

Nove soli tienobenzo-triazola - sinteza i biološka aktivnost

Horvat, Tea

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:684255>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-22**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ

Tea Horvat

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2024.

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

Kandidatkinja _____ Tea Horvat _____

Predala je izrađen završni rad dana: _____ 10. rujna 2024. _____

Povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Irena Škorić, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
doc. dr. sc. Dragana Vuk, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
dr. sc. Lidija Furač, viša predavačica, Sveučilište u
Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije
prof. dr. sc. Sandra Babić, Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog
rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana: _____ 13. rujna 2024. _____

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ
PRIMIJEJENA KEMIJA

Tea Horvat

NOVE SOLI TIENOBENZO-TRIAZOLA – SINTEZA I BIOLOŠKA AKTIVNOST

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Irena Škorić

Članovi ispitnog povjerenstva:

1. prof. dr. sc. Irena Škorić
2. doc. dr. sc. Dragan Vuk
3. dr. sc. Lidija Furač v. pred.

Zagreb, rujan 2024.

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

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Ireni Škorić na prihvaćenom mentorstvu i predloženoj temi. Hvala joj na iznimnoj posvećenosti, strpljenju i pruženom znanju tijekom boravka u laboratoriju i izvan njega, a ponajviše tijekom pisanja rada. Iznimno sam zahvalna što sam imala priliku učiti izravno pod njezinim mentorstvom i steći znanje i vještine za daljnju budućnost.

Zahvaljujem i svim članovima Zavoda za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, a posebno asistenticama mag. appl. chem. Vilmi Lovrinčević i mag. chem. Marini Galić na susretljivosti i ugodnoj atmosferi u laboratoriju.

Zahvaljujem se kolegicama Sari Gregić i Sari Milić na iznimnoj podršci i ugodnom društvu tijekom izrade naših radova.

Veliko hvala i mojoj obitelji koja mi je omogućila bezbrižno studiranje te prijateljima koji su vjerovali u mene od prvoga dana.

SAŽETAK

Nove soli tienobenzo-triazola – sinteza i biološka aktivnost

Cilj ovog rada bila je sinteza novih soli tienobenzo-triazola s potencijalnom biološkom aktivnošću. Tijek sinteze praćen je nizom od četiri uzastopne reakcije. Prvim stupnjem dobivaju se različiti derivati triazolnih aldehida reakcijom 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida, prethodno pripremljenog u našem laboratoriju, i odgovarajućeg amina. Nadalje slijedi Wittigova reakcija, općenito poznata kao reakcija dobivanja alkena. Takvom reakcijom aldehidi reagiraju s fosforovim ilidom čime se dobivaju smjese izomera triazolnih tienostilbena. Spomenuti produkti su zbog nastanka konjugiranog sustava uspješno podvrgnuti fotokemijskim reakcijama čime dolazi do ciklizacije odnosno zatvaranja prstena i sinteze tienobenzo-triazola. Posljednjim stupnjem dodatkom alkil-halogenida dobivaju se triazolne soli koje su testirane na biološku aktivnost, prvenstveno kao potencijalni inhibitori enzima kolinesteraza. Na temelju rezultata bioloških mjerenja, spoj **6** pokazuje inhibiciju enzima butirilkolinesteraze s vrijednosti IC_{50} od 24,3 μM dok njegova sol **10** čak IC_{50} od 1,83 μM , što je nekoliko puta bolja inhibicijska aktivnost od one koju pokazuje standardni reverzibilni inhibitor galantamin.

Ključne riječi: alkeni, enzimi kolinesteraze, fotokemijska ciklizacija, metateza soli, triazoli, triazolostilbeni, Wittigova reakcija

ABSTRACT

New thienobenzo-triazole salts – synthesis and biological activity

The aim of this work was the synthesis of new thienobenzotriazole salts with potential biological activity. The course of the synthesis is followed by a series of four consecutive reactions. In the first stage, various derivatives of triazole aldehydes are obtained by the reaction of 1-(4-(nitrophenyl)-1*H*-1,2,3-triazole-4-carbaldehyde, previously prepared in our laboratory, and the corresponding amine. Further follows the Wittig reaction, generally known as the alkene formation reaction. The aldehydes react with phosphorus ylide, resulting in mixtures of triazole-thienostilbene isomers. Due to the formation of a conjugated system, the mentioned products are successfully subjected to photochemical reactions, which leads to cyclization, i.e. ring closure and synthesis of thienobenzo-triazoles. The last step is the addition of alkyl halide to obtain triazole salts that have been tested for biological activity, as potential cholinesterase enzyme inhibitor. Based on the results of biological measurements, compound **6** shows inhibition of the butyrylcholinesterase enzyme with an IC₅₀ value of 24,3 μM, while its salt **10** even has an IC₅₀ of 1,83 μM, which is several times better inhibitory activity than that shown by the standard reversible inhibitor galantamine.

Keywords: alkenes, cholinesterase enzymes, photochemical cyclization, salt metathesis, triazoles, triazole stilbenes, Wittig reaction

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Triazoli.....	2
2.1.1. 1,2,3-triazoli.....	2
2.2. Od triazola do triazolne soli	5
2.3. Biološka aktivnost triazola i njihovih derivata.....	9
2.3.1. Protuupalno djelovanje.....	11
2.3.2. Enzimi kolinesteraze	14
2.4. Novi triazolstilbeni sintetizirani u našem laboratoriju i njihova biološka aktivnost	15
3. REZULTATI I RASPRAVA	19
3.1. Pregled sintetiziranih spojeva 1-10.....	19
3.1.1. Sinteza triazolnih aldehida 1-4	21
3.1.2. Sinteza triazolnih tienostilbena 5a-8a Wittigovom reakcijom.....	23
3.1.3. Fotokemijska sinteza tienobenzotriazola 5-8	26
3.1.4. Sinteza triazolnih soli 9 i 10.....	28
3.2. Spektroskopska karakterizacija sintetiziranih derivata	30
3.2.1. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih aldehida 1-4	31
3.2.2. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih tienostilbena 5a-8a.....	33
3.2.3. Spektroskopska karakterizacija tienobenzotriazola 5-8	36
3.2.4. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih soli 9 i 10.....	42
3.3. Inhibicija enzima kolinesteraza.....	45
4. EKSPERIMENTALNI DIO	47
4.1. Opće napomene	47
4.2. Sinteza triazolnih aldehida.....	47
4.3. Sinteza triazolnih tienostilbena Wittigovom reakcijom	50
4.4. Fotokemijska sinteza tienobenzotriazola.....	53
4.5. Sinteza triazolne soli	56
5. ZAKLJUČAK	58
6. LITERATURA	60
7. ŽIVOTOPIS	65

1. UVOD

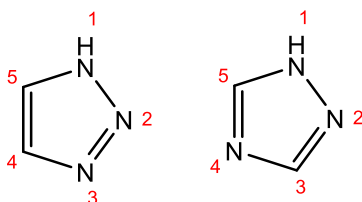
Organska kemija jedna je od najvažnijih grana kemije nazvana još i kemijom ugljikovih spojeva. Takvi spojevi ključni su za strukturu živih organizama, a samim time i za postojanje života na Zemlji.¹ U usporedbi s ostalim elementima periodnog sustava, ugljikov atom stvara jake veze s istoimenim atomima, kao i s brojnim drugim elementima pritom stvarajući beskonačan broj lanaca i prstenova od kojih važnu ulogu imaju heterociklički spojevi.² To su spojevi prstenaste strukture ugljikovih atoma i najmanje jednog heteroatoma, od kojih su najčešći kisik, sumpor i dušik. Svojom strukturom prevladavaju u više od 50% organskih spojeva ključnih za odvijanje raznih životnih funkcija u biljnom i životinjskom svijetu. Primjer takvih spojeva su vitamini, ugljikohidrati, aminokiseline, nukleinske kiseline i dr. Također, osnova su za proizvodnju različitih lijekova i herbicida. Zbog velike raznolikosti mogu se klasificirati u nekoliko podgrupa: prema broju atoma u prstenu, prema vrsti i broju heteroatoma te prema sličnosti s aromatskim spojevima. Od posebne važnosti su peteročlani dušikovi spojevi važni kao biološki aktivni spojevi, inhibitori korozije, te kao pesticidi i bojila.³ U tu skupinu spojeva spadaju triazoli, peteročlani dušikovi prstenovi načinjeni od tri atoma dušika i dva atoma ugljika. Iako su sintetizirani krajem 19. stoljeća, još uvijek privlače veliku pažnju kemičara i biologa zbog širokog spektra biološke aktivnosti.⁴ Naime, jezgra triazola prisutna je kao temeljna strukturna komponenta u nizu kategorija lijekova kao što su antimikrobni, protuupalni, analgetski, antiepileptički, antivirusni, antituberkulozni, antikancerogeni i dr. Jedni od glavnih derivata triazola prisutnih u različitim lijekovima su 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol koji pokazuju različita svojstva i raznoliku primjenu.⁵ Takvi spojevi Wittigovom reakcijom mogu stvoriti stilbene, aromatsko-alifatske ugljikovodike koji se pojavljuju u dva stereoizomerna oblika: *cis*- i *trans*- stilben. Nastaju povezivanjem dvaju aromata pomoću dvostruke veze. Njihovim proučavanjem zaključeno je kako bi bili sjajna polazna točka za daljnji razvoj protuupalnih i antitumorskih sredstava.⁶ Zbog prisustva konjugiranog sustava mogu sudjelovati u fotokemijskim reakcijama u kojima dolazi do ciklizacije, odnosno zatvaranja prstena i nastajanja nove skupine spojeva. Daljnjim tijekom reakcija, moguće je prevesti ih u odgovarajuće triazolne soli, skupinu spojeva koja se dobiva dodatkom alkil-halogenida, a koje su kao takve pokazale potencijalnu biološku aktivnost i ciljane su molekule u ovom završnom radu.

2. OPĆI DIO

2.1. Triazoli

Triazoli se mogu klasificirati kao posebna vrsta heterocikličkih spojeva sa širokim spektrom bioloških aktivnosti kao što su antimikrobno, citotoksično, analgetsko, protuupalno, insekticidno, antibakterijsko, antikancerogeno, antimalarično i dr. Iz tog razloga, velik broj istraživača sintetizira te spojeve kao ciljne strukture kako bi procijenili o kojoj se biološkoj aktivnosti za pojedini derivat zapravo radi.⁷

Triazol, također poznat i kao pirodiazol, spada u klasu peteročlanih organskih spojeva koji sadrži dinezasićenu prstenastu strukturu sastavljenu od tri atoma dušika i dva atoma ugljika. Triazol je bijela do bijeložuta kristalna krutina slabog karakterističnog mirisa, topiva u vodi i alkoholu. Temperatura tališta mu je kod 120°C, a temperatura vrelišta na 260°C. Pojavljuje se kao par izomernih kemijskih spojeva 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol s molekularnom formulom C₂H₃N₃ i molekularnom masom od 69,06 g mol⁻¹ (Slika 1). Navedeni izomeri strukturno se razlikuju samo prema položaju dušikovih atoma u prstenu.

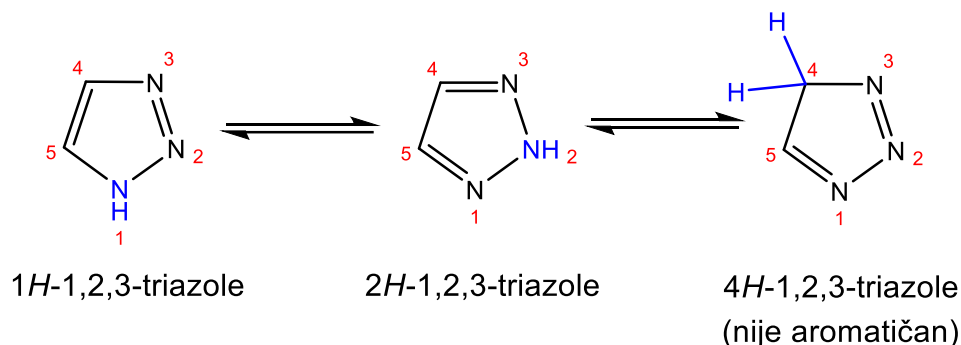


Slika 1. Strukture 1,2,3-triazola i 1,2,4-triazola.

2.1.1. 1,2,3-triazoli

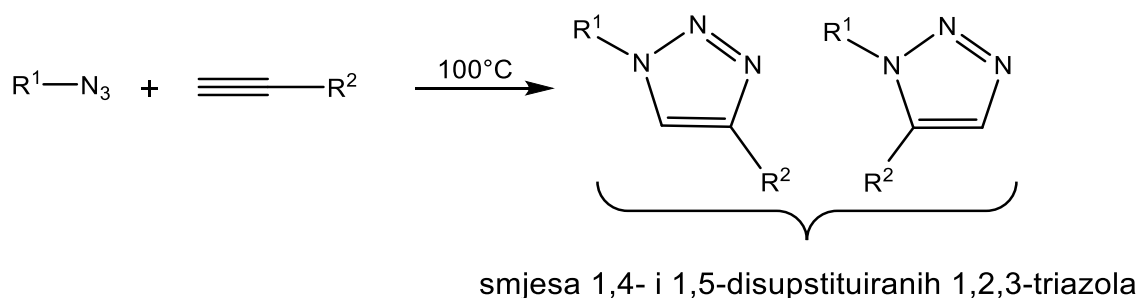
Nazvani još i 1*H*-1,2,3-triazoli zbog uzastopnog nizanja dušikovih atoma na prva tri položaja peteročlanog prstena, dok oznaka 1*H*- govori o pojavi indiciranog vodika na dušikovom atomu u položaju jedan. Ova vrsta spoja uglavnom pokazuje tri tautomera ovisno o vezanom vodiku za dušik u strukturi prstena (Shema 1). Struktura 4*H*-1,2,3-triazola nije aromatska i stoga se odbacuje. Svi atomi prikazanog izomera

su sp^2 hibridizirani i planarni, a šest π elektrona delokalizirana oko prstena daju aromatski karakter spoju. Štoviše, zbog prisutnosti tri dušikova atoma, triazoli se smatraju energijski bogatim heterociklima.⁸



Shema 1. Tautomeri 1,2,3-triazola.

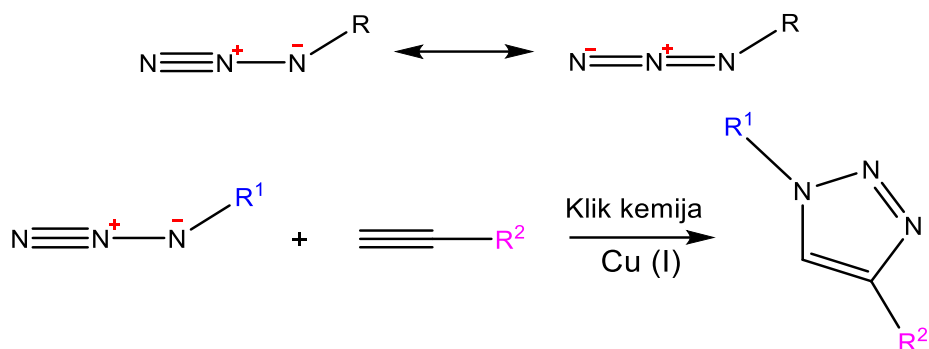
Najčešći put do sinteze ove vrste spojeva je Huisgenova dipolarna cikloadicija⁹ alkina s organskim azidima (Shema 2). Ovaj postupak uključuje 1,3-dipolarnu cikloadiciju¹⁰ azida s organskim alkinima koji posjeduju supstituent koji privlači elektrone.¹¹ Ova reakcija je slabe regioselektivnosti pri čemu nastaju 1,4- i 1,5-disupstituirani 1,2,3-triazoli zbog čega je Huisgenova reakcija alkina i azida modificirana upotrebom bakra kao katalizatora.¹²



Shema 2. Reakcija cikloadicije azida i terminalnog alkina.

Azid-alkin cikloadicija katalizirana bakrom (CuAAC) spada u skupinu klik-reakcija. Ova reakcija postala je prva moderna reakcija 21. stoljeća. Iako već prije izučavana, no nedovoljno istraživana, ponovno je privukla pažnju 2002. godine kada

su znanstvenici Sharpless¹³ i Meldal¹⁴ izvijestili da sudjelovanje različitih vrsta bakra(I) u cikloadiciji azida i alikina dovodi do 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazola kao pojedinačnog produkta (Shema 3).¹⁵



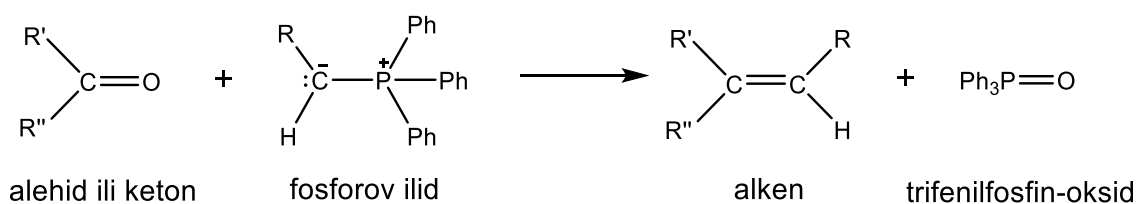
Shema 3. Rezonancija azida (gore) i reakcija klik kemije – cikloadiacija katalizirana bakrom (dolje).

Reakcija CuAAC atomski je učinkovita reakcija kojom je postignut visoki stupanj regioselektivnosti s visokim stupnjem iskorištenja (često > 95%) u uvjetima okoline, sobne temperature, kod koje se nusprodukti rijetko opažaju. Specifičnost reakcije jest da može podržati širok raspon pH vrijednosti (4-12) i različita otapala (organska i voda), a gotovo bilo koja vrsta funkcijske skupine tolerira se na azidu i na alkinu. Katalizator za ovu reakciju obično je mala količina jeftine Cu^{II} soli (npr. CuSO_4) u prisutnosti natrijevog askorbata* pri čemu nastaju aktivne vrste Cu^{I} soli. Sve ove karakteristike čine CuAAC reakciju vrlo učinkovitim, jeftinim i robusnim sintetskim pristupom za dobivanje 1,4-triazola.¹⁶

* Natrijev askorbat je nekiseli oblik vitamina C koji je vezan za natrij, umanjuje kiselost čime se lakše probavlja i apsorbira više nego čisti vitamin C.

2.2. Od triazola do triazolne soli

U skupinu derivata triazola, osim već spomenutih, spadaju i 1,2,3-triazolostilbeni koji se mogu pripremiti Wittigovom reakcijom koju je 1954. godine otkrio Georg Wittig, a za koju je i dobio Nobelovu nagradu (Shema 4). Ova reakcija široko se koristi u organskoj sintezi za pripremu alkena, a temelji se na reakciji adicije fosforovog ilida** na aldehide i ketone.

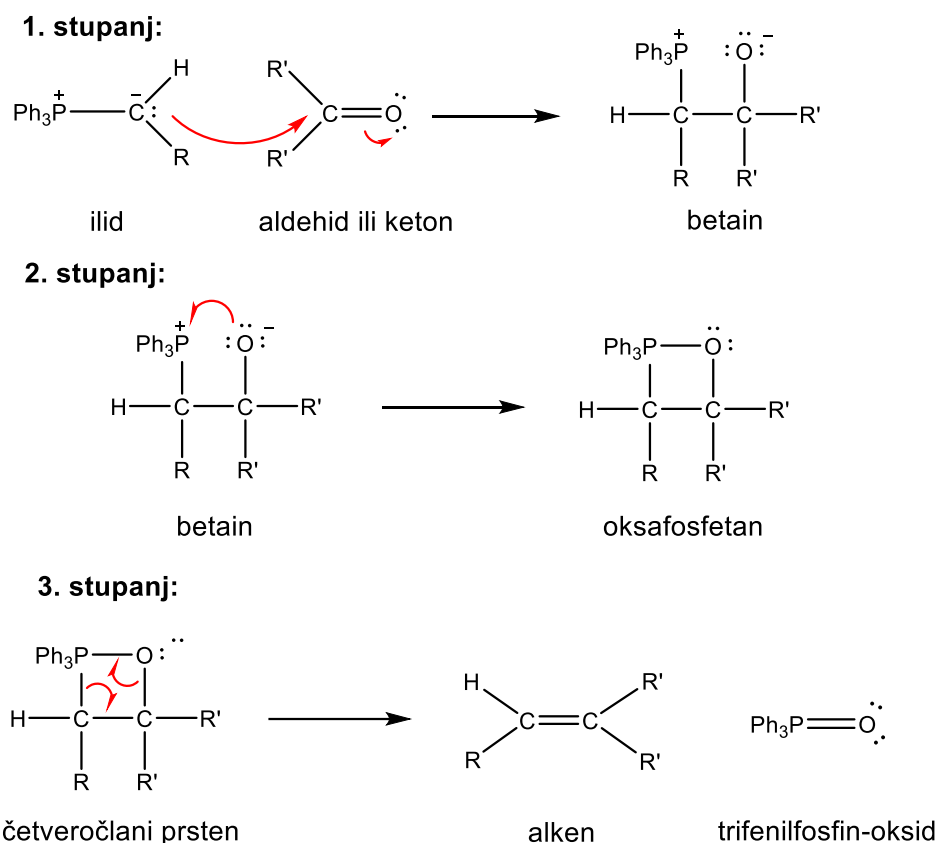


Shema 4. Opći prikaz Wittigove reakcije.

Ovom reakcijom dolazi do pretvaranja karbonilne skupine aldehida ili ketona u novu dvostruku vezu, C=C, na mjestu gdje veza prije nije postojala i često nastaju izomeri, smjese *cis*- i *trans*-izomera. Mehanizam reakcije započinje nukleofilnim napadom ugljikova atoma ilida na karbonilnu skupinu, pri čemu nastaje betain*** (Shema 5). Zbog jake veze između fosforova i kisikova atoma, dolazi do brzog nastajanja četveročlanog oksafosfetanskog prstena. Novonastali prsten brzo se raspada u alken i stabilni trifenilfosfin-oksid čije nastajanje je zapravo pokretačka sila Wittigove reakcije.¹⁷

** Ilid je neutralna molekula s pozitivnim i negativnim nabojem.

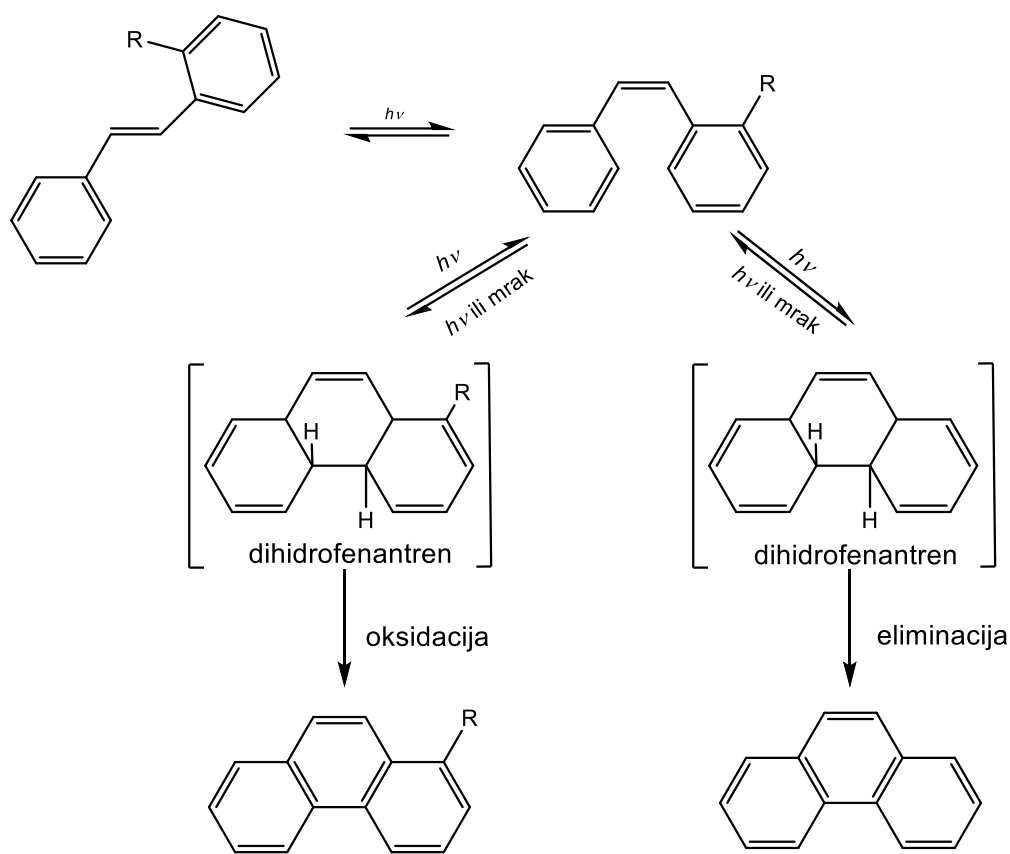
*** Betain je međuprodukt s razdvojenim nabojem, ima negativno nabijen kisikov i pozitivno nabijen fosforov atom na susjednim ugljikovim atomima.



