

Novi heterostilbeni kao potencijalni inhibitori ili reaktivatori kolinesteraza - sinteza i fotokemija

Mlakić, Milena

Doctoral thesis / Doktorski rad

2023

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:149:822291>

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

Milena Mlakić

**NOVI HETEROSTILBENI KAO POTENCIJALNI
INHIBITORI ILI REAKTIVATORI KOLINESTERAZA
– SINTEZA I FOTOKEMIJA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



University of Zagreb

FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Milena Mlakić

**NEW HETEROSTILBENES AS POTENTIAL
CHOLINESTERASE INHIBITORS OR
REACTIVATORS – SYNTHESIS AND
PHOTOCHEMISTRY**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2023



Sveučilište u Zagrebu
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

MILENA MLAKIĆ

**NOVI HETEROSTILBENI KAO POTENCIJALNI
INHIBITORI ILI REAKTIVATORI KOLINESTERAZA
– SINTEZA I FOTOKEMIJA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: Prof. dr. sc. Irena Škorić

Zagreb, 2023.



University of Zagreb
FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Milena Mlakić

**NEW HETEROSTILBENES AS POTENTIAL
CHOLINESTERASE INHIBITORS OR
REACTIVATORS – SYNTHESIS AND
PHOTOCHEMISTRY**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Prof. Irena Škorić, Ph.D.

Zagreb, 2023

Bibliografska stranica

- ❖ Bibliografski podaci:
- ❖ UDK: 547.636.3:577.152.31:615.262.1(043.3)
- ❖ Znanstveno područje: Prirodne znanosti
- ❖ Znanstveno polje: Kemija
- ❖ Znanstvena grana: Organska kemija
- ❖ Institucija: Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zavod za organsku kemiju
- ❖ Voditelj rada: prof. dr. sc. Irena Škorić Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilište u Zagrebu
- ❖ Broj stranica: 378
- ❖ Broj slika: 168
- ❖ Broj tablica: 34
- ❖ Broj priloga: 0
- ❖ Broj literaturnih referenci: 344
- ❖ Datum obrane: 10. studenoga 2023.
- ❖ Sastav povjerenstva za obranu:
 1. doc. dr. sc. Dragana Vuk – predsjednica Povjerenstva
 2. prof. dr. sc. Sandra Babić
 3. doc. dr. sc. Anita Šalić
 4. izv. prof. dr. sc. Ilijana Odak, Sveučilište u Mostaru Fakultet prirodoslovno-matematičkih i odgojnih znanosti
 5. dr. sc. Danijela Barić, viša znanstvena suradnica, Institut Ruđer Bošković

- ❖ Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Hrvatske bratske zajednice bb;

Knjižnici Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Marulićev trg 20;

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 22. svibnja 2022., te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu održanoj 25. listopada 2022.

Stranica s informacijama o mentoru

Prof. dr. sc. Irena Škorić [REDACTED] Majka je dvoje djece od 25 i 22 godine starosti. Diplomirala je na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu (Fakultet) početkom 1996. na tematici iz organske kemije (mentorica prof. dr. sc. Marija Šindler) i ubrzo se zaposlila kao znanstvena novakinja u Zavodu za organsku kemiju Fakulteta te upisala poslijediplomski studij Inženjerska kemija. Magistrirala je 2000. magistarskim radom pod naslovom Sinteza i fotokemija aneliranih 2-stirilfurana pod vodstvom prof. dr. sc. Marije Šindler. U prosincu 2000. izabrana je u istraživačko zvanje asistenta u području prirodnih znanosti, polje kemija, a u travnju 2004. izabrana je u suradničko zvanje asistenta. Doktorirala je 2005. na temi Sinteza i fotokemija novih furanskih *o*-vinilheterostilbena pod vodstvom prof. dr. sc. Marije Šindler. Nakon godinu dana, 27. rujna 2006. izabrana je u znanstvenu suradnicu odlukom Matičnog odbora za područje prirodnih znanosti – polje kemija, a od 1. veljače 2007. zaposlena je kao docentica Fakulteta. Odlukom Matičnog odbora za područje prirodnih znanosti – polje kemija, izabrana je u znanstveno zvanje višeg znanstvenog suradnika 16. veljače 2011. U znanstveno-nastavno zvanje izvanredni profesor izabrana je 28. lipnja 2011. Matični odbor za područje prirodnih znanosti – polje kemija, 13. travnja 2016. donio je Odluku o izboru izv. prof. dr. sc. Irene Škorić u znanstveno zvanje znanstveni savjetnik u području prirodnih znanosti – polje kemija, a 14. veljače 2017. izabrana je u znanstveno-nastavno zvanje redovitog profesora. Matični odbor za područje prirodnih znanosti – polje kemija, na svojoj 1. sjednici održanoj 15. lipnja 2021., donio je Odluku o izboru prof. dr. sc. Irene Škorić u znanstveno zvanje znanstveni savjetnik u trajnom zvanju. U znanstveno-nastavno zvanje redovite profesorice u trajnom zvanju izabrana je 24. svibnja 2022. Usavršavala se 2007. na University of Pannonia, u ukupnom trajanju od šest mjeseci. Dobitnica je Godišnje nagrade Društva sveučilišnih nastavnika za najbolji znanstveni rad (Chem. Eur. J. 11 (2005) 543-551) i Nagrade Vladimir Prelog za organsku kemiju mladom znanstveniku za 2008. za postignute rezultate istraživanja u području sintetske fotokemije i interpretacije fotokemijskih reakcijskih mehanizama. Do danas je koautorica 94 rada objavljena u časopisima zastupljenim u bazama podataka Web of Science Core Collection i Current Contents, te održala pet pozvanih i šest javnih predavanja. Od kada se zaposlila bila je suradnica na tri nacionalna znanstvena projekta, zatim voditelj s hrvatske strane bilateralnog znanstveno-istraživačkog projekta u okviru hrvatsko-mađarske suradnje (2009.-2011.) i vanjski suradnik na inozemnom projektu (University of Pannonia, 2010.-2012.). Od 2011.-2014. bila je voditeljica jednog nacionalnog projekta te suradnica na HRZZ projektu pod nazivom Sudbina

farmaceutika u okolišu i tijekom naprednih postupaka obrade vode (2015.–2019). Trenutno je suradnica na HRZZ projektu pod nazivom Fotokemija: Reakcijski mehanizmi i primjene u organskoj sintezi i biologiji (voditelj dr. sc. Nikola Basarić) (2020.-2024.). Održavala je do sada predavanja na svim preddiplomskim i diplomskim studijima (Organska kemija, Molekulska spektroskopija, Biokemija, Kemija okoliša i Organska fotokemija) te na poslijediplomskom studiju Kemijsko inženjerstvo i primijenjena kemija. Bila je mentorica dvije i komentorica dvije doktorske disertacije, te mentorica ukupno 80 diplomskih/završnih radova. Trenutno je mentorica četiri doktorske disertacije. Koautorica je sveučilišnog udžbenika Organska fotokemija-principi i primjena, te mentorica sedam studentskih radova nagrađenih Rektorovom nagradom. U periodu 2015.-2022. vodila je osam stručnih projekata u suradnji s tvrtkom PLIVA. Od ak. god. 2013./2014. do ak. god. 2016./2017. bila je prodekanica za nastavu Fakulteta. Također, bila je članica Upravljačkog tima i voditeljica Ekspertne radne skupine Fakulteta na projektu TARGET – Uspostava visokoobrazovnih sTandarda kvAlifikacija i zanimanja u sektoru Rudarstva, Geologije i kEmijske Tehnologije, u sklopu Europskog socijalnog fonda u sklopu programa Razvoj ljudskih potencijala 2007-2013 (Broj projekta: HR.3.1.15-0002). Bila je voditeljica preddiplomskog i diplomskog studija Primijenjena kemija (2011-2017), u ak. god. 2011./2012. i 2012./2013. te 2021./2022. i 2022./2023. predstojnica Zavoda za organsku kemiju Fakulteta, ECTS koordinatorica Fakulteta (2008-2013), članica Povjerenstva za nastavu (2009-2013), voditeljica Povjerenstva za nastavu Fakulteta (2013-2017), članica Povjerenstva za međunarodnu suradnju Fakulteta (2009-2013), članica Povjerenstva za promicanje imena Fakulteta (2013-2017), članica Radne skupine koja je pisala Samoanalizu Fakulteta (2008, 2015), članica Povjerenstva za priznavanje inozemnih visokoškolskih kvalifikacija Sveučilišta u Zagrebu (2014-2018), predstavnica Fakulteta u Vijeću prirodoslovnog područja Sveučilišta u Zagrebu (2014-2018) i članica Radne skupine za izradu studije predizvodljivosti za projekt Opremanje i infrastrukturno renoviranje Laboratorija NBK zaštite u svrhu jačanja znanstvene izvrsnosti za potrebe Hrvatskog vojnog učilišta (2015). Članica je Povjerenstva za upravljanje kvalitetom Fakulteta (2021. -). Koautorica je Priručnika za osiguranje kvalitete Fakulteta (2015) i Strateškog programa znanstvenih istraživanja 2015.-2020. Fakulteta (2015). Članica je European Photochemistry Association (EPA), Hrvatskog kemijskog društva (HKD), Hrvatskog društva kemijskih inženjera i tehnologa (HDKI) i Društva sveučilišnih nastavnika i drugih znanstvenika u Zagrebu.

https://www.croris.hr/crosbi/searchByContext/2/3431?TIP_RAD=760

Zahvale

*Mojoj mentorici, prof. dr. sc. Ireni Škorić,
za pruženu priliku, idejne projekte, objavljene publikacije, ali i one u izradi, bezbroj stručnih
savjeta, svakog našeg zajedničkog studenta, suradnje s industrijom koje smo vrijedno
odradile.*

*Veliko hvala što ste bili dosljedna i pravedna mentorica.
I što ste uvijek bili uz mene, kod svakog sintetskog koraka.*

*Zavodu za organsku kemiju za prijateljsku radnu atmosferu, na stotine kolača, Grizli
jelovnika i uvijek dobrim privatnim druženjima.*

*Laboratoriju za sintetsku organsku kemiju Instituta Ruđer Bošković pod vodstvom dr. sc.
Nikole Basarića za hitna snimanja NMR protonaca, uspješne suradnje i Josipu Draženoviću
za siguran transport cjevčica, postera i za nezaboravne dane provedene u Amsterdamu i
Rotterdamu.*

*Izv. prof. dr. sc. Ilijani Odak za biološke rezultate i stručne savjete, za svaku poštu na relaciji
Zagreb-Vitez-Mostar i obrnuto. Još čuvam bosanskohercegovačke markice za uspomenu.*

*Dr. sc. Danijeli Barić za prenošenje znanja iz područja računalne kemije, prelijepa sličice i
savjete o shvaćanju aktivnog mjesta enzima.*

*Doc. dr. sc. Aniti Šalić za savjete zlata vrijedne o mikroreaktorima, ali i dolaske iz Savske
zbog začepljenih kanalića i uvijek ugodne razgovore.*

Dr. sc. Ani Ratković za sintetsku pomoć i prijateljska druženja.

Hvala kolegama NMR centra Instituta Ruđer Bošković, a posebno Željku Mariniću za sve snimljene NMR spektre i ugodne razgovore.

Hvala dr. sc. Teni Čadež i dr. sc. Zrinki Kovarik za biološka ispitivanja reaktivacije kolinesteraza na Institutu za medicinska istraživanja i medicinu rada i ugodnu posjetu Dubrovniku u proljeće 2022.

Hvala kolegama iz Plive, posebno Zlati, Korneliji, Anabeli, Luciji i Viti.

Hvala svim mojim studentima koji su ovaj posao učinili još ljepšim.

Hvala mojim prijateljima za podršku i razumijevanje nakon sto otkazanih kava, što nikad niste ozbiljno zamjerali.

Posebno hvala mojoj Vilmi, ona sama zna sve uspomene koje smo stvarale iz dana u dan, posebno za žustre rasprave o knjigama, kemiji i ljubavnim odnosima u pauzama za ručak, za dane provedene na Hvaru i nezaboravne dane u Nizozemskoj.

Mojoj majci za svaki majčinski savjet na mom doktorskom putovanju i ostatku obitelji na svakodnevnoj podršci.

Posebno hvala Luki za empatiju, nemjerljivu podršku, svaki vjetar u leđa i bezuvjetnu ljubav.

Sažetak

U ovoj disertaciji, predložena je sinteza novih stilbenskih derivata koje u svojim strukturama sadrže heterocikličke jezgre furana, tiofena, triazola, tiazola i piranona. Sinteza je uspješno provedena koristeći Wittigovu reakciju, McMurryjevu reakciju i Buchwald-Hartwigovu reakciju aminiranja. Na sintetiziranim konjugiranim molekulama provedena su fotokemijska osvjetljavanja u svrhu dobivanja novih elektrociklizacionih fotoprodukata. Na novim derivatima provedena su ispitivanja njihove biološke aktivnosti kao potencijalnih inhibitora enzima kolinesteraza s protuupalnim i antioksidacijskim djelovanjem ili kao reaktivatora kolinesteraza. Kao modelne molekule služile su poznati stilbeni derivati s izraženom biološkom aktivnošću kao što su rezveratrol, pterostilben i drugi. Heterostilbeni derivati sadrže i heterocikličke jezgre koje su ključne u metabolizmu živih stanica, a od iznimne su važnosti i za razvoj agenasa protiv neurodegenerativnih bolesti, kod kojih vodeću ulogu igraju upravo enzimi kolinesteraze. Kako se različiti heterostilbeni derivati već primjenjuju i u izradi nelinearnih optičkih materijala (NLO), detaljno su se uz fotokemijsku reaktivnost i nastajanje fotociklizacionih produkata ispitivalo i fotofizičko ponašanje novih heterostilbena. Sinteza se provodila konvencionalnim pristupom, ali i suvremenim sintetskim pristupom, primjenom protočne kemije i protočne fotokemije, u cilju povećanja produktivnosti i ekonomičnosti procesa. Na temelju računalnih metoda ispitalo se potencijalno vezivanje novih struktura u aktivna mjesta enzima kolinesteraza, ali i elektronska struktura molekula. U velikom broju novih struktura istaknuo se određeni broj molekula koje su pokazale jako dobru inhibicijsku aktivnost prema enzimima kolinesterazama, ali i antioksidacijsku i protuupalnu aktivnost. Heterostilbeni derivati s najboljim preliminarnim rezultatima daju smjernice za daljnji tijek istraživanja u pronalaženju novih inhibitora ili reaktivatora enzima kolinesteraza s dodatnim antioksidacijskim i protuupalnim učinkom ili pogodnim fotofizičkim karakteristikama.

Biološka ispitivanja su provedena u suradnji sa *Sveučilištem u Mostaru* i tvrtkom *Selvita*, a računalna ispitivanja i fotofizika, te spektroskopska mjerenja provedena su u suradnji s *Institutom Ruđer Bošković*. Ispitivanja na kompleksiranju novih spojeva s biometalima, te tumačenja fotokatalitičkih oksigenacija provedena su u suradnji sa *Sveučilištem Pannonia u Veszprému*.

Biološka ispitivanja reaktivacije kolinesteraza ispitivana su u suradnji s kolegama s *Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada*. Računalna ispitivanja fotokemije i fotofizike pobuđenih molekula u korelaciji s eksperimentalnim LFP rezultatima provedena su u suradnji sa *Sveučilištem u Yaleu*. Analize spojeva i sinteza spojeva u protočnim reaktorima provedene su u suradnji s kolegama s *Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu* i iz tvrtke *Pliva*.

- ❖ Ključne riječi: Alzheimerova bolest, antioksidacija, fotokemija, heterostilbeni, inhibicija, kolinesteraze, molekulsko pristajanje, protuupalna aktivnost, reaktivacija, spektroskopska karakterizacija

Summary

In this dissertation, the synthesis of new stilbene derivatives containing in their structures heterocyclic nuclei of furan, thiophene, triazole, thiazole and pyranone was designed, and successfully carried out using the Wittig reaction, the McMurry reaction and the Buchwald-Hartwig amination reaction. Photochemical illumination was performed on the synthesized conjugated derivatives in order to obtain new electrocyclization photoproducts. New derivatives were tested for their biological activity as potential cholinesterase enzyme inhibitors with anti-inflammatory and antioxidant activity or as cholinesterase reactivators. Known stilbene derivative with pronounced biological activity such as resveratrol, pterostilbene and others served as model compounds. Heterostilbene molecules contain heterocyclic nuclei that are crucial in the metabolism of living cells, and are of exceptional importance for the development of agents against neurodegenerative diseases, in which enzymes cholinesterases play a leading role. As different heterostilbene derivatives are already used in the production of nonlinear optical materials (NLO), photochemical reactivity and the formation of photocyclization products were also investigated in detail, as well as the photophysical behavior of the new heterostilbenes. The synthesis was carried out with a conventional approach, but also with a modern synthetic approach, using flow-chemistry and flow-photochemistry, in order to increase the productivity and economy of the process. On the basis of computer methods, the potential binding of new structures to the active sites of enzyme cholinesterases, as well as the electronic structure of the molecules, were examined. Among the large number of new structures, a certain number of molecules stood out with very good inhibitory activity towards enzyme cholinesterases, but also antioxidant and anti-inflammatory activity. Heterostilbene derivatives with the best preliminary results provide guidelines for further research in finding new enzyme cholinesterase inhibitors or reactivators with additional antioxidant and anti-inflammatory effects or suitable photophysical characteristics.

Biological tests were carried out in cooperation with the *University of Mostar* and the company *Selvita*, while computational study, photophysics and spectroscopic measurements were carried out in cooperation with the *Ruđer Bošković Institute*. Tests on the complexation of compounds with biometals, and interpretations of the photocatalytic oxygenation were carried out in coop-

eration with the *Pannonia University in Veszprém*. Biological tests of cholinesterase reactivation were investigated in collaboration with colleagues from the *Institute for Medical Research and Occupational Medicine*. Computational study on the photochemistry and photophysics of excited molecules in correlation with experimental results were carried out in cooperation with *Yale University*. Analyzes of compounds and synthesis of compounds using flow-reactors were carried out in collaboration with colleagues from the *Faculty of Chemical Engineering and Technology at University of Zagreb* and from the *Pliva* company.

- ❖ Key words: Alzheimer's disease, anti-inflammatory activity, antioxidation, cholinesterase, heterostilbenes, inhibition, molecular docking, photochemistry, reactivation, spectroscopic characterisation

Sadržaj

UVOD.....	2
1. OPĆI DIO.....	4
1.1. (Hetero)stilbeni i njihova primjena.....	4
1.2. Fotokemija i fotofizika (hetero)stilbena.....	6
1.3. Rezveratrol, njegovi derivati i njihova primjena.....	10
1.4. 1,2,3-Triazoli i 1,2,3-triazolostilbeni – reaktivnost i primjena.....	13
1.5. Biološka aktivnost 1,2,3-triazola i 1,2,3-triazolostilbena.....	15
1.6. Enzimi kolinesteraze – uloga i inhibicija.....	16
1.7. Oksimi kao reaktivatori kolinesteraza inhibiranih organofosfatima.....	20
1.8. Sintaza i fotokemijska oksigenacija derivata stilbena u mikroreaktorima.....	23
2. REZULTATI I RASPRAVA.....	30
2.1. Sintaza, fotokemija i biološka ispitivanja naftoksazola.....	30
2.1.1. Inhibicija enzima kolinesteraza ariletetil-oksazolima i naftoksazolima.....	33
2.2. Sintaza, fotokemija i biološka ispitivanja heterostilbenskih amina.....	35
2.2.1. Računalna ispitivanja elektronske strukture stiril-tiofena i nafto-tiofenskih benzilamina 2-15	39
2.2.2. Biološka ispitivanja stiril-tiofena i nafto-tiofenskih benzilamina 2-15	43
2.3. Sintaza i fotokemija arilnih triazolostilbena.....	45
2.3.1. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva 1,2,3-triazolostilbena 16-25	46
2.3.2. Računalno istraživanje elektronske strukture novih derivata 1,2,3-triazola 16-25	49
2.3.3. Biološka aktivnost novih derivata 1,2,3-triazola 16-25	56
2.3.3.1. <i>In silico</i> predviđanje ADME svojstava 1,2,3-triazola 16-25	56
2.3.3.2. Inhibicijsko djelovanje 1,2,3-triazola 16-25 prema enzimima kolinesterazama.....	57
2.3.4. Računalna studija kompleksa između odabranih spojeva i kolinesteraza.....	59
2.3.5. <i>In vitro</i> protuupalna aktivnost 1,2,3-triazolostilbena i njihovih fotoprodukata elektrociklizacije.....	61
2.4. Sintaza ditriazolostilbena.....	63
2.4.1. Fotokemija derivata triazola 36-43	66
2.4.2. Računalna studija elektronske strukture triazola 36-43	70
2.5. Sintaza i fotokemija arilnih i tiofenskih triazolostilbena.....	77
2.5.1. Biološka aktivnost novih 1,2,3-triazolo(hetero)stilbene i nafto/tienobenzo-triazola.....	79
2.5.1.1. <i>In vitro</i> biološka aktivnost 1,2,3-triazolo(hetero)stilbena i njihovih fotoprodukata elektrociklizacije.....	79
2.5.1.2. Inhibicijsko djelovanje novih triazolo-tienostilbena 48-53 i tienobenzo-triazola 59-62 prema enzimima kolinesterazama.....	81
2.5.2. Računalna studija.....	84
2.5.3. Odnos strukture i aktivnosti.....	86
2.6. Sintaza i fotokemija tieno-triazolostilbena.....	87
2.6.1. Inhibicijska aktivnost tienobenzo/nafto-triazola 63-79 prema enzimima kolinesterazama.....	90
2.6.2. Računalna studija tienobenzo/nafto-triazola 63-79 kao inhibitora kolinesteraza.....	92
2.6.3. Kristalna struktura spoja 65	96
2.7. Sintaza i fotokemija tiazolostilbena.....	98
2.7.1. Računalno ispitivanje tiazolostilbena.....	100
2.7.2. Inhibicijsko djelovanje tiazolostilbena, tienobenzo-tiazola i nafto-oksazola prema enzimima kolinesterazama.....	104
2.7.3. Molekulsko pristajanje.....	108
2.8. Sintaza piranonskih stilbena.....	111
2.8.1. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva novih stiril-piranona 102-109	113
2.8.2. Inhibicijsko i antioksidacijsko djelovanje rezveratrol-maltolnih i rezveratrol-tiofenskih hibrida na kolinesteraze.....	115
2.8.3. Računalna studija rezveratrol-tiofenskih i rezveratrol-maltolnih hibrida kao inhibitora kolinesteraze.....	118
2.8.4. Sposobnost umetanja biometala aktivnih piranona koji inhibiraju kolinesterazu.....	122
2.8.5. Kristalna struktura i pakiranje hibrida rezveratrol-maltola.....	125
2.9. Sintaza 2-tienostilbena.....	127
2.9.1. <i>In silico</i> predviđanje ADME svojstava tienostilbenskih oksima 122-127	129
2.9.2. <i>In vitro</i> procjena tienostilbenskih oksima 122-127 u reakcijama s kolinesterazama.....	131
2.9.3. Računalno ispitivanje potencijalnih reaktivatora.....	132
2.10. Sintaza novih nenabijenih oksima.....	135

2.11. Sinteza derivata rezveratrola 191-208	146
2.11.1. Sinteza i karakterizacija novih hidroksi-stilbena 191, 192, 195-200, 202, 203, 206 i 207	147
2.11.2. Sinteza hidroksi-stilbena 206	148
2.11.3. Sinteza spojeva 194 i 205 Wittigovom reakcijom	148
2.11.4. Sinteza hidroksi-stilbena 193 i 204 McMurryjevom reakcijom	149
2.11.5. Spektroskopska karakterizacija novih hidroksi-stilbena	149
2.11.6. Biološka aktivnost novih hidroksi-stilbena	153
2.11.6.1. Inhibicija kolinesteraza	153
2.11.6.2. Antioksidacijska aktivnost	155
2.11.7. Računalni rezultati	157
2.12. Sinteza, fotokemija i fotofizika benzilnih triazolostilbena 209 i 210	164
2.12.1. Fotokemijska reaktivnost triazolostilbena 209 i 210	164
2.12.2. Fotofizička svojstva triazolostilbena 209 i 210	166
2.12.3. Laserska pulsna fotoliza	168
2.12.4. Računalno istraživanje	171
2.13. Sinteza i fotofizika distirilnih derivata DAQP, MIX i QP	175
2.13.1. Spektrofotometrijske i fluorimetrijske titracije	175
2.13.2. pK_a^* određivanje Försterovim ciklusom	179
2.13.3. ReactLab simulacije i kvantno-mehanički proračuni	180
2.13.4. Spektralna i fluorescentna svojstva neutralnih i protoniranih vrsta	182
2.14. Funkcionalizacija rezveratrolnih derivata šaržnom i protočnom sintezom	185
2.14.1. Sinteza heterocikličkih analoga rezveratrola u mili- i mikroreaktoru	189
2.14.2. Antioksidacijsko djelovanje novih analoga rezveratrola	195
2.15. Fotokatalitičke oksigenacije rezveratrolnih derivata u šaržnom i protočnom reaktoru	196
2.15.1. Sinteza i identifikacija produkata fotooksidacije	197
2.15.2. Kinetika	203
2.15.3. Sinteza u mikroreaktorima	204
2.15.4. Dodatni izračuni	206
2.16. Fotokatalitička oksigenacije spoja <i>trans</i> - 128	207
2.16.1. Sinteza u šaržnom reaktoru i identifikacija produkata fotokatalitičke transformacije	208
2.16.2. Sinteza u mikroreaktoru	213
3. EKSPERIMENTALNI DIO	218
3.1. Sinteza i fotokemija heterostilbenskih amina	218
3.1.1. Opće napomene	218
3.1.2. Sinteza 2-(4-klorstiril)tiofena 1	218
3.1.3. Sinteza novih 4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilina 2-8 Buchwald-Hartwigovim aminiranjem	220
3.1.4. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 9-15	224
3.2. Sinteza i fotokemija arilnih triazolostilbena	226
3.2.1. Opće napomene	226
3.2.2. Sinteza polaznih arilnih triazolostilbena 16-25	227
3.2.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 26-35	234
3.3. Sinteza ditriazolostilbena	237
3.3.1. Opće napomene	237
3.3.2. Sinteza ditriazolostilbena 36-42	238
3.4. Sinteza i fotokemija arilnih i tiofenskih triazolostilbena	241
3.4.1. Opće napomene	241
3.4.2. Sinteza polaznih spojeva 1,2,3-triazolo(hetero)stilbena 44-53	242
3.4.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 54-62	248
3.5. Sinteza i fotokemija tieno-triazolostilbena	251
3.5.1. Opće napomene	251
3.5.2. Sinteza polaznih tieno-triazolnih stilbena 63a-66a, 80a-86a	251
3.5.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 63-66, 80-86	252
3.5.4. Sinteza tieno-benzotriazola 67-79	253
3.5.5. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 80-86	257
3.6. Sinteza i fotokemija tiazolostilbena	259
3.6.1. Opće napomene	259
3.6.2. Sinteza 2-tiofenske fosfonijeve soli	260
3.6.3. Sinteza novih tiazolostilbena 87-96	260
3.6.4. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 97-101	265

3.7. Sinteza piranonskih stilbena	267
3.7.1. Opće napomene	267
3.7.2. Sinteza 4-piranonskih heterostilbena 102-109	267
3.8. Sinteza 2-tienostilbena	272
3.8.1. Opće napomene	272
3.8.2. Sinteza polaznih 2-tienostilbena 110-115	273
3.8.3. Sinteza formilnih derivata 116-121	276
3.8.4. Sinteza oksimskih derivata 122-127	279
3.9. Sinteza heterostilbena 128-145 , aldehida 146-168 i oksima 169-190	283
3.9.1. Opće napomene	283
3.9.2. Sinteza polaznih heterostilbena 128-145	284
3.9.3. Sinteza polaznih aldehida 146-168	290
3.9.4. Sinteza oksima 169-190	298
3.10. Sinteza derivata rezveratrola 191-208	309
3.10.1. Opće napomene	309
3.10.2. Sinteza furanskih i tiofenskih fosfonijevih soli	310
3.10.3. Sinteza spojeva 191, 192, 195, 196-200, 202, 203, 206, 207	310
3.10.4. Sinteza piran-4-onske soli	314
3.10.5. Sinteza spojeva 194 i 205	315
3.10.6. Sinteza spojeva 208 i 201	316
3.10.7. Sinteza spojeva 193 i 204	318
3.11. Sinteza, fotokemija i fotofizika benzilnih triazolostilbena 209 i 210	319
3.11.1. Opće napomene	319
3.11.2. Sinteza polaznih triazolostilbena 209 i 210	320
3.11.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 211 i 212	321
3.11.4. Aktinometrijski eksperimenti	322
3.12. Sinteza distirilnih derivata 213 i 214	323
3.12.1. Opće napomene	323
3.12.2. Sinteza dimetil-amino-distirilnih derivata	323
3.13. Funkcionalizacija rezveratrolnih derivata	325
3.13.1. Opće napomene	325
3.13.2. Sinteza polaznih heterostilbena 215-217	325
3.14. Fotokatalitičke oksigenacije rezveratrolnih derivata	328
3.14.1. Opće napomene	328
3.14.2. Sinteza i fotokatalitička oksigenacija 220-230	328
3.14.3. Fotokatalitička oksigenacija spoja <i>trans</i> - 128	330
4. ZAKLJUČAK	332
5. POPIS LITERATURE	340
6. ŽIVOTOPIS	358

UVOD

UVOD

Alzheimerova bolest (*engl.* Alzheimer disease, AD) je neizlječiv neurodegenerativni zdravstveni problem koji je prvi dijagnosticirao liječnik Alois Alzheimer 1906. godine. Poznato je da je AD glavni uzrok demencije i smanjuje kvalitetu života pojedinaca ometajući njihovo socijalno, fiziološko i psihološko funkcioniranje [1]. Tri rana simptoma upozorenja na ovu bolest su promjene raspoloženja i ponašanja, oslabljena kognitivna sposobnost i progresivni poremećaji pamćenja. Halucinacije, grčevi mišića, nemir, razdražljivost, inkontinencija i poteškoće s gutanjem mogu se pojaviti u kasnijim fazama AD. Višestruki čimbenici okoliša i genetski rizični čimbenici potvrđeni su za patologiju AD. Varijacije gena za apolipoprotein E, tau-protein/amiloidne beta-agregacije ($A\beta$), nedostatak neurotransmitera acetilkolina, starenje, dugotrajna izloženost silicijevim i aluminijevim toksinima, dijete, konzumacija alkohola i nikotina, oksidativni stres, upala, hormoni, traumatska ozljeda mozga i nekoliko vaskularnih čimbenika rizika – uključujući povišen kolesterol, dijabetes i hipertenziju, potencijalni su dio etiologije AD. Utvrđeno je da su pojava i progresija bolesti povezani s neuronskom displazijom, angiogenim promjenama, neuroupalom, oštećenjem mitohondrija i smanjenim kolinergičkim prijenosom. Rana i točna dijagnoza bolesti omogućuje što ranije učinkovito liječenje. Povećanje razine bioloških markera u cerebrospinalnoj tekućini i plazmi kao što su fosforilirani i ukupni tau-protein važni su u dijagnozi [1].

Kolinergički neuroni bazalnog prednjeg mozga igraju ključnu ulogu u mozgu, s opsežnim kortikalnim projekcijama koje moduliraju druge neurotransmitere. Poznato je da su ovi kolinergički sustavi uključeni u kognitivne funkcije i funkcije ponašanja koje su uveliko poremećene kod Alzheimerove bolesti. Aktivnost acetilkolina, ACh u mozgu prekida se hidrolitičkim djelovanjem enzima kolinesteraza, ChE. Stoga su razvijeni inhibitori ovih enzima za povećanje aktivnosti preživjelih kolinergičkih neurona kod bolesnika s AD [2]. Inhibitori ChE, trenutno odobreni za AD inhibiraju acetilkolinesterazu (AChE, EC 3.1.1.7) i, u različitoj mjeri, butirilkolinesterazu (BChE, EC 3.1.1.8), drugu ChE u mozgu, trenutno su jedini tretman za ublažavanje simptoma AD. AChE i BChE imaju brojne fiziološke funkcije ovisno o njihovoj lokalizaciji i vremenu ekspresije [2]. Klasično djelovanje AChE je kataliziranje hidrolize ACh unutar kolinergičkih sinapsi mozga i autonomnog živčanog sustava [3]. Iako BChE dijeli neke od ovih funkcija, njegova uloga u mozgu ostaje nejasna. Kod AD, razina AChE se progresijom bolesti gubi do 85 % u određenim regijama mozga, dok razina BChE, uglavnom oblika G1,

raste. Omjer BChE i AChE dramatično se mijenja u kortikalnim regijama zahvaćenim AD od 0,2 do čak 11 [2].

Jasno je da bi ovaj promijenjeni omjer u AD u mozgu mogao modificirati uobičajenu potpurnu ulogu BChE samo u hidrolizi viška ACh. Selektivna inhibicija BChE stoga može biti korisna u ublažavanju kolinergičkog deficita, koji se vjerojatno pogoršava u AD zbog povećane aktivnosti BChE. Kada govorimo o inhibiciji kolinesteraza neizostavno je napomenuti da postoje i reaktivatori kolinesteraza. Inhibicija AChE i BChE organofosfatima (OP) kao živčanim agensima i pesticidima ugrožava normalnu transdukciju kolinergičkog živčanog signala u perifernom i središnjem živčanom sustavu (CNS) što dovodi do kolinergičke krize. Liječenje se sastoji od antimuskarinskog lijeka i oksima koji reaktivira inhibirani enzim.

Literaturno je istaknuto da postoji potvrda o snažnoj povezanosti kolinergičkog i imunološkog sustava koja se pojavila početkom prošlog stoljeća [4]. Poznato je da je protuupalni sustav snažan instrument kojim organizam regulira veličinu upale kako bi osigurao uklanjanje upale. Ključni sudionik u ovom putu je acetilkolin, a njegovo djelovanje uglavnom je vezano za receptore $\alpha 7$ nAChR i M1AChR. Taj put funkcionira otpuštanjem ACh, koji agonizira $\alpha 7$ nAChR receptor i uzrokuje priljev Ca^{2+} u stanice. Povećane razine kalcija u stanicama dovode do aktivacije transkripcijskog faktora $\text{NF}\alpha\text{B}$ i supresije imunološkog odgovora. Ovaj mehanizam mogu prekinuti kolinesteraze – enzimi koji razgrađuju ACh na octenu kiselinu i kolin. Stoga bi inhibitori ovih enzima mogli imati i protuupalne učinke. Najvažniji stimulator upale jest faktor tumorske nekroze – α , a trenutno su najviše ispitivani inhibitori $\text{TNF}\alpha$ [4].

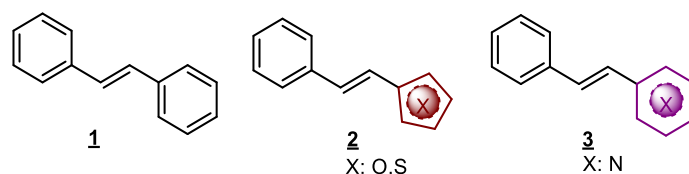
S obzirom na društvenu i znanstvenu važnost prevencije i liječenja AD uz znanstvenu, ali i savjesnu odgovornost, u ovoj disertaciji osmišljen je sintetski put novih potencijalnih inhibitora, ali i reaktivatora enzima kolinesteraza uključujući i fotokemijski pristup sintezi novih, biološki aktivnih molekula. Dokazano je da većina terapijskih agensa, odnosno lijekova pripada klasi heterocikličkih molekula koje imaju vitalnu i ključnu ulogu u metabolizmu svih živih stanica. Obzirom na dugogodišnje sintetsko iskustvo unutar naše istraživačke skupine, sintetiziran je niz novih heterostilbenskih molekula koje u svojim strukturama sadrže tiofensku, triazolnu, tiazolnu, piranonsku i furansku jezgru. Novopripređene molekule uspješno su prevedene u fotoprodukte, te im je kao takvima ispitana biološka aktivnost na inhibiciju enzima kolinesteraza, reaktivaciju enzima kolinesteraza, antioksidacijska aktivnost, protuupalna aktivnost i kompleksiranje s biometalima.

1. OPĆI DIO

1. OPĆI DIO

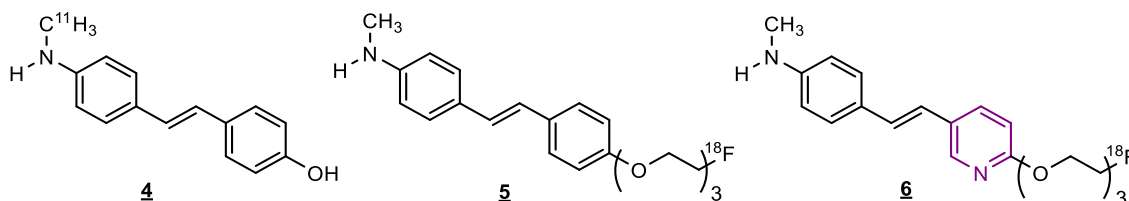
1.1. (Hetero)stilbeni i njihova primjena

Derivati stilbena 1 i heterostilbena 2 i 3 (Slika 1) godinama su bili u središtu znanstvenog interesa kao modelne molekule u temeljnom istraživanju njihove reakcije fotoizomerizacije [5-8] i primjene ovih molekula u znanosti o materijalima [9].



Slika 1. Osnovna struktura stilbena (1) i heterostilbena (2, 3).

Derivati (hetero)stilbena 4-6 pokazali su važna svojstva za upotrebu u mnogim atraktivnim područjima, posebice kod ispitivanja različitih stilbenskih molekula tumačeći suzbijanje progresije neurodegenerativnih bolesti (Slika 2) [10,11].

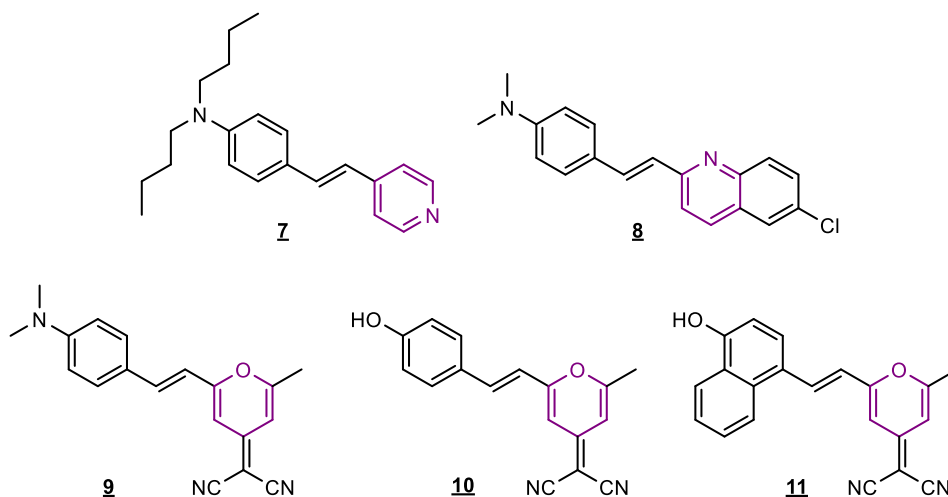


Slika 2. Literaturno poznati (hetero)stilbeni 4-6 izolirani iz kongo-crvenog i krisamina G [11].

Istraživanje fotoreaktivnosti heterostilbena pokazalo je potencijalnu primjenu u optoelektronici [12], ali i primjenu istih kao polaznih materijala za fotokemijske reakcije [13,14]. Istraživana su fotofizička svojstva furo- i tienostilbena [15], a heterostilbeni su našli primjenu u nelinearnim optičkim materijalima (*engl.* nonlinear optical materials, NLO) [16,17]. Takvi materijali ključni su kod primjene u kvantnoj elektronici, telekomunikacijskoj tehnologiji [18] i nanotehnologiji [19,20]. Neki su autori istraživali *E-Z* fotoizomerizaciju i elektrociklizaciju supstituiranih fenil-etenil furana, tiofena i oksazola [21-23]. Štoviše, nitro-supstituirani heterostilbeni bili su posebno zanimljivi zbog svog fluorosolvatokromizma i hiperpolarizabilnosti [24,25]. Amino-supstituirani stilbeni predstavljaju osnovni kostur aminokiselinskih, stilbenskih, kvaternih, amonijevih soli optičkih bojila [26-28].

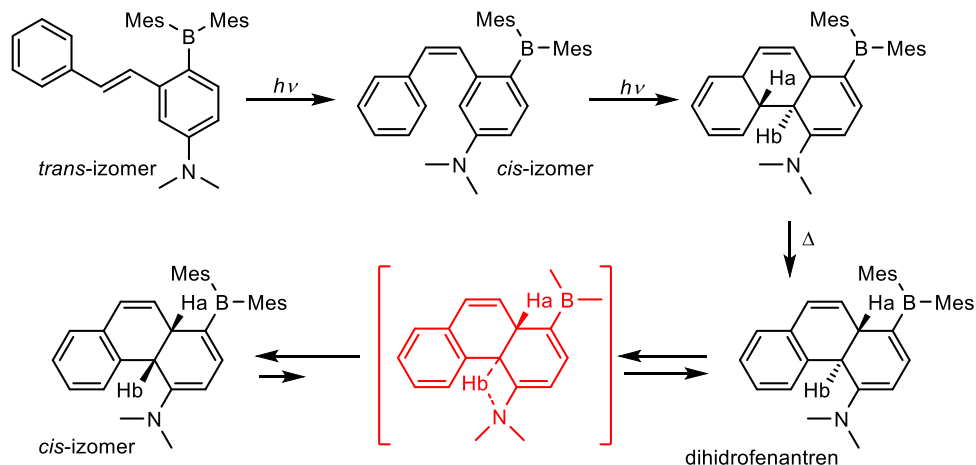
Kao funkcionalni optički materijali, stilbenske optičke boje 7-11 predstavljaju glavni dio fluorescentnih sredstava za izbjeljivanje (Slika 3).

1. Opći dio

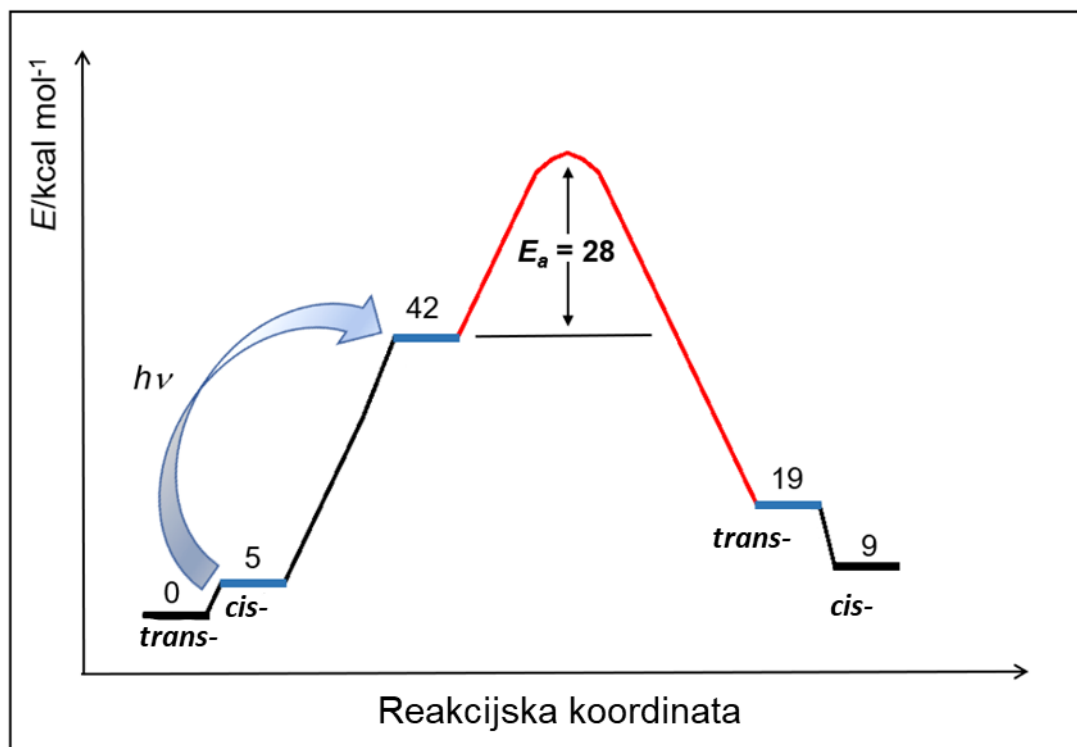


Slika 3. Primjeri poznatih heterostilbena 7-11 primijenjenih kod sinteze i proučavanja organskih bojila [28].

Stilbenske optičke boje obično se primjenjuju samo u neutralnim ili slabo alkalnim uvjetima zbog njihove slabe otpornosti na kisele uvjete. Suprotno tome, amino-supstituirane kvaterne amonijeve soli stilbena [26] s pogodnim fotofizičkim svojstvima, kao optičke boje pokazale su jaku otpornost na kiseline. Ispitivanjima biološke aktivnosti *in vitro* dokazano je da ova vrsta spojeva pokazuje značajno antibakterijsko djelovanje protiv nekoliko vrsta bakterija. S druge strane, reakcije fotociklizacije heterostilbena dale su zanimljive planarne molekule, heteroaromatske naftalene kao početni materijal za potencijalnu sintezu interkalatora [29]. Kako bi se elektrociklizacija što uspješnije provela, također se detaljno proučavaju fotokemijski mehanizmi ciklizacije i dokazuju intermedijarni dihidronaftaleni [30]. Poznato je da je ključni intermedijer, dihidrofenantren, uključen u fotociklizaciju stilbena, nestabilan, međutim funkcionalizirani stilbeni s amino-skupinama uvelike su poboljšali stabilnost međuprodukta, omogućujući kvantitativnu izolaciju i potpunu karakterizaciju ovih rijetkih vrsta, a poznat je također i energijski dijagram navedenog mehanizma (Shema 1, Slika 4).



Shema 1. Mehanizam fotoizomerizacije i fotociklizacije *trans*-stilbena u *cis*-stilben [30].



Slika 4. Energijski dijagram mehanizma prema M06-2X/6-31+G(d,p) nivou teorije [inspirirano literaturom 30].

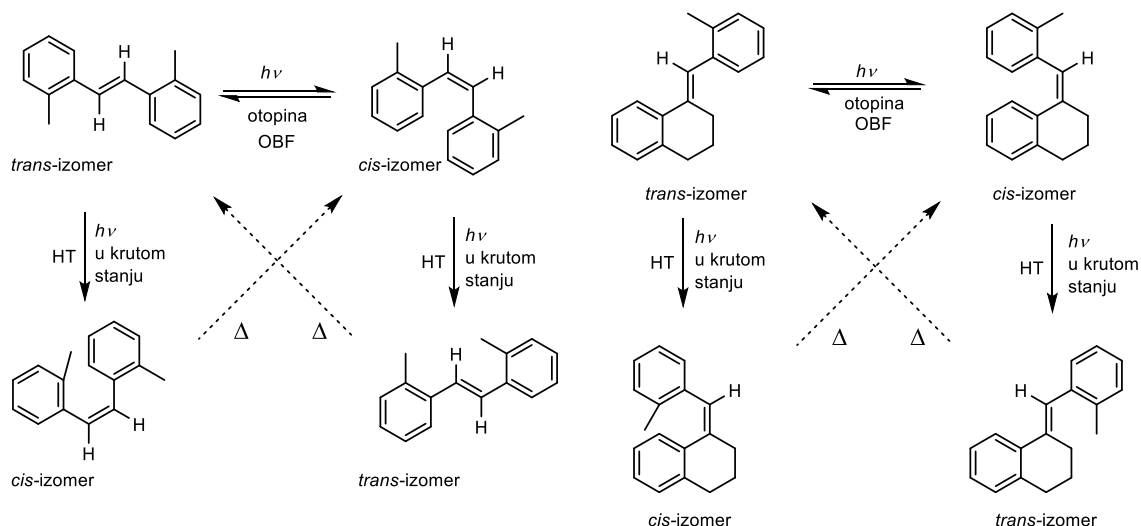
1.2. Fotokemija i fotofizika (hetero)stilbena

Kako je u prošlom poglavlju pomenuto, derivati stilbena bili su u središtu znanstvenog interesa tijekom godina zbog temeljnog istraživanja i znanstvenog shvaćanja njihove *E-Z* reakcije fotoizomerizacije [31-37], ali i razmatranja primjene ovih molekula u kemiji materijala [9]. Reakcije fotoizomerizacije su neizbježni procesi koji se koriste u izgradnji molekularnih strojeva i motora [9,10], razvoju pametnih materijala [38], katalitičkim procesima [39] i fotofarmakologiji [40]. Proces vida u retinalnim kromoforima iniciran je fotoizomerizacijom [41], a to je važan proces u proizvodnji vitamina D [42].

Razvoj tranzijentne spektroskopije s vremenskom rezolucijom u piko- i femtosekundama [43-50], kao i razvoj snažnih računalnih metoda [51-62] omogućuju daljnja istraživanja fotokemije stilbena, koja se još uvijek provode pružajući nova otkrića s potencijalnim novim primjenama [10,11,38-40]. Primjerice, u konvencionalnom mehanizmu zakretanja jednostruke veze (*engl.* one-bond flip, OBF) prilikom *E-Z* fotoizomerizacije, supstituenti na dvostrukoj vezi ugljik-ugljik pomiču se duž površine stošca [35]. Međutim, takav mehanizam nije mogao objasniti mehanizam izomerizacije u kromoforu retinala. Stoga su Liu i suradnici [36] predložili mehanizam *hula-twist* (*engl.* hula twist, HT) kako bi objasnili

1. Opći dio

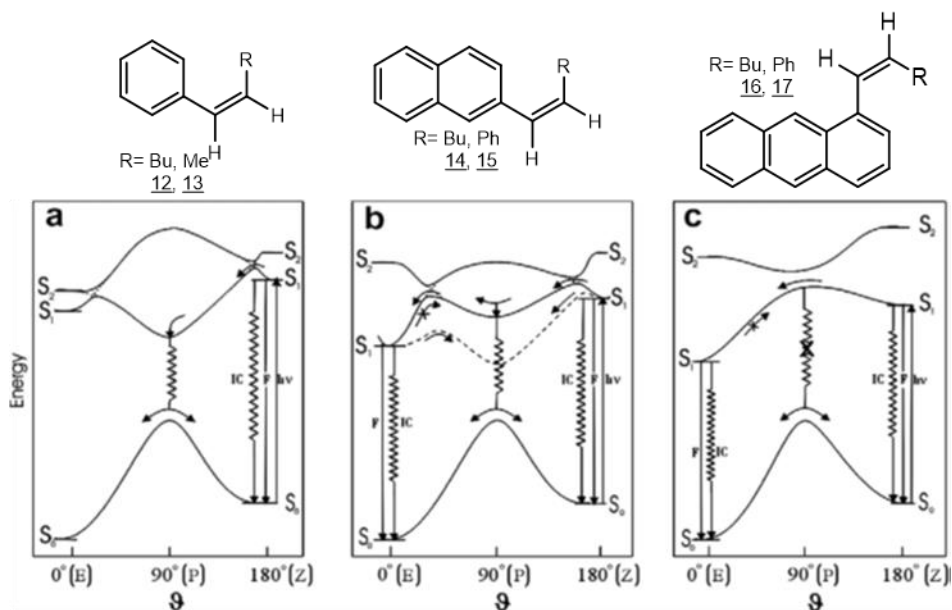
E-Z izomerizaciju unutar ograničenog volumena matrice opsina. U HT mehanizmu samo CH skupina dvostruke veze rotira izvan ravnine, a ostali dijelovi se preusmjeravaju unutar ravnine [35,36]. Shema 2 prikazuje mehanizam fotoizomerizacije za stilben (lijevo) i stilbensku molekulu (desno) opisujući horizontalno fotoizomerizaciju u otopini putem OBF, vertikalno izomerizaciju u krutom stanju putem HT mehanizma i dijagonalno zagrijavanje i odmrzavanje krutine koja sadržava HT produkt [8].



Shema 2. Predviđeni fotoizomerizacijski put: 2,2'-supstituirani stilben (lijevo); stilbenski derivat (desno) [8].

Fotokemiju stilbena eksperimentalno je istraživalo nekoliko skupina autora u posljednjih četrdesetak godina [6,43-50]. Pikosekundna i femtosekundna dinamika i brzine fotoizomerizacije *trans*-stilbena dale su uvid u prirodu reaktivne površine [43,44], dok je dinamika fotoizomerizacije *cis*-stilbena proučavana istraživanjem učinaka temperature i medija na fluorescenciju [45-48]. Primjer na slici 5 prikazuje tri različita slučaja ploha potencijalnih energija za derivate 12-17, tako vidimo pod **a** prikaz klasičnog slučaja stilbena s minimumom na $1P^*$ (adijabatski doprinos je praktički zanemariv, stilbenska molekula); pod **b** slučaj s plitkim minimumom na $1P^*$ (tj. naftalenskog derivata); i pod **c** slučaj s maksimumom na $1P^*$ (tj. antracenskog derivata). Isprekidana krivulja prikazuje utjecaj polarnih otapala [6].

1. Opći dio



Slika 5. Plohe potencijalnih energija za fotoizomerizaciju *cis*-stilbenoidnih molekula 12-17 u singletnom stanju [6].

Nadalje, femtosekundna spektroskopska ispitivanja *cis*-stilbena dala su informacije o dinamici reakcije na ultrabrzim vremenskim skalama [49,50]. Paralelno, računalni pristup pružio je dokaze za važnost fotociklizacije u dinamici pobuđenog stanja *cis*-stilbena [51], dok je kvaziklasična molekulska dinamička simulacija fotoizomerizacije stilbena [52-54] predložila novi mehanizam za raspad molekule stilbena [55-57].

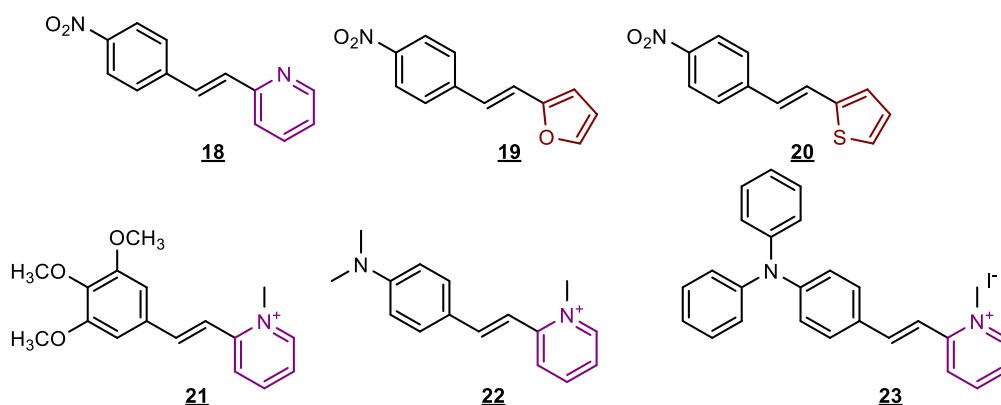
U posljednjih dvadesetak godina *ab initio* metode kvantne kemije sa samokonzistentnim poljem potpunog aktivnog prostora (*engl.* the complete active space self-consistent field, CASSCF) i višereferentne teorije perturbacije (*engl.* the complete active space perturbation theory 2, CASPT2) korištene su na stilbenu [58]. Štoviše, dinamičke simulacije za fotoizomerizaciju *trans*- u *cis*-izomer stilbena inducirane su laserskim pulsom na femtosekundnoj skali, te kao takve i objavljene [59,60]. Fotoizomerizacija stilbena istraživana je vremenski ovisnom funkcionalnom teorijom gustoće (*engl.* spin-flip-time dependent density functional theory, SF-TDDFT), kao obećavajućim pristupom za lociranje točaka konusnog presjeka (*engl.* conical intersection, CI) [61]. Metoda SF-TDDFT dala je vrijedan uvid u rotirajući stilben procjenjujući izraziti rotirajući minimum [62], za koji se linearni odziv TDDFT nije mogao primijeniti. Osim torzijskog gibanja, pronađena je piramidalizacija na C-atomima dvostruke veze kao važna molekulska promjena koja dovodi do ultrabrze izomerizacije kroz stožasta sjecišta [62].

Većina *E-Z* reakcija fotoizomerizacija, koje su polazile iz singletnog pobuđenog stanja odvijale su se putem stožastog presjeka između S_1 i S_0 stanja [63]. Naprotiv, poznate su reakcije

1. Opći dio

adijabatske izomerizacije, ali ne tako često izražene [64,65], dok se prijelaz u tripletna pobuđena stanja događa rijetko zbog velikog energijskog jaza između odgovarajućeg singletog i tripletnog pobuđenog stanja [66,67].

Istraživanje pobuđenih stanja i fotoreaktivnosti stilbena prošireno je na heterocikličke analoge (heterostilbene) koji su već spomenuti u prethodnom poglavlju [8-10]. Na takvim sustavima istraživana su fotofizička svojstva furo- i tienostilbena [11], neki od njih su prikazani slici 6 (18-20), a neki od njih su literaturno poznati kao fotokromne molekule za kemosenzore [68] (Slika 6).



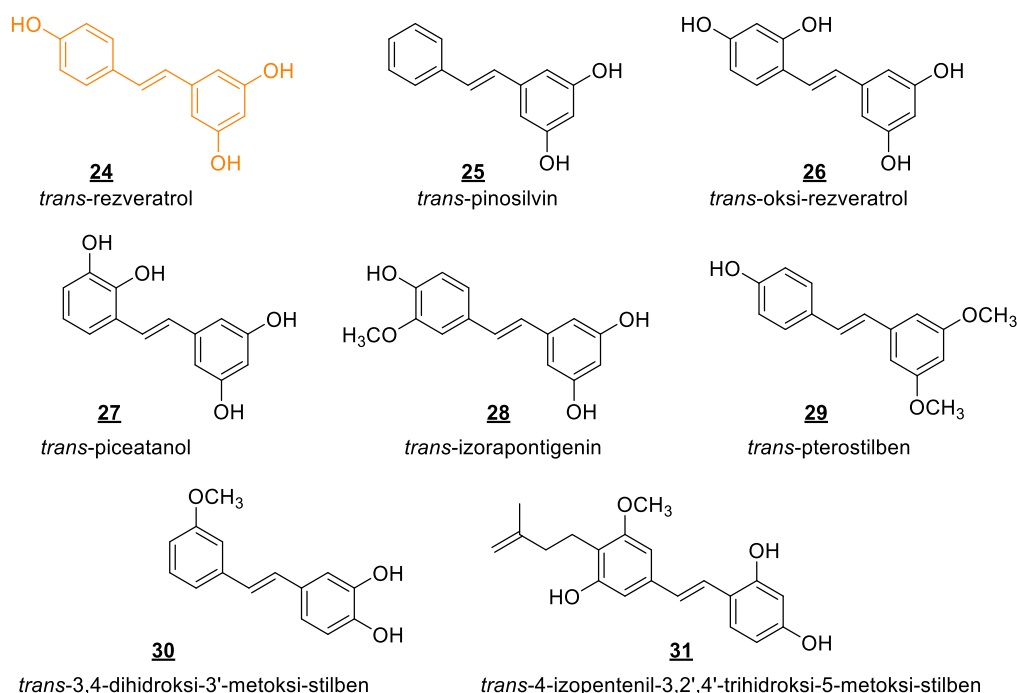
Slika 6. Literaturno poznati heterostilbeni primjenjivani u kemiji materijala i kao *push-pull* sustavi 18-23 [69,72].

Uz različita znanstvena razmatranja stilbena kao mono-molekula potrebno je uzeti u obzir i bi-stilbenske molekule s obzirom na naša dugogodišnja ispitivanja u suradnji s kolegama sa Sveučilišta u Perugia, koja su usredotočena na *push-pull* ponašanje stilbenoidnih molekula koje nose donorsko-akceptorske (D-A) skupine povezane konjugiranim mostom (D- π -A sustavi) [69-74]. Uglavnom su proučavana njihova emisija i NLO svojstva [75-80] za njihovu primjenu kao potencijalnih fluorescentnih senzora u poljima optoelektronike, medicine i komunikacija [81-85]. Utvrđeno je da simetrične molekule (D- π -A- π -D ili A- π -D- π -A) pokazuju poboljšana NLO svojstva u usporedbi s analognim dipolarnim molekulama [86-92].

Ove *push-pull* molekule pokazuju veliki pomak naboja tijekom ekscitacije i prisutnost intramolekulskog prijenosa naboja (*engl.* intramolecular charge transfer, ICT) u pobuđenom stanju koje je posebno povoljno u polarnim otapalima.

1.3. Rezveratrol, njegovi derivati i njihova primjena

Skupini stilbena pripadaju također i rezveratrol i njegovi derivati 24-31 (Slika 7) koji prema literaturi široku primjenu ponajviše pronalaze s naglaskom na njihovu biološku važnost koja je usko vezana uz zdravlje čovjeka. Ubrzani način života u današnje vrijeme često ostavlja traga na ljudskom zdravlju, a posebno su ugroženi kardiovaskularni i neurološki sustav. Stoga se stalno traže novi pristupi njihovoj zaštiti. Rezveratrol (3,4',5-trihidroksi-stilben) 24 je bioaktivni, neflavonoidni polifenol koji pripada skupini molekula *trans*-stilbena [93-95]. To je monomerni stilben koji sadrži dva aromatska prstena funkcionalizirana s tri hidroksi-skupine.



Slika 7. Strukture hidroksi-stilbenskih molekula s dokazanom biološkom aktivnošću.

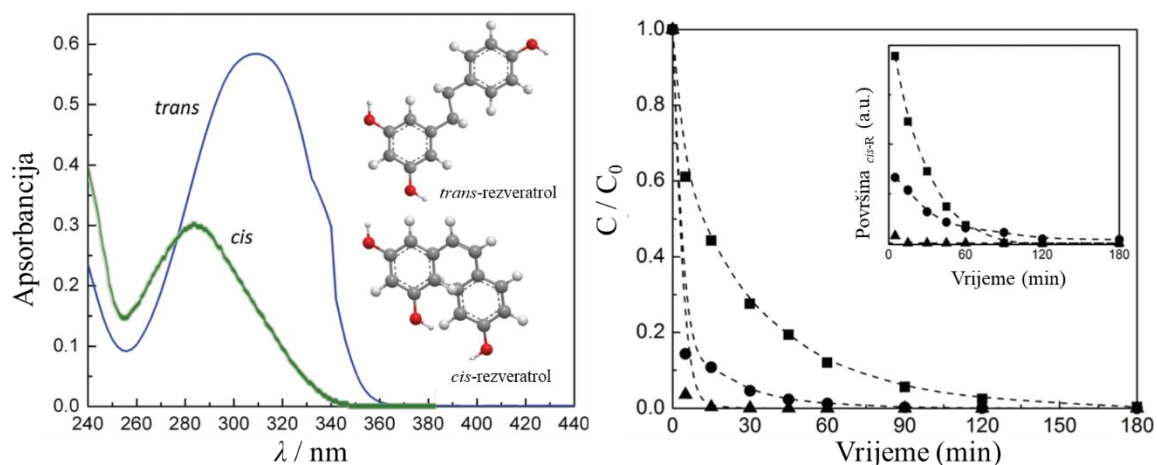
Rezveratrol postoji u dvije geometrijske konformacije, kao *cis*- i *trans*-izomer. *Trans*-izomer je stabilniji i povezan je s biološkim svojstvima i zdravstvenim prednostima. Može štititi od kardiovaskularnih bolesti i raznih vrsta raka, a također igra ulogu u neurodegenerativnim bolestima, kao što su AD i Parkinsonova bolest (*engl.* Parkinson's disease, PD) [96].

Zbog svog širokog spektra fizioloških i farmakoloških svojstava, privukao je važnost farmaceutske industrije, prehrambene industrije i kozmetičke industrije.

U literaturi postoje ograničeni dokazi o interakcijama ultraljubičastog (*engl.* Ultraviolet, UV) zračenja s *trans*-rezveratrolom [97,98]. Nažalost, *trans*-rezveratrol se izomerizira u *cis*-rezveratrol utjecajem vidljivog ili UV zračenja što je prikazano na slici 8 [99]. *Cis*-rezveratrol je manje stabilan i ne može se komercijalno koristiti [100]. Iz tog razloga postoji

1. Opći dio

stalna potraga za novim heterocikličkim analogima rezveratrola koji imaju ista bioaktivna svojstva kao *trans*-rezveratrol, ali su manje osjetljivi na svjetlost.



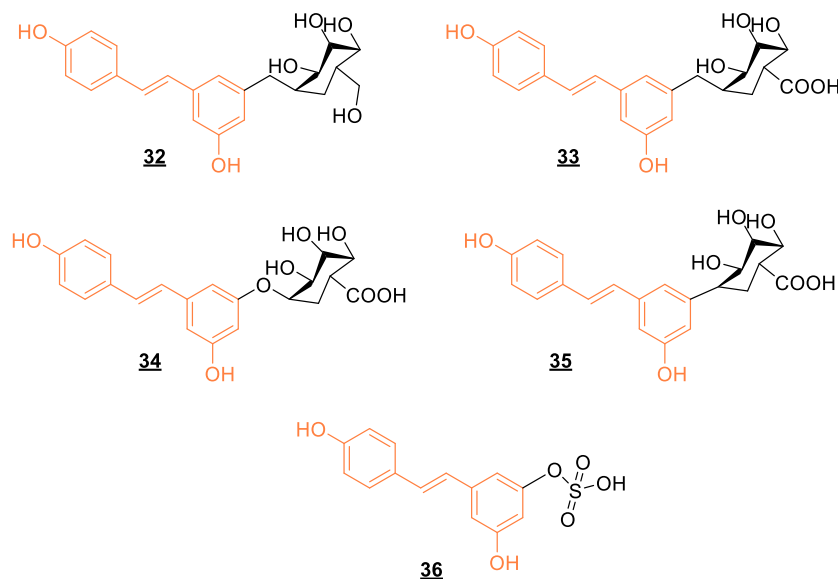
Slika 8. UV/Vis spektri *trans*- i *cis*-rezveratrola i njihove strukture (lijevo). Omjer normalizirane koncentracije (C/C_0) *trans*-rezveratrola ($C_0 = 20 \text{ mg L}^{-1}$) tijekom reakcije fotodegradacije pod utjecajem UV (■), Vis (●) i UV/Vis (▲) zračenja (površina pikova u HPLC odgovara *cis*-rezveratrolu) [99].

Rezveratrol, ali i njegov derivat pterostilben (29, Slika 7), štite od sindroma demencije kao što je slučaj kod AD [100,101]. Pterostilben (*trans*-3,5-dimetoksi-4-hidroksistilben) je prirodni spoj koji se primarno nalazi u borovnicama i u srži *Pterocarpus marsupium* (PM) [102,103]. Potvrđeno je također da je pterostilben učinkovitiji u borbi protiv promjena na mozgu povezanih sa starenjem jer ima bolja farmakokinetička svojstva u usporedbi s rezveratrolom. Pterostilben je lipofilniji od rezveratrola jer u svojoj strukturi ima dvije metoksi-skupine umjesto hidroksilnih skupina (u slučaju rezveratrola). Dodatno, oba su spoja poznata po svom antioksidativnom djelovanju [104]. Neki od prirodnih izvora rezveratrola [105] su crno grožđe, crno vino, borovnice, dudovi, kikiriki, brusnice, čokolada i borovi. *Trans*-rezveratrol se nalazi u kori grožđa, kikirikiju, soji, čaju i mnogim drugim biljkama [106].

U ljudsku prehranu se unosi uglavnom konzumacijom vina u kojem se nalaze i *trans*- i *cis*-izomeri [107]. U biljkama su polifenoli (uključujući rezveratrol) općenito pronađeni kao 3-*O*- β -D-glukozidi, zvani piceidi 32–36 (Slika 9). Ostali manji konjugirani oblici rezveratrola sadrže sulfatnu skupinu ili masnu kiselinu.

Zanimljivo je napomenuti da supstitucije uključuju najviše dvije hidroksilne skupine, te tako konjugirani polifenoli održavaju svoja antioksidativna svojstva.

1. Opći dio

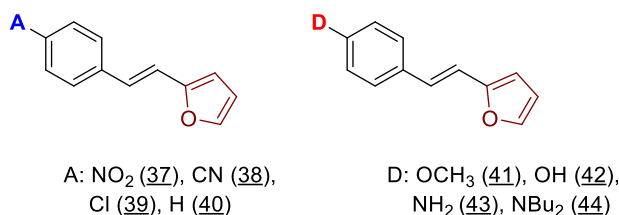


Slika 9. Konjugirani oblici rezveratrola, pronađeni u biljkama kao 3-*O*-β-D-glukozidi 32-36 [100].

Nažalost, količine rezveratrola u ovim biljkama su male, a na njegovu sintezu utječu klima i geografski položaj. Stoga je kemijska sinteza još uvijek glavni način dobivanja ovog vrijednog spoja. Jedan od načina je primjena Wittigove reakcije i njezinih modifikacija. Ova reakcija je jedna od najvažnijih i najsvestranijih reakcija u organskoj kemiji za sintezu alkena s jednoznačnim položajem dvostruke veze [108,109]. Kada se aldehid i Wittigova sol uvedu u reaktor, oni reagiraju s otopinom natrijevog etoksida i formiraju odgovarajući nezasićeni Wittigov produkt.

Omjer *trans*- i *cis*-izomera u Wittigovom produktu ovisi o supstituentima koji stabiliziraju intermedijer. U slučaju spojeva sličnih rezveratrolu, cilj je stvoriti visok *trans*-/*cis*-omjer izomera.

Literaturno su poznati (hetero)stilbenksi analozi rezveratrola sintetizirani reakcijama dekarboksilacije s različitim supstituentima od kojih su neki pokazali značajnu antioksidacijsku aktivnost, i neki od njih su prikazani na slici 10 37-44 [110,111].



Slika 10. Strukture furanskih stilbena sintetiziranih s različitim elektron-akceptorskim (A) 37-40 i elektron-donorskim skupinama (D) 41-44 u svrhu proučavanja antioksidacijske aktivnosti [111].

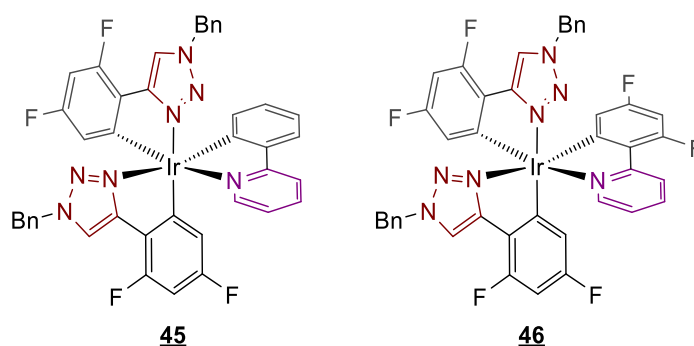
1. Opći dio

S obzirom na primjenu rezveratrola kod potencijalne prevencije neurodegenerativnih bolesti, dokazano je da je AD multifaktorijalna bolest koja uključuje agregaciju β -amiloida ($A\beta$) [112,113], oksidativni stres [114] i dishomeostazu metalnih iona [115,116] i iz tog razloga postoji stalna potraga za novim heterocikličkim analogima rezveratrola s istim ili čak boljim bioaktivnim svojstvima od *trans*-rezveratrola, ali svakako manje osjetljivim na svjetlost. Također, oksidativni stres sudjeluje u patologiji mnogih neurodegenerativnih bolesti [117-119] i predstavlja ključan razlog znanstvenog istraživanja. Kod bolesnika s AD moždana su tkiva izložena oksidativnom stresu, što dovodi do oštećenja proteina, oštećenja DNK i oksidacije lipida, što rezultira progresijom bolesti [120].

1.4. 1,2,3-Triazoli i 1,2,3-triazolostilbeni – reaktivnost i primjena

1,2,3-Triazoli literaturno se spominju kao atraktivne molekule za organsku sintezu u posljednjem desetljeću, zahvaljujući široko primjenjivoj klik-kemiji koja je dovela do mnoštva različitih triazola [121]. Triazolne kiseline pokazale su potencijalnu primjenu za praćenje pH u biološkim otopinama u stvarnom vremenu pokazujući svijetloplavu emisiju s visokim kvantnim prinosom, velikim Stokesovim pomakom i produljenim vremenom života fluorescencije [122]. Nadalje, neki 1,4-disupstituirani-1,2,3-triazoli postali su popularni kao ligandi u rutenij(II)-triazolilnim kompleksima koji pokazuju zanimljivu fotokemijsku reaktivnost [123].

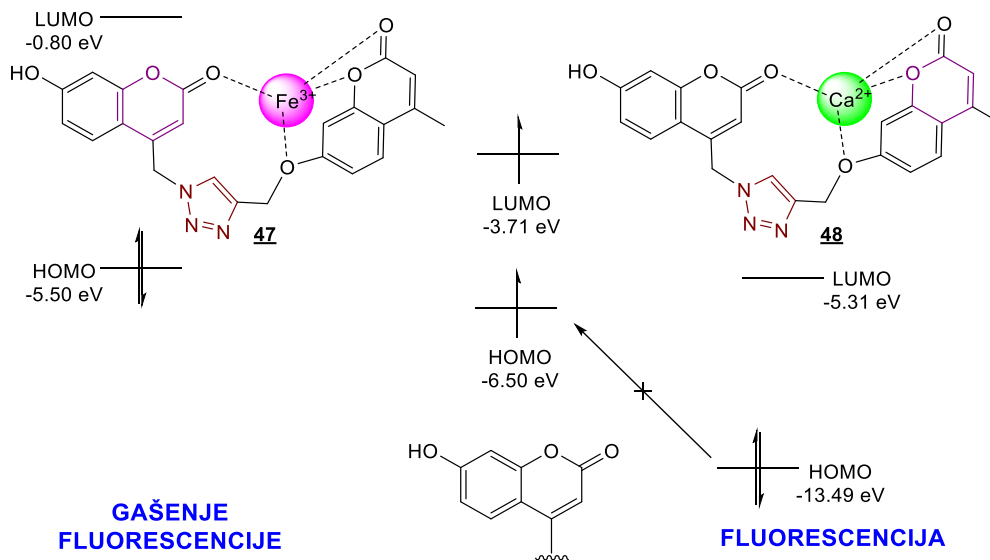
Kompleksi prijelaznih metala, poput iridija(III) i renija(I) s različitim triazolnim podjedinicama, našli su primjenu u katalizi solarnih goriva, solarnim ćelijama osjetljivima na boju, fotodinamičkoj terapiji i molekulskim sensorima, a neki od sintetiziranih i literaturno poznatih 45-46 su prikazani na slici 11 [124].



Slika 11. Molekule kompleksa iridija(III) s triazolnim jedinicama 45-46 [124].

1. Opći dio

Nadalje, derivati 1,2,3-triazola 47 i 48 primijenjeni su u kemosenzorskim uređajima, a primjer takve dvije molekule prikazan je na shemi 3 kada govorimo o triazolnim kompleksima koordiniranim sa željezom i kalcijem [125].

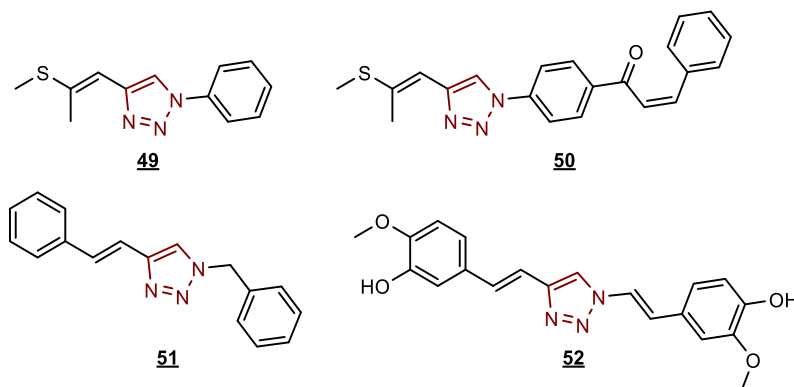


Shema 3. Dijagram energijskih orbitala. Ilustrativni prikaz termodinamičke simulacije gašenja fluorescencije i fluorescencije uzrokovano PET procesom za derivate 47 i 48 [125].

Ispitivana je i toplinska stabilnost nekih novih triazola za pripremu novih energijskih materijala, klase materijala s velikom količinom pohranjene kemijske energije koja se može osloboditi [126], a nitro-triazoli su pokazali posebnu toplinsku stabilnost [127]. Niz 1,4-diaril-supstituiranih-1,2,3-triazola sintetizirani su kao donor-akceptorske organske molekule koje tvore toplinske i na zraku stabilne, tripletne diradikale u čvrstom stanju nakon fotoinduciranog intramolekulskog prijenosa naboja [128].

Triazolostilbeni su također sintetizirani u kontekstu NLO materijala, kako bi formirali polimerne strukture koje omogućuju bolju konjugaciju i delokalizaciju elektrona kroz sustav [129,130]. Dodatno umrežavanje polimera omogućuje [2+2]-fotocikloadicija i stvaranje ciklobutanskog prstena iz nezasićene strukture triazolostilbena [130]. Osim sinteze novih industrijskih materijala, kao što je triazolna molekula prirodnog pigmenta kurkumina sa značajnim biološkim i spektroskopskim svojstvima [131-133], funkcionalizirani *trans*-1,2,3-triazolostilbeni su sintetizirani kao prikladne molekule za daljnja fotokemijska i fotofizička istraživanja zbog lako ostvarivih promjena u njihovim strukturama 49-52 (slika 12) [134].

1. Opći dio



Slika 12. Strukture reprezentativnih, konjugiranih triazolnih molekula i triazolostilbena s poboljšanom primjenom 49-52 [133,134].

Kada govorimo o fotoreaktivnosti samoga triazolnog prstena, osvjetljavanje je vrlo učinkovito u ekstruziji dušika iz triazola [135]. Poznato je da fotoliza 1-(1-naftil)-1,2,3-triazola, koji imaju skupine koje privlače elektrone na najmanje jednom ugljikovom atomu triazolnog prstena, daju odgovarajuće supstituirane benzo[*f*]indole [136].

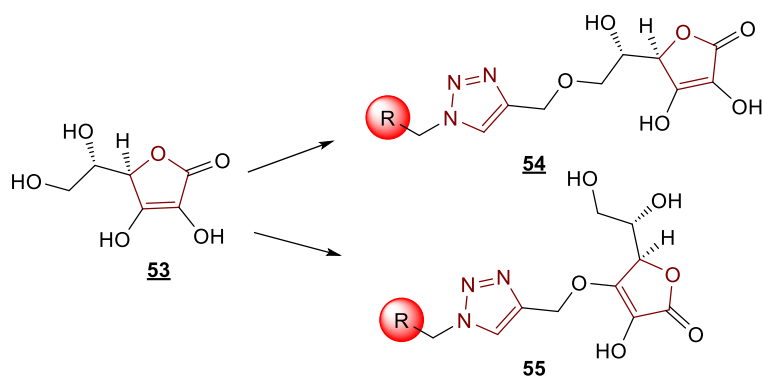
1.5. Biološka aktivnost 1,2,3-triazola i 1,2,3-triazolostilbena

Triazoli čine važnu klasu heterocikličkih molekula koje pokazuju, uz sav drugi potencijal i širok raspon farmakoloških aktivnosti [135]. Široka lepeza lijekova koji sadrže triazole kao središnju heterocikličku strukturnu komponentu dokazuju njegovu farmakološku važnost, kao što su antikonvulzivi [137], antimalarici [138], antimikrobi [139,140], antivirusi [141], antiproliferativi [142], antitumorski [143], antioksidansi, analgetici [144], antifungici [145] i antiplazmodijalni, antibakterijski, imunostimulansi i antidijabetici [146,23].

Također se razvijaju lijekovi za liječenje neurodegenerativnih bolesti poput AD, s karakterističnom 1,2,3-triazolnom jezgrom [147]. Ova raznolikost jezgre triazola potaknula je zanimanje znanstvenika prema razvoju novih molekula triazola s obećavajućim biološkim aktivnostima [148]. Bitno je ponovno istaknuti kako 1,2,3-triazoli zaslužuju posebno mjesto u razvoju bioaktivnih molekula jer su različiti farmakofori povezani preko 1,2,3-triazolnog dijela pokazali također izraženo antikarcinogeno djelovanje [149-152]. Nadalje, različite 1,2,3-triazolne soli nedavno su procijenjene kao potencijalni lijekovi protiv raka [153]. Neki primjeri derivata kumarina koji sadrže jezgru 1,2,3-triazola dokumentirani su u literaturi kao potencijalni enzimski inhibitori i potencijalna sredstva protiv neurodegenerativnih bolesti [154]. Neki od multifunkcionalnih, novih, askorbinskih derivata 1,2,3-triazola pokazali su neurozaštitna i protuupalna djelovanja na nanomolarnoj razini i mogu se smatrati novim

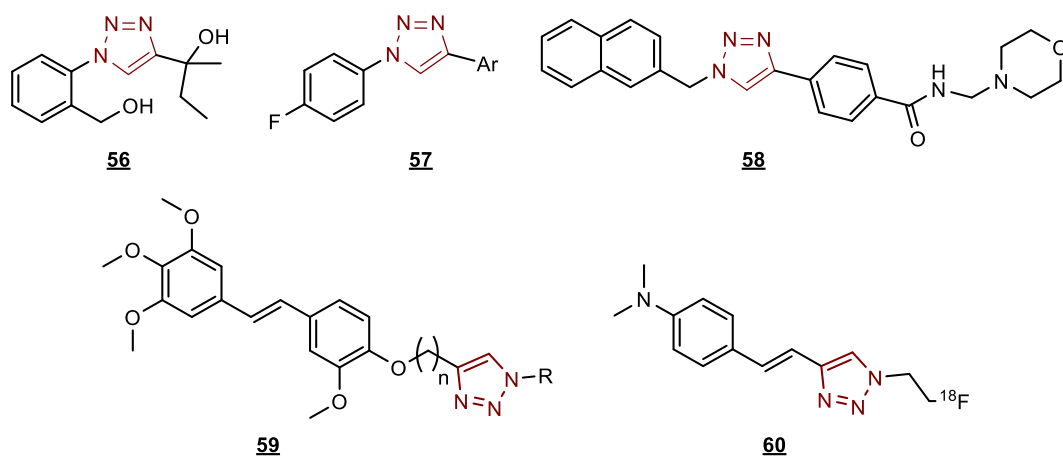
1. Opći dio

vodećim molekulama koje posjeduju sposobnost regulacije etiopatologije AD koja se odnosi na amiloidnu kaskadu (Shema 4) [155].



Shema 4. Kemijska struktura askorbinske kiseline i njenih konjugata s triazolnom poveznicom s triptolinom i fenolnom jezgrom 53-55 kao nove molekule za potencijalno suzbijanje progresije AD [155].

Dok skelet 1,2,3-triazola igra ključnu ulogu u inhibicijskoj aktivnosti, naftalenski dio je bitan za povećanje aktivnosti (Slika 13, strukture 56-60) [156-159].



Slika 13. Predstavnicima bioaktivnih molekula koje posjeduju 1,2,3-triazol u strukturi 56-60 [156-159].

1.6. Enzimi kolinesteraze – uloga i inhibicija

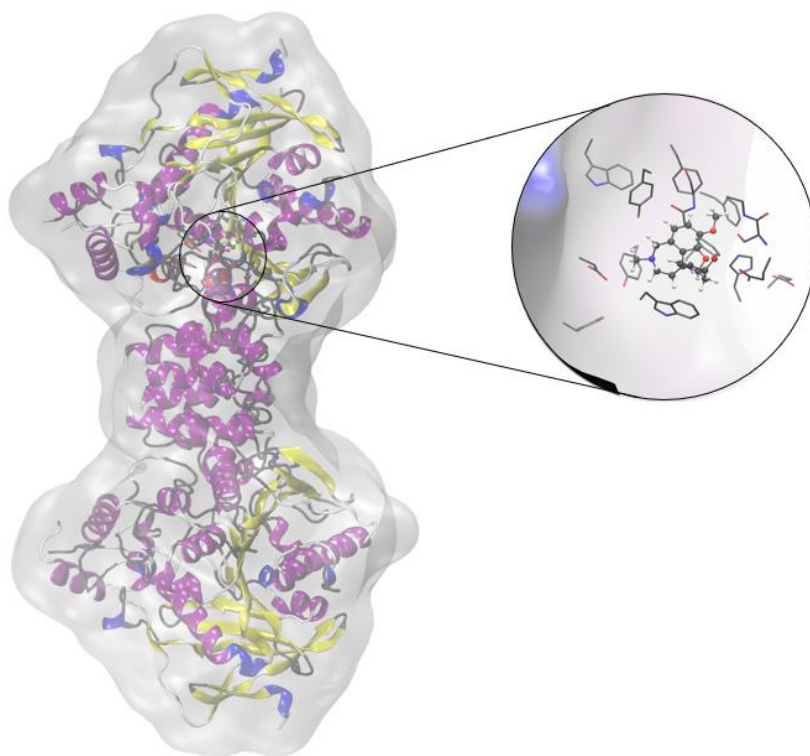
Kako je već navedeno, istaknute klase organskih spojeva pokazale su potencijalno enzimatsko djelovanje stoga je važan osvrt na enzime kolinesteraze. Acetilkinesteraza (AChE, EC 3.1.1.7) i butirilkolinesteraza (BChE, EC 3.1.1.8) dva su srodna enzima prisutna u kralježnjacima i biljkama. Kod ljudi su ti enzimi produkti različitih gena, ali dijele oko 54 % svoje aminokiselinske sekvence [160]. Glavna razlika u njihovom aktivnom mjestu je zastupljenost aromatskih aminokiselinskih ostataka – aktivno mjesto AChE sadrži 14

1. Opći dio

aromatskih, aminokiselinskih ostataka, dok se u BChE nalazi osam aromatskih i šest alifatskih ostataka [161]. To omogućuje BChE hidrolizu većih supstrata i liganda u odnosu na AChE, što za posljedicu ima selektivnost kolinesteraza prema ligandima [162-165].

AChE ima bitnu fiziološku ulogu u tijelu jer kontrolira prijenos živčanih impulsa u kolinergičkim sinapsama središnjeg i perifernog živčanog sustava hidrolizom neurotransmitera acetilkolina. Također ima ulogu u neurogenezi, staničnoj adheziji, proliferaciji i međustaničnim interakcijama, sinaptogenezi, aktivaciji dopaminskih neurona, stvaranju amiloidnih vlakana karakterističnih za AD, hematopoezi i trombopoezi [166-168].

Uloga BChE nije toliko fiziološki bitna, ali bi se mogla pripisati detoksikaciji ksenobiotika (organofosfati i karbamatni pesticidi, kokain, aspirin, sukcinildikolin itd.) i bioaktivaciji lijekova (bambuterol, heroin itd.) [169,170]. Na slici 14a prikazan je enzim AChE s galantaminom kao reverzibilnim inhibitorom AChE u aktivnom mjestu.

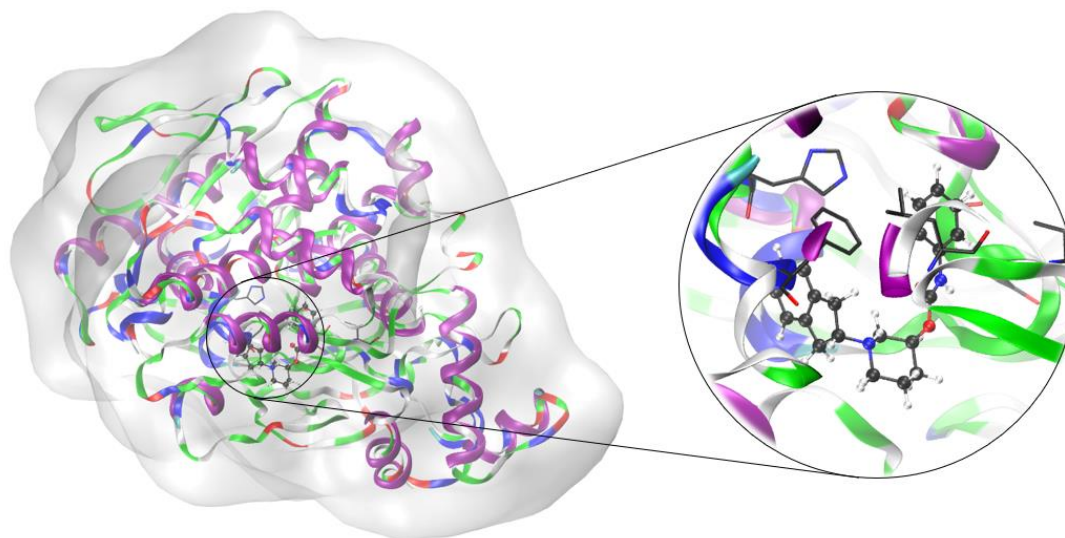


Slika 14a. Kristalna struktura humanog enzima AChE u kompleksu s galantaminom (kristalna struktura 4EY6.pdb [171a]).

Također, BChE služi kao koregulator kolinergičke neurotransmisije i sposoban je katalizirati hidrolizu acetilkolina [171b]. Utvrđeno je da su visoke razine BChE povezane s moždanim plakovima i neurofibrilarnim čvorovima, neuropatološkim obilježjima AD [172,173,174]. Stoga su obje kolinesteraze farmakološki relevantne mete u

1. Opći dio

neurodegenerativnim bolestima, a današnje liječenje uključuje inhibitore kolinesteraza poput donepezila, galantamina, fizostigmina, rivastigmina, itd. [175], međutim niti jedan od odobrenih lijekova ne djeluje na patofiziološke čimbenike AD nego samo na smanjenje simptoma iste. Tako se i mnoge druge molekule koje djeluju kao inhibitori enzima kolinesteraza mogu promatrati kao potencijalna terapijska sredstva kod AD [176-181]. Na slici 14b prikazana je kristalna struktura humanog enzima BChE u kompleksu s jednim karbamatom [171a].



Slika 14b. Kristalna struktura humanog enzima BChE (kristalna struktura 6SAM.pdb) u kompleksu s karbamatnim inhibitorom [171a].

Tumačenjem važnosti inhibicije kolinesteraza važno je istaknuti i protuupalne učinke koji na neki način mogu biti u korelaciji ukoliko govorimo o pojedinostima bioloških mehanizama, o čemu će biti riječi nešto kasnije u ovom poglavlju. Protuupalni učinak, konkretno kod skupine molekula koje sadržavaju 1,2,3-triazole, posredovan je migracijom leukocita, tumorskog faktora nekroze ($TNF\alpha$) i aktivnosti mijeloperoksidaze, a smanjenje edema je posljedica protuupalnog učinka [182-185]. 1,2,3-triazoli povezani *trans*-stilbenom također su se pokazali dobrim kandidatima u ovom smislu [186].

Suprotno tome, neki hibridni 1,2,3-triazoli vezani na *cis*-izomer stilbena posjeduju visoke antiproliferativne aktivnosti protiv nekih staničnih linija raka pokazujući izraženu važnost konfiguracije dvostruke veze ugljik-ugljik za ovaj tip biološke aktivnosti [187]. Niska toksičnost, kao i superiorna farmakokinetička svojstva derivata 1,2,3-triazola, dali su im izniman doprinos u liječenju AD kao snažnim inhibitorima AChE i BChE [188-190]. Ovaj dizajn multifunkcionalnih hibridnih molekula napravljenih od dva ili više biološki aktivnih farmakofora ima sinergističke učinke, a nove molekule posjedovale su bolja farmakokinetička

1. Opći dio

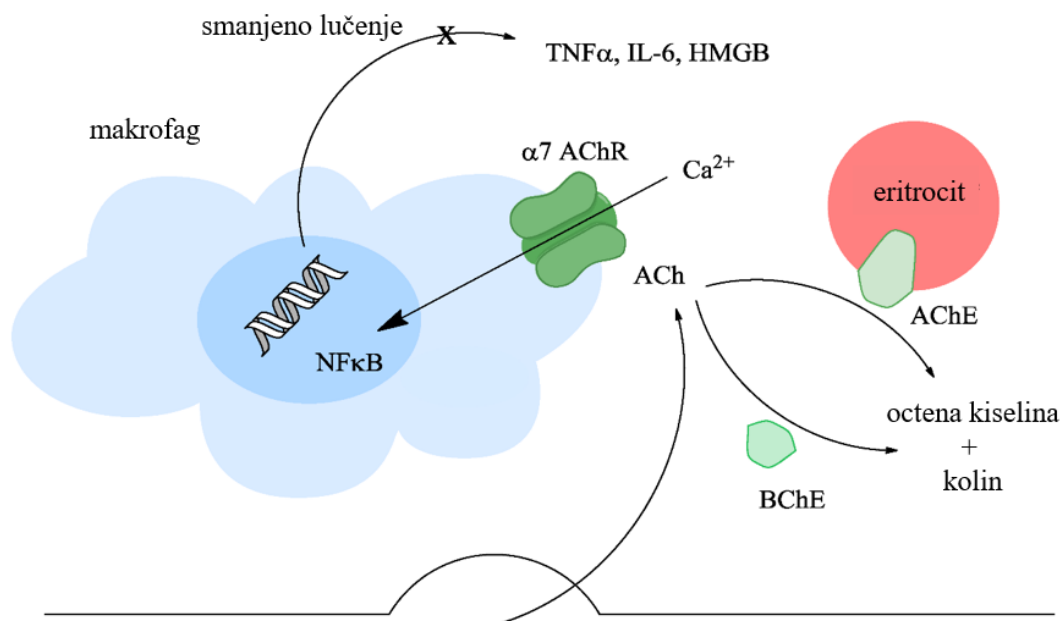
svojstva ili veću biorasploživost. Također se razvijaju lijekovi na bazi stiril-triazola kao snažnih inhibitora AChE i BChE za liječenje neurodegenerativnih bolesti kao što je AD [147]. Neki derivati stiril-triazola sintetizirani su kao kandidati za oslikavanje β -amiloidnih ($A\beta$) plakova, pokazujući da je [^{18}F] poželjan PET radioligand za oslikavanje $A\beta$ plaka (Slika 13, 60) [158].

Koncept kolinergičkog protuupalnog puta polazi iz istraživanja protuupalnog djelovanja lijeka semapimoida (CNI-1493). Pokazalo se da taj lijek suzbija upalni odgovor u šapi laboratorijskog miša nakon lokalne injekcije iritansa, karagenina. Prva potvrda o snažnoj povezanosti kolinergičkog i imunološkog sustava pojavila se početkom prošlog stoljeća istraživanjem učinaka CNI-1493 na modelima laboratorijskih miševa. Uočeno je da su protuupalni učinci molekule neizravni i događaju se kao posljedica aktivnosti spoja u mozgu, a ne u krvi (imunološke stanice). Osim toga, djelovanje spoja moglo bi se oponašati odsijecanjem živca vagusa [191].

U daljnjem ispitivanju spojeva na životinjskim modelima, uočeno je da je o dozi ovisno smanjenje sistemske proizvodnje tumorskog faktora nekroze, $\text{TNF}\alpha$ nakon izazivanja endotoksinom (LPS) [192]. Poznato je da je kolinergički protuupalni sustav snažan instrument kojim organizam regulira veličinu upale kako bi osigurao uklanjanje upale. Ključni sudionik u ovom putu je acetilkolin (ACh), a njegovo djelovanje uglavnom je vezano za receptore $\alpha 7n\text{AChR}$ i M1AChR [193]. Kolinergički put funkcionira otpuštanjem ACh, koji agonizira $\alpha 7n\text{AChR}$ receptor i uzrokuje priljev Ca^{2+} u stanice. Povećane razine kalcija u stanicama dovode do aktivacije transkripcijskog faktora $\text{NF}\alpha\text{B}$ i supresije imunološkog odgovora. Ovaj mehanizam mogu prekinuti kolinesteraze (ChE) – enzimi koji razgrađuju ACh na octenu kiselinu i kolin, enzimi acetil - (AChE) i butirilkolinesteraza (BChE). Stoga bi inhibitori ovih enzima mogli imati i protuupalne učinke [4, 194-203]. Ekspresija acetilkolin-transferaze utvrđena je u populacijama mijeloičnih stanica, čime se pojašnjava da i te stanice mogu proizvoditi ACh.

Ipak, razine enzima, a posljedično i proizvedenog ACh, vrlo su niske u usporedbi s onima otkrivenim u populaciji limfocita (Slika 15) [4].

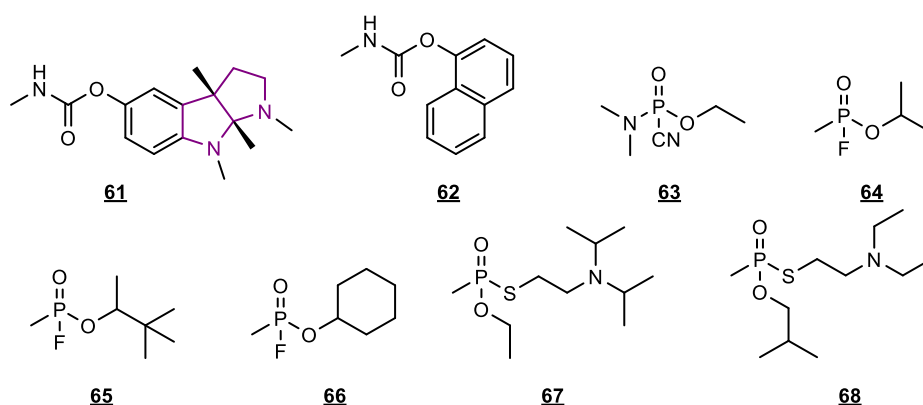
1. Opći dio



Slika 15. Kolinergični i protuupalni put u koji je uključen ACh, AChE, BChE, HMGB (*engl.* high mobility group box), interleukin, IL-6, NFκB faktor (*engl.* nuclear factor kappa B) i TNFα [4].

1.7. Oksimi kao reaktivatori kolinesteraza inhibiranih organofosfatima

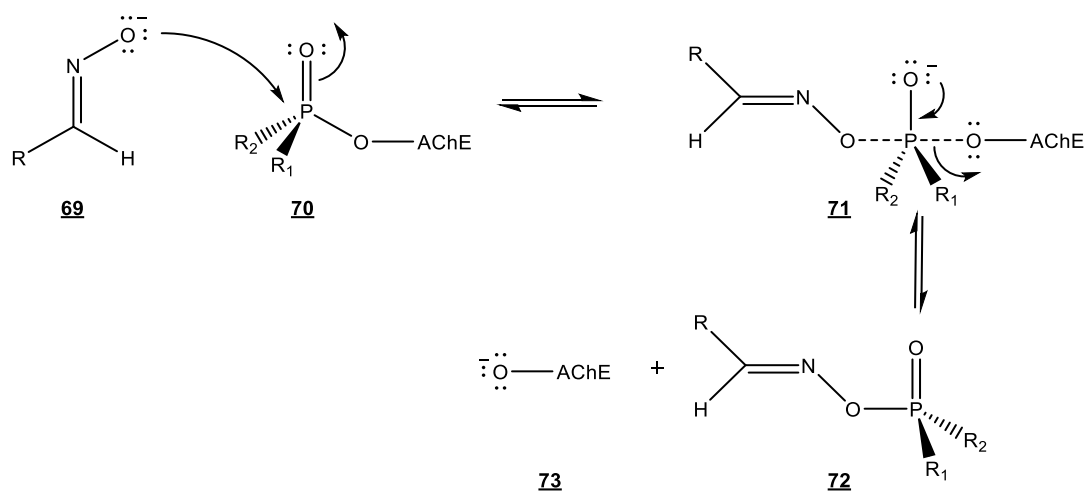
Oksimi, za razliku od simptomatskih lijekova koji se trenutno koriste kao inhibitori AChE u liječenju neuroloških poremećaja poput AD i PD, imaju važnu ulogu u regeneraciji kolinergičkog sustava u slučajevima trovanja organofosfatnim spojevima (OP). OP predstavljaju veliku skupinu molekula koje se koriste kao pesticidi, usporivači plamena itd., a zloupotrebljavaju se kao nervni otrovi. Strukture nekih od njih (61-68) su prikazane na slici 16.



Slika 16. Strukture ireverzibilnih inhibitora kolinesteraza (karbamatni i organofosforni spojevi 61-68) [181].

1. Opći dio

Njihova neselektivna toksičnost za žive organizme može izazvati teške biološke učinke [204,205]. Srodni enzim, BChE također je uključen u regulaciju kolinergičkog sustava kao rezerva za AChE u hidrolizi neurotransmitera ACh u neurološkim poremećajima [206]. Čini se da je uloga BChE također zaštita sinaptičke AChE jer reagira s raznim lijekovima, ksenobioticima kao i s OP, ali je njegova inhibicija sigurna za ljudsko zdravlje [207,208]. Hitno liječenje za AChE inhibiranu s OP (shema 5, 69-73) temelji se na mehanizmu reaktivacije inhibirane AChE oksimom. Nukleofilnim napadom oksimske hidroksilne skupine na elektrofilni fosforov atom dolazi do kidanja veze između fosforovog atoma i AChE. Pritom nastaje slobodan enzim i fosforilirani oksim. Kvaterni dušik oksima ostvaruje interakcije s aminokiselinskim ostacima mjesta vezanja kolina u ždrijelu aktivnog mjesta AChE, te tako sudjeluje u orijentaciji oksima kako bi se oksimska skupina, tj. oksimatni anion našao na što optimalnijoj udaljenosti od fosforiranog katalitičkog serina (5-6 Å) da bi moglo doći do nukleofilnog napada.



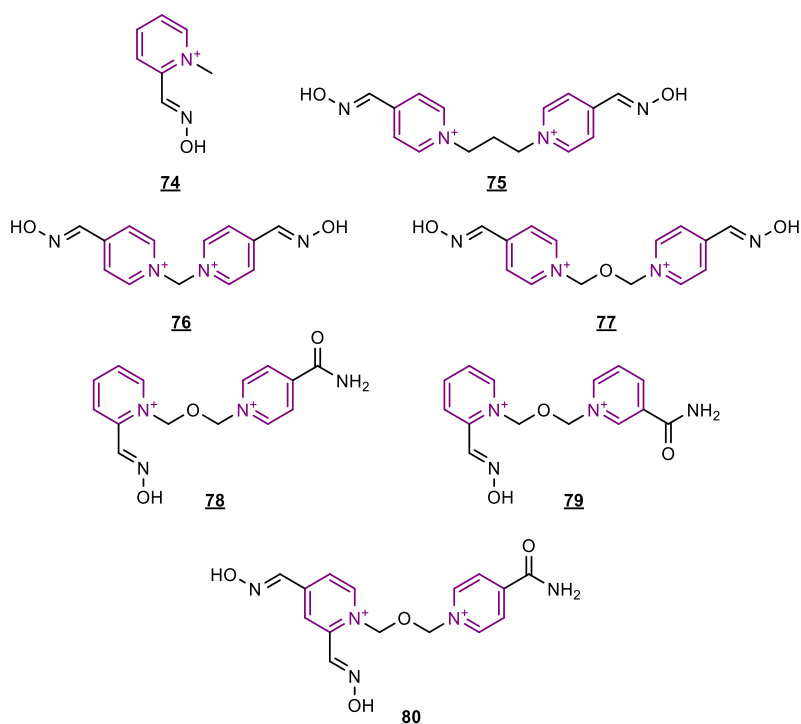
Shema 5. Mehanizam reaktivacije fosforirane AChE oksimom (R označava aromatski prsten ili ugljikovodični lanac, dok R₁ i R₂ označavaju supstituente OP spoja, 69-73).

Terapija oksimom uključuje antikonvulzive i antimuskarinike za upravljanje simptomima potaknutim trovanjem koji se očituju kao slinjenje, drhtanje, paraliza dišnog sustava, a u slučaju teške izloženosti, smrt [209,210]. Nažalost, trenutna standardna terapija kod trovanja s OP još uvijek se temelji na malom broju kvaternih piridinijevih molekula kao što su 2-PAM, obidoksim ili HI-6, koji nisu univerzalni reaktivatori enzima zbog strukturne varijabilnosti OP i njihove strukturne nemoći u prolazu kroz moždano-krvnu barijeru (*engl.* brain-blood barrier, BBB) [210-213].

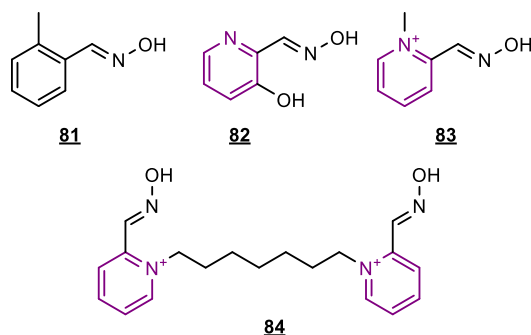
Kako bismo poboljšali aktivnost oksima u središnjem živčanom sustavu (*engl.* Central nervous system, CNS), naša su nedavna istraživanja bila usmjerena na oksime s povećanom

1. Opći dio

lipofilnošću, nenabijene oksime i zwitter-ionske oksime s tercijarnim atomom dušika [212,213]. Iako se obično pokazalo da su nenabijeni oksimi mnogo bolji u prodiranju kroz BBB zbog povećane lipofilnosti [214,215], njihov nedostatak je nizak afinitet kao posljedica nepostojanja pozitivnog naboja za produktivne interakcije s OP-inhibiranim enzimom [214,217]. Ovdje je koncept liganda perifernog mjesta uveden u strukturu oksima kao kompenzacija za pozitivno nabijeni dušik kako bi se očuvao, ako ne i povećao, afinitet za enzim [212,213,218,219]. Uvođenje te strategije, koja uključuje spajanje nenabijenih piridinskih oksima s različitim ligandima preko alkilnih lanaca, otvorilo je mnoge mogućnosti za nove molekule oksima 74-84 (Slike 17 i 18) [213].



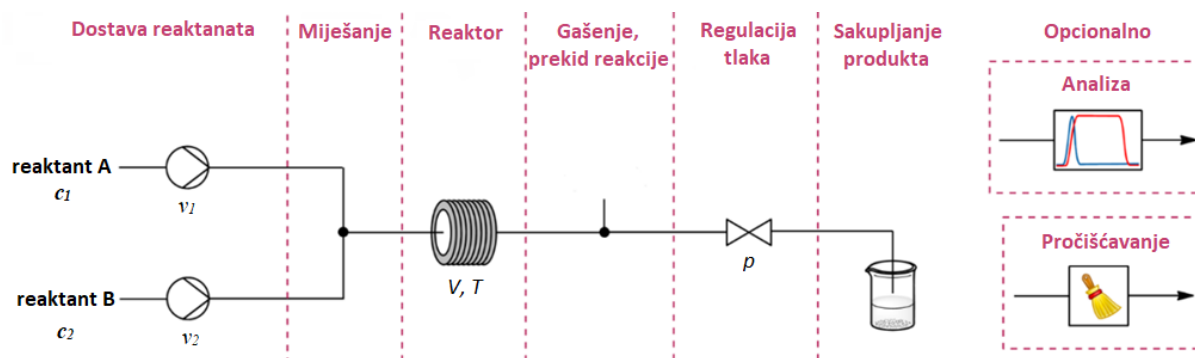
Slika 17. Strukture standardnih oksima i drugih piridinijevih oksima 74-80 [213].



Slika 18. Prikaz struktura nenabijenih oksima i oksima s nabojem 81-84 [213].

1.8. Sinteza i fotokemijska oksigenacija derivata stilbena u mikroreaktorima

Kako je već istaknuto na početku teorijskog dijela, uz sintetsku važnost stilbena zbog njihove povoljne biološke aktivnosti i općenite opsežne primjene, korisno je spomenuti i različite procesne uvjete koji dovode do sinteze željenih produkata. Od ranih početaka, mikroreaktori su smatrani učinkovitim alatom u mnogim procesima. Zbog specifične veličine mikrokanaala, koja je obično manja od 100 μm , tj. kratkog difuzijskog puta, pojavile su se mnoge prednosti, kao što su poboljšani prijenos tvari i topline u usporedbi s konvencionalnim šaržnim i makroreaktorima, veliki omjer površine i volumena, laminarno strujanje, poboljšana selektivnost, produktivnost i ponovljivost reakcije, itd. (Slika 19) [220, 221].



Slika 19. Zone i parametri koji se mogu mijenjati kod provedbe organske sinteze u protočnom sustavu s dvije ulazne struje [221].

S obzirom na gore navedeno, vjeruje se da bi mnogi procesi mogli imati koristi u smislu kinetike, sigurnosti i troškova prelaskom s konvencionalnih procesa na mikroreaktore [222].

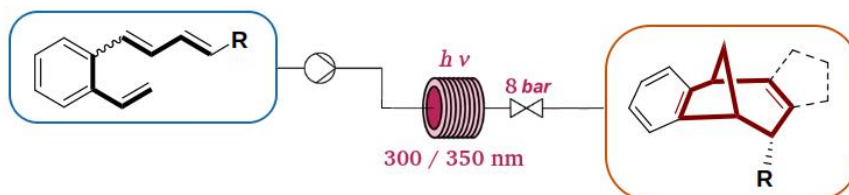
Korištenjem malih količina reagensa u mikroreaktorima također se povećava sigurnost procesa, posebno kada se koriste opasni ili eksplozivni spojevi.

Što se tiče upotrebe mikroreaktora u sintezi, Sambiagio i Noël [222] istaknuli su da se mikroreaktorska tehnologija i fotokemija savršeno podudaraju. Autori su ustanovili da se kod fotokemijskih reakcija, osim same reakcije u obzir treba uzeti i procesne uvjete (kao što su početna koncentracija, temperatura, izvedba reaktora itd.) te fotofizička svojstva fotokatalizatora. Autori naglašavaju da, nažalost, dizajn reaktora (šaržni ili kontinuirani, veličina, oblik, materijal izrade reaktora, itd.) kemičari obično zanemaruju. Kod mikroreaktora, osim spomenutih općih prednosti, poboljšana je i prijenos zračenja kroz reakcijsku smjesu u usporedbi sa šaržnim procesima. Kod šaržnih procesa osvjetljavanje se mijenja ovisno o udaljenosti izvora svjetlosti (smanjuje se od stijenki tikvice prema središtu reakcijske smjese), dok je kod mikroreaktora osvjetljavanje veće i homogenije po cijeloj površini [222].

1. Opći dio

Poboljšanjem prijenosa zračenja skraćuje se vrijeme zadržavanja te se na taj način često ostvaruju veći prinosi željenih produkata u usporedbi sa šaržnim reaktorima [223]. Osim toga, u kontinuiranim sustavima produkti se stalno uklanjaju iz reakcijske smjese. Ovo je posebno važno ako su dobiveni produkti također fotoosjetljivi. Njihovim uklanjanjem izbjegava se stvaranje nusprodukata.

Kako bi se povećala učinkovitost procesa, postoji trend zamjene šaržnih reaktora protočnim reaktorima za fotokemijske reakcije, a primjer takve reakcije je prikazan na shemi 6.

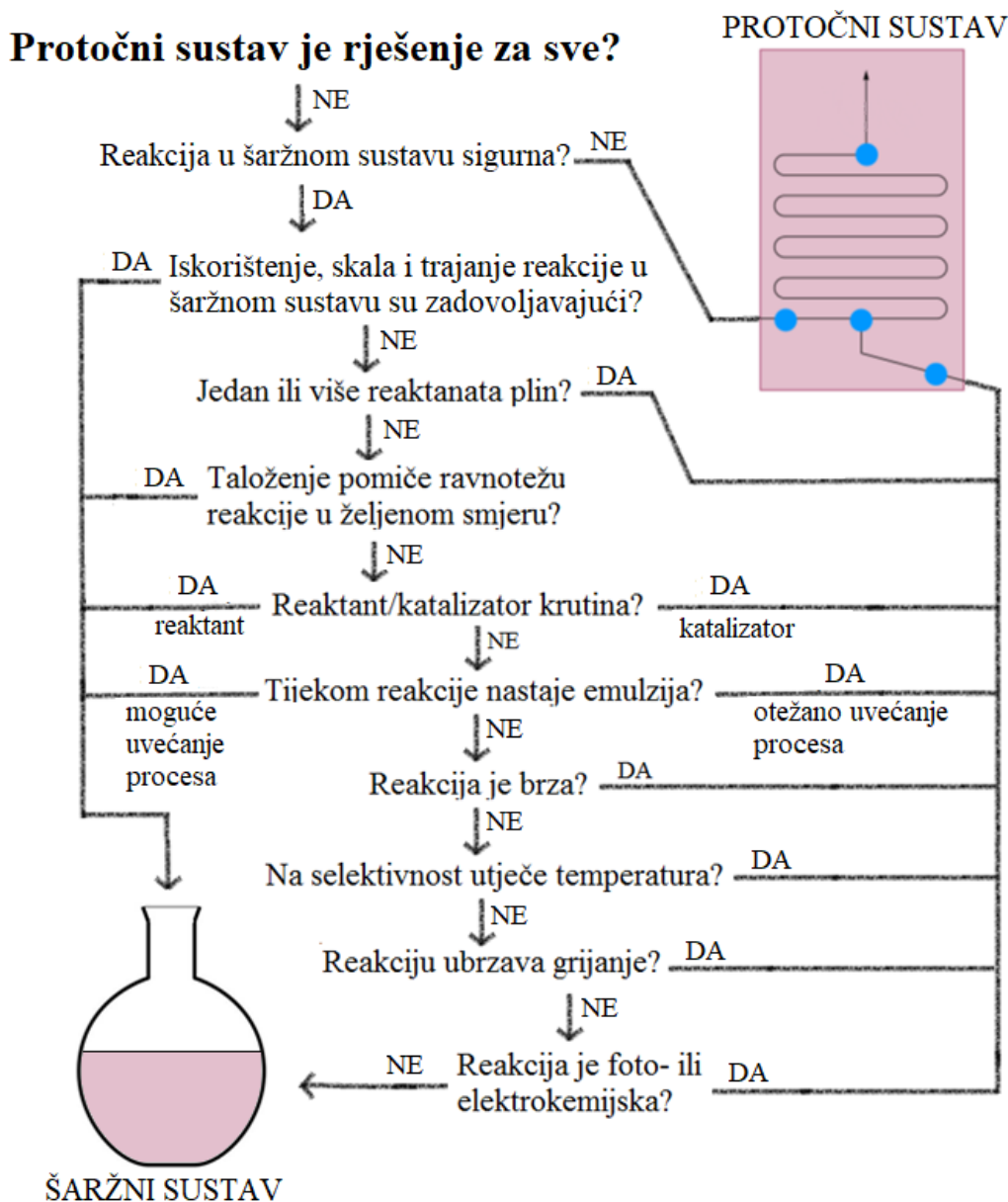


Shema 6. Sinteza benzobicyklo[3.2.1]oktadienskog skeleta [2+2]-fotocikloadicijom [221].

Primjena mikroreaktora u organskoj fotokemijskoj sintezi prisutna je već neko vrijeme [224,225-228]. Fotocikloadicija, fotoizomerizacija, ciklizacija, dekarboksilacija [229] i klik-reakcije [231] već su uspješno izvedene u različitim mikrosustavima.

Dodatno, vrlo male dimenzije mikroreaktora omogućuju učinkovitiju i homogeniju upotrebu svjetlosnog zračenja kroz reakcijsku smjesu. Kao rezultat njihove primjene uočava se značajan pomak u fotokemijskoj sintezi.

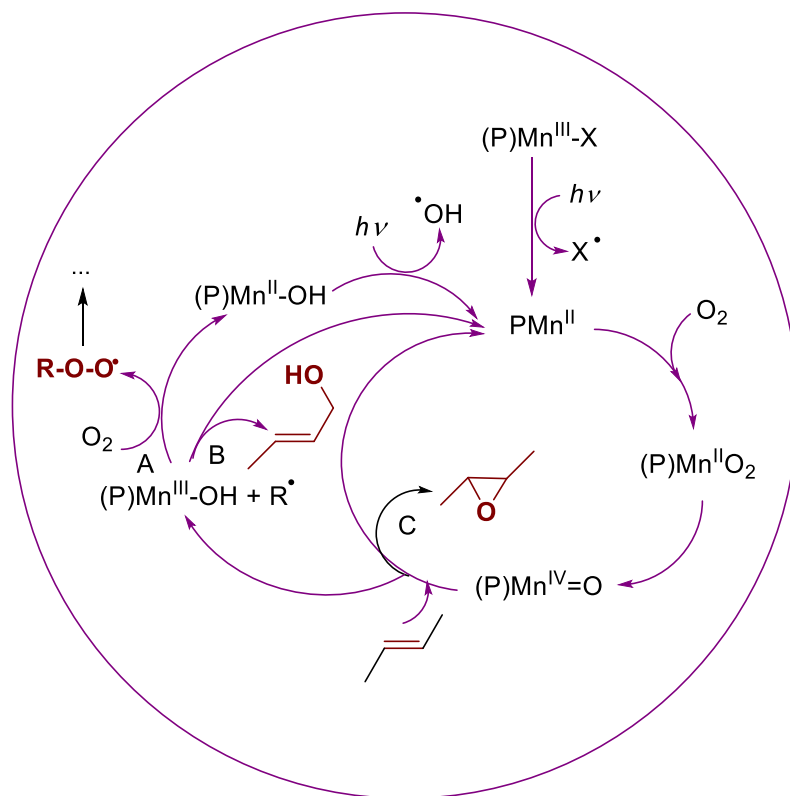
Na taj način se reakcije često ubrzavaju i procesi koji se satima/danima provode u šaržnom reaktoru u mikroreaktorima mogu se izvesti za nekoliko sekundi/minuta. Smanjenje vremena reakcije također smanjuje stvaranje različitih nusprodukata i povećava ukupnu produktivnost procesa. Primjer dijagrama po koracima pri odluci za način provedbe organske reakcije je prikazan na slici 20.



Slika 20. Dijagram koraka pri odluci za način provedbe organske reakcije [221].

Uzevši sve u obzir, mikroreaktori mogli bi biti dobar alat za fotokatalitičku konverziju derivata rezveratrola.

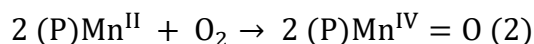
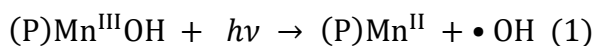
Slobodne baze i metaloporfirini, koji posjeduju povoljna koordinacijska, redoks, fotofizička i fotokemijska svojstva, uključeni su u brojne katalitičke procese u prirodnim i umjetnim sustavima [231]. U slučaju fotokatalitičkih procesa, ovi spojevi i njihovi derivati (npr. klorini) omogućuju korištenje vidljive svjetlosti, zbog njihove visoke molarne apsorpcije na Soret- i Q-vrpcama i prikladnih redoks-potencijala njihovih osnovnih i pobuđenih stanja [232]. Različiti porfirini kao učinkoviti fotokatalizatori primijenjeni su za oksigenaciju kod nekoliko tipova organskih spojeva kako bi se stvorili različito funkcionalizirani derivati [233]. Mehanizam takve reakcije prikazan je na shemi 7.



Shema 7. Fotokatalitička oksigenacija alkena u prisutnosti metaliranog porfirina.

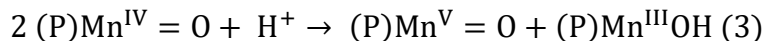
Ovisno o svom kemijskom sastavu, porfirini mogu na različite načine poboljšati te procese. Metaloporfirini s metalnim centrima viših oksidacijskih brojeva (već u osnovnom stanju ili nastali ekscitacijom) mogu izravno oksidirati/oksisgenirati odgovarajuće organske spojeve na različitim mjestima, u skladu s prostornim i elektroničkim uvjetima kao i stvarnim medijima, i/ili proizvesti reaktivne vrste kisika (ROS) kao što su HO^\bullet ili $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikali [234].

Karakteristični predstavnici takvih fotokatalizatora su mangan(III)-porfirini [235-238], kod kojih sljedeći reakcijski koraci imaju važnu ulogu u stvaranju ovih vrsta u otopinama [239-241]. U prvom koraku (jednadžba (1)), kompleks tripletnog pobuđenog stanja Mn(III) prolazi kroz LMCT homolizu veze između metalnog središta i aksijalnog liganda (npr. HO^- u vodenom sustavu), stvarajući vrlo reaktivni oksidativni radikal (HO^\bullet). U daljnjem procesu koji uključuje nekoliko koraka, dolazi do stvaranja vrste Mn(IV) ($(\text{P})\text{Mn}^{\text{IV}}=\text{O}$) (jednadžba (2)).

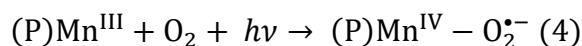


1. Opći dio

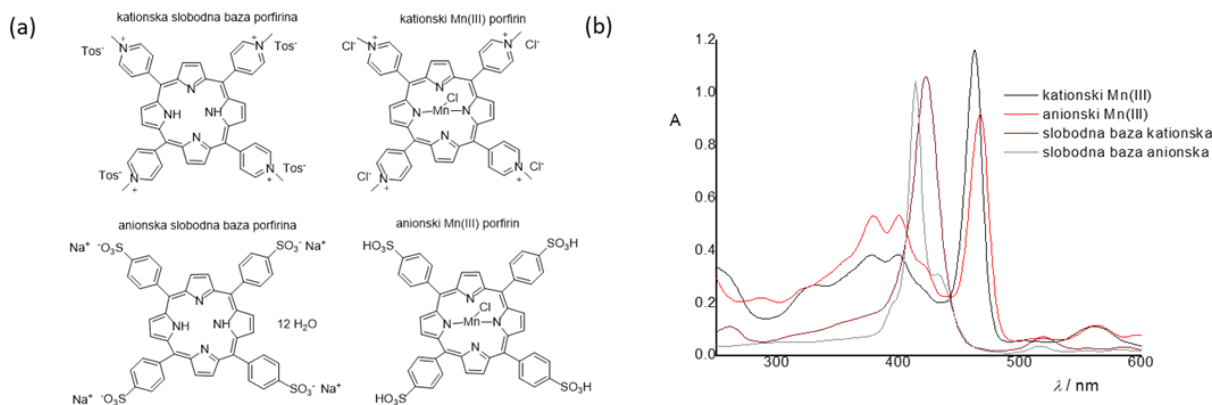
Disproporcioniranjem Mn(IV)-kompleksa nastaje Mn(V)-okso-vrsta mnogo veće reaktivnosti (jednadžba (3)), stoga je ona najvjerojatnije glavni oksidativni agens u ovim sustavima.



Značajno je da (P)MnIV=O kompleksi također mogu biti uključeni u izravnu apstrakciju vodika [242]. Generiranje superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$) odvija se reakcijama senzibilizacije s prijenosom elektrona iz kompleksa tripletnog pobuđenog stanja Mn(III) na otopljenu molekulu kisika u osnovnom stanju (jednadžba (4)) [243]. U reakciji sa zasićenim ugljikovodicima dolazi do regeneracije početnog (P)Mn(III) kompleksa uz nastajanje keto derivata.



U drugom tipu reakcije senzibilizacije, porfirini mogu pobuditi svoje odgovarajuće prigušivače preko kolizijskog prijenosa energije iz svog dugoživućeg tripletnog stanja. U tu svrhu mogu se primijeniti i porfirini kao slobodne baze i njihovi metalni kompleksi čiji su UV spektri, snimljeni u vodi prikazani na slici 21.



Slika 21. Strukture porfirina (a) i njihovi UV/Vis spektri snimljeni u vodi (b) [244].

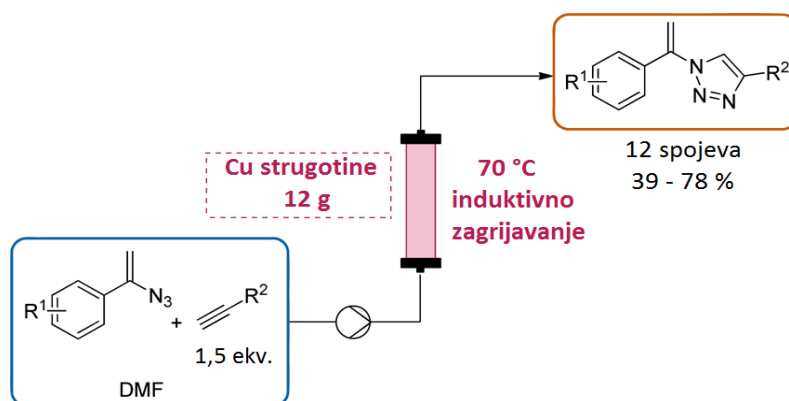
Najčešće korišteni primjer ove metode je proizvodnja singletnog kisika ($^1\text{O}_2$), koji može učinkovito oksidirati organske molekule u vodenim sustavima ili ubiti stanice raka u fotodinamičkoj terapiji [245,246]. Osim toga, porfirini u tripletnom stanju također mogu pospješiti reakcije različitih organskih spojeva, osobito ako je njihova energija aktivacije prilično niska. U takvim slučajevima prenesena energija, unatoč značajnom gubitku, može

1. Opći dio

dosegnuti razinu potrebnu za reakciju. Fotoosjetljive *E-Z* izomerizacije su dobri primjeri ovih mogućnosti [247,248].

Trendovi za sintezu novih fotoprodukata danas uključuju razne inovativne fotokatalizatore s nanočesticama kao što su nanočestice paladija [249].

Dodatno, vrlo obećavajući rezultati postižu se reakcijama u kojima se kao katalizatori koriste porfirinski kompleksi koordinirani određenim metalima, stoga su znanstvenici proučavali cijeli niz metala unutar porfirinskih struktura kao i njihove prednosti u različitim katalitičkim oksidacijama [250]. Postoje primjeri porfirinskih kompleksa koordiniranih s rutenijem [251]. Manganovi porfirini već su korišteni u prošlosti za razne organske reakcije. Izvrstan primjer za takvu vrstu primjene je sinteza molekula stilbena u mikrovalnom reaktoru, korištenjem vodikovog peroksida [252]. Postoji niz drugih reakcija u kojima se koriste različiti fotokatalizatori (shema 7), kao što su reakcije hidroaciliranja i diaciliranja [253], Heckove reakcije unakrsnog spajanja i razne izomerizacije [254].



Shema 8. Huisgenova cikloadicija vinilnog azida i alkina s Cu-katalizatorom [221].

U literaturi su također poznate fotokatalitičke oksigenacije pomoću različitih fotokatalizatora kao što su nanočestice koje sadrže kadmijev sulfid i zelene lampe [255]. Plave LED lampe primijenjene su u fotokatalitičkoj izomerizaciji raznih derivata stilbena [256]. Poznate su i fotokatalitičke reakcije na stirenima, cikloheksenima i stilbenima, uz korištenje metalo-organskog katalizatora na bazi kobalta.

Ioni prijelaznih metala djeluju kao aktivne vrste za visoku selektivnost reakcija epoksidacije [257]. Tijekom tih fotokatalitičkih reakcija dolazi do kidanja dvostruke veze pod utjecajem svjetlosti i određenog fotokatalizatora, pri čemu nastaju novi produkti fotooksidacije, koji u većini slučajeva pripadaju skupini epoksida, alkohola i/ili formilnih derivata.

2. REZULTATI I RASPRAVA

2. REZULTATI I RASPRAVA

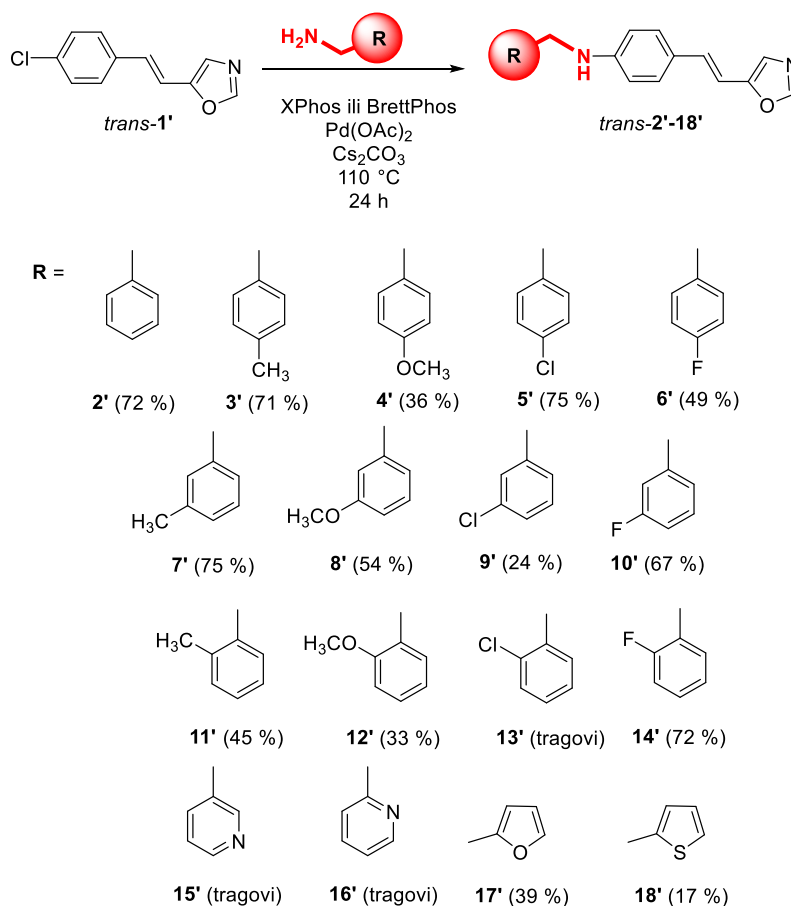
Uvod

U poglavlju *Rezultati i rasprava* bit će opisana sinteza, fotokemija, fotofizika, biološka i računalna ispitivanja, kao i kompleksiranje novih sintetiziranih spojeva s biometalima. Biološkim ispitivanjima obuhvaćena je inhibicija kolinesteraza, reaktivacija kolinesteraza, antimikrobna aktivnost, antioksidacijska i protuupalna aktivnost. Poglavlje obuhvaća sljedeća manja poglavlja: Sinteza, fotokemija i biološka ispitivanja naftoksazola; Sinteza, fotokemija i biološka ispitivanja heterostilbenskih amina; Sinteza i fotokemija arilnih triazolostilbena; Sinteza ditriazolostilbena; Sinteza i fotokemija arilnih i tiofenskih triazolostilbena; Sinteza i fotokemija tieno-triazolostilbena; Sinteza i fotokemija tiazolostilbena; Sinteza piranonskih stilbena; Sinteza 2-tienostilbena; Sinteza novih nenabijenih oksima; Sinteza derivata rezveratrola **191-208**; Sinteza, fotokemija i fotofizika benzilnih triazolostilbena **209 i 210**; Sinteza i fotofizika distirilnih derivata DAQP, MIX i QP; Funkcionalizacija rezveratrolnih derivata šaržnom i protočnom sintezom; Fotokatalitičke oksigenacije rezveratrolnih derivata u šaržnom i protočnom reaktoru; te Fotokatalitička oksigenacija spoja *trans*-**128**.

2.1. Sinteza, fotokemija i biološka ispitivanja naftoksazola

Koristeći reakciju *N*-alkiliranja na prethodno sintetiziranom *trans*-klor-arileteniloksazolu *trans*-**1'** [258], sintetizirani su novi *trans*-amino-5-ariletenil-oksazolni derivati *trans*-**2'-18'** (Shema 9) s ciljem dodavanja nove funkcionalne skupine oksazolima koja nalikuje acetilkolinu, supstratu kolinesteraze kako bi se ispitala potencijalna inhibicija navedenih enzima. Buchwald-Hartwigova reakcija [259] korištena je uz dva katalizatora uz optimiranje reakcijskih uvjeta u svrhu poboljšanja iskorištenja reakcija. Promjena baze bila je ključna za optimiranje ove reakcije. Natrijev *tert*-butoksid prethodno je korišten kao baza, ali je uzrokovao dehalogeniranje početnog spoja. Cezijev karbonat poboljšao je iskorištenje i konverziju reakcija. Temperatura, otapalo i korišteni katalizator neovisno su varirali kako bi se dobila najbolja konverzija. Najbolji pronađeni uvjeti prikazani su na Shemi 9. Katalizirana reakcija *N*-alkiliranja je složena reakcija spajanja i dala je širok niz iskorištenja. Neki od derivata optimizirani su do izvrsnih iskorištenja, dok su u primjeru drugih dobivena samo umjerena do niska iskorištenja. Još uvijek ima prostora za optimizaciju u budućnosti s dodatnim katalizatorima.

2. Rezultati i rasprava

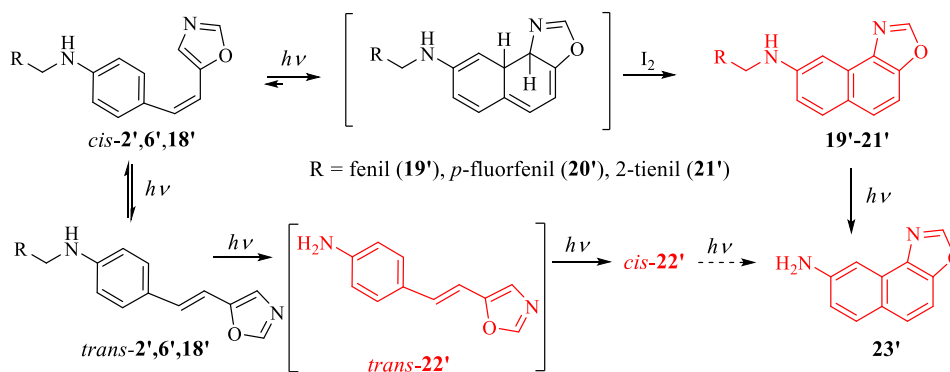


Shema 9. Sinteza ciljanih spojeva *trans-2'-18'* Buchwald-Hartwigovom reakcijom.

Sintetiziran je i spektroskopski okarakteriziran veliki broj novih spojeva. Spojevi s piridinskim prstenom **15'** i **16'** i onim koji nosi 2-klorfenilni supstituent **13'** sintetizirani su samo u tragovima, te nisu dalje ispitivani. Derivati piridina **15'** i **16'** nisu nastajali u dovoljno visokim iskorištenjima vjerojatno zbog utjecaja bazičnosti heteroaromatskog prstena koji sadrži dušik na složene reakcijske korake Buchwald-Hartwigove reakcije aminiranja. Samo su neki od spojeva (*trans-2'*, *trans-6'* i *trans-18'*) uspješno fotokemijski ciklizirani u nove policikličke derivate **19'-21'** (Shema 10). Ostali početni amini nisu reagirali u reakciji elektrociklizacije i ostali su neizreagirani u reakcijskoj otopini, neki od njih kao smjese konfiguracijskih izomera. Fotokemijski reaktivni anilini pokazali su *E-Z* fotoizomerizaciju tijekom fotoreakcije i kao posljedicu toga dali produkte fotociklizacije **19'-21'**. Samo je *cis*-izomer amina **18'** izoliran iz fotosmješe nakon reakcije ciklizacije i spektroskopski okarakteriziran. To ne znači da se fotostacionarno stanje ne uspostavlja u fotosmjesi u slučaju drugih amina, ali bez daljnje reakcije elektrociklizacije. Tijekom fotociklizacije 2-tienilnog derivata (*trans-18'*), došlo je do kompetitivnog odcjepljivanja benzilne skupine što je rezultiralo izoliranjem *cis-22'* i njegovog produkta elektrociklizacije **23'**. Isti su produkti dokazani i u ^1H NMR spektru nakon fotoreakcije *trans-*

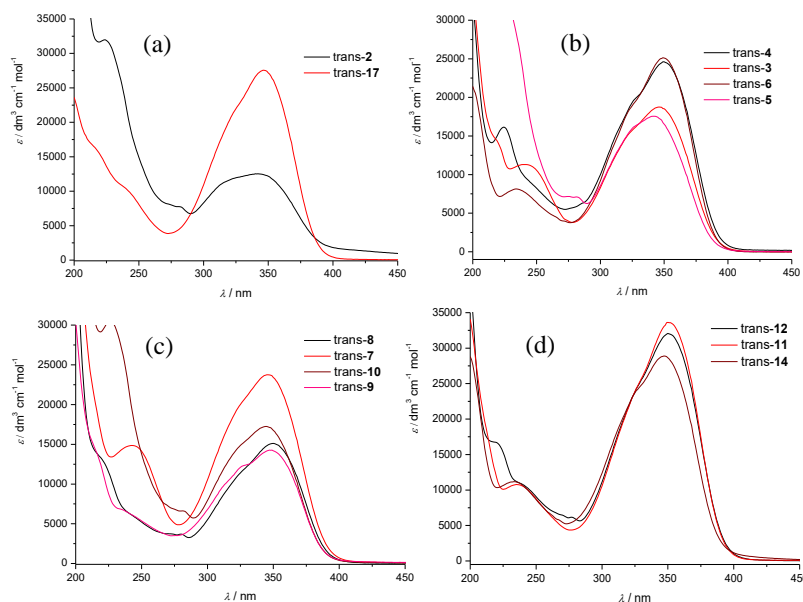
2. Rezultati i rasprava

17'. Razlika između ova dva heteroaromska amina je u tome što *trans-17'* ne ciklizira u odgovarajući produkt elektro ciklizacije i daje fotoprodukte samo u tragovima. Nastajanje istog produkta **23'** ovdje se može objasniti kao posljedica cijepanja heteroaromske jedinice iz **21'** (Shema 10), te ovaj put nastajanja **23'** ne može se isključiti jer se oba puta mogu događati kao kompetitivni procesi u istoj fotoreakciji.



Shema 10. Fotokemijska reakcija amino-5-ariletetil-oksazola *trans-2'*, **6'**, **18'** u nafto[1,2-*d*]oksazole, **19'**, **20'** odnosno **21'**.

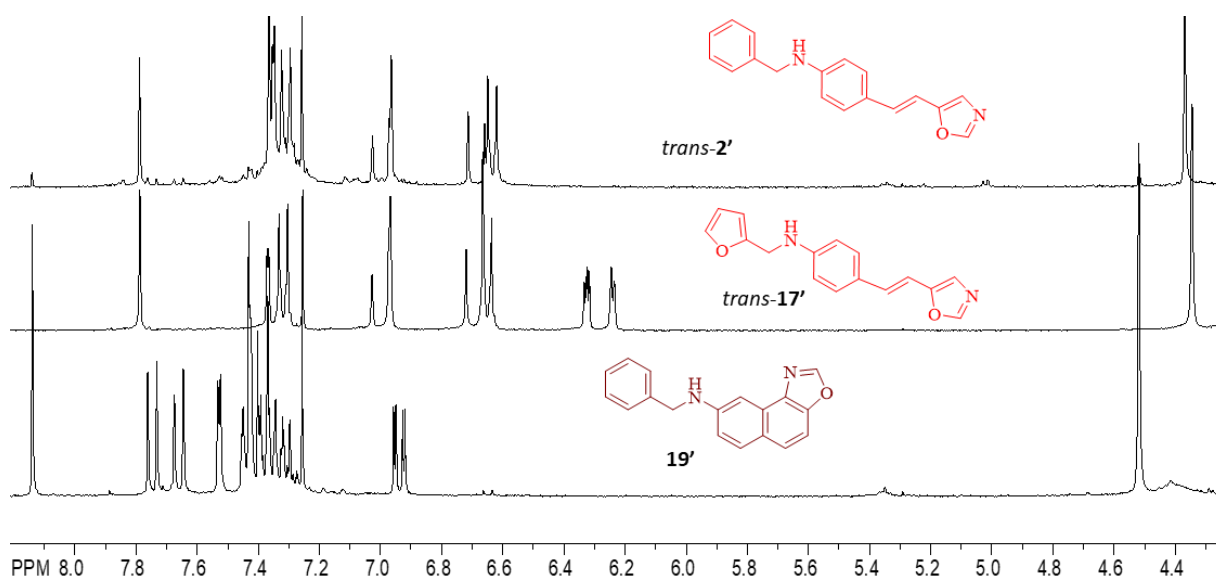
Svi izolirani spojevi su potpuno spektroskopski okarakterizirani. Na slici 23 dani su UV spektri koji se koriste za određivanje valne duljine u reakcijama ciklizacije. Apsorpcijski maksimumi svih početnih *trans*-izomera spojeva **2'-18'** su u području između 340-350 nm i to je razlog zašto je za ciklizaciju korišteno osvjetljavanje pri valnim duljinama od 365 nm.



Slika 23. UV spektri spojeva *trans-2'* i *trans-17'* (a), *p*-supstituiranih sintetiziranih spojeva *trans-3'-6'* (b), *m*-supstituiranih sintetiziranih spojeva *trans-7'-10'* (c) i *o*-supstituiranih sintetiziranih spojeva *trans-11'*, *trans-12'* i *trans-14'* (d).

2. Rezultati i rasprava

Svi izolirani spojevi pokazali su u ^1H NMR spektru singlete u rasponu od 7,78 – 7,81 ppm, koji su pripisani protonima na poziciji 2 oksazolnog prstena zbog utjecaja dušika i kisika koji se nalaze u njegovoj neposrednoj blizini, nezasjenjeni i pomaknuti u niže područje spektra (Slika 24). Protoni smješteni na položaju 4 oksazolnog prstena pokazali su singlete u rasponu od 6,95 – 6,99 ppm, etenski protoni vidljivi su kao dubleti u rasponu od 6,99 – 7,08 ppm s konstantama sprežanja između 16 i 17 Hz, karakterističnim za *trans*-izomere. Za spojeve *trans*-**17'** i *trans*-**18'**, karakteristični signali za furanski ili tiofenski prsten također su vidljivi s karakterističnim konstantama sprežanja. U spektrima produkata elektrociklizacije **19'**-**21'** pojavila su se dva nova dubleta koja odgovaraju konstantama sprežanja karakterističnim za središnji prsten cikliziranog naftoksazola. Struktura i čistoća sintetiziranih amina također je potvrđena ^{13}C NMR, dvodimenzionalnim NMR tehnikama i HRMS analizama.



Slika 24. Parcijalni ^1H NMR spektri početnih amina *trans*-**2'** i *trans*-**17'** i produkta fotociklizacije **19'**.

2.1.1. Inhibicija enzima kolinesteraza ariletetil-oksazolima i naftoksazolima

Jedanaest novih sintetiziranih derivata *trans*-amino-5-ariletetil-oksazola (*trans*-**2'**-**12'** i *trans*-**17'**) ispitani su u širokom rasponu koncentracija kao inhibitori BChE kako bi se procijenila koncentracija inhibitora koja inhibira 50 % aktivnosti enzima (IC_{50}), predstavljena u tablici 1. Najjači inhibitori BChE bili su spojevi *trans*-**12'**, *trans*-**10'** i *trans*-**8'** s IC_{50} od oko 30 μM . BChE je imao najniži afinitet vezanja za spoj *trans*-**11'** koji je bio 5,5 puta manji od najjačeg inhibitora *trans*-**12'**. Zanimljivo je primijetiti da je afinitet vezanja BChE za spojeve *trans*-**12'**,

2. Rezultati i rasprava

trans-10' i *trans-8'* sličan onom koji je zabilježen za inhibitore kolinesteraza BW284C51, huperzin ili rivastigmin (IC₅₀ 30 – 54 μM) [260].

Općenito, iako se ovi spojevi, s iznimkom spoja *trans-17'*, sustavno razlikuju samo po prirodi supstituenta na benzilnoj skupini i njegovom položaju (*ortho-*, *meta-*, *para-*), ova se strukturna različitost ne može lako povezati s IC₅₀ vrijednostima. Najjači inhibitori, spojevi *trans-12'*, *trans-10'* i *trans-8'* imaju *o*-metoksi, *m*-fluor- i *m*-metoksi-supstituente na fenilnim jezgrama. Štoviše, *o-trans-12'* i *m-trans-8'* analozi imali su oko 3 puta niži IC₅₀ nego njihov *p*-metoksi-analog *trans-4'*. Slično, *m*-fluor-supstituirani spoj, *trans-10'*, pokazao je 2,5 puta niži IC₅₀ od svog *p*-fluorovog analoga, *trans-6'*. U slučaju metilnog supstituenta položaj supstituenta nije bio relevantan jer su sva tri spoja (*trans-3'*, *trans-7'* i *trans-11'*) imala sličan IC₅₀ i bili su najslabiji inhibitori među ispitivanim spojevima (Tablica 1). Unatoč tome, *para*-supstitucija i *meta*-supstitucija dovele su do nastajanja neaktivnih spojeva, dok su *o/m*-metoksi- i *m*-fluorovi spojevi bili potencijalno aktivni derivati.

Nije iznenađujuće da je aktivnost bila primjetno različita između najjačeg (*trans-12'*) i najslabijeg potencijalnog inhibitora (*trans-11'*) koji se razlikuju u metoksi- i metilnom supstituentu na položaju 2.

Tablica 1. Inhibicija BChE i AChE na ispitivanim derivatima *trans*-amino-5-ariletetil-oksazola (*trans-2'-17'*), nafto[1,2-*d*]oksazola (**19'**-**21'** i **23'**) i amino-4/5-ariletetil-oksazola (*cis-18'* i *cis-22'*), izraženi kao IC₅₀ ± S.E.

Spoj (aromatski/heteroaromatski supstituent)	IC ₅₀ (μM)	
	BChE	AChE
<i>trans-2'</i> (fenil)	120 ± 22	>>100
<i>trans-3'</i> (<i>p</i> -metilfenil)	120 ± 19	>>100
<i>trans-4'</i> (<i>p</i> -metoksifenil)	110 ± 15	>>100
<i>trans-5'</i> (<i>p</i> -klorfenil)	87 ± 12	>>100
<i>trans-6'</i> (<i>p</i> -florfenil)	80 ± 10	>>100
<i>trans-7'</i> (<i>m</i> -metilfenil)	130 ± 26	>>100
<i>trans-8'</i> (<i>m</i> -metoksifenil)	36 ± 4,4	>>100
<i>trans-10'</i> (<i>m</i> -fluorfenil)	32 ± 5,2	>>100
<i>trans-11'</i> (<i>o</i> -metilfenil)	160 ± 35	>>100
<i>trans-12'</i> (<i>o</i> -metoksifenil)	28 ± 5,2	>>100
<i>trans-17'</i> (2-furil)	65 ± 10	>>100
19' (fenil)	140 ± 24	68 ± 25
20' (<i>p</i> -fluorfenil)	12 ± 1,3	45 ± 17
21' (2-tienil)	35 ± 7,1	51 ± 20
23'	1000 ± 650	120 ± 46
<i>cis-22'</i>	110 ± 58	190 ± 100
<i>cis-18'</i> (<i>p</i> -fluorfenil)	5,7 ± 0,8	160 ± 100
Etopropazin	0,046 ± 0,0037	73 ± 8,3

2. Rezultati i rasprava

Jedanaest derivata *trans*-amino-5-ariletetil-oksazola inhibiralo je maksimalno 20 % aktivnosti AChE i vrijednosti IC₅₀ nisu određene. Budući da se veće koncentracije od 100 µM nisu mogle koristiti zbog inhibicije AChE otapalom DMSO [261], vrijednosti IC₅₀ za AChE su vjerojatno bile puno više od 100 µM. Također su ispitana četiri policiklička nafto[1,2-*d*]oksazola (**19'**, **20'**, **21'**, **23'**) i dva izolirana *cis*-izomera derivata amino-5-ariletetil-oksazola (*cis*-**18'**, *cis*-**22'**) kao potencijalni inhibitori kolinesteraza. Svi spojevi, osim **23'**, inhibirali su oba enzima više od 50 % s koncentracijama u µM rasponu, a procijenjene vrijednosti IC₅₀ dane su u tablici 1. IC₅₀ vrijednosti za BChE i spoj *cis*-**18'** bila je najniža vrijednost IC₅₀ procijenjena u ovom istraživanju. *Cis*-**18'** bio je oko 5 puta jači inhibitor BChE nego amino-5-ariletetil-oksazola *trans*-**12'**, *trans*-**10'** i *trans*-**8'** (Tablica 1).

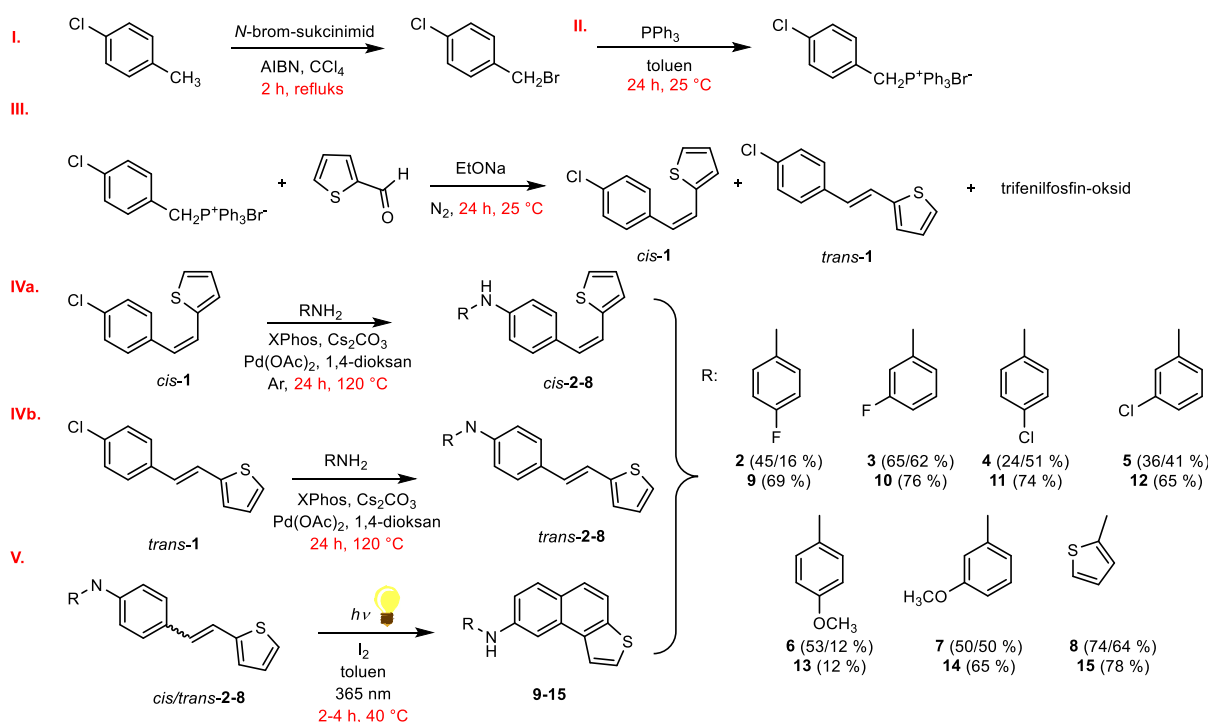
Također je zanimljivo primijetiti da su *cis*-**18'** i *cis*-**22'** pokazali veći učinak inhibicije za BChE nego njihovi fotoproducti **21'** i **23'**, dok je policiklički derivat **20'** imao oko 8 puta veću snagu za BChE od *trans*-**6'**. U slučaju AChE, čini se da su elektrociklizacija i *E-Z* izomerizacija derivata amino-5-ariletetil-oksazola omogućile dodatne interakcije u aktivnom mjestu poboljšavajući snagu inhibicije. Elektrociklizacija *cis*-**18'** i *cis*-**6'** rezultirala je nastajanjem tienil-nafto[1,2-*d*]oksazola, **21'**, odnosno *p*-fluorfenil-nafto[1,2-*d*]oksazola, **20'**. Oba spoja **21'** i **20'** su snažni inhibitori AChE. Nafto[1,2-*d*]oksazol bez aminoalkilnog supstituenta **23'** bio je inhibitor s najlošijim rezultatima ispitivanja od šest testiranih spojeva (Tablica 1). Stoga, općenito, dobiveni rezultati ukazuju da se ispitivani oksazolamini kao i derivati nafto[1,2-*d*]oksazola mogu svrstati u selektivne, potencijalne inhibitore BChE.

