

Sinteza i spektroskopska karakterizacija novih 3-furostilbenskih oksima

Đurčević, Ema

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:684488>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ema Đurčević

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ema Đurčević

**SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA
NOVIH 3-FUROSTILBENSKIH OKSIMA**

ZAVRŠNI RAD

Mentor rada: prof. dr. sc. Irena Škorić

Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Irena Škorić

doc. dr. sc. Dragana Vuk

prof. dr. sc. Dragana Mutavdžić Pavlović

Zagreb, srpanj 2021.

SAŽETAK

Organofosforni spojevi predstavljaju veliku prijetnju čovječanstvu jer mogu uzrokovati akutno trovanje tako da ireverzibilno inhibiraju acetilkolinesterazu, enzim koji je ključan u održavanju životnih funkcija. U cilju pronalaska potencijalnih reaktivatora inhibiranih kolinesteraza organofosfatima, sintetizirani su novi oksimski derivati 3-furilnih stilbena **7-9**. Sinteza se provela nizom od tri reakcije. Prva reakcija je Wittigova reakcija s fosfonijevom soli, kojom nastaju alkeni, odnosno 3-furostilbeni **1-3**. Sintetizirani su metilni, klorovi i cijano-derivati. Reakcijom nastaje smjesa *cis-* i *trans*-alkena, koja je uspješno razdvojena. Sljedeća reakcija koja se provodila je reakcija Vilsmeierovog formiliranja, gdje su se Wittigovi produkti prevodili u aldehide **4-6**. Formilna skupina ulazi u preferirani položaj 2 na furanskom prstenu. Na kraju, provela se reakcija prevođenja aldehida u ciljne oksimske strukture **7-9**. Dobiveni su *syn-* i *anti-* izomeri pojedinih *cis-* i *trans*-oksima. Svi dobiveni spojevi pročišćeni su i izolirani kolonskom kromatografijom na silikagelu.

Svi sintetizirani izomeri okarakterizirani su spektroskopskim metodama. Koristile su se jednodimenzionalne ^1H i ^{13}C NMR tehnike, a za neke izomere i dvodimenzionalne tehnike.

Ključne riječi: kolinesteraze, organofosfati, oksimi, 3-furostilbeni, Wittigova reakcija, Vilsmeierovo formiliranje

SUMMARY

Synthesis and spectroscopic characterization of new 3-furostilbene oximes

Organophosphate compounds present a great threat to the humanity since they can cause acute poisoning so that they irreversibly inhibit acetylcholinesterase, an enzyme which is crucial in maintaining vital functions. As a goal of finding potential reactivators of inhibited cholinesterase by organophosphates, the new oxime derivatives of 3-furostilbenes **7-9** are synthesized. The synthesis was conducted in sequence of three reaction steps. The first reaction was Wittig reaction with phosphonium salt and corresponding aldehyde, by which the alkenes, 3-furostilbenes **1-3**, are obtained as methyl, chlorine and cyano-derivatives. The mixtures of *cis*- and *trans*-alkenes synthesized by the reaction were successfully separated. The next reaction step that was conducted is the reaction of Vilsmeier formylation, where Wittig's products were converted into aldehydes **4-6**. Formyl group enters into preferred position 2 on the furan ring. At the end, the reaction of translating aldehydes into oximes structures **7-9** was conducted. *Syn*- and *anti*-isomers of individual *cis*- and *trans*-oximes are gained. All the synthesized compounds are purified and isolated using column chromatography on the silica gel.

All the synthesized isomers are characterized by spectroscopic methods. One-dimensional ^1H and ^{13}C NMR techniques as well as for some isomers two-dimensional techniques were used.

Key words: cholinesterase, organophosphate compounds, oximes, 3-furostilbenes, Wittig reaction, Vilsmeier formylation

ZAHVALA

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za organsku kemiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, akademske godine 2020./2021.

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. sc. Ireni Škorić na pruženoj prilici rada u Organskom laboratoriju, na svim savjetima, njezinoj ljubaznosti i velikodušnoj pomoći pri izradi ovog Završnog rada.

Zahvaljujem se asistentici mag. appl. chem. Mileni Mlakić na neizmjerne pomoći u radu u laboratoriju, svom prenesenom znanju te na strpljivosti i susretljivosti tijekom izrade ovog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji na razumijevanju, strpljenju i na bezuvjetnoj podršci i potpori koju su mi pružili tijekom mojeg školovanja.

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	OPĆI DIO	2
2.1.	ORGANOFOSFATI.....	2
2.2.	FARMAKOKINETIČKO I FARMAKODINAMIČKO STAJALIŠTE O OKSIMIMA.....	7
2.3.	KRVNO – MOŽDANA BARIJERA.....	8
2.4.	STRATEGIJE U LIJEČENJU OKSIMIMA TROVANJA ORGANOFOSFATIMA.....	8
2.5.	FARMAKOKINETIČKI PODATCI O POZNATIM OKSIMIMA	12
2.5.1.	Apsorpcija i eliminacija	12
2.5.2.	Distribucija oksima do tkiva i prolazak kroz krvno - moždanu barijeru.....	13
2.5.3.	Promjena farmakokinetičkog djelovanja oksima organofosfatima.....	14
3.	REZULTATI I RASPRAVA	16
3.1.	UVOD	16
3.2.	SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA 3-FURILNIH DERIVATA STILBENA 1-3	18
3.2.1.	Priprema heterostilbena 1-3.....	18
3.2.2.	Identifikacija furostilbena 1-3 spektroskopskim metodama	19
3.3.	PREVOĐENJE PRODUKATA WITTIGOVE REAKCIJE 1-3 U FORMILNE DERIVATE 4-6	20
3.3.1.	Sinteza aldehida 4-6	20
3.3.2.	Potvrda struktura aldehida 4-6 spektroskopskim metodama.....	21
3.4.	PRIPRAVA NOVIH OKSIMSKH DERIVATA 3-FURILNIH STILBENA 7-9	24
3.4.1.	Sinteza metilnog, klorovog i cijano-derivata oksima 7-9.....	24
3.4.2.	Spektroskopska karakterizacija novih oksima 7-9	25
4.	EKSPERIMENTALNI DIO	29
4.1.	Organska sinteza stiril-furana.....	29
4.2.	Organska sinteza furan-2-karbaldehida	32
4.3.	Organska sinteza furan-2-karbaldehid oksima	35
5.	ZAKLJUČAK.....	42
6.	LITERATURA.....	43
7.	ŽIVOTOPIS.....	47

1. UVOD

Zbog sve učestalijeg korištenja organofosfornih spojeva, kao što su to tabun, sarin, soman i VX, u terorističke svrhe, ali i sve češćih slučajeva trovanja organofosfatima kao pesticidima u poljoprivredi, intenzivno se počelo tragati za lijekovima ili protuotrovima za trovanje organofosfatima. Ova skupina organskih spojeva je opasna i vrlo toksična jer može ireverzibilno inhibirati enzim acetilkolinesterazu, koji je ključan jer hidrolizira neurotransmiter acetilkolin u sinapsama. Prekomjerno nakupljanje nehidroliziranog acetilkolina može uzrokovati kolinergički sindrom, što se očituje u respiratornim problemima, oštećenju živčanog sustava, kao i u poremećajima brojnih drugih životnih funkcija.

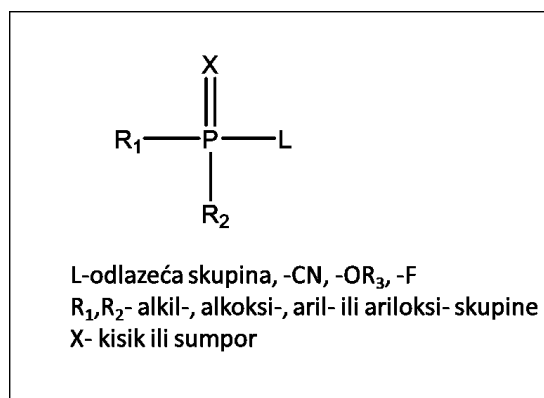
Danas je u medicinskoj primjeni samo nekoliko lijekova koji mogu ublažiti toksično djelovanje organofosfata, ali ne i u potpunosti djelovati kao protuotrovi. Veliki potencijal u reaktivaciji inhibirane acetilkolinesteraze imaju oksimi. Međutim, do sada sintetizirani oksimski derivati loše prolaze kroz krvno – moždanu barijeru i nisu jednako djelotvorni za sve vrste organofosfata. I dalje traje potraga za oksimima koji će biti učinkovitiji u borbi protiv trovanja organofosfatima.

U ovom radu opisan je mehanizam ireverzibilne inhibicije acetilkolinesteraze organofosfatima, navede su posljedice za ljudski organizam koje se mogu javiti nakon izlaganja organofosfatima te je opisana potencijalna reaktivacija inhibiranog enzima oksimima. Nadalje, navedeni su farmakodinamički i farmakokinetički podaci o dosad sintetiziranim oksimima te su opisane moguće daljnje strategije u liječenju oksimima trovanja organofosfatima. Kako bi se otkrili novi potencijalni reaktivatori acetilkolinesteraze, sintetizirani su novi metilni, klorovi i cijano- derivati novih 3-furostilbenskih oksima. Svi dobiveni međuprodukti i konačni produkti su okarakterizirani spektroskopskim metodama. Dobiveni su u dovoljnim količina za ispitivanje njihovog potencijala kao reaktivatora kolinesteraza.

2. OPĆI DIO

2.1. ORGANOFOSFATI

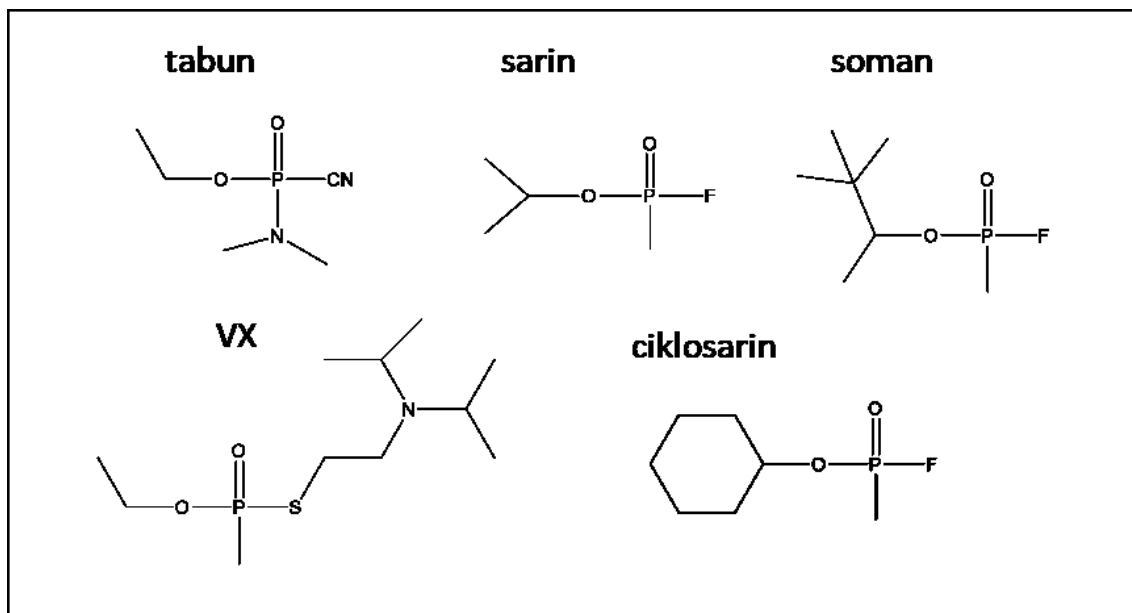
Organofosfati su sintetski spojevi, esterski, tiolni ili amidni derivati fosforne, fosfinske ili fosfonske kiseline. U svojoj strukturi sadrže peterovalentni fosforov atom na koji je vezan kisik ili sumpor, izlazna skupina, koja ima najslabiju vezu s fosforom te supstituenti R i R, koji mogu biti različite alkilne ili arilne skupine.¹ Na slici 1. prikazana je opća struktura organofosfata.



Slika 1: Prikaz opće formule organofosfata

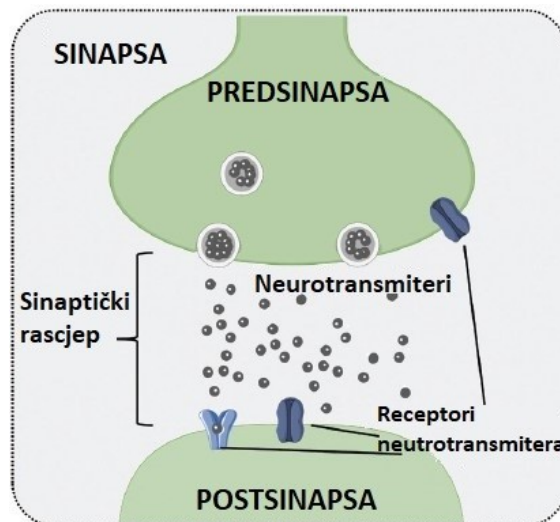
Organofosfati su prvi put sintetizirani u 19. stoljeću, a otkrilo se da su otrovni za ljude tek 1932. godine, kada su znanstvenici utvrdili da udisanje para organofosfata uzrokuje zamućenje vida i osjećaj gušenja.² Primarno se koriste u poljoprivredi kao pesticidi. Osim toga, upotrebljavaju se i u veterinarskoj medicini, kao antiparazitici te kao živčani bojni otrovi, vrlo otrovni spojevi koji mogu uzrokovati smrtonosne posljedice u malim dozama.³ Također, spojevi su bez boje i mirisa te imaju visoki tlak para pa ih to čini učinkovitim kemijskim oružjem. Upravo zbog sve češćih terorističkih i vojnih napada organofosfatima, počelo se tragati za protuotrovima i lijekovima za trovanje organofosfatima.⁴ Najpoznatiji bojni otrovi koji su se koristili u terorističkim i vojnim napadima su sarin, ciklosarin, tabun, soman i VX. Njihove strukture prikazane su na slici 2. Kao pesticidi, organofosfati su vrlo djelotvorni, međutim otkriveno je da prekomjerna izloženost takvim pesticidima može biti toksična za ljude i životinje.

Stoga su neki pesticidi, koji su bili u općoj upotrebi, zabranjeni. Najviše slučajeva trovanja pesticidima zabilježeno je u slabo razvijenim zemljama. Razlog tomu je loša upućenost stanovništva u propise o dozvoljenim količinama uporabe pesticida te neodgovarajuća medicinska skrb.⁵



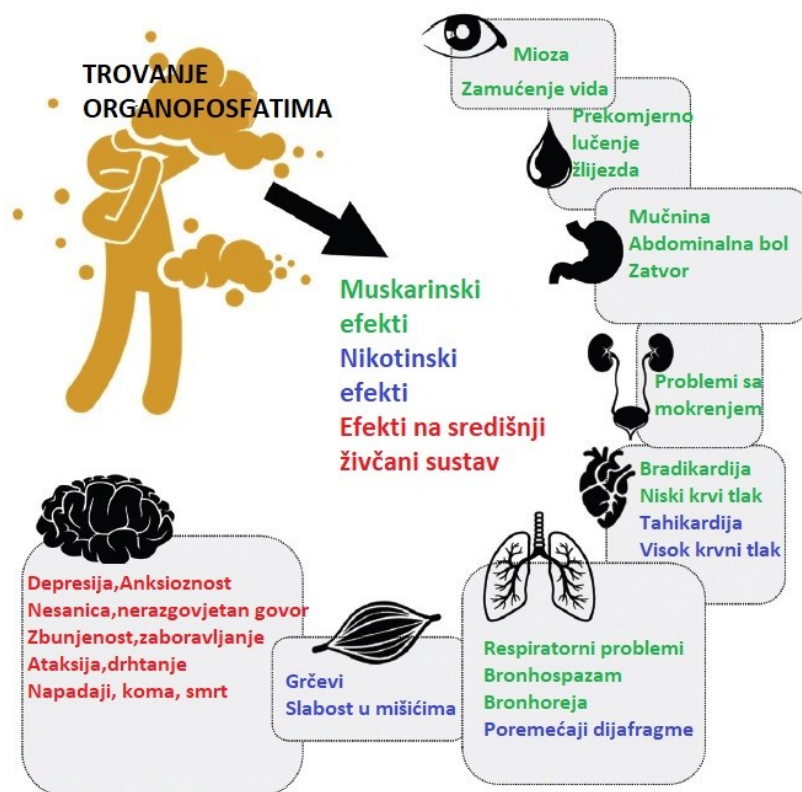
Slika 2: Prikaz struktura nekih živčanih bojnih otrova

Organofosfati uzrokuju akutno trovanje tako da djeluju na živčani sustav i to na način da ireverzibilno inhibiraju acetilkolinesterazu, enzim koji katalizira hidrolizu acetilkolina, odnosno razgrađuje ga na acetyl-coA i kolin.⁶ Također se inhibira i butirilkolinesteraza koja služi kao pomoćni enzim acetilkolinesterazi.⁷ Acetilkinolin je neurotransmiter, nalazi se na sinapsi živčanog tkiva i djeluje preko nikotinskih i muskarinskih receptora (slika 3). Kod zdravog organizma, kada dođe do živčanog podražaja, živčani impuls uzrokuje otpuštanje acetilkolina iz mjehurića u predsinsapsi u sinaptički rascjep. Iz tog rascjepa acetilkolin odlazi do muskarinskih i nikotinskih receptora koji se nalaze na postsinsapsi i prenose dalje živčani impuls. Impuls se dalje prenosi do ostalih živčanih stanica.³ Kad podražaj završi, acetilkolinesteraza hidrolizira acetilkolin i tu prestaje prijenos impulsa. Kod trovanja organofosfatima, acetilkolinesteraza je inhibirana, acetilkolin se ne može razgraditi i dolazi do pretjerane stimulacije muskarinskih i nikotinskih receptora što uzrokuje kolinergički sindrom.