Schema 5. Mehanizam Wittigove reakcije.

Daljnja moguća reakcija triazolostilbena (kao i ostalih stilbena) je reakcija oksidativne fotociklizacije (Schema 6). Ova reakcija poželjna je metoda za sintezu mnogih različitih polinuklearnih aromatskih sustava. Otkrivena je ranije tijekom studija fotokemijske izomerizacije stilbena, ali nije postala izvediva sve dok Mallory 1964. nije otkrio da jod može katalizirati reakciju, što je omogućilo koncentriranije otopine i manje sporednih produkata.¹⁸

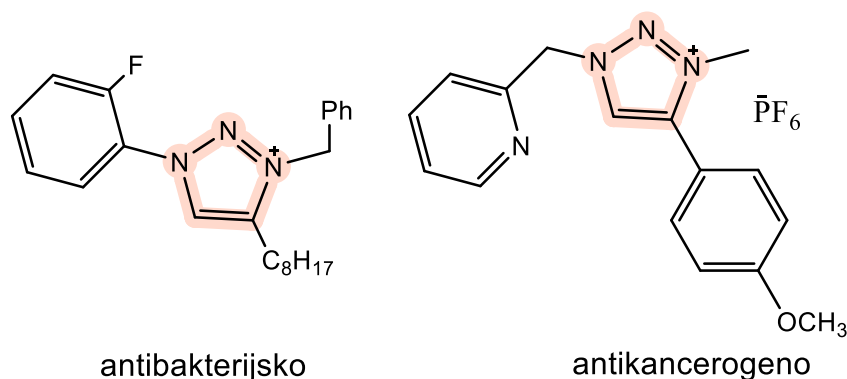
Fotokemijska izomerizacija dvostruke veze stilbena temelji se na brznoj *cis*-/*trans*-izomerizaciji u takvim uvjetima da različite smjese *cis*- i *trans*-stilbenskih derivata i dalje daju isti produkt. Iz tog razloga stilbeni se mogu koristiti kao izomerne smjese, iako je samo *cis*-izomer sposoban za daljnju fotociklizaciju.¹⁹



Shema 6. Reakcijski put Malloryeve reakcije fotociklizacije.

Nastali dihidrofenantren je nestabilan i, osim ako nije zarobljen, otpušta se natrag u stilben. Iz tog razloga se provodi oksidacija kojom bi se formirao fenantren ili eliminacija koja bi dala odgovarajući supstituent u *ortho*-položaju na jednom od aromata.²⁰

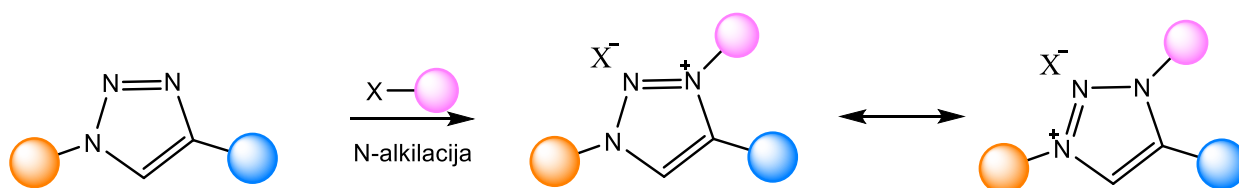
Poznato je da dobiveni produkti oksidativne fotociklizacije stupaju u reakciju u kojoj kao krajnji produkt nastaju triazolne soli. Naime, nastale soli iz odgovarajućih početnih neutralnih fotoprodukata pokazale su značajan potencijal u poljima medicine i poljoprivrede, čime sve više privlače pažnju istraživača (Slika 2).²¹



Slika 2. Strukturne formule primjera triazolnih soli i njihova biološka aktivnost.

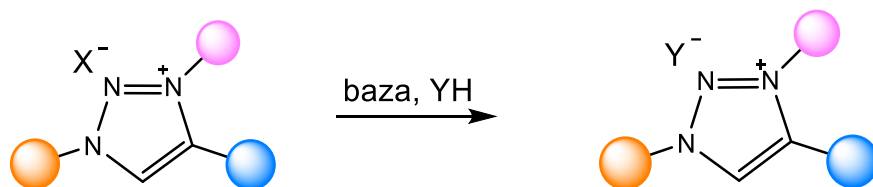
1,2,3-triazolne soli posjeduju jedinstvena kemijska svojstva, poput visoke stabilnosti, podesive reaktivnosti i različitih elektroničkih karakteristika. Jedni su od bitnijih spojeva u organskoj sintezi, a također su korišteni i u razvoju novih katalizatora, antimikrobnih sredstava, fluorescentnih boja i bioaktivnih molekula. Mogu se sintetizirati izravno u tri koraka, uključujući već spomenutu CuAAC reakciju, *N*-alkiliranje (Shema 7) i metatezu soli (Shema 8).²²

Nastankom selektivnog produkta klik-reakcijom 1,4-disupstituiranog 1,2,3-triazola, lako se mogu pripremiti strukturno složene 1,2,3-triazolne soli upotrebom alkil-halogenida, tosilata, trifluormetana i dr. Proces alkiliranja tipično uključuje uporabu baze kojom se 1,2,3-triazol deprotonira, nakon čega slijedi reakcija sa sredstvom za alkiliranje.²³



Shema 7. *N*-alkiliranje 1,2,3-triazola.

Dobiveni alkilirani produkt može se dalje pretvarati u različite 1,2,3-triazolne soli protoniranjem ili odgovarajućim transformacijama.



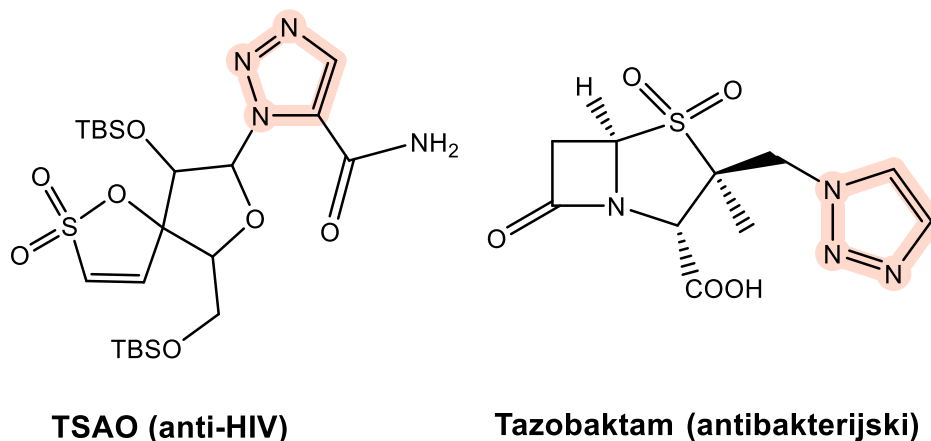
Shema 8. Metateza[£] soli.

Kako triazolne soli imaju tri aktivna mjesta, uključujući N-1, N-3 i C-4, prema dosadašnjim istraživanjima²⁴ vjeruje se da supstituenti na N-1 i N-3 položajima igraju ključnu ulogu u biološkoj aktivnosti i selektivnosti. U usporedbi s matičnim triazolom, istoimene soli imaju bolju biološku aktivnost i topljivost u vodi te su obećavajuće u razvoju novih lijekova za patogene otporne na lijekove, kao i na području poljoprivrede, medicine i u industrijskoj proizvodnji.

2.3 Biološka aktivnost triazola i njihovih derivata

1,2,3-triazoli vrlo su stabilni spojevi koji stupanjem u interakciju s biološkim metama stvaraju vodikove veze na temelju kojih se izučavaju i otkrivaju novi lijekovi (Slika 3). Zabilježeno je da derivati 1,2,3-triazola imaju različita farmakološka svojstva kao što su antikancerogena, antimikrobna, protuupalna, antituberkulozna, anti-HIV i antivirusna, dok je od posebne važnosti i njihovo inhibicijsko djelovanje prema enzimima kolinesteraze.²⁵

[£] Metateza je kemijska reakcija u kojoj dvije molekule međusobno razmjenjuju svoje dijelove, npr. $AB + CD \rightarrow AC + BD$;

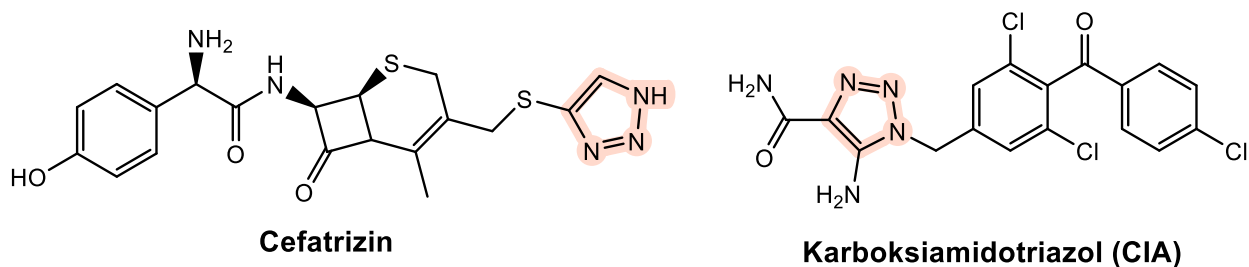


Slika 3. Biološki aktivni lijekovi koji sadrže strukturu 1,2,3-triazola.

Molekule 1,2,3-triazola sve se više primjenjuju i kao kemoterapijski agensi za razne bolesti od kojih su najznačajnije strukture cefatrizin i karboksamidotriazol (Slika 4). No, zbog sve veće otpornosti karcinoma na postojeće lijekove i velik broj nuspojava vezanih uz iste, velik broj znanstvenika traži alternative u njihovoj sintezi. U tu svrhu sve se više proučava hibridizacija 1,2,3-triazola kojima bi struktura novog lijeka imala više mehanizama djelovanja čime bi se ostvarila niska toksičnost i visoka učinkovitost. Naime, hibridne molekule imaju veliki potencijal smanjiti nuspojave i prevladati otpornost na lijekove budući da u svojoj strukturi imaju dva ili više farmakofora^{££} koji također mogu imati više mehanizama djelovanja. Otkriveno je da farmakofori poput azola, indola, piridina, pirimidina, kinona, kinolina i dr. posjeduju potencijalno antikancerogeno djelovanje, a posebno se strukturno i s najnižim vrijednostima GI_{50}^+ ističu hibridi 1,2,3-triazol-indola i 1,2,3-triazol-kinolina.²⁶

^{££} Farmakofor je dio biološki aktivne molekule koji je bitan za djelovanje same molekule

⁺ GI_{50} = growth inhibition 50%/inhibicija rasta 50%, koristi se za mjerenje koncentracije lijeka ili spoja potrebne za inhibiciju rasta stanica raka *in vitro* za 50%

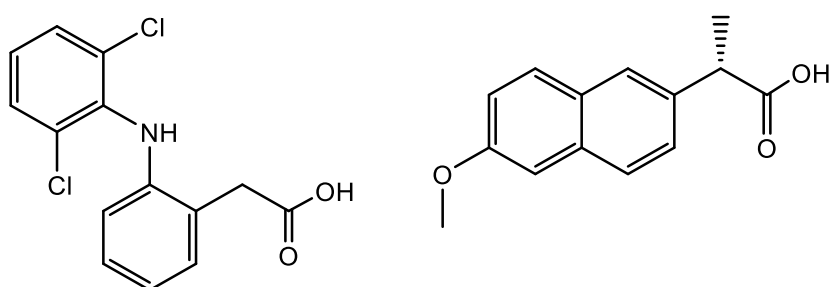


Slika 4. Strukturne formule cefatrizina i CIA s antikancerogenim djelovanjem.

2.3.1. Protuupalno djelovanje

Upala je lokaliziran i visoko reguliran odgovor domaćina na infekciju i ozljedu koji je usmjeren prema neutralizaciji napadajućeg patogena i zacjeljivanju rana. TNF, odnosno faktor nekroze tumora i drugi protuupalni citokini⁺⁺ važni su medijatori upale, a njihova prekomjerna proizvodnja i otpuštanje u krvotok dovodi do većih ozljeda tkiva.²⁷

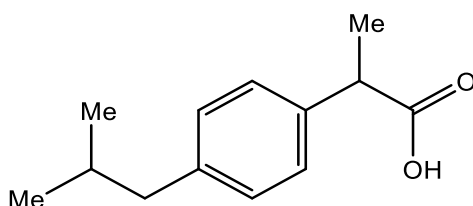
Nesteroidni protuupalni lijekovi (NSAID) ističu se kao dobri protuupalni agensi sa širokim spektrom terapijske primjene u liječenju raznih vrsta upalnih stanja kao što su bol, vrućica, artritis i dr. Jedni od najučinkovitijih lijekova koji spadaju u tu skupinu su diklofenak, koji se upotrebljava već dugi niz godina, ibuprofen i naproksen (Slike 5 i 6).²⁸



Slika 5. Strukturne formule diklofenaka (lijevo) i naproksena (desno).

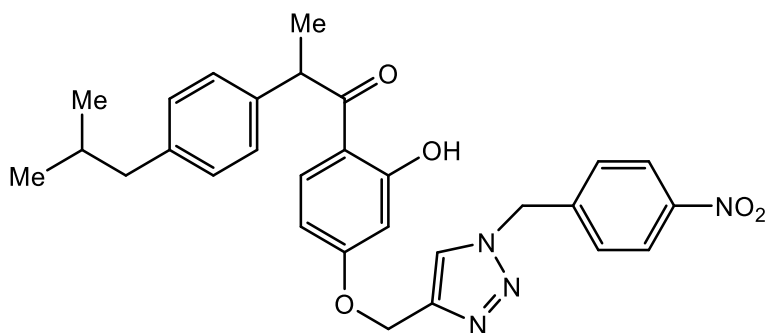
⁺⁺ Citokini su glikoproteini koji posreduju pri djelovanju jedne stanice na drugu.

Dugotrajna primjena ove vrste lijekova ima štetne učinke na gastrointestinalni trakt i posljedično dovodi do problema kao što su oštećenje bubrega, čir na želucu i hepatotoksičnost.²⁹ Iz tog razloga nastoje se sintetizirati nove vrste ovih spojeva kojima bi se dobila visoka učinkovitost i poboljšala sigurnost kako bi se upale suzbile sa što manje neželjenih učinaka. Alternative se traže u hibridizaciji dviju vrsta spojeva obzirom na biološku i medicinsku važnost, pri čemu se velik broj istraživanja posvećuje spojevima s ibuprofenskom i triazolnom jezgrom.



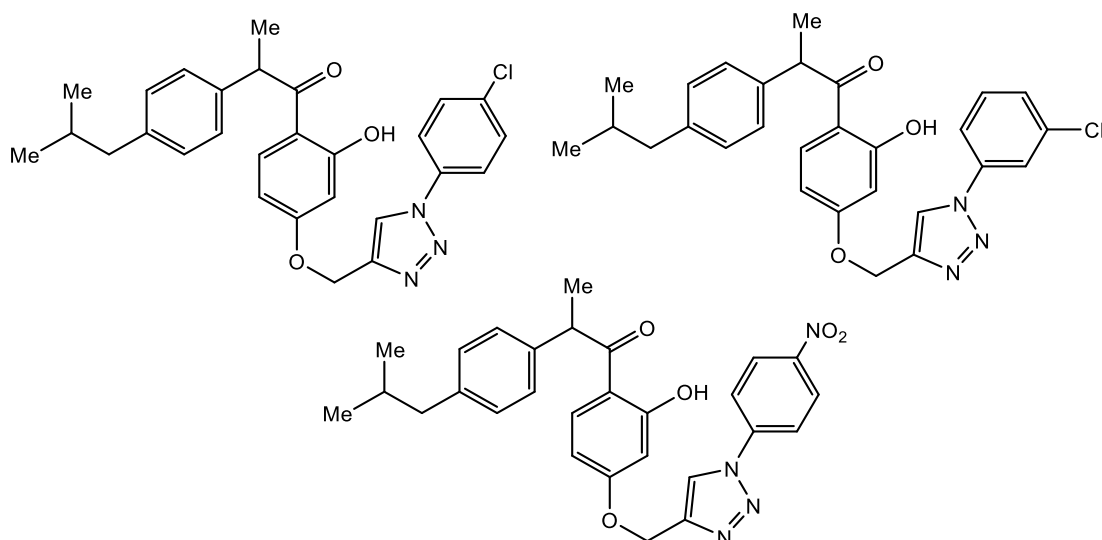
Slika 6. Strukturna formula ibuprofena.

U sklopu tih istraživanja sintetizirani su i ispitani spojevi na bazi ibuprofena koji sadrže 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazol. Svi spojevi sintetizirani su na *in vivo* protuupalno djelovanje, pri čemu je jedan od spojeva (Slika 7.) pokazao učinak kao referentni protuupalni lijek ibuprofen u istoj koncentraciji (10 mg/kg tjelesne težine).



Slika 7. Strukturna formula derivata ibuprofena s 1,4-disupstituiranom 1,2,3-triazol jezgrom.

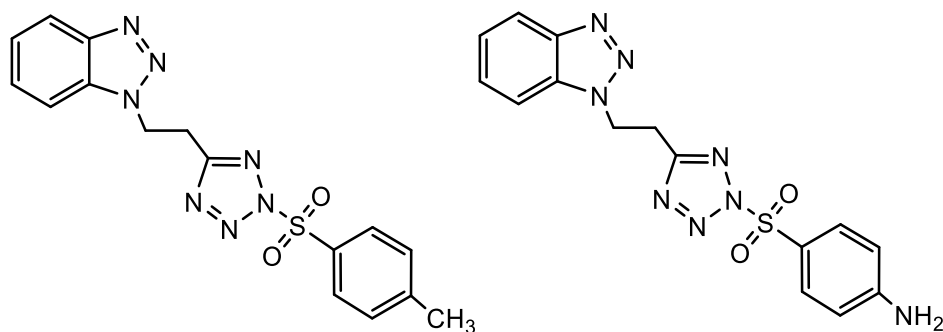
Osim značajnog protuupalnog djelovanje spojeva sa Slike 8. ispitivani su i njihovi baktericidni profili pri čemu su svi spojevi pokazali značajno baktericidno djelovanje protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih sojeva bakterija.



Slika 8. Derivati ibuprofena s 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolom sa značajnom protuupalnom aktivnošću.

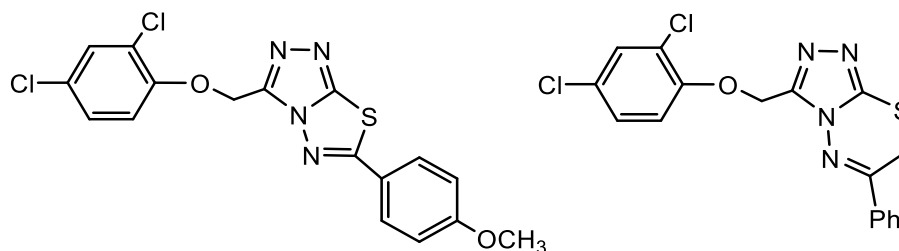
Zanimljivo jest da prisutnost atoma ili grupe atoma koji privlače elektrone, poput NO₂ ili klora, u *meta*- ili *para*-položaju (C₃ ili C₄) benzilnog ili fenilnog prstena na triazolu dovodi do značajnog povećanja protuupalnog i baktericidnog djelovanja.^{30,31}

Potencijalnu protuupalnu aktivnost također su pokazali i spojevi koji u svojoj strukturi sadrže i triazolne i tetrazolne prstenove. Triazolni prsten najčešće je u obliku derivata benzo-triazola (BTA) sa širokim spektrom biološke aktivnosti, čija specifičnost jest da se lako uvode u molekule raznim reakcijama kondenzacije, adicije i supstitucije.³² Protuupalni učinak takvih spojeva procijenjen je testom s karagenanom (polisaharid dobiven iz crvenih morskih algi) na temelju kojeg je pokazano da imaju superiorno protuupalno djelovanje u usporedbi s drugim sintetiziranim spojevima. Primjer takve skupine spojeva je 1-[2-(1*H*-tetrazol-5-il)etil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol³³ koji je sintetiziran kao preteča derivata u svrhu dobivanja novih spojeva s potencijalnim protuupalnim djelovanjem. Primjeri takvih derivata prikazanih su na Slici 9.³⁴



Slika 9. Strukturna formula 1-[2-(1-tosil -1*H*-tetrazol-5-il)etil]-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazola (lijevo) i 4,5-[2-(1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazol-1-il)-1*H*-tetrazol-1-il sulfonil]benzenamina (desno).

Osim 1,2,3-triazola i njegovih derivata, značajnu biološku aktivnost ponajviše protuupalnu pokazuju i 1,2,4-triazoli i njihovi derivati (Slika 10).



Slika 10. Primjeri strukturnih formula derivata 1,2,4-triazola, 3-((2,4-diklorofenoksi)metil)-6-(4-metoksifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]tiadiazin (lijevo) i 3-((2,4-diklorofenoksi)metil)-6-fenil-7*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]tiadiazin (desno).³⁵

2.3.2. Enzimi kolinesteraze

Kolinesteraza je skup enzima prisutnih u središnjem živčanom sustavu, posebno u živčanom tkivu, mišićima i crvenim stanicama, koji kataliziraju hidrolizu neurotransmitera acetilkolina u kolin i octenu kiselinu. Vrlo su važni u funkcioniranju živčanog sustava kod ljudi, a od posebne važnosti su dva srodna enzima acetilkolinesteraza (AChE) i butirilkolinesteraza (BChE).³⁶

AChE je pronađen prvenstveno u krvi na membranama crvenih krvnih stanica, a proizvodi se u jetri i nalazi primarno u plazmi. Brže hidrolizira acetilkolin i prekida

neurotransmisiju, dok se s druge strane BChE nalazi u serumu i brže hidrolizira butirilkolin, što ujedno čini i glavnu razliku između ova dva enzima.³⁷ Ključna razlika u njihovom aktivnom mjestu je prisutnost 14 aromatskih aminokiselinskih ostataka u AChE, u odnosu na osam aromatskih i šest alifatskih ostataka u BChE, što omogućuje BChE da hidrolizira znatno više molekula nego AChE. Obje kolinesteraze farmakološki su relevantne mete u neurogenerativnim poremećajima.³⁸

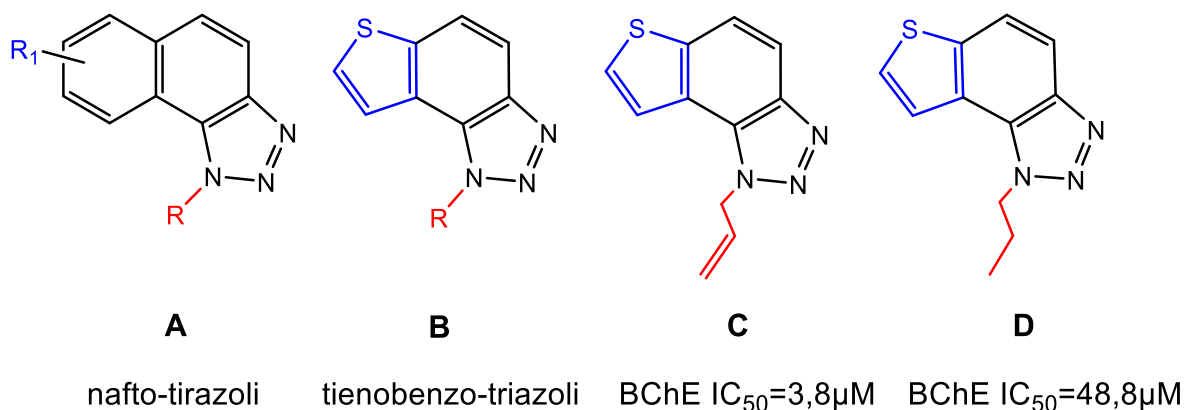
AChE ima bitnu fiziološku ulogu u tijelu jer kontrolira prijenos živčanih impulsa u kolinergičkim sinapsama središnjeg i perifernog živčanog sustava hidrolizom neurotransmiter acetilkolina. Područje njegova djelovanja odnosi se i na staničnu adheziju, međustanične interakcije, dopaminsku neuronsku aktivaciju, stvaranje amiloidnih vlakana karakterističnih za Alzheimerovu bolest (AD)³⁹ i dr.⁴⁰

Uloga BChE nije fiziološki bitna, ali bi se mogla prepisati detoksikaciji ksenobiotika (organofosfatni i karbamatni pesticidi, kokain, aspirin, itd.) i bioaktivaciji lijekova (heroin). Također, služi kao koregulator kolinergičke neurotransmisije i sposoban je katalizirati hidrolizu acetilkolina.⁴¹ Trenutna terapija AD su selektivni inhibitori AChE, dok se kod Parkinsonove bolesti i svih stadija AD preferiraju neselektivni inhibitori ChE.

