

Sinteza i spektroskopska karakterizacija 2-furostilbenskih oksima

Popović, Ivana

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:149:211699>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-09**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ivana Popović

ZAVRŠNI RAD

**Sinteza i spektroskopska karakterizacija 2-furostilbenskih
oksima**

Zagreb, 2021.

SAŽETAK

U cilju sinteze novih 2-furostilbenskih oksima provedeno je niz kemijskih reakcija; Wittigova reakcija, Vilsmeierovo formiliranje te prevođenje aldehida u oksim. Sintetizirani su oksimi sa tri različita supstituenta; cijano-, metoksi- te dimetilamino-. Iz polaznih aldehida i soli dobiveni su Wittigovi produkti (*cis-1*, *trans-1*, *cis-2*, *trans-2* te *trans-3*). Cijano- i metoksi-derivati daju *cis* i *trans* Wittigove produkte, dok kod dimetilamino-derivata nastaje samo *trans* izomer. Dobiveni Wittigovi produkti korišteni su u reakciji Vilsmeierovog formiliranja u svrhu sinteze formilnih derivata. Nakon provedenog formiliranja, dobiveno je šest aldehida (*cis-4*, *trans-4*, *cis-5*, *trans-5*, *cis-6* i *trans-6*). Svaki Wittigov produkt dao je po jedan aldehyd, osim dimetilaminoaldehida. Iako je nakon provedene Wittigove reakcije kod dimetilamino-derivata nastao samo *trans-3* izomer, prilikom provedbe Vilsmeierovog formiliranja *trans-3* izomerizira te nastaju dva izomera; *cis-6* i *trans-6*. Sintetizirani 2-karbaldehidi iskorišteni su za sintezu novih 2-furostilbenskih oksima. Svi dobiveni oksimi imaju vrlo bliske R_f vrijednosti te ih je bilo potrebno pročistiti pomoću preparativnih TLC ploča, nakon čega je dobiveno 12 novih 2-furostilbenskih oksima, od kojih su *cis,syn-7*, *cis,anti-7*, *trans,syn-7* te *trans,anti-7* izolirani kao čisti spojevi, dok su spojevi *cis,syn-8*, *cis,anti-8*, *trans,syn-8*, *trans,anti-8*, *cis,syn-9*, *cis,anti-9*, *trans,syn-9* te *trans,anti-9* i nakon pročišćavanja na preparativnim TLC pločama ostali u smjesi. Svi sintetizirani spojevi okarakterizirani su spektroskopskim metodama; jednodimenzionalnim ^1H i ^{13}C NMR tehnikama.

Ključne riječi: oksimi, Wittigova reakcija, Vilsmeierovo formiliranje, spektroskopija

SUMMARY

Synthesis and spectroscopic characterization of 2-furostilbene oximes

In order to synthesize new 2-furostilbene oximes, a series of chemical reactions were carried out; Wittig reaction, Vilsmeier formulation and conversion of aldehyde to oxime. Oximes with three different substituents were synthesized; cyano-, methoxy- and dimethylamino-. Wittig products (*cis-1*, *trans-1*, *cis-2*, *trans-2* and *trans-3*) were obtained from the starting aldehydes and salts. Cyano- and methoxy-derivatives give *cis* and *trans* Wittig products, while in dimethylamino-derivatives only the *trans* isomer is formed. The obtained Wittig products were used in the Vilsmeier formylation reaction for the synthesis of formyl derivatives. After formylation, six aldehydes were obtained (*cis-4*, *trans-4*, *cis-5*, *trans-5*, *cis-6* and *trans-6*). Each Wittig product gave one aldehyde, except dimethylaminoaldehyde. Although only the *trans-3* isomer was formed in the dimethylamino derivative after the Wittig reaction, during the implementation of Vilsmeier's formulation the *trans-3* isomerized to form two isomers; *cis-6* and *trans-6*. The synthesized 2-carbaldehydes were used for the synthesis of new 2-furostilbene oximes. All the obtained oximes have very close R_f values and it was necessary to purify them using preparative TLC plates, after which 12 new 2-furostilbene oximes were obtained, of which *cis,syn-7*, *cis,anti-7*, *trans,syn-7* and *trans, anti-7* isolated as pure compounds, while compounds *cis,syn-8*, *cis,anti-8*, *trans,syn-8*, *trans,anti-8*, *cis,syn-9*, *cis,anti-9*, *trans,syn-9* and *trans,anti-9* and after purification on preparative TLC plates remained in the mixture. All synthesized compounds were characterized by spectroscopic methods one dimensional ^1H and ^{13}C NMR techniques.

Keywords: oximes, Wittig reaction, Vilsmeier formylation, spectroscopy

Sadržaj:

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DIO	2
2.1.	Prijetnje	3
2.2.	Koncept oksima.....	7
2.3.	Utjecaj toksičnosti oksima	11
2.4.	Novi reaktivatori	13
2.5.	Izazovan razvoj oksima.....	15
3.	REZULTATI I RASPRAVA.....	19
3.1.	Uvod.....	19
3.2.	Sinteza i spektroskopska karakterizacija furostilbena (1-3).....	21
3.2.1.	Priprava 2-furilnih heterostilbena (1-3)	21
3.2.2.	Identifikacija 2-furostilbena (1-3).....	22
3.3.	Sinteza aldehida (4-6) Vilsmeierovim formiliranjem	24
3.3.1.	Priprava formilnih derivata (4-6)	24
3.3.2.	Potvrda formilnih struktura (4-6) spektroskopskim metodama	25
3.4.	Sinteza novih 2-furostilbenskih oksima (7-9)	27
3.4.1.	Priprava cijano-, metoksi- i dimetilamino- oksima (7-9).....	27
3.4.2.	Spektroskopska karakterizacija 2-furilnih oksima (7-9).....	29
4.	EKSPERIMENTALNI DIO	33
4.1.	Opće napomene	33
4.2.	Organska sinteza stiril-furana.....	33
4.3.	Organska sinteza furan-2-karbaldehida.....	36
4.4.	Organska sinteza furan-2-karbaldehid oksima	39
5.	ZAKLJUČAK.....	46
6.	LITERATURA	47

1. UVOD

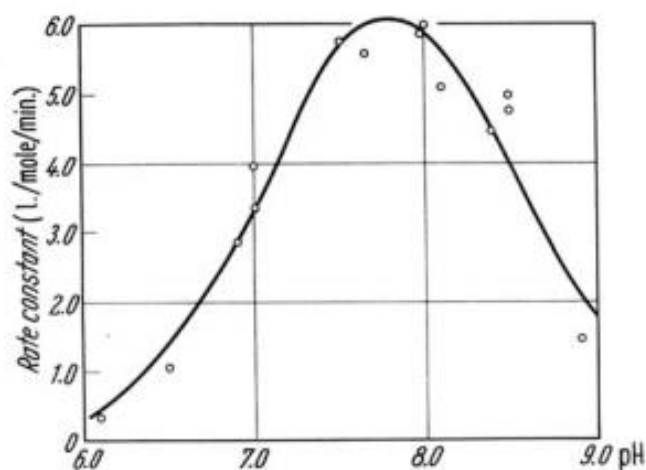
Organofosforovi (OP) pesticidi već su dugi niz godina u upotrebi diljem svijeta. U prošlosti, OP su korišteni kao kemijsko oružje, ali danas je njihova upotreba u tu svrhu znatno smanjena zbog brojnih konvencija koje ograničavaju ili zabranjuju njihovu upotrebu. Danas su sastavni dijelovi brojnih pesticida (insekticida i herbicida) te zbog svoje široke rasprostranjenosti predstavljaju veliku prijetnju za čitavu populaciju. Široka rasprostranjenost pesticida i OP zahtijeva razvoj lijekova koji će biti uspješni u liječenju otrovanja organofosforom. Upravo oksimi su se pokazali kao dobri reaktivatori za suzbijanje djelovanja OP spojeva. Oksimi koji su do sada otkriveni, ujedno i najkorišteniji; pralidoksim, obidoksim, TMB-4, HI-6 te MMB-4, ne pokazuju reaktivacijsku sposobnost i dobru djelotvornost u velikom broju otrovanja, stoga se neprestano javlja potreba za novim oksimima, tj. boljim reaktivatorima [1].

U ovom radu nastavljena su istraživanja oksima, koji bi mogli poslužiti kao novi potencijani reaktivatori. Sintetizirani su novi 2-furostilbenski oksimi, koji su dobiveni nakon provođenja Wittigove reakcije, Vilsmeierovog formiliranja te prevođenja aldehida u oksim. Novi oksimi okarakterizirani su jednodimenzionalnim ^1H i ^{13}C NMR spektroskopskim tehnikama.

2. TEORIJSKI DIO

Organofosforovi (OP) pesticidi predstavljaju veliku prijetnju za današnju populaciju. Oni se zbog svoje strukture ubrajaju u estere fosforne kiseline. Najčešće se koriste kao sastavni dijelovi raznih pesticida (insekticida i herbicida). Zbog njihove toksičnosti, tretmani koji uključuju liječenje od trovanja organofosforom predstavljaju veliki izazov u medicini. Liječenje koje se sada provodi u tu svrhu, sastoji se od lijekova koji sadrže atropin i oksim, koji služi kao reaktivator acetilkolinesteraze, inhibirane organofosforom. Acetilkolinesteraza je enzim koji katalizira raspad acetilkolina i drugih estera koji djeluju kao neurotransmiteri. Do sada otkriveni oksimi; pralidoksim, obidoksim, TMB-4, HI-6 te MMB-4, u nekim trovanjima pokazuju nedovoljnu djelotvornost, a često pokrivaju samo određeno područje pesticida i živčanih stanica [1].

Oksimski i neoksimski reaktivatori razvijeni su kako bi uklonili fosforilni dio s aktivnog mjesta serina na acetilkolinesterazi (AChE). Aktivno mjesto AChE sadrži dva podmjesta: anionsko i estersko. Mnogi oksimi su snažniji reaktivatori od hidrosiaminskih kiselina i to kada se pH vrijednost nalazi između 7 i 8. Reaktivaciju fosforilirane AChE s oksimom kontroliraju sljedeći čimbenici: koncentracija aniona reaktivatora i njegovo nukleofilno djelovanje, protoniranje kisele skupine na estersko mjesto fosforilirane AChE te stupanj komplementarnosti i jačina veze između aniona reaktivatora i fosforilirane AChE. Slika 1 prikazuje odnos između pH vrijednosti i brzine reaktivacije.



Slika 1. Ovisnost pH vrijednosti o reaktivaciji dietilfosforil-AChE monoisonitroacetonom (MINA) aJ 25° [2].

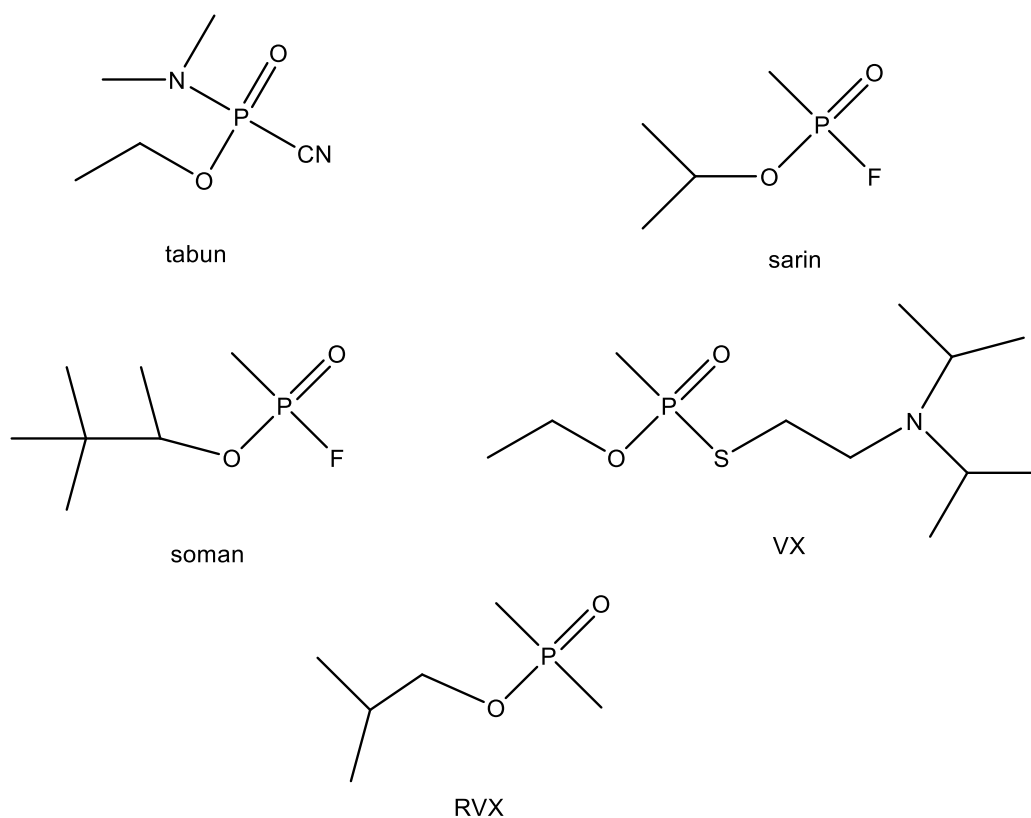
Apscisa prikazuje pH vrijednost, dok ordinata prikazuje omjer konstante reaktivacije prvog reda (k) i fiksne koncentracije (R) monoisonitrosoacetonu. Otvoreni krugovi na Slici 1 predstavljaju promatrane omjere. Također, Slika 1 prikazuje da je najveća brzina reaktivacije pri pH $\sim 7,8$ [3].

Upravo nukleofilni napad oksima vratit će aktivnost enzima, omogućiti AChE razdvajanje neurotransmitera koji vodi do smanjenja ili potpunog uklanjanja toksičnih posljedica nakon trovanja s OP [4]. Usprkos tome, rasprava o djelotvornosti oksima kao reaktivatora vodi se već desetljećima [5], ali na temelju prilično malog broja izvješća i istraživanja [6-14], što mnoge toksikologe ostavlja suzdržanima od upotrebe oksima, čak i u slučajevima ozbiljnog trovanja s OP pesticidima. Razlozi navodnog neuspjeha primjene oksima nisu u potpunosti razumljivi, ali su najvjerojatnije rezultat trovanja velikim dozama s visokim koncentracijama OP *in vivo*, što dovodi do zanemarive reaktivacije unatoč aktivnosti oksima. Također, ukoliko se ne počne na vrijeme s oksimskom terapijom, može doći do preranog starenja inhibirane AChE, nastalo otrovanje može biti uzrokovano s OP koji je otporan na reaktivaciju te pogrešno doziranje oksima također može dovesti do neuspješnog liječenja oksimskom terapijom [4,15]. Nadalje, različiti oblici poljoprivrednih OP, konzumacija alkohola te razni zdravstveni problemi pacijenata mogu dovesti do povećanja toksičnosti OP i smanjenja benefita oksima [16,17]. Na Šri Lanki je provedeno istraživanje akutnog samotrovanja Dimetoatom (*O,O*-dimetil S-metilkarbamoilmetil ditiofosfat) u okružnoj bolnici. Analizirana je krvna plazma kako bi se identificirao pesticid, a u pacijentima u kojima je identificiran Dimetoat, izmjeren je i alkohol u plazmi. Plazma kod 37 od 72 pacijenta tj. kod 51,4% pacijenata koji su otrovani Dimetoatom, sadržavala je alkohol koji se može detektirati. Srednja koncentracija Dimetoata u plazmi bolesnika koji su unosili alkohol iznosila je 479 mmol l⁻¹, dok je koncentracija Dimetoata u plazmi bolesnika koji nisu unosili alkohol iznosila 145 mmol l⁻¹. Koncentracija Dimetoata u plazmi je u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom alkohola u plazmi. Nakon ovoga istraživanja, jasno se može uočiti da je konzumacija alkohola povezana s višim koncentracijama Dimetoata u plazmi te da je za pojedince koji konzumiraju alkohol povećan rizik od smrti [18].

2.1. Prijetnje

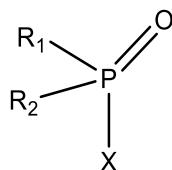
Organski kemičari već više od sto godina proučavaju fosfor i njegove spojeve. Sva ta istraživanja rezultirala su otkrićem raznih fosforovih spojeva, npr. fosfata, fosfonata, fosfina, ali rezultirala su i otkrićem velikog broja strukturno i toksikološki različitih OP spojeva [19-

21]. Jako otrovni OP se i dalje razvijaju i skladišteni su za upotrebu kao agensi za kemijsko ratovanje, a kemijsko oružje počinje se upotrebljavati još u Prvom svjetskom ratu. Glavna sredstva za kemijski rat u Prvom svjetskom ratu bila su razna nadražujuća sredstva, klor te fosgen. Osim njihovih izravnih učinaka na fizičko zdravlje, puno opasniji se pokazao strah koji je obuzimao vojnike. Procjenjuje se da je upotrijebljeno približno 125 000 tona kemijskog oružja, što je rezultiralo s oko 1,25 milijuna žrtava, od čega 90 000 do 100 000 smrtnih slučajeva. Kemijski agensi bili su uzročnici otprilike 4% smrtnosti vojnika, a zatim je uvođenjem zaštitnih protumjera smanjena učinkovitost kemijskog oružja. Nadražujuća sredstva uzrokovala su suženje očiju te otežano disanje, dok se s klorom i fosgenom situacija znatno mijenja. Njemačke trupe su 1915. godine u jedno popodne ispustile 168 tona klora, uz pomoć laganog povjetarca, prema suparničkoj strani. Kako je klor puno gušći od zraka, zadržavao se blizu tla i rovova te vrlo učinkovito tražio protivničku stranu. No, u tadašnje vrijeme s ispuštanjem klora nužno je bilo imati dobar „vjetar u leđa“. S obzirom da se oslobađanje klora iz cilindara oslanjalo na smjer vjetra, britanska vojska je 1915. godine umjesto na protivničku vojsku, klor pustila sama na sebe zbog nepovoljnog vjetra. S godinama slabi upotreba klora, a sve više se počinje koristiti fosgen. Fosgen je tri do četiri puta snažniji od klora te je zbog toga trebao postati najučinkovitiji od smrtonosnih sredstava koja su korištena u Prvom svjetskom ratu. Za razliku od klora, koji je prepoznatljiv po žutom-zelenom oblaku, fosgen je bio bezbojan, a mirisao je na pokošeno sijeno pa je bio manje prepoznatljiv, a početak njegovog toksičnog djelovanja, počinjao je tek nekoliko sati nakon doticaja sa čovjekom. U početku je fosgen puštan sam iz cilindara ili je miješan s klorom, ali je kasnije ukapljen i korišten u projektilima. Otprilike 36 000 tona fosgena je proizvedeno u Prvom svjetskom ratu. Unatoč strahu od suprotnog, u Drugom svjetskom ratu u Europi se nije koristilo kemijsko oružje. Svejedno, vodeće zemlje poput Njemačke i Velike Britanije izgradile su velike zalihe kemijskog oružja. Njemačka je proizvela približno 12 000 tona tabuna (Slika 2), a kasnije je modifikacija tabuna dovela do puno snažnijeg i hlapljivijeg sarina (Slika 2), koji je kasnije postao jedna od glavnih sastavnica suvremenog kemijskog oružja. U kasnijim poslijeratnim godinama, Ujedinjeno Kraljevstvo, SAD, Rusija i Francuska istraživali su analoge sarina i somana (Slika 2). Tako je Francuska izgradila postrojenja i nabavila male zalihe sarina, Velika Britanija zatim otkriva amiton, pesticid s nisko hlapljivim organofosforim pesticidom. SAD su razvijale VX (Slika 2) zbog njegove toksičnosti i stabilnosti pri skladištenju, a Sovjetski Savez razvio je R-33, koji se obično naziva RVX ili VR (Slika 2). Kasnije su razvijeni brojni dokumenti i propisi koji ograničavaju upotrebu kemijskog oružja [22].



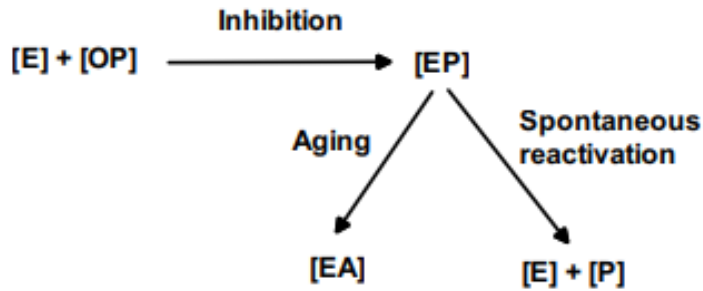
Slika 2. Prikaz kemijskih formula tabuna, sarina, somana, VX-a i RVX-a [22].

Sveobuhvatno razumijevanje toksičnosti i toksičnih svojstava OP struktura temelji su za razvoj učinkovitih terapija, ali i za procjenu protuotrova te za režim liječenja. Svi OP koji su klasificirani kao živčani agensi ili kao pesticidi inhibiraju AChE, a uspješnost inhibicije ovisi o strukturalnoj formuli OP spoja, tj. o njegovim supstituentima (Slika 3).



Slika 3. Struktura OP sa supstituentima R_1 i R_2 te s odlazećom skupinom X. U mnogim OP pesticidima kisik je zamijenjen sumporom kako bi se smanjila toksičnost za sisavce [1].