Slika 3: Prikaz prijenosa neurotransmitera iz predsinaapse na receptore na postsinapsi⁶

Acetilkinolin ima važnu ulogu u kontroli živčanog sustava, disanja i održavanju ostalih vitalnih funkcija te u procesima učenja i pamćenja. Prilikom trovanja dolazi do poremećaja mnogih fizioloških funkcija, a to se očituje u simptomima kao što su pretjerano lučenje žlijezda, zamućenje vida, drhtanje, stezanje u prsima, respiratorni problemi i ostali simptomi koji su prikazani na slici 4.⁶

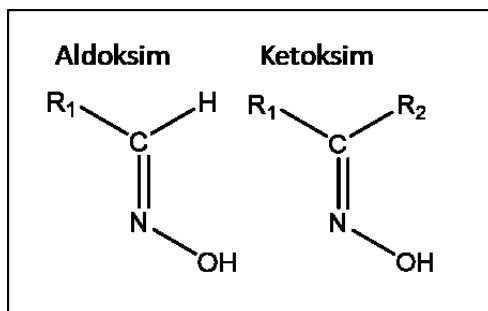


Slika 4: Različiti simptomi trovanja organofosfatima uzrokovani opterećenjem muskarinskih i nikotinskih receptora ili receptora središnjeg živčanog sustava⁶

Osobe koje su preživjele izloženost organofosfatima, mogu razviti trajna oštećenja mozga koja se očituju u poremećajima ponašanja i smanjenju kognitivne sposobnosti. Na primjer, pet godina nakon terorističkog napada organofosfatima u Tokiju (1994. i 1995.), testirane su preživjele osobe koje su prve došle na mjesto napada i vidjelo se da te osobe imaju smanjenu moždanu aktivnost te lošiju sposobnost pamćenja nego osobe koje su bile manje izložene otrovu.⁸ Također, u nekim istraživanjima, dokazano je da su i životinje koje su bile izložene organofosfatima razvile dugotrajna oštećenja živčanog sustava.⁹ Kako bi se spriječile neželjene posljedice trovanja organofosfatima, potrebno je reaktivirati inhibiranu acetilkolinesterazu kako bi ponovno mogla hidrolizirati acetilkolin. Nakon trovanja organofosfatima, potrebna je pravovremena primjena lijekova koji djeluju na muskarinske efekte (npr. lijek atropin) te onih koji sprječavaju napadaje i grčenje mišića (npr. benzodiazepini).⁶

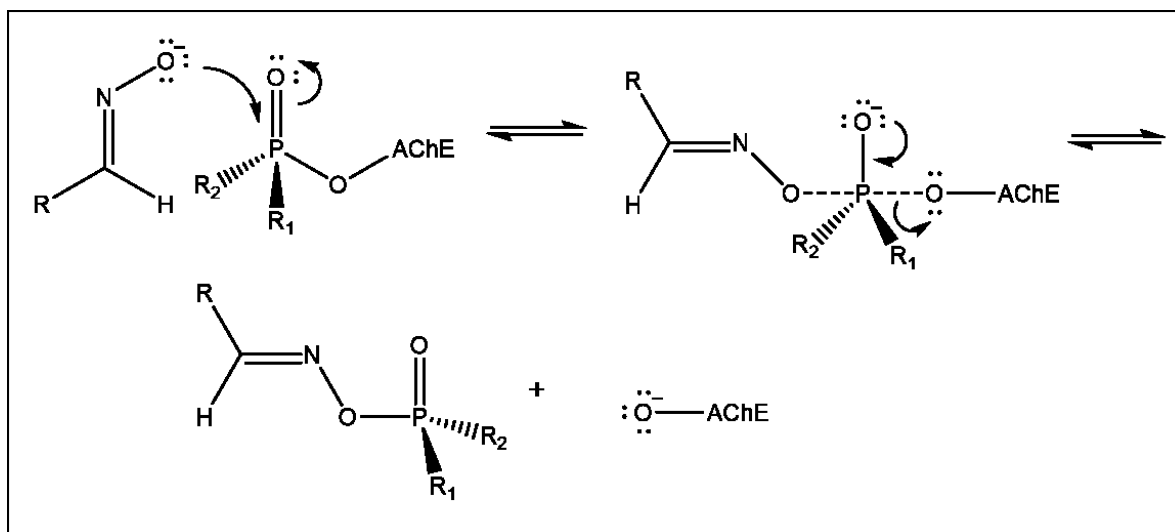
Međutim, današnji poznati lijekovi ne uključuju i rješavanje neželjenih nikotinskih efekata, kao što je reaktivacija u neuromuskularnoj sinapsi, a to je ključno jer paraliza te živčano – mišićne spojnice uzrokuje prestanak disanja.⁷

Sredinom 20. stoljeća, otkriveno je da spojevi koji sadrže C=NOH skupinu mogu ponovno aktivirati acetilkolinesterazu i djelovati antinikotinski.¹⁰ Upravo su oksimi takvi spojevi koji su potencijalni lijekovi prilikom trovanja organofosfatima. Općenito, oksimi su stabilne i uglavnom kristalinične tvari.¹¹ Njihova struktura je prikazana na slici 5.



Slika 5: Prikaz opće formule oksima

Oksimi imaju sposobnost vratiti enzimsku aktivnost acetilkolinesteraze, odnosno mogu djelovati kao nukleofilni reaktivatori inhibiranog enzima. Mehanizam reaktivacije prikazan je na shemi 1. U prvom koraku dolazi do nukleofilnog napada hidroksilne skupine oksima na atom fosfora fosforilirane acetilkolinesteraze koji je elektrofilan. Nastaje intermedijer koji onda prelazi u slobodnu acetilkolinesterazu i fosforilirani oksim.³



Shema 1: Prikaz mehanizma reaktivacije inhibirane acetilkolinesteraze

Najpoznatiji oksimi koji su dostupni u medicinskoj uporabi i koji imaju stalni naboj na jednom ili dva piridinska prstena su 2-PAM, HI-6 i obidoksim te je još poznat i TMB-4 (slika 6). Međutim, do danas sintetizirani oksimi imaju nekoliko mana. Prvo, oksimi nisu jednako djelotvorni na sve vrste organofosfata, upravo zbog različitih steričkih i elektronskih karakteristika organofosfata.⁶ Nadalje, problem koji se javlja je što su oksimi koji su u medicinskoj upotrebi hidrofilni, imaju kvaterni dušikov atom, nabijeni su i kao takvi loše prolaze kroz krvno - moždanu barijeru.¹² Stoga mnogi oksimi ne mogu djelovati na središnji živčani sustav, već samo na periferni. Problem pronalaženja oksima kao lijekova koji će biti učinkovitiji u reaktivaciji inhibirane acetilkolinesteraze je i dalje u tijeku.

2.2. FARMAKOKINETIČKO I FARMAKODINAMIČKO STAJALIŠTE O OKSIMIMA

Kako će se neki lijek procesuirati u tijelu i kako će lijek djelovati na organizam prvenstveno ovisi o njegovim fizikalno – kemijskim svojstvima. O tome govori farmakokinetika i farmakodinamika. Farmakokinetika razmatra četiri važna aspekta: apsorpcija, metabolizam, distribucija i izlučivanje lijeka iz organizma. Važna karakteristika je način primjene lijeka, koji može biti oralnim putem ili intravenski. Nadalje, treba se razmotriti i činjenica vežu li lijek različiti proteini iz krvi i tkiva jer to može utjecati na distribuciju lijeka ili spriječiti njegov transport do ciljnog mjesta. Također, važan je i afinitet ciljnog tkiva za lijek, ali i afinitet i sposobnost lijeka da utječe na tkivo kada s njim dođe u interakciju. Kada govorimo o oksimima, oni koji bi se mogli koristiti kao lijekovi moraju djelovati i na periferni i na središnji živčani sustav te imati širok spektar djelovanja na različite organofosfate.⁶ Ključni parametri koji će odrediti može li neki oksim djelovati kao reaktivator acetilkolinesteraze su afinitet inhibiranog enzima za pojedini oksim te brzina reaktivacije koja se postiže upotrebom oksimima. Ovakva istraživanja provedena su na različitim aldoksimima.¹³ Razmatrao se i najbolji način uzimanja oksima kao lijekova. Atropin, lijek koji se danas koristi u liječenju trovanja organofosfatima i koji djeluje na muskarinske efekte, postoji u injekcijama koje si oboljeli mogu sami dati. Slično razmišljanje ide i u smjeru proizvodnje autoinjektora s oksimima kao lijekovima, tako da osoba koja zna da će biti izložena organofosfatima (npr. pesticidima u poljoprivredi) ili je nenamjerno izložena može smanjiti učinak djelovanja organofosfata prije dolaska medicinskog osoblja.¹⁴

2.3. KRVNO – MOŽDANA BARIJERA

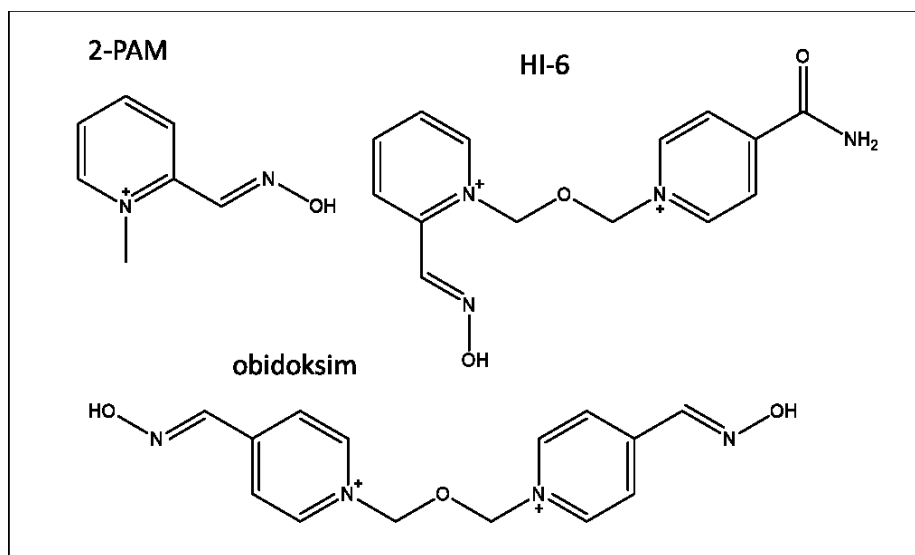
Središnji živčani sustav obuhvaća mozak i leđnu moždinu. Moždani parenhim, tj. aktivno tkivo mozga sastoji se od neurona i glija stanica, gdje neuroni procesuiraju živčane signale i uzrokuju otpuštanje neurotransmitera iz mjehurića u predsinapsi. Kako ne bi došlo do prodora štetnih molekula u središnji živčani sustav, između kapilara i moždanog tkiva se nalazi krvno – moždana barijera. Ova barijera visoko je selektivna i kontrolira prijenos tvari iz krvi do mozga.⁶ Međutim, kisik, ugljikov dioksid i tvari poput nikotina, kofeina i alkohola imaju sposobnost doći do mozga pasivnom difuzijom.¹⁵

Barijera se sastoji od endotelijalnih stanica, astrocita i pericita. Membrane endotelijalnih stanica sadrže specifične proteine koji imaju ključnu ulogu u opskrbi mozga glukozom, aminokiselinama i ostalim esencijalnim molekulama. Osim toga, krvno - moždana barijera sadrži i različite efluks pumpe od kojih su najpoznatiji tzv. proteini visoke rezistencije, koji su tako nazvani jer uvelike smanjuju koncentraciju lijeka na ciljnom mjestu.¹⁶ Provedena su mnoga *in vitro* i *in vivo* istraživanja kako bi se procijenilo može li određeni lijek biti aktivan u području središnjeg živčanost sustava. Hoće li određeni lijek proći kroz barijeru ovisi o više čimbenika. Većina lijekova koji djeluju na središnji živčani sustav su male molekule koje prolaze kroz krvno – moždanu barijeru putem pasivne difuzije.¹⁷ Analizom fizikalno – kemijskih svojstava kao što su veličina, odnosno molekulska masa lijeka, lipofilnost, polarnost, fleksibilnost molekule te naboj, možemo predvidjeti kako će lijek prolaziti kroz krvno – moždanu barijeru. Najvažniji aspekti koje treba uzeti u obzir su pH vrijednost i lipofilnost molekule lijeka.¹⁸ Idealni lijekovi koji će dospjeti do središnjeg živčanog sustava su male, nepolarne, bazične molekule s umjerenom fleksibilnosti odnosno rotacijom veza.¹⁹

2.4. STRATEGIJE U LIJEČENJU OKSIMIMA TROVANJA ORGANOFOSFATIMA

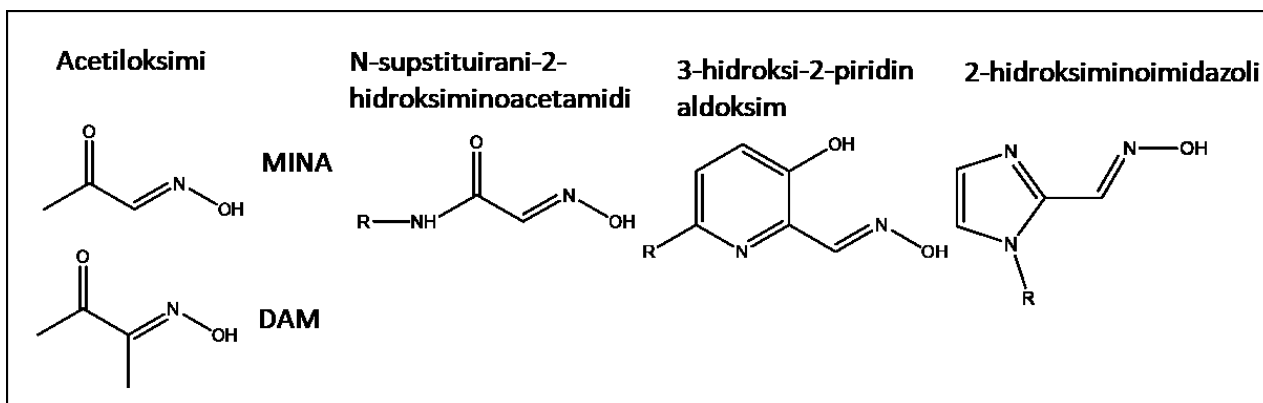
Glavni problem u pronalasku lijeka za trovanje organofosfatima je upravo nedostatak lijekova koji će djelovati na središnji živčani sustav. Oksimi imaju potencijal za takvo djelovanje. Međutim, potrebno je povećati propusnost krvno – moždane barijere za oksime, a to se pokušalo s mijenjanjem strukture ili načina sinteze pojedinih oksima.

Prvi su sintetizirani oksimi koji imaju stalni naboj na jednom ili dva piridinska prstena. Stalni naboj je bilo ono što smješta oksime na aktivno mjesto u središnjem živčanom sustavu.⁸ Međutim, uvidjelo se da nabijeni oksimi, kao što su 2-PAM, HI-6 i obidoksim (slika 6), lijekovi dostupni u liječenju trovanja organofosfatima, loše prolaze kroz krvno – moždanu barijeru upravo zbog stalnog naboja.⁶



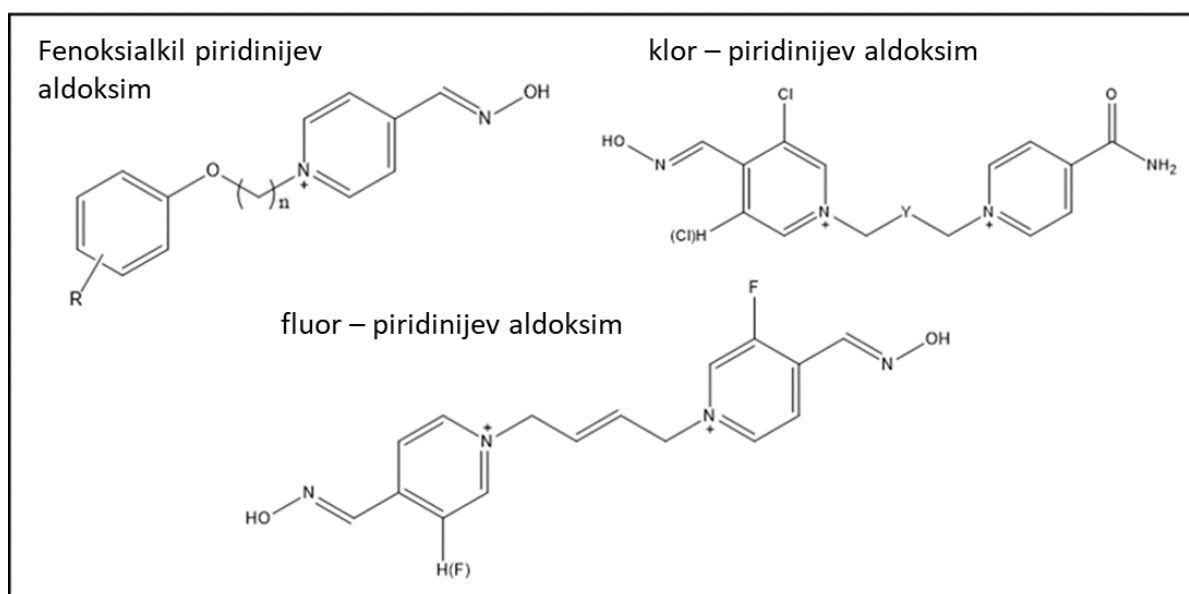
Slika 6: Prikaz struktura oksima sa stalnim nabojem: 2-PAM, HI-6 i obidoksim

Budući da je stalni naboj sprječavao prolaz oksima do aktivnog mjesta, sintetizirani su oksimi koji nisu nabijeni i imaju terciarni dušikov atom. Primjer takvih oksima su acetiloksimi monoizonitrozoacetona (MINA) i diacetilmonoksim (DAM), čije su strukture prikazane na slici 7.¹⁰ Istraživanja su pokazala da je potrebna puno veća doza MINA nego 2-PAM za reaktivaciju inhibirane acetilkolinesteraze. Također, acetiloksimi su lošije djelovali na periferni živčani sustav nego 2-PAM.²⁰ Sljedeći terciarni oksimi koji su sintetizirani bili su različiti derivati 3-hidroksi-2-piridinijevi oksimi. Za njih se pokazalo da su vrlo dobri reaktivatori acetilkolinesteraze inhibirane organofosfatima.²¹ Osim njih, sintetizirani su i *N*-supstituirani 2-hidroksiminoacetamidi, za koje se tvrdi da imaju veliki potencijal kao protuotrovi kod trovanja organofosfatima, ali i kao preventivni lijekovi ako je u pitanju potencijalna izloženost.²²



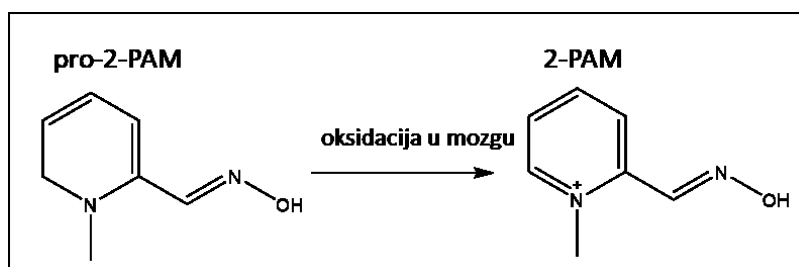
Slika 7: Prikaz struktura nenabijenih oksima

Budući da je već ranije spomenuto da je lipofilnost molekule lijeka jedan od ključnih faktora koji određuje kako će lijek prolaziti kroz krvno – moždanu barijeru, pokušala se povećati lipofilnost mijenjanjem strukture molekula. Tako su sintetizirani tercijarni 3-fluor-1-piridinski aldoksimi koji sadrže atom fluora.²³ Isto tako se nabijenim oksimima pokušao dodati supstituent koji će utjecati na lipofilnost. Primjer takvih oksima su alkilfenoksi supstituirani piridinski prstenovi ili piridinski prstenovi s fluorom ili klorom. Strukture oksima sa supstituentima koji povećavaju lipofilnost prikazane su na slici 8. Povećanjem lipofilnosti molekula, povećala se i koncentracija oksima kao aktivnih tvari u mozgu.^{24,25}



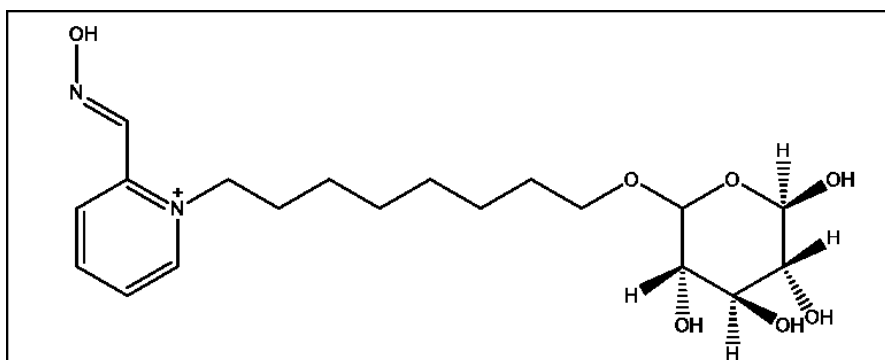
Slika 8: Prikaz struktura oksima sa supstituentima koji povećavaju lipofilnost