2.4. Novi triazolstilbeni sintetizirani u našem laboratoriju i njihova biološka aktivnost

Do sada je u našem laboratoriju sintetiziran velik broj spojeva na bazi tienobenzo/nafto-triazola s različitim funkcionalnostima u strukturi. Ispitivana su njihova biološka svojstva pri čemu je većina pripremljenih molekula pokazala zadovoljavajuće djelovanje prema enzimima kolinesteraze, posebice BChE (Slika 11).

Testiranja na učinkovitost inhibicije acetyl- i butirilkolinesteraze provodila su se u širokom spektru raspona koncentracija, pri čemu je kao referentni standard korišten komercijalno dostupan galantamin, $IC_{50} = 7,9 \mu M$.

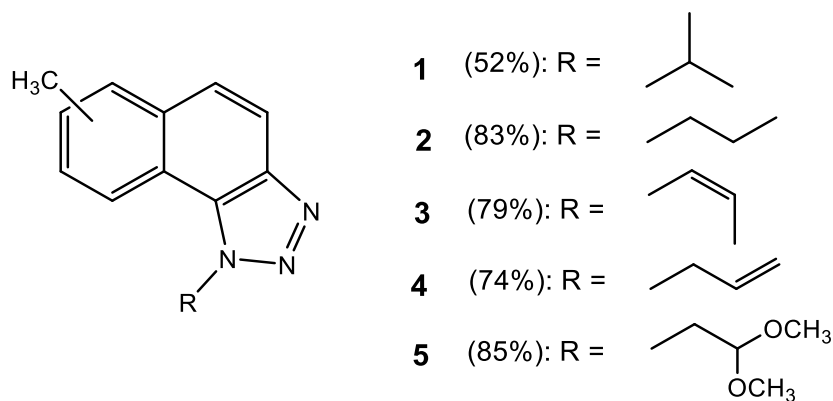


Slika 11. Prethodno ispitani tienobenzotriazoli (A–D) s inhibicijskim djelovanjem kolinesteraze.^{42,43}

Osim inhibicijskog djelovanja prema BChE i dobivenih vrijednosti IC_{50}^* za strukture C i D, ispitivanja su pokazala kako je nafto-triazol (struktura A) pokazao mnogo jači protuupalni učinak u usporedbi s tienobenzotriazolima (struktura B), no da su tienobenzotriazoli snažniji i selektivniji inhibitori BChE od nafto-triazola.

Novi nafto-triazoli, koje je proučavala prva studija⁴² dovela je do zaključka da naftalenska jezgra triazola bitno povećava već postojeću inhibicijsku aktivnost triazola. Slika 12. prikazuje sintetizirane derivate od kojih spojevi **1**, **2** i **3** pokazuju najbolje inhibicijsko djelovanje što bi se moglo pripisati njihovoj strukturi u kojoj sadrže slabe elektron donorske skupine poput izopropila, propila i metilstirila.

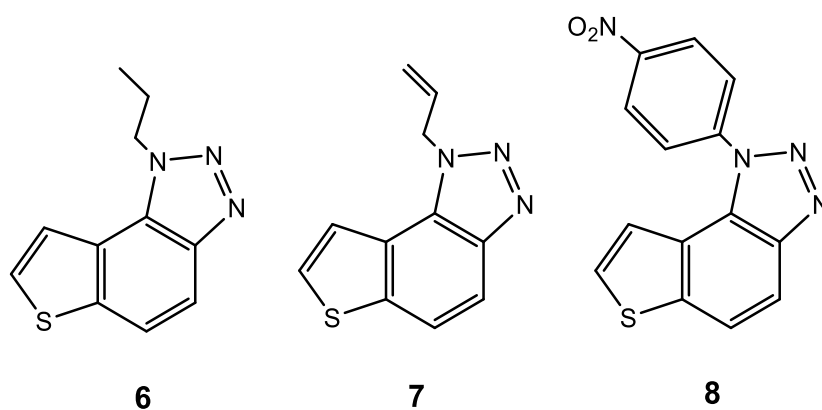
* IC_{50} je koncentracija lijeka ili inhibitora potrebna za inhibiciju biološkog procesa za 50%



Slika 12. Strukture koje su pokazale najbolje inhibicijsko djelovanje.

Svi prikazani spojevi (Slika 12.) inhibirali su oba enzima više od 50% s koncentracijama u rasponu μM , pri čemu je najvišu vrijednost IC_{50} prema oba enzima (AChE, $\text{IC}_{50} = 881,3 \mu\text{M}$; BChE, $\text{IC}_{50} = 284,8 \mu\text{M}$) imao spoj **1**, a najmanju spoj **2** (AChE, $\text{IC}_{50} = 671,3 \text{ Mm}$; BChE, $\text{IC}_{50} = 197,8 \mu\text{M}$).

Uzevši u obzir vrijednosti IC_{50} ovih i prethodno spomenutih spojeva, spojeva s tiofenskom jezgrom, može se zaključiti kako zamjena benzenskog prstena tiofenom povećava aktivnost prema inhibiciji kolinesteraze. Na temelju tog zaključka provedena su nova istraživanja pri čemu su sintetizirani novi tienobenzo-triazoli.⁴³



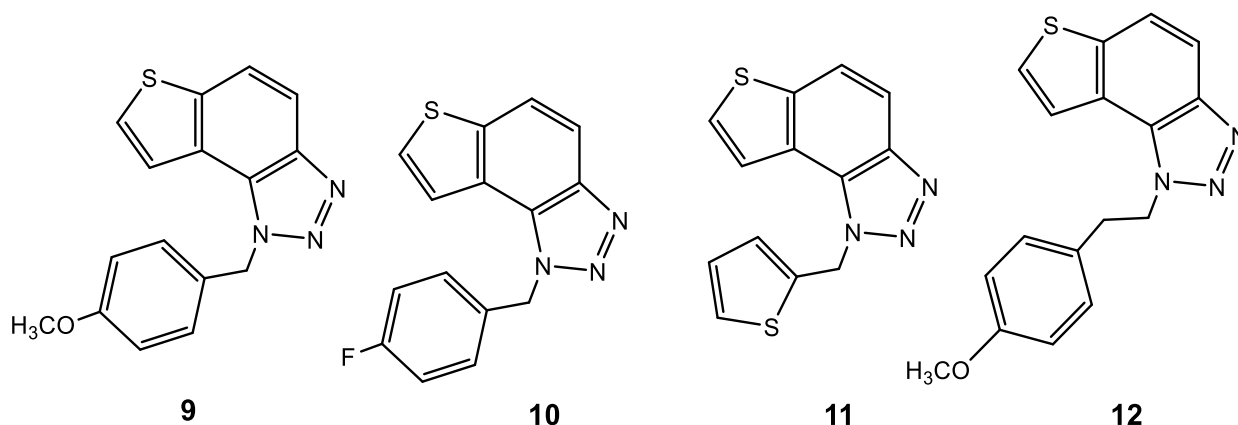
Slika 13. Novi sintetizirani derivati tienobenzo-triazola.

Među prikazanim (Slika 13), kao najjači inhibitor oba enzima pokazao se je derivat **7**, koji ima izvrsnu vrijednost IC_{50} od oko $3,8 \mu\text{M}$ za BChE i $56,2 \mu\text{M}$ za AChE, što ga čini dvostruko jačim inhibitorom od galantamina. Za derivat **6** također je

postignuta dobra inhibicijska aktivnost za oba enzima, dok je derivat **8** inhibirao samo BChE.

Osnovni dio strukture svakog od prikazanih derivata je naftotriazolna jezgra, a derivati se međusobno razlikuju prema supstituentima na 1,2,3-triazolnom prstenu. Kao što je već i prije primijećeno kod stilbena, prisutnost nepolarnijeg supstituenta rezultira jačom inhibicijskom aktivnošću.

Daljnjim istraživanjima⁴⁴ sintetizirani su tienobenzo-triazolni spojevi s novim supstituentima (Slika 14) pri čemu je najbolju inhibiciju prema oba enzima pokazao spoj **10** koji u *para*- položaju ima F-benzilni supstituent. Nadalje, analozi **9**, **11** i **12** ističu se kao najučinkovitiji inhibitori BChE, pri čemu je spoj **12** pokazao najintenzivniju inhibiciju među svim novim derivatima. Bitnu ulogu u njihovom inhibicijskom djelovanju ima njihova struktura, od kojih dva spoja u *para*-položaju imaju -OCH₃ skupinu, dok analog **11** ima dodatnu tioletnu jezgru.

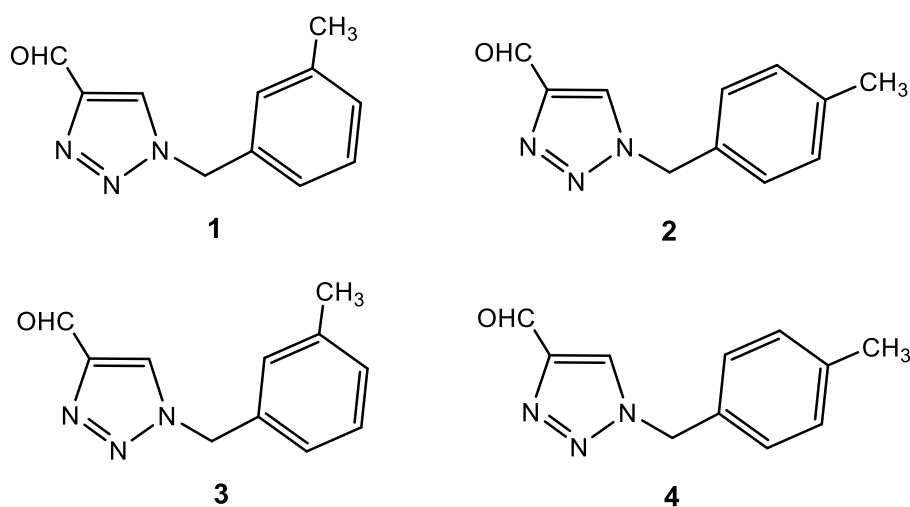


Slika 14. Novi derivati tienobenzo-triazola.

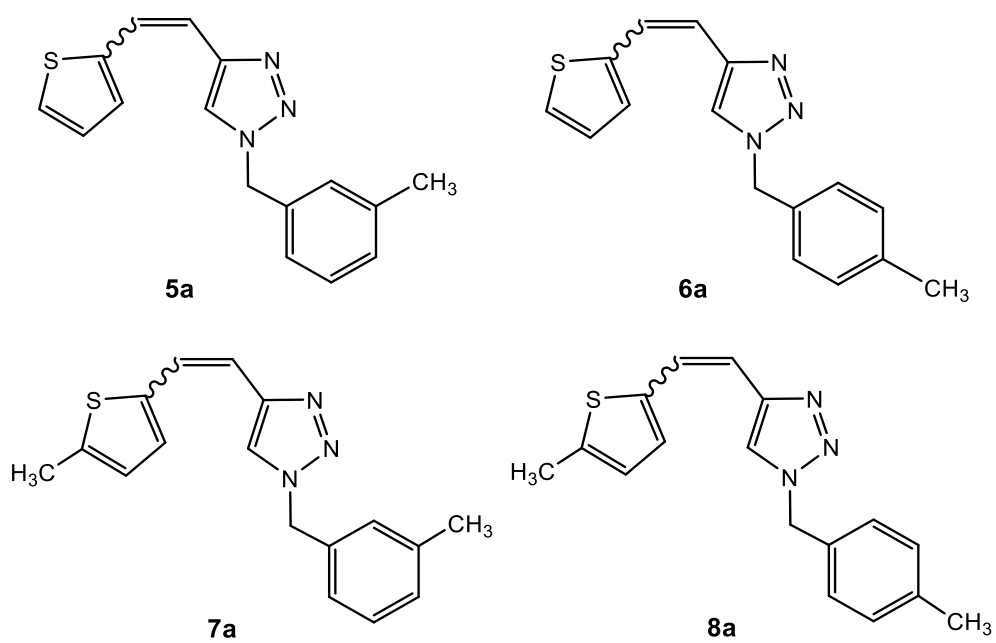
3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Pregled sintetiziranih spojeva 1-10

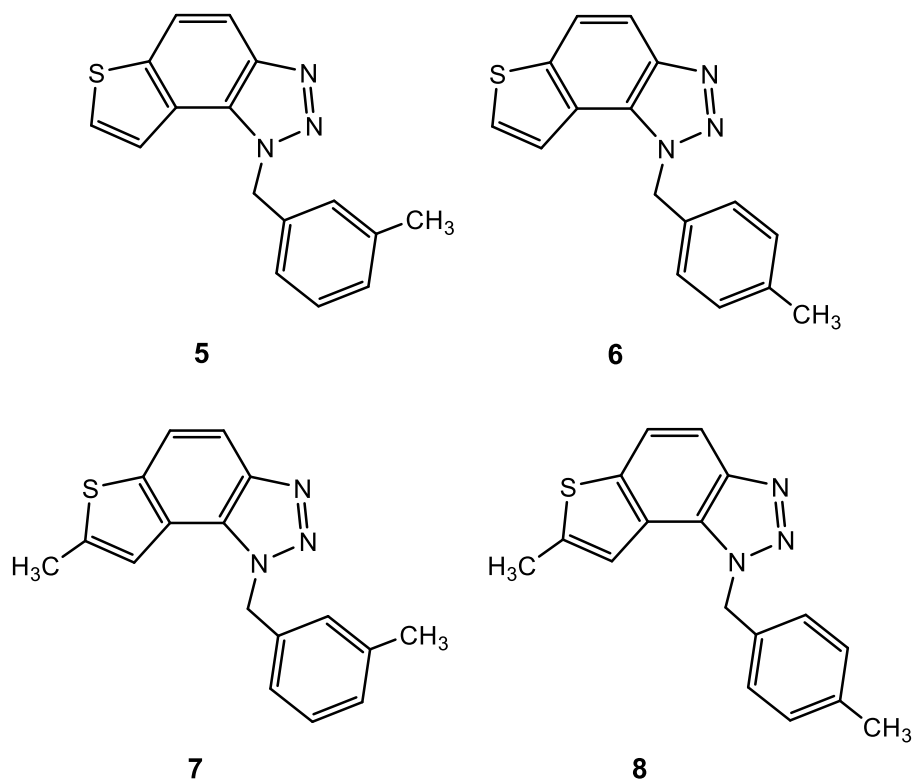
Ovim radom sintetizirani su različiti triazolni derivati u cilju istraživanja njihovih potencijalnih bioloških aktivnosti. Za potrebe dobivanja istih proveden je niz od četiri uzastopne reakcije. Prvu skupinu produkata čine triazolni aldehidi **1-4** (Slika 15) pripremljeni reakcijom 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (prethodno pripremljenog u našem laboratoriju) i odgovarajućeg amina. Dobiveni 1,4-disupstituirani triazoli stupaju u Wittigovu reakciju gdje reagiraju s odgovarajućim fosforovim ilidom koji sadrži (ne)supstituiranu tiofensku jezgru čime se dobivaju triazolni tienostilbeni **5a-8a** (Slika 16). Zbog prisustva nastale dvostruke veze i time i konjugiranog sustava, ovakva vrsta spojeva podložna je reakcijama fotokemijske ciklizacije čime dolazi do zatvaranja benzenskog prstena i sinteze tienobenzo-triazola **5-8** (Slika 17) koji već kao takvi imaju bolju aktivnost od početnih dihetero-stilbena **5a-8a**. Produkti dobiveni fotokemijskom reakcijom nadalje stupaju u reakciju u kojoj kao krajnji produkti nastaju triazolne soli **9** i **10** (Slika 18). Takva reakcija provodi se u odgovarajućem otapalu upotrebom alkil-halogenida. Upravo tako pripremljene soli pokazale su u prethodnim istraživanjima u našem laboratoriju potencijalno dualno inhibicijsko djelovanje prema kolinesterazama, a poznato je da se kod Parkinsonove bolesti i svih stadija AD preferiraju neselektivni inhibitori ChE.



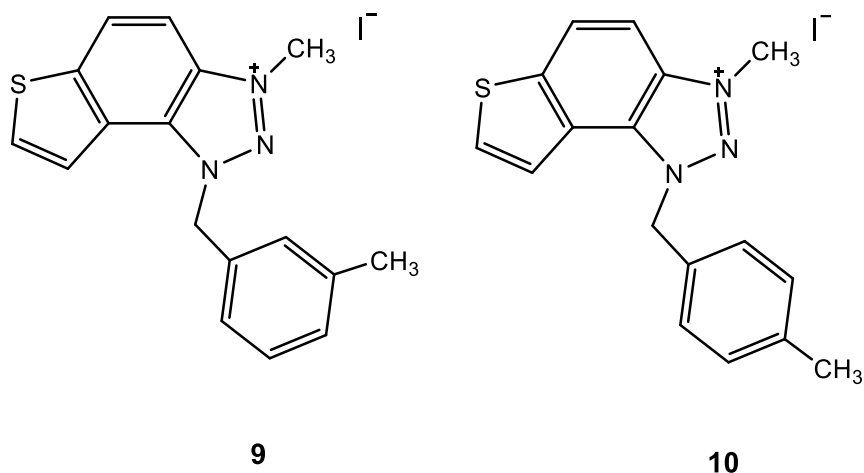
Slika 15. Strukture triazolnih aldehida **1-4** sintetiziranih u ovom radu.



Slika 16. Strukture triazolnih tienostilbena **5a-8a** sintetiziranih u ovom radu.



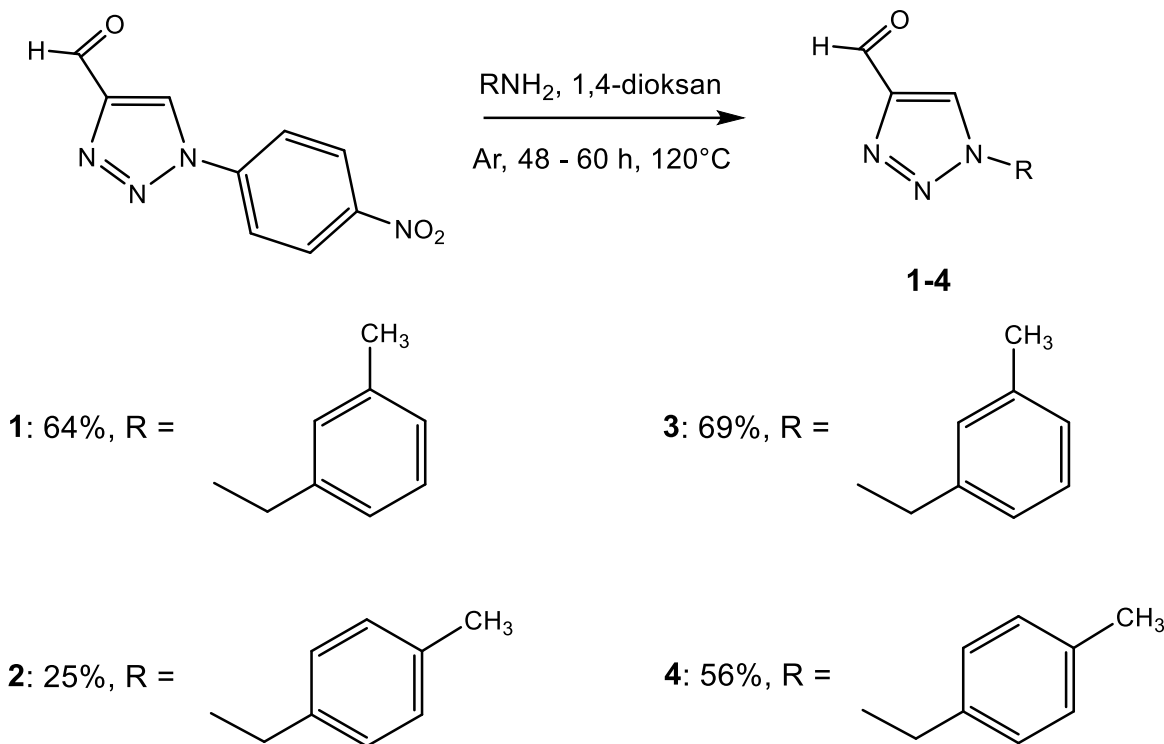
Slika 17. Strukture tienobenzotriazola **5-8** sintetiziranih u ovom radu.



Slika 18. Strukture triazolnih soli **9** i **10** sintetiziranih u ovom radu.

3.1.1. Sinteza triazolnih aldehida 1-4

Triazolni aldehidi **1-4** sintetizirani su reakcijom 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida i odgovarajućeg amina (Shema 9). Dobiveni produkti su triazolni karbaldehidi koji u položaju 4 imaju formilnu skupinu, a u položaju 1 odgovarajući supstituent ovisno o upotrijebljenom aminu. Pripadajući supstituent odgovoran je za različite spektroskopske karakteristike pojedinog aldehida. Nakon provedene sinteze, dobiveni produkti pročišćeni su kolonskom kromatografijom određenim sustavom otapala, gdje je kao nepokretna faza poslužio silika-gel. Isti sustav otapala poslužio je i kod razvijanja pločica tankoslojnom kromatografijom pri praćenju reakcija, a osim samog triazolnog aldehida nastaje i *para*-nitroanilin kao sporedni produkt koji kolonskom kromatografijom eluira prvi.



Shema 9. Sinteza triazolnih aldehida **1-4**.

Triazolni aldehyd **1** sintetiziran je otapanjem 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida u 1,4-dioksanu i dodatkom 3-metilbenzilamina. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM, DCM i DCM /EtOAc. Iskorištenje reakcije iznosi 64%, a u izoliranom uzorku, prema ¹H NMR spektru, nalazi se ciljani aldehyd s malo nečistoća.

Triazolni aldehyd **2** sintetiziran je otapanjem 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida u 1,4-dioksanu i dodatkom 4-metilbenzilamina. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM, DCM i DCM /EtOAc. Iskorištenje reakcije iznosi 25%, a u izoliranom uzorku, prema NMR spektroskopiji, većinski je prisutan ciljani aldehyd i nešto nečistoća.

Triazolni aldehyd **3** sintetiziran je otapanjem 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida u 1,4-dioksanu i dodatkom 3-metilbenzilamina. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM, DCM i DCM /EtOAc. Iskorištenje reakcije iznosi 69%, a u izoliranom uzorku prisutan je ciljani aldehyd i malo nečistoća.

Triazolni aldehid **4** sintetiziran je otapanjem 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida u 1,4-dioksanu i dodatkom 4-metilbenzilamina. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/DCM, DCM i DCM /EtOAc. Iskorištenje reakcije iznosi 56%, a izolirani uzorak sadrži većinski udio ciljanog aldehida i nešto nečistoća.

