

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ana Vukovinski

**Sinteza, fotokemija i računalno istraživanje elektronske
strukture novih 1,2,3-triazolnih heterostilbena**

Zagreb, 2021.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom prof. dr. sc. Irene Škorić i na Zavodu za fizičku kemiju Instituta Ruđer Bošković u Grupi za računalne bioznanosti pod komentorstvom dr. sc. Danijele Barić, više znanstvene suradnice i predan je na Natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2020./2021.

POPIS I OBJAŠNENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU:

ACh – eng. *Acetylcholine* - acetilkolin

AChE – eng. *Acetylcholinesterase* – acetilkolinesteraza

ADME – engl. *Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion* – apsorpcija, distribucija, metabolizam i ekskrecija

BChE – eng. *Butyrylcholinesterase* – butirilkolinesteraza

CNS – eng. *central nervous system* – centralni živčani sustav

COSY – eng. *Correlation Spectroscopy* - korelacijska spektroskopija

CuAAC – bakrom katalizirane azid-alkil cikloadicije

DCM – diklormetan

DFT – eng. *Density Functional Theory* – teorija funkcionala elektronske gustoće

DMF – dimetilformamid

DMSO – dimetilsulfoksid

E – dietil-eter

E – njem. *entgegen* – nasuprot; sa suprotnih strana

HOMO – eng. *Highest Occupied Molecular Orbital* – najviša okupirana molekulska orbitala

LUMO – eng. *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* – najniža neokupirana molekulska orbitala

MS – masena spektroskopija

NLO – eng. *Nonlinear Optical Materials* – nelinearni optički materijali

NMR – eng. *Nuclear Magnetic Resonance* - nuklearna magnetska rezonancija

PASS - engl. *Prediction of Activity Spectra for Substances* – predviđanje biološke aktivnosti pojedinih spojeva

PE – petroleter

PES – eng. *Potential Energy Surface* – ploha potencijalne energije

PPB – eng. *Plasma-protein binding* – vezivanje plazma-proteina

TD-DFT – eng. *Time-dependent Density Functional Theory* – vremenski ovisna teorija funkcionala elektronske gustoće

TS – eng. *Transition state* – prijelazno stanje

UV/Vis – ultraljubičasto/vidljivo

Z – njem. *zusammen* - zajedno; s iste strane

Sadržaj

1. UVOD	2
2. OPĆI DIO.....	3
2.1. 1,2,3-triazoli i njihovi disupstituirani derivati	3
2.1.2. Sinteza.....	4
2.1.3. Reaktivnost	7
2.2. Primjena 1,2,3-triazola i njihovih disupstituiranih derivata	9
2.3. Fotokemijska svojstva heterocikličkih i stilbenskih sustava	11
2.3.1. Fotoizomerizacija	12
2.3.2. Elektrociklizacija.....	14
2.3.3. Fotocikloadicija	16
2.4. Računalno modeliranje	17
2.4.1. Teorija funkcionala (elektronske) gustoće	18
2.4.2. Geometrijska optimizacija	19
3. REZULTATI I RASPRAVA	20
3.1. Uvod.....	20
3.2. Wittigova reakcija	21
3.3. Sinteza novih triazolnih derivata	23
3.3.1. Spektroskopska svojstva dobivenih triazolnih derivata	24
3.4. Fotokemija.....	32
3.4.1. Fitolize	32
3.4. Računalno istraživanje elektronske strukture novih triazolnih derivata.....	38
3.5. ADME svojstva	45
3.6. BIOLOŠKA AKTIVNOST	46
4. EKSPERIMENTALNI DIO	50
4.1. Opće napomene	50
4.2. Sinteza triazolnih heterostilbena 1-6.....	51
4.3. Sinteza elektrociklizacionih produkata triazolnih heterostilbena 7-12.....	59
5. ZAKLJUČAK	64
LITERATURA.....	66

SAŽETAK	69
SUMMARY	70
ŽIVOTOPIS.....	71
PRILOZI.....	72

1. UVOD

U prvoj polovici prošlog stoljeća primijećeno je smanjenje koncentracije acetilkolina (ACh) u krvi i tkivima, zbog djelovanja dva enzima, acetilkolinesteraze (AChE) i butirilkolinesteraze (BChE). Uslijed smanjenja sinaptičke dostupnosti acetilkolina, dolazi do razvoja neurodegenerativnih bolesti, poput Alzheimerove bolesti (AB). Inhibicijom AChE sinaptička razina acetilkolina u mozgu se povećava te time inhibicija postaje jedna od metoda liječenja navedenih poremećaja.

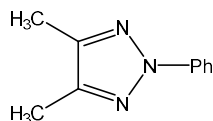
U ovom radu naveden je postupak sinteze triazolnih derivata heterostilbena, opisana su njihova kemijska svojstva i fotokemijske karakteristike te je provedeno računalno modeliranje u svrhu određivanja njihove elektronske strukture i termodinamičke stabilnosti. Za identifikaciju i određivanje novopripređenih struktura nepoznatih u literaturi korištene su jednodimenzionalne ^1H i ^{13}C NMR tehnike, dvodimenzionalna NMR tehnika koja pokazuje korelaciju H-H (COSY), UV-Vis spektroskopija te spektrometrija masa.

Sintetizirani spojevi testirani su kao inhibitori enzima AChE i BChE, na njima su provedena i ispitavanja drugih bioloških aktivnosti te su im određena i diskutirana ADME svojstva. Daljnjim funkcionalizacijama i transformacijama osnovnog skeleta moguć je razvoj novih inhibitora kolinesteraza, obzirom da su neki od novih sintetiziranih spojeva pokazali zapaženu biološku aktivnost.

2. OPĆI DIO

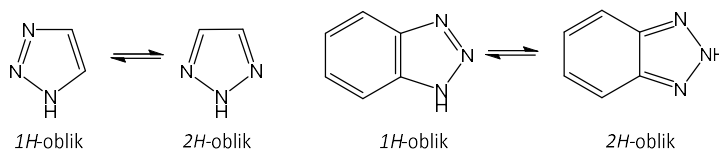
2.1. 1,2,3-triazoli i njihovi disupstituirani derivati

1,2,3-triazoli predstavljaju klasu spojeva koja se izuzetno brzo istražuje u modernoj heterocikličkoj kemiji, zbog svojih svojstava i primjene. Aktivno su se počeli istraživati 1888. godine, kada su von Pechmann i von Baeyer prvi put sintetizirali i okarakterizirali spoj kojeg su nazvali „osotriazon“ (slika 2.1.).



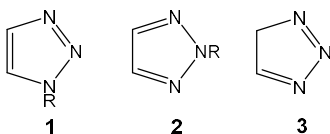
Slika 2.1. „Osotriazon“, 1,2,3-triazol sintetiziran od strane von Pechmanna.

1,2,3-triazoli se mogu avljati u dvije forme, 1*H*- i 2*H*-obliku (slika 2.2.). Razmatranjem danas poznatih spektroskopskih podataka, primijećeno je da prevladava simetričan 2*H*-oblik, dok se kod nekih derivata triazola, primjerice benzotriazola, češće pojavljuje 1*H*-oblik.¹



Slika 2.2. Prikaz 1*H*- i 2*H*-oblika u kojima se pojavljuju 1,2,3-triazoli i njihovi derivati

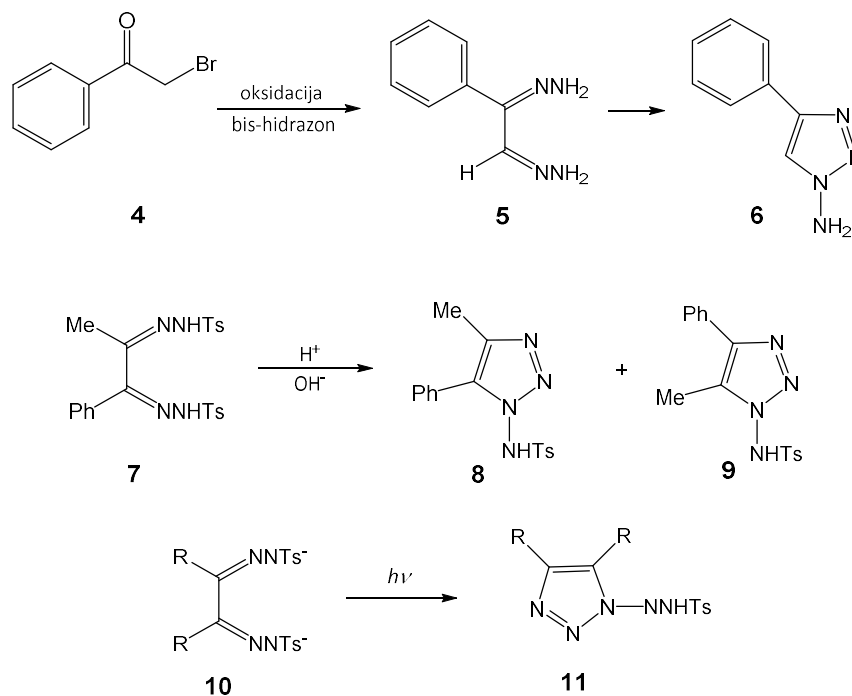
Jednostavan 1,2,3-triazolni sustav može se dobiti iz pirola ili indola, zamjenom dva atoma ugljika atomima dušika. Tako dobiveni triazoli mogu se klasificirati prema tri osnovne vrste formula (1-3), a u literaturi se za takve spojeve često pojavljuje naziv *u*-triazoli (slika 2.3.).¹



Slika 2.3. *U*-triazoli

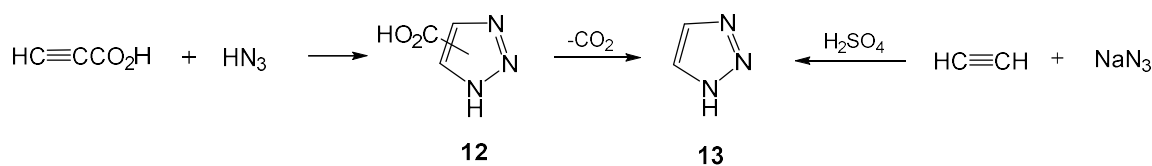
2.1.2. Sinteza

1,2,3-triazolni sustavi najčešće se dobivaju reakcijama intramolekularne ciklizacije koje mogu biti potaknute prirodnom otapala, supstituenata, oksidacijom ili fotokemijskim čimbenicima. Neki primjeri takvih reakcija prikazani su na shemi 2.1.



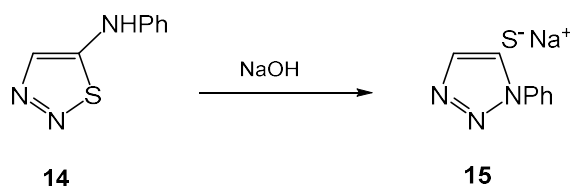
Shema 2.1. Prikaz reakcija intramolekularne ciklizacije u svrhu stvaranja 1,2,3-triazola

Sustavi s triazolnom jezgrom mogu se dobiti i cikloadicijom iz alkina i azida, najčešće pri povišenim temperaturama.² Oni predstavljaju dobre reaktante za ovu vrstu sinteze, budući da postoji širok raspon supstituenata koji se mogu ugraditi u azidne i alkinske komponente (shema 2.2.). Cikloadicija se pokazala kao reakcija sinteze koja je do danas najviše zastupljena kod triazolnih sustava, kao i heterocikličkih sustava općenito.¹ Promjenom supstituenata i početnih reaktanata moguće je sintetizirati niz heterocikličkih jezgara, najčešće uz korištenje raznih metala kao katalizatora.³



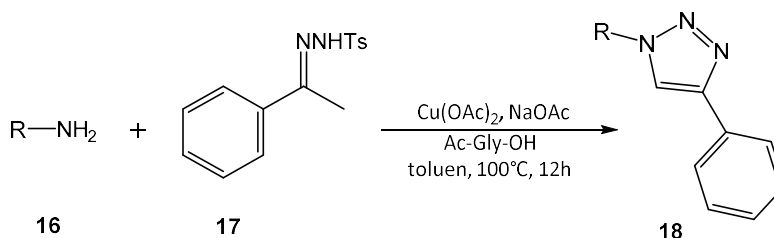
Shema 2.2. Sinteza 1,2,3-triazola iz azidnih i alkinskih reaktanata

Osim direktne sinteze triazola pomoću reakcija ciklizacije, 1,2,3-triazolne prstenove moguće je dobiti i iz nekih drugih heterocikličkih sustava. Takve se reakcije odvijaju najčešće u lužnatim uvjetima, no to nije uvijek pravilo. Početni uvjeti prvenstveno ovise o prirodi supstituenata i vrsti heterocikličkih sustava. Primjer takve reakcije u lužnatim uvjetima je sinteza 1-aryl-5-merkaptotriazola **15** iz 5-anilino-1,2,3-tiadiazola **14**, prikazana na shemi 2.3.¹



Shema 2.3. Sinteza 1,2,3-triazola iz nekog drugog heterocikličkog sustava

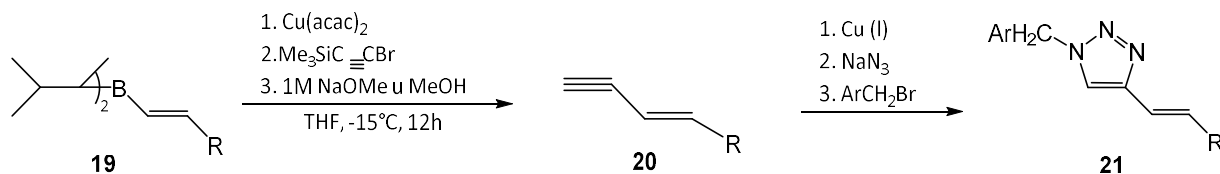
1963. godine Huisgen i njegov tim suradnika opisali su termički induciranu dipolarnu cikloadiciju alkina s organskim azidima, uz prisutnost iona metala kao katalizatora, u svrhu dobivanja 1,2,3-triazola.⁴ Najčešće se kao metalni ion koristio bakar, pa su takve reakcije nazvane *CuAAC reakcije* (bakrom katalizirane azid-alkin cikloadicije). Nekoliko desetljeća kasnije (2002. godine)⁵ Sharpless⁶ i Meldal⁷ sa suradnicima dolaze do spoznaje da bakar, uz to što dobro katalizira navedene reakcije, značajno poboljšava regioselektivnost dajući 1,4-disupstituirane izomere triazola. Time su CuAAC reakcije postale izuzetno važne u organskoj sintezi kao glavni primjer tzv. *klik-reakcija*.⁸ Jedna od tih reakcija prikazana je na shemi 2.4. Sama struktura triazola i raspodjela supstituenata imaju važnu ulogu u definiranju njihovih svojstava. Primjerice, triazoli s kiralnom jedinicom imaju izuzetno važno farmakoforno djelovanje, stoga je prilikom sinteze važno zadržati takvu konfiguraciju.³



Shema 2.4. Primjer CuAAC reakcije, u kojoj je R primarni, sekundarni ili tercijarni alkil.

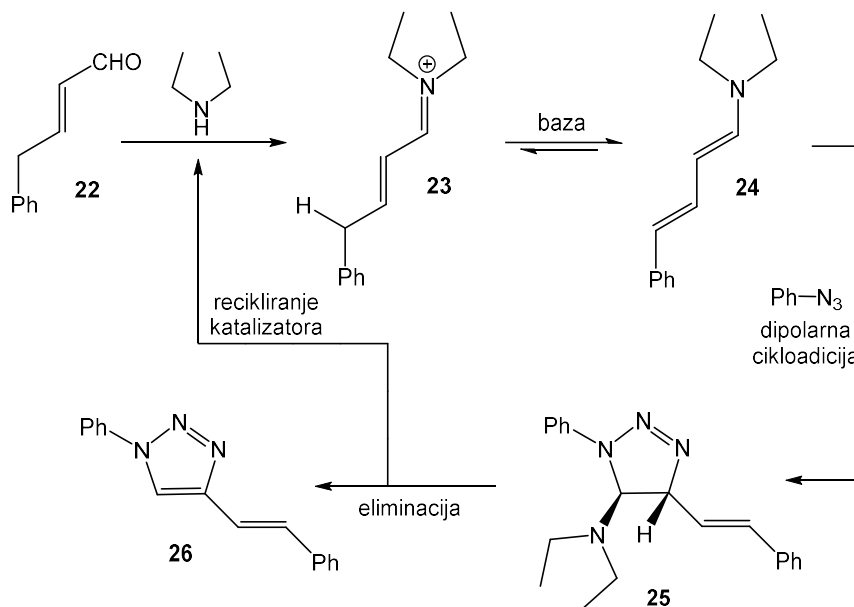
Današnje sinteze 1,4-disupstituiranih triazola sve se više temelje na tzv. „one-pot“ vrsti reakcija,⁹ za koje je karakteristična samo jedna reakcijska smjesa i mali broj uzastopnih

koraka. Primjer takve reakcije je sinteza 1-arilmetil-4-[E-alk-1-enil]-1H-1,2,3-triazola **21** (Shema 2.5.).¹⁰⁻¹¹



Shema 2.5. Prikaz „one-pot“ sinteze 1-arilmetil-4-[E-alk-1-enil]-1H-1,2,3-triazola

Već ranije spomenuta sinteza triazola pomoću cikloadicije alkina s organskim azidima pokazala je veliki potencijal zbog svoje specifičnosti i regioselektivnosti, kao i jednostavnosti cijelog procesa. Tijekom godina razvijen je niz reakcija temeljen na navedenom mehanizmu (shema 2.4.), ali se često pribjegavalo jeftinijim početnim reaktantima, primjerice nezasićenim aldehydima (shema 2.6.). Kao katalizatori u tim reakcijama najčešće su korišteni primarni, sekundarni i tercijarni amini, dok su se kao najbolji katalizatori pokazali sekundarni amini. Da je i otapalo važan dio kemijske reakcije i znatno može utjecati na sintezu, vidljivo je u navedenoj reakciji, u kojoj se kao otapalo koristio DMSO, prilikom čega je iskorištenje reakcije 45%, dok je u slučaju otapala kao što su MeOH, DMF-a ili CH_3CN iskorištenje manje od 14%. Često se u reakcijske smjese dodaje baza kako bi iskorištenje reakcije bilo veće.⁵

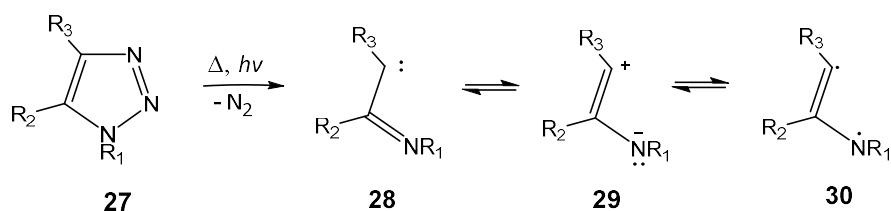


Shema 2.6. Prikaz mehanizma reakcije sinteze disupstituiranog triazola iz nezasićenog aldehyda, pomoću katalizatora.

2.1.3. Reaktivnost

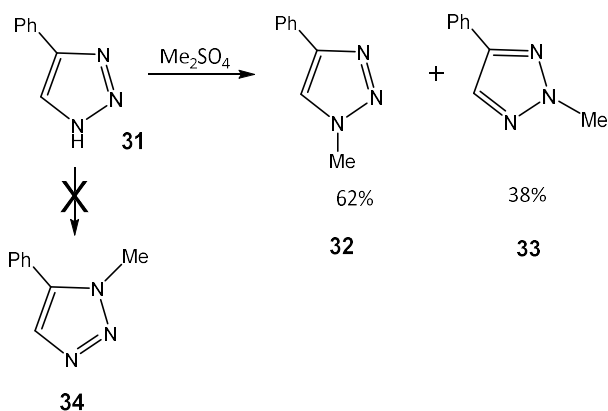
1,2,3-triazoli amfoterne su prirode, odnosno mogu se ponašati kao slabe baze i slabe kiseline, usporedive jačine s fenolom. Takva svojstva proizlaze iz strukture triazola i raspodjele supstituenata. Primjerice, 2-metil-1,2,3-triazol znatno je slabija baza od 1-metil-1,2,3-triazola, dok su benzotriazoli slabe kiseline.

Sustavi s monocikličkim 1,2,3-triazolnim prstenom pokazuju izuzetnu stabilnost prema oksidaciji, redukciji i hidrolizi. Međutim, u uvjetima izuzetno visokih temperatura ili fotokemijskih reakcija, moguć je izlazak molekule dušika iz triazolne strukture (shema 2.7.). Gubitak molekule dušika prvi je puta zapažen 1968. godine kada je opisan prvi maseni spektar 1,2,3-triazola, u kojem je uočen fragment [M-28] koji odgovara molekuli N₂. Takvo svojstvo gubitka N₂ karakteristično je za sve triazolne sustave, iako ponekad ono može biti spriječeno utjecajem otapala. Što je ono bazičnije, to će udio kiselog NH-triazola biti veći i cijela će struktura biti stabilnija pri povišenim temperaturama.¹



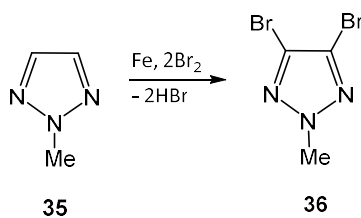
Shema 2.7. Shematski prikaz izlaska molekule dušika iz triazolne strukture prilikom termičke ili fotokemijske reakcije.

Triazolni sustavi u svojoj strukturi sadrže tri atoma vodika, koji se u reakcijama elektrofilne supstitucije mogu zamijeniti drugim skupinama. Supstituciju je moguće vršiti pomoću alkil-halogenida, dimetil-sulfata, metil-*p*-toluensulfonata i sličnih spojeva. Kod 1*H*-1,2,3-triazola supstitucija se najčešće odvija na položaju *N*-1, pri čemu se triazoli prevode u 1,3-disupstituirane triazolne soli, dok se kod 2*H*-1,2,3-triazola ona javlja na *N*-2 položaju, što u konačnici dovodi do stvaranja 1,2-disupstituiranih triazolnih soli. Osim početnog triazolnog sustava, alkiliranje može biti usmjereno i prirodom supstituenta. Primjerice, 4-fenil-1*H*-1,2,3-triazol **31**, u reakciji alkiliranja s dimetil-sulfatom, dat će 1-metilni **32** i 2-metilni izomer **33**, u omjeru 62:38, dok izomer 1-metil-5-fenil **34** neće nastati zbog steričkih smetnji (shema 2.8.).¹



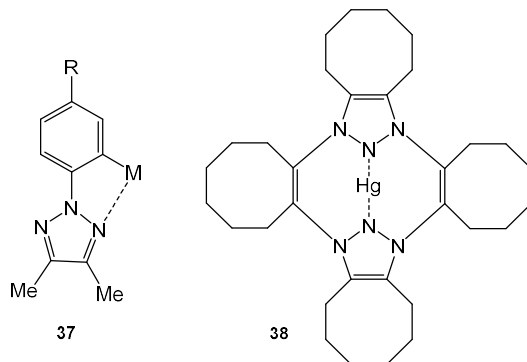
Shema 2.8. Shematski prikaz alkilacije 4-fenil-1H-1,2,3-triazola s dimetil-sulfatom.

Halogeniranje je u slučaju 1,2,3-triazola otežano, ali uz prisutnost željeza kao katalizatora nastaje disupstituirani produkt **36**, dok monosupstituirani produkti ne mogu biti izolirani. Primjer takve reakcije prikazan je na shemi 2.9.¹



Shema 2.9. Prikaz reakcije halogeniranja uz pomoć Fe kao katalizatora

1,2,3-triazolni sustavi često s atomima metala tvore komplekse sustave, poput kompleksa **37** i **38** prikazanih na slici 2.4. Kompleksi se najčešće tvore s željezo(II)-kloridom ili HgO , u THFu u atmosferi dušika. U takvim strukturama triazoli djeluju kao N-C kelatni ligandi.¹

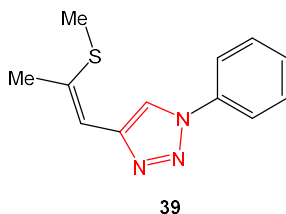


Slika 2.4. Prikaz kompleksa koji u svojoj strukturi sadrže triazolni prsten.

2.2. Primjena 1,2,3-triazola i njihovih disupstituiranih derivata

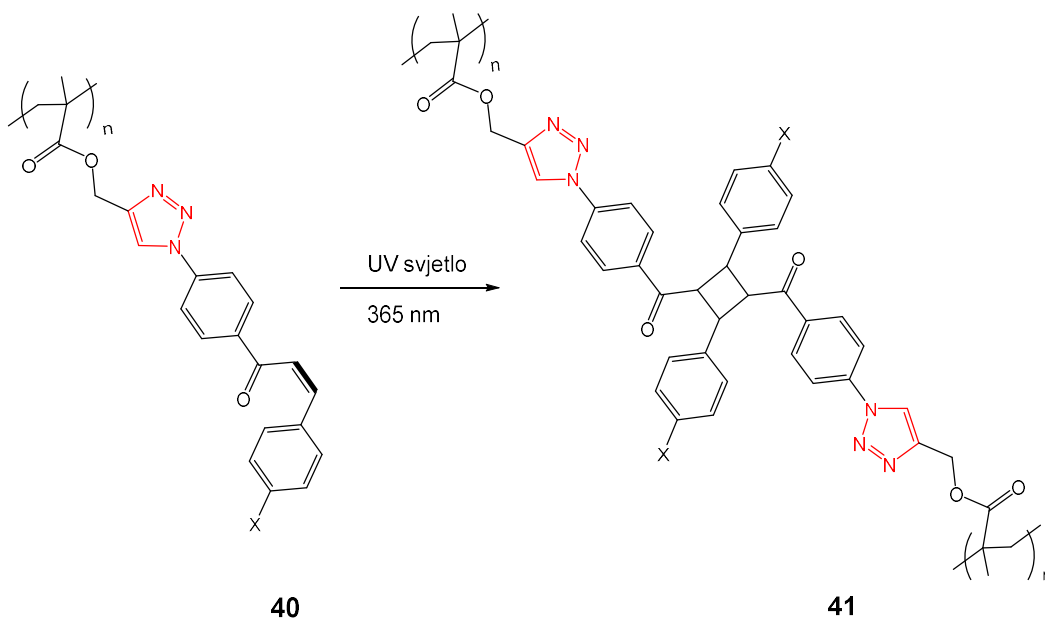
1,2,3-triazoli često se pojavljuju u industriji, uglavnom u obliku benzo-derivata, a koriste se kao stabilizatori svjetlosti, sredstva za optičko osvjetljivanje, fluorescentna bojila i sl. Koriste se i u poljoprivredi zbog svoje izrazite biološke aktivnosti.¹ Primjerice, 4-alkil-1,2,3-triazol pokazuje svojstvo blage inhibicije mikroorganizama.¹ Nadalje, neki analozi histamina s triazolom pokazuju značajno antihistaminsko i antiacetilkolinsko djelovanje.¹ Osim toga, lijekovi koji sadrže triazolnu jezgru koriste se kao antikonvulzivi, antimalarici i analgetici, a imaju i značajna antimikrobna, antitumorska i antivirusna svojstva.¹²⁻¹⁵ Također, razvijaju se i lijekovi za liječenje neurodegenerativnih bolesti poput Alzheimerove bolesti, s karakterističnom 1,2,3-triazolnom jezgrom.¹⁶

Triazolni sustavi pronašli su primjenu i kod tzv. *NLO materijala* (eng. *nonlinear optical materials*).¹⁷ Takvi materijali od presudne su važnosti za primjenu u kvantnoj elektronici, telekomunikacijskoj tehnologiji¹⁸, nanotehnologiji¹⁹ i sl., a temelje se na strukturi molekula koje ih izgrađuju i njihovoj elektronskoj stabilnosti.²⁰ Upravo se iz tog razloga često koriste organski NLO kristali čija je stabilnost uvjetovana delokalizacijom elektrona, za razliku od anorganskih materijala koji nemaju to svojstvo i u čijim se strukturama često javljaju polarne vibracije optičke rešetke koje mogu ometati rad uređaja temeljenih na ovakvim materijalima. Primjer takvog spoja **39**, korištenog kao NLO materijal, prikazan je na slici 2.5.²¹



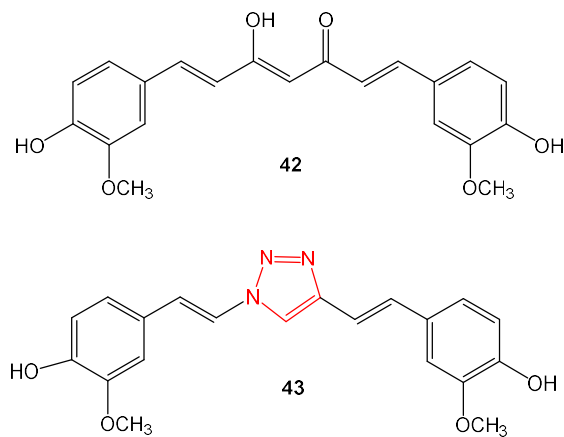
Slika 2.5. (Z)-4-(2-(metiltio)prop-1-en-1-il)-1-fenil-1H-1,2,3-triazol **39**, spoj korišten kao NLO materijal

Osim jednostavnih molekula, poput one prikazane na slici 2.5 (**39**), triazoli se u kontekstu NLO materijala najčešće sintetiziraju tako da tvore polimerne strukture koje omogućavaju bolju konjugaciju i delokalizaciju elektrona kroz sustav.²² Sinteza takvih polimera temelji se na već ranije spomenutim reakcijama sinteze disupstituiranih 1,2,3-triazola, a najčešće se koriste *klik* i „*one-pot*“ reakcije, kao najbrže i najjednostavnije. Na shemi 2.10. prikazan je polimer **40** koji u svojoj strukturi sadrži 1,4-disupstituirani 1,2,3-triazolni sustav, a koristi se kao NLO materijal. Dodatno umrežavanje polimera **41** omogućeno je stvaranjem ciklobutana, koji nastaje kao posljedica osvjetljavanja UV svjetlom.²³



Shema 2.10. Umrežavanje polimera s 1,2,3-triazolnim prstenom, u svrhu dobivanja korisnih NLO materijala

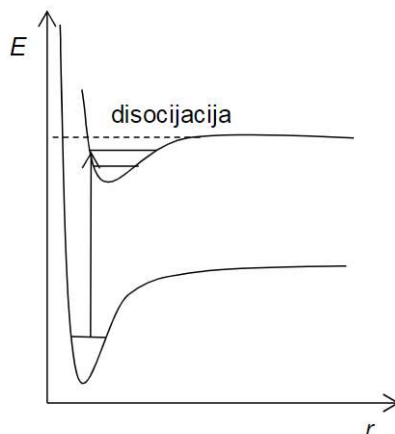
Osim u sintezi novih industrijskih materijala, spojevi s triazolnom strukturom često se pojavljuju u farmaceutskoj i prehrambenoj industriji, kako je navedeno ranije. Na slici 2.6. prikazana je molekula kurkumina **42**, prirodnog pigmenta koji se koristi u prehrambenoj i tekstilnoj industriji te ima važna biološka svojstva.²⁴ Upravo zbog toga, sinteza novih derivata te molekule sve je više istraživana.²⁵ U jednoj od studija, znanstvenici su sintetizirali molekulu **43** u kojoj je 1,3-dikarbonilni dio zamijenjen 1,2,3-triazolnim prstenom. Takvi su spojevi pokazali ista ili, u nekim slučajevima, bolja biološka svojstva od pigmenta kurkumina.²⁶



Slika 2.6. Kurkumin **42**, prirodni pigment. Derivat kurkumina **43**, u kojeg je umetnuta triazolna jezgra umjesto 1,3-dikarbonilnog dijela.