Sljedeća vrsta oksima koja je sintetizirana je pro-2-PAM (shema 2), modificirana molekula 2-PAM. Pro-2-PAM je izrazito manje nabijena molekula te ima sposobnost biotransformacije, na način da se oksidira u 2-PAM kada dođe do aktivnog mjesta u središnjem živčanom sustavu. Učinak na periferni živčani sustav je jednak kao kod 2-PAM. Međutim, pokazalo se da je terapija pro-2-PAMom nakon izlaganja organofosfatima puno učinkovitija nego s 2-PAM, odnosno da pro-2-PAM djeluje bolje na središnji živčani sustav, pružajući mu snažniju obranu od patoloških oštećenja i napadaja.²⁶



Shema 2: Prikaz strukture pro-2-PAM te njegove oksidacije u mozgu

Još jedan način kojim se pokušao poboljšati prolazak oksima kroz krvno – moždanu barijeru bila je sinteza glikoziliranih oksima (slika 9). Specifični proteini, oni koji se nalaze na barijeri i opskrbljuju mozak glukozom, bi mogli prenositi takve oksime do mozga.⁶ Nadalje, pokušalo se i ugraditi oksime 2-PAM, HI-6 i obidoksim u različite polimerne, čvrste lipidne nanočestice, kao i liposome. Takve nanončestice uspješno prenose lijekove kroz krvno – moždanu barijeru. Također, nanočestice štite lijek od razgrađivanja te mogu smanjiti nuspojave. Način na koji nanočestice prolaze kroz barijeru je da im se na površini nalaze različiti ligandi koje prepoznaju receptori u endotelijalnim stanicama i tako uspješno dopijevaju do mozga.²⁸



Slika 9: Prikaz strukture glikoliziranog oksima

Što se tiče načina uzimanja lijeka, istraživanja su pokazala da je najbolji način na koji oksim može ući u organizam i djelovati kao lijek intranazalnim putem, odnosno unosom kroz nosnu šupljinu. Ovakvim unosom lijek može direktno doći do mozga preko mirisnih stanica ili može preko respiratorne sluznice otići u krvožilni sustav i tako biti distribuiran do krvno – moždane barijere. Prednost intranazalnog puta je brzo djelovanje lijeka, a to je posebice bitno kod oksima kao protuotrova kod trovanja organofosfatima.²⁹

Još jedna moguća terapija za organofosphate je preventivno intravensko uzimanje butirilkolinesteraze kada je izgledno da će organizam biti izložen trovanju. Na taj način otežava se prodiranje organofosfata do sinapse i njihovo inhibiranje acetilkolinesteraze. Ova terapija pokazala se učinkovitom kod trovanja bojnim otrovima.³⁰

2.5. FARMAKOKINETIČKI PODATCI O POZNATIM OKSIMIMA

2.5.1. Apsorpcija i eliminacija

U kojoj mjeri će neki oksim djelovati kao lijek ovisi prvenstveno o njegovoj apsorpciji, vremenu potrebnom da dođe do ciljnog mjesta u perifernom i u središnjem živčanom sustavu te o vremenu eliminacije. Struktura oksima uvelike će utjecati na ove parametre, ali i to je li se istraživanje provelo kod životinja ili ljudi. Apsorpcija se definira vremenom koje je potrebno da se dostigne maksimalna koncentracija oksima u krvi.⁶

Istraživanja su provedena na nenabijenim i nabijenim oksimima (2-PAM, HI-6, obidoksim i TMB-4) te na oksimima u nanočesticama. Kod svih nabijenih oksima brzina apsorpcije pokazala se približno jednakom.

Iz toga se jedino može izdvojiti 2-PAM, koji je kod čovjeka pokazao najbržu apsorpciju.¹⁴ Međutim, jedan od najvećih nedostataka nabijenih oksima je kratko vrijeme farmakološkog djelovanja, odnosno ne zadržavaju se dugo u krvožilnom sustavu. Većina nabijenih oksima pokazala je lošu bioraspoloživost u organizmu. Zabilježeno je i da je vrijeme zadržavanja u organizmu dulje kod većih sisavaca, zbog njihovog sporijeg metabolizma.³¹ Nadalje, što se tiče oksima koji nemaju stalni naboj, analize su pokazale da imaju jednak problem kratkog zadržavanja u krvožilnom sustavu kao i nabijeni oksimi. Međutim, za neke *N*-supstituirane 2-hidroksiminoacetamidne oksime se pokazalo da imaju vrlo brzu apsorpciju i bioraspoloživost u velikom postotku.³² Još jedna vrsta oksima na kojoj se provelo istraživanje o apsorpciji su oksimi ugrađeni u nanočestice. Takvi oksimi su pokazali znatno duže vrijeme zadržavanja u organizmu naspram analognih nevezanih oksima.⁴

Što se tiče eliminacije oksima iz organizma, pokazalo se da se većina nabijenih oksima izlučuje iz organizma bubrežnim putem. Također, takvi oksimi većinom odlaze iz organizma nepromijenjeni. Tako se kod ljudi pokazalo da 80-90% primijenjene doze 2-PAMA kao lijeka izlazi nepromijenjeno iz organizma.¹⁴ Nešto manji postotak nepromijenjenosti ima HI-6, oko 60%, a ostalih 40% oksima HI-6 je prošlo kroz metabolizam, ali dokazano je da taj udio metaboliziranog oksima nema prevelikog značaja u njegovoj biološkoj aktivnosti.³³ Kod čovjeka se 60% oksima HI-6 izlučilo nepromijenjeno iz organizma kroz 6 sati. Obidoksim izlazi iz organizma oko 70% nepromijenjen i to unutar 24 sata od uzimanja.³⁴

2.5.2. Distribucija oksima do tkiva i prolazak kroz krvno - moždanu barijeru

Distribucija lijeka do tkiva definira se prividnim volumenom distribucije, odnosno količinom lijeka u tijelu. Od nabijenih oksima, najveći prividni volumen imaju 2-PAM oksimi, puno veći nego što je isti kod obidoksima i HI-6 oksima.³⁵ To govori i o tome da se 2-PAM bolje veže za proteine iz krvi. Iako ne postoje podatci o vezanju nenabijenih oksima za proteine iz krvi, na temelju kratkog vremena zadržavanja 3-hidroksi-2-piridinskih oksima u krvožilnom sustavu pretpostavlja se da proteini slabo vežu ove oksime.

Već je rečeno da je najveći problem do danas sintetiziranih oksima njihov loš prolazak do mozga kroz krvno – moždanu barijeru i to je glavni čimbenik koji će odrediti hoće li oksim kao lijek biti djelotvoran. U istraživanjima s umjetnim membranama koje su nalik pravim

krvno – moždanim barijerama, dokazalo se da je takva membrana gotovo potpuno nepropusna za nabijene oksime 2-PAM, HI-6 i obidoksim. Pokazalo se i da kad oksimi prođu kroz barijeru, ostvaruju različite postotke reaktivacije inhibirane acetilkolinesteraze kod trovanja različitim organofosfatima.⁶ Kao što se i pretpostavilo, sintetizirani nenabijeni oksimi npr. 3-hidroksi-2-piridin oksim u većoj mjeri prolaze kroz barijeru. Ovi oksimi pokazuju i vrlo visoku koncentraciju u krvi.⁴ Oksimi ugrađeni u nanočestice također pokazuju veći prolazak kroz barijeru nego analogni slobodni oksimi. Naprimjer, koncentracija oksima 2-PAM ukomponiranog u nanočestice u krvi je puno veća nego kad se 2-PAM uzima slobodan. Zbog toga što prisutnost nanočestica poboljšava prolazak oksima kroz krvno – moždanu barijeru, 2-PAM u nanočesticama može vratiti aktivnost inhibiranoj acetilkolinesterazi za 15%.³⁶ Dodatna prednost koja se javlja korištenjem nanočestica je da se u njih može ugraditi više oksima, odnosno više aktivnih tvari što može omogućiti djelovanje na različite organofosfate. Tako se može riješiti problem nejednolikog djelovanja oksima za organofosfate. Oksimi ugrađeni u nanočestice također pokazuju vrlo veliku koncentraciju u krvi.⁶ Nadalje, kod nabijenih oksima, kojima je povećana lipofilnost supstituentima kao što su klorov ili fluorov atom, došlo se do zaključka da je propusnost membrane veća nego kod nesupstituiranih analoga. Što ima više klorovih ili fluorovih atoma, bit će i veća propusnost.²⁵ Bitno je napomenuti da pojedini oksimi nemaju jednak učinak na sve organofosfate. Na primjer, tercijarni oksimi MINA i DAM će spriječiti napadaje nakon izloženosti organofosfatima sarinu i VX.²⁰ Isto tako, pro-2-PAM će moći zaštititi neurološki sustav kod trovanja sarinom ili VX, ali neće biti djelotvoran kod trovanja ciklosarinom.³⁷

2.5.3. Promjena farmakokinetičkog djelovanja oksima organofosfatima

Izloženost nekim organofosfatima može promijeniti svojstva lijeka i utjecati na to kako će se oksimi manifestirati u organizmu. Organofosfati mogu utjecati i na protok krvi, što može biti od izrazite važnosti kada govorimo o eliminaciji lijeka iz tijela. Naime, ako je smanjen protok krvi kroz bubrege, bit će smanjeno i izlučivanje oksima kroz bubrege, odnosno eliminacija.⁶ Na primjer, dokazano je da živčani bojni otrov soman smanjuje cirkulaciju krvi kroz bubrege i tako smanjuje bubrežno izlučivanje.³⁹ To može rezultirati povećanom koncentracijom oksima u krvi. Zbog tako povećane koncentracije može doći do neželjene reakcije oksima s nekim tvarima ili se može smanjiti protuotrovno djelovanje oksima. Nadalje, organofosfati mogu promijeniti i duljinu trajanja aktivnosti oksima, kao i dovesti do neželjenih nuspojava

prilikom liječenja oksimima. Tako su se kod 2-PAM i obidoksima pojavile blage nuspojave liječenja nakon izlaganja organofosfatima.^{14,34} Kod HI-6 nisu zabilježene nuspojave.³⁹

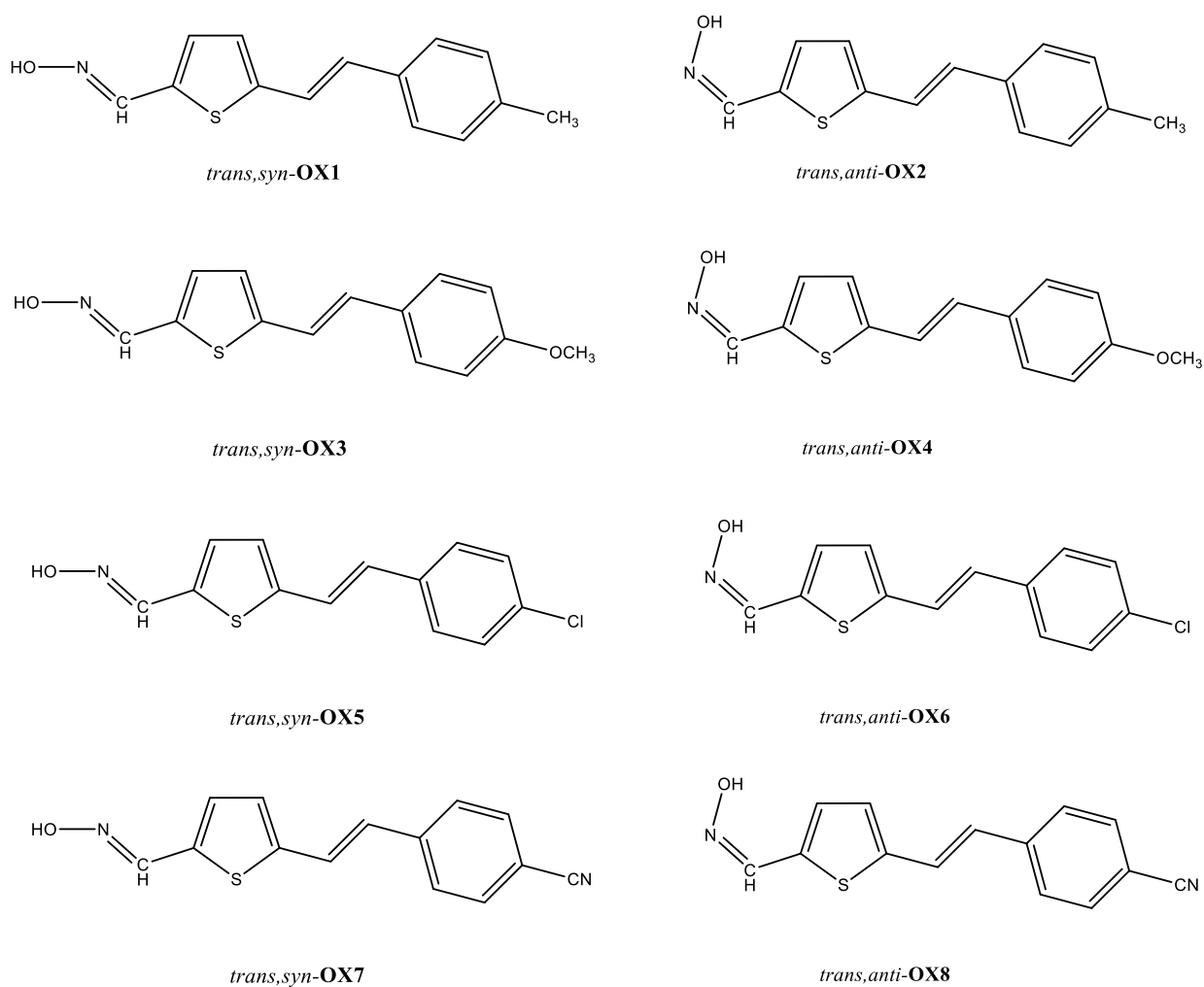
Sljedeća stvar koju treba imati na umu je da produkt koji nastaje prilikom reakcije reaktivacije inhibirane acetilkolinesteraze može ponovno inhibirati enzim. Naime, kad acetilkolinesteraza reagira sa oksimima koji imaju jedan ili dva piridinska prstena i stalni naboj, produkt koji nastaje je fosfoniloksim. Pokazano je da ovaj produkt smanjuje protuotrovni učinak oksima i uzrokuje nuspojave.³⁸ Dakle, poželjno je da se fosfoniloksim brže eliminira i ne zadržava predugo u organizmu.⁶

Propusnost krvno – moždane barijere također može biti izmijenjena nakon izlaganja organizma organofosfatima.⁶ U nekim istraživanjima, dokazano je da miševi izloženi organofosfatu somanu imaju veći protok krvi kroz mozak.⁴⁰ Isto tako, dokazano je da je soman uzrokovao povećanje propusnosti krvno – moždane barijere kod miševa, ali samo onih koji nisu razvili napadaje.⁴¹ Slični zaključci doneseni su i u istraživanjima sa organofosfatom sarinom.⁴² Kako još organofosfati utječu na djelovanje oksima, govori i istraživanje o tome zašto HI-6 oksim slabo prolazi kroz krvno – moždanu barijeru. Naime, pretpostavlja se da soman utječe na sužavanje krvnih kapilara i snižavanje krvnog tlaka i da upravo zbog toga oksimi loše dolaze do mozga i središnjeg živčanog sustava.⁴³ Kod oksima 2-PAM, koncentracija u krvi i propusnost krvno – moždane barijere je jednaka i kod životinja koje su izložene organofosfatima i onih koje nisu.⁴⁴ Mogućnost da se propusnost krvno – moždane barijere može promijeniti prilikom izlaganja organizma organofosfatima treba uzeti u obzir prilikom procijene koncentracije oksima potrebne za aktivni učinak u organizmu.

3. REZULTATI I RASPRAVA

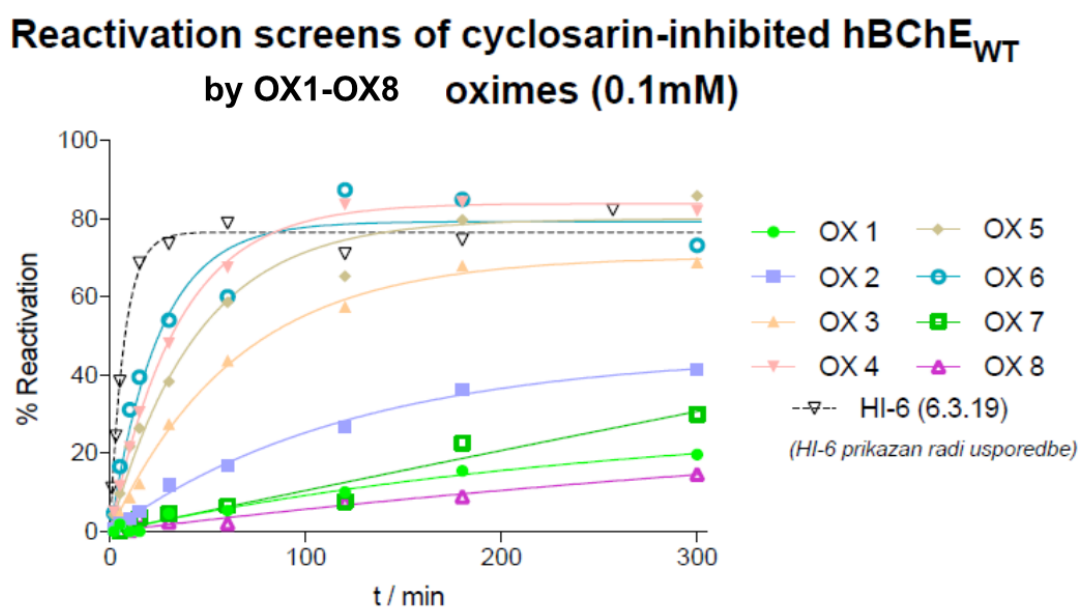
3.1. UVOD

U našem laboratoriju priređen je niz neutralnih različito supstituiranih 2-tienilnih heterostilbenskih oksima **OX1-OX8** (Slika 1)⁴⁵ te su na njima provedena istraživanja njihovog potencijala kao reaktivatora. Kako se vidi na slici 1, u ovom nizu oksima, kao glavni produkti prevladavaju *trans*-izomeri oksima s različitim konfiguracijama na C=N-OH dvostrukoj vezi, *anti*-, odnosno *syn*-. Dobiveni spojevi **OX1-OX8** sintetizirani su nizom od tri reakcijska stupnja, koji čine Wittigova reakcija, Vilsmeierovo formiliranje te prevođenjem u oksimske strukture.