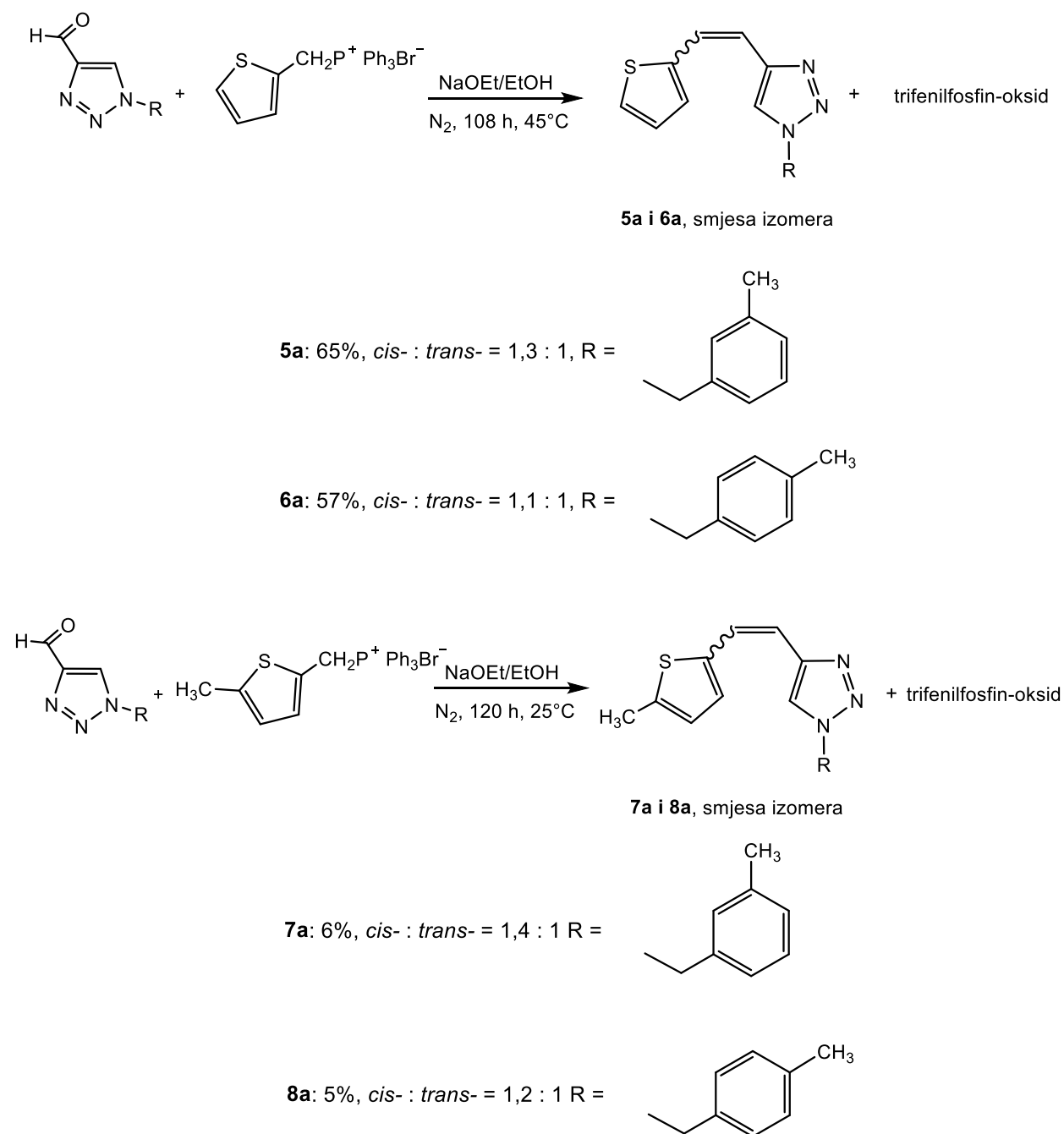


Slika 19. Pročišćavanje triazolnih aldehida kolonskom kromatografijom.

3.1.2. Sinteza triazolnih tienostilbena **5a-8a** Wittigovom reakcijom

Triazolni tienostilbeni **5a-8a** sintetizirani su Wittigovom reakcijom iz 2-tiofenske ili 5-metil-2-tiofenske soli i odgovarajućih prethodno dobivenih triazolnih aldehida **1-4** (Shema 10). Osnovu strukture sintetiziranih stilbena čini 1,2,3-triazolni prsten koji u položaju 1 ima odgovarajući supstituent, a u položaju 4 novonastalu dvostruku vezu ugljik-ugljik povezanu s tiofenskom jezgrom. Obzirom na formiranu dvostruku vezu, dobivaju se smjese *cis*- i *trans*-izomera koji se razlikuju prema spektroskopskim karakteristikama. Kako se izomerna smjesa teško razdvaja zbog prisutnosti velike količine trifenilfosfin-oksida kao neželjenog drugog produkta, u ovom radu izomeri nisu razdvajani, što i nije bilo potrebno jer se u slijednoj reakciji, fotokemijskoj ciklizaciji, kao reaktant može koristiti smjesa izomera.

Nakon provedene sinteze, dobiveni produkti pročišćeni su kolonskom kromatografijom određenim sustavom otapala, gdje je kao nepokretna faza poslužio silika-gel. Isti sustav otapala poslužio je i kod razvijanja pločica tankoslojnom kromatografijom, a osim već spomenute izomerne smjese, uz stilbenske produkte nastaje i trifenilfosfin-oksid kao drugi produkt koji kolonskom kromatografijom eluira nakon produkta.



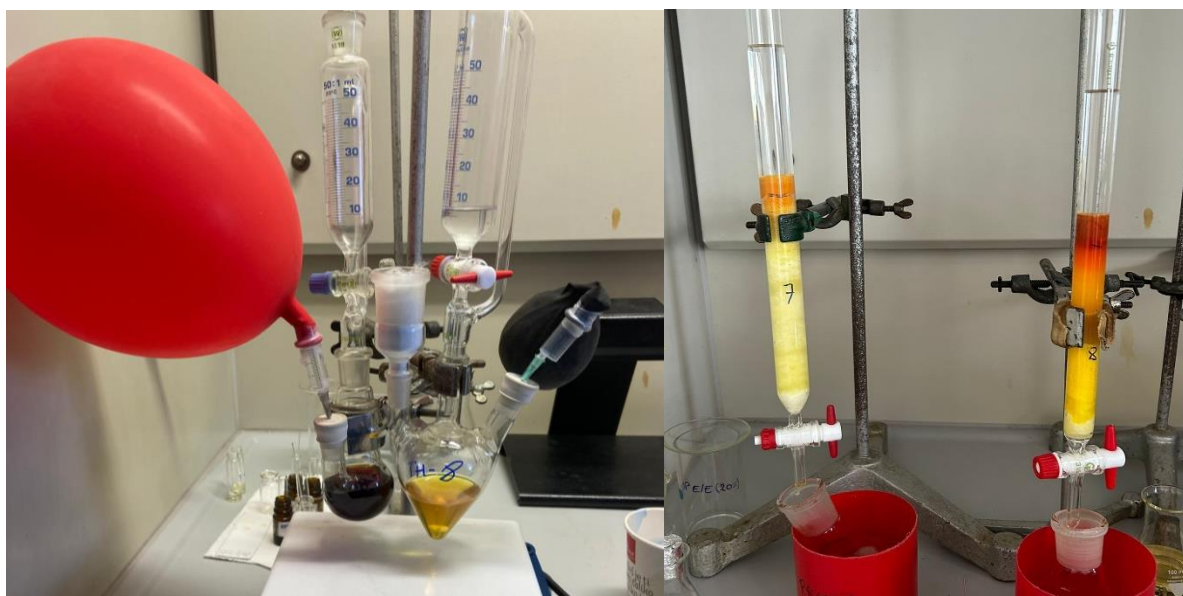
Shema 10. Sinteza triazolnih tienostilbena **5a-8a** Wittigovom reakcijom.

Za sintezu triazolnog tienostilbena **5a** korištena je 2-tiofenska sol i 1-(3-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**1**) uz dodatak natrijevog etoksida kao baze, koji je pripremljen reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola sušenog na sitima. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi 65%, a iz omjera izomera, temeljem ¹H NMR spektra, uviđa se kako je *cis*-izomer prisutan u nešto većoj količini od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1,3 : 1).

Za sintezu triazolnog tienostilbena **6a** korištena je 2-tiofenska sol i 1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**2**) uz dodatak natrijevog etoksida. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi 57%, a iz omjera izomera uviđa se kako je *cis*-izomer prisutan u nešto većoj količini od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1,1 : 1).

Za sintezu triazolnog tienostilbena **7a** korištena je 5-metil-2-tiofenska sol i 1-(3-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**3**) uz dodatak natrijevog etoksida. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi svega 6%, a iz omjera izomera, temeljem ¹H NMR sektra, uviđa se kako je *cis*-izomer prisutan u nešto većoj količini od *trans*-izomera (*cis*- : *trans*- = 1,4 : 1).

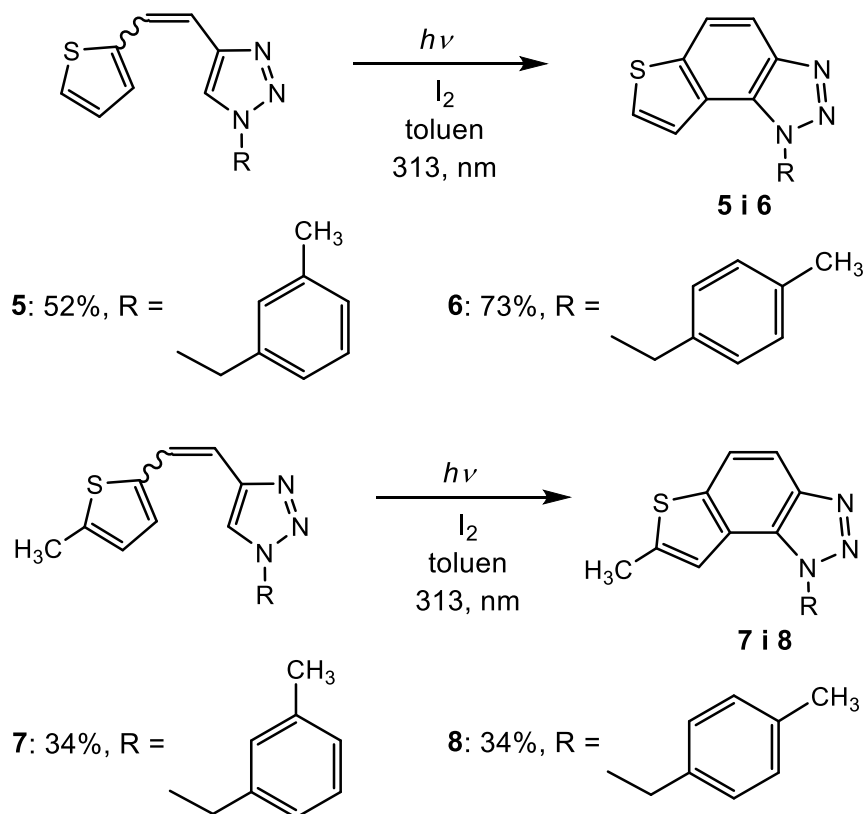
Za sintezu triazolnog tienostilbena **8a** korištena je 5-metil-2-tiofenska sol i 1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (**4**) uz dodatak natrijevog etoksida koji je pripremljen reakcijom elementarnog natrija i apsolutnog etanola. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi samo 5%, a iz omjera izomera uviđa se kako *cis*-izomer malo prevladava nad *trans*-izomerom (*cis*- : *trans*- = 1,2 : 1).



Slika 20. Odvijanje Wittigove reakcije i pročišćavanje dobivenog produkta.

3.1.3. Fotokemijska sinteza tienbenzo-triazola 5-8

Tienbenzo-triazoli **5-8** sintetizirani su reakcijom fotokemijske ciklizacije iz odgovarajućih triazolnih tienostilbena **5a-8a** (Shema 11). Određena količina triazolnog tienostilbena otopljena je u toluenu, nakon čega se tako pripremljena reakcijska smjesa prebacila u kivetu od kvarca koja propušta svjetlost. Smjesi se zatim dodala mala količina joda koja služi kao oksidacijsko sredstvo. Pripremljene kivete stavljene su u fotokemijski reaktor Rayonet gdje su osvjetljavane lampama valne duljine od 313 nm nekoliko sati ovisno o izreagiranoj reaktantu što se pratilo tankoslojnom kromatografijom korištenjem sustava PE/E. Nakon provedene sinteze, dobiveni produkti pročišćeni su kolonskom kromatografijom određenim sustavom otapala, gdje je kao nepokretna faza korišten silika-gel.



Shema 11. Fotokemijska sinteza tienobenzo-triazola **5-8**.

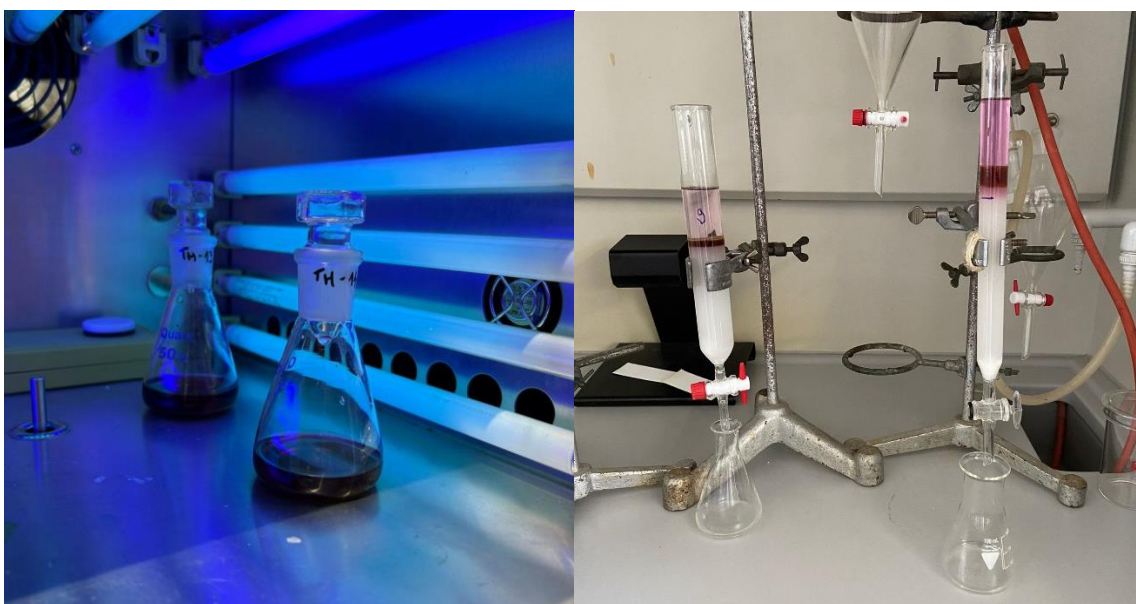
Tienobenzo-triazol **5** sintetiziran je otapanjem 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (**5a**) u toluenu, nakon čega se reakcijskoj smjesi dodao jod, te je otopina izložena osvjetljavanju u trajanju od 3 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi 52%, a u izoliranom uzorku, temeljem ¹H NMR analize, prisutan je čisti fotokemijski produkt.

Tienobenzo-triazol **6** sintetiziran je otapanjem 1-(4-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (**6a**) u toluenu, nakon čega se reakcijskoj smjesi dodao jod, te je otopina izložena osvjetljavanju u trajanju od 3 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi 52%, a izolirani uzorak predstavlja čisti ciljani fotokemijski produkt.

Tienobenzo-triazol **7** sintetiziran je otapanjem 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(5-

metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (**7a**) u toluenu, nakon čega se reakcijskoj smjesi dodao jod, te je otopina izložena osvjetljavanju u trajanju od 4 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi 34%, a u izoliranom uzorku, temeljem ¹H NMR spektra, prisutan je čisti fotokemijski produkt.

Tienbenzo-triazol **8** sintetiziran je otapanjem 1-(4-metilbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (**8a**) u toluenu, nakon čega se reakcijskoj smjesi dodao jod, te je otopina izložena osvjetljavanju u trajanju od 4 sata. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom. Produkt reakcije pročišćen je kolonskom kromatografijom sa sustavom otapala PE/E. Iskorištenje reakcije iznosi 34%, a izolirani uzorak predstavlja čisti ciljani fotokemijski produkt.

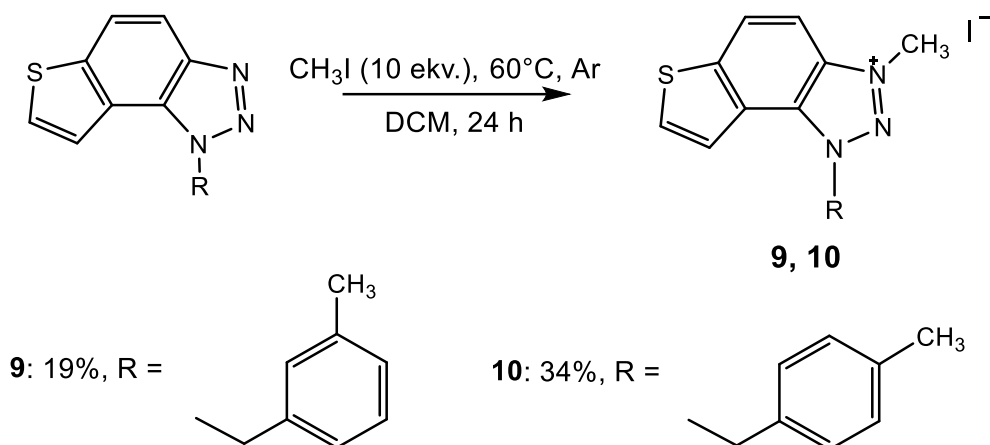


Slika 21. Fotokemijska reakcija i pročišćavanje produkta kolonskom kromatografijom.

3.1.4. Sinteza triazolnih soli **9** i **10**

Triazolne soli **9** i **10** sintetizirane su reakcijom tienbenzo-triazola **5** i **6** otopljenih u diklormetanu uz dodatak sredstva za alkiliranje, u našem slučaju metiljodida (Shema 12). Nakon završetka reakcije smjesa je ohlađena, dodan je dietiler i proveden je postupak centrifugiranja pri čemu je triazolna sol istaložila na dnu

epruvete.



Shema 12. Sinteza triazolnih soli **9** i **10**.

Triazolna sol **9** sintetizirana je otapanjem 1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazola (**5**) u diklormetanu, nakon čega se reakcijskoj smjesi dodao metil-jodid u suvišku. Produkt reakcije ohlađen je na 0°C nakon čega je proveden postupak centrifugiranja uz eter kao otapalo. Iskorištenje reakcije iznosi 19%, a izolirani uzorak sadrži čisti produkt, temeljem ¹H NMR analize.

Triazolna sol **10** sintetizirana je otapanjem 1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazola (**6**) u diklormetanu, nakon čega se reakcijskoj smjesi dodao metil-jodid u suvišku. Produkt reakcije ohlađen je na 0°C nakon čega je proveden postupak centrifugiranja uz eter kao otapalo. Iskorištenje reakcije iznosi 34%, a izolirani uzorak sadrži veliku količinu neizreagiranog reaktanta, odnosno odgovarajućeg tienobenzo-triazola, te je postupak sinteze ponovljen, kako bi se dobilo više iskorištenje na ciljanom produktu.

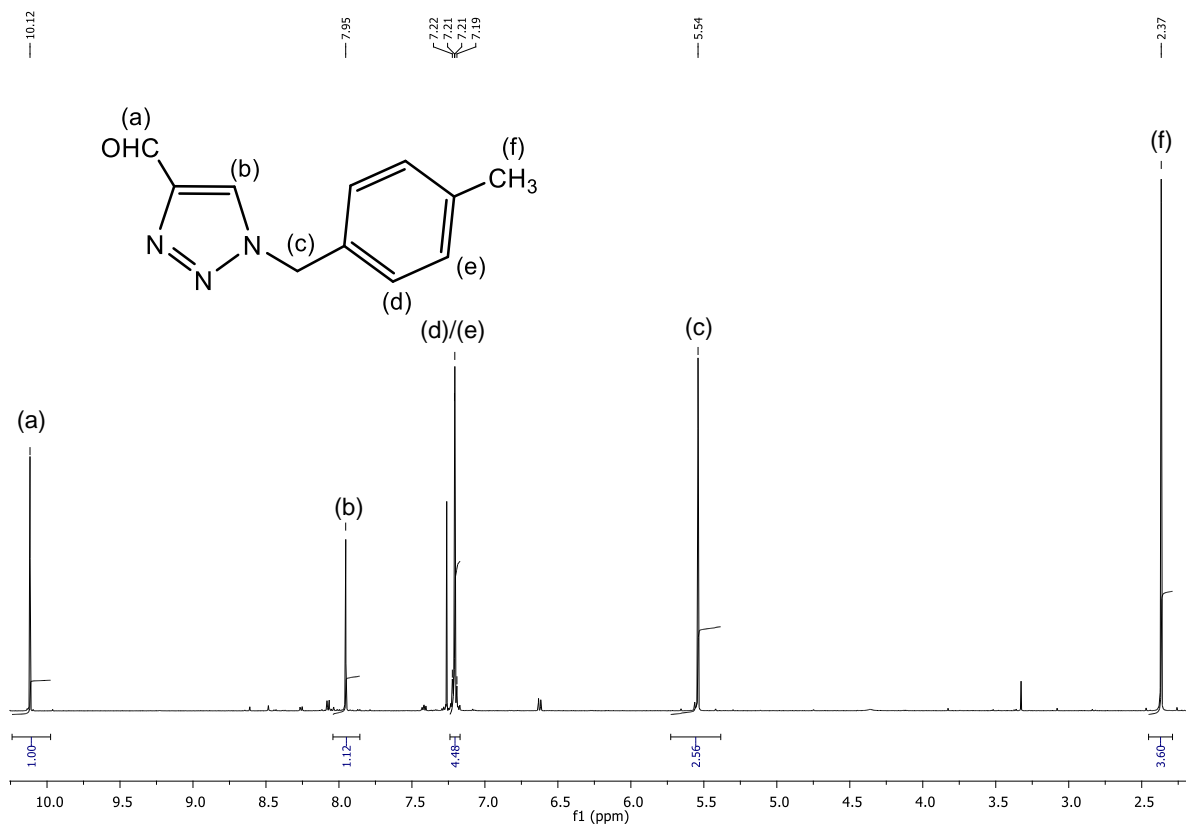
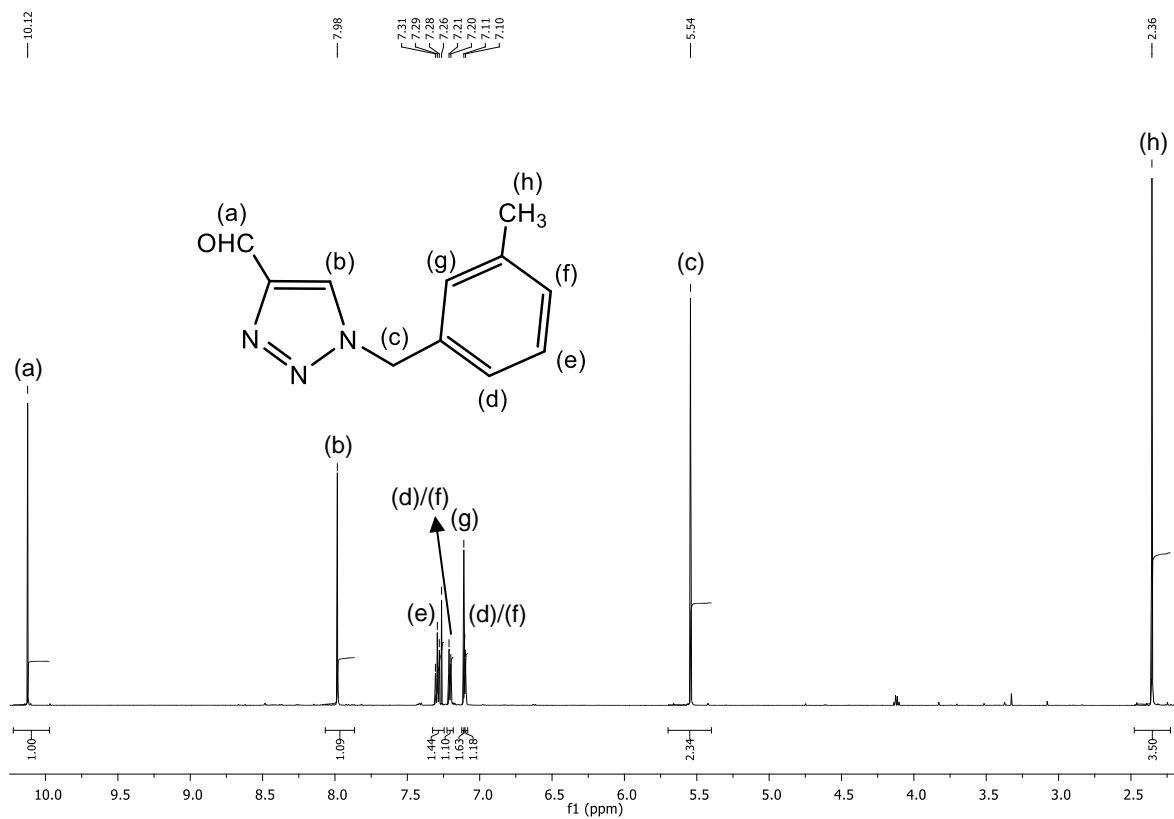
3.2. Spektroskopska karakterizacija sintetiziranih derivata

Sintetizirani derivati dobiveni su u dovoljnim količinama za analizu spektroskopskih karakteristika nuklearnom magnetskom rezonancijom (NMR). Integral površine signala u protonskom, ^1H , spektru proporcionalan je broju protona što daje vrlo važnu informaciju pri određivanju strukture spoja, dok ^{13}C spektri daju oštre i točne pikove jezgara, bez integriranja. Za razliku od ^1H NMR koja detektira vodikove jezgre, ^{13}C NMR specifično cilja jezgre ugljika unutar molekule. Oba spektra daju karakteristične kemijske pomake na temelju kemijskog okruženja pojedinog protona, odnosno ugljika, ovisno o susjednom atomu i funkcijskoj skupini. Protonski spektri snimljeni su za sve dobivene derivate, dok ^{13}C spektri samo za čiste fotoprodukte i triazolne soli. Spomenuti spektri snimaju se u otapalima bez vodika ili u otapalima gdje je vodik u obliku koji se ne registrira, pri čemu je u ovom radu korišten deuterirani kloroform (CDCl_3), a kao standard tetrametilsilan (TMS).