2.2. Sinteza, fotokemija i biološka ispitivanja heterostilbenskih amina

Klor-stiril-tiofen **1** pripravljen je Wittigovom reakcijom kupovnog tiofenskog aldehida i prethodno sintetizirane fosfonijeve soli. Fosfonijeva sol s klorom u *para*-položaju sintetizirana je polazeći iz 4-klor-toluena u prvom stupnju prevodeći ga u bromid, uz *N*-brom-sukcinimid i katalizator AIBN uz ugljikov tetraklorid kao otapalo na temperaturi refluksa. Nastali bromid u reakciji s trifenilfosfin-oksidom daje odgovarajuću, željenu sol koja se filtrira iz toluena i suši pod vakuumom u eksikatoru. Novi stiril-tiofenski benzilamini **2-8** (Shema 11) sintetizirani su Buchwald-Hartwigovim reakcijama aminiranja [262,263] iz prethodno pripremljenog klor-stiril-tiofenskog derivata **1** [264]. Cilj je bio sintetizirati nove amine koji ponovno posjeduju specifičan stilbenski osnovni kostur. Aminiranjem čistog *trans*-**1** ili *cis*-**1** pomoću XPhosa, Pd(OAc)₂ u dioksanu, Cs₂CO₃ i različitih benzilamina na 120 °C uspješno su sintetizirani novi

2. Rezultati i rasprava

amini **2-8** (Shema 11) uz iskorištenja od 24-74 % za *cis*-, te od 12-64 % za *trans*-izomere. Bliži pogled na prirodu i položaj supstituenta u izoliranom iskorištenju (Shema 11) otkriva da *m*-fluor- (*cis*-**3**) i tienilni derivat (*cis*-**8**) daju najbolja iskorištenja u slučaju *cis*- i *trans*-amina. Na temelju naših prethodnih rezultata [265], gdje je *ortho*-supstitucija na aril-aminima dala najniža iskorištenja, odlučili smo isključiti ovu vrstu početnih amina prilikom provođenja ovih istraživanja. Međutim, *ortho*-supstitucije obično rezultiraju spojevima s nekim jedinstvenim svojstvima, stoga takve derivate vrijedi posebno razmatrati.

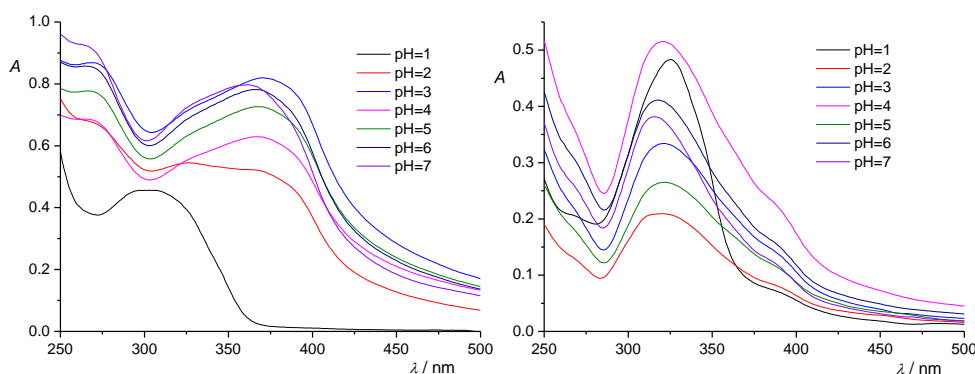


Shema 11. Sinteza i reakcije fotociklizacije stilir-tiofenskih benzilamina **2-8** (samo za spoj **7**, postotci ne znače izolirana iskorištenja, već relativni omjer dobivenih konfiguracijskih izomera, s obzirom da reakcijska foto-smjesa također sadrži aldehyd kao manjinski nusprodukt).

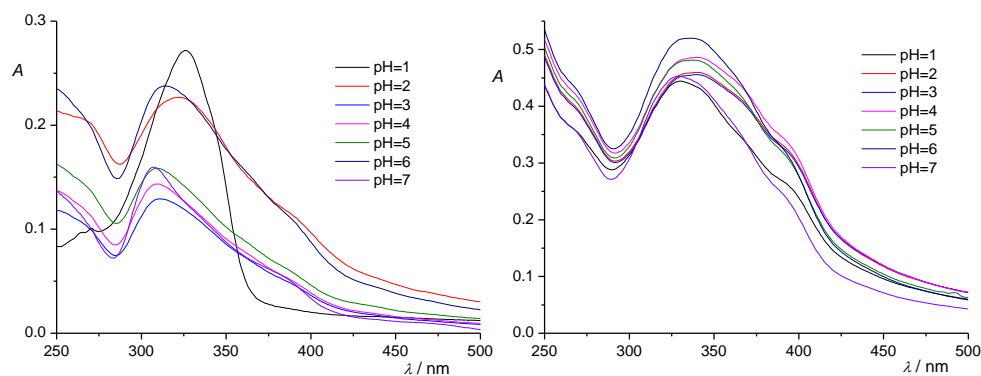
Kako bi se analizirala otpornost na kiseline sintetiziranih amino-tienostilbena **2-8** za njihovu potencijalnu primjenu, zabilježena je promjena UV spektara u ovisnosti o pH za spojeve *trans*-**3**, *trans*-**4**, *cis*-**8** i *trans*-**8**, kao što je prikazano na slikama 25 i 26. Promjene UV spektara zabilježene su u puferskoj vodenoj otopini za pH 7 do 1. Spojevi su prethodno otopljeni u metanolu p.a. koncentracije 2×10^{-3} M, nakon čega slijedi podešavanje koncentracija u puferskoj otopini na 2×10^{-5} M. Međutim, poznato je da zbog prisutnosti dvostruke veze stilbenski derivati općenito imaju slabu otpornost na utjecaj osvjetljavanja. Pod djelovanjem svjetla lako izomeriziraju, što rezultira smanjenom fluorescentnom aktivnošću. Kao što je već spomenuto, amino-supstituirane kvaternarne amonijeve soli stilbena [26] s fotofizičkim svojstvima u primjeni za optičke boje, pokazale su jaku otpornost na kiseline. U usporedbi s njima, novi

2. Rezultati i rasprava

amino-tienostilbeni **2-8** također su stabilni u kiselim uvjetima osim pri pH 1 za jedini analizirani *cis*-izomer spoja **8**. Svi *trans*-izomeri pokazuju samo male promjene u UV maksimumima u rasponu od pH 7 do 2, a značajnija promjena dogodila se tek pri pH 1 (Slike 25 i 26). Snažna apsorpcija *trans*-**3** pomaknula se s ~380 nm na ~310 nm kada se pH promijenio na 1 (Slika 25). Nadalje, pri pH 1, batokromni pomak vidljiv je za *cis*-**8**, što ukazuje na moguću izomerizaciju u *trans*-**8**. Budući da su kemijski pomaci etenskih protona za *cis*-**8** i *trans*-**8** dosta različiti, NMR analiza u svrhu provjere eksperimenta osigurana je za *cis*-**8** pri pH 1 kako bi se potvrdila predviđena izomerizacija i dodatno istražila otpornost na kiselinu ne-kvaterniziranih stilbena **2-8**.



Slika 25. Promjene UV spektara spoja *trans*-**3** (lijevo) i *trans*-**4** (desno) u ovisnosti o pH u puferskoj vodenoj otopini za pH od 7 do 1.

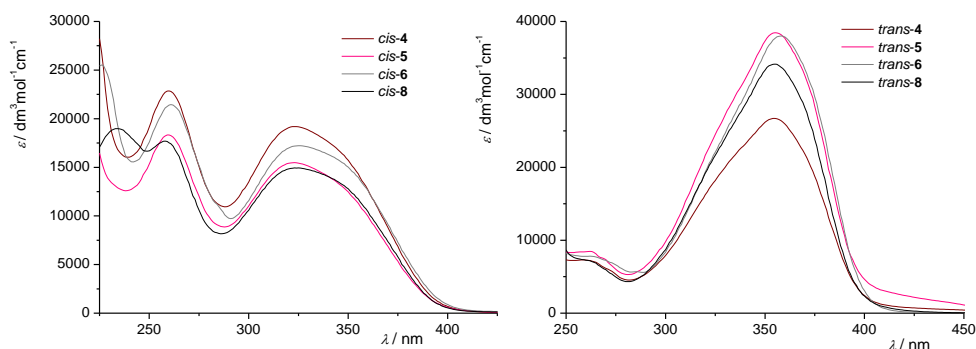


Slika 26. Promjene UV spektara spoja *cis*-**8** (lijevo) i *trans*-**8** (desno) u funkciji pH u puferskoj vodenoj otopini za pH od 7 do 1.

Daljnja namjera istraživanja bila je prevesti sintetizirane stiril-tiofen benzilamine **2-8** u njihove produkte fotociklizacije, naftotiofenske benzilamine **9-15** (Shema 11, donji dio), spojeve zanimljivih fizikalno-kemijskih svojstava, koji će također biti ispitani zbog potencijalnih bioloških aktivnosti. U aerobnim uvjetima smjesa izomera **2-8** otopljena je u toluenu ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i osvjetljavana s 10 UV lampi na 365 nm u kvarcnoj kivetu uz dodatak katalitičke količine joda u fotokemijskom reaktoru Rayonet 2-4 sata kako bi se postigla gotovo potpuna konverzija. Valna duljina od 365 nm odabrana je na temelju UV/Vis spektara polaznih *cis*- i *trans*-

2. Rezultati i rasprava

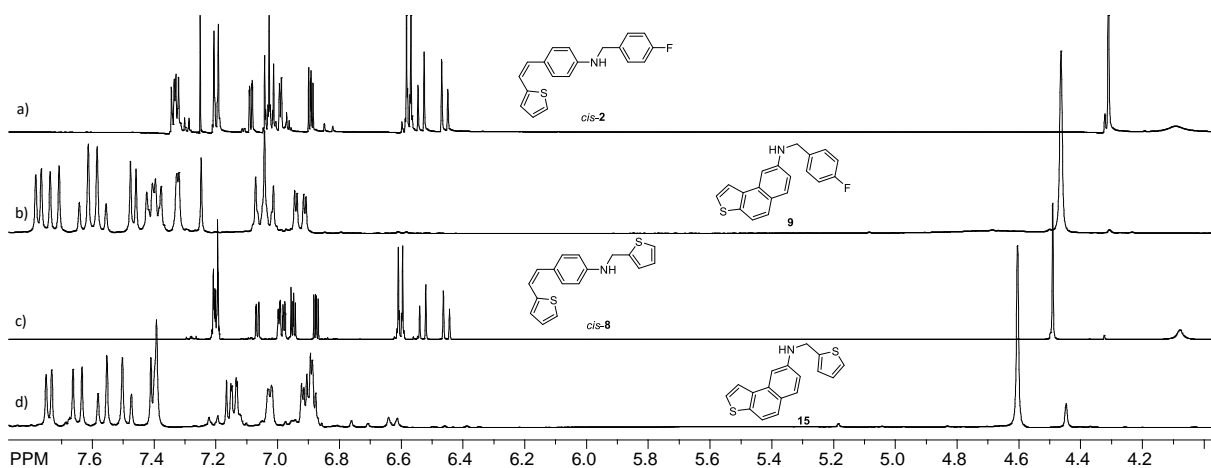
izomera stilil-amina (Slika 27), koji pokazuju da su njihovi spektri tipični za diariletene [13,14] s apsorpcijskim maksimumom na oko 355 nm za *trans*-izomere i manje intenzivne i hipsokromno pomaknute spektre za *cis*-izomere. UV/Vis spektri novih amina **2-8** također se slažu sa snimljenim spektrima nekoliko poznatih optičkih boja zbog njihove strukturne sličnosti (amino-stilbenski kostur).



Slika 27. UV/Vis spektri (ACN) *cis*- i *trans*-izomera novosintetiziranih stilil-amina **4-6** i **8**.

Preparativni fotokemijski eksperimenti sa spojevima **2-8** dali su naftotiofenske amine **9-15** u 65-78 % izoliranim iskorištenjima, osim za *p*-metoksi-benzilni derivat **13** (12 % izoliranog spoja). Ovo nije iznenađujuće jer se *p*-metoksi-benzilna skupina često koristi kao fotokemijski uklonjiva zaštitna skupina. Takve se skupine lako mogu ukloniti osvjetljavanjem u blagim reakcijskim uvjetima. Neke druge benzilne skupine također služe kao fotokemijski uklonjive zaštitne skupine, ali *m*-supstituirani benzili su među najslabijima, dajući aldehyd kao nusprodukt nakon cijepanja. Oba heterostilbena **6** i **7** s metoksi-supstituentima u *meta*- i *para*-položaju pokazala su u NMR spektrima odgovarajućih fotoprodukata **13** i **14** signale za prisutnost aldehyda. Amino-tienostilbeni **2-8** i njihovi fotoprodutki **9-15** potpuno su okarakterizirani ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom (Slika 28) i HRMS analizama. Nastajanje fotoprodukata **9-15** općenito je bilo popraćeno pojavom nekih visokomolekulskih produkata, koji nisu istraženi. U ¹H NMR spektrima **9-15** opaža se nestanak etenskih protona i gubitak jednog signala tiofenskog prstena, u usporedbi s početnim triazolo(tieno)stilbenima **2-8**. NH protoni u novim aminima **2-15** pojavljuju se u alifatskom području između 4,1 i 5,0 ppm. Također, karakterističan novi signal za metilensku skupinu benzilnog supstituenta potvrđen je za sve amine **2-15**.

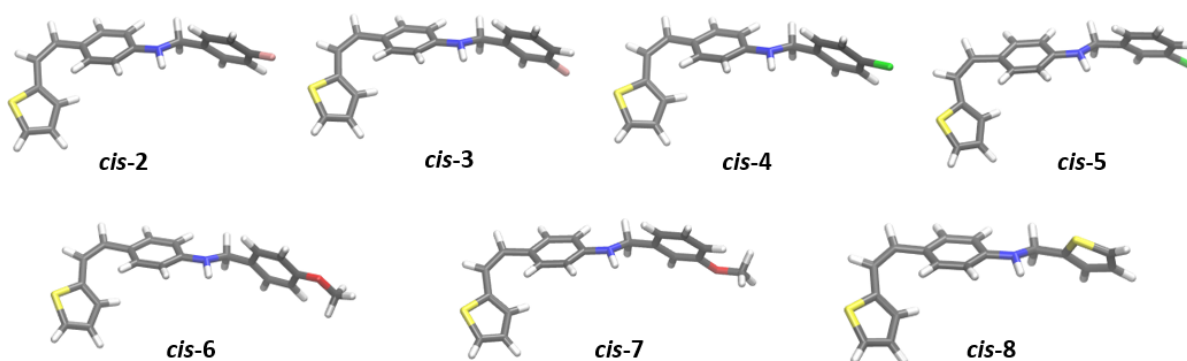
2. Rezultati i rasprava



Slika 28. Odabrani ¹H NMR spektri (CDCl₃) *cis*-2 (a) i *cis*-8 (c) i njihovih produkata fotociklizacije 9 (b) odnosno 15 (d).

2.2.1. Računalna ispitivanja elektronske strukture stilir-tiofen i nafto-tiofen benzilamina 2-15

Strukture svih ispitivanih molekula (2-15) optimizirane su na M06-2X/6-31G(d) razini teorije [286], korištenjem programskog paketa Gaussian16 [274] u suradnji s kolegama s *Instituta Ruđer Bošković*. Ispitivanje konformacijskog prostora *cis*-izomera stilir-tiofenskih benzilamina 2-8 pokazalo je da supstituenti na benzilnom dijelu ne utječu na stabilnost konformacije skeleta. Ovaj rezultat nije bio iznenađujući s obzirom na sličnosti u njihovim eksperimentalno dobivenim UV/Vis spektrima. Slika 29 prikazuje najstabilnije konformere *cis*-izomera spojeva 2-8.



Slika 29. Najstabilniji konformeri *cis*-izomera stilir-tiofenskih benzilamina 2-8, optimizirani na M06-2X/6-31G(d) razini teorije.

Kako bismo dobili dodatni uvid u eksperimentalne podatke, izračunali smo UV/Vis spektre svih spojeva koristeći vremenski ovisnu teoriju funkcionala gustoće (TD-DFT). Perturbacijska jednačba ovisna o vremenu temeljena na Runge-Grossovom teoremu [266] riješena je za 20 pobuđenih singletnih stanja za svaku optimiziranu molekulu, korištenjem CAM-

2. Rezultati i rasprava

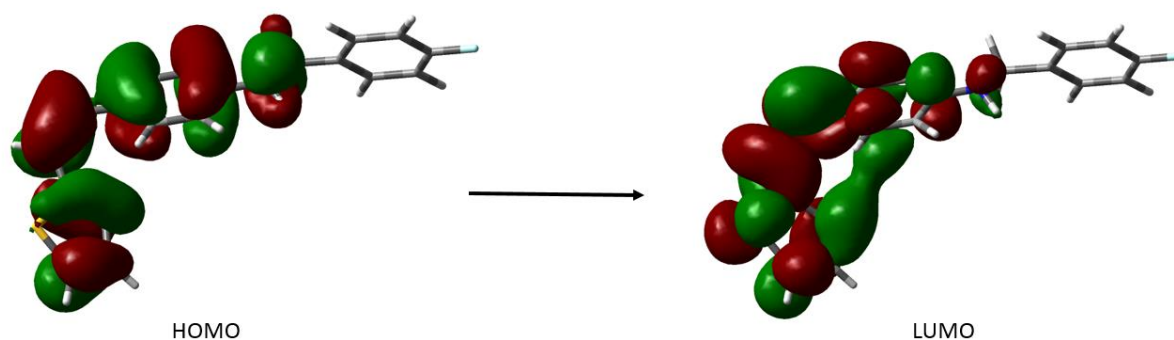
B3LYP/6-31++G(d) razine teorije. Eksperimentalni i izračunati podaci za *cis*-izomere stiril-tiofenskih benzilamina dani su u tablici 2, zajedno s glavnim, predviđenim izračunima.

Tablica 2. Izmjerene i izračunate vrijednosti maksimuma apsorpcije u UV/Vis spektrima *cis*-stiril-tiofenskih benzilamina, zajedno s prijelazima odgovornim za λ_{max} . Izračunati podaci dobiveni su na računskom modelu (CPCM)TD-CAM-B3LYP/6-31++G(d) (ACN), s geometrijama optimiziranim na M06-2X/6-31G(d) razini teorije. Najviša zauzeta i najniža prazna molekulska orbitala označene su s H odnosno L.

Spoj	λ^{exp}/nm	λ^{calc}/nm	Prijelaz
<i>cis</i> -2	322	323	H → L
<i>cis</i> -3	327	323	H → L
<i>cis</i> -4	323	323	H → L
<i>cis</i> -5	325	323	H → L
<i>cis</i> -6	327	325	H → L
<i>cis</i> -7	- ¹	324	H → L
<i>cis</i> -8	325	322	H → L

¹Izomeri nisu uspješno razdvojeni.

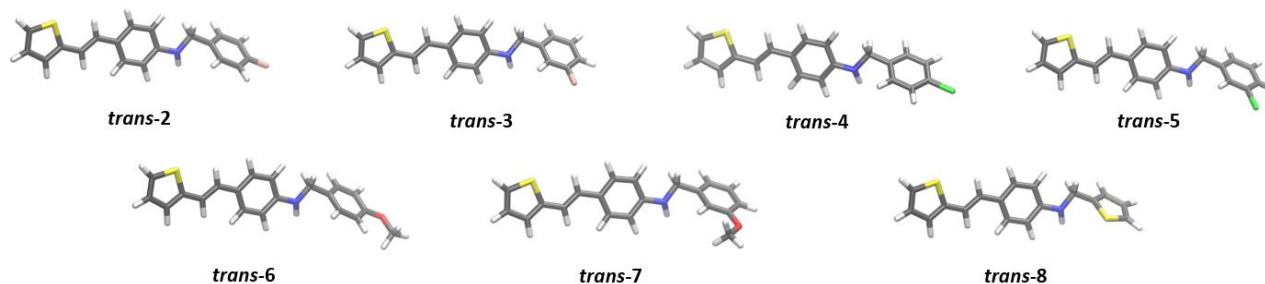
Spektri svih *cis*-stiril-tiofenskih benzilamina međusobno su vrlo slični, položaj maksimuma apsorpcije je na ~325 nm. Izračunate λ_{max} vrijednosti za ove spojeve slažu se s eksperimentalnim podacima, pripisujući njihov maksimum apsorpcije prijelazu s najviše zauzete molekulske orbitale (HOMO) na najnižu praznu orbitalu (LUMO). Prikaz molekulskih orbitala uključenih u ovaj prijelaz za molekulu *cis*-2 prikazane su na slici 30. Očekivano, π -elektroni supstituiranog fenila koji pripada benzilaminskom dijelu ne sudjeluju u prijelazu zbog prisutnosti sp^3 ugljika koji sprječava učinkovitu konjugaciju s π -sustavom ostatka molekule. Isto vrijedi i za druge *cis*-stiril-tiofenske benzilamine.



Slika 30. Prikaz molekulskih orbitala uključenih u prijelaz u UV/Vis spektru spoja *cis*-2.

2. Rezultati i rasprava

Najstabilniji konformeri *trans*-izomera stiril-tiofenskih benzilamina prikazani su na slici 31.



Slika 31. Najstabilniji konformeri *trans*-izomera stiril-tiofenskih benzilamina **2-8**, optimizirani na M06-2X/6-31G(d) razini teorije.

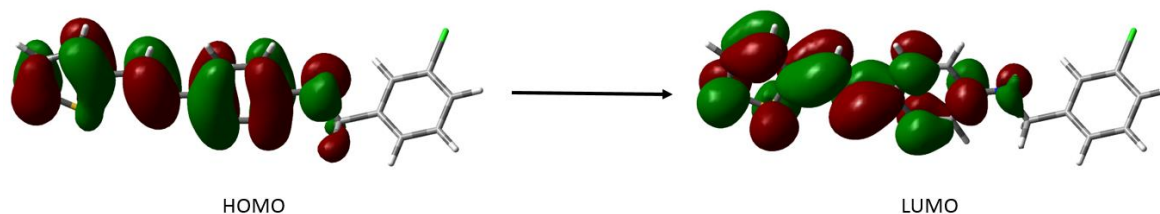
Prema tablici 3, njihovi UV/Vis spektri također se ne razlikuju puno jedan od drugoga, postojano su viši u usporedbi s njihovim *cis*-parovima. Vrijednosti eksperimentalno dobivenih λ_{\max} su ~ 355 nm, a izračuni predviđaju nešto niže maksimalne vrijednosti apsorpcije od ~ 340 nm. Kao i kod *cis*-izomera, u svim spektrima *trans*-izomera maksimum apsorpcije pripisuje se HOMO-LUMO prijelazu.

Tablica 3. Izmjerene i izračunate λ_{\max} vrijednosti za *trans*-stiril-tiofenske benzilamine, zajedno s glavnim prijelazima. Izračunati podaci dobiveni su na računalnom modelu (CPCM)TD-CAM-B3LYP/6-31++G(d) (ACN), s geometrijama optimiziranim na M06-2X/6-31G(d) razini teorije. Najviša zauzeta i najniža prazna molekulska orbitala označene su s H odnosno L.

Spoj	$\lambda^{\text{eksp}}/\text{nm}$	$\lambda^{\text{izrač}}/\text{nm}$	Prijelaz
<i>trans-2</i>	355	340	H \rightarrow L
<i>trans-3</i>	355	340	H \rightarrow L
<i>trans-4</i>	357	340	H \rightarrow L
<i>trans-5</i>	355	340	H \rightarrow L
<i>trans-6</i>	358	342	H \rightarrow L
<i>trans-7</i>	- ¹	341	H \rightarrow L
<i>trans-8</i>	355	339	H \rightarrow L

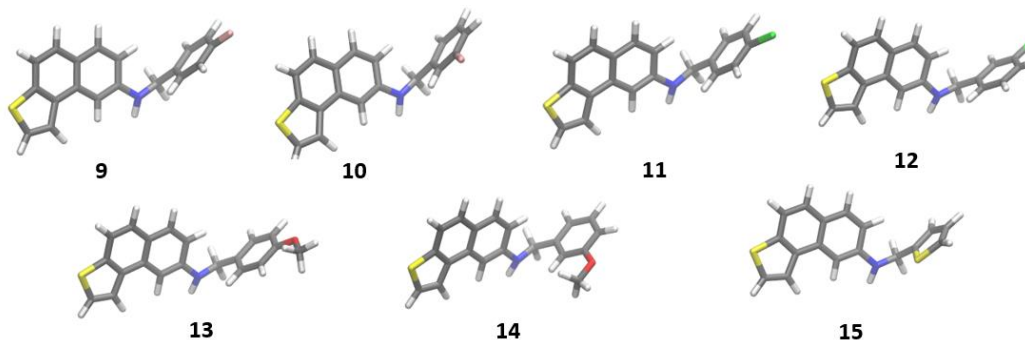
Molekulske orbitale prikazane na slici 32 ilustriraju da π -elektroni koji pripadaju benzilaminu, zbog nedostatka konjugacije sa stiril-tiofenskom strukturom, nisu uključeni u prijelaz odgovoran za apsorpcijski maksimum koji se nalazi u spektrima *trans*-izomera.

2. Rezultati i rasprava



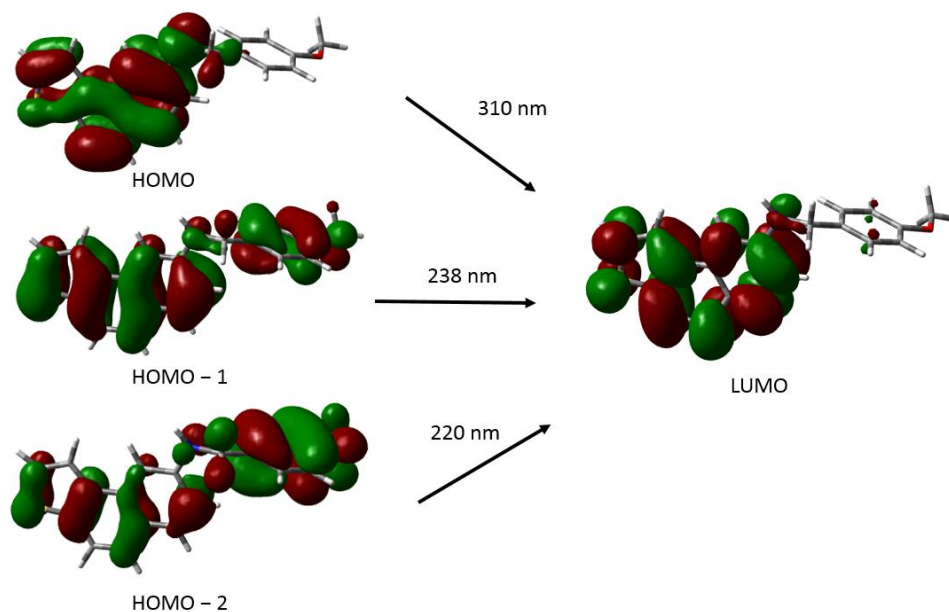
Slika 32. Prikaz molekularskih orbitala uključenih u prijelaz u UV/Vis spektru spoja *trans*-5.

Slika 33 prikazuje optimizirane strukture nafto-tiofenskih benzilamina **9-15**. Svi izračunati spektri predviđaju tri maksimuma: na ~ 310, 238 i 220 nm, pripisujući ih prijelazima HOMO → LUMO, HOMO – 1 → LUMO, odnosno HOMO – 2 → LUMO. Izmjereni podaci pokazuju mnogo veću raznolikost: maksimum koji odgovara prijelazu H → L nije opažen za spojeve **11** i **12**. Određeno slaganje između računski predviđenih podataka i eksperimenta pronađeno je samo za derivate **13** i **15**, gdje su dva dodatna maksimuma (na 255 i 245 nm), međutim, proračuni su razlikovali ove maksimume za 20-25 nm.



Slika 33. Najstabilniji konformeri *trans*-izomera nafto-tiofen benzilamina **9-15**, optimizirani na M06-2X/6-31G(d) razini teorije.

Molekulske orbitale koje sudjeluju u dodijeljenim prijelazima za molekulu **13** prikazane su na slici 34. Uključivanje HOMO – 1 i HOMO – 2 u prijelaze događa se zbog djelomične konjugacije između π -sustava nafto-tiofenskog skeleta i π -elektrona benzilaminskog dijela.



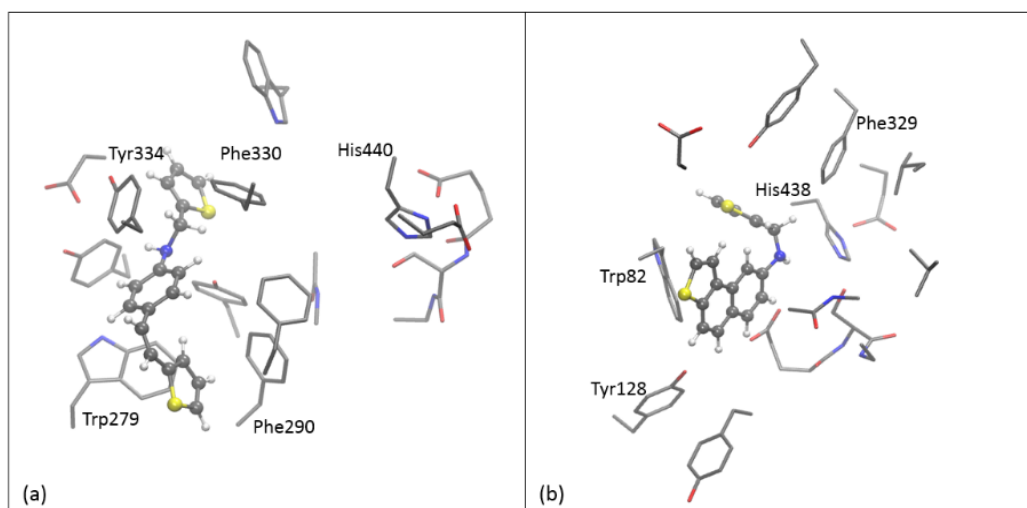
Slika 34. Prikaz molekularskih orbitala uključenih u prijelaze u UV/Vis spektru spoja **13**.

2.2.2. Biološka ispitivanja stiril-tiofena i nafto-tiofenskih benzilamina 2-15

Novi stiril-tiofenski i nafto-tiofenski benzilamini **2-15** testirani su na učinkovitost inhibicije acetil- i butirilkolinesteraze, AChE i BChE u suradnji s kolegama sa Sveučilišta u Mostaru. Kao referentni standard korišten je komercijalno dostupan galantamin. Među svim ispitanim stiril-tiofenskim i nafto-tiofenskim benzilaminima, samo su dva spoja inhibirala ChE u μM rasponu, *cis*-**8** i **15**. Spoj *cis*-**8**, koji pripada amino-tienostilbenima, pokazao je inhibicijski potencijal samo prema AChE, uz IC_{50} vrijednost od $132,6 \mu\text{M}$ (IC_{50} vrijednost za AChE za referentni standardni galantamin je $0,15 \mu\text{M}$). Ostali amino-tienostilbeni, *cis*-**2-6**, *trans*-**2-6** i *trans*-**8**, postigli su vrijednosti inhibicije manje od 50 %, neovisno o ispitivanom enzimu. Elektrocikliza-cijski derivat **15** pokazao je inhibicijski potencijal s vrijednošću IC_{50} od $32,3 \mu\text{M}$ za BChE (IC_{50} galantamina je $7,9 \mu\text{M}$ za BChE) što je ujedno i najbolji rezultat za ovu klasu ispitivanih spojeva. Postignuta inhibicijska aktivnost spoja **15** prema BChE je u rangu triazolo-stilbena, triazolo-tienostilbena i njihovih produkata fotociklizacije koji su prilikom izrade disertacije istraživani. Dva spoja, *cis*-**8** i njegov fotoprodukt **15** također su usporedivi s amino-oksazolnim stilbenima (Slika 35) koji su spomenuti u prethodnom poglavlju. Ispostavilo se da uvođenje drugog tiofenskog prstena povećava aktivnost prema inhibiciji kolinesteraze u usporedbi s onima koji posjeduju samo jednu tiofensku jezgru. Neka druga istraživanja također su otkrila da zamjena benzena heteroaromatskim prstenom poboljšava biološku aktivnost u ovom kontekstu [267,268]. Ispitivanje potencijalne inhibicije stiril-tiofenskih i nafto-tiofenskih benzilamina

2. Rezultati i rasprava

prema kolinesterazama dalo je obećavajuće rezultate za spojeve *cis-8* za AChE i fotoproduct **15** za BChE. Značajno je da obje molekule posjeduju i drugi tiofenski prsten umjesto supstituiranog benzilnog dijela. Stoga smo ispitali molekulsko pristajanje ovih molekula kako bismo razjasnili strukturu kompleksa između liganda i enzima i moguće interakcije između testiranih spojeva i enzima. Molekulsko pristajanje provedeno je pomoću programskog paketa Autodock [269] u aktivno mjesto AChE i BChE. Aktivno mjesto BChE sadrži 15 aminokiselina i podijeljeno je na nekoliko manjih strukturnih domena. Najvažniji dio aktivnog mjesta je katalitička trijada (estersko mjesto) koju čine Ser198, His438 i Glu325 i ono direktno sudjeluje u katalizi. Drugi dijelovi aktivnog mjesta su: anionska subdomena (Trp82, Phe329 i Glu197), oksianionska šupljina koju čine aminokiseline Gly116, Gly117 i Ala199, acilni džep (Leu286 i Val288), te periferno anionsko mjesto (Asp70, Tyr114, Tyr128 i Tyr332). Aktivno mjesto BChE slično je onome kod AChE, s bitnom razlikom u sastavu acilnog džepa: umjesto alifatskih leucina i valina, AChE sadrži dva fenilalanina.



Slika 35. Optimizirani kompleksi između aktivnih mjesta kolinesteraza i testiranih liganada: (a) spoj *cis-8* i AChE i (b) spoj **15** i BChE.

Strukture prikazane na slici 35 otkrivaju da je π - π interakcija glavna stabilizacijska interakcija između ova dva liganda i ostataka aktivnog mjesta enzima. Struktura kompleksa između *cis-8* i aktivnog mjesta AChE pokazuje da je tiofenski prsten povezan s dvostrukom C=C vezom stisnut između perifernog anionskog mjesta i acilnog džepa, u interakciji s aminokiselinama Trp279 i Phe290. Drugi tiofenski prsten prikladno je smješten u blizini aminokiseline Phe330 (na udaljenosti od ~ 5 Å), dok tirozini okružuju središnji aromatski prsten. Ligand **15** djeluje slično unutar aktivnog mjesta BChE: naftalenska jezgra sa spojenim tiofenskim prste-

2. Rezultati i rasprava

nom stupa u interakciju s aminokiselinama Trp82 i Tyr118, smještenim na 4,0 i 4,9 Å udaljenosti od njih. Drugi tiofen je stabiliziran π - π interakcijama s aminokiselinama Phe329, His438 i Trp82. Novosintetizirani stiril-tiofenski i nafto-tiofenski benzilamini (**2-15**) također su procijenjeni na biološku aktivnost kroz tri različita testa. Prvo, potencijalna protuupalna aktivnost testirana je mjerenjem proizvodnje TNF α u mononuklearnim stanicama periferne krvi čovjeka (PBMC) nakon tretmana spojem i lipopolisaharidne (LPS) stimulacije. Strukture *trans*-**2**, **9** i **13** nisu imale nikakav utjecaj na proizvodnju TNF α , dok su ostali ispitivani spojevi dodatno povećali proizvodnju ovog citokina nakon stimulacije. Budući da su samo *cis*-**8** i njegov fotoproduct **15** pokazali umjereni inhibicijski potencijal prema ChE u biokemijskim testovima, očekivalo se da ovi spojevi neće imati protuupalnu aktivnost, što rezultate vezane uz povećanje proizvodnje citokina čini zanimljivim otkrićem. Nadalje, stanična linija akutne monocitne leukemije THP-1 tretirana je spojevima do 72 h kako bi se ispitalo je li spojevi pokazuju antiproliferativno djelovanje. Nakon 24 h inkubacije većina spojeva nije imala nikakav učinak na preživljavanje stanica, dok je nakon 72 h inkubacije sa spojevima uočeno smanjenje preživljavanja stanica, ali uglavnom samo pri najvišim ispitanim koncentracijama (> 33 μ M). Ipak, najpouzdanije strukture u ovom testu bile su **9** i **13**, spojevi koji nisu utjecali na proizvodnju TNF α . Konačno, ispitana je antimikrobna aktivnost stiril-tiofenskih benzilamina (**2-8**) jer je potvrđena aktivnost umetanja željeza za neke sintetizirane heterostilbenske spojeve [270], a postoji nekoliko literaturnih navoda spojeva koji keliraju željezo i imaju antibakterijska svojstva [271-273]. Pet različitih sojeva bakterija tretirano je *cis*- i *trans*-tienostilbenima **2-8** u tri različite kombinacije medija za rast, te su određene minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). Osim standardnih antibiotika, niti jedan od ispitivanih aminskih spojeva nije imao nikakav učinak na rast bakterija, bez obzira na soj bakterije ili medij za rast.

2.3. Sinteza i fotokemija arilnih triazolostilbena

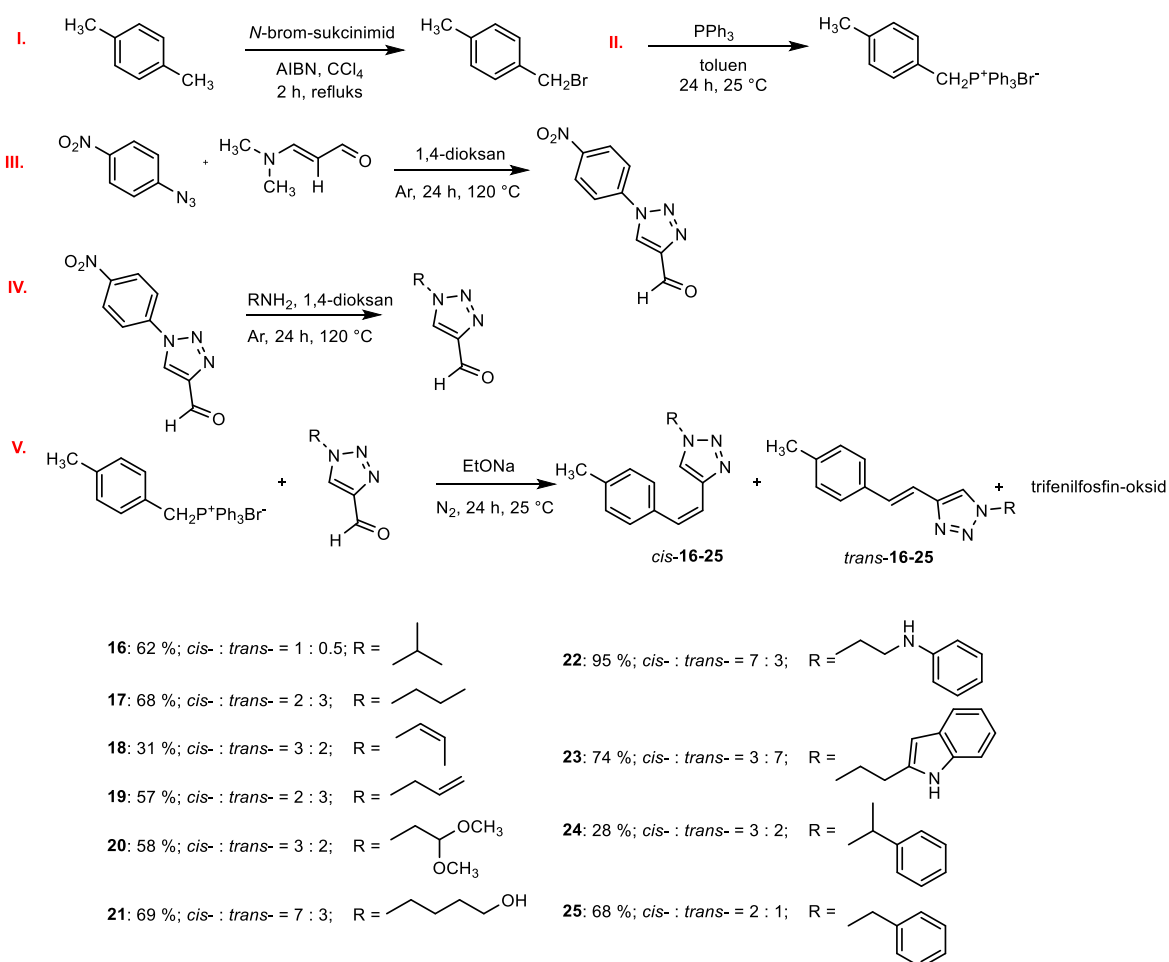
1,4-disupstituirani-1,2,3-triazolostilbeni **16-25** (Shema 12) pripremljeni su Wittigovom reakcijom iz *p*-metil-fosfonijeve soli i 1-supstituiranih-1,2,3-triazol-4-karbaldehida.

Wittigova reakcija je dala početne triazolostilbene **16-25** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (28-95 %, shema 12). Smjese geometrijskih izomera triazolostilbena **16-25** razdvojene su kako bi se dobili čisti spojevi uzastopnom kromatografijom na koloni. Prema ^1H NMR spektroskopiji, supstituent na triazolnom prstenu utječe na omjer geometrijskih izomera u Wittigovoj reakciji (Shema 12). U triazolostilbenima **21** i **22** sa supstituentom koji se sastoji od alifatskog lanca s

2. Rezultati i rasprava

terminalnim OH ili anilinskim ostatkom, prevladavaju *cis*-izomeri, međutim, kod spoja **23**, odgovarajuća *trans*-konfiguracija je glavni produkt u reakcijskoj smjesi. U svim ostalim slučajevima (triazoli **16-18** i **24, 25**) omjeri su slični (Shema 12).

Svi izolirani izomeri triazolostilbena **16-25** potpuno su spektroskopski okarakterizirani. Kod ^1H NMR spektara izoliranih geometrijskih izomera **16-25**, mogu se vidjeti razdvojeni signali za etenske protone između 6,6 i 7,0 ppm (*cis*-izomeri) i između 6,9 i 7,5 ppm (*trans*-izomeri) s karakterističnim konstantama sprezanja, signalima za protone na različitim supstumentima i singletima za proton na triazolnom prstenu (6,8 i 7,7 ppm).



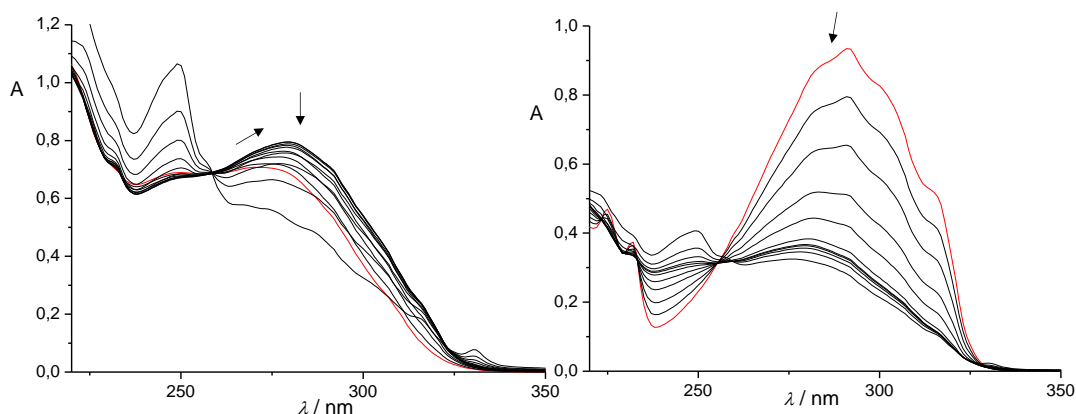
Shema 12. Reakcijski put za sintezu 1,4-disupstituiranih-1,2,3-triazolostilbena **16-25**.

2.3.1. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva 1,2,3-triazolostilbena **16-25**

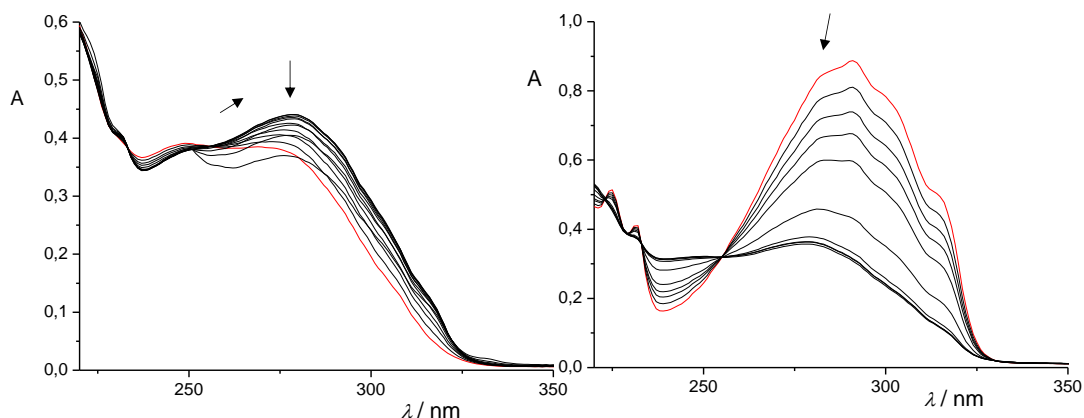
Kako bi se istražila fotokemijska reaktivnost triazolostilbena **16-25**, provedeno je osvjetljavanje u nepolarnom otapalu *n*-heksanu i polarnom otapalu EtOH (96 %), a tijekom reakcije je praćen UV/Vis spektroskopijom (Slike 36-38). Nakon osvjetljavanja *cis*-izomera, uočeni su hiperkromni i batokromni pomaci, s jasnom izosbestičkom točkom na 273 nm za *cis*-**16** (Slika 36), u

2. Rezultati i rasprava

skladu s nastankom *trans*-izomera. Druga dva *cis*-izomera, *cis*-**20** i *cis*-**23** (Slike 37 i 38), ne pokazuju izosbestičku točku tijekom spektralnih promjena u vremenu.



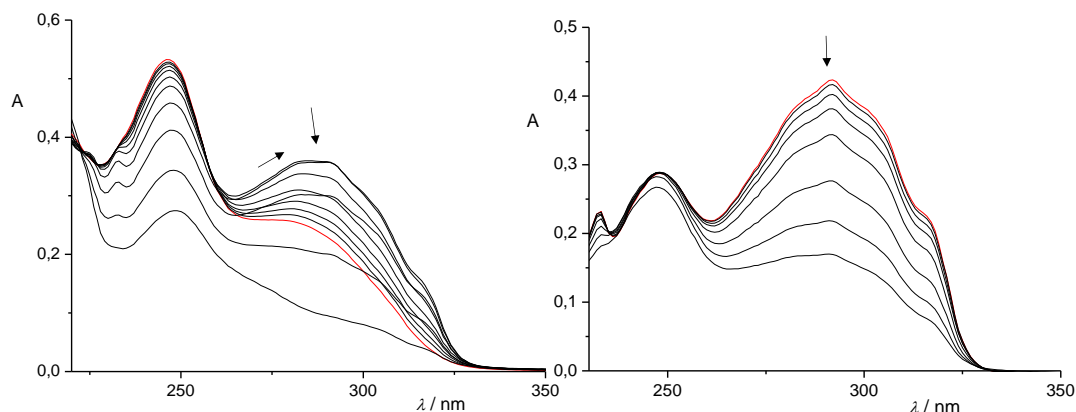
Slika 36. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja triazola *cis*-**16** (lijevo) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$) i *trans*-**16** (desno) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 i 1024 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$).



Slika 37. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja triazola *cis*-**20** (lijevo) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 i 4096 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$) i *trans*-**20** (desno) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 i 512 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$).

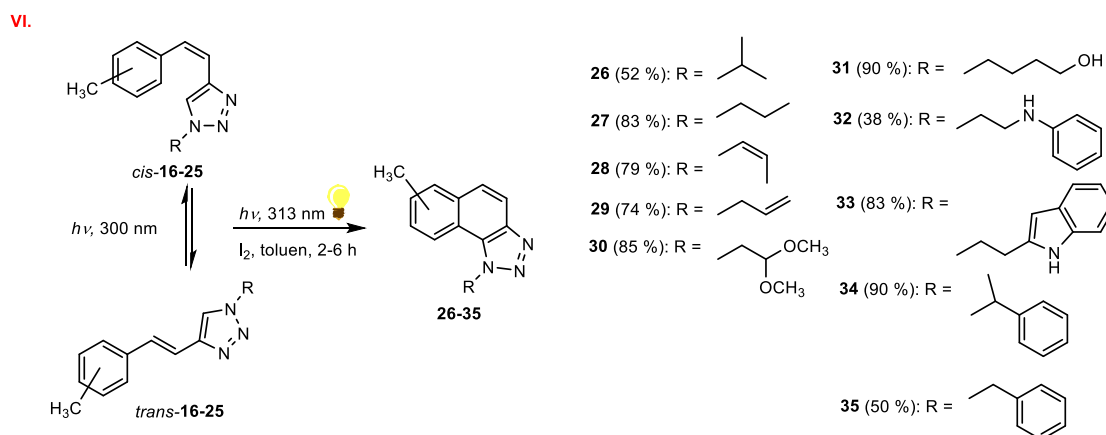
Ekscitacija *trans*-**16** i *trans*-**20** (Slike 36 i 37), za razliku od *trans*-**23** derivata indola (Slika 38), dovela je do hipokromnih i hipsokromnih promjena zbog nastajanja odgovarajućih *cis*-izomera, također s izosbestičkom točkom na 265 nm (*trans*-**16**) i 259 nm (*trans*-**20**). Stoga je osvjetljavanje oba izomera, *cis*- i *trans*-, na 313 nm, rezultiralo *E-Z* fotoizomerizacijom (osim *trans*-**23**, Slika 38) kao primarnom fotokemijskom reakcijom. Ostali produkti **17-19**, **21** i **25** pokazuju slične trendove kao **16** i **20**. U nepolaranom otapalu *n*-heksanu, trendovi su bili slični onima u etanolu kao polaranom otapalu, samo je nekoliko *trans*-derivata bilo netopljivo u nepolaranom otapalu.

2. Rezultati i rasprava



Slika 38. Spektalne promjene tijekom osvjetljavanja triazola *cis*-**23** (lijevo) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 i 1024 s; ($\lambda_{ir} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans*-**23** (desno) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64 i 128 s; ($\lambda_{ir} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

Dugotrajno osvjetljavanje triazolostilbena **16-25** na 313 nm rezultiralo je gubitkom izosbestičnih točaka zbog sekundarnih procesa, vjerojatno stvaranja fotoprodukata elektrociklizacije. Preparativno osvjetljavanje **16-25** u otopinama toluena pod aerobnim uvjetima dalo je naftotriazole **26-35**. Izolirani su u visokim iskorištenjima (Shema 13) i okarakterizirani NMR spektroskopijom. Formiranje fotoprodukata elektrociklizacije **26-35** općenito je bilo popraćeno stvaranjem nekih produkata visoke molekulske mase, koji nisu dodatno istraženi.

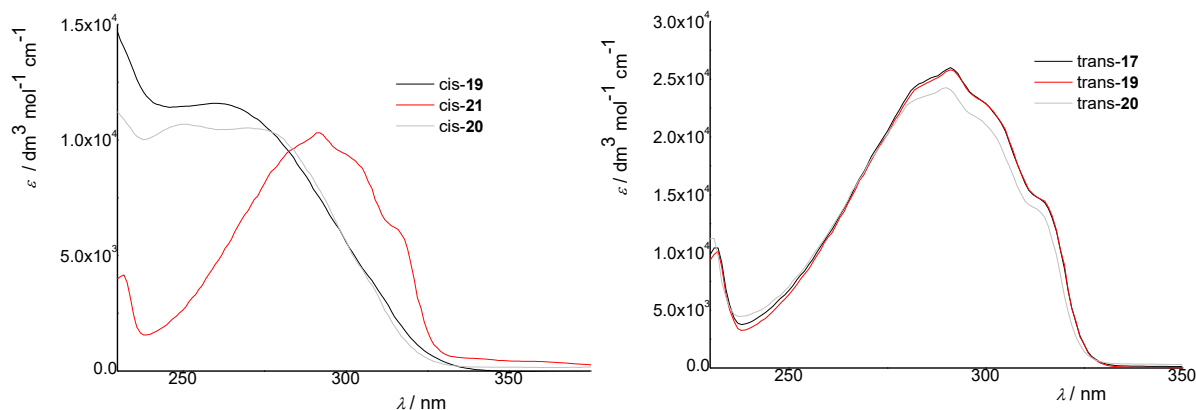


Shema 13. Fotokemijska elektrociklizacija 1,4-disupstituiranih-1,2,3-triazolostilbena **16-25** s izoliranim iskorištenjima na fotoproduktima elektrociklizacije **26-35**.

Svi izolirani naftotriazoli **26-35** potpuno su spektroskopski okarakterizirani. U njihovim ^1H NMR spektrima može se vidjeti nestanak etenskih protona i singletnih protona na 1,2,3-triazolnim prstenovima u usporedbi s početnim triazolostilbenima **16-25**.

2. Rezultati i rasprava

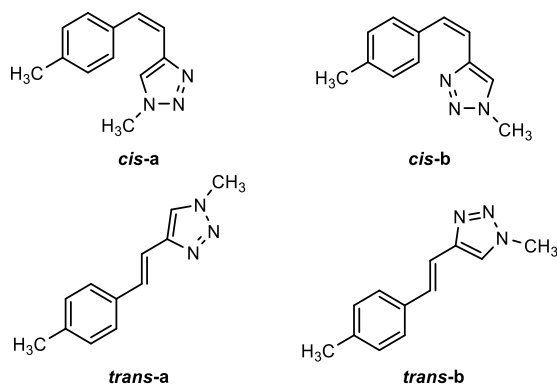
UV/Vis spektri *cis*- i *trans*-izomera **16-25** u etanolu (96 %) (Slika 39) tipični su za diariletene [13,14] s jakim apsorpcijskim maksimumom na oko 285 nm, za *trans*-izomere, te manje intenzivne i hipsokromno pomaknute vrpce za *cis*-izomere (Slika 39). Ove apsorpcijske vrpce odgovaraju potpuno simetrično dopuštenom prijelazu HOMO → LUMO. Računalno istraživanje potkrijepilo je takva opažanja.



Slika 39. UV spektri u etanolu (96 %) triazolostilbena *cis*-**19**, *cis*-**20** i *cis*-**21** (lijevo) i *trans*-**17**, *trans*-**19** i *trans*-**20** (desno).

2.3.2. Računalno istraživanje elektronske strukture novih derivata 1,2,3-triazola **16-25**

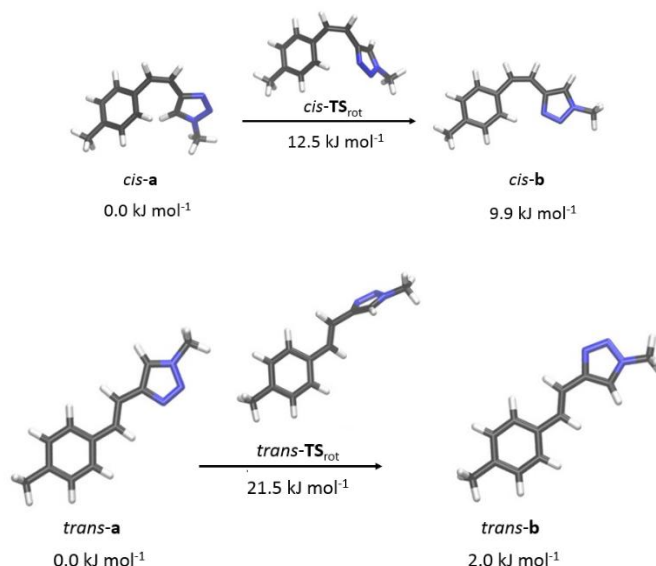
Konformacije spojeva **16-25** ispitane su na razini teorije M06-2X/6-31G(d), korištenjem programskog paketa Gaussian16 [274]. Kako bismo identificirali najstabilnije konformere, proveli smo preliminarnu optimizaciju geometrije konformacija osnovne molekulske strukture koja se sastoji od toluena, etena i triazolne podjedinice (R = metil), za *cis*- i *trans*-izomer. Slika 40 prikazuje dva glavna konformera, **a** i **b**, za svaku izomernu konfiguraciju. Stabilniji konformer u oba izomera bio je **a**, s razlikama entalpije između **a** i **b** od 9,9 odnosno 2,0 kJ mol⁻¹ za *cis*- i *trans*-izomer.



Slika 40. Dva konformera za *cis*- i *trans*-konfiguraciju.

2. Rezultati i rasprava

Izračunata entalpijska barijera za prijelaz između dva konformera (tj. rotacija triazolne jedinice) je 12,5 i 21,5 kJ mol⁻¹, kao što je prikazano na slici 41, oba prikaza (razlika u termodinamičkoj stabilnosti i barijera za prijelaz) navode na zaključak da u laboratorijskim uvjetima prevladava konformacija **a**. Visoko izolirano iskorištenje naftotriazola **26-35** dobivenih elektrociklizacijom **16-25** (Shema 13) potvrđuje ovu hipotezu.

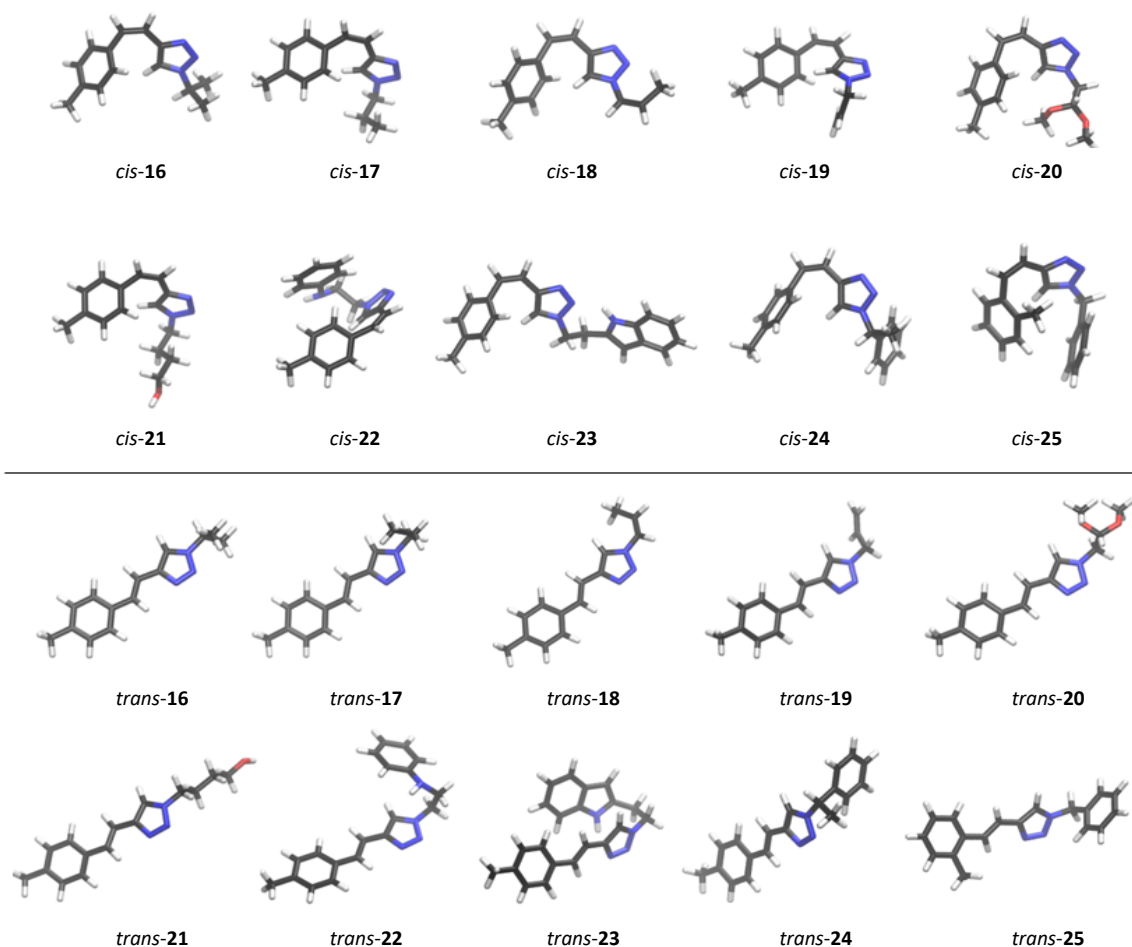


Slika 41. Rotacija triazolne jedinice od konformera **a** do **b**. Prikazane su optimizirane geometrije stacionarnih točaka (minimuma i prijelaznog stanja) za obje konfiguracije.

Neplanarni *cis-a* konformer je stabilniji, iako planarnost omogućuje povoljniju orijentaciju najbližeg vodika od fenila prema jednom od dušikovih atoma triazola, s udaljenosti od 2,1 Å. Međutim, ova elektrostatska interakcija kod *cis-b* je preslaba da bi prevladala izbjegavanje steričke smetnje postignute zbog neplanarnosti kod *cis-a*, što rezultira time da je on stabilniji od *cis-b*. Planarnost je poželjna u oba konformera za *trans*-izomernu konfiguraciju gdje steričke smetnje nisu prisutne kao kod *cis*-izomera. Orijentacija triazola ne utječe značajno na termodinamičku stabilnost, što se vidi iz izračunatih entalpija za *trans-a* i *trans-b* konformere. Planarnost je ovdje posljedica konjugacije π -elektrona kroz cijeli sustav, stoga je energijska barijera za rotaciju triazola, koja uključuje prekid planarnosti, viša nego za *cis*-izomere.

Za određivanje najstabilnijih konformera molekula **16-25**, *cis-a* i *trans-a* koriste se kao početne geometrije molekulskog skeleta. Provodi se svako od dodatnih konformacijskih ispitivanja odgovarajućeg supstituenta R. Potpune optimizacije geometrije rade se na razini teorije M06-2X/6-31G(d), a najstabilnije strukture od **16-25** prikazane su na slici 42.

2. Rezultati i rasprava



Slika 42. Optimizirane geometrije najstabilnijih konformera *cis*- i *trans*-izomera spojeva **16-25**.

Za spojeve **16-25**, UV/Vis spektri snimljeni su u 96 % etanolu. Kako bismo dobili njihove izračunate UV/Vis spektre i tako dobili dodatni uvid u eksperimentalne podatke, proveli smo proračune koristeći vremenski ovisnu teoriju funkcionala gustoće ovisne o vremenu (*engl.* Time-Dependent Density Functional Theory, TD-DFT). TD perturbacijska jednačba (temeljena na Runge-Grossovom teoremu [266]) riješena je za 20 pobuđenih singletnih stanja za svaku molekulu, koristeći optimizirane geometrije prikazane na slici 42. Korišten je Truhlarov funkcional M06-2X s osnovnim skupom 6-31++G(d). Izračunati i eksperimentalni podaci za *cis*- i *trans*-izomere **16-25** prikazani su u tablici 4 i tablici 5.

2. Rezultati i rasprava

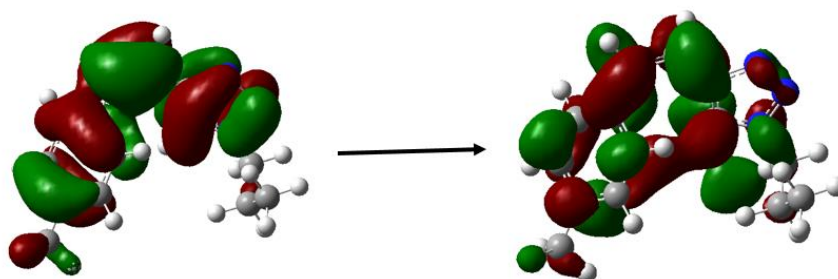
Tablica 4. Eksperimentalne i izračunate λ_{\max} vrijednosti i glavni prijelazi dobiveni proračunima za *cis*-izomere triazola **16-25**. Upotrijebljen je računalni model TD-(SMD)M06-2X/6-31++G(d) (u etanolu), s geometrijama optimiziranim na M06-2X/6-31G(d) razini teorije. H i L označavaju najvišu zauzetu odnosno najnižu praznu molekulsku orbitalu.

Spoj	$\lambda_{\max}^{\text{eksp}}/\text{nm}$	$\lambda_{\max}^{\text{izrač}}/\text{nm}$	Prijelaz
<i>cis</i> - 16	270	267	H → L
<i>cis</i> - 17	273	268	H → L
<i>cis</i> - 18	267	273	H → L
<i>cis</i> - 19	275	269	H → L
<i>cis</i> - 20	267	271 189	H → L H - 1 → L+2
<i>cis</i> - 21	270	266	H → L
<i>cis</i> - 22	287	269	H - 1 → L
<i>cis</i> - 23	270	265	H - 2 → L H - 1 → L
<i>cis</i> - 24	257	267	H → L
<i>cis</i> - 25	242	245	H → L H → L + 1

Podaci iz tablice 4 pokazuju da se položaj apsorpcijskih maksimuma u izračunatim spektrima izvrsno slaže s izmjerenim vrijednostima, s razlikama u rasponu od 3 do 10 nm, osim za derivate *cis*-**20** i *cis*-**22**. Dva su relevantna maksimuma u izračunatom spektru *cis*-**20**: prvi, pripisan prijelazu HOMO→LUMO, blizu je izmjerene vrijednosti. Međutim, drugi maksimum apsorpcije, predviđen na 189 nm, ne poklapa se u potpunosti s eksperimentalnim izračunima. U spektru *cis*-**22**, računski predviđena vrijednost λ_{\max} je procijenjena s 18 nm razlike. Neslaganje između eksperimentalnih i računskih rezultata moglo bi se pripisati činjenici da su spektri izračunati korištenjem jedne statičke geometrije ispitivanih molekula. Za većinu molekula to ne predstavlja problem jer male promjene položaja atoma ne utječu na glavne elektronske prijelaze. Međutim, u molekulama *cis*-**22**, a posebno *cis*-**20**, različite konformacije prisutne u stvarnim uvjetima u većoj mjeri mijenjaju položaj apsorpcijskih maksimuma. U svim spojevima s alifatskim supstituentom (**16-21**), maksimumi apsorpcije pripisuju se pomaku između

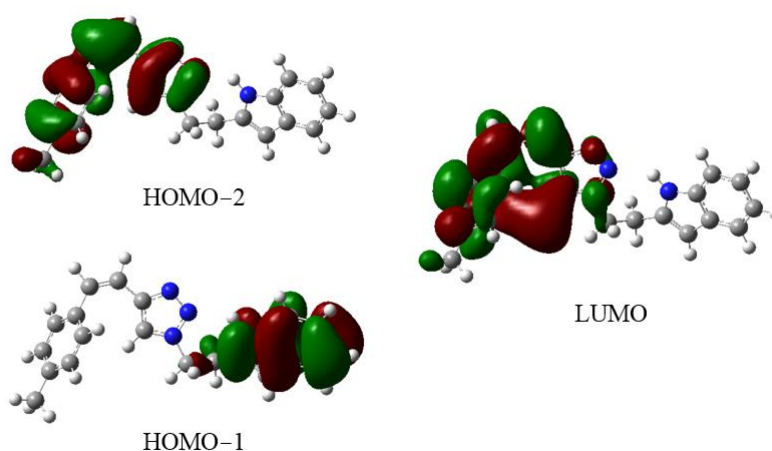
2. Rezultati i rasprava

HOMO i LUMO, kao što je prikazano na slici 43 za *cis*-17. Štoviše, za sve ove spojeve osim za *cis*-20, ovo je jedini prijelaz kojem je određen λ_{\max} .



Slika 43. Prikaz orbitala koje sudjeluju u prijelazu HOMO→LUMO u izračunatim spektrima *cis*-17.

Primjetno je da je izračunati λ_{\max} za *cis*-20 pripisan trima prijelazima: najrelevantniji je HOMO→LUMO+1 s doprinosom od 56 %, a slijedi ga HOMO→LUMO (40 %), te prijelaz s manjim doprinosom od 4 %, HOMO do vrlo visokog LUMO+4. Međutim, izmjereni spektri *cis*-izomera **16-21** su slični, uz λ_{\max} vrijednosti u rasponu od 267 do 275 nm. Apsorpcijski maksimumi u izmjenjenim spektrima spojeva **22-25** sa supstituentom koji sadrži aromatsku skupinu imaju širi raspon vrijednosti, od 242 do 287 nm. Prema izračunatim podacima, prijelaz između HOMO i LUMO značajan je za dva spoja: *cis*-24, gdje je to jedini prijelaz odgovoran za maksimum apsorpcije i *cis*-25, gdje doprinosi 29 % λ_{\max} . U prethodnoj molekuli, pomak s HOMO na LUMO+1 je relevantniji s doprinosom od preostalih 71 %. Međutim, HOMO ne sudjeluje u prijelazima relevantnim za spektre indol-supstituiranog spoja *cis*-23. Izračuni pokazuju da se apsorpcijski maksimum može pripisati dvama prijelazima (Slika 44): HOMO-2→LUMO (28,5 %) i HOMO-1→LUMO (71,5 %).



Slika 44. Prikaz orbitala koje sudjeluju u prijelazima u izračunatim UV/Vis spektrima *cis*-23.

2. Rezultati i rasprava

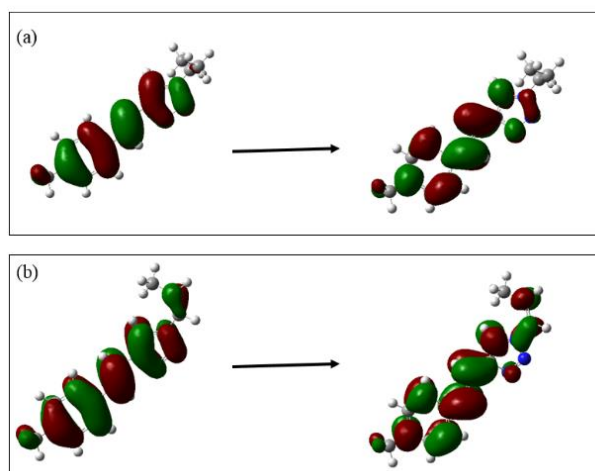
Tablica 5. Eksperimentalne i izračunate vrijednosti λ_{\max} , zajedno s glavnim prijelazima u dobivenim proračunima za *trans*-izomere triazola **16-25**. Korišten je isti računalni model kao u tablici 4.

Spoj	$\lambda_{\max}^{\text{eksp}}/\text{nm}$	$\lambda_{\max}^{\text{izrač}}/\text{nm}$	Prijelaz
<i>trans</i> -16	291	289	H → L
<i>trans</i> -17	291	289	H → L
<i>trans</i> -18	293	291	H → L
<i>trans</i> -19	292	289	H → L
<i>trans</i> -20	290	288	H → L
<i>trans</i> -21	292	288	H → L
<i>trans</i> -22	294	289	H - 1 → L H → L
<i>trans</i> -23	270	284	H - 1 → L H → L
<i>trans</i> -24	289	288	H → L
<i>trans</i> -25	286	281	H → L

Vizualizacija molekularnih orbitala relevantnih za spektre *cis*-**23** pokazuje da π -elektroni indola igraju aktivnu ulogu u prijelazima promatranih UV/Vis spektara. Kao što se vidi iz tablice 5, slaganje između eksperimentalnih i računskih podataka za *trans*-izomere je još bolje nego za *cis*-izomere, s razlikama u rasponu između 1 i 5 nm. Iznimka je molekula *trans*-**23**, kod koje je odstupanje 14 nm, a izračun predviđa veće maksimume apsorpcije. Opažene λ_{\max} vrijednosti za sve ostale *trans*-izomere su između 286 i 293 nm, što je značajno više nego za njihove *cis*-izomere, a isto vrijedi i za izračunate podatke. *Trans*-izomeri su planarni, pa dolazi do učinkovite konjugacije π -elektrona kroz molekularnu strukturu. Maksimumi uočeni u spektrima *trans*-izomera s alifatskim supstituentima (**16-21**) svi su pripisani samo HOMO→LUMO prijelazu, uključujući π -elektrone molekule. Molekularne orbitale *trans*-**17** (Slika 45a) to lijepo

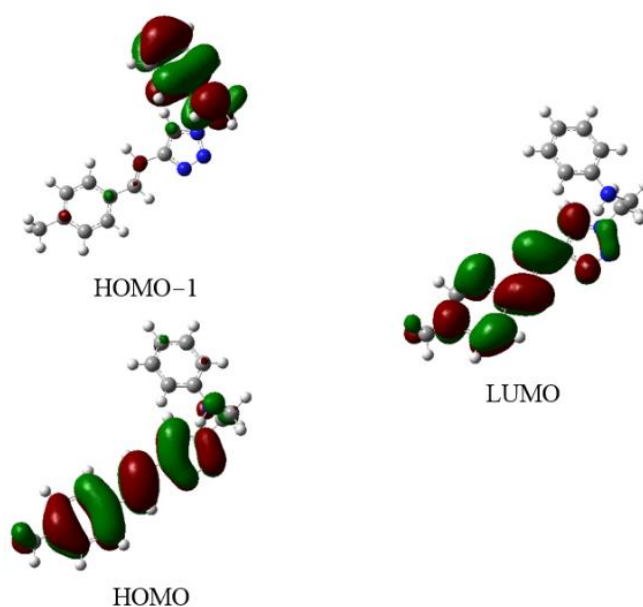
2. Rezultati i rasprava

ilustriraju. Međutim, u *trans*-**18** s nezasićenim alifatskim supstytutentom gdje se postiže konjugacija π -elektrona supstytutenata s ostatkom molekule, supstytutent također sudjeluje u prijelazu HOMO→LUMO, kao što je prikazano na slici 45b.



Slika 45. Molekulske orbitale koje sudjeluju u prijelazu HOMO→LUMO u izračunatim UV/Vis spektrima *trans*-**17** (a) i *trans*-**18** (b).

Kod *trans*-izomera s aromatskim supstytutentom (**22-25**), π -elektroni supstytutenta sudjeluju u prijelazima, kao što je prikazano za molekulu **22**, a apsorpcijski maksimum u spektru *trans*-**22** pripisuje se dvama prijelazima: HOMO-1→LUMO (s doprinosom od 29 %) i HOMO→LUMO (71 %). Prvi prijelaz uključuje zauzetu orbitalu supstytutenta, dok u drugom sudjeluje stilbenski skelet (Slika 46).



Slika 46. Molekulske orbitale uključene u prijelaze u izračunatim UV/Vis spektrima *trans*-**22**.

2. Rezultati i rasprava

2.3.3. Biološka aktivnost novih derivata 1,2,3-triazola 16-35

2.3.3.1. *In silico* predviđanje ADME svojstava 1,2,3-triazola 16-35

Odnos strukture i svojstava [275,276] s prediktivnim modelima za spojeve **16-35** također je analiziran u suradnji s kolegama iz tvrtke *Selvita*, koristeći ACD/Percepta program (ver. 14.2.0; Build 2977; ACD/Laboratories, Toronto, Kanada), koji ne uzima u obzir geometrijsku izomerizaciju. Određena su fizikalno-kemijska svojstva, posebno logP vrijednosti, topljivost i propusnost kroz biološke membrane (Tablica 6). Veličina, svojstva ionizacije i molekulska fleksibilnost također su čimbenici koji utječu na transport organskog spoja kroz BBB [277]. Lipofilnost je jedno od najvažnijih fizičkih svojstava i povezuje se s mnogim drugim svojstvima kao što su topljivost, propusnost, bioraspoloživost, povećanje ciljane potencije i toksičnost [278].

Tablica 6. ADME svojstva novih derivata 1,2,3-triazola **16-35**.

Spoj	logP ^a	Topljivost ^b [mg mL ⁻¹]	Propusnost ^c [10 ⁻⁶ cm s ⁻¹]	PPB ^d	CNS ^e
16	3,51	0,02	24,4	90	-2,09
17	3,27	0,04	24,3	90	-2,14
18	3,16	0,09	24,3	91	-2,17
19	3,57	0,42	24,4	88	-2,00
20	2,84	0,40	23,9	91	-2,30
21	2,29	0,28	20,5	85	-2,30
22	3,56	0,03	23,5	98	-2,88
23	4,46	0,0004	22,7	98	-2,74
24	4,22	0,003	24,3	97	-2,66
25	3,81	0,007	24,4	98	-2,74
26	3,41	0,02	24,4	96	-2,47
27	3,38	0,02	24,4	94	-2,34
28	3,31	0,03	24,4	95	-2,41
29	3,30	0,03	24,4	96	-2,50
30	2,83	0,06	23,9	95	-2,55
31	2,68	0,06	22,1	93	-2,51
32	4,05	0,01	23,5	99	-3,02
33	5,0	0,002	20,0	99	-3,23
34	4,93	0,003	23,1	99	-3,20
35	4,65	0,005	23,8	99	-3,05

^alipofilnost logP (< -2,0 vrlo hidrofilno, -2,0 - (-1,0) hidrofilno, -1,0 - 4,2 optimalno, 4,2 - 5,0 lipofilno); ^btopljivost (< 0,01 vrlo netopljivo, 0,01 - 0,10 netopljivo, > 0,10 topljivo); ^cpropusnost (< 1,0 × 10⁻⁶ slabo propusno, 1,0 - 7,0 × 10⁻⁶ umjereno propusno, > 7,0 × 10⁻⁶ visoko propusno); ^dPPB - vezanje na proteine plazme (10 - 40 % slabo vezano, 40 - 80 % umjereno, 80 - 90 % jako vezano, > 90 % ekstenzivno vezano); ^eCNS < -3,5 ne-penetrira, -3,50 - (-3,0) slabo penetrira, > -3,0 penetrira).

2. Rezultati i rasprava

Visoko lipofilne molekule će se taložiti u masnim stanicama i eliminirati iz organizma, stoga je ključno imati spojeve s optimalnim logP vrijednostima. Većina analiziranih spojeva ima vrijednosti logP u optimalnom rasponu, što nije iznenađujuće budući da svi imaju slične supstituente na glavnom kosturu. Uspoređujući strukture, može se uočiti da su spojevi **23** i **24** s dodatnom aromatskom jezgrom lipofilniji, također, njihovi fotoproducti **33**, **34** i **35** zadržavaju isti trend. Polarne skupine na središnjoj jezgri pokazuju trend smanjenja vrijednosti lipofilnosti ispod **18**, tako da su spojevi **20** i **21** i njihovi elektrociklizijski parovi **30** i **31** pokazali logP vrijednosti u rasponu od 2,29 do 2,84, što je nisko za lijekove za CNS. Ovi rezultati nisu iznenađujući jer na lipofilnost utječu veličina molekule, raspodjela iona i fleksibilnost. Također, može se zaključiti da je većina molekula dovoljno mala, fleksibilna i u optimalnom lipofilnom području, tako da imaju optimalnu penetraciju kroz BBB. Rezultati vezanja za proteine plazme (PPB) pokazuju da postoji dovoljno nevezanog lijeka za ispoljavanje aktivnosti CNS, što je posebno izraženo kod spojeva **16**, **17** i **19**.

Prikazana ADME svojstva pokazuju učinak supstituenta na karakteristike molekula **16-25** neovisno o geometrijskoj izomerizaciji na C=C vezi, kako primijenjeni program ACD/Percepta (ver. 14.2.0; Build 2977; ACD/Laboratories, Toronto, Kanada) ne prepoznaje konfigura-cijsku izomerizaciju. Razlika u topljivosti između izoliranih *cis*- i *trans*-izomera **16-25** temelji se na eksperimentalnom radu i predstavlja vrijednu informaciju u kombinaciji sa zaključcima iz analize *in silico* ADME svojstava.

2.3.3.2. Inhibicijsko djelovanje 1,2,3-triazola 16-35 prema enzimima kolinesterazama

Inhibicija AChE procijenjena je za 11 derivata stilbena i 4 derivata naftotriazola, dok je inhibicija BChE procijenjena za 12 derivata triazolostilbena i 5 derivata naftotriazola. Među stilbenima, koji su prikazani u tablici 7, ispitani su samo oni derivati koji su sintetizirane i izolirani u dovoljnoj količini za testove inhibicije kolinesteraze u širokom rasponu koncentracija (konačna koncentracija 100 – 1000 μ M). Spojevi s postotkom inhibicije većim od 50 % odabrani su za određivanje inhibicijske vrijednosti IC₅₀ i za AChE i za BChE. Derivat indola *trans*-**23** pokazao je inhibicijsku aktivnost za AChE, dok su izopropilni derivati *cis*- i *trans*-**16** pokazali umjerenu snagu inhibicije, ali samo prema BChE. Inhibicija α -metilbenzilnog derivata *trans*-**24** testirana je samo za BChE s dobrim rezultatom za IC₅₀ vrijednost. Benzilni derivat *cis*-**25** inhibirao je AChE, ali preostalih devet derivata stilbena testiranih na inhibiciju AChE i osam derivata testiranih na BChE pokazali su maksimalno 58 % inhibicije, te vrijednosti IC₅₀ nisu

2. Rezultati i rasprava

određene. Osim za *cis*- i *trans*-**16**, *trans*-**23**, *trans*-**24** i *cis*-**25**, čini se da su stilbeni bili slabi inhibitori za obje kolinesteraze.

Tablica 7. Inhibicija eeAChE i eqBChE heterostilbenima **16-25** i izračunate IC₅₀ vrijednosti.

Spoj	eeAChE		eqBChE	
	IC ₅₀ (μM)	% Inhibicija ^a	IC ₅₀ (μM)	% Inhibicija ^a
<i>cis</i> - 16	-	29,2 ± 0,8	769,5 ± 0,5	57,6 ± 1,9
<i>trans</i> - 16	-	23,4 ± 3,5	299,7 ± 3,4	74,4 ± 0,4
<i>trans</i> - 17	-	n.d.	-	n.d.
<i>trans</i> - 19	-	28,7 ± 4,2	-	36,3 ± 7,4
<i>cis</i> - 20	-	28,5 ± 9,4	-	31,0 ± 5,6
<i>trans</i> - 20	> 800	58,0 ± 7,2	-	34,0 ± 2,7
<i>cis</i> - 22	-	n.d.	-	35,6 ± 3,6
<i>trans</i> - 22	-	n.d.	-	27,8 ± 5,4
<i>trans</i> - 23	568,0±3,5	82,3 ± 1,2	-	41,6 ± 0,9
<i>cis</i> - 24	-	36,0 ± 2,2	-	50,8 ± 5,2
<i>trans</i> - 24	nije testiran	nije testiran	674,6 ± 54,3	63,4 ± 4,3
<i>cis</i> - 25	751,9 ± 20,4	80,5 ± 0,6	nije testiran	nije testiran

^apri 1000 μM, konačna koncentracija;

Derivati naftotriazola, nastali elektrociklizacijom stilbena, pokazali su bolje interakcije s enzimima što je rezultiralo poboljšanom snagom inhibicije za oba enzima. Svi spojevi su inhibirali oba enzima više od 50 % s koncentracijama u μM rasponu, osim **30** prema AChE. Iz dobivenih rezultata i izračunatih IC₅₀ vrijednosti, prikazanih u tablici 8, može se vidjeti da testirani derivati naftotriazola više preferiraju vezanje BChE u odnosu na AChE.

Najjači inhibitori bili su spojevi **26**, **27** i **28**, koji posjeduju slabe elektron-donorske skupine izopropilnu, propilnu i metilstirilnu.

Tablica 8. Inhibicija eeAChE i eqBChE derivatima naftotriazola **26-35** i izračunate IC₅₀ vrijednosti.

Spoj	eeAChE		eqBChE	
	IC ₅₀ (μM)	% Inhibicija	IC ₅₀ (μM)	% Inhibicija
26	881,3 ± 47,2	53,9 ± 1,9	284,8 ± 36,8	83,6 ± 1,2
27	671,3 ± 47,0	78,6 ± 2,0	197,8 ± 24,1	84,3 ± 0,6
28	749,2 ± 19,8	62,8 ± 1,1	239,5 ± 41,1	80,1 ± 0,7
30	-	32,0 ± 3,3	> 800	54,5 ± 2,6
31	nije testiran	nije testiran	-	15,7 ± 6,6
34	692,1 ± 10,2	88,1 ± 8,3	664,8 ± 38,3	69,3 ± 4,5

2. Rezultati i rasprava

Unutar ove skupine, najlošiji inhibitor za oba enzima bio je derivat **30**. Čini se da su jake elektron-donorske metoksi-skupine na naftotriazolnom prstenu smanjile interakcije ove strukture s enzimima, osobito za AChE.

Zanimljivo je primijetiti da izopropilni stilben (*cis*-**16** i *trans*-**16**) i njegov fotoprodukt (**26**) inhibiraju BChE, a slično ponašanje uočeno je za benzilni stilben (*trans*-**24**) i njegov fotoprodukt (**34**). Nasuprot tome, drugi aktivni fotoprodukti ne mogu se povezati sa svojim stilben-skim prethodnicima u kontekstu njihove inhibicijske sposobnosti. Dobiveni rezultati ukazuju na to da je naftotriazolni dio uveliko povezan s potencijalom za inhibiciju kolinesteraza.

2.3.4. Računalna studija kompleksa između odabranih spojeva i kolinesteraza

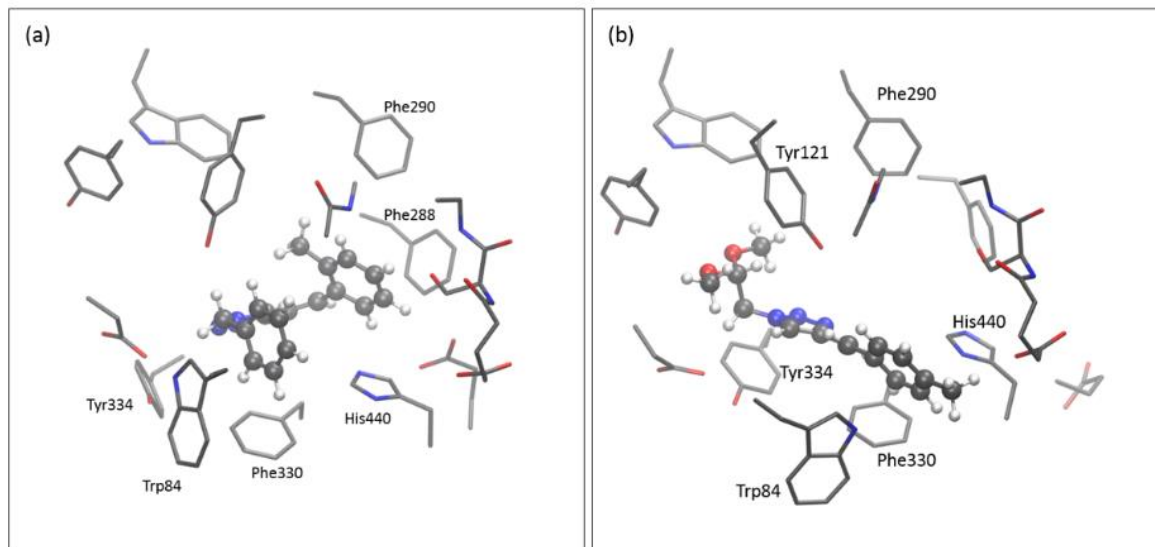
Kako bismo dobili uvid u strukturu i stabilnost kompleksa između kolinesteraze i derivata triazola koji su potencijalni inhibitori, proveli smo računalno istraživanje koje kombinira molekularno pristajanje spoja od interesa u aktivno mjesto AChE i DFT izračuna. Kristalna struktura AChE (PDB kod: 2ACE [279]) korištena je za interakcije odabranih spojeva na aktivno mjesto (koje se sastoji od 16 ostataka) pomoću programskog paketa Autodock [269]. Dobivene su različite strukture kompleksa između aktivnog mjesta i potencijalnog inhibitora, a najstabilnija konformacija među njima odabrana je kao modelni sustav za daljnji DFT proračun. Proračun je izveden korištenjem kvantno-mehaničkog (QM) pristupa klastera [280-282], koji je omogućio procjenu Gibbsove energije formiranja kompleksa ($\Delta_r G^{298}$).

Heterostilbeni *cis*-**25** i *trans*-**20** usidreni su u aktivno mjesto AChE. Prema rezultatu dobivenom pristupom klastera QM, inhibicijski potencijal *cis*-**25** je relativno skroman s $\Delta_r G^{298}$ od - 25,9 kJ mol⁻¹, za usporedbu, Gibbsova energija stvaranja kompleksa između aktivnog mjesta AChE i često korištenog inhibitora donepezila, dobivena istim postupkom, iznosi - 96,8 kJ mol⁻¹. Vrijednost $\Delta_r G^{298}$ dobivena za *trans*-**20** je zanemariva (-3,4 kJ mol⁻¹), što je u skladu s eksperimentalnim rezultatima da je heterostilben *trans*-**20** pokazao značajno lošiji potencijal inhibicije u odnosu na *cis*-**25**.

Interakcije π - π vezivanja lako se uočavaju u obje strukture (Slika 47). Podjedinica toluena u spoju *cis*-**25** stupa u interakciju s ostacima Phe288, Phe290 i His440, a udaljenost od toluenskog aromatskog prstena do svakog od ova tri ostatka je ~5 Å. Triazol iz *cis*-**25** okomito je usmjeren prema Tyr334, koji je postavljen na udaljenosti od 5,3 Å što rezultira slaganjem u obliku slova T. Položaj His440 je na udaljenosti od 6,8 Å od triazola, a još dvije interakcije slaganja mogu

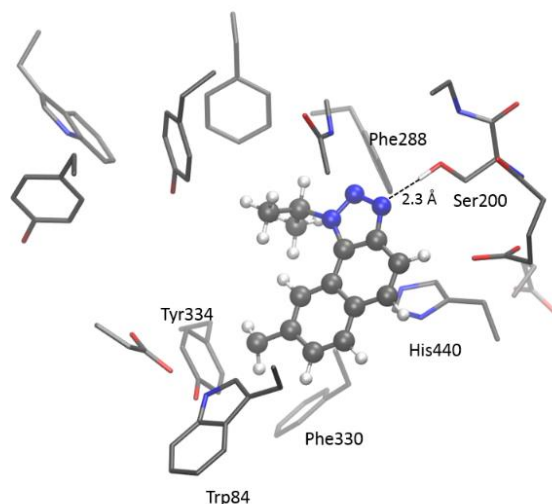
2. Rezultati i rasprava

se pripisati s Phe330 i Tyr334, postavljenima na 5,2 odnosno 5,3 Å od triazola. Dodatne stabilizirajuće interakcije *cis-25* moguće su zbog aromatskog supstituenta u molekuli *cis-25*.



Slika 47. Optimizirane strukture kompleksa između aktivnog mjesta AChE i molekule *cis-25* (a), te kompleksa između aktivnog mjesta i *trans-20* (b). Atomi vodika ostataka nisu prikazani radi bolje preglednosti.

Njegov fenilni prsten nalazi se blizu Phe288 i His440 (5 Å) i Phe290 (6,1 Å). Spoj *trans-20* sterički je postavljen tako da je π - π interakcija prisutna između toluena i ostataka Trp84 i Phe330. Triazolna podjedinica *trans-20* smještena je između Tyr334 i Tyr121. Osim nedostatka interakcija između supstituenta i ostataka u aktivnom mjestu, razlog smanjene termodinamičke stabilnosti planarnog *trans-20* u usporedbi s *cis-25* mogao bi biti povezan s njegovim prostornim položajem koji omogućuje veću entropiju. Među derivatima naftotriazola ispitali smo stabilnost kompleksa nastalog između spoja **26** i aktivnog mjesta AChE. Gibbsova energija stvaranja kompleksa AChE-**26** je $-36,3 \text{ kJ mol}^{-1}$. Ponovno je ta vrijednost manja od analogno izračunate vrijednosti za poznati inhibitor kolinesteraze takrin ($-98,8 \text{ kJ mol}^{-1}$). Međutim, u odnosu na triazolo-heterostilbene, naftotriazoli imaju značajniji inhibicijski potencijal prema kolinesterazama. Optimizirana struktura kompleksa AChE-**26**, prikazana na slici 48, pokazuje da su π - π interakcije opet najznačajnija stabilizacijska interakcija. Dodatna stabilizacija postiže se stvaranjem vodikove veze između Ser200 i jednog od dušika u podjedinici triazola.

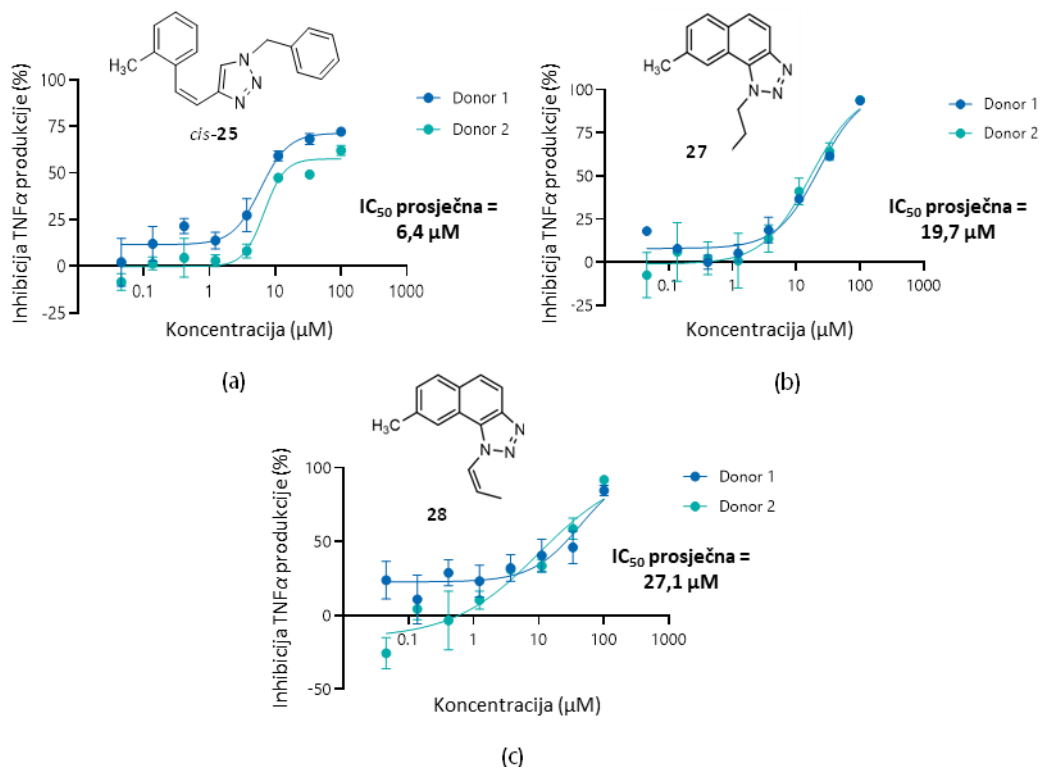


Slika 48. Optimizirana struktura kompleksa aktivnog mjesta AChE i spoja **26**. Vodikovi atomi ostataka izostavljeni su radi preglednosti.

2.3.5. *In vitro* protuupalna aktivnost 1,2,3-triazolostilbena i njihovih fotoprodukata elektrociklizacije

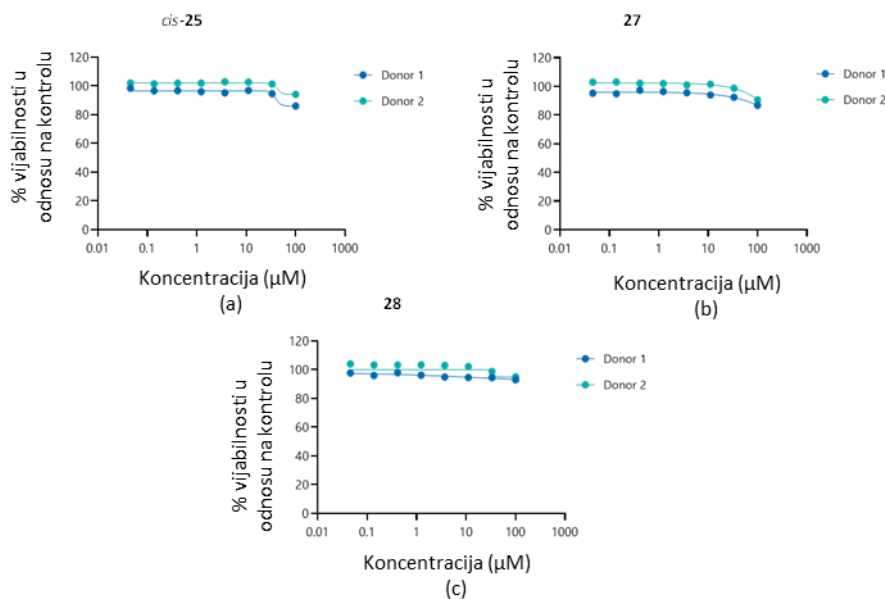
Učinak novih spojeva (**16-35**) na proizvodnju $\text{TNF}\alpha$ stimuliranu LPS u PBMC procijenjen je kako bi se ispitala njihova potencijalna protuupalna aktivnost koja je ispitana u suradnji s kolegama iz tvrtke *Selvita*. Među ispitanim triazolostilbenima **16-25**, samo je benzilni derivat *cis*-**25** ovisno o koncentraciji inhibirao proizvodnju $\text{TNF}\alpha$, s prosječnom vrijednošću IC_{50} od 6,4 μM za 2 donora (Slika 49a). Zanimljivo je da je ovaj spoj bio jedini heterostilbenski spoj koji inhibira i enzime AChE i BChE, s usporedivim vrijednostima IC_{50} za oba enzima (kao što se vidi u tablici 8). Najjači inhibitori kolinesteraza među naftotriazolima **26-35** su propilom supstituirani derivat **27** i metilstiril-supstituirani derivat **28**, koji oba inhibiraju proizvodnju $\text{TNF}\alpha$ u PBMC kao odgovor na LPS stimulans. Ovi su spojevi bili manje potentni od *cis*-**25** heterostilbena, s prosječnim IC_{50} vrijednostima od 19,7 odnosno 27,1 μM (Slike 49b i 49c). Dodatno, izopropilni naftotriazol **26**, jedan od najjačih inhibitora kolinesteraza u klasi ispitivanih spojeva, inhibirao je proizvodnju $\text{TNF}\alpha$, s vrijednošću IC_{50} od 29,4 μM kod 1 donora. Ostali testirani spojevi nisu inhibirali proizvodnju $\text{TNF}\alpha$ više od 50 % ni pri jednoj testiranoj koncentraciji.

2. Rezultati i rasprava



Slika 49. Inhibicija proizvodnje TNF α u PBMC stimuliranim LPS na 2 donora primijećena je za heterostilben *cis*-25 (a), kao i fotoproducte, naftotriazole 27 (b) i 28 (c).

Osim proizvodnje citokina u supernatantima, unutarstanične razine adenzin-trifosfata (ATP) mjerene su u stanicama kako bi se isključila mogućnost da je manja proizvodnja citokina rezultat smanjene stanične održivosti. Tri spoja, *cis*-25, 27 i 28, koji su inhibirali proizvodnju citokina TNF α , nisu utjecali na održivost PBMC (Slika 50).



Slika 50. Vijabilnost PBMC ostala je nepromijenjena u usporedbi s netretiranim nosačem tijekom 24 h inkubacije sa spojevima *cis*-25 (a), 27 (b) i 28 (c).

2. Rezultati i rasprava

Prvi dokazi o snažnoj vezi između kolinergičkog i imunološkog sustava pojavili su se početkom 21. stoljeća istraživanjem učinaka CNI-1493 na modelima štakora što je već i spomenuto u uvodnom dijelu [191,192]. Poznato je da je kolinergički protuupalni sustav, dio živčanog sustava vagusa, moćno oruđe kojim organizam regulira opseg upale kako bi osigurao uklanjanje prijetnje i spriječio potencijalno oštećenje ili oštećenje tkiva. Ključni faktor na ovom putu je acetilkolin (ACh), a njegovo djelovanje uglavnom je vezano za receptore $\alpha 7nAChR$ (izražen uglavnom na monocitima, makrofagima i dendritskim stanicama) i M1AChR (izražen uglavnom u prednjem mozgu) [193]. Kolinergički put funkcionira otpuštanjem ACh, koji agonizira $\alpha 7nAChR$ receptor i uzrokuje priljev Ca^{2+} iona u stanice. Povećane razine kalcija u stanicama dovode do aktivacije transkripcijskog faktora $NF\kappa B$ i supresije imunološkog odgovora (tj. inhibira se proizvodnja proupalnih medijatora). Ovaj mehanizam mogu prekinuti kolinesteraze (ChE) – enzimi koji razgrađuju ACh na octenu kiselinu i kolin. Stoga bi inhibitori ovih enzima mogli imati i protuupalne učinke [203]. Analizom imunoloških stanica pokazalo se da limfociti sadrže visoku razinu acetilkolin-transferaze (enzim koji proizvodi ACh), kao i ACh, te mogu poslužiti kao izvor ACh izvan živčanog sustava. Nakon što se limfociti aktiviraju, proizvodnja i otpuštanje ACh se povećava i pomaže modificirati imunološki odgovor.

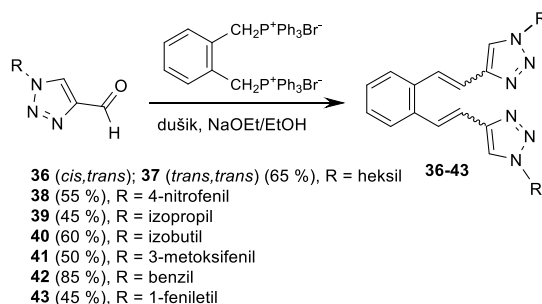
U populacijama mijeloičnih stanica (monociti, makrofagi, dendritične stanice) potvrđena je ekspresija acetilkolin-transferaze, čime se pojašnjava da te stanice također mogu proizvoditi ACh. Međutim, razine enzima (i, zauzvrat, proizvedenog ACh) vrlo su niske u usporedbi s onima pronađenim u populaciji limfocita [283]. U našem *in vitro* testu, stimulirali smo stanice LPS, uzrokujući povećanu proizvodnju ACh. Međutim, dodavanjem inhibitora AChE (kao što je uočeno u biokemijskim testovima), razgradnja ACh je zaustavljena. Stoga je imunološki odgovor mogao biti prekinut, što je potvrđeno smanjenjem proizvodnje $TNF\alpha$. Predstavljeni rezultati pokazuju da dvije proučavane klase spojeva, triazolostilbeni **16-25** i posebno njihovi produkti elektrociklizacije, naftotriazoli **26-35**, mogu modulirati upalni odgovor inhibicijom AChE. Daljnje optimizacije molekula bit će usmjerene na povećanje potencije i optimizaciju ADME svojstava.

2.4. Sinteza ditriazolostilbena

Za sintezu novih derivata *o*-divinilbenzena **36-43** provedena je Wittigova reakcija u trogloj tikvici koristeći difosfonijevu sol (Shema 14). Kondenzirani triazolni prsten je dobiven počevši

2. Rezultati i rasprava

od 1,2,3-triazol-4-karbaldehida. Wittigova reakcija rezultirala je smjesom *cis,cis*-, *cis,trans*- i *trans,trans*-izomera s obzirom na relativnu stabilnost ilida.



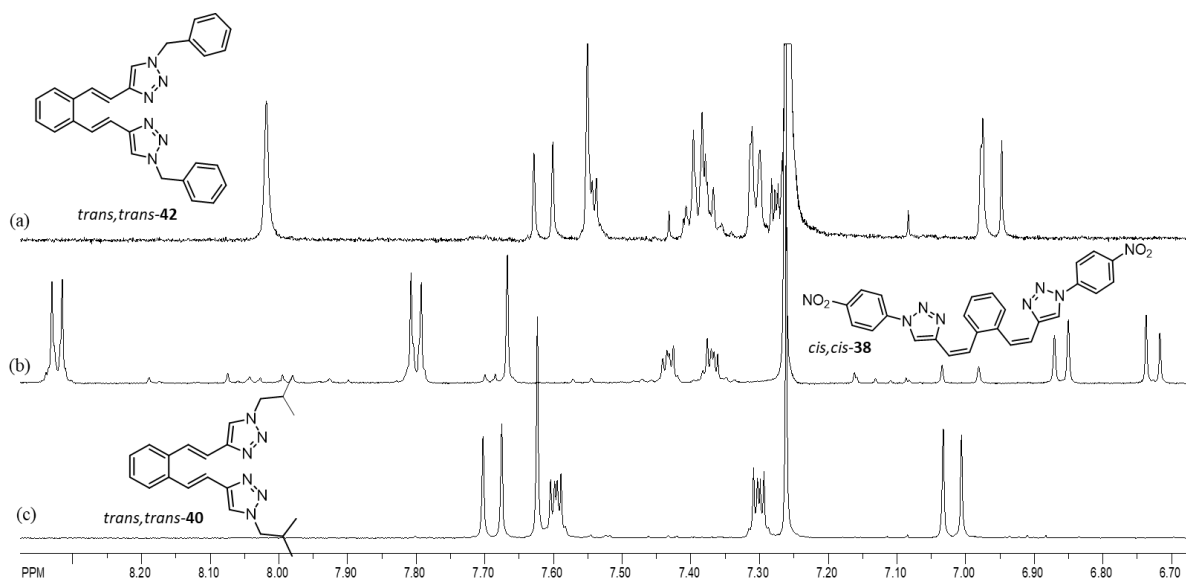
Shema 14. Sinteza novih triazola **36-43** kao smjesa *cis,cis*-, *cis,trans*- i *trans,trans*-izomera korištenjem Wittigove reakcije.

Iskorištenja dobivena u reakcijama triazola s alifatskim lancima vezanim na *N*-1 kreću se od 45 %-65 % (spojevi **36**, **37**, **39**, **40**, **42** i **43**), a u slučaju aromatskih prstenova kao supstituenata od 55-85 % (spojevi **38** i **41**). Omjeri izomera u izoliranim smjesama varirali su ovisno o supstituentima.

U smjesama izomera iz ^1H NMR spektra detektirani su sljedeći omjeri: spojevi **36** i **37**, *cis,cis*- : *cis,trans*- : *trans,trans*- = 1 : 5 : 15; spoj **38**, *cis,cis*- : *cis,trans*- : *trans,trans*- = 9 : 0 : 1; spojevi **39-41**, glavni produkt je *trans,trans*-izomer osim tragova *cis,trans*-izomera. Reakcije s aldehidima koji imaju benzilnu ili α -metilbenzilnu skupinu na triazolnom prstenu (spojevi **42** i **43**) dale su samo odgovarajuće *trans,trans*-izomere prema NMR spektrima. Samo za *p*-nitrofenilni derivat **38** dobivena je neuobičajena raspodjela geometrijskih izomera u reakcijskoj smjesi, s 90 % izomera *cis,cis*-**38**.

U ^1H NMR spektrima svih izoliranih disupstituiranih derivata triazola **36-43**, karakteristični signali protona i njihove konstante sprezanja pronađene su i određene. Predstavljeni aromatski dijelovi ^1H NMR spektara *trans,trans*-**42**, *cis,cis*-**38** i *trans,trans*-**40** izomera (Slika 51) imaju prepoznatljive signale, ali različit broj signala na različitim kemijskim pomacima ovisno o strukturi i utjecaju supstituenata na triazolne prstenove.

2. Rezultati i rasprava

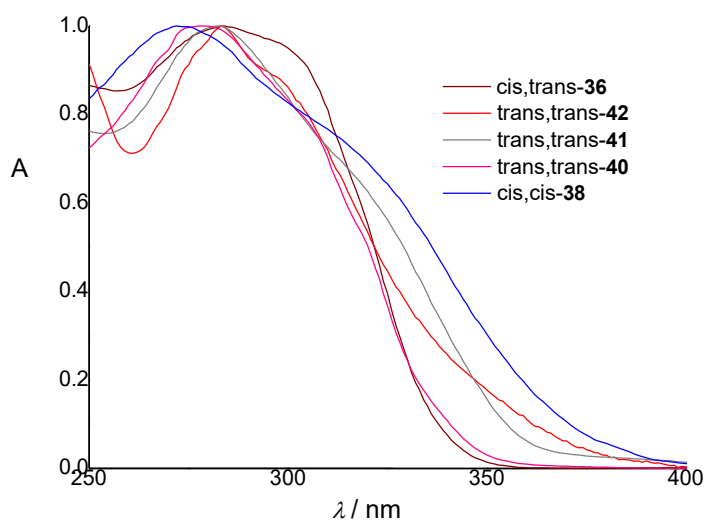


Slika 51. Aromatsko područje ^1H NMR spektara (CDCl_3) *trans,trans*-42 (a), *cis,cis*-38 (b) i *trans,trans*-40 (c).

Dodatno, nakon snimanja ^{13}C NMR spektara za sve izolirane derivate **36-43**, njihove su strukture u potpunosti potvrđene. U alifatskim područjima ^1H NMR spektara *cis,trans*-36 i *trans,trans*-37, 39, 40, 42, 43 pomaci u spektrima također nepogrešivo upućuju na strukturu svakog derivata. Osim toga, simetrična struktura i *trans*-konfiguracija na obje dvostruke veze za *trans,trans*-37 i *trans,trans*-39-43 potvrđena je postojanjem konstante spreznja od 16,0 – 16,5 Hz za etenske protone.

U slučaju *cis,trans*-36 i *cis,cis*-38 postojanje dviju različitih konstanti spreznja ili jedne s vrijednošću od 12,0 Hz, odredilo je konfiguraciju na dvostrukim vezama odgovarajućih izoliranih derivata triazola **36**, **37** i **38**. UV/Vis spektri izoliranih izomera **36-43** u 96 % etanolu (Slika 52) jasno pokazuju da u polarnom otapalu karakteristike apsorpcije ne ovise značajno o konfiguraciji ili supstituentima vezanim na triazolnim prstenovima. Jedina razlika javlja se za spoj *cis,cis*-38 gdje je promatrani λ_{max} nešto veći nego za ostale spojeve, međutim, ovo odstupanje nije dovoljno jako da dokaže odlučujući utjecaj izomerne konfiguracije. Ovo otkriće upućuje na to da, unatoč različitim elektroničkim karakteristikama ovih supstituenata, *E-Z* izomerizacija ne utječe na energijske razine elektronskih stanja uključenih u UV/Vis spektre ovih spojeva. Konačno, ovo opažanje može biti rezultat dvaju suprotnih učinaka koji se međusobno uravnotežuju. Sukladno tome, rezonancijski i induktivni efekti mogu rezultirati takvim ishodom. I *cis,trans*-36 i *trans,trans*-37 izomeri pokazuju dvostruku vrpču s maksimumima na 284 i 301 nm, odnosno 275 i 305 nm.

2. Rezultati i rasprava



Slika 52. Normalizirani UV/Vis spektri u etanolu (96 %) triazola *cis,trans-36*, *cis,cis-38* i *trans,trans-40-42* (UV spektri *trans,trans-39* i *trans,trans-43* slični su *trans,trans-42*).

Najmanji utjecaj konfiguracije na apsorpcijski spektar primijećen je između *cis,cis-38* i *trans,trans-41* ili *trans,trans-42* koji pokazuju jaku vrpču na 285 odnosno 280 nm. Apсорpcijski spektri *trans,trans-39*, *trans,trans-40* i *trans,trans-43* bili su vrlo slični, pokazujući jaku vrpču na oko 374 – 378 nm. U slučaju svih analiziranih izomera spojeva **36-43**, UV/Vis spektri su bez ikakve finije vibracijske strukture, što se može pripisati jakoj interakciji preko vodikovih veza između EtOH i triazolnih prstenova.

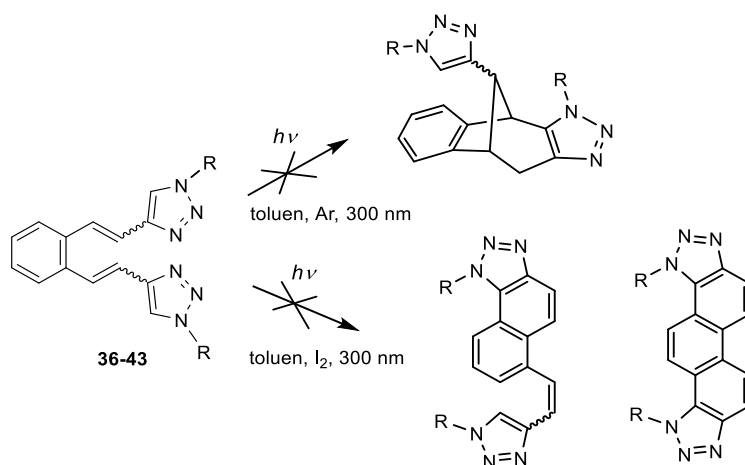
2.4.1. Fotokemija derivata triazola 36-43

Konjugirani heterostilbeni sa sličnim strukturama mogu pokazati dramatično drugačije fotoinducirano ponašanje, otkrivajući kako promjene u prirodni supstituenata utječu na njihovu fotofiziku i fotokemiju [284]. U nekim slučajevima, ova vrsta sustava ostaje fotokemijski nereaktivna prema fotoinduciranoj intramolekulskoj cikloadiciji i pokazuje samo geometrijsku izomerizaciju zbog prostornih utjecaja i distribucije konformacija [284]. U tom slučaju, te bi molekule mogle biti prikladne za NLO primjenu ili pokazivanje zamjetne sposobnosti fluorescencije, što, zajedno sa zanemarivom fotoreaktivnošću, može biti prikladno za primjene u kemiji senzora. Neki od tih nereaktivnih heterostilbena pokazuju fotoponašanje prikladno za testiranje kao povoljni fotosenzibilizatori za PDT (fotodinamičku terapiju) [25]. Istraživanje smo ovdje proširili

2. Rezultati i rasprava

uvođenjem triazolnih jedinica u *o*-divinilbenzensku skupinu kako bismo usporedili fotoponašanje ovih sustava s prethodno istraženim odgovarajućim heteroanalogima koji nose furanove ili tiofenske jedinice.

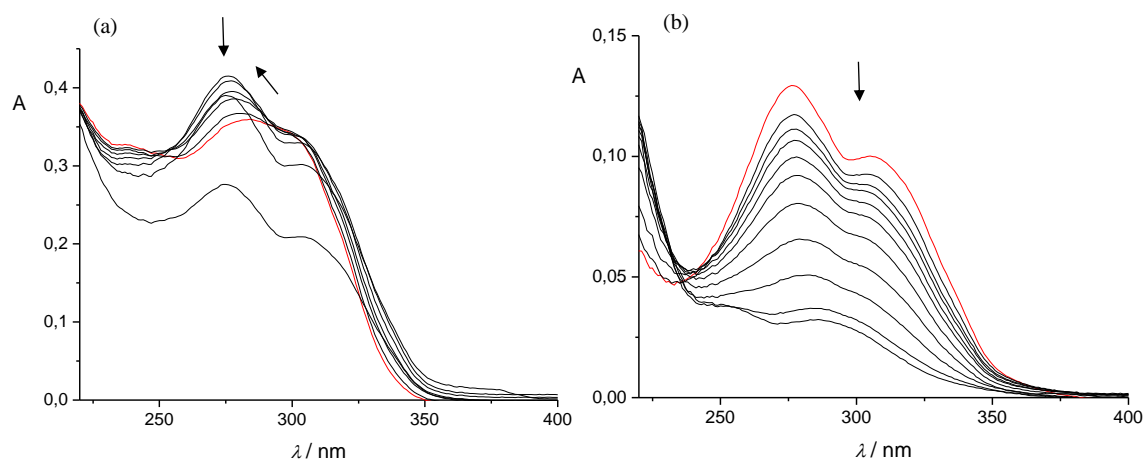
Ekperimenti preparativnog osvjetljavanja provedeni su u otopinama toluena pod anaerobnim uvjetima pri 313 nm i pri niskim koncentracijama reda veličine 10^{-3} M prikladnim za intramolekulske reakcije. Sustavi su bili zasićeni argonom kako bi se izbjegla fotoinducirana oksidacija pobuđenih molekula. Početna istraživanja derivata triazola pokazala su drugačiju reaktivnost u usporedbi s analogima furana i tiofena [285]. Nije primijećeno intramolekulsko stvaranje očekivanog bicikličkog produkta. Ovi spojevi su također pokazali nedostatak reaktivnosti prema elektrociklizaciji, a jedini proces koji se događa je izomerizacija (Shema 15). Budući da spojevi nisu pokazali nikakvu fotokemijsku reaktivnost, istraživanje se dalje proširilo na ispitivanje fotokemijskih i fotofizičkih karakteristika ispitivanih spojeva **36-43**. Također smo upotrijebili računalni pristup kako bismo dobili dodatni uvid u svojstva promatrana UV/Vis spektroskopijom.



Shema 15. Pokušaj fotokemije spojeva **36-43**.

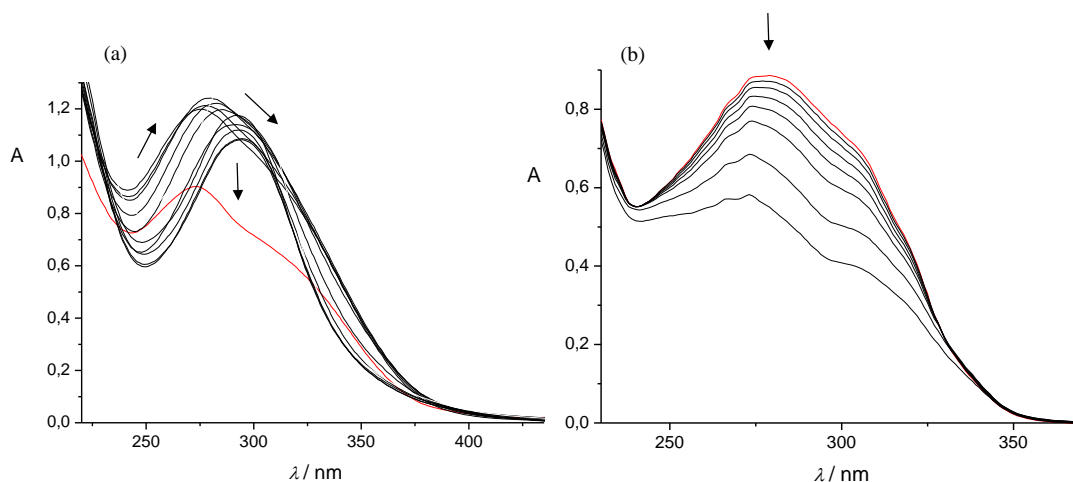
Promjene spektara tijekom osvjetljavanja *cis,trans*-**36** i *trans,trans*-**37** (Slika 53) na valnim duljinama koje odgovaraju glavnim apsorpcijskim vrpčama (284 i 301 nm, odnosno 275 i 305 nm) razlikuju se, a za *cis,trans*-**36** rezultirale su izomerizacijom prema *trans,trans*-**37** kao primarnoj fotokemijskoj reakciji. Općenito, *cis*-konfiguracija je manje povoljna za konjugaciju, stoga je drugi *trans,trans*-**37** povoljniji kandidat kao produkt fotoizomerizacije. Fotoizomerizacija se dogodila za manje od 3 minute za *cis,trans*-**36** u etanolu (Slika 53a). S druge strane, ekscitacija fotoizomera dovela je do prilično brze transformacije popraćene potpunim nestankom glavne (duže valne) vrpce, što ukazuje na prekid konjugacije unutar 15 minuta (Slika 53b).

2. Rezultati i rasprava



Slika 53. Spektralna promjena tijekom osvjetljavanja triazola *cis,trans*-**36** (a) u EtOH nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64 i 128 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans,trans*-**37** (b) u EtOH nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 i 1024 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

Izomerizacija *cis,cis*-**38** izomera (Slika 54a) bila je popraćena blagim crvenim pomakom koji je doveo do odgovarajućeg stvaranja izomera s više *trans*-konfiguracije u molekuli. Uočava se brza promjena apsorpcije u prvim sekundama osvjetljavanja, što jasno ukazuje na brzu fotoizomerizaciju. U nastavku osvjetljavanja dolazi do nestanka glavne (duže valne) vrpce, što opet ukazuje na prekid konjugacije kao i u slučaju *trans,trans*-**37**.

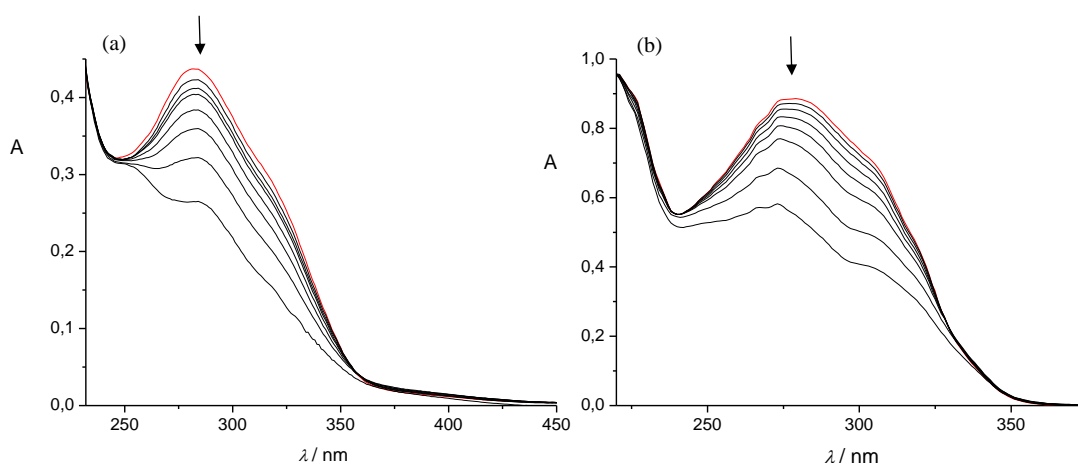


Slika 54. Spektralna promjena tijekom osvjetljavanja triazola *cis,cis*-**38** (a) u EtOH nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans,trans*-**40** (b) u EtOH nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64 i 128 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

Međutim, transformacija izomera *trans,trans*-**40** (Slika 54b) prilikom osvjetljavanja bila je znatno brža nego u slučaju *trans,trans*-**37** i glavna apsorpcijska vrpca nestala je tijekom 2 minute počevši od čistog početnog izomera bez ikakvog plavog pomaka i uočena je fotoizomerizacija prema drugim izomerima s *cis*-konfiguracijom na dvostrukoj vezi.

2. Rezultati i rasprava

Čisti *trans,trans*-**41** i *trans,trans*-**42** izomeri ponašali su se slično izobutil-supstituira-
nom analogu *trans,trans*-**40**, ukazujući na vrlo brz prekid konjugacije unutar 2 minute, bez ika-
kvog vidljivog plavog pomaka (Slika 55). Budući da te brze promjene nakon fotoizomerizacije
ne pokazuju posljedično nastajanje bilo kakve fotocikloadicije ili produkata elektrociklizacije,
vjerojatno se mogu odvijati kompetitivni fotofizički procesi, kao što je unutarnja konverzija ili
međusustavno križanje neovisno o prirodi supstituenata na triazolnom prstenu u svim slučaje-
vima spojeva **36-43**.

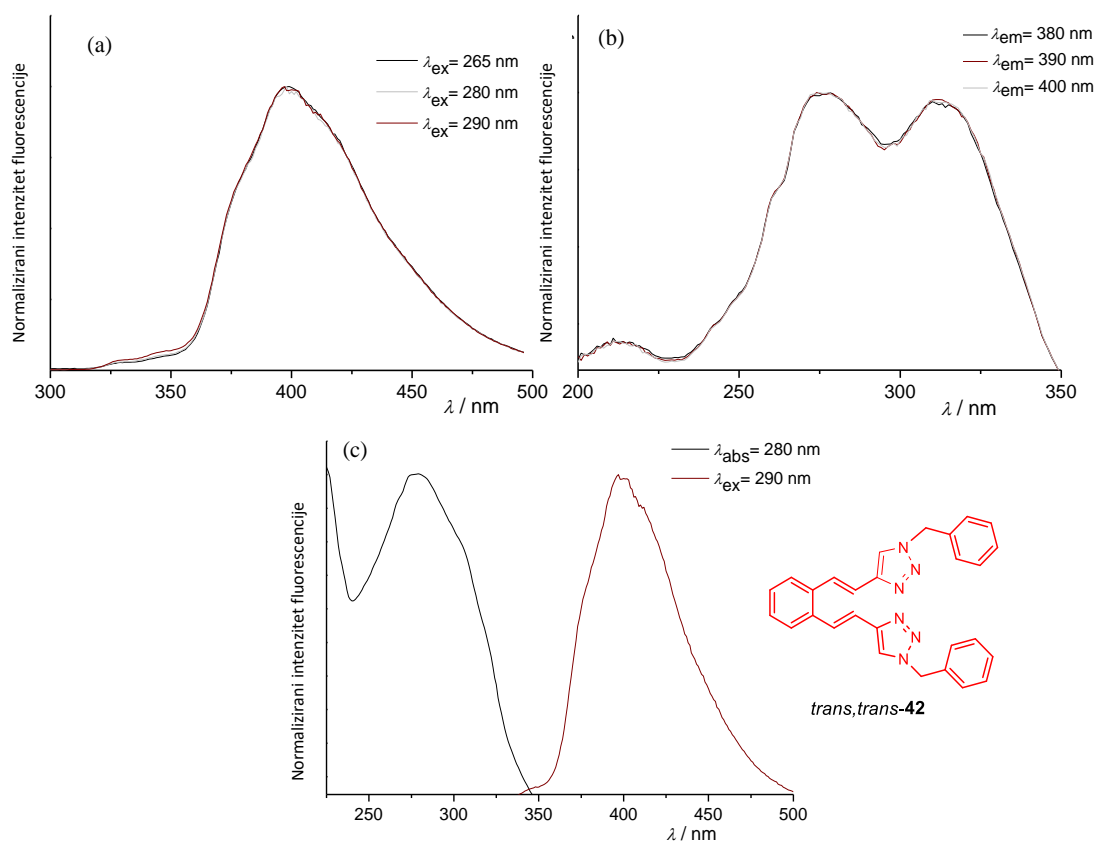


Slika 55. Spektralna promjena tijekom osvjetljavanja triazola *trans,trans*-**41** (a) u EtOH nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64 i 128 s; ($\lambda_{ir} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans,trans*-**42** (b) u EtOH nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64 i 128 s; ($\lambda_{ir} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

Da bismo dobili dublji uvid u prirodu pobuđenih stanja ove klase analoga triazola, izmjerili smo emisijske i ekscitacijske spektre dva različita predstavnika spojeva, za *cis,cis*-**38** i *trans,trans*-**42** (Slika 56), i odredili kvantni prinos fluorescencije i izomerizacije. Derivat *p*-nitrofenila *cis,cis*-**38** pokazao je vrlo nizak kvantni prinos emisije/fluorescencije (manje od 0,001), dok je kvantni prinos fotoizomerizacije bio 0,2425, što je u skladu s eksperimentima spektralnih promjena (Slika 56a). Benzilni derivat *trans,trans*-**42**, nakon ekscitacije na 313 nm, pokazao je karakterističnu fluorescenciju glavne vrpce na 280 nm, 290 nm i ramenom na 265 nm (Slika 56). Kvantni prinos emisije/fluorescencije za *trans,trans*-**42** određen je i iznosio je 0,3293, dok je kvantni prinos fotoizomerizacije bio 0,1132 što je također u skladu s eksperimentima spektralnih promjena (Slika 56b) i dvostruko nižih vrijednosti u usporedbi s *cis,cis*-**38**. Osvjetljavanje svih čistih izoliranih izomera spojeva **36-43** rezultiralo je različitim spektralnim promjenama. Spektralne promjene od *cis*-konfiguracije pripisane su *E-Z* fotoizomerizaciji kao primarnoj fotokemijskoj reakciji. Što se tiče mehanizma, može se samo predložiti da se fotoizomerizacija može dogoditi različitim putevima i plohama ovisno o supstituentima i da se

2. Rezultati i rasprava

nakon toga deaktivira fluorescencijom. U ovom istraživanju daljnji dublji eksperimenti fotoliza ili izračuna tih mehanizama nisu izvedeni.

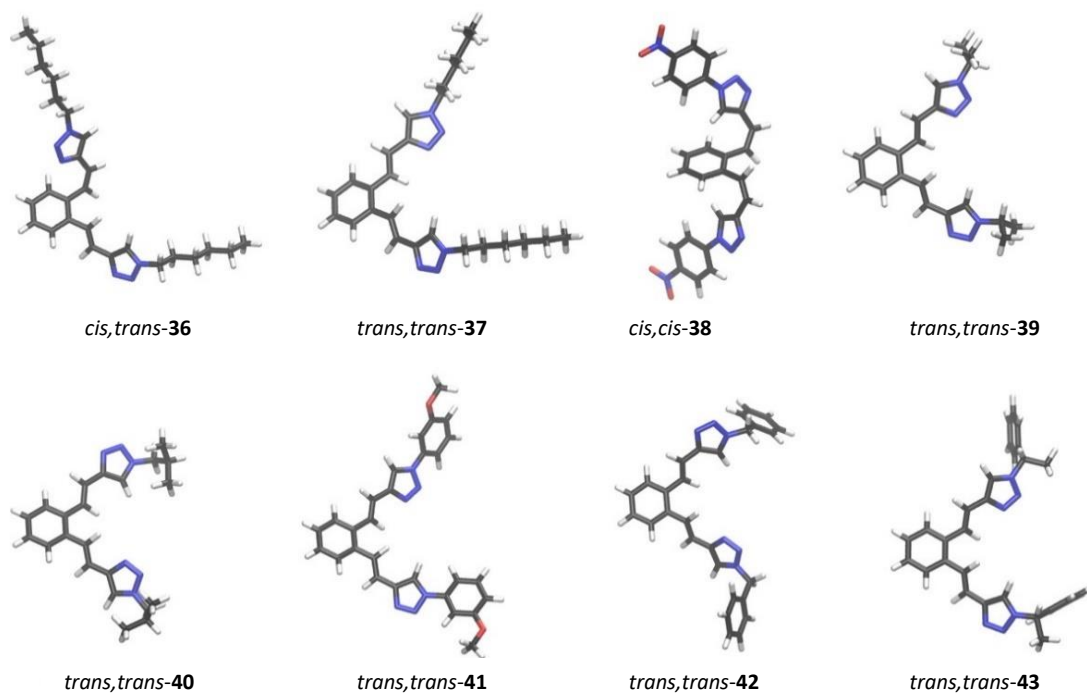


Slika 56. Normalizirani emisijski (fluorescencijski) spektar (a), ekscitacijski spektar (b) i normalizirani apsorpcijski i emisijski spektar (c) derivata triazola *trans,trans*-42.

2.4.2. Računalna studija elektronske strukture triazola 36-43

Konformacije novih triazola **36-43** ispitane su na razini teorije M06-2X/6-31G(d,p) [286]. Optimizirane geometrije najstabilnijih konformera izomera prikazane su na slici 57.

2. Rezultati i rasprava



Slika 57. Najstabilniji konformeri di-triazolostilbena.

Svi spojevi imaju isti skelet, stoga nije iznenađujuće da sve optimizirane geometrije dijele neke slične značajke. Dva lanca povezana s triazolima smještena su iznad i ispod fenilne ravnine kako bi se minimaliziralo odbijanje između najbližih atoma vodika smještenih na različitim C=C vezama. Diedarski kut između C=C veza i fenilne ravnine odstupa od planarnosti za $\sim 30^\circ$, osim za spoj *cis,cis*-38, gdje je to odstupanje 60° . Kod tog *cis,cis*-izomera, drugi H-atom na C=C je bliži vodicima na dvostrukoj vezi u susjednom lancu – veća neplanarnost ovdje omogućuje učinkovitije izbjegavanje vodika, čime se smanjuje odbijanje. UV/Vis spektri spojeva 36-43 mjereni su u etanolu, kako je prikazano gore. Kako bi se dobila dodatna interpretacija opaženih apsorpcijskih vrpci, UV/Vis spektri također su određeni računalno. Primijenjena je vremenski ovisna teorija funkcionala gustoće (TD-DFT), koja je rješavala preturbacijsku jednadžbu na temelju Runge-Grossovog teorema [266]. Jednadžba je riješena za 20 pobuđenih singletnih stanja za svaku molekulu u otapalu etanolu. Rezultati su prikazani u tablici 9. Usporedba izračunatih i eksperimentalnih podataka pokazuje da TD-DFT precjenjuje položaj apsorpcijskih maksimuma λ_{\max} , kao što je objavljeno u prethodnim ispitivanjima [287], ali sveukupno slaganje između eksperimentalnih i računskih rezultata je zadovoljavajuće.

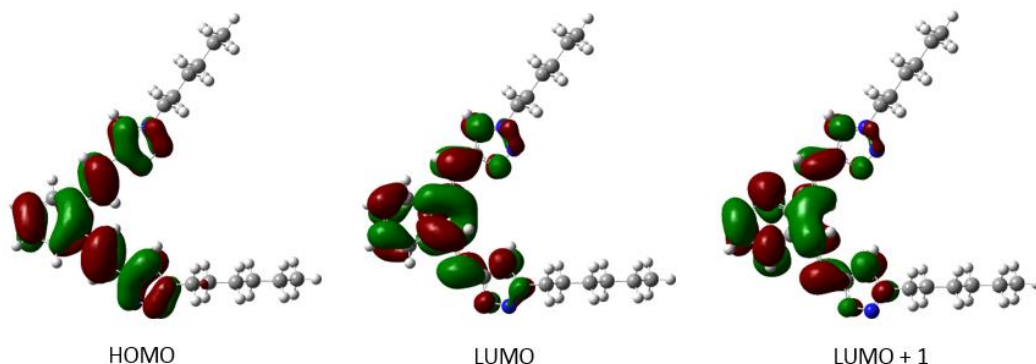
2. Rezultati i rasprava

Tablica 9. Eksperimentalne i izračunate vrijednosti λ_{\max} , zajedno s glavnim prijelazima dobivenim proračunima. Upotrijebljen je računalni model (CPCM)TD-PBEhPBE/6-31++G(d) (u etanolu), s geometrijama optimiziranim na razini teorije M06-2X/6-31G(d,p). H i L označavaju najvišu zauzetu odnosno najnižu praznu molekulsku orbitalu.

Spoj	$\lambda_{\max}^{\text{eksp}}/\text{nm}$	$\lambda_{\max}^{\text{izrač}}/\text{nm}$	Prijelaz
<i>cis,trans</i> - 36	301	329	H → L
	284	281	H → L+1
<i>trans,trans</i> - 37	305	334	H → L
	275	285	H → L+1
<i>cis,cis</i> - 38	285	301	H → L+2
<i>trans,trans</i> - 39	274	285	H – 1 → L
			H → L+1
<i>trans,trans</i> - 40	275	285	H – 1 → L
			H → L+1
<i>trans,trans</i> - 41	280	297	H – 1 → L
			H → L+1
<i>trans,trans</i> - 42	280	285	H – 1 → L
			H → L+1
<i>trans,trans</i> - 43	278	285	H – 1 → L
			H → L+1

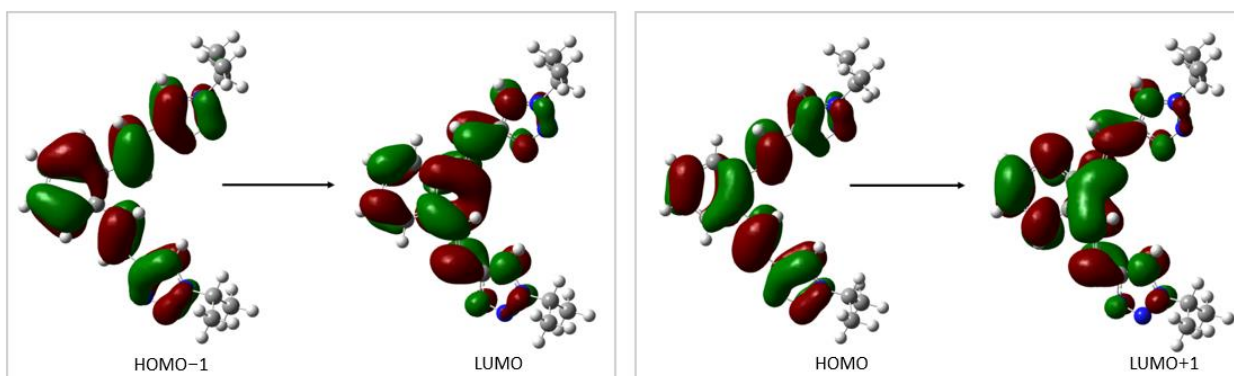
Spojevi **36**, **37**, **39** i **40** imaju alifatski supstituent. Preostala četiri imaju supstituent R, koji je ili isključivo aromatski (derivati **38** i **41**) ili sadrži jedan fenilni prsten kao dio alifatske podjedinice (derivati **42** i **43**). Izmjereni UV/Vis spektri spojeva **36**, **37** (R = heksil) imaju dva apsorpcijska maksimuma (Tablica 9). Valna duljina maksimalne apsorpcije λ_{\max} koja odgovara prijelazu iz HOMO u LUMO orbitalu slična je za oba izomera (*cis,trans*-**36** i *trans,trans*-**37**). U eksperimentalnim spektrima ovaj se prijelaz događa na 301 i 305 nm za *cis,trans*-**36** odnosno *trans,trans*-**37**, dok izračuni predviđaju nešto više vrijednosti (326 i 331 nm). Drugi apsorpcijski maksimum, pripisan prijelazu HOMO u LUMO+1, također je pozicioniran na sličan način u spektrima oba izomera. Nešto je viši za *cis,trans*-**36** u eksperimentalnim spektrima (284 naspram 275 nm), dok izračunati podaci predviđaju gotovo istu vrijednost drugog λ_{\max} za oba izomera (280 i 282 nm). Budući da je supstituent R u molekuli **36** alifatski, orbitale koje sudjeluju u tim prijelazima su lokalizirane na osnovnom skeletu molekule (koji čine aromatski prsten, etenska i triazolne jedinice). Relevantne orbitale *trans,trans*-**37** prikazane su na slici 57.

2. Rezultati i rasprava



Slika 57. Prikaz molekulskih orbitala koje sudjeluju u prijelazima u UV/Vis spektru za *trans,trans*-**37**.

Očekivano, spektri spojeva *trans,trans*-**39** i *trans,trans*-**40** (R = izopropil, odnosno izobutil) međusobno su vrlo slični. Eksperimentalni λ_{\max} iznosi 275 nm za obje molekule, dok računski dobiveni podaci predviđaju nešto višu vrijednost od 282 nm u obje molekule, pripisujući ovaj maksimum prijelazima s HOMO-1 na LUMO i HOMO na LUMO+1. Kao što je utvrđeno za molekulu *trans,trans*-**37**, molekulske orbitale uključene u ove prijelaze (Slika 58, prikazuje orbitale molekule *trans,trans*-**39**) pripadaju osnovnom skeletu. Analogne molekulske orbitale za molekulu *trans,trans*-**40** izgledaju slično i vode do istog zaključka. Dodatno, prijelaz HOMO→LUMO u izračunatim spektrima spojeva *trans,trans*-**39** i *trans,trans*-**40** odgovara apsorpciji na 335 nm, iako s upola manjom snagom oscilatora nego za prijelaze na 282 nm.

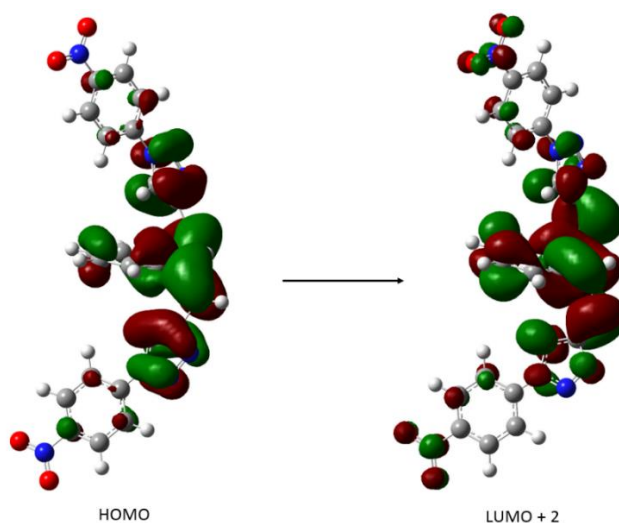


Slika 58. Molekulske orbitale uključene u prijelaze u UV/Vis spektru *trans,trans*-**39**.

Među svim novim triazolima pripremljenim u ovom dijelu doktorskog rada, molekula **38** je jedini *cis,cis*-izomer. Maksimum apsorpcije opažen je na 285 nm, dok ga izračuni predviđaju na 301 nm. Prema izračunatim vrijednostima, ovaj maksimum se može pripisati trima glavnim prijelazima: najznačajniji doprinos ekscitaciji (41 %) ima prijelaz iz HOMO u LUMO+2, a slijede prijelazi HOMO-3→LUMO+1 i HOMO-2→LUMO, s doprinosima od 26 % odnosno 23 %.

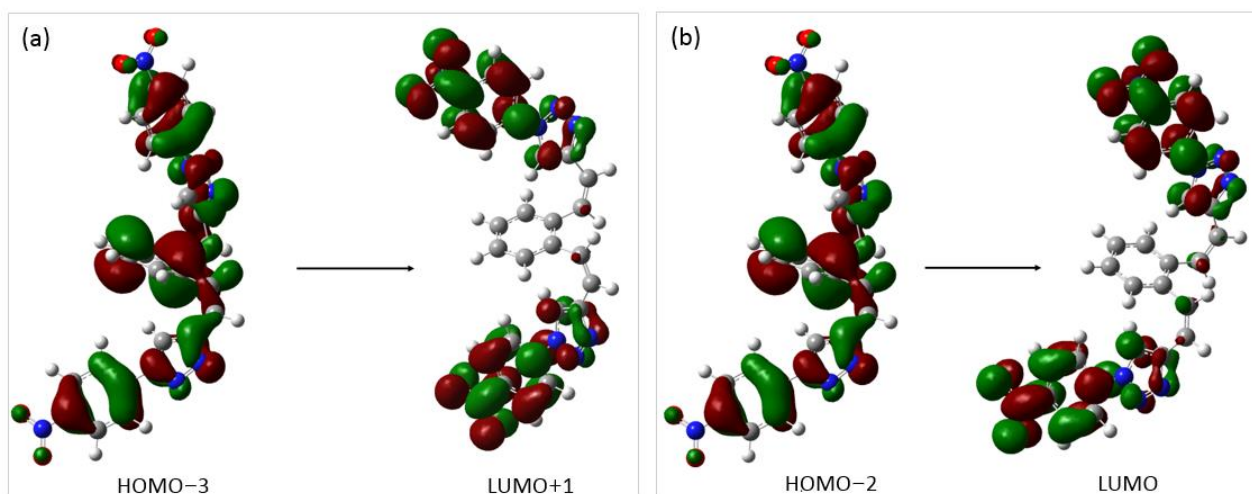
2. Rezultati i rasprava

Ovaj spoj ima aromatski supstituent (R = nitrofenil), pa se očekuje da π -elektroni supstituenta sudjeluju u prijelazima promatranim UV/Vis.



Slika 59. Molekulske orbitale uključene u prijelaz s najznačajnijim doprinosom $\lambda_{\max} = 301$ nm u izračunatim UV/Vis spektrima za *cis,cis*-38.

Vizualizacija molekulskih orbitala pokazuje da dominantni prijelaz za izračunati λ_{\max} (HOMO \rightarrow LUMO+2) ne uključuje sudjelovanje π -elektrona nitrofenila prisutnih u *cis,cis*-38 (Slika 59). Međutim, π -elektroni supstituenta sudjeluju u druga dva prijelaza: HOMO-3 \rightarrow LUMO+1 (Slika 60a) i HOMO-2 \rightarrow LUMO (Slika 60b) koji doprinose ovom maksimumu apsorpcije na 301 nm.



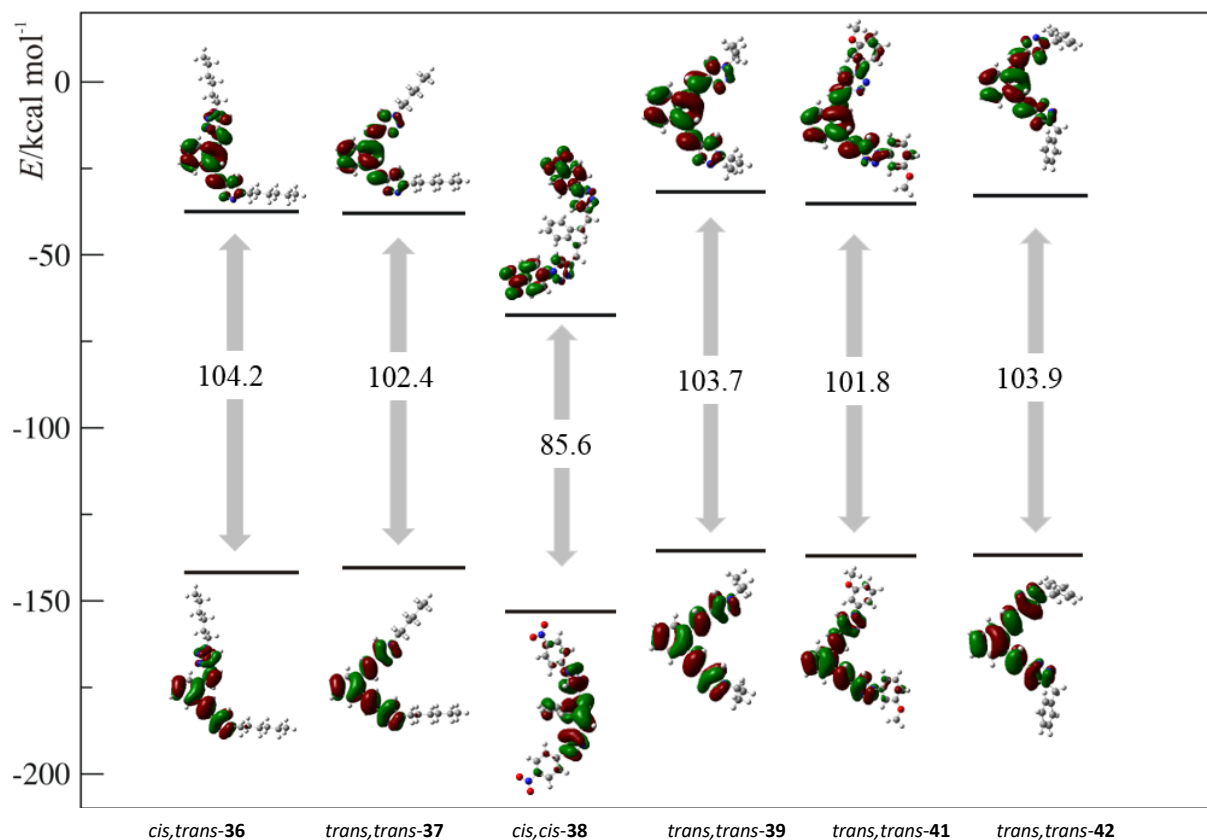
Slika 60. Molekulske orbitale koje sudjeluju u dodatna dva prijelaza doprinoseći za λ_{\max} u izračunatim spektrima za *cis,cis*-38.

UV/Vis spektri preostala tri spoja s aromatskim supstituentom, derivati 41-43, imaju položaje λ_{\max} pripisane dvama prijelazima: HOMO-1 \rightarrow LUMO i HOMO \rightarrow LUMO+1.