U postinhibitornim reakcijama, u kojima OP inhibira AChE, spontana reaktivacija i spontana dealkilacija (starenje) važni su čimbenici koji utječu na učinkovitost terapije, osobito kod oksima.



Slika 4. Shema reakcije između OP i AChE (E) [1].

Slika 4 prikazuje shemu reakcije između OP i AChE (E) koji zajedno daju inhibirani AChE (EP). Postinhibitorne reakcije mogu dovesti do spontane reaktivacije AChE (E) ili do starenja AChE (EA). Trovanje somanom dovest će do starenja AChE i neučinkovitosti oksimske terapije, dok prilikom umjerenog trovanja Dimetoatom, spontana reaktivacija inhibirane AChE može pozitivno pridonijeti djelovanju oksima. Posljedično, OP pesticidi i živčani agensi imaju zajednički mehanizam aktivacije; kovalentno vezanje za AChE i inhibicija njegove fiziološke funkcije, ali ovisno o strukturi i rezultirajućim fizikalno-kemijskim i biološkim svojstvima, mora se uzeti u obzir velika varijabilnost toksičnih učinaka pri odabiru oksimske terapije. Dakle, mora se uzeti u obzir velik broj čimbenika kako bismo odredili odgovarajuću terapiju.

Tablica 1. Pregled utjecaja različitih toksičnih svojstava OP i živčanih agensa na oksimsku terapiju [1].

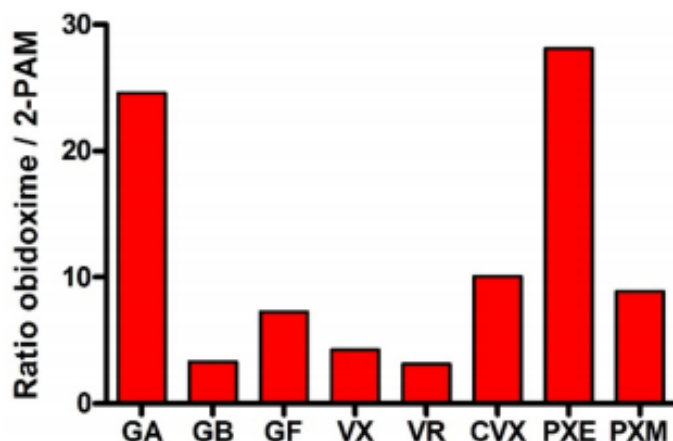
OP subclass	OP	Primary route of exposure	Onset of toxic signs	Agent persistence	Oxime efficacy (AChE reactivation) ^a	Duration of (oxime) therapy
Nerve agents	Sarin	Inhalation	Rapid (min)	Low	Rapid	Initial emergency administration
	Tabun	Inhalation	Rapid (min)	Low	Slow, partial	
	Soman	Inhalation	Rapid (min)	Low	Absent, (aging)	
	VX	Percutaneous	Delayed (h)	High	Rapid	Prolonged (days)
Pesticides	Diazinon (parathion)	Oral (suicide)	Rapid (min)	Moderate to high	Rapid	Prolonged (days) in case of high OP body load
	Malathion, dimethoate	Oral (suicide)	Delayed (h)	Moderate to high	Rapid, may be absent due to rapid aging	Prolonged (days) in case of high OP body load and incomplete aging
	Profenofos	Oral (suicide)	Delayed (h)	Unknown	Absent (aging)	Initial emergency administration

Iz Tablice 1 možemo iščitati način na koji se pojedini pesticid ili živčani agens unosi u tijelo, zatim kojom brzinom počinje djelovati, kolika mu je otpornost, kolika je efikasnost oksima te trajanje oksimske terapije. Tako vidimo da se sarin, tabun i soman unose u tijelo udisanjem te da počinju djelovati već nakon nekoliko minuta. Kod sarina je reaktivacija AChE vrlo brza, dok je kod somana prilično spora i može trajati godinama.

2.2. Koncept oksima

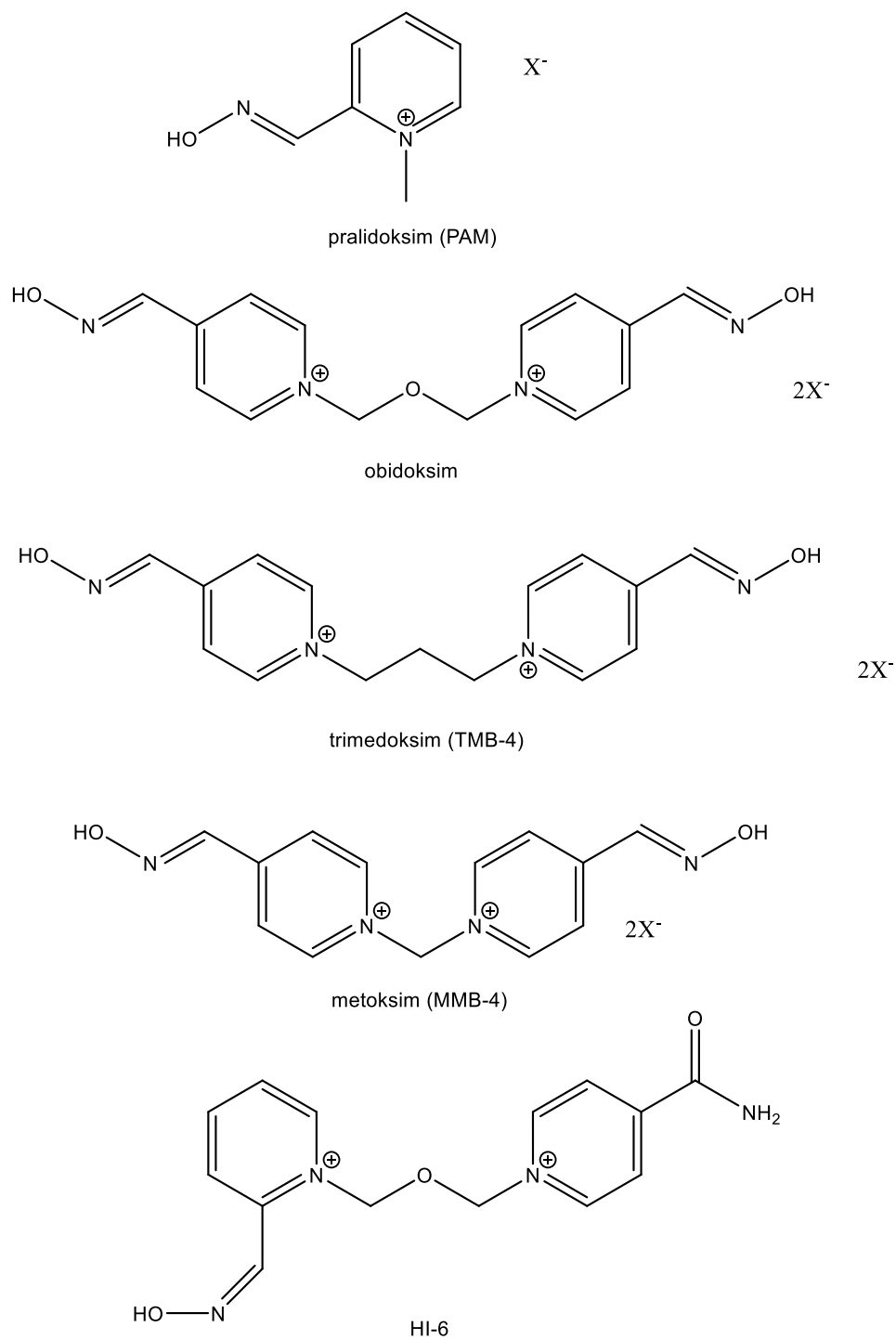
Antimuskarinici, pogotovo atropin, vrlo su važni za suzbijanje djelovanja OP spojeva. Prekomjerna stimulacija na muskarinske receptore može riješiti ozbiljne toksične simptome dišnog sustava, depresiju, bradikardiju, bronhokonstrikciju itd. [23]. Atropin se može smatrati generičkim protuotrovom i učinkovit je protiv svih OP [1]. Već na početku razvoja oksima, eksperimentalni i klinički podaci ukazuju na to da oksimi djeluju ograničeno pod raznim okolnostima [24]. Ispostavilo se da dostupni oksimi, 2-PAM i obidoksim (Slike 5 i 6), reaktiviraju AChE, inhibiran od različitih OP, na različiti način te da ne uspijevaju reaktivirati ostarjeli AChE i samim time djelotvornost njihovog tretmana na trovanje OP pesticidima postaje neizvjesno [25-30]. Ovime, obidoksim pokazuje znatno veću reaktivacijsku snagu u

usporedbi s 2-PAM s raznim živčanim agensima i pesticidima, ali također ne uspijeva ponovno aktivirati inhibirani soman AChE (Slika 5) [31].



Slika 5. Omjer konstanti brzine reaktivacije bimolekula kr2 obidoksima i 2-PAM za GA tabun, GB sarin, GF ciklosarin, VX, VR, Ruski VX, CVX kineski VX, PXE paraokson-etil i PXM paraokson-metil [1].

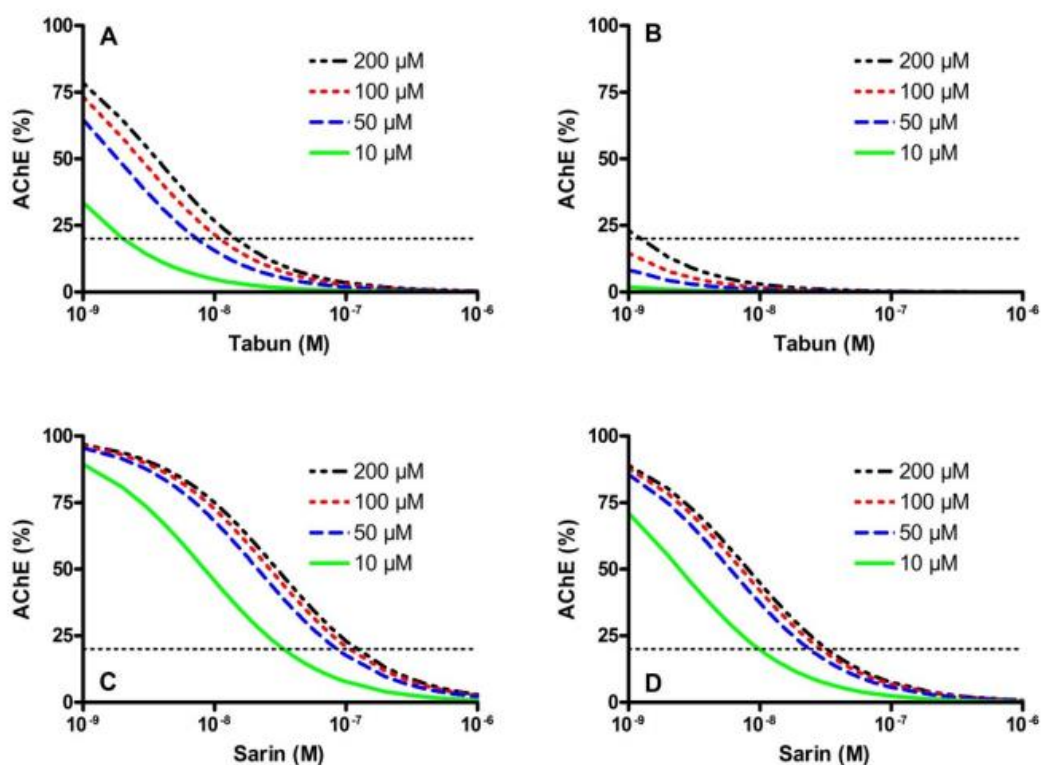
Trenutno je pralidoksim (2-PAM, P2S) najkorišteniji oksim, dok su obidoksim i TMB-4 ograničeni za korištenje u tek nekoliko zemalja [32]. Samo dva bispiridinijeva oksima, MMB-4 i HI-6, sintetizirana su 1959. godine, a 1968. godine [33,34] počinju se intenzivnije razvijati i smatraju se potencijalnom zamjenom za 2-PAM, za liječenje otrovanja živaca [35]. Mnogi oksimi nikada nisu stigli do ovog stadija iz razloga što je ovo područje još uvijek nedovoljno poznato, ali naravno i zbog ograničenih financijskih sredstava. Analog HI-6 (Slika 6) je HLö 7 koji na jednom prstenu piridina ima dvije oksimske skupine u položajima 2 i 4. Smatralo se da HLö 7 ima veću reaktivacijsku snagu u usporedbi s HI-6 te dobru terapijsku efikasnost protiv različitih živčanih sredstava, uključujući tabun [36,37].



Slika 6. Kemijske strukture oksima koji su razvijeni 1950-ih i 1960-ih godina [1].

Unatoč velikom broju provedenih eksperimenata na oksimima, malen je broj oksima koji se mogu koristiti u kliničkoj primjeni ili naprednom razvoju, stoga se javlja stalna potreba za boljim reaktivatorima [1].

Učinak koncentracije OP struktura može se simulirati teoretskim proračunima na temelju kinetičkih konstanti i farmako- i toksikokinetičkih parametara [38] i to u odgovarajućim *in vitro* modelima. Predstavljeni su modeli za izračun stabilnih stanja aktivnosti AChE u prisutnosti različitih koncentracija OP i oksima te za procjenu koncentracije oksima koja je potrebna za postizanje definirane razine reaktivacije AChE [39-41]. Ispitivanja su pokazala da će se za reaktivaciju AChE potrebna koncentracija oksima mijenjati za različite OP. Slika 7 prikazuje učinak povećanja koncentracije tabuna i sarina na reaktivaciju AChE obidoksimom i 2-PAM-om [1].



Slika 7. Učinak povećanja koncentracije tabuna i sarina na reaktivaciju AChE obidoksimom i 2-PAM-om [1].

Izračunate vrijednosti aktivnosti AChE, u ustaljenom stanju, prikazane su u prisutnosti tabuna (a i b) ili sarina (c i d) i obidoksima (a i c) ili 2-PAM-a (b i d). Izračuni se temelje na eksperimentalnim konstantama reaktivacije obidoksima (tabun: $kr=0,04 \text{ min}^{-1}$, $KD 97,3 \text{ } \mu\text{M}$; sarin: $kr=0,937 \text{ min}^{-1}$, $KD 31,3 \text{ } \mu\text{M}$) i 2-PAM (tabun: $kr=0,01 \text{ min}^{-1}$, $KD 695 \text{ } \mu\text{M}$; sarin: $kr=0,25 \text{ min}^{-1}$, $KD 27,6 \text{ } \mu\text{M}$) i konstante brzine inhibicije bimolekularne ki tabuna ($7,4 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$) i sarin ($2,7 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$) [42] i izvedeni su za koncentracije oksima od 10–200 μM. Točkasta vodoravna linija nalikuje rezanju aktivnosti AChE (20%) [4]. Zbog diferencijalne

reaktivacijske snage ovih oksima, preporučene terapijske koncentracije su u početku bile 10 μM obidoksima i $\sim 30 \mu\text{M}$ pralidoksima, dok je sada predložena koncentracija $\sim 100 \mu\text{M}$ pralidoksima [16,18,39,43] i postići će određenu aktivnost AChE samo pri niskim koncentracijama nanomolarnih tabuna (obidoksima) ili će zakazati. Konačno, odabir izvora AChE ima glavnu ulogu na djelotvornost oksima. Razne studije pokazale su djelomično značajne i teško predvidive razlike u kinetici reaktivacije ovisno o vrsti OP i oksima [1,44-48].

2.3. Utjecaj toksičnosti oksima

Danas postoje rijetki podaci o toksičnosti oksima u neotrovanim ljudima i uglavnom su nusproizvod farmakokinetičkih istraživanja. Samo su 2-PAM (P2S), TMB-4, obidoksim i HI-6 testirani na ljudima i primijećene su samo blage do umjerene nuspojave (cirkulacijske, osjetne te gastrointestinalne), a TMB-4 se smatra najotrovnijim od navedenih oksima [49-55]. Iako su ljudi koji nisu bili otrovani s OP, pokazivali dobru toleranciju na oksime, neki izvještaji pretpostavljaju da oksim 2-PAM i obidoksim mogu uzrokovati neočekivane srčane efekte kod pacijenata koju su otrovani s OP. U dva slučaja, prilikom suicidalnog trovanja s OP, zastoj srca pripisan je primjeni 2-PAM-a [56], a detaljnijim istraživanjem Finkelstein i suradnici primijetili su visoku učestalost srčanih aritmija kod bolesnika koji su liječeni visokim dozama obidoksima [1]. Tijekom razdoblja od 1981. do 1986. godine, iz Izraelskog nacionalnog centra za otrove, zatraženo je 38 888 konzultacija. Među njima je 856 slučajeva bilo povezano s izloženošću OP insekticidima, od kojih je 53 slučaja uključeno u istraživanje. Od 53 spisa, 20 spisa nije bilo dostupno, 8 slučajeva je isključeno iz studije jer su bolesnici umrli prije nego što su dobili odgovarajuću medicinsku skrb. Starost se kretala od 1 do 73 godine, a svi slučajevi do 9 godina bili su posljedica slučajnog trovanja, dok su svi slučajevi između 15 i 18 godina bili pokušaji samoubojstva. Sva 53 slučaja bila su obrađena i zbrinuta na odgovarajući način. Progutani OP uklonjeni su ispiranjem želuca uz zaštitu dišnih puteva, ukoliko je bilo potrebno. Izloženost kože OP uklanjala bi se snažnim pranjem kože, kose i noktiju blagim alkalnim sapunom i obilnom količinom tople vode. Atropin je korišten za liječenje muskarinskog sindroma (Slika 8). Jedine smjernice za doziranje atropina bile su postojanje izražene bradikardije ili bronhoreje, a pacijenti koji su bili cijanotični prije svake doze atropina, dobili su 100% kisik. Jedini oksim koji se koristio bio je obidoksim. Obidoksim se davao u brzom infuziranju tijekom 20 minuta kako je opisano na Slici 8. Kliničko praćenje uključivalo je detaljne neurološke preglede s odvojenim procjenama

središnjeg živčanog sustava; kontinuirano praćenje EKG i praćenje Q-T intervala. Analizirani su i jetreni enzimi i funkcije bubrega.

ANTIDOTAL TREATMENT PROTOCOL	
1.	Atropine: – for children: 0.03–0.05 mg/kg (IV); – for adults: 2 mg (IV). In intervals of 10 min or more, until bronchospasm and bronchorrhea are controlled.
2.	Obidoxime: – in mild cases: 4 mg/kg every 6 hours; – in severe cases (artificially ventilated patients): 6 mg/kg every 4 hours.

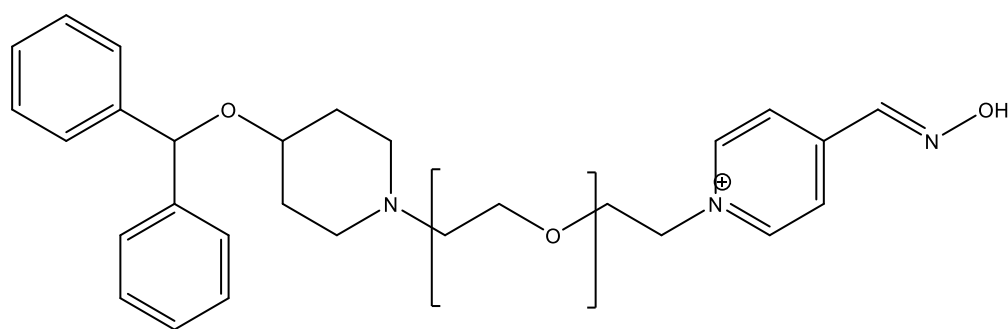
Slika 8. Prikaz doziranja atropina i obidoksima prilikom istraživanja [57].

Konačno, rezultati su pokazali da od 53 bolesnika, njih 22 (41,5%) je imalo srčane aritmije, četvero (18%) je imalo supraventikularne aritmije, šestero (27%) ih je imalo asimptomatski produljeni Q-T interval, četvero (18%) imalo je ventrikularnu tahikardiju, četvero ih je umrlo, a ostala četiri pacijenta imala su aritmiju koja je bila uspješno kontrolirana. Učestalost srčanih aritmija korelirala je s doziranjem atropina i obidoksima. Srčane aritmije bile su prisutne kod svih šestero pacijenata koji su liječeni visokim dozama atropina i obidoksima. U 47 bolesnika koji su primali relativno nisku koncentraciju obidoksima, učestalost srčanih aritmija bila je proporcionalna dozi atropina. U šest slučajeva asimptomatskog produljenja Q-T intervala nema korelacije između produljenja Q-T intervala i razine obidoksima. Usprkos rezultatima istraživanja, postoje dobri razlozi za korištenje niskih doza obidoksima. Niske doze oksima imaju antikolinergični učinak, dok visoke doze mogu inhibirati aktivnost AChE. Cijelo ovo istraživanje razvija tezu; ako se odmah započne s liječenjem kako bi se izbjegla oštećenja mozga zbog respiratornog zatajenja s jedne strane i oštećenja mozga zbog zastoja kardiocirkulacije s druge strane, pacijentova prognoza uglavnom ovisi o dostupnosti dobre zdravstvene skrbi uz odgovarajuću terapiju lijekovima [57].