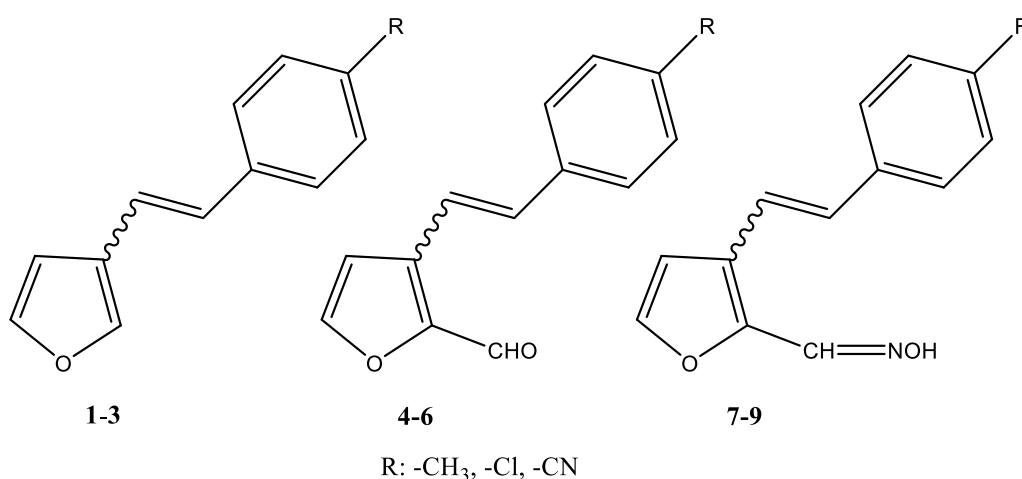


Slika 1. Prikaz struktura 2-tienilnih heterostilbenskih oksima **OX1-OX8**

Preliminarni eksperimentalni rezultati pokazali su da su oksimi **OX3-OX6** reaktivatori ciklosarinom inhibirane butirilkolinesteraze (Slika 2), što je izvrsna polazna informacija za sintezu novih sličnih spojeva polazeći od furostilbena **1-3**, preko odgovarajućih formilnih derivata **4-6** do ciljnih 3-furilnih heterostilbenskih oksima **7-9**, novih potencijalnih reaktivatora kolinesteraza obuhvaćenih ovim završnim radom (Slika 3).



Slika 2: Profil reaktivacije ciklosarinom inhibirane BChE oksimima OX1-OX8 u usporedbi s reaktivacijskim potencijalom HI-6.

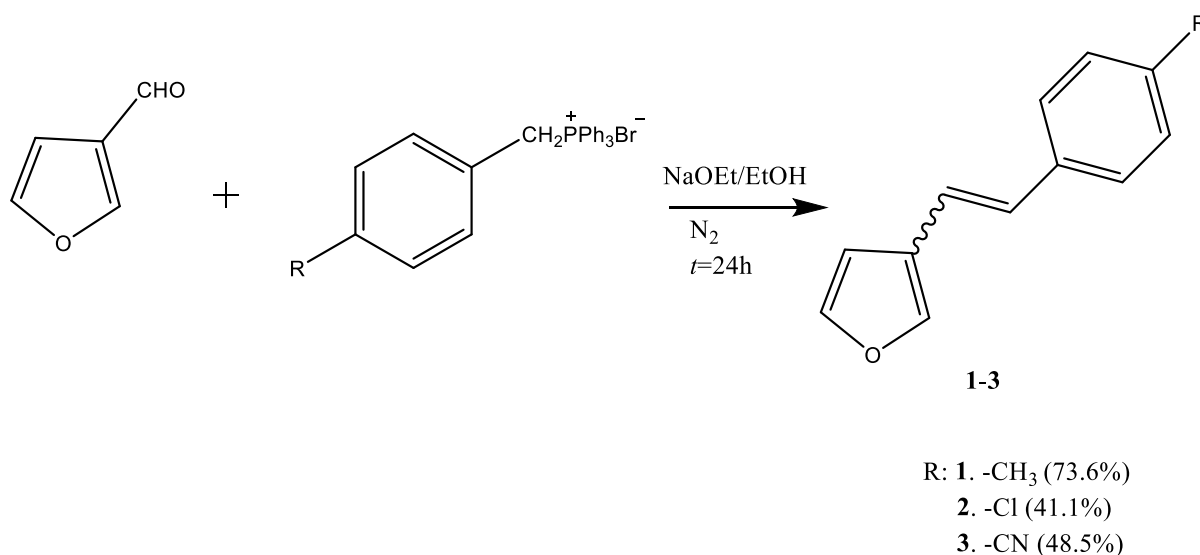


Slika 3: Prikaz struktura furostilbena **1-3**, formilnih derivata **4-6** te novih 3-furostilbenskih oksima **7-9**

3.2. SINTEZA I SPEKTROSKOPSKA KARAKTERIZACIJA 3-FURILNIH DERIVATA STILBENA 1-3

3.2.1. Priprava heterostilbena 1-3

Za sintezu 3-furilnih derivata stilbena **1-3** (Shema 1) korištena je Wittigova reakcija s fosfonijevom soli, 3-furilnim aldehidom te natrijevim etoksidom kao bazom u apsolutnom etanolu. Reakcija se provodila u struji dušika 24 sata. U Wittigovoj reakciji stvara se dvostruka veza, odnosno nastaje alken. Dobivena je smjesa *cis*- i *trans*- izomera, koja se prvo obrađuje ekstrakcijom, a zatim razdvaja kolonskom kromatografijom na silikagelu. Kao eluens u kolonskoj kromatografiji koristila se smjesa otapala petroleter/dietileter promjenjiva omjera.

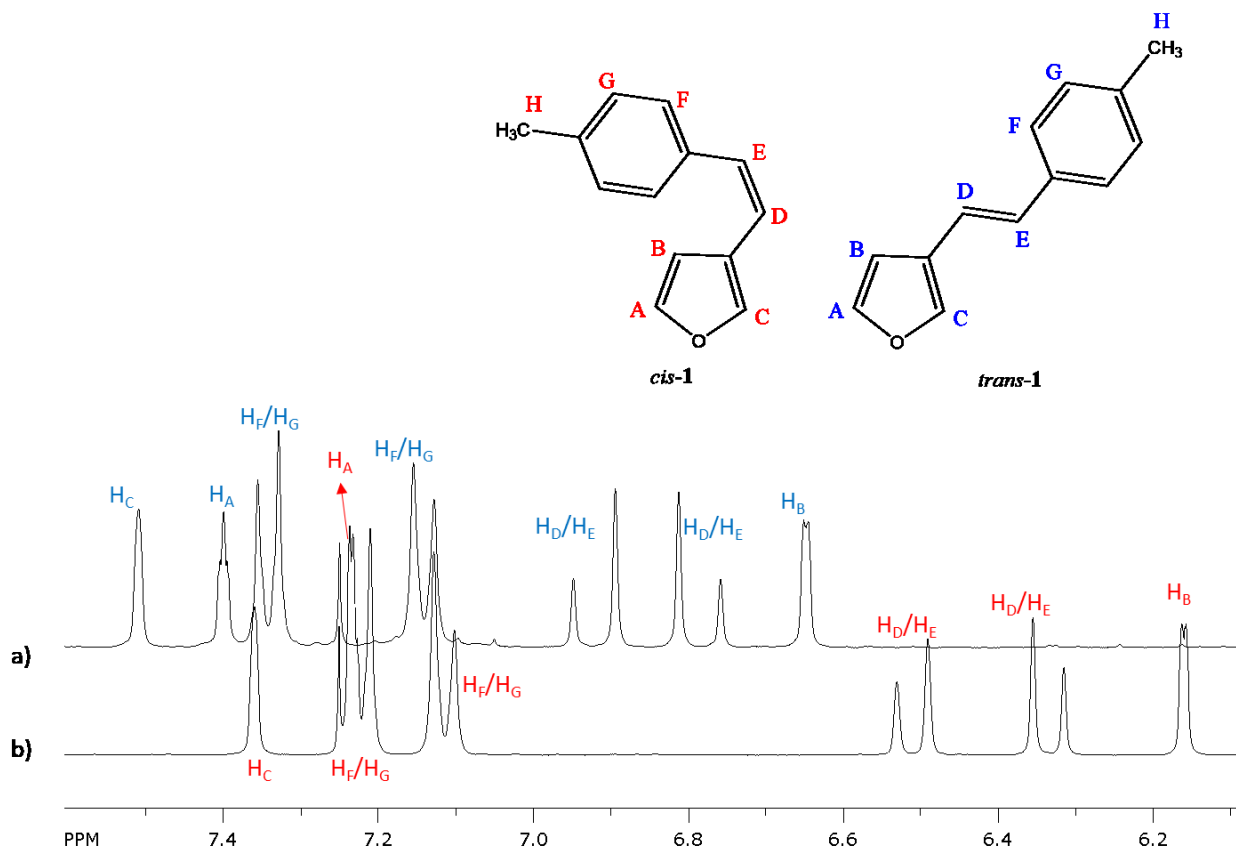


Shema 1: Sinteza 3-furilnih derivata stilbena

Kod svih derivata uspješno su izolirani *cis*- i *trans*-izomeri. Prema ¹H NMR spektru izomeri kod metilnog (**1**) i klorovog (**2**) derivata nastaju u omjeru približno 1:1, a kod cijano – (**3**) derivata *cis*- i *trans*-izomeri nastaju u omjeru 1.5:1. Kod metilnog derivata 3-furilnih stilbena (**1**), izolirane su približno jednake mase *cis*- i *trans*-izomera. Kod klorovog (**2**) i cijano– (**3**) derivata 3-furilnih stilbena većinski izolirani produkt je *cis*-izomer.

3.2.2. Identifikacija furostilbena 1-3 spektroskopskim metodama

Strukture svih derivata furostilbena **1-3** potvrđene su i okarakterizirane spektroskopskim metodama. Snimljeni su ^1H i ^{13}C NMR spektri čistih *cis*- i *trans*- izomera. U ^1H NMR spektrima identificirani su etenski protoni koji su dokaz nastanka dvostruke veze Wittigovom reakcijom.



Slika 4: ^1H NMR spektar *trans*-1 (a) i *cis*-1 (b) izomera

Na slici 4 paralelno su prikazani spektri *cis*-1 i *trans*-1 izomera. Spektar a) prikazuje *trans*-1 izomer, na kojem se vide dva karakteristična dubleta, koji se odnose na protone novonastale dvostruke veze. Dublet jednog protona $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$ nalazi se na 6.90 ppm, a drugi dublet na 6.80 ppm. Ovi dubleti imaju jednaku konstantu sprege, koja iznosi $J = 16.2$ Hz, što potvrđuje da se ti protoni međusobno sprežu. Međusobnu interakciju potvrđuje i izgled dubleta, koji pokazuju tzv. efekt ukošenih multiplleta. Kod ostalih *trans*-izomera **2** i **3**, signali za etenske protone nalaze se između 6.70 i 7.10 ppm. Protoni dvostruke veze vidljivi su i na spektru b), koji prikazuje *cis*-1 izomer. Signali za ove protone nalaze se na nižim kemijskim pomacima.

Dublet jednog protona nalazi se na oko 6.50 ppm, a drugog na oko 6.30 ppm. Dubleti također imaju jednaku konstantu sprege, koja iznosi 12.2 Hz, i ta vrijednost karakteristična je za *cis*-izomere. Kod ostalih *cis*-izomera spojeva **2** i **3**, signali za protone dvostruke veze nalaze se između 6.30 i 6.50 ppm. Signali za protone benzenske jezgre H_F/H_G su dubleti i kod oba spektra a) i b) nalaze se na sličnim kemijskim pomacima. Na spektru se vide i signali za furanske protone koji također imaju karakterističan izgled. Signal za proton H_C je singlet i nalazi se na najvećim kemijskim pomacima. Na nešto manjim pomacima, u području signala za aromatske protone, nalazi se signal za proton H_A, čija konstanta sprege iznosi $J = 1-2$ Hz. Na najmanjim pomacima nalazi se dublet za proton H_B, jer on najmanje osjeća prisutnost kisika, a ima istu konstantu sprege kao proton H_A. Kod oba izomera metilnog derivata 3-furostilbena **1**, na pomacima 2.34 – 2.35 ppm nalazi se singlet koji odgovara protonima metilne skupine, a oni se ne sprežu s drugim protonima.

Na ¹³C spektru vide se tri signala niskog intenziteta, a to su signali za kvaterne ugljike, odnosno ugljike koji nemaju vezane protone i oni su singleti. Svi ostali signali, za ugljike benzenske i furanske jezgre te ugljike dvostruke veze nalaze se na pomacima između 110.3 i 142.5 ppm i oni su dubleti. Kod *cis*-**1** i *trans*-**1** izomera metilnog derivata furostilbena, na oko 20 ppm vidljiv je i signal za ugljik metilne skupine.

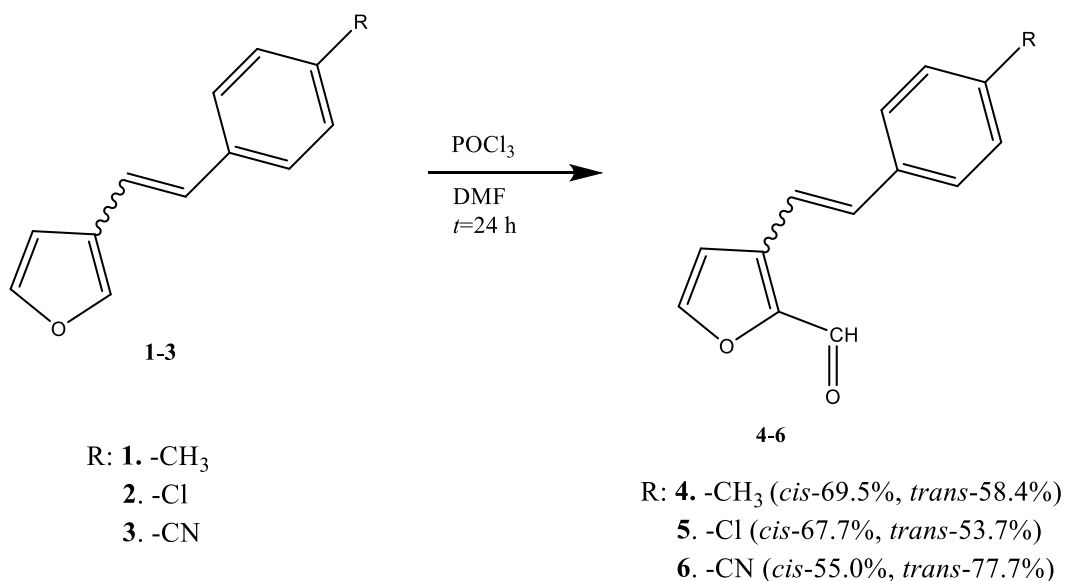
3.3. PREVOĐENJE PRODUKATA WITTIGOVE REAKCIJE 1-3 U FORMILNE DERIVATE 4-6

3.3.1. Sinteza aldehida 4-6

Aldehidi **4-6** sintetizirani su iz Wittigovih produkata **1-3** Vilsmeierovim formiliranjem uz reaktante fosforil-oksiklorid, POCl₃ te *N,N*-dimetilformamid, DMF. Izoliranim *cis*- i *trans*-izomerima u tikvicama dodali su se reaktanti u suvišku (Shema 2). Tikvice su tokom dodavanja bile uronjene u ledenu kupelj, kako bi se snizila temperatura jer se dodatkom POCl₃ oslobađaju otrovni plinovi a reakcija je egzotermna. Reakcija se provodila 24 sata na sobnoj temperaturi. Formilna skupina kod svih derivata u puno većem iskorištenju ulazi u preferirani položaj 2 na furanskom prstenu u odnosu na položaj 5. Dobiveni *cis*- i *trans*-izomeri aldehida **4-6** pročišćeni su ekstrakcijom te kolonskom kromatografijom na silikagelu,

koristeći smjesu otapala petroletera i dietiletera promjenjiva omjera. Kod *cis*-**4** i *cis*-**5** izomera primjećuje se da formilna

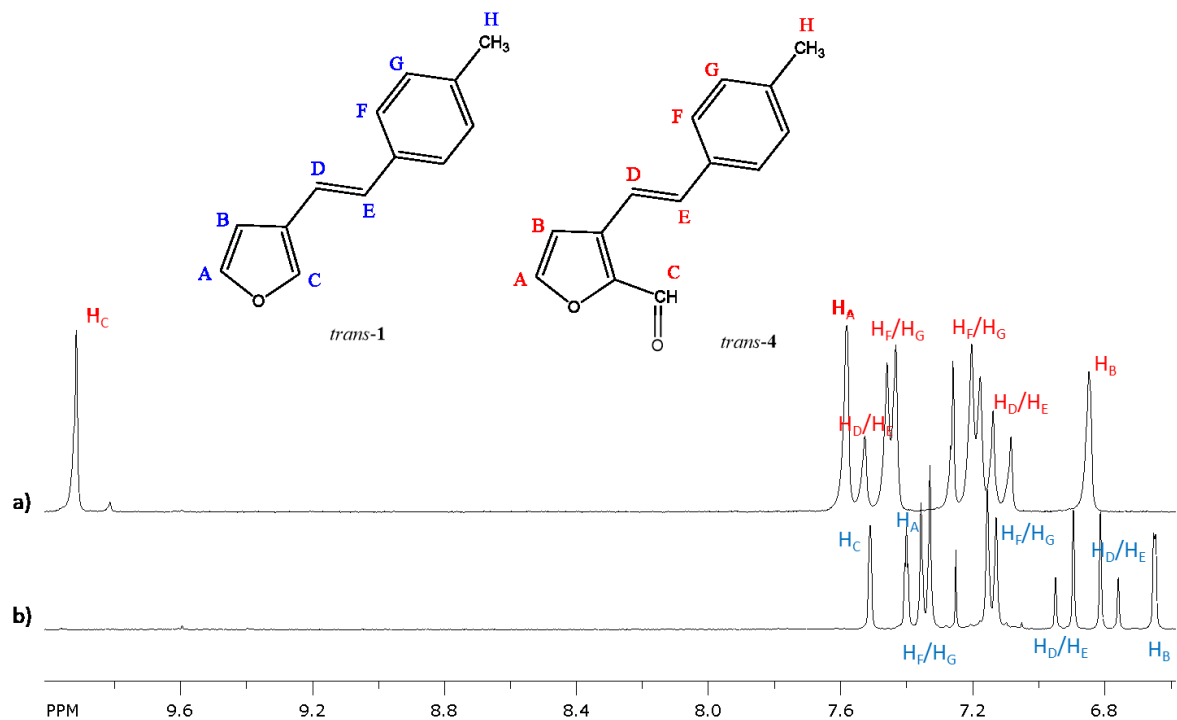
skupina u malom postotku ulazi i u položaj 5 na furanskoj jezgri. Kod metilnog (**4**), kao i kod klorovog (**5**) aldehyda *trans*-izomer izolirano se u većem iskorištenju. Kod cijano- (**6**) derivata, i *cis*- i *trans*-izomeri izolirali su se u sto postotnom iskorištenju jer nastaje samo jedan aldehyd.



