

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI DIPLOMSKI STUDIJ

Ivana Puček
Donata Jambriško

**Sinteza epoksidnih, hidroksilnih i acilnih derivata
benzobiciklo[3.2.1]oktadienskih fotoprodukata kao potencijalnih
inhibitora kolinesteraza**

Zagreb, kolovoz 2020.

„Ovaj rad izrađen je u Zavodu za organsku kemiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Irene Škorić i predan je na Natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2019./2020.“

POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU:

AB - Alzheimerova bolest

ACh – eng. Acetylcholine - acetilkolin

AChE – eng. Acetylcholinesterase - acetilkolinesteraza

acetyl-CoA – acetyl koenzim A

BChE – eng. Butyrylcholinesterase - butirilkolinesteraza

GABA – γ -aminobuterna kiselina

FDA – eng. The Food and Drug Administration agency - Agencija za hranu i lijekove

EMA – European Medicines Agency - Europska agencija za lijekove

Z- njem. zusammen - zajedno; s iste strane

E- njem. entgegen - nasuprot; sa suprotnih strana

m-CPBA – *meta*-klorperoksibenzojeva kiselina

DCM – diklormetan

S_N2 – nukleofilna supstitucija

THF – tetrahidrofur

NaOEt – natrijev etoksid

EtOH – etanol

PE – petroleter

TLC – tankoslojna kromatografija

NMR – eng. Nuclear Magnetic Resonance - nuklearna magnetska rezonancija

CDCl₃ – kloroform

TMS – tetrametilsilan

UV/VIS – ultraljubičasto/vidljivo

IR – infracrveno

GC-MS – vezni sustav plinska kromatografija - masena spektrometrija

HRMS – eng. High Resolution Mass Spectrometry - spektrometrija masa visokog razlučivanja

NOESY – eng. Nuclear Overhauser effect spectroscopy - spektroskopija koja koristi nuklearni Overhauserov efekt

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Alzheimerova bolest	2
2.2. Acetilolin kao neurotransmiter	3
2.3. Kolinesteraze	4
2.3.1. Acetilolinesteraza	5
2.3.2. Butirilolinesteraza	7
2.4. Inhibitori acetilolinesteraza	8
2.4.1. Reverzibilni inhibitori	8
2.4.2. Ireverzibilni inhibitori	12
2.5. Biciklo[3.2.1]-derivati kao potencijalni inhibitori kolinesteraza	14
3. REZULTATI I RASPRAVA	16
3.1. Uvod	16
3.2. Funkcionalizacija bicikličkog skeleta adicijom na slobodnu dvostruku vezu	17
3.2.1. Wittigova reakcija	17
3.2.2. Fotokemijska reakcija	18
3.2.3. Dobivanje epoksida, alkohola i etera	19
3.3. Funkcionalizacija bicikličkog skeleta s fuzioniranom furanskom jezgrom	25
3.3.1 Wittigova reakcija	25
3.3.2. Fotokemijska reakcija	26
3.3.3. Aciliranje	26
3.4. Spektroskopska karakterizacija dobivenih spojeva	31
3.4.1. Spektroskopska karakterizacija dobivenih spojeva <i>endo-1</i> , <i>endo-2</i> , <i>endo-11</i> , <i>endo-12</i> i <i>endo-15-24</i>	31
3.4.2. Spektroskopska karakterizacija dobivenih spojeva 8 i 26-34	37
3.5. Biološka aktivnost dobivenih spojeva	38
4. EKSPERIMENTALNI DIO	41
4.1. Opće napomene	41
4.2. Wittigova reakcija	42
4.3. Fotokemijska sinteza	42
4.4. Sinteza epoksidnih derivata	43
4.5. Otvaranje epoksidnog prsten	44
4.6. Sinteza etera iz alkohola	45
4.7. Friedel-Craftsovo aciliranje	49
5. ZAKLJUČAK	52
6. ZAHVALE	53
7. LITERATURA	54
SAŽETAK	58
SUMMARY	59
ŽIVOTOPIS	60

1. UVOD

Alzheimerova bolest (AB) predstavlja glavni uzrok demencije kod starijih osoba. Pojava simptoma ovog progresivnog neurodegenerativnog poremećaja dolazi zbog smanjenja sinaptičke dostupnosti acetilkolina. Sukladno tome, metoda liječenja Alzheimerove bolesti zasniva se na povećanju sinaptičke razine acetilkolina (ACh) u mozgu, što se može postići inhibicijom acetilkolinesteraze (AChE), enzima zaduženog za hidrolizu ACh.

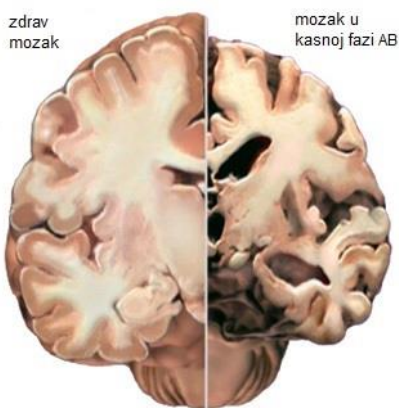
U okviru ovog rada sintetizirani su alkoholni, eterski, acilni i epoksidni derivati benzobiciklo[3.2.1]-skeleta čije su premoštene bicikličke strukture dobivene fotokemijskim putem. Novi spojevi testirani su kao inhibitori oba humana enzima, AChE i butirilkolinesteraze (BChE). Za identifikaciju i određivanje dobivenih struktura korištene su jednodimenzionalne ^1H i ^{13}C NMR metode te NOESY spektroskopska metoda.

Cilj ovog rada bila je funkcionalizacija primarno dobivenih fotoprodukata radi dobivanja novih epoksida, alkohola i etera, te acilnih derivata. Široki raspon dobivenih spojeva zajedničkog osnovnog skeleta daljnjim funkcionalizacijama i transformacijama može rezultirati inhibitorima kolinesteraza.

2. OPĆI DIO

2.1. Alzheimerova bolest

Alzheimerova bolest (AB) je najčešći uzrok demencije starijih osoba, koju karakterizira slabljenje kognitivnih i nekognitivnih funkcija. Kratkoročno i dugoročno pamćenje tada je oslabljeno, kao i govorne vještine, koncentracija, te pažnja. Posljedica toga je onemogućeno učenje i zadržavanje novih vještina, kao i postepeni gubitak postojećih. Problemi koji se također mogu javiti su depresija, uznemirenost, promjena ličnosti, zablude i halucinacije. Slabljenje kognitivnih funkcija i promjene u ponašanju narušavaju kvalitetu života pacijenta i njegovatelja.¹ U dijelovima mozga koji su zaslužni za navedene radnje i procese, nastupom bolesti dolazi do smanjenja razine acetilkolina (ACh) i gubitka kolinergičkog sustava.²



Slika 2.1. Učinak Alzheimerove bolesti na mozak.³

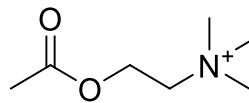
Neuropatološki, Alzheimerovu bolest karakterizira prisutnost beta-amiloida ($A\beta$), neurofibrilnih čvorova i degeneracije, odnosno atrofije bazalnih dijelova kolinergičkih neurona (slika 2.1.).⁴ Gubitak bazalnih kolinergičkih stanica rezultira smanjenjem sinaptičke dostupnosti acetilkolina što dovodi do kognitivnog poremećaja.⁵ Prema tome, metoda liječenja Alzheimerove bolesti zasniva se na povećanju sinaptičke razine ACh u mozgu, što se postiže inhibiranjem acetilkolinesteraze (AChE), enzima zaduženog za hidrolizu ACh.²

Nakupljanje $A\beta$ u različitim dijelovima mozga pokazatelj je Alzheimerove bolesti. Tim nakupljanjem pokreće se kaskada biokemijskih procesa koji uključuju pojavu slobodnih radikala, upalnih procesa, disregulacije kalcija i oštećenja membrana neuronskih stanica, te dovodi do disfunkcije neurona.⁶ Različiti terapijski postupci za upravljanje Alzheimerovom bolesti bili su usmjereni na smanjenje proizvodnje ili agregacije $A\beta$ ili pak na njihovo

uklanjanje. Istraživanja su pokazala da je AChE također odgovorna za nekoliko ne-katalitičkih procesa, uključujući proagregiranje aktivnosti $A\beta$.⁷

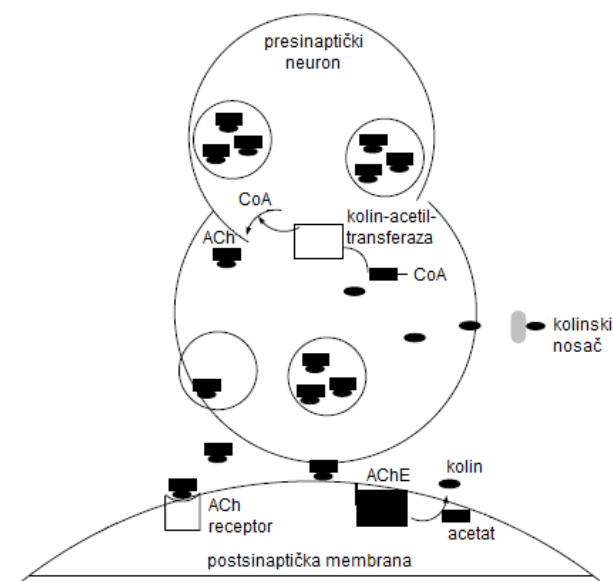
2.2. Acetilholin kao neurotransmiter

Acetilholin je prvi otkriveni neurotransmiter u svim autonomnim ganglijima, u mnogim autonomno inerviranim organima, na neuromuskularnom spoju i na mnogim sinapsama u središnjem živčanom sustavu.



Slika 2.2. Struktura acetilkolina.

U autonomnom živčanom sustavu, ACh je neurotransmiter u preganglionskim simpatičkim i parasimpatičkim neuronima, kao i kod nadbubrežne žlijezde i u svim parasimpatičkim inerviranim organima. Također, nalazi se kao neurotransmiter i u znojnim žlijezdama i piloerektornom mišiću simpatičkog autonomnog živčanog sustava. U perifernom živčanom sustavu, ACh se nalazi na neuromuskularnom spoju između motornog živca i skeletnog mišića. U središnjem živčanom sustavu, ACh se prvenstveno nalazi u interneuronima, a identificirani su i neki važni kolinergički putevi na dugim završecima živaca. Degeneracija ovih procesa je jedna od patologija povezanih s Alzheimerovom bolesti.^{8,9}



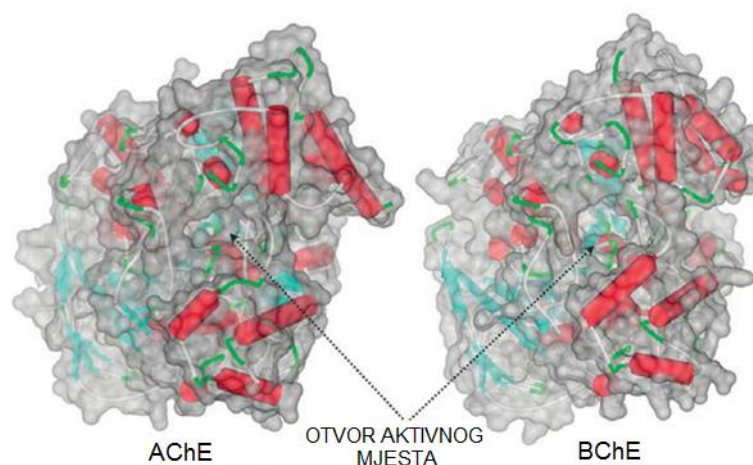
Slika 2.3. Put ACh tijekom neurotransmisije.¹⁰

Tijekom neurotransmisije (slika 2.3.), odnosno prijenosa živčanog impulsa, ACh se oslobađa iz sinaptičkog mjehurića pre-sinaptičke membrane u sinaptičku pukotinu. Tamo se veže na receptore ACh smještene na post-sinaptičkoj membrani, koji mogu biti nikotinski ili muskarinski.^{11,12} Vežanje ACh pokreće niz procesa koji rezultiraju depolarizacijom membrane i daljnjim prijenosom signala, odnosno živčanog impulsa. Na post-sinaptičkoj membrani smještena je AChE, koja hidrolizira ACh. Djelovanjem AChE ponovno se uspostavlja polarizacija post-sinaptičke membrane, a prijenos impulsa je zaustavljen.¹³ Oslobođeni kolin iz ACh ponovno ulazi u pre-sinaptički živac te se neurotransmiter nanovo sintetizira reakcijom kolina i acetil-CoA djelovanjem kolin-acetiltransferaze.^{11,12}

2.3. Kolinesteraze

Kolinesteraze pripadaju skupini enzima koji kataliziraju hidrolizu neurotransmitera ACh u kolin i octenu kiselinu. Hidrolizom ACh ostvaruje se vraćanje kolinergičnog neurona u stanje mirovanja, nakon njegove aktivacije.¹⁰

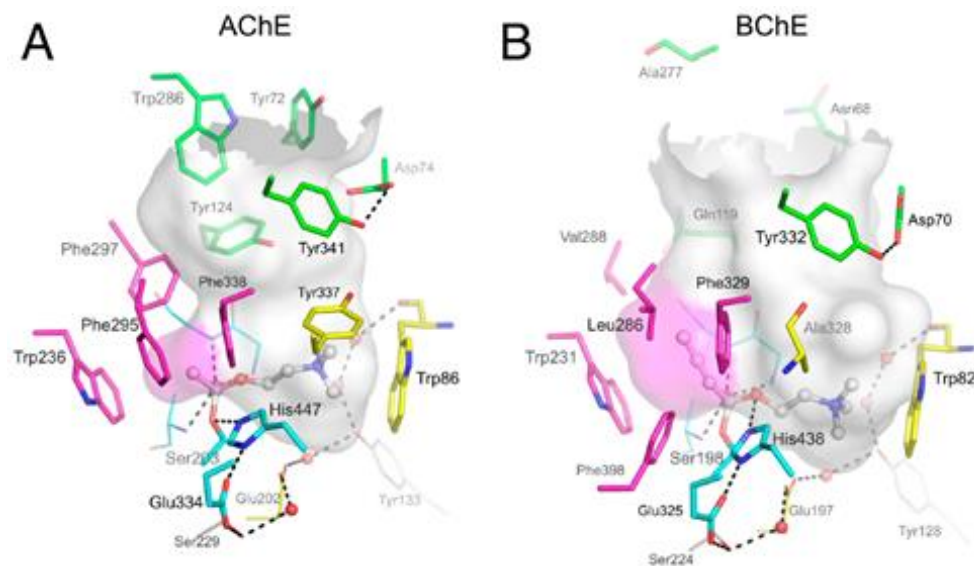
Istraživanjima tijekom prošlog stoljeća koja su pokazala da se u prisutnosti krvi i tkiva koncentracija ACh snižava, pokrenuto je proučavanje uloge kolinesteraza. Već početkom 30-ih godina prošlog stoljeća ta se pojava pripisala djelovanju enzima koji hidrolizira ACh i koji je nazvan kolin-esteraza odnosno kolinesteraza.¹⁴



Slika 2.4. Kristalna struktura ljudske acetil- (AChE) i butirilkolinesteraze (BChE). α -uzvojnice označene su crvenom, β -nabrane ploče plavom, a petlje zelenom bojom. Siva boja predstavlja površinu enzima koja je dostupna vodi.¹³

Daljnijim istraživanjima utvrđeno je da, s obzirom na metu djelovanja, postoje dvije vrste kolinesteraza: prava ili specifična i pseudo ili nespecifična kolinesteraza. Na sastanku Biokemijskog društva Velike Britanije, održanom 1948. godine, kolinesteraze su dobile imena koja su i danas u upotrebi. Tako je prava kolinesteraza nazvana acetilkolinesterazom (AChE), dok je pseudokolinesteraza nazvana butirilkolinesterazom (BChE).¹³ Prema enzimskoj nomenklaturi iz 1961. godine kolinesteraze se ubrajaju u skupinu hidrolaza, podskupinu esteraza i potpodskupinu hidrolaza estera karboksilnih kiselina, te su im dodijeljene klasifikacijske oznake: E.C. 3.1.1.7 za acetilkolinesterazu i E.C. 3.1.1.8 za butirilkolinesterazu.¹⁵

Na slici 2.5. prikazana su ždrijela aktivnih mjesta ljudske acetilkolinesteraze i butirilkolinesteraze, te su označena područja ključna za mehanizam njihova djelovanja.

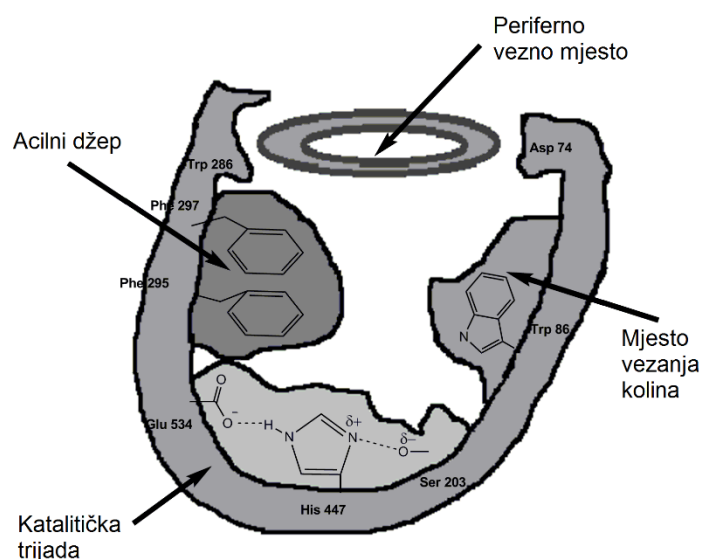


Slika 2.5. Ždrijelo aktivnog mjesta ljudske acetilkolinesteraze (A; pdb 4ey4) i ljudske butirilkolinesteraze (B; pdb 1p0i). Glavne ostaci katalitičkog mjesta predstavljaju: acilni džep (ružičasto), katalitička trijada (plavi štapići), oksianionska šupljina (plave linije) i vezno mjesto kolina (žuto). Periferno mjesto nalazi se na rubu ždrijela, označeno zelenom bojom. Molekula acetilkolina ili butirilkolina predstavljena je kuglom, odnosno štapom. Očuvane molekule vode prikazane su crvenim sferama, a mreža vodikovih veza katalitičkog mjesta isprekidanim linijama.¹⁶

2.3.1. Acetilkolinesteraza

AChE eliptičnog je oblika s dimenzijama $\sim 45 \times 60 \times 65$ Å. Monomer enzima sastoji se od 12 β -nabranih ploča okruženih sa 14 α -uzvojnica. Posebnu značajku strukturi daje ždrijelo duboko oko 20 Å, koje prodire u unutrašnjost enzima, te se širi.¹⁷ Aktivno mjesto enzima (slika 2.6.)

smješteno je na udaljenosti 4 Å od dna molekule, a sastoji se od anionske i esterske podjedinice.¹⁸

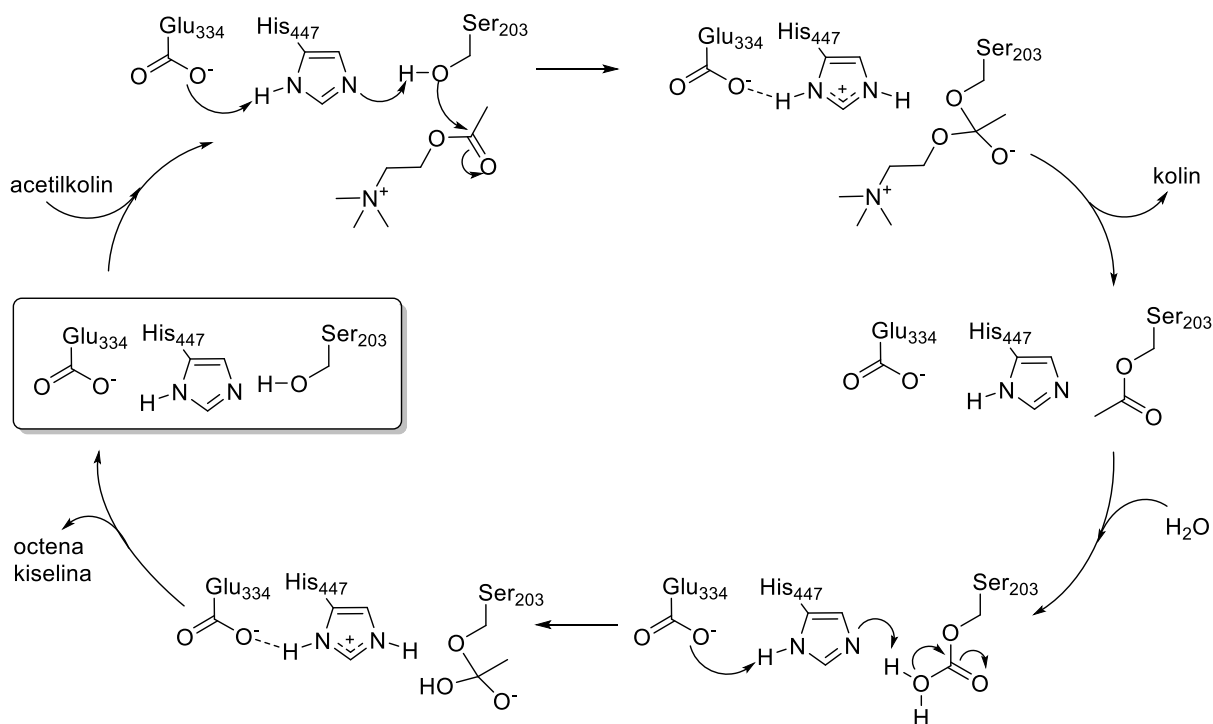


Slika 2.6. Shematski prikaz aktivnog mjesta AChE.⁹

Anionska podjedinica, bez naboja i lipofilnog karaktera, veže pozitivni kvaterni dušikov atom ACh, kao i oba kvaterna liganda (edrofonij, *N*-metilakridinium) koji djeluju kao kompetitivni inhibitori,^{19,20} te kvaterne oksime koji učinkovito reaktiviraju AChE inhibiranu organofosfatima.²¹ Kationski supstrati nisu vezani za aktivno mjesto negativno nabijenom aminokiselinom na anionskom mjestu, već stvaraju interakcije sa 14 aromatskih ostataka koji su postavljeni duž ždrijela, koje vodi do aktivnog mjesta.²² Triptofan 84 je ključna aromatska aminokiselina, čija supstitucija alaninom uzrokuje smanjenje enzimske aktivnosti za 3000 puta.²³

Esterska podjedinica, na kojoj se ACh hidrolizira do acetata i kolina, sadrži, slično kao i katalitičke podjedinice drugih serinskih hidrolaza, katalitičku trijadu aminokiselina: serin 200, histidin 440 i glutamat 327.