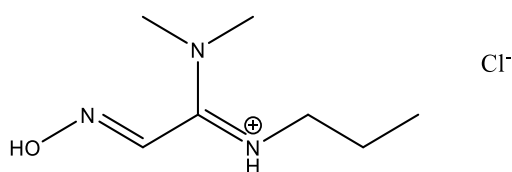
Međutim, ta istraživanja nisu prikladna za izravnu povezanost oksima i patoloških srčanih učinaka. Utjecaje na kardiovaskularni sustav mogu imati i drugi lijekovi poput atropina. U konačnici, pravilna procjena toksičnosti novih reaktivatora je iznimno bitna i potencijalne razlike između zdravih dobrovoljaca i pacijenata otrovanih OP moraju se uzeti u obzir kako bi se što bolje razvili i odabrali novi oksimi. Međutim, bez obzira na uspjeh oksima, terapije oksimom snažno će se oslanjati na dodatne čimbenike. Dakle, oksimi se ne mogu smatrati neovisnim i samostalnim lijekom, ali su uvijek dio terapijskog koncepta.

2.4. Novi reaktivatori

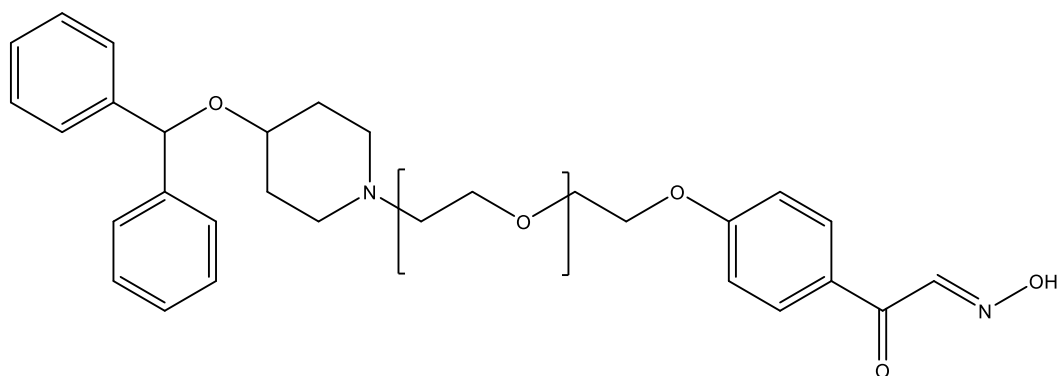
U posljednjih 10 do 15 godina predstavljani su novi reaktivatori, prvenstveno oksimi (Slika 9, spojevi 1-6), ali u novije vrijeme i reaktivatori koji nisu oksimi (Slika 10, spojevi 7 i 8).



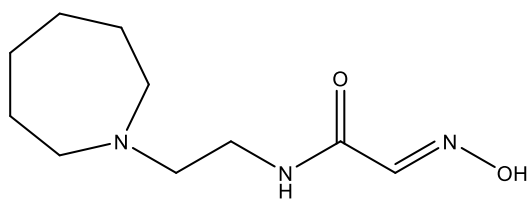
spoj 1



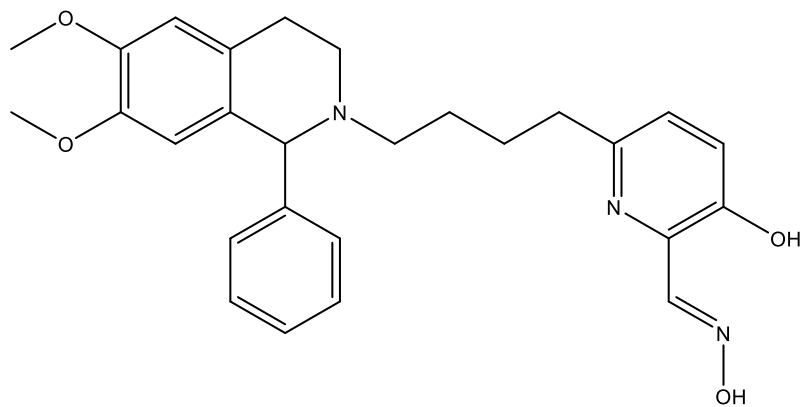
spoj 2



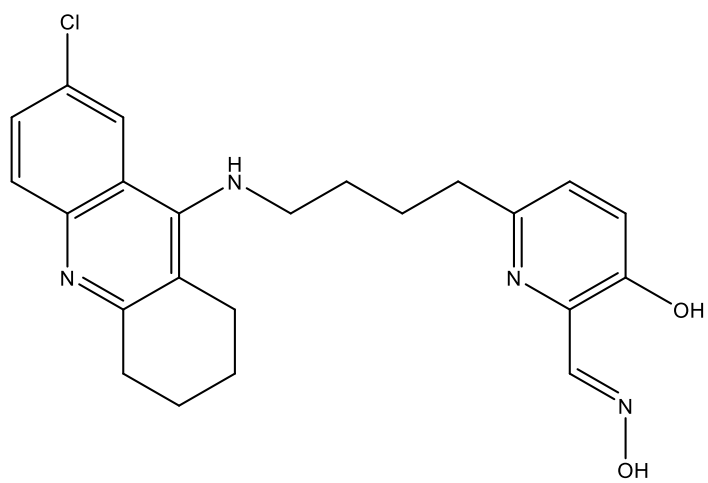
spoj 3



spoj 4

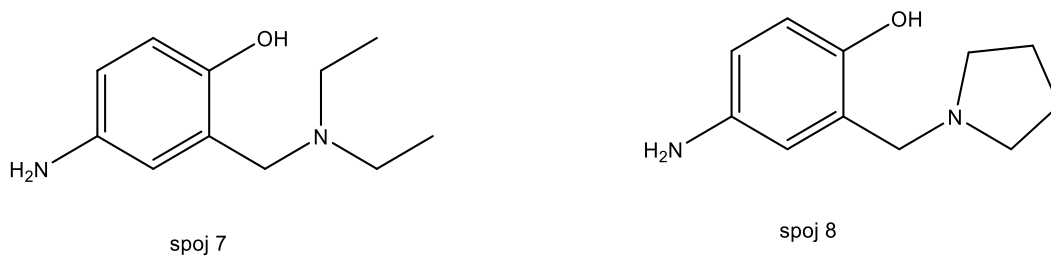


spoj 5



spoj 6

Slika 9. Strukture novih oksimskih reaktivatora [1].



Slika 10. Strukture novih neoksimskih reaktivatora [1].

Nova istraživanja bila su usmjerena na identificiranje učinkovitijih reaktivatora širokog spektra i spojeva koji lako prodiru kroz krvno-moždanu barijeru. Predstavljena je velika serija nenabijenih, zwitterionskih oksima, čiji je glavni cilj pružiti reaktivatore središnjeg djelovanja. Među njima je spoj 4 (Slika 9), za koji se smatralo da je nova vodeća molekula, ali utvrdilo se da je slab reaktivator paraoksona, sarina, ciklosarina, VX-a i tabuna i u većini slučajeva je manje učinkovit od 2-PAM.

2.5. Izazovan razvoj oksima

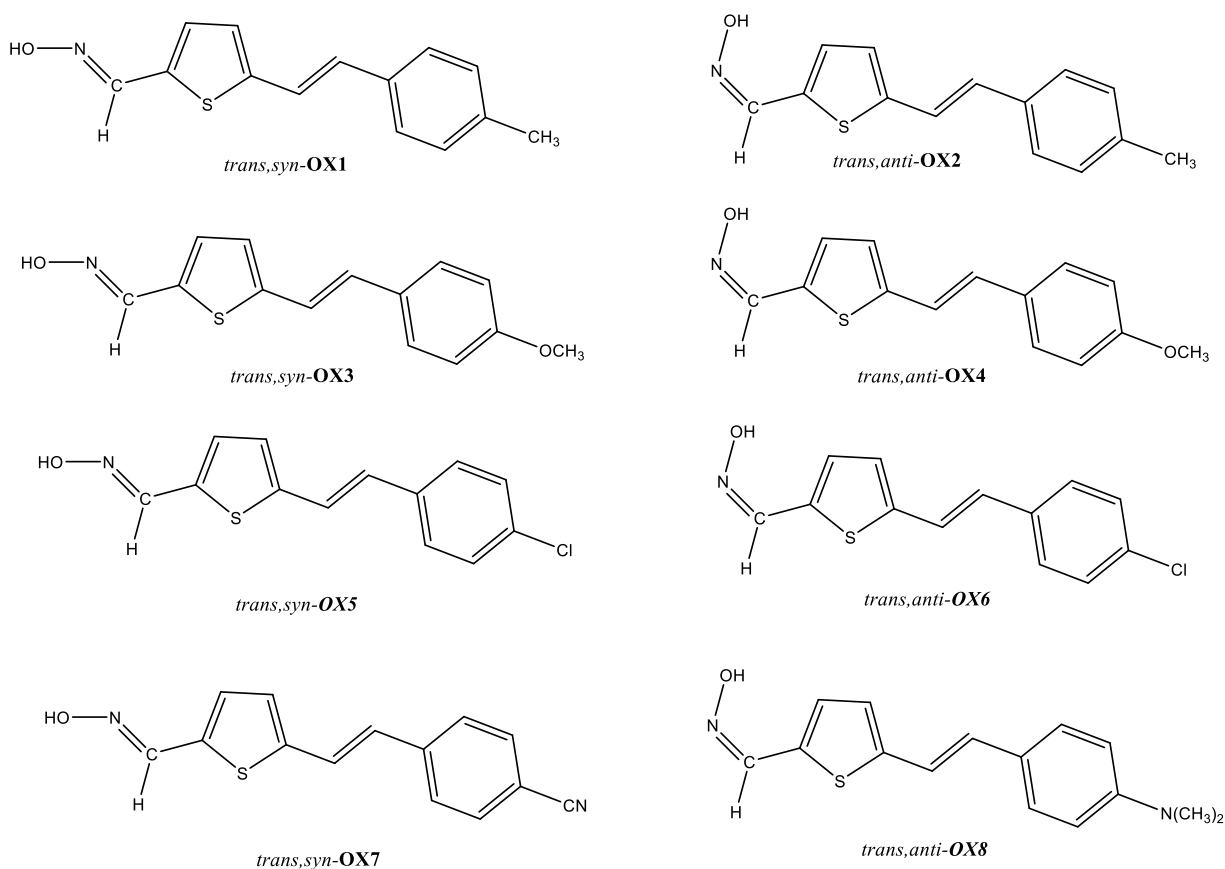
Otkriće pralidoksima (2-PAM) 1955. godine te njegova brza implementacija u kliničku upotrebu bila je prekretnica za razvoj učinkovitijih terapija trovanja s OP. Interes za nove oksime ponovno se povećao prije nekih 10-15 godina, što je opet dovelo do objave velikog broja oksima, a u novije vrijeme i neoksimskih reaktivatora. Unatoč otkriću preko tisuću spojeva, samo pet oksima; 2-PAM, obidoksim, HI-6, TMB-4 i MMB-4, koriste se u naprednom razvoju ili u civilnim i vojnim medicinskim službama. U posljednjih šest desetljeća razvoj i istraživanje oksima financirale su prvenstveno vojne organizacije i bile su usredotočene na poboljšanje terapije protiv živčanih otrova, prije svega na soman i tabun. Naglasak je stavljen na hitno liječenje vojnog osoblja a manje na naknadnoj terapiji u vojsci ili nekoj civilnoj medicinskoj ustanovi. Sukladno tome, namjena u vojnoj zajednici trebala bi olakšati licenciranje novog oksima jer nema potrebe razmatrati rizične skupine kao što su djeca, starije osobe i trudnice. S druge strane, fokus na isključivo vojnoj upotrebi ograničava količinu nabave i nije primamljiv za farmaceutske industrije. Posljedično, napredni razvoj i licenciranje obavljaju vojne organizacije što može biti jedan od razloga dugotrajnog procesa razvoja novih lijekova s HI-6 ili MMB-4 kao aktivnim sastojcima. Odabir i primjena novih i učinkovitijih oksima za liječenje trovanja s OP suočava se s različitim izazovima. Unatoč velikom broju pacijenata kojima je potreban učinkovit medicinski tretman, kontroverza o

dobrobiti oksima i nespremnost farmaceutske industrije da se bavi razvojem i istraživanjem oksima, ometaju širu i optimiziranu uporabu utvrđenih oksima (2-PAM i obidoksima).

„Velika petorka“; 2-PAM, obidoksim, HI-6, TMB-4 i MMB-4 imaju brojne nedostatke. Različita reaktivacijska sposobnost, ograničen spektar reaktivacijskih agensa, loše prodiranje kroz krvno-moždanu barijeru te ograničena stabilnost glavni su nedostaci postojećih oksimskih reaktivatora. S obzirom na ove nedostatke sasvim je jasno da trebamo bolje reaktivatore, ali trenutna saznanja i provedena istraživanja ne daju odgovore na pitanje koji je oksim superiorniji u odnosu na klasične oksime, posebno u odnosu na obidoksim i HI-6.

Unatoč dugotrajnim i opsežnim istraživanjima o njihovoj alternativi, oksimi će ostati vitalna komponenta za liječenje OP trovanja. Oksimi u upotrebi („velika petorka“) imaju dobro poznata ograničenja i učinkovitiji su reaktivatori u odnosu na širok spektar OP živčanih agensa i pesticida pokazujući poboljšani prodor krvno-moždane barijere. Do sada nije otkriven niti jedan oksim ili neoksimski reaktivator koji pokazuje bolja svojstva od utvrđenih oksima. Istraživanje budućih reaktivatora trebalo bi uključivati nova sredstva i pesticide kako bi se otkrili što učinkovitiji reaktivatori. Napredni razvoj, licenciranje i nabava mogućih kandidata za reaktivatore ovisit će o raspoloživim resursima, a s obzirom na iskustva s HI-6 i MMB-4, to će najvjerojatnije biti dugotrajan proces [1].

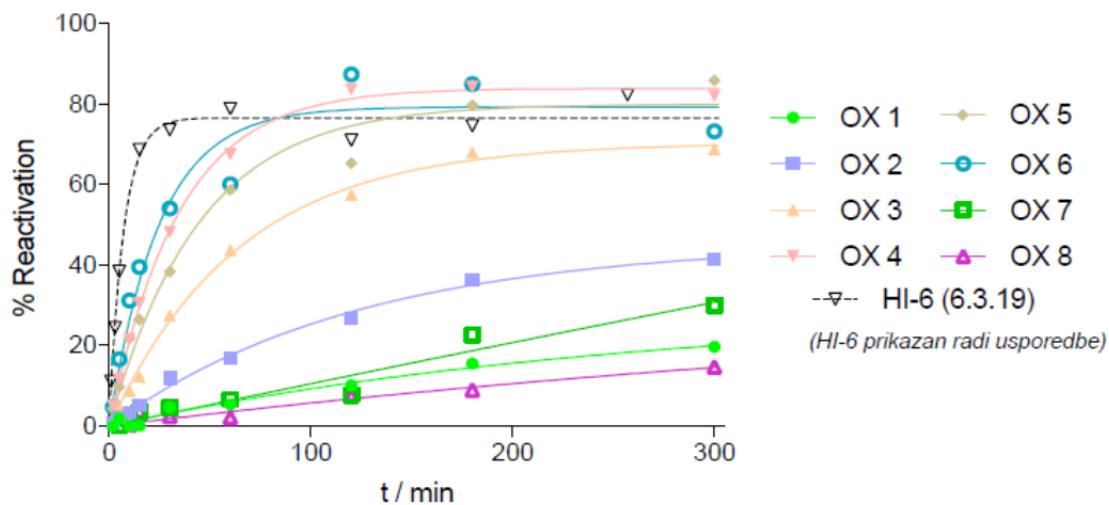
U našem laboratoriju priređen je tijekom 2020. godine niz neutralnih različito supstituiranih 2-tienilnih heterostilbenskih oksima **OX1-OX8** (Slika 11) [58] te su na njima provedena preliminarna istraživanja njihovog potencijala kao reaktivatora. Kako se vidi na Slici 11, u ovom nizu oksima, kao glavni 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 11. Strukture oksima **OX1-OX8**.

Preliminarni eksperimentalni rezultati pokazali su da su oksimi **OX3-OX6** reaktivatori ciklosarinom inhibirane butirilkolinesteraze (Slika 11), što je izvrsna polazna informacija za sintezu novih sličnih 2-furilnih heterostilbenskih oksima, novih potencijalnih reaktivatora kolinesteraza obuhvaćenih ovim završnim radom.

**Reactivation screens of cyclosarin-inhibited hBChE_{WT}
by OX1-OX8 oximes (0.1mM)**

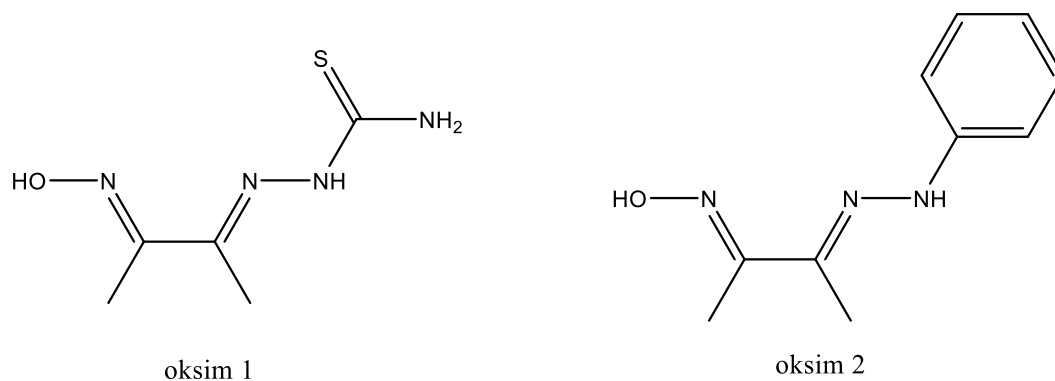


Slika 12. Profil reaktivacije ciklosarinom inhibirane BChE oksimima **OX1-OX8** u usporedbi s reaktivacijskim potencijalom HI-6.

3. REZULTATI I RASPRAVA

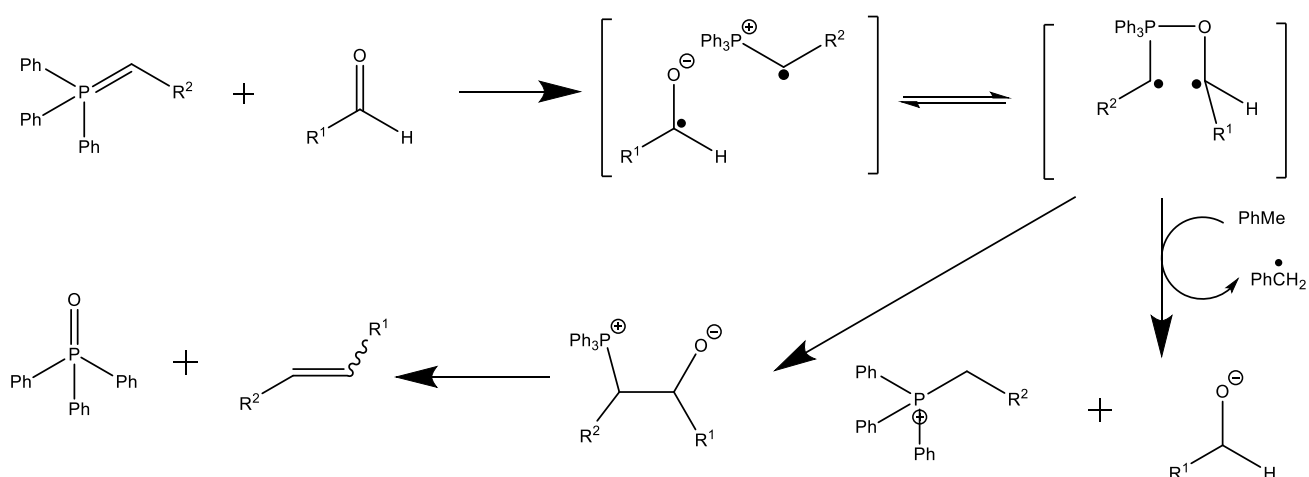
3.1. Uvod

Oksimi mogu naći primjenu u mnogim područjima s obzirom na to da se koriste kao insekticidi, herbicidi, bojni otrovi te lijekovi. Posebno je zanimljiva primjena oksima u liječenju otrovanja uzrokovanih OP. Nepovratno kovalentno vezanje OP za aktivno mjesto na acetilkolinesterazi (AChE) inhibira fiziološke funkcije AChE, stoga je potrebno naći oksim koji će nukleofilnim napadom vratiti aktivnost enzima AChE i smanjiti ili/i potpuno ukloniti toksične posljedice koje su nastale kao rezultat trovanja organofosforom. Acetilkolinesteraza je enzim koji služi kao katalizator u reakciji raspada acetilkolina ili drugih estera koji djeluju kao neurotransmiteri [1]. Alzheimerova bolest progresivni je poremećaj koji nastaje kao posljedica disfunkcije kolinergičnog sustava ili kao posljedica smanjene razine acetilkolina u mozgu [59]. Pacijenti oboljeli od Alzheimerove bolesti suočavaju se gubitkom orijentacije u prostoru, s gubitkom pamćenja te s brojnim drugim negativnim posljedicama. Alzheimerova bolest se ne može izliječiti, ali postoje lijekovi koji mogu zaustaviti daljnju progresiju bolesti i olakšati simptome. Lijekovi koji se trenutno koriste uključuju inhibitore kolinesteraza, a posebno reverzibilne inhibitore acetilkolinesteraze. Utvrđeno je da kod Alzheimerove bolesti opada aktivnost AChE, koja bi se mogla povratiti vezanjem oksima [59]. Provedena su istraživanja u kojima je uspoređena reaktivacijska snaga dvaju novih oksima (oksim 1: butan-2,3-dionetiosemikarbazon i oksim 2: 3-(fenilhidrazono)butan-2-on) koji bi se koristili u suzbijanju inhibicije AChE, izazvane klorpirifosom, diazinonom i malationom. Dobro poznati oksimi (obidoksim i pralidoksim) korišteni su kao kontrola. Za istraživanje je korištena ljudska krv te različite koncentracije oksima. Rezultati su pokazali da je obidoksim učinkovitiji u reaktiviranju inhibicije AChE, inducirane OP spojevima. Međutim, oba novorazvijena oksima postigla su slične brzine reaktivacije kao pralidoksim. Tako da se može zaključiti da su oba novonastala oksima perspektivni reaktivatori AChE [60].