2. Rezultati i rasprava

Za ova tri derivata, *trans,trans*-**41**, *trans,trans*-**42** i *trans,trans*-**43**, apsorpcijske vrpce koje odgovaraju prijelazima HOMO→LUMO izračunate su na 344, 335, odnosno 334 nm. Sva tri spoja imaju eksperimentalni λ_{\max} na 280 nm, pri čemu su spektri **42** i **43** gotovo isti, međutim, izračunati λ_{\max} od **41** (R = 3-metoksifenil) pomaknut je na 297 nm, stoga je vrlo blizu apsorpcijskog maksimuma u spektrima *cis,cis*-**38**. Međutim, eksperimentalni podaci ne podržavaju ovu razliku, stoga se veća predviđena vrijednost λ_{\max} za **38** i **41** javlja zbog računskog precjenjivanja utjecaja supstituenta: 4-nitrofenila i 3-metoksifenila za **38** odnosno **41**. S druge strane, htjeli smo ispitati može li *E-Z* konfiguracija igrati ulogu u izazivanju veće vrijednosti λ_{\max} , jer su u *cis,cis*-**38** i eksperimentalni i izračunati podaci dosljedno viši u usporedbi s *trans,trans*-izomerima. Stoga smo istražili energije graničnih orbitala za ove spojeve.

Pregled orbitalnih energija i HOMO-LUMO razlika (Slika 61) pokazuje da su te energije vrlo slične za sve spojeve osim za *cis,cis*-**38**. Spoj *cis,cis*-**38** ima nešto nižu HOMO energiju, ali je LUMO energija znatno niža, što rezultira manjim jazom između njih, kao što je vidljivo iz tablice 10.



Slika 61. Prikaz graničnih molekularnih orbitala i njihove energije kod novih triazola **36-39**, **41** i **42**. *Trans,trans*-**40** i *trans,trans*-**43** su izostavljeni zbog sličnosti s *trans,trans*-**39** odnosno *trans,trans*-**42**.

2. Rezultati i rasprava

Budući da je molekula **38** jedini *cis,cis*-izomer među izoliranim spojevima, postavlja se pitanje može li se ta razlika povezati s izomerizacijom. Stoga smo izračunali energije graničnih orbitala za *trans,trans*-**38** i *cis,cis*-izomere triazola **36**, **37**, **39**, **41** i **42**. Izračuni otkrivaju da su u svim proučavanim molekulama razlike HOMO-LUMO približno za 10 kcal mol⁻¹ veće kod *cis,cis*-izomera u odnosu na njihove *trans,trans*-izomere (Tablica 10). Među *trans,trans*-izomerima, spoj **38** ponovno ima najmanju razliku energije HOMO-LUMO, što implicira da uzrok manje razlike u energiji između graničnih orbitala u spoju **38** ne ovisi o *E-Z* izomernoj konfiguraciji, umjesto toga, uzrokovan je prisutnošću nitrofenilnog supstituenta. Ovaj zaključak je u skladu s prikazom orbitala: nitrofenilne skupine sudjeluju u LUMO orbitali *cis,cis*-**38**, što nije slučaj kod druga dva derivata (**41** i **42**) gdje supstituent također sadrži fenilni prsten.

Tablica 10. Energije graničnih orbitala izračunate na PBEhPBE/6-31++G(d)//M06-2X/6-31G(d,p) razini teorije. Orbitalne energije, E_{HOMO} i E_{LUMO} , dane su u atomskim jedinicama (Hartree), a HOMO-LUMO energijske razlike ($\Delta E = E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}$) su u kcal mol⁻¹.

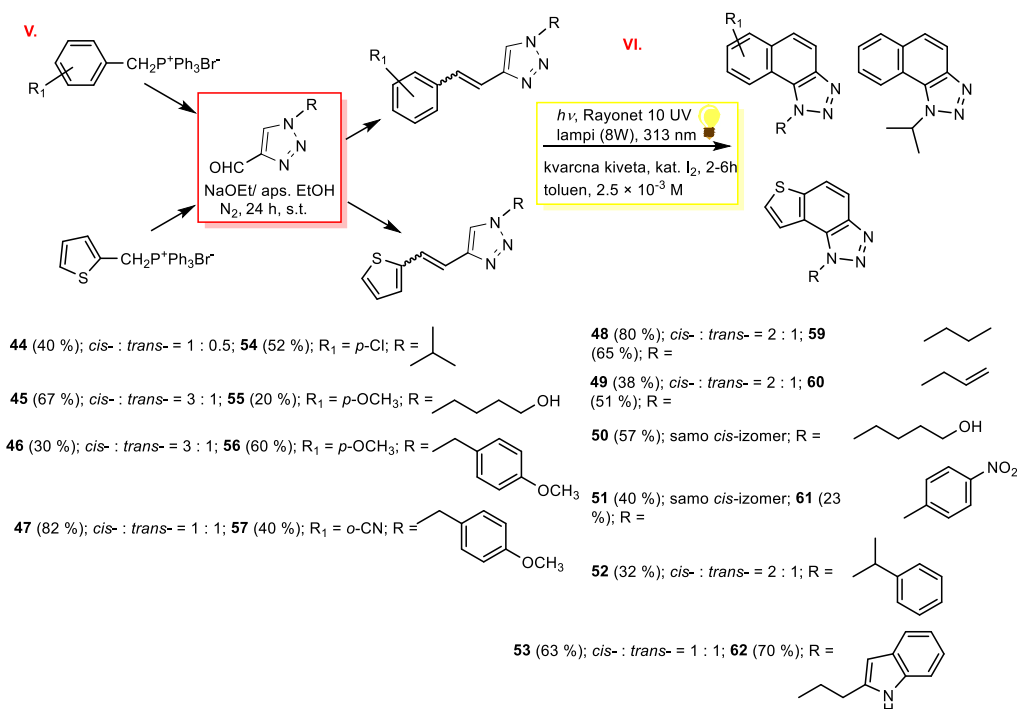
Spoj	E_{HOMO}	E_{LUMO}	ΔE
<i>cis,trans</i> - 36	-0,22603	-0,05978	104,3
<i>trans,trans</i> - 37	-0,22379	-0,06064	102,4
<i>cis,cis</i> - 36 ^a	-0,23344	-0,05180	114,0
<i>trans,trans</i> - 38 ^a	-0,22964	-0,10749	76,7
<i>cis,cis</i> - 38	-0,24394	-0,10749	85,6
<i>trans,trans</i> - 39	-0,21599	-0,05066	103,7
<i>cis,cis</i> - 39 ^a	-0,23431	-0,05584	112,0
<i>trans,trans</i> - 41	-0,21832	-0,05612	101,8
<i>cis,cis</i> - 41 ^a	-0,23806	-0,06019	111,6
<i>trans,trans</i> - 42	-0,21808	-0,05248	103,9
<i>cis,cis</i> - 42 ^a	-0,23361	-0,05333	113,1

^aSpojevi dobiveni u vrlo niskom prinosu, nisu spektroskopski proučavani.

2.5. Sinteza i fotokemija arilnih i tiofenskih triazolostilbena

Novi triazolo-stilbeni **44-47** i triazolo-tienostilbeni **48-53** (Shema 16) pripremljeni su Wittigovom reakcijom iz odgovarajuće fosfonijeve soli i 1-supstituiranih-1,2,3-triazol-4-karbaldehida [257,288]. Reakcijske otopine su propuhane dušikom 15 minuta prije dodavanja reagensa. Otopina odgovarajuće fosfonijeve soli otopljena je u apsolutnom etanolu u trogloj tikvici. Otopine natrijevog etoksida dodavane su u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. 1,2,3-triazolni aldehidi dodani su izravno u miješanu otopinu, a reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju 24 sata na sobnoj temperaturi s dušikovim balonom. Wittigova reakcija je dala nove triazolo-stilbene **44-47** i triazolo-tienostilbene **48-53** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (20-80 %, Shema 16). Smjese geometrijskih izomera triazolo(tieno)stilbena **44-53** razdvojene su kako bi se dobili čisti spojevi uzastopnom kromatografijom na koloni. Prema ^1H NMR spektroskopiji, supstituent triazolnog prstena dirigira omjer geometrijskih izomera u Wittigovoj reakciji (Shema 16).

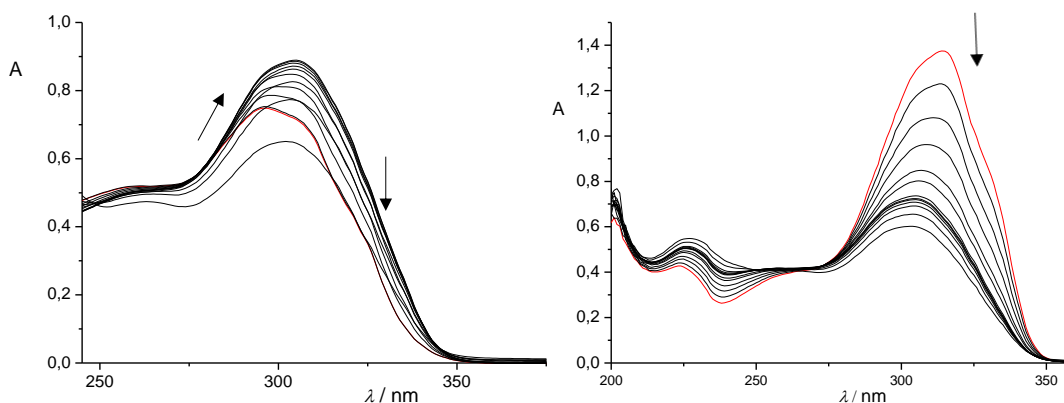
Među svim triazolo(tieno)stilbenima, kod triazolo-tienostilbena **50** i **51** sa supstituentom koji se sastoji od alifatskog lanca s terminalnom OH odnosno *p*-nitrofenilnom skupinom, jedini su produkti *cis*-izomeri. U svim ostalim slučajevima (triazoli **44-49** i **52-53**) udjeli su sličniji ili prevladava *cis*-konfiguracija (Shema 16). Međutim, niti jedna od Wittigovih reakcija nije usmjerena prema *trans*-izomeru kao glavnom produktu u reakcijskoj smjesi.



Shema 16. Reakcijski put za sintezu novih 1,2,3-triazolostilbena **44-47**, 1,2,3-triazolo-tienostilbena **48-53** i njihovih fotoproducta elektrociklizacije **54-62**.

2. Rezultati i rasprava

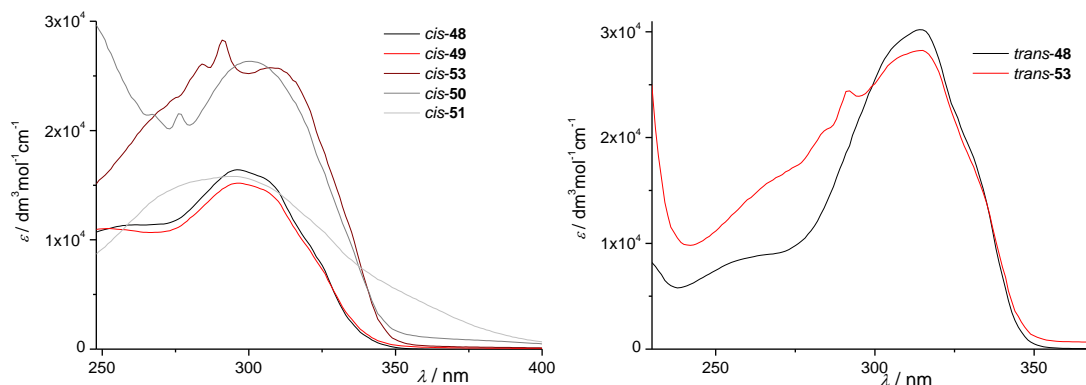
Svi izolirani izomeri triazolo(hetero)stilbena **44-53** potpuno su spektroskopski okarakterizirani. Kod ^1H NMR spektara izoliranih geometrijskih izomera od **44-53**, mogu se vidjeti dubleti za etenske protone između 6,5 i 6,9 ppm (*cis*-izomeri) i između 6,8 i 7,5 ppm (*trans*-izomeri) s karakterističnim konstantama sprežanja, kao i signali za protone na različitim supstituentima i singleti za protone na triazolnim prstenovima (između 7,1 i 8,1 ppm). Kako bismo istražili fotokemijsku reaktivnost triazolostilbena **44-47** i triazolo-tienostilbena **48-53**, proveli smo osvjetljavanje čistih izomera *cis*-**48** i *trans*-**48** koncentracije 3×10^{-3} M u polarnom otapalu EtOH (96 %), a tijekom reakcije praćen je UV/Vis spektroskopijom (Slika 62). Tijekom spektralnih promjena u vremenu nakon osvjetljavanja *cis*-izomera, uočeni su hiperkromni i batokromni pomaci bez izosbestične točke u spektru (Slika 62, lijevi spektar).



Slika 62. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja triazola *cis*-**48** (lijevo) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 i 4096 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans*-**48** (desno) u EtOH (96 %) nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

Ekscitacija *trans*-**48** (Slika 62, desni spektar) dovela je do hipokromnih promjena zbog održavanja fotostacionarnog stanja i, vjerojatno, stvaranja fotoproducta elektro ciklizacije iz *cis*-izomera. U nepolarnom otapalu *n*-heksanu, trendovi su bili slični onima u etanolu kao polarnom otapalu. Daljnji cilj istraživanja bio je preparativno prevođenje novih triazolo-stilbena **44-47** i triazolo-tienostilbena **48-53** u njihove elektro ciklizacijske fotoproducte naftotriazole **54-58** i tienobenzo-triazole **59-62** (Shema 16, desno) kao nove biološke mete. U aerobnim uvjetima smjesa izomera spojeva **44-53** otopljena je u toluenu ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i osvjetljavana s 10 UV lampi na 313 nm u kvarcnoj kiveti uz dodatak katalitičke količine joda u fotokemijskom reaktoru Rayonet 2-6 sati kako bi se postigla gotovo potpuna konverzija.

2. Rezultati i rasprava



Slika 63. UV spektri u etanolu (96 %) triazolostilbena *cis*-**48-51** i *cis*-**53** (lijevo) i *trans*-**48** i *trans*-**53** (desno).

Preparativno osvjetljavanje **44-53** dalo je naftotriazole **54-58** i tienobenzo-triazole **59-62** u 20-70 % izoliranim iskorištenjima. Dobiveni fotoprodukti **54-62** (Shema 16, desno) u potpunosti su okarakterizirani NMR spektroskopijom. Formiranje fotoprodukata **54-62** općenito je bilo popraćeno pojavom nekih produkata visoke molekulske mase, koji nisu istraženi. U ^1H NMR spektrima može se vidjeti nestanak etenskih protona i pojedinačnih protona na 1,2,3-triazolnim prstenovima u usporedbi s početnim triazolo(tieno)stilbenima **44-53**. UV/Vis spektri u etanolu (96 %) (Slika 63) predstavnika *cis*- i *trans*-izomera tipični su za diariletene [13,14] uz jaki apsorpcijski maksimum na oko 315 nm za *trans*-izomere, i manje intenzivne i hipsokromno pomaknute vrpce za *cis*-izomere (Slika 63).

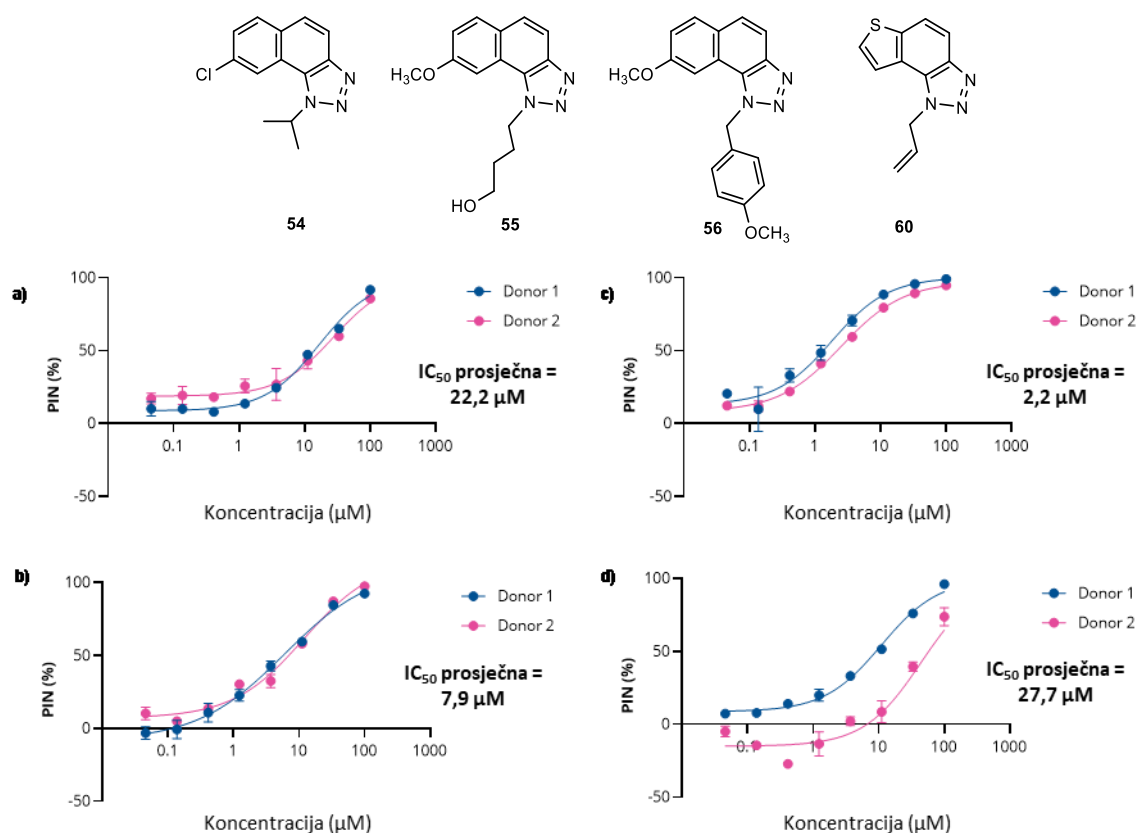
2.5.1. Biološka aktivnost novih 1,2,3-triazolo(hetero)stilbena i nafto/tienobenzo-triazola

2.5.1.1. *In vitro* biološka aktivnost 1,2,3-triazolo(hetero)stilbena i njihovih fotoprodukata elektrociklizacije

Nakon sinteze i detaljne karakterizacije novih 1,2,3-triazolo(tieno)stilbena **44-53** i nafto/tienobenzo-triazola **54-62**, njihov učinak LPS stimulirao je proizvodnju $\text{TNF}\alpha$ kod PBMC i procijenjeno je kako bi se ispitala njihova potencijalna protuupalna aktivnost. Među ispitanim početnim 1,2,3-triazolo(tieno)stilbenima **44-53**, spojevi *cis*-**47**, *trans*-**47**, *trans*-**48**, *cis*-**49**, *trans*-**49**, *cis*-**52** i *cis*-**53** ovisno o koncentraciji inhibirane proizvodnje $\text{TNF}\alpha$, s prosječnom vrijednošću $\text{IC}_{50} > 33 \mu\text{M}$ kod 2 donora. Najbolji rezultati za spojeve u cijeloj klasi bili su među nafto/tienobenzo-triazolima **54-62**, a svi su fotoprodukti. Izopropilni supstituirani derivat koji sadrži klor (**54**), hidroksi-derivat s butilnim lancem i metoksi-skupinom (**55**), derivat s dvije metoksi-skupine i benzilnim supstituentom (**56**), i konačno, alil-supstituirani tienobenzo-triazol (**60**),

2. Rezultati i rasprava

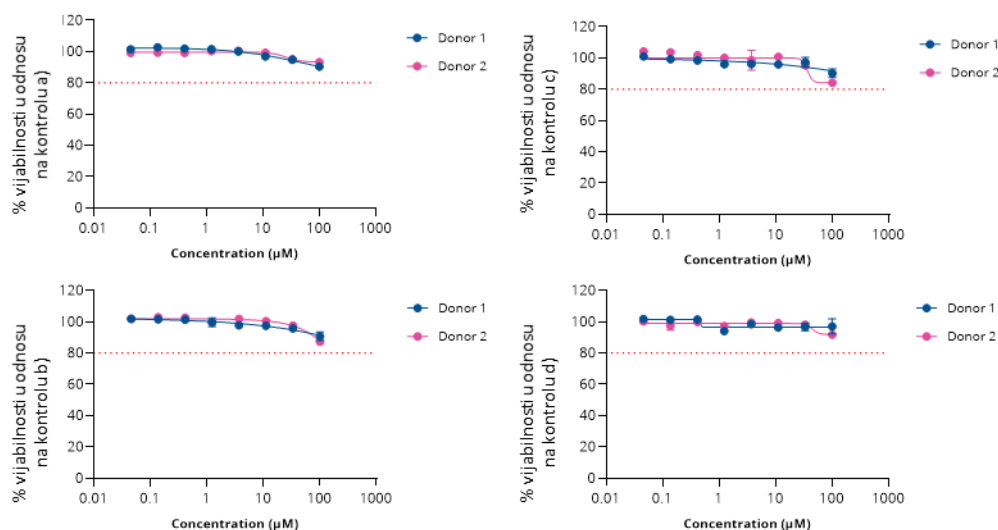
snažno su inhibirali proizvodnju TNF α u PBMC kao odgovor na stimulans LPS (Slika 64). Ovi spojevi bili su mnogo snažniji od bilo kojeg od početnih 1,2,3-triazolo(tieno)stilbena **44-53**, s prosječnim IC₅₀ vrijednostima od 22,2, 7,9, 2,2, odnosno 27,7 μ M. Indolo-supstituirani tieno-benzo-triazol **62** također je pokazao koncentracijski inhibiranu proizvodnju TNF α , s prosječnom vrijednošću IC₅₀ od > 33 μ M. Preostali spojevi nisu inhibirali proizvodnju TNF α više od 50 % ni pri jednoj testiranoj koncentraciji. Dekametazon je korišten kao pozitivna kontrola, s prosječnom vrijednošću IC₅₀ od 3,6 nM kod 2 donora.



Slika 64. Najbolja inhibicija proizvodnje TNF α u PBMC stimuliranim LPS za 2 donora primijećena je za nafto-triazole **54** (a), **55** (b), **56** (c) i tienobenzo-triazol **60** (d).

Osim proizvodnje citokina u supernatantima, unutarstanične razine adenozin-trifosfata (ATP) mjerene su u stanicama kako bi se isključila mogućnost da je manja proizvodnja citokina rezultat smanjene stanične održivosti. Triazolo(tieno)stilbeni *cis*-**47**, *trans*-**47**, *trans*-**48**, *cis*-**49**, *trans*-**49**, *cis*-**52**, *cis*-**53** i nafto/tienobenzotriazoli **54-56**, **60** i **62**, koji su inhibirali proizvodnju citokina TNF α nisu utjecali na održivost PBMC (Slika 65).

2. Rezultati i rasprava



Slika 65. Vijabilnost PBMC ostala je nepromijenjena u usporedbi s netretiranim nosačem tijekom 24 h inkubacije s nafto-triazolima **54** (a), **55** (b), **56** (c) i tienobenzotriazolom **60** (d).

Kao što je već spomenuto, inhibitori AChE i BChE također mogu imati protuupalne učinke [4]. U našem *in vitro* testu, stanice su stimulirane s LPS, uzrokujući povećanu proizvodnju ACh. Međutim, razgradnja ACh je zaustavljena dodavanjem inhibitora kolinesteraze (kao što je uočeno u biokemijskim testovima). Stoga bi imunološki odgovor mogao biti prekinut, što potvrđuje smanjenje proizvodnje TNF α . Prikazani rezultati pokazuju da dvije proučavane klase spojeva, triazolo(tieno)stilbeni i posebno njihovi fotoproducti, nafto/tienobenzotriazoli, mogu modulirati upalni odgovor inhibicijom kolinesteraza. Daljnje optimizacije spoja u ovom smislu bit će usmjerene na povećanje potencije i optimiziranje ADME svojstava.

2.5.1.2. Inhibicijsko djelovanje novih triazolo-tienostilbena 48-53 i tienobenzotriazola 59-62 prema enzimima kolinesterazama

Kao nastavak prethodnih istraživanja 1,2,3-triazolostilbena, neki reprezentativni tienofenski derivati iz ove skupine 1,2,3-triazolostilbena i tienobenzotriazola kao produkti elektrociklizacije testirani su na učinkovitost inhibicije AChE i BChE. Spojevi sintetizirani u dovoljnim količinama ispitani su u širokom rasponu koncentracija. Kao referentni standard korišten je komercijalno dostupan galantamin. Od 8 testiranih triazolo-tienostilbena i tienobenzotriazola, šest spojeva inhibiralo je BChE, dok su tri inhibirala AChE u μM rasponu. Među ispitanim tienostilbenima (Tablica 11), najjači inhibitor bio je *trans*-**48**, ali samo prema BChE, s IC_{50} vrijednošću od 18,7 μM (Slika 66, lijeva krivulja), međutim, manje je aktivan od galantamina (IC_{50} 7,9

2. Rezultati i rasprava

μM za BChE). Njegov *cis*-izomer (*cis*-**48**) dobro je inhibirao BChE, dosegnuvši vrijednost IC_{50} od $95,6 \mu\text{M}$.

Jedini derivat stilbena koji inhibira oba enzima bio je *cis*-**53**, s umjerenim do slabim vrijednostima inhibicije (IC_{50} $233,7 \mu\text{M}$ za BChE i $595,7 \mu\text{M}$ za AChE) u usporedbi s galantaminom. Spojevi *cis*-**50** i *cis*-**51** postigli su vrijednosti inhibicije manje od 50 %, neovisno o ispitivanom enzimu. Jedini spoj čija su oba geometrijska izomera testirana bio je spoj **48**, a rezultati sugeriraju da je BChE imao bolju aktivnost vezanja na *trans*-geometriju. Među derivatima *cis*-stilbena s različitim supstituentima na triazolu (*cis*-**48**, *cis*-**53**, *cis*-**50** i *cis*-**51**), uočeno je da nepolarniji supstituent doprinosi boljoj inhibiciji BChE. Zanimljivo je da je spoj *trans*-**48** također pokazao koncentracijski inhibiranu proizvodnju $\text{TNF}\alpha$, s prosječnom vrijednošću IC_{50} od $> 33 \mu\text{M}$ za 2 donora.

Tablica 11. Inhibicija eeAChE i eqBChE nekih 1,2,3-triazolo-tienostilbena i izračunate IC_{50} vrijednosti.

Spoj	Struktura	eqBChE		eeAChE	
		IC_{50} (μM)	% Inhibicija	IC_{50} (μM)	% Inhibicija
<i>cis</i> - 48		95,6	66,1±1,0 (200)	-	21,9±8,7 (1000)
<i>trans</i> - 48		18,7	79,2±0,9 (250)	-	36,9±1,3 (500)
<i>cis</i> - 50		-	48,7±4,4 (800)	-	45,2±9,1(800)
<i>cis</i> - 51		-	12,3±3,2 (100)	-	34,1±0,4 (100)
<i>cis</i> - 53		233,7	59,5±2,5 (500)	595,7	67,4±3,3 (500)
Galantamin		7,9	90,0±1,5 (60)	0,15	90,1±3,4 (4,5)

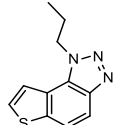
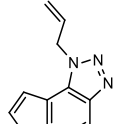
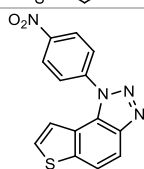
Brojevi navedeni u zagradama predstavljaju maksimalne ispitane koncentracije u μM .

Najjači inhibitor oba enzima je fotoprodukt **60**, koji ima izvrsnu vrijednost IC_{50} od oko $3,8 \mu\text{M}$ za BChE i $56,2 \mu\text{M}$ za AChE (Tablica 12). U usporedbi s galantaminom, spoj **60** bio je dvostruko jači inhibitor BChE. Derivat **59** postigao je veliku inhibicijsku aktivnost na BChE (IC_{50} $48,8 \mu\text{M}$) i relativno dobru aktivnost na AChE (IC_{50} $607,0 \mu\text{M}$) (Slika 66, desna krivulja). Spoj **61** inhibirao je samo BChE (IC_{50} $449,4 \mu\text{M}$). Produkti elektrociklizacije **59**, **60** i **61** imaju istu jezgru naftotriazola, ali različite supstituente na 1,2,3-triazolnom prstenu.

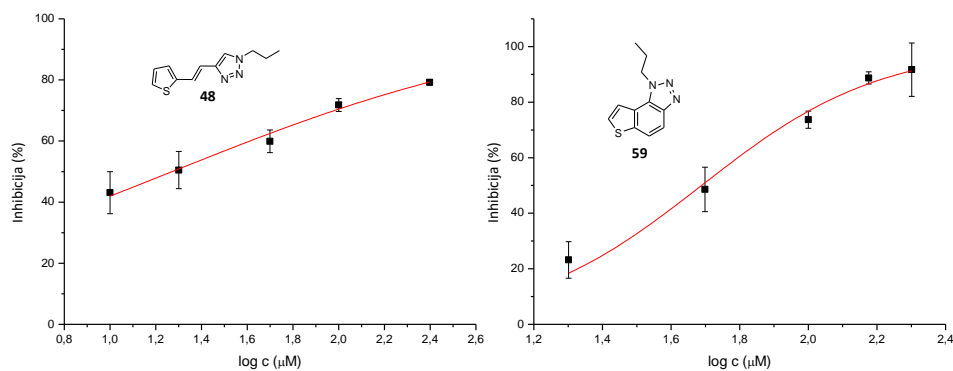
2. Rezultati i rasprava

Opet, kao što je primijećeno na početnim stilbenima, prisutnost nepolarnijeg supstituenta rezultira jačom inhibicijskom aktivnošću.

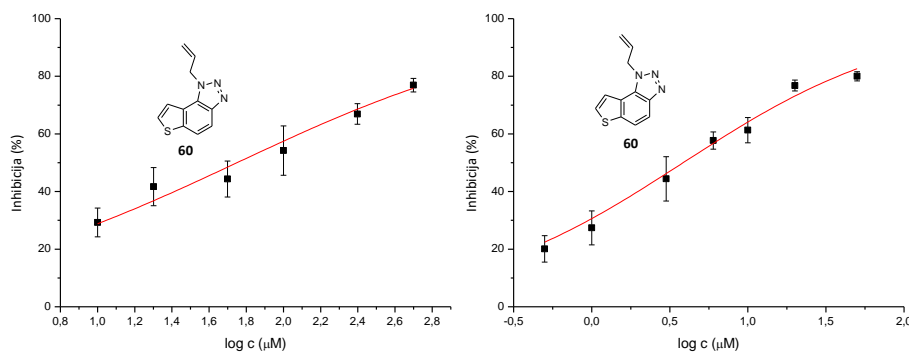
Tablica 12. Inhibicija eeAChE i eqBChE nekih derivata elektrociklizacije i izračunate IC₅₀ vrijednosti.

Spoj	Struktura	eqBChE		eeAChE	
		IC ₅₀	% Inhibicija	IC ₅₀	% Inhibicija
59		48,8	91,7±9,6 (200)	607,0	56,2±1,6 (1000)
60		3,8	80±1,6 (50)	56,2	76,9±2,3 (500)
61		449,4	53,4±5,1 (500)	-	43,3±8,3 (500)
Galantamin		7,9	90,0±1,5 (60)	0,15	90,1±3,4 (4,5)

Brojevi navedeni u zagradama predstavljaju maksimalne ispitane koncentracije u μM .



Slika 66. Krivulja inhibicije eqBChE pomoću triazolo-tienostilbena *trans*-48 (lijevo) i njegovog odgovarajućeg fotoproducta tienobenzo-triazola 59 (desno).



Slika 67. Krivulja za inhibiciju eeAChE (lijevo) i eqBChE (desno) tienobenzo-triazolom 60.

Spojevi *trans*-**48** i **59** mogu se usporediti s onima koje smo prethodno proučavali [288] – zamjena benzenskog prstena tiofenom povećala je aktivnost prema inhibiciji kolinesteraza. Neka druga istraživanja također su otkrila da zamjena benzena heteroaromatskim prstenom poboljšava biološku aktivnost u ovom kontekstu [267,268]. Dodatna podrška ulozi tiofena u inhibiciji enzima bio je test inhibicije kolinesteraze s dva spoja iz skupine nafto-triazola, **54** i **55**. Niti jedan od odabranih nije pokazao značajnu inhibiciju ni za AChE ni za BChE (inhibicija je bila manja od 30 %).

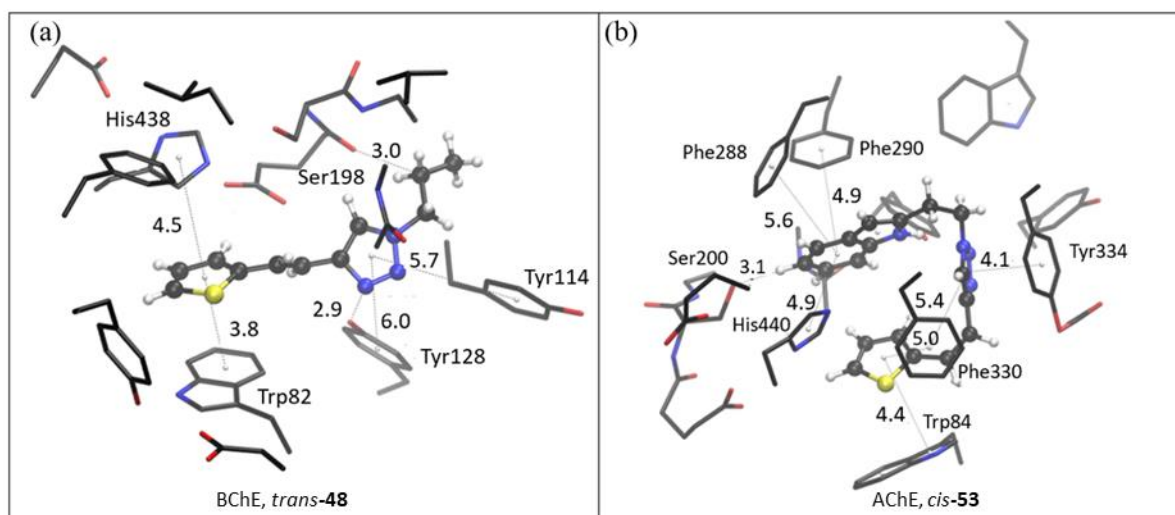
2.5.2. Računalna studija

Spojevi koji su prema eksperimentalnim mjerenjima pokazali najbolji inhibicijski potencijal prema enzimima kolinesterazama proučavani su molekulskim pristajanjem. Pristajanje u aktivno mjesto kolinesteraza provedeno je pomoću programskog paketa Autodock [269], a kristalnim strukturama kolinesteraza pristupilo se iz Banke podataka o proteinima (strukture 5EHX.pdb [289] AChE i 1P0I.pdb [290] BChE). Vizualizacija kompleksa dobivenih pristajanjem omogućila je uvid u stabilizacijske interakcije odgovorne za inhibicijsku učinkovitost ispitivanih spojeva.

Među triazolo-tienostilbenima, inhibicijski potencijal koji najviše obećava pokazao je *trans*-**48** za BChE i *cis*-**53** za AChE (Tablica 11). Za njihove electrociklizijske fotoprodukte, eksperimentalno ispitivanje pokazalo je da se najbolja inhibicijska učinkovitost prema obje kolinesteraze postiže sa spojem **60** (Tablica 12). Strukture najstabilnijih kompleksa između aktivnog mjesta BChE i *trans*-**48** te AChE i *cis*-**53** prikazane su na slici 68.

Struktura aktivnog mjesta BChE i *trans*-**48** otkriva moguće π - π interakcije između tienilnog fragmenta i ostatka Trp82, s razmakom između njih od 3,8 Å (udaljenosti između prstenova mjere se kao duljina između lažnih atoma u središtima svakog prstena). Orijehtacija triazolne podjedinice olakšava π - π interakcije u obliku slova T s dva tirozinska ostatka u periferenom anionskom mjestu (PAS), Tyr114 i Tyr128, koji su postavljeni na udaljenosti od 5,7 odnosno 6,0 Å. Kod *trans*-**48**, triazol je supstituiran propilom, koji se nalazi na udaljenosti od 3,1 Å od Ser198 u esterski dio aktivnog mjesta (katalitička trijada Ser-Glu-His) BChE, uzrokujući tako njegovo djelomično steričko blokiranje. Međutim, zbog fleksibilnosti alkilnog lanca, ovo blokiranje vjerojatno nije presudno za inhibiciju.

2. Rezultati i rasprava

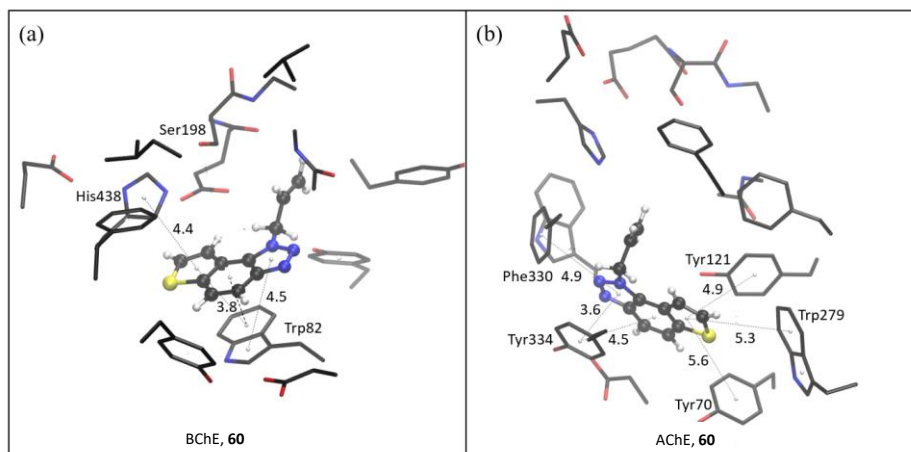


Slika 68. Strukture aktivnog mjesta BChE i *trans*-**48** (a) i AChE i *cis*-**53** (b). Molekule potencijalnih inhibitora prikazane su pomoću modela kuglica i štapića.

Kompleks između *cis*-**53** i AChE otkriva da tienilna podjedinica *cis*-**53** stupa u π - π interakciju s Trp84. S druge strane tiofenskog prstena prisutno je paralelno pomaknuto slaganje s Phe330, tienilna podjedinica je smještena između ova dva ostatka na udaljenosti od 4,4 i 5,0 Å. Triazol je povoljno pozicioniran prema Phe330, dodatno, stabiliziran je ostatkom iz PAS, s Tyr334. Indol, heteroaromatski supstituent kod triazola, također stabilizira kompleks između *cis*-**53** i AChE. Dio *cis*-**53** koji sadrži indol nalazi se u acilnom džepu aktivnog mjesta, omogućujući π - π interakcije indola s Phe290 (u obliku slova T) i Phe288 (paralelno pomaknuto slaganje), a ti su ostaci smješteni na udaljenosti od indola od 4,9 i 5,6 Å. Eksperimentalno ispitivanje tienobenzo-triazola, fotoproducta elektrociklizacije triazolo-tienostilbena, pokazalo je da spoj **60** ima najbolji inhibicijski potencijal prema obje kolinesteraze. Strukture kompleksa aktivnih mjesta BChE i AChE i spoja **60** prikazane su na slici 69.

U usporedbi s triazolo-tienostilbenima, tienobenzo-triazoli su manje fleksibilni, što rezultira manjim brojem mogućih konformacija unutar aktivnog mjesta. Na slici 69a vidljivo je da je anelirani tiofenski prsten u idealnom položaju za paralelne π - π interakcije s Trp82 u aktivnom mjestu BChE, na udaljenosti od 3,8 Å. Triazol je aneliran na suprotnoj strani od fenila, što rezultira planarnom strukturom čija veličina i orijentacija omogućuju učinkovito blokiranje dvaju ostataka u esterskom podmjestu, His438 i Ser198. Blokiranje esterskog podmjestu nije samo steričko: pomaknute paralelne π - π interakcije između His438 i spoja **60** povećavaju stabilnost strukture.

2. Rezultati i rasprava



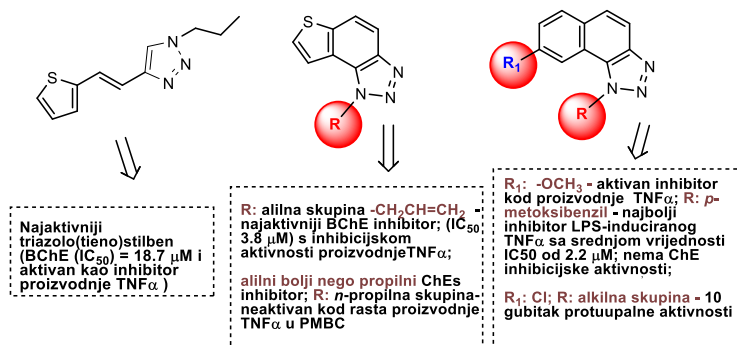
Slika 69. Strukture aktivnog mjesta BChE i AChE spojene molekulom **60**. Molekula **60** predstavljena je pomoću modela kuglice i štapića.

Stoga se inhibicija katalize postiže sprječavanjem kovalentnog vezanja acetilkolina na Ser198. Spajanje **60** u aktivno mjesto AChE (Slika 69b) rezultira strukturom u kojoj je najvažnija stabilizacijska π - π interakcija između tricikličke heteroaromske jezgre **60** i četiri aromatska ostatka u perifernom anionskom mjestu (PAS): Trp279, Tyr121, Tyr70 i Tyr334. Molekula **60** nalazi se unutar radijusa od 4-5 Å od svake aminokiseline. Dakle, postavljanje inhibitora u PAS onemogućuje pristup supstrata katalitičkom dijelu aktivnog mjesta.

2.5.3. Odnos strukture i aktivnosti

Dobivene IC_{50} vrijednosti inhibicije AChE i BChE i protuupalne aktivnosti na proizvodnju $TNF\alpha$ stimuliranu LPS koja uzrokuje povećanu proizvodnju ACh u PBMC sažeti su u pregledu odnosa strukture i aktivnosti za nove spojeve **44-62** (Slika 70).

Važno je istaknuti da je od testiranih 1,2,3-triazolo(tieno)stilbena **44-53** i nafto/tienobenzo-triazola **54-62**, tienobenzo-triazol **60** s alilnim supstituentom na triazolnom prstenu (Slika 70) pokazao najsnažniju inhibiciju BChE s vrijednošću IC_{50} od 3,8 μM .



Slika 70. Odnos strukture i aktivnosti 1,2,3-triazolo(tieno)stilbena i njihovih fotoprodukata tienobenzo/nafto-triazola.

2. Rezultati i rasprava

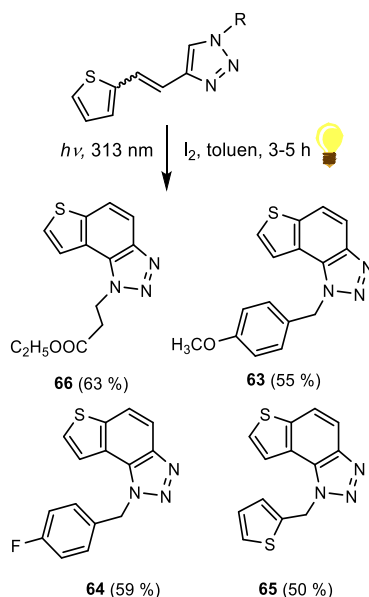
Spoj **60** je također pokazao inhibiciju LPS-induciranog $\text{TNF}\alpha$ s prosječnom vrijednošću IC_{50} od 27,7 μM , pokazujući da ovaj spoj može modulirati upalni odgovor inhibicijom kolinesteraza. Zamjenom tienilnog prstena s metoksi-arilnim prstenom i dobivanjem *p*-metoksibenzil- i hidroksibutil-naftotriazola uz klor ili metoksi-skupine (spojevi **55** i **56**), inhibicija AChE i BChE je drastično smanjena, ali je $\text{TNF}\alpha$ inhibicija snažno povećana, što je dovelo do zaključka o važnosti π - π interakcija tienobenzotriazola za inhibiciju kolinesteraza. Spoj **56** ima najbolju inhibiciju proizvodnje $\text{TNF}\alpha$ s prosječnom vrijednošću IC_{50} od 2,2 μM , što ukazuje na važnost fleksibilne benzilne skupine na triazolu. SAR upućuje na to da je kombinacija dva heteroaromska prstena u aneliranoj strukturi presudna za inhibiciju kolinesteraze spojeva s prihvatljivom inhibicijom $\text{TNF}\alpha$ induciranog LPS. Također, za planiranje novih molekula u boljoj međusobnoj povezanosti protuupalnog i inhibicijskog djelovanja prema kolinesterazama, kombinacija planarnog naftalenskog sustava s dva heteroaromska prstena (tiofen i 1,2,3-triazol), metoksi-supstituentom i fleksibilnom, supstituiranom benzilnom skupinom, mogu biti smjer prema boljim eksperimentalnim rezultatima. Ovi obećavajući podaci o nizu malih organskih molekula pružili su nam (ponovno) potvrdu da su planarniji fotoprodukti snažniji i selektivniji inhibitori ChE s protuupalnim djelovanjem, a to je dobra polazna točka za daljnji dizajn i sintezu novih di-heterostilbena i njihovih odgovarajućih fotoprodukata potkrijepljenih računalnim studijama.

2.6. Sinteza i fotokemija tieno-triazolostilbena

Novi tienobenzotriazoli **63-68** pripremljeni su fotociklizacijom iz odgovarajućih triazolo-tienostilbena **63a-68a** (Shema 17). Triazolo-tienostilbeni **63a-68a**, kao smjese *cis*- i *trans*-izomera, pripremljeni su Wittigovom reakcijom prema opisanom postupku s umjerenim do dobrim iskorištenjima (45-60 %) [257,291] i prevedeni u nove tienobenzotriazole **63-68** kao nove biološke mete (Shema 17 i 18). Wittigove reakcije izvedene su koristeći 2-tienil-fosfonijevu sol u apsolutnom EtOH, uz natrijev etoksid kao bazu s različitim triazolnim aldehydima. Reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju 24 sata na sobnoj temperaturi s dušikovim balonom. Iako su spojevi **63** i **64**, poznati iz prethodnih ispitivanja [291], ponovno su pripremljeni jer njihovo inhibicijsko djelovanje nije ispitano zbog nedovoljnog broja uzoraka u prethodnoj analizi. U aerobnim uvjetima smjesa izomera spojeva **63a-68a** otopljena je u toluenu ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i osvijetljavana s 10 UV lampi na 313 nm u kvarcnoj kivetici uz dodatak katalitičke količine joda

2. Rezultati i rasprava

u fotokemijskom reaktoru Rayonet 3-5 sati kako bi se postigla gotovo potpuna pretvorba. Dobiveni fotoproducti **63-68** izolirani su u visokim iskorištenjima (Shema 17 i 18, 50-63 %) i potpuno okarakterizirani NMR spektroskopijom. Izolirana iskorištenja **63-68** iz fotokemijske reakcije prilično su slična bez obzira na supstituent na triazolnom prstenu i nema nusprodukata, dok su pretvorbe preko 90 %. Formiranje elektrociklizijskih fotoproducta **63-68** općenito je bilo popraćeno pojavom nekih produkata visoke molekulske mase, koji nisu istraženi. U ^1H NMR spektrima fotoproducta može se uočiti nestanak signala etenskih protona i pojedinačnih protona na 1,2,3-triazolnim prstenovima u usporedbi s početnim triazolo(tieno)stilbenima **63a-68a**.

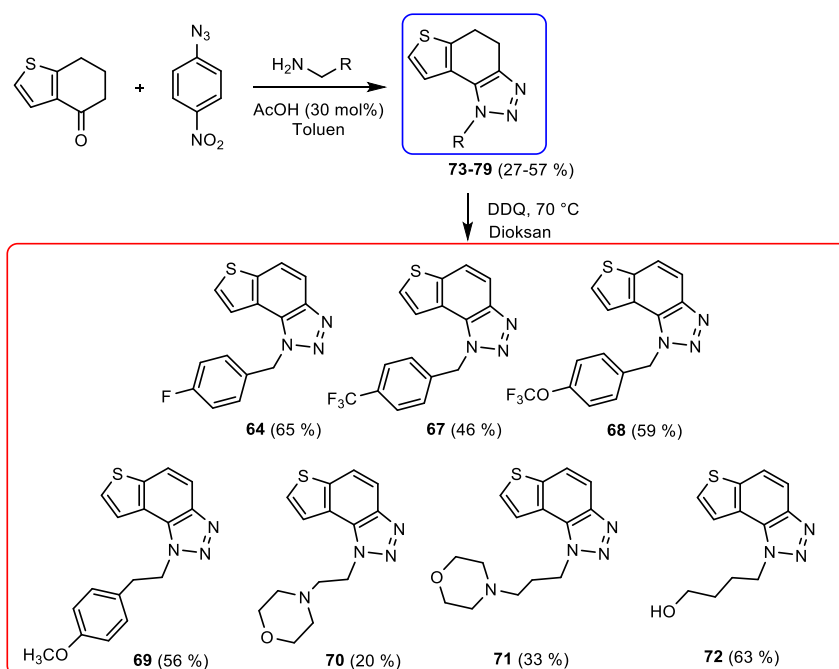


Shema 17. Reakcijski put za sintezu tienobenzo-triazola **63-68**. Brojevi navedeni u zagradama predstavljaju izolirana iskorištenja.

Za sintezu drugih također novih tienobenzo-triazola **64, 67-72** korišten je alternativni sintetski put (Shema 18) i uspoređen s fotokemijskom sintezom na primjeru fluorova derivata **64**. Reakcije su krenule od 4-keto-4,5,6,7-tetrahidrotianaftena otopljenog u toluenu, nakon čega slijedi dodavanje 1-azido-4-nitro-benzena, odgovarajućih amina i octene kiseline. Reakcijske smjese su miješane na 100 °C preko noći, ohlađene na sobnu temperaturu i obrađene. Dobiveni sirovi dihidro-tienobenzo-triazoli **73-79** su otopljeni u dioksanu i zatim je 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon dodan u otopinu. Reakcijske smjese su miješane na 70 °C. Nakon jedne noći, reakcijske smjese su ohlađene na sobnu temperaturu i obrađene. Prethodno istraživanje [291] pokazalo je da fotociklizacija nije uvijek uspješna ovisno o supstituentu na triazolnom prstenu. Stoga je razvoj drugog sintetskog pristupa dugoročno vrlo isplativ. Prema literaturi [292-294], u prvom koraku, reakcijski uvjeti su bili isti kao i dosad navedeni zatim je reakcijska

2. Rezultati i rasprava

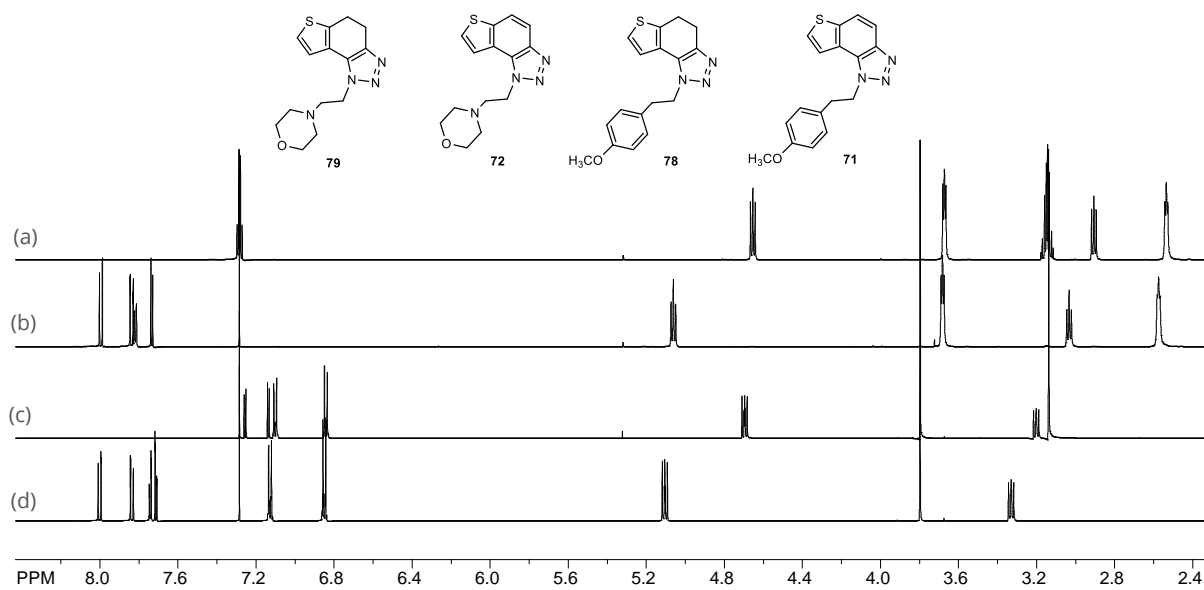
smjesa obrađena i pročišćena kako bi se dobili konačni produkti, nearomatizirani dihidro-tienbenzo-triazoli **73-79** (Shema 18, 27-57 %). U drugom koraku, dihidro-derivati **73-79** aromatizirani su upotrebom DDQ (2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon) u dioksanu miješanjem reakcijske smjese na 70 °C preko noći, zatim obradom i pročišćavanjem da se dobiju konačni produkti, aromatizirani tienbenzo-triazoli **64, 67-72** (Shema 18).



Shema 18. Reakcijski put za sintezu tienbenzo-triazola **64, 67-72** i njihovih nearomatiziranih polaznih spojeva **73-79** (brojevi navedeni u zagradama predstavljaju izolirana iskorištenja).

Dobiveni produkti **64, 67-72** su izolirani u umjerenim do dobrim izoliranim iskorištenjima (20-65 %) i potpuno okarakterizirani NMR spektroskopijom. U njihovim ¹H NMR spektrima može se utvrditi nestanak alifatskih protona u središnjem prstenu i dva nova dubleta za nove aromatske protone istog prstena u usporedbi s početnim nearomatiziranim analogima **73-79** (Slika 71). Za većinu derivata, izolirana iskorištenja u dva reakcijska stupnja (Shema 18) sličnih su raspona i načina sinteze preko fotociklizacije (Shema 17). Jedino je sinteza derivata alternativnim putem nešto manje učinkovita za spojeve **73** i **74** za prve korake i spojeve **70** i **71** za drugi stupanj sinteze (Shema 18). Specifično za sintezu derivata **64**, ukupno iskorištenje je nešto bolje za prvi sintetski put. Međutim, ovaj novi pristup putem kondenzacije i aromatizacije odnosi se na sve derivate i ostaje važan izbor u daljnjim istraživanjima.

2. Rezultati i rasprava



Slika 71. Usporedba ¹H NMR spektara (CDCl₃) ispitivanih spojeva a) **79**; b) **72**; c) **78**; d) **71**.

2.6.1. Inhibicijska aktivnost tienobenzona/nafto-triazola **63-79** prema enzimima kolinesterazama

Obzirom na obećavajuće rezultate prethodne studije [291], provedeno je ovo istraživanje u svrhu ispitivanja inhibicijske aktivnosti novosintetiziranih tienobenzona/nafto-triazola **63-79** prema enzimima kolinesterazama, prvenstveno BChE. Uvođenje novih supstituenata na triazolni prsten može pokazati postoji li dodatno poboljšanje biološke aktivnosti, te može li se identificirati odnos između strukture i inhibicijske aktivnosti u novoj skupini pripremljenih analoga. Dok je spoj **56** imao najbolju protuupalnu aktivnost od svih testiranih spojeva u prethodnoj seriji [291], on ne pokazuje inhibicijsku aktivnost prema kolinesterazama. Iz prethodno navedenih eksperimentalnih podataka može se zaključiti da protuupalni učinak spoja **56** nije uzrokovan inhibicijom kolinesteraze već nekom drugom metom, poput TNF α receptora, što tek treba dodatno istražiti. Međutim, spoj **54**, s deset puta slabijim protuupalnim djelovanjem od spoja **56**, jedan je od najboljih potencijalnih inhibitora kolinesteraza među svim do sada sintetiziranim nafto-triazolima (Tablica 13).

2. Rezultati i rasprava

Tablica 13. Izračunate IC₅₀ vrijednosti za spojeve **63-79**.

Spoj	Struktura	IC ₅₀ (μM) AChE	IC ₅₀ (μM) BChE	Spoj	Struktura	IC ₅₀ (μM) AChE	IC ₅₀ (μM) BChE
54		59,9	39,6	72		-	106,7
63		116,0	25,5	73		-	58,0
64		97,0	37,5	74		117,6	> 150
65		118,6	23,4	75		88,7	-
66		-	39,6	76		145,3	119,4
67		139,6	> 150	77		45,6	-
68		68,0	213,5	79		-	74,1
69		-	18,6	Galantamin		0,15	7,9

¹Spojevi **56**, **70**, **71** i **78** bili su neaktivni prema obje kolinesteraze.

Iako ima izvrsnu aktivnost, potrebno je dodatno poraditi na SAR kako bi se vidio učinak u eksperimentima koji se odnose na određenu patologiju, primjerice, upalu. Za nafto-triazole, prikladna kombinacija supstituenata na arilnom i triazolnom prstenu može dovesti do obećavajuće inhibicijske aktivnosti. Najbolju inhibiciju oba enzima među novopripremljenim tieno-benzo-triazolima **63-79** pokazao je spoj **64**, koji posjeduje *p*-flor-benzilni supstituent na triazolnom prstenu (Tablica 13).

2. Rezultati i rasprava

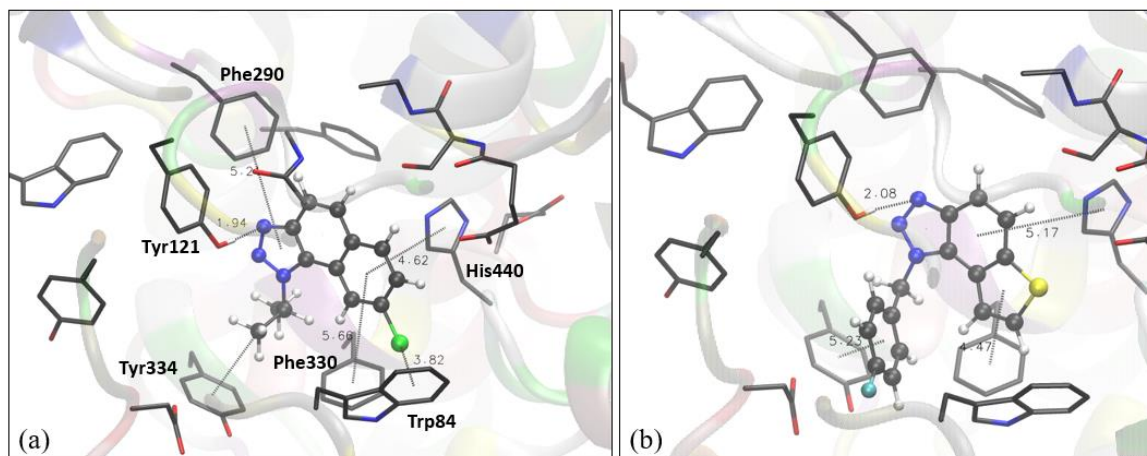
Usporedba molekula **64**, **67-72** s analogima **73-79** koji posjeduju nearomatski središnji prsten ukazuje na to da supstituent na triazolnom prstenu ima veći utjecaj na inhibicijsku aktivnost nego strukturna značajka povezana s time je li središnji prsten molekule aromatiziran. Vrijednosti IC_{50} za BChE spojeva **56**, **63**, **64**, **65**, **66**, **69** i **73** bile su slične komercijalnom, reverzibilnom inhibitoru enzima kolinesteraze, huperzinu (IC_{50} 53,6 μ M) [295] i samo nešto slabije od galantamina (IC_{50} 7,9 μ M).

U prijašnjim istraživanjima, *n*-propilni derivat tienobenzotriazola također je pokazao vrlo dobru inhibicijsku aktivnost prema BChE (IC_{50} 48,8 μ M), što je u rasponu gore navedenih vrijednosti. Analози **63**, **65** i **69** ističu se kao najučinkovitiji inhibitori BChE, spoj **69** je selektivan spoj prema BChE, pokazujući najintenzivniju inhibiciju među svim novim derivatima **63-79**. Od ova tri analoga tienobenzotriazola, dva imaju fenilnu *p*-OCH₃ skupinu na triazolnom prstenu (analози **63** i **69**), a treći najistaknutiji spoj **65** ima dodatnu tiofensku jezgru. Zanimljivo, što se tiče selektivne inhibicijske aktivnosti prema AChE, najbolju biološku aktivnost pokazao je dihidro-tienobenzotriazol **77** (ali ne i njegov aromatizirani analog).

2.6.2. Računalna studija tienobenzotriazola **63-79** kao inhibitora kolinesteraza

Među eksperimentalno evaluiranim spojevima koji pokazuju inhibicijsko djelovanje prema obje kolinesteraze, najbolji rezultati postigli su za naftotriazol **54** i tienobenzotriazol **64**. Najperspektivniji kandidat unutar ove klase aktivnih molekula bio je spoj **77**, dok je tienobenzotriazol **69** pokazao izvrstan inhibicijski potencijal prema BChE, kao što je prikazano u tablici 13. Proveli smo ispitivanje molekulskog pristajanja kako bismo identificirali stabilizacijske interakcije u kompleksima između spojeva s najboljim učinkom i aktivnog mjesta kolinesteraze. Strukture najstabilnijih kompleksa **54** i **64** s aktivnim mjestom AChE, prikazane su na slici 72. Koristili smo kristalnu strukturu dobivenu iz električne jegulje (*Electrophorus electricus*, 1EEA.pdb), ali treba uzeti u obzir da ova struktura ne reproducira u potpunosti točan slijed enzima kao kod električne jegulje. Zbog niske razlučivosti ove strukture, ona uključuje sekvencu aminokiselina preuzetu iz tercijarne strukture *Torpedo californica* AChE.

2. Rezultati i rasprava

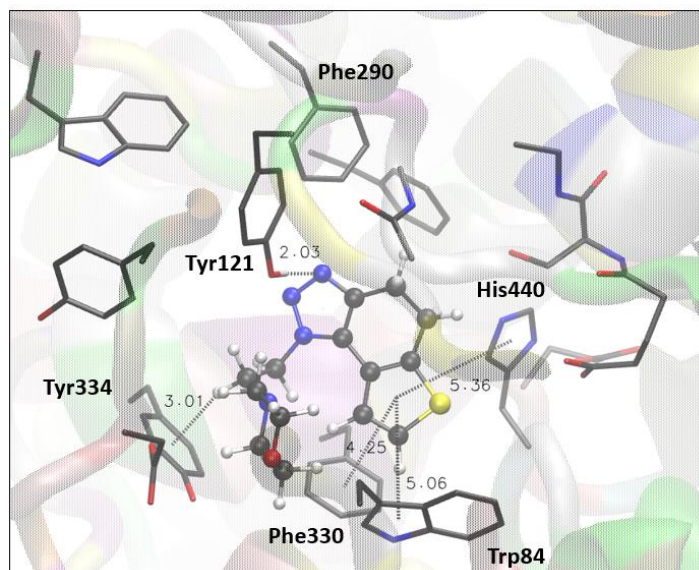


Slika 72. Struktura kompleksa između aktivnog mjesta AChE i nafto-triazola **54** (a) i tienobenzo-triazola **64** (b). Molekule potencijalnih inhibitora prikazane su pomoću modela kuglica i štapića.

Struktura kompleksa između nafto-triazola **54** i aktivnog mjesta AChE pokazuje nekoliko stabilizacijskih interakcija. Orijentacija triazola prema perifernom anionskom mjestu omogućuje stvaranje vodikove veze između jednog od dva nesupstituirana dušika u triazolnom prstenu i -OH skupine Tyr121. Snažne interakcije između triazola i Tyr121 detektirane su u ranijim studijama o AChE inhibitorima koji sadrže triazolni prsten [296-299]. Nadalje, izopropilna skupina na triazolu uključena je u π -alkilnu interakciju s Tyr334, drugim tirozinom perifernog anionskog mjesta. Identificirano je disperzivno privlačenje "face to face" između klorova liganda i Trp84: udaljenost između Cl i središta aromatskog prstena triptofana je 3,8 Å, s atomom ugljika (istog prstena) najbližim kloru na 3,5 Å od Cl. Razlika između ove dvije vrijednosti do 0,3 Å definira ovu Cl- π interakciju kao "face-on", dok se razlika veća od 0,3 Å klasificira kao "edge on" [300]. Konačno, također se opaža π - π interakcija između aromatske jezgre liganda i nekih ostataka: ostaci uključeni u to su His440, Phe330 i Phe290. Slika 72b prikazuje kompleks između tienobenzo-triazola **64** i aktivnog mjesta AChE. Slično strukturi **54** i AChE, formira se vodikova veza između triazolnog dušika i -OH skupine Tyr121. Fenilna jezgra liganda uključena je u π - π interakcije s His330, dok tiofenski prsten ostvaruje sličnu interakciju s Phe330. Fluorirani fenil kod triazola također je uključen u π - π interakcije s Tyr334.

Spoj **77**, najučinkovitiji potencijalni inhibitor AChE, ima nearomatsku središnju jezgru. Struktura **77** u aktivnom mjestu AChE (Slika 73) pokazuje da **77** zauzima položaj sličan kao **54** i **64**, s triazolnim prstenom usmjerenim prema perifernom anionskom mjestu. Stoga se ponovno javlja H-veza između triazolnog dušika i -OH skupine Tyr121.

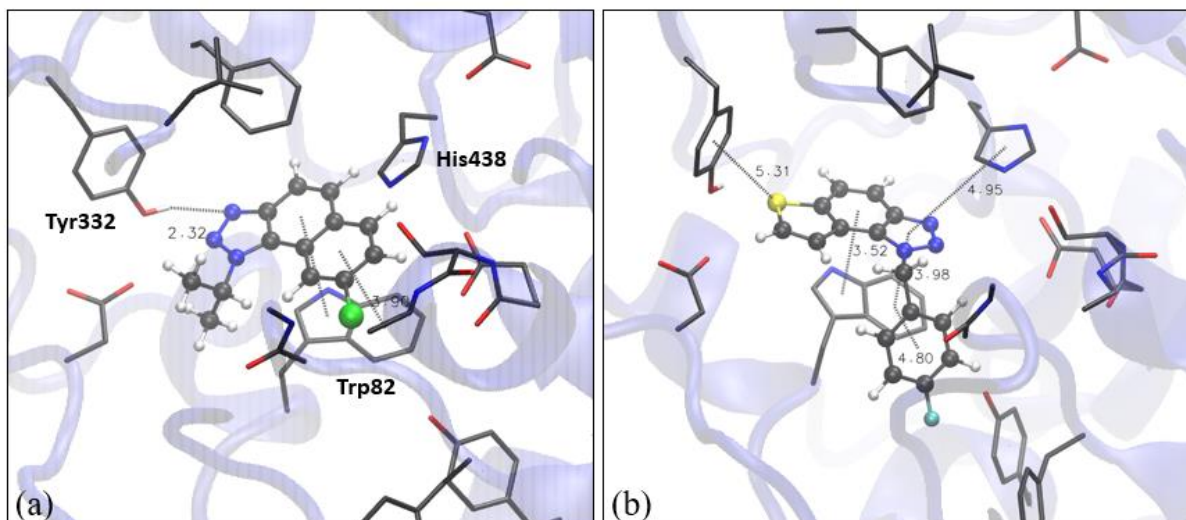
2. Rezultati i rasprava



Slika 73. Struktura kompleksa između spoja **77** (predstavljenog modelom kuglica i štapića) i aktivnog mjesta AChE. Vodici aminokiselinskih ostataka izostavljeni su radi preglednosti.

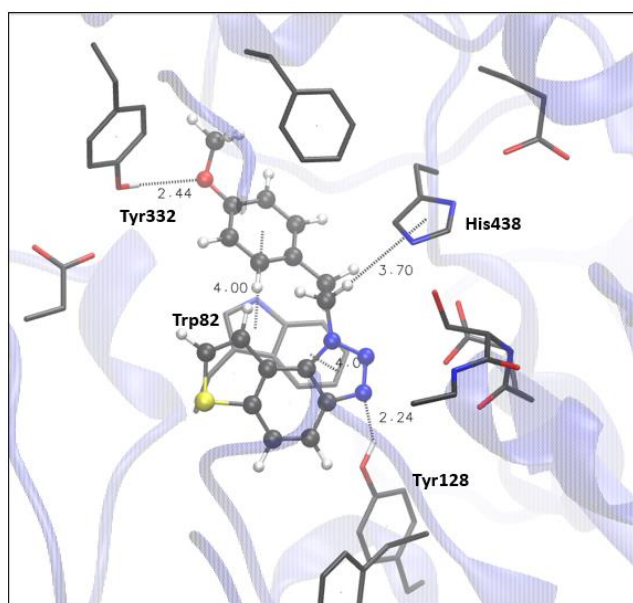
π -Alkilno privlačenje opaženo je između etilnog lanca na triazolu i Tyr334, dok tiofen ulazi u π - π interakcije s His440, Phe330 i Trp84. Kao što je već spomenuto, nafto-triazol **54** i tienobenzotriazol **64** bili su najaktivniji među spojevima koji su pokazali inhibicijski potencijal prema obje kolinesteraze, stoga je također analizirano molekulsko pristajanje **54** i tienobenzotriazola **64** u aktivno mjesto BChE. Ovdje je korištena strukturu humanog enzima. Strukture dobivenih kompleksa prikazane su na slici 74. Najstabilniji položaj dobiven umetanjem spoja **54** u aktivno mjesto BChE pokazuje da je, ponovno, formirana H-veza s jednim od tirozina (Tyr332) na perifernom anionskom mjestu. Dodatne stabilizacijske interakcije uključuju one π - π između naftalenske jezgre **54** i Trp82. Za molekulu **64** u BChE, H-veza(e) između jednog od nesupstituiranih triazolnih dušika i ostatka koji donira proton nije uočena, međutim, sumpor tiofena je uključen u interakciju s Tyr332. Preostali aromatski prstenovi liganda uključeni su u π - π interakcije s Trp82 i His440, kao što je prikazano na slici 74b.

2. Rezultati i rasprava



Slika 74. Struktura aktivnog mjesta BChE i nafto-triazola **54** (a) te tienobenzo-triazola **64** (b). Molekule potencijalnih inhibitora prikazane su pomoću modela kuglica i štapića.

Konačno, kandidat za inhibiciju BChE koji najviše obećava je spoj **69**, s izvrsnom eksperimentalnom vrijednošću IC_{50} (Tablica 13). Struktura kompleksa između aktivnog mjesta BChE i **69**, prikazana na slici 75, otkriva da postoje dvije moguće H-veze: jedna se formira između dušika triazola i hidroksila Tyr128 (analogno pojavi vodikove veze između dušika triazola i Tyr121 u AChE), a drugi je moguć zbog blizine kisika metoksi-skupine liganda i protona -OH skupine Tyr332. Prisutna je i π - π interakcija između triazolnog prstena liganda i ostatka Trp82, kao i π -alkilna interakcija između etila (koji povezuje triazol i metoksi-fenilni supstituent) i His438.



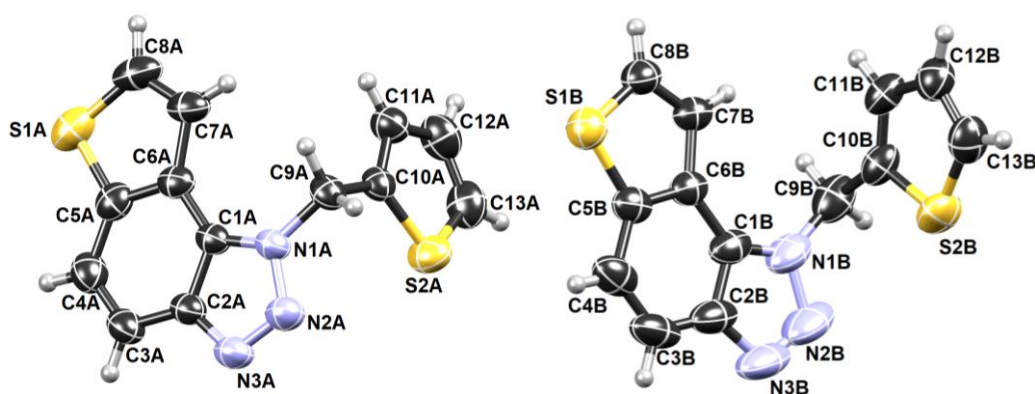
Slika 75. Struktura kompleksa između spoja **69** (predstavljenog modelom kuglica i štapića) i aktivnog mjesta BChE. Vodici aminokiselnih ostataka izostavljeni su radi preglednosti.

2. Rezultati i rasprava

Prema eksperimentalnim podacima u tablici 13, inhibicijski potencijal koji najviše obećava prema BChE pokazali su spojevi **54**, **63**, **64**, **65**, **66**, **69** i **73**. Analiza njihovih slobodnih energija vezanja (ΔG_{bind}) procijenjena molekulskim pristajanjem pokazuje da su usporedivi s galantaminom, čija je ΔG veza $-6,26 \text{ kcal mol}^{-1}$ dobivena istim postupkom. Slobodne energije vezanja za ove spojeve variraju od $-5,85 \text{ kcal mol}^{-1}$ za spoj **66** do $-6,37 \text{ kcal mol}^{-1}$ za molekulu **69**, a posljednji je čak malo niži od vrijednosti za galantamin. Međutim, treba uzeti u obzir da ispitivanje pristajanja daje samo grubu procjenu ΔG_{bind} i ne nudi točan termodinamički opis naših sustava. Rezultati ispitivanja pristajanja mogu pokazati mogućnosti smještanja liganada u aktivno mjesto. Oni mogu identificirati glavne interakcije između novih liganada i enzima, pomažući tako racionalizirati aktivnosti inhibitora promatrane eksperimentom. Ukratko, ovdje ispitani tienobenzo- i nafto-triazoli vezuju se u aktivnom mjestu kolinesteraza kroz H-veze koje uključuju jedan od dušikovih atoma triazola, π - π interakcijama između aromatskih dijelova liganada i aromatskih ostataka aktivnih mjesta kolinesteraza, kao i π -alkilnim interakcijama.

2.6.3. Kristalna struktura spoja **65**

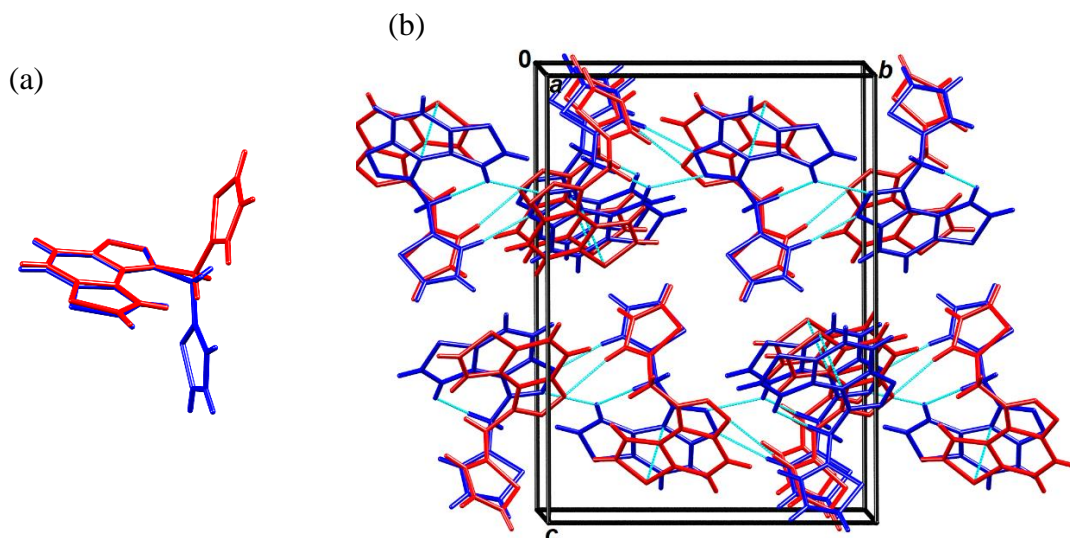
Uspješno je određena i kristalna struktura spoja **65** u suradnji s kolegama s *Instituta Ruđer Bošković*. Jedan je od najaktivnijih potencijalnih inhibitora BChE u ovom istraživanju, zbog čega dodatne informacije o njemu dobivaju na težini. Asimetrična jedinica spoja **65** sadrži dvije molekule neovisne o simetriji označene s A i B (Slika 76).



Slika 76. ORTEP-3 dijagrami dviju simetrično neovisnih molekula spoja **65**.

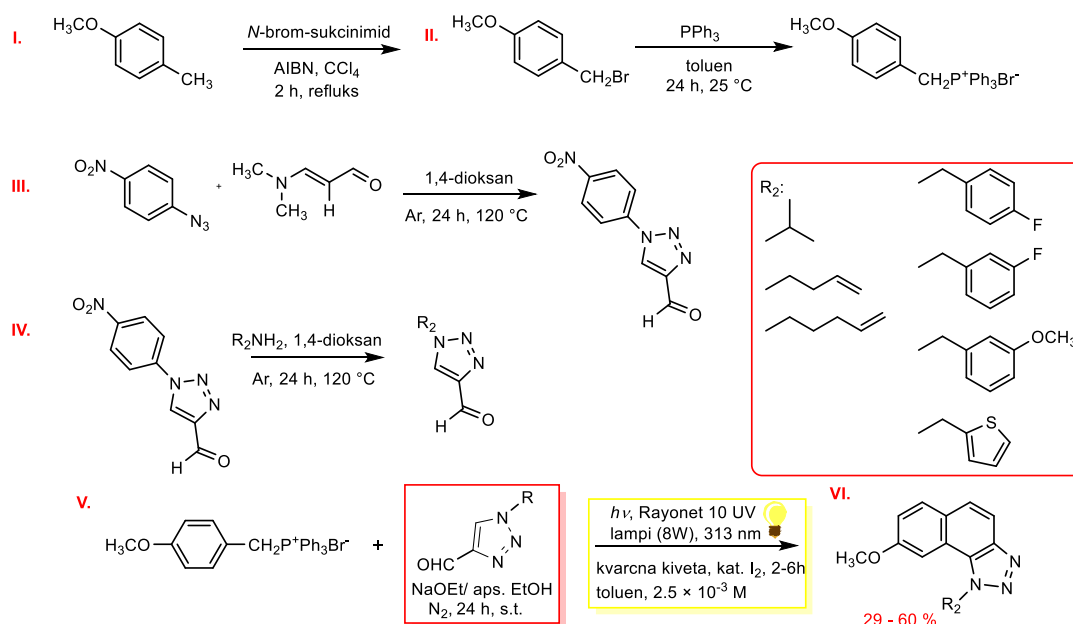
Njihove su konformacije slične enantiomerima (Slika 77a). Molekule se slažu u stupce paralelne s osi a naizmjenično (...ABAB...) (Slika 77b). Pakiranja su povezana slabim C-H...N vodikovim vezama.

2. Rezultati i rasprava



Slika 77. (a) Prekrivanje molekula A (crveno) i B (plavo); (b) Pakiranje kristala gledano približno u smjeru osi a. Molekule A su crvene, B su plave, a kratki međumolekulski kontakti (slabe vodikove veze i π -interakcije) prikazani su tirkiznim linijama.

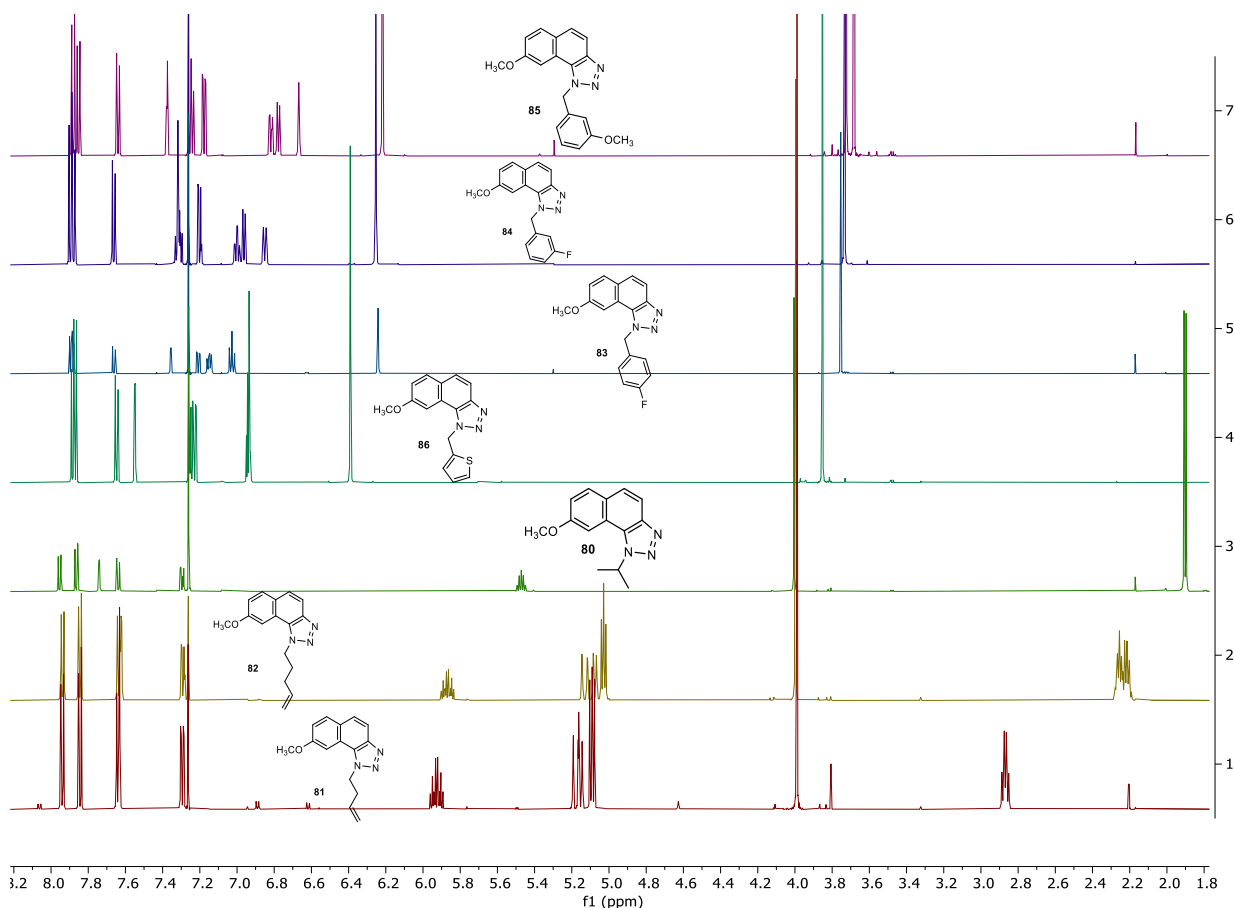
U istu svrhu sintetizirani su Wittigovom reakcijom i polazni spojevi **80a-86a** kao smjese izomera (Shema 19), koji su u ^1H NMR spektrima pokazali karakteristične etenske protone za *cis*- i *trans*-izomere, međutim nisu kolonski razdvajane smjese jer se sa smjesama izomera išlo dalje u reakciju fotokemijskog osvjtljavanja kako bismo ciljano dobili elektrociklizijske produkte **80-86**. Elektrociklizijski produkti su u potpunosti izolirani i okarakterizirani spektroskopskim metodama.



Shema 19. Sintetski put novih triazolnih derivata i fotokemijska sinteza njihovih fotoprodukata.

2. Rezultati i rasprava

Kod njihovih ^1H NMR spektara vidimo dublete u aromatskom području karakteristične za fotoprodukte. Također, ^{13}C NMR spektri kao i HRMS analize dokazuju navedene strukture. Na slici 79 prikazani su ^1H NMR spektri za nekoliko derivata. Sintetizirani fotoprodukti **80-86** su trenutno na biološkim ispitivanjima.



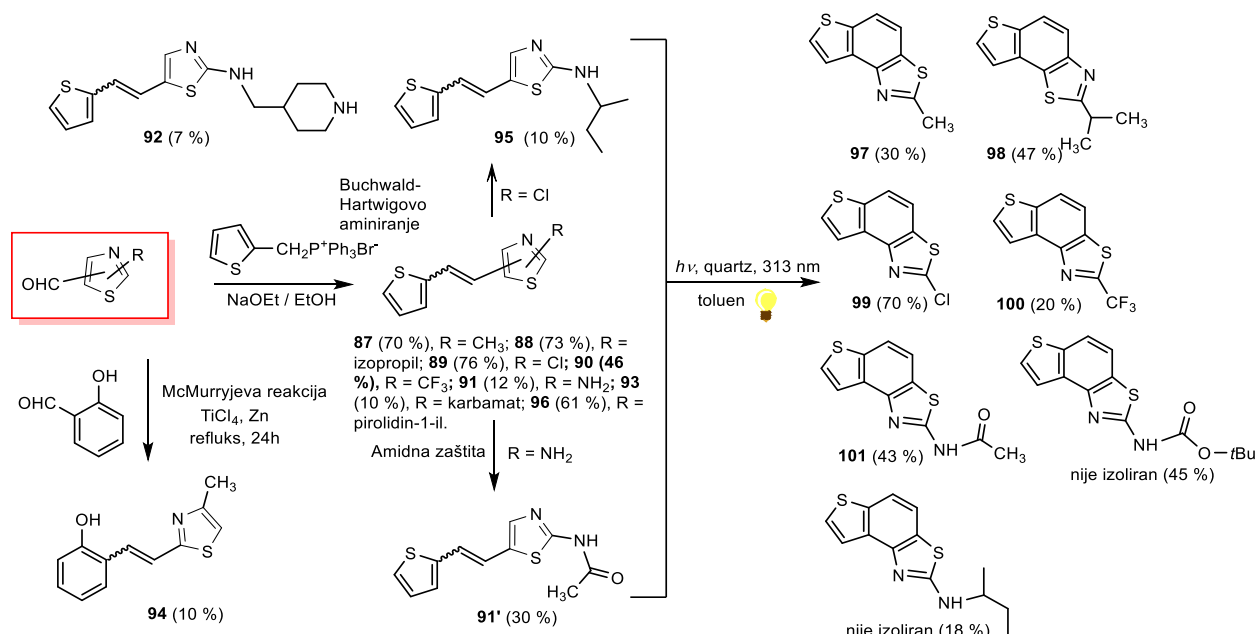
Slika 79. ^1H NMR spektri spojeva **80-86**.

2.7. Sinteza i fotokemija tiazolostilbena

Tiazolo-stilbeni **87-96** dobiveni su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (Shema 20), neki od njih Wittigovom reakcijom (**87-91**, **93** i **96**) ili alternativnim putevima. Tiazol-2-amini **92** i **95** sintetizirani su iz derivata klora **89** Buchwald-Hartwigovim aminiranjem, dok je tiazolo-stilben **94** dobiven McMurryjevom reakcijom. Iskorištenja produkata Wittigovih reakcija kao smjesa izomera bili su do 76 %. U nekim slučajevima, čisti izomeri su uspješno odvojeni (**87-91** i **94**) i spektroskopski okarakterizirani. Iskorištenja u Buchwald-Hartwigovim reakcijama bila su 7 % (**92**) i 10 % (**95**), dok je McMurryjeva reakcija provedena u 10 % iskorištenju, gdje je izoliran samo *trans*-izomer spoja **94**. Kod ^1H NMR spektara izoliranih geometrijskih izomera, vidljivi

2. Rezultati i rasprava

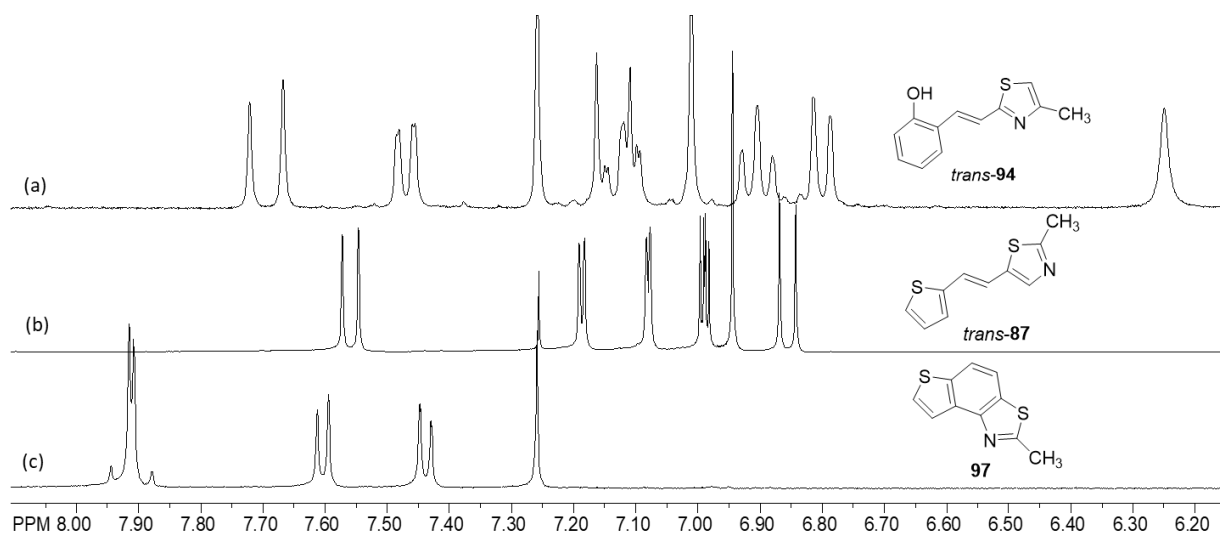
su dubleti etenskih protona s karakterističnim konstantama spreznja, signali za protone na različitim supstituentima i singleti za protone na 1,3-tiazolnom prstenu.



Shema 20. Reakcijski put za sintezu tieno-tiazolostilbena **87-91** i tienobenzo-tiazola **97-101**. Postoci u zagradama predstavljaju iskorištenja u reakcijama za spojeve **87-96**, te izolirana iskorištenja za spojeve **97-101**.

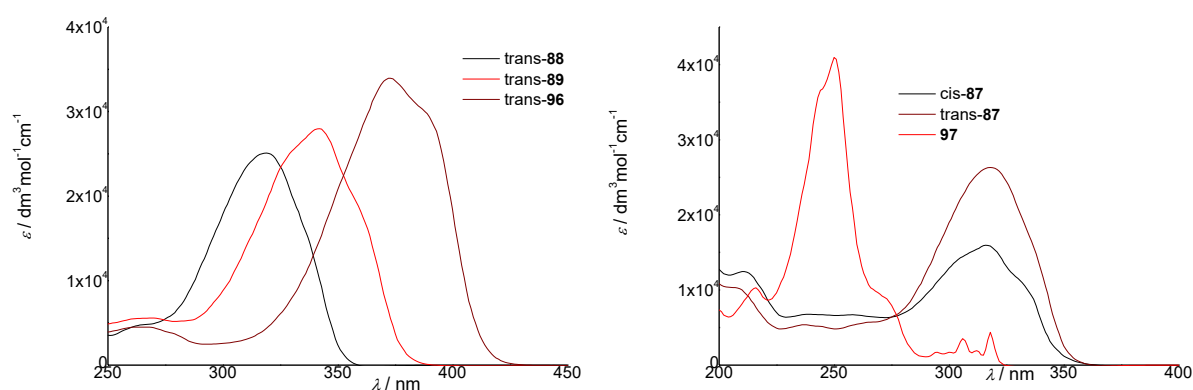
Daljnji cilj istraživanja bio je prevođenje uspješno dobivenih novih tieno-tiazolostilbena u njihove elektrociklizijske produkte tienobenzo-tiazole (Shema 20) kao nove biološke mete. U aerobnim uvjetima smjesa izomera spojeva **87-91** i **91'** otopljena je u toluenu ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i osvjetljavana s 10 UV lampi na 313 nm u kvarcnoj kiveti uz dodatak katalitičke količine joda tijekom 1-5 sati za postizanje gotovo potpune pretvorbe. Polazni spojevi **87-91** i **91'** pokazali su se reaktivnima kod sinteze fotoprodukata **97-101** u izoliranim iskorištenjima od 10-70 %, ovisno o supstituentima. Polazni spojevi **92** i **94** bili su neaktivni u nastajanju fotoprodukta elektrociklizacije. Svi izolirani tienobenzo-tiazoli **97-101** potpuno su spektroskopski okarakterizirani. U njihovim ^1H NMR spektrima **87-96** mogli su se identificirati signali etenskih protona. Nestanak signala za etenske protone za fotoprodukte **97-101** u usporedbi s početnim tieno-tiazolostilbenima također je jasno zapažen. Fotokemijska reakcija **97-101** općenito je bila praćena pojavom nekih produkata visoke molekulske mase, koji su ostali na kromatografskim stupcima i nisu dalje ispitivani.

2. Rezultati i rasprava



Slika 80. Ključni dijelovi ¹H NMR spektara *trans*-94 (a), *trans*-87 (b) i 97 (c).

UV/Vis spektri u acetonitrilu (Slika 80) predstavnika *trans*-izomera tipični su za diari-letene [13,14] s jakim maksimumima apsorpcije između 318–373 nm (Slika 81). Vrijednosti λ_{\max} fotoprodukata su oko 250 nm (Slika 81, desni dio).

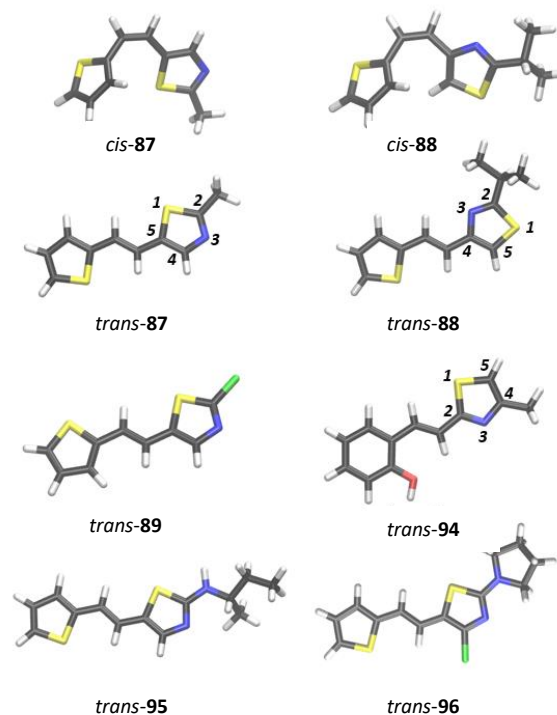


Slika 81. UV/Vis spektri (ACN) tiazolostilbena *trans*-88, *trans*-89 i *trans*-96 (lijevo) i *cis*-87, *trans*-87 i njihov produkt elektrociklizacije 97 (desno).

2.7.1. Računalno ispitivanje tiazolostilbena

Računalno smo ispitali konformacije izoliranih *cis*- i *trans*-izomera tieno-tiazolostilbena (*cis*-87, *cis*-88, *trans*: 87-89, 94-96) i tienobenzotiazola 97-101, koristeći M06-2X/6-31G(d) model. Optimizirane geometrije najstabilnijih konformera prikazane su na slikama 82 i 83.

2. Rezultati i rasprava

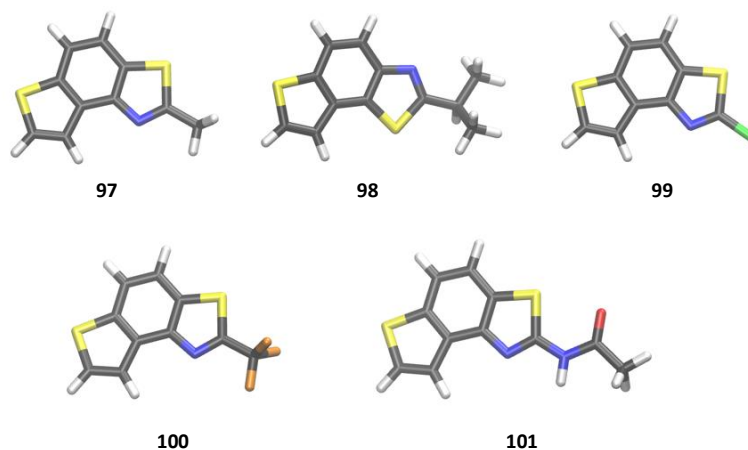


Slika 82. Najstabilniji konformeri izoliranih *cis*- i *trans*-izomera tieno-tiazolostilbena. Geometrije su optimizirane na razini teorije M062X/6-31G(d).

Svi proučavani tieno-tiazolostilbeni imaju zajednički skelet koji se sastoji od tri podjedinice: tiazolnog prstena, središnjeg etenskog dijela i tiofena, osim za *trans*-**94**, gdje je tiofen zamijenjen s 2-hidroksifenilom.

Treba napomenuti da je u spojevima **87**, **89**, **95** i **96** tiazol supstituiran s 2-tiofen-2-il-vinilom na položaju 5 (kao što je označeno na slici 82), spoj **88** ima 2-tiofen-2-il-vinil na položaju 4 tiazola, dok je u **94** supstituent (koji posjeduje 2-hidroksifenilni dio umjesto tiofena) postavljen na položaj 2. Za sve *trans*-izomere tieno-tiazolostilbena, najstabilnija je konformacija ona gdje su sve podjedinice koplanarne, što omogućuje učinkovitu konjugaciju π -elektrona. Nije iznenađujuće da *cis*-izomeri nisu planarni zbog steričkih smetnji uzrokovanih blizinom tiofena i tiazola u ovoj konfiguraciji. Čak i u najstabilnijem konformeru *cis*-**87**, gdje je jedan od vodika iz tiofena usmjeren prema tiazolnom sumporu, planarnost se ne može postići jer je ta vodikova veza preslaba da bi nadvladala steričke smetnje. Optimizirane geometrije uspješno izoliranih produkata fotociklizacije **97-101** prikazane su na slici 83. Njihove se strukture koriste za izračunavanje UV/Vis spektrara. Očekivano, orijentacija podjedinice tiazola u spoju **98** je drugačija nego u drugim izoliranim tienobenzo-tiazolima zbog različitog položaja 2-tiofen-2-il-vinila u polaznom spoju **88**.

2. Rezultati i rasprava



Slika 83. Geometrija izoliranih tienobenzo-tiazola **97-101**, optimizirana na razini teorije M062X/6-31G(d).

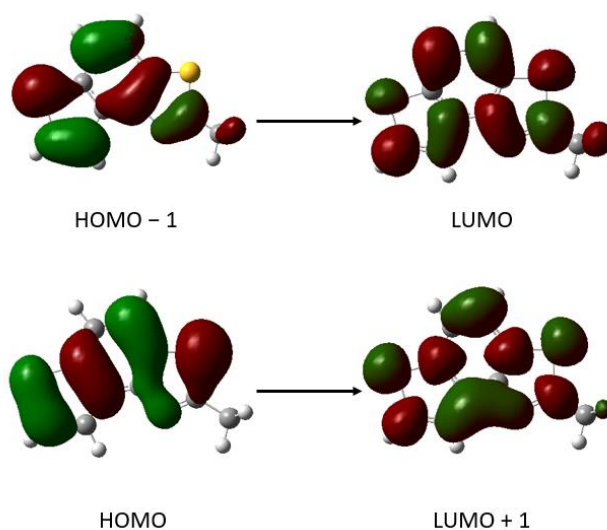
UV/Vis spektri sintetiziranih i izoliranih spojeva snimljeni su u acetonitrilu. Kako bismo otkrili koje orbitale sudjeluju u prijelazima promatranim u izmjerenim spektrima, proveli smo izračune korištenjem vremenski ovisne teorije funkcionala gustoće (TD-DFT) za molekule čiji su eksperimentalno dobiveni UV/Vis spektri prikazani na slici 81. Perturbacijska jednadžba ovisna o vremenu temeljena na Runge-Grossovom teoremu [266] riješena je za 20 pobuđenih singletnih stanja za svaku od molekula. Rezultati su prikazani u tablici 14.

Tablica 14. Eksperimentalne i izračunate vrijednosti λ_{\max} tieno-tiazolostilbena (*cis*-**87**, *trans*-**87**, **88**, **89**, **96**) i tienobenzo-tiazola **97-101** zajedno s glavnim prijelazima dobivenim proračunima. Upotrijebljen je računalni model (CPCM)TD-PBEh1PBE/6-31+G(d) (u acetonitrilu), s geometrijama optimiziranim na razini teorije M06-2X/6-31G(d). H i L označavaju najvišu zauzetu odnosno najnižu praznu molekulsku orbitalu.

Spoj	$\lambda_{\max}^{\text{eksp}}/\text{nm}$	$\lambda_{\max}^{\text{izrač}}/\text{nm}$	Prijelaz
<i>trans</i> - 88	318	328	H \rightarrow L
<i>trans</i> - 89	342	357	H \rightarrow L
<i>trans</i> - 96	373	384	H \rightarrow L
<i>cis</i> - 87	315	323	H \rightarrow L
<i>trans</i> - 87	320	349	H \rightarrow L
97	249	245	H - 1 \rightarrow L H \rightarrow L + 1
98	251	242	H - 1 \rightarrow L H - 1 \rightarrow L + 1
99	214	203	H - 1 \rightarrow L + 4
100	213	204	H - 1 \rightarrow L + 3
101	221	211	H - 1 \rightarrow L + 2

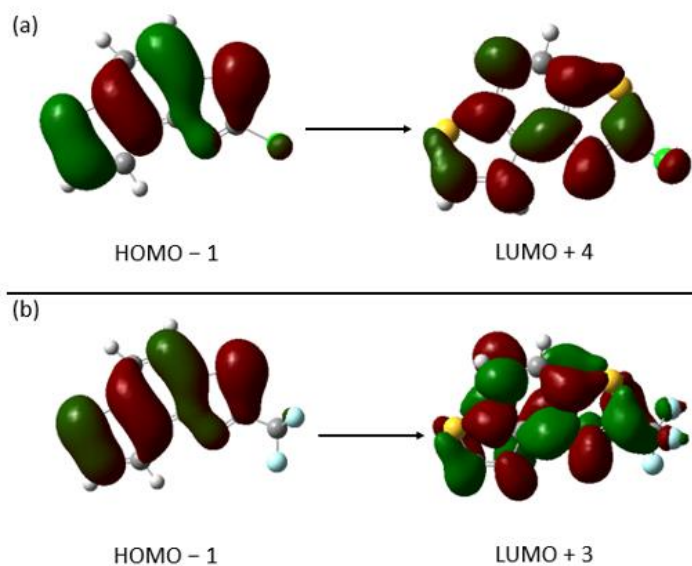
2. Rezultati i rasprava

Prema podacima iz tablice 14, za tieno-tiazolostilbene, izračunati podaci su pomaknuti prema višim vrijednostima λ_{\max} za 8 do 15 nm, s još jednim značajnim odstupanjem od 29 nm utvrđenim za spoj *trans*-**87**. U spektrima produkata fotociklizacije **97-101**, podudaranje između eksperimentalnih i računskih rezultata je vrlo dobro, položaji maksimuma apsorpcije u izračunatim spektrima razlikuju se za ~10 nm od eksperimentalnih podataka. Smjer ovog odstupanja je dosljedan, tako da možemo pretpostaviti da su računalno predviđeni prijelazi pouzdani. Prijelaz odgovoran za maksimum apsorpcije u spektrima tieno-tiazolostilbena uvijek je HOMO u LUMO. Za spoj **87** prijelaz između HOMO u LUMO+1 je najrelevantniji, s doprinosom od 73 %. Drugi prijelaz koji doprinosi ovom maksimumu apsorpcije od 27 % je HOMO-1 u LUMO. U izračunatom spektru spoja **88** pronađena su dva glavna prijelaza koja odgovaraju prijelazima u spektru spoja **87**, s doprinosom od 33 odnosno 49 %. Međutim, također su utvrđena dva manje značajna dodatna prijelaza s najviše zauzete orbitale na LUMO (10 %) i LUMO+1 (8 %). Slika 84 prikazuje orbitale koje sudjeluju u prijelazima u izračunatim spektrima spoja **87**. Baš kao što je utvrđena sličnost između eksperimentalnih spektara **87** i **88**, orbitale uključene u glavne prijelaze za spoj **88** analogne su orbitalama spoja **87**.



Slika 84. Molekulske orbitale uključene u glavne prijelaze u izračunatim spektrima spoja **87**.

Za spojeve **89** i **90**, gdje je supstituent na tiazolnom prstenu klor, odnosno $-\text{CF}_3$ skupina, izračuni predviđaju da dominantni prijelaz odgovoran za položaj maksimuma apsorpcije uključuje vrlo visoke virtualne orbitale (LUMO + 4 i LUMO + 3). Predstavljene su na slici 85. U spektru spoja **91'**, prijelazi odgovorni za maksimum apsorpcije otkrivaju da je amidna skupina na tiazolu uključena u prijelaze, što je bilo očekivano zbog njezine koplanarnosti s osnovnim skeletom.



Slika 85. Molekulske orbitale uključene u glavne prijelaze u izračunatim spektrima spojeva **89** (a) i **90** (b).

2.7.2. Inhibicijsko djelovanje tiazolostilbena, tienobenzo-tiazola i nafto-oksazola prema enzimima kolinesterazama

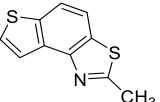
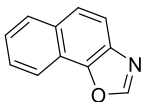
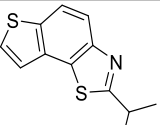
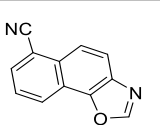
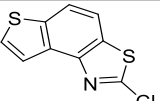
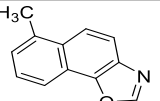
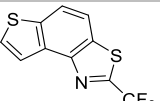
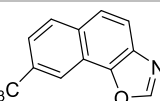
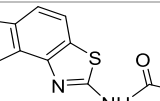
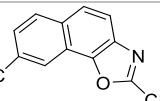
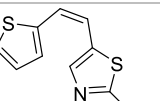
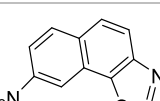
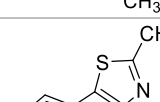
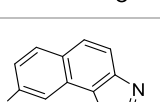
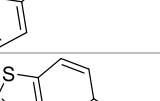
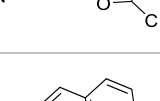
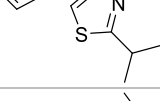
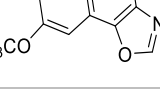
Svi gore opisani čisti derivati sintetizirani u dovoljnim količinama procijenjeni su na inhibicijsku aktivnost prema kolinesterazama prema modificiranoj Ellmanovoj metodi. Ispitivani spojevi mogu se podijeliti u tri skupine: tieno-tiazolostilbene, tienobenzo-tiazole (produkti fotociklizacije tieno-tiazolostilbena) i nafto-oksazole, koji su ranije objavljeni, ali nisu ispitani na inhibicijsku aktivnost [175]. Ključne odrednice kod ispitivanja SAR su tip heterocikličkog prstena, geometrija molekule i, gdje je moguće, tip i položaj supstituenta. Ispitivani spojevi bili su aktivni samo prema BChE, a rezultati su prikazani u tablici 15 i na slikama 86 i 87. Među derivatima stilbena najbolji rezultat postigao je derivat s fenolnim prstenom *trans*-**94** i derivat tiofena *trans*-**87** (Tablica 15, Slika 87). Štoviše, fenolni derivat je najaktivniji od svih ispitanih tiazola. Zamjena fenola iz *trans*-**94** tiofenom u *trans*-**87** smanjuje vrijednost IC₅₀ za sedam puta. Zamjena metilne skupine iz *trans*-**87** izopropilnom skupinom u *trans*-**88** (zajedno s inverzijom položaja sumpora i dušika) također smanjuje aktivnost.

Nadalje, promjena u geometriji s *trans*-**87** na *cis*-**87** također je smanjila inhibicijsku aktivnost, kao što je i ranije uočeno [291]. Ostali ispitani derivati stilbena bili su neučinkoviti inhibitori (*cis*-**87**, *trans*-**89** i **91**). Ograničena topljivost spojeva **95** i *trans*-**96** nije dopuštala mjerenja pri višim koncentracijama. Tri od pet testiranih produkata elektrociklizacije postigla su vrijednost IC₅₀, i to onaj s metilnim supstituentom **97**, klorom **99** i trifluorometilom **100**

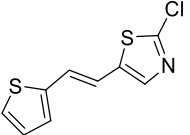
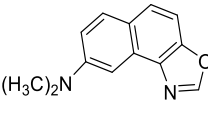
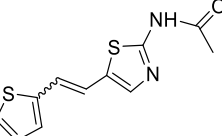
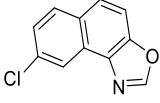
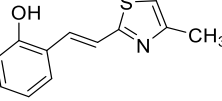
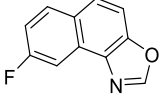
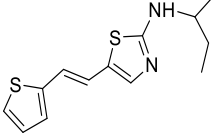
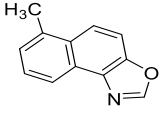
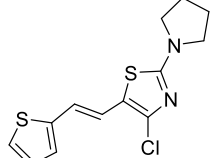
2. Rezultati i rasprava

(Tablica 15, Slika 86). Derivati **89** i **90** imaju vrlo dobru inhibicijsku aktivnost s IC_{50} vrijednostima u rasponu huperzina A ($IC_{50} = 53,6 \mu M$), dok metilni supstituent dvostruko smanjuje aktivnost. Stilben *trans*-**89** i njegov fotoprodukt **99** pokazuju kako je planarna geometrija slična naftalenu aktivnija od one stilbena, što je već primijećeno u sličnim istraživanjima stilbena/naftalena [263,288,291]. Usporedba tiofen-tiazola s prethodno proučavanim tiofen-triazolima pokazuje da su fotoprodukti tiofen-triazoli mnogo uspješniji inhibitori obje kolinesteraze, BChE i AChE. Čini se kako je vrsta heterocikličkog prstena ključna za aktivnost.

Tablica 15. Izračunate IC_{50} vrijednosti i postoci inhibicije za tiazole **87-89**, **91'**, **95**, **96** i **97-101** i oksazole **19'-31'**.

Spoj	Struktura	IC_{50} (μM) BChE	Inhibicija (%) ^a	Spoj	Struktura	IC_{50} (μM) BChE	Inhibicija (%) ^a
97		107,3	79,1 (500)	19'		–	0,9 (188,0)
98		–	46,8 (200)	20'		–	40,9 (176,0)
99		51,1	75,4 (250)	21'		350,7	57,8 (396,8)
100		41,9	70,8 (200)	22'		154,7	63,3 (173,6)
101		–	24,9 (250)	23'		44,4	98,3 (368,6)
<i>cis</i> - 87		–	36,4 (500)	24'		137,4	64,9 (201,7)
<i>trans</i> - 87		181,4	64,0 (500)	25'		–	16,8 (159,5)
<i>cis</i> - 88		–	45,5 (250)	26'		–	38,0 (273,6)
<i>trans</i> - 88		–	45,8 (250)	27'		170,2	81,9 (405,2)

2. Rezultati i rasprava

<i>trans</i> - 89		–	10,0 (250)	28'		183,9	82,2 (364,2)
91'		–	30,6 (250)	29'		–	32,6 (312,3)
<i>trans</i> - 94		25,2	80,5 (250)	30'		127,7	69,9 (315,8)
<i>trans</i> - 95		– ^{b)}	47,7 (100)	31'		–	20,6 (297,5)
<i>trans</i> - 96		– ^{b)}	25,3 (100)	Huperzin A		53,4	

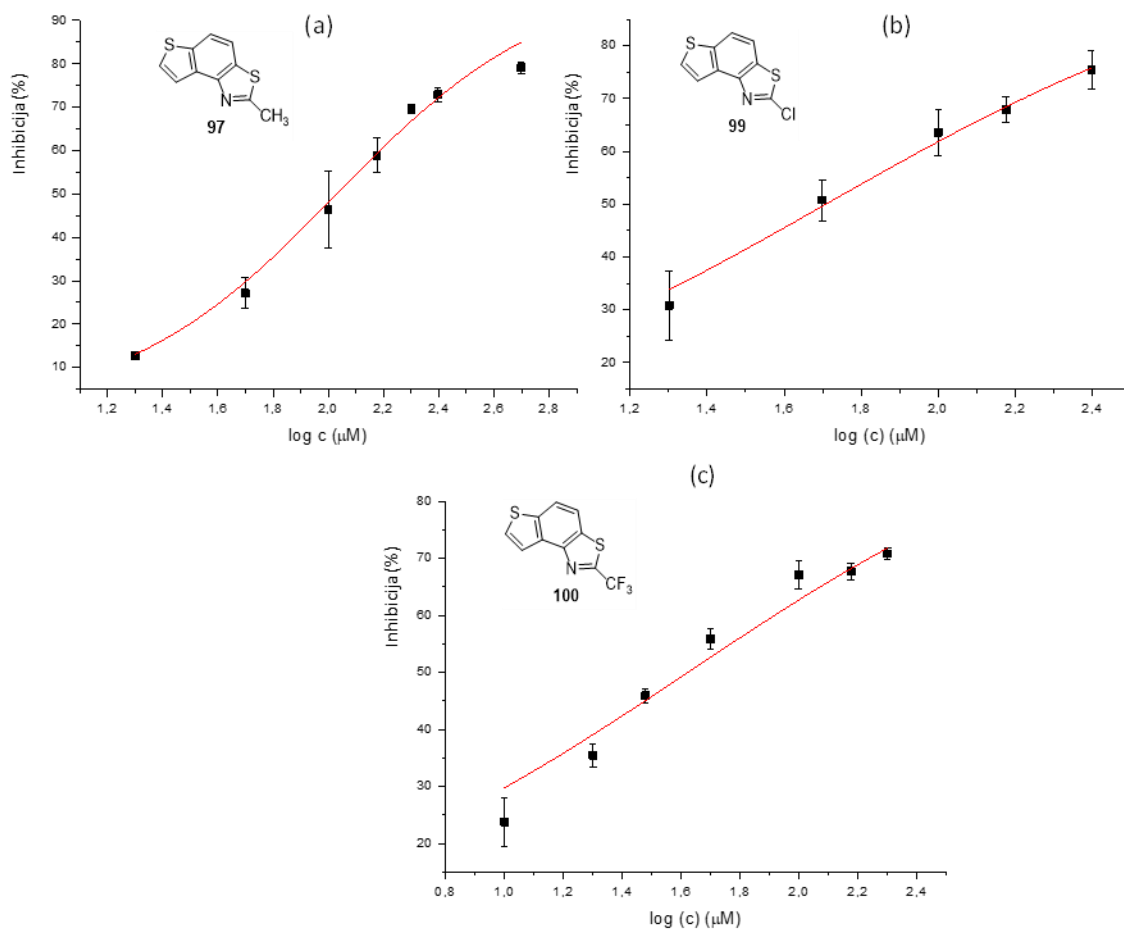
^{a)} Koncentracije u μM dane su u zagradama za maksimalni izmjereni učinak.

^{b)} Za spojeve *trans*-**95** i *trans*-**96** nije bilo moguće odrediti vrijednosti IC_{50} zbog obojenosti uzoraka.

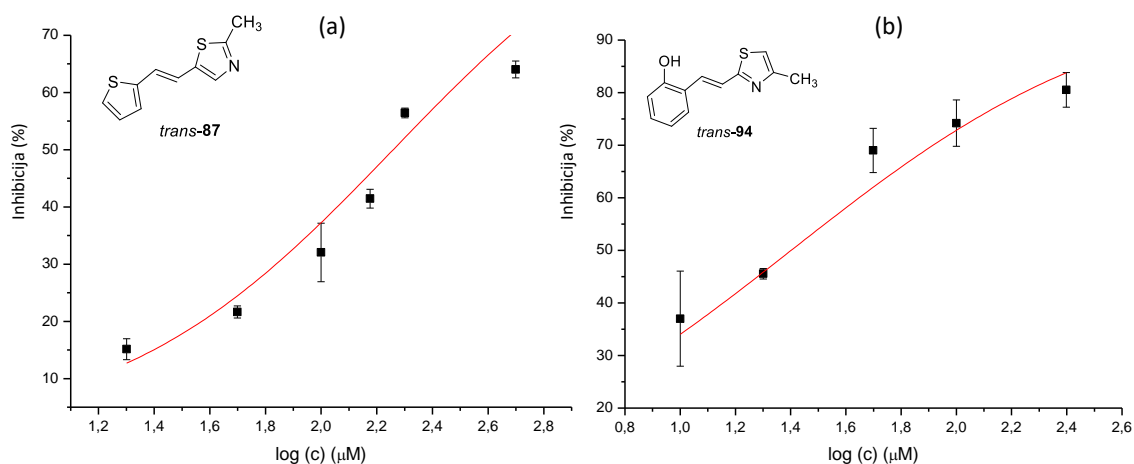
Spojevi **19'**–**31'**, koji posjeduju oksazolni prsten, također su pokazali slabu inhibicijsku aktivnost prema AChE. Jedini spoj s oksazolom koji je pokazao određeno djelovanje prema AChE je molekula **24'** (s IC_{50} vrijednošću od 130,8 μM i 63,8 % inhibicije na 201,7 μM). Nafto-oksazol **23'** pokazao je najbolju inhibicijsku aktivnost prema BChE. Uspoređujući podatke za molekule **21'**, **22'** i **23'**, vidljivo je da položaj metilne skupine utječe na aktivnost, pri čemu **22'** ima dvostruko veću aktivnost od **21'**, dok je spoj **23'**, koji ima dodatnu metilnu skupinu na svom peteročlanom prstenu, pokazao tri puta veću inhibicijsku aktivnost od **22'**. Spoj **24'**, posjeduje nitro-skupinu na istom položaju na kojem je metilna skupina kod spoja **22'** što je samo malo poboljšalo inhibicijsku aktivnost.

Supstitucija s metoksi- i dimetilamino-skupinom kod spojeva **23'**, odnosno **25'**, uzrokuje smanjenje inhibicijske aktivnosti. Spoj **27'**, s obrnutim položajem atoma O i N u svom peteročlanom prstenu, pokazao je blago višu aktivnost u usporedbi s analognim nafto-oksazolom iz prethodnog istraživanja [175]. Uspoređujući spojeve **28'** i **30'** s prethodno ispitanim nafto-oksazolima, također je vidljivo malo bolje inhibicijsko djelovanje.

2. Rezultati i rasprava



Slika 86. Krivulja inhibicije BChE za **97** (a), **99** (b) i **100** (c).



Slika 87. Krivulja inhibicije BChE za *trans*-**87** (a) i *trans*-**94** (b).

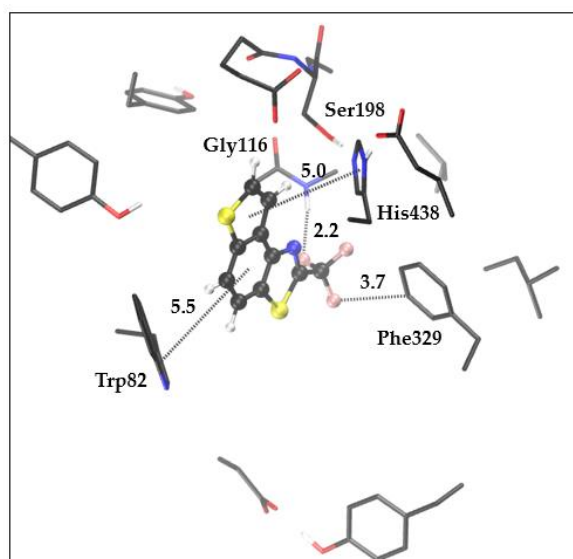
Usporedba ovdje proučavanih tienbenzo-tiazola i nafto-oksazola pokazuje da ove dvije vrste spojeva dijele značajne sličnosti vezane uz prisutnost tiazolnog, odnosno oksazolnog prstena. Oba proučavana tipa spojeva neaktivna su prema AChE, njihova inhibicijska aktivnost

2. Rezultati i rasprava

prema BChE ovisi o supstituentu na tiazolnom ili oksazolnom prstenu, a najbolji rezultati postižu se u istom rasponu koncentracija.

2.7.3. Molekulsko pristajanje

Za spojeve koji su pokazali inhibicijski potencijal prema BChE, proveli smo studiju molekuskog pristajanja kako bismo vizualizirali moguće konformacije spojeva unutar aktivnog mjesta BChE i identificirali stabilizacijske interakcije između aktivnog mjesta enzima i ispitivanih molekula. Kako bismo procijenili i ispitali rezultate predložene molekulskim pristajanjem, izvršili smo dodatne optimizacije geometrije aktivnog mjesta i odabranih spojeva, koristeći kvantno-mehanički pristup klastera [280]. Za svaki ispitivani sustav odabrana je struktura s najnižom procijenjenom slobodnom energijom vezanja i pripremljena za QM optimizaciju. Tijekom optimizacije, α -ugljikovi atomi ostataka u aktivnom mjestu držani su fiksni, što je omogućilo očuvanje arhitekture aktivnog mjesta u enzimu [280]. Strukture su optimizirane na razini teorije (CPCM)B3LYP/6-31G(d), s dielektričnom konstantom $\epsilon = 4$. Među tieno-tiazolostilbenima, spoj **100** pokazao je najbolju inhibicijsku aktivnost prema BChE. Optimizirana struktura kompleksa formiranog između molekule **100** i aktivnog mjesta BChE prikazana je na slici 88.

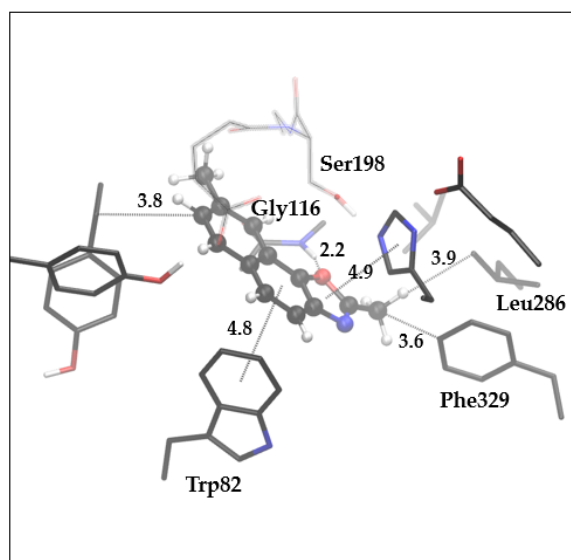


Slika 88. Optimizirana struktura kompleksa između aktivnog mjesta BChE i molekule **100**. Udaljenosti su izražene u Å. Atomi vodika i ostataka nisu prikazani radi preglednosti.

Prisutnost trifluorometilne skupine omogućuje njegovu hidrofobnu interakciju s Phe329. U isto vrijeme, zbog sposobnosti fluora da sudjeluje u polarnim interakcijama, orijen-

2. Rezultati i rasprava

tacija trifluorometilne skupine rezultira vodikovom vezom unutar drugog fluora kod $-CF_3$ i vodika koji pripada peptidnoj vezi između Gly116 i Gly117. Ova orijentacija liganda također omogućuje uključenost tiofenskog prstena u π - π interakcije s His438, dok središnji položaj fenilnog prstena dovodi do mogućnosti dodatne π - π interakcije s Trp82 u anionskom podmjestu aktivnog mjesta enzima. Treba imati na umu da, s obzirom na oblik i dimenzije liganda **100**, postoje mogućnosti za različite konformacije kompleksa koje bi mogle inducirati alternativne stabilizacijske interakcije. S obzirom na eksperimentalno uočene sličnosti između tieno-tiazolostilbena i nafto-oksazola, izvršili smo molekulsko pristajanje najboljeg oksazola, spoja **23'**, u aktivno mjesto BChE, nakon čega je uslijedila optimizacija kompleksa ligand-aktivno mjesto enzima (Slika 89).

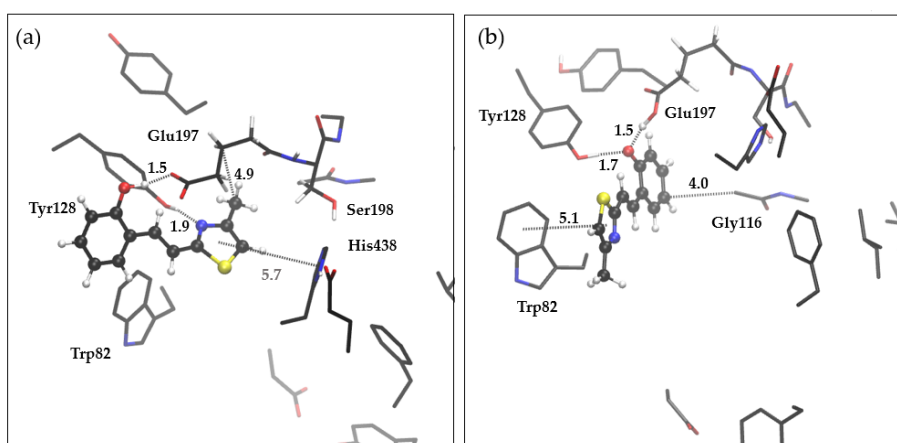


Slika 89. Optimizirana struktura kompleksa između aktivnog mjesta BChE i molekule **23'**. Udaljenosti su izražene u Å. Atomi vodika amino-kiselinjskih ostataka nisu prikazani radi preglednosti.

Ovdje se uočava vodikova veza između kisika oksazola i vodika amidne skupine koja povezuje Gly116 i Gly117. Metilna skupina na oksazolnom prstenu usmjerena je prema acilnom džepu aktivnog mjesta, čime se omogućuje hidrofobna interakcija s Leu296. Kontakti s ostacima anionskih mjesta Phe329 i Trp82 rezultiraju hidrofobnom interakcijom gore spomenutog metila i fenilalanina, te π - π interakcijama između središnjeg aromatskog prstena liganda i triptofana. Još jedna π - π interakcija prisutna je između oksazolnog prstena i His438. Ravnina glavnog skeleta liganda postavljena je vrlo blizu (~ 3 Å) esterskom dijelu aktivnog mjesta, čime se blokira supstrat od približavanja Ser198 i sprječava kovalentno vezanje supstrata na serinski kisik.

2. Rezultati i rasprava

Konačno, najbolju inhibicijsku aktivnost među svim testiranim spojevima pokazao je tienotiazolostilben *trans*-**94**. Za razliku od spojeva **100** i **23'**, gdje je račun rezultirao s 25 mogućnosti vrlo sličnih konformacija koje su grupirane u jedan konformacijski klaster, strukture dobivene molekulskim pristajanjem *trans*-**94** rezultirale su s pet različitih klastera konformacija, s distribucijom od 11, 2, 3, 8 i 1 člana po klasteru. Optimizirali smo strukture kompleksa enzim-ligand formiranog s konformerom najniže energije iz klastera s 11 odnosno 8 članova. Slika 90 predstavlja optimizirane strukture kompleksa između *trans*-**94** i aktivnog mjesta BChE.



Slika 90. Optimizirane strukture kompleksa između *trans*-**94** i aktivnog mjesta BChE. (a) Struktura dobivena optimizacijom geometrije spoja s najnižom energijom vezanja iz najzastupljenijeg klastera, i (b) struktura optimiziranog kompleksa dobivena iz početne geometrije spoja s najnižom energijom vezanja iz drugog najzastupljenijeg klastera. Udaljenosti su izražene u Å. Ligand je predstavljen modelom kuglica i štapića. Vodikovi atomi izostavljeni su radi preglednosti.

Jasno je da se tiazolostilbeni ponašaju drugačije od tienobenzo-tiazola i nafto-oksazola zbog fleksibilnosti uzrokovane prisutnošću jednostrukih veza koje se lako mogu okretati. Osim toga, *trans*-**94** posjeduje hidroksi-skupinu koja se može uključiti u jaku vodikovu vezu sa susjednim ostacima. U prvoj strukturi (Slika 90a) vodikova veza se formira s Glu197, dok druga struktura (Slika 90b) otkriva potpuni prijenos protona s hidroksi-skupine na Glu197, zajedno s prisutnom jakom vodikovom vezom između Tyr128 i fenolatnog aniona nastalog nakon prijena protona na glutamat. U strukturi (a), druga H-veza se formira između Tyr128 i dušika tiazolnog prstena. Orijentacija metila u strukturi (a) omogućuje hidrofobnu π -alkil interakciju sa skeletom koji pripada tripeptidu Glu197-Ser198-Ala199 na udaljenosti od 4,9 Å.

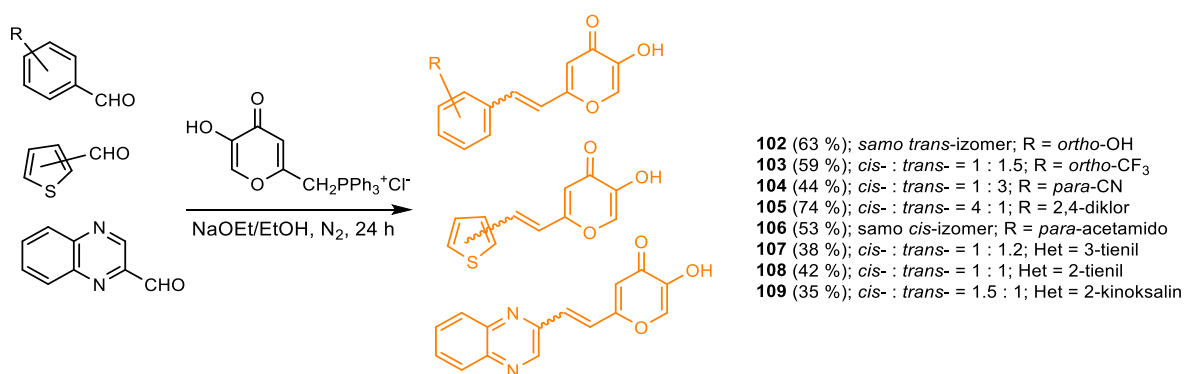
U strukturi (b), tiazolni prsten je uključen u π - π interakciju s Trp82, dok bi se u (a) jedina mogućnost za ovu vrstu interakcije mogla ostvariti s His438, ali vjerojatno vrlo slaba zbog udaljenosti od 5,7 Å. Druga hidrofobna interakcija opažena je u (b) slučaju između fenilnog prstena i Gly116. Na kraju, obje orijentacije liganda *trans*-**94** posjeduju dovoljno potencijala za

2. Rezultati i rasprava

učinkovitu stabilizaciju unutar aktivnog mjesta BChE. Međutim, struktura (b) je malo termodinamički stabilnija ($\Delta G = 2,9 \text{ kcal mol}^{-1}$, dobiveno kao razlika u slobodnim energijama (a) i (b) izračunatih na razini teorije (CPCM)B3LYP/6-31G(d)) zbog prisutnosti dviju jakih vodikovih veza. Treba imati na umu da statična slika dobivena istraživanjem molekuskog pristajanja ne nudi potpunu karakterizaciju ponašanja naših liganada u aktivnom mjestu BChE. Kako bi se dobio vjeran opis sustava koji pokriva većinu mogućnosti načina vezanja unutar aktivnog mjesta, potrebno je primijeniti simulacije molekulske dinamike.

2.8. Sinteza piranonskih stilbena

Novi 5-hidroksi-2-stiril-4*H*-piran-4-oni **102-109** (Shema 21), zapravo rezveratrol-maltol hibridi, također su pripremljeni Wittigovom reakcijom iz fosfonijevog klorida i odabranih aril- i heteroaril-karbaldhida. Wittigovom reakcijom dobiveni su stiril-piranoni **102-109** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (osim **102** i **106**, gdje je dobiven samo jedan izomer, shema 21). Smjese geometrijskih izomera **102-109** razdvojene su kako bi se dobili čisti spojevi uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom. Prema ^1H NMR spektroskopiji, supstituent na arilnom prstenu snažno usmjerava omjer geometrijskih izomera u Wittigovoj reakciji (Shema 21). U stiril-piranonu **102** s *o*-OH supstituentom na aromatskom prstenu prevladava *trans*-izomer, međutim, kod spoja **106**, odgovarajuća *cis*-konfiguracija nalazi se u jedinom produktu u reakcijskoj smjesi.



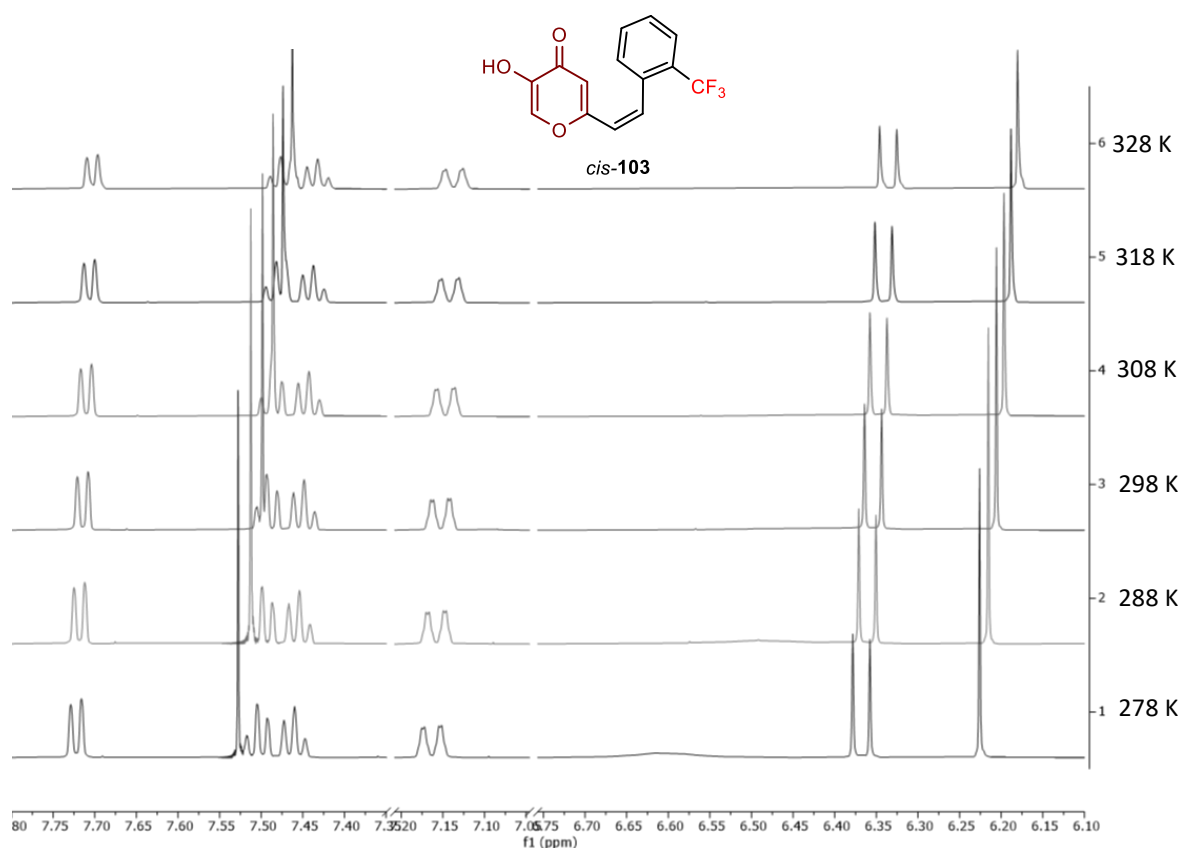
Shema 21. Sinteza novih 5-hidroksi-2-stiril-4*H*-piran-4-ona **102-109** kao kromatografski odvojenih *cis*- i *trans*-izomera.

Svi izolirani izomeri stiril-piranona **102-109** potpuno su spektroskopski okarakterizirani. U ^1H NMR spektrima izoliranih geometrijskih izomera **102-109**, vidljivi su signali za *e*-tenske protone između 4,73 i 7,14 ppm (*cis*-izomeri) i između 6,50 i 7,78 ppm (*trans*-izomeri)

2. Rezultati i rasprava

uz karakteristične konstante sprezanja, te signali za protone na različitim supstuentima i karakteristične konstante sprezanja protona na tienilnom i kinoksalinskom prstenu.

Stiril-piranoni **103** i **107** dodatno su bili izloženi temperaturnim promjenama od 278 do 328 K svakih 10 stupnjeva. Na svakoj temperaturi snimljen je odgovarajući ^1H NMR spektar (Slika 91a) kako bi se ispitale moguće promjene konformacija uslijed kidanja vodikovih veza. Samo jedan proton dvostruke veze u *cis*-**103**, koji se nalazi na nižem kemijskom pomaku (na 6,30 ppm), pomiče se prema zasjenjenijem području s porastom temperature. Također se primjećuje pomak oba protona (na 6,25 i 7,55 ppm) 4-piranonskog prstena prema zasjenjenijem području i hidroksilnom protonu zbog kidanja vodikovih veza i konformacijskih promjena.

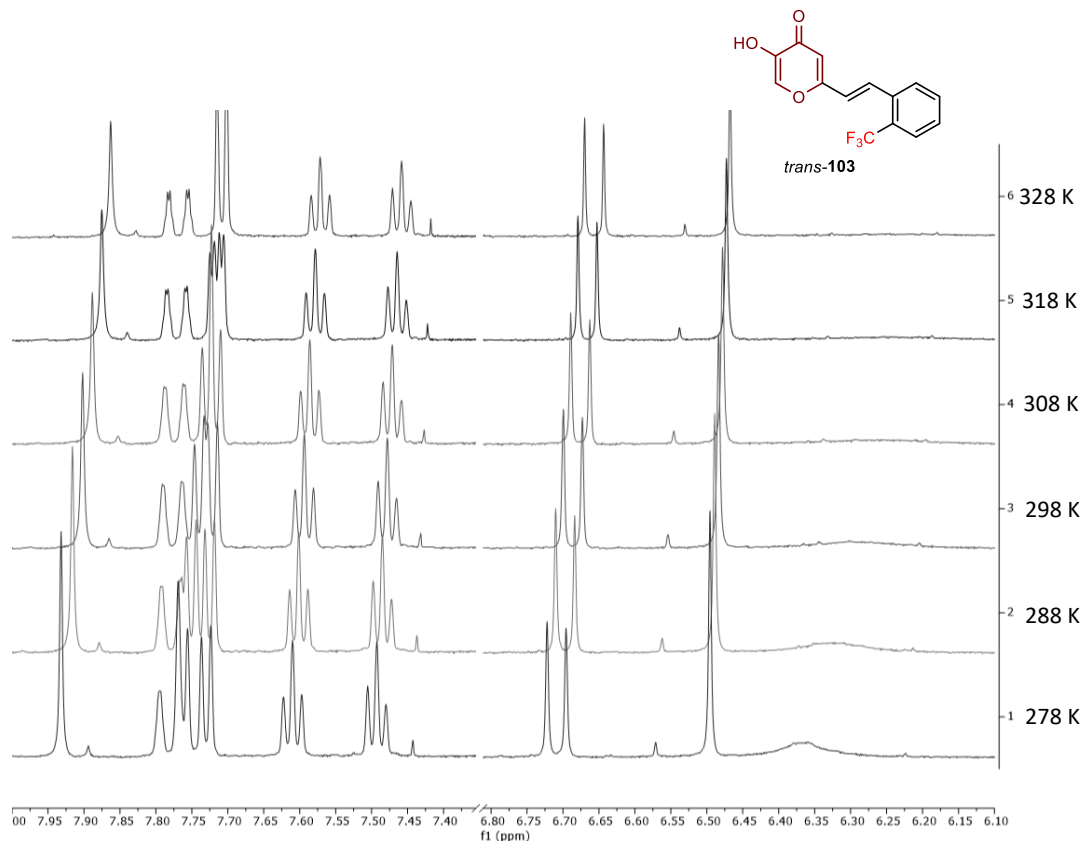


Slika 91a. Temperaturna ovisnost kemijskih pomaka karakterističnih protona u NMR eksperimentima za *cis*-**103**.

U slučaju *trans*-**103** (Slika 91b), sličan trend vidljiv je za istu skupinu protona. Osim toga, zanimljiva je promjena signala s dva aromatska dubleta (na 7,72 i 7,61 ppm) na jedan dublet za oba protona na 7,61 ppm, uslijed porasta temperature. To se može pripisati povećanju kinetičke energije i rotacije jednostrukih veza, pa dva aromatska protona postaju kemijski ekvivalentna.

2. Rezultati i rasprava

Ovakvo ispitivanje promjene kemijskih pomaka pod utjecajem temperature jasno pokazuje da između molekula stiril-piranona u otopinama postoje međumolekulske vodikove veze koje pucaju i molekule postaju fleksibilnije, poprimajući neke druge konformacije, što se odražava na kemijske pomake i promjene pojedinih protona.

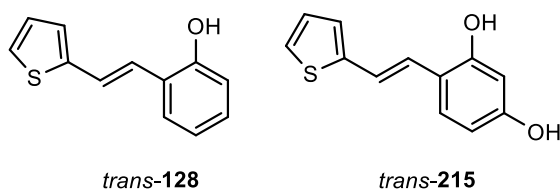


Slika 91b. Temperaturna ovisnost kemijskih pomaka karakterističnih protona u NMR eksperimentima za *trans*-103.

2.8.1. Fotokemijska reaktivnost i fotofizička svojstva novih stiril-piranona 102-109

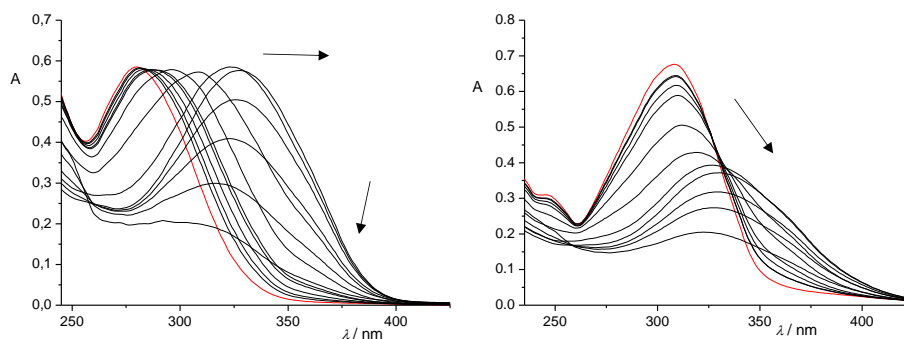
Kako bi se istražila fotokemijsku reaktivnost novih rezveratrol-maltolnih hibrida **102-109**, proveli smo osvjetljavanje na 313 nm za spojeve **103** i **107** u ACN, a tijekom reakcije je praćen UV/Vis spektroskopijom (Slike 93 i 94). Pri osvjetljavanju *cis*-izomera spoja **103** uočen je batokromni pomak, bez jasne izosbestične točke u spektru (Slika 93) u skladu s nastankom *trans*-izomera. Uz nove rezveratrol-maltolne hibride, sintetizirani su i proučavani spojevi *trans*-128 i *trans*-215 [301] čija sinteza će biti opisana u poglavlju 2.10., a njihova fotokemija će biti prikazana u poglavlju 2.14 (Slika 92).

2. Rezultati i rasprava



Slika 92. Strukture novosintetiziranih molekula *trans*-128 i *trans*-215.

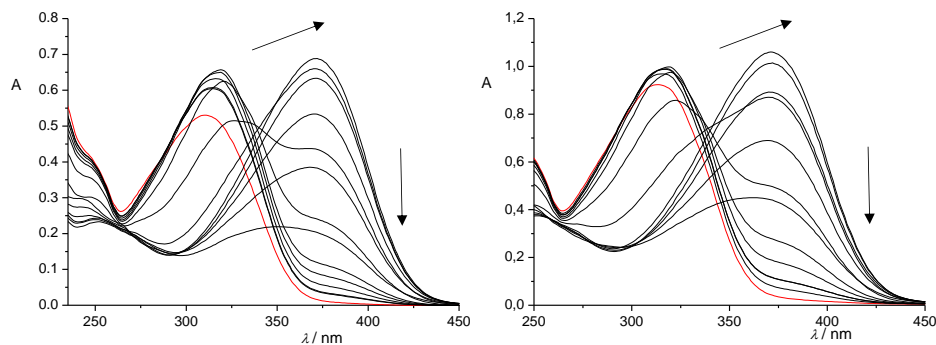
Za razliku od hibrida rezveratrol-tiofena *trans*-128 i *trans*-215 [301], u nastavku osvjetljavanja primjećuje se daljnji batokromni pomak prema vrijednostima valnih duljina apsorbanije višim od onih kod *trans*-izomera, što se može pripisati sekundarnim procesima kao što je zatvaranje prstena ili fototranspozicija [22]. Mehanizam iza ovih promjena mogao bi biti predmet nekog budućeg računalnog ispitivanja. Vidljivo je da se fotostabilnost rezveratrol-maltolnih hibrida značajno razlikuje od one rezveratrol-tiofenskih hibrida [301]. Nadalje, *trans*-103 izomer nakon osvjetljavanja pokazuje neobičnu izosbestičku točku na 235 nm i batokromni pomak osim hipokromnog, ponovno uz pretpostavku daljnjih sekundarnih procesa, kao što su zatvaranje prstena ili fototranspozicija (Slike 93 i 94). Dakle, za *cis*-103, *E-Z* fotoizomerizacija je primarna fotokemijska reakcija, ali ne i za *trans*-103.



Slika 93. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja *cis*-103 (lijevo) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 i 4096 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans*-103 (desno) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

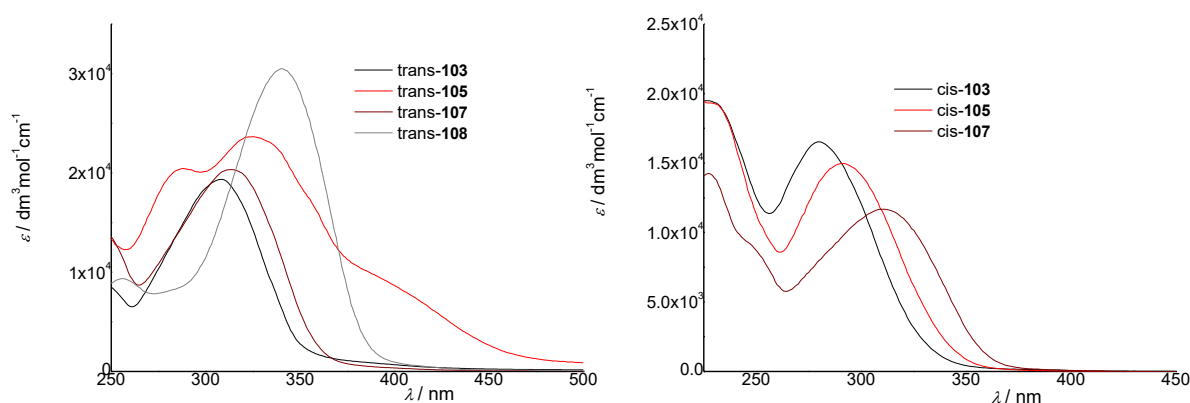
U slučaju spoja **107** (Slika 94), osvjetljavanje *cis*-izomera na 313 nm ponovno je rezultiralo batokromnim pomakom prema višim valnim duljinama od onih zapaženih za *trans*-izomer, nakon čega je uslijedio hiperkromni pomak. Nakon osvjetljavanja *trans*-107, trendovi su vrlo slični onima za *cis*-107, samo bez primarnog *E-Z* procesa fotoizomerizacije i jasne izosbestične točke u usporedbi s *trans*-103.

2. Rezultati i rasprava



Slika 94. Spektralne promjene tijekom zračenja *cis*-**107** (lijevo) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 i 4096 s; ($\lambda_{ir} = 313$ nm, $l = 1$ cm) i *trans*-**107** (desno) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{ir} = 313$ nm, $l = 1$ cm).

UV/Vis spektri *cis*- i *trans*-izomera **102-109** u ACN (Slika 95) tipični su za diariletene [13,14] s jakom apsorpcijom i maksimumom na oko 300 nm, za *trans*-izomere, te manje intenzivne i hipsokromno pomaknute vrpce za *cis*-izomere. Ove apsorpcijske vrpce odgovaraju potpuno simetrično dopuštenom prijelazu HOMO \rightarrow LUMO.



Slika 95. UV spektri (ACN) reprezentativnih *trans*- (lijevo) i *cis*-izomera (desno) novih rezveratrol-maltolnih hibrida.

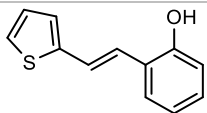
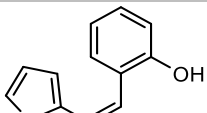
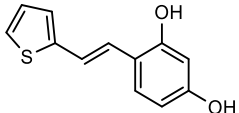
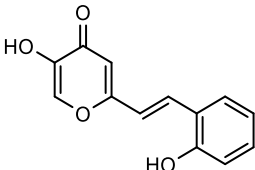
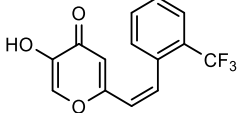
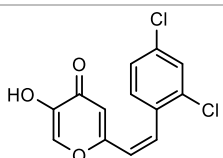
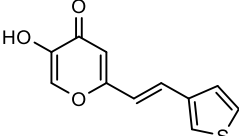
2.8.2. Inhibicijsko i antioksidacijsko djelovanje rezveratrol-maltolnih i rezveratrol-tiofenskih hibrida na kolinesteraze

U nastavku ispitivanja fotostabilnosti i dokaza o razlici između rezveratrol-maltolnih i rezveratrol-tiofenskih hibrida, testirali smo i usporedili spojeve *trans*-**128**, *cis*-**128**, *trans*-**215** i **102-**

2. Rezultati i rasprava

109 kao potencijalne reverzibilne inhibitore AChE i BChE prema Ellmanovoj [261] modificiranoj metodi u širokom rasponu koncentracija za procjenu koncentracije inhibitora, koja inhibira 50 % aktivnosti enzima (IC₅₀).

Tablica 16. Inhibicijski učinci ChE i antioksidativna aktivnost za rezveratrol-tiofen i aktivne hibride rezveratrol-maltol (*[301]).