Osim spomenutih dviju podskupina u veznom mjestu, AChE sadrži jednu ili više perifernih anionskih podjedinica koje su različito udaljene od džepa aktivnog mjesta, na kojem dolazi do vezanja kolina. On služi za vezanje ACh i drugih kvaternih liganada koji djeluju kao nekompetitivni inhibitori.²⁴



Shema 2.1. Mehanizam hidrolize ACh katalizirane AChE.¹³

Mehanizam hidrolize odvija se u tri koraka (shema 2.1.). U prvom koraku acilna skupina ACh se veže na aminokiselinski ostatak serina čime se formira intermedijer. Zatim dolazi do oslobađanja kolina, dok acilna skupina zaostaje na serinu. Acilirani enzim podliježe nukleofilnom napadu vode, odnosno deaciliranju, koje je potpomognuto histidinom. U završnom koraku dolazi do oslobađanja octene kiseline i regeneracije enzima.^{10, 13}

Ljudska AChE ima konstantu brzine hidrolize ACh, k_{cat} , približno 400.000 min^{-1} , a ograničena je brzinom difuzije AChE u aktivno mjesto enzima.²⁵ AChE se sintetizira u koštanoj srži, mozgu i mišićima, a osim u živčanim stanicama, mišićima i mozgu AChE se nalazi i u krvi gdje je vezana na eritrocite.¹³

2.3.2. Butirilkolinesteraza

BChE poznata je i kao plazma kolinesteraza, a prvenstveno se nalazi u jetri, te naspram AChE brže hidrolizira butirilkolin.²⁶ Prisutna je u znatno nižim koncentracijama od AChE te se obično smatra da ima ograničenu neuronsku distribuciju u centralnom živčanom sustavu.²⁷

BChE je strukturno homologna AChE, no razlikuje se prema katalitičkoj aktivnosti, specifičnosti vezanja supstrata, liganada i inhibitora.¹³ U odnosu na AChE, specifičnijom je

hidrolizu acetilkolina, BChE hidrolizira puno širi spektar estera (propionil(tio)kolin, benzoil(tio)kolin i dr.) uključujući i voluminozne neutralne estere (heroin, kokain, prokain i dr.), pa čak i neke negativno nabijene estere (aspirin), i to brzinama bliskima brzini hidrolize butirilkolina.²⁸ Također, povezana je s AChE na način da BChE služi kao ko-regulator kolinergičke neurotransmisije hidrolizom ACh.^{27, 29}

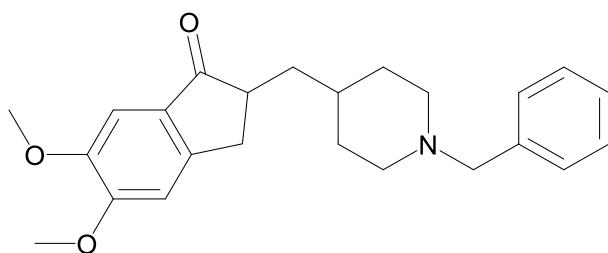
2.4. Inhibitori acetilkolinesteraza

Glavna meta djelovanja u strategiji liječenja Alzheimerove bolesti je inhibicija AChE u mozgu. Takvi lijekovi svojim djelovanjem održavaju razinu ACh, smanjenjem brzine njenog raspada. Shodno tome, oni potiču kolinergičku neurotransmisiju u predjelima mozga te kompenziraju gubitak funkcionalnih stanica mozga. Međutim, nijedan lijek nema naznaku za odgađanje ili zaustavljanje napredovanja ove bolesti.³⁰

2.4.1. Reverzibilni inhibitori

Lijekovi koji su trenutno odobreni od regulatornih agencija, kao što je Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *U.S. Food and Drug Administration*, FDA) i Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*, EMA), za liječenje kognitivnih manifestacija Alzheimerove bolesti i poboljšavaju kvalitetu života pacijenata su: donepezil (**1**), rivastigmin (**2**) i galantamin (**3**) kao reverzibilni inhibitori AChE. Takrin (**4**) je bio prvi odobreni inhibitor AChE za liječenje Alzheimerove bolesti 1993. godine, ali je njegova upotreba napuštena zbog pojave mnogih neželjenih nuspojava, uključujući hepatotoksičnost.³¹

Donepezil (**1**) je selektivni, reverzibilni inhibitor AChE koji se veže na periferno anionsko mjesto djelujući, ne samo na smanjivanje simptoma Alzheimerove bolesti, već i na uzročnike, usporavajući taloženje $A\beta$. Lijek proizvode farmaceutske tvrtke Eisai i Pfizer pod trgovačkim imenom Aricept. Iako je njegova glavna terapijska primjena u liječenju blage do umjerene Alzheimerove bolesti, neke kliničke studije navode da donepezil poboljšava kognitivne funkcije i kod pacijenata s teškim simptomima bolesti.³²



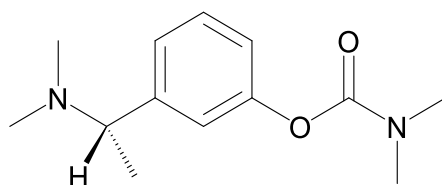
1

Slika 2.7. Struktura donepezila.

Dostupan je u obliku tableta i oralnih otopina, 100%-tne oralne bioraspodivnosti s lakoćom prelaska krvno-moždane barijere i sporim izlućivanjem. Budući da je njegovo vrijeme poluzivota oko 70 sati, može se uzimati jednom dnevno. Lijećenje se obićno zapoćinje s dozom od 5 mg dnevno, koja se nakon nekoliko tjedana povećava na 10 mg dnevno. Pacijenti koji su primali veću dozu pokazali su blago poboljšanje kognitivnih funkcija, ali bez poboljšanja u cjelokupnom funkcioniranju. S druge strane, veća doza lijeka inducirala je povećanu učestalost kolinergićnih nuspojava kod pacijenata, ćime je ogranićena njegova šira upotreba.³³ Uobićajeni štetni učinci donepezila ukljućuju gastrointestinalne anomalije kao što su: mućnina, proljev, anoreksija i bol u trbuhu, te povećanje srćanog vagusnog tonusa što uzrokuje bradikardiju.³⁴

Uz to, nedavna istraživivanja predlažu korištenje donepezila za poboljšanje govora kod djece oboljele od autizma, dok je njegovo korištenje predloćeno, ali trenutno nije odobreno kod drugih kognitivnih poremećaja kao što su demencija Lewyjeva tjelešaca, shizofrenija i vaskularna demencija.³⁵⁻³⁷

Rivastigmin (2) je moćan, sporo reverzibilni karbamatni inhibitor koji blokira aktivnost kolinesteraze vezanjem na estersku podjedinicu aktivnog mjesta. On, za razliku od donepezila, osim AChE inhibira i BChE. Prodaje se pod trgovaćkim nazivom Exelon. Odobrenje za korištenje u lijećenju blage do umjerene Alzheimerove bolesti, dobio je u 60 drćava, ukljućujući drćave ćlanice EU i SAD.³⁸

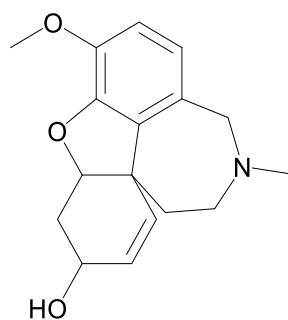


2

Slika 2.8. Struktura rivastigmina.

Lijek se koristi oralno, u obliku kapsula ili kao tekuća formulacija, te ima dobru apsorpciju i bioraspoloživost od oko 40% u dozi od 3 mg. Liječenje započinje dozom od 1,5 mg dva puta dnevno, a povećava se svaka 2 do 4 tjedna za 3 mg dnevno, do dnevne doze od 6 mg. Rano i kontinuirano liječenje Alzheimerove bolesti rivastigminom maksimizira pozitivne učinke na brzinu smanjenja kognitivnih funkcija i na aktivnosti svakodnevnog života. Nuspojave uključuju mučninu, povraćanje, proljev, anoreksiju, glavobolju, sinkopu, bolove u truhu i vrtoglavicu.³⁹ One se mogu umanjiti korištenjem transdermalnog flastera za dostavu rivastigmina.⁴⁰

Galantamin (**3**) je alkaloid koji se koristi za liječenje blage do umjerene Alzheimerove bolesti, a izoliran je iz biljke *Galanthus woronowii*. Prodaje se pod trgovačkim nazivima Razadyne i Nivalin. Predstavlja selektivni, kompetitivni, brzo reverzibilni inhibitor AChE, koji stupa u interakciju s anionskom podjedinicom, kao i s aromatskim ždrijelom.⁴¹ Povrh toga, ima alosteričko djelovanje na nikotinske receptore, interakcijom na veznim mjestima koja su drugačija od onih za ACh i nikotinske agoniste, čime pojačava aktivnost nikotinskih receptora u prisutnosti ACh.^{42,43} Kako uznapredovanje Alzheimerove bolesti korelira s gubitkom nikotinskih receptora, ovaj učinak galantamina pospješuje liječenje.⁴⁴



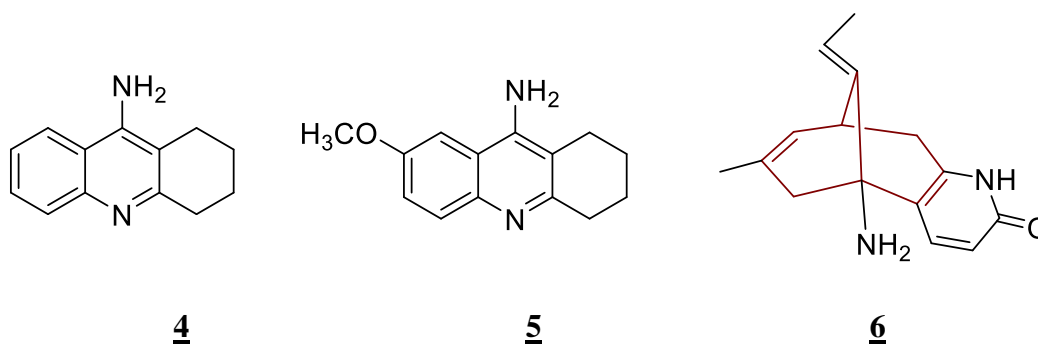
3

Slika 2.9. Struktura galantamina.

Apsorpcija galantamina je brza i potpuna s apsolutnom oralnom bioraspoloživošću između 80 i 100%, te s vremenom poluživota od 7 sati. Liječenje obično započinje s 4 mg dva puta dnevno, a postupno se doza može povećavati na do 12 mg dva puta dnevno.³⁴ Nuspojave su uglavnom gastrointestinalne prirode, slične nuspojavama drugih inhibitora AChE. U odnosu na druge lijekove protiv Alzheimerove bolesti, zabilježena je smanjena tolerancija na galantamin, iako se pažljivim i postupnim korištenjem može ostvariti dugoročna podnošljivost.³⁰

Zbog svoje interakcije s nikotinskim receptorima djeluje, ne samo na kolinergički prijenos, već i na druge mehanizme i neurotransmitske sustave kao što su monoamini, glutamati i γ -aminobuternu kiselinu (GABA). Ovi učinci mogu rezultirati mnogim poboljšanjima, kako kognitivnih disfunkcija, tako i psihičkih bolesti kao što su: shizofrenija, depresija, bipolarni poremećaj i alkoholizam.⁴⁵

Uspoređujući kliničke učinke donepezila (**1**), rivastigmina (**2**) i galantamina (**3**), nema dokaza da je jedan on njih učinkovitiji od drugih. No, utvrđeno je da se donepezil bolje podnosi i izaziva manje gastrointestinalnih nuspojava. Uz opisane lijekove, odobrene od strane FDA i EMA za simptomatsku terapiju Alzheimerove bolesti, sintetizirani su i testirani i novi AChE inhibitori: 7-metoksitakrin (**5**) i huperzin A (**6**), prikazanih struktura (slika 2.10.).



Slika 2.10. Strukture spojeva **4** – **6**.

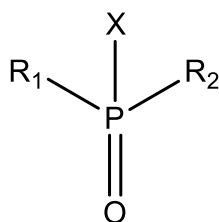
Prema tome, derivat hepatotoksičnog takrina (**4**), 7-metoksitakrin (**5**) predstavlja snažni inhibitor anionske podjedinice aktivnog mjesta AChE, te je proučavan kao prikladna zamjena. *In vitro* i *in vivo* ispitivanja pokazala su manji toksični učinak i jaču inaktivacijsku moć, u odnosu na takrin.⁴⁶ Nadalje, prirodni alkaloid huperzin A (**6**) potječe iz ječma *Huperzia serrata*, te je moguća i njegova sinteza. Huperzin A ima karakterističnu strukturu biciklo[3.3.1]-diena (slika 2.10.). Kao inhibitor AChE veže se na periferno anionsko mjesto djelujući na smanjivanje simptoma, ali i na uzročnike Alzheimerove bolesti.⁴⁷ U usporedbi s drugim inhibitorima AChE, huperzin A (**6**) je pokazao bolju penetraciju kroz krvno-moždanu barijeru, veću oralnu

bioraspoloživost i dužu inhibiciju AChE, te veću učinkovitost od takrina (**4**), galantamina (**3**) i rivastigmina (**2**).⁴⁸ Također, smatra se da su tzv. protoberberinski alkaloidi (berberin, palmatin, jatrorizin, epiberberin) kao inhibitori AChE, obećavajuća terapijska sredstva za liječenje Alzheimerove bolesti.⁴⁹

Nedostatak u liječenju Alzheimerove bolesti je činjenica da ovi lijekovi poboljšavaju stanje pacijenta najviše 12-24 mjeseca, te dugoročno ne smanjuju brzinu pada kognitivnih funkcija.⁵⁰ Unatoč tome, reverzibilni inhibitori AChE pružaju značajna simptomatska poboljšanja i na taj način predstavljaju osnovu farmakoterapijskog liječenja Alzheimerove bolesti, a njihova primjena je potkrijepljena dokazima.⁵¹

2.4.2. Ireverzibilni inhibitori

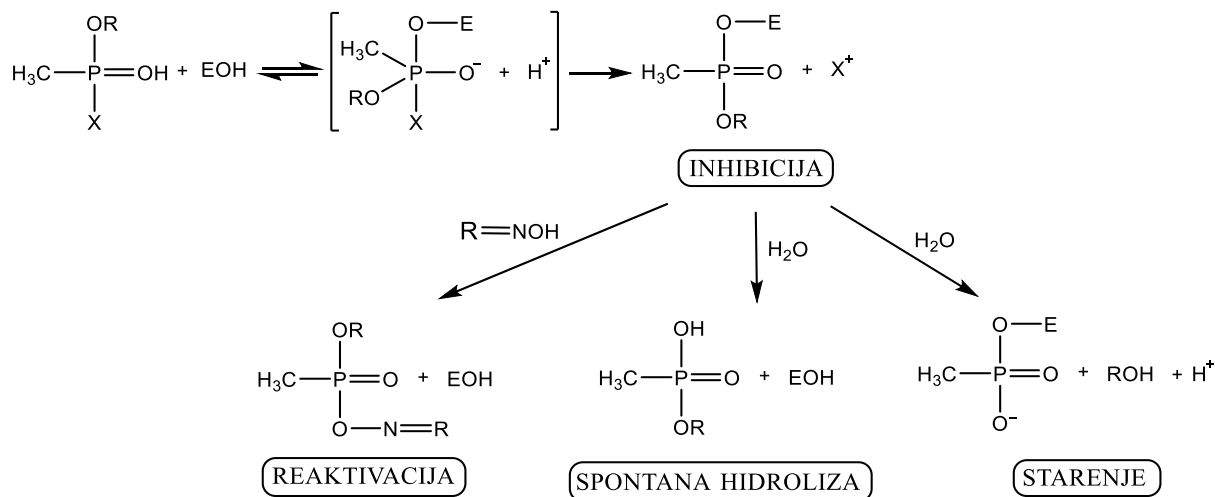
Ireverzibilni inhibitori AChE pripadaju skupini organofosfatnih spojeva (OP), a to su najčešće esteri ili tioli izvedeni iz fosforne, fosfonske, fosfinske ili fosforamidne kiseline (slika 2.11.).



Slika 2.11. Opći prikaz OP spojeva.

Supstituentu R_1 i R_2 predstavljaju arilnu ili alkilnu skupinu, koja je vezana za atom fosfora izravno (tvoreći fosfinate) ili preko atoma kisika ili sumpora (tvoreći fosfate ili fosfotionate). U nekim slučajevima skupina R_1 izravno je vezana na atom fosfora, a skupina R_2 preko kisika ili sumpora (tvoreći fosfonate ili tiofosfonate). Kod fosforamida, najmanje je jedna skupina amino-skupina (NH_2), te je atom preko dvostruke veze povezan s fosforom kisikom ili sumporom. Funkcionalna skupina $-X$ koja je također vezana za atom fosfora preko kisika ili sumpora, može pripadati širokom rasponu halogenih, alifatskih, aromatskih ili heterocikličkih skupina. Izlazna skupina se oslobađa iz molekule kada organofosfate hidroliziraju fosfodiesteraze ili nakon njihove interakcije s ciljanim proteinima. U medicini i poljoprivredi, riječ organofosfati odnosi se na skupinu insekticida i živčanih agenasa koji inhibiraju AChE.^{52,53}

Glavne toksikološke učinke organofosfati iskazuju putem ireverzibilne fosforilacije esteraza u središnjem živčanom sustavu.⁵⁴ Akutni toksični učinci povezani su s nepovratnom inaktivacijom AChE.⁵⁵ Organofosfati su zapravo supstrati analogni ACh, koji ulaze u aktivno mjesto AChE, te se kovalentno vežu na hidroksilnu skupinu serina, a enzim se tada fosforilira (shema 2.2.).



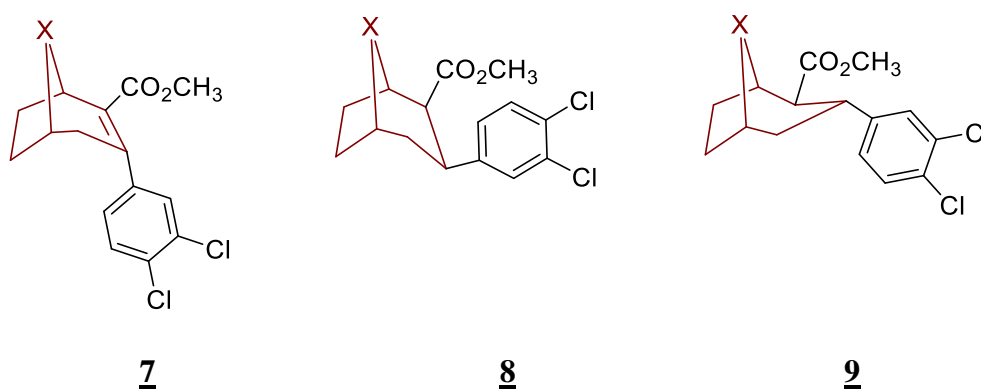
Shema 2.2. Mehanizam inhibicije enzima acetilkolinesteraze (EOH) organofosfatima i reaktivacija, spontana hidroliza te starenje fosforilanog enzima.¹⁰

Defosforilacija, odnosno regeneracija enzima vrlo je spora, štoviše traje danima, čime je onemogućeno hidroliziranje neurotransmitera ACh.⁵⁶ Inhibicija enzima dovodi do nakupljanja ACh u sinaptičkoj pukotini, što rezultira prekomjernom stimulacijom nikotinskih i muskarinskih ACh receptora, čime je neurotransmisija onemogućena. Klasični simptomi ovih procesa su uznemirenost, slabost mišića, mišićni trzaji, mioza, hipersalivacija, znojenje, a trovanje može uzrokovati respiratorno zatajenje, nesvjesnost, zbunjenost, konvulzije i/ili smrt.⁵⁷⁻⁵⁹

Ireverzibilna inhibicija odvija se u dva koraka. Prvi je brza, kratkotrajna reverzibilna inaktivacija enzima, a drugi je spora ireverzibilna inhibicija. Prilikom ireverzibilne inhibicije dolazi do kovalentnog vezanja inhibitora na enzim, odnosno formira se vrlo stabilni kompleks između enzima i inhibitora.⁶⁰ Organofosfati mogu uzrokovati odgođeni neurotoksični učinak kod ljudi i pilića, odnosno odgođenu neuropatiju izazvanu organofosfatima. Ta je pojava povezana s fosforilacijom i daljnjim dealkiliranjem, odnosno starenjem (shema 2.2.) proteina u neuronima, a simptomi (ataksija i paraliza) se javljaju između 14 i 24 sata nakon trovanja.⁴²

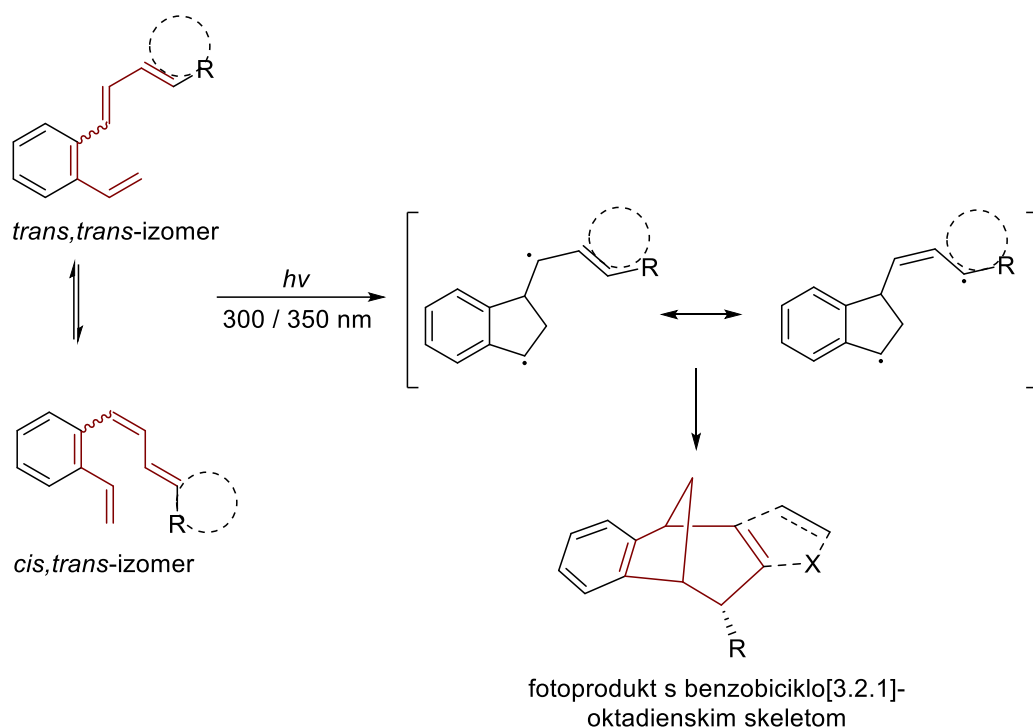
2.5. Biciklo[3.2.1]-derivati kao potencijalni inhibitori kolinesteraza

Skelet biciklo[3.2.1]oktana/oktena/oktadiena može se prepoznati u strukturi brojnih prirodnih spojeva, kao što su diterpeni i seskviterpeni.⁶¹ Zanimljiva karakteristika ovog skeleta je njena rigidnost, koja osigurava specifičnu orijentaciju dva ili više potencijalnih liganada, što je od velike važnosti za istraživanja biološke aktivnosti u medicinskoj kemiji.⁶² Ovakav strukturni skelet također se može naći i u mnogim biološki aktivnim spojevima i njihovim metabolitima.⁶³ Spojevi s biciklo[3.2.1]-skeletom (slika 2.12.) pokazali su se kao snažni inhibitori prijenosnika dopamina i serotonina.⁶⁴ Također, brojni su spojevi uz ovo inhibitorno svojstvo pokazali ključnu ulogu u liječenju poremećaja središnjeg živčanog sustava i Alzheimerove bolesti.⁶⁵



Slika 2.12. Prikaz spojeva 7 – 9.