Shema 2: Prevođenje Wittigovih produkata **1-3** u aldehyde **4-6** Vilsmeierovim formiliranjem

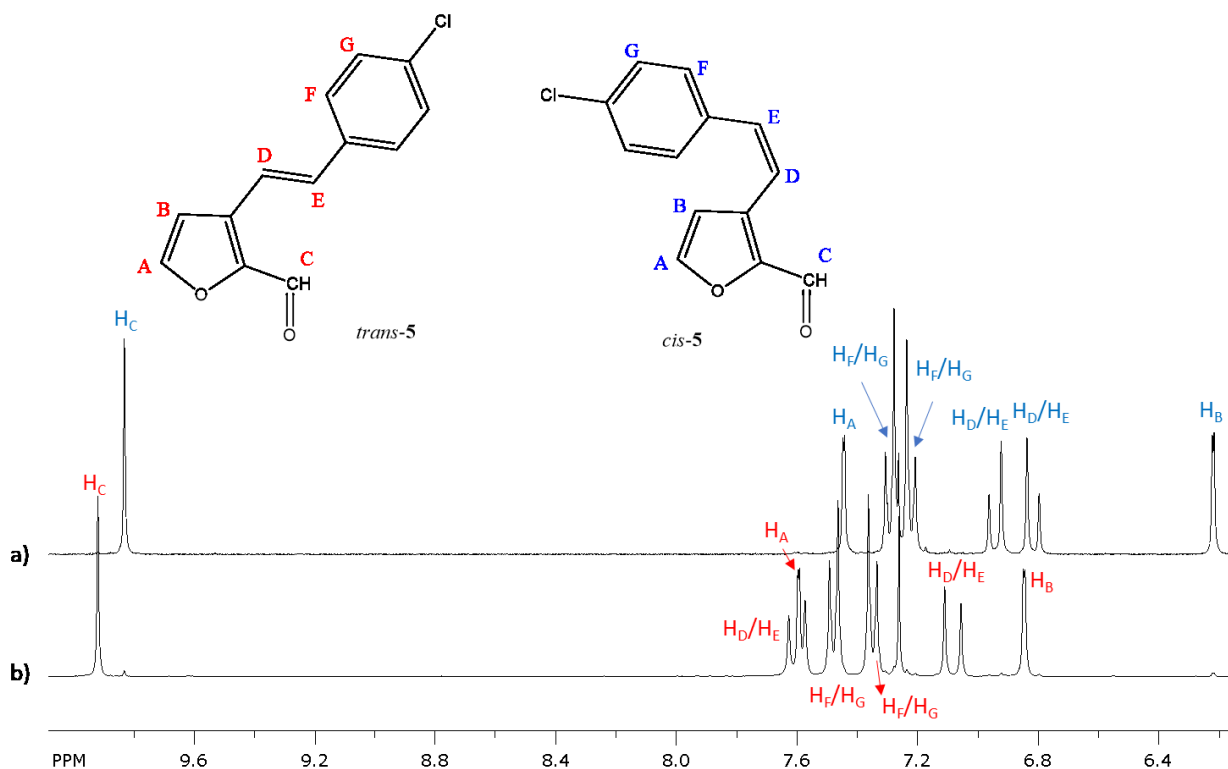
3.3.2. Potvrda struktura aldehyda **4-6** spektroskopskim metodama

Strukture izomera **4-6** spektroskopski su okarakterizirane pomoću ¹H i ¹³C NMR spektara. Snimljeni su spektri čistih *cis*- i *trans*-izomera.



Slika 5: Prikaz ^1H NMR spektra i struktura aldehida *trans-4* (a) i Wittigovog produkta *trans-1* (b)

Na slici 5 prikazani su ^1H NMR spektri metilnog derivata Wittigovog produkta i aldehida. Spektar a) je spektar aldehida *trans-4* i pokazuje da se na najvećim pomacima (9.91 ppm) nalazi signal za proton aldehidne skupine H_C . To potvrđuje da je Vilsmeierova reakcija uspješno provedena, jer kod spektra b) tog signala nema, kao što ni na spektru a) nema više signala za treći proton furanskog prstena. Na spektru a) vidi se i da je većinski produkt aldehyd gdje je formilna skupina ušla u položaj 2 furanskog prstena, ali i da u vrlo malom postotku formilna skupina ulazi i u položaj 5 furanskog prstena. Međutim, izoliran je samo većinski produkt s formilnom skupinom u položaju 2. Signali za protone benzenske i furanske jezgre te protone dvostruke veze nalaze se na sličnim pomacima i kod spektra a) i kod spektra b). Kod *trans*-izomera klorovog derivata (**5**) signal za proton aldehidne skupine nalazi se na 9.92 ppm, a kod cijano-derivata (**6**) na 9.94 ppm.



Slika 6: Prikaz ^1H NMR spektara i struktura klorovih derivata aldehida *cis-5* (a) i *trans-5* (b)

Slika 6 prikazuje usporedbu ^1H NMR spektara aldehida *cis-5* i *trans-5*. Kod svih *cis*-izomera, signal protona H_C nalazi se na manjim kemijskim pomacima u odnosu na isti signal *trans*-izomera istog derivata. Za klorov derivat je to vidljivo i na slici 5. Kod svih *cis*-izomera signal za proton H_C nalazi se na gotovo istim kemijskim pomacima. Kod metilnog derivata (**4**) signal za taj proton kod *cis*-izomera nalazi se na 9.81 ppm, kod klorovog (**5**) na 9.83 ppm, a kod cijano-derivata na 9.85 (**6**) ppm. Na slici 6 vidi se i već spomenuta razlika između *cis*- i *trans*-izomera, a to je u protonima dvostruke veze. Signali za protone dvostruke veze $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$, koji su dubleti, kod *trans-5* izomera nalaze se na većim kemijskim pomacima i imaju konstantu sprege $J = 16.3$ Hz. Kod *cis-5* izomera dubleti koji označavaju etenske protone nalaze se na nešto manjim kemijskim pomacima i imaju manju konstantu sprege koja iznosi $J = 12.0$ Hz. Ove konstante sprege karakteristične su za pojedine izomere.

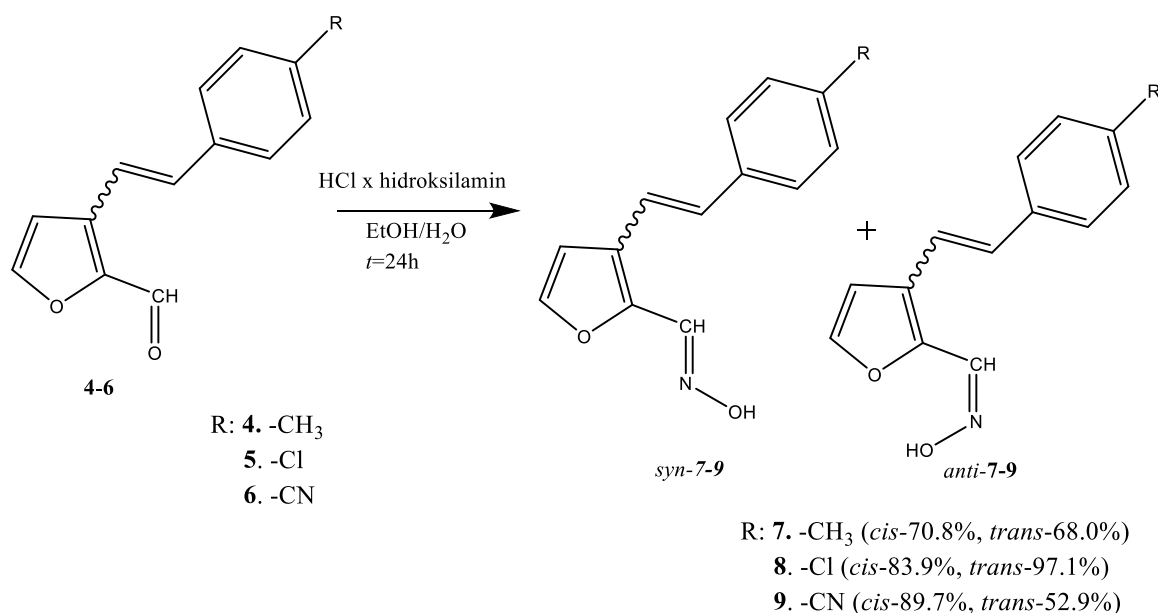
Na snimljenim ^{13}C spektrima signal za ugljik aldehidne skupine kod svih derivata aldehida **4-6** nalazi se na oko 178 ppm. Signal za taj ugljik je dublet jer na sebi ima vezan proton aldehidne skupine. Na spektrima aldehida metilnog (**4**) i klorovog (**5**) derivata nalaze se četiri kvaterna ugljika, koji su singleti i niskog su intenziteta. Kod cijano- (**6**) derivata trebalo bi se vidjeti pet signala za kvaterne ugljika, međutim kod *trans*-izomera izostaje peti signal ili se ne

vidi zbog jako slabog intenziteta. Signali za sve ostale ugljike, koji su dubleti, nalaze se u području između 109 i 149 ppm.

3.4. PRIPRAVA NOVIH OKSIMSKIH DERIVATA 3-FURILNIH STILBENA 7-9

3.4.1. Sinteza metilnog, klorovog i cijano-derivata oksima 7-9

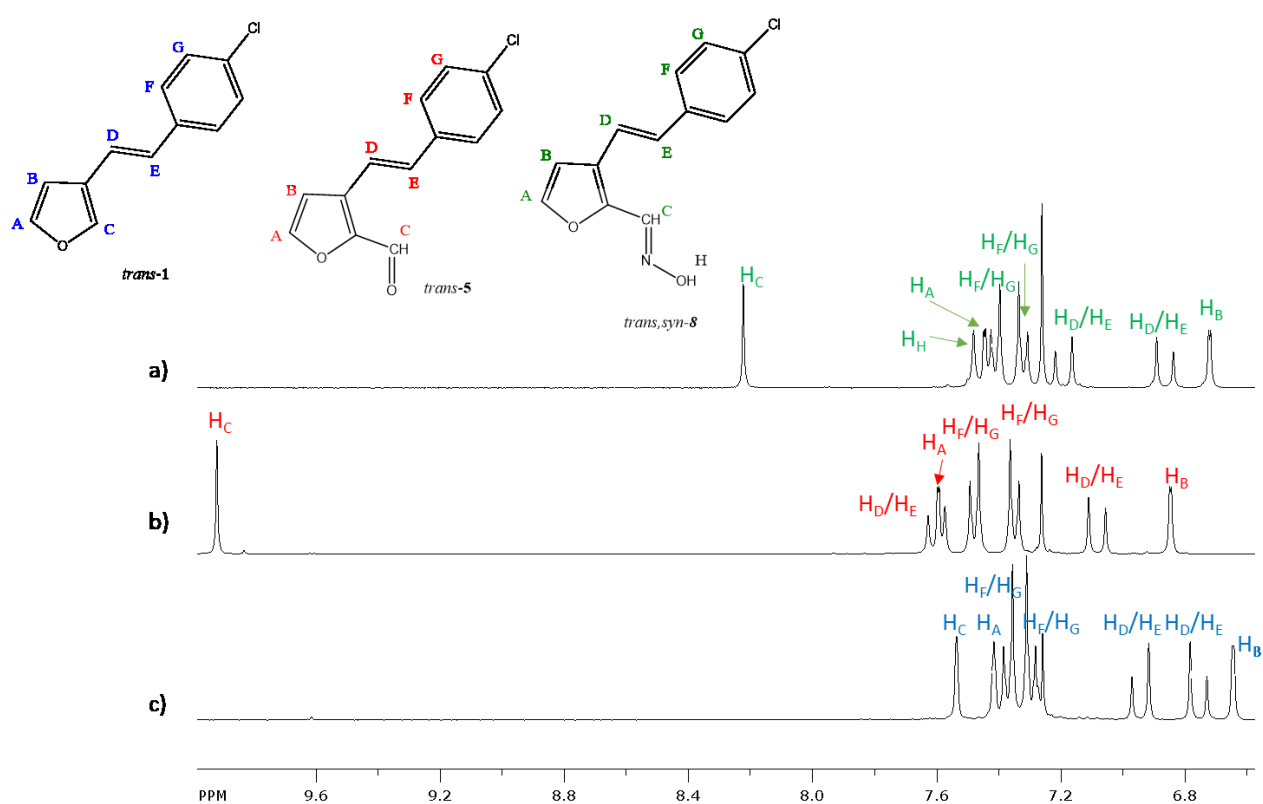
Novi ciljani oksimski derivati 3-furilnih stilbena **7-9** sintetizirani su prevođenjem aldehida u oksime uz dva ekvivalenta HCl x hidroksilamina te smjese otapala alkohola i destilirane vode (Shema 3). Reakcija se provodila 24 sata na sobnoj temperaturi. Nastaje smjesa *syn*- i *anti*-izomera pojedinih *cis*- i *trans*-oksima **7-9**. Reakcijska smjesa razdvaja se višestupnjevito kolonskom kromatografijom na silikagelu, koristeći smjesu otapala petroleter/dietileter (1-50%). U prvim frakcijama kolonske kromatografije izlazi neizreagirani aldehyd u tragovima, a izolirani su samo čisti *syn*- i *anti*-izomeri oksima.



Shema 3: Reakcija prevođenja aldehida **4-6** u oksime **7-9**

3.4.2. Spektroskopska karakterizacija novih oksima 7-9

Strukture svih *syn*- i *anti*-izomera pojedinih *cis*- i *trans*-oksima 7-9 potvrđene su spektroskopskim metodama. Snimljeni su ^1H i ^{13}C NMR spektri čistih izomera, a za neke *syn*-izomere snimljeni su i 2D NMR spektri (COSY i HSQC). Po strukturi, *syn*- i *anti*-izomeri razlikuju se u položaju -OH skupine na dušikovom atomu dvostruke veze dušika i ugljika, koja se kod *syn*-izomera nalazi s iste strane dvostruke veze kao i vodikov atom koji se nalazi na ugljikovom atomu. Kod *anti*-izomera -OH skupina i vodikov atom nalaze se na suprotnim stranama dvostruke veze.

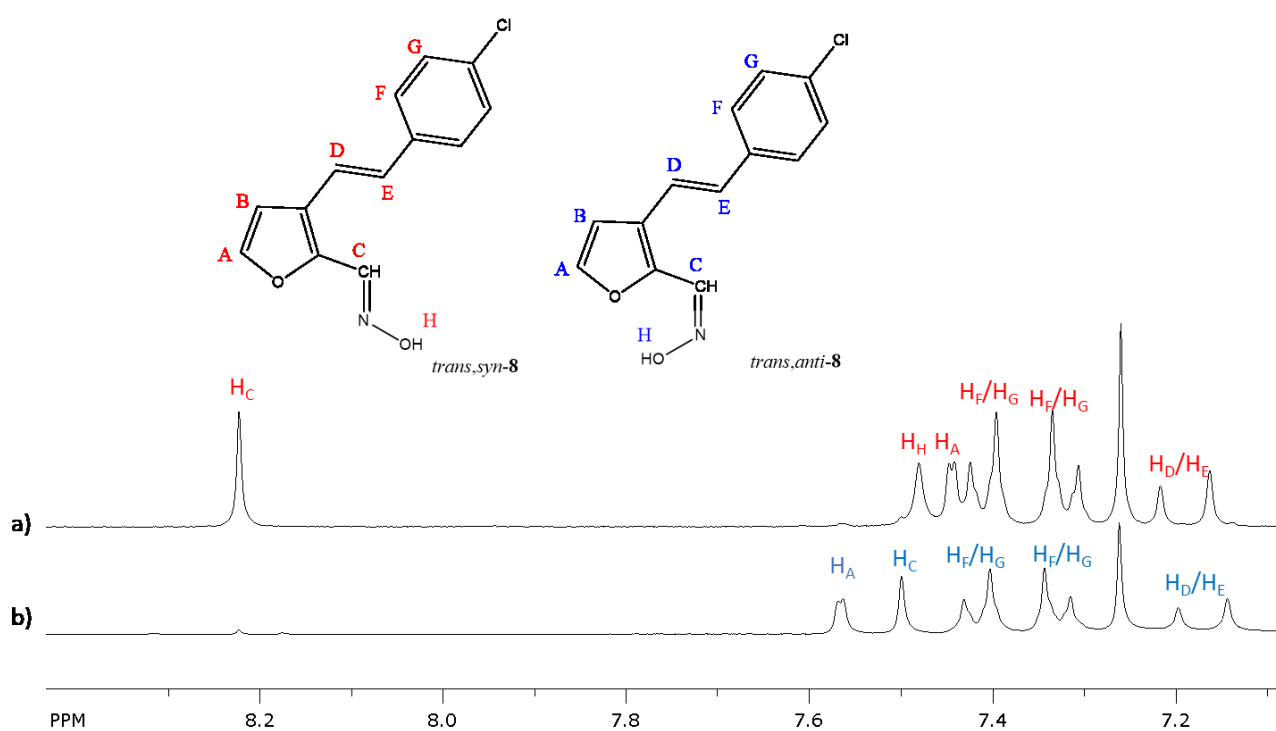


Slika 7: Prikaz ^1H NMR spektara i struktura *trans, syn*-8 (a), *trans*-5 (b) i *trans*-1 (c) izomera

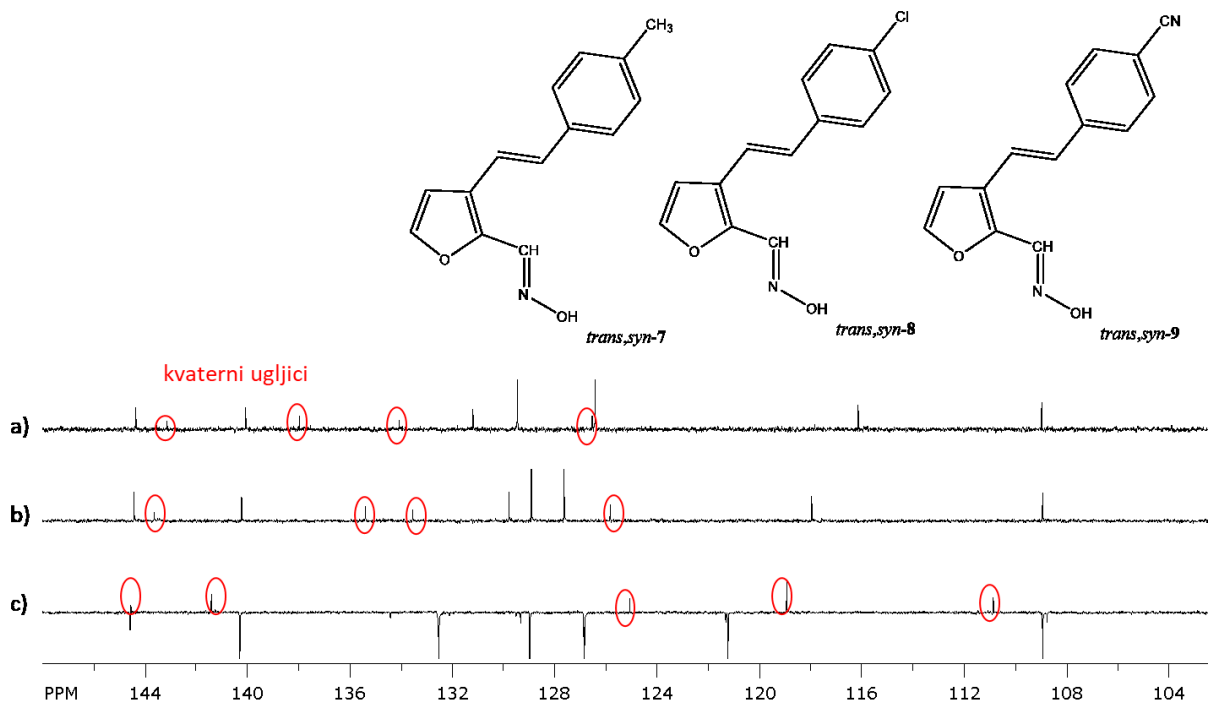
Slika 7 pokazuje usporedbu spektara Wittigovog produkta *trans*-1 (c), odgovarajućeg aldehida *trans*-5 (b) i oksima *trans, syn*-8 (a) istog klorovog derivata. Glavna karakteristika na spektru oksima (a) je signal za proton oksimske skupine H_C koji se kod svih *syn*-izomera oksima nalazi na između 8.10 i 8.23 ppm. Ovaj signal ima oblik singleta i on potvrđuje da su se aldehidi uspješno preveli u oksime. Na spektru a) na slici 7 vidi se i signal za proton hidroksilne skupine H_H , koji je singlet i najčešće ima široki oblik. Signal za -OH skupinu ne

vidi se na svim spektrima, a to ovisi o koncentraciji uzorka. Signali za furanske, benzenske protone i protone dvostruke veze nalaze se na sličnim pomacima i imaju isti oblik na spektru a), kao i na spektru b) i spektru c).