Slika 13. Strukture dvaju novih oksima koji su perspektivni reaktivatori AChE [60].

U ovom radu Wittigova reakcija je polazna reakcija za sintezu oksima, a njezin mehanizam prikazan je na Shemi 14.



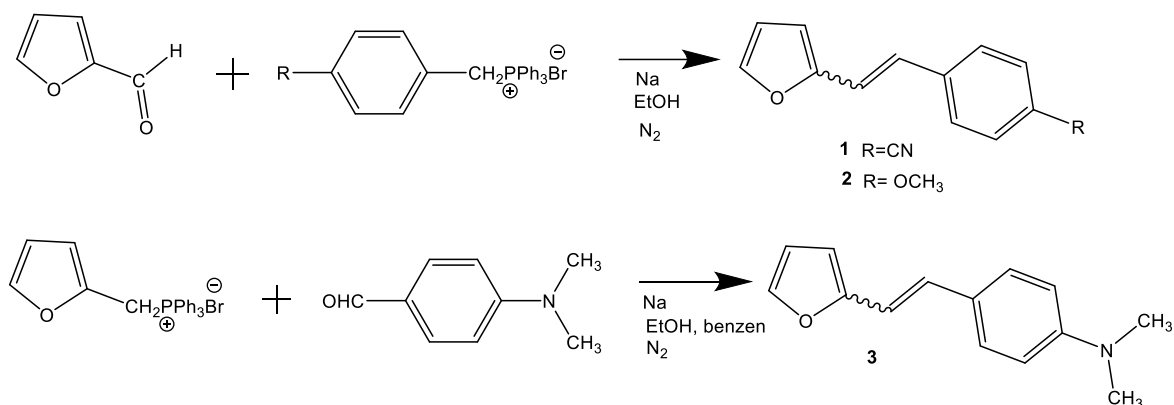
Shema 14. Predloženi mehanizam za Wittigovu reakciju koja uključuje prijenos elektrona s ilida na karbonilne vrste [61].

Vilsmeierovim formiliranjem, iz Wittigovih produkata dobivamo odgovarajuće aldehide koji se zatim prevode u oksime.

3.2. Sinteza i spektroskopska karakterizacija furostilbena (1-3)

3.2.1. Priprava 2-furilnih heterostilbena (1-3)

Za sintezu 2-furilnih heterostilbena korištena je Wittigova reakcija (Shema 15).



Shema 15. Sinteza 2-furilnih heterostilbena (1-3).

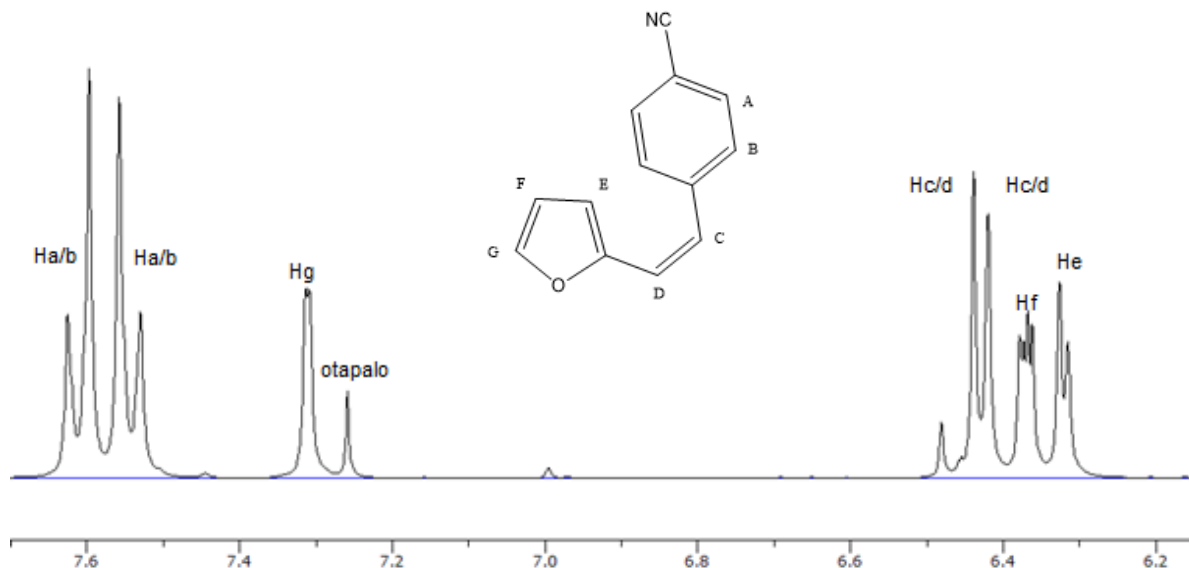
U troglu tikvicu dodan je etanol, a zatim se u etanolu otope soli (*p*-cijanofosfonijeva sol, *p*-metoksifosfonijeva sol, furil-fosfonijeva sol). Reakcijskoj smjesi dodaje se, kap po kap, natrij otopljen u apsolutnom etanolu. Prilikom dodavanja natrijevog etoksida u etanol, reakcijska smjesa se razbistri i poprimi intenzivno žutu boju. Zatim se smjesi dodaju aldehidi (furfural, *p*-dimetilaminoaldehyd) i reakcija se ostavlja preko noći. Nakon 24 sata, slijedi uparavanje Wittigovih produkata te ekstrakcija u toluenu (3x30 mL). Organski sloj se nakon ekstrakcije suši u bezvodnom MgSO₄, a Wittigovi produkti se izoliraju tankoslojnom i kolonskom kromatografijom, koja je provedena na silikagelu, uz eter/petrol eter kao eluens.

Nakon provedene kolonske kromatografije, Wittigov produkt sa cijano-supstituentom daje 770,5 mg (76%) smjese izomera (*cis*-**1**, *trans*-**1**), od koje je nakon kolonske kromatografije dobiveno 588,3 mg (58%), čistog, *cis*-**1** izomera i 182,2 mg (18%) čistog *trans*-**1** izomera pa se može zaključiti da Wittigova reakcija za cijano-supstituent favorizira nastanak *cis* izomera. Što se tiče metoksi-supstituenta, nakon kolonske kromatografije dobiveno je 977 mg (93,9 %) smjese izomera (*cis*-**2**, *trans*-**2**), od koje je nakon kolonske kromatografije izolirano 79 mg, (7,6%) čistog *cis*-**2** izomera i 148 mg (14,2%) čistog *trans*-**2** izomera. Nakon provedene kolonske kromatografije sa trećim supstituentom, dimetilamino-, dobiveno je 158 mg (22%) *trans*-**3** izomera. Provođenjem Wittigove reakcije sa *p*-dimetilaminoaldehydom i furil-

fosfonijevom soli kao reaktantima, ne nastaje *cis*-izomer. Zbog slabog iskorištenja reakcije, Wittigova reakcija sa *p*-dimetilaminoaldehidom i furil-fosfonijevom soli, koja je prvotno rađena u etanolu, ponovljena je u benzenu. Nakon kolonske kromatografije dobiveno je 38,7 mg (5,4%) smjese *cis*- i *trans*-izomera. Konkretno za dimetilamino-, upotreba benzena kao otapala ne povećava iskorištenje reakcije, ali pospješuje nastanak *cis*-izomera koji u etanolu nije nastajao. Dimetilamino-supstituent poseban je i po tome što nakon stajanja na TLC pločici, u dodiru sa silikagelom, mijenja boju te prelazi iz bezbojne masne mrlje u masnu maslinasto zelenu mrlju.

3.2.2. Identifikacija 2-furostilbena (1-3)

Za sve Wittigove produkte u ^1H NMR spektru javljaju se signali vodike u aromatskom prstenu u području od 7,61 ppm do 7,31 ppm te oni tvore dublete, vodici sa furanskog prstena daju jedan dublet dubleta te dva dubleta. Za sve Wittigove produkte, signali za dublete dubleta javljaju se u području od 6,42 ppm do 6,32 ppm. Položaji 3 i 4 na furanskom prstenu, daju signale u etenskom području, od 6,45 ppm do 6,28 ppm, dok položaj 5 daje signal u aromatskom području, od 7,44 do 7,37 ppm. Signale dvostruke veze prepoznamo po konstantama sprege. Konstanta sprege za *cis*-izomer iznosi od 11 do 12 Hz-a, a konstanta sprege za *trans*-izomer iznosi od 15 do 16 Hz-a. Kod spojeva *cis*-1 i *trans*-1, u ^1H NMR spektru nema signala ispod 6 ppm, dok se kod spojeva *cis*-2 i *trans*-2 javlja signal metoksi-skupine na 3,80 ppm, a kod spoja *trans*-3 na 3,06 ppm javlja se signal koji označava dimetilamino-skupinu. Što se tiče ^{13}C spektra, spojevi *cis*-1 i *trans*-1 daju četiri signala za kvaterne ugljike, tj. četiri singleta te sedam dubleta, dok spojevi *cis*-2 i *trans*-2 daju tri signleta za kvaterne ugljike, jedan kvartet za metoksi-skupinu te sedam dubleta.



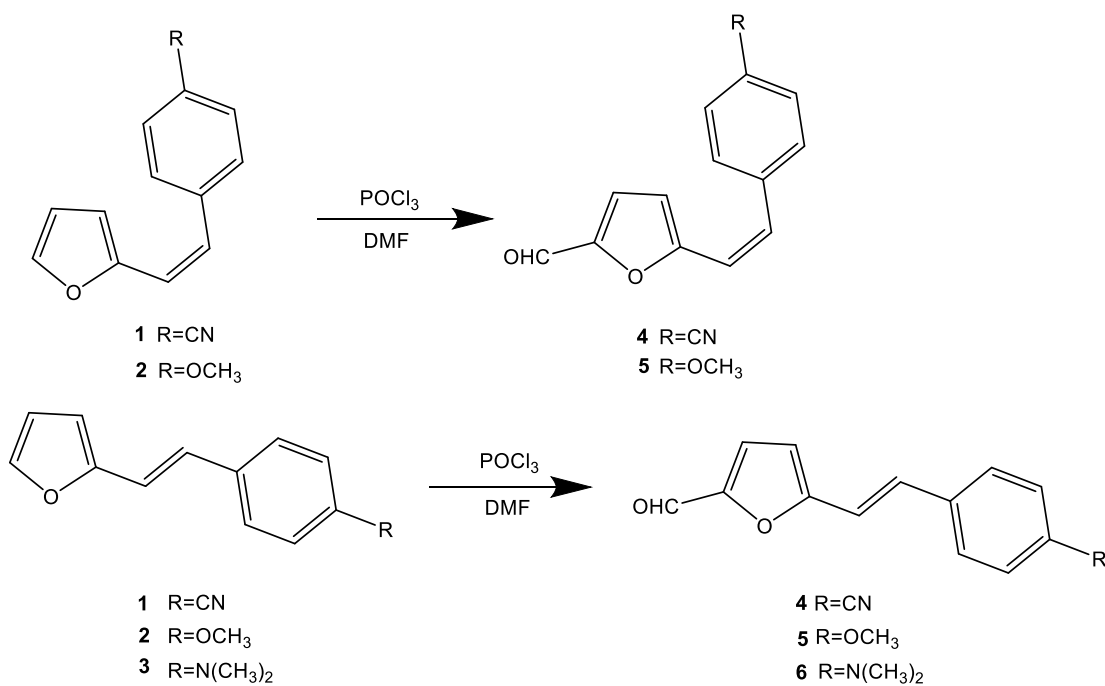
Slika 16. ^1H NMR (CDCl_3) spektar (*cis*-**1**).

Slika 16. prikazuje ^1H NMR spektar čistog *cis*-**1** spoja. Dubleti koji su prikazani simboli $\text{H}_{a/b}$ označavaju signale protona u aromatskom prstenu, dublet označen simbolom H_g označava proton koji je na furanskom prstenu vezan na položaju 5. Dubleti prikazani simbolima $\text{H}_{c/d}$ označavaju etenske protone koji se međusobno sprežu konstantom sprege, karakterističnom za *cis*-izomere, od 12,7 Hz. Preostali su simboli H_e i H_f . H_e predstavlja simbol za proton koji je vezan na furanskom prstenu na položaju 3, a simbol H_f označava dublet dubleta, koji je signal za proton koji je na furanskom prstenu vezan na položaju 4.

3.3. Sinteza aldehyda (4-6) Vilsmeierovim formiliranjem

3.3.1. Priprava formilnih derivata (4-6)

Za pripravu formilnih derivata **4-6** korištena je reakcija Vilsmeierovog formiliranja.



Shema 17. Sinteza formilnih derivata (4-6).

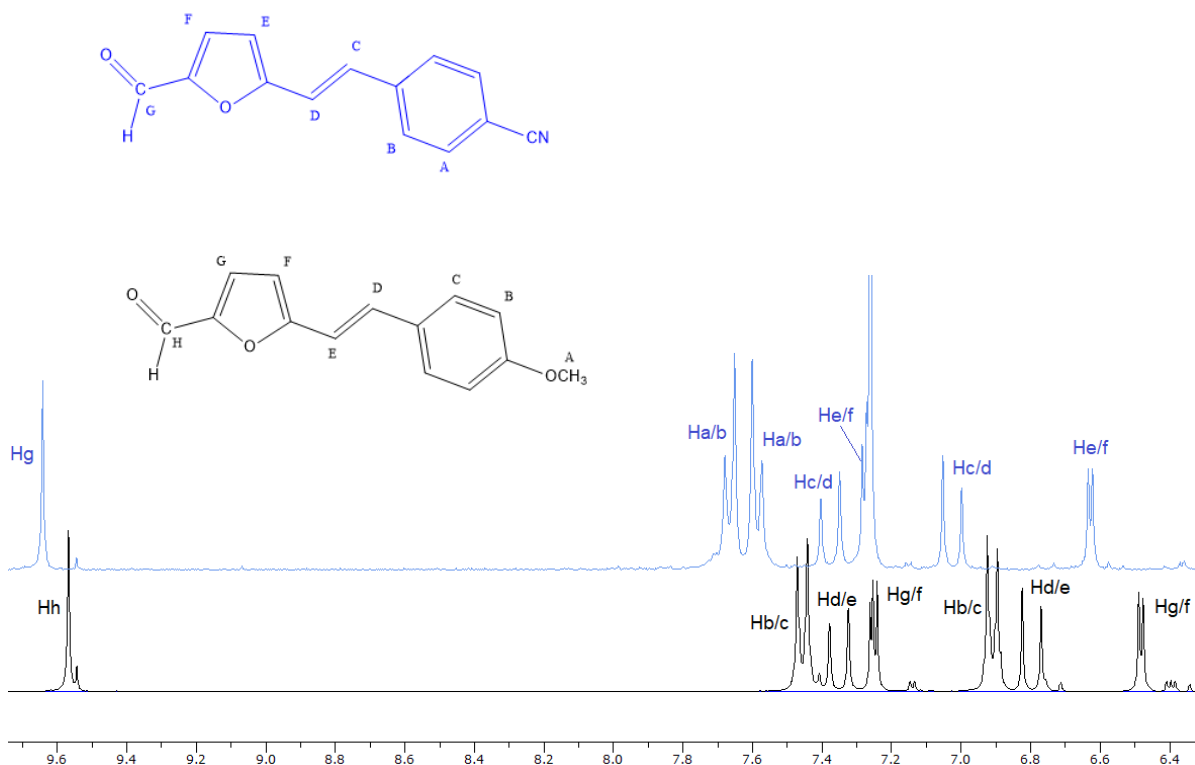
Okrugla tikvica uroni se u ledenu kupelj, zatim joj se dodaju Wittigovi produkti (*cis*-**1**, *trans*-**1**, *cis*-**2**, *trans*-**2**, *trans*-**3**). Sadržaju tikvice dodaju se fosforil oksiklorid, POCl₃ i *N,N*-dimetilformamid te DMF u suvišku i reakcija se ostavlja preko noći (24 sata). Nakon 24 sata, slijedi zaluživanje sa NaOH te ekstrakcija dietileterom i destiliranom vodom. Organski sloj se suši u bezvodnom MgSO₄ te se upari na rotacionom uparivaču. Produkti se zatim izoliraju tankoslojnom i kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens.

Nakon kolonske kromatografije, dobiveno je 355 mg (74,7 %) smjese *cis*-**4** aldehyda i 100 mg (47,8%) *trans*-**4** aldehyda, točnije kolonskom kromatografijom *cis*-**1** spoja, dobiveno je 147 mg (30,9%) čistog *cis*-**4** aldehyda, koji je na koloni bio žute boje, a nakon njega koloniranjem je izašla smjesa aldehyda crvene i naračaste boje. Kolonskom kromatografijom *trans*-**1** spoja, dobiveno je 100 mg (41,8%) čistog *trans*-**4** aldehyda. Koloniranjem metoksi-skupine, na kolonama se pojavljuje čitav spektar boja. Koloniranjem *cis*-**2** spoja prvi silazi

spoj žute boje, koji je zapravo početak aldehida, zatim spoj roze boje, gdje nalazimo aldehyd samo u tragovima te konačno dobiva se 82 mg (17,2 %) čistog *cis-5* aldehida, koji je na koloni narančaste boje, a nakon uparavanja dobiva se tamno žuto ulje. Koloniranjem *trans-2* spoja prva silazi smjesa dva aldehida, a zatim silazi 37,4 mg (22,5 %) čistog *trans-5* aldehida. Koloniranjem *trans-3* spoja, prvi silazi žuti spoj sa kolone koji se ne može detektirati na TLC pločici. Daljnjim eluiranjem, sa kolone silazi narančasti spoj koji na TLC pločici ostavlja narančaste mrlje koje su vidljive i na dnevnom svjetlu. Taj narančasti spoj sadrži 133,7 mg (69 %) smjese *cis*- i *trans*-izomera i to u omjeru *cis:trans*=1:3. Kako smo u formiliranje išli sa čistim *trans*-izomerom, iz ovog je jasno vidljivo kako dimetilamino-formilni derivat izomerizira za vrijeme formiliranja, pošto iz čistog *trans*-izomera nastaje *cis*-izomer.