Benzobicyclo[3.2.1]oktadienski skelet moguće je formirati različitim sintetskim putevima, a jedan od njih je i fotokemijski pristup. Radi se o [2+2]-fotocikloadiciji konjugiranih polaznih supstrata (shema 2.3.) provedenoj u fotokemijskom reaktoru. Fotokemijski vođene reakcije organskih spojeva predstavljaju bitan i jednostavan način dobivanja složenih molekula iz jednostavnih početnih spojeva.⁶⁶



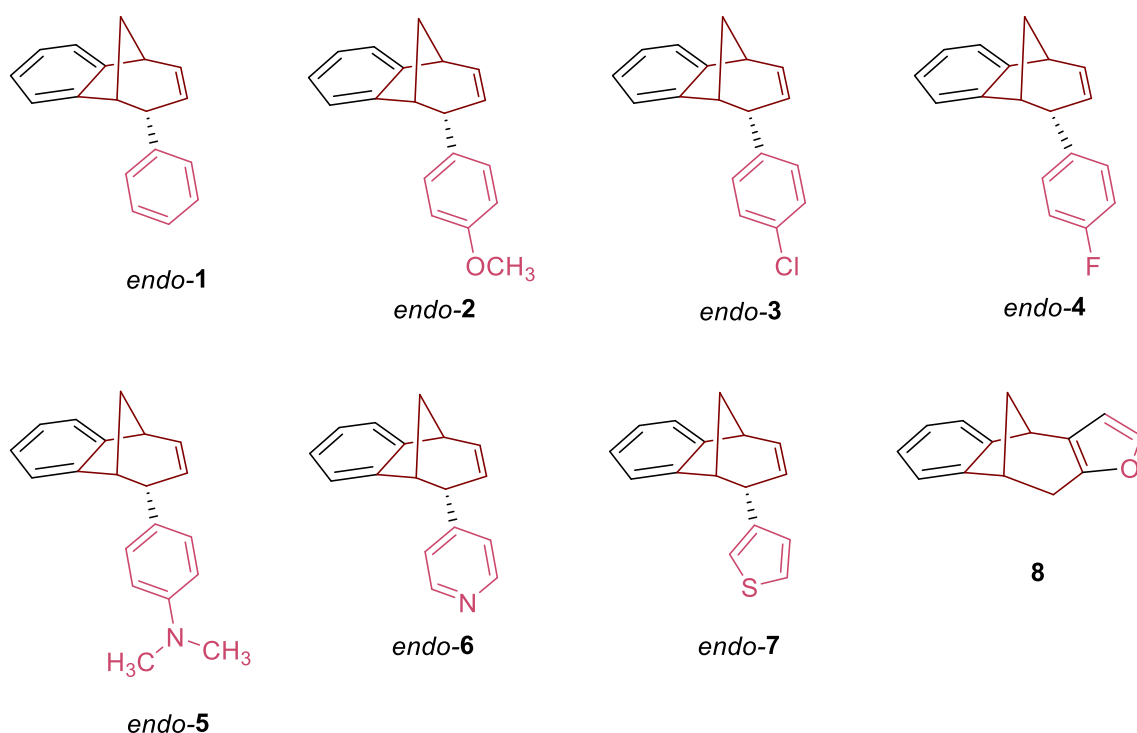
Shema 2.3. Predloženi mehanizam intramolekulske [2+2]-fotocikloadicije za dobivanje spojeva benzobiciklo[3.2.1]oktadienske strukture.⁶⁷

Nezasićeni biciklo[3.2.1.]skeleton daje više mogućnosti izmjena, u odnosu na zasićenu strukturu, iz razloga što izolirana dvostruka veza predstavlja pogodno mjesto za adiciju različitih funkcionalnih skupina. Za lijekove centralnog živčanog sustava, poznato je da su njihova osnovna fizikalno-kemijska svojstva povezana sa sposobnošću prodiranja kroz krvno-moždanu barijeru, kako bi ostvarili svoju željenu aktivnost. S obzirom na istraživanja inhibicije aktivnosti AChE i BChE, prodiranje u centralni živčani sustav pokazalo se kao jedan od najzanimljivijih parametara.⁶⁸

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Uvod

Spojevi *endo-1-7* i spoj **8** (slika 3.1.), svi benzobicyklo[3.2.1]oktadienske strukture, dobiveni su intramolekulskom [2+2]-fotocikloadicijom, te su pokazali svojstva dobrog prodiranja u centralni živčani sustav i time predstavljaju potencijalne biološki aktivne spojeve, odnosno inhibitore kolinesteraza.⁶⁷ Spojevi *endo-3*, *endo-6* i *endo-7*, istaknuli su se kao biciklički fotoproduct koji pokazuju inhibitornu aktivnost prema kolinesterazama. Spoj *endo-3* pokazuje aktivnost prema inhibiciji AChE, a spoj *endo-6* prema BChE, dok spoj *endo-7* pokazuje aktivnost prema obje kolinesteraze.⁶⁹ Od navedenih spojeva benzobicyklo[3.2.1]oktadienske strukture (slika 3.1.) sa slobodnom dvostrukom vezom ili gdje je ona dio furanskog prstena odabrani su spojevi *endo-1*, *endo-2* i **8** kao početni spojevi za daljnju funkcionalizaciju, epoksidacijom ili aciliranjem, u svrhu dobivanja novih potencijalnih inhibitora kolinesteraza.



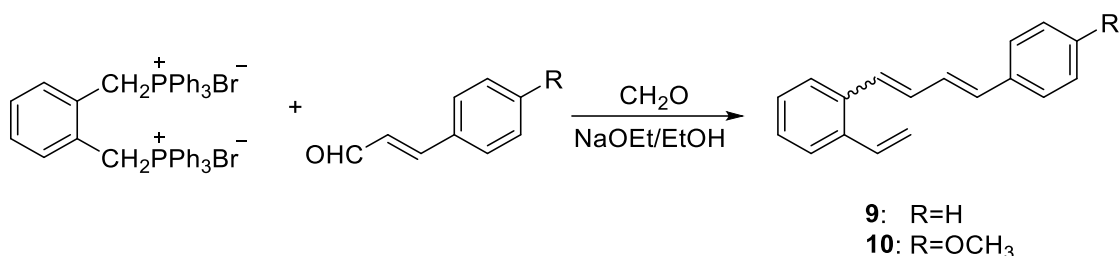
Slika 3.1. Biciklički fotoproducti kao potencijalni inhibitori kolinesteraza.^{67,69}

3.2. Funkcionalizacija bicikličkog skeleta adicijom na slobodnu dvostruku vezu

3.2.1. Wittigova reakcija

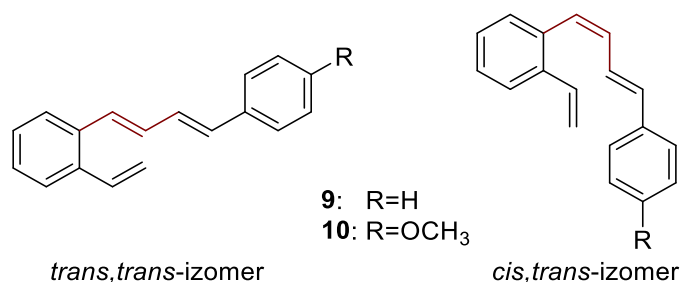
Wittigova reakcija ili Wittigova olefinacija kemijska je reakcija aldehida ili ketona s trifenilfosfonijevim ilidom (Wittigov reagens) kako bi se dobio alken i trifenilfosfinski oksid. Spada u reakcije nukleofilne adicije i eliminacijske reakcije te se u organskoj sintezi koristi isključivo za pripremu alkena. Ovisno o stereokemiji međuprijelaznog stanja, odnosno radi li se o *syn* ili *anti* oksafosfetanu, reakcija može biti usmjerena prema *Z*-, odnosno *E*- izomeru alkena.⁷⁰

Na shemi 3.1. prikazana je sinteza butadienskih derivata korištenjem Wittigove reakcije po uzoru na sinteze provedene u našem istraživačkom laboratoriju i prethodno objavljene.⁷¹⁻⁷³



Shema 3.1. Sinteza spojeva **9** i **10** Wittigovom reakcijom.

Za dobivanje spojeva **9** i **10** Wittigovom reakcijom, prema shemi 3.1., korištena je difosfonijeva sol i odabrani aldehidi s *trans*-konfiguracijom dvostruke veze, uz odgovarajuće reakcijske uvjete. S obzirom na strukturu dobivenog produkta, ovdje govorimo o smjesi geometrijskih izomera, *cis,trans*- i *trans,trans*-izomeru (slika 3.2.).



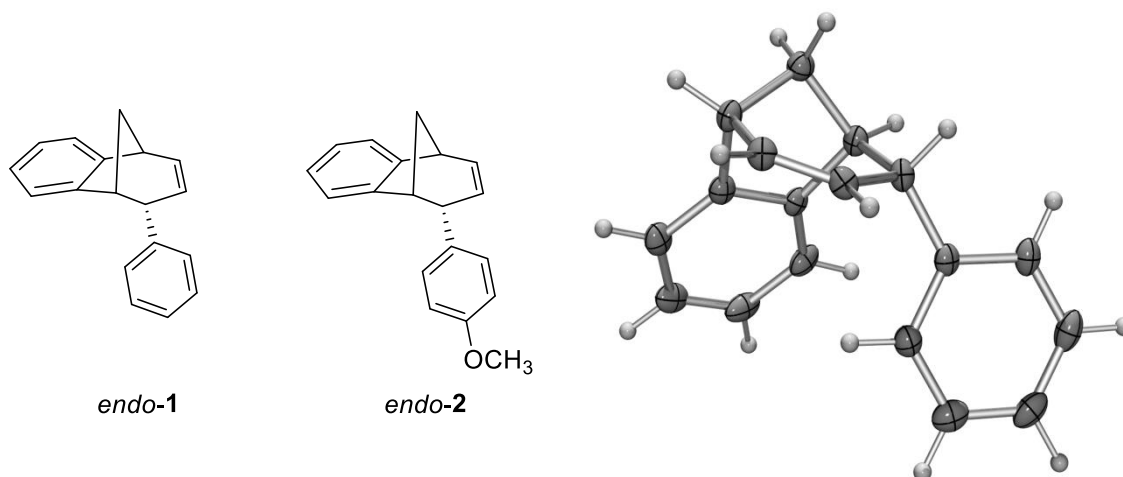
Slika 3.2. Prikaz geometrijskih izomera spojeva **9** i **10** nastalih Wittigovom reakcijom.

3.2.2. Fotokemijska reakcija

Produkti Wittigove reakcije **9** i **10**, kao smjese geometrijskih izomera, podvrgnuti su fotokemijskoj reakciji čiji je mehanizam prikazan na shemi 2.3., u cilju formiranja benzobiciklo[3.2.1]oktadienskog skeleta.⁶⁷ Intramolekulskom [2+2]-fotocikloadicijom tih spojeva, koja je provedena u šaržnom fotokemijskom reaktoru, osvjetljavanjem na valnoj duljini od 350 nm, dobiveni su željeni spojevi *endo-1* i *endo-2*. Primijenjena valna duljina odabrana je na temelju apsorpcijskih spektara polaznih molekula, a razlog odabrane valne duljine je taj što benzobiciklo[3.2.1]oktadieni još apsorbiraju na valnoj duljini od 300 nm, što bi dovelo do nastajanja neželjenih transformacijskih produkata.

Proces osvjetljavanja spojeva **9** i **10**, kao smjese geometrijskih izomera, pokreće fotoizomerizaciju, kojom odabrana valna duljina uvjetuje omjer *cis*-izomera i *trans*-izomera u fotostacionarnom stanju. Fotokemijsku reakciju nije nužno raditi s čistim izomerima, s obzirom da se odvijanjem intramolekulske [2+2]-fotocikloadicije mijenja omjera izomera, što vodi do kontinuiranog uspostavljanja fotostacionarnog stanja. Na taj način postepeno dolazi do formiranja fotoprodukata *endo-1* i *endo-2*.

Spektroskopskom analizom ustanovljena je točna stereokemija fotoprodukta, odnosno da se ovdje radi o *endo*-izomerima, što znači da je vezana skupina orijentirana ispod zamišljene ravnine bicikličkog skeleta.

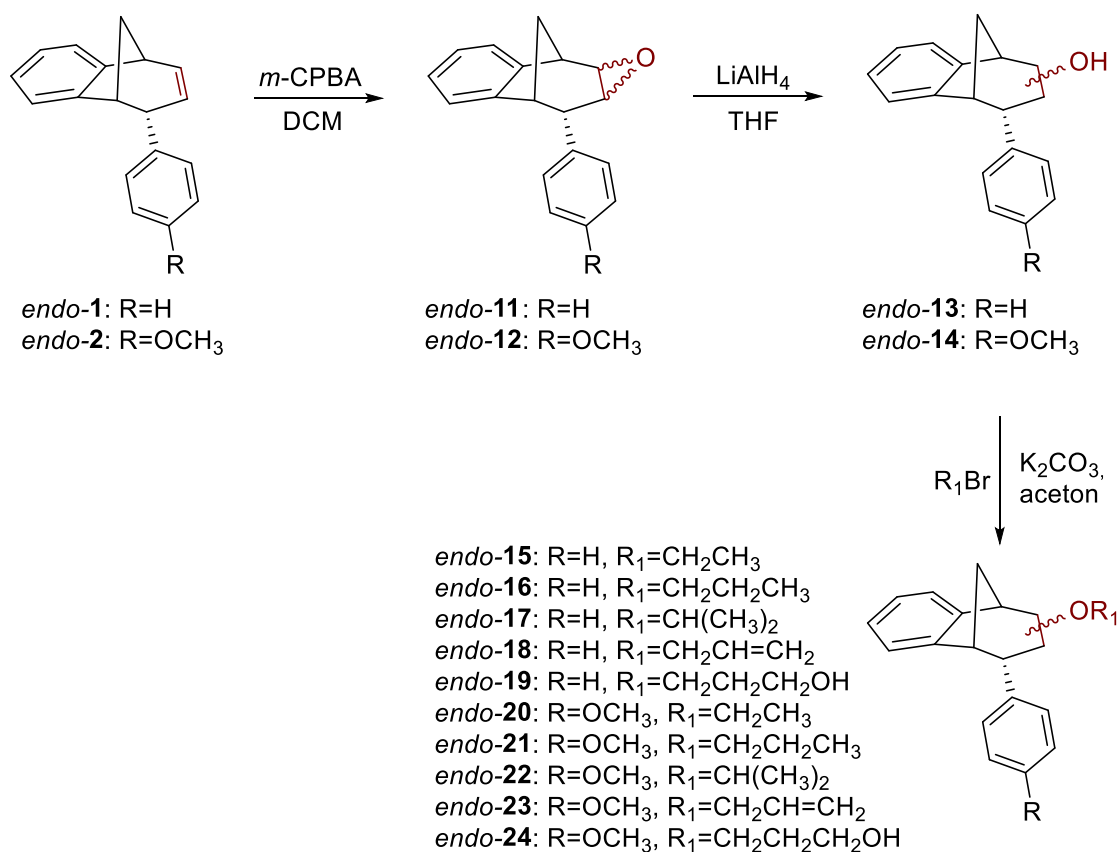


Slika 3.3. Prikaz bicikličkih fotoprodukata *endo-1* i *endo-2*, kao i kristalna struktura *endo-1*.⁷¹

3.2.3. Dobivanje epoksida, alkohola i etera

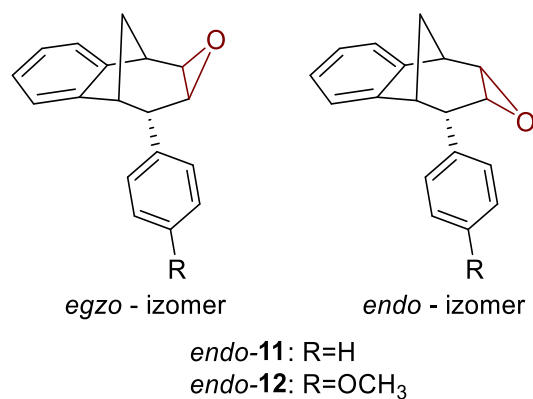
Epoksidi ili oksirani su spojevi s tročlanom prstenastom strukturom, koja sadrži kisik. Predstavljaju tročlane cikličke etere, velike reaktivnosti. Jedan od načina njihove sinteze je epoksidacija, korištenjem peroksi-kiselina, koje imaju elektrofilni kisikov atom, u odgovarajućem otapalu. Ova reakcija predstavlja stereospecifičnu *syn*-adiciju na dvostruku vezu.⁷⁴

Provedeni reakcijski put u sklopu ovoga znanstvenoga rada (shema 3.2.) započinje upravo dobivanjem odgovarajućih epoksida iz prethodno sintetiziranih fotoprodukata *endo-1* i *endo-2*, te preko alkohola vodi do željenih etera s benzobicyklo[3.2.1]oktadienskom strukturom.



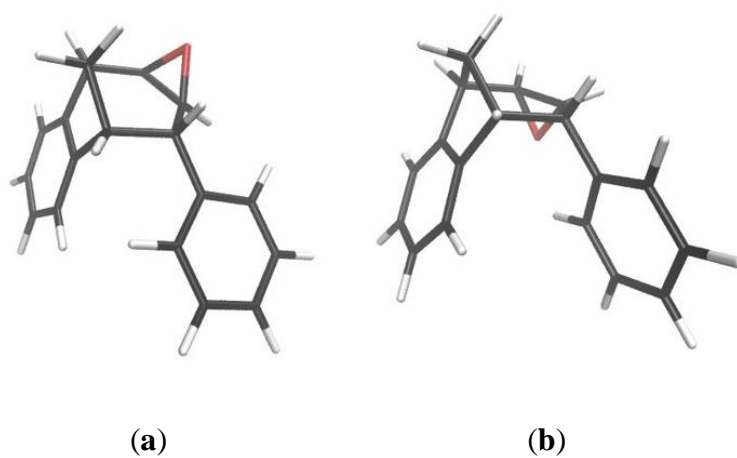
Shema 3.2. Reakcijski put dobivanja etera i prikaz dobivenih spojeva.

Reakcijom dobivenih fotoprodukata *endo-1* i *endo-2* s *meta*-klorperbenzojevom kiselinom (*m*-CPBA) u diklormetanu (DCM) kao otapalu, dobiveni su odgovarajući epoksidi *endo-11* i *endo-12*.



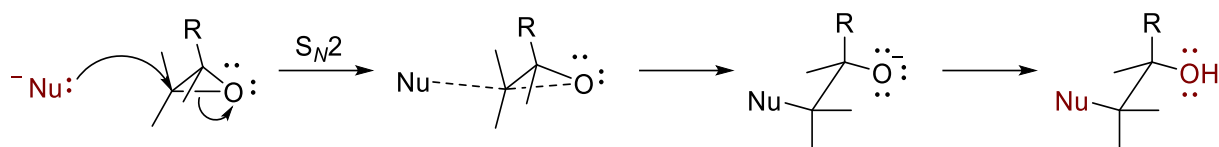
Slika 3.4. Prikaz stereoizomera dobivenih epoksida *endo-11* i *endo-12*.

S obzirom na položaj kisika u odnosu na zamišljenu ravninu molekule moguća su dva stereoizomera, za oba dobivena spoja (slika 3.4.). Spektroskopskom analizom nije bilo moguće utvrditi stereokemiju spojeva *endo-11* i *endo-12*. Optimirane strukture sintetiziranog epoksida *endo-11*, izrađene su korištenjem teorijskog modela (SMD) M062X / 6-31G (d) u tetrahidrofuranu i prikazane na slici 3.5., gdje stereoizomer (b) predstavlja termodinamički stabilniju strukturu od stereoizomera (a).



Slika 3.5. Optimirane strukture **(a)** i **(b)** epoksida *endo-11*.

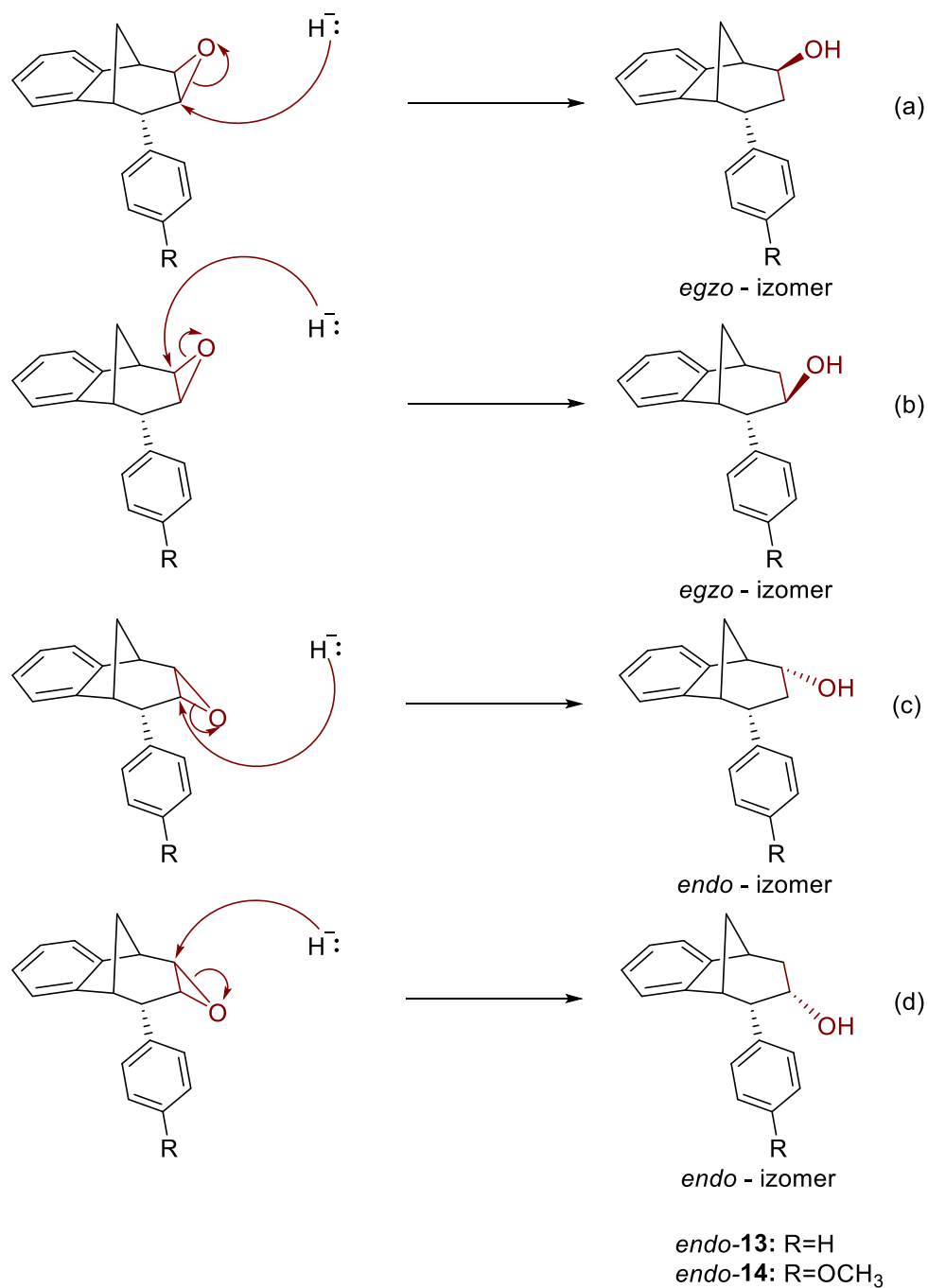
Velika napetost tročlanog prstena uvjetuje sklonost epoksida prema nukleofilnim napadima, uslijed kojih dolazi do otvaranja epoksidnog prstena. Kao što je prikazano na shemi 3.3., reakcija započinje napadom nukleofila sa strane koja je suprotna vezi ugljika i kisika, zbog čega ta veza puca i nastaje alkosidni ion, a zatim njegovim protoniranjem dobivamo alkohol.



Shema 3.3. Mehanizam nukleofilnog otvaranja epoksidnog prstena.