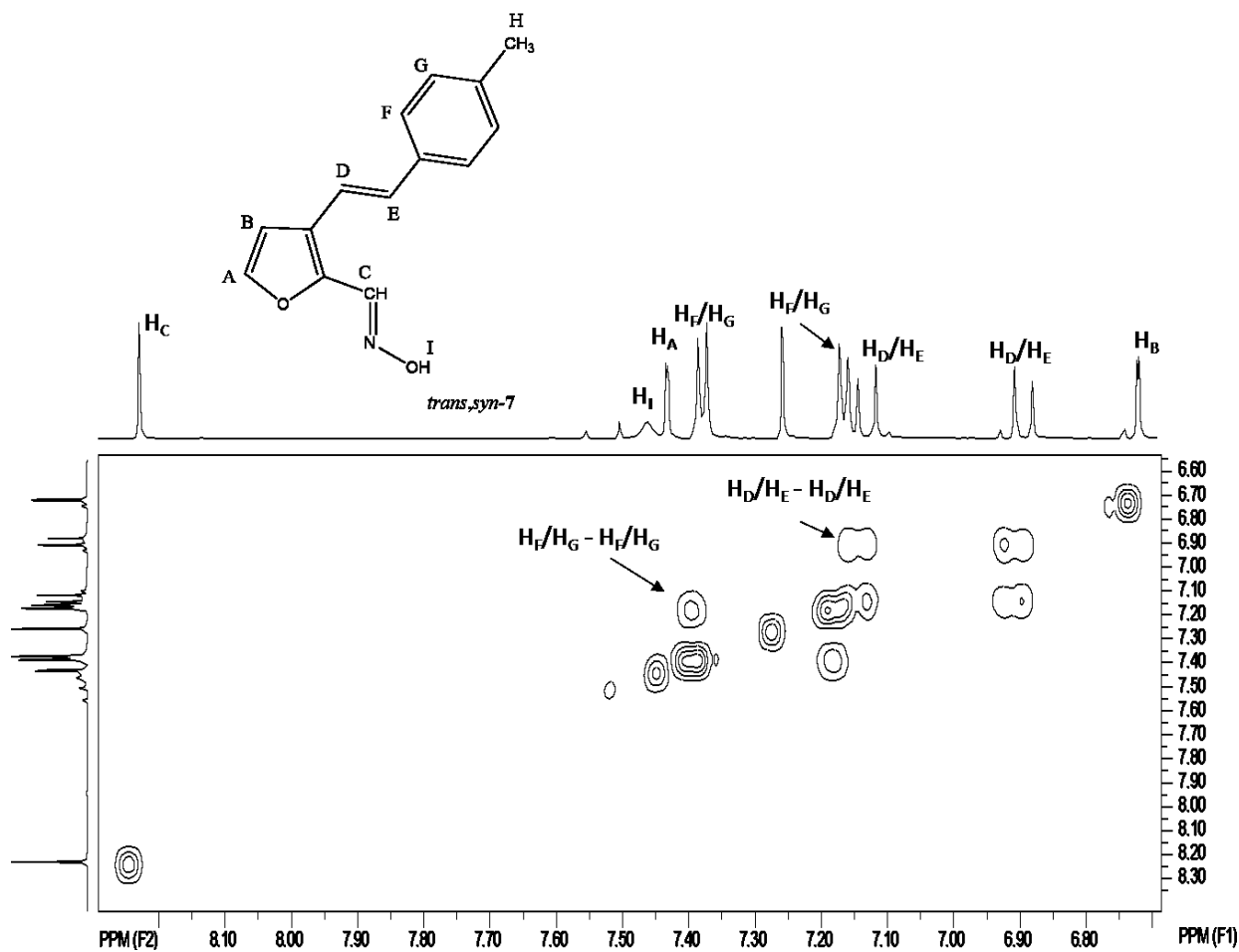
Signal za proton oksimske skupine kod *anti*-izomera oksima nalazi se na nešto nižim kemijskim pomacima nego kod *syn*-izomera. Kod svih *anti*-izomera oksima signal za proton H_C nalazi se između 7.19 i 7.51 ppm, odnosno pomaknut je u područje gdje se nalaze i signali aromatskih protona. Signal za proton oksimske skupine kod *anti*-izomera također ima oblik singleta. Usporedba spektara *trans,syn*-**8** i *trans,anti*-**8** izomera klorovog derivata oksima, gdje se vide različiti pomaci protona oksimske skupine H_C, prikazana je na slici 8.



Slika 8: Prikaz ¹H NMR spektara i struktura *trans,syn*-**8** (a) i *trans,anti*-**8** (b) izomera



Slika 9: Prikaz ¹³C NMR spektara i *trans,syn-7* (a), *trans,syn-8* (b) te ¹³C NMR (APT) spektar *trans,syn-9* (c) izomera oksima



Slika 10: Prikaz aromatskog dijela COSY spektra *trans,syn-7* izomera oksima

Prevođenjem aldehida **4-6** u 3-furostilbenske oksime, dobivaju se *syn*- i *anti*-izomeri pojedinih *cis*- i *trans*-oksima **7-9**. Kod svih derivata oksima, većinski produkt je *syn*-izomer, koji nastaje u iskorištenju 80-95%. *Anti*-izomer nastaje u iskorištenju od 5 do 15 %. Dobiveni *syn*- oksimski derivati 3-furilnih stilbena sintetizirani su u dovoljnoj količini i mogu se istraživati u svrhu njihovog potencijala kao reaktivatora kolinesteraza.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

Opće napomene

Kromatografska odjeljivanja provedena su u kolonama punjenima silikagelom (Fluka 60 Å, tehnički) i na pločama presvučenim tankim slojem silikagela (0.2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Sva korištena otapala su komercijano dostupna i pročišćena destilacijom. Za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcije korišten je bezvodni MgSO₄. Za identifikaciju i određivanje čistoće sintetiziranih spojeva korištena je nuklearna magnetska rezonancija (¹H NMR i ¹³C NMR). Spektri su snimljeni pri sobnoj temperaturi na instrumentu Bruker AV-600 na 600 MHz za ¹H NMR odnosno na 150 MHz za ¹³C NMR. Otapalo u kojem su spektri snimani je deuterirani kloroform (CDCl₃), a korišteni unutarnji standard je tetrametilsilan (TMS). Kemijski pomaci su izraženi u mjernoj jedinici ppm (parts per million). Kratice korištene u eksperimentalnom dijelu su: PE – petroleter, E – dietileter, s-singlet, d-dublet, t-triplet, q-quartet, m-multiplet. Fosfonijeve soli priređene su u našem laboratoriju. Za uklanjanje otapala koristio se rotirajući uparivač pod sniženim tlakom.

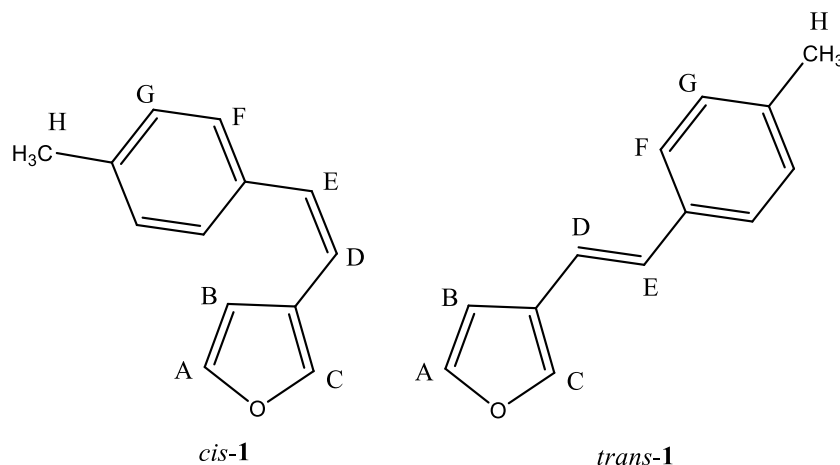
4.1. Organska sinteza stiril-furana

Početni spojevi 1–3 pripremljeni su Wittigovom reakcijom i smjesa su *cis*- i *trans*- izomera. Trogrla tikvica spaja se na aparaturu za propuhivanje dušikom. Na desni otvor tikvice stavlja se nastavak, lula sa klor-kalcijskom soli između vate, a na srednji otvor lijevak za dokapavanje. Aparatura se propuhuje dušikom 10 minuta. Lijevo otvoreno se zatvara balonom ispunjenim dušikom. U tikvicu se dodaje 70 ml apsolutnog etanola sušenog na sitima 4Å i izračunata količina fosfonijeve soli. Smjesa se miješa na magnetnoj miješalici na sobnoj temperaturi dok se sol u potpunosti ne otopi. U lijevak za dokapavanje dodaje se 20 ml apsolutnog etanola i natrij, dodan u 10 %-tnom suvišku. Natrij se čuva u petroleteru jer je zapaljiv na zraku i u tikvicu se dodaje postepeno, zbog toga što se otopina zagrijava, razvija se plin vodik i treba paziti da ne dođe do burne reakcije. Kada se natrij potpuno otopio u etanolu, otopina nastalog natrijevog etoksida dodaje se u tikvicu kap po kap. Nakon toga se u tikvicu dodaje 3-furilni aldehid. Reakcijska smjesa miješa se na magnetnoj miješalici na sobnoj temperaturi 24 sata.

Reakcijska smjesa nakon reakcije prebacuje se u tikvicu sa okruglim dnom i uklanja se apsolutni etanol uparivanjem na rotirajućem uparivaču pod sniženim tlakom.

Suha reakcijska smjesa pročišćava se ekstrakcijom sa toluenom (3 x 30 ml). U ekstrakcijskom lijevku gornji sloj je organski, a donji sloj je vodeni sa anorganskim komponentama. Organski sloj suši se iznad bezvodnog MgSO₄, filtrira putem naboranog filter papira i uparava do suha. Dobivena smjesa produkata odvaja se kolonskom kromatografijom na silikagelu, koristeći smjesu otapala petroletera i dietiletera kao eluensa.

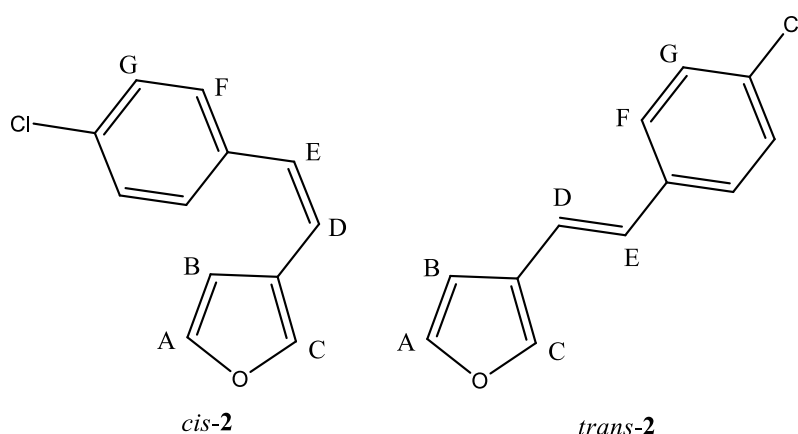
(Z)-3-(4-metilstiril)furan (*cis*-1) i (E)-3-(4-metilstiril)furan (*trans*-1)



244 mg, 49.5 % izoliranog spoja; **(Z)-3-(4-metilstiril)furan (*cis*-1)**: žuto ulje; R_f (PE:E = 90:10) = 0.86; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7.36 (s, 1H, H_C), 7.22 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz, H_F/H_G), 7.23 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H_A), 7.11 (d, 2H, *J* = 7.9 Hz, H_F/H_G), 6.51 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, H_D/H_E), 6.33 (d, 1H, *J* = 12.2 Hz, H_D/H_E), 6.16 (d, 1H, *J* = 1.4 Hz, H_B), 2.35 (s, 3H, H_H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm: 142.5 (d), 141.9 (d), 136.9 (s), 134.9 (s), 129.5 (d), 128.9 (d), 128.6 (d), 122.4 (s), 119.5 (d), 110.3 (d), 21.2 (q).

248.8 mg, 50.5 % izoliranog spoja; **(E)-3-(4-metilstiril)furan (*trans*-1)**: bijeli prah; R_f (PE:E = 90:10) = 0.81; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7.51 (s, 1H, H_C), 7.40 (t, 1H, *J* = 1.7 Hz, H_A), 7.34 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz, H_F/H_G), 7.14 (d, 2H, *J* = 8.1 Hz, H_F/H_G), 6.92 (d, 1H, *J* = 16.2 Hz, H_D/H_E), 6.78 (d, 1H, *J* = 16.2 Hz, H_D/H_E), 6.65 (d, 1H, *J* = 1.7 Hz, H_B), 2.34 (s, 3H, H_H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm: 143.6 (d), 140.7 (d), 137.2 (s), 134.6 (s), 129.3 (d), 128.4 (d), 126.0 (d), 124.7 (s), 117.4 (d), 104.4 (d), 21.2 (q).

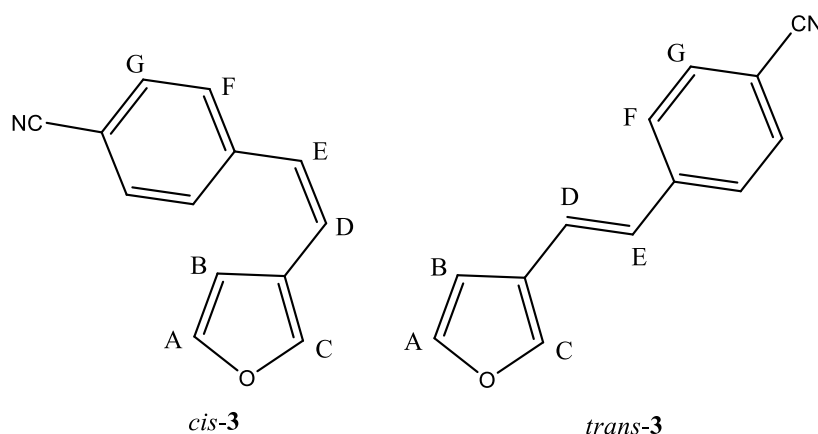
(Z)-3-(4-klorstiril)furan (*cis-2*) i **(E)-3-(4-klorstiril)furan (*trans-2*)**



256 mg, 72.9 % izoliranog spoja; **(Z)-3-(4-klorstiril)furan (*cis-2*)**: bezbojno ulje; R_f (PE) = 0.64; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.36 (s, 1H, H_C), 7.30 – 7.26 (m, 4H, H_F , H_G), 7.25 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_A), 6.47 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.39 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.11 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 142.7 (d), 142.2 (d), 136.3 (s), 132.9 (s), 130.0 (d), 128.4 (d), 128.1 (d), 122.9 (s), 120.8 (d), 110.0 (d).

95 mg, 27.1 % izoliranog spoja; **(E)-3-(4-klorstiril)furan (*trans-2*)**: bijeli prah; R_f (PE) = 0.43; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.54 (s, 1H, H_C), 7.41 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, H_A), 7.37 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.29 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 6.94 (d, 1H, $J = 16.3$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.75 (d, 1H, $J = 16.3$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.64 (d, 1H, $J = 1.1$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.8 (d), 141.2 (d), 128.8 (d), 127.3 (d), 127.1 (d), 119.0 (d), 107.3 (d).

(Z)-3-(4-cijanostiril)furan (*cis-3*) i **(E)-3-(4-klorstiril)furan (*trans-3*)**



278 mg, 67.5 % izoliranog spoja; **(Z)-3-(4-cijanostiril)furan (cis-3)**: bezbojno ulje; R_f (PE:E = 95:5) = 0.54; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.60 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H_F/H_G), 7.59 (s, 1H, H_C), 7.44 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H_F/H_G), 7.39 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_A), 6.95 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, H_D/H_E), 6.50 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, H_D/H_E), 6.06 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.1 (d), 142.7 (d), 132.5 (s), 132.1 (d), 129.5 (d), 127.4 (d), 126.5 (s), 124.0 (s), 122.7 (d), 121.6 (s), 109.8 (d).

134 mg, 32.5 % izoliranog spoja; **(E)-3-(4-klorostiril)furan (trans-3)**: bijeli prah; R_f (PE:E = 95:5) = 0.33; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.61 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_F/H_G), 7.51 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_F/H_G), 7.60 (s, 1H, H_C), 7.44 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_A), 7.09 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H_D/H_E), 6.79 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H_D/H_E), 6.66 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.1 (d), 142.1 (d), 141.9 (d), 134.5 (d), 126.5 (d), 124.0 (s), 122.2 (d), 119.1 (s), 110.3 (s), 107.2 (d).

4.2. Organska sinteza furan-2-karbaldehida

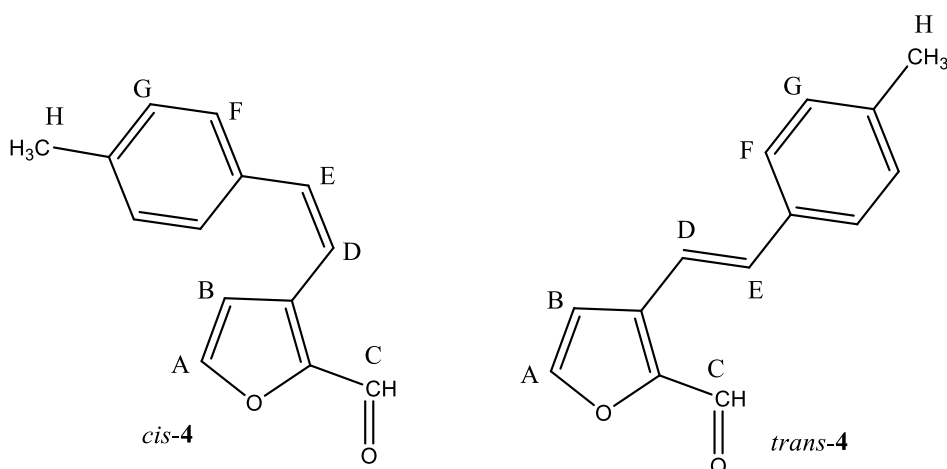
Aldehidi **4-6** pripremljeni su Vilsmeierovim formiliranjem uz fosforil oksiklorid, POCl_3 i *N,N*-dimetilformamid, DMF. Tikvice sa Wittigovim produktima **1-3**, *cis*- i *trans*- izomerima, učvršćene su na stalak i uronjene u ledenu kupelj. Ledena kupelj služi za snižavanje temperature reakcijske smjese jer dodavanja POCl_3 dolazi do razvijanja njegovih otrovnih plinova. Sadržaj tikvice otopi se u 1.5 ml DMF-a, koji je dodan u suvišku. Pripazi se da se sav sadržaj tikvice otopi. Kad temperatura kupelji padne na vrijednost između 0 i 10 °C, u tikvicu se dodaje POCl_3 kap po kap. POCl_3 se dodaje u 30%-tnom suvišku za derivat **1** i u 10%-tnom suvišku za derivate **2** i **3**. Primjećuje se intenzivna promjena boje u narančastu ili crvenu. Reakcijska smjesa se ostavlja miješati na magnetnoj miješalici na sobnoj temperaturi 24 sata.