2.3. Fotokemijska svojstva heterocikličkih i stilbenskih sustava

Predajom određene količine energije molekuli, dolazi do prijelaza molekule u stanje više energije. Niz je metoda kojima je to moguće postići, poput električnog pražnjenja, plamena, ioniziranog zračenja ili kemijskih reakcija. Međutim, najčešći način je apsorpcija fotona vidljivog ili UV zračenja određene energije, čime molekula prelazi u pobuđeno stanje i tada može sudjelovati u fotokemijskim reakcijama (slika 2.7.).²⁷



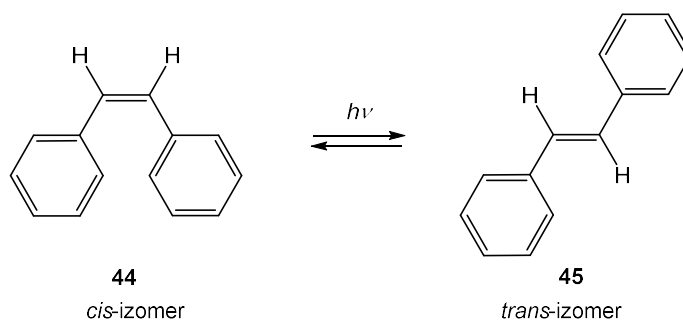
Slika 2.7. Prikaz ploha potencijalne energije osnovnog i pobuđenog stanja. Apsorpcija fotona vodi molekulu u višu vibracijsku razinu pobuđenog stanja.

U pobuđenom stanju molekula posjeduje različita fizikalna i kemijska svojstva, a njena ukupna energija veća je u odnosu na osnovno stanje. Različita svojstva posljedica su promjene elektronske strukture, budući da elektron, ovisno o količini apsorbirane energije, prelazi u višu slobodnu orbitalu. Pobuđeno stanje molekule ima bolja donorska i akceptorska svojstva u odnosu na osnovno stanje. Vrijeme koje molekula provede u pobuđenom stanju veoma je kratko (10^{-15} s), ali dovoljno je dugo da dođe do fotokemijske reakcije ili drugih deaktivacijskih procesa. U slučaju da je energija fotona premala i da je svjetlost kojom se osvjetljava uzorak valnih duljina izvan raspona apsorpcijskog spektra molekule, fotokemijske reakcije nisu moguće.²⁸

Heterociklički analozi stilbena, posebice oni koji u svojoj strukturi sadrže dušikove atome, korisni su supstrati za fotokemijsku transformaciju u jednom stupnju u heteropolicikličke spojeve.²⁹

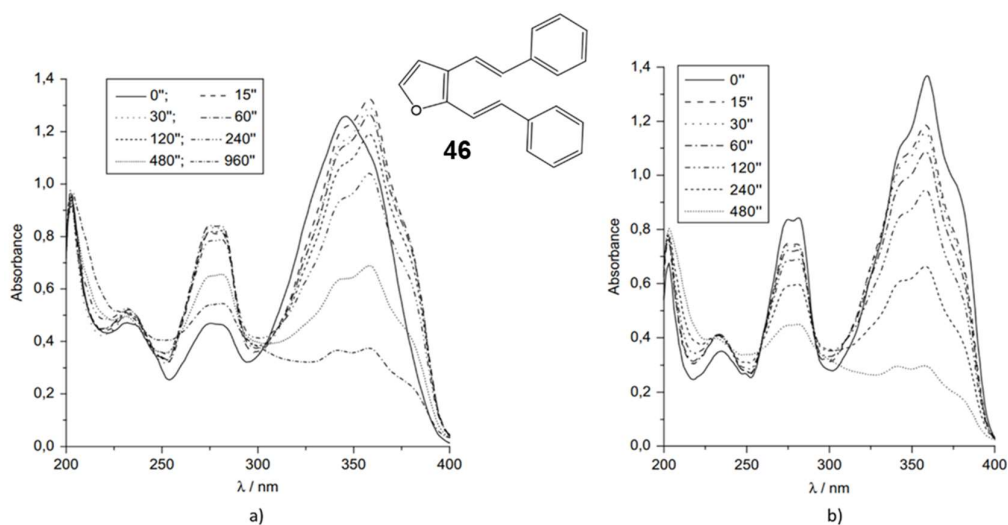
2.3.1. Fotoizomerizacija

Kada određene nezasićene molekule kao što su stilbeni ili heterostilbeni imaju sposobnost apsorpcije svjetla, često dolazi do kemijskih promjena u strukturi kao rezultat disocijacije u pobuđenom stanju ili izomerizacije dvostruke veze pobuđene vrste. Kada je energija apsorbiranog zračenja slična ili veća od energije kovalentne veze može doći do njenog cijepanja, a taj je proces poznat pod nazivom fotoliza. Prilikom apsorpcije fotona molekula stilbena ili heterostilbena prelazi u pobuđena stanja te tada često dolazi do promjene konfiguracije, odnosno do stvaranja smjese *cis*- i *trans*-izomera. Koji će izomer prevladavati u konačnoj smjesi ovisi o početnim uvjetima, kao što su valna duljina i molarni apsorpcijski koeficijenti čistih izomera. Primjerice, osvjetljavanjem bilo kojeg čistog izomera stilbena na 313 nm, sastav konačne smjese iznosit će 93% *cis*-izomera **44** i 7% *trans*-izomera **45**, zbog toga što na spomenutoj valnoj duljini *trans*-izomer bolje apsorbira zračenje, pa je izomerizacija *trans*-izomera u *cis*-izomer učinkovitija (shema 2.11.).³⁰



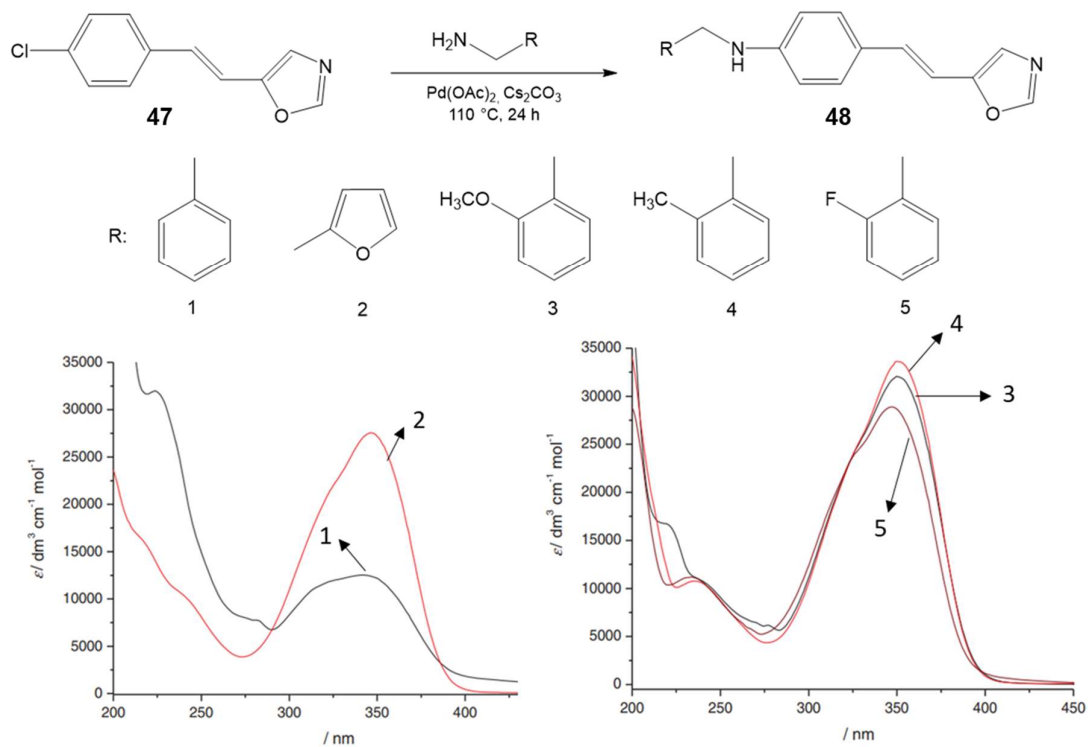
Shema 2.11. Sastav fotostacionarne smjese dobivene osvjetljavanjem stilbena na 313 nm.

Na slici 2.8. prikazani su UV spektri dobiveni praćenjem promjena u strukturi di-heterostilbenske molekule **46** prilikom apsorpcije u određenim vremenskim intervalima. Kod otopine *cis,trans*-izomera u etanolu primijećen je pomak apsorpcijskog maksimuma na valnu duljinu od 359 nm, uz istodobno stvaranje drugog maksimuma na 275 nm (slika 2.8.(a)). Novodobiveni maksimumi odgovaraju *trans,trans*-izomeru, koji se formira već nakon 15 s. Ti se maksimumi dodatno smanjuju prilikom daljnjeg osvjetljavanja otopine, što je vidljivo na slici 2.8.(b).³¹



Slika 2.8. Fotolize *cis,trans*-izomera (a) i *trans,trans*-izomera (b) 2-(2-feniletetil)-3-(2-feniletetil)furana **46**.³¹

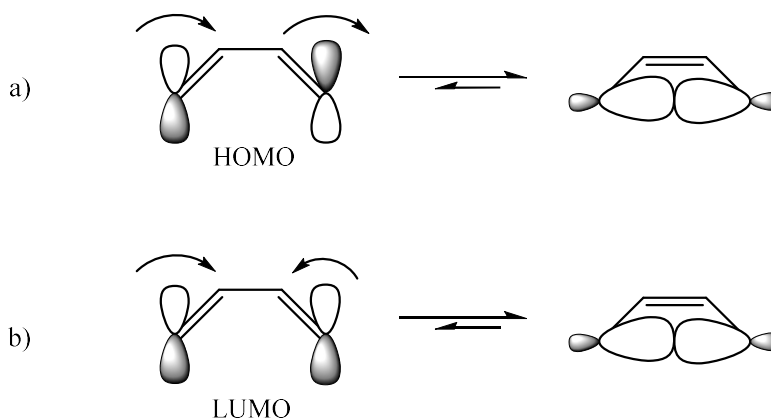
Osim praćenja fotolize i izomerizacije pojedinih spojeva, UV-spektri pokazuju značajne razlike prilikom promjene supstituenata u molekuli. Kako različiti supstituenti utječu na maksimume u UV spektru vidljivo je na slici 2.9.³²



Slika 2.9. Prikaz različitih maksimuma u UV spektru dobivenih promjenom supstituenata na istom skeletu.³²

2.3.2. Elektrociklizacija

Kod elektrocikličkih reakcija zatvaranja prstena, polazeći od nekoga konjugiranog sustava s određenim brojem dvostrukih veza, dolazi do formiranja nove σ veze između krajeva konjugiranog π sustava. U slučaju otvaranja prstena, reakcija se odvija u suprotnom smjeru. Te se reakcije mogu odvijati fotokemijski i termički, pri čemu će termičke reakcije favorizirati termodinamički stabilnije produkte, dok će kod fotokemijskih reakcija sastav fotostacionarnog stanja odrediti primijenjena valna duljina. Drugim riječima, u reakcijama fotokemijske elektrociklizacije prevladat će onaj produkt koji ne apsorbira na primijenjenoj valnoj duljini. Kod termičke reakcije razmatra se HOMO orbitala (π_2), odnosno molekula se nalazi u osnovnom stanju. Nakon apsorpcije svjetla elektron prelazi u π_3 orbitalu, pa se kod fotokemijskih reakcija razmatra LUMO orbitala. Fotokemijske i termičke reakcije zatvaranja i otvaranja prstena su stereospecifične, ali za njih vrijede suprotna selekcijska pravila. Kod parnog broja konjugiranih π veza prilikom termičkog zatvaranja prstena orbitale će se preklopiti konrotatorno (orbitalni režnjevi se moraju zakrenuti u istom smjeru da bi nastala kemijska veza), dok će kod fotokemijskog zatvaranja doći do disrotatornog zatvaranja orbitala (orbitalni režnjevi se moraju zakrenuti u suprotnom smjeru da bi nastala kemijska veza) (tablica 2.1.). Oba načina zatvaranja prikazana su na slici 2.10.³⁰

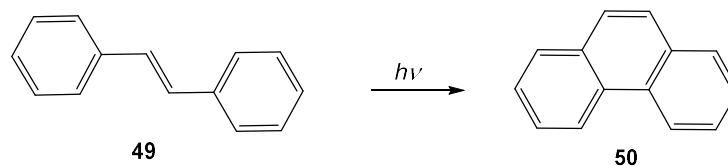


Slika 2.10. Prikaz konrotatornog (a) i disrotatornog (b) preklapanja orbitalnih režnjeva.³⁰

Tablica 2.1. Woodward-Hoffmannova selekcijska pravila za elektrocikličke reakcije provedene termički i fotokemijski.

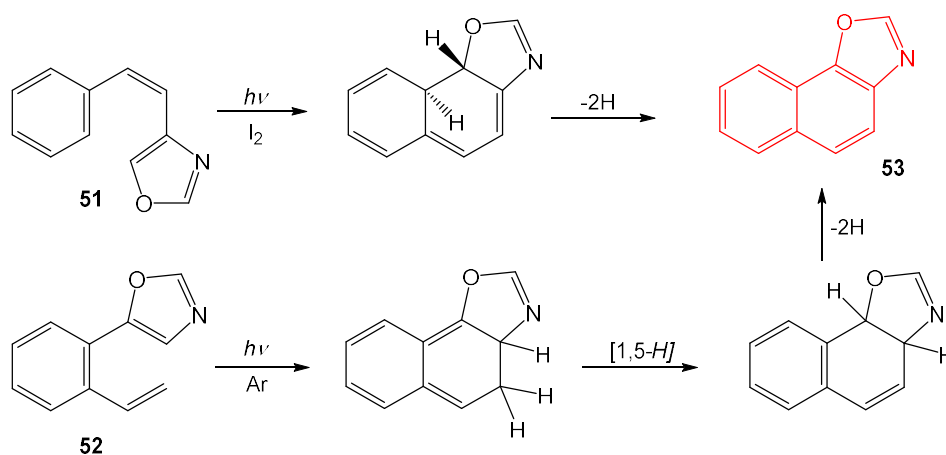
Broj π veza	Fotokemijske reakcije	Termičke reakcije
Paran	Disrotatorno	Konrotatorno
Neparan	Konrotatorno	Disrotatorno

Upravo je elektrocikličko zatvaranje prstena u fenantren **50** karakteristična fotokemijska reakcija stilbena **49** (shema 2.12.). Prilikom uvođenja supstituenata na stilbensku jezgru povećava se broj mogućih fotokemijskih reakcija.³³



Shema 2.12. Elektrocikličko zatvaranje stilbena u fenantren.

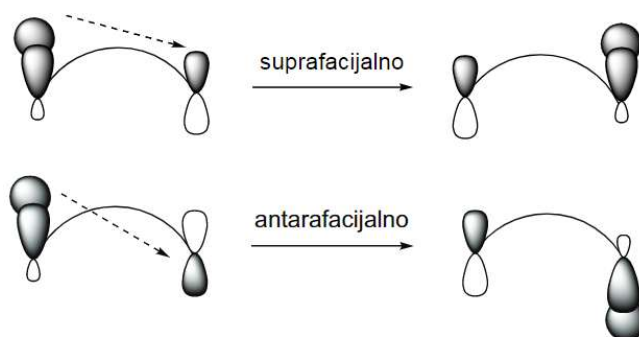
Na shemi 2.13. prikazana je sinteza molekule **53**, dobivena preko dva različita mehanizma temeljena na elektrociklizacijskom procesu. Početni reaktanti, heterostilben **51** i oksazolni derivat **52** razlikuju se u strukturi i svojstvima. Prilikom provođenja elektrociklizacije često se kao katalizator koristi jod, koji djeluje kao oksidacijsko sredstvo.³⁴



Shema 2.13. Dva različita mehanizma dobivanja molekule **53**, oba temeljena na elektrociklizaciji.

2.3.3. Fotocikloadicija

Osim elektrocikličkih reakcija zatvaranja ili otvaranja prstena, postoje i fotocikloadicijske reakcije, karakteristične za nezasićene sustave. Cikloadicijske reakcije su one u kojima nastaje prsten adicijom jednog reaktanta s π elektronima na drugi reaktant s π elektronima. Time nastaju nove dvije σ veze, te između dva alkena nastaje primjerice ciklobutan.³⁰ Primjer takve fotokemijske reakcije prikazan je na shemi 2.10. Za fotocikloadicijske reakcije također vrijede određena selekcijska pravila, prikazana u tablici 2.2. Za razliku od elektrociklizacijskih, kod fotocikloadicijskih reakcija orbitale se mogu preklapati suprafacijalno i antarafacijalno, odnosno obje σ veze nastaju s iste strane π sustava kod suprafacijalnog preklapanja, dok je kod antarafacijalnog nastajanje σ veza sa suprotnih strana π sustava (slika 2.11.). Antarafacijalno preklapanje moguće je samo za velike prstenove, odnosno za one sustave s više od šest atoma.

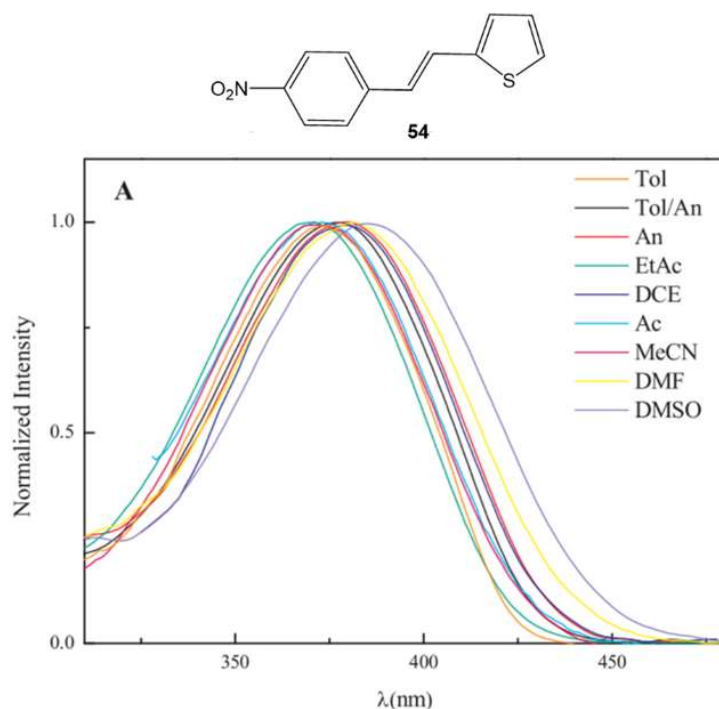


Slika 2.11. Suprafacijalno i antarafacijalno preklapanje.³⁰

Tablica 2.2. Selekcijnska pravila za cikloadicijske reakcije.

Broj π veza koje sudjeluju u reakciji	Fotokemijske reakcije	Termičke reakcije
Paran broj	suprafacijalno	antarafacijalno
Neparan broj	antarafacijalno	suprafacijalno

Praćenje fotokemijskih reakcija najčešće se vrši praćenjem UV spektara. Kod takvih snimanja veliku ulogu ima otapalo koje može značajno promijeniti izgled apsorpcijske krivulje ili položaj maksimuma apsorpcije. Takav slučaj prikazan je na slici 2.12. gdje je heterostilben **54** otopljen u više različitih otapala. Uočen je pomak maksimuma apsorpcije prilikom svake promjene otapala.³⁵



Slika 2.12. Prikaz apsorpcijskih krivulja u ovisnosti o otapalu.³⁵

2.4. Računalno modeliranje

Računalna kemija grana je kemije koja koristi računalno modeliranje i simulacije, što uključuje *ab initio* pristupe temeljene na kvantnoj kemiji, ali i računalne metode koje su razvijene korištenjem empirijskih podataka, u svrhu proučavanja struktura i svojstava molekula i materijala.³⁶ Temelji se na zakonima fizike ili njihovim aproksimacijama, poput Schrödingerove jednadžbe, Born-Oppenheimerove aproksimacije, varijacijskog teorema, itd. Računalni kvantno-kemijski programi omogućavaju proučavanje kemijskih fenomena bez eksperimentalnih postupaka pri određivanju svojstava molekula i istraživanju tijeka kemijskih reakcija. Računalne metode se mogu koristiti, osim za proučavanje stabilnosti molekula, za modeliranje kratko-živućih, nestabilnih intermedijera i prijelaznih stanja, čije se strukture ne mogu opaziti eksperimentalno. Također se mogu koristiti kao potvrda eksperimentalno dobivenih molekula s određenim svojstvima i strukturnim obilježjima.³⁷

Osnovni koncept kvantne mehanike, koja predstavlja temelj za utvrđivanje elektronske strukture molekula, temelji se na činjenici da se energija i sva svojstva izvedena iz energije mogu izračunati rješavanjem Schrödingerove jednadžbe. Međutim, ta se jednadžba egzaktno može riješiti samo za jednoelektronske sustave. Iz tog razloga, za detaljniji uvid u kvantno-

mehanička svojstva i strukturu određenih molekula, potrebno je uzeti u obzir dodatne parametre. *Ab initio* metode zasnovane na rješavanju vremenski neovisne Schrödingerove jednadžbe - npr. Hatree-Fock (HF), Møller-Plesset (MP) skupina metoda i skupina metoda konfiguracijske interakcije (CI) - pristupi su koji ne koriste eksperimentalne podatke u svojim izračunima te se oslanjaju isključivo na zakone kvantne mehanike i koriste osnovne fizikalne konstante poput Planckove konstante, brzine svjetlosti, mase i naboja. Zbog računalne zahtjevnosti *ab initio* pristupa za kvantno-kemijski opis višeelektronskih sustava, razvijene su metode zasnovane na teoriji funkcionala gustoće, koje su manje zahtjevne u smislu duljine računa i korištenja računalnih resursa, ali omogućavaju približno jednako točne karakterizacije proučavanih sustava.³⁸

2.4.1. Teorija funkcionala (elektronske) gustoće

Kao središnja veličina u teoriji funkcionala (elektronske) gustoće (eng. *Density Functional Theory, DFT*) koristi se veličina elektronska gustoća. Glavna prednost DFT-a u odnosu na metode temeljene na valnoj funkciji je ta što je elektronska gustoća funkcija samo triju prostornih varijabli, dok valna funkcija ovisi o broju svih elektrona u sustavu i zbog toga je računalno zahtjevnija. DFT metode ipak se mogu usporediti s *ab initio* metodama po svojoj preciznosti i točnosti.³⁹ DFT metode se temelje na Hohn-Sham teoriji da energija osnovnog stanja kemijskog sustava izravno ovisi o elektronskoj gustoći u molekulskom sustavu. Za razliku od HF metode, DFT metode uključuju efekt elektronske korelacije, tj. činjenicu da elektroni u molekulskom sustavu reagiraju na kretanje drugih elektrona (uzajamno se koreliraju) omogućavajući tako da su privlačne i odbojne sile unutar molekuli u ravnoteži.³⁸

Prvu teoriju funkcionala gustoće razvili su 1927. godine Thomas i Fermi, temeljeći svoj izvod na modelu homogenog elektronskog plina. Na temelju svojih istraživanja zaključili su da je energiju osnovnog stanja elektronskog plina moguće odrediti poznavajući samo njegovu elektronsku gustoću, uz određena ograničenja. Thomas-Fermijev model prvobitno nije naišao na veću praktičnu primjenu, ali značajan je jer predstavlja osnovu za teoriju funkcionala gustoće kakvu danas koristimo. Za razliku od valne funkcije koja predstavlja matematički konstrukt, DFT pristup se zasniva stvarnoj elektronskoj gustoći tj. na svojstvu koje postoji u molekulama.

Najpoznatiji i najčešće korišten funkcional je B3LYP (eng. *Becke Three Parameter Hybrid Functionals*), koji se sastoji od Becke funkcionala izmjene (B), korekcijskog funkcionala (LYP), kojeg su razvili Lee, Yang i Parr te određenog udjela HF funkcionala u elektronskoj izmjeni, tvoreći taj funkcional kombinacijom triju parametara. Uz B3LYP također se često koriste i BP86, PW91, PBE1PBE, M06-2X, wB97XD, OLYP te BMK. Zbog svoje popularnosti,

prednosti u brzini nad *ab initio* metodama i usporedive preciznosti s naprednim *ab initio* metodama, DFT je postao najčešća korištena kvantno-kemijska metoda.^{39,40}

2.4.2. Geometrijska optimizacija

Geometrijska optimizacija je iterativni proces izračunavanja strukturnih parametara molekula u određenom koordinatnom sustavu koji opisuje položaj jezgara. Jedan od ciljeva korištenja metoda kvantne kemije jest predviđenu strukturu molekule optimizirati do oblika s najnižom energijom.

Pri malim strukturnim promjenama dolazi do promjene energije molekule, a odnos tih dviju promjena prikazan je plohom potencijalne energije (Potential Energy Surface, PES). Točke minimuma nazivaju se potencijalne jame i odgovaraju strukturama najniže energije. Suprotno tome, točke maksimuma na PES odgovaraju prijelaznim stanjima koja se nalaze na putu između dva minimuma na plohi. Geometrijska optimizacija započinje početnim razmještanjem atoma u molekuli u koordinatnom sustavu. Izračunava se energija i gradijent energije u toj točki, a onda se, s obzirom na promjenu sile i energije u različitim smjerovima, odredi promjena geometrije za sljedeći korak optimizacije.^{39,41} Kada neka geometrija molekule u dva uzastopna koraka rezultira jednakom vrijednošću energije, postignuta je samousklađenost (engl. self-consistency) pa se ta geometrija smatra se rješenjem za danu razinu teorije.

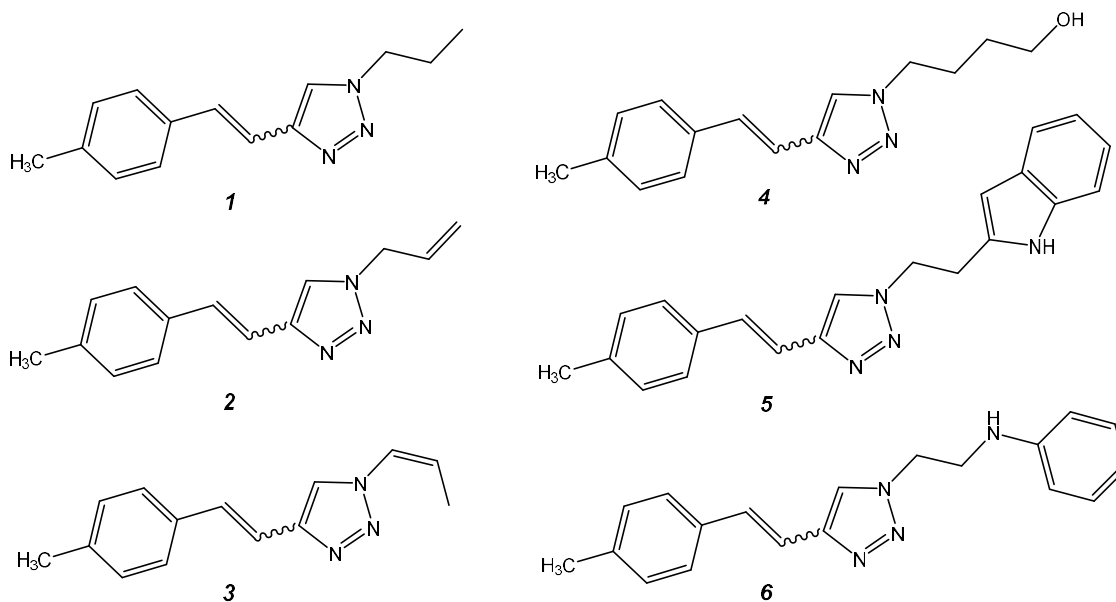
Molekule koje imaju složeniju strukturu s više jednostrukih i dvostrukih veza imaju mogućnost zauzimanja velikog broja konformacija koje se međusobno razlikuju u termodinamičkoj stabilnosti. Pri tome, različite početne konformacije neke molekule završavaju u vlastitim minimumima energije, pa je potrebno svaki konformer posebno optimizirati da se može procijeniti koji od njih je najstabilniji, pa tako i najviše zastupljen u realnom sustavu.

3. REZULTATI I RASPRAVA

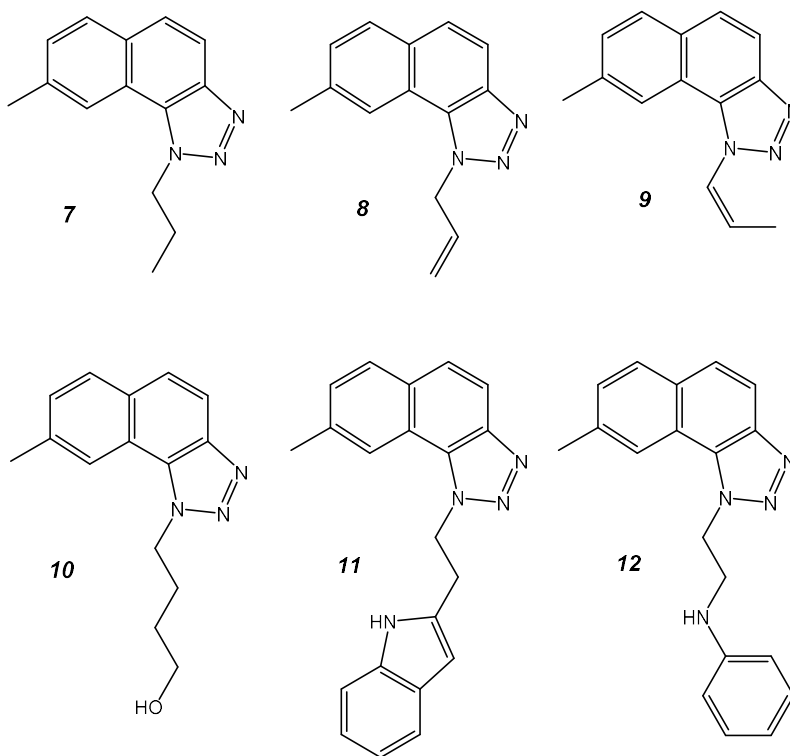
3.1. Uvod

Spojevi s karakterističnom 1,2,3-triazolnom jezgrom sve se češće koriste zbog svoje izražene biološke aktivnosti.²⁴ Derivati histamina s triazolnom jezgrom pokazuju značajno antihistaminsko i antiacetilkolinско djelovanje.²⁵ Zbog svojih se svojstava potencijalno mogu koristiti kao aktivne komponente lijekova za liječenje neurodegenerativnih poremećaja, poput Alzheimerove bolesti.¹⁶

U svrhu ovog rada sintetizirani su spojevi **1-6** (slika 3.1.) Wittigovom reakcijom, čime kao produkti nastaju smjese *cis*- i *trans*-izomera. Sintetizirani derivati su kasnije podvgnuti reakcijama elektrociklizacije čime su dobiveni spojevi **7-12** (slika 3.2.). Osim sinteze i spektroskopske karakterizacije, u svrhu dobivanja informacija o elektronskoj strukturi i termodinamičkoj stabilnosti dobivenih spojeva **1-6** provedena su i računska ispitivanja.