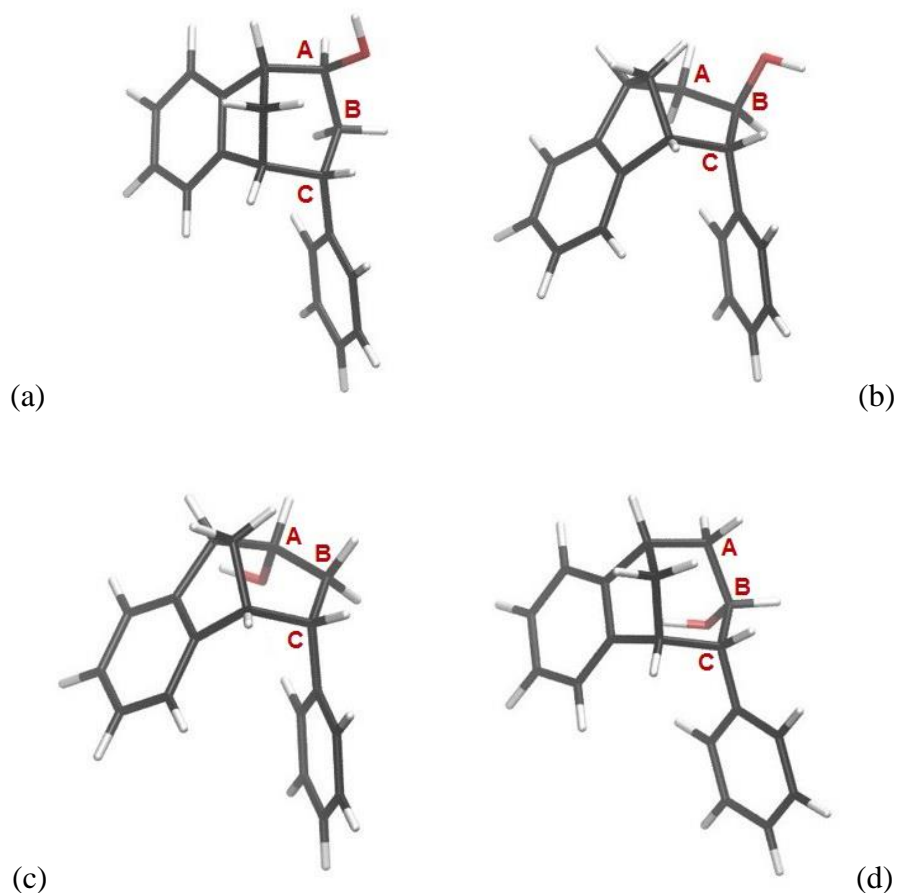
S obzirom na dva moguća stereoizomera epoksida benzobiciklo[3.2.1]oktadienskog skeleta, na shemi 3.4. je prikazan mehanizam napada nukleofila na pojedinu vezu između ugljika i kisika, te struktura izomera do koje to posljedično dovodi.

Nukleofini napad teoretski može rezultirati s četiri izomera alkoholna produkta, odnosno dva regioizomera od kojih svaki ima dva moguća stereoizomera (shema 3.4.). Prema literaturnim podacima,⁷⁵ korištenjem LiAlH_4 za redukciju smjese izomera epoksida benzobiciklo[3.2.0] strukture, kao većinski produkt dobiven je alkohol s funkcionalnom skupinom smještenom na središnjem ugljikovom atomu većeg prstena u premoštenom bicikličkom sustavu.



Shema 3.4. Mehanizam napada nukleofila na tročlani prsten epoksida.

U skladu s time, provedenom reakcijom epoksida *endo*-**11** i *endo*-**12** s LiAlH₄ u tetrahidrofuranom (THF), dobiveni su spojevi *endo*-**13** i *endo*-**14**, a najvjerojatnija očekivana struktura dobivenih alkohola odgovara prikazanim strukturama (b) i (d). Također, prikazane su optimirane strukture, izrađene korištenjem teorijskog modela (SMD) M062X / 6-31G (d) u tetrahidrofuranu, tih preferiranih alkohola i preostala dva alkohola (slika 3.6.), koji teoretski nastaju kao produkti otvaranja epoksidnog prstena prema danom mehanizmu.

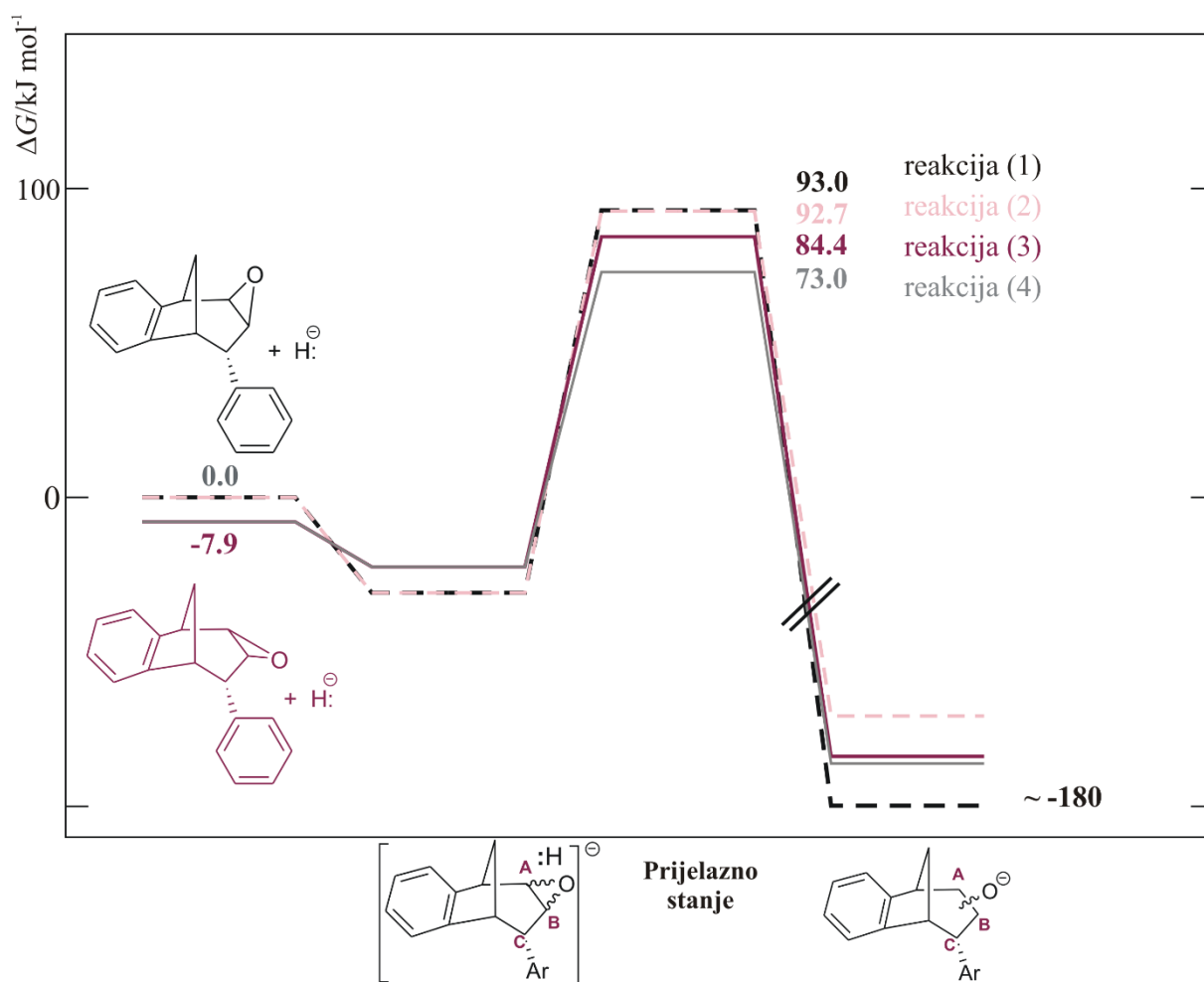


Slika 3.6. Optimirane strukture alkohola *endo*-13.

Vjerojatnost dobivanja pojedinog alkohola i njegova geometrijska struktura definirana je računskim modeliranjem, čiji su rezultati grafički prikazani na slici 3.7., kao ovisnost promjene slobodne energije u tijeku reakcije otvaranja epoksidnog prstena prikazanih spojeva benzobiciklo-[3.2.1]oktadienske strukture.

Kako je vidljivo na slici 3.7., redosljed stabilnosti produkata otvaranja epoksidnog prstena je sljedeći:

1. Alkohol (a), *egzo* - izomer s –OH skupinom na ugljiku A
2. Alkohol (d), *endo* - izomer s –OH skupinom na ugljiku B;
s razlikom u Gibbsovoj energiji od 13.8 kJ mol^{-1} , u odnosu na alkohol (a)
3. Alkohol (c), *endo* - izomer s –OH skupinom na ugljiku A;
s razlikom u Gibbsovoj energiji od 26.0 kJ mol^{-1} , u odnosu na alkohol (a)
4. Alkohol (b), *egzo* - izomer s –OH skupinom na ugljiku B;
s razlikom u Gibbsovoj energiji od 28.4 kJ mol^{-1} , u odnosu na alkohol (a);

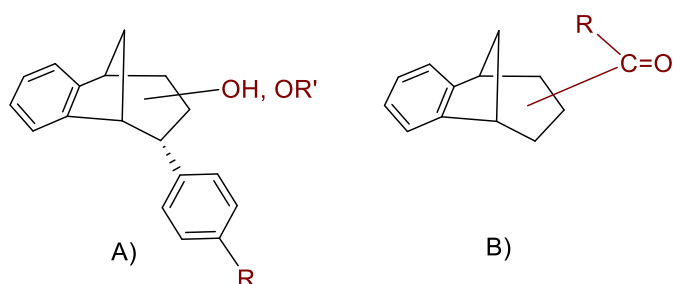


Slika 3.7. Grafički prikaz slobodne energije izračunate u (SMD)/M062X/6-31G(d).

U skladu sa zaključkom da je termodinamički stabilniji epoksid s *endo* – orijentacijom epoksidnog prstena prema prikazu na shemi 3.4., više produkta činili bi izomeri (c) i (d), u odnosu na izomere (a) i (b), koji nastaju iz termodinamički manje stabilnog *egzo* – izomera (za 7.9 kJ mol^{-1}). Uspoređujući produkte nastale napadom nukleofila na *endo* – izomer epoksida, produkt (d) je za 3 kJ mol^{-1} stabilniji od produkta (c). No, u odnosu na ovaj termodinamički aspekt, veći značaj u ovom slučaju ima kinetika. Odnosno, aktivacijska energija za nastanak produkta (d) je niža u odnosu na onu potrebnu za nastanak produkta (c). Produkt (d) tada predstavlja produkt za koji je potrebna najmanja energija aktivacije (kinetika), dobiva se iz termodinamički stabilnijeg epoksida, te je relativno gledajući najstabilniji očekivani produkt ove reakcije.

3.3. Funkcionalizacija bicikličkog skeleta s fuzioniranom furanskom jezgrom

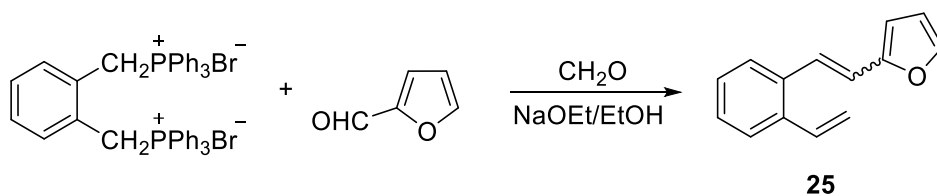
U okviru cijelokupne sinteze navedeni fotoproducti, odnosno spojevi dobiveni funkcionalizacijom dvostruke veze, mogu se kategorizirati u dvije skupine spojeva. U prethodnom poglavlju opisana je sinteza epoksida, alkohola i etera (derivati A), dok je u daljnjem tekstu opisana sinteza acilnih spojeva (derivati B) prikazanih na slici 3.8.



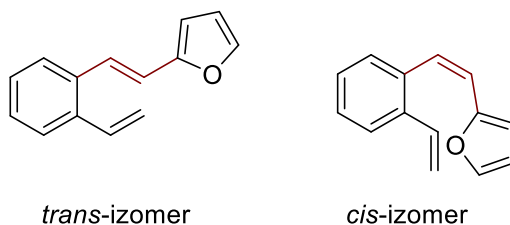
Slika 3.8. Derivati benzobicyklo[3.2.1]oktadienskih molekula dobivenih funkcionalizacijom dvostruke veze.

3.3.1 Wittigova reakcija

U svrhu formiranja dvostruke veze, i ovdje je korištena Wittigova reakcija. Prema shemi 3.5., za dobivanje spoja **25**, korištena je difosfonijeva sol i odgovarajući aldehidi. Također, produkt reakcije predstavlja smjesa geometrijskih izomera sa definiranim strukturama (slika 3.9.).



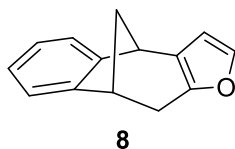
Shema 3.5. Sintaza spoja **25** Wittigovom reakcijom.



Slika 3.9. Prikaz geometrijskih izomera spoja **25** nastalih u smjesi Wittigovom reakcijom.

3.3.2. Fotokemijska reakcija

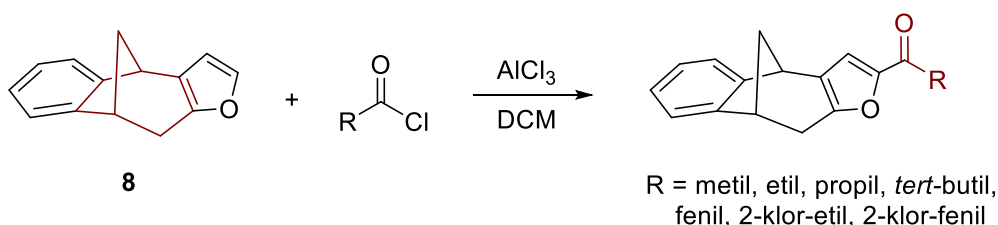
Predloženi biradikaliski mehanizam, prikazan na shemi 2.3., predstavlja sintetski put za dobivanje spojeva benzobiciklo[3.2.1]oktadienske strukture. Shodno tome, produkt Wittigove reakcije, spoj **25** je podvrgnut fotokemijskoj reakciji [2+2]-cikloadicije na valnoj duljini od 300 nm, prilikom čega je dobiven fotoproduct **8** (slika 3.10.), koji služi kao početni pogodni supstrat za sintezu novih acilnih spojeva.



Slika 3.10. Prikaz bicikličkog fotoproducta **8**.

3.3.3. Aciliranje

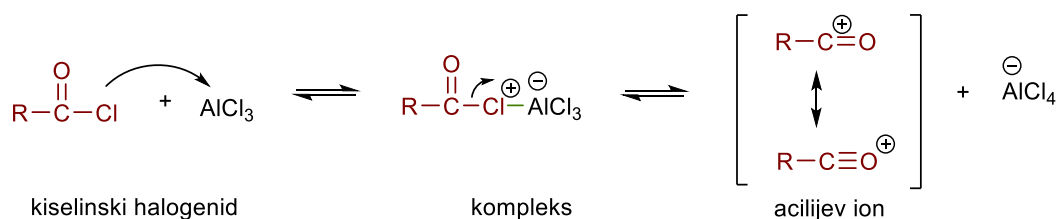
Reakcije Friedel-Craftsovo aciliranja kiselinskih halogenida ili anhidridi karboksilnih kiselina obično zahtijevaju prisutnost Lewisove kiseline (često korišten borov trifluorid, BF_3).⁷⁶



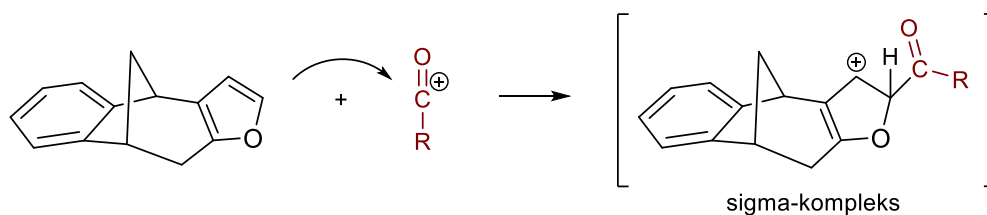
Shema 3.6. Reakcijski put dobivanja očekivanih spojeva.

Reakcijski put dobivanja aciliranih spojeva benzobiciklo[3.2.1]oktadienskog skeleta prikazan je na shemi 3.6., polazeći od fotoproducta **8** uz odgovarajuće reagense i reakcijske uvjete. Acetiliranje furana uz AlCl_3 kao katalizator odvija se 7×10^4 puta brže na α -položaju nego na β -položaju. 3-alkilsubstituirani furani se aciliraju većinom na α -položaju.⁷⁶ Mehanizam, na shemi 3.7., prikazuje aciliranja furanske jezgre benzobiciklo[3.2.1]oktadienske molekule po stupnjevima.

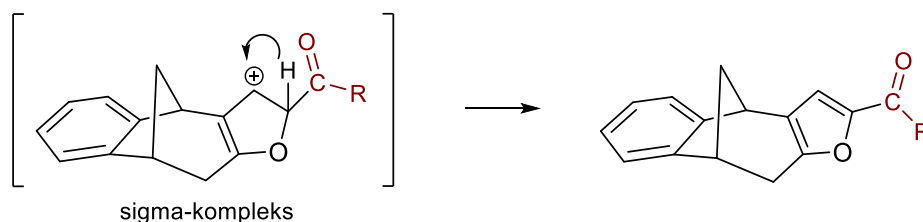
1. stupanj



2. stupanj

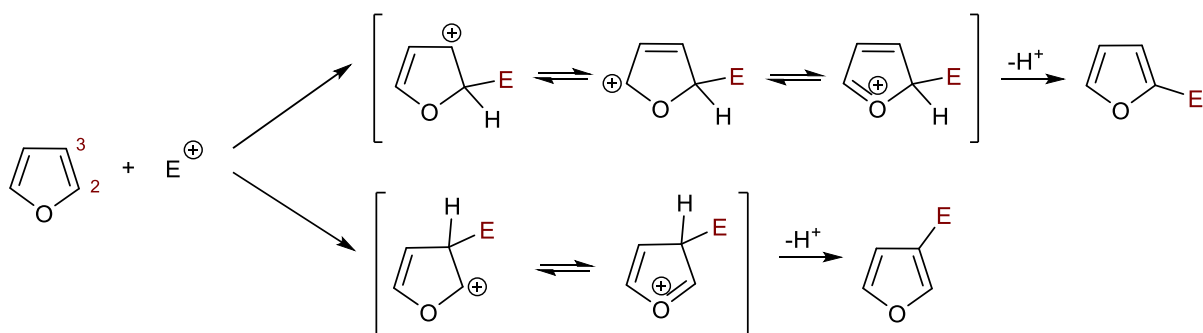


3. stupanj



Shema 3.7. Mehanizam aciliranja bicikličkog skeleta s fuzioniranom furanskom jezgrom.

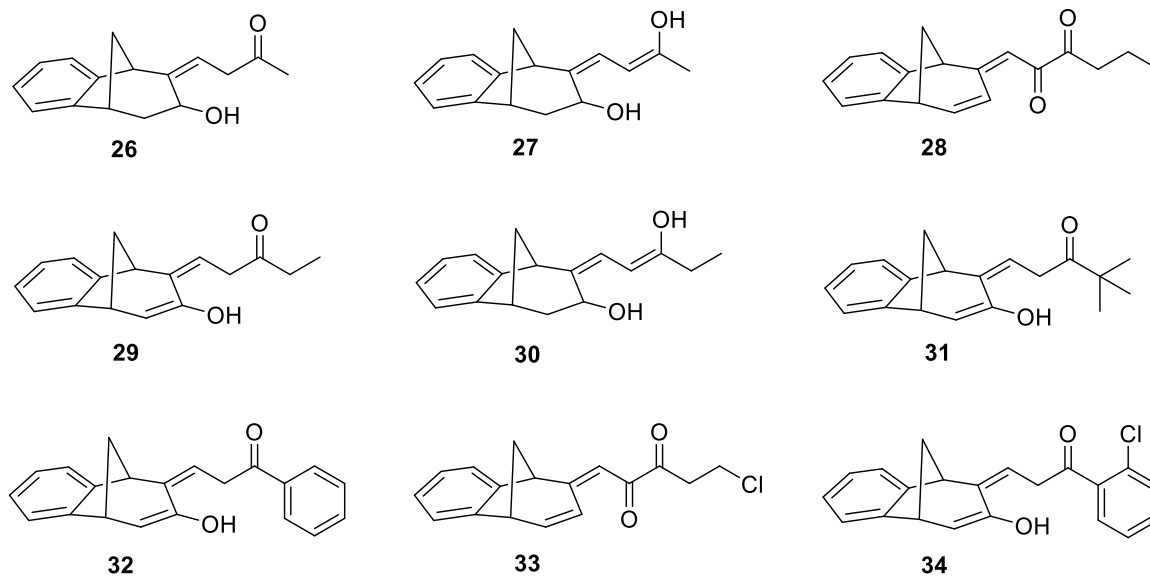
Kao što je prikazano na shemi 3.8., položaj supstituenta, prilikom elektrofilne supstitucije furanske jezgre, preferiran je na α -položaju (položaj 2), jer u odnosu na β -položaj (položaj 3) nastaje stabilniji intermedijerni kation.



Shema 3.8. Elektrofilna supstitucija na furanskoj jezgri.

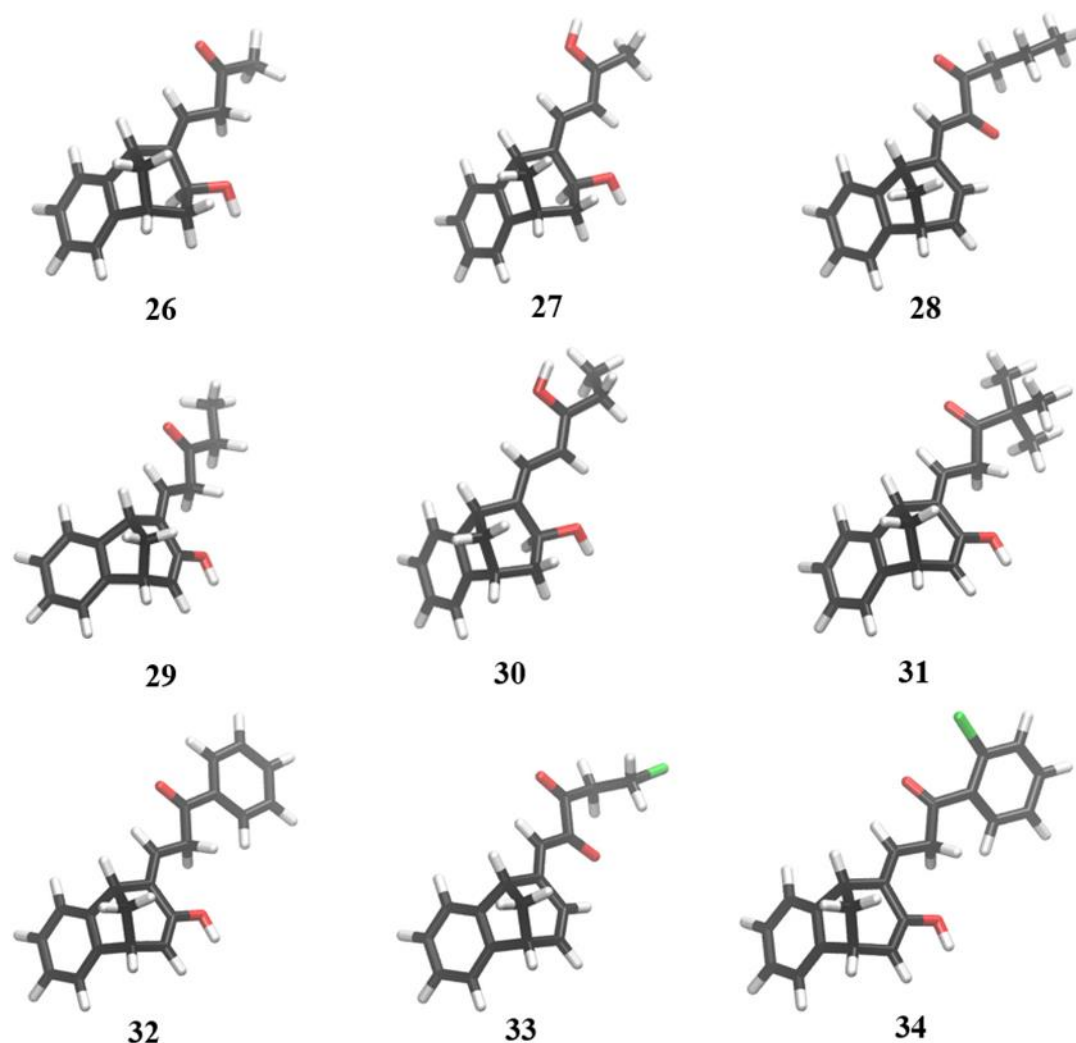
Provedbom Friedl-Craftsovog aciliranja s različitim acil-halogenidima na molekuli **8** benzobiciklo[3.2.1]oktadienskog skeleta s fuzioniranom furanskom jezgrom, dolazi do

aciliranja ali i do otvaranja furanskog prstena što rezultira dobivenim spojevima **26-34** (slika 3.11. i 3.12.).