3.2.1. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih aldehida 1-4

Za triazolni aldehyd **1** snimljen je ^1H NMR spektar u kojemu je vidljivo osam signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10,12 ppm signal je za formilni proton što je dokaz da je dobiveni spoj aldehyd, jer se upravo taj signal očekuje u području od 9,5 do 12 ppm. Nadalje imamo 5 signala u području aromata, općenito u rasponu od 6 do 9 ppm. Singlet na 7,98 ppm pripada protonu triazolnog prstena vezanog dvostrukom vezom za susjedni ugljik na kojem se nalazi formilna skupina. Očekivano područje dvostruke veze je u rasponu od 4 do 7 ppm, no zbog utjecaja elektronegativnosti dušikova atoma (induktivni efekt) ovaj signal je pomaknut. Preostala četiri signala pripadaju signalima karakterističnim za *meta*-supstituirani aromatski prsten. To su dublet-dupleta s konstantom sprege od 7,7 i 9,5 Hz na 7,29 ppm, dublet s konstantom sprege od 7,6 Hz na 7,21 ppm, singlet na 7,11 ppm te dublet s konstantom sprege od 7,3 Hz na 7,10 ppm. Nadalje imamo singlet na 5,54 ppm što je signal za metilenske protone koji su vezani za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1, čiji signal se inače, bez prisutnosti induktivnog efekta, očekuje u rasponu 1 – 2 ppm. Naposljetku, singlet na 2,36 ppm, signal je koji karakterizira metilne protone koji se nalaze u strukturi vezanog supstituenta, a koji su pomaknuti na više vrijednosti kemijskih pomaka zbog direktnog vezanja na benzenski prsten.

Za triazolni aldehyd **2** snimljen je ^1H NMR spektar u kojemu je vidljivo šest signala za šest različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10,12 ppm signal je za formilni proton što potvrđuje da je dobiveni produkt aldehyd. U području aromata imamo dva signala, singlet na 7,95 ppm koji odgovara protonu dvostrukve veze ugljik-ugljik triazolnog prstena i karakterističan AB quartet s konstantom sprege 8,9 Hz na 7,21 ppm što odgovara signalima *para*-supstituiranog aromatskog prstena. Najniži kemijski pomaci odgovaraju singletima, jedan na 5,54 ppm što je signal za metilenske protone vezane za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1 i drugi koji odgovara metilnim protonima supstituenta na 2,36 ppm.



Slika 22. ^1H NMR spektri 1-(3-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (1) i 1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (2).

Za triazolni aldehid **3** snimljen je ^1H NMR spektar u kojemu je vidljivo osam signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10,13 ppm signal je za formilni proton što je dokaz da je dobiveni spoj aldehid. Nadalje imamo 5 signala u području aromata. Singlet na 7,98 ppm koji odgovara protonu dvostruke veze ugljik-ugljik triazolnog prstena i četiri signala koja pripadaju signalima karakterističnim za *meta*-supstituirani aromatski prsten. To su dublet-dubleta s konstantom sprege od 7,8 Hz na 7,29 ppm, dublet s konstantom sprege od 7,8 Hz na 7,21 ppm, singlet na 7,11 ppm te dublet s konstantom sprege 7,0 Hz, na 7,10 ppm. Nadalje se uočavaju singlet na 5,54 ppm što je signal za metilenske protone koji su vezani za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1 i singlet na 2,36 ppm, signal za metilne protone koji se nalaze u strukturi vezanog supstituenta.

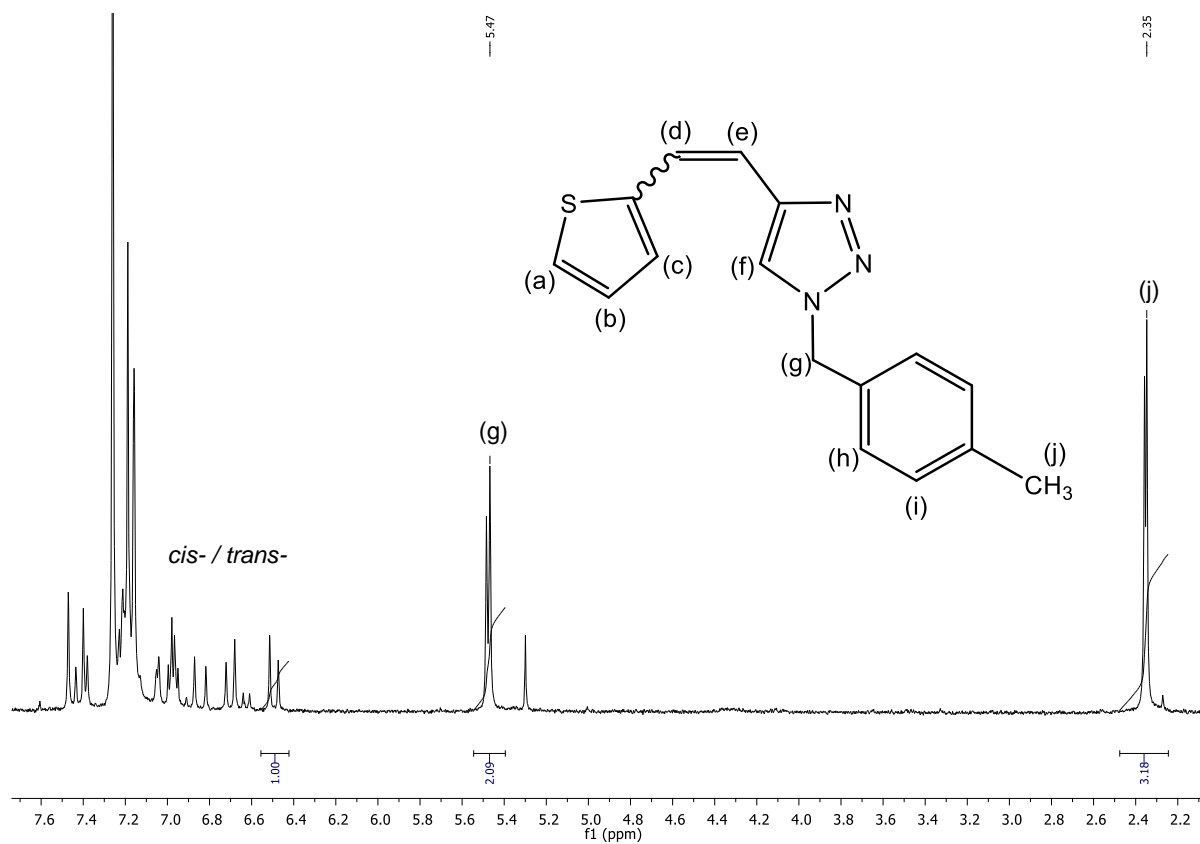
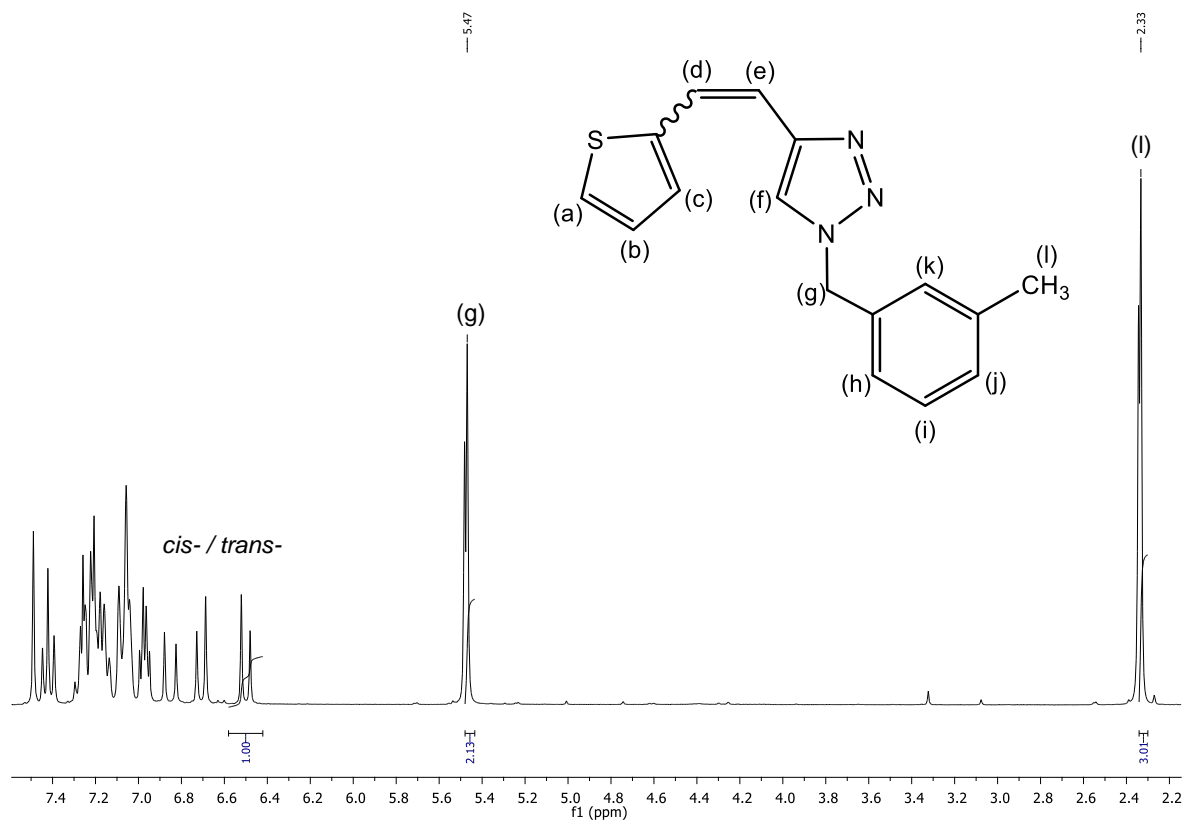
Za triazolni aldehid **4** snimljen je ^1H NMR spektar u kojemu je vidljivo šest signala za šest različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Singlet na 10,12 ppm signal je za formilni proton što potvrđuje da je dobiveni produkt aldehid. U području aromata imamo dva signala, singlet na 7,95 ppm koji odgovara protonu dvostruke veze ugljik-ugljik triazolnog prstena i karakterističan AB quartet s konstantom sprege 8,9 Hz na 7,21 ppm što odgovara signalima *para*-supstituiranog aromatskog prstena. Najmanji kemijski pomaci odgovaraju singletima, jedan na 5,54 ppm što je signal za metilenske protone vezane za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1 i drugi koji odgovara metilnim protonima supstituenta na 2,37 ppm.

3.2.2. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih tienostilbena 5a-8a

Kod produkata **5a-8a** dobivenih Wittigovom reakcijom ^1H NMR spektroskopija poslužila je za određivanje omjera *cis*- i *trans*-izomera u dobivenoj smjesi produkata. Zbog složenosti signala i djelomičnog preklapanja istih, signale nije bilo potrebno detaljno analizirati. Općenito *cis*-izomer ima konstantu sprege od 12 Hz između protona dvostruke veze, dok *trans*-izomer u rasponu od 15 do 16 Hz. Dobivenim spektrima utvrdili smo da su kod svih sintetiziranih triazolnih tienostilbena **5a-8a** prisutne smjese izomera koje su zatim podvrgnute reakciji fotokemijske ciklizacije. Dobiveni omjeri *cis*- i *trans*-izomera temeljem ^1H NMR spektara smjesa izomera za svaki od sintetiziranih stilbena prikazani su u tablici 1.

Tablica 1. Dobiveni omjeri *cis*- i *trans*-izomera sintetiziranih triazolnih tienostilbena
5a-8a.

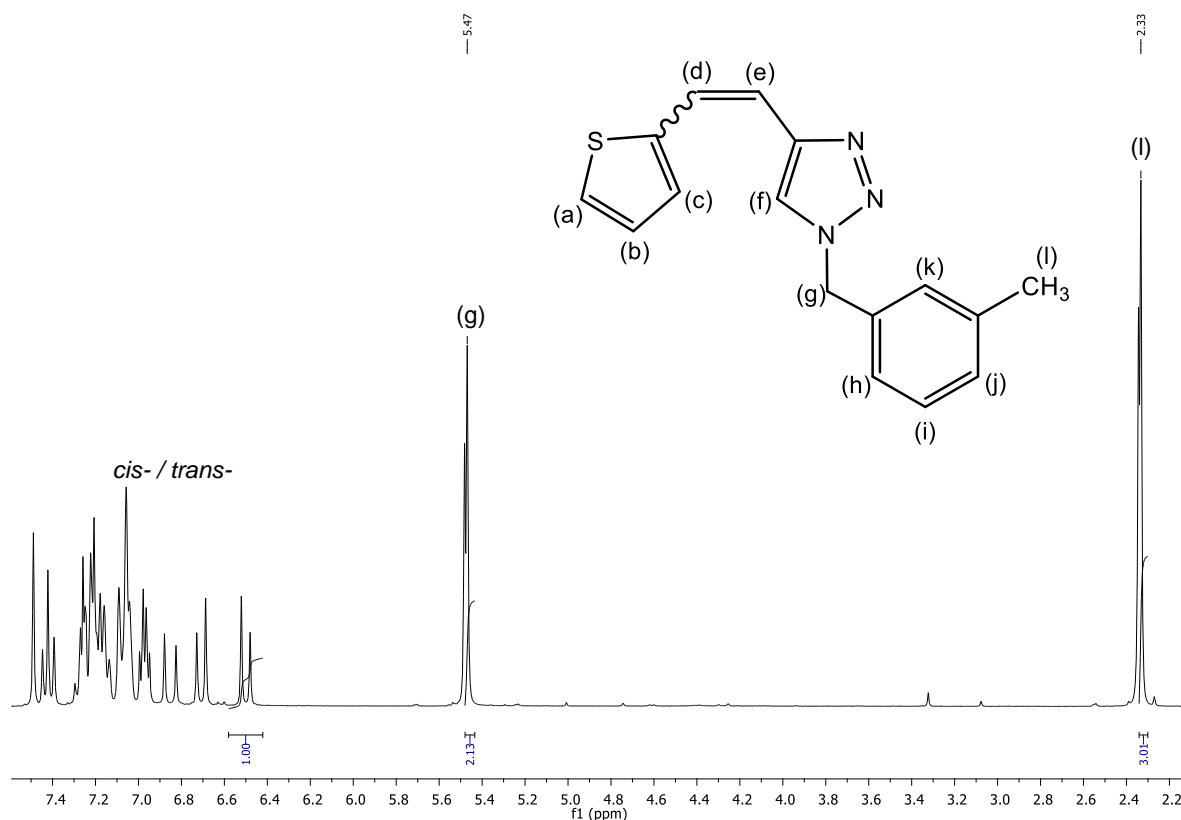
OZNAKA TRIAZOLNIH TIENOSTILBENA	STRUKTURA TRIAZOLNIH TIENOSTILBENA	OMJER <i>cis</i> - : <i>trans</i> -IZOMERA
5a		1,3 : 1
6a		1,1 : 1
7a		1,4 : 1
8a		1,2 : 1

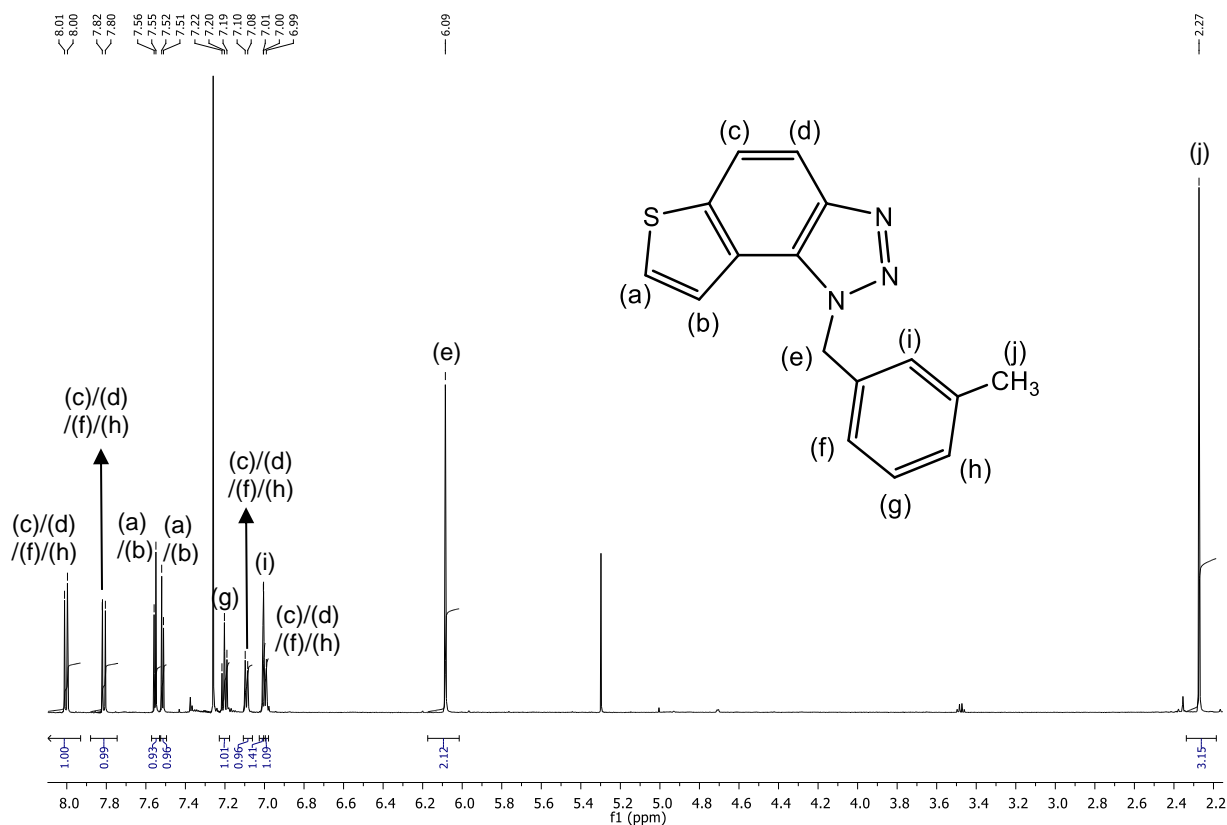


Slika 23. ^1H NMR spektri smjese izomera 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazola (**5a**) i 1-(4-metilbenzil)-4-(2-tiofen-2-il)vinil-1H-1,2,3-triazola (**6a**).

3.2.3. Spektroskopska karakterizacija tienbenzo-triazola 5-8

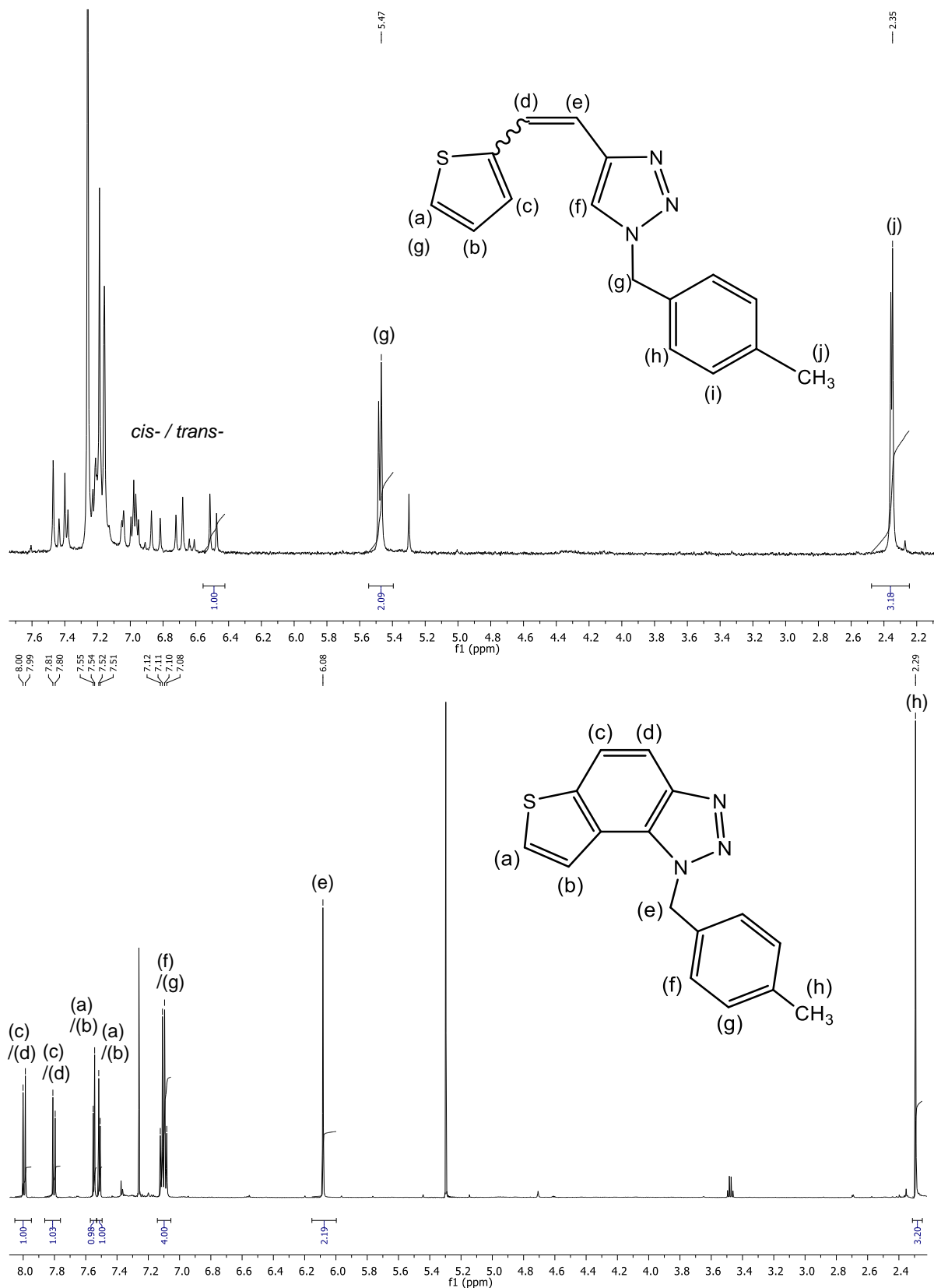
Struktura tienbenzo-triazola **5** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. ^1H NMR spektar pokazuje deset karakterističnih signala za deset različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signali najviših kemijskih pomaka odgovaraju signalima aromatskih protona, a ima ih ukupno osam. Konstante sprege aromatskih protona najčešće se nalaze u rasponu od 6 do 9 Hz, dok su karakteristične konstante tiofenske jezgre u rasponu od 3 – 5 Hz. U signale aromatskih protona spadaju: dva dubleta s konstantama sprege 8,8 Hz na 8,00 i 7,81 ppm, dva dubleta s konstantom sprege 5,7 Hz na 7,55 i 7,52 ppm, dublet-dubleta s konstantom sprege od 7,3 Hz na 7,20 ppm, dublet s konstantom sprege od 7,6 Hz na 7,09 ppm, singlet na 7,01 ppm te dublet s konstantom sprege od 8,4 Hz na 7,00 ppm. Singlet na 6,09 ppm signal je za metilenske protone vezane za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1, dok onaj na 2,27 ppm odgovara metilnim protonima benzenskog prstena odgovarajućeg supstituenta. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je šesnaest signala za šesnaest ugljikovih atoma koji imaju različitu kemijsku okolinu od kojih je šest kvaternih. Svi kvaterni ugljici nalaze se pri većim kemijskim pomacima u nezasjenjenom dijelu spektra. Signali u području 150-110 ppm odgovaraju aromatskim ugljicima, dok oni nešto manjeg kemijskog pomaka, 60-20 ppm, odgovaraju metilnim i metilenskim ugljicima.