Slika 3.1. Strukture sintetiziranih triazolnih heterostilbena **1-6**.

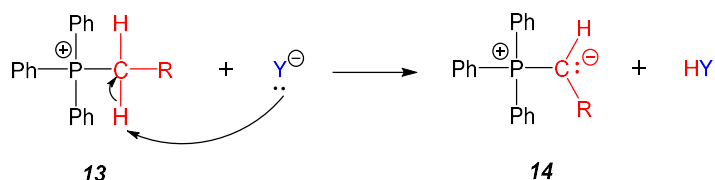


Slika 3.2. Strukture elektrociklizijskih fotoprodukata **7-12**.

3.2. Wittigova reakcija

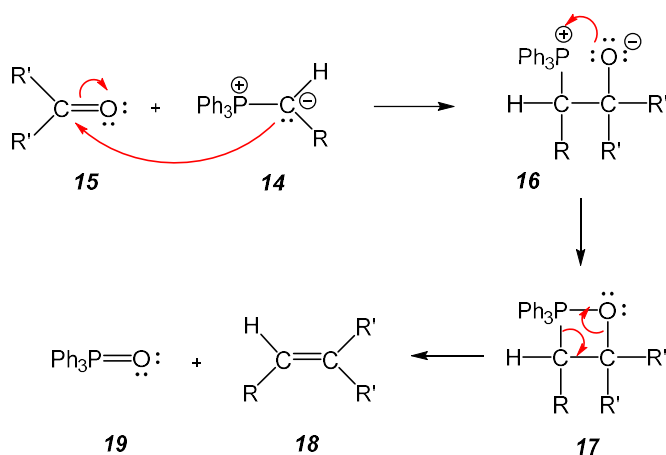
George Wittig je 1953. godine⁴² otkrio način adicije fosforom stabiliziranih karbaniona na ketone i aldehide. Takva se reakcija temelji na pretvorbi karbonilne skupine ketona i aldehida u novu dvostruku vezu između dva atoma ugljika, na mjestu gdje veza prije nije postojala. George Wittig za ovo je otkriće 1979. godine primio Nobelovu nagradu za kemiju.⁴³ Fosforom stabilizirani karbanioni nazivaju se ilidi (**14**) koji predstavljaju molekule bez naboja, ali u svojoj strukturi sadrže negativno nabijen atom ugljika vezan na pozitivno nabijen atom fosfora.

U reakcijsku posudu dodaje se aldehid ili keton, otapalo i trifenilfosfonijeva sol **13**. Da bi se iz navedene soli dobio ilid **14** potreban za dobivanje produkata, važna je prisutnost baze (shema 3.1.).



Shema 3.1. Dobivanje trifenilfosfonijevog ilida **14** iz soli uz prisutnost baze.

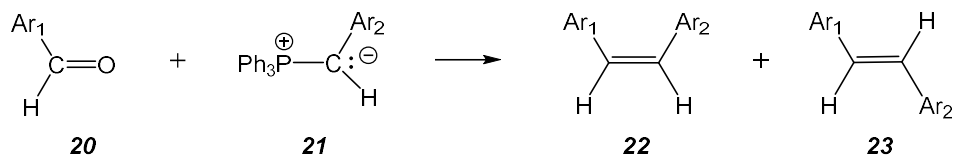
Zbog svojeg karbanionskog karaktera, ugljikov atom u ilidu jako je nukleofilan. On napada karbonilnu skupinu i daje betain **16** (shema 3.2.), međuprodukt s razdvojenim nabojem. U njegovoj strukturi kisikov atom negativno je nabijen, dok atom fosfora nosi pozitivan naboj. Ti atomi tvore jake veze, pa privlačenje suprotnih naboja dovodi do brzog nastajanja četveročlanog oksafosfetanskog prstena **17**. Četveročlani prsten brzo se raspada u alken **18** i trifenilfosfin-oksid **19**. Trifenilfosfin-oksid iznimno je stabilan i njegova pretvorba iz trifenilfosfina pokretačka je sila Wittigove reakcije. Širok je izbor otapala koja se koriste kod ove vrste reakcija, a oni najčešći su tetrahidrofuran (THF), dimetil-sulfoksid (DMSO), toluen i etanol.



Shema 3.2. Mehanizam Wittigove reakcije.

Najvažnija karakteristika Wittigovih reakcija jest nastajanje smjese *cis*- i *trans*-izomera. Izomeri nastaju u određenim omjerima, koji su definirani početnim reaktantima i reakcijskim uvjetima. Zbog steričkih smetnji koje se mogu javiti tijekom sinteze pojedinih produkata, moguć je nastanak samo jednog izomera. Na shemi 3.3. prikazana je sinteza *cis*-izomera **22** i *trans*-izomera **23** iz početnih reaktanata, aldehida **20** i ilida **21**.⁴³⁻⁴⁴ Zbog visoke *E*- ili *Z*-stereoselektivnosti ovakva vrsta reakcija vrlo često se koristi u organskoj sintezi. Primjenom nestabilizirajućih ilida kao konačan produkt dobiva se gotovo isključivo *Z*-stereoizomer, dok

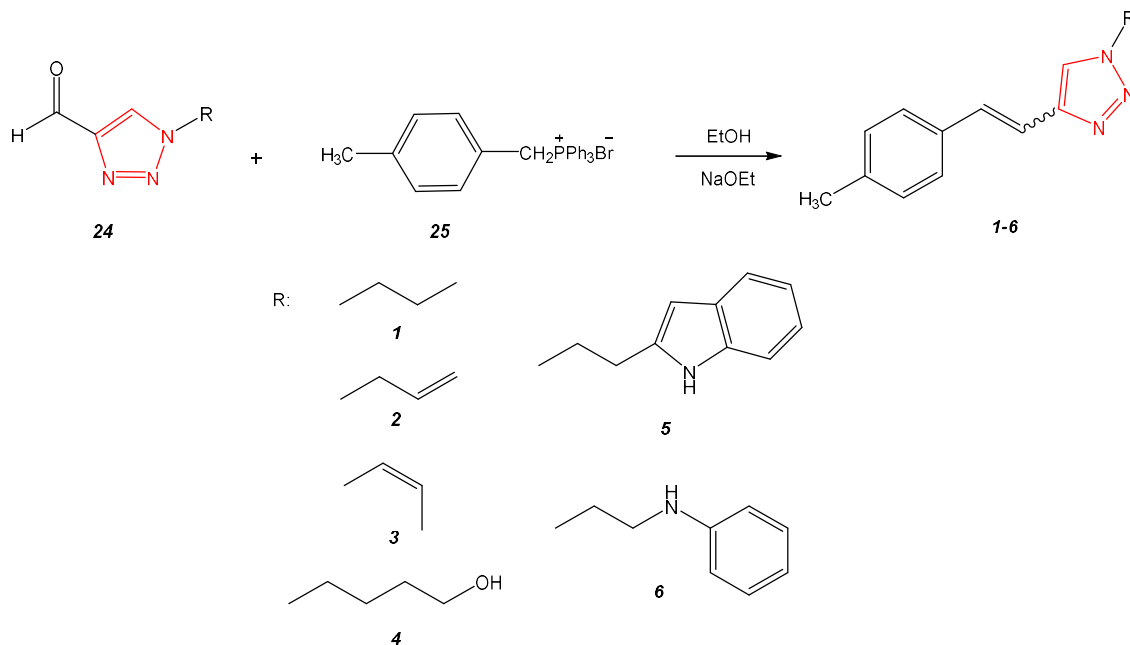
se prilikom korištenja stabilizirajućih ilida ili nestabilizirajućih ilida ali pomoću Schlosserove modifikacije⁴⁵ Wittigove reakcije, dobiva *E*-stereoizomer.⁴⁴



Shema 3.3. Sinteza *cis*- i *trans*-izomera Wittigovom reakcijom.

3.3. Sinteza novih triazolnih derivata

Triazolni heterostilbeni **1-6** sintetizirani su Wittigovom reakcijom opisanom u poglavlju 3.2., iz fosfonijeve soli **25** i triazolnog aldehida **24** uz prisutnost natrijeva etoksida NaOEt kao baze, te etanola kao otapala. Reakcija je prikazana na shemi 3.4. Kao produkti nastale su smjese *cis*- i *trans*-izomera derivata **1-6**.



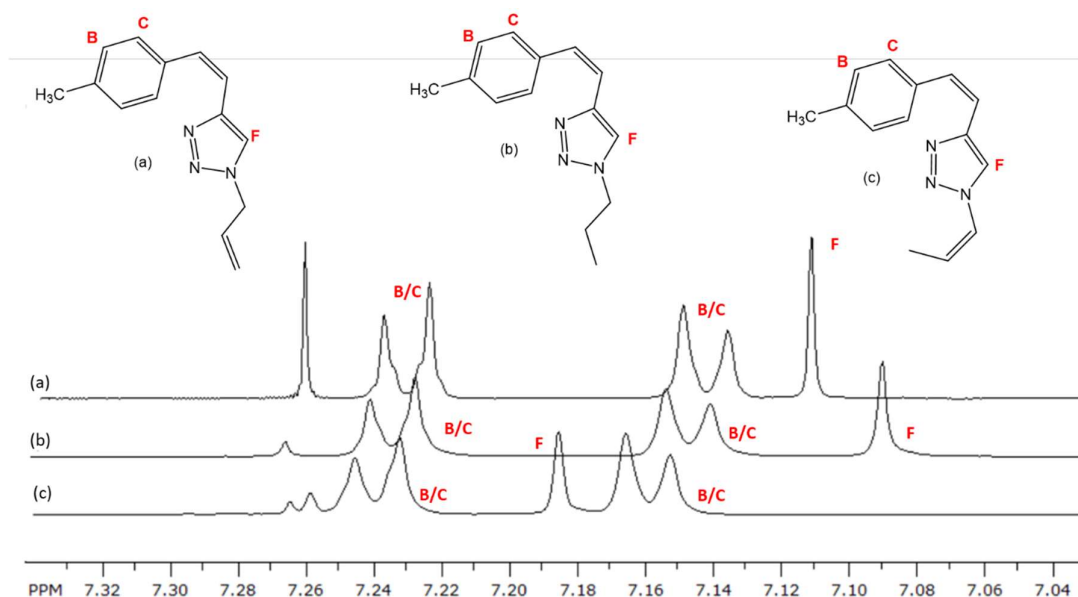
Shema 3.4. Prikaz sinteze novih triazolnih derivata **1-6** Wittigovom reakcijom.

Dobiveni izomeri odijeljeni su pomoću kolonske kromatografije. Kolona je punjena silikagelom, a kao eluens koristila se smjesa petroleter/dietil-eter promjenjiva omjera. Za dodatno pročišćavanje i odvajanje izomera korištena je tankoslojna kromatografija sa

silikagelom kao stacionarnom fazom, a kao otapalo korištena je smjesa diklormetan/dietil-eter promjenjiva omjera.

3.3.1. Spektroskopska svojstva dobivenih triazolnih derivata

Dobiveni *cis*- i *trans*-izomeri triazolnih heterostilbena **1-6** izolirani su iz reakcijske smjese uzastopnim kromatografskim odjeljivanjem na koloni i tankom sloju, a njihove strukture potvrđene su ^1H i ^{13}C NMR spektroskopijom, UV-Vis spektroskopijom te masenom spektrometrijom. Za asignaciju signala u NMR spektrima korištene su i dodatne tehnike poput 2D-HH (COSY) spektara.

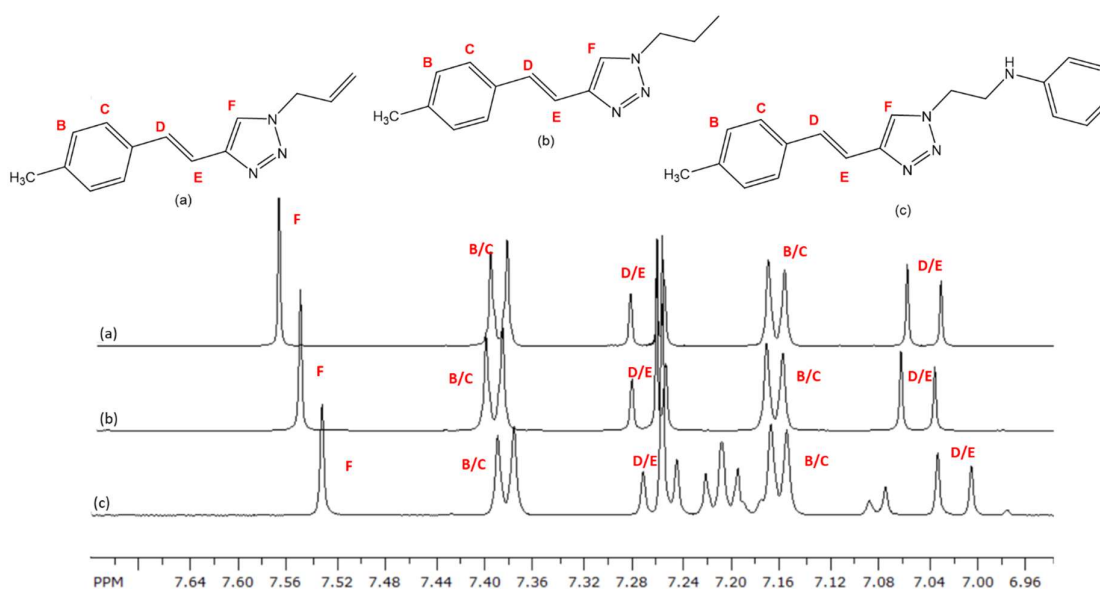


Slika 3.3. Dijelovi ^1H NMR spektara spojeva *cis*-1 (b), *cis*-2 (a) i *cis*-3 (c).

Na slici 3.3. prikazani su dijelovi tri ^1H NMR spektara spojeva *cis*-1 (b), *cis*-2 (a) i *cis*-3 (c) za aromatsko područje. Protoni označeni slovima B i C kod sve tri molekule nalaze se na sličnim kemijskim pomacima u obliku dubleta sa spregom oko 8 Hz. Osim aromatskih protona na benzenskom prstenu, H_F koji se nalazi na triazolu, u spektrima se pojavljuje kao singlet. Kod molekula *cis*-1 i *cis*-2 signal za navedeni proton nalazi se na 7,11 ppm za *cis*-1 i 7,09 ppm za *cis*-2. Kod molekule *cis*-3 signal za H_F na većem je kemijskom pomaku (7,19 ppm). Signal na 7,26 odgovara otapalu u kojem su snimani spektri, CDCl_3 .

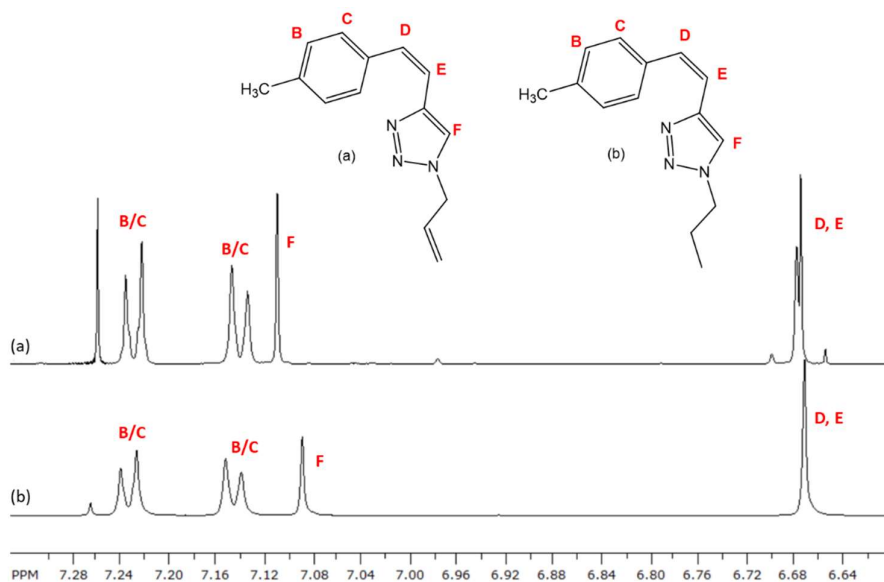
Kod *trans*-izomera područje aromata za gotovo sve derivate izgleda gotovo jednako. Na slici 3.4. prikazana su tri dijela spektra *trans*-izomera, *trans*-1 (b), *trans*-2 (a) i *trans*-6 (c).

Osim aromatskih protona (H_B , H_C , H_F), vidljivi su signali za protone dvostruke veze, H_D i H_E . Dva dubleta s konstantom sprege između 15 i 16 Hz karakteristični su za sve *trans*-izomere.

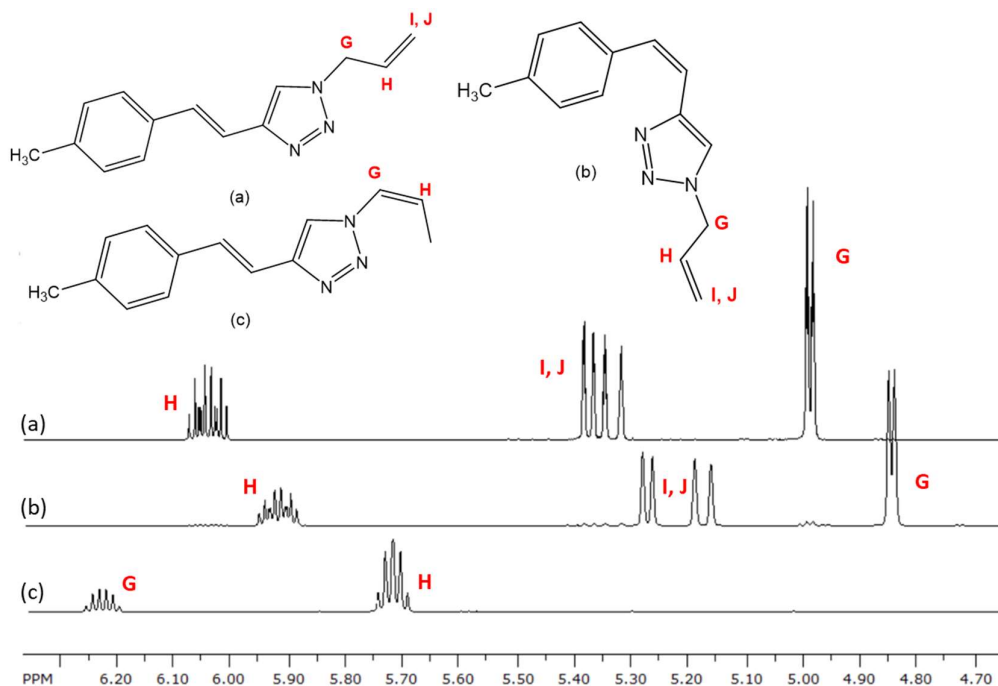


Slika 3.4. Dijelovi ^1H NMR spektara spojeva *trans*-1 (b), *trans*-2 (a) i *trans*-6 (c).

Za razliku od *trans*-izomera, *cis*-izomere karakterizira nešto drugačiji oblik signala za protone dvostruke veze, koji se u strukturi nalaze između triazolne i arilne jezgre. Na slici 3.5. vidljivo je da ti protoni (H_D , H_E) ulaze u aromatsko područje, ali su značajnije odmaknuti od signala za protone H_B , H_C i H_F . Osim kemijskog pomaka, kod *cis*-izomera drugačiji je i oblik signala. Na slici 3.5. (a) vidljiv je signal na 6,67 ppm, čiji je oblik AB_q , s konstantom sprege od 12,5 Hz. Na slici 3.5. (b) na jednakom kemijskom pomaku vidljiv je singlet, s integralom 2H. Oba signala odgovaraju protonima dvostruke veze *cis*-izomera.



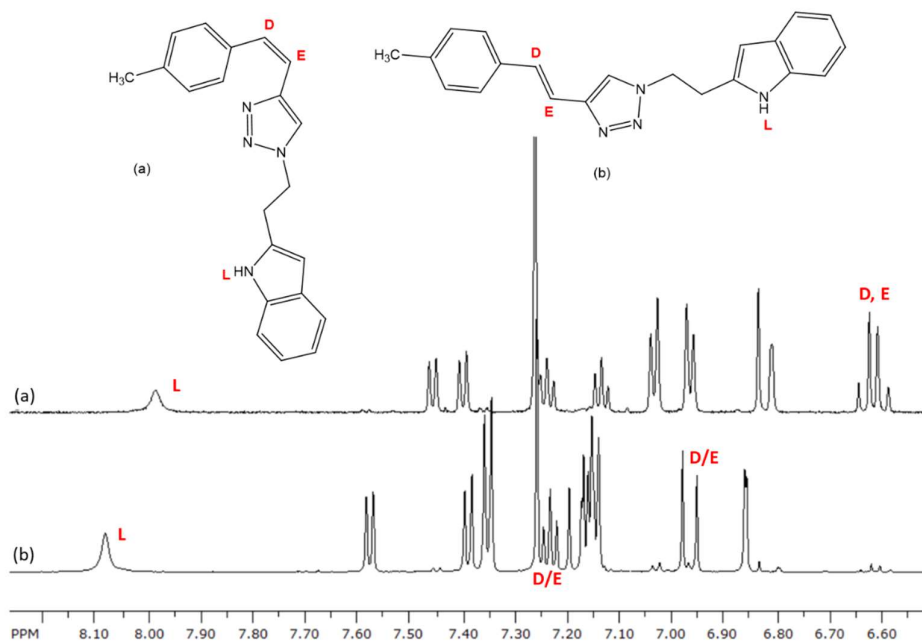
Slika 3.5. Dijelovi ^1H NMR spektara spojeva *cis-1* (b) i *cis-2* (a).



Slika 3.6. Dijelovi ^1H NMR spektara spojeva *trans-2* (a), *cis-2* (b) i *trans-3* (c).

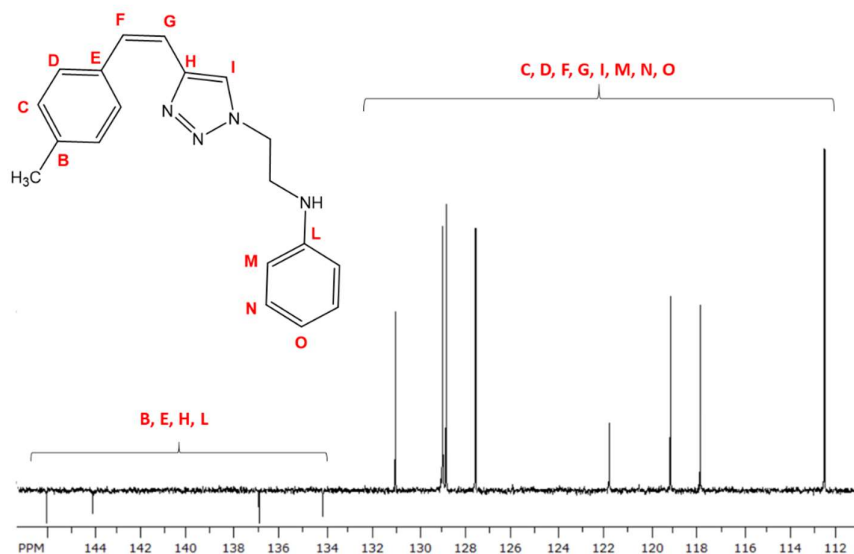
Osim aromatskog područja, zanimljiv je raspon od 4 do 7 ppm-a u kojem se, u slučaju derivata *trans-2*, *cis-2* i *trans-3*, nalaze signali protona na supstituentu. Na slici 3.7. usporedno su prikazani ^1H NMR spektri *cis*- i *trans*-izomera derivata **5**, na kojima je vidljiva razlika u položaju signala za protone dvostruke veze, ali i za aromatske protone. Između 8 i

8,10 ppm vidljiv je signal za kiseli vodik H_L, za koji je karakterističan tzv. širok (*broad*) oblik signala.



Slika 3.7. Dijelovi ¹H NMR spektara spojeva *cis*-5 (a) i *trans*-5 (b).

Slika 3.8. prikazuje dio ¹³C NMR spektra (APT) spoja *cis*-6. Na spektru su vidljivi signali za kvaterne ugljikove atome, označene slovima B, E, H i L, koji su okrenuti prema dolje te su po intenzitetu uglavnom mali. Aromatski ugljici, usmjereni prema gore zbog neparnog broja vezanih vodikovih atoma, vidljivi su u području od 112 do 132 ppm. Ovakvi ¹³C NMR spektri karakteristični su za sve triazolne derivate, ali zbog slabijeg intenziteta signala kvaternih ugljikovih atoma oni nisu svuda vidljivi.



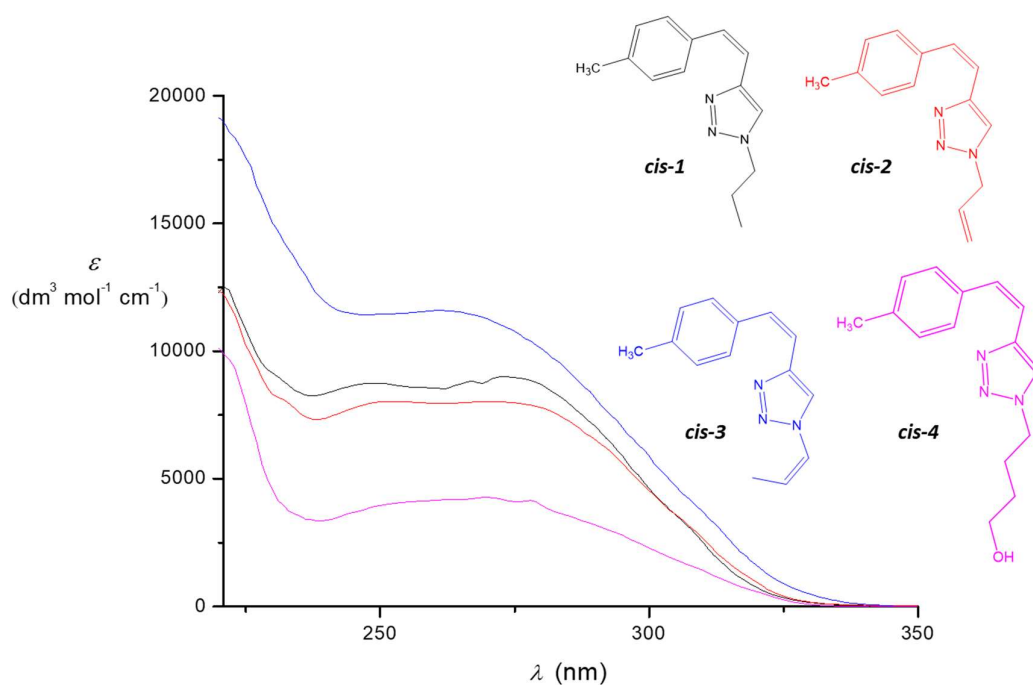
Slika 3.8. ¹³C NMR (APT) spektar spoja *cis-6*.

Osim NMR spektara, za sintetizirane derivate triazola snimljeni su UV-Vis spektri, pomoću kojih su dobiveni grafovi ovisnosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta ϵ ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) o valnoj duljini λ (nm), prikazani u nastavku. Konverzija apsorpcijskog spektra u dijagram ovisnosti λ o ϵ temeljena je na *Beer-Lambertovom* zakonu (3.1.), koji kaže da je apsorpcija proporcionalna koncentraciji apsorbirajuće vrste, dok molarni apsorpcijski koeficijent ϵ govori o tome kolika je vjerojatnost apsorpcije na određenoj valnoj duljini.

$$A = \epsilon c l \quad (3.1.)$$

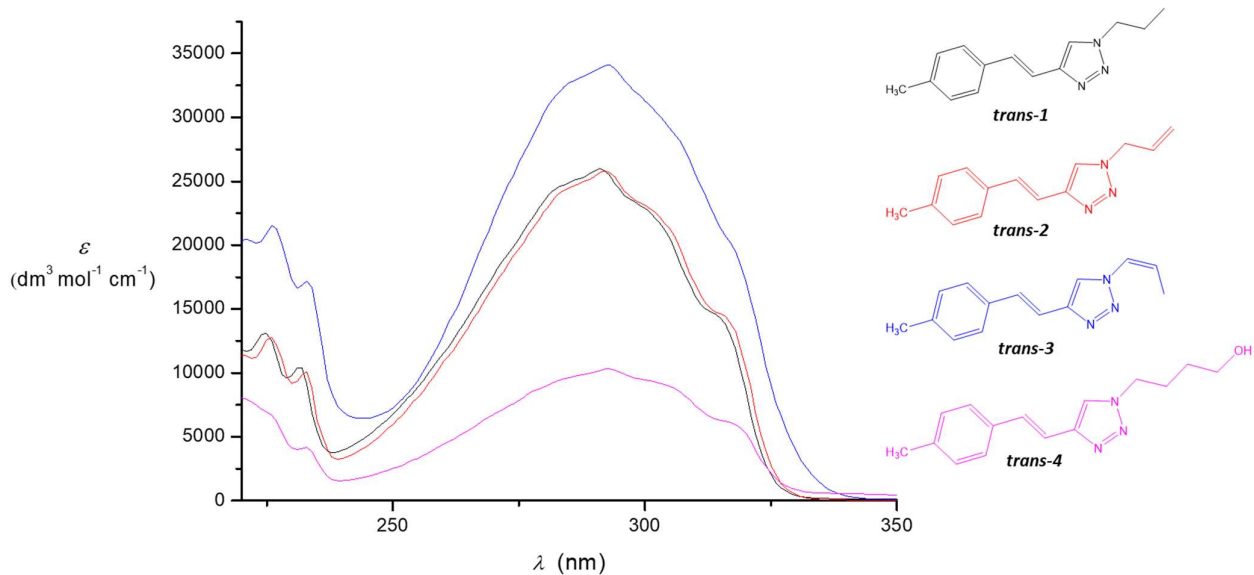
A predstavlja apsorpciju na danoj valnoj duljini, c je molarna koncentracija otopine (mol dm^{-3}), l je duljina ćelije (cm), a ϵ je molarni apsorpcijski koeficijent ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$). Vrijednosti ϵ kreću se od 0 do 10^6 . Vrijednosti veće od 10^4 ukazuju na visoku molarnu apsorptivnost molekule, dok one manje od 10^3 ukazuju na malu vjerojatnost apsorpcije svjetla.³⁰

Na slici 3.9. usporedno su prikazani spektri za derivate *cis-1*, *cis-2*, *cis-3* i *cis-4*, snimljene u etanolu (96%). Vidljivo je da najviše vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta ima molekula *cis-3* (plava linija) zbog produžene konjugacije na supstituentu. Najmanje vrijednosti ϵ poprima molekula *cis-4* ($5\,000 \text{ dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$), dok su vrijednosti za *cis-1* i *cis-2* slične i kreću se oko $10^4 \text{ dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Sve četiri krivulje prate jednaki trend, maksimumi su izraženi oko 275 nm.