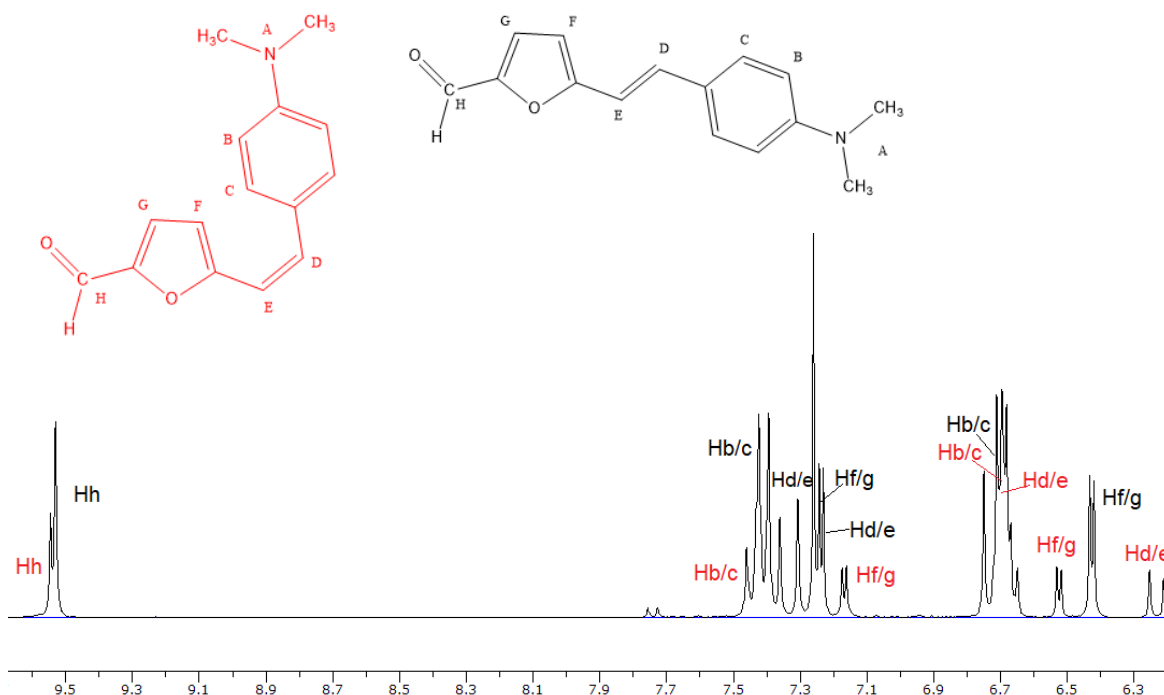
3.3.2. Potvrda formilnih struktura (4-6) spektroskopskim metodama

Uspoređivajući ¹H NMR spektre formilnih derivata i 2-furostilbenskih derivata, na spektrima formilnih derivata vidimo pojavu signala za aldehyd na oko 9,5 ppm, koji nije bio prisutan na spektrima 2-furostilbenskih derivata. Vezanje formilne skupine na položaj 5 na furanskom prstenu daje signal za aldehyd koji prije nije bio vidljiv. Upravo je formilna skupina na položaju 5 furanskog prstena razlog odsustva signala dublet dubleta na položaju 4 furanskog prstena. Ulazak formilne skupine na položaj 5 furanskog prstena, istiskuje vodik sa tog položaja pa se vodik na položaju 4 spreže samo sa susjednim vodikom na položaju 3 te daje dublet umjesto dublet dubleta. Signale za vodike benzenskog prstena iščitavamo u području od 7,67 ppm do 6,99 ppm, a signale sa furanskog prstena iščitavamo za jedan dublet u aromatskom području i to od 7,28 do 7,14 ppm, a za drugi dublet u etenskom području od 6,63 do 6,37 ppm. Signali za protone dvostruke veze javljaju se u području od 7,38 do 6,23 ppm. U spektru postoje signali pomoću kojih odmah možemo identificirati o kojem se spoju radi. Naime, formilne strukture *cis-4* i *trans-4* u desnom dijelu NMR spektra ne daju nikakav odziv, za razliku od *cis-5* i *trans-5* struktura koje daju odziv metoksi-skupine na 3,80 ppm i struktura *cis-6* i *trans-6* koje daju odziv karakterističan za dimetilamino-skupinu na 3,00 ppm. U ¹³C NMR spektru za spojeve *cis-5*, *trans-5*, *cis-4* i *trans-4* pojavljuje se sedam dubleta, kao i kod 2-furilnih heterostilbena, a pojavljuju se i četiri singleta. *Cis-5* i *trans-5* strukture daju signale za po jedan kvartet.



Slika 18. ^1H NMR spektri (CDCl_3) *trans-4* i *trans-5* spojeva.

Na Slici 18 su usporedno prikazani spektri *trans-4* i *trans-5* spoja. Na oba spektra uočavamo signal za aldehyd, H_h te H_g na oko 9,55 ppm, uočavamo i signale za vodike benzenskog prstena u području od 7,67 ppm do 6,91 ppm ($\text{H}_{a/b}, \text{H}_{b/c}$). Na signalima od 7,28 i 6,40 ppm javljaju se dubleti furanskog prstena ($\text{H}_{e/f}, \text{H}_{f/g}$), a u području od 7,38 do 6,80 ppm nalaze se signali za dvostruku vezu, čiji se protoni sprežu karakterističnom konstantom sprege za *trans*-izomere od 16 Hz ($\text{H}_{c/d}, \text{H}_{d/e}$). Jedan vodikov atom sa furanskog prstena daje odziv u etenskom području, dok je drugi uočljiv u aromatskom području. Signal pomoću kojeg odmah na prvi pogled možemo razlikovati ova dva spoja je signal metoksi-skupine *trans-5* spoja, koji se javlja na 3,84 ppm (H_a).



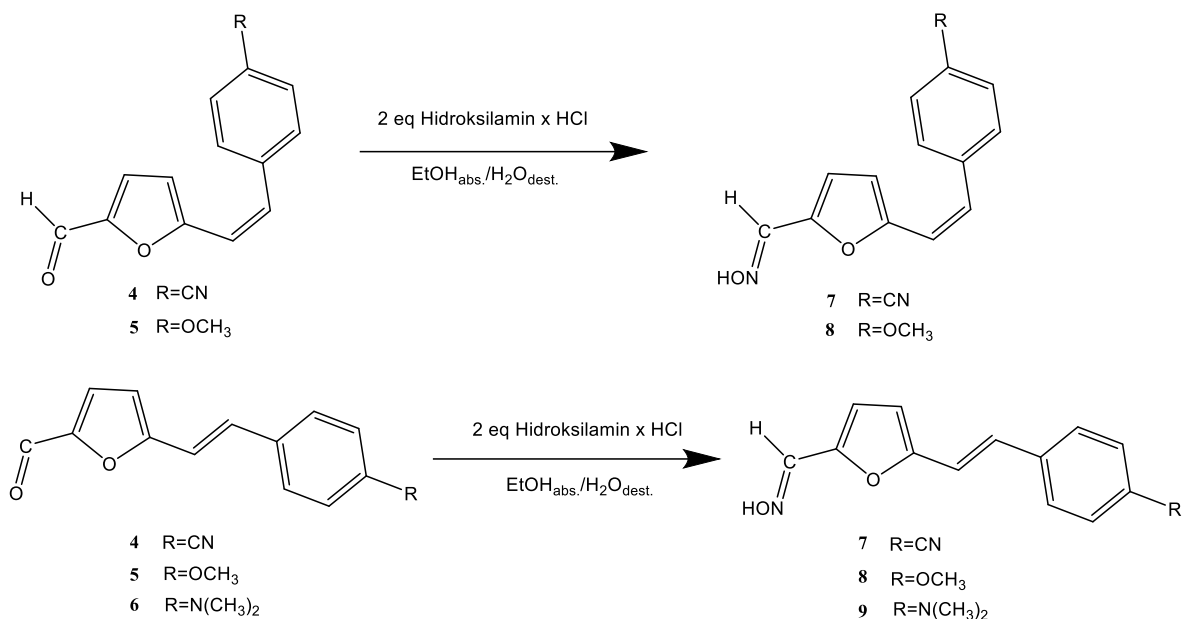
Slika 19. ^1H NMR spektar (CDCl_3) smjese *cis*-**6** i *trans*-**6** izomera.

Slika 19 prikazuje ^1H spektar smjese *cis*-**6** i *trans*-**6** izomera. Upravo ona nam daje potvrdu da kod formiliranja dimetilamino-skupine dolazi do izomerizacije te da se iz čistog transa, nakon formiliranja dobiva smjesa *cis*- i *trans*-izomera u omjeru *cis:trans*=1:3. Singleti H_a označavaju signal za dimetilamino-skupinu na 3 ppm, a singleti H_h na oko 9,5 ppm, dokaz su za postojanje aldehida. Dubleti vodika sa aromatskog prstena javljaju se u području od 7,45 do 6,70 ppm, a u području od 7,17 do 6,43 ppm vidljivi su dubleti furanskog prstena. U rasponu od 7,23 do 6,23 ppm protežu se signali dvostruke veze sa karakterističnim konstantama sprege od 12 i 16 Hz.

3.4. Sinteza novih 2-furostilbenskih oksima (7-9)

3.4.1. Priprava cijano-, metoksi- i dimetilamino- oksima (7-9)

Za pripravu novih 2-furostilbenskih oksima **7-9**, kao polazne spojeve koristili smo postojeće aldehide (*cis*-**4**, *trans*-**4**, *cis*-**5**, *trans*-**5** te *trans*-**6**), koje smo prema sljedećoj reakciji prevodili u oksime.



Shema 20. Priprava cijano-, metoksi- i dimetilamino-oksima (**7-9**).

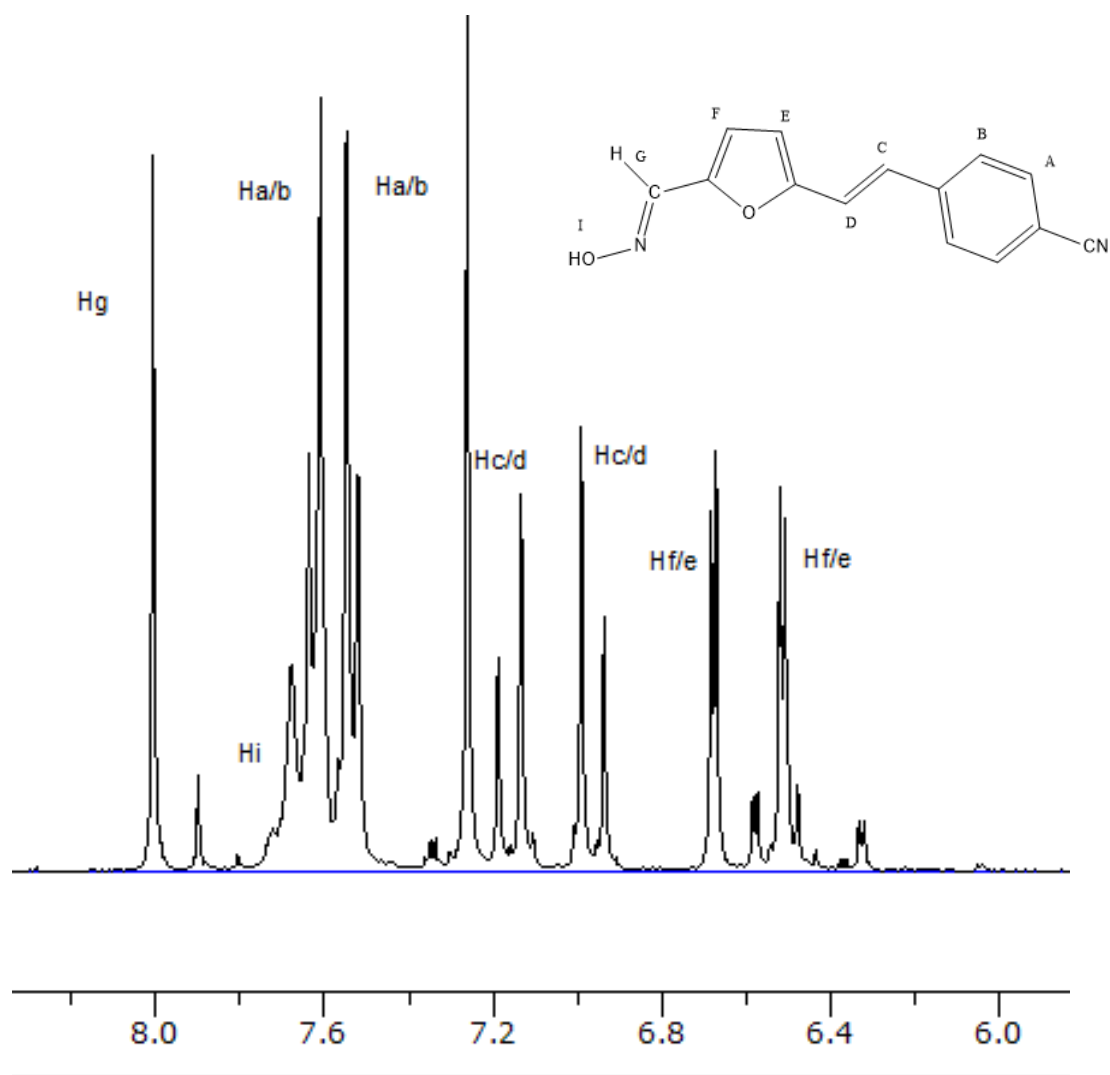
Za pripravu cijano-, metoksi- i dimetilamino-oksima **7-9** korištena je okrugla tikvica (25 mL) u koju je dodan odgovarajući furan-2-karbaldehid (*cis-4*, *trans-4*, *cis-5*, *trans-5* te *trans-6*), a zatim u reakcijsku smjesu dodajemo apsolutni etanol i destiliranu vodu te hidrosilamin \times HCl. Reakcija se ostavlja da se razvija preko noći. Nakon isteka 24 sata, iz reakcijske smjese se pomoću rotacionog uparivača uklanja voda pod sniženim tlakom. Dobivena smjesa produkata pročišćava se kolonskom kromatografijom na silikagelu (60 Å, Fluka). Smjesa izomera oksima koja nije bila uspješno razdvojena kolonskom kromatografijom, pročišćavana je na preparativnim TLC pločama.

Kolonskom kromatografijom *cis*-cijano-oksima dobiveno je 71,3 mg (45,5%) smjese *cis,syn-7* i *cis,anti-7* izomera te 47,6 mg (30,4 %) smjese *trans,syn-7* i *trans,anti-7* izomera. Unatoč pažljivom koloniranju smjesa izomera se nije mogla uspješno odvojiti jer su R_f vrijednosti *cis,syn-7* i *cis,anti-7* izomera vrlo bliske; 0,72 i 0,67, tako da su smjese dodatno pročišćavane na preparativnim TLC pločama. Dobivenih 71,3 mg, u kojim se nalaze *cis,syn-7* i *cis,anti-7* izomeri, pročišćena su na TLC ploči, uz metanol/diklormetan (3:97) kao eluens. Pročišćavanje je bilo uspješno te se dobilo 13,5 mg (8,6%) *cis,syn-7* te 20,4 mg *cis,anti-7* izomera, također nakon pročišćavanja R_f vrijednosti nisu više toliko bliske i iznose 0,73 za *cis,syn-7* te 0,62 za *cis,anti-7*. Preostalih 47 mg, u kojim se nalaze *trans,syn-7* i *trans,anti-7* izomeri, kojima su početne R_f vrijednosti bile bliske; 0,72 i 0,63, također je uspješno

pročišćeno na isti način te je dobiveno 18,7 mg (11,9 %), *trans,syn-7* i 4,5 mg (2,9 %) *trans,anti-7* izomera s većom razlikom u R_f vrijednostima; 0,74 za *trans,syn-7* te 0,65 za *trans,anti-7*. Kolonskom kromatografijom *cis*-metoksi-oksima dobiveno je 28,9 mg (3,3 %) smjese *trans,syn-8* i *cis,syn-8* te *cis,anti-8* i *trans,anti-8* izomera. Kako se radilo o koloniranju *cis*-izomera, a dobiveni su i *trans*-izomeri, možemo uočiti da i kod metoksi-skupine dolazi do izomerizacije. Spojevi su pročišćeni na preparativnim TLC pločama, uz metanol/diklormetan (3:97) kao eluens, ali pročišćavanje nije bilo uspješno, unatoč ne tako bliskim R_f vrijednostima; 0,55 za *cis,syn-8* te 0,35 *cis,anti-8* i 0,32 za *trans,anti-8* te 0,52 za *trans,syn-8*. Dobivene su smjese izomera *cis,syn-8:trans,syn-8*=1:1 te *cis,anti-8:trans,anti-8*=1:1. Dimetilamino-skupina nakon prevođenja u oksim ponovno izomerizira. Kolonskom kromatografijom dobiveno je 130 mg (91,6 %) smjese izomera. Nakon pročišćavanja na preparativnim TLC pločama, uz metanol/diklormetan (5:95) kao eluens, dobivena je smjesa četiri izomera te smjesa *cis,syn-9* i *trans,syn-9* u omjeru 1:3. R_f vrijednosti svih izomera dimetilamino-skupine bile su od 0,68 do 0,59 pa nije ni čudno što se izomeri nisu dali pročistiti na preparativnim TLC pločama.

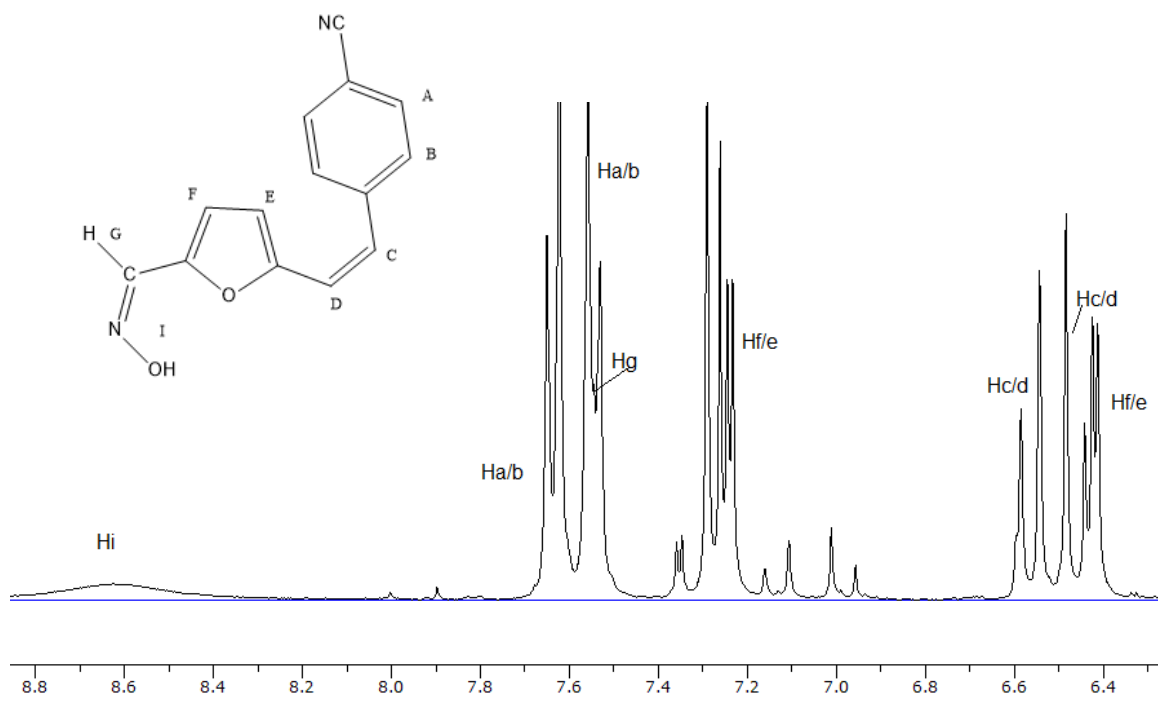
3.4.2. Spektroskopska karakterizacija 2-furilnih oksima (7-9)

Proučavanjem ^1H NMR spektara 2-furilnih oksima **7-9**, javljaju se razlike pri analiziranju *cis,syn*- i *trans,syn*-izomera u odnosu na *cis,anti*- i *trans,anti*-izomere. Kod *syn*-izomera singlet od oksima javlja se oko 8 ppm i oba furanska protona su u području etenskih protona, dok kod se kod *anti*-izomera singlet od oksima javlja na 7,5 ppm te se jedan furanski proton nalazi u području etenskih protona, a drugi se nalazi u aromatskom području. Kod 2-furilnih oksima **7-9**, signali za vodike iz aromatskog prstena javljaju se u području od 7,64 ppm do 6,88 ppm, a signali za furanske protone od 7,31 ppm do 6,39 ppm. Karakteristični signali za metoksi- i dimetilamino-skupinu javljaju se na 3 ppm. Za spojeve *cis,syn-7* i *cis,anti-7* snimljeni su ^{13}C NMR spektri iz kojih se jasno da iščitati da je broj dubleta ostao isti kao i kod formilnih struktura, tj. 7, a vezanjem karakteristične oksimske skupine broj singleta, tj. kvaternih ugljika povećao se na 5 u odnosu na formilne skupine.



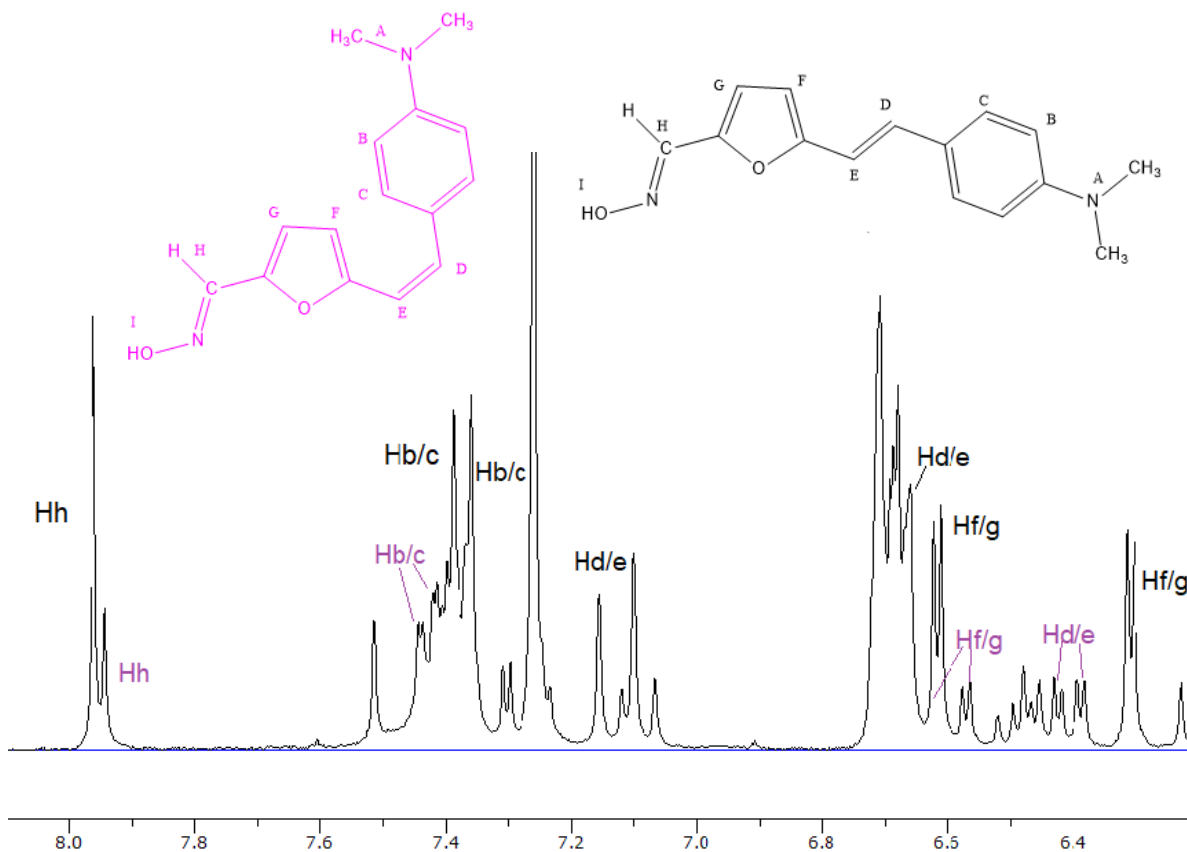
Slika 21. ^1H NMR (CDCl_3) spektar *trans,syn*-7.