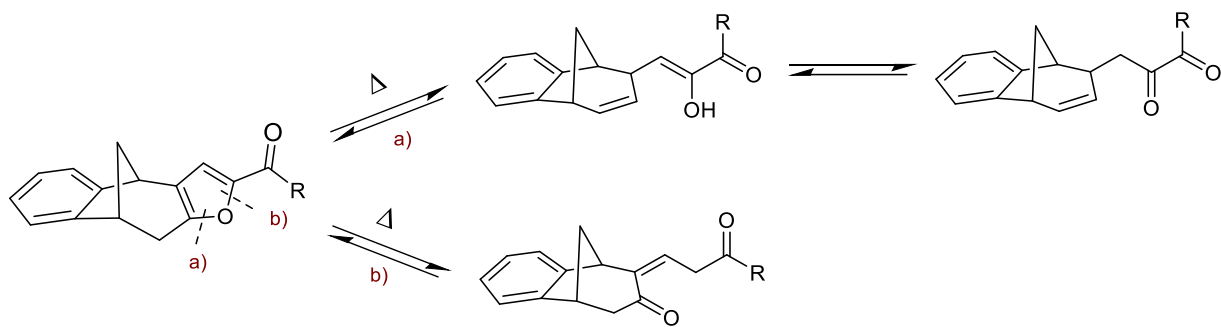
Slika 3.11. Prikaz dobivenih spojeva reakcijom aciliranja.

Računalnim modeliranjem, korištenjem teorije funkcionala gustoće (Density Functional Theory, DFT) odredili smo najstabilnije konformacije dobivenih spojeva. Geometrije konformera optimizirane na M062X/6-31G(d) razini teorije prikazane su na slici 3.12.



Slika 3.12. Najstabilnije konformacije spojeva **26-34**, optimizirane na M062X/6-31G(d) računalnom modelu.

Iz literaturnih podataka o reakcijama heterocikala poznato je otvaranje furanskog prstena⁷⁷ što je i spektroskopski potvrđeno na sintetiziranim spojevima **26-34** u ovome istraživačkom radu. Sintezom gore navedenih spojeva, dolazi do otvaranja furanske jezgre na dva načina (shema 3.9.), ovisno o prirodi supstituenata. Jezgre koje na sebi imaju supstituiranu elektron-akceptorsku skupinu prilično su stabilne u kiseljoj otopini, dok se one s elektron-donorskim skupinama lako otvaraju u njima odgovarajuće 1,4-diketone. U razrijeđenim vodenim otopinama kiselina, glavna reakcija koja se odvija na furanskom prstenu je njegovo hidrolitičko otvaranje, koje započinje protoniranjem jednog od ugljikovih atoma u prstenu. Upravo iz tog razloga ne iznenađuje zašto većina dobivenih produkata ne sadrži zatvorenu, već otvorenu furansku jezgru.⁷⁷



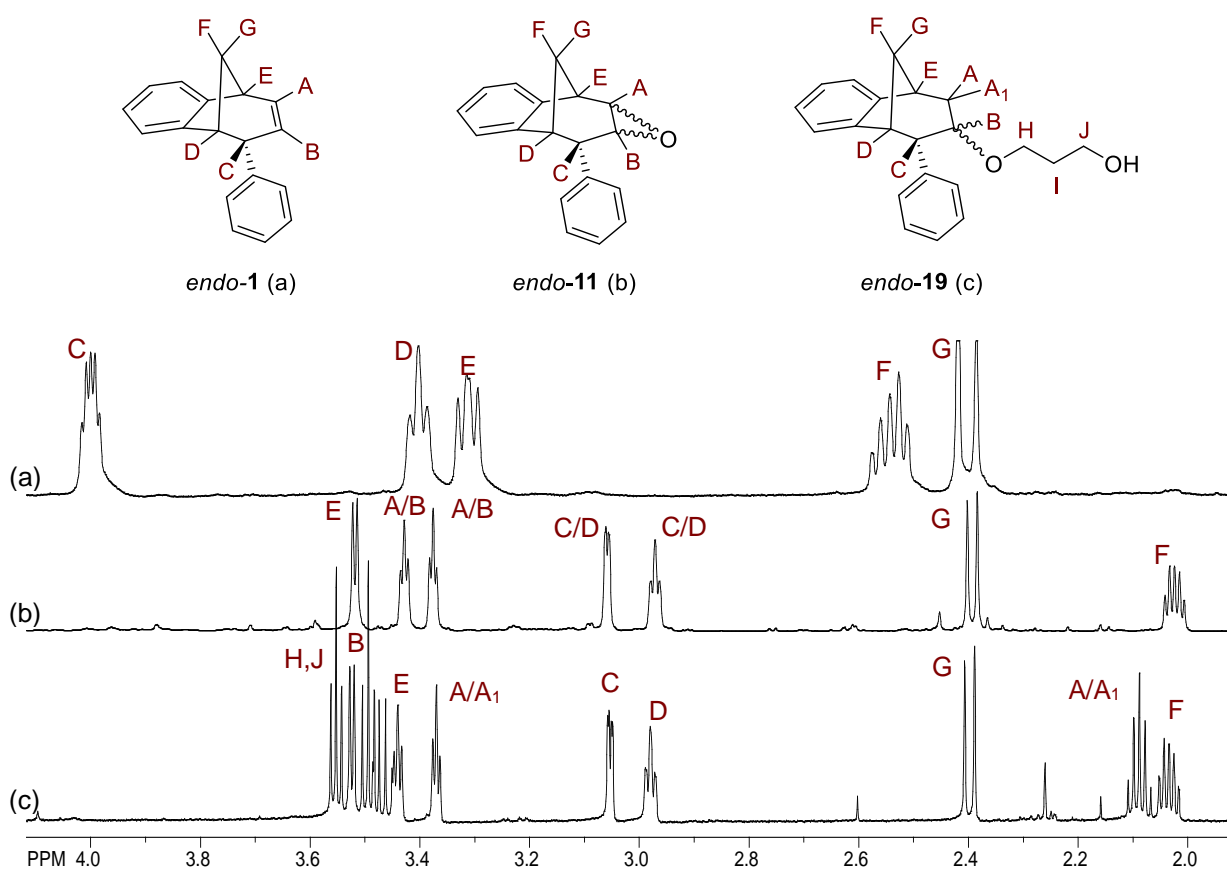
Shema 3.9. Otvaranje furanske jezgre u fotoproduktima s premoštenim bicikličkim skeletom.

3.4. Spektroskopska karakterizacija dobivenih spojeva

Produkti provedenih reakcija izolirani su iz sirove smjese nakon provedenih reakcija, uzastopnim kromatografskim odjeljivanjem na silikagelu i kombiniranom preparativnom tankoslojnom kromatografijom na silikagelu. Strukture svih dobivenih spojeva potvrđene su ^1H NMR spektroskopijom.

3.4.1. Spektroskopska karakterizacija dobivenih spojeva *endo-1*, *endo-2*, *endo-11*, *endo-12* i *endo-15-24*

Na slici 3.13. uspoređen je ^1H NMR spektar fotoproducta *endo-1*, koji ima slobodnu dvostruku vezu i fenilnu skupinu, sa spektrom dobivenog epoksida *endo-11*, a kao predstavnik skupine *endo-15-19* odabran je eter *endo-19*, sa vezanom skupinom $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, nastao prema mehanizmu na shemi 3.4. (d). Promatrajući područje ^1H NMR spektra od 2,0 do 4,0 ppm za navedene tri molekule, vidljivi su pomaci signala kojima se prikazuju određeni protoni i pojava signala za protone karakteristične novonastalim molekulama.

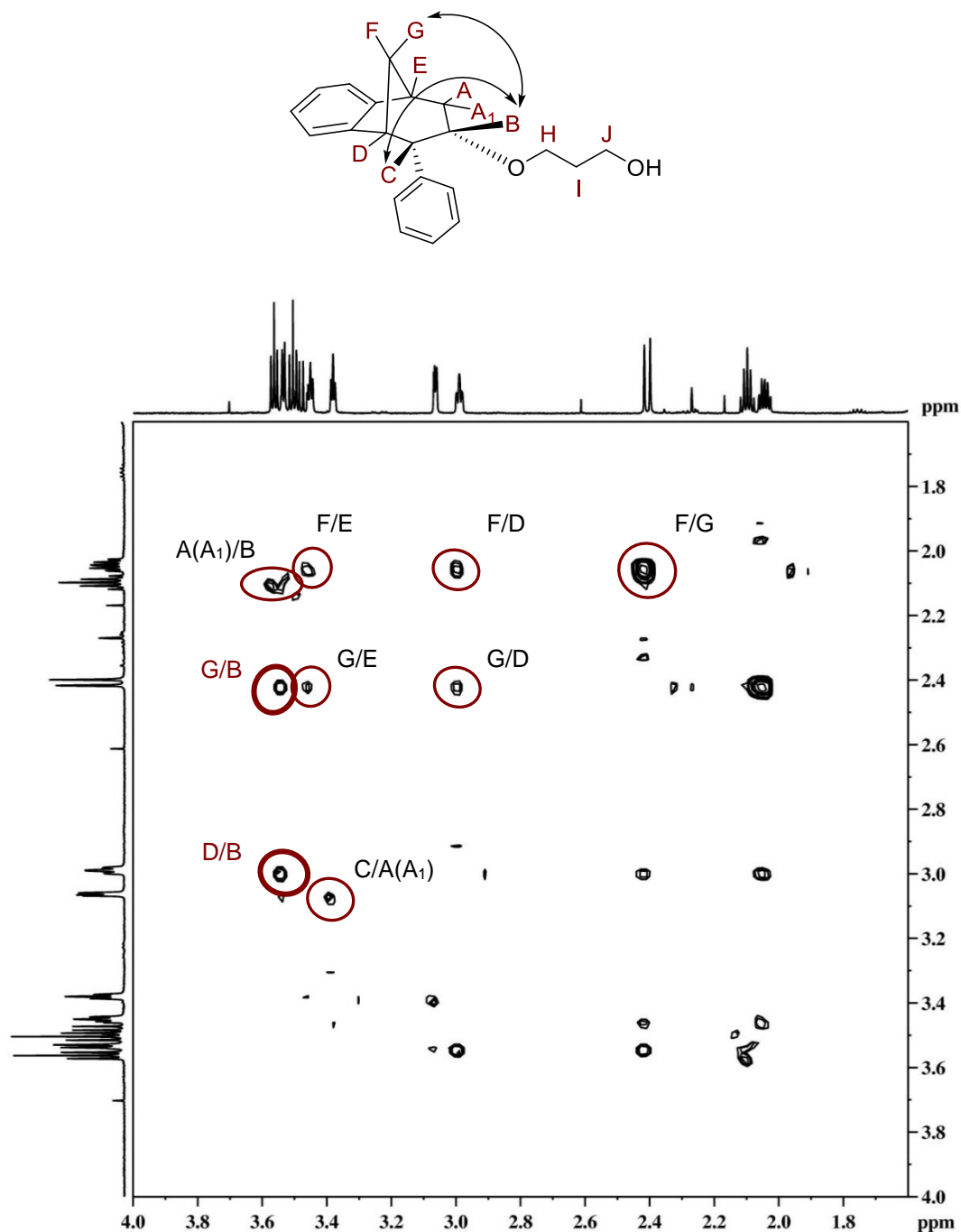


Slika 3.13. ^1H NMR spektar spojeva *endo-1* (a), *endo-11* (b) i *endo-19* (c).

U ovom području ^1H NMR spektra fotoproducta *endo-1* nalaze se neki od signala kojima se prikazuju protoni bicikličkog skeleta, a to su: multiplet na 3,98 ppm za **C**, triplet na 3,38 ppm za **D** i dublet-dubleta na 3,29 ppm za **E**. Prema iznosima konstanta sprege vidljivo je da se **D** spreže sa **C** i **F**, a **E** sa **A** i **F**. Nadalje, karakteristika ovog skeleta je i metano most čiji se protoni prikazuju kao dublet-tripleta na 2,52 ppm (**F**) i dublet na 2,38 ppm (**G**) i sprežu konstantom sprege od 9,9 Hz karakterističnom za geminalne protone.

Sintezom epoksida *endo-11* u ^1H NMR spektru dolazi do pomaka određenih signala, zbog djelovanja kisika u formiranom tročlanom prstenu. Također, signale za protone na sp^2 ugljiku (između 5,00 i 6,50 ppm) više ne nalazimo, što dokazuje pucanje dvostruke veze i nastajanje epoksidnog prstena. Umjesto tih signala nastali su novi tripleti na 3,45 ppm i 3,39 ppm za protone **A** i **B** s konstantama sprege od 3,9 i 4,1 Hz. Dubletom na 3,45 ppm prikazuje se proton **E**, sa konstantom sprege 4,8 Hz. Protoni **C** i **D** daju triplet i dublet na 2,99 i 3,07 ppm sa konstantom sprege od 5,0 i 4,1 Hz. Dublet kojim se prikazuje proton **G** nije se značajno pomaknuo (2,41 ppm, sa konstantu sprege 10,8 Hz), dok se mutiplet protona **F** ovdje nalazi između 2,07 i 2,02 ppm.

Na dobivanje željenog etera *endo-19*, ukazuje pojava nekoliko novih signala u ^1H NMR spektru. Dublet na 3,52 ppm je signal kojim se prikazuje proton **B**, a triplet na 3,44 ppm kojim se prikazuje proton **E**. Signali kod kojih nije došlo do značajnih promjena, u odnosu na ^1H NMR spektar epoksida *endo-11*, s obzirom na oblik i kemijski pomak su signali protona **C**, **D**, **G** i **F** (slika 3.13.). Formiranjem etera, sa strukturom koja je posljedica dobivenog alkohola, sa funkcionalnom skupinom smještenom na središnjem ugljikovom atomu većeg prstena u premoštenom bicikličkom sustavu, protoni **A** i **A₁** daju triplet na 3,37 ppm i multiplet unutar intervala 2,11-2,06 ppm. Multiplet u području od 3,57 do 3,44 ppm je signal za četiri metilenska protona koji se nalaze u lancu, vezani na ugljikove atome uz kisik, odnosno protoni **H** i **J**. Preostala dva metilenska protona **I** daju široki singlet na 1,24 ppm, a proton OH skupine singlet na 1,42 ppm.

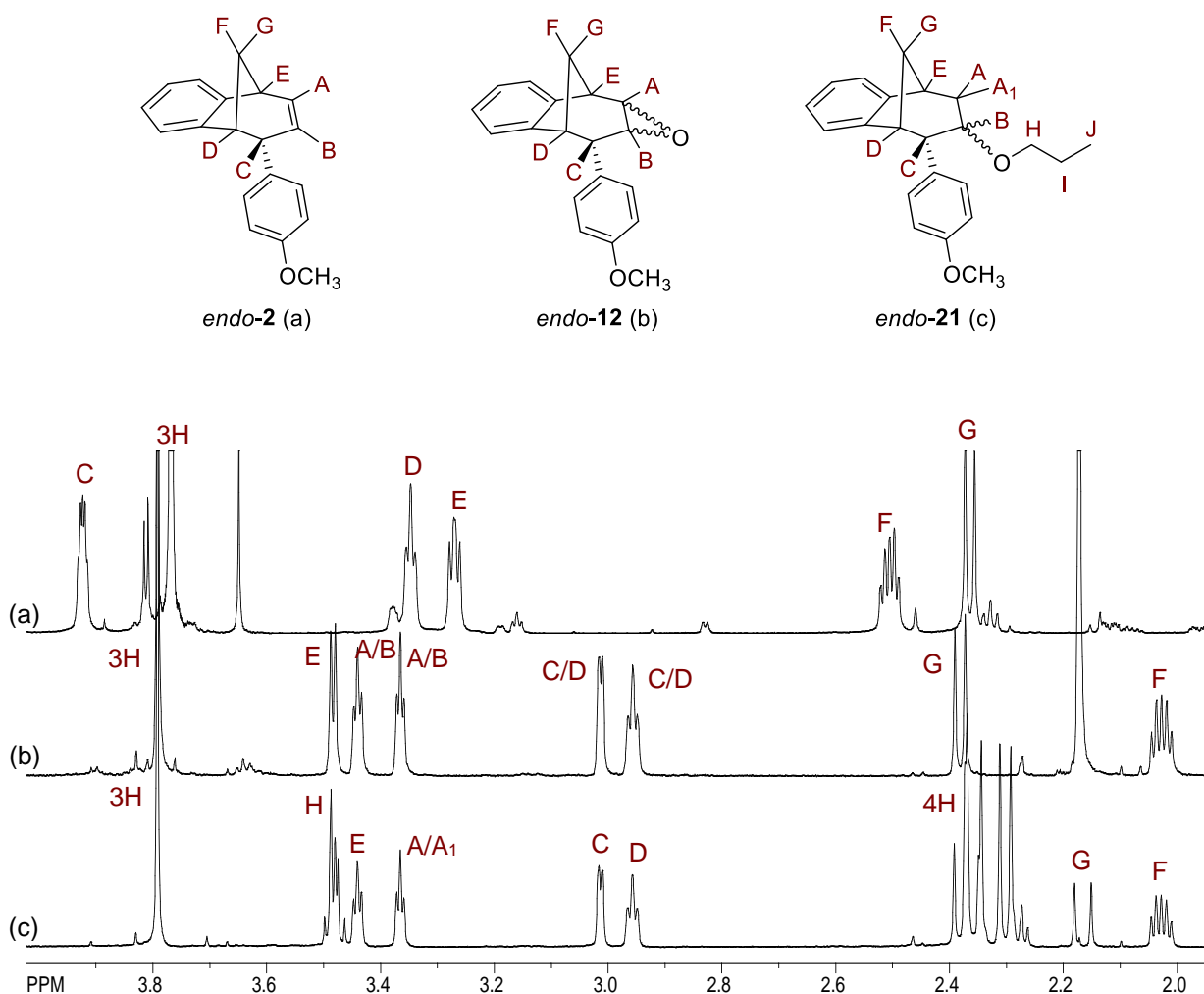


Slika 3.14. NOESY spektar spoja *endo-19*.

NOESY spektar etera *endo-19* (slika 3.14.) prikazuje sprege protona u prostoru, čime je omogućeno pobliže određivanje prostorne strukture molekule, kao i stereokemije na pojedinom ugljiku. Prema tome, može se uočiti sprežanje protona **F** sa protonima **E**, **D** i **G**. Sprežanje sa protonom **A/A₁** vidljivo je za proton **C**, te za proton **B**, dok se proton **G** spreže sa protonima **E** i **D**. Sprega protona **B** sa protonima **G** i **D** je najznačajnija sprega koja se može uočiti na ovom NOESY spektru. Temeljem toga donesen je zaključak da je dobiveni stereoizomer onaj kod kojeg se kisik s vezanim alifatskim lancem, nalazi ispod zamišljene ravnine bicikličkog skeleta.

Shodno tome, proton **B** je smješten iznad ravnine bicikličkog skeleta. Ovi zaključci, doneseni na temelju provedenog eksperimenta, dodatno su potvrđeni izračunom, čiji su rezultati grafički prikazani na slici 3.7., prema kojem je nastali alkohol, onaj kod kojeg je OH skupina na središnjem ugljikovom atomu i nalazi se ispod ravnine bicikličkog skeleta.

Fotoprodukt **2** odabran je kao početni spoj za sintezu druge grupe spojeva, te je njegov ^1H NMR spektar uspoređen, na slici 3.15., sa spektrom dobivenog epoksida *endo-12*, te etera *endo-21*, koji ima vezanu skupinu $\text{R}_1=\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, istaknutog kao primjer spojeva *endo-20-24*, nastalog prema mehanizmu na shemi 3.4. (d). Ovdje je također promatrano područje bilo između 2,0 i 4,0 ppm za navedene tri molekule, te su vidljive određene promjene spektralnog rasporeda i novi signali koji ukazuju na dobivene željene molekule.



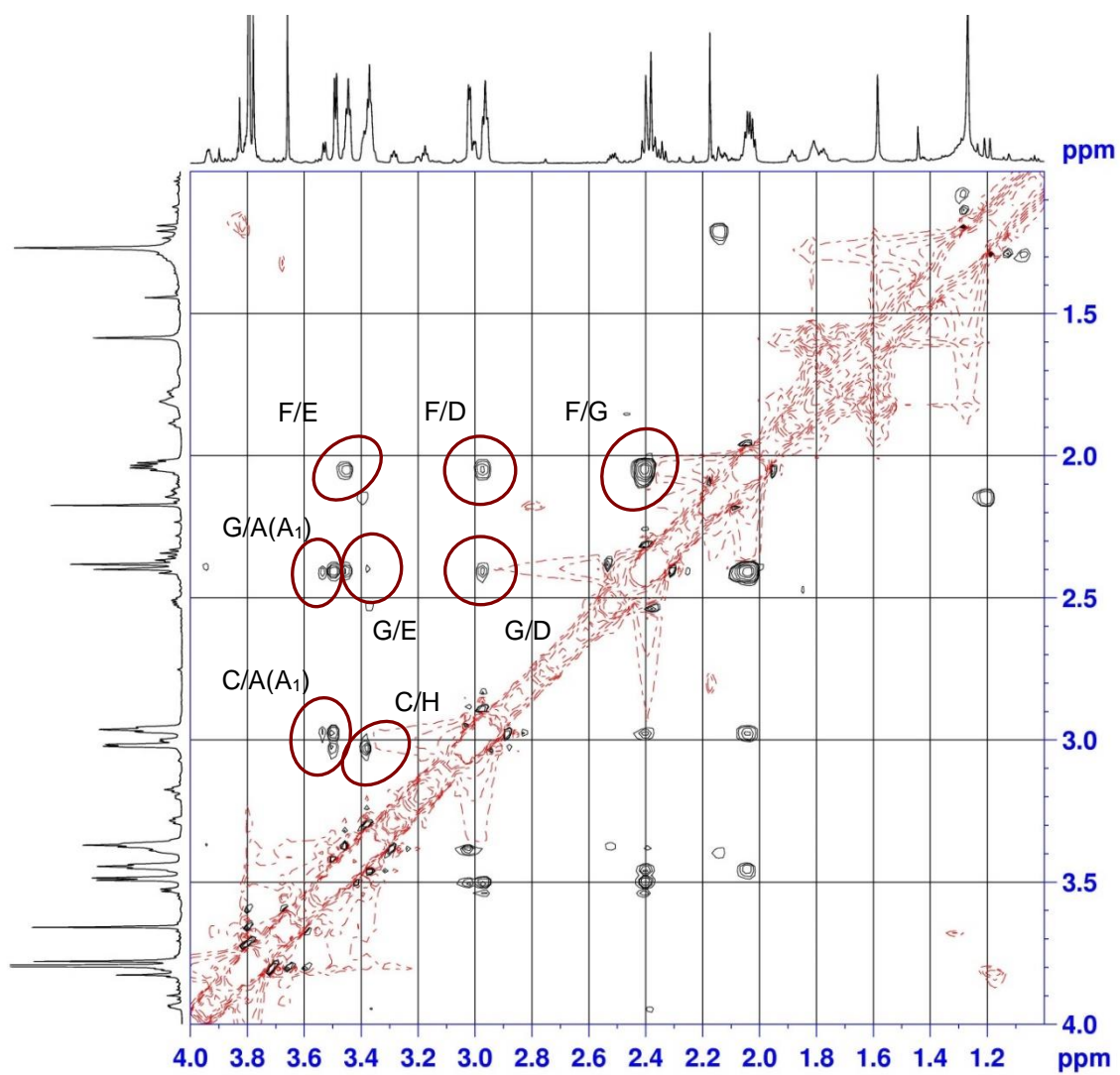
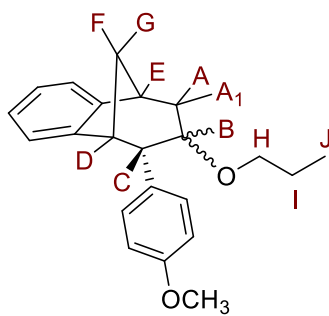
Slika 3.15. ^1H NMR spektar spojeva *endo-2* (a), *endo-12* (b) i *endo-21* (c).