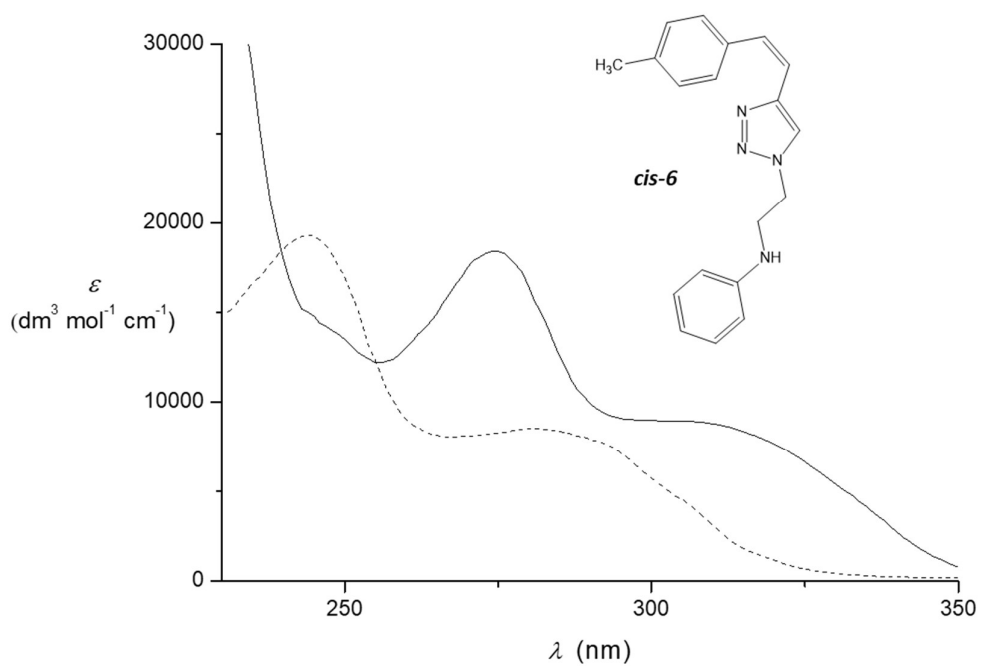


Slika 3.9. Usporedni prikaz UV spektara za derivate *cis-1*, *cis-2*, *cis-3* i *cis-4*, snimljene u etanolu (96%).

Na slici 3.10. prikazani su spektri molekula *trans-1*, *trans-2*, *trans-3* i *trans-4*, za koje vrijedi jednak trend kao i kod *cis*-izomera. Razlika se javlja kod vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta, koji je za većinu sintetiziranih *trans*-izomera značajno veći nego u slučaju *cis*-izomera, pa je tako vidljivo da će vrijednost ϵ za *trans-3* iznositi oko 35 000 $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, dok u slučaju *cis*-izomera ϵ iznosi 12 500 $\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$.



Slika 3.10. Usporedni prikaz UV spektara, za derivate **trans-1**, **trans-2**, **trans-3** i **trans-4**, snimljene u etanolu (96%).

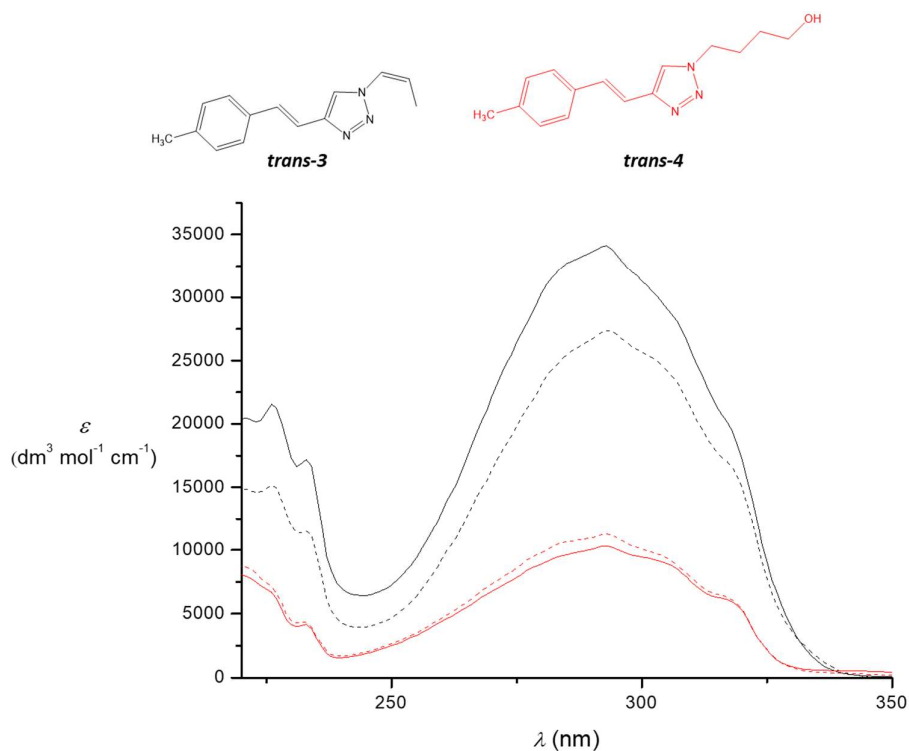


Slika 3.11. Prikaz ovisnosti ϵ ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) o valnoj duljini, za derivat **cis-6**, snimljen u etanolu (96%) (puna linija) i *n*-heksanu (isprekidana linija).

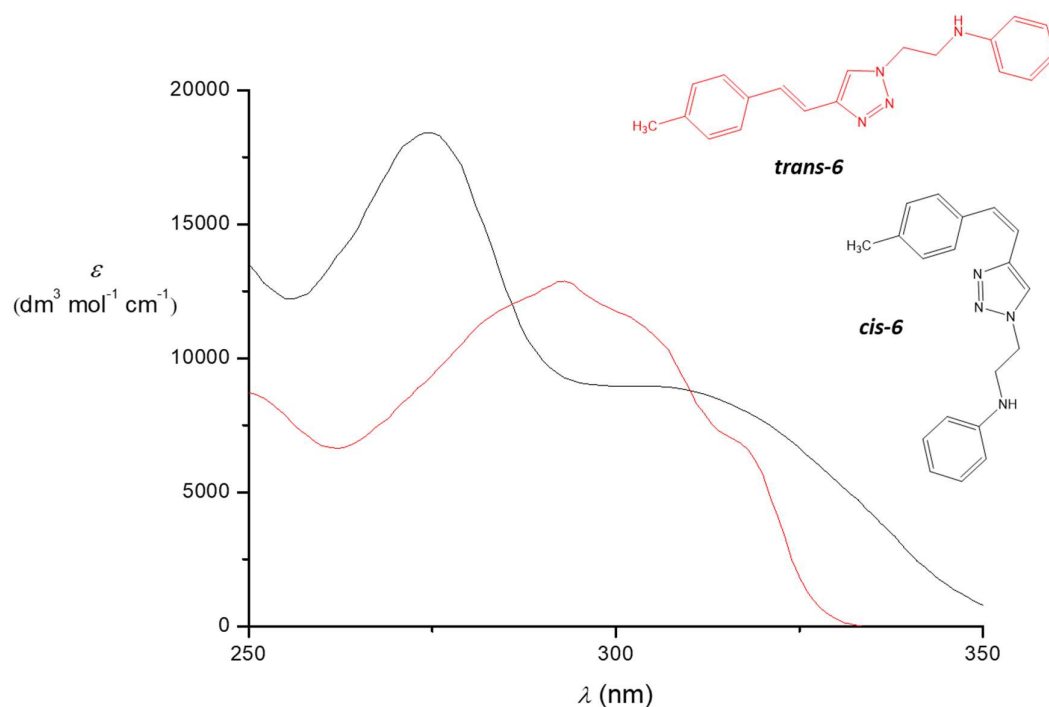
Osim utjecaja supstituenta, važnu razliku u snimanju spektara čine i otapala. Svi dobiveni derivati snimani su u etanolu i n-heksanu, osim izomera **trans-5** i **trans-6** koji nisu bili topljivi u n-heksanu. Na slici 3.11. prikazani su spektri za molekulu **cis-6** snimani u etanolu (puna linija) i n-heksanu (isprekidana linija). Na dijagramu je vidljiva razlika u vrijednostima ϵ , a za vrijednosti maksimuma vidljiv je značajan pomak prema manjim valnim duljinama u slučaju n-heksana (hipsokromni pomak).

Na slici 3.12. usporedno su prikazani spektri molekula **trans-3** i **trans-4** snimljenih u oba otapala. Iako u ovom slučaju nema promjene vrijednosti maksimuma, odnosno nema pojave batokromnog ili hipsokromnog pomaka, dolazi do smanjenja intenziteta apsorpcije. Kod izomera **trans-3** hipsokromni pomak uočen je prilikom snimanja u n-heksanu, u usporedbi sa snimanjem u etanolu. Kod molekule **trans-4** prilikom snimanja spektra u n-heksanu vidljiv je blagi hiperkromni pomak u odnosu na etanol.

Iako *trans*-izomeri češće poprimaju više vrijednosti ϵ , kod molekule 6 postoji iznimka povezana s topljivosti u etanolu. Spektri za **cis-6** i **trans-6** prikazani su na slici 3.13. S grafa je vidljivo da **cis-6** ima veće vrijednosti molarnog apsorpcijskog koeficijenta od *trans*-izomera, čime se utvrđuje da će *cis*-izomer bolje apsorbirati svjetlost pri određenoj valnoj duljini.



Slika 3.12. Usporedni prikaz UV spektara, za derivat **trans-3** i **trans-4**, snimljene u etanolu (96%) (puna crna crta) i n-heksanu (isprekidana crna crta)



Slika 3.13. Prikaz ovisnosti ϵ ($\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) o valnoj duljini, za derivate **cis-6** (crna linija) i **trans-6** (crvena linija) snimljene u etanolu.

3.4. Fotokemija

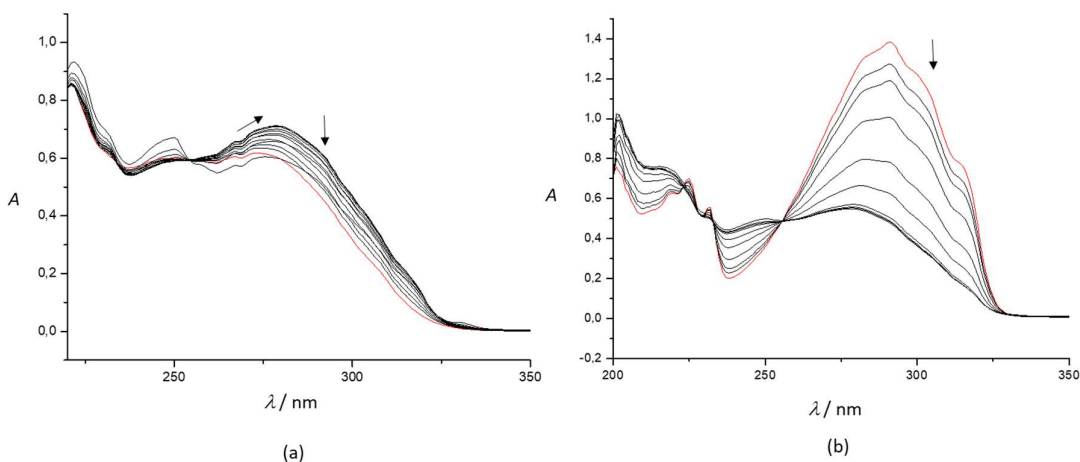
U svrhu proučavanja svojstava sintetiziranih triazolnih derivata, provedena su fotokemijska istraživanja. Čisti izomeri podvrgnuti su reakcijama fotolize, čime su se pratili procesi izomerizacije i raspada molekula potakni svjetlom. Također su provedene reakcije elektrociklizacije čime su dobiveni novi produkti **7-12**.

3.4.1. Fotolize

Čisti *cis*- i *trans*-izomeri triazolnih derivata **1-6** podvrgnuti su fotolizama. Otopine spojeva osvijetljavane su u UV kivetama na 300 nm, u kratkim vremenskim periodima, pri čemu su u vremenu praćene promjene u UV spektrima.

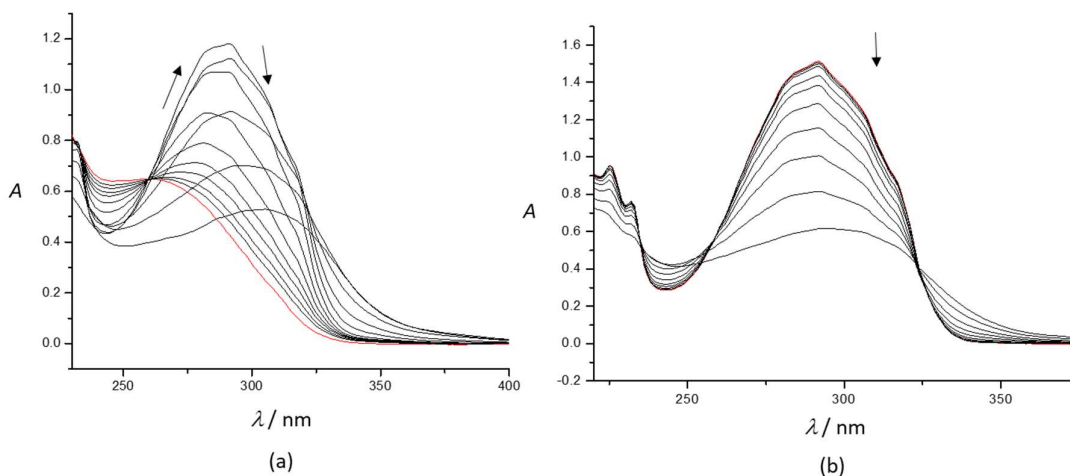
Na slici 3.14. prikazani su spektri derivata **cis-1** (a) i **trans-1** (b) prije osvijetljavanja (crvena linija) te nakon osvijetljavanja u kratkim vremenskim periodima (crne linije). Zamijećen je jednak trend kod *cis*-izomera, koji na početku osvijetljavanja uključuje blagi batokromni i hiperkromni pomak, dok se daljnjim osvijetljavanjem intenzitet apsorpcije smanjuje. Drugim riječima, početkom osvijetljavanja *cis*-izomer ima tendenciju prelaska u *trans*-izomer (izomerizacija), dok daljnjim osvijetljavanjem dolazi do neke reakcije molekule. Kod svih *trans*-

izomera također je primijećeno podjednako ponašanje prilikom osvjetljavanja, koje uključuje samo hipokromni efekt, odnosno smanjenje intenziteta apsorpcije, što predstavlja neki vid transformacije konjugirane molekule.



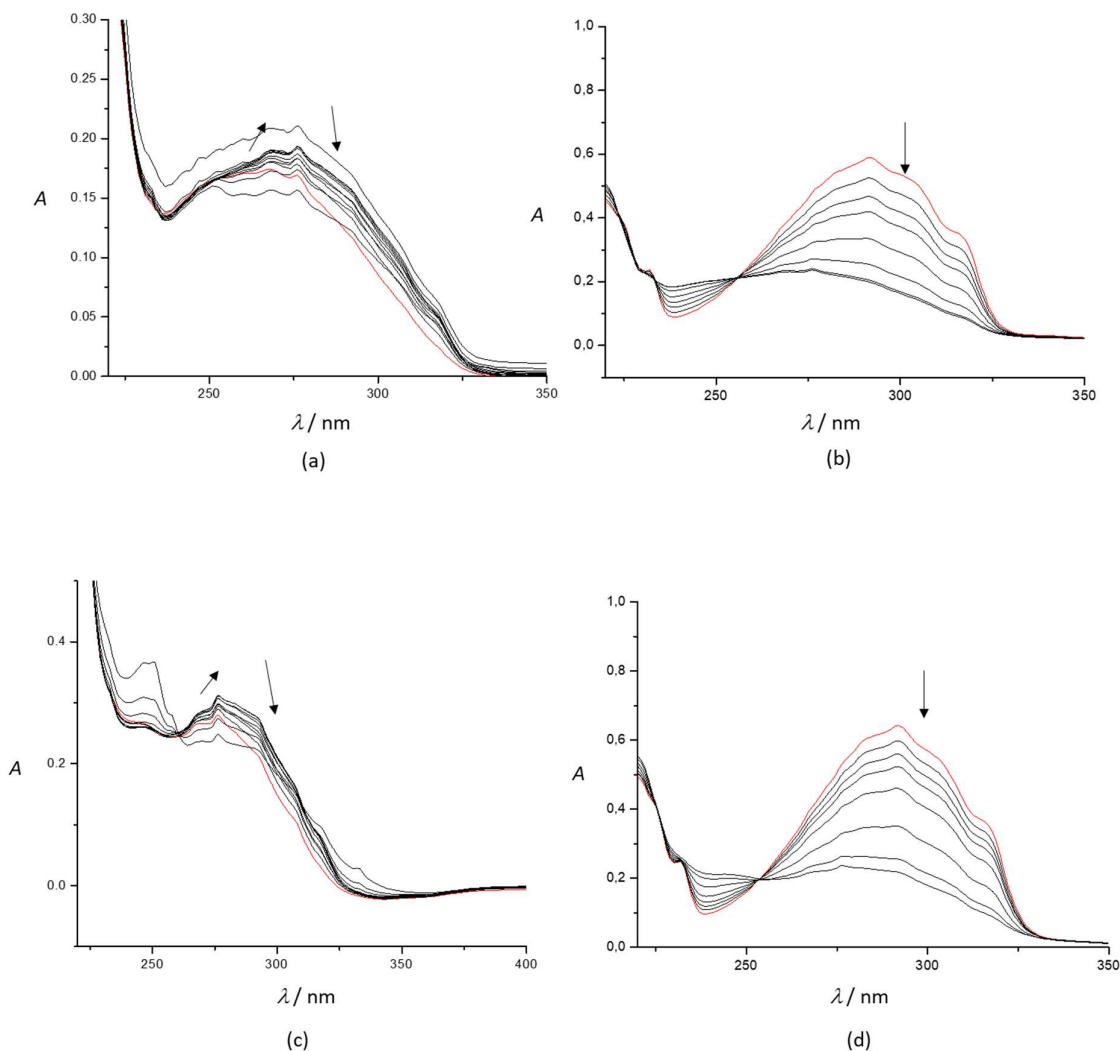
Slika 3.14. Fotoliza derivata **cis-1** (a) i **trans-1** (b) provedena u etanolu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja.

Za razliku od derivata **cis-1**, **cis-3** pokazuje jednak trend u reakcijama fotolize, ali pomaci i intenziteti apsorpcije značajno su izraženiji (slika 3.15. (a)). Razlog je bolja stabilnost molekule **cis-1** koja ima manju tendenciju izomerizacije ili neke druge transformacije od molekule **cis-3**. Osim kod UV-spektara snimljenih tijekom fotolize, ta se činjenica potvrđuje i računima provedenima za odabir najstabilnijih konformacija (poglavlje 3.4.). Kod derivata **trans-3** trend je karakterističan za tu vrstu izomera, s izraženim hipokromnim efektom.



Slika 3.15. Fotoliza derivata **cis-3** (a) i **trans-3** (b) provedena u etanolu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja.

Osim u etanolu (96%), praćenja promjene UV spektara u vremenu provedena su i u *n*-heksanu. Većina derivata pokazala je dobru topljivost u navedenom otapalu, osim molekula ***trans-5*** i ***trans-6***, koje u *n*-heksanu nisu topljive. Na slici 3.16. usporedno su prikazani spektri fotoliza za molekule ***cis-4*** i ***trans-4*** snimljeni u etanolu (a,b) i *n*-heksanu (c,d). Trend opadanja intenziteta apsorpcije ne mijenja se u ovisnosti o korištenom otapalu, kao ni valna duljina. Različite vrijednosti intenziteta apsorpcije javljaju se zbog različitih koncentracija otopina.

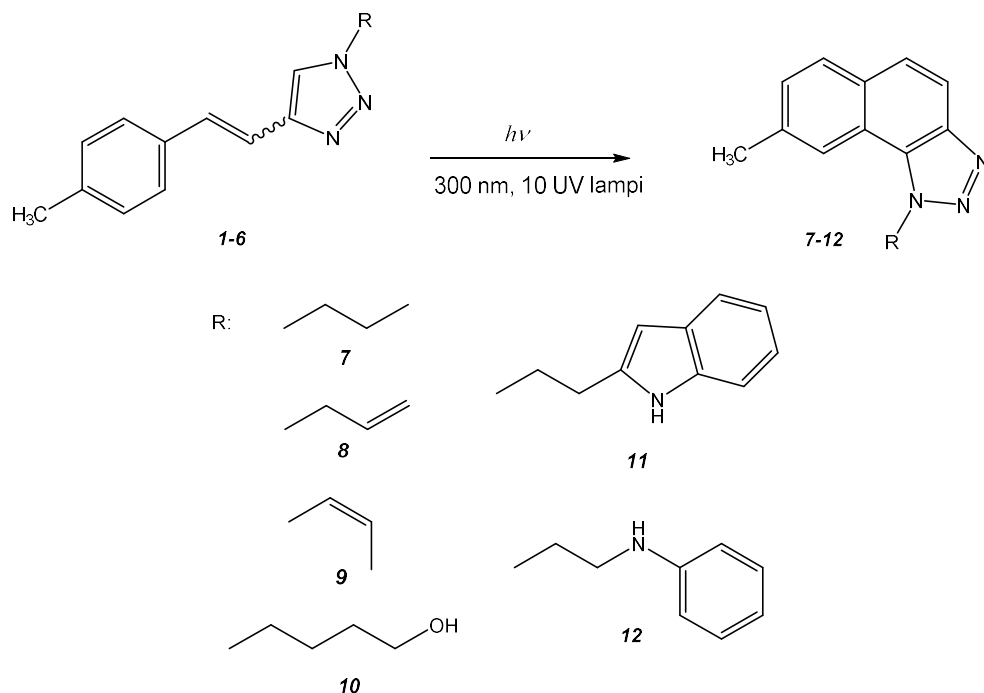


Slika 3.16. (a) Fotoliza derivata ***cis-4*** snimljena u etanolu. (b) Fotoliza derivata ***trans-4*** snimljena u etanolu. (c) Fotoliza derivata ***cis-4*** snimljena u *n*-heksanu. (d) Fotoliza derivata ***trans-4*** snimljena u *n*-heksanu.

Fotolize su provedene na svim čistim i izoliranim *cis*- i *trans*-izomerima, a spektri fotoliza priloženi su u prilogima (prilog 1 – prilog 7).

3.4.2. Sinteza elektrociklizijskih produkata

Na triazolnim derivatima **1-6** provedene su preparativne fotokemijske reakcije elektrociklizacije. Kod ovakve vrste reakcija, *cis*- i *trans*-izomeri vode do istih produkata uslijed uspostavljanja fotostacionarnog stanja u pobuđenom stanju pri određenoj valnoj duljini, stoga se kao početni reaktanti mogu koristiti čisti derivati ili smjese izomera (shema 3.5.).



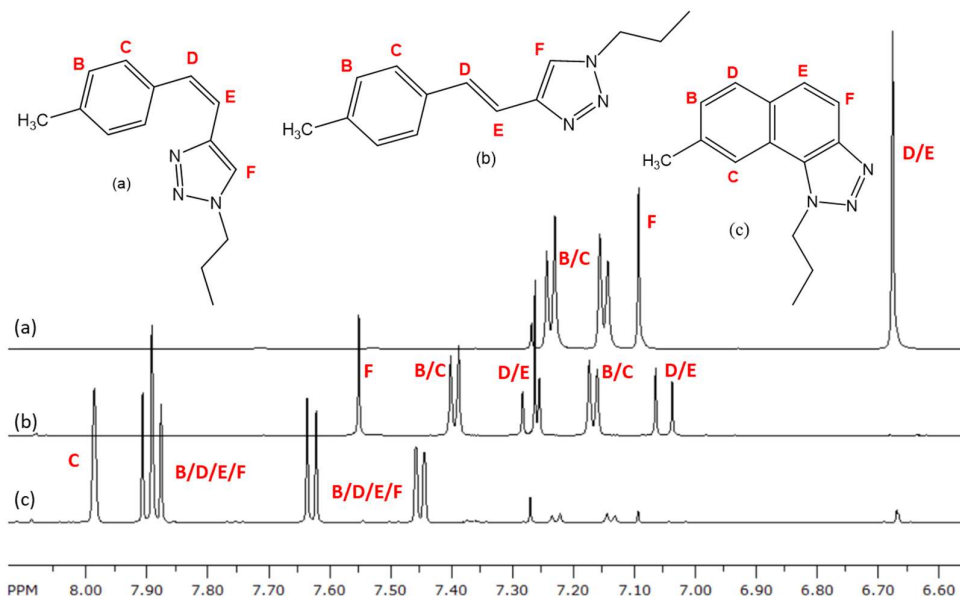
Shema 3.5. Sinteza elektrociklizijskih produkata **7-12** iz prethodno sintetiziranih triazolnih derivata **1-6**.

Reakcije elektrociklizacije provedene su u fotokemijskom reaktoru *Rayonet* s UV-lampama od 300 nm, s elementarnim jodom kao oksidacijskim sredstvom. Dobiveni produkti pročišćeni su kolonskom kromatografijom na silikagelu, a kao eluens korištena je smjesa otapala petroleter/dietil-eter promjenjiva omjera. Za reakcije elektrociklizacije triazolnih derivata karakteristično je visoko iskorištenje (od 28 do 90%) i brza konverzija (2 sata).

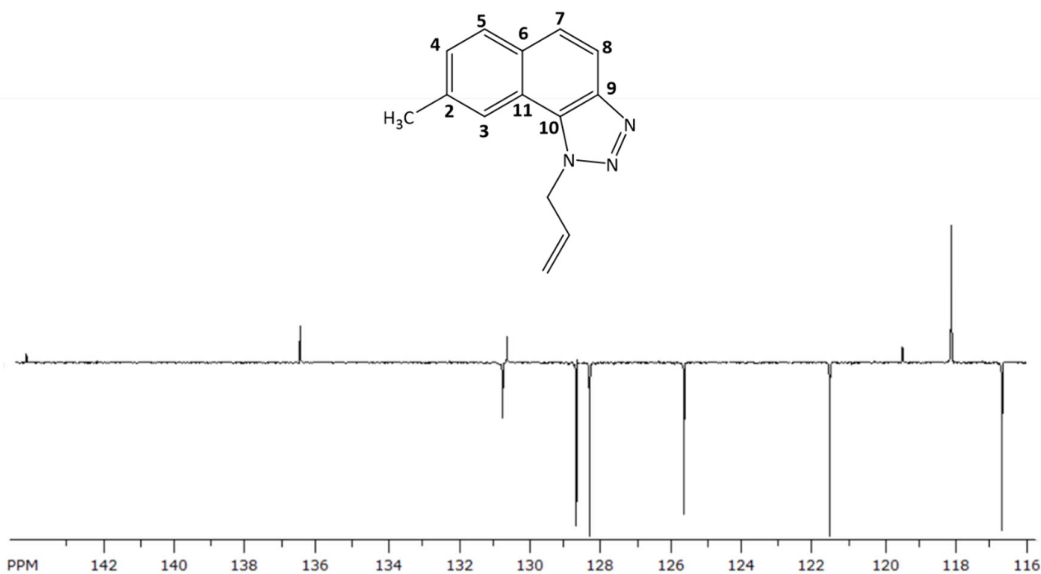
3.4.2.1. Spektroskopska svojstva dobivenih elektrociklizijskih produkata

Na slici 3.17. prikazani su ^1H NMR spektri početnih reaktanata, *cis*-**1** (a) i *trans*-**1** (b) te elektrociklizijskog produkta **7** (c). Signali za protone dvostruke veze (H_D , H_E) za molekulu *cis*-**1** nalaze se na 6,67 ppm, dok se kod *trans*-**1** signali u obliku dubleta nalaze na pomacima 7,26 ppm i 7,04 ppm. Kod elektrociklizijskog produkta **7** ti signali nisu vidljivi, jer prilikom

zatvaranja šesteročlanog prstena dolazi do formiranja nove σ veze između krajeva konjugiranog π sustava. Aromatski protoni (H_B , H_D , H_E i H_F) u spektrima se pojavljuju u obliku dubleta s konstantama sprega između 7 i 8 Hz, dok se proton H_C , najčešće na najvećem kemijskom pomaku na oko 8 ppm, pojavljuje u obliku singleta. Takav se trend javlja kod svih electrociklizacionih produkata (**7-12**).

