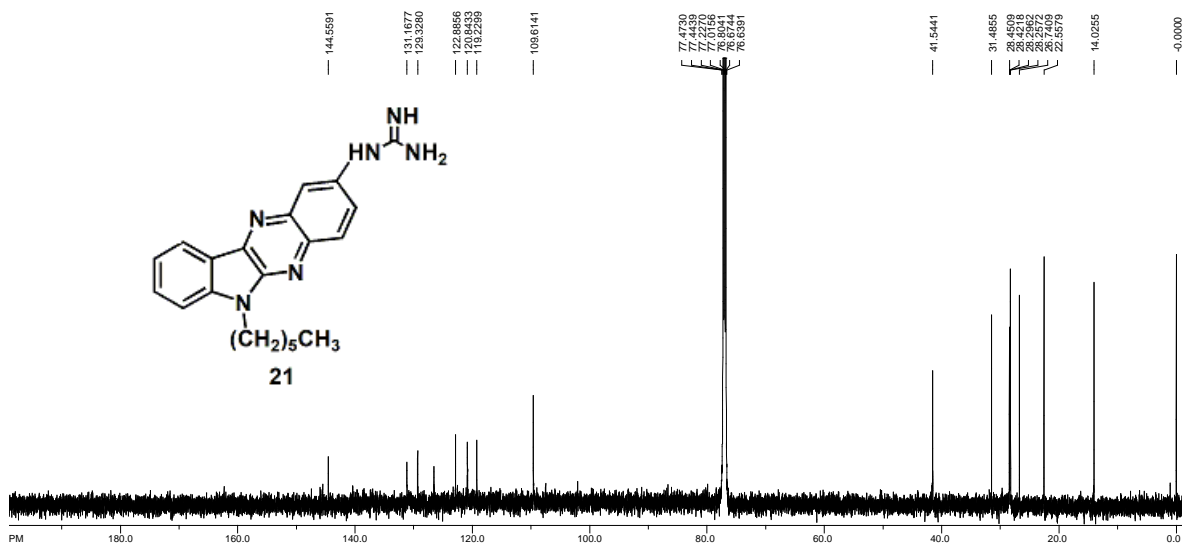
Slika 93. Emisijski spektar (CH_3CN) spoja **20**