U tikvicu sa reakcijskom smjesom nakon reakcije dodaje se 10%-tna otopina natrijevog hidroksida kako bi se cijela reakcijska smjesa zaluzila. NaOH se dodaje kap po kap, a promjena pH prati se na indikatorskom papiru do promjene boje papira u plavu. Zaluzeni sadržaj tikvice se otapa u dietileteru i prebacuje u lijevak za odijeljivanje. Smjesa se pročišćava ekstrakcijom sa dietileterom (3 x 30 ml). U ekstrakcijskom lijevku gornji sloj je organski, a donji sloj je vodeni sa anorganskim komponentama. Objedinjeni organski slojevi se vraćaju natrag u prazni ekstrakcijski lijevak i pročišćavaju se ekstrakcijom sa vodom (4-5 x

30 ml) kako bi se uklonio zaostali DMF. Pročišćeni organski sloj prebacuje se u Erlenmeyerovu tikvicu i suši iznad bezvodnog $MgSO_4$.

Osušeni spoj se filtrira preko naboranog filter papira u tikvicu sa okruglim dnom i uparava do suha na rotirajućem uparivaču. Suha reakcijska smjesa pročišćava se kolonskom kromatografijom na silikagelu, koristeći smjesu otapala petroletera i dietiletera kao eluensa.

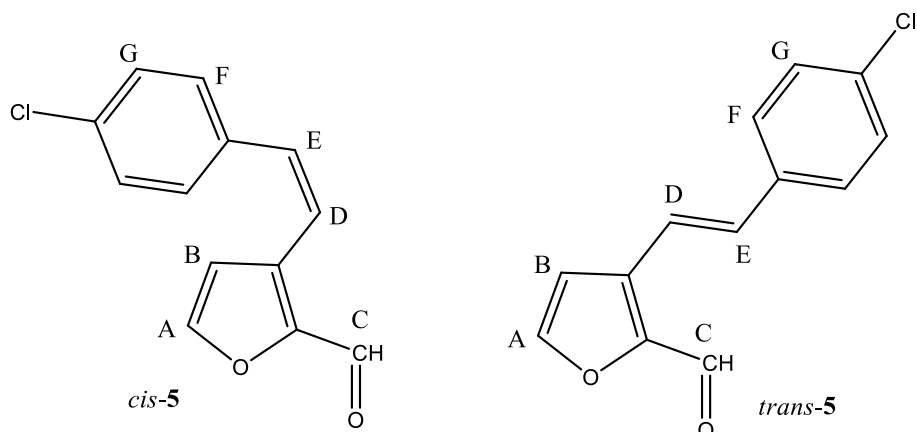
(Z)-3-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*cis-4*) i **(E)-3-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*trans-4*)**



151 mg, 83.4% izoliranog spoja; **(Z)-3-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*cis-4*)**: narančasto ulje; R_f (PE:E = 95:5) = 0.40; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.81 (s, 1H, H_C), 7.43 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_A), 7.18 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, H_F/H_G), 7.11 (d, 2H, $J = 8.1$ Hz, H_F/H_G), 6.85 (d, 1H, $J = 12.4$ Hz, H_D/H_E), 6.85 (d, 1H, $J = 12.4$ Hz, H_D/H_E), 6.27 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_B), 2.35 (s, 3H, H_H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ /ppm: 178.2 (d), 148.5 (s), 146.8 (d), 138.0 (d), 135.7 (d), 133.6 (d), 129.1 (d), 128.7 (d), 127.0 (s), 117.4 (s), 112.9 (d), 21.3 (q).

103 mg, 91.2% izoliranog spoja; **(E)-3-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*trans-4*)**: žuti prah; R_f (PE:E = 95:5) = 0.26; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.91 (s, 1H, H_C), 7.58 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_A), 7.50 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H_D/H_E), 7.45 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, H_F/H_G), 7.19 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, H_F/H_G), 7.11 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, H_D/H_E), 6.85 (d, 1H, $J = 1.3$ Hz, H_B), 2.37 (s, 3H, H_H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ /ppm: 178.5 (d), 147.7 (s), 147.5 (d), 139.0 (d), 135.3 (d), 133.4 (s), 129.5 (d), 129.1 (s), 128.7 (s), 127.0 (d), 109.8 (d), 21.3 (q).

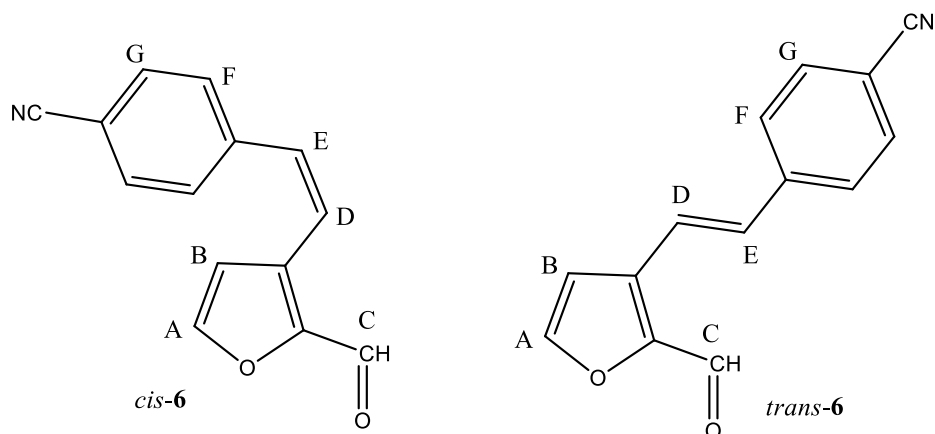
(Z)-3-(4-klorstiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-5) i (E)-3-(4-klorstiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-5)



187 mg, 94.9 % izoliranog spoja; **(Z)-3-(4-klorstiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-5)**: narančasto ulje; R_f (PE:E = 90:10) = 0.30; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.83 (s, 1H, H_C), 7.44 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_A), 7.29 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.22 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 6.94 (d, 1H, $J = 12.0$, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 7.82 (d, 1H, $J = 12.0$, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.22 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_B).

58 mg, 100 % izoliranog spoja; **(E)-3-(4-klorstiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-5)**: žuti prah; R_f (PE:E = 95:5) = 0.20; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.92 (s, 1H, H_C), 7.6 (d, 1H, $J = 16.3$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 7.59 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, H_A), 7.48 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.35 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.08 (d, 1H, $J = 16.3$, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.85 (d, 1H, $J = 1.5$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 178.2 (d), 147.6 (d), 146.9 (s), 134.2 (s), 133.8 (d), 130.1 (d), 129.0 (d), 128.7 (d), 128.2 (d), 112.8 (s), 109.9 (d).

(Z)-3-(4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-6) i (E)-3-(4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-6)



175 mg, 100 % izoliranog spoja; **(Z)-3-(4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid (cis-6)**: žuto ulje; R_f (PE:E = 80:20) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.85 (s, 1H, H_C), 7.61 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.47 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_A), 7.40 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.07 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.85 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.15 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 178.7 (d), 148.9 (s), 147.0 (d), 133.2 (d), 132.6 (s), 132.3 (d), 129.5 (d), 127.4 (s), 121.1 (d), 112.6 (d), 111.6 (s), 109.9 (s).

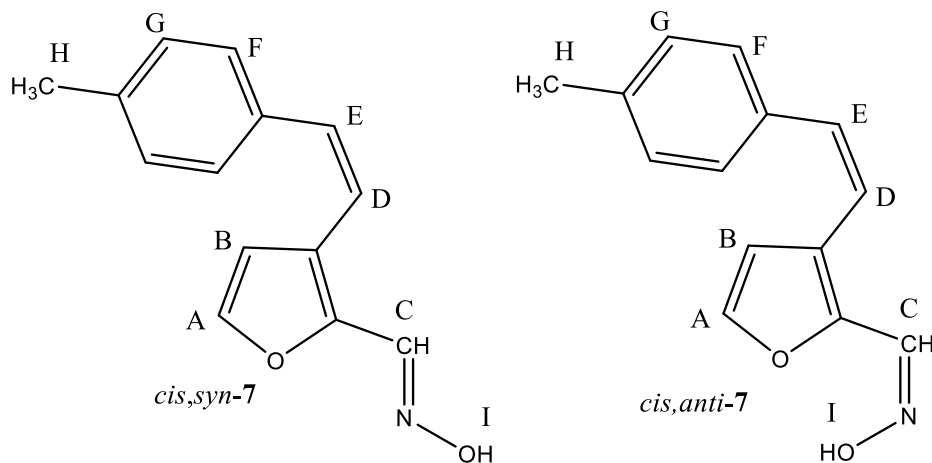
119 mg, 100 % izoliranog spoja; **(E)-3-(4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid (trans-6)**: žuti prah; R_f (PE:E = 80:20) = 0.46; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.94 (s, 1H, H_C), 7.76 (d, 1H, $J = 16.5$, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 7.66 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.63 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.62 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_A), 7.12 (d, 1H, $J = 16.5$, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.87 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 179.4 (d), 148.4 (s), 147.6 (d), 140.6 (s), 132.9 (d), 132.6 (d), 127.4 (d), 120.6 (d), 118.8 (s), 111.7 (s), 109.9 (d).

4.3. Organska sinteza furan-2-karbaldehid oksima

Derivati oksima, **7-9** pripremljeni su tako da se u tikvice sa sintetiziranim aldehidima **4-6**, *cis*- i *trans*- izomerima, prvo dodaje 10 ml apsolutnog etanola sušenog na molekularnim sitima, 4Å. U menzuri se odmjeri i 3 ml destilirane vode i prebaci u tikvicu. Kada se sav aldehid otopio u etanolu i vodi, u tikvicu se dodaje izračunata količina kristalića HCl x hidroksilamina (2 eq). Reakcijska smjesa se ostavlja na sobnoj temperaturi na magnetnoj miješalici 24 sata.

Reakcijska smjesa uparava se do suha na rotirajućem uparivaču na sniženom tlaku. Potrebno je duže uparavanje jer etanol i voda imaju više vreliše. Dobiveni su *syn*- i *anti*- izomeri *cis*- i *trans*- oksima **7-9**. Smjesa se razdvaja i pročišćava kolonskom kromatografijom u sustavu petroleter/dietileter (1-50 %).

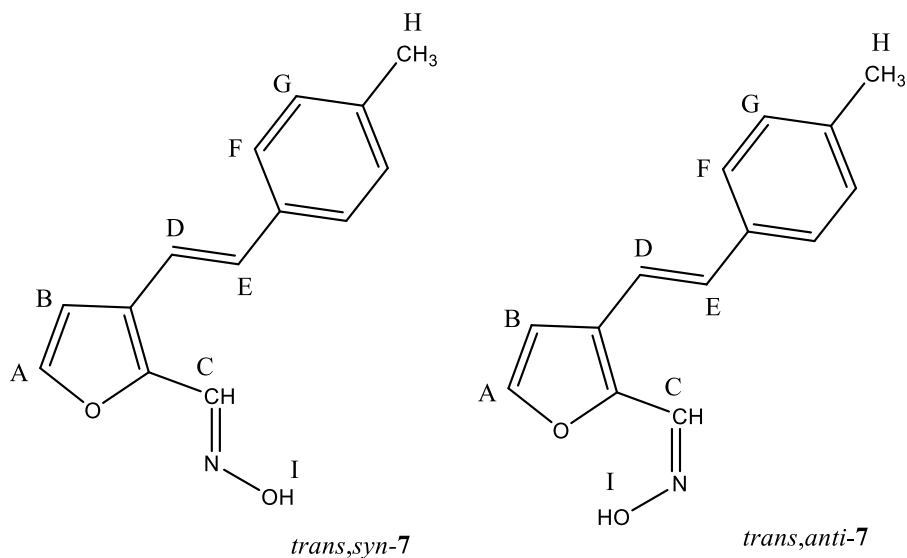
(E)-3-((Z)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-7*) i **(Z)-3-((Z)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-7*)**



113 mg, 98.3 % izoliranog spoja; **(E)-3-((Z)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-7*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 85:15) = 0.27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.08 (s, 1H, H_I), 8.11 (s, 1H, H_C), 7.27 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_A), 7.19 (d, 2H, $J = 8.0$, H_F/H_G), 7.09 (d, 2H, $J = 8.0$, H_F/H_G), 6.65 (d, 1H, $J = 12.2$ Hz, H_D/H_E), 6.44 (d, 1H, $J = 12.2$ Hz, H_D/H_E), 6.17 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_B), 2.33 (s, 3H, H_H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.1 (s), 143.6 (d), 139.4 (d), 137.5 (s), 134.0 (s), 132.4 (d), 129.0 (d), 128.8 (d), 124.8 (s), 117.9 (d), 111.9 (d), 21.3 (q).

2 mg, 1.7 % izoliranog spoja; **(Z)-3-((Z)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-7*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 85:15) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.43 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, H_A), 7.36 (s, 1H, H_C), 7.18 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, H_F/H_G), 7.09 (d, 2H, $J = 7.9$ Hz, H_F/H_G), 6.70 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, H_D/H_E), 6.45 (d, 1H, $J = 11.8$ Hz, H_D/H_E), 6.22 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, H_B), 2.34 (s, 3H, H_H).

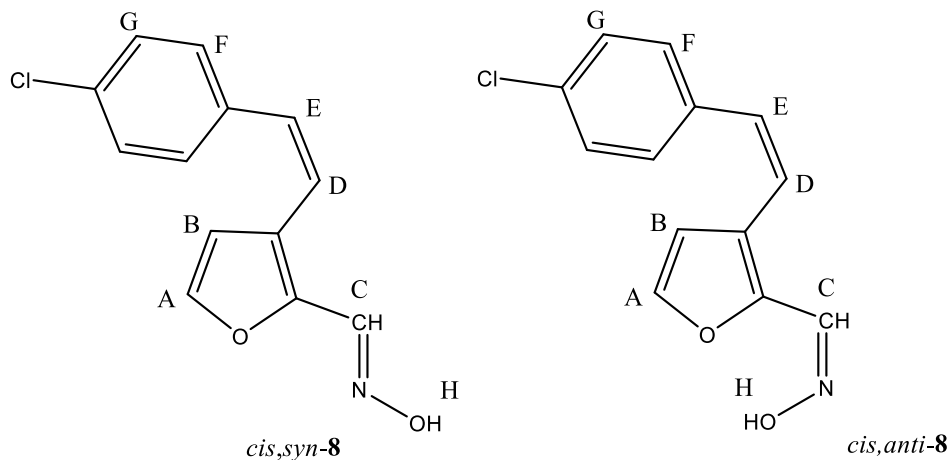
(E)-3-((E)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-7*) i **(Z)-3-((E)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-7*)**



70 mg, 93.3 % izoliranog spoja; **(E)-3-((E)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-7*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 90:10) = 0.17; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.23 (s, 1H, H_C), 7.46 (s, 1H, H_I), 7.43 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_A), 7.38 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.17 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.13 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.89 (d, 1H, $J = 16.2$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.72 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_B), 2.36 (s, 3H, H_H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.4 (d), 143.2 (s), 140.1 (d), 138.0 (s), 134.1 (s), 131.2 (d), 129.5 (d), 126.5 (s), 126.4 (d), 116.1 (d), 109.0 (d), 21.3 (q).

5 mg, 6.7 % izoliranog spoja; **(Z)-3-((E)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-7*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 90:10) = 0.10; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.49 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, H_A), 7.44 (s, 1H, H_I), 7.32 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.19 (s, 1H, H_C), 7.10 (d, 2H, $J = 8.0$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.05 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.84 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.67 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, H_B), 2.29 (s, 3H, H_H).

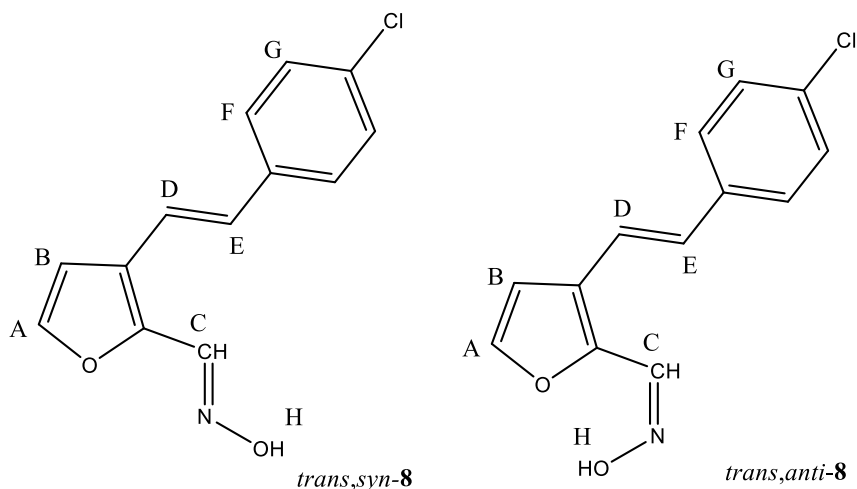
(E)-3-((Z)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (cis,syn-8) i **(Z)-3-((Z)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (cis,anti-8)**



114 mg, 95.8 % izoliranog spoja; **(E)-3-((Z)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (cis,syn-8)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 85:15) = 0.47; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.10 (s, 1H, H_C), 7.99 (s, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_A), 7.28 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_F/H_G), 7.23 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, H_F/H_G), 6.63 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, H_D/H_E), 6.55 (d, 1H, $J = 12.0$ Hz, H_D/H_E), 6.12 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.4 (s), 143.7 (d), 139.8 (d), 135.5 (s), 133.4 (s), 130.9 (d), 130.2 (d), 128.5 (d), 124.0 (s), 119.4 (d), 111.7 (d).

5 mg, 4.2 % izoliranog spoja; **(Z)-3-((Z)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (cis,anti-8)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 85:15) = 0.28; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.44 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_A), 7.35 (s, 1H, H_C), 7.26 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H_F/H_G), 7.21 (d, 2H, $J = 8.6$ Hz, H_F/H_G), 6.66 (d, 2H, $J = 16.2$ Hz, H_D/H_E), 6.53 (d, 2H, $J = 16.2$ Hz, H_D/H_E), 6.16 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_B).