Slika 21 prikazuje ^1H NMR spektar *trans,syn*-7 koji je dobiven nakon pročišćavanja na preparativnim TLC pločama. Na 8,00 ppm uočavamo veliki singlet, karakterističan za *syn*-izomer, H_i označava signal za maleni singlet OH-skupine, $\text{H}_{c/d}$ simbolima označeni su protoni dvostruke veze, dok su simbolima $\text{H}_{a/b}$ označeni protoni koji se nalaze u aromatskom prstenu. Uočavamo da se oba $\text{H}_{f/e}$ signala, tj. oba signala furanskog prstena nalaze u području etenskih protona na 6,68 ppm i 6,52 ppm.



Slika 22. ¹H NMR (CDCl₃) spektar *cis,anti-7*.

Slika 22 prikazuje ¹H NMR spektar *cis,anti-7* izomera dobivenog nakon pročišćavanja na preparativnim TLC pločama. Na 8,6 ppm uočavamo široki singlet OH skupine, a H_{a/b} simbolima označeni su signali aromatskih vodika. Karakteristično za *anti*-izomer, signalom H_g označen je signlet karakterističan za oksime, koji se kod *anti*-izomera javlja na 7,5 ppm. Kod *anti*-izomera, vidimo da se jedan furanski proton nalazi u aromatskom, a drugi u etenskom području, H_{f/e}. H_{c/d} simbolom prikazani su protoni dvostruke veze, koji su za *cis*-izomer međusobno spregnuti karakterističnom konstantom sprege od 12,8 Hz.



Slika 23. ^1H NMR (CDCl_3) spektar *cis,syn-9* i *trans,syn-9* u omjeru 1:3.

Slika 23 prikazuje ^1H NMR spektar *cis,syn-9* i *trans,syn-9* nakon pročišćavanja na preparativnim TLC pločama. Slika 23 potvrđuje ponovne izomerizacije dimetilamino-skupine s obzirom da ponovno nastaje *cis*-izomer. H_h signali su karakteristični singleti *syn*-oksima, H_{b/c} simbolom označeni su protoni na aromatskom prstenu, H_{d/e} simbolom označeni su etenski protoni dvostruke veze, a H_{f/g} simbolom označeni su protoni furanskog prstena. Također, s obzirom na to da se radi o izomerima dimetilamino-skupine, na 3 ppm prisutan je singlet koji nam daje potvrdu da se radi upravo o toj skupini.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

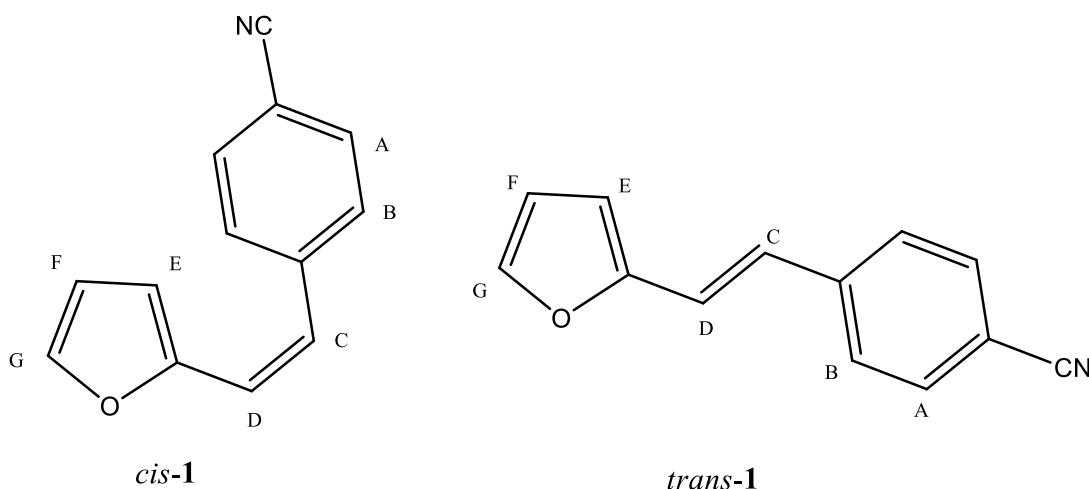
Sva otapala koja su korištena u ovom radu su komercijalno dostupna i pročišćena destilacijom. Nakon ekstrakcije, organski sloj stavljen je na sušenje iznad bezvodnog magnezijeva sulfata, MgSO₄. Kolonska kromatografija provodila se na tehničkom silikagelu (60 Å, Fluka). Tankoslojna kromatografija provodila se pomoću pločica koje su presvučene silikagelom (0.2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Spektroskopski podaci o nuklearnoj magnetskoj rezonanciji (NMR) ¹H i ¹³C zabilježeni su na sobnoj temperaturi i spektri su snimani na spektrometru Bruker Avance 600 MHz i 300 MHz. Uzorci koji su snimani, otopljeni su u deuteriranom kloroformu, CDCl₃ s tetrametilsilanom, koji je korišten kao standard. Kemijski pomaci koji su detektirani, zabilježeni su u pomacima u dijelovima na milijun (ppm). U ovom eksperimentalnom dijelu korištene su sljedeće kratice: NMR-nuklearna magnetska rezonancija, PE- petroleter, E-eter, s-singlet, d-dublet, t-triplet, q-kvartet, dd- dublet dubleta.

4.2. Sinteza stiril-furana 1-3

Za sintezu polaznih spojeva **1-3** korištena je Wittigova reakcija. Trogrla tikvica s okruglim dnom (250 mL) pričvrsti se na stalak, a ispod tikvice postavi se magnetna mješalica. U desni otvor tikvice stavili smo nastavak na koji smo dodali vatu i kalcijev klorid, CaCl₂, sol koja služi za prikupljanje vlage. Prije reakcije, aparatura je propuhana dušikom 10 minuta. U lijevi otvor tikvice učvrsti se balon, koji se prethodno napuni dušikom, kako bi imali stalni dotok dušika. U srednji otvor pričvrsti se lijevak za dokapavanje. U tikvicu se doda 50 mL apsolutnog etanola, a zatim se etanolu dodaju soli (cijano-fosfonijeva sol, metoksi-fosfonijeva sol, furil-fosfonijeva sol). Natrij (1,1 eq) otopljen u apsolutnom etanolu dodan je kap po kap reakcijskoj smjesi. S obzirom da je reakcija nastanka natrijevog etoksida egzotermna, natrij se oprezno dodaje etanolu jer se razvija plin vodik, H₂. Prilikom dodavanja natrijevog etoksida etanolu, smjesa postaje bistro žuta. Zatim se smjesi dodaju aldehidi (furfural, *p*-dimetilaminoaldehyd). Produkt Wittigove reakcije uparava se na rotirajućem uparivaču pod niskim tlakom nakon čega se reakcijska smjesa ekstrahira toluenom (3x30 ml). Organski sloj sušen je na bezvodnom MgSO₄. Produkti su izolirani kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silikagelu koja je provedena uz pomoć E/PE eluensa.

(Z)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzoni-tril (*cis*-**1**) i **(E)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzoni-tril** (*trans*-**1**)

Kolonskom kromatografijom dobiveno je 770.5 mg (76 %) smjese izomera (*cis-1*, *trans-1*). Nakon kolonske kromatografije na silikagelu, koristeći eter/petroleter kao eluens (5:95) dobiveni su čisti izomeri *cis-1* i *trans-1*.

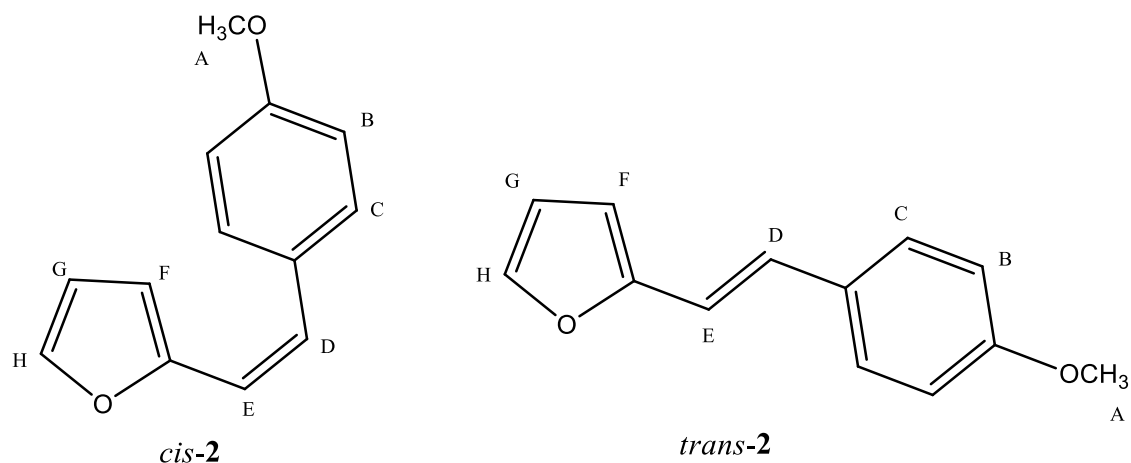


588.3 mg (izolirano 58 %), (*Z*)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzonitril (*cis-1*): žuto ulje; R_f (E/PE=30:70) = 0.88; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.61 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, $H_{A/B}$), 7.52 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, $H_{A/B}$), 7.31 (d, 1H, $J=1.2$ Hz, H_G), 6.45 (d, 1H, $J=12.7$ Hz, $H_{C/D}$), 6.40 (d, 1H, $J=12.7$ Hz, $H_{C/D}$), 6.37 (dd, 1H, $J=5.0$ Hz, H_F), 6.32 (d, 1H, $J=3.2$ Hz, H_E), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 151.4 (s), 142.4 (s), 142.2 (d), 131.8 (d), 129.5 (d), 125.3 (d), 120.0 (d), 119.1 (s), 112.0 (d), 111.6 (d), 110.6 (s).

182.2 mg (izolirano 18 %), (*E*)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzonitril (*trans-1*): žuti prah; R_f (E/PE= 30:70)=0.77; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.60 (d, 2H, $J=8.4$ Hz, $H_{A/B}$), 7.51 (d, 2H, $J=8.0$ Hz, $H_{A/B}$), 7.44 (d, 1H, $J=2.0$ Hz, H_G), 7.02 (d, 1H, $J=16.7$ Hz, $H_{C/D}$), 6.97 (d, 1H, $J=16.7$ Hz, $H_{C/D}$), 6.45 (d, 1H, $J=4.5$ Hz, $H_{E/F}$) 6.45 (d, 1H, $J=1.1$ Hz, $H_{E/F}$), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 152.4 (s), 143.2 (d), 141.6 (s), 132.5 (d), 126.7 (d), 124.8 (d), 119.7 (d), 119.0 (s), 112.1 (d), 110.9 (d), 110.2 (s).

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

Kolonska kromatografija daje 977 mg (93.9 %) smjese izomera (*cis-2*, *trans-2*). Nakon kolonske kromatografije na silikagelu, koristeći petroleter kao eluens dobivena je smjesa izomera (*cis-2*, *trans-2*) i čisti *trans-2*.

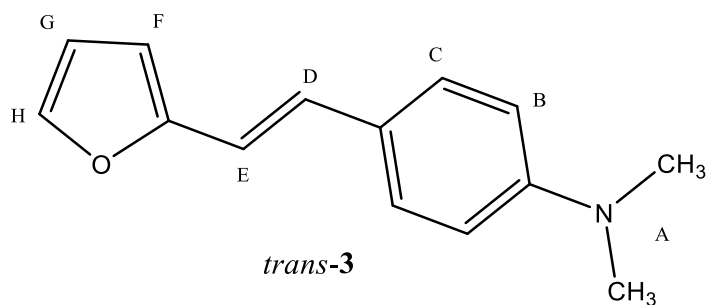


79 mg (izolirano 7.6 %), **(Z)-2-(4-metoksistiril)furan** (*cis-2*): žuto ulje; R_f (PE) = 0.72; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.39 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7.31 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz, H_{H}), 6.87 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 6.41 (d, 1H, $J = 12.6$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.32 (dd, 1H, $J = 1.4$ Hz, H_{G}) 6.29 (d, 1H, $J = 12.6$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.28 (d, 1H, $J = 3.5$ Hz, H_{F}), 3.83 (s, 3H, H_{A}); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 141.3 (s), 132.2 (s), 130.1 (d), 127.5 (d), 116.7 (d), 114.7 (s), 114.1 (d), 113.5 (d), 111.1 (d), 109.6 (d), 55.3 (q).

148 mg (izolirano 14.2 %), **(E)-2-(4-metoksistiril)furan** (*trans-2*): žuti prah; R_f (PE)=0.68; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.39 (d, 2H, $J=9.2$ Hz, H_{B}), 7.37 (d, 1H, $J=2.3$ Hz, H_{H}), 6.99 (d, 1H, $J=16.1$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.87 (d, 2H, $J=8.7$ Hz, H_{C}), 6.76 (d, 1H, $J=16.1$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.40 (dd, 1H, $J= 5.1$ Hz, H_{G}), 6.29 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, H_{F}), 3.80 (s, 3H, H_{A}); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 159.3 (s), 153.7 (s), 141.8 (d), 129.8 (s), 128.6 (d), 126.8 (d), 114.7 (d), 114.2 (d), 111.5 (d), 107.7 (d), 55.3 (q).

(E)-4-(2-furan-2-il)vinil)-N,N-dimetilanilin (*trans-3*)

Kolonskom kromatografijom dobiveno je 158 mg (22 %) *trans-3* izomera. Nakon kolonske kromatografije na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens (5:95) dobiven je čisti *trans-3* izomer.



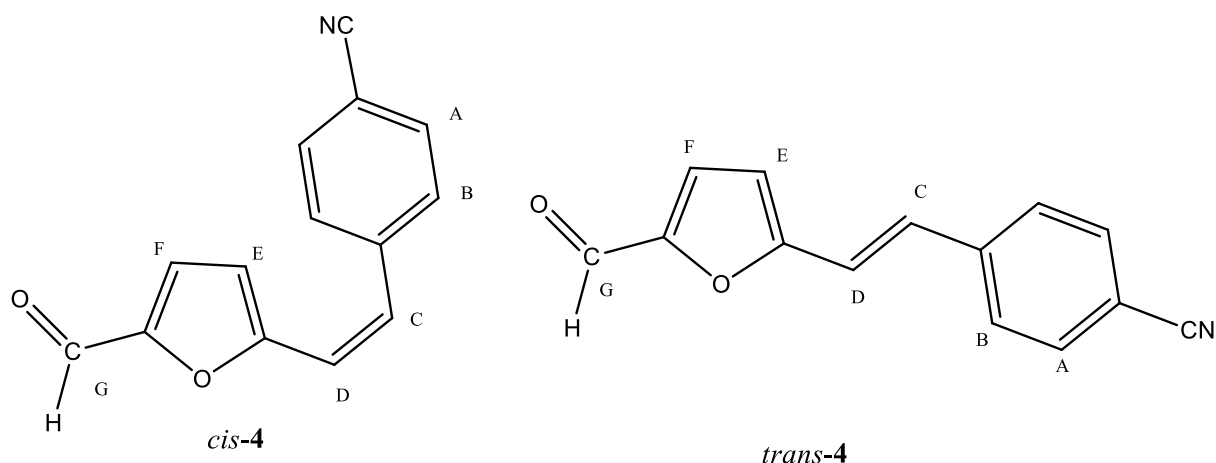
79 mg (izolirano 11 %), (*E*)-4-(2-furan-2-il)vinil)-*N,N*-dimetilanilin (*trans-3*); žuti prah; R_f (E/PE=5:95) = 0.36; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.44 (d, 2H, $J=8.1$ Hz, H_B), 7.39 (d, 1H, $J=1.6$ Hz, H_H), 6.98 (d, 1H, $J=16.2$ Hz, $\text{H}_{D/E}$), 6.79 (d, 1H, $J=16.2$ Hz, $\text{H}_{D/E}$), 6.42 (dd, 1H, $J=5.3$ Hz, H_G), 6.32 (d, 1H, $J=2.5$ Hz, H_F), 3.06 (s, 6H, H_A).

4.3. Sinteza furan-2-karbaldehida 4-6

Za sintezu sljedećih spojeva korištena je reakcija Vilsmeierovog formiliranja. U ledenu kupelj uroni se okrugla tikvica (25 ml), zatim joj se dodaju Wittigovi produkti (*cis-1*, *trans-1*, *cis-2*, *trans-2*, *trans-3*). Sadržaju tikvice zatim dodamo 10%-tnog suviška reagensa fosforil oksiklorida, POCl_3 i *N,N*-dimetilformamid, DMF u suvišku. Reakcija se odvija preko noći (24 h). Nakon 24 h reakcijska smjesa se neutralizira 10%-tnom otopinom natrijeva hidroksida, NaOH nakon čega se ekstrahira dietileterom (3 x 25 ml). Organski sloj se zatim vrati u ekstrakcijski lijevak i ekstrahira 5 puta destiliranom vodom (50 ml) kako bismo se riješili neproreagiranog *N,N*-dimetilformamida. Organski sloj se zatim suši iznad bezvodnog magnezijeva sulfata, MgSO_4 30 minuta. Organski sloj se profiltrira i uparava na rotirajućem uparivaču nakon čega smo dobili produkt. Produkt je pročišćavan kolonskom kromatografijom na silikagelu (60 Å, Fluka).

(*Z*)-4-(2-(5-formilfuran-2-il)vinil)benzonitril (*cis-4*) i **(*E*)-4-(2-(5-formilfuran-2-il)vinil)benzonitril** (*trans-4*)

Kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens (30:70), dobiveno je 355 mg (74.7 %) smjese dva *cis*-aldehida i 100 mg (47.8%) *trans*-aldehida.

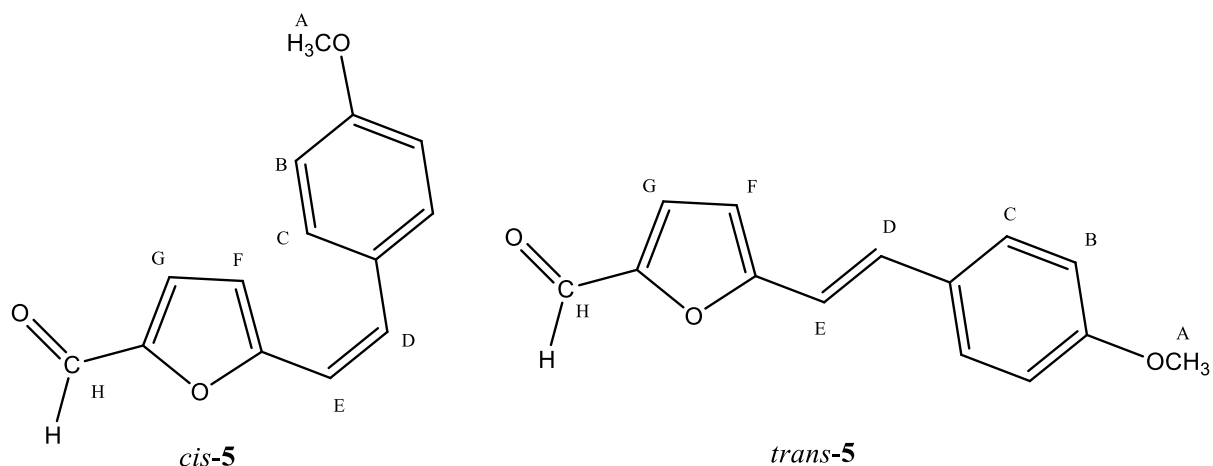


147 mg (izolirano 30.9 %), **(Z)-4-(2-(5-formilfuran-2-il)vinil)benzoničil** (*cis-4*): žuto ulje; R_f (E/PE) = 0.14; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.54 (s, 1H, H_G), 7.67 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz, $\text{H}_{A/B}$), 7.56 (d, 2H, $J = 8.2$ Hz, $\text{H}_{A/B}$), 7.15 (d, 1H, $J = 3.9$ Hz, $\text{H}_{E/F}$), 6.75 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz, $\text{H}_{C/D}$), 6.56 (d, 1H, $J = 12.8$ Hz, $\text{H}_{C/D}$), 6.37 (d, 1H, $J = 3.8$ Hz, $\text{H}_{E/F}$), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 177.3 (d), 156.0 (s), 151.8 (s), 141.0 (s), 132.7 (d), 132.2 (d), 131.7 (d), 129.4 (d), 119.3 (d), 113.2 (d), 118.7 (s), 111.7 (s).