Karakteristični signali benzobiciklo[3.2.1]oktadienskog skeleta spoja *endo-2* asignirani u navedenom području su: multiplet na 3,98 ppm za proton **C**, triplet na 3,38 ppm za proton **D** i dublet-dubleta na 3,29 ppm za proton **E**. Također, ovdje se geminalni protoni prikazuju kao multiplet u intervalu 2,49-2,53 ppm (**F**) i dublet na 2,37 ppm (**G**), te se međusobno sprežu njima karakterističnom konstantom od 9,9 Hz. Očekivano za ovu molekulu, singlet sa integralom 3H pripada protonima metoksi skupine, a nalazi se na kemijskom pomaku od 3,77 ppm.

NMR spektralnom analizom epoksida *endo-12* vidljiv je dublet protona **E** na 3,78 ppm, sa konstantom sprege 5,0 Hz, te dva tripleta koji odgovaraju protonima **A** i **B** na 3,43 i 3,35 ppm, sa konstantama sprege 4,0 i 3,8 Hz. Dubletom na 3,0 ppm, ija je konstanta sprege 4,0 Hz, i tripletom na 2,95 ppm, sa konstantom sprege od 5,0 Hz, prikazuju se protoni **C** i **D**, a multiplet protona **F** ovdje se nalazi na intervalu od 2,04 do 1,99 ppm. Značajnije promijene u polazaju nisu zabilježene za singlet protona metoksi skupine i dublet protona **G**.

U ¹H NMR spektru etera *endo-21* nije došlo do značajnih promjena kemijskog pomaka i oblika signala protona **C**, **D**, **G**, **F** i tri protona metoksi skupine, u odnosu na način njihova prikazivanja u spektar epoksida *endo-12*. Uz signale ovih protona asigniran je signal protona **E**, koji se prikazuje tripletom na 3,40 ppm, te signal protona **A/A₁**, također kao triplet na 3,36 ppm. Također, u ovom području na 3,51 ppm pojavljuje se kvartet integrala 2H, koji odgovara protonima **H**, te multiplet na intervalu 2,39-2,35 ppm sa integralom 4H.

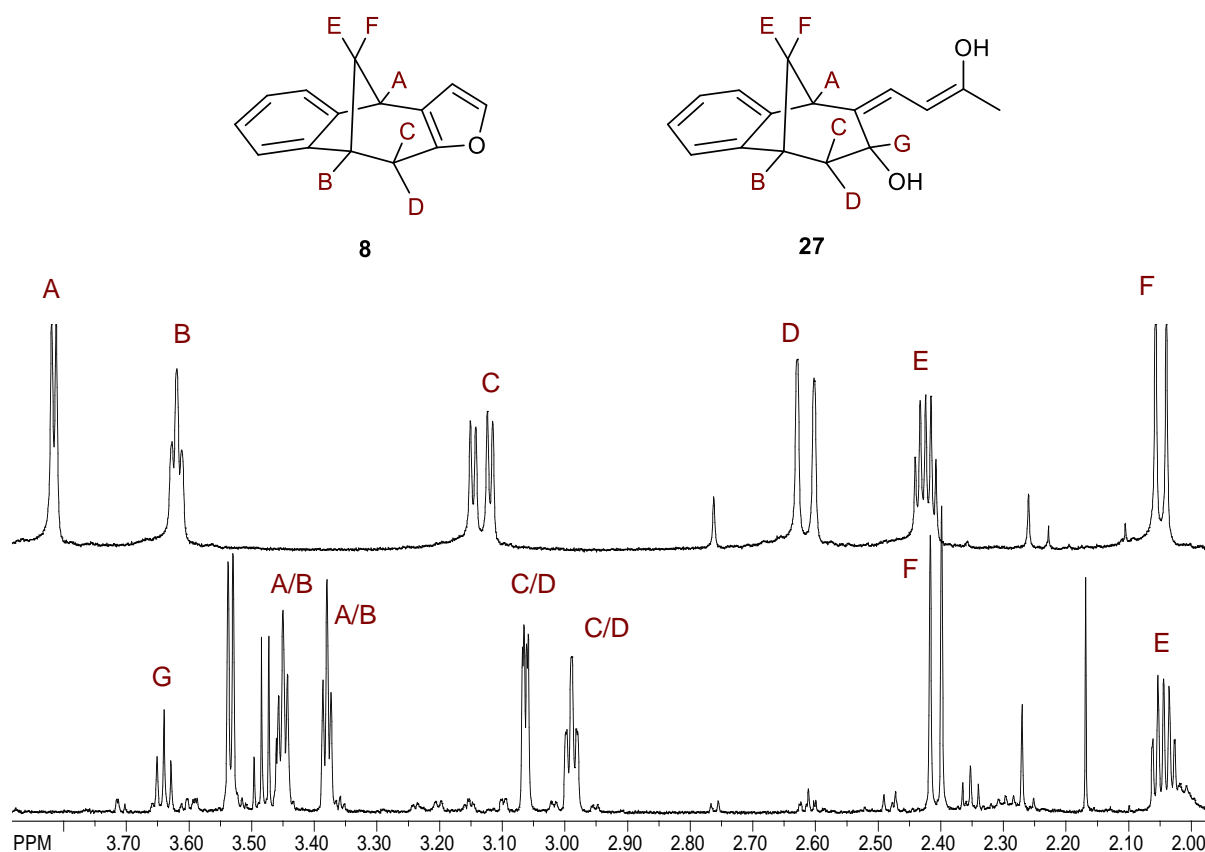
Na slici 3.16. prikazan je NOESY spektar odabranog etera *endo-21*. Vidljivo je da se proton **F** spreže sa protonima **E**, **D** i **G**. Također, može se uočiti sprega protona **G** sa protonima **D**, **E** i **A/A₁**, te protona **C** sa protonima **H** i **A/A₁**.



Slika 3.16. NOESY spektar spoja *endo-21*.

3.4.2. Spektroskopska karakterizacija dobivenih spojeva **8** i **26-34**

Na slici 3.17. prikazani su kao izdvojeni primjeri alifatski dijelovi ^1H NMR spektra početnog furanskog fotoproducta **8**⁷⁸ i konačnog spoja **27** čiji je furanski prsten otvoren. U spektru spoja **8** vidljivo je 6 signala, koji pripadaju alifatskim protonima bicikličkog skeleta, a njihovi karakteristični signali su sljedeći: tri dubleta, jedan dublet-dubleta, jedan triplet i jedan multipllet.



Slika 3.17. ^1H NMR spektar spojeva **8** (gore) i **27** (dolje).

^1H NMR spektri fotoproducta **26-34** sadrže gotovo identičan spektralni raspored, a fotoproduct **27** istaknut je kao primjer. Shodno tome, u alifatskom dijelu spektara spojeva **26-34** vidljivi su protonski signali na metano-mostu **E** i **F** koji se nalaze u NMR spektralnom području između 2,41 i 2,02 ppm te prikazuju opisane karakteristične signale: dublet sa konstantom sprege koja iznosi 10,9 Hz, te multipllet koji se nalazi između 2,06 i 2,02 ppm. Signali za protone na dvostrukoj vezi nalaze se u području između 6,79 i 6,26 ppm. Signali za protone **A**, **B**, **C**, **D** i **G** pojavljuju se kao jedan dublet, tri tripleta i jedan dublet-dubleta u području između 2,95 i 3,65 ppm. Sukladno sa shemom 3.9. i podacima iz NMR spektralne analize može se zaključiti

da je prilikom sinteze došlo do otvaranja furanskog prstena na prethodno istaknut način *a*, odnosno da se kisikov atom ne nalazi na bicikličkoj jezgri.

Niz novih derivata *endo-15-24* i *26-34*, uspješno je sintetiziran i okarakteriziran, a derivati dobiveni u dovoljnoj količini (minimalno 10 mg) dani su na ispitivanje inhibicije kolinesteraza. Karakterizira ih osnovni skelet kojeg imaju i mnogi primjeri istaknuti iz literature, te je bitno naglasiti da su ovi derivati dobiveni u jednom nizu reakcija u kojem se koristi fotokemijska metodologija, primjena svjetla, koja je puno jednostavniji način dobivanja složenih skeleta molekula iz jednostavnih početnih spojeva.

3.5. Biološka aktivnost dobivenih spojeva

U suradnji s Institutom za medicinska istraživanja i medicinu rada u Zagrebu provedeno je ispitivanje biološke aktivnosti novih epoksidnih, hidroksilnih i eterskih derivata benzobiciklo[3.2.1]-skeleta prikazanih na shemi 3.2., te acilnih derivata benzobiciklo[3.2.1]-skeleta prikazanih na slikama 3.11. i 3.12.

Rezultati ispitivanja u tablici 3.1. pokazuju veću učinkovitost inhibicije enzima AChE i BChE od njihovih nefunkcionaliziranih benzobiciklo[3.2.1]-derivata. Epoksid *endo-11* kao visoko reaktivan spoj pokazao se kao zadovoljavajući inhibitor AChE, unatoč potentnosti prema BChE, koja mu je trostruko veća. Otvaranje epoksidnog prstena rezultiralo je derivatima s većom selektivnošću prema enzimu BChE, no minimalnu inhibicijsku koncentraciju bilo je moguće procijeniti samo za etere (*endo-16*) i alkohole (*endo-19*) koji na svojoj *endo*-orijentiranoj benzenskoj jezgri nemaju vezan supstituent. Čini se kako metoksi-skupina u *para*-položaju na benzenskom prstenu (*endo-20* i *endo-21*) svojim elektron-donorskim djelovanjem narušava potrebne interakcije za inhibiciju. Zanimljivo je da su u istraživanju Mohammadi-Farani i suradnici sa sličnim spojevima koji sadrže metoksi-skupinu u *meta*-položaju na fenilnom prstenu zabilježili povećanje potencijala inhibicije AChE.⁷⁹ Stoga, u slučaju *endo-20* i *endo-21*, njihova *para*-metoksi-skupina vjerojatno ne bi bila u mogućnosti postići potrebnu stabilizaciju na aktivnom mjestu.

Tablica 3.1. IC₅₀ koncentracija epoksidnih, hidroksilnih i eterskih derivata benzobicyklo[3.2.1]-skeleta dobivenih za humane enzime AChE i BChE.

Spoj	IC ₅₀ / μ M	
	AChE	BChE
<i>endo-11</i>	62 \pm 8	22 \pm 5
<i>endo-12</i>	> 100	33 \pm 6
<i>endo-16</i>	> 100	17 \pm 2
<i>endo-19</i>	> 100	90 \pm 24
<i>endo-20</i>	270 \pm 110	> 500
<i>endo-21</i>	> 100	> 200

Usljed otvaranja heterocikličkog prstena prilikom reakcija aciliranja (shema 3.9.) dolazi do formiranja tautomera, te su produkti, zbog reakcijske ravnoteže, izolirani u manjim količinama zbog čega su samo neki dobiveni spojevi (izolirani u dovoljnim količinama od 10 mg), iz ove skupine spojeva testirani kao potencijalni inhibitori kolinesteraza. No, unatoč tome, dobivene su korisne informacije za cjelokupno istraživanje. Naime, acilirani produkt **27** pokazao je visoku anti-AChE aktivnost u odnosu na sve ispitivane spojeve (tablica 3.2.). Izgledno je da manja zasićena molekula s dvije jake nukleofilne skupine može bolje pridonijeti interakciji s aktivnim mjestom AChE.

Tablica 3.2. IC₅₀ koncentracija acilnih derivata benzobicyklo[3.2.1]-skeleta za AChE i BChE.

Spoj	IC ₅₀ / μ M	
	AChE	BChE
27	8.3 \pm 4.0	> 300
29	188 \pm 133	146 \pm 30

Glede inhibicijske selektivnosti spojeva, vidljivo je iz rezultata da se većina novih ispitanih spojeva pokazala selektivnija prema enzimu BChE nego prema AChE, iako inhibicijska sposobnost istih varira s njihovom funkcionalnošću. Budući dizajn inhibitora kolinesteraza u sklopu istraživanja za liječenje neuroloških poremećaja, poput AD, treba temeljiti na

fotoproduktima s benzobiciklo[3.2.1]oktenskom jezgrom i zasićenim alifatskim lancima, sličima spoju **27**.

4. EKSPERIMENTALNI DIO

4.1. Opće napomene

Korišten je komercijalno dostupan petroleter (PE), t.t. 40-60 °C. Otapala su pročišćena destilacijom. Kolonska kromatografija provedena je na koloni silikagela (Fluka 0,063-0,2 nm i Fluka 60 Å, tehnički stupanj). TLC je proveden upotrebom ploča obloženih silikagelom (0,2 mm, 0,5 mm, 1,0 mm, Kieselgel 60 F₂₅₄). Organski slojevi rutinski su osušeni bezvodnim MgSO₄, te upareni pomoću rotacijskog uparivača pod sniženim tlakom. ¹H i ¹³C NMR spektri snimljeni su na spektrometru frekvencije od 600 MHz. Svi NMR spektri mjereni su u CDCl₃, upotrebom tetrametilsilana (TMS) kao unutarnjeg standarda. Upotrijebljene su sljedeće kratice: s-singlet; d-dublet; t-triplet; q-kvartet; dd-dublet dubleta; m-multiplet i br-širok, PE-petroleter, E-dietil-eter. UV spektri snimljeni su na UV/VIS spektrofotometru. IR spektri zabilježeni su na FTIR-ATR i FTIR. Maseni spektri su dobiveni na GC-MS sustavu. HRMS analiza provedena je na masenom spektrometru (analizator MALDI TOF / TOF) opremljenim Nd: YAG laserom koji radi na 355 nm s brzinom pucanja 200 Hz u pozitivnom (H+) ili negativnom (H-) reflektoru.

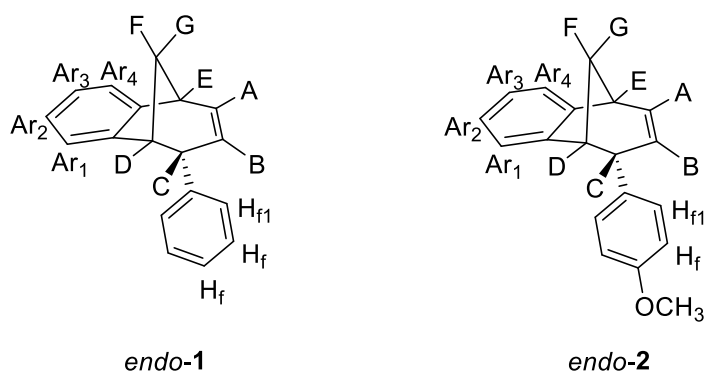
Spojevi *endo-1*⁷¹, *endo-2*⁸⁰ i **8**⁷⁸ pripremljeni su u našem istraživačkom laboratoriju fotokemijskom sintezom i prethodno objavljeni.

4.2. Wittigova reakcija

Difosfonijeva sol (5 mmol, 1 ekv) se otopi u 100 mL etanola, sušenog na sitima, u trogloj tikvici. Dodaje se odgovarajući aldehid (cimet aldehyd/ 4-metoksialdehyd) (1,1 ekv). Bitno je da sustav bude zatvoren, a sadržaj tikvice se miješa na magnetskoj miješalici i propuhuje dušikom. U lijevak za dokapavanje ulije se suhi etanol (10 mL) kojem se dodaju manji komadići natrija (1,1 ekv). Nastaje natrijev etoksid, koji se zatim dokapava u tikvicu. Nakon završetka dokapavanja, reakcijska smjesa se miješa sat vremena. Potom se uvodi *p*-formaldehid (1,00 g) na način da se zagrijava na temperaturu od 140°C pri čemu dolazi do njegove depolimerizacije, te on u struji dušika ulazi u tikvicu. Za to vrijeme se u tikvicu dokapava nova količina pripremljenog natrijevog etoksida. Dolazi do zamučjenja žute reakcijske smjese. Nakon što je uveden sav *p*-formaldehid i završeno dokapavanje natrijevog etoksida, sustav se zatvara i miješa na magnetskoj miješalici preko noći. Reakcijska smjesa se uprava na rotacionom uparivaču, te zaostaje uljasti produkt. Zatim se provodi ekstrakcija u sustavu toluena i vode, a organski sloj se suši na magnezijevom sulfatu, filtrira, te se otparava toluen. Suha reakcijska smjesa se pročišćava kolonskom kromatografijom na silikagelu uz petroleter kao eluens.

4.3. Fotokemijska sinteza

Smjesa izomera odgovarajućih produkata Wittigove reakcije pročišćava se argonom 20 minuta i ozračava u petroleteru (5×10^{-3} M) na 350 nm, u pyrex cijevi Rayonet reaktora, 4 sata. Otapalo je uklonjeno u vakuumu, a uljni talog pročišćen je kromatografijom na koloni silikagela, koristeći petroleter kao eluens.



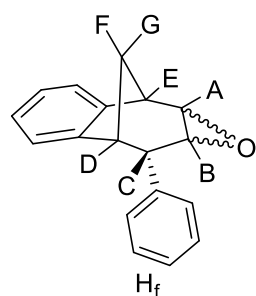
Nakon kolonske kromatografije, izolirano je 90% *endo-1* i 70% *endo-2*. Produkti visoke molekulske mase zadržani su na koloni.

endo-6-fenil-6,9-dihidro-5H-5,9-metano-benzociklohepten (endo-1), lit.⁷¹: bezbojni kristali; t.t. 51 °C; R_f 0,44 (petroleter); UV (EtOH) λ_{max} (log ϵ) 275 (2,88), 263 (2,90), 203 (4,46); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7,17-7,18 (m, 3H, H_f), 7,12 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, H_{Af4}), 7,03 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H_{Af3}), 6,81 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H_{Af2}), 6,73-6,76 (m, 2H, H_{fl}), 6,37 (dd, $J_{AB} = 9,5$ Hz; $J_{AE} = 6,0$ Hz; $J_{AC} = 2,5$ Hz, 1H, H_A), 6,18 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H, H_{Af1}), 5,33 (dt, $J_{AB} = 9,5$ Hz; $J_{BC} = 2,5$ Hz, 1H, H_B), 3,98 (m, 1H, H_C), 3,38 (t, $J_{CD} = J_{DF} = 4,7$ Hz, 1H, H_D), 3,29 (dd, $J_{AE} = 6,0$ Hz; $J_{EF} = 4,7$ Hz, 1H, H_E), 2,52 (dt, $J_{FG} = 9,9$ Hz; $J_{EF} = J_{DF} = 4,7$ Hz, 1H, H_F), 2,38 (d, $J_{FG} = 9,9$ Hz, 1H, H_G); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ /ppm: 152,27 (s), 142,44 (s), 141,93 (s), 132,71 (d), 128,21 (d), 127,60 (d), 126,34 (d), 126,10 (d), 126,05 (d), 125,97 (d), 124,89 (d), 120,03 (d), 48,59 (d), 46,29 (d), 44,13 (t, C_{FG}), 40,37 (d); MS m/z (EI) 232 (M⁺, 100%), 117 (25), 115 (10); HRMS (m/z) za C₁₈H₁₆: [M+H]⁺ izračunato 232,1634 i [M+H]⁺ izmjereno 232,1655.

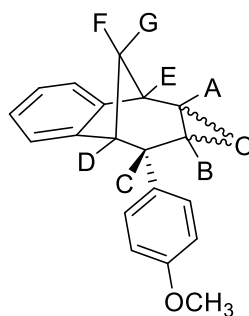
11-(4-metoksifenil)trciklo[6.3.1.0^{2,7}]dodeka-2,4,6,9-tetraen (endo-2), lit.⁸⁰: bezbojni kristali; t.t. 45-47 °C; R_f (petroleter/diklorometan = 8:2) = 0,27; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ /ppm: 7,11 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,03 (dt, 1H, $J = 7,3$; 1,0 Hz), 6,82 (dt, 1H, $J = 7,3$; 1,0 Hz), 6,72 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,64 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,32-6,36 (m, 1H), 6,25 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 5,28 (dt, 1H, $J = 9,6$; 2,6 Hz), 3,91-3,94 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,35 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz), 3,27 (dd, 1H, $J = 6,3$; 4,7 Hz), 2,49-2,53 (m, 1H), 2,37 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 75 MHz) δ /ppm: 157,6 (s), 152,0 (s), 141,7 (s), 134,2 (s), 134,1 (d), 128,8 (2d), 126,3 (d), 125,8 (d), 125,5 (d), 124,5 (d), 119,6 (d), 112,6 (2d), 52,4 (q), 48,2 (d), 45,0 (d), 43,7 (t), 40,3 (d); MS m/z (% fragment): 262 (100, M⁺), 154 (75), 115 (50); HRMS (m/z) for C₁₉H₁₈O: [M+H]⁺ izračunato 262,1352 i [M+H]⁺ izmjereno 262,1351.

4.4. Sinteza epoksidnih derivata

Epoksidni derivati *endo-11* i *endo-12* priređeni su reakcijom epoksidacije primjenom *meta*-klorperbenzojeve kiseline (*m*-CPBA). Fotoprodukti *endo-1* i *endo-2* otope se u 20 ml suhog dioksana te se doda *m*-CPBA. Reakcija se vodi na sobnoj temperaturi preko noći uz miješanje. Nakon završetka reakcije, provodi se ekstrakcija dodatkom zasićene otopine natrijevog hidrogenkarbonata i vode. Organski sloj se ispiri dva puta vodom i suši iznad MgSO₄, filtrira i uparava. Sirovi produkt se pročišćava kolonskom kromatografijom.



endo-11



endo-12

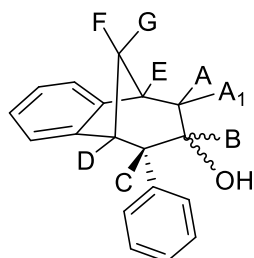
(2*R*,7*R*,8*S*)-8-fenil-1a,7,8,8a-tetrahidro-2*H*-2,7-metanobenzo[4,5]ciklohepta[1,2-*b*]-oksiren (*endo-11*): Prinos 61%; R_f (petroleter/diklorometan): 0,27; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,53 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz, Ar), 7,30 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz, Ar), 7,16 (t, 2H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 6,93 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 6,70 (dd, 2H, $J = 8,8$; 7,3 Hz, Ar), 6,26 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz, Ar), 3,54 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz, H_E), 3,45 (t, 1H, $J = 4,1$ Hz, H_A), 3,39 (t, 1H, $J = 3,9$ Hz, H_B), 3,07 (d, 1H, $J = 4,1$ Hz, H_C), 2,99 (t, 1H, $J = 5,0$ Hz, H_D), 2,41 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz, H_G), 2,07-2,02 (m, 1H, H_F); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 75 MHz) δ/ppm : 144,6 (s), 143,2 (s), 141,2 (s), 133,2 (d), 129,3 (d), 128,2 (2d), 127,3 (2d), 126,4 (d), 125,3 (d), 122,1 (d), 54,1 (d), 52,5 (d), 45,8 (d), 43,2 (t), 40,1 (d), 34,9 (t); MS m/z (% fragment) (EI): 248; HRMS (m/z) za $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato 249,1201 i $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno 249,1190.

(2*R*,7*R*,8*S*,8a*S*)-8-(4-metoksifenil)-1a,7,8,8a-tetrahidro-2*H*-2,7-metanobenzo[4,5]ciklohepta[1,2-*b*]oksiren (*endo-12*): Prinos 50%; R_f (petroleter): 0,13; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,29 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 7,16 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, Ar), 6,95 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz, Ar), 6,75 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, Ar), 6,61 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz, Ar), 6,32 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 3,79 (s, 3H, OCH_3), 3,48 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz, H_E), 3,44 (t, 1H, $J = 4,0$ Hz, H_A), 3,36 (t, 1H, $J = 3,8$ Hz, H_B), 3,00 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz, H_C), 2,95 (t, 1H, $J = 5,0$ Hz, H_D), 2,38 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz, H_G), 2,05-2,00 (m, 1H, H_F); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 152,5 (s), 142,9 (s), 135,9 (s), 133,8 (s), 129,6 (2d), 126,8 (d), 126,7 (d), 125,8 (d), 122,5 (d), 113,8 (2d), 55,2 (d), 54,2 (d), 53,2 (q), 44,8 (d), 42,9 (t), 40,6 (d), 35,3 (d); MS m/z (% fragment) (EI): 278; HRMS (m/z) za $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato 279,1306 i $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno 279,1325.