Rezveratrol-tiofenski/ rezveratrol-maltolni hibridi	AChE IC ₅₀ (μM)	BChE IC ₅₀ (μM)	DPPH IC ₅₀ (μM)
 <i>trans</i> -128	15,7 ± 1,0	4,6 ± 0,1	158,8*
 <i>cis</i> -128	~ 500	18,9 ± 3,4	782,1*
 <i>trans</i> -215	46,6 ± 8,3	5,3 ± 1,8	26,8*
 <i>trans</i> -102	-	600,7 ± 34,5	251,3 ± 45,6
 <i>cis</i> -103	-	458,1 ± 30,2	-
 <i>cis</i> -105	1003,0 ± 10,1	638,1 ± 25,8	-
 <i>trans</i> -107	-	426,3 ± 41,8	-
Galantamin	0,15	7,9	

2. Rezultati i rasprava

Osim toga, provedena su ispitivanja antioksidativnog djelovanja spojeva korištenjem DPPH testa uklanjanja radikala [302] kako bi se vidjelo mogu li posjedovati i inhibicijsku i antioksidacijsku aktivnost. Koncentracija hvatanja radikala IC_{50} izračunata je gdje je bilo primjenjivo, a rezultati za sve aktivne ciljane spojeve sažeti su u tablici 16. Od 12 testiranih rezveratrol-maltolnih hibrida, samo su 4 pokazala inhibicijski potencijal, dok ostali ne pokazuju niti inhibicijsku niti antioksidacijsku aktivnost.

Kao i kod fotokemijskih eksperimenata, biološki testovi također su otkrili značajne razlike u svojstvima i ponašanju hibrida tiofena i maltola. Dok rezveratrol-tiofenski hibridi imaju izvrsna inhibicijska i antioksidativna svojstva, maltoli su dokazano slabi inhibitori i još slabiji antioksidansi. Rezultati bioloških ispitivanja derivata rezveratrol-tiofena pokazali su veliki potencijal ovih spojeva. Antioksidativna aktivnost prethodno je ispitana i uspoređena s rezveratrolom [301] koji je pokazao IC_{50} vrijednosti od 77,9 μM [27] i 74,0 μM [303]. Ovi su derivati pokazali antioksidacijsko djelovanje, pri čemu je *trans*-**215** najjači antioksidans ($IC_{50} = 26,8 \mu M$) zbog prisutnosti dvije OH skupine. Sada je otkriveno da osim svoje antioksidacijske aktivnosti, također imaju izvrsnu inhibicijsku aktivnost na oba enzima. Među tiofenskim hibridima, *trans*-**128** je pokazao najveću inhibicijsku aktivnost prema BChE ($IC_{50} = 4,6 \mu M$), što je slično djelovanju referentnog lijeka galantamina koji se koristi kao terapijski lijek za AD ($IC_{50} = 7,9 \mu M$). Derivat *trans*-**215** također je pokazao veliku inhibicijsku aktivnost prema BChE ($IC_{50} = 5,3 \mu M$), što je također nešto bolje od galantamina. Ovi derivati pokazali su se kao bolji potencijalni inhibitori BChE od AChE, gdje su postigli nešto niže vrijednosti IC_{50} , ali još uvijek u dobrom rasponu koncentracija ($IC_{50} = 15,7$ odnosno $46,6 \mu M$).

Kombinacija tiofena i fenola te *trans*-konfiguracije pokazala se pogodnom za biološka svojstva. Ranije zapažanje da je *trans*-geometrija povoljnija za bioaktivnost [304] potvrđeno je ispitivanjem *cis*-izomera spoja *trans*-**128**. Promjena geometrije na *cis*-**128** drastično je smanjila inhibicijsku aktivnost prema AChE ($IC_{50} > 500 \mu M$), dok je rezultat za BChE još uvijek bio u vrlo dobrom rasponu ($IC_{50} = 18,9 \mu M$). Promjenu konfiguracije također je pratilo smanjenje antioksidacijskog potencijala.

Od 12 testiranih rezveratrol-maltolnih hibrida, samo su 4 pokazala inhibicijsku moć, dok ostali nisu pokazali nikakvu inhibicijsku ili antioksidacijsku aktivnost. Ova četiri derivata aktivna su samo prema enzimu BChE, s vrijednostima IC_{50} pri relativno visokim koncentracijama u usporedbi sa standardom (Tablica 16). Antioksidacijsko djelovanje zabilježeno je samo kod *trans*-**102** derivata koji ima fenolni prsten, dok niti jedan od ostalih derivata nije uspio uloviti radikal ($IC_{50} \gg 1000 \mu M$). Stoga umetanje maltola u strukturu rezveratrola drastično

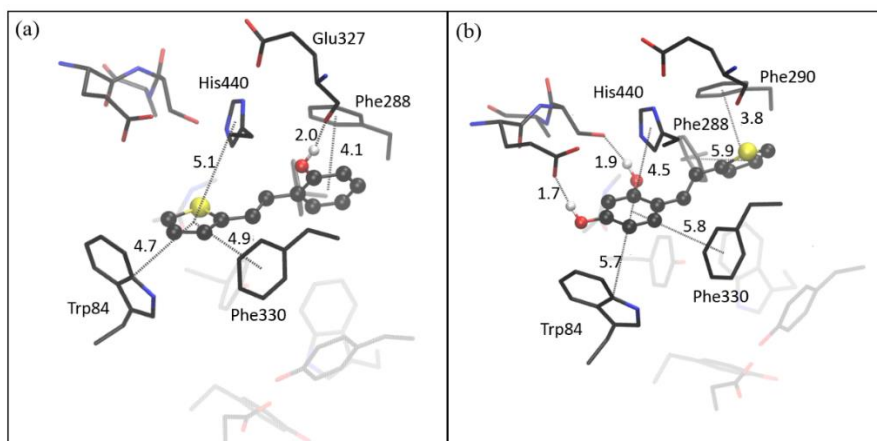
smanjuje snagu inhibicije prema enzimima kolinesterazama i antioksidacijsko djelovanje. Nadalje, možemo usporediti strukturu i bioaktivnost triju hibrida koji posjeduju tiofenski prsten sa stilbenskom jedinicom vezanom preko položaja 2 (*trans*-**128**, *trans*-**215** i **108**). Dok su *trans*-**128** i *trans*-**215** pokazali izvrsne rezultate, kod hibrida **108** je potpuno izostala bilo kakva biološka aktivnost. Stoga zamjena fenola maltolom potpuno gasi biološku aktivnost od interesa za ovo istraživanje. Važno je primijetiti da je kombinacija 3-tienil-maltola i *trans*-konfiguracije pokazala određeno inhibicijsko djelovanje prema BChE, tako da je položaj supstitucije tiofena također važan. S obzirom na ove eksperimentalne rezultate, za rezveratrol-maltolne hibride **102-109** treba predložiti drugu vrstu biološke aktivnosti, koja će biti specifičnija za njih. Iako je u prethodnim istraživanjima pokazano da rezveratrol-maltolni hibridi pokazuju inhibiciju samoinducirane A β agregacije (koja je povezana s AD), antioksidaciju i kompleksiranje s biometalima [305], inhibicijska aktivnost kolinesteraza nije toliko specifična za njih kao za rezveratrol-tiofenske hibride *trans*-**128** i *trans*-**215**.

2.8.3. Računalna studija rezveratrol-tiofenskih i rezveratrol-maltolnih hibrida kao inhibitora kolinesteraze

Prema tablici 16, oba *trans*-izomera derivata rezveratrol-tiofena, *trans*-**128** i *trans*-**215**, pokazala su izvrsnu inhibicijsku aktivnost prema kolinesterazama. Istraženo je molekulsko pristajanje kako bi se vizualizirala struktura i dobio uvid u stabilizacijske interakcije u kompleksu između testirane molekule i aktivnog mjesta enzima. Molekulske strukture najstabilnijih kompleksa *trans*-**128** i *trans*-**215** s aktivnim mjestom AChE prikazane su na slici 96.

Molekule *trans*-**128** i *trans*-**215** posjeduju dvije aromatske jezgre, fenilnu i tienilnu, koje mogu sudjelovati u stabilizaciji π - π interakcijama s aromatskim ostacima aktivnog mjesta AChE. Prema histogramu klastera, položaji liganda *trans*-**128** grupirani su u dva konformacijska skupa: jedan sadrži 8, a drugi 17 položaja. Struktura prikazana na slici 96a najpovoljnije je orijentirana vezna konformacija iz najnaseljenijeg klastera. Orijentacija *trans*-**128** omogućuje π - π interakciju u obliku slova T između tienila i dva ostatka anionskog mjesta (AS), Trp84 i Phe330, na udaljenostima od 4,7 i 4,9 Å od tienila (mjereno od središta prstenova).

2. Rezultati i rasprava

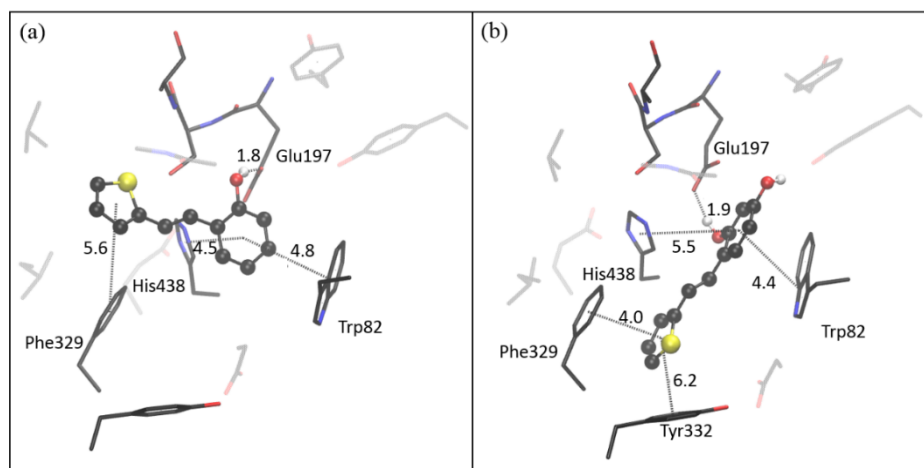


Slika 96. Struktura aktivnog mjesta AChE s *trans*-128 (a) i *trans*-215 (b). Vodikovi atomi su izostavljeni zbog preglednosti.

Fenilna jedinica spoja *trans*-128, smještena blizu acilnog džepa aktivnog mjesta, uključena je u π - π interakciju s Phe288 na udaljenosti od 4,1 Å. Računalno su i za položaj liganda *trans*-215 dobiveni rezultati za dva klastera, međutim, stabilniji je pretežno naseljen (24 poze), dok drugi klaster sadrži samo jednu pozu liganda. Za razliku od orijentacije *trans*-128, molekula *trans*-215 je usidrena tako da je njena fenilna jezgra okrenuta prema aktivnom mjestu, a tienilna podjedinica je uključena u interakcije s ostacima koji pripadaju acilnom džepu, Phe288 i Phe290, na udaljenostima od 3,8 odnosno 5,9 Å (Slika 96b). Uočene su dodatne π - π interakcije između tienila od *trans*-128 i His440 (5,1 Å) i fenila od *trans*-215 i His440 (4,5 Å). Derivati rezveratrol-tiofena imaju hidroksilnu(e) skupinu(e) na fenilu, sposobnu formirati vodikovu vezu unutar aktivnog mjesta. Spoj *trans*-128 ima jednu -OH skupinu na fenilu, tvori H-vezu s karbonilnom skupinom Glu327 koja pripada esterskom podmjestu (Ser200, His440, Glu327). U kompleksu AChE i *trans*-215, jedna hidroksilna skupina *trans*-215 stvara H-vezu s Glu199 (dio anionskog mjesta), dok se druga -OH nalazi blizu Ser200, na udaljenosti od 1,9 Å od serinskog kisika. Molekulsko pristajanje *trans*-128 i *trans*-215 u aktivno mjesto BChE ponovno je otkrilo prisutnost π - π interakcija između liganda i aromatskih ostataka enzima. Na slici 97 vidljivo je da tienilna jezgra u oba spoja stupa u interakciju s Phe329 anionskog mjesta, iako orijentacija dva liganda nije ista.

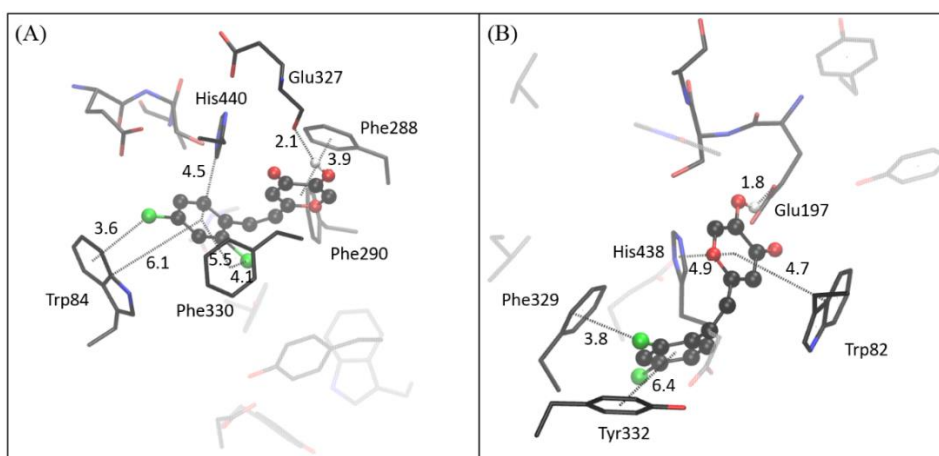
U strukturi kompleksa s *trans*-215, tienil je dodatno stabiliziran π - π interakcijama s Tyr332 (koji pripada perifernom anionskom mjestu, PAS). Nasuprot tome, *trans*-128 je ušao u aktivno mjesto dublje od *trans*-215, dakle, interakcija s PAS nije utvrđena u slučaju *trans*-128.

2. Rezultati i rasprava



Slika 97. Struktura aktivnog mjesta BChE s *trans*-128 (a) i *trans*-215 (b). Vodikovi atomi su izostavljeni zbog preglednosti.

Fenilna jezgra oba liganda uključena je u π - π interakcije s His438 (estersko podmjesto) i Trp82 aktivnog mjesta. Jedna vodikova veza stvara se između hidroksi-skupine i Glu197 u aktivnom mjestu BChE i *trans*-128. Iako molekula *trans*-215 ima dvije hidroksilne skupine, najpovoljnija konformacija rezultira samo jednom H-vezom, opet s Glu327. Među rezveratrol-maltolnim hibridima, jedini spoj koji pokazuje inhibicijsku aktivnost prema obje kolinesteraze je molekula *cis*-105 (Tablica 16). Najstabilniji kompleksi dobiveni za *cis*-105 i aktivno mjesto AChE odnosno BChE prikazani su na slici 98. U kompleksu *cis*-105 i AChE, π - π interakcije diklor-supstituiranog fenilnog prstena s ostacima na anionskom mjestu se vide s Phe330 i Trp84. Kod BChE, diklor-fenilni dio molekule stupa u interakciju samo s Phe329 AS-a, ali i s ostatkom u PAS-u, Tyr332. Fragment maltola uključen je u π - π interakcije s ostacima acilnog džepa AChE (Phe288, Phe190), dok u BChE postoji interakcija između maltola i Trp82.

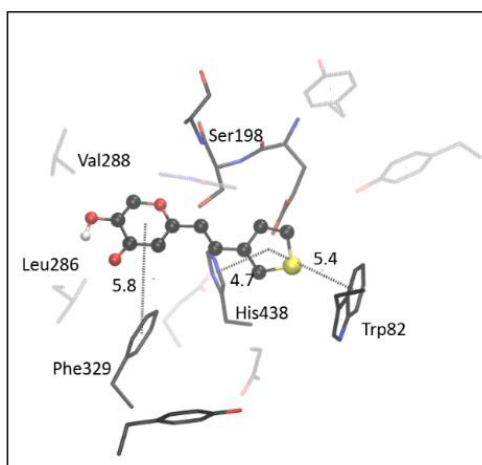


Slika 98. Kompleks *cis*-105 i aktivnog mjesta AChE (A) i *cis*-105 i aktivnog mjesta BChE (B). Vodikovi atomi su izostavljeni zbog preglednosti.

2. Rezultati i rasprava

U AChE, histidin u esterskom podmjestu (His440) stupa u interakciju s diklor-fenilnim fragmentom *cis*-**105**. Nasuprot tome, His438 iz esterskog mjesta BChE nalazi se na 4,9 Å od maltolnog fragmenta liganda.

Vodikova veza u AChE nastaje između hidroksi-skupine maltola i Glu327, dok u BChE ova hidroksilna skupina tvori vodikovu vezu s Glu197. Stabilizirajuće disperzivno privlačenje uočeno je između atoma klora i aromatskih ostataka: u AChE, *p*-Cl se nalazi na udaljenosti od 3,6 Å od središta benzenskog prstena Trp84 i 3,5 Å od najbližeg C atoma istog ostatka, pri čemu diedarski kut između atoma klora i ravnine benzenskog prstena iznosi ~80°. Kada je razlika između ove dvije vrijednosti jednaka ili manja od 0,3 Å, Cl- π interakcija se definira kao "face to face" [300]. Slično, drugi atom klora na *ortho*-položaju diklor-fenilnog prstena *cis*-**105** također je uključen u interakciju Cl- π "face to face" s drugim aromatskim ostatkom u aktivnom mjestu, Phe330. Nasuprot tome, *o*-klor u kompleksu *cis*-**105** s BChE zadovoljava kriterije za "rub" interakcije Cl- π s Tyr332, gdje je klor smješten na udaljenosti od 4,2 i 3,5 Å do središta prstena i najbližeg ugljika. Položaj *p*-klora *cis*-**105** u aktivnom mjestu BChE omogućuje rubnu interakciju Cl- π s ostatkom Phe329: središte fenilalaninskog prstena nalazi se na 4,2 Å od ovog atoma klora, dok je udaljenost između Cl i najbližeg C atoma fenilalaninskog prstena 3,6 Å. Osim za *cis*-**105**, testirani rezveratrol-maltolni hibridi nisu pokazali inhibicijsku aktivnost prema AChE. Međutim, mjerenje njihove aktivnosti prema BChE pokazalo je umjeren inhibicijski potencijal. Najbolji rezultat postignut je sa spojem *trans*-**107**, pa je ispitano molekulsko pristajanje kako bi se identificirale interakcije između liganda i aktivnog mjesta. Slika 99 prikazuje najpovoljniju strukturu dobivenu molekulskim pristajanjem molekule *trans*-**107** u aktivno mjesto BChE. Zanimljivo je da sve pozicije liganda pripadaju jednom konformacijskom klasteru.



Slika 99. Kompleks *trans*-**107** i aktivnog mjesta u BChE. Vodikovi atomi su izostavljeni zbog preglednosti.

2. Rezultati i rasprava

Tienilni fragment sudjeluje u π -interakcijama u obliku slova T s Trp82, a s druge strane ravnine prstena, on je u interakciji s His438. Maltol se smješta u acilni džep (Leu286, Val288). Čini se da konformacija i smještaj *trans*-**107** blokiraju estersko podmjesto, dvostruka C=C veza (koja povezuje maltol i tienil) nalazi se na ~ 3 Å od kisika Ser198, čime sprječava supstrat da mu se približi. Studija pristajanja provedena je bez uzimanja u obzir molekule vode. Međutim, s obzirom na elektronsku strukturu liganada i njihovu sposobnost stvaranja H-veza, moglo bi biti od interesa uključiti relevantne molekule vode u blizini aktivnog mjesta oba enzima [306,307]. Stoga je također testirano molekulsko pristajanje liganada u AChE i BChE, čija aktivna mjesta sadrže molekule vode koje bi mogle utjecati na smještaj liganada. Rezultati pokazuju da u AChE koji uključuje vodu, spojevi *trans*-**128** i *trans*-**215** zauzimaju gotovo istu orijentaciju kao i kada voda nije bila prisutna. Međutim, fenilna jezgra u *trans*-**128** rotirana je na način koji omogućuje interakciju njegove hidroksi-skupine s HOH611 i HOH616. Nadalje, hidroksilne skupine *trans*-**215** preferiraju interakciju s Glu199 i Ser200. Kompleksi *trans*-**128** i *trans*-**215** u BChE u prisutnosti pet strukturnih molekula vode rezultiraju pozama koje su vrlo slične onima dobivenim bez vode, međutim, HOH765 stupa u interakciju s hidroksi-skupinom maltolnog fragmenta *trans*-**215**, smještenog na udaljenosti od 2,2 Å. Pristajanje di-klor-derivata *cis*-**105** u aktivno mjesto AChE i BChE u prisutnosti molekula vode rezultira konformacijama liganda koje su slične onima dobivenim bez vode, jedina interakcija s vodom može se identificirati između HOH715 u BChE i karbonilnog kisika u maltolu. Konačno, spoj *trans*-**107** u aktivnom mjestu BChE koji sadrži strukturu vode zauzeo je suprotnu orijentaciju u usporedbi s BChE bez vode, što je rezultiralo stvaranjem H-veze između karbonila maltola i HOH715.

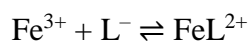
Iako ova studija daje približne konformacije liganada, rezultati nude uvid u mogućnosti glavnih interakcija između novih liganada i enzima, pomažući racionalizirati aktivnosti inhibitora opažene u eksperimentu. Oba enzima vezuju testirane ligande uglavnom putem π - π interakcija.

2.8.4. Sposobnost umetanja biometala aktivnih piranona koji inhibiraju kolinesterazu

U slučaju rezveratrol-maltolnih hibrida za koje se pokazalo da su aktivni inhibitori kolinesteraze, bilo je razumno istražiti u suradnji s kolegama sa Sveučilišta Pannonia u Veszprému stvaranje kompleksa s biometalnim ionom Fe³⁺. Stoga su u tom smislu proučavani sljedeći spojevi kao ligandi: *trans*-**102**, *cis*-**103**, *cis*-**105** i *trans*-**107**. Budući da ioni Fe³⁺ snažno hidroliziraju, za određivanje konstanti stvaranja kompleksa za spektrofotometrijske titracije primijenjene su

2. Rezultati i rasprava

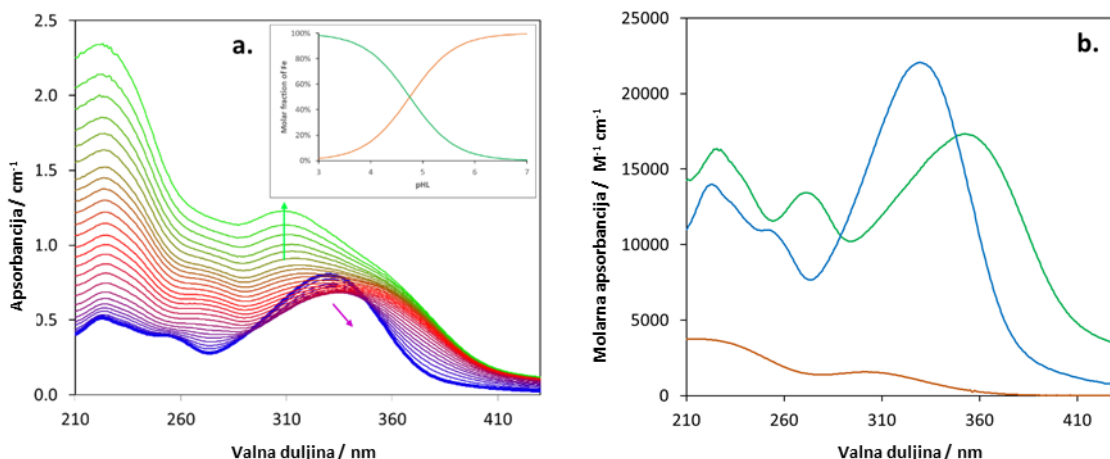
kisele otopine. Provedene su obje vrste titracija: povećanje koncentracije željeza(III) pri konstantnoj koncentraciji liganda i povećanje koncentracije liganda pri konstantnoj koncentraciji $C_{\text{Fe(III)}}$. Prethodni tip titracije pokazao se informativnijim, uzrokujući promjenu spektralnih karakteristika, dok je u drugom slučaju sve veća apsorbanca liganda bila dominantna u cijelom spektru. Slika 100a jasno pokazuje karakterističnu spektralnu promjenu za titraciju *trans*-**107** sa željezom(III). Spektralni niz jasno pokazuje da spektri ne mogu biti linearne kombinacije samo dviju apsorberajućih vrsta (tj. organskog liganda (HL) i Fe^{3+} iona). Treći u ovom sustavu ravnoteže mora biti kompleks između prethodne dvije vrste. Detaljne studije umetanja primjenom programa PSEQUAD potvrdile su postojanje kompleksa sastava 1:1 (FeL^{2+}). Također, prividna konstanta formiranja ovih vrsta (za reakciju $\text{Fe}^{3+} + \text{HL} \rightleftharpoons \text{FeL}^{2+} + \text{H}^+$) i pojedinačni spektar vrsta mogu se procijeniti ovim postupkom. Slika 100b prikazuje spektar kompleksa u usporedbi sa spektrom liganda (HL) i Fe^{3+} . Jasno je vidljivo da apsorbanca Fe^{3+} ne može poremetiti određivanje spektra kompleksne vrste, koji se značajno razlikuje od spektra liganda. Prividna konstanta formiranja određena iz ove spektralne serije i one u vezi s titracijom s ligandom bila je $\lg K'_{\text{FeL}} = 4,75 \pm 0,10$. Koristeći ovu prividnu konstantu formiranja, molarni udjeli slobodnog Fe^{3+} i kompleksa 1:1 mogu se izračunati kao funkcije koncentracije (protoniranog) liganda (pHL), kao što je prikazano dodatkom na slici 100a. Budući da je spektrofotometrijska titracija provedena u kiseloj otopini, kako bi se procijenila konstanta stvaranja za reakciju



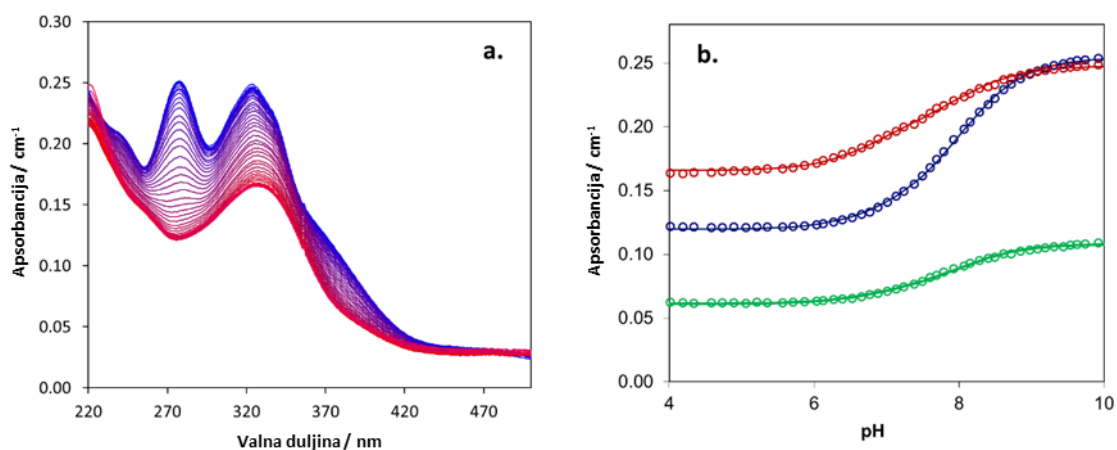
određena je i konstanta protoniranja za deprotonirani ligand (L^-) (potenciometrijskom titracijom, počevši od potpuno deprotoniranog oblika pri $\text{pH} = 10$, slika 100), $\lg K_1 = 7,81 \pm 0,15$. Zbroj prividne konstante stvaranja i konstante protoniranja daje konstantu ravnoteže u vezi s gornjom reakcijom od $\lg K_{\text{FeL}} = 12,56 \pm 0,15$.

Konstante protoniranja i stvaranja kompleksa određene su slično za ostala tri spoja. Konstante protoniranja i stvaranja kompleksa dobivene za četiri spoja sažete su u tablici 15. U slučaju *trans*-**102**, uočena su dva koraka protoniranja zbog dvije hidroksi-skupine. Za izračun konstante nastajanja uzet je u obzir $\lg K_2$, koji odgovara protonu hidroksi-skupine na piranonskom prstenu. On se može zamijeniti Fe^{3+} ionom lakše nego drugim protonom u fenolnom ostatku.

2. Rezultati i rasprava



Slika 100. Snimljeni apsorpcijski spektri (a.) pri konstantnoj koncentraciji liganda (*trans*-**107**) ($3,5 \times 10^{-5}$ M) i različitim ukupnim koncentracijama Fe^{3+} (od 0 M (plavo) do $4,7 \times 10^{-4}$ M (zeleno)). Umetak prikazuje molarni udio slobodnog Fe^{3+} (narančasto) i 1:1 kompleksa (FeL^{2+}) (zeleno) kao funkcije koncentracije protoniranog liganda (pHL). Slika (b.) prikazuje molarnu apsorbanciju Fe^{3+} (narančasto), liganda (plavo) i FeL^{2+} adukta (zeleno).



Slika 101. Snimljeni apsorpcijski spektri (a.) tijekom potenciometrijske titracije liganda (*trans*-**107**). pH se mijenja od 10,0 (plavo) do 4,0 (crveno). Slika b prikazuje izmjerenu (kru-govi) i izračunatu apsorbanciju (crte) na tri karakteristične valne duljine (277 nm (plavo), 324 nm (crveno) i 380 nm (zeleno)).

Tablica 15. Konstante protoniranja za deprotonirane spojeve (L^- ili L^{2-}) i konstante nastajanja FeL^{2+} ili FeHL^{2+} kompleksa.

Spoj (HL or H ₂ L)	Konstante protoniranja		Konstante nastajanja ($\lg K_{\text{FeL}}$ or $\lg K_{\text{FeHL}}^{\text{a, b}}$)	
	$\lg K_1$	$\lg K_2$	$\text{Fe}^{3+} + \text{HL} \rightleftharpoons \text{FeL}^{2+} + \text{H}^+$	$\text{Fe}^{3+} + \text{L}^- \rightleftharpoons \text{FeL}^{2+}$
<i>trans</i> - 102	$8,9 \pm 0,20$	$7,25 \pm 0,20$	$4,38 \pm 0,20^{\text{a}}$	$11,6 \pm 0,2^{\text{b}}$
<i>cis</i> - 103	$7,95 \pm 0,10$		$4,38 \pm 0,20$	$11,8 \pm 0,2$
<i>cis</i> - 105	$7,99 \pm 0,15$		$4,16 \pm 0,10$	$12,15 \pm 0,15$
<i>trans</i> - 107	$7,81 \pm 0,15$		$4,75 \pm 0,10$	$12,56 \pm 0,15$

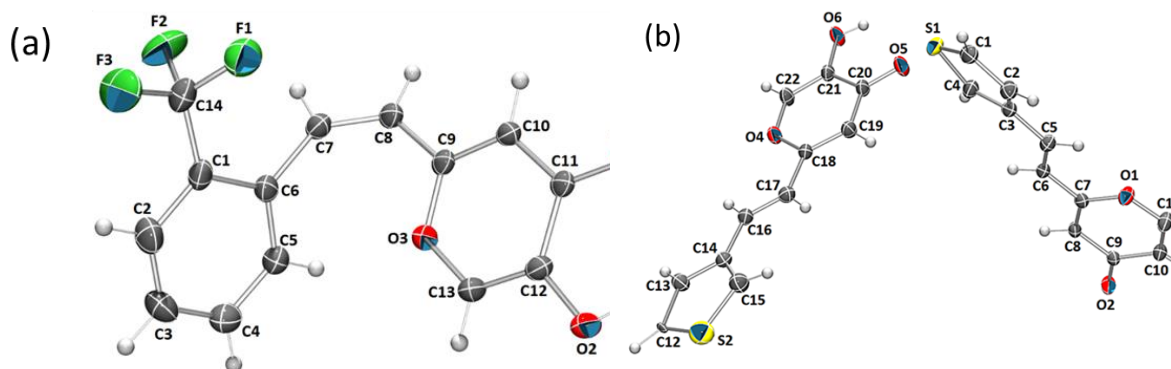
^a $\lg K_{\text{FeHL}}$ za $\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{L} \rightleftharpoons \text{FeHL}^{2+} + \text{H}^+$, ^b za $\text{Fe}^{3+} + \text{HL}^- \rightleftharpoons \text{FeHL}^{2+}$

2. Rezultati i rasprava

Slične vrijednosti konstanti pretvorbe ($\lg K = 11,6-12,6$) upućuju na to da se Fe^{3+} veže na zajednički hidroksi-piranonski dio, a drugi, različiti aromatski dio liganada teško utječe na koordinaciju metalnog središta. U skladu s tim zaključkom, karakteristične vrpce u pojedinačnim apsorpcijskim spektrima kompleksa jednoliko su pomaknute u crveno u usporedbi s onima u odgovarajućim spektrima liganda.

2.8.5. Kristalna struktura i pakiranje hibrida rezveratrol-maltola

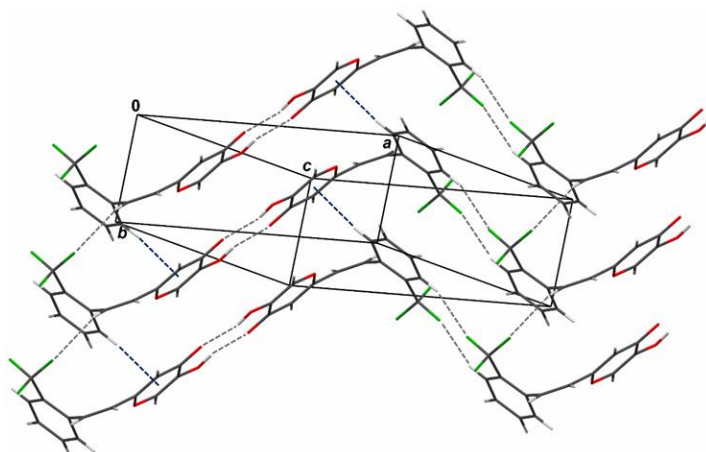
Molekulske strukture dvaju rezveratrol-maltolnih hibrida, *cis*-**103** i *trans*-**107**, prikazane su na slici 102. Iako su kristalografske analize *cis*-**103** i *trans*-**107** čvrste, one predstavljaju korisne dodatne informacije o dokazanim aktivnim spojevima koji mogu biti informativne u kontekstu proučavanja međumolekulskih interakcija. Molekule se drže zajedno slabim međumolekulskim interakcijama: vodikovim vezama, C–H $\cdots\pi$ interakcijama i disperzijskim interakcijama.



Slika 102. Kristalna struktura spojeva *cis*-**103** (a) i *trans*-**107** (b).

U kristalnom pakiranju *cis*-**103** međumolekulske vodikove veze (C2–H2 \cdots F3 i O2–H2A \cdots O1) povezuju dvije molekule u 'cik-cak' paralelne lance (Slika 103). Lanci su povezani vodikovom vezom C7–H7 \cdots F1 i C–H $\cdots\pi$ interakcijama (C5–H5 \cdots O3 \rightarrow C13) što daje 3D strukturu (Slika 103).

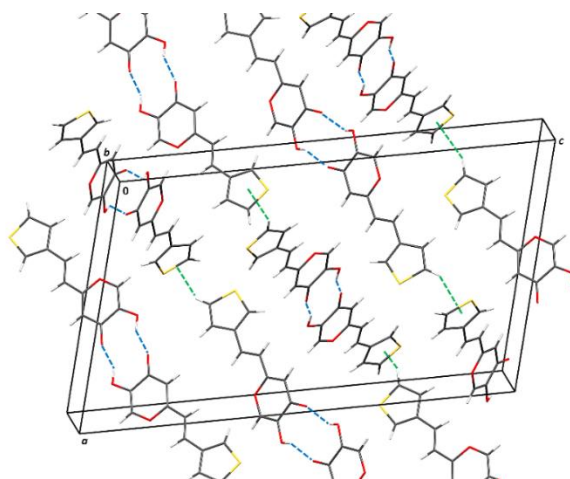
2. Rezultati i rasprava



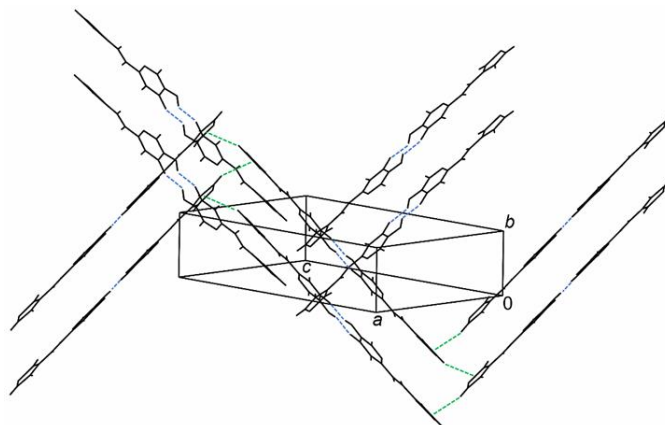
Slika 103. Kristalno pakiranje za *cis*-**103**. Lanci su generirani vodikovim vezama C–H \cdots F i O–H \cdots O. Vodikove veze C7–H7 \cdots F1 i C–H \cdots π produžuju lance u smjeru [010].

Kristalno pakiranje *trans*-**107** karakterizirano je međumolekulskim vodikovim vezama (O–H \cdots O) i C–H \cdots π interakcijama (C5–H5 \cdots O3 \rightarrow C13), koje stvaraju 'cik-cak' lance (Slika 104).

(a)



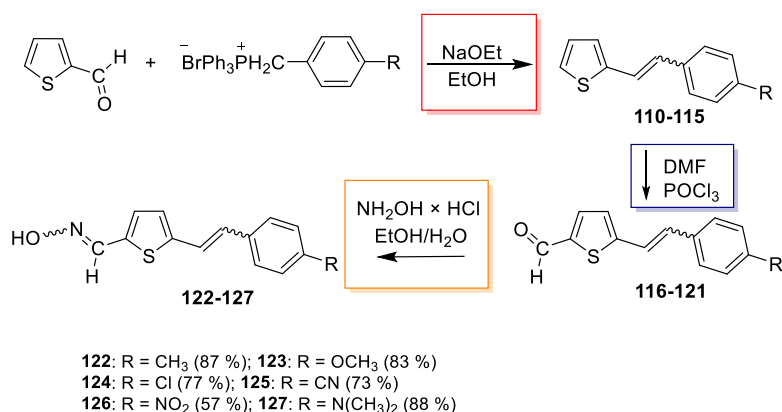
(b)



Slika 104. Kristalno pakiranje *trans*-**107**: (a) slojevi generirani vodikovim vezama (O–H \cdots O) i C–H \cdots π interakcijama; (b) 'cik-cak' lanci u smjeru [–1–10].

2.9. Sinteza 2-tienostilbena

Priprava željenih tienostilbenskih oksima **122-127** postignuta je prema reakcijskom putu u tri koraka prikazanom u Shemi 22. Sintetski put počinje stvaranjem dvostruke veze pomoću Wittigove reakcije da bi se dobili početni spojevi **110-115** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (48–61 %). U drugom koraku, Vilsmeierovim formiliranjem nastaju odgovarajuće smjese aldehida **116-121** (24-47 %), a u trećem koraku, formilni derivati uspješno su prevedeni u oksime **122-127** (57-88 %) kao ciljne strukture. Smjese geometrijskih izomera oksima **122-127** razdvojene su kako bi se dobili čisti spojevi uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom.

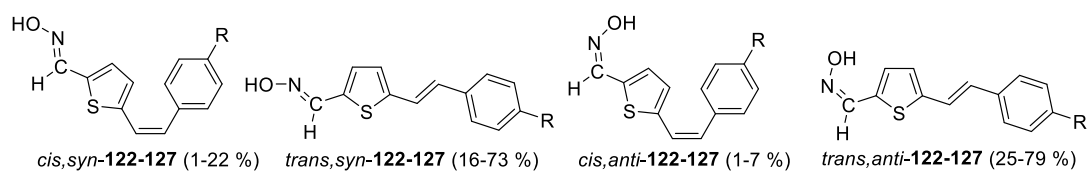


Shema 22. Reakcijski put u tri koraka za dobivanje derivata heterostilbenskih oksima **122-127**. Iskorištenja su izražena za treći reakcijski korak.

Wittigova reakcija izvedena je korištenjem komercijalno dostupnog tiofen-2-karbaldehida i odabranih fosfonijevih soli pripremljenih u našem laboratoriju. Dobiveni tienostilbeni **110-115** predstavljaju osnovne strukturne jedinice podvrgnute Vilsmeierovoj reakciji formiliranja. U ovoj reakciji, POCl₃ i DMF su u početku formirali kloriminijev ion, Vilsmeierov reagens, koji je zatim reagirao s molekulom heterostilbena, te je nastao iminijev ion, koji je hidrolizirao do konačnih aldehida **116-121**. Primijetili smo da su *trans*-izomeri **110-115** uspješnije reagirali u formiliranju, pa je stoga udio *trans*-izomera aldehida **116-121** bio značajno veći (18-30 %) u usporedbi s onima za *cis*-izomere (1-19 %). Reakcija pretvorbe sintetiziranih aldehida **116-121** u odgovarajuće oksime **13-18** uključivala je upotrebu NH₂OH × HCl i smjese etanola i vode kao otapala i temeljila se na reakciji opisanoj u literaturi o jednostavnijim heteroaromatskim sustavima [308]. Spojevi se javljaju u dva izomerna oblika, *E*- ili *anti*- i *Z*- ili *syn*-izomer. *Anti*-izomeri karakterizirani su položajem hidroksi-skupine i vodika, koji se nalaze s različitih strana dvostruke veze ugljik-dušik, dok se kod *syn*-izomera nalaze s iste strane dvostruke veze. Reakcijom prevođenja aldehida u oksime mogu nastati četiri moguća produkta. S obzirom na etensku vezu sintetizirani derivati mogu biti *cis*- ili *trans*-, a s obzirom na položaj elektronskog

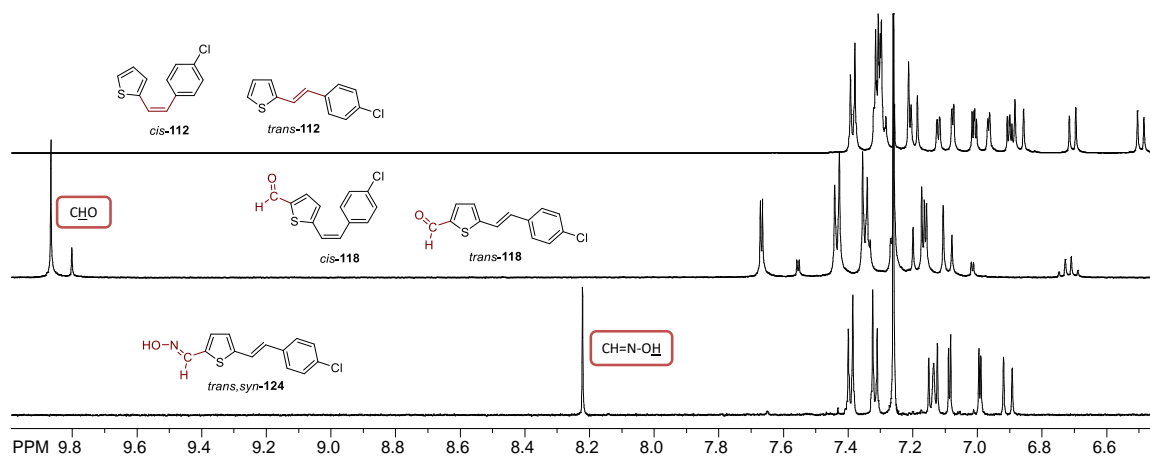
2. Rezultati i rasprava

para dušika unutar oksimske skupine, odnosno položaj hidroksi-skupine i vodika na dvostrukoj vezi između ugljika i dušika, mogu biti *syn*- ili *anti*. Ono što je prema ^1H NMR spektru karakteristično su singleti za oksimske protone za različitim pomacima. Signal za proton u *trans, syn*-izomeru nalazi se na najvećem kemijskom pomaku, od oko 8 ppm, dok se signal za isti proton kod *trans, anti*-analogu nalazi na kemijskom pomaku od 7,55 ppm. Navedeni kemijski pomaci oksimskih protona osnovna su razlika u ^1H NMR spektrima kod *syn*- i *anti*-izomera. Prema ^1H NMR spektroskopskim analizama, *trans*-izomeri su prisutniji u reakcijskim smjesama derivata oksima **122-127** (Slika 105). U slučaju oksima **122-124** i **127** koji kao supstituente imaju CH_3 , OCH_3 i Cl skupine, dominiraju *trans, anti*-izomeri. Oksimi **125** i **126** sa supstituentima koji privlače elektrone (CN odnosno NO_2) imaju najviše *trans, syn*-izomera u reakcijskoj smjesi, dok je u slučaju supstituenta $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ omjer *syn*- i *anti*-izomera bio 2 : 1, s prisutnošću *cis, syn*-**127** u istom udjelu kao i za *trans, syn*-**127** [309].



Slika 105. Omjer geometrijskih izomera sintetiziranih tienostilbenskih oksima **122-127**.

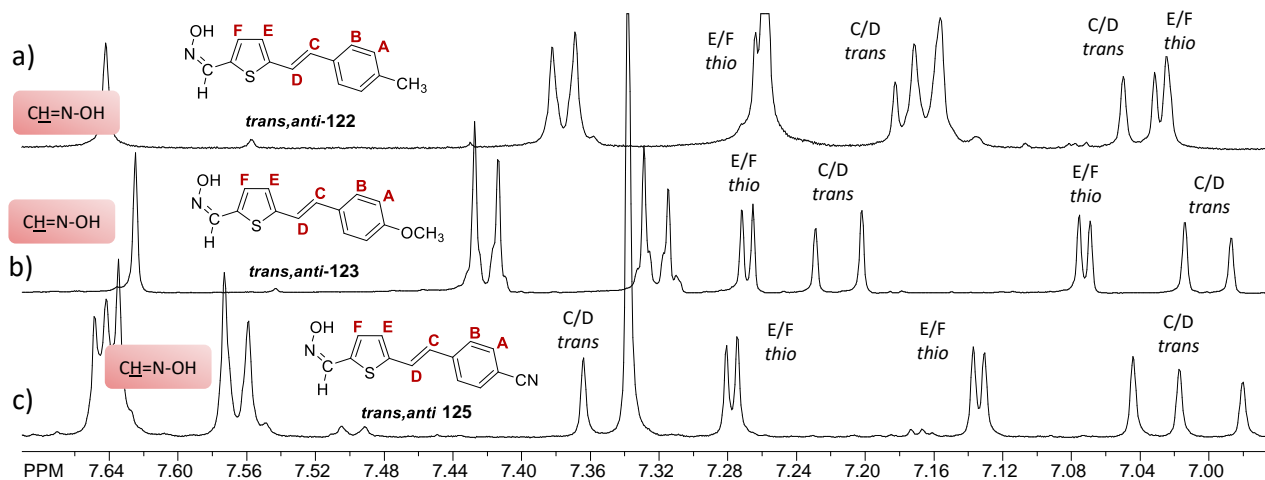
Nakon uzastopne kolonske i tankoslojne kromatografije, *trans, anti*- i *trans, syn*-izomeri pojedinačnih derivata oksima **122-127** izolirani su u dovoljnoj količini da se testiraju kao potencijalni reaktivatori kolinesteraza. Tijekom eksperimenata utvrđeno je da su *anti*-izomeri oksima polarniji i manje topljivi od *syn*-izomera, a zbog razlike u R_f vrijednostima relativno se lako izoliraju. Sličnost R_f vrijednosti *cis*- i *trans*-izomera *syn*-oksima utjecala je na slabiju uspješnost njihova razdvajanja. Svi izolirani izomeri oksima **122-127** u potpunosti su spektroskopski oksarakterizirani, a neki njihovi spektri su prikazani na slikama 106 i 107.



Slika 106. Aromatsko područje ^1H NMR spektara (CDCl_3) smjese *cis*-**112** i *trans*-**112** (a), smjese *cis*-**118** i *trans*-**118** (b) i oksima *trans, syn*-**124** (c).

2. Rezultati i rasprava

Dodatno, iz reakcijskih smjesa nakon Wittigove i Vilsmeierove reakcije, *cis*- i *trans*-izomeri tienostilbena **110-115**, kao i *cis*- i *trans*-izomeri produkata formiliranja **116-121** spektroskopski su potvrđeni i dani na HRMS analizu.



Slika 107. Aromatsko područje ¹H NMR spektara (CDCl₃+CD₃OD) oksima *trans,anti*-**122** (a), *trans,anti*-**123** (b) i *trans,anti*-**125** (c).

2.9.1. In silico predviđanje ADME svojstava tienostilbenskih oksima **122-127**

Odnos strukture i svojstava [275,276] s predvidljivim modelima za izračunate spojeve **122-127** također je analiziran programom ACD/Percepta (ver. 14.2.0; Build 2977; ACD/Laboratories, Toronto, ON, Kanada), koji ne razmatra geometrijsku izomerizaciju. Izračunata su fizičko-kemijska svojstva, posebno logP vrijednosti, topljivost i propusnost kroz biološke membrane (Tablica 17). Sa stajališta medicinske kemije, dizajn lijekova koji mogu prodrijeti kroz krvno-moždanu barijeru (BBB) i utjecati na željeni biološki odgovor je ogroman izazov. Umjereno lipofilni lijekovi prolaze kroz BBB pasivnom difuzijom, a svojstva vodikovih veza lijekova mogu značajno utjecati na njihove CNS (*engl.* Central nervous system, CNS) profile. Polarne molekule općenito su loši agensi CNS osim ako se ne podvrgnu aktivnom transportu kroz CNS. Veličina, ionizacijska svojstva i molekulska fleksibilnost drugi su čimbenici koji utječu na transport organskog spoja [277]. Lipofilnost je jedno od najvažnijih fizičkih svojstava koje može utjecati na snagu, distribuciju i eliminaciju lijeka u tijelu [278]. Općenito, topljivost odabranih oksima **122-127** bila je niska. Nitro-derivat **126** i dimetilamino-derivat **127** pokazali su najveću topljivost (0,01 mg mL⁻¹). Svi spojevi pokazali su optimalnu vrijednost lipofilnosti, što znači da bi trebali lako prodrijeti kroz BBB, budući da većina lijekova za CNS ima logP unutar raspona od 3,5 do 4,5 (ACD/Percepta (ver. 14.2.0; Build 2977; ACD/Laboratories, Toronto,

2. Rezultati i rasprava

ON, Kanada). Procjene faktora CNS pokazale su njihovu visoku sposobnost prodiranja. Rezultati vezanja proteina plazme (PPB) pokazali su visoku bioraspoloživost i dugi biološki poluživot jer vezani dio može djelovati kao rezervoar iz kojeg se lijek polako otpušta u nevezanom obliku kako bi se održala ravnoteža.

Ipak, na temelju ovih *in silico* ADME analiza, čini se da je klorov derivat **124** onaj s najmanje poželjnim fizikalno-kemijskim svojstvima kao potencijalni CNS lijek, ali topljivost svih tienostilbena zahtijeva poboljšanje.

Tablica 17. ADME svojstva derivata oksima **122-127**.

Spoj	logP ^a	Topljivost ^b [mg mL ⁻¹]	Propusnost ^c [10 ⁻⁶ cm s ⁻¹]	PPB ^d	CNS ^e
122	3,95	0,004	236	83 %	-1,86
123	3,70	0,009	237	77 %	-1,77
124	4,27	0,002	233	90 %	-2,05
125	3,32	0,009	234	77 %	-1,82
126	3,58	0,01	236	81 %	-1,92
127	3,94	0,01	236	83 %	-1,86

^alipofilnost logP (<-2,0 vrlo hidrofilno, -2,0-(-1,0) hidrofilno, -1,0-4,2 optimalno, 4,2-5,0 lipofilno); ^btopljivost (<0,01 vrlo netopljivo, 0,01-0,10 netopljivo, >0,10 topljivo); ^cpropusnost (<1,0 x 10⁻⁶ slabo propusno, 1,0-7,0 x 10⁻⁶ srednje propusno, >7,0 x 10⁻⁶ visoko propusno); ^dPPB — vezanje na proteine plazme (10-40 % slabo vezano, 40-80 % umjereno, 80-90 % snažno vezano, >90 % jako vezano); ^eCNS < -3,5 nepenetrantno, -3,50-(-3,0) slabo penetrantno, >-3,0 penetrantno); (ACD/Percepta (ver. 14.2.0; Build 2977; ACD/Laboratories, Toronto, Kanada).

Tablica 18. ADME svojstva derivata oksima **122-127**.

Spoj	logP ^a	Topljivost ^b [mg mL ⁻¹]	Propusnost ^c [10 ⁻⁶ cm s ⁻¹]	PPB ^d	CNS ^e
122	3,95	0,004	23,6	83 %	-1,86
123	3,70	0,009	23,7	77 %	-1,77
124	4,27	0,002	23,3	90 %	-2,05
125	3,32	0,009	23,4	77 %	-1,82
126	3,58	0,01	23,6	81 %	-1,92
127	3,94	0,01	23,6	83 %	-1,86

^alipofilnost logP (<-2,0 vrlo hidrofilno, -2,0-(-1,0) hidrofilno, -1,0-4,2 optimalno, 4,2-5,0 lipofilno); ^btopljivost (<0,01 vrlo netopljivo, 0,01-0,10 netopljivo, >0,10 topljivo); ^cpropusnost (<1,0 x 10⁻⁶ slabo propusno, 1,0-7,0 x 10⁻⁶ srednje propusno, >7,0 x 10⁻⁶ visoko propusno); ^dPPB — vezanje na proteine plazme (10-40 % slabo vezano, 40-80 % umjereno, 80-90 % snažno vezano, >90 % jako vezano); ^eCNS < -3,5 nepenetrantno, -3,50-(-3,0) slabo penetrantno, >-3,0 penetrantno); (ACD/Percepta (ver. 14.2.0; Build 2977; ACD/Laboratories, Toronto, Kanada).

2. Rezultati i rasprava

2.9.2. In vitro procjena tienostilbenskih oksima 122-127 u reakcijama s kolinesterazama

Osam derivata tienostilbenskih oksima **122-127** ispitano je u suradnji s kolegama s *Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada*, kao reverzibilni inhibitori AChE i BChE, a konstante disocijacije dane su u tablici 19. Općenito, svi oksimi bili su umjereni reverzibilni inhibitori oba enzima s K_i konstantama u mikromolarnom rasponu. Svi oksimi, osim *trans,anti-125*, bili su jači reaktivatori AChE od BChE. Od svih testiranih oksima, BChE je također pokazao veći potencijal za *cis,syn-127*, koji ima dušik na supstituentu, kao i za *trans,anti-125*.

U slučaju AChE, čini se da je cijano-supstituent utjecao na afinitet vezanja, jer je K_i za *trans,anti-125* do 10 puta veći nego za najjači inhibitor AChE, *trans,syn-124*. Osim toga, inhibicija AChE bila je nekompetitivna za sve spojeve, osim za *trans,syn-124*, dok su svi spojevi pokazali kompetitivno vezanje za BChE.

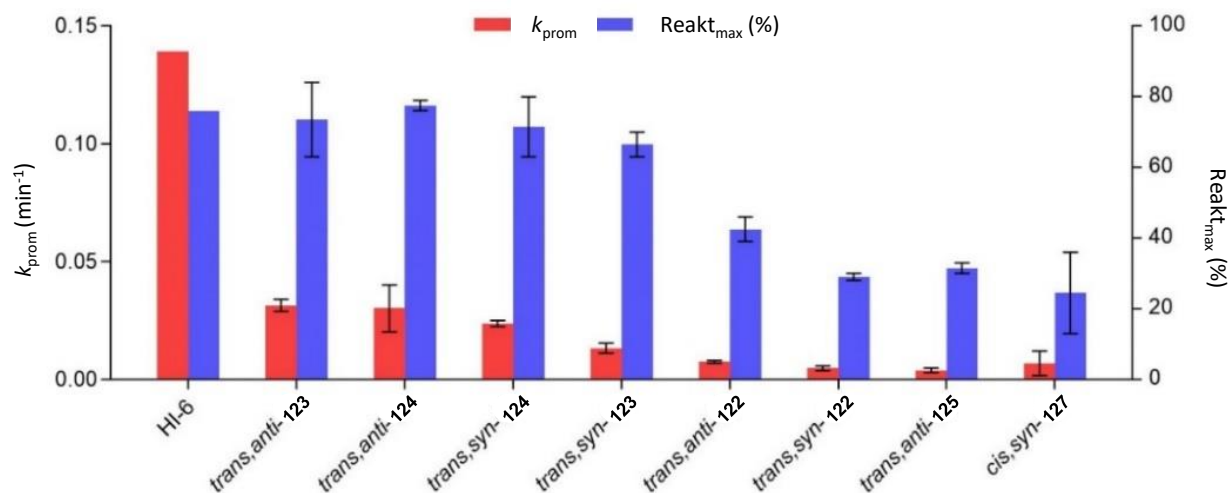
Tablica 19. Konstante disocijacije, K_i (μM) \pm SE, za reverzibilnu inhibiciju ljudske AChE i BChE s novim oksimima na 25 °C.

Spoj	AChE	BChE
<i>trans,syn-122</i>	46 \pm 7	355 \pm 26
<i>trans,anti-122</i>	41 \pm 4	322 \pm 38
<i>trans,syn-123</i>	67 \pm 12	271 \pm 24
<i>trans,anti-123</i>	54 \pm 7	172 \pm 14
<i>trans,syn-124</i>	52 \pm 12	573 \pm 35
<i>trans,anti-124</i>	76 \pm 21	482 \pm 45
<i>trans,anti-125</i>	158 \pm 40	44 \pm 9
<i>cis,syn-127</i>	39 \pm 11	89 \pm 16

Reaktivacija humanih AChE i BChE inhibiranih nervnim agensima (sarin, ciklosarin, VX i tabun) ispitana je s jednom koncentracijom derivata tienostilbenskog oksima (0,1 mM). U slučaju AChE inhibiranog bilo kojim od četiri nervna agensa, nije primijećena reaktivacija veća od 20 % unutar 5 sati, što ne predstavlja poboljšanje u odnosu na TMB-4, 2-PAM, HI-6 i obidoksim u slučaju AChE inhibiran tabunom, VX, sarinom i ciklosarinom. Nažalost, reaktivacija se nije mogla ispitati s višom koncentracijom zbog slabe topljivosti i otapala DMSO, koji utječe na aktivnost AChE. U slučaju BChE, samo je BChE inhibirana ciklosarinom bila sklona reaktivaciji, a slika 108 prikazuje postotak maksimalne reaktivacije i opaženu stopu reaktivacije s 0,1 mM oksima. Najbrža reaktivacija uočena je kod *trans,anti-124* i *trans,anti-123*, kao i kod njihovih *trans,syn*-parova. Ova četiri derivata reaktivirala su BChE inhibiranu ciklosarinom do 70 % u dva sata reaktivacije. Iako je maksimalni postotak reaktivacije bio sličan standardnom

2. Rezultati i rasprava

oksimu HI-6, promatrana stopa reaktivacije bila je oko četiri puta sporija od one dobivene za HI-6. BChE inhibiran drugim nervnim tvarima bio je otporan na reaktivaciju s tim spojevima. Ipak, čini se da su oksimi s 4-metoksifenilim i 4-klorfenilnim supstituentima **123** i **124** uspješni u reaktivaciji ljudskog BChE inhibiranog ciklosarinom. Ovi su rezultati u skladu s nedavnim ispitivanjima na kinuklidinskim 3-oksimima od kojih su najjači reaktivatori BChE inhibiranog ciklosarinom bili brom- ili klorbenzilni oksimi [310].



Slika 108. Reaktivacija ljudskog BChE inhibiranog ciklosarinom s osam derivata tienostilbenskih oksima i standardnim oksimom HI-6 (0,1 mM) danim kao standardna konstanta reaktivacije (k_{obs}) i maksimalna reaktivacija u 22 sata.

2.9.3. Računalno ispitivanje potencijalnih reaktivatora

Kako bismo dobili uvid u strukturu kompleksa enzim-inhibitor nakon što se oksim približi aktivnom mjestu, ispitali smo pristajanje tienostilbenskog oksima u inhibiranu kolinesterazu. Prema našim eksperimentalnim rezultatima, značajna sposobnost reaktivacije ispitanih tienostilbenskih oksima utvrđena je samo za BChE inhibiran ciklosarinom, stoga smo ispitali pristajanje spojeva od interesa u aktivno mjesto BChE inhibiranog ciklosarinom. Treba napomenuti da, za razliku od AChE inhibiranog ciklosarinom, kristalna struktura BChE inhibiranog ciklosarinom nije dostupna u literaturi. Kako bismo riješili ovu prepreku, pokušali smo upotrijebiti konformaciju ciklosarina vezanog za AChE (iz PDB strukture 3ZLU [311]) i ugraditi ga unutar aktivnog mjesta BChE. Međutim, zbog razlika između aktivnih mjesta BChE i AChE, posebno zbog smještanja His438 u BChE, ovaj je pristup rezultirao sterički nepovoljnim interakcijama. Cuya i sur. proveli su studiju molekulske dinamike [312] kako bi dobili najrealniju konformaciju inhibitora, ali su također koristili AChE inhibiran ciklosarinom. Stoga je u našem radu

2. Rezultati i rasprava

korištena eksperimentalno dobivena kristalna struktura BChE inhibirana tabunom, zamjenjujući dimetilamino i etoksi-skupinu tabuna metilnom odnosno cikloheksiloksi-skupinom ciklosarina. Orijehtacija zamijenjenih supstituenata u rezultirajućoj konformaciji ciklosarina bila je slična strukturi u AChE, s obzirom na sterička ograničenja u aktivnom mjestu BChE.

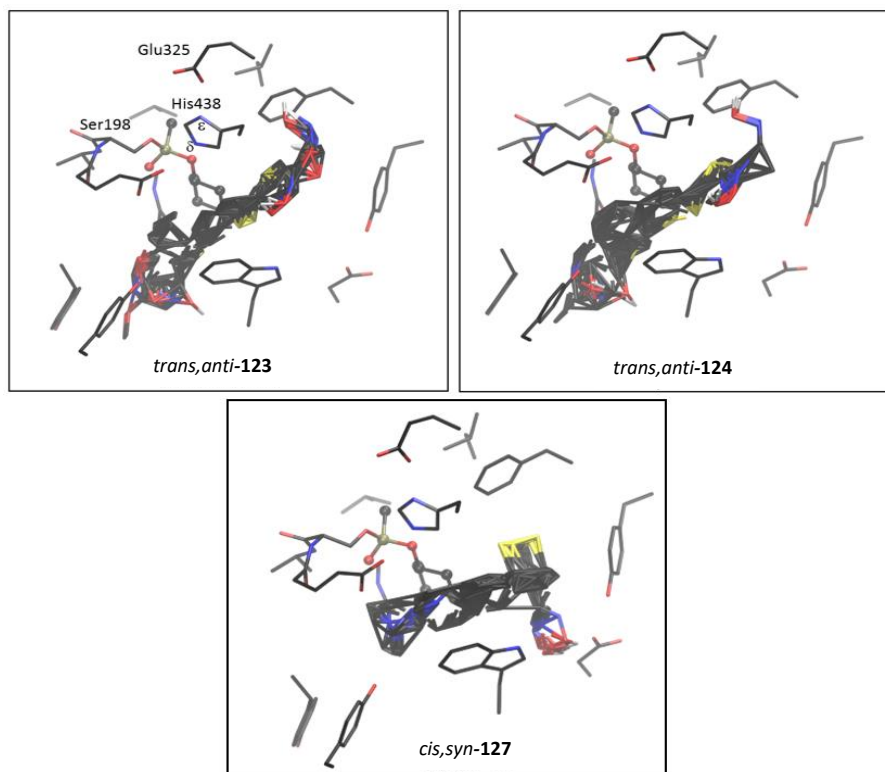
Kao spojevi s najboljom sposobnošću reaktivacije, *trans,anti-123* i *trans,anti-124* odabrani su za ispitivanje u aktivnom mjestu BChE inhibiranog ciklosarinom. Usporedbe radi, provjerili smo i pristajanje lošeg reaktivatora *cis,syn-127*.

Strukture aktivnog mjesta BChE inhibiranog ciklosarinom sa tienostilbenskim oksimima prikazane su na slici 109. Za svaki od ova tri oksima, sve konformacije dobivene spajanjem na inhibirano aktivno mjesto su superponirane, tako da je najčešća orijentacija reaktivatora jasno prikazana. Molekule **123** i **124** poprimaju različite konformacije, ali iz prikaza na slici 109 vidljivo je da je u većini slučajeva oksimska skupina orijentirana prema His438. Nasuprot tome, za molekulu *cis,syn-127*, oksimska skupina uvijek je orijentirana u suprotnom smjeru. Orijehtacija oksimske skupine relevantna je za reaktivaciju, kao i njezina blizina His438 i fosfornom atomu ciklosarina, jer je prvi korak reaktivacije nukleofilni napad kisika oksimske skupine na fosfor. Budući da su oksimi u ovoj studiji ušli u aktivno mjesto u neutralnom obliku, prvom koraku učinkovite reaktivacije trebalo bi prethoditi potpuno (ili barem djelomično) deprotoniranje oksimske skupine. Ovo deprotoniranje je moguće samo ako je proton oksima u sterički povoljnom položaju u odnosu na neprotonirani dušikov atom His438. Iako je neutralni histidin slaba baza i stoga ne može deprotonirati oksimsku skupinu, ovdje je smješten blizu Glu325, koji prihvaća proton smješten na ϵ -dušikovom atomu histidina i tako olakšava prijenos protona s oksima na δ -dušik histidina. Slika 109 pokazuje da niti jedna od konformacija dobivenih za *cis,syn-127* nije u povoljnom položaju za nastavak reaktivacije. Nasuprot tome, za **123** i **124** većina konformera postavljena je tako da omogućuje reaktivaciju. Na slici 109 prikazane su najpovoljnije konformacije molekula **123** i **124**, zajedno s nekim geometrijskim parametrima.

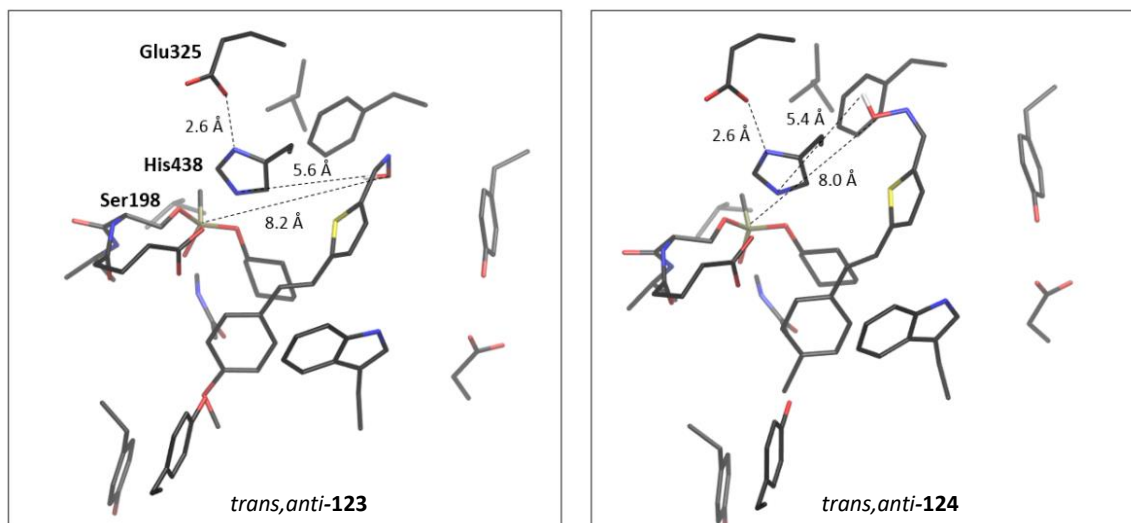
Slika 110 pokazuje da su strukture kompleksa formiranih između *trans,anti-123* i *trans,anti-124* i aktivnog mjesta BChE inhibiranog ciklosarinom povoljne za reaktivaciju enzima. Kao što je već spomenuto, tienostilbenski oksimi koji su ovdje proučavani nisu u ionskom obliku, što je važno jer neutralni oksimi imaju poboljšanu sposobnost prolaska kroz krvnomoždanu barijeru u usporedbi s onima nabijenim. Međutim, da bi se mogla prekinuti kovalentna P-O veza između inhibitora i katalitičkog Ser198, oksim bi trebao biti potpuno ili djelomično deprotoniran histidinom, kao što je nedavno objavljeno u polu-empirijskim izračunima reaktivacije BChE [313]. Stoga je blizina oksima histidinu zajedno s položajem oksimske skupine,

2. Rezultati i rasprava

koji osigurava odsutnost steričke smetnje za kisikov napad fosfora, ključna za učinkovitu reaktivaciju.



Slika 109. Strukture aktivnog mjesta BChE inhibiranog ciklosarinom s tienostilbenskim oksimima: *trans,anti-123*, *trans,anti-124* i *cis,syn-127*. Ciklosarin (predstavljen korištenjem modela kuglica i štapića) je kovalentno vezan za Ser198.



Slika 110. Najpovoljnija konformacija *trans,anti-123* i *trans,anti-124* u aktivnom mjestu BChE inhibirane ciklosarinom.

U statičkoj strukturi dobivenoj pristajanjem, udaljenost između kovalentno vezanog inhibitora i kisika neutralnog oksima je prevelika da bi omogućila trenutni početak reakcije (nukleofilni napad kisika na fosfor). Međutim, povoljna orijentacija oksima i njegova blizina

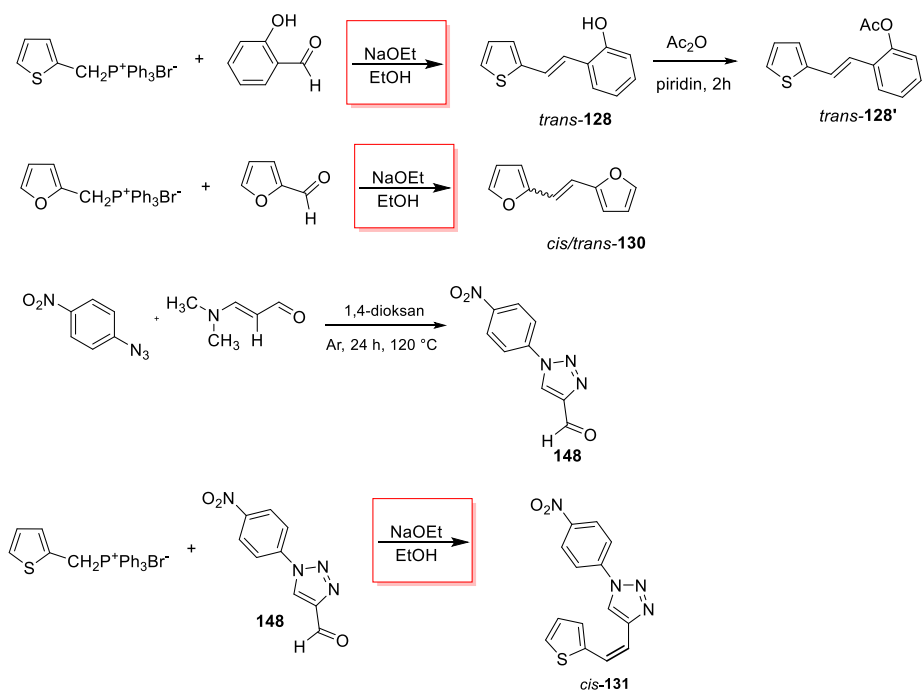
Hisu438 čine ovaj proces izvedivim. Kako bismo dodatno ispitali ovaj zaključak, izvršili smo skeniranje plohe potencijalne energije (PES), koristeći proračune kvantne kemije na malom modelnog sustava koji se sastoji od His448, Glu325 i Ser198 s kovalentno vezanim ciklosarinom i tienostilbenskim oksimom *trans,anti*-**124**. Skeniranje PES uključivalo je grubu optimizaciju geometrije za skup struktura dobivenih inkrementalnim (0,1 Å) smanjivanjem udaljenosti između kisika oksima i fosfora, $d(\text{O}_{\text{oxime}}\text{-P})$. Početna vrijednost udaljenosti bila je 8 Å. Ukupna energija sustava također se smanjivala sve dok se kisik nije približio fosforu na $d = 4,3$ Å. Daljnje skraćivanje $d(\text{O}_{\text{oxime}}\text{-P})$ nije uzrokovalo značajnu promjenu energije sve dok kisik nije bio udaljen 3 Å od fosfora.

Može se zaključiti da je približna ravnotežna udaljenost $d(\text{O}_{\text{oxime}}\text{-P})$ prije početka reakcije između oksima i ciklosarina između 4 i 3 Å. Važno je naglasiti da se ova struktura može postići spontano (proces je egzoterman, i što je još važnije, bez energijskih barijera), počevši od prve geometrije. Istraživanje provedeno u ovom dijelu nema za cilj odgovoriti na to kako različiti supstituenti na fenilnoj jedinici tienostilbenskih oksima utječu na njihovu sposobnost reaktivacije. Međutim, prikazani rezultati pokazuju da *trans,anti*-tienostilbenski oksimi imaju konformacijsku prednost u usporedbi s njihovim *cis,syn*-parovima.

2.10. Sinteza novih nenabijenih oksima

Nastavno na prikazane tienostilbenske nenabijene oksime, sintetiziran je niz novih oksima polazeći iz pripremljenih fosfonijevih soli i polaznih odgovarajućih aldehida. Preko Wittigove reakcije (shema 23) i Vielsmeierovog formiliranja došli smo do željenih aldehida i u konačnici oksima. Na shemi 24 prikazan je sintetski put novih nenabijenih oksima.

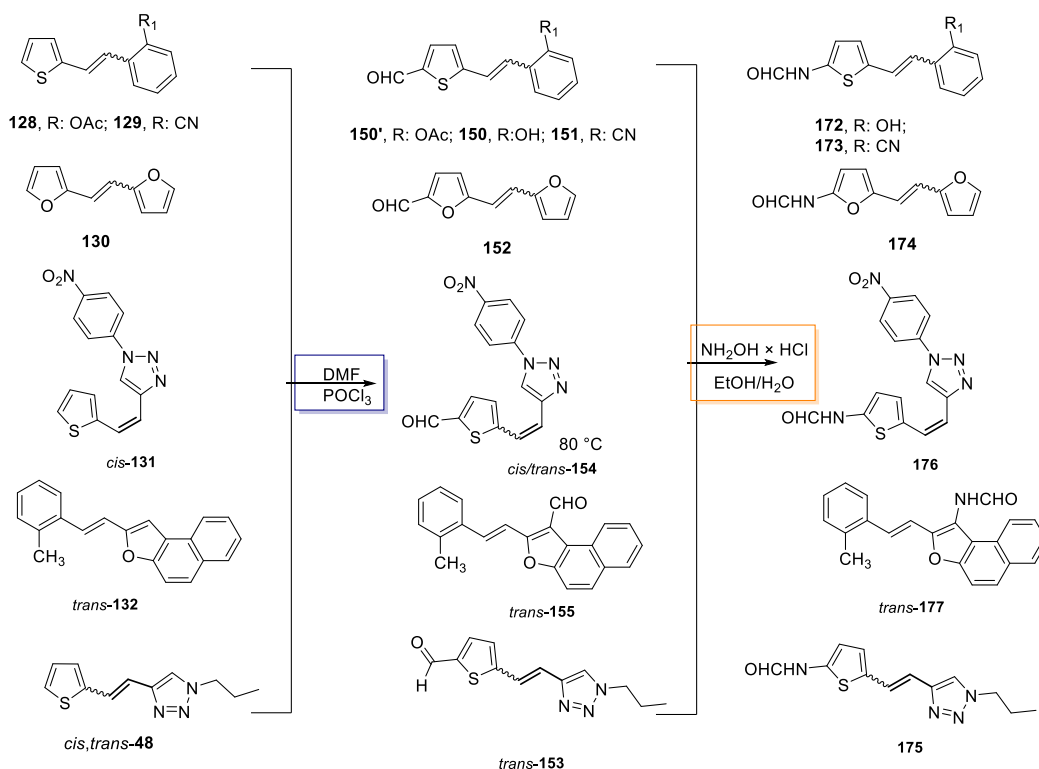
2. Rezultati i rasprava



Shema 23. Sintetski put novih Wittigovih produkata.

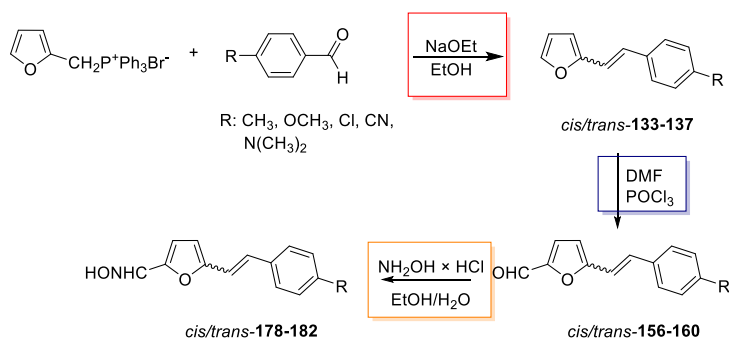
Wittigovom reakcijom nastale su nove smjese uglavnom *cis*- i *trans*-izomera izuzev derivata **131** koji je reakcijom dao samo *cis*-izomer i derivata **132** koji je reakcijom dao samo *trans*-izomer. Svi ostali derivati Wittigovom reakcijom su dali smjesu *cis/trans*-izomera. Uočeno je da tijekom reakcije Vielsmeierova formiliranja kod derivata **131** došlo do termičke izomerizacije s obzirom da se reakcija provodila na 80 °C i nastala je smjesa *cis*- i *trans*-aldehida **154**, što nije bio slučaj kod derivata **132**. Sve navedene tvrdnje su potvrđene ¹H NMR analizom. Produkti Vielsmeierovog formiliranja uspješno su prevedeni u nove, nenabijene oksime. Kod derivata **176** prevladavali su *cis*-oksimi, dok *trans*-oksime nismo uspjeli izolirati s obzirom na njihove male količine. Kod derivata **177** dobiveni su samo *trans*-oksimi, a ostali derivati su dali smjese četiri oksima. Kod ove klase spojeva, smjese oksima, kako je i navedeno na shemi 24 poslone su kao takve na biološka ispitivanja reaktivacije kolinesteraza.

2. Rezultati i rasprava



Shema 24. Vielsmeierovo formiliranje novih heterostilbena i njihovo prevođenje u nenabijene oksime.

Na sličan način sintetiziran je i novi niz nenabijenih oksima prikazan na shemi 25. Furanski heterostilbeni **133-137** sintetizirani su Wittigovom reakcijom. Kao polazni reaktant korištena je fosfonijeva sol i furanski aldehid, uz prisutnost natrijevog etoksida NaOEt kao baze, te etanola kao otapala. Kao produkti reakcije dobivene su smjese *cis*- i *trans*-izomera.



Shema 25. Sintetski put novih nenabijenih oksima.

Furanski i dimetilamino-heterostilben **136** i **137** također su sintetizirani Wittigovom reakcijom, korištenjem furanske fosfonijeve soli i *p*-cijano-aldehida, odnosno dimetilamino-aldehida, uz prisutnost natrijevog etoksida kao baze, te etanola kao otapala. Ponovno nastaje smjesa *cis*- i *trans*-izomera. Dobiveni izomeri **133-137** odijeljeni su pomoću kolonske kromatografije. Kolona je punjena silika-gelom, a kao eluens koristila se smjesa

2. Rezultati i rasprava

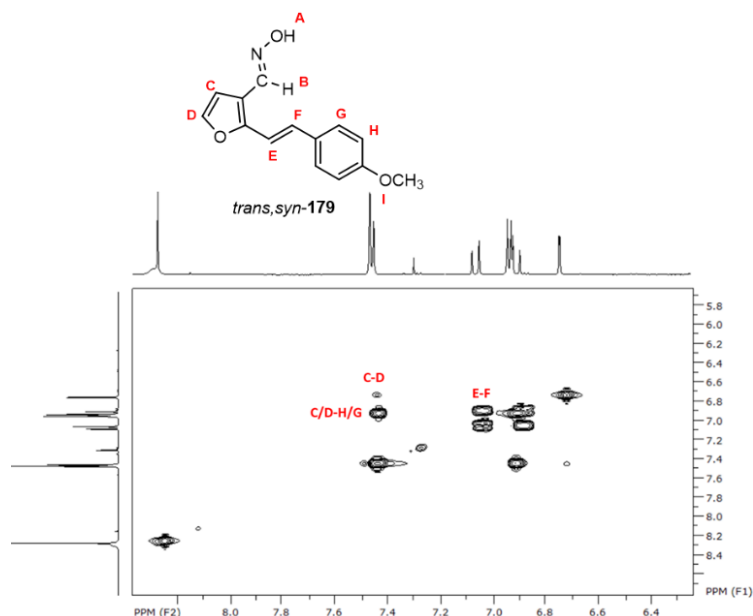
petroleter/dietil-etera promjenjive polarnosti. Za dodatno pročišćavanje i odvajanje izomera korištena je tankoslojna kromatografija sa silika-gelom kao stacionarnom fazom, a kao otapalo korištena je smjesa petroleter/dietil-etera promjenjive polarnosti. Prema ^1H NMR analiziranim spektrima, *trans*-izomere karakterizira konstanta sprege od 16 Hz, dok je kod *cis*-izomera ona nešto manja, oko 12 Hz. Osim protona dvostruke veze, protoni furanskog prstena također imaju karakteristične kemijske pomake, konstante i oblike signala. Signal za proton, koji je vezan na ugljikov atom uz kisik, nalazi se na najvećem kemijskom pomaku, dok se signali za druga dva furanska protona nalaze pri nižim kemijskim pomacima, s obzirom na to da ne osjećaju utjecaj kisika. Konstanta sprege koja se javlja između furanskih protona iznosi oko 1,5 Hz i 3 Hz. Smjese *cis*- i *trans*-produkata Wittigove reakcije **133-137** podvrgnute su reakciji Vilsmeier-Haackovog formiliranja. Kao početni reaktanti koriste se POCl_3 i DMF koji prvotno tvore Vilsmeierov reagens, koji potom sudjeluje u reakciji s heterostilbenima **133-137**. U reakcijskoj smjesi, nakon miješanja na sobnoj temperaturi, nastaju *cis*- i *trans*-izomeri **156-160**.

U tom se slučaju reakcija odvijala na ugljikovom atomu u položaju 5 furanskog prstena. U slučaju produkta **157**, reakcija formiliranja odvila se na položaju 3 furanskog prstena, vjerojatno zbog grijanja reakcijske smjese. Navedena tvrdnja je dokazana ^1H NMR spektroskopijom s obzirom da se takvi furanski protoni međusobni sprežu konstantama sprege od 1 – 2 Hz, što je u ovom slučaju i dokazano. Ostali aldehidni derivati pokazuju karakteristične singlete na oko 9 Hz koji se odnose na aldehidni proton. Ponovno vidimo i etenske dublete na njihovim karakterističnim pomacima i s odgovarajućim konstantama sprege. Kao što je ranije navedeno, u reakcijama formiliranja u većem iskorištenju nastaju *trans*-izomeri. To se odnosi na sve molekule osim za molekulu **158**, kod koje *cis*-izomer nastaje u većem iskorištenju (21 %) od *trans*-izomera (10 %). Glavna razlika vidljiva je u ^1H NMR spektrima gdje su vidljivi etenski protoni različitih konstanti. Protoni dvostruke veze u molekuli *cis*-**158** karakterizirani su konstantom sprege od 13,5 Hz, dok konstanta sprege kod etenskih protona u molekuli *trans*-**158** iznosi 15,9 Hz.

Prethodno sintetizirani aldehidi **156-160** prevedeni su u oksimske derivate **178-182**. Reakcija sinteze oksima započinje korištenjem $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ i smjese $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ kao otapala. Kao što je već spomenuto i u prethodnom poglavlju, molekule konačnih oksima se javljaju u dva izomerna oblika, *E*- ili *anti*- i *Z*- ili *syn*-izomer. *Anti*-izomeri karakterizirani su položajem hidroksi-skupine i vodika, koji se nalaze s različitih strana dvostruke veze ugljik-dušik, dok se kod *syn*-izomera nalaze s iste strane dvostruke veze. Reakcijom prevođenja aldehida u oksime mogu nastati četiri moguća produkta. S obzirom na etensku vezu sintetizirani derivati mogu biti *cis*- ili *trans*-, a s obzirom na položaj elektronskog para dušika unutar oksimske skupine,

2. Rezultati i rasprava

odnosno položaj hidroksi-skupine i vodika na dvostrukoj vezi između ugljika i dušika, mogu biti *syn*- ili *anti*-. Kod *trans, syn*-**178** izomera dva dubleta s konstantom sprege od 3,5 Hz nalaze se na kemijskim pomacima od 6,64 ppm i 6,38 ppm, dok se kod *trans, anti*-**178** izomera dva dubleta s jednakom konstantom sprege nalaze na kemijskim pomacima od 7,31 ppm i 6,46 ppm.



Slika 111. Prikaz dijela COSY spektra molekule *trans, syn*-**180**.

Uz ^1H i ^{13}C NMR spektre, za karakterizaciju sintetiziranih oksimskih derivata snimljeni su i dvodimenzijski spektri koji pokazuju korelaciju H-H (COSY). Slika 111 prikazuje COSY spektar na kojem se vide homonuklearna sprezanja (^1H - ^1H sprege), odnosno sprezanja protona kroz dvije ili tri veze za spoj *trans, syn*-**180**. Vidljiva su i sprezanja između protona C i D, protona E i F te protona C/H i H/G.

Aldehidi **161-164** sintetizirani su iz Wittigovih produkata **138-141** Vilsmeierovim formiliranjem uz reaktante POCl_3 i DMF. Izoliranim *cis*- i *trans*-izomerima u tikvicama su se dodali reaktanti u suvišku. Tikvice su tijekom dodavanja bile uronjene u ledenu kupelj, kako bi se snizila temperatura jer se dodatkom POCl_3 oslobađaju otrovni plinovi. 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. Dobiveni *cis*- i *trans*-izomeri aldehida **161-164** pročišćeni su ekstrakcijom, te kolonskom kromatografijom na silika-gelu, koristeći smjesu otapala petroletera i dietiletera promjenjive polarosti.

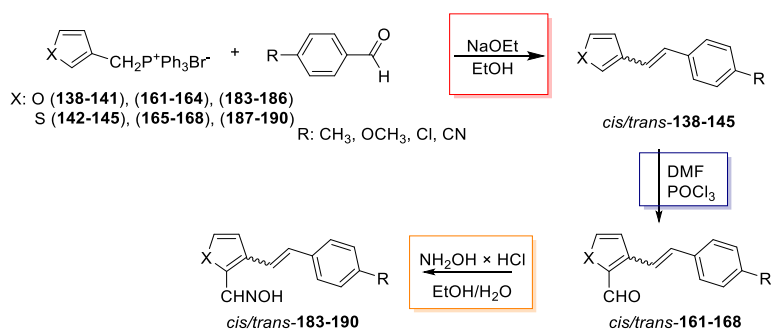
Kod *cis*-**161** i *cis*-**162** izomera primjećuje se da formilna skupina u malom postotku ulazi u položaj 5 na furanskoj jezgri. Stoga je kod metilnog (**161**), kao i kod klorovog (**162**)

2. Rezultati i rasprava

derivata aldehida *trans*- izomer izoliran u većem iskorištenju. Kod cijano-derivata (**164**), i *cis*- i *trans*-izomeri izolirani su u 100 % iskorištenju jer nastaje samo jedan aldehid.

^1H NMR spektar aldehida *trans*-**161** pokazuje da se na najvećim pomacima od 9,91 ppm nalazi signal za proton aldehidne skupine. To potvrđuje da je Vilsmeierova reakcija uspješno provedena, te se vidi i da je većinski produkt aldehid gdje je formilna skupina ušla u položaj 2 furanskog prstena, ali i da u vrlo malom postotku formilna skupina ulazi u položaj 5 furanskog prstena. Međutim, izoliran je samo većinski produkt. Signali za protone benzenske i furanske jezgre, te protone dvostruke veze nalaze se na sličnim pomacima. Kod *trans*-izomera klorova derivata (**162**) signal za proton aldehidne skupine nalazi se na 9,92 ppm, a kod cijano-derivata (**164**) na 9,94 ppm. Kod metilnog derivata (**161**) signal za taj proton kod *cis*-izomera nalazi se na 9,81 ppm, kod klorovog (**162**) na 9,83 ppm, a kod cijano-derivata na 9,85 (**164**) ppm. Signali za protone dvostruke veze, koji su dubleti, kod *trans*-**162** izomera nalaze se na većim kemijskim pomacima i imaju konstantu sprege od 16,3 Hz. Kod *cis*-**162** dubleti koji pripadaju etenskim protonima nalaze se na nešto manjim kemijskim pomacima i imaju nešto manju konstantu sprege koja iznosi 12,0 Hz.

Na snimljenim ^{13}C NMR spektrima signal za ugljik aldehidne skupine kod svih derivata aldehida **161-164** nalazi se na oko 178 ppm. Signal za taj ugljik je dublet jer na sebi ima vezan proton aldehidne skupine. Na spektrima metilnog (**161**), metoksi- (**162**), klorova derivata (**163**) aldehida nalaze se četiri kvaterna ugljika, koji su singleti i niskog su intenziteta. Kod cijano-derivata (**164**) trebalo bi se vidjeti pet signala za kvaterne ugljike, 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.



Shema 26. Sintetski put novih nabijenih oksima **183-190**.

Novi oksimski derivati 3-furilnih stilbena **183-186** sintetizirani su prevođenjem aldehida u oksime uz dva ekvivalenta $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$ te smjese otapala $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$. Reakcija se provodila 24 sata na sobnoj temperaturi. Nastaje smjesa *syn*- i *anti*- izomera pojedinih *cis*- i

2. Rezultati i rasprava

trans-oksima **183-186**. Suha reakcijska smjesa razdvaja se višestupnjevitom kolonskom kromatografijom na silika-gelu, koristeći smjesu otapala petroleter/dietileter (1-50 %). Reakcija prevođenja aldehida u oksime prikazana je na shemi 26.

Glavna karakteristika na ^1H NMR spektru oksima (*trans,syn*-**185**) je signal za proton oksimske skupine koji se kod svih *syn*-izomera oksima nalazi između 8,10 i 8,23 ppm. Ovaj signal ima oblik singleta i on potvrđuje da su se aldehidi uspješno preveli u oksime. U ^1H NMR spektru oksima (*trans,syn*-**185**) utvrđen je i signal za proton hidroksilne skupine, koji je singlet i najčešće je široki singlet. 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. Signal za proton hidroksilne skupine kod *anti*-izomera oksima nalazi se na nešto nižim kemijskim pomacima nego kod *syn*-izomera. Kod svih *anti*-izomera oksima signal za proton 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.

Prevođenjem aldehida **161-164** u 3-furostilbenske oksime, dobivaju se *syn*- i *anti*-izomeri pojedinih *cis*- i *trans*- oksima **183-186**. 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*-oksimi 3-furilnih stilbena sintetizirani su u dovoljnoj količini i mogu se istraživati u svrhu njihovog potencijala kao reaktivatora kolinesteraza.

Sinteza heterostilbena **142-145** provedena je također Wittigovom reakcijom. Za sintezu su bili potrebni 3-tienilni aldehyd i *p*-supstituirana fosfonijeva sol uz dodatak natrijeva etanoata koji se dobije reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola. Reakcija dobivanja heterostilbena prikazana je na shemi 26. Reakcijska procedura je slična kao i za ostale spojeve unutar ovog poglavlja. Najbolje iskorištenje od 96 % pokazala je reakcija s *p*-metilnom fosfonijevom soli, a razlog tome su vjerojatno najmanja sterička ometanja metilne skupine. Najlošije iskorištenje od 23 % pri navedenim reakcijskim uvjetima pokazala je reakcija s *p*-klorovom fosfonijevom soli, te je stoga reakcija ponovljena u toluenu kako bi se vidjelo ima li promjena otapala kakav utjecaj na iskorištenje reakcije. Iskorištenje ponovljene reakcije iznosilo je 56 % što se pokazalo boljim i njome je dobiveno dovoljno produkata za sljedeće sintetske korake. Iskorištenje reakcije s *p*-cijano-fosfonijevom soli iznosilo je 68 %.

Niti jedna od reakcija nije pokazala stereospecifično nastajanje samo jednog od produkata već su nastala oba izomera u različitim omjerima. U svim reakcijama većinski produkti bili su *cis*-izomeri čime se pokazalo da su sve provedene reakcije kinetički kontrolirane. Najveću selektivnost pokazala je reakcija s cijano-supstituentom na fosfonijevoj soli gdje je *cis*-

2. Rezultati i rasprava

izomera nastalo čak tri puta više od *trans*-izomera dok je u ostale dvije reakcije omjer nastalih izomera u smjesi bio približno 1:1. Ovaj ishod povoljan je zbog činjenice da su u pravilu *cis*-izomeri manje stabilne molekule zbog čega su manje poznati, te stoga i manje opisani u literaturi.

Dobiveni produkti Wittigove reakcije odvojeni su i pročišćeni kolonskom kromatografijom, a strukture su im okarakterizirane i potvrđene ^1H i ^{13}C NMR spektrima. Osim za potvrdu struktura spojeva, spektri sirovih smjesa korišteni su i za određivanje omjera dobivenih *cis*- i *trans*-produkata. U ovom prvom sintetskom koraku najvažnije je bilo ^1H NMR spektrima dokazati nastanak dvostruke veze što je uz potvrdu integralima i konstantama sprege dokaz nastanka spojeva **142-145**. Protoni dvostruke veze potvrđeni su pronalaskom dva dubleta koji su međusobno u sprezi i u svakom spektru pokazuju izraženi krovni efekt, te jednake karakteristične iznose konstanti sprege za *cis*- i *trans*-izomere. Kod *cis*-izomera svi dubleti se nalaze u rasponu pomaka od 6,68 do 5,52 ppm, a iznos konstante sprege kod spoja *cis*-**142** je 12,3 Hz, dok je kod spojeva *cis*-**143-145** 12,1 Hz. Kod svih *trans*-izomera primjećuje se mali pomak prema odsjenjenijem dijelu spektra, pa se tako svi dubleti nalaze u rasponu pomaka od 7,23 do 6,89 ppm, a iznosi konstanti sprege kod svih *trans*-izomera (*trans*-**142-145**) su 16,3 Hz. Još neki karakteristični signali na spektrima spojeva **142-145** signali su tiofenskih i benzenskih protona.

Potvrda benzenskih protona su dubleti integrala 2 i konstanta sprege koja uvijek iznosi oko 8 Hz. Zbog promjene supstituenata na benzenu može se uočiti utjecaj induktivnog efekta pa se tako protoni benzena uz klor nalaze na nešto malo višim pomacima od protona uz metil i metoksi, a na najvišim pomacima, tj. najodsjenjeniji su aromatski protoni uz cijano-skupinu. Također, ponovo se primjećuje trend odsjenjenja signala i kod benzenskih protona između samih izomera (signali *trans*-izomera nalaze se pri većim pomacima). Potvrda tiofenskih protona je konstanta sprege koja iznosi oko 5 Hz i oko 3 Hz, te je u nekim slučajevima došlo i do daleke sprege protona preko 5 veza čija konstanta iznosi oko 1 Hz.

Dakle, u nekim je spektrima bilo omogućeno potpuno asigniranje svih tiofenskih protona pomoću konstanti sprege. U slučaju kada to nije moguće utvrditi konstantama sprege, jedan tiofenski dublet protona uvijek je onaj odsjenjeniji od drugog tiofenskog dubleta protona zato što se nalazi uz heteroatom sumpora koji zbog induktivnog efekta odsjenjuje proton u svojoj blizini. Kod spektara spoja *cis*-**142** i *trans*-**142** karakterističan je singlet integrala 3 na pomaku od otprilike 2,3 ppm.

^{13}C NMR spektri poslužili su kao dodatna potvrda struktura zato što je kod njih teže razlikovati i potpuno asignirati aromatske jezgre i jezgre dvostruke veze jer im se pomaci nalaze

2. Rezultati i rasprava

u istom području. U ^{13}C NMR spektrima spojeva *cis*-**142,143** i *trans*-**142,143** ukupno je 11 signala od kojih tri pripadaju kvaternim ugljikovim jezgrama. U ^{13}C NMR spektrima spojeva *cis*-**144** i *trans*-**144** ukupno je 10 signala od kojih su tri za kvaterne jezgre. U ^{13}C NMR spektrima spojeva *cis*-**145** i *trans*-**145** ukupno je 11 signala od kojih su četiri za kvaterne jezgre. Od ovih kvaternih jezgri dva signala nalaze se na najvišim pomacima u odsjenjenijem području dok se ostala dva nalaze pri manjim pomacima i zasjenjeniji su. Signali za kvaternu ugljikovu jezgru cijano-skupine nalaze se na očekivanom području pomaka od 115 do 120 ppm. Signali kvaternih ugljika u svim spektrima niskog su intenziteta i uglavnom su odsjenjeniji u odnosu na ostale signale.

Sinteza aldehida **165-168** provedena je ponovno Vilsmeierovim formiliranjem. Ovaj sintetski korak bio je potreban kako bi se prethodno dobiveni spojevi funkcionalizirali i stoga lako mogli prevesti u oksime. Za sintezu su bili potrebni pročišćeni i odvojeni izomeri heterostilbena, otapalo DMF i reagens POCl_3 . Reakcija dobivanja aldehida prikazana je na shemi 26. Ovaj korak sinteze dao je najlošija iskorištenja, te se stoga pokazao kao najviše problematičan. Reakcije formiliranja spojeva *cis*-**144** i *cis*-**145** ponovljene su i dva puta kako bi se dobilo dovoljno produkata za sljedeći korak prevođenja u oksime. Iskorištenje formiliranja spoja *cis*-**142** iznosilo je 26 %, a spoja *trans*-**142** 57 %.

Iskorištenje prvog formiliranja spoja *cis*-**143** iznosilo je 20 %, a spoja *trans*-**143** 46 %. Iskorištenje prvog formiliranja spoja *cis*-**144** iznosilo je 16 %, drugog 47 %, a spoja *trans*-**144** 46 %. Ovdje je bitno naglasiti da u prvom formiliranju spoja *cis*-**144** reagens POCl_3 nije uzet u suvišku dok je u drugom formiliranju uzet u 10 % suvišku što se pokazalo kao bolji uvjet reakcije. Razlog smanjivanja količine POCl_3 je taj što su u reakciji formiliranja spojeva **142** uz 30 % suvišak POCl_3 dobiveni i nusprodukti, tj. formilna skupina ušla je u neželjeni položaj što je potvrđeno NMR spektrima. Iskorištenje prvog formiliranja spoja *cis*-**145** iznosilo je 29 %, drugog 24 %, a spoja *trans*-**145** 17 %. Kod oba formiliranja spoja *cis*-**145** korištena je jednaka količina početnog spoja.

Kod spojeva koji imaju metilnu skupinu i klor kao supstituent primjećuju se veća iskorištenja kod formiliranja *trans*-izomera, no kako je njih u prvom koraku sinteze nastalo manje, tako su i ovdje dobivene relativno male količine spojeva za sljedeću reakciju. Jedna od pretpostavki zašto su ove reakcije bile slabijeg iskorištenja jest potencijalna sporedna Cannizzarova reakcija aldehida u lužnatom mediju do alkohola tijekom obrade reakcije, no ova pretpostavka nije bila dalje ispitivana.

Dobiveni produkti Vilsmeierovog formiliranja pročišćeni su kolonskom kromatografijom, a strukture su im okarakterizirane i potvrđene ^1H i ^{13}C NMR spektrima. U ovom drugom

2. Rezultati i rasprava

sintetskom koraku najvažnije je bilo ^1H NMR spektrima dokazati prisutnost formilne skupine što je uz potvrdu integralima dokaz nastanka spojeva **142-145**. Formilnu skupinu lako je detektirati na spektrima jer se vidi kao karakteristični singlet integrala 1 u području pomaka od 9,5 do 12 ppm. Kod svih *cis*-izomera spojeva **165-168** singleti karbonilnog protona nalazili su se na oko 10 ppm, a kod svih *trans*-izomera isti singleti nalazili su se na oko 10,2 ppm. Također, uočen je trend utjecaja formilne skupine na pomake ostalih signala u spektrima. Nakon uvođenja aldehidne skupine u strukturu, signali benzenskih protona kod svih *cis*-izomera pokazali su blagi pomak u zasjenjeniji dio spektra, dok su signali kod *trans*-izomera bili blago pomaknuti u odsjenjeniji dio spektra. Isto tako signali protona dvostruke veze i tiofenskih protona kod svih spojeva **165-168** blago su bili pomaknuti u odsjenjeniji dio spektra.

Osim potvrde nastanka aldehida, ^1H NMR spektrima dokazala se željena supstitucija na tiofenskom prstenu. Dokaz za nastanak željenih 2,3-disupstituiranih aldehida je prisutnost dva dubleta protona u spektrima koji pokazuju karakterističnu konstantu sprege od oko 5 Hz dok bi se u spektrima nusprodukata 2,5-disupstituiranih aldehida vidjela dva singleta. Jedan od tako supstituiranih nusprodukata dobiven je u dovoljnoj količini i također potvrđen ^1H NMR spektrom.

^{13}C NMR spektri poslužili su kao dodatna potvrda prisutnosti formilne skupine u strukturama. Razlika sa spektrima spojeva **142-145** je ta što u spektrima spojeva **165-168** postoji jedan signal više koji predstavlja signal karbonilne jezgre. Signali karbonilne ^{13}C jezgre očekivani su u odsjenjenom području spektra pri pomacima od 190 do 220 ppm, no analizom spektara očitane su malo manje vrijednosti pomaka što ukazuje na blagu zasjenjenost s obzirom na očekivane vrijednosti. Tako se signal za spoj *cis*-**165** nalazi na 182,9 ppm, a za *trans*-**165** na 182,0 ppm. Za *trans*-**166** signal se nalazi na 182,6 ppm. Za spoj *cis*-**168** signal se nalazi na 182,3 ppm, a za *trans*-**168** nalazi se na 181,9 ppm. Prema iznosima pomaka vidi se da različiti supstituenti nisu imali prevelikog utjecaja na formilnu skupinu. Svi ostali signali za aromatske jezgre i jezgre dvostruke veze nalazili su se na očekivanom karakterističnom području pomaka od oko 110 do 150 ppm.

Sinteza oksima **187-190** provedena je koristeći reagens hidrosilamin-hidroklorid. Za sintezu su bili potrebni pročišćeni aldehidi, apsolutni etanol, voda i hidrosilamin-hidroklorid. Reakcija dobivanja oksima prikazana je na shemi 26, ali postupak je isti kao i dosad.

Ovaj zadnji sintetski korak pokazao je vrlo visoka iskorištenja. Kao produkti reakcija dobivene su smjese *syn*- i *anti*-izomera oksima. Iskorištenje reakcije spoja *cis*-**165** iznosilo je 85 %, a omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz to što je stereoselektivno nastalo nešto

2. Rezultati i rasprava

više *anti*-izomera. Oksimi *cis,syn-187* i *cis,anti-187* u potpunosti su se uspjeli odvojiti uzastopnom kolonskom kromatografijom. Iskorištenje reakcije spoja *trans-165* iznosilo je 86 %, a omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz to što je stereoselektivno nastalo nešto više *syn*-izomera. Dio oksima *trans,syn-187* i *trans,anti-187* ostao je u smjesi nakon provedene kolonske kromatografije uz to što također nije izoliran potpuno čisti oksim *trans,anti-187*. Iskorištenje reakcije spoja *cis-166* iznosilo je 50 %, a omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz nastajanje nešto više *anti*-izomera. Dio oksima *cis,syn-189* i *cis,anti-189* ostao je u smjesi nakon provedene kolonske kromatografije uz to što također nisu izolirana potpuno čista oba oksima. Prema navedenim podacima najviše je nastalo *cis*-oksima i to čak u tri smjese jer je nastao i 2,4-disuspsituirani *cis,syn-188'* oksim. Iskorištenje reakcije spoja *cis-167* iznosilo je 66 %, a omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz nastajanje nešto više *anti*-izomera. Dio oksima *cis,syn-189* i *cis,anti-189* ostao je u smjesi nakon provedene uzastopne kolonske kromatografije uz to što također nisu izolirana potpuno čista oba oksima. Ovakvo slabo razdvajanje posljedica je korištenja smjese željenog aldehida i nusprodukta u reakciji. Iskorištenje reakcije spoja *trans-167* iznosilo je više od 100 % prema dobivenim podacima mjerenja masa, no ovdje se treba uzeti u obzir mogućnost sustavne pogreške mjernog instrumenta. Omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz to što je stereoselektivno nastalo nešto više *anti*-izomera. Dio oksima *trans,syn-189* i *trans,anti-189* ostao je u smjesi nakon provedene kolonske kromatografije uz to što također nije izoliran potpuno čisti oksim *trans,anti-189*. Iskorištenje reakcije spoja *cis-168* iznosilo je 94 %, a omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz nastajanje nešto više *syn*-izomera. Dio oksima *cis,syn-190* i *cis,anti-190* ostao je u smjesi nakon provedene kolonske kromatografije i nije izoliran potpuno čisti oksim *cis,syn-190*. U smjesama su se također nalazili i oksimi nastali iz nusprodukta nakon formiliranja. Iskorištenje reakcije spoja *trans-168* iznosilo je 79 %, a omjer nastalih izomera bio je približno 1:1 uz stereoselektivno nastajanje nešto više *anti*-izomera. Oba izolirana oksima *trans,syn-190* i *trans,anti-190* nisu u potpunosti čista nakon provedene kolonske kromatografije zato što se nalaze u smjesi s oksimima nastalima iz nusprodukta reakcije formiliranja.

Dobiveni produkti oksima odvojeni su i pročišćeni kolonskom kromatografijom, a strukture su im okarakterizirane i potvrđene ^1H i ^{13}C NMR spektrima. Svih 12 predviđenih oksima uspješno je izolirano u dovoljnim količinama za spektroskopsku potvrdu. Osim za potvrdu struktura spojeva, spektri oksima korišteni su i za određivanje čistoće izoliranih *syn*- i *anti*-izomera. U ovom zadnjem sintetskom koraku najvažnije je bilo ^1H NMR spektrima dokazati nastanak oksima pomoću karakterističnog singleta što je uz potvrdu integrala dokaz nastanka spojeva **187-190**. Svi karakteristični singleti protona C nalaze se u području pomaka od 7,50 do 8,60

2. Rezultati i rasprava

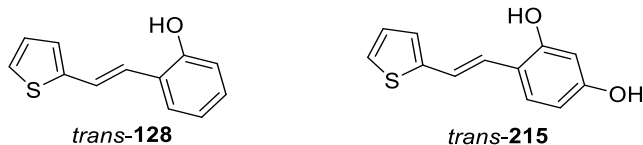
ppm. Kod oksima *cis,syn*-**187** singlet se nalazi na 8,32 ppm, a kod *cis,anti*-**187** na 7,81 ppm. Kod oksima *trans,syn*-**187** singlet se nalazi na 8,55 ppm, a kod *trans,anti*-**187** na 8,02 ppm. Primjećuje se da se singlet *syn*-oksima nalazi na većim pomacima od singleta *anti*-oksima i to za otprilike 0,5 ppm što znači da je C proton *syn*-oksima odsjenjeniji. Ovakav trend pomaka ponavlja se i kod oksima **188-190**. ^{13}C NMR spektri poslužili su kao dodatna potvrda struktura oksima. Razlika sa spektrima spojeva **165-168** je ta što se u spektrima oksima **187-190** novi signali ugljika oksimske skupine nalaze na manjim kemijskim pomacima u odnosu na signale karbonilnih ugljika, tj. u zasjenjenijem su području.

Kao što je vidljivo iz rezultata, dobiveni su i potvrđeni svi očekivani oksimi. Niti jedna od reakcija nije pokazala stereospecifično nastajanje samo jednog oksima već su svi oksimi nastali stereoselektivno i to uvijek u smjesi gdje je omjer *syn*- i *anti*-oksima približno bio 1:1. Konačna masa oksima najviše ovisi o drugom koraku sinteze, tj. o Vilsmeierovom formiliranju kod kojeg su iskorištenja reakcija bila najniža, a neke reakcije su ponavljane. Dobiveni oksimi u ovome radu, osim u biološkim istraživanjima, mogu se također dalje koristiti i kao prekursori u preparativnoj organskoj fotokemiji čime bi se dobile nove molekule, a time i novi potencijalno biološki aktivni spojevi.

2.11. Sinteza derivata rezveratrola 191-208

Kao što je navedeno u prethodnom poglavlju ovoga rada, hidroksi-stilbeni (posebno *trans*-rezveratrol) veoma su interesantni u smislu višestruke koristi u terapijskim primjenama zahvaljujući njihovom biološkom djelovanju. Tiofenski analozi hidroksi-stilbena, derivati *trans*-**128** i *trans*-**215** (Slika 112), pokazali su dobro biološko djelovanje, s potencijalnom inhibicijom enzima kolinesteraza i visokim vrijednostima za antioksidacijsko djelovanje.

Iz navedenoga razloga su molekule *trans*-**128** i *trans*-**215** korištene i kao polazište za sintezu novih rezveratrolnih derivata.



Slika 112. Strukture tiofenskih derivata *trans*-**128** i *trans*-**215**.

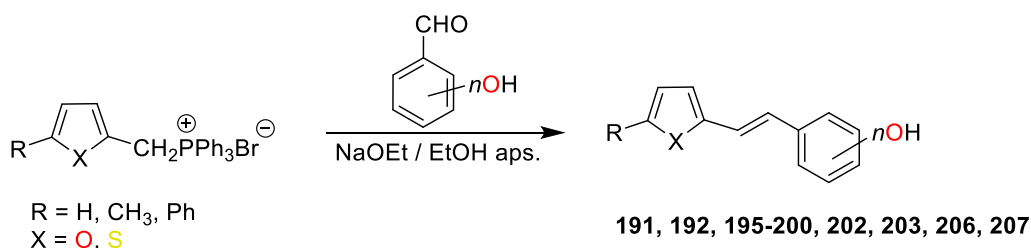
U svrhu dobivanja derivata *trans*-rezveratrola s potencijalnom biološkom aktivnošću, u smislu inhibicijske aktivnosti prema kolinesterazama, antioksidacijske i protuupalne aktivnosti, sintetizirano je 18 novih spojeva s različitim brojem i vrstom supstituenata na aromatskim

2. Rezultati i rasprava

prstenovima, s naglaskom na hidroksilne skupine koje posebno pridonose biološkoj aktivnosti. Dobiveni spojevi pokazali su inhibicijske učinke na kolinesteraze, te protuupalna i antioksidacijska svojstva što ih čini zanimljivom novom skupinom spojeva za daljnje profiliranje kao biološki aktivnih komponenti.

2.11.1. Sinteza i karakterizacija novih hidroksi-stilbena **191**, **192**, **195-200**, **202**, **203**, **206** i **207**

Spojevi **191**, **192**, **195-200**, **202**, **203**, **206** i **207** sintetizirani su Wittigovom reakcijom (Shema 27) iz odgovarajućih fosfonijevih soli i aldehida, koristeći NaOEt kao bazu, te apsolutni etanol kao otapalo. Kao produkti dobivene su smjese s različitim udjelima *cis*- i *trans*-izomera navedenih derivata, iz kojih su izolirani isključivo *trans*-izomeri.



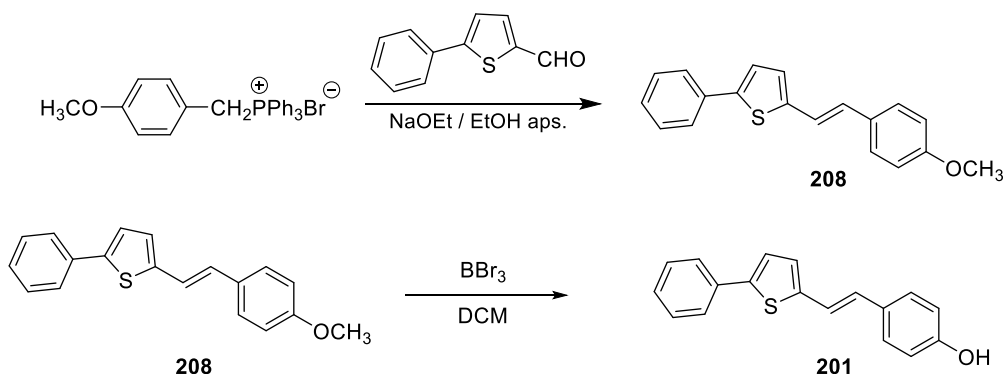
Shema 27. Sinteza hidroksi-stilbena **191**, **192**, **195-200**, **202**, **203**, **206** i **207** Wittigovom reakcijom.

Dobivene smjese pročišćene su kolonskom kromatografijom, te su istim principom izolirani čisti *trans*-izomeri. Kolona je punjena silika-gelom, a kao eluens korištene su smjese otapala petroleter/dietileter i petroleter/etil-acetat različitih polarnosti. Valja napomenuti da su za izoliranje čistih *trans*-**206** i *trans*-**207** izomera potrebni dodatni procesi pročišćavanja, obzirom na veliku sličnost u polarnosti s trifenilfosfin-oksikom. Derivati **191-193**, **202** i **203** pokazuju relativno dobra iskorištenja (28-60 %), dok derivati **197** i **198** daju vrlo mala iskorištenja (3-5 %). Uspoređujući iskorištenja derivata **191** i **192** s derivatima **197** i **198** zaključujemo kako *ortho*-položaj hidroksilne skupine na benzenskoj jezgri više odgovara ovom tipu reakcije, te derivati s hidroksilnim skupinama u *para*-položaju daju slabija iskorištenja. Nadalje, derivat **195** pokazuje kako prisutnost metoksi-skupine u *para*-položaju pozitivno utječe na iskorištenje reakcije, dok derivati **206** i **207** pokazuju da je iskorištenje najveće ukoliko benzenska jezgra sadrži tri hidroksilne skupine, odnosno ukoliko su dvije u *meta*-položaju i jedna u *para*-položaju.

2. Rezultati i rasprava

2.11.2. Sinteza hidroksi-stilbena 206

Spoj **201** (Shema 28) sintetiziran je prevođenjem metoksi-skupine prisutne u spoju **208** u hidroksilnu pomoću reagensa BBr_3 i u DCM kao otapalu. Spoj koji je preveden u derivat **208** prethodno je dobiven Wittigovom reakcijom iz odgovarajuće soli i aldehida. Kao produkt te reakcije dobivena je smjesa *cis*- i *trans*-izomera derivata **208**. Kolonskom kromatografijom izoliran je čisti *trans*-**208**, koji je potom preveden u derivat **201**.

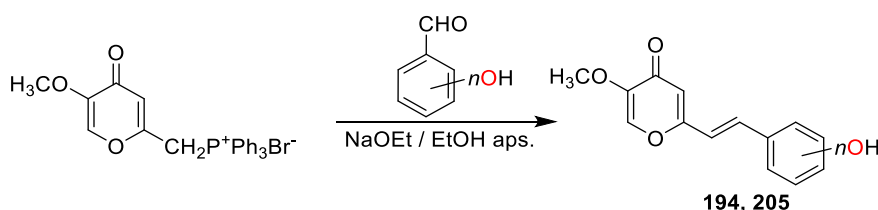


Shema 28. Sinteza hidroksi-stilbena **201**.

Dobiveni organski produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom do čistog *trans*-**201**. Kolona je punjena silika-gelom, a kao eluens korištene su smjese otapala petroleter/di-etera i petroleter/diklormetana različitih polarnosti. Derivat **201** sintetiziran je uz zadovoljavajuće iskorištenje od 21 %.

2.11.3. Sinteza spojeva 194 i 205 Wittigovom reakcijom

Spojevi **194** i **205** (Shema 29) sintetizirani su Wittigovom reakcijom (Shema 29) iz odgovarajućih fosfonijevih soli i aldehida, koristeći NaOEt kao bazu, te apsolutni etanol kao otapalo. Kao produkti dobivene su smjese različitih udjela *cis*- i *trans*-izomera derivata **194** i **205**.



Shema 29. Sinteza hidroksi-stilbena **194** i **205**.

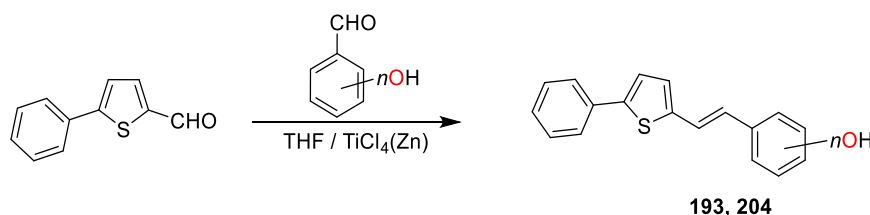
Iz dobivenih smjesa uzastopnom kolonskom kromatografijom izolirani su čisti *trans*-izomeri **194** i **205**. Kolona je punjena silika-gelom, a kao eluens korištene su smjese otapala

2. Rezultati i rasprava

petroleter/dietiletera i etil-acetat/metanola različitih polarnosti. Niska iskorištenja ovih derivata (8 % i 5 %) ukazuju na to da ovaj pristup sintezi nije idealan, a nastali trifenilfosfin-oksid dodatno otežava izolaciju čistih *trans*-izomera.

2.11.4. Sinteza hidroksi-stilbena **193** i **204** McMurryjevom reakcijom

Spojevi **193** i **204** sintetizirani su mehanizmom McMurryjeve reakcije koristeći THF kao otapalo te reagens TiCl₄ i prah cinka, Zn. Dobiveni organski produkti pročišćeni su kolonskom kromatografijom (Shema 30).



Shema 30. Sinteza hidroksi-stilbena **193** i **204**.

Kolonskom kromatografijom izolirani su čisti *trans*-izomeri derivata **193** i **204**. Kolona je punjena silika-gelom, a kao eluens korištene su smjese otapala petroleter/dietiletera i petroleter/diklometana različitih polarnosti. Naspram derivata dobivenih Wittigovom reakcijom, uočeno je bolje iskorištenje kod derivata **204** (10 %) s dvije hidroksilne skupine na benzenskoj jezgri u *ortho*- i *para*-položajima u odnosu na derivat **193** (5 %) gdje je hidroksilna skupina samo u *ortho*-položaju.

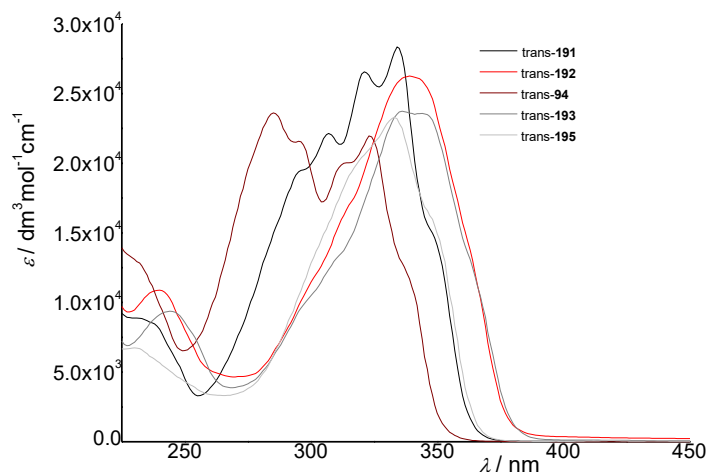
2.11.5. Spektroskopska karakterizacija novih hidroksi-stilbena

Strukture i čistoće novih hidroksi-stilbena **191-208** potvrđene su ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom, UV/Vis spektroskopijom, te masenom spektrometrijom visoke rezolucije (HRMS). U nastavku ovoga poglavlja prikazani su neki izdvojeni spektri kako bi se vidio utjecaj strukture spojeva, broja i tipa supstituenata te određenog prisutnog heteroatoma na spektroskopske karakteristike. Na slici 113 prikazani su kvantitativni UV spektri molekula *trans*-**191**, *trans*-**192**, *trans*-**94**, *trans*-**193** i *trans*-**195**, snimljeni u ACN. Vidljivo je kako najveću vrijednost molarnog apsorpcijskog koeficijenta postiže derivat *trans*-**191** ($\epsilon = 28358 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), a najveću valnu duljinu maksimuma apsorpcije postiže *trans*-**192** derivat ($\lambda = 339 \text{ nm}$). U usporedbi s *trans*-**192** derivatom uočava se kako prisutnost dušikovog atoma u

2. Rezultati i rasprava

strukturi kod *trans*-**94** derivata rezultira hipsokromnim pomakom i smanjenjem intenziteta apsorpcije odnosno hipokromnim efektom.

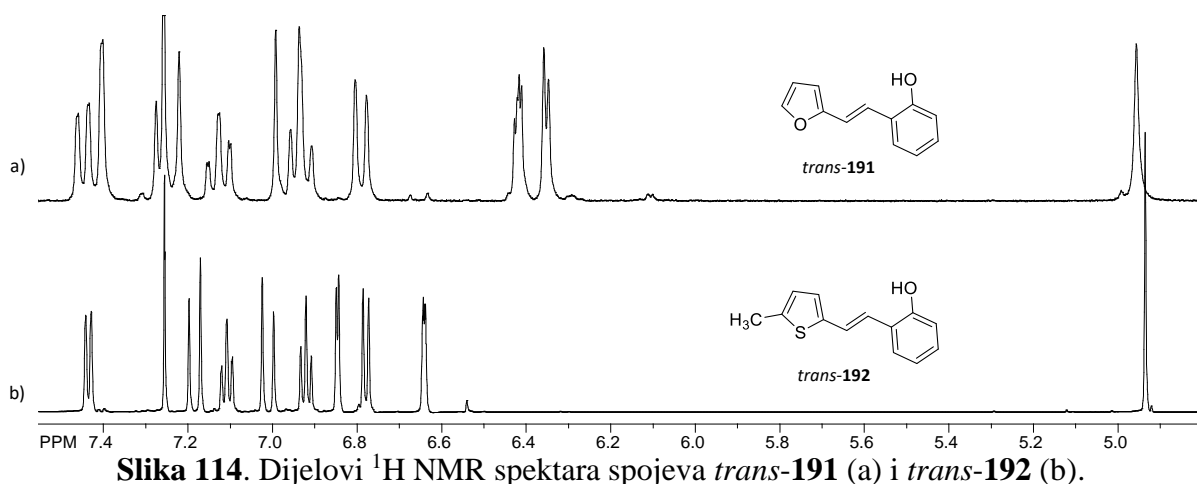
Uspoređujući derivate *trans*-**193** i *trans*-**195** vidljivo je da prisutnost metoksi-skupine u *para*-položaju kod derivata *trans*-**193** rezultira batokromnim pomakom u odnosu na derivat *trans*-**195**.



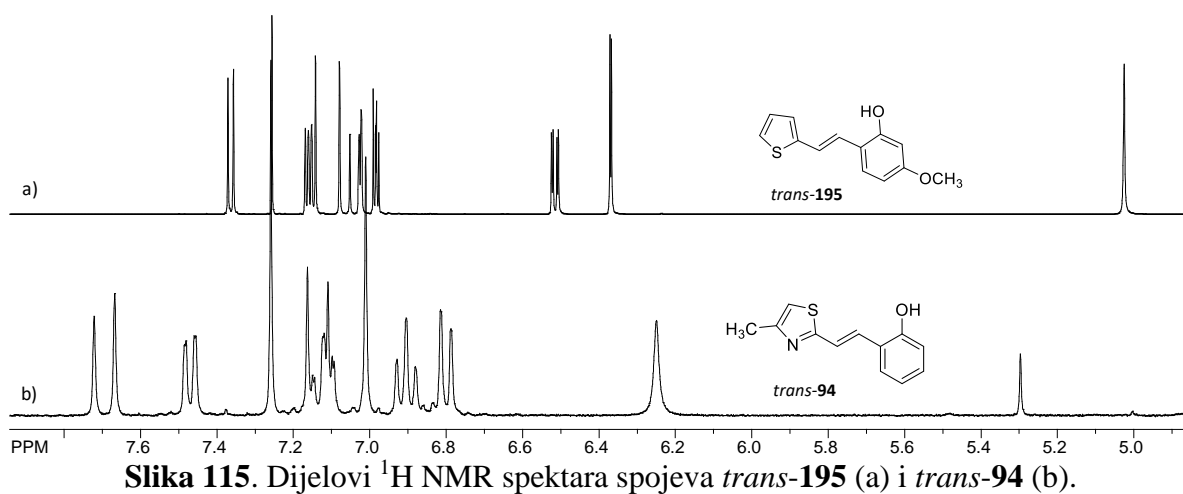
Slika 113. Usporedni prikaz UV spektara za derivate *trans*-**191**, *trans*-**192**, *trans*-**94**, *trans*-**193** i *trans*-**195**, snimljene u acetonitrilu.

Na slici 114 prikazani su ^1H NMR spektri *trans*-**191** i *trans*-**192** derivata u području kemijskog pomaka od 4,8 – 7,5 ppm. Signali za etenske protone, s karakterističnom konstantom sprege od oko 16 Hz za *trans*-derivate, nalaze se na približno jednakim kemijskim pomacima. Isto se može uočiti i za oba signala protona hidroksilne skupine na oko 4,9 ppm. Dodatno, *trans*-**192** u spektru ima signal metilnih protona kao singlet s integralom 3H na 2,48 ppm. Područje fenolnih protona se kod oba derivata nalazi na gotovo jednakim kemijskim pomacima s očekivanim i odgovarajućim integralima, dok su vidljivi signali furanskih protona u području 6,3 – 6,4 ppm, što kod tiofenskih nije slučaj već su oni pri višem kemijskom pomaku.

2. Rezultati i rasprava

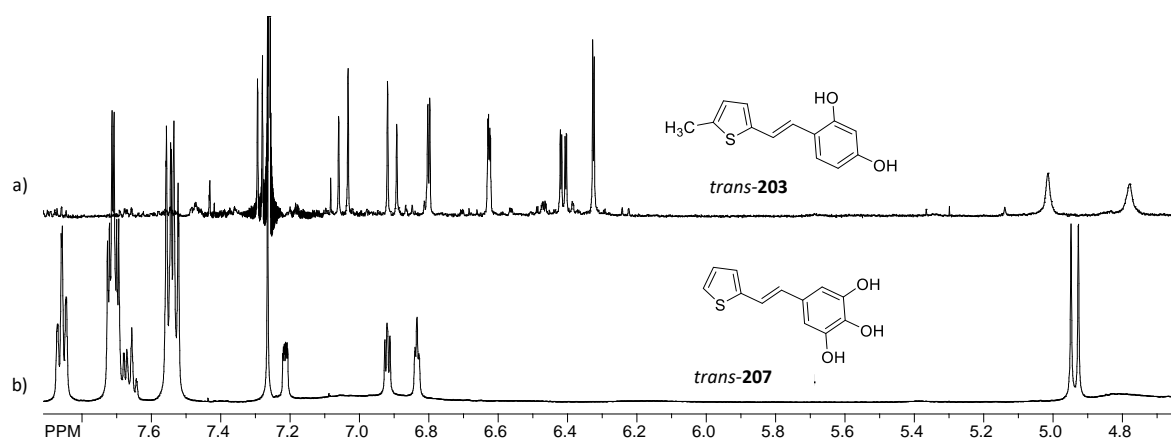


Na slici 115 prikazani su ^1H NMR spektri *trans*-195 i *trans*-94 derivata u području kemijskog pomaka od 4,8 – 7,8 ppm. Svi signali protona *trans*-94 derivata pomaknuti su prema višim kemijskim pomacima odnosno manje su zasjenjeni protoni u usporedbi s protonima *trans*-195 derivata. To se najbolje vidi uspoređujući kemijske pomake etenskih protona i protona hidroksilne skupine pri čemu se signali za etenske protone derivata *trans*-94 nalaze na oko 7,7 i 7,1 ppm, dok se signali za etenske protone *trans*-195 derivata nalaze na oko 7,2 i 7,05 ppm. Također, signal za hidroksilni proton *trans*-94 derivata se nalazi na 6,25 ppm, a kod *trans*-195 derivata na 5,03 ppm. Nadalje, zbog prisutnosti metoksi-skupine u *para*-položaju uz hidroksilnu u *ortho*-položaju kod derivata *trans*-195, aromatski protoni se nalaze na nižim kemijskim pomacima (6,5 ppm) u odnosu na aromatske protone kod derivata *trans*-94 koji sadrži samo hidroksilnu skupinu. Na 2,76 ppm vidljiv je signal metilnih protona s integralom 3H u spoju *trans*-94, a u *trans*-195 derivatu na 3,79 ppm se nalazi singlet integrala 3H koji potječe od protona metoksi-skupine.



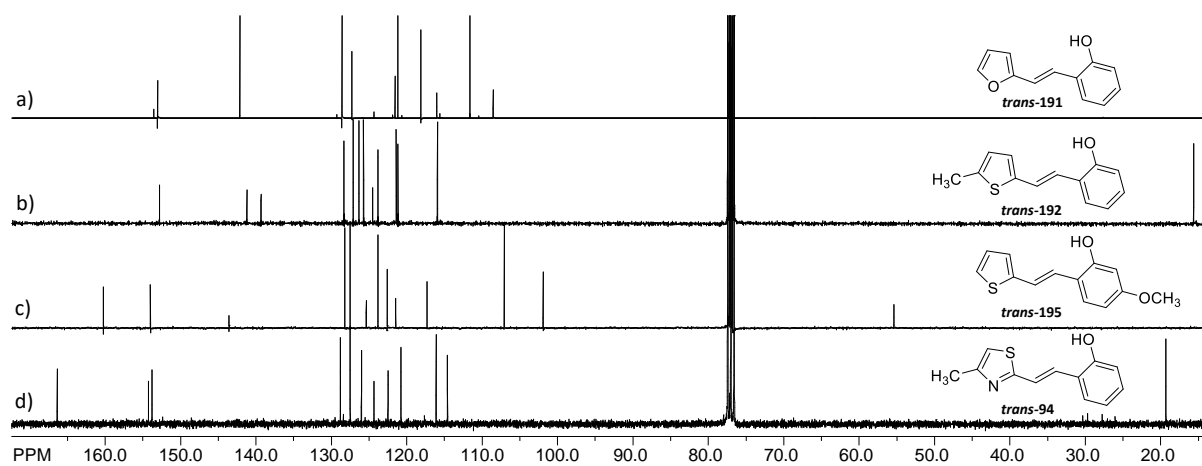
2. Rezultati i rasprava

Na slici 116 prikazani su ^1H NMR spektri spojeva *trans*-**203** i *trans*-**207** u području kemijskog pomaka od 4,8 – 7,8 ppm. Signali za protone *trans*-**207** derivata su značajno pomaknuti prema višim kemijskim pomacima u odnosu na signale protona *trans*-**203** derivata, iako je to slabije uočljivo zbog prisutnog trifenilfosfin-oksida u *trans*-**207** derivatu na 7,5 i 7,9 ppm. Jasno su vidljivi signali za protone hidroksilnih skupina oba derivata na oko 5 ppm, te se može vidjeti i signal protona treće hidroksilne skupine *trans*-**207** derivata kao široki singlet integrala 1H na 4,8 ppm. Također, u spektru je vidljiv signal metilnih protona integrala 3H u *trans*-**203** na 2,47 ppm.



Slika 116. Dijelovi ^1H NMR spektara spojeva *trans*-**203** (a) i *trans*-**207** (b).

Na slici 117 prikazani su usporedno ^{13}C NMR spektri spojeva *trans*-**191**, *trans*-**192**, *trans*-**195** i *trans*-**94**. Svaki ^{13}C NMR spektar ima točan broj očekivanih signala koji odgovaraju strukturi analiziranih molekula.



Slika 117. ^{13}C NMR spektri spojeva *trans*-**191** (a), *trans*-**192** (b), *trans*-**195** (c) i *trans*-**94** (d).

Kod derivata *trans*-**192** vidi se signal za ugljik metilne skupine na 15 ppm, koji je kod *trans*-**94** derivata na oko 20 ppm zbog utjecaja tiazolnog prstena umjesto tiofenskog. Ugljik OCH_3 skupine u spoju *trans*-**195** javlja se na 55 ppm. Za sve derivate su prisutni signali etenskih

C-atoma te signali aromatskih ugljika, od kojih su neki u derivatu *trans*-**195** pomaknuti prema nižim kemijskim pomacima uslijed utjecaja dvije elektron-donorske skupine na aromatskom prstenu. Također se jasno vide signali kvaternih ugljikovih atoma kao niži pikovi slabijeg intenziteta na oko 150 ppm, dok derivat *trans*-**94** pokazuje signal na oko 170 ppm koji vrlo vjerojatno pripada kvaternom C-atomu smještenom između sumporovog i dušikovog atoma tiazolnog prstena, te ga oni svojim induktivnim utjecajem pomiču prema većim vrijednostima kemijskog pomaka.

2.11.6. Biološka aktivnost novih hidroksi-stilbena

Prethodno je opisana biološka aktivnost i blagotvorna svojstva *trans*-rezveratrola i njegovih poznatih derivata, a novi sintetizirani rezveratrolni *trans*-derivati **191-208** pripremljeni su u svrhu ispitivanja njihove potencijalne biološke aktivnosti. U ovome radu, provedena su ispitivanja inhibicije enzima butirilkolinesteraze, antioksidativnog djelovanja, a jedan derivat pokazao je relativno dobra protuupalna svojstva pri ispitivanjima, sve u suradnji sa suradnicima s vanjskih ustanova s kojima postoji kontinuirana suradnja. Svaki od sintetiziranih spojeva ispitan je, a ovisno o razlikama u strukturi, razlikuje se i biološka aktivnost. Glavni čimbenici u odnosu strukture i aktivnosti su vrsta heterocikla, geometrija molekule, te vrsta, broj i položaj supstituenata na arilnom prstenu.

2.11.6.1. Inhibicija kolinesteraza

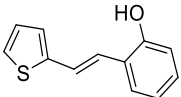
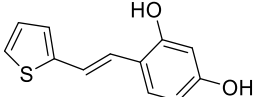
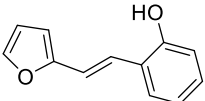
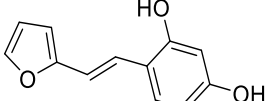
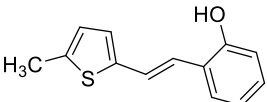
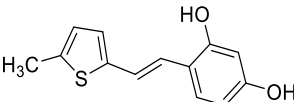
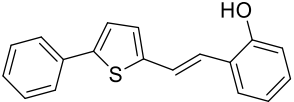
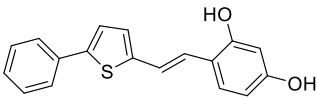
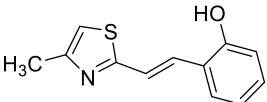
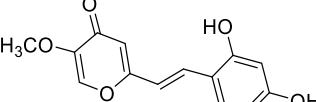
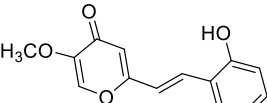
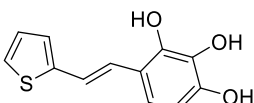
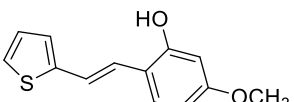
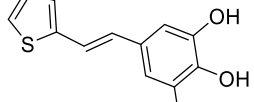
U okviru ovoga dijela rada ispitana je inhibicija BChE i AChE, međutim naglasak je na inhibiciji BChE zbog prijašnjih rezultata koji su pokazali da su spojevi struktura sličnih spojevima *trans*-**191** do *trans*-**208** generalno skloniji inhibicijskoj aktivnosti prema BChE u odnosu na AChE. U tablici 20 prikazani su rezultati ispitivanja za svaki derivat, kao i za galantamin koji služi kao standard za usporedbu aktivnosti, jer predstavlja poznati reverzibilni inhibitor. Rezultati su izraženi u obliku potrebne koncentracije spoja za postizanje inhibicije 50 % djelovanja BChE (IC₅₀). U tablicama su navedeni i rezultati postignuti od strane tiofenskih derivata *trans*-**128** i *trans*-**215** iz našeg laboratorija, koji su uz *trans*-rezveratrol korišteni kao polazište za strukturne modifikacije ovih novih spojeva.

Najbolji rezultat postigao je derivat *trans*-**192** (Tablica 20) s tiofenskim prstenom koji sadrži metilnu skupinu u položaju 5, te jednu hidroksilnu skupinu u *ortho*-položaju na benzenskom prstenu. Potrebno je oko deset puta manje ovoga spoja za inhibiciju u odnosu na

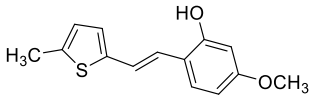
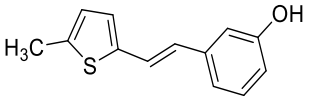
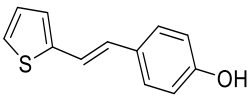
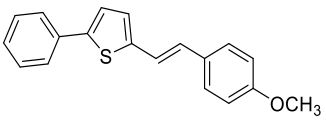
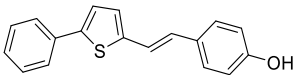
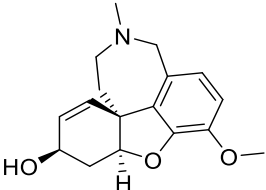
2. Rezultati i rasprava

standard galantamin. Neki od derivata nisu pokazali nikakvu inhibicijsku aktivnost prema BChE (*trans*-193, *trans*-194, *trans*-197, *trans*-204, *trans*-205, *trans*-208), a spoj *trans*-202 pokazao se nestabilnim, za razliku od *trans*-191 koji ima samo jednu hidroksilnu skupinu na benzenskom prstenu. Usporedbom sa spojevima *trans*-128 i *trans*-215, vidljivo je da se inhibicijska aktivnost povećava dodatkom metilne ili metoksi-skupine u derivatima s jednom hidroksilnom skupinom, a dvije hidroksilne skupine na benzenu ne rezultiraju većom aktivnošću. Spojevi s nesupstituiranim tiofenom i tri hidroksilne skupine na benzenu (*trans*-206, *trans*-207) također pokazuju bolje rezultate od standarda. Uvođenjem tiazolnog prstena umjesto tiofenskog aktivnost se smanjuje, ali i dalje se postižu dobri rezultati. Očito je da je vrsta heterocikličkog prstena značajna za inhibicijsku aktivnosti, ali isto tako i supstituenti i njihovi položaji.

Tablica 20. Rezultati ispitivanja inhibicijske aktivnosti sintetiziranih spojeva 191-208 prema BChE.

Spoj	Struktura	IC ₅₀ (μM) BChE	Spoj	Struktura	IC ₅₀ (μM) BChE
<i>trans</i> -128		4,6	<i>trans</i> -215		5,3
<i>trans</i> -191		4,7	<i>trans</i> -202		<i>nestabilan, sklon raspadu</i>
<i>trans</i> -192		0,8	<i>trans</i> -203		129,5
<i>trans</i> -207		/	<i>trans</i> -204		/
<i>trans</i> -94		25,2	<i>trans</i> -205		/
<i>trans</i> -194		/	<i>trans</i> -206		6,2
<i>trans</i> -195		2,4	<i>trans</i> -207		3,4

2. Rezultati i rasprava

<i>trans</i> - 196		4,5	<i>trans</i> - 200		40,9
<i>trans</i> - 197		/	<i>trans</i> - 208		/
<i>trans</i> - 201		/	Galantamin		7,9

2.11.6.2. Antioksidacijska aktivnost

Kako je već spomenuto oksidacija je proces koji uzrokuje ubrzano starenje stanica ili čak degradaciju odnosno razvoj bolesti, a sve stanice su tome podložne. Stoga se veliki značaj pridaje otkrivanju spojeva s uspješnim antioksidacijskim svojstvima. Na temelju ispitane i dokazane antioksidacijske aktivnosti kod *trans*-rezveratrola i njegovih analoga, sintetizirani derivati *trans*-**191** do *trans*-**208** ispitani su na antioksidacijsku aktivnost DPPH metodom. Tiofenski derivati *trans*-**128** i *trans*-**215** također su pokazali dobru aktivnost, pa su uzeti kao predvodni spojevi za daljnju modifikaciju strukture. Zbog spomenute odlične antioksidacijske aktivnosti, *trans*-rezveratrol se uzima kao standard (Tablica 21). U odnosu na njega potrebna je oko 150 puta manja koncentracija *trans*-**191** derivata za isti učinak, koji ujedno pokazuje najbolja antioksidacijska svojstva među sintetiziranim derivatima. Osim njega, spoj *trans*-**192** pokazao je odličnu aktivnost (također bolju od standarda) što upućuje na velik doprinos hidroksilne skupine na benzenskom prstenu u *ortho*-položaju, te nešto manji doprinos u *para*-položaju (*trans*-**197**) i da dobru aktivnost uz nesupstituirani furanski prsten postiže metilom supstituiran tiofenski prsten u položaju 5. Dodatna metoksi-skupina u *para*-položaju benzena također znatno povećava antioksidacijsku aktivnost (*trans*-**195** također aktivniji od standarda). Fenilni supstituent u položaju 5 tiofenskog prstena nije dobar izbor (*trans*-**193**, *trans*-**201**, *trans*-**204**, *trans*-**208**), a di- i trihidroksi-supstituirani benzenski prsten niti u jednom spoju nije dovoljno povoljan za postizanje IC₅₀ vrijednosti i zadovoljavajuća antioksidacijska svojstva.

Dokazano je da je Alzheimerova bolest multifaktorijska bolest koja uključuje agregaciju amiloidnih plakova, oksidativni stres i dishomeostazu metalnih iona [115]. U slučaju rezveratrol-maltolnih hibrida za koje je dokazano da pokazuju mogućnost inhibicije kolinesteraza, istraženo je i utvrđeno stvaranje kompleksa s biometalnim ionima kao što je Fe³⁺.

2. Rezultati i rasprava

Stoga je i ova klasa sintetiziranih spojeva proučavana kao skupina liganada za kompleksiranje. Na derivatima je izvršeno ispitivanje kompleksiranja, no niti jedan derivat nije pokazao mogućnost kompleksiranja s Fe^{3+} ionima.

Tablica 21. Rezultati ispitivanja antioksidativne aktivnosti sintetiziranih spojeva 191-208.

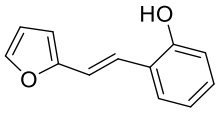
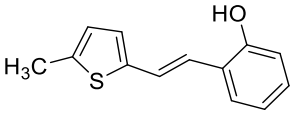
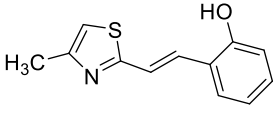
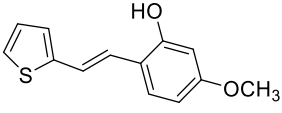
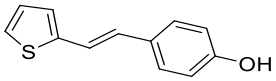
Spoj	Struktura	DPPH	Spoj	Struktura	DPPH
<i>trans</i> -128		158,8	<i>trans</i> -215		26,8
<i>trans</i> -191		0,5	<i>trans</i> -202		<i>nestabilan, sklon raspadu</i>
<i>trans</i> -192		45,7	<i>trans</i> -203		/
<i>trans</i> -193		/	<i>trans</i> -204		/
<i>trans</i> -94		/	<i>trans</i> -205		/
<i>trans</i> -194		/	<i>trans</i> -206		/
<i>trans</i> -195		16,4	<i>trans</i> -207		/
<i>trans</i> -196		28,6	<i>trans</i> -200		126,8
<i>trans</i> -197		152,0	<i>trans</i> -208		/
<i>trans</i> -201		/	<i>trans</i> -rezveratrol		75

2. Rezultati i rasprava

2.11.7. Računalni rezultati

Nakon provedene konformacijske analize za najstabilnije konformere molekula **94**, **191**, **192**, **195** i **197** računati su UV spektri. U obzir su uzeti samo najstabilniji konformeri budući da je razlika između najstabilnijeg konformera i prvog sljedećeg po stabilnosti iznosila više od 5 kJ mol⁻¹ što znači da je udio tog manje stabilnog konformera u sustavu vrlo mali. U eksperimentalno dobivenim UV-spektrima vidljivi su apsorpcijski maksimumi pri određenim vrijednostima valnih duljina osvjetljavanja.

Tablica 22. Usporedba eksperimentalno i računalno dobivenih rezultata UV spektara

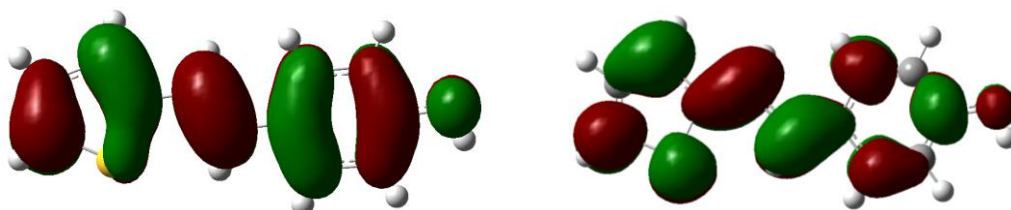
Spoj	Eksperimentalni prijelaz / nm	Računski prijelaz / nm	Asignirani prijelaz*
 <i>trans-191</i>	334	336	H → L
 <i>trans-192</i>	339 208	350 212	H → L H-3 → L+2 H → L+2 H-1 → L+1
 <i>trans-94</i>	345 226	353 234	H → L H → L+3 H → L+2 H-1 → L+1
 <i>trans-193</i>	336 211	349 203	H → L H-3 → L+2 H-2 → L+2 H-1 → L+2 H-4 → L H → L+9 H → L+10 H → L+11
 <i>trans-195</i>	333	344	H → L

* (H-HOMO, L-LUMO)

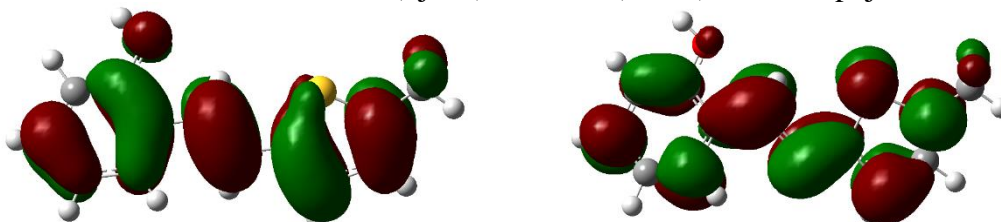
2. Rezultati i rasprava

Apsorpcijski maksimumi su rezultat elektronskih prijelaza u molekulama, a računalo se može predvidjeti, odnosno izračunati valna duljina svakog određenog prijelaza. U tablici 22 navedene su eksperimentalno i računski dobivene valne duljine maksimuma apsorpcije UV zračenja molekula *trans-94*, *trans-191*, *trans-192*, *trans-195* i *trans-197*, te je pripisan određeni elektronski prijelaz.

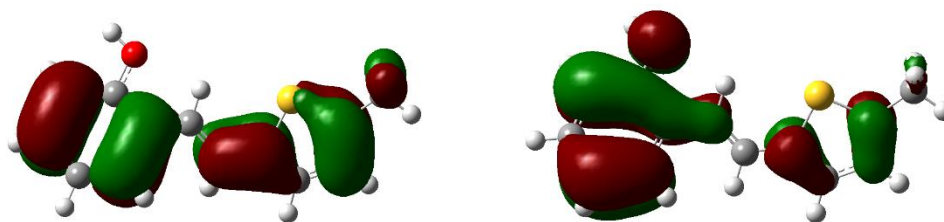
U programu GaussView generirani su prikazi svih molekulskih orbitala između kojih dolazi do prijelaza elektrona uslijed ekscitacije zračenjem. Najznačajniji prijelazi su između energijski najviše okupirane molekulske orbitale (HOMO), te energetski najniže prazne molekulske orbitale (LUMO), te kod ispitivanih spojeva energija UV zračenja odgovara upravo tim elektronskim prijelazima. Kod derivata *trans-197* vidljiv je isključivo spomenuti HOMO-LUMO prijelaz (Slika 118), dok spektri drugih derivata sadrže više pikova za više različitih prijelaza. Derivatu *trans-192* pripisan je HOMO-LUMO prijelaz, ali uz njega i dodatna tri elektronska prijelaza (Tablica 22) koji ukupno rezultiraju pikom vidljivim na 208 nm u snimljenom UV spektru. Kod *trans-94* derivata zapaža se slična situacija, dok se kod *trans-195* derivata uz HOMO-LUMO prijelaz može uočiti još čak sedam dodatnih prijelaza koji ukupno rezultiraju pikom vidljivim na 211 nm u snimljenom UV spektru. HOMO i LUMO, te ostale molekulske orbitale koje sudjeluju u prijelazima elektrona prikazane su ispod tablice (Slike 118-121).



Slika 118. Prikaz HOMO (lijevo) i LUMO (desno) orbitala spoja *trans-197*.

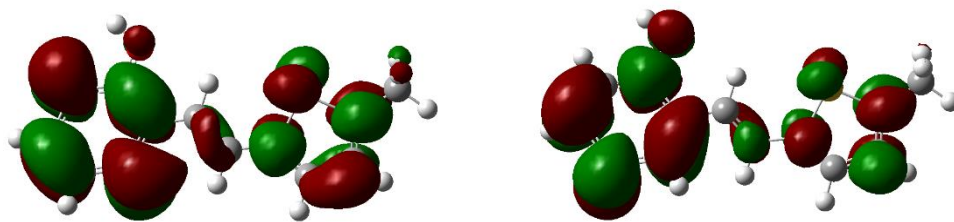


Slika 119. Prikaz HOMO (lijevo) i LUMO (desno) orbitala spoja *trans-197*.



Slika 120. Prikaz H-3 (lijevo) i H-1 (desno) orbitale orbitala spoja *trans-192*.

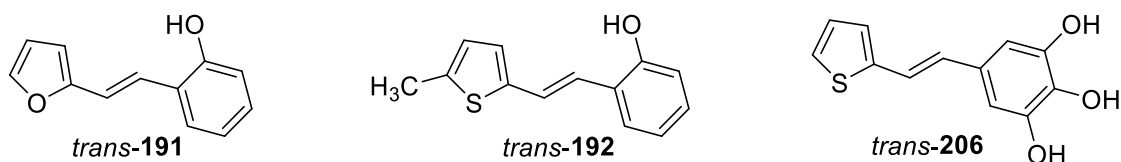
2. Rezultati i rasprava



Slika 121. Prikaz L+1 (lijevo) i L+2 (desno) orbitala spoja *trans*-192.