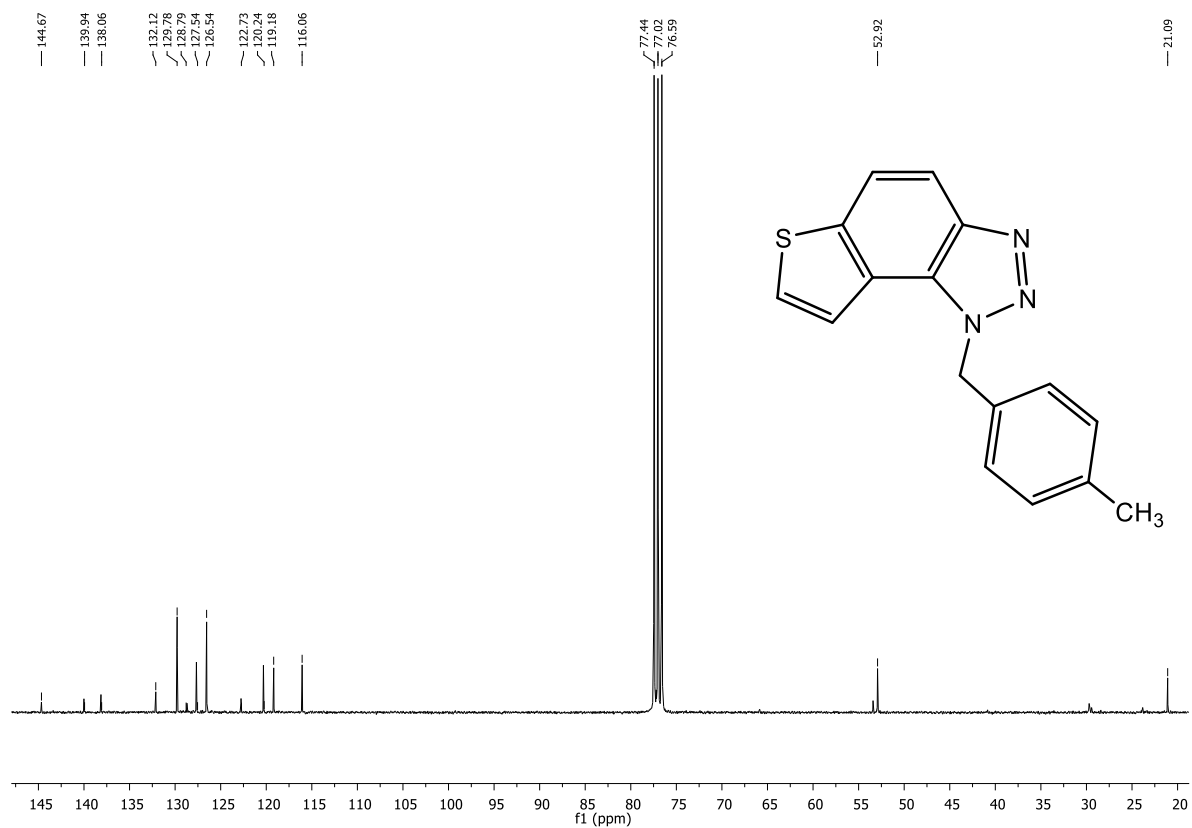


Slika 24. ¹H NMR spektri početnog produkta 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**5a**) i fotoprodukta 1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno3[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**5**).

Struktura tienobenzo-triazola **6** potvrđena je ¹H i ¹³C NMR spektroskopijom. ¹H NMR spektar pokazuje osam karakterističnih signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signali najviših kemijskih pomaka odgovaraju signalima aromatskih protona, a ima ih ukupno šest. Tu spadaju dva dubleta s konstantama sprege 8,8 Hz na 7,99 i 7,80 ppm, dva dubleta s konstantom sprege 5,6 Hz na 7,55 i 7,51 ppm, te karakterističan AB quartet konstante sprege 8,1 Hz na 7,10 ppm karakterističan za *para*-supstituent. Dva signala najnižih kemijskih pomaka su singleti. Jedan na 6,08 ppm je signal za metilenske protone vezane za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1 i drugi koji odgovara metilnim protonima supstituenta na 2,29 ppm. U ¹³C spektru vidljivo je četrnaest signala za četrnaest ugljikovih atoma koji imaju različitu kemijsku okolinu. Od ukupnog broja ugljika, šest ih je kvaternih i nalaze se u pravilu pri višim kemijskim pomacima od 150 – 110 ppm, dok oni nižeg kemijskog pomaka, 60-20 ppm, odgovaraju metilnim i metilenskim skupinama.

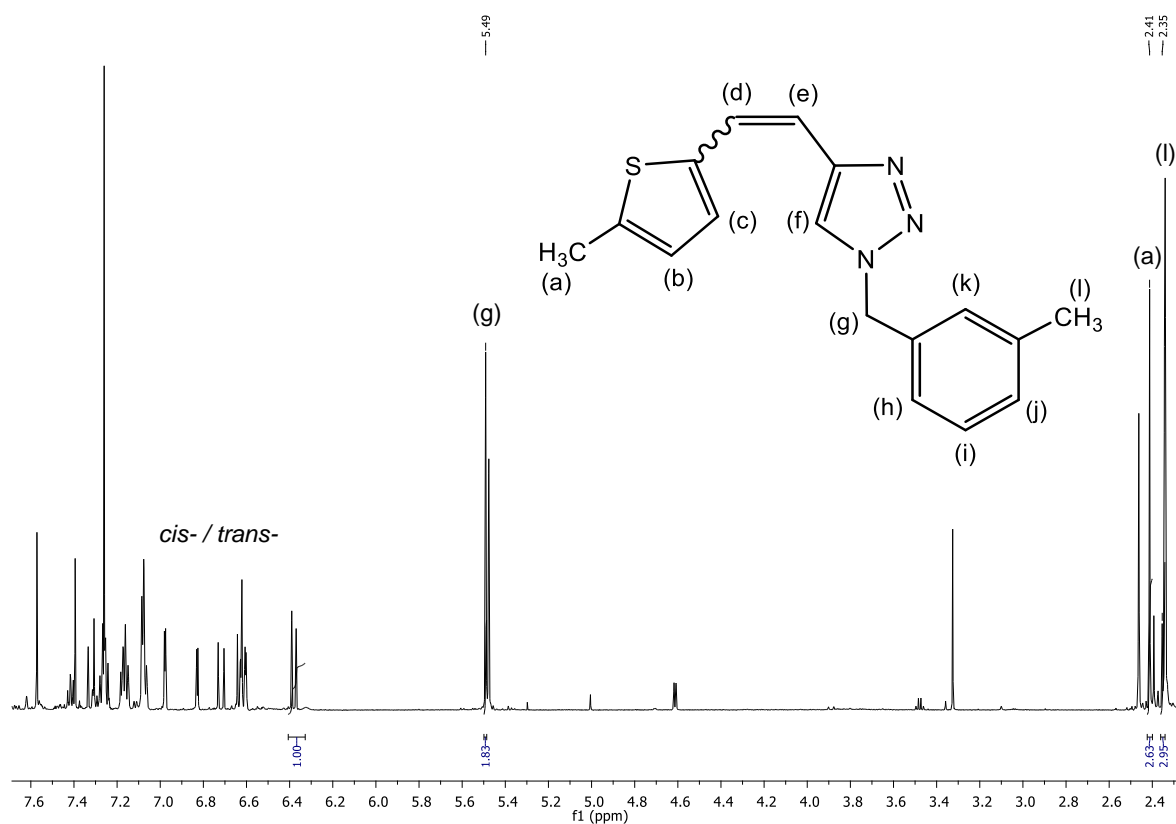


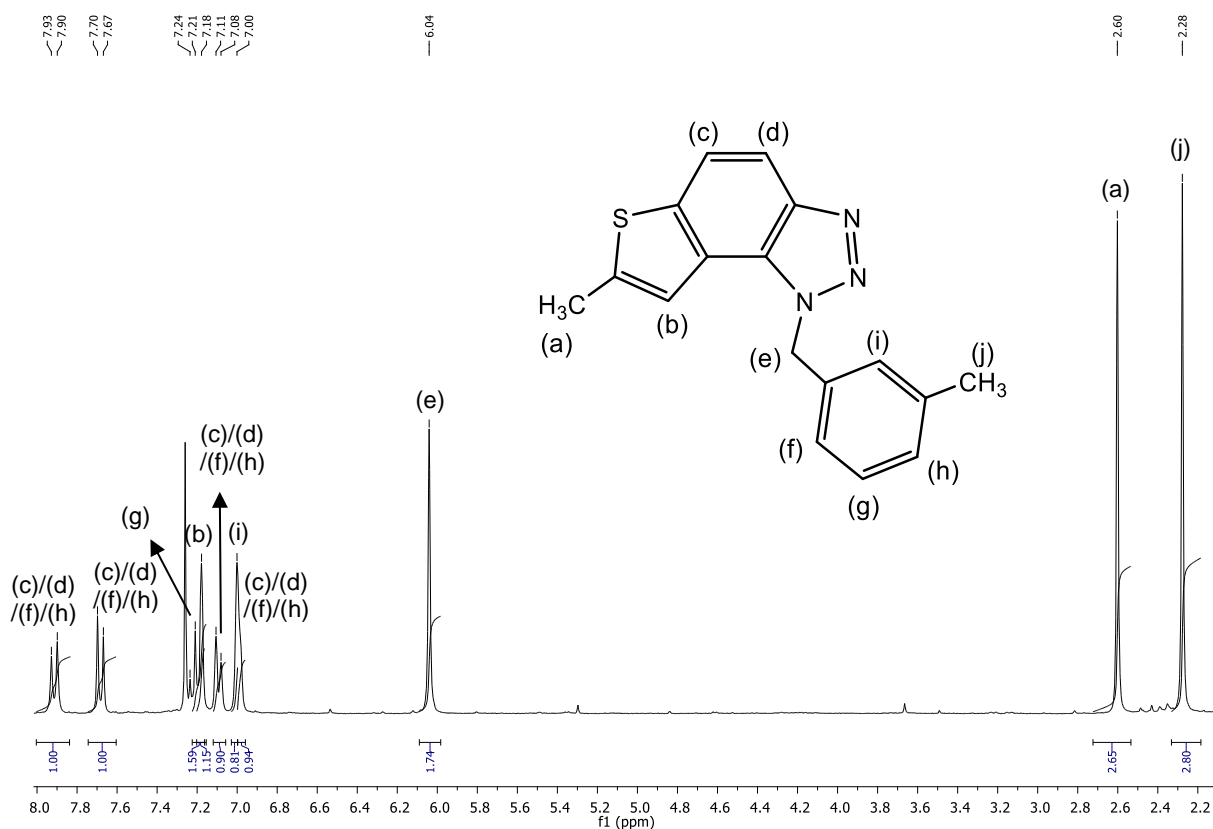
Slika 25. ¹H NMR spektri početnog produkta 1-(4-metilbenzil)-4-(2-tiofen-2-il)vinil-1H-1,2,3-triazol (**6a**) i fotoproducta 1-(4-metilbenzil)-1H-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-d][1,2,3]triazol (**6**).



Slika 26. ^{13}C NMR spektar fotoproducta 1-(4-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (6).

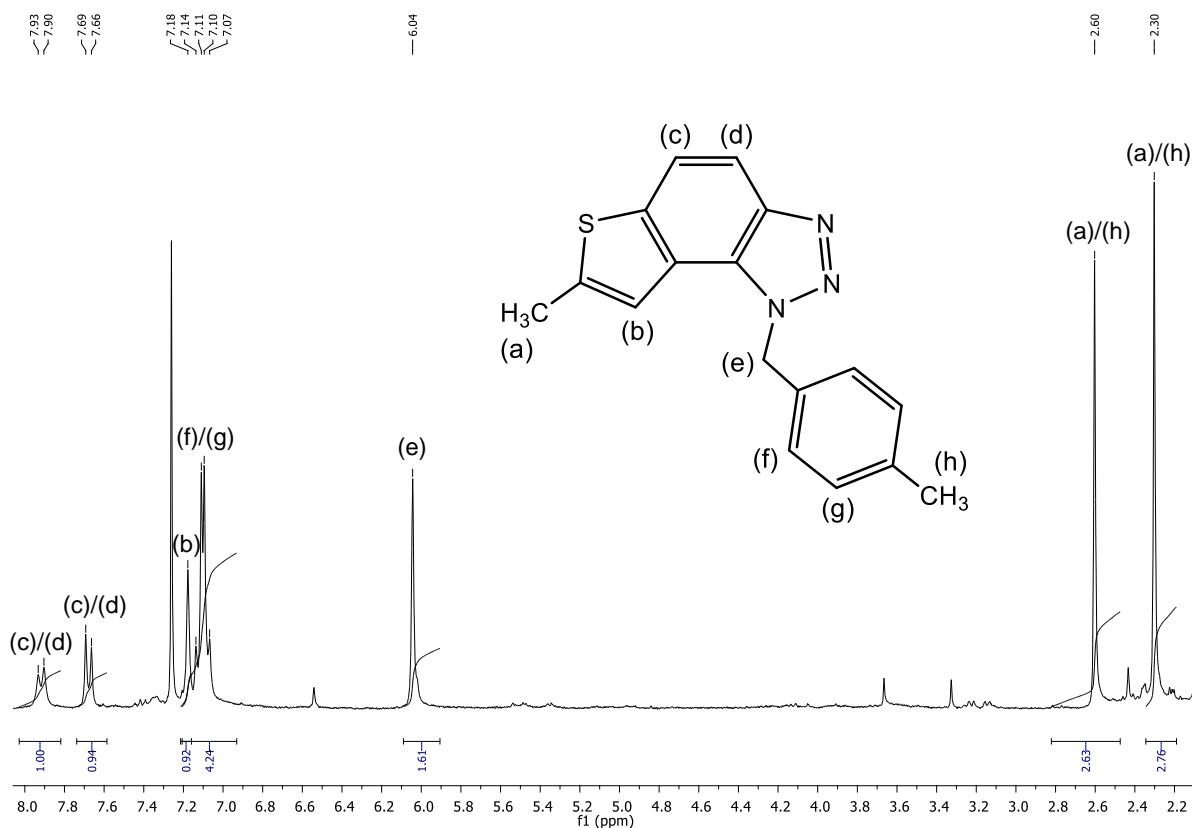
Struktura tienobenzotriazola **7** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. ^1H NMR spektar pokazuje deset karakterističnih signala za deset različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signali najviših kemijskih pomaka odgovaraju signalima aromatskih protona, a ima ih ukupno sedam. Tu spadaju dva dubleta s konstantama sprege 7,9 i 9,0 Hz na 7,91 i 7,68 ppm, dublet-dubleta s konstantom sprege 7,6 Hz na 7,22 ppm, singlet na 7,18 ppm što odgovara singletu tioletnske jezgre, dublet s konstantom sprege od 8,0 Hz na 7,09 ppm, singlet na 7,00 ppm te dublet s konstantom sprege od 5,4 Hz na 6,99 ppm. Preostaju još tri signala protona na zasićenim ugljikovim atomima. Singlet na 6,04 ppm pripada metilenskim protonima, singlet na 2,60 ppm metilnim protonima vezanim na tioletnsku jezgru, čiji signal se očekuje u području 1 – 2 ppm i singlet na 2,28 ppm koji pripada signalu metilnih protona. U ^{13}C spektru vidljivo je sedamnaest signala za sedamnaest ugljikovih atoma koji imaju različitu kemijsku okolinu. Od ukupnog broja ugljika, sedam ih je kvaternih i nalaze se pri višim kemijskim pomacima od 150 – 110 ppm, dok oni nešto manjeg kemijskog pomaka, 60-10 ppm, odgovaraju metilnim i metilenskim skupinama.





Slika 27. ^1H NMR spektri početnog produkta 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (**7a**) i fotoprodukta 7-metil-1-(3-metilbenzil)-1H-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-d][1,2,3]triazol (**7**).

Struktura tienobenzo-triazola **8** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. ^1H NMR spektar pokazuje osam karakterističnih signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signali najviših kemijskih pomaka odgovaraju signalima aromatskih protona, a ima ih ukupno šest. Tu spadaju dva dubleta s konstantama sprege 9,2 i 8,5 Hz na 7,92 i 7,67 ppm, singlet na 7,18 koji odgovara signalu protona tiofenske jezgre, karakterističan AB quartet protona *para*-supstituiranog aromatskog prstena s konstante sprege od 8,2 Hz na 7,10 ppm. Nadalje, tri signala najnižih kemijskih pomaka odgovaraju singletima. Jedan na 6,04 ppm je signal metilenskih protona vezanih na dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1, te dva u nešto nižem području, na 2,60 i 2,30 ppm. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je petnaest signala za petnaest ugljikovih atoma koji imaju različitu kemijsku okolinu. Od ukupnog broja ugljika, sedam ih je kvaternih i nalaze se u rasponu od 150 – 110 ppm, dok oni nešto nižeg kemijskog pomaka, 60-10 ppm, odgovaraju metilnim i metilenskim ugljicima.

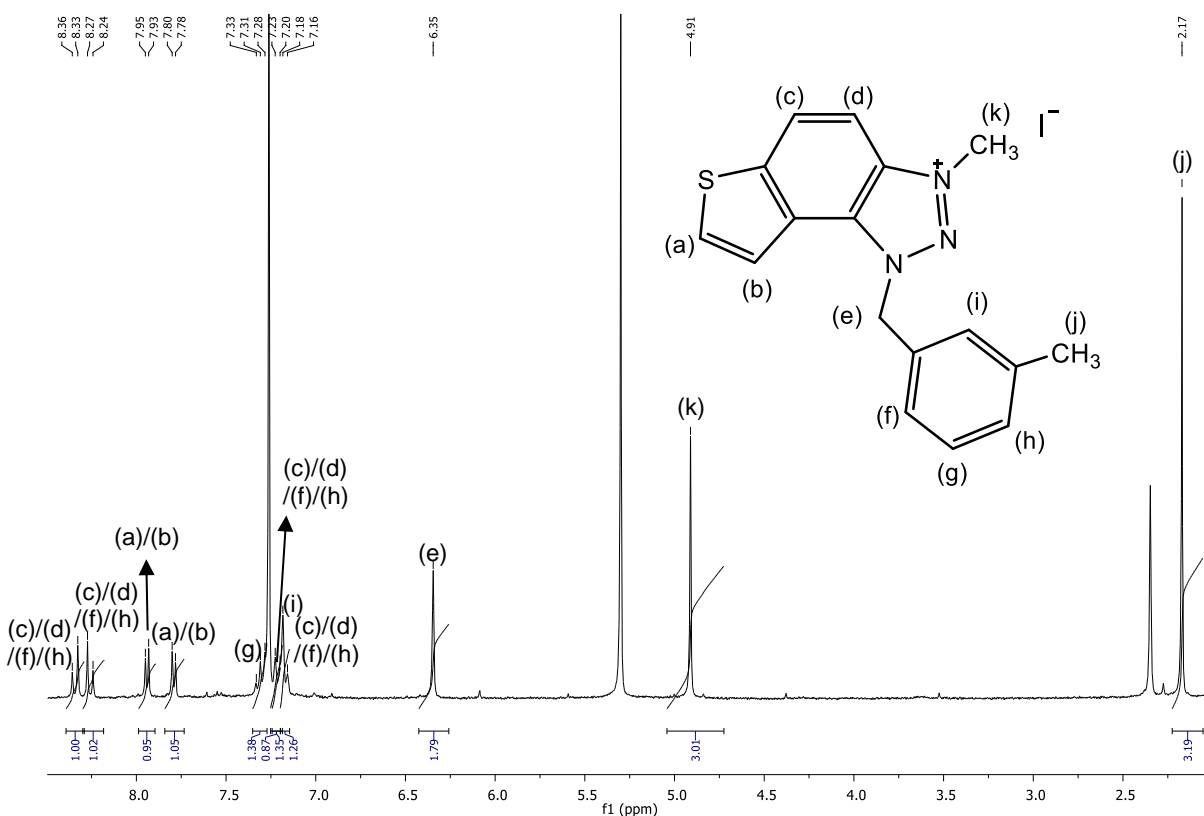
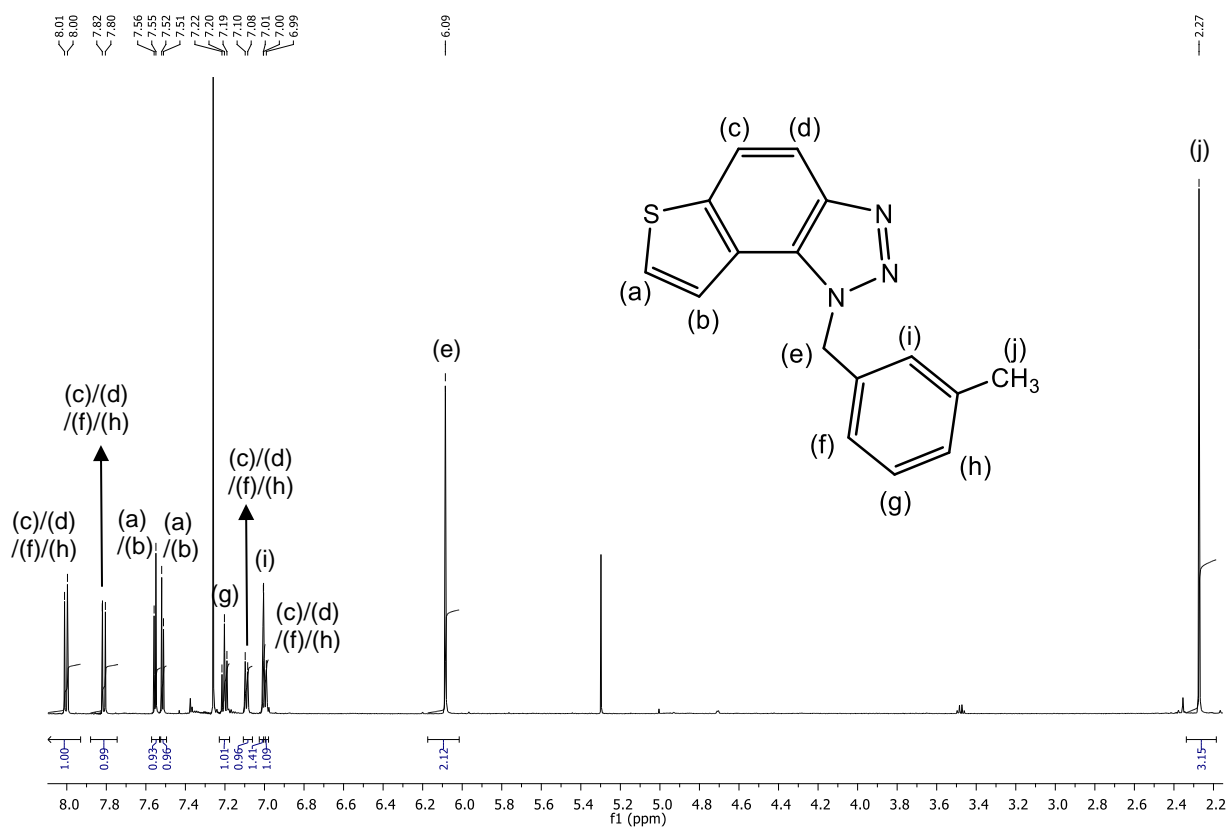


Slika 28. ^1H NMR spektar fotoproducta 7-metil-1-(4-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazola (**8**).