100 mg (izolirano 41.8 %), **(E)-4-(2-(5-formilfuran-2-il)vinil)benzoničil** (*trans-4*): žuti prah; R_f (E/PE) = 0.16; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.64 (s, 1H, H_G), 7.67 (d, 2H, $J = 8.3$ Hz, $\text{H}_{A/B}$), 7.59 (d, 2H, $J = 8.7$ Hz, $\text{H}_{A/B}$), 7.38 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_{C/D}$), 7.28 (d, 1H, $J = 3.7$ Hz, $\text{H}_{E/F}$), 7.03 (d, 1H, $J = 16.1$ Hz, $\text{H}_{C/D}$), 6.63 (d, 1H, $J = 3.6$ Hz, $\text{H}_{E/F}$), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 177.2 (d), 140.2 (s), 132.8 (d), 130.8 (d), 127.3 (d), 118.7 (s), 118.3 (d), 112.3 (d), 111.9 (s), 107.9 (s), 100.0 (s), 100.1 (d).

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

Kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens (30:70), dobiveno je 103.1 mg (61 %) smjese dva *cis*-aldehida i 74.9 mg (45.1 %) smjese dva *trans*-aldehida.

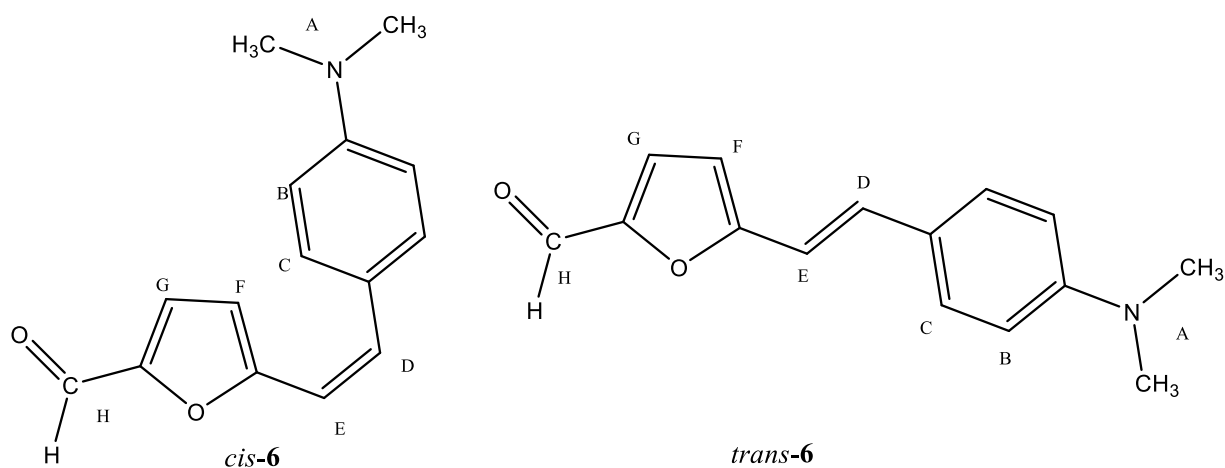


82 mg (izolirano 17.2 %), **(Z)-5-(4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid** (*cis-5*): žuto ulje; R_f (E/PE)=0.39; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.53 (s, 1H, H_H), 7.42 (d, 2H, $J=8.2$ Hz, $\text{H}_{\text{C/B}}$), 7.14 (d, 1H, $J=3.8$ Hz, $\text{H}_{\text{G/F}}$), 6.90 (d, 2H, $J=8.2$ Hz, $\text{H}_{\text{C/B}}$), 6.74 (d, 1H, $J=12.6$ Hz, $\text{H}_{\text{E/D}}$), 6.40 (d, 1H, $J=3.8$ Hz, $\text{H}_{\text{G/F}}$), 6.34 (d, 1H, $J=12.6$ Hz, $\text{H}_{\text{E/D}}$), 3.84 (s, 3H, H_A), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 177.1 (d), 159.7 (s), 157.7 (s), 134.2 (d), 130.2 (d), 128.7 (s), 128.6 (s), 128.5 (d), 115.9 (d), 114.4 (d), 113.9 (d), 55.3 (q).

37.4 mg (izolirano 22.5 %), **(E)-5-(4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid** (*trans-5*): žuti prah; R_f (E/PE) =0.34; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.57 (s, 1H, H_H), 7.46 (d, 2H, $J=8.8$ Hz, $\text{H}_{\text{C/B}}$), 7.35 (d, 1H, $J=16.7$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 7.25 (d, 1H, $J=2.2$ Hz, $\text{H}_{\text{G/F}}$), 6.91 (d, 2H, $J=8.8$ Hz, $\text{H}_{\text{C/B}}$), 6.80 (d, 1H, $J=16.7$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.48 (d, 1H, $J=3.7$ Hz, $\text{H}_{\text{G/F}}$), 3.84 (s, 3H, H_A), $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 176.7 (d), 160.4 (d), 159.2 (s), 151.5 (s), 134.3 (d), 133.1 (s), 130.3 (d), 130.2 (d), 114.3 (d), 111.6 (s), 109.9 (d), 55.3 (q).

(E)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid (*trans-6*)

Kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens (30:70), dobiveno je 163.7 (85 %) smjese *cis*- i *trans*-izomera.



133.7 mg (izolirano 69 %) smjese izomera **(Z)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid** (*cis-6*): **(E)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid** (*trans-6*) =1:3

(Z)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid (*cis-6*): R_f (E/PE)=0.16; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.55 (s, 1H, H_H), 7.45 (d, 2H, $J=8.5$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7.17 (d, 1H, $J=3.7$ Hz, $\text{H}_{\text{F/G}}$), 6.70 (d, 2H, $J=8.7$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 6.69 (d, 1H, $J=12.4$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.52 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, $\text{H}_{\text{F/G}}$), 6.23 (d, 1H, $J=12.4$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 3.01 (s, 6H, H_A).

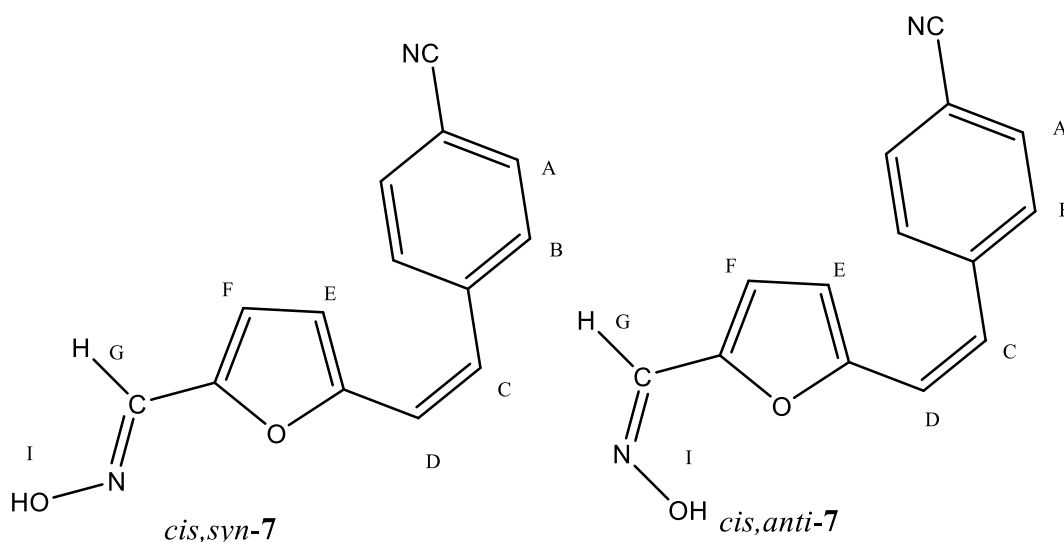
(E)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid (*trans-6*): R_f (E/PE)=0.15; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.53 (s, 1H, H_H), 7.41 (d, 2H, $J=8.6$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7.33 (d, 1H, $J=16.2$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 7.24 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, $\text{H}_{\text{F/G}}$), 7.20 (d, 1H, $J=16.2$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6.70 (d, 2H, $J=8.7$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 6.43 (d, 1H, $J=3.7$ Hz, $\text{H}_{\text{F/G}}$), 3.01 (s, 6H, H_A).

4.4. Sinteza furan-2-karbaldehid oksima 7-9

Za sintezu furan-2-karbaldehid oksima polazeći iz furan-2-karbaldehida korištena je okrugla tikvica (25 mL) u koju je dodan odgovarajući furan-2-karbaldehid (*cis-4*, *trans-4*, *cis-5*, *trans-5*, *trans-6*), apsolutni etanol, destilirana voda te hidrosilamin \times HCl (2eq). Reakcija se odvija preko noći (24 h). Nakon 24 h iz reakcijske smjese se upari voda i etanol na rotirajućem uparivaču pri sniženom tlaku. Dobivena smjesa produkata pročišćava se kolonskom kromatografijom na silikagelu (60 Å, Fluka). Smjesa izomera oksima koja nije bila uspješno razdvojena kolonskom kromatografijom, pročišćavana je na preparativnim TLC pločama.

4-((Z)-2-(5-((E)-(hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzonitril (*cis,syn-7*) i **4-((Z)-2-(5-((E)-(hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzonitril** (*cis,anti-7*)

Kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens (30:70), dobiveno je 71.3 mg (45.5 %) smjese *cis,syn-7* i *cis,anti-7* izomera. Produkti su pročišćeni zatim na preparativnoj TLC ploči koristeći metanol/diklormetan (3:97) kao eluens.

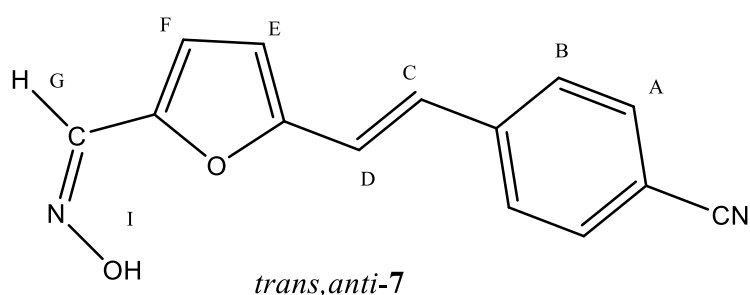
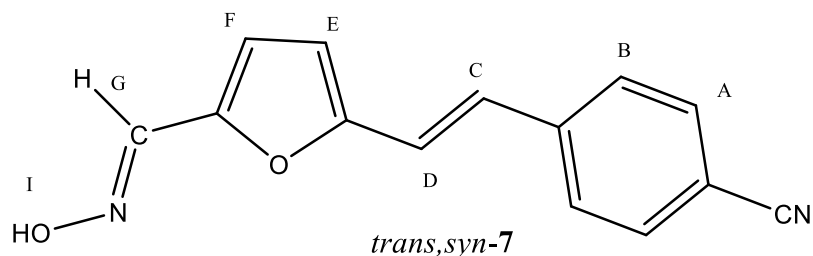


13.5 mg (izolirano 8.6 %), **4-((Z)-2-(5-((E)-(hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzonitril** (*cis,syn-7*): žuti prah; R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.73; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 8.24 (s, 1H, H_I), 7.90 (s, 1H, H_G), 7.63 (d, 2H, J =8.0 Hz, H_{A/B}), 7.58 (d, 2H, J =8.7 Hz, H_{A/B}), 6.59 (d, 1H, J =3.8 Hz, H_{F/E}), 6.51 (d, 1H, J =12.8 Hz, H_{C/D}), 6.44 (d, 1H, J =12.8 Hz, H_{C/D}), 6.34 (d, 1H, J =3.6 Hz, H_{F/E}), ¹³C NMR (CDCl₃, 150MHz) δ /ppm: 154.0 (s), 152.7 (s), 147.2 (s), 144.9 (s), 141.1 (d), 139.9 (d), 136.9 (s), 132.6 (d), 132.5 (d), 118.8 (d), 113.0 (d), 112.4 (d).

20.4 mg (izolirano 13.0 %), **4-((Z)-2-(5-((E)-(hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzonitril** (*cis,anti-7*): žuti prah; R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.62; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 8.62 (s, 1H, H_I), 7.64 (d, 2H, J =8.2 Hz, H_{A/B}), 7.55 (s, 1H, H_G), 7.55 (d, 2H, J =8.2 Hz, H_{A/B}), 7.24 (d, 1H, J =3.7 Hz, H_{F/E}), 6.56 (d, 1H, J =12.7 Hz, H_{C/D}), 6.46 (d, 1H, J =12.7 Hz, H_{C/D}), 6.42 (d, 1H, J =3.7 Hz, H_{F/E}), ¹³C NMR (CDCl₃, 150MHz) δ /ppm: 152.7 (s), 144.9 (s), 141.0 (s), 140.1 (s), 137.1 (d), 132.6 (d), 129.5 (d), 120.3 (d), 119.0 (d), 115.3 (s), 113.1 (d), 112.4 (d).

4-((E)-2-(5-((E)-(hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzonitril (*trans,syn-7*) i **4-((E)-2-(5-((E)-(hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzonitril** (*trans,anti-7*)

Kolonskom kromatografijom na silikagelu, uz eter/petroleter kao eluens (30:70), dobiveno je 47.6 mg (30.4 %) smjese *trans,syn-7* i *trans,anti-7* izomera. Produkti su pročišćeni zatim na preparativnoj TLC ploči koristeći metanol/diklormetan (3:97) kao eluens.



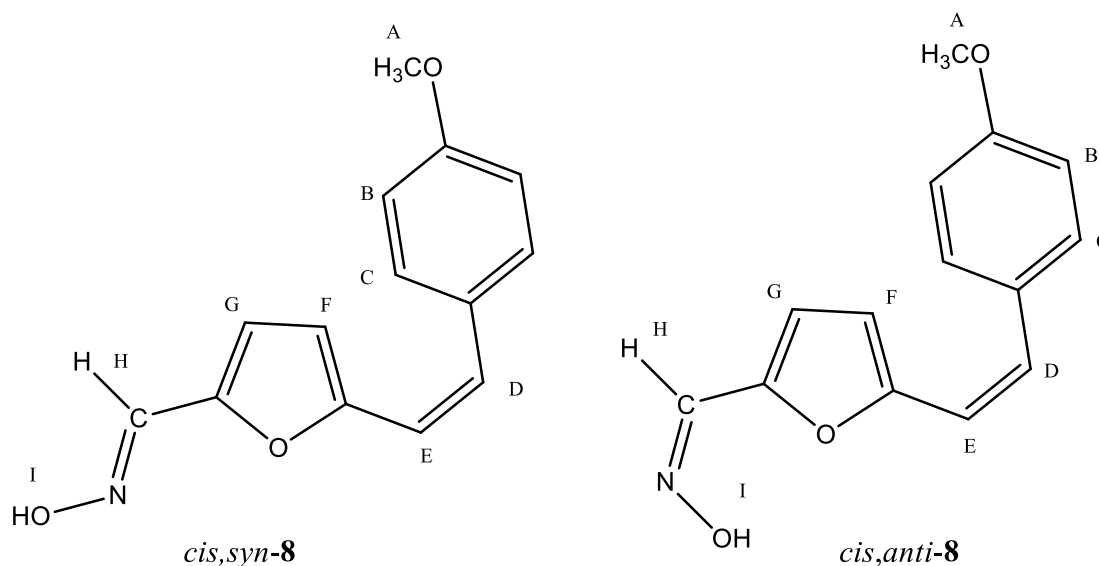
18.7 mg (izolirano 11.9 %), **4-((*E*)-2-(5-((*E*)-hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzoni-tril** (*trans,syn-7*): žuti prah; R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.74; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 8.00 (s, 1H, H_G), 7.68 (s, 1H, H_I) 7.62 (d, 2H, J =8.3 Hz, H_{A/B}), 7.53 (d, 2H, J =8.3 Hz, H_{A/B}), 7.16 (d, 1H, J =16.2 Hz, H_{C/D}), 6.96 (d, 1H, J =16.2 Hz, H_{C/D}), 6.68 (d, 1H, J =3.5 Hz, H_{F/E}), 6.52 (d, 1H, J =3.3 Hz, H_{F/E}).

4.5 mg (izolirano 2.9 %), **4-((*E*)-2-(5-((*E*)-hidroksimino)metil)furan-2-il)vinil)benzoni-tril** (*trans,anti-7*): žuti prah; R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.65; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 8.00 (s, 1H, H_I), 7.64 (d, 2H, J =8.2 Hz, H_{A/B}), 7.55 (d, 2H, J =8.5 Hz, H_{A/B}), 7.34 (d, 1H, J =3.5 Hz, H_{F/E}), 7.29 (s, 1H, H_G), 7.13 (d, 1H, J =16.3 Hz, H_{C/D}), 6.98 (d, 1H, J =16.3 Hz, H_{C/D}), 6.59 (d, 1H, J =3.5 Hz, H_{F/E}).

(*E*)-5-((*Z*)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-8*) i **(*E*)-5-((*Z*)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim** (*cis,anti-8*) te **(*E*)-5-((*E*)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim** (*trans,syn-8*) i **(*E*)-5-((*E*)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim** (*trans,anti-8*).

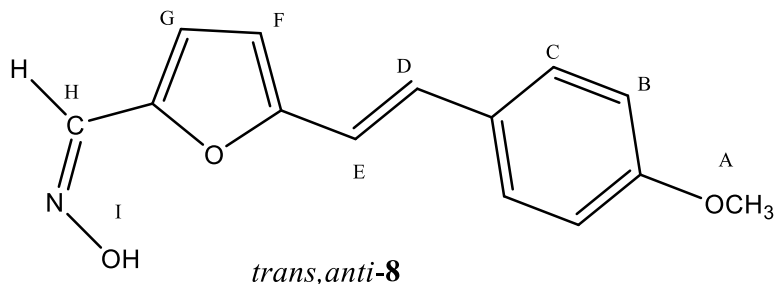
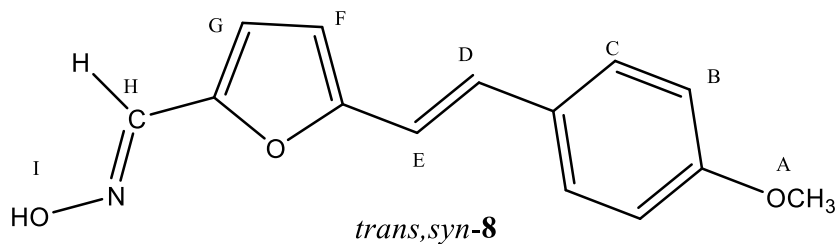
Kolonskom kromatografijom na silikagelu uz eter/petroleter kao eluens (70:30) dobiveno je 28.9 mg (3.3 %) smjese *trans,syn-8* i *cis,syn-8* te *cis,anti-8* i *trans,anti-8* izomera. Produkti

su pročišćeni zatim na preparativnoj TLC ploči koristeći metanol/diklormetan (3:97) kao eluens.



(E)-5-((Z)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-8*), R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.55; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.90 (s, 1H, H_H), 7.36 (d, 2H, J = 8.6 Hz, H_{B/C}), 7.35 (d, 2H, J = 8.8 Hz, H_{B/C}), 6.83 (d, 1H, J =2.8 Hz, H_{F/G}), 6.55 (d, 1H, J = 12.8 Hz, H_{D/E}), 6.34 (d, 1H, J = 12.8 Hz, H_{D/E}), 6.29 (d, 1H, J =3.7 Hz, H_{F/G}) 3.76 (s, 3H, H_A).

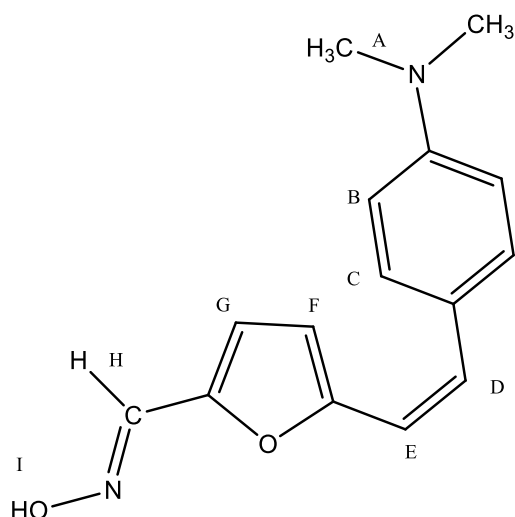
(E)-5-((Z)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-8*), R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.35; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.97 (s, 1H, H_I), 7.52 (s, 1H, H_H), 7.41 (d, 2H, J = 8.7 Hz, H_{B/C}), 7.22 (d, 1H, J =3.6 Hz, H_{F/G}), 6.88 (d, 2H, J = 8.2 Hz, H_{B/C}), 6.55 (d, 1H, J = 12.8 Hz, H_{D/E}), 6.40 (d, 1H, J =3.5 Hz, H_{F/G}), 6.28 (d, 1H, J = 12.8 Hz, H_{D/E}), 3.84 (s, 3H, H_A).