Iz eksperimentalnih rezultata prikazanih u tablici 20 vidimo da je nekoliko spojeva pokazalo snažan potencijal za inhibiciju BChE. Budući da kod ovog tipa molekula očekujemo da će inhibicija biti reverzibilna, tj. da će se inhibicijsko djelovanje zasnivati na stvaranju nekovalentnog kompleksa između inhibitora i aktivnog mjesta u enzimu, istražili smo moguće strukture kompleksa odabranih spojeva s BChE. Kompleksi su dobiveni metodom molekuskog pristajanja, korištenjem Autodock programa.

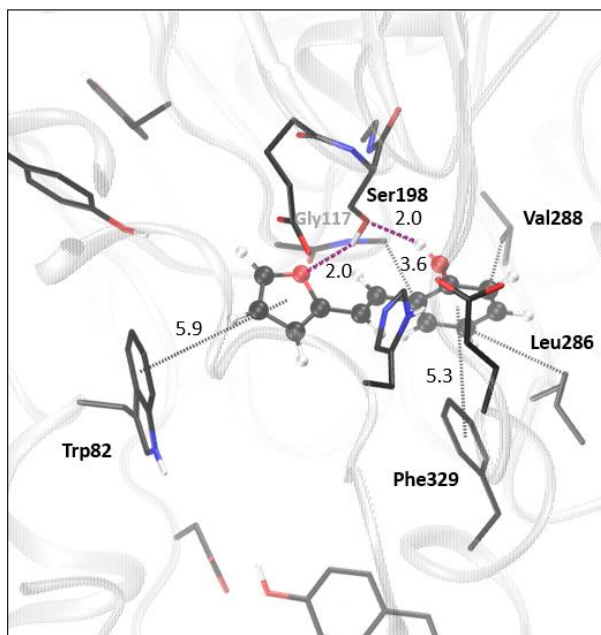
Molekulskim pristajanjem dobiven je uvid u strukture kompleksa između ispitivanih spojeva i aktivnog mjesta BChE, što je omogućilo identifikaciju međudjelovanja koja su odgovorna za stabilnost kompleksa. Što je kompleks stabilniji, to je raspoloživost kolinesteraze da sudjeluje u katalizi supstrata ograničenija, tj. uspješnija je inhibicija enzima. Za ispitivanje pristajanjem odabrani su spojevi *trans*-191, *trans*-192 i *trans*-206 (Slika 122).



Slika 122. Prikaz struktura spojeva *trans*-191, *trans*-192 i *trans*-206 ispitivanih pristajanjem.

U strukturi kompleksa koji nastaje smještanjem molekule *trans*-191 u aktivno mjesto enzima (Slika 123), vidljivo je nekoliko stabilizirajućih međudjelovanja. Uočava se formiranje vodikovih veza jednakih jakosti između kisika u furanu i vodika na serinu (2,0 Å) kao i između vodika na hidroksilnoj skupini fenilnog fragmenta na ligandu i kisika na Ser198 (2,0 Å). Ovaj sustav funkcionira na principu da kisik na furanu prima proton sa serina koji postaje negativno nabijen, no tada on uzima proton hidroksilnoj skupini fenilnog fragmenta na ligandu i neutralizira negativan naboj. Nadalje, prisutne su π - π interakcije između triptofana (Trp82) i furana (5,9 Å), te između fenilnog fragmenta i Phe329 (5,3 Å). Naposljetku, javljaju se hidrofobne interakcije između fenilne jezgre liganda i glicina (Gly117) u oksianionskoj šupljini (3,6 Å).

2. Rezultati i rasprava

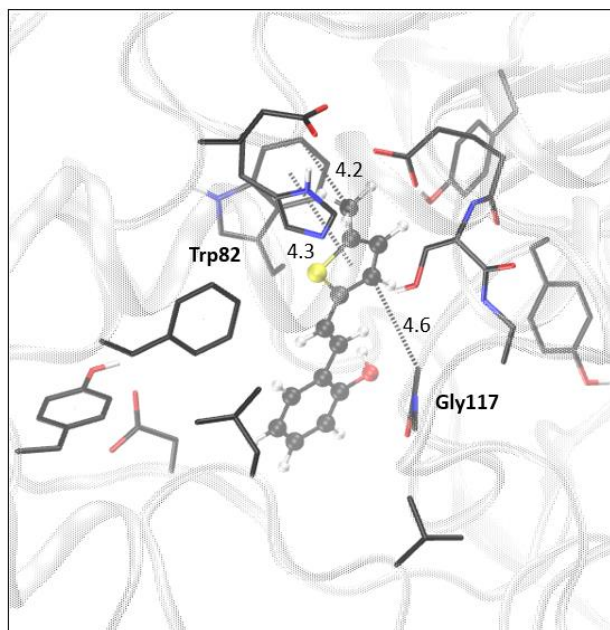


Slika 123. Reverzibilni kompleks između spoja *trans*-**191** i BChE, dobiven molekulskim pristajanjem. Udaljenosti su izražene u Å, a nepolarni vodikovi atomi na aminokiselinama izostavljeni su radi preglednosti.

U strukturi kompleksa koji nastaje smještanjem molekule *trans*-**192** u aktivno mjesto enzima (Slika 124), vidljivo je nekoliko stabilizirajućih međudjelovanja. Prisutne su π - π interakcije između triptofana (Trp82) i tiofenskog prstena na udaljenosti od 4,3 Å. Također, javljaju se hidrofobne interakcije između tiofenske jezgre i glicina (Gly116) na udaljenosti od 4,6 Å, te između metilne skupine na tiofenskom prstenu i triptofana (Trp82) na udaljenosti od 4,3 Å. Bitno je napomenuti kako izostanak stvaranja vodikovih veza između hidroksilne skupine na fenilnoj jezgri liganda i određene pogodne aminokiseline u ovoj strukturi ne znači da hidroksilna skupina ne stvara vodikove veze.

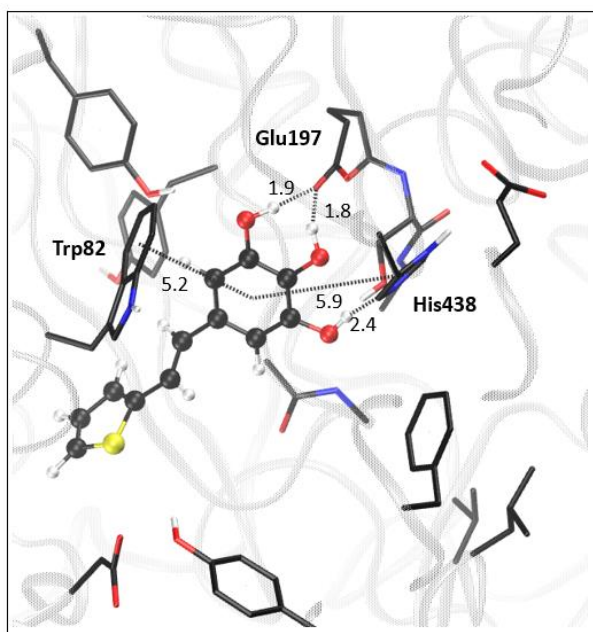
To se može objasniti pretpostavkom da je došlo do određenih interakcija s nekom od molekula vode koje su konstantno prisutne u aktivnom mjestu, ali u kristalnoj strukturi korištenoj za pristajanje nisu prikazane.

2. Rezultati i rasprava



Slika 124. Reverzibilni kompleks između spoja *trans*-192 i BChE, dobiven molekulskim pristajanjem. Udaljenosti su izražene u Å, a nepolarni vodikovi atomi na aminokiselinama izostavljeni su radi preglednosti.

U strukturi kompleksa koji nastaje smještanjem molekule *trans*-206 u aktivno mjesto enzima (Slika 125), vidljivo je nekoliko stabilizirajućih međudjelovanja. Uočava se formiranje vodikovih veza jednakih jakosti između vodika na prvoj hidroksilnoj skupini fenilnog fragmenta i kisika na Glu197 (1,9 Å) kao i između vodika na drugoj hidroksilnoj skupini fenilnog fragmenta na ligandu i kisika na Glu197 (1,8 Å).

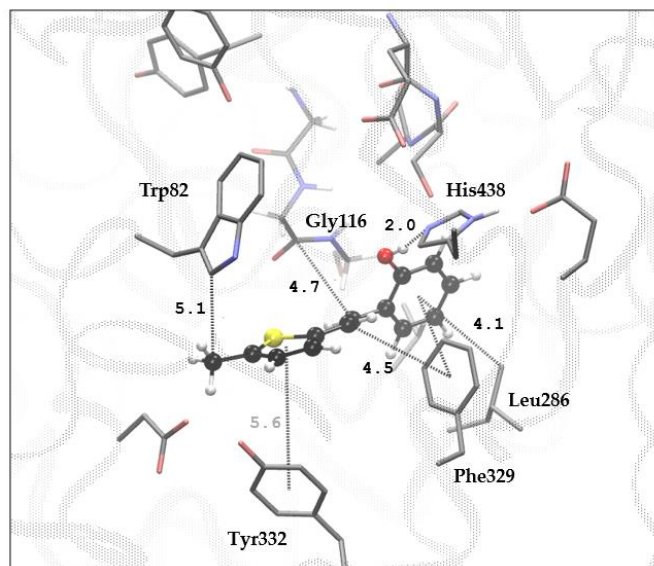


Slika 125. Reverzibilni kompleks između spoja *trans*-206 i BChE, dobiven molekulskim pristajanjem. Udaljenosti su izražene u Å, a nepolarni vodikovi atomi na aminokiselinama izostavljeni su radi preglednosti.

2. Rezultati i rasprava

Nadalje, potencijalna treća slabija vodikova veza moguća je između vodika na trećoj hidroksilnoj skupini i dušika na ε -položaju imidazolnog prstena His438 (2,4 Å). Naposljetku, prisutne su π - π interakcije između fenilne jezgre i Trp82 na udaljenosti od 5,2 Å, te između fenilne jezgre i His438 na udaljenosti od 5,9 Å.

Molekula *trans*-**192**, derivat rezveratrola koji sadrži metil-tiofensku podjedinicu, pokazala je izuzetno snažnu inhibicijsku aktivnost prema BChE. Provedeno je istraživanje također i molekuskog pristajanja u svrhu identifikacije potencijalne interakcije odgovorne za stabilnost reverzibilnog kompleksa koji tvori ovaj ligand s enzimom (slično slici 124). Slika 126 prikazuje strukturu najstabilnijeg kompleksa postignutog umetanjem molekule *trans*-**192** u aktivno mjesto BChE. Prisutnost hidroksi-skupine u derivatima rezveratrola omogućuje stvaranje vodikovih veza s aminokiselinskim ostacima unutar aktivnog mjesta. U ovoj orijentaciji liganda molekule *trans*-**192**, proton hidroksilne skupine smješten je blizu ε -dušikova atoma His438 unutar esterskog mjesta, tvoreći tako jednu H-vezu. Fenilna jezgra liganda uključena je u π - π interakcije s Phe329, te je uključena u stabilizacijsku interakciju π -alkila s Leu286 unutar acilnog džepa. Dvostruka ugljik-ugljik veza liganda ulazi u sličanu interakciju s jednim od ostataka glicina u oksianionskoj rupi, posebno Gly116. Konačno, tiofenski prsten je smješten blizu Trp82, olakšavajući π -alkilne interakcije između metilnog supstituenta na tiofenu i Trp82.

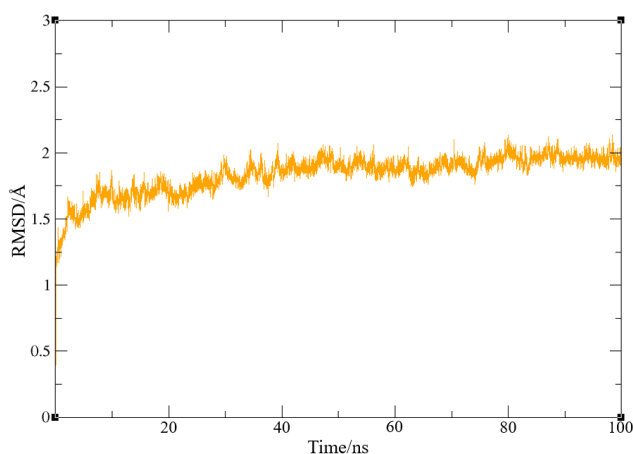


Slika 126. Struktura reverzibilnog kompleksa između spoja *trans*-**192** i BChE. Udaljenosti izražene u Å, a nepolarni vodikovi atomi na aminokiselinama izostavljeni su radi preglednosti.

U svrhu procjene stabilnosti kompleksa ligand-enzim koji je rezultat molekuskog pristajanja, provedeno je ispitivanje molekulske dinamike (*engl.* molecular dynamics, MD) s trajanjem simulacije nastajanja od 100 ns. Analiza MD rezultata započela je izračunom vrijednosti

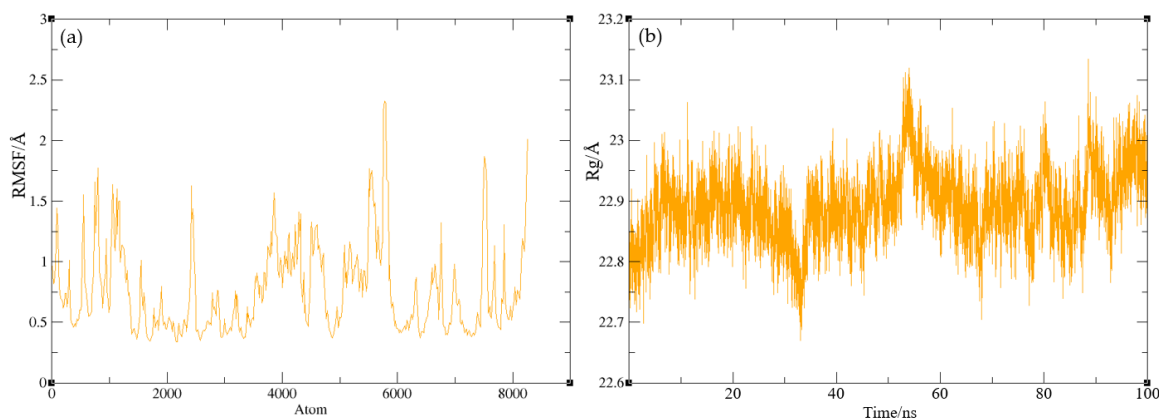
2. Rezultati i rasprava

srednjeg kvadrata odstupanja (*engl.* Root-mean-square deviation, RMSD) za sve atome unutar kompleksa, isključujući vodike. RMSD vrijednosti za kompleks *trans*-192-BChE, koji odražava strukturne promjene tijekom simulacije, prikazane su na slici 127a.



Slika 127a. Vrijednosti srednje kvadratne devijacije iz simulacije molekulske dinamike kompleksa protein-ligand BChE sa spojem *trans*-192.

Tijekom cijele simulacije, RMSD vrijednosti su bile u rasponu od 0,79 do 2,14 Å, s prosjekom od 1,84 Å. Slika 127a ilustrira da sustav postiže konvergenciju nakon 30 ns, s prosječnim RMSD za posljednjih 70 ns koji se smanjuje na 1,58 Å, a minimalne i maksimalne vrijednosti smanjuju se na 0,70 odnosno 1,99 Å. Srednje kvadratne fluktuacije (*engl.* Root-mean-square fluctuation, RMSF), prikazane na slici 127b(a), izračunate su kao prosječne kvadratne fluktuacije u položajima α -ugljika na putanji, identificirajući najpokretljivije regije okosnice proteina. Dodatno, radijus kruženja (*engl.* Radius of gyration, Rg), koji predstavlja mjeru kompaktnosti kompleksa, izračunat je kao korijen srednjeg kvadrata prosjeka udaljenosti svih atoma od središta mase kompleksa protein-ligand i prikazan je na slici 127b(b). Sustavi u kojima Rg ostaje relativno stabilan tijekom simulacije opisuju se kao kompaktni.



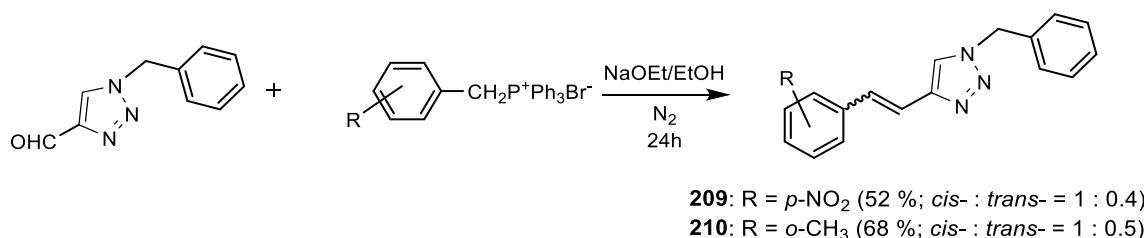
Slika 127b. (a) RMSD vrijednosti fluktuacije iz simulacije molekulske dinamike kompleksa protein-ligand BChE sa spojem *trans*-192, i (b) Rg za isti kompleks.

2. Rezultati i rasprava

Vrijednosti RMSF kretale su se od 0,34 do 2,33 Å, s prosječnom vrijednošću od 0,77 Å, što ukazuje da su položaji α -ugljika u okosnici pokazali ograničene fluktuacije tijekom simulacije. Detaljna analiza dijagrama prikazanog na slici 127b(a) otkriva da je α -ugljik s najvišom vrijednošću RMSF (2,33 Å) indeksiran kao 5777, što pripada Val374. Grafikon prikazan na slici 127b(b) pokazuje da su promjene u radijusu vrtnje bile male, s tim da je ovaj parametar varirao u rasponu od 22,67 do 23,13 Å.

2.12. Sinteza, fotokemija i fotofizika benzilnih triazolostilbena **209** i **210**

Derivati triazola **209** i **210** pripremljeni su Wittigovom reakcijom iz fosfonijeva bromida i 1-benzil-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (Shema 31).



Shema 31. Sinteza triazolostilbena *p*-nitro derivata **209** i *o*-metil derivata **210** Wittigovom reakcijom.

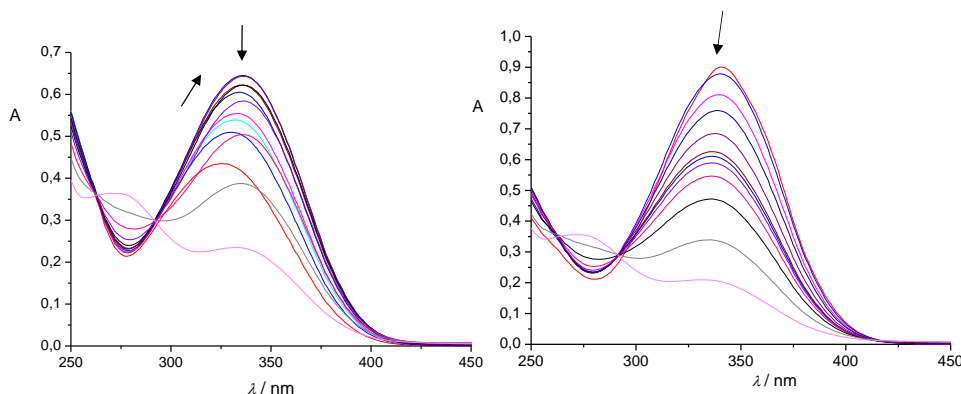
Wittigova reakcija novih derivata triazola **209** i **210** dala je smjesu izomera (**209**: *cis*- : *trans*- = 1 : 0,4 i **210**: *cis*- : *trans*- = 1 : 0,5) u dobrim iskorištenjima (52 odnosno 68 %). Izomeri spojeva **209** i **210** prisutni u reakcijskoj smjesi izolirani su kolonskom i/ili tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu i okarakterizirani su spektroskopskim metodama.

2.12.1. Fotokemijska reaktivnost triazolostilbena **209** i **210**

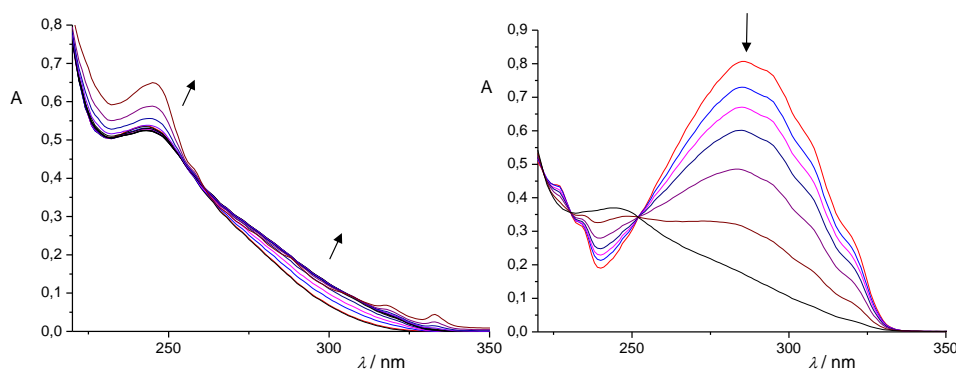
Kako bismo ispitali fotokemijsku reaktivnost spojeva **209** i **210**, proveli smo njihovo osvjetljavanje u nepolarnom otapalu *n*-heksanu i polarnom otapalu ACN, a tijekom reakcije praćen je UV/Vis spektroskopijom (Slike 128 i 129). Nakon osvjetljavanja *cis*-izomera, uočeni su hiperkromni i batokromni pomaci, s jasnom izosbestičkom točkom u spektru na 290 nm (*cis*-**209**) i 260 nm (*cis*-**210**), u skladu s nastankom *trans*-izomera. Suprotno tome, ekscitacija *trans*-izomera dovela je do hipokromnih i hipsokromnih promjena zbog stvaranja *cis*-izomera, također s izosbestičnom točkom na 293 nm (*trans*-**209**) i 252 nm (*trans*-**210**) nm. Stoga je osvjetljavanje oba izomera, *cis*- i *trans*-, na 313 nm rezultiralo *E-Z* fotoizomerizacijom kao primarnom fotokemijskom reakcijom, neovisno o korištenom otapalu. Izomerizacija je učinkovitija u slučaju

2. Rezultati i rasprava

cis-**209** i *cis*-**210** izomera, što dovodi do sličnih spektralnih promjena nakon osvjetljavanja u acetonitrilu.



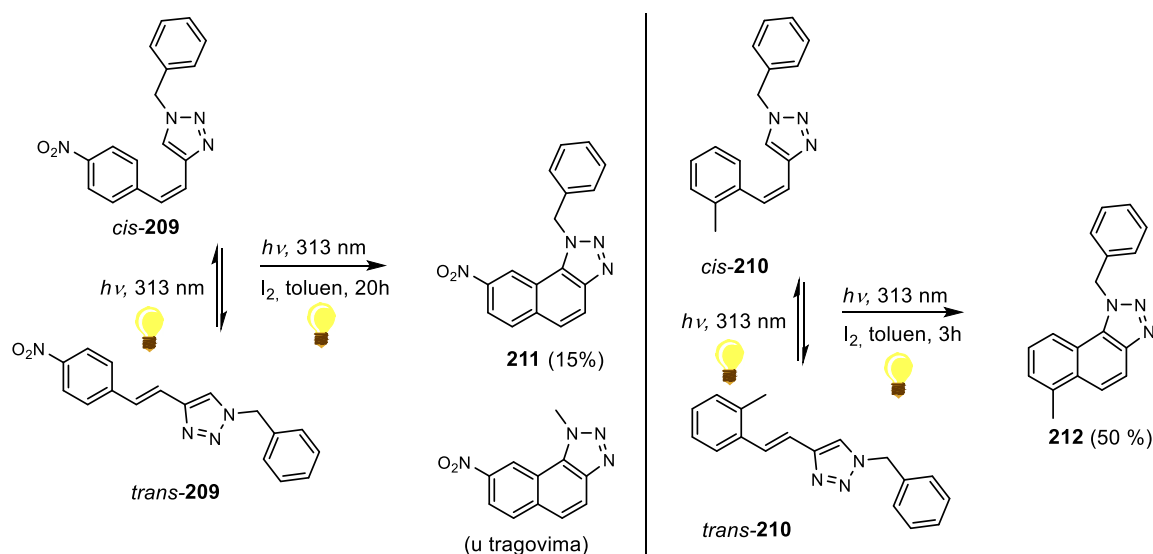
Slika 128. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja triazola *cis*-**209** (a) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 i 4096 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$) i *trans*-**209** (b) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$).



Slika 129. Spektralna promjena tijekom osvjetljavanja triazola *cis*-**210** (a) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 i 4096 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$) i *trans*-**210** (b) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32 i 64 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$).

Nakon produljenog osvjetljavanja i **209** i **210** na 313 nm, postignuto je fotostacionarno stanje koje sadrži 54 % (*trans*-**209**) : 46 % (*cis*-**209**) i 69 % (*trans*-**210**) : 31 % (*cis*-**210**), na temelju NMR spektra snimljenog nakon osvjetljavanja. Daljnje osvjetljavanje rezultiralo je gubitkom izosbestičnih točaka zbog sekundarnih procesa, vjerojatno stvaranja produkata elektrociklizacije. Doista, preparativna osvjetljavanja u otopinama toluena pod aerobnim uvjetima dala su fotoproducte elektrociklizacije **211** (15 %) i **212** (50 %) (Shema 32), koji su izolirani i okarakterizirani NMR spektroskopijom. Formiranje fotoproducta elektrociklizacije općenito je bilo popraćeno stvaranjem nekih produkata visoke molekulske mase, a prema NMR analizi i nekih manjinskih produkata koji su rezultat cijepanja benzilne skupine u **211** i **212**, a koji nisu dalje istraženi.

2. Rezultati i rasprava



Shema 32. *E-Z* izomerizacije i reakcije elektrociklizacije spojeva **211** i **212**.

Kvantni prinosi fotokemijske *E-Z* izomerizacije i elektrociklizacije određena je uporabom ferioksalatnog ($\Phi_{300} = 1,24$) [314,315] aktinometra (Tablica 23). Općenito se vide veće vrijednosti za Φ_{izo} za *Z*→*E* izomerizaciju, zatim za *E*→*Z*, u skladu s prethodnim rezultatima za derivate diariletene [6]. Nadalje, zanimljivo je primijetiti relativno visoke vrijednosti Φ_{el} bez obzira na supstituciju. Naime, reakcije elektrociklizacije mogu se odvijati samo u singletnom stanju, a takvi procesi nisu predviđeni za nitro-supstituirane derivate za koje su reakcije tripletnog pobuđenog stanja karakteristične [24].

Tablica 23. Kvantni prinosi za reakcije izomerizacije Φ_{izo} i elektrociklizacije Φ_{el} derivata triazola **209** i **210** u ACN.

Spoj (otapalo)	Φ_{izo}^a	Φ_{el}^a
<i>cis</i> - 209 (ACN)	0,42	0,26
<i>trans</i> - 209 (ACN)	0,16	0,12
<i>cis</i> - 210 (ACN)	0,42	0,33
<i>trans</i> - 210 (ACN)	0,12	0,07

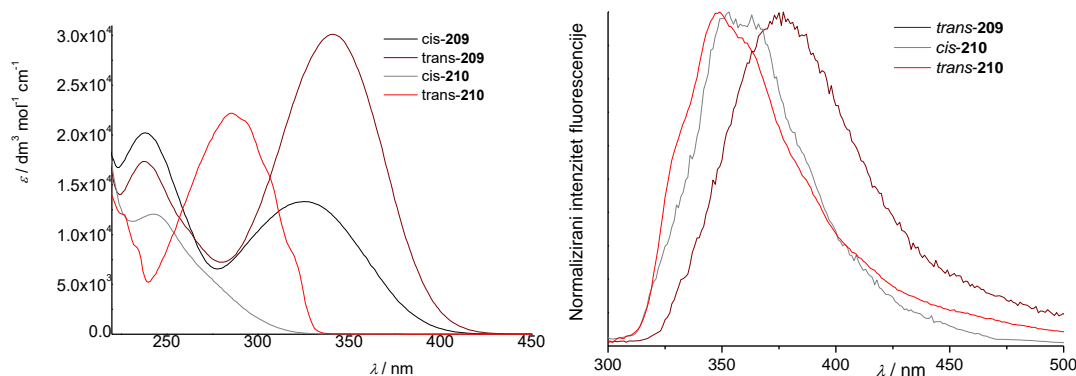
^aUzorci su pobuđeni na 313 nm uporabom jedne UV lampe u fotokemijskom reaktoru, a kvantni prinosi određeni su uporabom ferioksalatnog ($\Phi_{300} = 1,24$) [314,315] aktinometra. Tri mjerenja su provedena u triplikatu i zabilježena je prosječna vrijednost. Procijenjena pogreška je $\pm 5\%$;

2.12.2. Fotofizička svojstva triazolostilbena **209** i **210**

UV/Vis spektri *cis*- i *trans*-izomera **209** i **210** u ACN (Slika 130) tipični su za diariletene [13,14] s jakom apsorpcijom i maksimumom na 341 odnosno 286 nm za *trans*-izomere, i manje inten-

2. Rezultati i rasprava

zivne i hipsokromno pomaknute vrpce za *cis*-izomere. Ove apsorpcijske vrpce odgovaraju potpuno simetrično dopuštenom prijelazu HOMO→LUMO s velikim vrijednostima jakosti oscilatora i populacijom prvih singletnih pobuđenih stanja.



Slika 130. UV/Vis spektri (lijevo) i normalizirani spektri fluorescencije (desno) triazola *cis*-**209**, *trans*-**209**, *cis*-**210** i *trans*-**210** u ACN.

Fluorescencija spojeva **209** i **210** općenito je slaba, u skladu s učinkovitim neradijacijskim procesom koja uglavnom uključuje fotokemijsku *E-Z* izomerizaciju (Tablica 24). Međutim, može se detektirati fluorescencija oba izomera.

Tablica 24. Parametri apsorpcije i emisije kao i kvantni prinosi fluorescencije za derivate triazola **209** i **210**.

Spoj (otapalo)	$\lambda_{\text{abs}},^a$ nm ($\epsilon, \text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)	τ^0 / ns^b	$\lambda_{\text{F}},^a$ nm	Stokesov pomak, cm^{-1}	Φ_{F}	$\Phi_{\text{F}} \tau^0 / \text{ps}^c$	$k_{\text{NR}} / \text{s}^{-1}^d$
<i>cis</i> - 209 (ACN)	<u>238</u> (20220), 328 (12505)	2,67			< 0,0001	< 0.3	$> 3,7 \times 10^{12}$
<i>trans</i> - 209 (ACN)	<u>341</u> (30110)	1,64	<u>376</u>	2730	$0,0039 \pm 0,0002$	6,4	$1,5 \times 10^{11}$
<i>cis</i> - 210 (ACN)	<u>242</u> (14770)	3,43	<u>353</u>	12995	$0,0013 \pm 0,0002$	4,5	$2,2 \times 10^{11}$
<i>trans</i> - 210 (ACN)	320 (7805, sh) 304 (16790, sh), 295 (21000, sh), <u>286</u> (22195)	1,29	<u>323</u> , <u>349</u> , 355	6310	$0,050 \pm 0,005$	64	$1,5 \times 10^{10}$
<i>cis</i> -stilben		7,14 ^[46]			$7,2 \times 10^{-5}$ ^[46]	0,5 ^[46]	-

^aGlavni maksimum je podcrtan; ^bInherentni životni vijek izračunat prema Strickler-Bergovoj jednadžbi. ^cUmnožak Φ_{F} i τ_0 odgovara procijenjenom vremenu života pojedinačnog pobuđenog stanja. ^dKonstanta brzine za prijelaz bez zračenja uključuje izomerizaciju, unutarnju pretvorbu i međusustavno križanje.

Zanimljivo je primijetiti veći Stokesov pomak za *cis*-**210** u usporedbi s *trans*-**210**, što ukazuje na veću amplitudu molekuskog gibanja za deaktivaciju Franck-Condonovih stanja. Štoviše, spektri fluorescencije *cis*-**210** i *trans*-**210** preklapaju se, što ukazuje da je emisija nastala iz iste vrste, vjerojatno iz *trans*-izomera. Ovo otkriće nadalje sugerira da *cis*-**210** prolazi kroz adijabatsku $Z \rightarrow E$ izomerizaciju u *trans*-izomer. Kvantni prinosi fluorescencije izmjereni su upotrebom kinin-sulfata u 0,5 M H₂SO₄ ($\Phi_F = 0,53$) [316]. Vrijednosti Φ_F su niske, a najveće su za *trans*-**210**. Općenito se vide niže vrijednosti za Φ_F za nitro-spojeve, što se može povezati s većom sposobnošću ovih derivata za međusustavno križanje i populaciju tripletnih pobuđenih stanja.

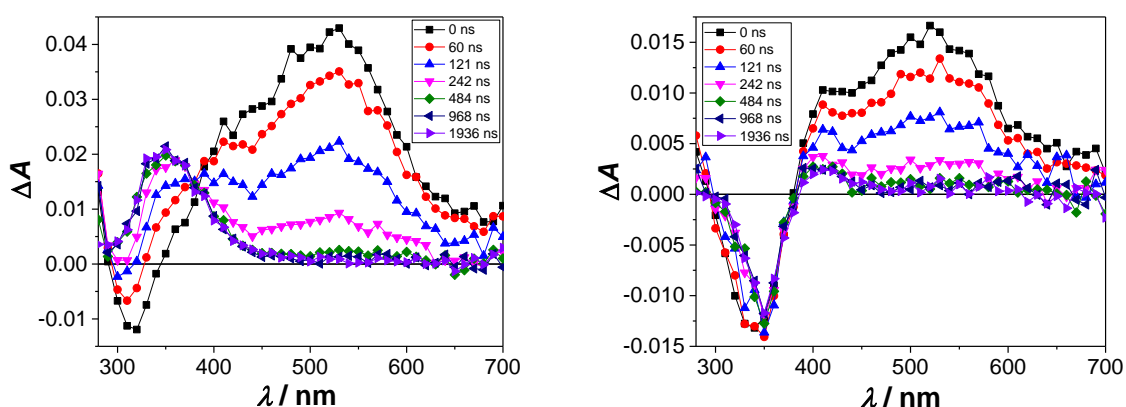
Iz molarnih koeficijenata apsorpcije, inherentni životni vijek pojedinačnog pobuđenog stanja (τ) izračunat je korištenjem Strickler-Bergovih relacija (Tablica 24) [317] i vrijednosti su uspoređene s onom za *cis*-stilben. Općenito se opaža kraći životni vijek, koji je u skladu s manjom vjerojatnošću prijelaza $S_0 \rightarrow S_1$ u **209** i **210**, u usporedbi sa stilbenom. Nadalje, iz kvantnih prinosa fluorescencije, procijenili smo odgovarajuće vrijeme života pojedinačnih pobuđenih stanja i konstante brzine za neradijacijske prijelaze (k_{NR}). Vrijeme života u pojedinačnom pobuđenom stanju kraće je za 1 od onih izračunatih za stilben, dok je trend suprotan za spoj **210**. Nadalje, za molekulu **210** za koju se očekuje da će biti podvrgnuta izomerizaciji pretežno putem pojedinačnog pobuđenog stanja, iz Φ_{izo} , k_R i k_{NR} izračunali smo konstante brzine izomerizacije (k_{izo}) koje imaju vrijednosti $k_{IZO} = 1,8 \times 10^{11} \text{ s}^{-1}$ za *cis*- i $k_{IZO} = 3,7 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ za *trans*-izomer. Ove konstante brzine izomerizacije samo su procjene gornje granice, budući da bi vjerojatna kompetitivna izomerizacija u tripletnom pobuđenom stanju dovela do manjih vrijednosti kvantnog prinosa za izomerizaciju u singletnom pobuđenom stanju i nižim vrijednostima konstanti brzine.

2.12.3. Laserska pulsna fotoliza

Kako bi se detektirala tripletna pobuđena stanja i drugi prihvatljivi međuprodukti u fotokemiji spojeva **209** i **210**, provedena je laserska pulsna fotoliza (LFP) u suradnji s kolegama s *Instituta Ruđer Bošković*. Mjerenja su provedena u polarnom otapalu ACN, u otopini koja je propuhana s N₂ ili O₂, gdje se očekivalo da će O₂ ugasiti tripletna pobuđena stanja i radikalske intermedijere. Prijelazni apsorpcijski spektri za *cis*- i *trans*-**209** prikazani su na slici 131. Za oba izomera detektirana je prijelazna struktura koja je apsorbirala preko cijelog vidljivog područja spektra s maksimumom na 520 nm. U otopini propuhanoj N₂ prijelazna struktura iz oba izomera raspala se monomolekulskom kinetikom s vremenom života od $110 \pm 10 \text{ ns}$, dok je O₂ ugasio prijelaznu

2. Rezultati i rasprava

strukturu. Procijenjena konstanta brzine za gašenje pomoću O_2 je $(6,6 \pm 0,1) \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$ za *cis*- i $(5,8 \pm 0,1) \times 10^9 M^{-1} s^{-1}$ za *trans*-**209**. Osim toga, prijelazna struktura je ugašena feroceonom, poznatim prigušivačem tripletnih pobuđenih stanja diariletana s konstantama brzine kontroliranim difuzijom [315], a procijenjena konstanta brzine gašenja je $(1,27 \pm 0,05) \times 10^{10} M^{-1} s^{-1}$ za *cis*- i $(1,52 \pm 0,01) \times 10^{10} M^{-1} s^{-1}$ za *trans*-izomer. Stoga je prijelazna struktura pripisana tripletnom pobuđenom stanju, a podaci upućuju na to da je to isto tripletno pobuđeno stanje otkriveno u oba spoja, vjerojatno iz *trans*-izomera.

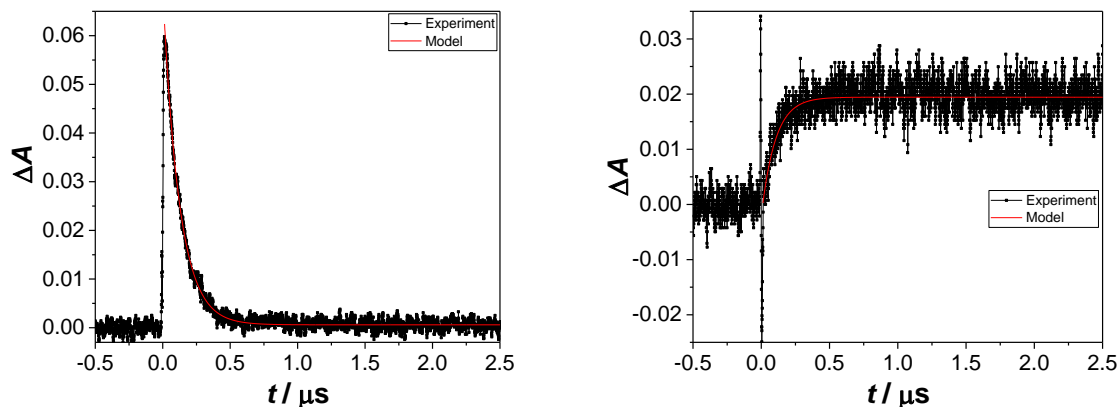


Slika 131. Prijelazni apsorpcijski spektri *cis*- (lijevo) i *trans*-**209** (desno) u otopini ACN propuhanoj s N_2 .

Prijelazni apsorpcijski spektri u otopini ACN propuhanoj s N_2 za *cis*- i *trans*-**209** na 280-400 nm pokazuju razlike. Za *trans*-izomer se može vidjeti negativan signal zbog ireverzibilnog gašenja, što ukazuje da se *trans*-izomer pretvara u stabilan produkt koji slabije apsorbira na 350 nm (vjerojatno *cis*-izomer). Naprotiv, u prijelaznim apsorpcijskim spektrima *cis*-izomera može se vidjeti stvaranje nove vrste s maksimumom apsorpcije na 350 nm koji je stabilan i ne raspada se. Kinetika njegovog nastanka (Slika 132) odgovara kinetici raspada tripletnog pobuđenog stanja. UV/Vis apsorpcijski spektar *trans*-**209** s prijelaznim apsorpcijskim spektrom izmjerenim s odgodom od 1940 ns nakon savršenog preklapanja laserskog pulsa, upućuje na to da je stabilna vrsta *trans*-izomer u osnovnom stanju. Zanimljivo je primijetiti da O_2 , koji gasi tripletno pobuđeno stanje, također čini stvaranje produkta bržim, a njegov se prinos (procijenjen iz ΔA) ne smanjuje u otopini s kisikom. To jest, kinetika rasta produkta odgovara kinetici raspada tripletnog pobuđenog stanja, bez obzira na koncentraciju gasitelja. Ovaj rezultat ukazuje na to da tripletno pobuđeno stanje generirano iz *cis*-izomera pripada *trans*-izomeru koji se raspada dajući stabilni produkt *trans*-**209** (S_0). Da prijelazna vrsta odgovara tripletu *cis*-izomera koji daje stabilni *trans*-izomer (S_0), gašenje tripleta ne bi utjecalo na kinetiku stvaranja pro-

2. Rezultati i rasprava

dukta, ali bi ga učinilo manje učinkovitim. Posljedično, nedvojbeno možemo pripisati prijelaznu apsorpciju s maksimumom na 520 nm iz oba izomera tripletnom pobuđenom stanju od *trans*-**209**.



Slika 132. Opadanje apsorpcije na 500 nm (lijevo) i rast na 350 nm (desno) za otopinu *cis*-**209** propuhanu s N₂ u ACN.

Za razliku od spektra spoja **209**, kod spoja **210** karakteristični prijelaz za tripletno pobuđeno stanje nije detektiran. Umjesto toga, detektirana je kratkotrajna prijelazna vrsta s maksimumom na 350 nm koja se raspala monomolekulskom kinetikom sa vremenom života od 120 ± 30 ns, a O₂ je nije ugasio. Definiranje ovog prijelaznog stanja u ovom trenutku ostalo je nedovršeno. Međutim, LFP podaci jasno ukazuju na različite fotofizičke i fotokemijske puteve za spoj **210**, koji nema nitro-supstituent.

Kako bismo odredili kvantni prinos za populaciju tripleta pomoću međusustavnog križanja (Φ_{ISC}), usporedili smo intenzitet apsorpcije signala koji odgovara pobuđenom stanju tripleta spoja **209** neposredno nakon laserskog pulsa s intenzitetom optički usklađene otopine *trans*-4-nitrostilbena s poznatim Φ_{ISC} (u CH₃OH, $\Phi_{ISC} = 0,71$) [315]. Metoda pretpostavlja da su molarni koeficijenti apsorpcije za tripletna pobuđena stanja isti, što se nije pokazalo tako dobrom aproksimacijom jer je dalo vrijednosti za Φ_{ISC} veće od 1.

Međutim, ova usporedba također sugerira da je Φ_{ISC} za izomere **209** velik, sličan nitrostilbenima [318]. Da bismo dobili neku procjenu Φ_{ISC} , upotrijebili smo kvantne prinose za nastajanje elektrocikličkih produkata (Φ_{EL} , Tablica 23) za koje je singletno pobuđeno stanje jedina mogućnost. Stoga se gornja granica za Φ_{ISC} može definirati s **209** - Φ_{EL} , dajući vrijednosti Φ_{ISC} za *cis*-**209** i *trans*-**209** od 0,74, odnosno 0,88. Nadalje, pokazano je da *cis*-4-nitrostilben prolazi kroz *cis*→*trans* izomerizaciju samo preko tripletnog pobuđenog stanja [318]. Stoga, također možemo procijeniti da gornja granica za međusustavno križanje može imati vrijednost od $2 \times \Phi_{ISC}$, budući da je vjerojatno da polovica *cis*-tripleta prolazi izomerizaciju, dok se druga

polovica neradijacijski deaktivira u osnovno stanje. Primjena ovog pristupa daje sličnu, ali nešto višu vrijednost za gornju granicu za Φ_{ISC} za *cis*-**209** od 0,84.

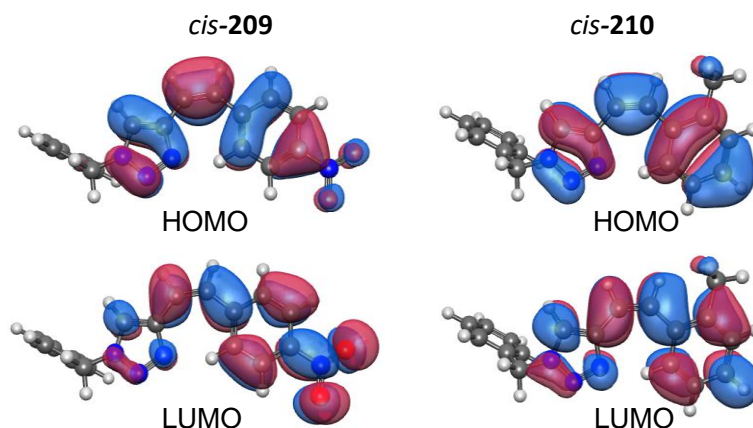
2.12.4. Računalno istraživanje

Za dublje razumijevanje eksperimentalno promatranih procesa uključenih u reakciju *Z-E* izomerizacije za spojeve **209** i **210**, provedeno je u suradnji s vanjskim suradnicima kvantno-kemijsko istraživanje. Put reakcije *Z-E* izomerizacije generiran je linearnom interpolacijom struktura između geometrija krajnjih točaka, naime *cis*- i *trans*-izomera odgovarajućih spojeva **209** i **210**. Ove *cis*- i *trans*-geometrije optimizirane su PBE0/6-31++G** metodom [319-321]. Energije vertikalne pobude duž putanje reakcije izračunate su metodom SF-TDDFT/PBE50/6-31++G** [321,322]. Metoda SF-TDDFT60 omogućuje točan opis višekonfiguracijskih valnih funkcija unutar jedinstvenog referentnog formalizma kao što je u slučaju *Z-E* izomerizacije [318,324]. Dodatno, PBE50 razmjena-korelacijskih funkcionala pokazuje izvrsnu primjenu za širok raspon kemijskih reakcija i procesa [323].

Izračun energija pobude metodom SF-TDDFT za *cis*-**209** i *cis*-**210** pokazuje da najniže singletno pobuđeno (S_1) stanje ima dominantan prijelaz HOMO \rightarrow LUMO za oba sustava s velikim vrijednostima jakosti oscilatora, od 0,893 i 0,905 atomske jedinice. Ovaj se prijelaz događa pri 4,17 eV (297 nm) odnosno 4,71 eV (263 nm) za *cis*-**209** i *cis*-**210**. Te se energije pobude kvalitativno dobro slažu s eksperimentalno određenim apsorpcijskim spektrom.

Energije pobude za najniže tripletno pobuđeno (T_1) stanje izračunato za geometrije osnovnog stanja *cis*-**209** i *cis*-**210** su 3,11 eV, odnosno 3,27. Dodatno, ovo stanje T_1 ima dominantan prijelaz HOMO \rightarrow LUMO za oba sustava. Slika 133 prikazuje HOMO i LUMO orbitale uključene u prijelaze S_1 i T_1 za spojeve *cis*-**209** (lijevo) i *cis*-**210** (desno). Geometrijske optimizacije pokazuju da spojevi **209** i **210** imaju dva odnosno jedan lokalni minimum u T_1 pobuđenom stanju.

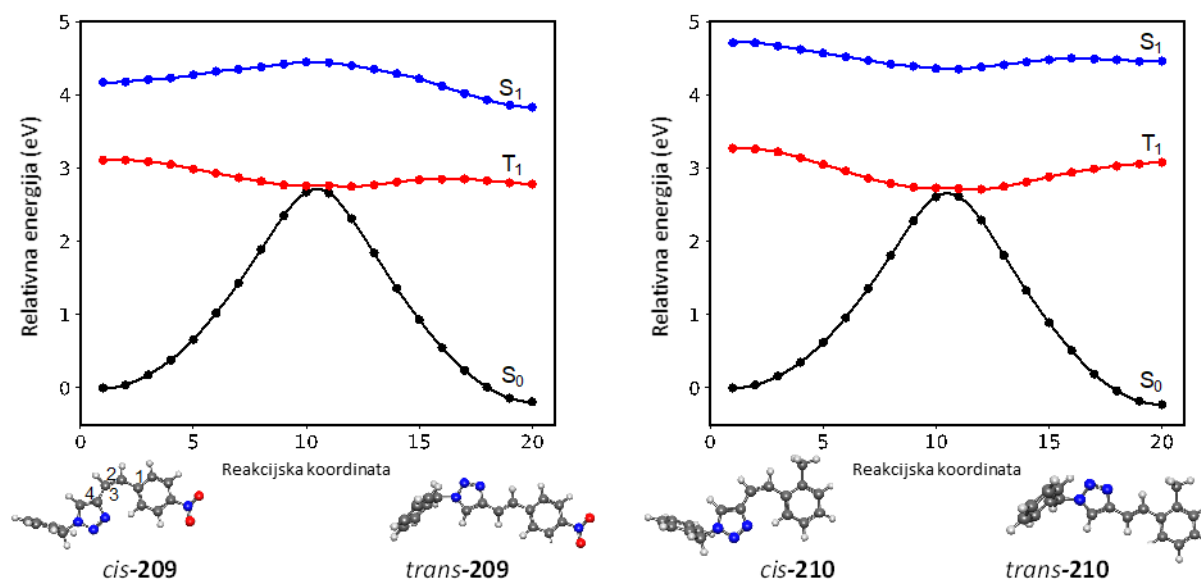
2. Rezultati i rasprava



Slika 133. HOMO i LUMO molekulske orbitale koje pridonose prijelazima T_1 i S_1 za spojeve *cis-209* (lijevo) i *cis-210* (desno).

Slika 134 prikazuje relativno (s obzirom na *cis-209* ili *cis-210*) plohu potencijalne energije osnovnog stanja (S_0 , crna krivulja), prvog pobuđenog tripletnog stanja (T_1 , crvena krivulja) i prvog pobuđenog singletnog stanja (S_1 , plava krivulja) za spojeve **209** (lijevo) i **210** (desno). Reakcijska koordinata označava rotaciju oko dvostruke C=C veze uključene u *Z-E* izomerizaciju. Ova reakcijska koordinata odgovara promjeni diedarskog kuta definiranog ugljikovim atomima C1, C2, C3 i C4 kao što je prikazano na slici 134 za *cis-209* izomer. U slučaju *cis-209* i *trans-209* izomera diedarski kutovi su $0,02^\circ$ odnosno $179,98^\circ$, dok su za *cis-210* i *trans-210* izomere diedarski kutovi $0,10^\circ$ odnosno $179,00^\circ$. Ove vrijednosti diedarskih kutova pokazuju da su sve te strukture gotovo ravne. Za oba spoja **209** i **210**, *trans*-izomer je stabilniji od *cis*-izomera za $0,19$ eV ($4,3$ kcal mol⁻¹) odnosno $0,23$ eV ($5,4$ kcal mol⁻¹). Barijera *Z-E* izomerizacije duž plohe potencijalne energije S_0 je $2,67$ eV ($61,5$ kcal mol⁻¹) za spoj **209**, i $2,61$ eV ($60,2$ kcal mol⁻¹) za spoj **210**. Diedralni kut u prijelaznom stanju je $\sim 90^\circ$ za oba spoja. Zbog ove visoke barijere na putu energije S_0 , proces *Z-E* izomerizacije uključuje pobuđena stanja.

2. Rezultati i rasprava



Slika 134. Profili relativne energije (u eV) osnovnog stanja S_0 (crno), prvog pobuđenog tripletnog stanja T_1 (crveno) i prvog pobuđenog singletnog stanja S_1 (plavo) za spojeve **209** (lijevo) i **210** (desno). Reakcijski putovi dobiveni su linearnom interpolacijom između *cis*- i *trans*-izomera odgovarajućih spojeva **209** i **210**.

U slučaju spoja **209**, ploha koja odgovara stanju S_1 ima uzbrdo energijski profil, s barijerom od $\sim 0,3$ eV (7 kcal mol⁻¹) koju bi trebalo prevladati. Štoviše, konstanta spin-orbitalnog sprežanja (SOCC) između stanja S_1 i T_1 za spoj **209** je značajna, s izračunatom vrijednošću od 240 cm⁻¹. Dodatno, u *cis*-**209** geometriji, stanja S_1 i T_1 vrlo su bliska po energiji ($1,06$ eV jedno od drugog). Stoga je energijski povoljnije da se ova reakcija izomerizacije odvija preko stanja T_1 , gdje se u prvom koraku *cis*-**209** mijenja iz stanja S_1 u stanje T_1 kroz spin-orbitalno sprežanje. Jednom kada je *cis*-**209** u stanju T_1 , izomerizira duž plohe potencijalne energije T_1 u *trans*-**209** izomer. Na tom putu sustav prvo doseže minimum na plohi T_1 s promjenom energije od $0,35$ eV ($8,0$ kcal mol⁻¹) i na kraju se izomerizira u *trans*-**210** prevladavanjem male barijere od $0,09$ eV ($2,1$ kcal mol⁻¹). Na kraju, sustav mijenja svoju spinsku simetriju iz T_1 stanja u S_0 stanje kroz spin-orbitalno sprežanje. Lijevi dio slike 134 pokazuje da spoj **209** ima dva lokalna minimuma u pobuđenom stanju T_1 (crvena krivulja). Za potvrdu ovog opažanja, optimizacija geometrije u pobuđenom stanju T_1 određuje ova dva lokalna minimuma, pri čemu prvi odgovara *trans*-**209** koji ima $2,35$ eV više energije od osnovnog stanja *cis*-**209**, a drugi odgovara međustrukturi između *cis*-**209** i *trans*-**209** koja je za $2,55$ eV viša u sadržaju energije od osnovnog stanja *cis*-**209**.

U slučaju spoja **210**, ploha koja odgovara stanju S_1 ima uglavnom silazni energijski profil s malom energijskom barijerom od $0,14$ eV ($3,2$ kcal mol⁻¹), uz zanemariv SOCC između S_1 i T_1 od $\sim 0,03$ cm⁻¹. Štoviše, stanja S_1 i T_1 imaju razliku energije od $1,44$ eV u *cis*-**210** geometriji.

2. Rezultati i rasprava

Stoga je energijski manje povoljno da ova izomerizacija ima isti mehanizam kao što je objašnjeno u slučaju spoja **209**. Izomerizacija *cis*-**210** događa se isključivo duž krivulje potencijalne energije S_1 . Ovu putanju karakterizira silazna promjena energije od 0,36 eV (8,3 kcal mol⁻¹), nakon čega slijedi uzlazni proces s vrlo malom energijskom barijerom od 0,14 eV (3,2 kcal mol⁻¹). Jednom kada se *trans*-**210** nađe na ovoj površini, sustav se može raspasti u stanje S_0 putem mehanizma radijacijskog raspada. S obzirom na sve ove čimbenike, za razliku od spoja **209**, izomerizacija *cis*-**210** u *trans*-**210** događa se bez uključivanja T_1 pobuđenog stanja. Stoga se svi eksperimentalno opaženi procesi izvrsno slažu s kvantno-kemijskim proračunima. Nadalje, desni dio slike 134 pokazuje da spoj **210** ima samo jedan lokalni minimum u pobuđenom stanju T_1 (crvena krivulja) što je potvrđeno izvođenjem optimizacije geometrije u pobuđenom stanju T_1 . Ova stacionarna točka odgovara srednjoj strukturi između *cis*-**210** i *trans*-**210** i ima za 2,41 eV više energije od osnovnog stanja *cis*-**210**. Najznačajnija promjena geometrije nakon optimizacije je smanjenje kuta definiranog ugljikovim atomima C2, C3, C4 za 7,0°. Kako bismo potvrdili odabranu proceduru u kojoj su plohe potencijalne energije generirane putem LIS pristupa, izvršili smo geometrijske optimizacije na površinama S_0 i S_1 koristeći metodu SF-TDDFT/PBE50/6-31++G**. Barijera *Z-E* izomerizacije duž plohe potencijalne energije S_0 nakon optimizacije geometrije sada iznosi 2,40 eV za spoj **209** i 2,31 eV za spoj **210**, što rezultira barijerom koja je niža za ~ 0,3 eV za oba sustava u odnosu na vrijednosti dobivene LIS pristupom. Najznačajnija promjena geometrije nakon optimizacije (u odnosu na njihove odgovarajuće okomite strukture osnovnog stanja) je smanjenje kuta definiranog ugljikovim atomima C2, C3, C4 za ~ 9,0° za oba spoja.

Optimizacija geometrije spoja **209** u pobuđenom stanju S_1 ukazuje na to da postoje dva minimuma i jedno prijelazno stanje, kao što je promatrano LIS pristupom i naznačeno plavom plohom na slici 132. Dva minimuma odgovaraju *cis*-**209** (3,85 eV više energije od osnovnog stanja *cis*-**209**) i *trans*-**209** (3,57 eV više energije od osnovnog stanja *cis*-**209**) geometrijama, dok prijelazno stanje (4,13 eV viša energija od osnovnog stanja *cis*-**209**) odgovara okomitoj strukturi koja je prijelazno stanje između ovih *cis*-**209** i *trans*-**209** geometrija. Barijera za ovo prijelazno stanje na tom putu je ~ 0,3 eV, što ukazuje na to da je barijera predviđena LIS pristupom u izvrsnom skladu s ovom vrijednošću. I *cis*-**209** i *trans*-**209** strukture ostaju ravne nakon optimizacije u S_1 pobuđenom stanju, a dvije glavne promjene geometrije za ove dvije strukture (u odnosu na njihove parove u osnovnom stanju) su skraćivanje C-N veze nitro-supstituenta za ~0,07 Å, i promjena u kutu definiranom atomima ugljika C2, C3, C4 za ~2,0° za obje strukture. Što se tiče prijelaznog stanja na plohi S_1 , glavna promjena u geometriji nakon optimizacije događa se u smanjenju kuta definiranog ugljikovim atomima C1, C2, C3 za ~11,0°.

2. Rezultati i rasprava

U ovoj geometriji niti jedan od ugljika C1, C2, C3 i C4 nije piramidaliziran. To je, međutim, u suprotnosti s nesupstituiranim stilbenima gdje je okomita struktura u S_1 pobuđenom stanju dodatno stabilizirana piramidalizacijom ugljikovog atoma. Svi ovi rezultati pokazuju da je odabrani LIS pristup kvalitativno ispravan za spoj **209** i može se koristiti za donošenje zaključaka o mehanizmu reakcije tog spoja.

Slika 134 pokazuje da spoj **210** ima tri plitka lokalna minimuma u S_1 pobuđenom stanju (plava ploha), a sva tri minimuma su locirana izvođenjem optimizacije geometrije u ovom pobuđenom stanju. Ovi minimumi odgovaraju za *cis*-**210** (4,10 eV viša energija od osnovnog stanja *cis*-**210**), prijelazno stanje-**210** (3,80 eV viša energija od osnovnog stanja *cis*-**210**) i *trans*-**210** (3,96 eV viša energija nego osnovno stanje *cis*-**210**) geometrije. Ista relativna stabilnost stacionarnih točaka na površini S_1 predviđena je LIS pristupom. *Trans*-**210** struktura ostaje ravna u S_1 pobuđenom stanju nakon optimizacije, dok su *cis*-**210** i prijelazno stanje-**210** dodatno stabilizirani piramidalizacijom C1 i C3 ugljikovih atoma. Iako LIS pristup nije u stanju uhvatiti promjene geometrije zbog piramidalizacije koja stabilizira molekule u S_1 pobuđenom stanju, on je u stanju opisati kvalitativno ispravnu energiju i relativnu stabilnost između svih stacionarnih točaka na ovoj površini, stoga se može koristiti kao koristan kvalitativni alat za donošenje zaključaka o mehanizmu reakcije spoja **210**.

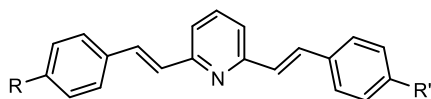
2.13. Sinteza i fotofizika distirilnih derivata DAQP, MIX i QP

2.13.1. Spektrofotometrijske i fluorimetrijske titracije

Ispitivani distirilni derivati *trans,trans*-4,4'-piridin-2,6-diilbis(eten-2,1-diil))bis(*N,N*-dimetilaminil) (DAQP), *trans,trans*-2-(*p*-nitrostiril)-5-(*p*-metoksistiril)piridin (MIX) i *trans,trans*-2,6-bis[2-(4-nitrofenil)etenil]piridin (QP) (Slika 135), sintetizirani su prema postupcima opisanim u objavljenoj publikaciji [17], a pokazali su različit odgovor na apsorpciju svjetlosti ovisno o kiselosti medija. Ispitivanja su provedena u suradnji s kolegama sa *Sveučilišta Perugia*. Titracije su provedene u vodenim puferima uz dodavanje određenog postotka ACN zbog problema s topljivošću. Spektrofotometrijske titracije prikazane su na slikama 136-140. Počevši od neutralnog pH (7/8), porast kiselosti otopine uzrokuje crveni pomak apsorpcijskog spektra svih ispitivanih spojeva. U slučaju dimetilamino-derivata, daljnje smanjenje pH medija dovodi do pada batokromne vrpce i paralelne pojave nove apsorpcije u UV području, pri višoj energiji u usporedbi sa spektrom zabilježenim u neutralnim otopinama, ukazujući na prisutnosti dviju kiselinsko-baznih ravnoteža u istraživanom širokom rasponu pH. Spektrofotometrijske titracije

2. Rezultati i rasprava

praćene na odgovarajućim valnim duljinama praćenja (430, 393 i 376 nm za DAQP, MIX i QP, Slika 136) dale su pK_a vrijednosti navedene u tablici 25. Protoniranje središnjeg piridina dovodi do crvenog pomaka apsorpcijskog spektra, kao što se očekivalo [325-327,328] i potvrđeno kvantno-mehaničkim izračunima.



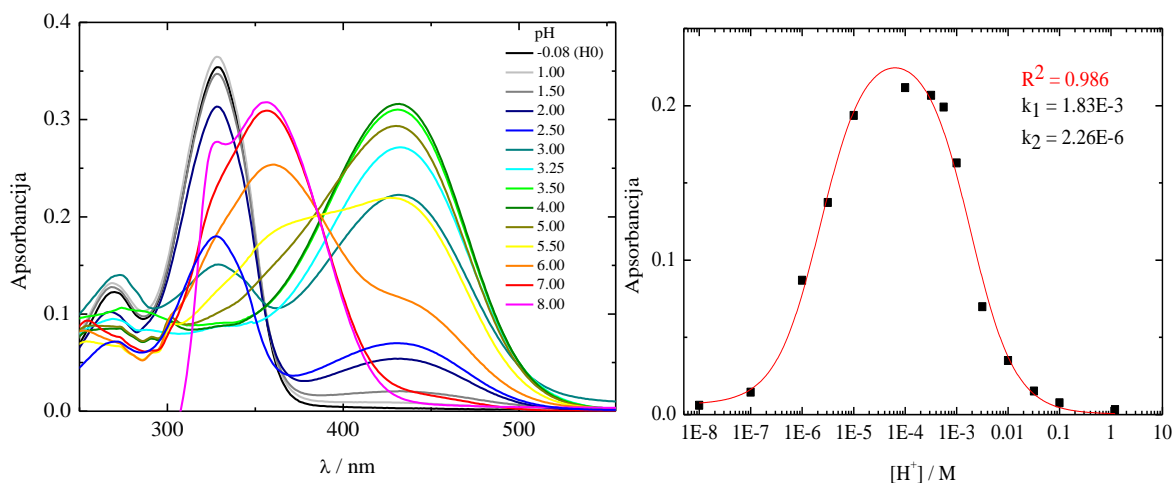
R, R' = N(CH₃)₂ - DAQP
R = OCH₃; R' = NO₂ - MIX
R, R' = NO₂ - QP

Slika 135. Molekulske strukture *trans,trans*-4,4'-piridin-2,6-diilbis(etin-2,1-diil))bis(*N,N*-dimetilanilina (DAQP)), *trans,trans*-2-(*p*-nitrostiril)-5-(*p*-metoksistiril)piridina (MIX) i *trans,trans*-2,6-bis[2-(4-nitrofenil)etenil]piridina (QP).

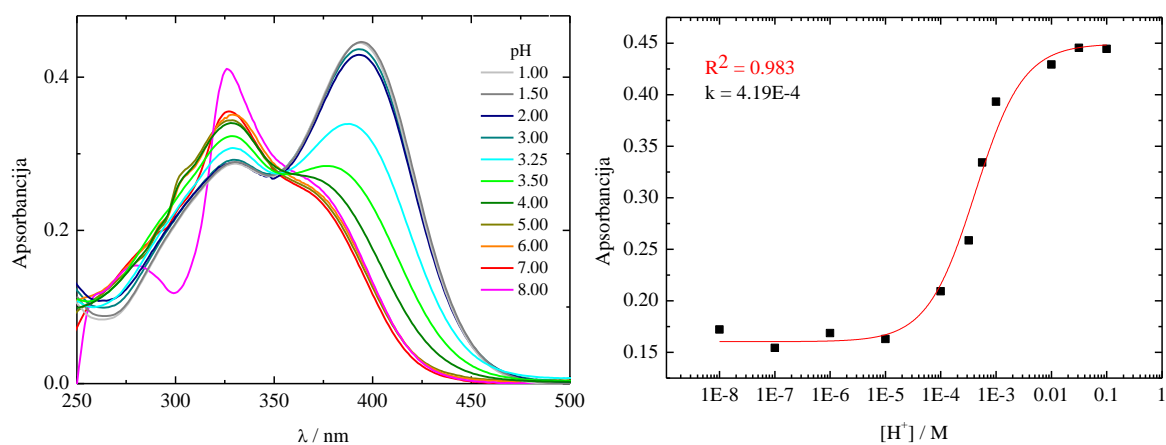
Stoga bi prvo mjesto protoniranja trebao biti dušik središnje piridinske jedinice također za DAQP, dok je drugo mjesto protoniranja u spoju dušik dimetilamino-skupine, u skladu sa značajnim plavim pomakom apsorpcijskog spektra [329,330].

U slučaju najfluorescentnijeg DAQP bilo je moguće provesti fluorometrijsku titraciju (Slika 139). Ovo je izvedeno pobudom na dvije valne duljine pobude (355 i 384 nm, lijevi i desni paneli slike 139) koje predstavljaju izosbestične točke između tri različite promatrane vrste (neutralne, DAQP, monoprotinirane, DAQPH⁺ i bis-protonirane, DAQPH₂²⁺). Spektar emisije u obliku zvona sa središtem na 503 nm zabilježen je pri pH 7/8. Povećanje kiselosti medija izaziva nestanak ove vrpce i istovremeni rast nove vrpce sa središtem na 596 nm. Daljnje smanjenje pH implicira novu kiselo-baznu ravnotežu fluorescentnih vrsta koje treba promatrati, pomak od 596 nm smanjuje intenzitet dok potpuno ne nestane pri pH ≤ 0 u korist hipsokromnog pomaka sa središtem na 395 nm. Najbolja prilagodba fluorometrijske titracije praćene na odgovarajućim valnim duljinama kiselo-baznim jednadžbama dala je pK_a vrijednosti također navedene u tablici 25.

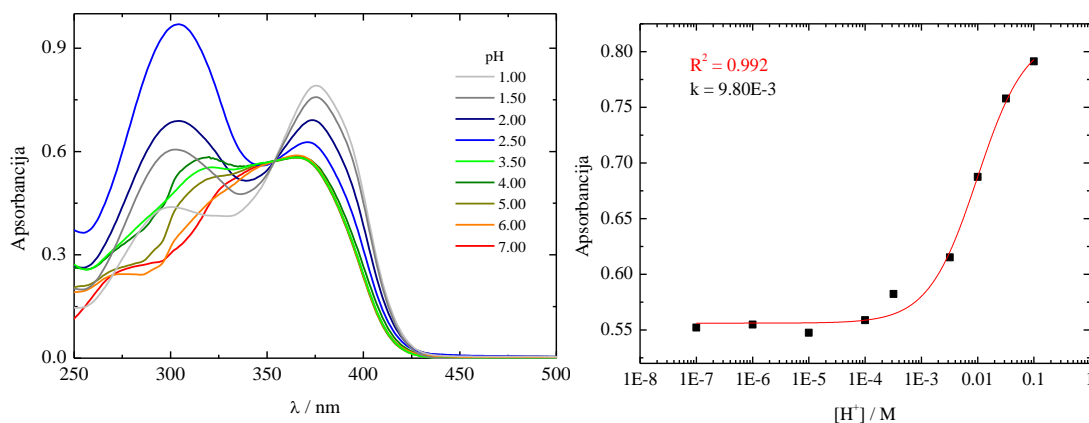
2. Rezultati i rasprava



Slika 136. Spektrofotometrijska titracija (lijevo) spoja DAQP (20 % ACN) u širokom pH rasponu i relativno pK_a prilagođavanje (desno) na 430 nm.

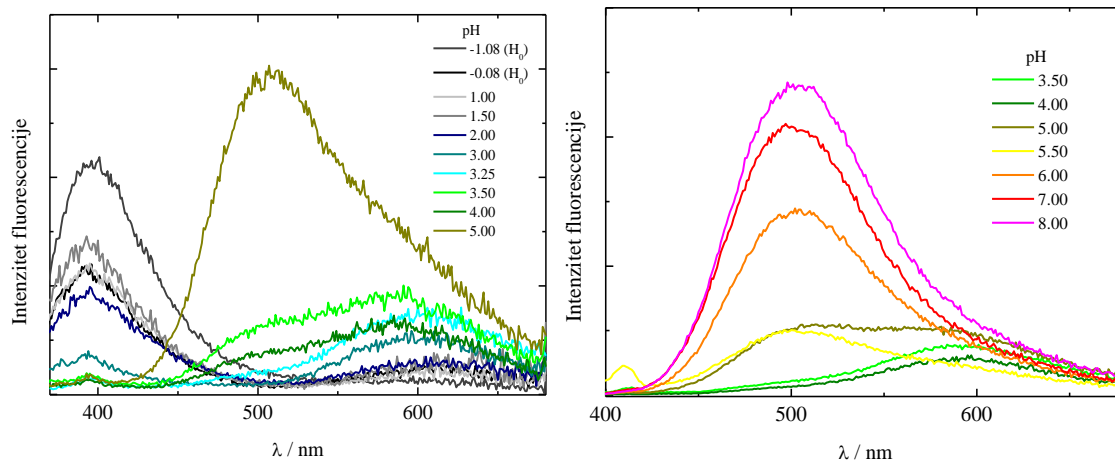


Slika 137. Spektrofotometrijska titracija (lijevo) spoja MIX (30 % ACN) u širokom pH rasponu i relativno pK_a prilagođavanje (desno) na 393 nm.

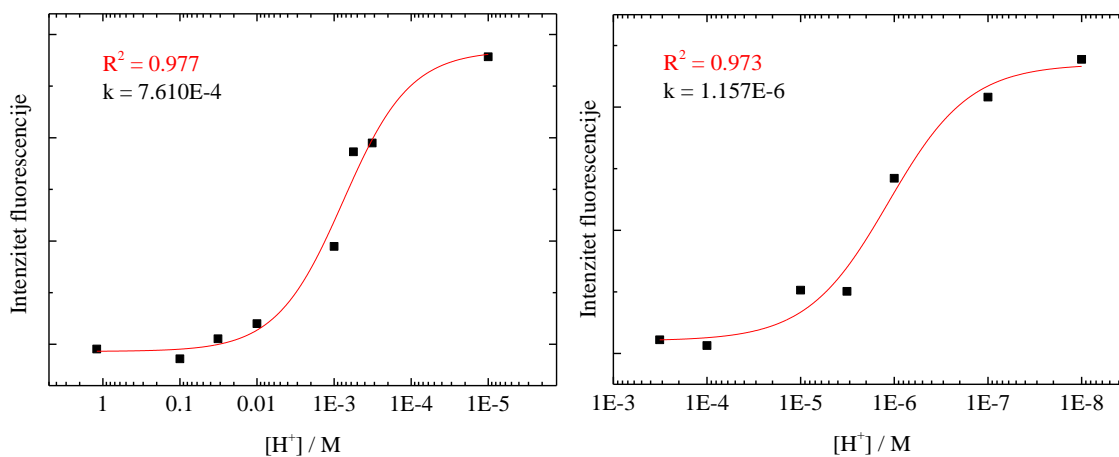


Slika 138. Spektrofotometrijska titracija (lijevo) spoja QP (60 % ACN) u širokom pH rasponu i relativno pK_a prilagođavanje (desno) na 376 nm.

2. Rezultati i rasprava



Slika 139. Spektrofluorimetrijske titracije spoja DAQP (20 % ACN) u širokom pH rasponu pobuđivanjem uzorka na 355 nm (lijevo) i 384 nm (desno).



Slika 140. pKa prilagođavanje spektrofluorimetrijskih titracija spoja DAQP (20 % ACN) na 625 nm (lijevo) i 500 nm (desno).

2. Rezultati i rasprava

Tablica 25. Kiselo-bazna svojstva DAQP, MIX i QP. Maksimumi apsorpcije (λ_{abs}) i emisije (λ_{em}), konstanta kiselo-bazne ravnoteže u osnovnom (pK_a) i pobuđenom (pK_a^*) stanju. Svojstva 2,6-DStP također su navedena u svrhu usporedbe [328].

Spoj	$\lambda_{\text{abs}} / \text{nm}$	$\lambda_{\text{em}} / \text{nm}$	pK_a^a	pK_a (fluo) ^b	pK_a (ReactLab) ^c	$pK_a^{*,d}$
2,6-DStP	289, 335	408	4,3			10,1
2,6-DStPH ⁺	272 ^{sh} , 300, 372	460				
DAQP	356	503	5,6 ± 0,1	5,9 ± 0,1	5,67	13,9
DAQPH ⁺	430	596				
DAQPH ₂ ²⁺	328	395				
MIX	327, 370 ^{sh}	420	3,4 ± 0,1		3,45	9,2
MIXH ⁺	329 ^{sh} , 394	450				
QP	277 ^{sh} , 328 ^{sh} , 366	405	2,0 ± 0,1		2,05	4,0
QPH ⁺	297 ^{sh} , 376	430				

a) utvrđeno spektrofotometrijskim titracijama analiziranima najboljom prilagodbom na odgovarajućim valnim duljinama apsorpcije,

b) utvrđeno fluorometrijskim titracijama analiziranima najboljom prilagodbom na odgovarajućim valnim duljinama emisije,

c) utvrđeno spektrofotometrijskim titracijama razrađenim globalnom analizom koju je izvršio softver ReactLab,

d) izračunato korištenjem Försterovog ciklusa.

2.13.2. pK_a^* određivanje Försterovim ciklusom

Vrlo niski fluorescentni kvantni prinosi istraživanih spojeva (Tablica 26) isključili su mogućnost eksperimentalnog određivanja konstante kiselinsko-bazne ravnoteže u singletno pobuđenom stanju.

U slučaju najfluorescentnijeg DAQP, nije primijećen jasan znak ponovne ravnoteže u S_1 , što je u skladu s vrlo kratkim životnim vijekom prvog pojedinačnog pobuđenog stanja izmjerenim pomoću tranzijentne apsorpcijske spektroskopije s femtosekundnom rezolucijom u vremenu (Tablica 26), što sugerira da se prijenos protona u S_1 ne uspije natjecati s brzim neradijacijskim putevima deaktivacije, kao što je *trans*→*cis* fotoizomerizacija i nastajanje tripleta kroz međusustavno križanje, što je dokazano femtosekundnim prolaznim mjerenjima apsorpcije. Stoga su pK_a^* vrijednosti procijenjene kroz Försterov ciklus primjenom jednadžbe. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 25. Sva tri spoja postaju jača nakon fotoekscitacije, kao što je navedeno u

literaturi u slučaju analognih 2-stirilpiridina i 2,6-distirilpiridina [325-327,328]. Naprotiv, monoprotonirani DAQP postaje puno jača kiselina u pobuđenom stanju u skladu s izračunatim negativnim pK_a^* (Tablica 25).

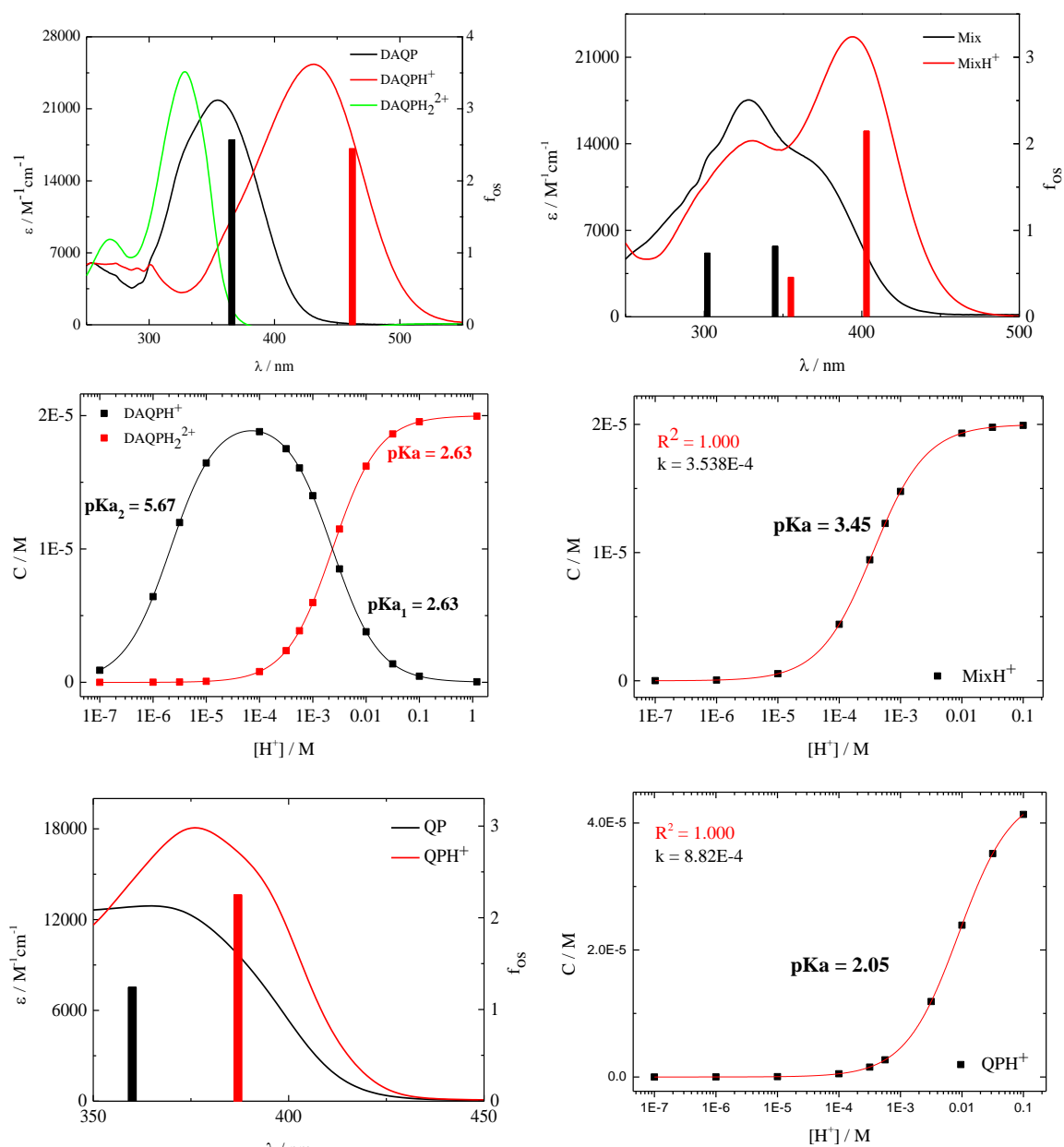
Usporedba s 2,6- distirilpiridinima pokazuje ulogu različitih supstituenata na kiselobazna svojstva proučavanih spojeva (Tablica 25). Prisutnost nitro-, dimetilamino- i metoksi-skupina uvijek uzrokuje crveni pomak apsorpcijskih i emisijskih spektara u odnosu na nesupstituirani 2,6- distirilpiridine, zbog karaktera djelomičnog prijenosa naboja apsorpcijskih prijelaza, kao što je istaknuto izračunima. U skladu s tim, najveći batokromni pomak, kako u apsorpciji tako i u emisiji, pronađen je za monoprotonirani $DAQP^+$ sa središnjom nabijenom piridinijevom jedinicom i bočnom jakom elektron-donorskom dimetilamino-skupinom, dok su zanemarivi crveni pomak i plavi pomak u apsorpcijskom odnosno emisijskom spektru zabilježeni u slučaju monoprotoniranog QPH^+ , koji nosi nitro-skupine koje privlače elektrone.

Elektron-donorska skupina, kao što je dimetilamino- u slučaju DAQP, čini vrijednosti pK_a i pK_a^* višima od onih koje pokazuje referentna molekula. Stoga je učinak jake elektron-donorske skupine olakšavanje protoniranja središnjeg piridina, čineći ovu jedinicu jačom bazom. Naprotiv, gdje je prisutna skupina koja privlači elektron, kao što je nitro-skupina, i pK_a i pK_a^* se smanjuju za 1-2 jedinice (odnosno za MIX i QP) u usporedbi s nesupstituiranim 2,6-distirilpiridinima. Učinak je jači za QP gdje postoje dvije jake skupine akceptora elektrona. Zanimljiv rezultat primjene Försterovog ciklusa je da fotoekscitacija ne samo da čini monoprotonirani oblik DAQP stabilnim u širokom rasponu pH, već je taj raspon mnogo širi u usporedbi s onim koji se odnosi na osnovno stanje. Da je kiselobazna ravnoteža kinetički moguća, uvijek bismo imali monoprotonske vrste u pobuđenom stanju.

2.13.3. ReactLab simulacije i kvantno-mehanički proračuni

Globalni postupak prilagođavanja svih matrica spektralnih podataka pomoću programa ReactLabTM Equilibria dao je molarne koeficijente apsorpcije i profile koncentracije kao funkciju pH tri različite vrste u slučaju DAQP (prikazano na slici 141A) i dvije vrste za MIX i QP na slici 141B odnosno 141C. Pouzdanije pK_a vrijednosti izračunate putem globalnog prilagođavanja navedene su u šestom stupcu tablice 25 i prilično su u skladu s onim vrijednostima određenim spektrofotometrijskim i fluorometrijskim titracijama analiziranim na odgovarajućim valnim duljinama.

2. Rezultati i rasprava

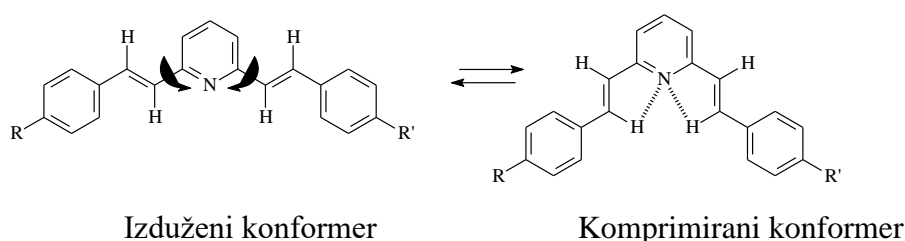


Slika 141. Molarni koeficijenti apsorbacije (lijevi paneli) i profili koncentracije kao funkcija pH (desni paneli) tri različite vrste u slučaju DAQP (A) i dvije vrste za MIX (B) i QP (C). Izračunata energija apsorbacijskih prijelaza s njihovom snagom oscilatora također je navedena kao stupac za monoprotonirane vrste (crvene crte) i neutralne vrste (crne crte za DAQP) i za QP odnosno MIX [24,331].

Treba podsjetiti da ove fleksibilne molekule mogu postojati u tekućim otopinama na sobnoj temperaturi kao dinamička ravnoteža između različitih konformera [329] (izduženih i komprimiranih) koji nastaju rotacijom vinilnih skupina oko kvazi-jednstrukih veza između središnjeg piridina i dvostrukih veza (Shema 33). U slučaju 2,6-distirilpiridina [328] i još više za MIX [332] i QP [24], prevalencija komprimiranih rotamera posljedica je prisutnosti intramolekulskih $N \cdots H$ veza tipa H koje uključuju obližnje etenske vodike. Međutim, u protonskim

2. Rezultati i rasprava

otapalima uspostavljanje jakih intermolekulskih veza slabi N...H intramolekulske veze uzrokujući pomicanje konformacijske ravnoteže prema produljenim vrstama [333,334]. U protoniranom 2,6-distirilpiridinu i njegovim derivatima utvrđeno je da je konformacijska ravnoteža uvelike pomaknuta prema izduženoj geometriji zbog steričke smetnje u komprimiranim konformacijama između protonskih i etenskih vodika [328]. Iz tih razloga, u ovom radu pretpostavljeno je da izduženi rotameri ispitivanih spojeva uglavnom prevladavaju u otopini, a kvantno-mehanički izračuni izvedeni su samo na izduženim vrstama.



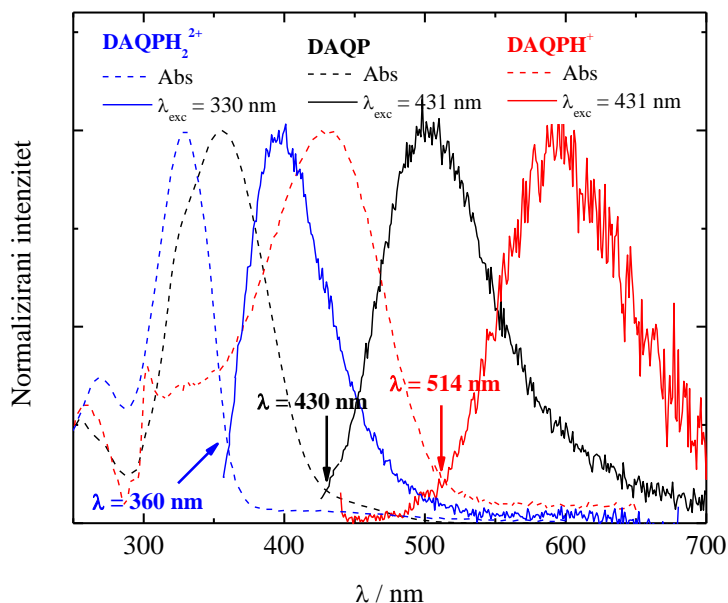
Shema 33. Konformacijska ravnoteža derivata 2,6-DStP.

Izračunati spektri prilično se slažu s eksperimentalnima i također su prikazani kao okomite crte na slici 141. Jedini podaci koji se ne slažu s eksperimentalnim rezultatima su oni koji se odnose na apsorpcijski spektar bis-protoniranog DAQPH₂²⁺ za koji izračuni ne mogu reproducirati opaženi eksperimentalno jaki plavi pomak. Zapravo, maksimum apsorpcije kreće se od 430 nm do 328 nm, kako je eksperimentalno otkriveno za drugo protoniranje DAQP, dok je mnogo manji pomak od 460 nm do 430 nm predviđen izračunima.

2.13.4. Spektralna i fluorescentna svojstva neutralnih i protoniranih vrsta

Apsorpcijski i emisijski spektri svojstveni različitim neutralnim i protoniranim vrstama za ispitivane spojeve prikupljeni su i normalizirani na slici 142 za slučaj DAQP. Točke sjecišta između apsorpcije i relativne fluorescencije za različite vrste, korištene za procjenu 0,0 prijelaznih energija kojima se treba manipulirati u jednadžbi Försterovog ciklusa, također su navedeni na slici 142.

2. Rezultati i rasprava



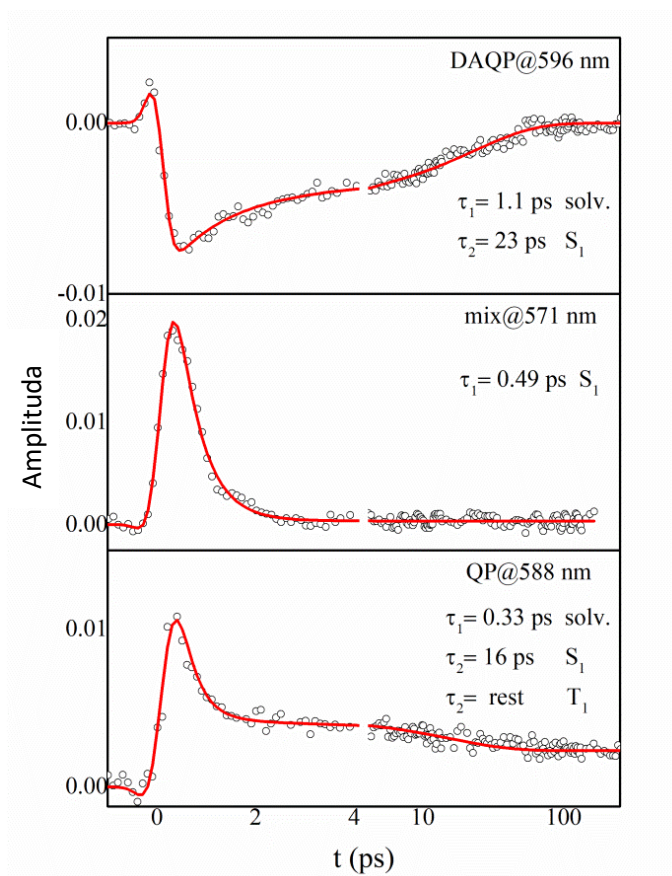
Slika 142. Normalizirani apsorpcijski i emisijski spektri neutralnih i protoniranih vrsta DAQP u smjesama voda/ACN pri različitim pH vrijednostima. Također su navedene točke sjecišta između normaliziranih apsorpcijskih i emisijskih spektara neutralnih i protoniranih vrsta.

Utvrđeno je da svi spojevi slabo emitiraju u svim ispitivanim pH rasponima. DAQP je najfluorescentniji s $\phi_F \cong 2 \times 10^{-2}$ za bazu. Protoniranje općenito uzrokuje smanjenje kvantnog prinosa fluorescencije, otprilike za jedan red veličine u slučaju DAQP i MIX (Tablica 26).

Tablica 26. Svojstva emisije (kvantni prinos fluorescencije u ekvilibriranim otopinama na zraku, ϕ_{zrak} , vrijeme S_1 , τ_F i relativna kinetička konstanta, k_F) spojeva DAQP, MIX i QP u smjesama voda/ACN pri različitim pH vrijednostima. Kinetičke konstante dobivene su razmatranjem vremena života S_1 dobivenih femtosekundnim eksperimentima tranzijentne apsorpcije s $\lambda_{pump} = 400$ nm.

	pH	$\lambda_{eksc} / \text{nm}$	ϕ_{zrak}	τ_F / ps	$k_F / 10^8 \text{ s}^{-1}$
DAQP	1	330	$1,4 \times 10^{-3}$	23	1,9
	2	329	$2,1 \times 10^{-3}$		
	3	329	$2,8 \times 10^{-3}$		
	4	431	$4,4 \times 10^{-3}$		
	5	431	$6,3 \times 10^{-3}$		
	6	363	$1,82 \times 10^{-2}$		
	7	357	$2,46 \times 10^{-2}$		
	8	357	$1,8 \times 10^{-2}$		
MIX	1	395	1×10^{-4}	0,49	2,0
	5	329	$1,3 \times 10^{-3}$		
	6	329	7×10^{-4}		
	8	327	7×10^{-4}		
QP	1	377	$1,3 \times 10^{-3}$	16	0,81
	4	367	7×10^{-4}		
	6	327	$1,1 \times 10^{-3}$		
	8	327	$1,5 \times 10^{-3}$		

2. Rezultati i rasprava



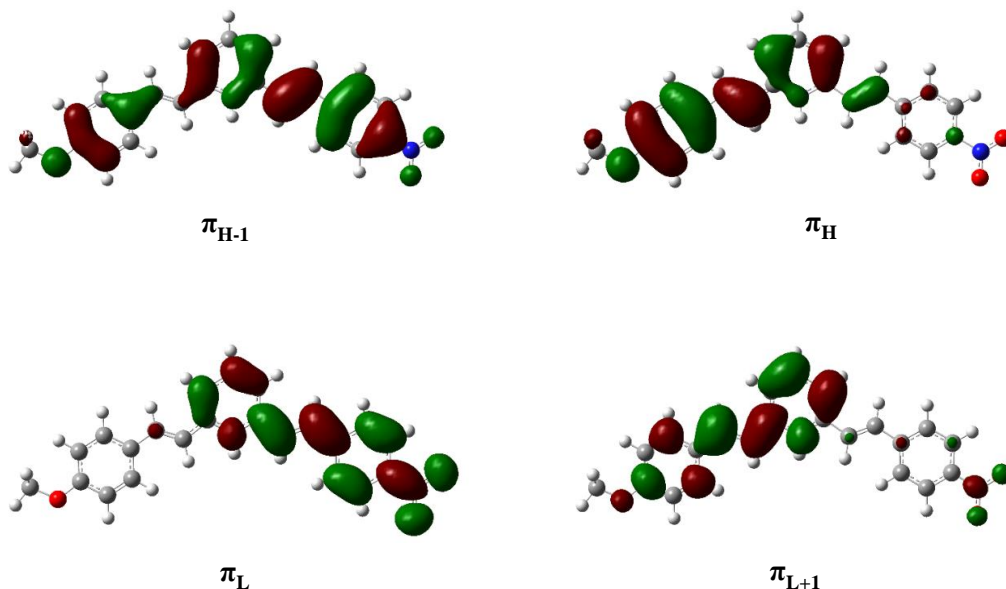
Slika 143. Kinetika (crni kružići) dobivena iz femtosekundnih eksperimenata tranzijentne apsorpcije DAQPH⁺, MIXH⁺ i QPH⁺ na značajnim valnim duljinama i njihova podešavanja (puna crvena linija).

Za sve ispitane spojeve, vrlo kratka prijelazna vremena života (od dijelova do desetaka pikosekundi, slika 143) dobivena su femtosekundnim mjerenjima tranzijentne apsorpcije, u skladu s vrlo niskim prinosima fluorescencije, izmjerenim tehnikama stabilnog stanja, i uz prisustvo intramolekulskog prijenosa naboja pod fotoekscitacijom istaknutom izračunatim HOMO-LUMO orbitalama (vidi sliku 144 za slučaj MIXH⁺). Zapravo, u slučaju DAQP, gdje dimetilamino-skupine djeluju kao elektron-donorske, u konfiguraciji LUMO naboj se nalazi primarno na središnjem piridinu. Predviđa se da će kretanje naboja pod pobuđivanjem biti važnije u DAQPH⁺ zbog pozitivno nabijene piridinijeve jedinice. Za bis-protonirani DAQPH₂²⁺ predviđa se potpuna lokalizacija ekscitacije u kraku koji nosi ne-protoniranu dimetilamino-skupinu, u skladu s gubitkom konjugacije praćenog jakim plavim pomakom apsorpcijskih i emisijskih spektara. U QP dvije elektron-odvlačeće nitro-elektrone privlače gustoću naboja iz središnjeg piridina nakon prijelaza.

Konačno, za asimetrični spoj, MIX, evidentan je prijenos naboja s jednog kraja molekule na drugi, posebno s metoksi-skupine na nitro-skupinu na suprotnom kraju strukture (Slika 143).

2. Rezultati i rasprava

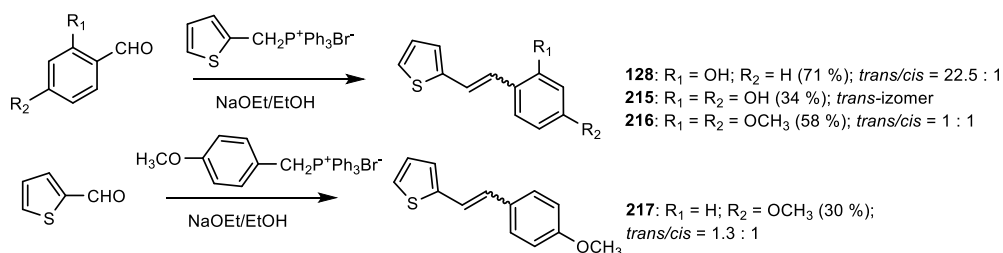
Kratko vrijeme života singleta dobiveno podacima o femtosekundnoj tranzijentnoj apsorpciji korišteno je za procjenu kinetičkih konstantnih vrijednosti radijacijskog procesa za koje je utvrđeno da su u potpunosti dopušteni, iako nisu učinkoviti, u neutralnim i protoniranim vrstama koje se proučavaju (zadnji stupac tablice 26).



Slika 142. Granične molekulske orbitale za MIXH⁺.

2.14. Funkcionalizacija rezveratrolnih derivata šaržnom i protočnom sintezom

Derivati rezveratrola **128**, **215-217** (Shema 34) pripremljeni su Wittigovom reakcijom iz fosfonijevih bromida i odgovarajućih aldehida kao smjese geometrijskih izomera, *cis*- i *trans*- (osim za **215**, gdje je nastao samo *trans*-izomer). Smjese geometrijskih izomera **128**, **215-217** razdvojene su da se dobiju čisti spojevi uzastopnom kromatografijom na koloni. Prema ¹H NMR spektroskopiji, supstituent na aromatskom prstenu dirigira omjer geometrijskih izomera u Wittigovoj reakciji (Shema 34).



Shema 34. Sintaza analoga rezveratrola **128**, **215-217** Wittigovom reakcijom. Prinosi i *cis/trans*-omjeri prikazani su za šaržnu reakciju temeljem ¹H NMR analiza.

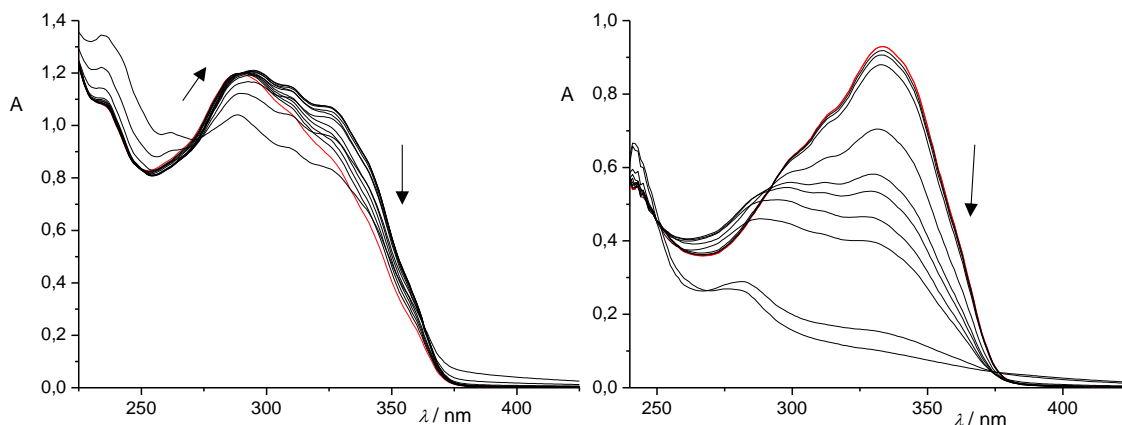
2. Rezultati i rasprava

Sve reakcije u šaržnim eksperimentima inicijalno su izvedene na 25 °C, ali je uočeno da je iskorištenje reakcije dihidroksi-derivata **215** bilo samo 5 % na 25 °C čak i nakon 72 sata, pa je ova reakcija ponovljena na 90 °C. Povećanjem temperature iskorištenje reakcije se povećalo do 34 %. Iako je iskorištenje bilo nešto niže u usporedbi s ostalim izvedenim reakcijama za analoge **128**, **216** i **217**, uočeno je da u ovoj reakciji nastaje samo *trans*-izomer, što ovu reakciju čini vrlo povoljnom. Kada je reakcija provedena za rezveratrolni analog **128** s hidroksi-supstuentom, *trans*-izomer je prevladavao s *cis/trans*-omjerom 22,5 : 1 na temperaturi od 25 °C. Na temelju rezultata dobivenih za analog **128**, reakcija je ponovljena na 90 °C kako bi se dobila još čišća smjesa, ali, nažalost, povećanjem temperature za ovu reakciju, omjer *cis/trans*-izomera pomaknuo se u korist *cis*-izomera (1 : 3,2) čineći te uvjete reakcije nepovoljnijima. U slučaju metoksi-derivata **216** i **217** udjeli su slični (Shema 34), za derivat **216** *cis/trans*-omjer je bio 1 : 1, a za derivat **217** 1,3 : 1.

Uspoređujući dobivena iskorištenja u provedenim reakcijama, najveće iskorištenje od 71 % ($t = 72$ h) postignuto je kod pripreme derivata **128**, a najmanji (30 %, $t = 72$ h) kod pripreme derivata **217**, zbog prirode ilida kao intermedijera. Svi izolirani izomeri spojeva **128**, **215-217** potpuno su spektroskopski okarakterizirani. U ^1H NMR spektrima izoliranih geometrijskih izomera **128**, **215-217** (Slika 147), mogu se vidjeti dubleti etenskih protona između 6,4 i 7,0 ppm (*cis*-izomeri) i između 7,0 i 7,3 ppm (*trans*-izomeri) s karakterističnim konstantama sprežanja, signali za protone na tiofenskoj jezgri u aromatskom području i singleti za hidroksi- i metoksi-protone.

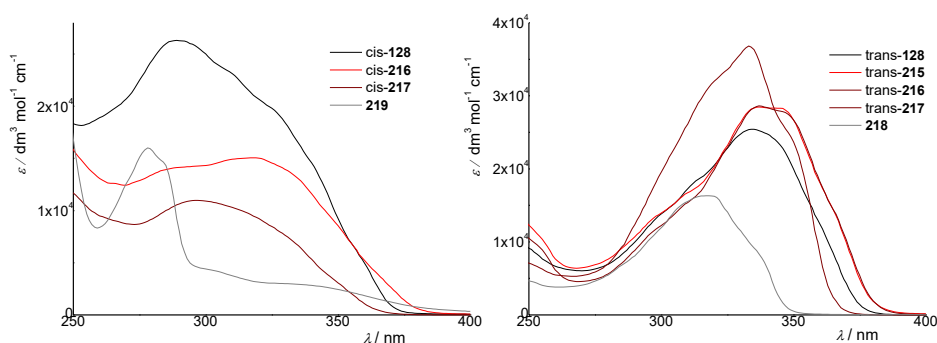
Kako bi se istražila fotokemijska stabilnost analoga rezveratrola **128**, **215-217**, provedena su osvjtljavanja u polarnom otapalu ACN, a tijekom reakcije praćen je UV/Vis spektroskopijom (Slike 145 i 146). Nakon osvjtljavanja *cis*-**128**, uočeni su hiperkromni i batokromni pomaci (Slika 145), u skladu s nastankom *trans*-izomera. Ekscitacija *trans*-**128** i *trans*-**215** (Slika 145) dovela je do hipokromnih i hipsokromnih (samo u slučaju *trans*-**128**) promjena zbog nastajanja odgovarajućeg *cis*-izomera.

2. Rezultati i rasprava



Slika 145. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja analoga rezveratrola *cis*-**128** (lijevo) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 i 2048 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$) i *trans*-**128** (desno) u ACN nakon 0 (crveno), 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256 i 512 s; ($\lambda_{\text{ir}} = 313 \text{ nm}$, $l = 1 \text{ cm}$).

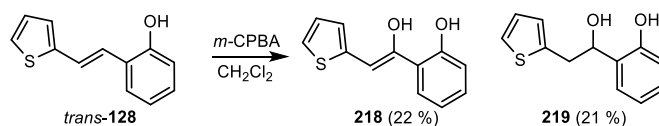
Metoksi-derivati **216** i **217** pokazuju slične trendove kao derivat **128**. Dugotrajno osvjetljavanje **128**, **215-217** na 313 nm rezultiralo je gubitkom izosbestičnih točaka zbog sekundarnih procesa, vjerojatno stvaranja fotoprodukata elektrociklizacije. UV/Vis spektri *cis*- i *trans*-izomera **128**, **215-217** u ACN tipični su za diariletene [251,252] s jakim apsorpcijskim maksimumom na oko 340 nm za *trans*-izomere, i manje intenzivne i hipsokromno pomaknute vrpce za *cis*-izomere.



Slika 146. UV/Vis spektri *cis*-**128**, **216**, **217** i **219** (lijevo) i *trans*-**128**, **215-217** i **218** (desno) u ACN.

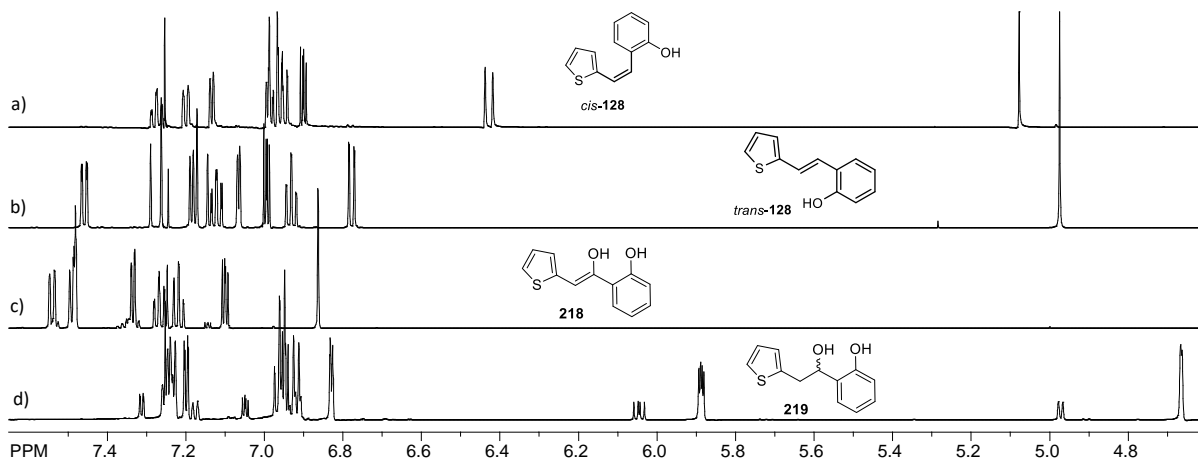
Da bi se dobili funkcionalizirani hidroksi-derivati rezveratrola **218** i **219** (Shema 35), provedena je reakcija *trans*-**128** s *m*-CPBA u 2 mL diklorometana. U termičkoj reakciji *trans*-**128** s *m*-CPBA (Shema 35) hidroksi-derivati **218** i **219** vjerojatno se dobivaju preraspodjelom intermedijarnog epoksida formiranog prvenstveno iz *trans*-**128** [231]. Stoga stvaranje **218** objašnjavamo reakcijom cijepanja intermedijarnog epoksida i daljnjom oksigenacijom do **219**.

2. Rezultati i rasprava



Shema 35. Funkcionalizacija analoga rezveratrola *trans*-**128** oksidacijom s *m*-CPBA. Iskorištenja su prikazana za šaržnu reakciju.

Ova dva nova spoja **218** i **219** izolirana su i potvrđena spektroskopskim metodama (Slika 147). Položaj druge (uvedene) hidroksi-skupine određen je 2D NMR spektroskopijom. Zanimljivo je da se derivat rezveratrola **218** čini najstabilnijim izlaganjem UV svjetlu u usporedbi s **128**, **215-217**. Također, nije iznenađujuće da UV spektri **218** i **219** pokazuju maksimume valnih duljina i koeficijente apsorpcije puno niže od spojeva s produljenom konjugacijom **128**, **215-217** (Slika 145).



Slika 147. ^1H NMR spektri (CDCl_3) *cis*-**128** (a), *trans*-**128** (b), **218** (c) i **219** (d).

HPLC i MS analize dodatno su potvrdile nastajanje produkata **128** i **218** (Slika 148).

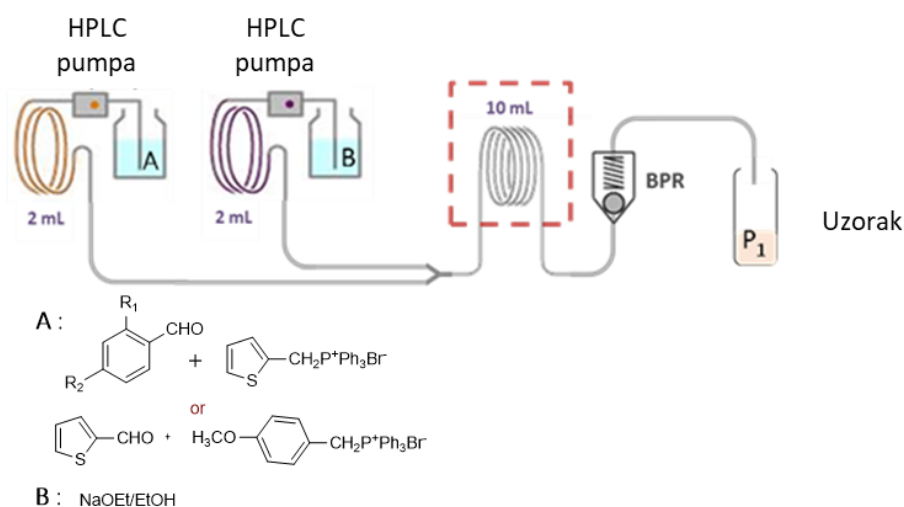


Slika 148. Retencijska vremena produkata *trans*- i *cis*-**128** i spoja **218** dobiveni HPLC analizom.

2.14.1. Sinteza heterocikličkih analoga rezveratrola u mili- i mikroreaktoru

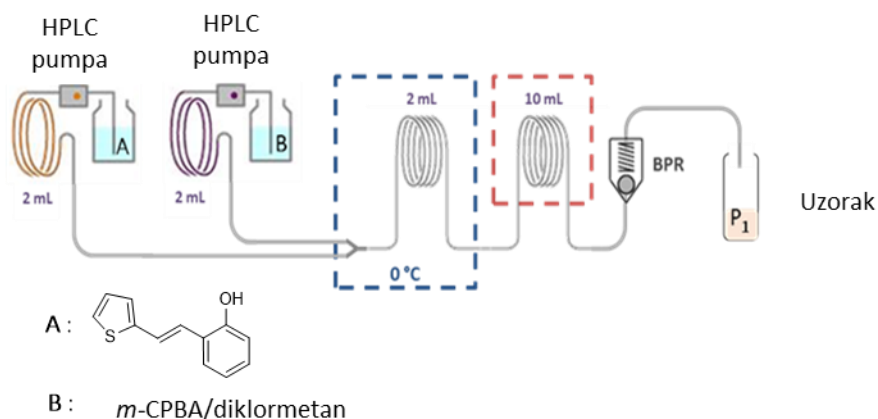
Kao što je spomenuto u teorijskom dijelu ove disertacije, prijenos procesa sa šaržnog na protočni reaktor, a posebno na mili- i mikroprotočne sustave, otvara nove mogućnosti za sintezu. Prednosti kao što su kratko vrijeme zadržavanja, veća produktivnost, bolja kontrola procesa i mogućnost izbjegavanja stvaranja neželjenih nusprodukata [335,336] čine mili- i mikroreaktore zanimljivima.

Stoga je sljedeći korak u ovom radu bilo istraživanje mili- i mikrofluidnih sustava kako bi se vidjelo mogu li protočni sustavi poboljšati produktivnost ($\mu\text{mol mL}^{-1} \text{min}^{-1}$) Wittigove reakcije i reakcije funkcionalizacije dobivenog Wittigovog produkta *trans*-**128**. Proučavana su u suradnji s kolegama s *Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije* i kolegama iz tvrtke *Pliva*, ukupno dva mili- (Slike 149 i 150) i tri mikroreaktora (Slika 151 i Tablica 27) i dobiveni rezultati uspoređeni su s onima šaržnih sustava na temelju prinosa, konverzije, produktivnosti i *trans/cis*-omjera. Dodatno, različiti procesni uvjeti kao što su temperatura, brzine protoka, vrijeme zadržavanja i omjeri brzina protoka otopina mijenjani su kako bi se istražio njihov utjecaj na učinkovitost procesa.

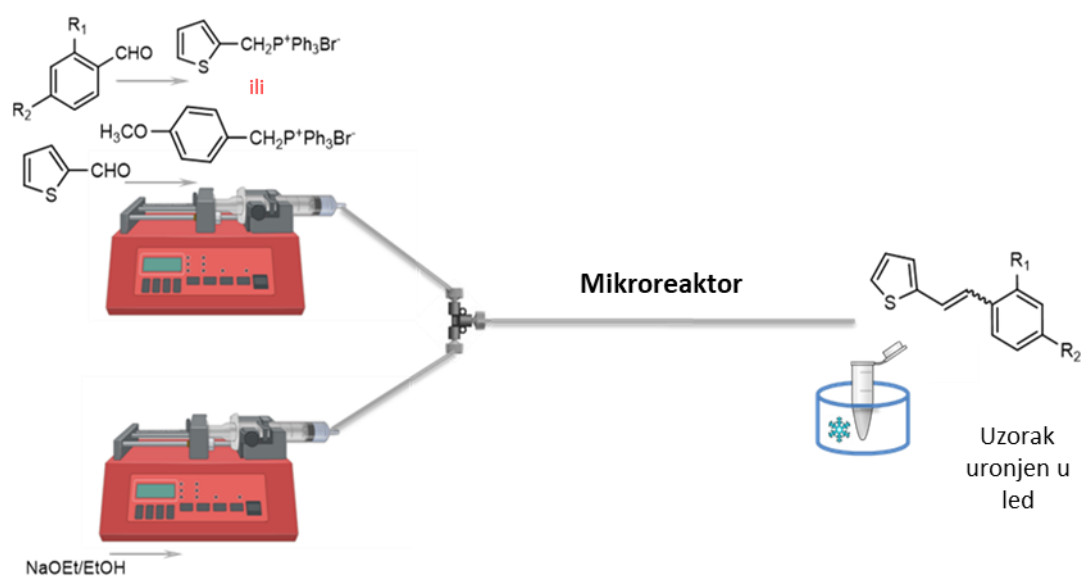


Slika 149. Milireaktorski sustav za Wittigovu reakciju dobivanja **128**, **215-217** [301].

2. Rezultati i rasprava



Slika 150. Milireaktorski sustav za funkcionalizaciju *trans*-128 s *m*-CPBA [301].



Slika 151. Sustav mikoreaktora za Wittigovu reakciju dobivanja spojeva 128, 215-217 [301].

Tablica 27. Dimenzije mikoreaktorskih sustava korištenih u eksperimentima sinteze analoga rezveratrola

Dimenzije	Sustav 1	Sustav 2	Sustav 3
diameter (<i>D</i> , mm)	0,25	0,5	1
radijus (<i>r</i> , mm)	0,125	0,25	0,5
duljina (<i>L</i> , mm)	1200	300	75
Volume (<i>V</i> , μ L)	58,875	58,875	58,875

Dobiveni rezultati za eksperimente u milireaktoru prikazani su u tablici 28. Kao što se može vidjeti, reakcija je bila značajno brža u milireaktoru. Uz vrijeme zadržavanja od samo 0,5 h, postignuta su veća iskorištenja i produktivnosti u usporedbi sa šaržnim reaktorom. Dobiveni rezultati jasno pokazuju prednosti boljeg prijenosa tvari u minijaturiziranim protočnim reaktorima u odnosu na šaržne reaktore.

2. Rezultati i rasprava

Tablica 28. Rezultati eksperimenata u mili- i mikroreaktorskim sustavima u usporedbi s rezultatima šaržne sinteze.

C ^a	Vrijeme, h			Iskorištenje, % ^b			Konverzija, %			<i>trans/cis</i> -omjer ^d			Produktivnost, $\mu\text{mol mL}^{-1}\text{min}^{-1}$		
	Šaržni	Mili	Mikro	Šaržni	Mili	Mikro	Šaržni	Mili	Mikro	Šaržni	Mili	Mikro	Šaržni	Mili	Mikro
128	72	0,5	0,5	71	70	65	93	77	71	22,5:1	6,4:1	11,7:1	0,017	0,530	1,695
215^e	72	-	-	34	-	-	52	-	-	samo <i>trans</i> -	-	-	0,002	-	-
216	24	0,5	0,5	58	65	50	91	87	66	1:1	1:1,4	1:0,7	0,032	0,922	1,017
217	24	0,5	0,5	30	75	75	100	100	100	1,3:1	1,7:1	1,6:1	0,103	2,090	1,864
219^g	2.5	0,5	-	22	35	-	45	53 ^c	-	1:1 ^f	3:1 ^f	-	0,368	0,437	-
219	2.5	0,5	-	21	10	-	40	17 ^c	-			-	0,327	0,140	-

Uvjeti reakcije: za produkte Wittigove reakcije **128**, **215-217**, prikazani podaci odnose se na sobnu temperaturu; ^aSloženi broj; ^bIzolirano iskorištenje u slučaju šaržne reakcije smjese *cis*- i *trans*-izomera; ^cReakcijska temperatura 60 °C; ^d*trans/cis*-omjer dobiven iz NMR i UHPL analiza; ^eRezultati za pretvorbu i produktivnost u protočnim sustavima nisu se mogli očitati zbog preklapanja signala produkta **215** i trifenilfosfin-oksida u UHPLC analizi. Za spoj **215** bit će potrebno razviti novu metodu u budućoj studiji; ^fOmjer spojeva **219^g/219** u reakciji s *m*-CPBA;

2. Rezultati i rasprava

Također je utvrđeno da se promjenom temperature može kontrolirati omjer *trans*- i *cis*-izomera, slično kao kod sinteze analoga **128** u šaržnom reaktoru. Kada je reakcija za dobivanje Wittigovog produkta **128** izvedena u milireaktoru na 25 °C, omjer *trans/cis*-izomera bio je 6,4 : 1 uz vrijeme zadržavanja od 0,5 h. Omjer *trans*- i *cis*-izomera se pomaknuo s povećanjem temperature u korist *cis*-izomera i nađen je omjer *trans/cis*-izomera od 1 : 6,2 na 90 °C i omjer od 1 : 5,3 na 120 °C. Omjer *trans/cis*-analoga u produktu **217** također se može kontrolirati temperaturom, ali za razliku od produkta **128**, udio *trans*-izomera raste u ovoj reakciji kako se temperatura povećava. Pri vremenu zadržavanja od 15 min i temperaturi od 25 °C, omjer *trans/cis*-izomera bio je 1,7 : 1, a pri istom vremenu zadržavanja, ali povećanjem temperature na 120 °C, omjer se povećao na 3,6 : 1 u korist *trans*-izomera. Za razliku od derivata **128** i **217**, u reakciji s derivatom **216** *cis*-izomer je prevladavao i na niskoj i na visokoj temperaturi, a utvrđeno je da kada se temperatura poveća s 25 °C na 120 °C, *trans/cis*-omjer je ostao isti, 1 : 1,5 ($\tau = 0,5$ min).

U svim slučajevima također je praćen učinak vremena zadržavanja na istoj temperaturi na *trans/cis*-omjer i utvrđeno je da je omjer ostao isti bez obzira na vrijeme zadržavanja. Rezultati pokazuju da niže temperature, poput 25 °C, pogoduju stvaranju *trans*-izomera, dok se na višim temperaturama stvara više *cis*-izomera za derivat **128**. Na temelju činjenice da je *trans*-izomer stabilniji i povezan s biološkim svojstvima, više temperature nisu ispitivane u daljnjim istraživanjima za ovaj derivat. Nasuprot tome, više *trans*-**217** se stvara na višoj temperaturi u usporedbi s *cis*-**217**. Međutim, s obzirom na količinu energije potrebnu za zagrijavanje na 120 °C i dobiveni omjer, reakcija na nižoj temperaturi (25 °C) ipak je bolji izbor. Budući da temperatura ne utječe na *trans/cis*-omjer, poželjna temperatura za derivat **216** bila bi 25 °C.

Kao što je ranije spomenuto [335,336], još jedna prednost mili- i mikroreaktora je lakša kontrola procesa, što znači da je bilo lako promijeniti protoke u mili-cijevima za proučavanje učinkovitosti procesa. Ispitani su različiti omjeri protoka otopina A i B. Dobiveni podaci pokazuju da su najveći *trans/cis*-omjeri, iskorištenja, konverzija i produktivnost dobiveni pri omjeru protoka od 1:1. Još jedna prednost ovog omjera je činjenica da se pod tim uvjetima formira paralelan i stabilan tok, s međupovršinom koja se nalazi točno u sredini milireaktora. Ovo omogućuje odvajanje faza na izlazu iz milireaktora što bi mogao biti prvi korak u razvoju integriranog sustava za kontinuiranu sintezu, funkcionalizaciju, te separaciju.

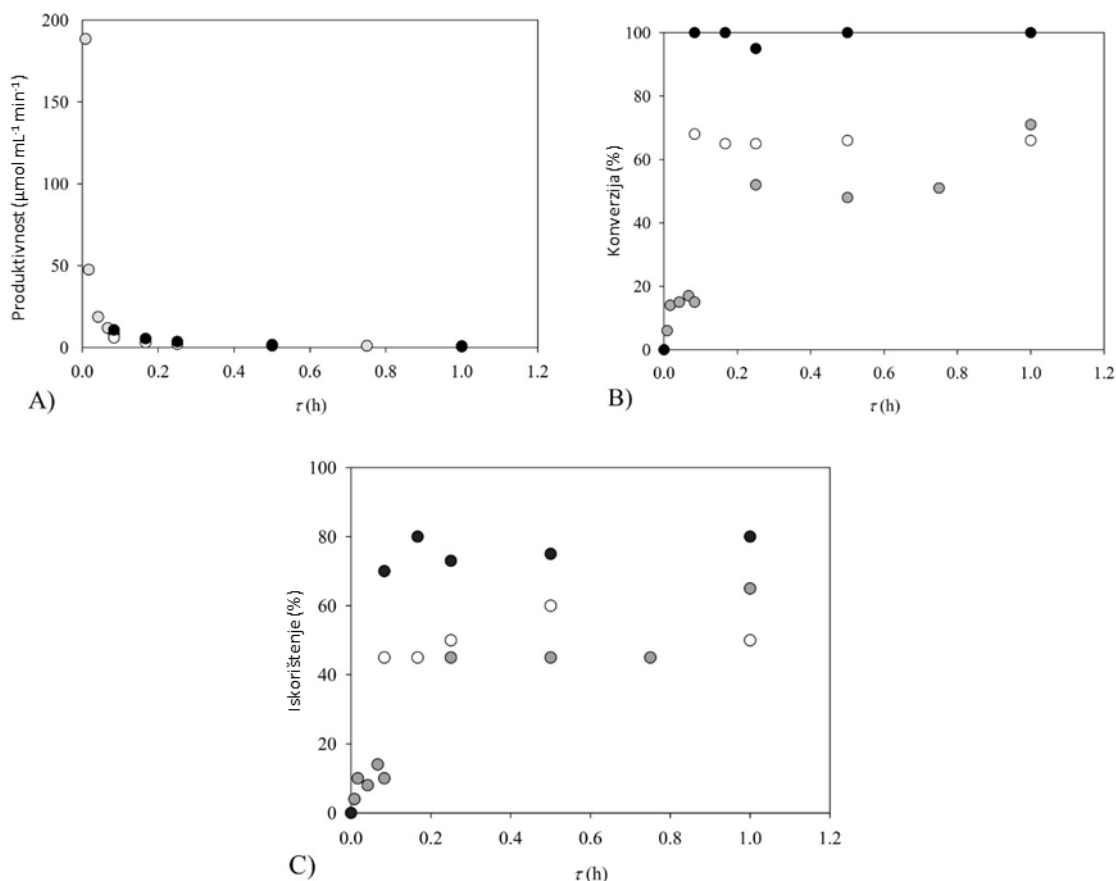
Kada je funkcionalizacija analoga rezveratrola *trans*-**128** (Slika 150) provedena oksidacijom s *m*-CPBA u milireaktoru (Tablica 27), ponovno je postignuta bolja učinkovitost procesa u milireaktoru u usporedbi sa šaržnim reaktorom. Provedena su dva eksperimenta na dvije različite temperature, na 25 °C i na 60 °C. Budući da je spoj **218** povoljniji produkt kao pravi

2. Rezultati i rasprava

analog rezveratrola, glavni cilj je bio pomaknuti reakciju u korist sinteze ovog spoja. Kao što se može vidjeti (Shema 35 i Tablica 28), kada je reakcija izvedena u šaržnom reaktoru, dobiveno je isto iskorištenje za **218** i **219** (22 % za **218** i 21 % za **219**). Prebacivanjem reakcije u milireaktor i povećanjem temperature na 60 °C, dobivena je 3 puta veća količina spoja **218'**.

Nakon što su reakcije provedene u milireaktoru, veličina cijevi je dalje smanjena na mikroveličinu. Ispitana su tri mikroreaktora s tri različita promjera cijevi (0,25, 0,5 i 1 mm) te su dobiveni rezultati uspoređeni s onima dobivenim u šaržnom i milireaktoru. Kada je reakcija provedena za isto vrijeme zadržavanja kao u milireaktoru ($\tau = 0,5$ min), slični rezultati su dobiveni u sve tri veličine kanala. Dobiveni rezultati pokazuju da je razina miješanja fluida i prijenosa tvari bila ista u mili- i mikroreaktorskom sustavu, što znači da su sve prednosti mikroreaktora prisutne u mili-sustavu. To znači da daljnje smanjenje veličine (ispod veličine milireaktora) nema dodatni pozitivan učinak na provedbu reakcije. Budući da su rezultati bili isti, sljedeći korak, istraživanje utjecaja vremena zadržavanja na sintezu spojeva **128**, **216** i **217**, provedeno je samo pomoću mikrokanala s ID = 1 mm. Reakcija za spoj **215** također je provedena u mikroreaktoru, ali je zbog niske topljivosti dobivenog produkta unatoč vremenu zadržavanja uočeno začepljenje mikrokanala. Iz tog razloga nije bilo moguće izvesti tu reakciju na skali manjeg promjera. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 152 i u tablici 28. Kao što se može vidjeti, povećanjem vremena zadržavanja povećavaju se iskorištenje i konverzija, te se maksimalne vrijednosti (iste one dobivene u šaržnom reaktoru) postižu značajno brže nego u šaržnom reaktoru.

2. Rezultati i rasprava



Slika 152. Usporedba A) produktivnosti, B) konverzije i C) iskorištenja za različita vremena zadržavanja u mikroreaktorskome sustavu (prikazanom na slici 149) za spoj **128** (●), spoj **216** (○) i spoj **217** (●)

Također je utvrđeno da dimenzije mikrokanala ne utječu na omjer, tj. da smanjenje promjera mikrokanala ne utječe na omjer *trans/cis*-izomera. Osim toga, istraživana je utjecaj vremena zadržavanja u mikrokanalima promjera 1 mm na omjer *trans*- i *cis*-izomera, te je utvrđeno da vrijeme zadržavanja nema utjecaja na njihov međusobni omjer, tj. bez obzira na vrijeme zadržavanja, količina *trans*-**128** bila je oko 14 puta veća u odnosu na *cis*-**128**. Najznačajnija razlika između mili- i mikroreaktora u odnosu na šaržni reaktor uočena je usporedbom produktivnosti. Kao što se može vidjeti u tablici 28, produktivnosti dobivene u milireaktoru i mikroreaktoru gotovo su iste, ali znatno veće u usporedbi sa šaržnim reaktorima, što ih svakako čini boljim izborom za predložene reakcije.

2.14.2. Antioksidacijsko djelovanje novih analoga rezveratrola

Potencijal antioksidacijskog djelovanja tiofenskih derivata rezveratrola **128**, **215-217** određen je DPPH metodom. DPPH test odabran je zbog svoje jednostavnosti, valjanosti i upotrebe organskih otapala što ga čini prikladnim za hidrofilne i lipofilne antioksidanse. Ova se metoda temelji na redukciji stabilnog DPPH• radikala u prisutnosti antioksidansa koji donira vodik zbog stvaranja neradikalnog oblika DPPH-H u reakciji, što se lako može pratiti spektrofotometrijski. Stoga se mjeri aktivnost hvatanja radikala ispitivanog spoja. Dobro je poznato da fenolne skupine mogu djelovati kao hvatači radikala budući da se radikal nastao nakon doniranja vodika DPPH može stabilizirati rezonancijom.

Među testiranim spojevima, oni s hidroksi-skupinom pokazali su učinkovito uklanjanje radikala (Tablica 29, Slika 153). Koncentracija hvatanja radikala DPPH (IC₅₀) izračunata je za *cis*-**128**, *trans*-**128** i *trans*-**215**. Derivat *trans*-**128**, s OH skupinom na *ortho*-položaju i s *trans*-konfiguracijom stilbenskog dijela, pokazao se snažnim antioksidansom s IC₅₀ vrijednošću od 158,8 μmol L⁻¹. Za usporedbu, utvrđeno je da vrijednost IC₅₀ za rezveratrol iznosi 77,9 μmol L⁻¹ [13] odnosno 74,0 μmol L⁻¹ [14].

Tablica 29. Aktivnost hvatanja DPPH radikala spojeva **128**, **215-217**.

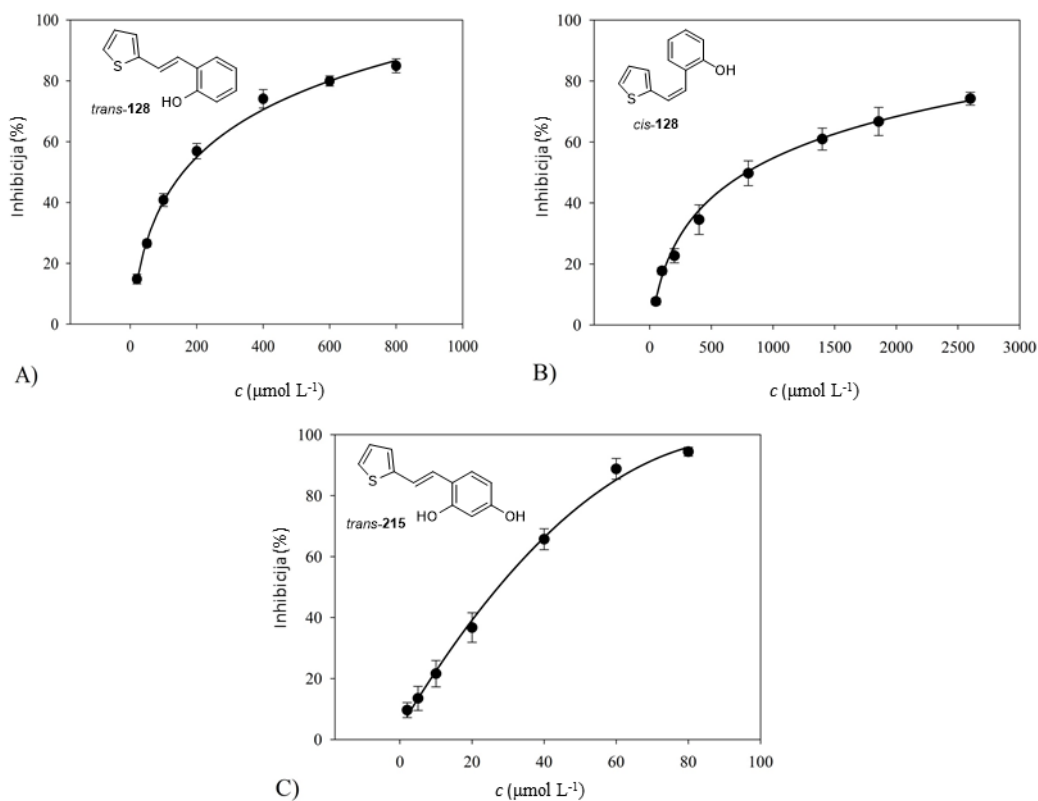
Spoj	DPPH	
	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	% Inhibicije*
<i>cis</i> -128	782,1	87,2±0,4 (800)
<i>trans</i> -128	158,8	75,2±1,5 (2600)
<i>trans</i> -215	26,8	94,4±1,5 (80)
<i>cis</i> -216	-	18,0±0,2 (50000)
<i>trans</i> -216	-	7,1±0,1 (50000)
<i>cis</i> -217	-	19,8±2,4 (50000)
<i>trans</i> -217	-	9,6±0,4 (50000)

* Brojevi navedeni u zagradama predstavljaju maksimalne ispitane koncentracije u μmol L⁻¹.

Konfiguracijska promjena na *cis*-**128** rezultirala je smanjenjem antioksidacijske aktivnosti, ali je i dalje vrijednost IC₅₀ postignuta u mikromolarnom području (IC₅₀ 782,1 μmol L⁻¹). Isti konfiguracijski učinak primijećen je i za *cis*- i *trans*-rezveratrol [303,337,338] što ukazuje na to da se odnos strukture i aktivnosti mora ozbiljno uzeti u obzir pri određivanju biološke aktivnosti. Uvođenje dodatne OH skupine na položaju 4 na fenilnom ostatku povećalo je antioksidacijsku aktivnost. Derivat *trans*-**215** pokazao je najbolju aktivnost antioksidacije s izvrsnom vrijednošću IC₅₀ od 26,8 μmol L⁻¹, tri puta boljom od rezveratrola. Kod derivata *trans*-

2. Rezultati i rasprava

215, obje OH skupine mogu biti uključene u stabilizaciju rezonancije što rezultira boljom aktivnošću uklanjanja radikala. Derivati s metoksi-skupinama (*cis-216*, *trans-216*, *cis-217* i *trans-217*) ne mogu tako učinkovito ukloniti radikale i pokazali su vrlo slabu inhibiciju čak i pri visokim koncentracijama (milimolarni raspon).



Slika 153. DPPH aktivnost hvatanja slobodnih radikala različitim koncentracijama spojeva A) *cis-128* (20-800 $\mu\text{mol L}^{-1}$), B) *trans-128* (50-2600 $\mu\text{mol L}^{-1}$) i C) *trans-215* (2-80 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

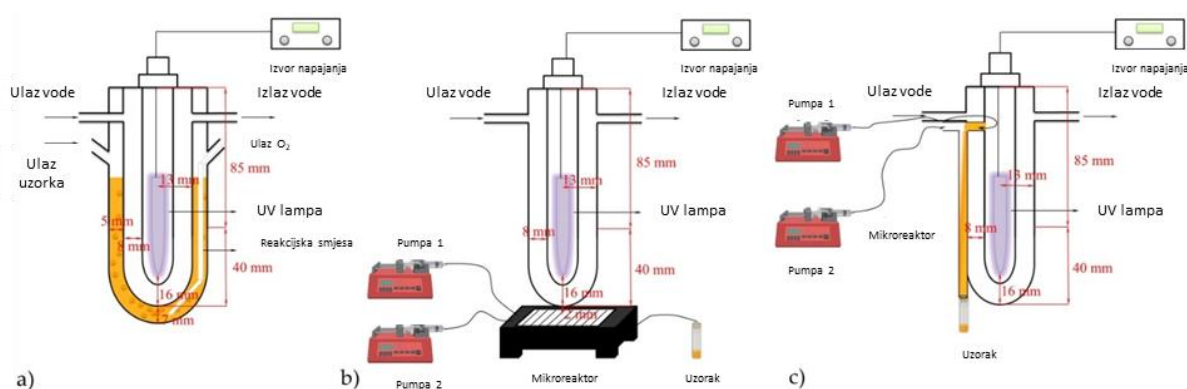
2.15. Fotokatalitičke oksigenacije rezveratrolnih derivata u šaržnom i protočnom reaktoru

U ovom dijelu istraživanja, furo- (**220**) i tienostilbeni (**221**) (Slike 154 i 155), kao novi supstrati s različito reaktivnim dvostrukim vezama, odabrani su za reakcije fotokatalitičke oksigenacije kako bi se vidjelo mijenjaju li više ovi konjugirani heteroaromatski sustavi reaktivnost i selektivnost oksigeniranih procesa u usporedbi s prethodno istraženim sustavima. Razlike i sličnosti u reakcijskim putovima mogu rasvijetliti mehanizme procesa oksigenacije heterostilbena **220** i **221**, dajući smjernice za odgovarajući izbor katalizatora i drugih uvjeta za postizanje učinkovite konverzije s visokom selektivnošću. Naboj na ligandu, metaliranom porfirinu kao fotokatalizatoru, utječući na Lewisovu bazičnost, može utjecati na katalitičku aktivnost kompleksa kroz središte metala. Odabrane reakcije izvedene su prvo u šaržnom reaktoru (50 mL cilindrični

2. Rezultati i rasprava

fotoreaktor) kako je prikazano na slici 154a. Kako bi se dobilo više informacija o kinetičkom mehanizmu fotokemijske pretvorbe oba odabrana supstrata, procijenjene su brzine reakcija.

Prema Harrisu i Keshwaniju [339], za bilo koju kemijsku reakciju, kinetički mehanizam odnosi se na slijed elementarnih koraka u kojima se događa cjelokupna kemijska promjena. Dodatno, poznavanjem mehanizma može se definirati vrijeme formiranja, od supstrata do produkta. Korak naprijed u istraživanju napravljen je prelaskom procesa sa šaržnog na mikroreaktor. Proučena su i uspoređena ukupno četiri različita cijevna mikroreaktora (jedan s geometrijom namotaja (Slika 154b) i tri s ravnim mikrokanalom (Slika 154c)) na temelju pretvorbe supstrata, nastalih produkata i vremena reakcije.

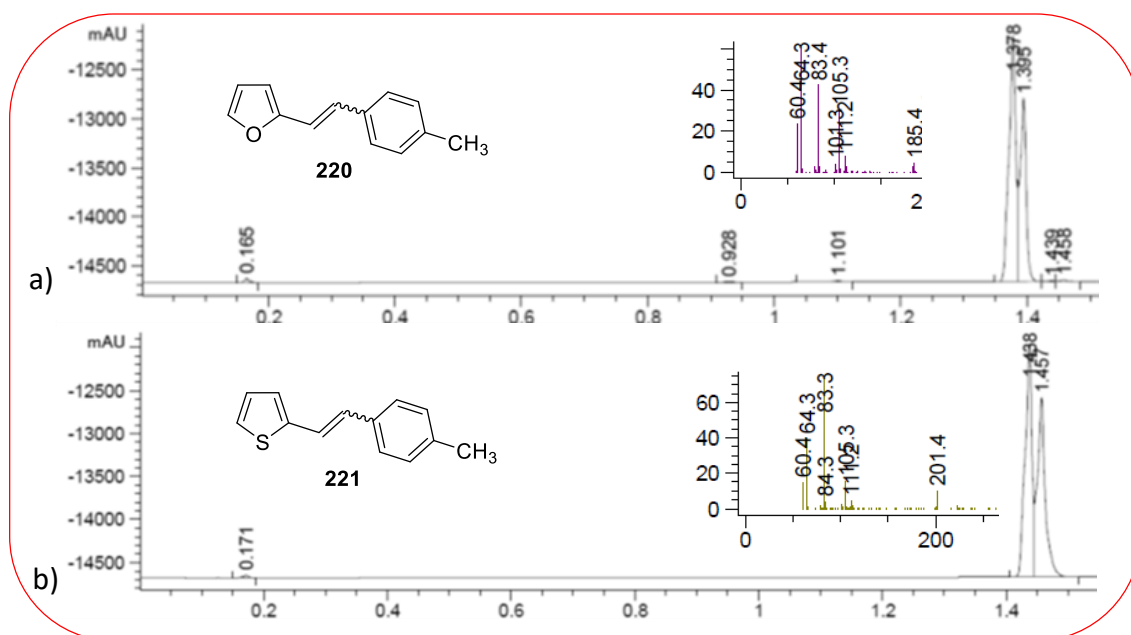


Slika 154. Aparatura za fotokatalitičku oksigenaciju izvedenu u (a) šaržnom reaktoru, (b) mikroreaktoru s geometrijom namotaja i (c) mikroreaktoru s ravnim mikrokanalom.

2.15.1. Sinteza i identifikacija produkata fotooksidacije

Polazni supstrati, spojevi **220** i **221** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera, dobiveni su u Wittigovoj reakciji (izolirana iskorištenja za spoj **220**: 83 %; za spoj **221**: 88 %; prema integralima u UPLC analizama i ^1H NMR spektrima, omjer izomera spoja **220** bio je *cis*- : *trans*- = 1 : 1,3, a za spoj **221** *cis*- : *trans*- = 1 : 1,2) počevši od fosfonijeve soli pripremljene u laboratoriju i odgovarajućih heterocikličkih kupovnih aldehida, destiliranih pod niskim tlakom. Prisutnost oba izomera spojeva **220** i **221** uspješno je identificirana UPLC analizom (Slika 155). Reakcije fotokatalitičke oksigenacije **220** i **221** izvedene su u smjesi aceton/voda zasićenoj zrakom (50/50 %) u prisutnosti metaliranih porfirina Mn(III)TMPyP^{5+} ili Mn(III)TSPP^{3-} kao fotokatalizatora. Kako bi se dobilo najbolje iskorištenje izoliranih produkata, vrijeme reakcije variralo je od 2 do 16 sati, u kombinaciji s promjenom naboja fotokatalizatora i koncentracije supstrata.

2. Rezultati i rasprava

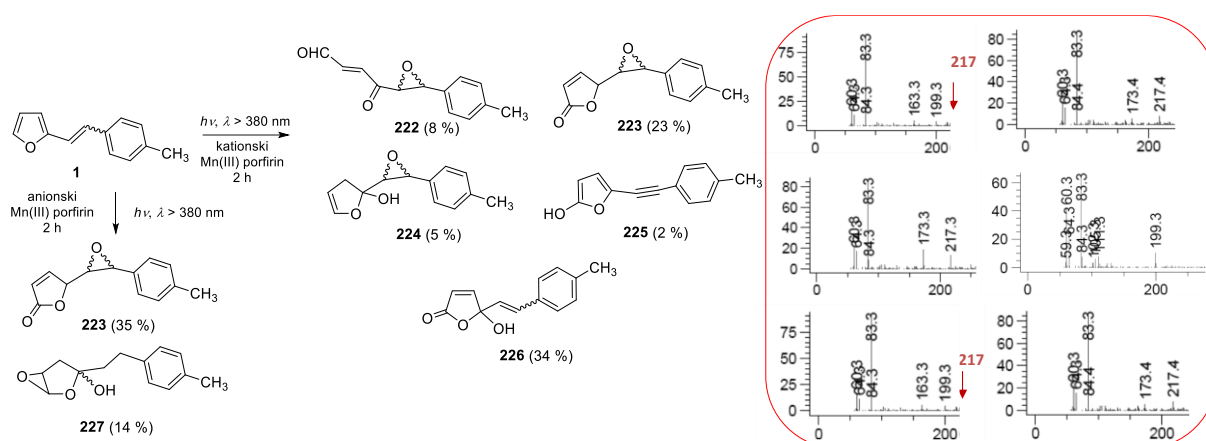


Slika 155. DAD kromatogrami smjese izomera polaznog furilnog derivata **220** (a) i tienilnog derivata **221** (b) zajedno s retencijskim vremenima i masenim spektrima.

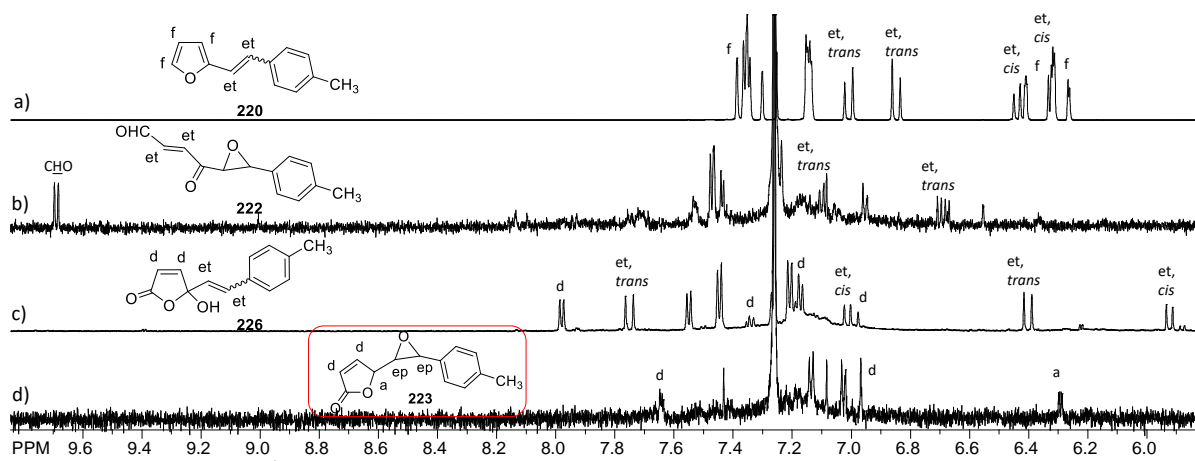
Najkarakterističniji rezultati dobiveni pod različitim uvjetima prikazani su na shemama 36 i 37 za **220** i **221**. Oni jasno pokazuju da priroda heteroatoma može drastično utjecati na tijek reakcije, što dovodi do značajno različitih tipova produkata, u kojima se oksigenacija odvija na različitim dijelovima nezasićenog skeleta molekule. Prema ^1H NMR spektrima, GC i U-PLC/MS analizama reakcijskih smjesa dobivenih tijekom fotokatalitičke oksigenacije pod različitim reakcijskim uvjetima, u slučaju furilnog derivata **220**, korištenjem anionskih (Mn(III)TSPP^{3-}) ili kationskih (Mn(III)TMPyP^{5+}) porfirina detektirano je šest novih fotoprodukta (Shema 36), dok su tri fotoprodukta uočena u slučaju tienilnog supstrata **221** (Shema 37).

Što se tiče rezultata dobivenih za derivat **220**, svi fotoprodutki, **222-227** (Shema 36), izolirani su uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Iz ^1H NMR spektara i UPLC/MS analiza, uzimajući naše prethodne rezultate [228,230,340] kao referencu, utvrđene su strukture svih novih spojeva. Molekulski ioni (m/z) 216 (**222-224**, **226**, **227**) i (m/z) 198 (**225**) pokazuju da su jedan ili dva atoma kisika ugrađena u početni supstrat **220**, s masama za 32 ili 14 masenih jedinica više za **220** koji ima (m/z) 184 (Shema 36). Svi fotoprodutki imaju prepoznatljive signale u ^1H NMR spektrima (Slike 156 i 157), ali različiti broj signala u alifatskim ili nezasićenim područjima, karakteristične furilne konstante sprezanja, karakteristične signale za dvostruke veze, signale za formilne ili hidroksi-skupine, ovisno o strukturi. Ovi predloženi rezultati potvrđeni su i IR spektrima koji također daju karakteristične signale za formilne, keto- i hidroksi-funkcijske skupine.

2. Rezultati i rasprava



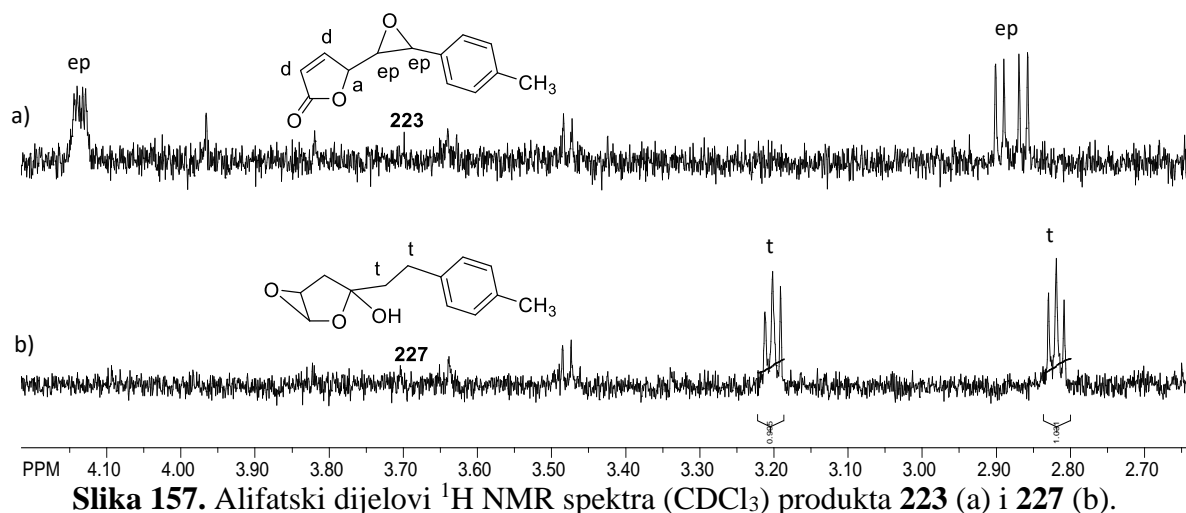
Shema 36. Reakcijski put i omjeri produkata za fotokatalitičku oksigenaciju **220** u sustavu zasiećenom zrakom pri pH 7, korištenjem kationskih/anionskih Mn(III) porfirina, zajedno s masenim spektrima dobivenim u eksperimentu korištenjem kationskog Mn(III) porfirina za sljedeća retencijska vremena: 0,908' (a) za **224**, 0,946' (b) za **223**, 1,012' (c) za **222**, 1,175' (d) za **225**, i 1,278' (f) za **226**, i koristeći anionski Mn(III) porfirin na 0,824' (e) za **227**.



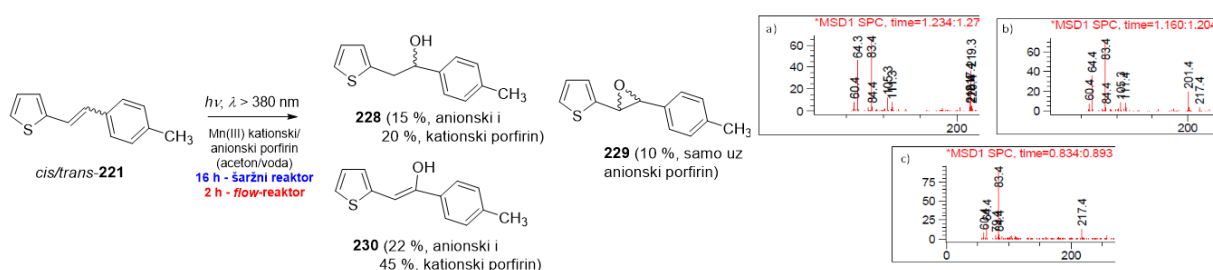
Slika 156. Parcijalni ^1H NMR spektri (CDCl_3) početnog spoja **220** (a), formilnog derivata **222** (b), nezasićenog karbonilnog spoja **226** (c) i epoksi-strukture **223** (d).