3.2.4. NMR spektroskopija sintetiziranih triazolnih soli **9** i **10**

Struktura triazolne soli **9** potvrđena je ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom. ^1H NMR spektar pokazuje jedanaest karakterističnih signala za jedanaest različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signali najviših kemijskih pomaka odgovaraju signalima aromata, a ima ih ukupno osam. Tu spadaju: dva dubleta s konstantama sprege 9,0 i 9,1 Hz na 8,34 i 8,25 ppm, dva dubleta s konstantom sprege 5,6 Hz na 7,94 i 7,78 ppm, dublet-dubleta s konstantom sprege 7,6 Hz na 7,31 ppm, dublet s konstantom sprege 7,6 Hz na 7,22 ppm, singlet na 7,18 ppm te dublet s konstantom sprege od 8,0 Hz na 7,17 ppm. Slijedno tome, na 6,34 ppm nalazi se singlet koji odgovara metilnoj skupini vezanoj za dušik triazolnog prstena na položaju 3, čiji signal se očekuje u području 4 – 5 ppm. Ovaj signal općenito se nalazi u nešto nižem području, no zbog direktnog vezanja na elektronegativniji dušikov atom, signal

poprima veće vrijednosti kemijskog pomaka. Singlet na 4,92 ppm pripada metilenskoj, a onaj na 2,35 ppm metilnoj skupini ove soli. U ^{13}C NMR spektru vidljivo je sedamnaest signala za sedamnaest ugljikovih atoma koji imaju različitu kemijsku okolinu. Signali pri većim kemijskim pomacima odgovaraju signalima aromatskih ugljikovih atoma u području 135 – 105 ppm, dok oni u području 60 – 20 pripadaju metilnim i metilenskim ugljicima. Neki od signala kvaternih ugljika u spektru nisu vidljivi zbog nedovoljno dobivene mase spoja potrebne za analizu.



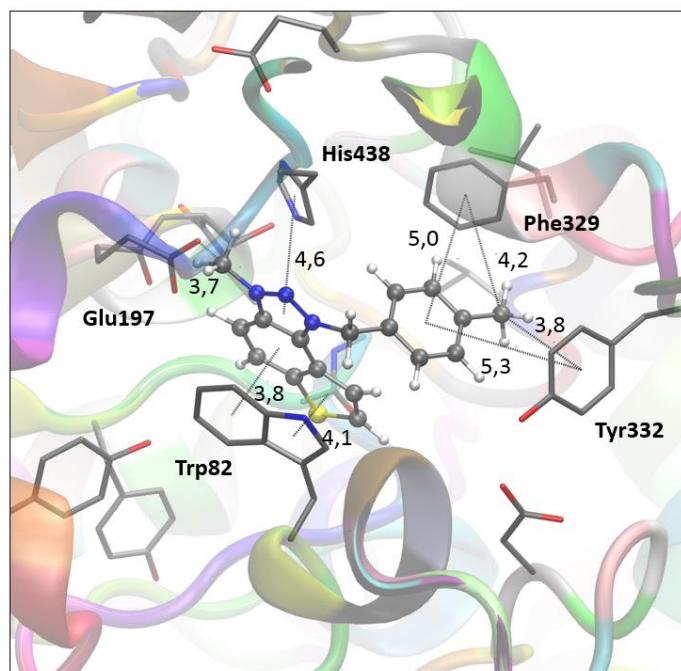
Slika 29. ^1H NMR spektri početnog spoja 1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**5**) i soli 3-metil-1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazolni-iodid (**9**).

Struktura triazolne soli **10** potvrđena je ^1H NMR spektroskopijom. ^1H NMR spektar pokazuje osam karakterističnih signala za osam različitih protona koji su kemijski neekvivalentni. Signal metilne skupine nakon alkiliranja nije detektiran, a čitav spektar je zbog nedovoljno proreagiranog reaktanta sličan spektru spoja **6**. Signali najviših kemijskih pomaka odgovaraju signalima aromata, a ima ih ukupno šest. Tu spadaju: dva dubleta s konstantama sprege 8,9 i 9,1 Hz na 7,99 i 7,80 ppm, dva dubleta s konstantom sprege 5,6 i 5,5 Hz na 7,55 i 7,51 ppm, te karakterističan AB quartet s konstantom sprege 8,4 Hz na 7,10 ppm. Najmanji kemijski pomaci odgovaraju singletima, jedan na 6,08 ppm što je signal za metilenske protone vezane za dušikov atom triazolnog prstena u položaju 1 i drugi koji odgovara metilnim protonima supstituenta na 2,29 ppm.

Svi izolirani čisti spojevi dati su i na snimanje masenih spektara te HRMS analizu, kako bi se potvrdile strukture te njihova čistoća.

3.3 Inhibicija enzima kolinesteraza

Fotoproduktu **6** i njegovoj soli **10** izmjerena je inhibicijska aktivnost prema enzimu butirilkolinesterazi. Na temelju rezultata bioloških mjerenja, spoj **6** pokazuje inhibiciju enzima butirilkolinesteraze s vrijednosti IC_{50} od 24,3 μM dok njegova sol ima vrijednost IC_{50} od 1,83 μM , što je nekoliko puta bolja inhibicijska aktivnost od one koju pokazuje standardni reverzibilni inhibitor galantamin. Iz tog razloga upravo je spoj **10** odabran za molekulske pristajanje (Slika 30). Time se vizualizirala struktura kompleksa liganda (molekula spoja **10**) i aktivnog mjesta enzima BChE, te su identificirane nekovalentne interakcije odgovorne za stabilnost kompleksa, koje utječu na potencijal inhibicije.



Slika 30. Struktura aktivnog mjesta BChE u kompleksu s molekulom spoja **10**.

Molekularno pristajanje spoja **10** u aktivno mjesto BChE rezultiralo je strukturom prikazanom na slici 30. Detektirane su π - π interakcije između Trp i tienobenzenskog dijela molekule, His i triazolnog prstena i između Phe329 kao i Tyr332 i fenilnog prstena. Iste aminokiseline pokazuju alkil- π interakciju s metilnim supstituentom na benzilnom ostatku. Dodatno, Glu197 pokazuje elektrostatsku interakciju s kvaternim dušikom koji je pozitivno nabijen.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Otapala korištena u ovom radu bila su komercijalno dostupna i pročišćena uz pomoć destilacije. Nakon ekstrakcije razdvojeni su organski i vodeni sloj nakon čega se organski sloj sušio iznad bezvodnog magnezijevog sulfata. Tankoslojna kromatografija provedena je s pločicama prevučenim silika-gelom (0,2 mm, Kiselgel F₂₅₄) i uronjenim u 10 mL pripremljenog sustava za eluiranje. Za kolonsku kromatografiju na stupcu korištene su staklene kolone raznih promjera napunjene silika-gelom (60 Å, tehnička čistoća) različitih visina. Spektroskopski podaci nuklearne magnetske rezonancije (NMR) ¹H i ¹³C snimljeni su pri sobnoj temperaturi na spektrometru Bruker Avance 600 MHz, a svi spojevi analizirani ovom tehnikom otopljeni su u deuteriranom kloroformu, CDCl₃. Kao standard koristi se TMS (tetrametilsilan) jer nije toksičan, jeftin je i inertan, a u ¹H NMR spektru daje samo jedan signal. ¹H NMR spektri pokazuju neke specifične signale koji ne pripadaju signalima spoja, a to su: signal za vodu u kloroformu na 1,5 ppm, signal za kloroform na 7,24 ppm i signal za diklometan u kloroformu na 5,26 ppm. ¹³C NMR spektar također pokazuje specifičan signal koji podrazumijeva grupu od tri linije pikova na 77 ppm što odgovara signalu kloroforma. Sva otapala uklonjena su iz otopina pomoću rotacijskog uparivača pod reduciranim tlakom.

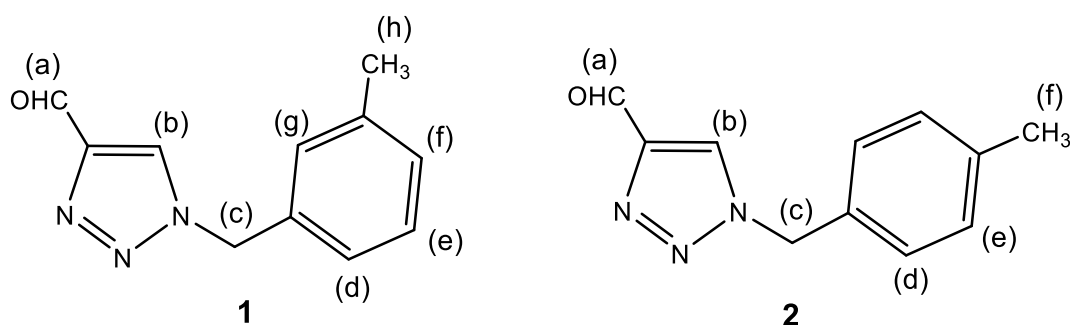
Kratice korištene u eksperimentalnom dijelu su: DCM – diklometan, E – dietileter, PE – petroleter, EtOAc – etil-acetat, NMR – nuklearna magnetska rezonancija, s – singlet, d – dublet, dd – dublet-dubleta.

4.2. Sinteza triazolnih aldehida

Opći postupak

Svi triazolni aldehidi sintetizirani su u malim staklenim bočicama zatvorenim čepom i parafilmom. Postupak je započeo otapanjem 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (sintetiziranog ranije u našem labosu) u propisanom volumenu suhog 1,4-dioksana. Reakcijskoj smjesi se potom dodao izračunati volumen odgovarajućeg

amina, nakon čega je uslijedilo propuhivanjem argonom (inertan plin) jednu do dvije minute. Pripremljena reakcijska smjesa ostavljena je na miješalici 48 do 60 sati na temperaturi uljne kupelji od 120°C. Tijek reakcije praćen je tankoslojnom kromatografijom, a po završetku reakcije otapalo je uklonjeno uparavanjem na rotacijskom vakuumskom uparivaču. Dobiveni kruti produkt zatim je pročišćen kolonskom kromatografijom uz odgovarajući sustav otapala.



1-(3-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (1)

Spoj **1** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 3-metilbenzilamina (133,4 mg odnosno 139,0 μ L, 1,10 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (201 mg, 0,92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom (Φ = 3 cm; h = 14 cm; sustav PE/DCM, a zatim DCM i DCM/EtOAc (10%)).

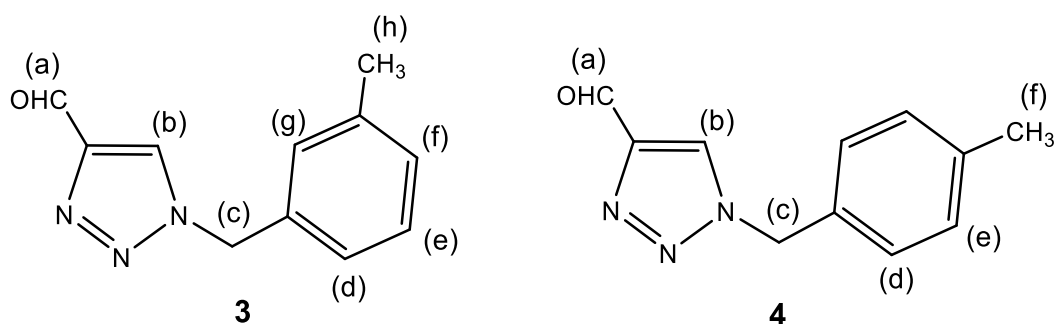
119 mg, 64% izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM (100%)) = 0,67; ^1H NMR (CDCl_3 , 600MHz) δ /ppm: 10,12 (s, 1H) (a), 7,98 (s, 1H) (b), 7,29 (dd, 7,7, 9,5 Hz, 1H) (e), 7,21 (d, 7,9 Hz, 1H) (d)/(f), 7,11 (s, 1H) (g), 7,10 (d, 7,3 Hz, 1H) (d)/(f), 5,54 (s, 2H) (c), 2,36 (s, 3H) (h).

1-(4-metilbenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (2)

Spoj **2** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 4-metilbenzilamina (133,4 mg odnosno 139,0 μ L, 1,10 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida

(207 mg, 0,92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; $h = 19$ cm; sustav PE/DCM, te DCM i DCM/EtOAc (2%)).

46 mg, 25% izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM (100%)) = 0,64; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600MHz) δ /ppm: 10,12 (s, 1H) (a), 7,95 (s, 1H) (b), 7,21 (AB_q, $J = 8,9$ Hz, 4H) (d)/(e), 5,54 (s, 2H) (c), 2,36 (s, 3H) (f).



1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (3)

Spoj 3 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 3-metilbenzilamina (133,4 mg odnosno 139,0 μL , 1,10 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (200 mg, 0,92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 3$ cm; $h = 10$ cm; sustav PE/DCM, a zatim DCM i DCM/EtOAc (10%)).

128 mg, 69% izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM (100%)) = 0,57; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600MHz) δ /ppm: 10,13 (s, 1H) (a), 7,98 (s, 1H) (b), 7,29 (dd, 7,8 Hz, 1H) (e), 7,21 (d, 7,8 Hz, 1H) (d)/(f), 7,11 (s, 1H) (g), 7,10 (d, 7,0 Hz, 1H) (d)/(f), 5,54 (s, 2H) (c), 2,36 (s, 3H) (h).

1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehid (4)

Spoj 4 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 4-metilbenzilamina (133,4

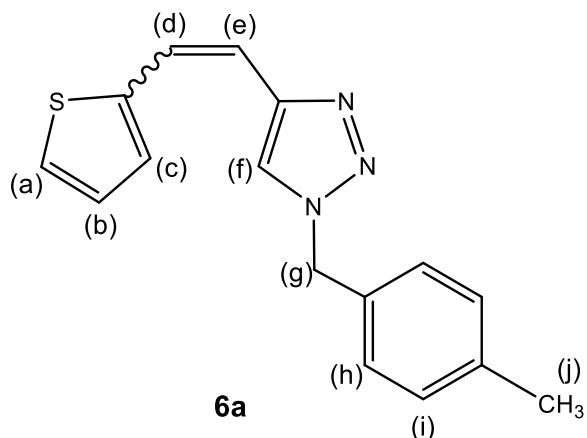
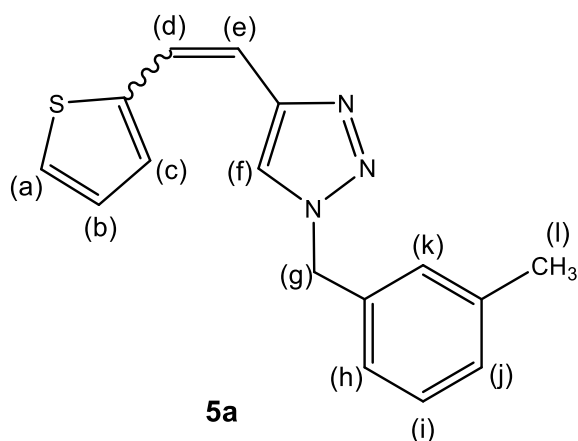
mg odnosno 139,0 μ L, 1,101 mmol) i 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (204 mg, 0,92 mmol) otopljenog u 2 mL 1,4-dioksana. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom (Φ = 2 cm; h = 14 cm; korišteni sustavi su bili PE/DCM, DCM i DCM/EtOAc (10%)).

104 mg, 56% izoliranog spoja; žuto ulje; R_f (DCM (100%)) = 0,63; ^1H NMR (CDCl_3 , 600MHz) δ /ppm: 10,12 (s, 1H) (a), 7,95 (s, 1H) (b), 7,21 (AB_q, J = 8,9 Hz 4H) (d)/(e), 5,54 (s, 2H) (c), 2,37 (s, 3H) (f).

4.3. Sinteza triazolnih tienostilbena Wittigovom reakcijom

Općeniti postupak

Aparatura, koja se sastoji od dvogre/trogre tikvice, lijevka za dokapavanje i balona s dušikom/argonom (inertan plin) propuhuje se 5 minuta spomenutim plinom. U tikvicu se zatim stavi magnet, a na jedan otvor tikvice klor-kalcijska cijev. Nakon propuhivanja, lijevak za dokapavanje se zatvara i u njega se ulijeva 30 do 40 mL (ovisno o količini polaznih reaktanata) apsolutnog etanola (suhi, na 3 Å sitima). Određen volumen etanola ispusti se u tikvicu tako da u lijevku ostane oko 10 mL. U tikvicu se zatim stavlja izvagana 2-tiofenska ili 5-metil-2-tiofenska sol i pušta se da se smjesa dobro promiješa. U međuvremenu se u preostalih 10 mL apsolutnog etanola stavlja količina natrija prethodno izvagana u petroleteru, a nakon što je sav natrij izreagirao u lijevku za dokapavanje uz razvijanje vodika, u tikvicu se dokapa nekoliko kapi tako pripremljene baze. Aldehid, koji se prethodno otopio u etanolu, dodaje se u tikvicu, nakon čega se otvara lijevak za dokapavanje na način da preostala baza kaplje kap po kap. Kada je sva količina NaOEt dodana u tikvicu, lijevak za dokapavanje zamjenjuje se čepom, a cijela reakcijska smjesa pušta se na magnetskoj miješalici određeno vrijeme na sobnoj temperaturi ili na temperaturi ploče miješalice od 45°C ovisno o količini neizreagiranog aldehida, koja se prati tankoslojnom kromatografijom tijekom odvijanja reakcije.

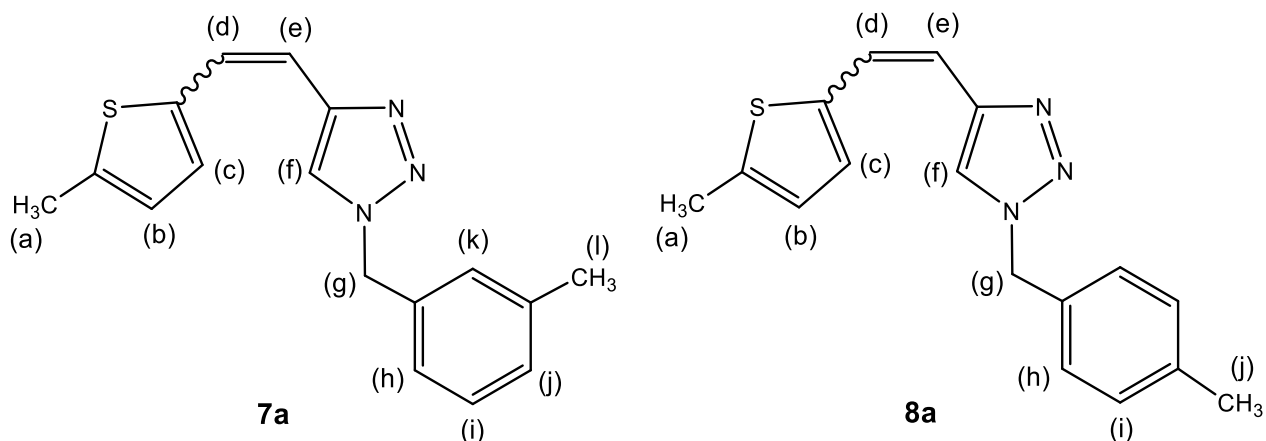


1-(3-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (5a)

Spoj **5a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**1**) (119 mg, 0,59 mmol) i tienilne soli (260 mg, 0,59 mmol) uz natrij u 10%-tnom suvišku (15 mg) i 40 mL ukupne reakcijske otopine. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; h = 14 cm; sustav PE/E (50%)). 108 mg, 65% izolirane smjese izomera (^1H NMR, *cis-* : *trans-* = 1,3 : 1); R_f (PE/E (20%)) = 0,64.

1-(4-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (6a)

Spoj **6a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**2**) (46 mg, 0,23 mmol) i tienilne soli (108 mg, 0,23 mmol) uz natrij u 10%-tnom suvišku (10 mg) i 40 mL ukupne reakcijske otopine. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 3$ cm; h = 10 cm; sustav PE/E (50%)). 37 mg, 57% izolirane smjese izomera (^1H NMR, *cis-* : *trans-* = 1,1 : 1); R_f (PE/E (20%)) = 0,70.



1-(3-metilbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (**7a**)

Spoj **7a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**3**) (128 mg, 0,64 mmol) i 5-metil-2-tiofenske soli (289 mg, 0,64 mmol) uz natrij u 10%-tnom suvišku (22 mg) i 40 mL ukupne reakcijske otopine. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; $h = 10$ cm; sustav PE/E (30%)). 12 mg, 6% izolirane smjese izomera ($^1\text{H NMR}$, *cis-* : *trans-* = 1,4 : 1); R_f (PE/E (50%)) = 0,56.

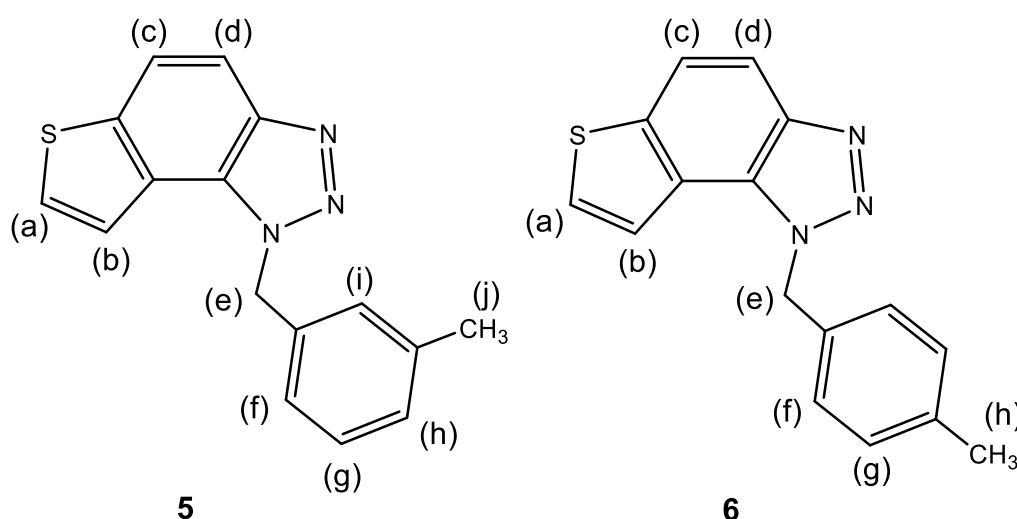
1-(4-metilbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1H-1,2,3-triazol (**8a**)

Spoj **8a** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metilbenzil)-1H-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (**4**) (104 mg, 0,52 mmol) i 5-metil-2-tiofenske soli (235 mg, 0,52 mmol) uz natrij u 10%-tnom suvišku (15 mg) i 40 mL ukupne reakcijske smjese. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 1,5$ cm; $h = 10$ cm; sustav PE/E (30%)). 7 mg, 5% izolirane smjese izomera ($^1\text{H NMR}$, *cis-* : *trans-* = 1,2 : 1); R_f (PE/E (50%)) = 0,42.

4.4. Fotokemijska sinteza tienobenzo-triazola

Općeniti postupak

Određena masa odgovarajućeg triazol tienostilbena (5a-8a) otopi se u toluenu tako da koncentracija bude $1-3 \times 10^{-3}$ M i zatim se cijela reakcijska smjesa prenese u kivetu od kvarca (propušta svjetlost). U kivetu se nadalje dodaje malo joda na vrhu špahtle (oksidacijsko sredstvo) nakon čega se cijela reakcijska smjesa dobro promiješa. Prve dvije reakcije osvjetljavale su se 3 h pomoću 10 lampi (8W) na 313 nm, a druge dvije 4 h pomoću 14 lampi (8W) na 313 nm. Duljina trajanja reakcija određena je praćenjem reakcije tankoslojnom kromatografijom.