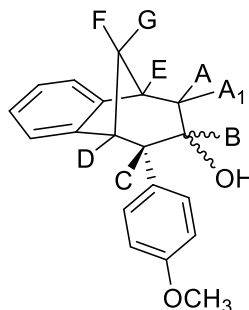
4.5. Otvaranje epoksidnog prsten

Otopini početnog epoksida (0,8 g) u THF-u dodan je litij-aluminij-hidrid (2,5 ekv.). Smjesa se 24 sata miješa na magnetskoj mješalici na refluksu od 76°C. Nakon završetka reakcije, doda se

NaHCO₃ i pH podešava na 7. Vodeni sloj dva puta se ispiri dietil-eterom. Organski sloj se suši iznad MgSO₄, filtrira i uparava. Sirovi produkt se pročišćava kolonskom kromatografijom koristeći petroleter/diklorometan kao eluens.



endo-13



endo-14

(6*S*)-6-fenil-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulen-7-ol (*endo-13*): Prinos 40%; *R_f* (petroleter/ diklorometan 40%): 0,20; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm 8,00-7,30 (m, 4H, Ar), 6,93-6,20 (m, 5H, Ar), 4,13 (m, 1H, H_B) 3,40 (dd, 1H, *J* = 12,7, 4,7 Hz, H_{A/A1/E}) 3,20 (t, 1H, *J* = 4,5 Hz, H_{A/A1/E}), 3,14 (d, 1H, *J* = 4,5 Hz, H_{A/A1/E}), 2,56 (d, 1H, *J* = 10,8 Hz, H_G), 2,35 (s, 1H, OH), 2,25-2,20 (m, 1H, H_F) 1,63 (d, 1H, *J* = 4,8 Hz, H_{C/D}), 1,60 (d, 1H, *J* = 4,8 Hz, H_{C/D}); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm: 143,8 (s), 142,3 (s), 133,9 (s), 129,3 (d), 128,9 (d), 127,6 (d), 127,2 (2d), 126,5 (d), 124,3 (2d), 122,1 (d), 68,1 (d), 63,9 (t), 47,9 (d), 47,0 (d), 41,5 (d), 38,7 (t); MS *m/z* (% fragment) (EI): 250; HRMS (*m/z*) za C₁₈H₁₈O: [M+H]⁺ izračunato 251,1357 i [M+H]⁺ izmjereno 251,1349.

(5*R*,6*S*,9*S*)-6-(4-metoksifenil)-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulen-7-ol

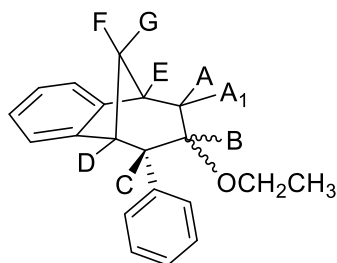
(*endo-14*): Prinos 35%; *R_f*(petroleter/ diklorometan): 0,20; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm 7,85-7,32 (m, 3H, Ar), 6,98-6,24 (m, 5H, Ar), 4,31-4,28 (m, 1H, H_B) 3,79 (s, 1H, OCH₃) 3,65-3,63 (m, 1H, H_{A/A1/E}) 3,44 (t, 1H, *J* = 4,4 Hz, H_{A/A1/E}), 3,36 (t, 1H, *J* = 3,8 Hz, H_{A/A1/E}), 3,01 (dd, 1H, *J* = 4,0, 1,4 Hz, H_{C/D}), 2,96 (t, 1H, *J* = 5,2 Hz, H_{C/D}) 2,38 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz, H_G), 2,27 (s, 1H, OH), 2,05-2,00 (m, 1H, H_F); MS *m/z* (% fragment) (EI): 280; HRMS (*m/z*) za C₁₉H₂₀O₂: [M+H]⁺ izračunato 281,1463 i [M+H]⁺ izmjereno 281,1609.

4.6. Sinteza etera iz alkohola

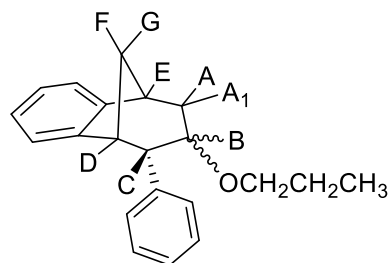
Alkohol dobiven cijepanjem epoksida (0,05 g) otopljen je u acetonu (2 ml) te je dodan K₂CO₃ (1,5 ekv) i odgovarajući alkilbromidi (1,1 ekv). Smjesa se miješa na magnetskoj mješalici 24 sata na refluku od 56°C. Nakon završetka reakcije dodaje se voda i dietil-eter. Organski sloj

se suši iznad MgSO₄, filtrira i uparava. Sirovi materijal je pročišćen kolonskom kromatografijom koristeći petroleter/diklorometan kao eluens.

Neassignirani spojevi nisu uspješno izolirani u čistom obliku.



endo-15

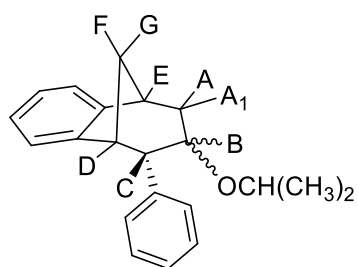


endo-16

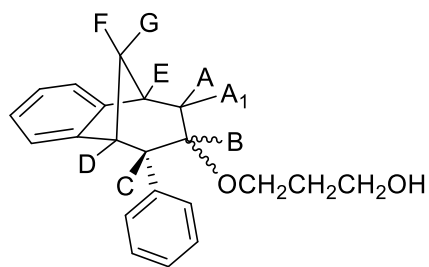
(5*R*,6*S*,9*S*)-7-etoksi-6-fenil-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulen (*endo-15*): Prinos 20%; *R_f* (petroleter/diklorometan): 0,52; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7,72 (d, 1H, *J* = 7,3 Hz), 7,33-7,19 (m, 4H), 7,05-7,01 (m, 2H), 7,14 (t, 1H, *J* = 7,4 Hz), 6,74 (t, 1H, *J* = 7,3 Hz), 4,16-4,11 (m, 2H), 3,35-3,30 (m, 2H), 3,01 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz), 2,18-2,13 (m, 1H), 2,09-2,07 (m, 1H), 1,89 (dd, 2H, *J* = 15,2, 4,5 Hz), 1,76-1,73 (t, 3H, *J* = CH₃); MS *m/z* (% fragment) (EI): 280 (100).

((5*R*,6*S*,9*S*)-6-fenil-7-propoksi-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulen

(*endo-16*): Prinos 40%; *R_f* (petroleter/diklorometan): 0,57; ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ/ppm: 7,42 (t, 1H, *J* = 7,5 Hz), 7,33 (d, 1H, *J* = 7,1 Hz), 7,28 (d, 2H, *J* = 7,9 Hz), 7,23 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 7,14 (t, 2H, *J* = 7,9 Hz), 6,48 (d, 1H, *J* = 7,1 Hz), 4,68-4,63 (m, 2H), 4,19-4,14 (m, 2H), 3,31 (m, 2H), 3,03 (d, 1H, *J* = 11,0 Hz), 2,18-2,13 (m, 1H), 2,09-2,07 (m, 1H), 1,89 (dd, 2H, *J* = 15,2; 4,5 Hz), 1,71 (d, 1H, *J* = 10,5 Hz), 1,28 (t, 3H, *J* = 6,9 Hz, CH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ/ppm: 145,3 (s), 145,1 (s), 144,3 (s), 127,6 (d), 127,5 (2d), 126,9 (d), 126,6 (2d), 125,7 (d), 124,5 (d), 122,5 (d), 68,8 (d), 53,3 (d), 47,5 (t), 46,8 (d), 39,7 (t), 36,9 (t), 33,8 (t), 32,4 (d), 25,5 (q); MS *m/z* (% fragment) (EI): 292 (100); HRMS (*m/z*) za C₂₁H₂₄O: [M+H]⁺ izračunato 293,1827 i [M+H]⁺ izmjereno 293,1846.



endo-17



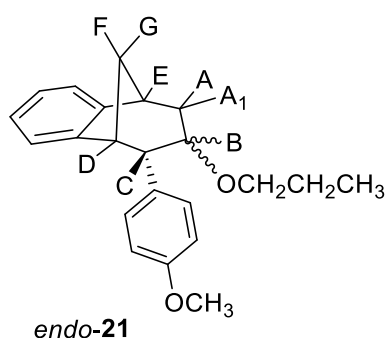
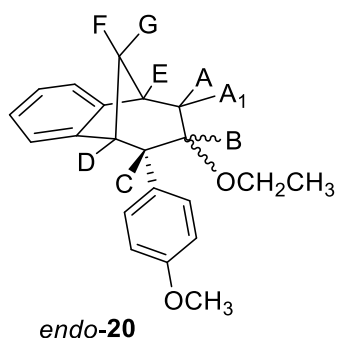
endo-19

(5*R*,6*S*,9*S*)-7-izopropoksi-6-fenil-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulene

(*endo*-17): Prinos 50%; R_f (petroleter/diklorometan) = 0,55; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,33 (t, 1H, $J = 7,0$ Hz), 7,30-7,28 (m, 1H), 7,23 (t, 3H, $J = 7,7$ Hz), 7,14 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 6,98 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 6,47 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz), 4,19-4,14 (m, 1H), 3,50-3,46 (m, 1H, izopropil-CH), 3,24-3,20 (m, 2H), 2,98 (d, 1H, $J = 11,1$ Hz), 2,17-2,12 (m, 1H), 2,06-2,01 (m, 1H), 1,81 (dd, 1H, $J = 15,0$; 4,3 Hz), 1,67 (d, 1H, $J = 15,0$ Hz), 1,29 (br s, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145,4 (s), 145,2 (s), 144,3 (s), 127,5 (2d), 126,9 (d), 126,8 (d), 126,5 (2d), 125,7 (d), 124,8 (d), 122,5 (d), 68,8 (d), 53,3 (d), 46,8 (d), 43,2 (d), 39,7 (d), 36,9 (t), 34,1 (t), 27,4 (2q); MS m/z (% fragment) (EI): 292 (100); HRMS (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato 293,1827 i $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno 293,1814.

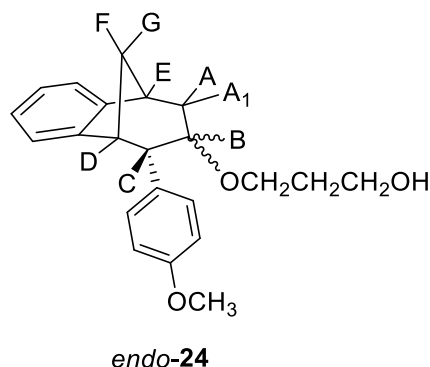
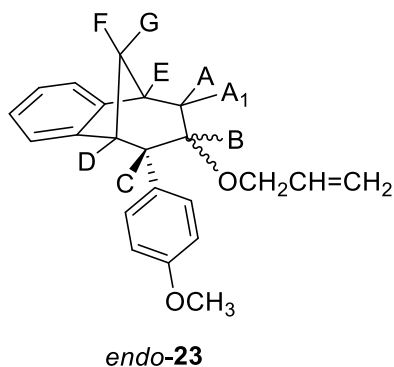
3-(((5*R*,6*S*,9*S*)-6-fenil-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulen-7-il)oksi)propan-

1-ol (*endo*-19): Prinos 45%; R_f (petroleter/diklorometan): 0,50; ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm 7,28 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 7,21-7,18 (m, 3H, Ar), 7,15 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 6,92 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 6,69 (dd, 2H, $J = 6,6$; 3,3 Hz, Ar), 6,24 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz, Ar), 3,57-3,44 (m, 4H), 3,52 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz, H_B), 3,44 (t, 1H, $J = 4,2$ Hz, H_E), 3,37 (t, 1H, $J = 3,8$ Hz, $\text{H}_{\text{A/A}_1}$), 3,05 (dd, 1H, $J = 4,2$ Hz, H_C), 2,98 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz, H_D), 2,40 (d, 1H, $J = 10,7$ Hz, H_G), 2,11-2,06 (m, 1H, $\text{H}_{\text{A/A}_1}$), 2,06-2,01 (m, 1H, H_F), 1,42 (s, 1H, OH), 1,24 (br s, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz) δ/ppm : 145,2 (s), 143,5 (s), 141,7 (s), 128,6 (2d), 127,7 (2d), 126,8 (d), 126,3 (d), 126,0 (d), 125,7 (d), 122,5 (d), 68,2 (d), 54,5 (t), 52,9 (d), 50,4 (t), 45,9 (d), 43,7 (d), 40,6 (t), 39,9 (t), 35,5 (t); MS m/z (% fragment) (EI): 308; HRMS (m/z) za $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{O}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato 309,1776 i $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno 309,4140.



(5*R*,6*S*,9*S*)-7-etoksi-6-(4-metoksifenil)-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo-[7]anulen (*endo-20*): Prinos 20%; R_f (petroleter/diklorometan): 0,67; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm 7,30 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,17 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,96 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,76 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,62 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,33 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 3,79 (s, 3H), 3,51-3,48 (m, 2H), 3,45 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz), 3,38 (t, 1H, $J = 4,2$ Hz), 3,03 (d, 1H, $J = 4,2$ Hz), 2,97 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz), 2,38-2,33 (m, 2H), 2,39 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz), 2,06-2,01 (m, 1H), 1,27 (s, 3H); MS m/z (% fragment) (EI): 308 (100).

(5*R*,6*S*,9*S*)-6-(4-metoksifenil)-7-propoksi-6,7,8,9-tetrahidro-5*H*-5,9-metanobenzo[7]anulen (*endo-21*): Prinos 35%; R_f (petroleter/diklorometan): 0,57; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ /ppm 7,21 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 7,08 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz), 6,87 (t, 1H, $J = 7,4$ Hz), 6,67 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,53 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,24 (d, 1H, $J = 7,3$ Hz), 3,70 (s, 3H, OCH₃), 3,51 (q, 2H, $J = 6,6$ Hz), 3,40 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz), 3,36 (t, 1H, $J = 4,3$ Hz), 2,93 (d, 1H, $J = 3,7$ Hz), 2,87 (t, 1H, $J = 4,9$ Hz), 2,39-2,35 (m, 4H), 2,30 (d, 1H, $J = 10,8$ Hz), 1,99-1,96 (m, 1H), 1,18 (br s, 3H); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 150 MHz) δ /ppm: 157,5 (s), 144,5 (s), 143,2 (s), 133,5 (s), 129,2 (d), 127,1 (d), 126,4 (2d), 126,2 (d), 122,1 (2d), 112,6 (d), 54,7 (d), 54,0 (d), 52,7 (d), 45,5 (d), 42,4 (d), 40,1 (d), 34,7 (t), 30,4 (q); MS m/z (% fragment) (EI): 322; HRMS (m/z) za $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_2$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato 323,1932 i $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno 323,4406.



(5R,6S,9S)-7-(aliloksi)-6-(4-metoksifenil)-6,7,8,9-tetrahidro-5H-5,9-metanobenzo[7]

anulen (endo-23): R_f (diklorometan): 0,88; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,12 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 7,04 (td, 1H, $J = 7,6$; 1,1 Hz), 6,83 (td, 1H, $J = 7,6$; 1,1 Hz), 6,81 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 6,73 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,65 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,56 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 6,35 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,25 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 5,29 (dt, 1H, $J = 9,6$; 1,9 Hz), 4,27 (dd, 1H, $J = 5,7$ Hz), 3,95-3,92 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,41-3,37 (m, 1H), 3,36 (t, 1H, $J = 4,9$ Hz), 3,28 (dd, 1H, $J = 6,8$; 4,7 Hz), 3,17 (t, 1H, $J = 4,7$ Hz), 2,53-2,48 (m, 1H), 2,37 (d, 1H, $J = 10,1$ Hz), 1,45-1,49 (m, 1H).

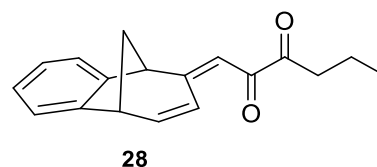
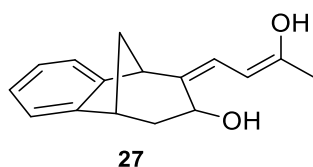
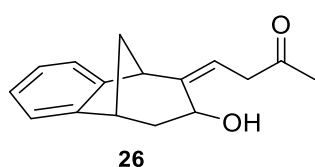
3-(((5R,6S,9S)-6-(4-metoksifenil)-6,7,8,9-tetrahidro-5H-5,9-metanobenzo-[7]anulen-7-

il)oksi)propan-1-ol (endo-24): Prinos 15%; R_f (petroleter/diklorometan): 0,64; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm 6,95 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 6,82 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz), 6,75 (t, 1H, $J = 7,3$ Hz), 6,71 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz, Ar), 6,63 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz, Ar), 6,46 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz, Ar), 4,20-4,16 (m, 1H), 3,72-3,66 (m, 4H, CH_2CH_2), 3,64 (s, 3H, OCH_3), 3,53 (t, 1H, $J = 4,8$ Hz), 3,31-3,25 (m, 1H), 2,96 (s, 1H, OH), 2,57 (dt, 1H, $J = 14,3$; 3,4 Hz), 2,44-2,39 (m, 1H), 2,28-2,23 (m, 1H), 2,04-1,97 (m, 2H), 1,17 (br s, 2H); MS m/z (% fragment) (EI): 338; HRMS (m/z) for $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_3$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ izračunato 339,1881 i $[\text{M}+\text{H}]^+$ izmjereno 339,4404.

4.7. Friedel-Craftsovo aciliranje

Otopini spoja **8**⁷⁸ (100 mg, 0,510 mol) u diklorometanu (2 ml) dodaje se AlCl_3 (68 mg, 0,510 mol) te odgovarajući karbonil-kloridi (1,1 ekv.). Reakcija je izvedena u *sealed tube*-u. Reakcijska smjesa se ostavlja preko noći na sobnoj temperaturi. Nakon uklanjanja otapala, nastali talog ponovno se pročišćava kromatografijom na koloni koristeći smjesu petroleter/diklorometan kao eluens. Svi dobiveni spojevi **25-32** izolirani su u prvim frakcijama.

Neassignirani spojevi nisu uspješno izolirani u čistom obliku.



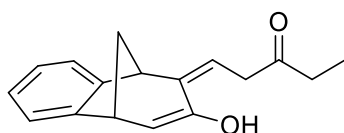
(Z)-4-(((5R,9R)-7-hidroksi-5,7,8,9-tetrahidro-6H-5,9-metanobenzo[7]anulen-6-iliden)-

butan-2-on (26): 16 mg (13 %); žuto ulje; R_f (diklorometan): 0,5; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 7,54 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{Ar}), 7,29 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{Ar}), 7,14 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{Ar}), 7,10 (d, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{Ar}), 6,79 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,62 (d, 1H, $J = 3,6$ Hz), 3,24 (t, 1H,

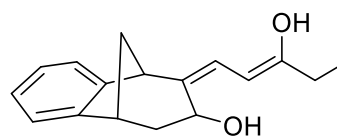
$J = 6,6$ Hz), 3,01 (d, 1H, $J = 4,6$ Hz), 2,45 (m, 1H), 2,28 (s, 1H, -OH), 2,31 (d, 1H, $J = 10,7$ Hz), 2,29 (m, 2H), 2,06-2,02 (m, 1H), 1,95 (s, 3H); MS m/z (% fragment) (EI): 242 (100); HRMS (m/z) za $C_{16}H_{18}O_2$: $[M+H]^+$ izračunato 243,1306 i $[M+H]^+$ izmjereno 243,3129.

(5R,9R,Z)-6-((Z)-3-hidroksibut-2-en-1-iliden)-6,7,8,9-tetrahidro-5H-5,9-metano-benzo[7]anulen-7-ol (27): 2 mg (2 %); žuto ulje; R_f (diklormetan/petroleter 70%): 0,10; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7,30 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{Ar}), 7,16 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{Ar}), 6,93 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz, H_{Ar}), 6,70 (m, 2H), 6,26 (d, $J = 7,3$ Hz, 1H), 3,53 (d, 1H, $J = 5,1$ Hz), 3,45 (t, 1H, $J = 4,4$ Hz), 3,38 (t, 1H, $J = 3,9$ Hz), 3,06 (dd, 1H, $J = 4,0; 1,5$ Hz), 2,99 (t, 1H, $J = 5,1$ Hz), 2,41 (d, 1H, $J = 10,9$ Hz), 2,10 (s, 1H, OH), 2,06-2,02 (m, 1H), 1,53 (s, 3H); MS m/z (% fragment) (EI): 242 (100); HRMS (m/z) za $C_{16}H_{18}O_2$: $[M+H]^+$ izračunato 243,1306 i $[M+H]^+$ izmjereno 243,3131.

(E)-1-((5S,9R)-5,9-dihidro-6H-5,9-metanobenzo[7]anulen-6-iliden)heksa-2,3-dion (28): 42 mg (31 %); žuto ulje; R_f (diklormetan): 0,40; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 8,07 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H_{Ar}), 7,83 (d, 1H, $J = 7,9$ Hz, H_{Ar}), 7,13-7,09 (m, 2H), 6,26 (dd, 1H, $J = 6,8; 1,8$ Hz), 6,02 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,91 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,25-4,19 (m, 2H), 3,55-3,51 (m, 2H), 2,71 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 2,35-2,31 (m, 2H), 2,04-2,01 (m, 1H), 1,63 (s, 3H); MS m/z (% fragment) (EI): 266 (100); HRMS (m/z) za $C_{18}H_{18}O_2$: $[M+H]^+$ izračunato 267,1306 i $[M+H]^+$ izmjereno 267,3343.



29

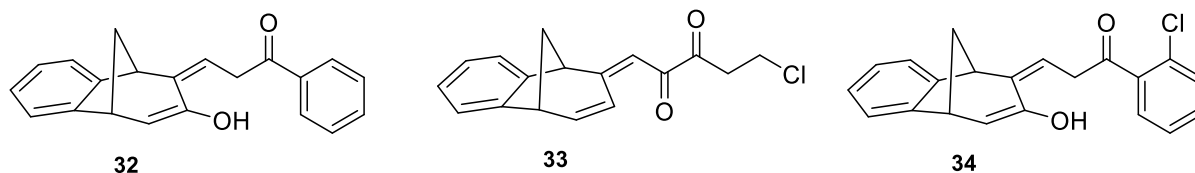


30

(Z)-1-((5R,9R)-7-hidroksi-5,9-dihidro-6H-5,9-metanobenzo[7]anulen-6-iliden)-pentan-3-on (29): 76 mg (59 %); žuto ulje; R_f (diklormetan): 0,29; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 8,04 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz, H_{Ar}), 7,93 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz, H_{Ar}), 7,50 (t, 1H, $J = 7,7$ Hz, H_{Ar}), 7,16 (m, 1H, H_{Ar}), 6,30 (dd, 1H, $J = 3,1; 1,9$ Hz), 6,10 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz), 4,59 (d, 1H, $J = 6,3$ Hz), 4,42 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz), 4,33 (s, 1H, OH), 4,10-4,07 (m, 2H), 2,28 (d, 1H, $J = 11,5$ Hz), 1,93-1,83 (m, 1H), 1,80-1,69 (m, 2H), 1,00 (t, 3H, $J = 5,4$ Hz); MS m/z (% fragment) (EI): 254 (100); HRMS (m/z) za $C_{17}H_{18}O_2$: $[M+H]^+$ izračunato 255,1306 i $[M+H]^+$ izmjereno 255,3236.