Fotooksigenerirani produkti **223** i **227** pokazuju karakterističan alifatski dio NMR spektra s tri signala i omjerom integrala 1:1:1 (**223**) ili dva tripleta, koji odgovaraju dvjema metilenskim skupinama (**227**) (Slika 157). U ^1H NMR spektru fotoproducta **227**, također se može naći integral od četiri protona na oko 2 ppm pored signala metilne skupine. Svi ovi podaci zajedno s masama šest produkata (**222–227**), potvrđenih UPLC/MS analizom, jasno pokazuju reaktivnost početnog furostilbena **220** u uvjetima fotooksigeneracije pomoću Mn(III) porfirina. Uz ove izolirane produkte, nekoliko dodatnih produkata otkriveno je u tragovima u obogaćenim frakcijama, s karakterističnim signalima u protonskom NMR spektru koji ukazuju na postojanje nekih formilnih ili epoksi-derivata (**227**).

2. Rezultati i rasprava



Tienostilben **221** (kao smjesa *cis*- i *trans*-izomera, shema 37), korištenjem kationskih ili anionskih metaliranih porfirina tijekom reakcije fotooksigencije, dao je tri karakteristična fotoprodukta, **228-230**. Svi su izolirani uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Iz ^1H NMR spektara i UPLC/MS analize strukture svih dobivenih fotoprodukata, **228-230**, uspješno su određene. Molekulski ioni (m/z) 218 (**228**) i (m/z) 216 (**229** i **230**) pokazuju da je u svim slučajevima samo jedan atom kisika bio ugrađen u strukturu početnog supstrata **221** (Shema 37). Za **228**, fragment s masom (m/z) 216 je dvije masene jedinice niži od osnovnog pika (m/z) 218 koji pripada molekulskom ionu.

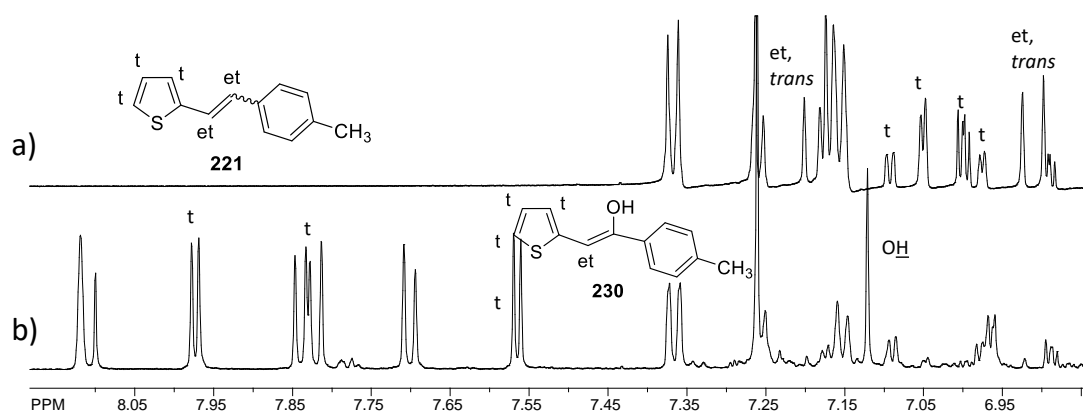


Važno je naglasiti da se produkt **229** izolira samo u slučaju anionskih fotokatalizatora (Shema 37). Kako se stvaranje hidroksiliranih struktura može objasniti cijepanjem epoksidnog prstena, može se pretpostaviti da je u slučaju kationskog porfirina produkt **229** samo intermedijer.

Može se zaključiti da su u slučaju tienostilbena **221** tipovi fotoprodukata isti neovisno o korištenim fotokatalizatorima, ali se izolirana iskorištenja razlikuju.

2. Rezultati i rasprava

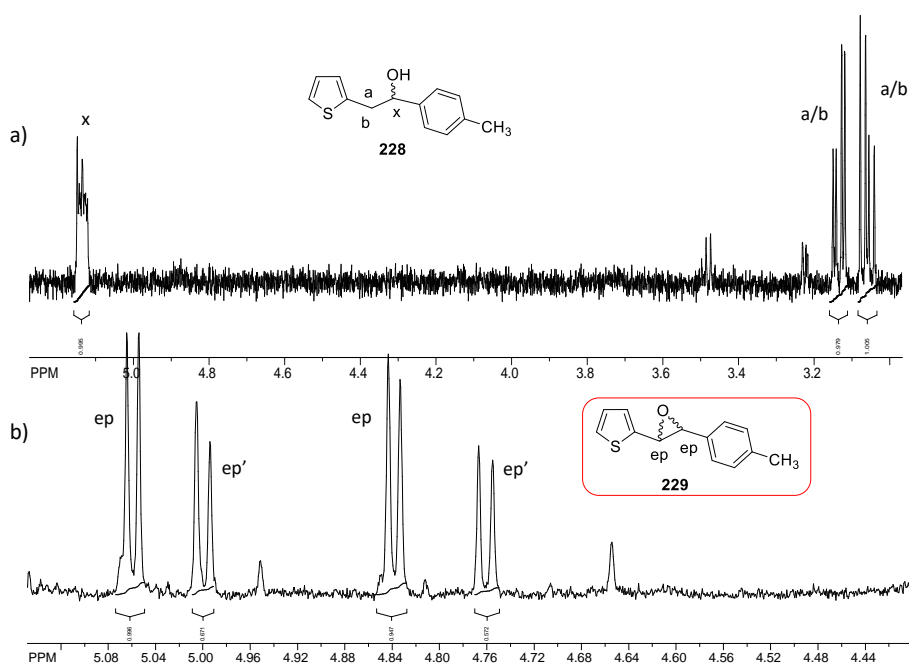
Fotoprodukti **228-230** također imaju vrlo prepoznatljive signale u svojim ^1H NMR spektrima (Slike 158 i 159). Glavni fotoprodukt u oba slučaja je spoj **230** (Shema 37), pri čemu su svi aromatski signali u protonskom NMR (Slika 158b) pomaknuti u odnosu na signale polaznog supstrata **221** (Slika 158a). Karakteristične konstante sprezanja za tri protona na tiofenskom prstenu dobro su prepoznatljive, potvrđujući nereaktivnost tiofenskog prstena u reakciji. Dodatno, tu stabilnost potvrđuju i strukture fotoprodukata **228** i **229** (Slika 159), gdje je tiofenski prsten ponovno ostao netaknut. IR spektri za **228** i **230** potvrdili su postojanje hidroksi-skupina u strukturama.



Slika 158. Aromatski dijelovi ^1H NMR spektara (CDCl_3) početnog tienilnog derivata **221** (a) i glavnog produkta fotooksigenacije **230** (b).

Spojevi **228** i **229** imaju ^1H NMR spektre sa signalima alifatskih protona koji se mogu razlikovati i razlikuju se od signala početnog spoja **221** i fotoprodukta **230** (Slika 159). U slučaju **228**, protoni hidroksi-ABX sustava (Slika 159a) vrlo jasno upućuju na pretpostavljenu strukturu hidroksiliranog fotoprodukta bez dvostruke veze u strukturi, osim onih u tiofenskom i arilnom prstenu. Epoksidni derivat **229** dobiva se kao smjesa dvaju stereoizomera s karakterističnim parovima dubleta u ^1H NMR spektru između 5,1 i 4,7 ppm i odgovarajućim omjerom integrala za protone na epoksidnom prstenu (Slika 159b).

2. Rezultati i rasprava



Slika 159. Alifatski dijelovi ¹H NMR spektra (CDCl₃) hidroksi ABX sustava u produktu **228** (a) i epoksi derivatu **229** (b), kao smjesi diastereomera u omjeru 1 : 1,5 s karakterističnim uzorcima za dodjelu specifičnih struktura.

Rezultati koji se odnose na strukture i omjere produkata dobivenih fotokatalitičkom oksigenacijom analognih derivata furostilbena i tienostilbena prikladni su za usporedbe u pogledu vrste heteroatoma i naboja katalizatora. Tendencije uočene ovim usporedbama mogu se prikladno protumačiti na temelju reakcijskih mehanizama i uključenih supstrata. Bez obzira koja je kombinacija supstrata i katalizatora primijenjena, *p*-tolilna skupina ostala je netaknuta u svakom produktu. Vjerojatno je to posljedica visoke stabilnosti uslijed jakog aromatskog karaktera. Slično, u slučaju derivata tiofena, 2-tienilna skupina se pokazala inertnom, što ukazuje na njenu značajnu aromatičnost. Odstupajući od ovih podjedinica, 2-furilna skupina se lako transformira, kao što se vidi u svakom produktu koji potječe iz **220**. Zapravo, samo je jedan produkt zadržao aromatski furanski prsten (kao hidroksilirani, **225**). Ovi rezultati potvrđuju da je aromatski karakter furana puno slabiji od karaktera tiofena, u skladu s našim ranijim opažanjima u sličnim sustavima [230, 341].

Kao posljedica odstupanja reaktivnosti, fotokatalitička oksigenacija furilnog derivata (**220**) dala je više vrsta produkata u prisutnosti kationskih katalizatora nego analogni tienilni derivat (**221**). Stoga je niža reaktivnost rezultirala većom selektivnošću. Prema tome, kao što je gore naznačeno, oksigenacija se odvijala samo na dijelu otvorenog lanca tienilnih produkata. Između dva hidroksi-derivata (**228** i **230**), koji su dobiveni primjenom i kationskih i anionskih katalizatora, omjer onog koji zadržava dvostruku vezu (**230**) bio je značajno veći u svakom slučaju. To je razumno jer je mogućnost zasićenja dvostruke veze manje vjerojatna u slučaju

elektrofilnog napada. Štoviše, omjeri dobiveni kationskim porfirinom bili su viši za oba produkta od onih dobivenih anionskim katalizatorom. Ove vrijednosti su također u skladu s ključnom ulogom elektrofilnosti reaktivnog agensa, Mn(V) porfirina, u ovim oksigenacijama jer je to svojstvo znatno jače za kationski nego za anionski katalizator. Zanimljivo je da je produkt epoksidnog tipa **229** nastao samo u prisutnosti anionskog porfirina. Prema ranijim opažanjima [341], epoksidi mogu biti prekursori odgovarajućih hidroksi-derivata u takvim oksigenacijama kationskim katalizatorom, stoga mogu biti krajnji produkti u prisutnosti manje reaktivnog anionskog Mn(V) porfirina čak i nakon 16 h osvjetljavanja.

Budući da je fotooksigencija reaktivnijeg furilnog derivata (**220**) ostvarena samo 2 h osvjetljavanja, epokside na dijelovima otvorenog lanca također su dala oba katalizatora. Derivat **223** nastao je u oba slučaja, ali s većim omjerom (35 %) u prisutnosti anionskog porfirina. Omjeri epoksidnih produkata dobivenih uz kationski katalizator bili su značajno niži, što ukazuje na njihovu posrednu ulogu. Bez obzira na to koji je porfirin primijenjen za oksigenaciju **220**, produkti s najvećim omjerima bili su derivati 2-furanona (**223** i **226**), što ukazuje da je jača oksidacija bila vjerojatnija na furanskom prstenu. Prema tome, udjeli manje oksidiranih hidroksi-derivata (**224** i **225**) bili su samo 5 % odnosno 2 %. Čak je i produkt s otvorenim prstenom (**222**) nastao u većoj količini. Jedini produkt epoksidiran na furanskom prstenu (**227**) dobiven je s anionskim porfirinom u značajnom omjeru, što također ukazuje na njegov intermedijarni karakter. Veća reaktivnost derivata furostilbena u ovim procesima oksigenacije također je prikazana ugradnjom dva atoma kisika u većinu njegovih produkata, dok su oni koji potječu od **221** sadržavali samo jedan kisik više.

2.15.2. Kinetika

Kako bi se procijenila konstanta brzine (k) odabranih reakcija, provedeno je ukupno 11 eksperimenata u šaržnom reaktoru (Tablica 30). Konstanta brzine reakcije predstavlja odnos između brzine reakcije i početne koncentracije za određeni supstrat. Stoga je bilo potrebno odrediti brzinu reakcije (r) za odabrane supstrate. Brzina reakcije ($\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$), tj. brzina odvijanja kemijske reakcije, izračunata je iz eksperimentalnih rezultata kao količina supstrata potrošena u jedinici vremena. Kao što je prikazano u tablici 30, više početne koncentracije supstrata, c (pri konstantnoj koncentraciji katalizatora, c_{kat}), dovode do viših brzina reakcije. Na temelju izračunatih brzina reakcije za različite početne koncentracije supstrata procijenjena je konstanta brzine reakcije. Uočeno je da sve ispitivane reakcije slijede kinetiku prvog reda. Na temelju konstanti brzine reakcije, derivat furostilbena pokazao se reaktivnijim od tiofenskog derivata,

2. Rezultati i rasprava

kao što je već pokazano. Dodatno, reakcije provedene s kationskim katalizatorom bile su sporije od onih provedenih s anionskim porfirinom (Tablica 30).

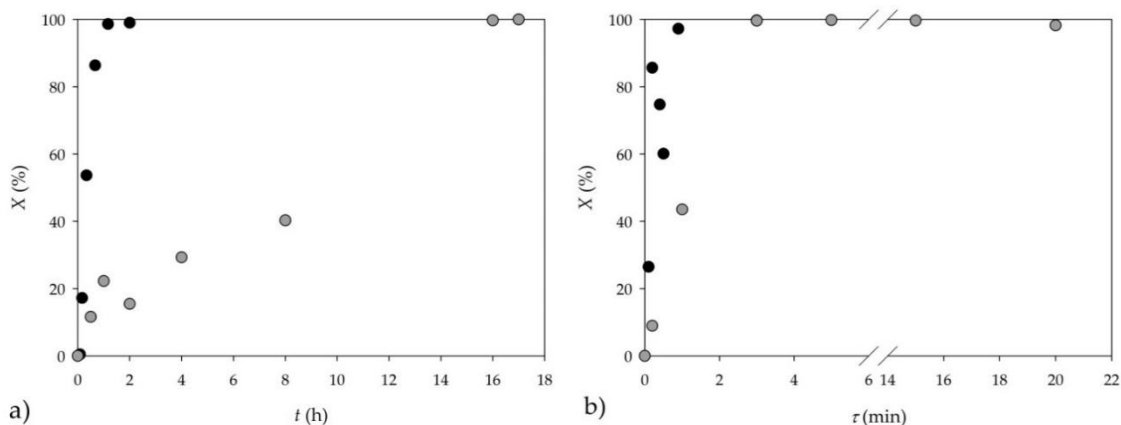
Tablica 30. Brzine reakcija i konstante brzina odabranih reakcija.

Katalizator	Spoj	c (mol L ⁻¹)	c_{kat} (mol L ⁻¹)	r (mol L ⁻¹ h ⁻¹)	Interval pouzdanosti	k (h ⁻¹)
Kationski	220	0,00113	11×10^{-5}	$8,61 \times 10^{-5}$	$8,31 \times 10^{-6}$	0,045
	220	0,00225	11×10^{-5}	$1,38 \times 10^{-4}$	$1,05 \times 10^{-5}$	
	220	0,00450	11×10^{-5}	$1,36 \times 10^{-4}$	$1,69 \times 10^{-5}$	
	221	0,00120	11×10^{-5}	$1,59 \times 10^{-3}$	$1,19 \times 10^{-4}$	1,338
	221	0,00245	11×10^{-5}	$1,55 \times 10^{-3}$	$4,29 \times 10^{-4}$	
	221	0,00490	11×10^{-5}	$7,17 \times 10^{-3}$	$6,02 \times 10^{-4}$	
Anionski	220	0,00113	$9,8 \times 10^{-5}$	$5,56 \times 10^{-5}$	$9,57 \times 10^{-7}$	0,052
	220	0,00225	$9,8 \times 10^{-5}$	$1,04 \times 10^{-4}$	$1,41 \times 10^{-5}$	
	220	0,00450	$9,8 \times 10^{-5}$	$2,50 \times 10^{-4}$	$5,79 \times 10^{-5}$	
	221	0,00120	$9,8 \times 10^{-5}$	$2,83 \times 10^{-3}$	$7,14 \times 10^{-4}$	1,503
	221	0,00245	$9,8 \times 10^{-5}$	$9,93 \times 10^{-3}$	$2,60 \times 10^{-4}$	
	221	0,00490	$9,8 \times 10^{-5}$	$6,57 \times 10^{-3}$	$6,53 \times 10^{-4}$	

2.15.3. Sinteza u mikroreaktorima

Kao što je ranije spomenuto, reakcije fotokatalitičke oksigenacije prvo su izvedene u šaržnom reaktoru. Oba supstrata (**220** i **221**) i oba katalizatora (kationski i anionski) ispitani su s različitim početnim koncentracijama, a dobiveni rezultati uspoređeni su na temelju brzina reakcije (r) i konstanti brzine (k). Promjene u konverzijama za dvije odabrane reakcije prikazane su na slici 160a. Eksperimenti su provedeni pri sljedećim početnim uvjetima: prva reakcija: $c(1) = 0,00225$ mol L⁻¹ i $c(\text{kationski porfirin}) = 11 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹; druga reakcija: $c(2) = 0,00245$ mol L⁻¹ i $c(\text{anionski porfirin}) = 9,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. Kao što se može vidjeti iz podataka prikazanih na slici 160a, reakcija, uz korištenje kationskog katalizatora i **220** kao supstrata, bila je značajno sporija od one gdje je reakcija **221** kao supstrata katalizirana anionskim katalizatorom. Isto je vidljivo iz kinetičkih podataka ako se usporede brzine reakcije i konstante brzine (Tablica 31). Potpuna konverzija uočena je nakon 2 sata za supstrat **221**, odnosno nakon 16 sati za supstrat **220**.

2. Rezultati i rasprava



Slika 160. Usporedba fotokatalitičkog procesa oksigenacije koji se izvodi u (a) šaržnom reaktoru i (b) mikroreaktoru s geometrijom namotanog kanala (• tienil (221) i • furil (220) kao supstrat).

Korak naprijed u razvoju procesa napravljen je zamjenom šaržnog reaktora mikroreaktorom. Proučavana su ukupno četiri različita cijevna mikroreaktora i uspoređena s rezultatima dobivenima u šaržnom reaktoru, na temelju konverzije supstrata, formiranih produkata i vremena reakcije. Dobiveni rezultati su sažeti u tablici 31 i na slici 160b. Reakcije su značajno ubrzanе u mikroreaktorima, gdje su potpune pretvorbe za supstrate 220 i 221 promatrane za vremena zadržavanja od 3,5 odnosno 0,7 min (Slika 160b).

Tablica 31. Usporedba pretvorbi dobivenih u različitim mikroreaktorima za vrijeme zadržavanja od $\tau = 0,2$ min.

Geometrije mikroreaktora		$c(1) = 0.00225 \text{ mol L}^{-1}$	$c(2) = 0.00245 \text{ mol L}^{-1}$
		$c_{\text{kationski}} = 11 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$c_{\text{anionski}} = 9.8 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$
		X (%)	X (%)
Zavojite cijevi		8,92	85,66
Ravne cijevi	I.	4,84	82,49
	II.	4,61	81,64
	III.	3,89	80,94

Dimenzije kanala i geometrija imaju utjecaj na pretvorbu za isto vrijeme zadržavanja ($\tau = 0,2$ min, Tablica 31). Smanjenjem širine kanala, pretvorba se povećava (Tablica 31), vjerojatno zbog povećanog omjera površine i volumena, kraćeg difuzijskog puta i homogene upotrebe svjetlosnog zračenja kroz reakcijsku smjesu.

Iz analiza UPLC kromatograma, masenih spektara i rezultata plinske kromatografije uzoraka dobivenih nakon potpune konverzije u mikroreaktoru (Slika 160b), prisutnost produkata 223, 225, 226 i 227 (iz 220) i 228, 229 i 230 (iz 221) mogu se potvrditi, ali ne svi u svim

eksperimentima i s različitim raspodjelama ovisno o vremenu zadržavanja. Dodatni dokaz ovih produkata je usporedba njihovih retencijskih vremena i masa s onima dobivenim za signale iz šaržnih reakcija spojeva **220** i **221**.

Osim identificiranih produkata u eksperimentima izvedenim u mikroreaktoru, novi signal u UPLC/MS analizi pojavio se na 0,152' s (m/z) 32 višom masom u odnosu na početni furilni supstrat **220**. U slučaju tienilnog derivata **221**, novi signal na 0,274' s (m/z) 217 također je detektiran u usporedbi sa serijskim eksperimentom. Razlika u raspodjeli produkata fotoooksigenacije između šaržnih i protočnih eksperimenata nije iznenađujuća zbog prednosti koje proizlaze iz smanjenja dimenzija mikrokanala. Cambié i sur. [342] savjetovali su da uži kanal omogućuje učinkovitiju i homogeniju upotrebu svjetlosnog zračenja kroz reakcijsku smjesu. Posljedično, reakcije su često ubrzane, što je jasno pokazalo i ovo istraživanje. Smanjenje vremena reakcije smanjuje stvaranje različitih nusprodukata i povećava ukupnu produktivnost procesa.

2.15.4. Dodatni izračuni

Za usporedbu rezultata dobivenih upotrebom različitih reaktora, određena su vremena reakcije ili vremena zadržavanja tijekom kojih je broj fotona apsorbiranih jedinicom volumena osvjetljenih otopina bio približno isti u svakom sustavu.

Takvi izračuni uzimaju u obzir emisijski spektar izvora svjetlosti i apsorpcijski spektar fotokatalizatora. Uzimajući u obzir preklapanje ovih spektara i pojedinačne geometrijske raspodjele, udjeli emitirane svjetlosti koju apsorbiraju fotoaktivne vrste (u ovom slučaju porfirini) mogu se odrediti za svaki reaktor. Tok fotona apsorbiran otopinom katalizatora u području preklapanja spektra (između λ_1 i λ_2) može se izraziti sljedećom jednačbom (jednačba (1)):

$$I_{abs} = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} I_0(\lambda)(1 - 10^{-A(\lambda)})d\lambda$$

gdje je $I_0(\lambda)$ emitirani svjetlosni tok, a $A(\lambda)$ apsorpcija otopine, a obje ovise o valnoj duljini λ .

Apsorpcija je dana Beer-Lambertovom jednačbom (jednačba (2)):

$$A(\lambda) = l \times c \times \varepsilon(\lambda)$$

gdje je l optička duljina puta, c je koncentracija tvari koja apsorbira svjetlost, a $\varepsilon(\lambda)$ je njena molarna apsorpcija. U našem sustavu, fotokatalizator je jedina vrsta koja apsorbira vidljivu svjetlost (u rasponu valnih duljina zračenja), stoga ne treba uzeti u obzir učinak unutarnjeg filtra. Tok fotona ($I_0(\lambda)$) koji ulazi u otopinu umnožak je ukupnog toka fotona koje emitira izvor

svjetlosti ($I_{\text{ukupno}}(\lambda)$) i geometrijskog faktora. Posljednji pokazuje koliko učinkovito otopina (reakcijska smjesa) pokriva površinu emisije izvora svjetlosti. Ovaj faktor varira od sustava do sustava, ovisno o oblicima i udaljenostima. Za šaržni reaktor, geometrijski faktor je 0,9919 (zbog relativno malog promjera i visoke razine otopine). U slučaju mikroreaktora sa zavojitim cijevima, njegova vrijednost je 0,003208.

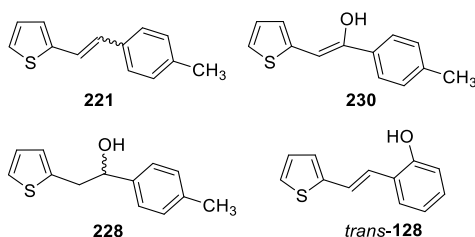
Tijek fotona koju apsorbira reakcijska smjesa (I_{aps}) treba podijeliti s njezinim volumenom (V) kako bi se dobili prikladni parametri za usporedbu različitih reaktora. Omjeri ovih I_{aps}/V vrijednosti pokazuju koliko dugo je vrijeme osvjetljavanja potrebno da šaržni reaktor rezultira istim tokom fotona apsorbiranim jedinicom volumena kao u slučaju mikroreaktora pri danoj brzini protoka. Ovaj omjer $t_{\text{šaržni}}/t_{\text{mikro}}$ za mikroreaktor pravokutnog presjeka je 2,213 kod kationskog i 1,810 kod anionskog porfirina. Zanimljivo je da je volumen otopine u šaržnom reaktoru 50 mL, dok je u mikroreaktoru samo 4,15 μL . Ta razlika od tri reda veličine kompenzira jako odstupajuće geometrijske čimbenike i optičke duljine putanje. Stoga su vremena reakcije u istom rasponu. Slično, za reaktore s linearnim protokom (s kružnim poprečnim presjekom), omjeri $t_{\text{šaržni}}/t_{\text{mikro}}$ su sljedeći: (I) 2,322 i 1,979; (II) 2,174 i 1,886; (III) 2,068 odnosno 1,818 s kationskim i anionskim porfirinima.

2.16. Fotokatalitička oksigenacija spoja *trans*-128

U ovom dijelu istraživanja, kao zanimljiv supstrat za fotokatalitičke reakcije u šaržnim i mikroreaktorskim sustavima, odabran je derivat rezveratrola *trans*-128 (Shema 38) s dokazano dobrim antioksidacijskim djelovanjem [301].

Spoj *trans*-128, s OH skupinom na *ortho*-položaju i *trans*-konfiguracijom stilbenskog dijela, pokazao se snažnim antioksidansom s IC_{50} vrijednošću od 158,8 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Za usporedbu, utvrđeno je da vrijednost IC_{50} za rezveratrol iznosi 77,9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [338] i 74,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [303]. U našem prethodnom istraživanju [231] metilni analog (Slika 161, spoj 221) pokazao se reaktivnim u fotokatalitičkim reakcijama s Mn(III) porfirinima dajući fotooksigenirane produkte (Slika 161, strukture 230 i 228).

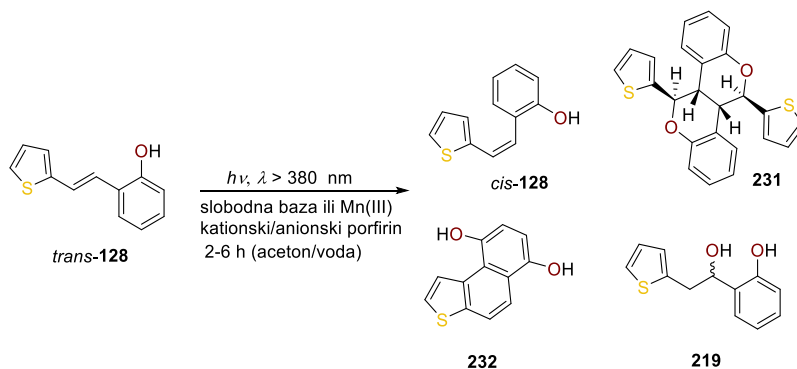
2. Rezultati i rasprava



Slika 161. Strukture supstrata (**221**), njegovih glavnih produkata fotooksigenacije (**230**, **228**) [**231**] i početnog supstrata *trans*-**128**.

2.16.1. Sinteza u šaržnom reaktoru i identifikacija produkata fotokatalitičke transformacije

Polazni supstrat, *trans*-**128** je dobiven u Wittigovoj reakciji. Ciljani *trans*-izomer može se lako dobiti [301], budući da *trans*-izomer prevladava u Wittigovoj reakcijskoj smjesi. Prema integralima u UHPLC analizi i ^1H NMR spektrima, omjer izomera bio je *cis*- : *trans*- = 1 : 22,5. Ciljni produkt *trans*-**128** je lako izoliran kromatografijom na koloni. Fotokatalitičke reakcije *trans*-**128** uz korištenje četiri različite vrste porfirina kao fotokatalizatora (Shema 38) izvedene su u zraku zasićenoj smjesi aceton/voda (50/50 %). Kako bi se postigle najveće konverzije, vrijeme reakcije je variralo od 2 do 6 sati. Koncentracije porfirina bile su u rasponu od $8,15\text{--}9,20 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ dok je koncentracija polaznog *trans*-**128** bila $8,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Na kraju procesa fotokatalize *trans*-**128** s različitim porfirinima dobiveni su različiti transformacijski produkti *cis*-**128** i **231**, **232** i **219** koji su izolirani kolonskom i tankoslojnom kromatografijom uz upotrebu smjese petroleter/diklormetan kao eluensa (Shema 38).



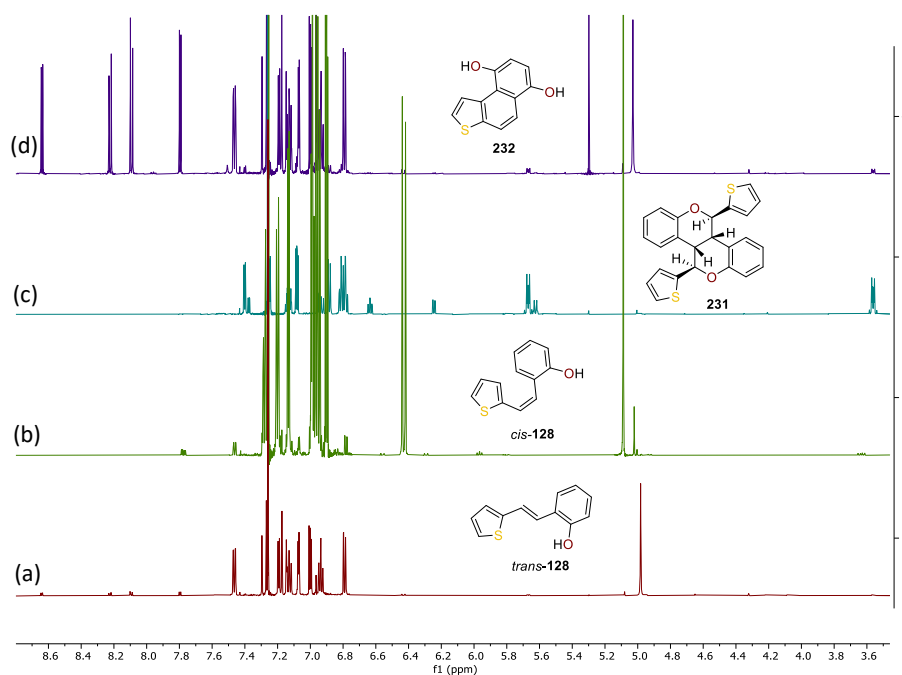
Shema 38. Reakcijski put za fotokatalitičke transformacije *trans*-**128** u fotoprodukte *cis*-**128**, **231**, **232** i **219**.

Prema ^1H NMR spektrima, UPLC/MS analizama i ^{13}C NMR spektrima dobivenih tijekom fotokatalitičkih reakcija pod različitim reakcijskim uvjetima, detektirana su četiri nova fotoprodukta (Shema 38).

2. Rezultati i rasprava

Trans-**128** transformiran je u četiri karakteristična fotoprodukta, *cis*-**128**, **231**, **232** i **219**. Svi su izolirani uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Iz ^1H NMR spektara s prepoznatljivim signalima (Slika 162) i UPLC/MS analiza s karakterističnim masama, strukture svih dobivenih fotoprodukata, *cis*-**128**, **231**, **232** i **219**, uspješno su određene. Molekulski ioni (m/z) 202 (*cis*-**128**) i (m/z) 216 (**232**) ukazuju na fotoizomerizaciju i ciklizaciju nakon koje slijedi oksigenacija početnog *trans*-**128**. Zanimljivo je primijetiti da produkt elektro ciklizacije kao što je **232** u fotokatalitičkoj reakciji s metil-supstituiranim analogom (**221**) nije viđen u prethodnim istraživanjima [231]. Fotooksigenacijski produkt **219** potvrđen je prema karakterističnim signalima u alifatskom dijelu ^1H NMR spektra i molekulskom ionu (m/z) 220. Važno je spomenuti da je isti produkt **219** izoliran (21 %) oksidacijom početnog *trans*-**128** s *m*-CPBA [301].

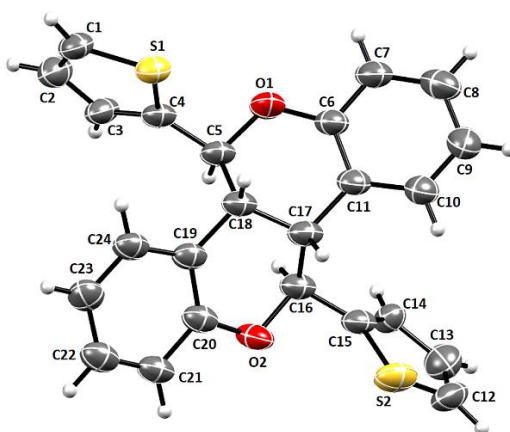
Bez obzira koja je kombinacija supstrata i katalizatora primijenjena, tiofenski prsten je ostao netaknut u slučaju svih produkata, opet uslijed značajne aromatičnosti heterocikličkog prstena. Osim toga, *ortho*-hidroksi-arilna skupina bila je reaktivna samo u slučaju **231** i **232**, uključena u dimerizaciju preko kisikovih mostova ili hidroksilaciju na novoj *ortho*-poziciji. Međutim, ove transformacije nisu promijenile jaki aromatski karakter benzenskog prstena.



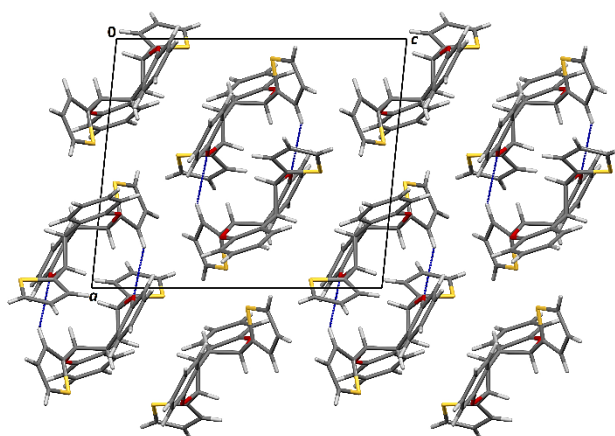
Slika 162. ^1H NMR spektri (CDCl_3) početnog spoja *trans*-**128** (a) i fotoprodukta *cis*-**128** (b), dimera **231** (c) i oksigeniranog produkta ciklizacije **232** (d).

2. Rezultati i rasprava

Kristalna analiza nedvosmisleno potvrđuje strukturu dimera **231**, dobivenog sudjelovanjem dviju OH skupina u dvostrukoj ciklizaciji u šesteročlane prstenove i uz sudjelovanje dvostrukih veza početnog supstrata *trans*-**128**. Kristalna struktura fotokatalitičkog produkta **231** (Slika 163) određena je strukturnom analizom koja otkriva da dimer kristalizira u prostornom rasporedu $P2_1/n$ monoklinskog kristalnog sustava. Njegova molekulska simetrija je C_{2h} . Jedine međumolekulske interakcije u kristalu su $C3-H3\cdots O2$ vodikove veze (Slika 164; $d(C-H) = 0,93$ Å; $d(H\cdots O) = 2,66$ Å; $d(C\cdots O) = 3,479(4)$ Å; $(C-H-O) = 147^\circ$), koje povezuju dvije molekule, a postoje samo disperzijske interakcije između molekula s vodikovom vezom (Tablica 32).



Slika 163. Molekulska struktura dimernog fotoproducta **231**.



Slika 164. Kristalno pakiranje dimera **231** gledano u smjeru [010]. Dvije molekule dimera povezane su vodikovim vezama $C3-H3\cdots O2$.

Tablica 32. Geometrijski parametri vodikovih veza određeni iz geometrijske analize (A predstavlja akceptor vodikove veze; Symm. Op. On A znači simetričnu operaciju na A).

	$D-H / \text{Å}$	$H\cdots A / \text{Å}$	$D\cdots A / \text{Å}$	$D-H\cdots A / ^\circ$	Symm. op. on A
$C3-H3\cdots O2$	0,93	2,66	3,479(4)	147	x, y, z

2. Rezultati i rasprava

Izolirana iskorištenja iz kromatografije fotoprodukata dobivenih u šaržnom reaktoru korištenjem različitih Mn(III) i kationskih/anionskih porfirina kao slobodnih baza dani su u tablici 33.

Tablica 33. Fotoprodukti s izoliranim iskorištenjima (%) dobiveni uporabom Mn(III) i kationskih/anionskih porfirina kao slobodnih baza i preostali početni *trans*-**128**.

Spoj	Vrijeme, h	<i>trans</i> - 128	<i>cis</i> - 128	231	232	219	Nedefinirani
		%					
Slobodna baza kationska	2	8	8	15	6	3	60
Slobodna baza anionska	2	-	8	11	-	-	81
Kationski Mn(III) porfirin	6	6	62	-	8	2	22
Anionski Mn(III) porfirin	6	tragovi	25	5	4	2	64

Fotoprodukti nedvosmisleno pokazuju da je do stvaranja *cis*-**128** izomera došlo u slučaju svakog primijenjenog porfirina, neovisno o naboju ili prisutnosti metalnog središta. Ovaj izomer je također prekursor za sintezu spojeva **231** i **232**. Iskorištenja u tablici 33 nedvosmisleno sugeriraju da je primarni fotoinducirani reakcijski korak početnog spoja *E-Z* izomerizacija. Budući da *trans*-**128** ne apsorbira u vidljivom području, ova reakcija se može odvijati samo senzibilizacijom, u ovom slučaju, sudarom s dugoživućim tripletnim pobuđenim stanjem porfirina. Takva vrsta senzibilizacije organskih molekula porfirinima, koja dovodi do geometrijske izomerizacije, opažena je i ranije [240,241]. Gašenje porfirina u tripletnom stanju pomoću *trans*-**128** može se učinkovito natjecati s otopljenim kisikom u ovom sustavu. Koncentracija prethodnog ($8,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) barem je jedan red veličine veća od otopljenog kisika u smjesi aceton:voda 1:1 pod atmosferskim tlakom zraka ($4,1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ [343]). Osim toga, π - π interakcije između aromatskih i dvostrukih veza porfirina i *trans*-**128** mogu povećati učinkovitost gašenja.

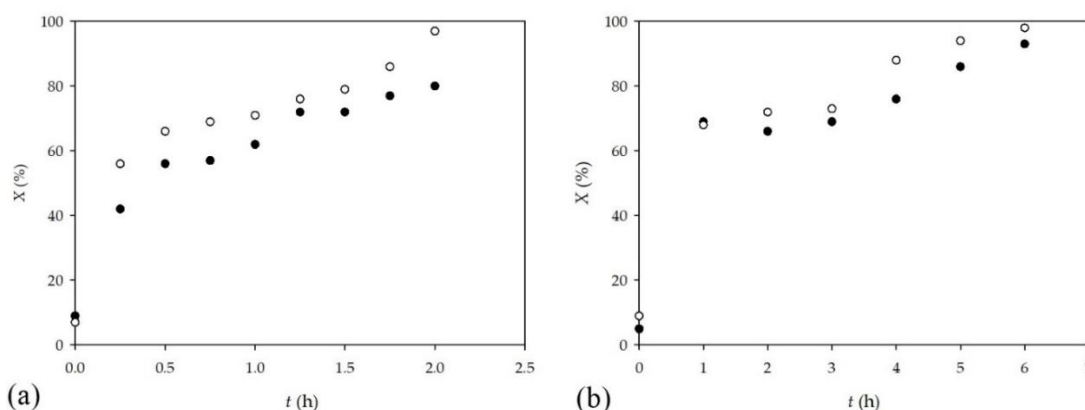
Potvrđujući ovo tumačenje, aromatski amin može čak reduktivno ugasiti Zn(II) porfirine u tripletnom stanju (i kationske i anionske) u vodenom sustavu [344].

Prema tablici 33, anionski porfirini (i Mn(III) i slobodna baza) potiču *E-Z* izomerizaciju učinkovitije od kationskih, vjerojatno zato što skupine bogatije elektronima osiguravaju jače gašenje. Singletni kisik je također formiran u kompetitivnom gašenju kao što pokazuju oksigenirani produkti u sustavima koji sadrže porfirinske slobodne baze (i anionske i kationske). U prisutnosti Mn(III) porfirina, ovi produkti također mogu nastati interakcijom s manganovim oksovrstama, $\bullet\text{OH}$ ili $\text{O}_2\bullet-$ radikalima.

2. Rezultati i rasprava

Međutim, iskorištenja za nastajanje *cis*-**128** mnogo su veća od onih za druge produkte. To sugerira da su daljnje reakcije *cis*-**128** manje povoljne u prisutnosti Mn(III) porfirina u usporedbi sa sustavima sa slobodnim bazama. Osobito je stvaranje dimera mnogo manje učinkovito, što može biti posljedica koordinativne interakcije između monomera i metalnog središta. Strukture **231** i **232** pokazuju da su monomerno zatvaranje prstena i dimerizacija (također sa zatvaranjem prstena, ali drugačijeg tipa, kroz O heteroatom i formiranje nearomatskog prstena) procesi koji se natječu jer **232** ne može biti prethodnik **231**. Dodatno, oba procesa uključuju apstrakciju vodika, za koji je potreban kisik. Osim toga, hidroksilacija u nastanku **232** i **219** može se protumačiti samo reakcijom sa singletnim kisikom u slučaju kationskog porfirina slobodne baze. Metaloporfirini mogu pospješiti ove procese i kroz proizvodnju drugih oksidacijskih vrsta.

Dinamička promjena konverzije za slobodne baze i Mn(III) porfirine (anionske i kationske) dobivene u šaržnom reaktoru praćena je UHPLC analizom (Slika 165).



Slika 165. Dinamička promjena pretvorbe uz (a) slobodne baze porfirina i (b) Mn(III) porfirine (○ anionski, ● kationski) dobiven UHPLC analizom.

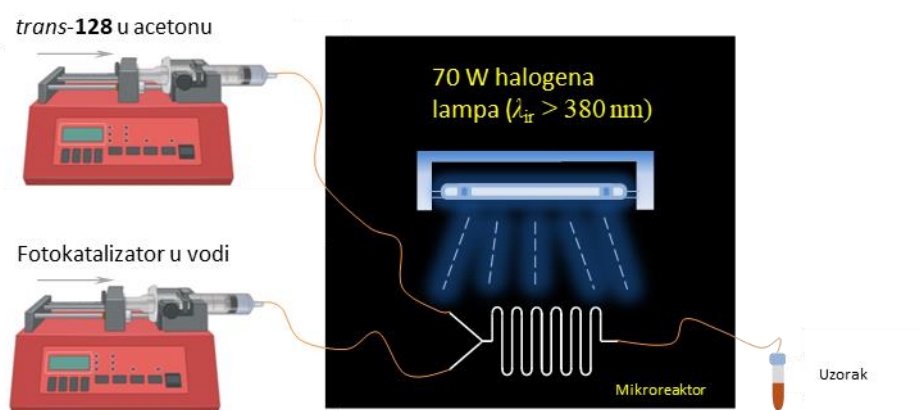
Kao što se može vidjeti, kada je reakcija izvedena sa slobodnom bazom porfirina, reakcija je bila brža nakon prvog sata osvjetljavanja, u usporedbi s reakcijom kataliziranom Mn(III) porfirinom. Gotovo potpuna konverzija uočena je nakon 2 sata za slobodnu bazu porfirina, odnosno nakon 6 sati za Mn(III) porfirin. Međutim, zanimljivo je da je dinamička promjena pretvorbe dosegla veće vrijednosti za reakcije katalizirane metaloporfirinima.

Uspoređujući kationske i anionske porfirine, može se zaključiti da je anionski porfirin poticao reakciju učinkovitije nego prvi. Kao što je već spomenuto, anionski porfirini učinkovitije potiču *E-Z* izomerizaciju jer skupine bogatije elektronima osiguravaju jače gašenje.

Sličan je učinak opisan drugdje [231] kada su isti kationski i anionski porfirini korišteni kao katalizatori u reakciji s metilnim analogom spoja **128**.

2.16.2. Sinteza u mikoreaktoru

Kao što je spomenuto u uvodu, tip i dizajn reaktora [223] igraju važnu ulogu u fotokatalizi. Kada se fotokataliza izvodi u mikoreaktoru, vrijeme zadržavanja se skraćuje i mogu se dobiti veći prinosi željenih produkata u usporedbi sa šaržnim reaktorima [225]. Osim toga, u kontinuiranim sustavima kao što su mikoreaktori, produkti se stalno uklanjaju iz reakcijske smjese. Njihovim uklanjanjem izbjegava se stvaranje nusprodukata i mogu se očekivati veća iskorištenja i čistoća u sustavima koji kontinuirano rade. Kako bi se potvrdile ove prednosti, transformacije tiofenskog analoga rezveratrola *trans*-**128** fotokatalitičkim reakcijama uz korištenje anionskog i kationskog porfirina kao slobodne baze, kao i kationskih i anionskih Mn(III) porfirina prebačene su iz šaržnog u mikoreaktor. Reakcije su provedene u cijevnom mikoreaktoru (Slika 166), a dobiveni rezultati uspoređeni su s rezultatima dobivenima u šaržnom reaktoru.

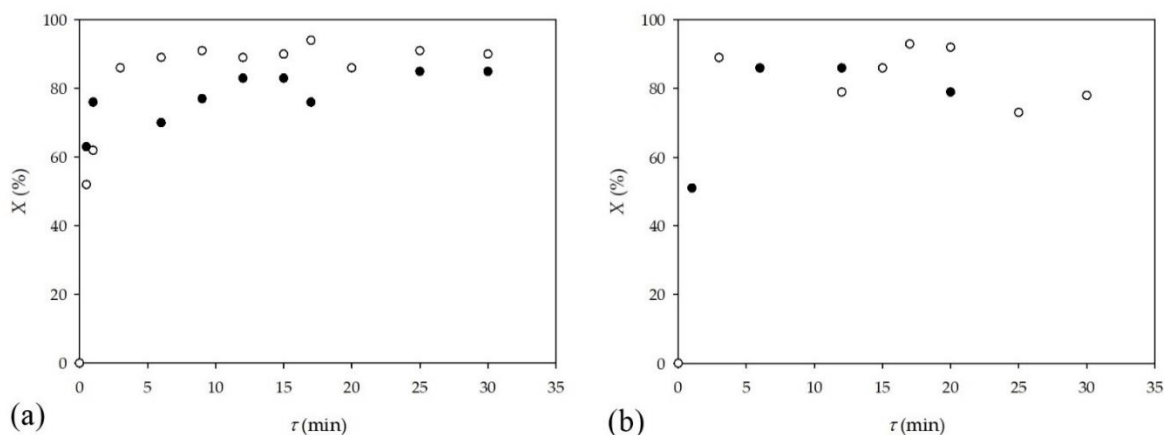


Slika 166. Aparatura za fotokatalitičke reakcije izvedene u reaktoru s mikroprotokom.

Utjecaj retencijskog vremena na konverziju *trans*-**128** korištenjem četiri tipa porfirina kao katalizatora prikazan je na slici 167.

Kao što se i očekivalo, reakcije su značajno ubrzane u mikoreaktorima, gdje su konverzije veće od 80 % uočene nakon 5 minuta za porfirine kao slobodne baze i za Mn(III) porfirine, vjerojatno zbog većeg i homogenijeg osvjetljavanja po cijeloj površini mikoreaktora. [224]. Isti rezultati dobiveni su i u našim prethodnim radovima [231,301] gdje je vrijeme potpune pretvorbe značajno skraćeno u mikoreaktorima u usporedbi sa šaržnim reaktorima. Kao i u šaržnom reaktoru, anionski porfirini (i slobodna baza i Mn(III)) pospješuju *E-Z* izomerizaciju učinkovitije od kationskih.

2. Rezultati i rasprava



Slika 167. Utjecaj vremena zadržavanja na pretvorbu za reakciju kataliziranu (a) porfirinima kao slobodnim bazama i (b) Mn(III) porfirinima (○ anionski, ● kationski).

Uspoređujući iskorištenja fotoprodukata dobivenih u šaržnim i mikroreaktorima (Tablica 34 i Slika 168), vidljivo je da su dobiveni različiti prinosi fotoprodukata. U mikroreaktoru *cis-128* je bio najdominantniji bez obzira koji je od četiri tipa porfirina korišten kao katalizator. Kao što je spomenuto, ovaj izomer je produkt primarne fotoinducirane reakcije, izomerizacije *trans-128*. U svim reakcijama izvedenim u mikroreaktoru, iskorištenje *cis-128* bilo je iznad 60 %, a iskorištenje svih ostalih produkata bilo je ispod 10 % (Slika 168b). Razlika između iskorištenja dobivenog u šaržnom i mikroreaktoru je izraženija kada je korištena slobodna baza porfirina. Kao što je ranije spomenuto, daljnje reakcije *cis-128* u prisutnosti metaloporfirina manje su povoljne nego u sustavima sa slobodnim bazama. Kada je slobodna baza korištena u šaržnom reaktoru (Slika 168a), iskorištenja produkata **231**, **232** i **219** bila su slični ili viša od onih za *cis-128*. *Cis-128* je prekursor u nastajanju **231** i **232** i produljenjem vremena reakcije nastalo je više sekundarnih produkata.

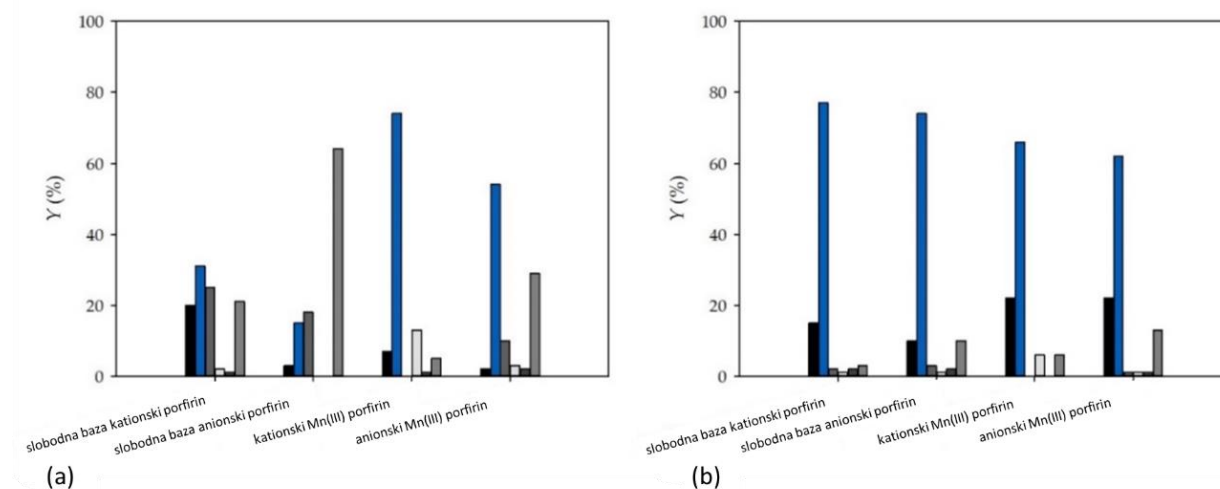
Budući da se u kontinuiranim mikrosustavima produkti stalno uklanjaju iz reakcijske smjese, izbjegnuto je stvaranje sekundarnih produkata. Zbog toga su dobivena viša iskorištenja i čistoća *cis-128* produkta u reaktoru s mikroprotokom.

2. Rezultati i rasprava

Tablica 34. Iskorištenja (%) fotoprodukata dobivenih upotrebom Mn(III) i kationskih/anionskih porfirina kao slobodnih baza i neproreagirani *trans*-128 za reakcije izvedene u šaržnom reaktoru i mikroreaktoru (praćeno UHPLC; *t* je vrijeme i odnosi se na šaržni reaktor, a τ je vrijeme zadržavanja i to je karakteristična vremenska dimenzija za protočni reaktor)

Spoj	Reaktor	Vrijeme, h	<i>trans</i> -128	<i>cis</i> -128	231	232	219	Neodređeni	Produktivnost, $\mu\text{mol mL}^{-1} \text{min}^{-1}$	Omjer produktivnosti
			%							
Slobodna baza kationski porfirin	<i>Šaržni</i>	$t = 2$	20	31	25	2	1	21	0,0550	1/4,25
	<i>Mikro</i>	$\tau = 0,5$	15	77	2	1	2	3	0,2338	
Slobodna baza anionski porfirin	<i>Šaržni</i>	$t = 2$	3	15	18	-	-	64	0,0667	1/3,71
	<i>Mikro</i>	$\tau = 0,5$	10	74	3	1	2	10	0,2475	
Kationski Mn(III) porfirin	<i>Šaržni</i>	$t = 6$	7	74	-	13	1	5	0,0213	1/10,07
	<i>Mikro</i>	$\tau = 0,5$	22	66	-	6	-	6	0,2145	
Anionski Mn(III) porfirin	<i>Šaržni</i>	$t = 6$	2	54	10	3	2	29	0,0225	1/9,51
	<i>Mikro</i>	$\tau = 0,5$	22	62	1	1	1	13	0,2140	

Također je važno naglasiti da je fotokatalitička reakcija izvedena u mikroreaktoru idealan način za preparativno dobivanje *cis*-128 iz *trans*-izomera budući da je *cis*-izomer vrlo teško dobiti u sintezi Wittigovom reakcijom gdje uglavnom nastaje *trans*-izomer.



Slika 168. Iskorištenja (%) fotoprodukata dobivenih upotrebom Mn(III) i kationskih/anionskih porfirina kao slobodnih baza i neproreagirani *trans*-128 za reakcije izvedene u (a) šaržnom reaktoru (2 i 6 h) i (b) mikroreaktoru ($\tau = 30$ min) (■ *trans*-128, ■ *cis*-128, ■ 231, ■ 232, ■ 219, ■ nedefinirano).

2. Rezultati i rasprava

Na kraju, izračunate su i uspoređene produktivnosti za reakciju provedenu u šaržnom i mikroreaktoru (Tablica 34). Kao što se može vidjeti, produktivnosti dobivene u mikroreaktoru bile su znatno veće od onih dobivenih u šaržnom reaktoru. Uspoređujući omjer produktivnosti (šaržni u odnosu na mikroreaktor) sa slobodnim bazama i Mn(III) porfirinima, viši omjer dobio je korištenjem Mn(III) porfirina.

Iako su iskorištenja bila nešto niža za reakcije provedene s Mn(III) porfirinom, reakcija je značajno ubrzana za ovaj katalizator u mikroreaktoru u usporedbi s porfirinom kao slobodnom bazom s obzirom na to da je maksimalni prinos postignut za 6 h u šaržnom reaktoru i 5 minuta zadržavanja u mikroreaktoru. Kada je korišten porfirin kao slobodna baza, reakcija u mikroreaktoru također je značajno ubrzana, ali je vremenska razlika bila nešto manja (2 h za šaržni reaktor i 5 min za mikroreaktor). Kombinirajući sve rezultate i uspoređujući vremena reakcije/zadržavanja, pretvorbe, iskorištenja i produktivnosti, može se potvrditi da je mikroreaktor preporučena vrsta reaktora za fotokatalitičku oksigenaciju rezveratrolnih analoga.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3. Eksperimentalni dio

3.1. Sinteza i fotokemija heterostilbenskih amina

3.1.1. Opće napomene

Sva korištena otapala su komercijalno dostupna i pročišćena destilacijom. Bezvodni magnezijev sulfat, MgSO_4 , korišten je za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcije. Kolonska kromatografija provedena je na kolonama silika-gela (60 Å, tehnička čistoća). Provedena je tankoslojna kromatografija pomoću ploča prevučениh silika-gelom (0,2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) za ^1H i ^{13}C jezgre zabilježeni su na sobnoj temperaturi na spektrometrima Bruker Avance 300 MHz i 600 MHz. Za snimanje NMR spektara korišten je deuterirani kloroform, CDCl_3 , s tetrametilsilanom, TMS kao standardom. Kemijski pomaci su izraženi u dijelovima na milijun, ppm (*engl.* parts per million). Kratice korištene u ovom eksperimentalnom postupku bile su: NMR – nuklearna magnetska rezonancija, UV – ultraljubičasta spektrofotometrija, PE – petroleter, E – dietileter, ACN – acetonitril i EtOH – etanol. UV spektri su snimljeni UV/Vis spektrofotometrom. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja praćene su za spojeve otopljene u ACN. Prije mjerenja, reakcijska smjesa je propuhana dušikom 15 minuta. Preparativne fotokemijske reakcije izvedene su u zatvorenoj, kvarcnoj kiveti koristeći dva fotokemijska reaktora, Rayonet i Luzchem, opremljena UV lampama valnih duljina 350 nm. IR spektri su dobiveni upotrebom infracrvenog spektrometra Bruker Vertex 70 s Fourierovom transformacijom postavljenog na način smanjene ukupne refleksije (ATR). Uzorci su prešani na dijamant, a podaci o apsorpciji prikupljeni su između 400 i 5000 cm^{-1} uz spektralnu rezoluciju od 1 cm^{-1} i prosječno 32 skeniranja. HRMS analize provedene su na masenom spektrometru (MALDI TOF/TOF analizator) opremljenom Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom prilagođavanja od 200 Hz u pozitivnom (H^+) ili negativnom (^-H) ionskom reflektoru. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pri sniženom tlaku.

3.1.2. Sinteza 2-(4-klorstiril)tiofena 1

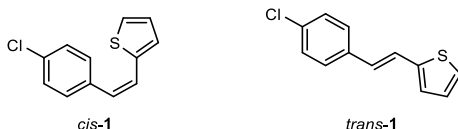
Početni spoj **1**, kao smjesa *cis*- i *trans*-izomera sintetiziran je Wittigovom reakcijom. Reakcijska smjesa je propuhana dušikom 15 minuta prije dodavanja reagensa. U trogloj tikvici s okruglim dnom (100 mL), otopina odgovarajuće fosfonijeve soli (11 mmol) otopljena je u 50 mL apsolutnog EtOH (osušenog na sitima od 3 Å).

3. Eksperimentalni dio

Otopina natrijeva etoksida (11 mmol, 1,1 ekv. Na otopljen u 10 mL apsolutnog etanola) dodana je u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. Tiofen-2-karbaldehid (11 mmol) je dodan izravno u miješanu otopinu. Reakcijska smjesa je ostavljena 24 sata na sobnoj temperaturi s balonom dušika. Nakon uklanjanja otapala, apsolutnog etanola, pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom, uljasta reakcijska smjesa ekstrahirana je toluenom p.a. (3 x 25 mL).

Organski sloj je osušen iznad bezvodnog MgSO₄. Produkt je izoliran kolonskom kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE kao eluensa i okarakteriziran spektroskopskim metodama. Prve frakcije dale su *cis*-, a posljednje frakcije *trans*-izomer.

2-(4-klorstiril)tiofen (**1**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE kao eluensa dobiveno je 840 mg (86 %) smjese izomera **1** (*cis*-**1** : *trans*-**1** = 2 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE kao eluensa dala je čisti *cis*-**1** u prvim frakcijama i *trans*-**1** u posljednjim frakcijama.



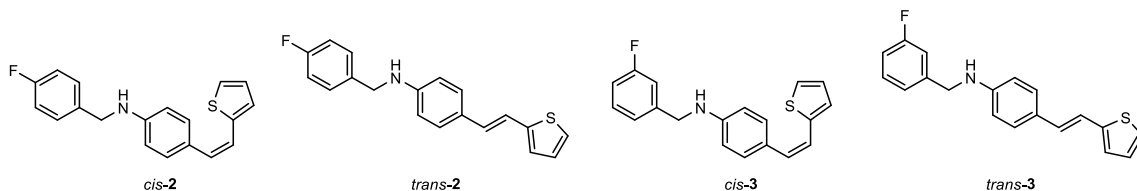
(*Z*)-2-(4-klorstiril)tiofen (*cis*-**1**): 470 mg, 56 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE) = 0.89; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 294 (9618); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 7.36 – 7.19 (m, 4H), 7.12 (dd, $J = 5.1, 1.3$ Hz, 1H), 7.01 – 6.84 (m, 2H), 6.71 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 139.3, 135.7, 133.3, 130.2, 128.7, 128.4, 127.5, 126.6, 125.7, 123.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221 (100).

(*E*)-2-(4-klorstiril)tiofen (*trans*-**1**): 370 mg, 44 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_i = 98-100$ °C; R_f (PE) = 0.85; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 327 (35185); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.41 – 7.36 (m, 2H), 7.33 – 7.28 (m, 2H), 7.23 – 7.17 (m, 2H), 7.07 (dt, $J = 3.4, 0.8$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H). ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 142.5, 135.5, 133.1, 128.9, 127.7, 127.4, 126.9, 126.4, 124.7, 122.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221 (100);

IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl, smjesa izomera): 2910, 2850, 1726, 1616, 1488, 1399, 1082, 947; HRMS (m/z) za C₁₂H₉ClS (smjesa izomera): $[M+H]^+$ _{izračunato} = 220.0113, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 220.0115.

3.1.3. Sinteza novih 4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilina 2-8 Buchwald-Hartwigovim aminiranjem

4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilini (**2-8**) sintetizirani su upotrebom **1** (0,36 mmol, 1 ekv.), XPhos (0,72 mmol, 0,2 ekv.), Pd(OAc)₂ (0,018 mmol, 0,05 ekv.) i Cs₂CO₃ (0,54 mmol, 1,5 ekv.). Spoj **1** otopljen je u 2 mL dioksana i dodani su odgovarajući benzil-amini (0,72 mmol, 2 ekv.). Reakcijska smjesa je prethodno propuhana argonom i zagrijavana na 120°C u staklenoj bočici 24 sata. Reakcije su uvijek provedene polazivši od čistih izomera **1** (osim za **4** i **5**). U slučaju čistih *cis*-izomera, izomerizacija je zapažena i daje 40-50 % odgovarajućih *trans*-izomera (u slučaju **2**, **3** i **7**) ili 10 % za *trans*-**6** i *trans*-**8**. Tijekom reakcija aminiranja čistih *trans*-izomera, u svim slučajevima nastaje samo 10-20 % svih odgovarajućih *cis*-izomera. Buchwald-Hartwigova aminiranja s klor-benzilnim aminima provedena su sa smjesom izomera **1** (*cis*- : *trans*- = 1 : 1), dajući smjese izomera amina **4** i **5** u istim omjerima. Otapalo je upareno pod sniženim tlakom. Ciljani *trans*-izomer je pročišćen kolonskom kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/DCM (0-50 %) kao eluensa što je u prvim frakcijama dalo tragove početnog spoja **1**, a u posljednjim frakcijama čiste *cis*- i zatim *trans*-izomere **2-8**. U slučaju *meta*-metoksi-derivata, *R_f* vrijednosti bile su vrlo slične, te je bilo nemoguće odvojiti čiste izomere amina **7**.



(*Z*)-*N*-(4-fluorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-**2**): 30 mg, 45 % izoliranog spoja; žuto ulje; *R_f*(PE/DCM (30 %)) = 0.35; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 322 (18649). ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.36 – 7.31 (m, 2H), 7.23 – 7.18 (m, 2H), 7.09 (dd, *J* = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 7.06 – 6.97 (m, 2H), 6.89 (dd, *J* = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 6.61 – 6.55 (m, 1H), 6.59-6.56 (m, 2H), 6.54 (dd, *J* = 11.9, 0.8 Hz, 1H), 6.46 (d, *J* = 11.9 Hz, 1H), 4.31 (s, 2H), 4.13 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 145.9, 141.5, 140.2, 133.5, 128.9, 128.4, 127.4, 126.5, 126.1, 125.4, 124.4, 123.8, 120.1, 112.0, 46.7; MS (ESI) (*m/z*) (% fragment): 309 (100).

(*E*)-*N*-(4-fluorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-**2**): 13 mg, 16 % izoliranog spoja; bijeli prah, *T_i* = 119-120 °C; *R_f*(PE/DCM (30 %)) = 0.32; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 355 (26710); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.34 – 7.31 (m, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.12 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H), 7.04 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 7.03 – 7.01 (m, 2H), 6.98 – 6.96 (m, 2H), 6.84 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 6.61 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 4.32 (s, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150

3. Eksperimentalni dio

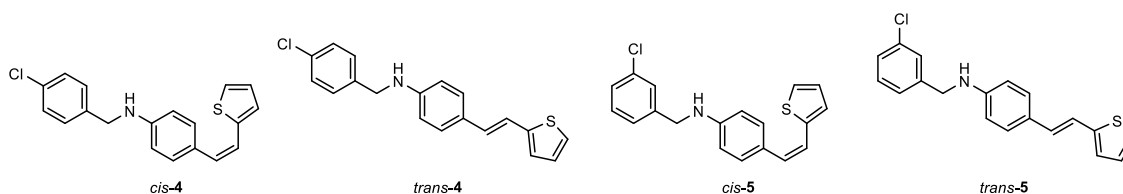
MHz) δ /ppm: 162.0, 143.6, 129.2, 129.0, 128.5, 127.6, 127.4, 126.6, 124.8, 123.3, 115.6, 115.4, 29.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 309 (100);

IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl, smjesa izomera): 2917, 2850, 1729, 1600, 1511, 1223, 941; HRMS (m/z) za C₁₉H₁₆FNS (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 309.0987, $[M+H]^+$ izmjereno = 309.0986.

(*Z*)-*N*-(3-fluorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-3): 42 mg, 65 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/DCM (30 %)) = 0.55; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 327 (18788); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.32 – 7.28 (m, 1H), 7.19 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.14 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.09 – 7.07 (m, 2H), 6.99 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 6.95 (dt, J = 8.6, 1.8 Hz, 1H), 6.89 (dd, J = 4.9, 4.0 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.53 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 6.46 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 4.36 (s, 2H), 4.16 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 309 (100).

(*E*)-*N*-(3-fluorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-3): 61 mg, 62 % izoliranog spoja; žuti prah, T_f = 95-99 °C; R_f (PE/DCM (30 %)) = 0.53; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 355 (38641); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.31 – 7.28 (m, 3H), 7.14 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 4.7 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 16.7 Hz, 1H), 6.97-6.95 (m, 3H), 6.83 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 6.58 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 4.36 (s, 2H), 4.23 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 163.4, 145.8, 143.5, 140.5, 130.3, 130.2, 128.3, 127.6, 125.0, 123.4, 123.2, 121.8, 118.7, 114.7, 114.3, 48.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 309 (100);

IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl, smjesa izomera): 3375, 3010, 1598, 1519, 1463, 1312, 1253, 961, 821; HRMS (m/z) za C₁₉H₁₆FNS (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 309.0987, $[M+H]^+$ izmjereno = 309.0985.



(*Z*)-*N*-(4-klorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-4): 11 mg, 24 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.52; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 323 (20618), 259 (22985); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.31 – 7.29 (m, 4H), 7.22 – 7.17 (m, 2H), 7.09 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 6.99 (dt, J = 3.6, 1.0 Hz, 1H), 6.89 (dd, J = 5.1, 3.5 Hz, 1H), 6.59 – 6.51 (m, 3H), 6.46 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.32 (s, 2H), 4.12 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 147.0, 144.0, 140.4, 137.7, 133.0, 130.1, 129.5, 128.8, 128.6, 127.5, 126.5, 124.8, 121.2, 112.8, 47.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 326 (100).

3. Eksperimentalni dio

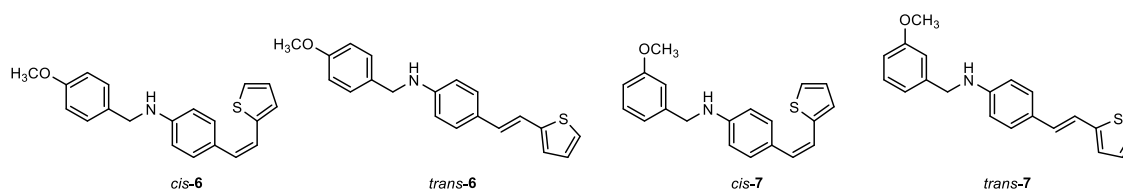
(*E*)-*N*-(4-klorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-4): 22 mg, 51 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 128-130$ °C; $R_f(\text{PE/DCM } (50 \text{ \%})) = 0.47$; UV (ACN) $\lambda_{max}/\text{nm } (\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1})$ 357 (27719), 338 (sh, 14015); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.32 – 7.27 (m, 6H), 7.13 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.98 – 6.95 (m, 2H), 6.83 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 4.34 (s, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 143.6, 137.3, 133.2, 130.1, 128.9, 128.8, 128.7, 128.4, 127.6, 127.5, 124.9, 123.3, 118.4, 113.6, 47.9; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 326 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 325.0692, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 325.0685.

(*Z*)-*N*-(3-klorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-5): 13 mg, 36 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/DCM } (50 \text{ \%})) = 0.50$; UV (ACN) $\lambda_{max}/\text{nm } (\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1})$ 325 (15472), 259 (18329); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.23 – 7.15 (m, 4H), 7.15 – 7.10 (m, 2H), 7.02 (dd, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 1H), 6.92 (dt, $J = 3.6, 1.0$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.52 – 6.47 (m, 2H), 6.47 (d, $J = 11.9$, 1H), 6.39 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 4.26 (s, 2H), 4.08 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 146.1, 145.8, 142.7, 140.2, 139.3, 133.5, 128.9, 128.3, 127.5, 126.5, 126.1, 125.4, 124.5, 123.8, 122.2, 120.3, 117.2, 112.0, 46.6; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 326 (100).

(*E*)-*N*-(3-klorbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-5): 15 mg, 41 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 123-125$ °C; $R_f(\text{PE/DCM } (50 \text{ \%})) = 0.46$; UV (ACN) $\lambda_{max}/\text{nm } (\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1})$ 355 (37968); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.25 – 7.20 (m, 2H), 7.20 – 7.15 (m, 4H), 7.06 – 7.02 (m, 1H), 6.95 (dd, $J = 16.1, 0.8$ Hz, 1H), 6.92 – 6.87 (m, 2H), 6.76 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.54 – 6.48 (m, 2H), 4.27 (s, 2H), 4.14 (s, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 146.2, 142.7, 140.2, 139.4, 133.5, 128.9, 128.4, 127.5, 126.5, 126.3, 126.0, 125.4, 124.4, 123.8, 122.2, 120.2, 117.1, 111.9, 46.7; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 326 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClNS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 325.0692, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 325.0686.



(*Z*)-*N*-(4-metoksibenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-6): 95 mg, 53 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/DCM } (50 \text{ \%})) = 0.43$; UV (ACN) $\lambda_{max}/\text{nm } (\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1})$ 325 (17223); ^1H

3. Eksperimentalni dio

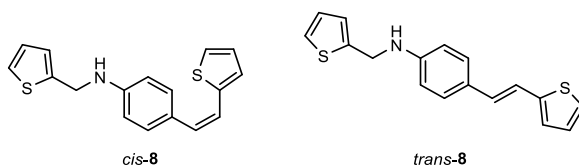
NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.26 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.06 (dd, J = 5.1, 1.2 Hz, 1H), 6.98 (dt, J = 3.6, 1.0 Hz, 1H), 6.89 – 6.84 (m, 3H), 6.55 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.51 (dd, J = 11.9, 0.8 Hz, 1H), 6.44 (d, J = 11.9 Hz, 1H), 4.23 (s, 2H), 4.98 (s, 1H), 3.77 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 158.9, 147.7, 140.6, 131.2, 130.1, 129.7, 128.9, 127.6, 126.5, 126.2, 124.8, 120.9, 114.1, 112.6, 55.3, 47.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 321 (100).
(*E*)-*N*-(4-metoksibenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-6): 11 mg, 12 % izoliranog spoja; žuti prah, T_f = 99-102 °C; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.37; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 358 (38016); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.32 – 7.26 (m, 4H), 7.11 (dd, J = 4.7, 1.1 Hz, 1H), 7.05 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 6.99 – 6.94 (m, 2H), 6.91 – 6.87 (m, 2H), 6.84 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 6.63 – 6.58 (m, 2H), 4.27 (s, 2H), 3.80 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 159.2, 143.6, 134.0, 130.1, 129.6, 129.4, 128.4, 127.5, 126.5, 125.1, 123.4, 118.7, 114.7, 114.1, 55.3, 48.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 321 (100);
IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl, smjesa izomera): 3414, 2994, 2934, 1600, 1508, 1332, 1232, 1178, 1034, 813; HRMS (m/z) za C₂₀H₁₉NOS (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 321.1187, $[M+H]^+$ izmjereno = 321.1190.

(*Z*)-*N*-(3-metoksibenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-7): 15 mg, 14 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.50; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.45 – 7.42 (m, 2H), 7.38 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 7.28 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.18 – 7.16 (m, 1H), 7.08 (dd, J = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.88 (dd, J = 5.2, 3.1 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 6.45 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 4.31 (s, 2H), 4.13 (s, 1H), 3.78 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 321 (100).

(*E*)-*N*-(3-metoksibenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-7): 17 mg, 20 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.46; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.43 (s, 1H), 7.26 – 7.23 (m, 2H), 7.07 (dd, J = 4.8, 1.3 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.95 – 6.93 (m, 2H), 6.91 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.80 – 6.78 (m, 1H), 6.59 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 4.31 (s, 2H), 4.13 (s, 1H), 3.79 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 321 (100);

IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl, smjesa izomera): 3401, 2839, 1710, 1601, 1516, 1463, 1321, 1256, 1148, 1046, 777; HRMS (m/z) za C₂₀H₁₉NOS (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 321.1187, $[M+H]^+$ izmjereno = 321.1185.

3. Eksperimentalni dio



(*Z*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-*N*-(tiofen-2-il-metil)anilin (*cis*-**8**): 72 mg, 74 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.60; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 325 (14931); 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm : 7.20 (d, $J = 7.8$ Hz, 3H), 7.07 (dd, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 1H), 7.00 – 6.93 (m, 3H), 6.88 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.54 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.45 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.09 (s, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 147.1, 142.6, 140.5, 130.1, 129.5, 127.5, 126.9, 126.8, 126.5, 125.2, 124.8, 124.7, 121.2, 112.9, 43.4; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 297 (100); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3395, 3017, 2852, 1594, 1519, 1393, 1318, 1250, 1164, 822.

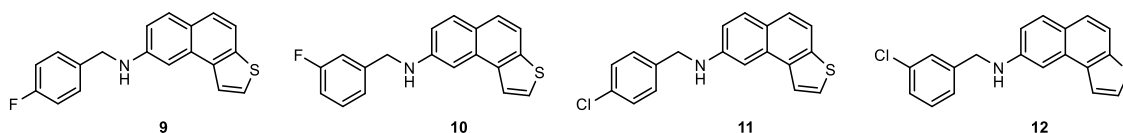
(*E*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-*N*-(tiofen-2-il-metil)anilin (*trans*-**8**): 74 mg, 64 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 103-105$ °C; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.58; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 355 (34147); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.29 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.19 (dd, $J = 5.6, 1.9$ Hz, 1H), 7.09 (dd, $J = 5.5, 1.1$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.99 – 6.98 (m, 1H), 6.96 – 6.94 (m, 3H), 6.83 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.50 (d, $J = 1.0$ Hz, 2H), 4.14 (s, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 147.2, 143.7, 142.6, 128.6, 127.7, 127.6, 127.5, 127.1, 126.9, 124.8, 124.7, 123.2, 118.1, 113.2, 43.4; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 297 (100);

HRMS (m/z) za $C_{17}H_{15}NS_2$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 297.0645, $[M+H]^+$ _{izračunato} = 297.0646.

3.1.4. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 9-15

Smjesa izomera spojeva **2-8** otopljena je u toluenu p.a. ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i prebačena u kvarcnu kivetu (50 mL) uz dodatak katalitičke količine joda i osvjetljavana s 10 UV lampi na 365 nm u fotokemijskom reaktoru Rayonet 2-4 sata da se postigne gotovo potpuna konverzija.

Nakon uklanjanja otapala pomoću rotacijskog isparivača pod sniženim tlakom, fotoprodutki **9-15** su pročišćeni kolonskom kromatografijom na stupcu upotrebom PE/DCM (40 %) kao eluensa uz tragove početnih derivata u prvim frakcijama i potpuno spektroskopski okarakterizirani pomoću NMR, UV i HRMS mjerenja.



3. Eksperimentalni dio

N-(4-fluorbenzil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**9**): 13 mg, 69 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.35; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 313 (13012), 302 (10981); 1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 7.77 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.40 (dd, J = 8.8, 5.8 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.04 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 6.93 (dd, J = 8.7, 2.4 Hz, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.46 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 162.2, 145.0, 141.3, 138.1, 134.6, 130.7, 129.7, 129.5, 129.6, 124.9, 124.8, 124.8, 121.9, 117.2, 116.1, 115.7, 115.5, 48.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 307 (100); HRMS (m/z) za C₁₉H₁₄NOS: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 307.0831, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 307.0833.

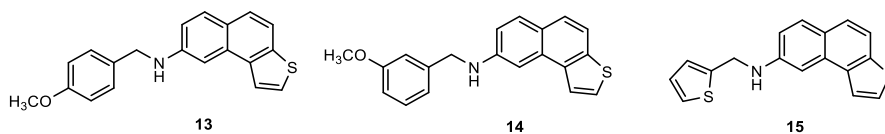
N-(3-fluorbenzil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**10**): 17 mg, 76 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/DCM (30 %)) = 0.53; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 312 (13455), 303 (11232); 1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 7.76 – 7.70 (m, 2H), 7.62 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.36 – 7.27 (m, 2H), 7.24 – 7.19 (m, 1H), 7.14 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 9.3 Hz, 1H), 4.53 (s, 1H), 4.49 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 163.1, 145.3, 141.3, 138.6, 134.6, 130.7, 130.3, 129.8, 124.9, 124.8, 123.1, 122.1, 117.2, 116.0, 114.6, 114.3, 103.3, 48.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 307 (100); HRMS (m/z) za C₁₉H₁₄FNS: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 307.0831, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 307.0834.

N-(4-klorbenzil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**11**): 72 mg, 74 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.60; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 256 (13795), 245 (15007); 1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 7.77 – 7.72 (m, 2H), 7.63 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.40-7.29 (m, 5H), 6.92 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.38 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 147.1, 142.6, 140.5, 130.7, 130.1, 129.5, 127.5, 126.9, 126.8, 126.5, 125.2, 124.9, 124.8, 124.7, 121.2, 112.9, 43.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 324 (100); HRMS (m/z) za C₁₉H₁₄ClNS: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 323.0535, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 323.0526.

N-(3-klorbenzil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**12**): 62 mg, 65 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.60; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 258 (19233), 246 (21655); 1H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 7.78 – 7.72 (m, 2H), 7.64 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.49 – 7.45 (m, 2H), 7.34 – 7.26 (m, 5H), 6.95 (dd, J = 9.1, 2.8 Hz, 1H), 4.81 (s, 1H), 4.50 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 147.1, 142.6, 140.5, 130.1, 129.5, 127.5,

3. Eksperimentalni dio

126.9, 126.8, 126.5, 125.2, 124.8, 124.7, 121.2, 112.9, 43.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 324 (100); HRMS (m/z) za $C_{19}H_{14}ClNS$: $[M+H]^+$ izračunato = 323.0535, $[M+H]^+$ izmjereno = 323.0544.



N-(4-metoksibenzil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**13**): 6 mg, 12 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.37; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 315 (10554), 259 (15515), 244 (12209); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.84 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 5.6, Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.62 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.38 – 7.35 (m, 3H), 7.01 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 6.94 (dd, J = 8.7, 2.3 Hz, 1H), 4.43 (s, 2H), 3.81 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 319 (100).

N-(3-metoksibenzil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**14**): 8 mg, 65 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.46; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 314 (12155), 279 (13610); 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm : 8.02 – 7.88 (m, 3H), 7.71 – 7.64 (m, 2H), 7.55 – 7.52 (m, 1H), 7.49 – 7.37 (m, 5H), 5.02 (s, 2H), 3.97 (s, 1H), 3.87 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 319 (100).

N-(tiofen-2-il-metil)nafto[2,1-*b*]tiofen-8-amin (**15**): 19 mg, 78 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.58; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 310 (10220), 256 (10868), 245 (16580); 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ/ppm : 7.74 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.49 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.41 – 7.39 (m, 2H), 7.16 – 7.13 (m, 1H), 7.02 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.92 – 6.88 (m, 2H), 5.48 (s, 1H), 4.60 (s, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 138.1, 136.3, 135.2, 135.1, 129.9, 129.8, 128.5, 128.5, 128.3, 127.2, 126.5, 125.6, 124.5, 122.1, 119.4, 118.8, 118.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 295 (100); HRMS (m/z) za $C_{17}H_{13}NS_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 295.0489, $[M+H]^+$ izmjereno = 295.0487.

3.2. Sinteza i fotokemija arilnih triazolostilbena

3.2.1. Opće napomene

Sva korištena otapala bila su komercijalno dostupna i pročišćena su destilacijom. Za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcija korišten je bezvodni $MgSO_4$. Kolonska kromatografija

3. Eksperimentalni dio

provedena je na kolonama sa silika-gelom (60 Å, tehnička čistoća). Provedena je tankoslojna kromatografija pomoću ploča obloženih silika-gelom (0,2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) ¹H i ¹³C zabilježeni su na sobnoj temperaturi na spektrometru Bruker Avance 600 MHz. Za snimanje NMR spektra korišten je deuterirani kloroform, CDCl₃ s TMS kao standardom. UV spektri su snimljeni UV/Vis spektrofotometrom. Fotokemijsko osvjetljavanje je provedeno s 3,0 mL otopine u kiveti od 1 mL na sobnoj temperaturi. Spektralne promjene pri različitim vremenima osvjetljavanja su provedene u otapalima etanolu 95 % i *n*-heksanu. Prije fotolize, reakcijske smjese su propuhane dušikom 15 minuta. Preparativne fotokemijske reakcije provedene su u zatvorenoj, kvarcnoj kiveti koristeći dva fotokemijska reaktora, Rayonet i Luzchem, opremljena UV lampama od 313 nm. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

3.2.2. Sinteza polaznih arilnih triazolostilbena 16-25

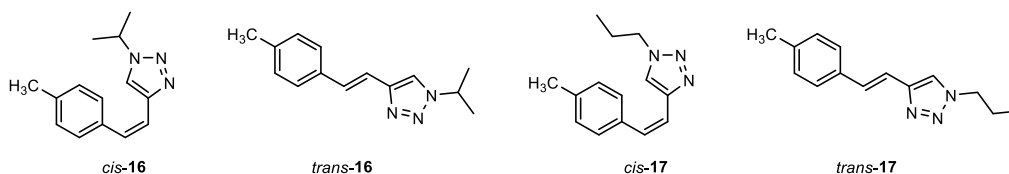
Polazni spojevi **16-25** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera sintetizirani su Wittigovom reakcijom. Reakcijske otopine su propuhane dušikom 15 minuta prije reakcije. U troglu tikvicu s okruglim dnom (100 mL) dodana je otopina fosfonijeve soli (4-metilbenzil)trifenilfosfonijevog bromida (0,001 mol) u apsolutnom etanolu (40 mL, 3 Å sita), otopina natrijevog etoksida (0,001 mol, 1,1 ekv. u 10 mL apsolutnog etanola) u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. 1,2,3-triazolni aldehidi (0,001 mol) prethodno sintetizirani u našem laboratoriju prema literaturno poznatoj sintezi [257] dodani su izravno u miješanu otopinu. Reakcije su se odvijale 24 sata na sobnoj temperaturi s balonom dušika. Nakon uklanjanja otapala, apsolutnog etanola pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom, reakcijske smjese su ekstrahirane toluenom p.a. (3 x 25 mL). Organski slojevi su osušeni iznad bezvodnog MgSO₄. Produkti su izolirani uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Prve frakcije su dale *cis*-, a zadnje frakcije *trans*-izomere.

1-izopropil-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (**16**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-60 %) dobiveno je 86 mg (62 %) smjese izomera spoja **16** (*cis*-**16** : *trans*-**16** = 1 : 0.5). Također, kolonska kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-60 %) dala je čiste izomere *cis*-**16** i *trans*-**16**.

4-(4-metilstiril)-1-propil-1*H*-1,2,3-triazol (**17**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-50 %) dobiveno je 160 mg (68 %) smjese izomera **17** (*cis*-

3. Eksperimentalni dio

17 : *trans*-17 = 2 : 3). Također, kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-50 %) dala je čiste izomere *cis*-17 i *trans*-17.



(*Z*)-1-izopropil-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-16): 46 mg, 54 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (E/PE (60 %)) = 0.59; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 270 (16082); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.25 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.11 (s, 1H), 6.67 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 4.71 – 4.64 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 1.47 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.2, 137.4, 134.8, 130.9, 129.2, 128.2, 119.8, 119.1, 52.8, 22.9, 21.3; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 228 (100).

(*E*)-1-izopropil-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-16): 29 mg, 33 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 65\text{--}66$ °C; R_f (E/PE (60 %)) = 0.54; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 319 (8665, sh), 291 (21245); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.58 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H), 4.86 – 4.82 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.60 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 149.2, 137.8, 134.1, 130.3, 129.4, 126.3, 117.5, 116.2, 52.9, 23.1, 21.3; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 228 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 228.1422$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 228.1428$.

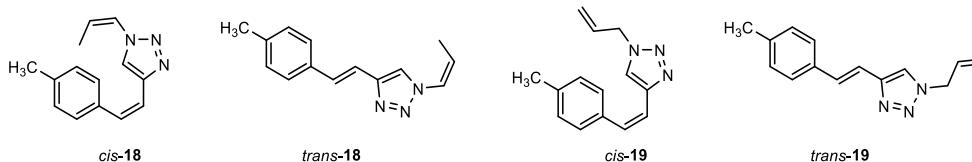
(*Z*)-4-(4-metilstiril)-1-propil-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-17): 69 mg, 23 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.51; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 273 (15120); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.23 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.08 (s, 1H), 6.67 (s, 2H), 4.18 (t, $J = 10.5$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 1.87 – 1.79 (m, 2H), 0.89 (t, $J = 11.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 143.9, 136.8, 134.0, 130.5, 128.7, 127.6, 120.8, 119.5, 51.1, 23.1, 20.8, 10.4; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 228 (100).

(*E*)-4-(4-metilstiril)-1-propil-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-17): 91 mg, 30 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 62\text{--}63$ °C; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.48; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 301 (10065, sh), 291 (23010), 225 (19875); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.55 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 4.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.99 – 1.95 (m, 2H), 0.98 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H); ^{13}C

3. Eksperimentalni dio

NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 145.8, 137.3, 133.5, 129.9, 129.1, 125.9, 119.4, 115.3, 51.3, 22.9, 20.6, 10.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 228 (100);

HRMS (m/z) za C₁₄H₁₇N₃ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 228.1422, $[M+H]^+$ izmjereno = 228.1427.



4-(4-metilstiril)-1-((*Z*)-prop-1-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol (18). Kolonskom

kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-30 %) dobiveno je 78 mg (31 %) smjese izomera 18 (*cis*-18 : *trans*-18 = 3 : 2). Također, kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-30 %) dala je čiste izomere *cis*-18 i *trans*-18.

1-alil-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (19). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-30 %) dobiveno je 144 mg (57 %) smjese izomera 19 (*cis*-19 : *trans*-19 = 2 : 3). Također, kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-30 %) dala je čiste izomere *cis*-19 i *trans*-19.

4-((*Z*)-4-metilstiril)-1-((*Z*)-prop-1-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-18): 36 mg, 14 % izoliranog spoja, žuto ulje; R_f (DCM/E (10%)) = 0.31; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 267 (13890); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.24 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.18 (s, 1H), 7.16 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 6.86 (dk, J = 9.3, 1.7 Hz, 1H), 6.75 – 6.66 (m, 1H), 5.62 – 5.56 (dk, J = 9.3, 1.7 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.76 (d, J = 10.2 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150MHz) δ /ppm: 143.5, 136.9, 134.4, 131.2, 128.8, 127.6, 123.3, 121.0, 120.1, 119.2, 20.7, 12.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 226 (100).

4-((*E*)-4-metilstiril)-1-((*Z*)-prop-1-en-1-il)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-18): 21 mg, 8 % izoliranog spoja; bijeli prah, T_i = 64-65 °C; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.52; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 305 (12020, sh), 293 (22950); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.69 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.33 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 9.4 Hz, 1H), 5.71 (dk, J = 9.5, 7.5 Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 1.98 (d, J = 7.1 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 137.4, 133.4, 130.5, 130.3, 128.9, 125.9, 123.4, 120.5, 119.6, 114.8, 20.7, 12.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 226 (100); HRMS (m/z) za C₁₄H₁₅N₃ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 226.1266, $[M+H]^+$ izmjereno = 226.1272.

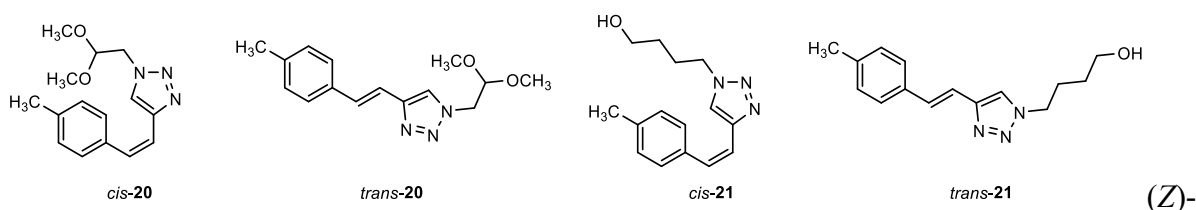
3. Eksperimentalni dio

(*Z*)-1-alil-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**19**): 37 mg, 15 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.28; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 275 (14580), 250 (13930); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.23 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.11 (s, 1H), 6.67 (AB_q, $J = 12.5$ Hz, 2H), 5.95 – 5.88 (m, 1H), 5.27 (d, $J = 10.4$ Hz, 1H), 5.17 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.84 (dt, $J = 10.4, 5.9$ Hz, 2H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.2, 136.9, 134.0, 130.8, 130.7, 128.7, 127.5, 126.8, 120.8, 119.1, 51.9, 20.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 226 (100).

(*E*)-1-alil-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**19**): 87 mg, 34 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 63\text{-}64$ °C; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.40; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 302 (16770, sh), 292 (25040), 289 (22950, sh); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.56 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.08 – 6.01 (m, 1H), 5.39 – 5.31 (m, 2H), 4.99 (d, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.2, 137.3, 133.4, 130.8, 130.1, 128.9, 125.9, 119.6, 119.3, 115.3, 52.1, 20.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 226 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 226.1266, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 226.1271.

1-(2,2-dimetoksietil)-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (**20**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-100 %) dobiveno je 144 mg (58 %) smjese izomera **20** (*cis*-**20** : *trans*-**20** = 3 : 2). Također, kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-70 %) dala je čiste izomere *cis*-**20** i *trans*-**20**.

4-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (**21**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-70 %) dobiveno je 133 mg (69 %) smjese izomera **21** (*cis*-**21** : *trans*-**21** = 7 : 3). Dvije uzastopne kolonske kromatografije na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-70 %) dale su čiste izomere *cis*-**21** u prvim frakcijama i *trans*-**21** u zadnjim frakcijama.



1-(2,2-dimetoksietil)-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**20**): 55 mg, 53 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (E/PE (70 %)) = 0.45; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 267 (10520); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.23 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.19 (s, 1H), 7.15 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.55 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 4.31 (d, $J = 5.5$ Hz,

3. Eksperimentalni dio

2H), 3.35 (s, 6H), 2.37 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144.5, 137.3, 134.7, 131.4, 129.3, 128.1, 122.8, 119.7, 102.7, 54.9, 51.7, 21.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 274 (100).

(*E*)-1-(2,2-dimetoksietil)-4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**20**): 34 mg, 33 % izreagirano spoja; bijeli prah, $T_f = 67\text{--}68$ °C; R_f (E/PE (70 %)) = 0.40; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 315 (13497, sh), 290 (24258); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.65 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 16.8$ Hz, 1H), 4.66 (t, $J = 10.6$ Hz, 1H), 4.46 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.43 (s, 6H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 145.9, 137.4, 133.5, 130.1, 128.9, 125.9, 120.9, 115.3, 102.3, 54.7, 51.5, 20.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 274 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 274.1479$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 274.1477$.

(*Z*)-4-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (*cis*-**21**): 18 mg, 9 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM) = 0.11; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 270 (13650), 248 (11845); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.20 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 6.66 (AB_q, $J = 12.0$ Hz, 2H), 4.20 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 3.94 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 2.86 – 2.79 (m, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.24 (d, $J = 13.0$ Hz, 2H), 1.96 – 1.75 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145.2, 136.8, 134.0, 130.6, 128.7, 127.7, 119.4, 60.3, 57.5, 20.8, 18.7, 18.0; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 258 (100).

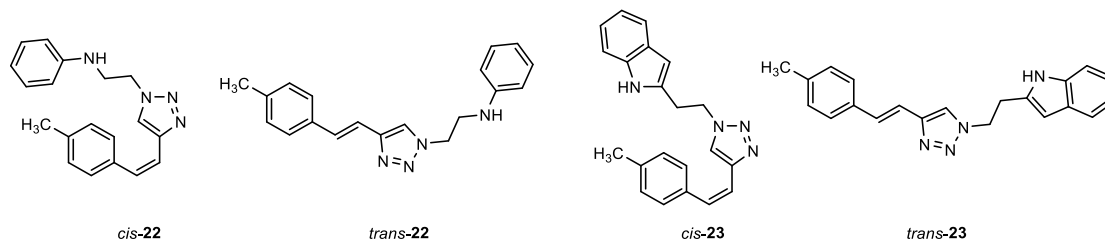
(*E*)-4-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (*trans*-**21**): 17 mg, 9 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 71\text{--}72$ °C; R_f (DCM) = 0.20; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 319 (10885, sh), 300 (19690, sh), 292 (22875); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.48 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 4.35 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 4.10 (d, $J = 14.3$ Hz, 1H), 2.97 – 2.92 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.25 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 2.07 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 1.46 – 1.41 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.6, 145.7, 137.8, 129.4, 126.9, 124.1, 121.9, 61.1, 38.0, 30.0, 21.3, 18.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 258 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 258.3289$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 258.3293$.

(*N*-(2-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)anilin (**22**). Kromatografija na stupcu silika-gela upotrebom PE/E kao eluensa (0 -100 %) dala je 109 mg (95 %) smjese izomera **22** (*cis*-**22** : *trans*-**22** = 7 : 3). Dvije uzastopne kolonske kromatografije na silika-gelu koristeći PE/E kao eluens (0-100 %) dale su čiste izomere *cis*-**22** i *trans*-**22**.

3. Eksperimentalni dio

2-(2-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1*H*-indol (**23**). Kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E kao eluensa (0-100 %) dobiveno je 119 mg (74 %) smjese izomera **23** (*cis*-**23** : *trans*-**23** = 3 : 7). Također, dvije uzastopne kolonske kromatografije na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-100 %) dale su čiste izomere *cis*-**23** i *trans*-**23**.



((*Z*)-*N*-(2-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)anilin (*cis*-**22**): 33 mg, 28 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (2 %)) = 0.27; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 287 (7885), 248 (14665); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.19 – 7.14 (m, 4H), 7.09 – 7.05 (m, 3H), 6.75 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.66 (AB_q, $J = 12.6$ Hz, 2H), 6.52 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 4.39 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.85 (s, 1H), 3.58 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.33 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.2, 144.1, 136.8, 134.1, 131.0, 128.9, 127.5, 121.7, 119.1, 117.8, 117.8, 112.4, 48.6, 43.2, 20.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 305 (100).

((*E*)-*N*-(2-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)anilin (*trans*-**22**): 15 mg, 14 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 75\text{--}76$ °C; R_f (DCM/E (2 %)) = 0.33; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 315 (10885, sh), 297 (20540, sh), 294 (23565), 225 (13785); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.53 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.25 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.16 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.01 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.76 (t, $J = 8.9$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 4.56 (t, $J = 5.7$ Hz, 2H), 3.70 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.54 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 143.4, 137.4, 130.3, 129.0, 128.9, 127.5, 126.2, 125.9, 120.4, 117.5, 115.1, 112.7, 48.8, 43.3, 20.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 305 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 305.1688$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 305.1689$.

(*Z*)-2-(2-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1*H*-indol (*cis*-**23**): 13 mg, 8 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (2 %)) = 0.13; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 270 (12890); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.98 (s, 1H), 7.46 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.23 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.13 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.96 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 6.83 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.61 (AB_q, $J = 11.8$ Hz, 2H), 4.51 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 3.29 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.30 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 136.7, 135.7, 134.1,

3. Eksperimentalni dio

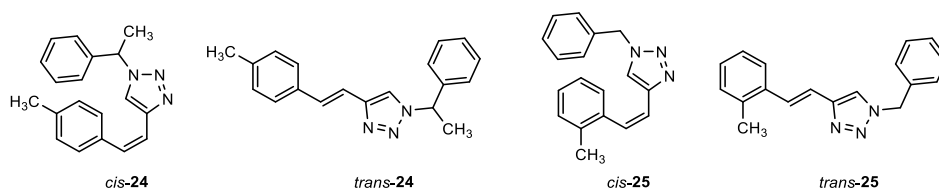
130.4, 128.7, 127.5, 125.3, 123.4, 122.5, 122.0, 121.9, 121.5, 119.2, 117.7, 115.1, 110.8, 50.1, 26.0, 20.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 329 (100).

(*E*)-2-(2-(4-(4-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1*H*-indol (*trans*-**23**): 8 mg, 5 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_i = 76-78$ °C; $R_f(\text{DCM/E (2 \%)}) = 0.20$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 270 (22890), 250 (7765); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.06 (s, 1H), 7.57 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.25-7.21 (m, 2H), 7.17 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.16 – 7.13 (m, 3H), 6.96 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 4.66 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H), 3.39 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.34 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.0, 137.8, 135.5, 133.5, 130.3, 129.8, 128.9, 126.3, 125.8, 122.3, 121.9, 120.3, 118.2, 115.4, 113.1, 110.7, 50.2, 26.1, 20.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 329 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_4$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 329.1690$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 329.1688$.

4-(4-(4-metilstiril)-1-(1-feniletil)-1*H*-1,2,3-triazol (**24**). Kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-70 %) dala je 43 mg (28 %) smjese izomera **24** (*cis*-**24** : *trans*-**24** = 3 : 2). Također, dvije uzastopne kromatografske kolone koristeći silika-gel i PE/E kao eluens (0-70 %) dale su čisti izomeri *cis*-**24** i *trans*-**24**.

1-benzil-4-(2-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (**25**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-70 %) dobiveno je 187 mg (68 %) smjese izomera spoja **25** (*cis*-**25** : *trans*-**25** = 2:1). Čisti izomeri dobiveni su ponovljenom kromatografijom na koloni upotrebom PE/E kao eluensa (0-70 %).



(*Z*)-4-(4-(4-metilstiril)-1-(1-feniletil)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**24**): 15 mg, 36 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E (60 \%)}) = 0.35$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 257 (13650); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.34 – 7.35 (m, 3H), 7.18 – 7.20 (m, 4H), 7.07 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.00 (s, 1H), 6.68 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 12.9$ Hz, 1H), 5.70 (k, $J = 7.2$ Hz, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.90 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144.4, 139.9, 137.3, 134.6, 131.3, 129.1, 128.9, 128.4, 128.1, 126.4, 120.6, 119.7, 60.0, 59.9, 21.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 290 (100).

(*E*)-4-(4-(4-metilstiril)-1-(1-feniletil)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**24**): 5 mg, 12 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_i = 77-79$ °C; $R_f(\text{PE/E (60 \%)}) = 0.32$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 289

3. Eksperimentalni dio

(21770); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.45 (s, 1H), 7.31 – 7.37 (m, 6H), 7.19 – 7.14 (m, 4H), 7.01 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 5.83 (k, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.01 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 290 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 290.1579, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 290.1583.

(*Z*)-1-benzil-4-(2-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**25**): 94 mg, 50 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (70 %)) = 0.49; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 242 (14771); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.37 – 7.31 (m, 3H), 7.17 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.10 – 7.09 (m, 2H), 7.07 – 7.04 (m, 1H), 6.81 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.32 (s, 2H), 2.16 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144.9, 137.3, 135.8, 134.6, 130.7, 130.3, 128.9, 128.5, 128.1, 127.8, 127.7, 125.9, 121.4, 121.0, 53.8, 19.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 276 (100, $\text{M}+\text{H}^+$).

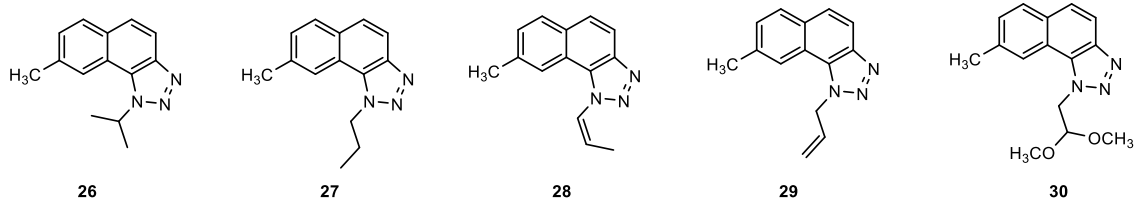
(*E*)-1-benzil-4-(2-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**25**): 55 mg, 29 % izoliranog spoja; žuti kristali, $T_f = 59\text{--}61$ °C; R_f (PE/E (70 %)) = 0.42; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 286 (22193); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.53 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.41 – 7.37 (m, 3H), 7.31 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 7.21 – 7.16 (m, 3H), 6.95 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 5.55 (s, 2H), 2.42 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 146.9, 135.9, 135.8, 134.7, 130.5, 129.2, 128.8, 128.5, 128.1, 127.8, 126.2, 125.3, 120.3, 117.8, 54.2, 19.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 276 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 276.1422, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 276.1426.

3.2.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 26-35

Smjesa izomera spojeva **16-25** otopljena je u toluenu p.a. ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i prebačena u kvarcnu kivetu (50 mL) uz dodatak katalitičke količine joda i osvjetljavana s 10 UV lampi na 313 nm u fotokemijskom reaktoru, Rayonetu 2-6 sati kako bi se postigla potpuna konverzija. Nakon uklanjanja otapala rotacijskim uparivačem pod sniženim tlakom, fotoprodukti **26-35** su pročišćeni kromatografijom na stupcu upotrebom DCM/E (20 %) kao eluensa i potpuno spektroskopski okarakterizirani NMR, UV/Vis i HRMS analizama.

3. Eksperimentalni dio



1-izopropil-8-metil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**26**): 11 mg, 52 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.45, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.13 (s, 1H), 7.94 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.91 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H_F), 7.47 (dd, $J = 8.5, 1.3$ Hz, 1H), 5.59 – 5.44 (m, 6H), 2.64 (s, 3H), 1.90 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.6, 137.0, 131.1, 129.5, 128.5, 126.0, 121.3, 120.5, 117.3, 53.4, 22.6, 22.2 i 1 singlet nije pronađen; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 226 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 226.1266, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 226.1267.

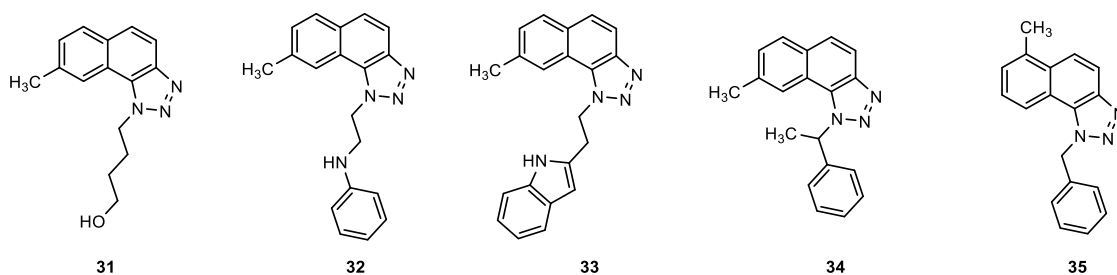
8-metil-1-propil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**27**): 50 mg, 83 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.34; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.03 (s, 1H), 7.92 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.66 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 5.01 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.63 (s, 3H), 2.16 – 2.11 (m, 2H), 1.08 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.3, 136.6, 130.6, 130.4, 128.9, 128.3, 125.4, 120.9, 119.8, 116.7, 51.7, 22.5, 21.7, 10.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 226 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 226.1266, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 226.1271.

(*Z*)-8-metil-1-(prop-1-en-1-il)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**28**): 55 mg, 79 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.28; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.22 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.33 – 6.28 (m, 1H), 5.74 – 5.67 (m, 1H), 2.59 (s, 3H), 1.98 (d, $J = 7.09$ Hz, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 224 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 224.1110, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 224.1112.

1-alil-8-metil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**29**): 46 mg, 74 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.29, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.02 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.25 – 6.17 (m, 1H), 5.67 – 5.65 (m, 2H), 5.34 (d, $J = 10.6$ Hz, 1H), 5.09 (d, $J = 17.6$ Hz, 1H), 2.63 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.2, 136.5, 130.8, 130.6, 128.7, 128.3, 125.6, 121.5, 119.4, 118.0, 116.6, 52.2, 21.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 224 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 224.1110, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 224.1112.

3. Eksperimentalni dio

1-(2,2-dimetoksietil)-8-metil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**30**): 17 mg, 85 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/E (40 %)) = 0.64, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.24 (s, 1H), 7.91 (t, 2H), 7.67 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 5.17 (d, $J = 5.5$ Hz, 2H), 5.00 (t, 1H), 3.42 (s, 6H), 2.62 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.5, 136.9, 131.3, 129.5, 120.3, 129.3, 128.9, 121.7, 117.1, 103.1, 55.0, 52.5, 40.1, 22.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 272 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 272.3313, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 272.3310.



4-(8-metil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)butan-1-ol (**31**): 7 mg, 90 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.42; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.28 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.99 (t, $J = 15.0$ Hz, 2H), 3.20 – 3.12 (m, 1H), 3.05 – 2.98 (m, 1H), 2.62 (s, 3H), 1.69 – 1.63 (m, 2H), 1.61 (s, 1H), 1.57 – 1.50 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 136.3, 134.8, 130.3, 128.5, 127.0, 123.8, 121.9, 120.5, 117.3, 60.4, 36.7, 30.1, 19.53, 19.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 256 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 256.7144, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 256.7140.

N-(2-(8-metil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)etil)anilin (**32**): 9 mg, 38 % izreagiranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.30, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.02 (s, 1H), 7.93 – 7.88 (m, 2H), 7.66 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.75 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 5.24 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 4.10 (s, 1H), 3.95 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H), 2.48 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 146.5, 144.2, 136.8, 130.7, 129.0, 128.9, 128.4, 125.7, 120.8, 119.6, 116.6, 112.4, 49.5, 42.9, 21.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 303 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 303.1532, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 303.1533.

3. Eksperimentalni dio

1-(2-(1*H*-indol-2-il)etil)-8-metil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**33**): 15 mg, 83 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.25, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.08 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 7.93 (d, $J = 9.9$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.49 – 7.42 (m, 2H), 7.37 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.24 – 7.17 (m, 2H), 6.97 (s, 1H), 5.31 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 3.56 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 2.63 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.2, 136.7, 135.8, 133.1, 130.5, 129.7, 128.9, 128.4, 128.2, 126.7, 125.5, 121.9, 120.7, 119.7, 119.3, 117.7, 116.7, 110.8, 50.1, 25.7, 21.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 327 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_4$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 327.9210, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 327.9206.

8-metil-1-(1-feniletel)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**34**): 15 mg, 90 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/E (60 %)) = 0.72, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.96 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.31 (t, 2H), 7.24 (dd, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.47 (k, $J = 6.9$ Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.32 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.9, 141.3, 136.7, 131.1, 129.1, 128.4, 127.9, 126.3, 126.2, 125.8, 122.3, 120.2, 117.2, 98.3, 61.2, 23.3, 21.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 288 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 288.4541, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 288.4537.

3-benzil-9-metil-3*H*-nafto[1,2-*d*]-1,2,3-triazol (**35**): 16 mg, 50 % izoliranog spoja; bijeli kristali, $T_f = 63\text{--}64$ °C; R_f (PE/E (70 %)) = 0.54; $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 333 (6300), 318 (4685), 258 (16759) $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.99 (dd, $J = 6.9, 2.4$ Hz, 1H), 7.93 – 7.41 (m, 2H), 7.39 – 7.29 (m, 3H), 7.14 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 6.28 (s, 2H), 2.75 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144.5, 135.9, 135.1, 131.9, 129.8, 129.1, 128.9, 128.2, 128.1, 126.6, 126.3, 122.4, 120.5, 117.8, 54.1, 20.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 274 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 274.1266, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 274.1268.

3.3. Sinteza ditriazolostilbena

3.3.1. Opće napomene

Korišten je PE vrelišta 40-60 °C. Otapala su prethodno pročišćena destilacijom. Kromatografija na stupcu je provedena sa silika-gelom (Fluka 0,063-0,2 nm i Fluka 60 Å, tehnička čistoća). TLC je proveden pomoću ploča obloženih silika-gelom (0,2 mm, 0,5 mm, 1,0 mm, Kieselgel 60

3. Eksperimentalni dio

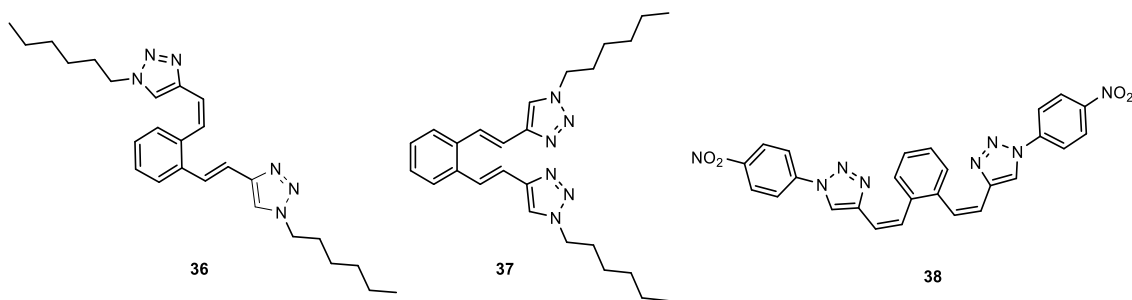
F₂₅₄). Organski slojevi su sušeni iznad bezvodnog MgSO₄ i upareni korištenjem rotacijskog uparivača. ¹H i ¹³C NMR spektri su snimljeni na spektrometru na 600 MHz. Svi NMR spektri snimljeni su u CDCl₃ koristeći TMS kao standard. Korištene su sljedeće kratice: PE – petroleter, E – dietileter, DCM – diklorometan. Maseni spektri dobiveni su na UPLC-MS sustavu. Točke taljenja dobivene su pomoću aparata opremljenog mikroskopom i nisu korigirane. HRMS analize provedene su masenim spektrometrom (MALDI TOF/TOF analizator) opremljenim Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom paljenja od 200 Hz u pozitivnom (H⁺) ili negativnom (H⁻) ionskom reflektoru. Eksperimenti osvjetljavanja otopina spojeva provedeni su u dobro zatvorenoj, kvarcnoj kiveti u fotokemijskim reaktorima (Rayonet i Luzchem) opremljenim UV lampama (300 nm). UV/Vis spektri su snimljeni korištenjem otapala spektroskopske kvalitete s UV/Vis spektrofotometrom u 96 %-tnom etanolu. Spojevi **36-42** nisu topljivi u *n*-heksanu. Stabilnost ovih spojeva u EtOH analizirana je tri puta kroz nekoliko sati prije svakog ispitivanja spektralnih promjena u vremenu. Nakon što je bilo jasno da nema promjena bez osvjetljavanja, izveli smo eksperimente osvjetljavanja prateći spektralne promjene čistih izomera spojeva **36-42** u vremenu. Sva mjerenja provedena su na kontroliranoj temperaturi od 25 °C. Za spojeve *cis,cis*-**37** i *trans,trans*-**41** serije emisijskih (fluorescencijskih) spektara prikupljene su uporabom spektrofluorimetra, ekscitacijom na različitim valnim duljinama, s korakom od 10 nm. Raspon ekscitacije/emisije bio je 250–350 nm/300–500 nm za oba spoja *cis,cis*-**37** i *trans,trans*-**41**. Optički slitovi na ekscitacijskom i emisijskom snopu fiksirani su na 5 nm, odnosno 5 nm. Polazni 4-formil-1,2,3-triazoli sintetizirani su u našem laboratoriju prema novom pristupu [257]. Difosfonijeva sol α' -*o*-ksilendibromid sintetizirana je u našem laboratoriju.

3.3.2. Sinteza ditriazolostilbena **36-42**

U miješanu otopinu difosfonijeve soli α' -*o*-ksilendibromida (1 ekv.) u apsolutnom etanolu (10 mL, 3 Å sita), dodan je odgovarajući aldehid (2,1 ekv.). Otopina natrijevog etoksida (2,1 ekv.) je dodana kap po kap, a reakcijska smjesa je miješana u atmosferi dušika 1 sat na sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa je zatim miješana preko noći na sobnoj temperaturi. Nakon uklanjanja otapala, ostatak se izlije u ledenu vodu i ekstrahira toluenom (5 x 10 mL). Organski slojevi su sušeni iznad bezvodnog MgSO₄. Isparavanje otapala pod sniženim tlakom dalo je sirovu smjesu geometrijskih izomera. Sirova reakcijska smjesa je pročišćena, a izomeri spojeva **36-42** odvojeni su uzastopnom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu upotrebom smjesa DCM/E (5-10 %) ili PE/E (50-70 %) kao eluensa ovisno o supstituentima.

3. Eksperimentalni dio

Prve frakcije su dale *cis,cis*-, a zadnje frakcije *trans,trans*-izomere ovisno o polaznim aldehidima.

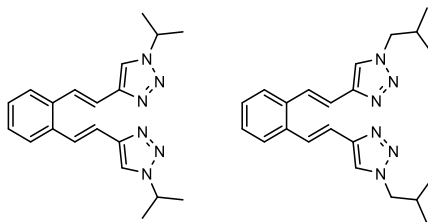


1-((*E*)-2-(1-heksil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)-2-((*Z*)-2-(1-heksil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*cis,trans*-**36**): 5 mg; žuti kristali, $T_f = 189-191$ °C; $R_f(\text{DCM}) = 0.40$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 301 (27500), 284 (31410); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.73 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H); 7.54 (s, 1H), 7.36 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H); 7.29 – 7.17 (m, 3H), 7.10 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 4.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H), 4.12 (t, $J = 7.2$ Hz, 4H), 1.94 – 1.88 (m, 4H), 1.71 – 1.65 (m, 4H), 0.84 (m, 10H).

1-((*E*)-2-(1-heksil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)-2-((*E*)-2-(1-heksil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*trans,trans*-**37**): 11.2 mg; žuti kristali, $T_f = 195-200$ °C; $R_f(\text{DCM}) = 0.40$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$): 305 (29261), 275 (41349); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.63 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.59 – 7.53 (m, 1H), 7.30 – 7.27 (m, 1H), 6.99 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 4.34 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 3.45 (dd, $J = 14.0, 7.2$ Hz, 2H), 1.96 – 1.84 (m, 2H), 1.34 – 1.29 (m, 4H), 1.20 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.2, 135.5, 128.1, 126.3, 125.5, 120.4, 119.5, 50.4, 31.2, 30.9, 30.4, 29.7, 14.0; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 433 (100).

1,2-bis((*Z*)-2-(1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*cis,cis*-**38**): 12 mg; žuti kristali, $T_f = 220-223$ °C; $R_f(\text{DCM}) = 0.60$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 285 (51810); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.32 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H), 7.80 (d, $J = 9.1$ Hz, 4H), 7.66 (s, 2H), 4.44 – 7.41 (m, 2H), 7.39 – 7.35 (m, 2H), 6.85 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H), 6.72 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 147.1, 145.6, 140.7, 136.7, 131.8, 129.2, 128.2, 125.4, 120.2, 119.8, 119.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 507 (100).

3. Eksperimentalni dio

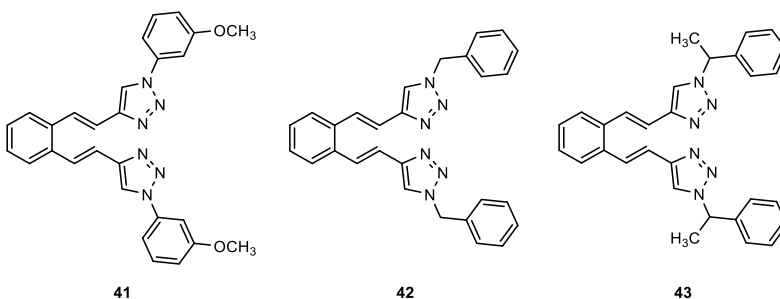


39

40

1,2-bis((*E*)-2-(1-izopropil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*trans,trans*-**39**): 8 mg; žuti kristali; $T_f = 150\text{--}154\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f(\text{DCM}) = 0.60$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 274 (39859); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.60 (s, 1H), 7.54 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.24 – 7.16 (m, 2H), 7.00 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 4.90 – 4.83 (m, 1H), 1.62 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 147.0, 136.3, 128.3, 127.9, 126.8, 121.1, 119.6, 56.9, 20.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 349 (100).

1,2-bis((*E*)-2-(1-izobutil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*trans,trans*-**40**): 9 mg; žuti kristali, $T_f = 167\text{--}170\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f(\text{DCM}) = 0.60$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 275 (40493); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.69 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.60 – 7.58 (m, 1H), 7.31 – 7.29 (m, 1H), 7.02 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 4.18 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.28 – 2.22 (m, 1H), 0.98 (d, $J = 6.2$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.2, 135.2, 128.1, 128.0, 126.4, 120.9, 119.5, 57.5, 29.7, 19.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 377 (100).



41

42

43

1,2-bis((*E*)-2-(1-(3-metoksifenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*trans,trans*-**41**): 13 mg; žuti kristali, $T_f = 245\text{--}247\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f(\text{DCM}) = 0.60$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 280 (50493); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.10 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.67 – 7.64 (m, 1H), 7.46 – 7.41 (m, 1H), 7.41 – 7.38 (s, 1H), 7.37 – 7.33 (m, 1H), 7.32 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 3.93 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.4, 137.4, 134.9, 130.1, 128.3, 127.7, 126.7, 126.1, 118.7, 114.2, 111.9, 105.7, 29.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 477 (100).

3. Eksperimentalni dio

1,2-bis((*E*)-2-(1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*trans,trans*-**42**): 7 mg; žuti kristali, $T_f = 230-233$ °C; $R_f(\text{DCM}) = 0.60$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 280 (41419); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.59 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.52 – 7.49 (m, 2H), 7.38 – 7.32 (m, 3H), 7.30 – 7.25 (m, 2H), 6.92 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.55 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.4, 135.6, 134.1, 130.1, 129.2, 128.2, 128.1, 126.4, 120.5, 119.4, 109.1, 30.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 445 (100).

1,2-bis((*E*)-2-(1-(1-feniletil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzen (*trans,trans*-**43**): 10 mg; žuti kristali, $T_f = 258-261$ °C; $R_f(\text{DCM}) = 0.60$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 278 (42419); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.61 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.55-7.53 (m, 2H), 7.40-7.36 (m, 3H), 7.35-7.33 (m, 1H), 7.32-7.29 (m, 2H), 6.96 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 5.87-5.81 (m, 1H), 2.01 (d, $J = 7.1$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 146.2, 139.5, 135.5, 129.1, 128.5, 128.0, 126.7, 126.5, 126.4, 126.3, 119.2, 60.3, 21.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 473 (100).

3.4. Sinteza i fotokemija arilnih i tiofenskih triazolostilbena

3.4.1. Opće napomene

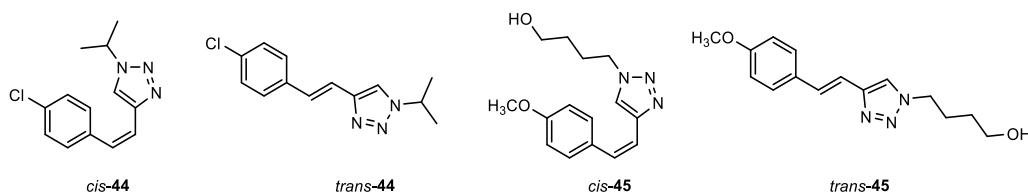
Sva korištena otapala bila su komercijalno dostupna i pročišćena su destilacijom. Za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcija korišten je bezvodni MgSO_4 . Kolonska kromatografija provedena je na kolonama sa silika-gelom (60 Å, tehnička čistoća). Provedena je tankoslojna kromatografija pomoću ploča obloženih silika-gelom (0,2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) za ^1H i ^{13}C jezgre zabilježeni su na sobnoj temperaturi na spektrometrima Bruker Avance 300 MHz i 600 MHz. Za snimanje NMR spektra korišten je deuterirani kloroform, CDCl_3 , s TMS kao standardom. Kratice korištene u ovom eksperimentalnom dijelu bile su: NMR – nuklearna magnetska rezonancija, UV – ultraljubičasta spektrofotometrija, PE – petroleter, E – dietileter i CH_3CN – acetonitril. UV spektri su snimljeni UV/Vis spektrofotometrom. Spektralne promjene tijekom ozračivanja zabilježene su u HPLC etanolu (EtOH) 96 % i *n*-heksanu. Prije ovih mjerenja, reakcijska smjesa je propuhana dušikom 15 minuta. Preparativne fotokemijske reakcije provedene su u zatvorenoj, kvarcnoj kiveti u dva fotokemijska reaktora, Rayonet i Luzchem, opremljena UV lampama od 313 nm. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

3.4.2. Sinteza polaznih spojeva 1,2,3-triazolo(hetero)stilbena 44-53

Polazni spojevi **44-53** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (osim u slučaju **50** i **51**, gdje su dobiveni samo *cis*-izomeri) sintetizirani su Wittigovom reakcijom. Reakcijske otopine su propuhane dušikom 15 minuta prije dodavanja reagensa. U trogloj tikvici s okruglim dnom (100 mL) otopina odgovarajuće fosfonijeve soli (11 mmol) otopljen je u 50 mL etanola (osušen *in situ* od 3 Å). Otopine natrijevih etoksida (11 mmol, 1,1 ekv. Na otopljenog u 10 mL etanolu) dodane su u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. 1,2,3-triazol aldehidi (11 mmol) dodani su izravno u miješanu otopinu. Reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju 24 sata na sobnoj temperaturi s balonom dušika. Nakon uklanjanja otapala, apsolutnog etanola, pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom, krute reakcijske smjese su ekstrahirane toluenom p.a. (3 x 25 mL). Organski slojevi su osušeni iznad bezvodnog MgSO₄. Produkti su izolirani ponovljenom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Prve frakcije su dale *cis*-, a zadnje frakcije *trans*-izomere.

4-(4-klorostiril)-1-izopropil-1*H*-1,2,3-triazol (**44**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-30 %) dobiveno je 70 mg (40 %) smjese izomera **44** (*cis*-**44** : *trans*-**44** = 2 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-30 %) dala je čisti *cis*-**44** u prvim frakcijama i *trans*-**44** u zadnjim frakcijama.

3-(4-(4-metoksistiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol (**45**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom E kao eluensa (100 %) dobiveno je 150 mg (67 %) smjese izomera **45** (*cis*-**45** : *trans*-**45** = 3 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu uz upotrebu E kao eluensa (100 %) dala je čisti *cis*-**45** u prvim frakcijama i *trans*-**45** u posljednjim frakcijama.



(*Z*)-4-(4-klorostiril)-1-izopropil-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**44**): 16 mg, 23 % izoliranog spoja; žuto ulje; *R_f* (PE/E (40 %)) = 0.37; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7.37 – 7.30 (m, 4H), 7.10 (s, 1H), 6.70 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 12.3 Hz, 1H), 4.74 – 4.66 (m, 1H), 1.49 (d, *J* = 6.8 Hz, 6H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm: 143.8, 136.1, 133.3, 129.8, 129.6, 128.8, 120.7, 119.2, 52.9, 22.6; MS (ESI) (*m/z*) (% fragment): 248 (100).

3. Eksperimentalni dio

(*E*)-4-(4-klorstiril)-1-izopropil-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**44**): 10 mg, 14 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 142-145$ °C; $R_f(\text{PE/E (40 \%)}) = 0.32$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.59 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.35 – 7.21 (m, 3H), 7.06 (d, $J = 16.4$ Hz, 1H), 4.91 – 4.77 (m, 1H), 1.62 (s, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145.7, 135.4, 133.5, 128.9, 127.5, 117.9, 117.6, 53.0, 23.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 248 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{ClN}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 248.0876$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 248.0882$.

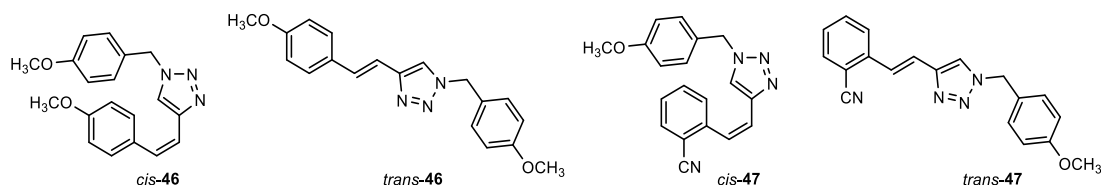
(*Z*)-3-(4-(4-metoksistiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol (*cis*-**45**): 30 mg, 51 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{E}) = 0.36$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.44 – 7.23 (m, 4H), 7.17 (s, 1H), 6.87 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.38 (m, 2H), 3.83 (m, 3H), 3.59 (m, 2H), 2.27 (m, 2H), 2.11 – 1.96 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.1, 144.6, 133.2, 132.1, 131.9, 129.6, 128.5, 113.9, 58.8, 55.3, 46.8, 32.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 260 (100).

(*E*)-3-(4-(4-metoksistiril)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)propan-1-ol (*trans*-**45**): 10 mg, 17 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 173-175$ °C; $R_f(\text{E}) = 0.32$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.59 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.30 – 7.18 (m, 2H), 7.02 – 6.81 (m, 3H), 4.53 (t, $J = 6.7$ Hz, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.77 – 3.63 (m, 3H), 2.16 (k, $J = 6.3$ Hz, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.6, 146.6, 131.2, 130.3, 127.8, 120.4, 114.7, 114.2, 58.9, 55.4, 46.9, 32.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 260 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 260.1321$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 260.1328$.

1-(4-metoksibenzil)-4-(4-(metoksistiril)-1*H*-1,2,3-triazol (**46**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-80 %) dobiveno je 60 mg (30 %) smjese izomera **46** (*cis*-**46** : *trans*-**46** = 3 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-80 %) dala je čisti *cis*-**46** u prvim frakcijama i *trans*-**46** u zadnjim frakcijama.

2-(2-(1-(4-metoksibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzoni-tril (**47**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-80 %) dobiveno je 180 mg (82 %) smjese izomera **47** (*cis*-**47** : *trans*-**47** = 1 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-80 %) dala je čiste izomere *cis*-**47** u prvim frakcijama i *trans*-**47** u posljednjim frakcijama.

3. Eksperimentalni dio



(*Z*)-1-(4-metoksibenzil)-4-(4-(metoksistiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**46**): 40 mg, 72 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (80 %)) = 0.68; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.28 – 7.19 (m, 2H), 7.13 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.02 (s, 1H), 6.85 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.79 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.60 (d, J = 2.6 Hz, 2H), 5.34 (s, 2H), 3.80 (d, J = 1.8 Hz, 3H), 3.78 (d, J = 1.8 Hz, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 134.0, 131.1, 129.6, 129.4, 127.7, 126.7, 121.3, 119.0, 114.5, 114.4, 114.0, 113.9, 55.3, 55.2, 53.5; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 322 (100).

(*E*)-1-(4-metoksibenzil)-4-(4-(metoksistiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**46**): 87 mg, 34 % izoliranog spoja; bijeli prah, T_i = 158-160 °C; R_f (DCM/E (10 %)) = 0.40; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.40 (d, J = 8.0 Hz, 4H), 7.20 (d, J = 16.9 Hz, 1H), 6.97 – 6.83 (m, 5H), 5.46 (s, 2H), 3.82 (d, J = 1.1 Hz, 3H), 3.80 (d, J = 1.1 Hz, 3H); MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 322 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 322.1477, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 322.1486.

(*Z*)-2-(2-(1-(4-metoksibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzoni-tril (*cis*-**47**): 108 mg, 62 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/E (90 %)) = 0.70; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.65 (dd, J = 7.6, 1.5 Hz, 2H), 7.61 – 7.56 (m, 1H), 7.48 – 7.40 (m, 1H), 7.35 (dd, J = 7.6, 1.3 Hz, 1H), 7.16 – 7.08 (m, 2H), 6.92 – 6.75 (m, 4H), 5.35 (s, 2H), 3.80 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 159.9, 143.8, 141.2, 132.9, 132.4, 129.5, 129.4, 127.9, 126.8, 126.4, 123.1, 121.9, 117.6, 114.4, 112.2, 55.3, 55.6; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 317 (100).

(*E*)-2-(2-(1-(4-metoksibenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)benzoni-tril (*trans*-**47**): 6 mg, 5 % izoliranog spoja; bijeli prah, T_i = 162-164 °C; R_f (PE/E (90 %)) = 0.69; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.73 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 7.69 – 7.52 (m, 4H), 7.48 – 7.40 (m, 1H), 7.40 – 7.28 (m, 1H), 7.12 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.99 – 6.73 (m, 2H), 5.49 (s, 2H), 3.82 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 145.9, 140.1, 133.2, 133.1, 129.9, 129.5, 126.8, 125.8, 125.5, 121.9, 117.9, 114.6, 55.4, 53.9; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 317 (100);

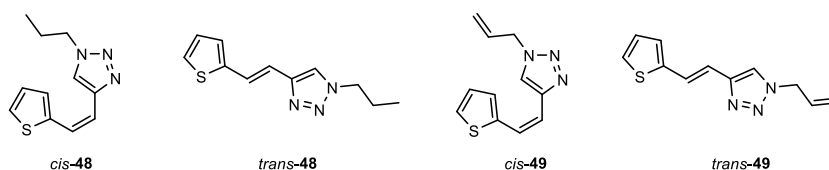
HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 317.1324, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 317.1326.

1-propil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**48**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-80 %) dobiveno je 180 mg (80 %) smjese izomera

3. Eksperimentalni dio

48 (*cis*-**48** : *trans*-**48** = 2 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-80 %) dala je čisti izomer *cis*-**48** u prvim frakcijama, a dva puta ponovljena TLC kromatografija dala je čisti *trans*-**48** u zadnjim frakcijama.

1-alil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**49**): kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-60 %) dala je 93 mg (38 %) smjese izomera **49** (*cis*-**49** : *trans*-**49** = 2 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE/E kao eluensa (0-60 %) također, budući da je TLC kromatografija dala čiste izomere *cis*-**49** u prvim frakcijama i *trans*-**49** u posljednjim frakcijama.



(*Z*)-1-propil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**48**): 110 mg, 48 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/E (40 %)) = 0.34; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 296 (16418), 310 (14455, sh); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.53 (s, 1H), 7.25 (d, $J=4.7$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J=3.7$ Hz, 1H), 6.99 (dd, 1H, $J=4.9, 3.4$ Hz), 6.70 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 4.27 (t, $J=14.2$ Hz, 3H), 1.93 – 1.87 (m, 2H), 0.94 (t, $J=14.6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 143.8, 139.5, 128.5, 127.4, 126.0, 123.8, 122.1, 118.3, 51.9, 23.74, 11.1; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 220 (100).

(*E*)-1-propil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**48**): 20 mg, 10 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_i = 94-95$ °C; R_f (PE/E (40 %)) = 0.29; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 314 (30210); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.51 (s, 1H), 7.44 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 7.30 – 7.16 (m, 2H), 7.07 (d, $J=3.5$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J=5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J=16.2$ Hz, 1H), 4.33 (t, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.95 (m, $J=7.3$ Hz, 2H), 0.98 (t, $J=7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145.2, 141.1, 127.1, 125.9, 124.2, 123.1, 119.6, 115.7, 51.4, 23.2, 10.6; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 220 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 220.0830, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 220.0835.

(*Z*)-1-alil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**49**): 31 mg, 69 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (60 %)) = 0.28; UV (EtOH) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 296 (15189); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.57 (s, 1H), 7.30 – 7.20 (m, 2H), 7.01 (dd, $J=5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 6.55 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 6.08 – 5.95 (m, 1H), 5.41 – 5.21 (m, 2H),

3. Eksperimentalni dio

4.96 (dt, $J = 6.1, 1.4$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.0, 139.4, 131.5, 128.6, 127.1, 126.1, 124.0, 122.1, 120.0, 117.9, 52.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 218 (100).

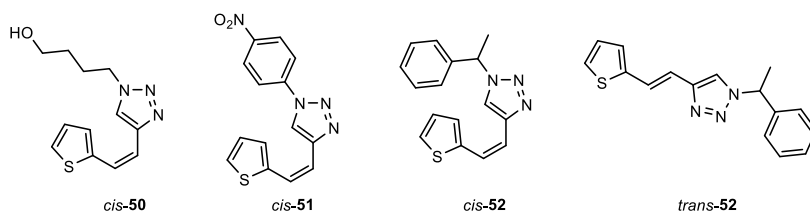
(*E*)-1-alil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**49**): 5 mg, 11 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 102\text{--}103$ °C; R_f (PE/E (60 %)) = 0.26; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 313 (28150); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.53 (s, 1H), 7.46 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.04 (ddt, $J = 16.6, 10.2, 6.2$ Hz, 1H), 5.41 – 5.33 (m, 2H), 4.99 (dt, $J = 6.1, 1.5$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145.6, 141.7, 130.8, 127.1, 126.2, 124.3, 123.3, 119.7, 119.6, 115.8, 52.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 218 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 218.0674, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 218.0680.

4-(4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (**50**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-60 %) dobiveno je 105 mg (57 %) smjese *cis*-izomera **50** i aldehida u istim frakcijama. Aldehid i *cis*-**50** izomer imali su gotovo istu R_f vrijednost. Ponovljenom kromatografijom na koloni dobiven je čisti *cis*-**50**.

1-(4-nitrofenil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**51**). Kromatografija na stupcu silika-gela upotrebom E kao eluensa (100 %) dala je 85 mg (40 %) *cis*-**51**.

1-(1-feniletil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**52**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom E kao eluensa (100 %) dobiveno je 88 mg (32 %) smjese izomera **52** (*cis*-**52** : *trans*-**52** = 2 : 1). Ponovljena kolonska kromatografija i TLC kromatografija također su dale smjesu izomera.



(*Z*)-4-(4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (*cis*-**50**): 20 mg, 30 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (30 %)) = 0.31; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 301 (26327); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.47 (s, 1H), 7.16 – 7.09 (m, 1H), 6.98 – 6.82 (m, 2H), 6.72 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 4.45 – 4.32 (m, 2H), 4.17 – 4.02 (m, 2H), 2.95 – 2.75 (m, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 147.3, 143.1, 128.6, 127.1, 126.6, 125.9, 124.3, 123.9, 61.4, 60.7, 45.2, 44.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 250 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 249.0936, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 249.0548.

3. Eksperimentalni dio

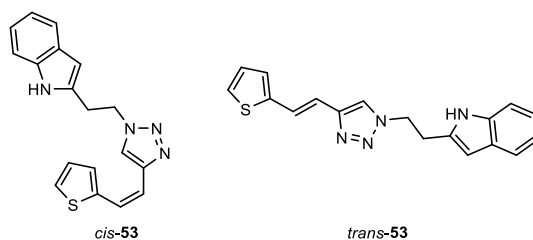
(*Z*)-1-(4-nitrofenil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**51**): 80 mg, 94 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 137-140$ °C; $R_f(\text{PE/E } (90\%)) = 0.79$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 293 (15807); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.43 – 8.38 (m, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.96 – 7.92 (m, 2H), 7.33 (dd, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.06 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 147.2, 145.3, 141.0, 138.9, 129.2, 127.3, 126.6, 125.6, 125.6, 120.4, 119.8, 116.7; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 299 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 299.0524, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 299.0533.

(*Z*)-1-(1-feniletil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**52**): 75 mg, 45 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E } (95\%)) = 0.65$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.47 (s, 1H), 7.45 – 7.24 (m, 5H), 7.19 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.01 – 6.93 (m, 1H), 6.70 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 5.86 – 5.76 (m, 1H), 2.00 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H); MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 282 (100).

(*E*)-1-(1-feniletil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**52**): 80 mg, 55 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 134-138$ °C; $R_f(\text{PE/E } (5\%)) = 0.65$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.41 (s, 1H), 7.45 – 7.24 (m, 4H), 7.23 – 7.19 (m, 2H), 7.19 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.01 – 6.93 (m, 1H), 6.85 (d, $J = 17.4$ Hz, 1H), 5.86 – 5.76 (m, 1H), 2.00 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H); MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 282 (100); MS (ESI) (m/z) (%), fragment):

HRMS (m/z) za $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 282.0987, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 282.0994.

2-(2-(4-(2-tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil-1*H*-indol (**53**). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom E kao eluensa (100 %) dobiveno je 80 mg (63 %) smjese izomera **53** (*cis*-**53** : *trans*-**53** = 1 : 1). Dvije uzastopne kromatografije na stupcu silika-gela korištenjem E kao eluensa (100 %) dale su čiste izomere *cis*-**53** u prvim frakcijama i *trans*-**53** u posljednjim frakcijama.



(*Z*)-2-(2-(4-(2-tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil-1*H*-indol (*cis*-**53**): 20 mg, 23 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{E}) = 0.51$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 307 (25749);

3. Eksperimentalni dio

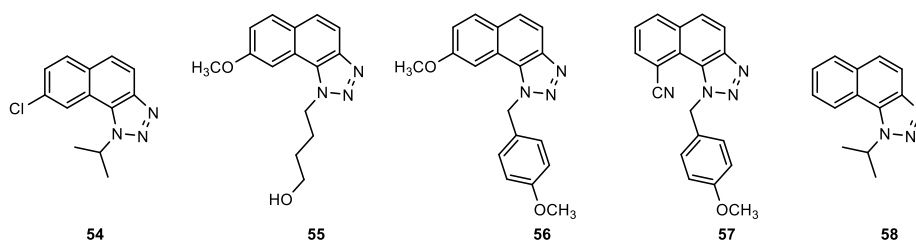
^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.03 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.45 – 7.32 (m, 2H), 7.31 – 7.09 (m, 4H), 7.08 – 6.94 (m, 2H), 6.90 – 6.74 (m, 2H), 4.66 (t, $J = 6.9$ Hz, 2H), 3.38 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.3, 142.2, 139.4, 136.4, 127.6, 126.8, 126.4, 124.6, 123.5, 122.5, 120.8, 119.8, 118.3, 116.2, 111.7, 111.4, 50.6, 26.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 321 (100).

(*E*)-2-(2-(4-(2-tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)etil-1*H*-indol (*trans*-**53**): 10 mg, 13 % izoliranog spoja; žuti prah, $T_f = 148$ -150 °C; $R_f(\text{E}) = 0.56$; UV (EtOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 315 (28251); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.05 (s, 1H), 7.54 (dk, $J = 8.0, 0.9$ Hz, 1H), 7.42 – 7.37 (m, 1H), 7.28 – 7.20 (m, 2H), 7.17 – 7.11 (m, 2H), 7.00 (dt, $J = 3.6, 1.1$ Hz, 1H), 6.89 – 6.83 (m, 2H), 6.63 (dd, $J = 12.3, 1.0$ Hz, 1H), 6.51 – 6.44 (m, 1H), 4.65 – 4.62 (m, $J = 6.8$ Hz, 2H), 3.41 – 3.33 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.4, 142.2, 139.4, 136.3, 128.3, 127.6, 126.9, 126.8, 126.4, 125.8, 123.4, 122.7, 122.4, 119.8, 118.2, 111.4, 50.5, 26.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 321 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 321.1096$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 321.1102$.

3.4.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 54-62

Smjesa izomera spojeva **54-62** otopljena je u toluenu p.a. ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i prebačena u kvarcnu kivetu (50 mL) uz dodatak katalitičke količine joda i osvjetljavana s 10 UV lampi na 313 nm u fotokemijskom reaktoru Rayonet 2-6 sati da se postigne gotovo potpuna konverzija. Nakon uklanjanja otapala pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom, fotoprodutki **54-62** pročišćeni su kromatografijom na stupcu upotrebom PE/E (30 %) kao eluensa iz reakcijskih smjesa u prvim frakcijama i potpuno su spektroskopski okarakterizirani NMR i HRMS analizama. Dva polazna triazolostilbena **50** i **52** nisu reagirala u odgovarajuće elektrocikličke fotoprodukte. Dodatno, naftotriazol **58** je nusprodukt dehalogeniranja u osvjetljavanju spoja **44** tijekom formiranja ciljanog fotoprodukta **54**.



7-klor-1-izopropil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**54**): 13 mg, 52 % izoliranog spoja; smeđe ulje; $R_f(\text{PE/E (40 \%)}) = 0.61$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.31 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H),

3. Eksperimentalni dio

8.02 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.60 (dd, $J = 8.6$, 2.0 Hz, 1H), 5.45 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 1.90 (d, $J = 6.7$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.9, 133.1, 131.4, 131.1, 127.9, 127.3, 125.7, 121.2, 121.0, 118.7, 53.5, 22.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 246 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClN}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 246.0720$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 246.0725$.

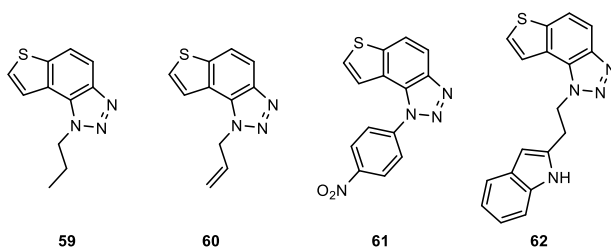
3-(7-metoksi-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)propan-1-ol (**55**): 6 mg, 20 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{E}) = 0.55$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.94 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.89 – 7.78 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.35 – 7.23 (m, 1H), 5.22 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 4.01 (s, 3H), 3.77 (d, $J = 5.1$ Hz, 2H), 2.35 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 1.88 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.8, 144.9, 131.0, 128.8, 127.7, 126.0, 121.1, 117.0, 115.5, 103.5, 58.9, 55.7, 47.4, 32.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 258 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 258.1164$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 258.1171$.

7-metoksi-1-(4-metoksibenzil)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**56**): 9 mg, 60 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{E}) = 0.85$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.88 (dd, $J = 9.0$, 6.2 Hz, 2H), 7.64 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.19 (dd, $J = 8.9$, 2.5 Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.89 – 6.80 (m, 2H), 6.21 (s, 2H), 3.76 (d, $J = 4.0$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.6, 158.5, 130.7, 129.1, 127.8, 127.5, 127.2, 126.1, 120.9, 119.5, 117.6, 115.6, 114.6, 103.5, 55.5, 55.4, 53.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 320 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 320.1321$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 320.1322$.

1-(4-metoksibenzil)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol-7-karbonitril (**57**): 12 mg, 40 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E } (90\%)) = 0.85$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.06 (dt, $J = 8.2$, 1.0 Hz, 1H), 8.17 (dd, $J = 9.1$, 0.8 Hz, 1H), 8.00 (dd, $J = 7.3$, 1.2 Hz, 1H), 7.80 (dd, $J = 8.3$, 7.3 Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.30 – 7.23 (m, 2H), 6.91 – 6.85 (m, 2H), 5.89 (s, 2H), 3.78 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 315 (100), 248 (90), 121 (90); HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 315.1168$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 315.1171$.

1-izopropil-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**58**): 2 mg, 8 % izoliranog spoja; smeđe ulje; $R_f(\text{PE/E } (40\%)) = 0.35$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.35 – 7.23 (m, 4H), 6.66 (d, $J = 15.2$ Hz, 2H), 4.70 (d, $J = 6.8$ Hz, 1H), 1.49 (d, $J = 6.8$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 143.8, 136.1, 133.4, 129.7, 129.5, 128.7, 120.7, 119.3, 52.90, 22.9, 1 singlet i 1 dublet nisu pronađeni; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 212 (100).

3. Eksperimentalni dio



1-propil-1*H*-tieno[3',2':3,4]-benzo[1,2-*d*]1,2,3-triazol (**59**): 13 mg, 65 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (80 %)) = 0.65; UV (EtOH) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 249 (22082); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.97 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.80 (dd, $J = 8.9, 0.8$ Hz, 1H), 7.76 – 7.64 (m, 2H), 4.90 – 4.79 (m, 2H), 2.10 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 1.04 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 144.4, 139.8, 128.6, 127.9, 122.7, 119.8, 118.9, 116.1, 51.2, 23.5, 11.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 218 (100); HRMS (m/z) za $C_{11}H_{11}N_3S$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 218.0674, $[M+H]^+$ izmjereno = 218.0680.

1-alil-1*H*-tieno[3',2':3,4]-benzo[1,2-*d*]1,2,3-triazol (**60**): 12 mg, 51 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (60 %)) = 0.31; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.99 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.82 (dd, $J = 8.9, 0.8$ Hz, 1H), 7.71 (dd, $J = 5.5, 0.8$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 6.16 (ddt, $J = 17.2, 10.3, 5.1$ Hz, 1H), 5.55 (dt, $J = 5.1, 1.8$ Hz, 2H), 5.34 – 5.31 (m, 1H), 5.13 (dtd, $J = 17.2, 1.8, 0.7$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 144.4, 140.1, 131.5, 128.8, 127.7, 122.6, 120.5, 119.2, 118.6, 116.0, 51.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 216 (100); HRMS (m/z) za $C_{11}H_9N_3S$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 216.0517, $[M+H]^+$ izmjereno = 216.0523.

1-(4-nitrofenil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]-benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**61**): 19 mg, 23 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (E) = 0.65; UV (EtOH) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 297 (13388); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 8.56 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 8.43 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J = 5.5, 0.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 147.9, 147.2, 144.7, 142.1, 141.6, 128.4, 127.8, 127.4, 125.8, 125.6, 125.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 297 (100); HRMS (m/z) za $C_{14}H_8N_4O_2S$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 297.0368, $[M+H]^+$ izmjereno = 297.0376.

1-(2-(1*H*-indol-2-il)etil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]-benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**62**): 7 mg, 70 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (E) = 0.51; UV (EtOH) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 223 (37165); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 8.00 (s, 1H), 7.97 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.79 (dd, $J = 8.9, 0.8$ Hz, 1H), 7.64 – 7.54 (m, 3H), 7.35 (dt, $J = 8.1, 0.9$ Hz, 1H), 7.24 – 7.21 (m, 1H), 7.16 –

7.13 (m, 1H), 6.93 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 5.23 – 5.17 (m, 2H), 3.55 – 3.51 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.3, 139.7, 136.3, 128.7, 127.6, 127.1, 122.7, 122.3, 119.8, 119.6, 118.8, 118.2, 116.1, 111.5, 111.3, 50.2, 26.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 319 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 319.0939, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 319.0948.

3.5. Sinteza i fotokemija tieno-triazolostilbena

3.5.1. Opće napomene

Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) za ^1H i ^{13}C jezgre zabilježeni su na sobnoj temperaturi na spektrometrima Bruker Avance 300 i 600 MHz. Za snimanje NMR spektra korišten je deuterirani kloroform, CDCl_3 s TMS kao standardom. Sva korištena otapala su komercijalno dostupna i pročišćena destilacijom. Bezvodni MgSO_4 , korišten je za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcije. Kolonska kromatografija provedena je na kolonama sa silika-gelom (60 Å, tehnička čistoća) i sustavom Biotage Isolera koji je koristio kolonu silika-gela (Interchimthe Si-HC puriFlash, 50 μ) uz korištenje odgovarajućeg sustava otapala. Kratice korištene u ovom eksperimentalnom postupku bile su NMR – nuklearna magnetska rezonancija, Ci-heks – cikloheksan, EtOAc – etil acetat, PE – petroleter, E – dietileter, EtOH – etanol, MeOH – metanol, DCM – diklormetan. Preparativne fotokemijske reakcije provedene su u zatvorenoj, kvarcnoj kivetu u fotokemijskom reaktoru Rayonet opremljenom UV lampama od 313 nm. HRMS analize provedene su masenim spektrometrom (MALDI TOF/TOF analizator) opremljenim Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom paljenja od 200 Hz u pozitivnom (H^+) ili negativnom (H^-) ionskom reflektoru. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod smanjenim tlakom.

3.5.2. Sinteza polaznih tieno-triazolnih stilbena 63a-66a, 80a-86a

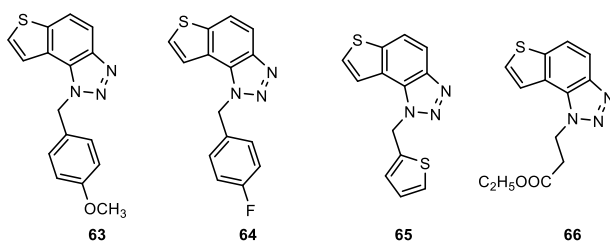
Polazni spojevi **63a-66a**, **80a-86a** dobiveni su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera heterostilbena sintetiziranih Wittigovom reakcijom. Reakcijska aparatura je propuhana dušikom 15 minuta prije dodavanja reagensa. U troglrim tikvicama s okruglim dnom (100 mL) otopljene su otopine 2-tienil-fosfonijeve soli (11 mmol) u 50 mL apsolutnog EtOH (osušenog na 3 Å situ). Otopine natrijevog etoksida (11 mmol, 1,1 ekv. Na otopljenog u 10 mL apsolutnog etanola) dodane su u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. Različiti triazolni aldehidi (11 mmol) dodani su izravno u miješane otopine. Reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju

3. Eksperimentalni dio

24 sata na sobnoj temperaturi s balonom dušika. Nakon uklanjanja otapala rotacijskim uparivačem pod sniženim tlakom, krute reakcijske smjese su ekstrahirane toluenom p.a. (3×25 mL). Organski slojevi su osušeni iznad bezvodnog MgSO_4 . Konačni produkti kao smjese *cis*- i *trans*-izomera **63a-66a**, **80a-86a** izolirani su kromatografijom na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa i potvrđeni ^1H NMR spektroskopijom i HRMS analizama.