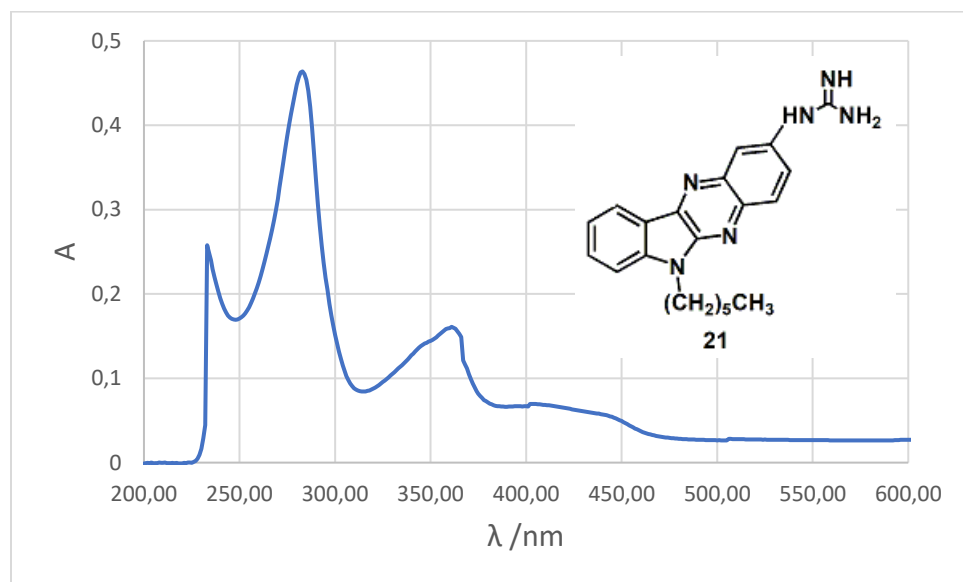
Slika 94. FTIR-ATR spektar spoja **20**



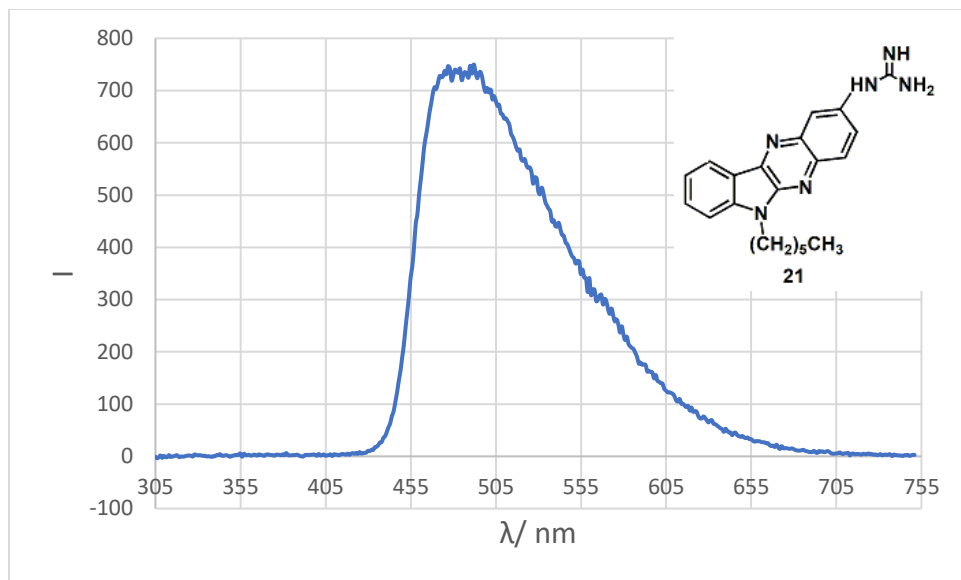
Slika 95. ^1H NMR spektar (CDCl_3) spoja **20H⁺**



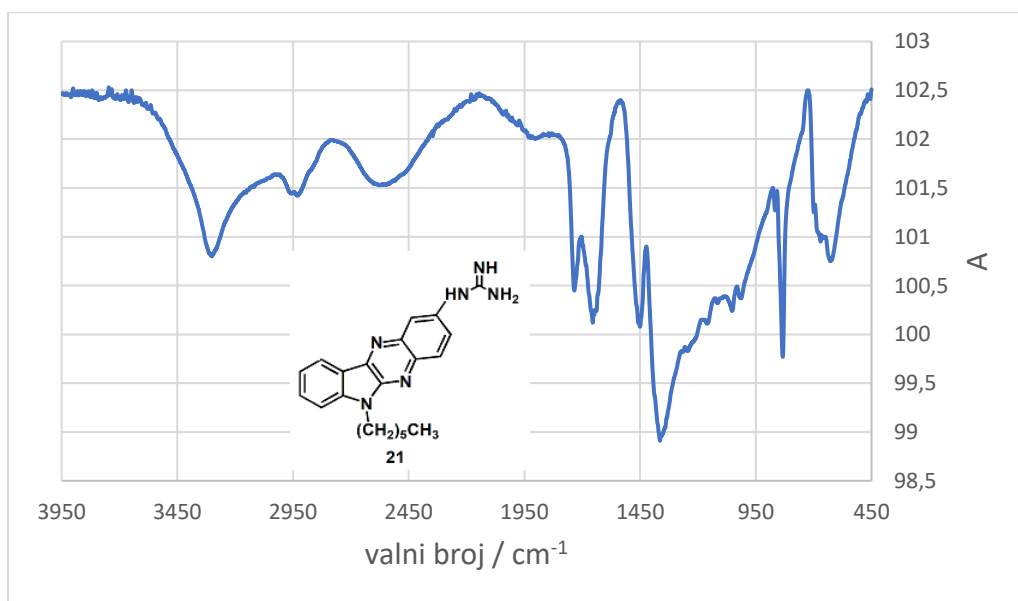
Slika 98. ^{13}C NMR spektar (CDCl_3) spoja **21**



Slika 99. Apsopcijski spektar (CH_3CN) spoja **21**



Slika 100. Fluorencijski spektar (CH_3CN) spoja **21**



Slika 101. FTIR-ATR spektar spoja **21**