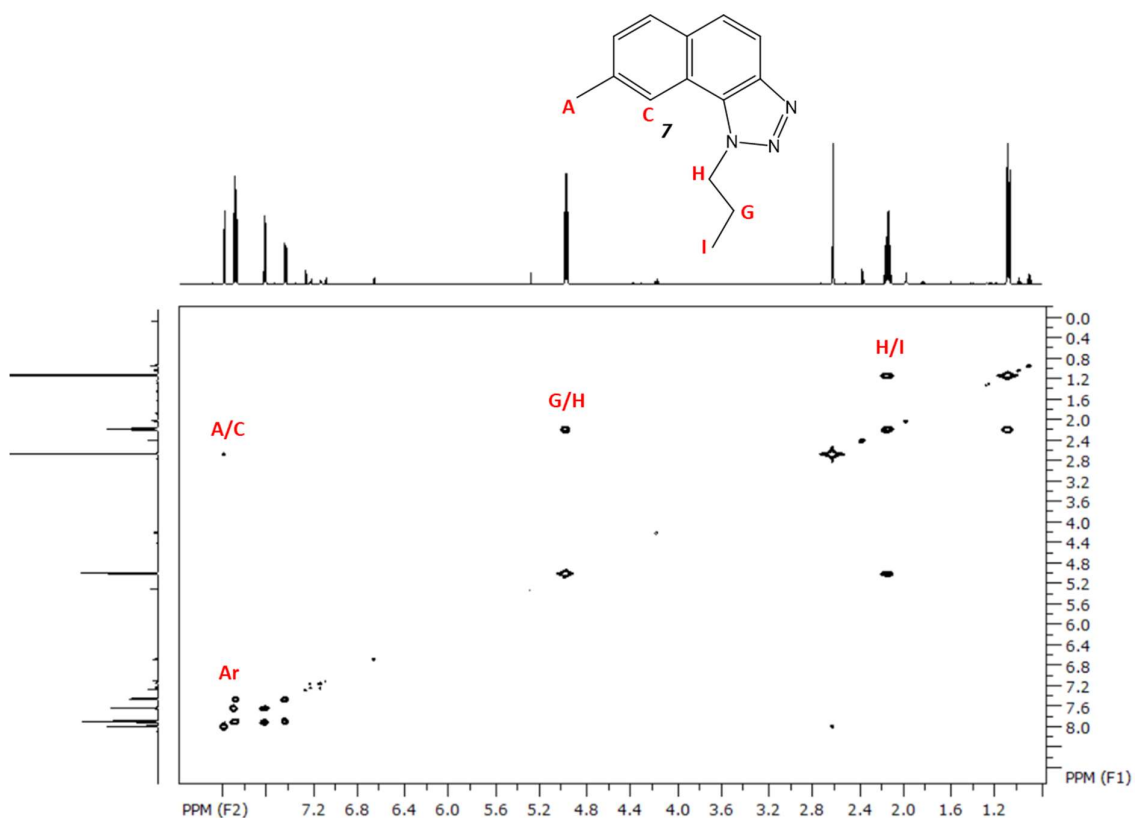


Slika 3.17. Usporedni prikaz dijelova 1H NMR spektara početnih reaktanata u reakciji electrociklizacione, *cis-1* i *trans-1* te electrociklizacionog produkta **7**.



Slika 3.18. Prikaz APT spektra electrociklizacionog produkta **8**. Signali usmjereni prema gore odgovaraju kvaternim ugljikovim atomima (2, 6, 9, 10 i 11), dok signali usmjereni prema dolje odgovaraju aromatskim ugljikovim atomima na koje je vezan po jedan vodik.

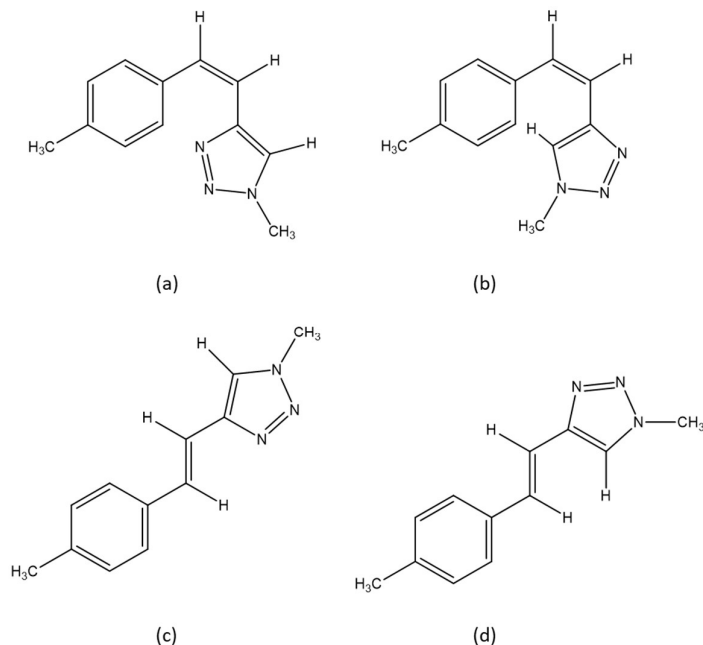
Osim ^1H NMR spektara, za karakterizaciju produkata elektrociklizacije, snimljeni su i ^{13}C NMR spektri (APT), kao i dvodimenzijski spektri koji pokazuju korelaciju H-H (COSY) i H-C (HSQC). Na slici 3.18. prikazan je APT spektar molekule **8**, na kojem su vidljivi svi kvaterni ugljikovi atomi (2, 6, 9, 10 i 11), koji se zbog slabog intenziteta signala nekada niti ne vide. Signali za ugljike okrenuti prema dolje prikazuju ostale aromatske ugljikove atome koji na sebi imaju vezan po jedan vodikov atom. Slika 3.19. prikazuje COSY spektar na kojem se vide homonuklearna skalarna sprežanja (^1H - ^1H sprege), odnosno sprežanja protona kroz dvije ili tri veze, za spoj **7**. Vidljiva su sprežanja između protona G i H, protona H i I, protona A i C te aromatska sprežanja.



Slika 3.19. COSY spektar propilnog derivata **7**.

3.4. Računalno istraživanje elektronske strukture novih triazolnih derivata

Stabilnost konformacija svih pripremljenih triazola ispitana je korištenjem metoda računalne kemije. Svi novi spojevi u ovom radu imaju jednak osnovni dio molekule (*skelet*), koji se sastoji od tri podjedinice (toluenska, etilenska i triazolna). Računi za termodinamičku stabilnost prvo su provedeni na osnovnoj molekuli (**OM**) najjednostavnije strukture, koja nije sintetizirana. Sastoji se od zajedničkog skeleta, a na mjestu supstituenta na triazolu ima metilnu skupinu. Na slici 3.21 prikazane su konformacije *cis*- i *trans*-izomera ove molekule.



Slika 3.21. Konformacije *cis*-**OM** (a,b) i *trans*-**OM** (c,d).

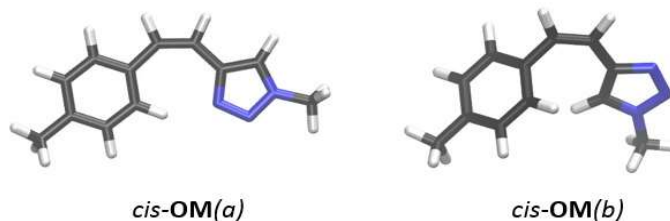
Geometrije svih konformacija sa slike 3.21 optimirane su korištenjem Truhlarovog funkcionala M062X uz Popleov skup osnovnih funkcija 6-31G(d). Ova razina teorije odabrana je kao najbolja između nekoliko različitih modela zasnovanih na teoriji funkcionala gustoće: B3LYP, PBEhPBE, M06-2X i BMK. Pri tome, kriterij za odabir najpogodnijeg bio je slaganje s rezultatima računa za osnovnu molekulu, izvedenim na dvije vrlo visoke razine teorije: CISD/6-31G(d) i CBS-QB3. Dobiveni rezultati, prikazani u tablici 3.1., ukazuju na razliku u termodinamičkoj stabilnosti između *cis*- i *trans*-izomera s obzirom na primijenjeni računalni model.

Tablica 3.1. Usporedba razlika entalpije između *cis*- i *trans*-izomera molekule OM, dobivenih različitim računalnim modelima. Vrijednosti entalpije (H_{cis} , H_{trans}) izračunate su u Hartreeima, a razlike entalpije ($\Delta H = H_{cis} - H_{trans}$) u kJ mol^{-1} .

Računski model	H_{cis}	H_{trans}	ΔH
CISD/6-31G(d)	-626,44527	-626,44979	11,9
CBS	-627,93994	-627,94352	9,4
B3LYP/6-31G(d)	-629,07046	-629,07751	18,5
M06-2X/6-31G(d)	-628,75355	-628,79751	10,4
PbehPbe/6-31G(d)	-628,38211	-628,38816	15,9
BMK/6-31G(d)	-628,65299	-628,65879	15,2

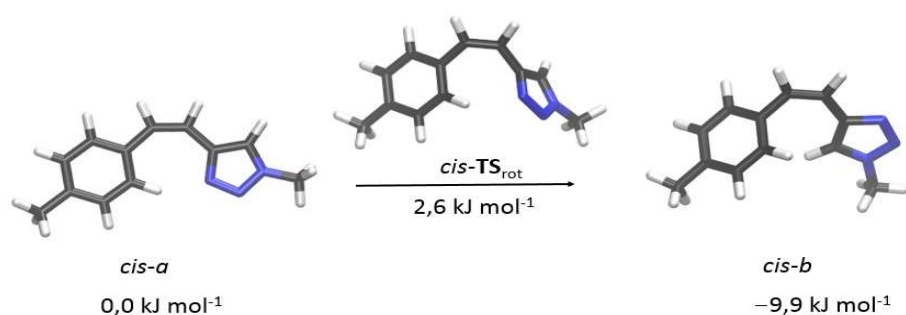
Prvi pristup zasnovan je na *ab initio* metodi konfiguracijske interakcije (CI, engl. *Configuration Interaction*), a drugi model (CBS, engl. *Complete Basis Set*) koristi ekstrapolaciju osnovnih skupova za dobivanje što točnijeg opisa ispitivanog sustava. Oba ova pristupa zahtijevaju značajne računalne resurse i veliku količinu procesorskog vremena, pa je testiranje različitih funkcionala omogućilo odabir optimalnog pristupa za račune molekula koje su veće od osnovne. Stoga je model M06-2X/6-31G(d) odabran i za optimizaciju geometrija pripremljenih triazola.

Od dvije konformacije koje zauzima *cis*-izomer osnovne molekule, ispostavilo se da je stabilniji konformer onaj prikazan na slici 3.21 (b) i to za $9,9 \text{ kJ mol}^{-1}$ u odnosu na konformaciju prikazanu na slici 3.21 (a). Konformer (a) potpuno je planaran i iz slike optimirane strukture (slika 3.22) vidljivo je da je jedan atom vodika na fenilnoj jezgri smješten u blizini atoma N(1) triazolne podjedinice, na udaljenosti od $2,1 \text{ \AA}$. S obzirom da se ovaj vodik nalazi na aromatskom sustavu sačinjenom od atoma ugljika, unatoč povoljnom položaju ne može se govoriti o vodikovoj vezi (C-H...N). Stoga je očekivano da ta interakcija nije dovoljno jaka da rezultira većom termodinamičkom stabilnošću konformera (a) u odnosu na (b), gdje takvo međudjelovanje ne postoji.



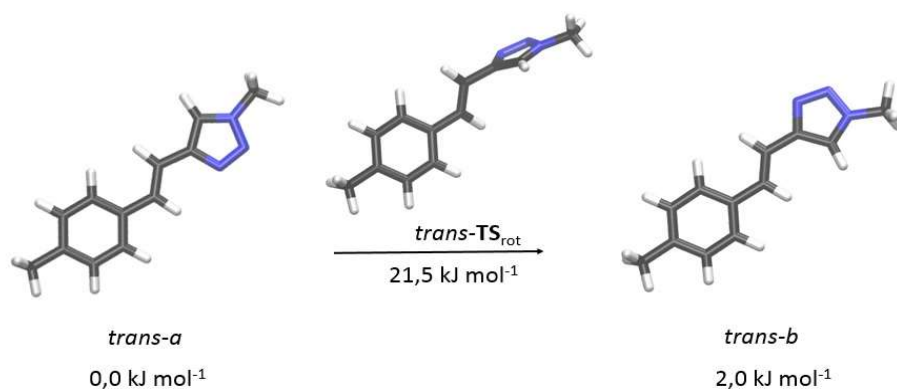
Slika 3.22. Strukture dvije konformacije *cis* izomera osnovne molekule, optimirane na razini teorije M06-2X/6-31G(d).

Dvije konformacije prikazane na slici 3.22. mogu prelaziti jedna u drugu rotacijom jednostruke veze između etilenske jedinice i ugljika koji pripada triazolu, stoga je provedeno računalno ispitivanje energijske barijere za tu rotaciju, lociranjem stacionarnih točaka na plohi potencijalne energije (engl. *Potential Energy Surface*, PES). Stacionarne točke na PES za tu reakciju su dva minimuma: konformer (*a*) i konformer (*b*) i prijelazno stanje između njih (engl. *Transition State*, TS). Ispostavilo se da je prijelazno stanje (*cis-TS_{rot}*, Slika 3.23) za rotaciju iz konformacije (*a*) u (*b*) kod *cis*-izomera za 2,6 kJ mol⁻¹ više u odnosu na (*a*), što znači da konformer (*a*) lagano prelazi u (*b*). S druge strane, s obzirom da je konformer (*b*) za 9,9 kJ mol⁻¹ stabilniji u odnosu na (*a*), za prijelaz iz (*b*) u (*a*) potrebno je prijeći energijsku barijeru od 12,5 kJ mol⁻¹.



Slika 3.23. Optimirane strukture i relativne energije stacionarnih točaka za reakciju prijelaza konformera *a* u konformer *b* rotacijom oko jednostruke CC veze između etilenske i triazolne podjedinice, kod *cis*-izomera osnovne molekule.

Kod *trans*-izomera osnovne molekule, obje su konformacije planarne, tj. svi π -elektroni (iz fenila, etilena i triazola) nalaze se u istoj ravnini i međusobno su konjugirani. Konformacija *trans-a* je za 2,0 kJ mol⁻¹ stabilnija u odnosu na *trans-b*, a barijera za prijelaz iz stabilnije u manje stabilnu viša je nego kod *cis*-izomera: određivanjem prijelaznog stanja za rotaciju C-N veze kod *trans*-izomera dobivena je energija aktivacije 21,5 kJ mol⁻¹ (slika 3.24).



Slika 3.24. Optimirane strukture i relativne energije stacionarnih točaka za reakciju prijelaza konformera a u konformer b rotacijom oko jednostruke CC veze između etilenske i triazolne podjedinice, kod trans-izomera osnovne molekule.

Iako razlike u termodinamičkoj stabilnosti između različitih konformera nisu velike, a iz energijskih barijera zaključuje se da se prijelazi između konformera na sobnoj temperaturi događaju spontano, iz dobivenih rezultata vidljivo je koji je konformer prisutan u većoj mjeri. Strukture stabilnijih konformera osnovne molekule iskorištene su za dobivanje početnih geometrija za spojeve sintetizirane u ovom radu (**1-6**), kojima su ispitivane konformacije s obzirom na prisustvo različitih supstituenata na triazolnoj podjedinici. Računalnim ispitivanjem spojeva **1-6**, određene su njihove najstabilnije strukture, prikazane u tablici 3.2. UV-Vis spektri spojeva **1-6** snimani su u etanolu i n-heksanu, a potom su dobiveni i računski rezultati korištenjem vremenski ovisne teorije funkcionala gustoće (Time-dependent Density Functional Theory, TD-DFT). Ovaj pristup podrazumijeva računalno rješavanje vremenski ovisne perturbacijske jednadžbe zasnovane na Runge-Gross teoremu. Pri računanju spektara spojeva **1-6**, jednadžba je rješavana za 20 pobuđenih singletnih stanja za svaku molekulu u oba otapala, pri čemu je za opis otapala korištena implicitna metoda koja koristi polarizabilni model kontinuuma. Dobiveni rezultati prikazani su u tablici 3.3. za etanol te u tablici 3.4. za n-heksan.

Tablica 3.2. Prikaz najstabilnijih struktura *cis*- i *trans*-izomera sintetiziranih spojeva **1-6**, optimiranih na M06-2X/6-31G(d) razini teorije.

Molekula	<i>cis</i> - izomer	<i>trans</i> - izomer
1		
2		
3		
4		
5		
6		

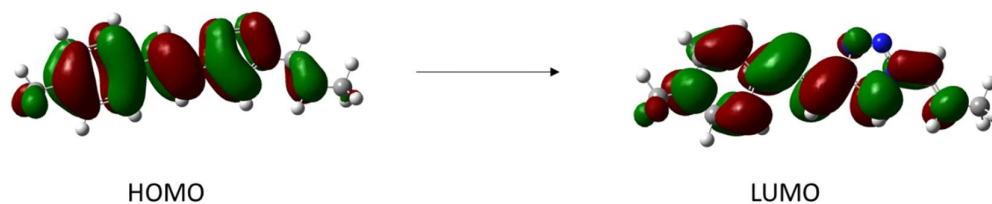
Tablica 3.3. Prikaz maksimalnih valnih duljina dobivenih eksperimentalno i računski, korištenjem etanola kao otapala. Računi su izvedeni na razini teorije TD-(SMD)M06-2X/6-31++G(d)//M06-2X/6-31G(d).

Molekula	$\lambda_{\max}^{\text{eksp.}}$ (nm)	$\lambda_{\max}^{\text{teor}}$ (nm)	Asignirani prijelazi	Molekula	$\lambda_{\max}^{\text{eksp.}}$ (nm)	$\lambda_{\max}^{\text{teor}}$ (nm)	Asignirani prijelazi
cis-1	273	268	H → L	trans-1	291	288	H → L
cis-2	275	269	H → L	trans-2	292	289	H → L
cis-3	267	226	H – 1 → L H → L + 2	trans-3	293	292	H → L
cis-4	270	279	H → L	trans-4	292	291	H → L
cis-5	270	238	H – 2 → L H – 2 → L + 1 H – 1 → L H – 1 → L + 1	trans-5	270	284	H → L
cis-6	287	269	H – 1 → L	trans-6	294	289	H → L

Tablica 3.4. Prikaz maksimalnih valnih duljina dobivenih eksperimentalno i računski, korištenjem *n*-heksana kao otapala. Molekule **trans-5** i **trans-6** nisu topive u navedenom otapalu. Računi su izvedeni na razini teorije TD-(SMD)M06-2X/6-31++G(d)//M06-2X/6-31G(d).

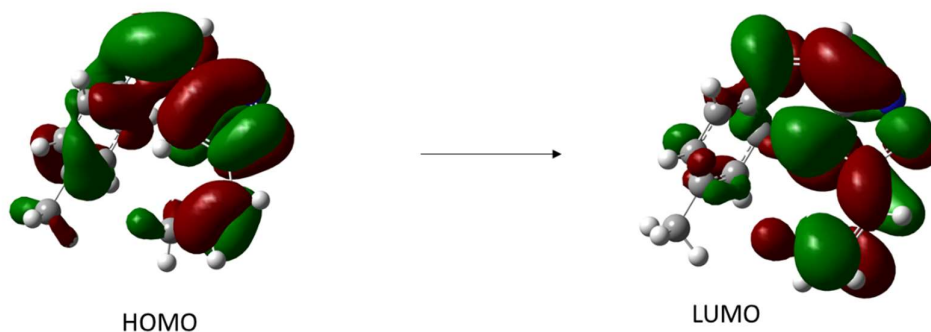
Molekula	$\lambda_{\max}^{\text{eksp.}}$ (nm)	$\lambda_{\max}^{\text{teor}}$ (nm)	Asignirani prijelazi	Molekula	$\lambda_{\max}^{\text{eksp.}}$ (nm)	$\lambda_{\max}^{\text{teor}}$ (nm)	Asignirani prijelazi
cis-1	278	270	H → L	trans-1	291	289	H → L
cis-2	280	270	H → L	trans-2	292	289	H → L
cis-3	278	250	H → L	trans-3	293	293	H → L
cis-4	278	279	H → L	trans-4	278	292	H → L
cis-5	282	238	H – 2 → L + 1 H – 1 → L + 1	trans-5	-	-	-
cis-6	285	270	H – 1 → L H – 1 → L + 1	trans-6	-	-	-

Iz tablica je vidljivo da postoje određena odstupanja između podataka dobivenih eksperimentalno i računski, ali ona su zadovoljavajuća s obzirom na to da prate jednak trend. Vrijednosti λ_{\max} za *trans*-molekule gotovo su jednake kod eksperimenta i računa, dok je za *cis*-izomere razlika između vrijednosti značajnija. Primjerice, UV-Vis spektar za molekulu **trans-3**, snimljen u etanolu, pokazuje apsorpcijski maksimum na 293 nm, dok je onaj dobiven računski na 292 nm. Navedena apsorpcija odgovara HOMO → LUMO prijelazu, prikazanom na slici 3.25.



Slika 3.25. Prikaz HOMO i LUMO orbitala molekule **trans-3**, uključene u prijelaz zabilježen u UV-Vis spektru.

Kod *cis*-izomera navedene razlike su značajnije, pa je kod molekule **cis-3** eksperimentalno dobivena vrijednost λ_{\max} 267 nm, dok je računski 226 nm. Kod korištenja *n*-heksana kao otapala u slučaju molekule **cis-3** primijećen je batokromni pomak, odnosno eksperimentalno dobiven λ_{\max} iznosi 278 nm, dok je računski dobivena vrijednosti 250 nm, što odgovara HOMO \rightarrow LUMO prijelazu (slika 3.26).



Slika 3.26. Prikaz HOMO i LUMO orbitala molekule **cis-3**, uključene u prijelaz zabilježen u UV-Vis spektru.

Osim izračunatih UV-Vis spektara, dobivene su vrijednosti energija HOMO i LUMO orbitala te njihova razlika ($\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$) izražena u kJ mol^{-1} . Primijećeno je da su vrijednosti ΔE kod *cis*-izomera, za otprilike 200 kJ mol^{-1} veće u odnosu na energijske razlike HOMO i LUMO orbitala *trans*-izomera (tablica 3.5.). Razlog tome leži u činjenici da su *trans* izomeri potpuno planarni, čime je omogućena efikasna konjugacija π elektronskog sustava. Zbog toga je energija najviše okupirane orbitale (HOMO) viša, a najniže (LUMO) snižena u odnosu na *cis*-izomer, što rezultira smanjenjem vrijednosti ΔE . To je vidljivo iz tablice 3.5, gdje su prikazane energije graničnih orbitala za *cis* i *trans* izomere, kao i vrijednosti ΔE .

Tablica 3.5. Energije graničnih orbitala računane pomoću modela M06-2X/6-31++G(d)//M06-2X/6-31G(d). Vrijednosti energija HOMO i LUMO orbitala (E_{HOMO} , E_{LUMO}) izražene su u Hartreeima, a razlike energija ($\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$) u kJ mol⁻¹.

Molekula	E_{HOMO}	E_{LUMO}	$\Delta E/kJ$ mol ⁻¹	Molekula	E_{HOMO}	E_{LUMO}	$\Delta E/kJ$ mol ⁻¹
cis-1	-0,27313	-0,01593	675,3	trans-1	-0,22266	-0,05042	452,2
cis-2	-0,27332	-0,01711	672,7	trans-2	-0,22365	-0,05139	452,3
cis-3	-0,28253	-0,01318	707,2	trans-3	-0,22360	-0,05413	444,9
cis-4	-0,26220	-0,02176	631,3	trans-4	-0,22387	-0,05232	450,4
cis-5	-0,26223	-0,00542	674,2	trans-5	-0,22243	-0,04869	456,2
cis-6	-0,25956	-0,01569	640,5	trans-6	-0,22055	-0,05105	445,0

3.5. ADME svojstva

Apsorpcija, distribucija, metabolizam i ekskrecija, procesi opisani skraćenicom ADME (eng. *Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion*), iznimno su važni u pronalasku novih, sigurnih i djelotvornih lijekova. Navedene procese proučava farmakokinetika (eng. *pharmacokinetics, PK*), grana farmakologije koja prati utjecaj tijela na lijekove, odnosno kretanje lijekova kroz organizam te njihovu eliminaciju iz organizma.⁴⁷

Tablica 3.6. ADME svojstva derivata 1,2,3-triazola **1-12** (neovisno o geometrijskoj izomerizaciji na C=C vezi za spojeve **1-6**).

Molekula	logP ^a	Topljivost ^b (mg mL ⁻¹)	Permabilnost ^c (e ⁻⁸ cm s ⁻¹)	PPB ^d	CNS ^e
1	3,27	0.04	243	90	-2.14
2	3,16	0.09	243	91	-2.17
3	3.57	0.42	244	88	-2.00
4	2.29	0.28	205	85	-2.30
5	3.56	0.03	235	98	-2.88
6	4.46	0.0004	227	98	-2.74
7	3.38	0.02	244	94	-2.34
8	3.31	0.03	244	95	-2.41
9	3.30	0.03	244	96	-2.50
10	2.68	0.06	221	93	-2.51
11	4.05	0.01	235	99	-3.02
12	5.0	0.002	200	99	-3.23

(^alipofilnost logP (<-2,0 vrlo hidrofilno, -2,0 - (-1,0) hidrofilno, -1,0 - 4,2 optimalno, 4,2 - 5,0 lipofilno); ^btopljivost (<0,01 visoko netopivo, 0,01-0,10 netopivo, > 0,10 topljivo); ^cpropusnost (<1,0 e⁻⁶ slabo propusno, 1,0 - 7,0 e⁻⁶ umjereno propusno, > 7,0 e⁻⁶ visoko propusno); ^dPPB - vezivanje za proteine u plazmi (10 - 40% slabo vezano, 40 - 80% umjereno, 80 - 90 % snažno vezano, > 90% izrazito vezano, ^eCNS <-3,5 nepropusan, -3,50 - (-3,0) slab pjenasti, > -3,0 pjenasti)).

Tablica 3.6. prikazuje ADME svojstva triazolnih derivata **1-12**. Vrijednosti za logP, topljivost, permeabilnost, PPB (eng. *Plasma-protein binding*) i CNS penetraciju (eng. *central nervous system*) jednake su za *cis*- i *trans*-izomere pojedinih derivata, tj. utjecaj geometrijske izomerizacije na C=C dvostrukoj vezi na ADME svojstva ne može se razlučiti programom. Vrijednosti za logP kreću se od 2,29 do 4,05 za spojeve **1-5** i **7-11**, što ukazuje na optimalnu lipofilnost, dok se veće vrijednosti za logP javljaju kod spojeva **6** (4,46) i **12** (5,0). Vrijednosti za topljivost najveće su za spojeve **3** i **4** (0,28-0,42 mg mL⁻¹), dok su najmanje za derivate **6** i **12** (0,002-0,0004 mg mL⁻¹). Svi derivati pokazuju sličnu permeabilnost (200-244 e⁻⁸ cm s⁻¹) i PPB vrijednosti (85-99%), a prema vrijednostima za CNS pripadaju u slabije penetrirajuće (**1-10**) i penetrirajuće spojeve (**11-12**).

3.6. BIOLOŠKA AKTIVNOST

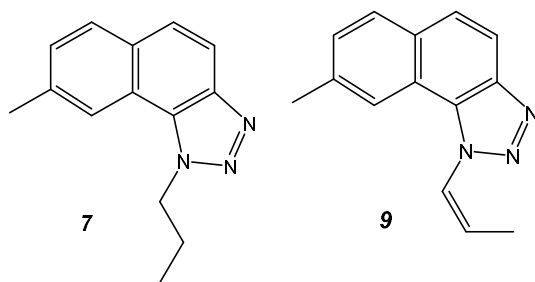
Provedeno je istraživanje inhibicije kolinesteraza na sintetiziranim spojevima **trans-1**, **trans-2**, **trans-5**, **cis-6**, **trans-6**, **7** i **9** (tablica 3.7.) u suradnji sa Sveučilištem u Mostaru, Fakultetom za prirodoslovno-matematičke i odgojne znanosti.

Navedeni spojevi otopljeni su u etanolu, za koje je utvrđeno da ima inhibicijsku aktivnost na AChE. Etanol inhibira aktivnost enzima oko 16,5%, te je taj doprinos oduzet od dobivenih vrijednosti za svaki izmjereni uzorak. Navedeni podatak, da etanol posjeduje inhibicijsku aktivnost, potvrđena su i u drugim istraživanjima.^{48,49} Pri koncentraciji većoj od 800 µM etanol može poremetiti strukturu vode oko hidrofobnih područja AChE, uzrokujući nestabilnost u enzimskoj konformaciji i smanjiti aktivnost AChE.⁵⁰

Tablica 3.7. Prikaz eksperimentalno dobivenih vrijednosti inhibicije kolinesteraza za spojeve **trans-5**, **trans-6**, **7** i **9**. (Oznaka -- - nije zabilježena inhibicija ili nije bilo moguće izračunati IC₅₀ na temelju izmjerenih vrijednost).

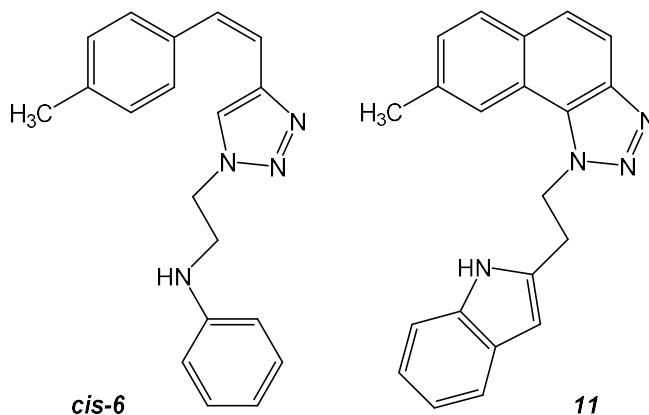
Uzorak	Inhibicija (%)					
	Koncentracije uzoraka (µM)					
	1000	800	500	250	100	IC ₅₀ (µM)
trans-5	82,3 ± 1,2	76,2 ± 1,3	31,5 ± 1,8	24,5 ± 2,2	21,2 ± 0,4	568,0 ± 3,5
trans-6	28,7 ± 4,2	27,1 ± 1,8	20,6 ± 3,2	22,4 ± 4,9	8,9 ± 0,8	--
7	75,8 ± 5,2	54,2 ± 11,5	34,5 ± 6,6	23,8 ± 9,3	21,4 ± 3,2	671,3 ± 47,0
9	62,8 ± 1,1	49,1 ± 1,2	41,4 ± 1,7	26,6 ± 1,7	17,3 ± 3,2	749,2 ± 19,8

Spojevi **trans-5**, **trans-6**, **7** i **9** posjeduju inhibicijsku aktivnost, dok ostali spojevi nisu pokazali značajnu inhibicijsku sposobnost. Uz aktivnost na inhibiciju AChE, sintetizirani triazolni derivati pokazuju visoku inhibicijsku aktivnost na BChE. Najveće vrijednosti pokazuju elektrociklizacioni produkti **7** i **9**, koji su se istaknuli i u slučaju AChE.