3.5.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata **63-66**, **80-86**

Smjese prethodno sintetiziranih spojeva **63a-66a** otopljene su u toluenu p.a. ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M), prebačene u kvarcnu kivetu (50 mL) uz dodatak katalitičke količine joda i osvjetljavane preko 10 UV lampi na 313 nm u fotokemijskom reaktoru Rayonet 3-5 h da se postignu gotovo potpune konverzije. Nakon uklanjanja otapala rotacijskim uparivačem pod sniženim tlakom, fotoprodukti **63-66** pročišćeni su kromatografijom na stupcu upotrebom PE/E (10 %) kao eluensa, te dobiveni u prvim frakcijama.



1-(4-metoksibenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**63**): 7 mg, 55 % izoliranog spoja; smeđe ulje; $R_f(\text{PE/E (10 \%)}) = 0.53$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.99 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.57 – 7.52 (m, 2H), 7.15 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.06 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 159.5, 144.7, 139.9, 128.6, 127.9, 127.7, 127.1, 122.7, 120.3, 119.2, 116.1, 114.5, 55.3, 52.6; HRMS (m/z) za $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 295.0779$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 295.0774$.

1-(4-fluorbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**64**): 30 mg, 59 % izoliranog spoja; smeđe ulje; $R_f(\text{PE/E (10 \%)}) = 0.27$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 8.00 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.21 – 7.16 (m, 2H), 7.01 (t, $J = 8.9$ Hz, 2H), 6.09 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 162.6, 144.7, 140.2, 130.9, 128.6, 128.4, 127.9, 122.6, 119.9, 119.3, 116.2, 116.1, 52.4; HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{FN}_3\text{S}$: $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 283.0580$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 283.0575$.

3. Eksperimentalni dio

1-(tiofen-2-il-metil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**65**): 23 mg, 50 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.32; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.99 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.69 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.24 (dd, J = 4.9, 1.2 Hz, 1H), 7.02 – 7.01 (m, 1H), 6.93 (dd, J = 5.0, 3.6 Hz, 1H), 6.27 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.6, 140.2, 137.3, 128.3, 127.8, 127.3, 126.5, 126.1, 122.6, 120.1, 119.3, 116.1, 48.4; HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_3\text{S}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 271.0238, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 271.0236.

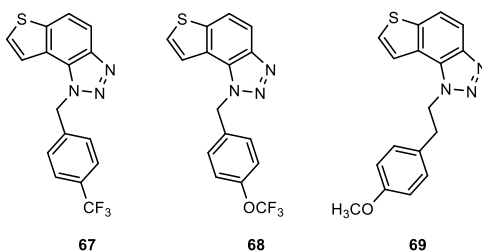
etil-3-(1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)propanoat (**66**): 57 mg, 63 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/EtOAc (20 %)) = 0.65; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.95 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.89 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 5.21 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 4.18 (k, J = 7.2 Hz, 2H), 3.19 (t, J = 8.2 Hz, 2H), 1.23 (t, J = 7.1 Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 150.3, 128.1, 119.7, 119.2, 116.1, 61.2, 45.1, 34.5, 14.3, tri singleta se ne vide; HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{S}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 275.0728, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 275.0727.

3.5.4. Sinteza tieno-benzotriazola 67-79

Kupovna kemikalija 4-keto-4,5,6,7-tetrahidrotianften (1 ekv.) je otopljena u toluenu. Dodani su 1-azido-4-nitro-benzen (1 ekv.), amini (1,4 ekv.), octena kiselina (0,3 ekv.) i 4 Å molekulska sita i reakcijske smjese su miješane na 100 °C preko noći. Reakcijske smjese su ohlađene na sobnu temperaturu i otapala su uklonjena pomoću rotacijskog isparivača pod sniženim tlakom. Uljasti produkti ekstrahirani su EtOAc i vodom. Organski slojevi su osušeni iznad natrijevog sulfata, Na_2SO_4 filtrirani i upareni do suhoće da se dobiju sirovi produkti **73-79**. 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon (1,2 ekv.) dodan je u otopinu benzotriazola (1 ekv.) u dioksanu. Reakcijske smjese su miješane na 70 °C. Nakon 24 h, reakcijske smjese su ohlađene na sobnu temperaturu i ekstrahirane EtOAc i 1M KOH. Organski slojevi su osušeni preko Na_2SO_4 , filtrirani i upareni do suhoće da se dobiju sirovi produkti **67-72**.

Sirovi produkti su pročišćeni sustavom koji koristi kolone silicijevog dioksida (Interchim Si-HC puriFlash, 50 μ) korištenjem odgovarajućeg sustava otapala. Odgovarajuće frakcije su spojene i uparene pod sniženim tlakom da se dobiju konačni produkti.

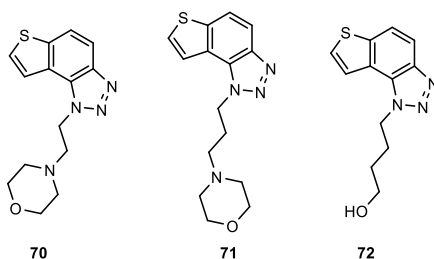
3. Eksperimentalni dio



1-(4-(trifluorometil)benzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**67**): 71 mg, 46 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (*Ci*-heks/*EtOAc* (50 %)) = 0.47; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.04 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.86 (dd, $J = 8.9, 0.8$ Hz, 1H), 7.61 – 7.60 (m, 3H), 7.46 (dd, $J = 5.6, 0.8$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 6.21 (s, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.9, 140.5, 139.3, 130.8, 128.8, 128.4, 127.1, 126.4, 122.6, 119.8, 119.7, 116.4, 52.7, karakteristični CF_3 signal se ne vidi uslijed nedovoljnog broja skenova prilikom snimanja; HRMS (m/z) za $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{N}_3\text{S}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 333.0548, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 333.0542.

1-(4-(trifluorometoksi)benzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**68**): 98 mg, 59 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (*Ci*-heks/*EtOAc* (50 %)) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.03 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.15 (s, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 149.3, 144.8, 140.4, 134.0, 128.8, 128.3, 128.3, 127.7, 119.9, 119.6, 116.3, 52.4, karakteristični CF_3 signal se ne vidi uslijed nedovoljnog broja skenova prilikom snimanja; HRMS (m/z) za $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{N}_3\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 349.0497, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 349.0489.

1-(4-metoksifenetil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**69**): 106 mg, 56 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (*Ci*-heks/*EtOAc* (50 %)) = 0.43; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.99 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.11 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.33 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.7, 144.3, 139.9, 129.7, 128.9, 127.8, 122.5, 119.4, 118.9, 116.2, 114.2, 101.7, 55.3, 51.1, 35.7; HRMS (m/z) za $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 309.0936, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 309.0928.

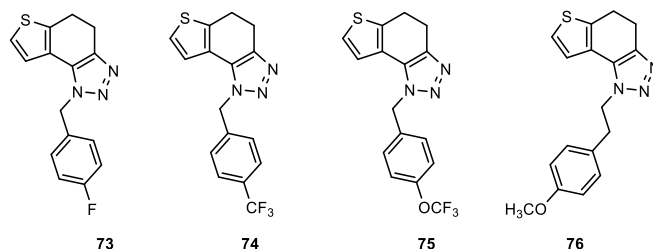


3. Eksperimentalni dio

4-(2-(1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)etil)morfolin (**70**): 54 mg, 20 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.64; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.99 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.84 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.82 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 5.06 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.68 (t, J = 4.4 Hz, 4H), 3.03 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 2.58 (t, J = 4.6 Hz, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.5, 140.2, 128.8, 128.2, 122.8, 119.8, 119.2, 116.4, 66.9, 57.8, 53.9, 47.7; HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 288.1045, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 288.1040.

4-(3-(1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)propil)morfolin (**71**): 50 mg, 33 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.68; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.99 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 5.03 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.66 (t, J = 4.1 Hz, 4H), 2.44 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 2.40 (s, 4H), 2.28 – 2.24 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.4, 140.1, 128.9, 127.9, 122.9, 120.1, 119.2, 116.3, 67.1, 55.6, 53.8, 47.8, 27.2; HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 302.1201, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 302.1199.

4-(1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)butan-1-ol (**72**): 34 mg, 63 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.51; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.98 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 4.99 (t, J = 7.1 Hz, 2H), 3.75 (t, J = 5.7 Hz, 2H), 2.23 – 2.19 (m, 2H), 1.73 – 1.69 (m, 2H), 1.67 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.6, 140.0, 128.7, 128.2, 122.9, 119.9, 119.2, 116.2, 62.2, 49.6, 29.5, 26.8; HRMS (m/z) za $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 247.0779, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 247.0776.



1-(4-fluorbenzil)-4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**73**): 159 mg, 28 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/EtOAc (20 %)) = 0.50; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.21 – 7.19 (m, 2H), 7.17 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.06 – 7.03 (m, 2H), 6.96 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 5.72 (s, 2H), 3.17 (t, J = 2.6 Hz, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 168.8, 166.2,

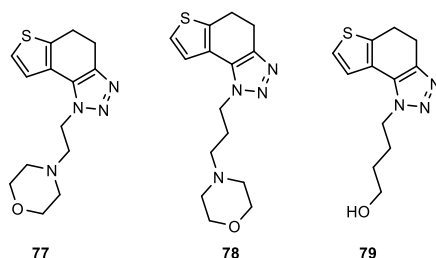
3. Eksperimentalni dio

163.4, 161.8, 141.7, 128.5, 124.4, 121.3, 116.1, 104.9, 51.8, 24.5, 21.3; HRMS (m/z) za $C_{15}H_{12}FN_3S$: $[M+H]^+$ izračunato = 285.0736, $[M+H]^+$ izmjereno = 285.0731.

1-(4-(trifluorometil)benzil)-4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**74**): 181 mg, 27 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/EtOAc (20 %)) = 0.54; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7.63 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.32 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.81 (s, 2H), 3.21 – 3.15 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ /ppm: 162.2, 157.9, 152.2, 127.1, 126.3, 124.8, 124.6, 121.6, 121.2, 100.6, 52.2, 24.7, 21.5; HRMS (m/z) za $C_{16}H_{12}F_3N_3S$: $[M+H]^+$ izračunato = 335.0704, $[M+H]^+$ izmjereno = 335.0695.

1-(4-(trifluorometoksi)benzil)-4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**75**): 100 mg, 43 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/EtOAc (20 %)) = 0.53; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7.26 (d, J = 9.4 Hz, 2H), 7.22 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.19 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 5.3 Hz, 1H), 5.75 (s, 2H), 3.18 (t, J = 1.9 Hz, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ /ppm: 165.7, 143.1, 133.7, 128.2, 124.5, 124.4, 123.1, 121.5, 121.3, 121.1, 103.2, 51.8, 24.6, 21.3; HRMS (m/z) za $C_{16}H_{12}F_3N_3OS$: $[M+H]^+$ izračunato = 351.0653, $[M+H]^+$ izmjereno = 351.0647.

1-(4-(trifluorometoksi)benzil)-4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**76**): 252 mg, 41 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/EtOAc (20 %)) = 0.43; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7.26 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.84 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 4.69 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.21 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 3.14 (s, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ /ppm: 158.8, 142.7, 139.4, 129.9, 129.1, 125.1, 124.5, 121.0, 117.7, 114.4, 55.4, 50.9, 36.1, 24.8, 21.4; HRMS (m/z) za $C_{17}H_{17}N_3OS$: $[M+H]^+$ izračunato = 311.1092, $[M+H]^+$ izmjereno = 311.1090.



4-(2-(4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)etil)morfolin (**77**): 328 mg, 57 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.64; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7.29 – 7.27 (m, 2H), 4.65 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 3.67 (t, J = 4.5 Hz, 4H), 3.18 – 3.12 (m, 4H), 2.91 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 2.53 (t, J = 4.7 Hz, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ /ppm:

3. Eksperimentalni dio

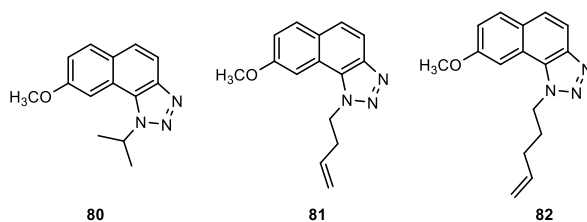
142.6, 139.6, 125.2, 124.6, 121.2, 113.9, 67.0, 58.0, 53.9, 47.2, 24.8, 21.5; HRMS (m/z) za $C_{14}H_{18}N_4OS$: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 290.1201, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 290.1197.

4-(3-(4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)propil)morfolin (**78**): 224 mg, 45 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.63; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.36 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 3.69 (t, J = 4.9 Hz, 4H), 3.18 – 3.12 (m, 4H), 2.42 – 2.40 (m, 6H), 2.16 – 2.11 (m, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 139.3, 128.6, 125.0, 124.2, 121.3, 112.3, 66.9, 55.2, 53.6, 46.9, 26.9, 24.6, 21.2; HRMS (m/z) za $C_{15}H_{20}N_4OS$: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 304.1358, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 304.1356.

4-(4,5-dihidro-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol-1-il)butan-1-ol (**79**): 172 mg, 35 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.54; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.29 (d, J = 5.5 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.60 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.73 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.18 – 3.12 (m, 4H), 2.11 – 2.06 (m, 2H), 1.71 – 1.66 (m, 2H), 1.61 (s, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ/ppm : 142.6, 139.5, 125.1, 124.7, 121.3, 116.6, 62.1, 49.1, 29.5, 26.8, 24.7, 21.4; HRMS (m/z) za $C_{12}H_{15}N_3OS$: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 249.0936, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 249.0935.

3.5.5. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 80-86

Smjese prethodno sintetiziranih spojeva **80a-86a** otopljene su u toluenu p.a. ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i prebačene u kvarcnu kivetu (50 mL) uz dodatak katalitičke količine joda i osvjetljavane s 10 UV lampi na 313 nm u fotokemijskom reaktoru Rayonet 1-2 h u svrhu postizanja gotovo potpune konverzije. Nakon uklanjanja otapala rotacijskim uparivačem pod sniženim tlakom, fotoprodutki **80-86** pročišćeni su kromatografijom na stupcu upotrebom PE/E (60 %) kao eluensa, te dobiveni u prvim frakcijama.



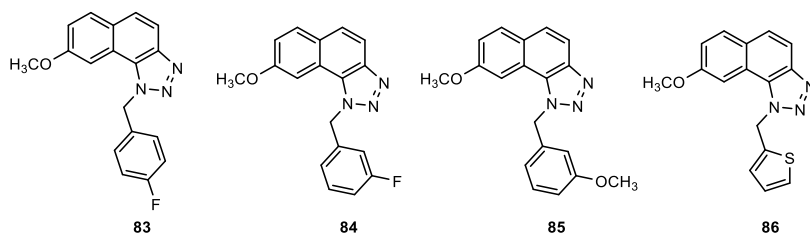
1-izopropil-8-metoksi-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**80**): 20 mg, 50 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (70 %)) = 0.83; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.95 (d, J = 9.3 Hz, 1H),

3. Eksperimentalni dio

7.86 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.30 (dd, $J = 8.8$, 2.4 Hz, 1H), 5.50 – 5.44 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 1.91 (s, 3H), 1.90 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.6, 144.9, 131.1, 128.5, 127.8, 125.9, 121.3, 116.0, 115.8, 104.0, 55.6, 55.4, 22.7.

1-(but-3-en-1-il)-8-metoksi-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**81**): 9 mg, 43 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E } (80\%)) = 0.90$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.94 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.30 (dd, $J = 8.8$, 2.9 Hz, 1H), 5.96 – 5.89 (m, 1H), 5.20 – 5.14 (m, 2H), 5.09 (t, $J = 7.7$ Hz, 2H), 3.98 (s, 3H), 2.89 – 2.85 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.7, 145.0, 133.0, 131.1, 128.7, 127.8, 125.9, 121.0, 118.3, 116.8, 115.7, 103.3, 55.5, 49.9, 34.2.

8-metoksi-1-(pent-4-en-1-il)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**82**): 9 mg, 50 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E } (80\%)) = 0.71$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.94 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.64 – 7.62 (m, 2H), 7.29 (dd, $J = 8.9$, 2.5 Hz, 1H), 5.90 – 5.84 (m, 1H), 5.15 – 5.07 (m, 2H), 5.03 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 3.99 (s, 3H), 2.28 – 2.19 (m, 4H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.6, 145.0, 136.1, 131.1, 128.7, 127.8, 125.9, 121.1, 116.6, 116.5, 115.7, 103.5, 55.5, 50.1, 30.6, 28.9.



1-(4-fluorbenzil)-8-metoksi-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**83**): 12 mg, 40 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E } (70\%)) = 0.85$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.90 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J = 8.8$, 2.3 Hz, 1H), 7.16 – 7.14 (m, 2H), 7.03 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.24 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.5, 145.3, 131.1, 130.8, 129.1, 127.9, 127.8, 126.3, 120.7, 117.6, 116.5, 116.2, 115.6, 103.4, 55.4, 53.4.

1-(3-fluorbenzil)-8-metoksi-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**84**): 10 mg, 29 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E } (70\%)) = 0.80$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.89 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.88 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.33 – 7.29 (m, 2H), 7.20 (dd, $J = 8.7$,

3. Eksperimentalni dio

2.3 Hz, 1H), 6.99 (ddt, $J = 8.6, 7.3, 2.4$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H), 6.26 (s, 2H), 3.74 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 164.1, 162.5, 158.6, 145.3, 137.8, 131.9, 130.7, 129.1, 127.8, 126.3, 121.7, 120.6, 117.8, 115.3, 113.3, 103.2, 55.5, 53.4.

8-metoksi-1-(3-metoksibenzil)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**85**): 19 mg, 55 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E (70\%)}) = 0.82$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.88 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.85 (d, $J = 9.7$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, 1H), 6.82 (dd, $J = 8.1, 2.3$ Hz, 1H), 6.78 (dd, $J = 7.7, 1.1$ Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.22 (s, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.68 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.6, 144.9, 131.1, 128.5, 127.8, 125.9, 121.3, 116.0, 115.8, 104.0, 55.6, 55.4, 22.7.

8-metoksi-1-(tiofen-2-il-metil)-1*H*-nafto[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**86**): 20 mg, 60 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/E (70\%)}) = 0.91$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.88 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.87 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.55 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.26 – 7.25 (m, 1H), 7.23 (dd, $J = 9.1, 2.4$ Hz, 1H), 6.95 – 6.93 (m, 2H), 6.39 (s, 2H), 3.85 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.6, 145.2, 137.5, 130.8, 128.9, 127.8, 127.4, 126.2, 125.9, 120.8, 117.7, 115.5, 103.4, 55.6, 49.7.

3.6. Sinteza i fotokemija tiazolostilbena

3.6.1. Opće napomene

Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) za jezgre ^1H i ^{13}C bili su snimljeni pri sobnoj temperaturi na spektrometrima Bruker Avance 300 i 600 MHz. Za snimanje NMR spektra korišten je deuterirani kloroform, CDCl_3 , s TMS kao standard. Sva otapala korištena za sintezu pročišćena su destilacijom i komercijalno su dostupna. Bezvodni magnezijev sulfat, MgSO_4 , korišten je za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcije. Kromatografija na stupcu provedena je na stupcima silika-gela (60 Å, tehnička čistoća) upotrebom odgovarajućeg sustava otapala. Kratice korištene u ovom eksperimentalnom postupku bile su NMR – nuklearna magnetska rezonancija, ACN – acetonitril, EtOAc – etil acetat, PE – petroleter, E – dietileter, EtOH – etanol, DCM – diklormetan i sh – rame. Preparativna fotokemijska osvjetljavanja provedena su s 3,0 mL otopine u 1 mL zatvorenoj kiveti u fotokemijskom reaktoru Rayonet opremljenom UV lampama od 313 nm. Prije osvjetljavanja, u reakcijske smjese dodana je katalitička količina joda, I_2 . Analize masene

3. Eksperimentalni dio

spektrometrije visoke rezolucije (HRMS) provedene su na spektrometru mase (MALDI TOF/TOF analizator) opremljenom Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom prilagodbe od 200 Hz u pozitivu (H^+) ili negativu ($-H$) mod ionskog reflektora. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

3.6.2. Sinteza 2-tiofenske fosfonijeve soli

2-tiofenska fosfonijeva sol prvo je sintetizirana u trogroj tikvici (250 mL) pripremom odgovarajućeg 2-tiofen-bromida (0.06 mol). Fosforov tribromid, PBr_3 (0.02 mol), dodan je kap po kap u ohlađenu (0 °C) otopinu 2-tiofen-metanola (0.06 mol) i bezvodnog E (75 mL) u reakcijskoj tikvici. Reakcijska smjesa je miješana jedan sat, te su izravno dodani metanol (150 mL) i voda (100 mL). Reakcijska smjesa ekstrahirana je s E, osušena ispod bezvodnog $MgSO_4$ i filtrirana. Organski sloj je uparen pod sniženim tlakom. Žuto ulje odgovarajućeg 2-tiofen-bromida otopljeno je u toluenu (20 mL), te je dodan trifenilfosfin (0.04 mol) i reakcijska smjesa se provodila tri dana na sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa se filtrira pod sniženim tlakom, a blijedo žuta sol se suši pri sniženom vakuumu u eksikatoru 12 h. U svim daljnjim eksperimentima korištena je suha fosfonijeva sol.

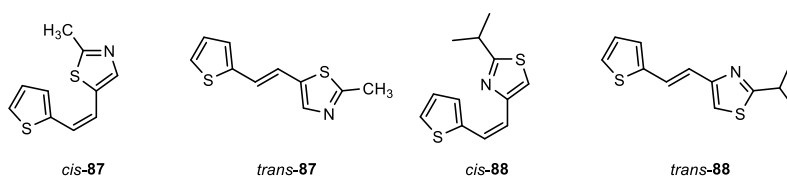
3.6.3. Sinteza novih tiazolostilbena 87–96

Spojevi **87–96** dobiveni su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera. Produkti **87–90**, **91'** ($R = NH_2$), **93** i **96** dobiveni su pomoću Wittigove reakcije. Reakcijska aparatura je propuhana s N_2 15 minuta prije dodavanja reagensa. Reakcija se provodi u trogroj tikvici (100 mL) s klor-kalcijskom cijevi i spojenim balonom N_2 . Fosfonijeva sol (5 mmol) je dodana u 40 mL EtOH, a smjesa je miješana magnetskom miješalicom. Otopine natrijevih etoksida (5 mmol, 1,1 ekv. Na otopljenog u 10 mL apsolutnog etanola) dodane su u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. Reakcijskim smjesama su zatim dodani odgovarajući aldehidi (5 mmol), a reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju 24 sata na sobnoj temperaturi. Reakcijske smjese su uparene na vakuumskom isparivaču i otopljene u toluenu. Smjese su zatim ekstrahirane toluenom (3 x 15 mL). Organski slojevi su osušeni iznad bezvodnog $MgSO_4$. Produkti **87-90**, **91'**, **93** i **96** izolirani su uzastopnom kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom sustava otapala PE/E, PE/DCM i E/EtOAc. Prvi izomer koji se eluira je *trans*-izomer, a *cis*-izomer je izoliran u zadnjim frakcijama.

3. Eksperimentalni dio

2-metil-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (**87**) (70 %). Kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E (30 %) dobiveno je 815 mg smjese *cis*- i *trans*-izomera. Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu upotrebom PE/E (5 %) dala je čisti *trans*-izomer u prvim frakcijama i *cis*-izomer u posljednjim frakcijama.

2-izopropil-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (**88**) (73 %). Kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E (20 %) dobiveno je 111 mg smjese *cis*- i *trans*-izomera. Ponovljena je kolonska kromatografija na silika-gelu upotrebom PE/E (10 %) te je dobiven čisti *trans*-izomer u prvim frakcijama i *cis*-izomer u posljednjim frakcijama.



(*Z*)-2-metil-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (*cis*-**87**): 33 mg, 20 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (5 %)) = 0.62; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 315 (15948); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.25 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.97 (dd, $J = 5.1$, 3.6 Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.43 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 165.1, 151.6, 139.6, 129.9, 126.7, 126.5, 124.0, 120.7, 117.1, 19.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 208 (100).

(*E*)-2-metil-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (*trans*-**87**): 20 mg, 10 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (5 %)) = 0.71; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 318 (26303); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.55 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 5.1$, 3.6 Hz, 1H), 6.94 (s, 1H), 6.85 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 2.73 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 166.2, 153.4, 142.5, 127.7, 126.6, 124.5, 124.2, 120.9, 114.7, 19.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 208 (100); HRMS (m/z) za $C_{10}H_9NS_2$ (smjesa izomera) : $[M + H]^+$ izračunato = 207.0176, $[M + H]^+$ izmjereno = 207.0180.

(*Z*)-2-izopropil-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (*cis*-**88**): 44 mg, 40 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.53; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 316 (13832); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.29 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 6.96 (dd, $J = 4.9$, 3.5 Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.41 – 3.34 (m, 1H), 1.46 (s, 3H), 1.45 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 177.1, 151.5, 139.7, 130.1, 126.8, 126.5, 123.7, 120.6, 116.4, 33.4, 23.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 236 (100).

(*E*)-2-izopropil-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (*trans*-**88**): 27 mg, 25 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.56; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 319 (25079); 1H NMR

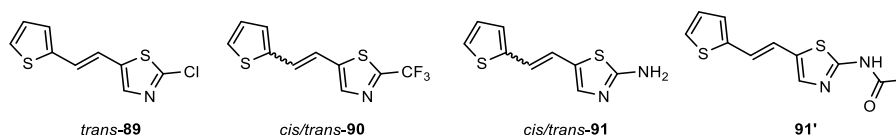
3. Eksperimentalni dio

(CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.49 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 6.93 – 6.91 (m, 2H), 6.80 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 3.34 – 3.20 (m, 1H), 1.36 (s, 3H), 1.34 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 177.2, 152.1, 141.6, 126.6, 125.4, 123.4, 123.1, 120.2, 112.8, 32.5, 22.2; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 236 (100); HRMS (m/z) za C₁₂H₁₃NS₂ (smjesa izomera): [M+H]⁺_{izračunato} = 235.0489, [M+H]⁺_{izmjereno} = 235.0490.

2-klor-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (**89**) (76 %). Kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E (5 %) dobiveno je 295 mg smjese *cis*- i *trans*-izomera. Ponovljenom kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E (1 %) dobiven je čisti *trans*-izomer u prvim frakcijama.

5-(2-(tiofen-2-il)vinil)-2-(trifluorometil)thiazol (**90**) (46 %). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E (20 %) dobiveno je 66 mg smjese *cis*- i *trans*-izomera **90** za fotokemijsku reakciju.

N-(5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol-2-il)acetamid (**91**) (30 %). Reakcijske smjese *cis*- i *trans*-izomera su filtrirane pod sniženim tlakom. Thiazol-2-acetamid **91** je sintetiziran iz thiazol-2-amina **91'** u okrugloj tikvici (25 mL) pomoću anhidrida octene kiseline (1,5 mL) na sobnoj temperaturi preko noći. Dodana je voda (7,5 mL), te je reakcijska smjesa filtrirana pod sniženim tlakom, a žuta krutina je sušena pod sniženim vakuumom u eksikatoru 2 h.



(*E*)-2-klor-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazole (*trans*-**89**): 20 mg, 40 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.59; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 342 (27961); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.45 (s, 1H), 7.24 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 4.9, 3.5 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 16.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 149.6, 141.2, 139.7, 139.1, 127.6, 127.3, 125.6, 125.3, 117.0; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 227/229 (100); HRMS (m/z) za C₉H₇ClNS₂: [M+H]⁺_{izračunato} = 226.9630, [M+H]⁺_{izmjereno} = 226.9633.

90: MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 261 (100); HRMS (m/z) za C₁₀H₆F₃NS₂ (smjesa izomera) : [M+H]⁺_{izračunato} = 260.9894, [M+H]⁺_{izmjereno} = 260.9896.

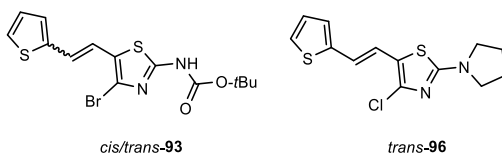
3. Eksperimentalni dio

91: MS (ESI) (m/z) (% fragment): 251 (100), 209 (15), 121 (25); HRMS (m/z) za $C_{11}H_{10}N_2OS_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 250.0234, and $[M+H]^+$ izmjereno = 250.0235.

91': MS (ESI) (m/z) (% fragment): 209 (100); HRMS (m/z) za $C_9H_8N_2S_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 208.0129, $[M+H]^+$ izmjereno = 208.0133.

N-(4-brom-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol-2-il)pivalamid (**92**) (10 %). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E (30 %) dobiveno je 30 mg smjese *cis*-, *trans*-izomera i početnog aldehida.

4-klor-2-(pirolidin-1-il)-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (**96**) (61 %). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E (20 %) dobiveno je 61 mg smjese *cis*- i *trans*-izomera. Ponovljenom kromatografijom na stupcu silika-gela, upotrebom PE/E (10 %) izoliran je čisti *trans*-izomer u prvim frakcijama.



93: MS (ESI) (m/z) (% fragment): 408/410 (20), 386/388 (10), 330/332 (100), 121 (55); HRMS (m/z) za $C_{14}H_{15}BrN_2O_2S_2$ (smjesa izomera i aldehida): $[M+H]^+$ izračunato = 385.9758, $[M+H]^+$ izmjereno = 385.9751.

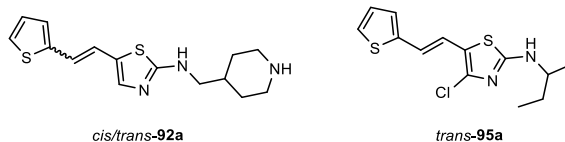
(*E*)-4-klor-2-(pirolidin-1-il)-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol (*trans*-**96**): 8 mg, 32 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (20 %)) = 0.83; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 373 (33945); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.15–7.14 (m, 1H), 6.96 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 6.57 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 3.48 (t, $J = 6.7$ Hz, 4H), 2.07–2.05 (m, 4H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 163.0, 142.8, 135.0, 127.6, 125.0, 123.8, 119.5, 117.9, 116.5, 49.3, 25.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 297/299 (100); HRMS (m/z) za $C_{13}H_{13}ClN_2S_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 296.0209, $[M+H]^+$ izmjereno = 296.0206.

Thiazol-2-amini **92** i **95** sintetizirani su iz **89** (0,00046 mol, 1 ekv.), XPhos (0,000093 mmol, 0,2 ekv.), $Pd(OAc)_2$ (0,00024 mmol, 0,05 ekv.) i CS_2CO_3 (0,00069 mmol, 0,5 ekv.) otopljen u 2 mL dioksana, te su dodani odgovarajući benzil-amini (0,00096 mmol, 2 ekv.). Reakcijske smjese su propuhane argonom i zagrijavane do 120 °C u zatvorenim bočicama 24 sata. Reakcije su provedene počevši od čistih izomera **89**, a otapalo je upareno pod sniženim tlakom. Ciljni izomer pročišćen je kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom E/EtOAc (0-60 %) kao eluensa, čime su u prvim frakcijama dobiveni tragovi **89**, a u zadnjim frakcijama smjesa izomera **92** (koja se kasnije koristi za fotokemijsku reakciju) i čisti *trans*-izomer **95**.

3. Eksperimentalni dio

N-(piperidin-4-ilmetil)-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol-2-amin (**92**) (7 %). Kromatografija na stupcu silika-gela upotrebom E/EtOAc (60 %) dala je 7 mg smjese *trans*-izomera i XPhos liganda.

N-(*sek*-butil)-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol-2-amin (*trans*-**95**) (10 %). Kromatografija na stupcu silika-gela upotrebom DCM/E (40 %) dala je čisti *trans*-izomer.



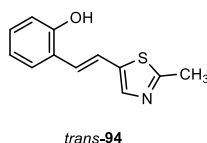
(*E*)-*N*-(*sek*-butil)-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)thiazol-2-amin (*trans*-**95**): 10 mg, 10 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/E (40 %)) = 0.24; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 362 (10237); 1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.12 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.97 – 6.93 (m, 2H), 6.90 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 15.8$ Hz, 1H), 5.55 (s, 1H), 3.54 – 3.46 (m, 1H), 1.67 – 1.56 (m, 2H), 1.27 (d, $J = 6.4$ Hz, 1H), 0.98 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 168.3, 142.9, 139.0, 127.6, 125.4, 124.8, 123.5, 119.5, 119.2, 53.8, 29.7, 20.3, 10.36; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 265 (100); HRMS (m/z) za C₁₃H₁₆N₂S₂: $[M+H]^+$ izračunato = 264.0755, $[M+H]^+$ izmjereno = 264.0753.

Tiazolo-stilben **94** sintetiziran je McMurryjevom reakcijom. Prije provođenja reakcije aparatura je propuhana argonom 15 minuta. Reakcija je provedena u trogrolj tikvici (250 mL) na magnetskoj miješalici. Praškasti cink (6,65 mmol) i THF (40 mL) dodani su u tikvicu. Reakcijska smjesa je ohlađena do -5 °C, te je kap po kap dodan TiCl₄ (3 mL) preko šprice uz održavanje temperature ispod 0 °C. Nakon toga reakcijska smjesa je zagrijana na sobnu temperaturu i miješana 30 minuta. Nakon 30 minuta, reakcijska smjesa je zagrijana do temperature refluksa, te je tako ostavljena 3 sata. Kada je refluks prekinut, reakcijskoj smjesi nakon hlađenja (-5 °C) dodana je smjesa aldehida (1,33 mmol, 1,2 ekv., u omjeru 1:1,2) u THF, kap po kap preko igle. Kada su dodani aldehidi, reakcijska smjesa je ponovno zagrijana do temperature refluksa i tako ostavljena dva sata, nakon čega je ohlađena do sobne temperature i ostavljena preko noći uz miješanje na magnetskoj miješalici. Reakcijska smjesa je potom neutralizirana vodenom otopinom NaHCO₃. Neutralizirana reakcijska smjesa ekstrahirana je pomoću EtOAc (3 x 25 mL), a potom je organski sloj sušen iznad MgSO₄. Nakon 30 minuta sušenja, otapalo je upareno, a organski produkt pročišćen na koloni punjenoj silika-gelom. Kao eluensi korišteni su sustavi otapala PE/E i PE/DCM različitih polarosti.

2-(2-(2-metilthiazol-5-il)vinil)fenol (**94**) (10 %). Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E (90 %) dobiveno je 21 mg smjese *cis*- i *trans*-izomera. Ponovljenom

3. Eksperimentalni dio

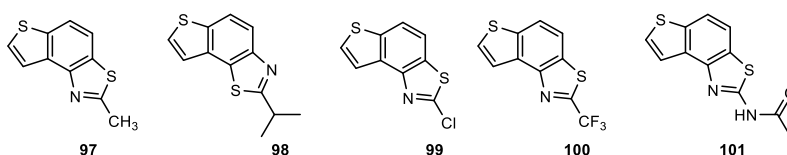
kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E (80 %) izoliran je čisti *trans*-izomer u prvim frakcijama.



(*E*)-2-(2-(2-methylthiazol-5-yl)vinil)fenol (*trans*-94): 13 mg, 65 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (80 %)) = 0.50; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 345 (sh, 6109), 332 (21971), 315 (sh, 20036), 300 (sh, 19398), 285 (23628); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.69 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.16 – 7.09 (m, 2H), 7.01 (s, 1H), 6.90 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 6.25 (s, 1H), 2.76 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 116.3, 154.2, 153.8, 128.8, 127.5, 126.0, 124.3, 122.5, 120.8, 116.1, 114.6, 19.3; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 218 (20); 158 (100); HRMS (m/z) za $C_{12}H_{11}NOS$: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 217.0561, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 217.0557.

3.6.4. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata 97-101

Smjese izomera prethodno sintetiziranih spojeva 97-101 otopljene su u toluenu p.a. ($\sim 2,5 \times 10^{-3}$ M) i prebačene u kvarcne kivete (50 mL) uz dodatak katalitičke količine I_2 , te su osvijetljavane putem 10 UV lampi na 313 nm u fotokemijskom reaktoru Rayonet tijekom 1–5 h kako bi se postigle gotovo potpune konverzije. Nakon uklanjanja otapala rotacijskim uparivačem pod sniženim tlakom, fotoprodukti 97-101, te su pročišćeni kromatografijom na stupcu od ostataka polaznih spojeva ili neizreagiranih aldehida iz Wittigove reakcije. Čisti fotoprodukti 97-101 su izolirani i potpuno spektroskopski okarakterizirani NMR i HRMS analizama.



2-methylthieno[2',3':5,6]benzo[1,2-*d*]tiazol (97): 16 mg, 30 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (5 %)) = 0.35; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 249 (40956); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.91 (dd, $J = 10.9, 8.6$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 2.89 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 164.9, 151.3, 136.5, 132.7, 129.8, 128.2, 122.3, 120.3, 118.9, 20.0; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 206 (100); HRMS (m/z) za $C_{10}H_7NS_2$: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 205.0020, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 205.0023.

3. Eksperimentalni dio

2-izopropiltieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*]tiazol (**98**): 14 mg, 47 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.40; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 251 (33705); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7.95 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 3.52 – 3.45 (m, 1H), 1.53 (s, 3H), 1.51 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 176.7, 151.0, 136.4, 132.9, 128.9, 128.1, 122.3, 120.2, 119.2, 34.0, 23.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 234 (100); HRMS (m/z) za $C_{12}H_{11}NS_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 233.0333, $[M+H]^+$ izmjereno = 233.0335.

2-klortieno[2',3':5,6]benzo[1,2-*d*]tiazol (**99**): 5 mg, 70 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.45; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 214 (25256); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 8.04 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 152.7, 146.0, 138.9, 133.8, 132.1, 127.9, 121.7, 120.4, 116.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 225/227 (75), 121 (100); HRMS (m/z) za $C_9H_4ClNS_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 224.9474, $[M+H]^+$ izmjereno = 224.9475.

2-(trifluormetil)tieno[2',3':5,6]benzo[1,2-*d*]tiazol (**100**): 4 mg, 20 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.58; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 213 (26252); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 8.08 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 8.04 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.89 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 128.4, 122.3, 122.0, 117.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 259 (100); HRMS (m/z) za $C_{10}H_4F_3NS_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 258.9737, $[M+H]^+$ izmjereno = 258.9740.

N-(tieno[2',3':5,6]benzo[1,2-*d*]tiazol-2-il)acetamid (**101**): 2 mg, 43 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (E/EtOAc (60 %)) = 0.65; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 221 (17611); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 9.36 (s, 1H), 7.82 – 7.81 (m, 2H), 7.76 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 75 MHz) δ/ppm : 126.9, 121.2, 116.5, 117.4, 29.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 249 (100), 207 (25), 121 (50); HRMS (m/z) za $C_{11}H_8N_2OS_2$: $[M+H]^+$ izračunato = 248.0078, $[M+H]^+$ izmjereno = 248.0079.

3.7. Sinteza piranonskih stilbena

3.7.1. Opće napomene

Korištena su otapala kao što su ACN – acetonitril, CHCl_3 – kloroform, DCM – diklorometan, E – dietileter, EtOH – etanol, EtOAc – etil-acetat, MeOH – metanol, toluen. Sva nabrojana otapala pročišćena su destilacijom i komercijalno se dostupna. Kromatografija na koloni je izvedena pomoću silika-gela (60 Å, tehnička čistoća).

Provedena je tankoslojna kromatografija pomoću ploča obloženih silika-gelom (0,2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) za ^1H i ^{13}C jezgre zabilježeni su pri sobnoj temperaturi na spektrometru na Bruker Avance 300 MHz i 600 MHz. Za snimanje NMR spektra korišteni su deuterirani kloroform, CDCl_3 , deuterirani metanol, CD_3OD i deuterirani dimetil-sulfoksid, DMSO uz TMS kao standard. ^1H NMR spektri za četiri spoja također su snimljeni na 5, 15, 25, 35, 45 i 55 °C na spektrometru Bruker Avance 600 MHz. UV spektri su snimljeni UV/Vis spektrofotometrom (Varian Cary 50 UV/Vid, Lexington, Massachusetts, SAD) u ACN. Fotokemijsko osvjetljavanje provedeno je s 3,0 mL otopine u 1 mL kiveti na sobnoj temperaturi u fotokemijskom reaktoru Luzchem opremljenom 8 UV lampama na 313 nm. Spektralne promjene tijekom osvjetljavanja piranona snimljene su u otapalu ACN. Prije osvjetljavanja, reakcijske smjese su pročišćene dušikom, N_2 , 15 minuta. IR spektri su dobiveni upotrebom infracrvenog spektrometra Bruker Vertex 70 s Fourierovom transformacijom postavljenog na način smanjene ukupne refleksije (ATR). Uzorci su prešani na dijamant, a podaci o apsorbanciji prikupljeni su između 400 i 5000 cm^{-1} uz spektralnu rezoluciju od 1 cm^{-1} i prosječno 32 skeniranja. HRMS analize provedene su na masenom spektrometru (MALDI TOF/TOF analizator), opremljenom Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom prilagođavanja od 200 Hz u modu reflektora pozitivnih (H^+) ili negativnih (H^-) iona. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

3.7.2. Sinteza 4-piranonskih heterostilbena 102-109

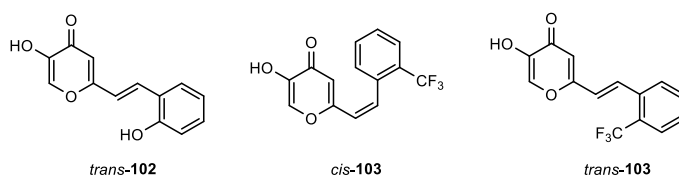
Spojevi 102-109 dobiveni su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera (osim 102 i 106). Reakcijska aparatura je propuhana N_2 15 minuta prije dodavanja reaktanata. Reakcija se provodi u trogloj tikvici (100 mL) opremljenoj klor-kalcijском cijevi i spojenim balonom N_2 . Fosfonijeva sol (5 mmol) je dodana u 40 mL EtOH, a smjesa je miješana magnetskom miješalicom. Otopine natrijevih etoksida (5 mmol, 1,1 ekv. Na otopljenog u 10 mL apsolutnog etanola) dodane su u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. Odgovarajući aldehid (5 mmol) je

3. Eksperimentalni dio

zatim dodan u reakcijsku smjesu i reakcijska se odvijala 24 sata na sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa je uparena na rotacijskom uparivaču, te potom otopljena u toluenu. Smjesa je zatim ekstrahirana toluenom (3 x 15 mL). Organski slojevi su osušeni iznad bezvodnog MgSO₄. Produkti **102-109** izolirani su ponovljenom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu upotrebom sustava otapala PE/E, PE/DCM i DCM/E. Prvi izomer koji eluira je *cis*-, a zatim *trans*-izomer u zadnjim frakcijama. Topivost derivata piranona bila je u nekim slučajevima niska, posebno za odgovarajuće *trans*-izomere.

5-hidroksi-2-(2-hidroksistiril)-4*H*-piran-4-on (**102**) (63 %). Kromatografija na stupcu silika-gela upotrebom EtOAc/MeOH (50 %) dala je 500 mg smjese *trans*-izomera i trifenilfosfin oksida. Ponovljenom kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom EtOAc/MeOH (50 %) izoliran je čisti *trans*-izomer.

5-hidroksi-2-(2-(trifluorometil)stiril)-4*H*-piran-4-on (**103**) (59 %). Kromatografija na stupcu silika-gela koristeći PE/E (0-100 %) dala je smjesu izomera **103** (*cis*-**103** : *trans*-**103** = 1 : 1.5). Ponovljenom tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu korištenjem PE/E (30 %) kao eluensa izoliran je čisti *cis*-**103** u prvim frakcijama i *trans*-**103** u zadnjim frakcijama.



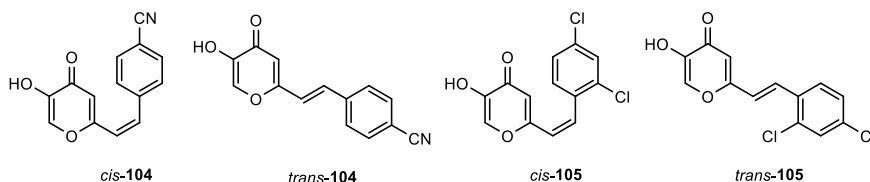
(*E*)-5-hidroksi-2-(2-hidroksistiril)-4*H*-piran-4-on (*trans*-**102**): 88 mg; narančasti prah, $T_f = 185$ - 186 °C; $R_f(E) = 0.12$; UV (ACN s malom količinom MeOH) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 353 (29371); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3411, 3248, 1630, 1552, 1421, 1321, 1248, 1040, 963, 939; ¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ/ppm : 7.83 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 7.51 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.17 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.84 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H); ¹³C NMR (DMSO, 75 MHz) δ/ppm : 144.2, 136.4, 131.9, 130.9, 128.5, 124.5, 124.2, 119.6, 116.3, 116.2, 105.1, 107.6, 99.4; MS (ESI) (m/z) (%): 231 (100); HRMS (m/z) za C₁₃H₁₀O₄: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 230.0579, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 230.0583.

(*Z*)-5-hidroksi-2-(2-(trifluorometil)stiril)-4*H*-piran-4-on (*cis*-**103**): 14 mg; žuti prah, $T_f = 113$ - 115 °C; $R_f(E) = 0.45$; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3mol^{-1}cm^{-1}$) 280 (11679); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3230, 2920, 2850, 1650, 1580, 1450, 1380, 1250, 930, 860, 770, 690, 580; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.72 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.50 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.45 (t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.35 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.21 (s, 1H); ¹³C NMR

3. Eksperimentalni dio

(CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 173.7, 161.8, 145.7, 137.0, 135.1, 134.7, 131.6, 130.3, 128.6, 126.0, 125.9, 123.5, 112.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 283 (100).

(*E*)-5-hidroksi-2-(2-(trifluorometil)stiril)-4*H*-piran-4-on (*trans*-**103**): 22 mg; bijeli pah, $T_f = 117$ -120 °C; R_f (E) = 0.45; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 308 (8706); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3230, 2920, 2850, 1650, 1580, 1450, 1380, 1250, 930, 860, 770, 690, 580; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.90 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.61 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.51 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.49 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 174.2, 161.8, 145.6, 136.9, 132.3, 131.9, 129.1, 127.3, 126.3, 126.2, 123.4, 111.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 283 (100); HRMS (m/z) za C₁₄H₉F₃O₃ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 282.0504, $[M+H]^+$ izmjereno = 282.0505.



4-(2-(5-hidroksi-4-okso-4*H*-piran-2-il)vinil)benzonitril (**104**) (44 %). Kromatografija na stupcu silika-gela koristeći PE/E (80 %) dala je čistu smjesu izomera **104** (41 mg, *cis*-**104** : *trans*-**104** = 1 : 3) bez trifenilfosfin-oksida. Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu korištenjem PE/E (0-70 %) kao eluensa nije dala čiste *cis*- i *trans*-izomere zbog vrlo sličnih R_f vrijednosti.

2-(2,4-diklorstiril)-5-hidroksi-4*H*-piran-4-on (**105**) (74 %). Kromatografija na stupcu je provedena na silika-gelu korištenjem PE/E (0-70 %) kao eluensa. Ponovljena kolonska kromatografija na silika-gelu (PE/E (0-70 %)) dala je čisti *cis*-**105** u prvim frakcijama i *trans*-**105** u zadnjim frakcijama.

(*Z*)-4-(2-(5-hidroksi-4-oko-4*H*-piran-2-il)vinil)benzonitril (*cis*-**104**): ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ /ppm: 8.93 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.4 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.79 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 240 (100).

(*E*)-4-(2-(5-hidroksi-4-oko-4*H*-piran-2-il)vinil)benzonitril (*trans*-**104**): ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 600 MHz) δ /ppm: 9.27 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.76 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.68 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.67 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 240 (100); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl) (smjesa izomera): 3050, 2910, 2840, 2250, 1715, 1570, 1480, 950, 840, 550;

HRMS (m/z) za C₁₄H₉NO₃ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 239.0582, $[M+H]^+$ izmjereno = 239.0588.

3. Eksperimentalni dio

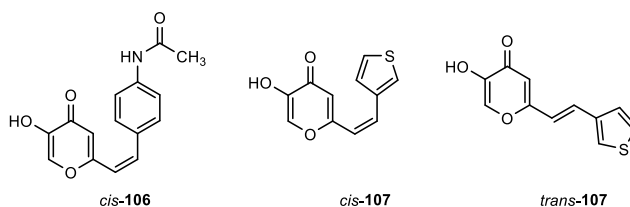
(*Z*)-2-(2,4-diklorstiril)-5-hidroksi-4*H*-piran-4-on (*cis*-**105**): 250 mg; bijeli prah, $T_f = 149-151$ °C; $R_f(E) = 0.51$; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 291 (14966); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3200, 3050, 1600, 1550, 1490, 1380, 1250, 1150, 950, 750, 700; 1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.58 (s, 1H), 7.45 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.36 – 6.31 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 173.7, 161.8, 145.7, 136.7, 135.1, 134.1, 133.9, 132.8, 130.8, 129.4, 126.9, 123.1, 112.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 283 (100).

(*E*)-2-(2,4-diklorstiril)-5-hidroksi-4*H*-piran-4-on (*trans*-**105**): 40 mg; bijeli prah, $T_f = 103-105$ °C; $R_f(E) = 0.51$; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 325 (23654), 288 (20467); 1H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 8.06 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.74 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.56 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 174.1, 161.8, 145.7, 137.5, 135.2, 131.1, 130.2, 130.0, 128.4, 127.7, 127.6, 122.1, 111.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 283 (100);

HRMS (m/z) za C₁₃H₈Cl₂O₃ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ _{izračunato} = 281.9850, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 281.9852.

N-(4-(2-(5-hidroksi-4-okso-4*H*-piran-2-il)vinil)fenil)acetamid (**106**) (53 %). Ponovljena kolonska kromatografija provedena je na silika-gelu korištenjem sustava otapala EtOAc/MeOH (20 %). Ovaj derivat je dao samo *cis*-izomer kao produkt Wittigove reakcije, ali je bila potrebna ponovljena kromatografija zbog odvajanja trifenilfosfin-oksida od *cis*-**106**.

5-hidroksi-2-(2-(tiofen-3-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (**107**) (38 %). Ponovljena kolonska kromatografija provedena je na silika-gelu korištenjem PE/DCM (0-90 %), DCM/E (30 %) i DCM/MeOH (10 %) kao sustava otapala u kombinaciji s preparativnom tankoslojnom kromatografijom u sustavu otapala PE/E (30 %). Čisti *cis*-**107** izoliran je u prvim frakcijama, a *trans*-**107** u posljednjim frakcijama.



(*Z*)-*N*-(4-(2-(5-hidroksi-4-oko-4*H*-piran-2-il)vinil)fenil)acetamid (*cis*-**106**): 100 mg; narančasti prah, $T_f = 154-156$ °C; $R_f(DCM/MeOH (30\%)) = 0.35$; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 338 (10321); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3372, 1639, 1582, 1534, 1321, 1210, 1178, 1040, 970, 930, 825; 1H NMR (CD₃OD, 600 MHz) δ/ppm : 6.28 (s, 1H), 6.04 (d, $J = 8.2$ Hz, 3H), 5.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 5.40 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 4.73 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 3.34 (s, 3H); ^{13}C NMR

3. Eksperimentalni dio

(CD₃OD, 75 MHz) δ /ppm: 174.4, 166.9, 141.7, 139.8, 134.9, 133.2, 132.0, 123.6, 123.2, 121.7, 116.6, 114.6, 26.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 272 (100); HRMS (m/z) za C₁₅H₁₃NO₄: $[M+H]^+$ _{izračunato} = 271.0845, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 271.0850.

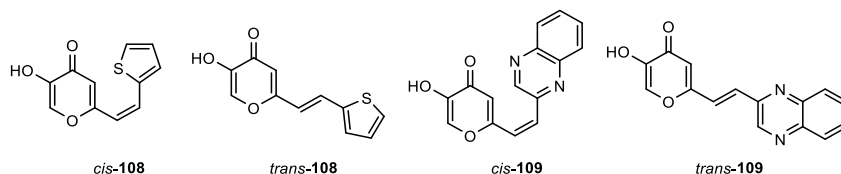
(*Z*)-5-hidroksi-2-(2-(tiofen-3-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (*cis*-**107**): 7 mg; bijeli prah, T_f = 143-146 °C; R_f (E) = 0.55; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 311 (11679); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3220, 2925, 2840, 1740, 1650, 1580, 1470, 1435, 1380, 950, 825, 770, 725; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.77 (s, 1H), 7.39 (dd, J = 2.9 Hz, 1H), 7.29 (dd, J = 3.0 Hz, 1H), 7.09 (dd, J = 5.0 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.10 (d, J = 12.5 Hz, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 173.9, 162.9, 145.9, 136.7, 136.3, 132.8, 127.8, 127.4, 125.9, 119.2, 111.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221 (100).

(*E*)-5-hidroksi-2-(2-(tiofen-3-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (*trans*-**107**): 9 mg; žuti prah, T_f = 111-115 °C; R_f (E) = 0.55; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 314 (20340); IR ν_{max}/cm^{-1} (NaCl): 3220, 2925, 2840, 1740, 1650, 1580, 1470, 1435, 1380, 950, 825, 770, 725; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.83 (s, 1H), 7.48 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 5.2 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 6.53 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 174.2, 162.8, 145.5, 138.0, 136.8, 130.3, 127.2, 126.9, 124.8, 119.1, 110.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221 (100); HRMS (m/z) za C₁₁H₈O₃S (smjesa izomera): $[M+H]^+$ _{izračunato} = 220.0194, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 220.0199.

5-hidroksi-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (**108**) (42 %). Ponovljena kolonska kromatografija provedena je na silika-gelu u sustavu otapala PE/E (0-50 %). Nakon toga, ponovljena je tankoslojna kromatografija nekih frakcija obogaćenih produktom u sustavu otapala E/CHCl₃ (80 %). Samo je izolacija čistog *trans*-**108** u posljednjim frakcijama bila uspješna, dok je dobivena čista smjesa izomera (13 mg) bez trifenilfosfin-oksida potvrdila nastanak *cis*-**108** (*cis*-**108** : *trans*-**108** = 1 : 1).

5-hidroksi-2-(2-(kinoksalin-2-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (**109**) (35 %). Ponovljene kolonske i tankoslojne kromatografije (E/EtOAc (0-70 %) i EtOAc/MeOH (0-90 %)) su provedene na silika-gelu. Dobivena je čista smjesa izomera (12 mg) bez prisutnosti trifenilfosfin-oksida (*cis*-**109** : *trans*-**109** = 1.3 : 1).

3. Eksperimentalni dio



(*Z*)-5-hidroksi-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (*cis*-**108**): ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.91 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.0 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221 (100).

(*E*)-5-hidroksi-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (*trans*-**108**): 8 mg; bijeli prah, $T_f = 113$ – 116 °C; $R_f(\text{E}) = 0.35$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 340 (30518); IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ (NaCl): 3210, 2920, 2840, 1730, 1660, 1580, 1470, 1435, 1390, 1210, 950, 850, 760, 680; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.83 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.39 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 174.2, 162.8, 145.5, 140.1, 136.8, 129.9, 129.3, 128.2, 127.2, 118.3, 110.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 220.0194$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 220.0200$.

(*Z*)-5-hidroksi-2-(2-(kinoksalin-2-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (*cis*-**109**): ^1H NMR (DMSO-d_6 , 600 MHz) δ/ppm : 8.93 (s, 1H), 8.13 – 8.08 (m, 2H), 7.92 – 7.86 (m, 3H), 6.84 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 12.7$ Hz, 1H), 6.79 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 267 (100).

(*E*)-5-hidroksi-2-(2-(kinoksalin-2-il)vinil)-4*H*-piran-4-on (*trans*-**109**): ^1H NMR (DMSO-d_6 , 600 MHz) δ/ppm : 9.27 (s, 1H), 8.13 – 8.08 (m, 2H), 8.02 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 7.92 – 7.86 (m, 2H), 7.75 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.67 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 267 (100); IR $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ (NaCl) (smjesa izomera): 3320, 2959, 2917, 2847, 1584, 1568, 1377, 1261, 1088, 1014, 794, 749;

HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izračunato}} = 266.0691$, $[\text{M}+\text{H}]^+_{\text{izmjereno}} = 266.0697$.

3.8. Sinteza 2-tienostilbena

3.8.1. Opće napomene

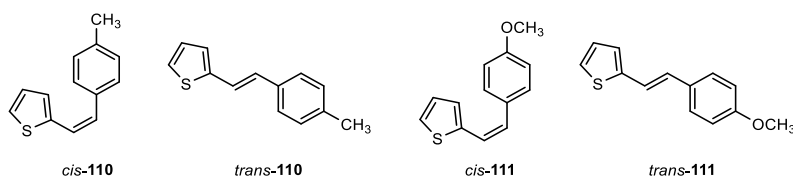
Korišten je petroleter (PE), vrelišta 40–60 °C. Otapala su pročišćena destilacijom. Kolonska kromatografija provedena je na kolonama sa silika-gelom (Fluka 0.063–0.2 nm i Fluka 60 Å, tehničke čistoće). TLC je proveden korištenjem ploča obloženih silika-gelom (0,2 mm, Kieselgel

3. Eksperimentalni dio

60 F₂₅₄). Organski slojevi su sušeni iznad bezvodnog MgSO₄ i upareni korištenjem rotacijskog uparivača. ¹H i ¹³C NMR spektri su snimljeni na spektrometru 600 MHz. Svi NMR spektri izmjereni su u CDCl₃ koristeći TMS kao standard. Za potpunu karakterizaciju ciljanih oksima korištene su dodatne tehnike 2D-CH korelacija (HSQC) i 2D HH-COSY. Maseni spektri dobiveni su na UPLC-MS sustavu. Točke taljenja dobivene su pomoću aparata opremljenog mikroskopom i nisu korigirane. HRMS analize provedene su na masenom spektrometru (MALDI TOF/TOF analizator), opremljenom Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom paljenja od 200 Hz u pozitivnom (H⁺) ili negativnom (H⁻) ionskom reflektoru. Početne fosfonijeve soli pripremljene su u laboratoriju iz odgovarajućih bromida, dok su ostali korišteni polazni spojevi bile kupljene kemikalije.

3.8.2. Sinteza polaznih 2-tienostilbena 110-115

Tienostilbeni **110-115** pripremljeni su Wittigovom reakcijom. Odgovarajuća fosfonijeva sol (11 mmol) otopljena je u 130 mL EtOH (osušen na situ od 3 Å) u tikvici s tri grla. Dodan je odgovarajući aldehid (10 mmol). Sadržaj tikvice je miješan na magnetskoj miješalici i propuhan dušikom. Reakcijska smjesa je zagrijavana na 40 °C 30 minuta. NaOEt dobiven iz Na (11 mmol) reagirao je sa suhim EtOH (10 mL) i dodan je kap po kap u tikvicu. Po završetku dodavanja, sustav je zatvoren, a reakcijska smjesa je miješana na magnetskoj miješalici preko noći na sobnoj temperaturi. EtOH je uklonjen iz reakcijske smjese rotacijskim uparivačem pod smanjenim tlakom. Ekstrakcija je provedena u sustavu toluena i vode, nakon čega je organski sloj sušen iznad MgSO₄, filtriran, a toluen je uparen. Suha reakcijska smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E ili PE/DCM eluensa promjenjive polarnosti. Kromatografija na koloni dala je smjese *cis*- i *trans*-izomera željenih produkata **110-115**, koji su korišteni kao reaktanti u daljnjim Vilsmeierovim reakcijama formiliranja. Spektroskopski podaci za geometrijske izomere spojeva **110-115** dobiveni su iz ¹H NMR spektara smjesa.



(Z)-2-(4-metilstiril)tiofen (*cis*-**110**): 404 mg, 18 % izoliranog spoja; žuto ulje; *R_f* (PE) = 0.71; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7.14 – 7.21 (m, 4H), 7.09 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H), 6.98 (d, *J* =

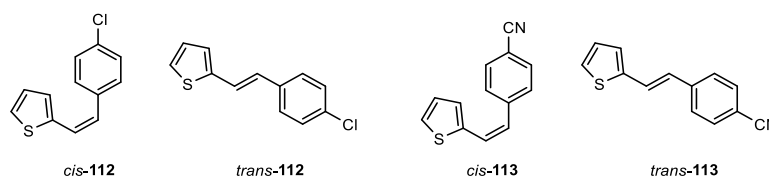
3. Eksperimentalni dio

3.6 Hz, 1H), 6.89 (dd, $J = 4.7, 3.6$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H);

(*E*)-2-(4-metilstiril)tiofen (*trans*-**110**): 810 mg, 37 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE) = 0.57; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.37 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.21 – 7.14 (m, 3H), 7.05 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.00 (dd, $J = 5.2, 3.6$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 201 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 201.0659, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 201.0660.

(*Z*)-2-(4-metoksistiril)tiofen (*cis*-**111**): 403 mg, 17 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (1 %)) = 0.30; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.29 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 4.9, 3.6$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H).

(*E*)-2-(4-metoksistiril)tiofen (*trans*-**111**): 803 mg, 34 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (1 %)) = 0.23; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.40 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 6.88 (dd, $J = 4.9, 3.6$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 217 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{OS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 217.0609, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 217.0605.



(*Z*)-2-(4-klorostiril)tiofen (*cis*-**112**): 591 mg, 25 % izoliranog spoja; R_f (PE) = 0.75; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.33 – 7.28 (m, 4H), 7.12 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.90 (dd, $J = 5.0, 3.6$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H);

(*E*)-2-(4-klorostiril)tiofen (*trans*-**112**): 629 mg, 26 % izoliranog spoja; R_f (PE) = 0.65; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.39 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.33 – 7.28 (m, 2H), 7.21 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 5.0, 3.4$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 221/223 (80), 186 (100);

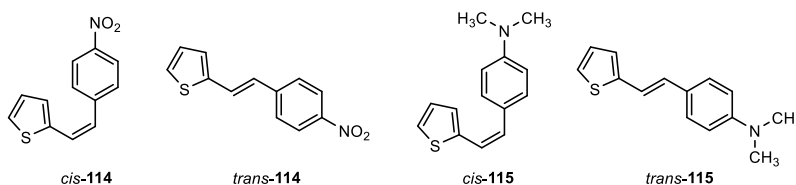
HRMS (m/z) za $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 221.0112, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 221.0114.

3. Eksperimentalni dio

(*Z*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*cis*-**113**): 831 mg, 36 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0.52; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.63 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.92 (dd, $J = 4.9, 3.6$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H);

(*E*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*trans*-**113**): 585 mg, 25 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0.43; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.62 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 5.1, 3.5$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 212 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 212.0458, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 212.0456.



(*Z*)-2-(4-nitrostiril)tiofen (*cis*-**114**): 582 mg, 23 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (15%)) = 0.63; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.19 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J = 5.2, 3.5$ Hz, 1H), 6.83 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.55 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H);

(*E*)-2-(4-nitrostiril)tiofen (*trans*-**114**): 630 mg, 25 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (15%)) = 0.51; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.21 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J = 5.2, 3.7$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 232 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{NO}_2\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 232.0356, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 232.0354.

(*Z*)-*N,N*-dimetil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*cis*-**115**): 524 mg, 21 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.28 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.91 (dd, $J = 5.2, 3.6$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.54 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 2.98 (s, 6H);

(*E*)-*N,N*-dimetil-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)anilin (*trans*-**115**): 630 mg, 25 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0.47; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.37 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 4.7, 3.6$ Hz,

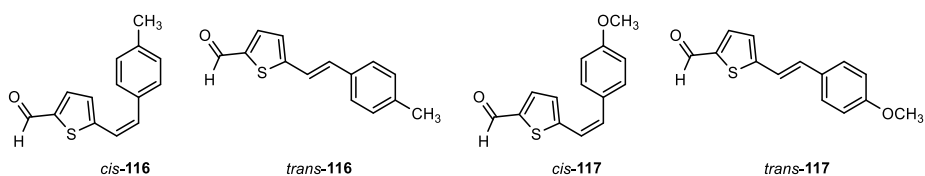
3. Eksperimentalni dio

1H), 6.88 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 2.99 (s, 6H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 230 (100);

HRMS (m/z) za $C_{14}H_{15}NS$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ _{izračunato} = 230.0929, $[M+H]^+$ _{izmjereno} = 230.0925.

3.8.3. Sinteza formilnih derivata 116-121

Dobiveni tienostilbeni, produkti Wittigovih reakcija **110-115** podvrgnuti su Vilsmeierovom formiliranju. Odabrani tienostilbeni, kao smjese izomera, otopljeni su u 2 mL DMF i miješani 10 minuta na 10 °C. Ta je temperatura postignuta pomoću vodene kupelji uz nekoliko kockica leda i praćena termometrom. Odvagana količina $POCl_3$ polako je dodavana kap po kap. Nakon 30 minuta, vodena kupelj je uklonjena, a reakcijska smjesa je ostavljena da se miješa na sobnoj temperaturi. U reakcijama za pripremu spojeva **116-118**, reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 48 h. Reakcijska smjesa za pripremu spojeva **117** i **120** zagrijana je na 80 °C, a reakcijska smjesa za pripremu spoja **121** na 60 °C. Zagrijavanje je nastavljeno 3 h, nakon čega je reakcijska smjesa ostavljena da se miješa na sobnoj temperaturi 48 h. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je neutralizirana pomoću 10 % otopine NaOH. Kada je postignuta neutralizacija, provedena je ekstrakcija pomoću E i vode. Organski sloj sušen iznad $MgSO_4$, filtriran, a E je uparen na rotacijskom uparivaču. Suha reakcijska smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/E ili PE/DCM eluensa promjenjive polarosti. U prvim frakcijama izolirani su neizreagirani polazni spojevi **110-115** (uglavnom kao *cis*-izomeri), dok su u posljednjim frakcijama dobiveni željeni formilni derivati **116-121** (uglavnom kao *trans*-izomeri). Dalje su korišteni u reakcijama pripreme za oksime **122-127**.



(*Z*)-5-(4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**116**): 167 mg, 12 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.41; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.79 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.18 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.18 – 7.12 (m, 2H), 6.65 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 11.7$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H).

(*E*)-5-(4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**116**): 335 mg, 24 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.27; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.85 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 7.15 (d, J

3. Eksperimentalni dio

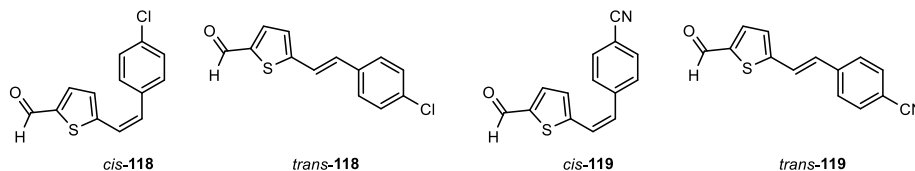
= 8.9 Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 229 (100);

HRMS (m/z) za $C_{14}H_{12}OS$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 229.0609, $[M+H]^+$ izmjereno = 229.0608.

(*Z*)-5-(4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**117**): 66 mg, 5 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.20; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.79 (s, 1H), 7.55 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.75 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H);

(*E*)-5-(4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**117**): 261 mg, 20 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.15; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.83 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.07 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 3.84 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 245 (100), 121 (40);

HRMS (m/z) za $C_{14}H_{12}O_2S$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 245.0458, $[M+H]^+$ izmjereno = 245.0456.



(*Z*)-5-(4-klorostiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**118**): 74 mg, 5 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30 %)) = 0.56; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.80 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.02 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).

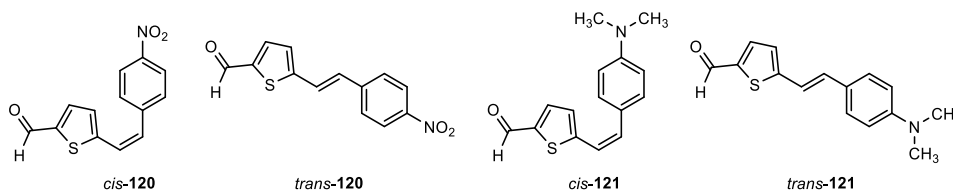
(*E*)-5-(4-klorostiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**118**): 370 mg, 27 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30 %)) = 0.44; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 9.87 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.43 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.35 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 249/251 (100), 121 (30);

HRMS (m/z) za $C_{13}H_9ClOS$ (smjesa izomera): $[M+H]^+$ izračunato = 249.0061, $[M+H]^+$ izmjereno = 249.0063.

(*Z*)-4-(2-(5-formiltiofen-2-il)vinil)benzonitril (*cis*-**119**): dobiven samo u tragovima; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0,17.

3. Eksperimentalni dio

(*E*)-4-(2-(5-formiltiofen-2-il)vinil)benzonitril (*trans*-**119**): 472 mg, 30 % izoliranog spoja; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.16; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.90 (s, 1H), 7.70 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.67 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 240 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{NOS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 240.1331, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 240.1335.



(*Z*)-5-(4-nitrostiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**120**): 122 mg, 9 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (50 %)) = 0.25; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.82 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.60 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H).

(*E*)-5-(4-nitrostiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**120**): 244 mg, 18 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (50 %)) = 0.20; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.91 (s, 1H), 8.25 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.71 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.26 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 260 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_9\text{NO}_3\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 260.0303, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 260.0306.

(*Z*)-5-(4-(dimetilamino)stiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**121**): 247 mg, 19 % izoliranog spoja; R_f (DCM) = 0.51; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.63 (s, 1H), 7.02 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.55 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.49 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 2.98 (s, 6H).

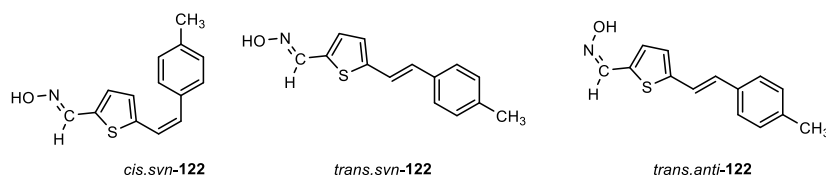
(*E*)-5-(4-(dimetilamino)stiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**121**): 227 mg, 28 % izoliranog spoja; R_f (DCM) = 0.44; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.80 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 2.99 (s, 6H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 258 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NOS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 258.0874, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 258.0879.

3. Eksperimentalni dio

3.8.4. Sinteza oksimskih derivata 122-127

Dobivena smjesa *cis*- i *trans*-izomera aldehida, produkti Vilsmeierova formiliranja **117-121**, prevedena je u odgovarajuće oksime. Kristali $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$ otopljeni su u pripremljenoj smjesi od 10 mL EtOH i 3 mL destilirane vode. Nakon što je dobivena homogena otopina, dodan je odgovarajući pripremljeni derivat heterostilbenskog aldehida **117-121**. Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 24 sata. Kada je reakcija završena, otapalo je upareno na rotavaporu pod sniženim tlakom. Reakcijska smjesa je pročišćena ponovljenom kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/DCM i DCM/MeOH eluensa promjenjive polarosti. Tako su izolirani željeni derivati oksima **122-127** kao čisti geometrijski izomeri.

5-(4-metilstilil)tiofen-2-karbaldehid oksim (**122**). Dobiveno 465 mg (87 %); prema ^1H NMR spektroskopiji omjer izomera u smjesi je *cis,syn-122* : *trans,syn-122* : *trans,anti-122* = 1:3:15.



(*E*)-5-((*Z*)-4-metilstilil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-122*): 5 mg; R_f (PE/E (30 %)) = 0.33; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.14 (s, 1H), 7.25 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.98 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.61 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.17 (s, 3H).

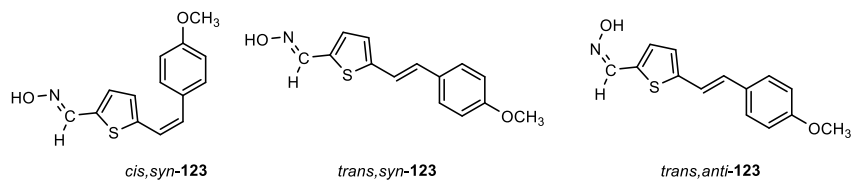
(*E*)-5-((*E*)-4-metilstilil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-122*): 55 mg; R_f (PE/E (30 %)) = 0.34; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.22 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.36 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.16 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 145.2, 138.1, 133.8, 133.6, 130.5, 130.2, 129.5, 126.5, 126.4, 125.9, 120.4, 21.4.

(*Z*)-5-((*E*)-4-metilstilil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-122*): 67 mg; R_f (PE/E (30 %)) = 0.20; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.64 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.16 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 141.8, 138.1, 133.8, 132.6, 130.2, 129.5, 128.9, 126.5, 126.5, 124.8, 120.4, 21.4; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 244 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NOS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 244.0718, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 244.0716.

3. Eksperimentalni dio

5-(4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (**123**). Dobiveno 288 mg (83 %); prema ^1H NMR spektroskopiji omjer izomera u smjesi je *cis,syn-123* : *trans,syn-123* : *trans,anti-123* = 1:6:20



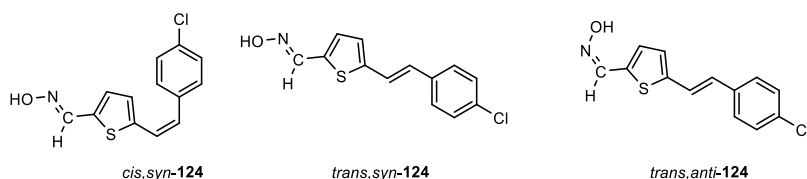
(*E*)-5-((*Z*)-4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-123*): 5 mg; R_f (DCM) = 0.38; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.15 (s, 1H), 7.29 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.10 (s, 1H), 6.98 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.58 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 6.55 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.7, 134.0, 132.7, 129.5, 128.8, 128.7, 128.5, 127.3, 124.9, 118.8, 113.7, 54.7.

(*E*)-5-((*E*)-4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-123*): 68 mg; R_f (DCM) = 0.38; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.22 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.41 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 3.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 145.2, 133.3, 130.7, 130.4, 129.9, 129.4, 127.8, 125.4, 122.0, 119.3, 114.3, 55.2.

(*Z*)-5-((*E*)-4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-123*): 93 mg; R_f (DCM) = 0.19; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.64 (s, 1H), 7.42 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 4.0 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 4.62 (s, 1H), 3.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 141.2, 133.3, 132.6, 132.1, 129.4, 128.9, 128.7, 127.4, 124.0, 118.8, 113.8, 54.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 260 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}_2\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 260.0667, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 260.0666.

5-(4-klorstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (**124**). Dobiveno 363 mg (77 %); prema ^1H NMR spektroskopiji omjer izomera u smjesi je *cis,syn-124* : *trans,syn-124* : *trans,anti-124* = 1:5:13



3. Eksperimentalni dio

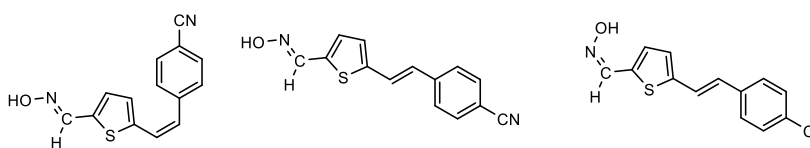
(*E*)-5-((*Z*)-4-klorstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**124**): 9 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.58; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.15 (s, 1H), 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H);

(*E*)-5-((*E*)-4-klorstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**124**): 56 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.50; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.22 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.14 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 145.2, 144.4, 135.1, 134.2, 133.6, 130.4, 129.0, 128.7, 127.6, 126.5, 121.9.

(*Z*)-5-((*E*)-4-klorstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**124**): 94 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.20; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.66 (s, 1H), 7.40 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 141.6, 135.1, 133.7, 132.5, 130.1, 129.0, 128.8, 128.7, 127.7, 125.5, 122.0; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 264/266 (100), 121 (35);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{ClNOS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 264.0172, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 264.0171.

4-(2-(5-((hidroksiimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzonitril oksim (**125**). Dobiveno 366 mg (73 %); prema $^1\text{H NMR}$ spektroskopiji omjer izomera u smjesi je *cis,syn*-**125** : *trans,syn*-**125** : *trans,anti*-**125** = 1:30:10.



4-((*Z*)-2-(5-((*E*)-(hidroksiimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*cis,syn*-**125**): 3 mg; R_f (DCM/MeOH (3 %)) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.14 (s, 1H), 7.64 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.35 (s, 1H), 6.99 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).

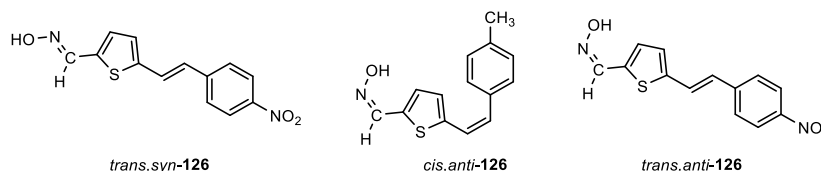
4-((*E*)-2-(5-((*E*)-(hidroksiimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*trans,syn*-**125**): 83 mg; R_f (DCM/MeOH (3 %)) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.23 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.43 (s, 1H), 7.27 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.9, 143.5, 141.1, 135.4, 132.6, 132.5, 130.4, 127.9, 127.8, 126.8, 124.8, 118.9.

3. Eksperimentalni dio

4-((*E*)-2-(5-((*Z*)-(hidroksiimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*trans,anti*-**125**): 28 mg; R_f (DCM/MeOH (3 %)) = 0.27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.68 (s, 1H), 7.63 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 141.4, 141.1, 132.7, 132.6, 132.5, 129.6, 127.8, 127.2, 126.8, 126.7, 124.9, 118.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 255 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{OS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 255.0514, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 255.0512.

5-(4-nitrostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (**126**). Dobiveno 220 mg (57 %); prema $^1\text{H NMR}$ spektroskopiji omjer izomera u smjesi je *trans,syn*-**126** : *cis,anti*-**126** : *trans,anti*-**126** = 8:1:5.



(*E*)-5-((*E*)-4-nitrostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**126**): 37 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.24 (s, 1H), 8.21 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.59 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.13 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 143.4, 141.5, 133.7, 132.5, 128.2, 127.3, 126.9, 126.8, 125.8, 124.2.

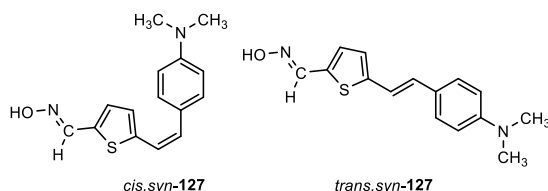
(*Z*)-5-((*Z*)-4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**126**): 6 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0,45; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.20 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.58 (s, 1H), 7.54 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).

(*Z*)-5-((*E*)-4-nitrostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**126**): 16 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.43; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.68 (s, 1H), 7.60 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.38 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 275 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3\text{S}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 275.0412, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 275.0413.

5-(4-dimetilaminostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (**127**). Dobiveno 436 mg (88 %); prema $^1\text{H NMR}$ spektroskopiji omjer izomera u smjesi je *cis,syn*-**127** : *trans,syn*-**127** = 1: 1.

3. Eksperimentalni dio



(*E*)-5-((*Z*)-4-(dimetilamino)stiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-127*): 75 mg; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.21; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.42 (s, 1H), 7.34 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.31 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.90 (dd, $J = 3.9, 1.9$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 2.77 (s, 6H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 149.7, 148.7, 132.9, 130.4, 127.6, 127.6, 125.9, 122.4, 117.8, 116.9, 108.8, 44.6.

(*E*)-5-((*E*)-4-(dimetilamino)stiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-127*): R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.43 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 7.42 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.07 – 6.97 (m, 4H), 6.88 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 2.78 (s, 6H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 273 (100);

HRMS (m/z) za $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{OS}$ (smjesa izomera): $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izračunato} = 273.0553, $[\text{M}+\text{H}]^+$ _{izmjereno} = 273.0557.

3.9. Sinteza heterostilbena 128-145, aldehida 146-168 i oksima 169-190

3.9.1. Opće napomene

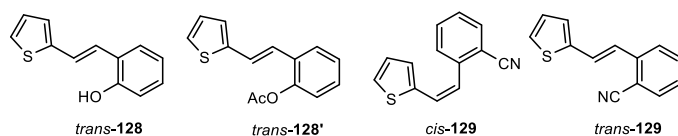
Svi spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) za ^1H i ^{13}C zabilježeni su u deuteriranom kloroformu, CDCl_3 i deuteriranom metanolu, CD_3OD upotrebom TMS kao standarda na sobnoj temperaturi na spektrometrima Bruker Avance 300 i 600 MHz. Za potpunu karakterizaciju ciljanih oksima korištene su dodatne tehnike 2D-CH korelacija (HSQC) i 2D HH-COSY. Analize masene spektrometrije visoke rezolucije (HRMS) provedene su na spektrometru mase (MALDI TOF/TOF analizator) opremljenom Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom prilagodbe od 200 Hz u pozitivu (H^+) ili negativu ($-\text{H}$) mod ionskog reflektora. Sva otapala korištena za sintezu pročišćena su destilacijom i komercijalno su dostupna. Bezvodni magnezijev sulfat, MgSO_4 , korišten je za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcije. Kromatografija na stupcu provedena je na stupcima sa silika-gelom (Fluka 0,063–0,2 nm i Fluka 60 Å, tehnička čistoća) uz korištenje odgovarajućeg sustava otapala. Kratice korištene u ovom eksperimentalnom postupku bile su ACN – acetonitril, EtOAc – etil-acetat, PE – petroleter, E – dietileter, EtOH – etanol, DCM – diklorometan i sh – rame, DMF – dimetilformamid, POCl_3 – fosforil-klorid, NaOH – natrijev hidroksid. Sva otapala su uklonjena

3. Eksperimentalni dio

iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod smanjenim tlakom. Početne fosfonijeve soli pripremljene su u laboratoriju iz odgovarajućih bromida, dok su ostali korišteni polazni spojevi bile kupljene kemikalije.

3.9.2. Sinteza polaznih heterostilbena 128-145

Spoj **128** dobiven je kao većinski *trans*-izomer, a spojevi **129-145** dobiveni su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera korištenjem Wittigove reakcije. Reakcijska aparatura je propuhana dušikom, N₂ 15 minuta prije dodavanja reaktanata. Reakcija se provodi u tikvici s tri grla (100 mL) opremljenoj klor-kalcijskom cijevi i spojenim balonom N₂. Fosfonijeva sol (5 mmol) je dodana u 40 mL EtOH, a smjesa je miješana magnetskom miješalicom. Otopine natrijevih etoksida (5 mmol, 1.1 ekv. Na otopljenog u 10 mL apsolutnog etanola) dodane su u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. Reakcijskim smjesama su zatim dodani odgovarajući aldehidi (5 mmol), a reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju 24 sata na sobnoj temperaturi. Reakcijske smjese su uparene na uparivaču i zatim dobivene krutine otopljene u toluenu. Smjese su zatim ekstrahirane toluenom (3 x 15 mL). Organski slojevi su sušeni iznad MgSO₄. Prvi izomer koji se eluira je *cis*-izomer, a *trans*-izomer je izoliran u zadnjim frakcijama. Spoj *trans*-**128** je preveden u aldehyd Vielsmeierovim formiliranjem međutim nije dao produkt. Nakon toga, provedena je zaštita OH skupine u okrugloj tikvici (25 mL) pomoću anhidrida octene kiseline (1,5 mL) na sobnoj temperaturi preko noći u piridinu. Nakon čega je dodana smjesa vode, toluena i acetona (1:3:3), te je reakcijska smjesa uparena pod sniženim tlakom, a žuta krutina je zaostala u tikvici (*trans*-**128'**).



(*E*)- 2-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**128**): 495 mg, 82 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 126-127$ °C; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.33; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 335 (27412); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.46 (dd, $J = 7.7, 1.6$ Hz, 1H), 7.28 (dt, $J = 16.1, 0.8$ Hz, 1H), 7.20 – 7.16 (m, 2H), 7.15 – 7.10 (m, 1H), 7.07 (dt, $J = 3.7, 0.9$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J = 5.1, 3.5$ Hz, 1H), 6.93 (td, $J = 7.5, 1.2$ Hz, 1H), 6.78 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 4.97 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 152.9, 143.3, 128.6, 127.6, 127.2, 126.0, 124.4, 124.3, 123.3, 122.7, 121.2, 115.9; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 202 (25), 105 (100).

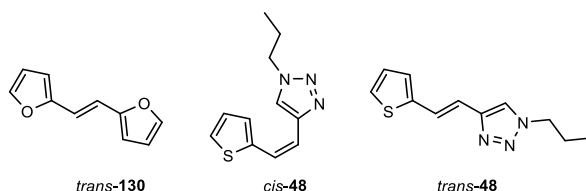
(*E*)-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenil acetat (*trans*-**128'**): 286 mg, 95 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (DCM) = 0.75; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.62 (dd, $J = 7.6, 1.5$ Hz, 1H), 7.28

3. Eksperimentalni dio

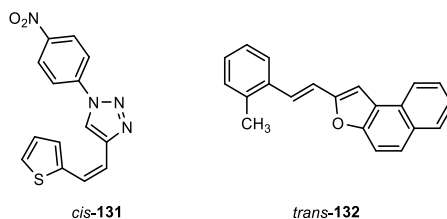
– 7.20 (m, 4H), 7.08 – 7.06 (m, 2H), 7.00 (dd, $J = 5.2, 3.7$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 169.3, 148.1, 142.7, 129.6, 128.4, 127.6, 126.6, 126.3, 124.7, 124.0, 122.8, 122.8, 121.5, 20.9.

(*Z*)-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*cis*-**129**): 350 mg, 50 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (DCM) = 0.65; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.71 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.57 – 7.53 (m, 2H), 7.42 – 7.39 (m, 1H), 7.12 (d, $J = 5.8$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.90 (dd, $J = 4.9, 3.6$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).

(*E*)-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*trans*-**129**): 350 mg, 50 % izoliranog spoja; bezbojni prah; R_f (DCM) = 0.63; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.72 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.55 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.04 (dd, $J = 4.9, 3.5$ Hz, 1H).



(*E*)-1,2-di(furan-2-il)eten (*trans*-**130**): 93 mg, 20 % izoliranog spoja; bezbojni prah; R_f (PE) = 0.58; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.42 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 17.7$ Hz, 1H), 6.81 (t, $J = 19$ Hz, 1H), 6.42 – 6.40 (m, 2H), 6.32 (d, $J = 3.2$ Hz, 2H).

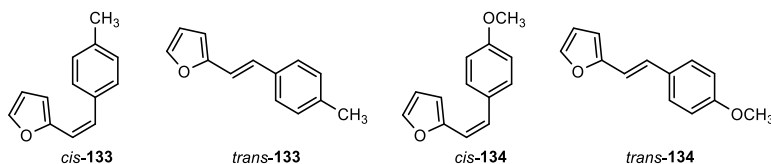


(*Z*)-1-(4-nitrofenil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**131**): 85 mg, 42 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (E) = 0.85; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.41 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.94 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 5.5$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.06 (t, $J = 4.1$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.59 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 147.2, 145.3, 141.5, 138.9, 129.2, 127.3, 126.6, 125.7, 125.6, 120.4, 119.8, 116.7.

(*E*)-2-(2-metilstiril)nafto[2,1-*b*]furan (*trans*-**132**): 210 mg, 95 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (50 %)) = 0.95; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 8.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.93 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.74 – 7.55 (m, 5H), 7.48 (t, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.25 – 7.18 (m, 4H), 7.01 (d, $J =$

3. Eksperimentalni dio

16.2 Hz, 1H), 2.50 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 154.9, 152.4, 136.2, 135.6, 130.6, 130.4, 128.8, 127.9, 127.5, 127.1, 126.2, 126.2, 125.6, 125.5, 125.0, 124.6, 124.5, 123.5, 117.5, 112.1, 104.2, 19.9.

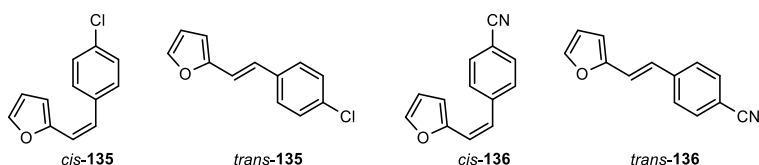


(*Z*)-2-(4-metilstiril)furan (*cis*-**133**): 317 mg, 35 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE) = 0.36; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.37 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.43 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.30 (dd, $J = 2.8$ Hz, 1.5 Hz, 1H), 2.35 (s, 3H).

(*E*)-2-(4-metilstiril)furan (*trans*-**133**): 475 mg, 52 % izoliranog spoja; R_f (PE) = 0.36; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.38 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.00 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.39 (dd, $J = 1.8, 3.3$ Hz, 1H), 6.25 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 2.33 (s, 3H).

(*Z*)-2-(4-metoksistiril)furan (*cis*-**134**): 310 mg, 15 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (2 %)) = 0.32; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.39 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.78 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 6.30 (dd, $J = 1.3, 3.1$ Hz, 1H), 6.25 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H).

(*E*)-2-(4-metoksistiril)furan (*trans*-**134**): 750 mg, 36 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (2 %)) = 0.31; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.51 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.40 (dd, $J = 1.4, 2.5$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 16$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.82 (d, 3H).



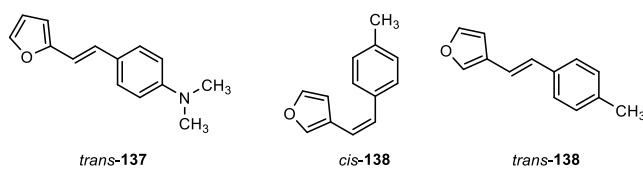
(*Z*)-2-(4-klorostiril)furan (*cis*-**135**): 240 mg, 23 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (2 %)) = 0.95; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.38 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.40 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.35 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.35 – 6.32 (m, 1H), 6.26 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H).

3. Eksperimentalni dio

(*E*)-2-(4-klorstiril)furan (*trans*-**135**): 272 mg, 26 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (2 %)) = 0.94; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.39 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.97 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.35 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.32 (dd, $J = 1.5, 3.3$ Hz, 1H).

(*Z*)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzoničil (*cis*-**136**): 170 mg, 9 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30 %)) = 0.19; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.55 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.50 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.44 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.40 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.37 – 6.35 (m, 1H), 6.31 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H).

(*E*)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzoničil (*trans*-**136**): 150 mg, 8 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (30 %)) = 0.22; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.54 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.44 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.45 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 6.36 (dd, $J = 1.9, 3.3$ Hz, 1H).

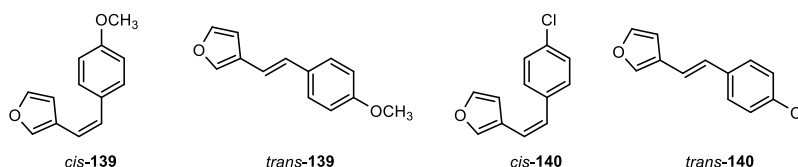


(*E*)-4-(2-(furan-2-il)vinil)-*N,N*-dimetilanilin (*trans*-**137**): 79 mg, 11 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (5 %)) = 0.36; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.44 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.42 (dd, $J = 5.3, 2.4$ Hz, 1H), 6.32 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 3.06 (s, 6H).

(*Z*)-3-(4-metilstiril)furan (*cis*-**138**): 244 mg, 50 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (10 %)) = 0.86; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.36 (s, 1H), 7.22 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.51 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.16 (d, $J = 1.4$ Hz, 1H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 142.5, 141.9, 136.9, 134.9, 129.5, 128.9, 128.6, 122.4, 119.5, 110.3, 21.2.

(*E*)-3-(4-metilstiril)furan (*trans*-**138**): 249 mg, 51 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (10 %)) = 0.81; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.51 (s, 1H), 7.40 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.92 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.6, 140.7, 137.2, 134.6, 129.3, 128.4, 126.0, 124.7, 117.4, 104.4, 21.2.

3. Eksperimentalni dio

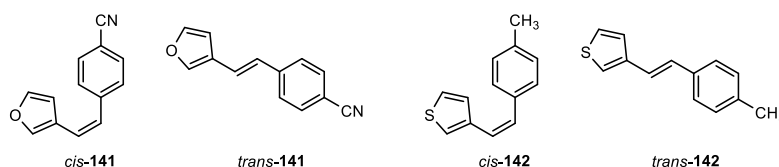


(*Z*)-3-(4-metoksistiril)furan (*cis*-**139**): 160 mg, 50 % izoliranog spoja; bijelo ulje; R_f (PE) = 0.80; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.32 (s, 1H), 7.27 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.48 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 6.18 (s, 1H), 3.82 (s, 3H).

(*E*)-3-(4-metoksistiril)furan (*trans*-**139**): 217 mg, 30 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE) = 0.75; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.50 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 9.1$ Hz, 3H), 6.88 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.84 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 3.82 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 143.6, 140.5, 131.3, 130.2, 127.9, 127.3, 124.7, 116.4, 114.2, 107.4, 55.3.

(*Z*)-3-(4-kloristiril)furan (*cis*-**140**): 256 mg, 73 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE) = 0.64; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.36 (s, 1H), 7.30 – 7.26 (m, 4H), 7.25 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 6.47 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.11 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 142.7, 142.2, 136.3, 132.9, 130.0, 128.4, 128.1, 122.9, 120.8, 110.0.

(*E*)-3-(4-kloristiril)furan (*trans*-**140**): 95 mg, 27 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE) = 0.43; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.54 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.75 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.8, 141.2, 128.8, 127.3, 127.1, 119.0, 107.3.



(*Z*)-3-(4-cijanostiril)furan (*cis*-**141**): 278 mg, 68 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/E (5 %)) = 0.54; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.60 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.59 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.06 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.1, 142.7, 132.5, 132.1, 129.5, 127.4, 126.5, 124.0, 122.7, 121.6, 109.8.

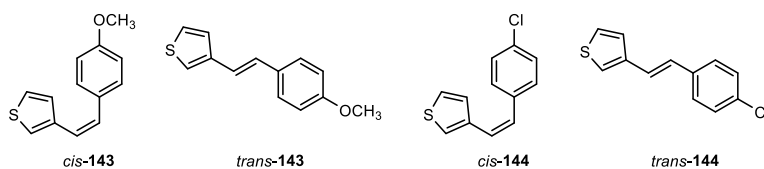
(*E*)-3-(4-kloristiril)furan (*trans*-**141**): 134 mg, 33 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (5 %)) = 0.33; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.61 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.51 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.60 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H),

3. Eksperimentalni dio

6.66 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.1, 142.1, 141.9, 134.5, 126.5, 124.0, 122.2, 119.1, 110.3, 107.2.

(*Z*)-3-(4-metilstiril)tiofen (*cis*-**142**): 377 mg, 44 % izoliranog spoja; $R_f(\text{PE}) = 0.32$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.14 – 7.11 (m, 2H), 7.09 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 2.34 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 138.4, 136.9, 134.8, 129.5, 129.0, 128.6, 128.1, 124.8, 123.8, 123.8, 21.3.

(*E*)-3-(4-metilstiril)tiofen (*trans*-**142**): 289 mg, 33 % izoliranog spoja; $R_f(\text{PE}) = 0.21$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.37 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.33 – 7.29 (m, 2H), 7.23 (d, 1H), 7.15 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 140.3, 137.3, 134.6, 129.4, 128.6, 126.2, 126.1, 124.9, 122.0, 121.9, 21.2.



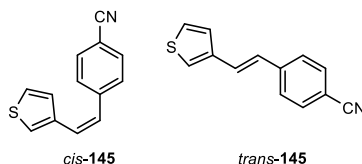
(*Z*)-3-(4-metoksistiril)tiofen (*cis*-**143**): 244 mg, 50 % izoliranog spoja; $R_f(\text{PE}) = 0.80$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.37 (s, 1H), 7.26 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.25 (t, $J = 1.7$ Hz, 1H), 6.85 (d, 1H, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.48 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.31 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.18 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 158.7, 142.5, 141.8, 130.3, 129.8, 129.2, 122.4, 118.9, 113.6, 110.3, 100.0, 55.2.

(*E*)-3-(4-metoksistiril)tiofen (*trans*-**143**): 248 mg, 51 % izoliranog spoja; $R_f(\text{PE}) = 0.76$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.41 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.34 – 7.29 (m, 2H), 7.22 – 7.20 (m, 1H), 7.00 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.82 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 159.2, 140.4, 130.2, 128.2, 127.5, 126.1, 124.9, 121.5, 120.9, 114.2, 55.3.

(*Z*)-3-(4-klorostiril)tiofen (*cis*-**144**): 222 mg, 41 % izoliranog spoja; $R_f(\text{PE}) = 0.64$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.23 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.15 (dd, $J = 5.1$, 2.9 Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.48 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 137.9, 136.2, 132.9, 130.1, 128.5, 128.2, 127.8, 125.2, 125.1, 124.3.

3. Eksperimentalni dio

(*E*)-3-(4-klorstiril)tiofen (*trans*-**144**): 186.1 mg, 34 % izoliranog spoja; R_f (PE) = 0.49; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.33 – 7.27 (m, 5H), 7.09 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 139.8, 135.9, 133.0, 128.8, 127.4, 127.3, 126.3, 124.8, 123.5, 122.7.

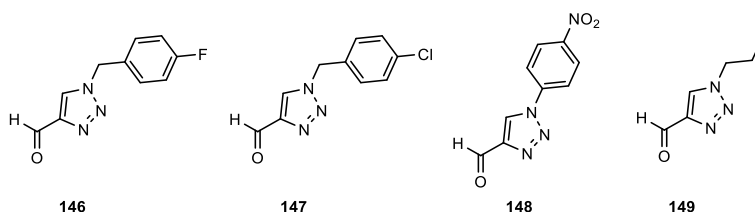


(*Z*)-4-(2-(tiofen-3-il)vinil)benzonitril (*cis*-**145**): 474 mg, 75 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (15 %)) = 0.69; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.56 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.39 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.18 (dd, $J = 4.9, 3.0$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 5.52 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 142.6, 137.3, 132.0, 132.1, 129.5, 127.5, 127.1, 125.6, 125.0, 118.9, 110.6.

(*E*)-4-(2-(tiofen-3-il)vinil)benzonitril (*trans*-**145**): 158 mg, 25 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (15 %)) = 0.48; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.62 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.54 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.36 (s, 2H), 7.26 (s, 1H), 7.23 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 142.0, 139.2, 132.5, 126.7, 126.6, 126.6, 126.4, 124.8, 124.3, 119.1, 110.4.

3.9.3. Sinteza polaznih aldehida 146-168

Odgovarajući amini (1,2 ekv.) dodani su otopini triazola **148** [257] (1 ekv.) u suhom dioksanu i propuhani argonom, Ar. Reakcijske smjese su miješane na 130 °C. Nakon 24 sata, reakcijske smjese su ohlađene na sobnu temperaturu i uparene do suhih, sirovih produkata **146**, **147** i **149**. Sirovi produkti su pročišćeni kromatografijom na koloni.



1-(4-fluorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**146**): 128 mg, 78 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/EtOAc (2 %)) = 0.53; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.13 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.33 – 7.30 (m, 2H), 7.13 – 7.08 (m, 2H), 5.57 (s, 2H).

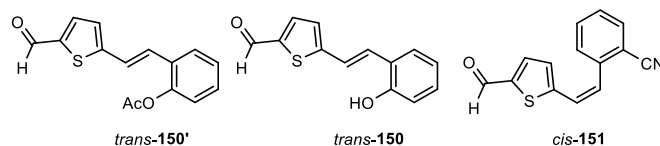
3. Eksperimentalni dio

1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**147**): 85 mg, 68 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/EtOAc (2 %)) = 0.50; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.13 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.41 – 7.38 (m, 4H), 5.57 (s, 2H).

1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**148**): 720 mg, 72 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/EtOAc (2 %)) = 0.52; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.20 (s, 1H), 8.66 (s, 1H), 8.49 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 8.04 (d, $J = 9.0$ Hz, 2H).

1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**149**): 100 mg, 40 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/EtOAc (2 %)) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.14 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 4.95 – 4.88 (m, 1H), 1.65 (s, 3H), 1.64 (s, 3H).

Dobiveni tienostilbeni, produkti Wittigovih reakcija **123-141**, podvrgnuti su Vilsmeierovom formiliranju. Odabrani tienostilbeni, kao smjese izomera, otopljeni su u 2 mL DMF i miješani 10 minuta na 10 °C. Ta je temperatura postignuta pomoću vodene kupelji s nekoliko kockica leda i praćena termometrom. Izvagana količina POCl_3 polako je dodavana kap po kap. Nakon 30 minuta, vodena kupelj je uklonjena, a reakcijska smjesa je ostavljena da se miješa na sobnoj temperaturi. Po završetku reakcije, reakcijska smjesa je neutralizirana pomoću 10 % otopine NaOH. Kada je postignuta neutralizacija, provedena je ekstrakcija s E i vodom. Organski sloj je ispran s vodom i osušen iznad MgSO_4 , filtriran, a E je uparen na rotacijskom uparivaču. Suha reakcijska smjesa pročišćena je kromatografijom na stupcu silikagela upotrebom PE/E ili PE/DCM eluensa promjenjive polarnosti. U prvim frakcijama izolirani su neizreagirani polazni spojevi (kao *cis*-izomeri), dok su u posljednjim frakcijama dobiveni željeni formilni derivati (kao *trans*-izomeri) **146-149**, **151-164**. Spoj *trans*-**150'** je otopljen u 3,5 mL metanola p.a. te mu je dodana kap po kap prethodno pripravljena 0,1 M otopina NaOCH_3 . Reakcija se miješa na sobnoj temperaturi 2,5 h nakon čega se neutralizira s 10 % HCl. Reakcijska smjesa je uparena na rotacijskom uparivaču i zaostao je u tikvici žuti prah koji je kolonskom kromatografijom dao čisti *trans*-**150**.



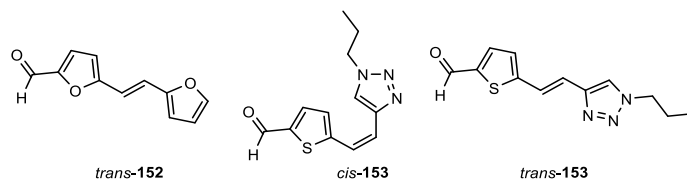
(*E*)-2-(2-(5-formiltiofen-2-il)vinil)fenil acetat (*trans*-**150'**): 128 mg, 78 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM) = 0.36; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.86 (s, 1H), 7.65 – 7.64 (m, 2H), 7.33 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.27 – 7.24 (m, 1H), 7.21 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 2.39 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150

3. Eksperimentalni dio

MHz) δ /ppm: 187.7, 169.2, 152.1, 148.5, 141.9, 137.2, 129.6, 128.5, 127.2, 126.5, 126.4, 125.9, 123.0, 122.9, 20.9.

(*E*)-5-(2-hidroksistiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**150**): 60 mg, 50 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (E) = 0.26; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.85 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.50 (dd, $J = 7.7, 1.4$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.96 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 5.38 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 182.8, 153.7, 153.5, 141.3, 137.5, 129.8, 128.0, 127.7, 126.4, 123.3, 121.8, 121.2, 116.2.

(*Z*)-2-(2-(5-formiltiofen-2-il)vinil)benzoni-tril (*cis*-**151**): 10 mg, 20 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM) = 0.40; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.79 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.61 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.57 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 7.51 – 7.47 (m, 2H), 7.05 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 182.9, 147.6, 143.5, 140.1, 135.9, 133.5, 130.3, 129.6, 128.8, 126.4, 117.4, 112.3.

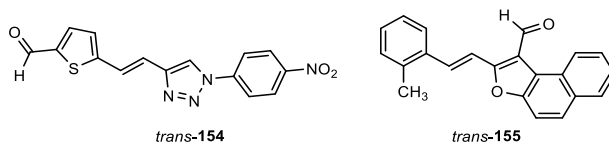


(*E*)-5-(2-(furan-2-il)vinil)furan-2-karbaldehid (*trans*-**152**): 74 mg, 60 % izoliranog spoja; crveno ulje; R_f (PE/E (20 %)) = 0.85; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 9.57 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.26 – 7.23 (m, 1H), 7.16 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.82 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.49 – 6.45 (m, 3H).

(*Z*)-5-(2-(1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**153**): 25 mg, 25 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (90 %)) = 0.25; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.89 (s, 1H), 7.69 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.36 – 4.33 (m, 2H), 2.00 – 1.93 (m, 2H), 1.00 – 0.96 (m, 3H).

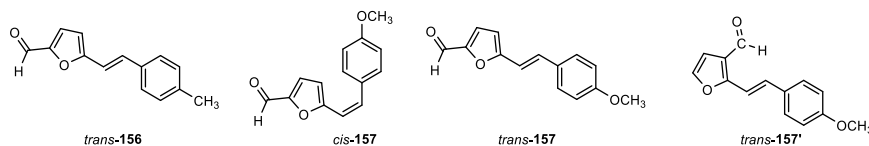
(*E*)-5-(2-(1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**153**): 25 mg, 25 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (90 %)) = 0.23; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.87 (s, 1H), 7.67 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.51 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.17 (d, $J = 4.8$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 4.36 – 4.33 (m, 2H), 2.00 – 1.93 (m, 2H), 1.00 – 0.96 (m, 3H).

3. Eksperimentalni dio



(*E*)-5-(2-(1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid (*trans-154*): 12 mg, 10 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM) = 0.15; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.82 (s, 1H), 8.45 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 8.11 (s, 1H), 8.00 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 14.1$ Hz, 1H).

(*E*)-2-(2-metilstiril)nafto[2,1-*b*]furan-1-karbaldehid (*trans-155*): 75 mg, 75 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (50 %)) = 0.75; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 10.67 (s, 1H), 9.30 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.97 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.95 (d, $J = 5.9$ Hz, 1H), 7.86 (d, $J = 9.3$ Hz, 1H), 7.75 – 7.63 (m, 4H), 7.58 – 7.54 (m, 2H), 7.31 – 7.29 (m, 2H), 2.55 (s, 3H).



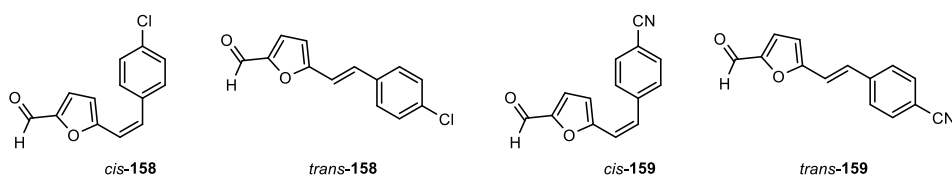
(*E*)-5-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*trans-156*): 693 mg, 76 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (2 %)) = 0.15; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.58 (s, 1H), 7.40 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.36 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H).

(*Z*)-5-(4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid (*cis-157*): 17 mg, 4 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/E (1 %)) = 0.27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.54 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.73 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.41 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 174.4, 166.2, 157.9, 149.2, 134.3, 130.1, 128.6, 115.9, 113.9, 111.4, 55.2.

(*E*)-5-(4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid (*trans-157*): 90 mg, 17 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (1 %)) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.56 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.78 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.47 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 176.7, 160.3, 159.3, 151.4, 134.2, 133.0, 128.4, 114.3, 112.9, 110.1, 55.4.

(*E*)-2-(4-metoksistiril)furan-3-karbaldehid (*trans-157'*): 60 mg, 26 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (1 %)) = 0.15; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.88 (s, 1H), 7.57 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.49 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 16.9$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 3.84 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 178.4, 160.3, 147.5, 134.9, 129.2, 128.5, 114.4, 113.9, 109.7, 55.4.

3. Eksperimentalni dio

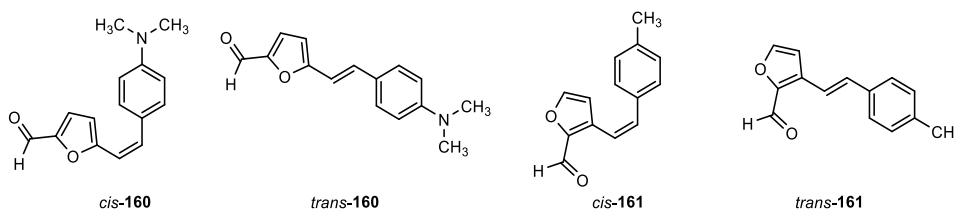


(*Z*)-5-(4-klorostiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-**158**): 128 mg, 21 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (1 %)) = 0.23; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.54 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.34 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 6.47 (d, $J = 13.1$ Hz, 1H), 6.34 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 177.4, 156.7, 151.1, 135.0, 134.7, 134.1, 132.8, 129.9, 128.9, 117.6, 112.2.

(*E*)-5-(4-klorostiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-**158**): 62.7 mg, 11 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (1 %)) = 0.18; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.57 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.53 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 176.9, 158.2, 151.8, 134.6, 134.3, 131.8, 129.1, 128.1, 115.5, 111.0.

(*Z*)-4-(2-(5-formilfuran-2-il)vinil)benzotrile (*cis*-**159**): 21 mg, 3 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (20 %)) = 0.33; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.54 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.16 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H).

(*E*)-4-(2-(5-formilfuran-2-il)vinil)benzotrile (*trans*-**159**): 62 mg, 9 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (20 %)) = 0.23; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.36 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H).



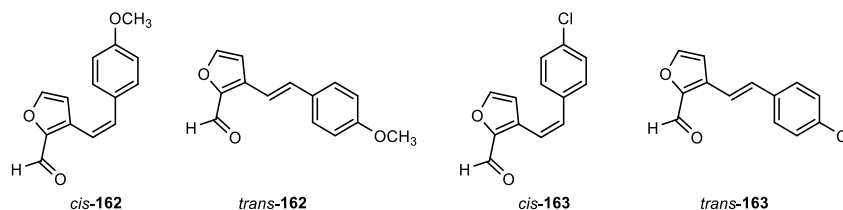
(*Z*)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-**160**): R_f (PE/E (5 %)) = 0.16; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.55 (s, 1H), 7.45 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.23 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 3.01 (s, 6H).

3. Eksperimentalni dio

(*E*)-5-(4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-**160**): $R_f(\text{PE/E (5\%)}) = 0.15$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.53 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.43 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 3.01 (s, 6H).

(*Z*)-3-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-**161**): 151 mg, 83 % izoliranog spoja; narančasto ulje; $R_f(\text{PE/E (5\%)}) = 0.40$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.81 (s, 1H), 7.43 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 6.85 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.27 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 2.35 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 178.2, 148.5, 146.8, 138.0, 135.7, 133.6, 129.1, 128.7, 127.0, 117.4, 112.9, 21.3.

(*E*)-3-(4-metilstiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-**161**): 103 mg, 91 % izoliranog spoja; žuti prah; $R_f(\text{PE/E (5\%)}) = 0.26$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.91 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 7.50 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.45 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.19 (d, $J = 7.8$ Hz, 2H), 7.11 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 178.5, 147.7, 147.5, 139.0, 135.3, 133.4, 129.5, 129.1, 128.7, 127.1, 109.8, 21.3.



(*Z*)-3-(4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-**162**): 90 mg, 70 % izoliranog spoja; žuto ulje; $R_f(\text{PE/DCM (30\%)}) = 0.30$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 9.81 (s, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.26 – 7.21 (m, 2H), 6.85 – 6.76 (m, 4H), 6.31 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H).

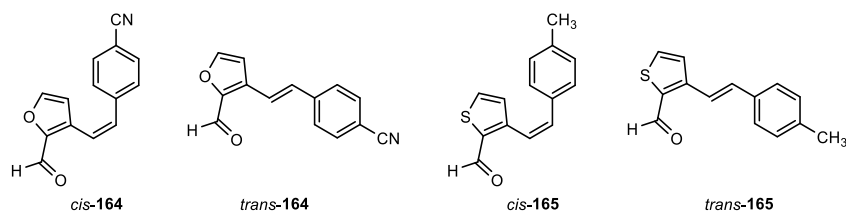
(*E*)-3-(4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-**162**): 135 mg, 60 % izoliranog spoja; žuti prah; $R_f(\text{PE/DCM (30\%)}) = 0.25$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 9.90 (s, 1H), 7.57 – 7.44 (m, 4H), 7.09 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H), 6.93 – 6.83 (m, 3H), 3.84 (s, 3H).

(*Z*)-3-(4-klorostiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-**163**): 187 mg, 95 % izoliranog spoja; narančasto ulje; $R_f(\text{PE/E (10\%)}) = 0.30$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.83 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.22 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.22 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H).

(*E*)-3-(4-klorostiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-**163**): 58 mg, 98 % izoliranog spoja; žuti prah; $R_f(\text{PE/E (5\%)}) = 0.20$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.92 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.35 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.08 (d, $J =$

3. Eksperimentalni dio

16.3 Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 178.2, 147.6, 146.9, 134.2, 133.8, 130.1, 129.0, 128.7, 128.2, 112.8, 109.9.

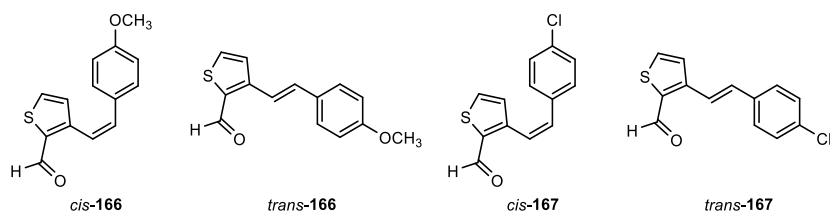


(*Z*)-3-(4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid (*cis*-**164**): 175 mg, 98 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (20 %)) = 0.55; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.85 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.15 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 178.7, 148.9, 147.0, 133.2, 132.6, 132.3, 129.5, 127.4, 121.1, 112.6, 111.6, 109.9.

(*E*)-3-(4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid (*trans*-**164**): 119 mg, 97 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (20 %)) = 0.46; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.94 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.66 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.62 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 179.4, 148.4, 147.6, 140.6, 132.9, 132.6, 127.4, 120.6, 118.8, 111.7, 109.9.

(*Z*)-3-(4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**165**): 110 mg, 37 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.57; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 9.99 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.06 (t, $J = 9.4$ Hz, 4H), 6.92 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.78 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 182.9, 146.9, 138.0, 135.6, 135.0, 133.9, 133.1, 130.0, 129.2, 128.9, 120.4, 21.3.

(*E*)-3-(4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**165**): 186 mg, 74 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.42; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 10.21 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.43 (m, 3H), 7.20 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 182.0, 147.0, 139.0, 137.2, 134.7, 134.3, 133.5, 129.6, 126.9, 126.7, 118.3, 21.4.



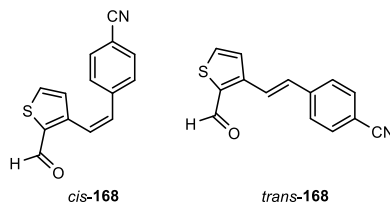
3. Eksperimentalni dio

(*Z*)-3-(4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**166**): 45 mg, 20 % izoliranog spoja; R_f (PE/DCM (60 %)) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 9.99 (s, 1H), 7.57 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.94 (d, $J = 4.6$ Hz, 1H), 6.82 – 6.71 (m, 4H), 3.78 (s, 3H).

(*E*)-3-(4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**166**): 130 mg, 52 % izoliranog spoja, R_f (PE/DCM (60 %)) = 0.50; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 10.21 (s, 1H), 7.66 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.59 – 7.42 (m, 7H), 3.85 (s, 3H).

(*Z*)-3-(4-klorstiril)tiofen-2-karbaldehid (*cis*-**167**): 98 mg, 61 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.19; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 9.99 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.10 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H).

(*E*)-3-(4-klorstiril)tiofen-2-karbaldehid (*trans*-**167**): 96 mg, 72 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.15; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 10.21 (s, 1H), 7.68 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.12 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 182.6, 145.9, 134.5, 134.1, 133.9, 133.6, 133.3, 130.2, 128.7, 128.1, 121.9.



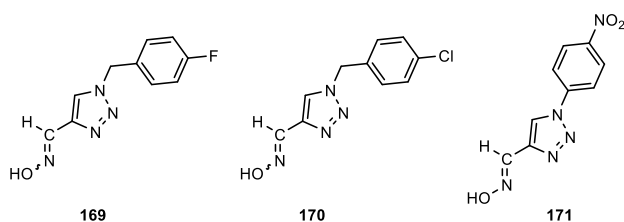
(*Z*)-4-(2-(2-formiltiofen-3-il)vinil)benzonitril (*cis*-**168**): 142 mg, 38 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 9.98 (s, 1H), 7.61 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.27 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.85 (m, 2H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 182.3, 144.9, 140.8, 134.5, 132.8, 132.3, 129.6, 129.5, 124.5, 118.5, 111.5, 82.9.

(*E*)-4-(2-(2-formiltiofen-3-il)vinil)benzonitril (*trans*-**168**): 31 mg, 86 % izoliranog spoja; R_f (PE/E (10 %)) = 0.24; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 10.19 (s, 1H), 7.86 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.68 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.63 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 181.9, 149.7, 140.8, 134.5, 139.5, 133.0, 132.6, 132.3, 129.5, 127.3, 123.1, 118.7.

3. Eksperimentalni dio

3.9.4. Sinteza oksima 169-190

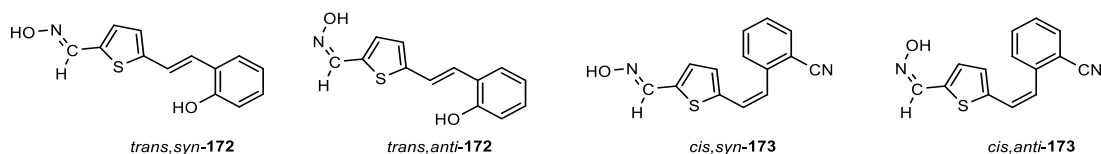
Dobivena smjesa *cis*- i *trans*-izomera aldehida, produkata Vilsmeierovog formiliranja prevedena je u odgovarajuće oksime. Kristali $\text{NH}_2\text{OH} \times \text{HCl}$ otopljeni su u pripremljenoj smjesi od 10 mL EtOH i 3 mL destilirane vode. Nakon što je dobivena homogena otopina, dodan je odgovarajući pripremljeni derivat formilnog aldehida. Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 24 sata. Kada je reakcija završena, otapalo je upareno na rotavaporu pod sniženim tlakom. Reakcijska smjesa je pročišćena ponovljenom kromatografijom na stupcu silika-gela upotrebom PE/DCM i DCM/MeOH eluensa promjenjive polarности. Izolirani su željeni derivati oksima **169-190** kao čisti geometrijski izomeri.



1-(4-fluorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid oksim (**169**): 20 mg, žuto ulje; R_f (DCM/MeOH (30 %)) = 0.22; ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ /ppm: 8.48 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.12 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 5.68 (s, 2H).

1-(4-klorbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid oksim (**170**): 30 mg, žuto ulje; R_f (DCM/MeOH (30 %)) = 0.21; ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ /ppm: 8.11 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 6.86 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.60 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 4.81 (s, 2H).

(*E*)-1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid oksim (*syn*-**171**): 70 mg, 50 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM/MeOH (30 %)) = 0.25; ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz) δ /ppm: 9.29 (s, 1H), 8.48 (d, $J = 9.4$ Hz, 2H), 8.24 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 7.75 (s, 1H).



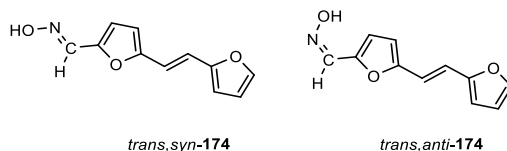
(*E*)-5-((*E*)-2-hidroksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**172**): 13 mg, 26 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.52; ^1H NMR (CDCl_3 , CD_3OD , 600 MHz) δ /ppm: 8.20 (s, 1H), 7.46 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.25 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 6.87 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 153.9, 149.1, 145.6, 133.9, 132.4, 130.2, 128.9, 127.3, 125.9, 125.1, 122.2, 120.7, 116.0.

3. Eksperimentalni dio

(*Z*)-5-((*E*)-2-hidroksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**172**): 26 mg, 52 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.45; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , CD_3OD , 600 MHz) δ/ppm : 7.61 (s, 1H), 7.47 (dd, $J = 7.6, 1.5$ Hz, 1H), 7.38 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.24 (t, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.13 – 7.10 (m, 1H), 7.04 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.88 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 158.6, 152.9, 144.8, 135.9, 133.1, 132.8, 130.8, 129.3, 128.5, 127.8, 125.5, 123.8, 119.6.

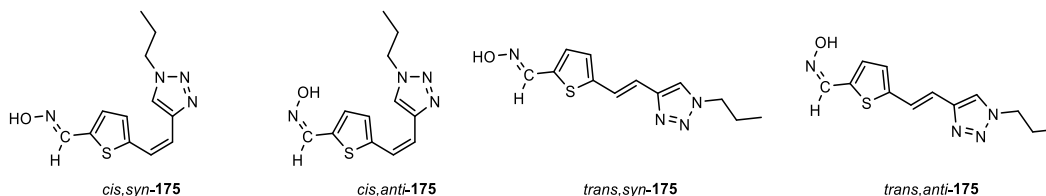
2-((*Z*)-2-(5-((*E*)-(hidroksimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*cis,syn*-**173**): 3 mg, 10 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.65; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.12 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.60 – 7.55 (m, 2H), 7.43 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.99 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.69 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).

2-((*Z*)-2-(5-((*Z*)-(hidroksiimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzonitril (*cis,anti*-**173**): 12 mg, 20 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.45; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.51 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.59 – 7.54 (m, 3H), 7.43 – 7.38 (m, 1H), 7.18 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H), 6.92 – 6.90 (m, 2H), 6.74 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).



(*E*)-5-((*E*)-2-(furan-2-il)vinil)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**174**): 2 mg, 10 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.56; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.97 (s, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.77 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.42 – 6.41 (m, 1H), 6.38 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H).

(*Z*)-5-((*E*)-2-(furan-2-il)vinil)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**174**): 4 mg, 15 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (10 %)) = 0.53; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.51 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.93 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.44 – 6.43 (m, 1H), 6.40 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H).



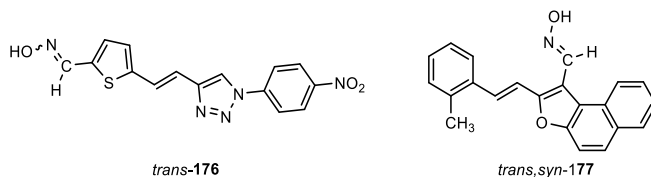
3. Eksperimentalni dio

(*E*)-5-((*Z*)-2-(1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**175**): 22 mg; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.21 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.08 – 7.06 (m, 2H), 6.69 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 12.4$ Hz, 1H), 4.35 – 4.29 (m, 2H), 1.98 – 1.91 (m, 2H), 0.99 – 0.95 (m, 3H).

(*Z*)-5-((*Z*)-2-(1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**175**): 22 mg; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.64 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 7.08 – 7.06 (m, 1H), 6.65 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 4.35 – 4.29 (m, 2H), 1.98 – 1.91 (m, 2H), 0.99 – 0.95 (m, 3H).

(*E*)-5-((*E*)-2-(1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**175**): 22 mg; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.22 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.47 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 3.8$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 4.35 – 4.29 (m, 2H), 1.98 – 1.91 (m, 2H), 0.99 – 0.95 (m, 3H).

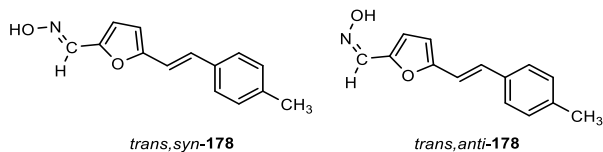
(*Z*)-5-((*E*)-2-(1-propil-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**175**): 22 mg; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.22; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.65 (s, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 4.2$ Hz, 1H), 6.92 (d, $J = 15.4$ Hz, 1H), 4.35 – 4.29 (m, 2H), 1.98 – 1.91 (m, 2H), 0.99 – 0.95 (m, 3H).



5-(2-(1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)vinil)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans*-**176**): 6 mg, 2 % izoliranog spoja; smeđe ulje; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.12; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.82 (s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.48 (s, $J = 9.8$ Hz, 2H), 8.19 (d, $J = 9.6$ Hz, 2H), 7.67 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 4.7$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H).

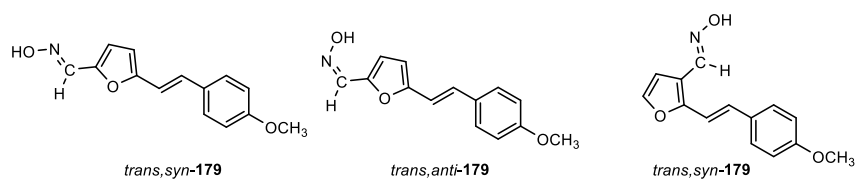
(*E*)-2-((*E*)-2-metilstiril)nafto[2,1-*b*]furan-1-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**177**): 38 mg, 40 % izoliranog spoja; R_f (DCM) = 0.35; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.60 (s, 1H), 7.50 – 7.45 (m, 2H), 7.40 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 7.33 – 7.30 (m, 3H), 7.25 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 7.11 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.04 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 6.87 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 3.22 (s, 3H).

3. Eksperimentalni dio



(*E*)-5-((*E*)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-178*): 203 mg, 28 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.35; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.99 (s, 1H), 7.59 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.15 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.38 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 2.35 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 155.3, 146.2, 140.2, 138.1, 133.8, 129.5, 129.5, 126.5, 115.4, 114.7, 109.9, 21.3.

(*Z*)-5-((*E*)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-178*): 168 mg, 23 % izoliranog spoja; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.26; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.53 (s, 1H), 7.38 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.7$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 140.3, 137.4, 133.7, 129.6, 126.5, 120.3, 114.9, 110.8, 21.4.

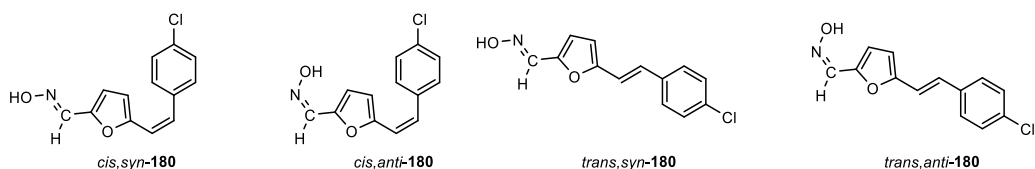


(*E*)-5-((*E*)-4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-179*): 7 mg, 6 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.26; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.97 (s, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.14 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.63 (d, $J = 2.8$ Hz, 1H), 6.36 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 140.3, 129.2, 127.9, 115.4, 114.3, 113.6, 109.5, 55.3.

(*Z*)-5-((*E*)-4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-179*): 10 mg, 9 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/E (1 %)) = 0.20; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.52 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 7.11 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.75 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.44 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H).

(*E*)-2-((*E*)-4-metoksistiril)furan-3-karbaldehid oksim (*trans,syn-179*): 10 mg, 20 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.34; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.22 (s, 1H), 7.86 (s, 1H), 7.43 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.03 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.88 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 159.0, 143.8, 142.2, 139.4, 130.1, 128.9, 127.1, 126.2, 114.4, 113.5, 108.5, 54.7.

3. Eksperimentalni dio

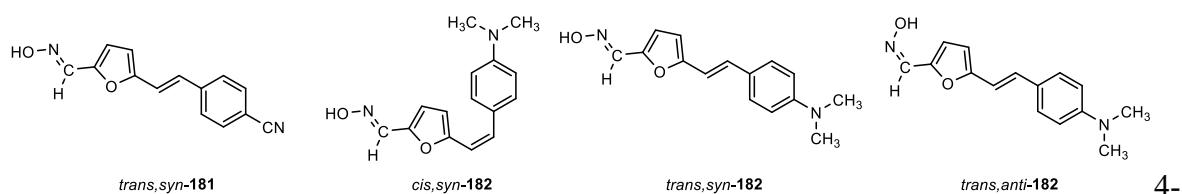


(*E*)-5-((*Z*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**180**): 39 mg, 24 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.73; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.97 (s, 1H), 7.91 (s, 1H), 7.40 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 6.56 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 6.38 (d, $J = 12.6$ Hz, 1H), 6.28 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 152.9, 145.5, 139.6, 134.8, 132.9, 129.4, 128.4, 128.0, 117.5, 113.7, 111.4.

(*Z*)-5-((*Z*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**180**): 45 mg, 27 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.50; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.63 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.38 – 7.28 (m, 4H), 7.23 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H), 6.54 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H), 6.38 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 12.8$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 152.2, 143.8, 136.9, 135.3, 133.5, 130.1, 129.3, 128.3, 119.7, 117.8, 112.9.

(*E*)-5-((*E*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**180**): 19 mg, 50 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.44; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.98 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.31 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 154.7, 146.6, 140.2, 135.1, 133.7, 128.9, 128.0, 127.6, 116.1, 115.3, 110.7.

(*Z*)-5-((*E*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**180**): 5 mg, 13 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.34; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.53 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.9$ Hz, 2H), 7.30 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.85 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.49 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 140.1, 128.9, 128.1, 127.7, 116.1, 115.3, 110.7.



((*E*)-2-((5-((*E*)-(hidroksiimino)metil)tiofen-2-il)vinil)benzoničil (*trans,syn*-**181**): 12 mg, 14 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/MeOH (1 %)) = 0.23; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.00 (s, 1H), 7.99 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.52 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.96 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$

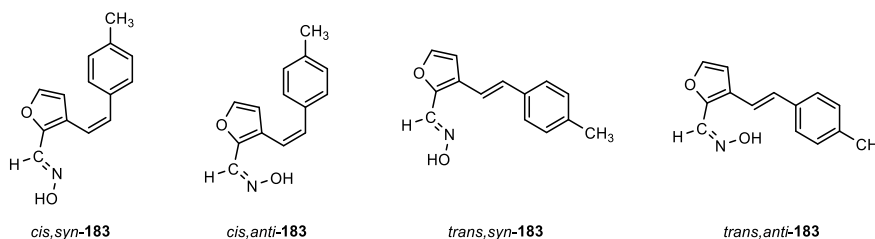
3. Eksperimentalni dio

(CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 153.4, 146.8, 145.6, 140.6, 139.6, 131.8, 126.8, 119.7, 114.8, 112.6, 111.8, 110.3.

(*E*)-5-((*Z*)-4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**181**): 10 mg, 10 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.68; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.94 (s, 1H), 7.43 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 8.6 Hz, 2H), 6.62 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 6.57 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.41 (d, J = 12.1 Hz, 1H), 6.40 (d, J = 12.1 Hz, 1H), 2.99 (s, 6H).

(*E*)-5-((*E*)-4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**182**): 10 mg, 5 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.65; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.96 (s, 1H), 7.38 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 6.60 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 2.99 (s, 6H).

(*Z*)-5-((*E*)-4-(dimetilamino)stiril)furan-2-karbaldehid oksim, (*trans,anti*-**182**): 11 mg, 7 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (DCM/MeOH (5 %)) = 0.59; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.51 (s, 1H), 7.38 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.37 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 3.7 Hz, 1H), 7.13 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 6.39 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 2.99 (s, 6H).



(*E*)-3-((*Z*)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**183**): 113 mg, 98 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (15 %)) = 0.27; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 9.08 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.27 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 8.0, 2H), 7.09 (d, J = 8.0, 2H), 6.65 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 6.44 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 6.17 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 2.33 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 144.1, 143.6, 139.4, 137.5, 134.0, 132.4, 129.0, 128.8, 124.3, 117.9, 111.9, 21.3.

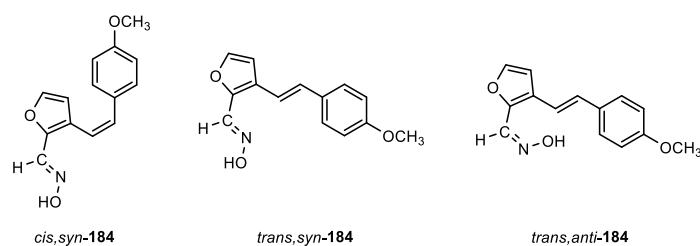
(*Z*)-3-((*Z*)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**183**): 2 mg, 2 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (15 %)) = 0.22; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7.43 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 7.36 (s, 1H), 7.18 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.09 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.70 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 6.45 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 6.22 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H).

(*E*)-3-((*E*)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**183**): 70 mg, 94 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (10 %)) = 0.17; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 8.23 (s, 1H), 7.43 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.17 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 16.2

3. Eksperimentalni dio

Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.4, 143.2, 140.1, 138.0, 134.1, 131.2, 129.5, 126.5, 126.4, 116.1, 109.0, 21.3.

(*Z*)-3-((*E*)-4-metilstiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**183**): 5 mg, 7 % izoliranog spoja; bijeli kristali; $R_f(\text{PE/E (10 \%)}) = 0.10$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.49 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.32 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.19 (s, 1H), 7.10 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.05 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.84 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H).

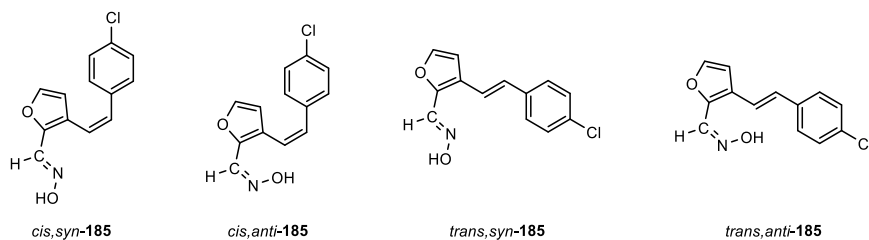


(*E*)-3-((*Z*)-4-metoksisturul)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**184**): 26 mg, 30 % izoliranog spoja; bijeli prah; $R_f(\text{PE/DCM (60 \%)}) = 0.25$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.10 (s, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.42 (d, $J = 12.3$ Hz, 1H), 6.21 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 3.81 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.1, 143.9, 143.6, 140.1, 132.0, 130.2, 129.4, 124.8, 117.2, 113.7, 111.9, 55.2.

(*E*)-3-((*E*)-4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**184**): 36 mg, 30 % izoliranog spoja; bijeli prah; $R_f(\text{PE/DCM (60 \%)}) = 0.15$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.23 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 8.6$ Hz, 3H), 7.03 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.6, 144.4, 142.9, 139.9, 130.2, 129.7, 127.8, 126.7, 114.9, 114.2, 108.9, 55.3.

(*Z*)-3-((*E*)-4-metoksistiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**184**): 70 mg, 52 % izoliranog spoja; bijeli prah; $R_f(\text{PE/DCM (60 \%)}) = 0.13$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.23 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 9.1$ Hz, 3H), 7.03 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J = 9.1$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J = 15.9$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 3.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.6, 144.4, 142.9, 139.9, 130.8, 129.7, 127.8, 126.7, 114.9, 114.2, 108.9, 55.3.

3. Eksperimentalni dio

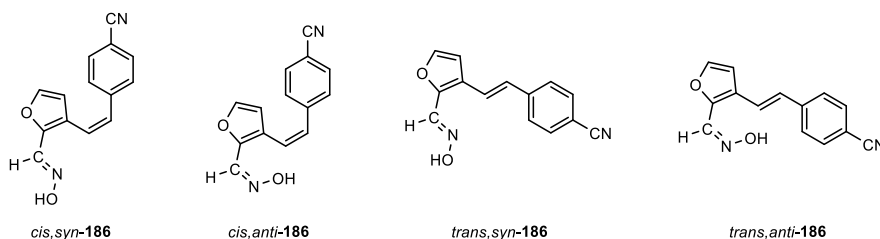


(*E*)-3-((*Z*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-185*): 114 mg, 96 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (15 %)) = 0.47; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.10 (s, 1H), 7.99 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H), 7.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.23 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.63 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.55 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.12 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.4, 143.7, 139.8, 135.5, 133.4, 130.9, 130.2, 128.5, 124.0, 119.4, 111.7.

(*Z*)-3-((*Z*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-185*): 5 mg, 4 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (15 %)) = 0.28; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.44 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.35 (s, 1H), 7.26 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.66 (d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 6.53 (d, $J = 16.2$ Hz, 2H), 6.16 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H).

(*E*)-3-((*E*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-185*): 48 mg, 80 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (15 %)) = 0.40; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.22 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 1.6$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.72 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.4, 143.7, 140.2, 135.4, 133.5, 129.8, 128.9, 127.6, 125.8, 118.0, 108.9.

(*Z*)-3-((*E*)-4-klorostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-185*): 12 mg, 20 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (15 %)) = 0.25; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.61 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.88 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 140.1, 135.4, 135.3, 134.3, 133.8, 130.3, 129.0, 127.9, 127.7, 117.9, 108.7.



(*E*)-3-((*Z*)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-186*): 141 mg, 87 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (20 %)) = 0.56; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.10 (s, 1H), 7.59 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.41 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.71

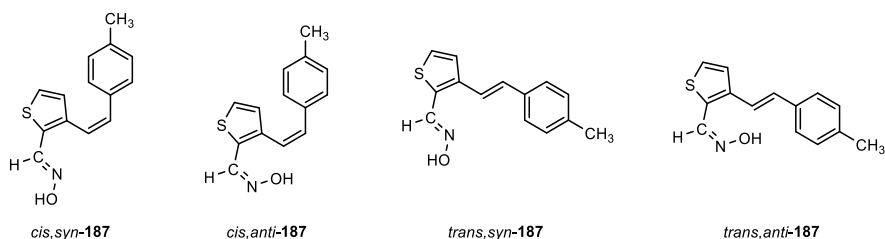
3. Eksperimentalni dio

(d, $J=12.1$ Hz, 1H), 6.64 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 6.07 (d, $J=1.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 143.9, 141.8, 140.2, 132.5, 132.2, 130.0, 129.5, 126.8, 123.1, 121.7, 117.7, 111.6.

(*Z*)-3-((*Z*)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**186**): 17 mg, 13 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (20 %)) = 0.34; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.58 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.45 (d, $J=1.9$ Hz, 1H), 7.39 (d, $J=8.3$ Hz, 2H), 7.33 (s, 1H), 6.69 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 6.67 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 6.11 (d, $J=1.9$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.5, 143.1, 141.4, 134.2, 132.1, 130.7, 129.5, 125.5, 121.9, 118.7, 111.5, 111.1.

(*E*)-3-((*E*)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**186**): 47 mg, 90 % izoliranog spoja; bijeli kristali; R_f (PE/E (30 %)) = 0.53; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.23 (s, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.63 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.37 (d, $J=16.3$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=16.3$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J=1.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.6, 144.5, 141.4, 140.3, 132.5, 129.3, 126.9, 125.0, 121.2, 118.9, 110.8, 108.9.

(*Z*)-3-((*E*)-4-cijanostiril)furan-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**186**): 5 mg, 10 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (10 %)) = 0.54; 7.64 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.58 (d, $J=1.8$ Hz, 1H), 7.56 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 6.76 (d, $J=1.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145.1, 141.2, 134.4, 132.6, 129.4, 127.1, 126.9, 121.3, 118.6, 111.1, 110.9, 108.7.



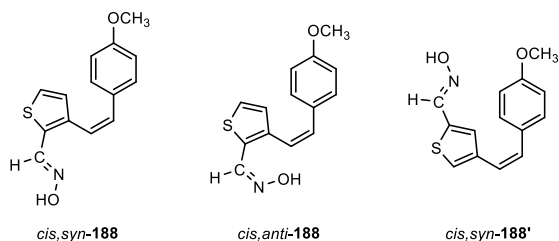
(*Z*)-3-((*Z*)-4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**187**): 41 mg, 41 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (10 %)) = 0.53; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 8.32 (s, 1H), 7.15 (d, $J=5.2$ Hz, 2H), 7.09 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J=8.2$ Hz, 2H), 6.79 (d, $J=5.3$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 6.50 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 2.31 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144.5, 140.0, 137.6, 132.8, 130.4, 129.0, 128.9, 128.8, 126.4, 121.6, 121.1, 21.2.

(*E*)-3-((*Z*)-4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**187**): 58 mg, 59 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (10 %)) = 0.34; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.81 (s, 1H), 7.42 (d, $J=5.1$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 7.01 (d, $J=8.7$ Hz, 2H), 6.87 (d, $J=5.2$ Hz, 1H), 6.73 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J=12.1$ Hz, 1H), 2.29 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 141.5, 140.1, 137.6, 133.5, 133.5, 130.4, 129.0, 128.9, 127.6, 125.8, 121.5, 21.2.

3. Eksperimentalni dio

(*Z*)-3-((*E*)-4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn*-**187**): 87 mg, 51 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (10 %)) = 0.40; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.55 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.30 (k, 2H), 7.19 – 7.16 (m, 3H), 6.98 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 144.0, 140.6, 138.2, 134.1, 131.4, 129.8, 129.5, 127.2, 126.5, 125.6, 118.9, 21.3.

(*E*)-3-((*E*)-4-metilstiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti*-**187**): 72 mg, 42 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (10 %)) = 0.23; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.02 (s, 1H), 7.52 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.37 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.29 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.04 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 2.37 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 146.9, 138.3, 134.1, 132.3, 129.5, 127.4, 126.5, 124.5, 119.0, 117.6, 83.6, 21.3.

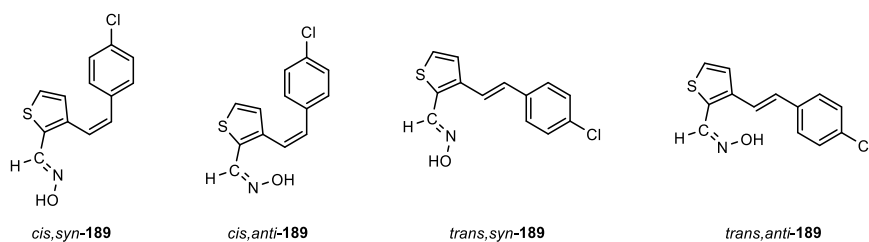


(*E*)-3-((*Z*)-4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**188**): 7 mg, 15 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM) = 0.55; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8.32 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.16 (d, $J = 4.3$ Hz, 1H), 7.13 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.81 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.64 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.45 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 159.1, 144.3, 141.7, 140.1, 133.1, 132.4, 130.4, 127.6, 126.5, 120.5, 113.7, 55.1.

(*Z*)-3-((*Z*)-4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,anti*-**188**): 16 mg, 36 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM) = 0.45; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7.81 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.08 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.89 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.69 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.52 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H).

(*E*)-4-((*Z*)-4-metoksistiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn*-**188'**): 100 mg, 80 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (DCM) = 0.60; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 9.26 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.30 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.23 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.82 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H), 6.61 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.39 (d, $J = 12.0$ Hz, 1H), 6.19 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 3.79 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 159.2, 144.7, 143.1, 138.7, 131.4, 129.8, 123.7, 117.3, 113.7, 111.4, 54.3.

3. Eksperimentalni dio

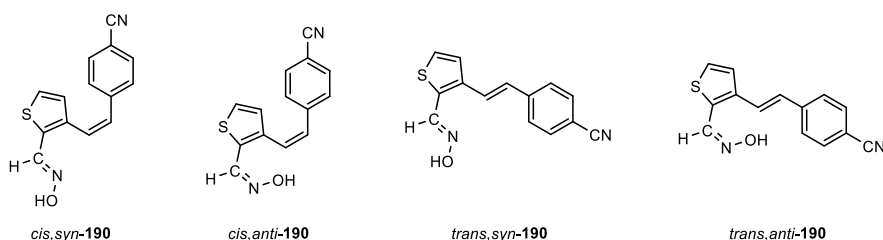


(*Z*)-3-((*Z*)-4-klorostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,syn-189*): 18 mg, 26 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (20 %)) = 0.70; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.29 (s, 1H), 7.21 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.17 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.65 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H), 6.58 (d, $J = 12.1$ Hz, 1H).

(*E*)-3-((*Z*)-4-klorostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*cis,anti-189*): 20 mg, 29 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (20 %)) = 0.35; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.80 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.18 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.07 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.66 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ /ppm: 140.7, 134.8, 133.4, 132.2, 131.5, 130.7, 130.2, 128.5, 127.3, 123.1, 122.6.

(*Z*)-3-((*E*)-4-klorostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,syn-189*): 22 mg, 21 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (20 %)) = 0.62; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.54 (s, 1H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.33 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.30 (s, 2H) 7.22 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 6.95 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.8, 139.9, 135.4, 133.7, 130.0, 129.0, 127.7, 127.4, 125.5, 124.3, 120.5.

(*E*)-3-((*E*)-4-klorostiril)tiofen-2-karbaldehid oksim (*trans,anti-189*): 31 mg, 29 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (20 %)) = 0.27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.93 (s, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 7.36 – 7.35 (m, 3H), 7.14 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H).



4-((*Z*)-2-(2-((*Z*)-(hidroksiimino)metil)tiofen-3-il)vinil)benzonitril (*cis,syn-190*): 62 mg, 44 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (25 %)) = 0.58; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.25 (s, 1H), 7.53 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.29 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.20 (d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 6.74 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 ,

3. Eksperimentalni dio

150 MHz) δ /ppm: 138.6, 136.0, 133.0, 126.9, 126.7, 125.5, 124.2, 123.0, 121.9, 119.9, 113.5, 105.8.

4-((Z)-2-(2-((E)-(hidroksiimino)metil)tiofen-3-il)vinil)benzoni-tril (*cis,anti-190*): 52 mg, 37 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (25 %)) = 0.24; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 7.75 (s, 1H), 7.50 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.47 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.24 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 5.3$ Hz, 1H), 6.75 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 143.8, 141.1, 139.8, 138.3, 132.1, 130.8, 129.5, 128.3, 127.1, 125.7, 118.7, 111.0.

4-((E)-2-(2-((Z)-(hidroksiimino)metil)tiofen-3-il)vinil)benzoni-tril (*trans,syn-190*): 11 mg, 43 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (25 %)) = 0.47; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.53 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.36 – 7.35 (m, 4H), 6.98 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 148.7, 143.6, 141.4, 132.6, 129.2, 127.6, 126.9, 125.5, 123.4, 121.2, 118.9, 111.1.

4-((E)-2-(2-((E)-(hidroksiimino)metil)tiofen-3-il)vinil)benzoni-tril (*trans,anti-190*): 15 mg, 58 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (25 %)) = 0.22; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ /ppm: 8.05 (s, 1H), 7.72 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.69 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.64 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.49 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H), 7.46 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 16.0$ Hz, 1H).

3.10. Sinteza derivata rezveratrola 191-208

3.10.1. Opće napomene

U eksperimentima su korištena sljedeća otapala i kemikalije: aceton, ACN – acetonitril, BBr_3 – borov tribromid, E – dietileter, DCM – diklormetan, EtOH – etanol, EtOAc – etil-acetat, KOH – kalijev hidroksid, CHCl_3 – kloroform, NaOH – natrijev hidroksid, NaHCO_3 – natrijev hidrogenkarbonat, MeOH – metanol, PE – petroleter, CCl_4 – ugljikov tetraklormetan, te toluen. Sva korištena otapala su pročišćena destilacijom i komercijalno su dostupna. Kod sinteze su korišteni reagensi poput azobisisobutironitrila (AIBN), dimetilsulfata ($(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$), *N*-bromsukcinimida (NBS) i tionil-klorida (SOCl_2). Za sintezu fosfonijevih soli korišten je trifenilfosfin (PPh_3) kao kupovna kemikalija. U Wittigovim reakcijama korišten je natrij (Na) čuvan u PE koji je reakcijom s EtOH dao natrijev etoksid (NaOEt). Za sušenje organskog sloja nakon ekstrakcije korišten je bezvodni MgSO_4 . Za provođenje tankoslojne kromatografije (TLC) korištene su pločice prevučene silika-gelom (0.2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Kod provođenja kolonske kromatografije korištene su kolone punjene silika-gelom (60 Å, tehnički), a otapala su uparena pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

3. Eksperimentalni dio

^1H i ^{13}C spektri NMR snimani su na spektrometru Bruker Avance koji radi na frekvenciji od 600 MHz za ^1H jezgre i frekvenciji od 150 MHz za ^{13}C jezgre, na *Institutu Ruđer Bošković*. Za otapanje spojeva korišteni su deuterirani kloroform – CDCl_3 i deuterirani metanol – CD_3OD , a kao standard za snimanje NMR spektara korišten je tetrametilsilan – TMS. Kemijski pomaci izraženi su u ppm (eng. *parts per million*), a kod karakterizacije signala korištene su sljedeće oznake: s – singlet, d – dublet, dd – dublet dubleta, t – triplet i m – multiplet. UV spektri su snimani na UV/Vis spektrofotometru, a kao otapalo za spojeve je korišten ACN. HRMS analize za potvrdu čistoće uzoraka provedene su u suradnji s tvrtkom *Pliva* na masenom spektrometru (MALDI TOF/TOF analizator) opremljen Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom prilagođavanja od 200 Hz.

3.10.2. Sinteza furanskih i tiofenskih fosfonijevih soli

Sinteza brom(4-metoksibenzil)trifenil- λ^5 -fosfana, brom(furan-2-il-metil)trifenil- λ^5 -fosfana, brom(tiofen-2-il-metil)trifenil- λ^5 -fosfana i brom((5-metiltiofen-2-il)metil)trifenil- λ^5 -fosfana provedena je u okruglim tikvicama (500 mL) pripremom odgovarajućih furanskih odnosno tiofenskih bromida koristeći AIBN i NBS reagense. Otopini 4-metoksitoluena, 2-metilfurana, 2-metiltiofena ili 2,5-dimetiltiofena (100,0 mmol) u CCl_4 (0,05 mL) dodani su NBS (110,0 mmol) i AIBN (1,28 mmol). Reakcijska smjesa u tikvici je potom zagrijavana na temperaturu refluksa pomoću hladila s klor-kalcijskom cijevi na temperaturi vrelišta CCl_4 koristeći uljnu kupelj.