(9Z)-9-[(Z)-3-hidroksipent-2-eniliden]triciklo[6.3.1.0(2,7)]dodeka-2(7),3,5-trien-10-ol (30): 8,9 mg (12 %); žuto ulje; R_f (diklormetan/petroleter 20%): 0,73; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ/ppm : 7,44-7,02 (m, 4H), 6,64 (m, 1H), 6,27 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz), 3,63 (q, 2H, $J = 6,8$ Hz), 3,51

(d, 1H, $J = 4,5$ Hz), 3,44 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz), 3,37 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz), 2,99 (dd, 1H, $J = 3,0; 1,5$ Hz), 2,95 (t, 1H, $J = 4,5$ Hz), 2,38 (d, 1H, $J = 10,6$ Hz), 2,05-2,02 (m, 1H), 1,56 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz); MS m/z (% fragment) (EI): 256 (100).



(Z)-3-((5R,9R)-7-hidroksi-5,9-dihidro-6H-5,9-metanobenzo[7]anulen-6-iliden)-1-fenilpropan-1-on (32): 59.3 mg (38 %); bezbojno ulje; R_f (diklormetan): 0,38; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8,01 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz, H_{Ar}), 7,90 (t, 2H, $J = 8,9$ Hz, H_{Ar}), 7,71 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H_{Ar}), 7,68 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H_{Ar}), 7,50-7,43 (m, 3H, H_{Ar}), 6,30 (m, 1H), 6,10 (d, 1H, $J = 3,3$ Hz), 4,71 (s, 1H, OH), 4,58 (d, 1H, $J = 4,3$ Hz), 4,39 (d, 1H, $J = 4,9$ Hz), 4,12 (t, 2H, $J = 4,9$ Hz), 2,40 (d, 1H, $J = 10,5$ Hz), 2,33-2,28 (m, 1H); MS m/z (% fragment) (EI): 302 (100).

(E)-5-klor-1-((5S,9R)-5,9-dihidro-6H-5,9-metanobenzo[7]anulen-6-iliden)penta-2,3-dion (33): 7,5 mg (7,3 %); bezbojno ulje; R_f (diklormetan): 0,42; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8,01 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_{Ar}), 7,13 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz, H_{Ar}), 7,10-7,05 (m, 2H, H_{Ar}), 6,26 (dd, 1H, $J = 6,5; 1,6$ Hz), 6,14 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 5,98 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 4,25-4,19 (m, 2H), 3,55 (m, 2H), 2,71 (d, 1H, $J = 11,1$ Hz), 2,33 (m, 2H), 2,07-2,03 (m, 1H); MS m/z (% fragment) (EI): 286 (100), 288 (32).

(Z)-1-(2-klorfenil)-3-((5R,9R)-7-hidroksi-5,9-dihidro-6H-5,9-metanobenzo[7]anulen-6-iliden)propan-1-on (34): 9,5 mg (8 %); bezbojno ulje; R_f (diklormetan): 0,40; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 600 MHz) δ/ppm : 8,02 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz, H_{Ar}), 7,90 (t, 2H, $J = 9,2$ Hz, H_{Ar}), 7,81 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz, H_{Ar}), 7,70 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz, H_{Ar}), 7,50-7,43 (m, 3H, H_{Ar}), 6,28 (dd, 1H, $J = 3,2; 1,8$ Hz), 6,08 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz), 4,55 (d, 1H, $J = 6,1$ Hz), 4,21 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz), 3,98 (t, 2H, $J = 6,1$ Hz), 3,18 (s, 1H, -OH), 2,03-1,99 (m, 2H); MS m/z (% fragment) (EI): 336 (100), 338 (32).

5. ZAKLJUČAK

Wittigovom reakcijom sintetizirani su geometrijski izomeri spojeva **9**, **10** i **25** koji su, kao smjese izomera, fotokemijskim zatvaranjem na valnoj duljini od 350 nm prevedeni u benzobiciklo[3.2.1]oktadienske analoge **1**, **2** i **8**. Njihova daljnja funkcionalizacija provedena je epoksidacijom, epoksidnim otvaranjem i Friedl-Craftsovim aciliranjem u svrhu dobivanja epoksida, etera i alkohola **11-24** te acilnih derivata **26-34**. Mehanizam otvaranja epoksida **11** i **12** objašnjen je računalnim simulacijama, a svi konačni funkcionalizirani produkti okarakterizirani su NMR spektroskopijom i masenom spektrometrijom. Spojevi izolirani u većim količinama testirani su kao potencijalni inhibitori humanih kolinesteraza te se pokazalo da je inhibicijska aktivnost većine spojeva selektivnija prema BChE, nego što je prema AChE enzimu. Za potrebe budućeg dizajna inhibitora kolinesteraza u sklopu liječenja neuroloških poremećaja poput Alzheimerove bolesti, prema vrlo korisnim dobivenim rezultatima, valja nastaviti s istraživanjem fotoprodukata s benzobiciklo[3.2.1]oktenskom jezgrom i zasićenim alifatskim lancima, sličnima strukturi acilnog derivata **27**.

6. ZAHVALE

Zahvaljujemo se našoj mentorici prof. dr. sc. Ireni Škorić na stručnom vodstvu, danim savjetima i pruženoj potpori tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujemo se Ani Grgičević, mag. appl. chem. na susretljivosti, uloženom trudu i strpljivosti u prenošenju znanja za vrijeme izrade ovog rada.

Zahvaljujemo se dr. sc. Danijeli Barić sa Instituta Ruđer Bošković na suradnji kod računalnog modeliranja.

Zahvaljujemo se dr. sc. Zrinki Kvarik sa Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada na suradnji kod ispitivanja biološke aktivnosti spojeva.

Također, hvala svim djelatnicima Zavoda za organsku kemiju na ugodnom radnoj atmosferi i pristupačnosti.

7. LITERATURA

1. McGleenon, B. M., Dynan K. B., Passmore A. P., *Br J Clin Pharmacol*, **48** (1999) 471-480.
2. Anand P., Singh B., Singh N., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **20** (2012) 1175–1180.
3. <https://alzheimer.hr/ucionica/to-je-to-alzheimerova-bolest/> (pristup: 13. veljače 2020.)
4. Roberson, M. R., Harrell, L. E., *Brain Res. Rev.*, **25** (1997) 50-69.
5. a) Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., Lippa, A. S., *Science* **217** (1982), 408. b) Dunnett, S. B., Fibiger, H. C., *Prog. Brain Res.*, **98** (1993) 413-420.
6. Hardy, J., Selkoe, D. J., *Science*, **297** (2002) 353-356.
7. a) Soreq, H., Seidman, S., *Nat. Rev. Neurosci.*, **2** (2001) 294. b) Pera, M., Martínez-Otero, A., Colombo, L., Salmona, M., Ruiz-Molina, D., Badia, A., Clos, M. V., *Mol. Cell Neurosci.*, **40** (2009) 217-224.
8. Perry, E., Walker, M., Grace, J., Perry, R., *Trends Neurosci.*, **22** (1999) 273-280.
9. Voet, D., Voet, J., *Biochemistry*, John Wiley and Sons: New York, 1995.
10. Čolović, M. B., Krstić, D. Z., Lazarević-Pašti, T. D., Bondžić, A. M., Vasić, V. M., *Curr. Neuropharmacol.*, **11**(3) (2013) 315–335.
11. Katzung, B.G., *Basic and clinical pharmacology*, The McGraw Hill Companies: Columbus, USA, 2001, pp. 75-91.
12. Barnard, E.A., In: *The Peripheral Nervous System*; Hubbard, J.I., Ed., Plenum: New York, 1974; pp. 201-224.
13. Bosak, A., Katalinić, M., Kovarik, Z., *Arh. Hig. Rada Toksikol.*, **62**(2) (2011) 175–190.
14. Stedman, E., Stedman, E., Easson, L.H., *Biochem. J.*, **26** (1932) 2056–2066.
15. *Enzyme Nomenclature, Recommendations of the Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology on the Nomenclature and Classification of Enzymes*. San Diego (CA): Academic Press Inc., 1992.
16. T. L. Rosenberry, X. Brazzolotto, I. R. Macdonald, M. Wandhammer, M. Trovaslet-Leroy, S. Darvesh, F. Nachon, *Molecules* **22** (2017) 2098.
17. Manavalan, P., Taylor, P., Johnson Jr., W.C., *BBA- Protein Struct. M.*, **829**(3) (1985) 365-370.
18. Nachmansohn, D., Wilson, I.B., *Adv. Enzymol.*, **12** (1951) 259-339.
19. Wilson, I.B., Quan, C., *Arch. Biochem. Biophys.*, **73** (1958) 131-143.
20. Mooser, G., Sigman, D.S., *Biochemistry*, **13** (1974) 2299-2307.
21. Froede, H.C., Wilson, I.B., Academic Press: New York, **5** (1971), pp. 87114.

22. a) Radic, Z., Gibney, G., Kawamoto, S., MacPhee-Quigley, K., Bongiorno, C., Taylor, P., *Biochemistry*, **31** (1992) 9760-9767. b) Ordentlich, A., Barak, D., Kronman, C., Ariel, N., Segall, Y., Velan, B., Shafferman, A., *J. Biol. Chem.*, **270** (1995) 2082-2091. c) Ariel, N., Ordentlich, A., Barak, D., Bino, T., Velan, B., Shafferman, A., *J. Biochem.*, **335** (1998) 95-102.
23. Tougu, V., *Curr. Med. Chem.-CNS Agents*, **1** (2001) 155-170.
24. Taylor, P., Lappi, S., *Biochemistry*, **14** (1975) 1989-1997.
25. Kaplan, D., Ordentlich, A., Barak, D., Ariel, N., Kronman, C., Velan, B., Shafferman, A., *Biochemistry*, **40** (2001) 7433-7445.
26. Huang, Y.-J., Huang, Y., Baldassarre, H., Wang, B., Lazaris, A., Leduc, M., Bilodeau, A.S., Bellemare, A., Cote, M., Herskovits, P., Touati, M., Turcotte, C., Valeanu, L., Lemee, N., Wilgus, H., Begin, I., Bhatia, B., Rao, K., Neveu, N., Brochu, E., Pierson, J., Hockley, D.K., Cerasoli, D.M., Lenz, D.E., Karatzas, C.N., Langermann, S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104** (2007) 13603-13608.
27. Mesulam, M.M., Guillozet, A., Shaw, P., Levey, A., Duysen, E.G., Lockridge, O., *Neuroscience*, **110** (2002) 627-639.
28. Lockridge, O., Masson, P., *Neurotoxicology*, **21** (2000) 113-126.
29. Kumar, V., Introduction to cholinesterase inhibitors used in Alzheimer's disease therapy, in: R. Becker, E. Giacobini (Eds.), *Alzheimer Disease: Therapeutic Strategies*. Birkhäuser, Boston, 1994, pp. 99-102.
30. Stahl, S.M., *J. Clin. Psychiatry*, **61** (2000) 813-814.
31. Hyde, C., Peters, J., Bond, M., Rogers, G., Hoyle, M., Anderson, R., Jeffrey, M., Davis, S., Thokala, P., Moxham, T., *Age Ageing*, **42** (2013) 14-20.
32. Winblad, B., *Lancet*, **368** (2006) 362-363.
33. Farlow, M., Veloso, F., Moline, M., Yardley, J., Brand-Schieber, E., Bibbiani, F., Zou, H., Hsu, T., Satlin, A., *BMC Neurol.*, **11** (2011) 57.
34. Tayeb, H.O., Yang, H.D., Price, B.H., Tarazi, F.I., *Pharmacol. Therap.*, **134** (2012) 8-25.
35. Rojas-Fernandez, C., *Ann. Pharmacother.*, **35** (2001) 202-205.
36. Malouf, R., Birks, J., *Cochrane Db. Syst. Rev.*, **1** (2004) CD004395.
37. Thakurathi, N., Vincenzi, B., Henderson, D.C., *Expert Opin. Inv. Drug.*, **22** (2013) 259-265.
38. Desai, A.K., Grossberg, G.T., *Expert Rev. Neurotherap.*, **5** (2005) 563-580.
39. Inglis, F., *Int. J. Clin. Pract.*, **127** (2002) 45-63.
40. Winbald, B., Machado, J. C., *Expert Opinion on Drug Delivery*, **5** (2008) 1377-1386.

41. Kitisripanya, N., Saparpakorn, P., Wolschann, P., Hannongbua, S., *Nanomed.-Nanotechnol.*, **7** (2011) 60–68.
42. Wessler, I., Kirkpatrick, C.J., *Br. J. Pharmacol.*, **154** (2008) 1558-1571.
43. Pohanka, M., *Biomed. Pap.*, **155** (2011) 219-230.
44. Bajgar, J., *Adv. Clin. Chem.*, **38** (2004) 151–216.
45. Ago, Y., Koda, K., Takuma, K., Matsuda, T., *J. Pharmacol. Sci.*, **116** (2011) 6-17.
46. Pohanka, M., Kuca, K., Kassa, J., *Neuroendocrinol. Lett.*, **29** (2008) 755-758.
47. Gao, X., Zheng, C.Y., Yang, L., Tang, X.C., Zhang, H.Y., *Free Radical Biol. Med.*, **46** (2009) 1454-1462.
48. Ebrahimi, A., Schluesener, H., *Ageing Res. Rev.*, **11** (2012) 329– 345.
49. Jung, H.A., Min, B.-S., Yokozawa, T., Lee, J.-H., Kim, Y.S., Choi, J.S., *Biol. Pharm. Bull.*, **32** (2009) 1433-1438.
50. Courtney, C., Farrell, D., Gray, R., Hills, R., Lynch, L., Sellwood, E., Edwards, S., Hardyman, W., Raftery, J., Crome, P., Lendon, C., Shaw, H., Bentham, P., *Lancet*, **363** (2004) 2105-2115.
51. Giacobini, E., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **920** (2000) 321-327.
52. Sogorb, M.A., Vilanova, E., *Toxicology Letters*, **128** (2002) 215–228.
53. Smulders, C.J., Bueters, T.J., Vailati, S., van Kleef, R.G., Vijverberg, H.P., *Toxicol. Sci.*, **82** (2004) 545-554.
54. Aldridge, W.N., Reiner, E., Acylated amino acids in inhibited B- esterases, In: *Enzyme Inhibitors as Substrates*, Neuberger, A., Tatum, E.L., Eds., North-Holland Publishing Company: Amsterdam, (1972) pp. 170-175.
55. Metabolism and mode of action, In: *Organophosphorus Insecticides: a General Introduction*, World Health Organization (WHO): Geneva, (1986) pp. 39-48.
56. Boublik, Y., Saint-Aguet, P., Lougarre, A., Arnaud, M., Villatte, F., Estrada-Mondaca, S., Fournier, D., *Protein Eng. Des. Sel.*, **15** (2002) 43-50.
57. Effects of organophosphorus insecticides on the nervous system. In: *Organophosphorus Insecticides: a General Introduction*; World Health Organization (WHO): Geneva, (1986) pp. 58-69.
58. Hayden, K.M., Norton, M.C., Darcey, D., Ostbye, T., Zandi, P.P., Breitner, J.C.S., Welsh-Bohmer, K.A., *Neurology*, **74** (2010) 1524-1530.
59. Costa, L.G., *Clin. Chim. Acta*, **366** (2006) 1-13.
60. Kneevi-Jugovi, Z.D., *Enzimsko inženjerstvo*; Tehnološko-metalurški fakultet: Beograd, (2008).

61. Abad, A., Agulló, C., Cuñat, A., De Alfonso, I., Navarro, I., et al. *Molecules*, **9** (5) (2004) 287-299.
62. Kraus, G.A., Hon, Y.S., Sy, J., *Journal of Organic Chemistry*, **51** (1986) 2625-2627.
63. Presset, M., Coquerel, Y., Rodriguez, J., *Chemical Reviews*, **113** (2013) 525-595.
64. Meltzer, P. C., Blundell, P., Chen, Z., Yong, Y. F., Madras, B. K., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **9** (1999) 857-862.
65. Mandzhulo, A.Yu., Mel' nichuk, N.A., Fetyukhin, V.N., Vovka, M.V., *Russ. J. Org. Chem.*, **52** (2016) 87-91.
66. Šagud, I., Levačić, M., Marinić, Ž., Škorić, I., *European Journal of Organic Chemistry* **26** (2017) 3787-3794.
67. Ratković, A., Marinić, Ž., Škorić, I., *Journal of Molecular Structure*, **1168** (2018) 165-174.
68. Meltzer, P.C., Blundell, P., Yong, Y.F., Chen, Z., George, C., Gonzalez, M.D., Madras, B.K., *J. Med. Chem.*, **43** (2000) 2982-2991.
69. Šagud, I., Škorić, I., Vuk, D., Ratković, A., Burčul, F., *Turk. J. Chem.*, **43** (2019) 1170-1182.
70. Robiette, R., Richardson, J., Aggarwal, V. K., Harvey, J. N., *Journal of the American Chemical Society*, **128** (2006) 2394–2409.
71. Škorić, I., Šmehil, M., Marinić, Ž., Molčanov, K., Kojić-Prodić, B., Šindler-Kulyk, M., *Journal of Photochemistry and Photobiology A - Chemistry*, **207** (2009), 2; 190-196.
72. Škorić, I., Kikaš, I., Kovács, M., Fodor, L., Marinić, Ž., Molčanov, K., Kojić-Prodić, B., Horváth, O., *Journal of organic chemistry*, **76** (2011), 21; 8641-8657.
73. Vuk, D., Potroško, D., Šindler-Kulyk, M., Marinić, Ž., Molčanov, K., Kojić-Prodić, B., Škorić, I., *Journal of molecular structure*, **1051** (2013), 1-14.
74. Carey, F. A., *Organic chemistry*, 5th ed., McGraw-Hill Education, London, 2003., 676-684.
75. Mattay, J., Griesbeck, A., *Photochemical Key Steps in Organic Synthesis*, An Experimental Course Book, (1994), 214-215.
76. Joule, J. A., Mills, K., *Heterocyclic Chemistry*, Fifth Edition, WILEY: A John Wiley & Sons Ltd, 2010
77. Liang, X., Haynes, B.S., Montoya, A., *Energy & Fuels* **32** (2018), 4139-4148.
78. Šindler-Kulyk, M., Špoljarić, L., Marinić, Ž., *Heterocycles* **29** (1989), 4; 679-682.
79. Mohammadi-Farani, A. et al., *DARU, Journal of Pharmaceutical Sciences*, **21**(1) (2013), 47.
80. Vuk, D., Marinić, Ž., Škorić, I., *Croat. Chem. Acta*, **87** (2014) 465-473.

SAŽETAK

U svrhu proučavanja inhibicijske aktivnosti derivata benzobicyklo[3.2.1]oktadienskih fotoprodukata prema humanim kolinesterazama, Wittigovom reakcijom sintetizirani su spojevi **9**, **10** i **25** koji su fotokemijskom metodologijom, intramolekulskim zatvaranjem prstena prevedeni u benzobicyklo[3.2.1]oktadienske derivate s izoliranom dvostrukom vezom, *endo-1*, *endo-2* i **8**. U cilju funkcionalizacije dvostruke veze provedena je epoksidacija *meta*-klorperbenzojevom kiselinom pri čemu su dobiveni epoksidi *endo-11* i *endo-12*, te Friedl-Craftsovo aciliranje prilikom čega su sintetizirani acilni derivati **26-34**. Aciliranje furanskih derivata u prisutnosti aluminijevog klorida u diklormetanu rezultira je i otvaranjem furanskog prstena. Otvaranje epoksida uslijed visoke reaktivnosti provedeno je pomoću litijevog aluminijevog hidrida u tetrahidrofuranu prilikom čega dolazi do nastajanja alkohola *endo-13* i *endo-14*. Mehanizmi otvaranja epoksida objašnjeni su u suradnji sa Laboratorijem za računalne bioznanosti IRB pomoću molekulskih simulacija koje se temelje na metodama teorijske kemije. Dobiveni alkoholi *endo-13* i *endo-14* prevedeni su u odgovarajuće etere *endo-15-24* pomoću odgovarajućih alkilbromida u acetonu. Svi novi produkti okarakterizirani su spektroskopskim metodama (NMR spektroskopijom i masenom spektrometrijom), a za one dobivene u dovoljnoj količini ispitana je inhibicijska aktivnost na humane enzime AChE i BChE.

Ključne riječi: benzobicyklo[3.2.1]oktadieni, epoksidi, eteri, fotokemija, otvaranje epoksidnog prstena, otvaranje furanskog prstena, aciliranje, računalna kemija, spektroskopija, inhibicija AChE i BChE

SUMMARY

Synthesis of epoxy, hydroxy and acyl derivatives of benzobicyclo[3.2.1]octadiene photoproducts as potential cholinesterase inhibitors

For the purpose of studying the influence of benzobicyclo[3.2.1]octadiene photoproducts on the inhibitory activity of cholinesterases, compounds **9**, **10** and **25** were synthesized using the Wittig reaction and subsequently converted intramolecular ring photoclosure into benzobicyclo[3.2.1]octadiene derivatives containing an isolated double bond *endo*-**1**, *endo*-**2** and **8**. In order to functionalize the double bond, epoxidation with *meta*-chlorperbenzoic acid was carried out to give epoxides *endo*-**11** and *endo*-**12**, along with the Friedl-Crafts acylation whereby compounds **26-34** were synthesized. Acylation of furan derivatives in the presence of aluminum chloride in dichloromethane results also in the furan ring opening. The epoxide was opened as well due to its high reactivity using lithium aluminum hydride in tetrahydrofuran obtaining alcohols *endo*-**13** and *endo*-**14**. The mechanism of opening the the epoxide ring was interpreted in collaboration with the Laboratory of Computational Biosciences at RBI using molecular simulations based on theoretical chemistry methods. The resulting alcohols *endo*-**13** and *endo*-**14** were converted to the corresponding ethers *endo*-**15-24** using the analogous alkyl bromides in acetone. All new compounds were characterized by spectroscopic methods (NMR spectroscopy and mass spectrometry) and for those isolated in sufficient quantities, the investigation of their inhibitory activity against human AChE and BChE were performed.

Keywords: AChE and BChE inhibition activity, acylation, benzobicyclo[3.2.1]octadienes, computational chemistry, epoxide ring opening, epoxides, ethers, furan ring opening, photochemistry, spectroscopy

ŽIVOTOPIS

Ivana Puček rođena je 8. prosinca 1996. godine u Zagrebu. Završila je osnovnoškolsko obrazovanje u OŠ Eugena Kvaternika u Velikoj Gorici, te započela svoje srednjoškolsko obrazovanje u Gimnaziji Velika Gorica, prirodoslovno-matematički smjer. Pohađala je Umjetničku školu „Franje Lučića“ gdje je završila osnovnu školu na puhačkom odjelu za instrument flauta, te započela srednju školu na smjeru za solo pjevanje. Godine 2015. po završetku gimnazije, upisala je preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. U sklopu studija odradila je stručnu praksu u tvrtki PLIVA HRVATSKA d.o.o., u organizacijskoj jedinici R&D TAPI Pilot. Na trećoj godini preddiplomskog studija ostvarila je pravo na državnu stipendiju u STEM područjima znanosti. Završni rad radila je na Zavodu za organsku kemiju pod mentorstvom prof. dr. sc. Irene Škorić. Nakon završetka preddiplomskog studija 2018. godine upisala je diplomski studij na istom fakultetu, modul Primijenjena organska kemija.

Donata Jambriško rođena je 6. travnja 1996. godine u Varaždinu. Osnovnu školu završila je u Varaždinu, nakon čega je upisala Prvu gimnaziju Varaždin, dvojezični smjer. 2015. godine upisuje preddiplomski studij Primijenjena kemija na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu odradila je u Euroinspektu Croatiakontrola, u laboratoriju za ispitivanje zdravstvene ispravnosti hrane te u R&D laboratoriju PLIVE. Tijekom preddiplomskog studija boravila je dva tjedna na tečaju *Green Solvents* u Toulouseu, Francuska, u sklopu Instituta *National Polytechnic Institute of Toulouse (INP-ENSIACET)*. Završni rad je odradila na Zavodu za organsku kemiju u ak. god. 2017./2018., nakon čega je upisala diplomski studij, modul Primijenjena organska kemija. U sklopu Erasmus+ programa odraduje treću stručnu praksu na istraživačkom institutu GAIA (The School of Industrial, Aerospace and Audiovisual Engineering of Terrassa, ESEIAAT).