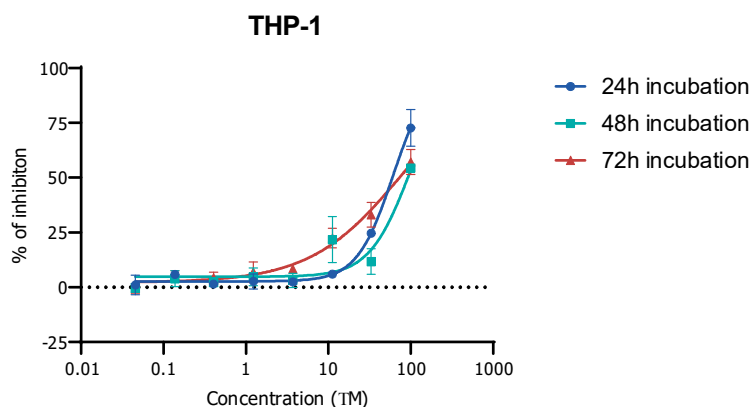


Slika 3.27. Prikaz struktura ciklizacijskih produkata **7** i **9**, koji pokazuju visoku aktivnost na inhibiciju BChE.

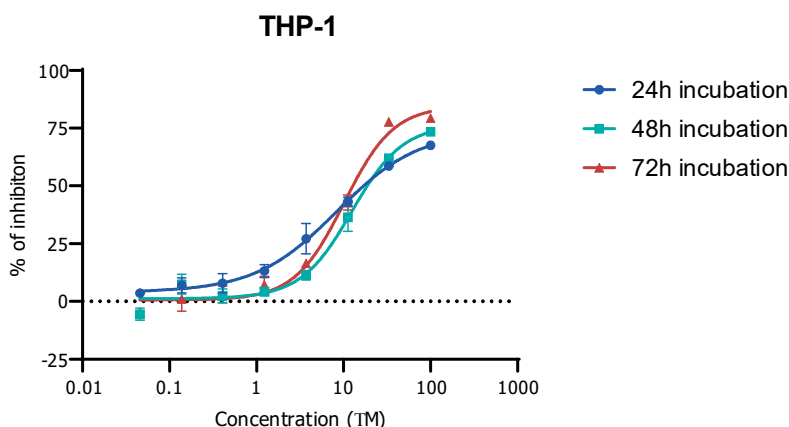
Osim na inhibiciju kolinesteraza, svi sintetizirani spojevi ispitivani su i na inhibiciju proizvodnje citokina u suradnji s tvrtkom Fidelta. Spojevi **7** i **9** ponovno pokazuju najbolje rezultate kod inhibicije proizvodnje citokina $\text{TNF}\alpha$, te smanjuju metaboličku aktivnost leukemijskih THP-1 stanica na $100\ \mu\text{M}$ u svim vremenskim točkama inkubacije za spoj **7** i na $100\ \mu\text{M}$ nakon 72 sata inkubacije za spoj **9**. Na slici 3.28. prikazani su derivati **cis-6** i **11**, koji također pokazuju značajno smanjenje metaboličke aktivnosti istih stanica. **Cis-6** smanjuje metaboličku aktivnost THP-1 stanica na $100\ \mu\text{M}$ u svim vremenskim točkama (slika 3.29.), a derivat **11** na $8,4\ \mu\text{M}$ nakon 24 sata inkubacije, $12,5\ \mu\text{M}$ nakon 48 sati te $10,2\ \mu\text{M}$ nakon 72 sata inkubacije (slika 3.30.). Navedene molekule nisu pokazale toksičnost na stanice.



Slika 3.28. Prikaz struktura molekula **cis-6** i **11**, koje smanjuju metaboličku aktivnost THP-1 stanica.



Slika 3.29. Derivat **cis-6** smanjuje metaboličku aktivnost THP-1 stanica na 100 μM u svim vremenskim točkama.



Slika 3.30. Derivat **11** smanjuje metaboličku aktivnost THP-1 stanica na 8,4 μM nakon 24 sata inkubacije, 12,5 μM nakon 48 sati te 10,2 μM nakon 72 sata inkubacije

U nastavku istraživanja, navedeni spojevi koji su po prvim rezultatima testova pokazali dobru biološku aktivnost, bit će dodatno testirani na leukemijskim staničnim linijama Jurkat i HL-60, te na ne-tumorskim stanicama NHLF (eng. *normal human lung fibroblasts*).

Predviđanje biološke aktivnosti pojedinih spojeva (engl. *Prediction of Activity Spectra for Substances, PASS*), moguće je vršiti i istoimenim softverskim programom koji može predvidjeti više od 3750 svojstava farmaceutskih komponenata i biokemijskih mehanizama, na temelju strukture molekule. Algoritam PASS temelji se na Bayesovim procjenama vjerojatnosti da pojedine molekule pripadaju klasi aktivnih ili neaktivnih spojeva. Program, na temelju strukture molekule, procjenjuje pripada li ona u klasu aktivnih (P_a) ili neaktivnih bioloških komponenata (P_i), a vrijednosti P_a i P_i kreću se od 0 do 1. Vrijednost P_a trebala bi

biti bliže 1 kako bi vjerojatnost biološke aktivnosti bila veća, dok je poželjno da je vrijednost P_i bliže 0.⁵¹

Za sintetizirane derivate triazola **1-2** i **4-6** dobivene vrijednosti P_a i P_i za pojedina svojstva prikazane su u tablici 3.8. Vidljivo je da većina spojeva pokazuje antimikrobakterijska i antituberkulozna svojstva, a vrijednosti P_a i P_i zadovoljavaju kriterije za biološku aktivnost.

Tablica 3.8. Biološke mete i svojstva spojeva **1-2** i **4-6** predviđeni programskim alatom *Pass* (*in silico*).

SPOJ	P_a (engl. <i>Probability to be Active</i>)	P_i (engl. <i>Probability to be Inactive</i>)	SVOJSTVA
1	0,637	0,008	Antimikrobakterijska
	0,621	0,005	Antituberkulozna
	0,584	0,018	Stimulant kaspaze 3
	0,416	0,005	Inhibitor sinteze leukotriena
2	0,718	0,040	Antienzimatska
	0,651	0,014	Stimulant kaspaze 3
	0,587	0,029	Inhibitor sinteze acil-CoA
	0,564	0,012	Antimikrobakterijska
4	0,632	0,021	Inhibitor gliceril-eter-monooksigenaze
	0,566	0,012	Antimikrobakterijska
	0,461	0,024	Liječenje ateroskleroze
	0,491	0,054	Inhibitor fosfatidilkolin-retinol O-aciltransferaze
5	0,423	0,025	Antituberkulozna
6	0,551	0,013	Antimikrobakterijska
	0,541	0,009	Antituberkulozna
	0,402	0,002	Inhibitor transglutaminaze 2

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Kromatografska odjeljivanja provedena su na kolonama ($\varphi = 0,5-2,5$ cm) punjenim silikagelom (Fulka 60 Å, tehnički), a preparativna tankoslojna kromatografija upotrebom ploča obloženih silikagelom (0,2 nm, 60 F₂₅₄, Merck). Kao sredstvo za sušenje organskih spojeva koristio se bezvodni MgSO₄, a otapala su uparena pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom.

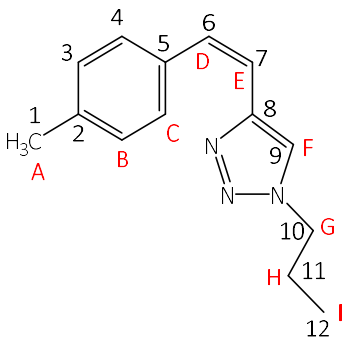
Za identifikaciju organskih spojeva korištena je nuklearna magnetna rezonancija (NMR tehnika), UV/Vis spektroskopija, spektrometrija masa (MS) te HRMS analiza. UV spektri snimljeni su na 50 Cary UV/Vis spektrofotometru. ¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na spektrometru Bruker AV-600 koji radi na frekvenciji od 600 MHz za ¹H jezgre i frekvenciji od 150 MHz za ¹³C jezgre, na Institutu Ruđer Bošković. Svi NMR spektri snimani su u CDCl₃ kao otapalu, koristeći TMS kao unutarnji standard. Za asignaciju signala korištene su i dodatne tehnike, poput 2D HH-COSY. Korištene su kratice s - singlet, d - dublet, t - triplet, AB_q – AB-kvartet, q- kvartet, m – multiplet, PE - petroleter, DCM – diklormetan, E - dietil-eter, C_{KV} – kvaterni ugljikov atom, C_{Ar} – aromatski ugljikov atom i H_{Ar} – aromatski proton. Za provođenje fotokemijskih reakcija elektrociklizacija korišten je fotokemijski reaktor Rayonet opremljen UV lampama valne duljine 300 nm. Početni aldehidi i fosfonijeva sol sintetizirani su u laboratoriju, dok su ostali reagensi kupovne kemikalije.

4.2. Sinteza triazolnih heterostilbena 1-6

Triazoli heterostilbeni **1-6** sintetizirani su pomoću Wittigove reakcije. Prije samog početka reakcije aparaturu je potrebno propuhivati dušikom 10 minuta. U trogrlu tikvicu ulije se 50 mL suhog etanola te se doda fosfonijeva sol (1 ekv) i aldehid (1 ekv) prethodno otopljen u 2 mL EtOH (suhi). Na jedno grlo tikvice stavlja se klor-kalcijeva cijev, na drugo balon s dušikom, a na središnje grlo lijevak za dokapavanje. U lijevak se ulije 10 mL suhog EtOH kojem se pažljivo dodaje elementarni natrij (1,1 ekv). Nakon što se sav natrij otopio u EtOH, dobiveni NaOEt iz lijevka lagano se dokapava u reakcijsku tikvicu, prilikom čega je vidljiva je promjena boje iz blago žute u narančastu. Reakcijska smjesa ostavlja se na magnetnog miješalici pri sobnoj temperaturi preko noći. Nakon što je završetak reakcije potvrđen na TLC pločici (smjesa za razvijanje DCM/E ili PE/E promjenjivog omjera), EtOH potrebno je upariti. Nakon uparavanja u tikvicu se dodaje destilirana voda i toluen te se provodi ekstrakcija. Donji vodeni sloj tri se puta ispiru toluenom, a gornji organski sloj se kroz čep lijevka za odjeljivanje prelijeva u tikvicu s MgSO₄ koji služi kao sredstvo za sušenje. Nakon 30 minuta sušenja, toluen se upari, a organski produkt se pročišćava na koloni promjena 1,5 cm, punjenom silikagelom. Kao eluens korištene su smjese otapala PE/E promjenjive polarosti.

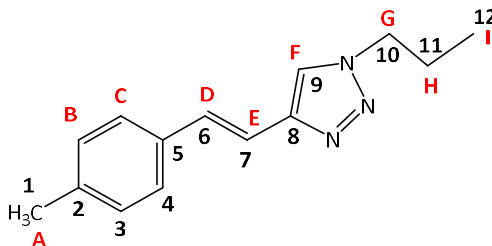
Time su dobivene smjese *cis*- i *trans*- izomera željenih produkata **1-6**, a čisti izomeri su međusobno odvajani kolonskom kromatografijom (kolona punjena silikagelom, a korišteni eluens je PE/E promjenjive polarosti) i preparativnom tankoslojnom kromatografijom (sredstvo za razvijanje je DCM/E promjenjive polarosti).

(Z)-4-(4-metilstiril)-1-propil-1H-1,2,3-triazol (cis-1)



cis-1: žuto ulje, 69,0 mg (izoliran, 22,7%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,14, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7,23 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,14 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,08 (s, 1H, H_{F}), 6,67 (s, 2H, H_{D} , H_{E}), 4,18 (t, 2H, $J = 10,5$ Hz, H_{G}), 2,36 (s, 3H, H_{A}), 1,87-1,79 (m, 2H, H_{H}), 0,89 (t, 3H, $J = 11,1$ Hz, H_{I}); $^{13}\text{C NMR}$ FABu(CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 143,92 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 136,86 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 134,02 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 130,59 (d, $\text{C}_{3/4/9}$), 128,78 (d, $\text{C}_{3/4/9}$), 127,62 (d, $\text{C}_{3/4/9}$), 120,84 (d, $\text{C}_{6/7}$), 119,31 (d, $\text{C}_{6/7}$), 51,19 (t, C_{10}), 23,18 (t, C_{11}), 20,86 (q, C_1), 10,44 (q, C_{12}); MS m/z (% fragment) (EI): 227 (100%, M^+), 198 (55%);

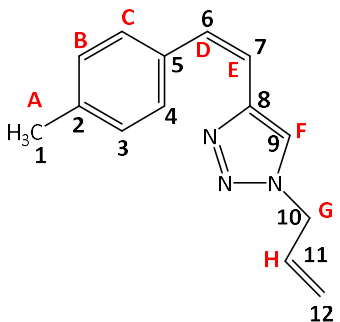
(E)-4-(4-metilstiril)-1-propil-1H-1,2,3-triazol (trans-1)



trans-1: bijeli prah, 91,0 mg (izoliran, 30,3%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,48, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7,55 (s, 1H, H_{F}), 7,39 (d, 2H, $J = 7,4$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,26 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 7,16 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,04 (d, 1H, $J = 16,8$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 4,33 (t, 2H, $J = 7,2$ Hz, H_{G}), 2,35 (s, 3H, H_{A}), 1,99-1,95 (m, 2H, H_{H}), 0,98 (t, 3H, $J = 7,5$ Hz, H_{I}); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 145,86 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 137,39 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 133,52 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 129,99 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 129,11 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 125,94 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 119,41 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 115,36 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 51,37 (t, C_{10}), 22,99 (t, C_{11}), 20,69 (q, C_1), 10,80 (q, C_{12}); MS m/z (% fragment) (EI): 227 (100%, M^+), 198 (55%);

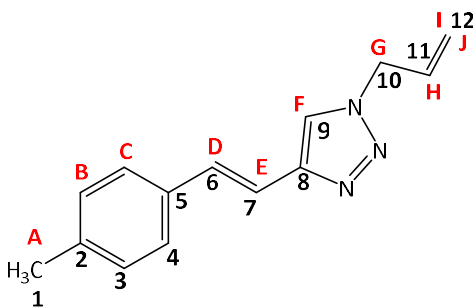
HRMS (m/z) za smjesu izomera **cis-1** i **trans-1**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3$ 227.1283 eksp. 227.1286.

(Z)-1-alkil-4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol (cis-2)



cis-2: žuto ulje, 37,0 mg (izoliran, 14,6%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,28, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7,23 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,14 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,11 (s, 1H, H_{F}), 6,67 (AB_q, 2H, $J = 12,5$ Hz, H_{D} , H_{E}), 5,95-5,88 (m, 1H, H_{H}), 5,27 (d, 1H, $J = 10,4$ Hz, $\text{H}_{\text{J/I}}$), 5,17 (d, 1H, $J = 16,0$ Hz, $\text{H}_{\text{J/I}}$), 4,84 (dt, 2H, $J=5,86$ Hz, H_{G}), 2,36 (s, 3H, H_{A}); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 144,23 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 136,94 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 134,07 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 130,83 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 130,77 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 128,76 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 127,59 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 120,85 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 119,14 (t, C_{12}), 51,91 (t, C_{10}), 20,78 (q, C_1); MS m/z (% fragment) (EI): 225 (100%, M^+);

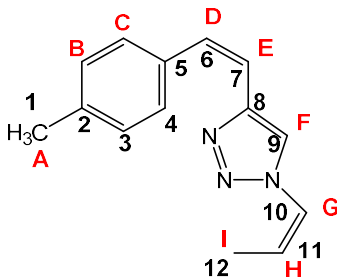
(E)-1-alkil-4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol (trans-2)



trans-2: bijeli prah, 87,0 mg (izoliran, 34,1%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,40, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7,56 (s, 1H, H_{F}), 7,39 (d, 2H, $J = 7,6$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,27 (d, 1H, $J = 15,55$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 7,16 (d, 2H, $J = 7,9$ Hz, $\text{H}_{\text{B/C}}$), 7,04 (d, 1H, $J = 15,9$ Hz, $\text{H}_{\text{D/E}}$), 6,08-6,01 (m, 1H, H_{H}), 5,39-5,31 (m, 2H, H_{I} , H_{J}), 4,99 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz, H_{G}), 2,35 (s, 3H, H_{A}); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 146,20 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 137,35 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 133,46 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 130,81 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 130,17 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 128,91 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 125,92 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 119,67 (t, C_{12}), 119,38 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 115,36 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9/11}$), 52,19 (t, C_{10}), 20,76 (q, C_1); MS m/z (% fragment) (EI): 225 (100%, M^+);

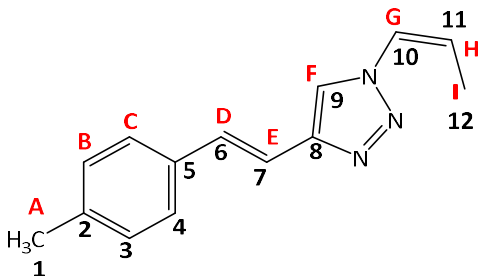
HRMS (m/z) za smjesu izomera **cis-2** i **trans-2**: $[M+H]^+$ računato za $C_{14}H_{15}N_3$ 225.0831 eksp. 225.0835.

4-((Z)-4-metilstiril)-1-((Z)-prop-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol (cis-3)



cis-3: žuto ulje, 35,6 mg (izoliran, 14,0%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,31, 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7,24 (d, 2H, $J=8,0$ Hz, $H_{B/C}$), 7,18 (s, 1H, H_F), 7,16 (d, 2H, $J=8,0$ Hz, $H_{B/C}$), 7,05 (d, 1H, $J=16,0$ Hz, $H_{D/E}$), 7,00 (d, 1H, $J=9,4$ Hz, H_G), 6,86 (dq, 1H, $J=1,7$ Hz, $J=9,2$ Hz, H_G), 6,75-6,66 (m, 2H, H_D , H_E), 5,62-5,56 (dq, 1H, $J=1,7$ Hz, $J=9,3$ Hz, H_H), 2,35 (s, 3H, H_A), 1,76 (d, 3H, $J=10,2$ Hz, H_I); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150MHz) δ /ppm: 143,50 (s, $C_{2/5/8}$), 136,99 (s, $C_{2/5/8}$), 134,44 (s, $C_{2/5/8}$), 131,25 (d, C_{Ar}), 128,86 (d, C_{Ar}), 127,61 (d, C_{Ar}), 123,33 (d, C_{Ar}), 121,09 (d, C_{Ar}), 120,16 (d, C_{Ar}), 119,20 (d, C_{Ar}), 20,74 (q, C_1), 12,40 (q, C_{12}); MS m/z (% fragment) (EI): 225 (100%, M^+);

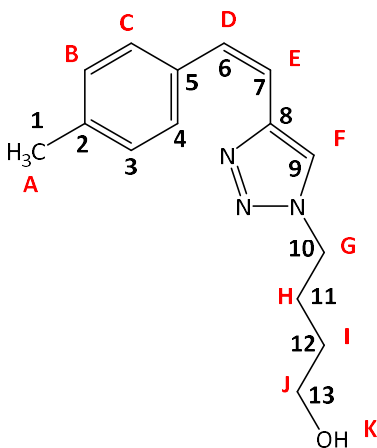
4-((E)-4-metilstiril)-1-((Z)-prop-1-en-1-il)-1H-1,2,3-triazol (trans-3)



trans-3: bijeli prah, 20,5 mg (izoliran, 8,0%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,52, 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7,69 (d, 1H, $J=7,7$ Hz, H_F), 7,40 (d, 2H, $J=8,0$ Hz, $H_{B/C}$), 7,33 (d, 1H, $J=16,5$ Hz, $H_{D/E}$), 7,17 (d, 2H, $J=8,0$ Hz, $H_{B/C}$), 7,05 (d, 1H, $J=16,0$ Hz, $H_{D/E}$), 7,00 (d, 1H, $J=9,4$ Hz, H_G), 5,71 (dq, 1H, $J=7,5$ Hz, $J=9,5$ Hz, H_H), 2,36 (s, 3H, H_A), 1,98 (d, 3H, $J=7,1$ Hz, H_I); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150MHz) δ /ppm: 137,49 (s, $C_{2/5/8}$), 133,42 (s, $C_{2/5/8}$), 130,52 (d, C_{Ar}), 128,96 (d, C_{Ar}), 125,95 (d, C_{Ar}), 123,41 (d, C_{Ar}), 120,51 (d, C_{Ar}), 119,67 (d, C_{Ar}), 114,87 (d, C_{Ar}), 20,77 (q, C_1), 12,68 (q, C_{12}); MS m/z (% fragment) (EI): 225 (100%, M^+);

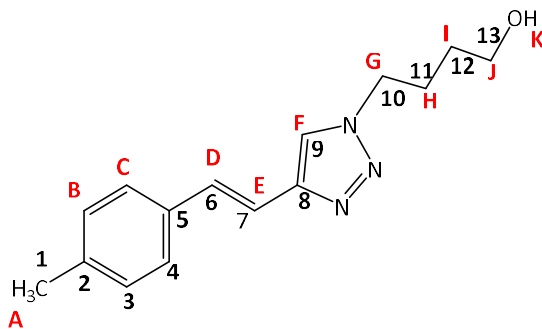
HRMS (m/z) za smjesu izomera **cis-3** i **trans-3**: $[M+H]^+$ računato za $C_{14}H_{15}N_3$ 225.1107 eksp. 225.1111.

(Z)-4-(4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (cis-4)



cis-4: žuto ulje, 18,0 mg (izoliran, 8,9%); R_f (DCM) = 0,11, 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7,20 (d, 2H, J = 8,05 Hz, $H_{B/C}$), 7,11 (d, 2H, J = 8,05 Hz, $H_{B/C}$), 6,99 (s, 1H, H_F), 6,86 (s, board, 1H, H_K), 6,66 (ABq, 2H, J = 12,0 Hz, H_D , H_E), 4,20 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H_G), 3,94 (d, 1H, J = 15,0 Hz, H_G), 2,86-2,79 (m, 2H, H_J), 2,37 (s, 3H, H_A), 2,24 (d, 1H, J = 13,0 Hz, $H_{I/H}$), 1,96-1,91 (m, 1H, $H_{H/I}$), 1,82-1,75 (m, 1H, $H_{H/I}$), 1,58 (s, 1H, $H_{H/I}$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150MHz) δ /ppm: 145,18 (s, $C_{2/5/8}$), 136,78 (s, $C_{2/5/8}$), 133,98 (s, $C_{2/5/8}$), 130,63 (d, $C_{3/4/6/7/9}$), 128,69 (d, $C_{3/4/6/7/9}$), 127,74 (d, $C_{3/4/6/7/9}$), 123,37 (d, $C_{3/4/6/7/9}$), 119,45 (d, $C_{3/4/6/7/9}$), 60,25 (t, $C_{10/13}$), 37,49 (t, $C_{10/13}$), 20,80 (q, C_1); 18,68 (t, $C_{11/12}$), 17,98 (t, $C_{11/12}$); MS m/z (% fragment) (EI): 257 (75%, M^+), 239 (100%);

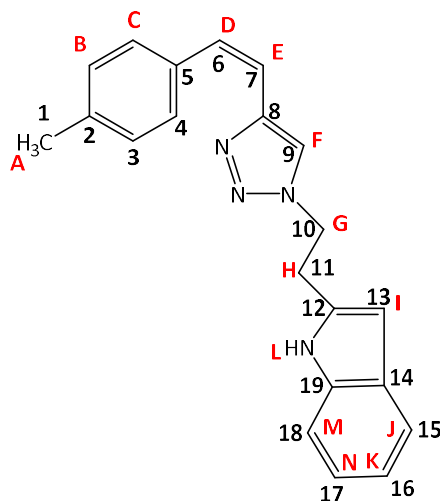
(E)-4-(4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol-1-il)butan-1-ol (trans-4)



trans-4: bijeli prah, 16,4 mg (izoliran, 8,9%); R_f (DCM) = 0,20, 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ /ppm: 7,48 (s, 1H, H_F), 7,38 (d, 2H, J = 8,18 Hz, $H_{B/C}$), 7,26 (d, 1H, J = 16,4 Hz, $H_{D/E}$), 7,15

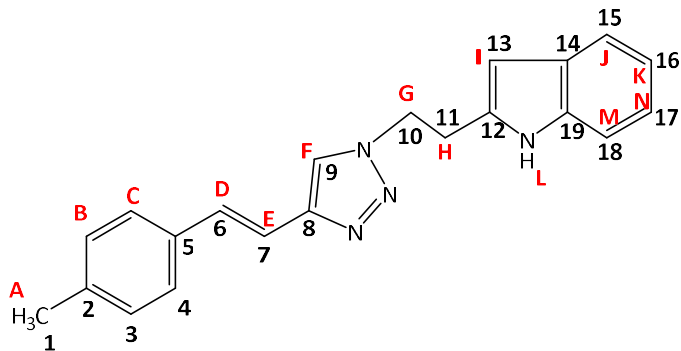
(d, 2H, $J = 8,18$ Hz, $H_{B/C}$), 7,00 (d, 1H, $J = 16,4$ Hz, $H_{D/E}$), 6,88 (s, *board*, 1H, H_K), 4,35 (d, 1H, $J = 14,3$ Hz, H_G), 4,10 (d, 1H, $J = 14,3$ Hz, H_G), 2,97-2,92 (m, 2H, H_J), 2,35 (s, 3H, H_A), 2,25 (d, 1H, $J=12,5$ Hz, $H_{H/I}$), 2,07 (d, 1H, $J=13,0$ Hz, $H_{H/I}$), 1,46-1,41 (m, 2H, $H_{H/I}$); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ/ppm : 146,61 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 145,73 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 137,79 (s, $\text{C}_{2/5/8}$), 129,38 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 126,93 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 126,37 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 124,13 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 121,90 (d, $\text{C}_{3/4/6/7/9}$), 61,06 (t, C_{10}), 38,01 (t, C_{13}), 29,96 (t, $\text{C}_{11/12}$), 21,26 (q, C_1), 18,48 (t, $\text{C}_{11/12}$); MS m/z (% fragment) (EI): 257 (46%, M^+), 239 (100%); HRMS (m/z) za smjesu izomera **cis-4** i **trans-4**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$ 257.4091 eksp. 257.4089.

(Z)-2-(2-(4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1H-indol (cis-5)



cis-5: žuto ulje, 13,0 mg (izoliran, 8,1%); $R_f(\text{DCM}/\text{E} = 50:1) = 0,13$, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,98 (s, *board*, 1H, H_L), 7,46 (d, 1H, $J=8,5$ Hz, H_{Ar}), 7,40 (d, 1H, $J=7,92$ Hz, H_{Ar}), 7,23 (t, 1H, $J=7,9$ Hz, H_{Ar}), 7,13 (t, 1H, $J=7,9$ Hz, H_{Ar}), 7,03 (d, 2H, $J=8,53$ Hz, H_{Ar}), 6,96 (d, 2H, $J=7,3$ Hz, H_{Ar}), 6,83 (s, 1H, $H_{F/I}$), 6,80 (s, 1H, $H_{F/I}$), 6,61 (AB_q, 2H, $J=11,8$ Hz, H_D , H_E), 4,51 (t, 2H, $J=7,31$ Hz, $H_{G/H}$), 3,29 (t, 2H, $J=7,31$ Hz, $H_{G/H}$), 2,30 (s, 3H, H_A); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ/ppm : 136,71 (s, C_{kv}), 135,75 (s, C_{kv}), 134,14 (s, C_{kv}), 130,36 (d, C_{Ar}), 128,66 (d, C_{Ar}), 127,45 (d, C_{Ar}), 122,03 (d, C_{Ar}), 121,88 (d, C_{Ar}), 121,48 (d, C_{Ar}), 119,22 (d, C_{Ar}), 117,69 (d, C_{Ar}), 115,14 (d, C_{Ar}), 110,84 (d, C_{Ar}), 50,05 (t, C_{10}), 26,02 (t, C_{11}), 20,74 (q, C_A); MS m/z (% fragment) (EI): 328 (100%, M^+);

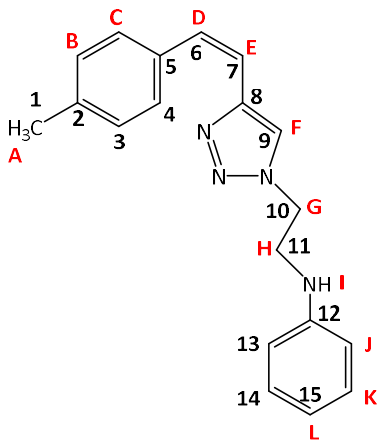
(E)-2-(2-(4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)-1H-indol (trans-5)



trans-5: bijeli prah, 8,0 mg (izoliran, 5,0%); R_f (DCM/E = 50:1) = 0,20, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,06 (s, *board*, 1H, H_L), 7,57 (d, 1H, J=9,62 Hz, H_{Ar}), 7,39 (d, 1H, J = 8,7 Hz, H_{Ar}), 7,35 (d, 2H, J = 8,7 Hz, H_{Ar}), 7,25-7,21 (m, 1H, H_{Ar}), 7,17 (d, 1H, J=16,0 Hz, H_{D/E}), 7,16-7,13 (m, 3H, H_{Ar}), 6,96 (d, 1H, J=16,0 Hz, H_{D/E}), 6,85 (s, 1H, H_{Ar}), 4,66 (t, 2H, J=7,8 Hz, H_{G/H}), 3,39 (t, 2H, J=7,2 Hz, H_{G/H}), 2,34 (s, 3H, H_A); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 145,51 (s, C_{KV}), 137,28 (s, C_{KV}), 135,53 (s, C_{KV}), 133,53 (s, C_{KV}), 129,82 (d, C_{Ar}), 128,91 (d, C_{Ar}), 126,33 (d, C_{Ar}), 125,77 (d, C_{Ar}), 121,90 (d, C_{Ar}), 120,07 (d, C_{Ar}), 119,28 (d, C_{Ar}), 117,76 (d, C_{Ar}), 115,37 (d, C_{Ar}), 110,97 (d, C_{Ar}), 110,69 (s, C_{KV}), 50,20 (t, C_{10/11}), 26,15 (t, C_{10/11}), 20,77 (q, C₁); MS m/z (% fragment) (EI): 328 (100%, M⁺);

HRMS (m/z) za smjesu izomera **cis-5** i **trans-5**: [M+H]⁺ računato za C₂₁H₁₈N₄ 328.5322 eksp. 328.5326.