1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (**5**)

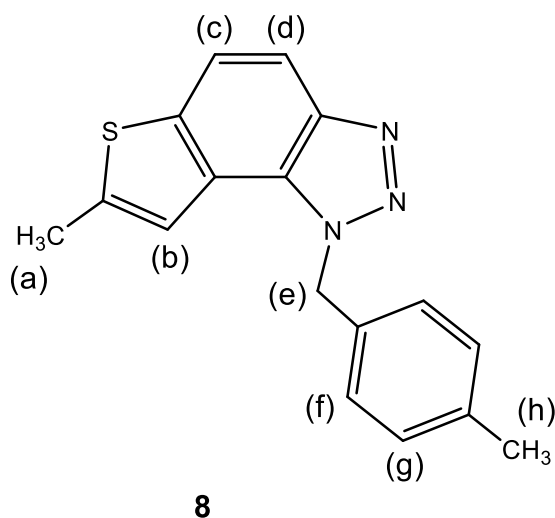
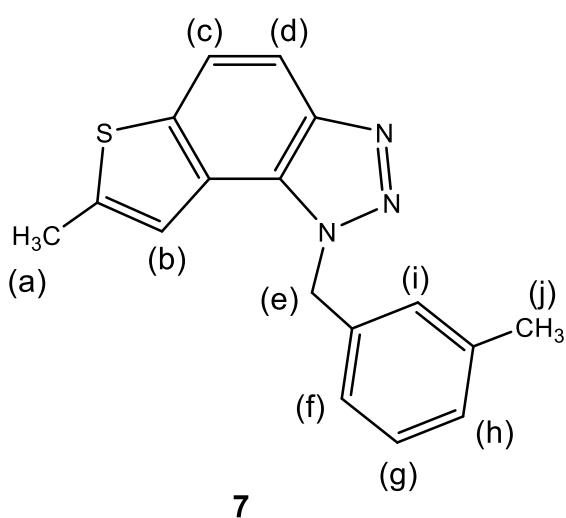
Spoj **5** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(tiefen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (**5a**) (108 mg, 0,39 mmol) otopljenog u 100 mL toluena. Za potrebe jedne reakcije utrošeno je 50 mL otopine (zapravo se u reakciju išlo s oko 50 mg). Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; h = 17 cm; sustav PE/E (40%)).

26 mg, 52% izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0,57; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8,00 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,81 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,55 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,52 (d, $J = 5,7$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,20 (dd, 7,3 Hz, 1H) (g), 7,09 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,01 (s, 1H) (i), 7,00 (d, 8,4 Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 6,09 (s, 2H) (e), 2,27 (s, 3H) (j); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144,7, 140,0 139,0, 135,1, 129,1, 129,0, 128,7, 127,7, 127,2, 123,6, 122,8, 120,3 119,2, 116,1 53,0, 21,3.

1-(4-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (6)

Spoj 6 sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-metilbenzil)-4-(2-(tiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (6a) (37 mg, 0,13 mmol) otopljenog u 50 mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; $h = 15$ cm; sustav PE/E (30%)).

27 mg, 73% izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0,58; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,99 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H) (c)/(d), 7,80 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H) (c)/(d), 7,55 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,51 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,10 (AB_q, $J = 8, 1$ Hz, 4H) (f)/(g), 6,08 (s, 2H) (e), 2,29 (s, 3H) (h); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 144,7, 140,0, 138,2, 132,1, 129,8, 118,7, 127,7, 126,5, 122,8, 120,3, 119,2, 116,1 52,9, 21,1.



7-metil-1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (7)

Spoj **7** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metilbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazol (**7a**) (16 mg, 0,05 mmol) otopljenog u 16 mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; h = 9 cm; sustav PE/E (30%)).

5 mg, 34% izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0,50; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,91 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,68 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,22 (dd, $J = 7,6$ Hz, 1H) (g), 7,18 (s, 1H) (b), 7,09 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,00 (s, 1H) (i), 6,99 (d, $J = 5,4$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 6,04 (s, 2H) (e), 2,60 (s, 3H) (a), 2,28 (s, 3H) (j); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 142,6, 159,3, 139,6, 138,9, 135,3, 134,6, 129,0, 128,9, 127,3, 123,7, 123,1, 118,9, 118,1, 115,0, 52,9, 21,4, 16,2.

7-metil-1-(4-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazol (8)

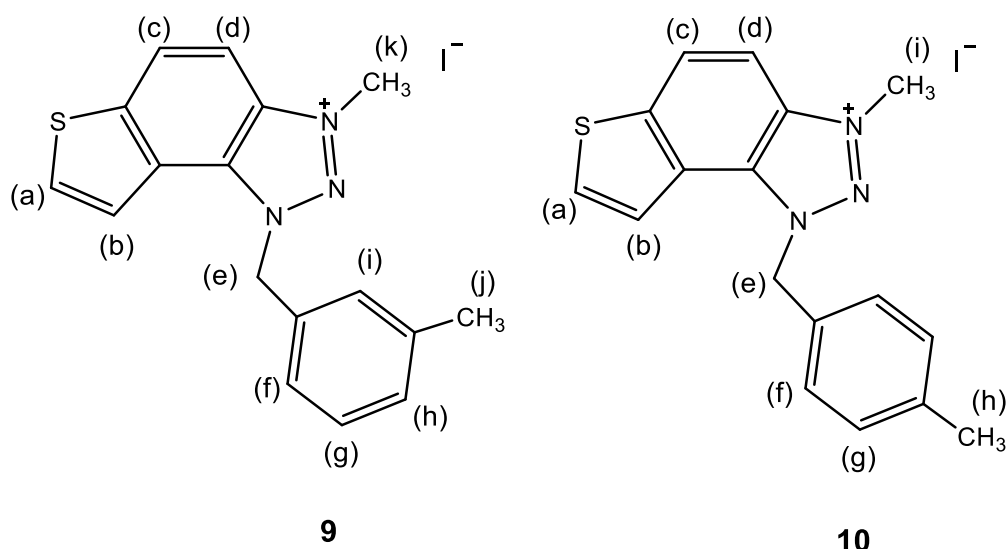
Spoj **8** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-metilbenzil)-4-(2-(5-metiltiofen-2-il)vinil)-1*H*-1,2,3-triazola (**8a**) (13 mg, 0,04 mmol) otopljenog u 13 mL toluena. Dobiveni produkt pročišćen je kolonskom kromatografijom ($\Phi = 2$ cm; h = 9 cm; sustav PE/E (30%)).

4 mg, 34% izoliranog spoja; R_f (PE/E (30%)) = 0,44; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,92 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H) (c)/(d), 7,67 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H) (c)/(d), 7,18 (s, 1H) (b), 7,10 (AB_q, $J = 8, 2$ Hz, 4H) (f)/(g), 6,04 (s, 2H) (e), 2,60 (s, 3H) (a), 2,30 (s, 3H) (h); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 141,6, 139,3, 138,0, 135,2, 132,3, 129,7, 126,5, 123,0, 122,4, 118,9, 118,1, 115,0, 52,8, 21,1, 16,1.

4.5. Sinteza triazolne soli

Općeniti postupak

Određena masa tienobenzo-triazola 5 i 6 otopi se u DCM. Tako pripremljena otopina prebaci se u malu bočicu s mješačem nakon čega se doda izračunati volumen metil-jodida. Bočica se zatim propuhuje argonom jednu do dvije minute, zatvori čepom i parafilmom i pušta se na miješalici 24 h na temperaturi od 60°C.



3-metil-1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazolni-iodid (**9**)

Spoj **9** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(3-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazola (**5**) (20 mg, 0,07 mmol) otopljenog u 400 μL DCM-a uz metil-jodid u 10%-tnom suvišku (44,64 μL). Nakon završetka reakcije smjesa je ohlađena na 0°C i dodano je nekoliko mL etera. Jedan dio soli je istaložio dok se je ostatak smjese zamutio. Uzorak smo zatim stavili na centrifugu na 10 minuta nakon čega smo višak etera dekantirali i dodali novih 2 mL. Postupak centrifugiranja provodili smo 8 puta.

4 mg, 19% izoliranog spoja; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8,34 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 8,25 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,94 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H)

(a)/(b), 7,78 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,31 (dd, $J = 7,6$ Hz, 1H) (g), 7,22 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 7,18 (s, 1H) (i), 7,17 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) (c)/(d)/(f)/(h), 6,34 (s, 3H) (e), 4,92 (s, 3H) (k), 2,35 (s, 3H) (j); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 132,8, 130,7, 129,6, 129,1, 127,9, 127,1, 125,6, 124,5, 120,5, 116,4, 109,1, 53,5, 31,0, 21,3, ostali signali se ne vide (jedna od mogućnosti je nedovoljno dobivena masa za analizu).

3-metil-1-(4-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazolni-iodid (10)

Spoj **10** sintetiziran je prema općenitom postupku iz 1-(4-metilbenzil)-1*H*-tieno[3',2':3,4]benzo[1,2-*d*][1,2,3]triazola (**6**) (20 mg, 0,07 mmol) otopljenog u 400 μL DCM-a uz metil-jodid u 10%-tnom suvišku (44,64 μL). Nakon završetka reakcije smjesa je ohlađena na 0°C i dodano je nekoliko mL etera. Jedan dio soli je istaložio, no zbog visoke temperature laboratorija, ista se otopila, nakon čega smo dobili dva sloja koja smo dekantirali i dodali 2 mL etera te proveli centrifugiranje. Nakon 10 minuta višak etera smo ponovno dekantirali i dodali novih 2 mL etera. Postupak centrifugiranja proveli smo tek 3 puta zbog nedovoljnog taloženja soli.

8 mg, 34% izoliranog spoja; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,99 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H) (c)/(d), 7,80 (d, $J = 9,1$ Hz, 1H) (c)/(d), 7,55 (d, $J = 5,6$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,51 (d, $J = 5,5$ Hz, 1H) (a)/(b), 7,10 (AB_q , $J = 8,20$ Hz, 4H) (f)/(g), 6,08 (s, 2H) (e), 2,29 (s, 3H) (h).

5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog rada bila je sinteza i biološka aktivnost novih soli tienobenzotriazola. Triazoli se općenito mogu klasificirati kao skupina peteročlanih prstenova koji u svojoj strukturi osim ugljikovih atoma sadrže i tri atoma dušika čime se mogu smatrati energijski bogatim heterociklima. Osim specifične nezasićene prstenaste strukture posebna važnost pridaje se njihovom širokom spektru biološke aktivnosti. Pokazuju antimikrobno, citotoksično, antikancerogeno, protuupalno, insekticidno i antimalarično djelovanje i dr., a posebno se ističe njihovo inhibicijsko djelovanje prema enzimima kolinesterazama koji su vrlo važni u funkcioniranju živčanog sustava kod ljudi. Triazoli se pojavljuju kao par izomernih kemijskih spojeva 1,2,3-triazol i 1,2,4-triazol, pri čemu su u sklopu ovog rada proučavani derivati 1,2,3-triazola s atomima dušika na prva tri položaja prstena. Povezivanjem dvaju aromatskih sustava dvostrukom vezom nastaju stilbeni. Takvi spojevi zbog prisustva konjugiranog sustava podliježu fotokemijskim reakcijama, kod kojih dolazi do ciklizacije odnosno zatvaranja prstena i nastajanja nove skupine spojeva. Jedna od slijednih mogućih reakcija je metateza soli kojom se dobivaju ciljane strukture ovoga rada.

Prva u nizu reakcija za dobivanje triazolnih soli **9** i **10**, uključivala je pripremu triazolnih aldehida **1-4**. Oni si dobiveni reakcijom 1-(4-nitrofenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-karbaldehida (prethodno pripremljenog u našem laboratoriju) i odgovarajućeg amina. Struktura takvih produkata u položaju jedan sadrži odgovarajući supstituent, a u položaju 4 formilnu skupinu. Tako pripremljeni aldehidi podvrgnuti su Wittigovoj reakciji, općenito poznatoj kao reakciji za pripremu alkena, pri čemu aldehidi reagiraju s odgovarajućim fosforovim ilidom. U ovom radu korištene su dvije različite soli, sa supstituiranom i nesupstituiranom tiofenskom jezgrom, čime su dobivene dvije skupine triazolnih tienostilbena **5a-8a**. Daljnja reakcija podrazumijevala je oksidativnu fotociklizaciju koja je zbog nastalog konjugiranog sustava smjese izomera podložna ciklizaciji. Naime, osvjetljavanjem dolazi do izomerizacije i nastanka kratkoživućeg produkta, dihidrofenantrena, koji se uz pomoć joda zatvara odnosno aromatizira u benzenski prsten, pri čemu nastaju tienobenzotriazoli **5-8**. Produkti **5** i **6** stupaju u reakciju kod koje kao krajnji produkt nastaju triazolne soli **9** i **10**. Reakcija njihovog dobivanja svodi se na dodavanje alkil-halogenida u odgovarajuće otapalo i na reakciju metateze soli.

Fotoproduktu **6** i njegovoj soli **10** izmjerena je inhibicijska aktivnost prema enzimu butirilkolinesterazi. Na temelju rezultata bioloških mjerenja, spoj **6** pokazuje inhibiciju enzima butirilkolinesteraze s vrijednosti IC_{50} od 24,3 μ M dok njegova sol ima vrijednost IC_{50} od 1,83 μ M, što je nekoliko puta bolja inhibicijska aktivnost od one koju pokazuje standardni reverzibilni inhibitor galantamin.

6. LITERATURA

1. Solomons, T.W.G., Fryhle, C.B., Snyder, S.A., Organic Chemistry, 11th edition, Wiley, United States (2012) 41 – 42
2. Wade, L.G., Organska kemija, Školska knjiga, Zagreb (2017) 1
3. <https://enciklopedija.hr/clanak/heterociklicki-spojevi> (pristup 11. lipnja 2024.)
4. Jewad, S., Yusra, A., Chemistry of 1,2,4-Triazole: A Review Article, International Journal of Science and Research (IJSR) 5 (2016) 1411
5. Kharb, R., Sharma, P.C., Shahar Yar, M., Pharmacological significance of triazole scaffold, J. Enzyme Inhib. Med. Chem. 26 (1) (2011) 1–21
6. <https://www.enciklopedija.hr/clanak/stilben> (pristup 11. lipnja 2024.)
7. Sathish Kumar, S.; Kavitha, H.P., Synthesis and Biological Applications of Triazole Derivatives - A Review, Mini Rev. Org. Chem. 10 (2013) 40 – 65
8. Matin, M.M.; Matin, P.; Rahman, M.R.; Ben Hadda, T.; Almalki F.A.; Mahmud, S.; Ghoneim, M.M.; Alruwaily, M.; Alshehri, S., Triazoles and Their Derivatives: Chemistry, Synthesis, and Therapeutic Applications. 9 (2022) (doi: [10.3389/fmolb.2022.864286](https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.864286))
9. Reissing, H.U., Breugst, M., Angew. Chem. Int. Ed. 59 (2020) 12293 – 12307 (doi: [10.1002/anie.202003115](https://doi.org/10.1002/anie.202003115))
10. Carruthers, W., 6 – 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions, Tetrahedron Organic Chemistry Series, 8 (1990) 269 – 331 (doi: [10.1016/B978-0-08-034712-7.50011-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-034712-7.50011-4))
11. Kamal, A.; Shankaraiah, N.; Devaiah, V.; Laxma Reddy, K.; Juvekar, A.; Sen, S.; Kurian, N.; Zingde, S., Synthesis of 1,2,3-triazole-linked pyrrolobenzodiazepine conjugates employing 'click' chemistry: DNA-binding affinity and anticancer activity, Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (4) (2008) 1468 – 1473 (doi: [10.1016/j.bmcl.2007.12.063](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.12.063))
12. Dai, J.; Tian, S.; Yang, X.; Liu, Z., Synthesis methods of 1,2,3-/1,2,4- triazoles: A review. Front. Chem. 10 (2022) (doi: [10.3389/fchem.2022.891484](https://doi.org/10.3389/fchem.2022.891484))
13. Rostovtsev, V.V.; Green, L.G.; Fokin, V.V.; Sharpless, K.B., A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I)-catalyzed regioselective "ligation" of azides and terminal alkynes. Angew Chem Int Ed. 41 (2002) 2596 – 2599

14. Tornøe, C.W.; Christensen, C.; Meldal, M., Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]- triazoles by regiospecific copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J Org Chem.* 67 (2002) 3057 – 3064
15. Díez-González, S., Chapter Three - Copper(I)–Acetylides: Access, Structure, and Relevance in Catalysis, *Advances in Organometallic Chemistry*, 66 (2016) 93 – 141
16. Heron, J.; Balcells, D., Concerted Cycloaddition Mechanism in the CuAAC Reaction Catalyzed by 1,8-Naphthyridine Dicopper Complexes, 12 (8) (2022) 4744 – 4753
17. Wade, L.G., *Organska kemija, Školska knjiga*, Zagreb (2017) 834 – 837
18. Mallory F.B.; Wood C.S.; Gordon J.T., Photochemistry of Stilbenes. III. Some Aspects of the Mechanism of Photocyclization to Phenanthrenes. *J. Am. Chem. Soc.* 86 (1964) 3094 – 3102 (doi: [10.1021/ja01069a025](https://doi.org/10.1021/ja01069a025))
19. Mallory F.B.; Wood C.S., Photochemistry of Stilbenes IV. The Preparation of Substituted Phenanthrenes. *J. Org. Chem.* 29 (1964) 3374 – 3377
20. Jørgensen, K.B., Photochemical oxidative cyclisation of stilbenes and stilbenoids-the Mallory-reaction. *Molecules.* 15 (6) (2010) 4334 – 58 (doi: [10.3390/molecules15064334](https://doi.org/10.3390/molecules15064334))
21. Yacob, Z.; Liebscher, J., Chemistry of 1,2,3-triazolium salts. In *Chemistry of 1,2,3-Triazoles*; Dehaen, W., Bakulev, V.A., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Germany, 40 (2015) 167 – 210
22. Yacob, Z.; Liebscher, J., 1,2,3-Triazolium salts as a versatile new class of ionic liquids. In *Ionic Liquids*; Handy, S.T., Ed.; IntechOpen: Rijeka, Germany, 1 (2011) 3 – 23
23. Mishra, R.; Mishra, J.S.; Chaubey, S.A., Recent advances on ttriazolium ionic liquids: Synthesis and applications. *Curr. Org. Chem.* 23 (2019) 1239 – 1255
24. Song, J.; Lv, J.; Jin, J.; Jin, Z.; Li, T.; Wu, J., Research Advances on the Bioactivity of 1,2,3-Triazolium Salts. *Int. J. Mol. Sci.* 24 (13) (2023) 10694 (doi: [10.3390/ijms241310694](https://doi.org/10.3390/ijms241310694))
25. Alam, M.M., 1,2,3-Triazole hybrids as anticancer agents: A review. *Arch Pharm (Weinheim)* 355 (1) (2022)
26. Xu, Z.; Zhao, S.; Liu, Y., 1,2,3-Triazole-containing hybrids as potential anticancer agents: Current developments, action mechanisms and structure-

- activity relationships, *Eur J of Med Chem*, 183 (2019) 111700 (doi: [10.1016/j.ejmech.2019.111700](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111700))
27. Pavlov, V.A.; Tracey, K.J., Controlling inflammation: the cholinergic anti-inflammatory pathway. *Biochem Soc Trans.* 34 (6) (2006) 1037 – 40 (doi: [10.1042/BST0341037](https://doi.org/10.1042/BST0341037))
28. Amir, M.; Shikha, K., Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of some new 2-[(2,6-dichloroanilino) phenyl]acetic acid derivatives. *Eur J Med Chem.* 39 (6) (2004) 535 – 45 (doi: [10.1016/j.ejmech.2004.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2004.02.008))
29. Allison, M.C.; Howatson, A.G.; Torrance, C.J.; Lee, F.D.; Russell, R.I., Gastrointestinal damage associated with use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *N. Engl. J. Med.* 327 (1992) 749 – 754
30. Angajala, K.K.; Vianala, S.; Macha, R.; Raghavender, M.; Thupurani, M.K.; Pathi, P.J., Synthesis, anti-inflammatory, bactericidal activities and docking studies of novel 1,2,3-triazole derived from ibuprofen using click chemistry. *Springerplus* 5 (2016) 423
31. Mlakić, M.; Faraho, I.; Odak, I.; Kovačević, B.; Raspudić, A.; Šagud, I.; Bosnar, M.; Škorić, I.; Barić, D., Cholinesterase Inhibitory and Anti-Inflammatory Activity of the Naphtho- and Thienobenzo-Triazole Photoproducts: Experimental and Computational Study. *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 14676 (doi: [10.3390/ijms241914676](https://doi.org/10.3390/ijms241914676))
32. Singh, N.; Priya, V.; Bhasin, R.; Verma, K., An exploration of sundry nature of Benzotriazole derivatives: A Review, Department of Chemistry, School of Chemical Engineering and Physical Sciences, Lovely Professional University, Punjab, India, *Int Res J Pharm* 10 (3) (2019) 25 – 35
33. Rajasekaran, A.; Murugesan, S.; Rajagopal, K.A., Antibacterial, antifungal and anticonvulsant evaluation of novel newly synthesized 1-[2-(1H-tetrazol-5-yl)ethyl]-1H-benzo[d][1, 2,3]triazoles. *Arch Pharm Res.* 29 (7) (2006) 535 – 40
34. Rajasekaran, A.; Rajagopal K.A., Synthesis of some novel triazole derivatives as anti-nociceptive and anti-inflammatory agents. *Acta Pharm.* 59 (3) (2009) 355 – 64 (doi: [10.2478/v10007-009-0026-7](https://doi.org/10.2478/v10007-009-0026-7))
35. El Shehry, M.F.; Abu-Hashem, A.A.; El-Telbani, E.M., Synthesis of 3-((2,4-dichlorophenoxy)methyl)-1,2,4-triazolo(thiadiazoles and thiadiazines) as anti-

- inflammatory and molluscicidal agents. *Eur J Med Chem.* 45 (5) (2010) 1906 – 11 (doi: [10.1016/j.ejmech.2010.01.030](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.01.030))
36. Dzoyem, J.P.; Kuete, V.; Eloff, J. N., 23 – Biochemical Parameters in Toxicological Studie in Africa: Significance, Principle of Methods, Dana Interpretation, and Use in Plant Screenings (2014) 659 – 715 (doi: [10.1016/B978-0-12-800018-2.00023-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800018-2.00023-6))
37. Kostelnik, A.; Pohanka, M., Inhibition of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase by a Plant Secondary Metabolite Boldine, 2018 (2018) 9634349
38. Sussman, J.L.; Harel, M.; Frolow, F., Atomic structure of acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* 253 (1991) 872 – 97
39. A.S. Association, Alzheimer's disease facts and figures, *Alzheimer's Dement.* 12 (4) (2016) 459 – 509 (doi: [10.1016/j.jalz.2016.03.001](https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.03.001))
40. Mlakić, M.; Selec, I.; Čaleta, I.; Odak, I.; Barić, D.; Ratković, A.; Molčanov, K.; Škorić, I., New Thienobenzotriazoles as Butyrylcholinesterase Inhibitors: Design, Synthesis and Computational Study. *Int. J. Mol. Sci.* 24 (2023) 5879 (doi: [10.3390/ijms24065879](https://doi.org/10.3390/ijms24065879))
41. Šagud, I.; Maček Hrvat, N.; Grgičević, A.; Čadež, T.; Hodak, J.; Dragojević, M.; Lasić, K.; Kovarik, Z.; Škorić, I., Design, synthesis and cholinesterase inhibitory properties of new oxazole benzylamine derivatives. *J Enz Inh Med Chem*, 35 (1) (2020) 460 – 467 (doi: [10.1080/14756366.2019.1707197](https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1707197))
42. Mlakić, M.; Faraho, I.; Odak, I.; Talić, S.; Vukovinski, A.; Raspudić, A.; Bosnar, M.; Zadavec, R.; Ratković, A.; Lasić, K.; Marinić, Ž.; Barić, D.; Škorić, I., Synthesis, photochemistry and computational study of novel 1,2,3-triazole heterostilbenes: Expressed biological activity of their electrocyclization photoproducts, *Bioorg Chem* 121 (2022) 105701 (doi: [10.1016/j.bioorg.2022.105701](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.105701))
43. Mlakić, M.; Odak, I.; Faraho, I.; Talić, S.; Bosnar, M.; Lasić, K.; Barić, D.; Škorić, I., New naphtho/thienobenzotriazoles with interconnected anti-inflammatory and cholinesterase inhibitory activity, *Eur J Med Chem* 241 (2022) 114616 (doi: [10.1016/j.ejmech.2022.114616](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114616))
44. Mlakić, M.; Selec, I.; Čaleta, I.; Odak, I.; Barić, D.; Ratković, A.; Molčanov, K.; Škorić, I., New Thienobenzotriazoles as Butyrylcholinesterase

Inhibitors: Design, Synthesis and Computational Study. Int. J. Mol. Sci. 24
(2023) 5879 (doi: [10.3390/ijms24065879](https://doi.org/10.3390/ijms24065879))

7. ŽIVOTOPIS

Tea Horvat [REDACTED] Pohađala je Osnovnu školu Đurmanec nakon čega 2017. godine upisuje Srednju školu Krapina, smjer prirodoslovno-matematička gimnazija. Godine 2021. upisuje studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu tijekom prijediplomskog studija odradila je na Institutu Ruđer Bošković na Zavodu za organsku kemiju i biokemiju u Laboratoriju za biomolekularne interakcije i spektroskopiju.