(E)-5-((E)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-8*), R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.52; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.85 (s, 1H, H_H), 7.35 (d, 2H, $J=8.8$ Hz, H_{B/C}), 7.32 (d, 2H, $J=8.2$ Hz, H_{B/C}), 6.80 (d, 1H, $J=2.8$ Hz, H_{F/G}), 6.69 (d, 1H, $J=16.2$ Hz, H_{D/E}), 6.68 (d, 1H, $J=16.2$ Hz, H_{D/E}), 6.23 (d, 1H, $J=3.9$ Hz, H_{F/G}), 3.76 (s, 3H, H_A).

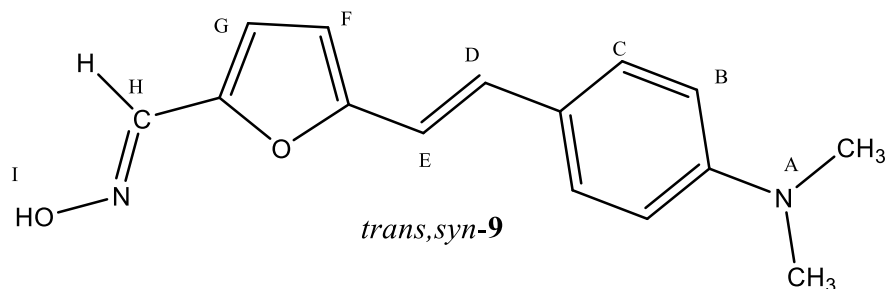
(E)-5-((E)-4-metoksistirilfuran-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-8*), R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.32; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.92 (s, 1H, H_I), 7.43 (d, 2H, $J=8.6$ Hz, H_{B/C}), 7.42 (s, 1H, H_H), 7.31 (d, 1H, $J=3.7$ Hz, H_{F/G}), 7.11 (d, 1H, $J=16.5$ Hz, H_{D/E}), 6.90 (d, 2H, $J=8.2$ Hz, H_{B/C}), 6.76 (d, 1H, $J=16.5$ Hz, H_{D/E}), 6.44 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, H_{F/G}), 3.83 (s, 3H, H_A).

(Z)-5-((E)-4-(dimetilamino)stirilfuran-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-9*), (*cis,anti-9*) i **(E)-5-((E)-4-(dimetilamino)stirilfuran-2-karbaldehid oksim** (*trans,anti-9*) i (*trans,syn-9*). Kolonskom kromatografijom na silikagelu dobiveno je 130 mg (91.6 %) smjese izomera (*cis,anti-9*), (*cis,syn-9*), (*trans,anti-9*) i (*trans,syn-9*). Produkti su pročišćeni zatim na preparativnoj TLC ploči koristeći metanol/diklormetan (3:97) kao eluens.

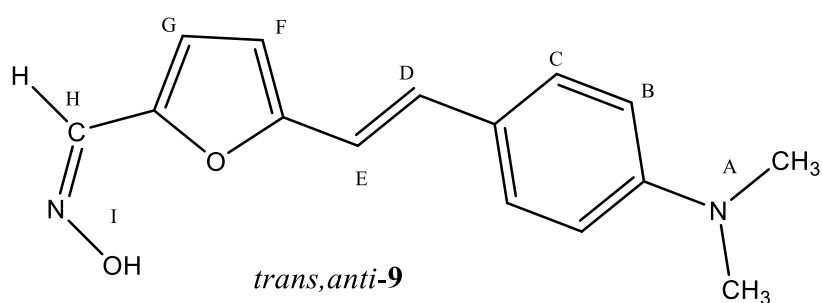


cis,syn-9

(Z)-5-((E)-4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-9*), R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.68; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.94 (s, 1H, H_H), 7.43 (d, 2H, $J=8.6$ Hz, H_{B/C}), 7.42 (d, 2H, $J=8.6$ Hz, H_{B/C}), 6.62 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, H_{F/G}), 6.57 (d, 1H, $J=3.5$ Hz, H_{F/G}), 6.41 (d, 1H, $J=12.1$ Hz, H_{D/E}), 6.40 (d, 1H, $J=12.1$ Hz, H_{D/E}), 2.99 (s, 6H, H_A).



trans,syn-9



trans,anti-9

(E)-5-((E)-4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-9*): žuti prah; R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.65; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.96 (s, 1H, H_H), 7.38 (d, 2H, $J=8.8$ Hz, H_{B/C}), 7.37 (d, 2H, $J=8.8$ Hz, H_{B/C}), 7.09 (d, 1H, $J=16.5$ Hz, H_{D/E}), 6.62 (d, 1H, $J=3.5$ Hz, H_{F/G}), 6.60 (d, 1H, $J=16.5$ Hz, H_{D/E}), 6.31 (d, 1H, $J=3.5$ Hz, H_{F/G}), 2.99 (s, 6H, H_A).

(E)-5-((E)-4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid oksim, (*trans,anti-9*): žuti prah; R_f (MeOH/CH₂Cl₂)=0.59; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.51 (s, 1H, H_H), 7.38 (d, 2H, $J= 8.8$ Hz, H_{B/C}), 7.37 (d, 2H, $J= 8.7$ Hz, H_{B/C}), 7.31 (d, 1H, $J=3.7$ Hz, H_{F/G}), 7.13 (d, 1H, $J= 16.4$ Hz, H_{D/E}), 7.09 (d, 1H, $J= 16.4$ Hz, H_{D/E}), 6.39 (d, 1H, $J=3.6$ Hz, H_{F/G}), 2.99 (s, 6H, H_A).

5. ZAKLJUČAK

Priprava 2-furilnih heterostilbena provodila se Wittigovom reakcijom. Istraživani supstituenti, cijano-, metoksi- te dimetilamino- pokazali su različite sklonosti pri prevođenju u Wittigove produkte. Cijano- i metoksi- supstituirani Wittigovi produkti nastali su u vrlo dobrom iskorištenju kao smjese *cis*- i *trans*-izomera, što kod dimetilamino- skupine nije bio slučaj. Naime, dimetilamino-skupina favorizira nastanak samo *trans*-izomera i to u malom iskorištenju pa je zbog toga ponovljena Wittigova reakcija u drugom otapalu. Prvotno korišteni etanol zamijenjen je benzenom, no istraživanje je pokazalo da korištenje benzena ne poboljšava iskorištenje, ali potiče nastanak *cis*-izomera, koji u reakciji s etanolom nije nastajao. Vilsmeierovim formiliranjem cijano- i metoksi-supstituiranih Wittigovih produkata dobivaju se očekivani *cis*- i *trans*-aldehidi, što s dimetilamino-supstituiranim produktom ponovno nije slučaj. Nakon provedenog formiliranja zamijećen je nastanak i *cis*-izomera. S obzirom na to da se u reakciju formiliranja išlo s čistim *trans*-izomerom, zaključujemo da se kod dimetilamino-supstituenta za vrijeme formiliranja dogodila izomerizacija te iz *trans*-izomera nastaje smjesa *cis*- i *trans*-izomera. Konačno, sintezom novih 2-furilnih oksima dobivamo *cis,syn*-, *cis,anti*-, *trans,syn*- te *trans,anti*-izomere. Zbog vrlo bliskih R_f vrijednosti svih 2-furilnih oksima, nije bilo moguće odvojiti izomere kolonskom kromatografijom, već su spojevi pročišćavani na preparativnim TLC pločama. Kod cijano-oksima uspješno su pročišćeni i odvojeni *cis,syn*-, *cis,anti*-, *trans,syn*- te *trans,anti*- izomeri, što kod metoksi- i dimetilamino-oksima nije bio slučaj. Pročišćavanjem metoksi-oksima dobivene su smjese izomera *cis,syn*- i *trans,syn*- te *cis,anti*- i *trans,anti*- u omjeru 1:1, a pročišćavanjem dimetilamino-oksima dobivena je smjesa četiri izomera ali s velikim udjelom *trans,syn*-izomera, što je još jedna potvrda ponovne izomerizacije dimetilamino-supstituenta.

6. LITERATURA

1. Worek, F., Thiermann, H., Wille, T., Organophosphorus compounds and oximes: a critical review, *Arch. Toxicol.* **94**, (2020) 2275–2292
2. Davies, D.R., and Green, A.L., The kinetics of reactivation, by oximes, of cholinesterase inhibited by organophosphorus compounds, *Biochem. J.* **63**, (1956) 529-535
3. Hobbiger F., Reactivation of Phosphorylated Acetylcholinesterase in: Koelle G.B., Cholinesterases and Anticholinesterase Agents, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer, Berlin, Heidelberg. **15**, (1963) 921-988
4. Eyer P., The role of oximes in the management of organophosphorus pesticide poisoning, *Toxicol. Rev.* **22**, (2003) 165–190
5. Bajgar J., Fusek J., Kuca K., Bartosova L., Jun D., Treatment of organophosphate intoxication using cholinesterase reactivators: facts and fiction, *Mini. Rev. Med. Chem.* **7**, (2007) 461–466
6. Eddleston M., Szynicz L., Eyer P., Buckley N., Oximes in acute organophosphorus pesticide poisoning: a systematic review of clinical trials, *Q. J. Med.* **95**, (2002) 275–283
7. Due P., Effectiveness of high dose pralidoxime for treatment of organophosphate poisoning, *Asia. Pac. J. Med. Tox.* **3**, (2014) 97–103
8. Shivakumar S., Raghavan K., Ishaq R.M., Geetha S., Organophosphorus poisoning: a study on the effectiveness of therapy with oximes, *J. Assoc. Physicians India* **54**, (2006) 250–251
9. Banerjee I., Tripathi S.K., Sinha R.A., Efficacy of pralidoxime in organophosphorus poisoning: revisiting the controversy in Indian setting, *J. Postgrad. Med.* **60**, (2014) 27–30
10. Lin C.C., Hung D.Z., Chen H.Y., Hsu K.H., The effectiveness of patient-tailored treatment for acute organophosphate poisoning, *Biomed. J.* **39**, (2016) 391–399
11. Tang X., Wang R., Xie H., Hu J., Zhao W., Repeated pulse intramuscular injection of pralidoxime chloride in severe acute organophosphorus pesticide poisoning, *Am. J. Emerg. Med.* **31**, (2013) 946–949
12. Pawar K.S., Bhoite R.R., Pillay C.P., Chavan S.C., Malshikare D.S., Garad S.G., Continuous pralidoxime infusion versus repeated bolus injection to treat

- organophosphorus pesticide poisoning: a randomised controlled trial, *Lancet*. **368**, (2006) 2136–2141
13. Peter J.V., Moran J.L., Graham P., Oxime therapy and outcomes in human organophosphate poisoning: an evaluation using metaanalytic techniques, *Crit. Care. Med.* **34**, (2006) 502–510
 14. Rahimi R., Nikfar S., Abdollahi M., Increased morbidity and mortality in acute human organophosphate-poisoned patients treated by oximes: a meta-analysis of clinical trials, *Hum. Exp. Toxicol.* **25**, (2006) 157–162
 15. Kharel H., Pokhrel N.B., Ghimire R., Kharel Z., The Efficacy of pralidoxime in the treatment of organophosphate poisoning in humans: a systematic review and metaanalysis of randomized trials, *Cureus*. **12**, (2020) e 7174
 16. Eddleston M., Eyer P., Worek F., Juszczak E., Alder N., Mohamed F., Senarathna L., Hittarage A., Azher S., Jeganathan K., Jayamanne S., von Meyer L., Dawson A.H., Sherif M.H.R., Buckley N.A., Pralidoxime in acute organophosphorus insecticide poisoning-a randomised controlled trial, *PloS. Med.* **6**, (2009) e1000104
 17. Eddleston M., Street J.M., Self I., Thompson A., King T., Williams N., Naredo G., Dissanayake K., Yu L.M., Worek F., John H., Smith S., Thiermann H., Harris J.B., Clutton R.E., A role of solvents in the toxicity of agricultural organophosphorus pesticides, *Oxicology* **294**, (2012) 94–103
 18. Eddleston M., Gunnell D., von Meyer L., Eyer P., Relationship between blood alcohol concentration on admission and outcome in dimethoate self-poisoning. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **68**, (2009) 916–919
 19. Moralev S.N., Rozengart E.V., Comparative enzymology of cholinesterases, International University Lines, Biotechnology Series, La Jolla, (2007)
 20. Timperley C.M., Best synthetic methods, organophosphorus (V) chemistry, Elsevier, Amsterdam (2015)
 21. Worek F., Wille T., Koller M., Thiermann H. Toxicology of organophosphorus compounds in view of an increasing terrorist threa., *Arch. Toxicol.* **90**, (2016) 2131–2145
 22. Black R., Chapter 1: Development, Historical Use and Properties of Chemical Warfare Agents, in *Chemical Warfare Toxicology*, **1**, (2016) 1-28
 23. McDonough J.H., Shih T.M., Atropine and other anticholinergic drugs. In: Marrs T.C., Maynard R.L., Sidell F.R. (eds) *Chemical warfare agents: toxicology and treatment*, 2nd. Wiley, Chichester, (2007) 287–303

24. Hobbiger F., Reactivation of phosphorylated acetylcholinesterase. In: Koelle GB (ed) Cholinesterases and anticholinesterase agents, Springer, Berlin, **75(2)**, (1963) 921–988
25. Namba T., Cholinesterase inhibition by organophosphorus compounds and its clinical effects, Bull. Wld. Hlth. Org. **44**, (1971) 289–307
26. Willems J., Vermeire P., Rolly G., Some observations on severe human poisonings with organophosphate pesticides, Arch. Toxikol., Archiv für Toxikologie, **28**, (1971) 182–191
27. Erdmann W.D., Antidotbehandlung bei Alkylphosphatvergiftungen. Arch. Toxikol. **24**, (1968) 30–40
28. Zech R., Erdmann W.D., Engelhard H., Grenzen der Therapie mit Oximen bei Vergiftungen mit insektiziden Alkylphosphaten, Drug. Res. **17**, (1967) 1196–1202
29. Loomis T.A., Salafsky B., Antidotal action of pyridinium oximes in anticholinesterase poisoning: comparative effects of soman, sarin and neostigmine on neuromuscular function, Toxicol. Appl. Pharmacol. **5**, (1963) 685–701
30. Heilbronn E., Tolagen B., Toxogonin in sarin, soman and tabun poisoning, Biochem. Pharmacol. **14**, (1965) 73–77
31. Wolthuis O.L., van Helden H.P.M., Melchers B.P.C., Busker R.W., Degroot D.M.G., Search for a therapy against soman-intoxication, Neurosci. Biobehav. Rev. **18**, (1994) 469–486
32. Worek F., Thiermann H., The value of novel oximes for treatment of poisoning by organophosphorus compounds, Pharmacol. Ther. **139**, (2013) 249–259
33. Hobbiger F., Sadler P.W., Protection against lethal organophosphate poisoning by quaternary pyridine aldioximes, Br. J. Pharmacol. **14**, (1959) 192–201
34. Stark I (1968) Versuche zur Darstellung eines LÜH6 (Toxogonin) überlegenen Acetylcholinesterase-Reaktivators, Dipl. Arbeit, Univ. Freiburg (1968)
35. Lundy P.M., Hamilton M.G., Sawyer T.W., Mikler J., Comparative protective effects of HI-6 and MMB-4 against organophosphorous nerve agent poisoning, Toxicology **285**, (2011) 90–96
36. Eyer P., Hagedorn I., Klimmek R., Lippstreu P., Löfer M., Oldiges H., Spöhrer U., Steidl I., Szinicz L., Worek F., HLö 7 dimethanesulfonate, a potent bispyridinium-dioxime against anticholinesterases. Arch. Toxicol. **66**, (1992) 603–621
37. Lundy P.M., Hansen A.S., Hand B.T., Boulet C.A., Comparison of several oximes against poisoning by soman, tabun and GF, Toxicology **72**, (1992) 99–105

38. Worek F., Szinicz L., Eyer P., Thiermann H., Evaluation of oxime efficacy in nerve agent poisoning: development of a kinetic-based dynamic model, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **209**, (2005) 193–202
39. Thiermann H., Szinicz L., Eyer F., Worek F., Eyer P., Felgenhauer N., Zilker T., Modern strategies in therapy of organophosphate poisoning, *Toxicol. Lett.* **107**, (1999) 233–239
40. Worek F., Aurbek N., Wille T., Eyer P., Thiermann H., Kinetic prerequisites of oximes as effective reactivators of organophosphate-inhibited acetylcholinesterase: a theoretical approach, *J. Enzym. Inhib.* **26**, (2011) 303–308
41. Worek F., Thiermann H., Wille T., Oximes in organophosphate poisoning: 60 years of hope and despair, *Chem. Biol. Interact.* **259**, (2016) 93–98
42. Worek F., Thiermann H., Szinicz L., Eyer P., Kinetic analysis of interactions between human acetylcholinesterase, structurally different organophosphorus compounds and oximes, *Biochem. Pharmacol.* **68**, (2004) 2237–2248
43. Sundwall A., Minimum concentrations of N-methylpyridinium-2-aldoxime methane sulphonate (P2S) which reverse neuromuscular block, *Biochem. Pharmacol.* **8**, (1961) 413–417
44. Luo C., Dawson M., Chambers C., Chilukuri N., Radic Z., Taylor P., Doctor B.P., Saxena A., Species-related differences in the oxime-induced reactivation of organophosphate-inhibited acetylcholinesterases, *Chem. Biol. Interact.* **157–15**, (2005) 393–394
45. Luo C., Tong M., Chilukuri N., Brecht K., Maxwell D.M., Saxena A., An in vitro comparative study on the reactivation of nerve agent-inhibited guinea pig and human acetylcholinesterases by oximes, *Biochemistry* **46**, (2007) 11771–11779
46. Worek F., Aurbek N., Wille T., Eyer P., Thiermann H., Kinetic analysis of interactions of paraoxon and oximes with human, Rhesus monkey, swine, rabbit, rat and guinea pig acetylcholinesterase, *Toxicol. Lett.* **200** 19–23
47. Worek F., Reiter G., Eyer P., Szinicz L., Reactivation kinetics of acetylcholinesterase from different species inhibited by highly toxic organophosphates, *Arch. Toxicol.* **76**, (2002) 523–529
48. Worek F., Wille T., Aurbek N., Eyer P., Thiermann H., Reactivation of organophosphate-inhibited human, Cynomolgus monkey, swine and guinea pig acetylcholinesterase by MMB-4, A modified kinetic approach. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **249**, (2010) 231–237

49. Calesnick B., Christensen J.A., Richter M., Human toxicity of various oximes, *Arch. Environ. Health* **15**, (1967) 599–608
50. Wiezorek W.D., Kreisel W., Schnitzlein W., Matzkowski H., Eigenwirkungen von Trimedoxim und Pralidoxim am Menschen, *Z Militärmed.* **9**, (1968) 223–226
51. Sidell F.R., Grof W.A., Toxogonin: blood levels and side effects after intramuscular administration in man, *J. Pharmac. Sci.* **59**, (1970) 793–797
52. Erdmann W.D., Bosse I., Franke P., Zur Resorption und Ausscheidung von Toxogonin nach intramuskulärer Injektion am Menschen, *Dtsch. Med. Wochenschr.* **90**, (1965) 1436–1438
53. Holland P., Parkes D.C., Plasma concentrations of the oxime pralidoxime mesylate (P2S) after repeated oral and intramuscular administration, *Br. J. Ind. Med.* **33**, (1976) 43–46
54. Xue S.Z., Ding X.J., Ding Y., Clinical observation and comparison of the effectiveness of several oxime cholinesterase reactivators, *Scand. J. Work. Environ. Health.* **11(suppl 4)** (1985) 46–48
55. Clement J.G., Bailey D.G., Madill H.D., Tran L.T., Spence J.D., The acetylcholinesterase oxime reactivator HI-6 in man: pharmacokinetics and tolerability in combination with atropine, *Biopharm. Drug. Dispos.* **16**, (1995) 415–425
56. Scott R.J., Repeated asystole following PAM in organophosphate self-poisoning. *Anaesth. Intensive Care* **14**, (1986) 458–460
57. Finkelstein Y., Kushnir A., Raikhlin-Eisenkraft B., Taitelman, U., Neurotoxicology and Teratology, Antidotal therapy of severe acute organophosphate poisoning: A multihospital study, **11(6)**, (1989) 593-596
58. Puček I., Sinteza i karakterizacija novih oksimskih derivata heterostilbena kao potencijalnih reaktivatora kolinesteraza (diplomski rad) (2020)
59. Pavlović K., Sinteza oksimskih derivata kao potencijalnih inhibitora kolinesteraza korištenjem mikroreaktorskog sustava, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu (2019)
60. Costa D.M., Freitas M.L., Antunes Soares F.A., Carratu V.S., Brandão R., Potential of two new oximes in reactivate human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibited by organophosphate compounds: An in vitro study, *Toxicology in vitro*, **25**, (2011) 2120-2123
61. Byrne, P. A., & Gilheany, D. G. The modern interpretation of the Wittig reaction mechanism. *Chemical Society Reviews*, **42(16)**, (2013) 6670

ŽIVOTOPIS

Ivana Popović [REDACTED] Osnovnu školu završila je 2013. godine u Karlovcu. Maturirala je 2017. godine u Gimnaziji Karlovac, Opći smjer. Iste godine upisuje preddiplomski studij Primjenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Studentsku Stručnu praksu odradila je u firmi Aqua Kem d.o.o u Zagrebu.