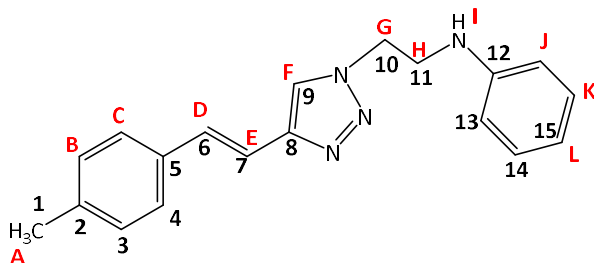
(Z)-N-(2-(4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)anilin (cis-6)



cis-6: žuto ulje, 33,0 mg (izoliran, 28,0%); R_f (DCM/E = 70:1) = 0,27, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 7,19-7,14 (m, 4H, H_{Ar}), 7,09-7,05 (m, 3H, H_{Ar}), 6,75 (t, 1H, J=7,4 Hz, H_{Ar}), 6,66 (AB_q, 2H, J=12,6 Hz, H_D, H_E), 6,52 (d, 2H, J=8,17 Hz, H_{Ar}), 4,39 (t, 2H, J=6,6 Hz, H_{G/H}), 3,85

(s, *board*, 1H, H_I), 3,58 (t, 2H, *J*=5,2 Hz, H_{G/H}), 2,33 (s, 3H, H_A); ¹³C NMR (CDCl₃, 150MHz) δ/ppm: 146,18 (s, C_{KV}), 144,11 (s, C_{KV}), 136,84 (s, C_{KV}), 134,14 (s, C_{KV}), 131,00 (d, C_{Ar}), 128,96 (d, C_{Ar}), 128,82 (d, C_{Ar}), 127,55 (d, C_{Ar}), 121,75 (d, C_{Ar}), 119,12 (d, C_{Ar}), 117,81 (d, C_{Ar}), 117,81 (d, C_{Ar}), 112,44 (d, C_{Ar}), 110,84 (d, C_{Ar}), 48,62 (t, C_{10/11}), 43,21 (t, C_{10/11}), 20,78 (q, C_A); MS *m/z* (% fragment) (EI): 304 (100%, M⁺);

(E)-N-(2-(4-(4-metilstiril)-1H-1,2,3-triazol-1-il)etil)anilin (*trans*-6)



***trans*-6:** bijeli prah, 15,0 mg (izoliran, 14,0%); *R_f*(DCM/E = 70:1) = 0,33, ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7,53 (s, 1H, H_F), 7,38 (d, 2H, *J* = 7,6 Hz, H_{B/C}), 7,25 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz, H_{D/E}), 7,20 (t, 2H, *J*=7,6 Hz, H_{Ar}), 7,16 (d, 2H, *J* = 7,6 Hz, H_{Ar}), 7,01 (d, 1H, *J* = 16,0 Hz, H_{D/E}), 6,76 (t, 1H, *J*=8,9 Hz, H_{Ar}), 6,62 (d, 2H, *J*=7,6 Hz, H_{Ar}), 4,56 (t, 2H, *J* = 5,7 Hz, H_{G/H}), 3,70 (t, 2H, *J* = 6,4 Hz, H_{G/H}), 2,35 (s, 3H, H_A), 1,54 (s, *board*, 1H, H_I); ¹³C NMR (CDCl₃, 150MHz) δ/ppm: 137,39 (s, C_{2/5/8/12}), 130,29 (d, C_{Ar}), 129,04 (d, C_{Ar}), 128,89 (d, C_{Ar}), 125,95 (d, C_{Ar}), 120,44 (d, C_{Ar}), 117,88 (d, C_{Ar}), 115,14(d, C_{Ar}), 112,47(d, C_{Ar}), 48,77 (t, C_{10/11}), 43,26 (t, C_{10/11}), 20,79 (q, C₁); MS *m/z* (% fragment) (EI): 304 (100%, M⁺);

HRMS (*m/z*) za smjesu izomera ***cis*-6** i ***trans*-6**: [M+H]⁺ računato za C₁₉H₂₀N₄ 304.1019 eksp. 304.1022.

4.3. Sinteza elektrociklizijskih produkata triazolnih heterostilbena 7-12

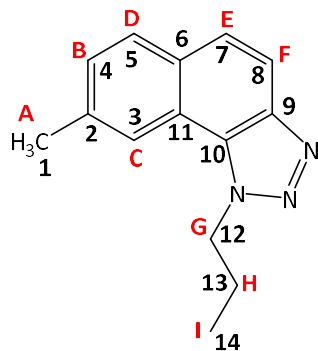
Smjese izomera **1-6** podvrgnute su reakciji fotokemijske elektrociklizacije u svrhu dobivanja novih, elektrociklizijskih produkata. U kvarcnoj kiveri pripremi se otopina reaktanata u toluenu, prema tablici 4.1.

Tablica 4.1. Prikaz količina reaktanta i otapala za provođenje reakcije elektrociklizacije, te dobiveni produkti.

Reaktant	Masa uzorka / mg	Volumen toluena / mL	Dobiveni produkt
<i>cis-1</i>	33	50	7
<i>trans-1</i>	27	50	7
<i>cis-2</i>	35	50	8
<i>trans-2</i>	27	50	8
<i>cis-3</i>	7	10	9
smjesa <i>cis-4</i> i <i>trans-4</i>	7	10	10
<i>cis-5</i>	18	25	11
smjesa <i>cis-6</i> i <i>trans-6</i>	25	40	12

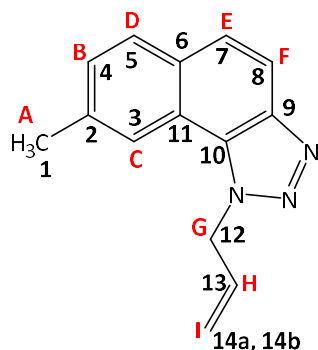
Tako pripremljenoj otopini doda se mala količina joda, koji služi kao oksidacijsko sredstvo. Kiveru je potrebno obrisati etanolom prije stavljanju u reaktor. Korišteno je 10 UV lampi valne duljine 300 nm, a reakcija se provodi 2 sata.

8-metil-1-propil-1H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol (7)



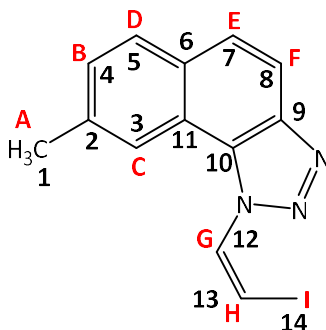
7: smeđe ulje, 50,0 mg (izoliran, 83,3%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,34, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,03 (s, 1H, H_C), 7,92 (d, 2H, $J=8,77$ Hz, H_{Ar}), 7,66 (d, 1H, $J=8,77$ Hz, H_{Ar}), 7,48 (d, 1H, $J=7,67$ Hz, H_{Ar}), 5,01 (t, 2H, $J=7,15$ Hz, H_G), 2,63 (s, 3H, H_A), 2,16-2,11 (m, 2H, H_H), 1,08 (t, 3H, $J=7,4$ Hz, H_I); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 144,28 (s, C_{KV}), 136,57 (s, C_{KV}), 130,63 (s, C_{KV}), 130,40 (d, C_{Ar}), 128,89 (d, C_{Ar}), 128,30 (d, C_{Ar}), 125,44 (d, C_{Ar}), 120,88 (d, C_{Ar}), 199,77 (s, C_{KV}), 116,75 (s, C_{KV}), 51,74 (t, C_{12}), 22,52 (t, C_{13}), 21,67 (q, C_1), 10,59 (q, C_{14}); MS m/z (% fragment) (EI): 225 (100%, M^+), 210 (43%); HRMS (m/z) za spoj **7**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_3$ 225.5587 eksp. 225.5590.

1-alil-8-metil-1H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol (8)



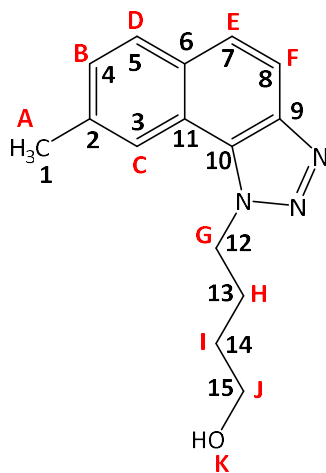
8: smeđe ulje, 46,0 mg (izoliran, 74,2%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,29, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,02 (s, 1H, H_C), 7,93 (d, 1H, $J=9,02$ Hz, H_{Ar}), 7,90 (d, 1H, $J=8,26$ Hz, H_{Ar}), 7,67 (d, 1H, $J=8,97$ Hz, H_{Ar}), 7,47 (d, 1H, $J=8,22$ Hz, H_{Ar}), 6,25-6,17 (m, 1H, H_H), 5,67-5,65 (m, 2H, H_G), 5,34 (d, 1H, $J=10,6$ Hz, $\text{H}_{I/J}$), 5,09 (d, 1H, $J=17,6$ Hz, $\text{H}_{I/J}$), 2,63 (s, 3H, H_A); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 144,22 (s, C_{KV}), 136,51 (s, C_{KV}), 130,77 (d, C_{Ar}), 130,64 (s, C_{KV}), 128,66 (d, C_{Ar}), 128,32 (d, C_{Ar}), 125,63 (d, C_{Ar}), 121,49 (d, C_{Ar}), 119,43 (d, $\text{C}_{14a/14b}$), 118,03 (d, $\text{C}_{14a/14b}$), 116,64 (d, C_{13}), 52,16 (t, C_{12}), 21,57 (q, C_1); MS m/z (% fragment) (EI): 223 (100%, M^+); HRMS (m/z) za spoj **8**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_3$ 223.9002 eksp. 223.9005.

(E)-8-metil-1-(prop-1-en-1-il)-1H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol (9)



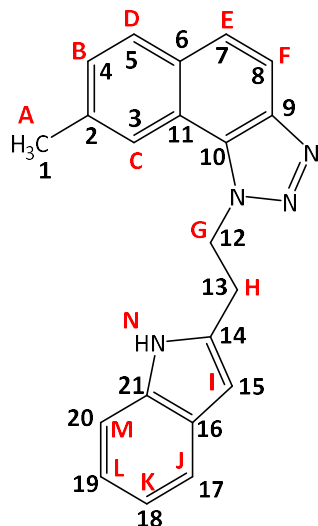
9: smeđe ulje, 5,0 mg (izoliran, 78,6%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,28, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,22 (s, 1H, H_C), 7,93 (d, 1H, $J=9,04$ Hz, H_{Ar}), 7,89 (d, 1H, $J=8,3$ Hz, H_{Ar}), 7,67 (d, 1H, $J=8,4$ Hz, H_{Ar}), 7,46 (d, 1H, $J=8,4$ Hz, H_{Ar}), 6,33-6,28 (m, 1H, H_G), 5,74-5,67 (m, 1H, H_H), 2,59 (s, 3H, H_A), 1,98 (d, 3H, $J=7,09$ Hz, H_I); MS m/z (% fragment) (EI): 223 (100%, M^+); HRMS (m/z) za spoj **9**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_3$ 223.2776 eksp. 223.2779.

4-(8-metil-1H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol-1-il)butan-1-ol (10)



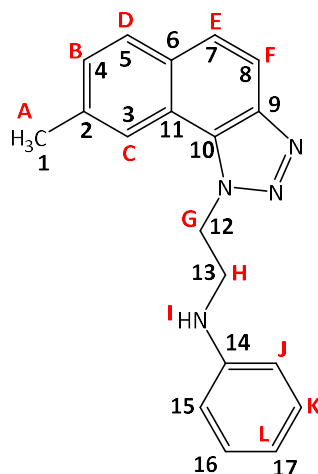
10: smeđe ulje, 6,3 mg (izoliran, 90,0%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,42, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,28 (s, 1H, H_C), 7,90 (d, 1H, $J=8,02$ Hz, H_{Ar}), 7,89 (d, 1H, $J=8,9$ Hz, H_{Ar}), 7,64 (d, 1H, $J=8,09$ Hz, H_{Ar}), 7,46 (d, 1H, $J=8,09$ Hz, H_{Ar}), 4,99 (t, 2H, $J=15,02$ Hz, H_G), 3,20-3,12 (m, 1H, H_J), 3,05-2,98 (m, 1H, H_J), 2,62 (s, 3H, H_A), 1,69-1,63 (m, 2H, $\text{H}_{H/I}$), 1,61 (s, 1H, H_K), 1,57-1,50 (m, 2H, $\text{H}_{H/I}$); MS m/z (% fragment) (EI): 255 (38%, M^+), 237 (100%); HRMS (m/z) za spoj **10**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$ 255.7144 eksp. 255.7140.

1-(2-(1H-indol-2-il)etil)-8-metil-1H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol (11)



11: smeđe ulje, 15,0 mg (izoliran, 83,3%); R_f (DCM/E = 100:1) = 0,25, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,08 (s, *board*, 1H, H_N), 8,03 (s, 1H, H_C), 7,93 (d, 1H, $J=9,9$ Hz, H_Ar), 7,89 (d, 1H, $J=8,4$ Hz, H_Ar), 7,66 (d, 1H, $J=9,2$ Hz, H_Ar), 7,49-7,42 (m, 2H, H_Ar), 7,37 (d, 1H, $J=7,7$ Hz, H_Ar), 7,24-7,17 (m, 2H, H_Ar), 6,97 (s, 1H, H_I), 5,31 (t, 2H, $J=8,4$ Hz, $\text{H}_\text{G/H}$), 3,56 (t, 2H, $J=6,9$ Hz, $\text{H}_\text{G/H}$), 2,63 (s, 3H, H_A); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 144,18 (s, C_KV), 136,68 (s, C_KV), 135,81 (s, C_KV), 133,09 (d, C_AR), 130,55 (s, C_KV), 129,68 (d, C_AR), 128,85 (d, C_AR), 128,43 (s, C_KV), 128,20 (d, C_AR), 126,73 (s, C_KV), 125,55 (d, C_AR), 121,97 (d, C_AR), 120,74 (d, C_AR), 119,73 (s, C_KV), 119,31 (d, C_AR), 117,71 (d, C_AR), 116,67 (d, C_AR), 110,85 (s, C_KV), 50,09 (t, C_12), 25,68 (t, C_13), 21,37 (q, C_1); MS m/z (% fragment) (EI): 326 (100%, M^+); HRMS (m/z) za spoj **11**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_4$ 326.6955 eksp. 326.6951.

N-(2-(8-metil-1H-nafto[1,2-d][1,2,3]triazol-1-il)etil)anilin (12)



12: smeđe ulje, 7,0 mg (izoliran, 28,0%); R_f (DCM/E = 80:1) = 0,30, ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm: 8,02 (s, 1H, H_C), 7,93-7,88 (m, 2H, H_Ar), 7,66 (d, 1H, $J=8,9$ Hz, H_Ar), 7,45 (d, 1H, $J=8,9$ Hz, H_Ar), 7,19 (t, 1H, $J=8,2$ Hz, H_Ar), 6,75 (t, 1H, $J=7,4$ Hz, H_Ar), 6,65 (d, 2H, $J=8,9$ Hz, H_Ar), 5,24 (t, 2H, $J=6,7$ Hz, $\text{H}_\text{G/H}$) 4,10 (s, *board*, 1H, H_I), 3,95 (t, 2H, $J=5,2$ Hz, $\text{H}_\text{G/H}$), 2,48 (s, 3H, H_A); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150MHz) δ /ppm: 146,49 (s, C_KV), 144,16 (s, C_KV), 136,79 (s, C_KV), 130,68 (s, C_KV), 129,02 (d, C_Ar), 128,90 (d, C_Ar), 128,42 (d, C_Ar), 125,74 (d, C_Ar), 120,78 (d, C_Ar), 119,65 (s, C_KV), 116,58 (d, C_Ar), 112,37 (d, C_Ar), 49,47 (t, $\text{C}_{12/13}$), 42,93 (t, $\text{C}_{12/13}$), 21,46 (q, C_1); MS m/z (% fragment) (EI): 302 (100%, M^+); HRMS (m/z) za spoj **12**: $[\text{M}+\text{H}]^+$ računato za $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_4$ 302.1166 eksp. 302.1169.

5. ZAKLJUČAK

Novi triazolni derivati heterostilbena **1-6** sintetizirani su Wittigovom reakcijom, kao smjese *cis*- i *trans*-izomera. Izomeri su izolirani i spektroskopski okarakterizirani, korištenjem NMR tehnika, UV-Vis spektroskopije i spektrometrije masa, čime je potvrđena njihova struktura. UV-Vis spektri čistih izomera **1-6** ukazuju na to da *trans*-izomeri najčešće imaju veći molarni apsorpcijski koeficijent, čime se potvrđuje njihova veća vjerojatnost apsorpcije svjetla, u odnosu na *cis*-izomere. Također je primijećen batokromni pomak maksimuma apsorpcije kao posljedica planarnosti molekule kod *trans*-izomera.

Dobiveni triazolni derivati **1-6** potom su podvrgnuti fotokemijskom ispitivanju. Otopine spojeva osvijetljavane su u UV kivetama na 300 nm, u kratkim vremenskim periodima, pri čemu su u vremenu praćene promjene u UV spektrima. Zamijećen je jednak trend kod *cis*-izomera, koji na početku osvijetljavanja uključuje blagi batokromni i hiperkromni pomak, dok se daljnjim osvijetljavanjem intenzitet apsorpcije smanjuje. Drugim riječima, početkom osvijetljavanja *cis*-izomer ima tendenciju prelaska u *trans*-izomer (izomerizacija). Kod svih *trans*-izomera također je primijećeno podjednako ponašanje prilikom osvijetljavanja, koje uključuje samo hipokromni efekt, odnosno smanjenje intenziteta apsorpcije, što predstavlja vrstu transformacije konjugirane molekule. Osim fotoliza, provedene su i preparativne elektrociklizijske reakcije na spojevima **1-6**, čime su dobiveni novi elektrociklički derivati **7-12** u visokom iskorištenju (od 28 do 90%). Produkti su izolirani i spektroskopski okarakterizirani.

Drugi dio provedenog znanstvenog istraživanja odnosi se na računalno ispitivanje elektronske gustoće i termodinamičke stabilnosti spojeva **1-6**. Računalno modeliranje strukture provedeno je na osnovnoj molekuli **MO**, čime su dobiveni stabilniji konformeri s osnovnim skeletom. Dobivene strukture iskorištene su za dobivanje početnih geometrija za spojeve sintetizirane u ovom radu (**1-6**), kojima su ispitivane konformacije s obzirom na prisustvo različitih supstituenata na triazolnoj podjedinici. UV-Vis spektri, osim eksperimentalno, dobiveni su i računski. Na temelju dobivenih podataka vidljivo je da postoje određena odstupanja između vrijednosti dobivenih eksperimentalno i računski, ali ona su zadovoljavajuća s obzirom na to da prate jednak trend. Vrijednosti λ_{\max} za *trans*-molekule gotovo su jednake kod eksperimenta i računa, dok je za *cis*-izomere razlika između vrijednosti značajnija. Dobivene su i vrijednosti energija HOMO i LUMO orbitala te njihova razlika ($\Delta E = E_{LUMO} - E_{HOMO}$) izražena u kJ mol^{-1} . Primijećeno je da su vrijednosti ΔE kod *cis*-izomera, za otprilike 200 kJ mol^{-1} veće u odnosu na energijske razlike HOMO i LUMO orbitala *trans*-izomera. Razlog tome leži u činjenici da su *trans*-izomeri potpuno planarni, čime je omogućena efikasna konjugacija π elektronskog sustava.

Dodatno, sintetizirani i izolirani triazolni derivati podvrgnuti su biološkim testiranjima. Spojevi **7** i **9** pokazuju najbolje vrijednosti kao potencijalni inhibitori enzima AChE i BChE, te smanjuju metaboličku aktivnost leukemijskih THP-1 stanica, kao i derivati **cis-6** i **11**. Navedeni spojevi bit će dodatno testirani na leukemijskim staničnim linijama Jurkat i HL-60, te na netumorskim stanicama NHLF (eng. *normal human lung fibroblasts*).

LITERATURA

- [1] H. Wamhoff, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Pergamon Press, Oxford (1984) 670-732.
- [2] L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005)15998 – 15999.
- [3] Z. Chen, Q. Yan, H. Yi, Z. Liu, A. Lei, Y. Zhang, *Chemistry European Journal* 20 (2014) 1-7.
- [4] R. Huisgen, *Angew. Chem.* 75 (1963) 604 – 637.
- [5] W. Li, Q. Jia, Z. Du, J. Wang, *Chem. Commun.* 49 (2013) 10187.
- [6] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem.* 114 (2002) 2708 – 2711.
- [7] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* 67 (2002) 3057 – 3064.
- [8] A. E. Speers, G. C. Adam, B. F. Cravatt, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 4686 – 4687.
- [9] G. F. Samu, C. Janaky, *Hybrid Polimer Composite Materials* (2017) 101-134.
- [10] M. Hoshi, M. Okimoto, A. Oikawa, S. Miyawaki, Y. Shimotori, *RSC Advances* 4 (2014) 2124-2128.
- [11] A. Oikawa, G. Kindaichi, Y. Shimotori, M. Hoshi, *Tetrahedron* 14 (2016) 485-490.
- [12] L. P. Guan Q. H. Jin, G. R. Tian, K. Y. Chai, Z. S. Quan, *J. Pharm.Pharm. Sci.* 10 (2007) 254-262.
- [13] R. Gujjar, *J. Med. Chem.* 52 (2009) 1864-1872.
- [14] M. Chen, *Het. Commun.* 6 (2000) 421-426.
- [15] Y. Mohammad, *Steroids* 118 (2017) 1-8.
- [16] I. Lee, Y.S. Choe, J. Y. Choi, K. H. Lee, B. T. Kim, *J. Med. Chem.* 55 (2012) 883-892.
- [17] J. Zyss, I. Ledoux, S. Volkov, V. Chernyak, S. Mukamel, G.P. Bartholomew, et al., *J. Am. Chem. Soc.* 112 (2000) 11956-62.
- [18] A. Yariv, P. Yeh, *Photonics: optical electronics in modern communications*, Oxford University Press: New York (2007)
- [19] P. Wang, H. Pu, M. Jin, *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.* 49 (2011) 5133-5141.
- [20] X. Jaing, H. Pu, P. Wang, *Polymer* 52 (2011) 3597-3602.

- [21] D. Lumpi, F. Glochlhofer, B. Holzer, B. Stoger, C. Hametner, G. A. Reider, J. Frohlich, *Crystal Growth and Design* 14 (2014) 1018-1031.
- [22] Z. Cui, Y. Zhang, S. He, *Colloid and Polym. Sci.* 286 (2008) 1553 - 9.
- [23] S. Balamurugan, S. Nithyanandan, C. Selvarasu, P. Kannan, *Polymer* 53 (2012) 4104-4111.
- [24] Kumar, D. B. C. K. P. S. *Arch. Appl. Sci. Res.* 1 (2009) 86-92.
- [25] Agrawal, D. K.; Mishra, P. K. *Med. Res. Rev.* 30 (2010) 818-833.
- [26] D. Caprioglio, S. Torretta, M. Ferrari, C. Travelli, A. A. Grolla, F. Condorelli, A. A. Genazzani, A. Minassi, *Bioorg. Med. Chem.* 24 (2016) 140-152.
- [27] B. Wardle, *Principles and Applications of Photochemistry*, John Wiley and Sons, Manchester, (2009)
- [28] J. D. Coyle, *Introduction to Organic Photochemistry*, John Wiley and Sons, Great Britain (1986) 2-104.
- [29] M. Šindler-Kulyk, N. Basarić, *Heteropolycyclics by Photochemistry*, *Kem.Ind.* 51 (2002) 169-175.
- [30] I. Odak, I. Škorić, *Organska fotokemija - principi i primjena*, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, prvo izdanje, Zagreb (2017).
- [31] I. Škorić, I. Flegar, Ž. Marinić, M. Šindler-Kulyk, *Tetrahedron* 62 (2006) 7396-7407.
- [32] I. Šagud, N. Maček Hrvat, A. Grgičević, T. Čadež, J. Hodak, M. Dragojević, K. Lasić, Z. Kovarik, I. Škorić, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 35 (2020) 460-467.
- [33] M. Šindler Kulyk, N. Basarić, *Kemija u Industriji* 51 (2020) 169-175.
- [34] I. Šagud, M. Šindler Kulyk, I. Škorić, V. Kelava, Ž. Marinić, *Eur. J. Org. Chem.* (2018) 3326-3335.
- [35] B. Carlotti, A. Cesaretti, G. Cacioppa, F. Elisei, I. Odak, I. Škorić, A. Spalletti, *Journal of Photochemistry & Photobiology A: Chemistry* 368 (2019) 190–199.
- [36] F. Jensen, *Introduction to Computational Chemistry*, Second Edition, Chichester (2007) str. 16-20.
- [37] J. B. Foresman, A. Frisch, I. Gaussian, *Exploring chemistry with electronic structure methods*, Second edition, Gaussian (1996)

- [38] D. Šakić, *Kvantno-kemijsko istraživanje reakcija pregrađivanja odabranih psihofarmaka*, Disertacija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu (2015)
- [39] I. Nikšić-Franjić, *Računalno istraživanje reakcija slobodnih radikala s halogeniranim organskim spojevima u vodenim otopinama*, Doktorski rad, Zagreb (2020)
- [40] S. M. Bachrach, *Computational Organic Chemistry*, Wiley-Interscience: Hoboken, New Jersey (2007) 496.
- [41] D. C. Young, *Introduction In Computational Chemistry*, Jhon Wiley and Sons (2001) 1-4.
- [42] M. Edmonds, A. Abell, The Wittig Reaction, *Modern Carbonyl Olefination* (2004) 1-17.
- [43] L. G. Wade, *Organska kemija, Školska knjiga*, 1. izdanje (na hrvatskom jeziku), (2017) 834-838.
- [44] F. A. Carey, *Organic Chemistry*, 5. edition (2003) 730-734.
- [45] M. Schlosser, K. F. Christmann, *Liebigs Ann.* 708 (1967) 1.
- [46] E. Runge, E. K. U. Gross, Density-functional theory for time-dependent systems, *Phys. Rev. Lett.* 52 (1984) 997.
- [47] D. Verbanac, V. Stepanić, *Novi pogled na istraživanje lijekova – nove formulacije i kombinacije.*
- [48] G. L. Ellman, K. C. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity, *Biochem. Pharmacol.* (1961) 88-95.
- [49] S. Shin, P. Wu, CH. Chen, Biochemical studies of the actions of ethanol on acetylcholinesterase activity: ethanol-enzyme-solvent interaction. *Int. J. Biochem.* 23 (1991) 169-74.
- [50] A. Kumar, T. Darreh-Shori, DMSO: A Mixed-Competitive Inhibitor of Human Acetylcholinesterase, *ACS Chem Neurosci.* 20 (2017) 2618-2625.
- [51] A. Grgičević, *Photochemical synthesis and functionalization of benzobicyclo[3.2.1]octadienes as potential cholinesterase inhibitors*, Doktorski rad, Zagreb (2020)

SAŽETAK

Novi triazolni derivati heterostilbena **1-12** sintetizirani su u svrhu proučavanja biološke aktivnosti s naglaskom na inhibiciju acetil- i butirilkolinesteraza (AChE i BChE), te antitumorsku aktivnost. Prvi korak u sintezi željenih spojeva je Wittigova reakcija, čime nastaju smjese *cis*- i *trans*-izomera spojeva **1-6**. Nakon izolacije i spektroskopske karakterizacije, spojevi **1-6** podvrgnuti su fotokemijskim ispitivanjima. Provedene su fotolize i reakcije elektrociklizacije, čime su dobiveni elektrociklizacijski produkti **7-12**. Reakcije elektrociklizacije provedene su u fotokemijskom reaktoru *Rayonet* s UV-lampama od 300 nm, s elementarnim jodom kao oksidacijskim sredstvom. Spektroskopska karakterizacija svih novih spojeva **1-12** provedena je pomoću 1D i 2D NMR tehnika, UV-Vis spektroskopijom i spektrometrijom masa. Računalnim modeliranjem istraživana je elektronska struktura dobivenih triazolnih derivata i njihova termodinamička stabilnost

Ključne riječi: biološka aktivnost, elektrociklizacija, inhibicija kolinesteraza, računalno modeliranje, triazoli, Wittigova reakcija

SUMMARY

Synthesis, photochemistry and computer research of electronic structure of new 1,2,3-triazole heterostilbene

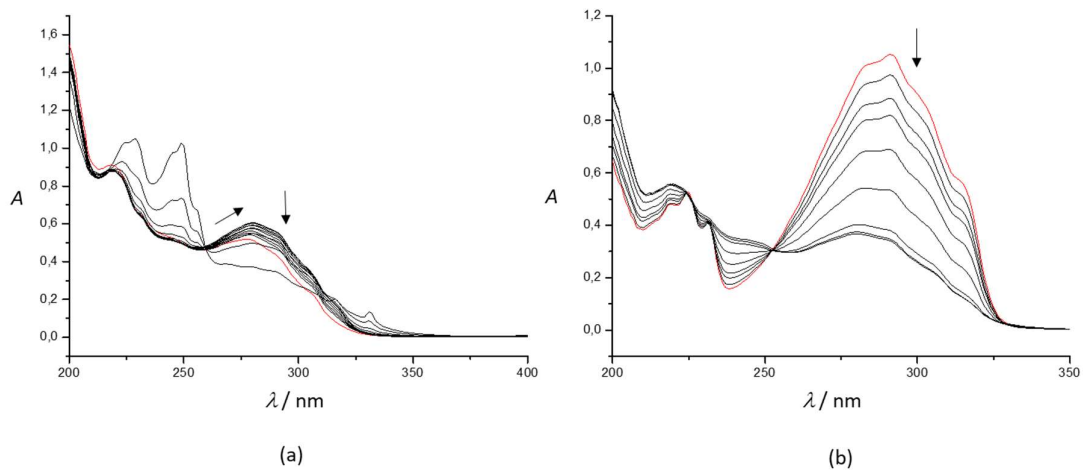
New triazole derivatives of heterostilbene **1-12** were synthesized for the purpose of studying their biological activity with emphasis on acetyl- and butyrylcholinesterase (AChE and BChE) inhibition and antitumor activity. The first step in the synthesis of the desired compounds is the Wittig reaction to form mixtures of the *cis*- and *trans*-isomers of compounds **1-6**. After isolation and spectroscopic characterization, compounds **1-6** were subjected to photochemical tests. Photolysis and electrocyclization reactions were performed to give electrocyclization products **7-12**. Electrocyclization reactions were performed in a *Rayonet* photochemical reactor with 300 nm UV lamps, with elemental iodine as the oxidizing agent. Spectroscopic characterization of all new compounds **1-12** was performed using 1D and 2D NMR techniques, UV-Vis spectroscopy and mass spectrometry. The electronic structure of the obtained triazole derivatives and their thermodynamic stability were investigated by computer modeling.