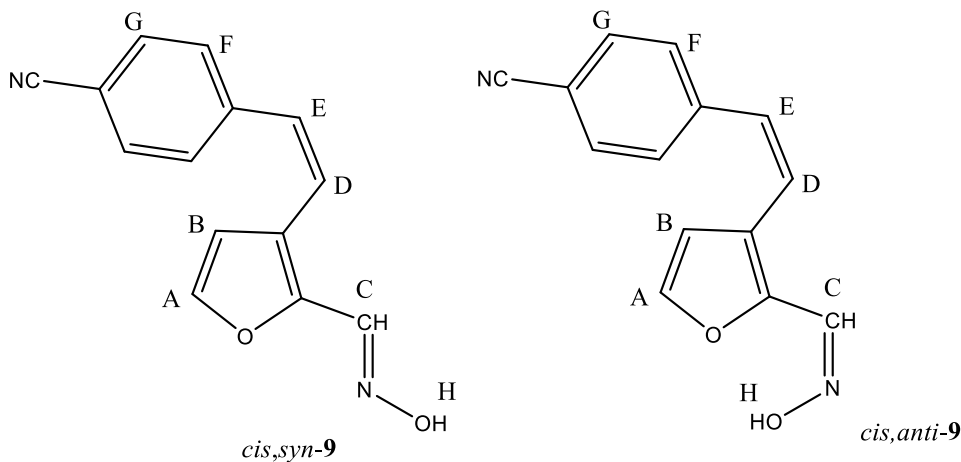
(E)-3-((E)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-8*) i **(Z)-3-((E)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-8*)**



48 mg, 80 % izoliranog spoja; **(E)-3-((E)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-8*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 85:15) = 0.40; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.22 (s, 1H, H_C), 7.48 (s, 1H, H_H), 7.44 (d, 2H, $J = 1.6$ Hz, H_A), 7.41 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.32 (d, 1H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.19 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.86 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.72 (d, 1H, $J = 1.7$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.4 (d), 143.7 (s), 140.2 (d), 135.4 (s), 133.5 (s), 129.8 (d), 128.9 (d), 127.6 (d), 125.8 (s), 118.0 (d), 108.9 (d).

12 mg, 20 % izoliranog spoja; **(Z)-3-((E)-4-klorstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-8*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 85:15) = 0.25; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.61 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_A), 7.50 (s, 1H, H_C), 7.42 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.33 (d, 2H, $J = 8.5$ Hz, $\text{H}_\text{F}/\text{H}_\text{G}$), 7.17 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.88 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_\text{D}/\text{H}_\text{E}$), 6.74 (d, 1H, $J = 1.6$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 140.1 (d), 135.4 (s), 135.3 (s), 134.3 (d), 133.8 (s), 130.3 (d), 129.0 (d), 127.9 (s), 127.7 (d), 117.9 (d), 108.7 (d).

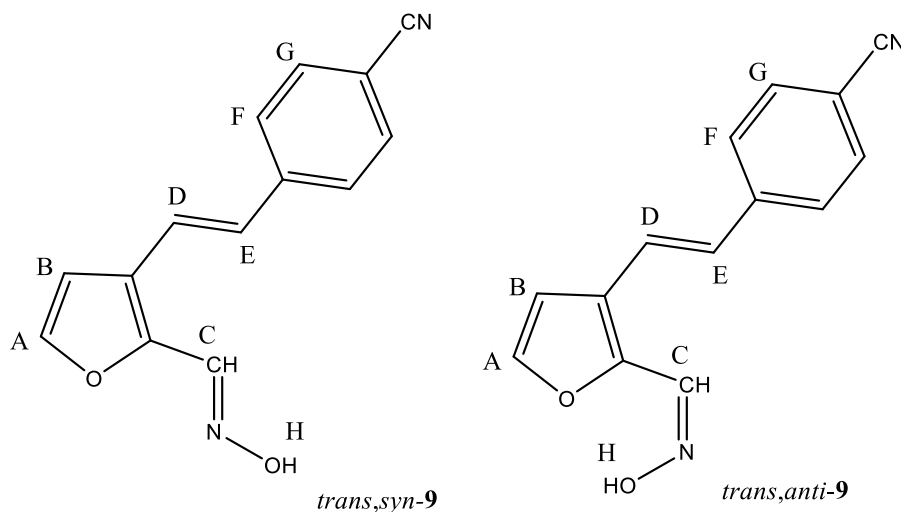
(E)-3-((Z)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-9*) i **(Z)-3-((Z)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-9*)**



141 mg, 87 % izoliranog spoja; **(E)-3-((Z)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-9*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 80:20) = 0.56; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.10 (s, 1H, H_C), 7.59 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_F/H_G), 7.51 (s, 1H, H_H), 7.41 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_F/H_G), 7.32 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_A), 6.71 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, H_D/H_E), 6.64 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz, H_D/H_E), 6.07 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.9 (d), 141.8 (s), 140.2 (d), 132.5 (s), 132.2 (d), 130.0 (d), 129.5 (d), 126.8 (s), 123.1 (s), 121.7 (d), 117.7 (s), 111.6 (d).

17 mg, 13 % izoliranog spoja; **(Z)-3-((Z)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-9*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 80:20) = 0.34; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.58 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_F/H_G), 7.45 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_A), 7.39 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, H_F/H_G), 7.33 (s, 1H, H_C), 6.69 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz), 6.67 (d, 1H, $J = 12.3$ Hz), 6.11 (d, 1H, $J = 1.9$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.5 (d), 143.1 (s), 141.4 (s), 134.2 (d), 132.1 (d), 130.7 (d), 129.5 (d), 125.5 (s), 121.9 (d), 118.7 (s), 111.5 (d), 111.1 (s).

(E)-3-((E)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-9*) i **(Z)-3-((E)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-9*)**



47 mg, 90.4 % izoliranog spoja; **(E)-3-((E)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-9*)**: bijeli kristali; R_f (PE:E = 70:30) = 0.53; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.23 (s, 1H, H_C), 7.76 (s, 1H, H_H), 7.63 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, H_F/H_G), 7.56 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, H_F/H_G), 7.47 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_A), 7.37 (d, 1H, $J = 16.3$ Hz, H_D/H_E), 6.90 (d, 1H, $J = 16.3$ Hz, H_D/H_E), 6.74 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.6 (d), 144.5 (s), 141.4 (s), 140.3 (d), 132.5 (d), 129.3 (d), 126.9 (d), 125.0 (s), 121.2 (d), 118.9 (s), 110.8 (s), 108.9 (d).

5 mg, 9.6 % izoliranog spoja; **(Z)-3-((E)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-9*)**: 7.64 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H_F/H_G), 7.58 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_A), 7.56 (d, 2H, $J = 8.4$ Hz, H_F/H_G), 7.51 (s, 1H, H_C), 7.36 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, H_D/H_E), 6.91 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, H_D/H_E), 6.76 (d, 1H, $J = 1.8$ Hz, H_B); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 145.1 (d), 141.2 (s), 134.4 (d), 132.6 (d), 129.4 (d), 127.1 (s), 126.9 (d), 121.3 (d), 118.6 (s), 111.1 (s), 110.9 (s), 108.7 (d).

5. ZAKLJUČAK

1. Wittigovom reakcijom između 3-furilnog aldehida i fosfonijeve soli, uz bazu natrijev etoksid i otapalo apsolutni etanol, sintetizirani su 3-furostilbeni **1-3** u iskorištenjima od 40 do 70 %.
2. Wittigovom reakcijom nastaje smjesa *cis*- i *trans*-izomera, koja je uspješno razdvojena kolonskom kromatografijom kod svih derivata.
3. Produkti Wittigove reakcije **1-3** prevodili su se u aldehide **4-6** pri čemu kod svih derivata formilna skupina u puno većem iskorištenju ulazi u preferirani položaj 2 na furanskom prstenu u odnosu na položaj 5.
4. Ciljni oksimski derivati 3-furostilbena **7-9** dobiveni su iz aldehida, pri čemu nastaje smjesa *syn*- i *anti*-izomera pojedinih *cis*- i *trans*-oksima.
5. Većinski produkt kod svih derivata oksima je *syn*-izomer, koji nastaje u iskorištenju 80-95 %.
6. Svi produkti su uspješno izolirani i pročišćeni kolonskom kromatografijom te okarakterizirani spektroskopskim metodama (jedno- i dvodimenzionalna NMR).
7. Sintetizirani *syn*-oksimski derivati dobiveni su u dovoljnim količinama i mogu se istraživati u svrhu njihovog potencijala kao reaktivatora inhibiranih kolinesteraza organofosfatima.

6. LITERATURA

1. Bosak A., Organofosforni spojevi: klasifikacija i reakcije s enzimima, Arhiv za higijenu rada i toksikologiju **57**(4) (2006) 445-446.
2. Mangas I., Vilanova E., Estevez J., França T.C.C., Neurotoxic effects associated with current uses of organophosphorus compounds, J. Braz. Chem. Soc. **27** (2016) 809-825.
3. Maček Hrvat N., Kolinesteraze i oksimi kao pseudokatalitička čistila živčanih bojnih otrova (Disertacija) (2015) 15-20.
4. Pashirova T.N., Braški A., Zueva I.V., Petrov K.A., Babaev V.M., Burilova E.A., Sinyashin O.G., Combination delivery of two oxime-loaded lipid nanoparticles: Time-dependent additive action for prolonged rat brain protection, Journal of Controlled Release **290** (2018) 102–111.
5. Buckley N.A., Karalliedde L., Dawson A., Senanayake N., Eddleston, M., Where Is the evidence for treatments used in pesticide poisoning? Is clinical toxicology fiddling while the developing world burns? Journal of Toxicology: Clinical Toxicology **42**(1) (2004) 113–116.
6. Zorbaz T., Kovarik Z., Neuropharmacology: Oxime antidotes for organophosphate pesticide and nerve agent poisoning, Periodicum biologorum **121-122** (1-2) (2020) 35-54.
7. Darvesh S., Hopkins D.A., Geula C., Neurobiology of butyrylcholinesterase, Nat. Rev. Neurosci. **4**(2) (2003) 131–138.
8. Chambers J.E., Dail M.B., Meek E.C., Oxime-mediated reactivation of organophosphate-inhibited acetylcholinesterase with emphasis on centrally-active oximes, Neuropharmacology **108201** (2020) 9-10.
9. Kadar T., Shapira S., Cohen G., Sahar R., Alkalay D., Ravenh L., Sarin-induced neuropathology in rats, Hum. Exp. Toxicol. **14**(3) (1995) 252–259.
10. Childs A.F., Davies D.R., Green A.L., Rutland J.P., The reactivation by oximes and hydroxamic acids of cholinesterase inhibited by organo-phosphorus compounds, Br. J. Pharmacol. Chemother. **10** (1955) 462-465.
11. Radulović N.S., Tasić M.M., Mladenović M.Z., Oximes of 3,7-dimethylocta-2,6-dienal: green synthesis, preparative separation of all diastereomers and complete assignment of ¹H and ¹³C NMR spectra, J. Mol. Struct. **129427** (2020) 1.

12. Sakurada K., Matsubara K., Shimizu K., Shiono H., Seto Y., Tsuge K., Yoshino M., Sakai I., Mukoyama H., Takatori T., Pralidoxime Iodide (2-PAM) penetrates across the Blood-Brain Barrier, *Neurochem. Res.* **28**(9) (2003) 1401–1407.
13. Kovarik Z., Čalić M., Bosak A., Šinko G., Jelić D., In vitro evaluation of aldoxime interactions with human acetylcholinesterase, *Croat. Chem. Acta.* **81**(1) (2008) 47–57.
14. Sidell F. R., Groff W. A., Intramuscular and Intravenous Administration of Small Doses of 2-Pyridinium Aldoxime Methochloride to Man, *J. Pharm. Sci.* **60**(8) (1971) 1224–1228.
15. Palmer A.M., Alavijeh M.S., Overview of Experimental Models of the Blood-Brain Barrier in CNS Drug Discovery, *Current Protocols in Pharmacology* **62**(1) (2008) 7.15.1–7.15.30.
16. Abbott N.J., Patabendige A.A.K., Dolman D.E.M., Yusof S.R., Begley D.J., Structure and function of the blood– brain barrier, *Neurobiol. Dis.* **37**(1) (2008) 13–25.
17. Ranković Z., CNS drug design: Balancing physicochemical properties for optimal brain exposure, *J. Med. Chem.* **58**(6) (2015) 2584–2608.
18. Wager T.T., Hou X., Verhoest P.R., Villalobos A., Central nervous system multiparameter optimization desirability: Application in drug discovery, *ACS Chem. Neurosci.* **7**(6) (2016) 767–775.
19. Pajouhesh H., Lenz G.R., Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs, *J. Am. Soc. Exp. Neurother.* **2** (2016) 541–553.
20. Skovira J.W., O'Donnell J.C., Koplovitz I., Kan R.K., McDonough J.H., Shih T-M., Reactivation of brain acetylcholinesterase by monoisonitrosoacetone increases the therapeutic efficacy against nerve agents in guinea pigs, *Chem. Biol. Interact.* **187**(1–3) (2010) 318–324.
21. Mercey G., Verdelet T., Saint-Andre G., Gillon E., Wagner A., Baati R., Jean L., Nachon F., Renard P-Y., First efficient uncharged reactivators for the dephosphorylation of poisoned human acetylcholinesterase, *Chem. Commun.* **47**(18) (2011) 5295.
22. Radić Z., Sit R.K., Garcia E., Zhang L., Berend S., Kovarik Z., Taylor P., Mechanism of interaction of novel uncharged, centrally active reactivators with OP-hAChE conjugates, *Chemico-Biological Interactions* **203**(1) (2013) 67–71.
23. Yerri J., Baati R., Sonogashira reaction of bromofluoropyridinaldoxime nuclei: Convergent synthesis of functionalized 2- and 3-fluoropyridine scaffolds, *European J. Org. Chem.* **30** (2018) 4161–4165.

24. Zorbaz T., Malinak D., Kuca K., Musilek K., Kovarik Z., Butyrylcholinesterase inhibited by nerve agents is efficiently reactivated with chlorinated pyridinium oximes, *Chem. Biol. Interact.* **307** (2019) 16–20.
25. Jeong H.C., Park N-J., Chae C.H., Musilek K., Kassa J., Kuca K., Jung Y-S., Fluorinated pyridinium oximes as potential reactivators for acetylcholinesterases inhibited by paraoxon organophosphorus agent, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **17**(17) (2009) 6213–6217.
26. DeMar J.C., Clarkson E.D., Ratcliffe R.H., Campbell A.J., Thangavelu S.G., Herdman C.A., Gordon, R.K., Pro-2-PAM therapy for central and peripheral cholinesterases, *Chemico-Biological Interactions* **187**(1-3) (2010) 191–198.
27. Garcia G.E., Campbell A.J., Olson J., Moorad-Doctor D., Morthole V.I., Novel oximes as blood–brain barrier penetrating cholinesterase reactivators, *Chemico-Biological Interactions* **187**(1-3) (2010) 199–206.
28. Wagner S., Kufleitner J., Zensi A., Dadparvar M., Wien S., Bungert J., von Briesen H., Nanoparticulate transport of oximes over an in vitro blood-brain barrier model, *PLoS One* **5**(12) (2010) 1-9.
29. Guo L., Ren J., Jiang X., Perspectives on brain-targeting drug delivery systems, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **13**(12) (2012) 2310–2318.
30. Lenz D.E., Maxwell D.M., Koplovitz I., Clark C.R., Capacio B.R., Cerasoli D.M., Federko J.M., Luo C., Saxena A., Doctor B.P., Oldon C., Protection against soman or VX poisoning by human butyrylcholinesterase in guinea pigs and cynomolgus monkeys, *Chem. Biol. Interact.* **157–158** (2005) 205–210.
31. Andes D., Craig W.A., Animal model pharmacokinetics and pharmacodynamics: a critical review, *Int. J. Antimicrob. Agents* **19** (2002) 261–268.
32. Radić Z., Sit R.K., Kovarik Z., Berend S., Garcia E., Zhang L., Amitai G., Green C., Radić B., Fokin V.V., Sharpless K.B., Taylor P., Refinement of structural leads for centrally acting oxime reactivators of phosphorylated cholinesterases, *J. Biol. Chem.* **287**(15) (2012) 11798–11809.
33. Garrigue H., Maurizis J.C., Nicolas C., Madelmont J.C., Godeneche D., Hulot T., Morge X., Demerseman P., Sentenac-Roumanou H., Veyre A., Disposition and metabolism of two acetylcholinesterase reactivators, pyrimidoxime and HI6, in rats submitted to organophosphate poisoning, *Xenobiotica* **20**(7) (1990) 699–709.
34. Sidell F.R., Groff W.A., Toxogonin: Blood levels and side effects after intramuscular administration in man, *J. Pharm. Sci.* **59**(6) (1970) 793–797.

35. Sidell F.R., Groff W.A., Kaminskis A., Toxogonin and pralidoxime: Kinetic comparison after intravenous administration to man, *J. Pharm. Sci.* **61**(11) (1972) 1765–1769.
36. Pashirova T.N., Zueva I.V., Petrov K.A., Babaev V.M., Lukashenko S.S., Rizvanov I.K., Sinyashin O.G., Nanoparticle-delivered 2-PAM for rat brain protection against Paraoxon central toxicity, *ACS Applied Materials & Interfaces* **9**(20) (2017) 16922–16932.
37. Shih T-M., Guarisco J.A., Myers T.M., Kan R.K., McDonough J.H., The oxime pro-2-PAM provides minimal protection against the CNS effects of the nerve agents sarin, cyclosarin and VX in guinea pigs, *Toxicol. Mech. Methods* **21**(1) (2011) 53–62.
38. Ashani Y., Bhattacharjee A.K., Leader H., Saxena A., Doctor B.P., Inhibition of cholinesterases with cationic phosphonyl oximes highlights distinctive properties of the charged pyridine groups of quaternary oxime reactivators, *Biochem. Pharmacol.* **66**(2) (2003) 191–202.
39. Kušić R., Bošković B., Vojvodić V., Jovanović D., HI-6 in man: Blood levels, urinary excretion, and tolerance after intramuscular administration of the oxime to healthy volunteers, *Fundam. Appl. Toxicol.* **5** (1985) 89–97.
40. Maxwell D.M., Lenz D.E., Groff W.A., Froehlich H., The effects of blood flow and detoxification on in vivo cholinesterase inhibition by soman in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **88** (1987) 66–76.
41. Grauer E., Nathan D.B., Lustig S., Kobiler D., Viral neuroinvasion as a marker for BBB integrity following exposure to cholinesterase inhibitors, *Life Sci.* **68** (2001) 985–990.
42. Scremin O.U., Shih T-M., Huynh L., Roch M., Sun W., Chialvo D.R., Jenden D.J. Low-dose cholinesterase inhibitors do not induce delayed effects on cerebral blood flow and metabolism, *Pharmacol. Biochem. Behav.* **80**(4) (2005) 529–540.
43. Cassel G., Karlsson L., Waara L., Ang K.W., Göransson-Nyberg A., Pharmacokinetics and effects of HI 6 in blood and brain of soman-intoxicated rats: A microdialysis study, *Eur. J. Pharmacol.* **332**(1) (1997) 43–52.
44. Petroianu G.A., Lorke D.E., Hasan M.Y., Adem A., Sheen R., Nurulain S.M., Kalasz H., Paraoxon has only a minimal effect on pralidoxime brain concentration in rats, *J. Appl. Toxicol.* **27**(4) (2007) 350–357.
45. Puček I., Sinteza i karakterizacija novih oksimskih derivata heterostilbena kao potencijalnih reaktivatora kolinesteraza (diplomski rad) (2020)

7. ŽIVOTOPIS

EMA ĐURČEVIĆ rođena je 15. listopada 1998. godine u Požegi. Pohađala je i završila osnovnu školu Vilima Korajca u Kaptolu. Maturirala je 2017. godine u Prirodoslovno-matematičkoj Gimnaziji u Požegi. Iste godine upisuje prvu godinu Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu odradila je tijekom 2. godine preddiplomskog studija u Zavodu za javno zdravstvo Požeško-slavonske županije, služba za zdravstvenu ekologiju.