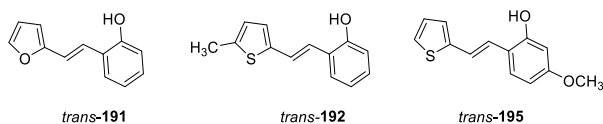
Nakon dva sata refluksa, nastali sukcinimid odfiltriran je u okruglu tikvicu (0,25 mL), uparen je CCl_4 , te zaostaje svijetlo smeđe ulje bromida. Dobivenom bromidu u tikvici je dodan PPh_3 (100,0 mmol) prethodno otopljen u toluenu (0,08 mL), te je smjesa miješana na sobnoj temperaturi 40 sati. Provedeno je vakuum filtriranje pomoću Büchnerovog lijevka nakon čega je sol sušena u eksikatoru pod vakuumom šest sati i nakon toga tri dana ostavljena u eksikatoru. Suha sol je korištena dalje u sintezi željenih spojeva različitim sintetskim putevima.

3.10.3. Sinteza spojeva 191, 192, 195, 196-200, 202, 203, 206, 207

Spojevi 191, 192, 195, 196-200, 202, 203, 206, 207 sintetizirani su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera Wittigovom reakcijom. Prije provođenja reakcije aparatura je propuhana dušikom 15 minuta. Reakcija je provedena u trogloj tikvici (250 mL) na čija dva sporedna grla su stavljeni klor-kalcijska cijev i balon s N_2 , spojen putem igle i septuma na grlo tikvice. Na srednje grlo

3. Eksperimentalni dio

tikvice pričvršćen je lijevak za dokapavanje u kojeg je dodano 50 mL EtOH, te pola volumena ispušteno u tikvicu. U tikvicu je zatim dodana odgovarajuća fosfonijeva sol (2,2 - 4,7 mmol) i smjesa se počela miješati pomoću magnetne miješalice. U preostalih 25 mL EtOH dodan je postupno kroz 20 minuta odvagani Na (1,1 ekv.). Smjesa je ostavljena da se miješa dok sav Na nije izreagirao u NaOEt. Zatim je u reakcijsku smjesu uz dokapavanje NaOEt dodan aldehid (1 ekv.), te je reakcijska smjesa ostavljena da se miješa određeno vrijeme (**191**, **192**, **195-200**, **202**, **206**, **207** - 72 h, **203** - 168 h) na određenoj temperaturi (**191**, **195-200**, **202**, **206**, **207** - 25 °C, **192**, **203** - 100 °C). Reakcijska smjesa je uparena na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom, te otopljena u toluenu (**191**, **192**, **196-200**) ili CHCl₃ (**195**, **197**, **202**, **203**, **206**, **207**). Smjesa je zatim ekstrahirana toluenom (**191**, **192**, **196-200**) ili CHCl₃ (**195**, **197**, **202**, **203**, **206**, **207**) (3 x 15 mL), ovisno o topivosti produkta. Organski sloj je odvojen u Erlenmayerovu tikvicu, te sušen iznad MgSO₄ koji služi kao sredstvo za sušenje. Nakon 30 minuta sušenja, otapalo je upareno, a organski produkt kao smjesa izomera (s različitim udjelima *cis*-izomera) pročišćen na koloni punjenoj silika-gelom. Čisti *trans*-izomeri izolirani su također uzastopnom kolonskom kromatografijom ili tankoslojnom kromatografijom. Kao eluens korišteni su sustavi otapala PE/E i PE/EtOAc različitih polarnosti.



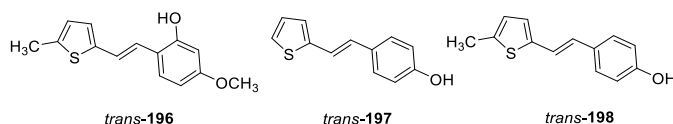
(*E*)-2-(2-(furan-2-il)vinil)fenol (*trans*-**191**): 250 mg, 28 % izoliranog spoja; žuti prah; T_f = 78-82 °C; R_f (PE/E (30 %)) = 0.43; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 334 (28358), 321 (26567), 307 (22128), 297 (sh, 19523); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ/ppm : 7.46 – 7.40 (m, 2H), 7.28 – 7.22 (m, 1H), 7.13 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 6.99 – 6.91 (m, 2H), 6.79 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.43 – 6.41 (m, 1H), 6.35 (d, J = 3.6 Hz, 1H), 4.96 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 153.5, 153.1, 142.1, 128.6, 127.3, 124.3, 121.6, 121.2, 118.1, 116.0, 111.6, 108.5; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 187 (100), 121 (15); HRMS (m/z) za C₁₂H₁₀O₂: $[M+H]^+$ izračunato = 186.0681, $[M+H]^+$ izmjereno = 186.0683.

(*E*)-2-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**192**): 95 mg, 40 % izoliranog spoja; žuti prah; T_f = 88-92 °C; R_f (PE/E (20 %)) = 0.54; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 339 (26378), 240 (10925), 208 (19311); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.44 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 7.18 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 7.11 (t, J = 7.9 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 6.92 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.85 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 6.78 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 6.64 – 6.64 (m, 1H), 4.93 (s, 1H), 2.48 (s,

3. Eksperimentalni dio

3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 152.8, 141.2, 139.3, 128.3, 127.1, 126.3, 125.7, 124.5, 123.8, 121.4, 121.2, 115.9, 115.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 217 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 216.0609, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 216.0607.

(*E*)-5-metoksi-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**195**): 60 mg, 40 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_i = 91\text{--}94\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f(\text{PE/E (60\%)}) = 0.35$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 336 (23732), 244 (9367), 211 (15320); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.36 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.17 – 7.14 (m, 2H), 7.06 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.98 (dd, $J = 4.9, 3.7$ Hz, 1H), 6.51 (dd, $J = 8.5, 2.6$ Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 3.79 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 160.2, 153.9, 143.6, 128.2, 127.2, 125.4, 123.8, 122.6, 121.5, 117.3, 107.1, 101.9, 55.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 233 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{O}_2\text{S}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 232.0558, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 232.0556.



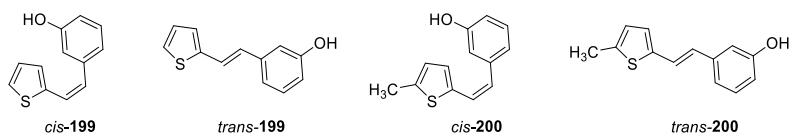
(*E*)-5-metoksi-2-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**196**): 5 mg, 6 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_i = 95\text{--}98\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f(\text{PE/E (60\%)}) = 0.45$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.06 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.62 (d, $J = 3.1$ Hz, 1H), 6.50 (dd, $J = 8.7, 2.6$ Hz, 1H), 6.37 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.03 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.47 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 160.0, 153.9, 141.5, 138.7, 128.0, 125.7, 121.9, 121.3, 117.5, 107.1, 101.9, 55.4, 15.6.

(*E*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**197**): 10 mg, 3 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_i = 123\text{--}124\text{ }^\circ\text{C}$; $R_f(\text{PE/DCM (40\%)}) = 0.17$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 333 (23297); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.35 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.15 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 3.4$ Hz, 1H), 6.99 – 6.98 (m, 1H), 6.87 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 4.93 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 155.8, 143.2, 129.9, 127.9, 127.7, 127.5, 125.4, 123.8, 119.8, 115.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 203 (100), 140 (70); HRMS (m/z) za $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{OS}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 202.0452, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 202.0448.

(*E*)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**198**): 6 mg, 8 % izoliranog spoja; žuti prah; $R_f(\text{PE/E (60\%)}) = 0.42$; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.32 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 6.99 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 6.82 – 6.79 (m, 3H), 6.73 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H), 6.63 – 6.62 (m, 1H), 4.95 (s,

3. Eksperimentalni dio

3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 155.1, 141.1, 138.6, 134.1, 130.2, 127.5, 126.6, 125.7, 120.3, 115.6, 15.6.

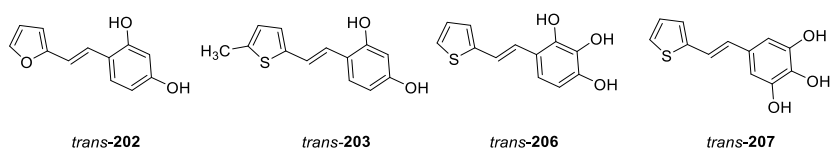


(*Z*)-3-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (*cis*-**199**): 190 mg, 40 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/E (20 %)) = 0.25; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.24 – 7.21 (m, 1H), 7.09 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.88 (dd, J = 4.8, 3.6 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.77 (dd, J = 8.0, 2.5 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 6.51 (d, J = 12.3 Hz, 1H), 4.81 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 155.6, 139.6, 138.9, 129.9, 128.3, 126.5, 125.7, 123.6, 121.4, 115.5, 114.5.

(*E*)-3-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**199**): 13 mg, 5 % izoliranog spoja; bijeli prah; R_f (PE/E (18 %)) = 0.24; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.22 – 7.18 (m, 3H), 7.06 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 7.04 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.00 (dd, J = 5.4, 3.3 Hz, 1H), 6.94 (t, J = 2.1 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 7.9, 2.5 Hz, 1H), 4.78 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 155.8, 142.7, 138.7, 129.9, 127.8, 127.6, 126.3, 124.5, 122.3, 119.3, 114.7, 112.7.

(*Z*)-3-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)fenol (*cis*-**200**): 180 mg, 38 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/E (50 %)) = 0.65; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.24 – 7.21 (m, 1H), 6.93 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 6.78 – 6.76 (m, 2H), 6.59 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 6.54 – 6.53 (m, 1H), 6.40 (d, J = 12.2 Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 2.35 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 155.5, 140.5, 139.2, 137.5, 129.8, 128.8, 126.8, 124.6, 123.9, 121.4, 115.6, 114.4, 15.3.

(*E*)-3-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**200**): 43 mg, 8 % izoliranog spoja; žuti prah; R_f (PE/E (50 %)) = 0.63; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.19 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.11 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 7.01 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.91 (t, J = 2.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 15.9 Hz, 1H), 6.70 (dd, J = 8.1, 2.5 Hz, 1H), 6.65 – 6.64 (m, 1H), 4.72 (s, 1H), 2.48 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 155.8, 140.6, 139.5, 139.0, 129.8, 126.5, 126.4, 125.8, 122.7, 119.1, 114.4, 112.6, 15.6.



3. Eksperimentalni dio

(*E*)-4-(2-(furan-2-il)vinil)benzen-1,3-diol (*trans*-**202**): 2 mg, 5 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_f = 143-146$ °C; $R_f(\text{PE/E (45 \%)}) = 0.46$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 346 (18170), 335 (18249), 309 (15573), 297 (14308), 285 (15800); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.41 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.19 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.42 – 6.40 (m, 1H), 6.31 – 6.29 (m, 2H), 6.26 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 153.7, 145.8, 141.8, 128.5, 128.4, 121.2, 116.3, 111.5, 109.2, 108.5, 107.7, 103.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 203 (100), 137 (35); HRMS (m/z) za $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 202.0630, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 202.0629.

(*E*)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)benzen-1,3-diol (*trans*-**203**): 10 mg, 12 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_f = 149-151$ °C; $R_f(\text{PE/E (30 \%)}) = 0.43$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 341 (15202); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.28 (d, $J = 8.6$ Hz, 1H), 7.05 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J = 3.5$ Hz, 1H), 6.63 – 6.62 (m, 1H), 6.41 (dd, $J = 8.4$, 2.3 Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.77 (s, 1H), 2.47 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 155.9, 153.9, 141.5, 138.8, 128.2, 125.7, 125.6, 122.1, 121.1, 117.7, 108.5, 103.2, 15.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 233 (100).

(*E*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzen-1,2,3-triol (*trans*-**206**): 100 mg, spoj u smjesi s fosfin oksidom 1:3; $R_f(\text{EtOAc/MeOH (10 \%)}) = 0.56$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.81 – 7.74 (m, 2H), 7.68 – 7.62 (m, 2H), 7.18 (t, $J = 3.2$ Hz, 1H), 7.14 – 7.11 (m, 1H), 6.86 (t, $J = 4.2$ Hz, 1H), 5.81 (s, 1H), 5.77 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 235 (100).

(*E*)-5-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzen-1,2,3-triol (*trans*-**207**): 80 mg, spoj u smjesi s fosfin oksidom 1:3; $R_f(\text{EtOAc/MeOH (10 \%)}) = 0.56$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300 MHz) δ/ppm : 7.80 – 7.74 (m, 2H), 7.65 – 7.61 (m, 2H), 7.18 (t, $J = 3.5$ Hz, 1H), 7.14 – 7.11 (m, 1H), 6.85 (t, $J = 4.6$ Hz, 1H), 5.81 (s, 1H), 5.76 (s, 1H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 235 (100).

3.10.4. Sinteza piran-4-onske soli

Sinteza 2-((klortrifetil- λ^5 -fosfanil)metil)-5-metoksi-4*H*-piran-4-ona provedena je u tri koraka. U prvom koraku priređen je piranonski klorid na sljedeći način: 5-hidroksi-2-(hidroksimetil)-4*H*-piran-4-on (50,0 mmol) i DCM (82 mL) dodani su u trogrlu tikvicu (250 mL) s klor-kalcijskom cijevi na jednom grlu, te je smjesa ohlađena na 0 °C pomoću ledene kupelji. Potom

3. Eksperimentalni dio

je preko igle kroz drugo grlo dokapan SOCl_2 (50,0 mmol, 1 ekv.) i smjesa je miješana pet sati, nakon čega je upareno otapalo, a u tikvici je zaostao odgovarajući klorid.

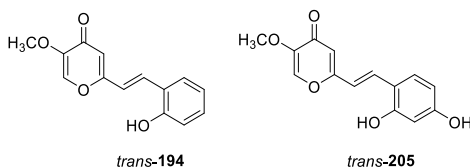
U sljedećem koraku, pripremljenom žućkastom kloridu (48,8 mmol) u trogrloj tikvici (250 mL) s klor-kalcijskom cijevi dodan je 10 % KOH (3 mL), a preko igle dokapan $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ (5 mL). Smjesa se miješala sat vremena u ledenoj kupelji, nakon čega je dodan još jedan obrok 10 % KOH (0,03 mL), a zatim je iglom dodano još $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$ (5 mL). Dobivena smjesa je ekstrahirana pomoću CHCl_3 (5 x 15 mL). Dobivena je tamnocrvena otopina kao organski sloj, osušena iznad MgSO_4 , te filtrirana i uparena na rotacijskom uparivaču nakon čega je zaostalo tamnocrveno ulje.

U zadnjem koraku u trogrlu tikvicu (250 mL) dodan je nastali klorid (24,81 mmol), te u toluenu (40 mL) otopljen PPh_3 (24,81 mmol, 1 ekv.). Smjesa je zagrijana na temperaturu refluksa, te se u tim uvjetima reakcija provodila četiri dana, nakon čega je reakcijska smjesa filtrirana pod tlakom i potom sušena u eksikatoru 12 h.

3.10.5. Sinteza spojeva 194 i 205

Prije provođenja Wittigove reakcije aparatura je propuhana dušikom 15 minuta. Reakcija je provedena u trogrloj tikvici (250 mL) na čija dva sporedna grla su stavljeni klor-kalcijska cijev i balon s N_2 , spojen preko šprice i septuma na grlo tikvice. Na srednje grlo tikvice pričvršćen je lijevak za dokapavanje u kojeg je dodano 50 mL EtOH, te pola volumena ispušteno u tikvicu pa je dodana fosfonijeva sol (5,74 mmol, 1 ekv., 5,07 mmol, 1 ekv.), a u preostalih 25 mL je dodan Na (1,1 ekv.). Smjesa se miješala dok sav Na nije izreagirao, a potom je uz polagano dokapavanje NaOEt dodan aldehid (5,74 mmol, 1 ekv., za spoj **194** odnosno 5,07 mmol, 1 ekv. za spoj **205**). Reakcijska smjesa ostavljena je da se miješa određeno vrijeme (72 h) na sobnoj temperaturi. Potom je reakcijska smjesa uparena na rotacijskom uparivaču kako bi se uklonio etanol, te nakon uparavanja, zaostalo ulje je otopljeno i ekstrahirano toluenom (5 x 15 mL). Organski sloj se filtrirao preko naboranog filter papira i sušio iznad bezvodnog MgSO_4 , a potom se upario do suhog produkta. Iz dobivenih sirovih produkata uzastopnom kolonskom kromatografijom na silika-gelu izolirani su *trans*-izomeri spojeva **194** i **205**, koristeći PE/E i EtOAc/MeOH sustave otapala različitih polarnosti.

3. Eksperimentalni dio



(*E*)-2-(2-hidroksistiril)-5-metoksi-4*H*-piran-4-on (*trans-194*): 60 mg, 8 % izoliranog spoja, žućkasti prah; $T_f = 174-176$ °C; $R_f(\text{EtOAc}) = 0.18$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 353 (17133), 276 (16184); $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ/ppm : 7.97 (s, 1H), 7.75 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.54 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.03 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 6.88 – 6.85 (m, 2H), 6.52 (s, 1H), 1.29 (s, 3H); MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 245 (5), 233 (100).

(*E*)-2-(2,4-dihidroksistiril)-5-metoksi-4*H*-piran-4-on (*trans-205*): 40 mg, 5 % izoliranog spoja; žuti prašak, $T_f = 181-183$ °C; $R_f(\text{EtOAc}) = 0.08$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 357 (10980); $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ/ppm : 6.49 (s, 1H), 6.19 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 5.87 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 5.32 (d, $J = 16.1$ Hz, 1H), 4.85 (s, 1H), 4.83 – 4.81 (m, 2H), 2.28 (s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 150 MHz) δ/ppm : 148.0, 138.4, 133.3, 131.7, 130.5, 129.4, 128.5, 114.5, 114.1, 112.2, 108.8, 107.6, 101.9, 29.4; MS (ESI) (m/z) (% , fragment): 261 (100), 166 (60); HRMS (m/z) za $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_5$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izačunato = 260.0685, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 260.0684.

3.10.6. Sinteza spojeva 208 i 201

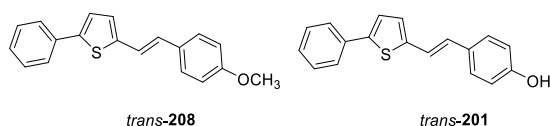
U okruglu tikvicu (500 mL) dodan je 4-metoksitoluen (12,2 g), NBS (19,6 g) i AIBN (0,21 g), te je smjesa zagrijavana uz refluks na 100 °C. Nakon uspostavljanja refluksa uočena je promjena boje u bijelu, a nakon dva sata refluksa uočena je promjena boje otopine u narančastu, a nastali sukcinimid plivao je na površini otopine. Nastali sukcinimid odfiltriran je u tikvicu (250 mL), te je filtrat uparen do suha. Dobiveno je crveno ulje, koje je otopljeno u toluenu (80 mL) i dodan je PPh_3 (26,23 g). Reakcijska smjesa je miješana na sobnoj temperaturi 40 h. Sljedeći dan reakcijska smjesa je odfiltrirana preko Büchnerovog lijevka i dobivena fosfonijeva sol je sušena u eksikatoru 24 h.

Prije provođenja Wittigove reakcije aparatura je propuhana dušikom 15 minuta. Reakcija je provedena u trogrloj tikvici (250 mL) na čija dva sporedna grla su stavljeni klor-kalcijska cijev i balon s N_2 , spojen preko šprice i septuma na grlo tikvice. Na srednje grlo tikvice je pričvršćen lijevak za dokapavanje u kojeg je dodano 40 mL EtOH, te pola volumena ispušteno u tikvicu. U tikvicu je zatim dodana priređena *p*-metoksi-fosfonijeva sol (0,97 mmol) i smjesa se počela miješati pomoću magnetne miješalice. U preostalih 20 mL EtOH dodan je

3. Eksperimentalni dio

odvagani Na (1,1 ekv.). Smjesa je ostavljena da se miješa dok sav Na nije izreagirao. Zatim je u reakcijsku smjesu uz dokapavanje NaOEt dodan i aldehid (1 ekv.), te je reakcijska smjesa ostavljena da se miješa 72 h na sobnoj temperaturi. Smjesa je zatim ekstrahirana toluenom, te je organski sloj sušen iznad bezvodnog MgSO₄ koji služi kao sredstvo za sušenje. Nakon 30 minuta sušenja, otapalo je upareno, a organski produkt kao smjesa *cis*- i *trans*-izomera pročišćen je na koloni punjenoj silika-gelom. Kao eluens korišten je sustav otapala PE/E promjenjive polarnosti. Naknadnom kolonskom kromatografijom uz isti sustav otapala, izoliran je čisti *trans*-izomer spoja **208** u zadnjim frakcijama.

Izolirani *trans*-**208** (0,05 g) je dodan u tikvicu (250 mL) s DCM (0,045 mL). Tikvica je uronjena u kupelj s acetonom i suhim ledom kada je postignuta temperatura suhog leda od -78 °C. Staklenom špricom dodana je 1 M otopina BBr₃ u DCM (4 mL) kroz jedan sat. Nakon što je sav reagens dodan, tikvica je polako izdignuta iz kupelji, te ostavljena da se miješa 24 h na sobnoj temperaturi. Nakon 24 h miješanja, tikvica je prenesena u ledenu kupelj i neutralizirana s 1 mol L⁻¹ NaOH. Reakcijska smjesa je zatim ekstrahirana uz EtOAc, te je organski sloj sušen iznad MgSO₄. Nakon 30 minuta sušenja, otapalo je upareno, a organski produkt pročišćen na koloni punjenoj silika-gelom pri čemu je dobiven čisti *trans*-**201**. Kao eluens korišten je sustav otapala PE/E promjenjive polarnosti.



(*E*)-2-(4-metoksi-stiril)-5-feniltiofen (*trans*-**208**): 80 mg, 28 % izoliranog spoja; žuti prah; T_f = 125-127 °C; R_f (PE/E (50 %)) = 0.78; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 368 (37536), 266 (8433), 226 (13302); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.61 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.41 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 7.38 (t, J = 7.7 Hz, 2H), 7.27 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 3.8 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 16.6 Hz, 1H), 6.98 (d, J = 3.9 Hz, 1H), 6.90 – 6.88 (m, 3H), 3.83 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 159.3, 142.7, 142.4, 134.3, 129.8, 128.9, 127.9, 127.6, 127.4, 126.6, 125.6, 123.5, 119.9, 114.2, 55.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 293 (100).

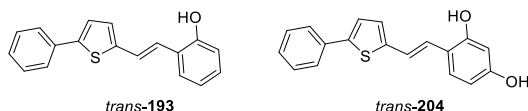
(*E*)-4-(2-(5-feniltiofen-2-il)vinil)fenol (*trans*-**201**): 3 mg, 12 % izoliranog spoja; žuti prah; T_f = 85-90 °C; R_f (PE/E (70 %)) = 0.22; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 298 (83083); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.54 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.34 – 7.29 (m, 3H), 7.11 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.78 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.68 (d, J = 3.1 Hz, 1H), 4.81 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 147.8, 146.9, 146.4, 143.8,

3. Eksperimentalni dio

142.5, 130.4, 129.4, 128.7, 127.1, 125.5, 125.2, 122.6, 115.4, 115.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 279 (100).

3.10.7. Sinteza spojeva 193 i 204

Spojevi **193** i **204** sintetizirani su McMurryjevom reakcijom. Prije provođenja reakcije aparatura je propuhana argonom 15 minuta. Reakcija je provedena u trogrloj tikvici (250 mL) na magnetskoj miješalici. Praškasti cink (6,65 mmol) i THF (40 mL) dodani su u tikvicu. Reakcijska smjesa je ohlađena do $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$, te je kap po kap dodan TiCl_4 (3 mL) preko šprice uz održavanje temperature ispod $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nakon toga reakcijska smjesa je zagrijana na sobnu temperaturu i miješana 30 minuta. Nakon 30 minuta, reakcijska smjesa je zagrijana do temperature refluksa, te je tako ostavljena 3 sata. Kada je refluks prekinut, reakcijskoj smjesi nakon hlađenja ($-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) dodana je smjesa aldehida (1,33 mmol, 1,2 ekv., u omjeru 1:1,2) u THF, kap po kap preko igle. Kada su dodani aldehidi, reakcijska smjesa je ponovno zagrijana do temperature refluksa i tako ostavljena dva sata, nakon čega je ohlađena do sobne temperature i ostavljena preko noći uz miješanje na magnetskoj miješalici. Reakcijska smjesa je potom neutralizirana vodenom otopinom NaHCO_3 . Neutralizirana reakcijska smjesa ekstrahirana je pomoću EtOAc (3 x 25 mL), a potom je organski sloj sušen iznad MgSO_4 . Nakon 30 minuta sušenja, otapalo je upareno, a organski produkt pročišćen na koloni punjenoj silika-gelom. Kao eluensi korišteni su sustavi otapala PE/E i PE/DCM različitih polarnosti.



(*E*)-2-(2-(5-feniltiofen-2-il)vinil)fenol (*trans-193*): 11 mg, 5 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_f = 113\text{--}115\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f(\text{PE/DCM (30\%)}) = 0.78$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 353 (6553), 234 (2149); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.64 (d, $J = 8.3\text{ Hz}$, 2H), 7.55 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H), 7.49 (d, $J = 8.4\text{ Hz}$, 1H), 7.46 (d, $J = 3.9\text{ Hz}$, 1H), 7.41 (t, $J = 7.9\text{ Hz}$, 2H), 7.32 – 7.30 (m, 2H), 7.28 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 1H), 7.23 (t, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H), 6.98 (s, 1H), 6.88 (d, $J = 1.1\text{ Hz}$, 1H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 154.6, 151.1, 144.7, 135.8, 133.9, 129.1, 129.0, 127.9, 125.8, 125.5, 124.4, 123.9, 123.2, 120.8, 111.0, 101.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 279 (100).

(*E*)-4-(2-(5-feniltiofen-2-il)vinil)benzen-1,3-diol (*trans-204*): 6 mg, 10 % izoliranog spoja; žuti prah; $T_f = 128\text{--}130\text{ }^{\circ}\text{C}$; $R_f(\text{PE/DCM (30\%)}) = 0.69$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$); $^1\text{H$

NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ /ppm: 7.54 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.35 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 7.26 – 7.21 (m, 3H), 7.10 (d, $J = 3.9$ Hz, 1H), 6.98 (s, 2H), 6.73 – 6.71 (m, 1H), 5.00 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 151.5, 141.9, 139.5, 135.8, 134.7, 130.0, 128.8, 128.3, 126.9, 126.2, 125.6, 125.5, 125.5, 125.4, 125.3, 122.9; MS (ESI) (m/z) (%): 295 (100).

3.11. Sinteza, fotokemija i fotofizika benzilnih triazolostilbena 209 i 210

3.11.1. Opće napomene

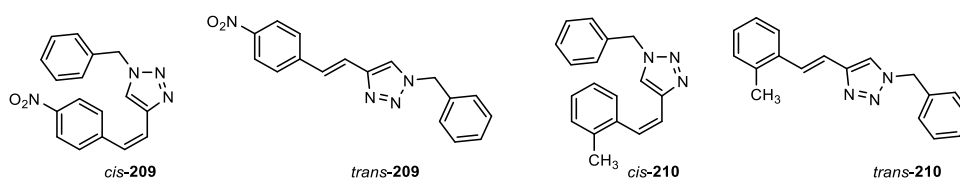
Sva korištena otapala bila su komercijalno dostupna i pročišćena destilacijom. Za sušenje organskih slojeva nakon ekstrakcija korišten je bezvodni MgSO₄. Kolonska kromatografija provedena je na kolonama punjenim silika-gelom (60 Å, tehnička čistoća). Tankoslojna kromatografija provedena je pomoću ploča obloženih silika-gelom (0,2 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) ¹H i ¹³C zabilježeni su na sobnoj temperaturi na spektrometru na Bruker Avance 600 MHz. Za snimanje NMR spektra korišten je deuterirani kloroform, CDCl₃, s tetrametilsilanom kao standardom. Kratice korištene u ovom eksperimentalnom postupku bile su: NMR – nuklearna magnetska rezonancija, UV – ultraljubičasta spektrofotometrija, PE – petroleter, E – dietileter, ACN – acetonitril, s – singlet, d – dublet, t – triplet, q – kvartet, dd – dublet dubleta, m – multiplet, sh – rame. UV spektri su snimljeni UV/Vis spektrofotometrom. Fotokemijsko osvjetljavanje provedeno je u kivetama od 1 mL na sobnoj temperaturi. Promjene UV/Vis spektara u vremenu su zabilježene u ACN i *n*-heksanu. Prije osvjetljavanja, reakcijske smjese su propuhane dušikom 15 minuta. Nakon osvjetljavanja izračunati su kvantni prinosi na temelju ferioksalatnog aktinometra prema podacima iz UV/Vis spektra i NMR spektra. Mjerenja fluorescencije provedena su na fluorometru (Cary Eclipse, Varian) u ACN. Reakcijske smjese su propuhane dušikom 15 minuta. Kinin sulfat monohidrat otopljen u 0,5 M H₂SO₄ korišten je kao standard za određivanje kvantnih prinosa fluorescencije. Preparativne fotokemijske reakcije spojeva 1 i 2 provedene su u zatvorenoj kiveti u dva fotokemijska reaktora, Rayonet i Luzchem, opremljena UV lampama od 313 nm. Sva otapala su uklonjena iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

3.11.2. Sinteza polaznih triazolostilbena 209 i 210

Polazni spojevi **209** i **210** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera sintetizirani su Wittigovom reakcijom. Reakcijske otopine su propuhane dušikom 15 minuta prije reakcije. U trogrlu tikvicu s okruglim dnom (100 mL) otopina fosfonijevih soli (4-nitrobenzil)trifenilfosfonijevog bromida i (2-metilbenzil)trifenilfosfonijevog bromida (0,0011 mol; 0,0010 mol) u apsolutnom etanolu (40 mL, 3 Å sita), otopina natrijevog etoksida (0,0011 mol; 0,0010 mol, 1,1 ekv. u 10 mL apsolutnog etanola) dodana je u strogo bezvodnim uvjetima u atmosferi dušika kap po kap. U miješanu otopinu izravno su dodani 1-benzil-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehidi (0,0011 mol; 0,0010 mol). Reakcijske smjese su ostavljene da se miješaju 24 sata na sobnoj temperaturi. Nakon uklanjanja otapala, apsolutnog etanola pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom, krutine reakcijskih smjesa su ekstrahirane toluenom p.a. (3 × 25 mL). Organski slojevi su osušeni iznad MgSO₄. Produkti su izolirani ponovljenom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa i okarakterizirani spektroskopskim metodama. Prve frakcije su dale *cis*-, a zadnje frakcije *trans*-izomere.

1-benzil-4-(4-nitrostiril)-1*H*-1,2,3-triazol. Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa (0-70 %) dobiveno je 147 mg (52 %) smjese izomera 1 (*cis*- : *trans*- = 1 : 0,4). Također, kromatografija na stupcu silika-gela korištenjem PE/E kao eluensa (0-70 %) dala je čisti izomer *cis*-**209**. Čisti *trans*-**209** izomer dobiven je ponovljenom tankoslojnom kromatografijom i PE/E (80 %) kao eluensom.

1-benzil-4-(2-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol. Kolonskom kromatografijom na silika-gelu upotrebom PE/E kao eluensa dobiveno je 187 mg (68 %) smjese izomera spoja **210** (*cis*- : *trans*- = 2 : 1). Čisti izomeri dobiveni su ponovljenom kromatografijom na koloni upotrebom PE/E kao eluensa (0-70 %).



(*Z*)-1-benzil-4-(4-nitrostiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**209**): 32 mg, 11 % izoliranog spoja; žuti kristali, $T_f = 65-67$ °C; R_f (PE/E (80 %)) = 0.56; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 328 (12507), 238 (20221); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 8.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.53 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.37 – 7.34 (m, 3H), 7.19 – 7.17 (m, 2H), 6.99 (s, 1H), 6.77 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 6.68 (d, $J = 12.2$ Hz, 1H), 5.44 (s, 2H); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ/ppm : 146.9, 144.2, 143.8,

3. Eksperimentalni dio

134.3, 129.4, 129.1, 129.0, 128.9, 127.9, 126.9, 123.8, 122.2, 54.1; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 307 (100).

(*E*)-1-benzil-4-(4-nitrostiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**209**): 3 mg, 2 % izoliranog spoja; žuti kristali, $T_f = 76-77$ °C; R_f (PE/E (80 %)) = 0.62; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 341 (30110); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8.12 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 8.21 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.57 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.45 – 7.41 (m, 3H), 7.33 – 7.30 (m, 2H), 7.20 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 5.57 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 146.5, 145.1, 142.8, 133.9, 128.7, 128.5, 127.7, 127.6, 126.4, 123.7, 120.8, 120.5, 53.8; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 307 (100).

(*Z*)-1-benzil-4-(2-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*cis*-**210**): 94 mg, 50 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (70%)) = 0.49; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 242 (14771); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.33-7.31 (m, 3H), 7.17 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.10 – 7.09 (m, 2H), 7.07 – 7.04 (m, 1H), 6.81 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.70 (d, $J = 12.5$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 5.32 (s, 2H), 2.16 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144.9, 137.3, 135.8, 134.6, 130.7, 130.3, 128.9, 128.5, 128.1, 127.8, 127.7, 125.9, 121.4, 121.0, 53.8, 19.6; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 276 (100).

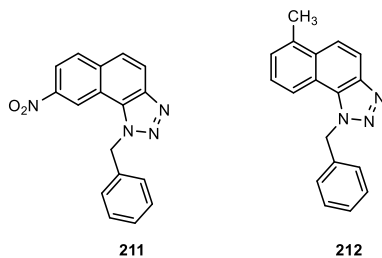
(*E*)-1-benzil-4-(2-metilstiril)-1*H*-1,2,3-triazol (*trans*-**210**): 55 mg, 29 % izoliranog spoja; žuti kristali, $T_f = 59-61$ °C; R_f (PE/E (70 %)) = 0.42; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 320 (7807, sh), 304 (16788, sh), 295 (21002, sh), 286 (22193); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.53 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.41 – 7.37 (m, 3H), 7.31 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 7.21 – 7.16 (m, 3H), 6.95 (d, $J = 16.3$ Hz, 1H), 5.55 (s, 2H), 2.42 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 146.9, 135.9, 135.8, 134.7, 130.5, 129.2, 128.8, 128.5, 128.1, 127.8, 126.2, 125.3, 120.3, 117.8, 54.2, 19.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 276 (100).

3.11.3. Sinteza ciklizacijskih fotoprodukata **211** i **212**

Smjesa izomera spojeva **209** (0,08 mmol) i **210** (0,09 mmol) otopljena je u toluenu p.a. (40 mL) i prenesena u kvarcnu kivetu (50 mL) uz dodatak katalitičke količine joda, te osvjetljavana s 10 UV lampi na 313 nm u fotokemijskom reaktoru Rayonet 20 h (**211**) i 3 h (**212**). Nakon uklanjanja otapala na rotacijskom uparivaču pod sniženim tlakom, fotoprodutki 3 i 4 pročišćeni su kromatografijom na stupcu upotrebom PE/E (0-80 %) kao eluensa i potpuno spektroskopski okarakterizirani NMR, UV/Vis i GC/MS mjerenjima. Iskorištenje fotoprodukta bilo je 15 % (**211**) i 50 % (**212**). U slučaju nitro derivata **211**, još jedan fotoprodukt dobiven je u tragovima

3. Eksperimentalni dio

u prvim frakcijama, dobivenim eliminacijom benzilne skupine iz nastalog produkta elektrociklizacije.



3-benzil-8-nitro-3*H*-nafto[1,2-*d*]-1,2,3-triazol (**211**): 6 mg, 15 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/E (80 %)) = 0.62; λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 355 (6464), 318 (8055), 271 (28636), 262 (30407); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.13 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.35 (dd, $J = 2.2, 8.8$ Hz, 1H), 8.26 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 8.11 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.32 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.30 (dd, $J = 7.3, 0.7$ Hz, 1H), 6.33 (s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 151.5, 137.7, 134.1, 132.5, 130.8, 130.5, 129.4, 128.8, 126.9, 122.3, 120.7, 119.2, 119.1, 54.4; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 305 (100); HRMS za $\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 305.2275, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 305.2280.

3-benzil-9-metil-3*H*-nafto[1,2-*d*]-1,2,3-triazol (**212**): 16 mg, 50 % izoliranog spoja; bezbojni kristali, $T_f = 63\text{--}64$ °C; R_f (PE/E (70 %)) = 0.54; λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 333 (6300), 318 (4685), 258 (16759); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 9.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.99 (dd, $J = 6.9, 2.4$ Hz, 1H), 7.93 – 7.41 (m, 2H), 7.39 – 7.29 (m, 3H), 7.14 (d, $J = 6.7$ Hz, 2H), 6.28 (s, 2H), 2.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144.5, 135.9, 135.1, 131.9, 129.8, 129.1, 128.9, 128.2, 128.1, 126.6, 126.3, 122.4, 120.5, 117.8, 54.1, 20.7; MS (ESI) (m/z) (%), fragment): 274 (100); HRMS za $\text{C}_{18}\text{H}_{15}\text{N}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato = 274.2275, $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno = 274.2280.

3.11.4. Aktinometrijski eksperimenti

Učinkovitost fotoizomerizacije (Φ_{izo}) određena je koristeći ferioksalatni ($\Phi_{300} = 1,24$) [314,315] aktinometar. Pripravljene su otopine spojeva *cis*-**209**, *trans*-**209**, *cis*-**210** i *trans*-**210** u ACN. Pripremljena je otopina $\text{K}_2[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0,012 M) u H_2SO_4 (0,05 M). Otopine su propuhane dušikom (15 min svaka) i zatim zatvorene čepom. Otopine spojeva i aktinometri su osvijetljavani u kvarcnim kivetama, iste geometrije, istovremeno s jednom lampom (300 nm) 1 min u Luzchem reaktoru za reakciju izomerizacije. Otopine spojeva su osvijetljavane u kvarcnim kivetama, iste geometrije, istovremeno s jednom lampom (313 nm) 7 min u Luzchem

reaktoru za reakciju elektrociklizacije. Jedna kiveta s ferioksalatnim aktinometrom držana je u mraku. Fenantrolin je dodan i u osvijetljavanu kivetu ferioksalatnog aktinometra kao i u onu koja je držana u mraku. Količina ostalih konfiguracijskih izomera *cis*-209, *trans*-209, *cis*-210 i *trans*-210 određena je pomoću ¹H NMR spektara i te su vrijednosti korištene za izračunavanje kvantnih prinosa. Mjerenja su obavljena tri puta u tri neovisna eksperimenta, a navedena je prosječna vrijednost.

3.12. Sinteza distirilnih derivata 213 i 214

3.12.1. Opće napomene

¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na spektrometru na 600 MHz. Svi NMR spektri snimanju su u CDC1₃ koristeći TMS kao standard. Maseni spektri visoke rezolucije (HRMS) dobiveni su na matrično potpomognutom laserskom desorpcijskom/ionizacijskom vremenskom spektrometru mase MALDI-TOF/TOF (4800 Plus MALDI-TOF/TOF analizator, Applied Biosystems Inc., Foster City, CA, SAD) opremljen Nd:YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom paljenja od 200 Hz u načinu reflektora pozitivnih iona. Snimljeno je ukupno 1600 snimaka po spektru s rasponom mase od 100-1000 Da, masom fokusa od 500 Da i vremenom kašnjenja od 100 ns. Nikotinamid i azitromicin korišteni su za vanjsku kalibraciju mase u modu pozitivnih iona.

3.12.2. Sinteza dimetil-amino-distirilnih derivata

(4,4'-((1*E*,1'*E*)-furan-2,5-diilbis(etan-2,1-diil))bis(*N,N*-dimetilanilin)) (*trans,trans*-213). U miješanu otopinu dodani su 2,5-dimetilfuran u anhidridu octene kiseline (3 ekv.), *p*-dimetilaminobenzaldehid (2 ekv., 0,45 mmol), KOAc (1 ekv.) i anhidrid octene kiseline (3 ekv.). Dodatno je dodana katalitička količina I₂ i reakcijska smjesa je ostavljena na refluku 24 h. Reakcijska smjesa je izlivena u led i zasićena vodenom otopinom NaOH. Nastao je talog, filtriran i ispran s vodom. Nakon uklanjanja otapala, ostatak je obrađen s vodom i toluenom i osušen preko MgSO₄. Sirovi produkt reakcije je pročišćen kromatografijom na stupcu silikagela i čisti *trans,trans*-izomer furana je dobiven u zadnjim frakcijama korištenjem PE/E (5 %) kao eluensa.

(4,4'-((1*E*,1'*E*)-tiofen-2,5-diilbis(etan-2,1-diil))bis(*N,N*-dimetilanilin)) (*trans,trans*-214). U miješanu otopinu 2,5-dimetiltiofena u tetraklormetanu, dodani su *N*-bromosukcinimid

3.13. Funkcionalizacija rezveratrolnih derivata

3.13.1. Opće napomene

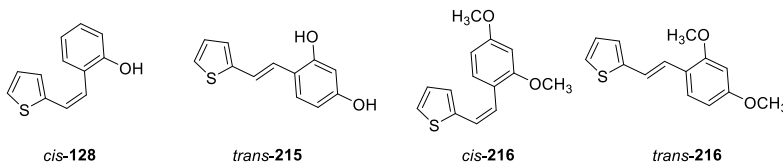
Korištena otapala su prethodno destilirana. Inicijalna fosfonijeva sol pripravljena je u laboratoriju iz odgovarajućeg bromida, dok su ostali korišteni polazni karbaldehidi, *m*-klorperbenzojeva kiselina (*m*-CPBA), 2,2'-difetil-1- pikrilhidrazil (DPPH), magnezijev sulfat (MgSO₄), natrijev hidrogenkarbonat (NaHCO₃). Kupovne kemikalije su bile analitičke čistoće i korištene su bez daljnjeg pročišćavanja.

3.13.2. Sinteza polaznih heterostilbena 215-217

Početni spojevi **128**, **215-217** sintetizirani su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera Wittigovom reakcijom osim derivata **215** (samo *trans*-izomer). Reakcijska otopina je propuhana dušikom 15 minuta prije dodavanja reagensa. U trogloj tikvici s okruglim dnom (100 mL) otopljena je fosfonijeva sol (6 mmol) u 60 mL EtOH (3 Å sita). Otopina natrijevog etoksida (6 mmol, 1,1 ekv. Na u 20 mL apsolutnog etanola) dokapana je u strogo bezvodnim uvjetima pod dušikom. U otopinu pri miješanju direktno se dodaju karboksaldehidi (6 mmol). Reakcijske smjese **128** i **215** ostavljene su da se miješaju 72 sata na 25 °C odnosno 90 °C, dok su reakcijske smjese derivata **216** i **217** miješane 24 sata na 25 °C, iznad magnetske miješalice pod balon s dušikom. Nakon uklanjanja otapala, apsolutnog etanola rotacijskim uparivačem pod sniženim tlakom, krutina reakcijskih smjesa ekstrahirana je toluenom p.a. (3 x 25 mL). Organski slojevi su sušeni iznad bezvodnog MgSO₄. Svi produkti **128**, **215-217** izolirani su ponovljenom kolonskom i tankoslojnom kromatografijom na silika-gelu korištenjem otapala u različitim omjerima (**128**: PE/E (0-1 %); **215**: PE/E (0-40 %); **216** i **217** (PE) kao eluensima i okarakterizirani su spektroskopskim metodama.

Spojevi **218** i **219** dobiveni su u istoj reakcijskoj smjesi eksperimentalnim postupkom za termičku oksigenaciju *trans*-**128**. Spoju *trans*-**128** (5 mmol) u DCM (*c* = 0,12 M) na -10 °C, dodano je 1,2 ekv. *m*-CPBA u DCM i smjesa je miješana 2,5 h na 25 °C. Nakon uklanjanja otapala, ostatku je dodana H₂O, koja je zatim neutralizirana zasićenom otopinom NaHCO₃ i produkt je ekstrahiran E. Produkti termalne oksigenacije izolirani su kolonskom kromatografijom, **218** u prvim frakcijama i **219** u zadnjim frakcijama, na silika-gelu koristeći PE/DCM (80 %) kao eluens.

3. Eksperimentalni dio



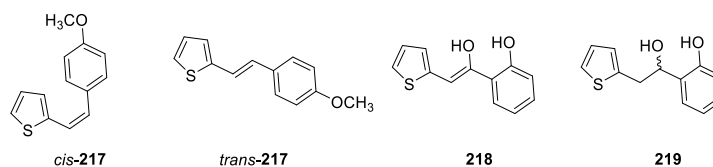
(*Z*)-2-(2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (*cis*-**128**): 34 mg, 6 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.44; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 289 (26314); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.28 (tdd, $J = 7.9, 1.7, 0.7$ Hz, 1H), 7.20 (dt, $J = 7.7, 1.2$ Hz, 1H), 7.13 (dt, $J = 5.1, 0.9$ Hz, 1H), 7.01 – 6.93 (m, 4H), 6.90 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.43 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 5.08 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 153.2, 138.7, 129.2, 128.3, 127.6, 125.4, 125.1, 123.5, 122.9, 77.4, 76.9, 76.5.

(*E*)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)benzen-1,3-diol (*trans*-**215**): 79 mg, 51 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_i = 141\text{-}143$ °C; R_f (PE/E (50 %)) = 0.16; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 343 (28311), 336 (28462); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.33 – 7.30 (m, 1H), 7.17 – 7.12 (m, 2H), 7.05 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.03 (dt, $J = 3.6, 1.0$ Hz, 1H), 6.99 (dd, $J = 5.1, 3.5$ Hz, 1H), 6.42 (dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, 1H), 6.33 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.78 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 156.1, 154.1, 143.5, 128.4, 127.5, 125.4, 123.9, 122.5, 121.6, 117.5, 108.6, 103.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 241 ($\text{M}^+ + \text{Na}$, 10), 218 (5), 201 (100).

(*Z*)-2-(2,4-dimetoksistiril)tiofen (*cis*-**216**): 58 mg, 10 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; R_f (PE) = 0.22; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 317 (15058); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.30 (dd, $J = 8.4, 0.9$ Hz, 1H), 7.05 (dt, $J = 5.2, 0.8$ Hz, 1H), 6.97 (dt, $J = 3.7, 0.9$ Hz, 1H), 6.87 (dd, $J = 5.1, 3.6$ Hz, 1H), 6.71 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 6.52 – 6.45 (m, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.79 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 160.9, 158.3, 140.3, 130.9, 127.9, 126.2, 125.1, 124.4, 123.1, 118.61, 104.3, 98.6, 55.5, 55.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 246 (100).

(*E*)-2-(2,4-dimetoksistiril)tiofen (*trans*-**216**): 112 mg, 35 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_i = 90\text{-}93$ °C; R_f (PE) = 0.22; UV (ACN) λ_{\max}/nm ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 347 (25493, sh), 333 (36811); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.43 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.17 (s, 2H), 7.13 (dd, $J = 5.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 3.5, 1.2$ Hz, 1H), 6.97 (dd, $J = 5.1, 3.5$ Hz, 1H), 6.50 (dd, $J = 8.5, 2.4$ Hz, 1H), 6.46 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.83 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 160.5, 158.1, 144.1, 127.5, 127.4, 124.9, 123.5, 123.3, 120.4, 119.1, 104.9, 98.5, 55.5, 55.4; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 246 (100).

3. Eksperimentalni dio



(*Z*)-2-(4-metoksistiril)tiofen (*cis*-**217**): 132 mg, 23 % izoliranog spoja; bezbojno ulje; $R_f(\text{PE}) = 0.59$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 297 (10983); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.28 (dd, $J = 9.2, 7.2$ Hz, 2H), 7.09 (dd, $J = 5.2, 1.2$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 6.88 (td, $J = 5.3, 2.8$ Hz, 3H), 6.63 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 6.51 (d, $J = 11.9$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.1, 140.0, 130.1, 129.6, 128.8, 127.8, 126.4, 125.2, 122.5, 113.9, 55.2; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 216 (100).

(*E*)-2-(4-metoksistiril)tiofen (*trans*-**217**): 324 mg, 57 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 136$ – 138 °C; $R_f(\text{PE}) = 0.54$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 336 (28625); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.35 – 7.31 (m, 2H), 7.08 (dt, $J = 5.1, 0.9$ Hz, 1H), 7.02 (dt, $J = 16.1, 0.8$ Hz, 1H), 6.95 (dt, $J = 3.6, 1.0$ Hz, 1H), 6.91 (dd, $J = 5.1, 3.5$ Hz, 1H), 6.83 – 6.79 (m, 3H), 3.75 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 159.3, 143.3, 129.8, 127.9, 127.5, 125.4, 123.7, 119.8, 114.2, 114.1, 55.3; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 216 (100).

(*Z*)-2-(1-hidroksi-2-(tiofen-2-il)vinil)fenol (**218**): 13 mg, 22 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 84$ – 86 °C; $R_f(\text{DCM}) = 0.96$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 317 (16308); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.54 (ddd, $J = 7.6, 1.5, 0.7$ Hz, 1H), 7.51 – 7.46 (m, 2H), 7.33 (dd, $J = 5.0, 1.1$ Hz, 1H), 7.30 – 7.19 (m, 2H), 7.10 (dd, $J = 5.0, 3.6$ Hz, 1H), 6.86 (d, $J = 0.9$ Hz, 1H) 5.00 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 154.6, 151.3, 133.3, 129.1, 125.8, 124.6, 124.3, 123.1, 120.8, 111.1, 101.1, 29.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 241 ($\text{M}^+ + \text{Na}$, 5), 218 (15), 201 (100).

2-(1-hidroksi-2-(tiofen-2-il)etil)fenol (**219**): 10 mg, 21 % izoliranog spoja; rozo ulje; $R_f(\text{DCM}) = 0.48$; UV (ACN) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ ($\epsilon/\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 278 (16010); ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7.28 – 7.21 (m, 3H), 7.22 – 7.16 (m, 1H), 6.99 – 6.89 (m, 4H), 6.83 (dt, $J = 3.5, 1.0$ Hz, 1H), 5.89 (dd, $J = 5.2, 2.6$ Hz, 1H), 4.66 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 3.37 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 157.6, 143.2, 129.3, 127.1, 125.6, 125.1, 124.8, 121.7, 121.5, 110.3, 107.6, 101.4, 51.3, 47.9; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 220 (25), 202 (100).

3.14. Fotokatalitičke oksigenacije rezveratrolnih derivata

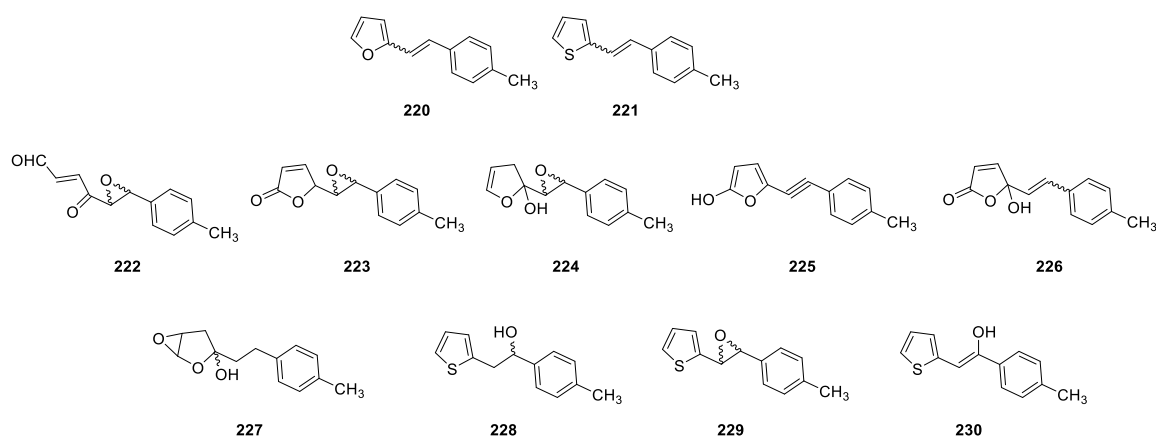
3.14.1. Opće napomene

Sva otapala su pročišćena destilacijom. Fotokatalitičke reakcije izvedene su u atmosferi zraka. ^1H NMR spektri fotokatalitičkih produkata snimljeni su na spektrometru Bruker Avance na 600 MHz s CDCl_3 kao otapalom i TMS kao standardom. Pročišćavanje produkata kromatografijom na stupcu provedeno je koristeći silika-gel (Fluka 60 Å). Za tankoslojnu kromatografiju (TLC) korištene su ploče silika-gela 60 F₂₅₄ (Kieselgel 60, 0,2 mm, 20 × 20 cm). Organski slojevi su osušeni iznad MgSO_4 . Analiza plinske kromatografije provedena je na instrumentu GC-2014 s FID detektorom i kapilarnom kolonom Zebron ZB-Wax GC, 30 m × 0,53 mm, s filmom od 1,00 μm, koristeći dušik kao plin nosač. Fotokatalitički produkti analizirani su UPLC s MS detektorom opremljenim ESI izvorom. Eksperimenti osvjetljavanja izvedeni su u termostatiranom cilindričnom fotoreaktoru od 50 mL i četiri različita mikroreaktora.

3.14.2. Sinteza i fotokatalitička oksigenacija 220-230

Početna fosfonijeva sol pripravljena je u laboratoriju iz odgovarajućeg bromida, dok su ostali polazni heterociklički aldehidi korišteni kupljene kemikalije. Produkti Wittigove reakcije **220** i **221** kao smjese *cis*- i *trans*-izomera korišteni su za fotokatalitičku oksigenaciju. Heterostilbenski derivati **220** i **221** s heteroatomima kisika i sumpora sintetizirani su Wittigovom reakcijom. Reakcijska aparatura je propuhana dušikom. U tikvici s tri grla, fosfonijeva sol (4-metilbenzil)trifenilfosfonijevog bromida (1 ekv., 5,20 mmol; 4,46 mmol) je dodana u apsolutni etanol (100 mL, 3 Å sita). Zatim je dodan odgovarajući heterociklički aldehyd, u jednoj reakciji furan-2-karbaldehyd (1 ekv., 5,20 mmol), a u drugoj tiofen-2-karbaldehyd (1 ekv., 4,46 mmol). Na kraju, kap po kap je dodana otopina natrijevog etoksida (1,1 ekv.). Reakcijska smjesa je miješana 24 h. Nakon reakcije, etanol je uklonjen uparavanjem pod smanjenim tlakom. Krutina je ekstrahirana toluenom p.a. i sušena iznad bezvodnog MgSO_4 . Produkti su dobiveni kromatografijom na koloni. Prema integralima u UPLC analizama i ^1H NMR spektrima omjer izomera spoja **220** bio je *cis*- : *trans*- = 1 : 1,3, a za spoj **221** omjer izomera bio je *cis*- : *trans*- = 1 : 1,2. Anionski i kationski metaloporfirini (Mn(III) kompleksi s mezo-tetra(4-sulfonatofenil)porfirin kloridom (MnTSP^{3-}) i mezo-tetra(1-metil-4-piridil)porfirin pentakloridom (MnTMPyP^{5+}) korišteni su u eksperimentima fotokatalitičke oksigenacije.

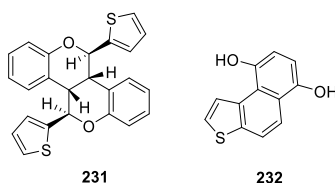
3. Eksperimentalni dio



Sintetizirani 2-(4-metilstiril)furan **220** i 2-(4-metilstiril)tiofen **221**, te anionski ili kationski Mn(III) porfirini otopljeni su u otopini od 50 mL smjese aceton/voda (1:1) pri pH 7. Ove su otopine ozračene volfram halogenom imerzijskom svjetiljkom od 70 W (Philips, $\lambda_{ir} > 380$ nm) u termostatanom cilindričnom fotoreaktoru od 50 mL. Tijekom 2 h (furan) i 16 h (tiofen), a struja zraka propuštena je kroz otopinu. Uvjeti eksperimentalne koncentracije bili su porfirini: $1,1 \times 10^{-4}$ M kationski i $9,8 \times 10^{-5}$ M anionski; početni spoj 1: 0,00113 M, 0,00225 M i 0,00450 M; početni spoj 2: 0,00120 M, 0,00245 M i 0,00490 M. Nakon osvjetljavanja, aceton je uparen iz reakcijske smjese. Ostatak otopine je ekstrahiran E i osušen iznad $MgSO_4$. Krutine su istaložene uparavanjem otapala pod smanjenim tlakom. U svakom eksperimentu, produkti su detektirani pomoću TLC. Fotokatalitički produkti **222** (8 %, 3 mg), R_f (PE/E (30 %) = 0,71) (iz spoja **220**, upotrebom kationskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom), **224** (5 %, u tragovima), R_f (PE/E (30 %) = 0,06) (iz spoja **220**, upotrebom kationskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom), **225** (13 %, 3,5 mg), R_f (PE/E (30 %) = 0,10) (iz spoja **220**, korištenjem kationskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom), **226** (34 %, 7 mg), R_f (PE/E (30 %) = 0,08) i **227** (14 %, 4 mg, iz spoja **220** korištenjem anionskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom), **228** (20 %, 5 mg/ 15 %, 4 mg), R_f (PE/E (30 %) = 0,67) (iz spoja **221**, korištenjem kationskog/anionskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom), **230** (10 %, 3 mg), R_f (PE/E (30 %) = 0,67) (iz spoja **221**, upotrebom anionskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom) izolirani su kromatografijom na koloni upotrebom PE/E (30 %), ali produkti **223** (23 %, 6 mg/24 %, 6 mg), R_f (PE/E (30 %)) = 0,25 (iz spoja **220**, korištenjem kationskog/anionskog Mn(III) porfirina, propuhano zrakom), **229** (45 %, 8,5 mg/22 %, 6 mg), R_f (PE/E (30 %)) = 0,83 (iz spoja **221**, upotrebom kationskog/anionskog Mn(III) porfirina, propuhano kisikom) izolirani su pomoću TLC upotrebom PE/E (30 %) kao eluensa i karakterizirani spektroskopskim metodama.

3.14.3. Fotokatalitička oksigenacija spoja *trans*-128

Postojala su četiri eksperimentalna pravca fotokatalitičkih reakcija s kationskim ili anionskim i kationskim ili anionskim Mn(III) kompleksima slobodne baze. Sintetizirani *trans*-128 i kationski/anionski ili kationski/anionski Mn(III) porfirini otopljeni su u otopini od 50 mL smjese aceton/voda (1:1) pri pH 7. Otopine su osvjetljavane 70 W žaruljama (Philips, $\lambda_{ir} > 380$ nm) u termostatiranom cilindričnom fotoreaktoru od 50 mL. Tijekom 2 h (slobodnobazni kationski/anionski) i 6 h (kationski/anionski Mn(III) porfirini), kroz otopinu je propušтана struja zraka. Koncentracije porfirina bile su sljedeće: kationski slobodne baze $8,50 \times 10^{-5}$ M i anionski $8,07 \times 10^{-5}$ M; Mn(III) kationski $9,20 \times 10^{-5}$ M i Mn(III) anionski $8,15 \times 10^{-5}$ M. Koncentracija početnog *trans*-128 bila je $8,25 \times 10^{-3}$ M. Nakon osvjetljavanja, aceton je uparen iz reakcijske smjese. Ostatak otopine je ekstrahiran E i osušen iznad MgSO₄. Kruti prah je ostao nakon uparavanja otapala pod sniženim tlakom. U svakom eksperimentu, produkti su izolirani kromatografijom na stupcu i TLC koristeći PE/DCM kao eluens. U prvim frakcijama izoliran je dimerni produkt **231** koji je bio malo brži na stupcu od *cis*-128, zatim *trans*-128 i produkt **233** s jednakim *R_f* vrijednostima, a na kraju u zadnjim frakcijama produkt **232** je dobiven kao onaj najsporiji.



(4*b*S,5*R*,10*b*S,11*R*)-5,11-di(tiofen-2-il)-4*b*,5,10*b*,11-tetrahidrokromen[4,3-*c*]kromen (**231**): 6 mg, 15 % izoliranog spoja; bijeli prah, $T_f = 155-158$ °C; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.65; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 283 (25196), 276 (27036); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 7.40 (dd, $J = 5.1, 1.2$ Hz, 1H), 7.25 (dd, $J = 4.4, 1.5$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.09–7.07 (m, 1H), 6.88 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 6.83 – 6.76 (m, 2H), 5.70 – 5.64 (m, 1H), 3.60 – 3.53 (m, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm : 144.3, 130.8, 128.1, 127.1, 127.0, 126.6, 125.7, 125.4, 121.5, 117.9, 42.6, 29.7; MS (ESI) (m/z) (% fragment): 342 (5), 301 (15), 279 (100).

Nafto[2,1-*b*]tiofen-6,9-diol (**232**): 3 mg, 8 % izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (PE/DCM (50 %)) = 0.33; UV (ACN) λ_{max}/nm ($\epsilon/dm^3 mol^{-1} cm^{-1}$) 290 (16512); ¹H-NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm : 8.64 (dd, $J = 5.6, 0.9$ Hz, 1H), 8.22 (dd, $J = 8.4, 0.9$ Hz, 1H), 8.09 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.80 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.96 (s, 2H); MS (ESI) (m/z) (% fragment): 216 (100).

4. ZAKLJUČAK

4. ZAKLJUČAK

Sintetiziran je cijeli niz novih *cis*- i *trans*-izomera amino-stilbena **2-8** kako bismo ispitali učinkovitost njihove sinteze, otpornost na kisele uvjete, fotokemijske i fotofizičke karakteristike, te razliku u potencijalnoj biološkoj aktivnosti početnih spojeva **2-8** i njihovih produkata fotociklizacije **9-15**. Spektroskopski su u potpunosti okarakterizirani i biološki su ispitani. S obzirom da su se heterostilbenski *cis*-izomer, *cis*-**8** i njegov fotoprodukt s dvije tiofenske jezgre **15** pokazali obećavajućim inhibitorima kolinesteraza, vrijedilo ih je funkcionalizirati u daljnjim istraživanjima kako bi se u tom smislu postigla izraženija biološka svojstva. Ključna uloga tiofenskog prstena u inhibiciji enzima kolinesteraza (osobito BChE) u kombinaciji s *cis*-konfiguracijom ili planarnim tieno-naftalenskim dijelom molekule potvrđena je sintezom ovih derivata. Usporedba s organskim bojama koje posjeduju amino-stilbensku podjedinicu kao osnovni skelet pokazuje da novi *trans*-aminostilbeni (*trans*-**2-8**) imaju vrlo sličnu valnu duljinu apsorpcije. Također su neosjetljivi na promjenu pH prema nižim vrijednostima.

Objašnjena je veza između struktura sintetiziranih triazolostilbena/naftotriazola i njihove biološke aktivnosti kroz kemijske interakcije s biomolekulama dobivene računalnim istraživanjem. Novi 1,2,3-triazolostilbeni **16-25** su fotokemijski prevedeni u supstituirane planarne naftotriazole **26-35** elektrociklizacijom u visokim izoliranim iskorištenjima. Općenito, bolje eksperimentalne rezultate za biološku aktivnost pokazali su naftotriazoli u odnosu na triazolostilbene, dajući zanimljiva opažanja o inhibiciji AChE i BChE povezanoj s inhibicijom proizvodnje citokina TNF α i protuupalnom aktivnošću. Struktura i stabilnost kompleksa između odabranih spojeva i aktivnog mjesta AChE procijenjeni su molekulskim pristajanjem i kvantno-mehaničkim pristupom. Kako su π - π interakcije posebno relevantne za stabiliziranje interakcije s kolinesterazama, među spojevima s izraženom biološkom aktivnošću istakli su se planarni naftotriazoli i njihovi geometrijski sličniji *cis*-izomeri. Ovo opažanje dalo je dodatnu važnost metodologiji preparativne fotokemije za jednostavnu i učinkovitu pripremu naftotriazolnih derivata.

Provedena je sinteza novih 1,2,3-triazolnih di-heterostilbena **36-43** koji posjeduju različite alifatske i aromatske supstituente. Jedino je u slučaju *p*-nitrofenilnog derivata **38** prevladao *cis,cis*-izomer. Fotoreaktivnost novih spojeva s triazolnim prstenom temeljito je istražena. Uvođenjem triazolnih prstenova na *o*-divinilbenzenski skelet, u usporedbi s 2-furilnim i 2-tienilnim heteroanalogima, ovi konjugirani sustavi nisu pokazali nikakvu fotokemijsku reaktivnost prema intramolekulskoj cikloadiciji ili elektrociklizaciji. Molarni koeficijenti apsorpcije izoliranih izomera **36-43** viši su od onih odgovarajućih furil- i tienilnih analoga i odnose se na

učinkovitu delokalizaciju kroz sustav konjugiranog bis-triazola. Istraživanje je prošireno i na dublje ispitivanje fotokemijskih i konformacijskih karakteristika istraživanih triazolo-stilbena kako bi se dobili odgovori koji se tiču konfiguracije i učinaka supstituenata na fotokemijsku reaktivnost. Najstabilniji konformeri izoliranih geometrijskih izomera spojeva **36-43** posjeduju razdvojene i udaljene dvostruke veze u nepovoljnom položaju za intramolekulske fotoreakcije. Također, karakteristike geometrije i ravnoteže konformera vjerojatno su različite kod derivata triazola **36-43** u usporedbi s furil- i tienil-heteroanalogima koji su dali intramolekulske fotoprodukte. Računalno ispitivanje konformera novih triazola, praćeno izračunima UV/Vis spektra, dalo je rezultate koji se dobro slažu s eksperimentalnim podacima, detektirajući prijelaze relevantnih pobuda. Izračunati maksimum apsorpcije jedinog *cis,cis*-izomera u seriji, *cis,cis*-**38**, precijenjen je u usporedbi s eksperimentalnim spektrom, međutim, ovaj eksperimentalni rezultat mogao je proizaći iz međusobnog djelovanja izomerne konfiguracije i učinaka supstituenata. Ispitivanje graničnih orbitala otkrilo je da je u svim *trans,trans*-izomerima HOMO-LUMO energijska razlika manja nego u odgovarajućim *cis,cis*-parovima, međutim, kod derivata **38**, *p*-nitrofenilni supstituent uzrokovao je smanjenu vrijednost energijske razlike, bez obzira na izomerizaciju.

U ovom su istraživanju Wittigovom reakcijom učinkovito sintetizirani i novi 1,2,3-triazolo(tieno)stilbeni **44-53**. Konfiguracijski izomeri su zatim odvojeni, a spojevi su fotokemijski ciklizirani u supstituirane tienobenzonafto-triazole **54-62** u visokim izoliranim prinosima. Eksperimentalni rezultati o biološkoj aktivnosti bili su bolji za tienobenzonafto-triazole u odnosu na triazolo(hetero)stilbene, pružajući određenu selektivnu međupovezanost inhibicije kolinesteraza i protuupalne aktivnosti s inhibicijom proizvodnje TNF α citokina. Kao najjači inhibitor BChE pokazao se alil-tienobenzotriazol **60**, koji je u isto vrijeme pokazao i dobru inhibiciju proizvodnje TNF α u PBMC stimuliranim LPS, dok *p*-metoksibenzil- **56** i hidroksibutil-naftotriazoli s klorom ili metoksi-skupinama imaju najbolju inhibiciju proizvodnje TNF α . Molekularno pristajanje odabranih sintetiziranih 1,2,3-triazolo(tieno)stilbena i tienobenzonaftotriazola u aktivno mjesto AChE i BChE dalo je uvid u strukturu nastalih kompleksa i omogućilo prepoznavanje stabilizacijskih interakcija između potencijalnih inhibitora i enzima. Ispitivanje biološke aktivnosti potvrdilo je da su planarniji produkti fotociklizacije snažniji i selektivniji inhibitori kolinesteraza sa snažnijim protuupalnim djelovanjem u odnosu na početne spojeve iz kojih su pripremljeni.

Sinteza novih tienobenzonaftotriazola **63-86** pomoću dva različita pristupa poboljšala je sintetsku produktivnost. Konačni rezultat bio je opsežniji skup molekula za testiranje s raz-

ličitim funkcionalnostima na triazolnom prstenu ili koje su se razlikovale u aromatskom karakteru središnjeg prstena u strukturi. Kao što je i predviđeno, većina pripremljenih derivata pokazala je bolju inhibiciju enzima BChE, s obzirom da su nove molekule dizajnirane prema prethodnim rezultatima. Sedam ispitanih spojeva pokazalo je inhibicijsku aktivnost prema BChE u rasponu vrijednosti karakterističnim za standardne inhibitore kolinesteraze, iako je njihova inhibicijska moć varirala ovisno o funkcionalnosti spoja. Stoga bi za budući dizajn inhibitora kolinesteraza i traženje terapeutika za neurološke poremećaje trebali biti zanimljivi spojevi s tienobenzotriazolnim dijelom, *p*-OCH₃-benzilnom skupinom na njemu ili *p*-OCH₃-fenilnom skupinom na produljenom alifatskom lancu koji su i sintetizirani uspješno (**80-86**), a njihova biološka ispitivanja su trenutno u tijeku.

Dizajnirani su i sintetizirani novi tienotiazolostilbeni **87-96** i tienobenzotiazoli **97-101**, te je ispitana njihova potencijalna inhibicijska aktivnost prema kolinesterazama i uspoređena s njihovim analogima, nafto-oksazolima. Tienotiazolostilbeni **87-96** dobiveni su kao smjese *cis*- i *trans*-izomera, neki Wittigovom reakcijom, dok drugi naknadnim Buchwald-Hartwigovim aminiranjem ili McMurryjevom reakcijom. Iz tienotiazolostilbena **87-96** fotokemijskom ciklizacijom uspješno su dobiveni odgovarajući tienobenzotiazoli **97-101**. Svi izolirani čisti spojevi procijenjeni su kao potencijalni inhibitori kolinesteraza. Ključne odrednice u odnosu struktura-aktivnost bili su tip heterocikličkog prstena, geometrija molekule i, gdje je to moguće, tip i položaj supstituenta. Među derivatima stilbena najbolji rezultat postigli su derivati s fenolnim prstenom *trans*-**94** i njegov tiofenski analog *trans*-**87**. Fenolni tiazolostilben najaktivniji je od svih ispitanih spojeva. Tri od pet testiranih produkata fotociklizacije tiazola postigla su vrijednost IC₅₀, spoj **87** s metilnim supstituentom, **89** s klorom i molekula **90** s trifluorometilim supstituentom. Postignuta inhibicijska aktivnost je vrlo obećavajuća, s IC₅₀ vrijednostima u rasponu uobičajenog reverzibilnog inhibitora huperzina A. Usporedba elektrocikličkih tiazola i oksazola dovela je do zaključka da su ova dva prstena slična: jedna od sličnosti je neaktivnost prema enzimu AChE. Kako su testirane strukture pokazale drastično bolju inhibiciju BChE od AChE, ovi rezultati su vrlo važni jer BChE privlači sve veću pozornost zbog svoje uloge u Alzheimerovoj bolesti. Računalna studija otkrila je da se za tienobenzotiazole i nafto-oksazole, jako dobra inhibicijska aktivnost prema BChE može pripisati krutosti glavnog skeleta koji može blokirati estersko podmjesto aktivnog mjesta enzima, popraćeno π - π interakcijama između liganda i ostataka aktivnog mjesta, što dodatno stabilizira nastali kompleks.

Sintetizirani su i novi rezveratrolni analozi, maltolni hibridi **102-109** kao inhibitori kolinesteraza, sredstva za kompleksiranje s biometalima i antioksidansi. Kako je fotostabilnost povoljno svojstvo derivata rezveratrola, cilj je bio također istražiti promjene UV spektra pri

izlaganju UV svjetlu, kao i sposobnost stvaranja kompleksa s biometalima. Kao i kod eksperimenata fotostabilnosti, biološki testovi također su otkrili značajne razlike u svojstvima i ponašanju hibrida tiofena i maltola. Dok rezveratrol-tiofenski hibridi imaju izvrsna inhibicijska odnosno antioksidacijska svojstva (slična aktivnosti referentnog standarda galantamina odnosno rezveratrola), maltoli su dokazano slabiji inhibitori i antioksidansi. Rezultati ispitivanja stabilizacije pokazali su da su svi ligandi u aktivnim mjestima oba enzima, AChE i BChE, uglavnom stabilizirani π - π interakcijama. Spojevi su se pokazali aktivnim inhibitorima kolinesteraza i skloni koordiniranju s Fe^{3+} ionom kao biometalom. U kristalnom pakiranju drže ih zajedno slabe međumolekulske interakcije: vodikove veze, $\text{C-H}\cdots\pi$ interakcije i disperzijske interakcije.

Dizajn i sinteza novih, nenabijenih 2-tienostilbenskih oksima **122-127** provedena je ekonomičnom sintezom u tri koraka korištenjem Wittigove reakcije, Vilsmeierova formiliranja i transformacije aldehida u oksime u visokim prinosima. Očekivani ciljani produkti bili su čisti *cis*- i *trans*-izomeri *syn*- i *anti*-oksima koji sadrže različite supstituente vezane u *para*-položaju benzenskog prstena. Konačno, pri nastajanju svakog oksima, iako su očekivana četiri izomera, s obzirom na konfiguraciju dvostrukih veza ugljik-ugljik i ugljik-dušik, nakon uzastopnih kolonskih i tankoslojnih kromatografija reakcijskih smjesa samo su neki od izomera **122-127** uspješno izolirani. Od osam oksima odabranih za reaktivaciju kolinesteraza inhibiranih nervnim agensom, *trans,anti*-**124** i *trans,anti*-**123** i njihovi *trans, syn*-parovi reaktivirali su BChE inhibiranu ciklosarinom do 70 %. Ovo je prvo istraživanje koje je pokazalo potencijal tienostilbenskih oksima kao terapijika kod trovanja OP, a čini se da bi daljnji dizajn spojeva, npr. s amidnim, OH, mono- i dimetilamino skupinama ili triazolnim prstenom, mogao pružiti novu podlogu za daljnji razvoj biološki aktivnih spojeva kao reaktivatora pri izloženosti organofosfatima. U skladu s tim, sintetiziran je novi niz oksima **169-190** istim ili sličnim sintetskim putem, potpuno su spektroskopski okarakterizirani i trenutno su u tijeku njihova biološka ispitivanja kao potencijalnih reaktivatora kolinesteraza.

U svrhu pronalaženja novih rezveratrolnih derivata s potencijalnom terapijskom primjenom, sintetizirani su derivati *trans*-**191-208** različitim sintetskim pristupima. Uspješno su razdvojeni izomeri i spektroskopski okarakterizirani, te su podvrgnuti biološkim ispitivanjima u svrhu ispitivanja potencijalne inhibicije enzima BChE, te antioksidacijske i protuupalne aktivnosti. Derivati *trans*-**191**, *trans*-**192**, *trans*-**195**, *trans*-**196**, *trans*-**206** i *trans*-**207** pokazali su zadovoljavajuće vrijednosti inhibicije BChE. Kod ispitivanja antioksidacijske aktivnosti najbolje rezultate je postigao derivat *trans*-**191** od kojeg treba čak oko 150 puta manja koncentracija u odnosu na standard *trans*-rezveratrol. Također, zadovoljavajuću vrijednost prilikom

ispitivanja antioksidacijske aktivnost postigli su i derivati *trans*-**192** i *trans*-**195**. Naposljetku, provedeno je računalno ispitivanje konformacijskog prostora i termodinamičke stabilnosti derivata **191-208**, te je proveden izračun UV/Vis spektara. Na temelju dobivenih podataka vidljivo je da postoje određena odstupanja između vrijednosti dobivenih eksperimentalno i računski, ali ona su zadovoljavajuća s obzirom na to da prate jednak trend odnosno računalno dobivene valne duljine prijelaza su sustavno pomaknute prema većim vrijednostima. Nadalje, određeni su elektronski prijelazi određenih apsorpcijskih vrpca, te su im pripisane orbitale između kojih dolazi do prijelaza. Budući da su neki od pripremljenih rezveratrolnih derivata pokazali sposobnost inhibicije enzima BChE, napravljena je studija molekuskog pristajanja kojom su utvrđene strukture nekovalentnih kompleksa između liganda i enzima. Uvid u dobivene strukture omogućio je identificiranje elektrostatskih međudjelovanja koja doprinose stabilnosti kompleksa i time povećavaju inhibicijski potencijal testiranih spojeva.

Sinergija eksperimentalnog i računalnog ispitivanja fotokemijske reaktivnosti dva heterostilbenska derivata koji sadrže 1,2,3-triazolnu jedinicu **209** i **210** omogućila je potpuno obješnjenje mehanizma reakcije i određivanje pobuđenih stanja koja sudjeluju u procesima. Molekule su dizajnirane za ispitivanje učinka nitro-skupine kod **209** na fotokemijske *E-Z* puteve, kao i za istraživanje steričkog utjecaja *ortho*-metilne skupine kod **210**. Glavni rezultat ovog dijela istraživanja je ukazao na to da molekule prolaze *E-Z* fotoizomerizaciju različitim putevima ovisno o supstituentu, uključujući adijabatsku reakciju singletnog pobuđenog stanja ili tripletno pobuđeno stanje, pod utjecajem nitro-skupine. Svi eksperimentalno opaženi procesi izvrsno su se slagali s kvantno-kemijskim proračunima. Korišten je reakcijski put *Z-E* izomerizacije dobiven linearnom interpolacijom struktura izračunatih metodom SF-TDDFT/PBE50/6-31++G**, dajući potencijalne plohe potencijalnih energija uključenih u proces. Razotkrivajući mehanističke detalje *E-Z* fotoizomerizacije, pridodan je doprinos ovoj jednostavnoj, ali važnoj reakciji ključnoj za mnoge primjene, kao i za razumijevanje važnih procesa u prirodi.

Kiselo-bazna svojstva dvaju derivata 2,6-distirilpiridina **213** i **214** i piridinskog derivata koji je prethodno sintetiziran unutar naše istraživačke skupine, koji nose elektron-donorsku i elektron-akceptorsku skupinu proučavana su u puferskoj vodi uz dodatak nekog postotka acetonitrila zbog topljivosti. Utvrđeno je da se njihovi apsorpcijski i emisijski spektri pomiču prema crvenom kada je protoniran dušik središnjeg piridinskog prstena, dok protoniranje dušika dimetilamino-skupine uzrokuje izražen plavi pomak. Ovo ponašanje dovodi do naglašenog acidokromizma za fluorescenciju dimetilamino-piridinskog derivata, gdje zelena emisija neutralne vrste postaje žuta pri protoniranju piridina i mijenja se u ljubičastu kada se dogodi drugo

protoniranje. Utvrđeno je da je protoniranje dušika središnjeg piridina lakše s obzirom na ne-supstituirani 2,6-distirilnipiridin, i u osnovnom i u pobuđenom stanju, kada su prisutne jake elektron-donorske skupine, kao što je uočeno u dimetilamino-piridinskom derivatu. Suprotno tome, jake elektrone-odvlačeće skupine na krajevima konjugiranih derivata uzrokuju smanjenje gustoće elektrona na piridinskom dušiku čineći protoniranje težim, kao što se dogodilo kod prethodno sintetiziranih kombiniranih di-stirilnih derivata, gdje je utvrđeno da utjecaj nitro-skupine prevladava zbog elektron-donorskog utjecaja metoksi-supstituenta, a još više za piridinski, budući da nosi dvije nitro-skupine. U slučaju DAQP, uočeno je drugo protoniranje u istraživanom pH rasponu zbog protoniranja dušika jedne dimetilamino-skupine. Sadašnji rezultati koji ukazuju na odnos pK_a/pK_a^* i molekulsku strukturu od interesa su za poticanje sinteze novih spojeva s kiselobaznim svojstvima prikladnim za primjenu kao senzora osjetljivih na okoliš ili kao foto-kiselina i foto-baza.

Sinteza novih heterocikličkih analoga rezveratrola **215-217** Wittigovom reakcijom i reakcija funkcionalizacije dobivenog Wittigovog produkta **128** provodila se u mili- i mikroreaktorima. Pri prelasku sa šaržnog reaktora na mikro-skalu, bolji rezultati (brža reakcija, povećana produktivnost i čistoća) uočeni su za protočni reaktor. S druge strane, uspoređujući rezultate između mili- i mikroreaktora, postignute pretvorbe, iskorištenja i produktivnosti, omjeri produkata bili su slični, što znači da su sve prednosti mikroreaktora prisutne u mili-reaktoru. U analizi dobivenih novih heterocikličkih analoga rezveratrola, utvrđeno je da oni s hidroksilnom(im) skupinom(ama) pokazuju efikasnu aktivnost hvatanja radikala. Derivat *trans*-**215** pokazao je najbolju antioksidacijsku aktivnost s IC_{50} vrijednošću od $26,8 \mu\text{mol L}^{-1}$, tri puta boljom od rezveratrola i relativno visoku stabilnost prema fotoizomerizaciji u odgovarajući *cis*-izomer.

Kao što su naši rezultati jasno pokazali, i produkti i stope pretvorbe u fotokatalitičkoj oksigenaciji furo- i tieno heterostilbena **220** i **221** bili su pod velikim utjecajem heteroatoma u aromatskom ostatku i naboja katalizatora mangan(III) porfirina. Zbog jačeg aromatskog karaktera tienilna skupina se pokazala neaktivnom, slično kao i benzenski prsten. Stoga su brzine reakcije manje aromatičnog, a samim time i manje stabilnog furilnog derivata bile mnogo veće i njegova oksigenacija rezultirala je s više vrsta produkata. Veća reaktivnost ovog spoja također je dokazana ugradnjom dvaju atoma kisika u većinu produkata počevši od derivata furila **220**, dok su oni koji proizlaze iz tienilnog derivata **221** sadržavali samo jedan kisik. Budući da su se te reakcije odvijale putem elektrofilnih napada fotogeneriranim agensima kao što je vrsta Mn(V)=O , značajnije promjene su postignute u prisutnosti pozitivno nabijenog fotokatalizatora. Stope pretvorbe mogle bi se dramatično povećati primjenom mikroreaktora, zbog njihovih

povoljnih geometrijskih značajki. Svi ovi rezultati nedvosmisleno su dokazali da se i na vrste produkata i na brzine reakcija u ovom sustavu može učinkovito utjecati primjenom odgovarajućeg supstrata, katalizatora i reaktora.

Početni tiofenski analog *trans*-rezveratrola odabran je kao predstavnik heterostilbena s dokazano dobrim antioksidacijskim djelovanjem za ispitivanje pretvorbi fotokatalitičke oksigenacije pomoću anionske i kationske slobodne baze porfirina kao i njihovih Mn(III) kompleksa. Eksperimenti su provedeni u dva tipa fotoreaktora (šaržni i mikroreaktor) kako bi se istražio utjecaj vrste i dizajna reaktora na konverziju i sastav produkata. Iz preparativne sinteze u šaržnom reaktoru izolirana su četiri fotoprodukta (*cis*-**128**, **231**, **232** i **219**), a NMR spektroskopija, UHPLC/MS i analize kristalne strukture primijenjene su za identifikaciju i kvantifikaciju produkata. Produkti su rezultat izomerizacije, dimerizacije, ciklizacije, odnosno oksigenacije. Za sintezu fotoprodukta *cis*-**128**, mikroreaktor bio je izvedbeni tip reaktora. Željeni produkt dobiven je u puno kraćem vremenu, s većim iskorištenjem nego za reakciju izvedenu u šaržnom reaktoru. Budući da se produkt stalno uklanjao iz reakcijske smjese, stvaranje neželjenih produkata je bilo minimalizirano. Kao budući cilj, u istraživanju fotokemije heterostilbena, planira se ispitati usporedba izravnog osvjetljavanja supstrata na nižim valnim duljinama s fotokatalitičkim reakcijama molekula, te eksperimentalno i računalno racionalizirati prirodu i omjer dobivenih produkata, kao i analizirati utjecaj dizajna i tipa reaktora.

Daljnji tijek istraživanja koji proizlazi iz svih rezultata ove disertacije uključuje *in vitro* ispitivanje kinetike inhibicije enzima koja može pomoći odrediti vrstu inhibicijskog mehanizma (je li inhibitor kompetitivni, nekompetitivni, akompetitivni). Kada se odredi mehanizam, analizom krivulje rasta može se odrediti inhibicijska konstanta K_i koja pouzdanije govori o afinitetu spoja prema enzimu od IC_{50} vrijednosti. Uz *in vitro* kinetiku, pokušat će se primjenom molekulske dinamike dobiti kvantitativni opis ponašanja liganda u aktivnom mjestu koji bi se zatim korelirao s dobivenim eksperimentalnim rezultatima. Na taj način bi se mogli unaprijed dizajnirati efikasniji ligandi. Kvantno-kemijskim računima (koristeći teoriju funkcionala gustoće, te možda zahtjevnije *ab initio* metode) planirano je dobiti detaljne informacije o strukturnim i elektronskim parametrima koji su odgovorni za opaženo antioksidacijsko djelovanje testiranih spojeva. Provedeno je djelomično i planira se produbiti ispitivanje genotoksičnosti, eksperimentalnih fizikalno-kemijskih svojstava, protočne-sinteze, te funkcionalizacije potencijalno najaktivnijih molekula.

5. POPIS LITERATURE

5. POPIS LITERATURE

- [1] T. Belwal, S.M. Nabavi, S.F. Nabavi, A.R. Dehpour, S. Shirooie, *Naturally Occurring Chemicals Against Alzheimer's Disease*, Academic Press, UK, 2020.
- [2] N.H. Greig, T. Utsuki, D.K. Ingram, Y. Wang, G. Pepeu, C. Scali, Q.-S. Yu, J. Mamczarz, H.W. Holloway, T. Giordano, D. Chen, K. Furukawa, K. Sambamurti, A. Brossi, D.K. Lahiri, *PNAS* 102 (2005) 17213–17218.
- [3] D. Lahiri, M. Farlow, K. Sambamurti, N. Greig, E. Giacobini, L. Schneider, *Curr. Drug Targets* 4 (2003) 97–112.
- [4] M. Pohanka, *Int. J. Mol. Sci.* 15 (2014) 9809–9825.
- [5] J. Saltiel, N. Tarkalanov, D.F.Jr. Sears, *J. Am. Chem. Soc.* 117 (1995) 5586–5587.
- [6] G. Bartocci, G. Galiazzo, E. Marri, U. Mazzucato, A. Spalletti, *Inorg. Chim. Acta* 360 (2007) 961–969.
- [7] T. Majima, S. Tojo, A. Ishida, *J. Org. Chem.* 61 (1996) 7793–7800.
- [8] Y. Imamoto, T. Kuroda, M. Kataoka, S. Shevyakov, G. Krishnamoorthy, R.S.H Liu, *Angew. Chem.* 115 (2003) 3758–3761.
- [9] H. Meier, *Angew. Chem.* 31 (1992) 1399–1420.
- [10] J. Vachon, G.T. Carroll, M.M. Pollard, E.M. Mes, A.M. Brouwer, B.L. Feringa, *Photochem. Photobiol. Sci.* 13 (2014) 241–246.
- [11] H.F. Kung, C.W. Lee, Z.P. Zhuang, M.P. Kung, C. Hou, K. Plössl, *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2004) 12740 – 12741.
- [12] J.L. Segura, N. Martin, *J. Mater. Chem.* 10 (2000) 2403–2435.
- [13] W.M. Horspool, F. Lenci, *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, 2nd ed., CRC: Boca Raton, FL, 2004.
- [14] A. Griesbeck, M. Oelgemöller, F. Ghetti, *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, 3rd ed., CRC Press: Boca Raton, FL, 2012.
- [15] J. Qu, C.T. Cao, C. Cao, *J. Phys. Org. Chem.* 31 (2018) 3799.
- [16] L. Mencaroni, A. Cesaretti, B. Carlotti, M. Alebardi, F. Elisei, A. Ratković, I. Škorić, A. Spalletti, *Molecules* 27 (2022) 8725.
- [17] L. Mencaroni, A. Cesaretti, F. Elisei, I. Škorić, M. Mlakić, A. Spalletti, *Photochem. Photobiol. Sci.* 21 (2022) 935–947.
- [18] A. Arakawa, A. Yariv, *IEEE J. Quantum Electron.* 22 (1986) 1887–1899.
- [19] P. Wang, H. Pu, M. Jin, *J. Polym. Sci A: Polym. Chem.* 49 (2011) 5133–5141.

5. Popis literature

- [20] D. Lumpi, F. Glöcklhofer, B. Holzer, B. Stöger, C. Hametner, G.A. Reider, J. Fröhlich, *Cryst. Growth Des.* 14 (2014) 1018–1031.
- [21] I. Šagud, M. Šindler-Kulyk, I. Škorić, V. Kelava, Ž. Marinić, *Eur. J. Org. Chem.* 25 (2018) 3326–3335.
- [22] I. Škorić, I. Flegar, Ž. Marinić, M. Šindler-Kulyk, *Tetrahedron* 62 (2006) 7396–7407.
- [23] S. Ciorba, B. Carlotti, I. Škorić, M. Šindler-Kulyk, A. Spalletti, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 219 (2011) 1–9.
- [24] B. Carlotti, A. Cesaretti, G. Cacioppa, F. Elisei, I. Odak, I. Škorić, A. Spalletti, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 368 (2019) 190–199.
- [25] L. Mencaroni, B. Carlotti, A. Cesaretti, F. Elisei, A. Grgičević, I. Škorić, A. Spalletti, *Photochem. Photobiol. Sci.* 19 (2020) 1665–1676.
- [26] M. Wan, Y. Luo, Z. Tong, Q. Geng, L. Hua, *Coloration Technol.* 138 (2022) 201–209.
- [27] S.I. Um, J.K. Lee, Y. Kang, D.J. Baek, *Dyes Pigm.* 70 (2006) 84–90.
- [28] Y. Yu, X. Wang, Q. Fei, Y. Yu, S. Tian, K. Wang, J. Jiang, D. Song, A. Yu, Z. Zhang, *Anal. Methods*. 9 (2017) 465–472.
- [29] J. Matić, L.M. Tumor, M. Radić Stojković, I. Piantanida, *Curr. Protein Peptide Sci.* 17 (2016) 127–134.
- [30] G.Y. Shi, S.K. Møllerup, K. Yuan, G.F. Hu, F. Sauriol, T. Peng, N. Wang, P. Chen, S. Wang, *Chem. Sci.* 9 (2018) 3844–3855.
- [31] J. Saltiel, Y. Zhang, D.F.Jr. Sears, *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997) 11202–11210.
- [32] R.S.H. Liu, L.Y. Yang, C. Hirata, J. Liu, T.I. Ho, *J. Chin. Chem. Soc.* 53 (2006) 227–232.
- [33] W. Fuß, C. Kosmidis, W.E. Schmid, S.A. Trushin, *Angew. Chem.* 43 (2004) 4178–4182.
- [34] L. Yang, M. Harigai, Y. Imamoto, M. Kataoka, T. Ho, E. Andrioukhina, O. Federova, S. Shevyakov, R.S.H. Liu, *Photochem. Photobiol. Sci.* 5 (2006) 874–882.
- [35] R.S.H. Liu, G.S. Hammond, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97 (2000) 11153–11158.
- [36] R.S.H. Liu, A.E. Asato, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82 (1985) 259–263.
- [37] A. Gerwien, M. Schildhauer, S. Thumser, P. Mayer, H. Dube, *Nature Commun.* 9 (2018) 2510.
- [38] M. Kondo, *Polym. J.* 52 (2020) 1027–1034.
- [39] M. Hirahara, M.Z. Ertem, M. Komi, H. Yamazaki, C.J. Cramer, M. Yagi, *Inorg. Chem.* 52 (2013) 6354–6364.
- [40] K. Hüll, J. Morstein, D. Trauner, *Chem. Rev.* 118 (2018) 10710–10747.
- [41] C.M. Pearson, T.N. Snaddon, *ACS Cent. Sci.* 3 (2017) 922–924.
- [42] W. Fuß, *Phys. Chem.* 21 (2019) 6776–6789.

5. Popis literature

- [43] J.A. Syage, P.M. Felker, A.H. Zewail, *J. Chem. Phys.* 81 (1984) 4706–4723.
- [44] P.M. Felker, A.H. Zewail, *J. Phys. Chem.* 89 (1985) 5402–5411.
- [45] J. Saltiel, A.S. Waller, D.F.Jr. Sears, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 65 (1992) 29–40.
- [46] J. Saltiel, A.S. Waller, D.F.Jr. Sears, *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993) 2453–2465.
- [47] J. Saltiel, A.S. Waller, Y.P. Sun, D.F.Jr. Sears, *J. Am. Chem. Soc.* 112 (1990) 4580–4581.
- [48] D.C. Todd, G.R.J. Fleming, *Chem. Phys.* 98 (1993) 269–279.
- [49] R.J. Sension, S.T. Repinec, R.M. Hochstrasser, *J. Chem. Phys.* 93 (1990) 9185–9188.
- [50] R.J. Sension, A.Z. Szarka, R.M. Hochstrasser, *J. Chem. Phys.* 97 (1992) 5239–5242.
- [51] J.H. Frederick, Y. Fujiwara, J.H. Penn, K. Yoshihara, H.J. Petek, *Phys. Chem.* 95 (1991) 2845–2858.
- [52] D.C. Todd, G.R. Fleming, J.M. Jean, *J. Chem. Phys.* 97 (1992) 8915–8925.
- [53] V.D. Vachev, J.H. Frederick, B.A. Grishanin, V.N. Zadkov, N.I. Koroteev, *Chem. Phys. Lett.* 215 (1993) 306–314.
- [54] V.D. Vachev, J.H. Frederick, B.A. Grishanin, V.N. Zadkov, N.I. Koroteev, *J. Phys. Chem.* 99 (1995) 5247–5263.
- [55] M.J. Bearpark, F. Bernardi, S. Clifford, M. Olivucci, M.A. Robb, T.J. Vreven, *Phys. Chem. A* 101 (1997) 3841–3847.
- [56] V. Molina, M. Merchán, B.O. Roos, *J. Phys. Chem. A* 101 (1997) 3478–3487.
- [57] V. Molina, M. Merchán, B.O. Roos, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 55 (1999) 433–446.
- [58] J. Quenneville, T.J. Martínez, *J. Phys. Chem. A* 107 (2003) 829–837.
- [59] C.W. Jiang, R.H. Xie, F.L. Li, R.E. Allen, *Chem. Phys. Lett.* 474 (2009) 263–267.
- [60] C.W. Jiang, R.H. Xie, F.L. Li, R.E. Allen, *Chem. Phys. Lett.* 487 (2010) 177–182.
- [61] N. Minezawa, M.S. Gordon, *J. Phys. Chem. A* 113 (2009) 12749–12753.
- [62] N. Minezawa, M.S. Gordon, *J. Phys. Chem. A* 115 (2011) 7901–7911.
- [63] M. Inamori, Y. Ikabata, T. Yoshikawa, H. Nakai, *J. Chem. Phys.* 152 (2020) 144108.
- [64] R.K. Chaudhuri, K.F. Freed, S. Chattopadhyay, U.S. Mahapatra, *J. Phys. Chem. A* 117 (2013) 9424–9434.
- [65] T. Arai, K. Tokumaru, *Chem. Rev.* 93 (1993) 23–39.
- [66] T.T. Yin, Z.X. Zhao, H.X. Zhang, *RSC Adv.* 6 (2016) 79879.
- [67] W.M. Horspool, P.S. Song, *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, Boca Raton, 1995.
- [68] J. Jin, X. Li, J. Zhang, P. Zhao, H. Tian, *Isr. J. Chem.* 53 (2013) 288–293.

5. Popis literature

- [69] B. Carlotti, A. Cesaretti, C.G. Fortuna, A. Spalletti, F. Elisei, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 1877–1882.
- [70] E. Benassi, B. Carlotti, M. Segado, A. Cesaretti, A. Spalletti, F. Elisei, V. Barone, *J. Phys. Chem. B* 119 (2015) 6035–6040.
- [71] A. Cesaretti, B. Carlotti, G. Consiglio, T. Del Giacco, A. Spalletti, F. Elisei, *J. Phys. Chem. B* 119 (2015) 6658–6667.
- [72] A. Cesaretti, B. Carlotti, R. Germani, A. Spalletti, F. Elisei, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 17214–17220.
- [73] B. Carlotti, E. Benassi, A. Cesaretti, C.G. Fortuna, A. Spalletti, V. Barone, F. Elisei, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 17 (2015) 20981–20989.
- [74] B. Carlotti, A. Cesaretti, P.L. Gentili, A. Marrocchi, F. Elisei, A. Spalletti, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 18 (2016) 23389–23399.
- [75] E. Abraham, J. Oberlé, G. Jonusauskas, R. Lapouyade, C. Rullière, *Chem. Phys.* 214 (1997) 409–423.
- [76] A.K. Singh, M. Darshi, S. Kanvah, *J. Phys. Chem. A* 104 (2000) 464–471.
- [77] Z.R. Grabowski, K. Rotkiewicz, W. Rettig, *Chem. Rev.* 103 (2003) 3899–4032.
- [78] D. Pines, E. Pines, W. Rettig, *J. Phys. Chem. A* 107 (2003) 236–242.
- [79] A. Cesaretti, C. Bonaccorso, F. Elisei, C.G. Fortuna, L. Mencaroni, A. Spalletti, *ChemPlusChem* 83 (2018) 1021–1031.
- [80] B. Carlotti, A. Cesaretti, O. Cannelli, T. Giovannini, C. Cappelli, C. Bonaccorso, C.G. Fortuna, F. Elisei, A. Spalletti, *J. Phys. Chem. C* 122 (2018) 2285–2296.
- [81] J.L. Oudar, D.S. Chemla, *J. Chem. Phys.* 66 (1977) 2664–2668.
- [82] P.N. Prasad, D.J. Williams, *1943-Introduction to Nonlinear Optical Effects in Molecules and Polymers*, Wiley: Hoboken, New York, USA, 1991.
- [83] D.R. Kanis, M.A. Ratner, T.J. Marks, *Chem. Rev.* 94 (1994) 195–242.
- [84] S.R. Forrest, M.E. Thompson, *Chem. Rev.* 107 (2007) 923–925.
- [85] H.M. Kim, B.R. Cho, *Chem. Rev.* 115 (2015) 5014–5055.
- [86] F. Terenziani, A. Painelli, C. Katan, M. Charlot, M. Blanchard-Desce, *J. Am. Chem. Soc.* 128 (2006) 15742–15755.
- [87] S. Easwaramoorthi, J.Y. Shin, S. Cho, P. Kim, Y. Inokuma, E. Tsurumaki, A. Osuka, D. Kim, *Chem. Eur. J.* 15 (2009) 12005–12017.
- [88] T. Huang, Y. Wang, Z. Kang, J. Yao, R. Lu, H. Zhang, *Photochem. Photobiol.* 90 (2014) 29–34.

5. Popis literature

- [89] C. Lavanya Devi, K. Yesudas, N.S. Makarov, V. Jayathirtha Rao, K. Bhanuprakash, J.W. Perry, *Dye. Pigment.* 113 (2015) 682–691.
- [90] R.D. Breukers, S. Janssens, S.G. Raymond, M.D.H. Bhuiyan, A.J. Kay, *Dye. Pigment.* 112 (2015) 17–23.
- [91] F. Ricci, B. Carlotti, B. Keller, C. Bonaccorso, C.G. Fortuna, T.I. Goodson, F. Elisei, A. Spalletti, *J. Phys. Chem. C* 121 (2017) 3987–4001.
- [92] C. Bonaccorso, A. Cesaretti, F. Elisei, L. Mencaroni, A. Spalletti, C.G. Fortuna, *Chem. Phys. Chem.* 19 (2018) 1917–1929.
- [93] J.A. Baur, D.A. Sinclair, *Nat. Rev. Drug Discov.* 5 (2006) 493–506.
- [94] T.S. Anekonda, *Brain Res. Rev.* 52 (2006) 316–326.
- [95] T.S. Anekonda, T.L. Wadsworth, R. Sabin, K. Frahler, C. Harris, B. Petriko, M. Ralle, R. Woltjer, J.F. Quinn, *J. Alzheimers Dis.* 23 (2011) 21–35.
- [96] J. Li, Z. Qiu, G.R. Zhao, *Synth. Syst. Biotechnol.* 7 (2022) 718–729.
- [97] J. Lopez-Hernandez, P. Paseiro-Losada, A.T. Sanches-Silva, M.A. Lage-Yusty, *Eur. Food Res. Technol.* 225 (2007) 789–796.
- [98] G. Montsko, M.S.P. Nikfardjam, Z. Szabo, K. Boddi, T. Lorand, R. Ohmach, L. Mark, J. *Photochem. Photobiol. A* 196 (2008) 44–50.
- [99] C.G. Silva, J. Monteiro, R.R.N. Marques, A.M.T. Silva, C. Martínez, M. Canle, J.L. Faria, *Photochem. Photobiol. Sci.* 12 (2013) 638.
- [100] C.H. Cottart, C. Nivet-Antoine, C. Laguillier-Morizot, J.L. Beaudoux, *Mol. Nutr. Food Res.* 54 (2010) 7–16.
- [101] W.L. Klaus, L. Shiming, *Biofactors* 44 (2018) 83–90.
- [102] K.A. Roupe, C.M. Remsberg, J.A. Yáñez, N.M. Davies, *Curr. Clin. Pharmacol.* 1 (2006) 81–101.
- [103] H.S. Lin, B.D. Yue, P.C. Ho, *Biomed. Chromatogr.* 23 (2009) 1308–1315.
- [104] D. McCormack, D. McFadden, *Oxid. Med. Cell Longev.* 2013 (2013) 575482.
- [105] A.A.E. Bertelli, L. Giovanni, R. Stradi, A. Bertelli, J.P. Tillement, *Int. J. Tissue React.* 18 (1996) 67–71.
- [106] J. Burns, T. Yokota, H. Ashihara, M.E.J. Lean, A. Crozier, *J. Agric. Food Chem.* 50 (2002) 3337–3340.
- [107] N. Ratola, J.L. Faria, A. Alves, *Food Technol. Biotechnol.* 42 (2004) 125–130.
- [108] E. Šinkovec, M. Krajnc, *Org. Process Res. Dev.* 15 (2011) 817–823.
- [109] H. Okamoto, H. Takahashi, T. Takane, Y. Nishiyama, K. Kakiuchi, S. Gohda, M. Yamaji, *Synthesis* 49 (2017) 2949–2957.

5. Popis literature

- [110] S. Kumar, A. Kumar Pandey, R. Singh, K.N. Singh, *Eur. J. Org. Chem.* 2018 (2018) 5942-5946.
- [111] N. Kumar, A. Gusain, J. Kumar, R. Singh, *J. Lumin.* 2021 (230) 117725.
- [112] C. Reitz, *Int. J. Alzheimer's Dis.* 2012 (2012) 369808.
- [113] A. Rauk, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 2698.
- [114] A.S. Darvesh, R.T. Carroll, A. Bishayee, W.J. Geldenhuys, C.J.V.D. Schyf, *Expert Rev. Neurother.* 10 (2010) 729–745.
- [115] M. Citron, *Nat. Rev. Drug Discov.* 9 (2010) 387–398.
- [116] M.G. Savelieff, S. Lee, Y. Liu, M.H. Lim, *ACS Chem Bio.* 8 (2013) 856-865.
- [117] L. Jie, O. Wuliji, Li. Wei, J. Zhi-Gang, A. Hossein, *Int. J. Mol. Sci.* 14 (2013) 24438–24475.
- [118] S. Shaikh, P. Dhavan, M.M.V. Ramana, B.L. Jadhav, *Mol. Divers.* 25 (2021) 811–825.
- [119] L. Jalili-Baleh, H. Nadri, H. Forootanfar, T.T. Küçükkılınc, B. Ayazgök, M. Sharifzadeh, M. Rahimifard, M. Baeri, M. Abdollahi, A. Foroumadi, M. Khoobi, *J. Pharm. Sci.* 29 (2021) 23–38.
- [120] M. Lucas, M. Freitas, M.S. Silva, E. Fernandes, D. Ribeiro, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2021 (2021) 1–47.
- [121] S.G. Agalave, S.R. Maujan, V.S. Pore, *Chem. Asian J.* 6 (2011) 2696–2718.
- [122] N.E. Safronov, T.O. Fomin, A.S. Minin, L. Todorov, I. Kostova, E. Benassi, N.P. Belskaya, *Dyes Pigm.* 178 (2020) 108343.
- [123] P.A. Scattergood, P.I.P. Elliott, *Dalton Trans.* 46 (2017) 16343-16356.
- [124] P.A. Scattergood, A. Sinopoli, P.I.P. Elliott, *Coord. Chem. Rev.* 350 (2017) 136–154.
- [125] F. Ahmed, H. Xiong, *Dyes Pigm.* 185 (2021) 108905.
- [126] M. Lu, P. Zhou, Y. Yang, J. Liu, B. Jin, K. Han, *J. Phys. Chem. A* 124 (2020) 2951–2960.
- [127] K.S. Raoa, F. Yehyaab, A.K. Chaudharya, A.S.K. Akhila, K. Sahoo, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 109 (2014) 132–139.
- [128] N.N. Zhang, R.J. Sa, S.S. Sun, M.D. Li, M.S. Wang, G.C. Guo, *Mater. Chem. C.* 7 (2019) 3100–3104.
- [129] X. Ji, S. Guang, H. Xu, F. Ke, X. Qin, *J. Appl. Polym. Sci.* 131 (2014) 40878.
- [130] S. Balamurugan, S. Nithyanandan, C. Selvarasu, G.Y. Yeap, P. Kannan, *Polymer* 53 (2012) 4104–4111.
- [131] D. Bhowmik, K.P. Samphat Kumar, M. Chandira, B. Jayakar, *Arch. Appl. Sci. Res.* 1 (2009) 86–108.
- [132] D.K. Agrawa, P.K. Mishra, *Med. Res. Rev.* 30 (2010) 818–860.

5. Popis literature

- [133] D. Caprioglio, S. Torretta, M. Ferrari, C. Travelli, A. A. Grolla, F. Condorelli, A. A. Genazzani, A. Minassi, *Bioorg. Med. Chem.* 24 (2016) 140–152.
- [134] W. Li, Q. Jia, Z. Du, J. Wang, *Chem. Commun.* 49 (2013) 10187–10189.
- [135] A. Kashyap, O. Silakari, *Key Heterocycle Cores for Designing Multitargeting Molecules, Triazoles: Multidimensional 5-membered nucleus for designing multitargeting agents*, Elsevier Ltd., India, 2018, str. 323-342.
- [136] A. Ratković, M. Mlakić, W. Dehaen, T. Opsomer, D. Barić, I. Škorić, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 261 (2021) 120056.
- [137] L.P. Guan, Q.H. Jin, G.R. Tian, K.Y. Chai, Z.S. Quan, *J. Pharm. Pharm. Sci.* 10 (2007) 254–262.
- [138] R. Gujjar, A. Marwaha, F.E. Mazouni, J. White, K.L. White, S. Creason, D.M. Shackelford, J. Baldwin, W.N. Charman, F.S. Buckner, S. Charman, P.K. Rathod, M.A. Philips, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 1864–1872.
- [139] M. Chen, S. Lu, G. Yuan, S. Yang, X. Du, *Heterocycl. Commun.* 6 (2000) 421–426.
- [140] Y.A. Al-Soud, M.N. Al-Dweri, N.A. Al-Masoudi, *Il Farmaco* 59 (2014) 775–783.
- [141] Y. Mohammad, K.M. Fazili, K.A. Bhat, T. Ara, *Steroids* 118 (2017) 1–8.
- [142] M. Huang, Z. Deng, J. Tian, T. Liu, *Eur. J. Med. Chem.* 127 (2017) 900–908.
- [143] K. Karrouchi, L. Chemlal, J. Taoufik, Y. Cherrah, S. Radi, M. El Abbes Faouzi, M. Ansar, *Ann. Pharm. Fr.* 74 (2016) 431–438.
- [144] C. Lass-Flörl, *Drugs* 71 (2011) 2405–2419.
- [145] S. Balabadra, M. Kotni, V. Manga, A.D. Allanki, R. Prasad, P.S. Sijwali, *Bioorg. Med. Chem.* 25 (2017) 221–232.
- [146] P. Khaligh, P. Salehi, M. Bararjanian, A. Aliahmadi, H.R. Khavasi, S.N. Ebrahimi, *Chem. Pharm. Bull.* 64 (2016) 1589–1596.
- [147] I. Lee, Y.S. Choe, J.Y. Choi, K.H. Lee, B.T. Kim, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 883–892.
- [148] G. Wang, Z. Peng, J. Wang, Y. Li, J. Li, *Eur. J. Med. Chem.* 125 (2017) 423–429.
- [149] A. Kamal, S. Prabhakar, M.J. Ramaiah, P.V. Reddy, Ch.R. Reddy, A. Mallareddy, N. Shankaraiah, T.L.N. Reddy, S.N.C.V.L. Pushpavalli, M. Pal-Bhadra, *Eur. J. Med. Chem.* 46 (2011) 3820–3831.
- [150] N.A. Kamal, N. Shankaraiah, V. Devaiah, K.L. Reddy, A. Juvekar, S. Sen, N. Kurianb, S. Zingde, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 26 (2011) 1–21.
- [151] N. Gariganti, S.K. Loke, E. Pagadala, P. Chinta, B. Poola, P. Chetti, A. Bansal, B. Ramachandran, V. Srinivasadesikan, R.K. Kottalanka, *J. Mol. Struct.* 1273 (2023) 134250.
- [152] N. Pokhodylo, O. Shyyka, V. Matychuk, *Sci. Pharm.* 81 (2013) 663–676.

5. Popis literature

- [153] I. Steiner, N. Stojanovic, A. Bolje, A. Brozović, D. Polančec, A. Ambriović-Ristov, M. Radić Stojković, I. Piantanida, D. Eljuga, J. Košmrlj, M. Osmak, *Radiol. Oncol.* 50 (2016) 280–288.
- [154] A. Carneiro, M. João Matos, E. Uriarte, L. Santana, *Molecules* 26 (2021) 501.
- [155] J. Jiaranaikulwanitch, H. Pandith, S. Tadtong, P. Thammarat, S. Jiranusornkul, N. Chauthong, S. Nilkosol, O. Vajragupta, *Molecules* 26 (2021) 1562.
- [156] S. Sathish Kumar, H.P. Kavitha, *Mini Rev. Org. Chem.* 10 (2013) 40–65.
- [157] C.S. Cardoso, D.P.B. Silva, D.M. Silva, I.F. Florentino, J.O. Fajemiroye, L.K.S. Moreira, J.P. Vasconcelos, G.Sanz, B.G. Vaz, L.M. Lião, D.S. Lima, F.C.A. Santos, R. Menegatti, E.A. Costa, *Inflammopharmacology* 28 (2020) 877–892.
- [158] G. Menghereş, O. Olajide, K. Hemminga, *Arkivoc* 7 (2020) 306–321.
- [159] R. Anandhan, A. Kannan, P. Rajakumar, *Synth. Commun.* 47 (2017) 671–679.
- [160] P. Taylor, Z. Radić, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 33 (1994) 281–320.
- [161] J.L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman, *Science* 253 (1991) 872–897.
- [162] Z. Kovarik, *Period. Biol.* 101 (1999) 7–15.
- [163] Z. Radić, N.A. Pickering, D.C. Vellom, S. Camp, P. Taylor, *Biochemistry* 32 (1993) 12074–12084.
- [164] A. Saxena, A.M.G. Redman, X. Jiang, O. Lockridge, B.P. Doctor, *Chem. Biol. Interact.* 119 (1999) 61–69.
- [165] P. Taylor, Z. Radić, N.A. Hosea, S. Camp, P. Marchot, H.A. Berman, *Toxicol. Lett.* 82 (1995) 453–458.
- [166] H. Soreq, S. Seidman, *Nat. Rev. Neurosci.* 2 (2001) 294–302.
- [167] I. Silman, J.L. Sussman, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5 (2005) 293–302.
- [168] C. Pienica, H. Soreq, *Period. Biol.* 118 (2016) 373–379.
- [169] A. Chatonnet, O. Lockridge, *Biochem. J.* 260 (1989) 625–634.
- [170] A.N. Çokugras, *Turk. J. Biochem.* 28 (2003) 54–61.
- [171] M.M. Mesulam, A. Guillozet, P. Shaw, A. Levey, E. G. Duysen, O. Lockridge, *Neuroscience* 110 (2002) 627–639.
- [172] A.L. Guillozet, J.F. Smiley, D.C. Mash, *Ann. Neurol.* 42 (1997) 909–918.
- [173] M.M. Mesulam, C. Geula, *Ann. Neurol.* 36 (1994) 722–727.
- [174] S. Darvesh, R. Walsh, R. Kumar, A. Caines, S. Roberts, D. Magee, K. Rockwood, E. Martin, *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 17 (2003) 117–126.
- [175] I. Šagud, I. Škorić, F. Burčul, *Turk. J. Chem.* 43 (2019) 118–124.

5. Popis literature

- [176] A. Bosak, A. Ramić, T. Šmidlehner, T. Hrenar, I. Primožič, Z. Kovarik, PLoS ONE 13 (2018) e0205193.
- [177] A. Bosak, D.M. Opsenica, G. Šinko, M. Zlatar, Z. Kovarik, Chem. Biol. Interact. 308 (2019) 101–109.
- [178] G. Mamedova, A. Mahmudova, S. Mamedov, Y. Erden, P. Taslimi, B. Tüzün, R. Tas, V. Farzaliyev, A. Sujayev, S. H. Alwasel, I. Gulçin, Bioorg. Chem. 93 (2019) 103313.
- [179] N.A.E. El-Sayed, A. El-Said Farag, M.A.F. Ezzat, H. Akincioglu, İ. Gülçin, S.M. Abou-Seri, Bioorg. Chem. 93 (2019) 103312.
- [180] P. Taslimi, F. Türkan, A. Cetin, H. Burhan, M. Karaman, I. Bildirici, I. Gulçin, F. Şen, Bioorg. Chem. 92 (2019) 103213.
- [181] M. Katalinić, A. Bosak, Z. Kovarik, Food Technol. Biotechnol. 52 (2014) 64–67.
- [182] S. Sathish Kumar, H.P. Kavitha, Mini Rev. Org. Chem. 10 (2013) 40–65.
- [183] C.S. Cardoso, D.P.B. Silva, D.M. Silva, I.F. Florentino, J.O. Fajemiroye, L.K.S. Moreira, J.P. Vasconcelos, G. Sanz, B.G. Vaz, L.M. Lião, D.S. Lima, F.C.A. Santos, R. Menegatti, E.A. Costa, Inflammopharmacology 28 (2020) 877–892.
- [184] G. Menghereş, O. Olajide, K. Hemminga, Arkivoc 7 (2020) 306–321.
- [185] R. Anandhan, A. Kannan, P. Rajakumar, Synth. Commun. 47 (2017) 671–679.
- [186] A. Das, S. Kumar, L. Persoons, D. Daelemans, D. Schols, H. Alici, H. Tahtaci, S.S. Karki, Heliyon 7 (2021) e058932.
- [187] N.P. Słomka, R. Mikstacka, J. Ronowicz, S. Sobiak, Int. J. Mol. Sci. 20 (2019) 1300.
- [188] M. Xu, Y. Peng, L. Zhu, S. Wang, J. Ji, K.P. Rakesh, Eur. J. Med. Chem. 180 (2019) 656–672.
- [189] G. Wu, Y. Gao, D. Kang, B. Huang, Z. Huo, H. Liu, V. Poongavanam, P. Zhan, X. Liu, Med. Chem. Comm. 9 (2017) 149–159.
- [190] Z. Najafi, M. Mahdavi, M. Saeedi, E. Karimpour Razkenari, R. Asatouri, F. Vafadarnejad, F. Homayouni Moghadam, M. Khanavi, M. Sharifzadeh, T. Akbarzadeh, Eur. J. Med. Chem. 125 (2017) 1200–1212.
- [191] D. Martelli, M.J. McKinley, R.M. McAllen, Auton. Neurosci. 182 (2014) 65–69.
- [192] V.A. Pavlov, H. Wang, C.J. Czura, S.G. Friedman, K.J. Tracey, Mol. Med. 9 (2003) 125–134.
- [193] S. Hu, Y. Wang, H. Li, Mediat. Inflamm. 9059601 (2021) 1–10.
- [194] M. Pohanka, M. Hrabínova, K. Kuca, J.-P. Simonato, Int. J. Mol. Sci. 12 (2011) 2631–2640.
- [195] M. Pohanka, Int. J. Mol. Sci. 13 (2012) 2219–2238.

5. Popis literature

- [196] M. Rosas-Ballina, K.J. Tracey, *J. Intern. Med.* 265 (2009) 663–679.
- [197] T.R. Bernik, S.G. Friedman, M. Ochani, R. DiRaimo, L. Ulloa, H. Yang, S. Sudan, C.J. Czura, S.M. Ivanova, K.J. Tracey, *J. Exp. Med.* 195 (2002) 781–788.
- [198] L.V. Borovikova, S. Ivanova, M.H. Zhang, H. Yang, G.I. Botchkina, L.R. Watkins, H.C. Wang, N. Abumrad, J.W. Eaton, K.J. Tracey, *Nature* 405 (2000) 458–462.
- [199] U. Andersson, K.J. Tracey, *J. Exp. Med.* 209 (2012) 1057–1068.
- [200] V.A. Pavlov, M. Ochani, M. Gallowitsch-Puerta, K. Ochani, J.M. Huston, C.J. Czura, Y. Al-Abed, K.J. Tracey, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103 (2006) 5219–5223.
- [201] V.A. Pavlov, W.R. Parrish, M. Rosas-Ballina, M. Ochani, M. Puerta, K. Qchani, S. Chavan, Y. Al-Abed, K.J. Tracey, *Brain Behav. Immun.* 23 (2009) 41–45.
- [202] H. Wang, M. Yu, M. Ochani, C.A. Amella, M. Tanovic, S. Susarla, J.H. Li, H.C. Wang, H. Yang, L. Ulloa, Y. Al-Abed, C.J. Czura, K.J. Tracey, *Nature* 421 (2003) 384–388.
- [203] J. Jarczyk, B. A. Yard, S. Hoeger, *Kidney Blood Press Res.* 44 (2019) 435–448.
- [204] E. Dolgin, *Nat. Med.* 19 (2013) 1194.
- [205] D. Steindl, W. Boehmerle, R. Körner, D. Praeger, M. Haug, J. Nee, A. Schreiber, F. Scheibe, K. Demin, P. Jacoby, *Lancet* 397 (2021) 249–252.
- [206] S. Darvesh, A.D. Hopkins, C. Geula, *Nat. Rev. Neurosci.* 4 (2003) 131–138.
- [207] E. Giacobini, *Butyrylcholinesterase: Its Function and Inhibitors*, 1st ed., Martin D., Ed., Taylor & Francis Group plc: London, UK, 2003.
- [208] T. Čadež, Z. Kovarik, *Period. Biol.* 121 (2020) 55–63.
- [209] F.R. Sidell, J. Borak, *Ann. Emerg. Med.* 21 (1992) 865–871.
- [210] C.M. Timperley, M. Abdollahi, A.S. Al-Amri, A. Baulig, D. Benachour, V. Borrett, F.A. Cariño, M. Geist, D. Gonzalez, W. Kane, *Toxicology* 413 (2019) 13–23.
- [211] C.M. Timperley, J.E. Forman, M. Abdollahi, A.S. Al-Amri, A. Baulig, D. Benachour, V. Borrett, F.A. Cariño, M. Geist, D. Gonzalez, *Toxicology* 415 (2019) 56–69.
- [212] N. Maček Hrvat, Z. Kovarik, *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 71 (2021) 266–284.
- [213] T. Zorbaz, Z. Kovarik, *Period. Biol.* 121 (2020) 35–54.
- [214] T. Zorbaz, P. Mišetić, N. Probst, S. Žunec, A. Zandona, G. Mendaš, V. Micek, N. Maček Hrvat, M. Katalinić, A. Braiki, *ACS Chem. Neurosci.* 11 (2020) 1072–1084.
- [215] R.K. Sit, Z. Kovarik, N. Maček Hrvat, S. Žunec, C. Green, V.V. Fokin, K.B. Sharpless, Z. Radic, P. Taylor, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 367 (2018) 363–372.
- [216] K. Kuca, D. Jun, K. Musilek, *Mini Rev. Med. Chem.* 6 (2006) 269–277.
- [217] M.N.F. Norrrahim, N.A. Ahmad Shah, S.H. Jamal, W.M.Z.W. Yunus, V.F.K.V. Ernest, N.A.M. Kasim, *Solid State Phenom.* 317 (2021) 180–186.

5. Popis literature

- [218] M.C. de Koning, M. van Grol, D. Noort, *Toxicol. Lett.* 206 (2011) 54–59.
- [219] M. Kliachyna, G. Santoni, V. Nussbaum, J. Renou, B. Sanson, J.P. Colletier, M. Arboléas, M. Liodice, M. Weik, L. Jean, *Eur. J. Med. Chem.* 78 (2014) 455–467.
- [220] T. Noël, J.R. Naber, R.L. Hartman, J.P. McMullen, K.F. Jensen, S.L. Buchwald, *Chem. Sci.* 2 (2011) 287–290.
- [221] K. Pavlović, A. Ratković, M. Gojun, A. Šalić, B. Zelić, I. Škorić, *KUI : časopis kemičara i tehnologa Hrvatske* 68 (2019) 9–10, 477–485.
- [222] S. Rashmi Pradhan, R.F. Colmenares-Quintero, J.C. Colmenares Quintero, *Molecules* 24 (2019) 3315.
- [223] C. Sambigioglio, T. Noël, *Trends Chem.* 2 (2019) 92–106.
- [224] M. Mlakić, A. Šalić, M. Bačić, B. Zelić, I. Šagud, O. Horváth, I. Škorić, *Catalysts* 11 (2021) 395.
- [225] K. Geyer, J.D.C. Codee, P.H. Seeberger, *Chem. Eur. J.* 12 (2006) 8434.
- [226] D. Webb, T.F. Jamison, *Chem. Sci.* 1 (2010) 675–680.
- [227] J.C. Pastre, D.L. Browne, S.V. Ley, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 8849–8869.
- [228] S. Landgraf, *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 57 (2001) 2029–2048.
- [229] A. Meščić, A. Šalić, T. Gregorić, B. Zelić, S. Raić-Malić, *RSC Adv.* 7 (2017) 791–800.
- [230] T. Opsomer, K. Valkeneers, A. Ratković, W. Dehaen, *Organics* 2 (2021) 404–414.
- [231] M. Oelgemoeller, *Chem. Eng. Technol.* 35 (2012) 1144–1152.
- [232] D. Chandrasekhar, S. Borra, J.S. Kapure, G.S. Shivaji, G. Srinivasulu, R.A. Maurya, *Org. Chem. Front.* 2 (2015) 1308–1312.
- [233] J.C. Barona-Castaño, C.C. Carmona-Vargas, T.J. Brocksom, K.T. Oliveira, *Molecules* 21 (2016) 310.
- [234] R.C. Silva, L.O. Silva, A. Andrade Bartolomeu, T.J. Brocksom, K.T. Oliveira, *Beilstein J. Org. Chem.* 16 (2020) 917–955.
- [235] I. Šagud, I. Škorić, *Int. J. Photoenergy* 2018 (2018) 1017957.
- [236] Y.H. Hong, J.W. Han, J. Jung, T. Nakagawa, Y.M. Lee, W. Nam, S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.* 141 (2019) 9155–9159.
- [237] D. Vuk, O. Horváth, I. Škorić, *Catalysts* 9 (2019) 304.
- [238] M. Mlakić, A. Šalić, M. Bačić, B. Zelić, I. Šagud, O. Horváth, I. Škorić, *Catalysts* 11 (2021) 395.
- [239] R. Zhang, J.H. Horner, M. Newcomb, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 6573–6582.
- [240] M. Newcomb, R. Zhang, Z. Pan, D. Harischandra, R. Chandrasena, J. Horner, E. Martinez, *Catal. Today* 117 (2006) 98–104.

5. Popis literature

- [241] R. Zhang, M. Newcomb, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 468–477.
- [242] R.A. Baglia, J.P.T. Zaragoza, D.P. Goldberg, *Chem. Rev.* 117 (2017) 13320–13352.
- [243] J. Jung, K. Ohkubo, D.P. Goldberg, S. Fukuzumi, *J. Phys. Chem. A* 118 (2014) 6223–6229.
- [244] M. Mlakić, A. Ljubić, A. Šalić, B. Zelić, O. Horváth, V. Milašinović, M. Gojun, K. Molčanov, I. Škorić, *Catalysts* 12 (2022) 1510.
- [245] A.A. Buglak, M.A. Filatov, M.A. Hussain, M. Sugimoto, *J. Photochem. Photobiol. A* 403 (2020) 112833.
- [246] J. Kou, D. Dou, L. Yang, *Oncotarget* 8 (2017) 81591–81603.
- [247] S. Prashanthi, P.H. Kumar, D. Siva, S.R. Lanke, V.J. Rao, S. Basak, P.R. Bangal, *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 20682–20688.
- [248] J. Isokuortti, K. Kuntze, M. Virkki, Z. Ahmed, E. Vuorimaa-Laukkanen, M.A. Filatov, A. Turshatov, T. Laaksonen, A. Priimagi, N.A. Durandin, *Chem. Sci.* 12 (2021) 7504–7507.
- [249] D. Wu, Z. Li, Z. Qi, S. Hu, R. Long, L. Song, Y. Xiong, *Chem. Nano. Mat.* 6 (2020) 920–924.
- [250] S. Huh, S.J. Kim, Y. Kim, *Cryst. Eng. Comm.* 18 (2016) 345–368.
- [251] A. Petrosyan, R. Hauptmann, J. Pospech, *Eur. J. Org. Chem.* 38 (2018) 5237–5252.
- [252] R. De Paula, M.M.Q. Simões, M.G.P.M.S. Neves, J.A.S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A Chem.* 345 (2011) 1–11.
- [253] X. Zhao, B. Li, W. Xia, *Org. Lett.* 22 (2020) 1056–1061.
- [254] B. Wang, K. Duke, J.C. Scaiano, A.E. Lanterna, *J. Catal.* 379 (2019) 33–38.
- [255] S. Firoozi, M. Hosseini-Sarvari, *Eur. J. Org. Chem.* 25 (2020) 3834–3843.
- [256] M. Bhadra, S. Kandambeth, M.K. Sahoo, M. Addicoat, E. Balaraman, R. Banerjee, *J. Am. Chem. Soc.* 141 (2019) 6152–6156.
- [257] J. Othong, J. Boonmak, J. Ha, S. Leelasubcharoen, S. Youngme, *Cryst. Growth Des.* 17 (2017) 1824–1835.
- [258] A. Kumar, T. Darreh-Shori, *ASC Chem. Neurosci.* 8 (2017) 2618–25.
- [259] A.M. Van Leusen, B.E. Hoogenboom, *Tetrahedron Lett.* 13 (1972) 2369–2372.
- [260] R. Cochran, J. Kalisiak, T. Kücükilinc, Z. Radić, E. Garcia, L. Zhang, K.-Y. Ho, G. Amitai, Z. Kovarik, V.V. Fokin, K.B. Sharpless, P. Taylor, *J. Biol. Chem.* 286 (2011) 29718–29724.
- [261] G.L. Ellman, K.D. Courtney, V.Jr. Andres, R.M. Featherstone, *Biochem. Pharmacol.* 7 (1961) 88–95.

5. Popis literature

- [262] I. Šagud, N. Maček Hrvat, A. Grgičević, T. Čadež, J. Hodak, M. Dragojević, K. Lasić, Z. Kovarik, I. Škorić, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 1 (2020) 460–467.
- [263] M. Mlakić, I. Odak, I. Faraho, M. Bosnar, M. Banjanac, Z. Lasić, Ž. Marinić, D. Barić, I. Škorić, *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 610.
- [264] M. Mlakić, T. Čadež, D. Barić, I. Puček, A. Ratković, Ž. Marinić, K. Lasić, Z. Kovarik, I. Škorić, *Pharmaceuticals* 14 (2021) 1147.
- [265] A. Ratković, V. Kelava, Ž. Marinić, I. Škorić, *J. Mol. Struct.* 1179 (2019) 597–607.
- [266] E. Runge, E.K.U. Gross, *Phys. Rev. Lett.* 52 (1984) 997–1000.
- [267] D. Plantone, T. Koudriavtseva, *Clin. Drug Investig.* 38 (2018) 653–671.
- [268] S. Hamulakova, L. Janovec, O. Soukup, D. Jun, J. Janockova, M. Hrabnova, V. Sepsova, K. Kuca, *Curr. Alzheimer Res.* 15 (2018) 1096–1105.
- [269] G.M. Morris, R. Huey, W. Lindstorm, M.F. Sanner, R.K. Belew, D.S. Goodsell, A.J. Olson, *J. Comput. Chem.* 30 (2009) 2785–2791.
- [270] M. Mlakić, I. Fodor, I. Odak, O. Horváth, M.J. Lovrić, D. Barić, V. Milašinović, K. Molčanov, Ž. Marinić, Z. Lasić, I. Škorić, *Molecules* 27 (2022) 6379.
- [271] K. Gokarn, R.B. Pal, *Infect. Drug Resist.* 11 (2018) 61–75.
- [272] M.G. Thompson, B.W. Corey, Y. Si, D.W. Craft, D.V. Zurawski, *Antimicrob. Agents Chemother.* 56 (2012) 5419–5421.
- [273] V. Vinuesa, M.J. McConnell, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2021) 2876.
- [274] 27 Gaussian 16, Revision C.01, M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A.V. Marenich, J. Bloino, B.G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H.P. Hratchian, J.V. Ortiz, A.F. Izmaylov, J.L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V.G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J.A.Jr. Montgomery, J.E. Peralta, F. Ogliaro, M.J. Bearpark, J.J. Heyd, E.N. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, T. A. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A.P. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J.M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J.W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J.B. Foresman, D.J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2019.
- [275] M.S. Alavijeh, M. Chishti, M.Z. Quasier, A.M. Palmer, *NeuroRX* 2(2005) 554–571.
- [276] B. Testa, P. Crivori, M. Reist, P.A. Carrupt, *Drug Discovery Des.* 19 (2000) 179–211.
- [277] H. Pajouhesh, G.R. Lenz, *NeuroRX* 2 (2005) 541–553.

5. Popis literature

- [278] M. Stocks, The small molecule drug discovery process-from target selection to candidate selection. In *Introduction to Biological and Small Molecule Drug Research and Development: theory and case studies*, The University of Nottingham, United Kingdom, 2013, str. 81-126.
- [279] M.L. Raves, M. Harel, Y.-P. Pang, I. Silman, A.P. Kozikowski, J.L. Sussman, *Nat. Struct. Biol.* 4 (1997) 57–63.
- [280] P.E.M. Siegbahn, F. Himo, *Comput. Mol. Sci.* 1 (2011) 323–336.
- [281] M.R.A. Blomberg, P.E.M. Siegbahn, *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 9375–9386.
- [282] F. Himo, *Biophys. Biochim. Acta* 1707 (2005) 24–33.
- [283] K. Zia, S. Ashraf, A. Jabeen, M. Saeed, M. Nur-e-Alam, S. Ahmed, A.J. Al-Rehaily, Z. Ul-Haq, *Sci. Rep.* 10 (2020) 20974.
- [284] A. Grgičević, L. Fodor, D. Barić, M. Poje, Ž. Marinić, O. Horváth, I. Škorić, *J. Photochem. Photobiol. A* 400 (2020) 112690.
- [285] D. Zhang, Y. Fan, Z. Yan, Y. Nie, X. Xiong, L. Gao, *Green Chem.* 21 (2019) 4211–4216.
- [286] Y. Zhao, D.G. Truhlar, *Teor. Chem. Acc.* 120 (2007) 215–241.
- [287] D. Jacquemin, E.A. Perpète, I. Ciofini, C. Adamo, R. Valero, Y. Zhao, D.G. Truhlar, *J. Chem. Theory Comput.* 6 (2010) 2071–2085.
- [288] M. Mlakić, I. Faraho, I. Odak, S. Talić, A. Vukovinski, A. Raspudić, M. Bosnar, r. Zadavec, A. Ratković, K. Lasić, Ž. Marinić, D. Barić, I. Škorić, *Bioorg. Chem.* 121 (2022) 105701.
- [289] C. Bartolucci, J. Stojan, Q.S. Yu, N.H. Greig, D. Lamba, *Biochemist* 444 (2012) 269.
- [290] Y. Nicolet, O. Lockridge, P. Masson, J.C. Fontecilla-Camps, F. Nachon, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 41141–41147.
- [291] M. Mlakić, I. Odak, I. Faraho, S. Talić, M. Bosnar, K. Lasić, D. Barić, I. Škorić, *Eur. J. Med. Chem.* 241 (2022) 114616.
- [292] H. Singh, C. Khanna, J.M. Khurana, *Tetrahedron Lett.* 57 (2016) 3075–3080.
- [293] Z. Xu, H. Huang, H. Chen, G.-J. Deng, *Org. Chem. Front.* 6 (2019) 3060.
- [294] T. Horsten, F. de Jong, D. Theunissen, M. Van der Auweraer, W. Dehaen, *J. Org. Chem.* 86 (2021) 13774–13782.
- [295] E. Giacobini, *Pharmacol. Res.* 50 (2004) 433–440.
- [296] Y. Bourne, H.C. Kolb, Z. Radić, K.B. Sharpless, P. Taylor, P. Marchot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (2004) 1449–1454.
- [297] C. Galdeano, N. Coquelle, M. Cieslikiewicz-Bouet, M. Bartolini, B. Pérez, M.V. Clos, I. Silman, I. Jean, J.-P. Colletier, P.-Y. Renard, *Molecules*, 23 (2018) 634.
- [298] Y. Bourne, Z. Radić, P. Taylor, P. Marchot, *J. Am. Chem. Soc.* 132 (2010) 18292–18300.

5. Popis literature

- [299] Y. Bourne, K.B. Sharpless, P. Taylor, P. Marchot, *J. Am. Chem. Soc.* 138 (2016) 1611–1621.
- [300] Y.N. Imai, Y. Inoue, I. Nakanishi, K. Kituara, *Protein Sci.* 17 (2018) 1129–1137.
- [301] M. Mlakić, L. Rajič, A. Ljubić, V. Vušak, B. Zelić, M. Gojun, I. Odak, I. Čule, I. Šagud, A. Šalić, I. Škorić, *J. Flow Chem.* 12 (2022) 429–440.
- [302] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, *Food Sci. Technol.* 28 (1995) 25–30.
- [303] B. Fauconneau, P. Waffo-Teguo, F. Huguet, L. Barrier, A. Decendit, J.M. Merillon, *Life Sci.* 61 (1997) 2103–2110.
- [304] A. Francioso, P. Mastromarino, A. Masci, *Med. Chem.* 10 (2014) 237–245.
- [305] P. Xu, M. Zhang, R. Sheng, Y. Ma, *Eur. J. Med. Chem.* 127 (2017) 174–186.
- [306] G. Koellner, G. Kryger, C.B. Millard, I. Silman, J.L. Sussman, T. Steiner, *Mol. Biol.* 296 (2000) 713–735.
- [307] Y. Zhou, X. Lu, H. Yang, Y. Chen, F. Wang, J. Li, Z. Tang, X. Cheng, Y. Yang, L. Xu, *Molecules* 24 (2019) 4217.
- [308] T.S. Ribeiro, A. Prates, S.R. Alves, J.J. Oliveira-Silva, C.A.S. Riehl, J.D. Figueroa-Villar, *J. Braz. Chem. Soc.* 23 (2012) 1216–1225.
- [309] A. Porcheddu, G. Giacomelli, Synthesis of oximes and hydroxamic acids. In the chemistry of hydroxylamines, oximes and hydroxamic acids; John Wiley & Sons: New York, 2009, str. 163–231.
- [310] A. Zandona, M. Katalinić, G. Šinko, A. Radman Kostelic, I. Primožić, Z. Kovarik, *Arch. Toxicol.* 94 (2020) 3157–3171.
- [311] E. Artursson, P.O. Andersson, C. Akfur, A. Linusson, S. Borjegen, F. Ekstrom, *Biochem. Pharmacol.* 85 (2013) 1389–1397.
- [312] T. Cuya, A. Da Silva Goncaves, J.A.V Da Silva, T.C. Ramalho, C.C.K. Kuca, T.C.C. Franca, *J. Biomol. Struct. Dyn.* 36 (2018) 3444–3452.
- [313] N. Maraković, A. Knežević, I. Rončević, X. Brazzolotto, Z. Kovarik, G. Šinko, *Biochem. J.* 477 (2020) 2771–2790.
- [314] C.G. Hatchard, C.A. Parker, *Proc. R. Soc. London Ser A* 235 (1956) 518–536.
- [315] M. Montalti, A. Credi, L. Prodi, M.T. Gandolfi, *Handbook of photochemistry*, third ed., CRC Press, Boca Raton, Florida, 2012, poglavlje 12.
- [316] A.N. Fletcher, *Photochem. Photobiol.* 9 (1969) 439–444.
- [317] S.J. Strickler, R.A. Berg, *J. Chem. Phys.* 37 (1962) 814–822.
- [318] D. Casanova, A.I. Krylov, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 22 (2020) 4326–4342.

5. Popis literature

- [319] J. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, *Phys. Rev. Lett.* 77 (1996) 3865.
- [320] C. Adamo, V. Barone, *J. Chem. Phys.* 110 (1999) 6158–6170.
- [321] R. Ditchfield, W.J. Hehre, J.A. Pople, *J. Chem. Phys.* 54 (1971) 724–728.
- [322] Y. Shao, M. Head-Gordon, A.I. Krylov, *J. Chem. Phys.* 118 (2003) 4807–4818.
- [323] Y.A. Bernard, Y. Shao, A.I. Krylov, *J. Chem. Phys.* 136 (2012) 204103.
- [324] R.A. Kendall, T.H. Dunning, R.J. Harrison, *J. Chem. Phys.* 96 (1992) 6796–6806.
- [325] G. Cauzzo, G. Galiazzo, U. Mazzucato, N. Mongiat, *Tetrahedron* 22 (1966) 589–593.
- [326] G. Favaro, U. Mazzucato, F. Masetti, *J. Phys. Chem.* 77 (1973) 601–604.
- [327] G. Bartocci, P. Bortolus, U. Mazzucato, *J. Phys. Chem.* 77 (1973) 605–610.
- [328] G. Ginocchietti, U. Mazzucato, A. Spalletti, *Int. J. Photoenergy* 6 (2004) 241–250.
- [329] A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* 96 (1992) 2155–2160.
- [330] J.-D. Chai, M. Head-Gordon, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 1 (2008) 6615–6620.
- [331] B. Carlotti, I. Kikaš, I. Škorić, A. Spalletti, F. Elisei, *Chem. Phys. Chem.* 14 (2013) 970–981.
- [332] I. Kikaš, B. Carlotti, I. Škorić, M. Šindler-Kulyk, U. Mazzucato, A. Spalletti, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* 244 (2012) 38–46.
- [333] L. Giglio, U. Mazzucato, G. Musumarra, A. Spalletti, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2 (2000) 4005–4012.
- [334] A. Spalletti, G. Cruciani, U. Mazzucato, *J. Mol. Struct.* 612 (2002) 339–347.
- [335] R. Gerardy, N. Emmanuel, T. Toupý, V.-E. kassin, N.N. Tshibalzona, M. Schmitz, J.-C.M. Monbaliu, *Eur. J. Org. Chem.* 2018 (2018) 2301–2351.
- [336] M. Baumann, T.S. Moody, M. Smyth, S. Wharry, *Org. Process Res. Dev.* 24 (2020) 1802–1813.
- [337] S.B. Gingerich, P.W. Jennings, *J. Org. Chem.* 48 (1983) 2606.
- [338] I. Gülcin, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 11 (2010) 210–218.
- [339] T.-K. Harris, M.-M. Keshwani, Measurement of enzyme activity. In *Guide to Protein Purification*. Vol 463, Biochemistry & Molecular Biology, University of Miami School of Medicine: Miami, Florida, 2009, str. 57–71.
- [340] I. Kikaš, O. Horváth, I. Škorić, *Tetrahedron Lett.* 52 (2011) 6255–6259.
- [341] D. Vuk, I. Kikaš, K. Molčanov, O. Horváth, I. Škorić, *J. Mol. Struct.* 1063 (2014) 83–91.
- [342] D. Cambié, C. Bottecchia, N.J.W. Straathof, V. Hessel, T. Noël, *Chem. Rev.* 116 (2016) 10276–10341.

5. Popis literature

[343] K. Tsuji, K. Ichikawa, H. Yamamoto, J. Tokunaga, *Kagaku Kogaku Ronbunshu* 13 (1987) 825–830.

[344] M. Schmitt, P.R. Erikson, K. McNeill, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017) 13151–13160.

6. ŽIVOTOPIS

6. ŽIVOTOPIS

Milena Mlakić (rođ. Dragojević), mag. appl. chem., ██████████

██████ Diplomu prvostupnika primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu (FKIT) stekla je 2017. Rektorovu nagradu za individualni znanstveni rad dobila je 2018. pod naslovom *Sinteza, karakterizacija i fotofizikalne studije na 2-, 3- i 4-distiril-piridinima*. Kao studentica, bila je demonstrator na vježbama iz organske kemije dvije akademske godine. Na diplomskom studiju pohađala je program Erasmus+ stručne prakse na Johannes Kepler Sveučilištu u Linzu. Diplomirala je 2020. pod mentorstvom prof. dr. sc. Irene Škorić na temi pod naslovom *Sinteza amino-derivata naftoksazola fotokemijskom ciklizacijom*. Zaposlila se kao asistentica, te upisala doktorski studij Kemijsko inženjerstvo i primijenjena kemija (FKIT) 2020. Doktorski rad izradila je u području prirodnih znanosti, polje kemija. Do danas je koautorica 18 znanstvenih publikacija zastupljenih u tercijarnim bazama podataka. Sudjelovala je na šest međunarodnih znanstvenih skupova. Dobitnica je 2022. nagrade Young Investigator ISN Neurochemistry Award na 17th ISCM, Dubrovnik. 24. siječnja je držala predavanje pod naslovom *Novi heterostilbeni kao potencijalni inhibitori ili reaktivatori kolinesteraza. Sinteza i fotokemija* na Institutu Ruđer Bošković u okviru OKB kolokvija Sekcije za organsku kemiju HKD. Bila je neposredni voditelj pet diplomskih radova i devet završnih radova. Sudjelovala je i na dva stručna projekta u suradnji s tvrtkama *Pliva* i *PIP*. Sudjelovala je kao asistentica u izvođenju laboratorijskih vježbi za tri generacije studenata FKIT, na Danima otvorenih vrata FKIT, MUZZA tjednu znanosti i još dvije radionice za popularizaciju znanosti.

<https://www.croris.hr/osobe/profil/36509>

Radovi u časopisima

Znanstveni i pregledni radovi

Mlakić, Milena; Odak, Ilijana; Barić, Danijela; Talić, Stanislava; Šagud, Ivana; Štefanić, Zoran; Molčanov, Krešimir; Lasić, Zlata; Kovačević, Borislav; Škorić, Irena; New resveratrol derivatives as improved biologically active structures: design, synthesis and computational modeling. *Bioorganic chemistry* (2023) (rad prihvaćen za objavljivanje).

Mlakić, Milena; Faraho, Ivan; Odak, Ilijana; Kovačević, Borislav; Raspudić, Anamarija; Šagud, Ivana; Bosnar, Martina; Škorić, Irena; Barić, Danijela Cholinesterase Inhibitory and Anti-Inflammatory Activity of the Naphtho- and Thienobenzo-Triazole Photoproducts: Experimental and Computational Study. *International journal of molecular sciences* 24 (2023) 14676.

Mlakić, Milena; Odak, Ilijana; Faraho, Ivan; Bosnar, Martina; Banjanac, Mihailo; Lasić, Zlata; Marinić, Željko; Barić, Danijela; Škorić, Irena Synthesis, photochemistry, computational study and potential application of new styryl-thiophene and naphtho-thiophene benzylamines. *International journal of molecular sciences* 24 (2023) 610.

Mlakić, Milena; Đurčević, Ema; Odak, Ilijana; Barić, Danijela; Juričević, Ines; Šagud, Ivana; Burčul, Franko; Lasić, Zlata; Marinić, Željko; Škorić, Irena. Thieno-thiazolostilbenes, thienobenzo-thiazoles and naphtho-oxazoles: Computational study and cholinesterase inhibitory activity. *Molecules* 28 (2023) 3781.

Mlakić, Milena; Čipor, Ivona; Kovačec, Petra; Kragol, Goran; Ratković, Ana; Kovačević, Tatjana; Zdravec, Rahela, Milašinović, Valentina; Molčanov, Krešimir; Piantanida, Ivo; Škorić, Irena. The benzothiazine core as a novel motif for DNA-binding small molecules. *Molecules* 28 (2023) 4499.

Mlakić, Milena; Selec, Ida; Čaleta, Irena; Odak, Ilijana; Barić, Danijela; Ratković, Ana; Molčanov, Krešimir; Škorić, Irena. New thienobenzo/naphtho-triazoles as butyrylcholinesterase inhibitors. Design, synthesis and computational study. *International journal of molecular sciences* 24 (2023) 5879.

Modrić, Marina; Božičević, Marin; Odak, Ilijana; Talić, Stanislava; Barić, Danijela; **Mlakić, Milena;** Raspudić, Anamarija; Škorić, Irena. The structure-activity relationship and computational studies of 1,3-thiazole derivatives as cholinesterase inhibitors with anti-inflammatory activity. *Comptes rendus. Chimie* 25 (2022) 267-279.

Mlakić, Milena; Odak, Ilijana; Faraho, Ivan; Talić, Stanislava; Bosnar, Martina; Lasić, Kornelija; Barić, Danijela; Škorić, Irena. New naphtho/thienobenzo-triazoles with interconnected anti-inflammatory and cholinesterase inhibitory activity. *European journal of medicinal chemistry* 241 (2022) 114616.

Mlakić, Milena; Fodor, Lajos; Odak, Ilijana; Horváth, Ottó; Lovrić, Marija Jelena; Barić, Danijela; Milašinović, Valentina; Molčanov, Krešimir; Marinić, Željko; Lasić, Zlata; Škorić, Irena. Resveratrol-maltol and resveratrol-thiophene hybrids as cholinesterase inhibitors and antioxidants: Synthesis, bio-metal chelating capability and crystal structure. *Molecules* 27 (2022) 6379.

Mlakić, Milena; Ljubić, Anabela; Šalić, Anita; Zelić, Bruno; Horváth, Ottó; Milašinović, Valentina; Gojun, Martin; Molčanov, Krešimir; Škorić, Irena. Photocatalytic transformations of the resveratrol derivative in microflow reactor. *Catalysts* 12 (2022) 1510.

Mlakić, Milena; Rajič, Lucija; Ljubić Anabela; Vušak Vitomir; Zelić, Bruno; Gojun, Martin; Odak, Ilijana; Čule, Ivona; Šagud, Ivana; Šalić, Anita; Škorić, Irena. Synthesis of new heterocyclic resveratrol analogues in milli- and microreactors: intensification of the Wittig reaction. *Journal of Flow Chemistry* 12 (2022) 429-440.

Mlakić, Milena; Mandić, Leo; Basarić, Nikola; Mihaljević, Branka; Pavošević, Fabijan; Škorić, Irena. Substituents affect the mechanism of photochemical E-Z isomerization of diarylethene triazoles via adiabatic singlet excited state pathway or via triplet excited state. *Journal of photochemistry and photobiology. A, Chemistry* 422 (2022) 113567.

Mencaroni, Letizia; Cesaretti, Alessio; Elisei, Fausto; Škorić, Irena; **Mlakić, Milena;** Spalletti, Anna. Acid-base strength and acido(fluoro)chromism of three push-pull derivatives of 2,6-distyrylpyridine. *Photochemical & photobiological sciences* 21 (2022) 935-947.

Mlakić, Milena; Faraho, Ivan; Odak, Ilijana; Talić, Stanislava; Vukovinski, Ana; Raspudić, Anamarija; Bosnar, Martina; Zadravec, Rahela; Ratković, Ana; Lasić, Kornelija et al. Synthesis, photochemistry and computational study of novel 1,2,3-triazole heterostilbenes: expressed biological activity of their electrocyclization photoproducts. *Bioorganic chemistry* 121 (2022) 105701.

Mlakić, Milena; Čadež, Tena; Barić, Danijela; Puček, Ivana; Ratković, Ana; Marinić, Željko; Lasić, Kornelija; Kovarik, Zrinka; Škorić, Irena. New uncharged 2-thienostilbene oximes as reactivators of organophosphate-inhibited cholinesterases. *Pharmaceuticals* 14 (2021) 1147.

Ratković, Ana; **Mlakić, Milena;** Dehaen, Wim; Opsomer, Tomas; Barić, Danijela; Škorić, Irena. Synthesis and photochemistry of novel 1,2,3-triazole di-heterostilbenes. An experimental and computational study. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy* 261 (2021) 120056.

Mlakić, Milena; Šalić, Anita; Bačić, Matea; Zelić, Bruno; Šagud, Ivana; Horváth, Ottó; Škorić, Irena. Photocatalytic oxygenation of heterostilbenes—batch versus microflow reactor. *Catalysts* 11 (2021) 395.

Šagud, Ivana; Maček Hrvat, Nikolina; Grgičević, Ana; Čadež, Tena; Hodak, Josipa; **Dragojević, Milena;** Lasić, Kornelija; Kovarik, Zrinka; Škorić, Irena. Design, synthesis and cholinesterase inhibitory properties of new oxazole benzylamine derivatives. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry* 35 (2020) 460-467.