Key words: biological activity, cholinesterase inhibition, computer modeling, electrocyclization triazoles, Wittig reaction

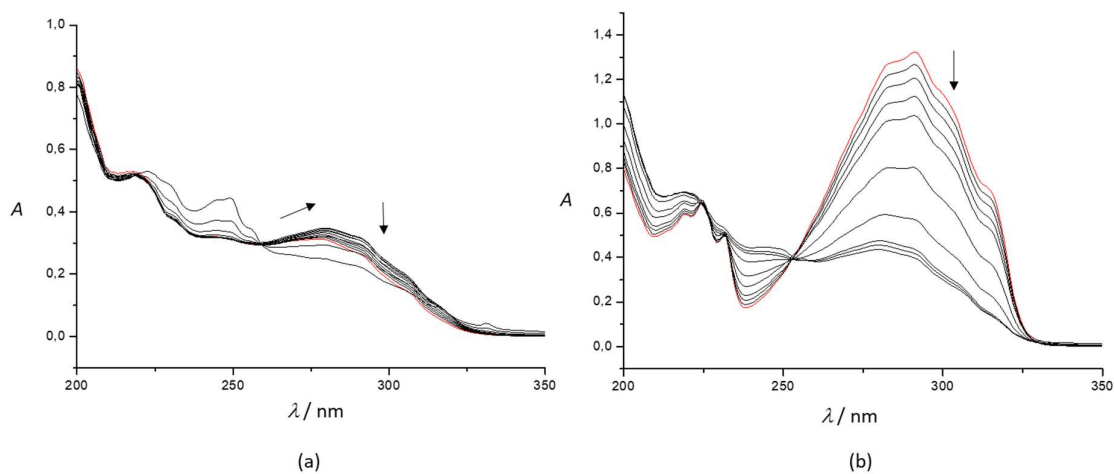
ŽIVOTOPIS

Ana Vukovinski rođena je 21. ožujka 1997. godine u Zagrebu. Srednjoškolsko obrazovanje je završila u Gimnaziji A. G. Matoš u Samoboru, nakon čega upisuje preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. U sklopu studija 2018. godine odrađuje studentsku praksu na Institutu Ruđer Bošković, na Zavodu za organsku kemiju i biokemiju. 2019. godine stječe akademski naziv prvostupnice primijenjene kemije (univ. bacc. appl. chem.), nakon obrane završnog rada pod mentorstvom prof. dr. sc. Irene Škorić. Iste godine upisuje diplomski studij primijenjena kemija, modul Primjenjena organska kemija na istom fakultetu te ostvaruje pravo na stipendiju grada Samobora, Zagrebačke županije i tvrtke PLIVA HRVATSKA d.o.o., na temelju kriterija izvrsnosti. Aktivna je članica Studentske sekcije Hrvatskog društva kemijskih inženjera i tehnologa, u sklopu koje je nagrađena Dekanovom i Rektorovom nagradom za društveno koristan rad u akademskoj i široj zajednici, za studentski projekt Boje inženjerstva. Na zadnjoj godini studija postaje urednica rubrike Znanstvenik u znanstveno-popularnom časopisu Reaktor ideja.

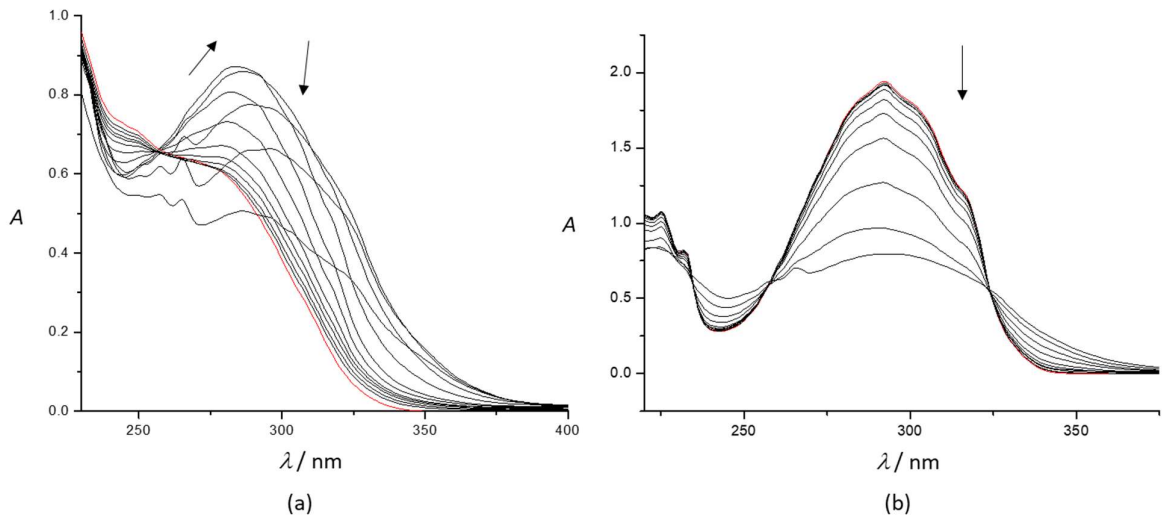
PRILOZI



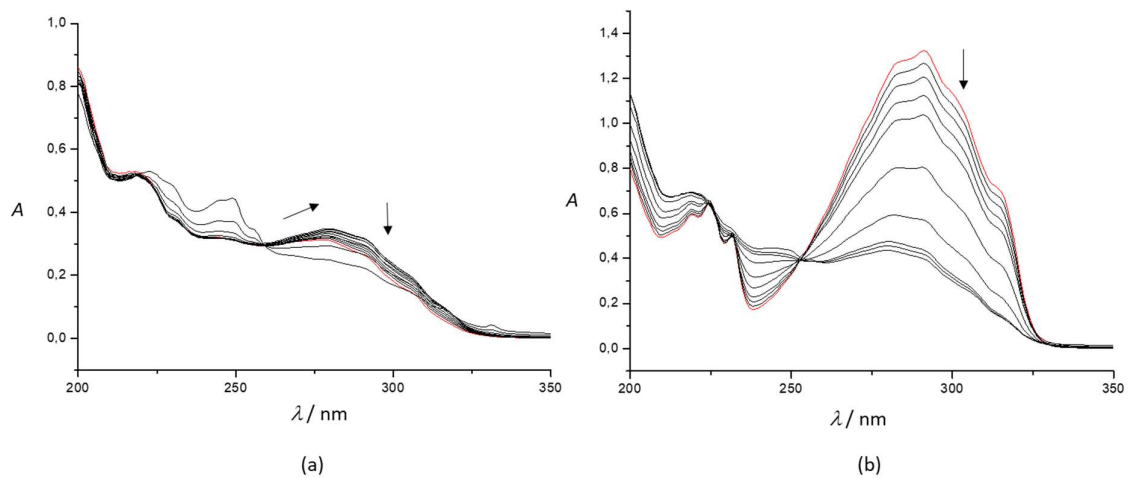
Prilog 1. Fotolize molekula **cis-1** (a) i **trans-1** (b) snimljene u n-heksanu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja uzorka.



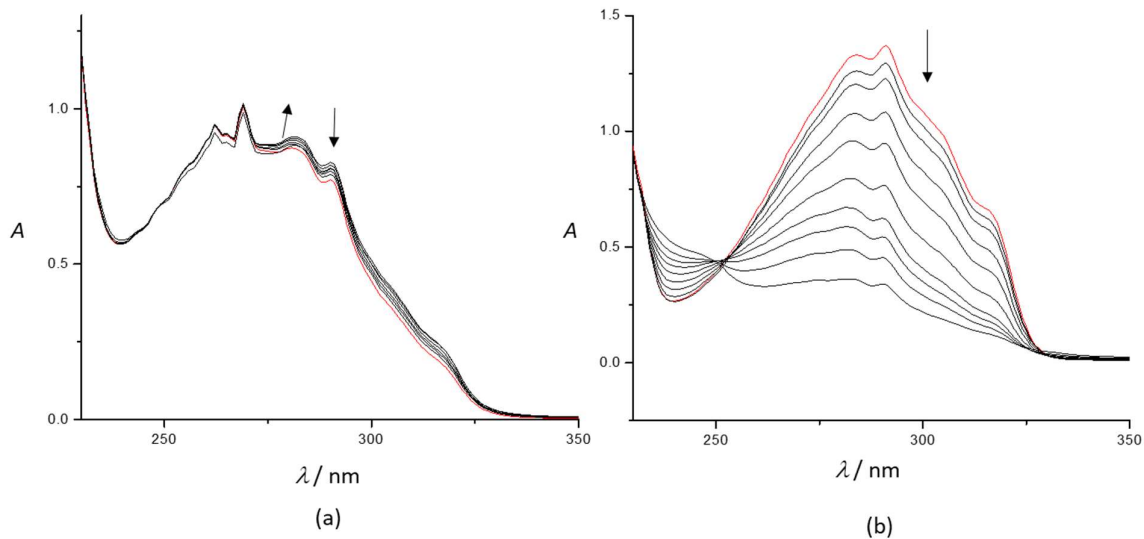
Prilog 2. Fotolize molekula **cis-2** (a) i **trans-2** (b) snimljene u etanolu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja uzorka.



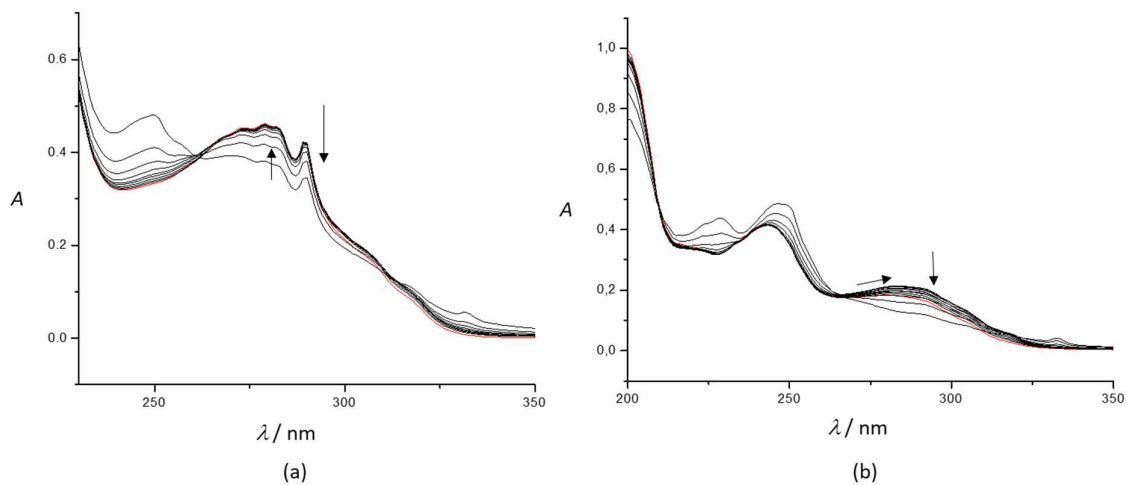
Prilog 3. Fotolize molekula **cis-2** (a) i **trans-2** (b) snimljene u *n*-heksanu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja uzorka.



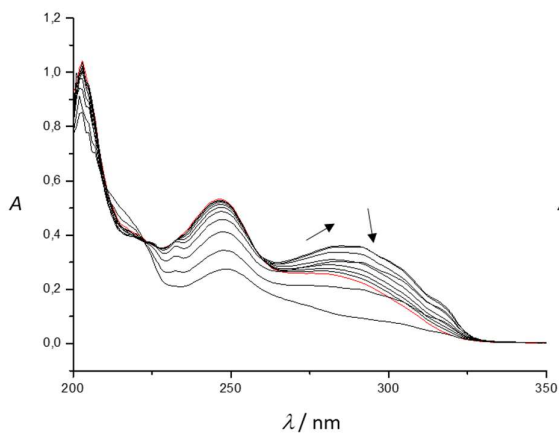
Prilog 4. Fotolize molekula **cis-3** (a) i **trans-3** (b) snimljene u *n*-heksanu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja uzorka.



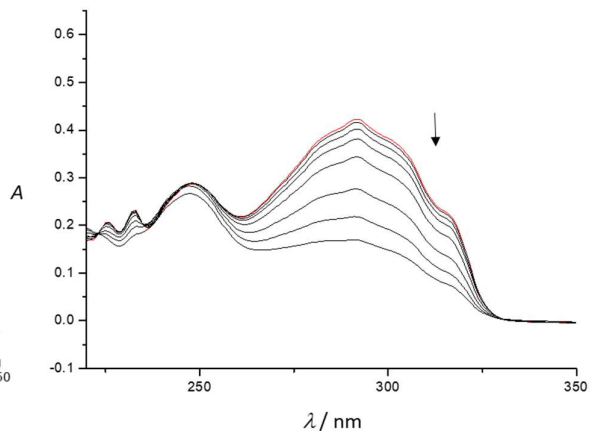
Prilog 5. Fotolize molekula *cis*-5 (a) i *trans*-5 (b) snimljene u etanolu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja uzorka.



Prilog 6. Fotolize molekula *cis*-5 (a) i *cis*-6 (b) snimljene u *n*-heksanu. Crvena linija prikazuje UV-spektar prije osvjetljavanja uzorka.

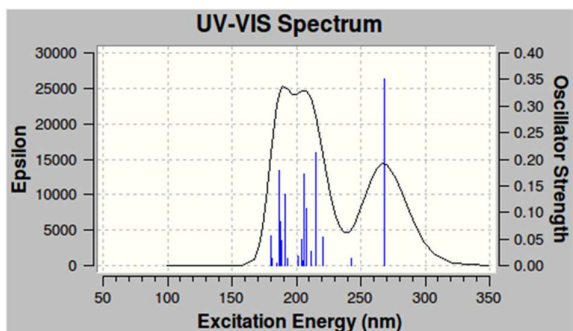


(a)

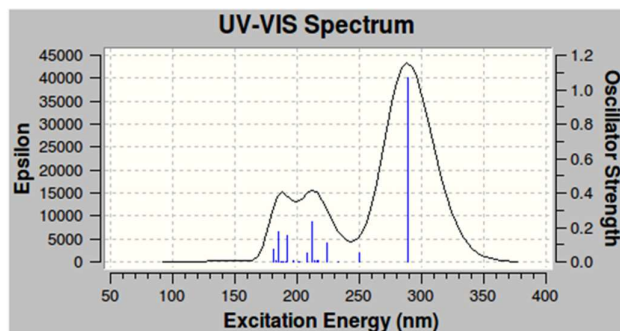


(b)

Prilog 7. Fotolize molekula *cis-6* (a) i *trans-6* (b) snimljene u etanolu. Crvena linija prikazuje UV-spekter prije osvjetljavanja uzorka.

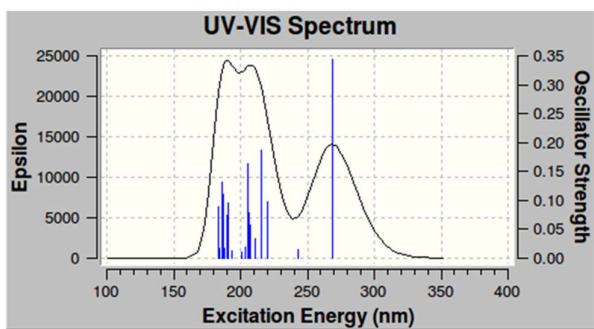


(a)

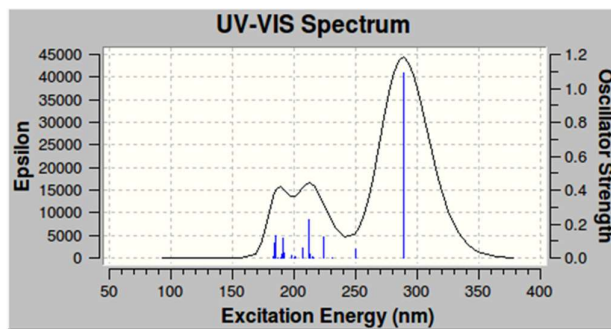


(b)

Prilog 8. Računski UV-Vis spektri za molekulu *cis-1* (a) i *trans-1* (b).

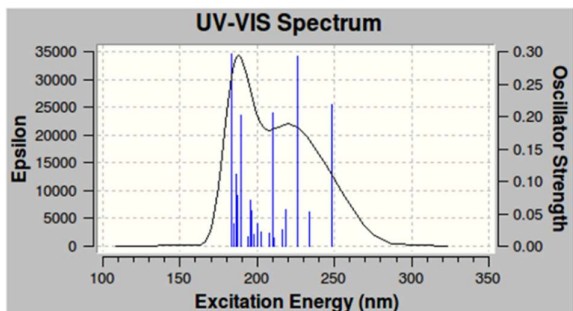


(a)

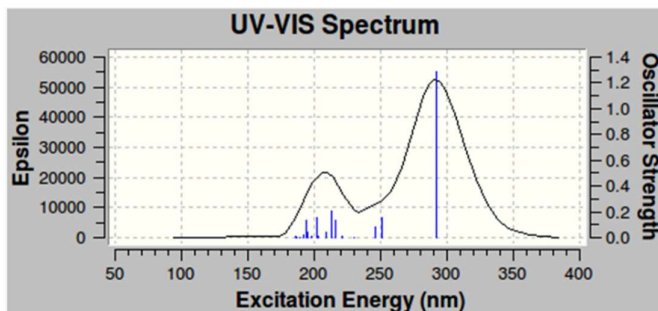


(b)

Prilog 9. Računski UV-Vis spektri za molekulu *cis-2* (a) i *trans-2* (b).

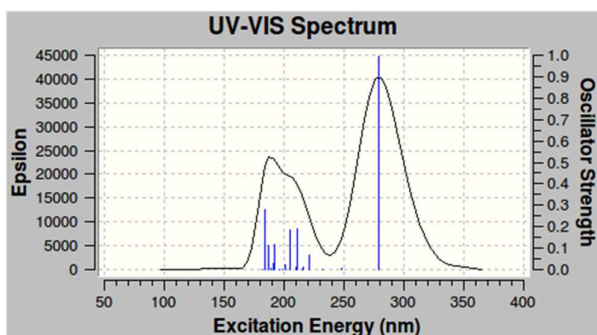


(a)

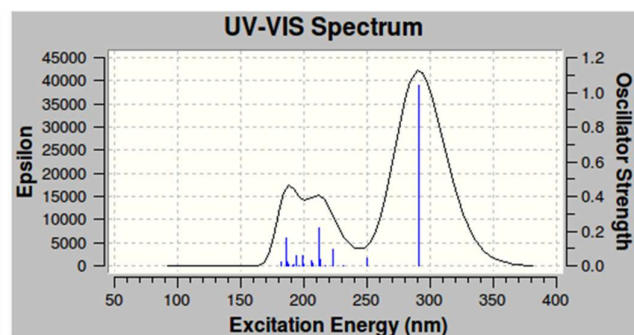


(b)

Prilog 10. Računski UV-Vis spektri za molekulu *cis-3* (a) i *trans-3* (b).

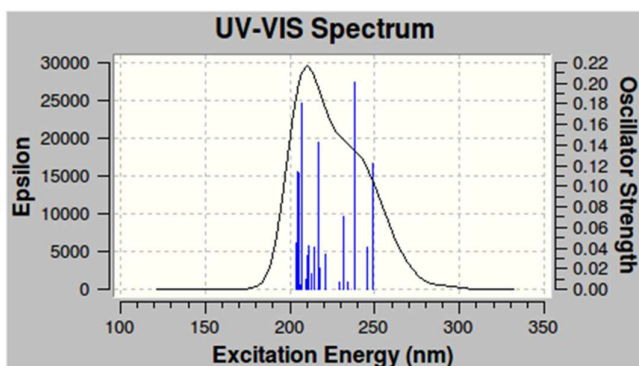


(a)

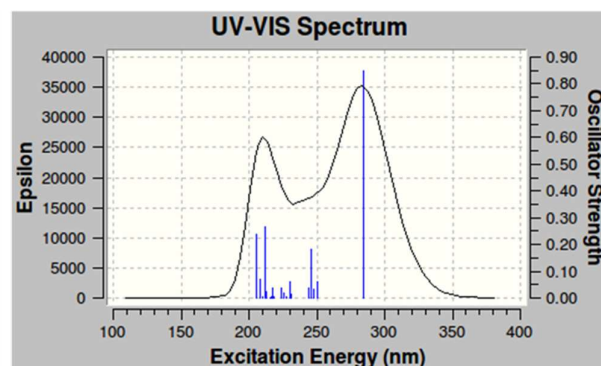


(b)

Prilog 11. Računski UV-Vis spektri za molekulu *cis-4* (a) i *trans-4* (b).

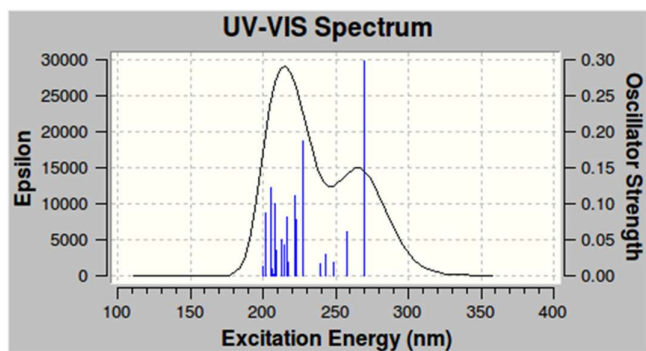


(a)

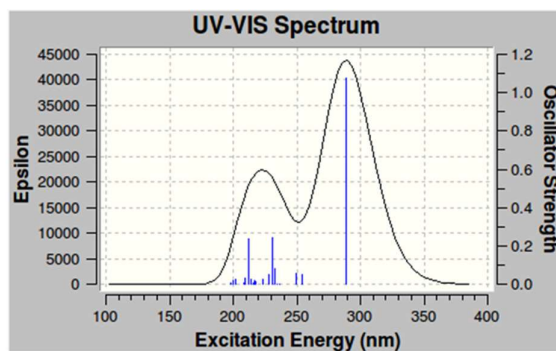


(b)

Prilog 12. Računski UV-Vis spektri za molekulu *cis-5* (a) i *trans-5* (b).



(a)

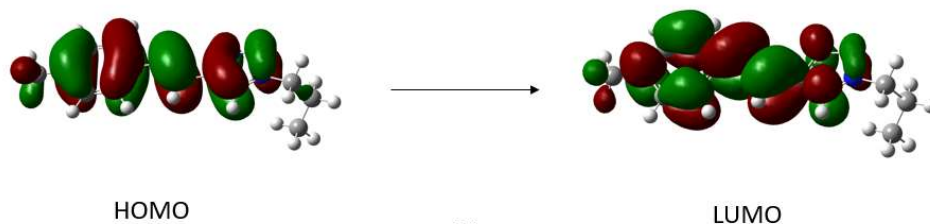


(b)

Prilog 13. Računski UV-Vis spektri za molekulu *cis-6* (a) i *trans-6* (b).

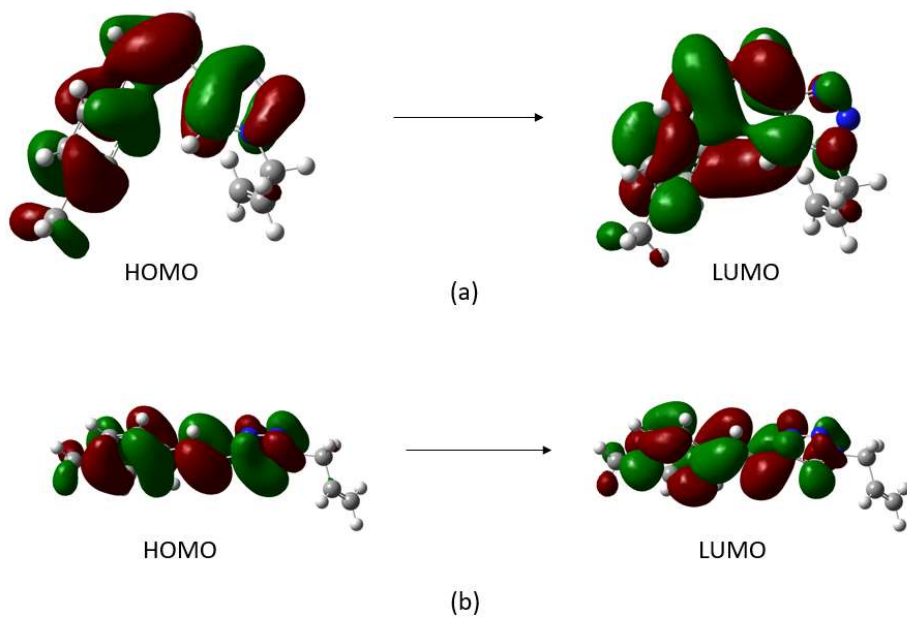


(a)

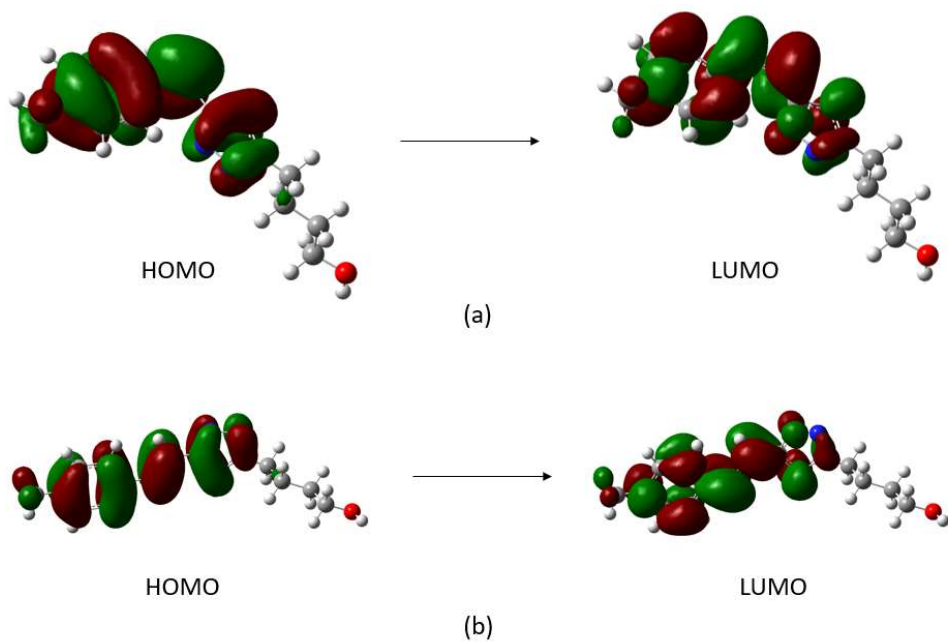


(b)

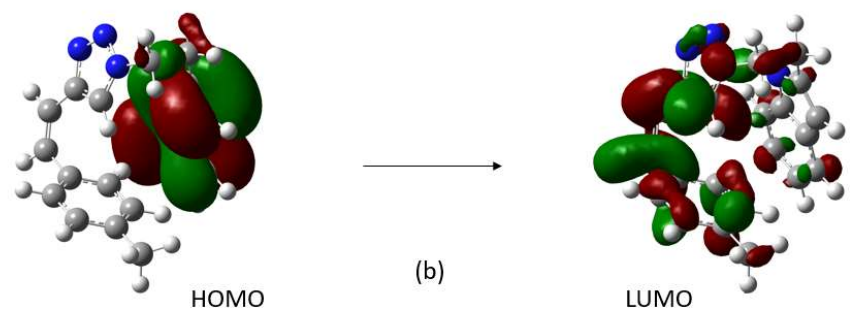
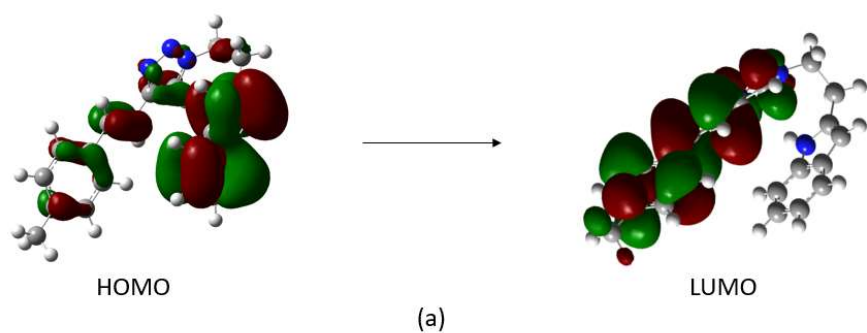
Prilog 14. Prikaz HOMO i LUMO orbitala za molekule *cis-1* (a) i *trans-1* (b).



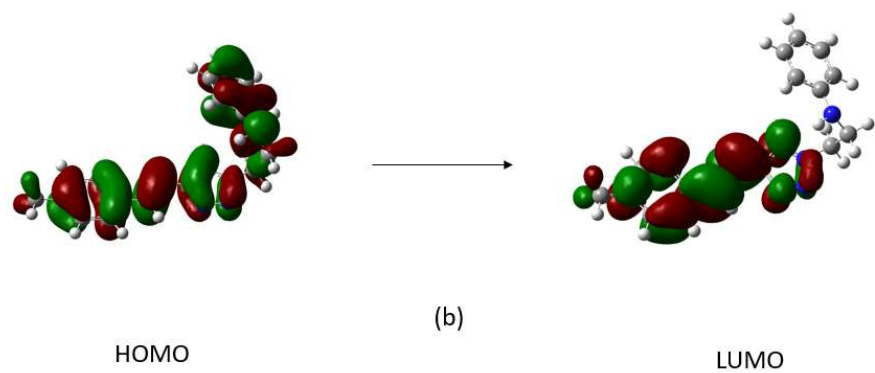
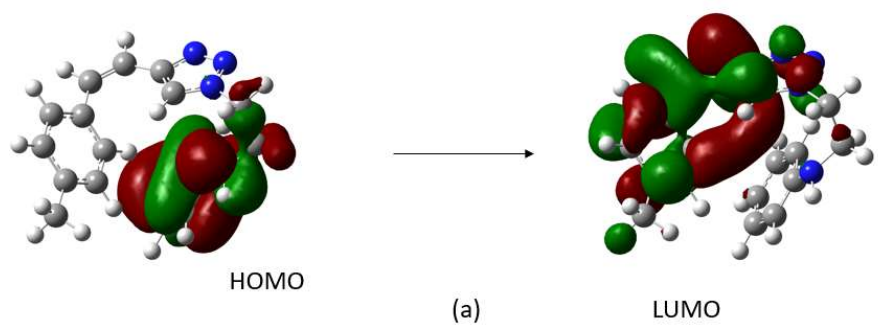
Prilog 15. Prikaz HOMO i LUMO orbitala za molekule *cis-2* (a) i *trans-2* (b).



Prilog 16. Prikaz HOMO i LUMO orbitala za molekule *cis-4* (a) i *trans-4* (b).



Prilog 17. Prikaz HOMO i LUMO orbitala za molekule *cis-5* (a) i *trans-5* (b).



Prilog 18. Prikaz HOMO i LUMO orbitala za molekule *cis-6* (a) i *trans-6* (b).